

# 포르말린으로 유도된 통증 유발 쥐에서 무침주입기를 이용한 봉독약침의 진통효과

정인재 · 함대현<sup>1</sup> · 정우병<sup>2</sup> · 한지희<sup>1</sup> · 채윤병 · 임형수<sup>1</sup> · 이혜정 · 강성길<sup>3</sup> · 김장현<sup>2\*</sup>

경희대학교 동서의학대학원 침구경락학교실, 1: 경희대학교 침구경락과학연구소(SRC),  
2: 동국대학교 분당한방병원 한방소아과학교실, 3: 경희대학교 한방병원 침구과

## Comparative Study of Therapeutic Effect of Needle-free Bee Venom Aqua-acupuncture (BVA) into Zusanli (ST36) in the Rat Formalin Test

In Jae Jeong, Dae-Hyun Hahm<sup>1</sup>, Wu Byung Jung<sup>2</sup>, Ji-Hee Han<sup>1</sup>, Younbyoung Chae, Hyoung-Soo Lim<sup>1</sup>, Hye Jung Lee, Sung-Keel Kang<sup>3</sup>, Jang Hyun Kim<sup>2\*</sup>

*Department of East-West Medical Science, Graduate School of East-West Medical Science, Kyung-Hee University,  
1: Acupuncture & Meridian Science Research Center, Kyung-Hee University,  
2: Department of Oriental Pediatrics, Bundang Oriental Hospital, Dongguk University,  
3: Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Kyung-Hee University*

Bee Venom aqua-acupuncture (BVA) simultaneously exerts pharmacological effects of biologically active compounds, existed in the whole bee venom, and medicinal effect of the stimulation of acupuncture points. BVA has been considered as a promising therapeutic method for treating various chronic diseases, mainly accompanying severe pain and inflammation. As a painless injection device, jet injectors have been commercially marketed for various clinical applications including insulin injection and vaccination. Among them, a pressure-driven jet injector system could be used for intradermal delivery of a variety of drugs. The aim of this study was to investigate the analgesic effects of the BVA using a needle-free injector (Biojector 2000<sup>®</sup>, Bioject Inc., OR, USA), compared to the conventional BV aqua-acupuncture using a typical syringe. Adult Sprague-Dawley rats were injected with bee venom (0.08mg/kg, 50µl) using Biojector 2000<sup>®</sup> (BVA-B) or a syringe (BVA-S) into the Zusanli (ST36) acupoint, 30 minutes before plantar injection of 2% formalin. It was found that BVA-B-, or BVA-S-treated rats, compared to controls, exhibited significantly less licking behavior during the late phase in the rat formalin test, when compared to controls. During early phase, however, those effects were not significant but substantial. The analgesic effect of BVA-B was also compatible with that of the conventional BVA-S. In the immunohistochemical studies, BVA-B significantly suppressed the expression of formalin-evoked c-fos, a biomarker of neuronal activity, in the lumbar dorsal horn of the spinal cord. These results indicated that BVA-B was effective in the modulation of pain in the rat formalin test, compared to BVA-S. Taken together, the needle-free jet injector system could be substituted for the conventional aqua-acupuncture with the advantage of little pain.

Key words : bee venom aqua-acupuncture, non-invasive, needle-free, analgesic effect, formalin-induced pain, acupuncture point, herb-acupuncture

### 서 론

봉독 약침 요법은 많은 만성질환에서 효과적인 치료요법 중

의 하나로 알려져 있다.<sup>1)</sup> 봉독 약침 요법은 봉독을 추출, 가공하여 경혈에 자입함으로써 자침효과와 봉독의 약물학적 효과를 동시에 발휘하여 인체의 기능을 조정하고 질병상태를 개선하여 질병을 치료하고 예방하는 신침 요법의 일종이다.<sup>2)</sup>

무통성 주입기는 임상적으로 다양하게 활용되고 있는데 인슐린 주입시, 성장호르몬 등의 장기적 주사 시에 가장 많이 활용되고 있다. 환자들의 주사기에 대한 공포감과 통증을 경감시켜

\* 교신저자 : 김장현, 경기 성남시 분당구 수내3동 동국대학교 분당한방병원  
· E-mail : kjh@dongguk.ac.kr, · Tel : 031-710-3724  
· 접수 : 2006/02/20 · 수정 : 2006/03/16 · 채택 : 2006/04/05

치료의 순응도를 높이기 위한 하나의 방법으로 무침성 주사기를 연구 개발 하여 사용 중에 있다.<sup>15-17)</sup>

진통효과의 실험적 검증을 위한 통증 모델로서 최근 rat formalin test가 많이 이용되고 있는데 이는 손상된 조직으로부터 유발되는 완만하고 지속적인 통증에 대한 신경계의 반응을 관찰할 수 있다는 점에서 임상적으로 만성 통증 모델과 유사하여 진통효과의 검증에 많이 이용되고 있다.

이에 본 실험은 무침형 주사기를 이용한 족삼리(ST36) 봉독 약침 자극의 진통효과를 평가하기 위해 formalin-induced pain behavior를 관찰하여 통증 억제 효과를 분석하고 쥐의 척수의 신경세포 내 c-fos의 변화를 관찰하여 평가하였다.

## 실 험

### 1. 실험동물 및 실험조건

체중 230~250g 인 SD(Sprague Dawley) 종 웅성 쥐(Samtaco Co. Ltd., Korea)를 선별하여 실험 전후에 동물의 상태를 점검하여 외상의 여부와 질병상태를 분석 한 후 정상적인 실험동물을 선별하여 사용하였다. 모든 동물은 일정한 환경(20±2℃, 오전 7시부터 시작해서 12시간 간격으로 명암을 유지)을 유지 시켰다. 또한 신경세포의 활성에 영향을 미칠 수 있는 불필요한 요인을 배제하기 위해 실험은 오전 10시에서 오후5시 사이에 실시하였으며 실험동물의 체온은 일정하게 유지시키고 실험 30분전에 외부 환경을 23-25℃ 를 유지할 수 있는 observation chamber로 옮겨 실험 하였다.

실험동물의 봉독 약침 자극은 족삼리 (ST36)에 약침 자극군과 무처치군으로 나누어 실시하였고 약침 자극군은 주사기를 이용한 약침 자극 군과 Biojector2000<sup>®</sup> 이용한 약침자극 군으로 나누었다.

### 2. 봉독약침 자극

시험에 사용된 봉독 약침액은 약침 학회에서 제조하여 공급한 봉독액 50μl를 사용하였고 formalin 투여 30분전에 시험 동물의 후지에 있는 tibia anterior tubercle의 외측 5mm에 tibia와 fibula 사이에 위치하고 있는 족삼리에 각기 다른 약침자극으로 봉독약침액 50μl를 약침 자극하였다. 봉독 약침 자극은 봉독 약침 주사기(30gauge, 녹십자)와 Biojector2000<sup>®</sup> 를 이용하여 인체의 족삼리(ST36) 에 상응하는 부위에 주사하였다.

### 3. formalin-induced pain behavior의 관찰

formalin test는 항상 25℃가 유지 되며 외부의 소음이 완전히 차단되는 chamber에서 실시하였다. 실험동물을 실험 장소로 옮기고 1시간의 적응 기간을 거친 다음 봉독 약침 자극을 실시하고 30분 후에 동물실험의 우측 후지 발바닥에 2% formalin (0.37%formaldehyde) 50μl를 피하주사(30gauge, 녹십자)로 주입하였다. 주사 후 즉시 실험동물을 거울을 설치한 플라스틱 chamber(20x20x20)에 넣어 행동의 변화를 관찰하였다. formalin을 투여한 우측의 발바닥을 입으로 핥거나 깨무는 등의 행동을

보이는 것을 fomalin-induced pain behavior로 간주하였으며 이러한 실험동물의 행동을 formalin 투여 후 60분 동안 video camera recording system으로 녹화하여 5분 간격으로 관찰 하여 licking time을 측정하였고 초기반응기(early phase, 0~10분)와 후기 반응기(late phase, 10분~30분)로 나누어 관찰하였다.

### 4. 면역조직화학법(Fos-like immunohistochemistry)

행동실험 완료 2시간 후에 실험동물을 염산 펜토바비탈 (80mg/kg i.p)로 마취한 후 0.9% saline 200ml에 이어 0.1M인산 완충액으로 준비한 4% formalin 용액 1000ml로 심장을 통해 관류시켜 고정하였다. 고정된 후 척수를 꺼내(L3~L5)고정액에 2시간 동안 후 고정시키고 30% sucrose 함유된 인산 완충액(PBS)에 넣어 4℃에서 보관하였다

다음날 척수를 급속 냉동한 후 척수 조직을 30μm의 크기로 잘라 poly-L-lysine-coated slide에 얹은 후 일반 건조를 시켰다. 건조된 조직을 인산 완충액으로 세척 후 Fos-expression 연구에 가장 널리 사용되는 primary rabbit polyclonal antibodies가 포함된 Fos-antibody (농도비율1:1000; Abcam Ltd, Cambridge, UK)에 담갔다. Primary antibody는 0.2% Tween-20 (PBST)에서 2% normal rabbit serum 과 0.001% keyhole limpet hemocyan 등이 들어있는 용액으로 1000배 희석하여 준비하였다 척수 조직은 4℃, primary antiserum에서 72 시간 동안 배양하였다. 그 후 조직을 PBST로 세척한 후 2시간 동안 실온에서 2% normal rabbit serum을 함유하는 PBST에서 200배로 희석한 biotinylated rabbit anti-sheep serum(Vector Laboratories, Burlingame, CA)에 반응 시켰다. PBST로 5회 세척한 후 조직은 실온에서 1시간 동안 Vectastain ElitABC<sup>™</sup> reagent (Vector Laboratories, Burlingame, CA)에 담가 반응시켰다. PBST로 세척한 후 조직을 착색제인 diaminobenzidine을 사용하여 발색시켰다. 발색이 끝난 조직은 2시간 동안 실온에서 건조 시킨 후 cover-slipped 한 후 광학현미경(Carl Zeiss, Germany, 50X)을 사용하여 superficial layers (SDH, lamina1,2)발현된 c-fos를 관찰하여 발현된 c-fos의 수를 세어 그 결과를 통해 봉독 약침 자극 후를 평가하였다.

### 5. 통계처리

실험 결과는 모두 Mean+/-S.D (Standard deviation)으로 표현하였으며, 통계처리는 one-way ANOVA 를 사용하였으며, probability values를 측정하기 위해 Tukey test 를 실시하였다. p-value가 최소 0.05이하인 경우에 유의한 차이로 판단하였다. 통계 프로그램은 Window용 SPSS 8.0을 이용하였다.

## 실 험 성적

### 1. Formalin-Induce pain behavior의 결과

발바닥에 formalin 을 주입 후 나타나는 행동을 60분 동안 관찰하였을 때 formalin-induced paw licking time의 변화는 대조군과 봉독약침 자극군 모두 비슷한 경향을 보였는데 주입 직후부터 5분 동안에는 활발한 행동을 나타내다가(89.81±8.88 sec)

주입 후5분에서 10분 사이에서는 formalin-induced pain behavior를 거의 나타내지 않거나 매우 낮은 수준으로 관찰 되었다. (3.78±1.21 sec) 이후 주입 10분 후부터 다시 증가하기 시작하여 15분~25분 사이에 가장 많은 행동의 변화를 보였고 그 후 감소하기 시작하여 40분 이후에는 관찰되지 않았다. formalin-induced paw licking time을 초기 반응기 (0분~10분사이)와 후기 반응기(10분~40분사이)로 나누어 볼 때 대조군의 경우 초기반응기에서는102±17.2초, 후기 반응기에서는 272.95 ±31.82초로 나타났다. (Table 1 참조)

2. 족삼리(ST36) 봉독약침자극이 formalin-induced pain behavior 에 미치는 영향

formalin으로 통증을 유발시키기 30분전에 봉독 약침액으로 약침 자극을 한 후 통증 행동을 관찰 한 결과 대조군에 비해서 일반 약침 자극군과 Biojector2000®을 사용한 약침자극 군 모두 통증 행동이 발현되는 paw licking time에서 유의한 감소를 보였다.

통증행동 양상이 억제되는 결과가 formalin 주입 직후부터 10 분간 나타나는 초기 반응기(early phase)보다는 10분 이후부터 40분 사이에 나타나는 후기 반응기(late phase) 에서 강하게 관찰 되었다.

일반주사기 이용한 BVA-N군의 paw licking time은 초기 반응기에서는78.64±14.7초, 후기 반응기에서는 188.52±33.23초이며 Biojector 2000®를 이용한 BVA-B군의 경우 초기반응기에서는 76.41±25.83초, 후기 반응기에서는 159.46±12.15초로 대조군의 102±17.2초와 272.95±31.82초에 비해 유의성 있는 감소를 보였다. 봉독 약침의 일반주사기 자극군과 Biojector 2000®자극군 간에는 커다란 차이가 없었다. (Fig. 1, Table 1 참고)

Table 1. Time spent in formalin-induced pain behavior(paw licking) following formalin injection into the plantar surface of the rat.(unit : second)

Group	Early phase	Late phase
Control	102±17.2	272.95±31.82
BVA-N	78.64±14.7	188.52±33.23
BVA-B	76.41±25.83	159.46±12.15

BVA-N group : bee venom acupuncture with needle(30G) pretreatment of formalin treatment. BVA-B group : bee venom acupuncture with Biojector2000® pretreatment of formalin treatment. Control group : no pretreatment of formalin treatment

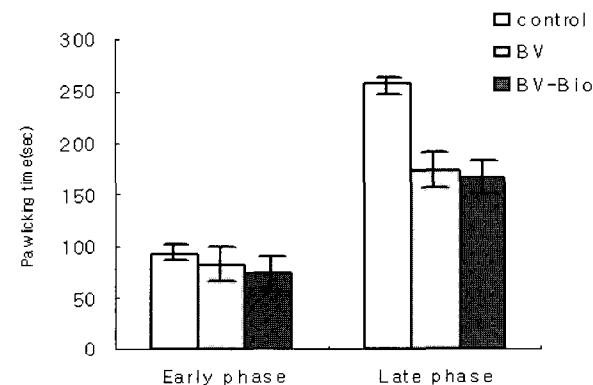


Fig. 1. Comparison of the analgesic effect of bee venom acupuncture with needle pretreatment and Biojector2000® pretreatment into Zusanli(ST36) on duration of licking time in formalin-induced pain behavior. Each bars are represent as mean±SEM (\*p<0.05:significantly different from control group)

3. 척수에서의 c-fos 발현에 관한 관찰결과 (c-fos expression in the spinal cord )

광학 현미경 (Carl Zeiss, Germany, 50X)을 사용하여 척수의 L3~L4 사이의superficial dorsal horn layers (SDH, lamina I, II) 에 발현된 c-fos의 수를 세어 분석한 결과 대조군에서의 발현 정도 보다 bee vomom 처치 군에의 발현 정도가 감소 된 것을 볼 수 있었다. (Fig. 3. 참조) 봉독 약침 자극 후의 통증 억제 효과를 평가한 결과를 보면 대조군에서 발현된 신경세포수는 189.75±9.0 개이고 일반주사기 사용한 봉독약침 자극 군 (BVB-N)의 경우는 106.44±2.41개이며 Biojector 2000® 를 사용한 봉독약침 자극군 (BVB-B)에서는 117.8±2.06으로 봉독약침 자극 군에서 유의적인 감소를 보이고 있다. (Fig. 2 참조)

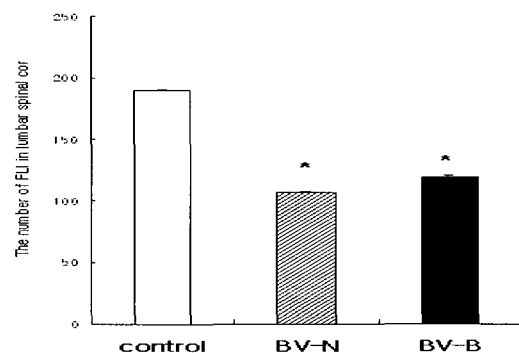


Fig. 2. A graph summarizing the effect of bee venom(BV) acupuncture (Zusanli,ST36) pretreatment with needle and Biojector 2000® on the number of Fos-expression in the L3~L4 spinal cord.(significant difference \* vs. control group p<0.05)

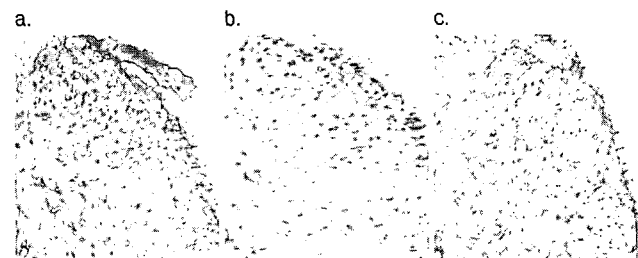
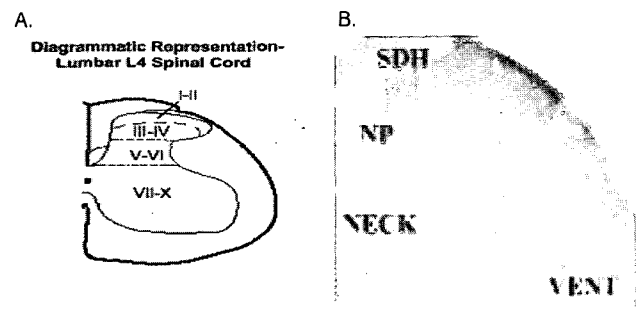


Fig. 3. The effect of bee venom (BV) treatment on the expression of the Fos like-immunoreactivity in the L3~L4 spinal cord following subcutaneous injection of formalin into the plantar surface of the right hind paw. (A) Diagrammatic representation L3~L4 spinal cord. Cells expressing Fos like-immunoreactivity stand out darkly stained relative to the background. (B) Illustrates the laminar subdivisions of the lumbar spinal cord. Control group is no pretreatment of formalin injection(a), bee venom acupuncture (Zusanli, ST36) pretreatment with needle(b), Bee venom acupuncture (Zusanli, ST36) pretreatment with Biojector2000®(c). The expression of c-fos protein reduce to pretreatment Bee venom acupuncture as compared with injection of formalin into hind paw. SDH, superficial dorsal horn(laminae I - II); NP, nucleus proprius (laminae III - IV); Neck, neck of dorsal horn(laminae V - VI); VENT, ventral horn(laminae VII - VIII)

## 고찰

봉독 약침요법은 경락학설의 원리에 의하여 꿀벌의 독낭에 들어있는 봉독을 추출, 가공한 봉독 약침액을 질병과 관련한 부위 및 경혈에 주입함으로써 자침효과와 봉독의 약리작용을 동시에 이용하여 질병을 예방, 치료하는 약침 요법의 하나이다.<sup>1,2)</sup>

봉독은 이미 동, 서양을 막론하고 민간요법으로 사용되면서 관절염, 통풍, 등의 제 질환에 응용되어 왔다. 또한 강장, 진정, 평천, 거담습, 진통, 항세균 및 항진균, 면역, 항암, adrenalin분비촉진 및 입파세포 아적혈구재생증가, 항알킬화 등의 작용이 있어 자가 면역성 질환인 류마티스성 관절염, 다발성 경화증, 낭창과 근골격계 질환인 급만성 관절염, 통풍 등과 신경계 질환인 만성 신경통, 만성 신경염증 등에 널리 적용한다고 하였다.<sup>19)</sup>

최근에 봉독에 대한 임상 연구가 활발해지면서 봉독 약침액의 통증 관련 질환 위주로 많이 응용되고 있으며 이에 대한 임상 보고도 꾸준히 증가하고 있다.<sup>4,6)</sup> 1990년대 이후 국내에서는 봉독 약침에 관한 연구가 활발히 진행되고 있어<sup>20)</sup> 봉독약침요법의 진통<sup>7)</sup>, 소염<sup>8)</sup>, 해열<sup>9)</sup>, 항경련<sup>10)</sup>, 종양억제<sup>11)</sup> 및 면역증강효과<sup>12)</sup>, 독성<sup>13)</sup> 등에 관하여 다양한 실험적 연구가 이루어졌다. 또한 통증이나 염증과 관련된 봉독효과에 대한 연구로는 Jaw Opening Reflex<sup>14)</sup>, Writhing reflex<sup>15)</sup>, 척수내<sup>16)</sup> 또는 대뇌피질의 단백질에 미치는 영향<sup>17)</sup> 등 동물 실험 위주로 많이 진행되어 왔다.

해외에서는 Barbara<sup>19)</sup>와 Hanson<sup>21)</sup> 등에 의해 봉독의 생화학적 성분 및 약리작용 등이 보고되었고 근래에는 구성성분의 작용에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.<sup>18)</sup> 특히 봉독은 약 40종류의 구성요소로 되어 있는데 이중 11개의 peptides (melittin, apamin, mast cell degranulating peptide, adolopin 등)가 전신적인 작용 즉 항염증, 항진균, 항박테리아, 해열, ACTH자극, 혈관 투과성증가작용을 유발하며 5개의 enzyme는 심혈관계에 작용하며 봉독 주입부위에 국소적으로 작용하게 된다. 이외에 carbohydrates, lipids, amino-acids, 생리적 활성 amine류 등으로 구성되어 있다.<sup>21)</sup>

봉독의 구성성분인 mast cell degranulating peptide는 carageenin을 이용하여 유발된 급성관절염 및 adjuvant를 이용하여 유발된 만성관절염 model 에서 edema test를 통하여 항염증 작용이 입증되었으며 melittin은 분비성 phospholipase A2에 결합하여 산소 활성을 억제시킴으로써 염증에 의해 유발된 edema를 효과적으로 감소시킨다고 알려져 있다. 또 MCE peptide와 phospholipase A2는 혈압을 강하시킨다고 연구되었다.

통증은 조직손상을 비롯한 각종 유해성 환경에서 신체를 보호할 목적으로 느끼는 매우 복잡하고 주관적인 감각 개념으로 지각 신경의 말초가 물리적, 온도적 및 화학적 인자에 의하여 자극되면 통증 신호는 통각 수용기를 통해 통각유도체를 따라 대뇌피질에 있는 통각중추에 유도 된다. 통증의 인식에는 통각수용기와 신경조직, 척수, 시상, 대뇌피질 등이 관여하며, 지각신경의 말초가 물리적 혹은 화학적 자극인자에 의해 자극되면 그 자극이 척수 연수 시상 등의 통각 전도로를 따라 대뇌피질에 있는 통각중추에 전달되어 일어난다.<sup>23)</sup> 통증 치료에 대한 연구는 약물,

신경차단, 전기 자극등의 활용 뿐 아니라 침구학 분야야 즉 침, 전침, 약침 등에 걸쳐 다양한 실험을 통하여 이루어졌으며 침구 치료의 진통기전에 대한 연구도 병행되고 있다<sup>25)</sup>. 본 실험에 사용된 족삼리(ST36)는 족양명위경의 합토혈로서 조화기혈, 통조 경락한다고 하였으며 각종 위장질환 및 전신 질환 외에도 각기, 하지신경통, 반신불수 등 하지통에 응용한다고 한다.<sup>26)</sup>

진통효과의 실험적 검증을 위해서 임상적 통증과 유사한 formalin test를 많이 사용하고 있는데 이는 formalin test는 손상된 조직으로부터 발생하는 완만하고 지속적인 통증에 대한 생체의 반응을 관찰 할 수 있다는 점에서 기계적인 자극이나 열자극을 이용한 방법보다 임상적인 만성통증에 더 유효한 실험 모델로 인정되고 있다.<sup>27,28)</sup>

Formalin test는 formalin 희석액 (주로 2%, 5% formalin)을 동물의 피하에 주입하여 통증을 유발하는 방법으로 formalin은 formaldehyde의 37% 수용액이며, 주사 부위로는 주로 동물의 후지를 많이 이용한다.

Formalin-induced pain model의 통증 양상은 early phase 와 late phase의 biphasic 양상을 나타낸다. 즉, formalin 주입 후 3-5분간 일시적이고 과격한 통증반응의 행동(급성기: 제1기 반응)이 나타난 후 줄어들고 이후 통증으로 인한 행동을 거의 나타나지 않으며 다시 formalin 주입 후, 15-20분 경과부터 지속적이고 강한 통증반응(지연기, 제 2기 반응)이 재개 되는데 20-40분간 지속된다.<sup>29)</sup> Dickenson은 전기생리학적 연구에서 formalin 주입 후 spinaldorsal horn cell의 활성 변화 역시 biphasic pattern을 나타내는데, 이는 시간경과에 따른 formalin-induced pain behavior 와 그 양상이 매우 유사하다고 하였다.<sup>28)</sup>

Formalin-induced pain behavior의 두 phases는 그 유발 기전이 서로 다르다고 알려져 있는데. Early phase는 신경말단에 대한 formalin의 직접적인 화학적 자극으로 인한 C-fiber의 활성화에 의해 일어나며 substance-P와 bradykinin이 관여하고, late phase는 말초조직에서의 formalin으로 인한 염증반응과 spinal dorsal horn에서의 기능적 변화의 복합작용에 의해 일어나는데 histamine, serotonin, prostaglandins 및 bradykinin 등이 관여하고 late phase에서의 spinal cord 내의 기능적 변화는 early phase 동안의 C-fiber의 활성화에 의해서 유발된다고 알려져 있으며 또한 late phase의 발원은 국소염증반응보다 중추신경의 기능적 변화가 더 중요한 역할을 한다는 것이 이미 증명된바 있다.<sup>30,31)</sup> Bullitt E. 와 Lund JS. 등의 연구에 의하면 통증에 따른 신경세포의 활성변화를 관찰하는 방법으로는 신경세포의 활성을 간접적으로 측정할 수 있는 Fos 단백질의 면역조직화학법을 사용하고 있다.<sup>31,32)</sup>

Fos 단백질은 포유류에 존재하는 proto-oncogene의 일종인 c-fos 유전자의 활성증가로 생산되는 것으로 알려져 있다. C-fos는 murine osteofenic sarcoma virus 에서 발현되는 v-fos와 동일한 종류의 생체 인자로서 신경세포내에서 nerve growth factor, cholinergic neurotransmitter, 및 calcium과 cAMP와 같은 second messenger들의 활성화에 의해 발현되는 것으로 알려져 있다. c-fos는 세포막에 존재하는 NMDA 수용체나 L-type calcium

channel 등의 활성증가에 의해서도 발현되며 특히 신경세포가 외부 및 내부의 자극에 의해 탈분극 되는 초기에 발현함으로 'early response gene' 또는 'primary response gene'이라고 명명하기도 한다. 따라서 초기 자극에 의해 신경세포가 탈분극 됨으로써 c-fos proto-oncogene 이 발현되며 그 결과 발생하는 Fos 단백질과 또 다른 primary response gene의 일종인 c-jun proto-oncogene 의 발현으로 생산되는 Jun 단백질이 동시에 신경세포 DNA내의 AP-1 regulatory site에 결합함으로써 다른 target gene들의 활성화 발현을 조절 하는데 관여하는 것으로 알려져 있다. c-fos gene의 활성화에 의해 생산되는 Fos 단백질은 최초 자극이 있는 지 약 30분 후부터 세포질 내에 나타나기 시작하며, 최초 자극이 있는 후 20분-90분에는 면역조직염색법에 의해 Fos 단백질의 신경세포내의 축적유무를 쉽게 감지할 수 있다. 신경세포의 활성 증가로 생산된 Fos 단백질의 핵내 축적 정도는 신경세포의 활성 변화를 간접적으로 검증할 수 있는 유용한 marker로 사용되고 있다.

최근 봉독약침 요법이 실험실적 연구가 활발하고<sup>34,35)</sup> 임상적으로 활용되고 있는 현실을 볼 때 무침성 주입기의 개발이 절실하다고 사료된다. 환자들의 주사기에 의한 공포감과 통증을 경감시켜 치료의 순응도를 높이기 위한 하나의 방법으로 무침 주사기가 연구, 활용되고 있다.<sup>36)</sup> 또한 일반 주사기의 바늘에 의한 감염의 위험률을 줄일 수 있으며 약물 투입이 서서히 피부 층에 흡수 되어 약물의 효과가 증대될 수 있다는 장점이 있다.<sup>37)</sup>

무침 주사기의 활용은 임상적으로 다양하게 활용되고 있는데 인슐린 주입 시<sup>38,39)</sup> 성장호르몬의 장기적 주사 및 백신주입<sup>40)</sup> 시, 마취과 영역 등에서 가장 많이 활용되고 있다.<sup>41)</sup>

현재 미국, 유럽 등지에서는 연구가 활발히 되고 있고<sup>42,43)</sup> 점점 확대 되는 추세이고 중국의 경우에도 총칭의 한 응용화학 연구소에서 연구 중에 있으며 신규 무침 주사기 개발, 특허 출원에 있다고 한다.

국내에서 가장 많이 이용되고 있는 무침 주사기로는 만성질환의 경우 장기적으로 주사액을 주입해야 하는 환자에 있어서 Biojector2000<sup>®</sup>, Injex<sup>™</sup>, PowerJect<sup>™</sup>, BitaJect<sup>™</sup> 등이 활용되고 있고 동물용으로는 백신 투여 시에 다량 투입이 필요한 경우에는 Agro-Jet<sup>®</sup>가 활용 되고 있다.

무침 주사기의 원리는 CO<sub>2</sub> 분사기 또는 스프링을 장착하여 분사 시에 높은 압력을 이용하여 피부에 흡수되는 원리이다. 제품에 따라 분사기의 종류에 차이가 있고 분사 속도와 압력을 조절 할 수 있는 주사기도 개발되어 사용 중에 있다. 또한 무침성 주사기의 syringe 는 투여 약물의 양을 조절 할 수 있고 일회용을 사용할 수 있어 위생적인 상태로 주사할 수 있다.<sup>44)</sup> 경혈 자극 효과와 약물의 효과를 동시에 발휘 할 수 있는 약침요법에 있어 무침주사기의 개발 및 활용은 만성통증 환자들의 주사기로 인한 통증 유발과 그에 따른 공포감등을 경감시킴으로써 만성통증환자들의 약침 요법의 순응도를 높일 수 있고 약침 사용의 편의성과 안전성을 제공하여 임상적 활용도를 높이며 치료효과의 증대를 도모하게 된다. 또한 약물의 분출 속도, 분출 방식 및 형태, 분출량의 조절과 표피 내 도달 깊이 등의 parameter 조절로 약침

치료 효능의 극대화 할 수 있다.<sup>40)</sup>

본 실험에서는 formalin-induced pain 모델에서 일반 주사기를 이용한 봉독 약침 자극과 무침주사기를 이용한 봉독 약침 자극에 따른 진통 효과를 평가한 결과 pain behavior인 paw licking time의 분석에서 무침치군에 비해 봉독 약침 자극 군 모두가 유의성 있는 감소를 보였고 일반 주사기를 이용한 봉독 약침 자극군에 비해 무침주사기를 이용한 봉독 약침 자극 군에서 통증 억제 효과가 다소 높게 나타났다.

또한 c-fos 신경세포의 발현에 관한 분석결과 역시 무침치군인 대조군에 비해 일반 주사기와 무침주사기를 이용한 봉독약침 치치군 모두에서 유의성 있는 억제 효과를 보여 봉독약침이 진통효과가 있음을 알 수 있었다.

이로써 봉독 약침 자극 시에 주사기에 대한 통증 유발과 그에 따른 공포감에 의한 약한 순응도의 단점을 개선하여 무침성 약침 요법에 활용할 수 있으며 앞으로 무침성 약침 요법에 필요한 무침성 주사기의 개발에 기초가 되어 무침성 주사기의 활용에 많은 기여가 될 것이라고 사료 된다.

## 결 론

봉독 약침 자극이 formalin-induced pain behavior인 paw licking 행동을 관찰하여 통증 억제 효과를 평가하고 봉독 약침 주사입기에 따른 효과를 평가 하고자 일반 주사기와 무침주사기를 이용하여 족삼리에 봉독 약침 자극을 시행하여 아래와 같은 결론을 얻었다.

첫째, 족삼리(ST36) 봉독 약침 자극군에서 대조군에 비하여 유의성 있는 통증 억제 효과를 보였으며 억제 효과는 early phase 보다 late phase에서 강한 통증 억제 효과가 나타났다.

봉독 약침 주입기에 따른 통증 억제 효과는 일반 주사기 자극군과 무침성 주사기 자극군 사이에는 큰 차이를 보이지 않았다. 둘째, 척수의 L3~L4 사이의 superficial dorsal horn layers (SDH, laminae I, II)에 발현된 c-fos 발현 신경세포의 수적 변화는 대조군에 비해 일반 주사기 사용 봉독약침군과 Biojector2000<sup>®</sup>를 사용한 봉독 약침 자극군에서 유의성 있게 감소하였다.

## 감사의 글

본 연구는 2005학년도 동국대학교 연구년 지원사업 및 보건복지부 한방치료기술연구개발사업(0405-OM00-0815-0001)의 지원에 의하여 이루어 졌음

## 참고문헌

1. 김문호. 봉독요법과 봉침요법. 서울, 한국교육기획, pp 20-37, 41-42, 67-74, 104-112, 139-149, 1992.
2. 이해정. 약침학 개론 및 임상. 일지사, pp 16-17, 1996.
3. 한국 약학대학협의회. 대한약전 제 5개정 1.2.부 해설. 서울, 문성사, pp 1211-1212, 1987.

4. 이상훈, 이현중, 백용현, 김수영, 박재경, 홍승재, 양형인, 김건식, 이재동, 최도영, 이두익, 이윤호. 봉독약침이 류마티스관절염 환자의 관절통증, 종창 및 급성염증 반응에 미치는 영향. 20(2):77-84, 2003.
5. 김지훈, 이재동. 슬관절염에 대한 봉독 약침의 임상적 고찰. 대한침구학회지 16(3):25-37, 1999.
6. 김지훈, 이재동. 요추간판탈출증 환자 22례에 대한 봉독약침 치료의 요통평가지수를 이용한 임상보고. 대한한의학회지 20(2):200-207, 1999.
7. 이종석, 권기록, 고희균. 중완 및 족삼리의 봉독요법이 진통 효과에 미치는 영향. 경희한의대논문집, 51, 483-495, 1998.
8. 김기영, 고희균 등. 봉독약침요법의 항염증 작용에 관한 실험적 연구. 대한침구학회지 12(1):317-331, 1998.
9. 고희균. 봉침요법이 항염, 진통 및 해열에 미치는 효능에 관한 실험적 연구. 대한 한의학회지 13(1):283-292, 1992.
10. 공현숙. 봉침독 요법이 항 경련에 미치는 영향. 대한침구학회지 10(1):159-165, 1993
11. 권도희, 이재영, 최도영. 약침용 봉독성분 중 apamin, melittin의 항암작용. 대한 침구학회,
12. 이흥석, 고희균, 김창환, 강성길, 박영배, 김용석. Medline에서 검색한 봉독과 면역에 대한 고찰. 경희한의대논문집. 20, 353-366, 1997.
13. 공현숙. 봉독요법이 생쥐의 면역반응에 미치는 효과에 대한 실험적 연구. 대한한의학회지 13(1):283-292, 1992.
14. 조광호, 이재동, 박동석, 안병철. Jaw Opening Reflex 및 RT-PCR 을 이용한 봉독의 진통 효과.
15. 정희선, 고희균, 박동석, 이윤호. 봉독 약침자극이 Writting reflex 및 척수내통증관련신경세포의 활성화에 미치는 영향. 대한약침학회지 3(1):101-118, 2000.
16. 정희선, 이재동, 고희균, 안병철, 최도영, 박동석. 봉독약침이 척수내통증관련 신경세포의 활성화에 미치는 영향. 대한침구학회지 17(2):153-168, 2000.
17. 윤형석, 이재동. 봉독약침 자극이 흰쥐 대뇌 피질의 뇌신경 전달물질에 미치는 영향. 대한약침학회지 4(1):85-98, 2001.
18. 이진선, 권기록, 이승배. 전기 영동법을 이용한 봉독약침의 주요성분에 관한 연구. 대한침구학회지 17(4), 2000.
19. Barbara, Rudolf. Chemistry and Pharmacology of Honey Bee Venom. Academic Press, pp 337-338, 1986.
20. Kim, H.W., Kwon, Y.B., Ham, T.W., Roh, D.H., Yoon, S.Y., Lee, H.J., Han, H.J., Yang, I.S., Beitz, A.J., Lee, J.H. Acupoint stimulation using bee venom attenuates formalin-induced pain behavior and spinal cord fos expression in rats. J Vet Med Sci. 65(3):349-355, 2003.
21. Assen, E.S.K. A peptide fom the venom of the honey Bee. Brit. J. Pharmacol, pp 337-338, 1973.
22. Shamsheer, S.S., Pererson, J.W., Chopra, A.K. Melitin binds to secretor phospholipase A2 and inhibits its enzymatic activity. Biochem. Biophys. Res. Comm. 238, 436-442, 1997.
23. Dudler, T. A link between catalytic activity, IgE-independent mast cell activation, and allergenicity of bee venom phospholipase A2. J. Immunol. 155(5):2605-2613, 1995.
24. 대한통증학회. 통증의학. 서울, 군자출판사, pp 8-26, 2000.
25. 최용태 외. 침구학. 서울, 집문당. p 1457, 1988.
26. 안영기. 경혈학 총서. 서울, 성보사, p 197, 1990.
27. Tjolsen, A., Berge, O.G., Hunskaar, S., Rosland, J.H., Hole, K. The formalin test ; an evaluation of the method. Pain, 51, 5-17, 1992.
28. Dickenson, A.H., Sullivan, A.F. Subcutaneous formalin-induced activity of dorsal horn neurons in the rat: differential response to an intrathecal opiate administered pre or post formalin. Pain. 30, 349-360, 1987b.
29. Dubuisson, D., Dennis, S.G. The formalin test; a quantitative study of the analgesic effect of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. Pain, 4, 161-174, 1977.
30. Heapy, C.G, Jamieson, A., Tussell, N.J.W. After C-fibre and A-delta activity in models of imflammation. Br. J. Pharmacol 90, 164, 1987.
31. Bullitt, E. Expression of c-fos like protein as a maker for neuronal activity following noxious stimulation in the rat. J. Comp. Neurol. 296, 517-530, 1990.
32. Lund, J.S., Hoffman, G.E., Lund, R.D. Moving visual stimuli induce c-fos expression in the visual cortices of the rat. Soc. Neurosci. Abst. 17, 487, 1990.
33. Kim, H.W., Kwon, Y.B., Han, H.J., Yang, I.S., Beitz, A.J., Lee, J.H. Antinociceptive mechanisms associated with diluted bee venom acupuncture (apipuncture) in the rat formalin test: involvement of descending adrenergic and serotonergic pathways. Pharmacol Res. 51(2):183-188, 2005.
34. Kwon, Y.B., Kim, J.H., Yoon, J.H., Lee, J.D., Han, H.J., Mar, W.C., Beitz, A.J., Lee, J.H. The analgesic efficacy of bee venom acupuncture for knee osteoarthritis: a comparative study with needle aupuncture. Am J Chin Med, 29, 187-199, 2001.
35. Kim, H.W., Kwon, Y.B., Ham, T.W., Roh, D.H., Yoon, S.Y., Lee, H.J., Han, H.J., Yang, I.S., Beitz, A.J., Lee, J.H. Acupoint stimulation using bee venom attenuates formalin-induced pain behavior and spinal cord fos expression in rats. J Vet Med Sci 65, 349-355, 2003.
36. Zsigmond, E.K., Darby, P., Koenig, H.M., Goll, E.F. Painless intravenous catheterization by intradermal jet injection of lidocaine: a randomized trial. J Clin Anesth. 11(2):87-94, 1999.
37. Zsigmond, E.K., Darby, P., Koenig, H.M., Goll, E.V. A new route, jet injection of lidocaine for skin wheal for painless intravenous catheterization. Int J Clin Pharmacol Ther 37(2):90-99, 1999.
37. Jet-induced skin puncture and its impact on needle-free jet injections: Experimental studies and a predictive model. J

- Control Release 106(3):361-373, 2005.
38. Malone, J.I., Lowitt, S., Grove, N.P., Shah, S.C. Comparison of insulin levels after injection by jet stream and disposable insulin syringe. *Diabetes Care* 9(6):637-640, 1986.
  39. Katoulis, E.C., Drosinos, E.K., Dimitriadis, G.K., Hadjidakis, D.J., Mavrokefalos, P.G., Raptis, S.A. Efficacy of a new needleless insulin delivery system monitoring of blood glucose fluctuations and free insulin levels. *Int J Artif Organs* 12(5):333-338, 1989.
  40. Lysakowski, C., Dumont, L., Tramer, M.R., Tassonyi, E. A needle-free jet-injection system with lidocaine for peripheral intravenous cannula insertion: a randomized controlled trial with cost-effectiveness analysis. *Anesth Analg.* 96(1):215-219, 2003.
  41. Greenberg, R.S., Greenberg, R.S., Maxwell, L.G., Zahurak, M., Yaster, M. Preanesthetic medication of children with Midazolam using the Biojector jet injector. *Anesthesiology* 83(2):264-269, 1995.
  42. Baer, C.L., Bennett, W.M., Folwick, D.A., Erickson, R.S. Effectiveness of a jet injection system in administering morphine and heparin to healthy adults. *Am J Critical Care* 5(1):42-48, 1996.
  43. Gerbert, J., Burns, S., Liedtke, L.A. Anesthesia blocks of the lower extremity; comparing the Biojector with needle and syringe. *J Am Podi Med As;* 86(5):195-204, 1996.
  44. Schramm-Baxter, J., Mitragotri, S. Needle-free jet injections: Dependence of jet penetration and dispersion in the skin on jet power. *J Control Release.* 97(3):527-535. 2004.