동의신경정신과 학회지
J. of Oriental Neuropsychiatry
Vol. 16. No. 2, 2005

內關부위 자침이 몰핀에 민감화된 흰쥐의 c-fos 발현에 미치는 효과

김상호, 류승준, 한원주, 김모경*, 김태헌, 강형원, 류영수
원광대학교 한의과대학 한방신경정신과학교실
군산대학교, 모발생리전공(박사과정)*

Effect of Acupuncture(PC6) on Fos-like Immunoreactivity in the Nucleus Accumbens in Rats Sensitized to Morphine

Sang Ho Kim, Seung Jun Lyu, Won Ju Han, Mo Kyung Kim*, Tae Heon Kim, Hyung Won Kang, Yeoung Su Lyu
Department of Oriental Neuropsychiatry Medicine, College of Oriental Medicine, Wonkwang University
Department of Physical Education and Tricology, Graduate School, Kusan National University*

Abstract

Background and Objectives : Acupuncture as a therapeutic intervention is widely used for the treatment of many functional disorders such as substance abuse and mental dysfunction. Clinical trials are currently underway to determine the effectiveness of acupuncture in the treatment of drug addiction. Yet, there are still many unanswered questions about the basic mechanism of acupuncture. Studies have shown that both the psychomotor stimulant effects and rewarding properties of addictive drugs, including morphine, are sensitized by repeated drug administration and raised the possibility that both of these effects may be linked to the same or closely overlapping the mesolimbic dopamine systems. Neiguan (PC6) point on the pericardium channel which is associated with the brain and its mental function, has been used to treat mental, psychosomatic disorders and gastroenterological disorders. The present study was designed to investigate the effect of acupuncture on repeated morphine-induced changes in extracellular dopamine levels using in vivo microdialysis and to measure the effect of acupuncture on Fos-like immunoreactivity.

◆ 투고:10/21, 채택:11/7
교신저자 : 류영수, 전북 익산시 신룡동 344-2 원광대학교 한의과대학 신경정신과교실
Tel : 063-850-6833, Fax : 063-850-7324 E-mail : yslyu@wonkwang.ac.kr.

Methods : Male Sprague-Dawley rats were treated twice a day for three days with increasing doses of morphine (10, 20 and 40 mg/kg, s.c.) or with saline. After 15 days of withdrawal, rats were challenged with morphine hydrochloride (5 mg/kg, s.c.). Acupuncture was applied at bilateral Neiguan (PC6) points for 1 min after the morphine challenge. Results showed that acupuncture at the specific acupoint PC6, but not at control points (tail and HE8) significantly decreased Fos-like immunoreactivity induced by a systemic morphine challenge or a single s.c. morphine injection in the morphine-repeated animals.

Results and Conclusions : These results suggest that reduction in sensitization may be one mechanism whereby acupuncture alleviates morphine craving in addicts. Moreover, in a more general sense these results suggest that acupuncture can be used as a therapeutic intervention for correcting reversible malfunction of the body by direction of brain pathway and thus acupuncture can contribute to the biochemical balance in the central nervous system by regulating neurotransmitters.

keywords : nucleus accumbens, striatum, morphine, Neiguan (PC6), Acupuncture, Fos-like immunoreactivity

Ⅰ. 緖 論

약물남용이란 그 구성원이 속한 문화권 내에서 인정되는 의료목적 이외 또는 일반적, 사회적 규범에 벗어나는 형태로 약물을 스스로 투여하는 행동을 말한다[1]. 급격한 사회경제적 변화와 함께 물질주의 및 향락, 퇴폐풍조의 만연에 따른 마약류 사범의 수는 증가 추세[2]에 있으며, 청소년들의 약물남용 문제도 지속적으로 증가하고 있다[3]. 약물남용의 습관성, 중독성으로 인하여 정신적, 육체적으로 사용자가 약물에 의존하게 되므로 의학적 문제뿐만 아니라 사회적 문제를 일으켜 개인, 가정, 사회, 국가, 그리고 세계를 파멸로 이끌 수 있는 공적(public enemy) 이라 할 수 있다[4].

약물남용 중 진통효과가 뛰어나며 중독성을 가진 몰핀은 강화 효과를 통하여 탐닉 현상이 생기는데, 몰핀의 급성 및 반복투여에 의한 강화 작용 및 행동적 민감화 반응에는 중뇌 변연계의 활성화가 중요하며[5-8], 이 도파민 신경전달계의 신경세포와 표적세포인 측핵(nucleus accumbens)및 선조체(striatum)가 중요한 역할을 한다[9-11].

한편, 최근에 약물 남용에 관한 연구로 신경의 활성도를 나타내는 proto -oncogene인 c-fos의 발현강도와 기간을 면역조직화학분석법(immunohistochemistry)을 이용한Fos 단백의 발현을 이용해 다양한 행동학적, 약물학적 처치에 의한 신경의 회로를 관찰하고 있다[12-14].

약물 남용의 치료에 이용된 鍼의 연구 논문으로 Wen[15]이 電針 刺戟이 아편 중독자의 금단 증상을 완화한다고 보고하였으며, Lipton 등[16,17]은 코카인 남용자들을 대상으로 耳鍼 시술후 cocaine에 대한 갈망과 섭취가 줄었다는 보고하였다. Han 등[18]은 經穴의 자극이 헤로인 약물 중독 치료에 효과적이라 하였고, Wu[19]는 흰쥐에서 電針의 아편 금단 증상을 억제하는 효과 및 電針의 작용기전은 enkephaline이 매개한다고 하였다. 그리고 Yosimoto[20]는 電針 刺戟이 알콜 섭취 행동의 증가를 억제하는 작용을 한다는 보고를 함으로써, 약물남용치료에 대한 효능이 많이 입증되고 있다.

이와 같이 임상에서 鍼은 약물남용치료 프로그램으로 많이 사용되고 있으며, 과학적으로도 약물 남용자의 금단 증상 치료에 대한 효과가 알려져 있지만 아직도 약물 중독에 대한 鍼의 효능연구는 부족한 실정이다[21,22].

內關穴은 手厥陰心包經의 穴이며[23], 寧心安神, 和胃, 鎭靜鎭痛의 효능이 있어 心痛, 心悸, 一切 內傷, 不眠 및 心急痛 등에 사용되어 약물남용으로 인한 행동적민감화와 중추신경계에 영향을 미칠 것으로 기대된다[24]. 또한 對照穴로 사용한 三陽絡은 三陽經이 交會하는 穴로 開竅, 通絡, 鎭痛작용의 효능이 있는 것으로 알려져 있다[23].

이에 著者는 본 실험에서 몰핀 중독 치료를 위한 鍼의 효능을 연구하기 위하여 몰핀을 반복 투여하여 행동민감화된 몰핀 중독 동물 모델을 만들고內關 鍼 刺戟이 c-fos 발현 변화를 관찰하여 유의한 결과를 보고하고자 한다.

Ⅱ. 材料 및 方法

1. 실험 동물

대한실험동물센터로부터 구입한 웅성 Sprague-Dawley계 흰 쥐 150~200g을 7일 정도 밤낮의 주기가 12:12 시간으로 통제된 사육실(온도는 22±3℃, 습도는 50±10%)에서 적응시킨 후 체중 250~270g정도를 사용하였고 동물은 각 cage당 3~4마리씩 두었으며, 물과 사료를 자유로이 섭취하도록 하였다.

2. 몰핀 투여 방법

몰핀 투여는 Cadoni 등[25]의 방법을 이용하였으며 morphine hydrochloride(구주제약, 한국) 또는 생리 식염수의 용량을 증가시켜 첫째 날 10 mg/kg, 둘째 날 20 mg/kg, 셋째 날 40 mg/kg로 3일간 1일 2회씩 (12시간 간격) 피하 투여 하였다.

Morphine hydrochloride 또는 생리 식염수를 반복 투여한 후 14일 동안의 철회기간(withdrawal)을 두고 15일째 morphine hydrochloride를 5 mg/kg를 피하 투여하였다.

3. 실험군의 분류

실험동물은 각 군마다 11-13 마리씩 배정하여 다음과 같이 5개의 군으로 나누었다.

(1) 대조군 (몰핀투여)
흰쥐에게 몰핀 (첫째 날 10 mg/kg, 둘째 날 20 mg/kg, 셋째 날 40 mg/kg로 3 일간 1 일 2 회씩 피하투여)을 반복 투여 한 다음 14 일 동안의 철회 기간 (withdrawal)을 두고 15 일째 몰핀을 5 mg/kg로 피하 투여한 직후 취혈 자세만 취한 군.

(2) 생리 식염수(Saline) 투여군 그룹
흰쥐에게 saline을 위와 같이 동일한 방법으로 투여 한 다음 15 일째 몰핀을 5 mg/kg로 피하 투여한 직후 취혈 자세만 취한 군.

(3) 꼬리(Tail) 刺鍼群 그룹
흰쥐에게 몰핀을 위와 같이 동일한 방법으로 투여한 다음 15 일째 몰핀을 5 mg/kg로 피하 투여한 직후 非經穴 부위인 꼬리에 1 분간 자침한 군.

(4) 三陽絡(HE8) 刺鍼群 그룹
흰쥐에게 몰핀을 위와 같이 동일한 방법으로 투여한 다음 15 일째 몰핀을 5 mg/kg로 피하 투여한 직후 經穴 부위인 三陽絡(HE8) 양측에 1 분간 刺鍼한 군.

(5) 內關穴(PC6) 刺鍼群 그룹
흰쥐에게 몰핀을 위와 같이 동일한 방법으로 투여한 다음 15 일째 몰핀을 5 mg/kg로 피하 투여한 직후 經穴 부위인 內關(PC6) 양측에 1 분간 刺鍼한 군.

4. 수술

철회 기간 11일째 실험 동물을 sodium pentobarbital (50 mg/kg, i. p.)로 마취한 후 stereotaxic frame에 고정시키고 두피를 절개하였다. Paxinos 등26)의 rat brain atlas를 참고하여 bregma를 기준으로 각각 정해진 coordinate (nucleus accumbens shell: AP 1.7, ML 0.8, DV-6.0, nucleus accumbens core: AP 1.2, ML 1.6, DV-6.0)를 이용하여microdialysis probe 삽입을 위한 guide cannula를 설치하였다. 수술 후 4일간의 회복기를 가진 후 microdialysis system에 연결하였다.

5. 鍼 刺戟

실험 동물을 각 군 마다 6-9마리를 배정하였다. 반복 몰핀 투여는 취혈 자세만 취하는 대조군 (몰핀 투여만 하였음)과 몰핀의 민감화 발달 현상에 대한 대조군으로서 생리 식염수 투여군 (Saline)그룹, 非경혈 부위인 꼬리 (Tail) 刺鍼群그룹과 다른 경혈 부위인 三陽絡 (Sanyangluo, HE8) 자침군 그룹, 소속 경혈 부위인 內關穴 (Neiguan, PC6) 刺鍼群 그룹으로 구분하여 몰핀 (5 mg/kg s.c.) 투여 직후 經穴 양측에 1분간 刺鍼하였다. 사용한 鍼의 직경은 0.18 mm, 길이 20 mm이며 수직으로 경혈 자리에 깊이 3 mm로 挿入하고 挿入 및 拔針시 捻轉하였다.

6. Microdialysis 방법

Guide cannula를 통하여 미세투석법을 위한 microdialysis probe (CMA/11, cuprophane dialysis membrane, 6000 Dalton, 2 mm length)를 삽입한 후,인공 뇌 척수액 (artificial CSF)을 1.5 ㎕/min의 유속 (CMA/100 Microinjection pump)으로 probe에 관류하였다. 인공 뇌 척수액은 NaCl (150mM),KCl (3.0 mM), CaCl2 (1.4 mM), MgCl2 (0.8 mM)을 10 mM phosphate buffer (pH 7.1)에 용해하여 사용하였다.

Microdialysis probe의 probe recovery는 사용전 인공 뇌척수액에 용해한 dopamine, DOPAC, HVA 표준액에서 투석을 통하여 구하여 미세투석액의 절대농도치를 구하였다. Bowl cage 속에서 흰쥐가 자유로이 움직이는 상태에서microdialysis system을 통해 3시간 동안 20분 (유속 1.5 ㎕/min) 간격으로 세포외액을 취하고 연속 3개의 microdialysate의 dopamine, DOPAC, HVA 농도가 10%이내가 되었을 때 3개의 평균값을 baseline으로 하였으며 HPLC (high performance liquid chromatography)를 이용하여 분석하였다.

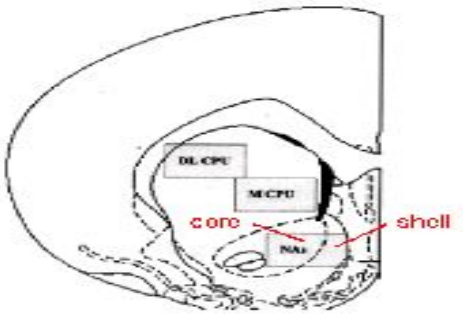


Fig. A, Schematic representation of nucleus accumbens shell and core

7. 면역조직화학분석법 (Fos-like immunohistochemistry)27)

행동실험이 끝난 쥐를 Sodium pentobarbital(80 mg/kg, i.p.)로 마취시킨 뒤, 0.9% saline 200 ml에 이어 인산 완충액으로 조제한 4% formalin 용액 1000 ml로 심장을 통해 관류하였다. 고정액의 처음 300 ml은 2분간, 나머지 700ml은 25분간에 걸쳐 관류하였다. 고정이 끝난 쥐는 뇌를 꺼내 같은 고정액으로 2시간 동안 후 고정시키고, 20% 자당이 함유된 인산 완충액(PBS)에 넣어 4℃에서 보관하였다. 다음날 뇌를 급속 냉동한 후 뇌 조직을 30 ㎛의 크기로 잘랐다. 인산 완충액으로 조직을 몇 차례 씻고, fos expression 연구에 가장 널리 사용되는 primary sheep Fos-antibody (Dambridge Reserch Biochemicals, Wolmongton, DE)에 담구었다.

Primary antibody는 0.3% Triton-X100(PBST)에서 2% normal rabbit serum과 0.001% kehole limpit hemocyanin(Sigma)으로 2000배 희석해서 준비하였다.

뇌 조직은 primary antiserum에 4℃에서 72시간 동안 배양하였다. 그 후 뇌조직을 PBST로 씻은 다음, 2시간 동아 실온에서 2% normal rabbit serum을 함유하는 PBST에서 200배로 희석한 biotinylated rabbit anti-sheep serum(Vector Laboratories, Burlingame, CA)에 반응시켰다. 다시 PBST로 씻은 다음, 뇌 조직은 실온에서 1시간 동안 Vectastain Elite ABC reagent (Vector)에 담구어 반응시켰다. PBST로 몇 번 씻은 다음 뇌 조직을 착색제인 diaminobenzidine을 사용하여 발색시켰다. 발색이 끝난 조직은 gelatine coated slide에 얹어서 2시간동안 실온에서 건조시킨 후, xylene으로 투명화시켜 polymount로 봉입하였다. 뇌 조직의 각 부위들은 염색성들을 광학현미경으로 관찰하고 디지털 카메라로 촬영하였다. 뇌의 각 부위의 위치와 명칭은Paxions와 Watson[26]의 부도를 참고하였다.

8. 조직 검사

Microdialysis 실험이 끝난 후 microdialysis probe의 위치가 nucleus accumbens(shell과 core)에 있는지 확인하기 위해 조직 검사를 하였다. Sodium pentobarbital (80 mg/kg, i.p.)를 주사하여 마취한 뒤 흉곽을 열어 descending aorta를 결찰하고 심첨부위를 천자하여 saline 및 formalin/glucose용액을 관류하였다.

두개골로부터 뇌를 분리하여 formalin/glucose 용액에 저장한 후 vibratome을 이용하여 뇌절편을 만들어 cresyl violet 염색을 하였다. Paxinos 와 Watson의 atlas에서 주어진 coordinate를 참고하여 probe의 위치를 확인하고 원하는 위치에서 벗어난 sample의 결과는 제외하였다.

9. 통계 처리

면역조직화학분석법의 결과는 Fos 양성반응을 보인 신경세포의 평균치를 계산하여, 일원변량분석법으로 분석하였고, 각 집단간 차이는 Tukey test와 LSD test로 사후검증을 실시하였다. 각 P 값이 0.05 이하인 경우에 유의한 차이가 있는 것으로 인정하였다.

Ⅲ. 結 果

1. 반복 몰핀 투여로 인한 FLI (Fos-like immunoreactivity)의 발현

선조체 부위에서 c-fos 발현을 측정한 결과, c-Fos 양성반응을 보인 세포는 대조군에서 35.19±2.13개로 생리식염수 처치군 그룹(18.20±2.23개)에 비해 발현이 유의하게 증가하였다($p<0.001$). 몰핀 투여 후 자침한 군의 경우 꼬리(Tail) 자침군 그룹은 24.88±1.73, 三陽絡 자침군 그룹은 17.16±1.21, 內關穴 자침군 그룹은 21.26±1.01개로 대조군보다 유의하게 c-fos 발현이 감소되었다($p<0.001$) (Fig. 1, 4, Table 1).

측핵의 core 부위에서 c-fos 발현을 측정한 결과 대조군에서의 c-Fos 양성 세포수는 16.04±0.61개로 생리 식염수군 그룹의 11.8±0.81개에 비해 유의하게 c-fos 발현이 증가하였다($p<0.05$). 나머지군인 꼬리(Tail) 자침군 그룹, 三陽絡 자침군 그룹, 內關穴 자침군 그룹의 경우는 각각 19.44±1.38, 13.05±0.74, 13.55±0.51개로 대조군과 유의한 차이가 없었다(Fig. 2, 4, Table 2).

측핵의 shell 부위는 4부위로 나누어 c-fos 발현을 측정하였다. 먼저CONE부위에서의 c-Fos 양성 세포수는 대조군에서 13.90±0.62개였으며, 생리 식염수군 그룹에서는 9.73±0.28개로 생리 식염수 처치군 그룹에 비해 발현이 유의하게 증가하였다($p<0.05$). 몰핀 투여 후 자침한 꼬리(Tail) 자침군 그룹, 三陽絡 자

침군 그룹과 內關穴 자침군 그룹은 각각 15.61±0.96개, 9.91±0.28개, 9.55±0.23개로 三陽絡 자침군 그룹과 內關穴 자침군 그룹에서만 대조군보다 c-fos 발현이 유의하게 감소하였다($p<0.05$, $p<0.05$) (Fig. 3, 5, Table 2).

shell의 VERT부위에서 c-Fos 양성세포수는 대조군에서 17.04±0.65로 생리 식염수군의 13.26±0.72개에 비해 증가하였으나 통계적 차이는 없었다(Fig. 3, 5, Table 2).

shell의 INT부위에서 c-Fos 양성세포수는 대조군에서 9.71±0.76 개로 생리 식염수군 그룹의 7.2±0.35개에 비해 증가하였으나 통계적인 차이는 없었다(Fig. 3, 5, Table 2).

shell의 LAT부위에서 대조군의 c-Fos 양성세포수는 9.09±0.80개로 생리식염수군의 6.33±0.47개에 비해 증가하였으나 통계적인 차이는 없었다(Fig. 3, 5, Table 2).

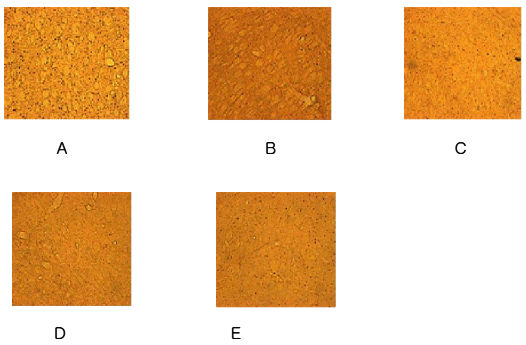


Fig. 1. Effect of acupuncture on Fos-like immunoreactivity of the striatum in chronic morphine-induced sensitization. Representative microphotographs of coronal sections show Fos-like immunoreactivity in Control(A), Neiguan(B), Tail(C), Saline(D), Sanyangluo(E) group.

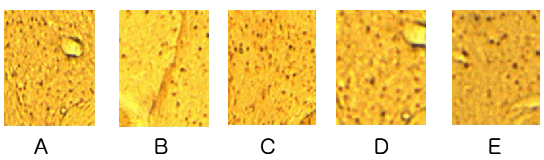


Fig. 2. Effect of acupuncture on Fos-like immunoreactivity of the core in chronic morphine-induced sensitization. Representative microphotographs of coronal sections show Fos-like immunoreactivity in Control(A), Neiguan(B), Tail(C), Saline(D), Sanyangluo(E) group.

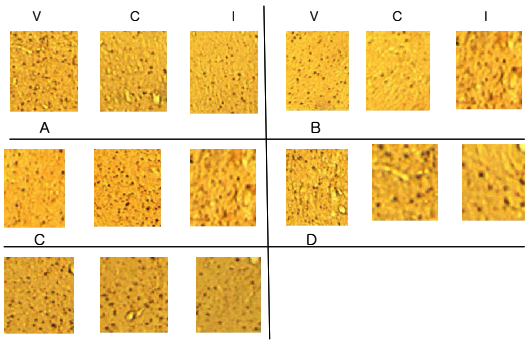


Fig. 3. Effect of acupuncture on Fos-like immunoreactivity of the Shell (VERT, CONE, INT) in chronic morphine-induced sensitization. Representative microphotographs of coronal sections show Fos-like immunoreactivity in Control(A), Neiguan(B), Tail(C), Saline(D), Sanyangluo(E) group.

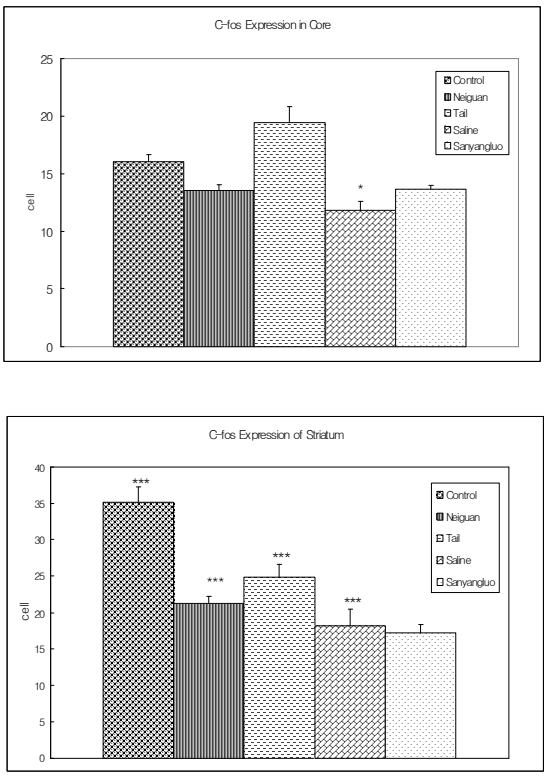
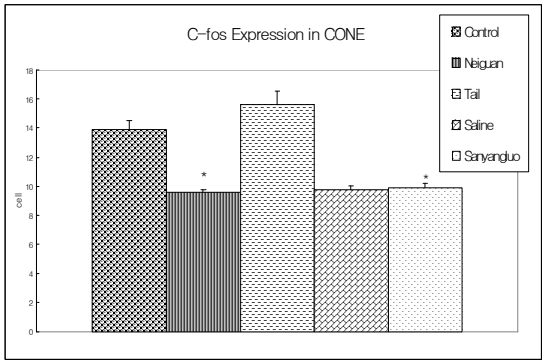
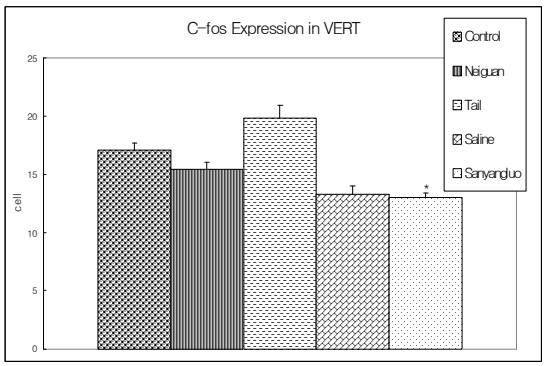
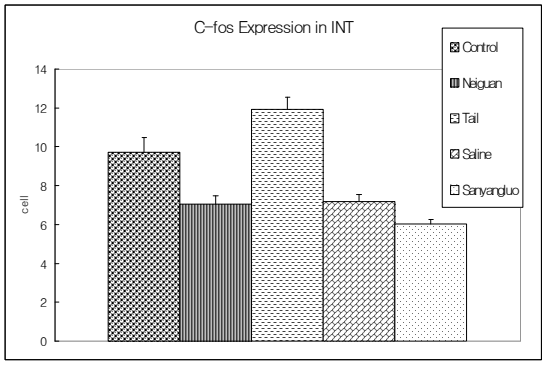


Fig. 4. Effect of acupuncture on Expression of c-Fos of the striatum and core of NAc in chronic morphine-induced sensitization. Results are presented as mean±S.E. Total number of Fos immunoreactive neurons within a 200x200 ㎛ grid over the areas at 100X magnification. Data were analyzed by two-way ANOVA and followed by Tukey test. ***, $P<0.001$ as compared with the corresponding data of Control group.







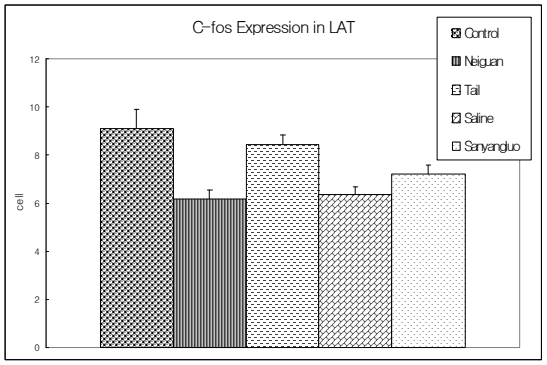


Fig. 5. Effect of acupuncture on expression of c-Fos of the shell of NAc in chronic morphine-induced sensitization. Results are presented as mean±S.E. Total number of Fos immunoreactive neurons within a 200x200 ㎛ grid over the areas at 100X magnification. Data were analyzed by two-way ANOVA and followed by MSD test. *, P<0.05 as compared with the corresponding data of Control group.

Table 1. Effect of acupuncture on expression of c-Fos of the striatum in chronic morphine-induced sensitization

Group	Cell Count
Control	35.19±2.13
Neiguan	21.26±1.01***
Tail	24.88±1.73***
Saline	18.20±2.23***
Sanyangluo	17.16±1.21***

Data were analyzed by one-way ANOVA and followed by Tukey test.
***, P<0.001 as compared with the corresponding data of Control group.

Table 2. Effect of acupuncture on expression of c-Fos of the nucleus accumbens in chronic morphine-induced sensitization

Group	Core	Shell			
		CONE	VERT	INT	LAT
Control	16.04±0.61	13.90±0.62	17.04±0.65	9.71±0.76	9.09±0.80
Neiguan	13.55±0.51	9.55±0.23*	15.44±0.55	7.05±0.40	6.16±0.37
Tail	19.44±1.38	15.61±0.96	19.83±1.07	11.94±0.58	8.41±0.40
Saline	11.80±0.81*	9.37±0.28	13.26±0.72	7.20±0.35	6.33±0.47
Sanyangluo	13.69±0.31	9.91±0.28*	13.00±0.36*	6.02±0.24	7.22±0.34

Data were analyzed by one-way ANOVA and followed by LSD test.
*, P<0.05 as compared with the corresponding data of Control group.

Ⅳ. 考 察

세계 보건기구 WHO 정의에 의하면 약물남용이란, 의학적 사용과는 상관없이 약물을 지속적으로 또는 번번히 대량 사용하는 것이다. 즉 비의료적 약물사용(nonmedical drug use)이 결국 약물 남용의 실제적 정의라 할 수 있다[1].

약물남용의 효과적인 치료법으로 침[28], 기공[29] 등이 이용되고 있으나, 鍼의 역할에 대해서는 많은 논란이 있다. 1991년 미국 NIDA (National Institute of Drug Abuse)에서는 鍼이 기존의 치료법보다 효과가 있다고 단정할 수 없다고 하였으나[30], 미국 및 유럽에서 꾸준히 耳鍼을 비롯한 鍼 시술이 시행되고 있는 실정이다[31]. 이것은 鍼의 효능에 대한 검증의 필요성을 의미하며 효능 검증을 위한 다양한 임상 연구가 보고 되고 있는데[32], 鍼 수주 치료 후 코카인 중독 환자에 대한 효과[33]와 알코올, 코카인, 헤로인, 마리화나 등의 중독 재발을 억제하였다는 보고가 있다[34]. 鍼의 작용 기전에 관한 연구는 많지 않으나 Wen과 Cheung 등[35]은 아편 중독자들의 금단 증상 완화에 대한 電針의 효과를 보고하였으며, 이 후 많은 연구자들[36,37]이 동물 실험을 통해 중독관련 증상의 완화에 대한 鍼의 신경 생리학적 근거를 마련하였다. Wang[38]은 conditioned place preference(CPP)를 이용한 실험에서 電針의 저빈도(2Hz)의 자극이 opioid receptor를 활성화하여 몰핀에 의한 CPP를 억제하였다고 하였다.

약물남용에 대한 연구로 신경활성약물의 작용점과 간질 경로, 신경해부학적인 연결의 추적하는 대사 지표로 c-fos 단백 면역화학분석법이 유용하게 쓰이고 사용되고 있다. 몰핀의 주입이 측핵, 선조체, 전전두엽 및 시상하부의 투사부위에서 c-fos 발현의 증가를 야기하였으며,몰핀의 반복 투여에 의해 이들 부위의 c-fos의 발현과 도파민 유리를 가져옴으로써 행동적 민감화 현상에 내재한 신경세포 활성도의 변화를 반영한다고 할 수 있다[12-14].

아울러 중뇌 변연계에서의 도파민 흥분전달은 선택된 뇌 부위에서 약물처치에 의한 기능적 변화를 측정하는 유용한 지표로서 사용되는 immediate early gene 발현에 의한 c-Fos단백질 생산을 유도한다. Immediate early gene c-fos 발현은 오랫동안 지속적인 몰핀 민감화의 발생 신경회로를 규명할 수 있다[12-14]. 전사인자로서 Fos는 활성화된 neurone의 기능적 표지자로 간주되는데 몰핀의 급성투여는 PVN(paraventricular nucleus)과 supraoptic nucleus와 같이 HPA 축(Hypothalamic Pituitary Adrenal Axis) 조절 기능을 가진 hypothalamic nucleus에서 fos의 발현을 유도한다. 또한 neuron에 기본적으로 존재하는 Fos는 행동학적인 스트레스 후에 비특이적으로 증가할 수 있으며, 마취된 동물의 neuron에서는 neuron의 발화에 Fos의 증가가 요구되므로 ketamine 같은 약물은 neurone에서 Fos 증가를 차단한다.

內關은 手厥陰心包經의 穴이며 疎三焦, 寧心安神, 寬胸理氣, 和胃, 鎭靜鎭痛의 효능이 있어 心痛, 心悸, 一切內傷, 腹張, 胸滿腹通, 不眠, 高血壓, 遺精 및 中風熱, 目赤黃, 腋腫, 關心急痛 등에 사용된다[23-24]. 또한 內關은 手厥陰의 絡穴이며 手少陽脈으로 통하는 곳으로 表裏하는 경맥의 질환을 소통, 조정하는 기능이 있는 혈이다. 그리고 三陽絡은 手少陽 三焦經의 穴로 三陽의 邪氣를 치료하는 穴로 알려져 있으며 耳聾, 暴瘖, 齒痛 및 手臂痛에 효과적인 穴로 알려져 있다[23].

內關이 신경계에 미치는 효능에 관해서[39]는 陰經인 內關의 전침자극이 스트레스반응의 지표인 측핵내 c-fos발현을 억제한다고 하였으며, 김[40]은 영구성 국소 뇌허혈상태를 유발한 흰쥐에서 陰經인 內關의 전침자극이 뇌신경전달물질을 적절하게 유지함으로써 뇌신경을 보

호한다고 하였다.

內關에 대한 많은 실험보고가 있지만 內關이 약물 중독에 대해 어떤 효능이 있는지에 대한 구체적인 연구는 아직 보고 되지 않았다. 저자는 내관 자극이 약물남용으로 인한 행동적 민감화와 중추신경계에 영향을 미쳐 몰핀과 같은 약물 중독에 효과가 있을 것으로 생각되어 對照穴로 꼬리 및 삼양락을 사용하여 본 연구를 진행하게 되었다.

한편 욕구 회로(motive circuit)와 관련된 신경핵은 변연계핵(limbic nuclei), 복측피개야, 측핵의 shell부위와 VP(ventral pallidum)의 복내측(ventromedial)부위에 연접을 한 편도체, 복측피개야에서 측핵 core부위와 VP의 배외측(dorsolateral)부위에 연결되어 있는 운동성 기능을 조절하는 신경세포로 구성되어 있다[41,42]. 측핵은 각각 다른 기능을 수행하는 core부위와 shell부위로 나눌 수 있는데[43], 해부학적으로 측핵 core 부위는 운동성 기능을 조절하는 뇌의 영역에 주로 투사되어, 배외측 선조체와 밀접한 관련을 가진다. 측핵 shell 부위는 편도체 등의 변연계의 주요 기능을 담당하고, 복내측 선조체와 관련되어 정서와 관련된 약물 탐닉에 대한 motive에 더욱 밀접한 연관성을 가지고 있다[44].

몰핀 반복처치로 유도된 행동적 민감화 현상을 매개하는 신경화학적 기전을 살펴보기 위해 면역화학적인 방법을 이용하였다. 이 방법은 Fos 단백의 발현을 측정하여 알 수 있는 proto-oncogene인 c-fos의 발현 강도를 통해 신경의 활성도를 측정할 수 있으므로 다양한 행동학적, 약물학적 처치에 의한 신경의 회로를 관찰할 수 있다[13,45]. 선조체 부위에서는 대조군의 c-Fos 양성 반응 세포수는 생리식염수군에 비해 대조군에서 유의하게 증가하였으며 내관 침자극으로 유의하게 감소하였다.

몰핀 반복 처치로 유도된 행동적 민감화를 매개하는 신경학적 기전을 알아보기 위하여 면역조직화학적 방법을 이용하여 c-fos 발현을 측정한 결과 몰핀 급성투여에 비하여 측핵의 shell 및 core, 선조체 부위에서 유의한 증가를 보였다. 이는 도파민성 신경세포의 활성을 나타내어 몰핀 반복처치에 의한 중뇌변연계 도파민의 활성화를 통하여 행동적 민감화 현상이 일어남을 의미하며 다른 연구결과[12-14]와도 일치하였다. 본 실험에서 內關 침 자극은 선조체 및 측핵에서 FLI 감소를 보였는데 이 결과는 內關 침 자극에 의한 도파민 유리 감소와 행동활동량 감소와 함께 몰핀에 의한 운동성 기능 및 정신적 탐닉 감소에 모두 관련이 있는 것으로 생각된다. 對照穴로 사용된 三陽絡 침 자극은 선조체 및 측핵에서 FLI 감소를 보였지만 도파민 유리 및 행동 활동량에는 감소가 없었으므로 정신적 탐닉 감소 및 탐닉 관련 운동과는 관련된 것으로 생각되지 않으나 다른 기전에 의한 c-fos 발현에 영향을 줄 수 있다고 생각된다.

Ⅳ. 結 論

반복 몰핀 투여로 인한 몰핀 민감화 동물모델에서 신경 화학적 및 행동적 민감화 현상에 대한 흰쥐의 內關(PC6)부위 자침 효과를 알아보기 위하여 microdialysis를 이용하여 측핵(nucleus accumbens)에서의 c-Fos 단백질 발현을 측정한 결과 內關 刺鍼群은 반복 몰핀 투여로 인한 c-Fos의 발현을 선조체 및 측핵(shell의 cone) 부분에서 유의하게 억제하였으며 이상의 실험 결과에서, 內關 자침이 몰핀 중독의 치료에 일정한 효과가 있으리라 생각된다.

감사의 글

이 논문은 2005년도 원광대학교의 교비지원에 의해서 수행됨.

參 考 文 獻

1. 민성길 저: 약물남용. 서울. 중앙문화사. 1998; p30.
2. 대검찰청. 1989년 마약류사범 단속실적분석(자료제공, 한국약물남용 연구소 소장 주왕기). 대검찰청. 강력부 마약과. 1990, p30.
3. 한국마약퇴치운동본부. 청소년 약물남용 실태조사결과. 마약 없는 밝은사회, 1998; 13;6-8.
4. Nixon RM. Time. June 28. 1971: p.20.
5. Di Chiara G, Imperato A. Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. Proc Natl Acad Sci 1988;85:5274-5278.
6. Di Chiara G, North RA. Neurobiology of opiate abuse. Trends Pharmacol Sci 1992;13:185-193.
7. Johnson SW, North RA. Opioids excite dopamine neurons by hyperpolarization of local interneurons. J Neursci 1992;12:483-488.
8. Johnson SW, Seutin V, North RA. Burst firing in dopamine neurons induced by N-methyl-D-aspartate: role of electrogenic pump. Sci 1992;258:665-667.
9. Clarke PB, Fu DS, Jakubovic A, Fibiger HC. Evidence that mesolimbic dopaminergic activation underlies the locomotor stimulant action of nicotine in rats. J Pharmacol Exp Ther 1988;246(2):701-708.
10. Reveall C,Stolerman IP. Locomotor activity in rats after administration of nicotine agonists interacerebrally. Br J Pharmalcol 1990;99:273-278.
11. Vale AL, Balfour DJK, Studies on the role of brain dopamine system in the psychostimulant response to nicotine. Br J Parmacol 1988;94:373-378.
12. D'Este L, Scontrini A, Casini A, Pontieri FE, Renda TG. Heroin sensitization as mapped by c-Fos immunoreactivity in the rat striatum. Brain Res 2002;933(2):144-149.
13. Erdtmann-Vourliotis M, Mayer P, Linke R, Riechert U, Hollt V. Long-lasting sensitization towards morphine in motoric and limbic areas as determined by c-fos expression in rat brain. Brain Res Mol Brain Res 1999;72(1):1-16.
14. Erdtmann-Vourliotis M, Mayer P, Linke R, Riechert U, Hollt V. Identification of brain regions that are markedly activated by morphine in tolerant but not in naive rats. Brain Res Mol Brain Res 1998;61(1):51-61.
15. Wen HL, Ho WK, Ling N, Ma L, Chao GH. Influence of electro - acupunture on naloxone - induced morphine withdrawal. Am J Chin Med 1979;7:237-240.
16. Lipton DS, Brewington V, Smith M. Acupuncture for crack-cocaine detoxification.J Subst Abuse Treat 1994;11(3):205-215.
17. Margolin A, Kleber HD, Avants SK, Konefal J, Gawin F, Stark E, Sorensen J, Midkiff E, Wells E, Jackson TR, Bullock M, Culliton PD, Boles S, Vaughan R. Acupuncture for the treatment of cocaine addiction: a randomized controlled trial. JAMA 2002; 287(1):55-63.
18. Han JS, Wu LZ, Cui CL. Heroin addicts treated with transcutaneous electrical nerve stimulation of identified frequencies.

Regulatory Peptides 1994;54:115-116.
19. Wu LZ, Cui CL, Tian JB, Ji D, Han JS. Suppression of morphine withdrawal by electroacupuncture in rats : dynorphin and kappa-opioid receptor implicated. Brain Res 1999;18;851(1-2):290-6.
20. Yoshimoto K, Kato B, Sakai K, Shibata M, Yano T, Yasuhara M. Electroacupuncture stimulation suppresses the increase in alcohol-drinking behavior in restricted rats. Alcohol Clin Exp Res 2001;25(6Suppl):63S-68S.
21. Bullock M, Umen A, Culliton P, Olander R. Acupuncture treatment of alcholic recidivism: A pilot study. Alcoholism; Clin Exper Res 1987;11(3):229-295.
22. Scott S, Scott WN. A biochemical hypothesis for the effectiveness of acupuncture in the treatment of substance abuse: Acupuncture and the reward cascade. Am J Acupunct 1997;25(1):33-38.
23. 崔容泰外 : 鍼灸學, 서울, 集文堂, pp (上) 430-431,(下) 1186.1991.
24. 楊繼洲, : 針灸大成校釋, 啓業書局有限公社, p 807, pp 561-564, 1084-1085. 1987.
25. Cadoni C, Di Chiara G. Reciprocal changes in dopamine responsiveness in the nucleus accumbens shell and core and in the dorsal caudate-putamen in rats sensitized to morphine. Neuroscience 1999;90(2):447-455.
26. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotatic coordinates, 2nd ed. Orlando, FL, Academic Press, 1986.
27. Bradford MM. A rapid and sensitive method of the quantitation ofmicrogram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding, Anal. Biochemistry 1976;72:248-54.
28. Moner SE, Acupuncture and addiction treatment, J addict Dis 1996;15(3):79-100.
29. Li M, Chen K, Mo Z. Use gigong therapy in the detoxication of heroin addicts. Altern Ther Health Med. 2002;8(1):50-4, 56-9.
30. McLellan AT, Grossman DS, Blaine JD, Haverkos HW. Acupuncture treatment for drug abuse: A technical review. J Subst Abuse Treat 1993:10:569-576.
31. Smith M. Letter to the editor. J Subst Abuse Treat 1994:11:587.
32. Schwartz M, Saitz R, Mulvey K, Branning P. J Subst Abuse Treat 1999:17:305-312.
33. Smith MO. Acupuncture treatment for crack: Clinical surgery of 1500 patients treated. Am J Acupunct 1988:16:241-247.
34. Lipton DS, Brewington V, Smith M. Acupuncture and crack addicts: A single blind placebo test of efficacy. J Subst Abuse Treat 1994:11:205-215.
35. Wen HL, Cheung SYC. Treatment of drug addiction by acupuncture and electrical stimulation. Asian Journal of Medicine 1973:9:138-141.
36. Ng L. Auricular acupuncture in animals: effects of opiate withdrawal and involment of endorphines. Journal of Alternative and Complementary Medicine 1996:2:61-63.
37. Stux G, Hammerschlag R. Clinical acupuncture: scientific basis. Berlin, Germany: Springer-Verlag, 2000.
38. Wang B, luo F, Xia YQ, Han JS. Peripheral electric stimulation inhibits morphine-induce place preference in rats. Neuroreport 2000:11(5):1017-20.
39. 서영, 김효정, 권영규, 양재하, 김광중: 고정스트레스를 가한 배서의 측핵 중 Fos-like-immunoreactivity in the nucleus accumbens of rats challenged with immobilization stress. 동의생리병리학회지, 2001;15(1):105-110.
40. 김현영, 권영규, 양재하: 뇌신경보호작용에 미

치는 음경과 양경의 비교연구. 동의생리병리학회지, 2001;15(2):277-285.

41. Pontieri FE, Tanda G, Di Chiara G. Intravenous cocaine, morphine, and amphetamine preferentially increase extracellular dopamine in the "shell" as compared with the "core" of the rat nucleus accumbens, Proc Natl Acad Sci 1995;92:12304-12308.
42. Pierce RC, Kalivas PW. A circuitry model of the expression of behavioral sensitization to amphetamine-like psychostimulants, Brain Res Rev 1997;25(2):192-216.
43. Zahm DS, Borg JS. On the significance of subterritories in the 'accumbens'part of the rat ventral striatum, Neuroscience 1992:50;751-67.
44. Heimer L, Zahm DS, Churchill L, Kalivas PW, Wohltman C. Specificity in the projection patterns of accumbal core and shell in the rat. Neuroscience 1991;41:89-125.
45. Sanger SM, Sharp FR, Curan T, Expression of c-Fos protein in brain; Metabolic mapping at the cellular level, Science, 1988;240:1328-30.