

미세전류자극 강도가 흰쥐의 골관절염 회복에 미치는 영향

진희경, 박장성, 김종만
서남대학교 대학원 물리치료학과

Abstract

The Effect of Microcurrent Stimulation Intensity on Osteoarthritis in Rat

Hee-kyung Jin, M.P.H., P.T.

Jang-sung Park, Ph.D., P.T.

Jong-man Kim, Ph.D., P.T., O.T.

Dept. of Physical Therapy, The Graduate School, Seonam University

Osteoarthritis is a degenerative joint disease and is led to physical disability. Yet the development of effective disease-modifying treatments has lagged. In this study, I examined the effect of physical therapeutic intervention through microcurrent stimulation and attempt to find which degree of intensity, either 25 μ A or 500 μ A with a regular 5 pps pulse, is more effective in the osteoarthritis. Osteoarthritis was induced with a mixture of 2% carrageenan and 2% kaolin in 26 male Sprague-Dawley rats. The mixture (0.1 ml) was injected into the intra-articular capsule of knee joint once a week for three weeks. Five animals did not show degenerative changes by radiological findings and excluded in the following experiment. Osteoarthritic animals were randomly divided into 3 groups($n_1, n_2, n_3=7$ /each): untreated, treated with 25 μ A, treated with 500 μ A. All experimental groups received microcurrent stimulation for four weeks (15 min/day, 5 days/week). The ethological inspection of foot print analysis on the walking corridor was accomplished every week. Histological preparations and immunohistochemical staining with insulin-like growth factor-1 were also done in the articular cartilages. All of these parameters were compared with those of osteoarthritic control group ($n=7$). The ethological inspection of foot print analysis revealed that changes of walking track (paw width) and stride length was significantly increased in both experimental groups. The better results were observed in experimental group treated with 25 μ A intensity without significance than group treated with 500 μ A. Histological preparations disclosed that routine hyaline cartilage of articular surface were altered to fibrous cartilage in untreated group and experimental group treated with 500 μ A intensity. But a little changes were seen in experimental group treated with 25 μ A intensity. Immunolocalization of insulin-like growth factor-1 was simultaneously decreased according to the duration of osteoarthritis, and did not show significant difference among the groups. In this study discovered that the microcurrent stimulation, especially 25 μ A intensity, had a positive effect by the ethological inspection, histological and immunohistochemical stainings. These results suggest that microcurrent stimulation with low-intensity might be effective in the promotion of healing process for the osteoarthritis.

Key Words: Articular cartilage; Microcurrent intensity; Osteoarthritis.

I. 서론

골관절염은 관절연골(articular cartilage)이 지속적인

충격을 흡수하지 못하고 마찰과 마모에 의하여 관절에 운동장애를 일으키는 질환이다(강종호, 2004). 관절의 역학적부하가 과도하게 증가되면 관절약화 또는 관절강

직을 일으키며 관절변형을 유발한다(Vanwanseele 등, 2002). 활막관절(synovial joint)의 연골이 닳아 없어져 연골결손이 나타나면 관절주위에 염증과 통증을 동반한다(Brenner 등, 2004). 이러한 연골과파나 기계적인 생리작용에 의해 진행되어진 골관절염 치료에 비스테로이드성 소염제(nonsteroidal antiinflammatory drug; NSAID) 및 항류마티스제 등이 사용되고 있다. 그러나 이러한 약물치료는 통증을 완화시키고 염증을 억제하며 관절기능 소실을 최소화하는 효과를 나타내지만, 장시간의 약물복용은 여러 장기의 기능저하, 우울증, 면역력 저하와 같은 부작용을 나타낸다. 따라서 몇몇 연구자들은 골관절염에 대한 치료를 '연골보호'라는 새로운 개념에서 접근하였다(Creamer와 Dieppe, 1993).

관절연골은 연골세포에서 합성된 프로테오글리칸과 콜라겐으로 유지된다(Schmidt 등, 2006). 관절연골은 가동관절의 뼈끝에 관절면을 이루어 관절을 보호하나 혈관 및 신경이 분포하지 않는 조직으로 대사가 적게 일어난다. 결국 손상된 관절에 지속적인 충격이 가해지면 관절염이나 퇴행성 작용이 진행되어 연골에서 유사 인슐린 성장인자(insulin-like growth factor-1; IGF-1)가 감소하고, 호르몬 변화, 종양괴사인자(tumor necrosis factor; TNF- α)와 세포조직의 변성이 일어난다(Cravero 등, 2009; Yin 등, 2009). 이러한 관절연골의 변화는 결국 조골세포와 파골세포 활성의 불균형으로 골밀도에 변화를 가져오고, 연골과피와 연골세포 피사를 초래한다(Mistry 등, 2004). 그러나 골관절염의 주원인인 관절연골의 연골기질 회전률(turnover rate)이 매우 높기 때문에 손상된 연골을 회복시키려는 연골세포의 작용으로 기질합성이 증가되는 것이 규명되었다(Lippiello 등, 1977). IGF-1은 프로테오글리칸의 합성에 중요한 역할을 하고, 연골세포의 증식을 유도하는 성장인자이다. 연골세포 내 IGF-1의 분포는 관절연골의 항상성 유지와 연골세포 증식에 유용한 정보를 제공한다(Gomez-Camarillo 등, 2009). 따라서 손상된 관절연골들의 증상에 따라 점질다당류 유도억제제(glycosaminoglycan derivative inhibitor), 히알루론산(hyaluronic acid), 면역조절유전자인 인터루킨(IL-1), 성장호르몬(growth hormone), 종양괴사인자 억제제(TNF inhibitors) 등 다양한 인자들의 활성을 조절하여(Hochberg, 2003) 손상된 연골조직의 구조적 형태를 유지하고, 회복시키려는 치료방법이 최근 다양하게 연구되고 있다(Vanwanseele 등, 2002).

Cheng 등(1982)은 쥐에 미세전류를 적용하여 아미노산투과와 ATP생성, 단백질합성 등에 변화를 발견하였

다. Duarte(1983)는 5~20 μ A의 전기자극으로 골 형성세포를 활성화하여 연골조직을 재생하는 방법을 연구하였다. 또한 Barker 등(1982)은 절단된 손뚱부위에서 발생된 전류가 10~30 μ A/cm² 범위의 미세전류를 발견하였는데, 이 전류가 상처 부위의 뉴런을 둘러싼 신경초를 통하여 손상된 인대와 건 조직의 회복력을 촉진하는 것을 확인하였다. 또한 손상된 원형질막에 미세전류 자극은 대식구와 섬유모세포 조직에서 발생하는 생리적 전류강도와 동일한 전류가 생성됨을 발견하였다(Bayat 등, 2006). 이와 같이 손상된 조직의 회복과정을 촉진시키는 미세전류자극이 통증조절에도 관여한다는 선행연구들 중 통증감소 정도와 진통효과를 객관적인 방법으로 검증하고자 동물실험을 통한 행동과학적인 검사방법이 연구되었다(Butler 등, 1992; Roo 등, 1991). Dowdall 등(2005)은 좌골신경병증 흰쥐의 족문을 보행복도를 이용하여 기능적, 형태학적인면을 정량적으로 평가하였다. 특히 관절통의 측정을 위해 실시된 행동검사법 중 족문 분석으로 흰쥐의 단일관절염 통증정도를 정량화하였다(Min 등, 2001). 이 연구들은 골관절염에 의한 활동성의 변화를 행동학적 분석으로 수치화하였고, 보행 중 족저압의 변화를 측정하여 골관절염에 대한 객관적인 정량화 가능성을 높여주었다(Schött 등, 1994).

그러나 미세전류 전기자극의 생리학적인 효과는 적용 강도에 따라 다르게 나타났다. 500 μ A강도에서는 쥐 피부의 ATP 생성이 거의 500% 정도가 증가하였는데, 1,000~1,500 μ A에서는 감소하였고, 5,000 μ A에서는 억제수준 이하로 떨어졌다. 아미노산 투과와 단백질 합성에서도 100~500 μ A 전류 적용은 아미노산 투과가 억제수준 이상으로 30~50% 증가 하였으나, 전류가 1,000 μ A를 초과하자 아미노산 흡수력은 20~73% 감소되고 단백질 합성은 50% 억제되었다(Cheng 등, 1982). 즉 높은 강도의 전류보다 낮은 강도의 미세전류가 생리학적인 기전을 통한 치료에 더 효과적이라고 제시한 Arnolt-Schultz의 이론에서처럼 미세전류전기자극은 낮은 강도에서 더 통증완화와 조직재생, 상처 및 골절치유를 촉진하고, 세균 성장억제, 관절가동범위 증가 및 교감신경완화에 의한 혈류량개선에 더 많은 치료효과를 보여주었다(Demir 등, 2004).

따라서 본 연구에서는 미세전류자극의 강도가 골관절염에 미치는 생리학적인 치료효과를 알아보고자 하였다. 즉 흰쥐의 골관절염에 높은 강도와 낮은 강도의 미세전류를 각각 적용 한 후 연골회복과 손상된 관절조직의 변화를 확인하였다. 또한 골관절염의 통증 의한 쥐의 행동

변화를 죽문분석방법으로 분석하여 골관절염 치료에 더 효과적인 미세전류의 치료강도를 알아보고자 하였다.

II. 연구방법

1. 연구대상자

본 연구는 생후 7주 된 체중 220±20 g의 Sprague-Dawley계 수컷흰쥐 26마리를 실험동물로 사용하였으며 4일 간의 적응기간을 거친 후 실험을 시작하였다. 실험집단의 모든 개체에는 1일 1회 15분씩 주 5일간 총 4주에 걸쳐 미세전류자극을 적용하였다. 실험실의 온도는 25±2℃, 습도 60±10%로 유지하였으며, 명암 주기는 자연광으로 사육되었다. 실험기간 동안 bioclean cage에서 고품사료¹⁾와 물은 자유롭게 공급하였다.

2. 실험방법

가. 골관절염의 유발방법

실험적 골관절염을 유도시키기 위해 흰쥐의 오른쪽 슬관절 내측에 2% kaolin²⁾과 2% carrageenan³⁾을 혼합한 관절염 유발물질을 증류수에 녹여 .1 ml를 슬관절강에 주입하였다. 1차 처치 후 매주 같은 용량의 2% carrageenan과 2% kaolin 혼합액 .1 ml를 주 1회, 3주에 걸쳐 총 3회 주사하여 관절염을 유발하였다. 처치 4주째 골관절염유발 확인은 예비실험에서와 같은 방법인 26마리의 쥐들의 X-ray 사진 촬영으로 골관절염이 유발됨을 확인하였다. 분석은 영상의학과 전문의에게 의

뢰하였다. 관절염유발 후 X-ray 검사 상 분명한 퇴행성 변화를 보이지 않은 5마리의 쥐는 이후 실험에서 배제하였고, 골관절염이 유발되었다고 판정된 쥐들을 자극을 주지 않고 그대로 보존 사육하는 관절염대조집단(n₁=7), 맥동빈도 5 pps, 자극강도 25 μA의 미세전류를 적용한 집단(n₂=7), 맥동빈도 5 pps, 자극강도 500 μA의 미세전류를 적용한 집단(n₃=7)을 무작위 추출을 통하여 세 집단으로 나누었다.

나. 미세전류 적용방법

골관절염 치료에 미세전류자극기⁴⁾를 사용하였다. 교번 극성(alternation polarity; ALT)으로 10×10 mm 전극을 관절염을 유발한 흰쥐의 오른쪽 슬관절을 신전시킨 상태에서 대퇴외측상과와 내측상과 축지부에서 조금 밑 부분 대퇴 슬괵근의 중앙부에 접지하여 각각 미세전류를 적용하였다.

다. 측정방법

골관절염 유발을 육안으로 비교하기 위하여 방사선 촬영기⁵⁾를 복외위 상태의 (46 KV, 2 m As) 거리 100 cm에서 촬영한 후 필름자동현상기⁶⁾를 이용하여 골관절염유발 후 유발확인을 3주째 촬영하였다. 평가는 Kellgren과 Lawrence(1957)의 방사선 등급표에 의하여 연부조직의 종창, 관절의 파괴정도, 신생 골 형성, 관절구축 등의 정도를 골관절염 5단계 등급척도를 이용하여 평가하였다(표 1).

죽문분석은 매주 치료 후 주 1회, 총 4주 동안 시행하였다. 죽문은 검정색 잉크⁷⁾를 쥐의 양측 후족저부에 바르고, 보행복도의 통로에 방한지를 깔고 고정한 후 흰쥐가

표 1. 영상학적 등급표

등 급	기준 내용 설명
0 등급	정상
1 등급	관절 공간이 좁아짐이 확실하지 않고 의심스럽다, 골극의 가능성이 존재한다.
2 등급	확실한 골극과 관절강의 좁아짐의 가능성 크다.
3 등급	중증의 골극형성과 관절강이 좁아지고 약간의 경화와 함께 변형의 가능성이 있다.
4 등급	커다란 골극, 심한 관절강의 좁아짐과 골경화가 심하며 관절변형이 되었다.

- 1) 신촌실험동물사료, 신촌사료주식회사, 서울, 한국.
- 2) Kaoli, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, U.S.A.
- 3) carrageenan, Sigma chemical co., St. Louis, MO, U.S.A.
- 4) EMI-580K, Cosmic Co., 서울, 한국.
- 5) 150B-30 BK-12, Shimadzu Co., Tokyo, Japan.
- 6) Konica QX-400, Konica Co., Japan.
- 7) 이백대, 성림교역, 서울, 한국.

보행통로를 지나 암실로 자발적으로 들어가게 하였다. 보행복도(walking corridor)는 쥐의 암순응 반응을 이용하여 보행 중에 자연스러운 족문을 얻을 수 있도록 설계되었다. 목재를 사용하여 제작한 보행복도는 암실(25×12×16 cm), 보행통로(40×8×7 cm)로 구성되어있다(그림 1).

조직학적검사는 절편을 100 μ m마다 통상적인 Hematoxylin/Eosin 염색과 Masson's trichrome 염색을 교차로 시행하였고, 각각 일반적인 관절연골의 형태학적 특성과 아교섬유의 침착을 중심으로 연골바탕질의 특성을 확인하였다. 면역조직화학적염색 결과는 1차 반응을 위해 제 1 항체로 rabbit anti-IGF-1⁸⁾을 BSA와 NHS가 포함된 PBS 용액에 1:200으로 희석하여 4°C에서 24시간동안 반응시켰고, 제 1 항체에 맞게 상용화된 면역글로불린 kit⁹⁾를 제 2 항체로 이용해 avidin-biotin peroxidase법을 통한 반응을 유도하여 위양성 반응(false positive reaction)을 확인하였다.

3. 자료분석

족문분석은 평가지표로 족문폭(paw width), 족문보장(stride length), 족간거리(interpodal distance)를 측정하여 우측 대 좌측의 비를 구하였다. 족문의 통계학적 분석은 SPSS 12.0 ver. 윈도우프로그램을 사용하였다. 강도와 치료기간동안 집단 간 골관절염에 대한 변화의 차이를 비교하기 위해 반복측정 이요인 분산분석(repeated measures two-way ANOVA)을 실시하였다. 또한 자극강도에 의한 각 집단의 변화를 알아보기 위해 반복측정 일요인 분산분석(repeated measures one-way ANOVA)을 사용하였고, 치료 후 집단 간의 치료효과비

교는 일요인 분산분석(one-way ANOVA)을 사용하였다. 반복 측정된 변수에 대한 사후검정은 Bonferroni법을 사용하였다. 통계적 유의성을 검정하기 위하여 유의 수준 α 는 .05로 설정하였다.

조직학적, 면역조직화학적염색 결과는 각 집단에서 실험 동물을 무작위로 3마리씩 경골 골단부의 내측관절면 부위를 수직으로 절단하여 적출하였다. 광학현미경으로¹⁰⁾ 관찰한 후, 현미경에 직접 연결된 디지털 카메라를¹¹⁾ 이용해 조직학적 검사 결과를 얻었다. 이렇게 얻어진 상을 저장하고 Adobe photoshop¹²⁾을 이용해 상의 밝기와 대조를 분명히 하기위한 작업을 시행한 후 그림에 이용하였다(그림 2).

III. 결과

1. 골관절염 유발 영상학적 평가 결과

골관절염이 유발된 오른쪽 슬관절은 관절의 간격이 뚜렷하게 구별하여 확인할 수 없었다. 유발된 슬관절은 부종이 있는 상태로 인하여 연부조직의 모양은 정상쪽에 비해 연골막의 모양이 얇아지고 넓게퍼져 연골층의 두께도 확실하게 확인할 수 없었다. 또한 관절주위의 뼈의 모습이 정상연골의 선형적 형상의 둥근모양이 아니라 직선의 곧게 잘린듯, 거칠게 보이고 있다. 따라서 골관절염 등급표에 의해 1등급으로 평가되었다(그림 3).

2. 족문분석 결과

관절염유발 후 관절염이 심해질수록 보행 중 관절통이 증가하여 환측 족부에서 체중 탈 부하가 발생하고 그

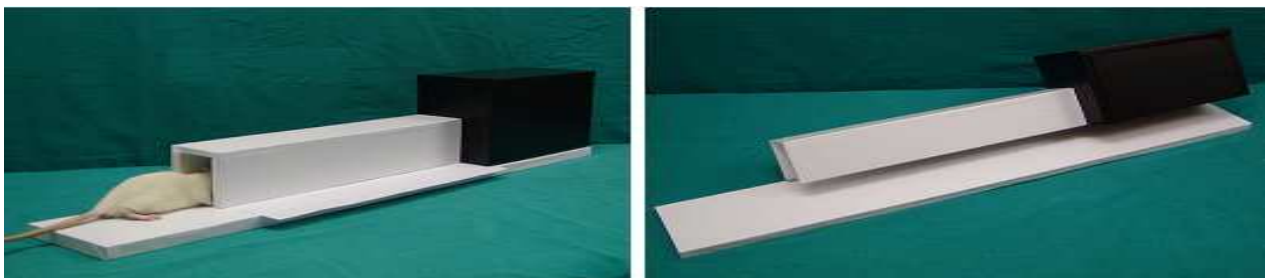


그림1. 족문분석을 위한 보행복도의 통로.

8) rabbit anti-IGF-1, Lab Vision, Suffolk, U.K.
9) ImmPRESSTM reagent, Vector lab., Orton Southgate, U.K.
10) Olympus BX-50, Olympus Corp., Tokyo, Japan.
11) Olympus C-4040Z, Olympus. Corp., Tokyo, Japan.
12) Adobe system, San Jose, CA, U.S.A.

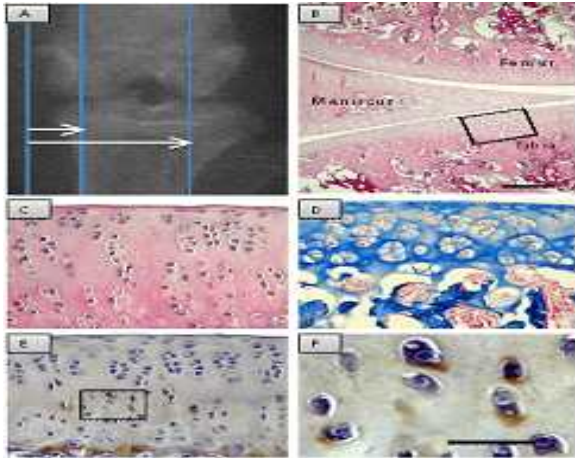


그림 2. 정상관절연골(A; 조직을 관찰하기 위해 절단면을 설정한 사진, B; meniscus를 기준으로 관절연골 절단면의 조직학적 구성, C; H/E 염색결과, D; masson's trichrome 염색결과, E와 F; IGF-1에 대한 면역조직화학적 염색결과, SB (in B)=2 μm in A: =250 μm in B, SB (in F)=100 μm in C-F: =25 μm in F).

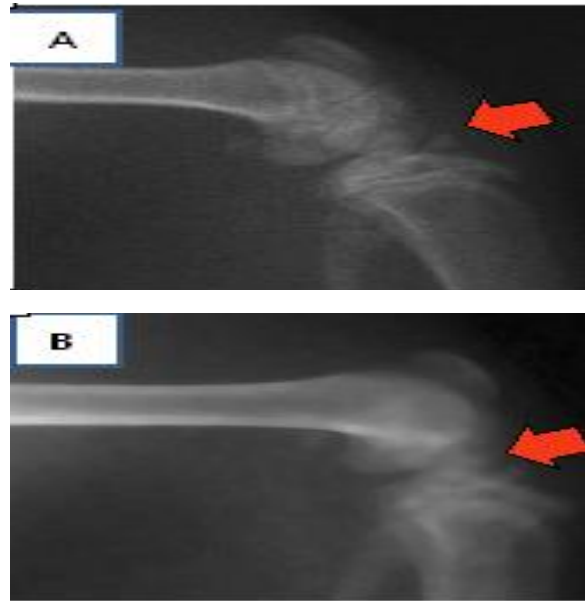


그림 3. 골관절염 유발 영상학적 촬영(A: 정상 관절의 단순 X-선, B: 관절염 유발 직후 단순 X-선).

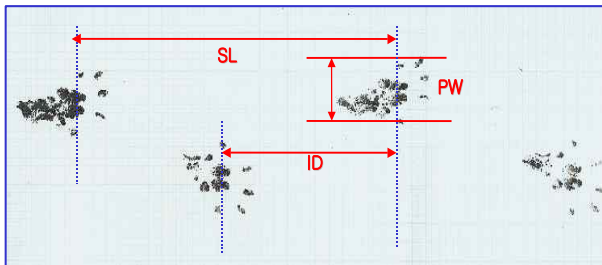


그림 4. 관절염 유발 직후 족문(SI: stride length, PW: paw width, ID: interpedal distance).

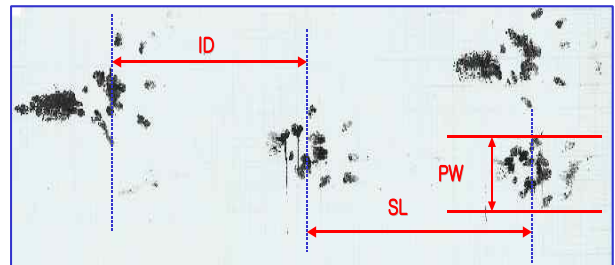


그림 5. 관절염 유발 대조집단(4주후)(SI: stride length, PW: paw width, ID: interpedal distance).



그림 6. 25 μA 적용치료후(4주후)(SI; stride length, PW; paw width, ID; interpedal distance).

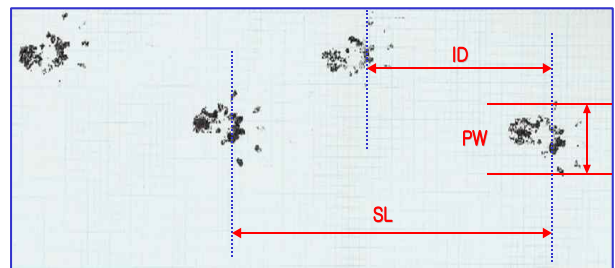


그림 7. 500 μA 적용치료(4주후)(SI; stride length, PW; paw width, ID; interpedal distance).

결과측문의 변형이 일어났다. 그러나 치료 후 회복되어 가는 과정에 체중 재부하가 일어난 것을 족문의 형태변화로 알 수 있다(그림 4)(그림 5)(그림 6)(그림 7).

가. 치료기간과 강도에 따른 족문 폭의 변화

치료기간과 강도에 따른 족문폭 값의 차이를 분석한 결과는 표 2와 같다. 관절염 유발 후 측정된 족문폭 값에서 치료기간과 강도 두 요인 간의 상호작용은 유의하지 않았다($p>.05$). 강도에 따른 각 집단의 족문폭의 차이는 유의하였다($p<.05$). 사후검정을 실시한 결과 4주째에 25 μ A집단이 관절염유발 무처리 대조집단에 비해 족문폭이 유의하게 증가하였다($p<.05$). 치료기간에 따른 족문폭의 차이는 유의하였고($p<.05$). 사후검정을 실시한 결과 치료를 시작한 4주째 25 μ A집단과 500 μ A집단의 족문폭 값이 유의하게 증가하였다($p<.05$).

나. 치료기간과 강도에 따른 족문보장의 변화

치료기간과 강도에 따른 족문보장의 변화를 분석한 결과 표 3과 같다. 족문보장은 측정기간과 강도 두 요인간의 상호작용이 유의하지 않았고($p>.05$), 강도에 따른 족문보장 값의 차이도 유의하지 않았다($p>.05$). 그러나 치료기간에 따른 족문보장 값의 차이는 유의하였다($p<.05$). 사후검정을 실시한 결과 치료 4주째 25 μ A집단과 500 μ A집단의 족문보장 값이 유의하게 증가하였다($p<.05$).

다. 치료기간과 강도에 따른 족간거리의 변화

치료기간과 강도에 따른 족간거리 값의 효과를 분석한 결과는 표 4와 같다. 관절염 유발 후 측정된 족간거리 값에서 치료기간과 강도 두 요인 간의 상호작용은 유의하지 않았다($p>.05$). 기간에 따른 족간거리 값의 차이는 유의하지 않았고, 강도에 따른 족간거리 값의 차이도 유의하지 않았다($p>.05$).

3. 조직학적 평가결과

2% carrageenan과 2% kaolin으로 골관절염을 유발하고 3주 후 경골(tibia)의 관절연골에서 연골세포의 배열을 중심으로 구조를 평가하였다. 정상 관절연골은 유리연골(hyaline cartilage)로 구성되며, 구형 또는 타원형의 연골세포(chondrocyte)는 II형 아교섬유(collagenous fiber)가 주로 포함된 바탕질 안의 연골세포방(lacuna) 속에 있는데 최대 8개의 세포들이 무리를 이루고 있는 것이 특징이었다. 골관절염을 유발한 직후의 조직검사결과 관절연골에서 부분적인 표면의 손상부위가 관찰되었지만(그림 8, A1), 연골세포의 변성은 일반 조직화학적 염색으로는 확인하기 어려웠다. 다만 부분적으로 정상적인 연골세포와 다른 염색성을 띠는 세포가 관찰되었다(그림 8, A1, A2). 무처리 유발대조집단의 경우 정상 관절연골에

표 2. 치료기간과 강도에 따른 족문폭의 반복측정된 이요인 분산분석

변인	평방향	자유도	평방향평균	F	p
기간	.041	4	.010	3.292	.016
강도	.023	2	.012	6.881	.007
기간×강도	.032	8	.004	1.287	.266

표 3. 치료기간과 강도에 따른 족문보장의 반복 측정된 이요인 분산분석

변인	평방향	자유도	평방향평균	F	p
기간	.043	4	.011	3.052	.023
강도	.024	2	.012	3.343	.061
기간×강도	.057	8	.028	2.008	.167

표 4. 치료기간과 강도에 따른 족간 거리의 반복 측정된 이요인 분산분석

변인	평방향	자유도	평방향평균	F	p
기간	.080	4	.020	1.632	.177
강도	.011	2	.005	.359	.704
기간×강도	.039	8	.005	.392	.921

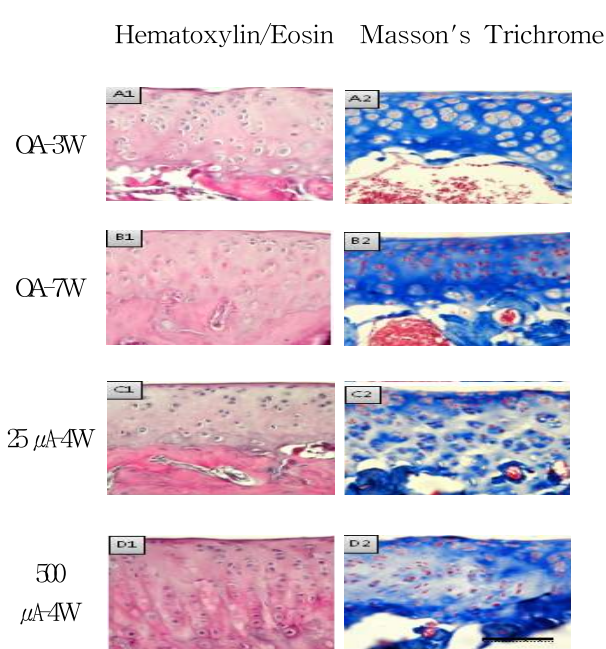


그림 8. 치료기간에 따른 조직학적 변화. SB(in D2)=100 μm , (A1-D1)=25 μm (A2-D2).

서 관찰되는 연골세포무리를 확인할 수 없었고, 대부분의 세포는 하나 또는 쌍을 이루면서 산재성으로 분포하고 있었다. 뿐만 아니라 H/E 염색에서 정상적인 연골세포와 다른 염색성을 보이는 세포의 수가 급격히 증가하였음을 확인할 수 있었다(그림 8, B1, B2). 2% carrageenan과 2% kaolin으로 관절염을 유발한 후 4주 간 25 μA 로 치료한 흰쥐는 치료를 하지 않은 흰쥐와 큰 차이를 보였다. H/E 염색 결과 연골세포는 정상 관절연골에 비해 수는 감소하였으나 무리를 지어 존재하는 것을 확인할 수 있었고, Masson's trichrome 염색 결과 바탕질의 균일도가 소실되었고 연골세포방 주위로 더 강한 염색성을 보이는 것을 관찰할 수 있었다(그림 8, C1, C2). 2% carrageenan과 2% kaolin으로 관절염을 유발한 후 4주 간 500 μA 로 치료한 흰쥐는 25 μA 로 치료한 흰쥐와 다른 결과를 보였다. 즉, 25 μA 로 치료한 흰쥐의 관절연골에서 관찰되는 연골세포무리를 확인할 수 없었고, 대부분의 세포는 하나 또는 쌍을 이루면서 산재성으로 분포하고 있었는데, 주로 아교섬유 사이에 짧게 줄을 지어 있는 것을 관찰할 수 있었다(그림 8, D1, D2).

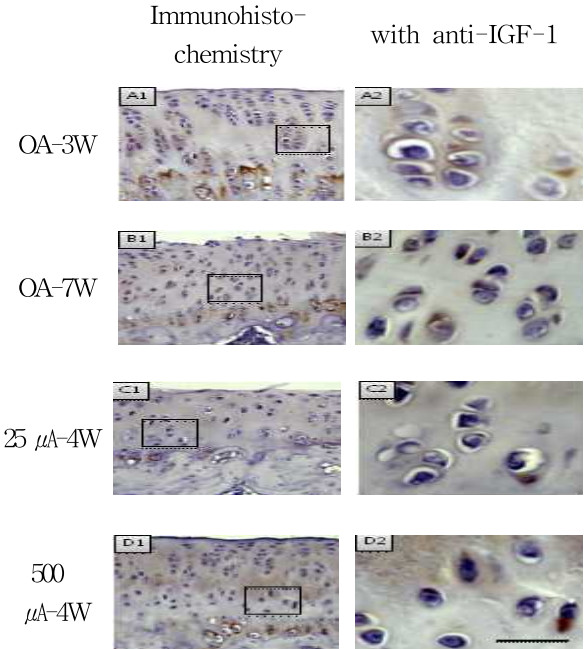


그림 9. 치료기간에 따른 면역조직화학적 변화. SB(in D2)=100 μm , (A1-D1)=25 μm (A2-D2).

4. 면역조직화학적 결과

IGF-1 양성반응은 관절연골 심부의 연골세포 뿐만 아니라 연골세포방 속에 무리를 이룬 다수의 연골세포에서 관찰할 수 있었다. 2% carrageenan과 2% kaolin으로 관절염을 유발한 치료 전 집단의 관절연골에서 IGF-1 양성반응은 관절연골의 심부에서는 정상 관절연골과 유사하게 관찰할 수 있었지만, 성숙한 연골세포 무리에서의 염색성은 정상 관절연골에 비해 감소한 것을 확인할 수 있었다(그림9, A1, A2). 무처치 관절염유발 대조군의 경우 IGF-1 양성반응은 관절연골의 심부에서도 미약하게 관찰되었고, 주로 쌍을 이루어 존재하는 연골세포에서 양성반응을 확인할 수는 있었지만 성숙한 유리연골 형태의 세포에서는 양성반응을 관찰할 수 없었다(그림9, B1, B2). 2% carrageenan과 2% kaolin으로 관절염을 유발한 후 4주간 25 μA 적용 치료한 집단은 무처치 집단과 비교해볼 때 IGF-1 양성반응은 관절연골의 심부에서 약하게 관찰할 수 있었고, 연골세포방을 중심으로 한 연골세포에서는 드물게 양성반응을 확인할 수 있었다(그림9, C1, C2). 2% carrageenan과 2% kaolin으로 관절염을 유발한 후 4주간 500 μA 적용 치료한 집단의 IGF-1 양성반응은 관절연골의 심부에서는 관찰할 수 있었지만, 성숙한 유리연골세포가 아닌 섬유연골과 유사한 연골세포에서는 드물게 양성반응을 보였다(그림 9, D1, D2).

IV. 고찰

골관절염은 현대사회의 고령화 추세에 따라 유병률이 빠르게 상승하고 있는 대표적인 근골격계 질환이다. 골관절염에 대한 적절한 치료선택과 방법은 관절염환자들의 일상생활과 삶의 질적 향상에 많은 차이를 보여준다(Creamer 와 Dieppe, 1993). 따라서 골관절염의 침범 정도와 증상에 따르는 다양한 치료방법들이 지금도 연구되고 있다. 특히 만성 반복 미세손상이 병인에 기여하는 골관절염은 퇴행성 변화가 일어나는데 오랜 시간이 걸리므로 이를 가속화시킬 수 있는 다양한 동물 모델이 연구되어 왔다(Hochberg, 2003). 특히 슬관절과 같이 체중부하관절인 경우 통증이 증가하면 체중의 탈 부하가 초래 되는 사실에 기초하여, 통증의 속성상 주관적 요소가 내재되어 있음에도 불구하고 객관적인 측정이 시도되어 왔다(Butler 등, 1992; Roo 등, 1991).

본 실험에서도 흰쥐를 단순한 빛에 의한 명암자극만으로 자연스런 이동을 촉진하여 골관절염을 유발시킨 흰쥐의 보장거리 변화와 변형된 족문의 변화를 통계적으로 확인할 수 있었다. 즉 골관절염이 유발 된 무처치 집단은 일상적인 움직임에 의해서도 골관절염은 계속적으로 진행된다. 따라서 통증이 심해진 다리에는 체중부하를 하지 않는 보행형태와 변형된 족문 폭, 정상쪽 다리에 비해 짧아진 보장거리를 족문분석을 통하여 확인할 수 있었다. 즉 25 μA 집단과 500 μA 적응치료집단의 족문 비에서 관절통이 감소되는 통증정도를 객관적인 정량화된 방법으로 확인하였다. 통증이 감소되면 관절염유발 쪽 다리에 체중부하를 하여 족문 폭이 넓어지고, 족문형태가 또렷하게 변화된다. 보장거리도 미세전류치료 4주 후 유의하게 증가하여 보행의 기능적인 회복을 확인할 수 있었다.

그러나 Owwoye 등(1987)은 가장 효과적인 전기자극 강도는 상대적으로 높은 변수를 사용하는 것보다 미세전류의 강도를 통증감각의 역치이하로 유지하도록 하였다. 또한 골관절염이 유발된 흰쥐에 본 실험에서와 같은 강도인 20-25 μA 범위의 치료연구에서도 연골막의 두께가 정상에 가깝게 회복되었고, 표면의 형태 역시 선형의 분명한 회복과 함께 연골세포의 수 증가가 정상에 가깝게 회복됨을 확인하였다(Bang 등, 2007). Owwoye 등(1987)은 동물의 건을 치료한 연구결과에서 40 μA 를 통전시킨 집단보다 400 μA 를 통전시킨 집단의 건들이 강한것은 아니라고 지적하며, 전류의 강도를 높일수록 효과는 유익하지 못하다고 했다. 이와같이 본 실험의 치료강도 차이에 의한 족문 분석에서도 25 μA 강도의 치료가 더 좋은 결과를 보였다.

흰쥐의 급성관절염 변화는 사람에서 볼 수 있는 병리학적 변화와 유사하다(Lorenz와 Richter, 2006). 본 연구 결과에서도 무처치군의 골관절염이 진행될수록 연골조직 내 IGF-1의 양성반응이 감소하였다. 특히 유리연골이 섬유연골로 변화되면서 급격히 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 25 μA 의 미세전류치료집단의 일반적인 조직학적 구성이 호전됨에도 불구하고 IGF-1 양성반응이 연골세포에서 감소된 채 유지된다는 점을 확인할 수 있었다. 즉 미세전류자극으로 관절연골의 세포형태나 통증, 보행등에서 증상개선이 동반될 수 있지만, IGF-1의 발현이 감소한 상태로 존재하므로 관절연골의 항상성이 유지될 가능성과 골관절염의 회복에 한계가 있음을 보여주었다. 본 실험에서도 IGF-1의 발현증가보다는 세포구성이 호전되는 것을 더 명확하게 관찰할 수 있었다. 즉 다시말하면 연골조직의 손상정도가 미약하면 재생될 수 있으며, 연골막으로부터 연골모세포가 증식되어 또 다른 성장방식으로 손상된 부위를 새로운 연골조직으로 메우는 과정을 전기자극이 촉진할 수 있을 것으로 생각된다. 특히 IGF-1의 발현은 형태학적으로 회복된 연골세포에서 더 많이 나타날 것으로 보이므로, 일정 기간 미세전류자극을 가해 형태학적 회복이 촉진되거나 퇴행성 변화를 지연시킬 수 있다면 더 높게 유지된 IGF-1에 의해 기능적 회복이 가능할 것으로 예상된다. 그러나 현재까지 조직학적 평가에 대한 보고가 드물어서 임상적으로 IGF-1의 의의를 추정할 수 없지만, 조직검사를 통해 골관절염의 진행도를 추정하는 데는 이용할 수 있을 것으로 생각된다. 더불어 본 연구의 결과를 임상적으로 적용하기 위해서는 몇 가지 제한점에 대한 추가적인 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다. 즉 골관절염으로 인한 관절통이 발생했을 때 사람에 비해 이환된 다리에 역학적 힘을 덜 받게 되어 관절염의 진행과정이나, 변형이 사람과는 다를 수 있다. 따라서 좀 더 객관적인 판단을 위해서는 다양한 모델의 활용과 이를 정량적으로 판단할 수 있는 연구가 더 많이 이루어져야 할 것으로 생각된다. 또한 미세전류가 생체전기에 근접한 전류로써 조직의 치료와 회복기능을 증대시킬 수 있다는 가설에 대한 검증은 좀 더 구체적이고 세분화된 전류적용 모델에 대한 연구가 이루어져야 미세전류를 좀 더 적절하고 다양하게 치료에 조절하여 사용할 수 있을 것이다. 본 연구의 제한점을 보완하여 미세전류자극에 대한 급성기와 만성기의 골관절염의 효과적인 치료방법과 통증조절이 연구가 되어야 할 것이다.

V. 결론

본 연구는 실험적으로 유발된 골관절염 모델을 미세전류자극 강도 25 μA 와 500 μA 를 적용한 후 골관절염의 치유과정에 족문분석과, 조직학적, 면역조직화학적검사를 통하여 자극강도에 의한 골관절염의 변화를 알아보았다.

족문분석에 의한 비교에서 실험집단 25 μA 치료군과 500 μA 치료군 모두 유의한 차이를 보였으나 특히 25 μA 치료군의 족문보장 값이 치료 전과 비교했을 때 더 유의하게 증가하였다. 치료기간과 강도에 따른 두 요인간의 상호작용은 통계학적으로 유의하지 않았다($p>.05$). 그러나 통계학적으로 유의한 각 집단 간의 치료강도는 사후 검정을 실시한 결과 4주째 25 μA 치료집단이 골관절염 유발 무처리 집단에 비해 족문폭이 유의하게 증가하였다($p>.05$). 또한 치료기간에 따라서는 사후검정을 실시한 결과 25 μA 치료집단과 500 μA 치료집단 모두 족문폭 값과 족문보장 값이 치료 4주째 유의하게 증가하였다.

조직학적 소견에서는 관절염을 유발한 후 4주간 25 μA 로 치료한 집단은 유발 무처리 대조집단과 500 μA 강도로 치료한 집단 사이에 큰 차이를 보였다. 25 μA 치료 집단은 H/E 염색 결과 연골세포의 수는 정상 관절연골에 비해 감소하였으나 정상연골 세포에서처럼 무리를 지어 존재하는 것을 확인할 수 있었다. 면역조직화학적 소견에서는 무처리 관절염유발대조군의 경우 IGF-1 양성 반응은 관절연골의 심부에서 미약하게 관찰할 수 있었으나, 성숙한 유리연골세포에서는 IGF-1 양성반응을 확인할 수 없었다. 그러나 이와 같은 관절염의 진행은 미세전류치료를 4주간 시행한 25 μA 집단 관절연골에서는 IGF-1 양성반응을 관절연골의 심부와 연골세포방을 중심으로 성숙한 연골세포에서 약하게 확인할 수 있었으나, 500 μA 의 전기자극으로는 골관절염의 퇴행성 변화에 대한 긍정적인 효과를 확인할 수 없었다.

이상의 결과로 볼 때, 미세전류자극은 골관절염의 치유과정을 촉진시키는데 행동학적 분석결과 25 μA 와 500 μA 자극강도는 두 집단에서 모두 유사한 치료효과를 보였다. 그러나 조직학적 변화, 면역조직화학적 결과에서는 25 μA 의 자극강도가 관절연골의 골관절염 진행을 억제시키는데 더 좋은 결과를 보여주었다. 따라서 골관절염 치유과정을 촉진하기 위해 미세전류자극을 적용할 때에는 낮은 강도의 전기 자극을 적용하는 것이 더 효과적이라고 생각한다.

인용문헌

- 강중호, 남기원, 이선민, 등. 고정이 관절연골에 미치는 영향에 대한 연구. 대한물리치료학회지. 2004;16(2):201-210.
- Bang HS, Kang JH, Cheon SH et al. The effect of microcurrent electrical stimulation on the articular cartilage recovery in osteoarthritis. J Kor Soc Phys Med. 2007;2(2):151-159.
- Barker AT, Jaffe LF, Vanable JW Jr. The glabrous epidermis of cavies contains a powerful battery. Am J Physiol. 1982;242(3):358-366.
- Bayat M, Asgari-Moghadam Z, Maroufi M, et al. Experimental wound healing using micro-ampere electrical stimulation in rabbits. J Rehabil Res Dev. 2006;43(2):219-226.
- Brenner SS, Klotz U, Alschner DM, et al. Osteoarthritis of the knee: Clinical assessments and inflammatory markers. Osteoarthritis Cartilage. 2004;12(6):469-475.
- Butler SH, Godefroy F, Besson JM, et al. A limited arthritic model for chronic pain studies in the rat. Pain. 1992;48(1):73-81.
- Cheng N, Van Hoof H, Bockx E, et al. The effects of electric currents on ATP generation, protein synthesis, and membrane transport of rat skin. Clin Orthop Relat Res. 1982;171:264-272.
- Cravero JD, Carlson CS, Im HJ, et al. Increased expression of the Akt/PKB inhibitor TRB3 in osteoarthritic chondrocytes inhibits insulin-like growth factor 1-mediated cell survival and proteoglycan synthesis. Arthritis Rheum. 2009;60(2):492-500.
- Creamer P, Dieppe PA. Novel drug treatment strategies for osteoarthritis. J Rheumatol. 1993;20(9):1461-1464.
- Demir H, Balay H, Kirnap M. A comparative study of the effects of electrical stimulation and laser treatment on experimental wound healing in rats. J Rehabil Res Dev. 2004;41(2):147-154.
- Dowdall T, Robinson I, Meert TF. Comparison of five different rat models of peripheral nerve injury. Pharmacol Biochem Behav. 2005;80(1):93-108.
- Duarte LR. The stimulation of bone growth by ultrasound. Arch Orthop Trauma Surg. 1983;101(3):153-159.

- Gomez-Camarillo MA, Almonte-Becerril M, Vasquez TM, et al. Chondrocyte proliferation in a new culture system. *Cell Prolif.* 2009;42(2):207-218.
- Hochberg MC. Multidisciplinary integrative approach to treating knee pain in patients with osteoarthritis. *Ann Intern Med.* 2003;139(9):781-783.
- Kellgren JH and Lawrence JS. Radiological assessment of osteo-arthrosis. *Ann Rheum Dis* 1957;16:494-502.
- Lippiello L, Hall D, Mankin HJ. Collagen synthesis in normal and osteoarthritic human cartilage. *J Clin Invest.* 1977;59(4):593-600.
- Lorenz H, Richter W. Osteoarthritis: Cellular and molecular changes in degenerating cartilage. *Prog Histochem Cytochem.* 2006;40(3):135-163.
- Min SS, Han JS, Kim YI. et al. A novel method for convenient assessment of arthritic pain in voluntarily walking rats. *Neurosci Lett.* 2001;308(2):95-98.
- Mistry D, Oue Y, Chambers MG. et al. Chondrocyte death during murine osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2004;12(2):131-141.
- Owoeye I, Spielholz NI, Fetto J, et al. Low-intensity pulsed galvanic current and the healing of tenotomized rat achilles tendons: Preliminary report using load-to-breaking measurements. *Arch Phys Med Rehabil.* 1987 ;68(7):415-418.
- Roo CS, Muralidhar N, Naidu MV, et al. A rapid method for evaluation of analgesic and anti-inflammatory activity in rats. *Indian J Exp Biol.* 1991;29(2):120-122.
- Schmidt MB, Chen EH, Lynch SE. A review of the effects of insulin-like growth factor and platelet derived growth factor on in vivo cartilage healing and repair. *Osteoarthritis Cartilage.* 2006; 14(5):403-412.
- Schött E, Berge OG, Angeby-Möller K, et al. Weight bearing as an objective measure of arthritic pain in the rat. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 1994;31(2):79-83.
- Vanwanseele B, Lucchinetti E, Stüssi E. The effects of immobilization on the characteristics of articular cartilage: Current concepts and future directions. *Osteoarthritis Cartilage.* 2002;10(5):408-419.
- Yin W, Park JI, Loeser RF. Oxidative stress inhibits insulin-like growth factor-I induction of chondrocyte proteoglycan synthesis through differential regulation of phosphatidylinositol 3-Kinase-Akt and MEK-ERK MAPK signaling pathways. *J Biol Chem.* 2009;284(46):31972-31981.
-
- | | |
|---------|-------------|
| 논문접수일 | 2010년 9월 7일 |
| 논문게재승인일 | 2011년 1월 3일 |