

# 一過性 前腦 虛血 損傷에 대한 環跳 (GB30) 電鍼刺戟의 效果

김 풍 식<sup>1</sup> · 김 재 효<sup>1</sup> · 최 동 옥<sup>1</sup> · 김 경 식<sup>1</sup> · 손 인 철<sup>1</sup>

<sup>1</sup>원광대학교 한의과대학 경혈학교실

## Effects of Electroacupuncture of GB30 on Transient Forebrain Ischemia Injury in Rats

Poong-Sik Kim<sup>1</sup>, Jae-Hyo Kim<sup>1</sup>, Dong-Ok Choi<sup>1</sup>, Kyung-Sik Kim<sup>1</sup>, In-Cheul Sohn<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Meridian & Acupoint, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

### Abstract

Acupuncture and herbal medicine have been used to prevent and treat the cerebrovascular accident, such as a stroke, and many studies of acupuncture and moxibustion concerning to the stroke have been undertaken in the human and various animals. However, it was not published the protective effect of the electroacupuncture (EA) of Huan-do (GB30) on the transient forebrain ischemia injury. The neuroprotective effects of EA (2 ms, 10 Hz, and 1 - 2 mA) of GB30 on the transient forebrain ischemia injury was investigated by western blot of nNOS and hematoxylin and eosin stain in Sprague-Dawley rats. The transient forebrain ischemia injury resulted in increased expression of nNOS in the brain for 6 hrs after ischemia, and EA decreased significantly expression of nNOS protein in brain increased by transient forebrain ischemia injury. The number of neurons with nNOS staining was significantly

여, 豫防에는 足三里, 懸鍾 (灸)하고, 前兆症에는 風府, 大杼, 合谷, 太衝, 足三里, 肩髃, 曲池, 內關, 豐隆 등을 刺鍼하고, 半身不遂에는 百會, 曲池, 合谷, 肩髃, 崑崙, 懸鍾, 手三里, 足三里, 陽陵泉, 風市, 環跳, 風池 등을 刺鍼하는 등의 많은 치료방법 등이 제시되고 있다<sup>2-4)</sup>.

腦虛血 損傷의 병태생리를 연구하기 위하여 여러 가지 방법의 동물 모델이 개발되어 왔으며, 이중 前腦 虛血 損傷 (forebrain ischemia)을 유발할 목적으로 低血壓, 心停止 등이 이용되어 왔다<sup>5-6)</sup>. 최근에는 윌리스 동맥환 (circle of Willis)이 잘 발달하지 않은 들쥐 (gerbil)에서 양측 경동맥을 일시적으로 폐쇄 시키거나 (two vessel occlusion, 2-VO)<sup>7)</sup>, 흰쥐에서 양측 경추동맥을 영구적으로 폐쇄시킨 후 양측 경동맥을 일시적으로 폐쇄 (four vessel occlusion, 4-VO)시켜 뇌에 혈액공급을 완전히 차단한 다음 혈액공급을 재개하는 虛血 및 再貫流 損傷 (ischemia-reperfusion)이 많이 이용되고 있다<sup>8)</sup>. 前腦 虛血 損傷은 지속적으로 뇌혈류를 차단할 경우 측부순환이 없으므로 前腦가 급성 뇌경색에 빠지게 되고 높은 치사율을 보이게 되나, 5-10분 정도의 일시적인 虛血을 가하고

의 활성화 등이 관여한다는 많은 실험적 증거들이 제시되었다<sup>11-14)</sup>.

環跳 (GB 30)는 足少陽膽經의 經穴로 下肢 風濕痺痛, 癱瘓, 半身不遂, 麻木, 神經衰弱, 蕁麻疹, 風疹등에 활용되며, 아울러 足少陽膽經과 足太陽膀胱經이 모두 流注하는 곳에 대한 치료 가능성을 가지고 있다. 현대 해부학적 관점에서 보면, 大臀筋 (gluteus maximus muscle)과 坐骨神經 (sciatic nerve) 등이 분포하고 있는 특징이 있으며, 기존의 동물실험에서 電針刺戟은 통증역치 상승을 통해 진통효과와 延髓 및 中腦내의 5-HT를 증가시키는 효과를 나타내었다. 또한, 環跳의 電鍼刺戟이 甲狀腺機能을 조절하고, 胃液分泌를 조절하는 작용을 나타내는 것이 확인되었으며, 家兔의 環跳에 가한 電鍼이 炎症反應을 억제하였다<sup>15-16)</sup>. 이러한 실험결과들은 環跳에 대한 刺鍼이 中樞神經系에 영향을 줄 수 있는 가능성과 環跳의 刺鍼이 中風과 관련한 腦虛血 損傷에 치료효과를 기대하여 볼 수 있다

이에 본 연구에서는 環跳에 가한 電鍼刺戟이 흰쥐에서 一過性 前腦 虛血 (transient forebrain ischemia)에 의하여 유발되는 뇌 세포사

## 2. 一過性 前腦 虛血 損傷 (Transient forebrain ischemia injury)

一過性 前腦 虛血은 Pulsinelli & Buchan<sup>8)</sup>이 제시한 양측 추골동맥 (vertebral a.)과 경동맥 (common carotid a.)의 4개의 혈관 폐색법에 의하여 유발시켰다. 실험동물은 2% halothane과 100% 산소의 혼합가스를 2 L/min로 마취를 시작하였으며, 마취가 이루어진 뒤 0.5% halothane과 100% 산소의 혼합가스로 마취를 유지하였다. 먼저 추골동맥 폐색은 복와위 위치에서 정중 항배부위의 피부를 절개한 후 제 1 경추의 alar foraminae를 노출시켜 제 1경추와 제 2 경추 사이로 지나가는 양측 추골동맥 (vertebral artery)을 전기인두를 사용하여 영구적으로 폐색시켰다. 추골동맥 폐색을 유발 한 후 24시간 후, 경동맥 폐색을 위하여 흰쥐를 앙와위 자세로 위치시킨 후 정중 경부부위의 피부를 절개하여 양측 경동맥을 분리하였으며, 분리된 경동맥 (common carotid artery)을 micro aneurysm clips (# 160-863, George Tiemann and Co., Plainview, NY)을 이용하여 폐색하고 아울러 봉합사로 경부 근육 내에 존재하는 측지분지의 흐름을 폐쇄하였다. 대뇌로 흐르는 혈류를 15분 동안 차단하는 동안에는 흰쥐의 체온을 heating bed를 이용하여 36-37°C를 유지하였으며, 혈관폐쇄 동안 동공산대와 righting reflex 소실 및 대뇌피질 뇌전도 (electroencephalogram, EEG)중 DC성분의 억제현상을 기록하여 前腦 虛血 與否를 확인하였다 (Fig. 1). 虛血 유발 15분 후 결찰을 풀어 줌으로써 혈류를 재개시켰으며, 회복시 발작을 보이는 흰쥐는 본 실험에서 제외하였다.

## 3. 取穴 및 電鍼 刺戟 (Electro-acupuncture)

실험동물의 電鍼刺戟은 左右側 下肢에서 環跳 (GB30)를 取穴하였으며, stainless steel needle (0.25mm diameter)가 각각의 經穴部位의 皮下에 5 mm 깊이로 삽입되었다. 電鍼刺戟은 虛血 損傷 직후부터 30분간 가하였고, 電氣

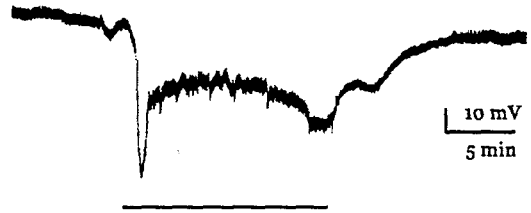


Fig. 1. Illustrative example of DC potential recordings on cortex during transient forebrain ischemia injury. The typical changes in the DC potential sift were produced by 15 min of transient forebrain ischemia. The bar represent the state of ischemia, and after reperfusion induced 15 min after 4-vessel occlusion.

刺戟은 pulsemaster (A300, WPI, U.S.A.)를 통해 주파수와 자극시간을 조절하였으며, stimulus isolator (A385, WPI, U.S.A.)를 통해 2 ms, 1~2 mA의 강도와 10 Hz의 빈도로 자극이 이루어졌다. 아울러, 一過性 前腦 虛血 損傷 後 6시간째 관찰 대상이 된 電鍼刺戟群 (ISCH+EA)은 1회의 電鍼刺戟이 시술되었으며, 7일째 관찰 대상이 된 電鍼刺戟群 (ISCH+EA)에서는 虛血 損傷 直後와 24시간째에 電鍼刺戟을 30분간 施術하여 總 2회의 電鍼刺戟을 加하였다.

## 4. nNOS Protein 정량

- ① SDS gel 전기영동 : 실험동물의 뇌조직으로부터 단백질을 추출하기 위해 teflon grass homogenizer를 이용하여 충분히 분쇄하였으며, 이때 buffer(1% SDS, 1mM sodium ortho-vanadate, 10mM Tris pH7.4)는 뇌조직의 5 volume으로 사용하였다. 4°C에서 30분간 용해하고 microwave를 10초간 가한후 원심분리하여 상층액의 단백질을 회수하였다. 단백질 농도는 Bradford 법<sup>17)</sup>에 따라 spectrophotometer (Beckman Co.)를 사용하여 정량하

였다. 단백질의 전기영동은 Laemmli<sup>18)</sup>와 Lockwood 등<sup>19)</sup>의 방법으로 sodium dececyl sulfate polyacrylamid gel electrophoresis (SDS-PAGE)를 시행하였다. 단백질에 sample buffer (0.125 M Tris pH 6.8, 2% SDS, 25% glycerol, bromophenol blue, 2-Mercaptoethanol)를 섞어 100℃에서 진탕후 sample buffer에 섞인 단백질 (40 $\mu$ g)을 6%와 8%의 gradient gel에 전기영동하였다. 전기영동시 mini gel 전기영동 kit (SE 600 Hoeffer Sci. Instr.)를 이용하였고 90V의 전압을 가하여 2시간동안 진행하였다. 전기영동 후 gel를 Coomassie brilliant Blue R-250으로 4시간동안 염색시키고 destaining sol (10% acetic acid & 10% methanol)로 탈색시켜 gel 상에서 단백질 band를 확인하였다.

- ② Western blotting : Gel에 존재하는 단백질중에서 nNOS 단백질을 확인할 목적으로 western blotting 법을 시행하였다. 단백질 transfer system을 이용하여 (Hoefer Semiphor, Phamacia bio.) 80 mA에서 2시간동안 gel의 단백질을 0.45  $\mu$ m의 Nitrocellulose membrane (Bio Rad Co.)으로 옮겼다. 이 membrane을 일차항체의 비특이적 결합을 차단하기 위하여 block buffer (12% skim milk)에서 1시간 동안 반응시켰다. 일차항체인 nNOS 단백질을 Tris buffered saline (TBS, pH 7.4)에 1 : 1,000으로 희석하여 4℃에서 16시간이상 반응시키고 0.01% tween 20-TBS (TBST)로 3회 세척하였다. 이후 이차항체인 anti-mouse IgG conjugated HRP (1:1,000)에 1시간 동안 반응시켰다. TBST로 3회 이상 세척후 암실에서 western blotting luminol reagent (Santa Cruz bio, Inc.)에 1분간 반응시킨 후 film (Kodak, Korea)에 5분간 감광시킨 후 현상하였다.

## 5. Histology

정상동물과 一過性 前腦 虛血 損傷후 7일째 실험동물을 과량의 마취제로 마취 후 pH 7.4의 phosphate buffered saline (PBS) 용액으로 심장을 관류하여 혈액을 제거하였으며, 다시 4% paraformaldehyde로 관류시킨 후 뇌를 분리하였다. 분리된 뇌는 4% paraformaldehyde에서 3시간 동안 실온에서 고정한 후 30% sucrose에서 2일 이상 방치하였다. 냉동절편기 (Leica, Germany)를 이용하여 20  $\mu$ m의 두께로 조직절편을 만들어서 slide glass (Fisher Scientific)에 부착 후 hematoxylin and eosin (H&E) 염색과정을 거쳐 광학현미경하에서 해마 (hippocampus)부위의 염색되어진 신경세포 관찰하였고 화학자동분석시스템 (Image-Pro Plus, USA)을 이용하여 세포의 수를 측정하였다.

## 6. 統計 (Statistics)

컴퓨터 통계프로그램인 Statview 4.0 (Abacus Concepts Inc., U.S.A.)을 이용하였으며, 실험결과는 Mean $\pm$ S.E.M.로 나타내었고, 통계검정은 unpaired student t-test와 one-way ANOVAs로 실시하였다. P 값이 0.05 미만인 경우에만 통계적으로 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

## Ⅲ. 實驗結果

### 1. 環跳의 電鍼刺戟이 一過性 前腦 虛血 損傷으로 유발된 nNOS 발현량에 미치는 효과

一過性 前腦 虛血 損傷후 초기 6시간째의 변화와 환도 電鍼刺戟의 효과를 이해하고자 뇌 전체의 nNOS 발현량을 관찰하였다. 그 결과, 一過性 前腦 虛血 損傷 後 6시간째에서 虛血 損傷群은 正常群 (NOR, 1 $\pm$ 0.5)에 비하여 유의하게 증가된 nNOS 발현량 (3.15 $\pm$ 0.2)이 관찰

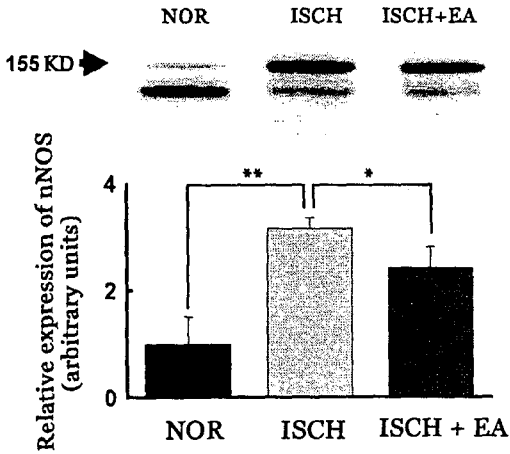


Fig. 2. Westernblots of whole brain with nNOS antibody at 6hrs after transient forebrain ischemia injury. Notations are the same as previous figures. Number of each group was 6. \*  $p < 0.05$  and \*\*  $p < 0.01$  compared with ischemia group.

되었으며, 電鍼刺戟群에서는 虛血 損傷群에 비하여 유의하게 억제된 nNOS 발현량 ( $2.41 \pm 0.4$ )이 관찰되었다 (Fig. 2).

## 2. 一過性 前腦 虛血 損傷으로 유발된 해마부위 뇌세포 생존률에 대한 電鍼刺戟 效果

Hematoxylin and eosin을 통한 조직염색은 세포의 생존여부를 직접적으로 확인할 수 있는 것으로, 앞에서 관찰한 nNOS 발현량의 의미를 보다 구체화할 수 있는 것이다. 다만, 虛血 損傷후 뇌세포의 괴사는 48시간 이후부터 점차 관찰 가능한 것으로 보고되고 있는 점을 근거로, 본 연구에서는 一過性 前腦 虛血 損傷후 7일째에 H&E 염색을 수행하였다. 일과성 虛血 損傷후 7일이 된 損傷群에서는 正常群에 비하여 CA1, CA2, DG에서 각각  $38.96 \pm 13.27\%$  ( $p < 0.01$ ),  $63.63 \pm 12.16\%$  ( $p < 0.05$ ),  $66 \pm 13.25\%$

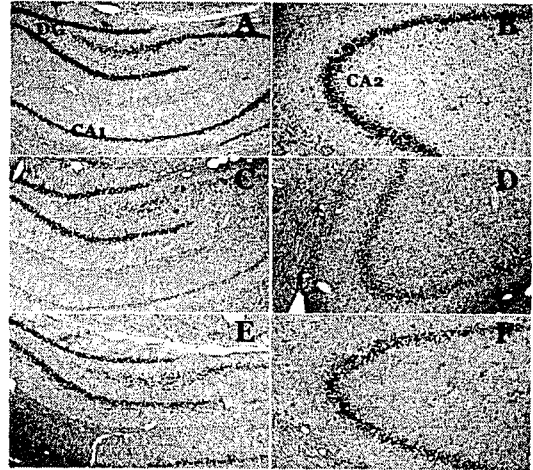


Fig. 3. Microphotographs showing the survived cells in hematoxylin and eosin stain of the hippocampus area at 7 days after transient forebrain ischemia injury. (A) and (B), normal rat without ischemic insult; (C) and (D), 7 days after ischemic insult; (E) and (F), 7 days after ischemic insult followed by EA.

( $p < 0.05$ ) 수준의 염색된 생존세포가 관찰되어, 虛血 損傷이 뇌세포의 사멸을 증가시켰다 (Fig. 10 - C & D, Fig. 11). 반면, 電鍼刺戟群에서는 正常群 (NOR)에 비하여 각각  $62.28 \pm 4.6\%$ ,  $76.55 \pm 14.8\%$ ,  $80.35 \pm 7.71\%$  수준의 생존된 세포가 관찰되었는데, 正常群 (NOR)에 비하면 유의한 수준의 생존된 세포의 감소 ( $p < 0.05$ )를 나타내었지만, 虛血 損傷群에 비하면 CA1 영역에서는 유의한 생존률의 증가 ( $p < 0.05$ )를 나타내었으며, CA2와 DG에서는 생존률 증가 경향을 나타내었다 (Fig. 3 - E & F, Fig. 4).

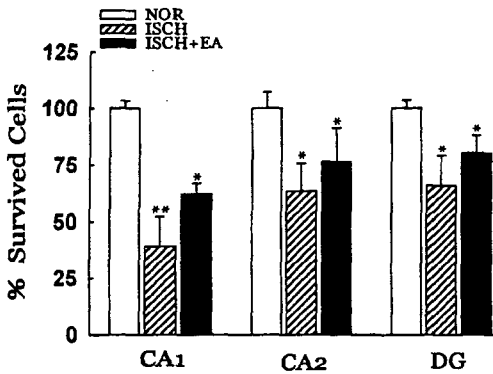


Fig. 4. percent changes of the survived cells in hematoxylin and eosin stain of the hippocampus area at 7 days after transient forebrain ischemia injury. Notations are the same as previous figures. Number of each group was 6. \* p<0.05 compared with normal.

#### IV. 考 察

中風은 暴仆, 卒暴彊付, 不知人, 不省人事, 昏倒, 昏不知人, 精神夢寐 등의 갑작스런 의식장애와 偏枯, 四肢不舉, 半身不遂, 口眼喎斜 등의 운동장애 및 舌強不語, 暴瘖, 言語蹇澁 등의 언어장애 증상이 나타나는 병증으로 정의되는 서양 의학적으로 중추신경계질환들 다수에 포함되지만, 그 중 뇌혈관질환의 범주인 腦卒中이 가장 밀접하다고 볼 수 있다. 뇌혈관 질환은 뇌의 급격한 순환장애로 인하여 발생하는데, 대개 虛血성 뇌혈관 질환과 充血성 뇌혈관 질환으로 양분하며, 그 중 대부분은 虛血성 뇌혈관 질환이다<sup>1)</sup>.

《黃帝內經》에서 “風者 百病之始也”라고 하여, 단순히 風이 질병의 원인이 되어 발생하는 다양한 증상을 언급하고 있었지만, 中風이라는 명칭이 뇌혈관질환과 연관지을 수 있었던 시기는 中國宋代以後이다.宋代以前에는 口眼喎斜, 皮膚病, 癰癩風, 精神疾患 등이 다수 風의 증상에 포함되어, 中風에 대한 인식이 腦血管疾患과 직접적인 연관을 맺지 못하였다.宋代

以後에 들어서면서, 中風은 腦血管疾患의 범주로 축소되기 시작하였다. 中風의 四大症狀으로 偏枯, 風痺, 風懿, 風痲 등과 그 주요증상으로 卒中暴仆, 暴瘖, 口眼喎斜, 手足癱瘓, 人事不省, 言語蹇澁, 痰涎壅盛 등을 언급하며, 이에 관련한 病因病機, 藥物治療 및 鍼灸治療 연구들이 체계화되고 있으며, 아울러 실험적으로 검증되고 있다. 中風에 관련한 鍼灸치료에 대하여, 예방에는 足三里, 懸鍾 (灸)하고, 前兆症에는 風府, 大杼, 合谷, 太衝, 足三里, 肩髃, 曲池, 內關, 豐隆 등을 자침하고, 반신불수에는 百會, 曲池, 合谷, 肩髃, 崑崙, 懸鍾, 手三里, 足三里, 陽陵泉, 風市, 環跳, 風池 등을 자침하는 등의 많은 치료방법을 기재하고 있다<sup>2-4)</sup>.

이러한 中風에 대한 연구를 위해서는 유발방법이 간단하고도 치사율이 낮으면서 재현 가능한 동물모델이 요구되어지는데, 특히 흰쥐를 이용한 허혈성 뇌손상을 일으키는 실험 모델로 前腦 虛血 (global cerebral ischemia)<sup>20)</sup>과 국소 뇌허혈 (focal cerebral ischemia)<sup>21)</sup>이 존재한다. 前腦 虛血 모델은 일시적으로 대뇌의 넓은 부위에 영향을 주어 특정 취약 부분에 신경학적 손상을 유발시키는 것으로, 주로 腦虛血 발생시 뇌의 변화 기전을 연구하는데 사용되고 있다. 이에선 양측 총경동맥을 결찰하는 2-vessel occlusion 방법 (2-VO)과 양측 추골동맥 및 총경동맥을 결찰하는 4-vessel occlusion 방법 (4-VO)이 있다<sup>20)</sup>.

흰쥐에서 4-VO는 뇌의 新皮質 (neocortex), 線條體 (striatum), 海馬 (hippocampus) CA1와 小腦 (cerebellum)에 선택적으로 신경세포의 손실을 가져오며, 이중에서 hippocampus CA 영역의 방추형 신경세포들이 가장 쉽게 損傷을 받게 된다. 이들 CA1 부위의 신경세포들은 재관류후 3-4일이 지나면 죽기 시작하는 것으로 보고되었다<sup>22)</sup>. 특히 허혈손상 시점과 細胞死사이 시간적 차이가 대부분의 경우 12시간에서 수일까지 차이가 나타나는 특징을 遲延性 細胞死 (delayed neuronal death)라고 칭한다<sup>23)</sup>.

大腦의 虛血 및 酸化的 損傷에 대한 한의학

적 치료법에 대한 연구는 최근에 鍼刺戟 및 電鍼刺戟이 虛血 損傷으로부터 신경손상을 보호할 수 있다는 연구들이 제시되고 있는데, Ou 등<sup>24)</sup>은 百會와 人中 사이에 가한 電鍼刺戟이 대뇌의 국소적 虛血 損傷 동물에서 basic fibroblast growth factor (bFGF)의 발현을 증가시킨다고 보고하였고, 金 등<sup>25)</sup>은 足三里에 가한 電鍼刺戟이 들쥐에서의 前腦 虛血 誘發로 나타난 齒狀回 (dentate gyrus)의 세포재생을 증가시킨다고 보고하였다. 또한, 電鍼刺戟으로 大腦 虛血로 인하여 증가된 NO가 억제되었다는 보고<sup>26)</sup>와 大腦 局所 虛血 모델에서 glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF)<sup>27)</sup>나 basic fibroblast growth factor (bFGF)<sup>28)</sup>와 같은 neurotrophin의 증가가 관찰되었다는 보고는 앞에서 언급하였던 신경방어 치료제의 범주에 포함되는 결과라고 이해할 수 있다.

環跳 (GB 30)는 髌骨, 髌樞, 分中, 髌壓, 樞中, 環谷이라고도 칭하는 足少陽膽經의 經穴로 足太陽膀胱經과도 交會하기 때문에 通經活絡, 消散經絡風濕과 宣利腰髀氣滯의 特性을 지니고 있으며, 下肢風濕痺痛, 癱瘓, 腰痛, 膝痛, 脚氣, 半身不遂, 麻木, 神經衰弱, 蕁麻疹, 風疹 등에 활용되며, 아울러 足少陽膽經과 足太陽膀胱經이 모두 유주하는 곳에 대한 다양한 치료가 가능성이 예상되어진다. 環跳는 大腿骨 (femur) 大轉子 (greater trochanter) 後下方 陷沒處 위치하고 있으며, 大臀筋 (gluteus maximus muscle), 梨狀筋 (piriformis muscle), 坐骨神經 (sciatic nerve)과 下臀神經 (inferior gluteal nerve)이 분포하고 있는 특징이 있다. 기존의 실험동물실험에서 環跳의 電針刺戟은 통증억제를 상승시키며, 延髓와 中腦 內의 5-HT를 증가시키는 효과를 나타내었다. 또한, 흰쥐에서 環跳의 電鍼刺戟이 甲狀腺機能과 胃液分泌를 조절하는 작용을 나타내는 것이 확인되었으며, 家兔의 環跳到 가한 電針이 炎症反應을 억제하였다<sup>15-16)</sup>. 이를 통하여, 環跳到 대한 刺鍼이 中樞神經系에 영향을 줄 수 있는 가능성과 環跳의 刺鍼이 中風과 관련한 腦虛血 損傷에 치료

효과를 기대하여 볼 수 있다.

이에 본 연구에서는 一過性 前腦 虛血 損傷 동물에서 環跳到 대한 電鍼刺戟의 효과를 연구하고자 하였다. 一過性 前腦 虛血 損傷으로 유발된 nNOS 발현량을 관찰하였을 때, 一過性 前腦 虛血 損傷後 6시간째에서 虛血 損傷群은 正常群 (NOR,  $1 \pm 0.5$ )에 비하여 유의하게 증가된 nNOS 발현량 ( $3.15 \pm 0.2$ )이 관찰되었으며, 電鍼刺戟群에서는 虛血 損傷群에 비하여 유의하게 억제된 nNOS 발현량 ( $2.41 \pm 0.4$ )이 관찰되었다. 아울러, 헤마톡실린 - 에오신 염색 (hematoxylin - eosin stain)을 통한 一過性 前腦 虛血 損傷後 7일째 관찰에서, 정상동물에서 해마조직 부위는 정상적인 세포형태를 나타내고 있으며, 일과성 허혈損傷後 7일이 된 損傷群에서는 正常群에 비하여 CA1, CA2, DG에서 각각  $38.96 \pm 13.27\%$  ( $p < 0.01$ ),  $63.63 \pm 12.16\%$  ( $p < 0.05$ ),  $66 \pm 13.25\%$  ( $p < 0.05$ ) 수준의 염색된 생존세포가 관찰되어, 虛血 損傷이 뇌세포의 사멸을 증가시켰다. 반면, 電鍼刺戟群에서는 正常群에 비하여 각각  $62.28 \pm 4.6\%$ ,  $76.55 \pm 14.8\%$ ,  $80.35 \pm 7.71\%$  수준의 생존된 세포가 관찰되었는데, 正常群에 비하면 유의한 수준의 생존된 세포의 감소 ( $p < 0.05$ )를 나타내었지만, 虛血 損傷群에 비하면 CA1 영역에서는 유의한 생존률의 증가 ( $p < 0.05$ )를 나타내었으며, CA2와 DG에서는 생존률 증가 경향을 나타내었다.

이러한 결과에 관련하여, 環跳와 大腦 虛血 損傷모델에 대한 실험은 아직까지 보고된 예가 없다. 다만, 본 연구에서 環跳의 電鍼刺戟이 一過性 前腦 虛血 損傷을 억제한 결과를 이해하기 위하여 해부학적으로 근접되어 있는 좌골신경에 관련된 다른 연구를 제시하고자 한다. Damien 등<sup>29)</sup>은 좌골신경 (sciatic nerve)에 가한 유해성 전기자극이 海馬 (hippocampus)에서 cFos, Jun, Krox 등의 전사인자 (transcription factor)를 발현시키는 것이 확인되었으나, 아직 그 작용이나 발현되는 결과에 대하여 정확한 이해는 아직 없는 실정이다. 그러나, 이러한 유해성 자극에 대한 해마조직의 반응이 전기생리학적 또는 분자생물학적으로 다양하게

연구되었는데, 해마의 뇌파를 증강시키고<sup>30)</sup>, 국부적 血行을 증가시키며<sup>31)</sup>, noradrenaline<sup>32)</sup>과 acetylcholine<sup>33)</sup>의 유리를 야기한다는 것이 보고되었다. 물론, 環跳의 電鍼刺戟이 坐骨神經에 가한 電鍼刺戟과 같다고 인정하기는 아직 어렵지만, 이러한 자극에 의한 해마 (hippocampus)에서의 전사인자의 발현이 촉진된다는 것은 외부 자극에 대한 대뇌 자체의 방어능력을 향상시킬 수 있는 가능성을 타진 할 수 있으며, 또한 병리적 환경에 노출되어 損傷되는 대뇌를 보호할 수 있는 방법을 개발 할 수 있으리라 사료된다. 더욱이, 최근에 수행되는 중추신경계와 鍼刺戟 간의 상관성 연구를 살펴보면 이러한 가능성은 커지고 있다. 예를 들면, 趙 등<sup>34)</sup>은 足太陽膀胱經의 至陰 刺鍼이 후두엽의 시각영역을 자극할 수 있음을 확인하였다. 또한, 최근에 많은 鍼刺戟 및 電鍼刺戟이 大腦虛血과 관련한 실험이 진행되어 신경손상을 억제하거나 보호하는데 작용함을 제시하고 있다. Uchida 등<sup>35)</sup>은 鍼刺戟이 대뇌피질의 혈액 흐름 및 세포의 아세틸콜린 유리를 증가시키며, 風府와 人中의 電鍼刺戟 (7Hz, 6mA)이 前腦 虛血동물에서 해마부위의 cFos 단백질 발현을 증가시키고, CA1 영역의 세포사를 억제한다는 결과를 보고<sup>36)</sup>하고 있다. Zhao 등<sup>37)</sup>은 마찬가지로 風府와 人中의 電鍼刺戟 (15 Hz, 6 mA)이 일과성 국소 虛血 損傷동물의 損傷을 억제할 수 있다고 보고하였다. 또한, 大椎와 百會의 電鍼刺戟이 大腦虛血로 유발된 NO의 증가를 정상으로 낮추어 大腦虛血 損傷을 억제한다는 보고<sup>38)</sup>를 살펴볼 수 있다.

이러한 연구결과들은 비록 環跳의 효과를 직접적으로 뒷받침하지 않으나, 鍼刺戟 자체가 중추신경계에 다양한 영향을 미치며, 아울러 大腦虛血과 같은 중추신경계의 병변에 치료효과를 나타낼 수 있음을 보여준다. 앞으로 다양한 經穴이나 經絡의 選擇을 통한 중추신경계에 대한 작용과 一過性 前腦 虛血 損傷과 같은 病理的 모델에서의 鍼刺戟 효과를 확인하여야 하며, 본 연구에서 확인된 環跳의 前腦 虛血 損傷에 대한 보호효과에 대한 다양한 실험이 진행

되어 그 효과를 구체화하여야 할 것이라 사료된다.

## V. 結 論

본 연구에서는 環跳 (GB30)에 가한 電鍼刺戟이 Sprague-Dawley계 흰쥐의 一過性 前腦 虛血에 의하여 유발되는 神經細胞死 (neuronal cell death)에 신경보호 효과를 확인하여 중추신경계에 대한 영향을 줄 수 있는지를 규명하고, 環跳의 電鍼刺戟을 통한 中風과 관련된 치료효과 가능성을 개발하고자 하였다.

1. 一過性 前腦 虛血 損傷으로 유발된 nNOS를 측정하여 環跳의 電鍼刺戟 효과를 살펴본 결과, 一過性 前腦 虛血 損傷後 6시간째에서 虛血 損傷群은 正常群 (NOR)에 비하여 nNOS가 유의하게 증가되었으며, 電鍼刺戟群에서는 虛血 損傷群에 비하여 유의하게 감소되었다.
2. 헤마톡실린 - 에오신 조직염색 (H & E stain)을 一過性 前腦 虛血 損傷後 7일째에 수행하여, 최종적으로 세포 생존율을 확인하였다. 虛血 損傷後 7일이 된 損傷群에서는 正常群에 비하여 CA1, CA2와 DG에서 생존하는 세포가 크게 감소된 반면, 電鍼刺戟群에서는 正常群에 비하면 유의한 수준의 생존된 세포의 감소 ( $p < 0.05$ )를 나타내었지만, 虛血 損傷群에 비하면 CA1 영역에서는 유의한 생존률의 증가 ( $p < 0.05$ )를 나타내었으며, CA2와 DG에서는 생존률 증가 경향을 나타내었다.

이상의 결과를 정리하여보면, nNOS 관찰결과, 초기 6시간째에서 電鍼刺戟에 의한 nNOS의 감소가 나타났으며, 이러한 결과는 損傷 7일째의 조직염색결과에서 뇌세포 생존률이 증가하는 결과와 관계를 맺고 있었다. 즉, 環跳 (GB30)의 電鍼刺戟은 뇌세포를 보호하는 효과에 관여되는 것으로 추정되어 진다.

## VI. 參考文獻



1. 김영석. 임상중풍학. 서울 : 서원당. 1997 : 303- 8, 317-29.
2. 崔容泰 외. 鍼灸學. 서울:집문당. 1988:1285-9.
3. 許浚. 東醫寶鑑. 서울 :南山堂. 1989 : 362-3.
4. 常青. 實用中風防治手冊. 北京:中國中醫藥出版社. 1993 : 24-5, 46.
5. Briely JB, Graham DI. Brain damage in the rhesus monkey resulting from profound arterial hypotension. Its nature, distribution and general physiological correlates. *Brain Res.* 1969 ; 13 : 68-77.
6. Blomqvist P, Weiloeh T. Ischemia brain damage in rats following cardiac arrest using a longterm recovery model. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1985 ; 5 : 420-8.
7. Aoki M, Abe K, Yoshida T, Hattori A, Kogure K, Itoyama Y. Early immunohistochemical changes of microtubule based motor proteins in gerbil hippocampus after transient ischemia. *Brain Res.* 1995 ; 669 : 189-96.
8. Pulsinelli WA, Buchan AM. The four-vessel occlusion rat model: method for complete occlusion of vertebral arteries and control of collateral circulation. *Stroke.* 1988 ; 19 : 913-4.
9. Kirino T Sano K. Fine structural nature of delayed neuronal death following ischemia in the gerbil hippocampus. *Acta Neuropathol.* 1984 ; 62 : 209-18.
10. Herguido MJ, Carceller F, Roda JM, Avendano C. Hippocampal cell loss in transient global cerebral ischemia in rat : A critical assessment. *Neuroscience.* 1999 ; 93 : 71-80.
11. White BC, Sullivan JM, DeGracia DJ, O'Neil BJ, Neumar RW, Grossman LI, Rafols JA, Krause GS. Brain ischemia and reperfusion: molecular mechanisms of neuronal injury. *J Neurol Sci.* 2000 ; 179 : 1-33.
12. Kogure T, Kogure K. Molecular and biochemical events within the brain subjected to cerebral ischemia: targets for therapeutical intervention. *Clin Neuroscience.* 1997 ; 4 : 179-83.
13. Banasiak KJ, Xia Y, Haddad GG. Mechanisms underlying hypoxia-induced neuronal apoptosis. *Prog Neurobiol.* 2000 ; 62 : 215-49.
14. Benveniste H, Drejer J, Schousboe A, Diemer NS. Elevation of the extracellular concentrations of glutamate and aspartate in rat hippocampus during transient cerebral ischemia monitored by intracerebral microdialysis. *J. Neurochem.* 1984 ; 43 : 1369-74.
15. 王富春 洪杰. 經穴治病明理. 北京 : 科學技術文獻出版社. 2000 : 289-90.
16. 羅永芬 主編. 腧穴學(供鍼灸學專業用). 上海科學技術出版社. 1998 : 186-7
17. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.* 1976 ; 72 : 248-54.
18. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 1970 ; 227 (259) : 680-5.
19. Lockwood BC, North MJ, Scott KI, Bremner AF, Coombs GH. The use of a highly sensitive electrophoretic method to compare the proteinases of trichomonads. *Mol Biochem Parasitol.* 1987 ; 24(1) : 89-95.
20. Ginsberg MD, Busto R, Rodent Model of Cerebral Ischemia. *Stroke.* 1989 ; 20 : 1627-42
21. Molinari GF, Laurent JP. A classification of experimental models of brain ischemia. *Stroke.* 1976 ; 7 : 14-7.

22. Schmidt-Kastner Rk, Freund TF. Selective vulnerability of the hippocampus in brain ischemia. *Neurosciencce*. 1991 ; 40 : 599-636.
23. Pulsinelli WA, Brierly JB. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanaesthetized rat. *Stroke*. 1979 ; 10 : 267-72.
24. Ou YW, Han L, Da CD, Huang YL, Cheng JS. Influence of acupuncture upon expressing levels of basic fibroblast growth factor in rat brain following focal cerebral ischemia-evaluated by time-resolved fluorescence immunoassay. *Neurological Res*. 2001 ; 23 : 47-50.
25. 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. *Neurosci Lett*. 2001 ; 297(1) : 21-4.
26. Zhao P, Huang ZN, Chen G, Cheng JS. Electro-acupuncture attenuates nitric oxide release from rat striatum after transient middle cerebral artery occlusion. *Acupunct Electrother Res*. 2000 ; 25(2):101-7.
27. Wei G, Huang Y, Wu G, Cao X. Regulation of glial cell line-derived neurotrophic factor expression by electroacupuncture after transient focal cerebral ischemia. *Acupunct Electrother Res*. 2000 ; 25(2) : 81-90.
28. Yang WO, Huang YL, Da CD, Cheng JS. Electroacupuncture reduces rat's neuronal ischemic injury and enhances the expression of basic fibroblast growth factor. *Acupunct Electrother Res*. 1999 ; 24(1) : 1-10.
29. Damien Pearse, Asim Mirza, John Leah, Jun, Fos and Krox in the hippocampus after noxious stimulation: simultaneous-input-dependent expression and nuclear speckling, *Brain Res*. 2001 ; 894 :193-208.
30. Archer DP, Roth SH. Pharmacodynamics of thiopentone: nocifensive reflex threshold changes correlate with hippocampal electroencephalography. *Br J Anaesth*. 1997 ; 79(6) : 744-9.
31. Sakiyama Y, Sato A, Senda M, Ishiwata K, Toyama H, Schimdt RF. Positron emission tomography reveals changes in global and regional cerebral blood flow during noxious stimulation of normal and inflamed elbow joints in anaesthetized cats, *Exp Brain Res*. 1998 ;118 : 439-46.
32. Rosario JL, Abercrombie ED. Individual differences in behavioral reactivity: correlation with stress-induced norepinephrine efflux in the hippocampus of Sprague-Dawley rats, *Brain Res Bull*. 1999 ; 48(6) : 595-602.
33. Ceccarelli I, Casamenti F, Masafra C, Pepeu G, Scali C, Aloisi AM. Effects of novelty and pain on behavior and hippocampal extracellular ACh levels in male and female rats, *Brain Res*. 1999 ; 815 : 169-76.
34. Cho ZH, Chung SC, Jones JP, Park JB, Park HJ, Lee HJ, Wong EK, Min BI. New findings of the correlation between acupoints and corresponding brain cortices using functional MRI. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998 ; 95 : 2670-3.
35. Uchida, S., Kagitani, F., Suzuki, A., Aikawa, Y., Effect of acupuncture-like stimulation on cortical cerebral blood flow in anesthetized rats. *Jpn. J. Physiol*. 2000 ; 50 : 495-507.
36. Ying SX, Cheng JS. Effects of electroacupuncture on C-FOS expression in gerbil hippocampus during transient global ischemia. *Acupunct Electrother Res*. 1994

- ; 19(4) : 207-13.
37. Zhao P, Cheng J. Effects of electroacupuncture on extracellular contents of amino acid neurotransmitters in rat striatum following transient focal cerebral ischemia. *Acupunct Electrother Res* 1997 ; 22(2) : 119-26
38. Xu N, Xu G, Zhong P, Wang L, Zhu S, Chen Q. Effects of electroacupuncture at du meridian on contents of nitric oxide and endothelin in rats with acute cerebral ischemia. *Zhen Ci Yan Jiu* 1996 ; 21(3) : 18-21.