

흰쥐에 대한 양계(LI5), 양곡(SI5), 지구(TE6) 침자가 Neuronal, Inducible 및 Endothelial Nitric Oxide Synthase와 Nitric Oxide의 변화에 미치는 영향

김영선¹ · 최동희¹ · 장호선¹ · 나창수¹ · 최태진¹ · 황문현¹
조주현² · 이경인² · 김선민² · 표병식² · 윤대환¹

¹동신대학교 한의과대학, ²동신대학교 생물자원산업화지원센터

Effects of Acupuncture at LI5, SI5, TE6 on Changes of NO and NOSs in Rats

Youngsun Kim¹, Donghee Choi¹, Hosun Jang¹, Changsu Na¹, Taejin Choi¹, Moonhyeon Hwang¹, Joohyun Cho², Kyoungin Lee², Sunmin Kim², Byoungsik Pyo², Daehwan Youn¹

¹College of Oriental Medicine, Dongshin University, ²Biotechnology Industrialization Center, Dongshin University

Objectives : To observe the changes in the expression of neurotransmitters NO and enzymes that create NO, such as nNOS, iNOS and eNOS, upon the needle insertion on river point, one of the five transport points of three yang meridians on the forefoot. **Methods :** Based on rats, needle was inserted on both sides of LI5, SI5 and TE6, which are river points of three yang meridians on the forefoot, and were retained for five minutes. After the retention, blood was drawn via cardiac puncture and tissues from each point around meridian vessels were extracted to be examined on the changes of the expression of NO, as well as of nNOS, iNOS and eNOS. **Results :** In terms of the effect on NO creation in tissues, none of the experimental groups showed any significant change compared to the Normal group. In terms of the effect on expression of nNOS within tissues, LI5 and SI5 showed significant increase based on the results of immunohistochemistry. In iNOS within tissues, LI5 and SI5 showed significant increase based on the results of immunohistochemistry. In eNOS within tissues, SI5 showed significant increase based on the results of immunohistochemistry. **Conclusions :** The effect on the function of NO, nNOS, iNOS and eNOS of needle insertion on the river points of three yang meridians on the forefoot could be observed, and based on this study, it is considered that the effect of needle stimulation on the changes of nervous system could be found out through additional research.

Key words : five transport points, river point, nNOS, iNOS, eNOS, NO

서 론

경혈은 체내의 오장육부와 외부의 피부와 지질을 연결하는 기혈

운행의 통로인 경락상에 위치하며, 체표와 경락 및 장부가 상통하는 점이며, 맥기가 발하는 공극으로 인체 경기가 출입하고 활동하는 문호이다^{1,2)}.

Received December 4, 2013, Revised December 16, 2013, Accepted December 16, 2013

Corresponding author: **Daehwan Youn**

Department of Meridian and Acupoint, College of Korean Medicine, Dongshin University, 185 Gunjaero, Naju 520-714, Korea

Tel: +82-61-330-3527, Fax: +82-61-330-3519, E-mail: human22@dsu.ac.kr

This research was supported by Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea(NRF) funded by the Ministry of Science, ICT & Future Planning(No. NRF-2011-0014768(2013)).

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

십이경의 주승관절 아래에 분포하는 중요한 경혈인 오수혈은 특정 혈위인 井·榮·俞·經·습으로 구성된 5개의 경혈을 뜻한다. 오수혈은 오행의 상생상극의 원리에 따라 허실을 보사하여 각 경락의 소속된 장부와 연계된 장부의 기능 조절에 영향을 미친다^{1,2)}. 陽谿(LI5), 陽谷(SI5), 支溝(TE6)는 모두 五輸穴 중 經穴에 속하며, “井主心下滿, 榮主身熱, 俞主體重切痛, 經主喘咳寒熱, 合主逆氣而泄³⁾”이라 하였듯이, 經穴은 感冒, 喘息, 寒熱, 咳嗽과 같은 咽喉部 病證에 많이 활용된다²⁾.

Nitric oxide synthase(NOS)는 nNOS, iNOS, eNOS의 isotype로 보고되고 있는데⁴⁾, 그 중 nNOS는 신경전달작용에, iNOS는 염증 반응 조절에, eNOS는 혈소판 응집억제 및 혈관이완 작용등에 각각 관여하는 것으로 보고되고 있다⁵⁻⁷⁾. 이러한 NOS는 L-arginine을 산화하여 Nitric oxide(NO)가 생성되며⁴⁾, 주로 면역계, 신경계와 혈관계의 세포간 작용 매개에 관여하는 체내 신경 전달 물질 중의 하나로 알려져 있다^{5,8)}.

침자와 NOS, NO의 연관성에 대한 기존 연구로는 Langevin 등⁹⁾은 침자가 침자부위에서의 세포분비적 신호전달에 관여한다고 보고하였고, Jeong 등¹⁰⁾은 본태성 고혈압 쥐의 족삼리, 음릉천, 곡지에 전침 처치가 cerebral cortex에서의 NO system 활성화에 영향을 미친다고 보고하였고, Kang과 Lee¹¹⁾은 족궤음간경의 화혈과 수혈에 대한 침자의 보사에 따라 교감신경과 부교감신경 활성화에 영향을 미친다고 보고하였고, 본 연구자 등은 이전 연구보고¹²⁾에서 오수혈 중 經穴의 족삼양경에 침자를 시행하였을 때 침자 부위의 조직 내 NOS 및 NO의 변화에 대하여 관찰한 바, ST41은 NOS의 발현과 NO의 발현이 함께 나타나는 것으로 보아 침자가 NOS와 NO에 영향을 미치는 경향을 보고하였다.

본 연구에서는 침자 시행 시 해당 혈위의 국소적인 작용이 어떻게 발현되는지에 대하여, NOS 지표를 통하여 연구 보고한 이전의 연구¹²⁾에 이어서 經火穴에 해당하는 수양명대장경의 陽谿, 수태양 소장경의 陽谷, 수소양삼초경의 支溝를 선택하고, 이 혈위들에 침자를 시행하여, nNOS, iNOS, eNOS 및 NO의 발현 변화에 대하여 다음과 같이 관찰하였기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 동물

실험동물은 혈위 조직을 포함한 부위를 충분히 적출하기 위하여 Sprague-Dawley계 16주령(400~450 g, Samtaco, Korea) 수컷 흰쥐들을 준비하였으며, 사육되는 동물은 12시간 light-dark

cycle의 명암조절이 되고, 항온 항습(21±2°C, 40~60%)이 유지되는 사육실에서 물과 사료를 자유롭게 섭취하도록 하였으며, 동신대학교 실험윤리규정에 따라 사육하고 처치하였다.

2. 군 분리

실험군들은 手陽明大腸經의 陽谿(LI5), 手太陽小腸經의 陽谷(SI5), 手少陽三焦經의 支溝(TE6)에 침자를 시행하지 않은 정상군과, 침자를 시행한 침자군으로 분리하였고, 각 군들의 실험동물 n수는 n=5로 하였으며, 모든 군들은 사육단계부터 호흡마취과정까지 모두 동일하게 처치되었다.

3. 경혈 및 침자

12개 경맥의 五輸穴에서 經穴에 해당하는 陽谿(LI5), 陽谷(SI5), 支溝(TE6)에 대하여 인체에 상응하게 취혈하였다.

陽谿(LI5)는 dorsal wrist crease의 radial side, radial styloid process에서 몸쪽으로 anatomical snuffbox의 오목한 곳에, 陽谷(SI5)은 wrist의 posteromedial 면으로, ulnar styloid process와 triquetrum bone 사이의 오목한 곳에, 支溝(TE6)는 wrist의 posterior 면으로, ulnar와 radius 사이의 중점으로, dorsal wrist crease에서 cubital crease까지를 12촌으로 하여, 실험동물에서 6등분으로 나누었을 때 몸쪽으로 1½위치에 취하였다^{4,13,14)}.

침자 시술 전에 isoflurane(Choongwae, Korea)과 O₂로 혼합된 가스 마취를 시행하고, 가스 마취로는 3% isoflurane으로 호흡마취를 유도한 다음 2% isoflurane으로 마취 상태를 계속 유지 시킨 상태에서, 혈위 부위에 따라 0.2~0.5 mm의 깊이로 각 경혈 좌우에 직자로 자침하고 5분간 유침하였다. 침자에 사용된 침은 호침(0.25×15 mm, Dongbang, Korea)이며, 4년간 경혈학 교실에서 동물침자에 숙련된 전문가 1인이 실험기간동안 계속하여 시술하였다.

4. 조직 준비

각 군들의 해당하는 경혈 부위에 따라 깊이가 달라져 각 혈위의 위치에 맞도록 깊이 2~10 mm의 조직(1×1 cm)을 적출하였다. NO 및 nNOS, iNOS, eNOS assay를 얻기 위한 조직은 1X Protease Cocktail inhibitor(BD, USA)가 포함된 NP40 lysis buffer 500 μl를 넣고 homogenization하였다. 이 sample을 20분 동안 ice상태에 놓아둔 후 12,000 rpm에서 20분 동안 4°C에서 원심분리(Centrifuge 5415R, Germany)한 후 supernatants를 분리하였다.

5. Assay of NO

각 경혈 부위의 조직 내 NO 생성량을 측정하고자 Griess 시약을

사용하여 안정된 마지막 산물인 NO₂와 NO₃에 대하여 분석하였다. 조직의 단백질 시료 40 μl와 MOPS buffer(50 mM MOPS/1 mM EDTA, pH 7.0) 45 μl를 혼합하고, reconstituted E.coli nitrate reductase 5 μl를 가한 후 2 mM NADH 10 μl를 가하여 20분 동안 실온에서 반응시킨 후, 50 μl Griess reagent A(1% sulfanilamide in 3N HCl)와 반응시켰고, 50 μl Griess reagent B(0.1% N-(1-naphthyl) ethylenediamine, 2HCl)와 혼합하여 실온에서 5분 동안 반응시킨 후, purple azo dye가 생성되면 20분 이내에 Micro plate reader(Bio-Rad, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡수율을 측정하였다. Nitrite 농도의 표준곡선은 NaNO₃로부터 계산되었다.

6. Immunohistochemistry assay of NOS

경혈 부위의 조직 절편을 2% BSA와 15%의 Goat Serum으로 3시간 동안 반응시킨 후 Rabbit anti-nNOS(Invitrogen, USA), anti-iNOS(Abcam, England), anti-eNOS(Abcam, England) antibody를 0.05% Sodium azide와 2% BSA가 함유된 PBS로 희석시켜 조직을 48시간 동안 4°C에서 반응을 시킨 후 50 mM PBS에 세척하였고, biotinylated universal Secondary Antibody(Quick Kit: Vector Laboratories, Burlingame, USA)에 실온에서 10분 동안 반응시켰다. 그리고 50 mM PBS에 세척하고 Streptavidin peroxidase preformed complex(Quick Kit: Vector Laboratories, Burlingame, USA)에 10분 동안 반응시킨 후 다시 50 mM PBS에 세척하고, 조직을 3,3'-diaminobenzidine발색용액(Vector Laboratories, Burlingame, USA)으로 반응시킨 후, 반응이 끝난 후 조직을 PBS로 세척하여 hematoxyline으로 대조 염색 후 슬라이드를 dehydration한 후에 200배의 광학현미경(Eclipse

80i, Nikon, Japan)으로 관찰하였다. 염색된 NOS의 number는 연구자 2인이 count하고, 이에 대한 평균값을 구하여 나타내었다.

7. 통계처리

모든 측정값은 Excel statistic program 2010(Microsoft, USA)을 이용하여 평균치와 표준오차(mean±standard error)로 표시하였으며, 각 실험군 간의 통계학적 분석은 Window-용 SPSS 12.0(SPSS, USA)를 사용하여 비모수적 방법으로 Mann-Whitney U test를 시행하였다. 각 실험군은 대조군에 비하여 α=0.05 수준(p<0.05)에서 유의성을 검정하였다.

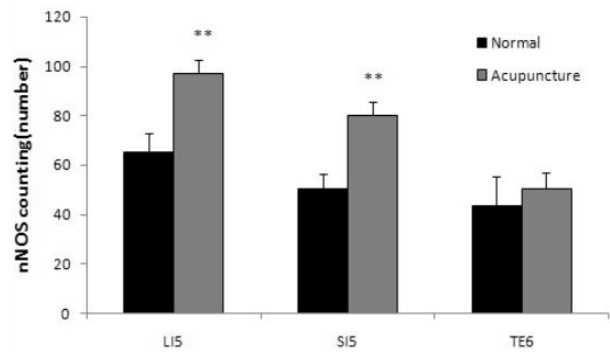


Fig. 1. Effect of acupuncture at the acupoints LI5, SI5 and TE6 on immunoreactivity for neuronal nitric oxide synthase(nNOS). Each Normal group didn't get any other treatment. Acupuncture groups were treated acupuncture at each acupoint. Data are expressed as mean±SE(n=5). **p<0.01 as compared with the Normal group.

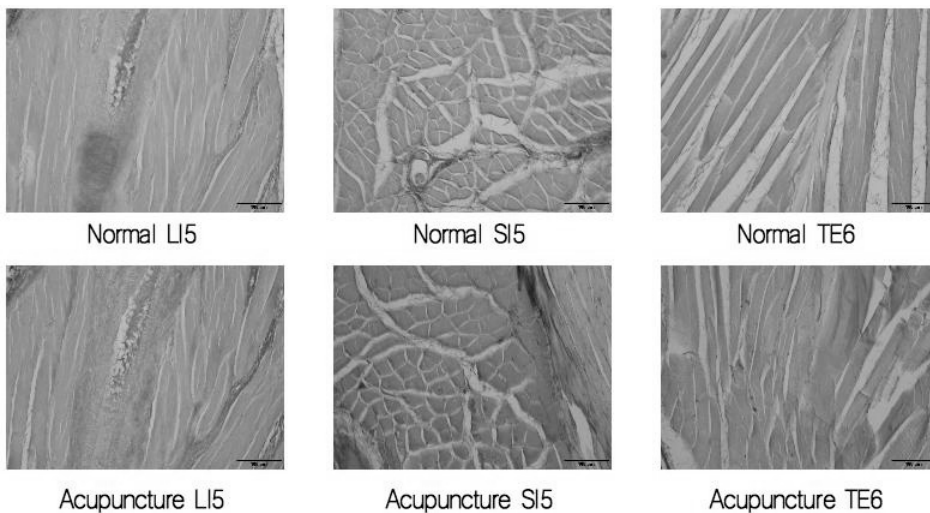


Fig. 2. Light microphotographs of immunoreactivity pattern for neuronal nitric oxide synthase(nNOS) in rat. Each Normal group didn't get any other treatment. LI5, SI5 and TE6 groups were treated acupuncture at each acupoint. Scale bar=100 μm, ×200.

결 과

1. NOS의 면역조직화학 측정

1) 조직내 nNOS에 미치는 영향: 陽谿(LI5), 陽谷(SI5), 支溝(TE6)에 대한 침자가 경혈 조직 내 nNOS 발현 변화를 immunohistochemistry로 관찰한 결과, 침자를 시행하지 않은 정상군의 LI5군은 65.2 ± 7.5 (number), SI5군은 50.6 ± 5.91 , TE6군은 43.8 ± 11.72 를 나타내었으며, 침자를 시행한 침자군의 LI5군은 97.2 ± 5.4 , SI5군은 80.2 ± 5.50 , TE6군은 50.6 ± 6.6 를 나타내었다. 각 부위별로 침자를 시행하지 않은 정상군과 침자를 시행한 침자군을 비교해 보았을 때, 침자군의 LI5군과 SI5군은 유의한 증가를($p < 0.01$) 보였으며, TE6군은 증가의 경향을 보였다(Fig. 1, 2).

2) 조직내 iNOS에 미치는 영향: 陽谿(LI5), 陽谷(SI5), 支溝(TE6)

에 대한 침자가 경혈 조직 내 iNOS 발현 변화를 immunohistochemistry로 관찰한 결과, 침자를 시행하지 않은 정상군의 LI5군은 47.6 ± 8.6 (number), SI5군은 39.0 ± 5.13 , TE6군은 31.4 ± 7.30 을 나타내었으며, 침자를 시행한 침자군의 LI5군은 76.8 ± 6.4 , SI5군은 87.6 ± 11.05 , TE6군은 41.6 ± 8.4 를 나타내었다. 각 부위별로 침자를 시행하지 않은 정상군과 침자를 시행한 침자군을 비교해 보았을 때, 침자군의 LI5군과 SI5군은 유의한 증가를($p < 0.01$, $p < 0.05$) 보였으며, TE6군은 증가의 경향을 보였다(Fig. 3, 4).

3) 조직내 eNOS에 미치는 영향: 陽谿(LI5), 陽谷(SI5), 支溝(TE6)에 대한 침자가 경혈 조직 내 eNOS 발현 변화를 immunohistochemistry로 관찰한 결과, 침자를 시행하지 않은 정상군의 LI5군은 45.0 ± 3.10 (number), SI5군은 47.8 ± 12.45 , TE6군은 65.2 ± 9.1 를 나타내었으며, 침자를 시행한 침자군의 LI5군은 $64.4 \pm$

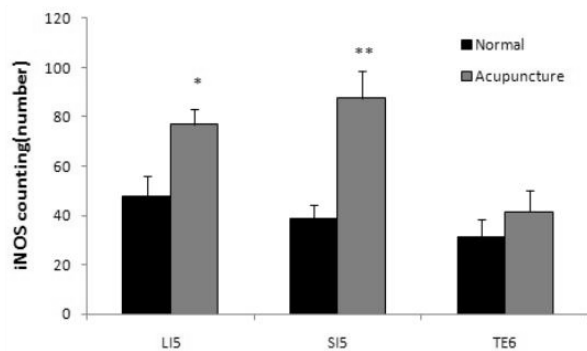


Fig. 3. Effect of acupuncture at the acupoints LI5, SI5 and TE6 on immunoreactivity for inducible nitric oxide synthase(iNOS). Each Normal group didn't get any other treatment. Acupuncture groups were treated acupuncture at each acupoint. Data are expressed as mean \pm SE(n=5). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ as compared with the Normal group.

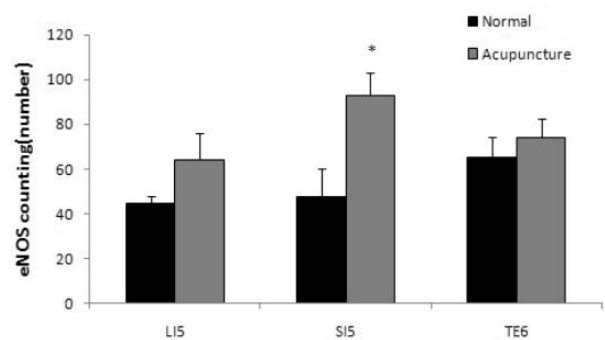


Fig. 5. Effect of acupuncture at the acupoints LI5, SI5 and TE6 on immunoreactivity for endothelial nitric oxide synthase(eNOS). Each Normal group didn't get any other treatment. Acupuncture groups were treated acupuncture at each acupoint. Data are expressed as mean \pm SE(n=5). * $p < 0.05$ as compared with the Normal group.

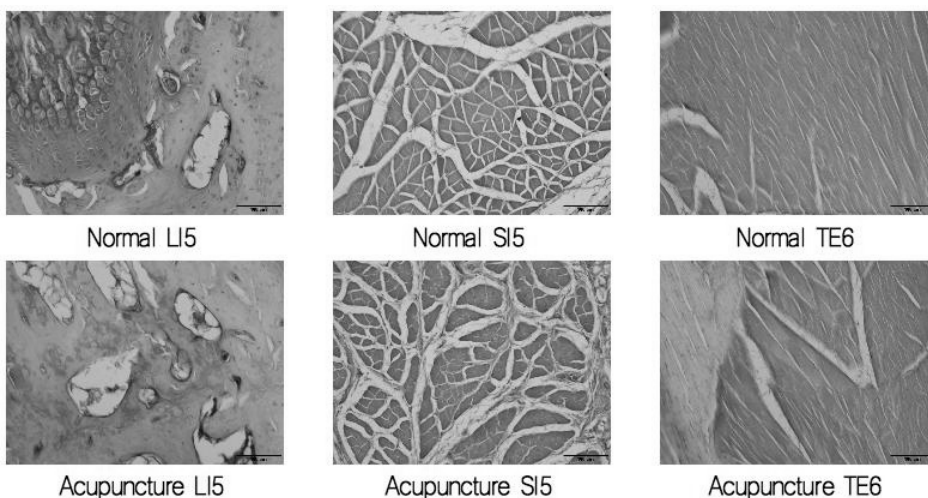


Fig. 4. Light microphotographs of immunoreactivity pattern for inducible nitric oxide synthase(iNOS) in rat. Each Normal group didn't get any other treatment. LI5, SI5 and TE6 groups were treated acupuncture at each acupoint. Scale bar=100 μ m, $\times 200$.

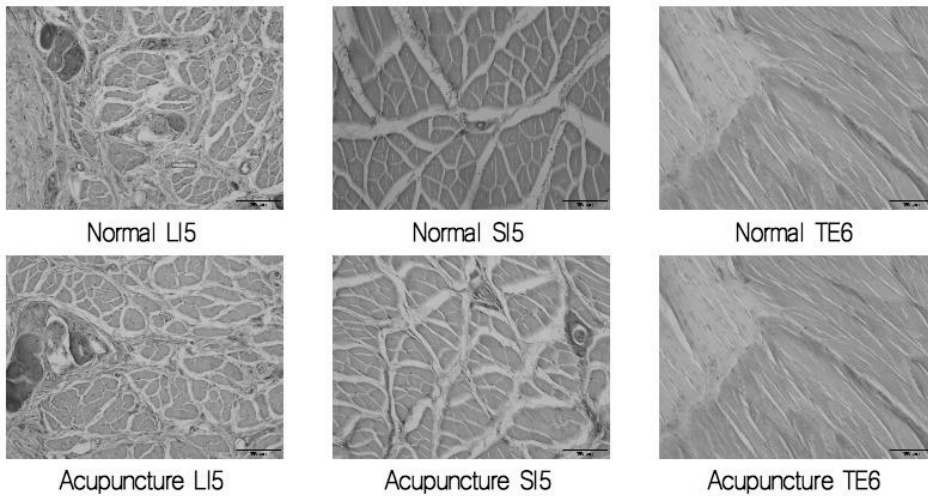


Fig. 6. Light microphotographs of immunoreactivity pattern for endothelial nitric oxide synthase (eNOS) in rat. Each Normal group didn't get any other treatment. LI5, SI5 and TE6 groups were treated acupuncture at each acupoint. Scale bar=100 μ m, \times 200.

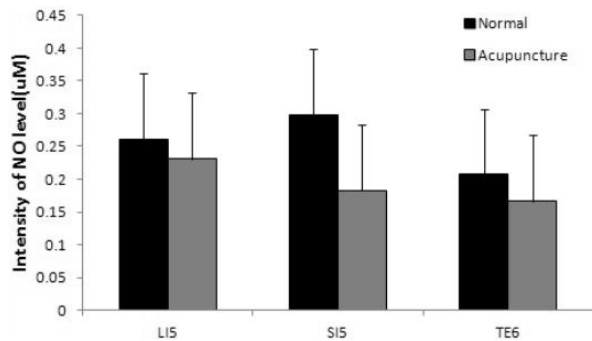


Fig. 7. Effect of acupuncture at the acupoints LI5, SI5 and TE6 on the nitrite/nitrate levels of tissue.

Each Normal group didn't get any other treatment. Acupuncture groups were treated acupuncture at each acupoint. Data are expressed as mean \pm SE (n=5).

LI5, SI5군은 93.0 ± 10.01 , TE6군은 74.4 ± 7.82 를 나타내었다. 각 부위별로 침자를 시행하지 않은 정상군과 침자를 시행한 침자군을 비교해 보았을 때, 정상군의 SI5군은 유의한 증가를 ($p < 0.05$) 보였으며, LI5군과 TE6군은 증가의 경향을 보였다 (Fig. 5, 6).

2. 조직내 NO에 미치는 영향

陽谿(LI5), 陽谷(SI5), 支溝(TE6)에 대한 침자가 경혈 조직 내 NO 생성 변화를 관찰한 결과, 침자를 시행하지 않은 정상군의 LI5군은 0.26 ± 0.05 (μ M), SI5군은 0.30 ± 0.11 , TE6군은 0.21 ± 0.02 를 나타내었으며, 침자를 시행한 침자군의 LI5군은 0.23 ± 0.02 , SI5군은 0.18 ± 0.02 , TE6군은 0.17 ± 0.01 를 나타내었다. 각 부위별로 침자를 시행하지 않은 정상군과 침자를 시행한 침자군을 비교해 보았을 때, 침자군의 LI5군, SI5군과 TE6군은 감소의 경향을 보였다 (Fig. 7).

고찰

NOS는 L-arginine으로부터 NO의 산물을 촉매하는 효소군의 하나로, nNOS, iNOS, eNOS 3가지의 isotype이 있으며¹⁵⁾, NO는 포유동물에서 세포신호전달의 중요한 분자로 3가지의 NOS isoenzyme에 의하여 조절되는 calcium-calmodulin에 작용한다고 보고되고 있다¹⁵⁻¹⁹⁾. 3가지의 NOS isoenzyme 중 iNOS는 상피세포와 백혈구의 면역반응에 관여되어 있어, NO의 생성이 면역방어기전과 free radical의 반응으로 발현되며, eNOS는 동맥의 벽, 평활근 및 혈관 내피에서 발현되어 혈신혈관 형성, 혈소판 응집억제, 혈관이완 등에 관여한다고 보고되고 있다¹⁹⁾. 그리고 nNOS는 신경조직과 근육조직 및 혈관 주위에서 주로 발현되며, 세포간 정보전달에 관여하여 신경전달에 작용한다고 알려져 있다⁴⁾. nNOS는 중추와 말초신경계 모두의 신경조직에서 NO를 생성하는데, 특히 중추신경계에서는 외부 자극에 의해 신경세포가 활성화되고, 이로 인해 칼슘이온이 증가하여 효소가 활성화됨으로써 NO를 합성함으로써 신경전달물질의 역할을 하지만, 뇌의 허혈증, 뇌졸중, 저산소증 등의 질병이 있는 상태에서는 NO가 생성됨으로써 신경세포의 손상이 발생하기도 한다. 이러한 nNOS의 활성화는 NPA(N-propyl-L-arginine)에 의해 억제된다^{19,20,21)}.

경혈은 “수혈”이라고도 하는데, 인체 체표에서 인체 내부까지 연계되어 있어 경락 및 장부가 상통하여, 질병의 반응점이며, 침 치료의 자극점이 되어 질병의 진단 및 치료에 응용되는 중요 부위로²⁾, 현대 의학에서는 아직 혈위에 대한 구체적인 생리학적 관찰이 미흡한 실정이다.

오수혈은 침자료법에 다용되는 경혈들로 다양한 자극을 통해 경락 장부의 有餘 및 부족의 불균형상태를 조절하기 위하여 사용되는

사지주슬이하여 있는 井榮輪經合의 다섯 특정혈이며^{1,2)}, 手三陽經의 五輸穴로는 陽谿(LI5), 陽谷(SI5), 支溝(TE6)가 있다. 陽谿(LI5)는 엄지손가락을 위로 세울 때 나타나는 tendon of extensor pollicis longus muscle과 tendon of extensor pollicis brevis muscle 사이에 취혈하는 수양명대장경의 經火穴로 祛風泄火, 疏散陽明瀉熱의 혈성을 지니고 있어 熱病煩心, 厥逆頭痛, 胸滿不得息등을主治한다¹⁴⁾. 陽谷(SI5)은 손목의 styloid process of ulna와 triquetrum 사이의 오목한 곳으로 손목의 앞면과 뒷면의 경계면에 취혈하는 수태양소장경의 經火穴, 自性穴로, 清熱解毒, 祛風舒筋의 혈성을 지니고 있어 熱病汗不出, 脇痛, 頸頰腫, 寒熱, 肩外側痛不舉 등을 주치한다¹⁴⁾. 支溝(TE6)는 아래팔의 뒷면의 dorsal wrist crease 위 3촌부위에 ulna와 radius 사이에 취혈하는 수소양삼초경의 經火穴, 自性穴로, 清三焦, 通腑氣, 通關開竅, 活絡散瘀의 혈성을 지니고 있어 熱病汗不出, 肩臂痠重, 脇腋痛, 四肢不舉, 霍亂嘔吐 등을 주치한다¹⁴⁾.

경혈에 대한 현대적인 연구로는 전기자기학, 신경학적 접근이 시도되었으나, 經穴의 구조와 기능적인 면에서 한의학에서의 개념에 부합하는 이론이 확립되지 않았으며, 더욱이 經穴의 구조 형태에 따른 해부학적 관찰 연구는 아직 미흡한 실정이다. 이에 본 연구에서는 구조 형태의 해부조직학적 관찰을 바탕으로 임상적 효용성이 많은 오수혈 중 수삼양경의 經火穴에 해당하는 陽谿(LI5), 陽谷(SI5), 支溝(TE6)에 대한 침자가 신경전달물질인 nNOS, iNOS, eNOS 및 NO의 변화에 미치는 영향을 관찰하고자 하였다.

이에 대한 관련 연구에서 Kim 등²²⁾은 曲池 침자군에서 nNOS 발현이 뇌졸중 영역에서는 정상군보다 유의한 감소함을 근거로 경혈부위 및 침자군이 NOS 활성에 일정한 영향을 가진다는 것을 보고하였으며, Lee 등²³⁾은 nNOS 활성이 족삼리+음릉천 전침군에서는 뇌 관찰영역 모두에서, 족삼리+곡지 전침군은 auditory cortex, perirhinal cortex, insular cortex 영역에서 족삼리 전침군에 비해 증가를 보였으며, 족삼리+곡지 전침군은 족삼리+음릉천 전침군에 비해 관찰영역 모두에서 감소를 보였음을 보고하였으며, Kim 등²⁴⁾은 척택 침자군에서 NO의 유의한 감소를 보였으며, 천정 침자군에서 NO의 유의한 증가를 보였으나, nNOS에서는 모두 유의한 변화를 보이지 않았다고 보고하였다. 또한 Kim 등²⁵⁾은 족삼음경과 수삼음경의 침자가 nNOS, iNOS, eNOS에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군에 비하여 nNOS에서는 경계침자군과 영도침자군군이 유의한 감소를 보였고, iNOS에서는 경계침자군은 유의한 감소를, 부류침자군은 유의한 증가를 보였고, eNOS에서는 경계침자군은 유의한 감소를, 부류침자군은 유의한 증가를 보였다고 보고하였으며, Kim 등¹²⁾은 이에 이은 연구 보고에서 經穴의 족삼

양경의 침자가 NO 및 nNOS, iNOS, eNOS에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군에 비하여 NO에서는 모두 증가의 경향을 보였고, nNOS에서는 해계침자군은 유의한 감소를, 곤륜침자군과 양보침자군에서는 증가의 경향을 보였고, iNOS에서는 해계침자군은 증가의 경향을, 곤륜침자군과 양보침자군에서는 감소의 경향을 보였으며, eNOS에서는 해계침자군과 곤륜침자군은 증가의 경향을, 양보침자군에서는 유의한 증가를 관찰하였다고 보고한 바 있다.

본 연구에서는 Kim 등¹²⁾의 연구를 근거로 하여, 오수혈의 經穴 중 수삼양경의 특성을 관찰하고자 하여, 수양명대장경의 陽谿, 수태양소장경의 陽谷, 수소양삼초경의 支溝를 선택하고, 이 해당 혈위의 국소작용에 대하여 침자가 인체 내의 신경전달물질에 영향을 미칠 것으로 가정하고 NO와 nNOS, iNOS, eNOS의 변화에 미치는 영향들을 관찰하고자 하였다.

본 연구에서는 NO를 생성하는 nNOS, iNOS, eNOS를 관찰한 결과, 정상군에 비하여 nNOS와 iNOS에서는 LI5군, SI5군에서 유의한 증가를, TE6군에서는 증가의 경향을 보였고, eNOS에서는 SI5군에서 유의한 증가를, LI5군과 TE6군에서는 증가의 경향을 보였으나, NO에서는 모든 군에서 감소의 경향이 관찰되었다. Kim 등¹²⁾의 연구에서는 족삼양경의 ST41군, BL60군, GB38군에서 NOS의 증가가 NO의 생성에 영향을 미치는 것으로 관찰되었으나, 본 연구의 수삼양경에서는 NO의 생성이 오히려 감소된 것으로 관찰된 것으로 보아, 각각의 혈위에 따라 각기 다른 결과를 가져온다고 유추해 볼 수 있으며, 모든 혈위에서 NOS의 증가가 NO의 생성에 영향을 미치는 것은 아니라는 것을 관찰할 수 있었다.

이상의 결과로 오수혈의 특성을 관찰하기 위하여 오수혈 중 經穴 침자의 작용을 혈위 국소 부위에서의 NO, nNOS, iNOS, eNOS 통하여 관찰한 바, 신경전달계에 미치는 국소적인 작용 발현이 발휘됨을 보여주었으나, 족삼양경과 수삼양경이 정반대의 결과가 나왔으므로 추후에 수삼양경의 해당 국소부위에 대한 구체적인 연구가 좀 더 필요하리라고 사료된다.

결론

陽谿(LI5), 陽谷(SI5), 支溝(TE6)에 대한 침자가 해당 혈위의 국소적인 조직 내 NO 및 nNOS, iNOS, eNOS 변화를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. nNOS의 발현 변화에서 침자를 시행하지 않은 각각의 군에 비해 침자군의 LI5군과 SI5군은 유의한 증가를 보였고, TE6군은 증가의 경향을 보였다.

2. iNOS의 발현 변화에서 침자를 시행하지 않은 각각의 군에 비해 침자군의 LI5군과 SI5군은 유의한 증가를 보였고, TE6군은 증가의 경향을 보였다.

3. eNOS의 발현 변화에서 침자를 시행하지 않은 각각의 군에 비해 침자군의 SI5군은 유의한 증가를 보였고, LI5군과 TE6군은 증가의 경향을 보였다.

4. 조직내 NO의 발현에서 침자를 시행하지 않은 각각의 군에 비해 침자군의 LI5군, SI5군과 TE6군은 감소의 경향을 보였다.

감사의 글

This research was supported by Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea(NRF) funded by the Ministry of Science, ICT & Future Planning(No. NRF-2011-0014768(2013)).

References

1. Introduction of Korean Traditional Medicine. Seoul : Esdang. Na Chang-Su. 2001 : 366.
2. Meridians & Acupoints compilation committee of Korean Oriental Medical colleges. Principles of Meridians & Acupoints: A Guidebook for College Students. 4th ed. Gangwon : Yibang. 2009 : 20, 246, 280, 286.
3. Hua S. Youn CY, Lee NG, Kim SH. Nangyeong Boneui. Daejeon : Jumin Publishing Company. 2003 : 299.
4. Yim CY. Nitric oxide and cancer. The Korean Journal of Internal Medicine. 2010 ; 78(4) : 430-6.
5. Cho HS, Shin MS, Kim CJ, Baek SS. Effect of treadmill exercise on inflammatory markers in the substantia nigra in 6-OHDA-induced Parkinson's rats. Exercise Science. 2012 ; 21(1) : 51-8.
6. Stamler JS, Meissner G. Physiology of nitric oxide in skeletal muscle. Physiol Rev. 2001 ; 81 : 209-37.
7. Kim WJ, Yun YS, Kim MS, Kim SH, Choi HR. Immunohistochemical Study of Nitric Oxide Synthase in Salivary Glands. The Korean Journal of Anatomy. 2000 ; 33(4) : 487-95.
8. Yim C, Choi JG, Sohn MH, Gwak JY. The role of nitric oxide in graft-versus-tumor effect. The Korean Journal of Hematology. 2003 ; 38(1) : 40-7.
9. Langevin HM, Churchill DL, Cipolla DL. Mechanical signaling through connective tissue: a mechanism for the therapeutic effect of acupuncture. The FASEB Journal. 2001 ; 15 : 2275-82.
10. Jeong IG, Lee JD, Kim YS. Effect of joksamni combination on NADPH-diaphorase, neuronal nitric oxide synthase and neuropeptide and vasoactive intestinal peptide in the cerebral cortex of spontaneously hypertensive rat. The Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Society. 2003 ; 20(5) : 118-32.
11. Kang HC, Lee SG. The effects of fire point(LR2), water point(LR8) through reinforcement-reduction acupuncture stimulation on ANS & EEG. Journal of Oriental Neuropsychiatry. 2010 ; 21(2) : 87-101.
12. Kim YS, Choi DH, Jang HS, Na CS, Hwang MH, Cho JH, et al. Effects of acupuncture at ST41, BL60, GB38 on Changes of Nitric Oxide and Nitric Oxide Synthase in Rats. Korean Journal of Acupuncture. 2013 ; 30(2) : 97-103.
13. Koo ST, Kim SK, Kim EH, Kim JH, Youn DH, Lee BH, et al. Acupuncture point locations for experimental animal studies in rats and mice. The Korean Journal of Meridian & Acupoint. 2010 ; 27(3) : 67-78.
14. Meridians & Acupoints compilation committee of Korean Oriental Medical colleges. Details of Meridians & Acupoints (Volume II); A guide book of college students. 4th ed. Gangwon : Yibang. 2009 : 99, 472, 884.
15. Lee BH, Baik DS, Yun SU, Shin JM, Kim JH, Yun SY, et al. Peripheral nitric oxide activity in patients with Liver cirrhosis. The Korean Journal of Internal Medicine. 2007 ; 73(3) : 251-7.
16. Stuart Ira Fox. Park In Kook. Physiology. 10th ed. Seoul : Lifescience. 2008 : 150
17. Dale P, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Hall WC, Lamantina AS, Mcnamara JO, et al. Neuroscience. 3rd ed. Seoul : World Science. 2007 : 150.
18. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. Katzung Pharmacology. 11th ed. Seoul : Koomonsa(KMS). 2011 : 158, 381-7.
19. Park SW, Lee YJ, Lee JJ. The effects of estrogen on nNOS, eNOS, VEGF expression, and histology composition in the rat uterus and vagina. Korean Journal of Urology. 2006 ; 47(1) : 55-63.
20. Koh JY, Choi DW. Vulnerability of cultured cortical neurons to

- damage by endotoxins, Differential susceptibility of neurons containing NADPH-diaphorase. *J Neurosci.* 1988 ; 8(6) : 2153-63.
21. Feldman PL, Griffith OW, Sheuhr DJ. The surprising life of nitric oxide. *Chem Eng News.* 1993 : 26-38.
22. Kim JD, Kang SK, Kim CW. The effects of acupuncture on and nNOS in the brain stem and cerebellum of SHR. *The Journal of Korea Acupuncture on Moxibustion Society.* 2004 ; 21(5) : 1-12.
23. Lee HM, Kim CH, Kim YS. Acupoint combination-related changes of NADPH-d diaphorase and neuronal nitric oxide synthase in the brainstem and cerebellum of spontaneously hypertensive rats. *The Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Society.* 2003 ; 20(6) : 148-59.
24. Kim YS, Choi DH, Choi TJ, Jang HS, Na CS, Shin HT, et al. Effects of acupuncture at the Sea Point on the Changes of Plasma and Tissue Levels of NO, nNOS, Norepinephrine in Rats, *Korean Journal of Acupuncture.* 2012 ; 29(2) : 300-14.
25. Kim YS, Choi DH, Jang HS, Na CS, Shin HT, Cho JH, et al. Effects of acupuncture at the River Point(LU8, HT4, PC5, SP5, KI7, LR4) on the Changes of Nitric Oxide Synthase and Norepinephrine in Rats. *Korean Journal of Acupuncture.* 2013 ; 30(1) : 37-46.