

원저

足三里 配穴에 따른 電鍼이 흰쥐 大腦皮質의
NADPH-diaphorase와 nNOS, NPY,
VIP 神經細胞에 미치는 影響

정인기* · 이재동** · 김창환**

*경희대학교 한의과대학 대학원

**경희대학교 부속한방병원 침구과

Abstract

Effect of Joksamni combination on NADPH-diaphorase, neuronal Nitric Oxide Synthase, Neuropeptide Y and Vasoactive Intestinal Peptide in the cerebral cortex of Spontaneously Hypertensive Rat

Jung In-gy*, Lee Jae-dong** and Kim Chang-hwan**

*Department of Acupuncture & Moxibustion
Graduate School of Kyung-Hee University

**Department of Acupuncture & Moxibustion,
Oriental Medical Hospital Kyung-Hee University

Objective: The aim of this study was to investigate the effects of Joksamni(ST36) combination on NADPH-diaphorase, neuronal nitric oxide synthase(nNOS), neuropeptide Y(NPY) and vasoactive intestinal peptide (VIP) in the cerebral cortex of spontaneously hypertensive rat.

Methods: The experimental groups were divided into four groups: Normal, Joksamni(ST36), Joksamni(ST36)+Eumneungcheon(SP9), and Joksamni(ST36)+Gokji(LI11). Needles were inserted into acupoints at the depth of 0.5cm with basic insertion method. Electroacupuncture was done under the condition of 2Hz electrical biphasic

- 접수 : 2003년 9월 14일 · 수정 : 2003년 9월 18일 · 채택 : 2003년 9월 20일
· 교신저자 : 우현수, 서울특별시 동대문구 회기동 1번지 경희대학교 부속한방병원 침구과
Tel. 958-9202 E-mail : mari10@hanmail.net

pulses with continuous rectangular wave lasting for 0.2ms until the muscles produced visible contractions. Such stimulation was applied continuously for 10 minutes, 1 time every 2 days for 10 sessions of treatments. Thereafter we evaluated changes in NADPH-d positive neurons histochemically and changes in nNOS, NPY and VIP positive neurons immunohistochemically.

Results : The optical densities of NADPH-d positive neurons of the Joksamni(ST36)+Eumneungcheon(SP9) group in all areas of cerebral cortex and Joksamni(ST36)+Gokji(LI11) group in primary somatosensory cortex, visual cortex, auditory cortex, perirhinal cortex were significantly increased as compared to the Joksamni(ST36) group. The optical densities of NADPH-d positive neurons of the Joksamni(ST36)+Gokji(LI11) group were significantly decreased as compared to the Joksamni(ST36)+Eumneungcheon(SP9) group with the exception of primary somatosensory cortex.

The optical densities of nNOS positive neurons of the Joksamni(ST36)+Eumneungcheon(SP9) group in all areas of cerebral cortex and Joksamni(ST36)+Gokji(LI11) group in auditory cortex, perirhinal cortex, insular cortex were significantly increased as compared to the Joksamni(ST36) group. The optical densities of nNOS positive neurons of the Joksamni(ST36)+Gokji(LI11) group were significantly decreased in all areas of cerebral cortex as compared to the Joksamni(ST36)+Eumneungcheon(SP9) group.

The optical densities of NPY positive neurons of the Joksamni(ST36)+Gokji(LI11) group were significantly decreased in primary motor cortex, primary somatosensory cortex, cingulate cortex as compared to the Joksamni(ST36) and Joksamni(ST36)+Eumneungcheon(SP9) groups.

The optical densities of VIP positive neurons of the Joksamni(ST36)+Eumneungcheon(SP9) group were significantly increased in all areas of cerebral cortex except for cingulate cortex as compared to the Joksamni(ST36) group. The optical densities of VIP positive neurons of the Joksamni(ST36)+Gokji(LI11) group were significantly decreased in auditory cortex, cingulate cortex, perirhinal cortex as compared to the Joksamni(ST36) group. The optical densities of VIP positive neurons of the Joksamni(ST36)+Gokji(LI11) group were significantly decreased in all areas of cerebral cortex as compared to the Joksamni(ST36)+Eumneungcheon(SP9) group.

Conclusions : The result demonstrated that electroacupuncture on Joksamni(ST36) and its combination change the activities of the NO system and peptidergic system in the cerebral cortex of SHR and that acupoint combination is one of the important parameters for the effects.

Key words : ST36, Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-diaphorase, Neuronal nitric oxide synthase, Neuropeptide Y, Vasoactive intestinal peptide, Cerebral cortex.

I. 緒 論

韓醫學에서 經穴은 經絡을 통하여 體內 臟腑 機能의 外部 發現과 外部 刺戟의 體內 傳達 및 이를 통한 臟腑間의 機能的 相互制約, 相互協助하는 體系로, 經

穴刺戟은 全身 臟腑의 病證을 治療하는 效能을 가지고 있으며 鍼灸治療의 效果는 適切한 經穴의 選擇과 配合 및 適切한 刺戟에 의해 決定된다^{1),2)}. 韓醫學에서 腦는 “奇桓之腑, 髓之海”로 주로 精神, 意識, 思惟 活動을 담당하는 功能만으로 인식하고 있어 질병치료와 뇌와의 關係에 대한 인식이 부족한데³⁾ 최근 양전자방출단층촬영기, 기능적 자기공명영상 등을 이

용하여 중추신경계의 작용부위에서 서로 다른 뇌 혈류변화나 대뇌피질 활성변화를 確認함으로써 鍼療法이 腦의 統制過程을 通해서 效果를 發顯한다는 假說을⁴⁾⁻⁶⁾ 提示하기에 이르렀으나 주로 鍼의 疼痛 抑制 機轉을 中心으로 이루어져 鍼療法이 가지고 있는 全身의 臟腑 機能의 調節 機轉에 대한 研究는 不足한 실정이다.

鍼이 中樞神經系의 神經傳達 物質에 미치는 影響에 관한 研究로는 細胞 사이의 作用을 媒介하는 물질로 중요한 역할을 하는 nitric oxide(NO)와⁷⁾⁻¹³⁾ neuropeptide의 活性變化에¹⁴⁾⁻²⁴⁾ 대한 研究가 보고되었고, 김 등²⁵⁾은 電鍼療法의 效果와 nitric oxide synthase(NOS) 및 neuropeptide Y(NPY)와의 相關關係를 연구한 결과 각 經穴에 따라 大뇌피질에 NOS의 活性變化에 影響을 주며, NPY의 활성변화는 足三里에서만 보인다고 보고하였으며, 김 등²⁶⁾은 뇌 줄기의 NOS 활성변화도 大뇌피질과 동일한 양상을 보인다고 보고하였고, 김 등²⁷⁾은 2 Hz와 100 Hz의 電鍼과 neuronal nitric oxide synthase(nNOS)와의 相關關係를 研究한 결과 2 Hz의 電鍼이 100 Hz보다 中樞神經系에 有意한 變化를 준다고 보고하였고, 조 등²⁸⁾은 자극횟수에 따라 중추신경계 nNOS에 유의한 變化를 보고하였으나 配穴에 따른 大뇌피질의 NO의 활성 및 neuropeptide 활성변화에 미치는 影響에 대한 研究는 아직까지 미흡한 실정이다.

이에 저자는 足三里(ST36) 配穴에 따른 電鍼이 大뇌피질의 NO system 및 neuropeptide에 미치는 影響을 檢討하고자 spontaneously hypertensive rat(SHR)의 足三里에 陰陵泉(SP9)과 曲池(LI11)를 配穴하여 電鍼을 施行한 후 大뇌피질에서 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-diaphorase(NADPH-d)의 染色性은 組織化學法으로 nNOS, NPY, vasoactive intestinal peptide(VIP)는 免疫組織化學法으로 각각 染色性의 變化를 觀察하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實 驗

1. 動物 및 材料

1) 動物

2주간 실험 환경에 적응시킨 11±1주령, 체중 300±30g의 SHR을 각 군당 13마리씩 배정하였다.

2) 鍼

鍼은 길이 0.8 mm, 직경 0.15 mm의 stainless steel(정화침구사, 한국) 毫鍼을 使用하였다.

3) 電鍼器

電鍼器는 PG-7형(Ito사, 일본)을 使用하였다.

2. 方法

1) 穴位의 選定

실험동물의 체표상에 人體의 足三里(ST36), 曲池(LI11), 陰陵泉(SP9)에 相應하는 部位에 따라 取穴²⁹⁾하였다.

2) 實驗群 設定

① 正常群: 電鍼을 하지 않은 群

② 足三里 電鍼群: 左右를 교대로 편측의 足三里와 足三里 下 0.5cm의 부위에 자침하고 2 Hz의 근육수축이 현저히 보일 정도의 고강도 자극(1mA)을 준 電鍼群

③ 足三里+陰陵泉 電鍼群: 左右를 교대로 편측의 足三里와 足三里 下 0.5cm, 陰陵泉과 陰陵泉 下 0.5cm의 부위에 각각 자침하고 2 Hz의 근육수축이 현저히 보일 정도의 고강도 자극(1mA)을 준 電鍼群

④ 足三里+曲池 電鍼群: 左右를 교대로 편측의 足三里와 足三里 下 0.5cm, 曲池와 曲池 下 0.5cm의 부위에 자침하고 2 Hz의 근육수축이 현저히 보일

정도의 고강도 자극(1mA)을 준 電鍼群

3) 電鍼

電鍼은 연속파, 직각파, 0.2 ms duration으로 2일에 1회, 오전 10~11시에 10분씩 총 10회 시행하였다.

3. 組織處理³⁰⁾

실험동물은 pentobarbital sodium(60mg/kg)을 복강주사하여 마취시킨 후 흉강을 열고 좌심실을 통하여 0.05M 인산염완충식염수(phosphate buffered saline, PBS)를 1분간 주입하고, 0.1 M 인산염완충액(phosphate buffer, PB)에 녹인 4% paraformaldehyde용액(4℃)을 10분간 50~60 ml/min의 속도로 관류시켰다. 관류고정 후 각각 대뇌를 적출하여 4~6mm 두께로 관상절개하여 동일한 고정액에 담가서 4℃에서 16시간 후에 고정된 후 0.1M PBS에 탄 20% sucrose 용액에서 2~5일간 보관하였다.

뇌조직의 절단은 cryocut(Leica, Germany)을 이용하여 40 μ m 두께의 연속횡단절편을 제작하였고, 작은 조직은 매 5장마다 1장씩을 취하여 염색을 시행하였다.

4. NADPH-d의 組織化學法^{19),31)}

NADPH-d의 組織化學을 위하여 組織切片을 0.1% β -NADPH, 0.01% nitroblue tetrazolium(NBT) 0.3% Triton X-100을 0.1M PB에 녹인 반응 혼합액에 넣어 37℃ 수조에서 60분간 반응시켰다. 원하는 정도의 반응이 나타나면 조직을 PBS로 씻어서 더 이상의 발색을 정지시켰다. 발색이 끝난 조직은 gelatin-coated slide에 얹어서 2시간 동안 실온에서 건조시킨 후 xylene으로 투명화시켜 polymount로 봉입하였다.

5. nNOS, NPY, VIP의 免疫組織化學法³¹⁾

nNOS, NPY, VIP의 免疫組織化學을 위하여 組織

切片은 내재성 페록시다제(endogenous peroxidase)를 비활성화시키기 위해 PBS에 희석한 1% H₂O₂에서 15분간 반응시킨 다음 5분씩 3회 PBS로 세척한 후 rabbit anti-nNOS(Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, CA, USA), rabbit anti-NPY(In-cstar, stillwater, MN, USA), rabbit anti-VIP(In-cstar, stillwater, MN, USA)를 각각 1 : 4,000으로 희석한 항체를 0.05% bovine serum albumin, 1.5% goat serum 및 0.3% Triton X-100이 들어있는 1차 항체용액에 넣고 4도에서 overnight하였다. 1차 항체용액에서의 반응이 끝나면 조직을 PBS로 5분씩 3번 씻은 후, Vectastain-Elite kit(Vector Labs., Burlingame, CA, USA)의 2차 항체용액(Biotinylated anti-IgG를 1 : 200으로 희석, 0.3% Triton X-100)에서 1시간 동안 실온에서 반응시켜 항체 용액에서 반응이 끝난 후 PBS로 5분씩 3차례 씻은 후 avidin-biotin-peroxidase complex 용액(Vectastain-Elite kit의 A용액 1 : 100, B용액 1 : 100, 0.3% Triton X-100)에서 1시간동안 실온에서 반응시켰으며 발색제로는 3,3-diaminobenzidine tetrahydrochloride(Sigma, ST. Louis, MO, USA)를 0.05M Tris 완충액에 0.02%, H₂O₂는 0.003으로 사용하였다. 발색반응은 상온에서 3분간시켰으며, 반응이 끝난 후 조직을 PBS로 5분씩 3회 세척하였다. 발색이 끝난 조직은 gelatin-coated slide에 얹어서 2시간 동안 실온에서 건조시킨 후 xylene으로 투명화시켜 histomount로 봉입하였다.

6. 組織觀察 및 映像分析³¹⁾

대뇌 피질 영역에 分布하는 NADPH-d 및 nNOS, NPY, VIP 神經細胞의 位置 및 形態를 光學顯微鏡下에서 觀察하였으며 染色強度는 영상분석기(Multi-scan, USA)의 densitometry를 이용하여 gray scale로 측정하였다. Average optical density(AOD)는 흰색을 0, 검은색을 255로 정하여 염색된 조직은 그

사이의 값을 갖고, 이때는 광원의 밝기에 따라 AOD의 값이 달라지므로 광원을 고정시킨 후 측정하였다. 측정된 광원의 밝기는 광원의 밝기에 따라 염색된 전 체조직과 조직이 없는 부위를 각각 영상분석기로 측정하여 광원과 AOD 사이의 상관관계 standard curve를 얻은 후 가장 차이가 많이 나는 領域을 측정 광원으로 정하였다. 이때 각 실험군당 적어도 15개 領域 이상을 CCD camera를 통해 200×의 광학 현미경에서 온 영상을 받아 영상분석기로 측정하였다. Paxinos와 Watson의 부도³¹⁾를 참고하여 대뇌피질의 primary motor cortex, primary somatosensory cortex, visual cortex, auditory cortex, cingulate cortex, perirhinal cortex, insular cortex 영역에서 관찰하였다.

7. 統計處理

실험 결과는 SPSS Window program(Ver. 7.0)을 이용하였으며, 모든 측정값은 평균값±표준오차(Mean±standard error)로 나타내었고, 有意性: 판정은 $\alpha=0.05$ 로 하였다. 각 실험군간의 통계학적 분석은 ANOVA와 Duncan test 검정을 실시하였다.

III. 結 果

1. 大腦皮質 領域에서 NADPH-d 染色性的 變化

전 관찰영역에서 足三里 電鍼群, 足三里+陰陵泉 電鍼群, 足三里+曲池 電鍼群이 正常群과 비교하여 유의한(Duncan's multiple range test, $\alpha=0.05$) 염색성의 감소를 보였다. 足三里+陰陵泉 電鍼群은 足三里 電鍼群과 비교하여 전 관찰영역에서 염색성의 유의한($\alpha=0.05$) 증가를 보였다. 足三里+曲池 電鍼群은 足三里 電鍼群과 비교하여 primary motor cor-

tex, cingulate cortex, insular cortex에서는 유의한 염색성의 차이는 없었고, 그외 영역에서는 유의한($\alpha=0.05$) 염색성의 차이를 보였으며, 足三里+陰陵泉 電鍼群과 비교하여서는 모든 관찰영역에서 유의한($\alpha=0.05$) 염색성의 차이를 보였다<Table 1>.

2. 大腦皮質 領域에서 nNOS 染色性的 變化

足三里 電鍼群은 正常群과 비교하여 전 영역에서 유의한(Duncan's multiple range test, $\alpha=0.05$) 염색성의 감소를 보였다. 足三里+陰陵泉 電鍼群은 正常群과 비교하여 primary motor cortex, primary somatosensory cortex, cingulate cortex에서 염색성의 차이가 없었으며, visual cortex, auditory cortex, perirhinal cortex, insular cortex 영역에서는 유의한($\alpha=0.05$) 염색성의 차이를 보였다. 足三里+曲池 電鍼群은 正常群과 비교하여 auditory cortex, perirhinal cortex를 제외한 5영역에서 유의한($\alpha=0.05$) 염색성의 차이를 보였다. 足三里+陰陵泉 電鍼群은 足三里 電鍼群과 비교하여 전 관찰영역에서 유의한($\alpha=0.05$) 염색성의 증가가 보였으며 足三里+曲池 電鍼群은 足三里 電鍼群과 비교하여 auditory cortex, perirhinal cortex, insular cortex를 제외한 영역에서는 염색성의 차이가 나타나지 않았다. 足三里+曲池 電鍼群과 足三里+陰陵泉 電鍼群 간 비교에서는 전 영역에서 유의한($\alpha=0.05$) 염색성의 차이가 관찰되었다<Table 2>.

3. 大腦皮質 領域에서 NPY 染色性的 變化

足三里 電鍼群 및 足三里+陰陵泉 電鍼群은 각각 正常群과 비교하여 primary motor cortex, visual cortex에서 유의한(Duncan's multiple range test, $\alpha=0.05$) 염색성의 감소가 있었으며 이외의 영역에서 염색성의 차이는 없었다. 足三里+曲池 電鍼群은 正常群과 비교하여 auditory cortex, perirhinal

Table 1. Optical Densities of NADPH-d Positive Neurons after Electroacupuncture in the Cerebral Cortex of SHR

Area \ Group	Normal	Joksamni	Joksamni+ Eumneungcheon	Joksamni+ Gokji
M1	172.6±2.7(26) ^a	107.0±6.8(27) ^b	157.0±6.8(24) ^c	117.0±2.7(32) ^b
S1	170.0±2.6(25) ^a	101.0±2.5(23) ^b	142.0±4.0(22) ^c	165.0±2.9(19) ^d
Vi	170.7±2.4(27) ^a	106.2±2.6(25) ^b	150.5±3.2(21) ^c	121.0±2.5(23) ^d
Au	173.9±4.0(26) ^a	125.5±2.9(27) ^b	163.6±4.2(27) ^c	95.9±2.0(26) ^d
Cg	164.9±3.2(18) ^a	91.2±3.7(21) ^b	139.8±2.8(23) ^c	96.3±2.4(26) ^b
PRh	189.1±2.2(27) ^a	113.0±2.1(24) ^b	167.7±3.4(22) ^c	139.1±2.5(27) ^d
Ins	177.4±3.6(19) ^a	125.5±3.1(21) ^b	155.7±2.8(23) ^c	112.9±3.1(27) ^b

Data are mean±SEM(n) of average optical density. The means with same letter in row is not significantly different(Duncan's multiple range test, a=0.05). M1, primary motor cortex ; S1, primary somatosensory cortex ; Vi, visual cortex ; Au, auditory cortex ; Cg, cingulate cortex ; PRh, perirhinal cortex ; Ins, insular cortex.

Normal ; Normal group

Joksamni(ST36) : Group given electroacupuncture to Joksamni

Joksamni(ST36)+Eumneungcheon(SP9) : Group given electroacupuncture to Joksamni and Eumneungcheon respectively

Joksamni(ST36)+Gokji(LI11) ; Group given electroacupuncture to Joksamni and Gokji respectively

Table 2. Optical Densities of nNOS Positive Neurons after Electroacupuncture in the Cerebral Cortex of SHR

Area \ Group	Normal	Joksamni	Joksamni+ Eumneungcheon	Joksamni+ Gokji
M1	132.4±3.2(32) ^a	111.4±3.6(30) ^b	134.3±2.0(26) ^a	105.4±2.8(27) ^b
S1	137.7±4.0(23) ^a	101.9±3.3(28) ^b	135.1±3.0(28) ^a	110.3±2.5(27) ^b
Vi	93.9±2.3(27) ^a	82.5±3.5(25) ^b	131.3±3.3(29) ^c	81.1±2.9(25) ^b
Au	90.8±3.0(19) ^a	69.8±3.5(18) ^b	123.4±3.4(21) ^c	82.6±2.7(26) ^a
Cg	134.0±2.3(25) ^a	103.4±4.0(24) ^b	134.6±3.2(23) ^a	99.6±3.5(22) ^b
PRh	145.5±3.4(19) ^a	121.0±2.3(21) ^b	172.9±1.8(24) ^c	134.9±3.3(22) ^a
Ins	156.1±2.4(18) ^a	117.9±2.1(18) ^b	177.7±1.2(19) ^d	141.8±2.5(21) ^c

Data are mean±SEM(n) of average optical density. The means with same letter in row is not significantly different(Duncan's multiple range test, a=0.05). M1, primary motor cortex ; S1, primary somatosensory cortex ; Vi, visual cortex ; Au, auditory cortex ; Cg, cingulate cortex ; PRh, perirhinal cortex ; Ins, insular cortex.

Normal ; Normal group

Joksamni(ST36) : Group given electroacupuncture to Joksamni

Joksamni(ST36)+Eumneungcheon(SP9) : Group given electroacupuncture to Joksamni and Eumneungcheon respectively

Joksamni(ST36)+Gokji(LI11) ; Group given electroacupuncture to Joksamni and Gokji respectively

Table 3. Optical Densities of NPY Positive Neurons after Electroacupuncture in the Cerebral Cortex of SHR

Area \ Group	Normal	Joksamni	Joksamni+ Eumneungcheon	Joksamni+ Gokji
M1	128.5±2.2(25) ^a	121.0±1.4(28) ^b	121.5±0.9(26) ^b	111.1±1.5(21) ^c
S1	124.8±1.7(26) ^a	125.4±2.5(19) ^a	123.5±1.4(24) ^a	117.2±1.1(19) ^b
Vi	130.9±1.6(26) ^a	118.0±1.7(27) ^b	122.9±1.4(26) ^b	117.5±1.8(21) ^b
Au	118.8±1.5(21) ^a	112.0±1.5(19) ^a	110.9±2.2(18) ^a	115.0±1.9(22) ^a
Cg	126.1±2.0(24) ^a	125.9±1.2(22) ^a	128.5±2.2(26) ^a	114.2±1.4(25) ^b
PRh	122.5±1.8(17) ^a	124.1±2.6(18) ^a	127.5±2.4(21) ^a	121.3±2.2(22) ^a
Ins	122.8±2.7(22) ^a	117.0±2.9(18) ^a	124.5±1.8(19) ^a	117.8±1.5(22) ^a

Data are mean±SEM(n) of average optical density. The means with same letter in row is not significantly different(Duncan's multiple range test, a=0.05). M1, primary motor cortex ; S1, primary somatosensory cortex ; Vi, visual cortex ; Au, auditory cortex ; Cg, cingulate cortex ; PRh, perirhinal cortex ; Ins, insular cortex.

Normal ; Normal group

Joksamni(ST36) : Group given electroacupuncture to Joksamni

Joksamni(ST36)+Eumneungcheon(SP9) : Group given electroacupuncture to Joksamni and Eumneungcheon respectively

Joksamni(ST36)+Gokji(LI11) ; Group given electroacupuncture to Joksamni and Gokji respectively

Table 4. Optical Densities of VIP Positive Neurons after Electroacupuncture in the Cerebral Cortex of SHR

Area \ Group	Normal	Joksamni	Joksamni+ Eumneungcheon	Joksamni+ Gokji
M1	130.9±2.6(21) ^a	122.0±2.2(18) ^b	133.7±2.4(23) ^a	116.7±1.6(26) ^b
S1	133.6±1.9(18) ^a	117.3±2.8(21) ^b	125.9±1.8(22) ^a	110.9±1.2(22) ^b
Vi	137.0±2.4(17) ^a	114.2±0.9(20) ^b	139.4±2.1(25) ^a	112.0±1.3(21) ^b
Au	135.0±2.1(19) ^a	119.6±1.4(17) ^b	139.0±1.4(18) ^a	113.1±4.8(19) ^c
Cg	135.1±2.7(26) ^a	127.0±2.2(22) ^a	130.2±2.9(24) ^a	116.5±1.9(25) ^b
PRh	134.7±2.4(23) ^a	122.5±1.5(25) ^b	133.0±2.2(22) ^a	112.5±1.3(21) ^c
Ins	135.4±2.4(24) ^a	116.6±1.3(23) ^b	131.9±2.7(21) ^a	112.7±1.3(19) ^b

Data are mean±SEM(n) of average optical density. The means with same letter in row is not significantly different(Duncan's multiple range test, a=0.05). M1, primary motor cortex ; S1, primary somatosensory cortex ; Vi, visual cortex ; Au, auditory cortex ; Cg, cingulate cortex ; PRh, perirhinal cortex ; Ins, insular cortex.

Normal ; Normal group

Joksamni(ST36) : Group given electroacupuncture to Joksamni

Joksamni(ST36)+Eumneungcheon(SP9) : Group given electroacupuncture to Joksamni and Eumneungcheon respectively

Joksamni(ST36)+Gokji(LI11) ; Group given electroacupuncture to Joksamni and Gokji respectively

cortex, insular cortex를 제외한 영역에서 유의한 ($a=0.05$) 염색성의 감소를 보였다. 足三里+陰陵泉 電鍼群은 足三里 電鍼群과 비교하여 전 관찰영역에서 염색성의 차이가 없었고 足三里+曲池 電鍼群은 足三里 電鍼群 및 足三里+陰陵泉 電鍼群과 각각 비교하여 primary motor cortex, primary somatosensory cortex, cingulate cortex를 제외한 영역에서 유의한 염색성의 차이가 없었다<Table 3>.

4. 大腦皮質 領域에서 VIP 染色性的 變化

足三里 電鍼群은 正常群에 비해 cingulate cortex를 제외한 전 영역에서 유의한(Duncan's multiple range test, $a=0.05$) 염색성의 감소를 나타냈으며, 足三里+陰陵泉 電鍼群은 전영역에서 正常群과 유의한 염색성의 차이가 관찰되지 않았다. 足三里+曲池 電鍼群은 전영역에서 正常群에 비해 유의한($a=0.05$) 염색성의 감소를 보였다. 足三里+陰陵泉 電鍼群은 cingulate cortex를 제외한 전영역에서 足三里 電鍼群에 비교하여 유의한($a=0.05$) 염색성의 증가를 보였고, 足三里+曲池 電鍼群은 auditory cortex, cingulate cortex, perirhinal cortex 영역에서 足三里 電鍼群에 비교하여 유의한($a=0.05$) 염색성의 감소를 보였다. 足三里+曲池 電鍼群은 足三里+陰陵泉 電鍼群과 비교하여 전영역에서 유의한($a=0.05$) 염색성의 감소를 보였다<Table 4>.

IV. 考 察

經絡과 中樞神經系와의 관계에 관한 研究는 鍼의 疼痛 抑制 機轉^{32),33)}을 中心으로 이루어져 왔으나 양전자방출단층촬영기, 기능적 자기공명영상을 비롯한 映像技法을 利用하여 鍼에 對한 視覺 및 運動領域에의 生理 變化를 確認함으로써 鍼療法이 腦의 統制過

程을 통해서 效果를 發顯한다는 假說을 提示하기에 이르렀으며^{4)-6),34)} 鍼이 中樞神經系의 특정부위로 전달되는 경로를 시각화함으로써 經穴의 치료작용에 대한 中樞神經系의 기전을 연구하고 있다³⁵⁾⁻³⁷⁾. 이러한 연구는 鍼療法 기전을 설명하는 중간단계로 腦의 役割을 淸明하여 鍼療法이 腦의 特定機能을 活性化시킴으로서 該當臟器에 영향을 미쳐 효과를 나타내는 기전을 설명하는 것으로 평가할 수 있다.

鍼이 中樞神經系의 신경전달물질에 미치는 영향에 관한 研究결과로 손 등³⁵⁾은 鍼을 가한 실험군의 大腦 活性化도를 컴퓨터 영상분석기를 사용하여 동위원소 standard와 비교 분석한 결과 實驗群 腦細胞의 여러 구역에서 活性이 增加된 것을 관찰하였고, 특히 鎮痛效果에 있어서 鍼의 傳達 通路가 된다고 추측하고 있는 arcuate nucleus와 median eminence 부위에서 有意한 optical density의 차이를 관찰하였다. 김 등²⁵⁾은 電鍼이 大腦皮質의 신경전달물질에 미치는 영향에 대해 電鍼 후 NADPH-d 神經細胞와 NPY 神經細胞의 染色性을 관찰한 결과, NOS와 NPY가 電鍼 부위에 따라 각각 다른 神經細胞의 變化를 보여, 신경전달 물질에 따라서 電鍼에 의한 影響을 받는 機轉이 다를 것이라는 추정을 통하여 電鍼療法이 中樞神經系의 수많은 peptide system을 活性化시킨다는 假說을 제시하였다. 김 등²⁶⁾은 SHR에서 正常群과 임의혈, 足三里, 腎俞에 각각 동일한 電鍼을 준 후 뇌간에서 NADPH-d 神經細胞와 nNOS 神經細胞의 染色性을 관찰한 결과 足三里 및 腎俞群이 正常群과 임의혈보다 有意한 染色性的 減少를 보였으며 이를 통해 經穴의 선택이 SHR에서 뇌줄기의 NO system에 變化를 일으키는데 중요한 요소임을 보고하였다. 김 등²⁷⁾은 電鍼의 刺戟의 차이가 中樞神經系에 미치는 영향에 대해서 鍼群, 2Hz 電鍼群, 100Hz 電鍼群으로 나누어 대뇌피질, 뇌줄기, 小腦의 神經細胞를 관찰한 결과 100Hz에서 染色性이 增加하였음을 보고하였으며 刺戟方式에 따라

中樞神經系에 서로 다른 영향을 준다고 하였다.

NO는 작고 비교적 불안정한 두개의 원자로 이루어진 물질로 사람을 포함한 고등동물 뿐만 아니라 하등동물에서도 생성된다. NO는 L-arginine이 NOS에 의해 L-citrulline으로 변환되는 과정에 의해 생성된다^{18),38)}. NO는 脂溶性의 無機質이므로 細胞膜을 자유롭게 통과하여 쉽게 세포주위로 확산될 수 있으며 人體內 여러 정상 生理反應의 신호전달 물질로 작용한다¹⁸⁾. NO는 다른 신호전달 물질과는 달리 生體內에 저장되지 않으며 특이한 운반체나 채널이 필요하지 않고 구조 또한 간단하며 脂溶性이고 전기적으로도 中性이기 때문에 주위세포로 쉽게 확산되어 작용할 수 있다. NO의 作用은 酸化 還元 상태에 따라서 달라지는데 iNOS에 의해 지속적으로 생성된 많은 양의 NO는 주위의 산소 유리 라디칼과 반응하여 nitrogen dioxide나 peroxyxynitrite(ONOO-)라는 강력한 酸化力을 갖는 물질을 형성하여 細胞膜의 脂質成分을 過酸化시키거나 細胞內 蛋白質의 構造와 機能을 變化시켜서 細胞損傷을 誘發한다³⁹⁾.

현재까지 3개의 NOS 유전자가 발견되었는데, 쥐의 小腦에서 처음 확인된 Type I NOS는 nNOS로 명명되었고, 대식세포에서 처음 확인된 Type II NOS는 immunologic NOS(iNOS)로 명명되었으며, Type III NOS는 endothelial NOS(eNOS)로 명명되었다. 또한 이들 효소들은 활성화의 기전에 따라서 constitutive NOS(cNOS)와 inducible NOS(iNOS)로 구분된다^{9),40),41)}.

中樞神經系에서 NO는 신경계에서 synaptic plasticity에 관여하거나 long-term potentiation이나 depression 등의 기억과 연관된 신경생리학적 현상에 관여하며 局所的인 腦血流量의 調節 및 주위의 synapse들로부터 신경전달 물질의 分泌를 촉진하는 역할 등을 수행한다¹⁶⁾⁻¹⁸⁾. 中樞神經系의 nNOS는 특정 神經細胞에 항상 존재하여 神經細胞가 刺戟되어 세포내의 칼슘이온이 증가하게 되면 酵素가 活性化

되어서 소량의 NO를 合成하며, 이렇게 合成된 NO는 주위 組織에 擴散되어 신경전달 물질로서의 역할을 수행하지만 腦의 低酸素症, 虛血症이나 腦卒中 등의 질병상태에서 glutamate의 농도가 증가되면 세포내로 칼슘이온이 유입되어 증가하게 되고 이에 따라서 많은 양의 NO가 생성되어 神經細胞에 損傷을 유발하기도 한다^{39),42)}. 신경독성 물질인 kainic acid에 의하여 흰쥐의 대뇌 피질에서 nNOS 신경세포가 새로 유도 되는 등 nNOS 신경세포는 외부 刺戟에 대하여 적극적으로 반응하는 신경전달 물질이다⁴³⁾.

NOS를 갖고 있는 神經細胞를 組織學的으로 관찰하는 방법으로는 NADPH-d 組織化學法과 nNOS 免疫組織化學法을 사용한다^{9),20),30),44)}. NADPH-d 組織化學法은 NOS가 NBT을 물에 녹지 않는 NBT formazan으로 환원시키는 NADPH-d 활성화作用이 있다는 원리를 이용한 방법이다. 이 작용에는 꼭 NADPH-d가 필요하며, NOS는 NADPH-d를 전자 공여자로 필요로 한다. NADPH-d 활성화는 NOS없이도 부신겉질과 콩팥에서 나타날 수 있지만, 대뇌피질과 줄무늬체에 분포하는 NADPH-d 陽性 神經細胞는 NOS의 활성화도와 비례한다는 보고^{9),20)}가 있다.

대뇌피질에 존재하는 다양한 neuropeptide 중 NPY는 혈관수축인자로 중추와 말초의 교감신경에 분포하여 대뇌피질과 줄무늬체에서 사이신경원으로 존재하며²²⁾ VIP는 돼지의 십이지장에서 처음 혈관 확장인자로 위장관 이외에도 신경계의 여러 곳에서 분포하고 있음이 밝혀졌는데 뇌간에는 소수가 분포하며 신피질과 전뇌의 여러 신경핵에서 출현하며 면역조직화학법으로 관찰할 수 있다^{23),24)}.

足三里(ST36)는 足陽明胃經의 經穴로서 理脾胃 調中氣 通調經絡 扶正培元 하며 김 등^{1),25),45)}은 NO system에 영향을 미친다고 보고하였다. 曲池(LI11)는 手陽明大腸經의 經穴로서 疏邪熱, 祛風濕, 調氣血 하며 陰陵泉(SP9)은 足太陰脾經의 經穴로서 化濕滯, 調膀胱하는 穴性을 가지고 있다^{1),45)}. 配穴에 따른 각

각의 主治를 살펴보면 足三里와 曲池 配穴은 高血壓, 浮腫, 低熱 및 四肢에 熱이 있을 때, 中經絡 및 中風 後遺症에 응용하며, 足三里와 陰陵泉 配穴은 浮腫, 脚痛, 膝腫, 小便不通, 癱閉 등에 응용한다^{1),45),46)}.

足三里에 陰陵泉과 曲池을 각각 配穴하여 대뇌 피질영역에서 NADPH-d와 nNOS, NPY, VIP의 染色性を 영상분석기의 densitometry 기능을 이용하여 측정한 결과 대뇌피질의 primary motor cortex, primary somatosensory cortex, visual cortex, auditory cortex, cingulate cortex, perirhinal cortex, insular cortex 영역에서 NADPH-d은 足三里 電鍼群, 足三里+陰陵泉 電鍼群, 足三里+曲池 電鍼群이 正常群과 비교하여 유의한(Duncan's multiple range test, $a=0.05$) 염색성의 감소를 보였다. 足三里+陰陵泉 電鍼群은 足三里 電鍼群과 비교하여 전 관찰영역에서 염색성의 유의한($a=0.05$) 증가를 보였다. 足三里+曲池 電鍼群은 足三里 電鍼群과 비교하여 primary motor cortex, cingulate cortex, insular cortex에서는 유의한 염색성의 차이는 없었고, 그외 영역에서는 유의한($a=0.05$) 염색성의 차이를 보였으며, 足三里+陰陵泉 電鍼群과 비교하여서는 모든 관찰영역에서 유의한($a=0.05$) 염색성 차이를 보였다.

면역조직학적 방법으로 관찰한 대뇌피질영역에서 nNOS은 足三里 電鍼群은 正常群과 비교하여 전영역에서 유의한(Duncan's multiple range test, $a=0.05$) 염색성의 감소를 보였다. 足三里+陰陵泉 電鍼群은 正常群과 비교하여 primary motor cortex, primary somatosensory cortex, cingulate cortex 에서 염색성의 차이가 없었으며, visual cortex, auditory cortex, perirhinal cortex, insular cortex 영역에서는 유의한($a=0.05$) 염색성의 차이를 보였다. 足三里+曲池 電鍼群은 正常群과 비교하여 auditory cortex, perirhinal cortex를 제외한 5영역에서 유의한($a=0.05$) 염색성의 차이를 보였다. 足三

里+陰陵泉 電鍼群은 足三里 電鍼群과 비교하여 전 관찰영역에서 유의한($a=0.05$) 염색성의 증가가 보였으며 足三里+曲池 電鍼群은 足三里 電鍼群과 비교하여 auditory cortex, perirhinal cortex, insular cortex를 제외한 영역에서는 염색성의 차이가 나타나지 않았다. 足三里+曲池 電鍼群과 足三里+陰陵泉 電鍼群간 비교에서는 전영역에서 유의한($a=0.05$) 염색성의 차이가 관찰되었다.

이러한 결과는 足三里 및 足三里+曲池와 足三里+陰陵泉 配穴이 대뇌피질에서 NOS의 抑制活性이 있다는 것을 의미하며 같은 足三里 經穴刺戟이라도 曲池 및 陰陵泉의 配穴에 따라 抑制活性이 增加하기도 하며 減少하기도 하는 것으로 판단되어 配穴이 NOS 이 활성화에 많은 영향을 주는 것으로 사료된다.

대뇌피질 전영역에 NPY, VIP 신경세포들이 분포되어 있었다. NPY은 足三里 電鍼群 및 足三里+陰陵泉 電鍼群은 각각 正常群과 비교하여 primary motor cortex, visual cortex에서 유의한(Duncan's multiple range test, $a=0.05$) 염색성의 감소가 있었으며 이외의 영역에서 염색성의 차이는 없었다. 足三里+曲池 電鍼群은 正常群과 비교하여 auditory cortex, perirhinal cortex, insular cortex를 제외한 영역에서 유의한($a=0.05$) 염색성의 감소를 보였다. 足三里+陰陵泉 電鍼群은 足三里 電鍼群과 비교하여 전 관찰영역에서 염색성의 차이가 없었고 足三里+曲池 電鍼群은 足三里 電鍼群 및 足三里+陰陵泉 電鍼群과 각각 비교하여 primary motor cortex, primary somatosensory cortex, cingulate cortex 를 제외한 영역에서는 유의한 염색성 차이가 없었다.

VIP은 측정결과 足三里 電鍼群은 正常群에 비해 cingulate cortex를 제외한 전영역에서 유의한(Duncan's multiple range test, $a=0.05$) 염색성의 감소를 나타냈으며, 足三里+陰陵泉 電鍼群은 전영역에서 正常群과 유의한 염색성의 차이가 관찰되지 않았다. 足三里+曲池 電鍼群은 전영역에서 正常群에

비해 유의한($a=0.05$) 염색성의 감소를 보였다. 足三里+陰陵泉 電鍼群은 cingulate cortex를 제외한 전 영역에서 足三里 電鍼群에 비교하여 유의한($a=0.05$) 염색성의 증가를 보였고, 足三里+曲池 電鍼群은 auditory cortex, cingulate cortex, perirhinal cortex 영역에서 足三里 電鍼群에 비교하여 유의한($a=0.05$) 염색성의 감소를 보였다. 足三里+曲池 電鍼群은 足三里+陰陵泉 電鍼群과 비교하여 전 영역에서 유의한($a=0.05$) 염색성의 감소를 보였다. 이는 足三里 刺鍼이 peptide의 종류에 따라서 활성화에 미치는 영향이 다음을 의미하기도 하며 같은 足三里 穴이라도 配穴에 따라서는 neuropeptide의 活性 抑制 혹은 增加의 경향으로 나타나는 것을 의미한다.

이상의 결과를 종합해 보면 足三里 및 足三里+曲池, 足三里+陰陵泉 配穴에 의해 대뇌피질에서의 NOS의 抑制活性이 있었고 세 영역에서는 足三里 電鍼群이 足三里+曲池 電鍼群보다 유의한 염색성의 감소를 보였으며 足三里+陰陵泉 電鍼群은 足三里 電鍼群과 비교하여 전 관찰영역에서 염색성이 유의하게 증가하였다.

대뇌피질영역에서 NPY 활성화는 足三里 및 足三里+曲池, 足三里+陰陵泉 配穴에 의해 auditory cortex, perirhinal cortex, insular cortex에서 유의한 차이가 관찰되지 않았으나 足三里+曲池 配穴이 primary motor cortex, primary somatosensory cortex와 cingulate cortex에서 足三里 및 足三里+陰陵泉 配穴에 비하여 유의한 염색성의 감소가 있었다.

대뇌피질영역에서 VIP 활성화는 足三里 및 足三里+曲池 配穴이 足三里+陰陵泉 配穴에 비해 cingulate cortex를 제외한 전 영역에서 유의한 염색성의 감소를 나타냈으며 그중 auditory cortex와 perirhinal cortex 영역에서는 足三里+曲池 配穴이 足三里에 비하여 유의한 염색성의 차이가 관찰되었다.

이상의 실험적 연구를 통해 經穴의 서로 다른 配合에 따라 中樞神經系의 NO system 및 NPY, VIP

가 각각 다른 神經세포 활성화도를 나타내어 神經 전달 물질에 따라서 配穴이 서로 다른 影響을 미친다는 것을 觀察할 수 있었다. 또한 같은 經穴이라도 配穴에 따라 동일한 神經 전달 물질이 활성화 또는 억제되는 것을 관찰하여 중추신경계의 수많은 peptidergic system이 활성화된다는 假說을 제시할 것으로 사료되고 經穴間의 相互, 相乘作用 및 抑制作用을 설명할 수 있는 더 많은 연구가 필요하리라 사료된다.

V. 結 論

足三里 配穴에 따른 電鍼이 중추신경계의 NADPH-diaphorase와 nNOS, NPY 및 VIP 神經세포에 미치는 影響을 觀察하기 위하여 SHR의 足三里(ST36)에 陰陵泉(SP9)과 曲池(LI11)를 각각 配穴하여 동일한 電鍼을 施行한 후 大腦皮質의 primary motor cortex, primary somatosensory cortex, visual cortex, auditory cortex, cingulate cortex, perirhinal cortex 및 insular cortex 領域에서 NADPH-d 組織化學法, nNOS, NPY 및 VIP 免疫組織化學法으로 染色性を 測定하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. NADPH-d 染色성은 足三里+陰陵泉 電鍼群은 관찰영역 모두에서, 足三里+曲池 電鍼群은 primary somatosensory cortex, visual cortex, auditory cortex, perirhinal cortex 영역에서 足三里 電鍼群에 비해 증가를 보였다. 足三里+曲池 電鍼群은 足三里+陰陵泉 電鍼群에 비해 primary somatosensory cortex를 제외한 관찰영역 모두에서 감소를 보였다.

2. nNOS 染色성은 足三里+陰陵泉 電鍼群은 관찰영역 모두에서, 足三里+曲池 電鍼群은 auditory cortex, perirhinal cortex, insular cortex 영역에

서 足三里 電鍼群에 비해 증가를 보였다. 足三里+曲池 電鍼群은 足三里+陰陵泉 電鍼群에 비해 관찰영역 모두에서 감소를 보였다.

3. NPY 染色성은 足三里+曲池 電鍼群은 足三里 電鍼群 및 足三里+陰陵泉 電鍼群에 비해 primary motor cortex, primary somatosensory cortex, cingulate cortex 영역에서 감소를 보였다.

4. VIP 染色성은 足三里 電鍼群에 비해 足三里+陰陵泉 電鍼群은 cingulate cortex를 제외한 관찰영역 모두에서 증가를 보였고, 足三里+曲池 電鍼群은 auditory cortex, cingulate cortex, perirhinal cortex 영역에서 감소를 보였다. 足三里+曲池 電鍼群은 足三里+陰陵泉 電鍼群에 비해 관찰영역 모두에서 감소를 보였다.

IV. 參考文獻

1. 全國韓醫科大學 鍼灸經穴學教室 編著. 鍼灸學. 서울. 集文堂. 1988 ; 53-55.
2. Lunderberg T. Does acupuncture work?. IASP. 1996 ; 4 : 1-4.
3. 김후동, 김용석, 김창환. PubMed와 大韓鍼灸學會誌 논문 검색을 통한 鍼療法과 腦와의 관계에 대한 연구동향 고찰. 大韓鍼灸學會誌 2001 ; 18 : 188-200.
4. Kenneeth K, Kwong JW, Belliveau DA, Inna E, Goldberg RM, Weisskoff BP, Poncelet DN, Kennedy BE, Hoffel MS, Hong MJ, Thomas J, Bruce LR. Dynamic magnetic resonance imaging of human brain activity during primary sensory stimulation. Proc Natl Acad Sci USA. 1992 ; 89 : 5675-5679.
5. Wang F, Jia SW. Effect of acupuncture on regional cerebral blood flow and cerebral functional activity evaluated with single-photon emission computed tomography. Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi. 1996 ; 16 : 340-343.
6. 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 : 2670-2673.
7. 정희철, 한미정, 박상균, 안성훈, 김경식, 손인철. 鍼刺戟에 의해 誘導되는 norepinephrine과 serotonin의 증가가 NO의 생성에 미치는 영향. 大韓鍼灸學會誌. 1999 ; 16 : 367-378.
8. 이정현, 김이화, 이은용. 耳鍼刺戟이 絶食 Stress로 인한 흰쥐 大脳皮質의 NADPH-diaphorase 神經細胞에 미치는 영향. 大韓鍼灸學會誌. 2001 ; 18 : 79-90.
9. Bredt DS, Glatt CE, Hwang PM, Fotuhi M, Dawson TM, Snyder SH. Nitric oxide synthase protein and mRNA are discretely localized in neuronal populations of the mammalian CNS together with NADPH diaphorase. Neuron. 1991 ; 7 : 615-624.
10. Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide, a novel neuronal messenger. Neuron. 1992 ; 8 : 3-11.
11. Monda M, Viggiano A, Sullo A, Deluca V. Nitric oxide reduces hypophagia induced by threonine free diet in the rat. Brain Res. 1998 ; 808 : 129-133.
12. Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide : a phy-

- siologic messenger molecule. *Ann Rev Biochem.* 1994 ; 63 : 175-195.
13. Brobeck JR, Tepperman J, Long CNH. Experimental hypothalamic hyperphagia in albino rat. *Yale J Biol Med.* 1943 ; 15 : 831-853.
 14. Bucinskaite V, Lunderberg T, Stenfors C, Ekblom A, Dahlin L, Theodorsson E. Effects of electro-acupuncture and physical exercise on regional concentration of neuropeptide in rat brain. *Brain Res.* 1994 ; 666 : 128-132.
 15. Bucinskaite V, Theodorsson E, Crumpton K, Stenfors C, Ekblom A, Lunderberg T. Effects of repeated sensory stimulation (electro-acupuncture) and physical exercise (running) on open field behavior and concentrations of neuropeptides in the hippocampus in WKY and SHR rats. *Eur J Neurosci.* 1996 ; 8 : 382-387.
 16. Schulman EM, Madison DV. The intercellular messenger nitric oxide is required for long term potentiation. *Science.* 1991 ; 254 : 1503-1506.
 17. Shibuki K, Okada D. Endogenous nitric oxide release required for long-term synaptic depression in the cerebellum. *Nature.* 1991 ; 249 : 326-328.
 18. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric Oxide : Physiology, Pathology and Pharmacology. *Rev.* 1991 ; 43 : 109-142.
 19. Dawson TM, Bredt DS, Fotuhi M, Hwang PM, Snyder SH. Nitric oxide synthase and neuronal NADPH diaphorase are identical in brain and peripheral tissues. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 1991 ; 88 : 7797-7801.
 20. Hope BT, Michael GJ, Knigge KM, Vincent SR. Neuronal NADPH diaphorase is a nitric oxide synthase. *Proc Natl Acad Sci.* 1991 ; 88 : 2811-2814.
 21. Montecot C, Rondi-Reing L, Springhetti V, Seylaz J, Pinard E. Inhibition of neuronal (type 1) nitric oxide synthase prevents hyperaemia and hippocampal lesions resulting from kainate-induced seizures. *Neuroscience.* 1998 ; 84 : 791-800.
 22. Mclean KJ, Jarrott B, Lawrence AJ. Neuropeptide Y gene expression and receptor autoradiography in hypertensive and normotensive rat brain. *Mol Brain Res.* 1996 ; 35 : 249-259.
 23. Morrison JH, Magistretti PJ, Benoit R, Bloom FE. The distribution and morphological characteristics of the intracortical VIP-positive cell. An immunohistochemical analysis. *Brain Res.* 1984 ; 292 : 269-282.
 24. Laemile LK, Cotter JR. Immunocytochemical localization of vasoactive intestinal polypeptide (VIP) in the brain of the little brown bat (*Myotis lucifugus*). *J Neurocytol.* 1988 ; 17 : 117-129.
 25. 김창환, 김용석, 허영범, 유진화. 電鍼刺戟이 SHR 흰쥐 大腦의 NADPH-diaphorase와 Neuropeptide Y 神經細胞에 미치는 影響. *大韓鍼灸學會誌.* 1999 ; 16 : 283-291.
 26. Kim YS, Kim C, Kang MJ, Yoo JH, Huh Y. Electroacupuncture-related changes of NADPH-diaphorase and neuronal nitric oxide synthase in the brainstem of spontaneously hypertensive rats. *Neurosci Lett.* 2001 ;

- 312 : 63-66.
27. 김종인, 김용석, 김창환. 電鍼刺戟이 Spontaneously Hypertensive Rat의 大腦겉질, 뇌줄기, 小腦 部位의 Nitric Oxide Synthase 神經細胞에 미치는 影響. 大韓鍼灸學會誌. 2001 ; 18 : 116-124.
 28. 조성규, 김창환, 김용석. 電鍼刺戟이 흰쥐 대뇌피질의 NADPH-diaphorase와 NPY에 미치는 영향. 大韓鍼灸學會誌. 2002 ; 19 : 95-106.
 29. 고흥균. 흰쥐에서의 骨度分寸에 의한 相應穴位. 大韓鍼灸學會誌. 1999 ; 16 : 115-122.
 30. Vincent SR, Kimura H. Histochemical mapping of nitric oxide synthase in the rat brain. Neuroscience 1992 ; 46 : 755-784.
 31. Paxinos G, Watson C. The Rat brain in Stereotaxic Coordinates. 3rd ed., Academic Press, San Diego, CA, 1997.
 32. Takeshike 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. 1991 ; 30 : 53-67.
 33. 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
 34. Wu MT, Hsieh JC, Xiong J, Yang CF, Pan HB, Chen YCI, Tsai GC, Bruce RR, Kenneth K. Central nervous pathway for acupuncture stimulation : Localization of processing with functional MR imaging of the brain—preliminary experience. Radiology. 1999 ; 212 : 133-141.
 35. 손영주, 원란, 정혁상, 김용석, 박영배, 손낙원. 電鍼刺戟에 의한 흰쥐 中樞神經系內 代謝活性 變化的 映像化 研究. 大韓鍼灸學會誌. 2001 ; 18 : 56-68.
 36. 손영주, 정혁상, 구자승, 원란, 김용석, 박영배, 손낙원. 흰쥐의 足三里 및 太衝 電鍼刺戟에 따른 腦代謝活性의 變化. 大韓鍼灸學會誌. 2002 ; 19 : 159-174.
 37. Lee DS, Lee JS, Kim KM, Chung JK, Lee MC. Functional brain mapping using H2150 positron emission tomography (I) : Statistical parametric mapping method. Korean J Nucl Med. 1998 ; 32 : 225-237.
 38. Giatgen A. The dual role of nitric oxide in islet β -cell. New Physiol Sci. 1999 ; 14 : 49-53.
 39. Koh JY, Choi DW. Vulnerability of cultured cortical neurons to damage by endotoxins, Differential susceptibility of neurons containing NADPH-diaphorase. J Neurosci. 1993 ; 8 : 2153-2163.
 40. Lamas S, Marsden PA, Li GK, Tempst P, Michel T. Endothelial nitric oxide synthase : molecular cloning and characterization of a distinct constitutive enzyme isoform. Proc Natl Acad Sci USA. 1996 ; 89 : 6348-6352.
 41. Xie QW, Cho HJ, Calaycay J, Mumford RA, Swiderek KM, Lee TD, Ding A, Troscio T, Nathan C. Cloning and characterization of inducible nitric oxide synthase from mouse macrophages. Science. 1992 ; 256 : 225-228.
 42. Feldman PL, Griffith OW, Sheuhr DJ. The surprising life of nitric oxide. Chem Eng

- News. 1993 ; 26-38.
43. Huh Y, Heo K, Park CY, Ahn HK. Transient induction of neuronal nitric oxide synthase in neurons of rat cerebral cortex after status epilepticus. *Neurosci Lett.* 2000 ; 281 : 49-52.
44. Morris BJ, Simpson CS, Mundell S, Maceachern K, Johnston HM, Nolan AM. Dynamic changes in NADPH-diaphorase staining reflect activity of nitric oxide synthase : evidence for a dopaminergic regulation of striatal nitric oxide release. *Neuropharmacology* 1997 ; 36 : 1589-1599.
45. 임종국. 鍼灸治療學. 서울. 集文堂, 1986 ; 278-279, 304-305, 319-320.
46. 최용태, 이해정, 임사비나. 經典鍼灸學. 一中社, 2000 ; 399-400, 430, 485, 561, 1169-1174.