

足三里 蜂毒藥鍼刺戟이 Formalin-induced Pain Behavior에 미치는 影響

任允卿* · 徐廷徽* · 金容爽* · 金昌煥* · 李潤浩* · 崔道永*

ABSTRACT

The Effect of Bee Venom Acupuncture into Chok-samni (ST36) on Formalin-induced Pain Behavior

Yun-Kyoung, Yim* · Jung-Chul, Seo* · Yong-Suk, Kim* · Chang-Hwan, Kim*
Yun-Ho, Lee* · Do-Young, Choi*

* Dept. of Acupuncture & Moxibustion
Oriental Medical College, Kyung Hee University

This study was designed to evaluate the analgesic effect of bee venom (BV) Acupuncture into different treatment points, Chok-samni (ST36) and blank loci of the gluteal muscle and back. We investigated the changes in formalin-induced pain behavior according to the pretreatment with different concentrations of BV, thirty minutes before the formalin injection. The results were summarized as follows:

1. The formalin-induced pain behavior was suppressed by pretreatment with BV into Chok-samni (ST36) in a dose dependent manner. During the early phase, 0.08mg/kg of BV showed a statistically significant suppression in the formalin-induced pain behavior. Moreover, 0.008mg/kg, 0.016mg/kg, and 0.08mg/kg of BV, except 0.0016mg/kg of BV, had significant suppressive effects on the formalin-induced pain behavior during the late phase. Therefore, these data indicated that the suppressive effect of BV acupuncture on the formalin-induced pain behavior was stronger in the late phase rather than the early phase

2. In order to investigate the analgesic effect of BV acupuncture into different treatment points, the experimental animals were divided into three groups: Chok-samni (ST36) group, gluteal group and back group. In the Chok-samni (ST36) group, the formalin-induced pain behavior during all the phases was significantly reduced as compared with that of the back group. However, as compared with that of the gluteal group, the formalin-induced pain behavior in the Chok-samni (ST36) group was decreased only in the late phase, not in the early phase. The formalin-induced pain behavior in the gluteal group was significantly reduced as compared with that of the back group in the late phase, not in the early phase. We suggested that the analgesic effect of BV acupuncture into Chok-samni (ST36) was most effective among Chok-samni (ST36), gluteal, and the back groups in formalin-induced pain behavior.

Key words : bee venom (BV) acupuncture, Chok-samni (ST36), formalin-induced pain behavior

I. 緒論

蜂毒藥鍼療法은 꿀벌의 鍼을 直接 刺入하거나, 꿀벌의 毒囊에 들어있는 蜂毒을 抽出, 加工한 蜂毒藥鍼液을 一定한 穴位上에 注入함으로써 刺鍼效果와 蜂毒의 藥理作用을 同時에 活用한 鍼療法이다.^{3,16)} 現在 蜂毒藥鍼療法의 鎮痛¹³⁾, 消炎¹²⁾, 解熱⁸⁾, 抗痙攣⁹⁾, 腫瘍抑制 및 免疫增強效果¹⁰⁾, 毒性¹⁴⁾ 등에 對하여 많은 實驗的 研究들이 報告되어 있다.

鎮痛效果의 實驗的 檢證을 위한 痛症 model로서 最近 formalin test가 많이 利用되고 있는데, 이는 損傷된 組織으로부터 誘發되는 緩慢하고 持續的인 痛症에 대한 神經系의 反應을 觀察할 수 있다는 점에서, 臨床的으로 慢性痛症 model과 類似하며^{21,28)}, 鎮痛效果를 觀察하는 것 뿐만 아니라, 痛症誘發機轉 및 鎮痛機轉을 밝히는 데에도 活用되고 있다.⁴³⁾

이에 著者는 formalin test를 利用하여, 足三里 蜂毒藥鍼刺戟에 따른 formalin-induced pain behavior를 觀察하였던 바, 有意性 있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實驗

1. 動物

體重 200-250g인 Sprague Dawley種 雄性 rat (大韓實驗動物, n=80)를 選別하여 stress 및 環境의 變化에 따른 影響을 最小化함으로써 實驗外的 要因들이 神經細胞의 活性에 影響을 미치지 않도록 實驗動物을 管理하였다. 또한 實驗前後에 實驗動物의 狀態를 檢査하여 外傷의 與否와 疾病狀態를 조사하였고, 이를 바탕으로 正常的인 實驗動物만을 選別하여 實驗에 使用하였다. 모든 實驗은 神經活性의 diurnal variation을 排除시키기 위해 午前 8時에서 午後 5時 사이에 實施하였다.

2. 取穴

實驗動物의 蜂毒藥鍼刺戟은 足三里 藥鍼刺戟群과 任意穴 藥鍼刺戟群으로 나누어 實施하였다. 足三里 藥鍼刺戟群은 formalin 投與 30分 前에 實驗動物의 後肢에 있는 tibia anterior tubercle의 外側 5mm에, tibia와 fibula 사이에 位置하고 있는 兩側 足三里(Chok-samni, ST36)에 各其 다른 濃度의 蜂毒藥鍼液 20 μ l씩을 藥鍼刺戟하였으며, 任意穴 藥鍼刺戟群은 實驗動物의 臀部任意穴 및 背部任意穴에 足三里 藥鍼刺戟群과 同一한 量으로 藥鍼刺戟하였다.

3. 蜂毒藥鍼刺戟

實驗에 使用된 蜂毒藥鍼液은, 蜂毒抽出物 (Sigma, Cat.# : V-3125)을 0.08mg/kg, 0.016mg/kg, 0.008mg/kg 및 0.0016mg/kg의 各其 다른 濃度로 稀釋하여, 足三里 및 任意穴에 藥鍼刺戟하였으며, 藥鍼刺戟 30分 後에 발바닥으로 formalin을 注入하여 痛症을 誘發하였다.

4. Formalin-induced pain behavior의 觀察

Formalin test는 恒常 23°C가 維持되며, 外部의 騒音이 完全히 遮斷되는 chamber에서 實施하였다. 實驗動物을 實驗場所로 옮기고, 1시간의 適應期間을 거친 다음, 生理食鹽水 또는 蜂毒藥鍼刺戟을 實施하고 30分 後에 實驗動物의 左側 後肢 발바닥 皮下에 1% formalin(0.37% formaldehyde) 20 μ l를 投與하였다. Formalin을 投與한 左側 後肢를 입으로 핥거나 깨무는 등의 行動을 보이는 것을 formalin-induced pain behavior로 간주하였으며, 이러한 實驗動物의 行動을 formalin 投與 後 60分 동안 video camera recording system으로 녹화하여 5分 間隔으로 觀察하였다.

5. 統計處理

實驗結果는 1-way ANOVA(Statview512+ Software, Brainpower Inc., Abacus Concept Inc., 1986)를 利用하여 統計處理하였으며,

probability values를 測定하기 위해 Scheffe F test를 實施하였고, 實驗動物間의 variance도 考慮하였다.

III. 驗實成績

1. Formalin-induced pain behavior의 誘發

實驗動物의 발바닥으로 formalin을 注入한 후, formalin-induced pain behavior를 보이는 時間을 5分 間隔으로 60分 동안 觀察하였을 때, formalin 注入 直後에서부터 5分 동안은 활발한 formalin-induced pain behavior를 나타내다가(平均 89.3秒/5分), 注入後 5分에서 10分 사이에는 formalin-induced pain behavior를 거의 나타내지 않거나, 매우 낮은 수준으로 觀察되었다. 以後, formalin 注入 10分 後부터 다시 增加하기 시작하여, 注入後 15-20分 사이에 가장 많은 formalin-induced pain behavior(平均 100.3秒/5分)를 나타

내었으며, 이러한 行動은 그 後 減少하기 시작하여, 45分 後에는 觀察되지 않았다(Table I A, Figure 1A-■-).

生理食鹽水を formalin 注入 30分 前에 皮下로 注入한 對照群(Table I A, Figure 1A-●-)에서도 formalin만 注入한 實驗群에서 觀察되었던 formalin -induced pain behavior와 유사한 發顯 樣相을 觀察할 수 있었다. Formalin -induced pain behavior의 變化를 初期(0-10分) 및 後期反應(10-60分)으로 나누어, formalin-induced pain behavior를 나타낸 時間의 總合으로 比較하였을 때, formalin만을 注入한 實驗群과 生理食鹽水 注入 後 formalin을 注入한 對照群에서의 formalin-induced pain behavior는 統計的인 차이를 보이지 않았다(Table I B, Figure 1B).

蜂毒藥鍼刺戟 30分 後에 生理食鹽水を 注入한 對照群에서는, 蜂毒藥鍼刺戟 後 5分 間隔으로 90分 동안 實驗動物의 行動을 觀察한 結果, 實驗全期間에 걸쳐, formalin만을 注入한 實驗群에서 觀察되었던 pain behavior는 觀察되지 않았다 (Table I, Figure 1A-▲-).

Time (min)	Time spent in pain behavior (sec)			
	Formalin alone	Saline-formalin	Bee venom-saline	
Early phase	-30	0	0	
	-25	0	0	
	-20	0	0	
	-15	0	0	
	-10	0	0	
	-5	0	0	
	0	0	0	
	5	89.3±10.6	88.2±12.8	0
	10	9.0±6.4	4.8±2.4	0
	Late phase	15	14.1±3.4	10.1±2.5
20		100.3±15.6	100.8±17.9	0
25		84.3±10.6	76.6±11.3	0
30		52.4±8.1	42.6±9.2	0
35		22.1±7.7	22.4±8.5	0
40		6.6±3.0	17.6±6.7	0
45		1.1±0.9	0	0
50		0	0	0
55		0	0	0
60		0	0	0

(A)

Group	Time spent in pain behavior (sec)		
	Early phase	Late phase	Total
Formalin alone	89.3 ± 10.6	289.9 ± 33.9	379.2 ± 34.5
Saline-formalin	88.2 ± 12.8	275.0 ± 25.2	363.2 ± 33.8
Bee venom-saline	0	0	0

(B)

Each value represents mean ± SEM.

Table I. (A) Time spent in pain behavior of experimental animals treated with formalin alone, saline-formalin and bee venom-saline in each 5-min time bin. (B) Mean of total time spent in pain behavior in the early phase (0-10min), late phase (10-60min) and the sum of these phases.

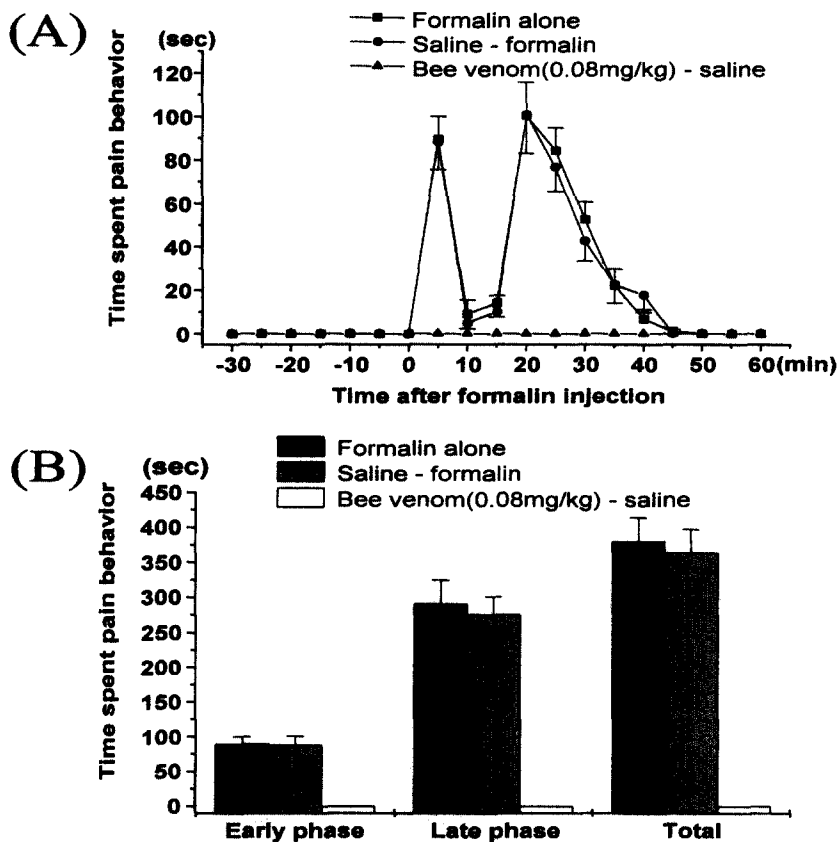


Figure 1. (A) Time spent in pain behavior of formalin alone (-■-), saline -formalin (-●-) and bee venom-saline injected animals (-▲-) for each 5-min time bin. Bars in (B) represent mean of total time spent in pain behavior during the early phase (0-10min), late phase (10-60min) and the sum of these phases. There was no significant behavioral change between formalin alone injected animals and saline-formalin injected animals. Note that the animals treated with bee venom-saline did not show any pain behavior throughout the whole experiment.

Each bar represents mean ± SEM.

2. 足三里 蜂毒藥鍼刺戟이 formalin- induced pain behavior에 미치는 影響

Formalin으로 痛症을 誘發시키기 30分 前에 0.0016mg/kg, 0.008mg/kg, 0.016mg/kg 및 0.08mg/kg의 蜂毒藥鍼液을 足三里(ST36)에 藥鍼刺戟하고, formalin 注入 後 60分 동안 5分 間隔으로 觀察하였을 때, 모든 蜂毒藥鍼刺戟群에서 生理食鹽水를 前處置한 對照群에 比하여 formalin-induced pain behavior의 有意한 減少를 나타내었다(Table II, Figure 2).

蜂毒藥鍼刺戟의 formalin-induced pain

behavior 抑制效果는 蜂毒藥鍼液의 濃度가 높을 수록 增加되는 傾向을 나타내었고, 蜂毒藥鍼刺戟의 濃度依存的 formalin-induced pain behavior 抑制效果는 early phase보다 late phase에서 強하게 觀察되었다(Figure 2C and D). Late phase에서 나타난 formalin -induced pain behavior 抑制效果는 0.0016mg/kg 蜂毒藥鍼刺戟群을 除外한 나머지 모든 蜂毒藥鍼刺戟群에서 對照群에 比하여 有意하였으나, early phase에서는 0.08mg/kg 蜂毒藥鍼刺戟群에서만 對照群에 比하여 有意한 減少를 나타내었다(Table II, Figure 2C and D).

Time (min)	Time spent in pain behavior (sec)				
	Saline	Dose of bee venom			
		0.08mg/kg	0.016mg/kg	0.008mg/kg	0.0016mg/kg
5	88.2±12.9	53.5±12.8	81.6±8.8	75.8±3.6	92.2±7.5
10	4.8±2.4	0	2.9±2.0	0	3.2±2.2
15	10.0±2.5	0*	19.8±7.1	6.3±5.0	25.7±5.4
20	100.8±17.9	0**	67.1±8.5**	59.2±16.6	103.3±10.8
25	76.6±11.3	0**	32.4±6.1**	38.3±11.4*	73.2±10.8
30	42.6±9.2	0**	14.9±5.9**	32.8±9.8	47.8±13.5
35	22.4±8.5	0**	1.3±1.3*	11.3±6.3	23.0±6.9
40	17.6±6.7	0	0.8±0.8	6.3±3.5	3.7±1.0
45	0	0	0	1.7±1.1	0
50	0	0	0	0	0
55	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0

(A)

Phase	Time spent in pain behavior (sec)				
	Saline	Dose of bee venom			
		0.08mg/kg	0.016mg/kg	0.008mg/kg	0.0016mg/kg
Early	93±14.4	53.5±12.8*	81.6±8.8	75.8±3.6	92.2±7.5
Late	270.2±24.8	0**	139.2±19.5**	156.0±28.1*	279.8±21.2
Total	363.2±33.8	53.5±12.8**	220.8±25.3**	231.8±30.6**	372.0±19.0

(B)

* P<0.05 and ** p<0.01 as compared with saline-formalin group.

Each value represents mean±SEM.

Table II. (A) The effect of different concentrations of bee venom on time spent in formalin-induced pain behavior for each 5-min time bin. The experimental animals were pretreated with saline or different concentrations of bee venom into Chok-samni (ST36). (B) Mean of total time spent in formalin-induced pain behavior during the early phase, late phase and the sum of these phases.

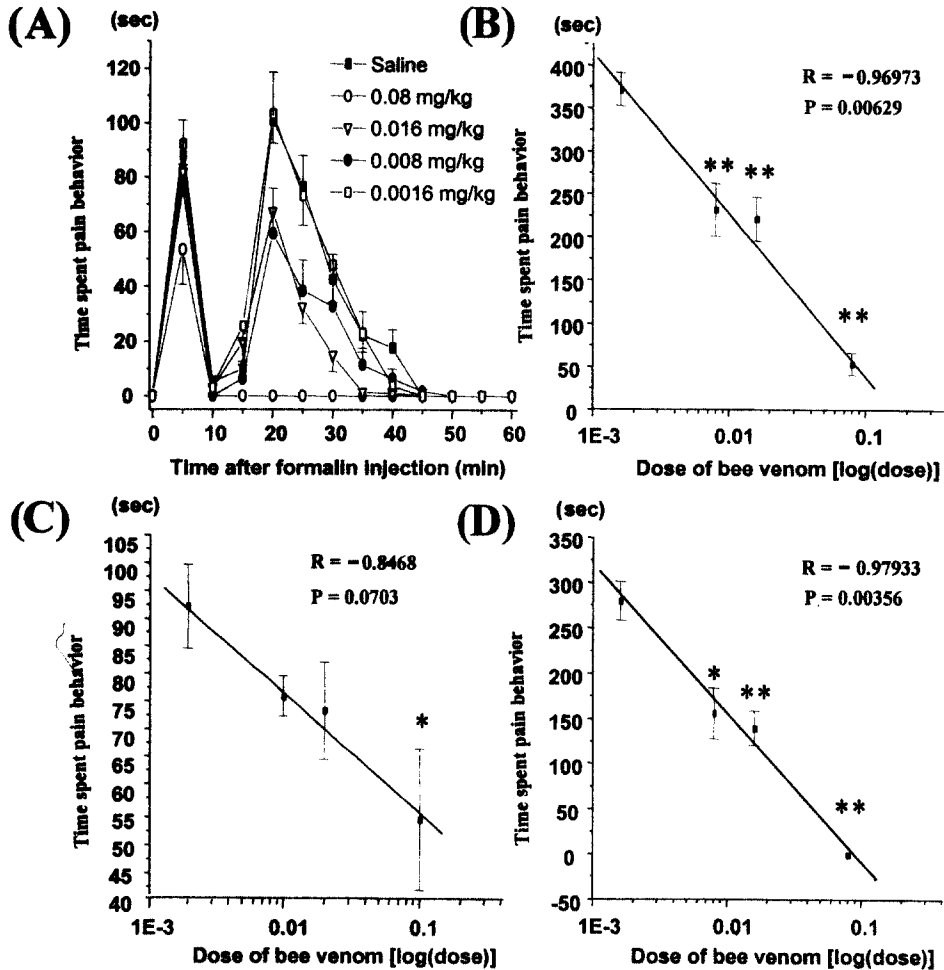


Figure 2. (A) Graphs showing the effect of bee venom acupuncture into Chok-samni (ST36) on formalin-induced pain behavior. The data represent dose dependent effect of bee venom pretreatment on total time spent in formalin-induced pain behavior during the early phase (C), late phase (D) and the sum of these phases (B).

* $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ as compared with saline-formalin group.

3. 任意穴 蜂毒藥鍼刺戟이 formalin-induced pain behavior에 미치는 影響

0.08mg/kg 蜂毒藥鍼液을 臀部任意穴에 藥鍼刺戟하였을 때, formalin-induced pain behavior는 初期 5分間 平均 64.2秒, 後期反應의 頂點인 15-20分 사이에는 平均 36.2秒로 觀察되었다 (Table IIIA, Figure 3A-○-). 한편, 0.016mg/kg 蜂毒藥鍼液을 臀部任意穴에 藥鍼刺戟하였을 경우, 初期 5分間 平均 91.2秒, 後期 15-20分에는 對照群에 比하여 약 36秒가 낮은 平均 64.4秒 동안의 formalin-induced pain behavior를 나타내었다 (Table IIIA, Figure 3A-▲-). 臀部藥鍼刺戟群의 formalin-induced pain behavior는 0.08mg/kg

蜂毒藥鍼刺戟群의 初期反應과 後期反應 모두에서 對照群에 比하여 有意한 減少를 나타내었으나, 0.016mg/kg 蜂毒藥鍼刺戟群에서는 初期 및 後期反應 모두 對照群에 比하여 有意한 차이를 나타내지 않았다 (Table IIIB, Figure 3B).

한편, 0.08mg/kg의 蜂毒藥鍼液을 背部任意穴에 藥鍼刺戟한 경우, 初期에는 平均 86秒 동안 formalin-induced pain behavior가 觀察되어 對照群과 비슷한 反應時間을 나타내었으며, 15-20分에는 平均 75.6秒로 對照群에 比하여 平均 24.5秒가 減少되어 나타났으나 有意性은 없었고, 初期反應과 後期反應의 總合을 對照群과 比較하였을 때에도 有意한 減少는 觀察되지 않았다 (Table III AB, Figure 3A-▽-, Figure 3B)

Time (min)	Time spent in pain behavior (sec)			
	Control	Bee venom		
		0.08mg/kg(gluteal)	0.016mg/kg(gluteal)	0.08mg/kg(back)
5	89.3±10.6	64.2±4.8*	91.2±11.2	86±7.3
10	9±6.4	0	5.4±3.5	0
15	14.1±3.4	0	11.0±10.5	13.8±8.6
20	100.3±15.6	36.2±6.6**	64.4±15.7	75.6±10.5
25	84.3±10.6	15±7.1**	67.6±8.5	68.2±14.7
30	52.4±8.1	0**	54.8±12.4	50.8±11.9
35	22.1±7.7	0.6±0.6**	16.2±5.8	29.2±10.4
40	6.6±3.0	0	5.2±2.3	21.6±3.2
45	1.1±0.9	0	4.4±2.7	4±1.1
50	0	0	0	3±3.0
55	0	1.2±1.2	0	0
60	0	0	0	0

(A)

Phase	Time spent in pain behavior (sec)			
	Control	Bee venom		
		0.016mg/kg(gluteal)	0.08mg/kg(gluteal)	0.08mg/kg(back)
Early	89.3±10.6	91.2±11.2	64.2±4.8*	86.0±7.3
Late	289.9±33.8	229±41.4	53.0±10.3**	266.2±31.2
Total	379.2±34.5	320±41.0	117.2±12.7**	352.2±26.9

(B)

Each value represents mean±SEM.

* p<0.05 and ** p<0.01 as compared with control group.

Table III. (A) The effect of bee venom acupuncture on total time spent in formalin-induced pain behavior for each 5-min time bin. The experimental animals were pretreated with saline or different concentrations of bee venom into blank loci of gluteal muscle or back. (B) Mean of total time spent in formalin-induced pain behavior during the early phase, late phase and the sum of these phases.

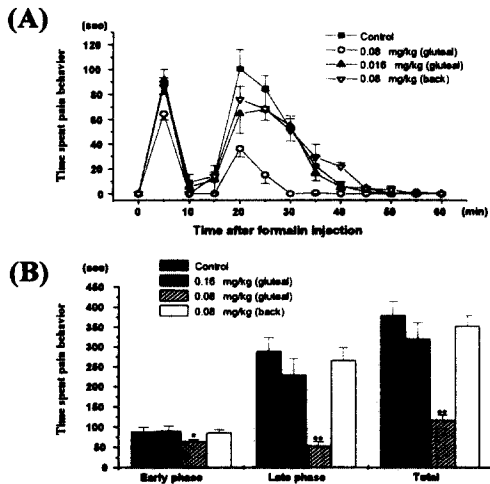


Figure 3. (A) Graphs represent the effect of bee venom acupuncture into blank loci of gluteal muscle or back on formalin-induced pain behavior. Bars in (B) represent mean of total time spent in formalin-induced pain behavior during the early phase, late phase and the sum of these phases.

Each bar represents mean \pm SEM.

* $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ as compared with control group.

4. 足三里와 任意穴의 蜂毒藥鍼刺戟 效果比較

0.08mg/kg 蜂毒藥鍼刺戟群을 足三里 및 任意

穴에 따른 藥鍼刺戟部位別로 比較해 보았을 때, 足三里藥鍼刺戟群의 formalin-induced pain behavior는 初期反應에서 53.5秒 및 後期反應에서 0秒로 觀察되었으며, 臀部藥鍼刺戟群의 formalin-induced pain behavior는 初期反應에서 64.2秒 및 後期反應에서 53秒로 觀察되었다. 또한 背部藥鍼刺戟群의 formalin-induced pain behavior는 初期反應에서 86秒, 後期反應 266秒로 觀察되었다 (Table IVB). 이러한 結果로 볼 때 足三里 藥鍼刺戟群이 가장 큰 formalin-induced pain behavior 抑制效果를 나타내었으며, 臀部藥鍼刺戟群 및 背部藥鍼刺戟群의 順으로 抑制效果가 減少되는 傾向을 나타내었다. 이러한 蜂毒藥鍼刺戟의 部位에 따른 formalin-induced pain behavior 抑制效果는 各 藥鍼刺戟部位에 따라 有意한 차이를 나타내었다 (Table IVA and B, Figure 4A and B).

Time (min)	Time spent in pain behavior (sec)		
	ST36	Gluteal	Back
5	53.5 \pm 12.8*	64.2 \pm 4.8	86 \pm 7.3
10	0	0	0
15	0	0	13.8 \pm 8.6
20	0***	36.2 \pm 6.6	75.6 \pm 10.5
25	0***	15 \pm 7.1	68.2 \pm 14.7
30	0**	0	50.8 \pm 11.9
35	0**	0.6 \pm 0.6	29.2 \pm 10.4
40	0**	0	21.6 \pm 3.2
45	0	0	4 \pm 1.1
50	0	0	3 \pm 3.0
55	0	1.2 \pm 1.2	0
60	0	0	0

(A)

* means statistical significances within 5 % as compared with back group.

** means statistical significances within 1 % as compared with back group.

*** means statistical significances within 1 % as compared with gluteal & back group.

Phase	Time spent in pain behavior (sec)		
	ST36	Gluteal	Back
Early	53.5±12.8 ^a	64.2±4.8	86±7.3
Late	0 ^d	53±10.3 ^c	266.2±31.2
Total	53.5±12.8 ^{bc}	117.2±12.7 ^c	352.2±26.9

(B)

a means statistical significances within 5 % as compared with back group.

b means statistical significances within 5 % as compared with gluteal group.

c means statistical significances within 1 % as compared with back group.

d means statistical significances within 1 % as compared with gluteal and back group.

Each value represents mean±SEM.

Table IV. (A) Time spent in formalin-induced pain behavior for each 5-min time bin after formalin injection. The experimental animals were pretreated into Chok-samni (ST36) or blank loci of gluteal muscle or back. (B) Mean of total time spent in formalin-induced pain behavior during the early phase, late phase and the sum of these phases.

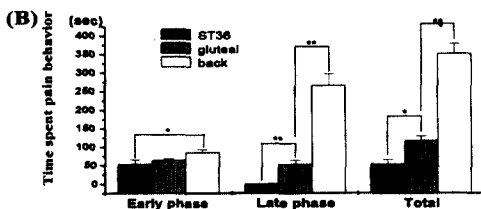
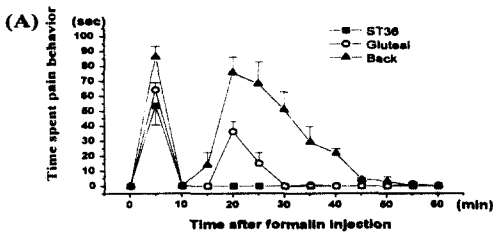


Figure 4. Comparison of the antinociceptive effect of bee venom acupuncture into different sites on formalin-induced pain behavior.

Each bars are represented as mean±SEM.

* p<0.05 and ** p<0.01

IV. 考 察

蜂毒藥鍼療法은 疾病有關部位나 經穴上에, 蜂 鍼을 直接 刺入하거나, 또는 꿀벌의 毒囊에 들어 있는 蜂毒을 抽出, 加工한 蜂毒藥鍼液을 注入함 으로서, 刺鍼效果和 蜂毒의 藥理作用을 同時에 利用하여 疾病을 豫防, 治療하는 藥鍼療法의 一種이다.^{7,16)}

이는 約 2000年 前부터 民間療法의 하나로¹⁾ 關節炎, 痛風 等의 諸疾患에 應用되어 왔으며²⁾, 그 性味가 苦, 辛, 平하고¹⁷⁾, 強壯, 鎮靜, 平喘, 祛 風濕, 鎮痛, 抗炎, 免疫, 抗癌, Adrenalin 分泌促進 및 淋巴細胞와 赤血球再生增加 等의 作用이 있어 筋肉痛, 急·慢性關節炎, 神經痛, 痛風, 化膿性疾 患, 高血壓, 류머티즘, 류머티스성 關節炎, 皮膚病, 頭痛, 腰痛, 打撲傷 等에 適用한다고 하였다.^{15,18,21)}

1973年 Billingham 等²³⁾에 의해 처음으로 蜂毒의 抗炎症作用이 報告된 以後, 蜂毒에 대한 關心이 높아지면서, 蜂毒藥鍼療法의 鎮痛¹³⁾, 消炎¹²⁾, 解熱⁸⁾, 抗痙攣⁹⁾, 腫瘍抑制 및 免疫增強效果¹⁰⁾, 毒性¹⁴⁾ 等에 對하여 많은 實驗의 研究가 이루어 졌 으며, 近來에는 특히 蜂毒의 構成成分의 作用에 대한 研究^{31,38)}가 활발히 進行되고 있다.¹¹⁾

蜂毒은 約 40종류의 構成要素로 되어 있는데, 이 중 11개의 peptides (melittin, apamin, mast cell degranulating peptide, adolapin 等)가 全身的인 作用 즉, 抗炎症, 抗真菌, 抗박테리아, 抗發熱, ACTH刺戟, 血管透過性增加를 誘發하며, 5개 의 enzymes은 心血管系에 作用하며, 蜂毒 注入部 位에 局所的으로 作用하게 된다. 이외에 carbohydrates, lipids, amino-acids 등 3개의 生理的 活性 amines로 構成되어 있다.^{1,21,42)}

蜂毒의 構成成分인 mast cell degranulating

peptide는 carageenin을 利用하여 誘發된 急性關節炎 및, adjuvant를 利用하여 誘發된 慢性關節炎 model에서 edema test를 통하여 抗炎症作用이 입증되었으며³¹⁾, melittin은 分泌性 phospholipase A2에 結合하여 酵素 活性을 抑制시킴으로써 炎症에 의해 誘發된 edema를 효과적으로 減少시킨다고 알려져 있다³⁸⁾.

이와 같이, 蜂毒의 抗炎症作用에 대한 機轉研究는 많이 進行되고 있지만, 蜂毒의 鎮痛作用이나 그 作用機轉에 관한 研究는 아직 不足한 實情이다.

疼痛은 生命을 保全하려는 生體機轉의 하나로, 疼痛에 반응하는 痛覺受容器는 皮膚表面, 腸管壁, 血管壁 등에 분포되어 있는 神經末端에 존재하여, 有害한 刺戟에 대하여 잘 順應하지 않는 特性을 가짐으로써 人體를 保護하게 된다²⁶⁾. 疼痛의 認識에는 痛覺受容器와 神經纖維, 脊髓, 視床, 大腦皮質 등이 關與하며, 知覺神經의 末梢가 物理的, 或은 化學的 刺戟因子에 의해 刺戟되면, 그 刺戟이 脊髓, 延髓, 視床 등의 痛覺傳導路를 따라 大腦皮質에 있는 痛覺中樞에 傳達되어 일어난다²⁾.

그러므로 疼痛을 除去하려면 疼痛의 發生으로부터 傳導路, 中樞神經에 이르기까지의 어느 한 部分을 遮斷해야만 한다. 그러기 위해서는 첫째, 疼痛의 發生原을 除去하거나, 둘째, 一次 neuron에서 疼痛의 傳導를 遮斷하거나, 셋째, 中樞神經 특히 視床 및 大腦의 疼痛感受易值를 上升시키거나, 넷째, 大腦皮質에 作用하여 疼痛感受易值를 上升시키거나, 다섯째, 痛覺中樞를 麻痺시켜야 한다²⁶⁾.

本 實驗에서 사용된 足三里(ST36)는 足陽明胃經의 合土穴로서 “調和氣血, 通調經絡”⁵⁾한다고 하였으며, 各種 胃腸疾患 및 全身疾患 外에도, 脚氣, 下肢神經痛, 半身不隨 等 下肢病에 應用한다고 하였다⁴⁵⁾.

鎮痛效果의 實驗的 檢證을 위해서는 臨床的 痛症과 類似한 痛症 model을 利用하는 것이 좋은데, formalin test는 損傷된 組織으로부터 發生하는 緩慢하고 持續的인 痛症에 對한 生體의 反應

을 觀察할 수 있다는 점에서, 機械的 刺戟이나 熱刺戟을 利用한 方法보다 臨床的인 慢性痛症에 더 類似한 實驗 model로 認定되고 있다^{28,43)}.

Formalin test는 formalin 稀釋液을 動物의 皮下에 注入하여 痛症을 誘發하는 方法으로²⁵⁾, formalin은 formaldehyde의 37%수용액이며, 注射部位로는 주로 動物의 後肢를 많이 利用한다⁴³⁾. Formalin-induced pain behavior는 early phase와 late phase의 biphasic 樣相을 나타낸다. 즉, formalin 注入 後 3-5分間 pain behavior를 보이다가 以後 痛症으로 인한 듯한 行動을 거의 나타내지 않으며, formalin 注入 後 15-20分 쯤 다시 나타나기 시작하여, 20-40分間 持續된다²⁸⁾.

Dickenson^{26,27)}은 電氣生理學的 研究에서, formalin 注入 後 spinal dorsal horn cell의 活性變化 역시 biphasic pattern을 나타내는데, 이는 時間經過에 따른 formalin-induced pain behavior와 그 樣相이 매우 類似하다고 하였다.

Formalin-induced pain behavior의 두 phases는 그 誘發機轉이 서로 다르다고 알려져 있는데, early phase는 神經末端에 對한 formalin의 直接的인 化學的 刺戟으로 인한 C-fiber의 活性에 의해 일어나며,³²⁾ late phase는 末梢組織에서의 formalin으로 인한 炎症反應과 spinal dorsal horn에서의 機能的 變化의 複合作用에 의해 일어난다고 한다³²⁾. 痛症傳達物質로는 early phase에서 substance P와 bradykinin이 關여하며, late phase에서는 histamin, serotonin, prostaglandins 및 bradykinin 등이 作用하는데³⁹⁾, late phase에서의 spinal cord內的 機能的 變化는 early phase 동안의 C-fiber의 活性에 의해서 誘發된다고 알려져 있으며⁴¹⁾, 또한, late phase의 發顯에 있어 局所炎症反應보다 中樞神經의 機能的 變化가 더 重要한 役割을 한다는 것이 이미 證明된 바 있다⁴¹⁾. 따라서 炎症을 抑制하거나 炎症으로 인한 痛症을 抑制하는 藥物을 處置할 경우 late phase의 反應이 抑制될 수는 있으나, late phase의 反應을 抑制하는 藥物이 곧 炎症을 抑制하거나, 炎症으로 인한 痛症을 抑制한다고 볼 수는 없다⁴³⁾.

Manabu Shibata 等³⁹⁾에 의하면, 鎮痛效果는

그 작용部位에 따라 中樞性과 末梢性으로 나누어 질 수 있는데, morphine 等 中樞性 麻醉劑는 formalin test에서 first phase와 second phase의 response를 똑같이 抑制하는 반면, aspirin 等과 같이 末梢에 作用하는 藥物은 단지 second phase만을 抑制한다고 한다. 또한, 末梢와 中樞에 모두 作用하는 aminopyrine이나 mefenamic acid 等の 藥物은 두 phases 모두에 對하여 抑制效果가 있지만, first phase보다 second phase에 對한 抑制效果가 더 強力하며, 이와 같은 方法으로 鎮痛藥物의 作用部位를 類推할 수 있다고 하였다.

이와 같이, formalin test는 전혀 다른 屬性的 two phases를 나타냄으로써, 鎮痛效果의 研究 뿐만 아니라 疼痛誘發機轉이나 鎮痛機轉을 밝히는 데에도 有用한 方法으로 認定되고 있다⁴³⁾.

本 實驗에서 formalin을 實驗動物의 左側 後肢 발바닥 皮下로 注入하였을 때, 實驗動物은 典型的인 biphasic 樣相의 pain behavior를 보여 주었으며, 生理食鹽水를 足三里에 前處置한 후 formallin을 注入한 群에서도 formalin만을 注入한 實驗群과 統計的인 차이가 없었다. 즉, 蜂毒의 稀釋에 使用된 生理食鹽水는 實驗에 有意한 影響을 미치지 않았다고 볼 수 있다.

또한, 足三里에 蜂毒藥鍼刺戟 後 발바닥에 生理食鹽水를 注入한 對照群에서는 formalin을 注入한 群에서와 같은 pain behavior가 觀察되지 않았다. 따라서, 本 實驗에서 蜂毒藥鍼刺戟에 의해 誘導되는 pain behavior는 없는 것으로 認定할 수 있다.

Formalin 注入 30分 前에 足三里에 蜂毒藥鍼液刺戟한 實驗群의 formalin -induced pain behavior는 對照群에 比하여 濃度依存的으로 減少하였으며, 이러한 濃度依存성은 early phase보다 late phase에서 强하게 나타났다. 蜂毒藥鍼刺戟의 formalin-induced pain behavior에 對한 抑制效果는, early phase에서는 0.08mg/kg 蜂毒藥鍼刺戟群에서만 有意하게 나타났으며, late phase에서는 0.0016mg/kg 蜂毒藥鍼刺戟群을 除外한 모든 蜂毒藥鍼刺戟群에서 有意한 抑制效果를 나타내었다.

이러한 結果로 볼 때, 蜂毒藥鍼療法의 鎮痛效果는 early phase보다 late phase에서 더 높은 것으로 推測되며, 鎮痛效果의 作用機轉에 關한 Manabu Shibata 等³⁹⁾의 報告에 따르면, 蜂毒藥鍼療法의 鎮痛效果는 中樞神經과 末梢神經 모두에서 作用하는 것으로 推測된다.

蜂毒藥鍼療法의 抗炎症作用에 對하여는 既存에 報告된 바가 있으나^{11,12)}, 本 實驗에서 나타난 蜂毒藥鍼刺戟의 late phase에서의 formalin-induced pain behavior 抑制效果가 局所炎症의 抑制에 起因한 것인지, 아니면 다른 어떤 機轉에 依한 것인지는 알 수 없다. 그러나, 蜂毒藥鍼刺戟이 formalin-induced pain behavior의 early phase와 late phase를 모두 抑制한 것으로 보아, 蜂毒藥鍼療法에는 局所炎症抑制로 因한 鎮痛效果가 아닌 어떠한 다른 痛症抑制機轉이 存在할 것으로 推測된다.

蜂毒藥鍼液을 背部任意穴에 藥鍼刺戟하였을 때, formalin-induced pain behavior는 對照群에 比하여 有意한 變化가 없었으나, 臀部任意穴에 藥鍼刺戟하였을 때에는, 足三里 藥鍼刺戟群에서 가장 높은 formalin-induced pain behavior 抑制效果를 보인 0.08mg/kg 蜂毒藥鍼刺戟群에서 對照群에 比하여 有意한 減少를 보였다.

0.08mg/kg 蜂毒藥鍼液을 足三里, 臀部任意穴 및 背部任意穴에 藥鍼刺戟 하였을 때, 足三里 藥鍼刺戟群은 臀部藥鍼刺戟群에 比하여, early phase에서는 formalin-induced pain behavior의 有意한 變化가 없었으나, late phase에서와 두 phases의 總計에서는 有意한 減少를 나타내었으며, 背部藥鍼刺戟群과 比較하였을 때에는, 모든 phases에서 有意한 減少를 나타내었다. 臀部藥鍼刺戟群은 背部藥鍼刺戟群에 比하여, early phase에서는 formalin-induced pain behavior의 有意한 變化가 없었으나, late phase에서와 두 phases의 總計에서는 有意한 減少를 나타내었다.

따라서, 蜂毒藥鍼刺戟의 部位別 formalin-induced pain behavior에 對한 抑制效果는 足三里, 臀部 및 背部藥鍼刺戟群의 順으로 나타났다. 이러한 結果로 미루어 볼 때, 足三里가

下肢部の痛症治療에 있어 其他 任意穴 部位에 比하여 有效性이 있음을 알 수 있다.

以上の 結果로부터 蜂毒藥鍼療法이 formalin에 의한 化學的 刺戟 및 그에 따른 局所炎症으로 인한 痛症에 對하여 鎮痛效果가 있음을 觀察할 수 있었으며, 앞으로 蜂毒藥鍼療法의 鎮痛機轉에 對하여 더 깊은 研究가 必要할 것으로 思料된다.

V. 結 論

蜂毒藥鍼刺戟이 formalin-induced pain behavior를 觀察하고자 蜂毒藥鍼液을 0.0016mg/kg, 0.008mg/kg, 0.016mg/kg 및 0.08mg/kg의 濃度로 足三里(ST36), 臀部 및 背部 任意穴에 藥鍼刺戟을 施行하여, 아래와 같은 結論을 얻었다.

1. 足三里(ST36) 蜂毒藥鍼刺戟群의 formalin-induced pain behavior는 對照群에 比하여 濃度依存的으로 抑制되었으며, 蜂毒藥鍼刺戟의 formalin-induced pain behavior에 對한 抑制效果는 early phase보다 late phase에서 强하게 나타났다.

2. 蜂毒藥鍼刺戟의 formalin-induced pain behavior에 對한 抑制效果는 足三里(ST36), 臀部 및 背部藥鍼刺戟群의 順으로 나타났다.

參 考 文 獻

1. 金文昊 : 蜂毒療法과 蜂鍼療法, 서울, 한국교육기획, pp 20-37, 41-42, 67-74, 104-112, 134-149, 171-176, 1992.
2. 金祐謙 : 人體生理學, 서울대학교출판부, 서울, p168, 1979.
3. 金廷彦 : 奇蹟의 藥鍼療法, 서울, 금강출판사, p25, pp 99-104, 1987.
4. 安榮基 : 經穴學叢書, 成輔社, 서울, p197,

1990.

5. 崔容泰 外 : 鍼灸學, 서울, 集文堂, p1457, 1988.
6. 카톨릭대학교대학원 : 痛症, 서울, 수문사, pp 87-94, 1982.
7. 한국약학대학협의회 : 大韓藥典 제5개정 1,2 부 해설, 서울, 문성사, pp 1211-1212, 1987.
8. 高炯均 : 蜂鍼毒療法이 抗炎, 鎮痛 및 解熱에 미치는 效能에 關한 實驗的 研究, 大韓 韓醫學會誌, 13(1): 283-292, 1992.
9. 孔賢淑 : 蜂鍼毒 療法이 抗痙攣에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 10(1): 159-165, 1993.
10. 權奇祿, 高炯均, 金容奭, 朴英培, 金昌煥, 姜成吉 : 蜂毒藥鍼刺戟이 3-MCA 誘發 上皮腫에 對한 抗癌 및 免疫反應에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 14(2): 151-172, 1997.
11. 金祉榮, 高炯均, 金容奭, 朴英培, 金昌煥, 姜成吉 : 蜂毒療法의 最新 研究動向에 對한 考察, 大韓鍼灸學會誌, 14(2): 47-71, 1997.
12. 金祉榮, 高炯均, 金容奭, 朴英培, 金昌煥, 姜成吉 : 蜂毒藥鍼療法의 抗炎症 作用에 關한 實驗的 研究, 大韓鍼灸學會誌, 15(1): 317-331, 1998.
13. 李宗錫, 權奇祿, 高炯均 : 中脘 및 足三里의 蜂毒療法이 鎮痛效果에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 15: 483-495, 1998.
14. 李宗錫, 高炯均, 金昌煥 : 藥鍼用 蜂毒液의 局所毒性試驗에 關한 研究, 大韓韓醫學會誌, 16(1): 227-249, 1995.
15. 麻仲學 : 中國醫學療法大全, 山東, 山東科學技術出版社, pp 216-218, 1991.
16. 莊育民 : 中國鍼灸學發展史, 臺北, 裕臺公司, pp 9-10, 1978.
17. 朱文鋒 : 實用中醫辭典, 陝西, 陝西科學技術出版社, p402, 1992.
18. 張震 : 雲南中醫雜誌, 上海, 雲南新華印刷社, pp 39-41, 1990.
19. Doucet S.P., Squinto S.P. and Bazan N.G. : Fos-Jun and primary genomic response in the nervous system; Possible physiological

- role and pathophysiological significance. N.G.Bazan(Eds.), *Molecular Neurobiology*, The Humana Press Inc, Clifton NJ, pp27-55, 1990.
20. Nicholas J.J. & Rush P.J. : Rehabilitation of patients with rheumatic disorders. In *Physical Medicine and Rehabilitation* edited by Braddom R.L.W.B., Saunders Co., pp 711-727, 1996.
 21. Piek T. : *Venom of the Hymenoptera*, Academic Press, London, pp107-120, 1986.
 22. Assen E.S.K. : A peptide from the venom of the honey Bee, *Brit. J. Pharmacol*, 337-338, 1973.
 23. Billingham M.E. : An anti-inflammanatory peptide from bee venom, *Nature*, 245: 163-4, 1973.
 24. 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.
 25. Clavelou P., Pajot J., Dallel R. and Raboisson P. : Application of the formalin test to the study of orofacial pain in the rat, *Neurosci. Lett.*, 103: 349-353, 1989.
 26. Dickenson A.H. and Sullivan A.F. : Subcutaneous formalin-induced activity of dorsal horn neurons in the rat dorsal horn neurons, *Neurotic Lett.*, 83: 207-211, 1987a.
 27. Dickenson A.H. and 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.
 28. Dubuisson D. and Dennis S.G. : The formalin test ; a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats, *Pain*, 4: 161-174, 1977.
 29. Elliott K.J., Brodsky M., Hynansky A.D., Foley K.M. and Inturrisi C.E. : Dextromethorphan suppresses both formalin-induced nociceptive behavior and the formalin-induced increase in spinal cord c-fos mRNA, *Pain*, 61: 401-409, 1995.
 30. Gogas K.R., Presley R.W., Levine J.D. and Basbaum A.I. : The Antinociceptive Action of Surpraspinal Opioids Results from an Increase in Descending Inhibitory Control: Correlation of Nociceptive Behavior and c-fos Expression, *Neuroscience*, 42(3): 617-628, 1991.
 31. Hanson J.M. : Anti-inflammanatory property of 401(MCD-peptide), a peptide from the venom of the bee *Apis mellifera*, *Br. J. pharmacol.*, 50: 383-392, 1974.
 32. Heapy C.G., Jamieson A. and Russell N.J.W. : After C-fibre and A-delta activity in models of inflammation, *Br. J. Pharmacol.*, 90: 164, 1987.
 33. Hunt S.P., Pini A. and Evan G. : Induction of c-fos like protein in spinal cord neurons following sensory stimulation, *Nature*, 328: 632-634, 1987.
 34. Lee J.H. and Beitz A.J. : Electroacupuncture modifies the expression of c-fos in the spinal cord induced by noxious stimulation, *Brain Res.*, 577: 89-91, 1992.
 35. Lee J-H., Wilcox G.L., and Beitz A.J. : Nitric oxide mediates Fos expression in the spinal cord induced by mechanical noxious stimulation, *NeuroReport*, 3: 841-844, 1992.
 36. Menetrey D., Gannon A., Levine J.D., and Basbaum A.I. : Expression of c-fos protein in interneurons and projection neurons of the rat spinal cord in response to noxious somatic, articular, and visceral stimulation. *J. Comp. Neurol.*, 285:

177-195. 1989.

37. Morgan J.I., and Curran T. : Role of ion flux in the control of c-fos expression, *Nature*, 322: 552-555, 1992.
38. Shamsheer S.S., Peterson J.W. and Chopra A.K. : Melittin binds to secretory phospholipase A2 and inhibits its enzymatic activity, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 238: 436-442, 1997.
39. Shibata M., Ohkubo T., Takahashi H. and Inoki R. : Modified formalin test ; characteristic biphasic pain response, *Pain*, 38: 347-352, 1989b.
40. Takahashi Y., Takahashi K., Moriya H. : Mapping of dermatomes of the lower extremities based on an animal model, *J. Neurosurg.*, 82(6): 1030-1134, 1995.
41. Terence J., Anthony C., Vaccarino L. and Melzack R. : Central nervous system plasticity in the tonic pain response to subcutaneous formalin injection, *Brain Res.*, 535: 155-158, 1990.
42. Thorbecke G.J. : The affinity of reticuloendothelial system for various serum proteins, *Brit. J. Exp. Path.*, 41(2): 190, 1960
43. Tjolsen A., Berge O-G., Hunskaar S., Rosland J.H. and Hole K. : The formalin test ; an evaluation of the method, *Pain*, 51, pp 5-17, 1992.