

원저

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

- serotonergic receptor(5-HT1, 5-HT2)와 關聯된 機轉研究 -

백용현* · 양형인** · 박동석* · 최도영*

*경희대학교 한의과대학 침구학교실

**경희대학교 의과대학 류마티스내과학교실

Abstract

The Study on the Analgesic Effect and its Serotonergic Mechanism of Electroacupuncture in the Rat Model of Collagen-induced Arthritis

Baek Yong-hyeon*, Yang Hyung-in**, Park Dong-suk* and Choi Do-young*

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

**Division of Rheumatology, Department of Internal Medicine, College of Medicine, Kyung-Hee University

Objective : To investigate the analgesic effect and its serotonergic mechanism, especially related with 5-HT1 and 5-HT2 receptor, of electroacupuncture(EA) in the rat model of collagen-induced arthritis(CIA).

* 본 연구는 2001년도 보건복지부 한방치료기술 개발사업 지원 연구비에 의하여 수행되었음
(HMP-00-CO-01-0001)

· 접수 : 2004년 10월 8일 · 수정 : 2004년 11월 26일 · 채택 : 2004년 11월 27일
· 교신저자 : 최도영, 서울시 동대문구 회기동 1 경희대학교 부속한방병원 침구학교실

Tel. 02-958-9205 Fax. 02-957-4245 E-mail : Choi4532@unitel.co.kr

Methods : Immunization of male Sprague-Dawley rats with bovine type II (CII) collagen emulsified in Freund's incomplete adjuvant, followed by a booster injection 14 days later, leads to development of arthritis in more than 70% of rats by 21 days postinjection. After three weeks of first immunization, EA stimulation (2 Hz, 0.07 mA, 0.3 ms) was delivered into Jogsamni(ST₃₆) for 30 minutes. Analgesic effect was evaluated by tail flick latency (TFL). We compared the analgesic effect of EA with TFLs between pretreatment of normal saline and pretreatment of spiroxatrine (5-HT₁ receptor antagonist, 1 mg/kg, intraperitoneal) and spiperone (5-HT₂ receptor antagonist, 1 mg/kg, intraperitoneal) in CIA.

Results : 1. TFLs were gradually decreased in CIA as increasing severity of arthritis. 2. Jogsamni(ST₃₆) EA stimulation in CIA increased TFLs and the effect lasted for 60 minutes. 3. Increased TFLs with Jogsamni(ST₃₆) EA stimulation were inhibited by pretreatment of spiroxatrine and spiperone in CIA.

Conclusions : Jogsamni(ST₃₆) EA showed analgesic effects in CIA. The analgesic effects of Jogsamni(ST₃₆) EA were inhibited by spiroxatrine and spiperone pretreatment. These observations suggest that 5-HT₁ and 5-HT₂ serotonergic receptor, which involve the release of serotonin neurotransmitter, play an important roles in analgesic mechanism of EA stimulation.

Key words : electroacupuncture(EA), collagen induced arthritis(CIA), spiroxatrine, spiperone, 5-HT

I. 緒 論

류마티스 관절염(Rheumatoid Arthritis)은 대칭적으로 말초 관절을 침범하는 지속적인 염증성 활액막염을 특징으로 하는 관절 질환으로, 유해 자극에 의해 손상된 조직으로부터 여러 가지 세포 내 물질의 유리 및 유해 감수기의 활성화로 인해 만성 炎症性痛症(chronic inflammatory pain)을 유발한다¹⁻²⁾. 이러한 류마티스 관절염에 의한 염증성통증(inflammatory pain)과 신경병증성통증

(neuropathic pain)은 대표적인 만성통증(chronic pain)으로서, 그 통증의 관리가 어려운 질환이다.

이러한 만성통증에 대한 한의학적 痛症治療方法으로서 電鍼자극의 진통효과 및 그 기전에 대한 연구는 비교적 많이 이루어져 있다. 특히 신경병증성통증 모델과 관련해서는, 電鍼의 진통효과가 endogenous opioid system과 관련있다는 보고³⁾가 있으며, 2Hz 電鍼자극이 mu & delta opioid receptor에 의해 매개됨으로써 신경병증성통증에서의 기계적 이질통을 경감시킨다는 보고⁴⁾가 있다. 또한 만성 염증성통증과 관련한 電鍼의 진통기전에 대해서는, complete freund's adjuvant 염증모델과 carrageenan 유발 염증모델

에서 電鍼자극의 진통효과가 opioid system에 의해 매개된다는 보고^{5,6)}가 있다.

그러나 류마티스 관절염에 가장 가까운 Collagen-induced Arthritis(CIA) 동물모델에 대한 電鍼자극의 진통기전에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 다만 Collagen-induced Arthritis(CIA) 동물모델에 있어 電鍼자극의 진통효과가 muscarinic cholinergic receptor에 의해 매개됨을 밝힌 보고⁷⁾가 있을 뿐이다.

이에 본 研究에서는 Collagen-induced Arthritis(CIA) 모델에서 電鍼刺戟의 鎮痛效果와 그 機轉을 규명하기 위하여 慢性 炎症性痛症 유발 후 Tail Flick Latency(TFL)를 측정함으로써 통증역치의 변화와 足三里(Jogsamni, ST₃₆) 電鍼刺戟에 의한 鎮痛效果를 확인하고자 하였으며, 그 鎮痛機轉과 관련 serotonergic receptor와의 연관성을 알아보기 위하여 5-HT₁ receptor antagonist인 Spiroxatrine과 5-HT₂ receptor antagonist인 Spiperone을 전처치함으로써 鎮痛效果의 변화를 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 動物

動物은 샘타코(오산, 한국)에서 분양받은 5주령, 체중 200±10g의 Sprague Dawley계 웅성 흰쥐로서 固形飼料(三養油脂, 小動物用)와 물을 충분히 공급하면서 1주간 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다.

2. 材料

1) 鍼

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

2) 電鍼刺戟器

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

3) Type II Collagen

Chondrex, Inc.(Washington, USA)에서 제작된 type II collagen을 사용하였다.

4) Incomplete freund's adjuvant (ICFA)

Chondrex, Inc.(Washington, USA)에서 제작된 incomplete freund's adjuvant를 사용하였다.

5) Spiroxatrine과 Spiperone

Tocris, Inc.(UK)에서 제작된 spiroxatrine과 spiperone을 사용하였다.

6) 生理食鹽水

중외제약(Korea)에서 제작된 normal saline을 사용하였다.

7) Dimethyl Sulfoxide(DMSO)

Sigma, Inc.(USA)에서 제작된 DMSO를 생리식염수로 10% 희석하여 사용하였다.

8) Tail flick unit

Ugo Basile(Comrio, Italy)에서 제작된 tail flick unit를 이용하여 TFL을 측정하였다.

3. 方法

1) 實驗室 環境

實驗動物의 양육환경 및 실험실환경은 모두 specific pathogen free(SPF) 조건, 즉 22±1℃ 항온, 55±5% 항습을 유지했으며, hepafiltered air를 공급하여 외부 항원의 감염에 의한 영향을 최소화시켰다.

TFL 측정을 용이하게 하기 위하여 圓筒形 아크릴통(6.0×18cm)으로 만든 홀더(holder)를 사용하였으며 TFL 측정을 시작하기 전 2주간, 3회/週, 1시간정도 홀더(holder) 적응훈련을 하여 홀더로 인한 스트레스를 줄이고자 하였다.

2) Collagen 關節炎 誘發

Sprague Dawley계 Rat를 1주간 실험실 환경에 적응시킨 후, 0.3% acetic acid에 용해시킨 500μg bovine type II collagen과 500μg incomplete freund's adjuvant를 섞어 만든 1 mL 용액을 Rat의 꼬리부분(꼬리가 몸체로 이어지는 부위)에 근육내 (intradermal) 주사하였다. 2주 후 동일한 용액 0.5 mL를 좌측 발바닥에 피하(intracutaneous)로 주사하여 관절염을 유발시켰다.

3) 痛症閾值 測定

흰쥐의 꼬리 腹側面 피부에 가해진 유해성 방사열자극에 대해 반응하는데 요구되는 尾逃避暫時(tail flick latency ; TFL)를 통각의 지표로 삼았으며, TFL의 변화를 측정함으로써 鎮痛效果를 평가하였다⁸⁾. TFL은 자동화된 tail flick unit을 이용하여 측정하였는데, 측정대상 부위는 흰쥐의 꼬리를 6등분하여 遠位로부터 세 번째 등분에 해당하는 부위였다. TFL의 측정값은 1분 간격으로 3회 측정된 평균값을 이용하였는데 열자극 부위는 꼬리에 표시한 2cm 범위 내에서 약간씩 이동시킴으로써 자극부위에 큰 차이를 두지 않으면

서도 한 지점에 지속적으로 열자극이 가해짐을 방지하였다⁹⁾.

TFL은 電鍼刺戟 전 1회, 刺戟 후 10분, 20분, 30분, 45분 및 60분에 각각 측정하였으며, 鎮痛效果의 정도는 電鍼刺戟 전과 후에 측정된 TFL의 백분율 변화로 환산하여 조사하였다¹⁰⁾.

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(Jogsammi, ST₃₆)에 상응하는 부위와 말초 방향으로 5mm 떨어진 부위를 骨度分寸法에 준하여 취혈하였다¹¹⁾.

電鍼刺戟은 毫鍼을 5mm 깊이로 직자하고, 電氣刺戟(2Hz, 0.07mA, 0.3ms)을 근수축이 유발되는 정도의 강도로 30분간 시행하였다.

5) 實驗群 設定

흰쥐를 無處置群 10마리, 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群 10마리, spiroxatrine 전처치 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群 10마리, spiperone 전처치 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群 10마리, 10% DMSO 전처치 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群 10마리로 하여 5군으로 설정하였다.

(1) 無處置群(None-Tx, n=10)

關節炎 유발 후 아무런 처치를 하지 않은 군으로 type II collagen 주입하기 전 1회, 주입한 후 매 1주 간격으로 5주간 총 6회 TFL을 측정하였다.

(2) 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群(EA, n=10)

type II collagen 주입 3주 후, 關節炎이 유발된 흰쥐에 電鍼刺戟을 가한 군.

(3) Spiroxatrine 전처치 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群(SPX+EA, n=10)

type II collagen 주입 3주 후, 關節炎이 유발된 흰쥐에 spiroxatrine(1mg/kg, i.p.)을 10% DMSO에 희석하여 電鍼刺戟 20분전 복강내로 주사한 군.

(4) Spiperone 전처치 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群(SPP+EA, n=10)

type II collagen 주입 3주 후, 關節炎이 유발된 흰쥐에 spiperone(1mg/kg, i.p.)을 10% DMSO에 희석하여 電鍼刺戟 20분전 복강내로 주사한 군.

(5) 10% DMSO 전처치 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群(DMSO+EA, n=10)

type II collagen 주입 3주 후, 關節炎이 유발된 흰쥐에 10% DMSO를 spiroxatrine 및 spiperone 희석량과 동량으로 하여 電鍼刺戟 20분전 복강내로 주사한 군.

6) 統計處理方法

실험 결과는 Mean±S.D.으로 표시하였으며 통

계적 처리는 실험군내의 시간에 따른 비교는 Friedman's rank test(followed by Dunnett's post-hoc test)를 이용하였고, 실험군간의 비교는 Mann Whitney U test를 사용하였으며 *p*-value가 0.05 이하인 경우에 유의한 차이가 있다고 판정하였다. 통계프로그램은 SPSS 10.0 for windows를 이용하였다.

III. 結 果

1. collagen 關節炎 유발에 따른 TFL의 변화

Type II collagen으로 關節炎을 유발시킨 후 1, 2, 3, 4 및 5주에 TFL을 측정된 결과, 각각 -17.3±3.7%, -37.0±3.1%, -45.5±3.1%, -47.8±3.2% 및 -49.0±3.1%의 변화를 보였다. TFL은 3주째까지 큰 변화를 나타냈으나, 이후에는 큰 차이를 보이지 않았다(Fig. 1).

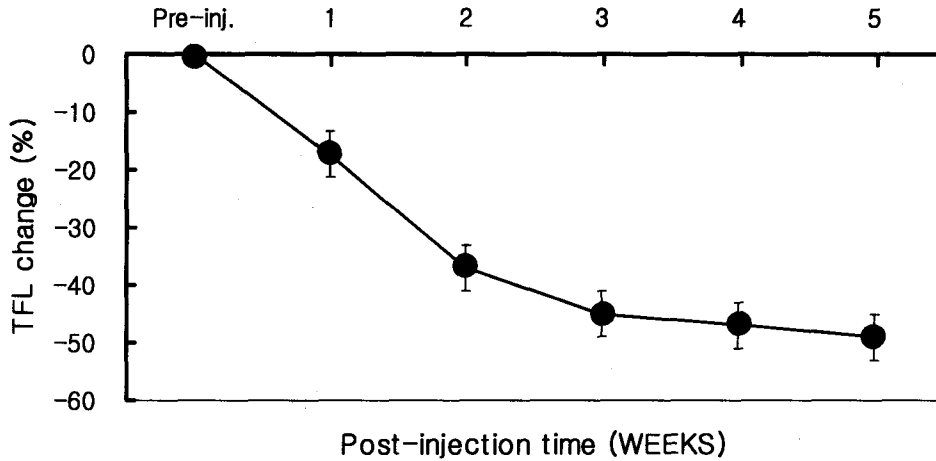


Fig. 1. Changes of tail flick latency in the collagen-induced arthritis rats. Sprague-Dawley Rats were injected with bovine type II collagen emulsified with ICFA, followed by booster injection 2 weeks after 1st injection. After induction of arthritis, TFL decreased as time went by and reached the minimum value from 3rd to 5th week. Preinjection time is expressed as Pre-inj. Each value represents the mean±S.D. expressed by percentile changes of TFL on each tested week

2. 電鍼刺戟의 鎮痛效果

足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群의 평균 TFL 변화는 처치 후 10분, 20분, 30분, 45분 및 60분에 각각 13.40±6.1%, 32.51±12.6%, 53.10±16.2%, 39.63±6.6%

및 18.04±5.6%의 변화를 나타내어 대조군의 -2.10±1.5%, 0.34±0.3%, 4.10±2.2%, 2.15±1.8% 및 3.16±1.4%에 비하여 10분후부터 유의성(p<0.01)있는 증가를 보여 60분후까지 지속되었다(Table 1, Fig. 2).

Table 1. Changes of TFL by Electroacupuncture in the Collagen-induced Arthritis Rats

Group	No. of animal	Tail Flick Latency change (%)					
		pre	10min	20min	30min	45min	60min
None-Tx	10	0	-2.10±1.5	-0.34±0.3	4.10±2.2	2.15±1.8	3.16±1.4
EA	10	0	13.40±6.1	32.51±12.6**	53.10±16.2**	39.63±6.6**	18.04±5.6**

Values are means±S.D.

None-Tx ; group without electroacupuncture.

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

** : p<0.01.

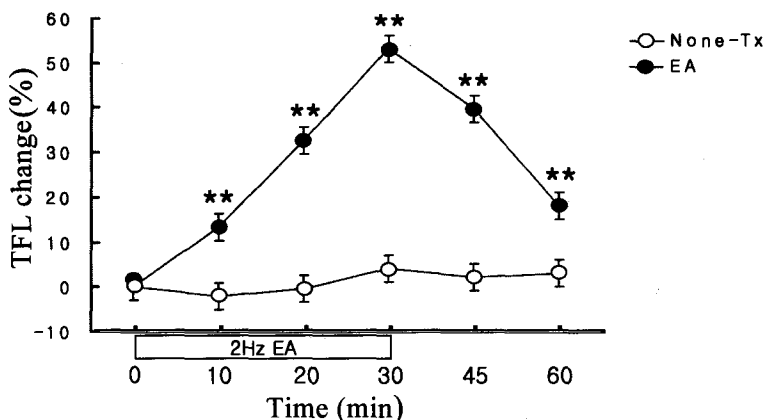


Fig. 2. EA induced TFL changes in the collagen-induced arthritis rats. None-Tx is a group without electroacupuncture. EA is a group of electroacupuncture (2Hz, 0.07mA, 0.3ms) at left Jogsamni (ST₃₆). The means±S.D. of TFL changes before and after treatment are plotted against 0, 10, 20, 30, 45 and 60. '0' indicates the time before treatment. '10, 20, 30, 45 and 60' indicate the time after the onset of treatment. Asterisks indicate significant difference between None-Tx and EA group after treatment(** : p<0.01, Mann-Whitney U test)

3. Spiroxatrine 전처치에 따른 電鍼刺戟의 鎮痛效果

Spiroxatrine 전처치 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群 (SPX+EA, n=10)은 평균 TFL 증가율이 電鍼刺戟 후 10분, 20분, 30분, 45분 및 60분에 각각

-5.06±3.8%, -7.80±4.3%, -2.73±1.3%, -0.46±1.1% 및 1.28±1.5%의 변화를 나타내어 10% DMSO 전처치 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群(DMSO+EA, n=10)의 13.40±6.1%, 32.51±12.6%, 53.10±16.2%, 39.63±6.6% 및 18.04±5.6%에 비하여 모두 유의성 (p<0.01)있는 변화를 보였다(Table 2, Fig. 3).

Table 2. Changes of TFL in Electroacupuncture Pretreated with Spiroxatrine in the Collagen-induced Arthritis Rats

Group	No. of animal	Tail Flick latency change (%)					
		pre	10min	20min	30min	45min	60min
DMSO+EA	10	0	13.40±6.1	32.51±12.6	53.10±16.2	39.63±6.6	18.04±5.6
SPX+EA	10	0	-5.06±3.8**	-7.80±4.3**	-2.73±1.3**	-0.46±1.1**	1.28±1.5**

Values are means±S.D.

DMSO+EA ; group of electroacupuncture at left Jogsamni(ST₃₆) pretreated with 10% DMSO.

SPX+EA ; group of electroacupuncture at left Jogsamni(ST₃₆) pretreated with spiroxatrine(1 mg/kg, i.p.).

** : p<0.01.

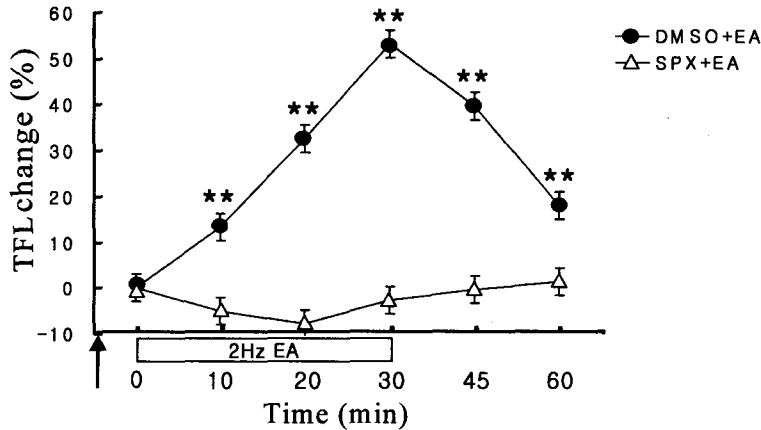


Fig. 3. The changes of EA analgesia by spiroxatrine pretreatment (arrow) in collagen-induced arthritis rats. DMSO+EA is a group of electroacupuncture at left Jogsamni(ST₃₆) pretreated with 10% DMSO 20 minutes before EA stimulation. SPX+EA is a group of electroacupuncture at left Jogsamni(ST₃₆) pretreated with spiroxatrine (5HT1 receptor antagonist, 1mg/kg, i.p.) 20 minutes before EA stimulation. Asterisks indicate significant difference between SPX+EA and DMSO+EA group after EA stimulation(** : p<0.01, Mann Whitney U test)

4. Spiperone 전처치에 따른 電鍼刺戟의 鎮痛效果

Spiperone 전처치 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群 (SPP+EA, n=10)은 평균 TFL 증가율이 電鍼刺戟 후 10분, 20분, 30분, 45분 및 60분에 각각 -4.54±

2.6%, -2.05±1.3%, -0.22±0.5%, -1.07±1.1% 및 3.06±1.5%의 변화를 나타내어 10% DMSO 전처치 足三里(ST₃₆) 電鍼刺戟群(DMSO+EA, n=10)의 13.40±6.1%, 32.51±12.6%, 53.10±16.2%, 39.63±6.6% 및 18.04±5.6%에 비하여 모두 유의성 (p<0.01)있는 변화를 보였다(Table 3, Fig. 4).

Table 3. Changes of TFL in Electroacupuncture Pretreated with Spiperone in the Collagen-induced Arthritis Rats

Group	No. of animal	Tail Flick Latency change (%)					
		pre	10min	20min	30min	45min	60min
DMSO+EA	10	0	13.40±6.1	32.51±12.6	53.10±16.2	39.63±6.6	18.04±5.6
SPP+EA	10	0	-4.54±2.6**	-2.05±1.3**	-0.22±0.5**	-1.07±1.1**	3.06±1.5**

Values are means±S.D.

DMSO+EA ; group of electroacupuncture at left Jogsamni(ST₃₆) pretreated with 10% DMSO.

SPP+EA ; group of electroacupuncture at left Jogsamni(ST₃₆) pretreated with spiperone(1 mg/kg, i.p.).

** : p<0.011.

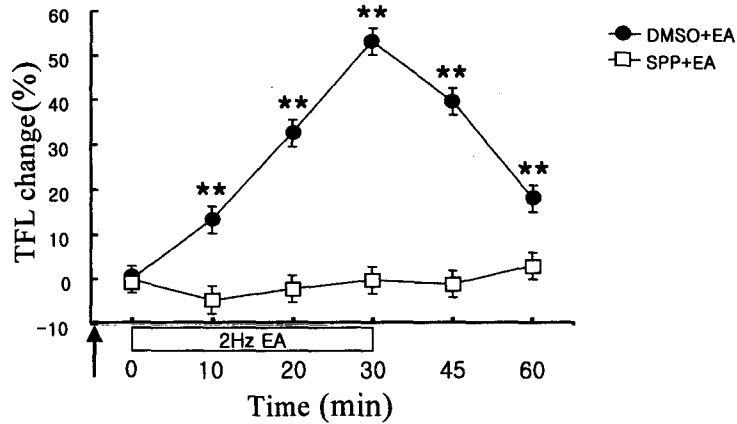


Fig. 4. The changes of EA analgesia by spiperone pretreatment (arrow) in collagen-induced arthritis rats. DMSO+EA is a group of electroacupuncture at left Jogsamni(ST₃₆) pretreated with 10% DMSO 20 minutes before EA stimulation. SPP+EA is a group of electroacupuncture at left Jogsamni(ST₃₆) pretreated with spiperone(5HT₂ receptor antagonist, 1 mg/kg, i.p.) 20 minutes before EA stimulation. Asterisks indicate significant difference between SPP+EA and DMSO+EA group after EA stimulation(** : p<0.01, Mann Whitney U test)

IV. 考 察

류마티스 관절염은 만성 염증성 통증(chronic inflammatory pain)을 유발하는 질환으로서 신경 병증성 통증(neuropathic pain)과 더불어 대표적인 만성 통증(chronic pain)의 범주에 속한다. 이러한 만성 통증은 그 통증제어가 어려우며, 특히 노인인구의 증가와 함께 관절염과 같은 만성 염증성 통증(chronic inflammatory pain) 질환이 폭발적으로 늘어나면서 그 치료에 대한 관심이 증대되고 있다.

만성 통증에 대한 현대의 학적인 치료는 중요한 역할을 했지만, 그 부작용 또한 만만치 않은 것이 주지의 사실이다. 따라서 통증 치료에 우수한鍼에 대한 연구가 많이 진행되어 왔다. 韓醫學에서는 통증調節手段으로서鍼刺療法을 사용하여 왔는데,

<靈樞: 刺節眞邪論>에서는 “用鍼之類 在於調氣”, <素問: 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 효과를 말하였다¹²⁾. 이러한 鍼鎮痛效果가 과학적 연구의 대상이 된 것은 1972년부터이며¹³⁾, 이후 鍼에 다양한 자극의 빈도 및 강도를 조절할 수 있는 電鍼의 鎮痛效果와 機轉에 대한 연구가 진행되었다. 즉 낮은 빈도의 자극(1-4 Hz)은 뇌하수체에서 β-endorphin을 분비하고 척수에서 Met-enkephalin, dynorphin 등의 opioid peptide를 매개로 鎮痛效果를 발휘하며¹⁴⁾, 상대적으로 높은 빈도의 자극(100-200 Hz)은 serotonin, norepinephrine, dopamine을 매개로 鎮痛效果에 관여함이 보고되었다¹⁵⁾.

본 연구에서는 류마티스 관절염으로 대표되는 만성 염증성 통증(chronic inflammatory pain)에 대한 電鍼刺戟의 鎮痛效果 및 그 機轉을 알아보기 위해, Trentham¹⁶⁾ 등에 의해 1977년에 처음 발표된 이후 현재까지도 인체에서 자가면역과 관련된 류

마티스 관절염의 치료 및 병리와 관련된 연구를 위해 널리 사용되고 있는 collagen-induced arthritis (CIA) Rat model을 이용하였다. 통증역치를 평가하는 위해서는 D' Armour와 Smith¹⁷⁾가 1941년 발신시킨 방법으로서 유해자극에 대한 역치를 평가하는 방법인 tail flick latency(TFL)을 이용하였다.

鍼鎮痛 연구에 사용되는 TFL을 이용하여서 실험한 결과, Type II collagen 關節炎 유발 후 TFL은 지속적인 감소를 보여 관절염이 통각과민을 유발한다는 보고¹⁸⁾와 일치하였으며, 또한 3주 후에 최고변화량을 보인 이후에는 통증역치에 큰 변화를 보이지 않았다(Fig. 1). 따라서 본 실험에서는 關節炎이 유발된 3주 후에 전침자극을 시행하여 鎮痛效果 및 機轉을 평가하였다. 이를 바탕으로 關節炎 유발 3주 후 전침자극을 30분간 시행한 결과, 10분 후부터 유의성 있는 진통효과를 나타내었고, 그 효과는 전침자극이 종료된 30분 이후까지 유지되었다(Fig. 2). 이는 정상 흰쥐에서 足三里(ST₃₆)에 시행한 45분간의 電鍼刺戟(1Hz, 0.5mA) 이후에도 40%의 TFL 변화를 보였다는 Takeshige의 보고¹⁹⁾와 60분간의 電鍼刺戟 종료 후 30분간 鎮痛效果가 유지되었다는 보고²⁰⁾와 일치하였다.

이러한 鍼鎮痛과 관련된 신경화학물질(neurochemical substances)에는 endogenous opioids에 속하는 beta-endorphin, enkephalin, dynorphin과 neurotransmitters에 속하는 5-HT(serotonin), acetylcholine, dopamine, noradrenalin, GABA 등이 있다²¹⁾. 이와 관련 신경병증성통증(neuropathic pain)과 염증성통증(inflammatory pain)에서 電鍼刺戟이 opioid system을 매개로 하여 鎮痛效果를 나타낸다는 보고³⁻⁶⁾가 있었고, 특히 collagen 유발 관절염과 관련하여 電鍼刺戟의 鎮痛效果가 acetylcholine을 유리하는 muscarinic cholinergic receptor에 의해 매개됨을 밝힌 보고⁷⁾도 있었다.

본 연구에서는 만성 염증성통증(chronic inflammatory pain)을 대표하는 collagen 유발 관절염 동물모델에서 電鍼刺戟의 鎮痛效果와 관련된

기전을 5-HT(serotonin) neurotransmitter의 관점에서 규명하고자 하였다. 5-HT(serotonin)를 매개하는 serotonergic receptor에는 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E}, 5-HT_{1F}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C}, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT_{5A}, 5-HT_{5B}, 5-HT₆, 5-HT₇ receptor로 구성되어 있으며²²⁾, 본 연구에서는 이 중에서 특히 5-HT_{1A} receptor와 5-HT_{2A} receptor와의 관련성을 각각의 길항제(antagonist)인 spiroxatrine과 spiperone을 전처치하여 電鍼刺戟의 鎮痛效果와 관련한 機轉을 밝히하고자 하였다.

본 실험에서 5-HT_{1A} serotonergic receptor와 관련성을 알아보기 위하여 5-HT_{1A} receptor antagonist인 spiroxatrine을 전처치한 후 電鍼刺戟의 鎮痛效果를 비교해 본 결과, 電鍼刺戟의 鎮痛效果는 유의하게 억제되었다(Fig. 3). 또한 5-HT_{1A} serotonergic receptor와의 관련성을 조사하기 위하여 5-HT_{2A} receptor antagonist인 spiperone을 전처치한 경우에도 電鍼刺戟의 鎮痛效果는 유의하게 억제되었다(Fig. 4). 이러한 사실은 電鍼刺戟의 鎮痛效果가 5-HT_{1A} serotonergic receptor와 5-HT_{2A} serotonergic receptor를 매개로 하여 발현된다는 것을 의미한다. 따라서 電鍼刺戟의 鎮痛效果는, 중요한 신경화학물질(neurochemical substances) 중의 하나인, 5-HT(serotonin) neurotransmitter에 의해 매개됨을 확인할 수 있었다. 또한 5-HT_{1A} antagonist를 전처치한 군과 5-HT_{2A} antagonist를 전처치한 군간에는 유의한 차이가 보이지 않아, 電鍼刺戟의 鎮痛效果가 어떤 수용체에 보다 적극적으로 매개되는지는 확인할 수 없었다. 향후 이에 대한 진전된 연구가 필요할 것으로 사료된다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 電鍼刺戟은 collagen-induced arthritis로 인한 慢性 炎症性痛症에 유의한 鎮痛效果를 나타내며 그 鎮痛效果는 serotonergic mechanism, 특히 5-HT_{1A} receptor와 5-HT_{2A} receptor와 밀접한 관련이 있음을 보여주었다. 이는 곧 電鍼刺戟의 鎮痛效果는, 중요한

신경화학물질(neurochemical substances)인, 5-HT (serotonin) neurotransmitter에 의해 매개될 수 있음을 보여 준다. 이로써 電鍼刺戟은 collagen-induced arthritis 실험동물에서 유의한 鎮痛效果가 인정되므로 임상에서 慢性 炎症性痛症의 治療에 有效하게 적용될 수 있을 것으로 사료되며, 아울러 본 실험의 결과를 토대로 慢性 炎症性痛症에 대한 電鍼刺戟의 鎮痛效果 및 그 機轉에 관한 연구가 지속적으로 이루어질 수 있기를 기대한다.

V. 結 論

慢性 炎症性痛症 model인 collagen-induced arthritis 동물모델 흰쥐의 偏側 足三里(ST₃₆)에 電鍼刺戟(2Hz, 0.07mA, 0.3ms)을 가한 후, TFL을 지표로 한 鎮痛效果와 serotonergic receptor와 관련된 機轉을 알아보기 위하여 5-HT_{1A} receptor antagonist인 spiroxatrine과 5-HT_{2A} receptor antagonist인 spiperone을 전처치한 후 전침자극의 鎮痛效果를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Type II collagen으로 關節炎이 유발된 이후의 통증역치는 점점 떨어지는 양상을 보이면서 痛覺過敏을 유발하였다.
2. Collagen-induced arthritis 동물모델 흰쥐의 偏側 足三里(ST₃₆)에 시행한 電鍼刺戟은 통증역치를 증가시키면서 鎮痛效果를 나타내었고, 자극 종료 후에도 30분간 鎮痛效果가 유지되었다.
3. Collagen-induced arthritis 동물모델 흰쥐에 5-HT_{1A} receptor antagonist spiroxatrine (1mg/kg, i.p.)을 전처치하는 경우 鎮痛效果가 길항되는 양상을 보여, 電鍼刺戟의 鎮痛效果는 5-HT_{1A} serotonergic receptor를 매개

로 이루어짐을 보여주었다.

4. Collagen-induced arthritis 동물모델 흰쥐에 5-HT_{2A} receptor antagonist spiperone (1mg/kg, i.p.)을 전처치하는 경우 鎮痛效果가 길항되는 양상을 보여, 電鍼刺戟의 鎮痛效果는 5-HT_{2A} serotonergic receptor를 매개로 이루어짐을 보여주었다.

VI. 參考文獻

1. 대한정형외과학회 편저. 정형외과학. 서울 : 최신의학사. 1995 : 175.
2. 김전, 정승준. 통증의 병태생리. 대한신경과학회지. 2002 ; 20(1) : 1-7.
3. 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 Lett. 2002 ; 320 : 49-52.
4. Kim JH, Min BL, Na HS, Park DS. relieving effects of electroacupuncture on mechanical allodynia in neuropathic pain model of inferior caudal trunk injury in rat : mediation by spinal opioid receptors. Brain Res. 2004 ; 998(2) : 230-6.
5. Huang C, Li HT, Shi YS, Han JS, Wan Y. Ketamine potentiates the effect of electroacupuncture on mechanical allodynia in a rat model of neuropathic pain. Neurosci Lett. 2004 ; 368(3) : 327-31.
6. Sekido R, Ishimaru K, Sakita M. Corticotropin-releasing factor and interleukin-1beta are involved in the electroacupuncture-induced analgesic effect on inflammatory pain elicited

- by carrageenan. *Am J Chin Med.* 2004 ; 32(2) : 269-79.
7. 백용현, 양형인, 박동석, 최도영. Collagen 誘發 關節炎 동물모델에 對한 電鍼刺戟의 鎮痛效果 및 그 機轉에 關한 研究(muscarinic cholinergic receptor와 關聯된 機轉研究). *대한침구학회지.* 2004 ; 21(2) : 115-29.
 8. Takeshige C, Kobori, Hishida, Igarashi. Analgesia inhibitory system in nonacupuncture point-stimulation-produced analgesia. *Brain Res.* 1992 ; 28 : 379-91.
 9. 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.* 1997 ; 42(4) : 289-96.
 10. Pitcher GM, Yashpal K, Coderre TJ. Mechanism underlying antinociception provoked by heterosegmental noxious stimulation in the rat tail-flick test. *Neuroscience.* 1995 ; 65 : 273-81.
 11. 고희균. 흰 쥐에서의 골도분촌에 의한 상응 혈위. *대한침구학회지.* 1999 ; 16(3) : 115-22.
 12. 金賢濟, 崔容泰, 林種國, 李潤浩. 最新鍼灸學. 서울 : 成輔社. 1983 : 234.
 13. Tsuei JJ. The science of acupuncture theory and practice. *Engineering in Med. & Bio.* 1996 ; 15(3) : 52-7.
 14. 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.* 1989 ; 6(1) : 63-82.
 15. Cheng RS, Pomeranz B. Monoaminergic mechanism of electroacupuncture analgesia. *Brain Res.* 1981 ; 215 : 77-92.
 16. Trentham DE, Townes AS, Kang AH. Autoimmunity to type II collagen : an experimental model of arthritis. *J. Exp. Med.* 1977 ; 146 : 857-68.
 17. 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.* 1982 ; 206 : 9-16.
 18. Rosenthale ME, Capetola RJ. Adjuvant arthritis-immunopathological and hyperalgesic features. *Fed Prod.* 1982 ; 581 : 2577-82.
 19. Takeshige C, Kobori, Hishida, Igarashi. Analgesia inhibitory system in nonacupuncture point-stimulation-produced analgesia. *Brain Res.* 1992 ; 28 : 379-91.
 20. Takeshige C, Sato T, Mera T, Hisamitsu T, Fang J. Descending pain inhibitory system involved in acupuncture analgesia. *Brain Res. Bull.* 1992 ; 29(5) : 617-34.
 21. 김용석. 침술요법과 통증 조절. *대한내과학회지.* 1999 ; 57(4) : 637-47.
 22. Daniel Hoyer, Jason P. Hannon, Graeme R. Martin. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior.* 2002 ; 71 : 533-54.