

원저

## 電針刺戟에 의한 흰쥐 中樞神經系내 代謝活性 變化的 映像化 研究

손영주\* · 원란\* · 정혁상\* · 김용석\*\* · 박영배\*\*\* · 손낙원\*

\*경희대학교 동서의학대학원 신경과학교실

\*\*경희대학교 한의과대학 침구학교실

\*\*\*경희대학교 한의과대학 진단학교실

### Abstract

#### 2-DG Autoradiographic Imaging of Brain Activity Patterns by Electroacupuncture Stimulation in Awake Rats.

Sohn, Young-Joo\* · Won, Ran\* · Jung, Hyuk-Sang\* · Kim, Yong-Suk\*\*,  
Park, Young-Bae\*\*\* · Sohn, Nak-Won\*

\*Department of Neuroscience, Graduate School of East-West Medical Science,

\*\*Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine,

\*\*\*Department of Biofunctional Medicine and Diagnosis, College of Oriental Medicine,  
Kyung Hee University

**Objective** : Functional brain mapping study on acupuncture stimulation using the [14C]2-deoxyglucose([14C]2-DG) autoradiography provides quantitative data and visualized pathway in central nervous system(CNS). We aimed to investigate the neural pathway and spatial distribution of metabolic activity elicited in CNS on electroacupuncture stimulation using [14C]2-DG autoradiography.

**Methods** : The study were divided into three groups by stimulation times. 45-mins stimulation group according to Sokoloff's method, 5-mins stimulation group according to Duncun's method, and 15-mins stimulation group. ;A venous catheter was equipped into right jugular vein. The rats (Sprague-Dawley rats, 230-260g) were kept fastened loosely on a holding platform without anesthesia. Electroacupuncture stimulation (5 ms, 2 Hz, 1~3 mA) were applied on the left Zusanli (ST36) acupoint and [14C]2-DG (25  $\mu$ Ci/rat) injection was performed through the catheter. After sacrifice, the brain and the spinal cord were made to sections for film image. The film images were digitalized as the isotope concentration based upon comparison of optical densities with that of the standards and normalized by the optical density of corpus callosum.

· 본 연구는 보건의료기술연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임(HMP-98-M-6-0063).

· 접수 : 5월 3일 · 수정 : 5월 4일 · 채택 : 5월 19일

· 교신저자 : 손영주, 경기도 용인시 기흥읍 서천리 1번지 경희대학교 동서의학대학원 신경과학교실(Tel : 031-204-6832)

E-mail : q701@chollian.net

**Results :** 1. 15-mins stimulation group was most effective among 3 experiments.

2. On 15-mins stimulation group, medial geniculate nucleus, interpeduncular nucleus intermedius, ventral periolivary nucleus, caudal periolivary nucleus, medial superior olive, lateral paragigantocellular nucleus, including hypothalamic arcuate nucleus were increased by more than 25% (at least,  $p < 0.05$ ) by electroacupuncture stimulation.

3. Especially, the metabolism in hypothalamic arcuate nucleus was increased by 90% ( $p < 0.05$ ).

4. The fact that arcuate nucleus of hypothalamus might play a role of interconnection area between ascending and descending pathway of acupuncture stimulation was demonstrated visually.

**Conclusions :** Advanced study on electroacupuncture stimulation elicited significant increase of metabolic activity in various nuclei of hypothalamus will provide the important experimental basis in research of the relationship between electroacupuncture stimulation and internal visceral functions.

**Key words :** electroacupuncture, arcuate nucleus, [ $^{14}\text{C}$ ]2-deoxyglucose, Choksamni(ST36), Brain mapping

## I. 서론

침술요법은 일종의 자극요법으로 통증을 비롯한 여러 증상을 완화시키고 질병을 예방하고 치료하는데 활용되어 왔다. 통증기전에 endorphin이 보고된 이후 침자진통(acupuncture analgesia)에 관한 신경생리학적 연구가 활발하게 진행되었으며 이를 토대로 임상연구가 시행되어 침술요법의 효과와 작용기전에 관한 논문이 많이 발표되었다<sup>1,2,3</sup>.

침자진통 기전은 신경기전과 체액기전으로 해석된다. 체액기전은 척수나 척수상위의 중추신경계에 작용하는 endorphin이나 serotonin과 같은 내인성 물질과 기타 신경전달물질에 의한 진통기전이다.<sup>1,4</sup> 신경기전은 척수분절에서 작용하는 기전과 뇌와 척수의 통각억제계에 의한 하행성 억제조절기전(descending pain inhibitory system)으로 구분된다. 하행성 통증 억제계에는 수도주위회백질(periaqueductal gray matter), 대봉선핵(nucleus raphe

magnus), 시상하부의 궁상핵(hypothalamic arcuate nucleus)이 관여하는 것으로 알려져 있다<sup>5,17</sup>.

침자진통의 구심로는 내측궁상핵(medial hypothalamic arcuate nucleus)이 최종도달부위이며 하행성 동통억제계에서는 후궁상핵(posterior hypothalamic arcuate nucleus)이 원심로의 시작부위임이 보고되었다<sup>6,7,8,9</sup>.

침자진통의 신경생리학적 연구는 많이 보고되었으나 침자극에 의한 중추신경계 대사활성과 전달로에 대한 연구는 아직까지 미흡한 실정이다.

이에 저자는 [ $^{14}\text{C}$ ]2-deoxyglucose ([ $^{14}\text{C}$ ]2-DG) 자가방사능기록법(auto radiographic method)을 이용하여 전침자극에 의해 중추신경계에서 에너지 대사와 국소 기능 활동 부위를 관찰하고 이를 시각화하여 전침자극의 전달로를 탐색하고자 본 연구를 시도하였다.

마취하지 않은 각성상태의 흰쥐에 전침자극을 가하고 [ $^{14}\text{C}$ ]2-DG 자가방사능기록법을 시행하기 위한 전침 자극의 강도 및 자극시간 등 각종 조건을 최적화하였으며, 전침자극에 의하여 중추신경계 내

에서 대사활성이 증가하는 부위를 탐색하고 대사활성도를 측정하고, 측정된 뇌대사활성도에 비례하여 척수에서부터 뇌간 상부까지의 전침자극에 대한 뇌대사 영상지도를 제작한 결과 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험동물

실험동물은 대한실험동물센터에서 구입한 체중 230~260g의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 사용하였다. 흰쥐는 온도(21-23℃), 습도(40-60%), 조명(12시간 명/암)이 자동적으로 유지되는 사육실에서 무균음수와 사료가 자유롭게 공급되었다. 실험동물을 실험실 환경에 1주간 적응시킨 후 사용하였다.

### 2. 실험방법

마취하지 않은 각성상태의 흰쥐에 전침자극을 가하고 이에 대한 [<sup>14</sup>C]2-DG 자가방사능기록법을 시행한 후 뇌 조직절편 및 자가방사능 영상 제작하여 전침자극에 의하여 중추신경계 내에서 대사활성이 증가하는 부위를 탐색하고 대사활성도를 측정하였으며, 측정된 뇌대사활성도에 비례하여 척수에서부터 뇌간 상부까지의 전침자극에 대한 뇌대사 영상지도를 제작하고자 하였다.

실험실 환경에 1주일간 적응시킨 건강한 상태의 흰쥐를 무작위로 실험군과 대조군으로 구분하였다. 실험군을 3개 군으로 분류하였으며, 전침자극 이외의 조건이 동일하게 유지된 대조군을 각 실험군별로 설정하였다.

#### 1) 전침자극시험

##### (1) 45분-전침자극군

실험군 흰쥐를 3.5% chloral hydrate (1 ml/100g body weight) 용액으로 마취하고 우측 대퇴정맥과 대퇴동맥에 PE-50 polyethylene tube를 삽입하였으며, 카테터가 삽입된 후 실온에서 약 3시간 정도 방치하여 마취상태에서 깨어나도록 하였다. 전침자극 실험과정동안 흰쥐가 편히 엎드린 자세를 취할 수 있도록 제작된 고정대 위에 테이블을 사용하여 고정대에 느슨히 고정시켰다. 대퇴정맥을 통하여 흰쥐 한 마리 당 25 μCi의 [<sup>14</sup>C]2-DG를 주입함과 동시에 좌측 족삼리(ST36) 부위에 약 2mm 간격, 5mm 깊이로 두 개의 침을 꽂고 Grass stimulator(Grass, S88, USA)를 이용하여 2Hz, 5ms, 1mA의 전침자극을 45분간 시행하였다. 방사능동위원소 주입 45분후 전침자극의 중지와 함께 과용량의 마취제를 정맥주사하여 즉시 희생시켰다. 전침자극을 가하지 않은 대조군은 2마리, 전침자극군은 3마리를 시행하였으며, 자료로 사용된 것은 대조군 1마리, 전침자극군 2마리이다.

##### (2) 5분-전침자극군

실험군 흰쥐를 3.5% chloral hydrate 용액으로 마취하고 우측 외경정맥에 PE-50 카테터를 삽입한 후 피하를 통하여 후두부 상단으로 유도하여 고정하였다. 카테터 장착 후 3일간 상처가 치유되는 기간을 두었다. 이 기간 동안 카테터의 상태를 유지하기 위하여 매일 heparine 처리된 생리식염수로 카테터를 세척하였으며, 매일 1 시간정도 흰쥐를 고정대 위에 느슨히 고정되어 자세를 유지하는 적응훈련을 실시하였다. 카테터 장착 3일 후에 전침자극 실험을 실시하였다.

전침자극 실험 당일에는 실험 약 1 시간전에 각성상태의 흰쥐를 고정대에 느슨히 고정시켜 일정의 적응시간이 지난 후 흰쥐의 좌측 족삼리(ST36)혈에 약 2mm 간격, 5mm 깊이로 두 개의 침을 꽂고 Grass stimulator(Grass, S88, USA)를 사용하여

3분간의 예비전침자극을 가하였으며, 예비전침자극 7분 후 외경정맥의 카테터를 통하여 흰쥐 한 마리 당 25  $\mu$ Ci의 [ $^{14}$ C]2-DG를 주입함과 동시에 하지의 경축이 나타나는 2Hz, 5ms, 1~3mA의 전침자극을 5분간 가하였다. 5분후 전침자극의 중지와 함께 과용량의 마취제를 정맥주사하여 즉시 희생시켰다. 전침자극을 가하지 않은 대조군은 4마리, 전침자극군은 8마리를 시행하였으며, 자료로 사용된 것은 대조군 1마리, 전침자극군 2마리이다.

### (3) 15분-전침자극군

카테터 장착을 위한 수술 및 치유기간, 적응훈련, 예비전침자극 등은 5분-전침자극군의 실험과 동일하게 시행하였으며, 예비전침자극 7분 후 외경정맥의 카테터를 통하여 흰쥐 한 마리 당 25  $\mu$ Ci의 [ $^{14}$ C]2-DG를 주입함과 동시에 하지의 경축이 나타나는 2Hz, 5ms, 1~3mA의 전침자극을 15분간 가하였다. 전침자극이 끝난 후 고정대 위에서 편히 자세를 유지하는 상태에서 30분이 경과된 시점 즉, 방사능동위원소 주입 45분 후에 과용량의 마취제를 정맥주사하여 즉시 희생시켰다. 전침자극을 가하지 않은 대조군은 4마리, 전침자극군은 8마리를 시행하였으며, 자료로 사용된 것은 대조군 2마리, 전침자극군 4마리이다.

### 2) 뇌조직 절편 및 자가방사능기록 영상 제작

전침자극 후 희생시킨 흰쥐의 뇌와 척수를 적출하여 -50 $^{\circ}$ C dry ice-isopentane 용액으로 즉시 동결시킨 후 -70 $^{\circ}$ C의 deepfreeze에 보관하였다. 동결된 뇌와 척수를 Frigocut (Leica, model 2800, USA)을 사용하여 20 $\mu$ m 두께의 절편을 매 200 $\mu$ m 간격으로 약 100개의 연속절편을 만들었다. 조직절편은 cover slip (Corning cover grass, No 2, USA)에 부착한 다음 즉시 50 $^{\circ}$ C에서 건조시키고, 완전히 건조시킨 조직절편의 cover slip을 순

서대로 cardboard에 붙였다. 각각의 cardboard는 [ $^{14}$ C]methyl methacrylate 방사능동위원소 standards (Amersham, USA)와 함께 Bio-Max MR-1 필름 (Kodak, USA)에 얹어 암실에서 약 7일간 노출시키고, 현상하여 [ $^{14}$ C]2-DG 자가방사능 기록 영상을 제작하였다.

### 3) 영상분석 및 semi-quantitative 대사활성도 측정

영상분석과 semi-quantitative 대사활성도 측정에는 Macintosh 컴퓨터 (Power-PC G3, USA)와 "NIH Image" software (NIH, Ver. 1.66, USA)가 사용되었다. 영상을 scanner(Epson, GT-9500, JAPAN)를 통하여 입력하고, Paxinos와 Watson의 Rat Brain Atlas<sup>10)</sup>에 따라 측정부위를 결정하여 optical density (OD)를 측정하였다. 각 뇌 부위에서 측정된 OD는 [ $^{14}$ C]methyl methacrylate standards의 OD에 의하여 [ $^{14}$ C]2-deoxyglucose-6-phosphate ([ $^{14}$ C]2-DG-6-P) 방사능동위원소 량으로 계산되었다.

각 실험동물의 뇌부위별로 측정된 [ $^{14}$ C]2-DG-6-P 방사능동위원소 량은 동일 실험동물의 뇌량 (corpus callosum)에서 측정된 [ $^{14}$ C]2-DG-6-P 방사능동위원소 량에 대한 상대증가율을 계산하는 방식으로 표준화하였고, 전침자극을 받지않은 대조군과 비교 분석하였다.

### 4) 대사활성 영상지도 제작

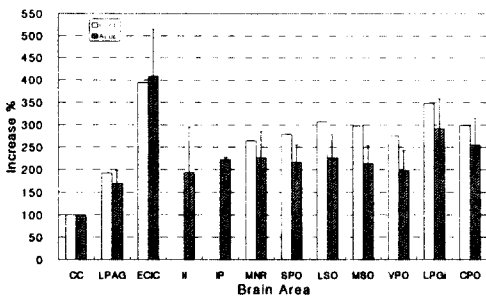
전침자극에 의하여 대사활성이 나타난 영상에서 측정된 gray scale의 OD 및 [ $^{14}$ C]2-DG-6-P 방사능동위원소 량에 비례하여, "NIH Image" software (NIH, Ver. 1.66, USA)를 이용하여 32색상의 pseudocolor 뇌대사활성 영상지도를 제작하였다.

### III. 결 과

#### 1. 45분-전침자극군의 semi-quantitative 대사활성도 변화

전침자극에 의한 흰쥐 중추신경계내 대사활성 변화를 관찰한 결과 45분-전침자극군의 경우 대조군에 비하여 하구외측피질(external cortex of the inferior colliculus)에서만 3% 증가하는 경향을 보였으나 유의성은 없었으며, 다른 부위의 경우 오히려 감소하는 경향을 보였다 (Figure 1 참조). 또한 전침자극 시간이 길어짐에 따라 대사활성 부위가 혼재되어 전침자극에 대한 유의한 [<sup>14</sup>C]2-DG 자가방사능기록 영상의 제작이 어려웠다.

Figure 1. Increase percentage of regional isotope concentration activated by 45 mins-electroacupuncture stimulation.



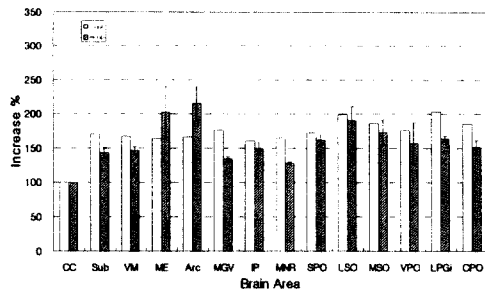
There was no significantly activated region on 45 minutes electroacupuncture stimulation group with respect to the control group.

CC; corpus callosum, LPAG; lateral periaqueductal gray, ECIC; external cortex of the inferior colliculus, II; lateral lemniscus, IP; interpeduncular nucleus, MNR; median raphe nucleus, SPO; superior paraolivary nucleus, LSO; lateral superior olive, MSO; medial superior olive, VPO; ventral periolivary nucleus, LPGi; lateral paragigantocellular nucleus, CPO; caudal periolivary nucleus

#### 2. 5분-전침자극군의 semi-quantitative 대사활성도 변화

전침자극에 의한 흰쥐 중추신경계내 대사활성 변화를 관찰한 결과 5분-전침자극군의 경우 대조군에 비하여 정중용기(median eminence)와 궁상핵(arcuate nucleus)에서 각각 23.5%와 29.6% 증가하는 경향을 보였으나 유의성은 없었으며, 다른 부위에서는 오히려 감소하는 경향을 보였다 (Figure 2 참조). 또한 뇌실 등에 흡수되지 못한 방사능동위원소로 인한 영상과 전침자극으로 인한 대사활성 부위가 혼재되어 전침자극에 대한 유의한 [<sup>14</sup>C]2-DG 자가방사능기록 영상의 제작이 어려웠다.

Figure 2. Increase percentage of regional isotope concentration activated by 5 mins-electroacupuncture stimulation.



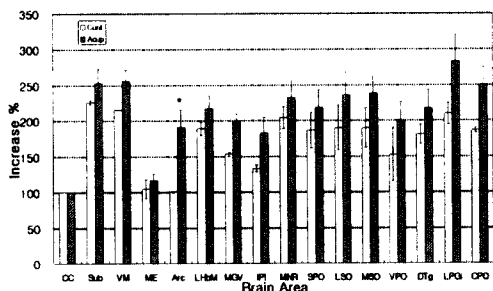
There was no significantly activated region on 5 minutes electroacupuncture stimulation group with respect to the control group.

CC; corpus callosum, Sub; sub medius thalamic nucleus, VM; ventromedial thalamic nucleus, ME; median eminence, Arc; arcuate nucleus, MGV; medial geniculate nucleus ventral, IP; interpeduncular nucleus, MNR; median raphe nucleus, SPO; superior paraolivary nucleus, LSO; lateral superior olive, MSO; medial superior olive, VPO; ventral periolivary nucleus, LPGi; lateral paragigantocellular nucleus, CPO; caudal periolivary nucleus

### 3. 15분-전침자극군의 semi-quantitative 대사활성도 변화

전침자극에 의한 흰쥐 중추신경계내 대사활성 변화를 관찰한 결과 15분-전침자극군의 경우 대조군에 비하여 25% 이상 대사활성이 증가한 부위는 내측슬상핵(medial geniculate nucleus), 중외측각간핵(interpeduncular nucleus intermedius), 복측올리브주위핵(ventral periolivary nucleus), 미측올리브주위핵(caudal periolivary nucleus), 내측상측올리브(medial superior olive), 외측부거대세포핵(lateral paragigantocellular nucleus) 이었으며, 궁상핵(hypothalamic arcuate nucleus)에서는 90% 이상의 유의한 ( $P < 0.05$ ) 대사활성의 증가를 나타내었다 (Figure 3, 4, 5 참조).

Figure 3. Increase percentage of regional isotope concentration activated by 15 mins-electroacupuncture stimulation.



The Metabolic activation in hypothalamic arcuate nucleus of electroacupuncture group was significantly increased with respect to that of non-electroacupuncture group (\*;  $P < 0.05$ ).

CC; corpus callosum, Sub; sub medius thalamic nucleus, VM; ventromedial thalamic nucleus, ME; median eminence, Arc; arcuate nucleus, LHBM; lateral habenular nucleus medial, MGv; medial geniculate nucleus ventral, IPI; interpeduncular nucleus intermedius, MNR; median raphe nucleus, SPO; superior paraolivary nucleus, LSO; lateral superior olive, MSO; medial superior olive, VPO; ventral periolivary nucleus, DTg; dorsal tegmental nucleus,

LPGI; lateral paragigantocellular nucleus, CPO; caudal periolivary nucleus

Figure 4. Pseudocolored 2-DG autoradiograms of 15 mins electroacupuncture stimulation. Red colored region represents high metabolic activation and blue colored region represents low metabolic activation induced by electroacupuncture stimulation. Isotope concentration of each region was normalized with that in Corpus callosum of each animal.

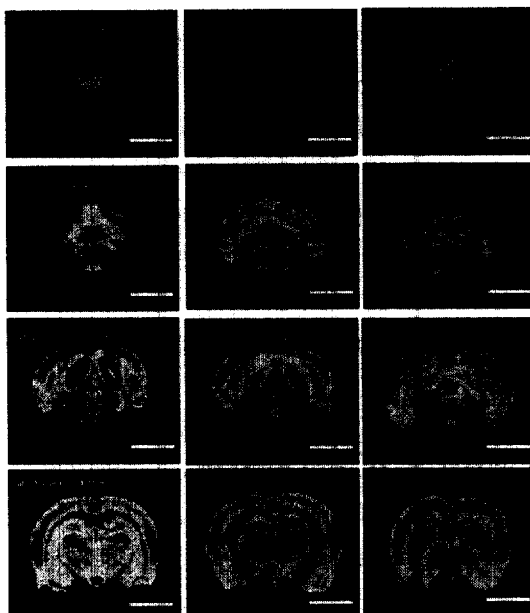
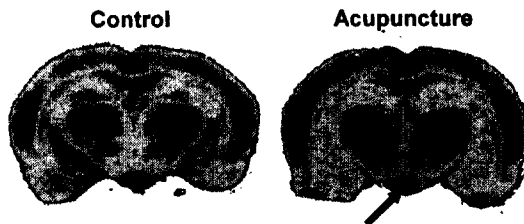


Figure 5. Pseudocolored 2-DG autoradiograms of 15 mins-electroacupuncture stimulation. The 15 mins-electroacupuncture stimulation evokes neural activity in hypothalamic nuclei. The black arrow indicates the activated hypothalamic nuclei of the electroacupuncture group.



#### IV. 고찰

침자진통 기전에 관한 초기의 신경과학적 연구를 통하여 endorphin이 침자진통 기전에 영향을 미칠 수 있음이 보고되었다<sup>11,12,13,14</sup>. 그 후 Takeshige 등의 연구를 통하여 전침자극의 구심로의 최종도달 부인 내측궁상핵과 하행성동통억제계와 관련된 원심로의 시작부인 후궁상핵 사이에는 도파민 신경원과 beta-endorphin이 작용되어 침자진통 기전을 조절함이 보고되었다<sup>6,7,8,9</sup>. 전침자극이 뇌하수체에 이르기 위하여 통과하는 부위는 정중용기(median eminence)라고 하였다<sup>9</sup>. 하행성동통억제계는 먼저 도파민매개경로(dopamine mediate pathway)를 통하여 후궁상핵에서 시작하여 복내측시상하부핵(hypothalamic ventromedian nucleus)까지 하행한 후 두 개의 경로로 나누어지는데 한 경로는 세로토닌매개경로(serotonin mediate pathway)로서 복측수도주위회백질(ventral periaqueductal gray)을 거쳐 대봉선핵으로 하행하며, 다른 경로는 노르아드레날린매개경로(noradrenaline mediate pathway)로서 망상부거대세포핵(reticuloparagigantocellular nucleus)과 망상거대세포핵(reticulogigantocellular nucleus)의 일부를 거쳐 하행한다고 하였다<sup>6</sup>.

이와같이 침자진통 기전과 전달로에 대한 연구가 진행되었으나 아직까지 전침자극에 의한 중추신경계 내 대사활성 변화와 신경 전달로에 대한 연구보고는 미흡한 실정이다. 그러므로 본 실험에서는 [<sup>14</sup>C]2-DG 자가방사능기록법을 이용하여 전침자극에 의하여 뇌세포의 활동이 증가하는 중추신경계 부위를 관찰함으로써 대사활성변화와 신경 전달로를 탐색하였다.

자가방사능기록법이란 필름이나 핵감광유제(nuclear emulsion)와 같은 매개물을 방사능의 원천에

노출함으로써 나타나는 방사능에 대한 자기기록으로, 표본에 감광유제를 사용하여 방사능을 검출하고, 그 위치를 측정하는 것으로 이 방법은 어떠한 주어진 경험이나 임상적인 상황에서 특징적으로 변화하는 뇌의 기능을 확인할 수 있는 방법이다<sup>15,16,17,18</sup>.

Sokoloff 등<sup>19</sup>은 뇌세포 활동의 에너지원은 거의 glucose라는 점<sup>16,20</sup>과 뇌-혈관관문(blood-brain barrier)이 다른 에너지원의 사용을 제한한다는 점<sup>13,21</sup> 및 glucose의 구조적 유사체인 2-deoxyglucose는 glucose분자 2번 탄소의 -OH가 -H로 치환된 것으로, glucose와 마찬가지로 뇌-혈관관문을 통과하여 뇌조직에서 deoxyglucose-6-phosphate로 대사되나 deoxyfructose-6-phosphate로 이성화 되지 못하기 때문에 더 이상의 대사가 일어나지 않고 뇌세포 내에 축적되게 되므로 대사추적자(metabolic tracer)로서 많은 유용성을 가지고 있는 점<sup>15</sup>을 이용하여 [<sup>14</sup>C]2-DG 자가방사능기록법을 고안하였다.

실험동물에게 특정하게 설정된 조건이나 자극을 줄 때, 즉 유해자극에 대한 뇌간 또는 대뇌피질에서의 대사활성 변화, 좌골신경 결찰 또는 유해자극에 의한 흰쥐 척수에서의 glucose대사변화 등 중추신경계에서의 대사활성을 [<sup>14</sup>C]2-DG 자가방사능기록법으로 관찰한 많은 논문들이 보고되었다<sup>22,23,24,25</sup>. 특히 Futaesaku 등<sup>26</sup>은 [<sup>14</sup>C]2-DG를 이용하여 전침자극에 의한 뇌대사활성의 변화를 관찰하여 보고한 바 있다. 그러나 Futaesaku 등<sup>26</sup>의 연구에서는 실험방법으로 pentobarbital 마취하에서 전침자극을 시행하였으며, 전침자극이 끝난 후에 [<sup>14</sup>C]2-DG를 복강주사하고, 그로부터 60분후에 실험동물을 희생시켜 뇌대사활성의 변화를 관찰하였다. 이는 피하주사 또는 복강주사 방법에 비하여 정맥주사 방법이 뇌대사활성을 정량적으로 관찰하는데 유의하다고 한 Duncun 등<sup>27</sup>의 보고와 [<sup>14</sup>C]2-DG

실험시간이 45분 또는 그 이하일 경우에 조직의 [ $^{14}\text{C}$ ]2-DG-6-P 양으로부터 glucose대사비율을 추정할 결과가 거의 정확하게 나온다는 Sokoloff 등<sup>28)</sup>의 보고, 마취제를 chloralose 계통 이외에 nitrous oxide, halotane, pentobarbital 등을 사용할 경우 [ $^{14}\text{C}$ ]2-DG 실험에서 뇌대사활성의 변화 관찰에 유의하지 않았다는 Ueki 등<sup>29)</sup>의 보고에 따르면 논란의 소지가 있다고 하겠다. 본 연구는 이러한 문제점을 보완하여 전침자극에 의한 흰쥐 중추신경계내 대사활성 변화를 관찰하는 3 단계의 전침자극시험을 실시하였다.

처음 설정된 45분 전침자극군은 Sokoloff 등<sup>13)</sup>의 [ $^{14}\text{C}$ ]2-DG 자가방사능기록법에서 방사능동위원소 주입으로부터 45분간 실험하는 것이 조직에서 측정된 [ $^{14}\text{C}$ ]2-DG-6-P 양과 glucose대사활성비율이 가장 정확하다는 보고<sup>28)</sup>에 근거하여 45분간 전침자극을 준 후 즉시 희생하여 결과를 관찰하였다. 실험과정 상 전침자극실험 당일에 카테터삽입수술이 시행되어 수술상처로부터 불필요한 자극이 유발되고, 전침자극이 시행되는 45분 동안 실험동물이 고정되어 있는 자세에서 나타내는 움직임과 저항이 불필요한 자극을 유발하였으며, 우측의 대퇴정맥에 카테터를 장착하고 좌측 족삼리(ST36)에 전침자극을 가할 경우 수술로 인한 상처와 전침자극 부위가 모두 하지이기 때문에 중추신경계로의 자극이 혼재되었다. 이와 같은 실험방법 상의 문제들로 인하여 45분간의 전침자극 방법은 [ $^{14}\text{C}$ ]2-DG에 의하여 유의한 결과를 얻는데 적절하지 못하였다. 따라서 45분 전침자극군의 실험과정상의 문제점을 보완한 5분 전침자극군을 설정하였다.

두 번째로 설정된 5분 전침자극군은 Duncun 등<sup>30)</sup>이 [ $^{14}\text{C}$ ]2-DG실험에서 5분간의 실험시간에서도 각종 뇌 부위에서 glucose대사활성 비율이 거의 유사하게 나타났다는 보고에 근거하여 방사능동위원소 주입과 동시에 5분간 전침자극 후 즉시 희생시

켜 결과를 관찰함으로써 45분 전침자극군 실험과정에서 유발되었던 전침자극 이외의 여러 자극들을 최소화 하고자 하였다. 즉 방사능동위원소 주입용 카테터의 위치를 하지의 대퇴정맥에서 외경정맥으로 변경하였으며, 전침자극 실험은 카테터 삽입수술 후 3일 경과하여 실시하였다. 이 기간동안 흰쥐를 매일 1시간정도 편히 엎드린 자세를 취할 수 있도록 제작된 고정대에 느슨히 고정시키는 적응훈련을 시켰다. 그러나 5분 전침자극군은 방사능동위원소 주입 후 5분만에 희생되었기 때문에 뇌실 등에서 흡수되지 못한 [ $^{14}\text{C}$ ]2-DG가 필름에 기록되었다. 이것은 뇌조직 내의 [ $^{14}\text{C}$ ]2-DG-6-P 침착 부위와 혼동을 보였으며, 특히 제3뇌실 주변의 시상하부 신경핵들에서 혼동될 여지가 있었다. Duncun 등<sup>27)</sup>도 방사능동위원소 주입 5분 후에 실험동물을 희생할 경우 뇌에서 대사되지 않은 [ $^{14}\text{C}$ ]2-DG의 존재로 인해 뇌 당대사의 절대적인 정량적 평가의 복잡성과 어려움을 가진다고 보고한 바 있으며, 결과적으로 5분간의 전침자극 방법 역시 [ $^{14}\text{C}$ ]2-DG에 의하여 유의한 결과를 얻는데 적절하지 못하였다. 따라서 이상의 두 전침자극군에서의 실험과정상 문제점을 보완한 15분 전침자극군을 설정하였다.

세 번째로 설정된 15분 전침자극군은 [ $^{14}\text{C}$ ]2-DG실험의 총시간은 45분으로 하고, 방사능동위원소 주입과 동시에 15분간 전침자극을 가하였다. 또한 방사능동위원소 주입 10분전에 3분간 예비자극을 주고, 이 시간동안에 전침의 자극 강도와 자극 위치 확인을 실시하였다. 이러한 15분 전침자극군에서는 [ $^{14}\text{C}$ ]2-DG study에 의하여 유의한 결과를 얻었다.

15분 전침자극군의 결과에서 대조군에 비하여 뇌 대사활성 차이가 25%이상 나타난 부위를 크게 3 종류의 기능단위로 분류할 수 있었다. 첫째는 내측슬상핵, 중외측각간핵, 복측올리브주위핵, 미측올리브주위핵, 내측상측올리브 등으로 이들 영역은 주로



하행성 및 상행성 청각전달로와 관련된 부위들로서, 이것은 대조군에 비하여 실험군이 전침자극이 시행되는 동안 외부 자극에 예민하게 반응하였기 때문으로 생각된다. 둘째는 외측부거대세포핵으로서 이곳은 하행성동통억제계에서 노르아드레날린 매개경로에 속하는 영역이며, 하행성동통억제계에서 몰핀에 대한 민감도가 상대적으로 가장 높은 신경원이라고 하였다<sup>6)</sup>. 따라서 이것은 전침자극에 의해 진통효과가 발생함을 보여주는 자료로 생각된다. 또한 복내측시상하부핵에서 외측부거대세포핵사이에는 복합적 시냅스(multiple synapses)가 존재하기 때문에<sup>6)</sup> 이곳에서 대사활성이 활발히 일어난 것으로 생각된다. 셋째는 가장 유의한 뇌 대사활성 증가를 나타낸 곳으로 궁상핵이다. Paxinos와 Watson의 rat brain atlas<sup>10)</sup>에 의하면 궁상핵은 이간선(interaural line) 6.88mm~4.48mm 영역에 걸쳐 나타나는데, 본 실험 결과의 영상분석 결과 15분 전침자극군에서는 이간선 5.2mm~4.48mm 영역에 위치한 궁상핵에서 약 90% 정도의 뇌대사활성을 나타내었다. [<sup>14</sup>C]2-DG 자가방사능기록법을 통하여 후궁상핵에서 전침자극에 의한 뇌대사활성이 가장 활발하게 나타난 결과는 이곳이 전침자극의 최종도달부위이며 상행전도로와 하행전도로 사이의 연계부위로 작용하며 보고한 Takeshege 등<sup>7,8,9)</sup>의 연구 결과에 대한 신경해부학적인 확인으로 볼 수 있다. 또한 후궁상핵이 하행성동통억제계의 시작부라는 점을 고려할 때 전침진통 효능을 시각적으로 재현한 자료라고 생각된다.

전침진통 기전과 궁상핵의 관계를 밝힌 여러 연구에서 Hamba 등<sup>31)</sup>은 합곡(LI4)에 전침자극을 준 후 궁상핵에서 신경세포 활성을 관찰한 결과 3 Hz와 45 Hz 자극의 경우 저빈도 자극에서는 궁상핵 신경세포가 증가되고 고빈도 자극에서는 감소한다고 하였고, Kwon 등<sup>32)</sup>은 뇌간의 카테콜라민(catecholamine)의 세포활성에 대한 관찰 과정에서

궁상핵은 저빈도 자극을 적용할 때만 세포활성이 증가한다고 하였다. Wang 등<sup>33)</sup>은 궁상핵의 자극과 저빈도 자극이 진통기전을 유발시킨다고 하였고, Yin 등<sup>34)</sup>은 궁상핵의 자극 이후에 진통효과가 현저하게 증가하며, 전침자극에 대한 신경세포 반응은 배측봉선핵(dorsal raphe nucleus)에서는 증가하고 청반(locus coeruleus)에서는 감소된다고 하였으며, 이러한 반응은 naloxone의 피하정맥주사를 통해서 반전될 수 있다고 하였다. 이러한 결과들은 궁상핵이 전침의 진통기전과 밀접한 관련을 가지고 있음을 보여주며, 저빈도 자극에 의하여 궁상핵의 신경세포 활성이 증가한다는 사실은 본 실험에서도 유의하게 재현되었다. 또한 이러한 결과는 전침자극에 의한 뇌대사활성의 변화를 c-fos 발현<sup>35)</sup>, fMRI<sup>36)</sup> 등을 이용하여 관찰한 연구의 결과들과도 일치하고 있다. 또한 후궁상핵 영역은 상대적으로 시상하부와 근접한 곳이라는 점에서 이것에 대한 추가적인 연구는 전침의 생체내 항상성조절작용기능과 관련이 있을 것으로 생각된다. 최근의 연구보고에서 Ohsawa 등<sup>37)</sup>은 전침자극과 같은 흰쥐 후지에서의 체성감각신경자극이 동맥혈압의 강하작용을 나타낸다고 하였고, Chao 등<sup>38)</sup>은 전침자극이 교감신경성 심혈관-반사반응에 억제작용을 하며 이러한 작용은 naloxane에 의하여 반전된다고 하였다. Haker 등<sup>39)</sup>은 전침자극은 정상상태의 심혈관계의 작용과 피부온도에 영향을 미치며 전침자극의 위치와 관찰시간에 따라 교감신경계 또는 부교감신경계의 활동에 변화를 일으킨다고 보고하였고, Mori 등<sup>40)</sup>은 교감신경-부신수질의 기능적 측면에서 총양(ST42)은 항진반사를 나타내고 족삼리(ST36)는 항진반사 또는 억제반사를 나타낸다고 하였다. 이러한 일련의 연구들은, 전침의 치료는 국소적인 동통의 억제보다는 전신적인 생리기능의 조절과 장부기능 부조화의 조절에 주목적이 있으며, 각기 다른 경혈은 각기 다른 생리적 특성을 가지고 있다는 한의

학 본연의 침구경락이론에 근접한 신경과학적 연구로 그 범위를 넓혀가고 있음을 보여주고 있다. 본 실험에서 전침자극에 의하여 시상하부 신경핵들에서 가장 높은 뇌대사활성의 변화를 관찰한 결과 역시 전침자극이 내부 장기기능의 항상성 조절과 자율성 조절에 영향을 미칠 수 있음을 보여주며, 진전된 연구의 기초자료가 될 것으로 생각된다.

## V. 결 론

각성상태의 환귀에서 전침자극에 대한 [ $^{14}\text{C}$ ] 2-DG 자가방사능기록법을 시행하기 위하여 전침자극의 강도 및 자극시간 등 조건을 최적화하며, 전침자극에 의하여 중추신경계 내에서 대사활성이 증가하는 부위를 탐색하고 대사활성도를 측정된 후 뇌대사활성도에 비례하여 척수에서부터 뇌간 상부까지의 뇌대사 영상지도를 제작한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 전침자극에 대한 [ $^{14}\text{C}$ ] 2-DG 자가방사능기록법을 시행하기 위한 조건으로 2 Hz, 5 ms, 1~3 mA의 전침자극 강도에서 전침자극 시간은 총 45분간의 [ $^{14}\text{C}$ ] 2-DG 실험시간 중 초기 15분간 전침자극을 가하는 것이 가장 유효하였다.

2. 15분간 전침자극군에서 궁상핵, 내측슬상핵, 내측상측올리브, 복측올리브주위핵, 외측부거대세포핵 및 미측올리브주위핵 부위에서 대조군에 비하여 25% 이상의 뇌대사활성의 증가가 관찰되었다.

3. 15분간 전침자극군에서 특히 궁상핵을 포함한 시상하부 신경핵들에서 대조군에 비하여 유의성 ( $P < 0.05$ ) 있는, 90% 이상의 뇌대사활성 증가가 관찰되었다.

4. 기존의 연구 결과들과 관련하여 궁상핵부위가 전침자극의 상행전달로와 하행전달로 사이의 연계

부위로 작용함이 대사활성 측면에서 시각적으로 관찰되었다.

5. 전침자극에 의하여 시상하부 신경핵들에서 뇌대사활성이 관찰된 것에 대한 진전된 연구는 전침자극이 각종 장부기능의 조절작용을 증명할 수 있음을 추측하게 한다.

## VI. 참고문헌

1. Andersson S, Lundeberg T. Acupuncture—from empiricism to science; functional background to acupuncture effects in pain and disease. *Med Hypotheses*. 1995;45(3):271-81.
2. Omura Y, Losco BM, Omura AK, Takeshige C, Hisamitsu T, Shimotsuura Y, Yamamoto S, Ishikawa H, Muteki T, Nakajima H. Common factors contributing to intractable pain and medical problems with insufficient drug uptake in areas to be treated, and their pathogenesis and treatment: Part I. Combined use of medication with acupuncture, (+) Qi gong energy-stored material, soft laser or electrical stimulation. *Acupunct. Electrother. Res*. 1992;17(2):107-48.
3. Zhang A, Luo F, Pan Z, Zhou Y. Influence of cerebral traumatic dementia treated with acupuncture at houxi and shenmen. *Chen Tzu Yen Chiu*. 1996;21(1):12-4.
4. Han CS, Chou PH, Lu CC, Lu LH, Yang TH, Jen MF. The role of central 5-hydroxytryptamine in acupuncture analgesia. *Sci. Sin*. 1979;22:91-104.

5. Kaada B. Mechanisms of acupuncture analgesia. *T. Norske Laegeforen.* 1974 :94:422-31.
6. Takeshige C, Sato T, Mera T, Hisamitsu T, Fang J. Descending pain inhibitory system involved in acupuncture analgesia. *Brain Res. Bull.* 1992:29:617-34.
7. Takeshige C, Oka K, Mizuno T, Hisamitsu T, Luo CP, Kobori M, Mera H, Fang TQ. The acupuncture point and its connecting central pathway for producing acupuncture analgesia. *Brain Res. Bull.* 1993:30:53-67.
8. Takeshige C, Tsuchiya M, Guo SY, Sato T. Dopaminergic transmission in the hypothalamic arcuate nucleus to produce acupuncture analgesia in correlation with the pituitary gland. *Brain Res. Bull.* 1991:6:113-22.
9. Takeshige C, Zhao WH, Guo SY. Convergence from the preoptic area and arcuate nucleus to the median eminence in acupuncture and nonacupuncture point stimulation analgesia. *Brain Res. Bull.* 1991:26:771-8.
10. George P, Charles W. *The Rat Brain.* San Diego:Academic Press. 1997.
11. Andersson SA, Ericson T, Holmgren E, Lindqvist G. Analgesic effects of peripheral conditioning stimulation part 1 general pain threshold effects on human teeth and a correlation to psychological factors. *Brain Res.* 1977:121:368-72.
12. Mayer DJ, Price DD, Rafii A. Antagonism of acupuncture analgesia in man by the narcotic antagonist naloxone. *Brain Res.* 1977:121:368-72.
13. Peng CH, Yang MM, Kok SH, Woo YK. Endorphin release; a possible mechanism of acupuncture analgesia. *Comp. Med. East West* 1978:6(1):57-60.
14. Zhenyu J, Quiang Y, Youtang S, Fengxian Z, Shenqin T, Ningjian L, Xingehu Z. Effects of naloxone on experimental acupuncture analgesia evaluated by sensory decision theory. *Acta Zoologica Sinica.* 1978:24(1):1-10.
15. Ackermann RF. *Autoradiography and Correlative Imaging: Principles of the deoxyglucose autoradiographic method.* San Diego:Academic Press. 1995:403-21.
16. Sokoloff L. Metabolism of the central nervous system in vivo. In: J. Field, H. W. Magoun, and V. E. Hall, eds. *Handbook of Physiology-Neurophysiology.* Vol. 111, Washington, DC: American Physiological Society. 1960:1843-64.
17. Sokoloff L. Measurement of local cerebral glucose utilization and its relation to local functional activity in the brain. In: Vranie et al. *Fuel Homeostasis and the Nervous System.* New York:M. Plenum Press.1991:21-42.
18. Stumpf WE, Pilgrim C. *Autoradiography and Correlative Imaging: Autoradiography in Biomedical Research.* San Diego:Academic Press. 1995:3-14.
19. Sokoloff L, Mangold R, Wechsler RL, Kennedy C, Des Rosiers MH, Patlak

- CS, Pettigrew KD, Sakurada O, Shinohara M. The [14C]deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization: theory, procedure, and normal values in the conscious and anesthetized albino rat. *J. Neurochem.* 1977;28:897-916.
20. Sokoloff L. Circulation and energy metabolism of the brain. In: G. Siegel, B. Agranoff, R. W. Albers, and P. Molinoff, eds. *Basic Neurochemistry*. Fourth Edition. New York: Raven Press. 1989:565-90.
  21. Hawkins RA, Biebuyck, JF. Regional brain utilization of ketone bodies. In: J. V. Passonneau, R. A. Hawkins, W. D. Lust, and F. A. Welch, eds. *Cerebral Metabolism and Neural Function*. Baltimore: Williams and Wilkins. 1980:255-63.
  22. Coghill RC, Mayer DJ, Price DD. The roles of spatial recruitment and discharge frequency in spinal cord coding of pain: A combined electrophysiological and imaging investigation. *Pain* 53, 1993:295-309.
  23. Collins RC, Santori EM, Der T, Toga AW, Lothman EW. Functional metabolic mapping during forelimb movement in rat: I. stimulation of motor cortex. *J. Neuroscience* 1986;6:448-62.
  24. Mao J, Price DD, Coghill RC, Mayer DJ, Hayes RL. Spatial patterns of spinal cord [14C]-2-deoxyglucose metabolic activity in a rat model of painful peripheral mononeuropathy. *Pain.* 1992;50:89-100.
  25. Porro CA, Cavazzuti M, Galetti A, Sassatelli L. Functional activity mapping of the rat brainstem during formalin-induced noxious stimulation. *Neuroscience* 41, 1991:667-80.
  26. Futaesaku Y, Zhai N, Ono M, Watanabe M, Zhao J, Zhang C, Li L, Shi X. Brain activity of a rat reflects apparently the stimulation of acupuncture: A radioautography using 2-deoxyglucose. *Cell Mol. Biol.* 1995;41(1):161-170.
  27. Duncan GE. Autoradiography and Correlative Imaging: High resolution autoradiographic imaging of brain 2-deoxyglucose uptake. San Diego, Academic Press, 1995:423-39.
  28. Sokoloff L. The radioactive deoxyglucose method: theory, procedure, and applications for the measurement of local glucose utilization in the central nervous system. In: B. W. Agranoff and M. H. Aprisio, eds. *Advances in Neurochemistry*. Vol. 4. New York: Plenum Publishing Corp. 1982:1-82.
  29. Ueki M, Mies G, Hossmann KA. Effect of alpha-chloralose, halothane, pentobarbital and nitrous oxide anesthesia on metabolic coupling in somatosensory cortex of rat. *Acta. Nanesthesiol. Scand.* 1992;36(4):318-22.
  30. Duncan GE, Brustle O, Heiss C, Breese GR, Stumpf WE. Topographic assessment of accumulated radioactivity

- from [14C]2-deoxyglucose and [6-14C]glucose in rat forebrain at different survival periods. *Neuroscience* 1989; 32:813-22.
31. Hamba M, Toda K. Effects of electroacupuncture on the neuronal activity of the arcuate nucleus of the rat hypothalamus. *Exp. Neurol.* 1985; 87(1):118-28.
  32. Kwon Y, Kang M, Ahn C, Han H, Ahn B, Lee J. Effect of high or low frequency electroacupuncture on the cellular activity of catecholaminergic neurons in the brain stem. *Acupunct. Electrother. Res.* 2000;25(1):27-36.
  33. Wang Q, Mao L, Han J. Analgesic electrical stimulation of the hypothalamic arcuate nucleus: tolerance and its cross-tolerance to 2 Hz or 100 Hz electroacupuncture. *Brain Res.* 1990; 518(1-2):40-6.
  34. Yin QH, Mao JR, Guo SY. Changes of reactions of neurones in dorsal raphe nucleus and locus coeruleus to electroacupuncture by hypothalamic arcuate nucleus stimulation. *Funct. Neurol.* 1988;3(3):263-73.
  35. Pan B, Castro-Lopes JM, Coimbra A. Activation of anterior lobe corticotrophs by electroacupuncture or noxious stimulation in the anaesthetized rat, as shown by colocalization of Fos protein with ACTH and beta-endorphin and increased hormone release. *Brain Res Bull.* 1996;40(3):175-82.
  36. Wu MT, Hsieh JC, Xiong J, Yang CF, Pan HB, Chen YC, Tsai G, Rosen BR, Kwong KK. Central nervous pathway for acupuncture stimulation: Localization of processing with functional MR imaging of the brain—preliminary experience. *Radiology* 1999;212:133-41.
  37. Ohsawa H, Okada K, Nishijo K, Sato Y. Neural mechanism of depressor responses of arterial pressure elicited by acupuncture-like stimulation to a hindlimb in anesthetized rats. *J. Auton. Nerv. Syst.* 1995;51(1):27-35.
  38. Chao DM, Shen LL, Tjen-A-Looi S, Pitsillides KF, Li P, Longhurst JC. Naloxone reverses inhibitory effect of electroacupuncture on sympathetic cardiovascular reflex responses. *Am. J. Physiol.* 1999;276:2127-34.
  39. Haker E, Egekvist H, Bjerring P. Effect of sensory stimulation (acupuncture) on sympathetic and parasympathetic activities in healthy subjects. *J. Auton. Nerv. Syst.* 2000;14:52-9.
  40. Mori H, Uchida S, Ohsawa H, Noguchi E, Kimura T, Nishijo K. Electroacupuncture stimulation to a hindpaw and a hind leg produces different reflex responses in sympathoadrenal medullary function in anesthetized rats. *J. Auton. Nerv. Syst.* 2000;15:79(2-3):93-8.