실험적으로 유발한 복합부위통증증후군 모델에서 속단이 통증에 미치는 영향

김경윤 · 정현우[1] · 김계엽*

동신대학교 물리치료학과, 1 : 동신대학교 한의학과

Effect of *Dipsaci Radix* on Pain in Complex Region Pain Syndrome

Kyung Yoon Kim, Hyun Woo Jeong[1], Gye Yeop Kim*

Department of Physical Therapy, 1: Department of Oriental Medicine, Dongshin University

It was reported that *Dipsaci Radix* has decrease pain effect on the Complex Region Pain Syndrome(CRPS). the CRPS was induced by unilateral loose occlusion in 4 part of the sciatic nerve of the rats. For the fingding significantly change on CRPS rats were divided into 4 different experimental groups. and each groups were induced CRPS. Experimental group I (control group; n=15), experimental group II(100 ㎎/㎏ *Dipsaci Radix* dieted rats; n=15), experimental group III (300 ㎎/㎏ *Dipsaci Radix* dieted rats; n=15), and experimental group IV(500 ㎎/㎏ *Dipsaci Radix* dieted rats; n=15). The study of *Dipsaci Radix* concentration was that foot withdrawal threshold to the thermal stimuli(Hot plate test), foot withdrawal threshold to the mechanical stimuli(von Frey's filament) and immunohistochemistry staining that were substance P. Hot plate test and von Frey Filament were increase in experimental group II, III, IV than group I, especially group III was most significantly change than group II and IV in post-hoc(Duncan's multiple range). and In immunohistochemistry observation; group I showed increase in the group II, III, IV. especially group III had the minimal level of the substance P expression while the experimental group II, III. These results suggested that the *Dipsaci Radix* dieted made the decrease of pain in CRPS.

Key words : complex region pain syndrome, *Dipsaci Radix*, substance P, rats

서 론

복합부위통증증후군은 분명한 신경손상은 없지만 자율신경 증상을 동반하는 난치성 통증 질환으로써 상지 또는 하지에 신경혈관장애, 피부와 골 위축을 동반하는 만성 통증 상태를 지칭하는 증후군이다. 복합부위통증증후군은 Ⅰ형 과 Ⅱ형으로 분류되어 Ⅰ형은 반사성 교감신경 이영양증으로 명확한 신경 병변 없이 발생하는 것이고 Ⅱ형은 이전에 작열통이라 일컬어지던 것으로 명확한 신경 병변이 존재한다[1]. 복합부위통증증후군은 특히 작은 외상 후에 발생하거나, 사지에서 명백하지 않은 신경병증으로 골절, 염좌, 타박상 또는 수술이후 피부 병변 등이 있을 때 발생하며, 아주 드물게 내장기관이 지배하고 있는 부위의 외상이 제거된 이후, 또는 뇌졸중 같은 중추신경계 병변 이후 발생하기도 한다[2].

1986년 국제통증학회의에서 '작열통'은 신경손상에 의한 통증이며, 반사성 교감신경성 위축증은 신경손상이 없는 골절 등의 외상 후에 교감신경의 과긴장을 동반한 사지 등에서 일어나는 지속성 통증이라고 하였고, 이런 통증의 분류가 여러 가지로 다양화 되어 있었다. 이에 1994년 국제통증학회는 이러한 통증을 복합부위통증증후군이라고 하고 제 1형(반사성 교감신경성위축증)과 제2형(작열통)으로 분류하였다.

아직 복합부위통증증후군에 대한 기전은 확실하지 않으나 근간의 연구들에 의하면 말초신경성 염증반응 뿐만 아니라 중추신경계도 포함하는 신경병적 질환으로 생각되어진다[3]. 복합부위통증증후군을 연구하기 위한 대표적인 동물모델이 부족하지만, 선행연구[4]에서 만성압박손상 모델과 같은 실험적 동물모델이 반사성 교감신경성 이영양증의 기초가 되는 병태생리학적 기전을 연구하는데 중요하다는 것이 여러 논문들을 통해 입증되었다[5,6].

속단은 산토끼꽃과(Dipsacaceae)에 속한 다년생 초본인 천속

* 교신저자 : 김계엽, 전남 나주시 대호동 252 보건복지대학 물리치료학과

· E-mail : redbead7@daum.net, · Tel : 061-330-3395

· 접수 : 2009/05/20 · 수정 : 2009/06/02 · 채택 : 2009/06/13

단(Dipsacus asper Wall)의 뿌리를 건조한 것으로서 강장근골의 요약으로 보간현, 속근골, 활혈, 지혈, 진통의 효능이 있어 혈맥을 통하게 하여 근골을 이어주므로 관신허요통, 요슬산통, 관절불리, 근골절상, 타박상, 골절상, 각기수종, 류마티스성 관절염 등의 치료에 널리 사용 된다[7]. 속단의 효능에 대한 선행 연구들에서 골다공증 방지, 장골길이성장, 골모세포의 분화와 증식 촉진 등의 효능이 있다고 보고되었다[8-10]. 그리고 속단의 성분 중에는 항산화 효능과 신경세포손상 보호효능·, 뇌허혈 손상에 대한 보호효능이 있는 것으로 보고되었으며[12], 속단 약침액 및 에탄올 추출물이 adjuvant로 유발한 관절염에 효능이 있는 것으로 보고되었다[13].

통증은 자발적 또는 접촉으로 유발되고, 이질통과 통각과민, 혈관운동의 장애, 비정상적인 발한, 부종, 체열변화, 감각 및 운동장애와 연관되어진다[14]. 신경병증의 염증의 증가는 피부조직에서 혈관 확장과 단백질 분출물이 동반된 발열과 부종이 사지에서 발생하게 되며, 지속적인 탈신경지배(denervation)는 점진적인 근육 위축, 근육세포의 사망 및 회복될 수 없는 섬유화로 진행된다[15,16]. CRPS에서 척수에서 substance P 신호의 발현은 즉각적인 통증, 이질통, 그리고 통각과민등을 유발한다. 이러한 가설들은 신경독성 감수성의 민감한 구심성 감각 억제 물질을 분비하고, 좌골신경 손상 흰쥐의 후지에서 부종과 감각과민의 발달을 보호해준다고 알려져 있다[17]. 이러한 선행 연구들은 CRPS에서 substance P의 신호를 촉진시켜 혈관과 유해성 수용기에서 비정상적인 반응이 관찰됨이 보고되었다.

최근 연구에서 한쪽 다리에서만 좌골신경을 묶어서 유발한 신경병리학적 통증이 CRPS에서 발생하는 신경병리학적 통증의 모델인 이질통에서 발생하는 통증과 관련되어 있다고 보고되었다[18]. 이에 착안하여 복합부위통증증후군을 유발한 흰쥐에서 속단을 농도별로 식이 하여 통증에 미치는 영향을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료 추출

본 실험에 사용한 속단은 화순 시 소재의 생약협동조합에서 구입하였으며, 건조·분쇄 한 후 사용하였다. 속단 300 g을 80% 에탄올 1,500 ㎖에 넣고 환류 냉각기를 장치한 후 95~100℃ 수욕조에서 12시간 동안 온탕 하였다. 이 추출액을 약 50℃ 정도로 냉각 시키고 여러 겹의 거즈로 여과하여 상등액을 취하였다. 이와 같은 추출 및 여과 조작을 3회 반복하여 상등액을 합하고 회전증발장치(ratary evaporator)를 이용하여 감압하에서 에탄올을 완전히 증발시켜 농축하였다. 이를 소량의 증류수에 용해하였다. 최종적으로 얻은 속단 추출 용액을 -80℃에서 얼린 후 동결 건조하여 분말로 얻었다.

2. 실험군 설정과 복합부위통증증후군 모델 백서 제작

실험동물의 전신마취를 유도하기 위하여 전신마취제인 럼푼(Rumpun, Xylazi ne hydro chloride, Bayel Co., Korea)을 복강내 주사하여 마취 하고 Bennett 과 Xie[4]의 좌골신경 만성압박손상 백서 제작 방법을 이용하였다. 먼저 우측 뒷다리의 대퇴부 중앙부위를 절개하여 좌골신경을 노출시킨 후 좌골신경이 삼분되는 부위 근위부까지의 약 7 ㎜길이를 주위 조직으로부터 박리시키고 4.0 chromic gut을 이용하여 1 ㎜간격으로 네 군데를 느슨하게 결찰 하였다. 모든 절차가 끝난 후 다시 층별 봉합하였다.

3. 실험군 설정

본 연구에서는 동일한 조건하에서 사육한 생후 8-10주, 체중 250-300 g의 건강하고 성숙한 Sprague-Dawley계 백서를 성별 구분 없이 60마리를 사용하였다. 실험 기간 중 물과 먹이는 무제한 공급하였고, 실험실 온도는 25±2℃, 습도는 65±5%로 유지하며, 일정한 조도와 광주기 및 암주기를 2시간으로 조절하여 백서의 생활 주기에 맞추어 줌으로써 생활 습성을 일정하게 유지해 주었다. 실험동물은 대조군(n=15), 실험군 Ⅰ(n=15), 실험군 Ⅱ(n=15), 실험군 Ⅲ(n=15)으로 무작위로 구분하여 총 3주간 속단을 실험동물용 존데(zonde, sigma, USA)를 이용하여 농도별로 식이한 후 7일, 14일, 21일에 관찰하였다. 복합부위통증증후군 유발 후 대조군은 비처치하였고 실험군 Ⅰ은 속단 추출물을 ㎏당 100㎎의 농도로 식이 하였고, 실험군 Ⅱ, Ⅲ은 각각 속단 추출물을 ㎏당 300㎎, 500㎎의 농도로 식이 하였다. 식이는 1일 1회 주 5회로 총 3주간 실시하였다.

Table 1. Classification of experimental groups.

Group(n=15)	Characteristics
Experimental group Ⅰ	CRPS induced rats with non-treatment
Experimental group Ⅱ	CRPS induced rats with *Dipsaci radix* 100 ㎎/㎏ oral gavage
Experimental group Ⅲ	CRPS induced rats with *Dipsaci radix* 300 ㎎/㎏ oral gavage
Experimental group Ⅳ	CRPS induced rats with *Dipsaci radix* 500 ㎎/㎏ oral gavage

4. 열적 동통 역치 감각평가(Hot Plate Test)

Hot plate test는 열에 대한 동통 역치를 측정하는 평가 방법으로 속단 식이가 말초부위의 열적 감각신경에 미치는 영향을 행동학적 측면에서 관찰하고자, 손상 후 7일, 14일, 21일에서 대조군, 실험군 Ⅰ, 실험군 Ⅱ, 실험군 Ⅲ 실험동물을 대상으로 손상측 후지에 IITC Model 39 hot plate(Life Science Instruments, USA)를 이용하여 발의 도피반응 시간(paw withdrawal latency)를 측정하였다. 먼저 가열하지 않은 hot plate 위에서 흰쥐를 30분 적응시킨 후, 흰쥐를 일정한 온도(51.2℃)로 가열된 hot plate 위에 두고 손상 측 발의 도피반응 시간을 측정하였다. 이때 흰쥐가 이동하기 위해 발을 떼는 것은 측정에서 제외하였고, 조직 손상을 예방하기 위해 30초 이내에서 측정을 실시하였다.

5. 기계적 동통 역치 감각평가(von Frey Filament Test)

von Frey Filament는 기계적 동통 역치를 측정하는 평가 방법으로 속단 식이가 말초부위의 기계적 통각에 미치는 영향을 행동학적 측면에서 관찰하고자, 실험군과 대조군 모두에서 각각 7, 14, 21일차에 접촉검사 감각평가를 실시하였다. 복합부위통증

증후군 유발 후 역학적 이질통이 발생하는 점에 대하여 접촉검사 감각 평가를 이용하여 후족 족저부에 수직방향으로 단일 필라멘트(monofilament)가 약간 휘는 정도의 힘으로 5초 간격으로 10번 정도 반복된 기계적 자극을 주고, 50 % 이상 회피반응을 보이는 지점을 회피반응의 역치로 정의하였다.

6. 조직절편 제작

속단의 식이가 통증에 미치는 효과를 알아보기 위해 모든 군에서 실험 시작 7, 14, 21일에 각 군당 5마리씩을 전신 마취제인 럼푼(Rompun, 바이엘코리아)으로 복강주사(0.6 ㎎/㎏)하여 마취한 후, 심장관류를 통해 0.9% NaCl 용액으로 관류 수세하였고, 혈액이 제거된 후에 4% 중성 파라포름알데하이드(paraformaldehyde)로 관류하여 조직 전고정을 실시하였다. 전고정된 실험동물로부터 좌골신경(sciatic nerve)이 분지되는 요척수 영역을 분리하였고 24시간 동안 4% 파라포름알데하이드로 후고정을 실시하였다. 후고정이 끝난 조직은 에탄올을 이용한 탈수(dehydration)과정과 자일렌(xylene)을 이용한 청명(cleaning)과정을 거쳐 파라핀 포매(paraffin embedding)를 실시하였다. 제작된 파라핀 블록(paraffin block)은 미세절단기(Sakura 2040, Japan)를 이용하여 5 ㎛두께로 절단 후 슬라이드를 제작하였으며, 40℃의 건조기(C-SLS, Chang Shin Scientific Co., Korea)에서 24시간 건조시킨 후 substance-P에 대한 면역조직화학법을 시행하였다.

7. Hematoxylin - Eosin 염색(H & E stain)

제작된 조직절편을 이용하여 간과 신장의 손상 유무를 관찰하기 위해 통상적인 H & E 염색을 실시하였다. Xylene과 알코올을 이용하여 탈파라핀과 탈수 과정을 거친 후 흐르는 물에 3분간 수세하였다. Hematoxylin 용액에 5분간 핵 염색 후 다시 수세하여 Eosin 용액으로 3분간 세포질 염색을 실시하였으며, 알코올 농도 순으로 탈수과정을 거친 후 Xylene을 이용한 청명과정을 거친 다음, 봉입을 실시하였다. 봉입한 조직을 광학현미경(Olympus BX50, Olympus Optical Co., Japan)을 이용하여 간과 신장의 조직을 관찰하였다.

8. 면역조직화학법(immunohistochemistry)

복합부위통증증후군 유발 후 속단식이가 통증에 미치는 영향을 알아보기 위해 실험 7일 후에 척수에서 통증지표물질로 알려진 substance-P에 대한 면역조직화학법을 실시하였다. 실험적 중재가 끝난 실험동물을 희생하여 얻은 척수 조직절편은 phosphate buffered saline(PBS)으로 여러 번 세척한 후 남아 있는 고정액 성분을 제거하기 위하여 1% sodium borohydride로 1시간 처리하였다. 면역조직화학염색을 위한 전처리과정으로 0.3%의 과산화수소용액에 20분간 처리하였다. 다시 PBS로 여러 번 세척한 후 Novostain Super ABC Kit (Novocastra Lab., Benton Lane, UK)를 사용하여 Normal blocking serum을 20분간 배양하고 1:500으로 희석한 anti substance-P 항체(abcam, 47510, UK)로 4℃에서 24시간 동안 처리한 후 PBS로 세척하고 희석된 바이오티닐 이차항체액(diluted biotinylated secondary antibody solution)으로 30분간 배양하였다. 다시 PBS로 세척하고 Novostain Super ABC Reagent로 30분간 배양하고 PBS로 세척하였다. 발색을 위해 DAB (Serotec Ltd, BUF021B, UK)에 10분간 적용 후 Mayer's Hematoxyline (Sigma, MHS-32, USA)으로 대조염색(counterstaining)을 실시하였으며, 흐르는 물에 5분간 수세하고 슬라이드 표본을 건조시킨 후 통상의 탈수과정을 거쳐 봉입을 실시하였다. 봉입한 조직을 광학현미경(Olympus BX50, Olympus Optical Co., Japan)을 이용하여 복합부위통증증후군 유발 후 척수부위에서 발현된 substance-P를 관찰하였다.

9. 통계처리

본 연구의 통계학적 분석은 윈도우용 SPSS 12.0 version을 사용하여 분석하였다. 실험결과는 실험군 별로 평균과 표준편차를 구하였고, 실험군 간의 측정 시기에 따른 차이를 비교하기 위해 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)를 실시하였다. 사후검정은 Duncan의 다중범위검사를 실시하였으며 통계학적 유의수준 α=0.05로 하였다.

결 과

1. 열적 동통 역치검사(Hot Plate Test)

통증억제효과 검정으로 열적 자극에 따른 통각과민반응에 대한 일원 분산분석에서 복합부위통증증후군 유발 후 7일($p<0.001$), 14일($p<0.001$), 21일($p<0.001$) 모두에서 군 간의 유의한 차이가 있었다. 사후검정에서는 유발 7일 후에 실험군 Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ에서 모두 유의한 차이가 있었으며, 유발 14일 후에는 실험군 Ⅱ와 Ⅳ에 비해 실험군 Ⅲ에서 유의한 차이가 있었으며, 21일 후에는 실험군 Ⅳ에 비해 실험군 Ⅲ에서 유의한 차이가 나타났다(Table 2, Fig. 1).

2. 기계적 동통 역치 감각평가

통증억제효과 검정으로 기계적 자극에 따른 통각과민반응에 대한 일원 분산분석에서 복합부위통증증후군 유발 후 7일 후, 14일 후, 21일 후 각 군간의 유의한 차이가 있었다. 대조군과 비교하여 실험군 Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ에서 모두 유의한 차이가 있었으며($p<0.001$), 사후검정 결과 유발 14, 21일 이후 실험군 Ⅱ, Ⅳ에 비해 실험군 Ⅲ에서 유의한 차이가 나타났다(Table 3, Fig. 2).

Table 2. Time course of foot withdrawal threshold to the thermal stimuli in each group

Time (day)	Group				p-vaule
	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	
7d	13.30 ± 1.05	15.07 ± 0.96^{a}	18.87 ± 0.92^{c}	16.93 ± 0.70^{b}	0.000
14d	16.49 ± 0.93	17.63 ± 0.89^{a}	19.18 ± 1.20^{b}	17.72 ± 0.66^{a}	0.000
21d	16.70 ± 0.88	17.24 ± 0.95	19.83 ± 0.79^{b}	18.30 ± 0.63^{a}	0.000

All values are showed mean±SD. Value with different superscripts in the same column are significant($p<.05$) by Duncan's multiple range test and compare with group Ⅰ. Ⅰ : CRPS induced rats with non-treatment. Ⅱ : CRPS induced rats with *Dipsaci radix* 100 ㎎/㎏ oral gavage Ⅲ : CRPS induced rats with *Dipsaci radix* 300 ㎎/㎏ oral gavage Ⅳ : CRPS induced rats with *Dipsaci radix* 500 ㎎/㎏ oral gavage

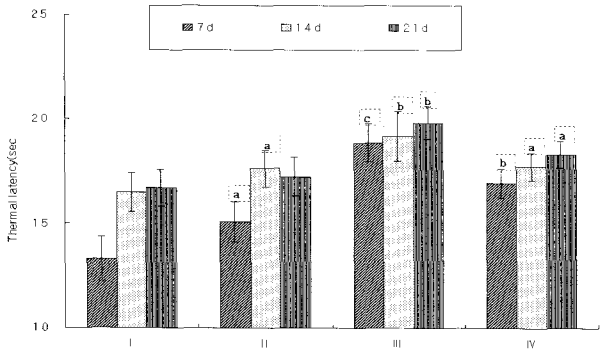

Fig. 1. Time course of foot withdrawal threshold to the thermal stimuli in each group. All values are showed mean±SD. Value with different superscripts in the same column are significant($p<.05$) by Duncan's multiple range test.

Table 3. Time course of foot withdrawal threshold to the mechanical stimuli in each group

Time (day)	Group I	II	III	IV	p-vaule
7d	3.98 ± 0.12	4.76 ± 0.15^a	4.76 ± 0.15^a	4.76 ± 0.15^a	0.000
14d	4.40 ± 0.12	5.24 ± 0.12^a	5.63 ± 0.21^c	5.24 ± 0.12^a	0.000
21d	4.85 ± 0.10	6.36 ± 0.20^a	6.64 ± 0.05^c	6.44 ± 0.16^a	0.000

All values are showed mean±SD. Value with different superscripts in the same column are significant($p<.05$) by Duncan's multiple range test and compare with group I. I : CRPS induced rats with non-treatment. II : CRPS induced rats with *Dipsaci radix* 100 mg/kg oral gavage. III : CRPS induced rats with *Dipsaci radix* 30 mg/kg oral gavage. IV : CRPS induced rats with *Dipsaci radix* 50 mg/kg oral gavage

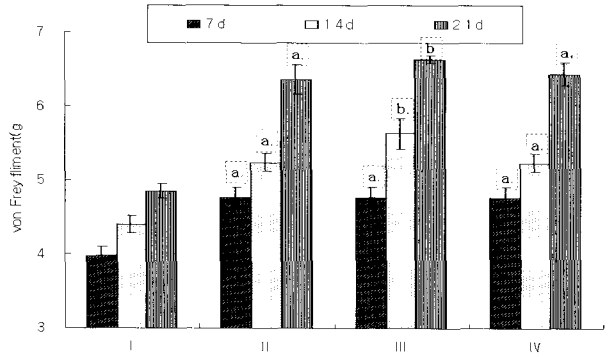

Fig. 2. Time course of foot withdrawal threshold to the mechanical stimuli in each group. All values are showed mean±SD. Value with different superscripts in the same column are significant($p<.05$) by Duncan's multiple range test and compare with group I.

3 조직학적 소견

1) 간독성 검사

속단을 식이하여 속단이 간독성에 미치는 영향을 알아보기 위해 가장 장기간 치료적 중재를 실시한 21일 군에서 간을 추출하여 H & E 염색을 통해 간조직의 변화를 관찰하였다. 그 결과, 대조군 및 실험군 모두에서 정상적인 소견을 보여 속단의 식이가 간을 손상시키지 않았음을 알 수 있었다(Fig. 3).

2) 신장독성 검사

속단이 신장독성에 미치는 영향을 알아보기 위해 가장 장기간 치료적 중재를 실시한 21일 군에서 신장을 추출하여 H & E 염색을 통해 신장조직의 변화를 관찰한 결과, 대조군 및 실험군 모두에서 정상적인 소견을 보여 속단이 신장을 손상시키지 않았음을 알 수 있었다(Fig. 4).

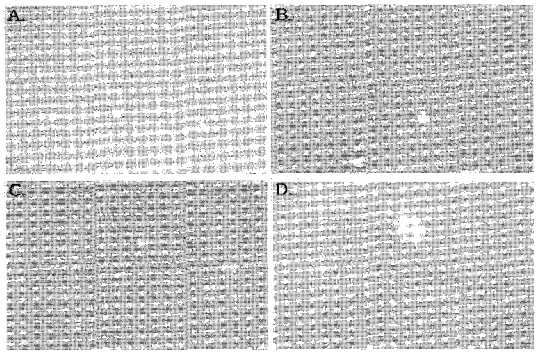

Fig. 3. Histological findings of liver at the 21days. H & E stain, A: CRPS induced rats with non-treatment group, B : CRPS induced rats with *Dipsaci radix* 100 mg/kg oral gavage group, C : CRPS induced rats with *Dipsaci radix* 300 mg/kg oral gavage group, D : CRPS induced rats with *Dipsaci radix* 500 mg/kg oral gavage group, ×100.

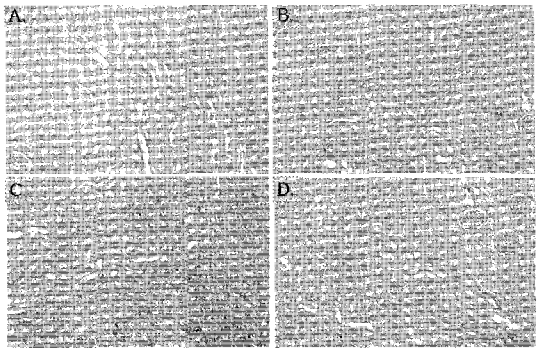

Fig. 4. Histological findings of liver at the 21days. H & E stain, A: CRPS induced rats with non-treatment group, B : CRPS induced rats with *Dipsaci radix* 100 mg/kg oral gavage group, C : CRPS induced rats with *Dipsaci radix* 300 mg/kg oral gavage group, D : CRPS induced rats with *Dipsaci radix* 500 mg/kg oral gavage group, ×100.

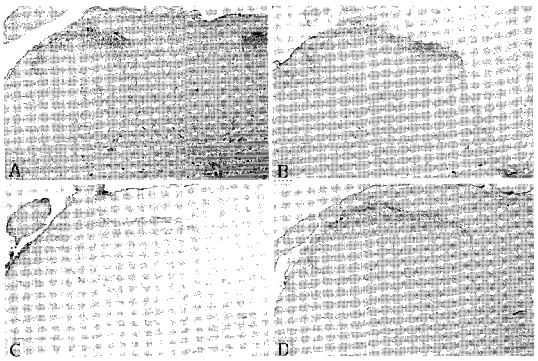

Fig. 5. Immunoreactivity with the substance-P antibody in 7 day. A: CRPS induced rats with non-treatment group, B : CRPS induced rats with *Dipsaci radix* 100 mg/kg oral gavage group, C : CRPS induced rats with *Dipsaci radix* 300 mg/kg oral gavage group, D : CRPS induced rats with *Dipsaci radix* 500 mg/kg oral gavage group, ×200.

4. 면역조직화학검사

복합부위통증증후군을 유발하고 7일 이후에 흰쥐를 희생하여 척수를 적출하여 조직절편을 제작한 다음 통증지표물질인 substance-P에 대한 면역조직화학법을 실시하여 시간 경과에 따른 substance-P의 발현 양상을 관찰하였다. 대조군에서 가장 뚜렷한 면역반응이 관찰되었고, 실험군들에서도 많은 면역반응이 관찰되었으나 대조군에 비해서는 적은 면역반응이 비슷한 양상

으로 관찰되었다. 실험군 Ⅲ에서 면역반응이 가장 많이 줄어들었음을 관찰할 수 있었다(Fig. 5).

고 찰

복합부위통증증후군은 과거 반사성 교감신경 이영양증, 반사성 교감신경 위축증, 또는 작열통이라 일컬어지던 질환으로, 반사성 교감신경성 위축증 때 특징적으로 보여주는 증상과 징후에는 여러 가지가 있는데 가장 특징적으로 통증과 변화된 감각을 보인다[19]. 말초신경 손상이나 염증 등의 병적상태에서 각종 자극에 대한 통각과민을 초래하는 이유는 척수 내에 존재하는 통각 특유의 신경세포(nociceptive specific neurons, NS)나 광범위한 반응 신경세포(wide dynamic range neurons, WDR)가 neurokinin과 흥분성 아미노산(excitatory amino acids, EAAs)에 의해 흥분성(excitability)이 증가된 까닭이라고 보고되었다[20]. 병태생리학적 기전은 기계적, 온도 및 화학적 자극이 C통각수용기 섬유(C-nociceptive fiber)를 감작시켜 Substance P와 Calcitonin Gene Related Peptide와 같은 신경펩티드를 유리시킴으로서 복합부위통증증후군이 시작되는 것으로 생각된다[21]. 통증과 관련된 변화 이외에 운동장애와 영양성 변화가 생길 수 있는데, 근력약화, 진전, 활동범위의 감소를 흔히 볼 수 있고, 영양성 변화로는 피부, 손톱, 체모의 성장의 변화, 때로는 골다공증이 존재하기도 한다[14].

그 밖에 복합부위통증증후군에서 확인할 수 있는 말초적인 증상으로는 자율신경계의 변화가 발생하여 부종, 체온과 피부색의 변화 등이 생기고, 혈관운동의 불안정한 증가도 동반되며[22], 심리적으로는 정신적 장애를 초래할 수 있다. 이는 불안과 우울증을 동반하고 있고, 일반적인 만성통증 환자들이 보이는 양상과 비슷하다.

본래 속단은 끊어진 뼈를 잇는다는 의미에서 명명되었다고 할 수 있다. 속단은 산토끼꽃과(Dipsacaceae)의 다년생 초본 식물의 뿌리이며, 그 효능으로는 전반적으로 간과 신장의 기능을 증진시키고 혈액의 흐름을 원활히 하며 근과 골을 이어주는 효능과 함께 소염진통, 배농, 지혈, 조직재생 촉진, 심장활동 강화, 혈소판 응집 억제의 효과가 있다고 알려져 있다[23]. 속단은 본래 골다공증과 장골 길이성장, 골모세포의 분화와 증식 및 뇌경색에 의한 후지근육 위축에 유의한 효능이 있는 것으로 보고되었다[9]. 하지만 속단의 본래 효능 중 소염진통과 조직재생의 촉진에 효과적임에 착안하여 복합부위통증증후군을 유발 후 속단을 식이하여 통증에 미치는 영향에 관하여 관찰하였다.

복합부위통증증후군을 연구하기 위한 실험동물 모델의 제작에는 여러 가지 방법들이 제시되었지만, 실험동물의 윤리적 문제, 동물에서의 이질감 측정의 어려움 등이 있어서 크게 발달되지 못하였다. 하지만 1988년 Bennet등이 백서의 좌골신경을 느슨하게 결찰하는 방법으로 수술 후 2일부터 2개월간 지속되는 통각과민, 지각과민, 식욕감소, 수술 받은 발의 온도이상, 과다하게 자란 발톱 등의 증상을 갖는 말초성 단(斷)신경장애를 보고하였으며, 1990년 Seltzer 등이 좌골신경 배측 1/3~1/2를 견고하게 결찰 하여 수술 후 수 시간부터 수개월간 지속되는 지각과민, 통각과민 등의 신경장애성 통증을 유발하는 방법을 보고하였다.

이에 본 연구에서는 복합부위통증증후군을 유발하고자 편측 좌골신경을 느슨하게 네 군데 결찰 하여 지속적으로 발생하게 되는 이질통에 속단이 미치는 영향을 확인하고자 하였으며, 이를 확인하고자, 열 동통 역치검사, 접촉검사를 실시하였고 조직학적 소견으로 간과 신장에 미치는 독성 검사와 통증과 관련하여 척수에서 발현되는 substance P의 발현 정도를 확인하였다. 먼저, 열 자극에 대한 회피반응 측정에서는 각 실험군은 복합부위통증증후군 유발 이후 7일, 14일, 21일에서 모두 군간 유의한 차이가 발생하였다($p<0.001$), 특히 사후검정을 통하여 실험대조군인 실험군 Ⅰ과 비교하였을 때 복합부위통증증후군 손상 후 7일째, 실험군 Ⅰ과 비교하여 실험군 Ⅱ, 실험군 Ⅲ, 실험군 Ⅳ에서 모두 유의한 차이를 보였으며 특히, 사후검정 결과 실험군 Ⅲ에서 가장 유의한 차이를 보였다. 나머지 14일, 21일 째에는 실험군 Ⅰ과 비교하여 모두 유의한 차이를 보였으며, 사후검정 결과 실험군 Ⅱ, Ⅳ와 실험군 Ⅲ사이에서 유의한 차이를 보였다. 실험기간 동안 대조군인 실험군 Ⅰ에서 열자극에 대한 회피반응에서 감소됨을 확인할 수 있었으며, 속단을 식이한 실험군 Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ는 신경병증성 통증이 보다 많이 감소됨을 확인할 수 있었으며, 특히 실험군 Ⅲ은 다른 군에 비해 유의한 차이를 나타냈다.

기계적 자극에 대한 회피반응 측정에서 각 실험군은 복합부위통증증후군 유발 후 7일, 14일, 21일 째에 각 실험군간 유의한 차이가 나타났다($p<0.001$). 사후검정에서 실험군 Ⅰ과 비교하여 실험군 Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ에서 유의한 차이가 나타났으며 특히, 14일, 21일째에는 실험군 Ⅱ, Ⅳ와 비교하여 실험군 Ⅲ에서 각각 유의한 차이를 보였다.

속단이 간 및 신장독성에 미치는 영향을 알아보기 위해 가장 장기간 식이를 실시한 21일 군에서 간 및 신장을 추출하여 H & E 염색을 실시하여 조직학적인 변화를 관찰한 결과 모든 군에서 정상적인 소견을 보였다.

Substance P는 통각을 수용하는 제 1차 구심성 신경섬유의 말초와 중추단에서 모두 분비되며 말초단에서 분비되는 substance P는 혈관이완을 시키는 주된 작용이며, 중추로 분비되는 substance-P는 척수후각신경세포로 통각을 전달하는 것으로 알려져 있다[24]. 신경병증에 의하여 발생하는 염증은 substance P의 분비로 인하여 작은 1차 구심성 신경원의 흥분에 의하여 즉시 흥분하게 된다. substance P 수용기가 혈관 내피층에서 작용하고, 결과적으로 혈관 확장과 혈관 침투성을 증가 시킨다고 보고 알려져 있다[25-27]. 그리고 중추에서는 척수 내에 존재하는 통각 특유의 신경세포의 흥분성이 증가 하도록, 통각 전달을 하는 C 신경섬유와 A 신경섬유는 통증을 전달하는 고유물질인 substance P를 함유하고 있어, 신경손상으로 지속적인 자극이 발생했을 때 C 신경섬유는 더욱 활성화되어 많은 양의 substance P를 척수의 바깥층에 유리시켜 후각신경세포를 흥분시킨다. 그 결과 통각과민을 일으키게 된다.

면역조직화학법으로 substance P의 변화를 관찰하여 본 결과 실험군 Ⅰ에 비해 나머지 실험군 Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ에서 면역반응이

더 줄어드는 것을 관찰할 수 있었다. 특히 실험군 Ⅰ과 비교하여 속단을 kg당 300 ㎎씩 식이한 실험군 Ⅲ에서 속단을 다른 농도로 식이한 실험군 Ⅱ, Ⅳ와 비교하여서 가장 많이 면역반응이 줄어들었음을 관찰 할 수 있었다. 이는 말초신경 손상에 의하여 발생하는 통증 전달 물질인 substance P의 발현이 가장 많이 감소한 결과로, 열 동통역치를 이용한 통각 반응 검사, 접촉감각 검사와도 일치하는 결과였다. 이 말초부위에서의 검사와 중추부 substance P의 발현 결과가 일치하는 점이 시사하는 바로는 좌골신경을 느슨하게 네 군데 결찰 하여 유발한 말초신경 손상으로 인하여 발생되는 이질통이 복합부위통증증후군으로서 작용하였다는 점으로, 말초부위에서 통각과민이 발생하였으며, 더불어 중추에서 척수의 후각에 면역조직화학적인 반응이 발생하였고, 이러한 이질통, 통각과민 등의 통증과 관련된 증상을 속단을 중간 농도 정도인 300 ㎎/㎏의 농도로 식이 하여 주었을 때 통증이 감소되는 경향을 보여 속단이 복합부위통증증후군에서 통증과 관련하여 통증을 경감시켜 주는 작용을 하였다는 점이다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때, 속단이 복합부위통증증후군에 따른 통증의 감소에 영향을 미치며, 특히 300 ㎎/㎏의 농도로 식이 하였을 때 가장 유의한 차이를 보임을 알 수 있었다. 향후 통증의 경감 이외에 신경회복과 연관된 연구가 이루어져야 할 것이며, 더불어 속단을 이용한 복합적인 처방에 관한 연구와 실험동물 이외에 복합부위통증증후군과 연관된 임상연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

결 론

복합부위통증증후군의 통증에 속단이 미치는 효과를 관찰하고자 좌골신경을 느슨하게 네 곳을 결찰하여 복합부위통증증후군을 유발하고, 3주간 속단의 농도를 달리하여 식이하고 통증에 미치는 영향을 관찰하였다. 속단을 식이하여 열동통감각, 접촉감각 검사를 실시한 결과 속단의 식이가 복합부위통증증후군의 통증을 유의하게 감소시켰으며, 척수 내 통증전달물질인 substance P의 발현을 감소시켰다. 특히 ㎏당 300 ㎎의 농도로 속단을 식이한 결과 가장 유의한 차이를 보였다. 그리고 간과 신장에서 독성검사를 실시한 결과 독성 성분을 가지고 있지 않았다. 이상의 결과들로 보아 속단은 복합부위통증증후군에서 중추와 말초에서 통증의 감소를 가져오는 효능이 있으며, 간, 신장 독성도 가지고 있지 않았다. 특히 300 ㎎/㎏의 농도로 속단식이 시 가장 유의한 통증감소 결과를 보였다.

참고문헌

1. vacariu, G. Complex regional pain syndrome. Disabil Rehabil 24(8):435-442, 2002.
2. Janig, W., Baron, R. Experimental approach to CRPS. pain 108(1-2):3-7, 2004.
3. Turner-strokes, L. Reflex sympathetic dystrophy-a complex regional pain syndrome. Disabil Regabil. 24(18):939-947, 2002.
4. Bennett, G.J., Xie, Y.K. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. pain 33(1):87-107, 1988.
5. Kurvers, H., Daemen, M., Slaaf, D., Stassen, F., van den Wildenberq, F., Kitslaar, P., de Mey, J. Partial peripheral neuropathy and denervation induced adrenoceptor supersensitivity-Functional studies in an experimental model. Acta Orthop Belg. 64(1):64-70, 1998.
6. Huygen, F.J., de Bruijn, A.G., Klein, J., Zijlstra, F.J. Neuroimmune alteration in the complex regional pain syndrome. EUR. J. Pharmacol. 429: 101-113, 2001.
7. 김호철. 한약약리학. 서울, 집문당, pp 420-450, 2001.
8. 안덕균, 최연수. 속단이 흰쥐의 난소적출로 유발한 골다공증에 미치는 영향. 본초학회지 9: 181-186, 1994.
9. 김강현, 전훈. 속단의 흰쥐장골 길이성장에 미치는 여향에 관한 연구. 동의생리병리학회지 15: 983-988, 2001.
10. 이영준, 최희인, 김윤철, 신형식, 유형근. 속단의 dichloromethane 분획물이 태아골모세포의 골형성 유도에 미치는 효과. 대한치주학회지 33: 259-269, 2003.
11. Hung, T.M., Na, M., Thuong, P.T., Su, N.D., Sok, D., Song, K.S., Seong, Y.H., Bae, K. Antioxidant activity of caffeoyl quinic acid derivatives from the roots of Dipsacus asper Wall. J Ethnopharmacol. 108(2):188-192, 2006.
12. Li, D.Q., Li, Y., Liu, Y., Bao, Y.M., Hu, B., An, L.J. Catalpol prevents the loss of CA1 hippocampal neurons and reduces working errors in gerbils after ischemia-reperfusion injury. Toxicon 46(8):845-851, 2005.
13. 이황렬. 속단약침이 Adjuvant 관절염에 미치는 영향. 대전대학교 석사학위논문, 2000.
14. 진순용, 한영진, 최훈. 복합부위통증증후군 제1형으로 추정되는 상세불명의 흉부격통 치료 경험. 대한마취과학회지 47(5): 747-750, 2004.
15. Irintchev, A., Draguhn, A., Wernig, A. Reinnervation and recovery of mouse soleus muscle after long-term denervation. Neuroscience 39(1):231-243, 1990.
16. Fu, S.Y., Gordon, T. Contributing factors to poor functional recovery after delayed nerve repair: prolonged axotomy. J Neurosci. 15: 3876-3885, 1995.
17. Kingery, W.S., Davies, M.F., Clark, J.D. A substance P receptor (NK1) antagonist can reverse vascular and nociceptive abnormalities in a rat model of complex regional pain syndrome type Ⅱ. Pain 104: 75-84, 2003.
18. Seltzer, Z., Dubner, R., Shir, Y. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. Pain 43: 205-218, 1990.
19. Wasner, G., Schattschneider, J., Binder, A., Baron, R. Complex regional pain syndrome diagnostic, mechanisms,

CNS involvement and therapy. Spinal Cord. 41: 61-75, 2003.

20. Urban, L., Thompson, S.W.N., Dray, A. Modulation of spinal excitability: cooperation between neurokinin and excitatory amino acids neurotransmitters. TINS. 17(10): 432-437, 1994.
21. Kurvers, H.A., Jacobs, M.J., Beuk R.J., Van den wildenberg, F.A., Kitslaar, P.J., Slaaf, D.W., Reneman, R.S. Reflex sympathetic dystrophy ; evolution of microcirculatory disturbances in time. pain 60: 333-340, 1995.
22. Veldman, P.H., Reynen, H.M., Arntz, I.E., Goris, R.J. Signs and symptoms of reflex sympathetic dystrophy: prospctive study of 829 patients. Lancet 342: 1012-1016, 1993.
23. 한국생약교수협의회. 본초학. 서울, 사단법인 대한 약사회, pp 755-758, 2002.
24. Garcia Leme, J., Hamamura, L. Formation of a factor increasing vascular permeability during electrical stimulation of the saphenous nerve in rats. Br. J. pharmacol. 51: 383-389, 1974.
25. Bowden, J.J., Garland, A.M., Baluk, P., Lefevre, P., Grady, E.F., Vigna, S.R., Bunnett, N.W., McDonald, D.M. Direct observation of substance P-induced internalization of neurokinin 1 (NK1) receptors at sites of inflammation. Proc Natl Acad Sci USA. 91(19):8964-8968, 1994.
26. Holzer, P., Jocic, M. Cutaneous vasodilatation induced by nitric oxide-evoked stimulation of afferent nerves in the rat. Br. J. Pharmacol. 112: 1181-1187, 1994.
27. Quartara, L., Maqqi, C.A. The tachykinin NK1 receptor. Part II ; Distribution and pathophysiological roles. Neuropeptides 32(1):1-49, 1998.