한국전문물리치료학회지 제 17권 제 1호
PTK Vol. 17 No. 1 2010.

일과성 전뇌허혈 유발 쥐의 침전극 저주파자극 후 대뇌의 c-Fos 발현에 미치는 영향

이정숙
동주대학 작업치료과
김성원
한영대학 작업치료과

Abstract

Effect of NEES on the Occurrence of c-Fos in the Cerebrum of a Rat With Transient Global Ischemia

Jung-sook Lee, Ph.D., O.T.
Dept. of Occupation Therapy, Dong-ju College University
Sung-won Kim, Ph.D., P.T.
Dept. of Occupation Therapy, Han-yeong College University

Ischemia that causes stroke induces inflammation of brain cells and apoptosis and as a result, it influences much on the functional part of a man. The needle electrode electrical stimulation (NEES) that combines acupuncture of oriental medicine with electric therapy of western medicine relieves inflammation of cells and has effect on regrowth of nerve tissues. This study was conducted to verify the influence of NEES on the occurrence of c-Fos of cerebrum after applying NEES to the meridian point, Zusanli (ST 36) of a rats with induced ischemia. Global ischemia was induced by using ligation method on common carotid artery of male Sprague Dawley (SD) rats. The ligation was maintained for 5 minutes and then suture was removed for blood reperfusion. After inducing global ischemia, NEES was done to the left and right meridian points of Joksamri of a rat for 30 minutes after 12 hours, 24 hours, and 48 hours. The findings were as follows. 1. In the result of immunohistochemical method, the number of c-Fos immune response cells significantly decreased ($p<.05$) in NEES group than the control group (GI) that did not get NEES. 2. In the result of western blotting, the occurrence of c-Fos after 24 hours from the inducement of ischemia significantly decreased ($p<.05$) in NEES group than the control group (GI) that did not get NEES. Therefore, as the effect of NEES was shown highest after 24 hours from the ischemia, it is suspected that NEES would take important role in early treatment after cerebral stroke.

Key Words: Inflammation; Ischemia; Needle electrode electrical stimulation; Reperfusion; Zusanli.

Ⅰ. 서론

뇌혈관 질환 중 뇌졸중은 뇌의 혈액 공급 장애로 인한 급성 신경학적 손상에 의하여 중추신경계 기능의 장애로 발생하며, 뇌졸중의 80% 이상은 자연 발생적인 허혈이 원인이다. 허혈은 혈전증, 색전증, 또는 뇌 내 출혈 등으로 발생하지만, 1980년대 이후 뇌출혈보다는 뇌경색이 증가하는 경향을 보이고 있다(통계청, 1997). 허혈은 뇌 조직을 파괴시켜 편측마비, 언어장애, 지각이상, 의식장애 등을 유발한다(Aho 등, 1980).

중추신경계에 대한 재활의학은 전기치료를 통한 신경재생 등이 효과적으로 적용되어지고 있다. 특히 전기적인

통신저자: 김성원 johnswkim@hanafos.com

자극은 18세기 중세시대에 신경계의 질병을 위한 가장 대중적인 치료였으며(Du Bois-Reymond, 1848; Duchenne de, 1855), 특히 생체 밖에서의 직류전류 적용은 신경재생을 촉진시키는 것으로 알려져 있다(Hinkle 등, 1981; Patel과 Poo, 1982). 그리고 동양의 침술 자극이 중추신경계의 특정부위로 전달되는 경로를 시각화하는 연구가 활발하게 진행되어 경혈에 대한 치료가 중추신경계에 다양한 영향을 주는 것이 입증되고 있다(Wu 등, 1999).

침술은 뇌졸중이나 여러 신경질환을 치료하는데 사용되고 있다(Magnusson 등, 1994). 뇌혈류 SPECT를 이용한 연구에서 정상인과 뇌졸중 환자에게 침 자극을 통해 뇌혈류가 증가하였으며(Newberg와 Alavi, 1998), 다른 연구에서도 뇌혈관이 확장되어 뇌혈류가 증가하고(Yuan 등, 1998), 뇌조직의 혈류와 세포내 산소포화도가 증가되었다(Chen과 Erdmann, 1978).

흰쥐에서 경혈점에 따라서 경혈점 족삼리 전침 처리가 NADPH-d 활성이 가장 낮았으므로 NO 생산도 가장 낮다. 즉 전침자극 부위에 따라 신경세포 반응이 다르게 나타나므로 질병치료에서 적절한 경혈점의 선택이 중요하다(김용석 등, 1999). 고혈압을 위한 침구 경혈은 풍지, 곡지, 족삼리, 태충, 행문. 양릉천, 내관 등이 주로 이용되며, 중풍 예방에 족삼리, 현종 등이, 중풍 치료에는 족삼리, 합곡, 백회, 풍시, 현종, 곡지, 견정 등이 이용된다(임종국, 1983; 전국한의과대학, 1988). 본 연구에서 사용된 경혈점 족삼리는 고혈압 및 중풍예방 또는 치료와 더불어 통증이 억제된다(서영아 등, 1998; 신권성, 1998). 또 한 침전극저주파 자극의 적용은 허혈상태에서 세포자멸사와 관계된 Bax, Caspase-3, 면역반응세포는 허혈 후 12시간과 24시간에서 침전극저주파 자극의 효과가 크게 나타났다(김성원 등, 2008).

뇌 손상이 일어난 후 c-Fos mRNA와 단백질은 뇌피질 전반의 병변이 있는 부위로 신속하게 일시적인 축적이 일어난다(Comelli 등, 1993; Dragunow와 Robertson, 1988). 더욱이 c-Fos와 COX-2는 최근 염증과 연관된 세포독성에 중요한 결정요소로 알려져 있다(Seibert 등, 1995; Smith와 Dewitt, 1995). c-Fos단백은 세포주기진행 및 종양형성과 같은 생물학적 현상과도 연관되어 있음이 보고되었으며(Shaulian과 Karin, 2001), 발생 중의 골 및 중추신경계와 거대핵세포를 비롯한 조혈세포에서도 c-Fos의 활성이 증가됨이 보고되어있다(Alitalo 등, 1990; Caubet 등, 1989; Dony와 Gruss, 1987; Smeyne 등, 1992).

뇌 허혈은 즉시 뇌조직에서 생화학적인 변화를 야기시키며 뇌 허혈이 유발된 후 수분이내에 신경세포 유전자들의 발현을 증가시키는데 이러한 매우 빠른 반응을 나타내는 유전자들이 초기발현 유전자이다(Akins 등, 1996). c-Fos와 c-jun은 초기발현 유전자에 속하며, 초기발현 유전자는 중추신경계에서 다양한 요소들에 의해 발현이 유도된다. 그 예로 장기 강화 및 통각 시 발현이 유도되고 병적인 상태로 간질, 허혈 시에도 이러한 유전자의 발현을 볼 수 있다. 초기발현 유전자는 세포의 성장과 분열, 분화와 발달에 관여하고, 신경세포사멸, 축삭 발아 시 중요한 역할을 하며 다른 유전자의 발현을 조절한다고 알려져 있다(Akins 등, 1996; 김선국 등, 2000). 즉 c-Fos는 허혈성 손상 후 특히, CA1 부위에서 곧바로 초기 유전자와 그 전사 인자를 신속하게 유도하며, 지속적인 c-Fos의 유도는 허혈성 손상 후 신경 사멸 촉진 원인으로 작용을 하는 것을 알 수 있다(Domańska-Janik 등, 1999).

이에 본 연구는 뇌 허혈 유발 쥐에 침전극 저주파자극 후 대뇌의 c-Fos 발현에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위하여 족삼리(ST 36)에 침전극 저주파자극을 가한 후 대뇌부위에 신경세포 c-Fos 단백질 변화를 연구함으로써 초기 허혈성 뇌손상으로 인한 신경사멸에 대해 전기치료적 관점에서 보다 적극적인 접근방법을 모색해 보고자 한다.

Ⅱ. 연구방법

1. 실험동물

본 연구에서 사용되어진 실험동물은 1주일 이상 실험실 환경에 적응시킨 체중 300 g 내외의 8주령 특정병원체 부재(specific pathogen free; SPF)인 수컷 Sprague Dawley(SD) 쥐 21마리를 사용하였다. 온도와 습도, 공기 청정 상태를 일정하게 유지하며 물과 사료는 충분히 공급해 주었으며, 실험실의 온도는 22±1℃, 습도는 45~55%정도를 상시 유지하였다.

2. 허혈 유발 모델 및 침전극 저주파 자극

실험동물을 3% isoflurane[1)]으로 마취 상태를 유지하며, 목 정중선에서 양쪽의 온목동맥(common carotid artery) 부분을 2 ㎝ 정중 절개한 후 미주신경 등을 분리하고 온목동맥을 노출시키고 양측의 온목동맥을 비흡수성 봉합

1) 3% isoflurane, Choonghwae pharma Co., Seoul, Korea.

사로 완전히 결찰한 후 5분간 유지하였으며, 이 후 봉합사를 제거하여 혈액이 재관류 할 수 있게 하였다.

온목동맥폐쇄를 유발하지 않은 대조군과 온목동맥폐쇄를 유발한 global ischemia 군(GI 군), GI를 유발시킨 뒤 침전극저주파자극(needle electrode electrical stimulation; NEES)을 시행한 NEES 군으로 구분하여 각 군마다 3마리씩 사용하여 연구를 시행하였다. GI 군과 NEES 군은 온목동맥폐쇄 12시간, 24시간, 48시간 후 GI 군은 30분간 3% isoflurane을 이용한 마취만 시킨 후에 회복시켰고, NEES 군은 3% isoflurane 마취와 동시 30분간 쥐의 좌·우측에 경혈점 족삼리(ST 36)에 침전극저주파자극기[2]를 이용하여 시행하였다. 침전극저주파자극은 교류 2 ㎐로 시행하였으며, 강도는 쥐의 자극지점 주위 근육의 움직임에 따라 조절하였다.

3. 면역조직화학

온목동맥폐쇄에 의한 GI 유발 모델 쥐의 대뇌 중 전뇌부위를 선택 후 정단면으로 절단하여 샘플을 만들어 면역조직화학적 검사법을 실시하였다. 4% paraformaldehyde에 고정된 뇌를 동결절편 하였고, free-floating 법으로 실시하였으며, Vectastain ABC Kit[3]를 사용하였다. 박절된 조직을 .1M PBS로 5분간 3회 수세한 후 1% H_2O_2로 blocking(peroxidase blocking, .1M PBS)시킨 뒤 2% normal goat serum에서 30분간 실온에 방치하였다. 일차항체는 Anti-c-Fos를 사용하였고, 일차항체를 4℃에서 3일간 반응시킨 뒤 .1M PBS에 5분간 3회 수세하고, 이차항체를 1일간 4℃에서 반응시켰다. 그 후 .1M PBS에 5분간 3회 수세하고, Avidin-Biotin Peroxidase complex를 3시간 동안 상온에서 반응 시킨 후 .1M PBS에 5분간 3회 수세 하였다. DAB[4] 발색 후 1% gelatin 용액으로 조직을 슬라이드에 올린 후 건조기에 2시간 정도 건조 시켰으며, 탈수와 투명과정을 거쳐 permount[5] 용액으로 봉입시켰다.

4. 웨스턴 블롯팅(Western blotting)

적출한 대뇌를 부위별로 구분하고, 균질기를 사용하여 균질하게 파쇄한 후 1000 rpm에서 원심분리 하여 상층액을 버린 뒤 2 ㎖의 cold PBS를 이용하여 두 번 세척하였다. 원심분리한 후 상층액 만을 취한 뒤 단백질 양은 Protein assay kit(Bio-rad)를 사용하여 750 ㎚에서 흡광도를 측정하였다. 정량이 된 단백질에 lysis buffer와 sample buffer(60 mM tris; pH 6.8, 10% glycerol, 2% SDS, .01% bromophenol blue)를 섞어 단백질 양을 동일하게 한 후 100℃ heat block에서 5분 동안 끓이고, 원심분리하여 시료를 모았다. 30% polyacrylamide mix와 3차 증류수, 1.5 M tris(pH 8.8), 10% SDS, 당일 제조된 10% ammonium persulfate, TEMED를 혼합하여 separating gel(12%~15%)을 만든 다음, 깨끗이 세척하여 조립된 전기영동 유리판에 용액을 부어 겔을 굳혔다. Stacking gel은 30% polyacrylamide mix와 3차 증류수, 1 M tris(pH 6.8), 10% SDS, 당일 제조된 10% ammonium persulfate, TEMED를 혼합하여 separating gel 위에 부어 완전한 겔을 형성하였다. 전기영동 running buffer는 tris base 30.0 g, glycine 144 g, SDS 10 g을 1 ℓ에 녹여 10× stock을 만들었다. 정량한 단백질을 10~20 ㎕를 부가하고 100 V로 약 1시간 동안 흘렸다. 전기 영동된 겔은 니트로셀루로즈 막에 100 V 1시간 동안 transfer 되었다. Transfer buffer의 조성은 1 ℓ에 tris-base 3.03 g glycine 14.63 g, 메탄올 200 ㎖으로 만들어서 4℃ 보관 후 사용하였다. 이동된 얇은 막은 200 mM tris-base, 1.54 M NaCl, 3차 증류수, tween 20으로 조성된 TTBS(pH 7.5)용액으로 세척 후 5% 탈지유에 담아 4℃에서 하루를 보냈다.

다음날 blocking 용액 제거 후, 면역염색에 사용한 항체와 동일한 1차 항체를 5% 탈지유로 1000배 희석하여 만든 용액에 얇은 막을 넣어 1시간 반응 시킨 후 TTBS용액으로 10분간 3회 세척 하였으며, 2차 항체를 5% 탈지유로 1000배 희석하여 만든 용액에 얇은 막을 넣어 1시간 동안 반응을 유도 시켰다. 용액을 제거한 후, TTBS로 10분씩 3번 세척하였다. ECL kit[6]용액 A와 B를 40:1로 잘 섞어 얇은 막에 적시고 1분간 반응시킨 후 카세트에 얇은 막을 올려놓고 X-ray film으로 감광시켰다. 일정 시간 감광 시킨 다음 발현하여 밴드 확인한 후 고정기에 담아 고정시켰다. 고정이 끝난 후, 흐르는 물로 깨끗이 씻어 건조 후 스캐닝 하여 농도계(Bio-rad)로 각 밴드의 광학밀도를 측정하였다.

---

2) PG6 9V, ITO Co., Japan.
3) Vectastain ABC Kit, Vector Lab, California, U.S.A.
4) DAB, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, U.S.A.
5) Permount, Fisher Scientific Inc., NJ, U.S.A.
6) ECL kit, Amersham, U.S.A.

5. 분석방법

본 연구에서 수집된 모든 자료는 부호화 후 컴퓨터를 이용한 통계처리 프로그램(SPSS 12.0K/PC)으로 분석하였다. 대조군, 뇌졸중 유발군, 뇌졸중 유발 후 치료군의 효과를 알아보기 위해 유의수준은 α=.05로 설정하고 Kurskal-Wallis 분석을 사용하여 대조군과, 뇌졸중 유발군, 뇌졸중 유발군과 뇌졸중 유발 후 치료군간의 차이 분석을 실시하였다.

Ⅲ. 결과

1. 대뇌의 c-Fos 반응 세포 수 변화

허혈 유발 후 쥐 대뇌 c-Fos 반응 세포 수는 그림 1과 그림 2에서 보는 바와 같이 허혈 유발 후 12시간에서의 c-Fos 반응 세포 수가 대조군에서 35.00±7.00이었고, GI군과 NEES군에서는 각각 109.33±15.31와 96.00±12.77로서 대조군에 비하여 증가하였다. 24시간 후의 c-Fos 반응 세포 수는 대조군은 36.33±4.16이었고, GI군에서는 140.33±15.95이었으며, NEES군에서는 102.33±1.53으로 GI군에 비하여 유의적으로 감소하였다(p<.05). 허혈 유발 48시간 후 GI군의 c-Fos 반응 세포 수는 48.67±8.50이었으며, NEES군의 반응 세포 수는 59.33±6.03으로서 각각 24시간에 비하여 감소하였으나 유의적인 차이는 없었다.

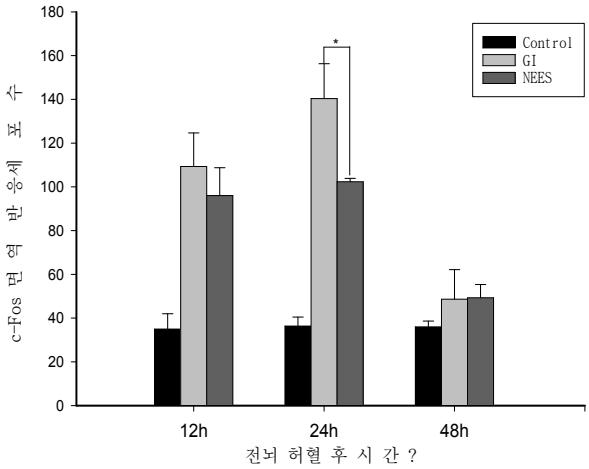

그림 1. 허혈 유발 후 침전극저주파자극에 대한 쥐의 대뇌 c-Fos 반응세포 수치 변화. Control: 온목동맥폐쇄를 유발하지 않은 대조군, GI: 온목동맥폐쇄로 유발된 뇌허혈 군, NEES: 뇌허혈을 유발시킨 뒤 침전극저주파자극을 시행한 군(*p<.05).

2. 대뇌의 c-Fos 단백 발현 변화

허혈 유발 후 쥐 대뇌 c-Fos 발현은 그림 3에서 보는 바와 같이 허혈 유발 후 12시간에서의 c-Fos 발현은 대조군에서 111.02±4.00이었고, GI군과 NEES군에서는 각각 197.99±8.00과 184.78±13.61로 대조군에 비하여 증가하였다. 24시간 후의 c-Fos 발현은 대조군은 113.67±3.05이었으며, GI군에서는 200.59±4.88이었고, NEES군에서는 178.26±3.03로 GI군에 비하여 유의적으로 감소하였다(p<.05). 허혈 유발 48시간 후 GI군의 c-Fos 발현은 186.67±3.05이었으며, NEES군에서는 176.25±3.19로 GI군에 비하여 감소하였으나 유의적인 차이는 없었다.

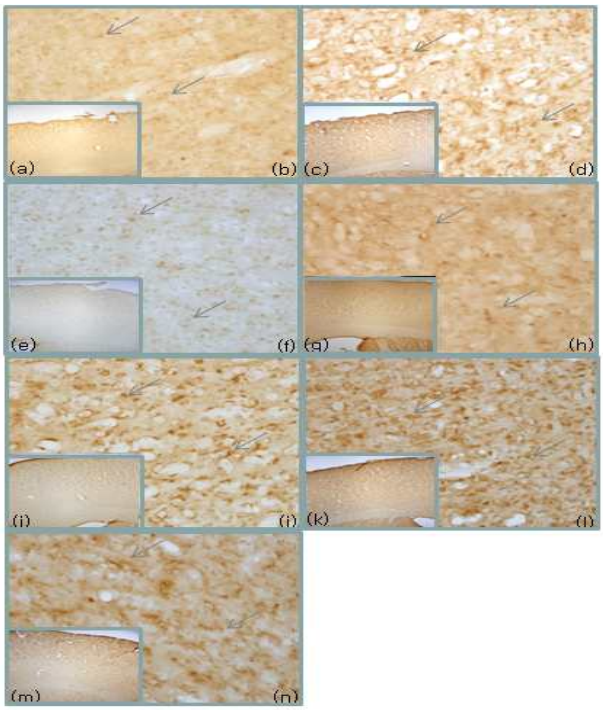

그림 2. 허혈 유발 후 침전극저주파자극에 대한 쥐의 대뇌 c-Fos 반응세포. a: 온목동맥폐쇄를 유발하지 않은 대조군(X 40), b: 온목동맥폐쇄를 유발하지 않은 대조군(X 200), c: 뇌허혈 12시간 후(X 40), d: 뇌허혈 12시간 후(X 200), e: 뇌허혈 24시간 후(X 40), f: 뇌허혈 24시간 후(X 200), g: 뇌허혈 48시간 후(X 40), h: 뇌허혈 48시간 후(X 200), i: 뇌허혈 12시간 후 침전극전기자극(X 40), j: 뇌허혈 12시간 후 침전극전기자극(X 200), k: 뇌허혈 24시간 후 침전극전기자극(X 40), l: 뇌허혈 24시간 후 침전극전기자극(X 200), m: 뇌허혈 48시간 후 침전극전기자극(X 40), n: 뇌허혈 48시간 후 침전극전기자극(X 200).

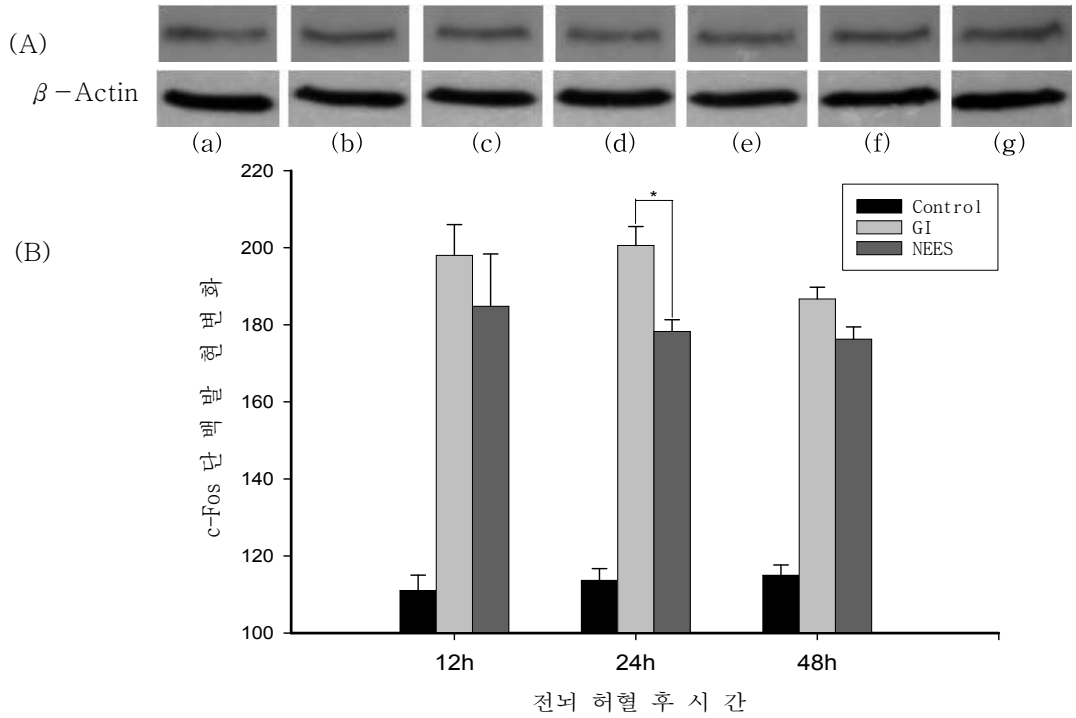

그림 3. 허혈 유발 후 침전극저주파자극에 대한 쥐의 대뇌 c-Fos 단백 발현 변화. A: 대뇌에서 추출한 c-Fos 단백. a: 대조군, b: 뇌허혈 12시간 후, c: 뇌허혈 24시간 후, d: 뇌허혈 48시간 후, e: 뇌허혈 12시간 후 침전극전기자극, f: 뇌허혈 24시간 후 침전극전기자극, g: 뇌허혈 48시간 후 침전극전기자극. B: 단백 발현 결과. Control: 온목동맥폐쇄를 유발하지 않은 대조군, GI: 온목동맥폐쇄로 유발된 뇌허혈 군, NEES: 뇌허혈을 유발시킨 뒤 침전극저주파자극을 시행한 군(*$p<.05$).

Ⅳ. 고찰

침요법과 신경전달물질과의 상관성에 관한 연구는 매우 활달하게 진행되어지고 있다. 뇌 혈액순환 개선, 통증 조절 그리고 중추신경계에서의 신경조절기능의 개선 등과 같은 다양한 효과에 대한 연구가 현재 계속 되고 있으며(Cho 등, 1998; Jang 등, 2003; Uchida 등, 2000), 침을 이용한 치료와 관련하여 허혈을 포함한 뇌혈관사고의 증상 개선에 특별한 효과를 가지고 있다는 연구결과 등이 있다(Gao 등, 2002; Kim 등, 2001). 이러한 침의 효과는 뇌졸중을 포함한 다양한 장애로부터 기능적인 회복을 증대시키기 위하여 사용되고 있으며(Jang 등, 2003), 특히 침술 치료의 가장 강력한 효과 중의 하나는 뇌졸중의 합병증으로부터 신속하게 회복시킨다(Inoue 등, 2002). 또한 경혈점 중에서 족삼리에 관한 연구는 혈압 조절에도 효과가 있다는 것이 증명되었다(김기현과 이윤호, 1986; 김경식 등, 1984; 이상룡 등, 1987).

기관이나 조직의 허혈-재관류는 소포체의 구조나 기능에 영향을 주는 복잡한 생화학적 반응을 야기시키는 세포 손상을 초래한다. 일과성 전뇌 허혈은 선택적 신경세포 손상을 초래하며 이러한 세포 손상은 허혈 후 수일이 경과되어야 현저해지는 지연성의 특징을 보인다(Horn과 Schlote, 1992; Ito 등, 1975; Shigeno 등, 1991).

세포자극에 빠르게 활성화되고, 단백질 합성 억제제에 의해 발현이 억제되지 않는 유전자를 급성발현 유전자라고 한다. 대부분의 경우에 이런 급성발현 유전자는 전사물질로 작용하여 순차적으로 표적 유전자로 알려진 다른 유전자의 발현을 조절한다(Sheng과 Greenberg, 1990). 지금까지 많은 급성발현유전가가 알려져 있으며, 그 중에 가장 대표적인 것이 c-Fos와 c-jun이다. c-Fos 생산물은 c-jun 단백질이 DNA에 결합하는 것을 증가시키는 등 서로 상호보완작용을 하는 것으로 알려져 있다(Kouzarides과 Ziff, 1988; Nakabeppu 등, 1988). 또한 c-Fos는 뇌 허혈시에 자멸사를 유발하는 촉진자로서 역

할을 하는 것으로도 알려져 있다(Akins 등, 1996).

본 연구에서도 허혈이 유발하는 세포자멸사를 확인한 결과 c-Fos 변화는 면역조직화학 및 웨스턴 블롯팅의 결과에서 허혈에 의하여 대뇌의 전반부에서 증가함을 알 수 있었으며, 이러한 결과는 이전의 연구결과 신피질에서 발현되는 같은 양상을 나타내었다. 족삼리에 침전극저주파 자극을 시행한 후 면역조직화학 결과에서 c-Fos 반응 세포 수 변화 비교는, 허혈 유발 후 12시간에서 c-Fos 반응 세포 수가 대조군보다 GI군과 NEES군에서 각각 증가하였으며 GI군보다 NEES군이 적게 관찰 되었다. 24시간 후에서는 대조군보다 증가하였고, GI군은 140.33±15.95이었으며 NEES군은 102.33±1.53으로 GI군에 비하여 유의적인 감소를 나타내었다($p<.05$). 허혈 유발 48시간 후 GI군과 NEES군의 반응 세포 수는 각각 24시간에 비하여 감소하였으나 유의적인 차이는 없었다. c-Fos 발현은 24시간 후의 GI군에서 200.59±4.88이었고, NEES군은 178.26±3.03로 GI군에 비하여 유의적으로 감소하였다($p<.05$). 12시간 후 보다 24시간에 반응세포 수가 증가를 보이고 있는데 이는 주위 세포에 의한 자극을 받아 염증이 일어난 결과로 보인다. 웨스턴 블롯팅 결과 c-Fos 발현 비교에서, 허혈 유발 후 12시간에서 c-Fos 발현은 대조군보다 GI군과 NEES군에서 증가하였으며, GI군보다 NEES군에서 적게 관찰되었다. 허혈 유발 24시간 후에서는 GI군은 200.59±4.88이었고, NEES군은 178.26±3.03로 GI군에 비하여 유의적으로 감소하였고($p<.05$), 허혈 유발 48시간 후 NEES군은 GI군에 비하여 감소하였으나 유의적인 차이는 없었다. 이러한 결과 면역조직화학 및 웨스턴 블롯팅 모두에서 NEES 적용이 GI 상태에서 대뇌에서 c-Fos에 대하여 24시간에 유의한 차이 효과를 나타냈으며, 12시간에서도 NEES군이 GI군보다 적게 관찰되는 차이를 보였지만 유의하지는 못했다.

이상의 연구 결과를 보아 침전극저주파자극이 초기에 세포자멸을 촉진하는 c-Fos의 발현시기를 지연시켜 세포자멸의 지연 및 억제를 시켰다고 사료되며, 본 연구에서 동물실험을 통해 얻어진 결과 뇌혈관 손상 환자에게 적용함에 있어 주의와 체계적인 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

Ⅴ. 결론

뇌졸중을 유발하는 허혈은 뇌세포의 염증과 세포자멸 등을 유발하여 사람의 기능적인 부분에 많은 영향을 준다. 동양의학의 침과 서양의학의 전기치료를 접목시킨 침전극 저주파 자극은 세포의 염증을 완화시켜주며 신경재생에 효과가 있다. 허혈을 유발시킨 쥐의 족삼리(ST 36)에 침전극 저주파자극 후 대뇌의 c-Fos 발현에 미치는 영향을 규명하고자 본 연구를 실시하였다. 뇌허혈은 수컷 SD 쥐의 온목동맥을 결찰하여 유발하였고, 5분간 유지 후 봉합사를 제거하여 혈액을 재관류시켰다. 허혈 유발 후 쥐의 좌·우측에 경혈점 족삼리에 12시간, 24시간, 48시간 후 침전극저주파자극(needle electrode electrical stimulation; NEES)을 30분간 시행하였다. 대뇌의 신경세포에서 c-Fos 항체에 반응하는 면역반응세포와 Western blotting으로 이들 단백 발현을 조사하였다. 결과는 다음과 같다. (1) 면역조직화학 결과에서 c-Fos 반응 세포 수는 24시간에서 침전극저주파 자극을 시행하지 않은 대조군(GI)에 비하여 NEES군이 유의적인 감소를 나타내었다($p<.05$). (2) 웨스턴 블롯팅 결과에서 c-Fos 발현은 허혈 유발 24시간 후에서 침전극저주파자극을 시행하지 않은 대조군(GI)에 비하여 NEES군이 유의적으로 감소하였다($p<.05$). 따라서 허혈 후 24시간에 NEES가 가장 효과가 크게 나타남으로써 침전극저주파자극이 허혈성 뇌졸중 이후 조기치료에 중요한 역할을 할 수 있을 것으로 사료된다. 또한 본 연구의 제한점은 실험을 통해서 얻어진 결과를 사람에게 그대로 적용 할 수 없으며, 실험동물 개체에 따른 뇌 허혈 유발 정도의 차이가 있을 수 있다.

인용문헌

김기현, 이윤호. 침자극이 백서의 맥박수와 혈압에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1986;(1):39-52.

김선국, 이용만, 방선웅 등. 벤자틴 페니실린에 의해 유도된 국소 발작간 간질양 파형이 백서 대뇌에서 c-jun 단백질 발현 양상에 미치는 영향. 대한신경과학회지. 2000;18(5):617-623.

김성원, 김병기, 이정숙 등. Effects of needle electrode electrical stimulation on rat brain by ischemia-induced common carotid artery occlusion. 한국실험동물학회. 2008;24(4):593-599.

김경식, 임종국, 김정유. 십선혈침자가 자연발증고혈압 백서의 혈압에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1984;1(1):97-104.

김용석, 김창완, 허영범 등. 전침자극이 SHR 흰쥐 대뇌의 NADPH-diaphorase와 Neuropeptide Y 신경세포에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1999;16(4):283-291.

서영아, 송형근, 나창수 등. 족삼리의 전기침자극에 대한 개구반사 크기의 변화. 대한소아치과학회지. 1998;25(4):789-96.

신권성. 족삼리 침자가 동통억제에 미치는 영향. 원광대학교 대학원, 석사학위논문, 1998.

이상룡, 강성길, 박동석. 자락요법이 혈압 및 혈청성분에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1987;4(1):117-126.

임종국. 침구치료학. 서울, 집문당, 1983:133,136,169,226.

전국한의과대학. 경혈침구학교실. 침구학(상). 서울, 집문당, 1988:382-384.

통계청. 사망원인통계연보. 통계청, 1997:21-28.

Aho K, Harmsen P, Hatano S, et al. Cerebrovascular disease in the community: Results of a WHO collaborative study. Bull World Health Organ. 1980;58(1):113-130.

Akins PT, Liu PK, Hsu CY. Immediate early gene expression in response to cerebral ischemia. Friend or foe Stroke. 1996;27(9):1682-1687.

Alitalo R, Partanen J, Pertovaara L, et al. Increased erythroid potentiating activity/tissue inhibitor of metalloproteinases and jun/fos transcription factor complex characterize tumor promoter-induced megakaryoblastic differentiation of K562 leukemia cells. Blood. 1990;75(10):1974-1982.

Caubet JF, Mitjavila MT, Dubart A, et al. Expression of the c-fos protooncogene by human and murine erythroblasts. Blood. 1989;74(3):947-951.

Chen GS, Erdmann W. Effects of acupuncture on tissue oxygenation of the rat brain. South Med J. 1978;71(4):392-395, 398.

Cho ZH, Chung SC, Jones JP, et al. New findings of the correlation between acupoints and corresponding brain cortices using functional MRI. Proc Natl Acad Sci USA. 1998;95(5):2670-2673.

Comelli MC, Guidolin D, Seren MS, et al. Time course, localization and pharmacological modulation of immediate early inducible genes, brain-derived neurotrophic factor and trkB messenger RNAs in the rat brain following photochemical stroke. Neuroscience. 1993;55(2):473-490.

Domańska-Janik K, Bong P, Bronisz-Kowalczyk A, et al. AP1 transcriptional factor activation and its relation to apoptosis of hippocampal CA1 pyramidal neurons after transient ischemia in gerbils. J Neurosci Res. 1999;57(6):840-846.

Dony C, Gruss P. Proto-oncogene c-fos expression in growth regions of fetal bone and mesodermal web tissue. Nature. 1987;328(6132):711-714.

Dragunow M, Robertson HA. Brain injury induces c-fos protein(s) in nerve and glial-like cells in adult mammalian brain. Brain Res. 1988;455(2):295-299.

Du Bois-Reymond. Untersuchungen ùber Thierische Elektricitàt Berlin, Reimer Verlag, 1848.

Duchenne de B. De L'Electrisation Localisee, et de son Application a La Physiologie a La Pathologie et a La Therapeutique. Paris, Bailliere, 1855.

Gao H, Guo J, Zhao P, et al. The neuroprotective effects of electroacupuncture on focal cerebral ischemia in monkey. Acupunct Electro ther Res. 2002;27(1):45-57.

Hinkle L, McCaig CD, Robinson KR. The direction of growth of differentiating neurones and myoblasts from frog embryos in an applied electric field. J Physiol. 1981;314:121-135.

Horn M, Schlote W. Delayed neuronal death and delayed neuronal recovery in the human brain following global ischemia. Acta Neuropathol. 1992;85(1):79-87.

Inoue I, Chen L, Zhou L, et al. Reproduction of scalp acupuncture therapy on strokes in the model rats, spontaneous hypertensive rats-stroke prone (SHR-SP). Neurosci Lett. 2002;333(3):191-194.

Ito U, Spatz M, Walker JT Jr, et al. Experimental cerebral ischemia in mongolian gerbils I. Light microscopic observations. Acta Neuropathol.

1975;32(3):209-223.

Jang MH, Shin MC, Koo GS, et al. Acupuncture decreases nitric oxide synthase expression in periaqueductal gray area of rats with streptozotocin-induced diabetes. Neurosci Lett. 2003;337(3):155-158.

Kim EH, Kim YJ, Lee HJ, et al. Acupuncture increases cell proliferation in dentate gyrus after transient global ischemia in gerbils. Neurosci Lett. 2001;297(1):21-24.

Kouzarides T, Ziff E. The role of the leucine zipper in the fos-jun interaction. Nature. 1988;336(6200):646-651.

Magnusson M, Johansson K, Johansson BB. Sensory stimulation promotes normalization of postural control after stroke. Stroke. 1994;25(6):1176-1180.

Nakabeppu Y, Ryder K, Nathans D. DNA binding activities of three murine Jun proteins: Stimulation by Fos. Cell. 1988;55(5):907-915.

Newberg AB, Alavi A. Changes in the central nervous system during long-duration space flight: Implications for neuro-imaging. Adv Space Res. 1998;22(2):185-196.

Patel N, Poo MM. Orientation of neurite growth by extracellular electric fields. J Neurosci. 1982;2(4):483-496.

Seibert K, Masferrer J, Zhang Y, et al. Mediation of inflammation by cyclooxygenase-2. Agents Actions Suppl. 1995;46:41-50.

Shaulian E, Karin M. AP-1 in cell proliferation and survival. Oncogene. 2001;20(19):2390-2400.

Sheng M, Greenberg ME. The regulation and function of c-fos and other immediate early genes in the nervous system. Neuron. 1990;4(4):477-485.

Shigeno T, Mima T, Takakura K, et al. Amelioration of delayed neuronal death in the hippocampus by nerve growth factor. J Neurosci. 1991;11(9):2914-2919.

Smeyne RJ, Curran T, Morgan JI. Temporal and spatial expression of a fos-lac Z transgene in the developing nervous system. Brain Res Mol Brain Res. 1992;16(1-2):158-162.

Smith WL, DeWitt DL. Biochemistry of prostaglandin endoperoxide H synthase-1 and synthase-2 and their differential susceptibility to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Semin Nephrol. 1995;15(3):179-194.

Uchida S, Kagitani F, Suzuki A, et al. Effect of acupuncture like stimulation on cortical cerebral blood flow in anesthetized rats. Jpn J Physiol. 2000;50(5):495-507.

Wu MT, Hsieh JC, Xiong J, et al. Central nervous pathway for acupunture stimulation: Localization of processign with functional MR imaging of the brain-preliminary experience. Radiology. 1999;212(1):133-141.

Yuan X, Hao X, Lai Z, et al. Effects of acupuncture at fengchi point (GB 20) on cerebral blood flow. J Tradit Chin Med. 1998;18(2):102-105.

논 문 접 수 일	2009년 8월 31일
논문게재승인일	2010년 1월 21일