

다발성 관절염 실험동물 모델에서 저출력 GaAlAs 레이저 자극의 진통효능 및 통증관련 척수내 신경세포의 활성변화에 관한 연구

인하대병원 물리치료실 · 대원과학대학 물리치료과¹⁾ · 서라벌대학 작업치료과²⁾

장문경 · 최영덕¹⁾ · 박봉순²⁾

The effect of low power GaAlAs laser stimulation on anti-nociception and spinal neuronal activity related to pain sensation in the polyarthritis of rats

Chang, Moon-kyung · Choi, Young-duk¹⁾ · Park, Bong-soon²⁾

Dept. of Physical Therapy, In-Ha Hospital University

Dept. of Physical Therapy, Daewon Science College¹⁾

Dept. of Occupation Therapy, Sorabol College²⁾

- ABSTRACT -

The experiments were designated to evaluate the anti-nociceptive effect of low power laser stimulation on acupoint or non-acupoint using arthrogenic solution induced poly arthritis animal model. Evaluation of potential antinociceptive effect of low power laser on arthritis has employed measurements of the foot bending test, the development of either thermal or mechanical hyperalgesia following the arthritis induction. The analysis of thermal hyperalgesia includes Hargreaves' s method. Randall-Sellitto test was utilized for evaluating mechanical hyperalgesia. In addition, the antinociceptive effect of low power laser stimulation on arthritis induced spinal Fos expression was analyzed using a computerized image analysis system. The results were summerized as follows:

1. In laser stimulation on acupoint treated animal, laser stimulation dramatically inhibited the development of pain in foot bending test as compared to those of non acupoint treated animal group and non treated animal group.
2. The threshold of thermal stimulation was significantly increased by low power laser stimulation on acupoint as compared to that of non treated control group.

3. Laser stimulation on acupoint dramatically attenuated the development of mechanical hyperalgesia as compared to that of non treated group.
4. Low power laser stimulation on acupoint significantly suppressed arthritis induced Fos expression in the lumbar spinal cord at 3 week post arthritis induction.

In conclusion, the results of the present study demonstrated that low power laser stimulation on acupoint has potent anti-nociceptive effect on arthritis. Additional supporting data for an antinociceptive effect of laser stimulation was obtained using Fos immunohistochemical analysis on spinal cord section. Those data indicated that laser stimulation induced antinociception was mediated by suppression of spinal neuron activity in pain sensation.

Key words : GaAlAs laser, Arthritis, Anti-nociception, mechanical hyperalgesia, Fos expression

I. 서 론

관절염은 염증성 관절질환으로서 반복적인 동통으로 인해 사회활동 및 일상생활에 많은 불편함을 초래하고 있으며, 현재까지 관절염으로 유발되는 통증을 억제하기 위해 아스피린계의 진통제와 스테로이드성 약물들이 사용되어 있으나 (Campbel, 1998; Scott et al., 1998), 이들 약물의 부작용에 의해 사용이 제약을 받고 있다 (Peter and Peter, 1997; Pincus et al., 1992).

현대의학에서는 이러한 관절염 치료제의 부작용을 최소화시키고, 치료의 효율을 높이기 위해 침술, 진통요법(vibration therapy) 및 저출력 레이저 등과 같은 대체치료기법들이 병행되고 있다 (David et al., 1994). 관절염치료를 위한 저출력 레이저 이용은 사람을 대상으로 한 임상에서 진통을 목적으로 다용되고 있으나, 이러한 레이저가 가지는 진통효능에 대한 객관적인 평가가 이루어지지 않아 논란의 여지가 많은 실정이다 (England, 1988; Stelian et al., 1992; Walker, 1983).

실험동물에서 Freund's adjuvant과 같은 arthrogenic solution 국문설명요함을 이용한 다발성 관절염 모델은 그 임상증상이 사람에서 관찰되는 류마티스관절염과 유사한 것으로 알려져 있다

(Colpaert et al., 1987). 이러한 Arthrogenic solution을 이용하여 유발한 관절염은 관절염 유발 10일 후부터는 급격한 운동성의 감소 및 scratching behavior와 같은 통증반응을 수반하며, 이러한 임상증상들이 수주까지 지속되는 것으로 알려져 있다 (Philippe et al., 1997; Abbadie and Besson, 1992).

실험동물을 이용한 관절염 모델에서 만성적인 통증에 의해 요척수내에서 다량의 Fos 단백질을 발현하며 발현양상이 임상증상의 정도와 일치한다고 알려져 있다 (Abbadie and Besson, 1992; Abbadie and Besson, 1994). 이러한 Fos 단백질의 발현양상을 이용하여 morphine과 같은 진통제 (Abbadie and Besson, 1993) 및 아스피린과 같은 진통소염제 (Abbadie and Besson, 1994)가 관절염으로 유발되는 진통효과를 검증하는데 사용되었다.

따라서 이에 본 연구에서는 arthrogenic solution을 이용하여 관절염 유발후 실험동물에서 나타나는 통증에 저출력 레이저가 가지는 진통효과를 검증하기 위하여 첫째 발목의 운동시 유발되는 통증을 직접적으로 평가할 수 있는 foot-bending test 국문설명요함 (Kuzuna and Kawai, 1975; Winter et al., 1979)를 실시하였으며, 관절염시 나타나는 thermal hyperalgesia 국문설명요함을 측정하기 위해 Hargreaves's method (Hargreaves et al., 1988)를 이용하였다. 뿐만 아니

라 mechanical hyperalgesia를 측정하기 위해 Randall-Selitto test (Randall and Selitto, 1957)를 실시하였다. 나아가 간접적으로 신경세포의 활성을 측정하는 실험방법 중 Fos 단백질에 대한 면역조직화학법 (Dragunow and Faull, 1989 ; Lee et al., 1992a ; Lee and Beitz, 1992b)을 이용하여 저출력 레이저 자극에 의한 척수내 통증관련 신경세포의 활성변화에 대해 영상분석기법을 이용하여 분석하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물

본 실험은 350-400g인 Sprague Dawley종 웅성 백서 (대한실험동물, n=50)를 사용하였으며, 실험 기간중 stress 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 diurnal variation을 배제시키기 위해 오전 8시에서 12시 사이에 진행하였다.

2. 레이저 자극방법

Gs-As-Al type의 endolaser 476 레이저조사기 (최대파장 780nm, Asah Medico, Denmark)를 사용하였으며, 최대 10mW(6J/10min)의 강도로 레이저를 조사하였다. 레이저 조사는 관절염을 유발하고 1일이 경과한 날로부터 일일 일회에 처치하였으며, 실험기간인 3주동안 처치하였다. 레이저 자극시 실험동물을 플라스틱으로 제작한 고정틀(Ugo Basile)을 사용하여 고정된 후 조사할 부위의 털을 깨끗이 제거한 후 실시하였다.

3. 관절염의 유발

관절염을 유발하기 위해 실험동물을 3% isoflurane 와 N2O/O2 가스가 혼합된 기체로 흡입마취 시킨 후, Mycobacterium butyricum (Difco Laboratory, Detroit, MI, USA) 용액 50 μ l를 오른쪽 후지 발등에 피하 주사하여 유발시켰다. Mycobacterium butyricum 용액은 살균된 mineral oil에 20mg/ml가 되도록 희석하여 사용하였다. 대조군 실험동물은 동량의 mineral oil을 피하주사하였다.

4. 실험설계

1) 레이저 조사군과 무처치 대조군

실험동물에서 나타나는 레이저자극의 조사에 따른 진통효능을 검증하기 위해 isoflurane으로 흡입마취시킨 후 저출력 레이저를 레이저 조사기의 최대출력인 10mW의 강도로 고정한 후 경혈(족삼리)에 조사한 후 진통효능을 무처치 대조군과 비교하였다. 족삼리 자극군은 마취후 플라스틱 고정틀에 실험동물을 보정하고, 10분간 실험동물의 우측 후지에 위치한 경골 전결절(tibia anterior tubercle)의 외측 5mm 및 경골(tibia)과 비골(fibula) 사이에 위치하고 있는 족삼리 (Zusanli, ST36)에 처치하였으며, 무처치 자극군의 경우 족삼리 자극군에서와 동일한 방법으로 보정한 후 레이저 조사만을 생략하였다.

2) 경혈 및 임의혈 자극에 따른 진통효과의 검증

실험동물을 레이저자극의 조사부위에 따른 진통효능을 분석하기 위해 아이소플루린(isoflurane)으로 흡입마취시킨 후 저출력 레이저를 레이저 조사기의 최대출력인 10mW의 강도로 고정한 후 경혈(족삼리)와 비경혈부위에 조사한 후 진통효능을 검증하였다. 족삼리 자극군은 마취후 플라스틱 고정틀에 실험동물을 보정하고, 10분간 실험동물의 우측 후지에 위치한 족삼리 (Zusanli, ST36)에 처치하였으며, 임의혈 자극군의 경우 실험동물의 둔부 임의혈에 족삼리

자극군에서와 동일한 방법으로 레이저를 조사하였다.

5. 족부 굴곡 검사(Foot-bending test)

foot-bending test는 발목의 운동시 유발되는 통증을 측정하는 방법으로서 무릎관절을 무리한 힘을 가하지 않고 펴고 구부리는 동안 동물의 통증을 수치화하는 방법으로 간편하면서도 효과적으로 진통여부를 알아볼 수 있다 (Winter et al, 1979). 실험동물을 보정한 후 급하고 펴는 동작을 5회 반복하여 통증으로 인한 발성(vocalization)을 보일 경우 점수화한다. 측정은 유발직후 부터 3일마다 실시한다.

6. Hargreaves's method

관절염유발로 인하여 열자극에 대한 통증의 역치가 낮아짐을 이용하여 관절염에 대한 열자극에 대한 통증정도를 측정하는 방법이다 (Hargreaves et al., 1988). Plantar tester(UGO BASIL, Italy)를 사용하여 관절염을 유발된 양쪽발에 강한 불빛을 비추어 paw 회피반응을 보이는 시간을 측정한다. 측정은 유발직후 부터 3일마다 실시한다

7. Randall-Selitto test

Randall-Selitto test (1957)는 관절염 유발시 기계적 자극에 대한 통증의 역치가 낮아짐을 이용하여 통증의 정도를 측정하는 방법이다. analgesy meter (LETICA, LE7356)을 사용하여 관절염이 유발된 양쪽발에 기계적인 압력을 가하여 동물이 발을 피하거나 발성(vocalization)을 국문으로 전환요함 보이는 압력(g)을 측정한다. 관절염 유발직 후부터 3 일단위로 측정한다.

8. 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 축적정도를 가시화하였다. 가시화가 종료된 조직은 젤라틴(gelatin)으로 표면처리된 슬라이드에 옮긴 다음 건조와 탈수의 과정을 거친 후 덮개용 유리(cover slip)로 덮어 관찰할 때까지 4°C에서 보관하였다.

9. 결과의 분석

실험에서 분석하고자 하는 척수의 부분명칭과 경계는 Paxinos 및 Watson (1986)이 제작한 Rat Brain Atlas를 참조하여 결정하였다. 면역반응이 완료된 조직은 Zeiss Axiophort 2 현미경을 이용하여 각각 400배 및 1000배의 배율로 관찰하였다. 핵내에 Fos 단백질을 축적하고 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 일괄적으

로 통계처리하였다. 실험에 사용한 조직은 실험동물 별로 가장 선명한 면역성을 가진 조직중 5개를 선별 하여 뇌와 척수내의 신경핵별로 숫적인 변화를 관찰 하였다.

10. 통계처리

실험결과는 1-way ANOVA (Statview512+ Software, Brainpower Inc., Abacus Concept Inc., 1986)을 이용하여 전체적인 효능을 검증하였다. ANOVA test에 의해 대조군에 비해 유의한 수준으로 효능이 나타날 때 paired t-test를 이용하여 probability values를 측정하였다. p 값이 0.05미만일 때 통계학적으로 유의한 것으로 판단하였다.

III. 실험결과

1. Foot-bending test에 대한 결과

Fig. 1에서 보는 바와 같이 무처치 대조군에서 관절염유발 12일 후부터 Freund's adjuvant를 주입한 오른쪽발에서 관절염이 전이되어 관절의 인위적인 운동에 따라서 유의하게 통증의 지표가 증가됨을 관찰할 수 있었으며, 이러한 통증의 지표는 실험종료일까지 통증이 지속됨을 알 수 있었다. 비경혈에 저출력 레이저를 조사한 실험군에서는 무처치 대조군과 통계적으로 유의한 차이를 관찰할 수 없었다. 한편, 족삼리에 저출력 레이저를 조사한 실험군에서는 비경혈에 조사한 실험군과 무처치 대조군에 비해 현저히 통증의 유발을 억제하여 인위적인 다리의 굽히고 펴는 운동에서 거의 통증을 느끼지 않은 것으로 관찰되었다 (Table 1, $p<0.05$).

Group	Day				
	9	12	15	18	21
RA-noTx	0	2.3±1.1	5.1±0.9	5.4±1.3	6.1±0.7
RA-laser/z	0	0.8±1.4	1.1±1.7*	1.9±1.9*	2.1±0.4*
RA-laser/b	0	1.7±1.2	4.3±1.2	4.7±0.9	5.3±0.7

Table 1. Effect of low power laser stimulation on ankle flexion/extension score in the contralateral left hind limb. RA-noTx: non treated arthritis group. RA-laser/Z: low power laser was back treated into Zusanli acupoint. RA-laser/B: low power laser was treated into as nonacupoint. * $p<0.05$: significantly different from RA-noTx group

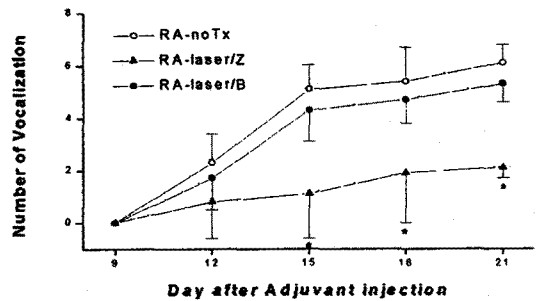


Fig 1. Effect of low power laser stimulation on ankle flexion/extension score in the contralateral left hind limb of non treated arthritis group (RA-noTx) and laser treated arthritis group. Low power laser was treated into either Zusanli (RA-laser/Z) or back (RA-laser/B). * $p<0.05$: significantly different from RA-noTx group

2. Hargreaves's method에 의한 Thermal hyperalgesia test 결과

Fig. 2에서 보는 바와 같이 관절염 유발에 의해 관절염을 직접 유발시킨 반대쪽인 왼쪽발에서도 유발 후 12일째부터 무처치 대조군에서 관절염 유발 후

통증을 느끼는 역치가 정상동물에 비해 유의하게 감소되어있음을 관찰 할 수 있었다. 한편 비침자리에 저출력 레이저를 처치한 실험군에서는 무처치 대조군과 통계학적으로 유의한 차이를 관찰할 수 없었다 (Table 2). 경혈인 족삼리에 레이저를 조사한 실험군에서는 실험종료시까지 유의한 통증의 징후를 보이지 않고 정상동물과 유사한 양상을 보여 무처치 대조군과 유의한 차이를 보였다 (Fig 2, $p<0.05$).

Day	9	12	15	18	21
Group					
RA-noTx	80.3±5.7	61.2±7.2	59.3±3.5	57.1±4.7	58.2±5.3
RA-laser/z	87.3±4.1	70.7±3.5	76.3±2.8*	80.9±3.4*	83.9±5.1*
RA-laser/b	85.2±3.7	65.9±5.9	63.8±7.2	59.2±6.3	59.9±5.7

Table 2. The effect of low power laser stimulation on paw withdrawal latency (PWL) produced by noxious heat stimuli. RA-noTx: non treated arthritic animals, RA-laser/Z: acupoint laser treated arthritic animals, RA-laser/B: non acupoint treated arthritic animals. Each value depicts the percent inhibition compared to the Sham PWL in the contralateral left hind paw. ** $p<0.05$: significantly different from RA-noTx group.

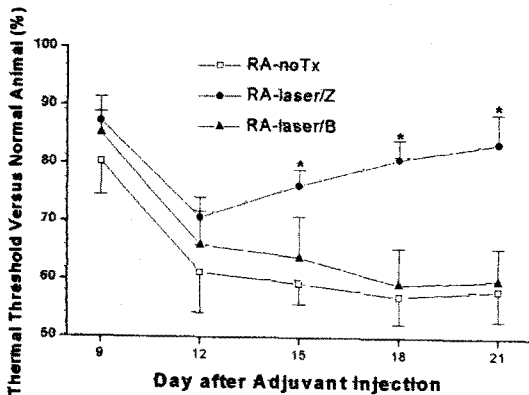


Fig. 2. The changes of paw withdrawal latency

(PWL) produced by noxious heat stimuli in non treated arthritic animals (RA-noTx), acupoint laser treated arthritic animals (RA-laser/Z) and the non acupoint treated arthritic animals (RA-laser/B). Graph depicts the percent inhibition compared to the Sham PWL in the contralateral left hind paw. ** $p<0.05$: significantly different from RA-noTx group.

3. Randall-Selitto test를 이용한 Mechanical hyperalgesia test에 대한 결과

Fig. 3과 Table 3에서 보는 바와 같이 무처치 대조군에서 관절염에 따른 기계적인 자극에 대해 반응하는 역치가 현저하게 감소하는 mechanical hyperalgesia 현상을 관찰할 수 있었다. 관절염 유발 후 12일부터 왼쪽발에서 무처치 대조군은 정상동물에 비해 기계적 자극에 대한 역치가 현저히 감소됨을 관찰할 수 있었다 (Fig 3). 비침자리에 레이저를 처치한 경우에는 무처치 대조군과 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않는 반면 경혈인 족삼리에 레이저를 처치한 실험군에서는 무처치 대조군과 비경혈처치군에 비해 유의하게 물리적 자극에 대한 역치가 상승하여 진통효과를 보이는 것이 관찰되었다 (Fig 3, $p<0.05$).

Day	9	12	15	18	21
Group					
RA-noTx	83.7±4.3	48.9±7.3	49.7±8.3	41.4±5.2	43.7±6.8
RA-laser/z	85.9±5.7	81.5±8.3	78.7±6.3*	69.9±7.3*	82.3±4.9*
RA-laser/b	83.3±6.5	50.9±8.3	48.3±7.2	45.7±6.9	43.0±7.2

Table 3. The effect of low power laser stimulation on mechanical threshold (Randall-Selitto test) depending upon stimulation site (acupoint vs.

non acupoint). RA-noTx: non treated arthritic animals, RA-laser/Z: acupoint laser treated arthritic animals, RA-laser/B: non acupoint laser treated arthritic animals. Each value depicts the percent inhibition compared to the mechanical threshold of the normal animal value in the contralateral left hind paw. **p<0.05: significantly different from RA-noTx group.

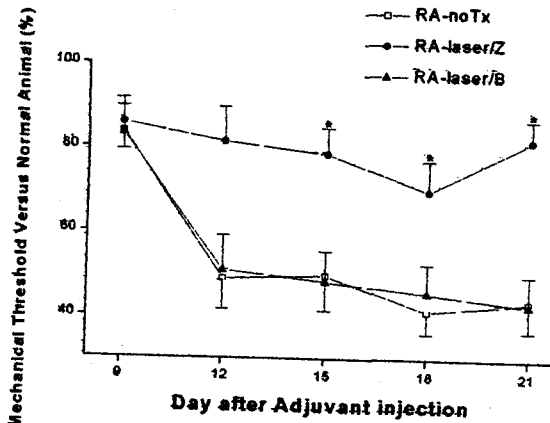


Fig. 3. The changes of mechanical threshold (Randall-Selitto test) in non treated arthritic animals (RA-noTx), the acupoint laser treated arthritic animals (RA-laser/Z) and the non acupoint laser treated arthritic animals (RA-laser/B). Graph depicts the percent inhibition compared to the mechanical threshold of the normal animal value in the contralateral left hind paw. **p<0.05: significantly different from RA-noTx group.

4. Fos 단백질을 이용한 관절염에 의한 신경활성의 변화

Fig. 4에서 보는 바와 같이 무처치 대조군에서는 관절염에 의한 통증으로 인해 요수 (lumbar spinal

cord) 내의 신경활성이 증가된 결과로 Fos 단백질의 합성이 증가되어 관찰되었다. 특히 요수의 lamina V-VI에 해당하는 목 부위에서 Fos 단백질의 발현의 증가가 뚜렷하였다. 족삼리에 레이저를 처치한 실험군에서는 무처치 대조군에 비해 Fos 단백질의 발현이 현저하게 감소한 반면 (Fig 4, p<0.05), 비경혈에 레이저를 처치한 실험군에서는 무처치 대조군과 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

Group	R			
	SDH	NP	NECK	VENT
Sham	27±12	03±01	04±02	03±02
RA-noTx	307±73	184±39	209±43	48±11
RA-laser/z	183±53*	93±38*	171±38	39±19
RA-laser/b	259±67	165±27	187±51	43±20

Table 4. The number of Fos positive neurons in the contralateral (left) lumbar spinal cord at 3 weeks after arthritis induction. Sham: normal animals, RA-noTx: non treated arthritic animals, RA-laser/Z: acupoint laser treated arthritic animals, RA-laser/B: non acupoint laser treated arthritic animals, (SDH: lamina I-II, NP: lamina III-IV, NECK: lamina V-VI and VENT: lamina VII-IX). *P: significantly different from RA-noTx.

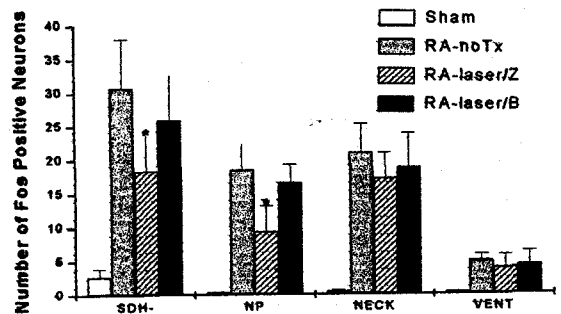


Fig. 4. The number of Fos positive neurons in the contralateral (left) lumbar spinal cord in

normal animals (Sham), non treated arthritic animals (RA-noTx), acupoint laser treated arthritic animals (RA-laser/Z) and non acupoint laser treated arthritic animals (RA-laser/B) at 3 weeks after arthritis induction. The number of Fos expression was analyzed in each of four regions (SDH: lamina I-II, NP: lamina III-IV, NECK: lamina V-VI and VENT: lamina VII-IX). *P: significantly different from RA-noTx.

IV. 고 찰

통증, 염증과 강직등에 의해 사회활동 및 일상생활에 많은 불편함을 초래하는 것으로 알려져 있는 관절염에 대한 치료에 기존의 관절염치료제의 부작용에 대한 대안으로 침과 동종요법 (homeopathy)에 대한 관심이 집중되고 있으며, 진동요법(vibration therapy)이나 저출력 레이저 치료기법과 같은 대체 치료기법들이 관절염에 대한 치료 목적이나 통증 및 소염의 완화를 위해 응용되고 있다 (David et al., 1994). 이들 중에서 저출력 레이저를 이용한 관절염 치료는 약물에 의한 관절염의 치료기간을 단축시키고 통증 및 염증을 완화하는 것으로 알려져 있다 (England, 1988; Kudoh et al., 1989).

관절염 연구에 많이 이용되고 있는 Mycobacterium butyricum (일명Arthrogenic solution 또는 Freund's adjuvant)에 의해 유발되는 다발성 관절염은 그 발현양상이 사람에서 관찰되는 류마티오이드성 관절염과 임상증상 및 발현기전에서 유사한 것으로 알려져 있다 (Colpaert et al., 1987; Philippe et al., 1997; Abbadie and Besson, 1992).

따라서 본실험에서는 혈자리와 임의혈로 나누어 10mW의 저출력 레이저를 유발직후부터 지속적으로 처치하면서 유발 후 9일부터 3일단위로 관절염에 대한 저출력 레이저의 진통효능을 검증하였다. 레이저 조사부위에 따른 진통효능을 분석하기 위해 진통효

과가 널리 보고되어있는 경혈인 족삼리를 사용하였으며 임의적인 비침자리로 염증부위와 멀리 떨어져 있는 등을 선택하였다.

본 실험의 족부 굴곡 검사(foot bending test) 결과에서 저출력 레이저를 조사한 실험군에서 무처치 대조군에 비해 관절운동으로 인한 통증지표가 현저히 감소하는 양상을 관찰 할 수 있었다. 나아가 레이저를 처치한 실험군에서는 무처치 대조군에 비해 열감이나 물리적 자극에 대한 역치감소현상인 통증과민(hyperalgesia)국문표현요합가 억제되는 것으로 관찰되었다. 한편 레이저를 비경혈에 처치했을 경우는 경혈에 처치하였을 때 관찰되었던 운동으로 인한 통증지표의 감소, 열감 및 물리적 자극에 대한 역치증가와 같은 현상을 관찰 할 수 없었다. 이는 Zhu 등 (1990)은 관절염 실험동물 모델에서 레이저의 조사부위와 기간에 따라 통증완화 효과가 많은 영향을 받는다고 보고하였다. 따라서 본 실험에서 관찰할 수 있었던 경혈과 비경혈에 따른 레이저의 진통효능의 차이는 이러한 조사부위에 따른 현상으로 추측된다. 따라서 관절염 치료에서 가장 효과적인 레이저 처치 부위를 찾기 위한 기초 실험이 앞으로 더 진행되어야 할 것으로 사료된다.

외부 및 내부에서 전해지는 자극에 민감하게 반응하여 일차반응 유전자이라 알려진 c-fos 유전자의 활성에 의해 생산되는 Fos 단백질은 최초 자극이 있는지 약 30분 후부터 세포질 내에 나타나기 시작하며, 최초자극이 있는 후 20-90분에는 종래에 상용되고 있는 면역조직염색법에 의해 Fos 단백질의 신경세포 내 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). 실험동물을 이용하여 유발시킨 다발성 관절염에서도 관절염에 의한 만성적인 통증에 의해 요척수내에서 다량의 Fos 단백질을 발현하며 발현정도가 통증에 관한 임상증상의 정도와 일치하는 것으로 알려져 있다 (Abbadie and Besson, 1992; Abbadie and Besson,

1994), 이러한 Fos 단백질의 발현양상을 이용하여 morphine과 같은 진통제 (Abbadie 와 Besson, 1993) 및 아스피린과 같은 진통소염제 (Abbadie and Besson, 1994)가 관절염으로 유발되는 진통효과를 검증하는데 사용되었다.

본 실험에서 Fos 단백질에 대한 면역조직화학법과 영상분석 기법을 이용하여 관절염으로 인한 통증과 반응하는 요부 척수 내의 신경세포의 활성을 분석하였다. 관절염에 의한 통증으로 발현이 증가되었던 요부 척수 내의 Fos 단백질의 발현이 저출력 레이저를 경혈인 족삼리에 처치하였을 경우 현저히 감소되는 양상을 관찰할 수 있었다. 뿐만 아니라 이러한 요척수 내의 Fos 단백질 발현이 억제되는 것은 관절염에 의해 나타났던 통증에 대한 행태학적인 결과인 운동에 의한 통증지표 및 열감과 물리적 자극에 의한 통증과민(hyperalgesia)의 억제 현상과 일치하였다. 이는 아스피린과 acetaminophen과 같은 비스테로이드성 약물을 장기간 투여하였을 때 요척수내의 Fos 단백질 발현이 현저히 감소했다는 보고와 일치한다 (Abbadie and Besson, 1994). 따라서 저출력 레이저의 경혈부위 자극이 관절염으로 인한 통증과 소염효능을 나타냄으로써 요척수내의 통증관련 신경세포의 활성이 효과적으로 억제되었음을 의미한다.

한편 비경혈에 레이저를 조사한 실험군에서는 경혈에 레이저를 조사한 실험과 비교할 때 요척수내 통증관련 신경세포의 활성을 억제하기 못하여 무처리 대조군과 통계적으로 유의한 차이를 관찰할 수 없었다. Kudoh 등 (1989)은 저출력 레이저 자극에 의한 진통과 소염효능은 레이저 자극에 의한 열자극에 의한 것이 아니라 특정 신경의 전이성을 증가시켜 쉽게 외부자극이 전달되게 함으로써 나타난다고 보고하였다. 따라서 경혈과 비경혈에 따른 저출력 레이저의 진통효능 차이는 경혈의 자극이 비경혈의 자극보다 말초신경을 효과적으로 자극하여 전이성을 증가시킴으로 나타나는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Scott DL, Shipley M, Dawson A, et al. The clinical management of rheumatoid arthritis and osteoarthritis: strategies for improving clinical effectiveness. *Br J Rheumatol*, 37: 546-554, 1998.
- Peter EL and Peter CI. Outcome of specific COX-2 inhibition in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 24: 9-14, 1997.
- Philippe L, Gegout-Pottie P, Guingamp C, et al. Relations between functional, inflammatory, and degenerative parameters during adjuvant arthritis in rats. *Am J Physiol*, 273: 1550-1556, 1997.
- Abbadie C and Besson JM. Chronic treatments with aspirin or acetaminophen reduce both the development of polyarthritis and Fos-like immunoreactivity in rat lumbar spinal cord. *Pain*, 57: 45-54, 1994.
- Abbadie C and Besson JM c-fos expression in rat lumbar spinal cord following peripheral stimulation in adjuvant induced arthritic and normal rats *Brain Res*, 607:195-204, 1993.
- Lee J-H, Price R, Williams FG, Mayer B, and Beitz AJ: 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.
- Pincus T, Marcum SB, Callahan LF. Longterm drug therapy for rheumatoid arthritis in seven rheumatology private practices: II. Second line drugs and prednisone. *J Rheumatol*, 19: 1885-1894, 1992.
- 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.
- Stelian J, Gil I, Habet B, Rosenthal M, Abramovici I, Kutok N et al., Improvement of pain and disability in elderly patients with degenerative osteoarthritis of the knee treated with narrow band light therapy. *J Am Geriatr Soc*. 40: 23-26, 1992
- Kaufman GD, Anderson JH, and Beitz AJ: Activation of a specific vestibulo-olivary pathway following centripetal acceleration in the rat. *Brain Res*. 562: 311-317, 1991.
- Zhu L, Li C, Ji C, Li W. The effect of laser irradiation on arthritis in rats. *Zhen Ci Yan Jiu* 15(1): 71-76, 1990.
- Dragunow M, Faull R : The use of c-fos as a metabolic marker in neuronal pathway tracing. *J. Neuroscience Methods*, 29 : 261-265, 1989.
- Kudoh C, Inomata K, Okajima K. Effect of 830nm gallium aluminium arsenide diode laser radiation on rat saphenous nerve sodium potassium adenosine triphosphatase activity: a possible pain attenuation mechanism examined. *Laser Ther.*, 1: 63-67, 1989.
- Campbell SM. Rheumatoid arthritis: Current strategies. *Hospital Med*, 34(8): 29-32, 1988.
- England S. Introduction to mild laser therapy. *Physiotherapy*, 74(3) : 100-102, 1988.
- Hargreaves K, Dubner R, Brown F, et al. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. *Pain*, 32: 77-88, 1988.
- Colpaert FC. Evidence that adjuvant arthritis in the rat is associated with chronic pain. *Pain*, 28 : 201-222, 1987.
- David WP and Marie RG. Published trials of nonmedicinal and noninvasive therapies for hip and knee osteoarthritis. *Ann. Internal Med*, 121(2): 133-140, 1987
- Walker J. Relief from chronic pain by lower power laser irradiation. *Neurosci Lett*. 42: 339-344, 1983.
- Winter CA, Kling PJ, Tocco DJ and Tanabe K. Analgesic activity of dilusinal(MK-647) in rats with hyperalgesia induced by Freund's adjuvant. *J Pharmacol Exp Ther*, 211: 62-678, 1979.
- Kuzuna S and Kawai K. Evaluation of analgesic agents in rats with adjuvant arthritis. *Chem Pharm Bull*, 23: 1184-1191, 1975.
- Randall LO and Selitto JA. Method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Anal Int Pharmacodyn*, 61: 409-419, 1957.