

원저

## 足三里 細辛藥鍼이 생쥐의 Collagen-induced arthritis에 미치는 영향

황규정 · 김영일 · 이병렬

대전대학교 한의과대학 침구학교실

### Abstract

#### A Study on the Effect of Herbal-acupuncture with Asari Herba Cum Radice solution at Joksamni(ST36) on Collagen-induced arthritis

Hwang Kyu-jeong, Kim Young-il and Lee Byung-ryul

Dept. of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Daejeon University

**Objective & Methods** : The purpose of this study is to observe the effects of Asari Herba Cum Radice herbal-acupuncture solution(AHCR-HAS) on arthritis of mice induced by Collagen II at Joksamni(ST36). The author performed several experimental items. First, it is the cell survival rate of mice lung fibroblasts and expression of TNF- $\alpha$  in synovial cells. Second, it is the incidence rate of arthritis and the weight of spleen. Third, it is the levels of IL-6, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , IgG, IgM and anti-collagen II in serum. Fourth, it is histological analysis of the mice joint. Fifth, it is expression ratio of CD3e+ to CD19+ cell, CD4+ to CD8+ cell, CD69+/CD3e+ cells, CD11a+/CD19+ cells and CD11b+/Gr-1+ cells.

#### Result :

1. The highest survival rate of mice lung fibroblasts were measured in the 1% AHCR-HAS, and the expression of TNF- $\alpha$  in synovial cells were significantly decreased in the 1% AHCR-HAS.
2. In the AHCR-HA I & AHCR-HAII groups, the incidence of arthritis and the weight of spleen were significantly decreased.
3. In AHCR-HA I & AHCR-HAII groups, the levels of IL-6, INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IgG, IgM and anti-collagen II in serum of CIA mice were significantly decreased.

· 접수 : 2005년 5월 9일 · 수정 : 2005년 5월 10일 · 채택 : 2005년 5월 14일  
· 교신저자 : 이병렬, 대전광역시 동구 용운동 96-3 대전대학교 한의과대학 침구학교실  
Tel. 042-280-2610 E-mail : kolbr@hanmail.net

4. In histology, the cartilage destruction and synovial cell proliferation were decreased in the AHCR-HA I & AHCR-HA II groups, and the collagen fiber expressions in the AHCR-HA I & AHCR-HA II groups were similar with that of the Normal group.

5. In the AHCR-HA I & AHCR-HA II groups, the expression ratio of CD3e+ to CD19+ cell and CD4+ to CD8+ cell were similarly maintained as Normal group in lymph nodes, and CD69+/CD3e+ cells and CD11a+/CD19+ cells were decreased in lymph nodes, and CD11b+/Gr-1+ cells were decreased in synovium.

**Conclusion** : Taking all these observations into account, AHCR-HA is considered to be effective in prophylaxis and treatment of rheumatoid arthritis, and then more effective in prophylaxis than treatment, so put to practical use in future rheumatoid arthritis clinic.

**Key words** : Asari Herba Cum Radice, Herbal-Acupuncture, ST36, Collagen-induced arthritis(CIA)

## I. 緒 論

류마티오이드 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 自家免疫疾患으로서<sup>1)</sup>, 韓醫學의으로는 痹症, 頑痹, 歷節風, 痛風, 白虎歷節風, 鶴膝風, 類風濕性關節炎 등의 範疇에 屬한다고 볼 수 있다<sup>2)</sup>.

류마티오이드 關節炎의 原因은 연쇄상구균, virus 등의 감염설, 비타민 결핍증, 호르몬의 부족화와 免疫學的 反應으로 나뉘어지는데, 이 중에서 최근 주목받는 理論은 自家免疫說이다<sup>3)</sup>.

류마티오이드 關節炎의 韓方的 病因은 肝腎·氣血·陰陽의 虛로 인한 內因과 風·寒·濕·熱邪의 感受로 인한 外因 및 內外가 相合하여 發生하며, 辨證類型에 따라 施治한다<sup>4)</sup>.

류마티오이드 關節炎에 관한 藥鍼 實驗 研究로는 秦芫, 草龍膽, 草烏, 加味疎風活血湯 등이 adjuvant 關節炎에, 澤蘭, 赤芍藥, 木防己 등이 collagen 誘發 關節炎에 각각 有效하다고 하였으나 祛風散寒, 通竅止痛 등의 效能이 있는 細辛에 대한 報告는 접하지 못하였다.

이에 저자는 細辛으로 藥鍼液을 製造한 후, Collagen-induced arthritis (CIA) mouse의 足三里(ST36)에 細辛藥鍼을 施術하여, 류마티오이드 關節炎과 관련된 각종 싸이토카인 및 免疫細胞

를 分析하여, 炎症反應 및 免疫 抑制에 有意한 結課를 얻었기에 報告하는 바이다.

## II. 實 驗

### 1. 材料

#### 1) 動物

動物은 雌性인 6~7週齡의 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°C를 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 細辛(*Asari Herba Cum Radice*; 이하 AHCR로 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 濃度

Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)에 의한 in vitro screening을 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 細辛 55g을 粉碎하여 粉末

로 만들어, 圓形 三角 flask에 넣고 蒸溜水 500ml를 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. 細辛 濃縮液에 95% ethyl alcohol 30ml를 加하고 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한 후 濃縮液을 다시 濾過하였다. 이 濾過液에 85% ethyl alcohol 30ml를 加하여 잠시 攪拌 후 放置하고 沈澱物이 生成되게 한 후 濾過하였다. 濾過液에 75% ethyl alcohol 30ml를 加하고 攪拌한 후 放置하였다가 濾過하는 操作을 2回 反覆하였다. 濾過液 中の ethyl alcohol 成分을 rotary evaporator로 減壓 除去하고 남은 濃縮液이 20ml가 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 人산완충생리식염수(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(15ml)에 넣어 1,400rpm에서 5분간 원심분리하고, tube에 Dulbecco's Modified Eagle Medium {DMEM; containing collagenase A(5mg/ml)와 DNase type I(0.15mg/ml), antibiotics (penicillin 104U/ml, streptomycin 10mg/ml, amphotericin B 25 $\mu$ g/ml)}을 넣고 37 $^{\circ}$ C 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 2시간 동안 培養하였다. 0.5% trysin-0.2% EDTA를 添加하고 30분간 계속 培養한 후 PBS로 약 2회 1,500rpm에서 원심분리하였다. DMEM-10% FBS에 일주일 동안 培養한 후 0.5% trysin-0.2% EDTA로 mLFC 細胞를 分離하여 DMEM-5% FBS 배양액에 105cells/ml 濃度로 맞추어 96well plate에 분주하였다.

#### ② SRB assay 法

mLFC 細胞는 37 $^{\circ}$ C 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 1시간 培養한 후 細辛 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 $\mu$ l를 加하여 4 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 放置한 후 蒸溜水로 5회 洗滌한 다음 well plate를 공기 중에서 乾燥하였다. 각 well당 100 $\mu$ l씩 SRB(0.1% acetic acid)용액을 加하고 室溫에서 30분간 염색하였다. 그리고 0.1% acetic acid로 4회 洗滌한 다음 공기 중에서 乾燥하고 10mM Tris Base를 각 well당 100 $\mu$ l로 溶解시켰다. 이 plate를 plate shaker에서 5분간 shaking 한 후 흡광도(540nm)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% CO<sub>2</sub> 배양기에서 3주간 培養하였다. 培養한 細胞를 24 well plate에 각 well당 5 $\times$ 10<sup>5</sup>cells(DMEM)로 분주하여 12시간 培養한 후 藥鍼液을 加하여 1시간 동안 培養하였다. rTNF- $\alpha$ / rIL-1 $\beta$ 를 처리한 후 3시간 동안 培養하고 supernatant를 分離하여 ELISA로 screening 하였다.

### 2) *in vivo*

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

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

DBA/1J 생쥐 10마리씩을 한 군으로 하여 Normal群, Control群, Saline群, N.P(needle prick)群, 細辛藥鍼 I (AHCR-HA I)群, 細辛藥鍼 II (AHCR-HA II)群의 6群으로 나누고, Normal群을 제외한 각 군에 CII를 2차(0일, 21일)에 걸쳐 각각 0.1ml(CII 100 $\mu$ 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 3회 足三里(ST36)에 26 gauge 주사기를 0.5cm정도 깊이로 刺入한 후 즉시 제거하였다.

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

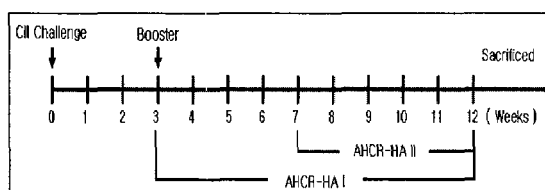


Fig. 1. Collagen-induced arthritis(CIA) mouse model

(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

2차 CII 接種 1주일 후부터 1주일 간격으로 각 實驗群의 DBA/1J 생쥐의 다리를 관찰하여 關節炎 誘發 程度를 紀錄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 接種부터 12주간의 實驗을 종료한 후 脾

臟을 적출하여 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 96well 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 利用하여 切片 한 후, Hematoxylin and eosin 染色과 Masson's Trichrome 染色을 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의 增加에 따라 減少하여 藥鍼濃度 1%에서 가장 높은 生存率을 보였다(Fig. 2).

Lung fibroblasts from RA DBA/1J mouse were treated with AHCR-HAS (1%, 5%, 10%, 25%, 50%,100%). The survival rate was

measured by ELISA reader.

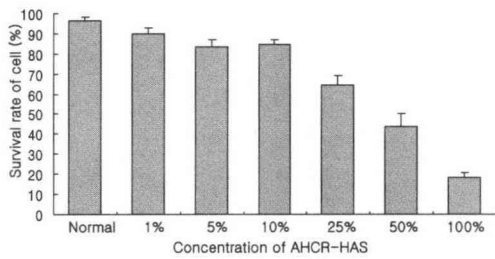


Fig. 2. The cytotoxicity of AHCR-HAS on mice lung fibroblasts

### 2) *in vitro* Screening

TNF- $\alpha$ 는 細辛藥鍼液 1%와 10%의 濃度에서 有意性 있게 減少하였다(Fig. 3).

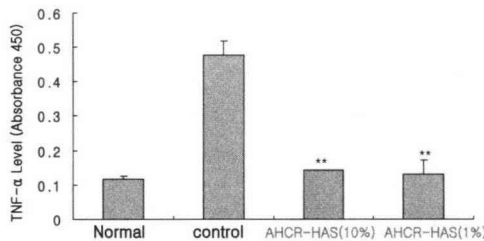


Fig. 3. Effects of AHCR-HAS on expression of TNF- $\alpha$  in Synovial cells

### 2. *in vivo*

#### 1) 關節炎 發病率 分析

細辛藥鍼 I 群과 細辛藥鍼 II 群의 關節炎 發病率이 Control 群, Saline 群 및 N.P 群에 比하여 낮게 나타났으며, 특히 細辛藥鍼 I 群의 發病率이 가장 낮은 것으로 나타났다(Fig. 4).

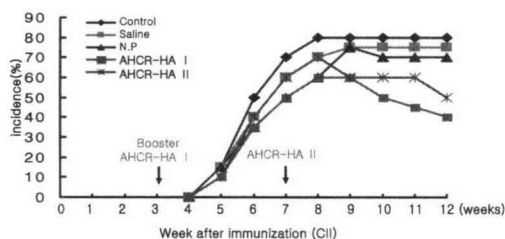


Fig. 4. Effect of AHCR-HA on the murine CIA incidence

#### 2) Spleen weight analysis

細辛藥鍼 I 群과 細辛藥鍼 II 群에서 Control 群,

Saline 群 및 N.P 群에 比하여 脾臟의 무게가 減少하였으며, 특히 細辛藥鍼 I 群의 脾臟 무게는 正常群에 가깝게 減少하였다(Fig. 5).

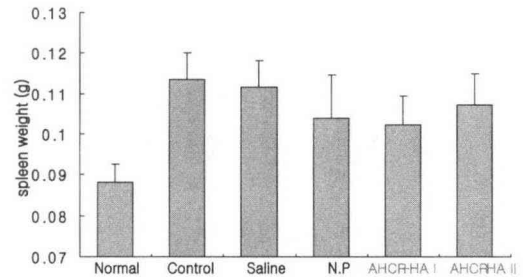
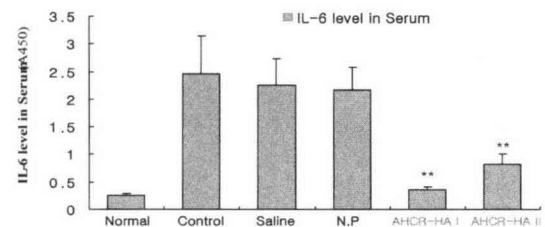


Fig. 5. Effect of AHCR-HA I and AHCR-HA II on the incidence of murine CIA

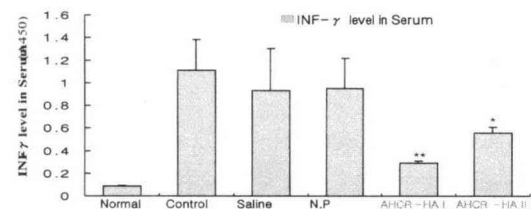
### 3) Enzyme-linked immunosorbent assay analysis

#### (1) IL-6 in serum

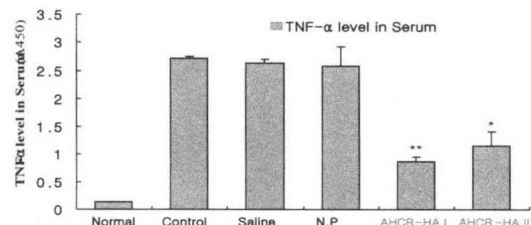
血清내 IL-6는 細辛藥鍼 I 群과 細辛藥鍼 II 群에서 Control 群, Saline 群 및 N.P 群에 比하여 有意性 있게 減少하였다(Fig. 6).



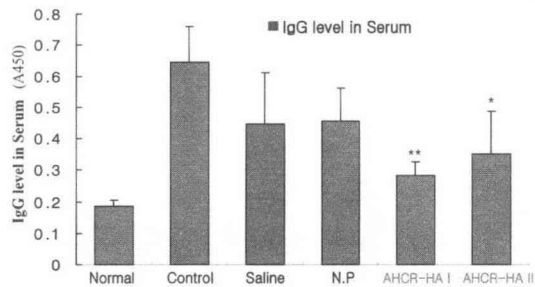
(A) IL-6 in serum



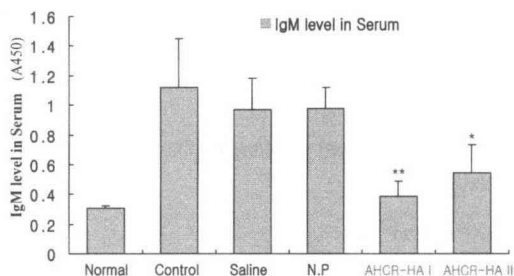
(B) IFN- $\gamma$  in serum



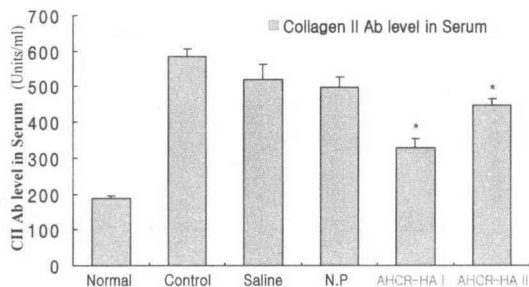
(C) TNF- $\alpha$  in serum



(D) IgG in serum



(E) IgM in serum



(F) Collagen II Ab in serum

Fig. 6. Enzyme-linked immunosorbent assay analysis

(2) INF- $\gamma$  in serum

血清내 INF- $\gamma$ 는 細辛藥鍼 I 群과 細辛藥鍼 II 群에서 Control 群, Saline 群 및 N.P 群에 비하여 有意性 있게 減少하였다(Fig. 6).

(3) TNF- $\alpha$  in serum

血清내 TNF- $\alpha$ 는 細辛藥鍼 I 群과 細辛藥鍼 II 群에서 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내 IgG는 細辛藥鍼 I 群과 細辛藥鍼 II 群에서 Control 群, Saline 群 및 N.P 群에 비하여 有意

性 있게 減少하였다(Fig. 6).

(5) IgM in serum

血清내 IgM은 細辛藥鍼 I 群과 細辛藥鍼 II 群에서 Control 群, Saline 群 및 N.P 群에 비하여 有意性 있게 減少하였다(Fig. 6).

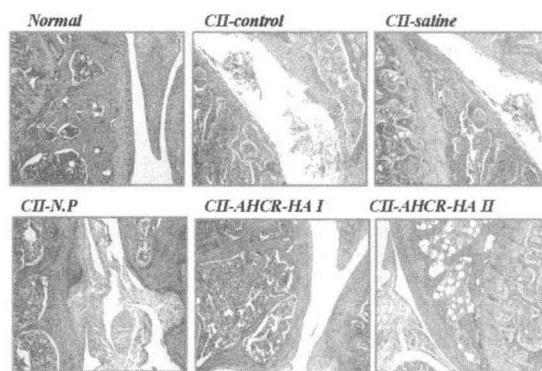
(6) Anti-collagen II in serum

血清내 Anti-collagen II는 細辛藥鍼 I 群과 細辛藥鍼 II 群에서 Control 群, Saline 群 및 N.P 群에 비하여 有意性 있게 減少하였다(Fig. 6).

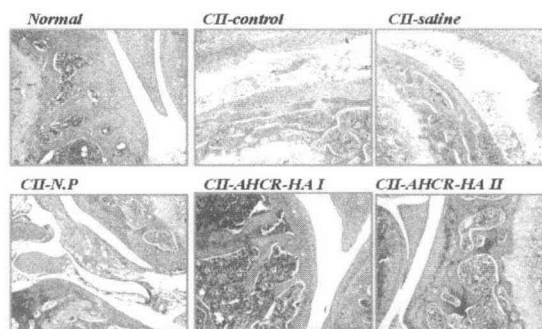
4) Histological analysis

(1) Hematoxylin and eosin stain

細辛藥鍼 I 群과 細辛藥鍼 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되었다(Fig. 7).



(A) The sections from mouse joint



(B) The mice joint sections from mouse joint

Fig. 7. Histological analysis

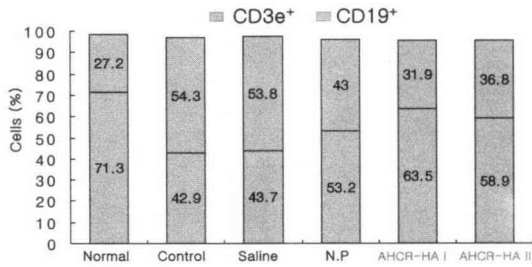
(2) Masson's Trichrome stain

組織學的으로 細辛藥鍼 I 群과 細辛藥鍼 II 群이 Control 群, Saline 群 및 N.P 群에 비하여 collagen

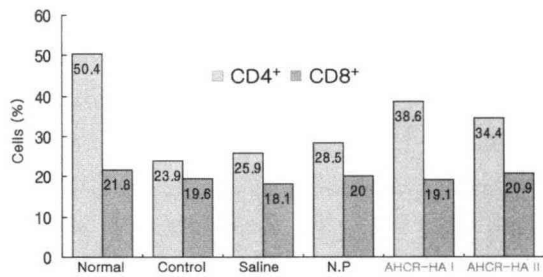
fiber가 正常에 가깝게 維持되었다(Fig. 7).

5) Fluorescence-activated cell sorter 分析

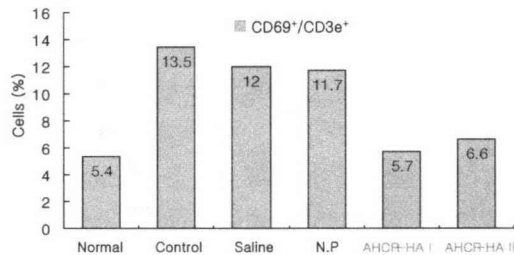
(1) CD3e<sup>+</sup> 및 CD19<sup>+</sup> cell percentage



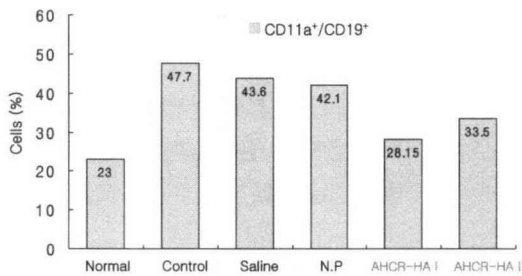
(A) Expression of CD3e<sup>+</sup>/CD19<sup>+</sup>



(B) Expression of CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>



(C) Expression of CD69<sup>+</sup>/CD3e<sup>+</sup>



(D) Expression of CD11a<sup>+</sup>/CD19<sup>+</sup>

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

淋巴節에서 CD3e<sup>+</sup>細胞와 CD19<sup>+</sup>細胞 比率은 細辛藥鍼 I 群과 細辛藥鍼 II 群이 Control 群, Saline 群 및 N.P 群에 비하여 正常群과 類似한 比率을 維持하였다(Fig. 8).

(2) CD4<sup>+</sup> 및 CD8<sup>+</sup> cell percentage

淋巴節에서 CD4<sup>+</sup>細胞와 CD8<sup>+</sup>細胞 比率은 細辛藥鍼 I 群과 細辛藥鍼 II 群이 Control 群, Saline 群 및 N.P 群에 비하여 正常群의 比率에 가장 近接하였다(Fig. 8).

(3) CD69<sup>+</sup>/CD3e<sup>+</sup> cell percentage

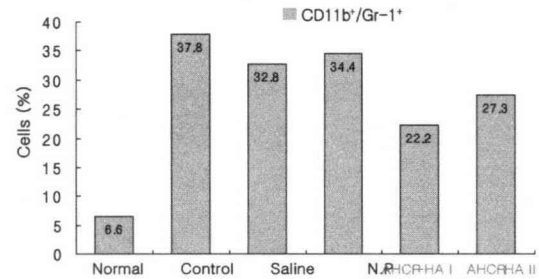
淋巴節에서 CD69<sup>+</sup>/CD3e<sup>+</sup> 細胞는 細辛藥鍼 I 群과 細辛藥鍼 II 群이 Control 群, Saline 群 및 N.P 群보다 減少하였다(Fig. 8).

(4) CD11a<sup>+</sup>/CD19<sup>+</sup> cell percentage

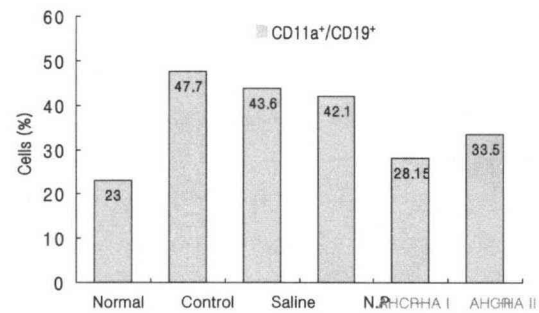
淋巴節에서 CD11a<sup>+</sup>/CD19<sup>+</sup> 細胞는 細辛藥鍼 I 群과 細辛藥鍼 II 群이 Control 群, Saline 群 및 N.P 群에 비하여 減少하였다(Fig. 8).

(5) CD11b<sup>+</sup>/Gr-1<sup>+</sup> cell percentage

關節內 CD11b<sup>+</sup>/Gr-1<sup>+</sup> 細胞는 細辛藥鍼 I 群과 細辛藥鍼 II 群이 Control 群, Saline 群 및 N.P 群에 비하여 減少하였다(Fig. 9).



Expression of CD11b<sup>+</sup>/Gr-1<sup>+</sup>



(D) Expression of CD11a<sup>+</sup>/CD19<sup>+</sup>

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

#### IV. 考 察

關節은 “諸筋者 皆屬於節”<sup>7)</sup>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<sup>3)</sup>.

關節炎은 臨床적으로 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<sup>8)</sup>. 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 있다<sup>8-9)</sup>.

류마토이드 關節炎의 原因은 정확히 밝혀지지 않았으나, 가설적인 原因으로 연쇄상구균, virus 등의 감염설, 비타민 결핍증, 호르몬의 不調화와 免疫學的 反應으로 나뉘어지는데, 이 중에서 주목받고 있는 理論은 自家免疫說이며<sup>4-5)</sup>, 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<sup>1)</sup>. 류마토이드 關節炎은 이러한 原因 不明의 慢性 全身性 多發臟器疾患으로서 末端可動關節을 侵犯하는 持續的인 炎症性 滑膜炎이 特徵이며, 對稱으로 分布하고, 滑膜의 過增殖, 血管形成, 關節軟骨과 軟骨下의 骨이 侵蝕되어 결국에는 關節의 變形을 가져오는 自家免疫 疾患의 하나이다<sup>9-10)</sup>. 免疫學에서는 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, 이러한 原因에 의한 損傷이 어떤 臨床的 이상을 惹起시켜 나타나는 것을 自家免疫性 疾患(autoimmune disease)이라고 지칭한다<sup>4)</sup>.

發病年齡의 制限은 거의 없으며, 全體人口의 약 2.5~3% 정도에서 發生하고 女性이 男性보다 2~3배 가량 많으며 多濕한 地方에서 好發한다고 알려져 있다<sup>3,11)</sup>.

臨床적으로 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, 食慾不振, 全身衰弱, 模

糊한 筋肉 및 骨格 症勢 등이 시작된다. 이런 前驅症勢는 수 주 내지 수개월 지속되며 診斷을 어렵게 한다. 全身症勢는 몇 개의 關節 특히 손, 손목, 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 發熱, 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으로는 炎症誘發要因을 除去, 損傷된 組織의 治癒, 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 가져온다. 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<sup>3,12)</sup>.

류마토이드 關節炎의 臨床的 診斷 基準은 미국RA학회(ARA)에서 1987년 개정한 아래의 7가지 항목 중에서 4가지 이상 만족할 때 류마토이드 關節炎으로 診斷할 수 있다<sup>12)</sup>. 그 세부 진단 기준은 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되고 6週 이상 持續되어야 하며 셋째, 손목과 손의 關節에 90% 이상 侵犯되며 무릎 발목 관절 순으로 나타나며 넷째, 對稱性이며 다섯째, X-ray로 충분히 診斷할 수 있으며 骨多孔症 骨癭爛 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이다<sup>12)</sup>.

洋方的인 治療法으로는 保存治療, 藥物治療, 手術로 나눌 수 있다. 保存治療 즉 基礎療法은 적절한 營養供給과 安定, 休息, 誘發要因에 對한 處置, 物理治療 등을 實施하고, 藥物治療는 부신피질호르몬, 아스피린과 비스테로이드성 항염증제, 항류마토이



드제제, 금(gold)요법등을 使用하며, 이와 같은 治療에도 불구하고 關節의 痛症, 關節의 腫脹, 拘縮, 神經症勢가 出現하거나 進行되면 外科의 手術을 施行한다<sup>13)</sup>. 그러나 藥物治療에 있어 현재 사용 중인 消炎鎮痛劑(NSAIDS)는 胃腸管이나 腎臟의 障礙를 招來하고, 부신피질호르몬제중 Glucocorticoid는 骨多孔症, 胃腸管障礙, 糖尿病, 高血壓, 感染, 의인성쿠싱증후군 등 다양한 合併症이 발생하며, 항류마토이드제제(DMARDs)는 藥劑에 따라 作用機轉과 副作用 및 期待되는 藥效의 迅速性 등이 서로 다르고 地域에 따라서도 選好하는 藥劑가 다르다<sup>14)</sup>.

최근 활발히 연구가 進行되고 있는 治療方法은 炎症誘發 싸이토카인(pro-inflammatory cytokine)의 拮抗物質을 이용하는 方法이다. 가장 많은 기대를 모으고 있는 약제는 interleukin-1 수용체의 antagonist와 종양괴사인자(tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )의 길항물질로서 soluble TNF- $\alpha$  수용체, 그리고 항 TNF- $\alpha$  抗體가 있으며 이외에도 遺傳子 治療가 많이 기대되고 있다<sup>15)</sup>.

現代免疫學에서는 免疫性 疾病을 治療하려면 抗體의 生産을 抑制하고, 동시에 T細胞의 機能을 增加시켜야 한다고 인식하지만 아직 理想의인 藥物이 없는 실정이다<sup>16)</sup>.

韓醫學의으로 류마토이드 關節炎은 痺症, 頑痺, 歷節風, 痛風, 白虎歷節風, 鶴膝風 등의 範疇에 屬하는데<sup>8-9)</sup>, 《素問》<sup>7)</sup>의 〈痺論〉에서 “風寒濕三氣雜至合而爲痺也”라 하여 風寒濕外邪가 痺證의 重要한 原因이라고 言及했으며, 《金匱要略》에서는 “短氣白汗出歷節疼不可屈伸此皆飲酒汗出當風所致”, 《巢氏諸病源候論》에서 “由人體虛 腠理開 故受風邪也”, 《外臺秘要方》에서 “白虎病者大都是風寒暑濕之毒因虛所致將攝失理受此風邪經脈結滯血氣不行畜於骨節之間或在四肢肉色不變”, “血氣虛則汗出風冷搏於筋則不可屈伸爲歷節風也”, 《三因方》에서는 風濕이 相搏하거나 飲酒, 汗出入水 등으로 痰이 形成되어 發病한다고 보았다. 또한 《東垣十種醫書》<sup>17)</sup>에서 “彼痛風者 因血受熱 已白沸騰 其後 或涉冷水 或立濕地 或扇取涼 或臥當風 寒涼外搏 熱血得寒 汚濁凝澁 所以作痛”, 《鍼灸聚英》에서 痛風의 原因은 風熱, 風濕, 血虛有痰, 《醫學入門》에서 “痛風…形怯瘦

者 多內因 血虛有火 形肥勇者 多外因風濕生痰 以其循歷遍身 曰歷節風 甚如虎咬 曰白虎風”, “痛多痰火 腫多風濕然”, “鶴膝風…三陰虧損 風邪入 亦有虛火 陰血枯 所以病後 多此疾”, 《景岳全書》에서 “眞陰衰弱 精血虧損 故三氣得而勝之而爲痺”, 《萬病回春》에서 “痛風者…謂之白虎歷節風都是血氣風濕痰火皆令作痛 或勞力寒水相搏 或酒色醉臥 當風取涼 或臥風濕之地 或雨汗濕衣 蒸體而成痛風 在上者 多屬風 在下者 多屬濕”, 《證治彙補》<sup>18)</sup>에서 “痛風卽內經痛痺也 因氣血虧損 濕痰濁血 流滯經絡 注而爲病 或客四肢 或客腰背百節 走痛攻刺 如風之善動 故曰痛風”, “內因六慾七情 或病後亡津 血熱沸騰 亦必外感六淫 而後骨節痠痛 久則手足蹇攣 外因涉冷坐濕當風 亦必血熱而凝滯汚濁 所以作痛 甚則身體塊瘰 痛必夜甚者 血行于陰也”, 《醫學心悟》에서 “痺者 痛也 風寒濕三氣雜至 合而爲痺也”라 하였으며, 《醫林改錯》에서 痺證有瘀血說을 主張하였고, 《血證論》에서 “身體不仁 四肢疼痛 令名痛風 故曰痺證 虛人感受外風 皆於脈分 則爲血痺”라 하였으며, 《實用中醫內科學》에서는 肝腎虧損, 邪氣侵入, 氣血瘀阻 등으로 보았다.

治療 原則은 各各의 原因에 따라 달라지는데, 外因으로는 體虛한 상태에서 起居失常 등으로 風, 寒, 濕, 熱邪가 皮膚, 血脈, 肌肉, 筋肉, 骨節, 經, 絡 등에 入하여 發病하고, 內因의 境遇는 七情, 飲食不節, 虛勞, 房勞 등으로 因해 病이 오랫동안 제거되지 않고 다시 邪氣가 들어와 臟腑의 虛實을 招來하여 內寒, 內風, 內濕, 內熱, 內燥, 氣虛, 血虛, 陰虛, 陽虛, 痰飲, 瘀血 등의 病理現象이 發生<sup>2)</sup>되는 것으로 認識하여, 臟腑의 虛實을 調節하고 濕, 痰飲, 瘀血 등을 除去하기 위해 活血化瘀, 祛痰散結, 消風散寒 除濕과 同時에 補益肝腎, 補氣益血하는 治法이 使用된다<sup>19)</sup>.

臨床의으로 羅<sup>20)</sup> 등은 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<sup>21)</sup>은 麝香, 牛黃, 熊膽으로 調製한 藥鍼, 灸, 藥物治療 등으로 關節의 炎症變化를 減少시켜 關節의 機能障礙를 防止하는 效果를 觀察하였다.

藥鍼療法은 穴位注射療法, 水鍼療法<sup>22)</sup>이라고도 하며, 經絡學說에 의거하여 藥物을 有關穴位, 壓痛

點, 혹은 體表에 觸診으로 나타나는 陽性反應點에 注入하므로써 生體의 機能을 調整하고 病理狀態를 改變시켜 疾病을 治療하는 鍼刺戟과 藥物을 結合시킨 新鍼療法이다.

細辛(Asari Herba Cum Radice)은 馬兜鈴科에 속한 多年生의 細長한 根莖인데 특이한 芳香性으로 峻烈하고 山椒같은 辛辣味가 있는 草本으로 秦·漢代의 《神農本草經》에 上品으로 區分되어 처음 收錄되었다. 性品이 味辛性溫하여 肺·腎·心·小腸의 四經으로 歸經하고 祛風散寒, 通竅止痛, 溫中祛痰, 利水道하는 效能으로 風寒濕痺, 百節拘攣風頭痛, 鼻塞, 鼻淵 등에 使用되었다.

細辛에 관한 最近의 實驗的 研究로 宋<sup>23)</sup>은 anaphylaxis에 미치는 影響을, 金<sup>24)</sup>은 細辛根이 알레르기 질환에 미치는 效果를, 趙<sup>25)</sup>은 細辛의 肝機能保護에 관한 效果를, 그리고 金<sup>26)</sup>이 細辛의 喘息抑制 및 免疫操節에 관한 效果를 報告하였지만 류마토이드 關節炎에 대한 研究는 아직 報告된 바가 없었다.

本 實驗에서 選擇한 足三里(ST36)는 免疫機能을 強化시킬 수 있는 經穴<sup>27)</sup> 중 하나로 足陽明胃經에 屬하고 胃經의 合穴로 六腑下合穴이며 回陽九針穴, 四總穴, 中風七處穴 中의 하나이며, 調氣血, 理脾胃, 補虛弱하는 效能이 있어 膝關節痛, 消化器系疾患, 乳痛, 虛弱體質, 貧血, 皮膚癢痒症, 알레르기성 疾患, 臟氣虛弱, 眞氣不足, 産後血暈 等の 疾患에 廣範圍하게 應用되고 있다<sup>22,28)</sup>.

韓醫學에서 免疫의 概念은 《素問》<sup>7)</sup>의 〈上古天眞論〉에서 “眞氣從之 情神內守 病安從來”라 하였고, 또한 〈評熱病論〉에서 “邪氣所溱 其氣必虛”라 하여 疾病을 人體의 正氣와 邪氣가 서로 다투는 과정이고, 正氣의 強하고 弱함은 직접 疾病의 發生, 發展, 變化와 轉歸를 決定한다고 認識하였다. 따라서 免疫이란 疫病의 危害를 除去한다는 것으로 認識하고 急性傳染病 및 一般疾病의 成立過程 中에서 生體의 抵抗性인 正氣를 免疫의 概念으로 보았다. 正氣는 先天에 根源을 두고 後天에 의하여 充盛하게 되므로, 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 못하고 淸氣를 올리지 못함으로써 中氣下陷, 統血失調 等の 病理가 發生하여 頭暈目眩, 倦怠乏力 等の 症狀

이 나타나고 더 나아가 각종 疾患에 露出된다. 그리고 腎은 先天之本으로서 脾와 서로 協助가 되지 않으면 正氣가 虛損되고 外邪가 侵入하여 少氣懶言, 腰膝痠軟, 形寒肢冷 等の 症狀으로 나타난다고 하였다<sup>29)</sup>.

류마토이드 關節炎에 관한 藥鍼 實驗 研究로는 秦<sup>30)</sup>, 草龍騰, 草烏, 加味疎風活血湯 등이 adjuvant 關節炎에, 澤蘭, 赤芍藥, 木防己 등이 collagen 誘發 關節炎에 각각 有效하다는 研究의 報告가 있었으나 祛風散寒, 通竅止痛의 效能이 있는 細辛에 대한 報告는 접하지 못하였다.

이에 저자는 Collagen-induced arthritis(CIA) mouse의 足三里(ST36)에 細辛藥鍼을 施術한 후 류마토이드 關節炎에 관련된 각종 싸이토카인, 면역 글로블린 및 免疫細胞를 分析하여, 류마토이드 關節炎에 대한 細辛藥鍼의 效果를 實驗的으로 檢討하였다.

細辛藥鍼液의 細胞毒性 測定 結果, 藥鍼液 濃度 1%에서 가장 높은 細胞生存率을 보였다(Fig. 2).

in vitro screening 結果, 滑膜細胞에서의 TNF- $\alpha$ 의 發現은 細辛藥鍼液의 1%와 10%濃度에서 현저하게 減少하였다(Fig. 3).

이에, 1% 細辛藥鍼液을 使用하여 實驗을 施行하였다.

CII 2차 접종(21일)이후부터 關節炎이 發病하기 시작하여, 9週 후부터 細辛藥鍼 I 群과 細辛藥鍼 II 群이 Control 群, Saline 群 그리고 N.P 群에 비하여 關節炎 發病率이 減少하였다(Fig. 4).

脾臟 무게의 變化를 觀察한 結果, Control 群은 正常群에 비하여 脾臟 무게가 增加하였으며, 細辛藥鍼 I 群과 細辛藥鍼 II 群은 Control 群, Saline 群 그리고 N.P 群에 비하여 脾臟 무게가 減少하였다. 특히 細辛藥鍼 I 群은 細辛藥鍼 II 群에 비하여 脾臟 무게가 더욱 큰 폭으로 減少하였다(Fig. 5).

Th1 細胞에서 分泌되는 싸이토카인인 INF- $\gamma$ 는 自家免疫의 기전 中에서 抗原의 發現을 향상시키는 싸이토카인으로 自家免疫疾患의 重要한 病原論으로 일반적으로 믿어진다<sup>15)</sup>. 또한 INF- $\gamma$ 를 collagen II로 關節炎이 유발된 쥐의 발에 국소적으로 刺入하여 關節炎의 發病을 促進하였고, 疾病의 惡化를 增加시켰다<sup>15)</sup>는 報告가 있다. 이

는 류마티드 關節炎에서 炎症의 국소적 매개체로서 INF- $\gamma$ 의 중요성을 CIA를 이용하여 확인한 實驗이다<sup>15</sup>. INF- $\gamma$ 는 炎症反應의 始作과 維持에 作用하고, 모든 炎症反應을 擴大하고 增幅하는 分子에 附着하여 세포표면의 發現을 확실하게 하는데 있어서 TNF- $\alpha$ 와 協助作用을 하고, INF- $\gamma$ 와 TNF- $\alpha$  사이의 協助作用으로 炎症이 있는 곳에서 單核球의 數를 增加시킨다<sup>30</sup>.

活性化된 CD4<sup>+</sup> T細胞는 單核球, 大食細胞, 滑膜纖維細胞를 刺戟하여 IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ 를 生産하고 TNF- $\alpha$ 와 IL-6는 류마티드 關節炎에 있어서 關節의 炎症에 作用하며, 滑膜細胞들을 活性化시켜 增殖하게 한다<sup>31</sup>. 炎症이 있는 滑膜에서 滑膜細胞들의 表面層과 下部層은 다른 사이토카인들을 生産한다. 關節腔과 인접한 滑膜細胞의 表面層에서는 주로 IL-1 과 TNF- $\alpha$ 를 生産하고, 반면에 흡어져 있는 下部의 滑膜細胞에서는 IL-6를 生産한다. IL-1 과 TNF- $\alpha$ 는 IL-6의 分泌를 促進시키고, IL-6는 subsynovial stromal 細胞와 大食細胞에서 生産된다<sup>31</sup>. 따라서 류마티드 關節炎에서 軟骨과 骨의 破壞는 대개 軟骨, 骨, 滑膜 連接部の 侵蝕에 의해 發生하며, IL-1, TNF- $\alpha$  등의 炎症誘發 사이토카인에 반응한 大食細胞나 stromal 細胞에 의해 生産되는 MMPs(주로 collagenase인 MMP-1, stromelysin인 MMP-3)에 의해 extracellular matrix가 破壞된다. Matrix Metalloprotenase(MMP), 특히 stromelysin (MMP-3)과 collagenase (MMP-1)은 結合組織의 基質을 破壞시키며, 류마티드 關節炎에서 關節損傷의 주된 媒介體로 생각되는 enzyme이다. 또한 活性化된 CD4<sup>+</sup> T細胞는 osteoclastogenesis를 刺戟하여, IL-1, TNF- $\alpha$ 와 독립적으로 關節損傷을 일으킨다.

滑膜細胞 增殖에는 여러 가지 炎症性 사이토카인의 과도한 發現이 중요한 役割을 할 것으로 생각되는데, 그 중 가장 중요한 TNF- $\alpha$ 는 單核細胞를 비롯하여 淋巴球, 纖維細胞 등 여러종류의 細胞에서 發現되는 사이토카인으로, 류마티드 關節炎 환자의 關節滑液에서 증가되어 있는 사이토카인 중 대표적인 염증성 사이토카인이다<sup>32</sup>. 이는 류마티스양 關節炎의 進行에서 炎症反應을 促進하고, 류마티드 關節滑膜細胞에서 collagenase나 prostaglandin E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)의 合成을 誘導하여 組織을 破壞하는 중심

적 役割을 하는 것으로 잘 알려져 있다<sup>33</sup>.

CIA mouse의 血清 IL-6, INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ 는 細辛藥鍼 I 群과 細辛藥鍼 II 群에서 Control 群, Saline 群 그리고 N.P 群에 비하여 有意性 있게 減少하였으며(p<0.05, p<0.01), 특히 細辛藥鍼 I 群에서 細辛藥鍼 II 群에 비하여 더욱 減少하였다(Fig. 6).

전형적인 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 항원에 따른 항체를 分泌하며<sup>34</sup>, 이 抗體가 다시 抗原으로 作用하여 면역글로블린의 Fc부위에 대한 自家抗體인 류마티스 인자(Rheumatoid Factop, RF)를 生成한다<sup>35</sup>. 일단 IgG와 RF가 抗原 抗體 複合물을 形成하면 補體를 活性化시키는 화학 매개물이 放出되고 滑膜細胞 및 호중구는 lysosome 효소를 放出하여 滑膜細胞 破壞와 炎症反應을 일으킨다<sup>35</sup>. 이러한 추측의 이유는 실제 류마티드 關節炎을 治療하는데 있어서도 免疫抑制劑 또는 免疫調節劑를 投與하여 效果를 보이고 있기 때문이다. 이와 관련하여 Zeben 등<sup>36</sup>은 RF가 關節炎 患者의 60-80%에서 陽性反應을 보이는 것과, 이것에 陽性反應을 보인 후 수년 안에 疾病이 惡化될 確率이 높다는 점에서 臨床的 診斷의 重要性을 強調하였다.

특히 IgG-RF와 IgM-RF는 동일한 개체내에서 류마티드 關節炎의 活動性和 잘 상관되는 지표가 되며<sup>37</sup>, 이중 IgM-RF는 류마티드 關節炎 患者의 2/3에서 陽性으로 나타나며, 측정이 용이하여 臨床에서 주로 이용된다.

細辛藥鍼 I 群과 細辛藥鍼 II 群의 血清 IgG와 IgM이 Control 群에 비하여 有意性 있게 減少하여(p<0.05, p<0.01), 細辛藥鍼이 B 細胞의 면역글로블린 生産에 현저한 抑制效果가 있음을 알 수 있었다(Fig. 6).

Anti-collagen II는 collagen II에 대한 抗體로서, 血清에서의 Anti-collagen II는 細辛藥鍼 I 群과 細辛藥鍼 II 群에서 Control 群, Saline 群 그리고 N.P 群에 비하여 有意性 있게 減少하여(p<0.05), 細辛藥鍼의 collagen II에 대한 抗體 形成 抑制效果를 觀察하였다(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 結果, 細辛藥鍼 I 群과 細辛

藥鍼Ⅱ群에서 Control群에 비하여 軟骨의 破壞와 滑膜의 增殖이 적었다(Fig. 7).

Masson's Trichrome stain은 collagen fiber를 觀察하기 위한 염색으로, 組織學的으로 細辛藥鍼 I群과 細辛藥鍼Ⅱ群이 Control群에 비하여 collagen fiber가 正常과 같이 維持됨이 觀察되었다(Fig. 7).

비록 많은 細胞들이 류마토이드 關節炎에서 免疫學的으로 炎症을 誘導하는 役割을 하지만, T 細胞가 이러한 反應을 指揮한다. 滑膜으로 유입된 T 細胞는 抗原表示細胞(Antigen presenting cells)와 相互作用하고 결과적으로 싸이토카인을 生産함으로써 滑膜細胞의 炎症, 뼈와 關節의 損傷, 滑膜의 增殖, 滑液의 炎症, 全身性 症狀에 모두 作用한다. 그리고 T 細胞에서 분비된 싸이토카인에 의하여 B 細胞는 活性化된다. 活性化된 B 細胞가 分泌한 면역글로블린과 류마토이드 인자(rheumoid factor)는 면역 複合체를 形成하고 補體를 活性化시켜 류마토이드 關節炎에 있어서 滑液의 感染과 全身性 症狀의 發現에 影響을 나타낸다<sup>38)</sup>.

T 細胞에는 T 細胞 리셉터(T cell Receptor - TcR)가 있는데 TcR分子는 細胞 속으로 뻗어있는 蛋白質 부분이 짧아서 TcR에는 CD3라 부르는 일군의 다른 蛋白質이 結合되어 있어 抗原認識에 따른 信號를 細胞核에 傳達하는 중요한 役割을 맡고 있다<sup>39)</sup>.

CD19는 B 細胞에 있고 B細胞 리셉터의 협조자(co-B cell Receptor)로서 CD21과 複合體를 이루어 信號 形質流入의 役割을 하고, B 細胞의 發達 初期 段階에서부터 프라즈마 細胞의 最終 分化段階까지 發現된다<sup>39)</sup>.

류마토이드 關節炎의 滑膜에는 單核細胞들이 浸潤을 일으킨다. 이 浸潤은 淋巴球가 풍부한 부위와 그 주위부로 대별되며, 淋巴球가 풍부한 부위는 주로 보조 T細胞로 구성되어 있고, 주위부는 주로 억제 T細胞 뿐만 아니라 大食細胞와 形質細胞가 浸潤되어 있다. 특히 보조 T細胞(CD4<sup>+</sup>)가 류마토이드 關節炎의 免疫學的 病因에 중요한 역할을 하여, 抗原을 B淋巴球에 傳達하여 抗體生成을 誘發시키는 機能이라고 報告되었으며, CD8<sup>+</sup>는 세포 독성 T細胞로 癌細胞와 같은 非正常的인 細胞를 直接 除去할 수 있는 機能이다<sup>40)</sup>.

CD69는 휴지기 淋巴球에서는 發現되지 않으나, T 淋巴球가 活性化 되면 2시간 이내에 發現이 되는 初期 活性因子로 불리우기도 하는 細胞表面 蛋白質이며, 성숙 T 淋巴球 뿐만 아니라 B 淋巴球, NK 細胞에서도 發現이 되고, T 細胞와 內皮細胞 간의 相互作用에 있어서 T 細胞를 活性化시키는데 CD69같은 다양한 表面 表示者들의 發現이 增加된다<sup>38)</sup>.

CD11a는 白血球에서 發現되고, CD18과 짝을 이루어 附着과 細胞 移動의 作用을 한다. CD11a의 缺陷이 나타나는 쥐에서 末梢性 淋巴節과 peyer's patches에서 淋巴球의 모임이 減少되었고, 炎症이 있는 곳에서도 백혈구의 모임이 減少됨을 보였다<sup>38)</sup>.

淋巴節에서의 CD3e<sup>+</sup>細胞와 CD19<sup>+</sup>細胞 比率은 T 細胞와 B 細胞의 比率을 觀察한 것으로, 細辛藥鍼 I群과 細辛藥鍼Ⅱ群에서 Control群에 비하여 正常群과 類似한 比率이 維持됨을 觀察하였다(Fig. 8).

淋巴節에서의 CD4<sup>+</sup>細胞와 CD8<sup>+</sup>細胞 比率은 보조 T 세포와 억제 T 細胞의 比率을 관찰한 것으로, 細辛藥鍼 I群과 細辛藥鍼Ⅱ群에서 Control群에 비하여 正常群의 比率에 近接하는 것으로 觀察되었다(Fig. 8).

淋巴節內 CD69<sup>+</sup>/CD3e<sup>+</sup> 細胞는 細辛藥鍼 I群과 細辛藥鍼Ⅱ群에서 Control群에 비하여 현저히 減少하여, 細辛藥鍼이 CIA mouse의 淋巴節內 활성 T 細胞의 數를 減少시켰음을 알 수 있었다(Fig. 8).

淋巴節內 CD11a<sup>+</sup>/CD19<sup>+</sup> 細胞는 細辛藥鍼 I群과 細辛藥鍼Ⅱ群에서 Control群에 비하여 현저히 減少하여, 細辛藥鍼이 CIA mouse의 淋巴節內 활성 B 細胞의 數를 減少시켰음을 알 수 있었다(Fig. 8).

Gr-1의 강한 陽性反應을 보이는 細胞들은 顆粒 白血球들이다<sup>41)</sup>. CD11b는 單核細胞, 顆粒球, NK 細胞에서 發現되는 세포표면분자로서, 이 細胞들은 炎症時에 제일 먼저 도착하는 血球들로 身體에 침투한 抗原에 대한 貪食作用이 기본 기능이다<sup>42)</sup>. 또한 류마토이드 關節炎 患者의 滑膜組織에서는 炎症 反應으로 인하여 CD11b의 發現이 增加되어 있다고 報告되고 있다<sup>43)</sup>.

關節內 CD11b<sup>+</sup>/Gr-1<sup>+</sup> 細胞比率이 細辛藥鍼 I

群과 細辛藥鍼II群에서 Control群에 비하여 減少하여 細辛藥鍼에 의한 CIA mouse 關節內 顆粒球 減少效果가 觀察되었다(Fig.9).

以上을 綜合하여 볼 때 細辛藥鍼은 *in vivo*와 *in vitro*에서 류마티드 關節炎 抑制에 有效한 것으로 나타났고, 특히 모든 結果에서 細辛藥鍼II群보다 細辛藥鍼I群의 效果가 優勢하여, 류마티드 關節炎의 豫防的 側面에서 細辛藥鍼이 더욱 有效할 것으로 思料되며, 향후 臨床的 活用을 위해서는 持續的 研究가 필요할 것으로 思料된다.

## V. 結 論

細辛藥鍼이 Collagen-induced arthritis에 미치는 影響을 DBA/1J mouse를 이용한 實驗을 통하여 觀察한 結果, 다음과 같은 結論을 얻었다.

### 1. 細胞毒性 測定 및 TNF- $\alpha$ 發現 抑制效果

- 1) 細辛藥鍼液 1%의 濃度에서 가장 높은 細胞生存率이 觀察되었다.
- 2) 細辛藥鍼液 1%의 濃度에서 TNF- $\alpha$ 가 有意性있게 減少하였다.

### 2. 關節炎 發病率과 脾臟의 무게 觀察

- 1) 細辛藥鍼I群과 細辛藥鍼II群에서 關節炎 發病率이 현저하게 減少하였다.
- 2) 細辛藥鍼I群과 細辛藥鍼II群의 脾臟 무게가 對照群에 비하여 減少하였다.

### 3. 細辛藥鍼이 각종 싸이토카인, 면역 글로블린 및 Anti-collagen II에 미치는 影響

- 1) 血清내 IL-6, INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ 는 細辛藥鍼I群과 細辛藥鍼II群에서 對照群에 비하여 有意性있게 減少하였다.
- 2) IgG, IgM은 細辛藥鍼I群과 細辛藥鍼II群에서 對照群에 비하여 有意性있게 減少하였

다.

- 3) Anti-collagen II는 細辛藥鍼I群과 細辛藥鍼II群에서 對照群에 비하여 有意性있게 減少하였다.

### 4. 細辛藥鍼이 關節의 組織學的 變化에 미치는 影響

- 1) Hematoxylin and eosin stain에서 細辛藥鍼I群과 細辛藥鍼II群이 軟骨의 破壞와 滑膜의 增殖이 減少되고 正常群에 類似한 構造로 回復되었다.
- 2) Masson's Trichrome stain에서 細辛藥鍼I群과 細辛藥鍼II群의 靑靑質섬유가 正常群과 같이 維持되었다.

### 5. 細辛藥鍼이 免疫細胞의 發現에 미치는 影響

- 1) 淋巴節內 CD3e<sup>+</sup> 細胞와 CD19<sup>+</sup> 細胞의 比率, CD4<sup>+</sup> 細胞와 CD8<sup>+</sup> 細胞의 比率는 細辛藥鍼I群과 細辛藥鍼II群에서 Control群에 비하여 正常群과 類似한 比率이 維持되었다.
- 2) 淋巴節內 CD69<sup>+</sup>/CD3e<sup>+</sup> 細胞와 CD11a<sup>+</sup>/CD19<sup>+</sup> 細胞는 細辛藥鍼I群과 細辛藥鍼II群에서 對照群에 비하여 減少하였다.
- 3) 關節內 CD11b<sup>+</sup>/Gr-1<sup>+</sup> 細胞는 細辛藥鍼I群과 細辛藥鍼II群에서 對照群에 비하여 減少하였다.

以上の 모든 結果에 있어서, 細辛藥鍼II群보다 豫防과 治療를 兼한 細辛藥鍼I群이 싸이토카인 및 抗體의 減少와 免疫細胞의 發現 抑制에 있어서 탁월한 效果를 나타내었다.

## VI. 參考文獻

1. 유대현. 류마티스관절염의 진단과 치료. 한양

- 의대학술지. 1997 ; 18(1) : 2.
2. 金起瑩. 類風濕性關節炎의 病因·病機 및 治法에 대한 文獻的 考察. 한방재활의학회지. 1998 ; 8(2) : 223.
3. 대한정형외과학회. 정형외과학. 서울 : 최신의학사. 1992 : 109-129.
4. 서울대학교 의과대학. 면역학. 서울 : 서울대학교 출판부. 1982 : 1-25, 229-246.
5. 김호연. 류마티스 관절염의 면역병인의 최근 경향. 대한내과학회지. 1989 ; 36(6) : 743-745.
6. 원보권. 類風濕性關節炎中醫藥治療與研究進展. 大韓鍼灸學會誌. 1998 ; 15(1) : 65.
7. 程士德. 主編: 素問注釋匯粹(上). 北京 : 人民衛生出版社. 1982 : 1-19, 158-173, 469-484, 613-626.
8. 崔述貴. 編著 : 實用鍼灸內科學. 서울 : 醫聖堂. 1993 : 405-412, 584-590.
9. 龔浦然. 新編中國鍼灸學. 上海 : 上海科學技術出版社. 1995 : 663.
10. 노용균. 류마티스양 관절활막細胞의 증식과 싸이토카인, 단백질분해효소의 발현에 미치는 TGF- $\beta$ , GM-CSF, PDGF의 영향. Korean : J Immunol. 1998 ; 20(2) : 119-127.
11. 서울의대 내과학교실. 내과학. 서울 : 군자출판사. 1996 : 1265.
12. 김성윤. 류마티스 關節炎의 진단과 치료. 家庭醫學會誌. 1993 ; 15(1) : 51-57.
13. 김성윤. 류마티스關節炎의 내과적 치료. 大韓醫學協會誌. 1992 ; 35(10) : 1223-1229.
14. 李守坤. 류마티스 질환의 약물요법. 대한의사협회지. 2000 ; 41(5) : 560-567.
15. Marc Feldmann. Role of cytokines in Rheumatoid Arthritis. Rev. London : Annu. Immunol. 1996 ; 14 : 398-399, 425.
16. 金利和. 自家免疫에 관한 東西醫學的 文獻考察. 大韓鍼灸學會誌. 1996 ; 13(2) : 50.
17. 李東垣. 東垣十種醫書. 서울 : 大星文化社. 1983 : 480-481.
18. 李用粹. 證治彙補. 臺北 : 旋風出版社. 1976 : 198-206.
19. 王顯明. 中醫內科辨證學. 北京 : 人民衛生出版社. 1984 : 397-401.
20. 羅昌洙. 류마티스성 關節炎에 관한 臨牀的 考察. 大韓韓醫學會誌. 1994 ; 14(2) : 205-215.
21. 황우준. 류마티스성 關節炎에 대한 臨牀的 考察. 大韓鍼灸學會誌. 1995 ; 12(1) : 281-290.
22. 全國韓醫科大學鍼灸經穴學教室. 鍼灸學(上, 下). 서울 : 集文堂. 1988 : 4-217, 21, 389, 489-490, 730~732, 1408~1409, 1457.
23. 송호준. 세신뿌리가 아나필락시스에 미치는 影響. 대한본초학회지. 1997 ; 12(2) : 143-155.
24. 김영균, 공복철. 細辛根의 抗 알레르기 效果에 대한 實驗的 研究. 한방성인병학회지. 1998 ; 4(1) : 86-97.
25. 조은진, 윤수홍. 세신의 간기능 보호效果에 관한 研究. 한국위생과학회지. 1999 ; 5(2) : 85-91.
26. 김일구. 세신약침의 천식억제 및 면역조절효과에 대한 실험적 연구. 대한경락경혈학회지. 2004 ; 21(1) : 61-77.
27. 서범석. 免疫과 관련된 腧穴 考察. 대전대 논문집. 1994 ; 2(2) : 133-161.
28. 安榮基. 經穴學叢書. 서울 : 成輔社. 1983 : 196-197, 694-695.
29. 朴慶寔. 刺鍼이 류마치스성 關節炎에 미치는 效果. 大韓東醫病理學會誌. 1998 ; 12(2) : 49.
30. Frederic Ganapamo et al. Early Induction of Gamma Interferon and Interleukin-10 Production in Draining Lymph Nodes from Mice Infected with *Borrelia burgdorferi*. Infection and Immunity. 2000 : 7162~7165.
31. Hiroshi Hata, Noriko Sakaguchi et al. Distict contribution of IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1, and IL-10 to T cell-Mediated spontaneous autoimmune arthritis in mice. The journal of Clinical Investogation. 2004 ; 114(4) : 582-588.
32. Fujisawa K. et al. Activation of transcription factor NF- $\kappa$ B in human synovial cells in response to tumor necrosis factor  $\alpha$ . Arthritis

- Rheum. 1996 ; 39 : 197-203.
33. Dayer JM. et al. Cachectin/tumor necrosis factor stimulate collagenase and prostaglandin E2 production by human synovial cells and dermal fibroblasts. J. Exp. Med. 1985 ; 162 : 2163-2168.
  34. 김세윤. 류마티스 진료. 서울 : 군자출판사. 2001:219.
  35. Varbanova BB. et al. Prevalence of IgM-, IgA- and IgG-rheumatoid factors in seronegative polyarticular disease compared to pauciarticular disease in juvenile chronic arthritis as measured by ELISA. Adv. Exp. Med. Biol. 1999 ; 455 : 61-68.
  36. Van Zeben D. et al. Clinical significance of rheumatoid factors in early rheumatoid arthritis ; results of a follow up study. Ann Rheum. Disc. 1992 ; 51(9) : 1029-1035.
  37. 이규범. 임상병리 핸드북. 서울 : 고문사. 1995 : 233-235.
  38. Robert R. Rich et al. CLINICAL IMMUNOLOGY. New York : Mosby. chap.4:13, chap.6:18, 2001.
  39. 타다 토미오. 면역의 의미론. 서울 : 한울. 1998 : 46, 103.
  40. 하대유. 면역학. 서울 : 고려의학. 1994 : 242, 404, 408-409.
  41. Thirumalai Ramalingam et al. Kinetics of Cellular Responses to Intraperitoneal *Brugia pahangi* Infections in Normal and Immunodeficient Mice. Infection And Immunity. 2003 : 4361-4367.
  42. Mosby international Ltd. Crash Course. Immune blood and Lymphatic Systems. 서울 : 한우리. 2000 : 17-21.
  43. Johnson BA. et al. Adhesion molecule expression in human synovial tissue. Arthritis Rheum. 1993 ; 36(2) : 137-146.