

蜂毒藥鍼刺戟이 腦幹 神經細胞와 Serotonin性 神經細胞의 活性變化에 미치는 영향

金惠南* · 高炯均* · 朴東錫* · 姜成吉* · 金容奭* · 崔容泰*

ABSTRACT

Effect of the bee venom aqua-acupuncture
on the neuronal activities of serotonergic system in brainstem

Hye-Nam, Kim* · Hyung-Kyun, Koh* · Dong-Suk, Park*
Sung-Keel, Kang* · Yong-Suk, Kim* · Yong-Tae, Choi*

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

This study was designed to evaluate the effect of the bee venom(BV) aqua-acupuncture on the neuronal activities of serotonergic(5-HT) system in the brainstem. After the BV aqua-acupuncture was applied on Chok-Samni(ST36) and the gluteal part(Blank locus) in rats, the number of Fos immunoreactive neurons was counted by using computerized image analyzing system. Also, the number of colocalization between 5-HT containing neurons Fos immunoreactive neurons were analyzed by using the double immunohistochemical technique. The results of the experiments were summarized as follows :

1. In almost every neucli, the Chok-Samni group and Blank locus group showed more increase in the number of Fos immunoreactive neurons than the control group. Especially, in Arc, DR, LC, RMg, Gi, PAG Rost and PAG LV, the Chok-Samni group showed more significant increase than the control group. Also, in PAG LV Mid and Arc, Chok-Samni group showed more significant increase than the Blank locus group.

2. In DR and PAG LV Mid, Chok-Samni group and the Blank locus group showed more significant increase in the number of colocalization between 5-HT containing neurons and Fos immunoreactive neurons than the control group after the BV aqua- acupuncture. Also, the Chok-Samni group showed more significant increase than the Blank locus group.

Consequently, the BV aqua-acupuncture increased more potent the number of Fos immunoreactive neurons and the activity of serotonergic neurons. Furthermore, the BV aqua-acupuncture was more effective on Chok-Samni than Blank locus group. These results indicate that the BV aqua-acupuncture is very effective therapy to control pain. The therapeutic effect of BV aqua-acupuncture may associated with the endogenous modulatory system such as serotonin

Those data from the study can be applied to establish the effective treatment of the BV for pain control in the clinical field.

Key words : bee venom (BV) acupuncture, pain, Fos protein, Serotonin, Immunohistochemistry

I. 緒 論

蜂毒藥鍼療法이란 꿀벌이 自己防禦用으로 가지고 있는 毒液^{19,29,40)}을 電氣抽出法 등의 방법으로 採集, 調劑⁹⁾한 蜂毒藥鍼液을 疾病과 有關한 部位 및 穴位에 刺戟함으로써 刺鍼效果와 蜂毒의 生化學적 특이물질이 人體에 미치는 藥理作用을 동시에 이용하는^{15,19,27)} 藥鍼療法⁹⁾의 一種이다.

蜂毒의 性味는 辛甘鹹 大熱 有毒하고³⁰⁾ 그 效能은 祛風除濕, 止疼痛, 解痙平喘, 消腫強壓하며^{42,48,51)}, 適應症으로는 류마티스關節炎, 急慢性關節炎, 坐骨神經痛, 痛風, 筋肉痛, 偏頭痛, 氣管支喘息, 過敏性鼻炎, 結節性紅斑, 蕁麻疹, 甲狀腺機能亢進 및 高血壓 등에 效果가 있다^{40,42)}.

最近 國內에서 蜂毒藥鍼의 鎮痛·消炎^{27,31,33,34)}, 腫瘍抑制·免疫增強^{28,36)} 및 安全性檢査³⁵⁾ 등의 실험적 연구가 報告되었다. 蜂毒藥鍼療法은 鎮痛에 탁월한 效果가 있는 것으로 報告되었으나, 蜂毒藥鍼의 痛症調節에 관한 機轉研究에는 미흡하다.

이에 著者는 蜂毒藥鍼刺戟이 腦幹 神經細胞의 活性和 serotonin性 神經細胞의 活性變化에 미치는 영향을 觀察하기 위하여 足三里(ST36)^{17,22,24,45)}와 腎部 任意穴에 蜂毒藥鍼刺戟한 후 免疫組織化學法을 이용하여 腦幹의 Fos 蛋白質 生産 神經細胞數를 측정하였고 二重免疫組織化學法을 이용하여 Fos 蛋白質에 대한 免疫反應을 동시에 나타내

는 serotonin性 神經細胞의 活性變化를 分析하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實 驗

1. 動物

實驗期間中 stress 및 環境의 變化를 最小化함으로써 實驗外的 要因들이 神經細胞의 活性에 영향을 미치지 않도록 實驗動物을 관리하였다. 또한 실험전과 후에 實驗動物의 健康狀態를 점검하여 外傷의 여부와 疾病狀態를 평가하였으며, 이를 바탕으로 正常的인 實驗動物에서 얻은 결과만을 분석에 이용하였다. 모든 실험은 神經活性的 diurnal variation을 배제시키기 위해 오전 8시부터 12시 사이에 실시하였으며, 痲醉로 인한 體溫下降을 방지하기 위해 실험 전과정에 거쳐 實驗動物의 直腸體溫을 測定·觀察하였으며, 일정한 수준의 체온(37-38℃)을 유지하도록 하였다.

2. 蜂毒藥鍼刺戟

蜂毒은 Sigma社(Cat. #: V3125)로부터 구입하여 생리식염수에 1 : 1000으로 용해 희석하여 사용하였다. 足三里(ST36)와 腎部 任意穴에 따른

蜂毒藥鍼刺戟의 효과를 살펴보기 위해 實驗動物의 後肢에 위치하는 tibia anterior tubercle 外側 5mm 및 tibia와 fibula 사이에 위치하고 있는 兩側 足三里(ST36)와 臀部 任意穴에 각각 20 μ l씩 (0.8mg/kg) 同量의 蜂毒藥鍼液을 注入하였다. 전 실험기간동안 isoflurane을 이용하여 實驗動物을 吸入麻酔함으로써 實驗動物이 蜂毒藥鍼 刺戟期間 동안 느낄 수 있는 stress를 최소화하였으며, 麻酔의 정도는 實驗動物의 呼吸數와 體溫으로 鎮靜狀態가 유지되도록 하였다.

3. 對照群

對照群으로서 실험에 사용한 吸入麻酔 및 蜂毒藥鍼刺戟時에 따르는 實驗動物의 神經活性에 미치는 영향을 檢證해 보기 위해 실험에 사용한 동일한 용량의 吸入麻酔를 실시하고, 蜂毒을 녹일 때 사용한 생리식염수를 同量 刺戟한 후 고정된 腦로부터 분리한 組織을 사용하여 Fos 蛋白質에 대한 免疫組織化學法을 실시한 후 Fos 蛋白質의 核內 蓄積 程度를 분석하여 對照群으로 사용하였다.

4. 組織의 處理

蜂毒藥鍼刺戟後 2시간이 경과한 다음 實驗動物을 isoflurane으로 심마취시킨 후 大動脈을 통해 固定液을 관류시켜 고정하였다. 固定液을 주입하기 전 calcium free tyrode용액 100ml을 주입하여 組織으로부터 血液을 완전히 제거한 후 4% paraformaldehyde와 0.2% picric acid를 포함한 0.4M phosphate buffer(Lana's fixative)를 관류시켜 組織을 고정하였다. 고정이 끝난 組織은 신속히 분리하여 동일한 固定液에서 4시간동안 후 고정하였으며, 10%, 20%, 30% sucrose 용액에 차례로 침전시켜 組織이 凍結時 損傷되지 않도록 하였다. 실온에서 24시간동안 sucrose처리가 끝난 組織은 -20 $^{\circ}$ C의 온도로 freezing stage에서 신속히 얼리고 sliding microtome을 사용하여 두께 40 μ m로 연속절편을 제작하여 免疫組織化學法에

사용하였다.

5. Fos 蛋白質에 대한 免疫組織化學的 檢證

免疫組織化學法에 사용한 Fos 蛋白質에 대한 일차 항혈청은 anti-Fos rabbit IgG(C-albiochem)를 1 : 10,000으로 희석하여 4 $^{\circ}$ C에서 24시간동안 組織에 처리하여 反應시켰다. Anti-Fos rabbit IgG(Calbiochem)을 사용한 경우 일차 항혈청 처리가 끝난 組織은 山羊에서 생산한 이차항체 (biotinylated goat anti rabbit IgG, Vector, 1 : 200)를 이용하여 실온에서 1시간 처리하였다. 抗體反應이 끝난 組織은 biotinylated streptavidin(Vector, 1 : 200)을 실온에서 1시간 反應시켰다. 반응이 끝난 組織은 3, 3-diaminobenzidine tetra hydrochloride(DAB, Sigma)를 녹인 Tris-buffer에서 반응시켜 실온에서 發色시켰다. 각 단계마다 반응이 끝난 組織은 TPBS를 사용하여 잔류 항혈청을 완전히 제거한 후 다음 단계로 진행하였다. 發色이 끝난 組織은 slide glass위에 올리고 완전히 건조시킨 후 alcohol의 농도를 높이면서 탈수시키고 cover glass를 씌워 봉입하였다.

6. Serotonin性 生産 神經細胞와 Fos 蛋白質과의 二重 免疫 組織化學的 檢證

腦幹에서 蜂毒藥鍼刺戟에 의한 serotonin(5-hydroxy histamine, 5-HT)性 神經細胞의 活性을 살펴보기 위해 Fos 蛋白質과 二重免疫組織染色을 실시하였다. Freezing sliding microtome을 이용하여 40 μ m인 절편으로 제작한 組織에 3% normal goat serum으로 실온에서 1시간동안 preblock시킨 후 1 : 100,000으로 희석된 anti-Fos rabbit IgG(Calbio-chem)를 4 $^{\circ}$ C에서 24시간동안 반응시켰다. 일차 항원-항체 반응이 끝난 組織은 山羊에서 생산한 이차항체(goat anti rabbit IgG, Vector, 1 : 200)를 사용하여 실온에서 1시간 처리한 후, 이 組織을 다시 avidin-biotin complex(Elite kit, Vector, 1 : 250)로 실온에서 30분간 反應시켰다. 反應이 끝난 組織은 biotinylated tyramine (BT : 1 μ l BT/ml PBS + 0.005% H₂O₂)과 20분

동안 실온에서 反應시킨 후 avidin-biotin complex(Elite kit, Vector, 1 : 500)에서 1시간동안 다시 反應시켰다. ABC 反應이 끝난 組織은 Nickel-DAB (DAB 5ml + 10% Nickel chloride 100 μ l)로 실온에서 發色시켰다. 發色이 끝나면 60초간 anti body illusion solution(0.25% potassium permanganate 1ml + 5% H₂SO₄ 1ml + H₂O 140ml)에서 처음 反應시켰던 抗體를 組織에서 제거시켰다. 抗體除去가 끝난 組織은 다시 3% normal goat serum으로 실온에서 한시간 동안 preblock시킨 후 5-HT(Inc Star, 1:50,000)에 대한 일차 항혈청에서 4℃에서 24시간동안 反應을 유도하였다. 山羊에서 생산한 이차항체(goat anti rabbit IgG, Vector, 1 : 200)를 실온에서 1시간 처리하였으며, 抗體反應이 끝난 組織은 biotinylated streptavidin (Vector, 1 : 200)을 실온에서 1시간 반응시켰다. 반응이 끝난 組織은 DAB를 녹인 Tris-buffer에서 반응시켜 發色시켰다. 각 단계마다 반응이 끝난 組織은 TPBS를 사용하여 잔류 항혈청을 組織에서 완전히 제거한 후 다음 단계로 진행하였다. 반응이 끝난 組織은 slide glass위에 올리고 완전히 건조시킨 후 cover glass를 씌워 봉입한 후 두 가지 물질을 동시에 함유하고 있는 神經細胞의 분포와 비율을 분석하는데 이용하였다.

7. 實驗設定

實驗動物은 isoflurane으로 吸入麻酔시킨 상태에서 蜂毒藥鍼液을 實驗動物에 注入하고 2시간 후에 蜂毒藥鍼刺戟에 따른 腦幹의 神經細胞活性變化를 분석하고, 腦幹의 serotonin性 神經細胞의 活性를 檢證하였다.

8. 結果分析 및 統計處理

實驗에서 분석하고자 하는 神經核(nucleus)의 명칭과 경계는 Paxinos 및 Watson⁵⁸⁾이 제작한 rat brain atlas를 참조하였고 免疫反應이 완료된 組織은 Zeiss Axiophort 2 현미경을 이용하여 각각 50배 및 400배의 배율로 관찰하였다. 뿐

만 아니라 核內에 Fos 蛋白質을 축적하고 있는 神經細胞의 數的인 變化를 관찰하기 위해 digital image analysis system (Meta-Morph, Universal Imaging Co.)을 이용하여 평균 grey level이 130 unit이하 되는 神經細胞만을 선택적으로 선별하여 측정하였다. 神經細胞의 數的 變化는 연결된 computer에 자동적으로 저장되며, 측정이 끝난 후 일괄적으로 統計處理하였다. 實驗에 사용한 組織은 實驗動物別로 가장 선명한 免疫性을 가진 組織中 5개를 선별하여 腦幹內의 神經核別로 數的 變化를 관찰하였다.

實驗結果는 1-way ANOVA (Statview512 + Software, Brainpower Inc., Abacus Concept Inc., 1986)을 이용하여 統計處理 하였으며 probability values를 측정하기 위해 Scheffe F test를 실시하며, 實驗動物間의 variance도 고려하였다.

III. 實驗成績

1. 蜂毒藥鍼刺戟의 腦幹內 Fos 蛋白質 生産 神經細胞數의 變化

大部分의 神經核에서 蜂毒藥鍼의 자극부위와는 무관하게 對照群에 비하여 神經活性의 증가를 관찰할 수 있었다. 이러한 神經活性의 증가는 특히 足三里蜂毒藥鍼刺戟群에서 뚜렷이 관찰되었는데, arcuate hypothalamic nucleus (Arc), dorsal raphe nucleus (DR), locus coeruleus (LC), raphe magnus (RMg), gigantocellular nucleus (Gi), periaqueductal gray (PAG)의 subdivision 중 rostral part (Rost) 및 PAG 전영역에 걸친 lateroventral portion (LV)에서의 神經活性變化는 對照群에 비하여 有意하게 급격한 증가를 보였다 (Table I, Figure 1a, Figure 2D). 任意穴蜂毒藥鍼刺戟群에서도 足三里蜂毒藥鍼刺戟群과 類似한 Fos 發顯 細胞의 증가가 관찰되었으나 足三里蜂毒藥鍼刺戟群과 같이 뚜렷한 증가를 보이지 못하였고 middle part에 위치한 PAG LV와 Arc에서만이 對照群에 비하여 統計的인 差異를 나타내었

다. 특히, middle part에 위치한 PAG LV와 Arc에서 보이는 神經活性的 變化는 足三里蜂毒藥鍼刺戟群이 任意穴蜂毒藥鍼刺戟群에 비하여 有意한 증가를 관찰할 수가 있었다(Table I, Figure 1a 및 1b).

Abbreviations:

PAG D Rost = dorsal portion of rostral periaqueductal gray

PAG D Mid = dorsal portion of middle periaqueductal gray

PAG D Caud = dorsal portion of caudal periaqueductal gray

PAG LD Rost = laterodorsal portion of rostral periaqueductal gray

PAG LD Mid = laterodorsal portion of middle periaqueductal gray

PAG LD Caud = laterodorsal portion of caudal periaqueductal gray

PAG LV Rost = lateroventral portion of rostral periaqueductal gray

PAG LV Mid = lateroventral portion of middle periaqueductal gray

PAG LV Caud = lateroventral portion of caudal periaqueductal gray

Arc = arcuate hypothalamic nucleus

DR = dorsal raphe nucleus

LC = locus coeruleus

RMg = raphe magnus

Gi = gigantocellular nucleus.

Nuclei	Saline control	BV/ ST36	BV/ Blank locus
PAG D Rost	9.3 ± 2.0	30.1 ± 5.9**	24.3 ± 4.1*
PAG D Mid	19.8 ± 4.5	21.8 ± 4.6	22.1 ± 4.3
PAG D Caud	27.8 ± 5.7	33.2 ± 6.1	30.4 ± 9.2
PAG LD Rost	42.1 ± 18.0	153.2 ± 22.4**	87.0 ± 25.4
PAG LD Mid	66.5 ± 16.7	103.1 ± 15.9	85.1 ± 19.4
PAG LD Caud	52.1 ± 12.7	90.1 ± 16.6	77.2 ± 19.1
PAG LV Rost	30.8 ± 9.0	78.7 ± 7.5**	55.8 ± 14.2
PAG LV Mid	30.0 ± 3.2	65.4 ± 6.9**	42.4 ± 4.2*
PAG LV Caud	47.1 ± 9.3	86.9 ± 11.8*	68.3 ± 11.9
Arc	16.8 ± 1.4	64.9 ± 6.5***	30.6 ± 2.6**
DR	5.5 ± 0.1	22.5 ± 6.1**	11.9 ± 3.4*
LC	8.8 ± 2.2	13.4 ± 2.0*	9.0 ± 1.0
RMg	3.1 ± 0.2	10.3 ± 0.8**	3.5 ± 1.5
Gi	4.4 ± 0.6	14.5 ± 5.3*	8.9 ± 3.2

Table I. The number of Fos immunoreactive neurons in the brainstem by bee venom (BV) aqua-acupuncture

BV(0.8mg/kg) administrates Chok-Samni(BV/ST36, n=5) or gluteal part (BV/Blank locus, n=5).

Each value represents the number of Fos immunoreactive neurons (mean ± SEM).

- * : significantly different from the value of saline control group (p < 0.05)
- ** : significantly different from the value of saline control group (p < 0.01)
- + : significantly different from the value of blank locus group (p < 0.05)

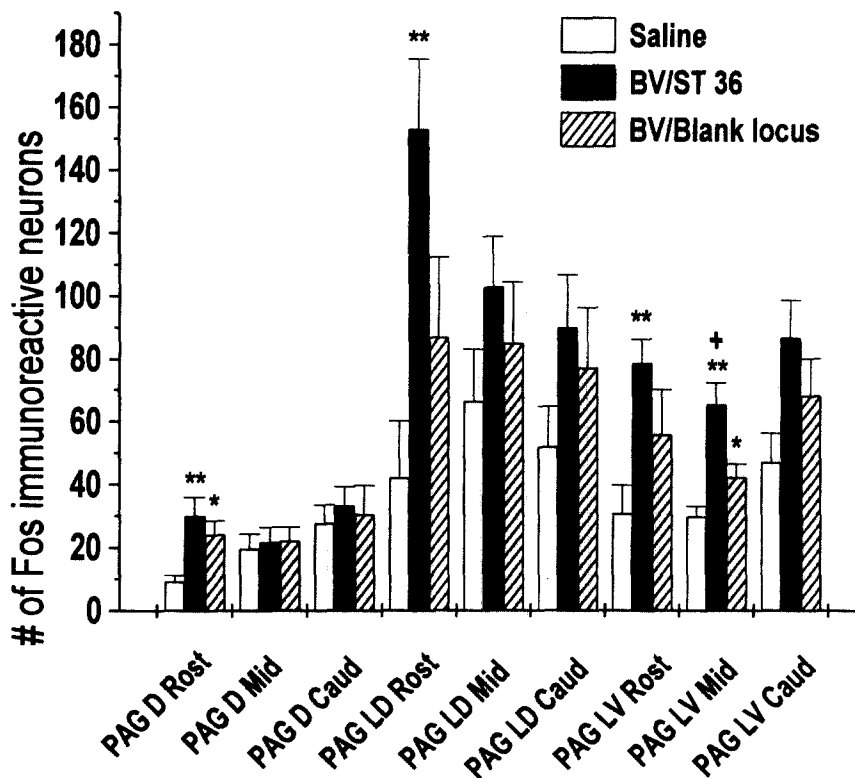


Figure 1a. The number of Fos immunoreactive neurons by bee venom(BV) aqua-acupuncture in brainstem nuclei.

BV(0.8mg/kg) administrates Chok-Samni(BV/ST36, n=5) or gluteal part (BV/Blank locus, n=5).

Each bar represents the number of Fos immunoreactive neurons (mean ± SEM)

- * : significantly different from the value of saline control group (p < 0.05)
- ** : significantly different from the value of saline control group (p < 0.01)
- + : significantly different from the value of blank locus group (p < 0.05)

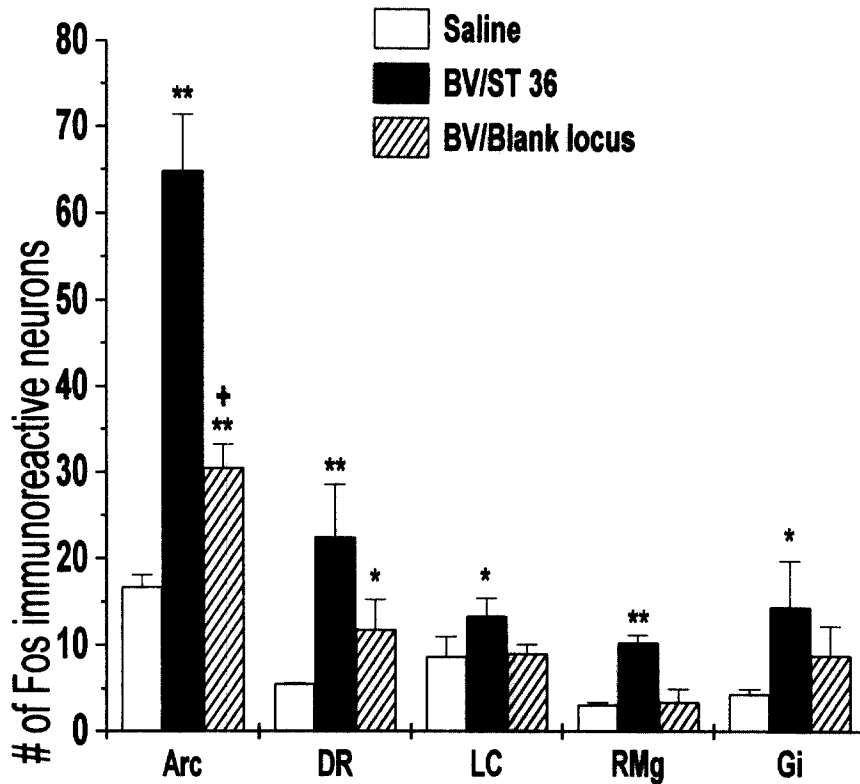


Figure 1b. The number of Fos immunoreactive neurons by bee venom(BV) aqua-acupuncture in brainstem nuclei.

BV(0.8mg/kg) administrates Chok-Samni (BV/ST36, n=5) or gluteal part (BV/Blank locus, n=5).

Each bar represents the number of Fos immunoreactive neurons (mean ± SEM).

* : significantly different from the value of saline control group (p < 0.05)

** : significantly different from the value of saline control group (p < 0.01)

+ : significantly different from the value of blank locus group (p < 0.05)

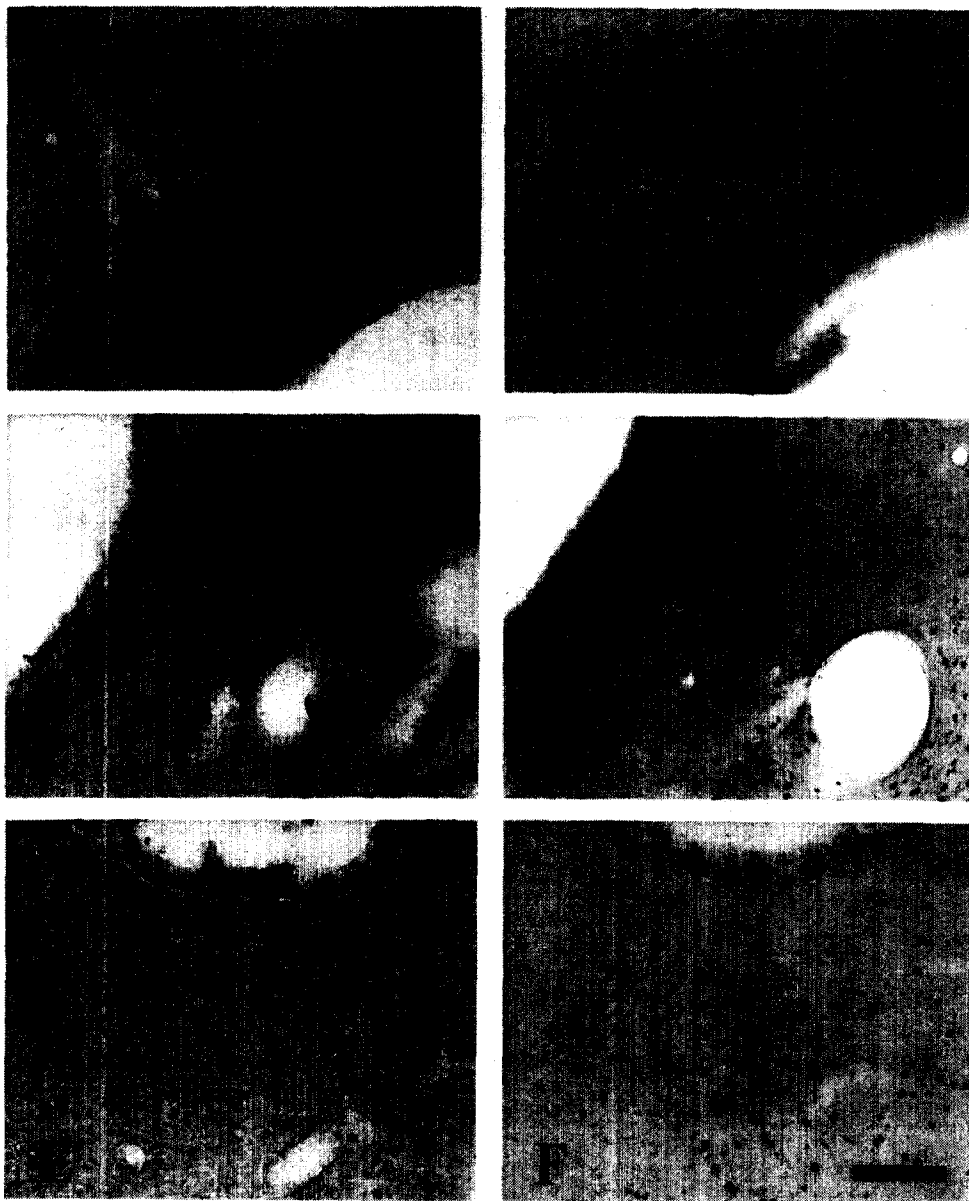


Figure 2. Fos immunoreactive (Fos-LI) neurons in the several nuclei of periaqueductal gray. It is shown that there are increased number of Fos-LI neurons in the bee venom (BV) aqua- acupuncture group (ST36; B,D,F) than in the saline control group (A,C,E).

A,B = PAG LD Caud ; C,D = PAG LV Caud ; E,F = DR.

Arrow indicated Fos protein. Scale bar = 200 μ m

2. 蜂毒藥鍼刺戟의 腦幹內 Serotonin(5-HT)性 神經細胞의 活性變化

5-HT 生産 神經細胞는 주로 DR, PAG LV의 middle part나 RMg에서만 특이적으로 관찰되었다(Table II). 이중에서 蜂毒藥鍼刺戟에 의해 神經細胞의 活性이 증가함에 따라 발현되어진 Fos 蛋白質과 5-HT 生産 神經細胞에 대하여 二重免疫染色性을 보이는 細胞는 특히 DR과 PAG LV

의 middle part에서만 관찰되었다(Figure 3,4). 그리고 蜂毒藥鍼刺戟에 의한 二重免疫性의 증가는 任意穴蜂毒藥鍼刺戟群에 비하여 足三里蜂

毒藥鍼刺戟群에서 더욱 더 有意하게 증가됨을 관찰할 수 있었다(Figure 3,4). 특히, PAG LV middle part에서는 神經細胞의 活性이 다른 神經細胞에 비하여 有意하게 증가하여 전체 5-HT 生産 神經細胞中 30% 가량이 Fos 蛋白質을 함유하는 것으로 관찰되었다(Figure 3).

Nuclei	Saline Control		BV/ ST 36		BV/ Blank locus	
	5-HT containing neuron	Number of colocalization	5-HT containing neuron	Number of colocalization	5-HT containing neuron	Number of colocalization
	ratio (%)		ratio (%)		ratio (%)	
DR	110.5±15.0	3.0±0.5	105.0±3.0	11.0±1.0	110.2±10.5	5.0±0.5
	2.7±0.2		10.4±1.0 ^{ab}		4.5±0.5 ^a	
PAG LV Mid	16.0±1.5	0	15.5±1.5	4.5±1.5	15.1±1.1	3.0±0.5
	0		29.0±2.0 ^{ab}		19.8±1.5 ^a	
RMg	12.5±1.0	0	13.5±1.5	0	13.2±1.0	0
	0		0		0	

Table II. The number and ratio of colocalization between 5-HT containing neurons and Fos immunoreactive neurons in the brainstem by bee venom (BV) aqua-acupuncture. BV (0.8mg/kg) administrates Chok-Samni (BV/ST36, n=5) or gluteal part.(BV/Blank locus, n=5).

Each value denotes the mean with SEM.

a : significantly different from the value of control group (p<0.05)

b : significant difference between BV/ST36 group and BV/Blank locus group (p<0.05).

Abbreviation: DR = dorsal raphe nucleus ; PAG LV Mid = lateroventral portion of middle periaqueductal gray ; RMg = raphe magnus.

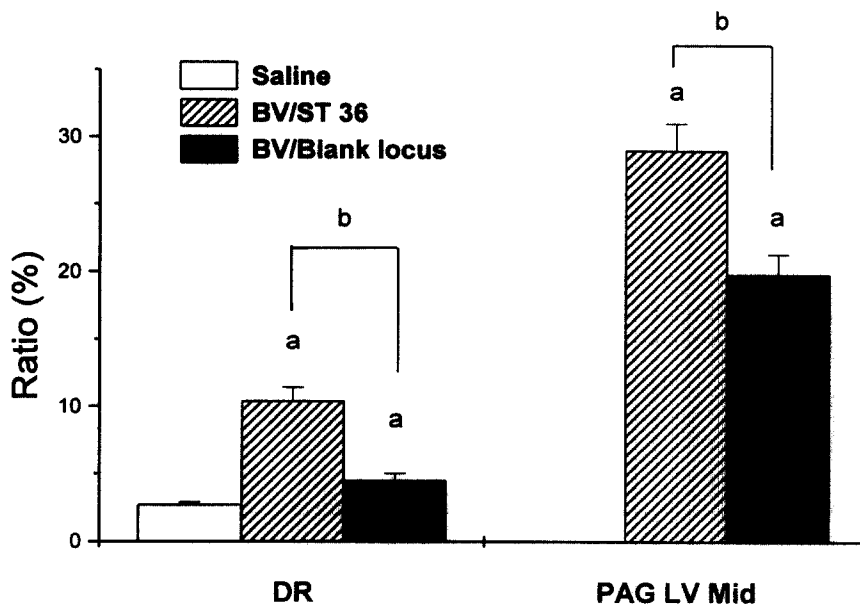


Figure 3. The ratio of colocalization between 5-HT containing neurons and Fos immunoreactive neurons in the brainstem by bee venom (BV) aqua-acupuncture.

BV (0.8mg/kg) administrates Chok-Samni (BV/ST36, n=5) or gluteal part (BV/Blank locus, n=5).

Each value denotes the mean with SEM.

a : significantly different from the value of control group (p<0.05)

b : significant difference between BV/ST36 group and BV/Blank locus group(p<0.05)

Abbreviation: DR = dorsal raphe nucleus : PAG LV Mid = lateroventral portion of middle periaqueductal gray

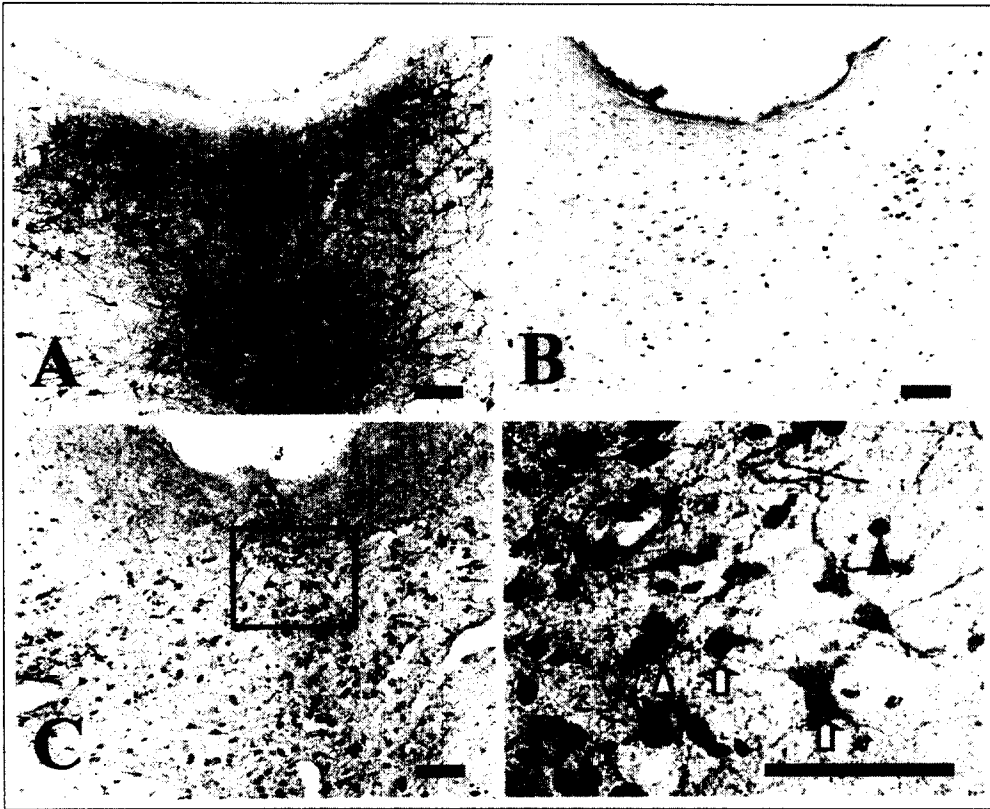


Figure 4. Colocalization of 5-HT containing neurons and Fos immunoreactive neurons in the brainstem by bee venom (BV) aqua-acupuncture.

(A): 5-HT containing neurons in the dorsal raphe. scale bar=200 μ m

(B): Fos immunoreactive neurons in the dorsal raphe. scale bar=200 μ m

(C): colocalization of 5-HT containing neurons and Fos immunoreactive neurons in the dorsal raphe. scale bar=200 μ m

(D): High magnification photograph in the rectangular area of (C).

White arrow head: 5-HT containing neurons, black arrow head: Fos protein, arrow: double immunoreactivity with 5-HT and Fos. Scale bar=100 μ m

IV. 考 察

毒性(Toxicity)이란 生物體가 攝取 또는 吸收를 통해 有害한 작용을 나타내거나 또는 죽음을

초래할 可能性이 있는 물질의 특성을 가르키며, 有害性이라고도 할 수 있는데 有害性이 일어나지 않을 可能性이 곧 安全性(safety)이다. 그러므로 猛毒性의 물질도 사용하기에 따라 安全하고 有用

하게 사용할 수 있다. 일찍이 Paracelsus (1493-1541)는 “모든 물질은 毒性이 있으며 毒性物質이 아닌 것은 하나도 없다. 올바른 用量만이 毒이나 藥이나를 결정짓는다.”라고 하였고^{2,23)}, 淮南子の 書《修務訓》에 의하면 神農...嘗百草之滋味 水泉之甘苦 令民知所辟就 當此之時 一日而七十毒 由此醫方興焉이라 하였다^{16,20)}. 모든 毒은 상대적이라 할 수 있으며 그 毒의 성질이나 용량 등 그 毒性이 작용하는 그 상대에 따라 毒이 될 수도 있고 治療도 될 수도 있다. 이러한 맥락에서 蜂毒藥鍼療法에서의 蜂毒의 사용은 毒인 동시에 훌륭한 治療劑로 작용한다고 볼 수 있다.

蜂毒藥鍼療法은 蜂毒의 독특한 특성을 통한 化學的作用과 鍼을 통한 刺鍼效果를 더불어 이용한 治療法이다^{15,19)}. 적은 蜂毒의 量으로도 강한 效果를 나타낼 수 있음과 동시에 效果發顯時間이 빠르고, 作用持續時間이 길며, Hormone제제와 같은 심각한 副作用이 없어 비교적 안전한 療法으로 평가되고 있다^{3,32)}.

蜂毒藥鍼療法이 韓醫學에서 사용된 歷史의 文獻으로는 그 동안 알려진 바가 없어 그 根源에 대하여 애매하였으나 馬王堆醫書의 발견으로 인하여 적어도 2000년전에 韓醫學의 臨床에서 시도되고 그 효능을 탐구하였음을 확인하게 되었다. 기원전 168년에 매장된 中國 壯士 馬王堆3號 한 묘에서 1973년에 帛簡, 竹簡 혹은 木簡 形態의 醫書가 15종 출토되었는데 여기에 蜂毒療法이 쓰인 2례가 실려 있다. 《養生方》과 《雜療方》에서 각 1例씩을 살펴 볼 수 있는바, 《養生方》에서는 주로 ‘不起’ 卽 發起不全을 治療하는 處方이나 ‘近內’ 卽 性生活을 보조하는 處方 혹은 ‘除中益氣’ 卽 身體의 精氣를 補하는 處方을 주로 다루었다. 《雜療方》에서는 주로 養生保健에 대해 다루었는데 특히 ‘內加’ 卽 男子의 性機能을 補益하는 處方과 ‘約’ 卽 女子의 性機能을 補益하는 處方을 집중적으로 논하였다. 그런데 특이한 점은 蜂毒을 채취하기 위하여 닭의 살이나 개의 간 등 살아 있는 動物의 身體組織을 매개체로 이용했다는 점과 蜂毒을 皮膚를 통해 즉, 藥巾의 형태로 治療에 응용하였다는 점을 들 수 있다³⁷⁾.

蜂毒은 無色 透明하며 粘性이 있는 液體로 강한 쓴맛이 나는 芳香性 物質이며, 건조된 상태에서는 灰白色 또는 黃白色의 塊狀이거나 粉末狀이다. 蜂毒液의 比重은 1.1313이며 酸度(PH)는 5.2-5.5범위이다. 이것은 쉽게 물과 酸에 용해되지만 알콜에는 거의 용해되지 않는다. 蜂毒液은 상온에서 공기에 노출되면 재빨리 마르고 액 중량의 70%를 손실한다. 蜂毒은 熱에 매우 안정되어 있으며 100℃에서 10일간 끓여도 그 특성을 잃지 않는다. 또한 冷凍 狀態에서도 活性을 장기간 유지할 수 있다. 그러나 蜂毒은 酸化性 物質에 의해서 쉽게 파괴된다³⁶⁾.

순수한 蜂毒을 추출하기 위하여 ‘電氣 抽出法’ 등을 사용하는데, 국내에서 사용하는 방법은 3V의 약한 전압으로 구리선에 전류를 흘려보내 벌을 가볍게 刺戟하여 흥분하게 되면 鍼을 따라 毒이 밖으로 흘러나오게 되어 이것을 유리판에 모아서 蜂毒을 채취하게 된다. 이 유리판을 증류수에 넣어 충분히 蜂毒이 녹을 수 있게 한 후 그 액을 0.2μm 필터로 精製해서 凍結乾燥機로 수분을 제거하면 순수한 蜂毒이 만들어지게 된다. 이것을 정확히 측정하여 생리식염수에 적정 배율로 희석하여 사용한다⁹⁾(Table III).

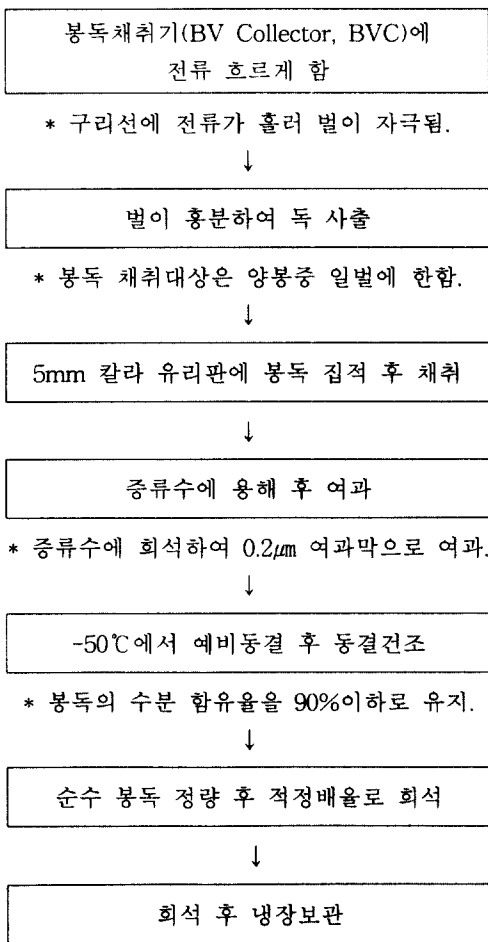
蜂毒의 성분은 크게 enzymes, peptide components, non peptide components로 구성되어 있는데^{55,73)}, 이 중 enzymes의 주요성분으로는 phospholipase A₂와 hyaluronidase를 들 수 있는데, 이들은 강력한 抗原이 될 수 있는 高分子 酵素이다^{54,56)}.

Enzyme중 phospholipase A₂는 間接적 分解酵素로 작용하여 phospholipid의 細胞膜을 분해하고, 이로써 다른 細胞膜 融解酵素의 작용을 유도함으로써 脂肪酸의 분해에 최초의 連鎖反應을 유도하는 물질이 된다. Hyaluronidase는 細胞膜의 가장 表層에 자리잡고 있는 mucopolysaccharide의 구성성분인 hyaluronic acid를 가수분해하는데 촉매로 작용하여 蜂毒의 확산을 도와 준다.

Peptide components는 freeze-dried venom의 약 50%를 구성하고 있으며, 主要成分으로는

mellitin, apamin, MCD peptide를 들 수 있고 이들은 **蜂毒**의 특성을 설명하는데 큰 역할을 하고 있다. 그 중에서 가장 많이 분포하는 mellitin(40-50%)은 26개의 amino acid로 구성된 活性 peptide로 크게 溶血作用과 酵素作用을 하고 있다. 또한 血中分布가 낮을 때에는 (0.5×10^{-10} - 0.5×10^{-11} g/ml) blood viscosity를 감소시키고, 높을 때는(0.5×10^{-5} - 0.5×10^{-6} g/ml) blood viscosity를 증가시키는 것을 현미경적 분석으로 확인

Table III. **蜂毒藥鍼液 調劑方法**⁹⁾



할 수 있는데⁵⁶⁾ 이는 血液循環系 疾患에 치료적이면서 독성적인 양면성을 지니고 있다. 또한 대

食細胞의 이동을 강하게 억제하며 리소솜 抑制膜을 안정시켜 염증을 억제한다.

Apamin은 神經系에 작용하며 과다한 양(0.5ml/100g)을 血管內에 주입하면 skeletal muscle에 痙攣을 유발하고, 더 많은 양을 주입하면 呼吸不全을 일으켜 死亡하게 된다(LD50 = 4mg/100g)^{55,56)}.

MCD peptide는 mast cell의 용해와 histamine 확산을 증가시키는 작용이 있어, 喘息, 發熱 등의 allergy 誘發에 관여한다고 報告되었다. Apamine과 MCD peptide는 細胞免疫學的 實驗과 動物實驗에서 腦下垂體와 副腎皮質을 흥분시켜 免疫機能을 증가시키고(Interferon의 血中分布量을 증가시킴) prostaglandin E가 prostaglandin으로 합성되는 것을 억제하여 鎮痛, 消炎效果를 나타내며, 巨核細胞의 이동을 억제하고, 血漿蛋白質의 變性を 억제하며, 白血球의 食作用을 억제하고, 血漿의 纖維化를 저하시키는 효능이 立證 되었다⁵⁵⁾.

Non peptide components의 주요성분은 histamine, dopamine, noradrenaline으로 構成되어 있는데⁵⁴⁾, histamine은 한 마리의 벌에 약 1.8-2.0 μ g이 함유되어 있으며, 副交感神經興奮劑인 acetylcholine과 유사한 작용을 한다. 즉, 平滑筋과 氣管支 및 胃腸管을 수축시키고 毛細血管을 확장시켜 血壓降下를 초래하며, 또한 體內的 histamine收容體와 결합하여 allergy를 유발한다고 믿어진다. 이에 過敏反應을 일으킬 경우 抗histamine劑의 복용이나 脫感治療法이 필요하게 된다(LD50=4mg/100g).

Dopamine은 norepinephrine의 前驅物質로서 광범위한 生理的 作用을 하며, noradrenaline은 α, β 收容體에 작용하여 血管收縮作用과 出血防止, 炎症의 腫脹分泌를 감소시키고 유해한 藥物의 흡수도 감소시킨다.

陳等⁵³⁾에 의하면 蜂毒의 성분중 분자량이 큰 enzyme(phospholipase A₂, hyaluronidase등)이 蜂毒治療에 의한 刺戟性, 變應原性 등의 副作用을 가지게 하는 주요 원인이 되므로, 이들을 제거한 分子量이 작은 poly peptide(mellitin,

apamin, MCD 등)를 이용하여鎮痛, 變應原性 및 急性 毒性作用을 실험한 결과, 全 蜂毒에 비하여 有意性이 있다고 報告하였다. 江 等^{32,50,52)}에 의하면 蜂毒을 통한 治療率을 높이고 副作用을 줄이기 위하여 蜂毒의 成分中 有效成分만 추출해내는 것이 중요하다고 강조하였다.

蜂毒의 性味는 辛甘鹹 大熱 有毒하고³⁰⁾ 그 效能은 祛風除濕, 止疼痛, 解痙平喘, 消腫強壓하며^{42,48,51)} 適應症으로는 류마티스關節炎, 急慢性關節炎, 坐骨神經痛, 痛風, 筋肉痛, 偏頭痛, 氣管支喘息, 過敏性鼻炎, 結節性紅斑, 蕁麻疹, 甲狀腺機能亢進 및 高血壓 등에 효과가 있다.^{5,40,42)} 蜂毒藥鍼 治療의 適應症은 鍼灸療法의 適應症에 모두 사용 가능하나 治療過程에서 깊은 주의가 요망되고 allergy 반응으로 인한 불편 등을 감수해야 하므로 비교적 一般 治療로 잘 회피되지 않는 重症의 疾患에 사용하는 것이 좋으며 특히 免疫系, 筋骨格系, 神經系 疾患中 痛症이 수반된 病症에 治療率이 좋다.⁹⁾

蜂毒의 治療過程은 全身의 治療作用과 局所的 治療作用 그리고 經穴의 治療作用에 의해 나타난다. 첫째, 全身의 治療作用은 蜂毒이 人體內에 자극되었을 때 혈액의 흐름을 타고 視床下部-腦下垂體-副腎皮質系 軸에 작용하여 수일간 血中 副腎皮質 hormone量을 증가, 유지시키는 작용을 일으키고 人體의 免疫系에 영향을 주어 백혈구나 T-임파구 그리고 B-임파구 등의 생성을 촉진시킨다. 이러한 蜂毒의 藥理의 效能을 疾病의 治療에 이용하는 것을 말한다. 같은 免疫細胞의 生成을 촉진시키는 것을 알 수 있는데 이러한 작용이 종합적으로 이루어지면서 全身의 作用이 이루어진다고 생각되고 있다. 류마티스關節炎과 같은 自家免疫系 疾患이나 慢性的으로 비교적 광범위하게 痛症이나 炎症을 호소하는 諸般 疾患中 一般의인 鍼灸療法으로 治療가 잘 되지 않는 疾患들이 蜂毒에 반응하여 治療가 되는 이유를 全身의 治療作用으로 說明할 수 있다.

둘째, 局所的 治療作用은 筋骨格系 疾患의 경우에 蜂毒이 그 자극부위에 일으키는 局所的 效果를 말한다. 蜂毒의 鎮痛, 消炎 및 活血作用을

이용하여 疾病을 治療하는 개념으로 mellitin, apamin, adolapin 등의 蜂毒成分이 人體內에서 作用하는 효능을 이용하는 것이다. 蜂毒은 刺戟 抗原으로 1회의 자극만으로도 1-7일 가량 자극된 經穴에 지속적으로 영향을 줄 뿐만 아니라 蜂毒이 자극된 부위에는 血中 콜티솔 농도가 증가하고 prostaglandin의 生合成을 억제하는 등의 局所的 鎮痛, 消炎作用이 활발하게 진행하므로 이러한 작용을 이용하여 炎症이나 痛症을 일으키는 국소의 疾患을 治療 할 수 있다.

셋째, 經穴의 治療作用은 蜂毒을 자극할 부위를 정할 때 鍼灸學 理論에 따라 經穴을 선택하는 것을 말한다. 각 질병에 효과가 있다고 인정된 經穴을 선택하여 疾病의 治療效果를 상승시킬 수 있을 뿐만 아니라 治療 領域 또한 광범위해지므로 蜂毒을 시술하는데 가장 큰 의미를 둘 수 있는 治療作用이다. 蜂毒의 作用은 經穴에 가해지는 機械的 刺戟 외에도 局所 反應인 發赤, 發熱, 腫脹에 의한 溫熱刺戟의 의미도 있어 지속적인 刺戟原으로 매우 바람직하다.⁹⁾

疼痛이란 生體에서 有害가 되는 外部, 內部 環境의 變化로 인해 체험되는 感覺의 일종으로써, 個體 維持를 위한 기본감각이다.⁴³⁾ 臨床에서 가장 흔히 볼 수 있는 症候의 하나이며 앓고 있다는 것을 가장 빨리 알려 주는 自然的 表示이다. 疾病經過中 疼痛이 없는 疾患은 비교적 드물고 疾患에 따라 특징이 있는 경우가 많아서 診斷에 도움이 된다.^{1,18)} 실질적인 또는 잠재적인 組織損傷과 이에 연관된 감각적이고 정서적인 불유쾌한 경험이 疼痛이므로 현상학적, 행동학적, 생물학적인 것이 복합되어 나타나 개개인의 주관적인 차이가 크다.³⁹⁾ 疼痛은 身體의 有害한 刺戟에 대해 방어할 목적으로 感覺器官인 疼痛受容體를 통해 얻어지는데^{10,41)}, 이러한 자극들이 疼痛受容體를 직접 활성화시키지는 않는 것으로 보이며, 疼痛이 가해지면 손상당한 組織이나 受容器 自體에서 化學物質을 분비하여 受容體의 細胞膜이 이 화학물질에 의해서 ion에 대한 透過度 變化를 가져와서 수용기를 活性化시키는 것으로 이해된다.¹⁾ 이 化學物質이 神經刺戟 傳達物質로 밝혀졌거나 추

측되고 있으며 acetylcholine과 norepinephrine이 대표적이며 그 외에 dopamine, serotonin, histamine 등의 amine 화합물, GABA, glutamic acid 등의 amino acid, endorphin, substance P같은 peptide들이 神經刺戟 傳達物質의 역할을 하는 것으로 알려져있다^{1,8,11,13}. 이 중 serotonin은 中樞神經에서 疼痛과 연관되는 물질로 주목받고 있다⁵⁷.

痛覺은 하나의 독립된 感覺種類로서 痛覺에만 기여하는 고유한 受容器가 있으며 이 受容器들이 반응할 때 痛覺을 感知하게 되는 것이다. 痛覺을 傳達하는 1次 感覺神經은 직경이 작은 有樹神經인 A δ 섬유와 無樹神經인 C섬유로 구성되어 있다^{1,8}. 두 感覺神經의 痛覺傳達速度가 다르므로해서 2종류의 疼痛現象이 나타난다. 처음에 나타나는 疼痛은 A δ 섬유에 의해 전달되어지는데 그 양상이 명료하고 예리하며 刺戟의 部位를 정확히 알 수 있고 어느 정도 참을 수 있으며 짧은 시간 유지되는 반면 두 번째 나타나는 疼痛은 C섬유에 의해 전달되어지는데 그 양상이 둔하고 刺戟 部位를 정확히 알 수 없고 참기 힘들며 유지시간이 길다. 臨牀적으로 患者가 痛症을 호소하는 것은 C섬유에 의하여 전달된 疼痛이다^{1,8}.

內因性 疼痛調節系(endogenous pain modulatory system)란 外部에서 투여하는 外因性 鎮痛效果 藥物의 작용 없이 中樞神經系에 존재하는 특정한 神經核들의 相互作用에 의하여 일어나는 鎮痛效果를 말하는데⁶⁶, 腦幹에서 內因性 疼痛調節系의 機轉에 관여하는 것으로 알려져 있으며 主要 神經核으로는 raphe magnus nucleus, gigantocellular reticular nucleus, magnocellular reticular nucleus, locus coeruleus, periaqueductal gray가 있으며⁵⁹, 이들 神經核을 구성하는 神經細胞들은 serotonin, opioid 및 norepinephrine 등의 神經傳達物質을 사용하여 脊髓內的 二次 神經細胞에 의해 발생하는 痛症의 전달을 억제함으로써 이루어진다⁶².

本 研究에서 神經細胞의 活性度를 간접적으로 檢證하기 위해 사용한 Fos 蛋白質은 哺乳類에 存在하는 proto-oncogene의 일종인 c-fos 유전자의

活性增加로 생산된다고 알려지고 있다. 이러한 c-fos 유전자는 2 murineosteogenic sarcoma virus에서 발견되는 v-fos와 동일한 것으로서 자극에 의해 빠르게 발현하기 때문에 조기유전자(immediate early gene)라고 하며, 이는 세포 표면에 전달된 자극들을 장기간 지속되는 細胞反應과 연결시켜 주는 '3차 전달자' 역할을 하여 腦와 脊髓의 神經細胞에서 生理的 또는 藥理的 刺戟 등이 가해질 때 活性化 된다^{61,68,70}.

또한 c-fos 合成過程은 細胞 活性化와 연관이 있는데, 특히 神經細胞內에서 c-fos 合成過程은 nerve growth factor, cholinergic neurotransmitter 및 calcium과 cAMP와 같은 second messenger들의 活性에 의해 발현되며, 최근에 발표된 연구에서는 c-fos 유전자가 또한 NMDA 수용체나 L-type calcium channel 등의 活性增加에 의해서도 발현될 뿐 만 아니라 특히 神經細胞가 외부 및 내부의 자극에 의해 탈분극되는 초기에 발현된다고 報告되어 있다⁷¹.

따라서 初期刺戟에 의해 神經細胞가 탈분극됨으로써 c-fos 유전자가 발현되며 그 결과 생산되는 Fos 蛋白質과 또 다른 primary response gene의 일종인 c-jun proto-oncogene의 발현으로 생산되는 Jun 蛋白質이 동시에 神經細胞 DNA 내의 AP-1 regulatory site에 결합함으로써 다른 target gene들의 활성화와 발현을 조절하는데 관여하는 것으로 알려져 있다⁶⁷.

C-fos 유전자의 活性增加에 의해 생산되는 Fos 蛋白質은 54 KD nuclear phosphoprotein이며, cytoplasm에서 합성되어 빠른시간내에 核內로 이동하여 축적된다. Fos 蛋白質은 최초 자극이 있는 지 약 30분 후부터 細胞質內에 나타나기 시작하여, 최초 자극이 있는 후 20-90분에 인지되고 4-16시간 이후에 사라지므로 神經細胞의 活性增加로 생산된 Fos 蛋白質의 核內 蓄積 정도는 종래에 사용되고 있는 免疫組織化學法에 의해 감지할 수 있어 神經細胞의 活性變化를 간접적으로 檢證할 수 있는 유용한 marker로 사용되고 있다^{60,63,64,65,71}.

Serotonin은 腸에서 처음 발견되었고 血液에서

도 분리되는 물질로, 哺乳動物에서는 총 serotonin의 약 90%가 腸粘膜의 enterochromaffin cell에 존재하며, 血小板에는 약 8%, 中樞神經中 특히 松果腺 및 視床下部에 2%가 존재해 있다. 腸의 enterochromaffin cell 및 中樞神經에서는 합성되나 血小板에서는 합성이 안되고 능동적인 수송으로 저장되어 있다. Serotonin은 tryptophan으로부터 生合成되며 음식물중의 일부가 serotonin합성에 이용된다^{21,26}. 腦의 邊緣系, 視床下部, 延髓, 腦橋 및 視床에 풍부하며, main cell group은 延髓, 腦橋 및 中樞의 大縫線核에 존재하는데, 이 大縫線核은 中腦水道周邊 灰白質(periaqueductal gray)의 영향을 받는다.

Serotonin性 神經細胞가 모여 있는 9개의 핵을 B₁에서부터 B₉으로 命名하였는데 가장 뚜렷한 細胞群은 B₁ (nucleus raphe pallidus), B₂ (nucleus raphe obscurus), B₃ (nucleus raphe magnus), B₇ (nucleus raphe dorsalis), B₈ (nucleus raphe medianus)인데, B₁에서 B₃ 細胞群은 脊髓로 내려가는 下行纖維를, B₇ 과 B₈ 細胞群은 前腦로 올라가는 上行性 纖維를 낸다. 모르핀에 의한 鎮痛과 水道周圍 灰白質(periaqueductal gray)의 자극으로 인한 鎮痛效果가 大縫線核(nucleus raphe magnus)으로 내려가는 下行經路를 통해서 나타난다¹⁴. Serotonin은 腦內에서 睡眠, 食欲, 體溫調節, 疼痛認知 및 腦下睡體 hormone의 조절에 중요한 역할을 한다⁵⁷.

韓醫學의인 疼痛發生 原因에 대하여서 內經⁴⁶의 舉痛論, 痺論, 周痺論 등에 상세하게 기술되어 있는바, 그 原因은 寒에 의한 것이 가장 많고 그 다음이 熱에 의한 것이라고 했는데 葉⁴⁴은 痛症의 十中七八은 寒이 그 原因이고 二三은 熱에 의해 발생한다고 하였다. 七情에 의한 疼痛發生에 관하여 內經⁴⁶에서는 七情에 寒熱을 포함한 九氣의 病態에 대하여 기술하였을 뿐이나 張⁴⁹은 “諸痛皆因於氣 百病皆生於氣 遂有九氣 不同之說 氣本一也”라 하여 九氣가 氣의 運行障路를 유발하여 痛症을 일으킨다고 주장하였다.

이러한 疼痛의 發生原因들이 疼痛을 야기하는

病理機轉은 不通則痛⁴⁷과 不營則痛으로 요약된다. 《舉痛論》⁴⁶ “經脈流行不止 環周不休 寒氣入經而稽遲 泣而不行 客于脈外則血少 客于脈中則氣不通 故卒然而痛”에서 보는 바와 같이 不通의 개념은 단순히 經脈의 실질적인 閉塞不通을 지칭하는 것이 아니라 氣機鬱滯, 血分瘀結, 氣血衝逆或逆亂 등의 상태로 氣血의 運行에 장애를 주는 것이다. 《舉痛論》⁴⁶ “寒氣客于背腧之脈則脈泣 脈泣則血虛 血虛則痛 其腧注于心 故相引而痛 按之則熱氣至 熱氣至則痛止矣”와 《五癯津液別論》⁴⁶ “髓液皆滅而下 下過則虛 虛故腰痛而腰痠”에서 보는 바와 같이 營養의 失調가 痛症의 原因이 될 수 있다고 하였다.

本 實驗에서 사용된 足三里는 옛부터 모든 病을 治療한다고 일컫듯이 대개의 病에 사용되어 효과가 매우 크며¹⁷ 足陽明胃經의 合穴이며 土穴이다⁴⁵. 異名은 下陵, 鬼邪, 下三里, 三里라고 일컬어지며^{22,24}, 穴性은 調理脾胃, 調和氣血, 和腸消滯, 疏風化濕, 通調經絡, 扶正培元, 祛邪防病하여서 急慢性 胃腸疾患, 腹痛, 膝關節痛, 下肢痛, 泄瀉, 胃痙攣에 사용되는 治療穴이다^{7,17,22,24}.

蜂毒藥鍼刺戟의 腦幹內에 존재하는 神經細胞의 活性變化를 분석하기 위하여 足三里와 臀部 任意穴에 蜂毒藥鍼刺戟을 하고 2시간 후에 腦幹內에 존재하여 內因性 疼痛調節에 관여하는 것으로 알려진 神經核을 중심으로 Fos 蛋白質 生産 神經細胞數의 變化를 통한 神經細胞의 活性變化를 관찰하였다.

관찰한 거의 大部分의 神經核에서 蜂毒藥鍼刺戟은 刺戟部位와는 무관하게 對照群에 비하여 神經活性의 증가를 관찰할 수 있다. 이러한 神經活性의 증가는 특히 足三里蜂毒藥鍼刺戟群에서 뚜렷이 관찰되었는데, Arc, DR, LC, RMg, Gi, PAG Rost 및 PAG LV에서의 神經活性 變化는 對照群에 비하여 有意하게 급격한 증가를 보였다. 任意穴蜂毒藥鍼刺戟群에서도 足三里蜂毒藥鍼刺戟群과 유사한 Fos발현 세포의 증가가 관찰되었으나 足三里蜂毒藥鍼刺戟群과 같이 뚜렷한 증가를 보이지 못하였고 PAG LV Mid와 Arc에서만이 對照群에 비하여 통계적인 차이를 나타내었

다. 특히, PAG LV Mid와 Arc에서 보이는 神經活性的變化는 足三里蜂毒藥鍼刺戟群이 任意穴蜂毒藥鍼刺戟群에 비하여 有意한 증가를 관찰할 수가 있었다($p < 0.05$).

蜂毒藥鍼刺戟의 serotonin(5-HT)性 神經細胞의 活性變化를 관찰하기 위해서 5-HT에 대한 항혈청에 陽性 免疫反應을 나타내는 神經細胞가 Fos 蛋白質을 동시에 함유하는 비율을 관찰하였다. 5-HT 生産 神經細胞는 주로 DR, PAG LV Mid나 RMg에서만 특이적으로 관찰되었다. 이 중에서 蜂毒藥鍼에 의해 神經細胞의 活性이 증가함에 따라 발현되어진 Fos 蛋白質과 5-HT 生産 神經細胞에 대하여 二重免疫染色性을 보이는 細胞는 특히 DR과 PAG LV Mid에서만 관찰되었다. 그리고 蜂毒藥鍼에 의한 二重免疫性的 증가는 任意穴蜂毒藥鍼刺戟群에 비해 足三里蜂毒藥鍼刺戟群에서 有意性있게 증가됨을 관찰할 수 있었다($p < 0.05$). 특히 PAG LV Mid에서는 神經細胞의 活性이 다른 神經細胞에 비하여 有意하게 증가하여 全體 5-HT 生産 神經細胞中 30% 가량이 Fos 蛋白質을 함유하는 것으로 관찰되었다.

本 實驗에서 살펴본 바와 같이 蜂毒藥鍼刺戟에 의해 中腦의 內因性 疼痛調節系에 관련된 대부분의 神經核에서 Fos 蛋白質 生産 神經細胞가 증가하였고, DR, PAG LV, LC, Arc, A5에서 serotonin性 神經細胞의 神經活性 增加를 나타내었다. 이러한 增加는 任意穴를 사용하였을 때보다 足三里를 사용하였을 때에 훨씬 좋은 결과를 나타내었다.

V. 結 論

蜂毒藥鍼刺戟이 腦幹 神經細胞의 活性과 serotonin(5-HT)性 神經細胞의 活性變化에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 白鼠의 兩側 足三里(ST36)와 臀部 任意穴에 蜂毒藥鍼으로 刺戟한 후 免疫組織化學法을 이용하여 腦幹의 Fos 蛋白質 生産 細胞數를 比較 分析하였으며, 二重免疫組織化學法을 이용하여 Fos 蛋白質에 대한 免疫

反應을 동시에 나타내는 serotonin性 및 catecholamine性 神經細胞數의 變化를 관찰하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 蜂毒藥鍼刺戟의 腦幹內 Fos 蛋白質 生産 神經細胞數는 거의 대부분의 神經核에서 足三里蜂毒藥鍼刺戟群, 任意穴蜂毒藥鍼刺戟群 모두 對照群에 비하여 증가를 보였다. 특히 足三里蜂毒藥鍼刺戟群의 Arc, DR, LC, RMg, Gi, PAG Rost 및 PAG LV에서 對照群에 비하여 有意性있는 증가를 보였고 PAG LV Mid와 Arc에서는 足三里蜂毒藥鍼 刺戟群이 任意穴蜂毒藥鍼刺戟群에 비하여 有意性 있는 증가를 나타내었다.

2. 蜂毒藥鍼刺戟의 腦幹內 5-HT性 神經細胞數는 DR과 PAG LV Mid에서 足三里蜂毒藥鍼刺戟群, 任意穴蜂毒藥鍼刺戟群 모두 對照群에 비하여 有意性 있는 증가를 나타내었고 또한 足三里蜂毒藥鍼刺戟群은 任意穴蜂毒藥鍼刺戟群에 비하여 有意性 있는 증가를 나타내었다.

參考文獻

1. 姜斗熙 : 生理學, 서울, 新光出版社, p.5:19, 16:4,16:16,16:19, pp.16:24-16:26, 1988.
2. 高錫太 外 : 毒物學, 서울, 正文社, p.9, 11, 1993.
3. 고순구 : 동의학총서·동물성동약, 서울, 여강출판사, pp.185-190, 1993.
4. 김구자, 황애란 : 생리학, 서울, 고려의학, pp.54-57, 1986.
5. 김동현 : 신비한 오행 벌침요법, 서울, 태을출판사, pp.77-83, 96-98, 1997.
6. 김문호 : 봉침요법과 봉독요법, 서울, 한국교육기획, pp.22-24, 41-42, 1992.
7. 金賢濟 外 : 最新鍼灸學, 서울, 成輔社, pp. 264-265, 1983.
8. 대한신경외과학회 : 신경외과학, 서울, 중앙문화사, p.15, 1989.

9. 대한약침학회 : 약침요법 시술지침서, 서울, 대한약침학회, pp.14-17, 133-137, 185-202, 1999.
10. 文濬典 外 : 東醫病理學, 서울, 高文社, pp.228-229, 1990.
11. 박찬웅 : 약리학, 서울, 신광출판사, p.54, pp.57-61, 1994.
12. 박찬웅 외 : 신경과학, 서울, 민음사, pp.86-87, 1990.
13. 서울대학교 의과대학 : 신경학, 서울, 서울대학교출판부, p.40, 1989.
14. 서유현 : 신경전달물질, 서울, 민음사, pp.115-125, 1992.
15. 성은찬 : 알기 쉬운 봉침요법 108, 서울, 전국 농업기술자협회출판부, p.28, 1990.
16. 申佶求 : 申氏本草學, 서울, 壽文社, pp.11-13, 1982.
17. 安榮基 : 經穴學叢書, 서울, 成輔社, pp.196-197, 1986.
18. 李文鎬 外 : 內科學(上), 서울, 學林社, p.1, 1986.
19. 이병국 : 봉침의 비방, 서울, 현대침구원, p.33, pp.43-45, 1993.
20. 李尙仁 : 本草學, 서울, 修書院, p.1, 1982.
21. 이우주 : 약리학강의, 서울, 대일전산, p.182, pp.304-305, 1987.
22. 全國韓醫科大學校 鍼灸經穴學敎室 : 鍼灸學上, 서울, 集文堂, pp.382-383, 1988.
23. 최석영 : 독성학, 울산, 울산대학교 출판부, p.9, pp.16-17, 1992.
24. 崔容泰, 李秀鎬 : 精解鍼灸學, 서울, 杏林出版, pp.279-282, 1985.
25. 한국과학재단 : 카테콜아민 신경기능과 뇌호르몬의 유전자구조와 발현기전에 관한 연구, 서울, 한국과학재단, pp.19-21, 1993.
26. 한국약학대학협의회 약물학분과회 : 약물학, 서울, 문성사, pp.154-156, 1985.
27. 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.
28. 孔賢淑, 高炯均, 金昌煥 : 蜂毒療法이 생쥐의 免疫反應에 미치는 實驗的 研究, 大韓鍼灸學會誌 12(1) : 331-339, 1995.
29. 權奇祿, 高炯均, 金昌煥 : 蜂鍼에 對한 考察, 大韓鍼灸學會誌 11(1) : 159-171, 1994.
30. 權奇祿 : 蜂藥鍼療法의 捻挫에 關한 臨床的 研究, 大韓藥鍼學會誌 2 : 1-6, 1999.
31. 金甲成 : 鍼刺 및 蜂毒療法이 Carrageenin으로 誘發된 흰쥐의 膝關節 炎症性 浮腫에 미치는 效能에 對한 比較 研究, 大韓韓醫學會誌 16(1) : 379-402, 1995.
32. 김태현 : 근골격계질환에 대한 Bee Venom 요법, 대한통증학회지 5(1) : 57-62, 1992.
33. 都垣錫 外 : 蜂毒療法이 흰쥐의 膝關節 炎症性浮腫에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌 12(1) : 211-220, 1995.
34. 朴亨奎, 河智容, 安圭錫 : 蜂毒이 흰쥐의 Adjuvant關節炎에 미치는 影響, 東醫病理學會誌 8 : 17-27, 1993.
35. 李宗錫, 高炯均, 金昌煥 : 藥鍼用 蜂毒液의 急性 毒性에 關한 研究, 大韓鍼灸學會誌 11(1) : 177-195, 1994.
36. 李泓錫 外 : 蜂毒藥鍼刺戟이 Methotrexate로 誘發된 생쥐의 免疫機能 低下에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集 21 : 347-359, 1998.
37. 인창식, 고희균 : 봉독요법에 대한 한의학 최초의 문헌 : 마왕퇴의서의 봉독요법 2례, 대한침구학회지 15(1) : 143-147, 1998.
38. 임용걸 외 : 상경신경절 차단이 Yohimbine을 투여한 쥐 뇌의 카테콜아민성 신경원에 미치는 영향, 대한통증학회지 10(1) : 61-67, 1997.
39. 한영진 : 급성 통증관리, 대한통증학회지 5(1) : 9-16, 1992.
40. 江蘇新醫學院 : 中藥大辭典 下冊, 上海, 上海科學技術出版社, pp.2479-2480, 1993.
41. 甄志亞 外 : 東洋醫學叢書·中國醫學史, 서울, 一中社, pp.20-26, 1990.
42. 郭國華 : 臨床中藥辭典, 長沙, 湖南科學技術出版社, pp.543-544, 1994.
43. 郭隆燦 : 圖解 腦神經外科學, 서울, 第一醫學

- 社, p.709, 1992.
44. 葉天士 : 臨證指南醫案, 臺北, 旋風出版社, pp.41-43, 1978.
 45. 楊繼洲 : 鍼灸大成, 서울, 大星文化社, pp.239-240, 270-272, 1984.
 46. 王 冰 : 皇帝內經 素問·靈樞, 臺北, 臺灣中華書院, 素問 p.58, 338, pp.302-306, 靈樞 p.130, pp.151-152, 1975.
 47. 李東垣 : 東垣十種醫書, 서울, 大星文化社, pp.303-304, 1983.
 48. 李文瑞 外 : 中藥別名辭典, 北京, 中國科學技術出版社, p.1079, 1994.
 49. 張子和 : 儒門事親 卷2, 臺北, 旋風出版社, pp.18-19, 1978.
 50. 江 洋 : “精制蜂毒” 穴位注射治療坐骨神經痛療效觀察, 上海鍼灸雜誌 17 (4) : 16, 1998.
 51. 紀 偉, 張梅潤, 馬永楨 : 雷公藤에 蜂毒을 加하여 류마티드 關節炎을 治療, 中國中西醫結合雜誌 12: 48-51, 1993.
 52. 王天生 : 穴位注射蜂毒注射液加電熱敷治療痛痺臨床觀察, 中國鍼灸 19(3): 161-163, 1999.
 53. 陳維辛 外 : 蜂毒, 蜂peptide 抗炎鎮痛, 變應原性 및 急性 毒性的 比較, 中國中西醫結雜誌 4 : 45-48, 1993.
 54. Assen E. SK. et al : A peptide from the venom of the Honey Bee, Brit. Pharmacol, pp.337-338, 1973.
 55. Banks and Brown : Some peripheral activities of Apamin, Toxicol Suppl, p.4, 17, 1976.
 56. Barbara and Rudolf : Chemistry and Pharmacology of Honey Bee venom Academic Press, pp.329-402, 1986.
 57. McGeer PL, Eccles JC and McGeer EG : Molecular Neurobiology of the Mammalian Brain, New York, Plenum Press, pp.265-317, 319-343, 406-408, 603-605, 1987.
 58. Paxinos G and Watson C : The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates, 2nd.ed. Academic Press, Australia, 1986.
 59. Basbaum AI and Fields HI : Endogenous pain control mechanisms: Review and hypothesis, *Ann. Neurol.* 4: 451-462, 1978.
 60. Bullitt E : Expression of *c-fos*-Like Protein as a Marker for Neuronal Activity Following Noxious Stimulation in the rat, *The Journal of comparative neurology*, 296: 517-530, 1990.
 61. Ceng Luo et al : Spatial and temporal of Fos protein in the spinal cord of anesthetized rat induced by subcutaneous bee venom injection, *Brain Research* 806: 175-185, 1998.
 62. Haward LF, Heinricher MM and Mason P : Neurotransmitters in nociceptive modulatory circuits, *Annu. Rev. Neurosci.* 14: 219-245, 1991.
 63. Lee JH, Wilcox GL and Beitz AJ : Nitric oxide mediates Fos expression in the spinal cord induced by mechanical noxious stimulation, *Neuro Report* 3: 841-844, 1992.
 64. Lee JH and Beitz AJ : Electroacupuncture modifies the expression of *c-fos* in the spinal cord induced by noxious stimulation. *Brain Research* 577: 80-91, 1992.
 65. Lee JH and Beitz AJ : The distribution of brain-stem and spinal cord nuclei associated with different frequencies of electroacupuncture analgesia, *Pain* 52: 11-28, 1993.
 66. Melzack R and Wall PD : Pain mechanisms : a new theory, *Science* 150: 971-979, 1965.
 67. Naranjo JR, Bellstrom B, Achaval M and Sassone-Corsi P: Molecular pathways of pain : Fosserotonin Jun-mediated activation of a non canonical AP-1 site in the prodynorphin gene, *Neuron.* 6 : 607-617, 1991.
 68. Pezzone MA et al. : Induction of *c-fos*

- immunoreactivity in the rat forebrain by conditioned and unconditioned aversive stimuli., *Brain Res.* 597: 41-50, 1992.
69. Pezzone MA et al. : Activation of brainstem catecholaminergic neurons by conditioned and unconditioned aversive stimuli as revealed by c-Fos immunoreactivity, *Brain Res.* 608: 310-318, 1993.
 70. Sagar SM, Sharp FR and Curran T : Expression of *c-fos* Protein in Brain : Metabolic Mapping at the Cellular Level, *Science* 240: 1328-1331, 1988.
 71. Sheng M and Greenberg ME : The regulation and function of c-fos and other immediate early genes in the nervous system. *Neuron.* 4: 477-485, 1990.
 72. Sugioka K, Mao W, Woods J and Mueller RA ; An unsuccessful attempt to treat hypertension with acupuncture, *Am J Chin Med* 5(1): 39-44, 1977.
 73. Thorbecke GJ et al ; The affinity of reticuloendothelial system for various serum proteins, *Birt. J. Exp. Path*, 41(2): 190, 1960.