

백서의 경혈(해계, 곤륜, 양보) 침자가 Nitric Oxide Synthase 및 Nitric Oxide의 변화에 미치는 영향

¹동신대학교 한의과대학, ²동신대학교 생물자원산업화지원센터

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

Effects of Acupuncture at ST41, BL60, GB38 on Changes of Nitric Oxide and Nitric Oxide Synthase in Rats

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

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

Objectives : To observe the changes in the expression of nNOS, iNOS, eNOS and NO by the needle insertion on river points, one of the five transport points of three yang meridians of the foot. **Methods :** Based on rats, needle was inserted on both left and right sides of ST41, BL60 and GB38 and retained for five minutes. After the retention, blood was drawn via cardiac puncture and tissues from each point around meridian vessels were extracted to observe the changes in the expression of nNOS, iNOS, eNOS and NO. **Results :** In terms of the effect on expression of nNOS within tissues, ST41 showed significant decrease based on the results of immunohistochemistry. In terms of the effect on expression of iNOS within tissues, none of the experimental groups showed any significant change compared to the Normal group. Regarding expression of eNOS within tissues, GB38 showed significant increase based on the results of immunohistochemistry. In terms of the effect on NO creation in tissues, none of the experimental groups showed any significant change compared to the Normal group. **Conclusions :** The effect of needle insertion on the river points of three yang meridians of the foot on the function of nNOS, iNOS, eNOS and NO 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, nNOS, river point, iNOS, eNOS, NO

서론

經絡은 인체 내부에서는 五臟六腑를 외부에서는 皮膚와 肢節을 연결하는 氣血運行的 통로가 되며, 인체의 생리활동 및 병리변화에 대하여 연구하는 한의학 기본 이론 중의 하나이다^{1,2)}.

五輸穴은 十二經의 肘膝關節 아래에 분포하는 특정 穴位인 井·

榮·俞·經·合으로, 五行의 相生相克의 원리를 바탕으로 虛實을 補瀉하여 각각에 해당하는 소속 臟腑 또는 연계 臟腑의 기능 조절에 영향을 미치게 되는데²⁾, 五輸穴 중 經穴은 손목과 발목의 관절 부위 및 팔뚝과 정강이 부위에 주로 분포하고 있다²⁾. 『難經·六十八難』에서 “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 표현하였듯이 經穴은 임상에서 咳嗽, 喘息, 感

Received June 3, 2013, Revised June 9, 2013, Accepted June 10, 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 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.

胃, 寒熱 및 咽喉部 등의 病證에 많이 활용 되는데²⁾, 經穴 중 足三陽經의 主治는 足陽明經은 胃와 腸 疾患 頭面 및 咽喉 疾患 등에, 足太陽經은 膀胱과 腎 및 泌尿生殖系, 神經精神 疾患, 寒熱不調 등에, 足少陽經은 膽, 肝 및 胸部脇 疾患, 熱性 疾患 등이 있다⁴⁾.

Nitric oxide(NO)는 인체 내에서 만들어지는 신경 전달 물질중의 하나로 면역계, 신경계, 혈관계에서 세포 사이의 작용을 매개하는 역할을 담당한다^{5,6)}. NO는 nitric oxide synthase(NOS)에 의하여 L-arginine이 산화되어 생성되며⁷⁾, NOS는 nNOS, iNOS, eNOS로 세 개의 isotype으로 알려져 있다⁷⁾. nNOS는 신경전달을 담당하며, iNOS에서는 염증 반응 조절에 중요한 효소로 작용하며, eNOS는 혈소판 응집억제, 혈관이완과 신혈관 형성 등을 담당한다고 알려져 있다^{6,8,9)}.

NO 및 NOS에 관한 침자 자료에 관한 연구로는 Kang 등¹⁰⁾이 行間과 曲泉의 刺鍼 補瀉가 자율신경의 흥분 및 안정 상태에 영향을 미친다고 보고하였으며, Jeong 등¹¹⁾이 足三里 配穴에 따른 電鍼이 중추신경의 nNOS에 영향을 미친다고 보고하였고, Langerin 등¹²⁾은 침자를 시행할 때 침체 주위의 결합조직이 기계적인 커플링을 일으켜 조직의 세포 분비 및 세포의 기질의 변화와 결합 조직을 따라 발현되는 신호의 전달과 증폭이 발휘되는 것을 제시하였다.

한편 본 연구자 등¹³⁾은 五輸穴의 合穴에 침자를 시행할 때 나타나는 국소적인 작용을 관찰한 바, TE10과 LR8는 해당 혈위의 국소 조직 내 NO의 증가와 혈장 내 NE의 증가가 함께 발현되어 NO의 국소적인 작용이 혈장 내 NE의 전신적인 작용에 영향을 미치는 경향을 보고하였다.

본 연구에서는 침자시행시 해당 혈위의 국소적인 작용이 어떻게 발현되는지에 대하여, NOS 지표를 가지고 관찰하여 보고한 이전의 연구¹³⁾에 이어서 經火穴 중 足三陽經을 선택하고, 각 혈위에 침자를 시행하였을 때 국소적인 작용 변화에 대해 관찰하고자 하여, 足陽明經의 解谿, 足太陽經의 崑崙, 足少陽經의 陽輔 혈위에 침자를 시행하였고, nNOS, iNOS, eNOS 및 NO의 발현 변화에 대하여 다음과 같이 관찰하였기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 동물

실험동물은 Sprague-Dawley계 16주령(400~450 g, Samtaco, Korea) 수컷 흰쥐들을 준비하여, 동신대학교 실험윤리에 따라 사육하고 처치하였다. 사육되는 동물은 12 h light-dark cycle의 명암 조절이 되었고, 항온 항습(21±2°C, 40~60%)이 유지되는 사육실

에서 사육되면서 물과 사료는 자유롭게 섭취하도록 하였다.

2. 군 분리

실험군들은 足陽明胃經의 解谿(ST41, n=5), 足太陽膀胱經의 崑崙(BL60, n=5), 足少陽膽經의 陽輔(GB38, n=5)에 침자를 시행하지 않은 정상군과, 침자를 시행한 침자군으로 분리하였으며, 모든 군들은 사육단계부터 호흡마취과정까지 모두 동일하게 처치되었다.

3. 경혈 및 침자

12개 경맥의 五輸穴에서 經穴에 해당하는 解谿(ST41), 崑崙(BL60), 陽輔(GB38)에 대하여 인체에 상응하게 취혈하였다.

解谿(ST41)는 발목 앞쪽면, 발목관절 앞면 중앙부위, 긴엄지뼈 근힘줄과 긴발가락뼈근 힘줄사이 오목한 곳에, 崑崙(BL60)은 발목 뒤가쪽면, 가쪽복사 용기와 발꿈치힘줄 사이의 오목한 곳에, 陽輔(GB38)는 종아리뼈쪽면, 종아리뼈 앞쪽, 가쪽복사 용기에서 위중혈 높이까지 16촌으로서 실험동물에서 4등분으로 나누었을 때 몸쪽으로 1/4위치에 각각 취하였다^{3,14)}.

침자 시술 전에 isoflurane(Choongwae, Korea)과 O₂로 혼합된 가스 마취를 시행하였고, 가스 마취로는 3% isoflurane으로 호흡마취를 유도하고, 2% isoflurane으로 마취 상태를 계속 유지 시키고, 자침 깊이는 혈위 부위에 따라 0.2~0.5 mm으로 하여, 각 경혈 좌우에 직자로 자침하고 5분간 유침하였다. 침자에 사용된 침은 호침(0.25×15 mm, Dongbang, Korea)이며, 실험기간 동안 숙련된 전문가 1인이 계속하여 시술하였다.

4. 조직 준비

각 군들의 해당하는 경혈 부위에서 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 supernatants을 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 μ l Griess reagent A(1% sulfanilamide in 3N HCl)와 반응시켰고, 50 μ l 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 NaNO_3 로부터 계산되었다.

6. Assay of NOS

1) **Immunohistochemistry:** 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'-diaminobenzidine 발색용액(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 count하였다.

7. 통계처리

모든 측정값은 Excel statistic program(Microsoft, USA)을 이용하여 평균치와 표준오차(mean \pm standard error)로 표시하였고, 각 실험군 간의 통계학적 분석은 Window용 SPSS(SPSS, USA)를 사용하여 비모수적 방법으로 Mann-Whitney U test를 시행하였다. 각 실험군은 대조군에 비하여 $\alpha=0.05$ 수준($p<0.05$)에서 유의성을 검정하였다.

결 과

1. NOS의 면역조직화학 측정

1) **조직내 nNOS에 미치는 영향:** 解谿(ST41), 崑崙(BL60), 陽輔(GB38)에 대한 침자가 경혈 조직 내 nNOS 발현 변화를 immunohistochemistry로 관찰한 결과, 침자를 시행하지 않은 정상군의 ST41 군은 109.0 ± 10.3 (number), BL60군은 55.8 ± 14.7 , GB38군은 42.2 ± 15.32 를 나타내었으며, 침자를 시행한 침자군의 ST41군은 78.0 ± 4.50 , BL60군은 57.8 ± 14.23 , GB38군은 45.8 ± 10.54 를 나타내었다. 각 부위별로 침자를 시행하지 않은 정상군과 침자를 시행한 침자군을 비교해 보았을 때, 침자군의 ST41군은 유의한 감소를($p<0.05$) 보였으며, BL60군과 GB38군은 증가의 경향을 보였다(Fig. 1, 2).

2) **조직내 iNOS에 미치는 영향:** 解谿(ST41), 崑崙(BL60), 陽輔(GB38)에 대한 침자가 경혈 조직 내 iNOS 발현 변화를 immunohistochemistry로 관찰한 결과, 침자를 시행하지 않은 정상군의 ST41군은 94.6 ± 8.61 (number), BL60군은 37.6 ± 5.5 , GB38군은 45.2 ± 6.7 를 나타내었으며, 침자를 시행한 침자군의 ST41군은 97.4 ± 8.45 , BL60군은 29.6 ± 6.05 , GB38군은 38.4 ± 3.40 를 나타내었다. 각 부위별로 침자를 시행하지 않은 정상군과 침자를 시행한 침자군을 비교해 보았을 때, 침자군의 ST41군은 증가의 경향을, BL60군과 GB38군은 감소의 경향을 보였다(Fig. 3, 4).

3) **조직내 eNOS에 미치는 영향:** 解谿(ST41), 崑崙(BL60), 陽輔(GB38)에 대한 침자가 경혈 조직 내 eNOS 발현 변화를 immunohistochemistry로 관찰한 결과, 침자를 시행하지 않은 정상군의 ST41군은 98.4 ± 9.35 (number), BL 60군은 32.6 ± 9.3 , GB38군

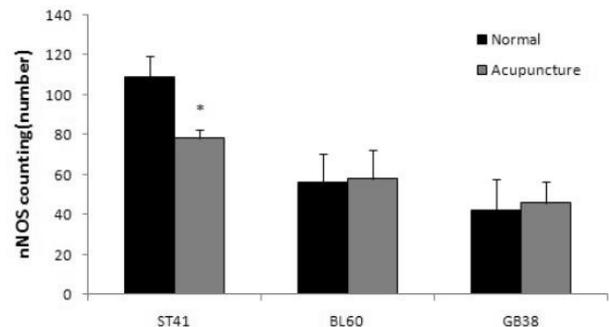


Fig. 1. Effect of acupuncture at the acupoints ST41, BL60 and GB38 on immunoreactivity for neuronal nitric oxide synthase (nNOS).

Each Normal group didn't get any other treatment. Acupuncture groups were treated acupuncture at each acupoint. Data are expressed as mean \pm SE (n=5). * $p<0.05$, as compared with the Normal group.

은 42.0 ± 7.65 를 나타내었으며, 침자를 시행한 침자군의 ST41군은 107.0 ± 3.20 , BL60군은 45.6 ± 8.25 , GB38군은 83.8 ± 6.32 를 나

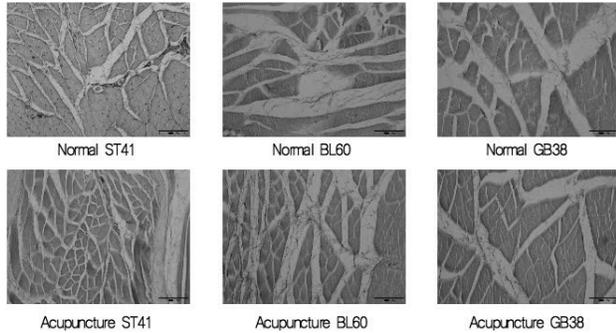


Fig. 2. Light microphotographs of immunoreactivity pattern for neuronal nitric oxide synthase(nNOS) in rats. Each Normal group didn't get any other treatment. ST41, BL60 and GB38 groups were treated acupuncture at each acupoint. Scale bar=100 μ m. $\times 200$.

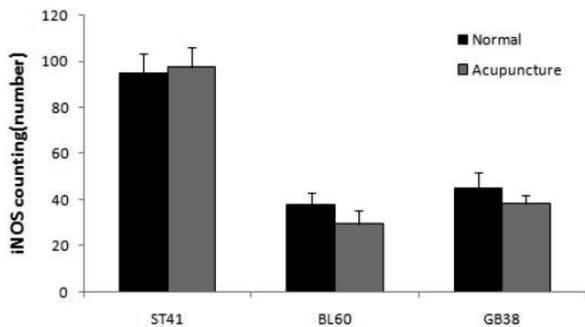


Fig. 3. Effect of acupuncture at the acupoints ST41, BL60 and GB38 on immunoreactivity for inducible nitric oxide synthase (iNOS). Each Normal group didn't get any other treatment. Acupuncture groups were treated acupuncture at each acupoint. Data are expressed as mean \pm SE (n=5).

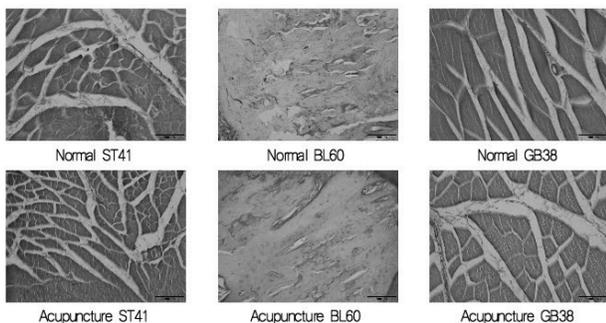


Fig. 4. Light microphotographs of immunoreactivity pattern for inducible nitric oxide synthase(iNOS) in rats. Each Normal group didn't get any other treatment. ST41, BL60 and GB38 groups were treated acupuncture at each acupoint. Scale bar=100 μ m. $\times 200$.

타내었다. 각 부위별로 침자를 시행하지 않은 정상군과 침자를 시행한 침자군을 비교해 보았을 때, 정상군의 GB38 부위는 유의한 증가를 보였으며, ST41군과 BL60군은 증가의 경향을 보였다(Fig. 5, 6).

2. 조직내 NO에 미치는 영향

解谿(ST41), 崑崙(BL60), 陽輔(GB38)에 대한 침자가 경혈 조직 내 NO 생성 변화를 관찰한 결과, 침자를 시행하지 않은 정상군의 ST41군은 $0.24 \pm 0.06 \mu$ M, BL60군은 $0.21 \pm 0.05 \mu$ M, GB38군은 $0.20 \pm 0.05 \mu$ M를 나타내었으며, 침자를 시행한 침자군의 ST41군은 $0.36 \pm 0.09 \mu$ M, BL60군은 $0.61 \pm 0.30 \mu$ M, GB38군은 $0.27 \pm 0.06 \mu$ M를 나타내었다. 각 부위별로 침자를 시행하지 않은 정상군과 침자를 시행한 침자군을 비교해 보았을 때, 침자군의 ST41군, BL60군과 GB38군은 증가의 경향을 보였다(Fig. 7).

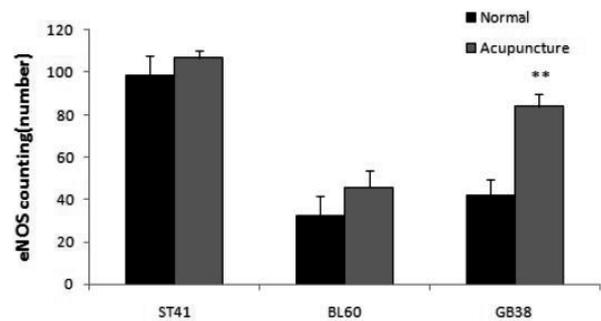


Fig. 5. Effect of acupuncture at the acupoints ST41, BL60 and GB38 on immunoreactivity for endothelial nitric oxide synthase (eNOS). Each Normal group didn't get any other treatment. Acupuncture groups were treated acupuncture at each acupoint. Data are expressed as mean \pm SE (n=5). ** $p < 0.01$ as compared with the Normal group.

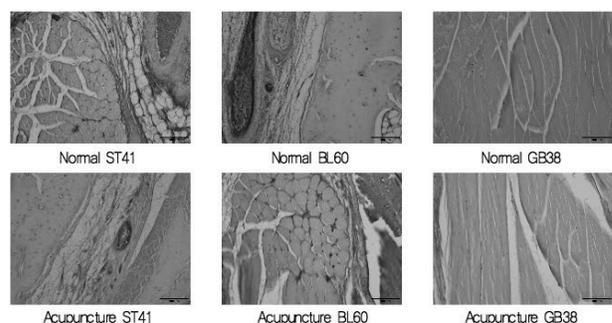


Fig. 6. Light microphotographs of immunoreactivity pattern for endothelial nitric oxide synthase(eNOS) in rats. Each Normal group didn't get any other treatment. ST41, BL60 and GB38 groups were treated acupuncture at each acupoint. Scale bar=100 μ m. $\times 200$.

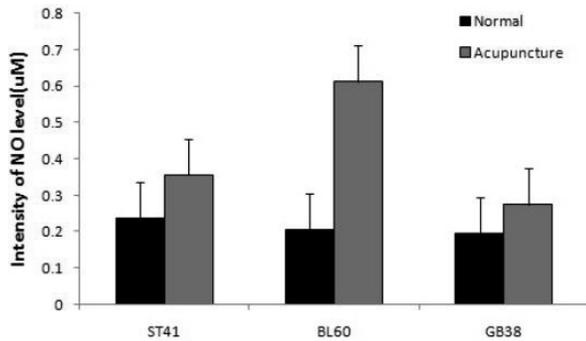


Fig. 7. Effect of acupuncture at the acupoints ST41, BL60 and GB38 on the nitrite/nitrate levels of tissue.

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).

고찰

『靈樞·海論篇』¹⁵⁾에서 “夫十二經脈者, 內屬於府藏, 外絡於肢節”이라 말함과 같이 經絡은 인체의 表裏上下를 연계하고, 氣血 운행의 통로로서 臟腑器官을 연계하며, 생리기능을 調整하여 소속된 臟腑의 病證에 반영된다²⁾.

五輸穴은 井·榮·俞·經·合의 5개 경혈을 말하는데, 十二經脈의 肘膝關節 이하에 위치하며, 四肢末端에서 肘膝 방향으로 차례대로 배열되어 있다²⁾. 이 중에서 經穴은 『難經·六十八難』³⁾에서 “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”이라 하였듯이 咳嗽, 喘息, 感冒, 寒熱 및 咽喉部 등의 病證에 주로 활용된다²⁾.

본 연구에서는 임상에서 치료혈로 사용되는 오수혈중 經穴의 解谿(ST41), 崑崙(BL60), 陽輔(GB38)의 해당 경혈 국소부위에서 침자가 신경전달 물질과 관련이 있는 NO 및 nNOS, iNOS, eNOS의 변화에 미치는 영향을 관찰하고자 하였다.

산화질소(nitric oxide, NO)는 NO가 신경전달물질로서 인체 내에서도 발생되며 생리적, 병리적 기능을 갖는 것으로 알려졌다⁷⁾. 아미노산 L-arginine이 NOS에 의해 산화되어 NO를 발현되는 NO는 3개의 NOS 동종효소(isoenzyme)에 의하여 만들어 지며, 이렇게 만들어진 NO는 세포막을 쉽게 통과하는 기체성으로서 염증, 면역, 심혈관계 및 신경기능에 관련되어 인체 내에서 다양한 생리적 기능을 하는데, 이는 NOS에 의해 조절받으며 NOS는 체내 호르몬에 의해 조절받게 된다¹⁶⁻²⁰⁾.

Nitric oxide synthase(NOS)는 neuronal NOS(nNOS), inducible NOS(iNOS), endothelial NOS(eNOS) 3가지의 isotype이 알려져 있는데, 이들은 다양한 세포들로부터 발현된다¹⁹⁾. nNOS는 신

경전달의 담당하며, 혈관 주위, 신경 조직에서 주로 발현되지만 골격근과 폐상피세포에서도 발현되어 NO 생성을 증가시키고 또한 중추신경계에서의 nNOS는 외부 자극에 대해 민감하게 반응하며, 이는 신경세포가 자극되고, 세포내의 칼슘이온이 증가하면서 효소가 활성화되어 NO를 합성하고, 주변의 조직에 확산되어 신경전달물질 역할을 담당 하지만, 뇌의 저산소증, 허혈증, 뇌졸중 등의 질병이 있는 상태에서는 세포내로 칼슘이온이 증가하여 많은 NO가 생성되고 신경세포에 손상이 나타나기도 한다^{19,21,22)}. iNOS는 NO의 생성이 가장 활발하다고 알려져 있으며, 백혈구 또는 상피세포에서 주로 발현되며, 염증 반응 조절을 하는 중여한 효소로 작용하고, eNOS는 동맥과 소동맥의 벽 또는 혈관 내피 및 평활근에서 각각 발현되어 혈관이완, 혈소판 응집억제, 신혈관 형성 등을 담당하며 NO를 증가시키는 작용을 한다⁹⁾. 이러한 동종효소인 nNOS, iNOS, eNOS에 의하여 발현되는 NO는 사람의 몸 안에서 혈관의 이완과 혈류량의 조절, 혈소판 응집억제, 성기능 장애개선과 항미생물 작용 및 항암 작용 등 여러 가지의 생물학적 기능을 하며, 중추신경계와 말초신경계에서 신경전달물질로도 쓰이기도 한다²⁰⁾. 이에 대하여 Yim⁷⁾은 NO가 인체 내에서도 발생하고 또한 생리적, 병리적 기능이 있음을 보고하였고, Kim 등²³⁾은 足三里와 曲池에 침자극을 시행하여 백서의 뇌줄기와 소뇌의 신경세포에서 nNOS 발현을 관찰하여, 뇌줄기 영역에서는 曲池 침자극이 정상군과 足三里침자극군보다 유의한 감소를, 소뇌 영역에서는 足三里 침자극군과 曲池 침자극군에서 nNOS의 활성화에 유의한 차이가 없는 것을 관찰하고, 침자극이 경혈 선택과 NOS 활성화에 관계가 있다는 것을 보고하였으며, Kim 등²⁴⁾은 전침효과가 nNOS 신경세포의 activity에 대한 효과에 대하여, 대뇌 길질 영역의 nNOS에서 100 Hz군이 침자극군과 2 Hz군보다 일차운동결질, 후각뇌주위결질과 시각결질 및 뇌섬결질 부위에서의 유의한 감소와, 뇌줄기 영역의 nNOS에서 100 Hz군이 침자극 및 2 Hz군보다 위둔덕충, 뒤가쪽 수도관주위회색질과 paralemiscal nucleus에서의 유의한 감소와, 소뇌 영역의 nNOS에서 100 Hz군이 가장 떨어지는 결과를 나타내었다고 보고하였으며, Lee 등²⁵⁾은 足三里, 足三里配曲池, 足三里配陰陵泉에 전침을 시행하여 nNOS 활성을 측정된 결과, 정상군에 비하여 뇌줄기 영역에서 足三里·足三里配曲池 전침군은 유의한 감소를, 足三里配陰陵泉 전침군은 足三里·足三里配曲池 전침군에 비하여 유의한 증가를 보였고, 소뇌 영역에서는 足三里·足三里配曲池 전침군이 정상군에 비하여 유의한 감소를보였으며, 足三里配陰陵泉 전침군은 足三里·足三里配曲池 전침군에 비하여 유의한 증가를 보여 足三里의 배합이 중추신경계의 NO system에 각기 다른 영향을 미치는 것을 보고하였다.

본 연구에서는 十二經脈의 五輸穴 중 經火穴에 해당하는 足三陽經의 足陽明經의 解谿, 足太陽經의 崑崙, 足少陽經의 陽輔를 선택하였으며, 이 혈위들이 체내 신경전달물질에 영향을 미칠 것으로 가정하고, Kim 등²⁶⁾의 畝穴에 관한 연구를 근거로하여, 해당 경혈의 鍼刺가 NO와 NO를 생성하는 nNOS, iNOS, eNOS에 대하여 六陽經의 足三陽經의 차이를 관찰하고자 하였다.

본 연구에서 조직 내 NO의 변화에 있어서는 유의한 변화가 관찰되지는 않았으나 ST41군, BL60군, GB38군이 증가의 경향을 보였는데, 이는 足三陽經 자극이 기능 발현을 촉진하는 작용이 나타난 것으로 사료된다. 이를 바탕으로 NO를 생성하는 nNOS, iNOS, eNOS를 관찰하여, 足三陽經에서 NO의 양이 모두 증가의 경향을 보였는데, ST41군에서는 iNOS, eNOS가 유의한 증가를, BL60군에서는 iNOS가 유의한 증가를, GB38군에서는 nNOS, eNOS가 유의한 증가를 나타낸 것으로 보아 nNOS, iNOS, eNOS의 변화가 NO의 생성에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

본 연구에서는 五輸穴의 經火穴 중에서 足三陽經의 특성을 관찰하고자 하여, 혈위의 작용을 신경전달과 관련된 지표를 통하여 해당 혈위 국소작용에 대하여 관찰하고자 한 바, 조직 내 NO에 있어서는 足三陽經은 증가의 경향을, 조직 내 NOS에 있어서는 足三陽經에서 증가의 경향을 나타내어 NO의 결과와 부합하는 결과를 나타냄을 보아 NO를 생성하는 조절계인 NOS에 있어서는 발현을 촉진하는 동일한 경향성을 보인 것으로 사료된다. 이는 Kim 등²⁶⁾이 보고한 足三陰經에 해당하는 혈위인 SP5, KI7, LR4에 자침을 시행한 침자군이 자침을 시행하지 않은 정상군보다 nNOS, iNOS, eNOS에서 증가의 경향을 보인 결과와 부합하는 결과를 나타낸 것으로 보아 NOS의 발현 증가는 NO의 생성을 촉진하는 것으로 사료된다.

하지만, Kim 등²⁶⁾이 보고한 오수혈의 畝穴에 자침을 시행한 ST36군, GB34군, BL40군에서 nNOS의 결과와 NO의 결과가 일치하지 않음을 관찰할 수 있었는데, 이는 모든 혈위에서 NOS의 증가율과 감소율이 NO의 생성에 일정한 영향을 미치는 것은 아니며 혈위 마다의 특성이 NOS와 NO의 생성에 영향을 미칠 것으로 사료된다.

이상의 결과로 보아 五輸穴의 특성을 관찰하기 위한 시도로서 五輸穴 중 經火穴 鍼刺의 작용을 국소 부위 NO, nNOS, iNOS, eNOS 통하여 관찰한 바, 신경전달계에 미치는 국소적인 작용 발현이 발휘됨을 보여주었으나 추후 좀 더 구체적인 연구가 필요하리라고 사료된다.

결론

解谿(ST41), 崑崙(BL60), 陽輔(GB38)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 ST41군은 유의한 감소를 보였고, BL60군과 GB38군은 증가의 경향을 보였다.
2. iNOS의 발현 변화에서 침자를 시행하지 않은 각각의 군에 비해 침자군의 ST41군은 증가의 경향을 보였고, BL60군과 GB38군은 감소의 경향을 보였다.
3. eNOS의 발현 변화에서 침자를 시행하지 않은 각각의 군에 비해 침자군의 GB38군은 유의한 증가를 보였고, ST41군과 BL60군은 증가의 경향을 보였다.
4. 조직내 NO의 발현에서 침자를 시행하지 않은 각각의 군에 비해 침자군의 ST41군, BL60군과 GB38군은 증가의 경향을 보였다.

References

1. Introduction of Korean Traditional Medicine. Seoul : Esdang. Na Chang-Su. 2001 : 366.
2. Meridians & Acupoints compilation committee of Korean Oriental Medical colleges. Introduction of Meridians & Acupoints. Daejeon : Jongryeonamu Publishing. 2012 : 20, 36-40, 274, 307, 308, 312, 313.
3. Hua S. Youn CY, Lee NG, Kim SH. Nangyeong Boneui. Daejeon : Jumin Publishing Company. 2003 : 299.
4. Meridians & acupoints compilation committee of Korean Oriental Medical colleges. Details of Meridians & Acupoints; A Guidebook for College Students. 6th ed. Daejeon : Jongryeonamu publishing. 2012 : 135, 244-6, 419, 565-8, 785, 879-881.
5. 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.
6. 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.
7. Yim CY. Nitric oxide and cancer. The Korean Journal of Internal

- Medicine. 2010 ; 78(4) : 430-6.
8. Stamler JS, Meissner G. Physiology of nitric oxide in skeletal muscle. *Physiol Rev.* 2001 ; 81 : 209-37.
 9. 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.
 10. 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.
 11. Jeong IG, Lee JD, Kim YS. Effect of joksamni combination on NADPH-diaphorase, neuronal nitric oxide synthase and 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.
 12. 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.
 13. 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.
 14. Koo ST, Kim SK, Kim EH, Kim JH, Youn DH, Lee Bong-Hyo, et al. Acupuncture point locations for experimental animal studies in rats and mice. *The Korean Journal of Meridian & Acupoint.* 2010 ; 27(3) : 67-78.
 15. Bae BC. *Huangdi neijing lingshu.* Seoul : Seongbosa. 1995 : 70
 16. Stuart IF, Park IK. *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. Bertram G. Katzung, Susan B. Masters, Anthony J. Trevor. *Katzung Pharmacology.* 11th ed. Seoul : Komoonsa(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. 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.
 21. Koh Jy. Choi DW. Vulnerability of cultured cortical neurons to damage by endotoxins, Differential susceptibility of neurons containing NADPH-diaphorase. *J Neurosci.* 1988(6) ; 8 : 2153-63.
 22. Feldman PL, Griffith OW, Sheuhr DJ. The surprising life of nitric oxide. *Chem Eng News.* 1993(20 December) : 26-38.
 23. 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.
 24. Kim HD, Nam SS, Kim CH. Effect of electroacupuncture stimulation on activity of neuronal NOS in rats. *The Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Society.* 2006 ; 23(5) : 199-206.
 25. 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.
 26. Kim YS, Choi DH, Jang HS, Na CS, Shin HT, 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.