

원저

Adjuvant 誘發 關節炎에 對한 電鍼刺戟의 鎮痛效果 및 그 機轉에 關한 研究

백용현 · 최도영 · 박동석

경희대학교 한의과대학 침구학교실

Abstract

The study on the analgesic effect and its mechanism of electroacupuncture in the rat model of adjuvant-induced arthritis

Baek Yong-hyeon, Choi Do-young and Park Dong-seok

Department of Acupuncture & Moxibustion,
College of Oriental Medicine, Kyung-Hee University

To study the analgesic effect and its mechanism of electroacupuncture(EA) on the chronic inflammatory pain, 50 rats were induced with arthralgia by injecting complete freund's adjuvant(CFA). Two weeks after the injection of CFA, EA stimulation(2Hz, 0.07mA, 0.3ms) was delivered to Jogsamni(ST₃₆) for 20 minutes. Analgesic effect was evaluated by using the tail flick latency(TFL) and the analgesic mechanism was observed by applying TFL with the pretreatment with naloxone and yohimbine.

The results were as follows :

1. TFL level for the rat model of adjuvant-induced arthritis decreased as time went by and it induced the hyperalgesia.
2. EA stimulation delivered to Jogsamni(ST₃₆) for 20 minutes in the rat model of adjuvant-induced arthritis brought analgesic effect and its effect had lasted for 40 minutes after the stimulation.
3. The analgesic effect of Jogsamni(ST₃₆) EA in the rat model of adjuvant-induced arthritis was blocked by pretreatment with naloxone(2mg/kg, i.p.). This result suggests that the EA effect on the chronic inflammatory pain can be related to the endogenous opioid mechanism.

· 접수 : 2003년 3월 24일 · 수정 : 2003년 4월 15일 · 채택 : 2003년 5월 17일
· 교신저자 : 박동석, 서울특별시 동대문구 회기동 1번지 경희대학교 한의과대학 부속한방병원 침구과
Tel. 02-958-9206 E-mail : dspark@yahoo.co.kr

4. The analgesic effect of Jogsamni(ST₃₆) EA in the rat model of adjuvant-induced arthritis was blocked by pretreatment with yohimbine(2mg/kg, i.p.). This result suggests that the EA effect on the chronic inflammatory pain can be related to the α_2 -adrenergic mechanism.

Key words : electroacupuncture(EA), tail flick latency(TFL) complete freund's adjuvant(CFA), naloxone, yohimbine

I. 緒 論

慢性 炎症性痛症을 誘發하는 關節炎은 關節의 炎症에 의한 痛症이 가장 흔한 症狀이며 이 痛症으로 因해 運動能力의 減少 및 關節 機能消失, 其他 身體 障 碍을 일으킨다. 따라서 關節炎에서의 痛症調節을 爲한 多角의 治療가 試圖되고 있다.

痛症治療方法中 하나인 電鍼의 鎮痛效果에 對해서는 比較的 많은 研究가 이루어지고 있으며, 刺戟의 頻度 및 強度에 따라 相異한 鎮痛效果가 있음이 밝혀졌다¹⁾. 低頻度(1~4Hz) 刺戟은 β -endorphin, enkephalin, dynorphin 등의 opioid peptide를 媒介하고²⁾, 高頻度(100~200Hz) 刺戟은 serotonin, norepinephrine, dopamine 등의 monoamine을 媒介하여 鎮痛效果를 나타냄이 報告되었다³⁾.

慢性 炎症性痛症(chronic inflammatory pain)에 對한 研究에서는 아직 그 機轉과 適切한 治療法이 確立되어 있지 않고, 다만 Adjuvant 誘發 關節炎을 慢性痛症의 觀點에서 研究한 報告가 있었으며⁴⁾, 류마티스 關節炎에 있어서의 炎症程度와 慢性痛症의 關聯性을 kappa-opioid receptor 觀點에서 研究한 報告가 있었고⁵⁾, 關節炎에 의한 痛症의 機轉이 內因性 鎮痛抑制系(endogenous pain inhibitory system)와 有關함을 暗示하는 報告⁶⁾와 류마티스 關節炎性 痛症이 末梢 및 中樞의 痛症傳達系(perip-

heral and central nociceptive processing system)의 變化에 依한 것을 暗示하는 報告⁷⁾는 있었다. 그러나 慢性 炎症性痛症에 對한 電鍼의 鎮痛效果와 그 機轉에 對한 具體적이고 定量的인 研究는 未洽한 實情이다.

이에 本 研究에서는 complete freund's adjuvant (CFA)로 誘發된 慢性 炎症性痛症 모델에서 電鍼刺戟의 鎮痛效果와 그 機轉을 알아보기 위하여 慢性 炎症性痛症 誘發後 Tail Flick Latency (TFL)를 測定함으로써 痛症閾值의 變化와 足三里(Jogsamni, ST₃₆) 電鍼刺戟에 의한 鎮痛效果를 확인하고자 하였으며, 電鍼 鎮痛效果의 重要한 機轉으로 알려져 있고 關節炎 痛症과의 關聯性이 제기되고 있는 opioid 및 交感神經系와의 關聯性을 알아보기 위하여 opioid receptor antagonist인 naloxone과 α_2 -adrenoceptor antagonist인 yohimbine 先投與時拮抗되는 鎮痛效果의 變化를 觀察한 바 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實 驗

1. 動物

動物은 샘타코(오산, 한국)에서 分讓받은 6週齡, 體重 200±10g의 Sprague Dawley系 雄性 흰쥐로서 固形飼料(三養油脂, 小動物用)와 물을 充分히

供給하면서 2週間 實驗室 環境에 適應시킨 後 使用하였다.

2. 材料

1) 藥物注入器

Sterile hypodermic syringe(보안메디카, 1ml, 26 Gauge)를 使用하였다.

2) Holder

圓筒形 아크릴통(6.0×18cm)으로 製作하여 使用하였다.

3) 鍼

Stainless steel 毫鍼(東方鍼灸, 直徑 0.25mm, 길이 30mm)을 使用하였다.

4) 電鍼刺戟器

電鍼刺戟器(Pointer F-3, ITO CO. LTD, Tokyo, Japan)를 使用하였다.

5) Complete freund's adjuvant (CFA)

Chondrex, Inc.(Washington, USA)에서 製作된 complete freund's adjuvant를 使用하였다.

6) Naloxone과 yohimbine

ICN Biomedicals(Ohio, USA)에서 製作된 naloxone과 yohimbine을 使用하였다.

7) 生理食鹽水

중외제약(Korea)에서 製作된 normal saline을 使用하였다.

8) Tail flick unit

Ugo Basile(Comrio, Italy)에서 製作된 tail flick unit를 利用하여 TFL을 測定하였다.

3. 方法

1) 實驗室 環境

實驗動物의 養育環境 및 實驗室環境은 모두 specific pathogen free(SPF) 조건, 즉 $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 恒溫, $55 \pm 5\%$ 恒濕을 維持했으며, hepafiltered air를 供給하여 外部 抗原의 感染에 의한 影響을 最小化시켰다.

TFL 測定을 容易하게 하기 위하여 圓筒形 아크릴통(6.0×18cm)으로 만든 홀더(holder)를 使用하였으며 TFL 測定을 始作하기 前 2週間, 1回/日, 30分 정도 홀더(holder) 適應訓練을 하여 홀더로 인한 스트레스를 줄이고자 하였다.

2) Adjuvant 關節炎 誘發

Rosenthale의 方法에 따라 CFA 0.1ml를 흰쥐의 右後肢足蹠에 皮下 注射하고, 14日 經過 後에 발목과 발가락 전체에 걸쳐 浮腫과 發赤이 同伴된 흰쥐만을 選定하여 實驗에 使用하였다.

3) 痛症閾值 測定

흰쥐의 꼬리 腹側面 皮膚에 加해진 有害性 放射熱刺戟에 對해 反應하는데 要求되는 尾逃避暫時(tail flick latency; TFL)를 痛覺의 指標로 삼았으며, TFL의 增加速度를 測定함으로써 鎮痛效果를 評價하였다^{8),9),10)}. TFL은 自動化된 tail flick unit를 利用하여 測定하였는데, 測定對象 部位는 흰쥐의 꼬리를 6等分하여 遠位로부터 세번째 等分에 該當하는 部位였다. TFL의 測定값은 1分 間隔으로 3回 測定한 平均값을 利用하였는데 熱刺戟 部位는 꼬리에 表示한 2cm 범위내에서 약간씩 移動시킴으로써 刺戟部位에 큰 差異를 두지 않으면서도 한 地點에 持續的으로 熱刺戟이 加해짐을 防止하였다¹¹⁾. 平均 基底線反應 時間이 4 ± 0.5 秒가 되게 電球의 強度를 調整하였다. 또한 過度한 熱에 의한 組織의 損傷을

막기 위하여 熱刺戟의 cut-off time을 10秒로 定하였다¹⁰⁾.

TFL은 電鍼刺戟 前 1回, 刺戟後 10分, 20分, 30分, 45分 및 60分에 各各 測定하였으며, 鎮痛效果의 程度는 電鍼刺戟 前과 後에 測定한 TFL의 百分率 變化로 換算하여 調査하였다¹²⁾.

$$\text{Acquired TFL change} = \frac{\text{Post. Tfl} - \text{Control TFL}}{\text{Control TFL}} \times 100(\%)$$

4) 取穴 및 電鍼刺戟

人體의 足三里(Jogsamni, ST₃₆)에 相應하는 部位와 末梢 方向으로 5mm 떨어진 部位를 骨度分寸法에 準하여 取穴하였다¹³⁾.

電鍼刺戟은 毫鍼을 5mm 깊이로 直刺하고 電氣刺戟(2Hz, 0.07mA, 0.3ms)⁴⁾을 筋收縮이 誘發되는 程度의 強度로 20分間 施行하였다.

5) 實驗群 設定

흰쥐를 無處置群 10마리, 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群 10마리, naloxone 先投與 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群 10마리, yohimbine 先投與 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群 10마리, 生理食鹽水 先投與 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群 10마리로 하여 5群으로 나누었다.

(1) 無處置群(CON, n=10)

Adjuvant 關節炎 誘發 後 아무런 處置를 하지 않은 群으로 CFA 注入하기 前 1回, 注入한 後 每 1週 間隔으로 總 6回 TFL을 測定하였다.

(2) 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群(EA, n=10)

CFA 注入 2週 後 關節炎이 誘發된 흰쥐에 電鍼刺戟을 加한 群.

(3) Naloxone 先投與 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群(Nx+EA, n=10)

CFA 注入 2週 後 關節炎이 誘發된 흰쥐에 naloxone(2mg/kg, i.p.)¹⁵⁾을 生理食鹽水에 稀釋하여 電

鍼刺戟 15分前 腹腔內로 注射한 群.

(4) Yohimbine 先投與 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群(Yb+EA, n=10)

CFA 注入 2週 後 關節炎이 誘發된 흰쥐에 yohimbine(2mg/kg, i.p.)¹⁶⁾을 生理食鹽水에 稀釋하여 電鍼刺戟 15分前 腹腔內로 注射한 群.

(5) 生理食鹽水 先投與 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群(SL+EA, n=10)

CFA 注入 2週 後 關節炎이 誘發된 흰쥐에 生理食鹽水를 naloxone 稀釋量과 同量으로 하여 電鍼刺戟 15分前 腹腔內로 注射한 群.

6) 統計處理方法

實驗 結果는 Mean±S.D.으로 表示하였으며 統計의 處理는 Independent samples *t*-test를 사용하였고 *P*-value가 0.05 以下인 境遇에 有意한 差異가 있다고 判定하였다. 통계프로그램은 SPSS 8.0 for windows를 利用하였다.

III. 成績

1. Adjuvant 關節炎 誘發에 따른 TFL의 變化

Complete freund's adjuvant(CFA)로 關節炎을 誘發시킨 後 1, 2, 3, 4 및 5週에 TFL을 測定한 結果 各各 -16.5±3.7%, -32.6±3.1%, -33.5±3.1%, -34.8±3.2% 및 -35.0±3.1%의 減少를 보였다. TFL 減少는 2週에 最高值를 보였고, 以後에는 큰 變化를 보이지 않았다<Fig. 1>.

2. 電鍼刺戟의 鎮痛效果

足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群의 平均 TFL 增加率은 處置後 10分, 20分, 30分, 45分 및 60分에 各各

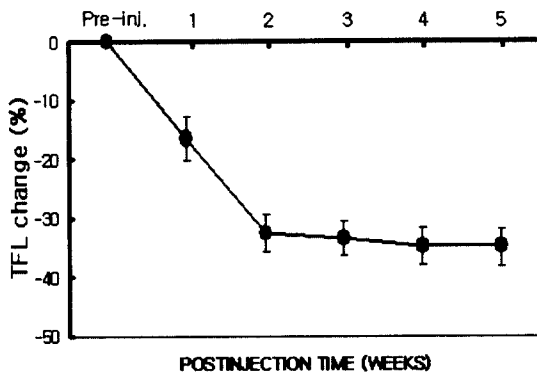


Fig. 1. Changes of tail flick latency in the adjuvant induced rats.

After injection of complete Freund's adjuvant (n=10), TFL decreased as time went by and reached the minimum value from 2nd to 5th week. Preinjection time is expressed as Pre-inj. Each value represents the mean ± S.D. in percentage of TFL changes on each tested week.

4.4 ± 0.9%, 24.0 ± 1.5%, 20.0 ± 1.7%, 8.3 ± 1.8% 및 4.1 ± 0.8%의 변화를 나타내어 對照群의 3.2 ± 1.3%, 3.0 ± 1.4%, 6.2 ± 0.9%, 2.9 ± 1.5% 및 2.9 ± 1.5%에 比하여 모두 有意性 (p < 0.05) 있는 增加를 보였다 (Table 1, Fig. 2).

3. Naloxone 先投與에 따른 電鍼刺戟의 鎮痛效果

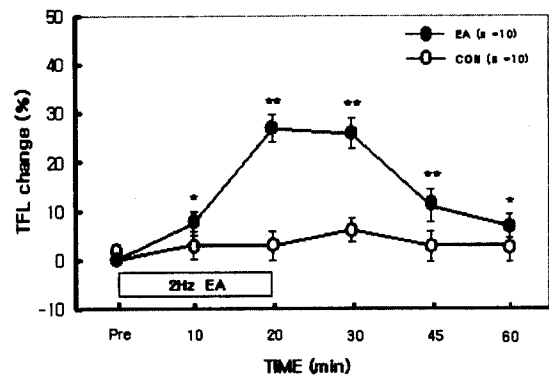


Fig. 2. EA induced TFL changes in the adjuvant induced rats.

CON is a group which was tested in a holder without electroacupuncture. EA is a group which was received electroacupuncture (2Hz, 0.07mA, 0.3ms) at right Jogsamni (ST₃₆). The means ± S.D. of TFL increase before and after treatment are plotted against Pre, 10, 20, 30, 45 and 60. 'Pre' indicates the time before treatment. '10, 20, 30, 45 and 60' indicate the time after the onset of treatment. Asterisks indicate significant difference between CON and EA group after treatment (*: p < 0.05, *: p < 0.01, independent samples t-test).

Naloxone 先投與 足三里 (ST₃₆) 電鍼刺戟群 (Nx+EA, n=10)은 平均 TFL 增加率이 電鍼刺戟 後 10分, 20分, 30分 및 45分에 各各 3.5 ± 0.5%, 9.9 ± 1.3%, 6.9 ± 1.0% 및 5.8 ± 0.9%의 變化를 나타내어

Table 1. Changes of TFL by Electroacupuncture in the Adjuvant Induced Rats.

Group	No. of animal	Tail flick latency increase (%)					
		pre	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min
CON	10	0	3.2 ± 1.3	3.0 ± 1.4	6.2 ± 0.9	2.9 ± 1.5	2.9 ± 1.5
EA	10	0	4.4 ± 0.9*	24.0 ± 1.5**	20.0 ± 1.7**	8.3 ± 1.8**	4.1 ± 0.8*

Values are means ± S.D.

CON; group without electroacupuncture

EA; group of electroacupuncture (2Hz, 0.07mA, 0.3ms)

*: p < 0.05, **: p < 0.01 analyzed by independent samples t-test

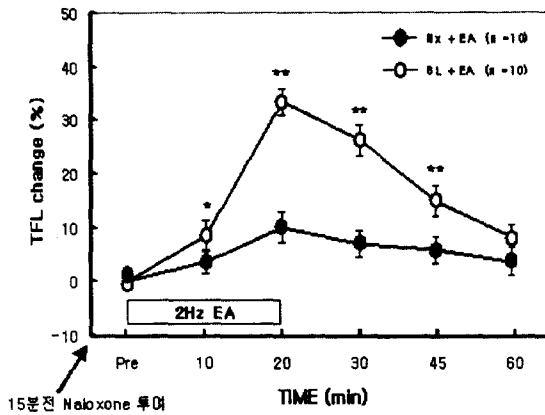


Fig. 3. Suppression of EA effects by naloxone pretreatment (arrow) in the adjuvant induced rats.

Intraperitoneal injection of naloxone(Nx, 2mg/kg, i.p.) reversed the antinociceptive effect of EA. SL, normal saline. SL+EA is a group of electroacupuncture at right Jogsamni(ST₃₆) combined with normal saline before 15minutes to stimulate. Nx+EA is a group of electroacupuncture at right Jogsamni(ST₃₆) combined with naloxone before 15minutes to stimulate. The means±S.D. of TFL increase before and after treatment are plotted against Pre, 10, 20, 30, 45 and 60. 'Pre' indicates the time before treatment. '10, 20, 30, 45 and 60' indicate the time after the onset of treatment. Asterisks indicate significant difference between SL+EA and Nx+EA group after treatment(*: p<0.05, **: p<0.01, independent samples t-test).

生理食鹽水 先投與 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群(SL+EA, n=10)의 5.0±1.2%, 23.5±1.0%, 19.3±1.3% 및 9.1±1.5%에 比하여 모두 有意性(p<0.05) 있는 減少를 보였다. 그러나 電鍼刺戟 始點으로부터 60분에 檢査한 TFL 增加率は naloxone 先投與群이 3.8±0.9%를 나타내어 生理食鹽水 先投與群의 4.6±0.5%에 比하여 有意性있는 減少를 보이지는 않았다<Table 2, Fig. 3>.

4. Yohimbine 先投與에 따른 電鍼刺戟의 鎮痛效果

Yohimbine 先投與 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群(Yb+EA, n=10)은 平均 TFL 增加率이 電鍼刺戟 後 10分, 20分, 30分 및 45분에 各各 3.4±0.9%, 9.8±1.5%, 7.7±1.4% 및 5.6±1.2%의 變化를 나타내어 生理食鹽水 先投與 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群(SL+EA, n=10)의 5.0±1.2%, 23.5±1.0%, 19.3±1.3% 및 9.1±1.5%에 比하여 모두 有意性(p<0.05) 있는 減少를 보였다. 그러나 電鍼刺戟 始點으로부터 60분에 檢査한 TFL 增加率は yohimbine 先投與群이 4.2±0.4%를 나타내어 生理食鹽水 先投與群의 4.6±0.5%에 比하여 有意性있는 減少를 보이지는 않았다<Table 3, Fig. 4>.

Table 2. Changes of TFL in Electroacupuncture Pretreated with Naloxone in the Adjuvant Induced Rats.

Group	No. of animal	Tail flick latency increase (%)					
		pre	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min
SL+EA	10	0	5.0±1.2	23.5±1.0	19.3±1.3	9.1±1.5	4.6±0.5
Nx+EA	10	0	3.5±0.5*	9.9±1.3**	6.9±1.0**	5.8±0.9**	3.8±0.9

Values are means±S.D.
SL+EA; group of electroacupuncture at right Jogsamni(ST₃₆) combined with normal saline before 15minutes to stimulate.

Nx+EA; group of electroacupuncture at right Jogsamni(ST₃₆) combined with naloxone (2mg/kg, i.p.) before 15minutes to stimulate.

*: p<0.05, **: p<0.01 analyzed by independent samples t-test

Table 3. Changes of TFL in Electroacupuncture Pretreated with Yohimbine in the Adjuvant Induced Rats.

Group	No. of animal	Tail flick latency increase (%)					
		pre	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min
SL+EA	10	0	5.0±1.2	23.5±1.0	19.3±1.3	9.1±1.5	4.6±0.5
Yb+EA	10	0	3.4±0.9*	9.8±1.5**	7.7±1.4**	5.6±1.2**	4.2±0.4

Values are means±S.D.

SL+EA; group of electroacupuncture at right Jogsamni(ST₃₆) combined with normal saline before 15minutes to stimulate.

Yb+EA; group of electroacupuncture at right Jogsamni(ST₃₆) combined with yohimbine(2mg/kg, i.p.) before 15minutes to stimulate.

*: p<0.05, **: p<0.01 analyzed by independent samples t-test

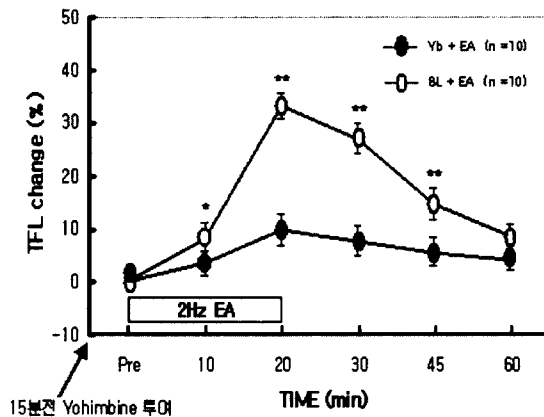


Fig. 4. Suppression of EA effects by yohimbine pretreatment (arrow) in the adjuvant induced rats.

Intraperitoneal injection of yohimbine(Yb, 2mg/kg, i.p.) reversed the antinociceptive effect of EA. SL, normal saline. SL+EA is a group of electroacupuncture at right Jogsamni(ST₃₆) combined with normal saline before 15minutes to stimulate. Yb+EA is a group of electroacupuncture at right Jogsamni(ST₃₆) combined with yohimbine (Yb, 2mg/kg, i.p.) before 15minutes to stimulate. The means±S.D. of TFL increase before and after treatment are plotted against Pre, 10, 20, 30, 45 and 60. 'Pre' indicates the time before treatment. '10, 20, 30, 45 and 60' indicate the time after the onset of treatment. Asterisks indicate significant difference between SL+EA and Yb+EA group after treatment(*: p<0.05, **: p<0.01, independent samples t-test).

4. Yohimbine 先投與에 따른 電鍼刺戟의 鎮痛效果

Yohimbine 先投與 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群(Yb+EA, n=10)은 平均 TFL 增加率이 電鍼刺戟後 10分, 20分, 30分 및 45分에 各各 3.4±0.9%, 9.8±1.5%, 7.7±1.4% 및 5.6±1.2%의 變化를 나타내어 生理食鹽水 先投與 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群(SL+EA, n=10)의 5.0±1.2%, 23.5±1.0%, 19.3±1.3% 및 9.1±1.5%에 比하여 모두 有意性(p<0.05) 있는 減少를 보였다. 그러나 電鍼刺戟 始點으로부터 60分에 檢査한 TFL 增加率은 yohimbine 先投與群이 4.2±0.4%를 나타내어 生理食鹽水 先投與群의 4.6±0.5%에 比하여 有意性있는 減少를 보이지는 않았다<Table 3, Fig. 4>.

IV. 考 察

關節炎은 關節部位에 發生하는 炎症性疾患으로 外傷, 感染, 代謝異常, 免疫異常 및 腫瘍 등 여러 가지 原因에 의해 發生하며¹⁷⁾, 關節의 紅斑, 發熱, 腫脹 및 關節部位의 激烈한 疼痛을 誘發하는 慢性

炎症性痛症(chronic inflammatory pain) 疾患이다^{17),18)}. 關節炎에서의 痛症調節은 매우 重要한데 이는 痛症을 줄이지 못하면 患者의 運動能力이 顯著하게 減少하게 되며 이로 因해 關節 周圍 筋肉이나 韌帶 等の 弱화를 招來하여 關節 機能弱화 및 消失을 誘發하는 身體障得을 일으키기 때문이다¹⁹⁾.

韓醫學에서는 이러한 關節炎을 痺症¹⁷⁾, 歷節風¹⁹⁾, 痛風²⁰⁾의 範疇로 보았다. 特히 <靈樞 九鍼論>¹⁸⁾에서는 “八正之虛風, 八風傷人, 內含於骨解腰脊節腠理之間, 爲深痺也.”라고 하여 關節痺症을 深痺라고 認識하였으며, 主要한 臨床症狀으로 關節疼痛, 運動障得, 硬直, 發熱, 腫脹, 發赤을 언급하여^{17),18),20)} 關節炎과 痛症의 關聯性을 다루었다. 關節炎과 關聯된 痛症에 對해서 <素門: 舉痛論>²¹⁾은 痛症 14種을 列舉하면서 寒邪가 主된 原因이고 血少, 氣不通, 脈絡의 縮蹙, 紕急 等이 病理의 特徵임을 認識하였다.

韓醫學에서는 이러한 痛症의 調節手段으로 鍼刺療法이 使用되어 왔는데, <靈樞: 刺節眞邪論>에서는 “用鍼之類 在於調氣”, <素門: 寶命全形論>에서는 “凡刺之道 必先治神”이라고 하여 調氣治神의 作用으로 “佳痛移疼”의 效果를 말하였다²²⁾. 이러한 鍼鎮痛效果가 科學的 研究의 對象이 된 것은 1972年부터이며²³⁾, 以後 鍼에 多樣한 刺戟의 頻度 및 強度를 調節할 수 있는 電鍼의 鎮痛效果와 機轉에 對한 研究가 進行되었다. 卽 低頻度 刺戟은 腦下垂體에서 β -endorphin을 分泌하고 脊髓에서 Met-enkephalin, dynorphin 等の opioid peptide를 媒介로 鎮痛效果를 發揮하며²⁾, 高頻度 刺戟은 serotonin, norepinephrine, dopamine을 媒介로 鎮痛效果에 關與함이 報告되었다³⁾.

本 實驗에서는 電鍼刺戟의 鎮痛效果를 알아보기 爲한 痛症 閾值를 tail flick latency (TFL)로 測定하여 評價하였다. 痛症의 研究에 있어서 尾逃避檢査

(tail flick latency ; TFL), hot-plate test, 開口反射(jaw opening reflex), formalin test 等은 齧齒類動物에게서 有害刺戟에 對한 閾值를 評價하기 爲한 脊髓의 有害受容 反射이다^{8),9),10)}. 이 中에서 特히 TFL은 D'Armour와 Smith가 1941年 發展시킨 方法으로서 有害刺戟에 對한 閾值를 評價하는 方法으로 鍼鎮痛研究에 多用되고 있다²⁴⁾. D'Armour가 使用했던 方法은 水槽의 溫度를 56°C로 維持하고 흰쥐의 꼬리를 약 3cm 물속에 놓아 尾逃避反射가 일어날 때까지의 時間을 測定하였고²⁴⁾, Han 等은 有害刺戟으로 흰쥐의 꼬리에 集中시킨 白熱電球의 빛 刺戟을 使用하였으며, 빛 照射 強度로 TFL의 平均基底線을 4~6秒에 맞추었다²⁵⁾. Takeshige는 20°C의 室內溫度에서 TFL의 平均基底線이 2秒가 되는 強度의 빛 照射를 有害刺戟으로 하여 組織損傷을 막기 爲해 7秒의 cut-off time을 設定하고 30秒 間隔으로 5回 測定한 平均값의 變化率을 比較하는 方法을 使用하였다^{9),10)}. 이러한 TFL의 測定에 있어 本 實驗에서 考慮해야 할 事項으로는 實驗室 및 周圍 溫度²⁶⁾, 體溫 및 꼬리의 皮膚溫度, 刺戟部位, 輻射熱의 強度, 平均基底線 反應時間, 스트레스 等이 있다. 이에 對해 Lichtman 等은 體溫과 꼬리의 皮膚溫度가 TFL에 미치는 影響은 무시할만하다는 것을 報告하였으며²⁷⁾, 꼬리의 溫度는 腹側, 背側, 側面의 動脈과 靜脈의 分布가 다르므로 TFL 測定時 刺戟部位는 一定해야 한다고 報告하였다²⁸⁾. 以上의 報告들은 本 研究에서 慢性 炎症性痛症의 鎮痛效果를 알아보는데 있어서, TFL을 利用한 痛症 閾值의 測定이 效果的임을 意味한다. 또한 TFL을 thiopental sodium과 같은 short acting barbiturate를 利用하여 動物을 癡醉시킨 後 測定한 報告¹¹⁾가 있으나, 本 實驗에서는 癡醉에 따른 影響을 排除시키기 爲해 實驗室 및 周圍 溫度²⁶⁾, 體溫 및 꼬리의 皮膚溫度, 刺戟部位, 輻射熱의 強度, 平均基底線 反應時間을 一定하게 한 後, TFL 測定을 始作하기 前

2週間, 1回/日, 30分 정도 홀더(holder) 適應訓練을 하여 홀더로 인한 스트레스를 줄이고자 하였다.

本實驗에서 電鍼刺戟을 加한 足三里(ST₃₆)는 胃經의 合土穴로서 理脾胃, 調中氣, 和脹消滯, 疏風化濕, 通調經絡, 調和氣血하여 胃痛, 腹痛, 心痛, 頭痛, 胸脇痛, 膝關節痛, 下肢痛 等の 痛症調節機能이 있다¹⁸⁾. 金等²⁹⁾은 TFL을 指標로 한 實驗에서 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟의 鎮痛效果를 報告하였고, Vito V. Romita等³⁰⁾은 足三里(ST₃₆)의 低頻度 電鍼刺戟은 TFL에 對해 짧은 抑制效果와 긴 抑制效果를 同時에 誘發한다고 報告하였다.

本 研究에서는 慢性 炎症性痛症의 實驗 model로 complete freund's adjuvant(CFA)를 利用한 adjuvant induced rat으로 關節炎에 미치는 電鍼刺戟의 鎮痛效果 및 機轉을 알아보았다. Adjuvant induced arthritis는 結核菌의 油性 懸濁液인 CFA를 注射하면 peptidoglycan 成分으로 알려진 誘發因子에 依하여 2週 後 多發性 關節炎이 發現되는데, 이는 류마티스 關節炎과 免疫病理學的(immunopathological)으로 類似하며 痛覺過敏(hyperalgesia)을 誘發하므로 慢性 炎症性痛症의 末梢 및 中樞의 痛症傳達系(peripheral and central nociceptive processing system)를 研究해 볼 수 있는 實驗 model이다³¹⁾. 本 實驗에서도 CFA로 關節炎을 誘發시킨 後 1, 2, 3, 4 및 5週에 TFL을 利用한 痛症閾值를 測定한 結果 各各 $-16.5 \pm 3.8\%$, $-32.6 \pm 3.1\%$, $-33.5 \pm 3.1\%$, $-34.8 \pm 3.2\%$ 및 $-35.0 \pm 3.1\%$ 의 減少를 보였으며, 減少量은 2週에 最高值를 보였고, 以後에는 큰 變化를 보이지 않았다. 이는 關節炎이 誘發된 以後에 痛症閾值가 점점 떨어지는 樣相을 보여, 關節炎이 痛覺過敏을 誘發한다는 報告³¹⁾와 一致하였으며, 또한 2週 後에 最高變化量을 보인 以後에는 痛症閾值에 큰 變化를 보이지 않았다. 이를 바탕으로 本 實驗에서는 adjuvant 關節炎이 誘發된 2週 後에 電鍼刺戟의 鎮痛效果를 評價하였다.

本 實驗에서는 慢性 炎症性痛症에 對한 電鍼刺戟의 鎮痛效果를 알아보기 위하여 CFA로 關節炎이 誘發된 흰쥐의 片側 足三里(ST₃₆)에 電氣刺戟(2Hz, 0.07mA, 0.3ms)을 20分間 施行한 結果, 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群의 平均 TFL 增加率은 處置後 10分, 20分, 30分, 45分 및 60分에 各各 $4.4 \pm 0.9\%$, $24.0 \pm 1.5\%$, $20.0 \pm 1.7\%$, $8.3 \pm 1.8\%$ 및 $4.1 \pm 0.8\%$ 의 變化를 나타내어 對照群에 比하여 各各 모두 有意性있는 增加를 보였다. 卽 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟이 慢性 炎症性痛症에 對해 痛症閾值를 增加시켰고, 또한 20分間의 電鍼刺戟 終了後 40分間 鎮痛效果를 나타내었다. 이와 關聯하여 정상 흰쥐에서 Takeshige¹⁰⁾는 足三里(ST₃₆)에 施行한 1Hz, 0.5mA의 電鍼刺戟에서 反應群의 境遇 45分 刺戟後에 40%의 TFL 變化를 보였다. 또 다른 報告에 依하면 總 60分 刺戟時 35分에 60%의 最高 變化率을 보였으며, 鍼刺戟 終了後 30分間 鎮痛效果가 維持되었다³²⁾. 慢性 炎症性痛症 모델에서의 痛覺域值에 關하여는 류마티스 關節炎에 있어서의 炎症程度와 慢性痛症의 關聯性을 kappa-opioid receptor 觀點에서 研究한 報告⁵⁾가 있었으며, 關節炎에 依한 痛症의 機轉이 內因性 鎮痛抑制系(endogenous pain inhibitory system)의 變化를 暗示하는 報告⁶⁾와 류마티스 關節炎性 痛症이 末梢 및 中樞의 痛症傳達系(peripheral and central nociceptive processing system)의 變化에 依한 것을 暗示하는 報告⁷⁾가 있었다. 이와 같은 慢性 炎症性痛症의 鍼鎮痛效果에 對해서는 電鍼刺戟이 adjuvant 誘發 關節炎에 있어서 pain sensitive neurons과 c-fos expression을 抑制한다는 報告³³⁾, 鍼刺戟이 adjuvant 誘發 關節炎에 있어서 peripheral opiate-like substance의 分泌를 增強시킨다는 報告³⁴⁾, 電鍼刺戟이 adjuvant 誘發 關節炎에 있어서 lumbar spinal cord의 substance P의 分泌를 抑制한다는 報告³⁵⁾가 있었다.

또 本 實驗에서는 慢性 炎症性痛症에 對한 電鍼

刺戟의 鎮痛效果를 바탕으로 그 鎮痛機轉에 對한 實驗을 進行하였다.

우선 endogenous opioid mechanism과 關聯하여 本 實驗에서는 Naloxone 先投與 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群(Nx+EA, n=10)의 平均 TFL 增加率에 電鍼刺戟後 10分, 20分, 30分, 45分에 各各 3.5 ± 0.5%, 9.9 ± 1.3%, 6.9 ± 1.0%, 5.8 ± 0.9%의 變化를 나타내어 生理食鹽水 先投與 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群(SL+EA, n=10)에 比하여 各各 모두 有意性있는 減少를 보였다. 卽 慢性 炎症性痛症에 對한 電鍼刺戟의 鎮痛效果는 naloxone에 依해 抑制되었다. 이는 곧 慢性 炎症性痛症 model인 adjuvant 誘發 關節炎의 境遇 低頻度(2Hz) 電鍼刺戟의 鎮痛效果는 endogenous opioid mechanism과 關係한다는 事實이다. 이러한 結果는 Han 等³⁶⁾의 低頻度 電鍼刺戟이 1mg/kg의 naloxone에 依해서 拮抗된다고 한 報告, Ernst 等³⁷⁾의 低頻度 電鍼刺戟이 刺戟後 30分에 誘發된 27%의 pain threshold 上昇은 naloxone(0.8mg, I. M.)에 依해 抑制되었다고 한 報告, 閔 等¹⁵⁾의 合谷穴 電鍼刺戟 15分 前에 naloxone을 腹腔內 投與(2mg/kg)하여 鎮痛效果가 遮蔽된다고 한 報告, naloxone에 依해 抑制되는 endogenous opioid 機轉은 低頻度 電鍼刺戟에서 誘發된다는 報告³⁸⁾와도 一致된다.

이처럼 endogenous opioid mechanism과 關聯한 電鍼刺戟의 鎮痛機轉에 對한 報告는 比較적 많으나, adjuvant 誘發 關節炎을 實驗 model로 한 慢性 炎症性痛症과 關聯된 電鍼刺戟의 opioid mechanism에 關한 研究는 아직 未治한 實情이다. 다만 鍼刺戟이 adjuvant 誘發 關節炎에 있어서 peripheral opiate-like substance의 分泌를 增強시킨다는 報告³⁴⁾와 adjuvant 誘發 關節炎과 關聯해 bee venom 刺戟은 naloxone에 依해 拮抗되지 않는다는 報告³⁹⁾가 있었다.

또 本 實驗에서는 鍼鎮痛機轉에 있어서 重要한

sympathetic mechanism 中 代表的인 adrenergic mechanism과 關聯해서 Yohimbine 先投與 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群(Yb+EA, n=10)의 平均 TFL 增加率에 電鍼刺戟後 10分, 20分, 30分, 45分에 各各 3.4 ± 0.9%, 9.8 ± 1.5%, 7.7 ± 1.4%, 5.6 ± 1.2%의 變化를 나타내어 生理食鹽水 先投與 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群(SL+EA, n=10)에 比하여 各各 모두 有意性있는 減少를 보였다. 卽 慢性 炎症性痛症에 對한 電鍼刺戟의 鎮痛效果는 yohimbine에 依해 抑制되었다. 이는 곧 慢性 炎症性痛症 model인 adjuvant 誘發 關節炎의 境遇 低頻度(2Hz) 電鍼刺戟의 鎮痛效果는 adrenergic mechanism과 關係한다는 事實이다. 그러나 電鍼刺戟과 關聯된 報告에 依하면 低頻度(1~4Hz) 刺戟은 β -endorphin, enkephalin, dynorphin 等の opioid peptide를 媒介하고²⁾, 高頻度(100~200Hz) 刺戟은 serotonin, norepinephrine, dopamine 等の monoamine을 媒介하여 鎮痛效果를 나타낸다³⁾고 하였다. 또한 Zou 等⁴⁰⁾도 低頻度 電鍼刺戟이 yohimbine에 依해서는 拮抗되지 않는다고 報告하였다. 이렇게 볼 때, 本 實驗의 結果는 既存의 電鍼刺戟 鎮痛機轉과 關聯한 報告들과는 差異가 있다. 그러나 本 實驗 model은 adjuvant 誘發 關節炎으로, 이는 慢性 炎症性痛症에 對한 電鍼刺戟 鎮痛機轉의 研究를 새롭게 試圖했다는 觀點에서 살펴보아야 할 必要가 있다. 이와 關聯하여 Kwon 等³⁹⁾은 adjuvant 誘發 關節炎에 對한 bee venom 刺戟은 yohimbine(2mg/kg, i.p.)에 依해 拮抗된다고 報告하였다.

以上の 結果를 綜合해 볼 때, 電鍼刺戟은 adjuvant 誘發 關節炎으로 인한 慢性 炎症性痛症에 有意한 鎮痛效果를 나타내며 그 鎮痛機轉은 endogenous opioid mechanism, 그리고 代表的인 sympathetic mechanism인 α_2 -adrenergic mechanism과 密接한 關聯性이 있음을 意味한다. 따라서 電鍼刺戟이 adjuvant 誘發 關節炎 實驗動物에

서有意한鎮痛效果가 인정되므로臨床에서慢性炎症性痛症의治療에有效하게適用될수있을것으로思慮되며,아울러本實驗의結果를土臺로慢性炎症性痛症에對한電鍼刺戟의鎮痛效果및그機轉에關한研究가持續的으로이루어질수있기를期待한다.

V. 結 論

慢性炎症性痛症 model인 adjuvant 誘發關節炎 흰쥐의 偏側 足三里(ST₃₆)에 電鍼刺戟(2Hz, 0.07 mA, 0.3ms)을 加한 後 TFL을 指標로 한 鎮痛效果를 알아보고, 또한 naloxone 및 yohimbine 投與時 拮抗되는 鎮痛效果의 機轉을 觀察하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. Complete freund's adjuvant(CFA)로 關節炎이 誘發된 以後의 痛症閾値는 점점 떨어지는 樣相을 보이면서 痛覺過敏을 誘發하였다.

2. Adjuvant 誘發 關節炎 흰쥐의 偏側 足三里(ST₃₆)에 施行한 電鍼刺戟은 痛症閾値를 增加시키면서 鎮痛效果를 나타내었고, 刺戟 終了後 40分間 鎮痛效果가 維持되었다.

3. Adjuvant 誘發 關節炎 흰쥐에 opioid receptor antagonist인 naloxone(2mg/kg, i.p.)을 先投與한 境遇 電鍼刺戟의 鎮痛效果가 拮抗되는 樣相을 보여 endogenous opioid mechanism과 密接한 關聯이 있음을 알 수 있었다.

4. Adjuvant 誘發 關節炎 흰쥐에 α_2 -adrenoceptor antagonist인 yohimbine(2mg/kg, i.p.)을

先投與한 境遇 電鍼刺戟의 鎮痛效果가 拮抗되는 樣相을 보여 α_2 -adrenergic mechanism과 密接한 關聯이 있음을 알 수 있었다.

VI. 參考文獻

1. Lee JH, Beitz AJ : The distribution of brain-stem and spinal cord nuclei associated with different frequencies of electroacupuncture analgesia, Pain, 52, 11-28, 1993.
2. 宋淙圭, 林圭彥, 金庚植 : 鍼刺가 慢性腰痛의 血漿內 β -endorphin, ACTH 및 Cortisol 含量에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 6(1), 63-82, 1989.
3. Cheng RS, Pomeranz B : Monoaminergic mechanism of electroacupuncture analgesia, Brain Res, 215, 77-92, 1981.
4. Lin C, Wang CH, Wu P, Wen ZH, Buerkle H, Yang LC : Apraclonidine attenuates the increases in spinal excitatory amino acid release in rats with adjuvant-induced inflammation, Anesth Analg, 94(3), 701-705, 2002.
5. Gunji N, Nagashima M, Asano G, Yoshino S : Expression of kappa-opioid receptor mRNA in human peripheral blood lymphocytes and the relationship between its expression and the inflammatory changes in rheumatoid arthritis, Rheumatol Int, 19(3), 95-100, 2000.
6. Jones AK, Cunningham VJ, Ha-Kawa S, Fujiwara T, Luthra SK, Silva S, Derby-

- shire S, Jones T : Changes in central opioid receptor binding in relation to inflammation and pain in patients with rheumatoid arthritis, *Br J Rheumatol*, 33(10), 909-916, 1994.
7. Dhondt W, Willaеys T, Verbruggen LA, Oostendorp RA, Duquet W : Pain threshold in patients with rheumatoid arthritis and effect of manual oscillations, *Scand J Rheumatol*, 28(2), 88-93, 1999.
 8. 李惠貞 : 脊髓神經系統에서 2-deoxyglucose 代謝에 關한 鍼刺戟 役割 研究, 慶熙韓醫大 論文集, 19(2), 1996.
 9. Takeshige C : differentiation between acupuncture point and non-acupuncture point by association with analgesia inhibit system, *Acupuncture & Electro-therapeutics Res. Int*, 10, 195-203, 1985.
 10. Takeshige C, Kobori, Hishida, Igarashi : Analgesia inhibitory system in nonacupuncture point-stimulation-produced analgesia, *Brain Res.* 28, 379-391, 1992.
 11. Romita VV, Suk A, Henry JL : Parametric study on electroacupuncture like stimulation in a rat model-effects of intensity, frequency and duration of stimulation on evoked antinociception, *Brain Res*, 42(4), 289-296, 1997.
 12. Pitcher GM, Yashpal K, Coderre TJ : Mechanism underlying antinociception provoked by heterosegmental noxious stimulation in the rat tail-flick test, *Neuroscience*, 65, 273-281, 1995.
 13. 고희균 : 흰쥐에서의 골도분촌에 의한 상응혈위, 大韓鍼灸學會誌, 16(3), 115-122, 1999.
 14. Hwang BG, Min BL, Kim JH, Na HS, Park DS : Effects of electroacupuncture on the mechanical allodynia in the rat model of neuropathic pain, *Neurosci letters*, 320(1-2), 49-52, 2002.
 15. 민병일, 한승호, 김창주, 정순동 : Modulation of electroacupuncture on the sympathetic stress responses induced by rat tooth-pulp stimulation, *경희의대논문집*, 19(2), 117-128, 1994.
 16. Kwon YB, Kang MS, Han HJ, Beitz AJ, Lee JH : Visceral antinociception produced by bee venom stimulation of the Zhongwan acupuncture point in mice : role of α_2 adrenoceptors, *Neurosci letters*, 308, 133-137, 2001.
 17. 全國韓醫科大學 再活醫學科教室 編 : 東醫再活醫學科學, 서울, 書苑堂, 95-96, 108, 111-114, 1995.
 18. 全國 韓醫科大學 鍼灸經穴學教室 編 : 鍼灸學下, 서울, 集文堂, 1286, 1294-1296, 1457, 1988.
 19. 張機 : 金匱 要略, 서울, 成輔社, 117-119, 1985.
 20. 朱震亨 : 丹溪心法附餘, 서울, 大星文化社, 14-21, 206, 207, 1982.
 21. 洪元植 校勘直譯 : 黃帝內經素門, 서울, 傳統文化研究會, 234-240, 1993.
 22. 金賢濟, 崔容泰, 林種國, 李潤浩 : 最新鍼灸學, 서울, 成輔社, 234, 1983.
 23. Tsuei JJ : The science of acupuncture theory and practice, *Engineering in Med. & Bio*, 15(3), 52-57, 1996.
 24. Grossman ML, Basbaum AI, Fields HL : Afferent and efferent connections of the

- rat tail flick reflex(A model used to analyze pain control mechanism), *J. Comp. Neurol*, 206, 9-16, 1982.
25. Ren MF, Han JS : Rat tail flick acupuncture analgesia model, *Chinese Med. J*, 92 (8), 576-582, 1979.
 26. Rand RP, Burton AC : The tail of the rat in temperature regulation and acclimatization, *Can J. Physiol., Pharmacol*, 43, 257-267, 1965.
 27. Lichtman AH, Smith FL, Martin BR : Changes in tail skin temperature are unlikely to be a confounding factor in the tail-flick test, *Pain*, 57, 257-258, 1994.
 28. Sapsed-Byrne S, Holdcroft A, Ridout D : The influence of colonic temperature changes in anaesthetised rats on tail skin temperature and repeated testing of tail-flick latencies, *Pain*, 63, 255-261, 1995.
 29. 金志勳 : 捻轉法에 行된 鍼刺戟 및 電鍼刺戟이 鎮痛效果에 미치는 影響, 서울, 慶熙大 韓醫學碩士學位論文, 1998.
 30. Vito V, Romita, Kiran Yashpal : Intense peripheral electrical stimulation evokes brief and persistent inhibition of the nociceptive tail withdrawal reflex in the rat, *Brain Res*, 761, 192-202, 1997.
 31. Rosenthale ME, Capetola RJ : Adjuvant arthritis-immunopathological and hyperalgesic features, *Fed Prod*, 581, 2577-2582, 1982.
 32. Takeshige C, Sato T, Mera T, Hisamitsu T, Fang J : Descending pain inhibitory system involved in acupuncture analgesia, *Brain Res. Bull*, 29(5), 617-634, 1992.
 33. Ruan HZ, Li XC, Li HD, Zhao BY : Somatostatin and electroacupuncture inhibited c-fos expression in spinal cord of arthritic rats, *Zhongguo Yao Li Zue Bao*, 18(5), 474-476, 1997.
 34. Zhu L, Li C, Ji C, Li W : The role of OLS in peripheral acupuncture analgesia in arthritic rats, *Zhen Ci Yan Jiu*, 18(3), 214-218, 1993.
 35. Cui R, Zhao F, Ma C, Tian Y, Cai H, Zhu L : Influence of 5,7-dihydroxytryptamine on electro-acupuncture analgesia and substance P level in central nervous system of the arthralgic rats, *Zhen Ci Yan Jiu*, 17 (3), 183-185, 1992.
 36. Han JS, Xie GX : Analgesia produced by electroacupuncture of different frequencies are mediated by different varieties of opioid in the spinal cord, *Kexue Tnogbao*, 30(5), 385-391, 1985.
 37. Ernst M, Lee MH : Influence of Naloxone on electroacupuncture analgesia using an experimental pain test. Review of possible mechanisms of action, *Acupuncture electrother Res*, 12(1), 5-22, 1987.
 38. Bing Z, Cesseline F, Bourgoin S, Clot A M : Acupuncture-like stimulation induces a heterosegmental release of Met-enkephalin-like material in the rat spinal cord, *Pain*, 47, 71-77, 1991.
 39. Kwon YB, Kang MS, Han HJ, Beitz AJ, Lee JH : Visceral antinociception produced by bee venom stimulation of the Zhongwan acupuncture point in mice : role of α_2 adrenoceptors, *Neurosci. letters*, 308, 133-

- 137, 2001.
40. Zou CJ, Wang H, Ge L : The central mechanism of the depressor-bradycardia effect of Tinggong, Acupunct. Electrother Res, 25(3-4), 145-153, 2000.