

Sweet 봉약침과 저준위 레이저침이 Complete Freund's Adjuvant로 유발된 관절염 백서 모델에 미치는 영향

이정훈¹, 김경옥², 김경수³, 박수연⁴, 양승정⁵, 최창원⁶, 나창수⁷, 위통순^{1,*}

¹동신대학교 한의과대학 침구의학교실

²동신대학교 한의과대학 한방신경정신과학교실

³동신대학교 한의과대학

⁴동신대학교 한의과대학 한방안이비인후피부과학교실

⁵동신대학교 한의과대학 한방부인과학교실

⁶동신대학교 한의과대학 한방내과학교실

⁷동신대학교 한의과대학 경혈학교실



[Abstract]

Effects of Sweet Bee Venom Pharmacopuncture and Low Level Laser Acupuncture on a Rat Model with Complete Freund's Adjuvant-induced Arthritis

Jung Hun Lee¹, Kyeong Ok Kim², Kyeong Su Kim³, Soo Yeon Park⁴, Seung Joung Yang⁵, Chang Won Choi⁶, Chang Su Na⁷ and Tung Shuen Wei^{1,*}

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

²Department of Oriental Neuropsychiatry, College of Oriental Medicine, Dongshin University

³College of Oriental Medicine, Dongshin University

⁴Department of Oriental Ophthalmology, Otolaryngology & Dermatology, College of Oriental Medicine, Dongshin University

⁵Department of Oriental Gynecology, College of Oriental Medicine, Dongshin University

⁶Department of Oriental Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dongshin University

⁷Department of Acupoint & Meridian, College of Oriental Medicine, Dongshin University

Purpose : This research was conducted to investigate the effect of sweet bee venom pharmacopuncture and low level laser acupuncture on paw edema, pain index, anti-inflammatory factor, AST, ALT and complete blood cell count of a rat model with Complete Freund's Adjuvant-induced arthritis.

Methods : Five experimental groups were formed with each consisting of six rats: normal group, control group, sweet bee venom pharmacopuncture group, lower level laser acupuncture group, and sweet bee venom pharmacopuncture, lower level laser acupuncture group. The experimental model of arthritis was induced by two injections of Freund's adjuvant into the left knee joint of Sprague Dawley(SD) rats. The second injection of Freund's adjuvant was given ten days after the first one. Ten days later, sweet bee venom pharmacopuncture and low level laser acupuncture were administered separately or together by assigned groups at GB₃₄ and GB₃₉ of rats twice a week for a total of six times. Thereafter, edema rate, pain index, tumor necrosis factor- α , interleukin-6, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and complete blood cell count were measured.

Results : We noticed synergic effects of sweet bee venom pharmacopuncture and low level laser acupuncture according to the results of the paw edema and Von Frey pain index. The sweet bee venom pharmacopuncture(BVA) and sweet bee venom pharmacopuncture+ low level laser acupuncture(BVA+LLA) groups experienced a more significant effect when compared with the control group.

Conclusions : These results suggest that Sweet Bee Venom Pharmacopuncture and low level laser acupuncture at GB₃₄ and GB₃₉ have a significant anti-inflammatory effect on Freund's adjuvant arthritis in rats.

Key words :
 Rheumatoid arthritis;
 Freund's adjuvant
 arthritis;
 Sweet bee venom
 pharmacopuncture;
 Low level laser
 acupuncture

Received : 2015. 05. 08.

Revised : 2015. 07. 03.

Accepted : 2015. 09. 02.

On-line : 2015. 09. 20.

* Corresponding author : Department of Acupuncture & Moxibustion Medicine, Suncheon Hospital for Traditional Korean Medicine, Dongshin University, 331, Isu-ro, Suncheon-si, Jeollanam-do, 57949, Republic of Korea
 Tel : +82-61-729-7133 E-mail : tiger-tung@hanmail.net

© This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

The Acupuncture is the Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society. (<http://www.TheAcupuncture.org>)

Copyright © 2014 KAMMS, Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society. All rights reserved.

I. 서 론

류마티스 관절염(rheumatoid arthritis)은 만성 관절염을 일으키는 자가면역 질환의 일종으로, 대칭성을 이루며 양쪽 상지 및 하지의 크고 작은 관절에 다발성으로 침범하면서 조조 강직 등의 전신 증상이 6개월 이상 나타나는 것이 특징이다¹⁾.

한의학적으로 류마티스 관절염은 痺症, 歷節風, 鶴膝風의 범주에서 다루는데, 기본적으로 虛症에 속하며 인체의 正氣가 약해진 틈을 타고 외부의 風·寒·濕 邪氣가 經絡 내로 들어와 阻絡하여 氣血運行을 방해하여 발생한다. 관절부위의 疼痛, 腫脹, 熱感, 麻木 등의 증상을 발현하며 祛風散寒, 化濕清熱, 通經活絡하여 환자의 經氣를 소통시켜 치료한다²⁾.

류마티스 관절염에는 脾俞·肝俞·尺澤·曲池·陽陵泉·行間·解谿·風市·委中·懸鍾·足三里·天井·手三里 등이 쓰이는데³⁾, 이중 陽陵泉(GB₃₄)은 八會穴 중 筋會穴로 舒筋活絡, 緩急止痛의 효능이 있고, 懸鍾(GB₃₉)은 八會穴 중 髓會穴로 利關節, 止疼痛, 壯筋骨의 효능이 있어, 이 둘은 強壯健骨, 緩急止痛하여 下肢不遂, 下肢痿軟 등의 증상에 활용하고 있다³⁾.

봉약침요법은 꿀벌의 독낭에 들어 있는 독을 추출하여 가공한 후 희석시킨 것을 특정 경혈에 주입함으로써, 자침 효과와 함께 봉독에 있는 약리작용을 질병 치료에 이용하는 신침요법으로⁴⁾ 류마티스 관절염에 다용되는데, 현재 한방 임상에서는 anaphylaxis 및 기타 여러 과민 반응이 나타날 위험이 있어 알레르기 반응을 최소화한 sweet 봉약침을 임상에서 다용하고 있다⁵⁾.

저준위 레이저 치료법은 1995년 이후 중국에서 도입되었고⁶⁾ 이는 체내에서 광화학적 변화를 일으켜 진통효과에 대해 유효한 결과를 나타내는 것으로 밝혀져 있으며, 침치료와 결합하여 다음과 같은 선행 연구들이 있다. Yook⁷⁾은 He-Ne 레이저침이 요통 및 요각통에 양호한 효과를 나타내며 증풍후유증으로 인한 痺症과 膝關節痛에 유효하다고 하였고, Kim et al⁸⁾은 침, 구, 레이저침의 진통에 대한 효능을 비교 보고하여 유의성 있는 결과를 내놓았으며, Wei et al⁹⁾은 신경 병리성 동통을 유발시킨 백서에 이용하여 유의성 있는 결과를 도출하였고, Nah¹⁰⁾는 퇴행성 골관절염을 유발한 백서에서 저출력 레이저가 통증과 연골재생에 유의한 효과가 있다고 하였으며, Kim et al¹¹⁾은 전침과 레이저침을 복합 이용하였을 때 신경 병리성 통증에 유의성 있는 억제효과를 보인다고 보고하였다.

이에 저자는 complete Freund's adjuvant로 관절염을 유발한 백서를 대상으로 陽陵泉(GB₃₄)·懸鍾(GB₃₉)에 sweet

봉약침과 저준위 레이저침을 시술하여 족 부종, 동통지수, 혈액·혈청학적 변화 및 항염증인자를 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

체중이 약 200~210 g의 Sprague Dawley계의 백서를 항온항습 환경의 사육장(실내온도 24~26℃, 습도 40~60 %) 내에서 고형사료(Pellet, GMO, 한국)와 물을 충분히 공급하면서 1주일 이상 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였으며, 실험기간 동안에도 물과 고형사료를 자유롭게 섭취하도록 하였다. 본 실험은 동신대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 시행하였다(2013-07).

2) Sweet 봉약침

Sweet 봉약침으로는 대한약침학회에서 조제한 sweet bee venom(10 %)을 사용하였다.

3) 레이저침

본 연구를 위하여 prototype으로 제작된 laser acupuncture system을 사용하였으며, 이는 광주과학기술원 레이저 나노가공 연구실에서 제작하였다. 주요한 제원과 시스템 사양은 다음과 같다(Table 1, Fig. 1).

2. 방법

1) Complete Freund's Adjuvant 관절염 유발

관절염 1차 유발은 Complete Freund's Adjuvant (Sigma, St Louis, MD, USA, 이하 CFA)로 백서의 왼쪽 슬관절에 Sterile Hypodermic syringe(Korea vaccine co, Korea, 이하 SHC)로 0.25 ml씩 투여하고, 10일 경과 후 2차 유발하였다. 2차 유발은 CFA로 백서의 왼쪽 슬관절 아래 방향으로 SHC로 0.1 ml씩 투여하고 왼쪽 발바닥에 SHC로 0.08 ml씩 투여하였다.

2) 취혈

취혈은 좌측의 혈위를 사용하였으며, 陽陵泉(GB₃₄)은

Table 1. The Specifications of Laser Acupuncture System

	Specifications	LD
Optical properties	CW output power	60 mW
	Wavelength	904±4 nm
	Beam mode	Multimode
	Mode quality	< 1.5
	Power stability	< 10 %
Electrical properties	Operating voltage(V _o)	< 3 V
	Threshold current(I _{th})	60±5 mA
	Operating current(I _o)	100±10 mA
Accessory properties	Maximum current(I _{max})	150 mA
	Optical fiber type	Multimode
	Core/cladding diameter	50/125 μm
	Numerical aperture	0.22
	Transmission loss	0.3±0.05 dB/Km
Connector type	FC/PC	



Fig. 1. Laser acupuncture system

fibula head 전하방의 요함처에서,懸鍾(GB₃₉)은 fibular 면쪽으로 popliteal crease에서 lateral malleolus의 prominence까지의 연결선상에서 lateral malleolus 상방에서 인체와 상응되는 부위에 취하였다.

3) 군 분리(Table 2)

모두 30마리의 백서는 관절염을 유발시키지 않고, 시술하지 않은 정상군(normal group 이하 NOR, n=6), CFA로 관절염을 유발시킨 후 처치를 하지 않은 대조군(control group 이하 CON, n=6), CFA로 관절염을 유발시킨 후 陽陵泉(GB₃₄)·懸鍾(GB₃₉)에 sweet 봉약침(10 %, 100 ul)을 시술한 군(sweet bee venom pharmacopuncture group, 이하 BVA, n=6), CFA로 관절염을 유발시킨 후 陽陵泉(GB₃₄)·懸鍾(GB₃₉)에 904 nm 레이저침(10 mw, 20 Hz)을

Table 2. Group Classification and Treatment

Group Classification	Treatment
NOR	No arthritis inducement and investigational therapies
CON	Arthritis inducement with the CFA but no investigational therapies
BVA	Arthritis inducement with the CFA and the sweet bee venom(10 %, 100 ul) injection on both GB ₃₄ and GB ₃₉
LLA	Arthritis inducement with the CFA and administration of 904nm laser acupuncture on GB ₃₄ and GB ₃₉
BVA+LLA	Arthritis inducement with the CFA and concomitant administration of sweet bee venom and 904nm laser acupuncture on GB ₃₄ and GB ₃₉

시술한 군(low level laser acupuncture group, 이하 LLA, n=6), CFA로 관절염을 유발시킨 후 陽陵泉(GB₃₄)·懸鍾(GB₃₉)에 sweet 봉약침+904 nm 레이저침을 시술한 군(sweet bee venom pharmacopuncture + low level laser acupuncture group, 이하 BVA+LLA, n=6)으로 나누었다.

4) Sweet 봉약침 및 레이저침 시술

Sweet 봉약침 및 레이저침 시술은 관절염 유발 후 10일째부터에 시작하였으며, 1주 2회씩 총 6회에 걸쳐 좌측 陽陵泉(GB₃₄)·懸鍾(GB₃₉)에 시술하였다. 레이저침은 빈도수를 20 Hz로 맞추고 강도 설정은 10 mw로 하여 5분간 시술하였고 전 실험기간에 숙련된 전문가 1인이 계속 시술하였다. BVA+LLA군은 봉약침 처치 후 연속해서 레이저침을 시술하였다.

3. 결과 측정

1) 발목 이하 부종 측정

Isoflurane 2.5 %과 O₂로 혼합된 가스 마취상태 하에서 Digital Plethymometer(LE7500, Panlab, Spain)로 백서의 발목 이하 부종을 측정하였으며, 측정은 유발 전, 유발 후, 각 회별 처치 후(1주 2회씩 총 6회)로 나누어 측정하였다.

2) Dynamic plantar aesthesiometer 측정

Dynamic plantar aesthesiometer(UGO BASILE 37450,

Italy)를 이용하여 Von Frey filament를 통해 물리적 자극을 주어 동통억제 효과를 측정하였으며, 측정은 각각 이에 대한 철회반응(withdrawal response)을 망으로 된 cage에 옮겨 5분간 안정시킨 후 유발 전, 유발 후, 각 회별 처치 후(1주 2회씩 총 6회)로 나누어 관찰하였다.

Stimulator 자극에 의한 동통 측정 방법은 0 g에서부터 50 g 강도까지 환측 발바닥 부위에 자극하여 발의 철회반응의 react time(stimulator가 발바닥에 contact하여 다시 떨어질 때까지의 시간 : second)과, force intensity(stimulator를 피한 순간의 힘 : gram)를 측정하였다.

3) 혈액 및 혈청학적 검사

채혈은 심장채혈을 하였으며, 경추이완으로 쥐를 고정시킨 후 좌심방에서 채혈하였다. 채혈에 의하여 얻은 혈액 중 약 100 μ l를 EDTA-bottle에 넣은 후 곧바로 multi-species hematology analyser(950, Hemavet, USA)에 주입하여 leukocytes, erythrocytes, white blood cell(WBC), red blood cell(RBC), hemoglobin(HGB), hematocrit(HCT)를 측정하였다. 나머지 혈액은 고속원심분리기(Centricon T-42K, Italy)에서 3,500 rpm으로 20분간 시행하여 혈청을 분리하였으며, 혈청 분석으로는 Aspartate Aminotransferase (AST)와 Alanine Aminotransferase(ALT)를 측정하였다.

4) Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) 측정

TNF- α 측정은 Rat TNF- α (Invitrogen, USA)를 사용하여 측정하였다. Rat TNF- α 가 coating된 microplate에 rat TNF- α standard, serum, control 100 ul를 첨가하고 plate cover로 tapping한 후에 1분간 mixing하고 실온에 2시간 방치하였다. Washing solution 400 ul로 4회 washing 후 Rt TNF- α biontin conjugate 100 ul를 첨가하고 plate cover를 덮고 실온에 1시간 방치하였다. Washing solution 400 ul로 4회 washing 후 streptavidin-HRP working solution 100 ul를 첨가하고 plate cover를 덮고 실온에 30분간 방치하였다. Washing solution 400 ul로 4회 washing 후 stabilized chromogen 100 ul를 첨가하여 plate cover를 덮고 실온(dark상태)에서 30분간 방치하였다. Stop solution 100 ul를 plate에 넣고 발색반응을 중지시킨 후 spectramax(M2, Molecular Devices, USA)로 450 nm에서 optical density(OD)를 측정하였다. Standard curve를 만들어 sample의 TNF- α 양을 assay하였다.

5) Interleukin-6(IL-6) 측정

IL-6 측정은 rat IL-6(Invitrogen, USA)를 사용하여 측정하였다. Rat IL-6가 coating된 microplate에 rat IL-6 standard 100 ul, serum, control 50 ul에 standard diluent buffer 50 ul를 첨가하고 plate cover로 tapping한 후에 1분간 mixing하고 실온에 3시간 방치하였다. Washing solution 400 ul로 4회 washing 후 Rt biotinylated anti IL-1 β 100 ul를 첨가하고 plate cover를 덮고 실온에 1시간 방치하였다. Washing solution 400 ul로 4회 washing 후 streptavidin-HRP working solution 100 ul를 첨가하고 plate cover를 덮고 실온에 30분간 방치하였다. Washing solution 400 ul로 4회 washing 후 stabilized chromogen 100 ul를 첨가하고 plate cover를 덮고 실온(dark 상태) 30분간 방치하였다. Stop solution 100 ul를 plate에 넣고 발색반응을 중지시킨 후 spectramax (M2, Molecular Devices, USA)로 450 nm에서 OD를 측정하였다. Standard curve를 만들어 sample의 IL-6 양을 assay하였다.

4. 통계 분석

본 연구의 통계학적 분석은 SPSS 21.0 ver. for Windows를 사용하였다. 관절염 유발 후 용량별 투여에 따른 각 군 간의 통계학적 분석은 one-Way ANOVA test를 시행하였고 사후검정은 least sSignificant difference (LSD) test로 분석하였으며, 족부종 변화에 대한 시점별 차이는 repeated measures ANOVA로 측정하였고 사후검정은 Bonferroni test로 분석하였다. 실험의 분석에서 유의수준은 $p < 0.05$ 로 설정하여 검정하였다.

III. 결 과

1. 족부 육안 소견

Sweet 봉약침과 레이저침의 단독 및 병용 처치가 육안적 소견에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군에 비하여 대조군에서 CFA로 유발된 좌측 후지에 발적 및 종창이 관찰되었으며, BVA군과 LLA군 및 BVA+LLA군에서 발적과 종창의 발현은 점차 줄어들었다(Fig. 2).

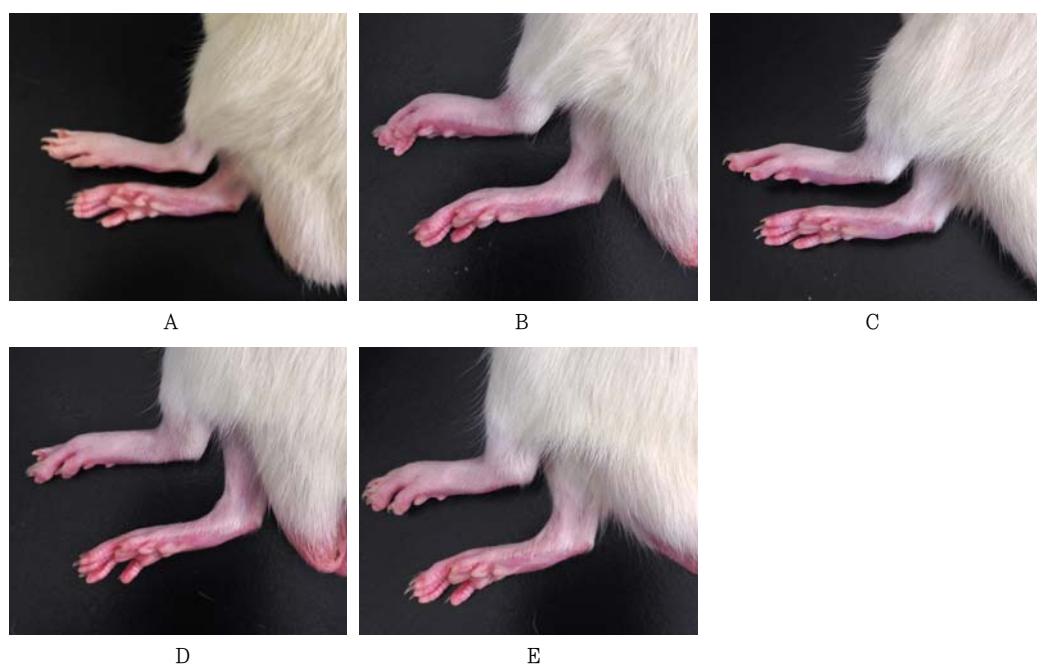


Fig. 2. Changes on the gross lesion of hind paws after BVA, LLA and BVA+LLA treatments in CFA induced arthritis rats

A : normal group, B : CFA control, C : BVA treated group, D : LLA treated group, E : BVA+LLA treated group,

2. 족부종 변화에 미치는 영향

Sweet 봉약침과 레이저침의 단독 및 병용 처치가 족부종 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 대조군은 CFA 유발 후 4.10 ± 0.29 ml였고, 이후 4.03 ± 0.31 ml, 3.79 ± 0.25 ml, 3.84 ± 0.30 ml, 3.88 ± 0.37 ml, 3.84 ± 0.34 ml, 3.97 ± 0.33 ml로 각각 나타나 모두 정상군에 비하여 유의하게 증가한 상태였다.

대조군에 비하여 BVA군은 1회째 3.27 ± 0.14 ml로, 2회째 2.96 ± 0.13 ml로, 5회째 2.83 ± 0.09 ml로, 6회째 2.51 ± 0.10 ml로 유의하게 감소한 상태였고, LLA군은 5회째 3.01 ± 0.07 ml로, 6회째 2.85 ± 0.12 ml로 유의하게 감소한 상태였으며, BVA+LLA군은 2회째 2.84 ± 0.26 , 3회째 3.04 ± 0.17 , 5회째 2.60 ± 0.14 , 6회째 2.54 ± 0.17 로 유의하게 감소한 상태였다(Table 3).

3. Von Frey 동통에 미치는 영향

1) Reaction time

Sweet 봉약침과 레이저침의 단독 및 병용 처치가 Von Frey 동통에 미치는 영향을 reaction time으로 관찰한 결

과, 대조군은 CFA 유발 후 3.2 ± 0.3 sec를 나타내었고, 이후 3.1 ± 0.2 sec, 2.9 ± 0.4 sec, 2.8 ± 0.4 sec, 2.8 ± 0.5 sec, 2.7 ± 0.4 sec, 2.7 ± 0.3 sec를 나타내어 모두 정상군에 비하여 유의하게 감소된 상태를 나타내었다.

대조군에 비하여 BVA군은 4회째 4.1 ± 0.2 sec, 5회째 5.1 ± 0.3 sec, 6회째 5.5 ± 0.4 sec로 유의하게 증가한 상태였고, LLA군은 4회째 4.8 ± 0.4 sec, 5회째 5.4 ± 0.4 sec, 6회째 5.1 ± 0.4 sec로 유의하게 증가한 상태였으며, BVA+LLA군은 3회째 4.8 ± 0.2 sec, 4회째 5.7 ± 0.4 sec, 5회째 5.5 ± 0.6 sec, 6회째 5.5 ± 0.3 sec로 유의하게 증가한 상태였다(Table 4).

2) Force

Sweet 봉약침과 레이저침의 단독 및 병용 처치가 Von Frey 동통에 미치는 영향을 force로 관찰한 결과, 대조군은 CFA 유발 후 16.1 ± 1.4 g, 이후 15.6 ± 1.2 g, 14.8 ± 2.2 g, 14.3 ± 2.2 g, 14.3 ± 2.5 g, 14.0 ± 2.0 g, 13.8 ± 1.5 g으로 나타나 모두 정상군에 비해 유의하게 감소한 상태였다.

대조군에 비하여 BVA군은 4회째 20.7 ± 1.2 g, 5회째 25.6 ± 1.7 g, 6회째 28.2 ± 1.9 g으로 유의하게 증가한 상태였으며, LLA군은 3회째 22.0 ± 2.1 g, 4회째 24.3 ± 2.0 g, 5회째 27.1 ± 1.9 g, 6회째 25.9 ± 2.0 g으로 유의하게 증가

Table 3. Changes on the Paw Edema after BVA, LLA and BVA+LLA Treatments in CFA Induced Arthritis Rats

	CFA		Treatment					
	Before	After	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th
NOR	1.44±0.04	1.57±0.02	1.64±0.05	1.73±0.06	1.80±0.04	1.89±0.04	1.93±0.02	1.92±0.05
CON	1.42±0.03	4.10±0.29 ^{##}	4.03±0.31 ^{##}	3.79±0.25 ^{##}	3.84±0.30 ^{##}	3.88±0.37 ^{##}	3.84±0.34 ^{##}	3.97±0.33 ^{##}
BVA	1.40±0.04	3.63±0.19	3.27±0.14 [*]	2.96±0.13 [*]	3.01±0.12	3.06±0.13	2.83±0.09 [*]	2.51±0.10 ^{**}
LLA	1.40±0.04	4.08±0.42	3.52±0.39	3.11±0.29	3.39±0.19	3.69±0.16	3.01±0.07 [*]	2.85±0.12 [*]
BVA+LLA	1.42±0.09	3.45±0.31	3.16±0.34	2.84±0.26 [*]	3.04±0.17 [*]	3.23±0.10	2.60±0.14	2.54±0.17 ^{**}

Values are expressed mean±SE, CFA : Complete Freund's Adjuvant.
: p<0.01 compared with normal, * : p<0.05, ** : p<0.01 compared with CFA control.

Table 4. Changes on the Reaction Time Contents after BVA, LLA and BVA+LLA Treatments in CFA Induced Arthritis Rats (sec)

	CFA		Treatment					
	Before	After	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th
NOR	7.2±0.1	7.0±0.2	7.1±0.5	6.8±0.2	6.6±0.5	6.7±0.3	6.9±0.5	6.2±0.3
CON	7.1±0.1	3.2±0.3 ^{##}	3.1±0.2 ^{##}	2.9±0.4 ^{##}	2.8±0.4 ^{##}	2.8±0.5 ^{##}	2.7±0.4 ^{##}	2.7±0.3 ^{##}
BVA	7.1±0.2	3.4±0.3	3.0±0.3	3.4±0.2	3.8±0.3	4.1±0.2 [*]	5.1±0.3 ^{**}	5.5±0.4 ^{**}
LLA	7.3±0.2	3.1±0.4	3.7±0.5	4.0±0.4	4.4±0.4	4.8±0.4 ^{**}	5.4±0.4 ^{**}	5.1±0.4 ^{**}
BVA+LLA	7.2±0.2	3.2±0.5	3.2±0.3	3.3±0.3	4.8±0.2 ^{**}	5.7±0.4 ^{**}	5.5±0.6 ^{**}	5.5±0.3 ^{**}

Values are expressed mean±SE, CFA : Complete Freund's Adjuvant.
: p<0.01 compared with normal, * : p<0.05, ** : p<0.01 compared with CFA control.

Table 5. Changes on the Force Contents after VA, LLA and BVA+LLA Treatments in CFA Induced Arthritis Rats (g)

	CFA		Treatment					
	Before	After	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th
NOR	35.6±0.3	34.9±1.0	35.4±2.3	34.2±1.2	33.1±2.3	33.7±1.4	34.5±2.3	31.1±1.3
CON	35.3±0.4	16.1±1.4 ^{##}	15.6±1.2 ^{##}	14.8±2.2 ^{##}	14.3±2.2 ^{##}	14.3±2.5 ^{##}	14.0±2.0 ^{##}	13.8±1.5 ^{##}
BVA	35.4±0.8	17.1±1.5	15.2±1.4	17.5±0.8	19.3±1.6	20.7±1.2 [*]	25.6±1.7 ^{**}	28.2±1.9 ^{**}
LLA	35.9±0.7	15.6±2.2	18.8±2.4	20.4±1.8	22.0±2.1 [*]	24.3±2.0 ^{**}	27.1±1.9 ^{**}	25.9±2.0 ^{**}
BVA+LLA	36.0±0.9	16.0±2.3	16.3±1.5	16.6±1.6	24.2±1.2 ^{**}	28.8±1.8 ^{**}	27.8±2.8 ^{**}	27.4±1.6 ^{**}

Values are expressed mean±SE, CFA : Complete Freund's Adjuvant.
: p<0.01 compared with normal, * : p<0.05, ** : p<0.01 compared with CFA control.

한 상태였으며, BVA+LLA군은 3회째 24.2±1.2 g, 4회째 28.8±1.8 g, 5회째 27.8±2.8 g, 6회째 27.4±1.6 g로 유의하게 증가한 상태였다(Table 5).

화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 대조군은 101.5±3.9 U/l, BVA군은 98.6±4.5 U/l, LLA군은 87.0±3.5 U/l, BVA+LLA군은 98.6±6.2 U/l로 각각 나타났다. 대조군에 비하여 LLA군은 유의한 감소가 있었다(Table 6).

4. Serum aminotransferase에 미치는 영향

1) AST 함량

Sweet 봉약침과 레이저침의 단독 및 병용 처치가 AST 변

2) ALT 함량

Sweet 봉약침과 레이저침의 단독 및 병용 처치가 ALT 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 대조군은 42.5±4.4 U/l, BVA군은 34.0±1.1 U/l, LLA군은 31.3±2.6 U/l, BVA+LLA군은 35.8±3.2 U/l로 각각 나타났다. 대조군에 비하

Table 6. Changes on the Aspartate Amino-transferase Contents after BVA, LLA and BVA+LLA Treatments in CFA Induced Arthritis Rats

Group	Aspartate aminotransferase(U/l)
NOR	65.7±3.0
CON	101.5±3.9 ^{##}
BVA	98.6±4.5
LLA	87.0±3.5 [*]
BVA+LLA	98.6±6.2

Values are expressed mean±SE,
CFA : Complete Freund's Adjuvant,
: $p < 0.01$ compared with normal,
* : $p < 0.05$ compared with CFA control.

Table 7. Changes on the Alanine Aminotransferase Contents after BVA, LLA and BVA+LLA Treatments in CFA Induced Arthritis Rats

Group	Alanine aminotransferase(U/l)
NOR	32.5±2.2
CON	42.5±4.4
BVA	34.0±1.1
LLA	31.3±2.6 [*]
BVA+LLA	35.8±3.2

Values are expressed mean±SE,
CFA : Complete Freund's Adjuvant,
* : $p < 0.05$ compared with CFA control.

여 LLA군은 유의한 감소가 있었다(Table 7).

5. Anti-inflammatory factor에 미치는 영향

1) TNF- α 함량

Sweet 봉약침과 레이저침의 단독 및 병용 처치가 TNF- α 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 대조군은 3.23±0.09 pg/ml, BVA군은 1.12±0.09 pg/ml, LLA군은 1.04±0.08 pg/ml, BVA+LLA군은 1.82±0.32 pg/ml로 각각 나타났다. 대조군에 비하여 BVA군과 LLA군에서 유의한 감소가 있었다(Table 8).

2) IL-6 함량

Sweet 봉약침과 레이저침의 단독 및 병용 처치가 IL-6 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 대조군은 대조군은 7.89±0.09 pg/ml, BVA군은 7.35±0.08 pg/ml, LLA군은

Table 8. Changes on the TNF- α contents after BVA, LLA and BVA+LLA treatments in CFA induced arthritis rats

Group	Tumor necrosis factor- α (pg/ml)
NOR	1.35±0.18
CON	3.23±0.09 [#]
BVA	1.12±0.09 [*]
LLA	1.04±0.08 ^{**}
BVA+LLA	1.82±0.32

Values are expressed mean±SE, CFA : Complete Freund's Adjuvant,
: $p < 0.05$ compared with normal,
* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ compared with CFA control.

Table 9. Changes on the Interleukin-6 contents after BVA, LLA and BVA+LLA treatments in CFA induced arthritis rats

Group	Interleukin-6(pg/ml)
NOR	7.43±0.12
CON	7.89±0.09 [#]
BVA	7.35±0.08 ^{**}
LLA	7.13±0.07 ^{**}
BVA+LLA	7.01±0.05 ^{**}

Values are expressed mean±SE,
CFA : Complete Freund's Adjuvant,
: $p < 0.05$ compared with normal,
** : $p < 0.01$ compared with CFA control.

7.13±0.07 pg/ml, BVA+LLA군은 7.01±0.05 pg/ml로 각각 나타났다. 대조군에 비하여 BVA군, LLA군과 BVA+LLA군은 모두 유의한 감소가 있었다(Table 9).

6. 혈액 complete blood count(CBC) 함량 변화에 미치는 영향

1) Leukocytes

Sweet 봉약침과 레이저침의 단독 및 병용 처치가 혈액 CBC 중 leukocytes 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군에 비하여 대조군은 WBC, neutrophils, lymphocytes, monocytes에서 각각 증가하는 경향이였다.

대조군에 비하여 BVA+LLA군은 Monocytes에서 유의한 감소가 있었다(Table 10).

2) Erythrocytes와 thrombocytes

Sweet 봉약침과 레이저침의 단독 및 병용 처치가 혈액

Table 10. Changes on the blood WBC, Neutrophils, Lymphocytes and Monocytes contents after BVA, LLA and BVA+LLA treatments in CFA induced arthritis rats

Group	Parameters	WBC (K/uL)	Neutrophils (K/uL)	Lymphocytes (K/uL)	Monocytes (K/uL)	Eosinophils(K/uL)	Basophils (K/uL)
NOR		4.4±0.2	1.03±0.13	3.1±0.179	0.17±0.04	0.03±0.02	0.003±0.002
CON		4.8±0.4	1.32±0.17	3.22±0.34	0.21±0.03	0.02±0.00	0.002±0.002
BVA		4.4±0.4	1.21±0.16	2.93±0.32	0.18±0.02	0.03±0.01	0.005±0.005
LLA		4.7±0.4	1.45±0.23	3.01±0.22	0.18±0.02	0.02±0.00	0.001±0.000
BVA+LLA		4.1±0.2	1.33±0.13	2.62±0.13	0.12±0.02*	0.04±0.02	0.017±0.012

Values are expressed mean±SE, CFA : Complete Freund's Adjuvant,

* : p<0.05 compared with CFA control.

Table 11. Changes on the blood RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC and PLT contents after BVA, LLA and BVA+LLA treatments in CFA induced arthritis rats

Group	Parameters	RBC (K/uL)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	PLT (K/uL)
NOR		7.8±0.2	13.9±0.1	52.1±0.7	67.1±1.2	17.9±0.4	26.7±0.3	675.8±104.8
CON		8.1±0.1	13.9±0.2	51.0±0.5	63.2±0.8	17.2±0.3	27.2±0.3	864.5±33.6
BVA		7.7±0.2	13.7±0.3	48.8±1.2	63.3±1.1	17.7±0.3	28.0±0.3	797.2±41.6
LLA		7.9±0.1	14.1±0.3	51.2±0.8	64.5±0.8	17.8±0.3	27.6±0.3	814.5±15.4
BVA+LLA		7.4±0.2*	13.6±0.3	48.5±1.3	65.5±1.0	18.4±0.2*	28.0±0.5	785.7±87.7

Values are expressed mean±SE, CFA : Complete Freund's Adjuvant,

* : p<0.05 compared with CFA control.

CBC 중 erythrocytes와 thrombocytes 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군에 비하여 대조군은 hemoglobin(HGB), hematocrit(HCT), mean corpuscular volume(MCV), mean corpuscular hemoglobin(MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration(MCHC), platelet(PLT)에서 비슷한 상태로 나타났다.

대조군에 비하여 BVA+LLA군은 RBC에서 유의하게 감소하였고, MCH에서는 유의하게 증가하였다(Table 11).

IV. 고 찰

류마티스 관절염은 양측의 대칭성을 이루며 상지 및 하지의 크고 작은 관절을 다발성으로 침범하면서 조조 강직과 같은 전신 증상이 6개월 이상 나타나는 만성 진행성 염증 질환으로, 활액막의 만성 비대 및 염증반응이 일어나 관절 연골과 그 주변 조직을 파괴하며 관절 부종과 동통을 초래하게 되는 교원성 질환의 일종이다¹⁾.

류마티스 관절염은 그 원인이 불명확하지만 유전적 요인과 함께 환경적 요인이 복합적으로 작용한다고 알려져 있

으며, 치료 목표는 통증과 염증을 감소시키는 것뿐만 아니라 뼈와 연골의 손상을 억제하여 장애 발생을 예방하는 데 있다²⁾.

류마티스 관절염의 유병률은 0.5~1% 정도로 알려져 있으나 각 민족, 인종별로 유병률의 차이가 있고, 1960년대 이후 류마티스 관절염의 유병률과 발병률은 감소하는 추세로 추정된다. 연구 결과에 따르면 국내 류마티스 관절염의 유병률은 1.1~2.1%로 나타났고 남녀 비는 2.6에서 13.5까지 연구별로 큰 차이를 보였다³⁾.

현대의학에서는 선택적 COX-2 길항제, salicylate, nonsteroidal antiinflammatory drug(NSAID)와 같은 비스테로이드제제와 triaminolone, prednisone과 같은 부신피질호르몬제제와 sulfasalazine, methotrexate 등과 같은 항류마티스제제를 투여하고 있고, 심한 경우 TNF-a 길항제, IL-1 수용체 길항제 등의 생물학적 제제를 사용하거나 복합투여하는데, 장기간 투여 시 유해반응 및 감염 등에 노출될 위험이 있다⁴⁾.

한의학적으로 류마티스 관절염은痺症, 歷節風, 鶴膝風의 범주로 보고 있다. 《黃帝內經素問·痺論》⁵⁾에서는 “風寒濕三氣至, 合而爲痺也, 其風氣勝者爲行痺, 寒氣勝者爲痛痺, 濕氣勝者爲着痺也”라 하여 風寒濕熱의 邪氣가 인체의 正氣가

약한 틈을 타고 經絡내로 들어와 막혀 氣血運行을 방해한다고 보았으며, 《金匱要略》¹⁶⁾에서는 “因疲勞汗出, 臥不時動搖, 加被微風, 遂得之”라 하였고, 《景岳全書》¹⁷⁾에서는 “眞陰衰弱, 精血虧損, 故三氣得以勝之而爲痺”라 하여 기본적으로 痺症은 虛證에 속하며 외부의 風寒濕 邪氣가 합하여져 발생한다고 하였다. 痺病은 관절 부위에 疼痛, 腫脹, 熱感, 麻木 등의 증상을 발현하고 부가적으로 汗出, 口渴, 咽紅, 脈浮數한 양상을 보이며 祛風散寒, 化濕清熱, 通經活絡하여 환처의 經氣를 소통시켜 치료한다²⁾.

류마티스 관절염을 유발시키는 동물 모델로는 유도과라핀에 표면활성제를 섞은 후 결핵사균을 첨가한 adjuvant 유발법, type II collagen을 직접 피내주사하는 II형 collagen 유발법, E coli에서 유래된 lipopolysaccharide를 통한 LPS 유발법, streptococcus를 boling한 후 유리된 세포벽 성분을 주사하는 peptidoglycan polysaccharide 유발법 및 carrageenin 유발법 등이 있는데¹⁸⁾, 이 중 본 실험에서 사용된 CFA는 항원과 함께 면역계에 작용하여 항체의 생성이나 세포성 면역을 증가시키는 물질로 국소부위에 항원을 장시간 유지시켰다가 점차 방출시키거나, 대식세포를 자극하여 항원 제시효과를 활성화시키는 작용을 한다. 이를 백서에 주입하면 다발성 관절염, 비장과 부신의 종대, 백혈구 증가 등을 일으켜 인체의 류마티스 관절염과 비슷한 양상을 보여 실험 연구에 다용되고 있다¹⁹⁾.

陽陵泉(GB₃₄)은 腓骨頭의 前下方의 凹陷處로 長腓骨筋과 長趾伸筋中에 있으며 經水病動의 源이 되는 중요한 穴로서 膽經의 合穴이고 陰陵泉과 相對한다. 《鍼灸說約》에 의하면 偏風, 脚氣, 足筋攣을 治한다고 하였고, 《十四經發揮》에는 髌骨膝骨冷痺, 脚不能屈, 偏風半身不遂, 頭面腫, 足筋攣을 主治한다고 하였으며, 八會穴 중 筋會穴로서 舒筋活絡, 緩急止痛하는 효능이 있다³⁾.

懸鍾(GB₃₉)은 外踝의 上方 3寸으로 腓骨後緣과 長腓骨筋의 사이에 있으며 足三陽의 大絡이다. 《鍼灸說約》에 의하면 心腹滿, 胃熱不食, 脚氣足不仁을 治한다고 하였고, 《十四經發揮》에는 心腹脹滿, 胃熱, 脚氣, 膝胫痛, 喉痺, 項痛, 腸痔, 衄血, 大便秘小便澁, 中風手足不遂, 腦直, 頭痛을 主治한다고 하였으며, 八會穴 중 髓會穴로서 利關節, 止疼痛, 壯筋骨하는 효능이 있다³⁾.

Doh et al²⁰⁾은 LPS로 유발된 류마티스 관절염에 陽陵泉(GB₃₄)을 취혈하여 상백피, 우슬, O.K. 및 봉약침을 투여하였고 Ahn et al²¹⁾은 LPS로 유발된 류마티스 관절염에 陽陵泉(GB₃₄)을 취혈하였으며, Song et al²²⁾과 Nah et al²³⁾은 CFA로 유발된 관절염 백서모델에 懸鍾(GB₃₉)을 취혈하였다. 이에 저자는 緩急止痛, 強壯健骨하는 효능을 얻기 위해 선행 실험에서 유의한 효과를 보인 陽陵泉(GB₃₄)과

懸鍾(GB₃₉)을 택하여 sweet 봉약침 및 레이저침을 시행하였다.

봉약침요법은 꿀벌의 독낭에 들어 있는 독을 추출하여 가공한 후 희석한 것을 특정 경혈에 주입함으로써, 자침의 효과와 함께 봉독에 들어 있는 약리작용을 질병의 치료에 이용하는 신침요법을 일컫는데⁴⁾, 오래전부터 민간요법의 하나로 통증 질환에 사용되어 왔으며 현재 국내뿐만 아니라 미국·중국·유럽 등 여러 국가에서 연구되고 있다²⁴⁾.

봉약침은 강력한 항염증 작용이 있어 염증세포를 사멸하며, 면역기능을 조절하는 작용을 하고, 신경장애훈을 개선하며, cortisol 등의 호르몬 분비를 촉진하고, prostaglandin의 생합성을 억제하여 소염, 진통에 효과가 있는데²⁵⁾, 임상에서 응용할 때 anaphylaxis 및 기타 여러 과민 반응의 위험 때문에 PLA2를 포함한 효소와 histamine을 제거하고 melittin만 분리하여 알레르기 반응을 최소화한 sweet 봉약침이 개발되어 있으며, 이를 임상에서 다용하고 있다⁵⁾.

류마티스 관절염에 대한 봉약침의 임상연구를 살펴보면 Lee et al²⁶⁾과 Hwang et al²⁷⁾은 봉약침이 류마티스 관절염 환자의 치료에 효과가 있다고 보고하였으며, Kim et al²⁸⁾과 Yoo et al²⁹⁾, Lee et al³⁰⁾은 실험을 통해 류마티스 관절염 동물 모델에서 봉약침이 부종감소 및 통증 완화에 효과가 있다고 하였다.

1960년 Maiman TH에 의해 처음으로 ruby laser가 실현된 후 1961년부터 의학 분야에서 레이저가 응용되었는데³¹⁾ laser침요법은 1975년 독일의 Plog가 He-Ne laser 광선을 고유의 침치료 대신 사용하여 유효한 결과를 얻어낸 이래로³²⁾, 1990년 중국의 王鐵丹이 저준위 레이저 유침치료(lower level laser therapy, LLLT)를 연구, 개발하여 임상치료에 응용하였다⁶⁾.

저준위 레이저는 체내에서 광화학적 변화를 일으켜 진통 효과에 대해 유효한 결과를 나타내는데 Yook⁷⁾은 He-Ne 레이저침이 요통 및 요각통에 양호한 효과를 나타내며 중풍후유증으로 인한 痺症과 슬관절통에 유효하다고 하였고, Kim et al⁸⁾이 침, 구, 레이저침의 진통에 대한 효능을 비교 보고하여 유의성있는 결과를 내놓았으며, Wei et al⁹⁾은 신경 병리성 동통을 유발시킨 백서에 이용하여 유의성 있는 결과를 도출하였고, Nah¹⁰⁾은 퇴행성 골관절염을 유발한 백서에서 저출력 레이저가 통증과 연골재생에 유의한 효과가 있다고 하였으며, Kim et al¹¹⁾은 전침과 레이저침을 복합 이용하였을 때 신경 병리성 통증에 유의성 있는 억제효과를 보인다고 하였다.

이와 같은 연구결과로 보아 sweet 봉약침과 저준위 레이저침은 진통효과를 인정받으면서 시술시간이 짧고 간편하며 상대적으로 침치료보다 비침습적이어서 침치료에 대한

거부감이 있는 환자에게 동시에 적용할 수 있다는 장점이 있다.

이에 저자는 Complete Freund's adjuvant로 관절염을 유발한 백서를 대상으로 陽陵泉(GB₃₄)·懸鍾(GB₃₉)에 sweet 봉약침과 저준위 레이저 침을 시술하여 족부중, 동통지수, 혈액·혈청학적 변화 및 항염증인자를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

백서의 발목 이하 부종을 육안으로 측정된 결과 정상군에 비하여 대조군에서 CFA로 유발된 좌측 후지에 발적 및 종창이 관찰되었으며, BVA군과 LLA군 및 BVA+LLA군에서 발적과 종창의 발현은 점차 줄어드는 것으로 관찰되었다.

Sweet 봉약침과 레이저침의 단독 및 병용 처치가 족부중 변화에 미치는 영향을 digital plethymometer로 관찰했을 때, 대조군은 CFA 유발 후, 정상군에 비해 유의하게 증가한 상태를 보였고, 대조군에 비해서 BVA군, LLA군, BVA+LLA군 모두 유의하게 감소한 상태였다. 이를 종합해 보면 sweet 봉약침과 레이저침이 관절염으로 인한 부종을 감소시키는 데 유효한 반응이 있음을 나타낸다.

본 실험에서 사용한 Von Frey filament는 구부러질 때의 압력이 일정하여 동일한 자극을 가할 수 있으며, 이때 물리적 이질통이 회피반응으로 나타나 통증지수를 객관적으로 정량화할 수 있어 많이 사용되고 있다³³⁾.

Sweet 봉약침과 레이저침의 단독 및 병용 처치가 Von Frey filament로 자극된 동통에 미치는 영향을 reaction time으로 관찰한 결과, 대조군은 CFA 유발 후 정상군에 비하여 유의하게 감소한 상태였으며 대조군에 비하여 BVA군, LLA군, BVA+LLA군은 모두 유의하게 호전된 상태였다. Sweet 봉약침과 레이저침의 단독 및 병용 처치가 Von Frey filament로 자극된 동통에 미치는 영향을 force로 관찰한 결과, 대조군은 CFA 유발 후 정상군에 비하여 유의하게 감소된 상태를 나타내었으며, 대조군에 비하여 BVA군, LLA군, BVA+LLA군은 모두 유의하게 호전된 상태였다. 이는 sweet 봉약침과 레이저침이 모두 관절염으로 유발된 통증을 억제하는 데 도움이 된 것으로 사료된다.

AST는 급만성 간염, 지방간, 폐색성 황달, 원발성 담즙성 간병변, 심근경색, 근육질환, 용혈성 질환에서 증가하고³⁴⁾ ALT는 AST에 비해 간에 특이적으로 간 기능의 검사, 염증성 질환 치료 효과의 관찰, 독성 약품에 의한 간 장애의 평가 등에 이용된다³⁵⁾.

Sweet 봉약침군과 레이저 치료군 등의 처리 조건에 따른 영향을 살펴보기 위해 실시한 혈액학적 검사에 있어 AST 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군에 비해 대조군에서 유의성 있게 증가하였고, 실험군 모두에서 유의성이 인정되지 않았으나 LLA군은 87.0 ± 3.5 U/l을 나타냄

으로써 대조군에 비하여 유의한 감소를 보여 레이저침 단독군에서 AST의 활성도의 저하에 영향을 준 것으로 사료된다. ALT 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 대조군은 정상군에 비해 유의하게 증가하였고, BVA군, LLA군, BVA+LLA군에서 전반적으로 감소하는 경향을 보였으며, LLA군에서 가장 유의한 감소를 보인 결과 sweet 봉약침과 레이저침이 ALT의 활성도를 낮춘 것으로 판단된다.

류마티스 관절염 환자와 관련된 염증성 cytokine은 IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8, TGF- β , GM-CSF 등으로 알려져 있고, 이중 TNF- α 는 류마티스 관절염의 병리학적으로 중요한 인자로 TNF- α 의 농도 증가는 뼈의 파괴 정도와 관련이 깊고 관절조직을 파괴하는데 중요하게 관여한다³⁶⁾. IL-6는 B-세포가 형질세포로 분화하는 것을 촉진하며, 이 형질 세포가 증식하고 면역글로블린 분비를 자극한다. 또 파골세포 분화를 촉진하고 aggrecanase를 활성화 시켜 proteoglycan의 분해를 촉진함으로써 류마티스 관절염에서 관절 주위 골 감소와 관절 손상에 주요한 역할을 한다³⁷⁾.

본 실험에서 TNF- α , IL-6의 함량은 모두 대조군이 정상군에 비해서 유의성 있게 높았고, TNF- α 는 대조군에 비하여 BVA군과 LLA군에서 유의한 감소가 있었으며, IL-6는 대조군에 비하여 BVA군, LLA군과 BVA+LLA군에서 모두 유의한 감소가 있었는데, sweet 봉약침과 레이저침이 활막세포 및 활막 내 침윤된 백혈구의 활성을 억제하여 TNF- α 와 IL-6 분비를 감소시켜 관절염의 완화에 도움을 줄 것으로 생각된다.

혈중 백혈구는 염증성 질환이나 감염성 질환 그리고 조직괴사 등에서 증가하는데, 호중구는 세균체에 이동하여 탐식, 살균하는 기능이 있으며 일반적으로 급성 감염증이나 아드레날린, 부신피질스테로이드제에 의해 증가하고, 단핵구도 비슷한 기능을 가지며 결핵이나 아급성 심내막염에 의해 증가한다. 림프구는 항체생산, 지연형 과민반응 등의 면역반응을 담당하여 면역기능을 평가하는 지표 중 하나로 전염성 단구증과 백일해, 림프구계 종양으로 증가하고, 호산구는 생체방어체계 중 특히 기생충에 대해 반응하여 알레르기성 질환, 기생충증, 피부질환 등에서 증가하며, 호염기구는 알레르기 반응의 중심적인 역할을 하는데 비교적 여러 가지 병태에서 증가하는 소견을 보인다³⁸⁾.

본 실험에서 백혈구 계열의 지표는 정상군에 비해 대조군의 수치가 WBC, neutrophils, lymphocytes, monocytes는 증가하는 경향을 보였고, eosinophils와 basophils는 감소하였으나 유의성은 없었다. 실험군에서는 대조군과 비교하였을 때 BVA+LLA군이 monocytes에서 유의한 감소를 나타낸 이외에 유의한 변화는 없었다.

MCV는 평균적혈구용적으로 적혈구 수와 적혈구 용적 값으로부터 산출되며 HGB의 종류를 구분하는 데 도움이 되는 수치이다. MCH는 평균적혈구혈색소량을 나타내는 것으로 혈구의 저색소성과 고색소성 정도를 평가하는 데 사용된다. MCHC는 평균적혈구혈색소농도값으로 HGB농도의 고저 즉, 저색소성, 고색소성의 정도를 나타낸다. RBC, HGB, HCT를 측정하여 빈혈의 유무를 판단할 수 있고 MCV, MCH, MCHC의 상호 관계를 계수적으로 평가하여 빈혈의 종류 및 정도에 대해 추가적인 정보를 얻을 수 있다. Platelet는 말초 혈액 내에 존재하는 혈구 성분의 일종으로 부착과 응집 과정을 통해, 각종 혈소판 인자를 방출하여 체내 지혈 기전에 중요한 역할을 담당한다. 급성 출혈, 세균성 혹은 바이러스성 감염 시 감소되고, 감소 시 지혈과정에 문제가 일어나게 된다³⁹⁾.

본 연구에서 대조군이 정상군에 비해 RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT가 비슷한 상태를 나타냈고, 대조군에 비해 BVA+LLA군은 RBC에서 유의한 감소가 있었으며, MCH에서는 유의하게 증가하였다.

이상의 실험결과를 통하여 족부종과 Von Frey filament로 자극된 동통을 reaction time과 force로 측정하였을 때 BVA군, LLA군, BVA+LLA군에서 모두 유의한 효과가 나타남을 알 수 있었고, TNF- α 수치는 BVA군과 LLA군에서 유의하게 감소하였으며, IL-6 수치는 BVA군, LLA군, BVA+LLA군에서 모두 유의하게 감소하였음을 알 수 있었다.

이를 종합해보면 sweet 봉약침과 레이저침을 각각 사용하거나, 또는 병행하여 관절염을 유의하게 개선할 수 있는 것으로 나타나 임상에서 류마티스 관절염의 치료에 유효하게 적용될 수 있을 것으로 판단한다.

V. 결 론

Sweet 봉약침과 레이저침이 류마티스 관절염에 미치는 영향을 알아보기 위하여 Complete Freund's Adjuvant로 유발된 관절염 백서의 陽陵泉(GB₃₄)·懸鍾(GB₃₉)에 sweet 봉약침과 레이저침을 시술한 후 관절 부종, 동통지수, 혈액 및 면역학적 변화를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 족부 육안 소견에서 BVA군과 LLA군 및 BVA+LLA군에서 발적과 종창의 발현은 점차 줄어든 양상이었다.
2. Paw edema에서 대조군에 비하여 BVA군은 1회째, 2회째, 5회째, 6회째에 유의하게 감소하였고, LLA군은 5회째, 6회째 유의한 감소가 있었으며, BVA+LLA

군은 2회째, 3회째, 5회째, 6회째에 유의한 감소가 있었다.

3. Von Frey filament 자극으로 유발된 동통의 reaction time에서 대조군에 비하여 BVA군과 LLA군은 4회째, 5회째, 6회째에 유의한 증가가 있었고, BVA+LLA군은 3회째, 4회째, 5회째, 6회째에 유의한 증가가 있었다.
4. Von Frey filament 자극으로 유발된 동통의 force에서 대조군에 비하여 BVA군은 4회째, 5회째, 6회째에 유의한 증가가 있었고, LLA군과 BVA+LLA군은 3회째, 4회째, 5회째, 6회째에 유의한 증가가 있었다.
5. AST 및 ALT에서 대조군에 비하여 LLA군은 유의한 감소가 있었다.
6. TNF- α 에서 대조군에 비하여 BVA군과 LLA군은 유의한 감소가 있었다.
7. IL-6에서 대조군에 비하여 BVA군, LLA군과 BVA+LLA군은 모두 유의한 감소가 있었다.
8. Leukocytes의 monocytes에서 대조군에 비하여 BVA+LLA군은 유의한 감소가 있었다.
9. Erythrocytes의 RBC에서 BVA+LLA군은 유의한 감소를 보였고, MCH에서는 유의한 증가가 있었다.

VI. References

1. James B Wyngeden. Cecil textbook of medicine. Philadelphia : WA Saunders Company. 1992 : 1508-15.
2. Korean Acupuncture & Moxibustion Society Textbook Compilation Committee. The Acupuncture and Moxibustion. Gyeonggi : Jipmoondang. 2008 : 127.
3. Ahn YG. A series of meridian point theory. Seoul : Sungbosa. 2000 : 584-5, 592-3.
4. Korean Pharmacopuncture Institute. Pharmacopuncture. Seoul : Elsevier Korea LLC. 2008 : 167-9.
5. Kim CW, Lee YH, Lee GH. The case report of an anaphylaxis occurred when using sweet bee venom and common bee venom at the same time. Journal of Pharmacopuncture. 2011 ; 14(4) : 59-61.
6. Jang IS, Cho GH, Kim YS et al. Study on clinical application of low level laser therapy in oriental

- medicine by reviewing recent research, *Journal of Korean Medicine*, 2001 ; 22(3) : 11-20.
7. Yook TH. Clinical observation of effects of He-Ne laser acupuncture on pain, *The Acupuncture*, 1997 ; 14(1) : 1-8.
 8. Kim GD, Kim GS, Ahn CB et al. Study on the effect of acupuncture, moxibustion and laser beam acupuncture upon the alleviation of pain in mice, *The Acupuncture*, 1987 ; 4(1) : 39-48.
 9. Wei TS, Yoon DH, Yoon YC et al. Comparative study of acupuncture and invasive laser acupuncture therapy at SI₃ · BL₄₀ on the tibial, sural nerve injury and L5 spinal nerve ligation model in rats, *J Kor AM-M&P Soc*, 2005 ; 22(2) : 9-24.
 10. Nah SY. Effects of low level laser on pain and cartilage regeneration for a rat model with degenerative arthritis, *Naju : Dongshin University*, 2012, Korean.
 11. Kim YS, Lee JH, Lee SH et al. Effects of electro acupuncture and low level laser therapy at GB₃₉ and GB₃₄ on neuropathic pain in rats induced by tibial and sural nerves ligation, *The Acupuncture*, 2013 ; 30(3) : 125-34.
 12. Han TR, Bang MS. *Rehabilitation medication*, Seoul : Goonja Publisher, 2008 : 908.
 13. Bae SC. Mechanics and causes of rheumatoid arthritis, *Journal of the Korean Medical Association*, 2010 ; 53(10) : 843-52.
 14. Koh EM. Medical treatment of rheumatoid arthritis (I): Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, disease modifying antirheumatic drugs and glucocorticoids, *Journal of the Korean Medical Association*, 2010 ; 53(1) : 871-9.
 15. Hong WS. *Junggyo Hwangjaenagyong Somoon*, Seoul : Oriental Medicine Research Center, 1981 : 39-41.
 16. Jang JK. *Jingguiyaolue*, Taiwan : Daeryungul-pung Company, 1973 : 32-3.
 17. Jang GA. *Gyongakjunseo*, Seoul : Jungdam Publisher, 1999 : 217.
 18. Kim DH, Jung SH, Seo IB et al. Inhibiting effects of *Hwallak-dan* on the adjuvant-induced arthritis in Lewis rats, *JORM*, 2011 ; 21(1) : 79-95.
 19. Ryu MS, Yoon YC, Kim JH. The effect of *Angelica gigas* NAKAI pharmacopuncture at ST₃₆ and BL₂₃ on Freund's adjuvant arthritis in rats, *The Acupuncture*, 2010 ; 27(5) : 25-34.
 20. Doh WS, Kim GS. The effect of aqua-acupuncture(*Ulmi Pumilae, Ramulus Cinnamomum, Radix Achyranthis, Apitoxin*, OK) on LPS-induced arthritis in mice, *The Journal of The Korea Institute of Oriental Medicine Informatics*, 1998 ; 4(1) : 81-93.
 21. Ahn HJ, Doh WS, Jang JH et al. Effects of acupuncture on rats with LPS-induced arthritis: focusing on macrophage, NK-cell, ICAM, *The Journal of the Korea Institute of Oriental Medicine Informatics*, 1998 ; 4(1) : 35-48.
 22. Song US, Ahn BC, Park DS. Studies of *Ga-mi-so-pung-whal tang* aqua-acupuncture treatment on the adjuvant arthritis induced by Freund's adjuvant complete, 1990, *The Acupuncture*, 1990 ; 7(1) : 19-37.
 23. Nah CS, Kim JS, Gwon OS et al. Comparison of effects of acupuncture with bear gall bladder, cow bezoar and bee venom, *The Acupuncture*, 1999 ; 16(1) : 533-47.
 24. Lee HS, Lee JD, Goh HG. The review on the study of bee venom in the domestic papers, *The Acupuncture*, 2003 ; 20(3) : 154-65.
 25. Yoon HM, Ahn CB, Cho EJ. An investigation of directions of research on bee venom in the sphere of oriental medicine in Korea in last decade, *Dong-eui-han-eui-yeon*, 2001 ; 5 : 23-42.
 26. Lee SH, Lee HJ, Paek YH et al. Effects of bee venom on the pain, edema, and acute inflammatory reactant of rheumatoid arthritis patients, *The Acupuncture*, 2003 ; 20(2) : 77-84.
 27. Hwang YJ, Lee GM, Hwang WJ et al. Clinical research of bee venom Acupuncture effects on rheumatoid arthritis, *The Acupuncture*, 2001 ; 18(5) : 33-42.
 28. Kim TW, Choi DY, Lee JD. The effect of bee venom on type 2 collagen-induced arthritis, *The Acupuncture*, 2002 ; 19(2) : 92-104.
 29. Yoo DS, Yeom SR, Lee SG et al. The effect of bee venom pharmacopuncture therapy with concentrated

- treatment condition in rheumatoid arthritis rat model, *JORM*, 2011 ; 21(2) : 101-23.
30. Lee SW, Kim YJ, Kim EJ et al. The effect of varying concentrations of bee venom pharmacopuncture treatments on type ii collagen induced arthritis in mice. *The Acupuncture*, 2012 ; 29(1) : 75-87.
31. Jan Tunér, Lars Hode. *Laser treatment*. Seoul : Jungdam, 2006 : 8-112.
32. Kim JH, Huh W. Medical application of laser for ophthalmology. *Journal of the Korean Medical Association*, 1984 ; 27(2) : 103-12.
33. Shir Y, Seltzer Z. Effects of sympathectomy in sciatic nerve injury in rats. *Pain*, 1991 ; 45(3) : 309-20.
34. Lee GN. *Clinical pathology file*. Seoul : Eui-Hak-Moon-Hwa-Sa, 1990 : 82-7, 740-1.
35. Lee GN. *Lab test 2000 directory*. Seoul : Goryeo Medicine, 1999 : 71-4.
36. Scott D, Wolfe F, Huizinga TW. Rheumatoid arthritis. *Lancet*, 2010 ; 376(9746) : 1094-108.
37. Park MH, Noh MH, Lee HW et al. The effects of swimming and low power laser on the concentration of interleukin-6 for rheumatoid arthritic rats. *Physical Therapy Korea*, 2008 ; 15(1) : 69-76.
38. Murakawa Ueji. *Understanding of Internal Medicine with Pathophysiology*. Seoul : Jungdam, 2008 : 71-89.
39. Kwon YI, Gang SC, Gang JS et al. *Clinical pathology for experimental animals*. Seoul : Academia, 2009 : 202, 207-10.