

## 주파수별 전기침이 카라기난을 주사한 흰쥐 척수의 c-fos 및 수축촉진 글루탐산염 수용기 발현에 미치는 영향

이 준 혁, 최 영 현<sup>1</sup>, 최 병 태

동의대학교 한의과대학 해부학교실, <sup>1</sup>생화학교실 및 한의학연구소

**간추림** : 흰쥐 오른쪽 발바닥에 1% 카라기난(carrageenan)을 주사한 후 2Hz, 15Hz 및 120Hz 전기침을 30분간 자극하였을 때 척수내 c-fos 및 수축촉진 글루탐산염 수용기 (inotropic glutamate receptor) 발현에 미치는 영향을 면역조직화학적으로 검색하였다. 카라기난 주사 후 척수내 c-fos 발현은 정상군에 비해 현저히 증가하나 전기침군은 카라기난을 주사한 대조군에 비해 감소하였으며 특히 2Hz와 15Hz 전기침군에서 유의성 있는 감소를 보여 주었으며 2Hz 전기침군의 감소가 더욱 현저하였다. 수축촉진 글루탐산염 수용기의 면역반응은 주로 척수 뒤뿔 얇은 층판에서 강한 면역반응을 보였으며 정상군에 비해 대조군에서 모두 증가하였다. N-methyl-D-aspartate (NMDA) 수용기인 NR-1과 NR-2A 면역반응을 살펴보면 두 면역반응 모두 대조군에 비해 전기침군에서 감소하였으나 NR-1은 유의성은 보이지 않았고, NR-2A 면역반응은 2Hz 전기침군에서 유의성 있게 감소하였다.  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) 수용기의 GluR-1 면역반응은 대조군에 비해 2Hz와 120Hz 전기침군에서 유의성 있게 증가한데 비해 GluR-2/3 면역반응은 유의성 있게 감소하였다. 주파수별 전기침 작용은 c-fos 면역반응으로 보아 2Hz 전기침군의 변화가 가장 현저하였으며 NMDA 수용기발현은 저주파수인 2Hz 전기침에서, AMPA 수용기발현은 15Hz와 고주파수인 120Hz 전기침군에서 변화를 보여 전기침 작용에 있어 이들 수용기가 관여함을 알 수 있다.

**찾아보기 낱말** : 전기침, spinal cord, c-fos, NMDA, AMPA

### 서 론

침의 효능에서 가장 두드러진 것 중 하나가 진통 작용이며 특정 매개변수 조절로 표준화가 가능하고 임상적으로 사용되고 있는 전기침(electroacupuncture)은 침의 메커니즘 연구에 널리 이용되고 있다 (Zhang 등 1998). 전기침 무통각은 4 mg/kg의 모르핀 투여와 유사한 효과를 나타내어 부작용이 없는 진통효과로 주목받고 있다 (Guo 등 1987).

전기침 무통각은 흰쥐에서 naloxone, 아편유사 대응제 등에 의해 저해되는 것으로 보아 내재 아편유

사제계가 관여하며 특정 주파수에 따라 중추신경계 내 상이한 아편유사제계가 활성화된다. 저주파수 2Hz 전기침은 뇌와 척수의 엔케팔린과 베타 엔도르핀을 분비하며  $\mu$ -와  $\delta$ -opioid 수용기가 관계하며 고주파수 100Hz 전기침은 척수에서 디닐핀을 분비하며 척수 뒤뿔의  $\kappa$ -opioid 수용기가 관여한다 (Huang 등 2000).

동통은 실제적이거나 잠재적인 조직손상과 연관된 불유쾌한 감각 또는 정서적으로 상해와 연관된 경험에서 배우며 성질에 따라 생리적, 염증성, 신경성 동통의 3가지 범주로 분류한다 (Riedel과 Neeck 2001). 동통과 관련된 말초성 침해수용기로는 말미집 기계수용기 A $\delta$ -fiber와 민말미집 다양상 침해수용기 C-fiber가 대부분 척수 뒤뿔의 층판 I과 II 신경세포에 종말가지를 내나 일부 A $\delta$ -fiber는 층판 V

\*본 연구는 보건복지부 한방치료기술연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임 (02-PJ9-PG3-20600-0005).  
교신저자: 최병태 (동의대학교 한의과대학 해부학교실)  
전자우편: choibt@deu.ac.kr

에 종말가지를 낸다(Millan 1999).

일차 들신경섬유 말단에서 글루탐산염, 아스파르트산 같은 아미노산과 substance P, calcitonin gene-related peptide 같은 신경펩타이드 등의 신경전달물질을 동시에 분비되어 빠른 및 느린 흥분연접 후 전압을 형성한다(de Biasi와 Rustioni 1988). 글루탐산염, 아스파르트산 같은 흥분성 아미노산(excitatory amino acid, EAA)는 빠른 흥분성 전달에 관여하며 침해성 일차 들신경섬유 끝부위에 풍부히 분포하며 침해성 자극수용에 중요한 기능을 한다(Randić 등 1993).

뇌에서 반복된 연접 연결자극은 장기 전압(long-term potentiation, LTP)과 장기 감압(long-term depression, LTD)을 형성하며 학습과 기억 형성 과정에 작용함을 잘 알려져 있다. LTP와 LTD에 대한 연구는 뇌에서 학습과 기억형성 과정에 대한 세포학적 근거를 제공한다면 척수에서는 통각기전과 연관되어 있으며 전기침의 진통효과에 LTD형성 가능성이 대두되고 있다(Randić 등 1993). 이러한 LTD형성에서도 글루탐산염과 그 수용기가 주요한 기능을 하여 널리 연구되고 있다(Sandkühler 1996). 본 연구는 국소적 염증성 통각과민 실험에 널리 쓰이는 카라기난을 흰쥐 발바닥에 주사하고 저주파수 2 Hz 전기침, 중간주파수 15 Hz 전기침, 고주파수 120 Hz 전기침자극을 주었을 때 신경세포의 기능적인 표지로 널리 이용되고 있는 c-fos 발현과 더불어 수축촉진 글루탐산 수용기(inotropic glutamate receptor) 발현에 대한 변화를 면역조직화화학적 방법으로 관찰하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물

8주된 건강한 Sprague-Dawley계 흰쥐를 효창사이언스(주)로부터 구입하여 2주간 자유식이법으로 실험실 환경에 순화시킨 후 사용하였다. 국소적 염증유발을 위해 1% 카라기난(Sigma, USA) 100 µL을 우측족피에 주사한 대조군과 카라기난주사 후 전기

침처리한 전기침군, 그리고 동일 양의 생리식염수를 주사한 정상군으로 나누어 사용하였으며 각 군당 8마리를 사용하였다.

### 2. 전기침자극

카라기난주사 후 바로 전기침 자극을 시작하였다. 스테인레스 0.25 mm 침을 전기침기(세창메디칼, SM-600)에 연결하여 2 Hz, 15 Hz 및 120 Hz 주파수로 삼음교(Sp6, 정강뼈의 안쪽복사에 대해 몸쪽 3 mm 지점)와 족삼리(S36, 정강뼈꺼친면에 대해 가쪽 5 mm 지점)에 해당하는 양쪽 혈위에 자침한 후 30분간 자극하였다. 강도는 10분 간격으로 순차적으로 높여 1, 2, 3 mA로 조절하였다.

### 3. 척수의 조직절편제작

전기침자극 3시간 후에 10% chloral hydrate (350 mg/kg i.p.)로 마취한 후 4% paraformaldehyde로 관류고정 시켰다. 척수뼈 고리 제거를 통해 척수를 분리하여 허리엉치팽대의 L<sub>4-5</sub>에 해당하는 부위를 절취하여 동일 고정액으로 4°C에 12시간 후고정하였다. 30% 수크로스에 48시간 둔 후 Tissue-Tek compound에 포매하여 30 µm 동결절편을 얻었다. 조직병리학적 관찰을 위하여 hematoxylin-eosin염색을 실시하였다.

### 4. 면역조직화학적 관찰

면역조직화학적 관찰을 위해 free-floating method를 사용하였다. 동결절편을 3% methanolic hydrogen peroxide에 30분간 실온에서 처리하고 phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4)로 세척한 후 1% goat normal serum과 0.3% triton X-100의 PBS에 30분간 실온에서 처리하였으며 N-methyl-D-aspartate (NMDA) 수용기인 NR-1, NR-2A 항체, α-amino-3-hydroxy-5-methy-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) 수용기인 GluR-1, GluR-2/3 (Upstate, USA)를 1 µg/mL로 희석하여 4°C 습실에 16시간 동안 반응시켰다. PBS로 세척하고 biotinylated anti-rabbit IgG (Vector Lab., USA)를 실온에서 30분 동안 반응

시켰으며 PBS로 세척 후 ABC kit (Vector Lab., USA)에 실온에서 60분간 반응시키고, DAB substrate kit (Vector Lab., USA)로 실온에서 5분간 발색시켰다. 척수내 면역반응을 나타내는 세포를 계수하여 정상군에 대해 백분율로 표시하였다. 그리고 비 특이적 반응은 상기 실험 방법 중 일차항체대신 10% BSA/PBS를 처리하고 동일한 과정으로 염색하여 비교하였다.

### 5. 통계처리

평균과 표준편차로 표시하였으며 SigmaPlot version 6.0 (SPSS, Chicago, IL)를 이용하여 Student's *t*-test로 유의차를 검사하였다.

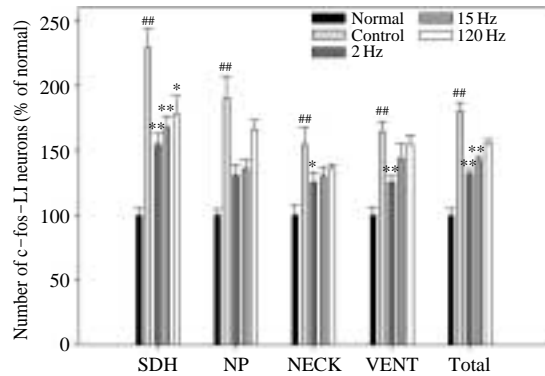
## 결 과

### 1. c-fos 발현에 미치는 영향

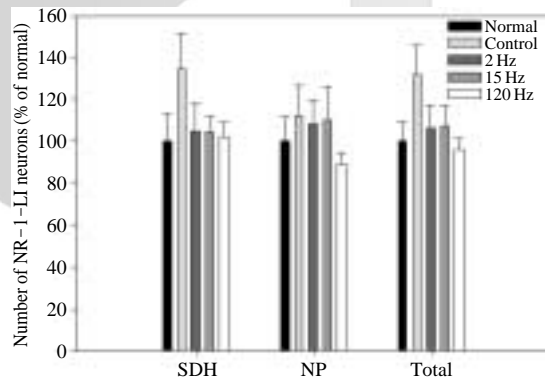
척수내 c-fos 면역반응은 전 회색질에 걸쳐 관찰되어 앞은층판(SDH, 층판 I-II), 고유핵(NP, 층판 III-IV), 목부위(NECK, 층판 V-VI), 앞뿔(VENT, 층판 VII-IX)로 나누어 면역반응세포를 계수하였다. 정상군에 비해 카라기난을 주사한 대조군에서 c-fos 면역반응은 모든 부위에서 유의성( $P < 0.005$ ) 있게 증가하였으며 특히 SDH, NP의 증가가 현저하였다. 카라기난 주사와 함께 전기침처치를 하였을 때 모든 전기침군에서 면역반응세포수가 감소하였다. 카라기난 처리군과 비교하여 특히 SDH에서 모든 전기침군에서 유의성 있는 감소를 보였으며 특히 2 Hz 전기침군은 NECK와 VENT에서도 유의성을(각각  $P < 0.05$ ,  $P < 0.005$ )을 보여 주었다. 전체 면역반응세포수의 변화를 보아 2 Hz와 15 Hz 전기침군이 대조군에 비해 유의적인( $P < 0.005$ ) 감소를 보여 주었다(Figs. 1, 6).

### 2. 수축축진 글루탐산염 수용기 발현에 미치는 영향

수축축진 글루탐산염 수용기에 대한 면역반응을 살펴보면 주로 SDH와 NP에서 반응이 나타나며 특

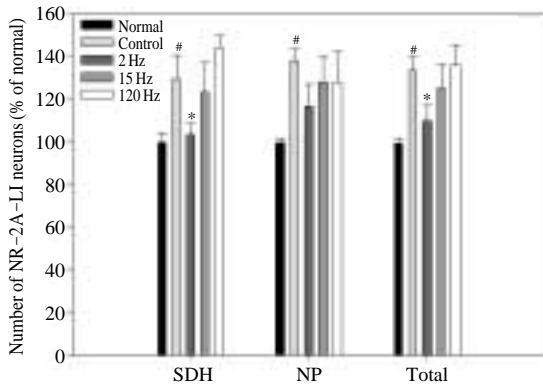


**Fig. 1.** Effects of EA with different frequency on the number of carrageenan-evoked c-fos-like immunoreactive (LI) neurons in the spinal gray matter of the L<sub>4-5</sub> segment in rat. Results are expressed as a percentage changes of the number of normal c-fos-LI neurons. n = 8. ##, P < 0.005 as compared with normal; \*P < 0.05, \*\*P < 0.005 as compared with control. The spinal gray matter was divided into following 4 regions: SDH, laminae I-II; NP, laminae III-IV; NECK, laminae V-VI; VENT, laminae VII-IX.

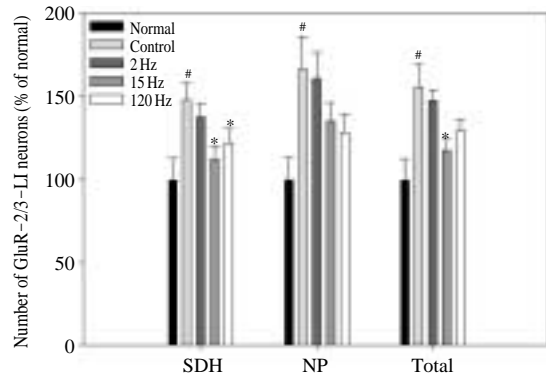


**Fig. 2.** Effects of EA with different frequency on the number of carrageenan-evoked NR-1-LI neurons in the spinal gray matter of the L<sub>4-5</sub> segment of rat. Results are expressed as a percentage changes of the number of normal NR-1-LI neurons. n = 8. Abbreviations listed in Fig. 1.

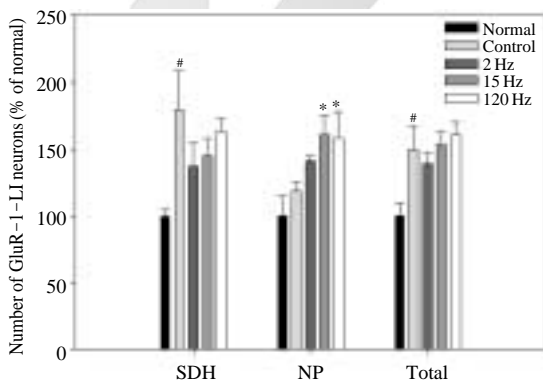
히 SDH의 반응이 강하게 나타내어 이 두 부위에 대한 면역반응세포 수를 계수하여 비교하였다. NMDA 수용기인 NR-1면역반응 세포의 변화를 살펴보면 정상군에 비해 카라기난을 처리한 대조군에서 증가하며 전기침처치에 따라 감소하는 경향을 보이



**Fig. 3.** Effects of EA with different frequency on the number of carrageenan-evoked NR-2A-LI neurons in the spinal gray matter of the L<sub>4-5</sub> segment of rat. Results are expressed as a percentage changes of the number of normal NR-2A-LI neurons. n = 8. #, P < 0.05 as compared with normal; \*P < 0.05 as compared with control. Abbreviations listed in Fig. 1.



**Fig. 5.** Effects of EA with different frequency on the number of carrageenan-evoked GluR-2/3-LI neurons in the spinal gray matter of the L<sub>4-5</sub> segment of rat. Results are expressed as a percentage changes of the number of normal GluR-2/3-LI neurons. n = 8. #, P < 0.05 as compared with normal; \*P < 0.05 as compared with control. Abbreviations listed in Fig. 1.



**Fig. 4.** Effects of EA with different frequency on the number of carrageenan-evoked GluR-1-LI neurons in the spinal gray matter of the L<sub>4-5</sub> segment of rat. Results are expressed as a percentage changes of the number of normal GluR-1-LI neurons. n = 8. #, P < 0.05 as compared with normal; \*P < 0.05 as compared with control. Abbreviations listed in Fig. 1.

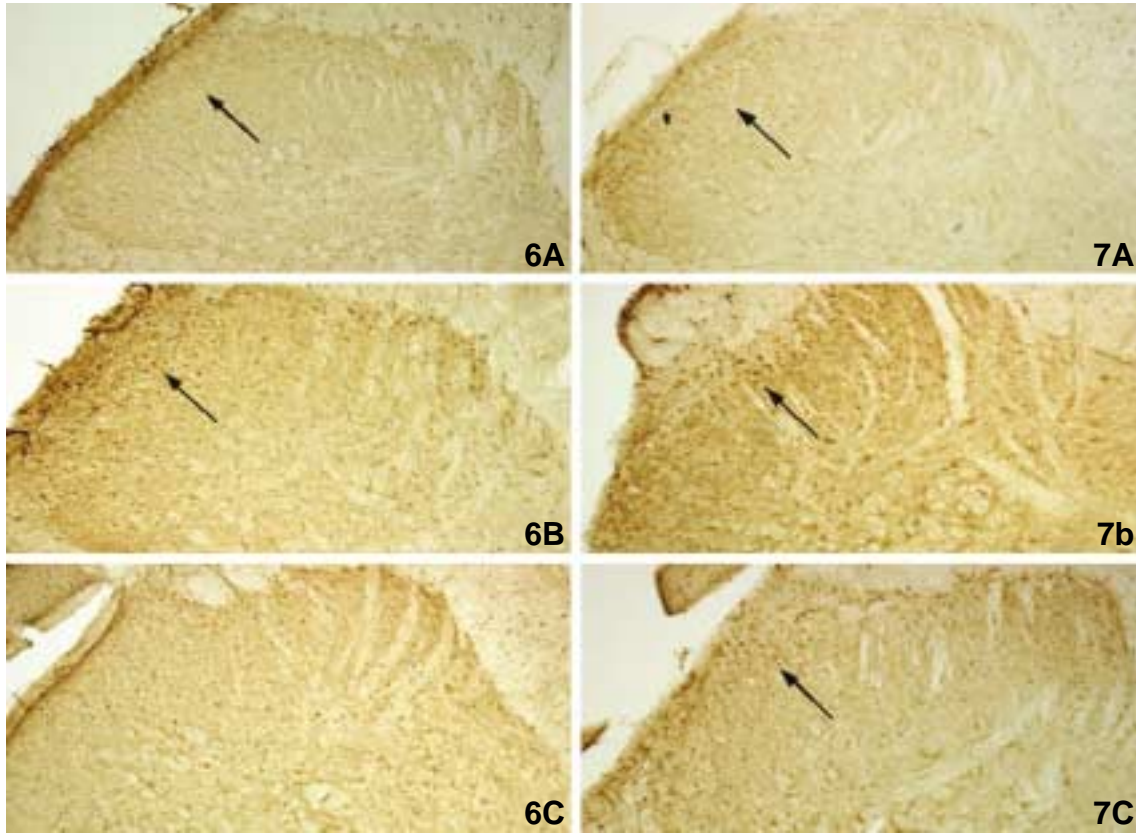
유의성 있는 변화는 보이지 않았다(Fig. 2). NR-2A 면역반응세포는 정상군에 비해 대조군이 유의성(P < 0.05) 있게 증가하였으며 대조군과 전기침군을 비교해 보면 2 Hz 전기침군의 SDH에서 유의성(P <

0.05) 있는 변화를 보여 주었다(Figs. 3, 7).

AMPA 수용기에 대한 면역반응을 살펴보면 GluR-1는 정상군에 비해 대조군의 SDH에서 유의성(P < 0.05) 있게 증가하며 대조군과 전기침군을 비교해 보면 NP에서 15 Hz와 120 Hz 전기침군이 유의성(P < 0.05) 있게 증가하였다(Fig. 4). GluR-2/3 면역반응세포도 대조군은 정상군에 비해 유의성(P < 0.05) 있게 증가하나 전기침처치에 따라 감소하는데 특히 15 Hz 전기침군과 120 Hz 전기침군의 SDH에서 유의성(P < 0.05) 있게 감소하였다(그림 5).

## 고 찰

침자극의 진통효과에 대한 연구는 전기생리학적으로나 신경생리적으로 쉽게 접근 가능하며 전기침은 전통적인 수기에 의존한 침자극과 달리 특정 강도와 주파수 등의 조절로 표준화가 가능하여 전기침 무통각기전에 대한 아편유사제계 관여기전은 잘 알려져 있다. 전기침은 동통제에 탁월한 효과를 나타내고 있으며 이에 대한 다양한 접근이 이루어지고 있다. 특히 장기간 치료가 요구되는 만성 염증



**Figs. 6 and 7.** Microphotographs of 30- $\mu$ m-thick section of the dorsal horn of lumbar L<sub>4-5</sub> segments showing the level of c-fos (Fig. 6) and NR-2A (Fig. 7) expression 3 hours after carrageenan injection. A, normal group; B, carrageenan-injected control group; C, 2 Hz EA stimulated group after carrageenan injection. Note significant reduction of these immunoreactive neuron in the superficial laminae of dorsal horn (arrows) of 2 Hz EA stimulated group as compared with control.  $\times 200$ .

성 질환에 대해 널리 사용되고 있다.

카라기난은 국소적 염증이나 염증성 동통 실험에 많이 사용되며 부종과 함께 열적, 물리적 통각과민을 나타낸다. c-fos 유전자에 의해 신속히 형성되는 fos 산물은 신경세포의 기능적인 표지로 이용되고 있으며, 특히 말초성 침해성 자극에 대한 척수 뒤뿌의 반응연구에 이용되고 있다 (Hu와 Zhao 2001, Zhang 등 2002). 카라기난 주사 후 c-fos mRNA 발현은 자극 후 30분 후부터 인지되기 시작하며 1~2 시간 사이에 현저히 발현된다 (Draisci와 Iadarola, 1989). 말초성 염증에 대해서 척수 L<sub>4-5</sub>분절의 회백질 모든 부위에서 c-fos 발현이 증가하며, 특히 층판

I-II와 V-VI에서 현저하며 침해성 자극과 직접적인 연관을 가지고 있다 (Zhang 등 2002).

본 실험의 결과에서 보듯 정상군에 대해 카라기난을 주사한 대조군에서 c-fos 면역반응이 증가하여 말초성 침해자극에 대한 반응을 알 수 있다. 그러나 카라기난 주사와 함께 전기침처치를 하였을 때 이들 발현이 감소하며 특히 SDH에서의 감소가 현저하였다. 주파수별로 보아 다른 전기침군에 비해 저주파수 2Hz 전기침군의 변화가 가장 현저하였다.

이번 실험에 앞서 수행한 연구결과, 카라기난유발 동통모델에 대한 주파수별 전기침의 효과를 알아보기 위해 체적변동기록기 (plethysmometer)를 이용한

부종을 측정결과와 c-fos 면역반응의 결과를 비교해 볼 때 모든 전기침이 항부종 효과를 나타내며 특히 2 Hz 전기침이 가장 현저한 효과를 나타낸 결과와 일치하고 있다. 그리고 hot plate latency와 tail flick latency 등의 통증검사에서도 전기침 모두 동통제어에 유의성 있는 효과를 나타내었으나 hot plate latency는 다른 주파수의 전기침군에 비해 저주파수 2 Hz 전기침이 신속한 효과를 보였으며 tail flick latency로 저주파수 2 Hz의 효과가 가장 우수하였다. 이러한 동물 행동학적 결과는 c-fos 면역반응이 세포수의 변화와 일치하고 있다(투고 중).

글루탐산염을 포함한 EAA는 일차 들신경섬유 끝 부위에 풍부히 분포하며 침해성 자극수용에 중요한 기능을 한다(De Biasi와 Rustioni 1998). EAA는 이온통로형성과 G-protein coupled metatrophic을 통해 기능을 나타내는데 수축축진 글루탐산염 수용기는 각각의 작용제에 대한 선택적 활성화에 따라 NMDA, AMPA 및 kainate 수용기로 분류한다(Bleakman와 Lodge 1998).

척수 뒤뿌 신경세포의 long-term synaptic plasticity는 Randić 등(1993)에 의해 최초로 보고된 이래 뇌의 학습과 기억형성과 달리 통각에 관여하는 것으로 알려져 있다. 척수에서 통각정보는 SDH에 존재하는 Aδ-와 C-fiber에 의해 이루어지며 글루탐산과 연관된 아미노산이 빠른 흥분신경전달물질(fast excitatory neurotransmitter)로 관여한다(Sandkühler 등 1997).

Synaptic LTD는 두 가지 방법 즉 낮은 주파수 자극(low-frequency stimulation, LFS)의 지속적인 자극(1~5 Hz, 5~15분)이나 상대적으로 짧은 높은 주파수 자극(high-frequency stimulation, HFS) 자극(50~100 Hz, 1~5초)으로 유도할 수 있다(Kato와 Zorumski 1993). 기존 척수 LTD형성 지표에 대한 연구는 차이를 보이고 있으나 LFS에 의한 자극이 중등도 내지 소량의 세포내 Ca<sup>2+</sup> 증가를 용이하게 함으로 HFS보다 LFS에 의해 보다 강한 LTD형성이 가능하다(Sandkühler 등 1997).

전기침의 혈위 자극도 1 Hz부터 120 Hz에 이르는 다양한 주파수를 사용하고 있으나 주로 1, 2, 4 Hz 등의 저주파수와 80 Hz, 100 Hz, 120 Hz의 고주파수

로 대별할 수 있어 LTD형성과 유사한 주파수를 사용하고 있다. 전기침에 의한 말초신경 즉 Aδ-fiber 자극은 척수 뒤뿌 NMDA 수축축진 글루탐산염 수용기를 활성화시키며 이는 단백질 인산분해효소를 활성화시킬 수 있는 충분한 세포내 Ca<sup>2+</sup>를 유도한다(Sandkühler 2000). 단백질 인산분해효소는 AMPA 수용기 같은 연접단백질을 탈인산화시킴으로서 장시간의 무통각 즉 LTD를 형성할 가능성이 있다(Sandkühler 2000).

말초성 침해수용체인 Aδ-와 C-fiber 대부분이 척수 뒤뿌의 층판 I과 II에 있는 신경세포에 종말가지를 내고 있다(Millan 1999, Nishiyama 2000). 척수에서 수축축진 글루탐산염 수용기이며 NMDA 수용기 중 하나인 NR-1 면역반응은 세포체와 몸쪽 나뭇가지(proximal dendritic shafts)에 주로 나타나며 발 염증시에는 안쪽 층판 I에 이들 면역반응세포가 증가한다(Benoliel 등 2000). 이와 유사하게 AMPA 수용기인 GluR-1과 GluR-2/3의 면역조직화학 반응도 층판 I, II에서 강한 반응을 나타낸다(Carlton 등 1998).

본 연구에서 NR-1과 NR-2A 모두 정상군에 비해 카라기난을 처리했을 때 면역반응 세포수가 증가하였다. 그러나 카라기난 주사와 동시에 전기침 자극을 주었을 때 저주파수 2 Hz 전기침은 NMDA 수용기인 NR-2A에서 유의성 있는 변화를 보였으며, 15 Hz 전기침과 고주파수 120 Hz 전기침은 AMPA 수용기인 GluR-1과 GluR-2/3에서 유의성을 보여 주었다. 이들 면역반응의 증가만으로 수용기가 기능적으로 작용하며 세포내 Ca<sup>2+</sup>에 의한 LTD 형성 가능성에 대한 직접적인 증거는 되지 않으나 전기침 작용에 의해 척수내 수축축진 글루탐산염 수용기 발현의 변화를 나타내는 것으로 보아 카라기난에 의한 동통의 centralization과 전기침의 동통완화 효과에 이들 수용기가 관여함을 알 수 있다.

그리고 전기침의 동통제어 기능에 이들 수용기가 관여한 LTD의 형성 가능성과 더불어 전기침기전에서 잘 알려진 아편유사제 수용기 또한 NMDA 수용기가 밀접히 연관되어 분포하고 있어 이들이 통각과 항통각에 있어 중요한 작용을 한다. 고주파수와 저주파수 전기침이 각각 별개의 아편유사제계의 작

용에 의해 기능을 나타내는 것으로 보아 저주파수 전기침군의 NMDA 수용기 변화와 고주파수 전기침군의 AMPA와 KA 수용기 변화 또한 이들 아편유사제제간의 연관성을 유추할 수 있으며 전기침연구에서 LTD 형성 가능성과 함께 이에 대한 깊이 있는 연구가 진행 되어야 할 것이다.

## 참 고 문 헌

- Benoliel R, Tanaka M, Caudle RM, Iadarola MJ : Co-localization of N-methyl-D-aspartate receptors and substance P (neurokinin-1) receptors in rat spinal cord. *Neurosci Lett* 291 : 61-64, 2000.
- Bleakman D, Lodge D : Neuropharmacology of AMPA and kainate receptors. *Neuropharmacology* 37 : 1187-1204, 1998.
- Carlton SM, Hargett GL, Coggeshall RE : Plasticity in alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor subunits in the rat dorsal horn following deafferentation. *Neurosci Lett* 242 : 21-24, 1998.
- De Biasi S, Rustioni A : Glutamate and substance P coexist in primary afferent terminals in the superficial laminae of spinal cord. *Proc Natl Acad Sci USA* 85 : 7820-7824, 1998.
- Draisci G, Iadarola MJ : Temporal analysis of increases in c-fos, preprodynorphin and preproenkephalin mRNAs in rat spinal cord. *Brain Res Mol Brain Res* 6 : 31-37, 1989.
- Guo XQ, Liu NA, Li P : Inhibitory effect of a microinjection of morphine into the ventral medulla on ventricular extrasystoles induced by hypothalamic stimulation in the rabbit. *Sheng Li Xue Bao* 39 : 132-138, 1987.
- Hu JY, Zhao ZQ : Differential contributions of NMDA and non-NMDA receptors to spinal Fos expression evoked by superficial tissue and muscle inflammation in the rat. *Neuroscience* 106 : 823-831, 2001.
- Huang C, Wang Y, Chang JK, Han JS : Endomorphin and mu-opioid receptors in mouse brain mediate the analgesic effect induced by 2 Hz but not 100 Hz electroacupuncture stimulation. *Neurosci Lett* 294 : 159-162, 2000.
- Kato K, Zorumski CF : Nitric oxide inhibitors facilitate the induction of hippocampal long-term potentiation by modulating NMDA responses. *J Neurophysiol* 70 : 1260-1263, 1993.
- Millan MJ : The induction of pain: an integrative review. *Prog Neurobiol* 57 : 1-164, 1999.
- Nishiyama M, Hong K, Mikoshiba K, Poo MM, Kato K : Calcium stores regulate the polarity and input specificity of synaptic modification. *Nature* 408 : 584-588, 2000.
- Randić M, Jiang MC, Cerne R : Long-term potentiation and long-term depression of primary afferent neurotransmission in the rat spinal cord. *J Neurosci* 13 : 5228-5241, 1993.
- Riedel W, Neeck G : Nociception, pain, and antinociception: current concepts. *Z Rheumatol* 60 : 404-415, 2001.
- Sandkühler J : Learning and memory in pain pathways. *Pain* 88 : 113-118, 2000.
- Sandkühler J : Neurobiology of spinal nociception: new concepts. *Prog Brain Res* 110 : 207-224, 1996.
- Sandkühler J, Chen JG, Cheng G, Randić M : Low-frequency stimulation of afferent Adelta-fibers induces long-term depression at primary afferent synapses with substantia gelatinosa neurons in the rat. *J Neurosci* 17 : 6483-6491, 1997.
- Zhang M, Sun Q, Wan Y, Yao L, Yu Y, Han JS : OFQ reverses the k opioidreceptor-mediated depression of calcium current in rat dorsal root ganglion neurons. *NeuroReport* 9 : 2095-2098, 1998.
- Zhang S, Liu J, MacGibbon G, Dragunow M, Cooper GJ : Increased expression and activation of c-Jun contributes to human amylin-induced apoptosis in pancreatic islet beta-cells. *J Mol Biol* 324 : 271-285, 2002.

**Abstract**

**Effects of Electroacupuncture with Different Frequencies  
on the Spinal c-fos and Inotropic Glutamate Receptor Expression  
in Carrageenan-injected Rat**

Jun-Hyuk Lee, Yung-Hyun Choi<sup>1</sup>, Byung-Tae Choi

*Department of Anatomy and <sup>1</sup>Biochemistry, College of Oriental Medicine,  
Research Institute of Oriental Medicine, Dong-Eui University*

We investigated the comparative effects of electroacupuncture (EA) with different frequency on the spinal c-fos and inotropic glutamate receptor expression in carrageenan-injected rats. Bilateral EA stimulation with 2, 15 and 120 Hz were delivered at those acupoints corresponding to Zusanli and Sanyinjiao in man via the needles. The inhibitory effects of the EA on the inflammatory process were investigated in the central nociceptive sites by immunohistochemical analysis. Three hours after carrageenan injection, the number of c-fos-like immunoreactive (LI) neurons was significantly increased in all layers of the ipsilateral spinal cord at L<sub>4-5</sub> segment. But these immunoreactive neurons were markedly reduced in the spinal gray matter, especially in the superficial laminae, by all kinds of EA stimulation. The number of NMDA (NR-1 and NR-2A) and AMPA receptors (GluR-1, GluR-2/3)-LI neurons was also increased by carrageenan injection. But NR-2A-LI neuron was significantly reduced in superficial laminae of dorsal horn by 2 Hz EA stimulation. While GluR-1-LI neuron of 15 Hz and 120 Hz EA was increased in the nucleus proprius compared with carrageenan-injected group, GluR-2/3-LI neuron of these EA stimulated groups significantly reduced in superficial laminae of dorsal horn. In conclusion, EA treatment can attenuate spinal c-fos expression in carrageenan injected rats and regulates spinal inotropic glutamate receptor expression.

**Key words** : Electroacupuncture, Spinal cord, c-fos, NMDA, AMPA