

통증유발 백서에서 미세전류자극이 척수 분절 내 c-fos 및 CGRP 발현에 미치는 영향

김계엽 · 정현우*

동신대학교 한의과대학

Effects of Microcurrent Stimulation on c-fos and Calcitonin Gene-Related Peptide Expression in the Spinal Cord on Rats Induced Pain

Gye Yeop Kim, Hyun Woo Jeong*

College of Oriental Medicine, Dongshin University

The purpose of study is that we will observe the change of c-fos and CGRP with the immunohistochemistry method and then we will study the effect of microcurrent stimulation following the frequency after inducing pain to rats with capsaicin. The experimental groups were divided by microcurrent application and pain induce. Normal control groups is used in experiment I, the group which we induce pain is used in experiment II, the application group which we induce pain and then the high frequency microcurrent stimulation is used in experiment III, the application group which we induce pain and then the low frequency microcurrent stimulation is used in experiment IV. c-fos was strongly expressed after pain induced 2 hours and positive neurons were decreased from 2 hours. At 7 days, positive neuron recovers to normal range, But c-fos positive neuron of microcurrent stimulation group were decreased from 2 hours. CGRP was strongly expressed after pain induced 24 hours, and positive neurons were decreased from 7 days. These results suggests that microcurrent stimulation therapy effect to control pain according to expression of c-fos and CGRP examined by immunohistochemistry. Also high frequency microcurrent stimulation is more effective than low frequency microcurrent stimulation for controlling the pain.

Key words : microcurrent, c-fos, CGRP, spinal cord, pain

서 론

통증에 관해 과거에는 염증 반응 시 염증세포나 주위 조직 세포에서 만들어진 화학물질들이 유해감수기를 활성화시켜 통각을 유발한다고 생각되었으나, 근래 들어 신경계 내부의 어떠한 변형을 초래하여 통증이 초래되는 것으로 생각되고 있다¹⁾. 이러한 통증의 완화를 위해 다양한 약리학적 또는 전기생리화학적 방법들이 이용되고 있으며²⁾, 통전법의 개발과 생체내의 통증억제 기전에 관한 새로운 이론적 근거에 의한 미세전류신경근자극(microcurrent electrical neuromuscular stimulation)이 통증에 유

효한 것으로 알려져 왔다^{16,23)}. 미세전류(microcurrent)는 낮은 전류로서 신체자체의 생리적 전류범위정도이기 때문에 근수축이 일어나지 않으면서, 감각적으로 편안하게 느껴지며, 전기적인 안정성도 탁월하다. 또한 부작용도 거의 없으며³⁾, 적은 양의 전류 만으로도 상처치유촉진과 통증조절에 효과가 있어 급성, 만성 질환 관리에 이용된다¹⁶⁾. 종래 사용하였던 일반적인 전기자극치료기, 경피신경 전기자극기, 고전압 맥동전류자극기 등은 모두 전류가 밀리암페어(mA)의 단위로 자극되어 왔으나, 미세전류 신경근 자극치료기는 마이크로암페어(μ A)로 1000 μ A 미만을 송출하여 자극시켜 치료하는 것이다. 미세전류자극은 신체내부에서 적절한 미세전류가 세포의 민감한 채널을 통하여 세포막 전위차를 만들어 세포막을 열게 하여 Ca^{2+} 이온을 세포내부로 이동시키고 그 Ca^{2+} 이온에 의한 화학적인 과정을 통하여 ATP(adenosine

* 교신저자 : 정현우, 전남 나주시 대호동 252, 동신대학교 한의과대학

· E-mail : hwdolsan@dsu.ac.kr, · Tel : 061-330-3524

· 접수 : 2004/11/22 · 수정 : 2004/12/21 · 채택 : 2005/01/26

재료 및 방법

tri-phosphate)와 단백질 생성을 증가시킴으로써 세포의 복원과 치료를 촉진시킨다는 것이다¹¹⁾. Owoeye 등³²⁾의 실험에서도 세포막 전위차를 형성할 수 있는 세포수준의 전기에너지를 외부로부터 공급함으로써 통증완화 및 상처치유의 효과가 있었다고 보고하였다.

동물에서 통증을 측정하는 방법은 대체로 유해자극을 회피하려는 행동을 계량화하는 방법과 전기생리학적으로 신경전도속도를 측정하는 방법이 많이 사용되고 있으나, 최근 들어서는 조기 발현 유전자(immediate early gene) 생산물질인 c-fos 단백질을 면역조직화학적으로 관찰하는 형태학적 검정방법이 널리 사용되고 있다⁸⁾. 또한 통증전달에 관여하는 신경전달물질인 calcitonin gene-related peptide(CGRP)의 척수 후각 내 농도 또는 후근신경절(dorsal root ganglion, DRG) 신경세포를 면역조직화학적으로 염색하여 그 변화를 관찰하는 방법 역시 통증의 정도와 진통효과를 검정하는 방법으로 흔히 사용되고 있다³⁵⁾.

c-fos는 조직손상이나 염증 등이 유발되었을 때 세포 내에 빠른 시기에 발현되는 세포 조기발현 유전자로서 일반적으로 표적 유전자(target gene)의 촉매부위(promotor region)에 있는 DNA-결합단백 또는 DNA에 직접 결합함으로써 신경계의 기능적 변화를 유도하는 전사인자(transcription factor)로 알려져 있다¹⁵⁾. c-fos는 원종양유전자(proto-oncogene)인 v-fos의 세포동족체로서 성장인자(growth factor)나 신경전달물질에 의해 수분 내에 다양한 형태의 세포에서 활성화된다¹⁷⁾. 또한 시냅스 후 뉴런에서 빠르게 발현되고 종종 감각자극 혹은 신경손상 후 척수의 신경세포 활성화에 대한 지표로 사용된다^{22,10,31)}. c-fos는 일차신경원인 척수신경절 신경원에서는 나타나지 않으며 주로 척수의 통증전달신경원에서 발현되고 기타 뇌에서 통증에 관계된 부위에서도 발현된다고 보고되고 있다^{20,25)}.

이러한 통증과 같은 체성감각정보(somatosensory information)는 척수의 후각(dorsal horn)에 있는 구심성 신경세포(afferent neuron)를 경유하여 중추신경계통으로 전달된다. 또한 CGRP는 중추신경계의 여러 부위에 존재하는 신경펩타이드로서 뇌에서는 주로 시상하부, 편도체, 해마형성체 등의 변연계통의 구조와 중뇌의 배쪽피개핵, 대뇌다리주위구역(peripeduncula area) 등의 세포체와 신경섬유에 널리 분포되어 있다. 또한 뇌줄기의 III, IV, V, VI, VII, XII 뇌신경 운동신경핵에도 많이 분포되어 있다^{33,29,12)}. 그리고 CGRP는 일차구심성 섬유에 특유한 신경펩타이드인 것으로 보아 역시 통증의 전달에 중요한 역할을 담당한다고 알려져 있다. 염증 반응 시에는 혈관 내피세포를 자극시켜 혈관형성을 촉진하여 치유하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다¹⁸⁾. 그러나 세포생리학적으로 진통효과가 있는 것으로 알려진 미세전류 자극법 적용시 통증의 전달에 중요한 지표인 c-fos와 CGRP와의 연구는 매우 미흡한 실정이다.

따라서 저자들은 capsaicin으로 통증을 유발시킨 후 주파수에 따른 미세전류자극이 급성 통증에 미치는 효과를 알아보기 위하여 세포 내의 신경전달물질 c-fos 유전자와 CGRP와 같은 신경펩타이드의 세포 내 출현정도를 면역조직화학적 방법으로 관찰하여 미세전류자극치료의 진통효과와 생체 내 작용기전을 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

1. 실험동물

생후 8주된 음성 Sprague-Dawley계 랫트(체중 200±50g, 다물사이언스) 100마리를 사용하였으며, 실험군 I은 정상대조군(n=25), 실험군 II는 통증 유발군(n=25), 실험군 III은 통증 유발 후 고주파수 미세전류자극 치료군(n=25), 실험군 IV는 통증 유발 후 저주파수 미세전류자극 적용군(n=25)으로 나누었다(Table 1). 통증 유발 2시간 후, 8시간 후, 24시간 후, 7일 후에 각각 5마리씩 희생시켜 실험에 공시하였다. 사육실 온도는 25±1 °C, 습도 55±10%, 명암은 12시간 주기로 하였으며, 고형사료와 물은 자유롭게 먹도록 하였다.

Table 1. Experimental design of each groups

Group	No. of rats	Treatment
I	25	Normal control
II	25	Induced pain with capsaicin
III	25	Treated with high frequency microcurrent after induced pain (100Hz, 100µA)
IV	25	Treated with low frequency microcurrent after induced pain (0.5Hz, 300µA)

2. 통증 유발

Capsaicin(Sigma chemical co., St. Louis, MO, USA)은 용매(10% ethanol, 10% Tween 80, 80% 생리식염수)에 용해시켜 50mg/kg 농도로 오른쪽 슬괵근에 1회 피하주사 하였다. 투여 도중 또는 투여 직후 랫트의 상태에 따라 흥과를 적절하게 눌러 심폐소생술을 시행하였다.

3. 미세전류자극 적용

미세전류자극(Excel Tech Ltd., MULTL III, USA)은 고주파수(100 Hz, 100 µA)와 저주파수(0.5 Hz, 300 µA)로 적용, 이상과(bipolar)를 정사각파형의 2:1 빈도로 방출되게 하여 사용, 매일 20분씩 일정한 시간에 적용하였으며, 전극 패드 2개는 대퇴 슬괵근의 중앙부에 접지하였다.

4. 조직절편 제작

실험동물은 전신 마취제인 롬퐁(Rompun, Bayel co., Korea)을 복강주사(0.4ml)하여 마취한 후, 척추천추부분을 덮고 있는 피부를 가위로 절제하고 천추의 중간부위를 절개하여 척추관을 노출시켰다. 척추관을 통하여 21 gauge 바늘을 삽입하고 냉각 식염수가 들어있는 주사기를 부착하여 힘주어 식염수를 주입한 뒤 척수의 전 부위가 경추의 개구부를 통하여 밖으로 나오도록 하여 요부 척수 부위만을 적출하였다. 적출된 척수는 24시간 3% paraformaldehyde - 3% glutaraldehyde - 0.1% picric acid 고정액에 고정한 후 냉동절편기(Leica Co., Germany)를 사용하여 두께 6 µm 두께로 연속절편을 제작하였다.

5. 면역조직화학법

통증 유발 2시간 후, 8시간 후, 24시간 후, 7일 후에 희생시

킨 실험동물의 L5 척수분절을 c-fos 단백질 면역화학염색을 시행하였고, 통증 유발 2시간 후, 24시간 후, 7일 후에 L5 척수분절을 CGRP 면역화학염색을 시행하였다. 박절한 조직절편은 phosphate buffered saline(PBS)으로 여러번 수세한 후 남아 있는 고정액 성분을 제거하기 위하여 1% sodium borohydride로 1시간 처리하였다. 전처리과정으로 0.3%과산화수소(hydrogen peroxide) 용액에 20분간 처리하였다. Novostain Super ABC Kit(Novocastra Lab., Benton Lane, UK)를 사용하여 비 특이적 반응을 억제하기 위해 Normal blocking serum에 20분간 반응시켰다. Anti c-fos 항체(Sigma, F7799, USA)와 1:1000으로 희석한 anti rabbit CGRP 항체(Serotec Ltd, No 011002, Oxford, UK)를 4 °C에서 overnight 처리한 후 Diluted biotinylated secondary antibody solution으로 30분간 배양하였다. 발색반응을 위해 DAB(serotec Ltd, BUF021B, UK)에 10분간 적용한 후 Mayer's Hematoxyline (MHS-32, Sigma, USA)으로 대조염색을 실시하였으며, 통상의 탈수과정을 거쳐 봉입 후 표본을 제작하였다.

컴퓨터 화상분석기(VM32, Rise Co., Japan)를 이용하여 c-fos는 척수 천층(Laminae I and II)에 양성 반응을 나타낸 세포 수를 측정하였으며, CGRP는 연속절편을 제작하여 여섯 절편 당 한 절편에서 양성반응을 보이는 신경세포의 수를 계수 하였다.

6. 통계방법

면역조직화학적 소견의 통계처리는 SPSS 10.0 ver. for windows®을 이용하였다. 시간에 따른 실험군 간의 통계적 유의성을 검증하기 위하여 일요인 분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였으며, 사후 검정으로 Turkey's multiple range test를 사용하였다. 각 실험군의 측정 시기 간에 따른 변화에 대한 유의성을 검증하기 위하여 일요인 표본 대응 T 검정(paired t-test)를 실시하였다.

결 과

1. c-fos 면역조직화학적 소견

척수 후각의 Rexed I, II층판의 c-fos 면역반응 양성 신경원의 핵의 수를 유발 전, 유발 2시간 후, 8시간 후, 24시간 후, 7일 후에 계수하여 정량하였다. 아무런 조작을 가하지 않은 실험군 I의 L5 척수 후각 천층 c-fos 단백질 면역반응 양성 신경원 핵의 수는 평균 3.4±1.14개(n=5)로 나타났다. 실험군 II에서는 capsaicin 투여 2시간 후 척수 후각 천층의 c-fos 단백질 면역반응 양성 신경원의 수가 57.4±5.77로 나타났으며 실험군 III은 29.4±4.21, 실험군 IV는 35.0±2.23로 고주파 및 저주파 미세전류를 치료한 모든 군에서 c-fos 양성신경원수의 유의성(p<0.01) 있는 감소를 보였다. 통증을 유발한 실험군 II, III, IV에서는 8시간 이후부터 급격히 c-fos 양성신경원의 수가 감소하였으며, 특히 미세전류자극군인 실험군 III, IV에서 더욱 감소함을 알 수 있었으나, 24시간대에서 고주파 치료군에서만 유의성(p< 0.01)이 있었다(Fig. 1). 시간에 따른 실험군 간의 통계적 유의성 검정을 위하여 일요인 분산분석한 결과 2시간, 8시간, 24시간, 7일 모두

통계적으로 유의한 차이(p<0.01)를 나타내었다(Table 2). 사후검정에서는 실험군 II에 비해 실험군 I은 모든 시간대에, 실험군 III은 2시간과 24시간, 실험군 IV는 2시간 후에 통계적으로 유의한(p<0.01)를 나타내었다(Table 2).

Table 2. The result of immunohistochemical stain of c-fos in superficial dorsal horn after capsaicin injection

Group	Time				
	pre	2 hours	8 hours	24 hours	7 days
I	3.4±1.14	3.6±1.52*	4.0±1.00*	3.8±1.64*	3.6±1.14*
II	3.2±0.84	57.4±5.77	18.8±5.02	11.4±2.30	4.0±1.58
III	4.0±1.22	29.4±4.22*	14.2±3.70	6.6±2.41*	3.2±1.30
IV	3.8±0.84	35.0±2.24*	16.6±5.50	8.8±2.17	3.4±0.89

All values are showed mean±SD Tested by one-way ANOVA and multiple comparison test(*p<0.01).

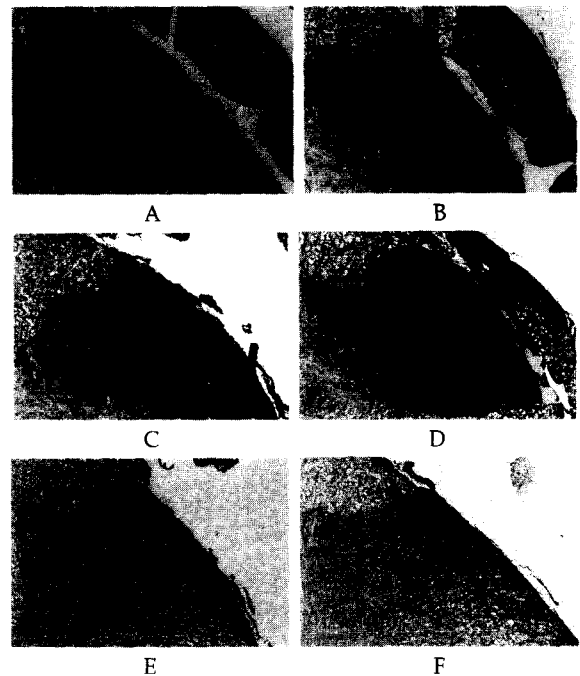


Fig. 1. The change of c-fos immunoreactive neurons in superficial dorsal horn (immunohistochemical stain, ×200). A : before capsaicin injection model, B : 2 hours in experimental group II, C : 2 hours in experimental group III, D : 2 hours in experimental group IV, E : 24 hours in experimental group II, F : 24 hours in experimental group III

2. CGRP 면역조직화학적 소견

척수신경절의 CGRP 면역반응 양성세포의 수를 CGRP에 대한 항체를 이용한 면역조직화학적 방법으로 염색하여 유발전, 유발 2시간 후, 24시간 후, 7일 후에 계수하여 정량 하였다. 정상대조군인 실험군 I의 CGRP 양성 신경원의 핵의 수는 평균 400±11.4개로 나타났다. 실험군 II에서는 capsaicin투여 2시간 후 CGRP 면역반응 양성 신경원의 수가 876.3±9.8개로 나타났으며 실험군 III은 507.9±8.2개, 실험군 IV는 513.45±4.5이었다. 실험군 II에 비해 capsaicin 투여 2시간 후 CGRP양성 신경원 수가 감소함을 알 수 있었다(Table 3). 척수신경절의 CGRP 면역반응 양성 신경원은 모든 군에서 capsaicin 투여 2시간 후 증가되는 양상을 보였다. 또한 실험군 III과 실험군 IV는 24시간 후 감소하는 양상

을 보이다가 7일 후는 정상대조군의 수준으로 떨어졌다(Fig. 2).

Table 3. The result of immunohistochemical stain of cgpr in superficial dorsal horn after capsaicin injection

Group	Time			
	pre	2 hours	24 hours	7 days
I	400±11.4	402.1±11.8	405.3±12.8	401.1±13.5
II	402.3±9.8	876.3±9.8	878.5±12.5	682.5±9.3
III	406.5±3.5	507.9±8.2*	452.3±5.6*	418.5±8.3*
IV	409.7±7.9	513.4±4.5*	467.4±9.7*	422.4±6.5*

All values are showed mean±SD. Statistical difference from group II (*p<0.05).

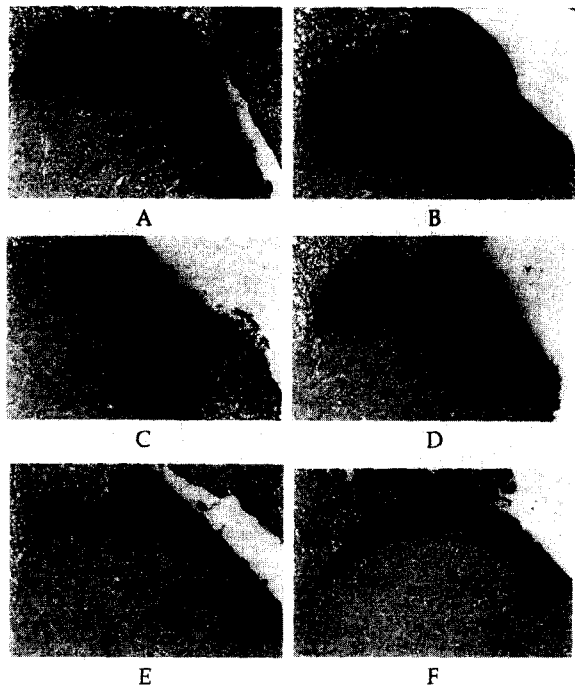


Fig. 2. The change of CGRP immunoreactive neurons in superficial dorsal horn(immuno-histochemical stain, ×200). A : before capsaicin injection model, B : 2 hours in experimental group II, C : 2 hours in experimental group III, D : 2 hours in experimental group IV, E : 7 days in experimental group II, F : 7 days experimental group III

고찰

본 연구는 전기치료법의 하나인 미세전류자극의 통증억제 효과를 알아보고자, capsaicin으로 통증을 유발한 후 통증에 대한 형태학적인 지표 중 하나인 c-fos변화와 통증을 전달하는 대표적인 신경전달물질인 CGRP의 발현을 관찰하였다. 통증은 질병이 이환되었을 때 나타나는 최초의 징후이며 또한 통증 그자체가 질병이 되어 치료 대상이 되기도 한다. Merskey³⁰⁾는 통증을 불쾌한 감각이며 실제로 혹은 잠재적으로 조직손상과 관련이 있는 정서적인 경험일 뿐만 아니라 항상 주관적인 경험이라고 하였다. 임상적으로 통증을 관리하기 위하여 여러 형태의 전기치료법이 널리 사용되고 있는데, 그 이유는 치료 상 위험성이 거의 없고, 약물치료나 수술이 많은 부작용을 초래하는 데 비해 조직을 상하지 않게 하는 장점이 있기에 여러 분야의 임상가들이 급성, 만성 동통의 치료를 위해 적용하고 있다²⁹⁾. 그 중에서 미세전류자

극 치료는 조직 치유나 통증감소를 위해 이용되었다²³⁾. Alverz 등⁷⁾은 24시간 동안 50-300µA의 지속적인 전류(continuous current)와 양극성(positive polarity)사용 시 대조군과 비교했을 때 상피 형성과 콜라겐 합성에 유의한 효과가 있다고 보고하였으며, 김현숙¹⁾은 측두하악 관절장애 환자 중에서 동통을 호소하는 환자를 대상으로 미세전류 치료시 하악 운동량의 증가와 동통의 완화에 효과가 있음을 보고하였다.

c-fos에 대한 대부분의 연구에서 c-fos 발현이 유해 자극에 대한 반응으로 나타나는 척수의 변화이며 그 발현정도를 평가함으로써 통증정도를 파악할 수 있다 하였다^{14,25)}. c-fos 발현은 막전위 정도와 리간드 혹은 전압 의존성 통로(voltage-gated channels)를 통한 Ca⁺⁺ 유입과 관계가 있다³⁹⁾. 본 실험에서는 capsaicin으로 통증 유발 후 2시간대에 c-fos 가 가장 많이 증가하였으며, 시간이 경과할수록 차츰 감소되는 소견을 보였는데 이는 c-fos cDNA probe를 사용한 RNA blotting analysis에서는 백서의 발에 염증 유발 물질을 주입하여 급성 염증을 유발하였을 경우 30분에 증가하기 시작하여 2시간에 최고치를 이루고 8시간에 거의 정상으로 환원되었다는 보고와 유사하였다¹⁴⁾. Bullitt⁹⁾는 뒷다리에 기계적 유해자극을 준 흰쥐에서 자극 2시간 후에 동측 척수와 양측 및 반대 측 시상에서 자극에 의한 칼슘이온의 세포내 유입으로 c-fos가 발현되었다고 보고하였으며, Strassman 등³⁴⁾은 흰쥐의 안면에 여러 가지 유해성 자극을 가했을 때 연수와 상부경수의 배측 각에서 체성순서적(somatotopic)인 c-fos 발현이 관찰되었다고 보고하였다. 유해자극 정보는 척수 혹은 삼차(caudal trigeminal)핵에 있는 유해성 신경원으로 유수신경섬유(Aδ섬유)와 무수신경섬유(C섬유) 일차 구심섬유에 의해 전달된다. 척수의 유해성 신경원은 원칙적으로 Rexed I, II의 바깥층 V와 VI, X에 위치하고 있다¹⁹⁾. 또한 c-fos는 유수신경섬유(Aδ섬유)와 무수신경섬유(C섬유) 활성화에 의해서만 촉발 된다²¹⁾. 여러 연구들에서 유해 자극 후 c-fos가 Rexed I, II와 V, X 층에서 발현한다고 하였다^{10,19)}. 따라서 본 실험에서도 capsaicin을 주사하여 급성통증을 유발하여 주파수에 따른 미세전류가 c-fos 단백질에 대한 항체를 이용한 면역조직화학적염색을 통해 형태정량학적으로 비교하였다. 그 결과, 척수 후각 lamina I, II에서 c-fos 단백질 양성 신경 세포의 수가 크게 증가하였는데 이는 통증 자극이 척수 후각으로 전해졌기 때문으로 해석 할 수 있다.

이는 대부분의 다른 연구자들의 실험결과와 일치하는 결과이다^{22,34,6)}. 본 실험에서 척수 후각에서 c-fos 발현의 역제는 미세전류자극이 통증전달 역제의 효과를 나타내는 직접적인 근거가 될 수 있다. 본 실험결과에서도 유해자극을 가 한 뒤 약 2시간 후에 최고조로 달하여 8시간 이후에는 급격히 감소하다가 7일 후에는 거의 정상 수준을 회복하였다. 그러나 미세전류 자극치료를 한 실험군에서는 2시간 후에 c-fos 발현이 많지 않음을 확인하였다. 이는 미세전류자극이 다양한 신경생리화적인 기전을 통해, 결국 통증반응의 유해자극 척도가 되는 c-fos 발현을 감소시켰음을 확인하였으며, 특히 고주파수가 저주파수 치료보다 더욱 좋은 진통효과를 보여 주었다. 이러한 결과는 말초의 유해한 자극에 비례하여 중추신경계에서 c-fos의 발현이 증가된다는 다른 연구

자들의 결과와 동일하였으며, 통증자극에 대한 신경활동의 지표로서 c-fos가 사용될 수 있음을 제시할 수 있을 것이라 생각된다. 또한 미세전류자극이 통증의 유해자극을 제거하는데 효과적인 치료법임을 증명하였다.

CGRP는 통증을 전달하는 무수신경섬유(C섬유)와 작은 유수신경섬유(Aδ섬유)에만 있다고 알려져 있으며²⁹⁾, 척수후각에서 발견되는 신경펩타이드 중 유일하게 일차 구심성 섬유에만 존재하는 신경전달물질이라는 보고가 있다²⁹⁾. 일차 구심성 섬유에 특수한 신경펩타이드인 것으로 보아 통각의 전도에 중요한 역할을 담당할 가능성도 크다고 보고되어 있다²⁹⁾. 본 연구에서는 면역반응도가 후각의 Rexed I, II 층판에서 강한 양성반응을 나타내었으며 Rexed II 층판에도 양성반응 구조를 관찰할 수 있었고, X 층판의 앞쪽과 뒤쪽에도 뚜렷한 양성반응 섬유다발이 관찰되었다. 실험군 I의 CGRP 면역반응도는 척수 후각의 Rexed I, II 층판에서 강한 양성반응을 나타내었다. 실험군 II에 있어 CGRP 면역반응도는 전체적으로 대조군과 비슷한 유형으로 나타났으나, 반응의 강도에는 차이가 있었다. 실험군 III, IV는 미세전류전기자극 적용 결과 두 군 모두 CGRP면역 양성반응도가 조금 약하게 반응함을 볼 수 있었다. 그러나 7일째 실험군 III, IV는 다른 실험군에 비해 아주 약한 반응을 나타냄을 볼 수 있었다. 모든 시기에서 CGRP 면역반응은 24시간까지는 대조군과 큰 차이가 없었으나 3일 후부터는 급격히 큰 폭으로 감소하였다. 이것은 신경펩타이드의 합성에 직접 영향을 미치지 않으므로, 세포체에서 CGRP가 모두 소실되는 데에는 어느 정도의 시간이 필요하다는 최경훈⁴⁾의 보고와 일치한다. 이러한 결과는 미세전류자극이 통증과 같은 유해자극이 있을 때 척수 분절 내에서 증가된 CGRP를 효과적으로 감소시킬 수 있는 방법으로 생각되며, c-fos와 달리 CGRP는 저주파와 고주파 미세전류자극에 별다른 차이를 관찰할 수 없었다.

이상의 결과로 보아 capsaicin으로 통증을 유발 백서에서 미세전류자극이 세포막 전위차를 형성할 수 있는 세포수준이 전기 에너지를 외부로부터, 공급함으로써 c-fos 발현 감소와 CGRP 면역반응을 감소시켜 통증 억제에 효과가 있음을 확인할 수 있었으며, 주파수에 따른 미세전류자극은 면역반응 c-fos와 CGRP 면역반응 결과 다소 고주파수 치료가 효과적임을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 고주파수 미세전류자극이 급성 통증에 효과가 있다는 임상적인 관점과도 일치한 소견임으로 c-fos 및 CGRP와 같은 통증반응의 중요한 지표들을 통해 미세전류자극 치료에 대한 과학적인 기초 자료를 제공하였다.

결 론

본 연구는 capsaicin으로 통증을 유발시킨 모델에서 저주파수 미세전류자극치료와 고주파수 미세전류자극 치료의 효과를 알아보기 위하여 척수 후각에서 c-fos 단백질을 항원으로 하는 면역조직화학적 방법과 척수 내에서 통증에 관여하는 신경전달 물질인 CGRP의 변화로 다음과 같은 결론을 얻었다. c-fos 면역조직화학적 실험결과 통증유발 후 2시간대에 가장 현저한 양성반

응을 확인하였고, 이후 차츰 감소하여 8시간대에는 급격히 감소하여, 7일후에는 거의 정상을 회복하였다. 미세전류 치료군에서는 c-fos 양성율이 2시간대부터 현저히 감소하였다($p < 0.01$). CGRP 면역조직화학적 실험결과 통증유발 후 24시간대 까지 현저히 증가하였다가, 7일후에 다소 감소하였다. 그러나 미세전류 치료군에서는 자극 후 2시간대부터 다소 증가하였다가 7일후까지도 거의 일정한 수준을 보여 주었다. 이상의 결과로 볼 때, 통증유발 백서에서 미세전류자극이 통증 억제에 효과가 있음을 확인할 수 있었으며, 주파수에 따른 미세전류자극 치료는 고주파수 치료가 저주파수 치료보다 더욱 효과적이었다.

참고문헌

1. 김현숙 : 미세전류 적용에 따른 측두하악관절장애 환자에 대한 치료 효과, 연세대학교 대학원 석사학위논문, 1995.
2. 이원택, 손민균, 정경승 등 : 말초신경손상이 실험적으로 유발된 흰쥐의 척수신경절 및 척수 등쪽뿌 내 신경세포의 형태학적 변화에 관한 연구. 대한해부학회지, 30, 495-510, 1997.
3. 정진우 : Microcurrent의 통증완화효과에 대한 고찰. 대한물리치료사학회지, 12(2), 195-205, 1991
4. 최경훈 : 신생 흰쥐에 투여한 capsaicin이 척수 신경절의 substance P 함유신경세포와 calcitonin generelated peptide 함유 신경세포의 발달과정에 미치는 영향에 대한 형태계측학적 연구, 연세대학교 대학원 석사학위논문, 1997.
5. Abbadie, C. and Besson, J.M. C-fos expression in rat lumbar spinal cord during the development of adjuvant-induced arthritis. Neuroscinece, 48, 985-993, 1992.
6. Abbadie, C. and Besson, J.M. Effects of morphine and naloxone on basal and evoked fos-like immunoreactivity in lumbar spinal cord neurons of arthritic rats. Pain, 52, 29-39, 1993.
7. Alverz, O., Mertz, P.M., SMerbeck, R.V. et al. The healing of superficial skin wounds is stimulated by external current. J. Invest Dermatol, 81, 144-148, 1983.
8. Bester, H., Matsumoto, N., Besson, J.M. et al. Further evidence for the involvement of the spinoparabrachial pathway in nociceptive processes: a c-fos study in the rat. J. Comp. Neurol. 97, 383-439, 1997.
9. Bullitt, E. Induction of c-fos-like protein within the lumbar spinal cord and thalamus of the rat following peripheral stimulation. Brain Res, 493, 391-397, 1989.
10. Bullitt, E. Expression of c-fos like protein as a marker for neuronal activity following noxious stimulation in the rat. J. Comp. Neurol. 296, 517-530, 1990.
11. Cheung, N., Van Hoff, H., Bockx, E., et al. The effect of electrical current on ATP generation protein synthesis and membrane transport in rat skin. Clin. Orthop. 171, 264-272, 1982.
12. Chung, K., Lee, W.T., Carlto, S.M. The effects of dorsal

- rhizotomy and spinal cord isolation on calcitonin gene-related peptide-labeled terminals in the rat lumbar dorsal horn. *Neurosci. Lett.* 90, 27-32, 1988.
13. Draisci, G. and Iadarola, M. Temporal analysis of increases in c-fos, preprodynorphin and preproenkephalin mRNA in rat spinal cord. *Molecular Brain Res.* 6, 31-37, 1989.
 14. Dray, A., Urban, L., Dickenson, A. Pharmacology of pain. *Trends in Pharmacol. Sci.* 15, 190-197, 1994.
 15. Dubner, R. and Ruda, M.A. Activity-dependent neuronal plasticity following tissue injury and inflammation. *Trends Neurosci.* 15, 96-103, 1992.
 16. Gersh, M.R. Electrotherapy in rehabilitation. Philadelphia, FA Davis company. 167-168, 1992.
 17. Greenberg, M.E., Greene, L.A., Ziff, E.B. Nerve growth factor and epidermal growth factor induce rapid transient change in proto-oncogene transcription in PC12 cells. *J. Biol. Chem.* 260, 14101-14110, 1985.
 18. Harmann, P.A., Chung, K., Briner, R.P., et al. Calcitonin gene-related peptide in the human spinal cord: A light and electron microscopic analysis. *J. Comp. Neurol.* 269, 371-380, 1988.
 19. Harris, J.A. Using c-fos as a neural marker of pain. *Brain Res. Bull.* 45, 1-8, 1998.
 20. Hathaway, C.B., Hu, J.W., Bereiter, D.A. Distribution of Fos-like immunoreactivity in the caudal brainstem of the rat following noxious chemical stimulation of the temporomandibular joint. *J. Comp. Neurol.* 356, 444-456, 1995.
 21. Herdegen, T., Kovary, K., Leah, J. Specific temporal and spatial distribution of JUN, FOS and KROX-24 proteins in spinal neurons following noxious transsynaptic stimulation. *J. Comp. Neurol.* 313, 178-191, 1991.
 22. Hunt, S.P., Pini, A., Evan, G. Induction of c-fos like protein in spinal cord neurons following sensory stimulation. *Nature.* 328, 63-634, 1987.
 23. Kahn, J. Principles and practice of Electrotherapy. 2nd Edition, New York, Churchill Livingstone. 81-84, 1991.
 24. Königsmark, B.W. Methods for the counting of neurons. In Nauta JH, Ebesson OE, eds. Contemporary Research Methods in Neuroanatomy. New York, Springer-Verlag. 315-380, 1970.
 25. Lanteri-Minet, M., Weil-Fugazza, J., de Pommery, J., Menetrey, D. Hindbrain structures involved in pain processing as revealed by the expression of c-fos and other immediate early gene proteins. *Neuroscience.* 58, 287-298, 1994.
 26. Lee, W.T., Chung, K., Carlton, S.M. Origin of calcitonin gene-related peptide in the rat spinal cord. *Soc. Neurosci. Abstr.* 14, 357, 1988.
 27. Lein, D.H., Clelled, J.A., Knowles, C.J., et al. Comparison of effect of TENS of auricular, somatic and the combination of auricular and somatic acupuncture points on experimental pain threshold. *Phys. Ther.* 69, 671-678, 1989.
 28. Long, D.M. Stimulation of the peripheral nervous system for pain control. *Clin. Neurosurg.* 31, 323-343, 1983.
 29. McNeill, D.L., Chung, K., Carlton, S.M., et al. Calcitonin gene-related peptide immunostained axons provide evidence for fine primary afferent fibers in the dorsal and dorsolateral funiculi of the rat spinal cord. *J. Comp. Neurol.* 272, 303-308, 1988.
 30. Merskey, H. Pain terms: A list with definitions and notes in usages. *Pain.* 6, 249-252, 1979.
 31. Molander, C., Hongpaisan, J., Grant, G. Changing pattern of c-fos expression in spinal cord neurons after electrical stimulation of the chronically injured sciatic nerve in the rat. *Neuroscience.* 50, 223-236, 1992.
 32. Owoeye, I., Spielholz, N.J., Fetto, J., et al. Low-intensity pulsed galvanic current and the healing of tenotomised rat achilles tendons: Preliminary report using load-to-breaking measurements. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 68, 415-418, 1987.
 33. Skofitsch, G. and Jacobowitz, D.M. Calcitonin gene-related peptide: detailed immunohistochemical distribution in the central nervous system. *Peptide.* 6, 721-745, 1985.
 34. Strassman, A., Mason, P., Moskowitz, M., et al. Response of brainstem trigeminal neurons to electrical stimulation of the dura. *Brain Res.* 379, 242-250, 1986.
 35. Zhang, R.X., Mi, Z.P., Qiao, J.T. Changes of spinal substance P, calcitonin gene-related peptide, somatostatin, Met-enkephalin and neurotensin in rats in response to formalin-induced pain. *Regul. Pept.* 51, 25-32, 1994.