

원저

## Streptozotocin으로 유발된 당뇨병 흰쥐 대뇌피질에서 침이 Neuronal Nitric Oxide Synthase 발현에 미치는 영향

김이화\* · 황대연\* · 이은용\* · 장미현\*\* · 김연정\*\* · 정주호\*\*\* · 서정철\*\*\*\* · 김창주\*\*

\*세명대학교 한의과대학 침구·경혈학교실  
\*\*경희대학교 의과대학 생리학교실, \*\*\*약리학교실  
\*\*\*\*동의대학교 한의과대학 침구학교실

### Abstract

#### Effects of acupuncture on nNOS-positive neurons in cerebrocortex of streptozotocin-induced diabetic rats

Ee-Hwa, Kim\* · Dae-Yeon, Hwang\* · Eun-Yong, Lee\* · Mi-Hyun, Jang\*\*  
Youn-Jung, Kim\*\* · Joo-Ho, Chung\*\*\* · Jung-Chul, Seo\*\*\*\* · Chang-Ju, Kim\*\*

\*Departments of Acupuncture & Moxibustion and Meridianology,  
College of Oriental Medicine, Se-Myung University

\*\*Departments of Physiology & \*\*\*Pharmacology, College of Medicine, Kyung-Hee University

\*\*\*\*Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Dong-Eui University

It has known that acupuncture exerts various effects, such as analgesia, promotion of homeostasis, improvements in brain circulation, and rectification of internal disorders in Oriental medicine. Of particular, acupuncture at the Zusanli acupoint (ST36) has been widely used to relieve symptoms of diabetes mellitus. The effect of acupuncture at Zusanli on neuronal nitric oxide synthase (nNOS)-positive neurons in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats was investigated via immunohistochemistry. Decreased nNOS-positive neurons was detected in cerebrocortex of STZ-induced diabetic rats. Needling on the Zusanli in diabetic rats resulted in increase of nNOS-positive neurons in cerebrocortex. The present study indicate that acupuncture may affect nNOS-positive neurons in cerebrocortex of STZ-induced diabetic rats.

**Key words** : acupuncture, nNOS, NO, cerebrocortex, streptozotocin, diabetes mellitus

※본 연구는 한국과학재단 목적기초연구 (2001-2-20600-001-2) 지원으로 수행되었음.

· 접수 : 8월 18일 · 수정 : 8월 21일 · 채택 : 8월 25일

· 교신저자 : 김창주, 서울 동대문구 회기동1 경희대학교 의과대학 생리학교실(Tel. 02-961-0407)

E-mail : changju@khu.ac.kr

## I. 서론

당뇨병은 고혈당 상태를 나타내는 여러 질환을 말하는 것으로 이것의 병태생리는 insulin 분비의 절대적 또는 상대적 부족이나 insulin 표적 세포에서의 insulin의 생물학적 효과 감소로 인하여 발생되는 고혈당 및 이에 수반되는 대사장애가 장기간 지속되는 상태로 특징 지워지는 질환이다<sup>1)</sup>. 당뇨병은 크게 insulin 의존성 또는 제 I 형 당뇨병과 insulin 비의존성 또는 제 II 형 당뇨병으로 분류된다. 제 I 형 당뇨병은 췌장의  $\beta$  세포의 선택적인 파괴로 인한 절대적인 insulin 분비에 의하며, 제 II 형 당뇨병은 insulin의 저항성과 이에 따른 insulin의 상대적 결핍을 원인으로 볼 수 있다<sup>2,3)</sup>.

한의학적 측면에서 당뇨병을 관찰하면 그 발현하는 증상의 유사함 때문에 消渴의 범주에 포함된다고 볼 수 있다<sup>4)</sup>. 消渴은 黃帝內經에서 최초로 언급되었으며, 그 특징은 多飲, 多食, 多尿이고, 주요한 원인은 飲食不節, 情志不調, 房室不節, 熱病化燥 등이다<sup>4-6)</sup>.

당뇨에 대해서는 그 병리기전, 증상, 진단, 치료 방법, 합병증 등 다각적인 연구가 진행되고 있다. 최근 화학물질로 당뇨를 유발한 동물모델을 이용한 연구가 활발히 이루어지고 있는데, 그 대표적인 것으로 alloxan과 streptozotocin을 들 수 있다. Alloxan과 streptozotocin은 포도당과 구조적 유사성을 갖고 있어 췌장의  $\beta$  세포에 선택적인 파괴를 일으키는 물질로 알려져 있다<sup>3)</sup>.

산화질소 (nitric oxide, NO)는 신경계통 조직에서 신경전달물질, 신경조절물질 또는 이차전령물질 (second messenger)로 작용하는 것으로 알려진 자유라디칼 (free radical)이다. 과거에는 endothelium-derived relaxing factor (EDRF)로 알려졌다

지만 현재는 기체임이 확인되었다. NO는 중추신경계통, 말초신경계통, 심장혈관계통에서 작용을 나타낸다고 보고되어왔다. NO의 형성은 흥분성 아미노산 수용체에 대한 자극과 관련이 있으며 일단 산화질소가 생성되면 수용성 guanylate cyclase가 자극된다. 산화질소는 산화질소합성효소 (nitric oxide synthase, NOS)에 의하여 arginine으로부터 합성되며 이때 NADH와 tetrahydrobiopterin이 조효소 (coenzyme)로 작용하는 것으로 알려져 있다<sup>7)</sup>.

산화질소합성효소로서는 신경아교세포에 존재하며 inducible form인 inducible NOS (iNOS), 신경세포에 분포하는 neuronal NOS (nNOS), 내피세포에 존재하는 endothelial NOS (eNOS)의 세가지 종류가 있다. 이 중에서 신경세포에 특이적인 산화질소합성효소인 nNOS, 즉 제1형 산화질소합성효소에 대한 면역조직화학적 연구등을 통해서 산화질소가 중추신경계통에서도 광범위하게 작용할 것으로 보고되고 있다.

최근 한의학계에서도 NOS와 관련된 연구가 시도되고 있으나, 아직은 미약한 실정이며 또한 침이 당뇨병이 유발된 흰쥐의 대뇌피질에서 NOS의 활성도에 미치는 영향에 대한 보고는 없었다. 이에 본 연구에서는 침자극이 당뇨병의 합병증 기전에 있어 중추적 조절과 관련된 물질인 NO의 발현변화에 미치는 영향을 관찰하고자 인위적으로 STZ를 주입하여 당뇨병을 유발시킨 Sprague Dawley (SD)계 흰쥐에게 인체에 상응하는 족삼리에 침자극을 가한 후 NO의 합성효소중에서 신경세포에 특이적인 산화질소 합성효소인 nNOS의 變化를 흰쥐의 대뇌피질에서 면역조직화학 방법으로 관찰한 결과 약간의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 실험

## 1. 실험동물 및 재료

### 1) 실험동물

실험에 사용한 동물은 체중 200g 내외의 SD계 수컷 흰쥐를 한국화학연구소에서 공급받아 실험 당일까지 물과 일반 고형사료를 충분히 공급하면서, 실온  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 를 유지하여 2주간 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다.

### 2) 재료

침은 길이 40mm, 직경 0.25mm의 stainless steel (정화침구사, 한국) 1회용 침을 사용하였다.

## 2. 실험방법

### 1) 실험군 설정

- 정상군(Normal) : SD계 흰쥐 6마리를 1군으로 정상적으로 물과 사료를 공급한 군.
- 대조군(Control) : SD계 흰쥐 6마리를 1군으로 streptozotocin (50mg/kg)을 투여한 군
- 실험군 A(Sample A) : 정상군에 족삼리 자침을 시행한 군.
- 실험군 B(Sample B) : 대조군에 족삼리 자침을 시행한 군.

### 2) 당뇨병 유발

흰쥐에 streptozotocin (Sigma, USA)을 45 mg/kg의 용량으로 normal saline에 용해시킨 후 곧바로 복강내로 주입한다. 실험동물을 미정맥에서 혈액을 채취하여 YSI glucose analyser를 이용하여 혈당을 측정하고 혈당수치가 300mg/dl 이상되는 실험동물만 선별하여 실험한다.

### 3) 침자극

침자극은 인체의 족삼리에 상응하는 부위에 1일 1회 20분씩 5일간 자침하였다.

### 4) 조직처리

모든 실험동물에게 pentobarbital sodium(60mg/kg)을 복강주사하여 마취시킨 후 흉강을 열고 좌심실을 통하여 0.05M 인산염완충식염수(phosphate buffered saline, PBS)를 1분간 주입하고, 0.1M 인산염완충액(phosphate buffer, PB)에 녹인 4% paraformaldehyde 용액(4°C)을 10분간 관류고정시켰다. 이때 관류속도는 50~60ml/min이 되도록 하였다. 관류고정 후 뇌를 적출하여 4~6mm 두께로 관상 절개하여 동일한 고정액에 담가서 4°C에서 16~18시간 동안 후고정한 다음, 0.1M PBS에 녹인 20% sucrose 용액에서 2~5일간 보관하였다.

Cryocut(Leica, Germany)을 이용하여 40 $\mu\text{m}$  두께의 연속횡단절편을 제작하였고, 자른 조직은 매 5장마다 1장씩을 취하여 염색을 시행하였다.

### 5) nNOS 면역조직화학

조직절편은 먼저 조직내에 존재하는 내재성 페록시다제를 비활성화시키기 위해 PBS에 희석한 1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에서 15분간 반응시킨다음 10분씩 3회 PBS로 세척한 후, 0.05% bovine serum albumin, 1.5% normal goat serum 및 0.3% Triton X-100이 들어있는 1차 항체용액에서 48시간동안 4°C에서 전탕하면서 반응시켰다. 이때 1차 항체로는 mouse anti-nNOS (Transduction Laboratories, 1:500)을 사용하였다. 1차 항체용액에서의 반응이 끝나면 조직을 PBS로 10분씩 3번 세척한 후, 2차 항체용액(Vectastain-Elite kit의 biotinylated anti-IgG를 1:200으로 희석, 0.3% Triton X-100)에서 1시간동안 실온에서 반응시켰다.

2차 항체 용액과 반응후에 PBS로 10분씩 3번 세척한 후 avidin-biotin-peroxidase complex 용액 (Vectastain-Elite kit의 A 용액 1:100, B 용액 1:100, 0.3% Triton X-100)에서 1시간동안 실온에서 반응시켰다. 발색제로는 3,3'-diamin-

obenzidine tetrahydrochloride (Sigma)을 0.05 M Tris 완충액에 0.02%, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>는 0.003%로 사용하였다. 발색반응은 상온에서 3~5분간 시켰으며, 반응이 끝난후 조직을 PBS로 10분씩 3회 세척하였다. 발색이 끝난 조직은 gelatin-coated slide에 있어서 2시간동안 실온에서 건조시킨 후 xylene으로 투명화시켜 polymount로 봉입하였다.

6) 조직관찰 및 영상분석

대뇌피질에 분포하는 nNOS 신경세포는 광학현미경을 통해 염색된 세포의 수를 영상분석기로 측정하였다. 각 부위 세부구조의 위치와 명칭은 Paxinos와 Watson의 부도8)를 참고하였는데 본 실험은 대뇌피질의 영역 中 restoplental granular/agranular cerebral cortex (RSG/A), frontal cortex area 1/2 (FR1/2), hindlimb area of cortex (HL), parietal cortex area 1 (PAR1), parietal cortex area 2 (PAR2) 및 perirhinal cortex (PRH)의 여섯 영역을 관찰하였다.

7) 통계처리

실험결과는 SPSS Window program(Ver. 7.5)을 이용하였으며, 모든 측정값은 평균값±표준오차 (Mean±standard error)로 나타내었고, 유의성은 p<0.05로 하였다. 각 실험군간의 통계학적 분석은 ANOVA와 Duncan test 검정<sup>9)</sup>을 실시하였다.

III. 실험성적

1. RSG와 RSA 영역에서 nNOS 신경세포수의 변화

대뇌피질의 RSG/RSA의 nNOS 신경세포수 변화를 분석하여 본 결과, 정상군의 OD값은 1.61 ± 0.14, 대조군은 0.92 ± 0.12, 실험군 A는 2.33 ± 0.24, 실험

군 B는 1.87 ± 0.17이었다. 정상군과 대조군은 통계학적으로 유의한 차가 인정되지 않았다. 실험군 A는 대조군에 비해 유의한 증가를 나타냈다 (Table I).

Table I. The number of nNOS-positive neurons in the RSG/RSA of rats.

Group	Number of slices	Average	Duncan Grouping
Normal	18	1.61 ± 0.14 <sup>1)</sup>	AB <sup>2)</sup>
Control	13	0.92 ± 0.12	B
Sample A	6	2.33 ± 0.24	A
Sample B	8	1.87 ± 0.17	AB

- 1) Data are mean ± SEM
- 2) Means with the same letter are not significantly different at α=0.05
- Normal : Untreated Group
- Control : Streptozotocin-induced-diabetes Group
- Sample A : Nondiabetic Acupunctured Group
- Sample B : Streptozotocin-induced-diabetes-and-Acupunctured Group

2. FR1 및 FR2 영역에서 nNOS 신경세포수의 변화

대뇌피질의 FR1/FR2의 nNOS 신경세포수 변화를 분석하여 본 결과, 정상군의 OD값은 3.67 ± 0.28, 대조군은 1.31 ± 0.29, 실험군 A는 3.17 ± 0.47, 실험군 B는 3.50 ± 0.57이었다. 정상군에 비해 대조군은 유의한 감소를 나타냈으며, 실험군 A 및 실험군 B 모두 대조군에 비해 유의한 증가를 나타내었다(Table II).

Table II. The number of nNOS-positive neurons in the FR1/FR2 of rats.

Group	Number of slices	Average	Duncan Grouping
Normal	18	3.67 ± 0.28 <sup>1)</sup>	A <sup>2)</sup>
Control	13	1.31 ± 0.29	B
Sample A	8	3.17 ± 0.47	A
Sample B	6	3.50 ± 0.57	A

- 1) Data are mean ± SEM

2) Means with the same letter are not significantly different at  $\alpha=0.05$

Normal : Untreated Group

Control : Streptozotocin-induced-diabetes Group

Sample A : Nondiabetic Acupunctured Group

Sample B : Streptozotocin-induced-diabetes-and-Acupunctured Group

### 3. HL 영역에서 nNOS 신경세포수의 변화

대뇌피질의 HL의 nNOS 신경세포수 변화를 분석하여 본 결과, 정상군의 OD값은  $16.89 \pm 0.96$ , 대조군은  $10.46 \pm 1.35$ , 실험군 A는  $16.50 \pm 1.02$ , 실험군 B는  $16.25 \pm 1.83$ 이었다. 정상군에 비해 대조군은 유의한 감소를 나타냈으며, 실험군 A 및 실험군 B 모두 대조군에 비해 유의한 증가를 나타내었다(Table III).

Table III. The number of nNOS-positive neurons in the HL of rats.

Group	Number of slices	Average	Duncan Grouping
Normal	18	$16.89 \pm 0.96^{1)}$	A <sup>2)</sup>
Control	13	$10.46 \pm 1.35$	B
Sample A	6	$16.50 \pm 1.02$	A
Sample B	8	$16.25 \pm 1.83$	A

1) Data are mean  $\pm$  SEM

2) Means with the same letter are not significantly different at  $\alpha=0.05$

Normal : Untreated Group

Control : Streptozotocin-induced-diabetes Group

Sample A : Nondiabetic Acupunctured Group

Sample B : Streptozotocin-induced-diabetes-and-Acupunctured Group

### 4. PAR1 영역에서 nNOS 신경세포수의 변화

대뇌피질의 PAR1의 nNOS 신경세포수 변화를 분석하여 본 결과, 정상군의 OD값은  $16.56 \pm 0.83$ , 대조군은  $9.38 \pm 0.82$ , 실험군 A는  $17.83 \pm 1.40$ , 실험군 B는  $16.25 \pm 1.31$ 이었다. 정상군에

비해 대조군은 유의한 감소를 나타냈으며, 실험군 A 및 실험군 B 모두 대조군에 비해 유의한 증가를 나타내었다(Table IV).

Table IV. The number of nNOS-positive neurons in the PAR1 of rats.

Group	Number of slices	Average	Duncan Grouping
Normal	18	$16.56 \pm 0.83^{1)}$	A <sup>2)</sup>
Control	13	$9.38 \pm 0.82$	B
Sample A	6	$17.83 \pm 1.40$	A
Sample B	8	$16.25 \pm 1.31$	A

1) Data are mean  $\pm$  SEM

2) Means with the same letter are not significantly different at  $\alpha=0.05$

Normal : Untreated Group

Control : Streptozotocin-induced-diabetes Group

Sample A : Nondiabetic Acupunctured Group

Sample B : Streptozotocin-induced-diabetes-and-Acupunctured Group

### 5. PAR2 영역에서 nNOS 신경세포수의 변화

대뇌피질의 PAR2의 nNOS 신경세포수 변화를 분석하여 본 결과, 정상군의 OD값은  $15.11 \pm 1.10$ , 대조군은  $9.23 \pm 0.71$ , 실험군 A는  $16.17 \pm 2.44$ , 실험군 B는  $12.88 \pm 1.18$ 이었다. 정상군에 비해 대조군은 유의한 감소를 나타냈고, 실험군 A는 대조군에 비해 유의한 증가를 나타냈으나 실험군 B는 대조군에 비해 증가는 하였으나 유의성은 인정되지 않았다(Table V).

Table V. The number of nNOS-positive neurons in the PAR2 of rats.

Group	Number of slices	Average	Duncan Grouping
Normal	18	$15.11 \pm 1.10^{1)}$	A <sup>2)</sup>
Control	13	$9.23 \pm 0.71$	B
Sample A	8	$16.17 \pm 2.44$	A
Sample B	16	$12.88 \pm 1.18$	AB

- 1) Data are mean ± SEM
- 2) Means with the same letter are not significantly different at  $\alpha=0.05$
- Normal : Untreated Group
- Control : Streptozotocin-induced-diabetes Group
- Sample A : Nondiabetic Acupunctured Group
- Sample B : Streptozotocin-induced-diabetes-and-Acupunctured Group

6. PRH 영역에서 nNOS 신경세포수의 변화  
 대뇌피질의 PRH의 nNOS 신경세포수 변화를 분석하여 본 결과, 정상군의 OD값은  $15.44 \pm 0.93$ , 대조군은  $10.46 \pm 0.87$ , 실험군 A는  $11.00 \pm 0.85$ , 실험군 B는  $15.87 \pm 1.31$ 이었다. 정상군에 비해 대조군은 유의한 감소를 나타냈고, 실험군 B는 대조군에 비해 유의한 증가를 나타냈으나 실험군 B는 대조군에 비해 통계학적으로 유의한 차가 인정되지 않았다(Table VI).

Table VI. The number of nNOS-positive neurons in the PRH of rats.

Group	Number of slices	Average	Duncan Grouping
Normal	18	$15.44 \pm 0.93$ <sup>1)</sup>	A <sup>2)</sup>
Control	13	$10.46 \pm 0.87$	B
Sample A	8	$11.00 \pm 0.85$	B
Sample B	16	$15.87 \pm 1.31$	A

- 1) Data are mean ± SEM
- 2) Means with the same letter are not significantly different at  $\alpha=0.05$
- Normal : Untreated Group
- Control : Streptozotocin-induced-diabetes Group
- Sample A : Nondiabetic Acupunctured Group
- Sample B : Streptozotocin-induced-diabetes-and-Acupunctured Group

#### IV. 고찰

당뇨병은 고혈당 및 이에 수반되는 대사장애를

특징으로 하는 질환군이다. 당뇨병의 정확한 빈도는 진단 기준의 차이로 확인하기 어렵지만 공복시 고혈당을 기준으로 할 때 약 1~2%정도이다. 대사이상과 눈, 신장, 신경 및 혈관 등을 침범하는 장기간에 걸친 합병증이 특징이다<sup>1)</sup>.

한의학에서 당뇨병은 그 발현하는 증상의 유사함 때문에 消渴의 범주에 포함된다고 볼 수 있다. 黃帝內經에서 최초로 消癯, 消渴로 언급된 이래 원인의 차이와 形症의 발현 부위에 따라 膈消, 高消, 肺消, 脾消, 上消, 中消, 腎消, 下消등으로 분류되며, 上消는 消渴多飲한 증상이 주가 되고, 中消는 消穀善飢한 증상이 주가 되고, 下消는 渴而小便數한 증상이 주가 된다고 하였다<sup>10)</sup>. 消渴의 원인은 內經素問陰陽別論에 '二陽結 謂之消'라 하며, 奇病論에서 '脾癯, 此肥美之所發也 此人必數食甘味而多肥'라 하고, 靈樞五變篇에 '五臟皆有弱者 善病消癯'이라 하여, 邪氣藏府病形篇에서 '心脈, 肺脈, 脾脈, 腎脈, 微小者皆爲消癯'이라 하여 음식부절, 비만 및 체질의 허약적 요인으로 보았다<sup>4-6)</sup>.

주요 침구치료혈로는 脾俞, 胃俞, 足三里 등이 많이 사용되고 있는데, 足三里는 足陽明胃經의 合穴로서 穴性은 理脾胃, 調中氣, 疏風化濕, 通調經絡, 調和氣血, 扶正培元이며, 소화기질환, 고혈압, 신경증, 부종, 하지질환, 증풍반신불수, 허약체질, 과민성질환, 비뇨기계질환 등에 효과가 있다. 胃와 脾는 상호표리 관계에 있고 內經에 '二陽結謂之消'라 하였는데 二陽이란 足陽明胃經 및 手陽明大腸經으로 陽明의 氣가 結滯하여 水穀이 津液으로 化生되지 못하기 때문에 消渴이 발생된다 하여 消渴의 主治穴로 多用되어 왔다<sup>11)</sup>.

NO는 자유롭게 확산하는 가스로서 신경계, 혈관계 및 면역계에서 세포사이의 작용을 매개하는 매신저 물질로 중요한 역할을 한다<sup>12)</sup>. 1990년 초에 동물세포에서 세포간의 매신저로서 생성된다는 것을 발견하였고 혈압, platelet adhesion, neutrophil

의 집성뿐만 아니라 뇌에서 synaptic plasticity의 역할과 관련이 있을 것으로 보고되어졌다<sup>13)</sup>. 즉 NO는 혈소판내에서 혈소판의 응집을 억제하며 대식세포에서 세포독성을 매개하는 작용을 하며 일부 인체조직에서는 혈관확장을 매개하는 물질로도 알려져 있다. 혈관확장을 매개하는 물질로서 뇌 조직에서는 확인되지 않았으나 대뇌혈류순환은 NO에 의해 조절되며 NO는 내피세포 뿐만 아니라 혈관주위 신경섬유에서 나오는 것으로 확인되었다. 또한 신경계에서 NO는 장기기억의 역행성전도물질로 작용할 것으로 생각되며 NO가 과도 생성될 경우에는 신경독소로 작용한다고 알려져 있다<sup>14)</sup>.

NOS는 NO를 만드는 효소로써 그 작용에 대한 것은 확실히 알려진 바가 없다. 1981년 이전까지 NO의 생성은 특정한 세균의 질소화 과정에서 발생하는 것으로 생각되었으나 Moncada<sup>15)</sup> 등은 NO가 L-arginine의 guanidino nitrogen으로부터 NOS에 의하여 생성된다는 사실을 밝혔다.

NO는 연접형성성 (synaptic plasticity)의 기전에 관련되어있는 것으로 알려져 왔는데, 특히 학습과 기억에 관여하는 해마 (hippocampus)의 장기적 활성화 (long-term potentiation) 기전과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다<sup>16,17)</sup>. 또한 산화질소는 글루탐산염, 노르아드레날린<sup>18)</sup>, 도파민<sup>19,20)</sup> 등과 같이 학습과 기억 과정에 있어서 중요한 역할을 수행하는 것으로 알려진 신경전달물질의 분비를 조절한다. 또한 산화질소합성효소는 ischemia-reperfusion injury 등에서 신경세포를 손상시키는 reactive oxygen species로 작용하며<sup>21)</sup> 신경퇴행성 질환과도 관계가 있음이 보고되고 있다. 이와같은 사실은 뇌에서의 산화질소의 합성이 중풍이나, 파킨슨병 또는 당뇨병의 합병증 등에 의해서 감소될 수 있음을 시사하고 있으며 streptozotocin으로 당뇨병이 유발된 흰쥐에서 NO가 감소한다는 연구 결과가 보고되어 있다<sup>22)</sup>.

침자극이 중추신경계에 미치는 영향에 대한 국내 연구는 최근에 신경전달 물질과 관련지어져 활발히 진행되고 있다. 김<sup>23)</sup> 등은 전침자극이 뇌의 신경전달 물질에 미치는 영향에 대해 전침자극 후 NOS 신경세포와 NPY 신경세포의 염색성을 관찰한 결과, NOS와 NPY가 전침자극 부위에 따라 각각 다른 신경세포의 변화를 보여 전침요법이 중추신경계의 수많은 peptidic system를 활성화시킨다는 가설을 제시하였다. 본 연구진들은 최근에 족삼리 자침이 일시적 뇌허혈을 유발시킨 모래쥐의 해마에서 새로운 신경세포의 생성이 증가하였음을 보고하였고<sup>24)</sup>, 또한 이침자극이 48시간동안 절식시킨 흰쥐의 대뇌에서 여러 가지 신경전달 물질 (CCK, VIP, TPH, leptin, NOS)의 변화를 관찰하였는데 이침자극 후 대뇌피질 대부분의 영역에서 유의한 증가를 나타내어, 신경전달물질이 침자극에 의해서 활성화될 수 있다는 가능성을 보여주었다<sup>25-28)</sup>.

본 실험 결과에 있어, 대조군은 정상군에 비해 대부분의 대뇌피질에서 nNOS의 활성도가 유의성 ( $p < 0.05$ ) 있게 감소되었다. 이러한 결과는 기존의 실험결과와 일치하는 것으로 STZ로 유발된 당뇨쥐의 대뇌피질은 nNOS의 활성도가 감소됨을 확인할 수 있었다. 그리고 정상군에 족삼리 자침을 시행한 실험군에서는 대부분 정상군에 비해서 통계학적으로 유의한 감소를 나타내지 않았다. 이러한 실험결과는 정상군에서의 침자극이 흰쥐의 대뇌피질에 stress로서 작용하지 않는다는 것을 간접적으로 시사하는 것이라고 할 수 있다. 또한 STZ로 당뇨병을 유발시킨 흰쥐에 족삼리 침자극을 시행한 실험군은 STZ-당뇨병 흰쥐에 비해서 nNOS의 활성도가 증가하였다. 이러한 결과는 당뇨병이 유발된 흰쥐에 있어서 대뇌피질에서 저하된 nNOS의 활성도를 침자극에 의해서 조절될 수 있음을 보여주는 결과라고 할 수 있다. 이상의 결과로 보아 족삼리 침치료가 nNOS 신경세포에 변화를 줄 수 있음을 관찰할 수 있었으

며, 뇌세포에 존재하는 NO가 침자극에 의해서 활성화될 수 있다는 가능성을 제시할 수 있었다. 결국 한의학에서 치료법 중의 하나로 사용되는 침요법이 신경계 세포사이의 메신저 물질인 NO의 활성화변화에 영향을 준다는 가능성을 제시할 수 있으며, 향후 지속적이며 다각적인 방향으로 연구해야 할 것으로 사려된다.

## V. 참고문헌

1. 서울대학교 의과대학 내과학 교실. 최신지견 내과학. 서울:서울대학교 출판부. 1996:78-8-801.
2. 서울대학교 의과대학. 내분비학. 서울:서울대학교 출판부. 1987:173-5.
3. 김웅진 외. 당뇨병학. 서울:서울대학교 출판부. 1992:173-7.
4. 신재용. 당뇨병과 소갈. 서울:성보사. 1985:58-74.
5. 양유결편. 황재내경석해. 서울:성보사. 1980:345-359.
6. 상해중의학원편. 중의내과학. 향향:상무인서관. 1977:503-11.
7. Holz RW, Fisher SK. Synaptic Transmission and cellular signalling: an overview. In: Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, Fisher SK, Uhler MD, eds. Basic Neurochemistry. Philadelphia: Lippincott-Raven. 1999:210-1.
8. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 3rd ed.. San Diego: Academic Press. 1985.
9. 박순영. 의학통계학. 서울:경희대학교출판국. 1998:162-183.
10. 주진형. 단계심법. 대북:오주출판사. 1969:499-500.
11. 임종국. 침구치료학. 서울:집문당. 1983:365-366.
12. Giatgen A. The Dual Role of Nitric Oxide in Islet  $\beta$ -Cell. *New Physiol Sci.* 1999;14:49-53.
13. Feldman PL, Griffith OW, Sheuhr DJ. The surprising life of nitric oxide. *Chem Eng News.* 1993:26-38.
14. Koh JY, Choi DW. Vulnerability of cultured cortical neurons to damage by endotoxins, Differential susceptibility of neurons containing NADPH-diaphorase. *J Neurosci.* 1993;8:2153-63.
15. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric Oxide, Physiology. *Phathology and Pharmacol Rev.* 1991;43:109-42.
16. O'Dell TJ, Hawkins RD, Kandel ER, Arancio O. Tests of the role of two diffusible substances in long-term potentiation: evidence for nitric oxide as a possible early retrograde messenger. *Proc Nati Acad Sci U.S.A.* 1991;88:11285-9.
17. Schuman EM, Madison DV. A requirement for the intercellular messenger nitric oxide in long-term potentiation. *Science.* 1991;254:1503-6.
18. Montague PR, Gancayco CD, Winn MJ, Marchase RB, Friedlander MJ. Role of NO production in NMDA receptor-mediated neurotransmitter release in cerebral cortex. *Science.* 1994;263:973-7.
19. Hanbauer L, Wink D, Osawa Y, Edelman



- GM, Gally JA. Role of nitric oxide in NMDA-evoked release of [3H]-dopamine from striatal slices, *Neuroreport* 1992;2:409-12.
20. Zhu X, Luo L. Effect of nitroprusside (nitric oxide) on endogenous dopamine release from rat striatal slices. *J Neurochem.* 1992;59:932-5.
21. Dugan LL, Choi DW. Hypoxic-ischemic brain injury and oxidantive stress. In: Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, Fisher SK, Uhler MD, eds. *Basic Neurochemistry*. Philadelphia:Lippincott-Raven. 1999:725-7.
22. Good PF, Werner P, Hsu A, Olanow CW, Perl DP. Evidence for neuronal oxidative damage in Alzheimer's disease. *Am J Path.* 1996;149:21-8.
23. 김창환, 김용석, 허영범, 유진화. 전침자극이 SHR 흰쥐 대뇌의 NADPH-diaphorase와 Neuropeptide Y 신경세포에 미치는 영향. *대한침구학회지.* 1999;16(4):283-91.
24. Kim EH, Kim YJ, Lee HJ, Huh Y, Chung JH, Seo JC, Kang JE, Lee HJ, Yim SV, Kim CJ. Acupuncture increases cell proliferation in dentate gyrus after transient global ischemia in gerbils. 2001;297:21-4
25. 김이화, 김연정, 임백빈, 장미현, 정주호, 김창주. 이침이 절식시킨 흰쥐의 대뇌피질에서 CCK 활성변화에 미치는 영향. *대한침구학회지.* 2000;17(3):168-75.
26. 김이화, 김연정, 임백빈, 장미현, 정주호, 김창주. 이침이 절식시킨 흰쥐의 뇌신경세포 활성변화에 미치는 영향. *대한침구학회지.* 2001;18(1):21-8.
27. 이정현, 김이화, 이은용. 이침자극이 절식 stress로 인한 흰쥐 대뇌피질의 NADPH-diaphorase 신경세포에 미치는 영향. *대한침구학회지.* 2001;18(2):79-90.
28. Kim EH, Kim Y, Jang MH, Lim BV, Kim YJ, Chung JH, Kim CJ. Auricular acupuncture decreases neuropeptide Y expression in the hypothalamus of food-deprived Sprague-Dawley rats. *Neuroscience Letters.* 2001;307:113-116.