

포르말린으로 유발된 안면부 통증조절에서 사물탕의 역할

김윤경¹, 현경예¹, 박민경², 이민경^{1*}

¹동의대학교학교 일반대학원 보건학과

²경운대학교 보건대학 치위생학과

Role of Samultang in Formalin-induced Orofacial pain

Yun-Kyung Kim¹, Kyung-Yae Hyun¹, Min-Kyoung Park², Min-Kyung Lee^{1*}

¹Depart. of Biomedical Health Science, Dong-eui University

²Depart. of Dental Hygiene, Kyung-woon University

요약 본 연구는 formalin으로 유발한 실험동물의 안면부 통증 모델에서 사물탕의 항염증 작용과 항산화 작용을 확인하고자 수행되었다. Formalin 주입 전 사물탕추출물(3.5 mg/1 ml)을 3일간 복강 투여하였고, 3일차 사물탕 주입 30분 후 5% formalin(50 μ l)을 실험동물의 오른쪽 수염부 피하에 주입하여 안면부 통증을 유발하였다. 사물탕 투여에 따른 안면부 통증행위반응을 측정하였다. 통증신호를 매개하는 염증과 산화작용의 지표로 실험동물의 뇌와 연수에서 p38 MAPK, iNOS, NOX4의 발현을 단백질량분석법으로 평가하였다. 사물탕은 안면부 통증행위반응을 유의하게 감소시켰을 뿐만 아니라, 염증성 매개인자인 p38 MAPK, iNOS의 발현을 억제하였고 NOX4의 조절을 통한 항산화작용을 나타내었다. 이러한 결과를 통하여 사물탕의 투여가 안면부 통증 조절에 중요한 역할을 담당할 것으로 생각된다.

Abstract The aim of this study was to evaluate the analgesic effects of Samultang by measuring the anti-inflammatory and antioxidative activities in formalin-induced orofacial pain. The anti-inflammatory and anti-oxidative effects were measured by western blot analysis for p38 MAPK(Mitogen-activated protein kinases), iNOS(inducible nitric oxide synthase) and NOX4(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate4) in a rat's brain and medulla oblongata. Samultang significantly attenuated the increased formalin-induced nociceptive response and inhibited the p38 MAPK and iNOS that led to inflammatory pain. In addition, this study indicated that Samultang possess antioxidative effects through the blockade of NOX4. These findings suggest that Samultang plays an important role in the peripheral processing of inflammatory pain in the orofacial area.

Key Words : iNOS, NOX4, Orofacial pain, p38 MAPK, Samultang

1. 서론

한방과 민간요법에서 경험을 바탕으로 사용되어 오던 천연물의 효능에 대한 근거를 마련하기 위해 다각적인 연구가 활발하게 진행되고 있다. 숙지황, 당귀, 작약 천궁 네 가지 천연약제로 구성된 사물탕은 허혈증과 혈병의 치료에 효과적인 것으로 알려져 있으며, 일부 연구에서 심혈관 기능 및 혈액순환 개선 효과, 빈혈개선효과, 뇌조직 및 신경보호효과, 면역조절효과, 항암효과, 스트레스 억제효과, 항산화활성, 염증 및 알러지 억제효과 등에 대

해 보고되고 있다[1]. 사물탕 추출물은 신경아교세포(glia cell)에서 lipopolysaccharide (LPS)/phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA)의 처리로 증가된 nitric oxide(NO)의 생성과 iNOS(inducible nitric oxide synthase)의 발현을 억제하였고[2], PMA와 A23187 (Ca-ionophore)로 활성화 된 HMC-1(Human mast cell-1)에 대해 사물탕 투여군은 proinflammatory cytokine인 TNF- α (Tumor necrosis factor- α)와 IL-6(interleukin-6)를 억제시켜 비만세포(mast cell) 활성을 조절하였다[3]. 또한 사물탕 각각의 재료의 추출물

*Corresponding Author : Min-Kyung Lee(Dong-eui Univ.)

Tel: +82-10-3475-5790 email: lmk849@deu.ac.kr

Received May 8, 2014

Revised (1st June 24, 2014, 2nd July 4, 2014)

Accepted September 11, 2014

은 높은 superoxide dismutase(SOD) 유사활성과 우수한 아질산염 소거능에 대한 보고가 있으며[4], 본 연구실의 최근 보고에 따르면, 사물탕의 단회투여는 실험동물의 안면부 통증행위반응 조절에 유의한 효과를 나타내었다[5]. 이러한 내용을 종합해 보면 사물탕의 여러 가지 약리적 작용과 함께 항염증 및 항진정 효과를 보여줌으로써 통증발생 및 조절에 기여할 것으로 사료된다.

p38 MAPK(Mitogen-activated protein kinases)은 세포내 신호전달을 통해 염증, 스트레스반응, 세포자멸사(Apoptosis) 등에 관여하는 것[6]으로 알려져 있다. p38 MAPK는 extracellular signal-regulated protein kinase(ERK), c-JUN N-terminal kinase/stress-activated protein kinase(JNK/SAPK)와 함께 MAPK family를 구성하며, IL-6, TNF- α , 성장인자(growth factor)와 같은 염증성 매개물들에 의해 활성화되어 통증의 신호전달에 핵심적 역할을 한다고 알려져 있다[7]. 실험동물의 안와하신경 결찰로 유도한 안면부 이질통은 p38 MAPK의 억제제인 SB203580의 복강투여로 이질통이 감소되었고[8], Freund's Complete Adjuvant(CFA)에 의해 유도된 악관절 통증모델에서 SB203580의 소뇌연수주 투여는 실험동물의 이질통을 유의하게 감소시켰다[9]. 이러한 연구는 다양한 원인으로 발생하는 안면부 통증신호의 전달에 p38 MAPK 활성화가 중요한 인자임을 증명하였다.

NOS의 3가지 아형으로 나누어진다. 먼저 iNOS는 다양한 생리적, 병태생리학적 상태에서 세포신호를 전달하여 심혈관계, 신경계, 면역계에서 중요한 역할을 담당하고 있으며, eNOS(endothelial NOS)와 nNOS(neuronal NOS)는 구조적으로 세포질 내에 존재하며 저 농도의 NO를 생성하여 인체의 정상적인 생리과정을 조절한다. 그러나 iNOS는 병태생리학적 상태에서 NF- κ B(Nuclear Factor- κ B)와 같은 핵전사인자의 조절에 의해 중합되어 L-arginine으로부터 과도한 NO의 생성을 유도하고 이는 염증반응에 관여한다고 알려져 있다[10]. Carrageenan으로 유도된 열성 과민반응은 iNOS 억제제인 aminoguanidine(AG)의 척수 내 투여로 열성 과민반응이 감소되었고[11], iNOS의 억제제인 GW274150의 경구 투여는 CFA와 만성협착손상(Chronic Constriction Injury, CCI)으로 유도한 염증성, 신경병증성 모델에서 통증과민반응을 감소시켰다는 보고[12]는 iNOS가 통증의 신호전달에 중요한 매개체임을 증명한다.

NOX4(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)는 세포막 단백질로 superoxide(O_2^-), hydroxy peroxide(H_2O_2), peroxitirite($ONOO^-$)와 같은 활성산소종(ROS, reactive oxygen species)을 생성하는 원인인자인 NADPH oxidase 중 하나이다. NADPH oxidase 아형에는 NOX1-5, dual oxidase(DUOX1), DUOX2가 있으며[13], NOX1, NOX2, NOX5가 superoxide를 생성하는 것과 달리, NOX4는 세포막에 위치한 p22phox의 조절에 의해 H_2O_2 를 과잉 생성하는 것으로 보고되고 있다. 이 과정에서 NOX4는 미토콘드리아의 전자전달계에 의해 과잉 생산된 O_2^- 에 전자를 운반하여 H_2O_2 로 전환[14]시켜 염증반응에 관여한다고 보고되어 진다.

이러한 내용을 바탕으로 본 연구에서는 포르말린으로 유도된 실험동물의 염증성 통증행위반응에 사물탕이 미치는 영향을 확인하고, 또한 통증신호의 전달과정에서 중요한 인자인 p38 MAPK와 iNOS와 산화적 스트레스의 주요 인자인 NOX4 발현의 변화를 단백질량분석법으로 평가함으로써 사물탕의 항염증과 항산화 효능을 확인하고자 하였다.

2. 연구방법

2.1 실험동물

실험동물은 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐(240~280g)를 사용하였다. 12시간 주/야 순환주기 및 23-24°C의 일정한 환경을 유지하면서 물과 사료는 자유로이 공급하였다. 행동적인 억압 등에 의한 실험 전 스트레스를 가능한 최소화하였다. 본 연구는 의식이 있는 동물의 실험에 관한 통증연구학회의 윤리적 규정에 따라 수행하였다.

2.2 시약

천연물 재료들은 (천궁, 당귀, 작약, 숙지황)은 부산진 전통약재시장(Busan, Korea)을 통해 구입하였다. 4개의 천연물 약초를 각 5g 씩을 저울로 정확히 달고 2,000 ml 증류수와 혼합하여 3시간동안 Bio-150을 이용하여 열수 추출하였다(DaeHan median, Korea). 총 추출액 200 ml를 4°C 냉장보관 하여 실험에 이용하였다.

2.3 안면부통증모델

Formalin test은 이전 연구에서 사용된 방법과 동일하

게 수행하였다[15]. 5% formalin(50 μ l)을 실험동물(n=6)의 오른쪽 수염부 피하에 주입 직 후부터 5분단위로 누적하여 총 45분간 행위반응을 관찰하였고, 약물이 주입된 안면부를 문지르거나 긁는 행위를 통증 지표로 간주하였다.

2.4 사물탕 처치

실험동물은 아무런 처치를 하지 않은 대조군(n=6), formalin 투여군(n=6)과 실험군(n=6)으로 분류하였다. 실험군은 3일간 연속으로 실험동물의 왼쪽아래의 복부에 사물탕(3.5 mg/1 mL)을 복강주사(Intraperitoneal injection)하였고, 3일차 사물탕 주입 후 30분 경과시점에 오른쪽 안면부에 5% formalin(50 μ l)를 주입하였다.

2.5 단백질량분석

5% formalin(50 μ l) 주입 30분 후에 실험동물을 20% urethan(1.5 ml)으로 복강마취 후 동맥을 차단하여 뇌로 가는 혈류를 차단하였다. 두개골을 절개하여 뇌와 연수를 적출하여 균질화 전까지 -70°C에 보관하였다가 꺼내어 사용하였다. 적출한 뇌, 연수 조직에 lysis buffer(PRO-PREP™, Protein Extraction Solution)를 첨가하여 4°C에서 균질기(Intron Biotechnology, Gyeonggi-do, Korea)를 이용하여 각각의 조직을 균질화하였다. 균질화 이후 원심분리기(Hanil science, korea)로 4°C, 13,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 세포 찌거기를 제거한 상층액을 X-ma 분광광도계 (Human Cor, Korea)로 595nm에서 단백질 흡광도를 측정하였다. 단백질 농도는 BSA(bovine serum albumin)를 표준화하여 Bio-Rad Protein assay kit(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 사용하여 정량하였다. 정량된 단백질과 증류수, sample buffer(125mM Tris(pH 6.8), 20% glycerol, 4% SDS, 2% β -mercaptoethanol, 0.04% bromophenol blue, D.W)를 혼합하여 10분간 95°C에서 가열 시키고 2분간 -20에서 보관, 원심 후 voltex로 다시 혼합하였다. 준비된 단백질 sample은 12% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel에 18.5 μ l로 loading 후 70 V, 100 V, 110 V에서 각각 30분, 1시간 30분, 1시간 40으로 전압을 조절하면서 작동시켰다. Gel에서 nitrocellulose membrane으로 단백질을 옮기기 위해 100 V로 2시간동안 이동시켰고, 전체 단백질 패턴을 확인하기 위해 Ponceau 용액으로 확인 후 증류수에 10분간 세

척하였다. 교반기(WISD, SHO 2D, korea) 위에서 blocking buffer(1X PBST, 탈지분유, sodium azide)로 2시간 blocking하고 7분간 5회에 걸쳐 1X PBST(10X PBST, D.W, 0.1% Tween 20)로 수세 후 p38MAPK, NOX4, iNOS, β -actin Anti body(Ab)를 하룻밤 동안 4°C에서 반응시켰다. 수세 후 2차 Ab를 교반기 위에서 2시간 실온 부착하였고 발현은 ECL (Amersham Pharmacia Biotech, Buckinghamshire, UK)을 이용하여 분석하였다. 1차 Ab는 p38 MAPK rabbit mAb, iNOS, NOX4, β -actin monoclonal antibody(Cell Signaling Technology, INC. USA)을 각각 1:2,000, 1:500, 1:500, 1:20,000의 비율로 5% skim milk에 희석하여 사용하였고, p38MAPK, iNOS, NOX4의 2차 Ab인 anti-rabbit IgG(Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)와 b-actin의 2차 Ab는 horseradish peroxidase-conjugated anti-mouse IgG를 각각 1:8,000, 1:3,000, 1:3,000, 1:10,000의 비율로 sodium azide를 제외한 5% skim milk에 희석시켜 사용하였다. Vision Works Image Software (UVP, Cambridge, UK)를 이용하여 발현정도를 나타내었다.

2.6 통계분석

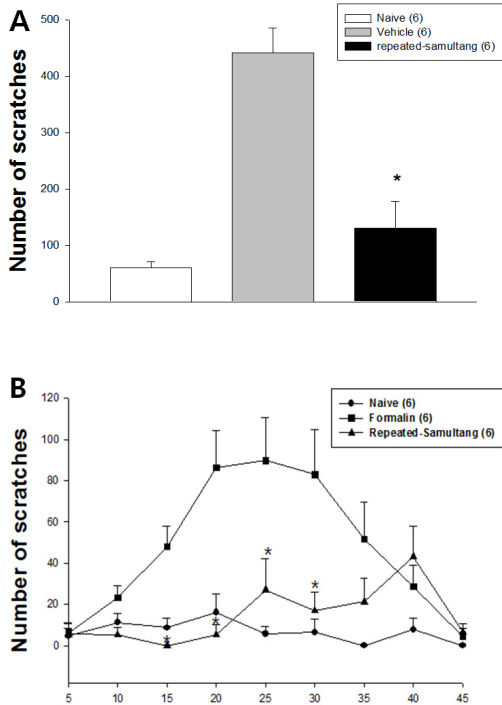
실험결과와 통계 분석은 다중 그룹에서 반복측정자료의 분산분석법과 LSD post-hoc test를 이용하였다. 통계적인 비교를 위해 통계적 유의성의 표준값은 p<0.05로 설정하였다. 모든 결과는 평균 \pm 표준 오차(SEM)로 표시하였다.

3. 결과

3.1 안면부 통증에서 사물탕의 통증행위반응 조절효과

Formalin으로 유도한 안면부 통증에서 사물탕의 반복 투여는 실험동물의 통증행위반응을 유의하게 감소시켰다. 통증행위반응의 변화값은 대조군에서는 60.8 \pm 10.8회, formalin군에서 421.6 \pm 55.3회, 사물탕군에서 131.0 \pm 47.2회로 나타났다. Formalin의 안면부 주입은 아무런 처치를 하지 않은 대조군에 비해 통증행위반응이 증가하였으며, 3일간 반복투여한 사물탕군에서는 통증행위반응이 현저히 감소하였다[Fig 1A]. 3일간 saline을 투여한 대조군에서의 행위반응(441.7 \pm 43.1)은 결과에 나타내지 않았으나

formalin 투여군과 유의한 차이가 없었다. 이러한 통증행위반응을 시간의 변화에 따라 관찰하였고, formalin에 의한 통증행위반응은 15분에서부터 상당히 증가하여 35분까지 지속되다가 45분에는 대조군과 같은 수준으로 감소되었다[Fig 1B].



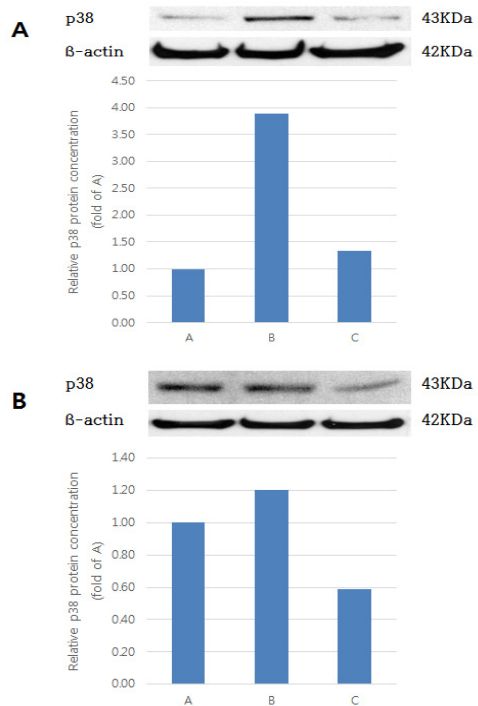
[Fig. 1] Effect of repeated samuntang(i.p) on formalin-induced orofacial pain. Samuntang-treated group was significantly reduced behavioral responses as compared with 5% formalin-treated group(A). Samuntang-treated group was significantly reduced behavioral responses on second phase(11-45min), but not on first phase(0-10min) as compared with 5% formalin-treated group(B). *p<0.05, 5% formalin VS samuntang.

3.2 안면부 통증에서 사물탕의 항염증 및 항염증 단백질의 조절효과

3.2.1 사물탕의 투여가 p38 MAPK의 발현에 미치는 효과

사물탕의 투여가 통증의 신호전달에 중요한 역할을 담당하는 p38 MAPK를 조절을 Fig 2에 나타내었다. formalin주입군은 대조군에 비해 p38 MAPK의 발현을 증가시켰고, 사물탕의 반복투여는 증가된 p38 MAPK의

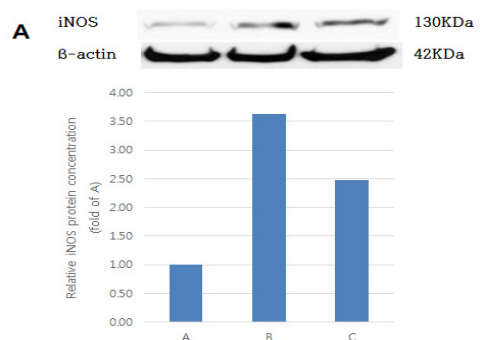
발현을 뇌와 연수에서 감소시켰다.

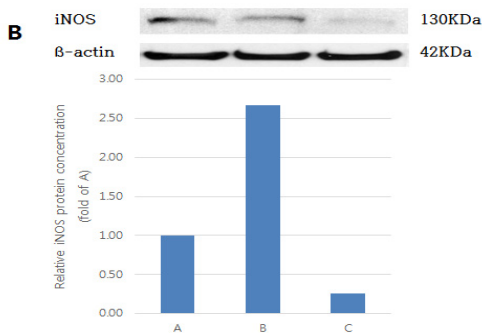


[Fig. 2] The effects of Samuntang on p38 MAPK expression in the medulla oblongata(A) and brain(B) A:Naive, B:Formalin-treated rat, C:samuntang-treated rat Samuntang reduced formalin-induced p38 MAPK expression.

3.2.2 사물탕의 투여가 iNOS의 발현에 미치는 효과

사물탕의 투여가 iNOS에 의한 염증성 통증의 신호전달과정 조절을 Fig 3에 나타내었다. Formalin 주입군은 대조군에 비해 iNOS의 발현을 증가시켰고, 사물탕의 반복투여는 증가된 iNOS의 발현을 뇌와 연수에서 현저하게 감소시켰다.

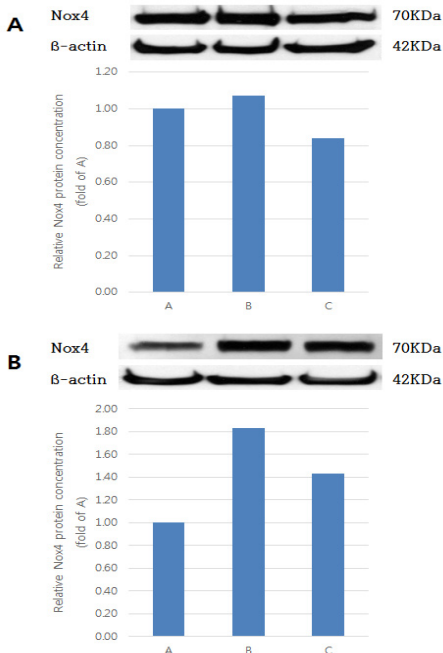




[Fig. 3] The effects of Samultang on iNOS Protein Expression in the medulla oblongata(A) and brain(B) A;Naive, B;Formalin-treated rat, C;samultang-treated rat. Samultang reduced formalin-induced iNOS expression.

3.2.4 사물탕의 투여가 NOX4의 발현에 미치는 효과

NOX4의 발현이 사물탕의 투여로 인한 조절을 Fig 4에 나타내었다, Formalin 주입군은 대조군에 비해 NOX4의 발현을 증가시켰고, 사물탕의 반복투여는 증가된 NOX4의 발현을 뇌와 연수에서 감소시켰다.



[Fig. 4] The effects of Samultang on NOX4 Protein Expression in the medulla oblongata(A) and brain(B) A;Naive, B;Formalin-treated rat, C;samultang-treated rat. Samultang reduced formalin-induced NOX4 expression

4. 고찰

본 연구는 formalin으로 유도한 안면부 통증모델에서 사물탕의 반복투여가 통증행위 반응을 조절하는 지 관찰하고, 통증의 신호 전달경로에서 항염증과 항산화 인자들의 발현에 대한 사물탕의 영향을 알아보려고 하였다. 사물탕의 4가지 단일성분에 대한 각각의 연구에서도 이러한 항염증, 항산화는 증명되고 있다. 당귀는 in vivo에서 interleukin (IL)-6, IL-8, TNF- α 의 생성을 억제시켰으며[16], 숙지황 약침은 아토피 피부염 동물모델에서 혈청 IgE, IL-2, IL-4 수치를 감소시켜 항알러지와 항염증 작용에 관여하는 것으로 보고[17]되었다. 작약의 주요 성분인 paeoniflorigenon은 macrophage에서 생성되는 NO(Nitric oxide)를 농도 의존적으로 현저히 감소시켰으며, CFA에 유발된 족부종(염증)을 감소시켜 항염증효과를 나타내었다[18]. 또한 천궁 추출물은 Acetic acid로 유발된 실험동물의 통증모델에서 통증행위반응을 감소시켰고, carrageenan으로 유도된 뒷다리의 부종을 농도 의존적으로 감소시켰다고 보고되었다[19].

이러한 연구결과와 마찬가지로, 본 연구에서도 사물탕의 투여는 formalin에 의해 유도된 안면부 통증행위반응을 유의하게 감소시키는 것을 확인하였고, 사물탕이 안면부 염증성 통증의 신호전달을 매개하는 여러 인자들의 조절을 통해 안면부 통증행위반응에 관여함을 증명하였다.

말초염증은 중추의 미세아교세포(microglia)를 활성화 시킴으로써 중추성 p-p38 MAPK의 발현을 증가시키고 통증행위반응을 유도하였고[20,21], formalin에 의한 말초손상에서 p38 MAPK 억제제의 중추투여가 통증행위반응을 감소[22]시켰다는 보고가 있다.

본 연구에서 전신 투여한 사물탕은 통증행위반응의 감소와 함께 뇌와 연수의 p38 MAPK의 활성이 경감됨을 보여주었고, 이러한 결과는 사물탕에 의한 안면부 통증 조절에 p38 MAPK의 관련성을 입증한 결과이다. p38 MAPK의 활성은 ATP에 의해 활성화되어 p-p38 MAPK로 전환되고, 관련 kinase와 NF- κ B와 같은 전사인자를 활성화시킨다고 알려져 있다[6]. 최근 본 연구실에서 안면부 통증모델을 이용하여 사물탕의 단회투여로 부신에서의 p38 MAPK과 p-p38 MAPK가 조절된다는 것을 보고하였다[5]. 뿐만 아니라 최근 연구에서 신경병증성 통증모델의 실험동물의 뇌와 척수에서 증가한 p38 MAPK와 p-p38 MAPK의 발현은 ketamine의 진정효과로 인해

두 단백질 모두 감소하였다[23]. 이러한 연구결과를 바탕으로 formalin에 의한 조직손상으로 발현되는 염증성 통증발생 및 전도가 증추성 p38 MAPK의 활성화 억제에 의해 조절될 수 있다는 것을 알 수 있다.

염증성 매개물의 전사인자인 NF- κ B는 p38 MAPK에 의해 활성화되어 핵내로 유입되며, NF- κ B에 의해 활성화된 iNOS는 과도한 NO의 생산을 유도하고 이는 염증반응에 관여하는 것으로 알려져 있다[24]. LPS로 유도한 내독소혈증으로 증가한 iNOS와 NO는 p38 MAPK의 억제제에 의해 감소되었고[25], 또한 iNOS 억제제인 S-methylisothioureap는 monododium iodoacetate으로 유도한 골관절염 통증모델에서 NO의 생성을 억제시키고 열성과민반응과 기계적 이질통을 감소시켰다[26]는 연구결과를, iNOS의 생성은 p38 MAPK의 조절을 통해 염증성 통증발생 및 전도에 관여한다고 설명할 수 있다. 본 연구에서 formalin에 의해 증가한 iNOS의 생성이 사물탕에 의해 감소되었다는 결과는 사물탕이 p38 MAPK/iNOS의 통증신호전달경로를 조절함으로써 통증완화 효과를 나타내었다고 설명될 수 있다.

일부 연구에 따르면, 사물탕의 전처리하는 쥐의 청각각 유도세포 내에서 cisplatin의 의해 증가한 H₂O₂ 및 O₂의 생성을 감소시켰다[27]는 보고가 있었다. NOX4는 H₂O₂의 주요 생성원으로, NOX4결핍 마우스에서 LPS에 의해 생성된 O₂⁻의 수치가 대조군에 비해 감소[28]되어 나타났고, 척수신경결찰에 따른 신경병증성 모델에서 NOX4결핍 mice의 기계적 이질통이 완화되었다[39]고 밝혀졌다. H₂O₂에 의한 축삭의 수초형성부전은 이소성 탈분극과 기계적 이질통을 유발하고[30,31], 사물탕의 적용은 손상된 척수에서 신경세포의 축삭 재생과 관련된 GAP-34 단백질의 발현을 증가시키고 축삭발아를 향상시켰다[32]고 보고되어 진다. 다시 말해, NOX4에 의해 생성된 H₂O₂는 축삭의 수초 이형성을 유도하여 통증의 발생에 관여하는 것으로 설명된다. 이러한 내용은 사물탕의 전신투여에 의한 안면부 통증 조절 기전에 NOX4과 연관됨을 설명할 수 있다. 사물탕의 전신투여는 뇌와 연수의 후각에서 NOX4의 발현을 감소시킴으로써 H₂O₂에 의해 유발될 수 있는 수초의 이형성을 조절하고 이를 통해 신경세포를 보호함으로써 통증을 조절하는 것으로 사료된다.

사물탕의 항염증효과에 따른 안면부 염증성 통증의 조절은 p38 MAPK과 iNOS의 억제를 통해 확인되었다. 실험동물의 안면부에 주입한 포르말린은 통증신호의 전

달경로인 p38 MAPK 및 iNOS의 증가와 함께 통증행위 반응을 유발시켰으며, 사물탕의 투여는 p38 MAPK/iNOS 경로를 억제함으로써 안면부 통증을 완화시킨 것으로 사료된다. 또한 사물탕은 NOX4억제를 통한 항산화적 특성을 나타내었다. 이러한 내용을 바탕으로 사물탕의 항염증, 항산화적 효과는 안면부 통증의 치료에 매우 유용하게 활용될 수 있을 것으로 기대되는 바이다.

References

- [1] J. H. Kim, J. K. Lee, H. K. Ha, C. S. Seo, H. Y. Lee, D. Y. Jung, N. H. Lee, J. A. Lee, D. S. Huang, H. K. Shin, Analysis of Studies on Samul-tang for Fundamental Establishment of Evidence Based Medicine. Korea J. Oriental Physiology & Pathology, Vol.23, No.4, pp.779-788, 2009.
- [2] H. S. So, J. Oh, Y. T. Chung, Y. J. Moon, D. H. Kim, B. S. Moon, H. S. Lee, S. W. Baek, C. Park, Y. S. Lim, M. S. Kim, R. Park, The water extract of Samultang protects the lipopolysaccharide (LPS)/phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA)-induced damage and nitric oxide production of C6 glial cells via down-regulation of NF- κ B. Gen Pharmacol, Vol.34, No.5, pp.303-10, 2000. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0306-3623\(00\)00073-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0306-3623(00)00073-2)
- [3] E. K. Kim, E. Y. Kim, H. S. Lee, H. S. Jung, S. K. Park, Y. J. Sohn, N. W. Sohn, Effect of Samul-tang on the allergic inflammatory Response. Korea J. Oriental Physiology & Pathology, Vol.21, No.3, pp.617-625, 2007.
- [4] M. A. ChoI, M. L. Kim, C. S. Park, The Antibacterial and Antioxidative Activities of Samultang Ingredient Extracts, KOREAN J. FOOD COOKERY SCI, Vol.24, No.1 pp.52-58, 2008.
- [5] Y. K. Kim, K. Y. Hyun, M. H. Jo, B. M. Jin, M. K. Lee, Effects of Samultang in Formalin-induced Orofacial Pain. Journal of Korean Society of Oral Health Science, Vol.1, No.1, pp.117-125, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.5668/JEHS.2013.39.2.117>
- [6] E. Herlaar, Z. Brown, p38 MAPK signalling cascades in inflammatory disease. Mol Med Today, Vol.5, No.10 pp.439-47, 1999. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S1357-4310\(99\)01544-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1357-4310(99)01544-0)
- [7] R. R. Ji, M. R. Suter, p38 MAPK microglial signaling and neuropathic pain. Mol Pain, Vol.3, No.33, pp.1-9, 2007.
- [8] F. Ma, L. Zhang, D. Lyons, K. N. Westlund, Orofacial neuropathic pain mouse model induced by Trigeminal

- Inflammatory Compression (TIC) of the infraorbital nerve. *Molecular Brain*, Vol.5, No.44, 2012.
- [9] K. A. Won, Y. M. Kang, M. K. Lee, M. K. Park, J. S. Ju, Y. C. Bae, D. K. Ahn, Participation of microglial p38 MAPK in formalin-induced temporomandibular joint nociception in rats. *J Orofac Pain*, Vol.26, No.2, pp.132-41, 2012.
- [10] A. Fugen, iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. *Life Sci*, Vol.75, No.6 pp.639-53, 2004.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2003.10.042>
- [11] M. G. Osborne, T. J. Coderre, Effects of intrathecal administration of nitric oxide synthase inhibitors on carrageenan-induced thermal hyperalgesia. *Br J Pharmacol*, Vol.126, No.8 pp.1840-6, 1999.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bjp.0702508>
- [12] A. J. De, N. M. Clayton, S. D. Collins, P. Colthup, I. Chessell, R. G. Knowles, GW274150, a novel and highly selective inhibitor of the inducible isoform of nitric oxide synthase (iNOS), shows analgesic effects in rat models of inflammatory and neuropathic pain. *Pain*, Vol.120, No.1-2, pp.170-81, 2006.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pain.2005.10.028>
- [13] I. Takac, K. Schröder, L. Zhang, B. Lardy, N. Anilkumar, J. D. Lambeth, A. M. Shah, F. Morel, R. P. Brandes, The E-loop is involved in hydrogen peroxide formation by the NADPH oxidase Nox4. *J Biol Chem*, Vol.286, No.15, pp.13304-13, 2011.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M110.192138>
- [14] K. A. Radermacher, K. Wingler, P. Kleikers, S. Altenhöfer, J. J. Hermans, C. Kleinschnitz, S. H. Hhw, The 1027th target candidate in stroke: Will NADPH oxidase hold up?. *Exp Transl Stroke Med*, Vol.4, No.1, pp.1-11, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/2040-7378-4-11>
- [15] M. K. Park, M. G. Seong, M. K. Lee, Effects of TRPV1 in formalin-induced nociceptive behavior in the orofacial area of rats. *The Korea Academia-Industrial cooperation Society*, Vol. 15, No.1, pp.316-322, 2014.
- [16] Y. Sohn, H. S. Lee, H. J. Park, H. Lee, H. Lee, H. Choi, C. H. Jeong, Y. Bu, H. S. Jung, *Angelicae Gigantis Radix* regulates mast cell-mediated allergic inflammation in vivo and in vitro. *Food Chem Toxicol*, Vol.50, No.9, pp.2987-995, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2012.06.001>
- [17] M. C. Kim, C. H. Lee, T. H. Yook, Effects of anti-inflammatory and *Rehmanniae radix* pharmacopuncture on atopic dermatitis in NC/Nga mice. *J Acupunct Meridian Stud*, Vol.6, No.2, pp.98-109, 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jams.2012.10.007>
- [18] H. Y. Kim, Y. M. Han, Anti-inflammatory Effect of Paeoniflorigenone Isolated from *Paeoniae Radix*. *Yakhak Hoeji*, Vol.56, No.1, pp.20-25, 2012.
- [19] S. K. Cho, O. I. Kwon, C. J. Kim, Anti-inflammatory and Analgesic Activities of the Extracts and Fractions of *cnidii Rhizoma*. *Kor. J. Pharmacogn*, Vol.27, No.3, pp.282-287, 1996.
- [20] X. Y. Chen, K. Li, A. R. Light, K. Y. Fu, Simvastatin attenuates formalin-induced nociceptive behaviors by inhibiting microglial RhoA and p38 MAPK activation. *J Pain*, Vol. 14, No.311, pp.1310-9, 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpain.2013.05.011>
- [21] C. I. Svensson, M. Marsala, A. Westerlund, N. A. Calcutt, W. M. Campana, J. D. Freshwater, R. Catalano, Y. Feng, A. A. Protter, B. Scott, T. L. Yaksh, Activation of p38 mitogen-activated protein kinase in spinal microglia is a critical link in inflammation-induced spinal pain processing. *J Neurochem*, Vol.6 No.6, pp.1534-44, 2003.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.01969.x>
- [22] K. Li, T. Lin, Y. Cao, A. R. Light, K. Y. Fu, Peripheral formalin injury induces 2 stages of microglial activation in the spinal cord. *J Pain*, Vol.11, No.11, pp.1056-65, 2010.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpain.2010.01.268>
- [23] S. Y. Kwon, J. H. Yeom, J. D. Joo, Ketamine reduces the induced spinal p38 MAPK and pro-inflammatory cytokines in a neuropathic rats. *Korean J Anesthesiol*, Vol. 66, No.1, pp.52-8, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.4097/kjae.2014.66.1.52>
- [24] K. Y. Su, C. Y. Yu, Y. P. Chen, K. F. Hua, Y. L. Chen, 3,4-Dihydroxytoluene, a metabolite of rutin, inhibits inflammatory responses in lipopolysaccharide-activated macrophages by reducing the activation of NF- κ B signaling. *BMC Complement Altern Med*, Vol.14, No.21, 2014.
- [25] A. Feng, G. Zhou, X. Yuan, X. Huang, Z. Zhang, T. Zhang, Inhibitory effect of baicalin on iNOS and NO expression in intestinal mucosa of rats with acute endotoxemia. *PLoS One*, Vol.8, No.12, 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0080997>
- [26] A. S. More, R. R. Kumari, G. Gupta, M. C. Lingaraju, V. Balaganur, N. N. Pathak, D. Kumar, D. Kumar, A. K. Sharma, S. K. Tandan, Effect of iNOS inhibitor S-methylisothiourea in monosodium iodoacetate-induced osteoarthritic pain: implication for osteoarthritis therapy. *Pharmacol Biochem Behav*, Vol.103, No.4, pp. 764-72, 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2012.12.013>

[27] C. Park, J. H. Lee, S. H. Lee, Protective Effect of Samul against Cisplatin in Primary Rat Organ of Corti Explant. Korean J. Oriental Physiology & Pathology, Vol.21, No.1, pp. 214-218, 2007.

[28] J. Kuroda, T. Ago, S. Matsushima, P. Zhai, M. D. Schneider, J. Sadoshima, NADPH oxidase 4 (Nox4) is a major source of oxidative stress in the failing heart. Proc Natl Acad Sci U S A, Vol.107, No.35, pp.15565-70, 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1002178107>

[29] Y. S. Gwak, S. E. Hassler, C. E. Hulsebosch, Reactive oxygen species contribute to neuropathic pain and locomotor dysfunction via activation of CamKII in remote segments following spinal cord contusion injury in rats. Pain, Vol.154, No.9, pp.1699-708, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pain.2013.05.018>

[30] W. Kallenborn-Gerhardt, K. Schröder, T. D. Del, R. Lu, K. Kynast, J. Kosowski, E. Niederberger, A. M. Shah, R. P. Brandes, G. Geisslinger, A. Schmidtco, NADPH oxidase-4 maintains neuropathic pain after peripheral nerve injury. J Neurosci, Vol.32, No.30, pp.10136-45, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6227-11.2012>

[31] H. Kobayashi, S. Chattopadhyay, K. Kato, J. Dolkas, S. Kikuchi, R. R. Myers, V. I. Shubayev, MMPs initiate Schwann cell-mediated MBP degradation and mechanical nociception after nerve damage. Mol Cell Neurosci, Vol.39, No.4, pp.619-27, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mcn.2008.08.008>

[32] K. Lee, Y. S. Kim, H. Y. Ryu, H. K. Jo, J. J. An, U. K. Namgung, I. C. Seol, Regulatory Effects of Samultang on Axonal Recovery after Spinal Cord Injury in Rats. Oriental Physiology & Pathology, Vol. 20, No.5, pp.1303-1310, 2006.

김 윤 경(Yun-Kyung Kim) [정회원]



- 2012년 3월 ~ 현재 : 동주대학교 치위생과 시간강사
- 2013년 3월 : 동의대학교 일반대학원 보건의과학과 (석사과정)

<관심분야>
구강생물학

현 경 예(Kyung-Yae Hyun) [정회원]



- 2006년 8월 : 부산가톨릭대학교 보건과학대학원 임상병리학과 (임상병리학 석사)
- 2011년 2월 : 인제대학교 식의대학원 임상병리학과 (임상병리학 박사)
- 2010년 3월 ~ 현재 : 동의대학교 임상병리학과 조교수

<관심분야>
혈액생리학

박 민 경(Min-Kyoung Park) [정회원]



- 2009년 2월 : 경남대학교 일반대학원 교육학과 (교육학석사)
- 2011년 2월 : 경북대학교 치의학전문대학원 치의학과 (치의학박사수료)
- 2012년 3월 ~ 현재 : 경운대학교 치위생학과 조교수

<관심분야>
구강생물학

이 민 경(Min-Kyung Lee) [정회원]



- 2007년 2월 : 경북대학교 치의학전문대학원 치의학과 (치의학석사)
- 2011년 2월 : 경북대학교 치의학전문대학원 치의학과 (치의학박사)
- 2012년 3월 ~ 현재 : 동의대학교 치위생학과 조교수

<관심분야>
구강생물학