

Carrageenan유발 동통에 대한 전침의 빈도와 시간에 따른 완화 효과

최병태 · 최영현¹ · 이용태^{2*}

동의대학교 한의과대학 해부학교실, 1: 생화학교실, 2: 생리학교실 및 한의학연구소

Comparative Studies of the Electroacupuncture with Different Frequency and Duration Time in the Carrageenan-injected Rats

Byung Tae Choi, Yung Hyun Choi¹, Yong Tae Lee^{2*}

Department of Anatomy, 1: Biochemistry,
2: Physiology, College of Oriental Medicine, Research Institute of Oriental Medicine, Dongeui University

We investigated the comparative effect with different frequency and duration time of electroacupuncture(EA) for suppression of pain. Inflammation was induced by an intraplantar injection of 1% carrageenan into the right hind paw. Bilateral EA stimulation with 2 Hz, 15 Hz and 120 Hz were delivered at those acupoints corresponding to Zusanli and Sanyinjiao in man via the needles in carrageenan-injected rats. The paw and tail thermal hyperalgesia were measured in 30-minute intervals after carrageenan injection using hot plate and tail flick analgesia meter, respectively. The significant difference was found between the control and any of EA frequencies examined. Especially 2 Hz EA presented more effective inhibitory effects compared with other frequency of EA in tail flick latency. The hyperalgesia induced by carrageenan was strongly inhibited by 2 Hz EA from 5 min post and reached sufficient effects from 20 min post EA treatment. These results suggest that EA treatment might be a useful therapy for mitigation of inflammatory pain.

Key words : Electroacupuncture, carrageenan, frequency, duration time

서 론

임상적으로 전침(electroacupuncture)은 동통제어에 두드러진 효능을 나타내며 특정 매개변수 조절로 표준화가 가능하여 진전된 과학적 방법론과 더불어 메커니즘이 해부생리학적으로 규명되고 있다¹⁾. 1972년 이래 과학적 검증을 위해 구성된 일련의 연구진에 의해 catecholamines과 serotonin을 포함한 neurotransmitter가 작용함을 보여 주고 있다²⁾. 전침의 동통제어 효과는 morphine양 효과를 나타내며 naloxone, opioid antagonist 등에 의해 저해되는 것으로 보아 endogenous opioid system이 관여하고 특정 빈도(frequency)에 따라 중추신경계내 상이한 opioid system이 활성화됨은 잘 알려져 있다^{3,4)}. 저빈도 2 Hz 전침은 뇌와 척수 enkephalin과 β -endorphin을 분비하며 μ -와 δ -opioid

receptor가 관계하고 고빈도 100 Hz 전침은 척수에서 dynorphin을 분비하며 척수배각의 κ -opioid receptor가 관여 한다⁵⁾. 동통은 조직손상과 연관된 불유쾌한 감각 또는 정서적 경험으로 성질에 따라 생리적, 염증성, 신경성 동통의 3가지 범주로 나뉘며 염증성 동통은 일반적으로 나타나는 동통이다⁶⁾. 전침은 전통적으로 수기에 기초한 침자극과는 상이하나 표준화가 어려운 전통 침에 비해 빈도, 강도, 시간 등을 조절함으로써 다양한 효과를 검증할 수 있다. 본 연구는 국소적 염증과 통각과민 연구에 널리 쓰이고 있는 carrageenan을 주사한 흰쥐의 국소적 염증반응과정에 대해 저빈도에서 고빈도에 이르는 전침의 효과와 전침 시간지속에 따른 효과를 hot plate latency와 tail flick latency로 비교하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

8주된 건강한 Sprague-Dawley계 흰쥐를 효창사이언스(주)

* 교신저자 : 이용태, 부산시 진구 양정2동 산45-1 동의대학교 한의과대학
· E-mail : ytleee@deu.ac.kr, · Tel : 051-850-8635
· 접수 : 2003/12/08 · 수정 : 2003/01/05 · 채택 : 2004/01/26

로부터 구입하여 2주간 자유식이법으로 실험실 환경에 순화시킨 후 실험에 사용하였다. 국소적 염증유발을 위해 1% carrageenan (Sigma, USA) 50 μ l을 우측 족저에 주사한 대조군과 carrageenan주사 후 전침 처리한 전침군, 그리고 동일 양의 saline용액을 주사한 정상군으로 나누어 사용하였으며 각 군당 8 내지 10마리를 사용하였다.

2. 전침자극

Carrageenan주입과 동시에 전침 자극을 시작하였다. 스테인레스 0.25 mm 침을 전침기(세창메디칼, SM-600)에 연결하여 빈도별 효과를 알아보기 위해 2 Hz, 15 Hz 및 120 Hz로 삼음교(Sp6, 경골후연의 내과에 대해 근위 3 mm 지점)와 족삼리(S36, 경골 전결절에 대해 외측 5 mm 지점)에 해당하는 양측 혈위에 30분간 자극하였으며 세기는 10분 간격으로 순차적으로 1, 2, 3 mA로 조절하였다. 시간에 따른 효과를 알아보기 위해 2 Hz 빈도와 2 mA로 고정하여 연속적으로 자극하였다.

3. Nociceptive threshold 측정

Nociceptive threshold는 hot plate latency와 tail flick latency로 측정하였다. Hot plate latency 측정을 위해 흰쥐를 56°C로 일정하게 조정된 Hot Plate Analgesia Meter(Harvard Apparatus Ltd., UK) 위에 놓은 후 발을 들거나 뛰는 첫 징후를 전자타이머로 측정하였다. Tail flick latency는 Tail Flick Analgesia Meter(Harvard Apparatus Ltd., UK)를 사용하여 측정하였다. 증류수나 carrageenan주사 전 5분 간격으로 3차례 측정하여 그 평균치를 basal pain threshold로 삼았으며 빈도별 효과를 측정하기 위해서 전침자극 후 30분 간격으로 전침자극 후 180분까지 측정하였으며 연속적 자극에서는 전침 자극 후 5분 간격으로 측정하였다. Basal pain threshold를 기준으로 모든 실험치를 증감에 따라 백분율로 표시하였으며 지나친 자극에 의한 조직손상을 막기 위해 basal pain threshold의 150%를 초과하면 자극을 중지하였다.

4. 통계처리

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

결과 및 논의

1. Hot plate latency 변화

정상군에서 hot plate latency는 변화를 보여 주지 않는데 비해 대조군은 정상군보다 낮은 수치를 보여 carrageenan주사에 의한 통각과민을 보여 줌을 알 수 있으며 시간에 따라 현저하지 않으나 감소하는 경향을 보였다. 전침군은 정상군에 비해 낮은 수치를 보이나 대조군에 비해 높은 수치를 보여 주어 전침에 의한 동통제어 효과가 있음을 알 수 있다. 대조군에 대해 전침자극 후 30분에서는 2 Hz 전침군만이 유의성을 보이거나 이후 모든 빈도의 전침군이 동일한 유의성을 보여 주었다(Fig. 1).

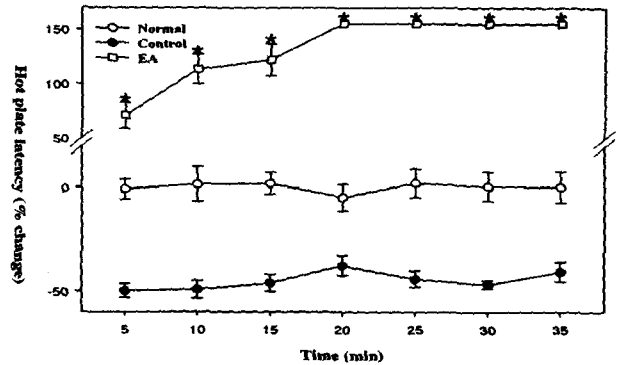


Fig. 1. The effects of EA with different frequency on basal hot plate latency in carrageenan-injected rats. Each point indicates the means±SEM(n=8). Significant analgesic effect of EA with 3 kinds of frequency was noted from 30 min post carrageenan injection on the hot plate test. * P<0.005 and ** P<0.05 indicate significant differences from carrageenan-injected control groups.

Carrageenan은 급성염증과 열적 통각과민에 대한 연구에 널리 사용되고 있으며⁷⁾, carrageenan, formalin 또는 capsaicin을 이용한 유해감수성 동통 측정에 hot plate latency와 tail flick latency 등이 널리 사용되고 있다⁸⁾. Carrageenan을 족부에 주사했을 때 국소적인 염증반응이 형성되고 염증조직에 cyclooxygenases-2와 prostaglandin E2의 증가로 이어지며 이는 조직염증에서 통각과민반응을 계속적으로 나타내는 주된 요인이다⁹⁾.

본 실험에서도 carrageenan주사 군에서는 hot plate test에서 basal pain threshold에 비해 빠른 시간에 반응을 나타내어 통각과민을 나타내며 전침처치는 대조군에 비해 높은 수치를 보여 통각과민에 대한 완화효과를 알 수 있다. 그러나 빈도별에 따른 차이는 현저하지 않아 모든 빈도의 전침이 효과적임을 알 수 있으나 전침 처치 후 30분에서 2 Hz 만이 유의성을 나타내는 것으로 보아 저 빈도 전침이 다른 빈도에 비해 빠른 효과를 나타낼 수 있다.

Carrageenan 또는 saline을 주사한 후 시간별 hot plate latency변화는 없었으며 2 Hz 전침을 연속적으로 처리했을 때 전침자극 5분부터 대조군에 비해 유의성 있는 동통제어 효과를 보여 주었다. 전침자극후 20분부터는 basal pain threshold의 150%를 초과하였다(Fig. 2).

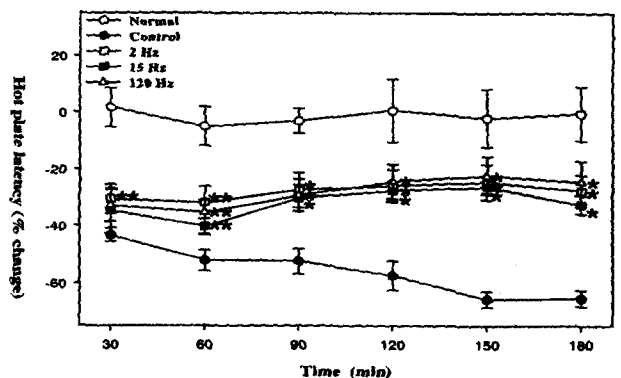


Fig. 2. The effects of 2 Hz EA on basal hot plate latency in carrageenan-injected rats. Each point indicates the means±SEM(n=8). Significant analgesic effect of 2 Hz EA was noted from 5 min post and reached sufficient effect from 20 min post EA treatment. * P<0.005 indicates significant differences from carrageenan-injected control groups.

연속적인 전침자극에 대한 선행연구를 보면 전침자극 후 30분부터 2시간사이에 동통제어효과는 점차 감소한다고 하며 이는 짧은 시간내에 morphin을 반복적으로 투여하여 나타나는 morphin tolerance와 유사하다¹⁰⁾. 본 실험의 족부에 대한 hot plate test로 보아 전침 자극후 5분부터 효과를 나타내나 전침자극 후 20분에 이르러 서야 보다 높은 효과를 나타냄을 알 수 있다. 이는 염증성 질환에서 국소적 부위의 동통제어를 위한 전침 처치 시간에 대한 의미를 부여한다고 볼 수 있다.

2. Tail flick latency 변화

Carrageenan을 주사한 대조군은 tail flick latency변화도 hot plate latency와 유사하게 정상군에 비해 낮은 수치를 보여 주었다. 전침군에서 모든 빈도에서 전침처치후 30부터 180분까지 대조군에 비해 현저한 유의성을 보여 주며 통각과민에 대한 완화 효과를 보여 주었다. 빈도별로 보아 2 Hz 전침의 효과가 다소 높게 나타났다(Fig. 3).

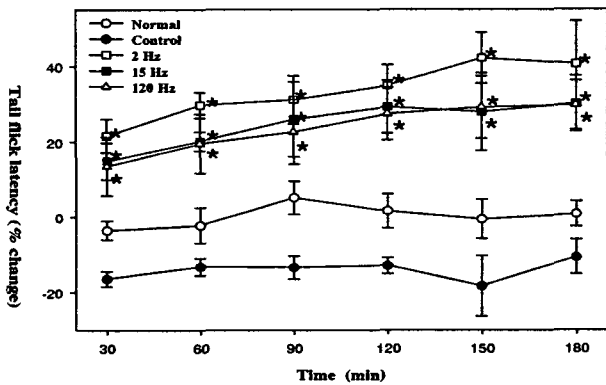


Fig. 3. The effects of EA with different frequency on basal tail flick latency in carrageenan-injected rats. Each point indicates the means±SEM(n=8). The EA treatment with 3 kinds of frequency, especially 2 Hz, showed an analgesic effect on the carrageenan-induced pain compared with the control. *P<0.005 indicates significant differences from carrageenan-injected control groups.

흰쥐를 모델로 한 전침의 동통제어 효과를 보편적으로 tail flick latency로 측정하고 있다¹¹⁾. 동통과 관련된 말초성 침해수용기로는 유수 기계수용기 Aδ-fiber와 무수 다양상 침해수용기 C-fiber가 있으며 대부분 척수 배각의 laminae I과 II에 있는 세포체에 종말가지를 내나 일부 Aδ-fiber는 laminae V에 종말가지를 낸다¹²⁾. 염증조직의 prostaglandin E2는 기능적으로 염증과 관련된 증상과 함께 Aδ-와 C-fiber 같은 침해수용기에 작용하여 신경세포막 감작을 유도한다^{13,14)}. Prostaglandin E2에 대한 예상 표적과 활성화에 대해 충분히 밝혀져 있지 않으나 결합부위가 척수와 감각신경원에 있다¹⁵⁾.

본 실험의 carrageenan주사 부위인 국소적 염증부위가 아닌 꼬리에 대한 통각과민도 정상군에 비해 대조군에 낮은 수치를 나타내어 carrageenan에 의한 통각과민을 나타냄을 알 수 있다. 이에 대한 전침 효과를 보면 모든 빈도의 전침군이 대조군에 비해 유의성을 보여 동통제어효과를 나타내며 15 Hz와 120 Hz 전침에 비해 2 Hz 전침의 효과가 가장 우수하였다. 연속적인 2 Hz 전침 자극에 대한 tail flick latency변화는 대조군에

서 대해 유의성을 나타내며 시간에 비례하여 높은 변화를 보여 주었다(그림 4).

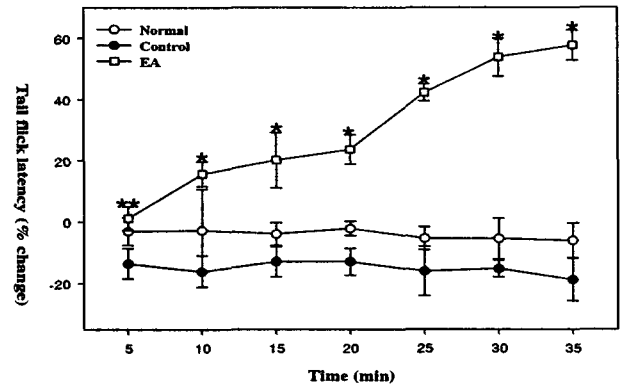


Fig. 4. The effects of 2 Hz EA on basal tail flick latency in carrageenan-injected rats. Each point indicates the means±SEM (n=8). Significant analgesic effect was noted from 5 min post, but these increased to post 35 min EA treatment. * P<0.005 and ** P<0.05 indicate significant differences from carrageenan-injected control groups.

Hot plate latency에서 전침의 연속적인 자극이 전침 20분 후에 최고점에 이르렀으나 tail flick latency는 이와 상이하게 시간에 대비하여 연속적으로 증가하고 있다. 이는 hot plate latency와 tail flick latency의 측정 부위에 대한 방법론적 차이에 기인 할 수 있다. 전침 자극을 족삼리와 삼음교로 염증유발부위에 인접 부위에 자극을 주었고 hot plate latency는 족부에 대한 반응을, tail flick latency는 척수를 거친 척수내 분절간의 연결에 의한 조절이 관여한 것으로 그 상이함을 알 수 있다.

이상의 결과로 보아 전침의 carrageenan유발 염증성 동통제어에 있어 염증부위에 대한 완화효과는 모든 빈도의 전침이 효과적이나 저빈도의 효과가 보다 빠르게 나타나며 척수를 매개로 한 통각과민은 저빈도의 2 Hz 전침의 효과가 우수하였다. 전침자극 지속시간을 보면 보다 효과적인 완화효과를 나타내기 20분 정도의 지속적인 자극이 필요함을 알 수 있다.

전침에 대한 선행 연구 중 저빈도와 고빈도에 대한 상이한 opioid system이 관여한다는 보고는 보다 효과적인 전침작용을 위해 두 빈도를 복합시켜 2 Hz 와 100 Hz를 3초 간격으로 자동적 전환시켜 두 상이한 opioid system을 모두 작용시키는 치료법을 개발하였다¹⁶⁾. 본 연구의 행동학적 관찰은 염증성 질환에 의한 동통의 완화에 보다 효과적인 빈도와 시간을 정하는데 기초 자료가 될 수 있으며 심도 있는 전침의 메커니즘에 대한 연구는 다양한 전침치료법을 개발할 수 있게 할 것이다.

결 론

Carrageenan유발 동통모델에 대한 전침의 빈도와 자극시간에 따른 효과를 알아보기 위해 hot plate latency와 tail flick latency를 측정하였다. 두 nociceptive test로 보아 2 Hz, 15 Hz, 120 Hz 전침 모두 동통제어에 유의성 있는 효과를 나타내었다. Hot plate latency로 보아 저빈도 2 Hz 전침이 빠른 효과를 보였으나 동통제어에 대한 빈도별 효과의 차이는 현저하지 않았다.

Tail flick latency로 보아 모든 빈도의 전침이 효과를 나타내었으나 특히 저빈도 2 Hz의 효과가 가장 우수하였다. 지속적인 2 Hz 전침 자극시 hot plate latency는 전침자극후 20분에 효과가 극대화되나 tail flick latency는 시간에 비례하여 증가하였다. 이상의 행동학적 결과는 염증성 동통제어에 대한 전침처치에 대한 기초 자료가 될 것이다.

감사의 말

본 연구는 보건복지부 한방치료기술연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임 (02-PJ9-PG3-20600- 0005)

참고문헌

- Zhang, M., Sun, Q., Wan, Y., Yao, L., Yu, Y., Han, J.S. OFQ reverses the k opioidreceptor-mediated depression of calcium current in rat dorsal root ganglion neurons. *NeuroReport* 9, 2095-2098, 1998.
- Xue, J.C., Yu, Y.X., Han, J.S. Changes in the content of immunoreactive dynorphin in dorsal and ventral spinal cord of the rat in three different conditions. *Int. J. Neurosci.* 82, 95-104, 1995.
- Wang, J.Q., Mao, L., Han, J.S. Comparison of the antinociceptive effects induced by electroacupuncture and transcutaneous electrical nerve stimulation in the rat. *Int. J. Neurosci.* 65, 117-129, 1992.
- Guo, H.F., Cui, X., Hou, Y., Tian, J., Wang, X., Han, J.S. C-fos proteins are not involved in the activation of preproenkephalin gene expression in rat brain by peripheral electric stimulation. *Neurosci. Lett.* 207, 163-166, 1996.
- Huang, C., Wang, Y., Chang, J.K., Han, J.S. 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, 159-62, 2000.
- Riedel, W., Neeck, G. Nociception, pain, and antinociception: current concepts. *Z. Rheumatol.* 60, 404-15, 2001.
- Zhang, Y., Shaffer, A., Portanova, J., Seibert, K., Isakson, P.C. Inhibition of cyclooxygenase-2 rapidly reverses inflammatory hyperalgesia and prostaglandin E2 production. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 283, 1069-75, 1997.
- Abdel-Salam, O.M., Baiuomy, A.R., El-batran, S., Arbid, M.S. Evaluation of the anti-inflammatory, anti-nociceptive and gastric effects of Ginkgo biloba in the rat. *Pharmacol. Res.* 49, 133-42, 2004.
- Ebersberger, A., Grubb, B.D., Willingale, H.L., Gardiner, N.J., Nebe, J., Schaible, H.G. The intraspinal release of prostaglandin E2 in a model of acute arthritis is accompanied by an up-regulation of cyclo-oxygenase-2 in the spinal cord. *Neuroscience*, 93, 775-81, 1999.
- Chen, X.H., Han, J.S. Analgesia induced by electroacupuncture of different frequencies is mediated by different types of opioid receptors: another cross-tolerance study. *Behav. Brain Res.* 47, 143-9, 1992.
- Han, J.S., Tang, J., Ren, M.F., Zhou, Z.F., Fan, S.G., Qiu, X.C. Central neurotransmitters and acupuncture analgesia. *Am. J. Chin. Med.* 8, 331-48, 1980.
- Millan, M.J. The induction of pain: an integrative review. *Prog. Neurobiol.* 57, 1-164, 1999.
- Khasar, S.G., Ouseph, A.K., Chou, B., Ho, T., Green, P.G., Levine, J.D. Is there more than one prostaglandin E receptor subtype mediating hyperalgesia in the rat hindpaw? *Neuroscience*, 64, 1161-5, 1995.
- Sann, H., Pierau, F.K. Efferent functions of C-fiber nociceptors. *Z. Rheumatol.* 57, 8-13, 1998.
- Matsumura, K., Watanabe, Y., Imai-Matsumura, K., Connolly, M., Koyama, Y., Onoe, H., Watanabe, Y. Mapping of prostaglandin E2 binding sites in rat brain using quantitative autoradiography. *Brain Res.* 581, 292-8, 1992.
- Chen, X.H., Han, J.S. Analgesia induced by electroacupuncture of different frequencies is mediated by different types of opioid receptors: another cross-tolerance study. *Behav. Brain Res.* 47, 143-149, 1992.