

개의 발에 염증 유발 후 전침이 통증역치 및 뇌줄기 큰술기핵의 5-Hydroxytryptamine 합성에 미치는 효과



The Journal Korean Society of Physical Therapy

- 조미숙
- 나사렛대학교 물리치료학과

The Effect of Electroacupuncture on Pain Threshold and 5-Hydroxytryptamine Synthesis Induced by Nociception in the Raphe Magnus Nucleus of Dog Brain Stem

Mi-Suk Cho, PT, PhD

Department of Physical Therapy, Korea Nazarene University

Purpose: The purpose of this study was to investigate the effect of electroacupuncture on pain threshold and 5-HT synthesis in raphe magnus nucleus of dog brain stem following nociception induced by 1% carageenan.

Method: Twenty male dogs were randomly divided into two groups, a control group and an electroacupuncture group with the following parameters: ST36, LI11 and SP9 with 120Hz and 0.5mA. The dogs were sacrificed at 30, 60, 90, 120, 150 and 180 min after nociception using 1% carageenan injection into the plantar side of the dog's left leg. The pain threshold was recorded by an Analgesia-meter. After making brain slice sections, the tissues were immunostained with 5-HT antisera (1:2,500).

Results: The pain threshold for the electroacupuncture group was higher than for the control group. The number of 5-HT immunoreactive neurons in the electroacupuncture group was greater than that of the control group. Differences between the two groups regarding the number of 5-HT immunoreactive neurons at 30 min and 60 min ($p < 0.05$), at 120 min and 150 min ($p < 0.01$), and at 8 days ($p < 0.05$) were significant.

Conclusion: The increases in pain threshold and number of 5-HT immunoreactive neurons in the raphe magnus nucleus of dog brain stem showed that electroacupuncture can attenuate pain transduction through the descending tract.

Keywords: Electroacupuncture, Pain, 5-HT, Raphe magnus nucleus

논문접수일: 2010년 10월 15일

수정접수일: 2011년 1월 28일

게재승인일: 2011년 2월 11일

교신저자: 조미숙, mscho@kornu.ac.kr

1. 서론

통증은 실질적이거나 잠재적인 조직손상과 연관된 불유쾌한 감각 또는 정서적 경험으로 생체 이상을 경고하는 주요 방어기전으로 작용한다.¹ 통증의 조절 중 하행성 억제계에 의하여 유발된 진통효과는 opioid, serotonin(5-hydroxytryptamine, 5-HT) 및 catecholamine 등과 같은 신경전달물질에 의하여 매개된다고 하나 이들 신경전달물질 중 opioid의 작용이 가장 강력하다.²

내인성 아편물질이 관여하는 중추성 통증조절 기전은 주위수도관회색질(periaqueductal gray)에서 분비되어 큰술기핵에서

5-HT를 분비해 척수 뒷뿌의 층판 I, II, V 등에서 A δ 와 C섬유의 통증전도를 차단시킨다.³ 또한 청색반점(locus ceruleus) 등에서 분비되는 norepinephrine도 유사한 경로를 통해 하행성 통증억제 기전에 관여하는 것으로 알려져 있다.⁴ 이 기전을 뒷받침하는 다양한 분자생물학적 신호기작이 전침의 진통 작용에 관여하는데 즉, opioid 수용체(μ -, δ -, κ -수용체), cholecystokinin octapeptide (CCK-8), glutamate(NMDA와 AMPA 수용체), 5-HT 및 noradrenalin 등이 관여하고 있는 것으로 보고되고 있다.⁵

전침자극은 중추신경계, 특히 솔기핵과 척수에서 5-HT와

그 대사산물들을 증가시켜 하행성 통증조절에 관여한다.⁶ 즉, 솔기핵에 병변을 초래시키거나 5,6-dihydroxytryptamine 처치에 의한 뇌의 5-HT를 선택적으로 고갈시킬 경우 여러 실험동물에서 전침에 의한 진통작용을 현저하게 약화시킨다.⁷ 아울러 5-HT 합성저해제인 p-chlorophenylalanin 처치에 의한 5-HT 생합성 차단은 전침에 의한 진통작용을 억제시키고, monoamine oxidase 저해제인 pargyline 처치에 의한 붕괴는 전침에 의한 진통효과를 증가시키는 것으로 알려져 있다.⁶ 또한 cinaserine, cyproheptadine 및 methysergide 등의 5-HT 수용체 길항제에 의한 5-HT 수용체 차단은 전침에 의한 진통효과를 거의 완전히 폐쇄시키는데 이는 솔기핵에서부터 개시되는 세로토닌성 상행 및 하행 신경전도도가 전침의 진통효과를 매개하는 것을 함축한다.⁸

전침으로 인한 통증억제 유발시 자극방법은 감각수준 자극, 운동수준 자극, 유해수준 자극 및 미세전류자극으로 구분된다. 감각수준 자극은 50~100 Hz의 고빈도로 2~50 μ s의 짧은 시간과 저강도 자극으로 일차들신경섬유(primary afferent nerve) 중 굵은 신경섬유(L-fiber)를 흥분시키거나 뇌줄기의 그물체(reticular formatin)에서 내인성 아편물질을 활성화시켜 통증 억제 효과를 유발시킬 수도 있다.⁶ 운동수준 자극은 2~4 Hz의 저빈도로 150 μ s 이상의 긴 시간과 고강도로 자극하였을 시 통증을 전달하는 일차들신경섬유의 차단 및 중추성 통증억제 기전을 활성화시킨다.⁵ 유해수준 자극은 1~5 Hz 또는 100 Hz로 1초 이상 자극시 endorphin의 분비 증가로 통증완화를 증가시킬 수 있다. 통상적으로 전기자극으로 하행성 통증 조절 기전의 활성화는 저빈도-고강도의 자극 형태가 일반적이나 최근 고빈도-저강도 자극방법으로도 통증조절에 효과적이라는 연구들이 보고되고 있다.⁹ 그 예로 carrageenan주입에 의한 통증 유발시 120 Hz의 고빈도로 30분간 강도를 순차적으로 1,2,3 mA로 조절하여 자극하여 높은 통증 역치를 관찰하였고, 통증 유발물질인 PGE2 감소 및 NMDA 수용체의 증가 등이 보고되었다. 또한 고빈도 자극(100 Hz)시 자극강도를 0.1 mA, 또는 0.5 mA로 변화시키면서 지속시간은 0.2 ms로 하여 유해자극에 의한 통증역치의 증가를 관찰한 보고도 있다.¹⁰ 따라서 개를 이용하여 저빈도-고강도 자극형태와 달리 고빈도(120 Hz)-저강도(0.5 mA)의 전침자극이 통증완화 작용을 살펴보는 것도 매우 의미있는 일이라 판단되어 본 연구는 수행되었다.

족삼리(ST36)는 족양명위경의 경혈로 비위질환, 소화기질환, 흉부질환, 요부질환 및 하지 질환에도 이용되는 혈자리로 머리와 발의 기순환을 원활히 해 뇌졸중, 고혈압 및 신경통, 관절염, 다리 통증 및 무릎질환 등에 유용하게 사용된다.¹¹ 족삼리(ST36)를 활용하여 중추신경계와 관련한 연구 보고로는 척수및 별 신경세포의 유해자극 반응,¹² 고빈도 120 Hz의 전침이

carageenan으로 유발된 흰쥐의 prostagladin E2와 NMDA 발현에 미치는 영향⁰ 및 전침자극에 의한 fMRI 상 뇌활성 변화¹¹ 등 다양하게 수행되어져 왔다. 음릉선(SP9)은 족태음비경의 경혈로 요부의 통증, 방광에 영향을 주어 나타나는 근육의 통증 등에 유용하게 사용되는 혈자리로 전침에 의한 대뇌피질의 NADH-diaphorase, nNOS, NPY 및 VIP 신경세포에 미치는 영향 등의 연구가 이루어졌다.¹³ 곡지(LI11)는 수양명대장경에 속하는 혈자리로 관절통, 반신불수, 고혈압 및 관절염 등에 효과가 있다.¹³ 족삼리와 곡지 배혈은 고혈압, 부종, 저열 및 사지에 열이 있을 때, 중경락 및 중풍 후유증에 응용하며, 족삼리와 음릉선 배혈은 부종, 각통, 슬중, 소변불통 등에 응용된다.¹²

족삼리, 족삼리와 곡지 및 족삼리와 음릉선의 배혈이 대뇌피질에서 NOS 억제 활성이 보고된 바 있으며,¹⁴ 같은 족삼리 경혈자극이라도 곡지 및 음릉선의 배혈에 따라 억제 활성이 증가 또는 감소하는 것으로 판단되어 배혈이 통증 관련 신경세포의 활성화에 많은 영향을 준다. 그러나 최근까지 족삼리, 곡지 및 음릉선을 함께 배혈하여 유해자극에 의한 통증기전을 개를 이용한 실험동물 모델에서 전침자극에 의한 진통작용의 기전으로 뇌줄기 솔기핵, 주로 B3 구역의 큰솔기핵에서 5-HT 합성 변화에 미치는 영향에 대한 연구는 매우 미흡한 실정이다. 따라서 통증유발 모델에서 자극시 통증감소 효과가 있는 것으로 알려진 족삼리, 곡지 및 음릉선의 배혈로 고빈도-저강도 전기자극 모델에서 자극시간을 길게 하고 자극강도를 0.5 mA로 낮게 하여 통증 역치의 증가를 관찰하는 것도 매우 의미있는 것이라 판단되었다. 본 연구는 국소적 염증성 통증과 통각과민 실험에 널리 쓰이는carageenan을 개의 발바닥에 주입하고 이에 고빈도(120 Hz), 저강도(0.5mA)의 전침자극을 족삼리(ST36), 곡지(LI11), 음릉선 (SP9)에 배혈하였을 때 통증에 대한 진통효과를 물리적 자극을 통해 측정하고, 이에 대한 효과로 개 뇌줄기 큰솔기핵에서 5-HT의 발현에 대한 면역조직화학적 동정을 통해 전침의 하행성 통증조절 효과를 관찰하고자 시행되었다.

II. 연구방법

1. 연구대상

본 실험에서는 동일한 조건에서 사육된 생후 8~10개월 된, 체중 5~8 kg의 건강하고, 신경학적으로 이상이 없는 잡종견 26마리를 사용하였다. 실험동물은 전침자극군과 대조군으로 구분하였으며, 전침자극 후 30분, 60분, 90분, 120분, 150분 및 180분 군으로 나누었다. 대조군에서는 각 군당 2마리씩(12마리)을 배정하였고, 전침자극군도 각 군당 각 2마리씩(12마리) 무작위 배분하여 밤낮주기(12 시간 light/12 시간 night)가 조

절되는 실험동물실에서 사육하였다. 실험기간 중 실험에 이상 반응을 보인 개체(2마리)는 실험에서 제외시켰다. 실험기간 중 먹이와 물은 무제한 공급하였고, 실내온도는 22~25°C, 평균습도는 50%, 표준편차 2%로 최적의 상태를 유지하였다.

2. 실험방법

1) 통증 유발 방법

국소적 염증성 통증 유발을 위해 1% carageenan (Sigma, 미국) 50 μ l를 실험동물의 왼쪽 발바닥에 주사하여 급성통증을 유발하였다.

2) 전침자극 방법

전침은 PG-7형(Ito사, 일본)을 사용하였고, disposable acupuncture needle (0.35 mm gauge, 40 mm length, 7 mm depth, 서원, 대한민국)를 사용하여 경혈점 좌우측에 전기선을 연결하고 자극을 주었다. 실험동물의 체표상에 인체의 족삼리(ST36), 곡지(LI11), 음릉선(SP9)에 상응하는 부위에 배혈하였다. 실험은 대조군(전침을 사용하지 않은 군), 전침자극군(족삼리+곡지+음릉선에 전침을 시행한 군)으로 구분하여 설정하여 시행하였다.

전침시술은 잡종견의 족삼리 부위는 골도분촌법에 따라 즉, 뒷다리의 경골조면과 비골두를 기준으로 하여 인체와 상응한 곳에서 취하였다. 실험동물 왼쪽 발바닥에 1% carageenan를 주입해 유해자극성 통증을 유발시킨 뒤 전침자극을 3% isoflurane 흡입마취하(Royal Multi-Plus, Medical Co, 미국)에서 30분간 좌우를 교대로 편측의 족삼리와 곡삼리 하 0.5 cm 부위, 음릉선과 음릉선 하 0.5 cm 부위, 곡지와 곡지 하 0.5 cm에 자침하고 고빈도(120 Hz), 저강도(0.5 mA)로 자극한 뒤 30분 간격으로 3시간 즉 30분, 60분, 90분, 120분, 150분 및 180분 후에 통증 역치를 측정하였다. 사람의 골도분촌법이 개의 것과 다소 상이하므로 경락의 흐름을 감안하여 전침부위를 경혈점과 0.5cm 아래에 하나씩 더 자침하여 전류흐름의 효율성을 꾀하였다. 전침자극의 파동형태는 직각의 이상맥동이었고, 맥동기간은 0.2 msec였으며, 총 자극시간은 각각 30분, 60분, 90분, 120분, 150분 및 180분이었다.

3) 진통효과 측정

전침자극에 따른 진통효과는 Randall-Sellitto 법에 따라 Analgesy-meter (Uro Basile, 이탈리아)를 이용하여 carrageenan을 주사한 왼쪽 발등을 가압하여 통증을 느끼는 반응에 해당하는 무게를 측정하였다. 이 방법은 통증 역치가 증가함에 따라 무게가 증가하는 원리로 무게 증가의 단계는 10 g으로 설정하였다.

4) 조직처리

실험동물들은 각 해당시간에 ketamine hydrochloride(케타라, 50 mg/mL)와 xylazine(롬폰, 20 mg/mL)을 체중 100 gm 당 0.15 mL 및 0.05 mL 씩 섞어 복강내 주사하여 마취시킨 뒤 심장을 통해 0.1 M phosphate buffer에 희석시킨 4% paraformaldehyde lysine eriodate (PLP)로 관류고정을 시행 하고, 동일 고정액에 적출된 뇌를 담가 4일간 후고정(4°C, overnight)을 시행하였다. 이어 동결 보호(Cryoprotection, 20% sucrose, 4°C, overnight)를 거친 후 Reichert-Jung cryostat과 vibratome slice machine을 이용해 30 μ m의 관상연속동결절편을 제작하여 -70°C에 보관하였다. 제작된 조직절편은 chrom-alum이 코팅된 현미경용 조직 슬라이드 위에 올려 통상적인 탈수와 투명화 과정을 거쳐 cresyl violet 염색을 통해 Olympus 광학현미경하에서 뇌졸기 큰슬기핵에서 형태학적 특징을 관찰하였다.

5) 면역조직화학염색

5-HT에 대한 일차항체인 mouse anti-5-HT(1:2500)를 이용하여 아래와 같은 방법으로 면역조직화학염색을 수행하였다. 일차항체에 조직절편을 담가 실온에서 12 시간 내지 24 시간 동안 반응시켰는데 일차항체의 희석은 0.1 M PB에 1% normal goat serum과 0.3% TritonX-100이 혼합된 것을 사용하였다. 조직절편을 실온에서 10분간 3회 0.1 M PB로 세척한 후 이차항체인 biotinylated goat anti-mouse IgG (Vector)에 실온에서 1시간 반응시켰다. 그 후 0.1 M PB로 15분간 3회 세척한 뒤 ABC 용액에 실온에서 1 시간 반응시키고, DAB에 과산화수소수를 0.005%되게 첨가하여 갈색반응을 실시하였다. 면역조직화학염색이 끝난 조직들은 통상적으로 탈수, 투명화과정을 거친 뒤 슬라이드 위에 올려 Permount로 봉입하여 광학현미경하에서 관찰하였다. 갈색반응을 보인 신경세포들을 Image-Pro analyzer를 이용해 pixel 단위로 계산하여 비교 분석하였다.

3. 자료분석

실험결과 자료의 통계처리는 SPSS-PC ver10.0+ for windows 프로그램을 이용하여 대응표본 및 독립표본t-test와 통증역치의 변화는 반복측정분산(repeated measure ANOVA)을, 5-HT 면역양성반응의 변화는 일원배치분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였다. 일원배치분산분석에서 각 군 간의 차이를 검증하기 위하여 Duncan's multiple range test를 이용하여 사후분석을 실시하였다. 본 연구의 통계학적 유의수준은 p<0.05로 하였다.

III. 결과

1. 통증역치 변화

전침자극을 시행한 실험군이 시행하지 않은 대조군 보다 높은 통증에 대한 역치를 보여 주었다. 즉, 1% carrageenan을 주입한 30분 후에 대조군의 통증역치는 7.6±1.4였으나, 전침자극을 시행한 실험군은 24.9±3.7이었다. 60분 후에 대조군의 통증역치는 13.6±3.9였으나, 전침자극을 시행한 실험군은 22.3±4.3였고, 90분 후에 대조군의 통증역치는 11.6±2.9였으나, 전침자극을 시행한 실험군은 21.3±5.4이었다. 또한 120분 후에는 대조군의 통증역치는 12.6±3.1였으나, 전침자극을 시행한 실험군은 21.6±4.8이었고, 150분 후에는 대조군의 통증역치는 13.4±4.1였으나, 전침자극을 시행한 실험군은 18.7±2.8이었으며, 마지막으로 180분 후에 대조군의 통증역치는 9.3±2.41였으나, 전침자극을 시행한 실험군은 15.4±5.2이었다(Figure 1).

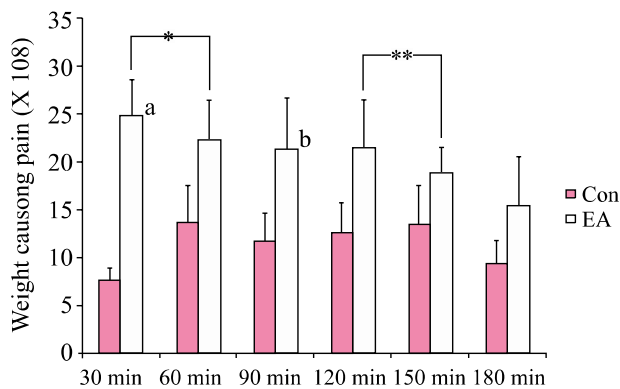


Figure 1. The comparison of pain threshold between control group and electroacupuncture stimulating group on ST 36, LI11, SP9 with 1% carrageenan injection into left plantar side in dogs. 30 min and 60 min ($p < 0.05$), and 120 min and 150 min ($p < 0.01$) revealed different statistically.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, ^a $p < 0.01$, ^b $p < 0.05$
EA: Electroacupuncture group, Con: Control group

각 시간대 별 통증역치의 통계학적 유의성을 검증하기 위해 전침자극군 사이의 대응표본 t-test를 실시한 결과 유해자극에 의한 통증 유발 30분과 60분 사이에서 ($p < 0.05$), 120분과 150분 사이에서($p < 0.01$) 통계학적 유의성을 관찰할 수 있었다. 통증 유발 후 대조군과 전침자극군 사이의 독립표본 t-test를 실시한 바 30분군($p < 0.01$)과 90분군($p < 0.05$)에서 통계적으로 유의한 차이가 있었다. 유해자극으로 통증 유발 후 통증역치 변화에서 전침자극군의 30분, 60분, 90분, 120분, 150분 및 180분 후에 통증역치 변화에 대한 통계학적 유의성을 검증하기 위해 반복측정분산분석을 실시한 바($F = 132.83$, $p < 0.01$) 시간대별 변화 사이에서 통계학적 유의성 또한 관찰되었다.

2. 5-HT의 면역조직화학 반응 변화

전침자극군을 수행한 실험군의 개 뇌줄기 큰술기핵내 5-HT 신경세포들의 수가 전침자극을 시행하지 않은 대조군에 비해 월등히 많이 관찰되었다. 즉, 1% carrageenan을 주입한 30분 후에 대조군의 5-HT 면역양성반응 세포수는 42.6±11.4개였으나, 전침자극을 시행한 실험군은 52.7±21.6 개로 관찰되었다. 60분 후에 대조군의 5-HT 면역양성반응 세포수는 49.7±16.6 개였으나, 전침자극을 시행한 실험군은 64.9±21.5개였고, 90분 후에 대조군은 53.6±19.1개였으나, 전침자극을 시행한 실험군은 72.5±23.9개였다. 또한 120분 후에는 대조군은 44.6±18.3개였으나, 전침자극을 시행한 실험군은 61.6±22.4개였고, 150분 후에는 대조군은 39.5±14.9 개였으나, 전침자극을 시행한 실험군은 69.7±12.5개였으며, 마지막으로 180분 후에 대조군 41.4±17.5개였으나, 전침자극을 시행한 실험군은 59.4±19.7개였다(Figure 2, 3).

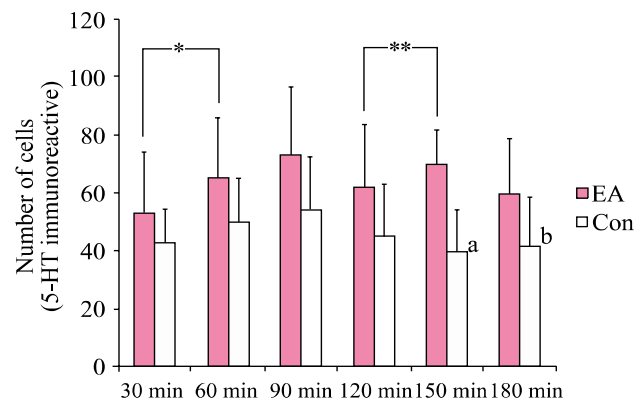


Figure 2. The change of 5-HT immunoreactive neurons in raphe nucleus magnus of dog brain stem between control group and electroacupuncture stimulating group on ST 36, LI11, SP9 with 1% carrageenan injection into left plantar side in dogs. 30 min and 60 min ($p < 0.05$), and 120 min and 150 min ($p < 0.01$) revealed different statistically.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, ^a $p < 0.01$, ^b $p < 0.05$
EA: Electroacupuncture group, Con: Control group

각 시간대별 5-HT의 상대적 발현 수준에 대한 통계학적 유의성을 검증하기 위해 전침자극군 사이의 대응표본t-test를 실시한 결과 유해자극에 의한 통증 유발 30분과 60분 사이에서($p < 0.05$), 120분과 150분 사이에서($p < 0.01$) 통계학적 유의성을 관찰할 수 있었다. 통증 유발 후 대조군과 전침자극군 사이의 독립표본 t-test를 실시한 바 150분군($p < 0.01$)과 180분군($p < 0.05$)에서 통계적으로 유의한 차이가 있었다. 또한 유해자극으로 통증 유발 후 통증역치 변화에서 전침자극군의 30분,

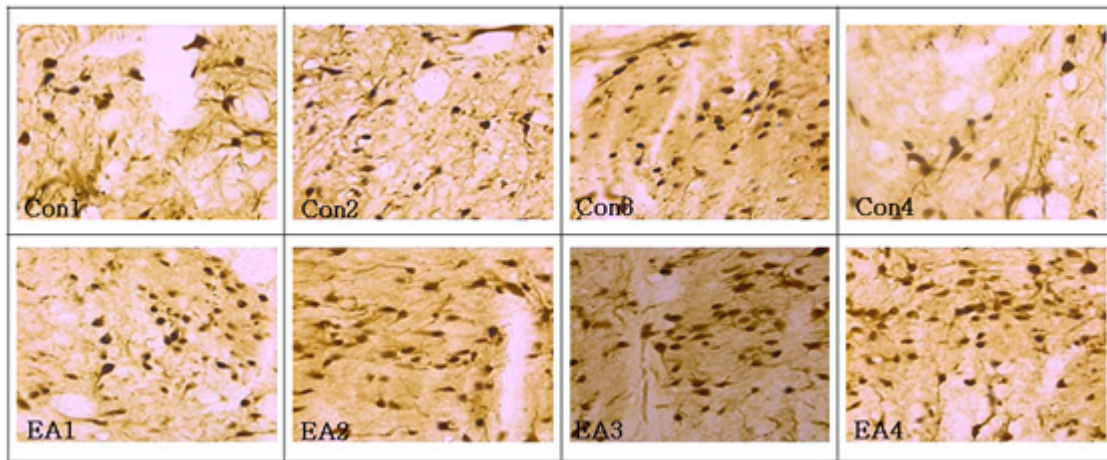


Figure 3. The photographs of 5-HT immunoreactive neurons in raphe nucleus magnus of dog brain stem between control group and electroacupuncture stimulating group on ST 36, LI11, SP9 with 1% carrageenan injection into left plantar side in dogs.

EA1: Electroacupuncture group at 30 min (x200), EA2: Electroacupuncture group at 6 (x200),
EA3: Electroacupuncture group at 120 min (x200), EA4: Electroacupuncture group at 150 min (200)
Con1: Control group at 30 min (x200), Con2: Control group at 60 min (x200),
Con3: Control group at 120 min (x200), Con4: Control group at 150 min (x200)
EA: Electroacupuncture group
Con: Control group

60분, 90분, 120분, 150분 및 180분 후에 5-HT 면역 양성 반응 신경세포에 대한 통계학적 유의성을 검증하기 위해 일원 배치분산분석을 실시한 바($F=174.65$, $p<0.01$) 시간대별 변화 사이에서 통계학적 유의성이 관찰되었다.

IV. 고찰

전침자극의 효과는 전기자극의 강도, 빈도 및 기간의 복합 작용에 의해 결정되는데 자극 강도와 기간 사이에는 반비례 관계, 즉, 강도가 강할수록 기간이 짧아져도 자극으로써 유효하며, 빈도가 증가될수록 가중현상이 쉽게 유발되므로 고빈도 자극시에는 자극강도가 낮아져도 유효자극이 될 수 있다⁵는 기존의 연구 결과에 비추어 본 실험에서 고빈도(120 Hz), 저강도(0.5mA) 전침자극을 수행한 바 대조군에 비해 통증역치가 현저히 높게 관찰되어 자극빈도와 강도는 서로 반비례한다는 이론과 일치한다.¹⁶ 즉, 통상적으로 저빈도-고강도의 전침자극으로 유해자극에 의한 통증 억제 효과를 산출되나 최근 고빈도-저강도 자극에 의해 효과적으로 통증 역치를 높일 수 있다는 연구 결과¹⁷와 유사한 결과로 나타나 자극빈도와 자극 강도를 잘 배합하면 유용한 전기자극이 될 수 있다고 생각되어진다.

고빈도 전침자극에 의한 효과는 κ -수용기 길항제 투여에 의해 억제되는 반면에 15~30 Hz 전침자극의 효과에는 β -, κ -, μ -, δ - opioid 수용기가 모두 관여한다. 전침에 의한 진통효과에 대

한 연구를 살펴보면 전침의 빈도별 자극에 따라 중추신경계의 상이한 반응을 보이는데¹⁸ 2 Hz 같은 저빈도 전침은 뇌와 척수에서 enkephalin과 β -endorphin을 분비를 촉진시키며,¹⁹ 100 Hz 같은 고빈도 전침은 κ -opoid 수용체가 관여해 척수에서 dynorphin의 분비를 촉진시킨다.²⁰ 토끼의 주위수도관회색질 내로 met-enkephalin과 β -endorphin의 항체를 투여하면 전침 자극에 의해 유발된 진통효과가 약화된다는 보고²¹는 전침자극에 의한 진통효과는 아편양 물질에 의해 매개됨을 시사하고 있다. 또한 8일간 물핀을 피하주사한 후 내약성이 유발된 흰쥐에 100 Hz 전침자극을 가하면 척수내 dynorphin 농도가 증가됨과 동시에 tail flick latency가 현저하게 연장되며,²² 내약성이 유발된 흰쥐에서 naloxone을 투여한 후에 나타나는 여러 가지 금단현상도 전침자극에 의해 약화된다.²³

한편, 전침의 진통효과를 연구한 대부분의 실험에서는 tail flick test, jaw-opening reflex 및 hot plate test와 같은 급성 통증 모델을 이용하거나 complete Freund's adjuvant (CFA)를 피하주사한 후 수시간 이내 염증이 유발되는 초기단계에서 행동으로 나타나는 반응을 통각의 지표로 이용하였으며,¹⁰ 극히 일부 실험에서만 정상동물의 척수 뒷뿌 세포반응에 대한 침자극효과를 관찰하였을 뿐인데 급성통증 모델로서 개를 이용하여 뇌 솔기핵내 세로토닌 함유 신경세포의 유해자극반응이 전침자극에 의해 어떻게 변동하는지를 규명한 연구는 매우 미흡한 실정이었다. 본 연구에서는 5-HT의 발현은 1% carrageenan 주입으로 인해 국소적 염증성 통증이 유발된 실험동물의

뇌줄기 큰술기핵에서 현저하게 높은 수준이 관찰되었다. 실험 동물에서 5-HT로 표지되는 세로토닌성 신경세포의 형태학적인 특징은 세포체에서부터 많은 분지를 내는 뭇극신경세포들로 세포체와 분지에 거쳐 고른 5-HT양성 면역반응을 나타내어 고빈도(120 Hz), 저강도(0.5 mA) 전침자극에 의해 척수로의 5-HT 함유 신경섬유를 투사하여 하행성 통증억제 기전에 관여하고 있는 것이 본 연구를 통하여 관찰되어, 비록 실험동물은 달라도 전침자극이 뇌줄기 큰술기핵내에서 5-HT의 발현을 증가시켜 하행성 통증억제를 유발시킨다는 기존의 연구들과 유사한 것으로 나타났다. 통증유발 후 시간 경과에 따라 전침자극군이 대조군에 비해 5-HT에 면역양성 반응을 보인 신경세포의 수가 전반적으로 증가하였으나, 통증 유발 150분 후에 전침자극군과 대조군 사이에서 통계적 유의성($p < 0.01$) 관찰된 것은 전침자극이 지속적으로 5-HT를 분비시키고 있는 것으로 사료될 수 있다. 따라서 본 연구에서 고빈도-저강도의 전침자극형태가 척수내 5-HT의 발현을 증가시킨 것은 고빈도-저강도 전침자극이 통증 관련 신경전도의 활성도를 변화시켜 주위수도관회색질(periaqueductal gray)에서 내인성 아편물질의 증가를 야기해 큰술기핵에서 5-HT를 증가시킨 것으로 판단할 수 있다.

전침자극은 중추신경계, 특히 솔기핵과 척수에서 5-HT와 그 대사산물들을 증가시키는데 전해질의 변화를 유도하여 솔기핵에 병변을 초래시키거나 5,6-dihydroxytryptamine 처치에 의한 뇌의 5-HT를 선택적으로 고갈시킬 경우 여러 실험 동물에서 전침에 의한 진통작용을 현저하게 약화시킨다.²⁴ 아울러 5-HT 합성저해제인 p-chlorophenylalanin 처치에 의한 5-HT 생합성 차단은 전침에 의한 진통작용을 억제시키고, monoamine oxidase 저해제인 pargyline 처치에 의한 붕괴는 전침에 의한 진통효과를 증가 시키는 것으로 보고되고 있다.²⁵ 또한 cinaserine, cyproheptadine 및 methysergide 등의 5-HT 수용체 길항제에 의한 5-HT 수용체 차단은 전침에 의한 진통효과를 거의 완전히 폐쇄시키는데 이는 솔기핵에서부터 개시되는 세로토닌성 상행 및 하행 신경전도로가 전침의 진통효과를 매개 하는 것을 함축한다.²⁶

본 연구에서 고빈도 전침자극에 의해 신경활성이 증가한 serotonin 성 신경섬유는 큰술기핵 부위에서 관찰할 수 있었고, 이 신경핵은 내인성 통증조절계로 알려져 있으며, 또한 nucleus accumbens와 amygdala로 serotonin을 투사해 전침자극이나 morphine 투여시 일어나는 진통효과에 직접적으로 관여하는 것으로 알려져 있다.²⁷ 따라서 이 부위의 serotonin 성 신경세포의 활성증가는 내인성 통증조절계에 위치한 이들 신경세포들이 전침자극에 의해 활성이 증가하여 진통효과를 나타내는데 직접 관여함으로써 나타나는 것으로 추측된다.²⁸ 전침이 중추신경계의 전달물질에 미치는 영향에 대한 연구로 여러 neuropeptide

에 대한 관찰을 시도한 바 전침부위에 따라 각각 다른 신경세포의 변화를 보여, 신경전달물질에 따라서 전침에 대한 영향을 받는 기전이 다를 것이라는 추정을 통하여 전침이 중추신경계의 수많은 peptidergic system을 활성화시킨다는 가설에 근거해 볼 때, 본 연구에서는 개 뇌줄기의 큰술기핵내 5-HT 합성은 전침에 의해 증가할 것으로 추정되었다. 이를 증명하기 위해 시행된 본 연구에서 각 시간대별 5-HT의 상대적 발현 수준에 대한 통계학적 유의성을 검증하기 위해 대조군과 전침자극군 사이의 t-test를 실시한 결과 유해자극에 의한 통증 유발 30분 군과 60분 군 사이에서 ($p < 0.05$), 102분 군과 150분 군 사이에서($p < 0.01$) 통계학적 유의성을 관찰할 수 있었고, 전침자극군과 대조군의 독립표본 t-test에서 통증 유발 30분군($p < 0.01$)과 90분군($p < 0.05$)사이에서 통계적 유의성이 관찰되었다.

그러나 naloxon 처치에 의한 내인성 아편물질의 차단 및 5-HT 수용체의 길항제인 NAN-90 등을 이용한 결과를 관찰할 수 없었던 점이 본 연구의 제한점이었다. 향후 솔기핵내 세로토닌성 신경세포내에서 5-HT 합성에 특이적이며 단지 세로토닌 함유 신경세포내에서만 관찰할 수 있는 tryptophan hydroxylase(TRH) mRNA의 발현 변화에 대한 분자생물학적 수준에서 연구가 진행되면 고빈도-저강도의 전침자극에 의한 하행성 통증 조절기전이 명확히 규명될 수 있으리라 생각된다.

V. 결론

본 연구는 국소적 염증성 통증과 통각과민 실험에 널리 쓰이는 1% carageenan을 개의 발바닥에 주입하고 이에 고빈도(120 Hz), 저강도(0.5mA)의 전침자극을 족삼리(ST36), 곡지(LI11), 음릉선(SP9)에 배혈하였을 때 통증에 대한 진통효과를 물리적 자극을 통해 측정하고, 이에 대한 효과로 개 뇌줄기 큰술기핵에서 5-HT의 발현에 대한 면역조직화학적 동정을 통해 전침의 하행성 통증조절 효과를 관찰하고자 시행되었다. 5-HT의 발현은 뇌줄기 큰술기핵에서 현저하게 높은 수준으로 관찰되었다. 5-HT로 표지되는 세로토닌성 신경세포의 형태학적인 특징은 세포체에서부터 많은 분지를 내는 뭇극신경세포들로 세포체와 분지에 거쳐 고른 5-HT의 면역성 면역 양성반응을 나타내었다. 고빈도(120 Hz), 저강도(0.5 mA) 전침자극은 통증억치를 높일 뿐만 아니라, 뇌줄기 큰술기핵에서 5-HT 합성을 증가시켜 척수의 뒷뿌로 전해지는 하행성 신경섬유를 통해 통증에 대한 진통작용을 효과적으로 나타낸 것으로 판단된다. 본 연구의 결과는 물리치료 임상에서 통증 감소를 위한 중재방법으로서 전침 적용시 통상적인 저빈도-고강도 자극방법 외에 고빈도-저강도 자극도 유용하게 적용할 수 있음을 시사한다.

Author Contributions

Research design: Cho MS

Acquisition of data: Cho MS

Analysis and interpretation of data: Cho MS

Drafting of the manuscript: Cho MS

Research supervision: Cho MS

Acknowledgements

이 논문은 2010년도 나사렛대학교 학술연구비 지원에 의해 연구되었음

참고문헌

- Chung HC, Han MC, Park SK et al. Effects of norepinephrine and serotonin increase induced by acupuncture stimulation on the nitric oxide synthesis. *J Kor Acup Mox Soc.* 1999;16(3):367-78.
- Ehrlich D, Haber P. Influence of acupuncture on physical performance capacity and haemodynamic parameters. *Int J Sports Med.* 1992;13(6):486-91.
- Chamas F, Serova L, Sabban EL. Tryptophan hydroxylase mRNA levels are elevated by repeated immobilization stress in rat raphe nuclei but not in pineal gland. *Neurosci Lett.* 1999;267(3):157-60.
- Culman J, Kiss A, Kvetnanský R. Serotonin and tryptophan hydroxylase in isolated hypothalamic and brain stem nuclei of rats exposed to acute and repeated immobilization stress. *Exp Clin Endocrinol.* 1984;83(1):28-36.
- Lin TG, Chen WL. Acupuncture analgesia. a review of its mechanisms of actions. *Am J Chin Med.* 2008;36(4):635-45.
- Baumgarten HG, Björklund A, Lachenmayer L et al. Long-lasting selective depletion of brain serotonin by 5,6-dihydroxytryptamine. *Acta Physiol Scand Suppl.* 1971; 373:1-15.
- Moazzami A, Tjen-A-Looli SC, Guo ZL et al. Serotonergic projection from nucleus raphe pallidus to rostral ventrolateral medulla modulates cardiovascular reflex responses during acupuncture. *J Appl Physiol.* 2010;108(5):1336-46.
- Kayser V, Elfassi IE, Aubel B et al. Mechanical, thermal and formalin-induced nociception is differentially altered in 5-HT1A^{-/-}, 5-HT1B^{-/-}, 5-HT2A^{-/-}, 5-HT3A^{-/-} and 5-HTT^{-/-} knock-out male mice. *Pain.* 2007;130(3):235-48.
- Kim JH, Min BI, Schmidt D et al. The difference between electroacupuncture only and electroacupuncture with manipulation on analgesia in rats. *Neurosci Lett.* 2000; 279(3):149-52.
- Son IS, Choi BT, Jang KJ. The effect of 120Hz electroacupuncture on the prostaglandin E2 and Spinal N-methyl-D-aspartate receptor expression in the carrageenan-injected rat. 2003;20(3):15-23.
- Kim YI, Kim YH, Lim YK et al. A fMRI study on the cerebral activity induced by Electro-acupuncture on Zusanli(ST36). *The journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Society.* 2003;20(5):133-50.
- Shin HK, Park DS, Lee SE et al. Characterization of electroacupuncture effects on the responses of rat dorsal horn neurons to noxious stimulation. *The journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Society.* 2002;19(4):167-82.
- Jung IG, Lee JD, Kim CH et al. Effect of Joksamni combination on NADPH-diaphorase, neuronal nitric oxide synthase, neuropeptide Y and vasoactive intestinal peptide in the cerebral cortex of spontaneously hypertensive rat. *The journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Society.* 2003;20(5):118-32.
- Kim GY, Woo KH. The effects of alphabet exercise with SSP electrotherapy on lateral ankle sprain. *J Kor Soc Phy Ther.* 2004;16(2):323-31.
- Cho ZH, Chung SC, Jones JP et al. New findings of the correlation between acupoints and corresponding brain cortices using functional MRI. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95(5):2670-3.
- Kim JT, Lee, JD, Lee YH. Effect of different patterns of low frequency electroacupuncture on the neuronal activities in the spinal cord and brainstem using fos immunohistochemical technique. *J Kor Acup Mox Soc.* 1999; 16(2):403-12.
- Park. HJ, Lim S, Lee, HS et al. Effect of low frequency electroacupuncture on the chronic monoarthritis and the mRNA encoding substance P and trkA mRNA level in rats. *J Kor Acup Mox Soc.* 2002;19(6):97-110.
- Lin TG, Chen WL. Acupuncture analgesia. A review of its mechanisms of action. *Am J Chin Med.* 2008;36(4):635-45.
- Chang FC, Tsai HY, Yu MC et al. The central serotonergic system mediates the analgesic effect of electroacupuncture on ZUSANLI (ST36) acupoints. *J Biomed Sci.* 2004; 11(2):179-85.
- Liu H, Wang H, Sheng M et al. Evidence for presynaptic

- N-methyl-D-aspartate autoreceptors in the spinal cord dorsal horn. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91(18):8383-7.
21. Du HJ, Chao YF. Localization of central structures involved in descending inhibitory effect of acupuncture on viscerosomatic reflex discharges. *Sci Sin*. 1976;19(1):137-48.
 22. Dong ZQ, Ma F, Xie H et al. Changes of expression of glial cell line-derived neurotrophic factor and its receptor in dorsal root ganglions and spinal dorsal horn during electroacupuncture treatment in neuropathic pain rats. *Neurosci Lett*. 2005;376(2):143-8.
 23. Du J, He L. Alterations of spinal dorsal horn substance P following electroacupuncture analgesia study of the formalin test with immunohistochemistry and densitometry. *Acupunct Electrother Res*. 1992;17(1):1-6.
 24. Hjorth S. Serotonin 5-HT_{1A} autoreceptor blockade potentiates the ability of the 5-HT reuptake inhibitor citalopram to increase nerve terminal output of 5-HT in vivo: a microdialysis study. *J Neurochem*. 1993;60(2):776-9.
 25. Liu B, Zhang RX, Wang L et al. Effects of pertussis toxin on electroacupuncture-produced anti-hyperalgesia in inflamed rats. *Brain Res*. 2005;1044(1):87-92.
 26. Takagi J, Yonehara N. Serotonin receptor subtypes involved in modulation of electrical acupuncture. *Jpn J Pharmacol*. 1998;78(4):511-4.
 27. Shen E, Ts'ai TT, Lan C. Supraspinal participation in the inhibitory effect of acupuncture on viscerosomatic reflex discharges. *Chin Med J(Engl)*. 1975;1(6):431-40.
 28. McLennan H, Gilfillan K, Heap Y. Some pharmacological observations on the analgesia induced by acupuncture in rabbits. *Pain*. 1977;3(3):229-38.