독활 약침이 신경병리성 통증 유발 흰쥐에 미치는 영향

김명식¹ · 김재홍¹ · 윤대환² · 조명래¹

¹동신대학교 한의과대학 침구의학교실, ²동신대학교 한의과대학 경혈학교실

Effects of Araliae Continentalis Radix Pharmacopuncture on a Neuropathic Pain Rat Model

Myung Sik Kim¹, Jae Hong Kim¹, Dae Hwan Youn², Myoung Rae Cho¹

¹Department of Acupuncture & Moxibustion Medicine, College of Korean Medicine, Dongshin University,

²Department of Meridian & Acupoint, College of Korean Medicine, Dongshin University

Objectives : Since neuropathic pain shows a variety of symptoms via various mechanisms, there are many difficulties in treatment and various treatments have been tried. This study was conducted to investigate the effects of Araliae Continentalis Radix pharmacopuncture (ACR) on neuropathic pain. **Methods :** After dividing the white rats into six groups, the sciatic nerves of five groups except the normal group were excised to induce neuropathic pain. Except normal and control group, the other four groups were given: saline (Saline group), ACR 1.100 mg/kg (ACR 1 group), ACR 2.743 mg/kg (ACR 2 group), and ACR 5.486 mg/kg (ACR 3 group) at GB30, twice a week for a total of six times in three weeks. Withdrawal response react time and force intensity, c-Fos, TNF- α , IL-6, and IFN- γ were observed to investigate the efficacy of ACR in each group. Body weight, WBC, RBC, HGB, PLT, AST, ALT, BUN, and Cr changes were observed to check the safety of ACR. **Results :** Both withdrawal response react time & force intensity were significantly increased in the ACR2 and ACR3 groups at 3 weeks. C-Fos tended to decrease in all ACR groups and significantly decreased in ACR3 group. In blood serum, TNF- α showed a tendency to decrease in all ACR groups and a significant decrease in ACR3 group. But IL-6 and IFN- γ did not change significantly in all experimental groups. In the spinal cord, IFN- γ was significantly decreased in the ACR3 group. But TNF- α and IL-6 were not significantly changed in all experimental groups. Body weight was not changed significantly in all experimental groups. RBC increased significantly in ACR2 group, HGB increased in ACR3 group, and PLT increased significantly in all experimental groups. ALT significantly decreased in ACR1 group, and there were no significant changes in AST, BUN, and Cr in all experimental groups. **Conclusions :** At high concentrations, ACR pharmacopuncture reduced c-Fos, and TNF- α in the blood serum and IFN- γ in the spinal cord thereby suppressed allodynia. More in-depth studies about pharmacopuncture concentration or mechanism are needed.

Key words : Araliae Continentalis Radix, Neuropathic pain, Pharmacopuncture, GB30

서론

신경병리성 통증(neuropathic pain)은 신경계통의 손상 등의 일차적 병변이나 신경 기능 변화에 의해 원인이 되는 통증으로 정

의된다. 아주 다양한 기전들에 따른 증상의 다양성을 보이기 때문에 단순한 통각수용성 통증(nociceptive pain)과 달리 치료에 많은 어려움이 있으며 증상 발생기전에 따라 다양한 방법들이 동원되어야 한다¹⁾.

Received February 14, 2020, Revised June 2, 2020, Accepted June 4, 2020

Corresponding author: **Myoung Rae Cho**

Department of Acupuncture & Moxibustion Medicine, Dongshin Korean Medicine Hospital, 351 Concave road, Yangcheon-gu, Seoul 07999, Korea
Tel: +82-2-2640-2714, Fax: +82-2-2640-2727, E-mail: mrcho63@hanmail.net

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

한의학에서 신경병리성 통증은 痺證의 범주에 속하는데 痺證은 風寒濕熱邪 등의 제반원인에 의하여 經絡이 막히고 氣血이 운행되지 못하여 발생하며, 병인에 따라 溫經散寒, 祛風除濕, 清熱解毒, 活血化瘀, 調補氣血, 溫陽益氣, 滋腎養肝 등의 치법을 쓴다²⁾.

독활은 性은 微溫하고 味은 辛苦하여 腎, 膀胱經에 들어가 祛風除濕, 通痺解表止痛하여 風寒濕痺, 腰膝疼痛, 關節屈伸不利, 惡寒發熱, 頭痛身痛, 肢體沉重을 치료한다. 氣香溫燥하여 祛風除濕하고 蠲痺止痛시키는 효능이 있어 風寒濕痺를 치료하는데³⁾, 독활이 痺證에 해당하는 신경병리성 통증에 미치는 영향에 대한 연구는 아직까지 없었다.

약침요법은 여러 단일 또는 복합처방으로 구성된 한약물을 재료로 하여 제조한 약침을 경혈, 陽性反應點, 혈관에 주입하여 약물의 약리작용과 혈위의 치료작용을 이용하여 생체의 기능 조절 및 병리상태를 개선을 통해 질병을 치료한다. 침자와 약물작용이 서로 협동작용을 일으켜 치료 목적에 이르기에는 더욱 유리하며, 약물이 흡수될 때까지 혈위 내에 머물러 있어 비교적 긴 시간의 자극을 유지하게 되므로 혈위의 치료효능을 증대시키는 효과가 있다^{4,5)}.

이에 본 저자는 祛風除濕하고 蠲痺止痛하는 효과가 있어 임상에서 腰部以下の 痺痛치료에 사용되는 독활을 이용하여 제조한 약침이 신경병리성 통증에 효과가 있는지 여부와 그 기전을 알아보기 위해 백서의 tibial nerve와 sural nerve를 절단한 후 독활 약침을 환도(GB30) 상응부위에 주 2회씩 3주간 총 6회 시술하였다. 진통 효과를 알아보기 위해 각 군의 Withdrawal response react time 및 force intensity, C-Fos를 관찰하였으며, 그 기전을 알아보기 위해 Tumor necrosis factor- α (TNF- α), Interleukin 6 (IL-6), Interferon gamma (IFN- γ)를 측정하였다. 또한 독활 약침 시술의 안전성을 확보하기 위해 체중, White blood cell (WBC), Red blood cell (RBC), Hemoglobin (HGB), Platelet (PLT), Aspartate aminotransferase (AST), Alanine aminotransferase (ALT), Blood urea nitrogen (BUN), Creatine (Cr) 변화를 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 실험동물: 체중이 약 170~180 g인 sprague dawley계의 雄性 白鼠를 항온항습 환경의 사육장(실내온도 $24\pm 1^{\circ}\text{C}$, 습도 40~60%) 안에서 물과 고형사료(Pellet, GMO, Korea)를 충분히 공급

하면서 실험실 환경에 5일 이상 적응시킨 후 실험에 사용하였으며, 실험기간 동안 자유롭게 물과 고형사료를 섭취하도록 하였다. 실험동물을 관리하거나 실험할 때 동신대학교 동물실험윤리위원회의 심의(2019-04-01)에 따라 인도적이고 윤리적인 관점을 견지하였다.

2) 약침제조: 옴니허브에서 구입한 동우당제약의 한국산 독활(*Araliae Continentalis Radix*) 300 g을 1200 ml의 물과 함께 끓인 후 200 ml의 열수 추출액을 얻었으며, 이를 rotary evaporator (Buchi, Netherlands)를 통해 수분을 증발시켜 100 ml로 감압 농축하였으며, 이렇게 농축된 약침액을 동결건조기(Ilshin, Korea)를 이용하여 -80°C , 5 mm Torr에서 72시간 동안 동결 건조시켜 powder 12 g을 얻었다. 이를 소분하여 생리식염수로 희석하였으며 조제한 후 냉장 보관하였다가 약침 처치에 사용하였다.

3) 약침액 지표성분 분석: 독활의 주요 지표성분들을 분석하기 위하여, continentalic acid (ChemFaces, China), kaurenoic acid (ChemFaces, China), LC-MS용 acetonitrile (Sigma, USA), H_2O 와 trifluoroacetic acid (Sigma, USA)등을 사용하였다. 기기는 LTQ VELOS PRO (Thermo fisher scientific korea)를 사용하였으며, 컬럼은 hypersil C18 3.5 μm (Thermo fisher scientific Korea), 이동상으로는 (A) 0.02% trifluoroacetic acid in H_2O 와 (B) acetonitrile을 사용하였고 주입량은 아래 표와 같다(Table 1, 2).

시료 powder 0.2082 g을 100% 메탄올 4 ml에서 24시간 추출한 후 0.22 μm membrane filter (whatman, USA)로 여과하여 사용하였으며, 지표성분은 acetone (Sigma, USA)에 녹인 후 정량 분석에 이용하였으며, 표준용액의 농도와 LC상에서의 peak 면적을 구하여 검량선을 작성하였다.

LC-MS에 의한 검량선 작성 및 성분 분석에서 LC-MS는 retention time과 분자량을 근거로 분석물질을 확인하는데 지표성분인 continentalic acid, kaurenoic acid는 분자량이 m/z 302.458로 동일하여 negative mode일 때 m/z 301.3으로 분석하였으며(Table 3), 2가지 지표성분 분석을 위하여 각각의 표준용액

Table 1. MS conditions

Device	LTQ velos pro
ISpray voltage	4.20
Source Heater Temp	300.0 $^{\circ}\text{C}$
Capillary Temp	350.0 $^{\circ}\text{C}$
Collision energy	42~68
SheathGas Flow rate	15
Aux Gas Flow rate	7
Sweep Gas Flow rate	1

을 가지고 검량선을 작성하였으며 직선성은 continentalic acid는 $Y=11676.3+61432 \cdot X$ ($R^2=0.9995$), kaurenoic acid는 $Y=237341+81892 \cdot X$ ($R^2=0.9988$)이었다.

Table 2. LC conditions

Device	Accela AS Accela 600 pump	
Mobile phase	A	B
Time (min)	(0.02% trifluoroacetic acid in H ₂ O) (Acetonitrile)	
0.00	97	3
2.00	97	3
12.00	0	100
15.00	0	100
16.00	97	3
40.00	97	3
Column	Hypersil C18 3.5 μ m	
Injection volume (μ l)	10.0	
Tray Temperature ($^{\circ}$ C)	15	
Column Temperature ($^{\circ}$ C)	35	
Run time (min)	40	

2. 방법

1) 신경병리성 통증 유발: 백서를 isoflurane (Ifran liquid for inhalation, Hana Pharm, Korea) 2.5%로 도입, 유지 마취 후 왼쪽 고관절 뒤쪽의 피부를 절개한 후 biceps femoris muscle 사이에 있는 sciatic nerve를 찾아 common peroneal nerve와 tibial nerve 및 sural nerve를 확인한 뒤 microforcep으로 주변조직 및 혈관으로부터 분리시킨 후, common peroneal nerve만 남겨두고, tibial nerve와 sural nerve는 미세 수술가위로 절단하였다. 절개된 부위는 gentamycin을 점적하고 피부를 봉합하였다⁶⁾.

2) 군 분리: 실험군들은 신경병리성 통증 유발과 처치를 시행하지 않은 정상군(Normal, n=5), 신경병리성 통증을 유발시킨 후 처치를 하지 않은 대조군(Control, n=5), 신경병리성 통증을 유발시킨 후 환도(GB30)에 saline을 처치한 군(Saline, n=5), 신경병리성

Table 3. Conditions of the compound

Compound	Molecular formula	Molecular weight	Mode	Retention time (min)
continentalic acid	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	302.458	Negative	17.97
kaurenoic acid	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	302.458	Negative	11.44

Fig. 1. Chromatogram of compounds from *Araliae Continentalis Radix*.

통증을 유발시킨 후 환도(GB30)에 1.100 mg/kg의 독활 약침을 처치한 군(ACR1, n=5), 신경병리성 통증을 유발시킨 후 환도(GB30)에 2.743 mg/kg의 독활 약침을 처치한 군(ACR2, n=5), 신경병리성 통증을 유발시킨 후 환도(GB30)에 5.486 mg/kg의 독활 약침을 처치한 군(ACR3, n=5)으로 분리하였다.

3) 취혈 및 시술: 약침을 처치한 환도(GB30)는 hind limb에서 femur의 greater trochanter와 anterior superior iliac spine와의 거리를 3등분하여 femur의 greater trochanter에서 1/3되는 곳으로 인체와 상응한 부위에 취혈하였으며⁷⁾, 처치는 1주일에 각 2회씩 양측 부위를 3주간 총 6회 치료했다. 약침액은 insulin syringe (31G×8 mm, BD, USA)를 이용하여 좌·우측에 20 μ l의 약침이 시행되었다.

4) 체중 및 dynamic plantar aesthesiometer 측정: 수술 후 4주째부터 1주일에 1회씩 dynamic plantar aesthesiometer (UGO BASILE 37450, Italy)를 사용하여, 각각 이에 대한 철회반응(withdrawal response)을 망으로 된 cage에 옮겨 5분간 안정시키고, 체중을 측정한 후 총 4회 관찰하였다.

Stimulator 자극에 의한 이질통 측정 방법은 0 g에서 50 g 강도까지 환측의 발 바닥 부위를 자극하여 발의 철회반응의 react time (stimulator가 발바닥에 contact하여 다시 떨어질 때까지의 시간, second)과, force intensity(발바닥이 stimulator를 피한 순간의 힘, gram)를 얻었다.

5) Immunohistochemistry: 모든 실험이 끝난 직후에 urethane (Sigma, USA)으로 백서를 마취시킨 뒤, 0.9% saline 200 ml에 이어 phosphate buffer로 준비한 5% formalin 용액(fixative) 200 ml로 심장을 통해 관류하였다. 10% formalin 용액으로 고정이 끝난 쥐의 뇌를 꺼내 48시간동안 고정시키고, 30% sucrose가 함유된 phosphate buffered saline (PBS)에 넣어서 4°C에서 하루 동안 보관하였다. 그 다음날 뇌를 급속 냉동한 후 30 μ m의 두께로 뇌 조직을 잘랐다.

뇌 조직을 초기에 3회 정도 0.1 M PBS에 세척하였고, 2% 토끼 혈청으로 30 분 blocking한 뒤, 각각 primary mouse monoclonal c-Fos anti-body (1:400, Abcam, UK)를 사용하였다. 1차 항체는 0.1 M PBS에 과 0.1% sodium azide (Sigma, USA) buffer로 400 배 희석하여 준비하였고, 뇌 조직은 1차 항혈청에 4°C에 72시간동안 배양하였다. 그 후 조직을 0.1 M PBS로 3 번 이상 세척한 다음 biotinylated universal secondary antibody (Quick Kit, Vector Laboratories, USA)를 30 분 동안 37°C에서 반응시켰다. 0.1 M PBS로 3 번 세척한 다음, 뇌 조직은 37°C에서 30 분 동안 streptavidin peroxidase preformed complex (Quick Kit,

Vector Laboratories, USA)에 넣었다. 0.1 M PBS로 3 번 세척한 다음 diaminobenzidine (DAB)을 착색제로 사용하여 조직을 발현시키고, 0.1 M PBS로 발색을 정지시켰다.

모든 처리를 거친 뇌 조직을 gelatine-coated slide에 고정하여 공기를 제거하면서 cover glass를 덮은 뒤 광학현미경(Nikon, Japan)을 100 배 확대하여 Periaqueductal gray (PAG)에서 c-Fos에 대한 immunoreactive 신경세포를 counting하였다.

6) Cytokine 측정

(1) ELISA에 의한 tumor necrosis factor- α (TNF- α) 측정:

TNF- α 측정은 rat TNF- α (Invitrogen, USA)를 통해 측정하였다. Rat TNF- α 가 coating된 microplate에 rat TNF- α standard와 serum 100 μ l를 첨가하고 plate cover로 tapping한 뒤, 1분간 mixing하고 2시간 동안 실온에 방치하였다. Washing solution 350 μ l로 4회 washing 한 뒤 Rat TNF- α biontin conjugate 100 μ l를 첨가하여 plate cover를 덮고 1시간 동안 실온에 방치하였다. Washing solution 350 μ l로 4회 washing 한 뒤 streptavidin-HRP working solution 100 μ l를 첨가하여 plate cover를 덮고 30분 동안 실온에 방치하였다. Washing solution 350 μ l로 4회 washing 한 뒤 stabilized chromogen 100 μ l를 첨가하여 plate cover를 덮고 30분 동안 실온(dark상태)에 방치하였다. plate에 Stop solution 100 μ l를 넣고 발색반응을 중지시킨 후 microplate reader (EZ Read 400, Biochrom, UK)로 450 nm에서 optical density (OD)를 측정하였다. Standard curve를 만들어 sample의 TNF- α 양을 assay하였다.

(2) ELISA에 의한 interleukin 6 (IL-6) 측정:

IL-6 측정은 rat IL-6 (BIOMATIK, USA)를 이용하여 측정하였다. Rat IL-6가 coating된 microplate에 rat IL-6 standard, serum 100 μ l를 첨가하여 plate cover로 tapping한 뒤 1분간 mixing하고 2시간 동안 37°C에 방치하였다. Washing하지 않은 액을 버린 후 biotin antibody 100 μ l를 첨가하여 plate cover를 덮고 1시간 동안 37°C에 방치하였다. Washing solution 350 μ l로 3회 washing 한 뒤 HRP-avidin 100 μ l를 첨가하여 plate cover를 덮고 1시간 동안 37°C에 방치하였다. Washing solution 350 μ l로 5회 washing 한 뒤 TMB substrate 90 μ l를 첨가하여 plate cover를 덮고 30분 동안 37°C에(dark상태) 방치하였다. Stop solution 50 μ l를 plate에 넣고 발색반응을 중지시킨 뒤 microplate reader (EZ Read 400, Biochrom, UK)로 450 nm에서 OD를 측정하였다. Standard curve를 만들어 sample의 IL-6 양을 assay하였다.

(3) ELISA에 의한 interferon gamma (IFN- γ) 측정:

IFN- γ 측정은 rat IFN- γ (BIOMATIK, USA)를 이용하여 측정하였다.

Rat IFN- γ 가 coating된 microplate에 rat IFN- γ standard, serum 100 μ l를 첨가하고 plate cover로 tapping한 뒤에 1분간 mixing하고 37°C에 1시간 방치하였다. Washing하지 않은 액을 버린 후 biotinylated detection antibody 100 μ l를 첨가하여 plate cover를 덮고 1시간 동안 37°C에 방치하였다. Washing solution 350 μ l로 3회 washing 한 뒤 concentrated HRP conjugate working solution 100 μ l를 첨가하여 plate cover를 덮고 30 분 동안 37°C에 방치하였다. Washing solution 350 μ l로 5회 washing 한 뒤 substrate reagent 90 μ l를 첨가하여 plate cover를 덮고 15 분 동안 37°C에(dark상태) 방치하였다. Stop solution 50 μ l를 plate에 넣고 발색반응을 중지시킨 후 microplate reader (EZ Read 400, Biochrom, UK)로 450 nm에서 optical density (O.D.)를 측정하였다. Standard curve를 만들어 sample의 IFN- γ 양을 assay하였다.

7) Total RNA 분리 및 reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

(1) **Total RNA 분리:** Total RNA의 분리는 척수 부위의 신경조직(30 mg)을 800 μ l TRIZOL reagent (Gibco-BRL, USA)로 균질화하고, 균질액에 대하여 chloroform (Sigma, USA) 200 μ l를 가하여 15 초 동안 흔들여 잘 혼합한 뒤, 실온상태에서 5 분 방치한 후 세포의 유전물을 제거하기 위하여 5 분 동안 4°C, 14,000 rpm에서 원심 분리하였다. 원심 분리로 얻은 상층액과 500 μ l의 isopropanol (Sigma, USA)을 첨가하여 5 분 동안 실온 상태에서 방치한 후 RNA pellet을 얻기 위하여 8 분간 4°C, 14,000 rpm에서 원심분리하고, 원심분리로 생긴 pellet에 냉장 보관된 70% ethanol과 DEPC를 넣고 5 분간 4°C, 7,500 rpm에서 원심 분리 후 pellet만 남기고 모두 제거하고, 남은 ethanol은 5 분간 실온에서 방치시켜 건조시킨 다음 DEPC-treated water에 녹여 spectrophotometer (Eppendorf, Germany)에서 OD260 값을 읽어 RNA의 순도 및 농도를 정량하였다. 이들 척수 부위 신경조직의 total RNA는 사용 시까지 -80°C에서 보관하였다.

(2) **RT-PCR:** 분리된 total RNA 3 μ g과 2.5 μ l Oligo (dT), DEPC-treated water를 RT premix (Bioneer, Korea)에 넣어 mastercycler gradient (Eppendorf, Germany)를 이용하여 50 μ l cDNA를 합성하여 PCR 증폭을 위한 template로 사용하였다. 이때 internal control로 housekeeping 유전자인 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) (sense primer: 5'-ACTCCATCACCATCTTCCAG-3', antisense primer: 5'-CCTGCTTTCACCACCTCCTTG-3')를 사용하였다. Reverse transcription temperature cycle은 1시간 동안 42°C에서 cDNA synthesis,

5 분 동안 94°C에서 denature 그리고 5 분 동안 4°C에서 cooling시키는 단계를 거쳤다. Polymerase chain reaction은 cDNA, 10 pg antisense primer, 10 pg sense primer, DEPC-treated water를 PCR premix (Bioneer, Korea)에 넣었다. PCR temperature cycle은 cDNA의 증폭을 위하여 300 초 동안 95°C에서 pre-denaturation, 40 초 동안 94°C에서 melting, 40 초 동안 55°C에서 annealing, 90 초 동안 72°C에서 extension하는 과정을 30회 반복하여 수행하고 마지막 cycle에서 600 초 동안 72°C에서 extension 단계를 거쳐 TNF- α 유전자증폭을 primer (sense-primer: 5'-ATGAGCACAGAAAGCATGATC-3', antisense primer: 5'-TACAGGCTTGTCACTCGAAT-3'), IL-6 유전자증폭을 primer (senseprimer: 5'-TGCTGGTGACAACAACGGCC-3', antisense primer: 5'-GTACTCCAGAAGACCAGAGG-3'), IFN- γ 유전자 증폭을 primer (senseprimer: 5'-AACGCTACACACTGCAATCTTGG-3', antisense primer: 5'-CTCGGATGAGCTCATTGAATGC-3')를 이용하여 mastercycler gradient (Eppendorf, Germany)에서 시행하였다.

이렇게 증폭된 TNF- α , IL-6, IFN- γ 의 DNA를 greenview nucleic acid gel stain (IO Rodeo, 1:10,000)를 포함한 1.5% agarose gel상에서 0.5x TBE buffer (80 mM boric acid, 80 mM Tris-HCL, 2 mM EDTA, pH 8.3)로 100 V에서 전기 영동시켜 관찰한 후 image station (Kodak, USA)을 이용하여 촬영하였으며, alphaease FC standalone software (Alpha Innotech, USA)를 이용하여 측정하였다.

8) 혈액 검사: 채혈에 의해 얻어진 혈액 중 약 100 μ l를 EDTA-bottle에 넣은 뒤 바로 multispecies hematology analyser (950, Hemavet, USA)에 주입하여 white blood cell (WBC), red blood cell (RBC), hemoglobin (HGB), platelet (PLT)를 각각 측정하였다.

9) 혈청 검사: 분리된 혈청은 측정하기 전까지는 4°C에 보관하였다. Aspartate aminotransferase (AST)는 GOT/AST -PIII Slide (Fujifilm Corporation, Japan)로, alanine aminotransferase (ALT)는 GPT/ALT -PIII Slide (Fujifilm Corporation, Japan)로, blood urea nitrogen (BUN)은 BUN-PIII Slide (Fujifilm Corporation, Japan)로, creatine (Cr)은 Creatine-PIII Slide (Fujifilm Corporation, Japan)로 fuji dri-chem clinical chemistry analyzer (DRI-Chem 4000ie, Fujifilm Corporation, Japan)를 이용하여 측정하였다.

3. 통계처리

모든 측정치는 excel statistic program (Microsoft, USA)을 사용하여 평균치와 표준오차(mean±standard error)를 표시하였다. 각 실험군들 사이의 통계 분석은 window용 SPSS (SPSS, USA)를 사용하여 비모수적 방법으로 Mann-Whitney U test를 실시하였다. 각 실험군은 대조군에 대하여 $p<0.05$ 와 $p<0.001$ 의 오차에서 유의성을 확인하였다.

결 과

1. Withdrawal response의 react time 변화에 미치는 영향

약침을 시술한 후 withdrawal response의 react time에 대한 변화를 관찰한 결과, 유발직후 0주차, 1주차, 2주차, 3주차에 Normal군은 각각 5.6 ± 0.23 sec, 6.2 ± 0.46 sec, 6.0 ± 0.38 sec, 6.1 ± 0.32 sec을 나타내었으며, Control군은 각각 3.0 ± 0.36 sec, 3.0 ± 0.31 sec, 2.7 ± 0.33 sec, 2.8 ± 0.26 sec으로 Normal군에 비해 Control군은 모든 주차에서 각각 유의한 감소를 보였다($p<0.001$). 또한, Control군에 비하여 0주차에서는 ACR3군, 1주차에서는 Saline군과 ACR1군이 각각 유의한 감소를 보였으며($p<0.05$), 3주차에서는 ACR2군과 ACR3군이 각각 유의한 증가를 보였다($p<0.05$) (Fig. 2). 나머지 실험군에서는 유의한 차이가 없었다.

다.

2. Withdrawal response의 force intensity 변화에 미치는 영향

약침을 시술한 후 withdrawal response의 force intensity에 대한 변화를 관찰한 결과, 유발직후 0주차, 1주차, 2주차, 3주차에 Normal군은 각각 31.5 ± 1.28 g, 36.5 ± 3.06 g, 33.7 ± 2.07 g, 33.9 ± 1.77 g을 나타내었으며, Control군은 각각 16.7 ± 1.96 g, 17.2 ± 1.29 g, 15.2 ± 1.37 g, 15.7 ± 1.08 g으로 Normal군에 비해 Control군은 모든 주차에서 각각 유의한 감소를 보였다($p<0.001$). 또한, Control군에 비하여 0주차에서는 ACR3군, 1주차에서는 Saline군이 유의한 감소를 보였으며($p<0.05$), 3주차에서는 ACR2군과 ACR3군이 각각 유의한 증가를 보였다($p<0.05$) (Fig. 3). 나머지 실험군에서는 유의한 차이가 없었다.

3. c-Fos 단백질 변화에 미치는 영향

약침을 시술한 후 Periaqueductal gray (PAG) 부분의 c-Fos 단백질에 대한 변화를 관찰한 결과, Normal군은 3.1 ± 1.89 numbers, Control군은 14.3 ± 3.47 numbers, Saline군은 20.0 ± 6.62 numbers, ACR1군은 8.8 ± 4.01 numbers, ACR2군은 8.1 ± 1.48 numbers, ACR3군은 5.9 ± 0.93 numbers를 나타내었다. Normal군에 비하여 Control군에서 유의한 증가를 하였고($p<0.05$), Control군에 비하여 ACR3군에서 유의한 감소를 보였다($p<0.05$) (Fig. 4, 5).

Fig. 2. Effects of *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture on the withdrawal react time in the neuropathic pain induced rats. Normal : no treatment without tibial nerve an sural nerve transection (TST), Control : no treatment with TST, Saline : TST and saline at GB30, ACR1 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 1.100 mg/kg at GB30, ACR2 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 2.743 mg/kg at GB30, ACR3 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 5.486 mg/kg at GB30. Results are expressed as the mean $\pm$ standard deviation of 5 rats. ### $p<0.001$, compared with normal group. * $p<0.05$, compared with control group.

Fig. 3. Effects of *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture on the withdrawal force intensity in the neuropathic pain induced rats. Normal : no treatment without tibial nerve an sural nerve transection (TST), Control : no treatment with TST, Saline : TST and saline at GB30, ACR1 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 1.100 mg/kg at GB30, ACR2 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 2.743 mg/kg at GB30, ACR3 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 5.486 mg/kg at GB30. Results are expressed as the mean $\pm$ standard deviation of 5 rats. $^{##}p < 0.001$, compared with normal group. $^{*}p < 0.05$, compared with control group.

Fig. 4. Effects of *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture on the c-Fos protein in the Periaqueductal gray of the brains of the neuropathic pain induced rats.

Normal : no treatment without tibial nerve an sural nerve transection (TST), Control : no treatment with TST, Saline : TST and saline at GB30, ACR1 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 1.100 mg/kg at GB30, ACR2 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 2.743 mg/kg at GB30, ACR3 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 5.486 mg/kg at GB30. Results are expressed as the mean $\pm$ standard deviation of 5 rats. $^{#}p < 0.05$, compared with normal group. $^{*}p < 0.05$, compared with control group.

4. Blood serum내 TNF- α , IL-6, IFN- γ 변화에 미치는 영향

1) Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α): 약침을 시술한 후 blood serum내 TNF- α 에 대한 변화를 관찰한 결과, Normal군은 0.08 ± 0.006 pg/ml, Control군은 0.25 ± 0.014 pg/ml, Saline군은

0.20 ± 0.024 pg/ml, ACR1군은 0.16 ± 0.017 pg/ml, ACR2군은 0.14 ± 0.017 pg/ml, ACR3군은 0.10 ± 0.006 pg/ml를 나타내었다.

Normal군에 비하여 Control군에서 유의한 증가를 하였고($p < 0.05$), Control군에 비하여 ACR1, ACR2군에서는 유의한 차이가

Fig. 5. Representative microphotographs of coronal sections for observation of the expression of c-Fos proteins.
A: Normal, B: Control, C: Saline, D: ACR1, E: ACR2, F: ACR3. X200.

없었으며, ACR3군에서 유의한 감소를 보였다($p < 0.05$) (Fig. 6).

2) Interleukin 6 (IL-6): 약침을 시술한 후 blood serum내 IL-6에 대한 변화를 관찰한 결과, Normal군은 0.58 ± 0.035 pg/ml, Control군은 0.69 ± 0.101 pg/ml, Saline군은 0.72 ± 0.027 pg/ml, ACR1군은 0.79 ± 0.094 pg/ml, ACR2군은 0.89 ± 0.091 pg/ml, ACR3군은 0.77 ± 0.154 pg/ml를 나타내었다.

Normal군 및 Control군에 비하여 모든 실험군에서 유의한 변화를 보이지 않았다(Fig. 7).

3) Interferon Gamma (IFN- γ): 약침을 시술한 후 blood serum내 IFN- γ 에 대한 변화를 관찰한 결과, Normal군은 0.07 ± 0.003 pg/ml, Control군은 0.07 ± 0.003 pg/ml, Saline군은 0.08 ± 0.003 pg/ml, ACR1군은 0.07 ± 0.002 pg/ml, ACR2군은 0.07 ± 0.004 pg/ml, ACR3군은 0.07 ± 0.003 pg/ml를 나타내었다.

Normal군 및 Control군에 비하여 모든 실험군에서 유의한 변화를 보이지 않았다(Fig. 8).

5. 척수내 TNF- α , IL-6, IFN- γ 의 mRNA발현 변화에 미치는 영향

1) Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α): 약침을 시술한 후 척수내 TNF- α 에 대한 변화를 관찰한 결과, Normal군은 93.3 ± 6.63 (*1000 O.D.), Control군은 99.8 ± 5.03 (*1000 O.D.), Saline군은 114.1 ± 1.67 (*1000 O.D.), ACR1군은 108.9 ± 1.54 (*1000

Fig. 6. Effects of *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture on the blood serum tumor necrosis factor- α (TNF- α) in the neuropathic pain induced rats.

Normal : no treatment without tibial nerve an sural nerve transection (TST), Control : no treatment with TST, Saline : TST and saline at GB30, ACR1 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 1.100 mg/kg at GB30, ACR2 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 2.743 mg/kg at GB30, ACR3 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 5.486 mg/kg at GB30. Results are expressed as the mean $\pm$ standard deviation of 5 rats. [#] $p < 0.05$, compared with normal group. ^{*} $p < 0.05$, compared with control group.

Fig. 7. Effects of *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture on the blood serum interleukin 6 (IL-6) in the neuropathic pain induced rats.

Normal : no treatment without tibial nerve an sural nerve transection (TST), Control : no treatment with TST, Saline : TST and saline at GB30, ACR1 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 1.100 mg/kg at GB30, ACR2 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 2.743 mg/kg at GB30, ACR3 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 5.486 mg/kg at GB30. Results are expressed as the mean $\pm$ standard deviation of 5 rats.

Fig. 8. Effects of *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture on the blood serum interferon Gamma (IFN-γ) in the neuropathic pain induced rats.

Normal : no treatment without tibial nerve an sural nerve transection (TST), Control : no treatment with TST, Saline : TST and saline at GB30, ACR1 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 1.100 mg/kg at GB30, ACR2 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 2.743 mg/kg at GB30, ACR3 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 5.486 mg/kg at GB30. Results are expressed as the mean $\pm$ standard deviation of 5 rats.

O.D.), ACR2군은 108.5 ± 6.77 (*1000 O.D.), ACR3군은 117.1 ± 17.59 (*1000 O.D.)를 나타내었다.

Control군에 비하여 Saline군에서 유의한 증가를 보였다(Fig. 9).

2) Interleukin 6 (IL-6): 약침을 시술한 후 척수내 IL-6에 대한 변화를 관찰한 결과, Normal군은 102.3 ± 1.42 (*1000 O.D.), Control군은 115.3 ± 4.97 (*1000 O.D.), Saline군은 115.9 ± 3.31 (*1000 O.D.), ACR1군은 109.8 ± 4.21 (*1000 O.D.), ACR2군은 105.1 ± 1.99 (*1000 O.D.), ACR3군은 99.9 ± 7.64 (*1000 O.D.)를 나타내었다.

Normal군에 비하여 Control군에서 유의한 증가를 하였지만 ($p < 0.05$), Control군에 비하여 ACR1군, ACR2군, ACR3군 모두에서 유의한 변화를 보이지 않았다(Fig. 10).

3) Interferon Gamma (IFN-γ): 약침을 시술한 후 척수내 IFN-γ에 대한 변화를 관찰한 결과, Normal군은 123.4 ± 8.45 (*1000 O.D.), Control군은 136.6 ± 4.46 (*1000 O.D.), Saline군은 135.7 ± 1.51 (*1000 O.D.), ACR1군은 139.7 ± 4.35 (*1000 O.D.), ACR2군은 129.0 ± 4.80 (*1000 O.D.), ACR3군은 120.7 ± 5.92 (*1000 O.D.)를 나타내었다.

Control군에 비하여 ACR3군에서 유의한 감소를 보였다(Fig. 11).

6. 체중 변화에 미치는 영향

약침을 시술한 후 체중에 대한 변화를 관찰한 결과, 유발직후 0주차, 1주차, 2주차, 3주차에 Normal군은 각각 324.8 ± 8.73 g, 375.8 ± 8.93 g, 400.0 ± 10.30 g, 419.8 ± 9.75 g을 나타내었으며, Control군은 각각 293.8 ± 15.49 g, 324.2 ± 14.65 g, 344.3 ± 14.74 g,

Fig. 9. Effects of *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture on the tumor necrosis factor- α (TNF- α) mRNA in the neuropathic pain induced rats.
Normal : no treatment without tibial nerve an sural nerve transection (TST), Control : no treatment with TST, Saline : TST and saline at GB30, ACR1 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 1.100 mg/kg at GB30, ACR2 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 2.743 mg/kg at GB30, ACR3 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 5.486 mg/kg at GB30. Results are expressed as the mean $\pm$ standard deviation of 5 rats. * $p < 0.05$, compared with control group.

Fig. 10. Effects of *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture on the of interleukin 6 (IL-6) mRNA in the neuropathic pain induced rats.
Normal : no treatment without tibial nerve an sural nerve transection (TST), Control : no treatment with TST, Saline : TST and saline at GB30, ACR1 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 1.100 mg/kg at GB30, ACR2 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 2.743 mg/kg at GB30, ACR3 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 5.486 mg/kg at GB30. Results are expressed as the mean $\pm$ standard deviation of 5 rats. # $p < 0.05$, compared with normal group.

368.8 $\pm$ 14.75 g으로 Normal군에 비해 Control군은 0주차를 제외한 1주차($p < 0.001$), 2주차($p < 0.05$), 3주차($p < 0.05$)에서 각각 유의한 감소를 보였다. 또한, Control군에 비하여 각각 모든 실험 군들에서 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 12).

7. Whole blood내 white blood cell (WBC), red blood cell (RBC), hemoglobin (HGB), platelet (PLT) 변화에 미치는 영향

약침을 시술한 후 WBC, RBC, HGB, PLT에 대한 변화를 각각 관찰한 결과, Normal군과 Control군에서 WBC는 각각 5.0 $\pm$ 1.09 k/ul, 6.1 $\pm$ 1.35 k/ul, RBC는 각각 9.8 $\pm$ 0.35 M/ul, 9.7 $\pm$ 0.16 M/ul,

Fig. 11. Effects of *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture on the interferon gamma (IFN- γ) mRNA in the neuropathic pain induced rats.

Normal : no treatment without tibial nerve an sural nerve transection (TST), Control : no treatment with TST, Saline : TST and saline at GB30, ACR1 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 1.100 mg/kg at GB30, ACR2 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 2.743 mg/kg at GB30, ACR3 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 5.486 mg/kg at GB30. Results are expressed as the mean $\pm$ standard deviation of 5 rats. * $p < 0.05$, compared with control group.

Fig. 12. Effects of *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture on the body weights in the neuropathic pain induced rats.

Normal : no treatment without tibial nerve an sural nerve transection (TST), Control : no treatment with TST, Saline : TST and saline at GB30, ACR1 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 1.100 mg/kg at GB30, ACR2 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 2.743 mg/kg at GB30, ACR3 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 5.486 mg/kg at GB30. Results are expressed as the mean $\pm$ standard deviation of 5 rats. ## $p < 0.001$, * $p < 0.05$ compared with normal group.

HGB는 각각 18.9 ± 0.49 g/dl, 18.7 ± 0.33 g/dl, PLT는 각각 1063.6 ± 107.13 M/ul, 995.0 ± 58.16 M/ul을 나타내었다.

Normal군과 Control군과의 비교에서는 유의한 차이를 보이지 않았지만, Control군에 비하여 RBC는 ACR2이 유의한 증가를 보였으며, HGB는 Saline군은 유의한 감소를 ACR3군에서는 유의한 증가를 보였고, PLT는 Saline군, ACR1군, ACR2군, ACR3군에서 유의한 증가를 보였다(Fig. 13).

8. Blood serum내 aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), blood urea nitrogen (BUN), Creatine (Cr) 변화에 미치는 영향

약침을 시술한 후 AST, ALT, BUN, Cr에 대한 변화를 각각 관찰한 결과, Normal군과 Control군에서 AST는 각각 268.8 ± 51.75 u/l, 194.0 ± 46.04 u/l, ALT는 각각 72.2 ± 10.93 u/l, 61.2 ± 7.65 u/l, BUN는 각각 26.1 ± 0.96 mg/dl, 21.0 ± 2.44 mg/dl, Cr은 각각 0.8 ± 0.04 mg/dl, 0.6 ± 0.15 mg/dl을 나타내었다.

Normal군과 Control군과의 비교에서는 유의한 차이를 보이지 않았지만, Control군에 비하여 ALT는 ACR1이 유의한 감소를 보

Fig. 13. Effects of *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture on the white blood cell(WBC), red blood cell(RBC), hemoglobin(HGB), platelet(PLT) in the neuropathic pain induced rats.

Normal : no treatment without tibial nerve an sural nerve transection (TST), Control : no treatment with TST, Saline : TST and saline at GB30, ACR1 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 1.100 mg/kg at GB30, ACR2 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 2.743 mg/kg at GB30, ACR3 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 5.486 mg/kg at GB30. Results are expressed as the mean±standard deviation of 5 rats. * $p<0.05$, ** $p<0.001$, compared with control group.

였다(Fig. 14).

고 찰

신경병리성 통증(neuropathic pain)은 신경계의 일차적인 손상이나 기능이상인 원인이 되는 또는 그것에 의해 야기되는 통증으로 정의하며, 통증치료가 있어 치료가 어렵기 때문에 주목을 모으고 있는 만성통증 질환이다⁸⁾. 이는 유발자극의 유무에 따라 자극 없이 발생하는 자발통과 자극에 의존적인 유발통으로 나뉘는데, 자발통은 지속성 또는 발작성 통증으로 나타날 수 있으며, 유발통은 자극의 강도에 따라 통증을 일으키는 역치보다 낮은 비유해 자극에 의한 이질통(allodynia)과, 유해 자극에 의한 통각과민(hyperalgesia)의 증상이 있다¹⁾. 일반적으로 통증은 손상된 조직이 치유되면 자연히 소실되지만, 말초 및 중추신경 손상에 의해 발생된

신경병리성 통증은 손상부위가 치유된 후에도 오랫동안 지속적인 통증을 유발하는 특징이 있다⁹⁾.

신경병리성 통증은 아주 다양한 기전들에 따른 증상의 다양성을 보이기 때문에 단순한 통각수용성 통증(nociceptive pain)과 달리 치료에 많은 어려움이 있다. 따라서 증상 발생기전에 따른 다양한 치료법들이 동원되어야 하는데, 신경병리성 통증의 양방치료로는 항간질약, 항경련제 등의 약물요법과 신경블록요법, 수술적 요법이 있으나 좀처럼 결정적인 치료법이 없으며, 만족할만한 진통효과가 얻어지지 않는 경우가 많기 때문에 다양한 치료법이 시도되고 있다⁸⁾.

한의학에서 신경병리성 통증은 痺證의 범주에 속하는데, 〈內經素問·痺論〉에서 “風寒濕三氣雜至合而爲痺也, 其風氣勝者爲行痺, 寒氣勝者爲痛痺, 濕氣勝者爲着痺也.”로 처음으로 痺라는 용어가 사용되었다. 痺證은 風寒濕熱邪 등의 제반원인에 의하여 經絡이 막히고 氣血이 운행되지 못하여 발생하며 氣血遮閉不通하여 不通則痛 한

Fig. 14. Effects of *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture on the aspartate aminotransferase(ALT), alanine aminotransferase(ALT), blood urea nitrogen(BUN), Creatine(Cr) in the neuropathic pain induced rats.

Normal : no treatment without tibial nerve an sural nerve transection (TST), Control : no treatment with TST, Saline : TST and saline at GB30, ACR1 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 1.100 mg/kg at GB30, ACR2 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 2.743 mg/kg at GB30, ACR3 : TST and *Araliae Continentalis Radix* pharmacopuncture 5.486 mg/kg at GB30. Results are expressed as the mean±standard deviation of 5 rats. * $p<0.05$, compared with control group.

것이므로 宣通이 痺證의 공통 치법이다. 痺證의 치료는 實痺와 虛痺로 구분하여 병인에 따라 溫經散寒, 祛風除濕, 清熱解毒, 活血化瘀, 調補氣血, 溫陽益氣, 滋腎養肝 등의 치법을 쓴다^{2,10)}.

痺證 치료에 빈용되는 약재인 독활은 한국에서는 두릅나무과에 속하는 독활 *Aralia continentalis Kitagawa*의 뿌리를 사용하는 데, 祛風除濕, 通痹解表止痛하여 風寒濕痺를 치료하는 약재로, 그 성이 下行하므로 腰部以下の 痺痛을 치료하는데 더욱 좋은 효과가 있다³⁾. 활성 성분으로는 (-)-pimar-8 (14), 15-dien-19-oic acid (continentalic acid), (-)-kaur-16-en-19-oic acid인 diterpene가 있으며, 최근 continentalic acid는 merhicillin-resistant *Staphylococcus aureus*에 대하여 항균활성을 나타낸다고 알려져 있다¹¹⁾. 독활에 대한 기존 연구로는 독활의 항균작용¹²⁾, 항염증작용¹³⁾, 항산화작용, 항혈소판 응집작용¹⁴⁾과 면역활성¹⁵⁾에 대한 연구가 있었으나 신경병리성 통증에 대한 연구는 아직 접하지 못하였다.

약침요법은 한의학의 기본이론을 바탕으로 약물 약리작용과 주사방법을 결합하여 경락, 혈위를 자극하는 치료법으로, 여러 단일 또는 복합처방으로 구성된 한약물을 재료로 하여 제조한 약침을 경혈, 양성반응점, 혈관에 주입하여 약물의 약리작용과 혈위의 치료작용을 이용하여 생체의 기능을 조절하고 병리상태를 개선시켜 질병을 치료한다. 침자와 약물작용이 직접적으로 각각 경락선상의 혈위를 물리적 화학적으로 자극하여 서로 협동작용을 일으켜 치료 목적에 이르기엔 더욱 유리하며, 약물이 흡수될 때까지 혈위내에 머물러 있어 비교적 긴 시간의 자극을 유지하게 되므로 혈위의 치료효능을 증대시키는 효과가 있다. 또한 침자의 유침법과 비교하여 치료시간이 짧고, 환자들이 치료 후 즉시 마음대로 활동이 가능한 장점도 있다^{4,5)}.

지금까지 약침시술을 이용하여 신경병리성 통증에 미치는 영향에 관한 연구들이 활발하게 이루어져왔는데, 이러한 연구에는 蜂毒약침¹⁶⁾, 秦艽약침¹⁷⁾, 草烏약침¹⁸⁾, 杜仲약침¹⁹⁾, 乾薑약침²⁰⁾, 蜈蚣약

침²¹⁾, 白蠟採약침²²⁾의 효과에 대한 연구들이 있었고, 中性瘀血약침과 동시에 獨活湯, 獨活寄生湯, 烏藥順氣散 경구투여를 복합적으로 시행한 연구들도 있었다²³⁻²⁵⁾. 이 중 蜂毒약침, 秦艽약침, 草烏약침, 白蠟採약침 연구에서는 환도혈(GB30)을, 杜仲약침과 蜈蚣약침 연구는 신수혈(BL23)을 사용하였으며, 乾薑약침의 경우 환도(GB30)와 족삼리혈(ST36)을 동시에 취혈하여 환도혈이 신경병리성 통증의 취혈점으로 가장 빈용되었다. 또한 임상에서도 주로 통증 유발 부위에 약침을 시술하고 있으므로, 본 연구에서도 신경병증성 통증을 유발시키는 부위에 있는 경혈인 환도혈을 선택하였다.

환도(GB30)는 족소양담경 30번째혈로, 穴性은 通經活絡, 疏散經絡風濕, 宣利腰脾氣滯하여 冷風濕痺不仁, 坐骨神經痛, 腰股疼痛, 腰腿痛, 脚氣, 膝痛, 風濕關節痛, 下肢痿痺, 半身不遂, 麻木偏癱, 小兒麻痺, 感冒, 神經衰弱, 癰麻疹, 風疹, 偏身痠痛, 多發性神經炎을 주치한다. 腰腿脚痛, 坐骨神經痛의 필수혈로 특히 風寒濕으로 인한 腰膝疼痛 冷風冷痺疾에 유효²⁶⁾하기 때문에 혈위의 치료작용 또한 신경병리성 동통에 적용하기에 적합하다고 판단하였다.

이에 본 저자는 祛風除濕하고 蠲痺止痛하는 효과가 있어 임상에서 腰部以下の痺痛치료에 다용되며 항염증, 항산화 효과가 있는 독활을 이용하여 제조한 약침이 신경병리성 통증에 효과가 있는지 알아보고자 하였다. 실험용 Rat는 각각 좌골신경을 절제하지 않고 무처치한 Normal군, 좌골신경을 절제한 후 무처치한 Control군, 좌골신경을 절제한 후 환도혈 상응 부위에 Saline과 독활약침을 각각 1.100 mg/kg, 2.743 mg/kg, 5.486 mg/kg 농도로 시술한 Saline군 및 ACR1군 ACR2군 ACR3군으로 나누었다. 신경병증성 통증에 진통효과가 있는지 알아보기 위해 각 실험군의 Withdrawal response react time 및 force intensity, c-Fos를 관찰하였고, 그 기전을 알아보기 위해 TNF- α , IL-6, IFN- γ 를 측정하였다. 또한 독활약침의 안전성을 확보하기 위해 체중, WBC, RBC, HGB, PLT, AST, ALT, BUN, Cr 변화를 관찰하였다.

신경병리성 동통을 연구하기 위한 동물모델로는 신경절제모델²⁷⁾이 개발되어 오랫동안 사용되어 왔으며, 만성적 압박 손상모델²⁸⁾, 부분적 좌골신경 결찰모델²⁹⁾, 척수신경 결찰 모델³⁰⁾, 좌골신경 동결 모델³¹⁾ 등이 있는데 이러한 동물모델들은 만들기 어렵고 손상시킨 신경섬유의 재생 가능성이 있는 문제점 등이 있다³²⁾. 반면 본 실험에서 사용한 Lee등⁶⁾이 개발한 좌골신경절제모델은 common peroneal nerve만 남게두고 sural nerve와 tibial nerve만 손상시키는 것으로 신경절제모델에 비해 만들기 쉽고, 신경섬유의 재생 가능성이 없다는 장점이 있다³²⁾.

Withdrawal response의 react time은 Normal군에 비해 Control군이 모든 주차에서 유의하게 감소하였고, Control군에 비해

0주차에서 ACR3군, 1주차에서 Saline군과 ACR1군에서 오히려 감소를 보였으며, 3주차에서는 ACR2군과 ACR3군에서 유의하게 증가하였다. withdrawal response의 force intensity는 Normal군에 비해 Control군이 모든 주차에서 역시 유의하게 감소하였고, Control군에 비해 0주차에서는 ACR3군, 1주차에서는 Saline군이 오히려 감소를 보였고, 3주차에서는 ACR2군과 ACR3군에서 유의하게 증가하였다.

따라서 react time, force intensity 모두 3주차의 고농도 독활약침군에서만 유의하게 증가한 것으로 보았을 때, 독활약침의 농도가 높고 시술 기간이 3주차 이상 진행될 경우 물리적 이질통에 대한 감소효과가 있을 것이라 추측해 볼 수 있으며, 확실한 기간과 농도 기준을 알기 위해서는 추가적인 연구가 필요할 것으로 보인다.

c-Fos는 전초기 유전자(immediate early gene)로 불리는 유전자군의 하나이다. 이러한 유전자는 새로운 단백질 합성을 필요로 하지 않으며, 유도 자극 후에 단시간에 발현한다. c-Fos유전자로부터 만들어진 단백질 c-Fos는 유전자의 전사를 조절하는 전사인자로서의 기능을 갖는다¹⁴⁾. 이것은 말초신경에 유해한 기계적 자극 또는 온열 자극을 가하였을 때, 통증을 전달하는 신경통로에서 유의미하게 증가하는 것으로 알려져 있는데^{33,34)} 통증 자극 후 척수 후각의 신경원에서 c-Fos가 발현된다는 Hunt³⁵⁾의 연구보고 이후로 통증 연구 모델의 중요한 척도가 되고 있다³⁶⁾. 또한 Kawakami등은 신경병리성 통증과 c-Fos와의 상관관계를 규명하였으며³⁷⁾, 진통 효과를 검증하는 가장 좋은 형태학적 기법으로 평가되고 있다³⁸⁾. 즉, c-Fos 단백질은 통증의 변화를 관찰할 수 있는 유용한 도구이며 c-Fos의 증가는 통증의 증가를, c-Fos의 감소는 통증의 감소를 의미한다.

이에 본 연구에서 central gray 부분의 c-Fos 단백질에 대한 변화를 관찰한 결과 Normal군에 비하여 Control군에서 유의하게 증가하였고, ACR1군 ACR2군 ACR3군 모두 Control군에 비해 감소하는 경향을 보였고 ACR3군에서는 통계적으로 유의하였다. 따라서 고농도의 경우 독활약침 시술이 신경병리성 통증에 대해 유의한 효과가 있는 것으로 추측된다.

신경병리성 통증은 단순한 침해성 통증과 다르게 신경손상 등의 일차적 병변뿐 아니라 신경계통의 기능변화와 면역계의 변화에 의해서도 나타난다³⁹⁾. 최근 이러한 신경병증성 통증에 의해 야기되는 신경조직의 염증과 면역반응에 대한 관심이 점차 증가하고 있는데, 예를들면 DeLeo와 yezierski는 말초신경 손상으로 만성 통증과 더불어 염증 및 면역 반응이 유발된다는 것을 보고하였다⁴⁰⁾. 이때 발생하는 염증성 통증은 세포 및 조직이 손상되어 화학적 매

개체가 분비될 때 나타나는데, 이들 면역 및 염증 세포 사이에서 작용하는 화학적 매개체인 cytokine은 interferon, IL-1, IL-6, IL-10, TNF- α 등이 있으며 통각, 통증 기전에 관여하는 것으로 알려져 있다^{41,42}. 이들 cytokine은 염증성 반응을 유도할 뿐 아니라 통각수용체가 변환, 전도, 투과시키는 것을 방해하여 통증을 일으킨다³⁹.

신경이 손상되면 TNF- α , IL-6 및 IFN- γ 를 포함한 pro-inflammatory cytokine 발현 및 분비가 증가되며, 이 모두는 통증 과민증의 발달에 필요하다.⁴³ 이와 같은 여러 cytokine은 신경병변 이후에 dorsal horn에서 증가하며, 중추신경계에서 시냅스 전달을 변경함으로써 신경 손상성 통증에 기여한다고 알려져 있다.⁴⁴ 특히 leel등은 IL-1 β 와 TNF- α 는 신경병증성 통증의 개시에 중요한 역할을 담당하고, IL-6은 신경병증성 통증의 유지에 중요한 역할을 담당한다는 것을 보고하였다.⁴⁵ 이에 본 연구에서는 독활약침이 TNF- α , IL-6, IFN- γ 에 미치는 영향에 대해 조사하였다.

TNF- α 수준은 염증 상태에서 상승하는데 말초신경 손상 후 요부척수의 전후각에서 면역반응성 TNF가 증가하며, 이는 신경병리성 통증을 나타내는 통증행동을 보인다는 연구가 있으며⁴², TNF- α 는 말초 및 중추 신경 퇴행성 병리 및 신경 손상 후 신경병증 통증의 발달에 중요한 역할을 한다⁴⁶. 또한 신경 줄기를 따른 TNF- α 의 국소적인 유리가 말초신경 손상에 따른 신경병리성 통증 상태를 유발하는 주된 요소일 수 있다는 보고가 있다⁴⁷.

IL-6은 신경 손상 후 광범위하게 발현되며 IL-6의 척수강 내 투여는 기계적 이질통을 초래하고, IL-6 수용체 중화 항체는 단일 복강 내 주사 2주 후 척수 손상 통증과 관련된 기계적 이질통을 제거하였다는 보고가 있다⁴⁸.

중추 및 말초 면역 반응의 중요한 조절 인자인 IFN- γ 또한 신경병리성 통증의 발병 기전에서 역할을 하는데⁴⁹ 동물 모델에 대해 수행된 연구에 따르면, IFN- γ 는 중추 감각을 유발하는 중요한 요인이며⁵⁰ 요추수술실패증후군(Failed back surgery syndrome, FBSS) 환자에서 척수 신경 자극술(Spinal Cord Stimulation, SCS)의 영향을 조사한 연구에서 SCS 이전의 환자와 대조군의 IFN- γ 혈청 수준 사이에 유의한 차이가 있었다는 보고가 있었으며, FBSS 환자에서 상당히 높은 수준의 IFN- γ 수치와 통증강도가 더 높을수록 더 높은 IFN- γ 수치를 보여 IFN- γ 의 혈청 농도가 통증 인자로 인식될 수 있다고 하였다⁵¹.

본 연구에서 TNF- α , IL-6, IFN- γ 를 각각 Blood serum, 척수 내에서 관찰한 결과, Blood serum내 TNF- α 는 Normal군에 비해 Control군에서 유의하게 증가하였고, Control군에 비해 독활약침의 농도가 높아질수록 더 큰 감소비율을 보이며 ACR3군에서는 통

계적으로 유의하게 감소하였다. 반면 Blood serum내 IL-6과, IFN- γ 는 모든 실험군에서 유의한 변화가 없었다.

척수내 TNF- α 는 Control군에 비해 Saline군에서 유의하게 증가하였으며 실험군에서는 변화가 없었고, IFN- γ 는 Control군에 비하여 ACR3군에서 유의하게 감소하였다. IL-6은 Normal군에 비해 Control군에서 유의하게 증가하였으나, Control군에 비하여 모든 실험군에서 유의한 변화가 없었다. 독활의 진통효과의 작용기전에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

한편 독활은 angelicotoxin, 여러 종류의 휘발유 및 coumarin 화합물 등에 의해 독성이나 부작용을 유발할 수 있으며, 양을 초과하면 쉽게 중독되고, 간 손상 및 지방변성, 신장출혈, 혈뇨를 일으킬 수 있다⁵².

본 연구에서는 독활약침의 안전성을 확보하기 위한 여러 검사를 진행하였는데, 체중의 변화와 혈액학적 안전성을 보기 위해 WBC, RBC, HGB, PLT를 측정하였고, 신장 및 간장의 독성 여부를 확인하기 위해 AST, ALT, BUN, Cr변화를 측정하였다. 실험결과 체중은 normal군에 비해 control군이 0주차를 제외한 모든 주차에서 각각 유의하게 감소하였고, Control군에 비해 모든 주차의 모든 실험군에서 체중이 증가하였지만 통계적으로 유의하지는 않았다. 혈액 검사에서는 normal군에 비해 Control군의 유의한 변화는 보이지 않았고, Control군에 비하여 RBC는 ACR2에서 유의하게 증가하였고, HGB는 Saline군은 유의한 감소를 ACR3군에서는 유의한 증가를 보였으며, PLT는 Saline군을 비롯한 모든 실험군에서 오히려 유의하게 증가하였다. 또한 간장 및 신장독성에 대한 검사에서는 Control군에 비하여 ALT는 ACR1이 오히려 유의하게 감소하였고, AST, BUN, Cr은 유의한 차이를 나타내지 않았다. 따라서 환도의 독활약침 시술이 간 기능 및 신장 기능에도 위대한 영향을 주지 않는 것으로 보인다.

이상의 결과로 환도 독활약침은 고농도로 시술 할 경우, 신경병리성 통증을 감소시킬 수 있는 것으로 보이며, 그 기전은 pro-inflammatory cytokine인 TNF- α , IFN- γ 를 감소시키는 것과 연관이 있다고 사료된다. 유의한 효과가 주로 3주차 고농도 독활약침 그룹에서 나타난 것으로 보았을 때, 3주 이상의 시술기간과 독활약침이 고농도일 때 효과적일 가능성이 있고, 정확한 기간과 농도에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결론

環跳 (GB30) 獨活약침이 신경병증성 통증에 미치는 영향을 알

아보기 위해, 좌골신경절제모델 백서에 신경병증성 통증을 유발한 뒤, 獨活약침을 環跳 상응부위에 주 2회씩 3주간 총 6회 시술하였다. 진통효과를 살펴보기 위해 Withdrawal response react time 및 force intensity, c-Fos를, 작용기전을 알아보기 위해 TNF- α , IL-6, IFN- γ 를, 안전성을 확인하기 위해 체중 및 WBC, RBC, HGB, PLT, AST, ALT, BUN, Cr 변화를 관찰하였고 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Withdrawal response에서 react time은 Control군에 비해 0주차 ACR3군, 1주차 Saline군 및 ACR1군이 유의한 감소를 보였고, 3주차 ACR2군과 ACR3군에서 유의한 증가를 보였다. force intensity는 Control군에 비해 0주차 ACR3군, 1주차 Saline군이 유의한 감소를, 3주차에서는 ACR2군과 ACR3군에서 유의한 증가를 보였다.

2. c-Fos는 Control군에 비해 모든 독활약침 실험군에서 감소하는 경향을 보였고 ACR3군에서 유의한 감소를 보였다.

3. Blood serum내 TNF- α 는 Control군에 비해 모든 독활약침 실험군에서 감소하는 경향을 보였고 ACR3군에서는 유의한 감소를 보였다. IL-6과, IFN- γ 는 모든 실험군에서 유의한 변화가 없었다.

4. 척수내 IFN- γ 는 Control군에 비해 ACR3군에서 유의한 감소를 보였고, TNF- α 와 IL-6은 모든 실험군에서 유의한 변화가 없었다.

5. 체중변화는 Control군에 비해 모든 주치의 모든 실험군에서 유의한 변화가 없었다. WBC, RBC, HGB, PLT,를 관찰한 결과 Control군에 비하여 RBC는 ACR2에서 유의한 증가를, HGB는 Saline군은 유의한 감소를 ACR3군에서는 유의한 증가를 보였고, PLT는 모든 실험군에서 유의하게 증가하였다.

6. ALT, AST, BUN, Cr를 관찰한 결과 Control군에 비해 ALT는 ACR1이 유의한 감소를 보였고, AST, BUN, Cr은 유의한 변화가 없었다.

이상의 결과로 독활약침이 신경병증성 통증에 대한 통증 감소 효과가 있으며, 향후 신경병증성 통증을 치료에 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

Acknowledgement

None.

Funding

None.

Data availability

The authors can provide upon reasonable request.

Conflicts of interest

저자들은 아무런 이해 상충이 없음을 밝힌다.

References

1. The Korean Pain Society. Textbook of pain medicine. Seoul : koonja publishing. 2007 : 51-4.
2. Jeong SH, Roh GH, Kang KS, Moon SK, Joh KH, Bae HS. Case of Treating the Paresthesia Suggested from Peripheral Neuropathy. J Korean Med. 2000 ; 21(4) : 242-7.
3. Textbook Compilation Committee of National University of Korean medicine. Herbalogy. Seoul : Yeong-Lim Publishing. 2010 : 303-4.
4. Son IC, Lee MH. Pharmacopuncture therapy. Seoul : Iljoong Publishing. 1999 : 18-9.
5. Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society, The textbook Compliation Committee. The Acupuncture and Moxibustion. Seoul : Hanmi medical Publishing. 2016 : 204.
6. Lee BH, Won R, Baik EJ, Lee SH, Moon CH. An animal model of neuropathic pain employing injury to the sciatic nerve branches. Neuroreport. 2000 ; 11(4) : 657-61. <https://doi.org/10.1097/00001756-200003200-00002>
7. Koo ST, Kim SK, Kim EH, Kim JH, Youn DH, Lee BH, et al. Acupuncture point locations for experimental animal studies in rats and mice. Korean J Acupunct. 2010 ; 27(3) : 67-78.
8. Osafumi Y. Current Neuropathic Pain Management. Seoul : Shinheung MedScience. 2004 : 4-11, 176-80.
9. Yoon DM. Neuropathic Pain. The Korean Journal of Pain. 1995 ;

- 8(2) : 219-24.
10. Kim SS, Go SG, Jo GH, Kim YS, Bae HS, Lee GS. East-West Medical Study on Bi syndrome Focusing on Causes and Symptoms. Korean J Intern Med. 1994 ; 15(1) : 116-27.
11. Ministry of Food and Drug Safety. Isolation and Quantitative Analysis of Bioactive Components from *Coptis Rhizoma* and *Araliae Radix*. Seoul : Ministry of Food and Drug Safety. 2008.
12. Oh SJ, Jeong SI, Kim JY. Antibacterial Activity of Continentalic Acid from *Aralia continentalis*. J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol. 2006 ; 19(2) : 161-7.
13. Park HJ, Hong MS, Lee JS, Leem KH, Kim CJ, Kim JW, et al. Effects of *Aralia continentalis* on hyperalgesia with peripheral inflammation. Phytother Res. 2005 ; 19(6) : 511-3. <https://doi.org/10.1002/ptr.1693>
14. Yang SA, Lim NK, Jhee KH, Lee IS. Effects of *Aralia continentalis* Kitagawa on Antiplatelet and Antioxidative Activities. Journal of Life Science. 2008 ; 18(3) : 357-62. <https://doi.org/10.5352/jls.2008.18.3.357>
15. Lee JH, Kim YS, Lim EM. Effects of *Angelicae Pubescentis Radix* Water Extract on Immune Property in RAW 264.7 Macrophages. J Korean Med. 2011 ; 32(1) : 175-84.
16. Lee DH, Youn DH, Na CS, Youn YC. Effects of Bee Venom Acupuncture Injected at Hwando(GB30) on Neuropathic Pain in Rats. J Acupunct Res. 2005 ; 22(5) : 67-77.
17. Lee WJ, Kim SW, Shin JC. Effect of *Gentianae Macrophyllae Radix* Pharmacopuncture at Hwando(GB30) on Neuropathic Pain in Tibial and Sural Nerve Transected Rats. J Acupunct Res. 2016 ; 33(3) : 1-16. <https://doi.org/10.13045/acupunct.2016031>
18. Bang SP, Ryu MS, Kim JH, Wei TS, Youn DH, Youn YC, et al. Effects of *Radix Aconiti* Herbal Acupuncture Injected at Hwando (GB30) on Neuropathic Pain in Rats. J Acupunct Res. 2009 ; 26(6) : 67-76.
19. Lee DG, Lee WJ, Lee JH, Lee SH, Lee JH, Shin JC, et al. The Effects of *Eucommiae Cortex* Pharmacopuncture Injected at Sinsu (BL23) on Neuropathic Pain in Rats. J Acupunct Res. 2013 ; 30(4) : 69-78. <https://doi.org/10.13045/acupunct.2013023>
20. Hwang MS. Effects of *Zingiberis Rhizoma* Pharmacopuncture Injected at GB30 and ST36 on Neuropathic Pain in Rats. Korean J Acupunct. 2019 ; 36(1) : 52-62. <https://doi.org/10.14406/acu.2019.033>
21. Lee SR, Ku ST, Kim SN, Whang WJ, Lee GM, Lim KS, et al. Effects of Scolopendrid Water-Alcohol Extract Injection Applied to the Acupuncture Point on the Neuropathic Pain in Rats. Korean J Acupunct. 2004 ; 21(2) : 47-67.
22. Kim SJ, Jung MJ, Park SH, Kim JH, Yeom SR, Kwon YD, et al. Analgesic Effects of *Herba Chelidonii* Pharmacopuncture in the Rat Models of Peripheral Neuropathic Pain. J Oriental Rehab Med. 2007 ; 17(2) : 1-16.
23. Song JS, Na C, Shin BC, Lee SK, Kwon YD, Song YS. Effects of Dokwal-tang(Duhuo-tang) and Jungsongouhyul Pharmacopuncture on Pain Control and Nerve Regeneration after Crush Injury in Rat Sciatic Nerve. J Oriental Rehab Med. 2008 ; 18(2) : 61-79.
24. Lee SK, Won JK, Yeom SR, Song YS, Kwon YD. The Effects of Dokhwalgisaeng-tang(Duhuoqisheng-tang) and Jungsongouhyul Pharmacopuncture on Pain Control and Nerve Regeneration in the Crush-induced Sciatic Nerve Injury of the Rat Model. J Oriental Rehab Med. 2009 ; 19(3) : 15-32.
25. Jung MJ, Lee JH, Yeom SR, Lee SK, Song YS, Kim KB, et al. Effects of Ohyaksungi-san(Wuyaoshungi-san) and Jungsongouhyul Pharmacopuncture on Pain Reduction and Nerve Regeneration after Crush Injury in Rat Sciatic Nerve. J Oriental Rehab Med. 2009 ; 19(2) : 51-72.
26. Lee SR. Acupuncture. Seoul : Cheong-Hong. 2007 : 675-6.
27. Wall PD, Devor M, Inbal R, Scadding JW, Schonfeld D, Seltzer Z, et al. Autotomy following peripheral nerve lesions: experimental anaesthesia dolorosa. Pain. 1979 ; 7(2) : 103-14. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(79\)90002-2](https://doi.org/10.1016/0304-3959(79)90002-2)
28. Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. Pain. 1988 ; 33(1) : 87-107. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(88\)90209-6](https://doi.org/10.1016/0304-3959(88)90209-6)
29. Seltzer Z, Dubner R, Shir Y. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. Pain. 1990 ; 43(2) : 205-23. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(90\)91074-s](https://doi.org/10.1016/0304-3959(90)91074-s)
30. Kim SH, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. Pain. 1992 ; 50(3) : 355-63. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(92\)90041-9](https://doi.org/10.1016/0304-3959(92)90041-9)
31. DeLeo JA, Coombs DW, Willenbring S, Colburn RW, Fromm C,

- Wagner R, et al. Characterization of a neuropathic pain model: sciatic cryoneurolysis in the rat. *Pain*. 1994 ; 56(1) : 9-16. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(94\)90145-7](https://doi.org/10.1016/0304-3959(94)90145-7)
32. Lee BH, Son JH, Park YG. Effectiveness of Opioids in the Management of Neuropathic Pain. *Korean journal of brain science & technology*. 2001 ; 1(1) : 53-64.
33. Abbadie C, Besson JM. C-Fos Expression in rat lumbar spinal cord during the development of adjuvant-induced arthritis. *Neuroscience*. 1992 ; 48(4) : 985-93. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(92\)90287-c](https://doi.org/10.1016/0306-4522(92)90287-c)
34. Bullitt E. Expression of c-Fos-like protein as a marker for neuronal activity following noxious stimulation in the rat. *J Comp Neurol*. 1990 ; 296(4) : 517-30. <https://doi.org/10.1002/cne.902960402>
35. Hunt SP, Pini A, Evan G. Induction of c-Fos-like protein in spinal cord neurons following sensory stimulation. *Nature*. 1987 ; 328(6131) : 632-4. <https://doi.org/10.1038/328632a0>
36. Harris JA. Using c-Fos as Neural Marker of Pain. *Brain Res Bull*. 1998 ; 45(1) : 1-8. [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(97\)00277-3](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(97)00277-3)
37. Kawakami, M, Weinstein JN, Spratt KF, Chatani KI, Traub RJ, Meller ST, et al. Immunohistochemical and Quantitative Demonstrations of Pain Induced by Lumbar Nerve Root Irritation of the Rat. *Spine*. 1994 ; 19(16) : 1780-94. <https://doi.org/10.1097/00007632-199408150-00001>
38. Munglani R, Hunt SP. Molecular biology of pain. *Br J Anaesth*. 1995 ; 75(2) : 186-92. <https://doi.org/10.1093/bja/75.2.186>
39. Rang HP, Bevan S, Dray A. Chemical activation of nociceptive peripheral neurons. *Br Med Bull*. 1991 ; 47(3) : 534- 48. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a072491>
40. DeLeo, JA, Yezierski RP. The role of neuroinflammation and neuroimmune activation in persistent pain. *Pain*. 2001 ; 90(1-2) : 1-6. [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(00\)00490-5](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(00)00490-5)
41. Sommer C. Zytokine bei neuropathischen Schmerzen [Cytokines in neuropathic pain]. *Anaesthesist*. 2001 ; 50(6) : 416-26. <https://doi.org/10.1007/s001010100135>
42. DeLeo JA, Colburn RW, Rickman AJ. Cytokine and growth factor immunohistochemical spinal profiles in two animal models of mononeuropathy. *Brain Res*. 1997 ; 759(1) : 50-7. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(97\)00209-6](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(97)00209-6)
43. Murphy PG, Grondin J, Altares M, Richardson PM. Induction of interleukin-6 in axotomized sensory neurons. *J Neurosci*. 1995 ; 15(7 Pt 2) : 5130-8. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.15-07-05130.1995>
44. Kazuhide I. The function of microglia through purinergic receptors: Neuropathic pain and cytokine release. *Pharmacol Ther*. 2006 ; 109(1-2) : 210-26. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2005.07.001>
45. Lee HL, Lee KM, Son SJ, Hwang SH, Cho HJ. Temporal expression of cytokines and their receptors mRNAs in a neuropathic pain model. *Neuroreport*. 2004 ; 15(18) : 2807-11.
46. Kwon SY, Yeom JH, Joo JD. Ketamine reduces the induced spinal p38 MAPK and pro-inflammatory cytokines in a neuropathic rats. *Korean J Anesthesiol*. 2014 ; 66(1) : 52-8. <https://doi.org/10.4097/kjae.2014.66.1.52>
47. Wagner R, Myers RR. Endoneurial injection of TNF-alpha produces neuropathic pain behaviors. *Neuroreport*. 1996 ; 7(18) : 2897-901. <https://doi.org/10.1097/00001756-199611250-00018>
48. Guptarak J, Wanchoo S, Durham-Lee J, Wu Y, Zivadinovic D, Paulucci-Holthauzen A, et al. Inhibition of IL-6 signaling: A novel therapeutic approach to treating spinal cord injury pain. *Pain*. 2013 ; 154(7) : 1115-28. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2013.03.026>
49. Boehm U, Klamp T, Groot M, Howard JC. Cellular responses to interferon- γ . *Annu Rev Immunol*. 1997 ; 15(1) : 749- 95. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.15.1.749>
50. Sonekatsu M, Taniguchi W, Yamanaka M, Nishio N, Tsutsui S, Yamada H, et al. Interferon-gamma potentiates NMDA receptor signaling in spinal dorsal horn neurons via microglia-neuron interaction. *Mol Pain*. 2016 ; 12 : 174480691664492. <https://doi.org/10.1177/1744806916644927>
51. Lutz BM, Bekker A, Tao YX. Noncoding RNAs: new players in chronic pain. *Anesthesiology*. 2014 ; 121(2) : 409-17. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000000265>
52. Park JH, Seo BI. A Philological study on poisoning of Angelicas Pubescentis Radix. *The Journal of East-West Medicines*. 2011 ; 36(2) : 1-9.