

원저

## 電鍼刺戟의 Collagen 유발 關節炎 動物모델에 대한 鎮痛效果 및 機轉에 관한 研究

-Serotonergic Mechanism을 중심으로-

류성룡 · 백용현 · 박동석

경희대학교 한의과대학 침구학교실

### Abstract

#### The Analgesic Effect and Its Mechanism of Electroacupuncture in the Type II Collagen-induced Arthritis Rats : Mediation by Serotonergic Receptors

Ryu Seong-ryong, Baek Yong-hyeon and Park Dong-suk

Department of Acupuncture and Moxibustion, College of Oriental Medicine, Kyunghee University

*Objectives* : To evaluate the analgesic effect of electroacupuncture on Choksamni (ST36) in the collagen-induced arthritis rats and investigate the role played by serotonergic receptor subtypes (5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>4</sub>) in the antinociceptive effect of electroacupuncture in the thermal hyperalgesia test.

*Methods* : Immunization of male Sprague-Dawley rats with bovine type II collagen emulsified in incomplete Freund's adjuvant, followed by booster injection 14 days later induced collagen-induced arthritis (CIA). The thermal hyperalgesia was evaluated weekly with tail flick latency (TFL). In the fourth week after first immunization, EA stimulation (2Hz, 0.07mA, 0.3ms) was delivered into Choksamni for 20 minutes. We measured the analgesic effect of EA with TFL after intraperitoneal injection of normal saline, WAY100635, SB216641 and GR125487.

*Results* : TFLs were gradually decreased in CIA as time elapsed after the immunization of arthrogenic collagen and the maximum value was reached from third to fifth week. EA stimulation on ST36 inhibited chronic inflammatory pain induced by CIA. The analgesic effect of EA was inhibited by pretreatment of 5-HT<sub>1A</sub> antagonist (WAY100635), 5-HT<sub>1B</sub> antagonist (SB216641) and 5-HT<sub>4</sub> antagonist (GR125487).

- 접수 : 2006년 5월 8일 · 수정 : 2006년 5월 20일 · 채택 : 2006년 5월 20일  
· 교신저자 : 박동석, 서울시 강동구 상일동 149번지 경희대학교 동서신의학병원 관절류마티스센터  
Tel. 02-440-7000 E-mail : dspark@yahoo.co.kr

**Conclusion** : Electroacupuncture has the analgesic effect on chronic inflammatory pain and its mechanism was mediated by 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> and 5-HT<sub>4</sub>.

**Key words** : electroacupuncture(EA), collagen induced arthritis(CIA), WAY100635, SB216641, GR125487

## I. 緒 論

관절염은 중요한 의학적 문제로 통증, 종창, 강직, 발적 및 관절 운동 범위 제한 등 많은 증상을 유발한다<sup>1)</sup>. 이 중 통증은 관절염의 주요 증상으로 이환된 관절염의 종류에 따라 다양한 형태로 나타난다. 통증은 조직이나 기관의 손상을 방지하기 위한 방어적 역할을 하는 긍정적인 면도 있지만, 만성화되었을 경우 일상생활에 심각한 장애를 유발한다<sup>2)</sup>. 관절염에 의한 통증은 대개 만성화되어 일상생활에 장애를 준다.

류마티스 관절염은 지속적인 염증성 활액막염을 특징으로 하는 관절 질환으로 만성염증성 통증을 유발<sup>1)</sup>하는데 그 통증 조절을 위해 다양한 치료법이 시도되고 있으나 조절이 쉽지 않은 실정이다.

이 중 한의학적인 통증치료 방법인 전침요법은 경혈이나 유발점(trigger point)에 삽입된 침을 통해 전류를 통하게 하는 치료법으로<sup>3)</sup>, 이러한 전기적 자극은 급·만성 통증에 명확한 진통효과를 보인다<sup>4)</sup>. 침 자극에 의해 생성된 구심성 입력신호는 구심성 신경섬유를 통하여 중추신경내에 존재하는 통각의 하행성억제계(descending inhibitory control system)를 활성화시킨다<sup>5,6)</sup>. 이 과정에는 아편양물질, serotonin(5-HT) 및 노아드레날린을 포함한 3가지 기전이 관여하는 것으로 알려져 있다<sup>7)</sup>.

즉 serotonin은 통각 기전을 조절하는 데 있어 중요한 역할을 하는데<sup>8)</sup>, 이 역할은 5-HT 수용체의 다양한 아형(subtype)에 의해 매개된다<sup>9)</sup>. 이에 전침의 진통기전 연구도 5-HT 수용체의 아형별로 연구가 진행되고 있다. 기존 연구를 보면 5-HT<sub>1</sub> 아형인 5-HT<sub>1A</sub>는 collagen-induced arthritis (CIA) 모델<sup>10-11)</sup>과 formalin 주입을 통한 통증모델(formalin test)<sup>3)</sup>에서는 전침의 진통효과를 매개하고, 치수자극(tooth pulp)을 통한 급성통증 모델<sup>12)</sup>에서는 전침의 진통효과를 매개하지 않는다고 보고되었다. 5-HT<sub>1B</sub>에 대

한 기존 보고는 없었다. 5-HT<sub>2</sub>는 CIA모델<sup>10-11)</sup>과 formalin 주입을 통한 통증모델<sup>3)</sup>에서는 전침의 진통효과를 매개하지 않고, 치수자극을 통한 급성통증 모델<sup>12)</sup>에서는 5-HT<sub>2A</sub>를 제외한 5-HT<sub>2</sub>는 전침의 진통효과를 매개한다고 보고되었다. 5-HT<sub>3</sub>는 모든 연구에서 전침의 진통효과를 매개한다고 보고되었다<sup>3,10-12)</sup>. 5-HT<sub>4</sub>에 관하여서는 전침 진통과의 관련성에 관한 기존 연구는 없으며, 5-HT<sub>4</sub> agonist가 중추성 기전을 통해 진통효과를 보인다는 보고가 있으나, 다른 연구에서는 5-HT<sub>4</sub> antagonist가 진통효과 억제에 영향을 미치지 못한다고 보고되었다<sup>13-14)</sup>. 명확한 전침의 진통기전과 serotonergic mechanism의 연관성을 파악하기 위해서는 아형에 관한 추가적인 연구가 필요한 실정이다.

이에 저자는 전침요법의 진통효과와 그 기전을 알아보기 위하여 CIA 모델에서 足三里(ST<sub>36</sub>) 전침 자극을 가한 후 tail flick latency(TFL)로 통증역치의 변화를 측정하여 진통효과를 확인하고, serotonergic mechanism과의 연관성을 알아보기 위하여, 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonist(WAY100635), 5-HT<sub>1B</sub> receptor antagonist(SB216641) 및 5-HT<sub>4</sub> receptor antagonist(GR125487)를 전치치를 하고, 전침자극을 가한 후 TFL을 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 動物

실험 동물은 Sprague Dawley계 雄性 흰쥐 (샘타코, 한국)로 하였으며, 실험전 체중은 200±10g 로써 小動物用 고형사료(삼양유지, 한국)와 물을 충분히 공급하면서 1주간 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다.

## 2. 材料

### 1) 鍼

직경 0.25 mm, 길이 30mm인 stainless steel로 된 毫鍼(동방침구사, 한국)을 사용하였다.

### 2) 電鍼刺戟器

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

### 3) Tail flick unit

TFL을 측정을 위해 Tail flick unit(Ugo basile, Comrio, Italy)을 사용하였다.

### 4) 藥物

#### (1) Type II collagen

Type II collagen은 Chondrex Inc.(Washington, USA)에서 제작된 것을 사용하였다.

#### (2) Incomplete Freund adjuvant (iCFA)

Incomplete Freund adjuvant(iCFA)는 Chondrex Inc.(Washington, USA)에서 제작된 것을 사용하였다.

#### (3) WAY100635

WAY100635는 Sigma(St. Louis, USA)에서 제작된 것을 사용하였다.

#### (4) SB216641

SB216641는 Tocris Inc.(UK)에서 제작된 것을 사용하였다.

#### (5) GR125487

GR125487는 Tocris Inc.(UK)에서 제작된 것을 사용하였다.

#### (6) 생리식염수

생리식염수는 중외제약(한국)에서 제작된 것을 사용하였다.

## 3. 方法

### 1) 實驗室 環境

실험동물의 양육환경 및 실험실 환경은 모두 specific pathogen free 조건, 즉 22±1℃ 항온, 55±5% 습도를 유지했으며, hepafiltered air를 공급하여 외부 항원의 감염을 최소화시켰다. TFL 측정을 용이하게 하기 위하여 원통형 아크릴통(6.0×18cm)으로 만든 holder를 사용하였으며, 이로 인한 스트레스를 줄이기 위하여 TFL 측정을 시작하기 전 1주 동안 1시간 정도의 적응훈련을 3회 실시하였다.

실험 과정은 National Institute of Health의 권고안(NIH publication No. 86-23, revised 1985)과 국제 통증연구학회의 윤리적 권고안을 따랐다<sup>15)</sup>.

### 2) Collagen을 이용한 關節炎 誘發

동결 건조된 Bovine type II collagen(BnCII)을 10 mM acetic acid에 4.0mg/ml농도로 녹여 4℃에 24시간 보관한 후, 같은 양의 incomplete Freund' adjuvant(iCFA)를 섞은 후 homogenizer를 이용하여 1000 rpm의 속도로 30분간 혼합하여 乳象으로 만들었다<sup>16)</sup>. 이 혼합용액 1ml를 흰쥐의 꼬리부분(꼬리가 몸체로 이어지는 부위)에 피내 주사하여 관절염을 유발시켰다. 2주 후 동일한 양의 혼합 용액을 흰쥐의 우측 발바닥에 피하 주사하여 관절염 유발을 촉진시켰다.

### 3) 痛症의 閾值 測定

흰쥐의 꼬리 腹側部 피부에 가해진 유해성 방사열 자극에 대해 반응하는데 요구되는 TFL을 통각의 지표로 삼고, 이 TFL의 변화정도를 측정하여 진통효과를 평가하였다<sup>17)</sup>. 꼬리를 6등분하여 원위에서 세 번째 부분에 해당하는 부위를 이용하여 측정하였으며, TFL의 측정값은 1분 간격으로 3회 측정에 의한 평균값을 이용하였다. 이 때 열자극 부위는 꼬리에 표시한 2cm범위 내에서 약간씩 이동시킴으로써 자극부위에 큰 차이를 두지 않으면서 한 지점에 지속적으로 열 자극이 가해지는 것을 방지하였다<sup>18)</sup>. TFL은 전침자극 전 1회, 자극 후 10분, 20분, 30분, 45분 및 60분에 각각 측정하였으며, 진통효과의 정도는 아래 수식과 같이 전침자극 전 TFL (baseline TFL)과 전침자극 후 TFL (TFL acquired)의 백분율 변화로 환산하여 조사하였다<sup>19)</sup>.

$$\text{Change of TFL (\%)} = \frac{\text{TFL acquired} - \text{baseline TFL}}{\text{baseline TFL}} \times 100 (\%)$$

#### 4) 取穴 方法 및 電鍼刺戟

인체의 足三里(ST<sub>36</sub>)에 상응하는 부위와 말초방향으로 5mm 떨어진 부위를 骨度分寸法에 준하여 취혈하였다<sup>20)</sup>.

毫鍼을 5mm 깊이로 直刺하고, 2Hz, 0.07mA, 0.3ms의 전기자극을 근수축이 유발되는 정도의 강도로 20분간 시행하였다.

#### 5) 實驗群 設定

실험군은 다음과 같이 6군으로 나누었으며 각 군에 6마리씩 배정하였다

##### (1) 무처치군(None Tx, n=6)

CIA 유발 후에 아무런 처치를 하지 않은 군으로 type II collagen을 주입하기 전 1회, 주입한 후 매 1주 간격으로 5주간 총 6회 TFL을 측정한다.

##### (2) 足三里 전침자극군(EA, n=6)

Type II collagen을 주입 3주 후, 관절염이 유발된 흰쥐에 전침자극을 가한다.

##### (3) 생리식염수 전처치 후 足三里(ST<sub>36</sub>) 전침자극군(NS+EA, n=6)

Type II collagen을 주입 3주 후, 관절염이 유발된 흰쥐에 생리식염수(0.1 ml/100g)를 전침자극 15분전 복강 내로 주사한다.

##### (4) WAY100635 전처치 후 足三里(ST<sub>36</sub>) 전침자극군(WAY+EA, n=6)

Type II collagen을 주입 3주 후, 관절염이 유발된 흰쥐에 WAY100635를 생리식염수에 녹인 후 WAY100635(0.8 mg/kg)를 전침자극 15분전 복강 내로 주사한다.

##### (5) SB216641 전처치 후 足三里(ST<sub>36</sub>) 전침자극군(SB+EA, n=6)

Type II collagen을 주입 3주 후, 관절염이 유발된 흰쥐에 SB216641을 생리식염수에 녹인 후

SB216641(0.8 mg/kg)을 전침자극 15분전 복강 내로 주사한다.

##### (6) GR125487 전처치 후 足三里(ST<sub>36</sub>) 전침자극군(GR+EA, n=6)

Type II collagen을 주입 3주 후, 관절염이 유발된 흰쥐에 GR125487을 생리식염수에 녹인 후 GR125487(10 mg/kg)을 전침자극 15분전 복강 내로 주사한다.

#### 6) 통계처리

실험 결과는 모두 Mean±S.D.로 표현하였으며, 통계처리는 실험군 내의 시간에 따른 비교는 Friedman's rank test(followed by Dunnett's post-hoc test)를 이용하였고, 실험군간 비교는 Independent-Samples T test를 사용하였으며 p-value가 0.05 이하인 경우에 유의한 차이가 있다고 판정하였다. 통계 프로그램은 SPSS 11.5 for windows를 이용하였다.

### III. 結 果

#### 1. CIA 유발에 따른 TFL의 변화

Type II collagen으로 관절염을 유발시킨 후 1, 2, 3, 4 및 5주에 TFL을 측정한다. 결과, 각각 -17.41±2.0%, -37.19±2.0%, -44.41±2.0%, -45.70±1.5% 및 -46.6±1.0%의 변화를 보였다. TFL은 3주째까지 큰 변화를 보였고 그 이후에는 큰 변화를 보이지 않았다(Table 1, Fig. 1).

#### 2. 電鍼刺戟의 鎮痛效果

CIA 유발 3주후 TFL을 측정한다. 결과, 무처치군에 서는 시간에 따른 TFL의 변화가 작게 나타났다(Table 2, Fig. 2). 足三里 전침자극군은 전침자극을 시행한 지 20분까지 TFL이 상승하였고, 이후 점차 하강하였으나 60분까지 지속적으로 유의성 있는 증가(p<0.01)를 나타내었다.

Table 1. Change of Tail Flick Latency in the Collagen-Induced Arthritis Rats

No. of animal	Change of tail flick latency(%)					
	Time: baseline	1 week	2 week	3 week	4 week	5 week
6	0	-17.41±2.0	-37.19±2.0	-44.41±2.0	-45.70±1.5	-46.6±1.0

Results were presented as mean±S.D.

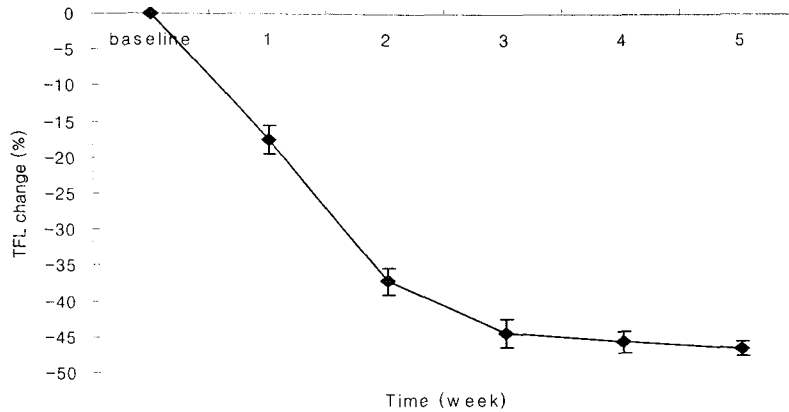


Fig. 1. Changes of tail flick latency in the collagen-induced arthritis rats

Sprague-Dawley rats were immunized with bovine type II collagen emulsified in incomplete Freund's adjuvant (iCFA), followed by booster injection at 2 weeks with collagen emulsified in iCFA. After first immunization, TFL decreased as time passed by and reached the minimum value from 3rd to 4th week.

Time = baseline : first immunization with bovine type II collagen emulsified in iCFA. Each value represents the mean, expressed by percentile changes of TFL on each tested week.

Table 2. Changes of Tail Flick Latency by Electroacupuncture in the Collagen-Induced Arthritis

Group	No. of animal	Change of tail flick latency(%)					
		Time: 0 min	10 min	20min	30min	45min	60min
None Tx	6	0	-0.6±4.3	-1.5±2.0	2.6±2.4	0.8±3.6	2.7±2.9
EA	6	0	27.6±4.7**	40.7±9.4**	33.6±5.7**	24.4±4.3**	17.9±2.6**

Results were presented as mean±S.D.

The statistical difference between groups was evaluated by Independent-Samples T test.

\*\*p<0.01, compared with None Tx group.

EA: group of arthritic animals treated by electroacupuncture on the ST36.

None Tx: group of arthritic animals without any treatment.

### 3. WAY100635 前處置 後 電鍼刺戟의 鎮痛效果

WAY100635 전처치 후 足三里 전침자극군의 평균 TFL 증가율은 전침자극 후 10분, 20분, 40분, 45분 및 60분에 각각 -2.4±4.7%, -7.7±4.7%, -6.9±3.8%, -0.8±4.0% 및 0.0±3.7%의 변화를 나타내어 생리식염수 전처치 후 足三里 전침자극군의 변화(28.0±5.3%,

40.0±9.9%, 32.6±5.9%, 24.6±4.6%, 19.7±3.3%)에 비하여 각각 유의성있는 감소 (p<0.01)를 보였다(Table 3, Fig. 3).

### 4. SB216641 前處置 後 電鍼刺戟의 鎮痛效果

SB216641 전처치 후 足三里 전침자극군의 평균

TFL 증가율은 전침자극 후 10분, 20분, 40분, 45분 및 60분에 각각  $-5.0 \pm 3.9\%$ ,  $-8.5 \pm 3.7\%$ ,  $-8.0 \pm 6.0\%$ ,  $3.3 \pm 3.4\%$  및  $1.7 \pm 3.8\%$ 의 변화를 나타내어 생리식염수 전처치 후 足三里 전침자극군의 변화 ( $28.0 \pm$

$5.3\%$ ,  $40.0 \pm 9.9\%$ ,  $32.6 \pm 5.9\%$ ,  $24.6 \pm 4.6\%$ ,  $19.7 \pm 3.3\%$ )에 비하여 각각 유의성있는 감소 ( $p < 0.01$ )를 보였다 (Table 4, Fig. 4).

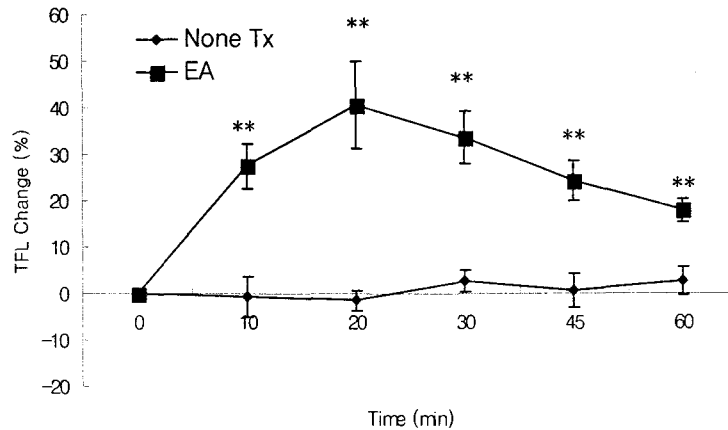


Fig. 2. Effects of electroacupuncture on the changes in tail flick latency

None Tx group was composed of arthritic animals without any treatment.

EA group was composed of arthritic animals treated by electroacupuncture (2Hz, 0.07mA, 0.3ms) at left ST36.

Results were presented as mean±S.D.

Time '0' indicates the time before treatment.

Time '10, 20, 30, 45, and 60' indicate the time after the onset of treatment.

The statistical differences between groups were evaluated by Independent-Samples T test.

\*\*p<0.01, compared with control group.

Table 3. Changes of Tail Flick Latency by Electroacupuncture with WAY100635 pre-treatment in the Collagen-Induced Arthritis

Group	No. of animal	Change of tail flick latency (%)					
		Time: 0 min	10 min	20min	30min	45min	60min
NS+EA	6	0	28.0±5.3	40.0±9.9	32.6±5.9	24.6±4.6	19.7±3.3
WAY+EA	6	0	-2.4±4.7**	-7.7±4.7**	-6.9±3.8**	-0.8±4.0**	0.0±3.7**

Results were presented as mean±S.D.

The statistical difference between groups was evaluated by Independent-Samples t test.

\*\*p<0.01, compared with NS+EA group.

NS+EA : Group of arthritic animals pretreated intraperitoneally with 0.1 ml/100g of normal saline followed 15 minutes later by electroacupuncture on the left ST36.

WAY+EA : Group of arthritic animals pretreated intraperitoneally with 0.8 mg/kg of WAY 100635 dissolved in normal saline followed 15 minutes later by electroacupuncture on the left ST36.

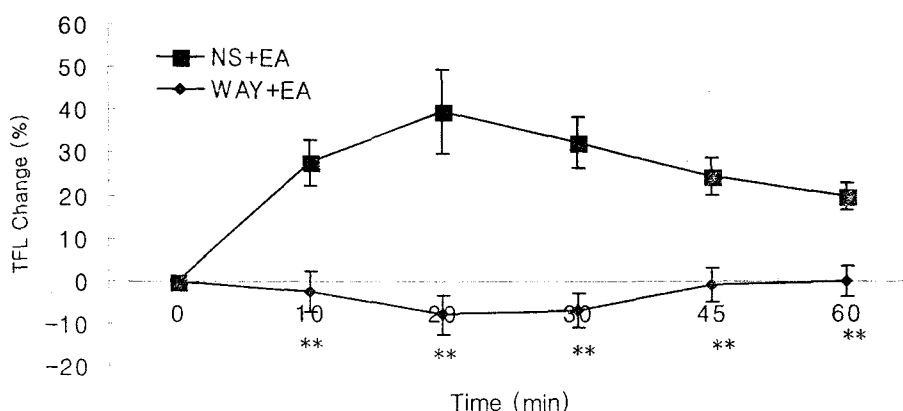


Fig. 3. Effect of electroacupuncture on the changes of tail flick latency  
 NS+EA group was composed of arthritics animals pretreated intraperitoneally with 0.1 ml/100g of normal saline followed 15 minutes later by electroacupuncture on the left ST36.  
 WAY+EA group was composed of arthritic animals pretreated intraperitoneally with 0.8 mg/kg of WAY 100635 dissolved in normal saline followed 15 minutes later by electroacupuncture on the left ST36.  
 Time = 0 min : 15 minutes after pretreatment and electroacupuncture.  
 Results were presented as mean±S.D.  
 The statistical difference between groups was evaluated by Independent-Samples T test.  
 \*\*p<0.01, compared with NS+EA group.

Table 4. Changes of Tail Flick Latency by Electroacupuncture with SB216641 pre-treatment in the Collagen-Induced Arthritis

Group	No. of animal	Change of tail flick latency (%)					
		Time: 0 min	10 min	20min	30min	45min	60min
NS+EA	6	0	28.0±5.3	40.0±9.9	32.6±5.9	24.6±4.6	19.7±3.3
SB+EA	6	0	-5.0±3.9**	-8.5±3.7**	-8.0±6.0**	3.3±3.4**	1.7±3.8**

Results were presented as mean±S.D.  
 The statistical difference between group was evaluated by Independent-Samples T test.  
 \*\*p<0.01, compared with NS+EA group.

NS+EA : Group of arthritic animals pretreated intraperitoneally with 0.1 ml/100g of normal saline followed 15 minutes later by electroacupuncture on the left ST36.

SB+EA : Group of arthritic animals pretreated intraperitoneally with 0.8 mg/kg of SB216641 dissolved in normal saline followed 15 minutes later by electroacupuncture on the left ST36.

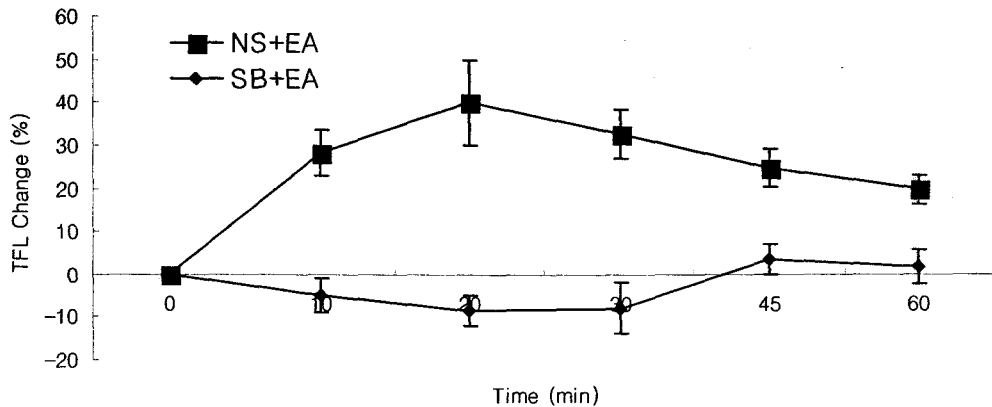


Fig. 4. Effect of electroacupuncture on the changes of tail flick latency

NS+EA group was composed of arthritics animals pretreated intraperitoneally with 0.1 ml/100g of normal saline followed 15 minutes later by electroacupuncture on the left ST36.

SB+EA group was composed of arthritic animals pretreated intraperitoneally with 0.8 mg/kg of SB216641 dissolved in normal saline followed 15 minutes later by electroacupuncture on the left ST36.

Time = 0 min : 15 minutes after pretreatment and electroacupuncture.

Results were presented as mean±S.D.

The statistical differences between groups were evaluated by Independent-Samples T test.

\*\*p<0.01, compared with NS+EA group.

Table 5. Changes of Tail Flick Latency by Electroacupuncture with GR125487 pre-treatment in the Collagen-Induced Arthritis

Group	No. of animal	Change of tail flick latency (%)					
		Time : 0 min	10 min	20min	30min	45min	60min
NS+EA	6	0	28.0±5.3	40.0±9.9	32.6±5.9	24.6±4.6	19.7±3.3
GR+EA	6	0	-9.7±5.9**	-10.9±6.5**	-14.9±4.6**	-5.1±6.6**	-12.2±7.1**

Results were presented as mean±S.D.

The statistical difference between groups was evaluated by Independent-Samples T test.

\*\*p<0.01, compared with NS+EA group.

NS+EA : Group of arthritic animals pretreated intraperitoneally with 0.1 ml/100g of normal saline followed 15 minutes later by electroacupuncture on the left ST36.

GR+EA : Group of arthritic animals pretreated intraperitoneally with 10mg/kg of GR125487 dissolved in normal saline followed 15 minutes later by electroacupuncture on the left ST36.

### 5. GR125487 前處置 後 電鍼刺戟의 鎮痛效果

GR125487 전처치 후 足三里 전침자극군의 평균 TFL 증가율은 전침자극 후 10분, 20분, 40분, 45분 및 60분에 각각 -9.7±5.9%, -10.9±6.5%, -14.9±

4.6%, -5.1±6.6% 및 -12.2±7.1%의 변화를 나타내어 생리식염수 전처치 후 足三里 전침자극군의 변화 (28.0±5.3%, 40.0±9.9%, 32.6±5.9%, 24.6±4.6%, 19.7±3.3%)에 비하여 각각 유의성있는 감소 (p<0.01)를 보였다(Table 5, Fig. 5).



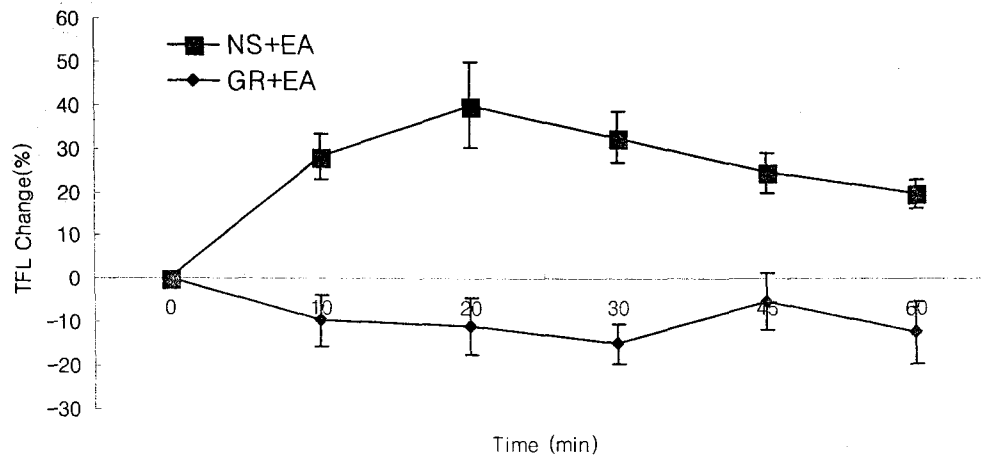


Fig. 5. Effect of electroacupuncture on the changes of tail flick latency

NS+EA group was composed of arthritics animals pretreated intraperitoneally with 0.1 ml/100g of normal saline followed 15 minutes later by electroacupuncture on the left ST36.

GR+EA group was composed of arthritic animals pretreated intraperitoneally with 10 mg/kg of GR 125487 dissolved in normal saline followed 15 minutes later by electroacupuncture on the left ST36.

Time = 0 min : 15 minutes after pretreatment and electroacupuncture.

Results were presented as mean±S.D.

The statistical differences between groups were evaluated by Independent-Samples t test.

\*\*p<0.01, compared with NS+EA group

#### IV. 考 察

류마티스 질환은 만성통증을 유발하면서 관절과 연부조직에 점차적인 손상을 가져와 불구를 만드는 만성적인 상태를 말하며 일반적으로는 근골격계 질환을 일으키는 질환을 통틀어 말한다<sup>21)</sup>. 특히 류마티스 관절염은 관절의 윤택 조직의 지속적인 염증을 특징으로 하며, 시간이 지나면서 골 미란과 연골손상이 발생하고 이어 관절이 완전히 파괴 된다<sup>22)</sup>. 류마티스 관절염 치료의 목표는 기능과 삶의 질의 유지, 통증과 염증의 최소화, 관절보호, 부작용의 조절 등인데<sup>23)</sup>, 이 중 통증의 조절이 매우 중요하다. 통증이 조절되지 못하면 환자의 운동능력이 현저하게 감소되며 이로 인해 관절 주위 근육이나 인대의 약화를 초래하여 관절 기능 약화 및 소실을 유발하는 신체장애를 일으키게 되<sup>24)</sup> 때문이다.

통증을 일으키는 자극이 인체에 가해지면 말초 지각신경과 후근을 거쳐 척수후각을 통해 중추로 전달되어 통증을 느끼게 되고, 한편으로는 통증이 생

긴 국소에서 척수반사로를 통해서 장애부위를 지배하는 원심성 신경인 운동신경과 교감신경이 흥분되어 근육의 반사성 연축과 혈관의 수축이 일어나게 된다. 이로 인해 국소에 허혈과 산소결핍, 대사이상이 생기면 조직이나 혈액 그리고 신경말단에서 통증을 유발하는 물질들을 분비하면서 조직의 대사산물은 더욱 축적되어 이러한 현상들이 다시 말초지각신경을 자극하여 통증을 유발하는 악순환을 거듭하여 만성 통증이 유발 된다<sup>25,26)</sup>. 즉 급성통증은 주로 생체의 생명에 대한 경고신호로서의 의미가 큰데 반해, 만성통증은 인체의 보호적 기능으로 작용하지 못하며 오히려 통증 그 자체가 하나의 심각한 질환이 된다<sup>2)</sup>. 만성 통증을 치료하는 방법으로는 약물에 의한 치료법, 신경차단에 의한 치료법이 있으나 최근에 전기신경자극요법, 침치료, 광선치료, 자기치료, 고주파열치료, 향치료, 음악치료, 氣치료 등 수많은 치료법이 활용 된다<sup>25)</sup>.

이중 침치료는 수천년 전부터 시술되어온 한의학의 고유한 치료방법으로써, 진통·마취효과 뿐 아니라 다양한 질환에 치료효과를 보이며, 최근 이에 대한 관심이 집중되면서 침자극에 대한 신경계, 신경

전달물질, 내인성 물질 등에 대한 반응 등이 증명되고 있다<sup>27)</sup>.

침자극에 의해 생성된 구심성 입력신호는 구심성 신경을 통하여 중추신경내에 존재하는 통각의 하행성 억제계를 활성화 시킨다<sup>5-6)</sup>. 즉 침자극을 시행하면 척수후각세포, 봉선핵(raphe nucleus), 연수의 망상체형성, 청색반점(locus coeruleus), 뇌수도관 주위 회백질(periaqueductal grey, PAG) 및 시상하부 등이 활성화되며 하행성 억제계가 활성화 된다<sup>5)</sup>. 이들 부위의 활성화에 의해 진통효과가 유발되는 것으로 알려져 있다. 시상하부 등을 포함한 하행성 억제계의 활성화에 의해 생성된 신호는 배측방 섬유속(dorsolateral funiculus; DLF)을 경유하여 척수로 전달되며 DLF를 절단하면 침자극의 억제효과가 소실된다<sup>28)</sup>.

침자극에 의해 활성화된 하행성 억제계에 의해 진통효과가 유발되는 과정에는 아편양물질, serotonin 및 노아드레날린을 포함한 3가지 기전이 관여하는 것으로 알려져 있다<sup>7)</sup>. 시상하부, 뇌수도관주위 회백질, 청색반점, 봉선핵과 연수망상체내로 모르핀과 glutamate를 투여하거나 전기자극을 가하면 진통효과가 유발되며, 유발된 진통효과는 척수내로 투여한 serotonin 길항제(methysergide)와 노아드레날린 길항제(yohimbine 및 phentolamine)에 의하여 차단된다<sup>29-31)</sup>. 뇌간에서 출발한 serotonin 신경섬유말단이 laminae I 및 II를 포함한 척수의 표면층에 다수 분포하며, 봉선핵을 자극하면 척수내로 방출되는 serotonin의 양이 증가된다는 보고는 침자극에 의해 활성화된 하행성 억제계에 의하여 유발된 진통효과는 serotonin에 의해서도 매개됨을 시사 한다<sup>7)</sup>.

Serotonin(5-HT)이 통증 억제 과정 중에서 다면적인 역할을 한다는 것은 잘 알려진 사실이다<sup>32)</sup>. 그러나 통증 전도계(periphery, spinal cord 및 supraspinal sites)내의 다양한 부분에서 작용하고 있고, 막결합(membrane-bound) 수용체의 다양성 때문에 그 기전이 복잡하다<sup>32-33)</sup>. 1957년 5-HT의 분류가 시작된 이래, 현재 5-HT<sub>1</sub>부터 5-HT<sub>7</sub>까지 7개의 아형으로 나눈다<sup>33)</sup>. 7개의 아형은 중추신경계와 말초신경계 뿐만 아니라 위장관계, 심혈관계 등 다양한 부위에 분포하고<sup>33)</sup>, 말초에서 염증과 통각과민이 유발되는데 중요한 역할을 하는 잠재적인 독성물질로 알려져 있지만, 하행성 serotonergic mechanism이 중추성 통증 제어에 관여한다는 많은 근거가 보고되고 있다<sup>34)</sup>. 현재까지의 연구로 적어도 4개의 수용체 (5-HT<sub>1</sub>,

5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub>, 5-HT<sub>4</sub>)가 척수에 존재한다고 밝혀졌기 때문에<sup>14)</sup> 주로 이들 수용체에 관하여 진통기전과의 상관성 연구가 이뤄져 왔다. 그러나 기존 연구의 결과들이 서로 일치하지 않는 등의 모순을 보이는데, 이는 척수의 serotonergic mechanism이 복잡하다는 것을 반영한 결과이고, 방법론적인 면의 영향에 대한 의문점을 제기한다<sup>14)</sup>. 예를 들면 TLF를 측정 한 실험에서 Crisp 등은 5-HT<sub>1A</sub> antagonist가 5-HT로 유도된 진통효과에 영향을 미치지 못한다고 보고하였으나, Xu 등은 농도에 따라 진통억제 효과가 있다고 보고하였다<sup>14)</sup>. 이는 실제로 통증유발 자극과 주입된 약물 등의 실험방법론상 차이점으로 인해 이러한 모순이 야기될 가능성이 있다<sup>14)</sup>.

조직 손상을 유도한 동물모델은 인간의 임상적 통증양상과 보다 더 유사해지고 있다<sup>35)</sup>. 이러한 모델은 formalin test, carrageenan, adjuvant arthritis 및 CIA 등이 있는데, formalin test와 carrageenan은 만성 통증보다는 급성 통증에 더 유용한 모델이다<sup>35)</sup>. 관절염에 의한 만성 통증모델로는 adjuvant arthritis와 CIA를 이용하는데, 둘 다 다발성 관절염을 유발하여 결과적으로 통각과민을 유도 한다<sup>36)</sup>. 그리고 기계적 이질통, 열에 대한 통각과민, 관절운동으로 인한 통증 등도 유발 된다<sup>37)</sup>. 본 실험에 이용한 CIA는 1977년 Trentham 등에 의해 발표된 이후로, RA와 임상적 측면 뿐 아니라 조직학적으로 유사성이 있다고 알려져, 관절염 치료제의 진통효과와 항염효과에 대한 연구에 많이 이용되고 있다<sup>24,37)</sup>. 본 실험 연구에선 type II collagen으로 관절염을 유발시킨 후 시간이 지남에 따라 TFL은 지속적으로 감소하여 유발 3주에 최저치에 도달한 후 이후 큰 변화양상은 없었다(Table 1, Fig. 1). 이 결과는 과거 연구<sup>11,24)</sup>와 유사한 양상으로, 이를 토대로 관절염 유발 3주후 전침의 진통 효과를 평가하였다.

본 실험에서 전침자극을 가한 足三里는 위경의 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 등의 통증조절 기능이 있다<sup>38)</sup>. 그리고 취혈의 편리함 때문에 각종 침 진통기전 연구에 다용되는 혈이다. Vito V Romita<sup>39)</sup> 등은 足三里에 가한 낮은 빈도 (1~4Hz)의 전침자극은 TFL에 대해 짧은 억제효과와 긴 억제효과를 동시에 유발한다고 보고하였다.

통증은 관절염의 중요한 증상이다. 그래서 인간의 관절통을 정확히 표현해주는 실험 동물 모델의 행동

을 평가하는 것은 관절염 연구, 특히 관절통 치료를 위한 치료법 개발을 위해 아주 중요하다<sup>40)</sup>. 齧齒類를 이용한 관절염 모델에 대한 통증 평가를 위해 많은 행동평가법이 고안되었는데, 통증이 유발된 측의 체중 부하 측정(weight bearing by affected foot), 발 자세와 보행분석(foot position and gait analysis), 발 드는 시간 측정(paw elevation time) 및 발의 물리적 혹은 열에 대한 민감도 측정(mechanical or heat sensitivity of the paw)등이 있다<sup>41)</sup>. 본 실험에서는 통증 역치를 평가하기 위해서는 D'armour와 smith가 1941년에 개발한 방법으로 유해자극에 대한 역치평가방법인 TFL을 이용하였다<sup>41)</sup>. 5-HT 기전 연구를 위해 사용되는 행동검사(behavioral test)의 대다수는 열 검사(thermal test)와 주로 TFL이다<sup>44)</sup>. 그러나 만일 5-HT의 혈관에 대한 작용이 온각을 변형시킨다면 꼬리 피부 온도가 적절하게 측정되지 않고, TFL의 결과는 잘못 해석될 수 있다<sup>44)</sup>. 그리고 5-HT가 통각뿐만 아니라 운동제어와 같은 통각이 아닌 다른 기능에 관여하여 통각검사에 대한 반응에 영향을 미칠 수 있다<sup>44)</sup>. 따라서 본 실험에서는 이러한 오차를 최소화하기 위하여, 흰쥐의 움직임을 제한하기 위해 원통형 아크릴통(6.0×18cm)으로 만든 홀더를 사용하였으며, 이로 인한 스트레스를 줄이기 위하여 TFL 측정을 시작하기 전 1주 동안 1시간 정도의 적응훈련을 3회 실시하였다

본 실험에서 CIA 모델에 전기자극(2 Hz, 0.07mA, 0.3 ms)을 시행한 후 TFL을 측정한 결과 유의한 증가양상을 보이므로, 전침자극은 CIA로 유발된 통증에 진통효과가 있음을 알 수 있다. 그리고 진통효과는 자극 종료 후 수분동안 지속 된다(Table 2, Fig. 2). Takeshige 등은 足三里에 시행한 1Hz, 0.5mA의 전침자극에서 45분 자극 후에 TFL이 40%정도 변화를 보였고<sup>17)</sup>, 60분 자극 시 35분에 60%의 최고변화율을 보이며, 자극 종료 후에도 진통효과를 유지한다고 보고하여<sup>5)</sup>, 본 실험의 결과와 유사하다. CIA 모델에 대한 연구에서도 백<sup>11)</sup> 등은 30분간 전침자극을 주었을 때 10분 이후부터 진통효과가 확인되었으며, 자극 후 30분간 진통효과가 지속됨을 보고하기도 하였다. 본 실험에서는 20분간 전침자극을 하여 TFL이 20분에 최고 변화율을 보이며, 자극 종료 후 60분까지 진통효과가 유지되었다. 이들 결과로 볼 때 TFL가 최고 변화율을 보이는 시점은 전침자극시간과 관계가 있다고 보여 진다.

전침의 진통효과와 serotonergic mechanism과의 연관성에 관한 기존 연구를 살펴보면 Chang 등<sup>3)</sup>은 formalin 주입에 의한 통증모델에서 전침의 진통효과는 5-HT<sub>1A</sub>와 5-HT<sub>3</sub>에 의해 매개되나 5-HT<sub>2</sub>는 오히려 전침의 진통효과를 억제한다고 보고하였고, Takagi 등<sup>12)</sup>은 치수자극(tooth pulp)에 의한 통증에 대한 전침의 진통효과가 5-HT<sub>1A</sub>를 제외한 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>를 제외한 5-HT<sub>2</sub> 및 5-HT<sub>3</sub>에 의해서 매개되고, 5-HT<sub>1A</sub>과 5-HT<sub>2A</sub>는 진통효과를 억제한다고 보고하였다. 그리고 백 등<sup>11)</sup>은 CIA 모델에서 전침의 진통효과가 5-HT<sub>1A</sub>과 5-HT<sub>3</sub>에 의해 매개되고, 5-HT<sub>2</sub>에 의해서는 매개되지 않는다고 보고 하였다. 5-HT<sub>1B</sub>와 5-HT<sub>4</sub>과 전침의 진통기전의 연관성에 대한 기존 연구는 없었으며, Ghelardini 등<sup>13)</sup>은 5-HT<sub>4</sub> receptor agonist가 중추성 기전을 통하여 잠재적인 진통기전을 보인다고 보고하였고, Jeong 등<sup>42)</sup>은 formalin 주입에 의한 통증모델에서 척수의 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>2C</sub>, 5-HT<sub>3</sub> 및 5-HT<sub>4</sub> 수용체가 5-HT에 의한 진통기전에 관여한다고 보고하였다. 본 실험에서는 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonist인 WAY100635, 5-HT<sub>1B</sub> receptor antagonist인 SB216641 및 5-HT<sub>4</sub> receptor antagonist인 GR125487을 전침자극 15분전 전처치한 결과, TFL의 증가양상이 미미하거나 오히려 감소되는 양상을 보였다(Table 3·4·5, Figure 3·4·5). 이 결과는 전침의 진통효과가 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> 및 5-HT<sub>4</sub>에 의해서 매개된다는 사실을 의미한다. 5-HT<sub>1A</sub>에 의해 전침의 진통효과가 매개된다는 결과는 Chang 등<sup>3)</sup>과 백 등<sup>11)</sup>의 연구와 결과가 같으나 Takagi 등<sup>12)</sup>의 연구와는 결과가 상이하다. 이러한 모순은 앞서 언급하였듯이 serotonergic mechanism에 관한 연구가 통증모델과 통증유발 방법 등의 방법론적인 차이로 결과가 달라질 수 있다는 점을 의미한다. 5-HT<sub>1B</sub>와 5-HT<sub>4</sub>가 전침의 진통효과를 매개한다는 본 실험 결과는 이들 수용체가 척수내 serotonin의 진통기전에 관여한다는 기존 연구<sup>13,42)</sup>와 유사한 결과이다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 전침자극은 CIA로 인한 만성 염증성 통증모델에 유의한 진통효과를 나타내며, 그 진통기전은 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> 및 5-HT<sub>4</sub>와 밀접한 관련이 있다. 이를 토대로, 전침기전에 대한 명확한 설명을 위해 향후 다양한 통증모델과 다양한 5-HT 아형에 대한 연구가 진행되기를 기대한다.

## V. 結 論

만성 염증성 통증 모델인 CIA 동물모델 흰쥐의 편측 足三里 에 전침자극을 가한 후, TFL을 지표로 한 진통효과와 serotonergic mechanism과 관련성을 알아보기 위하여 WAY100635, SB216641 및 GR125487 을 전처치한 후 전침자극의 진통효과를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Type II collagen을 주입한 결과 시간이 지남에 따라 통증역치가 점점 떨어지며 통각과민 양상을 보이는 만성염증성 통증이 유발되었다. 통각과민 양상은 주입 후 3주 이후에 최고치를 보였다.
2. CIA 동물모델 흰쥐에 20분간 편측 足三里 에 시행한 전침자극은 통증역치를 증가시키면서 진통효과를 나타내었고, 그 효과는 자극 종료 후 40분간까지 유지되었다.
3. CIA 동물모델 흰쥐에 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonist 인 WAY100635, 5-HT<sub>1B</sub> receptor antagonist 인 SB216641, 5-HT<sub>4</sub> receptor antagonist인 GR125487를 전처치한 경우, 전침자극의 진통 효과가 모두 길항되는 양상을 보였다.

이를 근거로 볼 때, 만성염증성 통증에 대한 전침의 진통효과는 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> 및 5-HT<sub>4</sub> 에 의해 매개된다.

## VI. 參 考 文 獻

1. 대한정형외과학회 편저. 정형외과학. 서울 : 최신의학사. 2003 : 175.
2. 민병일. 통증과 통증제어 기전. 대한내과학회지. 1999 ; 57(4) : 622-626.
3. Fang-Chia Chang, Huei-Yann Tsai, Ming-Chien Yu, Pei-Lu Yi, Jaung-Geng Lin. The central serotonergic system mediates the analgesic effect of electroacupuncture on Zusanli(ST36) Acupoints. J Biomed Sci. 2004 ; 11 : 179-185.

4. Ernst E, White A. Acupuncture : a scientific appraisal. Oxford : Butterworth-Heinemann ; 1999. 1. eCAM.2004 ; 1(1) : 41-47.
5. Takeshige C, Sato T, Mera T, Hisamitsu T, Fang J. Descending pain inhibitory system involved in acupuncture analgesia. Brain Res. Bull. 1992 ; 29 : 617-634.
6. Lee J-H, Beitz AJ. The distribution of brain-stem and spinal cord nuclei associated with different frequencies of electroacupuncture analgesia. Pain. 1993 ; 52 : 11-28.
7. 신흥기, 이경희, 박동석. 전침자극이 만성통증을 억제하는 아드레날린성 기전에 대한 연구. 대한한의학회지. 2004 ; 25(3) : 67-77.
8. Lang B, Li YQ. Serotonergic neurons in the brainstem expressing FOS protein following orofacial noxious stimulation : an immunocytochemical double-labeling study. J Brain Res. 1998 ; 39 : 263-268.
9. Wen Wang, Sheng-Xi Wu, Ya-Yun Wang, Xiang-Yu Liu, Yun-Qing Li. 5-Hydroxytryptamine 1A receptor is involved in the bee venom induced inflammatory pain. Pain.2003 ; 106 : 135-142.
10. 백용현, 양형인, 박동석, 최도영. Collagen 유발 관절염 동물모델에 대한 전침자극의 진통 효과 및 그 기전에 관한 연구. 대한침구학회지. 2004 ; 21(6) : 51-6.
11. Baek YH, Choi DY, Yang HI, Park DS. Analgesic effect of electroacupuncture on inflammatory pain in the rat model of collagen-induced arthritis : Mediation by cholinergic and serotonergic receptors. Brain Research. 2005 ; 1057 : 181-185.
12. Jun Takagi, Norifumi Yonehara. Serotonin Receptor Subtype Involved in Modulation of Electro Acupuncture. Jpn J Pharmacol. 1998 ; 78 : 511-514.
13. Ghelardini C, Galeotti N, Casamenti F, Malmberg-Aiello P, Pepeu G, Gualtieri F, Bartolini A. Central cholinergic antinociception induced by 5HT<sub>4</sub> agonists : BIMU 1

- BIMU 8. Life Sci. 1996 ; 58 : 2297-2309.
14. Lournet Bardin, Jeannine Lavarenne, Alain Eschalier, Serotonin receptor subtype involved in the spinal antinociceptive effect of 5-HT in rats. Pain. 2000 ; 86 : 11-18.
  15. M. Zimmerman. Ethical guidelines for the investigations of experimental pain in conscious animals. Pain. 1983 ; 16 : 109-110.
  16. 김경민, 최도영, 박동석, 이윤호. 금주사약침액이 제 2형 콜라겐 유도 관절염에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2002 ; 19(3) : 14-25.
  17. Takeshige C, Kabori, Hishida, Igarashi. Analgesia inhibitory system in nonacupuncture point-stimulation-produced analgesia. Brain Res. 1992 ; 28 : 379-91.
  18. Romita VV, suk A, Henry JL. Parametric study on electroacupuncture like stimulation in a rat model-effects of stimulation on evoked antinociception. Brain Res. 1997 ; 42(4) : 289-96.
  19. 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.
  20. 고흥균. 흰 쥐에서의 골도분층에 의한 상응혈위. 대한침구학회지. 1999 ; 16(3) : 115-22.
  21. 서영일. 류마티스 질환의 이해. 가정의학학회지. 2004 ; 25 : 877-886.
  22. J. Adam rindfleisch, Daniel muller. Diagnosis and Management of Rheumatoid Arthritis. American Family Physician. 2005 ; 72 : 1037-1047.
  23. American College of Rheumatology Subcommittee on Rheumatoid Arthritis Guidelines. Guidelines for the management of rheumatoid arthritis : 2002 update. Arthritis Rheum. 2002 ; 46 : 328-46.
  24. 백용현, 홍승훈, 양형인, 박동석, 최도영. Collagen 유발 관절염 동물모델에 대한 전침자극의 진통효과 및 그 기전에 관한 연구. 대한침구학회지. 2004. ; 21 : 115-129.
  25. 박종민. 만성 통증 질환의 치료. 대한의사협회지. 2001 ; 12 : 1293-1298.
  26. Mark J. Millan. The induction of Pain : an integrative review. Progress in Neurobiology. 1999 ; 57 : 1-164.
  27. Sheng-Xing Ma. Neurobiology of Acupuncture : Toward CAM.
  28. Honchien HA, WU RS, Tan EC. Spinal pathways for mediating analgesic effect induced by acupuncture in the monkey. Anat. Rec. 1980 ; 196 : 69A.
  29. Satoh M, Oku R, Akaike A. Analgesia produced by microinjection of L-glutamate into the rostral ventromedial bulbar nuclei of the rat and its inhibition by intrathecal alpha-adrenergic blocking agents. Brain Res. 1983 ; 261 : 361-364.
  30. Aimone LS, Gebhart GF. spinal monoamine mediation of stimulation-produced antinociception from the lateral hypothalamus. Brain Res. 1987 ; 403 : 290-300.
  31. Jones SL, Gebhart GF. Quantitative characterization of ceruleoapinal inhibition of nociceptive transmission in the rat. J. Neurophysiol. 1986 ; 56 : 1397-1410.
  32. M. Olga Rojas-Corrales, Esther Berrococo, Juan A. Mico. Role of 5-HT1A and 5-HT1B receptors in the antinociceptive effect of tramadol. European Journal of Pharmacology. 2005 ; 511 : 21-26.
  33. Daniel Hoyer, Jason P, Hannon, Graeme R. Martin. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. Pharmacology, Biochemistry and Behavior. 2002 ; 71 : 533-554.
  34. Seo Byung-kwan, Baek Yong-hyun, Choi Do-young and Park Dong-suk. The analgesic Effect of Bee Venom Acupuncture and Its Mechanism on Its Type II Collagen-induced Arthritis Rats. The Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Society. 2005 ; 22 : 19-32.
  35. Paul Coulthard, Barbara J. Pleuvry, Mike Brewster, Kevin L. Wilson. Gait analysis as an objective measure in a chronic pain model. Journal of Neuroscience Methods.

- 2002 ; 116 : 197-213.
36. Yukinori Nagakura, Masamichi Okada, Atsuyuki Kohara, Tetsuo Kiso, Takashi Toya, Akihiko Iwai, Fumikazu Wanibuchi, Tokio Yamaguchi. Allodynia and hyperalgesia in Adjuvant-induced Arthritic Rats : Time Course of Progression and Efficacy of Anagesics. JPET. 2003 ; 306 : 490-497.
37. Jae-dong Lee, Su-young Kim, Tae-woo Kim, Sang-hoon Lee, Hyung-in Yang, Doo-ik Lee, Yun-ho Lee. Anti-inflammatory effect of bee venom on type II collagen-induced arthritis. American Journal of Chinese Medicine. 2004 ; 32(3) : 361-367.
38. 全國韓醫科大學 針灸經穴學教室 編. 針灸學下. 서울 : 집문당. 1988 : 1286, 1294-1296, 1457.
39. Vtuo V, Romita Kiran Yashpal. Intense peripheral electrical stimulation evokes brief and persistent inhibition of the nociceptive tail withdrawal reflex in the rat. Brain Res. 1997 ; 761 : 192-202.
40. Yun Cho Yu, Sung Tae Koo, Chang Hoon Kim, Yeoungsu Lyu, James J, Grady, Jin Mo Chung. Two variables that can be used as pain indices in experimental animal models of arthritis. Journal of Neuroscience Methods. 2002 ; 115 : 107-113.
41. 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.
42. Chang Young Jeong, Jeong Il Choi, Myung Ha Yoon. Roles of serotonin receptor subtypes for the antinociception of 5-HT in the spinal cord of rats. European Journal of Pharmacology. 2004 ; 502 : 205-211.