

## 足三里 電鍼이 白鼠의 膝關節炎 痛症에 미치는 影響

박성익<sup>1</sup> · 구성태<sup>1</sup> · 황재호<sup>1</sup> · 신종근<sup>1</sup> · 손인철<sup>1</sup> · 김경식<sup>1</sup>

<sup>1</sup>원광대학교 한의과대학 경혈학교실

### Effect of Acupuncture applied to Foot Samli on the Rat Model of Knee Arthritic Pain

Sung-Ik Park<sup>1</sup>, Sung-Tae Koo<sup>1</sup>, Jae-Ho Hwang<sup>1</sup>, Jong-Keun Shin<sup>1</sup>, In-Chul Sohn<sup>1</sup>, Kyung-Sik Kim<sup>1</sup>

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

#### Abstract

**Objectives :** The usage of acupuncture has gained popularity as an alternative method of treatment for certain chronic pain conditions. However, the efficacy of acupuncture in various diseases has not been fully established and the underlying mechanism is not clearly understood. In the present study, the effect of electroacupuncture (EA) applied to foot samli(ST<sub>36</sub>) on the carrageenan-induced knee arthritic pain was examined.

**Methods :** A common source of persistent pain in humans is the knee arthritis. Knee arthritis was induced by injection of 2 % carrageenan 50  $\mu$ l into the knee joint cavity. When rats developed pain behaviors, EA was applied for 30 min. under enflurane anesthesia with repeated train stimuli at the intensity of 10X of muscle twitch threshold. The weight bearing force of the hind limb was measured for an indicator of pain level after each manipulation.

**Results :** The average weight borne by the hind limb during normal gait was 55% of total body weight, which was reduced to less than 10% after knee arthritis. EA improved the weight bearing of the arthritic hind limb significantly for the duration of 4 hr. EA applied to ST<sub>36</sub> point produced a significant improvement of stepping force of the arthritic foot lasting for at least 4 h. However, GB<sub>31</sub> point did not produce any significant increase of weight bearing force. The analgesic effect was specific to the acupuncture point since the analgesic effect on the knee arthritis model could not be mimicked by EA applied to a nearby point, GB<sub>31</sub>. The relations between EA-induced analgesia and endogenous nitric oxide(NO) and inducible NO synthase(iNOS)/neuronal NOS was also examined. Results were turned out that both NO production and nNOS/iNOS protein expression which is increased by arthritis were suppressed by EA stimulation applied to ST<sub>36</sub> point.

**Conclusions :** The data suggest 1) that EA produces a potent analgesic effect on the rat model of chronic knee arthritis pain in a point specific manner and 2) that EA-induced analgesia modulate endogenous NO through the suppression of nNOS/iNOS protein expression.

**Key words :** Electroacupuncture, acupuncture analgesia, knee arthritis, NO

· 교신저자: 김경식, 전북 익산시 신용동 344-2, 원광대학교 한의과대학  
경혈학교실, Tel. 063-850-6448, Fax. 063-857-6458,  
E-mail: meridiil@wonkwang.ac.kr

\* 이 논문은 2003년도 원광대학교의 교비 지원에 의해서 수행됨  
· 접수 : 2004/01/08 · 수정 : 2004/03/05 · 채택 : 2004/03/10

## I. 緒 論

류마티스 관절염은 병인이 알려지지 않은 자가면역질환의 일종으로서, 대부분의 환자들에게서 점진적인 인대파괴, 기형, 무능력, 조발사를 특징으로 한다. 현재 서양의학에서 류마티스 관절염 치료에 주로 추천하고 있는 방법은 스테로이드 호르몬을 보조제로 하면서 비스테로이드성 항염증제(NSAIDs)를 사용하는 것이다<sup>1)</sup>. 이러한 약들은 일시적으로는 염증을 억제하면서 증상들을 개선시키지만, 장기간의 질병 치료에는 유의성 있는 개선을 보여주지 못하고 있다<sup>2)</sup>. 더욱이 NSAIDs로 장기간 치료를 하게 되면 소화성 궤양과 신기능 이상 등과 같은 심각한 부작용을 초래하게 된다<sup>3)</sup>. 이러한 단점들 때문에 더욱 효과적이고 안전한 치료방법이 요구되고 있다.

한의학에서 관절은 “諸筋者 皆屬於節”<sup>4)</sup>이라 하여 筋의 기능적 발현의 취합처이며 屈伸內外轉 및 回轉등을 담당하는 운동기관으로, 관절의 염증성 질환인 관절염<sup>5)</sup>은 다양한 원인으로 인하여 관절부위의 疼痛, 腫脹, 硬直, 發赤, 發熱, 運動障礙가 나타나는 질환이라 하였다<sup>6)</sup>.

이러한 관절염에 나타나는 염증을 억제하고 통증을 제거하기 위해 여러 가지 처방들을 이용하여 왔고, 임상에서는 체내에 광범위하게 또는 국소적으로 진통효과를 나타내기 위하여, 약물 치료를 하면서 다양한 형태의 침치료(예, 전침, 약침, 봉침 등)를 병행하고 있다.

현재까지 보고된 침의 진통 효과에 대한 연구를 살펴보면 침의 진통작용 기전에 내인성 모르핀 계통이 관여하는 것으로 알려져 있지만 정확한 기전은 아직까지 알려져 있지 않다. 많은 연구가 진행되었음에도 이러한 문제가 발생한 이유는 침의 진통효과를 알아보기 위한 실험에 만성통증 모델을 사용한 것이 아니라 정상 동물에 급성 통증을 유발시켜서 효과를 살펴본 것

한 가지 이유가 될 수 있을 것이다. 이는 급성 통증과 만성 통증에 관여하는 기전이 완전히 다르기 때문<sup>7,8)</sup>이다.

그리고 관절염 치료에 임상에서 침이 널리 사용되고 있지만 아직까지 그 치료기전이 명확히 밝혀지지 않고 있다. 본 연구에서는 만성통증으로서 슬관절염 모델을 사용하여 전침의 진통효과를 살펴보고 이에 관여하는 생물학적 기전을 알아보려 하였다. 그리하여 본 연구에서는 선행 연구에서 발견한 문제점들을 해결하기 위하여 만성통증 모델로서 슬관절염 모델을 사용하였으며 슬관절염 통증을 유발시킨 실험 동물에 전침 자극하여 진통효과를 알아보았다. 또한 척수내 산화질소와 전침의 진통효과의 관계에 대해서도 살펴보았다. 이상과 같은 실험을 통하여 몇 가지 새로운 지견을 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 실험동물

실험동물로는 대한실험동물센터(대전)에서 구입한 수컷 Sprague-Dawley(6주령, 170-190g)가 사용되었으며, 원광대학교 한의학전문대학원에서 사육되었다. 동물은 온도 22±1℃, 상대습도 55±10%의 조건에서 12시간 주기로 주야를 바꿔주면서(야간 사이클: 오전 8:00~오후 8:00) 한 케이지에 3-4마리씩 soft bedding으로 사육하였다. 동물들은 실험 시작하기 전 적어도 5일간동안 이러한 환경에서 적응하면서 사육되었다. 실험하기 전 및 실험 기간에 동물들은 사료와 물을 자유롭게 먹을 수 있도록 하였다.

### 2. 관절염 모델 유도

만성관절염은 enflurane(Ilung pharmaceut-

icals, Soeul, Korea)과 O<sub>2</sub>로 혼합된 마취상태에서(마취 유도 3%, 마취상태 유지 1.5-2.0%), 쥐의 오른쪽 무릎 관절강 내로 생리식염수에 녹인 2 % carrageenan (Sigma, St. Louis, MO, USA) 50  $\mu$ l를 주입하여 유발시켰다. 주입 후 마취를 중단하였으며, 수술 받은 쥐들은 모두 5~10분 후에 마취에서 회복되었다.

### 3. 전침 자극

가스 마취 상태에서 직경 0.25mm, stainless-steel 재질의 한 쌍의 침을 건측 뒷다리에 있는 풍시혈(GB<sub>31</sub>)과 족삼리혈(ST<sub>36</sub>)에 삽입하였다. 동물에서 자침은 사람의 경혈 자리에 상응하는 부위에 자침하였다. 침은 pulse generator (Grass S88 stimulator; Grass Medical Instruments, Quincy, MA, USA)에 연결되어 1ms duration, 4pulse의 train(1ms의 정사각파, 100 Hz의 intra-train frequency)이 출력되었다. 실험하는 동안 사각파의 주파수(frequencies)는 2Hz를 사용하였으며, 강도(intensity)는 2 mA (muscle twitch threshold의 10배정도의 강도로써, muscle twitch threshold는 보통 200 $\mu$ A 근방이었다)를 사용하였다. 양극(+,-)은 전극의 분극(polarization)을 막기 위해 1분마다 역전되었다. 전침 처치가 끝난 즉시 마취는 중단되었으며 5~10분내에 쥐들은 완전히 깨어나 정상적으로 활동하기 시작하였다. 총 자극시간은 30분으로 하였다.

### 4. 동물행동 테스트

통증 정도를 측정하기 위해서 관절염이 유도된 후의 바닥을 밟는 힘을 측정하였다. 동물을 투명한 아크릴로 만든 긴 통로(폭 10 cm, 높이 10 cm, 길이 60 cm)를 자유스럽게 걷게 하고, 통로 바닥의 절반에 전자저울(Acculab, Pocket

pro 250-B, Newton, PA, USA)을 설치하여 한쪽 발이 디디는 압력만을 측정하였다. 전자저울에서 나오는 전기신호는 압력의 변화를 전압의 변화로 보여주는데 이를 CED(1401 plus)에 연결하여 spike 2 프로그램(Cambridge Electronic Design Ltd, UK version 4.12)으로 전압의 변화를 관찰하였다.

관절염 모델 동물의 WBF가 시간 경과에 따른 변화를 측정하기 위하여 관절염 유도 후 일정한 시간마다 측정하였다. 모든 행동검사는 각 측정 시간마다 3회 실시하여 평균값을 취하여 측정값을 얻었으며 행동검사는 맹검법으로 시행하였다.

### 5. 단백질의 분리 및 정제

척수에서 iNOS, nNOS 단백질 발현을 측정하기 위하여 대조군, carrageenan 유도 관절염 실험군 및 관절염에 전침을 처리한 실험군의 동물들을 chloralhydrate 250 mg/kg으로 마취하고 pH 7.4의 phosphate buffered saline(PBS) 용액으로 심장관류하여 혈액을 제거한 후 재빨리 척수를 박리하였다. 박리된 척수는 dry-ice powder에 신선하게 얼려 사용할 때까지 -80 $^{\circ}$ C에 보관하여 놓았다. 보관된 척수에 homogenization buffer 3ml을 가하여 Homogenizer로 3회(15초 같고 10초 쉬는 행위를 3회 반복) 균질화시킨 후, 3,000 $\times$ g로 10분동안 원심분리시켰다. 상층액을 분리하여 ependorf tube에 담아서 사용할 때까지 -80 $^{\circ}$ C에 저장하여 놓았다. 이 시료는 iNOS, nNOS 단백질을 분석하기 위해 사용되었다. 이 시료를 4 $^{\circ}$ C에서 13,000 $\times$ g로 10분 동안 2회 원심분리시킨 후 상층액을 분리하여 ependorf tube에 담아서 사용할 때까지 -80 $^{\circ}$ C에 저장하여 놓았다.

## 6. 산화질소 정량

척수조직 내 산화질소(NO) 생성량을 측정하기 위하여 Griess 시약을 이용하여 안정된 마지막 산물인 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>와 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>에 대해서 분석하였다.

과정을 간략하면, 각 샘플 40 $\mu$ l와 MOPS buffer(50mM MOPS/1mM EDTA, pH 7.0) 45 $\mu$ l를 혼합하고 reconstituted *Escherichia coli* nitrate reductase(500 $\mu$ l MOPS buffer에 1 unit nitrate reductase가 용해된 농도) 5 $\mu$ l를 가한 후 2mM NADH 10 $\mu$ l를 가하여 20분동안 실온에서 반응시킨다. 그 후 50 $\mu$ l Griess reagent A(1% sulfanilamide in 3N HCl)와 짧게 반응시키고, 50 $\mu$ l Griess reagent B(0.1% N-(1-naphthyl)ethylenediamine, 2HCl)와 혼합하여 실온에서 5분간 반응시킨 후, purple azo dye가 생성되면 30분 이내에 Microtiter plate reader를 이용하여 540nm에서 흡수율을 측정하였다. Nitrite 농도의 표준곡선은 NaNO<sub>3</sub>로부터 계산되었다.

## 7. Western blot 분석

단백질 blotting을 위하여 보관하여 놓은 단백질 시료를 5배 농축된 SDS sample buffer (1 $\times$  125mM Tris-HCl, pH 6.8, 2% SDS, 5% glycerol, 0.003% bromophenol, 1%  $\beta$ -mercaptoethanol)와 섞어서 98 $^{\circ}$ C에서 5분간 끓인 후 10,000 rpm에서 5-10초간 원심분리한다. 그 후 샘플들을 polyacrylamide gel (nNOS는 7.5% gradient 사용, iNOS는 10% gradient 사용)에 걸어서 electrophoresis를 한다. 그리고 polyvinylidene difluoride membrane에 electrotransfer시킨다. Membrane은 실온에서 blocking buffer(TBS-T에 5% skim milk, 10% NaH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>를 포함)에 blocking을 하고, anti-iNOS, anti-nNOS antibody를 1:1000으로 하여 1시간동안

반응시킨 후 4 $^{\circ}$ C에서 밤새 incubation한다. Membrane을 TBS-T로 3번 10분씩 washing한 후, 실온에서 alkaline phosphatase-conjugated secondary antibody(Anti-rabbit IgG)와 2시간동안 반응시키고 TBS-T로 3번 10분씩 washing한다. Develop은 ECL(enhanced chemiluminescence, Amersham) developing kit를 사용하여 발색, 감광시킨다.

## 8. 통계처리

데이터는 Mean $\pm$ SEM으로 나타내었다. 통계 검사는 Dunnett's post-hoc test에 의한 one way repeated measure Analysis of Variance (ANOVA)로 하였다. p값이 0.05보다 작으면 통계적으로 유의성이 있는 것으로 간주 하였다.

## III. 結 果

### 1. Carrageenan-유도 관절염 수술 전후의 하지 Weight Bearing Force(WBF) 변화

Carrageenan으로 유도한 관절염 모델의 통증 생성과 진행과정을 관찰하기 위하여 2%의 carrageenan 50 ml을 우측 슬관절강 내에 주입하여 유발시킨 만성 관절염 모델에서 carrageenan을 주입하기 전과 주입 후 7일 동안 주입한 쪽 하지의 WBF 변화를 측정하였다. Fig. 1은 10 마리 실험동물에서 주입 전 및 후 7일 동안 관절염에 의해 감소된 하지의 stepping force의 평균값을 나타낸 것이다. Fig. 1에서 보는 바와 같이, 모든 동물은 carrageenan 주입으로 관절염이 유도된 후 4시간 후부터 주입한 쪽 하지의 WBF가 10% 이하로 크게 감소되었다. 정상 상태에서 55% 정도의 stepping force는 carrageenan을 주입 한 후 4시간 후부터 최대로 감소하여 12시간 이후부터 점차 회복되기 시작하여 4

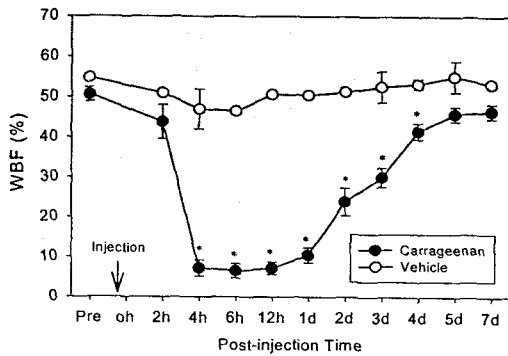


Fig. 1. Time course of carrageenan-induced arthritis model. Post-injection time is expressed as hours(h) and days(d) after carrageenan injection. Pre-injection control was taken one day before the injection (Pre). Asterisks indicate values significantly different from the pre-injection control value by one-way ANOVA followed by the Dunnett's post-hoc test (n=10)

일 후에 약 40 % 까지 증가하였으며 5일 후부터는 정상값으로 회복되었다. WBF의 감소는 carrageenan으로 관절염이 유도된 쪽 발을 밟을 때 염증으로 인한 통증을 줄이기 위한 행동의 결과로 볼 수 있으며, 본 연구에서는 이러한 WBF 값의 변화를 통증에 대한 척도로 삼았다.

## 2. 관절염 모델에서 족삼리 자침의 진통효과

Carrageenan을 슬관절강 내 주입하여 유발시킨 관절염 모델에서 족삼리 전침의 효과를 알아보기 위하여 주입한 쪽 하지의 WBF 변화를 대조군과 실험군의 두 그룹에서 측정하였다. 모든 동물은 carrageenan을 주입하여 관절염을 유발시킨 후 동측 하지의 WBF이 현저하게 감소되었다. 실험 동물에 관절염을 유발시키고 전침 자극을 주어 전침을 주기 전과 후의 WBF (weight bearing force)를 측정하였다. WBF에

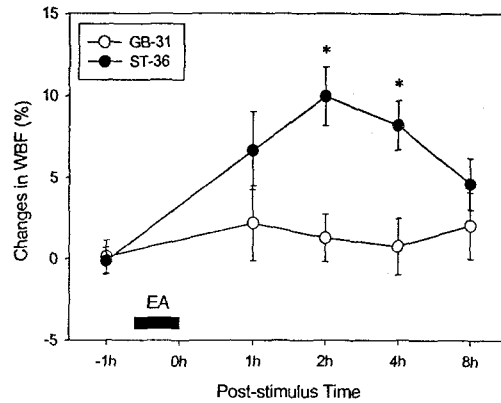


Fig. 2. Effect of electroacupuncture (EA) on weight bearing of the limb in rats with knee arthritis. Figure shows the average values ( $\pm$ SEM) in WBF after EA stimulation in 8 rats. In 8 rats with knee arthritis, either EA to the ST36 point under enflurane anesthesia, or EA to the GB31 point under anesthesia was applied at 1 and 2 days after carrageenan injection in random order. Foot stepping force of the hind limb was measured 1 h before and at various times after the termination of 30 min of EA under anesthesia. Since baseline values are different between different post-injection days, the baseline value was first measured before each experiment and data were expressed as the difference in foot stepping force from the baseline values. Only EA applied to the ST36 point produced a significant improvement of weight bearing, lasting for about 4 h. Statistical analyses were run by the one-way repeated measures ANOVA followed by the Duncan's multiple comparison. Symbol \* denote values significantly different ( $P < 0.05$ ) from the pre-stimulus value (-1 h).

미치는 전침의 영향을 검사하기 위하여 enflurane 가스 마취 (산소와 enflurane 1.0 % 혼합 가스) 상태에서 2Hz의 빈도수로 근육 경련이 일어나기 시작하는 자극의 10배 정도의 강도로 30 분 동안 건측에 전침 자극을 주었다. 전침 자극을 중단하고 난 후 정해진 측정 시간에 반복하

여 WBF를 측정하였다. Carrageenan으로 유발된 관절염으로 인하여 감소된 발을 딛는 힘이 전침 자극을 중단하고 난 2시간, 4시간 후에 족삼리를 자극한 군에서 부분적으로 회복되었다 (Fig.2). 전침의 효과는 8 마리를 한 군으로 하여 조사하였다. 슬관절염을 유발하고 난 후 1, 2일째에 족삼리 자침군(ST<sub>36</sub>), 풍시 자침군(GB<sub>31</sub>)으로 나누어 무작위로 동물을 선택하여 전침자극을 주었다. 결과적으로 2일 후에는 모든 동물이 두 경혈의 자극을 모두 한번씩 받게 하였다. 슬관절염을 유발한 후 자연적으로 회복을 하기 때문에 전침 자극을 주기 전 baseline 값이 1, 2일째 모두 달라서, 전침 자극을 주긴 전에 baseline 값을 2회 측정하여 맨 처음 측정된 값과의 차이로 다른 측정 시간의 측정값을 표시하였다. Fig.2에서 볼 수 있듯이, 오직 족삼리 자침군에서 전침 자극 후 2시간과 4시간에서 감소되었던 WBF가 유의하게 증가하였다. 전침 자극으로 인하여 증가된 딛는 힘은 자극을 주기 전보다 자신의 몸무게의 약 10 % 정도가 증가하였다. 최대 회복될 수 있는 양의 약 40 %에 해당한다.

이러한 결과들로부터 carrageenan-유도 관절염에서 족삼리 전침은 관절염에 의해 감소된 stepping force를 유의하게 개선시켰다는 것을 알 수 있었으며, 이는 전침이 만성 슬관절염에 진통효과가 있다는 것을 의미한다.

### 3. 족삼리 전침이 관절염 동물의 척수에서 NO 생성에 미치는 영향

족삼리 전침이 carrageenan으로 유도한 슬관절염 동물의 척수에서 산화질소(Nitric Oxide; NO)의 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 관절염 모델 실험 동물의 족삼리에 전침을 투여하고 진통효과가 나타나는 시간인 자침 후 2시간 후에 동물을 sacrifice하였다. 심장을 관류하

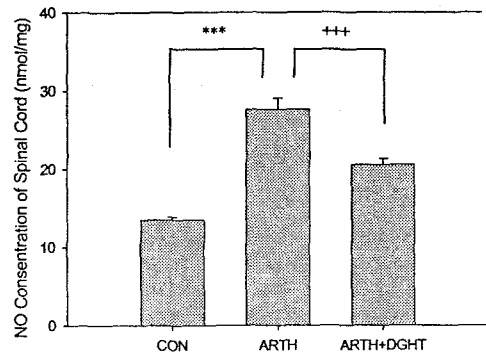


Fig. 3. Effect of EA applied to ST<sub>36</sub> point on the nitrite/nitrate levels of spinal cord in the different experiment groups. NO production on the spinal cord was measured by Griess reaction assay method as described in the Methods section. Arthritis group was not performed any other treatment except for anesthesia. EA was applied to ST<sub>36</sub> point on arthritis rats of different group. Control group were not applied any other treatment. Data are expressed as mean±SEM. (n=6) \*\*\* p<0.001, compared with the untreated control group. +++ p<0.001, compared with the arthritis group.

여 혈액을 perfusion 한 후 척수를 분리하여 척수에서 NO를 분석하여 관절염에 의해 증가된 NO에 대해 전침이 미치는 영향을 알아보았다. 모든 동물은 carrageenan 주입으로 관절염이 유도된 후 환측 하지의 WBF이 현저하게 감소하였다. Carrageenan을 주입 후 2일째 정상동물과 관절염동물 및 관절염 유도 후 전침을 처치한 동물들의 척수에서 NO를 분석해본 결과, 관절염 동물은 정상동물에 비해 NO의 생산이 유의하게 증가하였으며, 전침을 처치한 슬관절염 동물은 관절염 동물에 비해 유의하게 NO가 감소하였다(Fig. 3).

이러한 결과는 carrageenan-유도 슬관절염에서 전침이 관절염에 의해 증가된 NO를 억제시

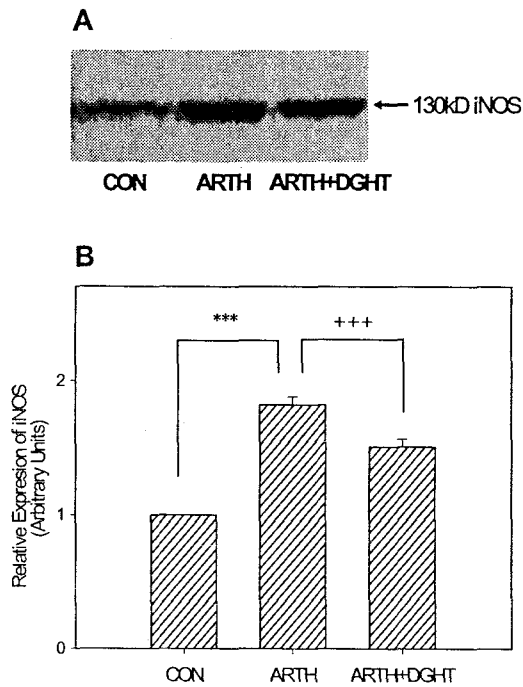


Fig. 4. Western blot (A) and densitometric (B) analysis of iNOS expression in the spinal cord samples from the several groups. Arthritis group (ARTH) was not performed any other treatment except for enflurane anesthesia. EA was applied to ST<sub>36</sub> point on arthritis rats. Control group (CON) were not applied any other treatment. The molecular weight of the protein band corresponded well to that of iNOS. The iNOS signal was enhanced in the sample from the carrageenan-induced arthritis when compared with that from the untreated control group and attenuated in the samples from EA-treated arthritis group (ARTH+EA) when compared with that from the arthritis group. Each lane was loaded with 60 $\mu$ g protein. Data are expressed as mean $\pm$ SEM. (n=6) \*\*\* p<0.001, compared with the untreated control group. +++ p<0.001 compared with the arthritis group.

킬 수 있다는 것을 시사하며, 만성관절염에서 전침의 진통작용은 NO와 관련이 있음을 알 수 있다.

#### 4. 관절염 동물의 척수에서 iNOS 단백질에 대한 Western blot 분석

족삼리 전침이 carrageenan으로 유도한 슬관절염 동물의 척수에서 iNOS(inducible Nitric Oxide Synthase) 단백질의 증감에 미치는 영향을 알아보기 위하여 관절염 모델 실험 동물의 족삼리에 전침을 투여하고 진통효과가 나타나는 시간인 자침 후 2시간 후에 변화를 관찰하였다. 심장을 관류하여 혈액을 perfusion 한 후 척수를 분리하여 척수에서 iNOS를 분석하여 iNOS의 증감에 전침이 미치는 영향을 알아보았다. 모든 동물은 carrageenan 주입으로 관절염이 유도된 후 환측 하지의 WBF이 현저하게 감소하였다. Carrageenan을 주입 후 2일째 정상동물과 관절염동물 및 관절염 유도 후 전침을 처치한 동물들의 척수를 분리하여 iNOS를 분석해본 결과, 관절염 동물은 정상동물에 비해 iNOS가 유의하게 증가하였으며, 전침을 처치한 슬관절염 동물은 관절염 동물에 비해 유의하게 iNOS가 감소하였다(Fig. 4).

이러한 결과는 carrageenan-유도 슬관절염에서 전침이 관절염에 의해 증가된 iNOS를 억제시킨다는 것을 보여주며, 만성관절염에서 전침의 진통작용은 iNOS의 감소와 관련이 있음을 알 수 있다.

#### 5. 관절염 동물의 척수에서 nNOS 단백질에 대한 Western blot 분석

족삼리 전침이 carrageenan으로 유도한 슬관절염 동물의 척수에서 nNOS(neuronal Nitric Oxide Synthase) 단백질의 증감에 미치는 영향을 알아보기 위하여 관절염 모델 실험 동물의 족삼리에 전침을 투여하고 진통효과가 나타나는 시간인 자침 후 2시간 후에 변화를 관찰하였다.

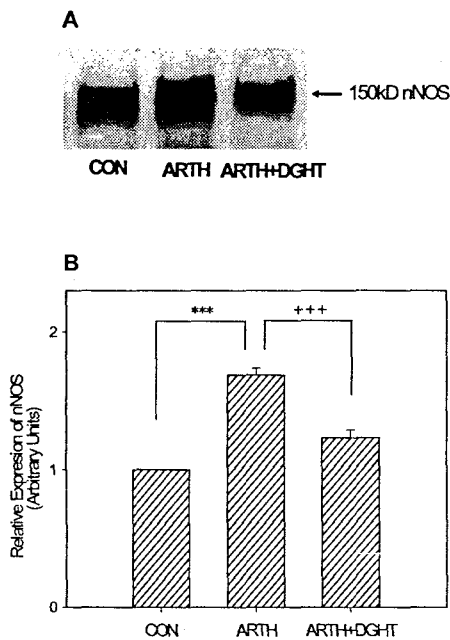


Fig. 5. Western blot (A) and densitometric (B) analysis of nNOS expression in the spinal cord samples from the several groups. Arthritis group (ARTH) was not performed any other treatment except for enflurane anesthesia. EA was applied to ST<sub>36</sub> point on arthritis rats. Control group (CON) was not applied any other treatment. The molecular weight of the protein band corresponded well to that of nNOS. The nNOS signal was enhanced in the sample from the carrageenan-induced arthritis when compared with that from the untreated control group and attenuated in the samples from EA-treated arthritis groups (ARTH+EA) when compared with that from the arthritis group. Each lane was loaded with 30 $\mu$ g protein. Data are expressed as mean $\pm$ SEM. (n=6) \*\*\* p<0.001, compared with the untreated control group. +++ p<0.001, compared with the arthritis group.

심장을 관류하여 혈액을 perfusion 한 후 척수를 분리하여 척수에서 nNOS를 분석하여 nNOS의 증감에 전침이 미치는 영향을 알아보았다. 모든 동물은 carrageenan 주입으로 관절염이 유

도된 후 환측 하지의 WBF이 현저하게 감소하였다. Carrageenan을 주입 후 2일째 정상동물과 관절염동물 및 관절염 유도 후 전침을 처치한 동물들의 척수를 분리하여 nNOS를 분석해본 결과, 관절염 동물은 정상동물에 비해 nNOS가 유의하게 증가하였으며, 전침을 처치한 슬관절염 동물은 관절염 동물에 비해 유의하게 nNOS가 감소하였다(Fig. 5).

이러한 결과는 carrageenan-유도 슬관절염에서 전침이 관절염에 의해 증가된 nNOS를 억제시킨다는 것을 보여주며, 만성관절염에서 전침의 진통작용은 nNOS의 감소와 관련이 있음을 알 수 있다.

#### IV. 考 察

미국과 유럽을 중심으로 임상에서 침의 이용이 증가하면서 그 치료 기전에 대한 관심도 증가하고 있다. 현재까지 침과 관련된 연구에서 가장 활발한 분야는 침의 진통효과의 기전에 대한 연구이다. 미국 국립보건원<sup>9)</sup>과 영국 의학협회<sup>10)</sup>에서 침의 효과를 부분적으로 인정하고 난 후 침에 관한 연구가 더욱 활발히 진행되고 있다. 침의 진통효과에 관한 연구는 주로 전침을 사용하여 이루어지고 있으며 전침의 효과와 관련하여 전침 자극의 강도와 주파수에 따라서 분비되는 신경전달물질에 대한 연구가 연구 실시되었다<sup>11-13)</sup>. 이러한 연구를 통해서 알려진 결과중에서 중요한 점은 전침으로 유도된 진통효과가 부분적으로 opioid 길항제인 날록손(naloxone)에 의해서 차단된다는 것이다. 이러한 사실은 내인성 모르핀계가 부분적으로 전침으로 유도되는 진통작용을 매개한다는 것을 시사한다<sup>14-15)</sup>. 게다가 날록손에 의해 길항되는 물질이 전침 자극의 주파수에 의존적인 것으로 보인다<sup>16-17)</sup>. 각각 다른 주파수에서 전침의 영향은 서로



다른 아종(subtype)의 모르핀 수용체에 의해서 매개되었다<sup>18,19</sup>). 그러나 이러한 결과가 발표되었지만 어떻게 내인성 모르핀 계통이 침 자극에 의해서 활성화 되는지는 아직까지 불분명하다. 이 질문이 풀리지 않는다면 내인성 모르핀에 의한 전침의 진통효과는 설명이 불가능하다.

한편, 전침의 진통효과가 내인성 모르핀 계통이 아닌 다른 계통에 의해서 매개된다는 연구 결과도 보고되었는데 대표적인 것이 세로토닌성, 아드레날린성 통증 억제 기전이 침의 진통작용에 중요한 역할을 하고 있다는 것이다<sup>11,20-22</sup>). 아울러, 날록손과 전침효과에 대한 연구 중에서 전침의 진통효과를 날록손으로 차단하는데 실패했다는 연구도 보고 되었다(토끼<sup>23</sup>, 흰쥐<sup>13,24</sup>, 사람<sup>25-26</sup>). 더욱이, opioid 길항제가 어떤 상황하에서는 전침으로 인한 진통효과를 더욱 증가시키기도 한다<sup>13,27</sup>)는 연구도 보고되었다. 이런 결과를 살펴보면, 전침 자극으로 인한 진통효과가 내인성 물질계에 의해서 매개되는 지에 대한 여부를 아직 불분명한 상태이다.

현재 침의 진통기전에 대하여 많은 연구가 진행되고 있으며 자극부위의 미소순환 개선효과<sup>28</sup>, 관문조절설<sup>29</sup>, 중추를 중개로 하는 endorphin 과 같은 체액성인자<sup>15,30</sup>의 관여 등 다양한 내용들이 제시되고 있다. 최근의 연구 결과들을 살펴보면, Takeshige 등<sup>21</sup>)은 경혈에 가한 저주파자극이 serotonin 중개 노선과 noradrenergic 중개 노선으로 나누어지는 descending inhibitory system에 작용하여 진통작용을 형성함을 밝혔으며, Jiang<sup>31</sup>)은 이러한 과정에서 somatic sensory area II가 NRM에 존재하는 흥분성 신경세포를 흥분시킨다고 하였다.

이러한 침은 통증을 치료하고 관리하기 위해 광범위하게 사용하고 있고 나날이 그 추세가 증가하고 있지만, 침의 진통효과가 placebo, sham

acupuncture, 또는 표준화된 치료자침보다 더 효과적이라는 결정적인 증거는 아직 없다<sup>32</sup>). 그 주된 이유는 침의 진통효과를 증명해 줄 수 있는 객관적인 논문들이 충분하지 않으며, 침의 진통을 밀반침해주는 생리적 기전에 대한 이해가 부족하기 때문이다. 침의 진통효과를 밀반침해주는 생리적 기전을 밝히는 것은 침의 기전을 이해하는데 도움을 줄 뿐만 아니라, 침의 효과를 더욱 개선시킬 수 있는 방법을 제시해줄 수 있을 것이다.

본 연구에서는 동물에서 침의 진통효과를 입증하기 위해 지속적인 통증을 나타내는 만성통증모델인 carrageenan 유도성 슬관절염 모델을 이용하였다. 관절통 및 관절염을 연구하기 위해서 실험실에서는 사람의 염증상태를 모방하여 다양한 동물모델을 이용하여 왔다<sup>33-34</sup>). Carrageenan 유도성 관절염 모델은 인간의 류마티스관절염(RA)과 일치하지는 않지만 RA의 일반적인 특징을 많이 가지고 있기 때문에 실험실에서 많이 사용하는 동물모델로서 여러 편의 논문들이 이 모델이 만성통증을 나타냄을 이미 밝힌 바 있다<sup>33</sup>). 무릎 관절강내에 carrageenan를 편측으로(unilateral) 주입하면 수 시간 내에 주입한 쪽에 hyperalgesia가 발생하게 된다.

본 논문에서는 carrageenan 주입으로 유발된 염증성 통증에 대한 계측기준으로서 손상된 무릎의 동측 발이 디디는 압력의 변화를 측정하였다. 손상된 무릎의 동측 발이 디디는 압력 변화는 류마티스 관절염의 특징인 관절의 무능력을 잘 반영할 수 있는 방법이며, 무릎 관절의 운동성에 대한 개선을 전반적으로 예측할 수 있는 방법이다. 그러므로 carrageenan 유도성 슬관절염 동물모델은 만성통증에 대한 침의 진통기전을 연구하는데 유용할 것이다.

또 본 논문에서는 실험시 자침후 수기를 대신

하여 電鍼療法과 刺鍼理論중의 하나인 巨刺法을 사용하여 足三里, 風市를 選穴하여 刺鍼하였다. 전침요법<sup>35-36)</sup>은 穴部位에 자침하여 수기법에 의한 침감응의 기계적 자극을 득한 후, 침병에 적당한 전류를 통과시키는 전기적 자극을 결합시킨 치료법으로서, 최초로 1825년 Sarlandiere가 신경계통질환체 전침을 사용하였고, 최근에는 각종 질환 치료에 응용하였을 뿐만 아니라 마취 분야에 까지 도입발전 시키게 되었다.

巨刺法은 健側에 자침하는 방법으로 “素問 調經論” “素問 繆刺論”에서 언급되기 시작하였으며, 針灸大成에서 “巨刺者經脈, 繆刺者絡脈, 所以別也. 岐伯曰 痛在於左而右脈病者 則巨刺之. 邪客於經 左盛則右病 右盛則左病 亦有移易者 左痛未已 以右脈先病 如此者 必巨刺之 必中其經 非經絡也.” 라고 하여<sup>37)</sup> 繆刺法과 비교하여 설명하였다. 이는 통증이나 표부에 존재하는 질병치료를 있어 환부를 기준으로 인체를 좌우로 나누어 건측에 대하여 자침하는 것으로 임상에서 통증질환에 多用되고 있다.

본 연구에서는 足陽明胃經의 足三里와 足少陽膽經의 風市를 사용하였는데, 足三里(ST<sub>36</sub>)는 理脾胃, 調中氣, 和腸消滯, 祛風化濕, 通調經絡, 調和氣血, 扶正培元, 祛邪防病, 強健脾胃 하는 혈성이 있어서 胃腸疾患, 腸痙攣, 氣脹, 急慢性胃炎, 腸炎, 蟲垂炎, 腹痛, 食慾不振, 消化障礙, 偏頭痛, 眩暈, 眼瞼痙攣, 強壯, 脚氣, 下肢麻痺, 膝關節痛, 膝無力, 下肢痛, 胃中寒, 食不化, 口眼喎斜, 癱瘓 등의 질환에 광범위하게 사용되고 있다. 足少陽膽經의 風市(GB<sub>31</sub>)는 膝蓋骨外側上 7寸의 大腿外側兩筋間에 있는 혈로서 通經活絡, 疏風邪, 清濕熱, 強健腰腿, 止痺止痛하는 성질이 있어서 脚氣, 下肢麻痺, 下肢癱瘓, 下肢無力 등의 증상이 있을 때 사용한다.

류마티스관절염은 주로 관절 윤활강에 지속적

인 염증을 야기하여 pannus에 의한 뼈의 파괴, 각종 cytokine에 의한 윤활 관절막염, 다양한 단백분해효소, O<sub>2</sub> radical과 2차적인 관절연골의 퇴행성 변화 등으로 인하여 연골의 소실과 관절의 변형을 가져오는 원인불명의 만성 전신성 다발성 질환이다<sup>38)</sup>.

한의학에서 류마티스관절염은 歷節風의 범주에 속하는 것으로, 白虎歷節風, 鶴膝風, 痛風, 痛痺, 痺證, 風痺, 白虎風, 走注疼痛 등의 異名을 가지며 膝, 足, 肘, 腕, 手足關節 등에 극렬한疼痛과 紅腫, 변형을 일으킬 수 있는 流走性疼痛疾患이다. 고대 문헌을 인용하면 류마티스 관절염은 주로 痺證의 범주에 속한다<sup>39)</sup>. 痺證은 <黃帝內經>에 최초로 나타나는데, <素問 痺痛編>에 “風寒濕 三氣가 혼합되어 痺證이 되는데, 風氣가 勝할 때는 行痺가 되고, 寒氣가 勝할 때는 痛痺가 되고, 濕氣가 勝할 때는 着痺가 된다.”, “소위 痺라는 것은 風寒濕邪에 重感되어 발생한다.”, “飲食居處가 病의 근본이 된다.” 라고 하였다. 後代에는 痺證이 濕生熱, 혹은 風寒鬱熱로 인하여 身上如鼠走, 脣口反縱, 肌肉變色하게 된다 하였다. 痺證의 치료원칙으로서 宣通이 共通治法이 되고, 風寒濕熱의 邪氣에 대하여 각각 祛風, 散寒, 除濕, 清熱藥物을 적절히 배합하여 다스리는데, 痺證이 오래되어 瘀血과 痰濁이 생겨난 경우에는 活血藥物, 祛瘀藥物 및 搜風祛邪藥物을 함께 사용한다.

본 연구에서 만성 통증 동물모델을 이용하여 관절염이 유발된 동물에게 족삼리에 전침 자극을 한 결과, 전침이 적어도 4 시간동안 지속되는 진통효과를 발생시킨다는 것을 관찰하였다. 이러한 진통효과는 경혈의 위치에 특이적으로 나타났다. 비록 이번 연구가 실험적 동물모델에서 전침의 효과를 명확하게 보여주고는 있지만, 그 진통효과의 기전에 대해서 앞으로 더 많은 연구

가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

아울러, 본 연구에서는 carrageenan의 관절강 내 주입에 의해 발생된 만성관절염 동물모델에서 전침의 진통작용과 말초성 염증으로 인해 척수에서 증가된 NO 및 NOS가 어떤 관계가 있는지 밝히고자 하였다.

Carrageenan에 의해 만성관절염이 유도된 후 척수에서 nNOS 및 iNOS 단백질 발현이 증가되어 NO 생산이 증가되며, 이러한 NO는 만성관절염 모델에서 발생하는 hyperalgesia에 매우 중요한 역할을 하고 있다<sup>40)</sup>. NO는 1980년대부터 중추신경계의 전령물질로서 인식되어 왔으며 NO의 활성화는 NOS라는 중요한 합성단백질에 의존한다. CNS에서 통증의 발생에 관여하는 것을 포함하여 NO에 대한 많은 역할들이 알려져 있다.

nNOS는 염증이 발생하면 활성화 및 발현이 모두 증가한다. CFA를 한쪽 발바닥에 주입한 후 요추의 척수 양측 배각에서 감소된 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH)-diaphorase에 대해 조직화학적 염색을 한 결과 NADPH-diaphorase가 증가되어 있었는데, 이는 염증의 급성기에 이 효소의 활성이 증가된다는 것을 가리킨다. 염증의 급성기에 NO가 증가되었다는 것은 arginine의 이용이 증가되었다는 것뿐만 아니라 NOS의 활성화와 발현, 및 NADPH-diaphorase의 활성이 증가되었다는 가리킨다. 만성관절염에서 NADPH-diaphorase의 활성이 증가되어 NO가 더욱 빠르게 증가될 수 있지만, nNOS이 발현이 증가되려면 염증이 유도된 후 적어도 6시간이 지나야만 한다<sup>41)</sup>.

Carrageenan에 의해 관절염이 유도되면 국소 염증이 발생하고 nociceptor의 free nerve ending이 활성화된다. 염증이 시작된 후에는 발적, 부종, 발열감과 같은 국소 염증반응이 발생할

뿐만 아니라, C-fiber에서 높은 진동수의 신경방전이 생긴다. 이러한 높은 진동수의 신경방전은 구심성 신경섬유의 중추종말로부터 glutamate와 neurokinin들을 방출시킨다. 더 자세히 살펴보면, CNS에서 NO는 NMDA 수용체와 밀접한 관계에 있다. 내인성 glutamate에 의해 N-methyl D-aspartate(NMDA) 수용체가 활성화되면 중추신경세포내로 칼슘이 유입되어 nNOS를 활성화시키고 NO가 방출되게 되는데, NO는 또한 cGMP를 증가시켜 guanylyl cyclase를 활성화시킨다. 비NMDA 수용체 및 NK-1과 CGRP 수용체와 같은 펩타이드 수용체의 작용에 의해 흥분성 시냅스 전위가 발생하면 NMDA 수용체를 차단하고 있는 전압 의존성  $Mg^{2+}$ 이 제거된다. 그러면 NMDA 수용체가 활성화되고  $Ca^{2+}$ 이 NMDA 수용체의 이온통로를 통해 세포내로 유입하게 된다. 많은 논문들에서 보여지는 바와 같이, nNOS는  $Ca^{2+}$ -calmodulin 의존성으로, 세포내 칼슘이온에 의해 효소의 calmodulin 민감부위에서 활성화된다. 많은 양의 칼슘이온 유입은 nNOS를 활성화시켜 NO 생산을 증가시킬 수 있다. 이러한 nNOS의 활성화는 칼슘이온을 유입하고 동원시키는 시냅스후 신경전달물질 수용체에 달려 있을 뿐만 아니라, 전압 의존성 칼슘이온통로를 통해 칼슘이온의 유입을 유도하는 시냅스전 신경의 활동전위에 달려있다. 그러므로 carrageenan 유도성 관절염은 primary afferent에서 지속적인 자극에 의해 계속적인 칼슘이온 유입과 NO를 생성시킬 수 있는 만성 염증 모델이다. 이러한 변화는 시냅스 전달을 가능하게 하며, central sensitization 및 hyperalgesia와 같은 현상으로 나타난다.

전술한 바와 같이, NMDA 수용체는 central sensitization과 secondary hyperalgesia의 발생에 반드시 필요하다. 또한 이들은 CFA나 carr-

ageenan, formalin에 의해 유발된 말초성 염증에서 발생하는 hyperalgesia와 관련이 있다. 척수에서 NMDA 수용체가 hyperalgesia와 관련이 있고 또한 NMDA 수용체와 NO가 매우 밀접한 관계에 있기 때문에, 척수에서 hyperalgesia를 발생시키는 일련의 과정에 NO가 중요한 역할을 하고 있다고 말할 수 있다.

말초성 염증에 의해 유발되는 allodynia와 thermal hyperalgesia 및 central sensitization의 발생에 NO가 중요한 역할을 하고 있으며 Kaolin과 carrageenan을 슬관절내 주입하여 유도한 급성 관절염 모델에서 비특이적 NOS 억제제인 L-NAME를 관절강내 주입한 결과 heat hyperalgesia를 억제시키며, 슬관절의 부종 및 발열의 증가를 막을 수 있었다<sup>42)</sup>.

본 연구는 carrageenan의 관절강내 주입에 의해 유도된 만성관절염 모델의 척수에서 nNOS 단백질의 발현을 분석한 결과, 이전에 연구된 결과들과 마찬가지로 척수에서 nNOS의 발현이 현저하게 증가되는 결과를 얻었다. 이 모델에 전침 자극을 한 후 관절염에 의해 증가된 척수의 nNOS에 대한 이들의 효과를 분석한 결과, Fig. 3~5에서 볼 수 있는 것처럼 전침은 척수에서 염증에 의해 증가된 NO 및 nNOS를 유의하게 감소시켰다. 만성관절염에서 척수의 NO 및 nNOS 증가는 염증에 의해 통증이 발생한 것을 의미하며, 염증에 의해 증가된 NO 및 nNOS 단백질의 발현이 감소되었다는 것은 만성관절염 모델에서 전침이 진통효과를 나타냈다는 것을 의미한다. 만성 관절염에 의해 척수에서 증가된 NO가 족삼리 전침 자극에 의해 감소된 것으로부터 여러 가지 기전을 가정해 볼 수 있는데, 이러한 처치에 의해서 arginine의 이용이 감소되었거나, NOS의 활성 및 발현이 감소되었거나 혹은 NADPH-diaphorase의 활성이 감소됨으로

써 NO의 양이 감소될 수 있다. 또한 C-fiber에서 높은 진동수의 신경방전이 발생하여 척수에서 NO가 생성되기까지의 일련의 과정 중에서 이러한 처치들이 한 단계 또는 여러 단계를 억제시켜 염증에 의해 증가된 NO를 감소시킬 수도 있다. 염증에 의해 증가된 nNOS의 발현이 전침에 의해 감소되었지만, 이러한 치료들이 nNOS mRNA에까지 영향을 미칠지에 대해서는 더욱 연구가 되어야 할 것으로 사료된다.

iNOS는 칼슘 비의존성으로 원래 사이토카인에 의해 자극된 대식세포에서 발견되며, 다른 두 형태의 NOS보다 염증과 더욱 밀접한 관계에 있다. 독성을 나타낼 수 있는 양의 NO를 생산할 수 있는 NOS가 바로 iNOS이다. iNOS 선택적 억제제인 aminoguanidine과 N-iminoethyl-L-lysine은 adjuvant 관절염과 관련된 혈장 및 관절액에서 nitrite를 농도의존적으로 억제시킬 수 있었다. iNOS는 또한 central sensitization과 관련이 있는 것으로 증명되었다. iNOS 선택적 억제제는 발바닥내 zymosan을 주입하여 발생한 thermal hyperalgesia를 농도의존적으로 억제할 수 있다.

본 연구는 만성슬관절염을 유도한 후 족삼리에 전침을 준 실험군, 마취만 처치한 대조군에서 척수의 iNOS 발현양을 분석하였다. 그 결과 정상동물들에 비해 마취만 처치한 관절염 동물의 척수에서의 iNOS가 유의성있게 증가되었으며, 전침 자극을 준 실험군은 관절염으로 인해 척수에서 증가된 iNOS를 유의성있게 억제시켰다. 만성관절염에서 척수의 iNOS 증가는 염증에 의해 central sensitization 및 hyperalgesia가 발생하였다는 것을 의미하며, 전침을 처치한 후 염증에 의해 증가된 iNOS 단백질의 발현이 감소되었다는 것은 만성관절염 모델에서 전침자극이 위의 두 과정을 억제함으로써 진통효과를 나

타냈다는 것을 의미한다.

## V. 結 論

만성통증 실험모델로서 슬관절염모델을 사용하여 足三里에 電鍼 刺戟을 하여 鎮痛效果를 살펴본 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. Carrageenan으로 유도한 관절염에서 족삼리 전침은 관절염에 의해 감소된 stepping force를 유의하게 개선시켰다. 이는 전침이 만성 슬관절염에 진통효과가 있다는 것을 의미한다.
  2. Carrageenan으로 유도한 관절염에서 족삼리 전침의 진통효과는 관절염에 의해 증가된 NO를 억제하였다.
  3. Carrageenan으로 유도한 관절염에서 족삼리 전침은 관절염에 의해 증가된 iNOS를 억제하였다.
  4. Carrageenan으로 유도한 관절염에서 족삼리 전침은 관절염에 의해 증가된 nNOS를 억제하였다.
  5. Carrageenan으로 유도한 관절염에서 족삼리 전침은 강력한 진통효과를 보였으며, 전침 자극으로 인하여 척수의 iNOS/nNOS가 감소함으로써 NO의 생성을 줄임으로서 통증을 경감시키는 것으로 보인다.
- 앞으로 다양한 병태모델을 활용하여 본 연구에서 얻은 결과를 확인하는 작업이 필요할 것으로 사료된다.

## 參考文獻

1. Campbell SM. Rheumatoid arthritis: current strategies. Hosp Med 1988 ; 34 : 29-32.
2. Scott DL, Shipley M, Dawson A, Edwards

- S, Symmons DP, Woolf AD. The clinical management of rheumatoid arthritis and osteoarthritis: strategies for improving clinical effectiveness. Br J Rheumatol. 1998 ; 37 : 546-54.
3. Pincus T, Marcum SB, Callahan LF. Longterm drug therapy for rheumatoid arthritis in seven rheumatology private practices. II Second line drugs and prednisone. J Rheumatol. 1992 ; 19 : 1885-94.
4. 閔炳奭. 류마티양관절염의 감별진단. 대한의학협회지. 1977 ; 20 : 6.
5. 崔容泰 外. 最新鍼灸學. 서울 : 成輔社. 1983.
6. 이삼열 외. 임상병리검사법. 서울: 연세대학교 출판부. 1985 : 439-40.
7. Dubner R, Ruda MA. Activity-dependent neuronal plasticity following tissue injury and inflammation. Trends in Neurosci. 1992 ; 15 : 96-103.
8. Woolf CJ and Doubell TP. The pathophysiology of chronic pain - increased sensitivity to low threshold A $\beta$  -fibre inputs. Current Opinion in Neurobiology. 1994 ; 4 : 525-34.
9. NIH Consensus Development Panel. Acupuncture. JAMA 1998 ; 280 : 1518-24.
10. Silvert M. Acupuncture wins BMA approval. BMJ. 2000 ; 321(7252) : 11.
11. Cheng RSS, Pomeranz B. Monoaminergic mechanism of electro acupuncture analgesia. Brain Res. 1981 ; 215 : 77-92.
12. Han JS, Zhou ZF, Xuan YT. Acupuncture has an analgesic effect in rabbits. Pain. 1983 ; 15 : 83-91.
13. Bossut DF, Huang ZS, Sun SL, Mayer DJ.

- Electroacupuncture in rats: evidence for naloxone and naltrexone potentiation of analgesia. *Brain Res.* 1991 ; 549 : 36-46.
14. Pomeranz B, Chiu D. Naloxone blockade of acupuncture analgesia: endorphin implicated. *Life Science.* 1976 ; 19 : 1757-62.
  15. Mayer DJ, Price DD, Raffi A. Antagonism of acupuncture analgesia in man by the narcotic antagonist naloxone. *Brain Res.* 1977 ; 121 : 368-72.
  16. Cheng RSS. Electroacupuncture analgesia could be mediated by at least two pain-relieving mechanisms; endorphin and non-endorphin systems. *Life Science.* 1979 ; 25 : 1957-62.
  17. Sjölund BH, Eriksson MBE. The influence of naloxone on analgesia produced by peripheral conditioning stimulation. *Brain Research* 1979 ; 173 : 295-301.
  18. Chen XH, Han JS. Analgesia induced by electroacupuncture of different frequencies is mediated by different types of opioid receptors: another cross-tolerance study. *Behav Brain Res.* 1992 ; 47 : 143-9.
  19. Chen XH, Geller EB, Adler MW. Electrical stimulation at traditional acupuncture sites in periphery produces brain opioid-receptor-mediated antinociception in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 1996 ; 277 : 654-60.
  20. Han JS, Terenius L. Neurochemical basis of acupuncture analgesia. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1982 ; 22 : 193-220.
  21. 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.
  22. Mayer DJ. Biological mechanisms of acupuncture. *Prog Brain Res.* 2000 ; 122 : 457-77.
  23. McLennan H, Gilfillan K, Heap Y. Some pharmacological observations on the analgesia induced by acupuncture in rabbits. *Pain.* 1977 ; 3 : 229-38.
  24. Koo ST, Park YI, Lim KS, Chung K, Chung JM. Acupuncture analgesia in a new rat model of ankle sprain pain. *Pain.* 2002 ; 99(3) : 423-31.
  25. Chapman CR, Colpitts YM, Benedetti C, Kitaeff R, Gehrig JD. Evoked potential assessment of acupuncture analgesia: attempted reversal with naloxone. *Pain.* 1980 ; 9 : 183-97.
  26. Chapman CR, Benedetti C, Colpitts YH, Gerlach R. Naloxone fails to reverse pain thresholds elevated by acupuncture: acupuncture analgesia reconsidered. *Pain* 1983 ; 16 : 13-31.
  27. Das S, Chatterjee TK, Ganguly A, Ghosh JJ. Role of adrenal steroids on electroacupuncture analgesia and on antagonising potency of naloxone. *Pain.* 1984 ; 18 : 135-43.
  28. 민병일, 김독곤 역. 동양의학의 과학적 접근과 임상. 서울 : 서원당. 1993 ; 17, 163-205.
  29. Merzack R, Wall PD. Pain mechanism, a new theory. *Science.* 1965 ; 150 : 971-9.
  30. Lianfang He et al. Possible involvement of opioid peptides of caudate nucleus in acupuncture analgesia. *Pain.* 1985 ; 23 : 83-93.
  31. Jiang M, Liu X. The control of somatosen-

- sory area II on the descending inhibitory pain activity of nucleus raphe magnus. Chen Tzu Yen Chiu. 1993 ; 18(1) : 33-6.
32. Ezzo J, Berman B, Hadhazy VA, Jadad AR, Lao L, Singh BB. Is acupuncture effective for the treatment of chronic pain? A systematic review. *Pain*. 2000 ; 86 : 217-25.
33. Min SS, Han JS, Kim YI, Na HS, Yoon YW, Hong SK, Han HC. A novel method for convenient assessment of arthritic pain in voluntarily walking rats. *Neurosci Lett*. 2001 ; 308(2) : 95-8.
34. Mapp PI, Walsh DA, Garrett NE, Kidd BL, Cruwys SC, Polak JM, Blake DR. Effect of three animal models of inflammation on nerve fibres in the synovium. *Ann Rheum Dis*. 1994 ; 53 : 240-6.
35. 朱子揚, 黃芸. 實用鍼灸新醫療法大全. 香港 : 得利書局. 1975 : 48, 99, 227-8.
36. 馮天蔭. 電鍼灸治療學. 香港 : 商務印書館. 1976 : 1-4.
37. 대전대학교 韓醫科大學譯. 鍼灸經緯解釋. 서울 : 一中社. 1995.
38. 石世一 外. 整形外科學. 서울: 最新醫學史. 1986 : 121-53.
39. 정석희. 痺病의 문헌적 연구. 大韓韓醫學會誌. 1995 ; (16)1 : 10.
40. Wu J, Lin Q, Lu Y, Willis WD and Westlund KN. Changes in nitric oxide synthase isoforms in the spinal cord of rat following induction of chronic arthritis. *Exp. Brain Res*. 1998 ; 118 : 457-65.
41. Traub RJ, Solobkin A, Meller ST, and Gebhart GF. Spina cord NADPH-diaphorase histochemical staining but not nitric oxide synthase immunoreactivity increase following carrageenan-produced hindpaw inflammation in the rat. *Brain Res*. 1994 ; 668 : 204-10.
42. Lawand NB, Willis WD, and Westlund KN. Blockade of joint inflammation and secondary hyperalgesia by L-NAME, a nitric oxide synthase inhibitor. *Neuro Report*. 1997 ; 8 : 895-9.