

# 슴곡(LI4)의 고주파 온침 자극이 흰쥐의 足踝 關節炎에 미치는 효과

박상연, 권오상, 최원종, 김재효, 김경식, 손인철, 안성훈

圓光大學校 韓醫科大學 經絡經穴學敎室

## Effects of High Frequency Warm Needling of LI4 Acupoint on the Carrageenan-induced Arthritis in Rats

Sang Yeon Park, Oh Sang Kwon, Won Jong Choi, Jae Hyo Kim, Kyung Sik Kim, In Chul Sohn, Seong Hun Ahn

Dept. of Meridian & Acupoint, College of Korean Medicine, Wonkwang University

### Abstract

**Objectives:** The warm needling technique is a method which combines the effects of acupuncture with those of moxibustion. The purpose of this study was to find the stimulus effects of a high frequency warm needling device when stimulating acupoint LI<sub>4</sub> on the carrageenan-induced arthritis.

**Methods:** This study was to observe the effects to edema reaction, WBF(weight bearing force), NO concentration, nNOS expression after the electro high frequency stimulus of high frequency warm needling device on LI<sub>4</sub> with insulated acupuncture needle.

**Results:** The effect of the high frequency warm needling device is to rise up the temperature in proportion to the current intensity. After stimulating on the acupoint LI<sub>4</sub> of the carrageenan-induced arthritis in rats with the high frequency warm needling device, it significantly reduced edema in the rat's foot. In addition, WBF, NO concentration of spinal cord (nmol/mg), and nNOS relative expression were reduced.

**Conclusions:** The above results support the idea that stimulus by the high frequency warm needling device on LI<sub>4</sub> produces a potent analgesic effect in the arthritis pain model of the rat. Moreover, stimulus by the high frequency warm needling device modulates endogenous NO through the suppression of nNOS protein expression.

**Key words:** high frequency warm needling, acupuncture, carrageenan induced arthritis.

## 1. 서 론

溫鍼이란 毫鍼을 혈위에 刺入한 후 침병 끝 부분에 애유를 얹어 뜸을 시행하는 방법으로, 經脈을 소통시키며 氣血을 잘 돌게 하

는 치료방법이다. 灸溫鍼<sup>1)</sup>, 溫灸鍼<sup>2)</sup>, 溫鍼灸<sup>3)</sup>로도 기록되어 있으며, 風濕性 질환이나 寒性 질환에 이용될 수 있다<sup>4,5)</sup>. 임상적으로는 風濕疾患, 寒性傾向이 강한 질병을 위주로 효과를 보이며, 關節의 酸痛, 四肢의 冷感이나 痲痺, 形체의 虛寒, 便溏, 腹脹 등 증에 응용될 수 있다<sup>6)</sup>.

슴곡(LI4)은 수양명대장경의 原穴로 임상

· 교신저자: 안성훈, 전북 익산시 신용동 344-2 원광대학교 한의과 대학 경락경혈학교실 Tel. 063-850-6448, Fax. 063-857-6485, E-mail : [drpoint@wonkwang.ac.kr](mailto:drpoint@wonkwang.ac.kr)

· 본 연구는 2008년도 보건복지가족부의 한의약선도기술개발사업(B080013)의 지원을 받아 수행된 연구임.

· 투고 : 2009/05/27 심사 : 2009/06/11 채택 : 2009/06/23

상 經筋病을 다양한 영역의 질환에 응용되어 왔다<sup>7,8)</sup>. 최근의 습곡에 관한 연구에서, 습곡 자침이 동통 억제에 유의한 효과가 있음을 보고하며<sup>9,10)</sup>, 이러한 동통억제 효과는 naloxone에 의하여 소실됨으로 보아 내원성 진통억제 기전이 자침의 진통효과 기전일 것이라고 추정하였다.

관절염은 주로 痺證의 범주에 속하고<sup>11)</sup>, 歷節風, 鶴膝風, 痛風, 痛痺, 風痺, 白虎風, 走注疼痛 등의 異名을 가지며<sup>12)</sup>, 전신의 관절에 疼痛, 紅腫, 變形 등을 일으킬 수 있는 질환이다<sup>13)</sup>.

고주파전류(high frequency current)란 10KHz 이상의 교류전파를 말하며, 인체조직에 통전시킬 때 이온운동이 거의 일어나지 않아 전기화학적반응(electrochemical reaction)이 없고, 빠른 진동 전류 에너지는 열에너지로 변환되는 특징이 있다. 정상근을 자극시킬 수 있는 맥동기간은 1ms 정도이나 고주파전류의 맥동기간은 0.001ms에 지나지 않아 감각신경 및 운동신경을 자극하지 않기 때문에, 불편감이나 근수축을 일으키지 않으면서 신체조직 안의 특정 부위를 가열할 수 있어, 1900년 Riviere가 피부암 치료에 사용한 이후 의료용으로 많이 이용되어 왔다<sup>1)</sup>.

본 연구는 고주파 전기 자극으로 발생되는 온열자극이 온침요법의 열자극과 유사하며, 습곡의 온침자극은 진통억제와 혈류량 증대에 의한 관절염 치료효과가 있을 수 있다고 가정하여 carrageenan으로 족과 관절염을 유발한 후 습곡 상응부위에 고주파 온침자극을 하여 부종, weight balance, 산화

질소(NO) 등 관절염 관련인자의 변화를 관찰한 후 유의성이 있다고 사료되어 보고하고자 한다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험동물

실험동물은 6주령 170-190g Sprague-Dawley계 흰쥐 수컷 (Samtako's Sam : TacN (SD) BR, Korea)이 사용되었다. 동물은 온도 22±1℃, 상대습도 55±10%의 조건에서 12시간 주야로 주기를 바꿔주면서 한 케이지에 3-4마리씩 soft bedding으로 사육하였다. 동물들은 실험 시작하기 전 적어도 5일 동안 이러한 환경에서 적응하면서 사육되었다. 실험하기 전과 실험 기간 동안 동물들은 사료와 물을 자유롭게 먹을 수 있도록 하였다.

### 2. 고주파 온침자극

원광대학교 한의과대학 경혈학교실과 (주)사이버메디사에서 공동으로 고주파 온침 자극기기 시제품을 제작하였다(2008년 한의약 선도기술개발사업 지원). 고주파 온침 자극기는 독립적인 6채널의 sine파 출력을 내보낸다. 온침 자극기는 시스템 전체를 제어하는 마이크로컨트롤러(ATmega128)와 독립적인 각 채널을 제어하는 마이크로컨트롤러(AT90S8535)를 통해 절연침에 고주파 자극을 전달하는 출력모듈로 구성된다. 출력 모듈의 발진은 저항동조발전기(CG-202-R3)를 이용해 100KHz~1MHz의 가변 sine파를 생성

하였고, 연산증폭기(OP-AMP) LM837N을 이용해 sine파를 증폭하였다. 각 단계별(1, 2.5, 5, 10, 20mA) 정전류는 MJE 13007과 개별 저항의 선택스위치를 통해 전류를 설정하였다(Fig. 1). 단자의 구성은 원하는 위치에 삽입하여 고주파 자극을 전달하는 출력부와 접지 역할을 하는 표면전극부로 제작하였다.



Fig. 1. A prototype of high frequency warm needling device (A) and teflon coated stainless steel acupuncture needle (B). Arrows indicate un-coated regions which is needle tip (1mm) and top of needle (3mm) connected to device.

### 3. 절연침

침은 0.30 × 40mm stainless-steel 재질의 침(Woojin acupuncture, INC)을 생체에 무해한 teflon 코팅하여 절연하였다. 코팅 부위는 침체의 말단 1mm 길이와 침병의 말단 3mm 길이를 제외한 모든 부위가 되도록 하였다. 침체의 말단은 穴位에 작용하도록, 침병의 말단은 전기 연결을 하도록 코팅에서 제외하였다. 코팅 절연 후 침체의 두께는 0.35±0.0mm 이었다(Fig. 1).

### 4. 관절염 유도

enflurane(Ilsung pharmaceuticals, Seoul,

Korea)과 O<sub>2</sub> 혼합가스로 마취된 상태에서, 실험군에는 생리식염수에 녹인 2% λ-carrageenan (Sigma, St. Louis, MO, USA) 50μl를 26G x 1/2 Profi Syringe로 申脈(BL<sub>62</sub>) 부위에 주입하여 관절염을 유발하였고, 대조군에는 생리식염수를 주입하였다. 주입 후 마취를 중단하였으며, 시술 받은 쥐들은 모두 5~10분 내에 마취에서 회복되었다.

### 5. 고주파 온침 자극

고주파 온침기의 주파수는 300KHz로 고정되었으며, 전류는 1mA, 2.5mA, 5mA, 10mA, 20mA 중 선택할 수 있도록 제작하였다. 본 실험에서는 enflurane을 이용하여 호흡 마취한 후 10mA의 전류로 15분간 자극하였다. 건측의 습습에 온침 자극을 하는 경우에는 carrageenan을 주입하여 관절염을 유발한지 3시간 후에 이루어졌다.

### 6. 적외선 체열 촬영

고주파 온침 자극기에 의한 온침 자극 정도를 적외선 체열진단기를 이용하여 측정하였다. 신선한 豚肉을 4시간 정도 상온에서 보관하여 실온과 일치시킨 후, 돈육의 표면에서 약 1mm 깊이로 절연침을 횡자하였다. 체열진단기는 원광대학교 한의과대학 경혈학교실에 설치된 컴퓨터 적외선 전신 체열촬영기(Digital Thermography IR200, MERIDIAN, KOREA)를 사용하였다. 적외선 체열촬영은 외부로부터 빛과 열이 차단되고 습도가 낮으며 실내기류가 일정하고

항온상태(21-25℃)를 갖춘 원광대학교 한의과대학 경혈학 실습실에서 실행하였다.

## 7. 온도 측정

돈육을 약 2 × 2 × 7cm 크기로 잘라 양 옆에 나무 설압자를 이용하여 고정용 나무판을 붙인 후 노출된 절단면에 약 0.5~1mm 깊이로 절연침을 횡차하였다. 이때 침체의 윗부분 1cm는 공기 중에 노출되었다. 돈육의 밑면에는 젤 상태의 표면전극을 붙이고 鉞尾에는 자석으로 된 전극을 붙인 후 20분간 고주파 자극을 가하며 적외선 온도계 Testo 845(테스토코리아, 한국)를 이용하여 온도변화를 관찰하였다.

## 8. 부종치 측정

저울 위에 물 100ml이 담겨있는 비커를 올려놓고 백서의 발목을 물에 담가 비커의 무게가 증가하는 것을 통해 발목의 부종 정도를 측정하였다. 정확한 부피를 측정하기 위해 足外踝에서 5mm 상부에 선을 그어 기준으로 잡았다.

## 9. 동물행동치 측정

동물을 투명한 아크릴로 만든 긴 통로(폭 10 cm, 높이 10 cm, 길이 60 cm)를 자유스럽게 걷게 하고, 통로 바닥의 절반에 전자저울(Acculab, Pocket pro 250-B, Newton, PA, USA)을 설치하여 한쪽 발이 디디는 압력만을 측정하였다. 전자저울에서 나오는 전기신호는 압력의 변화를 전압의 변화로 보여주

는데 이를 CED(1401 plus)에 연결하여 spike 2 프로그램(Cambridge Electronic Design Ltd, UK version 4.12)으로 전압의 변화를 관찰하였다. 발이 디는 압력(Weight Bearing Force; WBF)은 총 회복률(Full Recovery Rate; FRR)로 변환하여 측정값으로 사용하였다. 관절염 유발 후 일정한 시간마다 측정하였으며, 모든 행동검사는 각 측정 시간마다 3회 실시하여 평균값을 취하였으며, 맹검법으로 시행하였다.

## 10. 단백질의 분리 및 정제

척수에서 NO, nNOS 발현을 측정하기 위하여 대조군, carrageenan 유발성 관절염 실험군, 관절염에 고주파 온침 자극을 한 실험군의 동물들을 chloralhydrate 250 mg/kg으로 마취하고 pH 7.4의 phosphate buffered saline(PBS) 용액으로 심장관류하여 혈액을 제거한 후 신속히 척수를 박리하였다. 박리된 척수는 dry-ice powder에 신선하게 얼려 사용할 때까지 -80 °C에 보관하였다. 보관된 척수에 homogenization buffer 3ml을 가하여 homogenizer로 15초 같고 10초 쉬는 행위를 3회 반복하여 균질화 시킨 후, 3,000×g로 10분 동안 원심분리시켰다. 상층액을 분리하여 ependorf tube에 담아서 사용할 때까지 -80 °C에 저장하였다.

## 11. 산화질소(NO) 정량

척수조직내 NO 생성량을 측정하기 위하여 Griess 시약을 이용하여 안정된 마지막 산물인 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>와 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>에 대해서 분석하였다.

척수 단백질 샘플 40  $\mu$ l와 MOPS buffer (50 mM MOPS/1 mM EDTA, pH 7.0) 45  $\mu$ l를 혼합하고 reconstituted E.coli nitrate reductase (500  $\mu$ l MOPS buffer에 1 unit nitrate reductase가 용해된 농도) 5  $\mu$ l를 가한 후 2 mM NADH 10  $\mu$ l를 가하여 20분 동안 실온에서 반응시켰다. 그 후 50  $\mu$ l Griess reagent A (1% sulfanilamide in 3N HCl)와 짧게 반응시키고, 50 $\mu$ l Griess reagent B (0.1% N-(1-naphthyl) ethylenediamine, 2HCl)와 혼합하여 실온에서 5분간 반응시킨 후, purple azo dye가 생성되면 30분 이내에 Microtiter plate reader를 이용하여 540 nm에서 흡수율을 측정하였다. Nitrite 농도의 표준곡선은 NaNO<sub>3</sub>로부터 계산되었다.

## 12. Western blotting에 의한 nNOS 분석

척수에서 분리된 단백질 시료를 5배 농축된 SDS sample buffer (1×125mM Tris-HCl, pH 6.8, 2% SDS, 5% glycerol, 0.003% bromophenol, 1%  $\beta$ -mercapto ethanol)와 섞어서 98 °C에서 5분간 끓인 후 10,000rpm에서 5~10초간 원심분리 한다. polyacrylamide gel에서 전기영동을 한 후, polyvinylidene difluoride membrane에 electrotransfer시킨다. Membrane은 실온에서 blocking buffer (TBS-T에 5% skim milk, 10% NaH<sub>3</sub>를 포함)에 반응시키고, anti-nNOS antibody를 1:1,000으로 하여 1시간 동안 반응시킨 후 4 °C에서 밤새 incubation한다. Membrane을 TBS-T로 3번 10분씩 세척한 후, 실온에서 alkaline

phosphatase-conjugated secondary antibody (Anti-rabbit IgG)와 2시간 동안 반응시키고 TBS-T로 3번 10분씩 세척한다. Develop은 실온에서 NBT/BCIP solution (Sigma, St. Louis, LO, USA)에 5분 동안 반응시켜 발색하였다.

## 13. 통계분석

데이터는 Mean  $\pm$  S.D.으로 나타내었다. 통계검사는 Origin 6.0 프로그램을 이용하여 paired 또는 unpaired t-test를 실시하였다. p값이 0.05 보다 작으면 통계적으로 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

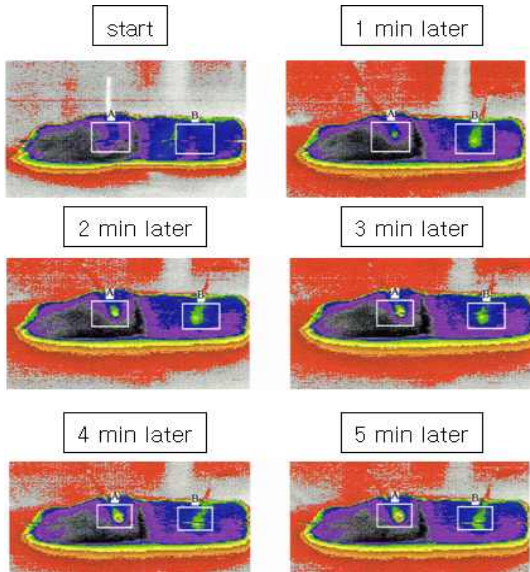
## III. 연구 결과

### 1. 고주파 온침 자극에 의한 근육 조직의 온도 변화

고주파 온침 자극시 발생하는 온도변화를 살펴보기 위해 전류량을 달리하여 300 KHz 10 mA 또는 300 KHz 20 mA로 자극하였을 때 나타나는 온도의 변화를 1분후, 2분후, 3분후, 4분후, 5분후에 각각 관찰하였다(Fig. 2).

초기 둔육의 표부는 차가운 온도인 청자색이었으나, 1분이 지나자 20 mA인 B의 조건에서 밝은 연녹색으로 관찰되었다. 2분이 지나면서 10 mA인 A부위의 온도도 증가하여 중심부에 밝은 노란색이 관찰되었으며, B부위에는 좀 더 넓은 면적에 녹색과 밝은 노란색이 관찰되었다. 3분 후에는 A부위에 밝은 노란색의 면적이 더 넓어졌으며 연녹

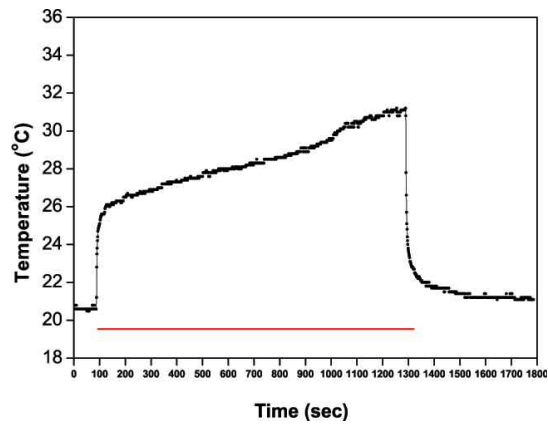
색의 범위도 다소 넓어진 경향이 보였다. 하지만 B의 경우 오히려 노란색이나 연녹색의 범위가 다소 줄어들었다. 4분 후에는 A부위에서 붉은 반점이 관찰되었으며 이것은 鍼尖部로 확인되었다. 그 주위로는 노란색이 관찰되어 열이 점점 중앙부위에서 보다 높게 나타나며, 이 열이 주위로 퍼져나가면서 작아지는 원추형 모양으로 전달됨을 알 수 있었다. B부위에서는 침 상부로까지 이어지는 연녹색이 관찰되었으나 침침 중앙부위에서의 열이 집중되는 현상은 관찰되지 않았다. 5분 후에 관찰된 모습은 4분 후의 모습과 큰 차이가 없었다.



**Fig. 2. Thermal changes induced by the stimulation of high frequency warm needling device in DITI.**

Teflon was used to insulate an acupuncture needle ( $\Phi$  30, L 40) except for the ends. The needle was pricked superficially into the porcine muscle. Thermal changes were observed by DITI at room temperature(21-25°C). The porcine muscle layer was used for acupuncture stimulation by high frequency warming needling device. It was left alone for 4 hours at room temperature to prevent thermal changes to the superficial layer. Left square (A) is shown for 300 KHz, 10 mA and right square (B) is for 300 KHz, 20 mA.

이러한 고주파 온침 자극시 발생하는 실제 온도 변화를 관찰하기 위하여 약 100초간 안정화 시간을 두어 실온과 동일한 상태(약 21°C)에서 고주파 온침자극을 실시하였다. 고주파 온침자극 직후 온도가 상승하였고, 그 후에는 완만한 상승곡선을 그리며 약 20분간의 고주파 온침자극에서 상승한 온도는 31°C내외로 약 10°C의 온도 상승이 나타났다(Fig. 3).



**Fig. 3. Thermal changes induced by high frequency warm needling device on the muscle tissue.**

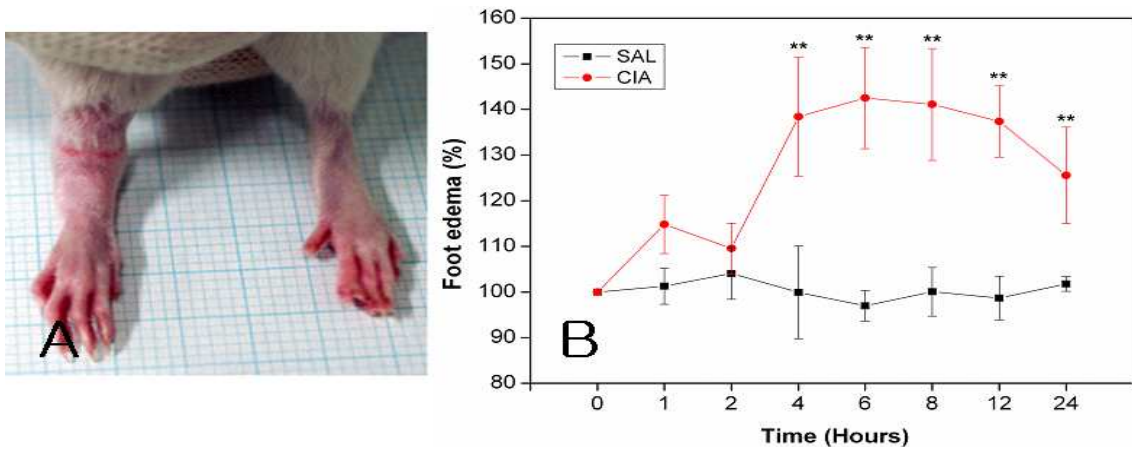
## 2. 고주파 온침 자극 후 족과 관절염으로 발생한 부종의 변화 관찰

$\lambda$ -carrageenan을 주입된 족과 관절부위에서 4~6시간 후 發赤과 함께 부종이 관찰되었다(Fig. 4 A).

족과 관절염 유발 후 나타나는 부종수치의 변화를 확인하기 위해 SAL(saline)군은 우측의 족과 부위에 생리식염수를 주입하였고, CIA(carageenan-induced arthritis)군은 carrageenan을 주입하였다. SAL군은 1시간 후에 101.27±3.94%로 나타났으며, 2시간

후에는 104.07±5.65%로 나타났다. 4시간 후에 99.94±10.14%로 나타났으며, 6시간 후에는 96.99±3.35%로 나타났다. 8시간 후에는 100.06±5.31%로 나타났으며, 12시간 후에는 98.71±4.79%로 나타났다. 24시간 후에는 101.77±1.59%로 관찰되어 전체적으로 큰 수치변화는 없었다. CIA군은 1시간 후에 111.80±6.38%로 나타났고, 2시간 후에 109.54± 5.56%로 나타났다. 4시간 후에는 138.38±13.02%로 관찰되어 이때부터 SAL군에 비해 통계적으로 유의성 있는 수치변화가 나타났다. 6시간 후에는 142.46±11.06%, 8시간 후에는 141.08± 12.26%, 12시간 후에는 137.37±7.82%, 24시간 후에는 125.35±10.57%로 관찰되었다. 실험 시작 후 약 4시간 후부터 8시간 전후까지 부종수치가 최대값을 형성하는 것으로 확인되었으며, 최대로 약 45% 증가함을 알 수 있었다(Fig. 4 B).

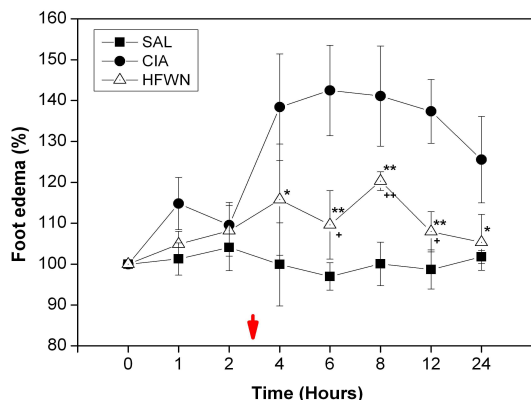
HFWN(high frequency warm needling stimulus at LI4 in carrageenan-induced arthritis)군은 1시간 후에 104.87±3.17%로 나타났으며, 2시간 후에는 108.16±6.22%로 나타났다. 4시간 후에 115.77±13.58%로 나타났으며, 6시간 후에는 109.59±8.36%로 나타났으며, 8시간 후에는 120.30±2.30%로 나타났으며, 12시간 후에는 107.93± 4.92%로 나타났고, 24시간 후에는 105.35±6.8%로 나타났다(Fig. 5). HFWN군은 CIA군과 비교하였을 때, 4시간 후부터 부종 수치가 유의성 있게 감소되었으며(\*; p<0.05), 6시간(\*\*; p<0.01), 8시간(\*\*; p<0.01), 12시간(\*\*; p<0.01), 24시간(\*; p<0.05)에도 지속적으로 유의성 있는 차이를 보였다. HFWN군을 SAL군과 비교하였을 때, 6시간 후(+; p<0.05), 8시간 후(++; p<0.01), 12시간 후(+; p<0.05)에는 유의성 있는 차이가 있었다. 그러나 24시간째에는 SAL군과 유의성



**Fig. 4. The edema effects (A) and time dependent edema effects (B) in carrageenan-induced arthritis in rats.**

A: The right ankle shows a severe edema 4 hours after the injection of λ-carrageenan. B: 2% λ-carrageenan 50μl was injected into the right ankle of the rats (CIA, n=12). For control (SAL, n=6), saline 50μl was injected into the same point in the rats. Data was calculated to percent(%) and plotted each hour from the beginning. \*\*, p<0.01.

있는 차이가 나타나지 않았다(Fig. 5).



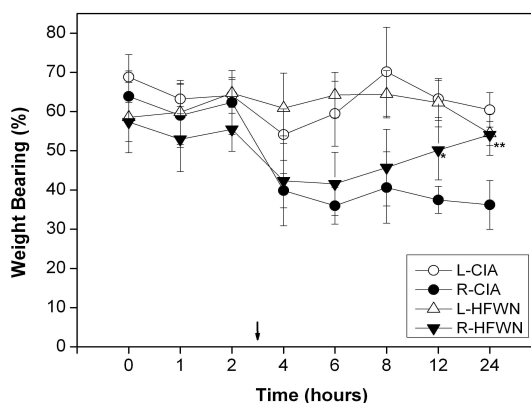
**Fig. 5. The effects of high frequency warm needling device stimulus of LL<sub>4</sub> on foot edema in the carrageenan-induced arthritis of rats.**

The teflon-insulated needle was pricked vertically into the left LL<sub>4</sub> and stimulated for 15min. The rats were anesthetized with enflurane 3%, O<sub>2</sub> 97%. All of the rats were anesthetized within 30 sec from the starting points and returned to consciousness within 5 min from the finishing points. The rates of the edema were checked rapidly after finishing acupuncture. Data was calculated to percent(%) and plotted each hour from the beginning. \*, p<0.05, \*\*, p<0.01, HClA vs CIA. +, p<0.05, ++, p<0.01, HFVN vs SAL, t-test. (SAL n=6, CIA n=12, HFVN n=6)

### 3. 습윤 고주파 온침 자극이 WBF 변화에 미치는 영향

습윤에 온침 자극한 HFVN군에서, carrageenan을 주입한 직후의 정상측인 좌측 하지(L-HFVN)와 관절염이 발생한 우측 하지(R-HFVN)에서의 WBF는 각각 59%와 57%로 큰 차이가 없었다. 그러나 1시간 후엔 우측이 약 53%로 감소하였고, 2시간 후에도 점차 WBF가 감소하였다. 3시간째에는 건측 습윤 부위에 고주파 온침 자극을 실시한 후 1시간 쯤 관절염을 유발한 환측 하지의 WBF는 약 42%으로 크게 감소하였다. 그러나 이는 온침자극을 하지 않은 대조군

(R-CIA)에서도 동일하게 WBF가 감소하는 것을 보여주고 있다. 이러한 WBF의 감소는 온침자극을 받은 실험군에서 대조군(R-CIA)에 비하여 비교적 빠르게 회복되어, 온침자극 후 9시간이 경과한 12시간 쯤 약 50%(\*; p<0.05)였으며, 21시간이 경과한 24시간 쯤 약 54%\*\*; p<0.01)로 대조군보다 WBF의 회복이 유의성 있게 나타났다(Fig. 6).



**Fig. 6. The stimulus effects of high frequency warm needling device when stimulating acupoint LL<sub>4</sub> on WBF in the carrageenan-induced arthritis.**

The L-CIA and R-CIA represent the left and right foot respectively in the carrageenan-induced arthritis(n=12). The L-HFVN and R-HFVN also represent the left and right foot respectively in the carrageenan-induced arthritis with warming needling at the left LL<sub>4</sub> (n=6). Notations are the same as the previous figures. \*, p<0.05, \*\*, p<0.01, R-HCIA vs R-CIA.

### 4. 습윤 고주파 온침 자극이 흰쥐 척수의 NO 농도 및 nNOS 발현에 미치는 영향

습윤 고주파 온침 자극이 흰쥐 척수의 NO 농도에 미치는 영향을 관찰하기 위해 생리식염수를 주입한 SAL군, 관절염 유발



한 CIA군, 관절염을 유발한 후 건측의 슝슴에 고주파 온침 자극을 한 HCIA군 각각의 동물들에서 분리한 척수에서 NO 농도를 분석하였다(Fig. 7). CIA군( $28.75 \pm 2.06$  nmol/mg)은 SAL군( $15.93 \pm 0.94$  nmol/mg)에 비해 NO의 생산이 유의하게 증가하였으며(\*\*;  $p < 0.01$ ), HFWN군( $19.26 \pm 1.32$  nmol/mg)은 CIA군( $28.75 \pm 2.06$  nmol/mg)에 비해 NO의 생산이 유의하게 감소하였다(++;  $p < 0.01$ ).

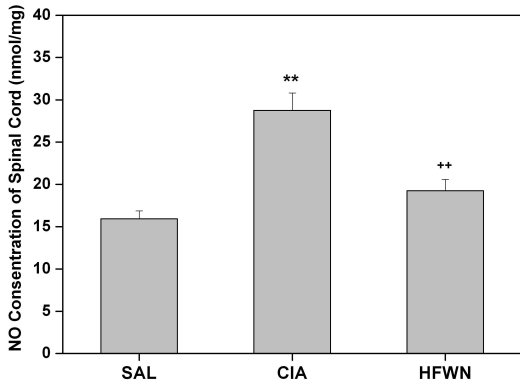


Fig. 7. The effects of high frequency warm needling device stimulus of L4 on nitrite/nitrate levels of spinal cord in the carrageenan-induced arthritis.

NO production in the spinal cord was measured by Griess reaction assay. SAL is for saline injection, CIA for carrageenan-induced arthritis (n=6), and HFWN for warming needling at L4 in carrageenan-induced arthritis (n=6). \*\* ;  $p < 0.01$ , SAL vs CIA, ++ ;  $p < 0.01$  CIA vs HFWN.

슴슴 고주파 온침 자극이 척수의 nNOS 발현에 미치는 영향을 관찰하기 위해 생리 식염수를 주입한 SAL군, 관절염 유발한 CIA군, 관절염을 유발한 후 건측의 슝슴에 고주파 온침 자극을 한 HFWN군 각각의 동물들에서 분리한 척수에서 nNOS의 발현 정도를 상대적으로 분석하였다(Fig. 8). CIA군( $196.32 \pm 18.33\%$ )은 SAL군( $101.00 \pm 9.85\%$ )에

비해 nNOS의 발현이 유의하게 증가하였으며(\*\*;  $p < 0.01$ ), HFWN군( $143.75 \pm 10.29\%$ )은 CIA군에 비해 nNOS의 발현이 유의하게 감소하였다(++;  $p < 0.01$ ).

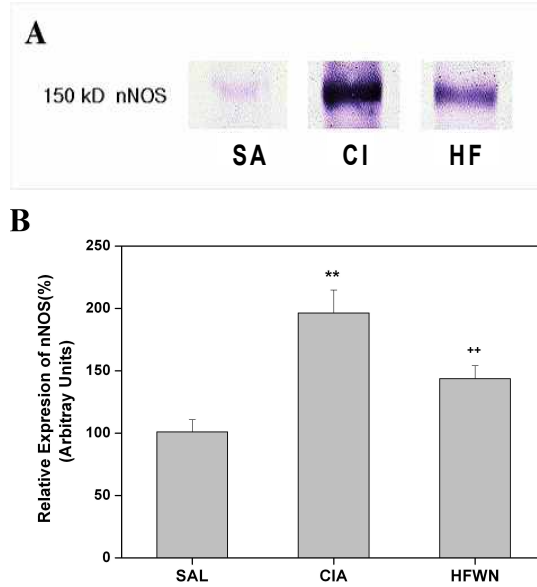


Figure 8. Western blotting (A) and densitometric analysis (B) of nNOS expression of spinal cord in the carrageenan-induced arthritis. Notations are the same as the previous figures.

\*\* ;  $p < 0.01$ , SAL vs CIA, ++ ;  $p < 0.01$ , CIA vs HFWN.

#### IV. 고찰

溫鍼은 『鍼灸大成』<sup>14)</sup>에서 “王節齋曰 : 近有爲溫鍼者, 乃楚人之法. 其法鍼穴上, 以香白芷作圓餅, 蓋鍼上, 以艾灸之, 多以取效. 然古者鍼則不灸, 灸則不鍼. 夫鍼而加灸, 灸而且鍼, 此後人俗法. 此法行于山野貧賤之人, 經絡受風寒致病者, 或有效, (중략) 近見衰弱之人, 鍼灸并用, 亦無妨”라 하여, 침과 뜸을 함께 사용하는 치료법으로서 종래의 치료법과 다른 새로운 방법이며, 虛證에 사용하는 데에

는 큰 문제가 없으나, 기운을 소통시키는 정도의 치료법이므로 誤用하지 않기를 권하고 있다. 『鍼灸大成』에서 언급한 楚人이라 함은 장중경선생을 지칭할 수도 있을 만큼 <傷寒論>에서는 온침에 대한 기록이 세 번이나 나타난다<sup>15)</sup>. “17조. 太陽病三日 已發汗若吐 若下 若溫針 仍不解者 此爲壞病 (생략)”, “126조. 太陽傷寒者 加溫針 必驚也”, “274조. 本太陽病不解 轉入少陽者 (중략) 與小柴胡湯 若已吐下 發汗 溫針 譫語 柴胡證罷 此爲壞病 知犯何逆 以法治之.”이라 하여 온침을 치료술로 사용했던 예를 보이고 있으나 구체적인 방법은 제시하지 않았고, 잘못 사용했을 때의 弊症에 대하여 주로 언급을 하고 있다. 즉, 溫通經脈, 行氣活血의 기능을 이용하여 寒濕凝滯, 氣血痺阻의 寒證을 치료하되 太陽傷寒 등의 증세에 조심해서 사용하라는 내용이다. 또한 임상적으로는 애용의 아래 부분을 착화시켜 熱氣가 穴位를 향하도록 하면 복사열까지 직접 가해져서 더 큰 加溫 효과를 보인다고 알려져 있다<sup>6)</sup>.

온침과 관련한 최근의 연구에서, 임<sup>16)</sup>은 방사선 피폭에 의한 면역기능저하에 氣穴, 腎俞, 足三里에 대한 온침자극이 백혈구수 증가, T세포와 B세포의 증가, 임파구 증식 증가, 자연살해세포 활성화 증가, IL-2 증가의 연구결과를 보고하며 온침의 면역기능 증가 효과를 보고 하였다. 이러한 결과는 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ 가 증가됨에 따라 NO의 생성 또한 증가된다는 성<sup>31)</sup> 등의 연구결과를 고려해 볼 때, 본 실험의 연구결과와 일맥상통한다고 말할 수 있다. 또한, 김 등<sup>17)</sup>은 온침의 보행 장애와 배뇨장애 개선효과를 보

고 하였다. 최 등<sup>18)</sup>은 온침에서 침 재질은 은>금>동>텅스텐>스테인레스 스틸 침의 순서로 열전도가 좋은 것으로 보고하였다.

『素問 · 陰陽應象大論』에서 “寒傷形 熱傷氣 氣傷痛 形傷腫”이라 하였고, 『素問 · 舉痛論』에서는 “經脈 流行不止 環周不休 寒氣入經而稽遲 泣而不行 客於脈外則血少 客於脈中則氣不通 故卒然而痛”이라 하여, 臟腑, 經絡, 器官, 組織의 氣機가 교란을 받아 氣血 運행이 暢通하지 못하면 疼痛생긴다고 하였다<sup>19)</sup>. 따라서 諸痛皆因于氣이며 不通則痛, 氣塞則痛이므로 通氣시키면 통증을 제어할 수 있고, 經筋病의 치료는 患處를 순행하는 經絡과 接經이 되는 經絡을 취하여 巨刺法을 시행할 때 치료 효과가 크므로<sup>20)</sup>, 通經活絡시키고 鎮痛安神시키는 穴性을 가진 대표적인 通氣穴인 合谷(LI4)<sup>7,8)</sup>을 취하되 健側에서 취하여 關節염 치료에 이용 가능한지를 실험하였다.

이와 관련하여, 艾絨을 사용한 溫鍼 실험에서 健側 合谷에 시술한 온침 자극이 carrageenan으로 유발된 關節염에 진통효과를 나타낸다고 보고하였다<sup>21)</sup>. 진통 효과는 naltrexone이나 phentolamine 등의 치료로 진통 효과를 억제할 수 있음을 관찰하여, 온침의 진통 기전은 opioid와  $\alpha$ -adrenoceptor를 매개하여 얻어지는 것으로 판단하였다. 본 실험에서는 고주파 온침을 사용할 때 건측 合谷이 關節염 치료에 효과적인지를 부중, weight balance, NO 및 nNOS의 농도 변화 등 염증에 관한 세부적인 항목에서 확인하여, 유의한 치료 효과가 나타나는 것으로 확인하였다.

1886년 Hertz가 특정한 방법으로 고주파 전류를 사용하는 진동전류발생 방법을 제시한 후, 1893년에 Oudin은 건선치료를, 1900년 Riviere는 피부암치료를, 1908년 von Zeyneck은 von Berndt, von Preiss 등과 함께 관절질환을 치료하여 발표하였으며, 1923년 Wyeth는 고주파전기칼(cutting current apparatus)을 개발하여 의료용 기기로 발전하였다<sup>1)</sup>. 고주파 전기 치료법은 근수축이 발생하지 않고, 생체내에서 전기분해 등의 전기화학적 변화도 일으키지 않는 장점을 가지고 있으므로 현재 다양한 치료의 의료기 형태로 발전하였다<sup>25)</sup>. 본 실험에서는 300KHz의 전류를 사용하는 온침 치료기 형태로 개발되어 그 효능을 검증받는 중이다.

혈관 평활근 이완 인자로 처음 알려진 NO(nitric oxide)는 세포간 messenger 역할 뿐 아니라 염증 매개 물질로서도 여러 가지 작용을 한다. NO는 NOS(nitric oxide synthase)에 의해 만들어지는데, NOS에는 두 가지가 있다. 하나는 내피세포 및 신경세포에 들어 있는 효소(eNOS, nNOS)로서 세포질 안의  $Ca^{2+}$ 이 증가하면 calmodulin의 도움을 받아 NO를 합성한다. 다른 하나는 대식 세포에 존재하는 효소(iNOS)로서 TNF- $\alpha$ 와 interferon- $\gamma$ 와 같은 cytokine에 의해 새로 만들어져서 NO를 합성한다<sup>13)</sup>.

Carrageenan에 의해 관절염이 유도되면 발적, 부종, 발열감과 같은 국소 염증반응이 발생할 뿐만 아니라, C-fiber에서 높은 진동수의 신경방전이 생긴다. 이러한 높은 진동수의 신경 방전은 구심성 신경섬유의 중추 종말로부터 glutamate와 neurokinin 등을 방

출시킨다<sup>26)</sup>. glutamate에 의해 NMDA 수용체가 활성화되고, 흥분성 시냅스 전위가 발생하여 NMDA 수용체를 차단하고 있던 전압 의존성  $Mg^{2+}$ 이 제거되면, 중추신경세포 내로  $Ca^{2+}$ 이 유입되어 nNOS를 활성화시키고 NO를 방출하게 되는데, NO는 cGMP를 증가시켜 guanylyl cyclase를 활성화시킨다<sup>27-29)</sup>.

이러한 nNOS의 활성화는  $Ca^{2+}$ 을 유입하고 동원시키는 시냅스후 신경전달물질 수용체에 달려 있을 뿐만 아니라, 전압 의존성  $Ca^{2+}$  통로를 통해  $Ca^{2+}$  유입을 유도하는 시냅스전 신경의 활동전위에 달려있다. 그러므로 carrageenan 유도성 관절염은 primary afferent에서 지속적인 자극에 의해 계속적인  $Ca^{2+}$  유입과 NO를 생성시킬 수 있는 염증모델이다<sup>30)</sup>.

본 실험은 우측 신맥 부근에서 carrageenan을 이용한 관절 염증을 유발하고, 좌측 습곡에 고주파 온침을 사용하여 염증의 완화를 관찰하였다. 우선 고주파 온침 자극기를 구성도에 따라 제작하였다. 전류량을 조절할 수 있는 장치지만 본 실험에서는 300 KHz sine파형의 10 mA, 20 mA 전류가 발생하도록 조정하여 작동시켰다. 일반침의 경우는 근육 심부에까지 열전달이 어렵고 피부 표면에서만 온도가 상승하였으므로, 특정 깊이까지 열손실 없이 자극을 전달하기 위해 절연침을 고안하였다.

적외선 체열진단기를 이용하여 온도의 상승여부를 관찰한 결과 10 mA보다는 20 mA에서 온도가 더 상승하였고 면적도 넓었음을 관찰할 수 있었으며, 절연되지 않은 침침 부

위에서 온도상승이 이루어졌다. 하지만 20 mA에서는 너무 높게 온도상승이 이루어져 조직의 변성 등이 우려되었으므로 나머지 실험에서는 10 mA로 고정하여 온침자극을 하였다. 실제 온도의 변화를 측정한 실험에서는 고주파 온침 자극기의 온도 상승의 특징을 알 수 있었다. 즉, 자극시작 초반 약 10초 동안 상승이 빠르고 급격하게 이루어지며(약 0.5°C/sec), 그 이후부터는 완만하고 지속적으로 상승이 이루어짐(약 0.004°C/sec)을 알 수 있었다.

관절염 유도 후 건측 습곡에 온침 자극을 한 실험군에서는 4시간(자침 후 1시간) 후부터 CIA군에 비하여 부종 수치가 줄어드는 것으로 나타났으며 이 효과는 24시간까지 유지 되는 것으로 보인다. 따라서 습곡에 대한 고주파 온침 자극이 carrageenan으로 유도된 관절염에 있어 부종수치를 효과적으로 감소시키는 것으로 판단된다.

염증반응에서 나타나는 통증은 실험 동물의 보행시 받는 압력(Weight Bearing Force; WBF)의 변화로 측정하였다. 관절염을 유발하기 전 건강한 흰쥐에서 뒷발에 대한 WBF를 측정한 결과 몸무게의 55~60% 가량의 힘이 가해졌다. 관절염을 유발한 후에는 정상적인 왼쪽 뒷다리의 WBF가 평균 55~60%로 유지되는 것에 비하여, 관절염이 생긴 오른쪽 뒷다리의 WBF는 4시간 후부터 유의성 있게 줄어들고 24시간까지 회복되지 않았다. 건측의 습곡에 고주파 온침자극을 한 군에서의 WBF 변화는 온침 자극 후 9시간에 해당하는 염증 유발 후 12시간

째부터 왼쪽과 오른쪽의 뒷다리에 걸리는 WBF가 차이가 줄어들면서 회복되었다. 관절염을 유발하고 습곡 온침자극은 하지 않았던 군과 온침 자극을 한 군을 비교하면, 12시간 이후부터 고주파 온침이 통증을 줄여 WBF를 유의성 있게 개선시키는 것으로 판단된다.

고주파 온침 자극의 통증 완화 효과가 NO나 nNOS에도 변화를 주는지 확인한 결과, 염증으로 인해 증가된 척수에서의 NO 농도와 nNOS 발현이 유의성 있게 감소되었다. 이것은鎮痛安神시키는 습곡의 효능으로 판단할 수 있으며, 화학적으로는 고주파 전기 자극이 전기적인 혼돈을 야기하여 Ca<sup>2+</sup>이나 Mg<sup>2+</sup> 등의 이온 농도에 변화를 주었거나, 세포막 내외의 전위차(membrane potential)에 영향을 미쳐서, nNOS나 NADPH-diaphorase의 활성 및 발현을 감소시킨 결과라고 가정할 수 있다.

이상의 결과를 종합하면 건측의 습곡에 시행한 고주파 온침 자극은 부종의 억제, 보행시 통증의 완화, 염증 관련 인자의 억제 등 여러 면에서 carrageenan으로 유도한 족과 관절염을 유의성 있게 치료할 수 있는 것으로 사료된다. 앞으로 고주파 온침으로 인한 염증 완화의 구체적인 기전은 더욱 연구해야 할 것으로 보이며, 니켈이나 크롬 등으로 침 재료의 전기저항을 증가시키고 일반 전침기를 사용하는 방법에 대한 연구나 절연방법의 개선에 대한 연구도 필요할 것으로 사료된다.

## V. 결 론

관절염 동물모델에서 健側 습곡(LI4)의 고주파 온침 자극이 관절염에 의해 증가된 부종수치에 미치는 효과, 관절염에 의해 감소된 WBF에 미치는 효과, 척수에서 통증지표 중 하나인 NO 생성 및 nNOS의 발현 양상에 미치는 영향을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 습곡에 대한 고주파 온침 자극은 부종을 감소시키는 유의한 치료효과를 나타내었다.
2. 습곡에 대한 고주파 온침 자극은 WBF의 개선 효과를 나타내었다.
3. 습곡에 대한 고주파 온침자극은 NO 및 nNOS의 생성 및 발현을 감소시켰다.

이상의 결과, 관절염 모델에 있어서 습곡에 대한 고주파 온침 자극이 진통효과와 함께 항염증 작용을 나타내는 것을 보여주었다. 앞으로, 고주파 온침 자극기의 진통기전에 대해서는 더욱 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

## 參考文獻

1. 이재형. 전기치료학. 서울 : 대학서림. 1995 : 437-89.
2. 임종국. 침구치료학. 서울 : 의약사. 1973 : 31-2.
3. 南京中醫學院. 中醫臨床大系(鍼灸學). 京都 : 雄渾社. 1985 : 72.

4. 전국한외과대학 침구·경혈학교실. 침구학(하). 1판. 서울 : 집문당. 1998 : 1017-8, 1048-50.
5. 程寶書 主編. 침구대사전. 북경 : 북경과학기술출판사. 1988 : 280.
6. 吳齡幸 編審. 실용침구학. 台北 : 駝鈴出版社. 1986 : 397-8.
7. 전국한외과대학 침구·경혈학교실. 침구학(상). 4판. 서울 : 집문당. 1994 : 323-5.
8. 손인철, 안성훈, 구성태. 알기쉬운 경혈학. 서울 : 의성당. 2003 : 73-6.
9. 황우준, 박종주. 습곡 침자극이 동통억제에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1998 ; 15(2) : 369-82.
10. 황병천, 황우준, 이건목, 안창수, 나창수. 습곡 혈위 침자와 전기자극이 동통억제에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1999 ; 16(1) : 435-44.
11. 정석희. 痺病의 문헌적 연구. 대한한외과학회지. 1995 ; (16)1 : 10.
12. 朴炳坤. 增補韓方臨床 40年. 서울 : 大光文化社. 1989 : 343.
13. 대한병리학회. 병리학. 5판. 서울 : 고문사. 2003 : 81, 958-63.
14. 침구대성교석. 서울 : 대성문화사. 1996 : 401.
15. 채인식. 상한론역전. 2판. 서울 : 고문사. 2000 : 21, 22, 97, 193, 194.
16. 임사비나. 혈위별 온침이 방서선 피폭에 의한 면역기능저하에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1995. 11(2) ; 191-6.
17. 김우영, 송인광, 이승덕, 박준성. 배뇨이상을 주증으로 한 마비증후군 환자의 온

- 침과 습곡자로 접근한 증례보고. 대한침구학회 임상논문집. 2003 : 8-15.
18. 최귀만, 엄태식. 침재질이 온침의 온도변화에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1992. 9(1) ; 143-51.
19. 程士德 주편. 소문주석회수(상). 북경 : 인민위생. 1982 : 75-81, 549-51.
20. 김경식. 침구치료요감. 서울 : 의성당. 2008 : 219-21.
21. 장재영. 백서의 carrageenan 유발 급성 슬관절염에서 혈위에 따른 온침자극의 효과. 원광대학교 대학원 박사 학위논문. 2007.
22. 김양식. 鍼, 灸 및 斑猫灸가 흰쥐의 Adjuvant 關節炎에 미치는 影響. 경희대학교 대학원 박사 학위논문. 1989.
23. 권오섭. 配合別로 製造된 熊膽·牛黃 藥鍼과 猪膽·牛黃 藥鍼이 흰쥐의 Adjuvant 關節炎에 미치는 影響. 원광대학교 대학원 박사학위논문. 1999.
24. 김필선. 歷節風에 應用된 鍼灸治療에 關한 文獻的考察. 대전대학교 한의학연구소 논문집. 1992. 1(1) : 57-79.
25. Low J, Reed A. Electrotherapy Explained Principles and Practice. London : Butterworth Heinemann. 1990 : 85-90.
26. Woolf CJ. Recent advances in the pathophysiology of acute pain. Br J Anaesth. 1989 ; 63 : 139-46.
27. Garthwaite J, Charles SL, Chess-Williams R. Endothelium-derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggests role as intracellular messenger in the brain. Nature 1988 ; 326 : 385-7.
28. Bear MF, Connors BW, Paradiso MA. Neuroscience exploring the brain. 2nd ed. Baltimore : Lippincott Williams & Wilkins. 2001 :136-7, 146-7, 150-3.
29. Nelson DL, Cox MM. Lehninger principles of biochemistry. 4th ed. New York : Freeman. 2005 : 433-5.
30. Dougherty PM, Palecek J, Paleckova LS, Sorkin LS, Willis WD. The role of NMDA and non-NMDA excitatory amino acid receptors in the excitation of primate spinothalamic tract neurons by mechanical, chemical, thermal, and electrical stimuli. J Neurosci. 1992 ; 12 : 3025-41.
31. 성정훈, 최동희, 김동훈, 전보권, 최상현. 고려인삼에 의한 신경면역 및 염증반응 조절: 백삼사포닌에 의한 교세포에서의 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  및 NO 생성 증가. 고려인삼학회지. 2004 ; 28(2) : 120-6.