

理氣祛風散이 白鼠의 神經病理性 疼痛 抑制 및 c-Fos 蛋白 發顯에 미치는 影響

이혁재 · 김종한 · 최정화 · 박수연
동신대학교 한의과대학 안이비인후피부과학교실

Effects of Oral Administration of Ligigeopongsan on Neuropathic Pain and c-Fos Protein Expression in Rats.

Hyek-Je Lee · Jong-Han Kim · Jung-Hwa Choi · Su-Yeon Park

Objective : We have studied to know effects of Ligigeopongsan(LGS, 理氣祛風散) on mechanical allodynia, cold allodynia and c-Fos protein expression in the model of neuropathic pain of rats.

Methods : The model of neuropathic pain was made by injured tibial nerve and sural nerve while common peroneal nerve was maintained. After 2weeks, we performed behavioral tests for 7 days to try out mechanical allodynia using von frey filament and cold allodynia using acetone, which are calculated by counting withdrawal response on foot. Rat brains removed and sliced on 8th days. Serial sections were immunohistochemically reacted with polyclonal c-Fos antibody. The numbers of c-Fos protein immunoreactive neurons in the central gray were examined using scion image program.

Results : 1. Mechanical allodynia in LGS-2, LGS-3 groups were significantly diminished compared with the control group.
2. Cold allodynia in LGS-3 group was dsignificantly iminished compared with the control group.
3. c-Fos protein expression on the central gray LGS-2, LGS-3 groups were significantly lower than that of control group.

Conclusions : We have noticed that LGS(理氣祛風散) diminished mechanical and cold allodynia in the model of neuropathic pain compared with the control group. c-Fos protein expression in the central gray of that group was also decreased compared with the control group. Pain control group were LGS was accumulated as time goes by. This study can be used as a basic resource on a study and a treatment of pain.

Key words : Ligigeopongsan(理氣祛風散), mechanical allodynia, cold allodynia, c-Fos protein, Neuropathic pain.

서론

교신저자: 최정화, 동신대학교부속광주한방병원
안이비인후피부과학교실
(Tel. 062-350-7217, E-mail : mkyu0@hanmail.net)

神經 病理性 疼痛症候群은 1872년 Mitchell¹⁾이 처음으로 기술한 이래 많은 환자들에게서 나타나는 만성통증의 하나로서, 말초 신경이나 조직이 손상을

받았을 때 발생하게 된다. 神經 病理性 疼痛症候群을 가진 환자들에게서 관찰되는 증상으로는 자발적 통증(spontaneous pain), 이질통(allodynia), 과통증(hyperalgesia) 등이 있으며²⁾ 임상적으로 좌골신경통, 삼차신경통, 대상포진, 외상등이 있다.³⁾

한의학에서는 통증의 원인에 대해 《黃帝內經素問·學痛論》⁴⁾에서 “經脈流行不止, 環周不休, 寒氣入經而稽遲, 泣而不行, 客於脈中則氣不通, 故卒然而痛”이라고 했고, 張⁵⁾은 “通則不痛, 不通則痛”등으로 인식하였으며, 《諸病源候論·四肢痛無常處候》⁶⁾에서 “其痛處不腫, 色亦不異, 但肉裏擊痛與錘刀所刺”라고 하였다.

理氣祛風散은 龔이 創案하여 《古今醫鑑》에 最初로 기재한 처방으로 “治 口眼喎斜”하는 효능을 가지고 있다고 하였으며, 以後 여러 醫書에서 原方 또는 變方의 형태로 口眼喎斜 및 三叉神經痛과 같은 神經病理性 痛症疾患에 이용되어 왔다.

현재 많은 실험^{8,9)}들이 이러한 신경통의 기전 발견과 동통억제를 위해 다양한 방법으로 실험하고 있으나 대부분 鍼刺나 電針刺戟등을 이용한 것들이고, 韓藥을 이용한 실험은 미미한 실정이다.

이에 저자는 總腓骨神經(common peroneal nerve)은 남겨두고, 脛骨神經(tibial nerve)과 腓腹神經(sural nerve)을 손상시킨 신경 병리성 동통 모델을 이용하여 理氣祛風散의 口腔投與가 白鼠의 신경 병리성 동통 억제 및 뇌 신경 세포의 c-Fos 단백질 발현에 미치는 영향을 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 실험재료

1) 동물

체중이 약 180~200 g의 Sprague Dawley계의 雄性

흰쥐¹⁾를 사육장²⁾내에서 물과 사료³⁾를 충분히 섭취하게 하면서 사육하였다가 실험에 사용하였다.

2) 약제

본 實驗에서는 《東醫寶鑑》에 기재된 처방 구성을 따랐으며, 《東醫寶鑑》에서는 羌活, 獨活, 靑皮, 陳皮, 枳殼, 桔梗, 南星, 半夏, 烏藥, 天麻, 川芎, 白芷, 荊芥, 防風, 白芍藥, 甘草 各 6 分으로 구성되어 있다.

本 實驗에 使用된 藥材는 東新大學校 附屬韓方病院에서 嚴選하여 使用하였다.

理氣祛風散 1 貼 分量은 다음과 같다.

韓藥名	生藥名	用 量
羌活	RHIZOMA SEU RADIX NOTOPTERYGHI	2.8 g
獨活	RADIX ARALIA CORDATAE	2.8 g
	PERICARPIMUM CITRI RETICULATAE	
靑皮	VIRDIE	2.8 g
	PERICARPIMUM CITRI RETICULATAE	2.8 g
陳皮	FRUCTUS PONCIRI SEU AURANTII	2.8 g
枳殼		
桔梗	RADIX PLATYCODI	2.8 g
南星	RHIZOMA ARISAEMATIS	2.8 g
半夏	RHIZOMA PINELLIAE	2.8 g
烏藥	RADIX LINDERAE	2.8 g
天麻	RHIZOMA GASTRODIAE	2.8 g
川芎	RHIZOMA CHIANXIONG	2.8 g
白芷	RADIX ANGELICAE DAHURICAE	2.8 g
防風	RADIX SAPOSHNIKOVIAE	2.8 g
荊芥	HERBA SCHIZONEPETAE	2.8 g
白芍藥	RADIX PAEONIAE ALBA	2.8 g
甘草	RADIX GLYCYRRHIZAE	2.8 g
生薑	RHIZOMA ZINGBERIS RECENS	3.0 g
Total Amount		47.8 g

2. 실험방법

1) 검역의 조제

理氣祛風散 2 貼 分量을 증류수 170 ml과 함께 5 시간 동안 증류수를 계속 보충해가며 끓인 다음 여

1) 다물사이언스, 한국

2) 실내온도 24~26 °C, 습도 30~50 %, 명암주기12:12 hr

3) pellet, 삼양유지사료, 한국

과지로 여과한 후, 고속원심분리기(Centricon T-42K, Italy)로 5,000 rpm에서 30 분동안 원심분리하여 상등액을 취하였다. 상등액은 rotary vacuum evaporator (Buchi, Netheland)로 수분을 증발시켜 140 ml로 감압 농축하였으며, 농축된 검액을 동결건조기(삼원, 한국)로 -70 °C에서 동결건조시켜 최종적으로 19.5 g의 시료를 얻었다. 최종적으로 얻어진 시료는 경구투여를 위하여 각 농도별로 증류수에 희석하여 사용하였다.

2) 신경병리성 동통 유발⁴⁾ 및 군 분리

백서를 isoflurane⁵⁾ 2.5 %로 도입, 유지 마취 후 고관절 후측의 피부를 절개한 후 실체 증 현미경을 사용하여 biceps femoris muscle 사이의 sciatic nerve을 찾아 tibial nerve와 common peroneal nerve 및 sural nerve를 확인한 후 microforcep으로 주변조직 및 혈관으로부터 분리시킨 다음, common peroneal nerve는 남겨두고, tibial nerve와 sural nerve는 현미경 하에서 6.0 silk thread로 결찰한 후 미세 수술가위로 절단한다. 절개된 부위는 kanamycin⁶⁾을 점적하고 피부를 봉합하였다. 실험군의 분리는 동통을 유발시키지 않은 정상군(Normal), 동통을 유발시킨 후 생리식염수를 경구투여한 대조군(Control), 동통을 유발시킨 후 理氣祛風散을 0.33 mg/g 농도로 경구투여한 군(1배 투여군, LGS-1), 동통을 유발시킨 후 理氣祛風散을 0.66 mg/g 농도로 경구투여한 군(2배 투여군, LGS-2), 동통을 유발시킨 후 理氣祛風散을 1.32 mg/g 농도로 경구투여한 군(4배 투여군, LGS-3)으로 실험군을 분류하였다.

3) 경구투여

理氣祛風散 경구투여는 피부절개 수술 후 3주째 부터 시행하였고, 해당 농도별로 500 µl씩 1 일에 1

회씩 1 주간 총 7 회가 시행되었다.

4) Von frey filament 및 Acetone 자극으로 유발된 異質痛 측정⁷⁾

수술후 3 주째부터 1 주간 매일 물리적 자극은 von frey filament를, 화학적(냉각)자극은 acetone을 이용하여, 각각 이에 대한 철회반응(withdrawal response)을 망으로 된 cage에 옮겨 5 분간 안정시킨 후 관찰하였다.

Von frey filament 자극에 의한 이질통 측정 방법은 2 g정도의 강도에서 수초 간격으로 환측 발 내측 부위에 10 회씩 자극하여, 발의 철회반응의 횟수를 얻어 백분율로 표시하였다. Acetone 자극에 의한 냉각 이질통 측정 방법은 환측 발 내측 부위에 5 분 간격으로 2 cc씩 10 회를 자극하여, 발의 철회반응의 횟수를 얻어 백분율로 표시하였다

5) c-Fos 단백질 염색⁸⁾

뇌 조직을 PBS⁹⁾에 3 회 정도 세척한 후 primary sheep polyclonal c-fos anti-body(1:1500, Monoclonal, Cambridge Research Bio -chemicals, Wilmington, DE, USA)를 사용하였다. 1 차 항체는 PBS에 0.3 % triton X-100¹⁰⁾ 첨가한 PB¹¹⁾에서 2 % 토끼 혈청과 0.1 % sodium acid(Sigma, St. Louis, MO, USA)로 2000 배 희석하여 준비하였다. 뇌 조직은 1 차 항혈청에 4 °C 에서 24 시간동안 지속적으로 흔들어 주면서 배양하였다. 그 후 3 번 이상 조직을 PBS로 씻은 다음 2 시간동안 실온상태에서 10 mM PB에 200 배 희석한

7) Lee, B. H, Won, R, Baik, E. J, Lee, S. H. & Moon, C. H. : An animal model of neuropathic pain employing injury to the sciatic nerve branches. NeuroReport : pp657-661, 2000 ; 11(4).

8) 강동환, 윤여충, 김정상, 김원재, 나창수 : 침자가 혈압 및 신경계 혈압중추 c-fos 발현에 미치는 영향, 대한경락경혈학회지 : pp47-57, 2002 ; 19(1).

9) phosphate buffer saline

10) Sigma, USA

11) phosphate buffer

4) Lee, B. H, Baik, E. J, Lee, S. H. & Moon, C. H. Injuries of differentially produce neuropathic pain in rats, Abstracts-8th World Congress on Pain : 27, 1996.

5) 포란액, 중위제약, 한국

6) 용성황산가나마이신, 동아제약, 한국

biotinylated anti-sheep serum (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)에 반응시켰다. PB로 3 번 씻은 다음, 뇌 조직은 실온에서 2 시간 동안 Vectastain Elite ABC reagent(Vector)에 담구었다. PB로 몇 번 행군 다음 조직을 nickel chloride로 강화시키고 착색제로서 diaminobenzidine(DAB)¹²⁾을 사용하여 발현시켰다.

모든 처리를 거친 뇌 조직을 gelatine-coated slide에 고정하고 공기를 제거하면서 커버글라스를 덮은 후 광학현미경으로 200 배로 확대하여 central gray에서 c-Fos-immunoreactive 신경세포의 밀도를 scion image program(Scion Corp. MD, USA)을 이용하여 측정하였다.

3. 統計處理¹³⁾

실험 성적은 Mean±SEM으로 나타내었고, 각 측정치의 비교는 Excel statistic program에 의하여 unpaired T-test를 시행하여 α=0.05 수준에서 유의성을 검증하였다.

결 과

1. 理氣祛風散 구강투여가 Von frey filament 자극으로 유발된 異質痛에 미치는 효과

Von frey filament 자극으로 유발된 물리적 이질통 반응에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과, 1일째에 Normal군은 7.1±2.88 %, Control군은 27.1±6.80 %, LGS-1군은 28.6±10.10%, LGS-2군은 25.7±8.69 %, LGS-3군은 25.7±6.85 %를 나타내어 Control군에 비해 각 실험군들은 유의한 변화를 보이지 않았다.

구강투여가 진행됨에 따라 Control군에 비해

12) Vector, USA

13) 정영해. SAS를 이용한 통계분석과 실습. 광주. 도서출판 월산 : pp176-184, 1997.

LGS-2군이 7 일째에 유의하게 감소하였고(P<0.05), LGS-3군이 6, 7 일째에 유의하게 감소하였다(P<0.05)(Table. 1)(Fig. 1).

Table 1. % of withdrawal response on the neuropathic pain(mechanical allodynia) in rats.

Group	1	2	3	4	5	6	7
Normal	7.1±2.86	7.1±3.60	7.1±2.86	4.3±2.02	5.7±2.97	4.3±2.02	1.4±1.43
Control	27.1±6.80	32.9±6.06	30.0±5.35	28.6±4.59	32.9±7.78	34.3±2.97	37.1±2.86
LGS-1	28.6±10.10	24.3±7.82	28.6±10.10	25.7±7.51	31.4±7.69	30.0±9.76	30.0±11.3
LGS-2	25.7±8.69	20.0±4.88	27.1±8.92	21.4±7.38	22.9±8.08	25.7±7.69	22.9±4.74*
LGS-3	25.7±6.85	28.6±6.34	24.3±7.19	22.9±6.80	20.0±7.87	20.0±5.77*	21.4±5.95*

Ligigeopoongsan(LGS) was orally administrated on the rats for 7days. The task and treatments were started on the 3th week after inducing neuropathic pain, and performed 10 trials per day for 7days. Results are shown as means ± S.E. *, P<0.05, as compared with the corresponding data of control group.

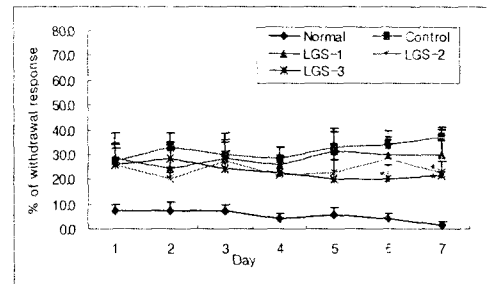


Fig. 1. Effects of oral administration of Ligigeopoongsan (LGS) according to dosage on the neuropathic pain(mechanical allodynia) rats.

Normal, intactness. Control, administered saline orally in the rats. LGS-1, LGS-2 and LGS-3, orally administered 0.33mg, 0.66mg/g and 1.32mg/g of the LGS in the rats. Results are shown as mean±S.E. *, P<0.05 as compared with the corresponding data of control group.

2. 理氣祛風散 구강 투여가 Acetone 자극으로 유발된 異質痛에 미치는 효과

Acetone 자극으로 유발된 냉각 이질통 반응에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과, 1 일째에 Normal군은 21.4±3.40 %, Control군은 50.0±3.09 %, LGS-1군은 48.6±9.62 %, LGS-2군은 45.7±12.70 %, LGS-3군은 52.9±10.17 %를 나타내어 Control군에 비해 각 실험

군들은 유의한 변화를 보이지 않았다.

구강투여가 진행됨에 따라 Control군에 비해 LGS-3군이 6, 7 일째에 유의하게 감소하였다(P<0.05) (Table 2)(Fig. 2).

Table 2. % of withdrawal response on the neuropathic pain(cold allodynia) in rats.

Group	1	2	3	4	5	6	7
Normal	21.4±3.40	15.7±4.29	14.3±2.97	15.7±4.29	14.3±4.81	14.3±2.97	11.4±2.61
Control	50.0±3.09	48.6±4.04	44.3±5.28	45.7±4.81	42.9±4.21	52.9±3.60	52.9±3.60
LGS-1	48.6±9.62	42.9±7.78	38.6±10.33	41.4±8.57	44.3±9.72	48.6±8.57	45.7±12.32
LGS-2	45.7±12.70	44.3±12.70	42.9±12.48	40.0±10.91	44.3±11.72	47.1±9.69	44.3±9.48
LGS-3	52.9±10.17	42.9±8.37	41.4±8.57	41.4±10.10	42.9±11.90	35.7±6.49*	35.7±6.49*

Ligigeopongsan(LGS) was orally administrated on the rats for 7days. The task and treatments were started on the 3th week after inducing neuropathic pain, and performed 10 trials per day for 7days. Results are shown as means ± S.E. *, P<0.05, as compared with the corresponding data of control group.

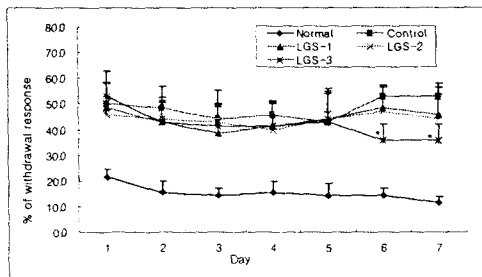


Fig. 2. Effects of oral administration of Ligigeopongsan (LGS) according to dosage on the neuropathic pain(cold allodynia) rats.

Normal, intactness. Control, administered saline orally in the rats. LGS-1, LGS-2 and LGS-3, orally administered 0.33mg/g, 0.66mg/g and 1.32mg/g of the LGS in the rats. Results are shown as mean±S.E. *, P<0.05 as compared with the corresponding data of control group.

3. 理氣祛風散 구강투여가 c-Fos 단백질 발현에 미치는 효과

Central gray 부위의 c-Fos 단백질 발현정도를 분석한 결과, Normal군은 14.3±2.04 %, Control군은 45.0±3.53 %, LGS-1군은 33.8±4.30 %, LGS-2군은 22.6±4.80 %, LGS-3군은 17.0±2.00 %을 나타내었다.

각 군별의 변화 비교에서 대조군에 비하여 LGS-2군(P<0.05), LGS-3군(P<0.01)에서 유의한 감소를 보였다(Fig. 4).

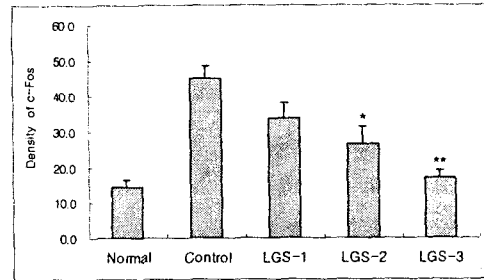


Fig. 3. Effects of oral administration of Ligigeopongsan (LGS) according to dosage on the neuropathic pain rats.

The values of density of c-Fos protein in the central gray of brain are shown. Normal, intactness. Control, administered saline orally in the rats. LGS-1, LGS-2 and LGS-3, orally administered 0.33mg /g, 0.66mg/g and 1.32mg/g of the LGS in the rats. Results are shown as mean±S.E. *, P<0.05 as compared with the corresponding data of control group. **, P<0.01 as compared with the corresponding data of control group.

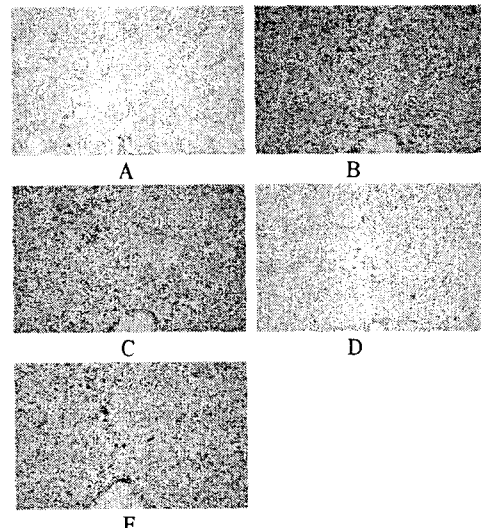


Fig. 4. Representative microphotographs of coronal sections for observation of c-fos expression in the central gray.

As compared with density of B group, that of The density of D group(P<0.05), E groups(P<0.01) was decreased A:Normal, B:Control, C:LGS-1, D:LGS-2, E:LGS-3. × 200.

고찰

신경원성 또는 신경병리성 동통은 C-섬유들의 감각에 의한 동통(위해수용성 동통)을 제외하고는 말초 혹은 중추신경조직 자체의 직접적인 자극에 의하여 발생하는 동통을 가리키며 신경원성 또는 신경병리성 동통으로 서로 바꾸어 사용될 수 있다. 이 부류의 예를 들면 좌골신경통, 삼차신경통, 대상포진, 외상등이 해당된다³⁾.

신경 병리성 동통은 일반적으로 신경의 구조나 기능의 변화로 일어나며 구심로 차단이 동반되거나 동반되지 않고도 일어날 수 있다. 이러한 통증의 특징은 일반적으로 진통제 투여에는 반응하지 않으며, 동통의 성질이 작열감, 부당한 고통, 아픔, 쓰는 듯한 난절통, 지각과민, 통각과민, 이질통등으로 표현되고, 많은 경우에 있어 감각 장애가 동반된다. 보통 末梢 神經의 損傷이나 疾患이 慢性 神經 病理性 痛症을 유발할 수 있으며 신경종, 작열통이나 교감신경성 통증이 원인이 되기도 한다^{3,10)}.

신경병리성 동통은 크게 2 가지로 나눌 수 있는데, 교감신경계 관련 동통(sympathetically maintained pain : SMP)과 교감신경계 무관 동통(sympathetically independent pain : SIP)이다. 어떤 신경병리성 동통이 교감신경계 관련 동통이나 무관동통이냐는 그 증상이 교감신경계의 차단이나 교감신경계 절제술(sympathectomy)로 차단될 수 있는지의 여부에 달려 있다³⁾.

또한 신경병리성 동통은 유발자극의 유무에 따라 자극 없이 발생하는 자발통증과 자극에 의존적인 유발통증으로 나누어 생각 할 수 있다. 자발통증은 지속성 통증 또는 발작성 통증으로 나타나며, 유발통증은 역치 이하의 비유해 자극에 의한 통증과 유해자극에 의한 통증으로 분류되는데 비유해 자극의 종류에 따라 물리적 이질통과 온도 이질통으로 구분되며 물리적 이질통은 자극 성격에 따라 역동적

이질통과 정적 이질통으로 구분되며 온도 이질통은 냉각 이질통과 열각 이질통으로 구분된다¹¹⁻¹²⁾.

신경의 손상으로 인한 신경 병리성 동통은 매우 참기 힘든 것이며, 아편계 약물을 비롯한 통상적인 진통제를 사용하더라도 자주 재발된다. 아편계 약물을 사용하면 통증이 쉽게 가라앉지만 부작용 때문에 제한점이 많다. 대표적인 부작용으로는 호흡이 억제될 수 있는 것처럼 위험하기도 하고, 변비, 구역질과 같은 증상이 나타나기도 한다. 그러나 신경계의 질병이나 손상으로 유발되는 신경병리성 동통에는 별로 효과적이지 못하다. 때문에 신경병리성 동통의 발생기전과 통증 억제를 연구하기 위한 동통 모델의 필요로 인해 신경절제 모델이 개발되어 오랫동안 사용되어 왔다²⁾.

신경절제 모델에서는 말초신경이 완전히 절제되어 구심성 입력이 차단된 행동증상이 나타나게 되나 말초신경의 완전한 절제에 의한 구심성 입력차단은 실제상황에서 많이 발생하는 임상적인 경우를 대표하지 못한다. 임상적인 사례에서는 일부의 신경이 온전히 남아 있으므로, 온전한 신경을 따른 전도가 가능하면 이 전도 자체가 神經病理性 疼痛에서 관찰되는 과통증이나 이질통과 관계가 있기 때문이다¹³⁾.

따라서 실제 임상적인 증상과 매우 유사한 末梢 神經 病理性 疼痛 모델이 다양하게 개발되었다. 첫째, Bennett과 Xie¹⁴⁾의 만성적 압박 손상 모델은 좌골신경의 둘레 4군데를 chronic gut으로 느슨하게 묶어서 신경에 손상을 준다. 둘째, Selzer¹⁵⁾ 등의 모델은 좌골신경의 일부를 완전히 절찰하는 부분적 좌골신경 절찰 모델이며, 셋째로 Kim과 Chung¹⁶⁾은 요수 5 번과 요수 6 번을 완전히 절찰하는 척수 신경 절찰 모델을 개발 하였다. 마지막으로 DeLee¹⁷⁾ 등이 개발한 좌골신경동통 모델은 좌골신경을 동결시키는 방법을 사용하여 신경병리성 동통을 유발하는 모델이다. 이 네 가지 모델은 각각 나름대로 독특한 이점을 가지고 있으나 반면에 문제점들도 많다. 이에 Lee¹⁸⁾ 등은 좌골신경이 세 개의 분지로 나누어지

는 지점에서 경골신경(tibial nerve)와 비복신경(sural nerve) 및 총비골신경(common peroneal nerve)중 하나는 손상시키지 않고 남기고 나머지 2 개의 신경을 손상시킨 집단을 만들고(3개 집단), 이에 부가하여 세 가지 신경을 모두 절제한 집단(좌골신경절제 모델과 동일)과 좌골신경의 절반을 차지하는 tibial nerve만 손상시킨 집단, 신경을 노출만 시키고 손상시키지 않는 채 남겨두는 정상통제집단으로 나누어 실험하였는데 최종적으로 common peroneal nerve는 남겨두고, tibial nerve, sural nerve를 손상시켰을 때 가장 격심하고 신뢰도가 높은 동통 증상이 관찰되었다.

이러한 실험모델을 응용하여 황⁸⁾과 정⁹⁾은 전침 자극과 後谿·委中穴을 이용한 실험을 시행하여 유효한 효과를 얻었다. 그러나 이러한 실험 모델을 이용한 약물 실험에 대해서는 아직 접하지 못하였다.

이에 저자는 가장 인간의 신경병리성 동통에 흡사한 신경 병리성 동통 모델을 선택하여 口眼喎斜·三叉神經痛 및 顔面部的 일절 통증을 치료하는 理氣祛風散을 구강투여하여 白鼠의 신경병리성 동통 억제 및 뇌 신경세포의 c-Fos 단백질 발현에 미치는 영향을 관찰하였다.

理氣祛風散은 龔이 創案하여 《古今醫鑑》에 최초로 기재한 처방으로 “治 口眼喎斜”⁷⁾하는 효능을 가지고 있으며, 以後 여러 醫書에서 原方 또는 變方의 형태로 인용되어 왔다.

許¹⁹⁾의 《東醫寶鑑》에서는 《雜病篇·風門》에 기재되어 있으며 “治中風喎斜”라고 하였다.

본래의 처방은 靑皮, 南星(制), 半夏(制), 天麻, 羌活 1錢, 陳皮, 枳殼, 烏藥, 川芎, 防風 8分, 桔梗, 白芷, 荊芥, 白芍藥 7分, 甘草 6分으로 구성되어 있으나, 본 實驗에서는 《東醫寶鑑》에 기재된 처방 구성을 따랐다.

한의학에서는 통증의 원인에 대해 《黃帝內經素問·舉痛論》⁴⁾에 “經脈流行不止, 環周不休, 寒氣入經而稽遲, 泣而不行, 客於脈中則氣不通, 故卒然而痛”이라고 했고, 張⁵⁾은 “通則不痛, 不通則痛”등으로 인

식하였다. 神經 病理性 疼痛의 증상에 해당하는 표현으로는 《諸病源候論·四肢痛無常處候》⁶⁾에서 “其痛處不腫, 色亦不異, 但肉裏擊痛與錘刀所刺”라 하여 신경통의 격렬한 증상을 구체적으로 표현하고 있다. 한의학에서 동통의 발생은 經絡氣血의 運行阻滯, 즉 不通則痛으로 보고 氣血運行이 阻滯하게 되면 經脈의 영양작용이 失調되어 麻木이 발생하게 되며 또한 인체 국소의 經脈 氣血이 壅阻하게 되므로 流行而不暢하고 氣血이 凝滯되면서 국소조직에 腫脹, 疼痛이 발생하게 된다고 하였다. 때문에 이에 대한 치료 역시 經脈을 소통시켜 氣血을 조화롭게 하고 陰陽의 平衡을 조절하여 臟腑를 조화롭게 하는 방법을 사용하게 된다. 신경병리성 통증은 한의학에서는 痺의 범주로 볼 수 있는데, 《黃帝內經素文·痺論》⁴⁾에서 “痺者閉也, 氣血凝滯不行也, 有風寒濕三氣之痺, 有皮氣脈筋骨五臟外合之痺”라 하여 風寒濕의 三邪로 인한다고 보고 있다.

본 실험에 사용된 理氣祛風散은 理氣, 祛風하는 효능을 가진 약물²⁰⁾을 주로 사용하였음을 이름을 통해서도 유추할 수 있는 처방으로 주로 風寒濕邪에 의한 經絡氣血의 運行阻滯로 인한 모든 질환, 특히 口眼喎斜 및 三叉神經痛과 같은 神經病理性 痛症疾患에 이용되어 왔다.

본 실험에서 시행한 행동학적 검사 중 물리적 자극에 대한 회피 반응의 측정에 사용한 von frey filament는 구부러질 때의 압력이 일정하여 동일한 자극을 가할 수 있으며 이때 이질통이 발현된다. 이러한 이질통은 회피 반응으로 나타나 이를 정량화하여 객관적으로 증명할 수 있어 가장 많이 사용하는 방법이다.²¹⁾ 또한 냉각 자극에 대한 회피 반응은 비록 비특이적이기는 하지만 신경병리성 통증에서 민감도가 큰 척도이므로^{22,23)} 본 실험에서 채택하였으며 100% acetone을 접촉시켜 증발에 의한 표면 온도의 감소를 이용하는 방법이다.

신경병리성 동통유발 후 理氣祛風散 구강투여가 von frey filament 자극으로 유발된 물리적 이질통 반응에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과, 1 일째에

Normal군은 7.1±2.88 %, Control군은 27.1±6.80 %, LGS-1군은 28.6±10.10 %, LGS-2군은 25.7±8.69 %, LGS-3군은 25.7±6.85 %를 나타내어 Control군에 비해 각 실험군들은 유의한 변화를 보이지 않았다. 구강투여가 진행됨에 따라 Control군에 비해 LGS-2군이 7 일째에 유의하게 감소하였고(P<0.05), LGS-3군이 6, 7 일째에 유의하게 감소하였다(P<0.05)

신경병리성 동통유발 후 理氣祛風散 구강투여가 acetone 자극으로 유발된 냉각 이질통 반응에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과, 1 일째에 Normal군은 21.4±3.40 %, Control군은 50.0±3.09 %, LGS-1군은 48.6±9.62 %, LGS-2군은 45.7±12.70 %, LGS-3군은 52.9±10.17 %를 나타내어 Control군에 비해 각 실험군들은 유의한 변화를 보이지 않았다. 구강투여가 진행됨에 따라 Control군에 비해 LGS-3군이 6, 7 일째에 유의하게 감소하였다(P<0.05)

실험 결과를 살펴보면 물리적 이질통에 있어 실험군들이 초기에는 반응을 보이지 않다가 LGS-2군이 7 일째에 LGS-3군이 6, 7 일째에 유의하게 감소하였다. 그러나 LGS-2군의 결과를 살펴보면 물리적 이질통의 감소가 약물의 투여일수나 용량에 비례하지 않고 불규칙한 패턴을 보이고 있어 理氣祛風散의 투여와 물리적 이질통의 감소가 직접적인 관계가 있다고 보기 힘들었다. 냉각 이질통에 있어서도 초기에는 별다른 반응을 보이지 않다가 LGS-3군이 6, 7 일째에 유의한 감소를 나타냈지만 물리적 이질통과는 다르게 지속적인 감소 패턴을 보임으로서 투여일수나 용량에 비례하여 일정정도 이상 약효가 축적되면 냉각 이질통이 감소되는 것을 알 수 있었다. 실험군 결과에 근거하여 理氣祛風散이 신경 병리성 동통에 미치는 영향을 임상치료에 적용하면 냉각 이질통의 양상을 나타내는 신경 병리성 동통에 최소 6 일 이상 약물 치료를 시행하여 약효가 축적되도록 해야 하며 가능한 한 대용량을 사용하는 것이 최적의 효과를 나타낼 것으로 사료된다.

여러 가지 동통자극을 주면 동통과 관련된 척수 및 그 상위 신경계의 신경세포들은 활성화 된다. 무

수히 많은 신경전달 물질에 의해 이 통각정보들은 중추신경계로 전달되게 되는데 각각의 신경전달 물질로 추적하는 방법보다는 신경세포의 공통적인 인자를 사용하기 편리할 것이다. 이 편리한 추적자가 바로 조기발현유전자이다. 조기발현 유전자는 매우 짧은 반감기를 갖는 mRNA를 생산하기 때문에 순식간에 발현되는 특성이 있다. 그러므로 세포가 자극을 받았을 때 저 농도에서도 쉽게 발현하게 되는 것이다²⁴⁻²⁵.

따라서 조기발현 유전자인 c-fos, c-Jun 등은 동통 등의 스트레스 인자들과 관련된 신경로와 뇌활동의 양상을 추적하는 신경해부학적 표식자로 다용되고 있다. 그 중 c-fos 는 쥐골육종 바이러스에서 발현되는 원종양유전자인 v-fos 의 세포 동족체로서 성장 인자나 신경전달 물질에 의해 수분내에 다양한 형태의 세포에서 활성화 된다.²⁶ 동통자극 후 척수 후각의 신경원에서 c-fos 가 발현되므로 Humi²⁷가 척수 후각의 통각로의 활성을 측정하기 위해 c-fos mRNA 의 산물인 c-fos 단백을 항원으로 하는 면역조직학적 방법을 최초로 이용한 이래, 말초신경에 여러 가지 체성 및 내장성 동통침해 자극을 가했을 경우 척수 및 뇌에서 c-fos 발현에 대한 많은 연구가 보고되었으며²⁸⁻³³, 현재 이 기법은 진통 효과를 검증하는 최상의 형태학적 방법으로 평가되고 있다.⁸ 이 조기발현 유전자가 신경세포에서만 발현되는 것은 아니지만 신경세포의 활성도를 측정하는 추적자로 적합하다고 결론 내린 연구결과들이 많으며 c-fos 가 흔히 사용된다³⁴⁻³⁵. c-fos 가 발현하는 핵단백질 Fos는 여러 가지 자극에 의해 빠르고 일시적으로 발현되어³⁶⁻³⁷, 제3의 중재자로 기능하여 장기적으로 세포를 적응시킨다. 따라서 세포가 자극과 관련되어 조기유전자인 c-fos 등을 유발하는 것은 세포활동의 표식자로서 기능할 뿐 아니라 생리적으로 세포가 장기적 적응을 필요로 하는 환경의 중요한 변화를 일어났음을 의미한다. 또한 황³⁸등의 보고에 의하면 c-fos는 동통자극에 의해 뇌의 특정부위에서 특이하게 발현된다고 보고하였다.

이에 본 실험에서는 신경병리성 동통유발 후 理氣祛風散 구강투여가 미치는 central gray 부위의 c-Fos 단백질 발현정도를 분석한 결과, Normal군은 14.3±2.04, Control군은 45.0±3.53, LGS-1군은 33.8±4.30, LGS-2군은 22.6±4.80, LGS-3군은 17.0±2.00을 나타내었다. 각 군별의 변화 비교에서 대조군에 비하여 LGS-2군(P<0.05), LGS-3군(P<0.01)에서 유의한 감소를 보였다. 이는 물리적 이질통, 냉각 이질통과 마찬가지로 LGS-2군과 3군에서 유효한 효과가 있었고 특히 2군에 비해 3군이 유효한 효과를 얻은 것으로 미루어 보아 대용량을 사용하면 할수록 보다 강한 진통 효과를 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

본 실험은 기존의 실험들이 주로 神經病理性 疼痛의 억제에 위해 刺鍼과 電針刺戟을 이용한 것임에 반해, 口眼喎斜나 三叉神經痛에 사용하는 理氣祛風散과 같은 한약제제의 구강투여를 통해서도 神經病理性 疼痛의 진통이 가능함을 증명하고자 한 실험이다. 실험결과로 볼 때 理氣祛風散을 가장 고농도로 투여한 LGS-3군에서 가장 유효한 효과를 나타내었고, 신경병리성 동통의 성질이 냉각 이질통일 경우 유효한 효과를 나타내었다. 이로 미루어 볼 때 임상적으로 坐骨神經痛, 帶狀疱疹, 三叉神經痛과 같은 神經病理性 疼痛症候群중 냉각 이질통의 양상을 보이는 경우 가능한 한 대용량의 약을 일정기간 이상(일주일 이상) 투여해야 만족할 만한 진통 효과를 얻을 수 있을 것으로 사료된다. 덧붙여 기존의 실험결과들과의 비교·분석 및 보다 적극적인 임상 응용을 위해 刺鍼과 藥物의 구강 투여를 병행하거나 비교하는 실험이 앞으로 계속되어야 할 것으로 사료된다.

다만 아쉬운 것은 본 실험의 경우 실험의 모델이 물리적 이질통과 냉각 이질통 및 c-Fos 단백질 측정을 이용한 것으로 신경 병리성 동통의 양상 중 가장 흔한 작열통과 같은 온열각의 이질통을 측정할 수 있는 방법이 없어 아쉬움을 주고 있다. 그러므로 더욱 정밀한 실험을 위해 다양한 실험모델의 개발이 시급

할 것으로 생각된다.

결론

신경병리성 동통이 유발된 백서에 대하여 理氣祛風散 구강투여가 물리적 이질통, 냉각 이질통, c-Fos 단백질 발현 등에 미치는 영향을 측정된 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 理氣祛風散 구강투여가 물리적 이질통 반응에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과, 대조군에 비해 구강투여가 진행됨에 따라 Control군에 비해 LGS-2군이 7일째에 유의하게 감소하였고, LGS-3군이 6, 7 일째에 유의하게 감소하였다.
2. 理氣祛風散 구강투여가 냉각 이질통 반응에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과, 대조군에 비해 구강투여가 진행됨에 따라 Control군에 비해 LGS-3군이 6, 7일째에 유의하게 감소하였다.
3. 理氣祛風散 구강투여가 central gray 부위의 c-Fos 단백질 발현에 미치는 정도를 관찰한 결과 대조군에 비하여 LGS-2군, LGS-3군에서 유의한 감소를 보였다.

참고 문헌

1. Mitchell, S, W. Injuries of Nerve and Their Consequences, J. B. Lippincott, Philadelphia, PA ; p252, 1872.
2. Wall, P. D. Devor, M, Inbal, R, Scadding, J. W, Schonfeld, D, Seltzer, & Tomkiewicz, M. M. Autotomy following peripheral nerve lesions ; experimental anaesthesia, Pain ; pp103-113, 1979, 7.
3. 아담스 신경외과 편찬위원회 : 신경과학 Vol 1, 서울, 도서출판 정담, p134, 1998.

4. 南京中醫學院 編著, 黃帝內經素問譯釋, 上海, 上海科學技術出版社, pp278, 361, 305-312, 652, 1997.
5. 張景岳, 類經(上), 서울, 대성출판사, pp372-375, 1982.
6. 丁光迪 主編, 諸病源候論校注(下), 北京, 人民衛生出版社, p854, 1992.
7. 중의 방제 대사전 Vol 7, 북경, 인민위생출판사, p20, 1996.
8. 황병길, 유기용, 미병일, 김지훈, 박동석 : 신경병 증성 통증에 대한 전침자극 효과의 연구, 대한침구학회지 ; 18(6) : pp215-224, 2001.
9. 정정희, 윤대환, 나창수, 유충열, 윤여충, 조명래 : 후계, 위중, 후계배위중 침자가 백서의 신경병리성 동통억제 및 c-fos 단백 발현에 미치는 영향, 대한침구학회지; 21(1) : pp240-251, 2004.
10. 김진호, 한태륜 : 재활의학, 군자출판사, 서울, pp492-493, 2003.
11. Woolf CJ, Mannion RJ : Neuropathic pain : aetiology, symptoms, mechanisms, and management. Lancet ; 353 : pp1956-1964, 1999.
12. Serra J : Overview of neuropathic pain syndromes, Acta Neural Scand : pp7-11, 1999.
13. 이배환, 손진훈, 박용구 : 신경병리성 통증과 이편계 약물의 효능, 한국뇌학회지 : pp53-64, 2001 ;1(1).
14. Bennett, G. J. & Xie, Y. K. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man, Pain ; 33 : pp87-107, 1988.
15. Seltzer, Z, Dubner, R, & Shir, Y, A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury, Pain ; 43 : pp205-218, 1990.
16. Kim, S. H & chung, J. M. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat, Pain ; 50 : pp355-363, 1992.
17. DeLeo, J. A, Coombs, D. W, Willenbring, S, dolburn, R. W, Fromm, C, Wagner, R. & Twitchell, B. B. Characterization of a neuropathic pain model : Sciatic cryoneurolysis in the rat, Pain ; 56 : pp9-16, 1994.
18. Lee, B. H, Baik, E. J, Lee, S. H, & Moon, C. H. Injuries of differentially produce neuropathic pain in rats, Abstracts-8th World Congress on Pain : 27, 1996.
19. 許俊 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, p520, 1966.
20. 신민교 편저 : 임상본초학, 서울, 영림사, 1986, pp172, 240, 320, 321, 326, 338, 466, 469-470, 483-484, 530, 628, 724, 744, 749, 819.
21. Shir Y, Seltzer Z : Effects of sympathectomy in a model of causalgiform pain produced by partial sciatic nerve injury in rats, Pain ; 45 : pp309-320, 1991.
22. Heavner JE, Calvillo O, Racz GB : thermal grill illusion and complex regional pain syndrome type I (reflex sympathetic dystrophy), Reg Anesth ; 22 : pp257-259, 1997.
23. Wahren LK, Torebjörk E, Nystrom B : Quantitative sensory testing before and after regional guanethidine block in patients with neuralgia in the hand, Pain ; 46 : pp23-30, 1991.
24. Sheng M, McFadden G, Greenberg ME : Membrane depolarization and calcium induce c-Fos transcription via phosphorylation of transcription factor CREB, Neuron ; 4 : pp571-582, 1990.
25. Sheng M, Greenberg ME : The regulation and function of c-Fos and other immediate early genes in the nervous system, Neuron ; 4 : pp477-485, 1990.
26. Greenberg ME, Greene LA, Ziff EB : Nerve growth factor and epidermal growth factor induce rapid transient changes in protooncogene transcription in PC12 cells, J BiolChem ; 260 : pp14101-14110, 1998.
27. Hunt SP, Pini A, Evan G : Induction of c-fos-like

- protein in spinal cord neurons following sensory stimulation, *Nature* ; 328 : pp632-634, 1987.
28. Abbadie C, Besson JM : c-fos expression in rat lumbar spinal cord following peripheral stimulation in adjuvant-induced arthritic and normal rats, *Brain Res* ; 607 : pp195-204, 1992.
29. Abbasie C, Besson JM, Calvuno B : c-fos expression in the spinal cord and pain-related symptoms induced by chronic arthritis in the rat are prevented by pretreatment with Freund adjuvant. *J Neurosci* ; 14 : pp5865-5871, 1994.
30. Abbasie C, Besson JM : Chronic treatments with aspirin or acetaminophen reduce both the development of polyarthritis and Fos-like immunoreactivity in rat lumbar spinal cord. *Pain* ; 57 : pp45-54, 1994.
31. Lanteri-Minet M, Weil-Fugazza J, de Pommery J, Menetrey D : Hindbrain structures involved in pain processing as revealed by the expression of c-fos and other immediate early gene proteins. *Neurosci* ; 58 : pp287-298, 1994.
32. Traub RJ, Silva E, Gebhart GF, Solodkin A : Noxious colorectal distention induced-c-fos protein in limbic brain structures in the rat. *Neurosci Lett* ; 215 : pp165-168, 1996.
33. Laudanna A, Nogueira MI, Mariano M : Expression of Fos protein in the rat central nerve system in response to noxious stimulation : Effects of chronic inflammation of the superior cervical ganglion. *Braz J Med Biol Res* ; 31 : pp847-850, 1998.
34. Harris JA, Using c-Fos as a neural marker of pain. *Brain Res. Bull* ; 45 : pp1-8, 1998.
35. Redburn JL, Leat JD : Accelerated breakdown and enhanced expression of c-Fos in the rat brain after noxious stimulation. *Neurosci Lett* ; 237 : pp97-100, 1997.
36. Bullitt E : Induction of c-fos-like protein within the lumbar spinal cord and thalamus of the rat following peripheral stimulation. *Brain Res* ; 493 : pp391-397, 1989.
37. Bullitt E : Expression of c-Fos-like protein as a marker for neuronal activity following noxious stimulation in the rat. *J Comp Neurol* ; 296 : pp517-530, 1990.
38. 황규근, 심녕동, 유기수 : 포르말린에 의한 동통 자극이 흰 쥐 뇌 신경세포의 c-fos 단백질 발현에 미치는 영향, *대한소아신경학회지* ; 7(1) : pp29-41, 1999.