

원저

농도 차이에 따른 腎俞(BL₂₃) · 大腸俞(BL₂₅) 봉독약침이 백서의 신경병리성 동통모델에 미치는 영향

강수우 · 방성필 · 김재홍 · 위통순 · 윤여충

동신대학교 한의과대학 침구과교실

Abstract

Effects of Bee Venom Acupuncture at *Sinsu*(BL₂₃) and *Daejangsu*(BL₂₅) in Different Concentration on Neuropathic Pain Induced by Tibial and Sural Nerve Injury in Rats

Chiang Suo-yue, Bang Sung-pil, Kim Jae-hong, Wei Tung-sheun and Yun Yeo-choong

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

Objectives : This study was designed to investigate the effects of bee venom acupuncture at *Sinsu*(BL₂₃) and *Daejangsu*(BL₂₅) on neuropathic pain induced by tibial and sural nerve injury in rats.

Methods : Neuropathic pain model was made by partial resection of tibial and sural nerve. Three weeks after the neuropathic surgery, bee venom acupuncture was firstly injected at BL₂₃ and BL₂₅, then we measured withdrawal responses induced by von Frey filament and acetone stimulation. Bee venom acupunctures were injected 6times on every 2days. Measurement of withdrawal responses were conducted on the same days. After bee venom acupuncture injection, expression levels of c-Fos, nociceptin and KOR-3 were observed through using immunohistochemistry.

Results : In this experiment, bee venom acupunctures at BL₂₃ and BL₂₅ decreased levels of withdrawal responses induced by von Frey filament and acetone stimulation respectively. In addition, expression levels of c-Fos, nociceptin and KOR-3 in central gray part of brain in rats were decreased by bee venom acupuncture.

Conclusions : These results imply that bee venom acupuncture was useful to treat patients with neuropathic pain, and related mechanisms were involved in opioid and their receptors such as nociceptin and KOR-3.

Key words : Bee venom acupuncture, *Sinsu*(BL₂₃), *Daejangsu*(BL₂₅), c-Fos, Nociceptin, KOR-3

- 접수 : 2010. 7. 9. · 수정 : 2010. 10. 11. · 채택 : 2010. 10. 11.
· 교신저자 : 위통순, 전남 순천시 조례동 1722-6번지 동신대학교 부속순천한방병원 침구과
Tel. 061-729-7133 E-mail : tiger-tung@hanmail.net

I. 서론

Mitchell에 의해 처음으로 언급된 신경병리성 동통 증후군(neuropathic pain syndrome)¹⁾은 말초신경 또는 조직이 손상을 받아 발생하는 만성통증으로 특별한 자극없이 발생하는 자발통, 정상적으로는 통증을 일으키지 않는 자극에 의하여 발생하는 이질통, 정상적으로 통증을 일으킬 만한 자극에 더욱 민감하게 반응하여 발생하는 과통증 등의 증상이 있다²⁾.

한의학에서 痺症은 閉阻不通의 의미로 血氣가 막혀 통하지 않아 통증을 나타내는 증상이며³⁾, 痺症의 범주에 腰脚痛, 腰脚痠攣, 股幹痛, 脚筋痛 등이 포함된다고 할 수 있다⁴⁾.

봉독요법은 살아 있는 꿀벌의 독(bee venom)을 추출하여 질병과 유관한 부위 및 경혈에 주입하는 요법으로 근육과 관련된 각종 통증의 경감 및 관절염 등에 항염증 목적으로 사용되어 왔다⁵⁾.

腎俞(BL₂₃)는 調腎氣, 強腰脊하는 효능으로 腰痛, 腰部軟部組織 損傷, 小兒痲痺後遺症 등에 효과가 있고, 大腸俞(BL₂₅)는 調腸胃, 利腰膝하는 효능으로 腰腿痛, 腰部捻挫, 薦腸關節痛 등에 효과가 있다⁶⁾.

최근 봉독요법에 관한 연구로 이 등⁷⁾은 환도혈에 대한 봉독요법이 신경병리성 동통을 유의하게 억제함을 보고하였고, 김 등⁸⁾은 足三里穴에 대한 봉독요법이 중뇌의 내인성 동통 조절 작용을 보고하였다. 그러나 봉독요법에 대한 신경병증성 동통에 대하여 腎俞·大腸俞에 봉독요법을 농도별로 시행한 보고는 아직 접하지 못하였다.

이에 저자는 腎俞(BL₂₃)와 大腸俞(BL₂₅) 혈위에 시행된 농도별 봉독요법이 백서의 신경병리성 동통에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 물리적, 냉각 자극에 의한 신경 동통 억제효과, 뇌조직에서 c-Fos, nociceptin, KOR-3 발현 및 혈액학적 변화를 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

체중이 약 180~200g의 Sprague Dawley계의 백서

를 사육장(실내온도 24~26℃) 내에서 고행사료(pellet, 삼양주식회사, 한국)와 물을 충분히 공급하면서 1주일 이상 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였으며, 실험기간 동안에도 물과 고행사료를 자유롭게 섭취하도록 하였다.

2) 검액

봉독약침액은 대한약침학회의 무균실에서 제조한 것으로 봉독 1g에 증류수 4,000ml를 희석하여 4℃에서 보관 및 사용하였다.

2. 방법

1) 경골신경과 비복신경 손상 모델 유도⁹⁾

백서를 isoflurane 2.5%와 O₂로 혼합된 가스로 도입, 유지 마취 후 고관절 뒤쪽의 피부를 절개한 후 실체 증 현미경(Eclipse 80i, Nikon, Japan)을 사용하여 대퇴이두근 사이에 존재하는 좌골신경을 확인하고, 경골신경과 총비골신경 및 비복신경을 찾아 micro-forcep으로 주변조직 및 혈관으로부터 분리시킨 다음, 총비골신경은 남겨둔 채, 경골신경과 비복신경은 현미경 하에서 6.0 silk thread로 결찰한 후 미세 수술가위로 절단하였다. 절개된 부위는 gentamycin(녹십자, 한국)을 점적하고 피부를 봉합하였다.

2) 군 분리

실험군들의 분리는 경골신경과 비복신경 손상으로 동통을 유발시킨 후 처치를 하지 않은 대조군(Control, n=5), 腎俞·大腸俞에 saline을 주입한 saline군(saline, n=5), 腎俞·大腸俞에 봉독약침액을 1/10배 희석하여 약침 시술한 1/10배 약침시술군(0.025mg/ml, BV-Ph 1, n=5), 腎俞·大腸俞에 봉독약침액을 1/5배 희석하여 약침 시술한 1/5배 약침시술군(0.05mg/ml, BV-Ph 2, n=5), 腎俞·大腸俞에 봉독약침액을 1/2배 희석하여 약침 시술한 1/2배 약침시술군(0.125mg/ml, BV-Ph 3, n=5), 腎俞·大腸俞에 봉독약침액을 1배 약침 시술한 1배 약침시술군(0.1mg/ml, BV-Ph 4 n=5)으로 각각 나누었다.

3) 취혈

봉독약침이 시행된 經穴은 腎俞(BL₂₃)와 大腸俞(BL₂₅)로 실험동물 표준경혈위치¹⁰⁾를 참고하여 인체에 상응된 부위에 취하였는데, 腎俞(BL₂₃)는 2번째 요추의 spinous process에서의 수평선이 scapula의 medial

border의 수직선과 만나는 선상의 1/2되는 지점에, 大腸俞(BL₂₅)는 4번째 요추의 spinous process에서의 수평선이 scapula의 medial border의 수직선과 만나는 선상의 1/2되는 지점에 해당하는 곳으로 longissimus dorsi muscle 위에서 취하였다.

4) 처치

봉독약침 처치는 먼저 신경병리성 동통 유발 수술 후 3주째에 von Frey filament로 자극하여 민감성을 보이는 백서를 선별한 후 민감성을 보인 백서를 각 군에 균일하게 분배한 후 2일에 각각 1회씩 총 6회에 걸쳐 환측에 약침을 시술하였다. 藥鍼液은 insulin syringe(29G×12.7mm, 유일, Korea)를 이용하여 혈위 당 20 μ l 주입하였다.

5) von Frey filament 및 acetone 자극으로 유발된 이질통 측정¹¹⁾

수술 후 3주째부터 12일간 2일에 각 1회씩 총 6회에 걸친 물리적 자극은 von Frey filament를, 화학적(냉각)자극은 acetone을 이용하여, 각각 이에 대한 철회반응(withdrawal response)을 망으로 된 cage에 옮겨 5분간 안정시킨 후 관찰하였다. von Frey filament 자극에 의한 이질통 측정 방법은 4.0g(Touch test 4.93, north coast medical Inc, UK)의 강도에서 수초 간격으로 환측 발 내측 부위에 10회씩 자극하여, 발의 철회반응의 횟수를 얻어 백분율로 표시하였다. Acetone 자극에 의한 냉각 이질통 측정 방법은 환측 발 내측 부위에 5분 간격으로 2ml씩 10회를 자극하여, 발의 철회반응의 횟수를 얻어 백분율로 표시하였다

6) Immunohistochemistry

실험 12일 후 백서의 뇌 조직을 초기에 0.1M PBS에 3회 정도 세척하였고, 2% 토끼 혈청으로 30분 blocking한 후, 각각 primary mouse monoclonal c-Fos anti-body(1:100, Novocastra, United Kingdom), nociceptin(1:400, Santa Cruz Biotechnology, USA), KOR-3(1:600, Santa Cruz Biotechnology, USA)를 사용하였다. 1차 항체는 0.1M PBS와 0.1% sodium azide(Sigma, St. Louis, MO, USA) buffer로 100배 희석하여 준비하였다. 뇌 조직은 1차 항혈청에 4 $^{\circ}$ C에서 72시간 동안 지속적으로 흔들어 주면서 배양하였다. 그 후 3번 이상 조직을 0.1M PBS로 세척한 다음 biotinylated universal secondary antibody(Quick Kit :

Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)를 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. 0.1M PBS로 3번 세척한 다음, 뇌 조직은 실온에서 1시간 동안 streptavidin peroxidase preformed complex(Quick Kit : Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)에 넣었다. 0.1M PBS로 3번 세척한 다음 조직을 착색제로서 diaminobenzidine(DAB, Vector, USA)을 사용하여 발현시키고, 0.1M PB로 발색을 정지시켰다. 모든 처리를 거친 뇌 조직을 gelatine-coated slide에 고정하고 공기를 제거하면서 cover glass를 덮은 후 광학현미경(Nikon eclipse 80i, Japan)을 200배 확대하여 central gray에서 c-Fos, nociceptin, KOR-3에 대한 immunoreactive 신경세포를 counting하였다¹²⁾.

7) 혈액학적 검사

실험 12일 후 백서의 심장천자 채혈로 얻어진 혈액 중 약 100 μ l를 EDTA-bottle에 넣은 후 곧바로 Multi-species Hematology Analyser(950, Hemavet, USA)에 주입하여 WBC, RBC, hemoglobin(HGB), hematocrit(HCT)를 측정하였다.

3. 통계처리

실험 성적은 평균값과 표준오차(mean \pm S.E.)로 표시하였으며, Window용 SPSS(version 10.05, SPSS)를 이용하여, 비모수적 방법 중 mann-Whitney *U* test를 시행하여 실험군 간의 통계적 유의성을 관찰하였다. 전체 실험의 통계적인 유의성은 신뢰구간 *p*<0.05에서 의미를 부여하였다.

III. 결 과

1. von Frey filament에 의한 이질통의 변화에 미치는 영향

백서의 경골신경과 비복신경 손상 후 腎俞·大腸俞에 대한 봉독약침 처치가 von Frey filament 자극으로 유발된 물리적 이질통 반응에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과, 대조군에서 0일째에 62.0 \pm 5.48%, 2일째에 74.0 \pm 9.75%, 4일째에 98.0 \pm 2.24%, 6일째에 82.0 \pm 10.25%, 8일째에 90.0 \pm 7.07%, 10일째에 94.0 \pm 4.47%, 12일째에 84.0 \pm 11.51%를 나타내었으며, 대조군에 비

Table 1. Percentage of Withdrawal Response on the Neuropathic Pain(mechanical allodynia) in Rats

Group	0	2	4	6	8	10	12
Control	62.0±5.48	74.0±9.75	98.0±2.24	82.0±10.25	90.0±7.07	94.0±4.47	84.0±11.51
Saline	70.0±12.25	70.0±13.23	96.0±2.74	90.0±8.66	80.0±10.61	86.0±9.75	94.0±4.47
BV-Ph 1	66.0±9.75	84.0±13.04	82.0±15.17	88.0±8.94	84.0±8.37	70.0±16.58	74.0±17.89
BV-Ph 2	70.0±11.18	76.0±16.43	76.0±17.89	76.0±16.43	70.0±15.00	50.0±19.04*	44.0±21.10
BV-Ph 3	68.0±10.84	72.0±8.22	70.0±9.35*	78.0±9.62	68.0±7.42*	72.0±8.22*	62.0±9.62
BV-Ph 4	68.0±10.84	80.0±10.61	84.0±13.04	74.0±16.43	76.0±13.04	64.0±16.43	62.0±19.49

Bee venom-pharmacopuncture (BA-Ph) was treated at left BL₂₃, BL₂₅ acupoints on the rats for 12days. The task and treatments were started on the 3rd week after inducing neuropathic pain, and performed 10 trials per day for 7days. Results are shown as means±SE.

* : $p < 0.05$ as compared with the corresponding data of control group.

Table 2. Percentage of Withdrawal Response on the Neuropathic Pain(cold allodynia) in Rats

Group	0	2	4	6	8	10	12
Control	42.0±6.52	76.0±4.47	82.0±6.52	80.0±9.35	80.0±7.91	76.0±5.70	72.0±7.42
Saline	40.0±16.20	60.0±10.00	92.0±4.18	74.0±15.65	60.0±16.20	72.0±19.17	88.0±5.48
BV-Ph 1	48.0±11.40	68.0±9.62	70.0±14.14	62.0±13.87	62.0±19.17	62.0±19.17	42.0±15.17
BV-Ph 2	48.0±16.73	76.0±15.65	48.0±19.17	74.0±15.25	44.0±13.04*	68.0±21.91	58.0±17.46
BV-Ph 3	42.0±10.84	76.0±15.65	64.0±17.89	66.0±16.43	70.0±8.66	42.0±12.94*	52.0±17.46
BV-Ph 4	48.0±5.48	76.0±15.65	78.0±13.42	50.0±15.00	76.0±15.65	72.0±15.17	68.0±15.97

Bee venom-pharmacopuncture (BA-Ph) was treated at left BL₂₃, BL₂₅ acupoints on the rats for 12days. The task and treatments were started on the 3rd week after inducing neuropathic pain, and performed 10 trials per day for 7days. Results are shown as means±SE.

* : $p < 0.05$ as compared with the corresponding data of control group.

하여 4일째에 BV-Ph 3군이 70.0±9.35%, 8일째에 BV-Ph 3군이 68.0±7.42%, 10일째에 BV-Ph 2군이 50.0±19.04%, BV-Ph 3군이 72.0±8.22%를 보여 유의한 감소를 보였다($p < 0.05$, Table 1).

2. Acetone에 의한 이질통의 변화에 미치는 영향

백서의 경골신경과 비복신경 손상 후 腎俞·大腸俞에 대한 봉독약침 처치가 acetone 자극으로 유발된 냉각 이질통 반응에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과, 대조군에서 0일째에 42.0±6.52%, 2일째에 76.0±4.47%, 4일째에 82.0±6.52%, 6일째에 80.0±9.35%, 8일째에 80.0±7.91%, 10일째에 76.0±5.70%, 12일째에 72.0±7.42%를 나타내었으며, 대조군에 비하여 8일째에 BV-Ph 2군이 44.0±13.04%, 10일째에 BV-Ph 3군이 42.0±12.94%를 보여 유의한 감소를 보였다($p < 0.05$, Table 2).

3. c-Fos의 변화에 미치는 영향

실험 12일 후 백서의 경골신경과 비복신경 손상 후

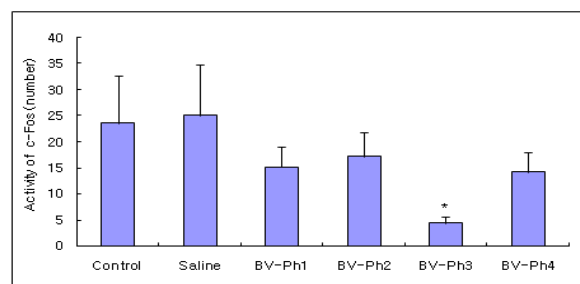


Fig. 1. Effects of Bee Venom-Pharmacopuncture on the activity of c-Fos induced by injury of the tibial and sural nerve in rats after 12days experiment
Control : neuropathic pain induced and no treatment.
Saline : neuropathic pain induced and injected saline at left BL₂₃, BL₂₅ acupoints.
BV-Ph 1, BV-Ph 2, BV-Ph 3, BV-Ph 4 : neuropathic pain induced and pharmacopuncture Soonsul 0.42µl, 0.84µl, 2.1µl, 4.2µl at left BL₂₃, BL₂₅ acupoints.
Results are shown as mean±SE.
* : $p < 0.05$ as compared with the corresponding data of control group.

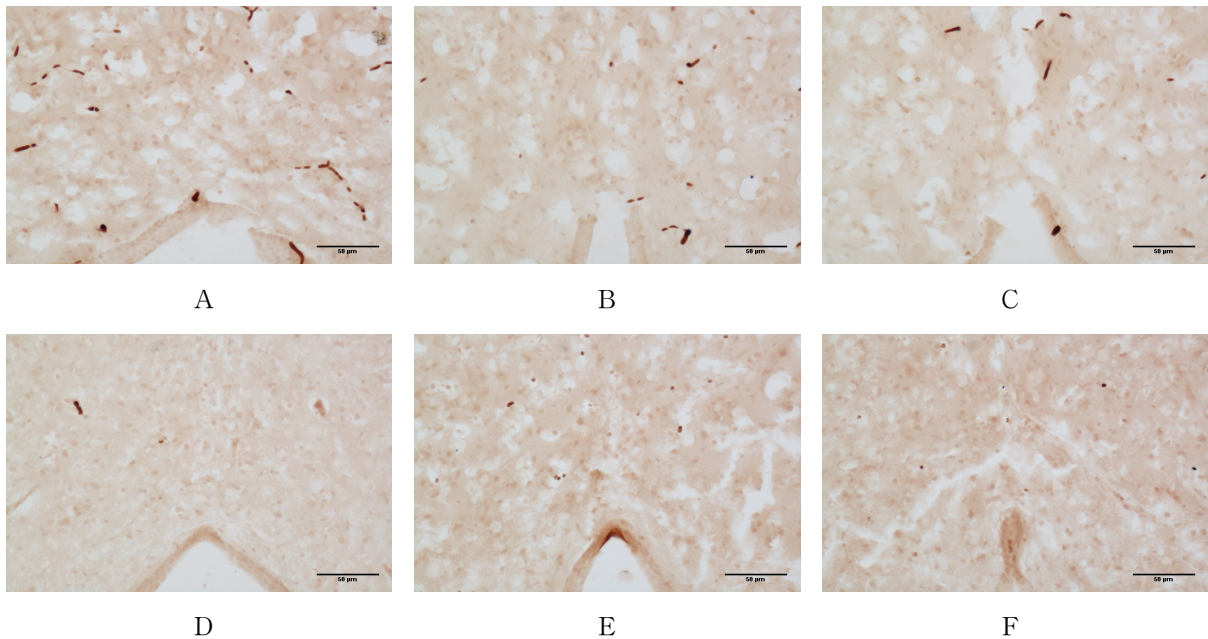


Fig. 2. Representative microphotographs of coronal sections for observation of c-Fos expression in the central gray after 12 days experiment

A : Control, B : Saline, C : BV-Ph 1, D : BV-Ph 2, E : BV-Ph 3, F : BV-Ph 4, × 200.

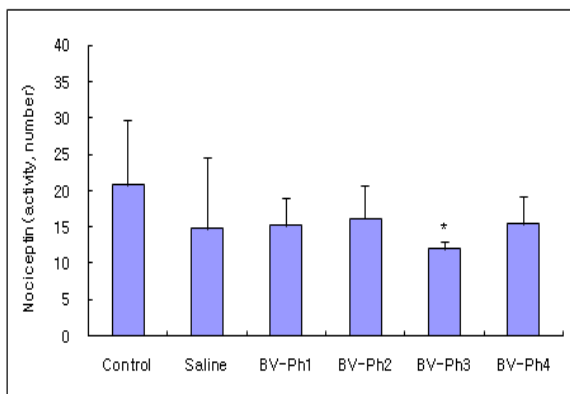


Fig. 3. Effects of Bee Venom-Pharmacopuncture on the activity of nociceptin induced by injury of the tibial and sural nerve in rats after 12 days experiment

Control : neuropathic pain induced and no treatment.

Saline : neuropathic pain induced and injected saline at left BL₂₃, BL₂₅ acupoints.

BV-Ph 1, BV-Ph 2, BV-Ph 3, BV-Ph 4 : neuropathic pain induced and pharmacopuncture Soonsul 0.42µl, 0.84µl, 2.1µl, 4.2µl at left BL₂₃, BL₂₅ acupoints.

Results are shown as mean ± SE.

* : $p < 0.05$ as compared with the corresponding data of control group.

腎俞·大腸俞에 대한 봉독약침 처치가 central gray 부위의 c-Fos 활성화에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과, 대조군은 23.6 ± 9.01, saline군은 25.0 ± 9.86, BV-Ph

1군은 15.2 ± 3.88, BV-Ph 2군은 17.2 ± 4.57, BV-Ph 3군은 4.4 ± 1.12, BV-Ph 4군은 14.2 ± 3.79를 나타내었다. 각 군별의 변화 비교에서 대조군에 비하여 BV-Ph 3군이 유의한 감소를 보였다($p < 0.05$, Fig. 1, 2).

4. Nociceptin의 변화에 미치는 영향

실험 12일 후 백서의 경골신경과 비복신경 손상 후 腎俞·大腸俞에 대한 봉독약침 처치가 central gray 부위의 nociceptin 활성화에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과, 대조군은 20.8 ± 3.32, saline군은 14.8 ± 5.08, BV-Ph 1군은 15.2 ± 3.31, BV-Ph 2군은 16.2 ± 3.58, BV-Ph 3군은 12.0 ± 1.79, BV-Ph 4군은 15.4 ± 3.17을 나타내었다. 각 군별의 변화 비교에서 대조군에 비하여 BV-Ph 3군이 유의한 감소를 보였다($p < 0.05$, Fig. 3, 4).

5. KOR-3의 변화에 미치는 영향

실험 12일 후 백서의 경골신경과 비복신경 손상 후 腎俞·大腸俞에 대한 봉독약침 처치가 central gray 부위의 KOR-3 활성화에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과, 대조군은 30.2 ± 7.21, saline군은 16.0 ± 3.62, BV-Ph 1군은 26.6 ± 6.31, BV-Ph 2군은 16.6 ± 4.53, BV-Ph 3군은 11.2 ± 3.21, BV-Ph 4군은 12.8 ± 3.60을 나타내었다.

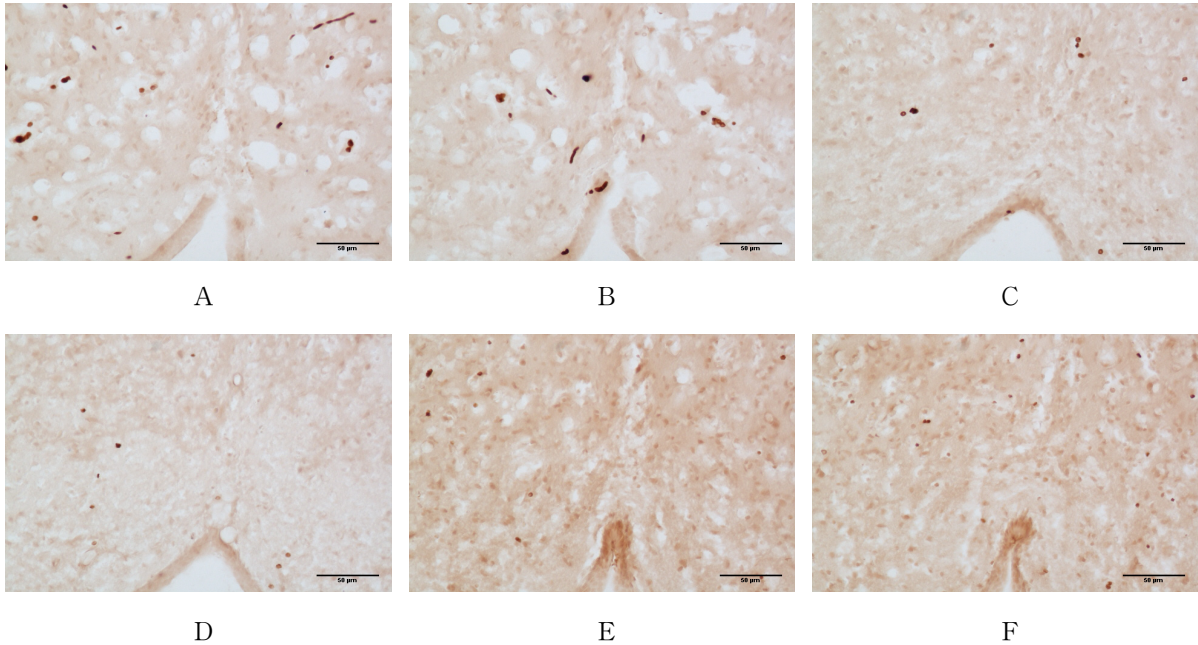


Fig. 4. Representative microphotographs of coronal sections for observation of nociceptin expression in the central gray after 12days experiment

A : Control, B : Saline, C : BV-Ph 1, D : BV-Ph 2, E : BV-Ph 3, F : BV-Ph 4, × 200.

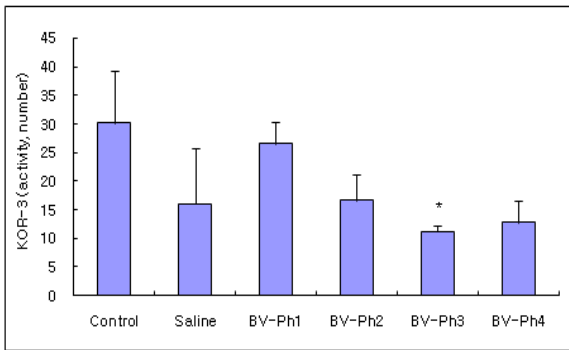


Fig. 5. Effects of bee venom-pharmacopuncture on the activity of KOR-3 induced by injury of the tibial and sural nerve in rats after 12days experiment

Control : neuropathic pain induced and no treatment.

Saline : neuropathic pain induced and injected saline at left BL₂₃, BL₂₅ acupoints.

BV-Ph 1, BV-Ph 2, BV-Ph 3, BV-Ph 4 : neuropathic pain induced and pharmacopuncture Soonsul 0.42µl, 0.84µl, 2.1µl, 4.2µl at left BL₂₃, BL₂₅ acupoints.

Results are shown as mean±SE.

* : $p < 0.05$ as compared with the corresponding data of control group.

각 군별의 변화 비교에서 대조군에 비하여 BV-Ph 3 군이 유의한 감소를 보였다($p < 0.05$, Fig. 5, 6).

6. 혈액학적 변화에 미치는 영향

실험 12일 후 백서의 경골신경과 비복신경 손상 후 腎俞·大腸俞에 대한 봉독약침 처치가 혈액학적 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, WBC에 있어서는 대조군은 $5.2 \pm 0.99K/\mu l$, saline군은 $7.9 \pm 2.99K/\mu l$, BV-Ph 1군은 $6.0 \pm 1.10K/\mu l$, BV-Ph 2군은 $5.3 \pm 0.50K/\mu l$, BV-Ph 3군은 $12.4 \pm 3.71K/\mu l$, BV-Ph 4군은 $8.7 \pm 0.96K/\mu l$ 를 나타내었으며, RBC에 있어서는 대조군은 $9.0 \pm 0.35M/\mu l$, saline군은 $8.3 \pm 0.70M/\mu l$, BV-Ph 1군은 $8.8 \pm 0.73M/\mu l$, BV-Ph 2군은 $9.5 \pm 0.79M/\mu l$, BV-Ph 3군은 $8.7 \pm 1.61M/\mu l$, BV-Ph 4군은 $9.7 \pm 0.14M/\mu l$ 를 나타내었으며, HGB에 있어서는 대조군은 $14.3 \pm 0.96g/dl$, saline군은 $13.9 \pm 1.48g/dl$, BV-Ph 1군은 $15.7 \pm 1.23g/dl$, BV-Ph 2군은 $25.9 \pm 11.50g/dl$, BV-Ph 3군은 $15.4 \pm 2.60g/dl$, BV-Ph 4군은 $16.2 \pm 0.74g/dl$ 를 나타내었으며, HCT에 있어서는 대조군은 $55.0 \pm 1.85\%$, saline군은 $48.8 \pm 4.17\%$, BV-Ph 1군은 $53.5 \pm 3.95\%$, BV-Ph 2군은 $55.5 \pm 4.44\%$, BV-Ph 3군은 $53.6 \pm 8.41\%$, BV-Ph 4군은 $58.3 \pm 0.90\%$ 를 나타내었다. 각 군별의 변화 비교에서 대조군에 비하여, WBC에서 BV-Ph 3군($p < 0.01$)과 BV-Ph 4군($p < 0.05$)이 유의한 증가를 보였다(Fig. 7).

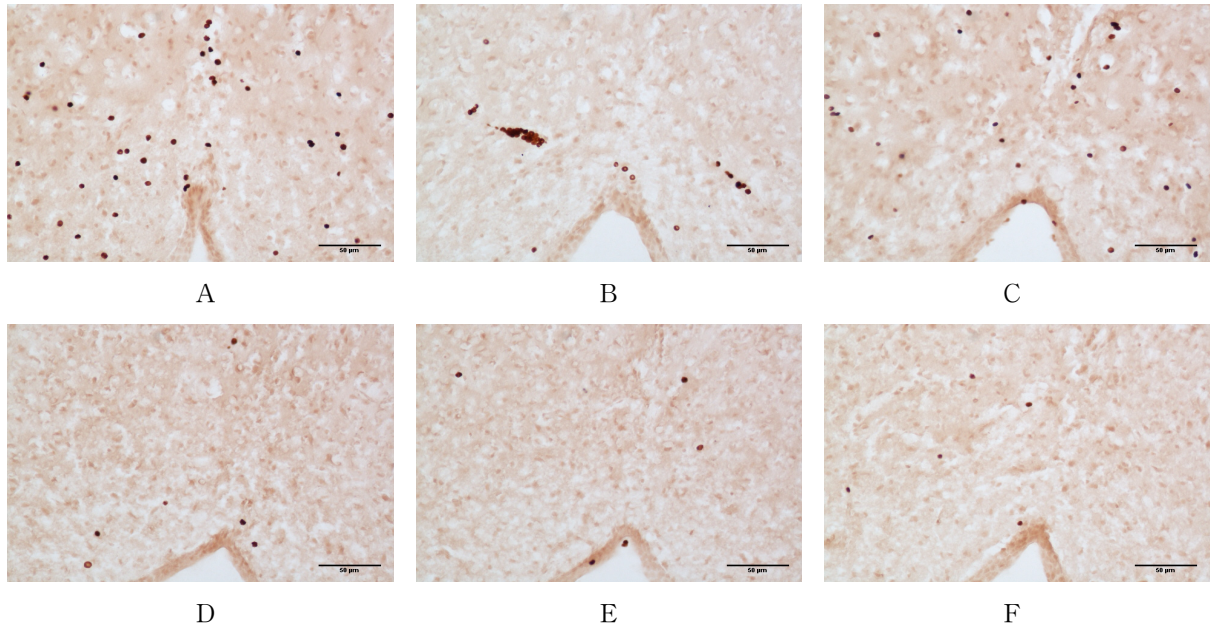


Fig. 6. Representative microphotographs of coronal sections for observation of KOR-3 expression in the central gray after 12days experiment

A : Control, B : Saline, C : BV-Ph 1, D : BV-Ph 2, E : BV-Ph 3, F : BV-Ph 4, × 200.

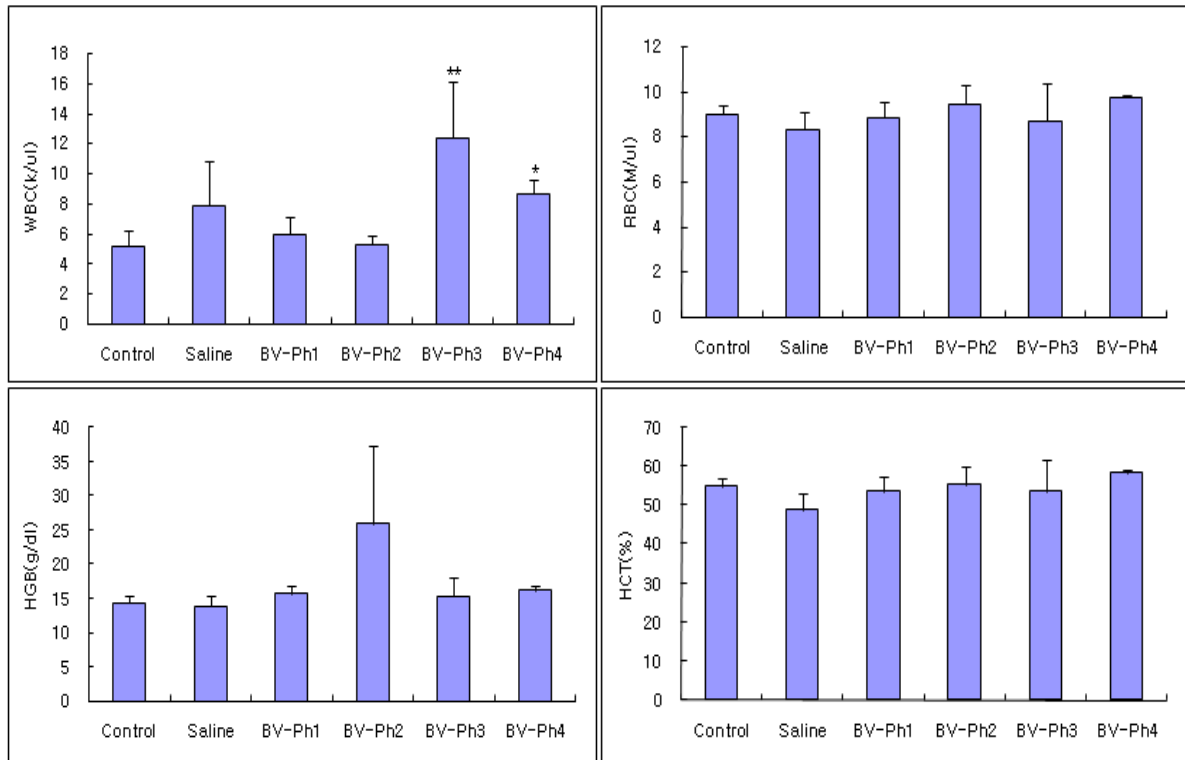


Fig. 7. Effects of Bee Venom-Pharmacopuncture on the WBC, RBC, HGB, HCT induced by injury of the tibial and sural nerve in rat after 12days experiment

Control : neuropathic pain induced and no treatment.

Saline : neuropathic pain induced and injected saline at left BL₂₃, BL₂₅ acupoints.

BV-Ph 1, BV-Ph 2, BV-Ph 3, BV-Ph 4 : neuropathic pain induced and pharmacopuncture Soonsu1 0.42μl, 0.84μl, 2.1μl, 4.2μl at left BL₂₃, BL₂₅ acupoints.

Results are shown as mean±SE.

* : $p < 0.05$ as compared with the corresponding data of control group.

IV. 고찰

韓醫學에서 통증에 대한 인식은 《黃帝內經·素問·陰陽應象大論》¹³⁾에서 “寒傷形, 熱傷氣, 氣傷痛, 形傷腫, 故先痛而後腫者, 氣傷形也. 先腫而後痛者, 形傷氣也”라고 하여 통증이 발생하는 단계를 언급하였고, 《黃帝內經·素問·舉痛論》¹⁴⁾에서는 “經脈流行不止, 環周不休, 寒氣入經而稽遲, 泣而不行, 客於脈外則血少 客於脈中則氣不通, 故卒然而痛”이라 하여 氣의不通과 血少로 인한 不榮을 통증 발생의 원인으로 설명 하였다.

《黃帝內經·素問·痺論》³⁾에서 “痺者閉也, 氣血凝滯不行也, 有風寒濕三氣之痺, 有皮肌脈筋骨五臟外合之痺”라 하였고, 그 증상으로 《諸病源候論·四肢痛無常處候》¹⁵⁾에서 “其痛處不腫, 色亦不異, 但肉裏掣痛與錘刀所刺”라 하여 신경통증의 증상을 표현하고 있으며, 《黃帝內經·靈樞·經脈篇》¹⁶⁾에서 所生病으로서 疝外廉, 足趺上의 통증은 胃經의 病이고, 腰·尻·臑·膕·脚의 통증은 膀胱經의 病이며, 髀·膝外·脛·絕骨·外踝의 前側의 통증은 膽經의 病이라 하여 통증의 부위에 따라 관계된 경락이 다르다는 것을 밝히고 있다.

통증이란 조직손상의 결과이며 손상부위와 그 주위는 진행 중인 통증의 근원지가 된다. 이러한 통증은 일반적으로 치유되면서 자연히 소실되나 신경계의 손상은 치유된 후에도 수개월 또는 수년 이상 지속적인 통증을 유발하기도 한다. 이러한 신경계의 손상의 결과로 발생한 통증을 신경병리성 동통이라고 한다¹⁷⁾.

신경병리성 동통은 신경의 손상 또는 비정상적인 신경 기능으로 야기되며 말초 수용기, 구심성 감각신경, 후근신경절, 척수 수준, 뇌 수준에서 다양한 변화를 일으킨다¹⁸⁾. 특히 말초신경의 손상으로 인한 신경병리성 동통은 매우 고통스러우며 참기 힘들고 자발통, 이질통, 과통증 등의 증상이 관찰되는데, 아편제를 비롯한 통상적인 진통제를 사용해도 자주 재발된다¹⁶⁾. 이러한 동통 증후군의 발생 기전은 아직 잘 알려져 있지 않는데, 이러한 기전을 설명하기 위해 신경 절제 동물 모델이 개발되어 사용되어 왔다¹⁹⁾.

최근 인간의 실제 임상적인 상황과 더욱 유사한 말초신경병리성 동통 모델이 개발되어 왔는데¹¹⁾ Bennett과 Xie의 만성적 좌골신경 압박 손상 모델²⁰⁾과 Seltzer의 좌골신경 완전 결찰 모델²¹⁾, Kim과 Chung의 L6수준의 요수 척수 신경 결찰 모델²²⁾, DeLeo 등의 좌골신경 동결 모델²³⁾, 그리고 Lee 등의 좌골 신경 말

초분지 선택 손상 모델⁹⁾ 등이 그것이다. 이 중 좌골신경 절제 모델이 신경병리성 동통의 기전을 밝히는 데 많이 이용되고 있지만 좌골신경 절제 모델에는 손상 받지 않고 온전히 남아있는 신경섬유가 없다는 단점이 있다²⁴⁾. Lee 등의 연구에서 좌골 신경의 세 가지 분지를 선택적으로 손상시켜 신경병리성 동통이 발생되는 정도를 측정 한 결과 총비골신경은 남겨두고 경골신경과 비복신경을 손상시킨 집단에서 가장 격심하고 신뢰스러운 동통 증상을 나타낸 결과를 얻었기에²⁴⁾ 본 실험에서 Lee 등의 모델을 이용하였다.

背俞穴은 오장육부의 氣가 背部의 특정한 혈위에 유지하는 곳²⁵⁾으로 《黃帝內經·靈樞·背俞》²⁶⁾에 “五臟之俞 出於背··· 按其處 應在中而痛解 乃其俞也 氣盛則瀉之 虛則補之”라 하여 배수혈의 치료 활용을 언급하였다. 그 중 腎俞는 滋補腎陰, 去水濕, 強腰脊, 益水壯火하여 腎臟炎, 腎虛腰痛, 遺精, 腸炎, 腰痛 등을 치료하고, 大腸俞는 대장의 背俞穴로 疏調二腸, 理氣化滯, 強健腰膝하여 大腸疾患, 大小便不利, 腹痛, 下肢癱瘓, 坐骨神經痛 등의 질환을 치료한다²⁷⁾.

봉독은 기원 전부터 질병치리에 사용되어 왔으며 적응증으로는 피부근염, 관절염, 삼차신경통, 말초신경염, 류마티스성 관절염, 강직성 척추염, 전신성 홍반성 루프스, 전신성 경화증, 경추·요추추간판탈출증, 만성 요추염좌, 압박골절, 신허요통, 오십견, 수근관증후군, 안면신경마비 후유증 등이 있다⁵⁾.

봉독의 性味는 辛, 苦, 有毒하고, 효능은 祛風除濕, 止痛, 解癭平喘, 消腫降壓한다²⁸⁾. 주요 성분은 약 40여 가지로 peptide, enzymes, amines, lipids, carbohydrates 및 amino acids 등으로 나누어지는데 이 중 중요한 역할을 하는 peptide는 항염증작용, 면역작용과 histamine 분비작용을 한다⁵⁾.

이에 봉독이 신경계에 작용하며, 진통과 소염작용이 있음^{29,30)}에 근거하고, 이 등⁷⁾이 환도혈에 대한 봉독요법이 신경병리성 동통을 유의하게 억제함을 보고 하였으나, 신경병리성 동통 모델에서 아직 腎俞, 大腸俞에 봉독요법을 농도별로 시행한 보고는 아직 접하지 못하였기에 본 연구에서 경골신경과 비복신경을 부분 절제한 신경병리성 통증 백서 모델로 그 영향을 살펴보기로 하였다.

본 연구에서는 물리적 자극 및 냉각 자극에 대한 회피반응의 정도를 측정하였는데, 물리적 자극원으로는 von Frey filament를 사용하였고 냉각 자극을 위하여 acetone을 사용하였다. 실험동물에 질병을 유발하고, 정상적인 상태에서는 통증을 일으키지 않는 정

도의 압력을 가하면 이질통(allodynia)이 발생하게 된다³¹⁾. Von Frey filament를 이용한 실험은 이질통을 회피반응의 정량화를 통하여 측정할 수 있기 때문에 신경병리성 동통 동물 모델에서 가장 많이 이용 된다³²⁾. Acetone은 생체의 표면에서 증발함으로써 체표 온도를 감소시키기 때문에 통증과 관련한 동물 실험에서 냉각 자극원으로 사용 된다³³⁾. 본 연구의 결과에서 신경병리성 동통 유발 후 腎俞·大腸俞에 봉독약침을 시술하고, von Frey filament를 이용한 물리적 자극으로 유발된 이질통 억제 반응을 관찰한 결과 4일, 8일째에 BV-Ph 3군, 10일째에 BV-Ph 2군과 BV-Ph 3군에서 유의한 이질통 억제가 관찰되었다(Table 1). 또한 acetone에 의한 냉각 자극에 의하여 발생하는 이질통 억제 반응을 관찰한 결과 봉독약침 시술 8일째에 BV-Ph 2군, 10일째에 BV-Ph 3군에서 유의한 수준의 이질통 억제를 보였다(Table 2).

봉독약침은 일반적으로 봉독약침에 대한 과민반응과 pain shock와 같은 상황을 예방하기 위하여 저농도를 먼저 시술하고 경과를 살피면서 점차적으로 고농도의 약침을 시술한다⁵⁾. 따라서 유의한 효과를 발휘할 수 있는 최소 농도를 투여하는 것이 가장 안전한 봉독약침 시술 방법이라고 할 수 있다. 본 연구의 결과를 토대로 살펴보면, BV-Ph 2군과 BV-Ph 3군에서 유의한 이질통 감소가 관찰 되었으므로 최소 유효농도는 봉독약침을 1/5로 희석한 농도(BV-Ph 2군)라 생각된다. 그러나 전반적으로 BV-Ph 3군이 더 좋은 효과를 보였으며, BV-Ph 4군은 오히려 유의한 수준의 효과를 발휘하지 못하였기 때문에 봉독약침의 용량과 효능과의 관계에 대한 더 많은 실험적 연구를 통하여 최소 유효량과 적정 유효량의 결정이 필요하리라고 생각된다.

또한 본 연구의 결과에서 물리적 자극에 의한 이질통이 4일째부터 유의한 변화를 보인 반면, 냉각 자극에 의한 이질통은 8일째부터 유의한 변화를 보였다. 높은 용량인 BV-Ph 4군에서 유의한 이질통 억제 효과가 나타나지 않은 사실을 감안하면, 이러한 결과는 봉독약침에 의한 통증 억제 작용이 체내에 축적되는 봉독의 양에 기인한다기 보다는 일정한 시간이 필요한 것으로 해석된다. 따라서 봉독약침 시술과 효과 발현 시간과의 관계 역시 실험 연구, 임상 연구를 통하여 명확하게 구명해야 할 것으로 생각된다.

진통 효과가 있는 약물의 효능 검증 방법 중에서 조기 발현 유전자(immediate early gene)의 하나인 c-Fos에 의하여 생산되는 c-Fos 단백질을 면역조직

화학염색법을 이용하여 관찰하는 신경해부학적 방법이 널리 사용되고 있다^{3,4)}. c-Fos는 염증 등으로 조직이 손상되었을 때, 세포 내에서 빠른 시기에 발현이 변화되는 조기 발현 유전자로³⁵⁾ 주로 척수의 통증 전달신경원과 뇌의 통증에 관계된 부위에서 발현된다는 사실이 알려져 있다^{36,37)}.

본 연구의 결과에서 BV-Ph3군의 c-Fos 단백질 발현율은 대조군에 비하여 1/6 수준이었다(Fig. 1, 2). 이는 객관적으로 신경병리성 동통이 감소되었음을 시사하는 결과이기도 하며, 腎俞·大腸俞의 봉독약침이 궁극적으로 중추신경계에도 영향을 미칠 수 있음을 시사한다.

Nociceptin은 Orphanin FQ라고도 불리며, 17개의 아미노산으로 구성된 신경단백으로, nociceptin receptor(NOP, ORL-1)에 작용하는 ligand이다³⁸⁾. Nociceptin은 강력한 통증 유발 물질로 시상하부(hypothalamus), 뇌간(brainstem), 전뇌(forebrain)뿐만 아니라 척수와 같은 중추신경계에 광범위하게 분포하고 있다^{4,39)}. Nociceptin은 opioid receptor-like 1(ORL-1)으로 알려진 nociceptin receptor(NOP, OP4)와 결합하여 작용하는데, ORL-1 역시 중추신경계에 광범위하게 분포하고 있다⁴⁰⁾. ORL-1과 동일성을 가지는 것으로 설치류의 중추신경계에 존재하는 수용체를 murine orphan opioid receptor(KOR-3)라 하며⁴¹⁾ KOR-3 역시 중추신경계 전반에 분포한다⁴²⁾.

본 연구의 결과에서 BV-Ph 3군의 뇌조직에서 nociceptin과 KOR-3 단백질의 발현이 유의하게 감소함이 관찰되었다(Fig. 3~6). 이는 腎俞와 大腸俞에 봉독약침 시술로 인한 통증 억제 기전에 nociceptin과 수용체와 같은 아편 유사 물질과 관련 수용체가 관여할 가능성이 높은 것으로 해석된다.

신경병리성 통증의 기전에 대하여 아직까지 명확한 기전이 밝혀져 있지 않고, 환자에 따라 다양한 증상을 호소하기 때문에 일반적으로 신경병리성 통증은 여러 가지 다양한 기전에 의하여 발생하는 것으로 이해되고 있다^{33,43)}. 이러한 이유로 본 연구에서도 해부생리학적 관찰에 부가하여 혈액학적 검사를 병행하였다. WBC, RBC, HGB와 HCT에 대하여 혈액학적 검사를 시행한 결과 대조군에 비하여, BV-Ph 3군과 BV-Ph 4군에서 WBC의 유의한 증가를 보였으며 증가량은 BV-Ph 3군이 더 높았다(Fig. 7). 이는 봉독약침이 희석배수 1/2 이상의 농도에서 혈액학적인 염증 소견을 보인 것으로 해석되며, 봉독약침의 효능이 BV-Ph 3군에서 가장 좋은 효과를 보인 것이 면역기능의 향진과 관련 된다는 결과로 해석 될 수도 있으

나, 이전 연구에서 봉독약침이 혈액 내에서 WBC를 감소시킨다는 보고⁷⁾가 있었으므로 이에 대한 후속 연구가 필요할 것으로 생각된다. 또한 대조군에 비하여, BV-Ph 2군에서 HGB가 증가를 나타내는 것이 관찰되었는데 HGB는 기존의 동일 모델의 실험⁷⁾에서 시행하지 않았던 검사이기에 향후 연구와 실험관리 부분이 필요할 것이다.

상기한 결과들을 정리해보면 腎俞·大腸俞 봉독약침은 BV-Ph 2군과 BV-Ph 3군에서 물리적 자극에 의한 이질통을 4일째부터 유의한 수준으로 감소시켰고, 냉각 자극에 의한 이질통은 시술 8일째부터 유의한 수준으로 감소시켰다. 총 6회의 봉독약침 시술이 끝나고, 뇌조직을 면역조직화학염색법을 이용하여 관찰한 결과 BV-Ph 3군에서 c-Fos, nociceptin, KOR-3의 발현을 유의한 수준으로 감소시켰다.

다만 본 연구에서 농도별 봉독효과에 대한 연구와 더불어 고농도의 봉독약침액 자극에 따른 기타 주위 조직에 미치는 영향 및 안전도에 대한 관찰이 부족했던 부분은 향후 보완되어야 할 사항으로 생각된다.

이러한 결과들에서 腎俞·大腸俞의 봉독약침의 농도에 있어서는 1/2 농도의 용량에서 신경병리성 동통을 억제하는 효과가 있음을 나타냈고, 또한 기간에 있어서는 8일 이상 시술에서 효과적임을 알 수 있었다. 이와 관련된 진통 기전은 말초신경계뿐만 아니라 중추신경계까지 영향을 미치고 있고, 특히 아편 유사 물질들이 진통 기전에 관여한다고 사료된다.

V. 결 론

신경병리성 동통유발 후 腎俞·大腸俞에 대한 농도별 봉독약침이 물리적 이질통, 냉각 이질통, c-Fos, nociceptin 및 KOR-3 발현 및 혈액학적 변화에 미치는 영향을 측정된 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 물리적 자극에 의한 이질통은 대조군과 비교한 결과 4일째에 BV-Ph 3군, 8일째에 BV-Ph 3군, 10일째에 BV-Ph 2군과 BV-Ph 3군이 유의하게 감소하였다.
2. 냉각 자극에 의한 이질통은 대조군과 비교한 결과 8일째에 BV-Ph 2군, 10일째에 BV-Ph 3군이 유의하게 감소하였다.
3. 뇌조직에서 c-Fos 단백질의 발현을 대조군과 비교

한 결과 BV-Ph 3군이 유의하게 감소하였다.

4. 뇌조직에서 nociceptin의 발현을 대조군과 비교한 결과 BV-Ph 3군이 유의하게 감소하였다.
5. 뇌조직에서 KOR-3의 발현을 대조군과 비교한 결과 BV-Ph 3군이 유의하게 감소하였다.
6. 혈액 내에서 WBC의 함량을 대조군과 비교한 결과 BV-Ph 3군과 BV-Ph 4군이 유의하게 증가하였다.

이상의 결과로 보아 腎俞·大腸俞에 시술한 봉독약침은 1/2의 농도로 희석한 용량에서 동통 억제에 유의한 결과를 나타내었고, 8회 이상 시술한 경우에 효과적이었음을 알 수 있었다. 기존 동일 모델의 환도혈에 봉독약침을 투여한 경우⁷⁾와 비교했을 때 통증을 감소시키는 유의한 처치 회수와 감소 정도가 유사한 정도로 효과가 확인되었다.

VI. 참고문헌

1. Mitchell SW. Injuries of nerve and their consequences. Philadelphia, PA : J B Lippincott. 1872 : 252.
2. Loeser JD, Butler SH, Chapman CR, Turk DC. Painful neuropathies. Bonica's management of pain. Philadelphia : Lipincott Williams & Wilkins. 2001 : 371-85.
3. 이경우 譯. 編注譯解 黃帝內經素問(3). 서울 : 여강출판사. 2000 : 73-6.
4. 정정희, 조명래, 위통순, 류충열. 健側 取穴 多種 鍼刺法이 白鼠의 神經病理性 疼痛에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2007 ; 24(5) : 137-50.
5. 대한약침학회 학술위원회. 약침학. 서울 : 엘스비아코리아(유). 2008 : 167-99.
6. 安榮基. 경혈학총서. 서울 : 정보사. 2002 : 362-3, 366-7.
7. 이동현, 윤대환, 나창수, 윤여충. 환도혈(GB30) 봉독 약침 자극이 백서의 신경병리성 동통 억제에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2005 ; 22(5) : 67-77.
8. 김용석, 김혜남, 박동석, 강성길, 최용태, 고흥균. 봉독약침자극이 뇌간 신경세포와 Serotonin성 신경세포의 활성변화에 미치는 영향. 대한침구학회지.

- 2000 ; 17(2) : 119-38.
9. Lee BH, Baik EJ, Lee SH, Moon CH. Injuries of different distal sciatic nerve branches differentially produce neuropathic pain in rats. Abstracts - 8th World Congress on Pain. 1996 : 27.
 10. 실험동물 標準經穴位置. 한국한의학연구원. 2007.
 11. Lee BH, Won R, Baik EJ, Lee SH, Moon CH. An animal model of neuropathic pain employing injury to the sciatic nerve branches. Neuro-Report. 2000 ; 11(4) : 657-61.
 12. He J, Yamada K, Nabeshima T. A Role of Fos Expression in the CA3 Region of the Hippocampus in Spatial Memory Formation in Rats. Neuropsychopharmacology. 2002 ; 26 : 259-68.
 13. 이경우 譯. 編注譯解 黃帝內經素問(1). 서울 : 여강출판사. 2000 : 166-7.
 14. 이경우 譯. 編注譯解 黃帝內經素問(2). 서울 : 여강출판사. 2000 : 555-6.
 15. 郭靄春 編著. 黃帝內經 靈樞校注語釋. 서울 : 醫聖堂. 1993 : 346-69.
 16. 南京中醫學院 編著. 黃帝內經素問譯釋. 上海 : 上海科學技術出版社. 1997 : 1, 96-113, 278, 361, 305-12, 652.
 17. 윤덕미. 신경병적 통증. 대한통증학회지. 1995 ; 8(2) : 219-24.
 18. 이배환. 만성 동통의 진단 및 치료와 심리학(신경병리성 동통을 중심으로). 한국심리학회 춘계심포지움. 1996 : 227-8.
 19. Wall PD, Devor M, Inbal R, Scadding JW, Schonfeld D, Seltzer Z, Tomkiewicz MM. Autotomy following peripheral nerve lesions : experimental anaesthesia. Pain. 1979 ; 7 : 103-13.
 20. Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. Pain. 1988 ; 33 : 87-107.
 21. Seltzer Z, Dubner R, Shir Y. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. Pain. 1990 ; 43 : 205-18.
 22. Kim SH, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. Pain. 1992 ; 50 : 355-63.
 23. DeLeo JA, Coombs DW, Willenbring S, Dolburn RW, Fromm C, Wagner R, Twitchell BB. Characterization of a neuropathic pain model : Sciatic cryoneurolysis in the rat. Pain. 1994 ; 56 : 9-16.
 24. 이배환, 원란, 백은주, 문창현. 좌골신경분지 손상에 의한 교감신경계 무관 신경병리성 동통의 전기생리학적 연구. 한국심리학회지. 1998 ; 10(1) : 19-29.
 25. 양갑삼. 침구학. 서울 : 일지사. 1991 : 252-93.
 26. 楊維傑. 黃帝內經靈樞解說. 서울 : 정보사. 1980 : 58-67, 510-21.
 27. 전국한의과대학 침구경혈학교실 편. 鍼灸學(上). 서울 : 집문당. 1998 : 489-91.
 28. 이재동. 봉독요법(임상활용방법을 중심으로). 대한한의학회지. 2000 ; 21(3) : 3-8.
 29. 고희균. 봉침독요법이 항염, 진통 및 해열에 미치는 효능에 관한 실험적 연구. 대한한의학회지. 1992 ; 13(1) : 283-92.
 30. 이종석, 권기록, 고희균. 중완 및 족삼리의 봉독요법이 진통효과에 미치는 영향. 경희대 한의대 논문집. 1992 ; 15 : 483-95.
 31. 이배환. 신경병리성 동통의 조절에 있어서 아드레날린계와 아편계의 상호작용. 한국심리학회지. 2001 ; 13(1) : 31-43.
 32. Shir Y, Seltzer Z. Effects of sympathectomy in a model of causalgiform pain produced by partial sciatic nerve injury in rats. Pain. 1991 ; 45 : 309-20.
 33. 이재민, 문동언, 박종민, 이윤기, 최진환, 양내운, 김창성, 김성년. 흰쥐의 신경병증성 통증모델에서 양측 경부교감신경절제가 기계적 이질통과 냉각 이질통에 미치는 영향. 대한마취과학회지. 1999 ; 36(2) : 327-34.
 34. Bester H, Matsumoto N, Besson JM. Further evidence for the involvement of the spinoparabrachial pathway in nociceptive processes : a c-fos study in the rat. The Journal of comparative neurology. 1997 ; 399 : 383-439.
 35. Dubner R, Ruda MA. Activity-dependent neuronal plasticity following tissue injury and inflammation. Trends in neurosciences. 1992 ; 15 : 96-103.

36. Hathaway CB, Hu JW, Bereiter DA. Distribution of Fos-like immunoreactive in the caudal brain-stem of the rat following noxious chemical stimulation of the temporomandibular joint. *The Journal of comparative neurology*. 1995 ; 356 : 444-56.
37. Laudanna A, Nogueira MI, Mariano M. Expression of Fos protein in the rat central nerve system in response to noxious stimulation: Effects of chronic inflammation of the superior cervical ganglion. *Brazilian journal of medical and biological research*. 1998 ; 31 : 847-50.
38. Okuda-Ashitaka E, Minami T, Tachibana S, Yoshihara Y, Nishiuchi Y, Kimura T, Ito S. Nocistatin, a peptide that blocks nociceptin action in pain transmission. *Nature*. 1998 ; 392(6673) : 286-9.
39. 천상우, 민승기. 흰쥐 삼차신경 척수감각핵 미측소핵 세포의 흥분성 시냅스 전도에 대한 nociceptin의 효과. *대한약안면성형재건외과학회지*. 2003 ; 25(3) : 214-21.
40. Mollereau C, Mouledous L. Tissue distribution of the opioid receptor-like(ORL1) receptor. *Peptides*. 2000 ; 21(7) : 907-17.
41. Kolesnikov YA, Pasternak GW. Peripheral orphanin FQ/nociceptin analgesia in the mouse. *Life sciences*. 1999 ; 64(22) : 2021-8.
42. Anton B, Fein J, To T. Immunohistochemical localization of ORL-1 in the central nervous system of the rat. *The Journal of comparative neurology*. 1996 ; 376 : 229.
43. Campbell JN, Raja SN, Belzberg AJ, Meyer RA. Hyperalgesia and the sympathetic nervous system. *Progress in pain research and management : Touch, temperature, and pain in health and disease : mechanisms and assessments*. Seattle : IASP Press. 1994 : 249-65.