

足三里 羌活藥鍼이 생쥐의 Collagen-induced arthritis에 미치는 영향

박현선¹ · 임윤경¹ · 이병렬¹

¹대전대학교 한의과대학 경혈학교실

A Study on the Effects of Herbal-acupuncture with *Notopterygii Radix* solution at ST36 on CIA in Mice

Hyeun-Sun Park¹, Yun-Kyoung Yim¹, Byung-Ryul Lee¹

¹Dept. of Meridian & Acupoint, College of Oriental Medicine, Daejeon University

Abstract

Objective & Methods : This study is performed to observe the effect of Herbal-acupuncture with *Notopterygii Radix Herbal-Acupuncture Solution*(NR-HAS) at Joksamni(ST36) on Collagen II-induced arthritis (CIA) in DBA/1J mice.

Result :

1. The highest survival rate of mice lung fibroblasts were measured in the 1% NR-HAS, and the expression of TNF- α in synovial cells were significantly decreased in the 1% and 10% NR-HAS.
2. The incidence of arthritis and the spleen weight were significantly decreased by *Notopterygii Radix* Herbal-acupuncture(NR-HA) at ST36.
3. The levels of IL-6, INF- γ , TNF- α , IgG, IgM, anti-collagen II in serum of CIA mice were significantly decreased by NR-HA at ST36.
4. In histology, the cartilage destruction and synovial cell proliferation were decreased by NR-HA at ST36, and the collagen fiber expressions in the NR-HA I·II groups were similar with that of the normal group.
5. In lymph node, the expression ratios of CD3e⁺ to CD19⁺ cell and CD4⁺ to CD8⁺ cell in the NR-HA I·II groups were similarly maintained as those in the normal group.
6. In lymph node, CD69⁺/CD3e⁺ cells and CD11a⁺/CD19⁺ cells were decreased by NR-HA at ST36.
7. In the articular joint, CD11b⁺/Gr-1⁺ cells were decreased by NR-HA at ST36.
8. NR-HA at ST36 did not make a considerable difference in DBA/1J mice without CIA
9. Throughout the overall experimental result, NR-HA I group showed more predominant effect than the NR-HA II group.

Conclusion : These results suggest that NR-HA at ST36 has an effect to control synovial cell proliferation and cartilage destruction in rheumatoid arthritis, as well as prophylaxis is important to treat rheumatoid arthritis in clinic.

Key words : *Notopterygii Radix*, Herbal-Acupuncture, ST36, Collagen-induced arthritis(CIA)

· 교신저자 : 이병렬, 대전광역시 동구 용운동 96-3 대전대학교 한의과대학 침구학교실 Tel. 042-280-2641, Fax. 042-280-2610,
E-mail : kolbr@hanmail.net

· 접수 : 2005/06/10 · 수정 : 2005/03/20 · 채택 : 2005/06/21

I. 緒 論

류마티오이드 關節炎(이하 RA)은 원인 불명의自家免疫疾患의 일종으로 關節內 滑膜組織의慢性炎症性疾患이며, 여러 關節에 비특이적炎症反應을 일으켜 軟骨과 骨破壞로 인해 關節의破壞와 變形을 招來한다^{1,2)}.

韓醫學에서 關節炎은 歷節風³⁾, 鶴膝風³⁾, 白虎歷節風³⁾, 痛風³⁾, 痺症³⁾, 風痺⁴⁾ 등의 範疇에 屬하며, 原因은 風寒濕 外因⁵⁾과 七情⁵⁾, 氣血虛의 內因⁵⁾ 및 膏粱珍味와 過飲⁶⁾ 등의 不內外因으로 分類하고⁷⁾, 症狀으로 肢體, 筋肉, 關節 등에 疼痛, 痠楚, 麻木, 重着, 屈伸不利, 關節腫脹 등을 일으키는 疾患⁸⁾으로 볼 수 있다.

藥鍼療法은 經絡學說과 藥物療法에 根據하여 經穴과 藥物을 選擇하고 藥鍼液을 經穴內에 注入하여 經穴과 藥物이 疾病에 대해 綜合的인 作用을 充分히 發揮하여 疾病을 治療하는 方法이다⁹⁾.

最近 RA에 대한 韓醫學的 研究로 RA를 실험 모델로 설정한 藥鍼研究^{10,11)}가 활발히 이루어지고 있는데, 紅花, 秦芫, 草烏 등의 藥鍼液이 adjuvant 關節炎에, 澤蘭, 赤芍藥, 木防己 등의 藥鍼液이 collagen 誘發 關節炎에 有意性있음을 報告하였으나, 發散風寒, 祛風濕止痛 하는 羌活藥鍼에 대한 實驗報告는 없었다.

이에 著者는 Collagen-induced arthritis(CIA)가 誘發된 mouse의 足三里(ST36)에 羌活藥鍼을 시술하여 류마티오이드 關節炎에 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材料

1) 動物

動物은 6~7週齡의 雌性 DBA/1J 생쥐를

Slc(Japan)에서 공급받아 實驗 當日까지 固型飼料(抗生劑 無添加, 삼양사료)와 물을 充分히 供給하고, 室溫 22±2℃를 維持하여 2週日 間 實驗 室環境에 適應시킨 後 實驗에 使用하였다.

2) 藥材

實驗에 使用된 羌活(notopterygii radix; 이하 NR로 표기)은 大田大學校 附屬韓方病院에서 구입한 것을 精選하여 使用하였다.

3) 藥鍼液의 選定

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)에 의한 in vitro screen -ing을 통해 關節炎 抑制效果가 예상되는 濃度の 藥鍼液을 選定하였다.

4) 藥鍼液의 製造

粉碎機를 利用해서 羌活 55 g을 粉碎하여 粉末로 만들어, 圓形 三角 flask에 넣고 蒸溜水 500 ml를 加하여 3時間 동안 shaking water bath에서 流出한 후, 流出液을 濾過하였다. 이 濾過液을 濾過紙로 3回 濾過한 후, rotary evaporator에 減壓濃縮 하였다. 이 濃縮液에 95 % ethyl alcohol 30 ml를 加하여, 室溫에서 攪拌한 후 放置하여, 沈澱物이 生成되게 한 후 濾過하였다. 이 濾過液을 rotary evaporator로 減壓濃縮하한 후, 濃縮液을 다시 濾過 하였다. 이 濾過液에 85 % ethyl alcohol 30 ml를 加하여 잠시 攪拌 후 放置하여, 沈澱物이 生成되게 한 후 濾過하였다. 濾過液에 75 % ethyl alcohol 30 ml를 加하고 攪拌한 후 放置하였다가 濾過하는 操作을 2回 反覆하였다. 濾過液中的 ethyl alcohol 成分을 rotary evaporator로 減壓 除去하고, 남은 濃縮液이 20 ml가 되게 하였다. 1N NaOH를 이용하여 濃縮液을 pH6.8이 되도록 調節하고, 低溫에서 12時間 放置한 후 滅菌하였다. 滅菌된 濃縮液

에 인산완충생리식염수(PBS)를 加하여 1 %로 稀釋하여 藥鍼液으로 使用하였다

2. 方法

1) in vitro

(1) 細胞毒性 測定

細胞毒性 測定方法은 SRB assay 법을 약간 變형하여 實驗하였다.

① Mouse lung fibroblast cell(mLFC) 培養

BALB/c 생쥐의 lung 조직을 cool-D-PBS로 3회 洗滌한 후 작은 조각으로 切斷하여 conical tube(15 ml)에 넣어 1,400 rpm에서 5분간 원심 분리하고 tube에 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM; containing collagenase A(5 mg/ml)와 DNase type(0.15 mg/ml), antibiotics (penicillin 10^4 U/ml, streptomycin 10 mg/ml, amphotericin B 25 μ g/ml)을 넣고 37 $^{\circ}$ C 5 % CO₂ 배양기에서 2시간 동안 培養하였다. 0.5 % trypsin -0.2 % EDTA를 添加하고 30분간 계속 培養한 후 PBS로 약 2회 1,500 rpm에서 원심 분리하였다. DMEM-10 % FBS에 일주일 동안 培養한 후 0.5 % trypsin-0.2 % EDTA로 mLFC 細胞를 分離하여 DMEM-5 % FBS 배양액에 10^5 cells/ml 濃度로 맞추어 96 well plate에 분주 하였다.

② SRB assay 법

mLFC 細胞는 37 $^{\circ}$ C 5 % CO₂ 배양기에서 1시간 培養한 후 羌活藥鍼液(1 %, 5 %, 10 %, 25 %, 50 %, 100 %)을 처리하여 48시간 동안 培養 하였다. 培養 후, 培養液을 버리고 PBS로 2회 洗滌하였다. 각 well에 50 % TCA(trichloroacetic acid) 50 μ l를 가하여 4 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 放置한 후 蒸溜水로 5회 洗滌한 다음 well plate

를 공기 중에서 乾燥하였다. 각 well당 100 μ l씩 SRB(0.1 % acetic acid)용액을 가하고 室溫에서 30분간 염색하였다. 그리고 0.1 % acetic acid로 4회 洗滌한 다음 공기 중에서 乾燥하고 10 mM Tris Base로 각 well당 100 μ l씩 溶解시켰다. 이 plate를 plate shaker에서 5분간 shaking 한 후 흡광도(540 nm)를 測定하였다

(2) Screening

關節炎이 유발된 DBA/1J mouse 關節에서 分離해낸 synovial membrane 組織을 잘게 切斷한 후 collagenase를 加하여 shaking incubation을 통해 細胞를 分離하였다. 分離해 낸 細胞를 DMEM-10 % FBS를 加하여 37 $^{\circ}$ C 5 % CO₂ 배양기에서 3주간 培養하였다. 培養한 細胞를 24 well plate에 각 well당 5×10^5 cells(DMEM)로 분주하여 12시간 培養한 후 藥鍼液을 加하여 1시간 동안 培養하였다. rTNF- α /rIL-1 \square 를 처리한 후 3시간 동안 培養하고 supernatant를 分離하여 ELISA로 screening 하였다.

2) in vivo

(1) Collagen-induced arthritis(CIA) mouse model 작성

Collagen type II(CII)를 0.05N acetic acid 로 녹여 2 mg/ml로 만들고, 같은 양의 Freund's complete adjuvant(FCA)로 混合하여 2 ml로 만들어, 이 溶液에 녹아 있는 CII의 濃度가 1 mg/ml 이 되도록 하였다.

DBA/1J 생쥐 10마리씩을 한 군으로 하여 Normal群, Control群, Saline群, N.P(needle prick)群, 羌活藥鍼 I (NR-HA I)群, 羌活藥鍼 II (NR-HA II)群의 6群으로 나누고, Normal群을 제외한 각 群에 CII를 2차(0일, 21일)에 걸쳐 각 0.1 ml(CII 100 μ g)의 CII를 꼬리 基部에 接種하였다.

Control群은 CII접종 이외의 처치는 하지 않았다. Saline群은 CII 2차 접종 이후부터 Saline 0.2 ml를 주 3회 足三里(ST36)에 注入하였고, N.P(needle prick)群은 CII 2차 접종 이후부터 주 3회 足三里(ST36)에 26 gauge 주사기를 0.5 cm 정도 깊이로 刺入하고 즉시 제거하였다.

羌活藥鍼 I (NR-HA I)群은 CII 2차 접종 이후부터 足三里(ST36)에 1 %의 羌活藥鍼液 (NR-HAS) 0.2 ml를 주 3회 注入하였고, 羌活藥鍼 II (NR-HA II)群은 CII 2차 접종 후 4주째부터 足三里(ST36)에 1 %의 羌活藥鍼液 (NR-HAS) 0.2 ml를 주 3회 注入하였다(Fig.1.).

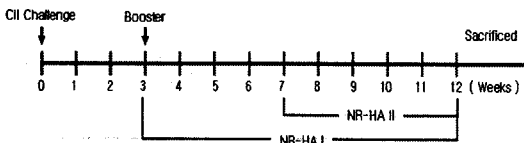


Fig. 1. Collagen-induced arthritis(CIA) mouse model

(2) 取穴

骨度分寸法에 의거하여 생쥐의 右側 足三里 (Joksamni; ST36)에 相應하는 部位를 取하였다.

(3) 關節炎 發病率 分析

CII 2차 접종 1주일 후부터 1주일 간격으로 각 實驗郡의 DBA/1J 생쥐의 다리를 관찰하여 關節炎 誘發 정도를 記錄하였다. 아래의 기준을 바탕으로 關節炎 徵候를 觀察하여 發病率 (incidence; %)을 계산하였다.

Incidence(%)=(각 단계의 關節염이 유발된 동물 수/전체 동물 수)×100

degree 0 = no arthritis

degree 1 = low degree of arthritis

degree 2 = light swelling

degree 3 = medium swelling

degree 4 = severe swelling

degree 5 = severe swelling and non-weight bearing

(4) 脾臟 무게 測定

1차 접종부터 12주간의 實驗을 종료한 후 脾臟을 摘출하여 무게를 測定하였다.

(5) Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) analysis

ELISA Kit를 使用하여, 생쥐에서 分離한 serum에서 各 cytokine량을 測定하였다. 抗 cytokine 抗體가 코팅된 96 well plate에 serum을 加하여 反應시킨 후 4번 洗滌하고, 다시 biotin이 標式된 抗cytokine 抗體를 加하여 反應시킨 후 4번 洗滌하였다. 여기에 straptavidin-HRP를 加하고 ELISA-reader를 利用하여 測定하였다.

(6) Histological analysis

DBA/1J 생쥐의 다리 關節 部位를 取하여 Cryotome을 이용하여 切片한 후, Hematoxylin and eosin염색과 Masson's Trichrome 염색을 하였다.

(7) Fluorescence activated cell sorter (FACS) analysis

① Lymph node 細胞 分析

각 군에서 截取한 Lymph node에서 細胞를 分離하여 表式抗體를 반응시켜 Flow cytometer로 分析하였다.

② 關節內 細胞 分析

생쥐에서 分離해 낸 다리관절을 잘게 切斷한 후 collagenase를 加하고 培養하여 分離해 낸 細胞에 標式抗體를 反應시켜 Flow cytometer로

分析하였다.

(8) 統計處理

통계는 Student's t-test로 하였다.

Ⅲ. 結 果

1. *in vitro*

1) 細胞毒性 測定

細胞의 生存率은 藥鍼濃度の 增價에 따라 減少하여 NR-HAS 濃度 1%에서 가장 높은 生存率을 보였다(Fig.2).

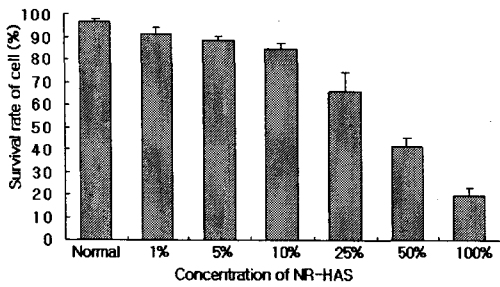


Fig. 2. The cytotoxicity of NR-HAS on mice lung fibroblasts

2) *in vitro* screening

TNF- α 는 NR-HAS 1%와 10%의 濃度에서 Control群에 비하여 有意性있게 減少하였다(Fig.3).

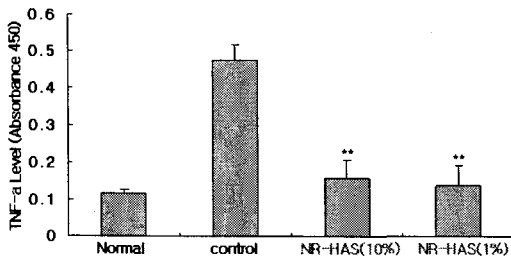


Fig. 3. Effects of NR-HAS on expression of TNF- α in synovial cells

2. *in vivo*

1) 關節炎 發病率 分析

NR-HA I·II 群의 關節炎 發病率이 Control群, Saline群 및 N.P群에 비하여 낮게 나타났으며, 특히 NR-HA I 群의 發病率이 가장 낮은 것으로 나타났다(Fig.4).

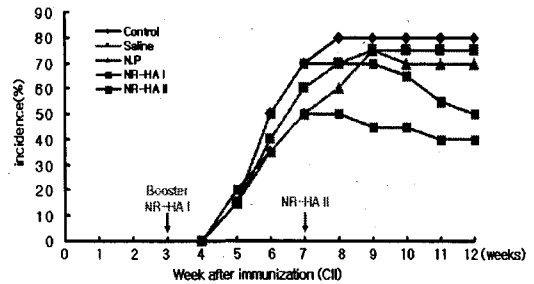


Fig. 4. Effects of NR-HA I and NR-HA II on the murine CIA incidence

2) Spleen weight analysis

NR-HA I 群에서는 Control群, Saline群 및 N.P群에 비하여, NR-HA II 群에서는 Control群, Saline群에 비하여 脾臟 무게가 減少하였다(Fig.5).

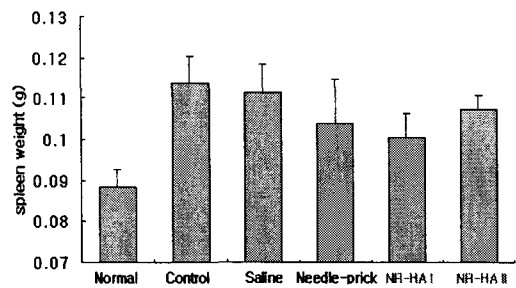
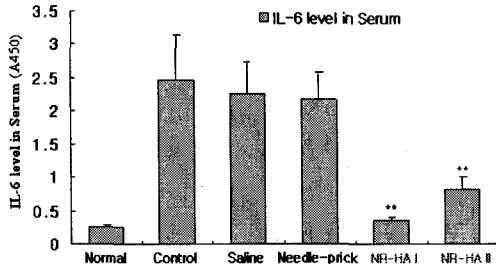


Fig. 5. Effects of NR-HA I and NR-HA II on the spleen weight of murine CIA

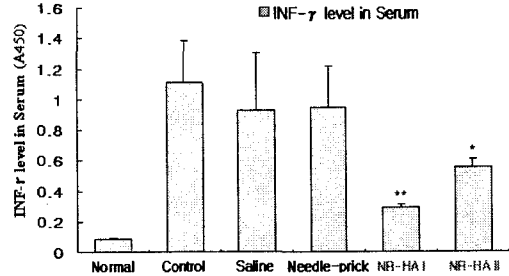
3) ELISA analysis

(1) IL-6 in serum

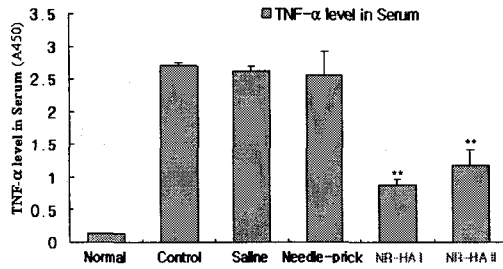
血清內 IL-6는 NR-HA I·II 群이 Control群, Saline群 및 N.P群에 비하여 有意性있게 減少하



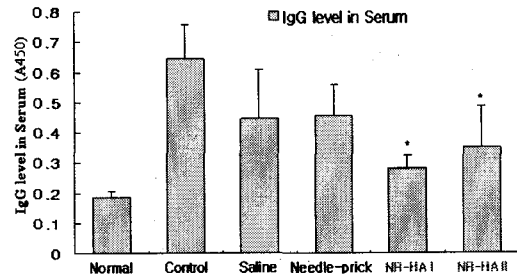
(A) IL-6 in Serum



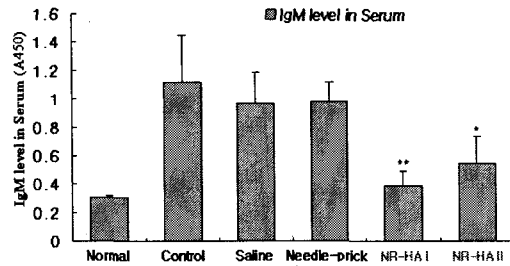
(B) INF-γ in Serum



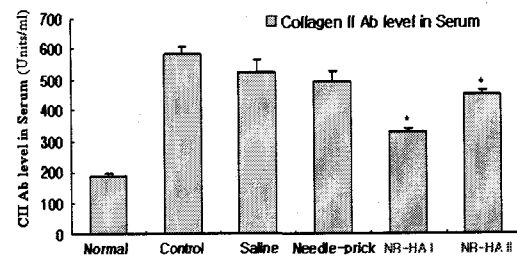
(C) TNF-α in Serum



(D) IgG in Serum



(E) IgM in Serum



(F) CII Ab in Serum

Fig. 6. ELISA analysis

였다(Fig.6).

(2) INF-γ in serum

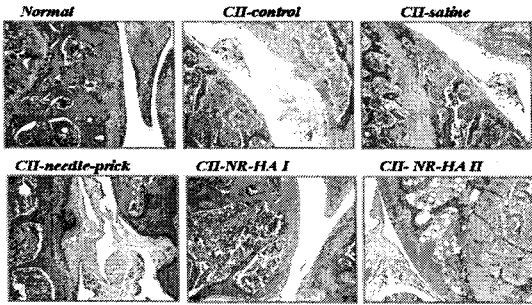
血清內 INF-γ 는 NR-HA I·II 群이 Control 群, Saline 群 및 N.P 群에 비하여 有意性있게 減少하였다(Fig.6).

(3) TNF-α in serum

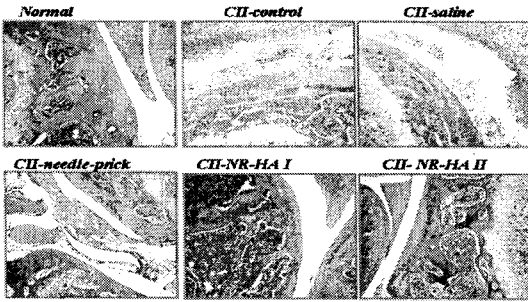
血清 TNF-α 는 NR-HA I·II 群이 Control 群, Saline 群 및 N.P 群에 비하여 有意性있게 減少하였다(Fig.6).

(4) IgG in serum

血清內 IgG 는 NR-HA I·II 群이 Control 群, Saline 群 및 N.P 群에 비하여 有意性있게 減少하였다(Fig.6).

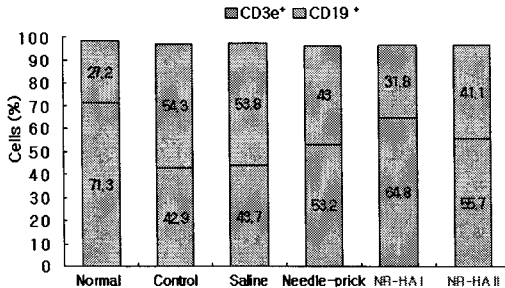


(A) The sections from mouse joint

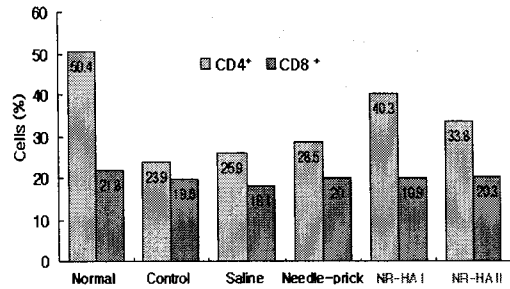


(B) The mice joint sections from mouse joint

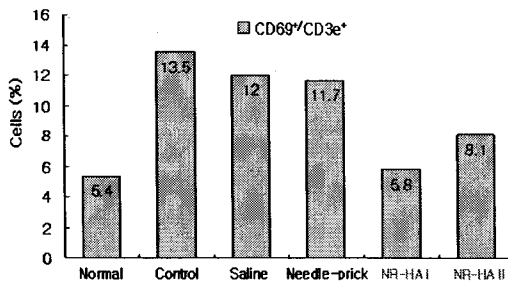
Fig. 7. Histological analysis



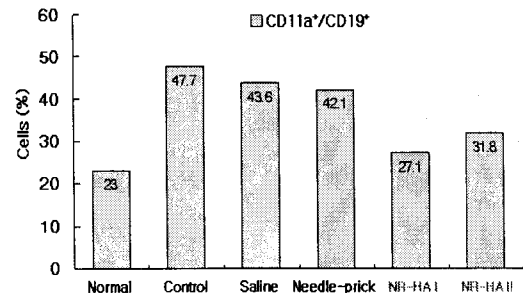
(A) Expression of CD3e⁺/CD19⁺



(B) Expression of CD4⁺/CD8⁺



(C) Expression of CD69⁺/CD3e⁺



(D) Expression of CD11a⁺/CD19⁺

Fig. 8. Effects of NR-HA I and NR-HA II analysis in CIA mouse lymph node

(5) IgM in serum

血清內 IgM은 NR-HA I·II群이 Control群, Saline群 및 N.P群에 비하여 有意性있게 減少하였다(Fig.6).

(6) Anti-collagen II in serum

血清內 Anti-collagen II는 NR-HA I·II群이 Control群, Saline群 및 N.P群에 비하여 有意性있게 減少하였다(Fig.6).

4) Histological analysis

(1) Hematoxylin and eosin stain

NR-HA I·II群이 Control群, Saline群 및 N.P群에 비하여 軟骨의 破壞와 滑膜의 增殖이 減少되어, Normal群에 가깝게 維持되었다(Fig.7).

(2) Masson's Trichrome stain

NR-HA I·II群이 Control群, Saline群 및 N.P群에 비하여 collagen fiber가 Normal群에 가깝게 維持되었다(Fig.7).

5) FACS analysis

(1) CD3e⁺ 및 CD19⁺ cell percentage

림프절에서 CD3e⁺ 및 CD19⁺細胞 比率은 NR-HA I·II群이 Control群, Saline群 및 N.P群에 비하여 Normal群과 類似한 比率을 維持하였다(Fig.8).

(2) CD4⁺ 및 CD8⁺ cell percentage

림프절에서 CD4⁺ 및 CD8⁺細胞 比率은 NR-HA I·II群이 Control群, Saline群 및 N.P群에 비하여 Normal群의 細胞比率과 類似하게 나타났다(Fig.8).

(3) CD69⁺/CD3e⁺ cell percentage

CD69⁺/CD3e⁺細胞 比率은 NR-HA I·II群이 Control群, Saline群 및 N.P群보다 減少하였다(Fig.8).

(4) CD11a⁺/CD19⁺ cell percentage

림프절에서 CD11a⁺/CD19⁺細胞 比率은 NR-

HA I·II群이 Control群, Saline群 및 N.P群에 비하여 減少하였다(Fig.8).

(5) CD11b⁺/Gr-1⁺ cell percentage

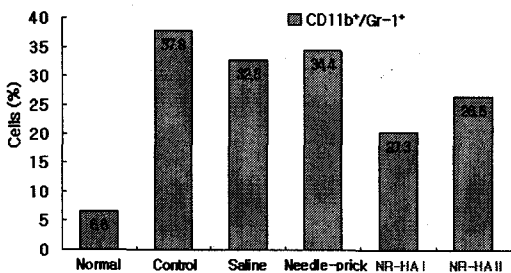
關節내에서 CD11b⁺/Gr-1⁺細胞 比率은 NR-HA I·II群이 Control群, Saline群 및 N.P群에 비하여 減少하였다(Fig.9).

IV. 考 察

류마토이드 關節炎은 韓醫學에서 歷節風³⁾, 鶴膝風³⁾, 白虎歷節風³⁾, 痛風³⁾, 痺症³⁾, 風痺⁴⁾, 類風濕性關節炎¹³⁾ 등의 範疇에 屬한다고 볼 수 있으며, 그 중에서도 포괄적이고 諸般 感覺·運動障礙를 총칭하는 痺症과 類似하다고 할 수 있다^{3,4,13)}.

痺症이란 風寒濕熱의 邪氣가 人體의 營衛失調, 腠理空疎, 正氣虛弱한 틈을 타고 人體의 肌表, 經絡으로 侵入하거나 關節에 凝滯됨으로써 氣血運行이 순조롭지 못하여 肌肉, 筋骨, 關節에 麻木, 重着, 酸楚, 疼痛, 腫脹, 屈伸不利 및 甚하면 關節의 強直性 變形을 招來하는 病症이다^{3,13)}. <黃帝內經 素問·痺論>¹⁴⁾에서 “風寒濕三氣雜至合而爲痺也”라 한 이래 여러 文獻에서 痺症에 대해 言及하는데, 風寒濕 三氣의 偏重에 따라 風邪가 乘한 것을 行痺 또는 風痺라 하고, 濕氣가 乘한 것을 着痺 또는 濕痺라 하며, 寒痺는 寒邪가 乘한 것으로 痛痺라고도 한다. 이 중에서 風痺는 歷節風이라 하여, 膝, 足, 肘, 腕 및 手足趾 등의 關節에 極甚한 痛證과 腫大, 變形 등의 症狀을 일으켜 결국 運動制限을 야기하며, 症狀이 류마토이드 關節炎 혹은 痛風性 關節炎 등의 臨床 經過와 類似한 疾患으로 여겨지고 있다¹³⁾.

痺症의 病理的 機轉은 <黃帝內經 素問·痺論>¹⁴⁾에 “風寒濕三氣雜至合而爲痺也 飲食居處爲其病本也”하였으며, 鄭¹⁵⁾은 痺症이 關節에 나타



Expression of CD11b⁺/Gr-1⁺

Fig. 9. Effects of NR-HA I and NR-HA II in CIA mouse joint

날 때는 風寒濕熱의 邪氣가 인체의 營衛를 失調시키면 腠理가 空疎하고 正氣가 虛弱해진 틈을 侵入하여 關節에 凝滯하거나 氣血循行이 순조롭지 못한 것이 원인이 되어 나타난다고 하였으며, 張¹⁶⁾은 “血氣爲邪所閉 不得通行病也”라고 하였고, “.....痺病在陰也 然則諸痺者皆在陰分 亦總由真陰衰弱 精血虧損 故三氣得而乘之而爲此諸證”이라 하였다. 이는 평소에 氣血不足하고 營衛不固한 사람이 風寒濕 三氣가 來襲하여 痺症을 誘發함을 알 수 있다.

漢代의 張仲景¹⁷⁾은 歷節風의 症狀을 關節이 紅腫하여 疼痛이 極烈하고 屈伸不能하다고 하였으며, 그 原因을 肝腎不足한데 風寒濕邪를 感受하여 생기는 것이라 하였다. 歷節風은 또한 痛風, 痺風이라고도 하였으며, 原因이 汗出入水 或 飲酒 汗出當風하였기 때문이라 하였다.

關節炎의 原因은 風寒濕 外因⁵⁾과 七情⁵⁾, 氣血虛, 肝腎의 虧損의 內因⁵⁾ 및 膏粱珍味와 過飲⁶⁾ 등의 不內外因으로 分類하고⁷⁾, 症狀은 肢體, 筋肉, 關節 等に 疼痛, 痠楚, 麻木, 重着, 屈伸不利, 關節腫脹 等を 일으키는 疾患으로 볼 수 있다⁸⁾. 治法은 辨證에 따라 風寒濕痺型은 散寒除濕 祛風通絡하고, 風熱濕痺型은 祛風清熱 除濕通絡하며, 痰瘀痺疽는 祛痰化瘀 通絡止痛하고, 正虛邪留는 滋陰養血 活血通絡시킨다¹³⁾.

韓醫學에서 免疫의 概念은 《素問·上古天真論》¹⁴⁾에서 “真氣從之 精神內守 病安從來”, 《素問·評熱病論》¹⁴⁾에서 “邪氣所湊 其氣必虛”라 하여, 疾病을 人體의 正氣와 邪氣가 서로 다투는 과정으로, 正氣의 强하고 弱함은 직접 疾病의 發生, 發展, 變化와 轉歸를 決定한다고 認識하였다. 여기서 正氣는 免疫의 概念으로서 先天에 根源을 두고 있으며 後天에 의하여 充盛하게 된다고 보면, 脾는 後天之本 化生之源으로서 脾가 虛하게 되면 精微와 津液을 全身에 布散하지 못하

고 清氣를 올리지 못함으로써 頭暈目眩, 倦怠乏力, 中氣下陷, 統血失調 등이 나타나 각종 疾患에 露出된다. 반면에 腎은 先天之本으로서 韓醫學에서는 自家免疫疾患이 脾와 腎이 서로 협조가 되지 않아 正氣가 虛損되고 外邪가 侵入하여 少氣懶言, 腰膝痠軟, 形寒肢冷 등의 症狀으로 나타난다고 하였다¹⁸⁾.

邪氣의 侵入은 대체로 人體의 正氣가 虛弱한 경우에 발생하는데 正氣는 人體의 정상적인 生理機能을 영위하는 필수적인 조건이며 邪氣에 저항하는 기능을 수행하므로 免疫機能을 대변하는 韓醫學의 概念이라고 볼 수 있다. 肝과 腎은 藏血과 藏精의 臟腑로서 精血은 正氣의 근원이 되므로 生體의 免疫體系에 중요한 영향을 미치게 된다. 韓醫學에서 腎主骨 肝主筋의 理論을 근간으로 臟腑辨證에 따라 肝腎의 虛實과 精氣血의 盛衰를 조절하는 방법이 근골격계 질환을 치료함에 있어서 기본적인 원칙으로 제시되기도 하였다¹⁹⁾.

藥鍼療法은 穴位注射療法⁹⁾, 水鍼療法¹²⁾이라 하여, 疾病에 따라 選擇된 藥物의 藥液을 經絡學說에 의하여 有關穴位, 壓痛點, 혹은 體表에 觸診으로 나타나는 陽性反應點에 注入하여, 相應하는 腧穴과 藥物의 疾病에 대한 綜合的인 作用으로 生體의 機能을 調整하고 病理形態를 變化시켜 疾病을 治療하는 療法이며, 藥物의 吸收가 빠르고, 經口投與가 不可能한 境遇에 處置할 수 있으며, 患處에 處置할 수 있는 등의 長點이 있다¹²⁾.

羌活(notopterygii radix; NR)은 繖形科에 속한 多年生 草本인 羌活의 根 및 根莖으로, 性은 溫無毒하고 味는 辛苦하여 氣雄而散, 味薄上升하고, 歸經은 腎, 膀胱, 肝이다. 發散風寒, 祛風濕止痛하여, 遍身百節疼痛, 肌表八風賊邪, 除新舊風濕, 排腐肉疽瘡, 亦祛溫濕風一身盡痛을 主한다.

足三里(ST36)는 膝下三寸 脛骨外廉 大筋 兩筋間에 위치하며, 足陽明胃經에 屬하고, 胃經의 合穴로 免疫機能을 強化시킬 수 있는 經穴¹³⁾ 중의 하나이다. 六腑下合穴, 回陽九鍼穴, 四總穴, 中風七處穴의 하나로, 理脾胃, 調中氣, 和腸消滯, 消風化濕, 通調經絡, 調和氣血, 扶正培元, 祛邪防病, 強健脾胃 등의 效能이 있어, 膝關節痛, 下肢麻痺, 脚氣, 膝脛酸痛, 水腫 등을 治療한다^{4,12)}.

關節은 “諸筋者 皆屬於節”²⁰⁾이라 하여 筋의 機能的 發現의 集合處이며, 屈伸內外轉 및 回轉 등을 擔當하는 運動器官으로, 關節의 疼痛, 腫脹, 強直, 發赤, 發熱 및 運動障礙 등의 症狀이 나타나는 疾患을 關節炎이라 한다^{3,13)}.

關節炎은 臨床的으로 風濕性關節炎(rheumatic arthritis), 類風濕性關節炎(rheumatoid arthritis) 및 骨關節炎(osteoarthritis) 등으로 區分한다. 이 중 류마토이드 關節炎은 여러 가지 關節疾患 중 滑膜의 慢性的 肥大와 炎症反應을 招來하여 周圍組織의 壞死, 關節의 浮腫과 疼痛, 關節硬直 및 運動制限 등을 일으키는 全身性 疾患으로서 退行性 關節炎 다음으로 흔히 볼 수 있다¹³⁾.

류마토이드 關節炎은 알려지지 않은 病因에 의한 慢性, 全身性, 炎症性疾患으로 對稱性, 廢爛性, 滑液膜炎 및 어떤 경우에 있어서는 關節의 증상을 수반하는 自家免疫疾患이다^{1,2,21)}. 有害刺戟에 의해 손상된 關節內 滑膜組織에서 여러 가지 細胞內 物質의 遊離 및 유해 감수기의 活性化로 인해 炎症性 痛症을 일으키는 疾患으로, 여러 關節에 비특이적 炎症反應을 일으켜 軟骨과 骨破壞로 인해 關節의 破壞와 變形을 招來한다^{1,2,22)}. 發病 후 2년 以內에 약 60~70 %에서 骨廢爛이 발생하고, 일단 關節의 破壞가 진행되면 이를 抑制시키기가 쉽지 않기 때문에, 결국 병이 진행됨에 따라 運動制限 및 機能消失이 따르게 된다²¹⁾.

그 直接的인 原因은 아직 규명되지 않고 있으나, 假說的인 原因으로 연쇄상 구균이나, virus 등의 감염설, 비타민 결핍증, 호르몬의 不調화와 免疫學的 反應 등이 거론되고 있는데, 이 중 주목받고 있는 것이 自家免疫說이며^{7,23)}, 약 30~40 %의 遺傳的인 所因과 60~70 %의 環境的인 要因들이 複合的으로 作用하여 發生할 것으로 推定하고 있다^{7,23)}. 免疫學에서 自家抗體와 自家抗原의 相互作用으로 인한 反應들이 組織損傷을 일으키면 自家免疫性反應(autoimmune reaction)이라고 하며, 組織損傷이 臨床的 異常을 惹起시켜 나타나는 것을 自家免疫性疾患(autoimmune disease)이라고 부른다^{23,24)}.

최근 생화학, 분자생물학, 미생물학 및 면역학의 발달로 류마토이드 關節炎에서의 炎症反應의 活性化와 增幅의 機轉들이 점차 규명되고 있다. 현재까지 밝혀진 바에 의하면, 류마토이드 關節炎은 Class II MHC(HLA-DR4) 遺傳子와 밀접한 관계가 있으며, 原因 不明의 抗原들에 의한 大食細胞, T 및 B淋巴球들의 增殖과, 이들 細胞들의 生産物인 cytokine 및 면역글로불린에 의해 炎症이 발생하게 된다²⁾. 炎症過程에서, 體液性 免疫과 細胞性 免疫이 관여 하는데, 細胞性 免疫機轉으로서 DR⁺ cell에 의해서 출현되는 不明의 抗原에 의해서 浸潤된 T 淋巴球가 계속적으로 活性化되어 T 淋巴球에서 유도된 lymphokine이 炎症의 發生 過程에 중재역할을 하며, T 淋巴球에 의해 活性化된 單核細胞나 大食細胞의 상호작용에 의하여 생성된 IL-1은 滑膜細胞를 자극하여 collagenase와 PGE₂ 생산을 유발시킨다. 이 중재물질들은 骨과 軟骨의 退行性 變化를 조장하게 된다. 體液性 免疫機轉은 滑液膜 안의 국소 류마토이드 인자의 생성, IgM의 免疫複合體의 생성, 補體의 活性化와 消費作用에 의하여 증명이 되며, 연속적으로 活性化된 補體는 血

관의 透過性を 增加시키고 免疫複合體에 대한 食細胞의 食食作用을 進行시키며, 이 免疫複合體를 탐식한 多形核 白血球를 'RA cell' 이라고 부른다. 이렇게 하여 형성된 免疫複合體는 關節腔內的 間質 高분자인 초자연골과 섬유연골에 포착되어서 關節의 變化를 초래하며, 滑液膜안에서 免疫複合體는 補體系, 食食細胞의 자극과 lysosome 酵素放出을 活性化시켜 proteinase와 PG를 생산하도록 자극한다. 이 생산물질은 關節軟骨과 結合組織高分子의 分解를 일으키며, 纖維細胞가 結合組織間質(fibrosis)을 생산하도록 活性化시킨다^{21,25)}.

류마토이드 關節炎의 臨床的 診斷 基準은 미국 RA학회(ARA)에서 1987년 개정한 아래의 7가지 항목 중에서 4가지 이상 만족할 때 류마토이드 關節炎으로 診斷할 수 있다²⁾. 그 세부내용은 첫째, 아침에 더욱 심한 關節痛과 強直이 나타나며 둘째, 초기에는 단일 關節炎의 形態에서 多發性 關節炎의 形態로 進行되며 6週 이상 持續되어야 하며 셋째, 손목과 손의 關節에 90% 이상 侵犯되며 무릎 발목 관절 순으로 나타나며 넷째, 對稱적으로 나타나며 다섯째, X-ray로 충분히 診斷할 수 있으며 骨多孔症, 골미란 등의 症狀이 보이고 여섯째, 류마토이드 結節이 四肢의 伸轉面에 주로 나타나며 일곱째, 류마토이드 因子는 류마토이드 關節炎의 自家免疫抗體로 血清 陰性 류마토이드성 關節炎과 류마토이드 關節炎 외의 류마토이드 因子 陽性 疾患에 대한 鑑別診斷이다²⁾.

臨床에서 류마토이드 關節炎은 慢性 多發性 關節炎이 特徵이며, 대략 2/3의 患者에서 滑膜炎이 나타날 때까지 疲勞, 食欲不振, 全身衰弱, 模糊한 筋肉 및 骨格 症勢 등이 시작된다. 이런 前驅症勢는 수주 내지 수개월 지속되며 診斷을 어렵게 한다. 全身症勢는 몇 개의 關節 특히 손, 손

목, 무릎, 발의 關節로부터 漸次的으로 나타나고 對稱樣相을 갖는다. 약 10% 의 患者에서 發病이 急性으로 나타나고 多發性 關節炎이 빠르게 發展하며 열, 淋巴腺炎, 脾臟肥大 등의 全身症狀를 呼訴한다. 患者의 1/3은 하나의 關節 또는 적은 수의 關節에만 局限되어 나타날 수 있으며, 대부분의 患者는 對稱的 分布를 나타낸다. 炎症은 組織 損傷에 대한 正常的인 防禦機轉으로서 正常的으로 炎症誘發要因을 除去, 損傷된 組織의 治愈, 機能의 恢復을 가져오지만, 류마토이드 關節炎과 같은 慢性疾患에서는 原因의 除去가 不可能하여 결국 계속되는 炎症으로 인하여 組織의 損傷에 따른 機能의 損失을 가져온다²⁶⁾. 따라서 류마토이드 關節炎의 治療目的은 炎症反應을 최소한으로 줄여 關節運動을 維持시키고 關節運動의 힘이 되는 筋力을 維持시키며 2차적으로 關節의 強直 및 變形을 防止하는데 있다^{2,21)}.

西洋醫學의인 治療는 保存的治療, 藥物治療, 手術로 나눌 수 있다. 最近 활발히 研究가 進行되고 있는 藥物治療는 炎症誘發 싸이토카인 (pro-inflammatory cytokine)의 拮抗物質을 이용하는 방법이다. 가장 많은 기대를 모으고 있는 약제는 IL-1 수용체의 antagonist와 종양괴괴인자(TNF- α)의 길항물질이다²⁷⁾. 류마토이드 關節炎의 治療에 반응했던 患者들에게 있어서 공통적으로, TNF- α 와 IL-1의 수치가 감소함에 따라, 이에 대한 길항제로 치료하는 연구가 활발하게 이루어지고 있으며²⁸⁾, 또한 遺傳子 治療가 많이 기대되고 있다²⁷⁾.

關節炎 및 慢性 炎症性 痛症 疾患의 研究를 위한 동물실험 모델로 대표적인 것으로 adjuvant 誘發 關節炎과 Collagen 誘發 關節炎이 있다. Type II collagen-induced arthritis(CIA)는 Trentham 등²⁹⁾에 의해 1977년에 처음 발표된 이후로, 人體에서 自家免疫과 관련된 研究를 위해 널리 사용

되어 지고 있다. 본 연구에서는 류마티드 關節 炎과 관련된 慢性 炎症性 痛症에 대한 실험 model로, 보다 류마티드 關節 炎에 가까운 CIA Rat model 을 이용하였다.

류마티드 關節 炎에 대한 韓醫學的 研究로 羅 등³⁰⁾은 鍼治療를 위주로 患者의 상태에 따라 灸, 附缸, 藥物治療 등을 並行하여 유의한 治療 效果를 觀察하였고, 黃¹⁰⁾은 기존의 灸, 附缸 및 藥物治療에 熊膽牛黃麝香 藥鍼을 並行治療하여 關節의 炎症變化를 減少시켜 關節의 機能障 碍를 防止하는 效果를, 黃 등¹¹⁾은 蜂藥鍼을 이용하여 臨床의 效果가 있음을 報告하였다. 最近에 RA에 대한 藥鍼 研究¹⁰⁾가 활발히 이루어지고 있는데, 紅花, 秦芃, 草烏 등의 藥鍼液이 adjuvant 關節 炎에, 澤蘭, 赤芍藥, 木防己 등의 藥鍼液이 collagen 誘發 關節 炎에 유효함이 報告되었으나, 發散風寒, 祛風濕止痛하는 羌活藥鍼液에 대한 實驗 報告는 없었다.

이에 著者는 羌活藥鍼液의 細胞毒性을 測定하고, collagen II 注入에 의하여 關節 炎이 誘發된 생쥐의 足三趾(ST36)¹²⁾에 羌活藥鍼을 施術한 후, 關節 炎 發病率, 각종 RA 관련 cytokine 및 immunoglobulin level, lymph node와 關節腔內 免疫細胞 표면분자 발현 등을 觀察하였다.

羌活藥鍼液(NR-HAS)의 細胞毒性 測定결과, NR-HAS 濃度 1%에서 가장 높은 細胞 生存率을 보였으며(Fig.2), in vitro screening 결과, 滑膜細胞에서의 TNF- α 의 發現이 1%와 10% NR-HAS에 의해 현저하게 抑制되었다(Fig.3). 細胞毒性 測定結果와 in vitro screening 結果에 根據하여, NR-HAS 1%를 實驗에 使用하였다.

C II 2차 접종(21일)이후 부터 關節 炎이 發病하기 시작하였으나, NR-HA I·II 群에서는 Control 群, Saline 群 그리고 N.P 群에 비하여 關節 炎 發病率이 낮게 나타났으며, NR-HA I 群은 NR-

HA II 群에 비하여 더욱 낮은 發病率을 보였다 (Fig.4).

CIA mouse의 脾臟 무게를 측정한 결과, NR-HA I·II 群에서는 Control 群, Saline 群 그리고 N.P 群에 비하여 脾臟의 무게가 減少하였으며, NR-HA I 群은 NR-HA II 群에 비하여 脾臟 무게가 더욱 크게 감소하였다(Fig.5).

人體 關節 중 可動關節은 두 개 이상의 뼈이 부드러운 運動을 가능하게 하도록 서로 결합된 關節로, 基本構造는 關節軟骨, 滑液膜, 關節腔이다. 關節軟骨에는 血管이 없으므로 關節腔의 滑液을 통해서 血漿成分과 기타 물질에 의해 영양을 받는다. 류마티드 關節 炎의 軟骨組織의 주 성분은 collagen섬유와 proteoglycan으로 서로 다른 matrix metalloproteinase(MMP)에 의해 分解된다. Collagen은 interstitial collagenase (MMP1)에 의해, Proteoglycan은 주로 stromelysin-1(MMP3)에 의해 分解된다^{25,31)}.

關節 滑膜組織을 이루는 細胞는 大食細胞系列의 細胞(A형 關節滑膜細胞)와 纖維細胞系列의 細胞(B형 關節滑膜細胞)로 구분되는데 정상적으로는 纖維細胞가 關節滑膜細胞의 대부분을 차지하고 A형세포와 B형세포가 뚜렷이 구분되지만, 류마티드 關節 炎에서는 大食細胞의 수가 많이 증가하고 A형세포와 B형세포의 구분도 불분명해 진다^{25,31)}.

류마티드 關節 炎의 浸透된 滑液細胞는 다양한 사이토카인을 만들며, 이 중에 고착분자와 단백질분해효소의 유전자 발현을 증가시키는 IL-1, TNF- α , IL-6가 가장 많이 분포하고 있다. 즉 류마티드 關節 炎의 滑液膜에서 T細胞, 單核球, 纖維細胞의 복잡한 상호작용에 의한 炎症 持續과 破壞를 나타내고, single-cell lining을 pannus라 부르는 充血된 炎症細胞로 바꾼다. Pannus 안에서 炎症, 增殖, 體液性 및 細胞性 免

疫反應이 軟骨과 結合組織을 破壞시키는 蛋白質 分解酵素인 metalloproteinase와 다른 매개체의 방출을 유도한다. 이 중 특히 CD4⁺T細胞가 중요하다. 류마티드 關節炎은 MHC class II HLA抗原과의 관련성이 가장 크며, MHC class II의 주된 기능은 CD4⁺T細胞에 항원성 펩타이드를 나타낸다^{27,31}. 活性化된 CD4⁺T細胞는 IFN- γ , IL-17같은 Th1 사이토카인의 직접적인 接觸을 통해 單核球와 滑液細胞를 자극하고, 이러한 세포들은 IL-1, TNF- α 등이 單核球를 방출하며 炎症過程을 增幅시킨다. 그 다음에 간엽 세포(mesenchymal cell)를 자극하여 IL-6, 조직을 파괴하는 matrix metalloproteinase(MMP)를 방출시켜 關節損傷을 이끌어낸다^{25,31}.

IL-6는 活性化된 T細胞, 大食細胞, monocyte, 血管內皮細胞, 섬유아세포들이 분비하는 26kD 사이토카인으로 B細胞 분화과정에 관여하는 중요한 성장인자로 작용한다³².

TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α)는 單核細胞, 淋巴球, 纖維細胞 등 여러 종류의 細胞에서 發現되는데, 滑膜細胞 增殖의 가장 중요한 사이토카인으로 염증반응을 촉진하고, 류마티드 양 關節의 滑膜細胞에서 collagenase나 PGE₂의 合成을 유도하여 組織을 破壞하는데 결정적인 기능을 한다³².

INF- γ (Interferon- γ)는 CD4⁺T細胞와 CD8⁺T細胞에서 抗原刺戟과 동시에 轉寫되며 IL-2 刺戟으로 더욱 亢進되어 생성되고, NK細胞에서도 소량 생성된다. 大食細胞를 活性化시켜 貪食細菌을 破壞하는 酵素合成을 亢進시킬 뿐 아니라 大食細胞가 癌細胞를 죽이는 機能을 亢進시킨다. 이와 같이 大食細胞의 機能을 亢進시키는 사이토카인을 大食細胞 活性因子라 하며, 그 대표적인 것이 INF- γ 이다. MHC 제이항원뿐만 아니라, 원래 세포표면에 없는 MHC 제이항원분자들

세포표면에 발현하도록 亢進시키며, 細胞毒性 T細胞의 표적세포파괴는 물론, CD4⁺T細胞의 抗原認知反應을 效率적으로 亢進시킬 수 있다. 그리고 大食細胞와 多核食細胞가 가지고 있는 IgG 抗體의 Fc부분에 대한 수용체(FcR)발현을 유도하여 옵소닌(opsonization) 작용을 한다. INF- γ 는 MHC 제이항원분자 발현으로 CD4⁺Th1細胞(IL-2, INF- γ)를 活性化하여 IgG2a 抗體 生成을 하고 IL-4는 Th2細胞(IL-4, IL-10)를 活性化하여 IgG1 生成을 하며 서로 拮抗的作用을 한다^{32,33}.

血清內 IL-6는 NR-HA I·II群에서 Control群, Saline群 및 N.P群에 비하여 有意性있게 減少하였으며(p<0.01), NR-HA I群에서는 NR-HA II群에 비하여 血清內 IL-6가 더욱 큰 폭으로 減少하였다(Fig.6).

血清內 INF- γ 는 NR-HA I·II群에서 Control群, Saline群 및 N.P群에 비하여 有意性있게 減少하였으며(p<0.01, p<0.05), NR-HA I群에서는 NR-HA II群에 비하여 血清內 INF- γ 가 더욱 큰 폭으로 減少하였다(Fig.6).

血清內 TNF- α 는 NR-HA I·II群에서 Control群, Saline群 및 N.P群에 비하여 有意性있게 減少하였으며(p<0.01), NR-HA I群에서는 NR-HA II群에 비하여 血清內 TNF- α 가 더 큰 폭으로 減少하였다(Fig.6).

류마티드 關節炎 患者의 B淋巴球는 血清이나 關節內에서 自家抗體인 IgG, IgM 등과 抗原에 따른 抗體를 分泌하며³⁴, 이 抗體가 다시 抗原으로 作用하여 면역글로불린의 Fc부위에 대한 自家抗體인 류마티드 인자(rheumatoid factor, RF)를 生成한다³⁵. IgG와 RF가 抗原-抗體 複合物을 形成하면 補體를 活性化시키는 화학 매개물이 放出되고 滑膜細胞 및 호중구는 lysosome효소를 放出하여 滑膜細胞 破壞와 炎

症反應을 일으킨다³⁵⁾. 특히 IgG-RF와 IgM-RF는 동일한 개체내에서 류마티드關節炎의活動性和有關한 지표가 된다. IgM-RF는 류마티드關節炎患者의 2/3에서陽性으로 나타나며, 측정이 용이하여臨床에서 주로 이용된다³⁶⁾.

NR-HA I·II群의血清內 IgG와 IgM는 Control群, Saline群 및 N.P群에 비하여有意性있게減少하였으며($p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.05$), 특히 NR-HA I群에서는 NR-HA II群에 비하여 더 크게減少하였다(Fig.6).

Anti-collagen II는 collagen II에 대한抗體로, NR-HA I·II群의血清內 Anti-collagen II는 Control群, Saline群 및 N.P群에 비하여有意性있게減少하였으며($p < 0.05$), 특히 NR-HA I群에서는 NR-HA II群에 비하여血清內 Anti-collagen II level이 더욱 낮아졌다(Fig.6).

Hematoxylin and eosin stain은組織의構造를觀察하기 위한 염색법으로, 이를 이용하여關節의組織을觀察한 결과, NR-HA I·II群이 control群, saline群 및 N.P群에 비하여軟骨의破壞와滑膜의增殖이減少하였음을 알 수 있었다(Fig.7).

Masson's trichrome stain은膠原質纖維를觀察하기 위한 염색법으로, 이를 이용하여關節의組織을觀察한 결과, NR-HA I·II群의膠原質纖維가 Control群, Saline群 및 N.P群에 비하여Normal群의構造와類似하게回復되었음을觀察하였다(Fig.7).

T細胞의 특징적인 표식인자는 T細胞 수용체(T cell Receptor: TcR)이며, 이 T細胞 抗原 수용체와 밀접하게 연관된 CD3e는 抗原 결합의 신호를細胞안으로傳達하는 기능을 한다³⁷⁾.

B細胞에 분포하는 CD19는 B細胞 수용체의 협조자(co-B cell Receptor)이며, CD21과複合體를 이루어信號形質流入의役割을 한다³⁸⁾.

T細胞를 다시細分하는 표식인자로 CD4와 CD8이 있는데, CD4분자는 MHC 第二抗原과 결합하여補助 T細胞를活性化하고, B細胞에 抗原을傳達하여抗體生成을誘發하며, 류마티드關節炎의免疫學的病因에 중요한役割을 한다. 한편 CD8분자는 MHC 第一抗原과 결합하여細胞毒性 T細胞와抑制 T細胞에 抗原을傳達한다^{32,39)}.

CD69는 휴지기 淋巴球에서는發現되지 않지만, T細胞가活性化되면 2시간 이내에發現이 되어初期活性因子로 불리는細胞表面蛋白質이며,活性化된 T 및 B細胞, 大食細胞, NK細胞에서도發現이 된다. T細胞와內皮細胞간의相互作用에 있어서 T細胞를活性化시키는데 CD69같은多様な表面表示因子들의發現이增加된다³⁸⁾.

CD11a는白血球에서發現되고, CD18과 짝을 이루며附着과細胞의移動作用을 한다. CD11a의缺陷이 있는 쥐의末梢性淋巴節과 peyer's patches에서 淋巴球의 모임이減少되고,炎症部位에서白血球의 모임이減少됨을 보였다³⁸⁾.

림프절내 CD3e⁺細胞와 CD19⁺細胞의比率는 T細胞와 B細胞의比率를觀察한 것으로, NR-HA I·II群에서 Control群, Saline群 및 N.P群에 비하여Normal群과類似한比率로觀察되었다(Fig.8).

림프절내 CD4⁺細胞와 CD8⁺細胞의比率는 보조 T細胞와 억제 T細胞의比率를觀察한 것으로, NR-HA I·II群이 Control群, Saline群 및 N.P群에 비하여Normal群과類似한比率로觀察되었다(Fig.8).

림프절내 CD69⁺/CD3e⁺細胞는 NR-HA I·II群에서 Control群, Saline群 및 N.P群에 비하여 현저히減少하여, NR-HA가 CIA mouse의 림프절내活性 T細胞數를減少시켰음을 알 수 있었

다(Fig.8).

림프절내 CD11a⁺/CD19⁺細胞는 NR-HA I·II 群에서 Control群, Saline群 및 N.P群에 비하여 현저히 減少하여, NR-HA가 CIA mouse의 림프절내 活性 B細胞 數를 減少시켰음을 알 수 있었다(Fig.8).

CD11b는 單核細胞, 顆粒球, NK細胞에서 發現되는 細胞表面 표식인자이다. 이 細胞들은 炎症時에 제일 먼저 도착하는 血球들로서 身體에 침투한 抗原에 대한 食食作用을 한다⁴⁰⁾. 또한 류마티드 關節炎 患者의 滑膜組織에서 炎症反應에 의한 CD11b 細胞表面 표식인자가 增加되어 있다고 報告되고 있다⁴¹⁾. Gr-1의 강한 陽性反應을 보이는 細胞들은 顆粒白血球들이다⁴²⁾.

關節內 CD11b⁺/Gr-1⁺細胞는 NR-HA I·II 群에서 Control群, Saline群 및 N.P群에 비하여 減少하여, NR-HA에 의한 CIA mouse 關節내 顆粒球 減少效果가 觀察되었다(Fig.9).

이상의 結果를 종합할 때 羌活藥鍼은 in vivo 와 in vitro에서 류마티드 關節炎의 豫防과 治療에 有效한 것으로 나타났으며, 특히 모든 實驗 結果에서 NR-HA II 群보다 NR-HA I 群의 效果가 優秀하였다. 따라서 臨床的 側面에서 豫防의 重要性이 強調되어야 하며, 向後 臨床的 活用을 위한 持續的 研究가 必要할 것으로 思料된다.

V. 結 論

DBA/1J mouse를 移用하여, 足三里 羌活藥鍼이 Collagen-induced arthritis에 미치는 影響을 觀察한 結果, 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. NR-HAS 1%에서 가장 높은 細胞生存率이 觀察되었고, NR-HAS 1%와 10%에서 CIA mouse 關節滑膜細胞의 TNF- α 發現이 有意성있게 減少하였다.
2. 關節炎 發病率이 현저하게 減少하였고, 脾

臟의 무게가 減少하였다.

3. 血清內 IL-6, INF- γ , TNF- α , IgG, IgM, Anti-collagen II 가 有意성있게 減少하였다.
4. CIA mouse 關節內 軟骨破壞와 滑膜增殖이 減少되었고, 膠原質纖維가 Normal群과 같이 維持되었다.
5. 림프절내 CD3e⁺와 CD19⁺細胞 比率 및 CD4⁺와 CD8⁺細胞 比率는 NR-HA I·II 群에서 Normal群과 類似하게 維持되었다.
6. 림프절내 CD69⁺/CD3e⁺細胞 및 CD11a⁺/CD19⁺細胞는 減少하였다.
7. 關節內 CD11b⁺/Gr-1⁺細胞는 減少하였다.
8. 以上の 모든 實驗에서 NR-HA I 群이 NR-HA II 群보다 더욱 有效한 것으로 나타났다. 以上の 結果로 足三里 羌活藥鍼은 Collagen-induced arthritis에 有效한 것으로 나타났으며, 모든 實驗에서 NR-HA I 群이 NR-HA II 群보다 더욱 有效한 것으로 나타나 關節炎 豫防治療에도 有意性 있으므로, 向後 持續的인 研究와 臨床的 應用이 必要하리라 思料된다.

參 考 文 獻

1. 배상철. 류마티스 관절염 치료의 최신 지견. 서울 : 가정의학학회지. 2001 ; 22(1) : 21-6.
2. 김성윤. 류마티스 관절염의 진단과 치료. 서울 : 가정의학학회지. 1997 ; 18(11) : 1279-90.
3. 權宰植. 痺證. 서울 : 鼎談. 1993 : 29, 208-10, 214.
4. 張介賓. 景岳全書(上). 서울 : 大成文化社. 1985 : 43, 410.
5. 李梴. 醫學入門(下卷). 서울 : 翰成社. 1983 : 168.
6. 虞搏. 醫學正傳. 香港 : 上海科學技術出版社. 1981 : 612.

7. 董黎明. 實用中醫內科學. 上海 : 上海科學技術出版社. 1986 : 554-69.
8. 具本泓, 李京燮. 心系內科學. 서울 : 慶熙大學校. 1991 : 248.
9. 大韓藥鍼學會. 藥鍼製劑와 臨床應用(2). 서울 : 大韓藥鍼學會. 1997 : 1-5.
10. 황우준. 류마티스성 관절염에 대한 임상적 고찰. 대한침구학회지. 1995 ; 12(1) : 281-90.
11. 황유진. 봉약침을 이용한 류마티드 관절염의 임상적 연구. 대한침구학회지. 2001 ; 18(5) : 33-42.
12. 全國韓醫科大學 鍼灸經穴學教室. 鍼灸學(上·下). 서울 : 集文堂. 1991 : 214-7, 382-4, 389, 489, 730-2, 1408-9, 1457-67.
13. 金述貴. 實用鍼灸內科學. 서울 : 醫聖堂. 1993 : 405-12, 584-90.
14. 楊維傑 編著. 黃帝內經素問譯解. 臺北 : 臺聯國風出版社. 1984 : 1-15, 33-6, 95-6.
15. 정석희. 痺症의 분류와 치료에 관한 고찰. 서울 : 동양물리요법과학회지. 1992 : 181-90.
16. 張介賓. 景岳全書. 臺聯 : 國風出版社. 1979 : 210.
17. 張仲景. 金匱要略方論. 臺北 : 東方書店. 1950 : 30-9.
18. 낙화생. 번역과 한방. 서울 : 열린책들. 1998 : 15-48.
19. 최도영. 류마티스 關節炎에 대한 한약의 면역학적 연구동향. 대한침구학회지. 2004 ; 21(4) : 177-96.
20. 高士宗. 黃帝素問直解. 北京 : 河南科學技術出版社. 1982 : 135.
21. 대한정형외과학회. 대한정형외과학. 서울 : 최신의학사. 1999 : 175-89.
22. 김전, 정승준. 통증의 병태생리. 대한신경과학회지. 2002 ; 20(1) : 1-7.
23. 서울대학교 의과대학. 면역학. 서울 : 서울대학교 출판부. 1982 : 1-25, 229-46.
24. 金周德. 로이트 필수 면역학. 서울 : 고문사. 1991 : 281-98.
25. James B Wyngaarden. Cecil text book of medicine. philadelphia : WA Sauders campany. 1992 : 1508-15.
26. 서울의대 내과학교실. 내과학. 군자출판사. 1996 : 1265.
27. Feldmann M, Brennan FM, Maini RN. Role of cytokines in rheumatoid arthritis. Annu Rev Immunol. 1996 ; 14 : 397-440.
28. Smith MD, Slavotinek J, Au V, Weedon H, Parker A, Coleman M, Roberts-Thomson PJ, Ahern MJ. Successful treatment of rheumatoid arthritis is associated with a reduction in synovial membrane cytokines and cell adhesion molecule expression. Rheumatology(Oxford). 2001 ; 40(9) : 965-77.
29. Trentham DE, Townes AS, Kang AH. Autoimmunity to type II collagen an experimental model of arthritis. J Exp Med. 1977 ; 146(3) : 857-68.
30. 羅昌洙. 류마티스성 關節炎에 관한 臨床的 考察. 서울 : 大韓韓醫學會誌. 1994 ; 14(2) : 205-15.
31. Franklin H, Epstein. Cytokine pathways and joint inflammation in RA. N Eng : J Med. 2001 ; 344(12) : 907.
32. 김세종. 면역학. 서울 : 고려의학. 1994 : 3, 8, 25-6, 28, 31-2, 134, 148-50.
33. Rosloniec EF, Latham K, Guedez YB. Paradoxical roles of IFN-gamma in models of Th1-mediated autoimmunity. Arthritis

- Res. 2002 ; 4(6) : 333-6.
34. 김세윤. 류마티스 진료. 서울 : 군자출판사. 2001 : 219.
35. Wang H, Schlomchik MJ. Regulation of autoreactive anti-IgG(rheumatoid factor) B cells in normal and autoimmune mice. Immunol Res. 1999 ; 19(2-3) : 259-70.
36. 이규범. 임상병리 핸드북. 서울 : 고문사. 1995 : 233-5.
37. 타다 토미오. 면역의 의미론. 서울 : 한울. 1998 : 46, 103.
38. Robert R Rich et al. Clinical immunology. New York : Mosby. 2001 ; 4 : 13, 6 : 18.
39. 하대유. 면역학. 서울 : 고려의학. 1994 : 242, 404, 408-9.
40. Dayer JM, Beutler B, Cerami A. Cachectin/tumor necrosis factor stimulate collagenase and prostaglandin E₂ production by human synovial cells and dermal fibroblasts. J. Exp. Med. 1985 ; 162(2) : 2163-8.
41. Johnson BA, Haines GK, Harlow LA, Koch AE. Adhesion molecule expression in human synovial tissue. Arthritis Rheum. 1993 ; 36(2) : 137-46.
42. Fujisawa K, Aono H, Hasunuma T, Yamamoto K, Mita S, Nishioka K. Activation of transcription factor NF-kappa B in human synovial cells in response to tumor necrosis factor alpha. Arthritis Rheum. 1996 ; 39 : 197-203.