

원저

## 급성통증 유발 흰쥐에 대한 威靈仙藥鍼의 통증 억제효과

최원주\* · 김기봉\* · 김경호\*\* · 김장현\*

\*동국대학교 한의과대학 소아과학교실

\*\*동국대학교 한의과대학 침구학교실

### Abstract

#### Analgesic Effect of *Clematidis Radix* (CR) Herbal-acupuncture on the Test Rats with Induced Acute Pain

Choi Won-joo\*, Kim Ki-bong\*, Kim Kyung-ho\*\* and Kim Jang-hyun\*

\*Dept. of Pediatrics, College of Oriental Medicine, Dongguk University

\*\*Dept. of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Dongguk University

**Objectives** : The objective of this study is to investigate Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of *Clematidis Radix* (CR) herbal-acupuncture on the test rats with induced acute pain.

**Methods** : The effects of *Clematidis Radix* (CR)-distillates were investigated in three types of models with three different pain. Highly purified distillate of CR called CR herbal-acupuncture was injected to Zusanli (ST<sub>36</sub>) acupoint. In the tail flick test, the CR herbal-acupuncture treatment did not show a significant effect of relieving acute pain. To investigate the anti-inflammatory effect of CR herbal-acupuncture, the second testing model's pain was induced by injecting formalin to its planter. For the last model, carrageenan was injected into tarsal joint. the medicinal effect of CR herbal-acupuncture was evaluated through the behavioral analyses such as licking time, weight distribution ratio and ankle circumference.

**Results** : In the formalin test, the analgesic effect of CR herbal-acupuncture was more pronounced in the late phase (for 20 min after the early phase) than in the early phase (for the first 10 min post formalin injection). It was proven by weight distribution ratio testing and ankle edema testing that herbal-acupuncture of CR inhibited arthritis caused by the carrageenan.

**Conclusions** : These results revealed that CR herbal-acupuncture was effective to alleviate the inflammatory pain and could be used as an analgesic treatment with an anti-inflammatory effect.

**Key words** *Clematidis Radix*, herbal-acupuncture, *Jusanli*(ST<sub>36</sub>), analgesia, arthritis

· 접수 : 2009. 11. 9. · 수정 : 2009. 11. 16. · 채택 : 2009. 11. 17.

· 교신저자 : 김장현, 경기도 성남시 분당구 수내동 87-2번지 동국대학교 부속분당한방병원 한방소아과  
Tel. 031-710-3724 E-mail : kjh@dongguk.ac.kr

## I. 서론

痛症은 生體에 대한 유해자극을 방어할 목적으로 아픔을 느끼는 證候로서 痛覺收容器와 神經纖維로 구성된 구심성 신경로를 통하여 大腦皮質과 가장자리 계통 영역이 맞닿은 부위를 자극하여 일어난다. 痛症은 韓醫學的으로 經脈이 損傷을 받아서 氣血凝滯, 阻塞經絡되어 발생되는데, 그 발생 기전은 寒, 熱, 七情, 痰飲 및 瘀血 등으로 인해 傷氣, 氣虛, 氣滯 등의 상태가 유발되면 氣의 運行障礙로 인하여 통증이 발생하게 된다<sup>1,2)</sup>.

痛症 治療에 대한 研究는 體鍼, 電鍼, 藥鍼 등과 같은 침구학적 실험을 통하여 이루어지고 있으며 이와 관련한 鍼灸治療의 진통기전에 대한 研究도 병행되고 있다<sup>3-6)</sup>. 실제 임상에서 진통적인 鍼灸療法 및 藥物療法과 더불어 藥鍼療法이 많이 사용되고 있는데<sup>7)</sup>, 특히 장<sup>8)</sup>, 한<sup>9)</sup> 등이 통증질환과 관련한 연구로서 威靈仙藥鍼에 대한 보고를 하였다. 藥鍼療法은 韓醫學에서 특정 經穴에 자침하여 經絡의 기능을 조절함으로써 질병을 치료하는 鍼灸, 經穴學의 이론과 藥物을 인체의 기관이나 병소에 접근, 작용시키는 기전을 연구하는 本草學의 이론을 결합시켜 鍼灸治療와 藥物治療의 장점을 결합한 新治療法<sup>7)</sup>으로서 최근 장 등<sup>8-11)</sup>을 통해 각종 藥鍼療法의 효능이 임상 및 실험논문으로 보고되고 있다.

威靈仙(Clematidis Radix: CR)은 미나리아재비과에 속한 多年生 落葉性 蔓莖植物인 으아리와 威靈仙 및 柵團鐵線蓮의 根과 根莖을 건조한 것으로, 祛風除濕, 通絡止痛의 효능이 있어서 風濕痺痛, 肢體麻木, 筋脈拘攣, 屈伸不利 등을 치료하며<sup>12)</sup>, 관절의 염증에 소염 및 해열작용을 하는 것으로 보고된 바 있다<sup>13)</sup>.

이에 저자는 痛症을 비롯한 각종 炎症疾患 치료에 있어서 威靈仙藥鍼의 진통 효능을 알아보기 위하여 威靈仙을 藥鍼으로 제조하여 실험적으로 유발된 數種의 급성 통증 동물 모델을 대상으로 실험하여 그 효능을 관찰한 바 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 실험

### 1. 재료

#### 1) 동물

체중 230~250g, 8주령의 Sprague Dawley계 雌性

흰쥐(Samtaco Co. Ltd, Korea)를 선별하여 사용하였다. 모든 흰쥐는 일정한 환경(20±2℃, 오전 7시부터 시작해서 12시간 간격으로 명암을 유지)을 유지시켰다. 또한 신경세포의 활성화에 영향을 미칠 수 있는 불필요한 요인을 배제하기 위해 실험은 오전 6시부터 10시 사이에 실시하였으며, 흰쥐의 체온은 일정하게 유지시키고 실험 30분 전에 외부 환경을 23~25℃를 유지할 수 있는 observation chamber로 옮겨 실험하였다.

#### 2) 약침액 제조

威靈仙 200g을 증류수에 씻어 물기를 빼고 반응조에 약재를 넣은 다음 증류수를 약재부피와 동량으로 붓고 2시간 동안 침전하였다. 다시 300ml의 증류수를 더 넣고 반응 전열기(TOPS Co., Korea)의 온도 조절 눈금을 5.5에 놓았다가 끓기 시작하면 4.5로 낮추고 냉각기의 전원을 넣었다. 냉각된 藥鍼液이 일차 여과컵에 고이기 시작하면 2시간 후부터 증류액을 200ml 받았다. NaCl을 이용하여 0.9%의 등장액이 되도록 한 뒤 냉장 보관하여 무기염류들이 침강한 후 상층액만 분리해 낸 다음 藥鍼液을 pH 7.3으로 조절하였다. 그 후 0.45µm와 0.1µm의 filter를 이용하여 여과한 후 2기압, 121℃에서 30분간 고압멸균하여 만들어진 藥鍼液을 냉장 보관하여 사용하였다.

#### 3) 세포 배양

Mouse macrophage cell line인 RAW264.7은 (사)한국세포주은행으로부터 분양받았다. RAW 264.7은 10% (v/v) fetal bovine serum (FBS)과 penicillin 100U/ml와 streptomycin 100µg/ml의 항생제를 포함하는 DMED 배지를 사용하여 실험실에서 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 공급조건을 갖춘 동물세포배양기에서 배양하였다.

## 2. 방법

### 1) 실험군의 분류

Tail flick latency test에서는 실험군(ACU, 足三里 藥鍼처치군), 대조군(NOR, 藥鍼 미처치군), 양성대조군(NON-ACU, 임의혈 藥鍼처치군)으로 나누어 실험하였고, formalin test 및 carrageenan-induced arthritis에서는 실험군(ACU, 족삼리 藥鍼처치 후 관절염 유발군), 대조군(CON, 관절염 유발 후 미처치군), 양성대조군(NON-ACU, 임의혈 藥鍼처치 후 관절염 유발

군)으로 나누어 실험하였다.

## 2) 약침 처치

威靈仙藥鍼은 세포실험에서 나온 농도를 참고로 하여 1/8희석된 藥鍼液을 사용하였고 흰쥐의 인체의 足三里(ST<sub>36</sub>)에 상응하는 부위에 30게이지 藥鍼기로 주입하였다. 양성 대조군은 혈자리가 아닌 부위 중 흰쥐의 꼬리 기저부의 한 곳에 근육주사 하였으며 대조군은 아무런 처치도 하지 않았다. Tail flick latency test 분석에서는 0.05ml의 藥鍼을 실험시작 5분전에 양측 다리의 足三里(ST<sub>36</sub>)에 1회 주사하였고 formalin test의 경우에는 formalin 주입 5분 전에 0.05ml의 藥鍼을 환측다리(formalin을 주입한 다리)의 足三里(ST<sub>36</sub>)에 1회 주사하였다. Carrageenan-induced arthritis 경우에는 carrageenan 주입 5분 전에 0.05ml의 藥鍼液을 환측 다리(carrageenan을 주입한 다리)의 足三里(ST<sub>36</sub>)에 1회 주사한 후, 양측 다리의 체중분배 비율과 발목 둘레 차이를 carrageenan 주입 전과 주입 후 2, 4, 6, 8 및 24시간에 각각 측정하였다.

## 3) MTT assay

RAW 264.7 세포에 대한 威靈仙藥鍼液의 독성 여부를 측정하기 위하여 세포활성 측정법인 MTT assay를 수행하였다. RAW 264.7 세포를 동물세포 배양용 96 well plate에 8.5×10<sup>4</sup> cells의 농도로 준비하였다. 威靈仙藥鍼液 처리 전에 FBS가 포함되지 않은 배지에 3시간 동안 적응을 시켰다. 이후 각각의 농도로 준비된 威靈仙藥鍼液과 PBS를 처리하고 24 및 48시간 동안 배양한 후 5mg/ml의 MTT를 각 well당 10μl씩 첨가하였고, MTT가 환원되도록 1시간 더 배양하였다. 배양 종료 후, 상층액을 제거하고 배지와 동량의 acidified isopropanol을 첨가하여 10분간 방치하였다. 흡광도는 Emax<sup>TM</sup> ELISA reader(Molecular Devices Co, USA)로 570nm에서 측정하였다.

## 4) Tail flick latency test

흰쥐의 꼬리 끝으로부터 5.5cm까지를 50℃의 물 안에 담근 후 흰쥐가 꼬리를 들기까지의 시간을 초시계로 0.1초 간격으로 측정하였다. 실험 시에 방안의 온도는 22±1℃를 유지하였으며 흰쥐는 스트레스를 최소화하기 위해 움직임이 용이한 홀더 안에 넣고 진행되었다. 威靈仙藥鍼 주입 30분 전에 10분 간격으로 3번의 준비실험을 통하여 4~7초 사이에 꼬리를 드는 흰쥐들만을 선별한 후 실험에 사용하였다. 각 군별로

威靈仙藥鍼을 처치한 후 10분 간격으로 8회에 걸쳐서 꼬리를 드는 시간을 측정하였다.

## 5) Formalin test

Formalin test는 항상 25℃가 유지되며 외부의 소음이 완전히 차단되는 chamber에서 실시하였다. 흰쥐들을 실험 장소로 옮기고 1시간의 적응 기간을 거친 다음 威靈仙藥鍼 자극을 실시하고 5분 후에 실험용 흰쥐의 우측 발바닥에 5% formalin(0.37% formaldehyde) 50μl을 피하주사(30gauge, 녹십자)로 주입하였다. 주사 후 즉시 흰쥐들을 거울을 설치한 플라스틱 chamber(20×20×20)에 넣어 행동의 변화를 관찰하였다. Formalin을 투여한 우측의 발바닥을 입으로 핥거나 깨무는 등의 행동을 보이는 것을 formalin-induced pain behavior로 간주하였으며 이러한 흰쥐들의 행동을 formalin 투여 후 30분 동안 video camera recording system으로 녹화하고 5분 간격으로 관찰하여 licking time을 측정하였고 초기반응기(early phase, 0~10분)와 후기반응기(late phase, 10분~30분)로 나누어 관찰하였다.

## 6) Carrageenan-induced arthritis

염증유발은 50μl 멸균 생리식염수에 녹인 0.7% carrageenan lamda(Sigma, St Louis, MP, USA)를 오른쪽 발목 관절강 내에 주사하였다. 발목 관절염에서 통증의 정도를 측정하기 위하여 양측 다리의 체중분배 비율과 발목 둘레 차이를 유발 전과 유발 후 2, 4, 6, 8 및 24시간에 각각 측정하였다.

Dual channel scale을 이용하여 양측 다리의 체중분배 비율을 정량적으로 측정할 수 있는 디지털형 통증 측정장치를 제작하였다. 쥐를 경사진 아크릴 통에 넣어서 하지가 mechano-transducer(CASS Co, BCL-1L, CI-2001A, Korea)에 위치하게 함으로서 각 하지에 실리는 체중의 5초 평균을 4회씩 반복 측정하여 그 평균값을 사용하였다. 체중분배 비율을 다음과 같은 공식 사용하여 산출하였다.

$$\% \text{WDR}(\text{Weight Distribution Ratio}) = 100 \times (\text{Weight borne by ipsilateral paw} / \text{total weight borne by both paws})$$

또한 발목 둘레의 차이를 알아보기 위해 藥鍼 시술 후 각 시점(0, 2, 4, 6, 8, 24시간)에서 흰쥐의 발목 관절을 굴절시킨 상태로 발목관절의 둘레를 flexible하고 non-elastic한 band를 이용하여 5초 간격으로 2회

씩 측정하였으며 carrageenan 주입 전의 정상 발목둘레에 대한 carrageenan 주입 후 발목둘레 간의 차이를 다음과 같은 수식을 이용하여 각 군별로 나타내었다.

$$\% \text{ difference of ankle circumference} = 100 \times (\text{Circumference post} - \text{circumference pre}) / \text{circumference pre}$$

Circumference post : circumference at each time point after carrageenan injection

Circumference pre : circumference of normal ankle before carrageenan injection

### 3. 통계처리

실험결과는 모두 Mean±SD로 표시하였으며, 행동 실험결과는 one-way 또는 repeated ANOVA를 사용하여 분석하였고 유의수준은  $p < 0.05$ 로 하였다. 보다 정확한 검증을 위해 tukey post hoc test를 사후검증 방법으로 사용하였다. 통계 프로그램은 Windows용 SPSS 8.0을 사용하였다.

## Ⅲ. 성 적

### 1. 세포독성 반응검사

威靈仙藥鍼液은 순차적으로 희석하여 사용하였는데 1/16의 농도까지는 24시간과 48시간에서 모두 세포독성을 나타내었지만 1/32의 농도에서부터 세포독성이 감소하기 시작하였으며 48시간 처리군의 경우 PBS

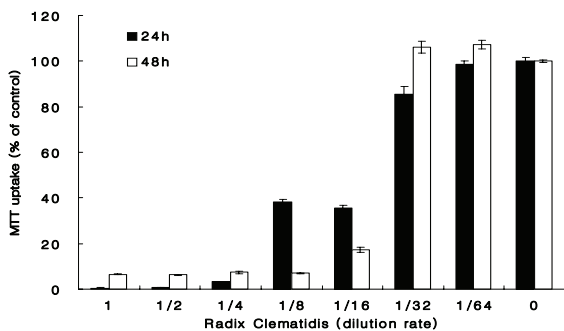


Fig. 1. The cytotoxic test of *Clematidis Radix* herbal acupuncture on RAW 264.7 cells

RAW 264.7 cells were treated with various concentrations of *Clematidis Radix* herbal acupuncture, and cytotoxicity was measured by using MTT assay.

(phosphate-buffered saline)를 처리한 세포보다 오히려 세포 성장을 촉진시키는 결과를 보였다(Fig. 1).

### 2. 급성통증 억제효과

威靈仙藥鍼의 통증억제 효과는 tail flick latency 분석을 통하여 확인하였다. 실험군, 대조군, 양성대조군이 50°C의 물에 꼬리를 담근 후 쥐가 꼬리를 들기까지의 시간은 각 군별로 30분부터 차이가 나기 시작하여 70분째에 실험군이 대조군과 양성대조군에 비해 증가하였으나 통계적인 유의성은 보이지 않았다(Fig. 2).

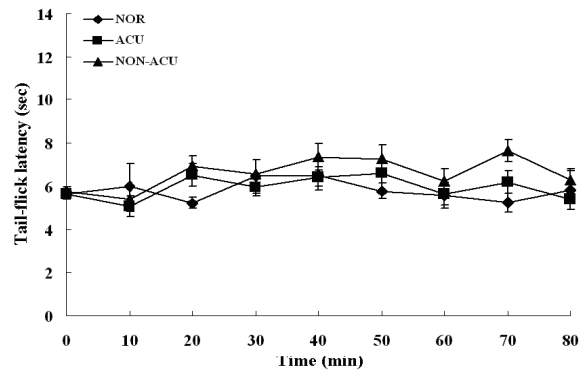


Fig. 2. Inhibition effect of *Clematidis Radix* herbal acupuncture on acute pain

Nor : No treatment group.

Acu : Treatment group with CR herbal acupuncture on *Jusanli*(ST<sub>36</sub>).

Non-Acu : Treatment group with CR herbal acupuncture on voluntary acupoint.

### 3. 통증행동 억제효과

흰쥐의 발바닥에 formalin을 주입 후 나타나는 행동을 30분 동안 관찰한 바 formalin-induced paw licking time의 변화는 초기 반응기에서는 각각 대조군 111.13±7.90초, 실험군 117.19±9.24초, 양성대조군 87.37±10.26초로서 각 군별로 유의성 있는 차이를 나타내지 않았으며 후기 반응기에서는 각각 대조군 303.27±18.82초, 실험군 127.89±18.35초, 양성대조군 289.61±23.48초로 나타났다(Table 1).

후기 반응기에 나타난 威靈仙藥鍼의 통증 행동 억제 효과는 威靈仙 실험군이 대조군과 양성 대조군에 비해 통증 행동이 발현된 licking time에서 유의한 ( $p < 0.001$ ) 감소를 보였고 대조군과 양성 대조군 사이에서는 실험적 유의성이 없었다(Fig. 3).

Table 1. Inhibition Effect of Pain Behavior on *Clematidis Radix* Herbal Acupuncture

Animal groups	Paw licking time(sec)	
	Early phase	Late phase
CON	111.13±7.90 <sup>a)</sup>	303.27±18.82
ACU	117.19±9.24	127.89±18.35 <sup>***</sup>
NON-ACU	87.37±10.26	289.61±23.48

a) Mean±S.D.  
 Con : Arthritis induced group with no treatment  
 Acu : Arthritis induced group after CR herbal acupuncture on *Jusanli*(ST<sub>36</sub>).  
 Non-Acu : Arthritis induced group after CR herbal acupuncture on voluntary acupoint.  
 \*\*\* :  $p < 0.001$  statistical significants compared with control group.

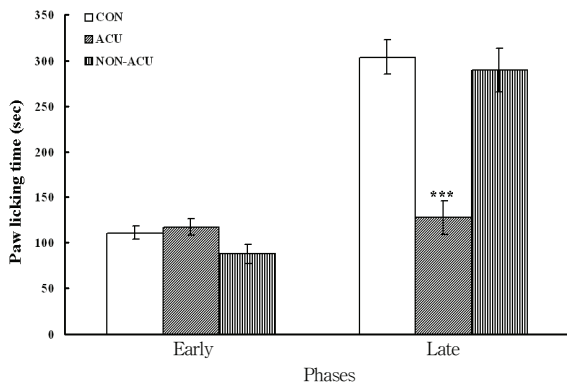


Fig. 3. Inhibition effect of pain behavior on *Clematidis Radix* herbal acupuncture

Con : Arthritis induced group with no treatment.  
 Acu : Arthritis induced group after CR herbal acupuncture on *Jusanli*(ST<sub>36</sub>).  
 Non-Acu : Arthritis induced group after CR herbal acupuncture on voluntary acupoint.  
 \*\*\* :  $p < 0.001$  statistical significants compared with control group.

#### 4. Carrageenan-induced arthritis 진통 및 부종 억제 효과

##### 1) 체중분배비율(Weight distribution ratio)

발목관절염을 유발하기 전에는 각각 대조군 48.82±0.92%; 실험군 50.09±0.46%; 양성 대조군 48.09±1.43%로 체중분배비율이 양쪽 다리에 골고루 분포되어 균형있는 양상을 보였으나 유발 후 2시간부터 감소하기 시작하였고 6과 8시간째에서는 실험군이 30.71±3.59%, 27.20±4.04%로서 대조군 19.03±3.08%, 15.39±3.13%에 비해 체중분배 비율이 유의성( $p < 0.05$ ) 있게 증가하였다.

양성 대조군은 22.46±1.67%, 18.16±2.02%로서 대조군과 비슷한 양상을 보였다(Table 2, Fig. 4).

Table 2. Effect of *Clematidis Radix* Herbal Acupuncture on Weight Distribution Between Paws of Carrageenan-Induced Arthritis on Rat

Time after formalin injection (hr)	Weight distribution ratio (WDR %)		
	CON	ACU	NON-ACU
0	48.82±0.92 <sup>a)</sup>	50.09±0.46	48.09±1.43
2	42.13±1.92	46.37±2.70	44.00±1.82
4	33.41±2.25	31.81±3.63	30.51±3.85
6	19.03±3.08	30.71±3.59*	22.46±1.67
8	15.39±3.13	27.20±4.04*	18.16±2.02
24	30.19±3.13	38.56±3.33	25.22±2.83

a) Mean±S.D.  
 Con : Arthritis induced group with no treatment.  
 Acu : Arthritis induced group after CR herbal acupuncture on *Jusanli*(ST<sub>36</sub>).  
 Non-Acu : Arthritis induced group after CR herbal acupuncture on voluntary acupoint.  
 \* :  $p < 0.05$  statistical significants compared with control group.

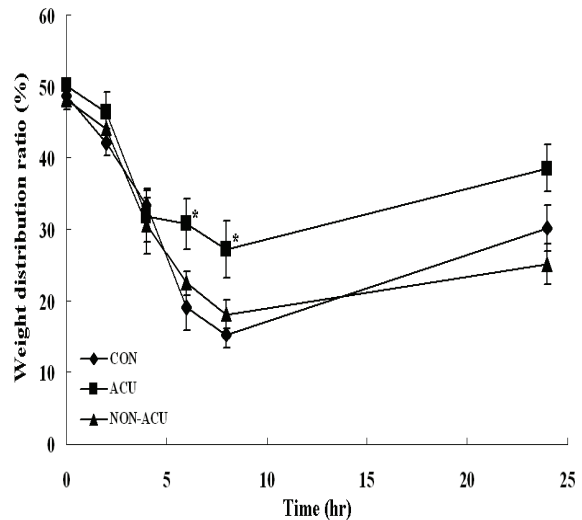


Fig. 4. Effect of *Clematidis Radix* herbal acupuncture on weight distribution between paws of carrageenan-induced arthritis on rat

Con : Arthritis induced group with no treatment.  
 Acu : Arthritis induced group after CR herbal acupuncture on *Jusanli*(ST<sub>36</sub>).  
 Non-Acu : Arthritis induced group after CR herbal acupuncture on voluntary acupoint.  
 \* :  $p < 0.05$  statistical significants compared with control group.

Table 3. Effect of *Clematidis Radix* Herbal Acupuncture on Ankle Circumference of Carrageenan-Induced Arthritis on Rat

Time after formalin injection (hr)	Ankle circumference difference (%)		
	CON	ACU	NON-ACU
0	0	0	0
2	13.00±1.58 <sup>a)</sup>	7.19±2.22	9.82±2.27
4	33.68±1.68	25.65±3.13	31.99±3.07
6	42.14±1.28	33.46±2.35*	41.21±2.09
8	47.33±2.16	36.30±2.14*	46.31±2.82
24	33.66±1.83	26.74±2.13	35.10±2.10

a) Mean±S.D.

Con : Arthritis induced group with no treatment.

Acu : Arthritis induced group after CR herbal acupuncture on *Jusanli*(ST<sub>36</sub>).

Non-Acu : Arthritis induced group after CR herbal acupuncture on voluntary acupoint.

\* :  $p < 0.05$  statistical significant compared with control group.

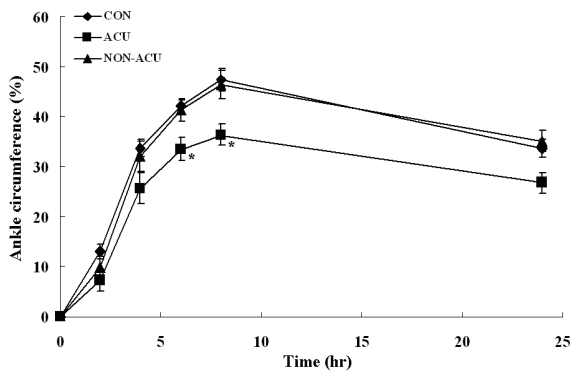


Fig. 5. Effect of *Clematidis Radix* herbal acupuncture on ankle circumference of carrageenan-induced arthritis on rat

Con : Arthritis induced group with no treatment.

Acu : Arthritis induced group after CR herbal acupuncture on *Jusanli*(ST<sub>36</sub>).

Non-Acu : Arthritis induced group after CR herbal acupuncture on voluntary acupoint.

\* :  $p < 0.05$  statistical significant compared with control group.

## 2) 발목 둘레(Ankle circumference)

발목관절염을 유발하기 전에는 각 군들의 발목 둘레가 비슷하게 측정되었으나 유발 후 2시간부터 모든 군이 발목둘레가 증가하였다. 대조군이 0%, 13.00±1.58%, 33.68±1.68%, 42.14±1.28%, 47.33±2.16%, 33.66±1.83%으로 8시간까지 지속적인 발목둘레의 증가를 보인데 반해 실험군은 4시간째부터 다른 군들과 발목둘레의 차이가 나기 시작하였으며 6과 8시간째에는 33.46±2.35%, 36.30±2.14%로 대조군에 비해 발목둘레

의 증가량이 유의성( $p < 0.05$ ) 있게 감소하는 것으로 나타났다. 양성 대조군은 대조군과 비슷한 양상을 보였다(Table 3, Fig. 5).

## IV. 고찰

痛症은 인체가 物理的 또는 化學的 자극을 받았을 때 나타나는 神經系統의 반응이며 生體에 대한 유해 자극을 방어할 목적으로 아픔을 느끼는 證候로서 질병의 다수가 통증을 수반하고 있다는 점에서 중요하게 인식되고 있다. 傷科에서는 주로 損傷으로 인한 것이며 韓醫學的으로는 經脈이 損傷을 받아서 氣血凝滯, 阻塞經絡되어 疼痛을 발생시키게 되는데 그 발생 기전은 寒, 熱, 七情, 痰飲 및 瘀血등으로 인해 傷氣, 氣虛, 氣滯 등의 상태가 유발되면 氣의 運行障導로 인한 통증이 발생하게 된다<sup>2,14</sup>. 따라서 韓醫學에서의 痛症은 諸痛皆屬於氣라고 包括할 수 있다. 韓醫學에선 예전부터 痛症을 虛症과 實症으로 나누어 치료하였으며 虛症은 體내의 正氣가 虛한 상태에서 邪氣가 침입하여 脈寒, 氣逆, 氣虛등을 초래하여 脈不通하여 발생하는 것이고 實證은 邪氣가 體내의 眞氣와 相搏하여 鬱而成熱하면 血氣亂하여 脈滿, 脈充大, 脈緊大 등을 초래하면서 痛症이 야기되는 것이다<sup>2,14,15</sup>.

痛症의 치료는 東西洋醫學 전반에 걸쳐 藥物, 神經遮斷, 電氣刺戟, 鍼灸治療 등의 여러 가지 치료방법이 연구되고 있으며 韓醫學에서는 전통적으로 藥物治療와 鍼灸治療가 주를 이루었다. 하지만 최근 들어 이

외에도 藥鍼, 電鍼, 光鍼 등 다양한 치료방법이 시도되고 있다<sup>3-11)</sup>.

藥鍼療法은 韓醫學의 기본이론을 토대로 經絡, 穴位의 治療作用을 유발시키고 藥物의 藥理作用과 注射方法을 병용시켜 형성된 일종의 독특한 療法으로 鍼灸學의 效能과 本草學의 效能의 장점이 동시에 상승적으로 발현되는 장점이 있다. 따라서 藥鍼의 效能은 鍼術의 신속성과 韓藥의 안정성과 유효성이 인체 내에서 상승작용을 하며 직접적으로 나타나는데 이러한 效能은 모든 疾患에서 발휘되지만 특히 慢性 難治病, 成人病, 腫瘍 및 疼痛性 疾患 등에서 특수한 效果를 나타내고 있다<sup>7,11)</sup>.

威靈仙은 미나리아재비과에 속한 多年生 落葉性 蔓莖植物인 으아리와 威靈仙 및 棉團鐵線蓮의 根과 根莖을 건조한 것으로 약리학적 주요성분은 anemonin, anemonol, sterol, saccharides, saponin, lacton, phenols and amino acid 등으로 밝혀져 있으며, 性味가 辛散 溫通하고 性猛善走하므로 肌表에 작용하여 表에 있는 風濕의 邪氣를 祛하며 經絡을 通하게 하여 止痛케 되므로 風濕痺痛을 치료하는 要藥이 되며, 風邪가 偏勝하여 游走性으로 肢體가 疼痛하는 證에 사용된다<sup>12)</sup>. 《景岳全書》에는 性味가 溫하여 腰膝肢體冷痛을 치료하며 性利善走하여 痛風을 치료하는 要藥이라 하였고<sup>16)</sup>, 《醫學入門》에서는 歷節痛風이 身體上下部로 돌아다니는 경우와 腰, 膝, 脚이 冷痛한 경우, 皮膚風痒, 白癩 등을 치료하며 十二經脈을 流通케 하는 治痛의 要藥이라고 하였다<sup>17)</sup>. 《本經疏證》에는 宣通五臟하며 腹內冷滯와 心膈痰水久積, 癥瘕, 疝癖, 腰膝冷痛을 다스린다고 하여 威靈仙이 痛症을 치료하는데 쓰였음을 알 수 있다<sup>18)</sup>.

이에 저자는 韓醫學에서 風寒濕邪를 몰아내고 經絡을 소통시키며 風濕痺痛, 肢體疼痛, 關節疼痛을 치료하는데 다용되는 威靈仙을 藥鍼으로 제조하여 痛症에 대한 抑制效果를 알아보려고 하였다.

실험은 tail flick latency test와 formalin 유도에 의한 통증과 carrageenan으로 유발한 발목 관절염의 흰쥐 모델을 통해 혈자리와 비 혈자리로 나누어 통증억제와 항염증성의 두 가지 측면에서 진행하였다.

먼저 威靈仙 藥鍼液의 세포 독성을 살펴보기 위하여 MTT assay를 수행하였다. 威靈仙藥鍼液을 순차적으로 희석하여 RAW 264.7에 처치하였을 때 1/16의 농도까지는 강한 세포독성을 나타내었지만 1/32의 희석농도에서부터 세포독성이 급격하게 감소하기 시작하였으며 장시간 처리한 경우 PBS를 처리한 세포보

다 오히려 세포 성장을 촉진시키는 결과를 보였다.

흰쥐의 통증에 대한 감각 정도를 알아보기 위해 tail flick latency를 측정하였는데 TFL이 길수록 특정 통증에 대해 둔감하다고 해석하였다<sup>19)</sup>. TFL이 70분째에 실험군이 대조군과 양성 대조군에 비해 증가하는 양상을 보였으나 통계적인 유의성은 보이지 않았다.

진통효과의 실험적 검증을 위해서 임상적 통증과 유사한 formalin test<sup>20-22)</sup>를 많이 사용하고 있는데, formalin test는 손상된 조직으로부터 발생하는 완만하고 지속적인 통증에 대한 생체의 반응을 관찰할 수 있다는 점에서 기계적인 자극이나 열 자극을 이용한 방법보다 임상적인 만성통증에 더 유효한 실험 모델로 인정되고 있다<sup>23,24)</sup>.

Formalin-induced pain model에서는 주로 통증 양상이 early phase 와 late phase의 biphasic 양상을 나타낸다<sup>25)</sup>. 즉 formalin 주입 후 3~5분간 일시적이고 과격한 통증반응의 행동(급성기: 제1기 반응)이 나타난 후 줄어들고 이후 통증으로 인한 행동을 거의 나타내지 않으며 다시 formalin 주입 후 15~20분 후부터 지속적이고 강한 통증반응(지연기: 제2기 반응)이 재개 되는데 20~40분간 지속된다<sup>24)</sup>. Dickenson은 전기 생리학적 연구에서 formalin 주입 후 spinal dorsal horn cell의 활성 변화 역시 biphasic pattern을 나타내는데, 이는 시간경과에 따른 formalin-induced pain behavior와 그 양상이 매우 유사하다고 하였다<sup>23)</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 관여한다고 알려져 있다. Late phase는 말초조직에서의 formalin으로 인한 염증반응과 spinal dorsal horn에서의 기능적 변화의 복합작용에 의해 일어나는데 histamine, serotonin, prostaglandins 및 bradykinin 등이 관여하고<sup>26)</sup> 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>22,27,28)</sup>.

본 실험에서 초기반응기에서는 각 군별로 유의성 있는 차이를 나타내지 않았지만 후기 반응기에서 실험군이 대조군과 양성 대조군에 비해 formalin-induced pain behavior를 강하게 억제함으로써 威靈仙藥鍼의 足三里(ST<sub>36</sub>) 처치는 formalin으로 유발된 염증

반응<sup>26,29,30)</sup>을 억제시키는 효능을 나타내었으며, 威靈仙藥鍼의 임의 혈자리 처치는 별다른 효능을 보이지 않음을 알 수 있었다.

Carrageenan은 다양한 종류의 염증, 다리 부종과 급성 관절염 등 많은 동물 모델의 연구에서 사용되어 왔으며 최근들어 진통제제로 알려진 약들의 항통증과 항염증의 효능을 검증하기 위해 사용되고 있다. 실험에서는 carrageenan-induced arthritis에서 weight distribution ratio(WDR)와 부종의 크기를 측정함으로써 威靈仙藥鍼의 항염증 효능을 알아보았다. WDR은 통증의 정도를 측정하는 방법<sup>31)</sup> 중의 하나로서 관절염 모델에서 관절염으로 인한 장애를 측정<sup>32)</sup>할 때 가장 많이 사용되고 있다. WDR을 이용하여 관절염으로 인한 통증상태를 측정하였는데, 유발 전에 50%였던 우측 하지의 체중분배비가 관절염 유발 후 시간이 지날수록 감소하여 8시간 후에는 대조군의 경우 15% 내외까지 감소하였다. 이에 비해 실험군은 30% 정도의 감소율을 보임으로써 다른 군들에 비해 관절염으로 인한 통증이 덜함을 보여주었다. 관절염의 유발로 인한 부종의 정도를 알아보기 위하여 발목둘레를 측정하여 유발 전후의 증가량을 알아보았는데 대조군과 양성 대조군은 유발 후 8시간 만에 48% 정도의 증가량을 보였지만 威靈仙藥鍼을 足三里(ST<sub>36</sub>)에 처치한 실험군은 35% 정도로 부종 크기의 증가가 덜 함을 보여주었다. 따라서 carrageenan으로 유발한 발목 관절염 모델에서 威靈仙藥鍼을 足三里(ST<sub>36</sub>)에 처치하였을 때 통증을 완화 시켜 체중분배비 감소와 부종의 증가를 억제시키는 효능이 있음을 알 수 있었다.

威靈仙의 증류추출물인 威靈仙藥鍼은 임의 혈자리에 처치하였을 때 미처치군과 별다른 차이를 보이지 않았으나 藥鍼을 足三里(ST<sub>36</sub>)에 처치하였을 때는 formalin으로 유발된 염증 상태에서 formalin-induced pain behavior를 강하게 감소시킴으로써 염증억제 효능을 나타내었고, carrageenan으로 유발한 발목 관절염 모델에서는 통증을 완화하고 부종을 억제하는 효능을 나타내었다. 따라서 威靈仙藥鍼의 足三里(ST<sub>36</sub>)처치가 진통과 염증의 억제에 효과적으로 사용될 수 있을 것으로 보여진다. 또한 威靈仙藥鍼의 足三里(ST<sub>36</sub>) 처치는 관절염에서도 효능을 나타내었지만, 관절염은 prostaglandins<sup>33)</sup>, bradykinin<sup>34)</sup>, NO<sup>35)</sup>, 5-hydroxytryptamine<sup>36)</sup> and histamine<sup>37)</sup> 등의 다양한 염증관련 인자들이 관여하여 일어나는 것이므로 이와 관련된 다방면의 추가적 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## V. 결 론

威靈仙藥鍼의 진통효과를 알아보기 위하여 威靈仙을 藥鍼으로 제조하여 실험적으로 유발된 흰쥐의 급성 통증 동물 모델을 대상으로 足三里(ST<sub>36</sub>)에 威靈仙藥鍼을 시술한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 威靈仙藥鍼의 통증억제 효과를 알아보기 위하여 Tail Flick Latency Test를 한 결과 통계적 유의성은 없었다.
2. 통증행동 억제효과에서 formalin 주입 후 formalin-induced paw licking time을 측정할 결과 초기 반응기(early phase)에서는 별 차이가 없었으나, 후기 반응기(late phase)에서는 실험군이 대조군과 양성 대조군에 비해 통증 행동이 발현된 licking time에서 유의성이 있었다.
3. Carrageenan-induced arthritis 진통 실험에서 체중분배비율(weight distribution ratio)은 6~8시간 이후부터 실험군이 유의성 있게 증가하였다.
4. Carrageenan-induced arthritis 부종억제 실험에서는 4시간째부터 실험군에서 발목 둘레의 증가량이 유의성 있게 감소하였다.

## VI. 참고문헌

1. Dudler TA. Link between catalytic activity, IgE-independent mast cell activation, and allergenicity of bee venom phospholipase. A2. J Immunol. 1995 ; 155(5) : 2605-13.
2. 송효정. 통증에 관한 동서의학적 고찰. 대한한의학회지. 1985 ; 6(2) : 98-117.
3. 김경태, 송호섭. 상완골외측상과염에 대한 봉약침 요법이 미치는 영향. 대한약침학회지. 2006 ; 9(2) : 93-7.
4. 신흥기, 박동석, 이경희. 만성통증이 유발된 흰쥐에서 관찰된 침진통 효과의 세로토닌성 기전. 대한한의학회지. 2005 ; 26(3) : 239-48.
5. 신흥기, 박동석, 이서은. 전침자극이 만성통증을 억제하는 아드레날린성 기전에 대한 연구. 대한한의학회지. 2004 ; 25(3) : 67-77.
6. 황영준, 김장현. 비침습레이저 조사기를 이용한 통증 치험례에 대한 증례보고. 대한한방소아과학회



- 지. 2006 ; 20(3) : 51-60.
7. 이해정. 약침학 개론 및 임상. 서울 : 일증사. 1999 : 13-7.
  8. 장준혁. 黃栢 및 威靈仙藥鍼이 lipopolysaccharide 유발 관절염의 IL-1 $\beta$  발현 억제에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1999 ; 16(1) : 511-31.
  9. 한상원, 장현석, 최종백. 위령선 수침이(威靈仙水鍼) 통풍유발(痛風誘發) 흰쥐의 병리적 소견에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1994 ; 11(1) : 485-98.
  10. 고창남, 민인규, 박성욱, 정우상, 문상관, 박정미, 조기호, 김영석, 배형섭. 뇌졸중 환자의 견관절 통증에 대한 봉독藥鍼의 임상효과. 대한한의학회지. 2007 ; 28(1) : 11-24.
  11. 백승일, 안중철, 김영진, 김형석, 권기록. 대한침구학회지에 게재된 藥鍼관련 논문의 유형분석. 대한침구학회지. 2006 ; 23(6) : 19-27.
  12. 전국한의과대학 본초학교실. 本草學. 서울 : 영림사. 1991 : 261-3.
  13. 유석. 威靈仙이 관절염 유발 동물모델의 소염, 진통 및 해열작용에 미치는 영향. 동국대학교 대학원. 2004.
  14. 전국한의과대학 재활의학과학교실. 동의재활의학과학. 서울 : 서원당. 1995 : 66.
  15. 최승훈. 한방병리학. 서울 : 일증사. 1997 : 171-6
  16. 전용민. 재편경약전서 본초증. 서울 : 대성의학사. 1999 : 392.
  17. 安秉國. 국역편주의학입문 II 本草上. 서울 : 남산당. 1974 : 214-5.
  18. 임진석. 本經疎證 下. 서울 : 아티전. 1998 : 707-8.
  19. Suh YD, Park JM, Kim MJ, Chon MH, Yang GB, Jang SH, Kang CJ, Kim JT and Kim YS. Effect of chronic tryptophan deficient diet on nociceptive sensitivity in mice. Journal of the Korean Society of Biological Therapies in Psychiatry. 2000 ; 6(1) : 68-82.
  20. Hunskaar S, Berge OG, Hole K. Dissociation between antinociceptive and anti-inflammatory effects of acetylsalicylic acid and indomethacin in the formalin test. Pain. 1986 ; 25 : 125-32.
  21. Hunskaar S, Hole K. The formalin test in mice : dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. Pain. 1987 ; 30 : 103-14.
  22. Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H, Inoki R. Modified formalin test ; characteristic biphasic pain response. Pain. 1989 ; 38 : 347-52.
  23. Dickenson AH and Sullivan AF. Subcutaneous formalin-induced activity of dorsal horn neurons in the rat: differential response to an intrathecal opiate administered pre or post formalin. Pain. 1987 ; 30 : 349-60.
  24. Tjolsen A, Berge O-G, Hunskaar S, Rosland JH and Hole K. The formalin test ; an evaluation of the method. Pain. 1992 ; 51 : 5-17.
  25. Dubuisson D and Dennis SG. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effect of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. Pain. 1977 ; 4 : 161-74.
  26. Rosland JH, Tjolsen A, Maehle B, Hole K. The formalin test in mice, effect of formalin concentration. Pain. 1990 ; 42 : 235-42.
  27. Bullitt E. Expression of c-fos like protein as a marker for neuronal activity following noxious stimulation in the rat. J Comp Neurol. 1990 ; 296 : 517-30.
  28. Heapy CG, Jamieson A, Tussell NJW. After C-fibre and A-delta activity in models of inflammation. Br. J. Pharmacol. 1987 ; 90 : 164.
  29. Nikfar S, Abdollahi M, Etemad F, Sharifzadeh M. Effects of sweetening agents on morphine-induced analgesia in mice by formalin test. General Pharmacology. 1997 ; 29 : 583-6.
  30. Nikfar S, Abdollahi M, Sharifzadeh M, Eftekhari N. Interaction between lead acetate and morphine on antinociception in mice by formalin test. General Pharmacology. 1998 ; 30 : 489-93.
  31. Schött E, Berge OG, Angeby-Möller K, Hammarström G, Dalsgaard CJ, Brodin E. Weight bearing as an objective measure of arthritic pain in the rat. J Pharmacol Toxicol Methods. 1994 ; 31 : 79-83.
  32. Urban MO, Gebhart GF. Supraspinal contributions to hyperalgesia. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1999 ; 96 : 7687-92.
  33. Zhang Y, Shaffer A, Portanova J, Seibert K, Isakson PC. Inhibition of cyclooxygenase-2 rapidly reverses inflammatory hyperalgesia and prostag-

- landin E2 production. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1997 ; 283 : 1069-75.
34. Wirth KJ, Alpermann HG, Satoh R, Inazu M. The bradykinin antagonist Hoe 140 inhibits carrageenan- and thermally induced paw oedema in rats. *Agents and Actions Supplements*. 1992 ; 38 : 428-31.
35. Handy RL, Moore PK. A comparison of the effects of L-NAME, 7-NI and L-NIL on carrageenan-induced hindpaw edema and NOS activity. *British Journal of Pharmacology*. 1998 ; 123 : 1119-26.
36. Holsapple MP, Schnur M, Yim GK. Pharmacological modulation of edema mediated by prostaglandin, serotonin and histamine. *Agents and Actions*. 1980 ; 10 : 368-73.
37. Stochla K, Maslinski S. Carrageenan-induced oedema in the rat paw. -histamine participation. *Agents and Actions*. 1982 ; 12 : 201-2.