

足三里에 施術된 竹瀝藥鍼이 Intraluminal Filament 挿入術에 의하여 誘發된 白鼠의 虛血性 局所 腦損傷에 미치는 影響

윤대환¹ · 이봄비² · 심인섭³ · 나창수¹

¹동신대학교 한의과대학 경혈학교실 ; ²경희대학교 동서의학대학원 침구경혈학교실 ;
³가톨릭대학교 의과대학 통합의학교실

Effects of BCL herbal acupuncture into Choksamni(ST36) on focal brain ischemic injury induced by intraluminal filament insertion in the rats

Dae-Hwan Youn¹, Bom-Bi Lee², In-Sop Shim³, Chang-Su Na¹

¹Dept. of Meridian and Acupoint, College of Oriental Medicine, Dongshin University ;
²Dept. of Oriental Med. Science, Graduate School of East-West Med. Science, Kyung Hee University ;
³Dept. of Integrative Medicine, College of Medicine, The Catholic University

Abstract

Objectives : Bambusae Caulis in Liquamen(BCL) has been used to medication for early stroke in the Oriental Medicine. So this study was planned to investigate the effects of BCL on the focal ischemia-induced by intraluminal filament insertion in the rats.

Materials and methods : The focal ischemia was induced by Intraluminal Filament insertion into middle cerebral artery. BCL herbal acupuncture at ST36 was carried out during 3 weeks after focal ischemia-induced. Eight-arm radial maze was used for the behavioral task and neuroprotective effect of BCL acupuncture was observed by Cresyl violet, AchE, ChAT-stain

Results : The error rate in the eight-arm radial maze task was significantly decreased in BCL1(0.89mg/kg) herbal acupuncture group compared to control group on 3,4,5days, compared to saline acupuncture group on 3,5days. The rate of correct choice was significantly increased in saline acupuncture, BCL1 herbal acupuncture group, BCL2(0.089mg/kg) herbal acupuncture groups compared to control group. The density of neurons in the hippocampal CA1 was the most increased in BCL1 herbal acupuncture group compared to the others. The density of AchE in the hippocampal CA1 was significantly increased in BCL1 herbal acupuncture, BCL2 herbal acupuncture groups compared to control group, and in BCL2 herbal acupuncture groups increased compared to saline acupuncture, control groups. The density of ChAT in the hippocampal CA1 was significantly increased in BCL1 herbal acupuncture group compared to saline acupuncture, control groups.

Conclusions : These results suggest that BCL herbal acupuncture could be used as a medication for controlling the early stroke

Key words : stroke, herbal acupuncture, Bambusae Caulis in Liquamen, cresyl violet, AchE, ChAT

· 교신저자 : 나창수, 전남 나주시 대호동 252 동신대학교 한의과대학
경혈학교실, Tel. 061-330-3522, Fax. 061-330-2900,
E-mail : nakugi@hanmail.net

· 이 논문은 2003년도 한국학술진흥재단 선도연구자지원사업
(2003-041-E00312)에 의하여 수행되었음

· 접수 : 2005/05/23 · 수정 : 2005/06/17 · 채택 : 2005/06/20

I. 緒 論

중풍은 風, 火, 濕痰, 七情, 氣虛, 血瘀 등의 複合의 病因에 의해 발생하며, 卒然昏到, 不省人事, 口眼喎斜, 半身不隨, 言語不利 등의 증상을 나타내며, 治法으로 淸熱化痰, 滋陰熄風, 活血化痰, 平肝潛陽등이 사용되고 있다¹⁾. 이는 뇌경색과 뇌출혈 등으로 인해 의식, 운동, 감각 장애 등과 같은 신경계통의 증상을 일으키는 뇌졸중에 해당하며, 최근 식생활 및 생활환경의 변화로 인하여, 폐쇄성 뇌혈관 질환인 뇌경색이 증가하고 있는 추세이다^{2,3)}.

족삼리(ST36)는 足陽明胃經의 經穴로, 回陽九針穴, 中風七處穴중의 하나로 疏風化濕, 通調經絡, 調和氣血등의 穴性이 있어, 下肢麻痺, 類中風, 精神衰弱등에 양호하여⁴⁾, Omura 등⁵⁾은 편측마비에 대한 효과를, 손 등⁶⁾은 족삼리 전침 자극에 따른 뇌대사활성의 변화를, 송 등⁷⁾은 족삼리 자극이 대측 뇌혈류에 미치는 영향 등에 대하여 보고하였다.

竹瀝은 味甘寒한 약재로 淸熱, 鎮驚通竅, 消風降火, 益陰하는 효능^{8,9,16)}이 있어, 中風突然僵仆或偏痺不仁¹⁰⁾등을 치료하여, 박¹¹⁾은 족삼리의 죽력약침과 정맥투여가 심혈관계장애에 대한 개선 효과를, 강¹²⁾은 죽력의 고지혈증 교정효과를 보고하였다.

이에 본 연구에서는 족삼리의 죽력약침이 중풍에 미치는 영향을 알아보고자, 실험적으로 허혈성 국소 뇌손상을 일으킨 백서의 중풍모델을 이용하여 방사형 미로와 면역조직화학적기법을 이용하여 행동 및 신경세포의 보호작용에 미치는 효과를 관찰한 바 다음과 같은 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 실험동물

실험동물은 삼육동물센터로부터 구입한 웅성 Sprague Dawley계 흰쥐(260~300 g)로, 일주일 정도 실험실 환경(온도는 22±3 °C, 습도는 50±10 %)에 적응시킨 후 사용하였다. 실험동물은 각 cage 당 3~4 마리씩 넣어 두었으며, 물과 사료(고형사료 : 실험동물 쥐용, 삼양유지(株))를 자유로이 섭취하도록 하였다.

2. 실험군의 구성 및 절차

실험군의 분리는 흰쥐를 흡입마취시킨 후 경부 피부를 절개하고 흉골허근과 흉골저작근 사이에 총경동맥을 노출한 후 intraluminal filament를 삽입하지 않고 다른 실험군과의 같은 시간을 방치한 후 피부봉합을 한 모의시술(Sham)군, Ischemia 유발(Control)군, Ischemia 유발+생리식염수 약침(SAL)군, Ischemia 유발+죽력1(0.89 mg/kg) 약침(BCL1)군, Ischemia 유발+죽력2(0.089 mg/kg) 약침(BCL2)군으로 나누었으며, 각 군은 1회/1일(오전 10시)로 3주간 약침을 시술한 다음 1주일간 방사형 미로 학습을 시행하였으며, 마지막 행동검사를 실시한 후 조직검사를 하였다.

3. 약물 제법 및 약침 시술

1) 약물 준비

竹瀝은 담양에서 자생하는 대나무과(竹科) Bambusaceae에 속하는 多年生 常綠木本인 슝대(淡竹) *Phyllostachys nigra*(Lodd.) Munro var. *henonis* (Bean.)Sarpf의 신선한 莖을 30~40 cm로 잘라서 양끝에 마디를 제거하고 세로로 쪼갠 것을 선반에 걸쳐놓고 불로 구어 양끝에서 흘러내린 청황색 또는 황갈색의 투명한 액체로, 이를 활성탄과 규조토로 여과 과정을 거친

足三里에 施術된 竹瀝 藥鍼이 Intraluminal Filament 挿入術에 의하여 誘發된 白鼠의 虛血性 局所 腦損傷에 미치는 影響

후 사용하였다. 여과된 정제죽력 용액 250 ml을 취하여, rotary evaporator (Buchi, Netheland)로 감압농축하였고, 이를 동결건조하여 25mg의 건조된 시료를 얻었으며, 이를 PBS에 희석하여 약 침시술용 시료로 사용하였다.

2) 약침 시술

약침은 양측 족삼리 부위에 시행되었다. 족삼리 부위는 인체와 상응한 곳에 취하였는데, 즉 하지(hind limb)의 경골조면(tibial tuberosity)과 비골두(head of fibula)를 기준으로 하여 인체에 상응하는 점을 족삼리 부위로 취하였다. 약침은 동결건조 후 얻어진 25 mg의 powder에 heparin 이 처리된 PBS를 각각 0.89 mg/kg, 0.089 mg/kg으로 희석한 용액을 족삼리 부위 피하 근층에 주입하였다

4. Occlusion에 의한 허혈성 국소 뇌손상 유발

국소 뇌허혈은 Zea Longa¹³⁾ 등의 방법에 따라 중대뇌동맥을 폐색시켜 만들었다. 실험동물을 70 % N₂/30 % O₂와 혼합된 5 % isoflurane을 이용하여 흡입마취 유도를 한 후 2 % isoflurane으로 계속 유지시켰다.

흰쥐의 직장에 체온측정 probe를 삽입하고 가온등과 가온 매트리스를 이용하여 실험기간동안 체온을 38 °C로 유지하였다. 중대뇌동맥을 폐색하기 위하여 경부 정중선을 따라 피부를 절개하고 흉골허근과 흉골저작근 사이에 총경동맥을 노출한 후 내경동맥내로 치과 인상제(Durelon, germany)가 발라진 intraluminal filament(Ø0.28 mm, rounded tip)을 삽입하여 그 끝이 중대뇌동맥까지 도달하도록 하였다.

총경동맥과 외경동맥은 결찰한 후 혈류차단 2시간이 지난 후 인상제가 중대뇌동맥내에 위치

하도록 intraluminal filament를 제거하고 우측 총경동맥을 결찰하여 측부 순환을 통하여 재관류를 시켰다.

5. Eight-arm radial maze task

목재로 제작된 8개의 통로가 중앙의 출발영역(central platform)을 중심으로 매 45도 각도(방사형)로 뻗어 나온 형태의 장치를 이용하였다(Fig. 1). 중앙 출발 영역은 직경 50 cm인 원에 내접하는 정팔각형 상자로 높이는 25 cm이다.

走路는 출발 상자의 각 면에 뚫린 10×25 cm 크기의 통로와 연결되어 있으며, 길이는 70 cm 이고 동물이 바깥으로 나가지 못하게 하였다. 走路의 끝에는 보상으로 제공하는 먹이나 물을 담을 수 있는 7×5×3 cm 크기의 용기(음식 접시)가 설치하였다. 실험동물이 走路를 출입하는 행동을 비디오카메라로 녹화하여 백서가 각 走路를 방문한 횟수와 오류 여부를 계산하였다. 실험에 들어가기 전 36시간 동안 사육상자에서 먹이를 박탈하고 배고픔을 유발시킨 백서를 행동 관찰실로 옮겨와 30분간 환경에 적응시켰다.

획득시행동안의 誤行路 선택수는 백서를 미로의 출발 상자에 넣고 1분간 두어 상황에 적응시킨 후 1분이 지나면 각 走路로 통하는 통로를 개방하여 백서가 자유롭게 미로 속을 돌아다니게 하였다. 쥐가 走路를 방문하여 끝까지 달리면 보상 용기에서 먹이를 먹게 하였다. 그러나 동일한 走路를 반복해서 방문하면 두 번째 방문부터는 먹이를 제공하지 않고 반응은 오류로 기록하였다. 백서가 300초 동안에 8개의 走路를 모두 방문하지 못하면 시행을 중지시키고, 그 시행은 실패로 간주하여 誤行路를 선택하는 기간을 기록하였다.

검사시행동안의 正行路 선택율은 백서가 5일 동안의 획득시행에서 학습 준거에 도달하는 경

우 6일째에 기억을 관찰하는 검사시행하여, 4분 동안에 8개의 走路중 2개의 走路를 택해 들어가면 출발 상자에 다시 넣어 30초 동안 머무르게 한 후 나머지 6개의 走路중 정선택 수를 관찰하였다. 같은 走路를 다시 택하거나, 240초가 경과 되면 시행을 중지시켰다.

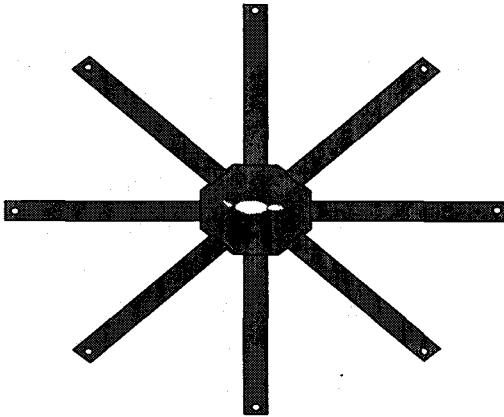


Fig. 1 Apparatus of eight-arm radial maze. Number of errors: The task was started on the 4th week after focal-ischemic treatment, and performed four trials per day for 5days. Rate of Correct choice: The task was started on the 6day after aquisition test

6. Immunohistochemistry

1) Cresyl violet 염색법

모든 행동 실험이 끝난 직후 실험동물을 sodium pentobarbital(100 mg/kg, i.p.)로 마취시킨 후, 0.9 % saline 200 ml에 이어 phosphate buffer으로 준비한 4 % formalin 용액(fixative) 800 ml로 심장을 통해 관류하였다. 처음 고정액 200 ml은 2분간 빠른 유속으로, 그리고 나머지 800 ml은 25분간에 걸쳐 천천히 관류하였다. 고정기 끝난 쥐는 뇌를 꺼내 같은 고정액으로 2시간 동안 후고정시키고, 20 % sucrose가 함유된 phosphate buffered saline(PBS)에 넣어 4 ℃에

서 하루 동안 보관하였다. 다음날 뇌를 급속 냉동한 후 뇌조직을 hippocampus 부위를 30 μm의 두께로 자랐다. PBS로 조직을 몇 차례 씻고 xylene(5min), 100 % alcohol(2min), 95 % alcohol(1min), 70 % alcohol(1min), D.W.(2min) 순으로 담구어 탈지, 탈수를 시킨 다음 cresyl violet buffer(5min)로 염색을 하였다. 염색이 끝난 조직은 광학현미경을 사용하여 고배율(×400)에서 신경세포의 밀도를 Scion image program (Scion Corp. MD, USA)을 이용하여 측정하였다.

2) Acetylcholinesterase(AchE) 염색법

뇌 조직을 PBS에 3회 정도 세척한 후 0.1M sodium hydrogen phosphate buffer(NaH₂PO₄·H₂O, pH6.0) 325 ml에 acetylcholine iodide 250 mg을 녹인 용액에 0.1 M sodium citrate 25 ml, 30 mM copper sulfate 50 ml, 5 mM potassium ferricyanide 50 ml, 증류수 50 ml을 넣어 혼합한 후 수 초간 기다리면 옅은 녹색을 나타내는데 이때 뇌 조직을 넣고 실온에서 1~2시간동안 배양하였다. 모든 처리를 거친 뇌 조직을 광학현미경으로 관찰하였다. 200×200 μm 크기의 microscope 4각 격자(rectangle grid)를 사용하여 100 배로 확대하여 hippocampus에서 AchE 신경세포의 밀도를 Scion image program(Scion Corp. MD, USA)을 이용하여 측정하였다.

3) Choline acetyltransferase(ChAT) 염색법

뇌 조직을 PBS에 3회 정도 세척한 후 ChAT 유전자 발현 연구에 가장 널리 사용되고 있는 primary sheep polyclonal ChAT antibody (Cambridge Research Biochemicals, Wilmington, DE, USA)를 사용하였다. 1차 항체는 PBS에 0.3 % Triton X-100 첨가한 PBST에서 2 % 토끼 혈청과 0.1 % sodium azid(Sigma, St.

Louis, MO, USA)로 2000배 희석하여 준비하였다. 뇌 조직은 1차 항혈청에 4℃에서 72시간동안 지속적으로 흔들어 주면서 배양하였다. 그 후 3번 이상 조직을 PBST로 씻은 다음 2시간동안 실온에서 2% 토끼 혈청을 함유하는 PBST에서 200배 희석한 biotinylated anti-sheep serum (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)에 반응시켰다. PBST로 3번 씻은 다음, 뇌 조직은 실온에서 2시간 동안 Vectastain Elite ABC reagent(Vector)에 담구었다. PBS로 몇 번 행군 다음 조직을 nickel chloride로 강화시키고 착색제로서 diaminobenzidine(DAB)을 사용하여 발현시켰다. 통제군 조직에는 1차 항체를 생략하거나 nonimmuno sheep serum으로 대체하였는데 이들 두 경우 다 특정 표지가 나타나지 않았다.

모든 처리를 거친 뇌 조직을 gelatine-coated slide에 고정하고 공기를 제거하면서 커버글라스를 덮은 후 광학현미경으로 100배로 확대하여 hippocampus에서 ChAT-immunoreactive 신경세포의 밀도를 Scion image program(Scion Corp. MD, USA)을 이용하여 측정하였다.

7. 통계처리

모든 측정값은 평균값 표준오차(mean±SE)로 표시하였고, 각 실험군간의 통계학적 분석은 Window용 SPSS를 이용하였다. 각 집단간 행동 측정치의 비교는 repeated ANOVA test를 시행하였고, 면역조직화학분석법의 측정값은 one-way ANOVA를 시행하였으며, 사후검정은 Tukey test를 적용하였다. 전체 실험의 통계적인 유의성은 신뢰구간 P<0.05에서 의미를 부여하였다.

III. 成 績

1. 방사형 미로 학습의 획득시행동안 誤 行路 선택수

방사형 미로 학습에서 오행로 선택수를 측정하는 획득시행에서 제 1일째 Sham군은 4.67±0.45초, Control군은 5.05±0.46초, SAL군은 5.35±0.41초, BCL1군은 5.56±0.38초, BCL2군은 5.08±0.62초로 2일째와 함께 유의성 없게 나타났으며, 학습이 진행됨에 따라 BCL1군은 3일째 (P<0.01), 4일째(P<0.05), 5일째(P<0.001)에서 Control군에 대해 통계적으로 유의하게 감소되었으며, 3일째(P<0.05), 5일째(P<0.05)에 SAL군에 대해 통계적으로 유의하게 감소되었다. (Fig. 2)

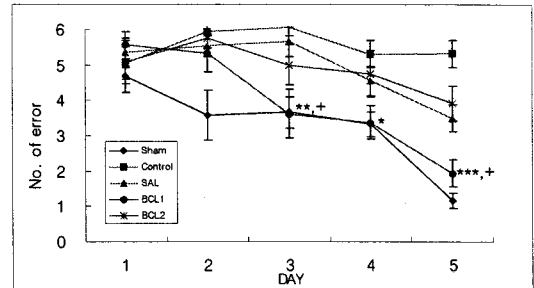


Fig. 2 Acquisition curves of the eight-arm radial maze task in focal brain injury. The task was started on the 4th week after focal brain injury, and performed four trials per day for 5days. Repeated Measures of one-way ANOVA(Tukey test) of in the errors revealed among the groups[(F(4,71)= 11.772, P<0.001)]. Results are shown as mean±S.E. *, P<0.05, **, P<0.01, ***, P<0.001 as compared with the corresponding data of Control group. +, P<0.05, as compared with corresponding data of SAL+ST36 group

2. 방사형 미로 학습의 검사시행동안 正 行路 선택율

방사형 미로 학습에서 正行路 선택율을 측정하는 검사시행에서 Sham군은 63.85±6.43 %, Control군은 24.33±7.69 %, SAL군은 65.80±5.98 %, BCL1군은 81.23±5.02 %, BCL2군은 68.15±5.25 %로, SAL군(P<0.001), BCL1군(P<0.001), BCL2군(P<0.001)들은 Control군에 대해 통계적으로 유의하게 증가하였다. (Fig. 3)

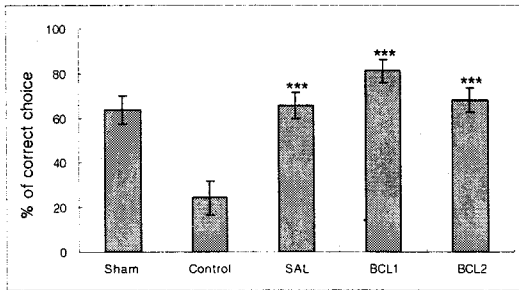


Fig. 3 Retention histogram of the eight-arm radial maze task in focal brain injury. The task was started on the 6day after aquisition test, and performed four trials . Measures of one-way ANOVA(Tukey test) of correct choice among the groups[(F(4,71)=11.250, P<0.001)]. Results are shown as mean±S.E. ***, P<0.001 as compared with the corresponding data of control group.

3. Cresyl violet을 이용한 신경세포 손상 방어효과

각 군에서 hippocampal CA1 부위를 cresyl violet에 염색하여 신경세포의 손상방어 효과를 관찰한 결과 Sham군은 23.71±1.72(density), Control군은 12.87±1.15(density), SAL군은 11.98±1.98(density), BCL1군은 21.65±1.37(density), BCL2군은 18.97±1.91(density)로, BCL1군(P<0.01, P<0.001)은 Control군과 SAL군에 대해 통계적으로 유의하게 증가하였고, BCL2군(P<0.05)은 SAL군에 대해서 통계적으로 유의하게 증가하였다. (Fig. 4, 5)

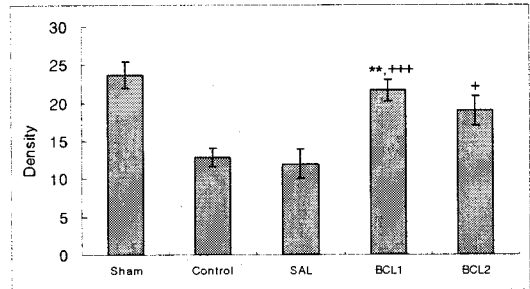
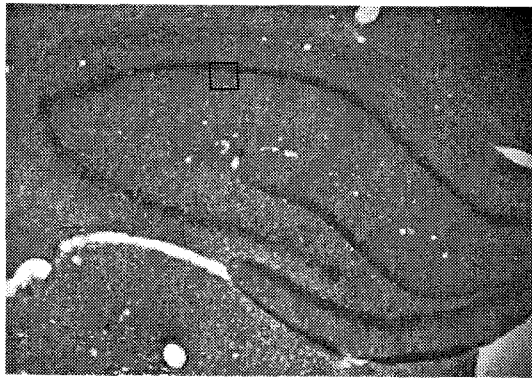
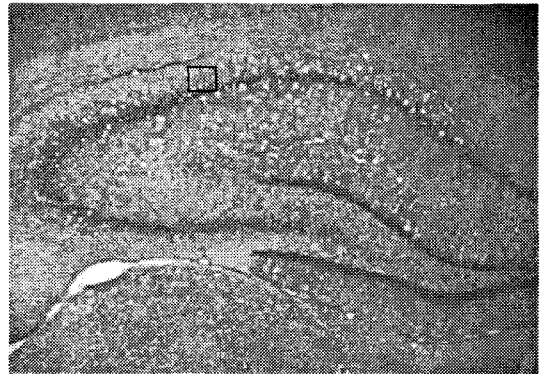


Fig. 4 The values of density of cresyl violet-stained sections in the hippocampal CA1 are shown. Measures of one-way ANOVA (Tukey test) of density among the groups [(F(4,71)=11.250, P<0.001)]. Results are shown as mean±S.E. **, P<0.01, as compared with the corresponding data of control group. +, P<0.05, +++, P<0.001 as compared with corresponding data of SAL+ST36 group

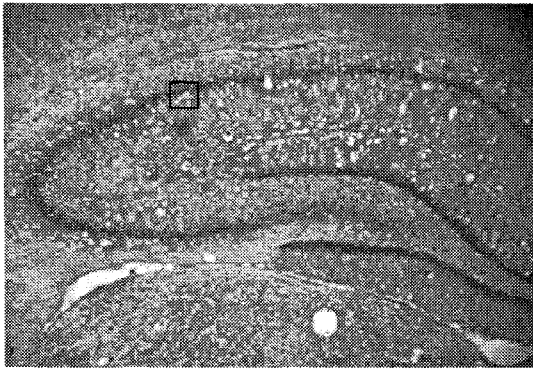
足三里에 施術된 竹瀝 藥鍼이 Intraluminal Filament 挿入術에 의하여 誘發된 白鼠의 虛血性 局所 腦損傷에 미치는 影響



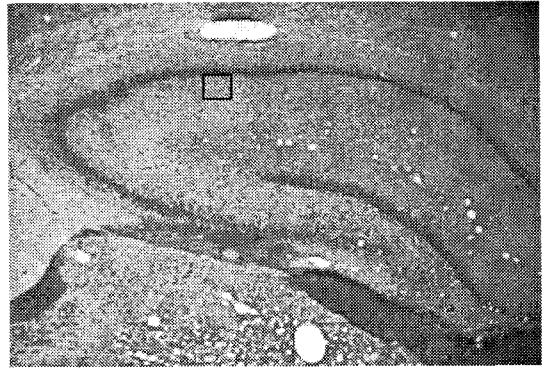
A



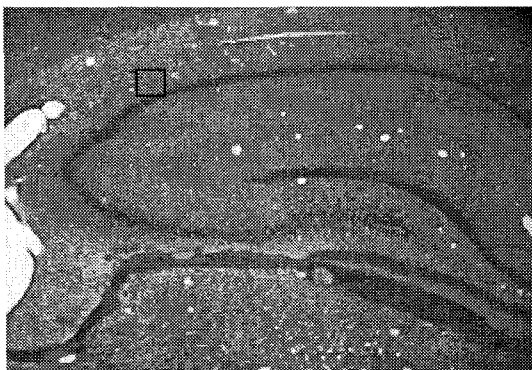
B



C



D



E

Fig. 5 Representative microphotographs of coronal sections in the hippocampal CA1. As compared with density of B group, that of The density of D group was increased($P < 0.003$) A:Sham, B:Control, C:SAL, D:BCL1, E:BCL2. cresyl violet-stain. $\times 400$. Scale bar is $100.0\mu\text{m}$

4. AchE 발현

각 군에서 hippocampal CA1 부위의 AchE 발현 정도를 관찰한 결과 Sham군은 126.61 ± 4.46 (density), Control군은 104.56 ± 2.87 (density), SAL군은 115.11 ± 3.20 (density), BCL1군은 121.56 ± 3.27 (density), BCL2군은 123.17 ± 3.22 (density)로, BCL1군($P < 0.01$)과 BCL2군($P < 0.01$)은 Control군에 대해 통계적으로 유의하게 증가하였고, BCL2군($P < 0.05$)은 SAL군에 대해서 통계적으로 유의하게 증가하였다.(Fig. 6, 7)

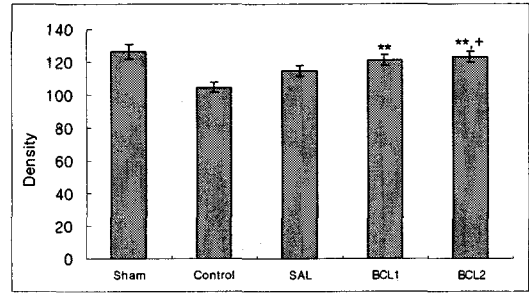
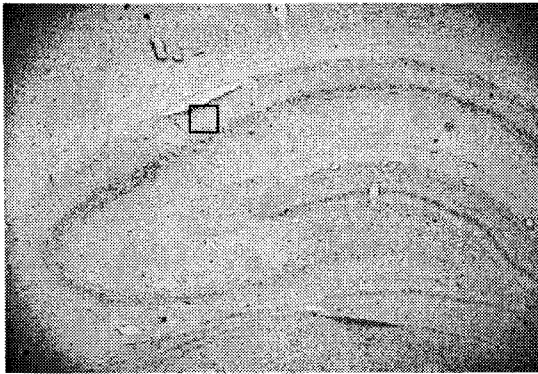
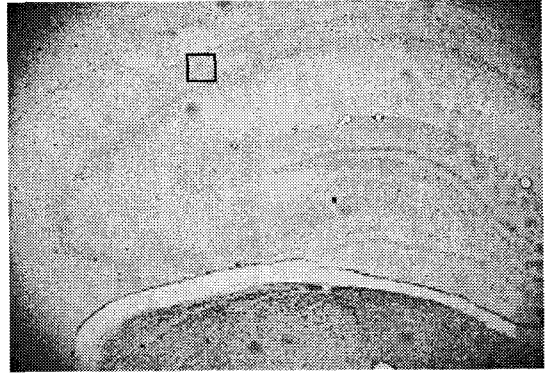


Fig. 6 The values of density of acetylcholine esterase(AchE) stained nuclei in the hippocampal CA1 are shown. Measures of one-way ANOVA(Tukey test) of density among the groups [(F(4,90)=7.843, $P < 0.001$)]. Results are shown as mean± S.E. **, $P < 0.01$, as compared with the corresponding data of control group. +, $P < 0.05$, as compared with corresponding data of SAL+ST36 group.

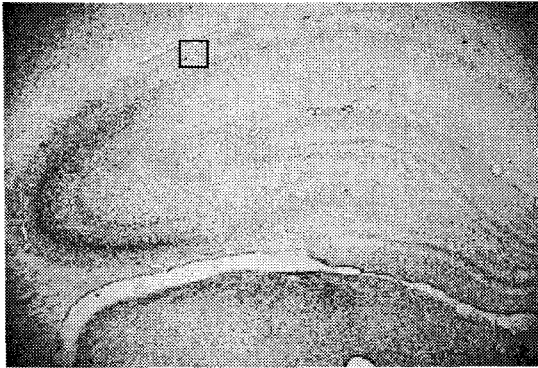
足三里에 施術된 竹瀝 藥鍼이 Intraluminal Filament 挿入術에 의하여 誘發된 白鼠의 虛血性 局所 腦損傷에 미치는 影響



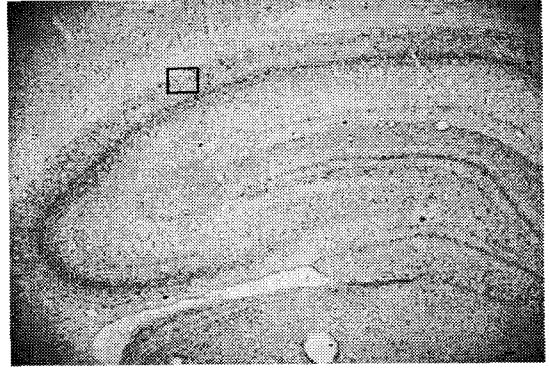
A



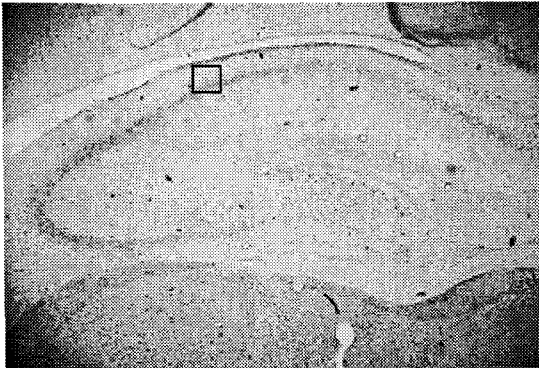
B



C



D



E

Fig. 7 Representative microphotographs of coronal sections in the hippocampal CA1. As compared with density of B group, that of The density of D,E group was increased($P < 0.003$) A:Sham, B:Control, C:SAL, D:BCL1, E:BCL2. AchE-stain. $\times 100$. Scale bar is $100.0\mu\text{m}$

5. ChAT 발현

각 군에서 hippocampal CA1 부위의 ChAT 발현정도를 관찰한 결과 Sham군은 29.22 ± 1.94 (density), Control군은 20.00 ± 0.90 (density), SAL군은 21.06 ± 1.34 (density), BCL1군은 25.61 ± 2.37 (density), BCL2군은 26.83 ± 2.10 (density)으로, BCL1군이 Control군과 SAL군에 대해 통계적으로 유의하게 ($P < 0.05$) 증가하였다. (Fig. 8, 9)

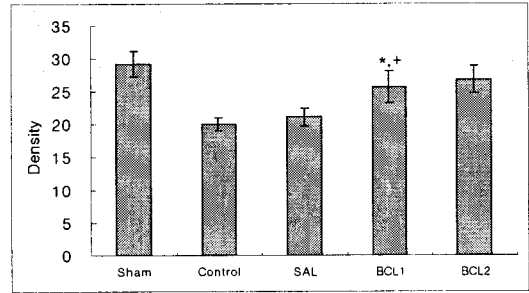
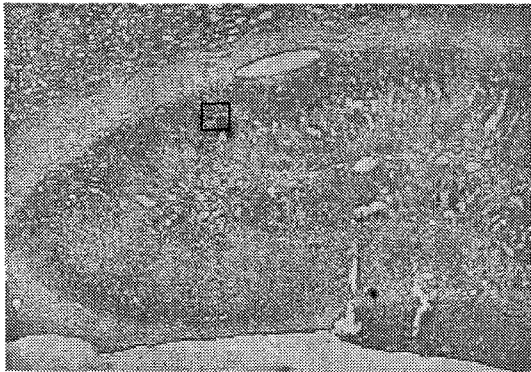
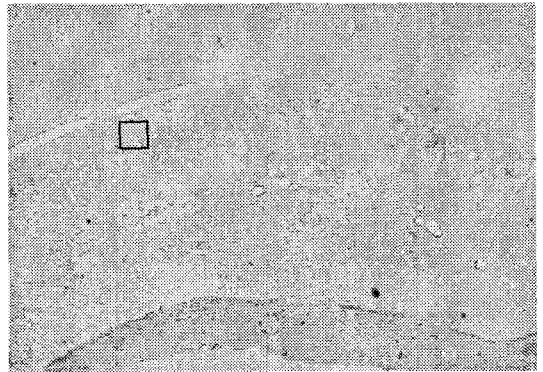


Fig. 8 The values of density of Choline acetyltransferase(ChAT) stained nuclei in the hippocampal CA1 are shown. Measures of one-way ANOVA(Tukey test) of density among the groups[(F(4,42)=6.749,P<0.001)]. Results are shown as mean± S.E. *, P<0.05, as compared with the corresponding data of control group. +, P<0.05, as compared with corresponding data of SAL+ST36 group

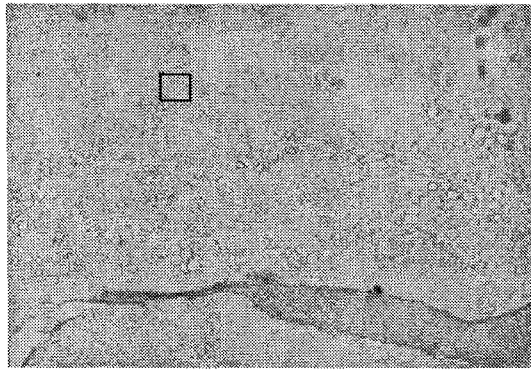
足三里에 施術된 竹瀝 藥鍼이 Intraluminal Filament 挿入術에 의하여 誘發된 白鼠의 虛血性 局所 腦損傷에 미치는 影響



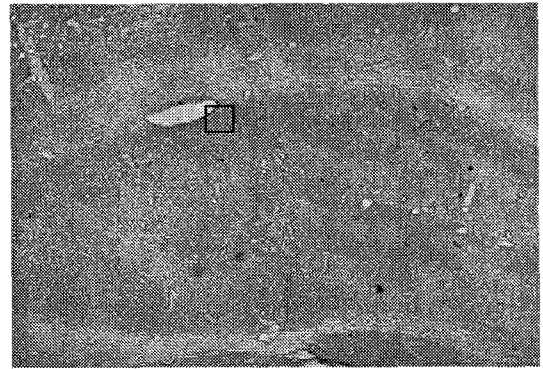
A



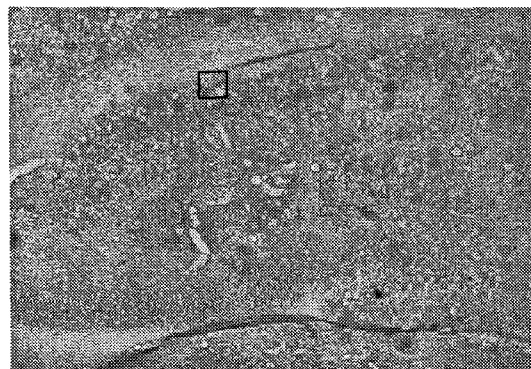
B



C



D



E

Fig. 9 Representative microphotographs of coronal sections in the hippocampal CA1. As compared with density of B,C group, that of The density of D group was increased($P<0.05$) A:Sham, B:Control, C:SAL, D:BCL1, E:BCL2. ChAT-stain. $\times 100$. Scale bar is $100.0\mu\text{m}$

IV. 考 察

오늘날 악성종양 및 심장질환과 더불어 인류의 사망원인 중 많은 부분을 차지하고 있는 질환이 뇌졸중의 범주에 속하는 중풍이다²⁾. 이는 신경조직이 재생되지 않는다는 점에서 비가역적인 변화로 인한 많은 후유증을 남긴다. 특히 뇌 허혈 상태에서 신경세포가 생존할 수 있는 시간은 매우 제한되어 있어, 혈관 폐쇄로 인해 산소와 혈당공급량이 감소하면 신경세포가 손상되어 뇌기능에 장애가 일어나는 것으로 보고 되고 있다^{3,14,15)}.

경락은 인체내 기혈운행의 생체반응계통으로 내부로는 오장육부, 외부로는 체표와의 상관성을 갖는 생리적, 병리적 반응통로가 되는 것으로, 자침요법은 이러한 경락을 이용하여, 기혈의 운행을 조화시키는 調氣작용과, 調氣의 功效를 높이고 경락중의 기혈의 운행을 강화시키는 治神의 작용을 통하여 人身의 氣循環을 調節하는 것이다⁴⁾.

중풍에 대한 주된 치료법의 하나인 침구치료에서 調氣를 위해 기혈을 소통시킨다는 면에서 多用되는 주요한 經穴들 중의 하나로 족삼리가 쓰이고 있다.

족삼리는 下陵, 鬼邪, 下三里라는 異名을 가지고 있는 足陽明胃經의 經穴로 本經의 合土穴이고, 回陽九針穴, 六腑下合穴, 四總穴, 中風七處穴 중의 하나로 理脾胃 調中氣 疏風化濕, 通調經絡, 調和氣血등의 穴性이 있어, 순환기계통에 작용하여 眩暈, 偏頭痛, 下肢麻痺, 高血壓, 類中風, 精神衰弱등에 양호하다⁴⁾.

족삼리에 대한 최근 연구로는 Omura⁵⁾는 편측마비를 동반한 중풍 환자에서 마비가 있는 쪽의 족삼리를 침으로 자극할 때 마비를 보인 손의 혈관이 확장되고 체온이 상승하였으나 마비가 없는 쪽 손에서는 혈류 변화가 없었다고 보

고하였고, 손 등⁶⁾은 족삼리에 전침자극을 준 경우 대조군에 비하여 arcuate nucleus등에서 20%이상 중추 신경계 내 대사활성이 증가하였고 보고하였고, 송 등⁷⁾과, 조¹⁶⁾는 족삼리의 침자시술시 특정 뇌 영역에서 뇌혈류가 증가한다고 보고하였다.

족력은 微甘⁷⁻¹⁰⁾한 性味를 갖는 약재로 甘寒한 性은 清熱作用이 있고, 滑利한 藥性은 化痰作用이 있다^{8,9,11,17)}. 그러므로 煩熱, 痰飲을 清泄하게 하여 通竅하고 驚氣를 鎮靜하며 經絡을 疏通하게 하는 작용을 나타낸다. 痰熱이 心竅를 阻礙하여 발생하는 意識障礙와 中風으로 痰濁이 壅閉하여 발생하는 意識不明에 사용할 수 있다^{11,17,18)}.

족력과 관련된 최근 연구로는 이 등¹⁹⁾은 족력탕이 투여량에 비례하여 혈압강하작용이 증가하였고, 간의 homogenate중 TBA值, 혈청중의 cholesterol함량과 β -lipoprotein이 감소하였고 보고하였으며, 박¹¹⁾은 족삼리의 족력약침이 LPS(lipopolysaccharides)로 유발된 혈류장애 모델에서 혈압상승과, LDH, lactate, glucose량의 감소를 나타내어 심혈순환장애에 대하여 일정한 개선효과를 보고하였으며, 강¹²⁾은 족력의 고지혈증 교정효과를 보고하였다.

이러한 작용을 볼 때 뇌 허혈시 신경세포의 손상을 방어하는 작용이 있을 것으로 기대되어, 백서에 국소 허혈로 인한 뇌 손상 모델을 통한 신경방어효과를 관찰해 보고자 하였다.

본 모델은 흰쥐의 뇌에 공급되는 혈관들을 차단한 후 주위 혈관을 통해 재관류하게 되면 주로 hippocampus부분의 신경세포가 손상을 입게 되는데, 5-7일이 경과되면 apoptosis와 비슷한 세포 손상과 인지 및 학습장애를 일으키게 되는 것으로^{20,21)}, 광범위하지 않고 前腦에만 제한하여 後腦에서의 혈류가 영향을 받지 않아, 호흡과 체

순환에 영향을 주지 않는다는 점에서 허혈로 인한 신경손상의 연구에 다용되고 있다. 본 모델에서 뇌허혈후 재관류로 인한 신경세포의 손상은 다른 부위에 비해 hippocampus의 CA1 pyramidal neuron들에서 선택적으로 발생된다^{21,22)}.

그 기전은 아직 명확히 밝혀진 바는 없으나, 허혈 후 주어진 자극에 대한 예민성 증가에 의한 신경세포의 과활동, 칼슘을 매개로 하는 글루탐산 흥분독성, 미토콘드리아 손상과 단백질 합성의 장애, 유리산소기에 의한 손상, 에너지 대사 와 뇌의 혈액순환 이상 등이 관여할 것으로 여겨지고 있으며²⁴⁾, 최근 치료약물로 glutamate receptor antagonists²⁵⁾, calcium channel antagonist²⁶⁾, GABA neurotransmission 촉진제²⁷⁾, NOS inhibitions²⁸⁾, antioxidants²⁹⁾ 등이 연구되고 있으나 효과와 안정성문제가 제기되고 있다. hippocampus는 medial septal nucleus에 위치한 세포체로부터 투사되는 콜린성 신경전달경로로서³⁰⁾, 학습수행 및 기억력에 관여하여 뇌허혈 등으로 인한 hippocampus의 손상은 방사형 미로와 같은 흥간 기억과제를 학습하는 능력에 장애를 보이게 된다^{31,32)}.

본 실험에서도 Control군에서 학습장애와 신경방어작용이 현저히 낮아진 것으로 관찰되었다.

방사형 미로는 주로 정보가 처리되고 있는 동안에 그것을 유지하는 작업기억을 바탕으로 하는 학습능력과 기억력을 알아보기 위한 장치로 학습을 기억하는 시간범위, 기억의 저장작용을 매개하는 뇌조직 및 약물이 방사형 미로 학습과 기억에 미치는 영향³³⁻³⁶⁾, 등에 주로 사용된다.

본 실험에서 단기 기억의 정상적인 기능에 가장 중추적 역할을 하여, 미로수행에 관여되는 공간 위치에 대한 단기 기억을 증계하는 hippocampus에서 족삼리에 족력약침을 시행하여 손

상방어 효과를 관찰하였다. 그 결과 誤行路 선택 수를 측정하는 획득시행에서 제 1,2일째는 유의성 없게 나타났으나, 학습이 진행됨에 따라 BCL1군이 3,4,5일째에서 Control군에 대해 통계적으로 유의하게 감소되었으며, 3일째, 5일째에 SAL군에 대해 통계적으로 유의하게 감소되었으며. 정선택율을 측정하는 검사시행에서는 SAL군, BCL1군, BCL2군들이 Control군에 대해 통계적으로 유의하게 증가하였다. 이는 뇌허혈로 인한 중풍에 대한 학습장애 및 기억력의 회복효과에서 족력약침이 유의한 영향을 보였으며, 특히 BCL2군의 약침농도보다 BCL1군의 약침농도가 더 유의한 효과를 보였다.

방사형 미로에서 나타난 효과를 조직학적으로 평가하기 위해 cresyl violet염색과 AchE, ChAT의 발현정도를 관찰하였다. 신경세포의 손상정도를 관찰하는 cresyl violet염색에서는 BCL1군이 Control군과 SAL군에 대해 통계적으로 유의하게 증가하였고, BCL2군은 SAL군에 대해서 통계적으로 유의하게 증가하였다.

Cholinergic system은 신경전달물질인 acetylcholine(Ach), Ach의 합성효소인 ChAT, Ach을 분해하는 분해효소인 AchE 및 Ach 전달물질의 수용체가 포함된다. 그 중 AchE는 cholinergic synapse에 존재하여, 신경전달 물질인 Ach을 choline과 acetic acid로 가수분해시키는 효소이다³⁷⁾. 이 효소는 post-synaptic membrane의 수용체에 결합하는 Ach를 가수분해시켜 수용체의 정상적인 기능을 유지시키며, Ach의 생합성에 필요한 choline을 공급함으로써, 신경계가 원활하게 작용하는데 매우 중요한 역할을 하게된다.

특히 hippocampus는 기억장애에 관계되는 구심성 및 원심성 신경섬유가 가장 많이 연결되는 부위이다. Hippocampus와 신피질로 투사하는

기저전 뇌콜린계 신경단위의 상실 즉, medial septum, diagonal band, nucleus basalis of Meynert에 있는 choline계 신경단위의 상실로 인해 투사 부위인 대뇌피질 및 hippocampus 부위에서 pre-synaptic choline계 지표가 극도로 감소하게 되며³⁸⁾, basal forebrain cholinergic system내의 ChAT활성도 감소는 acetylcholine 감소를 초래하여 기억력 및 여러 학습능력 저하와 집중력의 이상을 유발하게 된다^{39,40)}.

본 실험에서도 hippocampal CA1 부위의 AchE 발현정도가 BCL1군과 BCL2군이 Control군에 대해 통계적으로 유의하게 증가하였고, BCL2군은 SAL군에 대해서 통계적으로 유의하게 증가하였으며, ChAT 발현정도는 BCL1군이 Control군과 SAL군에 대해 통계적으로 유의하게 증가하였다. 이러한 AchE가 증가 하고 ChAT가 증가하는 경향을 보아 족삼리에 죽력약침이 신경세포의 퇴화를 방어하는 효과가 있음을 알 수 있었다.

이상의 실험 결과로 보아 족삼리에 대한 죽력약침이 백서의 중대뇌동맥을 폐쇄시켜 유발된 허혈성 국소 뇌손상 모델에 대한 관찰한 결과 방사형 미로를 이용한 행동학적 변화에 있어 공간 학습능력 및 기억측정에서는 유효한 회복이 관찰되었으며, 신경화학적 변화에 있어서도 hippocampal CA1에서 choline성 뉴런의 보호작용에 일정한 효과를 관찰하였다.

향후 족삼리와 죽력약침 간의 상호작용과 그 기전에 대해서 상세한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 結 論

Intraluminal filament 삽입술에 의하여 유발된 백서의 허혈성 국부 뇌손상 모델을 이용하여 죽력약침을 족삼리에 시술한 후, 방사형 미로학

습에서 誤行路 선택수와 正行路 선택을, hippocampal CA1 부위에서의 신경세포의 손상방어 효과, AchE 및 ChAT발현을 관찰한 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 방사형 미로 학습에서 誤行路 선택수를 측정하는 획득시행에서 제 1,2일째는 유의성 없게 나타났으나, 학습이 진행됨에 따라 BCL1군은 3일째, 4일째, 5일째에서 Control군에 대해 통계적으로 유의하게 감소되었으며, 3일째, 5일째에 SAL군에 대해 통계적으로 유의하게 감소되었다.
2. 방사형 미로 학습에서 정선택율을 측정하는 검사를 시행한 결과, SAL군, BCL1군, BCL2군들이 Control군에 대해 통계적으로 유의하게 증가하였다.
3. Cresyl violet 염색을 통해 hippocampal CA1 부위의 신경세포 손상방어 효과를 관찰한 결과, BCL1군은 Control군과 SAL군에 대해 통계적으로 유의하게 증가하였고, BCL2군은 SAL군에 대해서 통계적으로 유의하게 증가하였다.
4. Hippocampal CA1 부위의 AchE 발현정도를 관찰한 결과, BCL1군과 BCL2군은 Control군에 대해 통계적으로 유의하게 증가하였고, BCL2군은 SAL군에 대해서 통계적으로 유의하게 증가하였다
5. Hippocampal CA1 부위의 ChAT 발현정도를 관찰한 결과, BCL1군이 Control군과 SAL군에 대해 통계적으로 유의하게 증가하였다.

參 考 文 獻

1. 安日會, 金東雄. 中風初期에 應用되는 疎風湯에 대한 東西醫學的 考察. 대한한의학회지.

足三里에 施術된 竹瀝 藥鍼이 Intraluminal Filament 挿入術에 의하여 誘發된 白鼠의 虛血性 局所 腦損傷에 미치는 影響

- 1992 ; 13(2) : 23-29.
2. 박정의, 권현철. 한국인에서의 심혈관질환의 위험요인. 한국지질학회지. 1995 ; 5 : 97-102.
 3. 신경외과학. 대한신경외과학회. 서울 : 중앙문화사. 1992 : 304.
 4. 全國韓醫科大學 鍼灸經穴學教室. 鍼灸學 上, 서울 : 集文堂. 2000 : 382-4, 1017.
 5. Omura Y. Pathophysiology of acupuncture treatment : Effects of acupuncture on cardiovascular and nervous systems. Acupunct Electrother Res. 1975 ; 1 : 51-141.
 6. 손영주, 정혁상, 구자승, 원란, 김용석, 박영배, 손낙원. 흰쥐의 족삼리 및 태충 전침자극에 따른 뇌대사활성의 변화. 대한침구학회지. 2002 ; 19(1) : 159-74 .
 7. Song HC, Ahn SG, Bom HS, Kang HJ, Kim SM, Jeong HJ, Min JJ, Kim JY. Demonstration of neural basis of acupuncture by comparison of two different methods by acupuncture which increase regional cerebral blood flow (rCBF). J Nucl Med. 2000 ; 41(suppl) : 1-364.
 8. 李時珍. 本草綱目. 서울 : 醫聖堂. 1993 : 2167-9.
 9. 汪昂. 本草備要. 天津 : 天津科學技術出版社. 1999 : 155-6.
 10. 繆希雍. 神農本草經疏. 北京 : 中國中醫藥出版社. 1997 : 196-7.
 11. 박경진. 竹瀝 足三里 藥鍼과 靜脈 投與가 LPS 誘發 心循環 障礙에 미치는 影響. 동신대학교 석사논문. 2001.
 12. 강태운. 죽여 죽임 및 죽림이 고지혈증에 미치는 영향. 대전대학교 석사논문. 1995.
 13. Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. Stroke. 1989 ; 20(1) : 84-91.
 14. Plum F. The clinical problem: how much anoxia-ischemia damages the brain? Arch Neurol. 1973; 29(6) : 359-60.
 15. 이용석, 윤병우, 노재규. Gerbil의 일과성 전뇌 허혈모델에서 Lamotrigine에 의한 해마의 지연성 신경세포 손상 감소효과. 대한신경과학회지. 1998 ; 16(2) : 113-118.
 16. 趙南根. 足三里 刺鍼이 血壓과 腦血流力學에 미치는 影響. 대한침구학회지. 1999 ; 16(4) : 307-319.
 17. 康秉秀 외. 臨床配合本草學. 서울 : 永林社. 1996 : 591-2, 621.
 18. 신길구. 申氏本草學. 서울 : 수문사. 1988 : 374-5.
 19. 李京燮, 具本泓. 竹瀝湯, 加味竹瀝湯이 高血壓 및 血糖에 미치는 影響. 경희대 대학원박사논문. 1980.
 20. Buchan A, Pulsinelli WA. Hypothermia but not the N-methyl-D-aspartate antagonist, MK-801, attenuates neuronal damage in gerbils subjected to transient global ischemia. J Neurosci. 1990 ; 10(1) : 311-6.
 21. Gill R, Foster AC, Woodruff GN. MK-801 is neuroprotective in gerbils when administered during the post-ischaemic period. Neuroscience. 1988 ; 25(3) : 847-55.
 22. Petitto CK, Feldmann E, Pulsinelli WA, Plum F. Delayed hippocampal damage in humans following cardiorespiratory arrest. Neurology. 1987 ; 37(8) : 1281-6.
 23. Abe K, Aoki M, Kawagoe J, Yoshida T, Hattori A, Kogure K, Itoyama Y. Ischemic delayed neuronal death. A mitochondrial

- hypothesis. *Stroke*. 1995 ; 26(8) : 1478-89.
24. Fujisawa A, Matsumoto M, Matsuyama T, Ueda H, Wanaka A, Yoneda S, Kimura K, Kamada T. The effect of the calcium antagonist nimodipine on the gerbil model of experimental cerebral ischemia. *Stroke*. 1986 ; 17(4) : 748-52.
 25. Gill R, Foster AC, Woodruff GN. MK-801 is neuroprotective in gerbils when administered during the post-ischaemic period. *Neuroscience*. 1988 ; 25(3) : 847-55.
 26. Rami A, Kriegstein J. Neuronal protective effects of calcium antagonists in cerebral ischemia. *Life Sci*. 1994 ; 55(25-26) : 2105-13.
 27. Sternau LL, Lust WD, Ricci AJ, Ratcheson R. Role for gamma-aminobutyric acid in selective vulnerability in gerbils. *Stroke*. 1989 ; 20(2) : 281-7.
 28. Moncada C, Lekieffre D, Arvin B, Meldrum B. Effect of NO synthase inhibition on NMDA- and ischaemia-induced hippocampal lesions. *Neuroreport*. 1992 ; 3(6) : 530-2.
 29. Hall ED, Andrus PK, Smith SL, Fleck TJ, Scherch HM, Lutzke BS et al. Pyrrolopyrimidines: novel brain-penetrating antioxidants with neuroprotective activity in brain injury and ischemia models. *J Pharmacol Exp Ther*. 1997 ; 281(2) : 895-904.
 30. Johnston MV, McKinney M, Coyle JT. Evidence for a cholinergic projection to neocortex from neurons in basal forebrain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1979 ; 76(10) : 5392-6.
 31. Symons JP, Davis RE, Marriott JG. Water-maze learning and effects of cholinergic drugs in mouse strains with high and low hippocampal pyramidal cell counts. *Life Sci*. 1988 ; 42(4) : 375-83.
 32. Sutherland RJ, Rodriguez AJ. The role of the fornix/fimbria and some related subcortical structures in place learning and memory. *Behav Brain Res*. 1989 ; 32(3) : 265-77.
 33. Beatty WW, Shavalia DA. Spatial memory in rats: time course of working memory and effect of anesthetics. *Behav Neural Biol*. 1980 ; 28(4) : 454-62.
 34. Bolhuis JJ, Bijlsma S, Ansmink P. Exponential decay of spatial memory of rats in a radial maze. *Behav Neural Biol*. 1986 ; 46(2) : 115-22.
 35. McGurk SR, Levin ED, Butcher LL. Dopaminergic drugs reverse the impairment of radial-arm maze performance caused by lesions involving the cholinergic medial pathway. *Neuroscience*. 1992 ; 50(1) : 129-35.
 36. Miyagawa M, Honma T, Sato M. Effects of subchronic exposure to toluene on working and reference memory in rats. *Neurotoxicol Teratol*. 1995 ; 17(6) : 657-64.
 37. 홍사석. 이우주의 약리학강의. 서울 : 의학문화사. 1993 : 75-102.
 38. Coyle JT, Price DL, DeLong MR. Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervation. *Science*. 1983 ; 219 (4589) : 1184-90.
 39. Roth ME. Advances in Alzheimer's disease. A review for the family physician. *J Fam Pract*. 1993 ; 37(6) : 593-607.
 40. de la Torre JC, Fortin T, Park GA, Butler

足三里에 施術된 竹瀝 藥鍼이 Intraluminal Filament 挿入術에 의하여 誘發된 白鼠의 虛血性 局所 腦損傷에 미치는 影響

KS, Kozlowski P, Pappas BA, de Socarraz H, Saunders JK, Richard MT. Chronic cerebrovascular insufficiency induces dementia-like deficits in aged rats. Brain Res. 1992 ; 582(2) : 186-95.