

다양한 藥鍼製劑가 Rat의 Adjuvant 關節炎에 미치는 影響

*하지용, 이선구, 유병길

Effects of various Herbal Acupuncture on Adjuvant Arthritis in Rats

Jee-Yong Ha*, Seon-Goo Lee*, Byeong-Gil Yu*

* Dept. of Pathology, college of Oriental Medicine, Sang Ji UNIV

ABSTRACT

To investigate effects of various herbal-acupuncture, which were *Daebangpungtang*, *Oyaksungisan*, *Dokhwalgisaengtang*, and *Binsosan* on Adjuvant Arthritis in rats, the edema rate, the number of WBC, the quantity of TNF- α , COX-2, and IL-6, and histological test of the muscular tissue were measured in the arthritis part.

After eliciting arthritis of Sprague Dawely(SD) rats by injection of Freund's complete adjuvant for 2 weeks, saline was injected for the control group, *Daebangpungtang* acua-acupuncture was injected for the *Daebangpungtang* group, *Oyaksungisan* acua-acupuncture was injected for the *Oyaksungisan* group, *Dokhwalgisaengtang* acua-acupuncture was injected for the *Dokhwalgisaengtang* group, and *Binsosan* acua-acupuncture was injected for the *Binsosan* group during 30days. Selected point was ST35 in all groups.

1. The number of WBC was $8.24 \pm 0.51(10^3/\text{ml})$ in the normal group and $27.35 \pm 3.51(10^3/\text{ml})$ in the control group. the *Daebangpungtang* group and the *Oyaksungisan* group decreased each $20.42 \pm 2.75(10^3/\text{ml})$ and $19.78 \pm 4.99(10^3/\text{ml})$ in the Exp.II group. This fact showed that the group Exp.II was more effective than the control group effectively.($P < 0.05$)

2. The volume of the paw were checked. The volume of paw was $0.62 \pm 0.11\text{mm}$ in the control group and $0.45 \pm 0.08\text{mm}$ in the *Daebangpungtang* group and $0.47 \pm 0.07\text{mm}$ in the *Oyaksungisan* group, the swelling of the paw was restricted significantly in the *Daebangpungtang* and *Oyaksungisan* group($P < 0.05$)

3. The bands of the TNF- α , COX-2 in the muscular tissue of the control group were certain and thick than other groups(except normal group), and the band of the IL-6 in the muscular tissue of all group(except normal group) were similar forms.

4. In histological finding, because of severe inflammatory reaction, remarkably irregular tissue and large amount of inflammatory cells were found in the control and *Dokhwalgisaengtang* group. But the *Oyaksungisan* and *Daebangpungtang* group showed small amount of inflammatory cells, the refrained inflammatory state and even recovering state.

From these results, it is showed *Oyaksungisan* and *Daebangpungtang* acua-acupuncture refrain inflammatory reaction and muscular tissue necrosis in SD rats paw were induced by Freund's complete adjuvant

Key words : *Daebangpungtang*, *Oyaksungisan*, *Dokhwalgisaengtang*, *Binsosan* Adjuvant Arthritis in rats, the edema rate, the number of WBC, the quantity of TNF- α , COX-2, and IL-6, and histological test, Sprague Dawely(SD) rats, Freund's complets adjuvant. acua-acupuncture. ST35.

I. 서론

최근 식생활의 변화, 운동부족, 평균연령의 증가등의 여러요인에 의하여 류마티오이드 관절염, 통풍성 관절염, 골관절염 등의 관절 질환이 늘고 있는 실정이다.

국내의 의료 보험 통계연보에 의하면 관절염 환자수는 해가 갈수록 점점 늘어나고 있다.

외국의 경우도 마찬가지로 노인성 관절염이 증가하는 추세로 세계적으로 관절염 질환에 대한 관심사가 고조되고 있다.

현재까지 국내외적으로 많은 연구가 수행되고 있으나 보다 더 획기적인 관절염 치료법이 요구된다. 따라서 본 연구는 관절염 치료법을 개선하기 위하여 기존의 경구투여로 사용되던 상용당채를 중심으로 藥鍼액을 개발하여 동물실험에서 그효과를 검증코져 한다.

관절염, 특히 류마티오이드는 면역계통과 관련된 질환으로 전세계적으로 관심을갖고 있는 질환중의 하나로 미국¹⁾, 스위스²⁾³⁾, 독일⁴⁾⁵⁾, 일본⁶⁾, 이스라엘⁷⁾, 스웨덴⁸⁾ 등지에서 활발한 연구가 진행중이다.

비만모델도 그 방법에 따라 Freund's complete adjuvant 액으로 유발하는 방법¹⁾²⁾, mycoplasma arthritis⁴⁾, Staphylococcus aureus arthritis⁸⁾, collagen-inducedarthritis (CIA)⁵⁾⁷⁾ 로 구분하여 사용하고 있으며 사용하는 쥐 또한, Lewis rat²⁾⁷⁾, SD-rat¹⁾⁶⁾, ISR 계열의 rat⁴⁾, Wistar rat⁸⁾, C3H.Q

mouse⁵⁾ 등이 다양하게 사용되고 있으며 신생아 쥐의 골 조직을 채취하여 이를 이용한 시험관 실험도 진행중이다²⁾.

Braga 등³⁾은 histamine의 양을 검출하였고 Hall 등²⁾은 Freund's complete adjuvant로 관절염을 유발하여 부종과 염증반응을 관찰하였으며 Gray 등¹⁾은 cyclooxygenase enzyme에서 분비되는 prostaglandin이 염증 및 억제하여 주어 COX-2와 IL-6를 줄여주는데중요한 역할을 하고 있음을 밝혔고 Martina 등⁴⁾은 mycoplasma arthritis는 세포표면에 host의 각 기관들에 다종의 상호영향을 미쳐 훌륭한 감염원이나 감염소의 잠재성을 갖게 한다는 것을 보고했으며 Wiedermann 등⁸⁾은 비타민 A의 결핍이 T cell의 항원감작능을 과하게 유도하여 항원의 감염에 효과적으로 반응하지 못한다는 것을 밝혔다.

약물시험도 상당히 진행되어 Kazuya 등⁶⁾은 항류마티스 요소로 이미 알려져 있는 2-acetylthiomethyl-4-(4-methylphenyl)-4-oxobutanoic acid (KE-298)에 대한 활성도 실험을 시행하였고 Gray 등¹⁾은 SC-58125{1-[(4-methylsulfonyl)phenyl]-3-trifluoromethyl-5-[(4-fluoro)phenyl]pyrazole}의 염증억제효과를 증명하였다.

국내 관절질환 이환율의 증가와 더불어 구석일⁹⁾, 황득수¹⁰⁾, 권경훈¹¹⁾에 의해 류마티오이드 질환에 관한 연구논문이 있고 서정탁¹²⁾, 서정대¹³⁾, 홍광표¹⁴⁾ 등의 관절염과 면역학에 관한 실험 연구가 있었다.

이연경¹⁵⁾, 김락현¹⁶⁾, 나창수¹⁷⁾, 윤영희¹⁸⁾, 신민식¹⁹⁾ 등이 adjuvant 액을 주사함으로써 흰쥐에 adjuvant arthritis를 유발하고 여러 가지 방법으로 제조된 한약 제재를 이용하여 부종, 부종억제율, 진통효과 등을 측정하고 있는 등 관절염 동물모형을 사용하고 위성민²⁰⁾ 등이 전자현미경을 사용한 관절염에서의 활액막을 관찰하기도 하나 아직 이렇다할 것을 내세우지는 못하고 있다.

관절염 유발방법도 최근 adjuvant¹⁵⁻¹⁹⁾ 외에 Carra-geenan²⁰⁾ 등으로 유발하는 방법이 사용되기도 하고 내독소로 인한 화농성 관절염 및 collagen 유발 관절염²¹⁾의 모형을 시도하는 등 방법론적 면에서 다각적인 노력이 이루어지고 있는 중이다.

이동석²²⁾은 류마티드 질환에서의 폐기능과 면역능의 지표에 관한 실험을 시도했고 임순자²³⁾는 류마티드 질환에서의 T-cell, cytokine과의 관계를, 장명호²⁴⁾는 T-cell receptor를 분석하고, 김계성²⁵⁾은 NK-cell의 작용기전을 설명하고, 위성민²⁰⁾은 관절염 활액막을 광학 및 전자현미경으로 관찰하였으며 박동준²¹⁾은 제II형 조직합합항원과의 연관성을 설명하고 있다.

藥鍼요법은 자극과 약물을 동시에 응용하는 새로운 기법으로 경락학설의 원리에 의거하여 유관한 혈위압통점에 약물을 주입해서 치료하는 신침법²⁶⁾이다. 藥鍼요법에 관한연구결과는 혈압, 해열, 수은중독, 소염, 마취, 면역기능 등에 효과가 있음이 여

러연구자에 의해 밝혀졌다.

그러나 외국에 비하여 아직 특정한 동물 모형이 사용되거나 그 모형에 대한 검사항목이 정해져 있지 못하고 있는 실정이다.

본 연구는 국내외 연구 결과를 기초로 하여 복합처방의 藥鍼제제화라는 새로운치료 기법의 가능성을 검토하기 위해 실험동물 모델에 의해 보다 더 구체적으로 분자 생물학적인 차원에서 검토하고자 脚氣, 膝中疼痛不仁, 膝臏癰腫, 膝關節炎, 膝痛, 膝痿痛에 응용되고 있는 犢鼻穴⁴¹⁾에 臨床上 關節炎에 상응되고 있는 烏藥順氣散, 獨活寄生湯, 大防風湯, 檳蘇散 등의 藥鍼 製劑를 施術하여 Rat의 關節炎 치료에 미치는 영향을 알아보기 위하여 부종을 측정, 백혈구 수 측정, 근육내 TNF- α , IL-6 및 COX-2의 m-RNA량을 측정, 關節炎 부위의 근육조직을 조직학적 검사를 실시하였다.

II. 실험 재료 및 방법

1.1. 재료 및 방법

1.1.1. 실험 동물 및 사양 관리

1.1.1.1. 실험 동물

본 실험에 사용된 동물은 5주령의 체중 150g의 웅성 SD계 Rat 180마리를 식품의약품 안전청 실험 동물자원실로부터 분양 받아 정상군, 대조군 및 4개 處理群 (大防風湯, 烏藥順氣散, 獨活寄生湯, 檳蘇散) 등 모두 6개 군으로 나누어 處理群 당 30두씩

임의 배치 하였다.

1.1.1.2. 급여 사료 및 사양관리

급여 사료는 시판 마우스용 일반사료 (Table 3)로 2주간 적응시켰으며 사육실 온도(22±2℃) 및 습도 (40~60%)는 항상 항습 장치로 자동 조정 되었으며 명암은 12시간 주기로 하고 물은 자유 섭취시켰다.

Table 3. Composition of experimental

Crude protein	22.1%
Crude fat	3.5%
Ctide fiber	5.0%
NFE	60.4%
Crude ash	8.0%
Ca	0.6%
P	0.4%

1.1.2. 관절염 유발

Freund's complet Adjuvant액 0.05ml를 우측족피(발바닥)에 주사한 후 2주 경과 후 관절염 유발을 확인하였다.

1.1.3. 藥鍼 처리

藥鍼26(26G) 처리는 0.0017ml/g의 藥鍼을 매일 1회씩 독비혈에 30일간 처리했다. 대조군은 동일한 양의 Saline을 藥鍼처리 했다.

1.1.4. 부종 측정

plethysmometer (UGO SASILE, Italy)를 이용하여 부종부위 용적을 측정하였다.

$$\text{浮腫增加率} = \frac{ET - EC}{EC} \times 100\%$$

ET: 足蹠皮下注射後의 足容積

EC: 足蹠皮下注射前의 足容積

浮腫抑制率=

$$\frac{\text{對照群의浮腫增加率} - \text{實驗群의 浮腫增加率}}{\text{對照群의 浮腫增加率}} \times 100(\%)$$

1.1.5. 혈중 백혈구수 측정

백혈구수는 Improved Neubauer's counting chamber를 사용하여 검경, 계수 했다.

1.1.6. 조직학적 검사

처리조직은 Formalin 생리 식염수에 고정, 냉장고 보관후 촬영에 공시했다.

1.1.7. TNF- α , IL-6, COX-2의 유전자 발현의 검색

TNF- α , IL-6, COX-2의 유전자 발현을 관찰하기 위하여 sample을 절단하여 액체 질소에 넣어 급냉시킨후 Total RNA Sol. 을 이용하여 추출하였고 RT-PCR법은 RT-PCR Kit(Bionia사)를 사용하였으며 PCR에 사용된 Primer는 이미 보고된 염기 서열대로 한쌍씩 선택하였으며 이의 염기

서열에 따라 Bionia사에서 제작하였다.

internal control로는 β -Actin을 사용하였다.

Primer

TNF- α

(5')5'-GATCGAAGCTTCATGGATCTCA
AAGACAACC-3'

(3')5'-GATCGAGGATCCAGGGCTTGAG
CTCAGCTCC-3'

IL-6

(5')5'-GATCGACCTGGAGACTTCACAG
AGGATACC-3'

(3')5'-GATCGACCATGGTATGTTTGGGA
AGCATCC-3'

COX-2

(5')5'-GATCAGAAGCGAGGACCTGG-3'

(3')5'-CGGATGCCAGTGATAGAGTGTC
-3'

β -Actin

(5')5'-CTCCGGCATGTGCAACGC-3'

(3')5'-CTTTTCACGGRRGGCCTTAGG-3'

1.1.7.1. Total RNA isolation

조직 100mg을 -70°C 액체 질소에 급냉시킨 후 2ml 추출시약을 가하고 homogenizer를 사용하여 충분히 균질화시킨 후 0.2ml chloroform을 가하고 vortexing 2~3분간 방치, 원심분리 (12,000×g, 15분간, 4°C)한다. 상층액을 새로운 tube에 옮기고 0.2ml chloroform다시 가하고 vortexing 2~3분간 방치, 원심분리(12,000×g, 15분간, 4°C)한다.

상층액을 새로운 tube에 옮긴 후 동량의 isopropanol을 가해 원심분리 (12,000×g, 10분간, 4°C)하여 침강시킨다. 침강된 RNA를 1ml의 냉 70%ethanol을 가한다. 2회 원심분리 (12,000×g, 10분, 4°C)한다. ethanol을 제거한 후 건조한 TE buffer에 녹인 후 분광도 계로 정량한 뒤 RT-PCR sample로 사용한다.

1.1.7.2. RT-PCR

RT-PCR kit 튜브에 10 μ M upstream primer와 downstream primer를 각각 10 μ M씩 첨가하고 template로 쓰일 RNA량을 1000ng/ μ l로 조정 한 후 각각을 1/10 dilution 하여 2 μ l 첨가하고 증류수 15 μ l 넣어 total 20 μ l로 하여 RT-PCR을 실시한다.

Thermal cycler(Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA)를 사용한 cDNA 합성은 57°C에서 10분, 42°C에서 1시간 반응 시켜 상보적 DNA를 합성시켰고 94°C에서 5분간 방응시

켜 reverse transcriptase를 불활성화 시킨 다음 중합효소연쇄반응을 실시하였다.

중합효소 연쇄반응은 30회의 Thermal cycling step으로 증폭시켰으며 94℃에서 1분 55℃에서 1분, 72℃에서 1분간으로 구성되며 이를 30회 실시한 후 72℃에서 10분간 핵산중합반응을 추가 실시한다.

1.1.7.3. Agarose gel electroporation

증폭된 cDNA는 1.5% agarose gel (EtBr 1μg/ml)상에서 1×TAE Buffer상에서 100volt 30분간 전기 영동 시킨후 관찰한다.

1.1.8. 藥鍼액의 선정 및 조제

大防風湯(Table4),烏藥順氣散(Table5),獨活寄生湯(Table6) 및 檳蘇散(Table7)²⁷⁾의 4가지 탕제를 각각 275g씩 둥근 flask에 넣고 증류수 2000ml를 加하여 3시간 동안 수조에서 추출하고 여과한 다음에 여액을 rotary evaporator로 감압농축하여 전량을 200ml로 하였다.

실온까지 냉각하고 95% ethly alcohol 100ml를 加하여 실온에서 각반후 방치하여 생성한 침전물을 여별한다. 여액을 다시 85% ethly alcohol이 100ml를 加하여 잠시 reflux하고 방치하여 생성된 침전물을 여별하고 다시 여액에 75% ethylalcohol이 100ml를 加한 후 같은 조작을 2회 반복한 다음 여액중 ethly alcohol을 감압류거하여 잔사전량을 100g이 되게한 뒤 생리 식염수

로 희석 藥鍼액으로 사용하였다. 사용시에는 pH 6~7로 조정하고 밀리포어 여과기로 여과한후 사용하였다.

Table 4. 烏藥順氣散

麻黃	6g
陳皮	6g
烏藥	6g
川芎	4g
白芷	4g
白僵蠶	4g
枳殼	4g
桔梗	2g
乾薑	1.2g

Table 5. 檳蘇散

蒼朮	8g
香附子	4g
蘇葉	4g
陳皮	4g
木瓜	4g
檳榔	4g
羌活	4g
牛膝	4g
甘草	2g
蔥白	3경
生薑	3g

Table 6. 大防風湯

熟地黄	6g
白朮	6g
防風	6g
當歸	6g
白芍藥	6g
杜冲	6g
黄芪	4g
附子	4g
川芎	4g
牛膝	4g
羌活	4g
人蔘	4g
甘草	5g
生薑	5g
人芻	2개

Table 7. 獨活寄生湯

獨活	3g
當歸	3g
白芍藥	3g
桑寄生	3g
熟地黄	2g
川芎	2g
人蔘	2g
白茯苓	2g
牛膝	2g
杜冲	2g
秦교	2g
細辛	2g
防風	2g
肉桂	2g
甘草	1.2g
生薑	3g

1.1.9. 취혈

독비혈은 인체에 상응하는 부위로서 체표상의 털을 제거한후 骨度分寸法에 의하여 經穴探知器(D-J3型 耳電鍼器 上海 醫療械廳)을 사용하여 취혈하였다.

1.1.10. 채혈

혈액채취는 실험 종료일에 심장천좌법에 의해 개체당 2ml정도 채취하여 공시했다.

III. 연구결과

1.2. 藥鍼처리가 관절염 유발쥐의 혈액내 백혈구 총수에 미치는 영향

Freund's complete adjuvant 관절염유발 Rat에게 大防風湯, 烏藥順氣散, 獨活寄生湯 및 檳蘇散을 독비혈에 藥鍼처리한 후 혈액내 백혈구 총수를 검토했다. 처리별 백혈구 총수는 정상군은 $8.24 \times 10^3/ml$, 대조군은 $27.35 \times 10^3/ml$, 大防風湯 處理群은 $20.42 \times 10^3/ml$, 烏藥順氣散 處理群은 $19.78 \times 10^3/ml$, 獨活寄生湯 處理群은 $22.59 \times 10^3/ml$, 檳蘇散 處理群은 $26.38 \times 10^3/ml$ 를 각각 나타내어 전處理群에서 $8.24 \times 10^3/ml$ 에서 $27.35 \times 10^3/ml$ 의 범위를 보여 주었다(Table 8).

각 처리간의 성적을 비교해 보면 정상군 보다 관절염 유발군 모두에서 백혈구 총수는 상당히 높은 수치를 보여주어 염증 증후가 심각함을 보여 주었다. 관절염군에서는 대조군 즉 藥鍼을 처리하지 않은 군이 $27.35 \times 10^3/ml$ 의 수치를 보여 藥鍼處理群보

Table 8. Effect of Acua-acupuncture with Daebangpungtang, Oyack-sunkisan, Doghwalkisengtang and Bingsosan on total counts of WBC in Rat with Freund's complete adjuvant.

Treatment	Animal	WBC($10^3/ml$)
Normal	30	8.24±0.51a
Control	30	27.35±3.51b
Daebangpungtang	30	20.42±2.75c
Oyacksunkisan,	30	19.78±4.99c
Doghwalkisengtang	30	22.59±4.24bc
Bingsosan	30	26.38±3.71bc

a,b,c ; Means on the same column with different superscripts are significantly different($p < .05$)

다

일반적으로 높은 수치를 보여주었다. 특히 大防風湯과 오약 순기산 處理群은 대조군보다 상당히 낮은 수치($P < 0.05$)를 보여 관절염 치료 효과가 우수한 것으로 사료되었다.

藥鍼處理群간에는 백혈구 총수에서 유의한 차이를 나타내지 않았으나($P > 0.05$), 獨活寄生湯과 檳蘇散 處理群이 大防風湯 및 烏藥順氣散 處理群보다 높은 수치를 나타내어 獨活寄生湯과 檳蘇散 처리가 염증치료에 보다 효과적인 것으로 나타났다.

(Fig.1)

1.3. 藥鍼처리가 관절염 유발쥐의 부종에 미치는 영향.

관절염 유발Rat의 독비혈에 大防風湯, 烏藥順氣散, 獨活寄生湯 및 檳蘇散을 藥鍼처

리한후 부종의 크기를 측정했다(Table.9).

정상군의 경우 부종이 없는 관계로 후족 용적은 0.17mm를 나타냈으나 관절염 유발군들은 대조군이 0.62mm, 大防風湯處理群이 0.45mm, 烏藥順氣散 處理群이 0.47mm, 獨活寄生湯 處理群이 0.50mm, 檳蘇散 處理群이 0.54mm를 각각 나타내어 관절염 유발군 모두에서 부종이 유발되었음을 보여주었다. 각 處理群별 부종의 크기를 비교해보면 (Fig.2), 대조군이 藥鍼處理群보다 높은 수치를 보여 부종의 상태가 藥鍼處理群보다 심각한 것으로 나타났다.

藥鍼處理群간을 비교해 보면 處理群간 모두에서 유의한 차이는 아니었으나($P > 0.05$), 大防風湯 處理群과 오약 순기산 處理群이 獨活寄生湯 處理群과 檳蘇散 處理群보다 다소 낮은 수치를 보여 부종의 상태가 보다 더 개선된 것을 알 수 있었다.

Fig. 1. Effect of Acua-acupuncture with Daebangdungtang, Oyaksunkisn, Doghwalkisengtang and Bingsosan on total counts of WBC in rat with Freund's complete adjuvant.

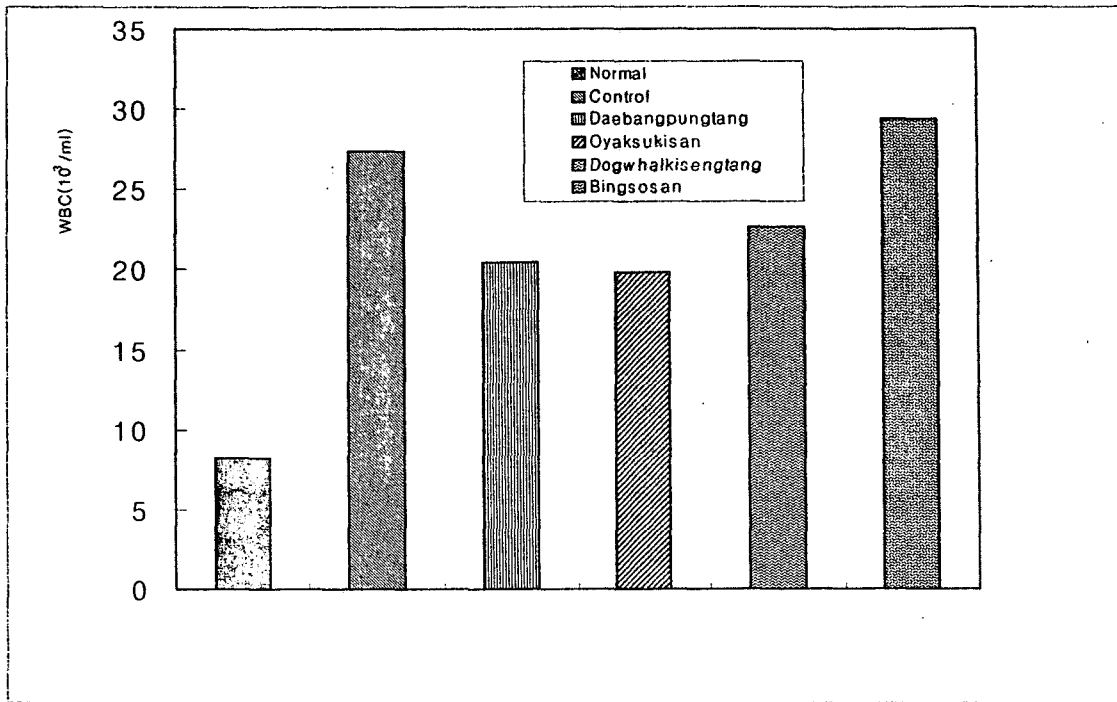


Table 9. Effect of Acua-acupuncture with Daebangpungtang, Oyack-sunkisan, Doghwalkisengtang and Bingsosan on paw Edema in Rat with Freund's complete adjuvant.

Treatment	Animal	Edema(mm)
Normal	30	0.17±0.09a
Control	30	0.62±0.11b
Daebangpungtang	30	0.45±0.08c
Oyacksunkisan,	30	0.47±0.07c
Doghwalkisengtang	30	0.50±0.10bc
Bingsosan	30	0.54±0.11bc

a,b,c ; Means on the same colum with different superscripts are significantly different(p< .05)

Fig. 2 Effectct of Acua-acupuncture with Daebangpungtang, Oyaksunkisan, Doghwalkisengtung and Bingsosan on Paw Edema in rat with Freund's complete adjuvant.

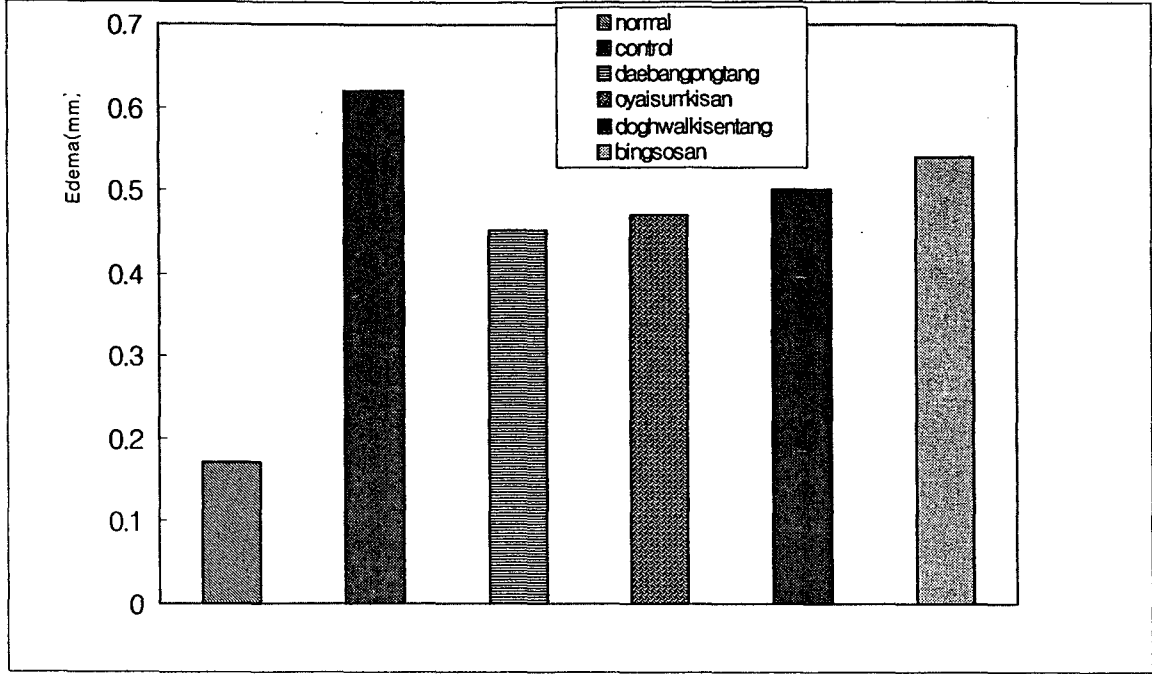


Fig.3은 실험종료시에 부종의 정도를 실제 비교한 사진이다. 이 사진에서도 大防風湯과 烏藥順氣散이 獨活寄生湯과 檳蘇散군보다 부종상태가 보다 더 개선되었음을 나타내 주고 있다.

1.4. 藥鍼처리가 관절염 유발쥐의 TNF- α , IL-6 및 COX-2의 m-RNA량에 미치는 영향

Fig.4는 실험 종료시에 처리별로 근육내 TNF- α , IL-6 및 COX-2의 m-RNA량을 비교 검토한 결과이다. COX-2의 경우 정상군에서는 m-RNA가 전혀 검출되지 않았으나, 대조군 및 藥鍼處理群 즉, 관절염 유

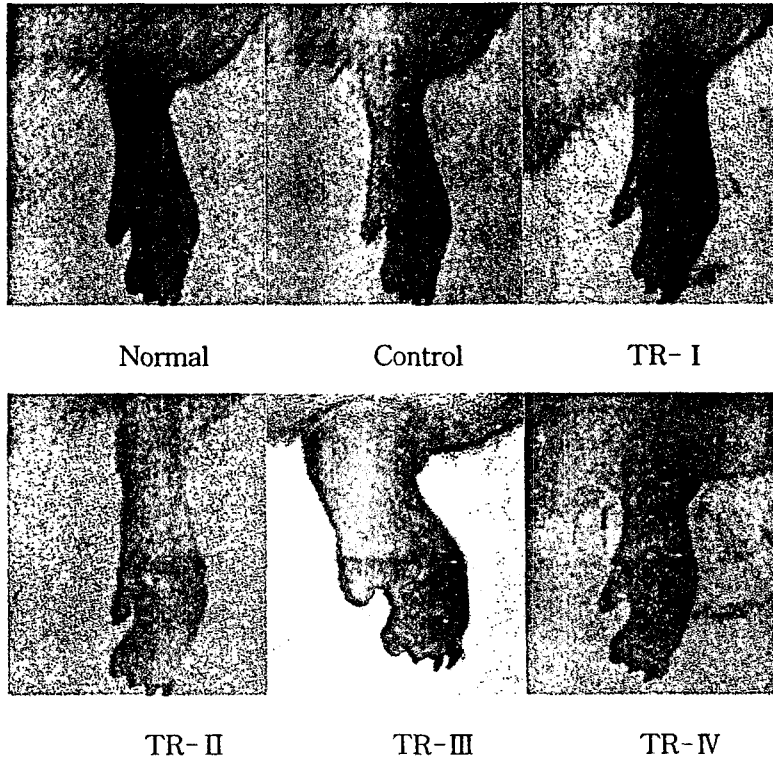
발군에서는 band의 size가 크고 분명하여 염증 증후를 잘 나타내 주었다. 염증유발군간의 크기를 비교해 보면 대조군이 가장 큰 band를 나타내고 있다.

그러나 藥鍼處理群간에는 실측치에는 차이를 나타낼 수 있을지라도 임상적 증후를 해석할 수 있을 정도의 차이는 볼수 없었다.

TNF- α 의 경우는 정상군에서 극히 소량의 m-RNA가 검출되어 염증 유발군과 비교해 볼 때 상당히 차이를 나타냈다.

염증유발군간에는 대조군이 藥鍼處理群보다 band의 size가 크고 선명하여 TNF- α 의 량이 많음을 나타내어 염증 상태가

Figure 3. Effect of Acua-acupuncture on the Edema in Rat with Freund's complete adjuvant.



- TR- I : Daebangpungtang
- TR- II : Oyacksunkisan
- TR- III : Doghwalkisengtang
- TR- IV : Bingsosan

보다 더 심각함을 보여 주었다. 그러나 藥鍼處理群 간에는 거의 유사한 크기를 보여 염증상태의 증후를 비교 할 수 없었다.

IL-6는 정상군에서 극히 소량으로 검출되었으나 염증유발군에서는 상당한 크기로 선명하게 검출되어 염증상태가 심각함을 보여 주었다.

그러나 염증유발군간에는 대조군 및 藥鍼處理群 모두에서 대량으로 검출되어 임상 증후를 비교할수 없었다.

1.5. 조직학적 소견

정상군에서는 매끄럽고, 염증이 보이지 않았고, 대조군에서는 염증반응이 심하게 나타났다. 烏藥順氣散에서는 다소 조직이 회복된 상태의 증후가 보이고 있으며 대방풍에서도 정상군만큼 회복되지는 않았으나 호전상태임이 나타났고, 檳蘇散에서는 다소 회복되는 경향이 나타났고, 獨活寄生湯에서는 큰 변화가 없었다.

Fig. 4. Effect of Acua-acupuncture on m-RNA of cox-2, TNF- α and IL-6 in Rat with Freund's complete adjuvant.

COX-2



TNF- α



IL-6



β -Actin



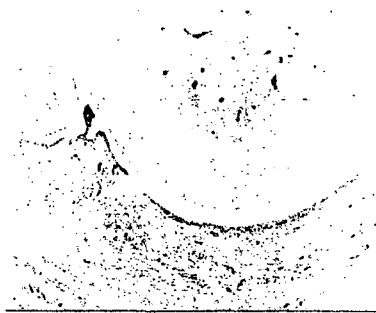
TR- I : Daebangpungtang

TR- II : Oyacksunkisan

TR-III : Doghwalkisengtang

TR-IV : Bingsosan

Fig. 5 Physiological microscopic status of experimental group



Normal



Infection



Recovery

IV. 고찰

痺는 閉阻 不通의 뜻으로 통상 風, 寒, 濕의 三種의 邪氣가 軀體 및 內臟의 經絡을 閉阻하고 骨節을 침범하여 肌肉, 關節, 筋骨에 疼痛, 酸楚, 麻木, 重着, 關節腫大, 運動制限 등을 惹起하는 질환을 말한다.²⁸⁻³⁰⁾

痺症의 원인을 <素問·痺論>에서 “風寒濕三氣雜至 合而爲痺也”, “以冬遇此者爲骨痺, 以春遇此者爲筋痺, 以夏遇此者爲脈痺, 以至陰遇此者爲肌痺, 以秋遇此者爲皮痺.”라 한 이후로 巢³¹⁾는 內寒과 外風의 相搏으로 李³²⁾는 “內傷於七情, 外傷於六氣”라 하여 血受熱以後 步冷水, 立濕地, 漏取涼, 臥當風 등으로 李³³⁾는 風寒濕 외에 氣血虛, 濕痰, 瘀血 등으로 張³⁴⁾은 巢氏의 원인외에 勞倦과 調理保護 不良 등으로 발병한다고 하였으며 이들은 臨床上 肢體가 酸痛하고 疼痛이 流走하여 定處가 없는 風痺(行痺), 肢體疼痛의 정도가 극렬하여 통증이 한기를 만나면 심해지고 열기를 만나면 감소하는 寒痺(痛痺), 肌膚가 麻木되고 關節이 重着하며 紅腫 熱痛하고 發熱, 惡風, 口渴, 胸悶 등의 전신증상을 수반하는 熱痺로 나뉘며^{28,29,35)} 이는 현대의학적으로 미만성 증식성의 滑膜炎으로 인하여 주위 조직 및 연골 파괴와 관절의 부종과 동통, 發赤, 열감, 骨糜爛을 일으키고 결국에는 관절의 변형을 가져와서 관절강직, 운동제한 등을 초래하는 rheumatoid관절염과 유사하다고 볼수 있다.³⁶⁻³⁸⁾

Rheumatoid 관절염의 발생기전은 현재까지 정립된 定說은 없지만 유전적인 요인과 면역학적 기전에 의해 滑液膜 및 관절 주위에 염증성 병변이 초래되고 지속적으로 진행된다는 설이 널리 인정되고 있다.^{39,40)}

Rheumatoid 관절염은 면역계통과 관련된 질환으로 전세계적으로 관심을 갖고 있는 질환중의 하나로 미국¹⁾, 스위스^{2,3)}, 독일^{4,5)}, 일본⁶⁾, 이스라엘⁷⁾, 스웨덴⁸⁾ 등지에서 활발한 연구가 진행중이며 실험모델도 관절염 유도 방법에 따라 Freund's complete adjuvant 액으로 유발하는 방법^{1,2)}, mycoplasma arthritis, Staphylococcus aureus arthritis, collagen-induced arthritis (CIA)^{5,7)}로 구분하여 사용하고 있으며, 사용되는 동물 또한, Lewis rat^{2,7)}, SD-rat^{1,6)}, ISR 계열의 rat⁴⁾, Wistar rat⁸⁾, C3H.Q mouse⁵⁾ 등이 다양하게 사용되고 있으며 실험방법도 신생아 쥐의 골 조직을 채취하여 이를 이용한 시험관 실험²⁾, histamine의 양³⁾, 부종과 염증반응²⁾ 등을 다양하게 관찰하였으며, 이를 바탕으로 cyclooxygenase enzyme에서 분비되는 prostaglandin이 염증을 억제하여 COX-2와 IL-6를 줄여주는데 중요한 역할을 하고¹⁾, mycoplasma arthritis는 세포표면에 host의 각 기관들에 다종의 상호영향을 미쳐 훌륭한 감염원이나 감염소의 잠재성을 갖게 하며⁴⁾, 비타민 A의 결핍이 T cell의 항원감각능을 과하게 유도하여 항원의 감염에 효과적으로 반응하지 못함⁸⁾등을 보고했다.

약물시험도 상당히 진행되어 Kazuya 등⁶⁾은 항류마티스 요소로 이미 알려져 있는 2-acetylthiomethyl-4-(4-methylphenyl)-4-oxobutanoic acid(KE-298)에 대한 활성도 실험을 시행하였고 Gray 등¹⁾은 SC-58125{1-[(4-methylsulfonyl)phenyl]-3-trifluoromethyl-5-[(4-fluoro)phenyl]pyrazole}의 염증억제효과를 증명하였다.

본실험에서는 SD-rat에게 Freund's complete adjuvant 액으로 관절염을 유발한후 大防風湯, 烏藥順氣散, 獨活寄生湯, 檳蘇散을 犢鼻穴에 藥鍼處理한 후 浮腫, 白血球 數, TNF- α , IL-6, COX-2의 量, 조직학적 검사를 수행하여 대조군과 비교하였다.

大防風湯은 熟地黃, 白朮, 防風, 當歸, 白芍藥, 杜冲, 黃芪, 附子, 川芎, 牛膝, 羌活, 人蔘, 甘草, 生薑, 大棗로 구성되어 祛風함으로서 氣를 순조롭게 하여 血脈을 순환시키고 筋骨을 强健하게 하여 寒濕을 除去하여 冷氣를 逐出하는 효능이 있어 痢風으로 下痢後에 下肢에 통증이 있어 軟弱無力하여 步行할수 없는 者, 鶴膝風으로 下肢가 몹시 말라 兩膝만이 크게 浮腫하여 아픈 증상을 치료하며 烏藥順氣散은 麻黃, 陳皮, 烏藥, 川芎, 白芷, 白僵蠶, 地殼, 桔梗, 乾薑, 甘草, 生薑, 大棗로 구성된 順氣劑로 一切風疾을 다스림에 있어서 우선 本方을 服用시켜 氣道를 疏通시킨 다음 風藥을 쓰며 癱瘓, 歷節風을 다스린다.

本方은 風이 勝하여 氣壅한 것을 順氣시키며 麻黃, 桔梗은 肺藥으로 發汗祛寒하고

川芎, 白芷는 頭面藥으로 散風活血하고 枳殼, 桔梗은 利氣行痰하고 白僵蠶은 清化散結하고 乾薑은 溫經通陽하고 甘草는 和中瀉火하고 烏藥은 邪滯한 諸氣를 通行케 하고 獨活寄生湯은 獨活, 當歸, 白芍藥, 桑寄生, 熟地黃, 川芎, 人蔘, 白茯苓, 牛膝, 杜冲, 秦艽, 細辛, 防風, 肉桂, 甘草, 生薑으로 구성되어 肝腎虛弱으로 筋攣, 骨痛, 脚膝偏枯와 冷痺를 다스린다.

方中の 獨活, 細辛은 少陰經으로 들어가 血脈을 통하게 하며 秦艽, 防風은 經絡을 疏通하고 升陽, 祛風하고 桑寄生은 補益氣血, 祛風濕하고 杜冲, 牛膝은 健骨强筋, 堅固下體하고 川芎, 當歸, 白芍藥, 熟地黃은 活血, 補陰하고 人蔘, 肉桂, 茯苓, 甘草는 益氣補陽한다. 辛溫한 藥으로 邪氣를 헤치고 甘溫한 藥으로 補하니 氣血이 充足되고 風濕을 제거하여 痛痺를 다스리며 檳蘇散은 蒼朮, 香附子, 蘇葉, 陳皮, 木瓜, 檳榔, 羌活, 牛膝, 甘草, 生薑, 葱白으로 구성되어 風濕으로 인한 脚氣의 腫痛, 拘攣을 다스리며 氣道를 疏通시킨다.

本方은 脾濕下流로 脚氣腫痛하며 或痺, 或頑, 或拘攣하는데 쓰이며 方中の 羌活은 風濕을 檳榔은 理氣하며 木瓜, 牛膝은 利關節하고 蒼朮은 祛濕하고 生薑, 陳皮, 葱白은 疎利, 散寒, 去痰하며 蘇葉, 香附子是 諸鬱을 開하는 效能²⁷⁾이 있는 것으로 문헌에 기재되어 있으며 본 실험에 사용된 犢鼻穴은 外膝眼으로도 불리며 膝下 脛骨上 俠解大筋陷中에 위치하여 通經活絡, 消風散寒,

消腫止痛하는 穴性이 있어 脚氣, 膝痛, 足浮腫, 足關節류마티즘, 屈伸不利, 痛風, 膝無力, 難跪起를 다스리는 治療作用⁴¹⁾이 있다고 알려져 왔다.

白血球 數는 여러 질환에서 증가할수 있으며 입원시 또는 건강진단과 같은 screening 검사로도 이용되는 기초적인 검사법으로 혈액질환의 진단 또는 항종양요법의 지표로도 매우 중요한 지표로 사용되기도⁴²⁾ 하는데 본실험의 경우 정상군은 $8.24 \times 10^3/ml$, 대조군은 $27.35 \times 10^3/ml$, 大防風湯 處理群은 $20.42 \times 10^3/ml$, 烏藥順氣散 處理群은 $19.78 \times 10^3/ml$, 獨活寄生湯 處理群은 $22.59 \times 10^3/ml$, 檳蘇散 處理群은 $26.38 \times 10^3/ml$ 를 각각 나타내어 大防風湯 및 烏藥順氣散 處理群은 대조군에 비해 상대적으로 낮은 수치를 보여주어 관절염 치료에 높은 효과를 보였다.

浮腫은 세포간이나 조직간의 체강에 체액이 염증으로 인하여 과다하게 축적되는 것을 말하는데 염증성 부종액은 다량의 백혈구를 포함하고 있으며 이 기전에는 histamine, bradykinine, prostaglandin, anaphylatoxin 등이 관여하는 것으로 알려져 있으며 염증이 심할수록 부종이 증가³⁷⁾ 하기에 부종의 용적만으로 염증의 정도를 간접적으로 판단할수 있는 지표로 활용할수도 있다. 본실험에서 정상군의 경우 부종이 없는 관계로 후족 용적은 0.17mm를 나타냈으나 대조군은 0.62mm, 大防風湯 處理群이 0.45mm, 烏藥順氣散 處理群이

0.47mm 獨活寄生湯 處理群이 0.50mm, 檳蘇散 處理群이 0.54mm를 각각 나타내어 관절염 유발군 모두에서 부종이 유발되었고 대조군이 藥鍼處理群보다 높은 수치를 보여 부종의 상태가 藥鍼處理群 보다 심각한 것으로 나타났다. 藥鍼處理群간에서는 大防風湯 處理群과 烏藥順氣散 處理群이 부종의 정도가 낮아 관절염 상태가 더욱 개선되었음을 알수 있었다.

TNF는 종양괴사인자로 항원에 자극된 T림프구, 활성화된 NK세포, 그리고 활성화된 비만세포에서 분비되지만 주된 세포 근원은 LPS에 의해 활성화된 식균세포이다. T림프구에 의해 생성되는 IFN- γ 는 LPS에 의해 자극된 단핵식균세포로부터 TNF합성을 증가시키며 이는 자연 및 특이면역의 매개자이며 특이면역반응과 급성염증반응의 중요한 연결자이다.

TNF는 소량 분비되었을 경우 국소적으로 백혈구 및 내피세포에 대해 주변분비적 혹은 자가분비적 조절자로서 작용을 수행하는데 혈관내피세포로 하여금 새로운 표면수용체가 발현되도록 함으로써 내피세포의 표면이 백혈구에 대해 더욱 부착성을 가지도록 하거나 단핵구 및 다른 형태의 세포를 자극하여 백혈구의 보충에 한 역할을 담당하는 chemokine을 분비토록 하고 염증성 백혈구를 활성화시켜 미생물을 죽이도록 하며 저농도로 계속 생성될 경우에는 조직을 재배열 시킨다.

만약 TNF의 양이 증가된다면 혈류를 타

고 들어가 내분비호르몬과 같은 작용을 수행하게 되는데 내재성 발열원으로서의 역할을 수행하거나 단핵구나 혈관내피세포 작용하여 혈관내 IL-1, IL-6의 분비를 자극하고 간세포에 작용하여 혈청단백질의 합성을 자극하며 응집계를 활성화시키고 골수 간세포의 분열을 억제하기도 한다.⁴³⁾

TNF- α 는 일종의 cytokine으로 대식세포, 림프구에서 유래하여 섬유아세포와 내피세포를 주요 표적세포로 하여 염증반응, 이화작용, 섬유아, IL-1, IL-6, GM-CSF 등의 림포카인을 생산하며 부착성 분자의 작용을 수행하는 것⁴⁴⁾으로 알려져 있다.

본 실험에서 TNF- α 의 경우는 정상군에서 극히 소량의 m-RNA가 검출되어 염증유발군과 비교해 볼 때 상당히 차이를 나타냈다. 염증유발군간에는 대조군이 藥鍼處理群 보다 band의 size가 크고 선명하여 TNF- α 의 양이 많음을 나타내어 염증상태가 보다 더 심각함을 보여 주었다. 그러나 藥鍼處理群 간에는 거의 유사한 크기를 보여 염증상태의 증후를 비교 할 수 없었다.

IL-6는 단핵식균세포, 혈관내피세포, 섬유아세포 등에서 IL-1 및 양이 적기는 해도 TNF에 대한 반응으로 생성되며 간세포로 하여금 피브리노젠과 같은 몇가지 혈장단백질을 합성시켜 급성 단계반응을 일으키거나 B림프구 분화의 후기단계에서 활성화된 B림프구의 성장인자로서 작용하는 약 26kD의 분자량을 갖는 cytokone이다.

이는 대식세포, T세포, 섬유아세포, B세포에서 유래하여 T세포, B세포, 흉선세포, 간장세포를 주요 표적세포로 하여 분화와 급성기 단백을 합성하는 기능을 수행하며 다발성 골수종세포와 혈장세포의 악성증양에 중요한 성장인자로 생각되고 있으며^{43,44)}, 본실험에서 IL-6는 정상군에서 극히 소량으로 검출 되었으나 염증유발군에서는 상당한 크기로 선명하게 검출되어 염증상태가 심각함을 보여 주었다. 그러나 염증유발군간에는 대조군 및 藥鍼處理群 모두에서 대량으로 검출되어 임상 증후를 비교할수 없었으며 COX-2의 경우 정상군에서는 m-RNA가 전혀 검출되지 않았으나, 대조군 및 藥鍼處理群 즉, 관절염 유발군에서는 band의 size가 크고 분명하여 염증 증후를 잘 나타내 주었다.

염증유발군 간의 크기를 비교해 보면 대조군이 가장 큰 band를 나타내고 있다. 그러나 藥鍼處理群간에는 실측치에는 차이를 나타낼 수 있을지라도 임상적 증후를 해석할 수 있을 정도의 차이는 볼수 없었다.

조직검사 결과 정상군에서는 매끄럽고 염증소견이 보이지 않았으나 대조군에서는 염증소견을 명확하게 보여주고 있었으며 烏藥順氣散處理群, 대방풍탄處理群, 檳蘇散處理群 순으로 관절염 회복소견이 나타났으며 獨活寄生湯 處理群에서는 대조군과 별다른 차이가 없었다.

이상의 결과를 종합하여 보면 大防風湯과 烏藥順氣散 藥鍼液의 犢鼻穴에 대한 시술

이 Freund's complete adjuvant 관절염 유발 rat에 작용하여 염증을 억제한 것으로 보여지며 추후 犢鼻穴에 藥鍼處理가 관절염에 미치는 약리기전이나 생리과정에 대한 좀더 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

大防風湯, 烏藥順氣散, 獨活寄生湯, 檳蘇散 등의 다양한 藥鍼 製劑의 犢鼻穴 시술에 의한 Rat의 관절염 치료에 미치는 영향을 알아보기 위하여 부종을 측정, 백혈구수 측정과 TNF- α , COX-2, IL-6의 양을 측정하였고 관절염 부위의 근육조직을 조직학적으로 검사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 혈중 백혈구 총수 측정항목에서 藥鍼 처리를 하지 않은 control군은 $27.35 \times 10^3/ml$ 을 보임에 비해 大防風湯 處理群과 烏藥順氣散 處理群은 각각 $20.42 \times 10^3/ml$, $19.78 \times 10^3/ml$ 을 보여 상당히 유의성있는 감소를 보였으며 獨活寄生湯과 檳蘇散 處理群은 숫적인 감소를 보였으나 유의성은 없었다.

2. 부종 측정항목에서는 대조군이 0.62mm를 보임에 비해 藥鍼處理群은 모두 유의성 있는 감소를 보였으며 그중 大防風湯 處理群과 烏藥順氣散 處理群이 각각 0.45mm와 0.47mm를 보여 상대적으로 부종상태가 개

선되었음을 알수 있었다. 실험종료후에도 Fig.3에서 보는 것처럼 大防風湯과 烏藥順氣散 處理群이 다른 군에 비해 부종의 정도가 약함을 알수 있었다.

3. TNF- α 와 COX-2의 측정항목에 있어서는 대조군의 band가 藥鍼處理群에 비해 크고 분명하게 나타나 상대적으로 많은 양이 검출되었음을 보여주었으며 藥鍼處理群 간에는 임상 증후를 해석할수 있을 정도의 차이는 보여지지 않았다. IL-6의 측정항목에 있어서는 대조군이나 藥鍼處理群 모두 대량으로 검출되어 임상 증후를 비교할수 없었다.

4. 정상군의 조직 소견에서는 매끄럽고, 염증이 보이지 않았음에 비해 대조군에서는 염증반응이 심하게 나타났다. 藥鍼處理群에서는 烏藥順氣散, 大防風湯, 檳蘇散 순으로 호전상태가 나타났으며 獨活寄生湯에서는 큰 변화가 없었다.

이상을 종합하여 보면 大防風湯과 烏藥順氣散 藥鍼이 Freund's complete adjuvant 관절염 유발 rat에 작용하여 부종을 감소시키고 염증 정도의 지표가 되는 백혈구의 총수를 유의성있게 감소시키고 염증소견을 보여 주는 TNF- α 와 COX-2의 양을 상대적으로 감소시켜 조직학적으로도 근육조직의 괴사가 억제되고 염증 소견이 적은 것

으로 보아 大防風湯 및 烏藥順氣散 藥鍼液은 염증억제 효과를 통해 관절염 치료효과가 클 것으로 사료되며 차후 지속적으로 추가연구가 필요할 것으로 생각된다.

參 考 文 獻

1. Gary D. Anderson, Scott D. Haser, Kelly L. Mcgarity, Margaret E. Bremer, Peter C. Isakan, and Susan A. Gregory : Selective inhibition of cyclooxygenase(COX-2) reverse inflammation and expression of COX-2 and interleukin 6 in rat adjuvant arthritis. : J. Clin. Invest. 97(11). 2672-2679. 1996.
2. T.J.Hall, B.Jagher, M.Schaeublin and I.Wiesenberg : The analgesic drug buprenorphine inhibits osteoclastic bone resorption in vitro, but is proinflammatory in rat adjuvant arthritis. : Inflamm Res. 45 : 299-302, 1996.
3. P.C.Braga, E.Soldavini, A.Pecile, V.Sibilia and C.Netti : Involvement of H1 receptor in the central antinociceptive effect of histamine: pharmacological dissection by electrophysiological analysis : Experientia 52, 60-65, 1996.
4. Martina Drosse, Gerhard Tangen, Iris Gummelt, Helga Kirchhoff, Leigh R. Washburn and Renate Rosengarten : Major membrane protein and lipoprotein as highly variable immunogenic surface components and strain-specific antigenic marker of Mycoplasma arthritidis. : Microbiology 141. 3207-3219, 1995.
5. Vivianne Malmström, Erik Michaëlsson, Haevald Burkharst, Ragnar Mattsson, Eero Vuorio and Rikard Holmdahl. : Systemic versus cartilage-specific expression of a type II collagen-specific T-cell epitope determines the level of tolerance and susceptibility to arthritis. : Proc. Natl. Acad. Sci. 93, 4480-4485, 1996.
6. Kazuya Kameo, Kimiyo Takeshita, Yoshiko Yasuda, Keita Matsumoto, and Kazuyuki Tomisawa : Preparation and antirheumatoid activity of optically active 2-acetylthiomethyl-4-(4-methylphenyl) -4-oxobutanoic acid (KE-298). Chem. Pharm. Bull. 44(3), 602-604, 1996.
7. Y.Waksman, I.Hod and A.Friedman : Therapeutic effects of estradiol benzoate on development of collagen-induced arthritis(CIA) in the lewis rat are mediated via suppression of the humoral response against

- denatured collagen type II (CII). : Clin. Exp. Immunol. 103, 376-383, 1996.
8. U.Wiedermann, A. Tarkowski, T.Bremell, L.A.Hanson, H.Kahu, and U.I.Dahlgren : Vitamin A deficiency predispose to Staphylococcus aureus infection. Infection and Immunity. 64(1), 209-214, 1996.
 9. 구석일 : 류마치스성 관절염 환자에 있어서 활액 분석에 대한 임상적 연구. 조선대학교 교육대학원. 1982.
 10. 황득수 : 류마치스성 관절염 환자에 있어서 활액과 혈청내 Ferritin 농도에 대한 연구. 충남대학교 대학원. 1983.
 11. 권경훈 : 류마티드 인자 양성인 류마티 양 관절염에서 혈청 C-반응성 단백질의 의의. 계명대학교 대학원. 1991.
 12. 서정탁 : 관절염 환자에 있어서 혈청과 관절액의 단백질 분획 각 면역글로블린 및 유산 탈수소효소 Isoenzyme에 관한 연구. 부산대학교 대학원. 1983.
 13. 서정대 : 한국인에서 류마티드 관절염과 제II형 조직적합항원과의 연관성에 관한 연구. 한양대학교 대학원. 1991.
 14. 홍광표 : 류마티드 관절염 환자의 세포성 면역에 관한 연구. 연세대학교 대학원. 1986.
 15. 이연경 : 斑猫藥針이 白鼠의 Adjuvant 관절염에 미치는 영향. 대전대학교 대학원. 1996.
 16. 김락현 : 梔子藥針이 白鼠의 Adjuvant 관절염에 미치는 영향. 대전대학교 대학원. 1996.
 17. 나창수 : 艾灸와 麝香, 牛黃, 熊膽 藥針이 Adjuvant관절염에 미치는 영향. 경희대학교 대학원. 1994.
 18. 윤영희 : 羌活湯 및 加味羌活湯이 鎮痛效果와 Adjuvant 關節炎 白鼠에 미치는 影響. 대전대학교 대학원. 1993.
 19. 신민식 : 防風湯이 Adjuvant 誘發 關節炎에 미치는 影響. 경희대학교 대학원. 1994.
 20. 위성민 : Carrageenan으로 유발한 관절염 활액막의 광학 및 전자현미경적 관찰. 전남대학교 대학원. 1983.
 21. 박동준 : 흰쥐에서 TypeII collagen으로 유발된 관절염의 임상양상 및 면역반응. 가톨릭대학 대학원. 1990.
 22. 이동석 : 한국의 류마티스 관절염 환자의 폐침범을 조기진단하는데 있어서의 면역학적 지표와 폐기능검사의 유용성. 한양대학교 대학원. 1996.
 23. 임순자 : 류마티스 관절염 환자의 자가 임파구 혼합반응에서 말초혈액 T세포의 증식반응과 Cytokine의 생성. 순천향대학교 대학원. 1996.
 24. 장명호 : CDR3 size spectratyping을 이용한 정상인과 류마티스 관절염 환자의 T 세포 수용체 Repertoire complexity 분석. 한양대학교 대학원. 1996.

25. 김계성 : 류마토이드 관절염 환자에 있어서 단세포 세포독성검사에 의한 자연 살세포의 작용기전. 연세대학교 대학원. 1987.
26. 상해중의학원 : 침구학, 香港, 商務印書館, 1982.
27. 申載鏞 編著 : 方藥合編解說, 傳統醫學研究所, pp.78, 79, 101-102, 265. 1993.
28. 金賢濟, 洪元植 編譯 : 韓醫學辭典, 서울, 成輔社. pp. 478-482, 1988.
29. 上海中醫學院編 : 中醫內科學, 香港, 商務印書館, pp. 200-205, 1983.
30. 婁多峰 : 痺症治驗, 河南, 河南科學技術出版社, p. 1, 1983.
31. 巢元方 : 巢氏諸病源候論, 臺北, 昭人出版社, pp. 11-12, 1974.
32. 李東垣 : 東垣十種醫書, 서울, 大星文化社, pp.452-453, 861-865, 1991.
33. 李挺 : 原本編註醫學入門, 서울, 南山堂, pp.1454-1457, 1985.
34. 張介賓 : 景岳全書(上), 서울, 大星文化社, pp.229-234, 1992.
35. 謝觀 編纂 : 中國醫學大辭典, 臺灣, 商務印書館, pp. 3540-3543, 1981.
36. 해리슨 번역 편찬위원회 : Harrison's 내과학, 서울, 도서출판 정담, pp.590-596, 1777-1785, 1816-1841, 1997.
37. 大韓病理學會 : 病理學, 서울, 高文社, pp.1210-1220, 1991.
38. 김진호, 한태륜 : 재활의학, 서울, 군자출판사, pp.373-378, 1997.
39. 김창종 : 병태생리학, 계축문화사, pp49, 664-667, 1988.
40. 林準圭, 申鉉大 : 東醫物理療法科學, 高文社, pp.268-269, 1986.
41. 全國韓醫科大學 鍼灸·經穴學敎室 編著 : 鍼灸學(上), 集文堂, pp.381-382, 1991.
42. 이귀녕, 이종순 : 임상병리파일, 의학문화사, p171~172, pp217~218, p740, 1993.
43. 김광혁 외 20인譯 : 세포·분자 면역학, 정문각, pp.307-312 1998.
44. 하대유 편역 : 그림으로 본 면역학 3판, 고문사, pp.100-103, 1993.