

# 침진통 효과에서 스트레스에 의한 진통 효과 개입 여부 평가

- 침굵기, 침자극 부위를 중심으로 -

정병주<sup>1</sup> · 최일환<sup>2</sup> · 신희섭<sup>2</sup> · 임사비나<sup>1</sup>

<sup>1</sup>경희대학교 한의학과 경혈학교실, <sup>2</sup>한국과학기술연구원

## Evaluation of stress-induced analgesia in acupuncture analgesic effect

- An Approach on diameters of acupuncture needles and acupuncture point needlings -

Byeong-ju Jeong<sup>1</sup>, Il-hwan Choe<sup>2</sup>, Hee-Sup Shin<sup>2</sup>, Sabina Lim<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Meridianology, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University

<sup>2</sup>Korea Institute of Science and Technology

### Abstract

**Objective** : In recent years, many investigators have questioned whether the analgesic effect of acupuncture is simply related to the stress-induced analgesia (SIA). However, there has been lack of studies on this issue. In this study, the stress levels induced by manual acuapunctures are compared with the stress in animal experiment models. The experiments have been carried out with Sprague Dawley (SD) rats.

**Method** : For stress level evaluation, Hot plate test has been used. Maximum Possible Effect (MPE) has been measured by checking the pre-test time and post-test time. Cortisol and corticosterone concentrations in serum were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

**Results** : In the hot plate test, MPE values of post-test time were significantly decreased after 10 minutes than after 5 minutes. Therefore, optimal time interval was chosen as 10 minutes.

There was significant difference of MPE values between Suspension group and all other treatment groups. However, there were no significant differences of MPE values between Sham group and all other treatment groups. However, MPE values showed tendency to decrease when acupuncture needle diameter increased.

MPE values of ST040, ST040(lido), NAP040(lido) groups were markedly decreased than that of Suspension group, while that of NAP040 group was substantially increased than that of Sham group increased in acupoint and nonacupoint models.

Serum cortisol concentrations of treatment groups were not significantly different from that of Suspension and Sham groups. Serum corticosterone concentration of 0.25 mm group was substantially increased than that of compared with Sham group.

Serum cortisol and corticosterone concentrations of treatment groups were not significantly different from those of Suspension and Sham groups in acupoint and nonacupoint models.

**Conclusion** : From hot plate test and serum stress hormones concentrations, it is found that manual acupuncture treatment induces negligible stress or SIA on ST36. And the stress induced by manual acupuncture is more closely related to acupuncture point needlings than diameters of acupuncture needles.

**Key words** : manual acupuncture, stress, hot plate test, maximum possible effect, cortisol, corticosterone

## I. 서 론

침자극의 동물실험 연구에서 일정한 진폭 (Pulse width), 강도 (intensity), 빈도 (frequency)의 조절이 가능하고 특정한 경혈에 일정한 자극을 줄 수 있는 전침이 선호되어 왔다. 그러나, Carlsson<sup>1)</sup> 등에 의해 전침의 전기 자극이 동물모델에 유발된 통증보다 더 강한 통증을 유발할 수 있고, 이러한 전기 자극이 스트레스로 작용하여 스트레스로 유발되는 진통 (Stress Induced Analgesia, SIA)을 유도할 수 있다고 주장하였으며, 또한 스트레스<sup>2)</sup>, 과도한 운동<sup>3)</sup> 및 통증 자체<sup>4)</sup>가 endogenous opioid system을 활성화시켜 통증을 억제시킨다고 보고되어 이러한 주장에 타당성을 제공하고 있다.

동물실험에 전침이 사용되는 반면, 현재 임상에서 주로 활용되는 것은 전침이 아닌 전통적인 수기 (手技)를 이용한 비전기적인 침자극이다. 2002년 WHO의 임상시험보고서에서 1999년까지 시행되어 온 적정기준에 합당한 침의 임상시험을 정리하였는데 총 267개 논문 중 수기침 174례 (65.17%), 전침 33례 (12.36%), 수기침과 전침 병용 8례 (3.00%), 그리고 기타 52례 (19.47%)였다<sup>5)</sup>. 그러므로 동물실험에서도 수기침을 이용한 연구의 중요성이 크다고 하겠다.

저자들은 임상적으로 통증에 대한 주된 치료 수단인 수기침에 대해서도 통증억제효

과가 SIA일 수 있다는 주장의 가능성을 검증할 필요가 있다고 인식하여, 침굵기 및 침자극 부위를 달리한 수기침이 생리적 상태의 동물에게 유발할 수 있는 스트레스 정도를 스트레스 유발 동물모델과 비교하여 침진통 효과에서 스트레스에 의한 진통 효과가 개입하는지 그 여부를 평가하기 위하여 행동실험과 혈청 cortisol과 corticosterone을 분석하였다.

## II. 대상 및 방법

### 1. 대상

#### 1) 실험동물 (Experimental animals)

Sprague Dawley계 흰쥐 (Orient, Korea)로 체중 200-220g, 수컷을 사용하였다. 실험동물은 외부와 격리된 22±2°C의 온도와 50-60%의 습도, 자연주기의 12L:12D의 조명의 동물사육실에서 사료 (카길애그리퓨리나, Korea)와 물을 자유로이 공급하여 사육하였다.

실험 5일전부터 각 개체 당 약 10분간 반복적으로 실험자의 손으로 길들이기를 실시하였다.

### 2. 방법

#### 1) 침의 굵기와 혈위 선정

침은 지름 0.17, 0.25, 0.40 mm의 stainless steel 재질의 침 (행림서원의료기, Korea)을 사용하였다.

· 교신저자: 임사비나, 서울시 동대문구 회기동 1번지 경희대학교 한의과대학 경혈학교실 Tel. 02-961-0324, Fax. 02-961-7831, E-mail : lims@khu.ac.kr

· 이 논문은 2005년 정부(교육인적자원부)의 재원으로 한국학술진흥재단과 경희대학교의 지원을 받아 수행된 연구임 (KRF-2005-005-J00701)

· 투고 : 2008/08/01 심사 : 2008/09/11 채택 : 2008/09/18

사용경혈은 전침의 동물실험<sup>6-8)</sup>과 임상시험<sup>9,10)</sup>뿐만 아니라 수기침의 동물실험<sup>11-13)</sup>과 임상시험<sup>14,15)</sup>에서 진통을 목적으로 폭넓게 사용되는 족삼리 (足三里)를 선택하였다. 흰쥐의 족삼리는 대한표준경락경혈서 (Korean Standard for Meridian and Acupoint 2004)의 인체 족삼리 위치에 근거하여 이에 상응되는 혈위를 취하였다.

비경혈 부위는 흰쥐의 체간과 연결되는 꼬리 근위부위와 우측골반 사이로 선택하였다.

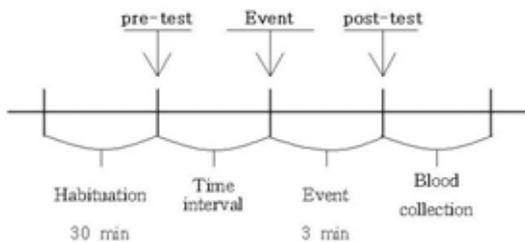
## 2) Hot plate test

Hot plate를 53±0.5℃로 유지하고, 흰쥐를 Hot plate위에 올려놓은 후부터 발바닥이나 꼬리를 떼는 withdrawal reaction을 나타낼 때까지의 시간을 측정하였다. Cut-off time은 흰쥐 발바닥의 조직손상을 방지하기위해 60초로 설정하였다.

진통의 효과를 측정하는데 사용되는 Maximum Possible Effect (MPE)의 공식은 다음과 같다.

$$MPE (\%) = \frac{(\text{post-test time}) - (\text{pre-test time})}{(\text{cut off time}) - (\text{pre-test time})} \times 100$$

Fig. 1. Protocol of hot plate test



Hot plate test의 MPE 측정하기 위하여 흰쥐를 30분 동안 적응용 원통에 적응시킨 후 pre-test time을 측정하고 다시 적응용 원통에 넣는다. 일정시간간격 후 event를 3분간 시행하고 다시 post-test time을 측정한 후 혈액을 채취한다.

(1) Maximum Possible Effect (MPE) 측정을 위한 Hot plate post-test의 시간간격 설정 실험 pre-test time 측정 후 5, 10, 15, 20, 50분의 시간간격을 둔 후 post-time을 측정한다. Cut off time은 hot plate test에서 열로 인한 흰쥐의 발바닥 조직손상을 방지하기위하여 60초로 설정하였다.

## 3) 대조군 및 실험군 분류

Suspension군의 MPE 측정하기 위하여 Fig. 1의 protocol에서 event로 Tail suspension test를 실시하였다.

경도 스트레스 지표를 선정하기 위한 양성대조군인 Suspension군, 자침시의 스트레스 지표를 얻기 위한 음성대조군인 Sham군 그리고 Sham군에 유발되는 고정스트레스를 측정하기위한 음성대조군 Nonstressed군을 대조군으로 하였다.

침의 굵기에 대한 스트레스정도를 파악하기위하여 족삼리 (足三里)에 자침한 ST017군, ST025군, ST040군으로 실험군을 분류하였다.

경혈 및 비경혈 부위에 침시술로 발생하는 스트레스정도를 측정하기위하여 비경혈 자침군인 NAP040군과 국소마취에 대한 침의 스트레스 유발 정도를 파악하기 위해 각

각 족삼리와 비경혈점에 9.6% 리도카인을 도포한 ST040(lido)군, NAP040(lido)군을 추가하였다.

#### (1) 수기침의 침깊기에 따른 MPE 측정

Protocol의 event로 흰쥐를 손으로 고정한 후 오른쪽 뒷다리 족삼리 (足三里)에 0.17, 0.25, 0.40 mm의 침을 5 mm 깊이로 자침하고 초당 2회, 약 90° 각도의 좌우로 염전하는 평보평사를 3분간 시행한다.

#### (2) 경혈, 비경혈의 침자극 부위에 따른 MPE 측정

Protocol의 event로 자침부위에 따라 경혈점인 족삼리에 자침한 ST040군과 족삼리에 리도카인 (lidocaine)을 도포한 ST040(lido)군 그리고 비경혈점에 자침한 NAP040군, 비경혈점에 리도카인을 도포한 NAP040(lido)군으로 설정하였다.

#### 4) 혈청채취

각 event를 거쳐 post-test time의 측정을 끝낸 흰쥐에게서 혈청을 채취하여 스트레스 호르몬인 cortisol과 corticosterone에 대한 Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)를 시행하였다.

#### 5) 통계

모든 자료는 Mean±Standard error mean (S.E.M.)로 나타내었으며 실험결과는 SigmaStat for Windows Version 3.10을 이용하여 통계처리 하였고, SigmaPlot 2004

for Windows Version 9.0으로 그래프를 작성하였다.

행동실험에서 Student t-test, Mann-Whitney Rank Sum Test, one way Analysis of Variance (ANOVA), Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks를 하였으며 Tukey test로 사후검정 하였다. 혈액검사에서 one way ANOVA 하였으며 Tukey test를 사후검정 하였다. 유의수준은 0.05이하로 검정하였다.

### III. 결 과

#### 1. Post-test의 시간간격 설정을 위한 MPE

5분후측정군, 10분후측정군, 15분후측정군, 20분후측정군 및 50분후측정군의 MPE는 각각 2.64±0.44%, -0.77±0.87%, -0.81±1.39%, -1.00±1.14% 및 -0.77±1.34%로 10분군후측정군부터 MPE가 마이너스를 나타내었다. 플러스 값을 나타낸 5분후측정군을 기준으로 유의한 차이를 나타내는 시점을 찾는 것이므로 5분후측정군과 마이너스 값을 나타낸 군들을 각각 Student t-test로 비교하였다. 통계처리결과 5분후측정군은 10분후측정군, 20분후측정군과 유의한 차이를 나타내었다. 15분후측정군은 Equal Variance Test를 통과하지 못했기 때문에 Mann-Whitney Rank Sum test를 실시하여 5분후측정군과 15분후측정군 사이에 유의한 차이가 나타났다. ( $p < 0.05$ ) 따라서 pre-test와 post-test 사이의 시간 간격은 10분으로 설정하고 각 even

t는 3분간 시행하였다.

**Table 1. MPE of post-test time interval groups**

Group	Cases(n)	Test Time (sec)		MPE (%)
		pre-test	post-test	
5 min after	6	6.24±0.39	7.67±0.30	2.64±0.44
10 min after	8	7.04±0.48	6.66±0.37	-0.77±0.87*
15 min after	7	7.43±0.69	7.05±0.37	-0.81±1.39†
20 min after	8	6.44±0.39	5.93±0.46	-1.00±1.14*
50 min after	7	6.22±0.78	5.84±0.47	-0.77±1.34

Values are mean±S.E.M.

5 min after: Post-test was performed at 5 min after pre-test

10 min after: Post-test was performed at 10 min after pre-test

15 min after: Post-test was performed at 15 min after pre-test

20 min after: Post-test was performed at 20 min after pre-test

50 min after: Post-test was performed at 50 min after pre-test

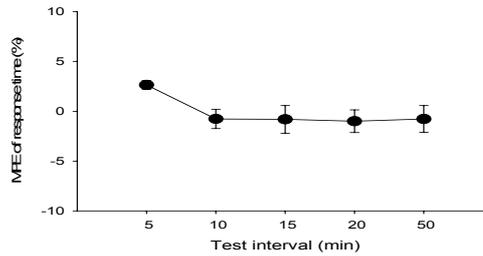
pre-test: Pre-test was used for checking reaction time. Rats were habituated for 30 min in habituation cylinder, and were experimented in the pre-test.

post-test: Post-test was used for checking reaction time after the stressful events.

MPE (%): [(post-test time — pre-test time)/(cut off time — pre-test time)] × 100

\*  $p < 0.05$  Statistically significant value compare with 5 min group (Student t-test)

†  $p < 0.05$  Statistically substantial value compare with 5 min group (Mann-Whitney Rank Sum test)

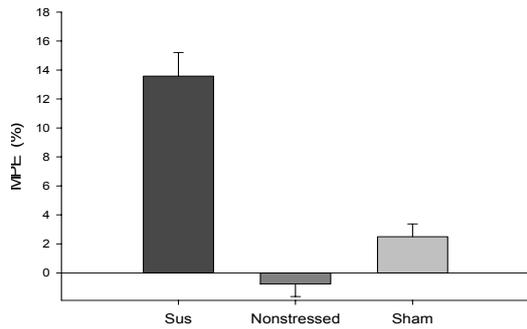


**Fig. 2. MPE of post-test time interval groups**

As a result of hot plate test which has different time interval, significant difference had been shown after 10 minutes showing minus value as comparison with 5 minutes. The MPE of the 10, 15 and 20 min after groups were substantially decreased as compared with that of 5 min after group. (\* t-test, 5 min after vs. 10 min after  $P=0.014$ ; 5 min after vs. 20 min after  $p < 0.05$ ; † Mann-Whitney Rank Sum test, 5 min after vs. 15 min after  $p < 0.05$ ; In addition, 5 min after vs. 50 min after  $P=0.051$ )

## 2. 대조군간 MPE 비교

Event로서 Tail-suspension test, Nonstressed, Sham을 시행한 군들의 MPE는 각각  $13.58 \pm 1.63\%$ ,  $-0.77 \pm 0.87\%$ ,  $2.50 \pm 0.88\%$ 이었다. One way ANOVA시행 결과 F값은 40.498, 분자의 자유도는 3, 분모의 자유도는 34, 그리고 F 분포표상에서  $p$ 값은 0.001 미만이었다. Tukey test로 사후검정을 해보면 Suspension군의 MPE는 모든 군과 유의한 차이가 있었으며, Nonstressed군과 Sham군 간에는 유의한 차이가 나타나지 않았다.



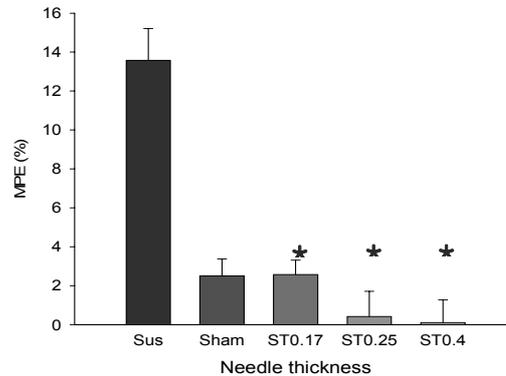
**Fig. 3. MPE of control groups**

Suspension: tail suspension test for 3 min

Nonstressed: not stressful stimulus

Sham: immobilized by hands for 3 min.

Suspension groups was significantly different from other groups. (one way ANOVA followed by Tukey test,  $p < 0.05$ ) There was no difference between Sham and Nonstressed group. ( $p > 0.05$ )



**Fig. 4. MPE of acupuncture needle groups with different diameters**

Suspension: Tail suspension test for 3 min

Sham: Immobilized by hands for 3 min

ST017: Manual acupuncture treated with 0.17 mm acupuncture needle diameter, depth of 5 mm on 足三里

ST025: Manual acupuncture treated with 0.25 mm acupuncture needle diameter, depth of 5 mm on 足三里

ST040: Manual acupuncture treated with 0.40 mm acupuncture needle diameter and depth of 5 mm on 足三里

With treatment groups, acupuncture needles were inserted to a depth of 5 mm on 足三里 for 3 minutes. Acupuncture needles' diameters were 0.17, 0.25 and 0.40 mm. Non-treatment groups were different from Sham group. (one way ANOVA,  $p > 0.05$ ) But it showed the tendency that MPE is decreased for the acupuncture needle diameter.

\*Statistically significant value compare with Suspension group (one way ANOVA followed by Tukey test)

### 3. 침굵기에 따른 수기침의 MPE

Suspension군과 손으로 고정한 Sham군, 그리고 족삼리 부위에 자침 깊이는 5 mm로 동일하게하고 침의 굵기를 각각 0.17, 0.25, 0.40 mm로 달리한 실험군들 사이의 MPE를 비교하였다. Suspension군, Sham군, ST017군, ST025군, ST040군의 MPE는 각각  $13.58 \pm 1.63\%$ ,  $2.50 \pm 0.88\%$ ,  $2.57 \pm 0.73\%$ ,  $0.41 \pm 1.30\%$ ,  $0.11 \pm 1.16\%$ 이었다. One way ANOVA시행결과 F값은 22.294, 분자의 자유도는 4, 분모의 자유도는 49, 그리고 F 분포표상에서 p값은 0.001 미만이 되었다.

Tukey test로 사후검정을 해보면 Suspension군은 실험군들과 유의한 차이를 나타내었다. ( $p < 0.05$ ) Sham군과 실험군간 MPE는 통계학적으로 유의하게 차이가 있는 않으나, ( $p > 0.05$ ) ST017군은 Sham군에 비해 2.8% 증가한 MPE를 나타내었으며, 침의 굵기가 굵어질수록 MPE는 감소하였다. Sham군과 비교하여 ST025군, ST040군은

각각 83.6%, 95.6% 감소는 경향성을 나타내었다. ST040군의 MPE가 가장 낮은 수치를 나타내었고, 일반적으로 침깊기가 깊을수록 더많은 통증과 스트레스를 유발한다고 생각할 수 있으므로 수기침에 사용되는 침 깊기를 0.40 mm로 설정하였다.

#### 4. 경혈, 비경혈의 침자극 부위에 따른 MPE

Suspension군, Sham군, ST040군, NAP040군, ST040(lido)군, NAP040(lido)군의 MPE는 각각 13.58±1.63%, 2.50±0.88%, 0.11 ±1.16%, 8.83±2.50%, 3.05±1.13%, 3.07 ±1.16%이었다. One way ANOVA시행결과 F값은 13.661, 분자의 자유도는 5, 분모의 자유도는 54, 그리고 F 분포표상에서 p값은 0.001 미만이 되었다. Tukey test로 사후검정을 해보면 Suspension군은 ST040군, ST040(lido)군, NAP040(lido)군과 유의한 차이가 있었고, ( $p<0.05$ ) Sham군과 비교하여 NAP040군은 유의하게 상승하였다. ( $p<0.05$ ) Sham군과 비교하여 ST040(lido)군, NAP040(lido)군은 22%, 22.8% 증가하는 경향이 나타났다.

Table 2. MPE of acupoint and nonacupoint groups

Group	Cases (n)	Test Time (sec)		MPE (%)	Tukey test
		pre-test	post-test		
Suspension	10	7.31±0.50	14.41±1.15	13.58±1.63	a
Sham	14	6.84±0.67	8.17±0.78	2.50±0.88	c
ST040	10	6.69±0.71	6.79±0.61	0.11±1.16*	c
NAP040	7	7.03±0.55	11.71±1.42	8.83±2.50†	ab
ST040(lido)	7	5.60±0.31	7.24±0.86	3.05±1.13*	bc
NAP040(lido)	7	6.25±0.64	7.90±0.88	3.07±1.16*	bc

With all groups, acupuncture needle were inserted for 3 minutes.

Suspension: tail suspension test

Sham: Immobilized Treatment group by hands

ST040: Manual acupuncture treated with 0.40 mm acupuncture needle diameter and depth of 5 mm on 足三里.

NAP040: Manual acupuncture treated with 0.40 mm acupuncture needle diameter and depth of 5 mm on nonacupoint.

ST040(lido): Manual acupuncture treated with 0.40 mm acupuncture needle diameter and depth of 5 mm on 足三里 that was applied lidocaine.

NAP040(lido): Manual acupuncture treated with 0.40 mm acupuncture needle diameter and depth of 5 mm on nonacupoint that was applied lidocaine.

With ST040 group and NAP040 group, acupuncture needles were inserted on 足三里 and nonacupoint. With ST040(lido) group and NAP040(lido) group, lidocaine were applied on 足三里 and nonacupoint 30 minutes before needle was inserted.

\* $p<0.05$  Statistically significant value compare with Suspension group (one way ANOVA followed by Tukey test)

†  $p<0.05$  Statistically substantial value compare with Sham group (one way ANOVA followed by Tukey test)

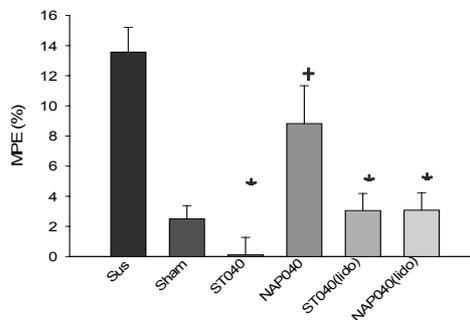


Fig. 5. MPE of acupoint and nonacupoint groups

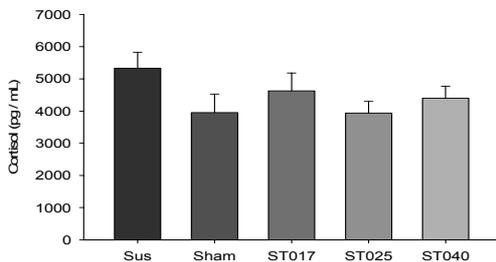
With ST040 group and NAP040 group, acupuncture needles were inserted on 足三里 and nonacupoint. With ST040(lido) group and NAP040(lido) group, lidocaine were applied on 足三里 and nonacupoint 30 minutes before needle was inserted.

\*Significantly different from Suspension group (one way ANOVA followed by Tukey test,  $p<0.05$ )

† substantially different from Sham group ( $p<0.05$ )

### 5. 침굵기에 따른 수기침의 혈청 Cortisol

침굵기에 따른 실험군의 혈청 cortisol 분석에서 Suspension군, Sham군, ST017군, ST025군, ST040군의 혈청 cortisol 농도는 각각  $5329.87 \pm 497.04$  pg/mL,  $3954.42 \pm 575.43$  pg/mL,  $4629.33 \pm 556.20$  pg/mL,  $3939.73 \pm 363.32$  pg/mL,  $4399.49 \pm 372.97$  pg/mL이었다. One way ANOVA시행결과 F값은 1.496, 분자의 자유도는 4, 분모의 자유도는 29, 그리고 F 분포표상에서 p값은 0.25와 0.10사이의 0.234이었다. 따라서 Suspension군, Sham군은 모든 실험군과 유의한 차이가 없었다. ( $p > 0.05$ ) 실험군 간의 유의한 차이도 인정되지 않았다. 혈청 cortisol의 농도는 Sham군에 비해 ST017군, ST025군, ST040군은 각각 17.07%, 0.37%, 11.26% 증가하는 경향 나타냈으나 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았다.



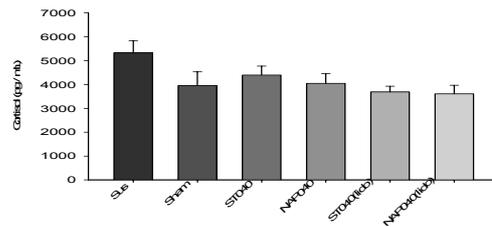
**Fig. 6. Serum cortisol concentrations of different acupuncture needle groups with different diameters**

With treatment groups, acupuncture needles were inserted to a depth of 5 mm on 足三里 for 3 minutes. Acupuncture needles' diameters were 0.17, 0.25 and 0.40 mm.

Serum cortisol concentrations of treatment groups were not significantly different in comparison with Suspension and Sham groups. (one way ANOVA,  $p > 0.05$ )

### 6. 경혈, 비경혈의 침자극 부위에 따른 혈청 Cortisol

경혈, 비경혈의 침자극 부위에 따른 실험군의 혈청 cortisol 분석에서 Suspension군, Sham군, ST040군, NAP040군, ST040(lido)군, NAP040(lido)군의 혈청 cortisol 농도는 각각  $5329.87 \pm 497.04$  pg/mL,  $3954.42 \pm 575.43$  pg/mL,  $4399.49 \pm 372.97$  pg/mL,  $4050.07 \pm 399.33$  pg/mL,  $3687.38 \pm 238.85$  pg/mL,  $3606.92 \pm 359.19$  pg/mL이었다. One way ANOVA시행결과 F값은 2.366, 분자의 자유도는 5, 분모의 자유도는 35, 그리고 F 분포표상에서 p값은 0.10과 0.05사이의 0.064이



**Fig. 7. Serum cortisol concentrations of acupoint and nonacupoint groups**

With ST040 group and NAP040 group, acupuncture needles were inserted on 足三里 and nonacupoint. With ST040(lido) group and NAP040(lido) group, lidocaine were applied on 足三里 and nonacupoint 30 minutes before needle was inserted. After hot plate test, Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was performed for measuring serum cortisol of treatment groups. Serum cortisol concentrations of treatment groups were not significantly different in comparison with Suspension and Sham groups. (one way ANOVA,  $p > 0.05$ )

었다. 따라서 Suspension군, Sham군은 모든 실험군과 유의한 차이가 없었다. ( $p > 0.05$ ) 실험군 간의 유의한 차이도 인정되지 않았다. Sham군과 비교하여 ST040(lido)군,

NAP040(lido)군은 각각 6.75%, 8.79% 감소하는 경향을, ST040군, NAP040군은 11.26%, 2.42% 증가하는 경향을 보였다.

## 7. 침습기에 따른 수기침의 혈청 Corticosterone

침습기에 따른 실험군의 혈청 corticosterone 분석에서 Suspension군, Sham군, ST017군, ST025군, ST040군의 혈청 cortisol 농도는 각각 7341.72±710.64 pg/mL, 7687.20±259.11 pg/mL, 6119.72±486.52

pg/mL, 5395.83±378.36 pg/mL, 6031.12±803.77 pg/mL이었다. One way ANOVA시 행결과 F값은 3.296, 분자의 자유도는 4, 분모의 자유도는 30, 그리고 F 분포표상에서 p값은 0.025와 0.01사이의 0.026이었다. 따라서 Suspension군은 모든 실험군과 유의한 차이가 없었고, ( $p>0.05$ ) Sham군에 비해 ST025군에서 유의한 감소를 나타내었으며 ( $p<0.05$ ) 실험군 간의 유의한 차이는 인정되지 않았다. Sham군과 비교하여 ST017군, ST040군은 각각 20.39%, 21.54% 감소하는 경향이 나타났다.

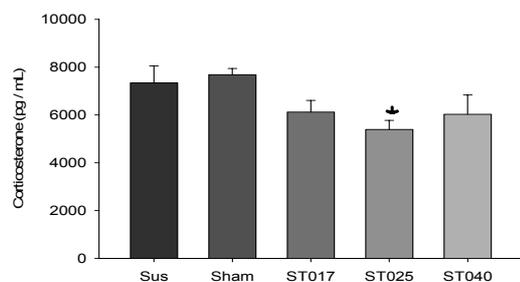
**Table 3. Serum corticosterone concentrations of different acupuncture needle groups with different diameters**

Group	Cases (n)	Corticosterone (pg/mL)	Tukey test
Suspension	6	7341.72±710.64	ab
Sham	6	7687.20±259.11	a
ST017	7	6119.72±486.52	ab
ST025	7	5395.83±378.36*	b
ST040	5	6031.12±803.77	ab

With treatment groups, acupuncture needles were inserted to a depth of 5 mm on 足三里 for 3 minutes. Acupuncture needles' diameters were 0.17, 0.25 and 0.40 mm.

After hot plate test, Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was performed for measuring serum corticosterone of treatment groups.

\*  $p < 0.05$ , Statistically significant value compare with Sham group (one way ANOVA followed by Tukey test)



**Fig. 8. Serum corticosterone concentrations of different acupuncture needle groups with different diameters**

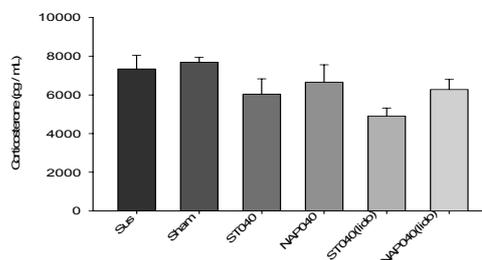
With treatment groups, acupuncture needles were inserted to a depth of 5 mm on 足三里 for 3 minutes. Acupuncture needles' diameters were 0.17, 0.25 and 0.40 mm. After hot plate test, Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was performed for measuring serum corticosterone concentration of treatment groups.

\* Significantly different from Sham group (one way ANOVA followed by Tukey test,  $p < 0.05$ )

### 8. 경혈, 비경혈의 침자극 부위에 따른 혈청 Corticosterone

경혈, 비경혈의 침자극 부위에 따른 실험

군의 혈청 corticosterone 분석에서 Suspension군, Sham군, ST040군, NAP040군, ST040(lido)군, NAP040(lido)군의 혈청 corticosterone 농도는 각각 7341.72±710.64 pg/mL, 7687.20±259.11 pg/mL, 6031.11±803.77 pg/mL, 6660.54±896.89 pg/mL, 4905.01±419.07 pg/mL, 6278.20±523.23 pg/mL이었다. One way ANOVA 시행결과 Equal Variance Test를 통과하지 못하여 Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks를 시행하였다.  $p$ 값은 0.054이었다. Suspension군, Sham군은 모든 실험군과 유의한 차이가 없었다. ( $p > 0.05$ ) 실험군 간의 유의한 차이도 인정되지 않았다. ( $p > 0.05$ ) Sham군과 비교하여 ST040군, NAP040군, ST040(lido)군, NAP040(lido)군은 각각 21.54%, 13.36%, 36.19%, 18.33%의 감소하는 경향이 나타났다.



**Fig. 9. Serum corticosterone concentrations of acupoint and nonacupoint groups**

The experiment has been performed in various acupoint and whether local analgesia is done or not. After hot plate test, the blood is extracted, and serum corticosterone concentration is measured. Serum corticosterone concentrations of treatment groups were not significantly different in comparison with Suspension and Sham groups. (one way ANOVA,  $p > 0.05$ )

#### IV. 고 찰

저자는 그동안 의문은 제기되었으나 실제 연구되어 지지 않은 수기침이 유발하는 스트레스정도를 파악함으로써 수기침 효과에 있어서 SIA를 배제가능한지를 알아보기 위하여 본 연구를 진행하였다.

Hot plate test는 1950년대<sup>16)</sup> 이후 통증실험모델에서 약물이나 특정 행위에 대한 진통 효과 정도를 실험하는 대표적인 행동실험방법의 하나이다. 본 실험에서는 hot plate test 중 일정온도를 유지하는 방법인 constant-temperature hot plate test를 사용하였다. 반응의 지표는 뒷다리를 핥거나 바닥에서 떼는 동작이다<sup>17)</sup>. Cut-off time은 흰쥐 발바닥의 조직손상을 방지하기 위해 60초로 설정하였다. hot plate의 온도는 50℃와 55℃가 많이 사용되어 이들의 중간값인 53±0.5℃로 설정하였다. 실험기기 내부의 환경에 대한 부적응의 변수를 없애기 위해 실험기기 내부와 동일한 적응용 원통 내에서 30분간 habituation을 시켰다.

Maximum Possible Effect (MPE)란 통증 실험모델에서 주로 진통효과 정도를 알아보는 데 사용되는 방식이다. Constant-temperature hot plate test의 경우 test를 반복하거나 열자극이 없는 실험기기 내부에 적응될수록 post-test의 반응시간은 단축되어<sup>18,19)</sup> pre-test와 post-test사이에 자극이 가해지지 않는다면 마이너스의 MPE값을 갖는다. 마이너스의 MPE는 pre-test로 인한 스트레스의 영향이 제거되는 것을 의미한다.

침 동물실험에서 SIA를 유발하도록 급성 스트레스를 주는 방법들 중 본 연구에서는

간편하고 효과적으로 스트레스유발 가능한 Tail suspension test를 사용하였다. Tail Suspension test는 1985년 Steru L.<sup>20)</sup> 등이 생쥐에 대해 tail suspension test를 제안한 이후 가장 널리 쓰이는 항우울 평가방법으로 forced swimming test와 같이 설치류를 탈출 불가능한 환경 속에 넣어 스트레스를 유발하는 방법이다<sup>21)</sup>. 이것으로 통제와 탈출이 불가능한 stressor로 부동상태를 이끌어 내고, 이 과정에서 유발되는 tail suspension induced hyperthermia (TSIH)를 새로운 스트레스 반응 측정 지표로 사용할 수 있다<sup>22)</sup>고 하였다.

본 실험에서 사용할 pre-test와 post-test 사이의 시간간격을 설정하기 위하여 MPE가 초기시간과 유의하게 차이나는 마이너스 값을 나타내는 시점을 찾았다. 실험결과 pre-test와 post-test 사이의 시간간격은 10분부터 마이너스 값을 나타내며 초기시간인 5분과 유의하게 차이가 나고, 이후 일정하게 유지되어 10분을 시간간격으로 결정하였다.

이전 연구에서 스트레스의 정도에 대한 MPE의 수치를 규정해 놓은 내용을 찾을 수 없었다. 그래서 행동실험 대조군의 MPE수치를 근거로 스트레스정도를 파악하고자 하였다. De Kock<sup>23)</sup>의 tail withdrawal reaction test에서 대조군의 MPE는 스트레스를 주지 않은 군에 saline을 주입하면 MPE는 4.77±1.73%, 주입 전에 못움직이게 하면 16.67±3.60%, 못움직이게 하고 고정하면 35.64±7.13%로 증가하였다. Pitcher<sup>24)</sup>의 유해자극에 대한 tail-flick test에서 흰쥐가 유해자극반응을 보이지 않은 40℃ 열자극의

MPE는 0~10%사이의 값을 갖는다. 반면 Mogil<sup>25)</sup>은 beta-endorphin이 결핍된 돌연변이 생쥐에 morphine을 투여한 결과 용량에 따라 MPE수치가 100%에 가깝게 올라갔다. 즉, 스트레스자극에 대해 MPE가 100%에 가까울수록 重度의 자극이고, 대조군의 수치인 -5~10%에 가까울수록 輕度の 자극이라 볼 수 있다. 그래서 실험결과 MPE수치가  $13.58 \pm 1.63\%$ 인 Tail suspension test는 경도의 스트레스를 유발한다고 볼 수 있다.

Suspension군과 손으로 고정한 Sham군의 MPE를 비교한 결과 Suspension군은 Non-stressed군, Sham군과 유의한 차이를 나타내었고, 이는 Suspension군에 Sham군과는 구별될 정도의 스트레스가 유발되어 양성대조군으로 사용가능하다는 의미이다. Sham군이 Nonstressed군과 유의한 차이를 나타내지 않은 것은 손으로 고정하는 것이 구속이 없는 상태에 비해 유의할 정도로 스트레스를 유발하지 않으므로 Sham군을 음성대조군으로 사용가능하다는 의미이다.

침의 굵기에 따른 스트레스정도를 보기 위해 침굵기 0.17, 0.25, 0.40 mm인 실험군의 MPE를 관찰하였다. 실험결과 Suspension군의 MPE는 모든 실험군들의 MPE와 유의한 차이를 나타내었다. 이것은 모든 수기침군들이 경도의 스트레스보다도 적은 스트레스를 유발함을 의미한다. 반면 Sham군의 MPE는 모든 실험군들의 MPE와 유의한 차이를 나타내지 않았다. 이것은 침의 굵기에 따른 수기침 행위가 유의할 정도의 스트레스를 유발하지 않는다는 의미이다. 즉, hot plate test에 있어서 수기침의 침자극이 SIA를 유

발하지 않았다. 더불어 침의 굵기가 굵어짐에 따라 MPE가 점점 감소하는 경향성을 보였다. 일반적으로 생각해보면 침이 굵을수록 더 큰 통증을 유발하여 보다 많은 스트레스가 발생하기 때문에 MPE는 증가할 것이라고 예측할 수 있다. 그러데 예상과는 달리 침의 굵기가 굵어질수록 MPE는 감소하는 경향성을 나타냈다. 즉, 침굵기가 증가하는 것과 스트레스 유발정도는 관련성이 적다.

수기침에서 경혈과 비경혈의 부위에 따라 유발되는 스트레스 차이와, 말초감각 수용기를 마취시켜 자침시의 침자극을 기각하였을 때의 MPE 차이를 살펴보았다. 리도카인은 족삼리 및 비경혈부위에만 도포하여 국소마취 하였고, hot plate와 접촉하는 발바닥부위에는 도포하지 않았다. Suspension군의 MPE는 실험군 ST040군, ST040(lido)군, NAP040(lido)군의 MPE와 유의한 차이를 나타내었고, NAP040군의 MPE와 유의한 차이를 나타내지 않았다. 이것은 비경혈부위 자침행위가 경도의 스트레스를 유발하였다는 의미이다. Sham군의 MPE는 NAP040군의 MPE와 유의한 차이를 나타내었고, ST040군, ST040(lido)군, NAP040(lido)군의 MPE와 유의한 차이를 나타내지 않았다. 이것은 족삼리 자침행위는 유의한 정도의 스트레스를 유발하지 않는다는 것이다. 또한 비경혈부위를 국소마취함으로써 침 자입시의 표피자극 및 통증 때문에 발생하는 스트레스 반응이 기각된 것으로 볼 수 있다. ST040군은 NAP040군과 유의한 차이를 나타내었다. 이로써 족삼리와 비경혈부위의 위치차이가 스트레스유발과 관련있음을 알 수

있고, 비경혈점을 국소마취한 후 유의한 차이가 없어지는 것으로 스트레스의 원인이 통증 때문인 것을 알 수 있다. 이러한 혈위 특이성을 경혈 전체에 적용가능한지 평가하기 위해서 다양한 혈위를 대상으로 하는 추가실험이 필요하다. 상기의 행동실험 결과를 종합해보면, 수기침은 足三里에서 SIA를 유발하지 않는 것으로 평가된다. 또한, 수기침으로 유발될 수 있는 스트레스는 침의 굵기보다는 자침 위치와 연관되어 있다.

스트레스에 대한 행동실험뿐만 아니라 스트레스 행동반응과 연관된 내분비적 변화를 보기 위해 혈액학적 분석방법을 통해 호르몬의 변화를 관찰하였다. 다양한 스트레스 호르몬 중 Liao 등<sup>26)</sup>과 Sun 등<sup>27)</sup>의 연구에서 사용된 cortisol과 Han 등<sup>28)</sup>과 Liu 등<sup>29)</sup>의 연구에서 사용된 corticosterone을 측정지표로 결정하였다.

침굵기에 따른 수기침의 혈청 cortisol 분석에서 Suspension군의 혈청 cortisol은 실험군들의 혈청 cortisol과 유의한 차이를 나타내지 않았다. Sham군의 혈청 cortisol도 실험군들의 혈청 cortisol과 유의한 차이를 나타내지 않았다. Suspension군과 Sham군의 혈청 cortisol은 유의한 차이를 나타내지 않았다. 유의한 차이는 없으나 경향성은 관찰할 수 있었다. 실험군들의 혈청 cortisol은 Suspension군의 혈청 cortisol 수치 이하를 나타내어 침의 굵기와 관계없이 실험군 모두 Suspension군 이하의 스트레스를 유발하는 경향성이 있다고 할 수 있다.

경혈, 비경혈의 침자극 부위에 따른 혈청 cortisol 분석에서 Suspension군의 혈청

cortisol은 실험군들의 혈청 cortisol과 유의한 차이를 나타내지 않았다.

Sham군의 혈청 cortisol도 실험군들의 혈청 cortisol과 유의한 차이를 나타내지 않았다. 각각의 실험군들의 혈청 cortisol의 수치는 Suspension군보다 비교적 낮은 경향성을 나타내었다. 이는 실험군들이 Suspension군에게 가해진 것보다 적은 스트레스를 받은 것으로 추정해볼 수 있다. 특히 리도카인을 도포한 실험군들은 행동실험에서와 마찬가지로 낮은 cortisol 농도를 나타내었고, Suspension, Sham군보다 낮은 경향성 나타내었다. 이는 국소마취로 인해 침자입시의 표피자극으로 인한 스트레스가 유발되지 않은 것으로 사료된다.

침굵기에 따른 수기침의 혈청 corticosterone 분석에서 Suspension군의 혈청 corticosterone은 실험군들의 혈청 corticosterone과 유사한 차이가 나타나지 않았다. Sham군의 혈청 corticosterone은 ST025군의 혈청 corticosterone과 유의한 차이를 나타내었고, ST017군, ST040군의 혈청 corticosterone과 유의한 차이를 나타내지 않았다. 혈청 cortisol의 결과와 종합하여 볼 때, 실험군 모두 경도이하의 스트레스를 유발하며, 특히 지름 0.25 mm의 침에서 스트레스에 대한 cortisol과 corticosterone의 반응이 가장 적게 나타는 경향성이 있는 볼 수 있다.

행동실험의 결과와 상기의 결과를 근거로 수기침 효과 기전이 SIA를 유발할 만큼 강한 자극이 아님을 알 수 있다. 경혈, 비경혈의 침자극 부위에 대한 혈청 corticosterone

분석에서 Suspension군의 혈청 corticosterone은 실험군들의 혈청 corticosterone과 유의한 차이를 나타내지 않았다. Sham군의 혈청 corticosterone도 실험군들의 혈청 corticosterone과 유의한 차이를 나타내지 않았다. 혈청 cortisol의 결과와 종합하여 볼 때, 실험군 모두 Suspension군 이하의 스트레스를 유발하는 경향성이 있다고 할 수 있다. Stress hormone수치에 유의한 차이가 나타나지 않은 원인을 생각해보면 Suspension군을 비롯한 실험군들에게 가해진 스트레스 자체가 경도 또는 경도 이하이기 때문이거나, 혈액채취시기가 혈청 cortisol과 corticosterone의 농도 상승시기와 상응하지 않았을 수 있다.

## V. 結 論

저자들은 수기침과 전침 자극의 통증억제 효과가 스트레스로 유발된 진통 (Stress Induced Analgesia, SIA)에 의한 것인지 관찰하고자 수기침이 생리적 상태의 동물에게 유발할 수 있는 스트레스 정도를 스트레스 유발 동물모델과 비교 검증하기 위하여, 침 굵기, 침자극 부위를 달리한 후, Hot plate test에서의 MPE 및 혈청 cortisol과 corticosterone을 분석하였다.

1. Hot plate post-test의 시간간격은 5분과 비교해 10분부터 유의하게 MPE가 감소하였다.
2. 침굵기에 따른 수기침의 MPE에서 Suspension군은 실험군들과 유의한 차이

가 있었고, Sham군은 실험군들과 유의한 차이가 없었다. 실험군 간의 유의한 차이는 인정되지 않으나 굵기가 굵어짐에 따라 MPE가 감소하는 경향을 나타내었다.

3. 경혈, 비경혈의 침자극 부위에 따른 실험군의 MPE에서 Suspension군은 ST040군, ST040(lido)군, NAP040(lido)군과 유의한 차이가 있었고, Sham군에 비해 NAP040군에서 유의하게 증가하였다.
4. 침굵기에 따른 실험군의 혈청 cortisol분석에서 Suspension군, Sham군은 모든 실험군과 유의한 차이가 없었다. 실험군 간의 유의한 차이도 인정되지 않았다. 실험군의 혈청 corticosterone분석에서 Suspension군은 모든 실험군에서 유의한 차이가 없었고, Sham군에 비해 ST025군에서 유의한 감소를 나타내었으며 실험군 간의 유의한 차이는 인정되지 않았다.
5. 경혈, 비경혈의 침자극 부위에 따른 실험군의 혈청 cortisol분석과 혈청 corticosterone분석에서 Suspension군, Sham군은 모든 실험군과 유의한 차이가 없었다. 실험군 간의 유의한 차이도 인정되지 않았다.

이상의 연구결과, 생리적 상태의 흰쥐에 대한 Hot plate test를 통한 행동실험과 혈청 cortisol과 corticosterone 결과, 수기침은 足三里에서 SIA를 유발하지 않는 것으로 평가된다. 또한, 수기침으로 유발될 수 있는 스트레스는 침의 굵기보다는 자침 위치와 연관되어 있다.

## 참고문헌

1. Carlsson C. Acupuncture mechanisms for clinical long-term effects, a hypothesis. Int congress series. 2002 ; 1238 : 31-4.
2. Yamada K, Nabeshima T. Stress-induced behavioral responses and multiple opioid systems in the brain. Behav Brain Res. 1995 ; 67(2) : 133-45.
3. Kanarek RB, Gerstein AV, Wildman RP, Mathes WF, D'Anci KE. Chronic running-wheel activity decreases sensitivity to morphine-induced analgesia in male and female rats. Pharmacol Biochem Behav. 1998 ; 61(1) : 19-27.
4. Gear RW, Aley KO, Levine JD. Pain-induced analgesia mediated by mesolimbic reward circuits. J Neurosci. 1999 ; 19(16) : 7175-81.
5. 노병의, 김재우, 서호석. 침구: 통제 하에 실시한 임상 실험연구의 고찰 및 분석. 서울. 대학서림. 2005.
6. Dai Y, Kondo E, Fukuoka T, Tokunaga A, Miki K, Noguchi K. The effect of electroacupuncture on pain behaviors and noxious stimulus-evoked Fos expression in a rat model of neuropathic pain. J Pain. 2001 ; 2(3) : 151-9.
7. Huang C, Hu ZP, Long H, Shi YS, Han JS, Wan Y. Attenuation of mechanical but not thermal hyperalgesia by electroacupuncture with the involvement of opioids in rat model of chronic inflammatory pain. Brain Res Bull. 2004 ; 63(2) : 99-103.
8. Chang FC, Tsai HY, Yu MC, Yi PL, Lin JG. The central serotonergic system mediates the analgesic effect of electroacupuncture on ZUSANLI (足三里) acupoints. J Biomed Sci. 2004 ; 11(2) : 179-85.
9. Lin JG, Lo MW, Wen YR, Hsieh CL, Tsai SK, Sun WZ. The effect of high and low frequency electroacupuncture in pain after lower abdominal surgery. Pain. 2002 ; 99(3) : 509-14.
10. Chiang MH, Wong JO, Chang DP, Dai YB, Chen CC, Lee SC, et al. The effect of needleless electroacupuncture in general anesthesia during laparoscopic surgery. Acta Anaesthesiol Sin. 1995 ; 33(2) : 107-12.
11. Il Hwan Choe. Analgesic effect of Acupuncture at 足三里 on visceral pain in  $\alpha 1G$  T-type  $Ca^{2+}$  channel knockout mice. Department of Oriental Medicine Graduate School Kyung Hee University Seoul. in press. 2005.
12. Dieter Schmidt. Comparative Studies on the Analgesic Effect of Electroacupuncture only or Electroacupuncture with the Chaesap Technic. Department of East-West Medicine Graduate School Kyung Hee University Seoul. in press. 1998.

13. 임사비나, 임형택, 박희준, 장지련, 최일환, 이석찬, et al. 침자극의 복통 억제기전 연구. 대한경락경혈학회지. 2004 ; 21(2) : 69-79.
14. Kong J, Fufa DT, Gerber AJ, Rosman IS, Vangel MG, Gracely RH, et al. Psychophysical outcomes from a randomized pilot study of manual, electro, and sham acupuncture treatment on experimentally induced thermal pain. *J Pain*. 2005 ; 6(1) : 55-64.
15. Zaslowski CJ, Cobbin D, Lidums E, Petocz P. The impact of site specificity and needle manipulation on changes to pain pressure threshold following manual acupuncture: a controlled study. *Complement Ther Med*. 2003 ; 11(1) : 11-21.
16. Holck HG, Kimura KK, Kimura TE. Comparison of analgetic activity of 67 arylalkamines with that of morphine and meperidine by the mouse hot plate method. *J Am Pharm Assoc Am Pharm Assoc*. 1950 ; 39(6) : 354-9.
17. Espejo EF, Mir D. Structure of the rat's behaviour in the hot plate test. *Behav Brain Res*. 1993 ; 56(2) : 171-6.
18. Gamble GD, Milne RJ. Repeated exposure to Sham testing procedures reduces reflex withdrawal and hot-plate latencies: attenuation of tonic descending inhibition?. *Neurosci Lett*. 1989 ; 96(3) : 312-7.
19. Hunskaar S, Berge OG, Hole K. A modified hot-plate test sensitive to mild analgesics. *Behav Brain Res*. 1986 ; 21(2) : 101-8.
20. Steru L, Chermat R, Thierry B, Simon P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 1985 ; 85(3) : 367-70.
21. Cryan JF, Mombereau C, Vassout A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neurosci Biobehav Rev*. 2005 ; 29(4-5) : 571-625.
22. Liu X, Peprah D, Gershenfeld HK. Tail-suspension induced hyperthermia: a new measure of stress reactivity. *J Psychiatr Res*. 2003 ; 37(3) : 249-59.
23. De Kock M, Meert TF. Alpha 2-adrenoceptor agonists and stress-induced analgesia in rats: influence of stressors and methods of analysis. *Pharmacol Biochem Behav*. 1997 ; 58(1) : 109-17.
24. Pitcher GM, Yashpal K, Coderre TJ, Henry JL. Mechanisms underlying antinociception provoked by heterosegmental noxious stimulation in the rat tail-flick test. *Neuroscience*. 1995 ; 65(1) : 273-81.
25. Mogil JS, Grisel JE, Hayward MD, Bales JR, Rubinstein M, Belknap JK.

- Disparate spinal and supraspinal opioid antinociceptive responses in beta-endorphin-deficient mutant mice. *Neuroscience*. 2000 ; 101(3) : 709-17.
26. Liao YY, Seto K, Saito H, Fujita M, Kawakami M. Effects of acupuncture on adrenocortical hormone production. (II) Effect of acupuncture on the response of adrenocortical hormone production to stress. *Am J Chin Med*. 1980 ; 8(1-2) : 160-6.
27. Sun JP, Pei HT, Jin XL, Yin L, Tian QH, Tian SJ. Effects of acupuncturing Tsusanli (足三里) on expression of nitric oxide synthase in hypothalamus and adrenal gland in rats with cold stress ulcer. *World J Gastroenterol*. 2005 ; 11(32) : 4962-6.
28. Han SH, Yoon SH, Cho YW, Kim CJ, Min BI. Inhibitory effects of electroacupuncture on stress responses evoked by tooth-pulp stimulation in rats. *Physiol Behav*. 1999 ; 66(2) : 217-22.
29. Liu S, Zhou W, Liu H, Yang G, Zhao W. Electroacupuncture attenuates morphine withdrawal signs and c-Fos expression in the central nucleus of the amygdala in freely moving rats. *Brain Res*. 2005 ; 1044(2) : 155-63.