

원저

배혈에 따른 저빈도 전침자극이 류마토이드 관절염 유발 흰쥐의 PAG와 해마부위에서 NOS 발현에 미치는 영향

황희상* · 김이화** · 노정두* · 이은용*

*세명대학교 한의과대학 침구학교실

**세명대학교 한의과대학 경혈학교실

Abstract

Effect of Low Frequency Electroacupuncture According to Acupoint Combination on NOS Positive Neurons in the PAG and Hippocampus of Rat with Adjuvant Induced Rheumatoid Arthritis

Hwang Hee-sang*, Kim Ee-hwa**, Roh Jeong-du* and Lee Eun-yong*

*Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Semyung University

**Department of Acupoint & Meridian, College of Oriental Medicine, Semyung University

Objectives : This study was to investigate the effect of low frequency electroacupuncture according to acupoints combination on NOS positive neurons in the PAG and Hippocampus of Rat with adjuvant induced Rheumatoid arthritis.

Methods : Arthritis was induced by intradermal injection of FCA into base of tail. Experimental group were divided into 6 group ; Normal, Control, ST₃₆, SP₉, ST₃₆+SP₉, and NA.

Normal group was injected with normal saline and not treated electroacupuncture. Control group was injected with FCA and not treated electroacupuncture. ST₃₆ group was injected with FCA and treated by 2 Hz electroacupuncture at ST₃₆. SP₉ group was injected with FCA and treated by 2 Hz electroacupuncture at SP₉. ST₃₆+SP₉ group was injected with FCA and treated by 2 Hz electroacupuncture at ST₃₆+SP₉. NA group was injected with FCA and treated by 2 Hz electroacupuncture at non acupoint. Each groups were evaluated by the number of NOS-positive neurons in PAG and hippocampus by using an image analyzer and a microscope.

· 접수 : 2008. 6. 2. · 수정 : 2008. 6. 5. · 채택 : 2008. 6. 5.

· 교신저자 : 이은용, 충북 충주시 봉방동 836번지 세명대학교 부속한방병원 침구과

Tel. 043-841-1735 E-mail : acupley@semyung.ac.kr

Results :

1. The number of NOS-positive neurons of the NA group were significantly decreased in the CA2-3.
2. The number of NOS-positive neurons of the ST36 group were significantly decreased in the PAG and CA2-3.
3. The number of NOS-positive neurons of the SP9 group were significantly decreased in the PAG and DG.
4. The number of NOS-positive neurons of the ST36+SP9 group were significantly decreased in the PAG, CA1 and DG.

Conclusions : It is expected that low frequency electroacupuncture can be used a treatment of rheumatoid arthritic pain and that treatment of electroacupuncture at combined acupoints is more efficient than treatment of low frequency electroacupuncture at one acupoint.

Key words : Electroacupuncture, Freund's Complete Adjuvant(FCA), NOS, ST₃₆, SP₉, ST₃₆+SP₉, PAG, Hippocampus

I. 서론

류마티오이드 관절염은 유전성 소인이 있는 숙주에서 다양한 면역반응을 나타내는 질환으로 여러 관절 부위의 통증, 강직, 종창 등의 증상이 흔하게 나타나며, 병리학적으로 활막의 증식과 이로 인한 관절연골과 연골하골의 미란이 발생하는 특징이 있다. 그리고 염증조직이 증식하게 되면 관절과 관절 주변 구조물이 파괴되어 결국, 관절 변형과 기능손상이 초래된다^{1,2)}.

현재 류마티오이드 관절염의 원인이 확실하게 밝혀지지 않아 많은 치료 약제의 작용기전이 불확실하고, 어떠한 치료도 질환을 완치시키지 못하고 있어 보존적 치료입장에서 증세와 증후의 개선에 목표를 두고 다양한 약물 요법이 사용되고 있는 실정이다^{3,4)}.

관절은 뼈와 뼈를 이어주는 곳으로, 한의학적으로 기혈순환의 중요한 부위가 되고 外邪가 쉽게 침입할 수 있는 곳이며 류마티오이드 관절염은 痺症, 歷節風, 鶴膝風, 痛風 등의 범주에 속한다⁵⁻⁷⁾. 이에 대한 치료 방법으로 침구, 한약, 약침, 전침 등이 사용되고 있으며 이에 대한 동물 실험 모델 연구도 활발하다⁸⁻¹⁶⁾.

그 동안 전침에 대한 다양한 연구가 있었으나¹³⁻²⁰⁾, 현재까지 배혈과 단일혈의 실험적 유의성을 비교한 연구는 없었다. 이에 저자는 배혈에 따른 저빈도 전침 자극이 류마티오이드 관절염에 미치는 영향을 알아보기 위해 흰쥐에 Freund's Complete Adjuvant(이하 FCA)

로 관절염을 유발한 후 족삼리(ST₃₆) 전침군, 음릉천(SP₉) 전침군, 족삼리+음릉천(ST₃₆+SP₉) 전침군으로 나누어 Periaqueductal Gray(이하 PAG)과 Hippocampus에서 신경세포의 NOS 단백질 발현 변화를 NADPH-d 조직화학염색법으로 관찰한 결과 유의한 소견을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 동물

체중 180g 내외의 수컷 Wistar Rat(샘타코, Korea, 이하 흰쥐)을 온도 23±1℃, 습도 55±5%로 조정된 항온습습사육장치(대중기기상사, Korea)내에서 1주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 전 실험기간동안 사료(제일제당, Korea)와 물은 자유 섭취케 하였다.

2. 재료

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

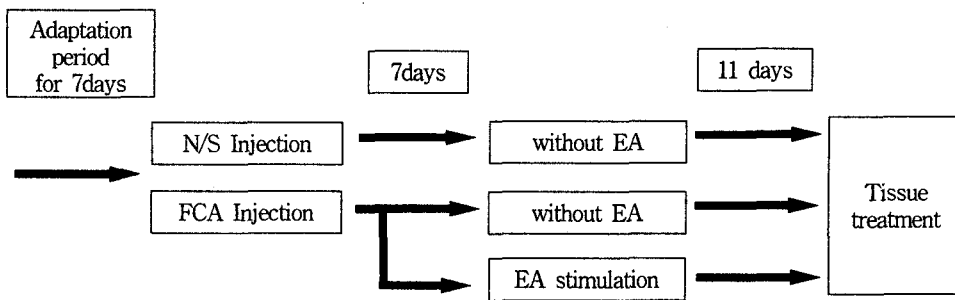


Fig. 1. Experimental schedule

3. 관절염 모델의 작성

M. tuberculosis strain H37Ra(Difco, USA)를 유발에 곁게 갈아 light mineral oil(Sigma, USA)로 5mg/ml의 농도가 되도록 FCA를 제조하여 FCA 0.1ml를 흰쥐의 미근부 피내에 1회 주입하여 관절염을 유발시켰다.

4. 실험의 설계 및 실험군의 분류

CFA 또는 생리식염수를 접종한(7th day) 후 육안적으로 양측 후지 모두에 관절염이 발생된 개체를 선별하여 실험군으로 분류하였으며, 주입 후 7일째(13th day)부터 11일간 저빈도(2Hz) 전침자극을 시행 한 후 실험 최종일(23th day)에 표본채취를 시행하였다(Fig. 1).

(1) 정상군(Normal, n=8)

생리식염수를 주사하였으며 11일간 매일 1회 구속 cage에서 15분간 구속하였다.

(2) 대조군(Control, n=8)

FCA를 주사하였으며 11일간 매일 1회 구속 cage에서 15분간 구속하였다.

(3) 족삼리 전침군(ST₃₆, n=8)

대조군의 처치와 더불어 양측 족삼리에 상응하는 부위²¹⁾에 2Hz 전침자극을 11일간 매일 1회 15분간 수행하였다.

(4) 음릉천 전침군(SP₉, n=8)

대조군의 처치와 더불어 양측 음릉천에 상응하는 부위²¹⁾에 2Hz 전침자극을 11일간 매일 1회 15분간 수행하였다.

(5) 족삼리+음릉천 전침군(ST₃₆+SP₉, n=8)

대조군의 처치와 더불어 양측 족삼리와 음릉천에 상응하는 부위²¹⁾에 2Hz 전침자극을 11일간 매일 1회 15분간 수행하였다.

(6) 비경혈 전침군(NA, n=8)

대조군의 처치와 더불어 양측 미둔부에 2Hz 전침자극을 11일간 매일 1회 15분간 수행하였다.

5. 전침자극 및 혈위의 선정

전침자극은 연속파, 직각파, 0.2ms duration, 2Hz로 근육수축이 보이는 강도로, 1일 1회 15분 동안, 11일간 총 11회 시행하였다. 혈위는 고²¹⁾의 방법에 따라 흰쥐의 체표상에 인체의 족삼리와 음릉천에 상응하는 부위를 골드분촌법으로 취혈하였다.

6. 조직처리

모든 실험동물에서 zoletil(60mg/kg)을 복강주사하여 마취시킨 후 흉강을 열고 좌심실을 통하여 0.05M 인산염완충식염수(phosphate buffered saline, 이하 PBS)를 1분간 주입하고, 0.01M 인산염완충액(phosphate buffer, 이하 PB)에 녹인 4% paraformaldehyde 용액(4°C)을 10분간 관류 고정시켰다. 이때 관류속도는 50-60ml/min가 되도록 하였다. 관류고정 후 뇌를 적출하여 4-6 mm 두께로 관상 절개하여 동일한 고정액에 담가서 4°C에서 16-18시간 동안 후 고정한 다음 0.1M PBS에 녹인 20% sucrose 용액에 2-5일간 보관하였다가, 냉동절편기(Leica, CM1850, Germany)를 이용하여 40µm 두께의 연속횡단절편을 제작하였다.

7. NOS 양성 신경세포의 측정

흰쥐의 PAG와 Hippocampus 부위에 Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-diaphorase(이하 NADPH-d) 조직화학염색을 실시하였다. 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℃ 수조에서 24시간 반응시켰다. 조직을 PBS로 세척하고 gelatin-coated slide에 얹어서 2시간 실온에서 건조시킨 후 xylene으로 투명화시켜 Canada balsam 으로 봉입하였다. 뇌에서 NADPH-d에 양성으로 염색된 신경세포를 좌·우로 나누어 측정하고 평균값을 표시하였다.

8. 통계처리

측정된 항목의 결과에 대한 통계는 SPSS(Statistical Program for Social Science) 9.0 for Windows를 이용하여 student's t-test를 실시하였으며 유의 수준은 p<0.05로 하였다. 각 전침군 간의 비교는 Duncan's multiple comparison post-hoc test에 의한 ANOVA

test를 이용하였으며 유의 수준은 p<0.05로 하였다.

III. 결 과

1. PAG에서의 NOS 발현 양성 세포수

대조군은 정상군에 비해서 NOS 발현 양성세포수가 유의하게 증가하였고, 비경혈 전침군을 제외한 모든 전침군들은 대조군에 비해서 유의한 감소를 나타내었다. 전침군 간의 비교에서 모든 경혈 전침군이 동등한 유의성을 나타내었다(Table 1).

2. Cornu Ammonis(이하 CA)1에서의 NOS 발현 양성 세포수

대조군은 정상군에 비해서 NOS 발현 양성세포수가 유의하게 증가하였고, 족삼리+음릉천 전침군은 대조군에 비해서 유의한 감소를 나타내었다. 전침군 간의 비교에서 족삼리 전침군과 족삼리+음릉천 전침군이 동등한 유의성을 나타내었다(Table 2).

Table 1. Effect of Low Frequency Electroacupuncture on the Number of NOS Positive Neurons in the PAG region of Rat with Adjuvant Induced Rheumatoid Arthritis

Group (n=8)	Number of NOS positive neurons
Normal	35.50±5.26
Control	53.44±12.74*
ST ₃₆	37.13±7.06†
SP ₉	37.80±5.97†
ST ₃₆ +SP ₉	39.75±10.84†
NA	54.25±7.59

Values are means±SEM.

Normal : saline injected without electroacupuncture.

Control : adjuvant injected without electroacupuncture.

ST₃₆ : adjuvant injected and treated with electroacupuncture at ST₃₆.

SP₉ : adjuvant injected and treated with electroacupuncture at SP₉.

ST₃₆+SP₉ : adjuvant injected and treated with electroacupuncture at ST₃₆ and SP₉.

NA : adjuvant injected and treated with electroacupuncture at non acupoint.

* : Statistically significant compared with normal group by student's t-test(p<0.05).

† : Statistically significant compared with control group by student's t-test(p<0.05).

Table 2. Effect of Low Frequency Electroacupuncture on the Number of NOS Positive Neurons in the CA1 Region of Rat with Adjuvant Induced Rheumatoid Arthritis

Group (n=8)	Number of NOS positive neurons
Normal	13.63±1.50
Control	20.81±2.19*
ST ₃₆	18.43±1.71* [‡]
SP ₉	21.38±2.45*
ST ₃₆ +SP ₉	17.50±1.60* [‡]
NA	22.89±2.08*

Values are means±SEM.

Normal : saline injected without electroacupuncture.

Control : adjuvant injected without electroacupuncture.

ST₃₆ : adjuvant injected and treated with electroacupuncture at ST₃₆.

SP₉ : adjuvant injected and treated with electroacupuncture at SP₉.

ST₃₆+SP₉ : adjuvant injected and treated with electroacupuncture at ST₃₆ and SP₉.

NA : adjuvant injected and treated with electroacupuncture at non acupoint.

* : Statistically significant compared with normal group by student's t-test(p<0.05).

† : Statistically significant compared with control group by student's t-test(p<0.05).

‡ : Statistically significant among electroacupuncture groups by Duncan's test(p<0.05).

Table 3. Effect of Low Frequency Electroacupuncture on the Number of NOS Positive Neurons in the CA2-3 Region of Rat with Adjuvant Induced Rheumatoid Arthritis

Group (n=8)	Number of NOS positive neurons
Normal	8.92±0.89
Control	14.50±1.23*
ST ₃₆	11.06±1.13* [‡]
SP ₉	12.61±1.00*
ST ₃₆ +SP ₉	12.15±0.78*
NA	10.64±0.76* [‡]

Values are means±SEM.

Normal : saline injected without electroacupuncture.

Control : adjuvant injected without electroacupuncture.

ST₃₆ : adjuvant injected and treated with electroacupuncture at ST₃₆.

SP₉ : adjuvant injected and treated with electroacupuncture at SP₉.

ST₃₆+SP₉ : adjuvant injected and treated with electroacupuncture at ST₃₆ and SP₉.

NA : adjuvant injected and treated with electroacupuncture at non acupoint.

* : Statistically significant compared with normal group by student's t-test(p<0.05).

† : Statistically significant compared with control group by student's t-test(p<0.05).

‡ : Statistically significant among electroacupuncture groups by Duncan's test(p<0.05).

3. CA2-3에서의 NOS 발현 양성 세포수

대조군은 정상군에 비해서 NOS 발현 양성세포수가 유의하게 증가하였고, 족삼리 전침군과 비경혈 전침군은 대조군에 비해서 유의한 감소를 나타내었다. 전침군 간의 비교에서 족삼리 전침군과 비경혈 전침군이 동등한 유의성을 나타내었다(Table 3).

4. Dentate Gyrus(이하 DG)에서의 NOS 발현 양성 세포수

대조군은 정상군에 비해서 NOS 발현 양성세포수가 유의하게 증가하였고, 음릉천 전침군과 족삼리+음릉천 전침군은 대조군에 비해서 유의한 감소를 나타내었다. 전침군 간의 비교에서 음릉천 전침군과 족삼리+음릉천 전침군이 동등한 유의성을 나타내었다(Table 4).

Table 4. Effect of Low Frequency Electroacupuncture on the Number of NOS Positive Neurons in the DG Region of Rat with Adjuvant Induced Rheumatoid Arthritis

Group (n=8)	Number of NOS positive neurons
Normal	12.78±1.83
Control	17.08±2.31*
ST ₃₆	17.44±1.63*
SP ₉	12.44±1.18 ^{†,‡}
ST ₃₆ +SP ₉	12.52±1.24 ^{†,‡}
NA	14.85±1.37

Values are means±SEM.

Normal : saline injected without electroacupuncture.

Control : adjuvant injected without electroacupuncture.

ST₃₆ : adjuvant injected and treated with electroacupuncture at ST₃₆.

SP₉ : adjuvant injected and treated with electroacupuncture at SP₉.

ST₃₆+SP₉ : adjuvant injected and treated with electroacupuncture at ST₃₆ and SP₉.

NA : adjuvant injected and treated with electroacupuncture at non acupoint.

* : Statistically significant compared with normal group by student's t-test(p<0.05).

† : Statistically significant compared with control group by student's t-test(p<0.05).

‡ : Statistically significant among electroacupuncture groups by Duncan's test(p<0.05).

IV. 고찰

류마티오이드 질환이란 만성통증을 유발하면서 관절과 연부조직에 점차적인 손상을 가져와 불구를 만드는 만성적인 상태를 말하며 일반적으로는 근육격계 질환을 일으키는 질환을 통틀어 말한다²²⁾. 특히 류마티오이드 관절염은 가동 관절의 활막에 발생하는 전신성 염증성 질환으로 관절부의 통증, 강직, 종창의 임상소견이 흔하고, 통증이 여러 관절로 이동되기도 하며, 관절증상 외에도 권태감, 피로, 쇠약, 미열, 림프절 종대 등의 전신증상이 흔하다¹⁻⁴⁾. 최근 연구에 의하면 NO가 연골 proteoglycan의 합성을 방해하면서 만성염증반응에 관여하며, 류마티오이드 관절염을 앓고 있는 환자의 활액내에서 NO의 수치가 변화되는 것으로 나타나 NO가 류마티오이드 관절염의 진행에 관여하는 것으로 알려져 있다²³⁻²⁵⁾.

한의학적으로 관절은 기혈순환의 중요한 부위가 되고 外邪가 쉽게 침입할 수 있는 곳이며, 문헌에 기록된 증상을 미루어 볼 때 류마티오이드 관절염은 痺症, 歷節風, 鶴膝風, 痛風 등의 범주에 속한다⁵⁻⁷⁾. 그 원인으로서는 素體虛弱, 正氣不足, 氣血虛弱, 陽氣不足, 營衛氣虛, 陰陽不足, 腎虛, 血虛 및 肝腎不足 등이 있으며, 이로 인해 風寒濕邪 등이 侵襲함으로써 內因과 外因이 相合하여 經絡에 壅滯되고, 筋脈, 肌肉, 筋骨에 侵襲하여 氣血凝滯 및 氣血運行을 不暢하게 되고, 이러

한 과정을 거쳐 筋脈과 關節의 腫脹, 奇形 및 屈伸不利 등의 증상이 발생하게 되고, 消風散寒, 化濕清熱, 通經活絡하여 患處의 經氣를 疏通시켜 치료한다²⁶⁾.

류마티오이드 동물 실험 모델로 사용되어지는 Adjuvant 유발 관절염은 peptidoglycan에 의해 다발성 관절염이 유발되는데, 이를 통해 유발된 관절염 양상이 인간의 류마티오이드 관절염과의 유사하므로 류마티오이드 관절염의 실험 모델로 광범위하게 이용되고 있으며,慢性的인 관절염의 抗炎症 작용과 慢性 炎症性 통증에서의 有害受容에 관한 연구에 널리 이용되고 있다^{27,28)}.

한의학에서도 adjuvant 유발 관절염에 대하여 약침⁹⁻¹⁰⁾ 및 한약투여¹¹⁻¹²⁾, 전침¹³⁻¹⁶⁾을 통한 연구가 이루어져 왔으나 전침자극에서 단일혈과 배혈의 차이에 따른 유의성을 비교한 보고는 없었다.

전침요법은 경락 혈위를 기초로 하여, 혈위에 자침하여 感應이 있는 후에 침에 전류를 통해서 수기법의 기계적 자극에 대체하여 전기적 자극을 이용함으로써 경락 혈위의 작용을 통하여, 질병을 치료하는 신침요법 중 하나이다. 따라서 전침요법의 효과 또한, 적절한 경혈의 선택과 배합 및 적절한 자극에 의해 결정된다고 볼 수 있다^{26,29,30)}. 전침요법에 대한 연구로는, 백 등¹⁴⁾은 진통작용 기전에 대해서 전침 자극시 구심성 입력신호가 생성되어 구심성 신경을 통하여 중추신경계내에 존재하는 통각의 하행성 억제계를 활성화시켜 말초로부터 척수내로 전달된 통각신호가 중추로 전달되지 못하게 억제한다고 하였고, 김 등¹⁵⁾은 저빈

도 전침자극이 PGE2의 발현을 억제하여 염증반응을 감소시킨다고 하였고, 우 등¹⁷⁾은 전침자극이 해마의 DG에서 신경세포수의 변화에 일정한 영향을 미친다고 하였다. 김 등¹⁸⁾은 전침 자극의 빈도수와 강도에 따라 중추신경계에 서로 다른 영향을 준다고 하였다.

PAG는 통증 조절과 방어 행동과 관련하여 작용하는 중뇌의 일부분으로³¹⁾, Holstege 등^{32,33)}은 PAG가 척수와 직접적인 연결은 없으나 봉선핵과 인접한 망상체형성을 경유하여 척수에 도달한 후 척수에서 통각정보가 증추로 전달되는 과정에 영향을 미치게 된다고 하였다.

해마는 변연계의 신경구조 중의 하나로 CA1, CA2, CA3 및 CA4 세포영역으로 구성된 Hippocampal와 DG 세포영역으로 이루어져 있어 대뇌피질의 많은 부위와 변연계의 기저구조들인 편도체, 시상하부, 중격, 유두체 등과 주로 간접적인 결합을 가진다. 따라서 해마는 포유동물의 뇌에서 학습과 감각 기억의 저장과 연관이 있으며, 감각경험의 저장 이후 많은 출력신호를 중요 통로인 뇌궁을 통하여 전시상, 시상하부, 그리고 기타 변연계 부위에 보낸다^{31,34)}. 그리고 Khanna 등³⁵⁾은 이러한 해마구성체와 대뇌피질과의 상호영향을 통해 해마가 동통을 대뇌의 여러 부위로 전달시키는 역할을 한다고 하였다.

NO는 작고 비교적 불안정한 두개의 원자로 이루어진 물질로 L-arginine이 NOS에 의해 L-citrulline으로 변환되는 과정에 의해 생성된다^{36,37)}. 또한 NO는 지용성의 무기질이므로 세포막을 자유롭게 통과하여 쉽게 세포주위로 확산될 수 있으며 인체내 여러 정상 생리반응의 신호전달 물질로 작용한다³⁷⁾. NO의 작용은 산화 환원 상태에 따라서 달라지는데 iNOS에 의해 지속적으로 생성된 많은 양의 NO는 주위의 산소 유리 라디칼과 반응하여 nitrogen dioxide나 peroxyxynitrite라는 강력한 산화력을 갖는 물질을 형성하여 세포손상을 유발한다³⁸⁾. 그리고 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 일으킬 뿐만 아니라 주위 정상 조직에 손상을 초래할 수도 있다¹⁰⁾.

NO에 관한 연구는 NO의 작용시간이 매우 짧기 때문에 주로 NOS나 그 안정화된 부산물인 nitrite 혹은 nitrate를 대상으로 이루어지고 있다. 즉 조직이나 세

포에서 NOS의 발현 유무를 보아 간접적으로 NO의 생성을 알아낼 수 있는 것이다³⁹⁾. NOS를 관찰하는 방법으로 NADPH-d 조직화학을 사용하는데 이 방법은 NOS가 nitroblue tetrazolium(이하 NBT)을 물에 녹지 않는 NBT formazan으로 환원시키는 NADPH-d 활성작용이 있다는 원리를 이용한 방법이다. 이 작용에는 NADPH를 전자 공여자로 필요로 하며 NOS의 효소활성은 NADPH-d 활성도와 비례한다고 알려져 있다⁴⁰⁾.

이에 본 실험에서는 배혈에 따른 전침자극이 대뇌 피질에서 NADPH-d 양성 세포 발현에 미치는 영향에 대해 알아보고자 흰쥐의 미근부에 FCA 현탁액을 주사하여 류마티드 관절염을 유발한 후 전침자극을 주었다.

전침 자극은 胃經의 合土穴로서 理脾胃, 調中氣, 和脹消滯, 疏風化濕, 通調經絡, 調和氣血하여 腹痛, 頭痛, 膝關節痛, 下肢痛 등의 통증 조절 기능이 있는 족삼리 和 脾經의 合水穴로서 健脾利濕, 利水腫 調水液, 下濕滯, 調補肝腎, 運中焦하여 水脹腹堅, 腹膜炎, 膝關節炎, 足膝紅腫 등에 사용하여 통증 및 염증에 유효한 음릉천과 脚腫, 膝痛, 指頭麻木, 脚氣腰痛 등에 응용되는 족삼리+음릉천의 배혈을 선택하였다²⁶⁾.

실험 결과 PAG에서의 NOS 발현 양성 반응에서 비경혈 전침군을 제외한 모든 전침군들은 대조군에 비해서 유의한 감소를 나타내었고, 전침군 간의 비교에서는 모든 경혈 전침군이 동등한 유의성을 나타냈다(Table 1).

CA1에서의 NOS 발현 양성 반응에서 족삼리+음릉천 전침군은 대조군에 비해서 유의한 감소를 나타내었고, 전침군 간의 비교에서는 족삼리 전침군과 족삼리+음릉천 전침군이 동등한 유의성을 나타냈다(Table 2).

CA2-3에서의 NOS 발현 양성 반응에서 족삼리 전침군과 비경혈 전침군은 대조군에 비해서 유의한 감소를 나타내었고, 전침군 간의 비교에서는 족삼리 전침군과 비경혈 전침군이 동등한 유의성을 나타냈다(Table 3).

DG에서의 NOS 발현 양성 반응에서 음릉천 전침군과 족삼리+음릉천 전침군은 대조군에 비해서 유의한 감소를 나타내었고, 전침군 간의 비교에서는 음릉천 전침군과 족삼리+음릉천 전침군이 동등한 유의성을 나타냈다(Table 4).

본 연구를 통하여 관찰한 결과, 비경혈 전침군은 해마의 CA2-3 부위의 NOS 발현을 유의하게 감소시켰고, 족삼리 전침군은 PAG, 해마의 CA2-3 부위의

NOS 발현을 유의하게 감소시켰으며, 음릉천 전침군은 PAG, 해마의 DG부위의 NOS 발현을 유의하게 감소시켰고, 족삼리+음릉천 전침군은 PAG, 해마의 CA1, DG 부위의 NOS 발현을 유의하게 감소시켰다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 저빈도 전침자극은 PAG와 Hippocampus가 통각정보를 중추로 전달하는 과정을 억제하여 adjuvant 유발 관절염으로 인한 만성 염증성 통증에 유의한 진통효과를 나타내며, 족삼리+음릉천 배혈이 단일혈과 비교하여 유의성이 있다고 사료된다. 아울러 본 실험을 토대로 만성 염증성 통증에 대한 전침자극의 진통효과 및 배혈 차이에 따른 PAG 및 해마의 각 부분에 미치는 영향에 대한 진일보한 연구가 지속적으로 이루어질 수 있기를 기대한다.

V. 결 론

만성염증성 통증모델인 류마티스관절염 통증 모델 흰쥐의 양측 족삼리, 음릉천, 족삼리+음릉천의 배혈에 저빈도 전침자극(0.2ms duration, 2Hz)을 가한 후, PAG와 해마부위에서의 NOS 발현이 어떻게 변화되는지 알아보기 위하여, PAG, 해마의 CA1, CA2-3, DG에서 NOS 발현 양성 세포수를 비교해 본 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 비경혈 전침군에서 해마의 CA2-3 부위의 NOS 발현이 유의하게 감소되었다.
2. 족삼리 전침군에서 PAG, 해마의 CA2-3 부위의 NOS 발현이 유의하게 감소되었다.
3. 음릉천 전침군에서 PAG, 해마의 DG부위의 NOS 발현이 유의하게 감소되었다.
4. 족삼리+음릉천 전침군에서 PAG, 해마의 CA1, DG 부위의 NOS 발현이 유의하게 감소되었다.

이상으로 보아 저빈도 전침자극은 adjuvant 유발 관절염으로 인한 만성 염증성 통증에 유의한 진통효과를 나타내며, 족삼리+음릉천 배혈이 족삼리, 음릉천 단일혈에 비하여 실험적으로 유의성이 있다고 사료된다.

VI. 참고문헌

1. 대한정형외과학회 편저. 정형외과학 6판. 서울 : 최신의학사. 2006 : 232-47.
2. 미국정형외과학회. 근골격계 진단 및 치료의 핵심. 서울 : 도서출판 한우리. 2001 : 57-66.
3. 해리슨 번역 편찬위원회. Harrison's 내과학. 서울 : 도서출판 정담. 1997 : 1777-85.
4. 서울대학교 의과대학 내과학교실 편. 임상내과학(II). 서울 : 고려의학. 2004 : 2067-79.
5. 김무진, 윤종화, 김경호, 이승덕, 김갑성. 류마티스성 관절염의 침구치료에 관한 문헌고찰. 대한침구학회지. 2005 ; 22(1) : 191-201.
6. 전국한과대학 재활의학교과실 편저. 동의재활의학과학. 서울 : 군자출판사. 2005 : 96-100.
7. 최도영, 이재동, 백용현, 이송실, 유명철, 한정수, 양형인, 박상도, 유미현, 박은경, 박동석. 류마티스 관절염에 대한 한약의 면역학적 연구동향. 대한침구학회지. 2003 ; 21(4) : 177-96.
8. 김정곤, 강성길, 박동석. 침, 구 및 진구 수침이 흰쥐의 Adjuvant 관절염에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1989 ; 6(1) : 51-62.
9. 배철우, 김기현, 황현서, 김연섭. 마전자 藥鍼이 Adjuvant 關節炎에 미치는 影響. 대한침구학회지. 2001 ; 18(1) : 217-25.
10. 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.
11. 한영규, 박영희, 금동호, 이명중. 가미창백산이 Carrageenan유발 동물모델 관절염의 소염, 진통, 해열 및 면역에 미치는 영향. 한방재활의과학회지. 2005 ; 15(1) : 127-41.
12. 지명철, 금동호, 이명중. 搜風丸 및 수풍환가소목이 Carrageenan 유발 흰쥐 관절염의 소염, 진통 및 해열작용에 미치는 영향. 한방재활의과학회지. 2004 ; 14(3) : 127-38.
13. 류성룡, 백용현, 박동석. 전침자극의 Collagen 유발 관절염 동물 모델에 대한 진통효과 및 기전에 관한 연구. 대한침구학회지. 2006 ; 23(3) : 77-90.
14. 백용현, 양형인, 박동석, 최도영. Collagen 유발 관절염 동물모델에 대한 전침자극의 진통효과 및 그 기전에 관한 연구. 대한침구학회지. 2004 ;

- 21(6) : 51-62.
15. 김종철, 이은용, 서일복, 구성태, 최선미, 김이화. 저빈도 족삼리 전침자극이 흰쥐의 Adjuvant 유발 관절염에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2006 ; 23(6) : 207-19.
 16. 차정호, 장소영, 이은용. 고빈도 전침자극이 류마티드 관절염 통증 모델의 뇌 c-fos 발현에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2007 ; 24(2) : 211-20.
 17. 우현수, 이재동, 김창환. 전침자극이 SHR 흰쥐의 Dentate Gyrus에서의 Doublecortin과 PSA-NCAM 양성 신경세포에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2003 ; 20(2) : 123-34.
 18. 김종인, 김용석, 김창환. 전침자극이 Spontaneously Hypertensive Rat의 대뇌겉질, 뇌줄기, 소뇌 부위의 Nitric Oxide Synthase 신경세포에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2001 ; 18(4) : 116-24.
 19. 고희균. 흰쥐에서의 골도분층에 의한 상응혈위. 대한침구학회지. 1999 ; 16(3) : 115-22.
 20. 서영일. 류마티스 질환의 이해. 가정의학회지. 2004 ; 25 : 877-86.
 21. Stefanovic-Racic M. Nitric Oxide and Arthritis. Arthritis and Rheumatism. 1993 ; 36(8) : 1036-45.
 22. Evans CH. Nitric Oxide in Arthritis. Methods. 1996 ; 10(1) : 38-42.
 23. Evans CH, Stefanovic-Racic M, Lancaster JR. Nitric Oxide and Its Role in orthopaedic Disease. Clin Orthop. 1995 ; 312 : 275-96.
 24. 全國韓醫科大學 鍼灸經穴學教室 編. 鍼灸學. 서울 : 집문당. 1988 ; 53-5, 382-4, 1099-161, 1286, 1294-6, 1457, 1471-81.
 25. Philippe L, Gegout-Pottie P, Guingamp C, Bordji K, Terlain B, Netter P, Gillet P. Relation between functional, inflammatory, and degenerative parameters during adjuvant arthritis in rats. Am J physiol. 1997 Oct ; 273(4 Pt 2) : 1550-6.
 26. Colpaert FC. Evidence that adjuvant arthritis in the rat is associated with chronic pain. Pain. 1984 Feb ; 28(2) : 201-22.
 27. 金在圭 외. 電針治療의 理論과 臨床. 서울 : 書苑堂. 1993 : 14-7.
 28. 崔容泰 외. 最新針灸學. 서울 : 成輔社. 1991 : 264, 396-404.
 29. Malcolm B Carpenter. 신경해부학. 서울 : 고문사. 1998 : 187-215, 355-61.
 30. Holstege G. Some anatomical observations on the projections from the hypothalamus to brainstem and spinal cord : and HRP and autoradiographic tracing study in the cat. J Comp Neurol. 1987 ; 260(1) : 98-126.
 31. Mason P, Strassman A, Maciewicz R. Pontomedullary raphe neurons : monosynaptic excitation from midbrain sites that suppress the jaw opening reflex. Brain Res. 1985 ; 329(1-2) : 384-9.
 32. 현성용. 해마의 기능에 관한 이론적 고찰. 사회문화연구. 1991 ; 10 : 91-107.
 33. Khanna S. Dorsal hippocampus field CA1 pyramidal cell responses to a persistent versus an acute nociceptive stimulus and their septal modulation. Neurosci. 1997 ; 77(3) : 713-21.
 34. Giatgen A. The Dual Role of Nitric Oxide in Islet β -Cell. New Physiol Sci. 1999 ; 14 : 49-53.
 35. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric Oxide : Physiology. Pathology and Pharmacology Rev. 1991 ; 43 : 109-42.
 36. Koh JY, Choi DW. Vulnerability of cultured cortical neurons to damage by endotoxins, Differential susceptibility of neurons containing NAPH-diaphorase. J Neurosci. 1993 ; 8 : 2153-63.
 37. 이정현, 김이화, 이은용. 耳鍼刺戟이 絶食 Stress로 인한 흰쥐의 大脳皮質 NADPH-diaphorase 神經細胞에 미치는 影響. 대한침구학회지. 2001 ; 18(2) : 19-90.
 38. Hope BT, Michael GJ, Knigge KM, Vincent SR. Neuronal NADPH diaphorase is a nitric oxide synthase. Proc Natl Acad Sci. 1991 ; 88 : 2811-4.
 39. Dawson TM, Bredt DS, Fotuhi M, Hwang PM, Snyder SH. Nitric oxide synthase and neuronal NADPH diaphorase are identical in brain and peripheral tissues. Proc Natl Acad Sci. 1991 ; 88 : 7797-801.
 40. 安榮基. 經穴學叢書. 서울 : 成輔社. 2000 : 234-5.