

원저

족삼리에 시술한 고빈도 전침자극이 류마토이드 관절염 동물모델에 미치는 영향

노부래* · 김이화** · 이은용*

*세명대학교 한의과대학 침구학교실

**세명대학교 한의과대학 경혈학교실

Abstract

Effects of High Frequency Electro-acupuncture (ST₃₆) on the Adjuvant-induced Arthritis in Rats

Rho Boo-lae*, Kim Ee-hwa** and Lee Eun-yong*

*Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Se-Myung University

**Department of Meridianology, College of Oriental Medicine, Se-Myung University

Objectives : This study was to investigate the effect of high frequency electro-acupuncture (EA) at ST₃₆ acupoint on the Freund's Complete Adjuvant (FCA)-induced arthritis in rats.

Methods : Arthritis was induced by intradermal injection of FCA into base of tail. Experimental groups were divided into 4 groups; Normal, Control, ST₃₆ and Non-Acupoint (NA). ST₃₆ group was treated by 120Hz EA at ST₃₆ acupoint. Body weight, paw edema volume and ankle joint thickness were measured after treatment. And we investigated the effects of 120Hz EA via WBC count, segment neutrophil, lymphocyte, PGE2 assay and NADPH-d histochemistry.

Results and Conclusions : The mean of body weight and ankle joint thickness of ST₃₆ group was increased compared with control group. The mean of paw edema volume, WBC count, segment neutrophil and lymphocyte of were not decreased with control group. The mean of PGE2 concentration (1,851.00±160.11) and NADPH-d positive neurons (13.12±1.23) were changed significantly ($p < 0.05$) compared with control group.

Key words : Adjuvant arthritis, Electro-acupuncture, NOS, NADPH-d, ST₃₆

· 접수 : 2007년 3월 10일 · 수정 : 2007년 3월 16일 · 채택 : 2007년 3월 16일
· 교신저자 : 이은용, 충북 충주시 봉방동 세명대학교 부속충주한방병원 침구과
Tel. 043-841-1735 E-mail : acupley@paran.com

I. 서론

류마토이드 관절염은 지속적으로 말단 관절을 침범하는 염증성 활액막염이 대칭적으로 발생하는 만성 전신성 다발성 질환으로¹⁻⁴⁾, 활액막의 염증으로 인한 연골파괴와 골미란이 나타나고 그로 인한 관절의 변형, 동통, 부종, 경직, 운동제한, 기능소실 등이 특징이며, 퇴행성 관절질환 다음으로 흔하고, 현재까지 밝혀진 원인은 불확실하나 연쇄구균이나 바이러스 감염, 비타민 결핍증, 호르몬의 부조화 등을 들지만 근거가 불충분하며, 유전적으로 감수성이 있는 개체에서 감염체에 대한 반응현상으로 발생하는 것으로 추측되고 있고, 치료 측면에서도 이 질환을 완치하거나 진행을 막을 치료방법이 아직 정립되지 않은 실정이다⁴⁻⁸⁾.

韓醫學에서는 류마토이드 관절염을 주로 痺症과 歷節風 등의 범주에 귀속시키고 있으며⁹⁻¹²⁾, 원인으로서는 七情失常, 攝生不適, 體虛 등의 內因과 風·寒·濕·熱 등 外邪의 感受로 인한 外因 및 痰濕, 瘀血 등의 不內外因이 相合하여 발생하며^{10,13,14)}, 治法은 淸熱利濕, 行氣活血, 補益肝腎, 消風散寒除濕을 주로 한다^{9,13-16)}.

류마토이드 관절염에 대한 최근의 연구로는 adjuvant, collagen II로 유발된 관절염 동물모델을 이용한 한약의 단미제^{17,18)}와 복합방¹⁹⁻²³⁾ 등 약물 연구와 침구²⁴⁻²⁶⁾, 전침^{27,28)} 및 약침^{26,29-38)}을 활용한 연구들이 주로 혈청학, 조직학, 면역학적인 방법으로 행해지고 있으며, 전침요법은 최근 진통과 신경전달에 유효성을 입증하려는 많은 시도들이 있다³⁹⁻⁵⁰⁾.

이에 저자는 족삼리에 시술한 고빈도 전침자극이 adjuvant 유발 류마토이드 관절염 동물모델에 미치는 영향을 알아보기 위하여 흰쥐의 adjuvant 유발 관절염을 대상으로 형태계측학적 검사, 혈청학적 검사, 조직학적 검사, PGE2 및 NADPH-d를 측정할 결과 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 동물

수컷 Wistar Rat(체중 180±20g, 샘타코, 한국)을 구입하여 온도 23±1°C, 습도 55±5%로 조정된 항온항습사육장치(대종기기상사, 한국)내에서 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 전 실험기간동안 사료(제일제당, 한국)와 물은 자유 섭취케 하였다.

2. 재료

침은 길이 40mm, 직경 0.15mm의 stainless steel(동방침구사, 한국) 호침을 사용하였고, 전침기는 PG-7형 전침기(Ito Co. Japan)를 사용하였다.

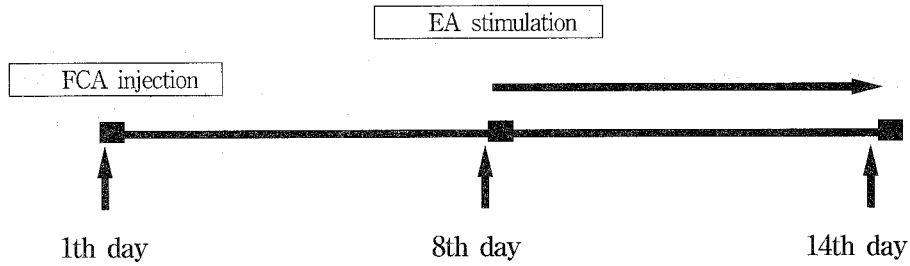
3. 관절염 모델의 작성

M. tuberculosis strain H37Ra(Difco, USA)를 유발에 곱게 갈아 light mineral oil(Sigma, USA)로 5 mg/ml의 농도가 되도록 Freund's complete adjuvant(FCA)를 제조하여 FCA 0.1ml를 흰쥐의 미근부 피내에 1회 주입하여 관절염을 유발시켰다. FCA를 접종한 지 8일부터 육안으로 양측 후지 모두에 관절염이 발생된 개체를 선별하여 정상군 외 모델군을 분류하였다.

4. 실험 설계 및 실험군 분류

- 정상군(Normal, n=8)은 생리식염수를 주사하였으며, 7일간 매일 1회 특수 제작된 구속 cage에서 15분 동안 처치하였다.
- 대조군(Control, n=8)은 FCA를 주사하였으며, 7일간 매일 1회 구속 cage에서 15분 동안 처치하였다.
- 족삼리 전침군(ST₃₆, n=8)은 대조군의 처치와 더불어 양측 족삼리에 상응하는 부위에 120Hz 전침자극을 15분 동안 시행하였다.
- 임의혈 전침군(NA, n=8)은 대조군의 처치와 더불어 양측 미둔부에 120Hz 전침자극을 15분 동안 시행하였다.

Experimental Schedule



5. 혈위 선정 및 전침자극 방법

실험동물의 체표상에 고⁵¹⁾의 방법에 따라 인체에 상응하는 부위의 족삼리(ST₃₆)를 골도분촌법에 의거하여 취혈하였다. 전침은 연속파, 직각파, 0.2ms duration, 120Hz에 근육수축이 보이는 세기로 자극을 주었고, 7일간 1일 1회 15분 동안 총 7회 전침을 시행하였다.

6. 형태계측학적 검사

(1) 체중의 측정

실험 1일, 3일, 5일 및 7일에 모든 개체의 체중을 측정하였다.

(2) 족부종의 측정

실험 1일, 3일, 5일 및 7일에 모든 개체의 양측 후지에 발생한 족부종을 pletysmometer(UGO BASILE, 7141, Italy)로 각각 3회 측정하고 좌우의 평균값을 구하였다.

(3) 족근관절 두께의 측정

실험 1일, 3일, 5일 및 7일에 모든 개체의 좌우 족근관절 두께를 digital calipper(Mitutoyo, CD-15CP, Japan)로 각각 3회 측정하고 좌우의 평균값을 구하였다.

7. 채혈 및 혈청분리

실험 7일에 각 개체를 가볍게 ether 마취시킨 후 삼장천자하여 혈액을 채취하였으며, 원심분리기로 3,000rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리한 후 그 혈청을 실험에 사용하였다. 혈청검사는 RBC, WBC, WBC differential count, Hct, Hb 및 ESR을 수행하였으며, 의료법인 이원의료재단(한국)에 검사

를 의뢰하였다.

8. 표본의 처리

실험 개시 7일에 모든 개체를 희생시켜 슬관절이 손상되지 않도록 대퇴골, 경골 및 척수를 함께 적출하였다. 좌측 슬관절강 내에 생리식염수 0.5ml를 주사하여 세정하고 세정된 활액을 100 μ l 이상 채취하여 검사 전까지 -70 $^{\circ}$ C에 냉동보관 하였다. 우측 슬관절은 10% 중성 포르말린액에 고정하여 병리조직학적 검사에 이용하였고, 척수도 -20 $^{\circ}$ C에 냉동보관 하였다.

9. 병리조직학적 검사

실험종료일에 우측 족근관절이 포함되도록 경골의 원위부에서 중족골 원위부사이를 적출하여 10% 중성 포르말린 용액에 1일간 고정한 후, 20% formic acid에 침지시켜 3일간 탈회하였다. 탈회된 조직을 24시간 수세한 후, 족근관절의 정중시상단면을 만들어 일반적인 조직처리과정을 거쳐 파라핀 포매하고 5 μ m의 박절편을 만들어 Hematoxylin & Eosin 염색을 실시하여 광학현미경으로 관찰하였다.

10. 족부 삼출물 내 prostaglandin E₂ (PGE₂) 함량 측정

삼출물 내 PGE₂ 함량은 Enzyme Immunoassay (EIA) kit(Cayman, USA)를 이용하여 측정하였다. 96 well plate에 표준액 및 검액을 분주한 후 prostaglandin E₂ AChE Tracer와 PGE₂ Monoclonal Antibody 용액을 분주하여 4 $^{\circ}$ C에서 24시간 반응시킨 후 Ellman's reagent 용액으로 발색시키고 ELISA reader로 405nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.

8단계의 PGE₂ 표준액(1,000, 500, 250, 125, 62,

31, 16, 8pg/ml)의 흡광도를 측정하여 ELISA reader에 제공된 프로그램을 이용하여 아래의 4-parameter logistic 방정식을 구하였으며, 측정된 검액의 흡광도를 이 방정식에 적용하여 검액의 PGE₂ 함량을 계산하였다⁵²⁾.

$$Y(\text{흡광도}) = \{ (A-D) / [1 + (\text{검액의 농도}(x) / C)^B] \} + D$$

(A:0.458, B:0.959, C:49.092, D:-0.013, R²:0.997)

11. NADPH-diaphorase 양성 신경세포의 측정

병리조직학적 검사를 위해 희생시킨 각 군당 8마리의 척수를 적출하여 4°C에서 4% paraformaldehyde 용액으로 24시간 후고정하고 냉동손상을 방지하기 위해서 15% sucrose 용액에 24시간, 30% sucrose 용액에 48시간 담가둔 후 냉동절편기(Leica, CM1850, Germany)를 이용하여 40µm 두께의 뇌조직 연속절편을 만들었다. 흰쥐의 Dorsal Horn⁵³⁾ 부위를 선택하여 NADPH-d 조직화학염색을 시행하였다.

냉동절편조직을 0.1% β-NADPH, 0.01% nitroblue tetrazolium, 0.3% Triton X-100을 0.1M PB(pH 7.5)에 녹인 반응혼합액에 넣어 37°C 수조에서 24시간

반응시켰다. 조직을 PBS로 세척하고 gelatin-coated slide에 얹어서 2시간 실온에서 건조시킨 후 xylene으로 투명화 시켜 Canada balsam으로 봉입하였다. 척수에서 NADPH-d에 양성으로 염색된 신경세포를 좌·우로 나누어 측정한 후 평균하여 표시하였다.

12. 통계처리

측정된 항목의 결과에 대한 통계는 SPSS(Ver. 9.0 for Windows)를 이용하여 student's t-test를 실시하였으며, 유의수준은 p<0.05로 하였다.

III. 결 과

1. 형태학적인 소견

대조군에서는 FCA 주입 후 8일(실험 1일)부터 후지의 발적과 종창이 나타나는 개체가 발생하기 시작하여, 14일(실험 7일)에는 모든 개체에서 후지의 발적과 종창이 관찰되었다(Fig. 1-B). 이에 반하여 족삼리 전침 치료군은 대조군에 비하여 후지의 발적과 종창이 감소되었다(Fig. 1-C).

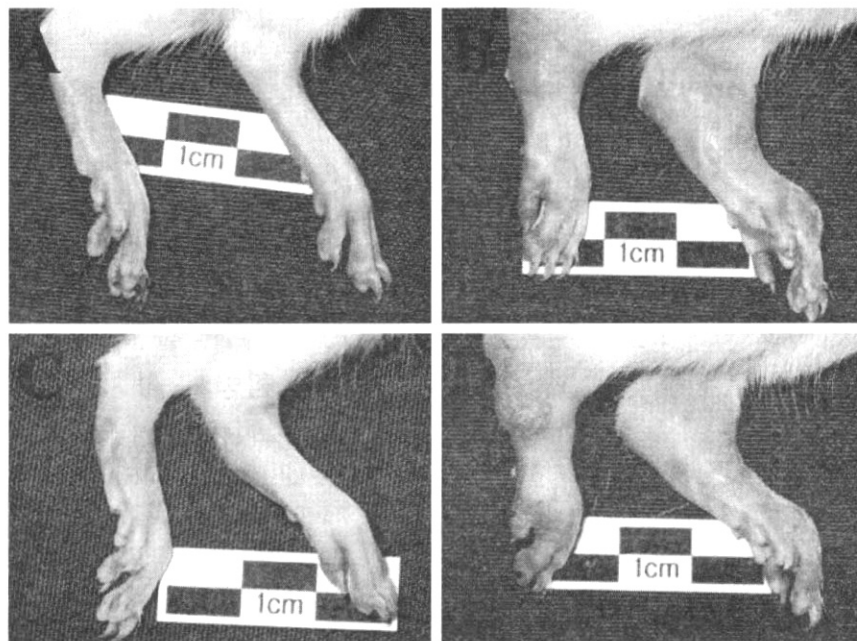


Fig. 1. Gross lesion of arthritic rat after Freund's complete adjuvant(FCA) injection. A: 1st day, B: 8th day, C: 14th day after FCA injection.

Table 1. Effects of 120Hz Electro-Acupuncture (ST₃₆) on the Body Weight of Adjuvant-induced Arthritic Rats

Group	Days after Adjuvant Injection(g)			
	1st day	3rd day	5th day	7th day
Normal (n=8)	270.30 ± 3.77 ^{a)}	278.80 ± 5.41	286.60 ± 5.68	283.00±6.14
Control (n=8)	219.90 ± 7.99 [*]	206.90 ± 5.28 [*]	203.30 ± 6.47 [*]	189.90±9.60 [*]
ST ₃₆ (n=8)	242.30 ± 5.00 [#]	231.00 ± 6.75 [#]	220.50 ± 7.41	214.20±7.46 [#]
NA (n=8)	240.44 ± 3.82 [#]	230.44 ± 4.40 [#]	226.44 ± 4.83 [#]	216.00±4.67 [#]

a) : data are shown as Mean±SD.

Normal : saline injected and treated with distilled water.

Control : adjuvant injected and treated with distilled water.

ST₃₆ : adjuvant injected and treated with electro-acupuncture at ST₃₆.

NA : adjuvant injected and treated with electro-acupuncture at non-acupoint.

* : Statistically significant compared with normal group(p<0.05).

: Statistically significant compared with control group(p<0.05).

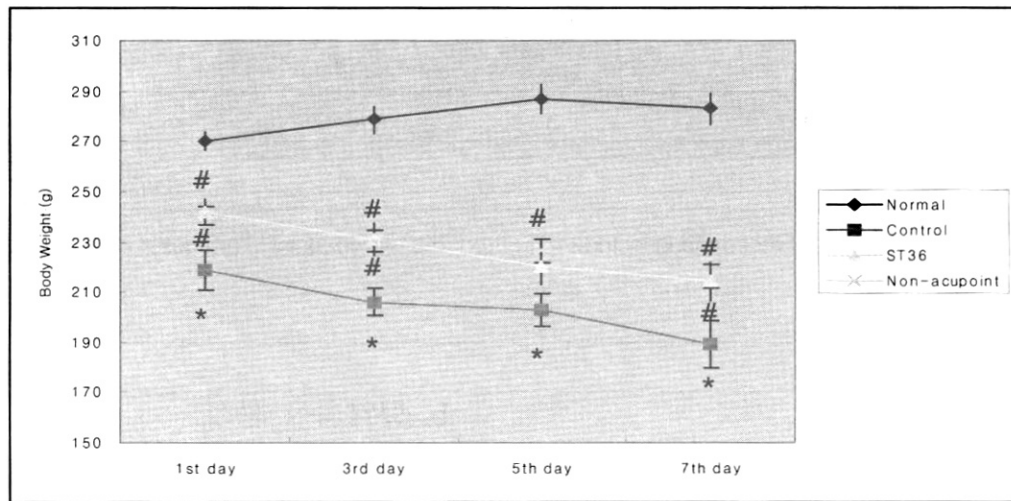


Fig. 2. Effects of 120Hz Electro-Acupuncture (ST₃₆) on the Body Weight of Adjuvant-induced Arthritic Rats

2. 체중의 변화

관절염을 유발한 대조군, 족삼리 전침군 및 임의혈 전침군은 정상군에 비해서 전체적으로 유의한 감소가 나타났다. 족삼리 전침군은 대조군에 비해서 1일째, 3일째 및 7일째 유의한 증가를 나타내었으며, 임의혈 전침군도 전 실험과정 동안 유의한 증가가 나타났다(Table 1, Fig. 2).

3. 족근관절 두께의 변화

관절염을 유발한 대조군, 족삼리 전침군 및 임의혈 전침군의 족근관절 두께는 정상군에 비해서 전체적으로 유의한 증가가 나타났다. 반면에 족삼리 전침군은 대조군에 비해서 전 실험과정 동안 유의한 감소를 나타내었으나, 임의혈 전침군은 유의한 감소가 나타나지 않았다(Table 2, Fig. 3).

Table 2. Effects of 120Hz Electro-Acupuncture (ST₃₆) on the Ankle Joint Thickness of Adjuvant-induced Arthritic Rats

Group	Days after Adjuvant Injection (%)		
	3	5	7
Normal (n=8)	8.63 ± 0.86 ^{a)}	17.94 ± 1.68	20.69 ± 1.95
Control (n=8)	30.10 ± 2.38*	49.83 ± 4.28*	62.68 ± 4.74*
ST ₃₆ (n=8)	13.13 ± 2.60 [#]	28.66 ± 14.21 [#]	40.27 ± 3.69 [#]
NA (n=8)	24.29 ± 2.78	46.17 ± 4.79	54.55 ± 4.16

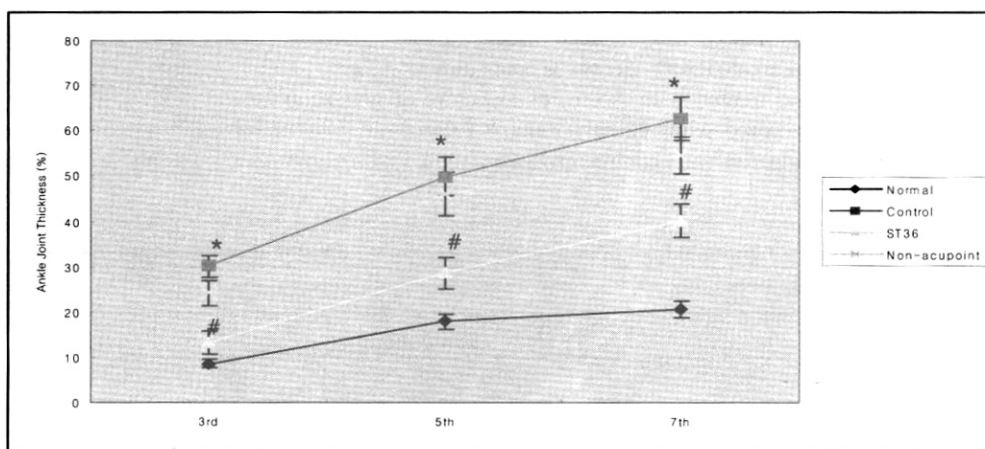


Fig. 3. Effects of 120Hz Electro-Acupuncture (ST₃₆) on the Ankle Joint Thickness in Adjuvant-induced Arthritic Rats

4. 족부종의 변화

관절염을 유발한 대조군, 족삼리 전침군 및 임의혈 전침군의 족부종은 정상군에 비해서 전체적으로 유의한 증가가 나타났다. 그러나 족삼리 및 임의혈 전침군은 대조군에 비해서 전 실험과정동안 통계학적으로 유의한 감소가 나타나지 않았다(Table 3, Fig. 4).

5. 혈액학적 분석

관절염을 유발한 대조군은 정상군에 비해서 WBC, segment neutrophil 및 lymphocyte가 통계학적으로 유의한 증가를 나타냈다. 그러나, 족삼리 및 임의혈 전침군은 대조군과의 유의한 차이가 인정되지 않았다(Table 4).

Table 3. Effects of 120Hz Electro-Acupuncture (ST₃₆) on the Paw Edema Volume of Adjuvant-induced Arthritic Rats

Group	Days after Adjuvant Injection (%)		
	3	5	7
Normal (n=8)	4.52 ± 1.19 ^{a)}	9.05 ± 2.38	-2.32 ± 1.48
Control (n=8)	14.89 ± 4.20*	37.77 ± 7.15*	36.01 ± 6.05*
ST ₃₆ (n=8)	15.46 ± 2.43	30.56 ± 3.85	24.57 ± 4.79
NA (n=8)	18.26 ± 4.91	32.68 ± 4.92	25.81 ± 4.01

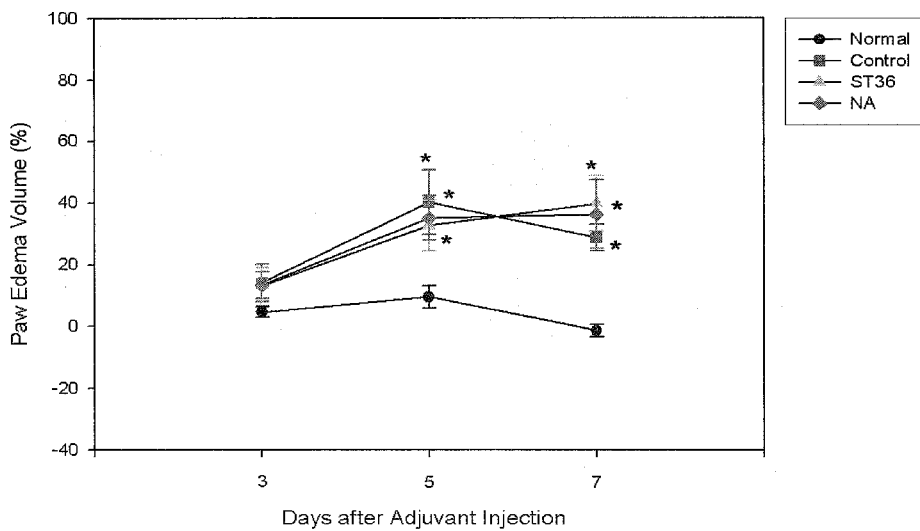


Fig. 4. Effects of 120Hz Electro-Acupuncture (ST₃₆) on the Paw Edema Volume in Adjuvant-induced Arthritic Rats

Table 4. Effects of 120Hz Electro-Acupuncture (ST₃₆) on the WBC count, Segment Neutrophil, Lymphocyte and ESR of Adjuvant-induced Arthritic Rats

Group	WBC (10 ³ /μl)	Neutrophil (%)	Lymphocyte (%)	ESR
Normal (n=8)	2.86 ± 0.32 ^{a)}	29.83 ± 3.21	66.33 ± 3.11	1.83 ± 0.40
Control (n=8)	7.98 ± 0.59*	71.66 ± 3.00*	27.50 ± 3.39*	2.50 ± 0.34
ST ₃₆ (n=8)	11.00 ± 0.82	63.33 ± 4.67	36.33 ± 4.83	2.50 ± 0.22
NA (n=8)	10.42 ± 1.17	64.33 ± 3.04	35.16 ± 3.04	2.33 ± 0.33

Table 5. Effects of 120Hz Electro-Acupuncture (ST₃₆) on the Prostaglandin E₂ (PGE₂) Concentration in Synovial Fluid of Knee Joint of Adjuvant-induced Arthritic Rats

Group	PGE ₂ Concentration (pg/ml)
Normal (n=8)	864.00 ± 194.49 ^{a)}
Control (n=8)	2,713.42 ± 282.39*
ST ₃₆ (n=8)	1,851.00 ± 160.11 [#]
NA (n=8)	3,110.14 ± 241.00

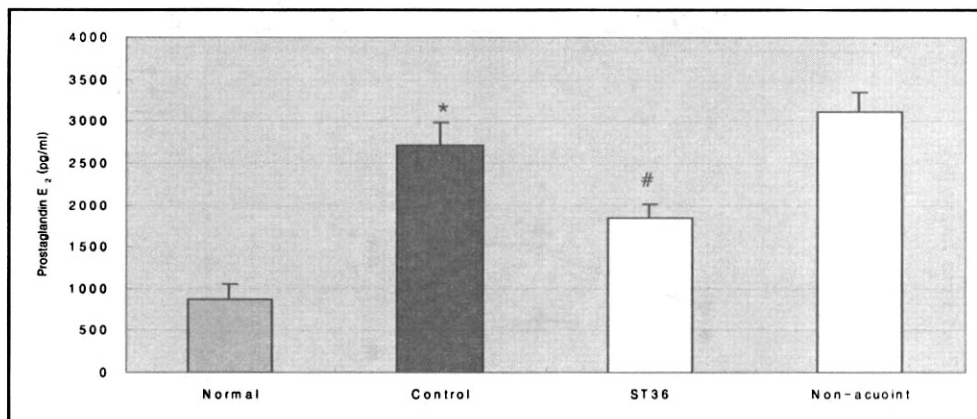


Fig. 6. Effects of 120Hz Electro-Acupuncture (ST₃₆) on the Prostaglandin E₂ (PGE₂) Concentration in Synovial Fluid of Knee Joint of Adjuvant-induced Arthritic Rats

Table 6. Effects of 120 Hz Electro-Acupuncture (ST₃₆) on the Number of NADPH-d positive neurons in Dorsal Horn of Adjuvant-induced Arthritic Rats

Group	No. of NADPH-d positive cells
Normal (n=8)	15.37 ± 1.67a)
Control (n=8)	4.93 ± 0.49*
ST ₃₆ (n=8)	13.12 ± 1.23 [#]
NA (n=8)	10.25 ± 1.16 [#]

6. 활액 내 PGE₂ 함량의 변화

FCA 주사 후 실험최종일에 채취한 슬관절 활액 내 PGE₂ 함량의 변화는 대조군의 경우 정상군에 비해서 유의성 있게 증가하였다. 족삼리 전침군은 대조군에 비해서 유의하게 감소하였으나, 임의혈 전침군은 통계학적인 차이가 인정되지 않았다(Table. 5).

7. NADPH-d 양성세포수 변화

NADPH-d 양성 반응은 대조군의 경우 정상군에 비해서 NADPH-d 양성세포수가 유의하게 감소하였다. 족삼리 전침군은 대조군에 비해서 유의하게 증가하였으나, 임의혈 전침군은 인정되지 않았다(Table 6, Fig. 7).

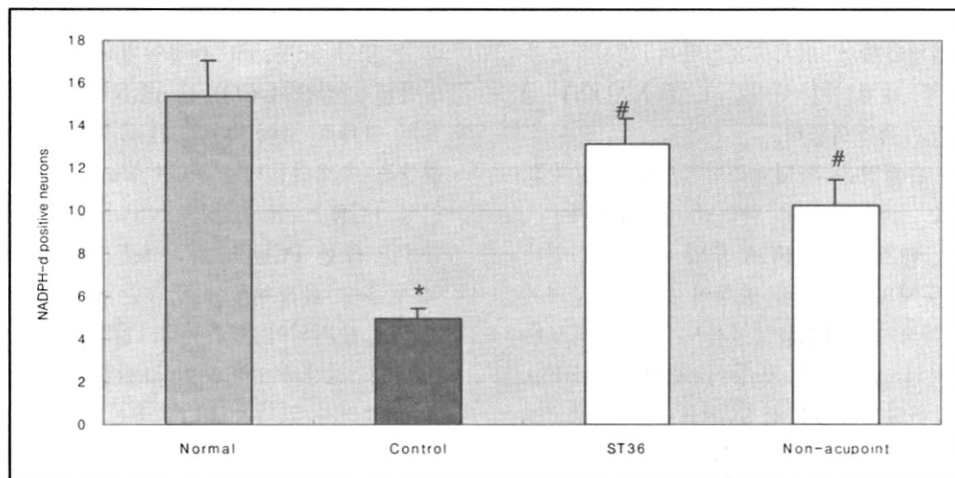


Fig. 7. Effects of 120Hz Electro-Acupuncture (ST₃₆) on the Number of NADPH-d positive neurons in Dorsal Horn of Adjuvant-induced Arthritic Rats

IV. 고찰

류마티드 관절염은 여러 기관을 침범하는 난치병 중 하나로, 대칭적인 말단관절의 통증, 종창, 변형과 기능상실 등을 특징으로 하는 만성적인 염증성 질환이며 대표적인 자가면역성 질환이다. 지역적 차이가 있지만 전 세계 인구의 약 1%가 발병하여 사회적, 경제적, 개인적으로 삶의 질에 커다란 영향을 미치는 질병으로 인식되고 있다⁵⁴⁾.

류마티드 관절염의 임상적인 특징은 관절이나 건의 활액에 비세균성 만성 염증반응이 장기간 나타나면서 관절 동통이나 종창이 악화와 호전을 반복하며, 초기에는 활액막이 증식하고 활액의 양이 증가하여 관절의 부종과 동통을 초래하며, 장기간 진행되면 2차로 발생된 육아조직(pannus)에 의하여 관절의 연골과 관절주위 조직이 파괴되어 관절의 강직이나 변형이 지속되는 것이다^{2, 4)}.

지금까지 밝혀진 류마티드 관절염의 병태생리 기전을 살펴보면, 류마티드 활액막의 monocyte, macrophage, lymphocyte 등 활성화된 염증세포에서 생성된 cytokines, lysosomal hydrase 등의 작용으로 염증이 유발된다⁵⁵⁾. 그리고, 자가면역 과정에서 유발되는 관절강 내 구성성분의 변화는 활액 내의 type II collagen의 증가⁵⁶⁾, proteoglycan의 감소⁵⁷⁾, heat shock protein의 증가²⁾와 IL-1⁵⁸⁾, IL-6⁵⁹⁾, TNF-α⁶⁰⁾ 등 proinflammatory cytokine 및 PGE₂ 등^{61, 62)} 도

관여하는 것으로 알려져 있다.

류마티드 관절염의 병태모델로서는 collagen 유발 관절염, adjuvant 유발 관절염, aviridine 유발 관절염, pristane 유발 관절염 및 oil 유발 관절염 등 많은 방법이 알려져 있는데, 그 중 adjuvant 유발 관절염은 비정상적인 면역현상의 결과이며⁶³⁻⁶⁴⁾, 발적, 종창, 골·연골의 변화의 활성화로 육아증식으로 진행하기도 하며 전신성, 다발성으로 나타나고⁶⁵⁾, 비장과 부신의 종대, 체중감소, 다발성관절염, 백혈구 증가 등의 국소 및 전신 증상이 나타난다⁶⁶⁾고 하여 류마티드 관절염과 매우 유사하다고 하였다⁶⁷⁻⁶⁹⁾.

치료법은 보존요법, 약물요법, 수술요법으로 나눌 수 있는데, 보존요법은 안정과 휴식, 적절한 영양공급, 유발요인에 대한 처치, 물리치료 등을 실시하고, 약물 치료는 부신피질호르몬, 아스피린과 비스테로이드성 항염증제(NSAID), 항류마티드제제, 항세포성제제 등을 사용하며, 이와 같은 치료에도 관절의 통증, 관절의 종창, 구축, 신경증세가 출현하거나 진행되면 외과적 수술을 시행하나 아직 뚜렷한 효능을 입증하지 못한 실정이다⁷⁰⁻⁷²⁾.

한의학에서도 adjuvant 유발 관절염에 대하여 약침 및 한약투여 등을 통한 연구가 시행되어져 왔으나 경혈전침자극을 이용한 연구는 찾아볼 수 없었다.

이에 저자는 고빈도 족삼리 전침자극이 류마티드 관절염에 미치는 치료효과를 규명하기 위해 Freund's Complete Adjuvant (FCA)를 흰 쥐에게 투여하여 adjuvant 관절염을 유발한 후 족삼리

(ST₃₆) 전침자극군과 임의혈(NA) 전침자극군으로 분류하여 형태계측학적 검사, 혈청학적 검사, 족부 삼출물 내 염증 매개인자 함량검사 및 NADPH-d 양성 신경세포를 측정하였다.

류마티오이드 관절염은 형태계측학적으로 관절부종, 변형, 체중감소 등의 증상이 나타날 수 있는데⁶⁵⁻⁶⁶, 본 연구에서는 대조군에서 FCA 주입 후 8일(실험개시 1일)부터 후지의 발적 및 종창이 나타나는 개체가 발생되기 시작하여, 14일(실험개시 7일)에는 모든 개체에서 후지의 발적 및 종창이 관찰되었다(Fig. 1-B). 이에 반하여 족삼리 전침 치료군은 대조군에 비하여 후지의 발적 및 종창이 감소되었다(Fig. 1-C).

체중의 변화를 관찰한 결과 대조군, 족삼리 전침군 및 임의혈 전침군은 정상군에 비해서 전체적으로 유의한 감소를 나타내었다. 족삼리 전침군은 대조군에 비해서 1일째, 3일째 및 7일째 유의한 증가를 나타내었으며, 임의혈 전침군은 전 실험과정동안 유의한 증가를 나타내었다. (Table 1, Fig. 2).

족근관절 두께의 변화는 관절염을 유발한 대조군, 족삼리 전침군 및 임의혈 전침군의 족근관절 두께는 정상군에 비해서 전체적으로 유의한 증가를 나타내었다. 반면에 족삼리 전침군은 대조군에 비해서 전 실험과정동안 유의한 감소를 나타내었으나, 임의혈 전침군은 유의한 감소가 나타나지 않았다. (Table 2, Fig. 3).

족부종은 대조군, 족삼리 전침군 및 임의혈 전침군의 족부종은 정상군에 비해서 전체적으로 유의한 증가를 나타내었다. 그러나, 족삼리 및 임의혈 전침군은 대조군에 비해서 전 실험과정동안 통계학적으로 유의한 감소는 인정되지 않았다(Table 3, Fig. 4).

이상의 형태계측학적 조건에서 고빈도 족삼리 전침자극은 관절염의 발생억제 및 진행속도를 저하하는 효과가 있는 것으로 사료된다.

혈액학적으로 변화를 분석해 본 결과, 관절염을 유발한 대조군은 정상군에 비해서 WBC, segment neutrophil 및 lymphocyte가 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었으나, 족삼리 및 임의혈 전침군은 대조군과의 유의한 차이를 인정할 수 없었다.

Prostaglandin E₂(PGE₂)는 COX 활성화에 따른 주요 산물로서 염증질환, 자가면역질환 및 종양성 질환의 병리에서 중요한 역할을 하며, 특히 염증반응의 중요한 매개물질로 작용한다⁷³. NSAIDs가 COX를 억제시켜 소염과 진통효과를 보인다고 보고한 이

후 PGE₂의 작용기전에 대한 연구가 진행되어 왔다⁷⁴. 또한 adjuvant 관절염에서도 증가하는데 이는 침범된 관절에서 COX-2 mRNA와 단백질의 과잉조절의 결과로 보여진다⁷⁵. PGE₂는 염증성 cytokine의 생산을 조절하는데⁷⁵ 특히 adjuvant 관절염에서 내인성 PGE₂는 IL-6같은 cytokine의 생산을 자극한다^{75,76}. 또한 PGE₂는 파골세포를 활성화시키는 생리적 골흡수 유도체로서 염증반응시 많은 염증세포들로부터 분비되어 혈관확장, 발열 및 통증을 유발하는 중요 인자로 류마티오이드 관절염에서 증가되는 것으로 알려져 있다⁷⁷. FCA 주사 후 실험최종일에 채취한 슬관절 활액내 PGE₂ 함량의 변화는 대조군의 경우 정상군에 비해서 유의성 있게 증가되었으며, 족삼리 전침군은 대조군에 비해서 유의하게 감소하였으나, 임의혈 전침군은 통계학적인 차이가 인정되지 않았다(Table. 5).

Nitric oxide(NO)는 L-arginine이 NOS에 의해 L-citrulline으로 변환되는 과정에 의해 생성되는데⁷⁸⁻⁷⁹ 면역계에서 항암 및 항미생물 작용을 하며 주로 방어물질로 기능하는 것으로 알려져 있다⁸⁰.

NO의 작용은 산화 환원 상태에 따라서 달라지는데 iNOS에 의해 지속적으로 생성된 많은 양의 NO는 주위의 산소 유리 라디칼과 반응하여 nitrogen dioxide나 peroxynitrite라는 강력한 산화력을 갖는 물질을 형성하여 세포막의 지질성분을 과산화시키거나 세포내 단백질의 구조와 기능을 변화시켜서 세포 손상을 유발한다⁸¹.

면역계에서 cytokine의 영향을 받아 면역기능세포가 많은 양의 NO를 생성할 수 있게 유도되면 NO가 면역염증부위에 유리되어 Fe-S를 함유하는 효소의 작용을 억제하거나 DNA에 손상을 주어 세포의 성장을 방해하거나 치사시키는 작용이 있다. 따라서 많은 양의 NO는 면역염증 반응시 조직 손상을 야기시킬 뿐만 아니라 주위 정상 조직에 손상을 초래할 수도 있다⁸⁰.

NOS는 활성화의 기전에 따라서 구성효소 형태인 constitutive NOS(cNOS)와 유도효소 형태인 inducible NOS(iNOS)로 구분하며 nNOS, eNOS, iNOS 등 3종이 발견되었다⁸²⁻⁸⁴. 최근 연구결과에 따르면 IL-1 β , TNF- α 에 의해 관절 연골세포 및 활막세포에서 iNOS가 유도되고 이로 인해 NO가 생성된다고 하였다⁸⁰.

NO는 작용시간이 매우 짧기 때문에 주로 조직이나 세포에서 NOS의 발현 유무를 보아 간접적으로

NO의 생성을 알아낼 수 있다. NOS를 관찰하는 방법으로 NADPH-diaphorase(NADPH-d) 조직화학을 사용하는데 이 방법은 NOS가 nitroblue tetrazolium (NBT)을 물에 녹지 않는 NBT formazan으로 환원시키는 NADPH-d 활성작용이 있다는 원리를 이용한 방법이다⁸⁵⁾. 이 작용에는 NADPH가 필요하며 NOS는 NADPH를 전자 공여자로 필요로 하며 NOS의 효소활성은 NADPH-d 활성도와 비례한다고 알려져 있다^{82,85,86)}.

이 실험에서 NADPH-d 양성 반응은 대조군의 경우 정상군에 비해서 NADPH-d 양성세포수가 유의하게 감소하였다. 족삼리 전침군은 대조군에 비해서 유의하게 증가하였으나, 임의혈 전침군은 통계학적인 차이가 인정되지 않았다(Table. 6, Fig. 7).

이상의 내용으로 살펴보면 고빈도 족삼리 전침자극이 adjuvant 유발 관절염의 발생을 감소시키고 증상을 완화시키며 병변의 진행 및 NOS의 발현을 억제하는데 일정한 효과가 있음을 알 수 있다. 하지만 실험에 사용된 쥐는 생리적 특성, 체중, 평균수명, 병의 진행과정 등이 사람과는 차이가 있으며, 류마티드 관절염은 증식성 활막염으로 시작되는 반면 adjuvant 유발 관절염은 골외막염 및 화농성 활막염으로 시발되는 병리발생의 차이가 있다. 또한 사람의 류마티드 관절염과는 달리 adjuvant 유발 관절염의 경우 그 과정이 수 주 내로 매우 신속하게 진행된다는 점을 감안할 때 고빈도 족삼리 전침자극이 사람의 류마티드 관절염에도 효과가 있다고 할 수는 어렵지만 고빈도 족삼리 전침자극의 방법에 대한 다각적인 연구를 통해 향후 임상에서 류마티드 관절염의 치료 방법으로서 고빈도 전침자극법이 널리 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

V. 결 론

고빈도 전침자극이 흰쥐의 FCA로 유발시킨 adjuvant 관절염에 미치는 영향을 알아보기 위하여 흰쥐에 관절염을 유발하고 전침치료를 한 후 관절염 및 Nitric Oxide Synthase(NOS)의 발현에 미치는 영향을 알아보고자 형태학적인 관찰, 병리조직학적인 소견, 체중의 변화, 족근관절 두께 검사, 족부종의 변화, 혈액학적 분석, 활액 내 PGE₂ 함량 측정

및 처수의 NADPH-d 조직화학을 실시하여 아래와 같은 결과를 얻었다.

1. 형태계측학적으로 족삼리 전침 치료군은 대조군에 비하여 후지의 발적 및 종창이 감소되었다
2. 체중의 변화 족삼리 전침군은 대조군에 비해서 1일째, 3일째 및 7일째 유의한 증가를 나타내었다.
3. 족근관절 두께의 변화는 족삼리 전침군은 대조군에 비해서 전 실험과정동안 유의한 감소를 나타내었다.
4. 족부종은 족삼리 및 임의혈 전침군은 대조군에 비해서 전 실험과정동안 통계학적으로 유의한 감소가 나타나지 않았다
5. 활액 내 PGE₂(pg/ml) 함량은 족삼리 전침군이 대조군에 비해서 유의하게 감소하였다.
6. NADPH-d 양성 반응은 족삼리 전침군이 대조군에 비해서 유의하게 증가하였다.

이상의 결과로 보아 고빈도 족삼리 전침자극은 FCA 유발 관절염의 발생을 억제하고 진행을 완화시키며 NOS의 발현을 억제하는 효과가 있는 것으로 사료된다.

VI. 참고문헌

1. Harris ED Jr. Rheumatoid arthritis ; Pathophysiology and implication for therapy. N. Engl J. Med. 1990 ; 322(18) : 1277-89.
2. 해리슨 번역 편찬위원회. 해리슨 내과학. 서울 : 도서출판정담. 1997 : 1777-85.
3. 김진호, 한태륜. 재활의학. 서울 : 군자출판사. 2002 : 503.
4. 대한정형외과학회. 정형외과학. 서울 : 최신의 학사. 2000 : 175-208.
5. 전국의과대학교수 역. 오늘의 진단 및 치료. 서울 : 한우리. 1999 : 892-9.
6. 서울대학교 의과대학 내과학교실. 내과학. 서울 : 군자출판사. 1996 : 1243-87.
7. 김동집, 박동준. 류마티스 관절염의 병인. 대한 류마티스학회지. 1994 ; 1(1) : 1-12.

8. 대한병리학회. 병리학. 서울 : 고문사. 1990 : 1166-70.
9. 장개빈. 경약전서. 서울 : 행림서원. 1975 : 153-9.
10. 소원방. 제병원후론. 북경 : 인민위생출판사. 1982 : 5-8.
11. 장중경. 금계요약방론. 대북 : 대련국풍출판사. 1973 : 32-3.
12. 전국한외과대학 재활의학과교실 편. 동의재활 의과학. 서울 : 서원당. 1995 : 95-96, 108, 111-4.
13. 공정현. 만병회춘. 북경 : 인민위생출판사. 1995 : 309-12.
14. 임패금. 류증치제. 북경 : 인민위생출판사. 1996 : 269-72.
15. 김정제. 진료요감(상). 서울 : 동양의학연구원. 1991 : 450-1, 159-62.
16. 최홍식, 권오성, 이준희, 강운호. 역절풍에 관한 연구. 한의학연구소논문집. 1996 ; 5 : 97-129.
17. 조윤희, 임형호. 天授根이 Adjuvant 유발 관절염에 미치는 영향. 한방재활의과학회지. 2002 ; 12(2) : 175-86.
18. 김정연, 송용선. 호장근에 의한 NO생성억제가 Adjuvant로 유발된 관절염에 미치는 영향. 한방재활의과학회지. 1997 ; 7(1) : 46-50.
19. 김근찬, 이명종. 羌活續斷湯이 Adjuvant 誘發關節炎 動物 model에 미치는 影響. 한방재활 의과학회지. 2004 ; 14(1) : 1-18.
20. 설재욱, 신미숙, 최진봉. 麻黃羌活湯이 Adjuvant 관절염에 미치는 실험적 효과. 한방재활의과학회지. 2005 ; 15(2) : 55-65.
21. 서해경, 오민석, 송태원. 獨活寄生湯加猫脛骨이 Adjuvant 關節炎에 미치는 影響. 한방재활의과학회지. 2001 ; 11(2) : 111-24.
22. 김순중, 이철완. 삼기음 및 삼기음거부자가 Adjuvant 관절염 유발시 활성산소에 미치는 영향. 한방재활의과학회지. 1997 ; 7(2) : 1-5.
23. 신민제, 이종수. 방풍탕이 Adjuvant 유발 관절염에 미치는 영향. 동의물리요법과학회지. 1994 ; 4(1) : 135-46.
24. 김혜경, 강성길, 박영배. 시구방법이(時灸方法) Adjuvant 관절염 흰쥐의 혈액에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1998 ; 15(2) : 137-50.
25. 김정곤, 강성길, 박동석. 침(鍼), 구(灸) 및 진교수침이 흰쥐의 Adjuvant 관절염에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1989 ; 6(1) : 51-62.
26. 위통순, 나창수, 윤여충. 자침과 우황, 응담 약침이 백서의 Adjuvant Arthritis 에 미치는 영향에 대한 비교 연구. 대한침구학회지. 2002 ; 19(2) : 164-76.
27. 박인범, 최병태, 안창범. 전침에 의한 Complete Freund's Adjuvant 유발 관절염모델의 거퇴관절 내 염증관련 단백질에 대한 면역조직화학적 연구. 대한침구학회지. 2005 ; 22(4) : 55-63.
28. 백용현, 최도영, 박동석. Adjuvant 유발 관절염에 대한 전침자극의 진통효과 및 그 기전에 관한 연구. 대한침구학회지. 2003 ; 20(3) : 117-30.
29. 송언석, 안병철, 박동석. 가미소풍활혈탕수침이 Adjuvant 관절염에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1990 ; 7(1) : 19-37.
30. 변입정, 최도영, 박동석. 金注射液藥鍼의 Adjuvant 관절염 유발 흰쥐의 진통효과 및 그 기전에 관한 연구. 대한침구학회지. 2003 ; 20(4) : 12-23.
31. 김정진, 김재규, 박동석. 농도에 따른 가미소풍활혈탕수침(加味疎風活血湯水鍼)이 흰쥐의 Adjuvant 관절염에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1990 ; 7(1) : 65-82.
32. 김영태, 김기현, 황현서, 김연섭. 天授根 약침이 Adjuvant 유발 관절염에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2001 ; 18(2) : 27-36.
33. 배철우, 김기현, 황현서, 김연섭. 마전자약침이 Adjuvant 관절염에 미치는 영향에 관한 실험적 연구. 대한침구학회지. 2001 ; 18(1) : 217-25.
34. 서동민, 박동석, 강성길. 봉독약침이 Adjuvant 수발 관절염에 미치는 진통효과 및 그 기전에 관한 연구. 대한침구학회지. 2003 ; 20(2) : 85-97.
35. 육태한, 채우석. 정공등수침이 백서의 Adjuvant 관절염에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1998 ; 15(2) : 75-90.
36. 구민숙, 윤종화, 김경호, 장준혁, 이승덕, 김갑성. 시호약침이 생쥐의 Adjuvant 유발 관절염에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2002 ; 19(3) :

- 51-63.
37. 송인광, 최우식, 박준성, 이승덕, 김갑성. 전갈 약침이 adjuvant 유발 흰쥐의 관절활액막내 cytokine과 prostaglandin E2에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2002 ; 19(2) : 177-88.
 38. 박희수, 손승현. 적작약약침이 Rat의 Adjuvant 관절염에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2000 ; 17(1) : 153-68.
 39. 박상민, 이윤호, 강성길. 전침(電鍼)이 신경병 증성 냉이질통 발생 억제에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2005 ; 22(6) : 27-36.
 40. 오창록, 나창수, 윤여충, 조명래. 위중(委中), 후계(後谿), 위중배후계 전침 및 침자가 백서의 신경병리성 동통 억제에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2005 ; 22(1) : 77-90.
 41. 이현중, 김창환, 이윤호. 전침이 amyloid- β 에 의한 구심성 체감각 신경정보진달 변화에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2003 ; 20(4) : 145-56.
 42. 신흥기, 박동석, 이서은, 김진혁. 전침자극이 흰쥐척수후각세포의 유해자극반응에 미치는 효과의 특성. 대한침구학회지. 2002 ; 19(4) : 167-82.
 43. 이형식, 민병일, 황병길, 박동석, 이순걸. Tail model의 기계적 이질통에 대한 전침 자극의 효과 및 교감신경계의 관여기전. 대한침구학회지. 2003 ; 20(1) : 177-90.
 44. 박상균, 김재효, 김민선, 박병림, 손인철, 김경식. 거자법에 의한 전침자극이 흰쥐의 formalin 유도 통증에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2000 ; 17(2) : 231-46.
 45. 주진원, 최용태. 증풍에 수반된 배뇨장애에 미치는 전침(電鍼) 및 구요법(灸療法)의 임상적 효과에 관한 연구. 대한침구학회지. 1997 ; 14(2) : 1-14.
 46. 김정신, 김용석, 남상수. 족삼리(足三里) 전침 자극(電鍼刺戟)이 알러지모델 생쥐의 면역능에 미치는 영향 및 기전(機轉)에 관한 연구. 대한침구학회지. 2005 ; 22(3) : 23-35.
 47. 김은정, 김경태, 고영진, 정지철, 류성룡, 우현수, 김창환. 배뇨장애 환자에 대한 전침치료가 심박 변이도에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2006 ; 23(3) : 155-163.
 48. 김일두, 오희홍, 송호천, 범희승, 변재영, 안수기. 족삼리 전침자극이 뇌혈류에 미치는 영향에 관한 핵의학적 고찰. 대한침구학회지. 2001 ; 18(2) : 18-26.
 49. 유진호, 김용석, 강성길. 전침자극이 증풍환자의 경직에 미치는 효과. 대한침구학회지. 1999 ; 16(2) : 1-12.
 50. 손영주, 정혁상, 구자승, 원란, 김용석, 박영배, 손락원. 흰쥐의 족삼리 및 태충 전침자극에 따른 뇌대사활성의 변화. 대한침구학회지. 2002 ; 19(1) : 159-74.
 51. 고흥균. 흰쥐에서의 골도분층에 의한 상응혈위. 대한침구학회지. 1999 ; 16(3) : 115-22.
 52. Wittenberg RH, Willburger RE, Kleemeyer KS, Peskar BA. In vitro release of prostaglandins and leukotrienes from synovial tissue, cartilage and bone in degenerative joint diseases. Arthritis and Rheumatism. 1993 ; 36 : 1444-50.
 53. Abbadie C, Besson JM, Calvino B. C-fos expression in the spinal cord and pain-related symptoms induced by chronic arthritis in the rat are prevented by pretreatment with Freund Adjuvant. Journal of Neuroscience. 1994 ; 14(10) : 5865-71.
 54. 윤지희. Immune Responses in Rheumatoid Arthritis. 분자세포생물학뉴스. 2002 ; 14(4) : 7-12.
 55. 菊地浩吉. 최신면역학. 서울 : 집문당. 1985 : 33-35, 100.
 56. Klareskog L, Johnell O, Hulth A, et al. Reactivity of monoclonal anti-type II collagen antibodies with cartilage and synovial tissue in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. Arthritis and Rheumatism. 1986 ; 29(6) : 730-8.
 57. Mc. Donnell J, Hoerrner LA, Lark MW, et al. Recombinant human interleukin-1 β induced increase in levels of proteoglycans, stromelysin, and leukocytes in rabbit synovial fluid. Arthritis and Rheumatism. 1992 ; 35 : 799-805.
 58. Hart PH, Vitti GF, Burgess DR, et al. Potential antiinflammatory effects of interleukin 4 : Suppression of human monocyte tumor necrosis factor α , interleukin 1, and

- prostaglandin E2. Medical Science. 1989 ; 86 : 3803-7.
59. Houssiau FA, Devogelaer JP, Damme JV, et al. Interleukin-6 in synovial fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory arthritis. *Arthritis and Rheumatism*. 1988 ; 31(6) : 784-8.
 60. Manicout DH, Triki, Fukuda K, Devogelaer JP, et al. Levels of circulating tumor necrosis factor α and interleukin-6 in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism*. 1993 ; 36(4) : 490-9.
 61. Angel J, Colard O, Chevy F, Fournier C. Interleukin-1 mediated phospholipid breakdown and arachidonic acid release in human synovial cells. *Arthritis and Rheumatism*. 1993 ; 36(2) : 158-67.
 62. Dayer JM, de Rochemonteix B, Burrus B, Demczuk S, Dinarello CA. Human recombinant interleukin 1 stimulates collagenase and prostaglandin E2 production by human synovial cells. *J. Clin. Invest.* 1986 Feb ; 77(2) : 645 - 648.
 63. Kahan A, Perlik F, Delbano F, Giroud JP. Adjuvant-induced arthritis in four inbred strains of ra, An in vitro study of peripheral T and B lymphocytes. *Agents Actions*. 1976 ; 6 : 219.
 64. Chang YH. Adjuvant polyarthritis : Incorporation of quantitative measures of humoral and cellular immune response. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1977 ; 201(1) : 1-7.
 65. 山坂英一, 山口武, 飯塚義夫, 鴨志田勝男, 小島高義, 小林和. 抗炎症劑 Sodium 2-[4-(2-pspcyclopetan-1-ym-ethyl)phenyl] propionate Dihydrate (CS-600)의 抗炎症, 鎮痛과 解熱作用, 應用藥理. 1981 ; 21 : 753.
 66. Rosevthale ME. A Comparative Study of the Lewis and Sprague Dawley Rat in Adjuvant Arthritis. *Arch. int. Pharmacodyn.* 1970 ; 188 : 14-22.
 67. Tanahashi M, Funaba Y, Ito M, Kaqae N, Nakadata, Matsushita T. Inhibitory effects of TRK-530 on rat adjuvant arthritis. *Pharmacology*. 1988 ; 56(5) : 242-51.
 68. Avramidis N, Kourraunakis A, Hadjipetrou L, Senchuk V. Anti-inflammatory and immunomodulating properties of grape melanin Inhibitory effects on paw edema and adjuvant induced disease. *Arzneimittelforschung*. 1998 ; 48(7) : 764-71.
 69. 김지영, 고흥균, 김용섭, 박영배, 김창환, 강성길. 봉독약침요법이 항염증작용에 관한 실험적 연구. 서울 : 대한침구학회지. 1998 ; 15(1) : 317-31.
 70. 박성환. 류마티스關節炎의 약물치료. 서울 : 대한의사협회지. 1996 ; 39(10) : 1272-6.
 71. 김성윤. 류마티스關節炎의 내과적 치료. 서울 : 大韓醫學協會誌. 1992 ; 35(10) : 1223-9.
 72. 김재생 외. 류머티스양 關節炎患者에서 Recombinant interferon γ 의 임상응용. 서울 : 大韓醫學協會誌. 1989 ; 32(12) : 1331-5.
 73. Horton JK, Williams AS, Smith-Phillips Z, et al. Intracellular measurement of prostaglandin E2 : effect of anti-inflammatory drugs on cyclooxygenase activity and prostanoid expression. *Anal. Biochem.* 1999 ; 271 : 18 - 28.
 74. Angel T, Josep Q. Selective cyclooxygenase-2 inhibitors reduce anti-Mycobacterium antibodies in adjuvant arthritic rats. *Immunopharmacology*. 2000 ; 46 : 71-7.
 75. Anderson GD, Hauser SD, McGarity KL, et al. Selective inhibition of cyclooxygenase (COX)-2 reverses inflammation and expression of COX-2 and interleukin 6 in rat adjuvant arthritis. *J. Clin. Invest.* 1996 ; 97 : 2672-9.
 76. Portanova JP, Zhang Y, Anderson GD, et al. Selective neutralization of prostaglandin E2 blocks inflammation, hyperalgesia, and interleukin 6 production in vivo. *J. Exp. Med.* 1996 ; 184 : 883-91.
 77. 김형룡, 강장숙. Cyclic AMP analog와 PGE2가 마우스 조골세포의 활성화에 미치는 영향. *The Journal of Wonkwang Biomaterial Implant Research Institute*. 1996 ; 5(2) : 63-76.

78. Giatgen A. The Dual Role of nitric oxide in Islet β -cell. *New Physiol. Sc.* 1999 ; 14 : 49-53.
79. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide : physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rep.* 1991 ; 43 : 109-42.
80. 金貞娟, 宋勇善. 虎杖根에 의한 NO 生成抑制가 Adjuvant로 誘發된 關節炎에 미치는 影響. 韓方再活醫學會誌. 1997 ; 7(1) : 46-63.
81. Koh JY, Choi DW. Vulnerability of cultured cortical neurons to damage by endotoxins, Differential susceptibility of Neurons containing NADPH-diaphorase. *J. Neurosci.* 1993 ; 8 : 2153-63.
82. Bredt DS, Glatt CE, Hwang PM, Fotuhi M, Dawson TM, Snyder SH. Nitric oxide synthase protein and mRNA are discretely localized in neuronal populations of the mammalian CNS together with NADPH diaphorase. *Neuron.* 1991 ; 7 : 615-24.
83. Lamas S, Marsden PA, Li GK, Tempst P, Michel T. Endothelial nitric oxide synthase : molecular cloning and characterization of a distinct constitutive enzyme isoform. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1996 ; 93(22) : 12478 - 83.
84. Xie QW, Cho HJ, Calaycay J, Mumford RA, Swiderek KM, Lee TD, Ding A, Troso T, Nathan C. Cloning and characterization of inducible nitric oxide synthase from mouse macrophages. *Science.* 1992 ; 256 : 255 - 8.
85. Morris BJ, Simpson CS, Mundell S, Maceachern K, Johnston HM, Nolan AM. Dynamic changes in NADPH-diaphorase staining reflect activity of nitric oxide synthase : evidence for a dopaminergic regulation of striatal nitric oxide release. *Neuropharmacology.* 1997 ; 36 : 1589-99.
86. 이정현, 김이화, 이은용. 이침자극이 절식 Stress 로 인한 흰쥐의 대뇌피질 NADPH-diaphorase 신경세포에 미치는 영향. *대한침구학회지.* 2001 ; 18(2) : 79-90.