

# 저출력 레이저 자극에 의한 척수내 신경세포의 활성변화

신구대학 물리치료과 · 대원과학대학 물리치료과<sup>1)</sup> · 경기대학교 물리학과<sup>2)</sup>

오경환 · 최영덕<sup>1)</sup> · 임종수<sup>2)</sup>

## The spinal neuronal activity induced by low power laser stimulation

Oh, Kyunghwan, Choi, Youngdeog<sup>1)</sup>, Lim, Jongsoo<sup>2)</sup>

*Dept. of Physical Therapy, Shingu College*

*Dept. of Physical Therapy, Daewon Science College<sup>1)</sup>*

*Dept. of Physics, Kyonggi University<sup>2)</sup>*

### -ABSTRACT-

The present study was designed to investigate the effect of low power GaAlAs laser on spinal Fos expression related to the anti-nociceptive effect of laser stimulation. Low power GaAlAs laser was applied to either acupoint or non-acupoint for 2 hour under light inhalation anesthesia. Spinal Fos expression in the dorsal horn was compared to that obtained in inhalation anesthesia control group. Furthermore, we analyzed the effect of the local treatment of lidocaine on the spinal Fos expression evoked by low power GaAlAs laser stimulation. The results were summarized as follows :

1. In the normal animals, only a few Fos like immunoreactive(Fos-IR) neurons were evident in the lumbar spinal cord dorsal horn. Similarly, following prolonged inhalation anesthesia, Fos-IR neurons were absent in the dorsal horn of the lumbar spinal cord. In animals treated with laser stimulation, Fos immunoreactive neurons were increased mainly in the medial half of ipsilateral laminae I-III at lumbar segments L3-5. These findings directly indicated that prolonged anesthesia used in this study did not affect the Fos expression in the spinal cord dorsal horn of intact animals and low power laser stimulation dramatically produced Fos expression in the spinal cord laminae that are related to the anti-nociceptive effect of laser stimulation.
2. In acupoint stimulated animals, 10mW of laser stimulation, not 3mW and 6mW intensity, significantly increased the number of Fos immunoreactive neurons in the spinal dorsal horn( $p<0.05$ ). However, laser stimulation on acupoint more dramatically increased the number of Fos immunoreactive neurons in the spinal cord rather than laser stimulation on non acupoint. These result suggested that laser stimulation on acupoint was more effective treatment to activate the spinal neuron than non acupoint stimulation.

3. The local treatment of lidocaine totally suppressed the activity of spinal neurons that were induced by lower power laser stimulation. These data indicated that the anti-nociceptive effect of laser stimulation was absolutely dependent upon the peripheral nerve activity in the stimulated location. In conclusion, these data indicate that 10mW of low power laser stimulation into acupoint is capable of inducing the spinal Fos expression in the dorsal horn related to the anti-nociceptive effect of laser stimulation. Furthermore, the induction of spinal Fos expression was totally related to the peripheral nerve activity in the laser stimulated area.

**Key words:** GaAlAs laser stimulation ; Immunohistochemistry ; c-fos ; Spinal cord

## I. 서 론

통증 유발요인의 형태에 따라 통증은 크게 물리적 자극에 의한 통증, 화학적 자극에 의한 통증 및 온도 변화에 따른 통증으로 구분된다. 다양한 유형에 의해 유발되는 통증을 효과적으로 조절하여 통증의 정도를 약화시키는 것이 임상적으로 중요하며, 이를 위해 온도의 변화를 통한 진통치료, 경피신경전기자극, 간섭전류자극, 미세전류자극, 저출력 레이저 조사 등 다양한 방법들이 응용되고 있다.

진통을 위한 치료방법중 저출력 레이저를 이용한 치료는 반도체 레이저인 GaAlAs 레이저와 기체 레이저인 헬륨-네온(He-Ne) 레이저의 두 가지가 주로 쓰이고 있으며 이들은 창상의 치료시기를 단축시키고 통증을 완화시키며(이태현 등, 1994) 꼬리도파 잠복시 측정에서 통증역치를 상승시킨다고 하였으며(곽현호 등, 1998; Ponnudurai et al, 1987), Snyder-Mackler 등(1989)은 헬륨-네온 레이저로 목과 허리 통증 환자의 발통점을 자극하여 통증을 완화시켰다고 하였다. 레이저는 현재 임상에서 통증을 완화시킬 뿐 아니라 다양한 분야의 질환을 치유하기 위한 목적으로 널리 사용되고 있다.

레이저 조사로 인한 진통작용은 김해규 등(1991)은 근긴장 완화, 혈관확장에 의한 혈류개선, 통증 유발 물질의 대사촉진 및 신경흥분성의 억제로 추정하고 있으며 Melzack과 Wall(1965)은 내인성 동통조절계(endogenous pain modulatory system)와 관련이 있다고 하였다. 이 내인성 동통조절계는 뇌간(brain stem)내에 위치하고 있는 여러 신경핵들이 각기 다른 신경전달물질을 매개로 하여 척수내의 신경세포간에 일어나는 통증의 전달 및 인식을 억

제함으로써 유발되는 것으로 알려져 있다(Haward et al, 1991). 뿐만 아니라 말초에 가해지는 레이저 자극의 유형에 따라 내인성 동통조절계를 구성하는 신경세포의 활성이 영향을 받으며 이들 신경세포들이 분비하는 신경전달물질의 분비에도 영향을 미친다고 하였다(Takagi et al, 1996). 그러나 어떠한 자극의 유형이 내인성 동통조절계의 신경세포 활성에 어떻게 영향을 주며 자극유형의 차이가 어떤 신경전달물질의 분비에 영향을 미쳐서 진통작용이 일어나는지에 대해서는 연구가 미약한 실정이다.

최근 간접적으로 신경세포의 활성을 측정하는 실험방법중 Fos 단백질에 대한 면역조직화학법이 많이 이용되고 있으며 이 방법은 외부 및 내부의 자극에 의해 신경세포의 활성이 증가하면 c-fos 유전자가 발현되고 이에 의해 Fos 단백질의 생산이 증가하게 된다. Fos 단백질은 자극이 가해진 후 약 30분 경부터 세포질 내에서 생산되기 시작하며 자극이 종료된 후 20-90분에는 종래에 상용되고 있는 면역조직화학법에 의해 이 단백질의 신경세포내 축적 여부를 감지할 수 있다. 따라서 이러한 c-fos 유전자 및 단백질의 특성을 이용한 면역조직화학법을 통해 Fos 단백질을 측정함으로써 다양한 형태의 자극에 대한 신경세포들의 단기반응(short term response) 및 활성증가 여부를 간접적으로 측정, 분석하는데 이용되고 있다(Dragunow & Faull, 1989; Lee et al, 1992a; Lee & Beitz, 1992b).

이에 본 연구에서는 저출력 레이저 자극의 자극부위 및 강도에 따른 실험동물의 척수내에 존재하는 통증조절에 관여하는 이차 신경세포들의 활성 변화에 대하여 분석하고자 한다. 이를 위해 저출력 레이저를 경혈과 비경혈 및 강도를 달리하여 조사한 후 척수내 관련 신경세포내에 축적되는 Fos 단백질의 유무를 측정함으로써 어떠한 형태

의 저출력 레이저 자극유형이 효과적으로 척수내의 반응 신경세포군의 활성을 증가시키는지의 여부를 검정하고자 한다. 나아가 저출력 레이저 조사에 반응하는 척수내 신경세포의 활성에 국소마취가 미치는 영향을 알아보고자 한다.

## II. 연구방법

### 1. 실험대상

본 실험은 350-400g인 Sprague Dawley종 웅성 백서(대실험동물, n=50)를 사용하였으며, 실험 기간중 스트레스 및 환경의 변화를 최소화함으로써 이러한 요인들이 신경세포의 활성에 영향을 미치지 않도록 실험동물을 관리하였다. 뿐만 아니라 실험전후에 동물의 상태를 점검하여 외상의 여부와 질병상태를 검사하고, 이를 바탕으로 정상 실험동물을 선별하여 실험에 사용하였다. 모든 실험은 신경활성의 일간변동(diurnal variation)을 배제시키기 위해 오전 8시에서 12시 사이에 진행하였다.

### 2. 레이저 자극방법

GsAlAs type 의 endolaser 476 레이저조사기 (최대파장 780nm, Asah Medico, Denmark)를 사용하였으며, 최대 10mW (6J/10min)의 강도로 레이저를 조사하였다. 레이저 자극시 실험동물을 플라스틱으로 제작한 고정틀(Ugo Basile)을 사용하여 고정된 후 조사할 부위의 털을 깨끗이 제거한 후 실시하였다.

### 3. 실험설계

3-1. 경혈 및 임의혈 자극에 따른 척수내 신경세포 활성 변화 검증실험동물을 레이저자극의 조사부위에 따른 척수내 신경세포의 활성 변화를 분석하기 위해 아이소플루란(isoflurane)으로 흡입마취시킨 후 저출력 레이저를 레이저 조사기의 최대출력인 10mW의 강도로 고정한 후 경혈(족삼리)과 비경혈부위에 조사한 후 척수내 신경세포의 활성 변화를 검증하였다. 족삼리 자극군은 마취후 플라스틱 고정틀에 실

험동물을 보정하고, 2시간 실험동물의 우측 후지에 위치한 경골 전결절(tibia anterior tubercle)의 외측 5 mm 및 경골(tibia)과 비골(fibula) 사이에 위치하고 있는 족삼리(Zusanli, ST36)에 처치하였으며, 임의혈 자극군의 경우 실험동물의 둔부 임의혈에 족삼리 자극군에서와 동일한 방법으로 레이저를 조사하였다.

3-2. 레이저 조사강도에 따른 척수내 신경세포 활성변화 검증 실험동물에 조사하고자 하는 레이저의 강도에 따른 진통효과의 변화를 관찰하기 위해 레이저의 조사강도를 3mW, 6mW 및 10mW의 강도로 각각의 실험군에 속한 실험동물의 우측 후지에 위치한 족삼리에 2시간 레이저를 조사한 후에 척수내 신경세포의 활성을 측정하였다.

3-3. 국소마취가 레이저 조사에 반응하는 척수내 신경세포의 활성에 미치는 영향 레이저 조사강도에 의한 척수내 신경세포의 활성변화 분석을 위해서는 동일한 조건에서 경혈부위를 국소마취제인 2% lidocaine (150ul, 3mg/kg)으로 조사하기 전 10분전, 조사시작 후 30분, 및 1시간 10분경에 마취한 후 저출력 레이저의 출력을 10mW의 강도로 2시간 조사한 후 국소마취가 척수내 신경세포의 활성에 미치는 영향을 분석하였다.

3-4. 대조군

첫 번째 대조군으로는 실험환경조건하에서의 척수내 신경세포 활성을 검증하기 위해 실험이 진행되는 동일한 조건하에 레이저 자극을 가하지 않은 상태의 실험동물을 위에서 설명한 것과 동일한 방법으로 척수내 Fos 단백질의 핵내 축적 정도를 분석하였다.

두 번째 실험대조군으로서는 실험에 사용한 isoflurane 흡입마취가 실험동물의 신경활성에 미치는 영향을 검정해 보기 위해 실험에 사용한 동일 양의 마취제를 실험동물에 투여하고 레이저 자극을 가하지 않은 상태에서 척수내 신경세포 활성에 어떠한 영향을 미치는지를 Fos 단백질에 대한 조직면역염색법을 이용하여 검정하였다.

#### 4. Fos 단백질을 위한 면역조직염색법

레이저 자극이 끝난 2시간 후에 심장을 통해 고정액을 주입하여 고정된 뇌와 척수(lumbosacral enlargement를 중심으로)를 실험동물에서 신속하게 분리하고, sliding microtome이나 cryotome을 사용하여 두께가 25-50um인 조직절편을 제작하였다. 제작된 절편은 신속하게 PBS(pH 7.4)에 넣어 면역조직염색법에 사용하였다. 실험에 사용될 Fos 단백질에 대한 일차항체는 Human Fos 단백질의 4-17번 amino acid에 특이성을 가지는 epitope를 항원으로 백토에서 제작한 다크론 항체(rabbit polyclonal antibody, Sigma)를 1:20,000으로 희석하여 사용하였다. 일차항체는 4°C에서 12시간 이상 반응을 유도한 후 이차항체(sheep anti rabbit IgG)를 1:200으로 희석하여 실온에서 1시간 반응시켰으며, 이차항체의 반응이 모두 끝난 조직은 avidin-biotin complex(Vector) kit를 사용하여 발색을 유도하여 신경세포내의 Fos 단백질의 측정정도를 가시화하였다. 가시화가 종료된 조직은 젤라틴(gelatin)으로 표면처리된 슬라이드에 옮긴 다음 건조와 탈수의 과정을 거친 후 덮개용 유리(coverglass)로 덮어 관찰할 때까지 4°C에서 보관하였다.

#### 5. 결과의 분석

실험에서 분석하고자 하는 척수의 부분명칭과 경계는 Paxinos 및 Watson(1986)이 제작한 Rat Brain Atlas를 참조하여 결정하였다. 면역반응이 완료된 조직은 Zeiss Axiophot 2 현미경을 이용하여 각각 400배 및 1000배의 배율로 관찰하였다. 핵내에 Fos 단백질을 측정하고 있는 신경세포의 숫적인 변화를 관찰하기 위해 디지털 영상 분석장치(digital image analysis system)를 이용하여 평균 grey level이 130 unit이하 되는 신경세포만을 선택적으로 선별하여 측정하였다. 신경세포의 숫적변화는 연결된 컴퓨터에 자동적으로 저장되며, 측정이 끝난 후 일괄적으로 통계처리하였다. 실험에 사용한 조직은 실험동물별로 가장 선명한 면역성을 가진 조직중 5개를 선별하여 뇌와 척수내의 신경핵별로 숫적인 변화를 관찰하였다.

#### 6. 통계처리

실험결과는 1-way ANOVA(Statview512+ Software, Brainpower Inc., Abacus Concept Inc., 1986)을 이용하여 통계처리 하였다. 뿐만 아니라 probability values를 측정하기 위해 Scheffe F test를 실시하였으며, 실험동물간의 variance도 고려하였다.

### Ⅲ. 실험 결과

#### 1. 경혈 및 임의혈 자극에 따른 척수내 신경세포 활성변화

실험에 사용한 흡입마취가 정상적인 척수내 신경세포의 활성에 미치는 영향을 검증하기 위해 정상동물의 척수와 흡입마취만을 처치한 마취대조군을 비교하였을 때 마취대조군에서 관찰되는 척수내 Fos 단백질 양성 신경세포의 분포양상(Fig 1B.)은 정상동물(Fig 1A.)과 차이를 나타내지 않았다. 저출력 레이저의 경혈 및 임의혈 자극에 따른 척수내 반응 신경세포의 활성변화는 Table 1 및 Figure 1에서 보는 바와 같이 척수내의 dorsal part중 특히 laminae I, II 및 III에서 마취대조군에 비해 현저히 증가되어 관찰되었으며(Fig 1C. arrows), 척수의 ventral part 중 laminae VII, VIII 및 IX에서도 마취 대조군보다 레이저 자극군이 신경세포의 활성증가로 인해 생산되는 Fos 단백질을 함유하고 있는 신경세포의 수가 증가된 것으로 관찰되었다(P<0.05).

척수내의 dorsal part중 특히 laminae I, II 및 III에서는 경혈자극군과 임의혈자극군에서 모두 마취대조군에 비해 현저한 신경세포의 활성증가를 보였으나, 경혈자극군이 임의혈 자극군에 비해 신경세포의 활성을 현저히 증가시키는 것으로 나타났다(Fig 1C. and D.).

또한 척수의 ventral part 중 laminae VII, VIII 및 IX에서는 각각의 자극군에서 대조군에 비해 신경세포의 활성 증가되어 관찰되었다.

Table 1. The number of Fos immunoreactive neurons in the lumbar spinal cord depending upon stimulation sites(acupoint vs. non acupoint) for 2 hours

Sites	Anesthetic control group	Acupoint stimulated group	Non-Acupoint stimulated group
laminae I - III	37±1.9	302±2.8 <sup>AB</sup>	10.5±1.3 <sup>A</sup>
laminae VII - IX	1.3±1.2	10.8±1.3 <sup>AB</sup>	4.2±1.9 <sup>A</sup>

Each value denotes the mean with SEM(n=10).

A : significantly different from the value of anesthetic control group(P<0.05)

B : significantly different from the value of non-acupoint stimulated group(P<0.05)

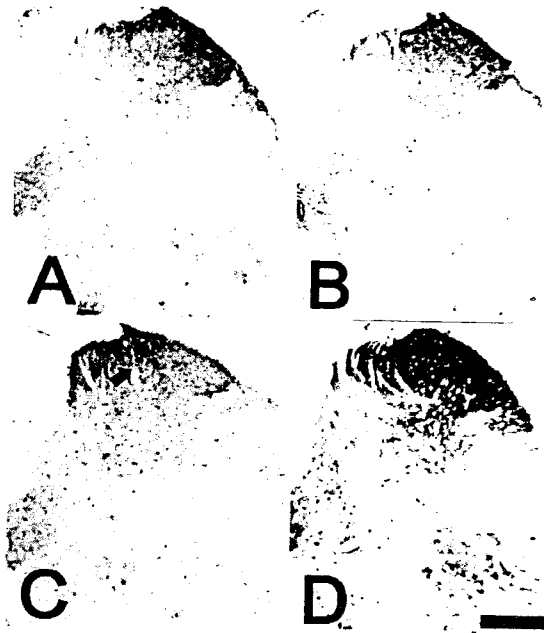


Fig 1. The number of Fos immunoreactive(IR) neurons in the lumbar spinal cord of the rat depending upon stimulation sites(acupoint vs. non-acupoint). Normal animals showed a few number of Fos-IR neurons in the spinal cord(A) and anesthesia control group showed similar pattern to that of

normal animals(B). However, acupoint stimulation produced increased Fos-IR neurons in the spinal cord(C, arrows). This increased number of spinal Fos expression was decreased in the non-acupoint stimulated animal group(D). Scale bar=300µm.

## 2. 레이저 조사강도에 따른 척수내 신경세포 활성변화 검증

Table 2에서 보는 바와 같이 각기 다른 강도의 저출력 레이저를 2시간동안 처치한 경우, 10mW로 자극한 실험군에서만 마취대조군에 비해 척수내 신경세포의 활성이 증가한 것으로 관찰되었다(P<0.05). 반면 3mW 및 6mW의 강도로 처치한 실험군의 척수내 dorsal part에서는 각각 평균 4.2개, 및 3.9개의 Fos 단백질을 함유하고 있는 신경세포를 관찰 할 수 있어 마취대조군에 비해 통계적으로 유의한 차이를 관찰할 수 없었다.

실험군들의 척수내 ventral part에서도 10mW의 강도로 2 시간동안 레이저를 조사한 실험군에서 마취대조군에 비해 미약한 신경활성의 증가를 나타내었으나(P<0.05), 3mW 및 6mW의 강도로 조사한 군에서는 마취대조군에 비해 유의한 차이를 관찰할 수 없었다.

## 3. 국소마취가 레이저 조사에 반응하는 척수내 신경세포의 활성에 미치는 영향

국소마취제만을 사용하였을 때 나타날 수 있는 척수내 신경세포의 변화를 관찰하기 위해 lidocaine만을 같은 조건에서 주사하고 마취대조군(Fig 2A.)과 비교한 결과 국소마취제만을 투여한 군(Fig 2B.)에서는 대조군과 비교하여 유의한 차이를 관찰할 수 없었다(Table 3.). 이를 바탕으로 국소마취가 레이저 조사에 반응하여 진통작용을 나타낼 것으로 추측되는 척수내 신경세포의 활성에 미치는 영향을 검증하기 위해 국소마취제인 lidocaine을 레이저 자극부위에 자극 시작 10분 전에 처치하여 총 세차폐에 거쳐 40분 간격으로 처치하여 자극부위를 담당하는 말초신경의 활성을 완전히 차단한 상태에서 10mW의 강도로 레이저를 경혈부위에 2시간동안 조사하였다. 그 결과 Table 3.에서 보는 바와 같이 국소마취를 처치하지 않고 레이저를 조사

한 군(Fig 2C.)에서 평균 40개의 Fos 단백질 양성 세포가 관찰되는 것에 반해 lidocaine을 전처치하고 레이저를 조사한 군(Fig 2D.)에서는 척수내 Fos 단백질 양성 신경세포의 수가 마취대조군의 수준으로 감소하는 것을 관찰 할 수 있었다.

Table 2. The number of Fos expression induced by low power GaAlAs laser treatment with different intensity in the lumbar spinal cord

Sites	Anesthetic control group	3mW	6mW	10mW
laminae I - III	3.7±1.9	42±0.9	3.9±1.1	30.2±2.8ABC
laminae VII - IX	1.3±1.2	15±0.5	1.3±0.9	10.8±1.3ABC

Each value denotes the mean with SEM(n=10).

- A : significantly different from the value of anesthetic control group(P<0.05)
- B : significantly different from the value of 3mW intensity of laser stimulated group(P<0.05)
- C : significantly different from the value of 6mW intensity of laser stimulated group(P<0.05)

Table 3. The effect of lidocaine treatment on the number of Fos expression induced by low power GaAlAs laser treatment in the lumbar spinal cord

Sites	Anesthetic control group	Lidocaine treatment only	Laser stimulation with lidocaine treatment group	Laser stimulation without lidocaine treatment group
laminae I - III	3.7±1.9	3.8±2.2	3.5±1.4	30.2±2.8ABC
laminae VII - IX	1.3±1.2	1.9±1.8	2.2±1.2	10.8±1.3ABC

- A : significantly different from the value of anesthetic control group(P<0.05)
- B : significantly different from the value of lidocaine treatment only group(P<0.05)
- C : significantly different from the value of laser stimulation with lidocaine treated group(P<0.05)

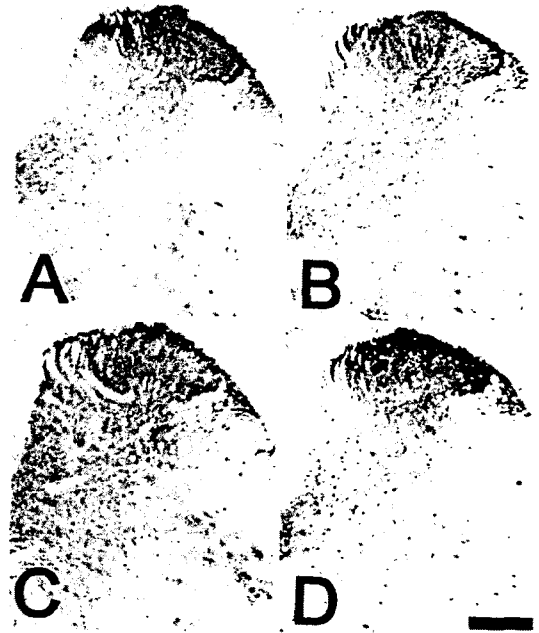


Fig 2. This photographs represent the distribution of Fos immunoreactive(IR) neurons in the lumbar spinal cord in the rat depending upon the lidocaine treatment. Anesthesia control group(A) and only lidocaine treated group(B) showed a small number of Fos-IR neurons. Increased Fos immunoreactive neurons were observed in the laser stimulation without lidocaine treated group(D, arrow). However, lidocaine treatment dramatically suppressed the spinal Fos expression induced by laser stimulation(C). Scale bar = 300µm.

#### IV. 고찰

포유류에 존재하는 proto-oncogene의 일종인 c-fos는 2 murineosteogenic sarcoma virus에서 발견되는 v-fos와 동일한 것으로서 특히 신경세포내에서 nerve growth factor, cholinergic neurotransmitter, 및 calcium과 cAMP와 같은 second messenger들의 활성화 의해 발현되는 것으로 알려져 있다(Morgan & Curran, 1992). 뿐만 아니라 c-fos는

세포막에 존재하는 NMDA 수용체나 L-type calcium channel 등의 활성증가에 의해서도 발현되며(Kehl et al, 1991; Murphy et al, 1991) 특히 신경세포가 외부 및 내부의 자극에 의해 탈분극되는 초기에 발현되기 함으로 'early response gene' 또는 'primary response gene' 이라고 명명하기도 한다. 따라서 초기 자극에 의해 신경세포가 탈분극됨으로써 c-fos proto-oncogene이 발현되며, 그 결과 생성되는 Fos 단백질과 또다른 primary response gene의 일종인 c-jun proto-oncogene의 발현으로 생성되는 Jun 단백질이 동시에 신경세포 DNA내의 AP-1 regulatory site에 결합함으로써 다른 target gene들의 활성과 발현을 조절하는데 관여하는 것으로 알려져 있다(Sheng & Greenberg, 1990; Naranjo et al, 1991). c-fos gene의 활성에 의해 생산되는 Fos 단백질은 최초 자극이 있는 지 약 30분 후부터 세포질 내에 나타나기 시작하며, 최초자극이 있는 후 20-90분에는 종래에 상용되고 있는 면역조직염색법에 의해 Fos 단백질의 신경세포내 축적유무를 쉽게 감지할 수 있다. 현재 이러한 c-fos gene 및 단백질의 특성을 이용하여 신경세포의 활성도를 간접적으로 측정하는데 다양하게 이용되고 있다(Kaufman et al, 1991; Lee et al, 1993).

앞서 기술한 바와 같이 Fos 단백질의 발현은 외부 및 내부에서 전달되는 여러 가지 유형의 자극에 영향을 받는 것으로 알려져 있어 실험설계와 실험동물의 처치에 주의를 기울여야 하는 것으로 보고되어 있다(손성세, 1998). 따라서 마취가 척수내 Fos 단백질 발현에 어떤 영향을 미치는가를 확인하기 위해 정상동물과 마취동물을 비교했을 때, 마취가 Fos 단백질에 대한 양성반응 신경세포의 수적 변화에 미치는 영향을 관찰할 수 없었던 바, 본 실험에 사용한 흡입마취가 정상동물의 척수내 신경세포의 활성에 영향을 미치지 않음을 확인 할 수 있었다. 한편, 종래의 연구보고에 의하면 일반적으로 마취제를 사용할 경우, 마취제를 사용하지 않은 경우의 Fos 단백질 신경세포내 축적량에 비해 현저히 감소시키므로 실험에 사용한 자극의 강도와 지속시간을 증가시켜야 하는 것으로 알려져 있다. 만약 마취제를 사용하지 않고 실험을 진행할 수 있다면, 마취제의 사용을 최소한으로 자제 해야하지만 실험방법상 실험동물이 지나치게 스트레스를 받는다면 불필요한 외부자극을 배제하기 어려울 경우, 최소한의 마취제를 사용하는 것이 바람직한 것으로 보고되고 있다(Lee & Beitz, 1992b). 뿐만 아니라, 마취제 중 케타민(ketamine)이나 바

비츠티이트(barbiturate)와 같은 약물은 Fos 단백질의 합성을 현저히 감소시키는 것으로 밝혀져 있어 Fos 단백질 정량 및 정성 실험에는 사용을 자제하는 것이 바람직한 것으로 알려져 있으며 클로랄 하이드레이트(chloral hydrate)나 할로탄(halothane) 및 아이소플루린(isoflurane)과 같은 흡입마취제가 Fos 단백질의 발현에 거의 영향을 미치지 않는 것으로 보고되어 있다.

위에서와 같이, 본 실험에 사용한 흡입마취가 척수내 Fos 단백질 양성반응 신경세포 발현에 영향을 미치지 않는다는 실험결과를 바탕으로, 저출력 레이저가 경혈 및 임의혈 자극에 따른 척수내 신경세포의 활성변화에 미치는 영향을 검증하였다. 경혈인 족삼리에 10mW의 강도로 레이저를 조사한 결과, 레이저 자극에 반응하는 척수내 Fos 단백질 양성반응 신경세포의 수가 마취대조군에 비해 현저히 증가하여 관찰되었다( $P < 0.05$ ). 임의혈 자극군의 경우 레이저를 조사한 군에서는 마취대조군에 비해 레이저에 반응하는 Fos 단백질 양성반응 신경세포의 수적 증가를 관찰할 수 있었다. 그러나 이러한 증가는 경혈에 자극한 실험군에 비해 현저히 낮은 수준을 나타내고 있었다. 이러한 결과로 미루어 볼 때, 경혈인 족삼리에 10mW 강도인 저출력 레이저를 조사한 실험군에서 실험에 사용한 레이저 자극에 반응하는 척수내 Fos 단백질 양성반응 신경세포의 활성이 임의혈자극군에 비해 현저히 증가됨을 알 수 있었다.

## V. 결 론

본 연구는 저출력 레이저로 자극시 내인성 동통조절계의 진통작용과 관련된 척수내 신경세포의 활성변화에 미치는 영향을 검증하기 위하여 흰쥐를 흡입마취한 상태에서 경혈(족삼리)과 임의혈에 레이저를 조사하여 대조군과 비교하였다. 또한 국소 마취제인 리도카인이 척수내 신경세포에 미치는 영향을 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 첫째, 단순히 아이소플루린(isoflurane)으로 흡입마취한 대조군에서 척수내 Fos 단백질 발현에 어떠한 영향을 미치는지를 확인하기 위해 정상동물과 비교한 결과 Fos 단백질에 대한 양성 반응 신경세포의 수에 유의한 차이는 발견할 수 없었다. 그러나 레이저 자극을 가한 실험군에서는 L3-5의 Laminar I-III에서 유의한 차이로 증가됨을 관찰할 수 있었다. 이러한 현상은 본 실험에 사용한 흡입마

취로 레이저 조사시 척수내 신경세포의 활성화에 영향을 주지 않는다는 것을 시사한다.

둘째, 자극 부위 및 강도에 따른 척수내 신경세포의 활성화에 미치는 영향을 분석한 결과 10mW의 강도로 경혈(족삼리)을 자극한 실험군에서 척수내 Fos 단백질 양성반응 신경세포의 수가 증가하였으나 (P<0.05) 3mW와 6mW의 강도로 조사한 실험군과 임의혈을 자극한 실험군에서는 대조군에 비해 유의한 차이를 발견할 수 없었다.

셋째, 국소마취제(lidocaine) 만을 사용한 실험군과 흡입마취 대조군과 비교한 결과 유의한 차이를 관찰할 수 없었다. 이를 바탕으로 국소 마취제를 레이저 자극부위에 처치하여 자극부위를 담당하는 말초신경의 활성을 차단한 상태에서 레이저를 경혈에 10mW의 강도로 조사하고 국소 마취제를 처치하지 않고 같은 조건으로 레이저를 조사하여 비교한 결과 국소 마취를 하지 않고 레이저를 조사한 군에서 Fos 단백질 양성세포가 유의하게 증가하였다. 이러한 사실은 레이저자극으로 인한 척수내 신경세포의 활성화가 자극된 부위의 말초신경에 전적으로 의존하고 있다는 것을 의미한다.

### 참 고 문 헌

1. 광현호, 김도형, 최현희 등. 쥐에 대한 레이저 자극시 진통효과. 한국전문물리치료 학회지. 5(2) : 15-21, 1998.
2. 김해규, 백승완, 김인세 등. 저출력 레이저의 임상적 응용. 대한통증학회지. 4(2) : 106-110, 1991.
3. 손성새. Fos 면역조직 화학법을 이용한 신경활성 검정에 관한 고찰. 경희대학교 대학원 박사학위논문. 1998.
4. 이태현, 손덕희, 김봉일 등. 저출력 레이저 조사에 의한 창상의 통증완화 및 치유조장. 대한통증학회지. 7(1) : 74-77, 1994.
5. Dragunow M, Faull R. The use of c-fos as a metabolic marker in neuronal pathway tracing. J. Neuroscience Methods, 29 : 261-265, 1989.
6. Haward LF, Heinricher MM, Mason P. Neurotransmitters in nociceptive modulatory circuits. Annu Rev Neurosci, 14 : 219-245, 1991.

Kaufman GD, Anderson JH, Beitz AJ. Activation of a specific vestibulo-ovary pathway following centripetal acceleration in the rat. Brain Res, 562 : 311-317, 1991.

Kehl LJ, Gogas KR, Lichtblau L, et al. The NMDA antagonist MK 801 reduces noxious stimulus-evoked FOS expression in the spinal cord dorsal horn In : Bond MR, Chariton JE, Woolf CJ, eds. Proc. 6th World Congress on Pain. Elsevier, Amsterdam, 307-311, 1991.

Lee JH, Wilcox GL, Beitz AJ. Nitric oxide mediates Fos expression in the spinal cord induced by mechanical noxious stimulation. Neuro Report, 3 : 841-844, 1992a.

Lee JH, Beitz AJ. Electroacupuncture modifies the expression of c-fos in the spinal cord induced by noxious stimulation. Brain Res, 577 : 80-91, 1992b.

Lee JH, Price R, Williams FG, et al. Nitric oxide synthase is found in some spinothalamic neurons and in neuronal processes that appose spinal neurons that express Fos induced noxious stimulation. Brain Research, 608 : 324-333, 1993.

Melzack R, Wall PD. Pain mechanisms : A new theory. Science, 150 : 971-979, 1965.

Morgan JI, Curran T. Role of ion flux in the control of c-fos expression. Nature, 322 : 552-555, 1992.

Murphy T, De Long MJ, Coyle JT. Enhanced NAD(P)H : quinone reductase activity prevents glutamate toxicity produced by oxidative stress. J. Neurochem, 27 : 620-625, 1991.

Naranjo JR, Bellstrom B, Achaval M, et al. Molecular pathways of pain. Fos/Jun-mediated activation of a non canonical AP-1 site in the prodynorphin gene. Neuron, 6 : 607-617, 1991.

Ponnudurai RN, Zbuzek VK, Wu WH. Hypoalgesic effect of laser photobiostimulation shown by rat tail flick test. Acupunt Electrother Res Int J. 12 : 93-100, 1987.

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

Synder-Mackler L, Barry AJ, Perkins AI, et al. Effects of Helium-Neon laser irradiation on skin resistance and pain in patients with trigger points in the neck or back.



Physical therapy, 69 : 336-344, 1989.

Takagi J, Sawada T, Yonehara N. A possible involvement of monoaminergic and opioidergic systems in the analgesia induced by electroacupuncture in rabbits. Jpn J Pharmacol, 70 : 73-80, 1996.

Thawer HA, Houghton PE. Effect of laser irradiation on the growth and development of fetal mouse limbs in an In Vitro Model. Lasers in Surg and Med, 24 : 285-295, 1999.