

# 지속적인 초음파치료와 맥동 초음파치료가 Adjuvant로 유도된 흰쥐의 관절염에 미치는 효과

충북대학교병원 재활의학과 · 용인대학교 물리치료학과<sup>1)</sup> · 동남보건대학 물리치료과<sup>2)</sup> · 충북대학교병원 임상병리과<sup>3)</sup>

이병욱 · 민경옥<sup>1)</sup> · 홍원성<sup>2)</sup> · 이경무 · 황석연<sup>3)</sup>

## The Effect of Continuous Ultrasound Therapy and Pulsed Ultrasound Therapy on Adjuvant Induced Rheumatoid Arthritis in Rat

Lee, Byeung-Ok, RPT, MS., Min, Kyung-Ok, PhD<sup>1)</sup>, Hong, Wan-Seng, PhD<sup>2)</sup>

Lee, Kyung-Moo, MD, PhD, Hwang, Seock-Yeon, PhD<sup>3)</sup>

*Dept. of Rehabilitation Medicine and Clinical Pathology<sup>3)</sup>, Chungbuk Nat'l University Hospital*

*Dept. of Physical Therapy, Young-in University<sup>1)</sup>*

*Dept of Physical Therapy, Dongnam Health College<sup>2)</sup>*

### - ABSTRACT -

The drug therapy for rheumatoid arthritis must be maintained constantly or for the whole life but is apt to induce the adverse effects in gastrointestinal or renal system. Therefore, newer methods are paid attention to reduce adverse effects.

The thirty-two rat female separated into seven groups depending on the therapy or Freund's adjuvant applied: Normal group(n=8) not received anything, Positive control group(n=8) only received adjuvant, USC group(n=8) received continuous US, USP group(n=8) received pulsed US. The physical and radiological findings by thermal and non-thermal effects of ultrasound were evaluated in groups with continuous mode at 1 MHz, 0.5 W/cm<sup>2</sup> for 6 minutes and with pulsed mode (duty cycle 1:9) at 1 MHz, 0.5 W/cm<sup>2</sup> for 6 minutes. The result summarized follows.

1. Swelling of forepaw and hindpaw was significantly reduced in USP.
2. Arthritis indices in USP group were significantly reduced than those in PCG.

3. In naked eye and radiologic findings, swelling was significantly prevented in USP group but not in PCG.

The change of swelling, arthritis index, gross feature in naked eye, radiologic finding were significantly improved in all groups except for USC group, taking care for using its continuous mode.

**Key word** : Complement freund's adjuvant, Rheumatoid arthritis, Continuous ultrasound, Pulsed ultrasound, radiology

## I. 서론

사람과 동물에서의 관절염의 중요성은 주로 통증이라 할 수 있다. 만성 통증은 운동을 제한하고 계속적인 스트레스로 우울증에 빠지게 한다. 관절염의 분류 중에 류마티스 관절염은 사람에서 평생 동안에 크나큰 고통을 주기 때문에 이를 연구하기 위해서는 실험 동물에 인위적으로 최염 물질을 주사하여 관절염을 유발하는데 그 중에서 adjuvant arthritis와 collagen-induced arthritis가 질병 발생의 표준성과 짧은 기간에 질병의 발달 과정을 연구할 수 있어서 가장 많이 사용하고 있다.

초음파 치료는 임상적으로 연부조직 손상 후 재활 치료에 가장 널리 사용되어 온 물리치료법으로서 치료 기전은 주로 온열 효과에 의한다고 알려져 있다 (Basford, 1998; Lehmann and De Lateur, 1990). 한편, 열 발생 이외의 다른 효과 즉, 비 온열효과만의 임상적 의의는 아직까지 확실하지 않으나 여러 보고들에 의하면 세포 기능의 변화 및 세포막의 투과도의 변화를 일으켜 손상된 조직의 치유를 증진시킨다고 보고하였다 (Byl et al., 1992; Maxwell, 1992; Nassbaum, 1996). 초음파 치료는 치료시 초음파의 형태, 강도, 치료 기간 및 손상 후 치료 시작 시기 등 매우 다양한 변수들을 고려하여야 하는데, 비 온열효과를 강조하기 위한 적절한 초음파의 형태나 강도 및 치료 기간에 대해서는 많은 보고들이 있으나 (Roberts et al., 1982; Dinno et al., 1989; Byl et al., 1992; Nassbaum, 1998) 류마티스 관절염의 병리 기전에 초음파 조사가 미치는 영향에 대한 연구는 전

무하다고 할 수 있겠다. 따라서 본 연구에서는 흰쥐의 후지 발바닥에 complete freund's adjuvant를 투여하여 관절염을 유발시켜, 15일째부터 초음파와 맥동 초음파를 적용하여, 초음파에 의한 온열 효과와 비 온열효과 및 초기 관절염에 대한 임상 소견과 관절염의 지수 및 방사선학적인 평가 등을 통하여 류마티스 관절염에 대한 초음파 치료법을 제시하는데 그 목적이 있다고 하겠다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험 재료

실험동물은 rat[Female, Sprague-Dawley; 197 22 g, 7 주령]을 사용하였으며, 실험동물의 구입은 한국 셴타코 (경기도 오산)로부터 구입하였으며, 구입 후 3주일간 계류시킴으로서 새로운 환경에 적응시킨 다음 본 실험에 사용하였다. 실험동물의 사육은 온도:  $23 \pm 1^\circ$ , 습도: 40~60%, 명암주기: 12시간 조건으로 하였으며, 사료는 퓨리나(주)의 고품사료를 매일 충분히 공급하였으며, 식수는 제한 없이 공급하였다. 그 외 실험재료로는 complete freund's adjuvant(CFA)인 *Mycobacterium butyricum*(Life Technologies, USA)과 초음파 치료기(Rich-Mar corpr Model V, USA)를 그리고 방사선 촬영을 위하여는 HD-150B-30 BK-12(Shimadzu corp, Japan)와 Konica QX-400(Konica Corp, Japan)을 각각 이용하였다.

### 2. 실험 방법

### 1) 실험 설계

실험군은 정상대조군 (normal group; NG), 양성대조군 (positive control group; PCG), 맥동초음파(USP군) 및 지속적인 초음파 치료군 (USC군)으로 모두 4개군으로 설정하였으며, 군 당 8수씩 모두 32수를 공시하였다. 정상대조군은 saline 용액 0.1 ml을 실험군에 있어서 관절염 유발은 Chang(1979) 등의 방법을 이용하여 CFA를 흰쥐의 우측 후지발바닥에 투여하여 관절염을 유발시킨 다음 맥동초음파군은 간접조사법으로 기포가 제거된 물을 플라스틱 투명 용기에 담아 1 MHz의 초음파를 0.5 W/cm<sup>2</sup>의 강도로 하여 맥동비를 '1' milliseconds "on" '9' millisecond "off" 로 6분간 치료하였고, 지속적인 초음파 치료군은 맥동비를 주지 않고 연속적으로 하여 6분간 치료하였다.

### 2) 관절염 지수 평가

관절염 지수의 평가는 Wood의 방법을 변형한 Burrai등의 방법 (Burrai et al., 1985)에 따라 흰쥐의 각 지절에서 관절 종창과 관절주위부 발적의 정도를 육안 관찰하여 0점에서 4점으로 점수를 배점하였고 다시 4지의 점수를 합산하여 0점에서 16점의 관절염 지수로 표기하였다 (Table 1). 관절염 유발이 확인된 흰쥐는 치료종료 시까지 매주 2회씩 점수를 추적 관찰하여 치료 전과 치료 후의 점수를 비교하였다.

### 3) X-ray 촬영 및 평가

CFA 투여 전에 촬영과 투여 후 14일, 21일, 29일에 각각 촬영하였다. 방사선 사진 촬영은 배복측 방향(42KV, 2mAs)으로 거리 100 cm 으로 촬영한 후 방사선학적 평가는 Trenthan(1977)이 보고한 방사선학적 소견을 토대로 Mainardi(1979)등의 방법을 변형하여 연부조직의 종창, 관절의 파괴 정도, 신생골 형성 및 관절 구축 등의 정도에 따라 0점에서 3점까지 그리고 이를 좌·우 후지에 대하여 배점한 점수를 합산하여 0점에서 6점까지의 방사선 지수로 평가하여 치료 전과 치료 후의 결과를 비교하였다(Table 1)

Table 1. Clinical and Radiological Evaluation of Arthritis.

Arthritis	
0	No evidence of disease
1	Inflammation of small digital joints
2	Inflammation of digits and foot pad
3	Inflammation of entire foot
4	Inflammation of foot and ankle
Radiologic Index	
0	Normal
1	Joint space narrowing, soft tissue swelling, bone erosion
2	Marked narrowing, prominent periosteal new bone formation
3	Loss of joint space narrowing and ankylosis

## 3. 자료 처리 및 분석

결과의 통계분석은 SPSS 통계 프로그램을 이용하여 각 측정치의 평균값 및 표준편차를 구하고, Wilcoxon, Friedman 및 Kruskal-Wallis test를 이용하여 각 군간의 치료 전과 치료 후의 그리고 방사선학적 평가와 관절염 지수 평가에 대한 유의성을 검정하였으며,  $p < 0.05$  이하를 통계적 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

## III. 결 과

### 1. 관절염 지수의 변화

관절염 지수는 CFA투여 후 9~19일 사이에 최고로 증가하였다가 감소하는 경향을 보였다. 치료 전·후 관계를 보기 위해 치료 시작 시점인 15일과 치료 종료후인 29일 측정치에서, PCG군과 USC군은 통계적으로 유의한 변화가 관찰되지 않았으나 USP군에서는 유의하게 감소하였다. 한편, 기간별 변화에서는, USP군과 USC군 모두 CFA 투여 후 26일과 29일에서 유의하게 ( $p < 0.05$ ) 감소하였다 (Fig. 1).

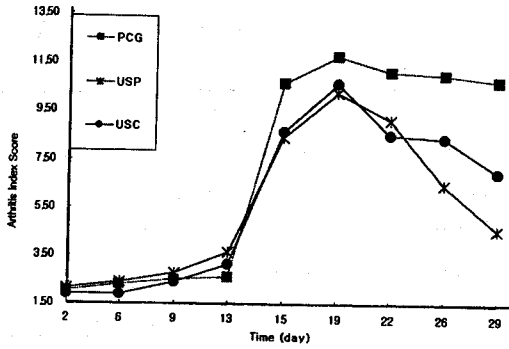


Fig. 1. Change of arthritis score in arthritis rats.  
 NG; Normal Group  
 PCG; Positive Control Group  
 USP; Pulsed ultrasound treatment group.  
 USC; Continuous ultrasound treatment group.

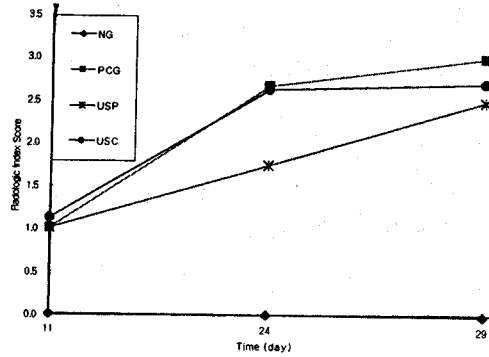


Figure 2. Change of radiologic index score in arthritis rats.  
 NG; Normal Group  
 PCG; Positive Control Group  
 USP; Pulsed ultrasound treatment group.  
 USC; Continuous ultrasound treatment group.

## 2. 방사선학적인 변화

방사선 지수 평가에서의 치료 전·후 비교는 유발대조군인 PCG군에, USP군과 USC군에 비하여 유의하게 ( $p < 0.05$ ) 증가하였으며, 방사선 촬영 시기에 따른 분류에서는 유발대조군인 PCG군과의 비교에서 감소하는 경향은 보였으나 통계적인 유의성은 인정되지 않았다(Fig. 2). 한편, 방사선 소견에서는 CFA를 투여 후 11제는 모든 실험군에서 관절과 뼈에 특이한 병적 증상은 관찰되지 않았으나, CFA 투여 20일이 경과된 후에는 정상군을 제외한 모든 군에서 관절 인접 부위의 심한 종창과 소주(trabecula)의 음영이 소실되었고, 관절내 X-ray 비 투과성이 현저히 항진되었다. 또한, 29일 후에는 유발대조군인 PCG군과 USC군에서 USP군 보다 심한 연부조직의 종창과 관절내의 X선 비 투과성이 항진되었고, 관절 주위의 뼈에서는 골막 반응과 신생골이 형성되어 관절 경직 증상을 보였다(Fig. 3, 4).

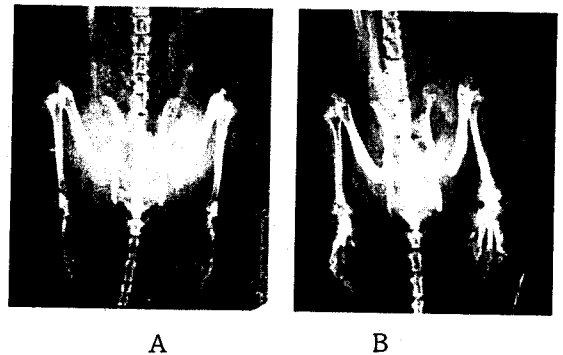


Figure 3. Radiographic findings of rat hindpaw in normal group(A) and positive control group(B) 29 days after CFA injection.

## IV. 고찰

초음파는 음파와 그 일반적인 특성이 비슷하여 전파되기 위해서는 매질이 필요하며 압축(compression)과 희박화(rarefaction)의 반복되는 파로 구성되고 에

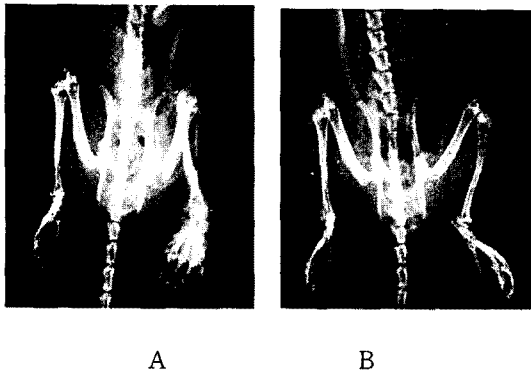


Figure 4. Radiographic findings of rat hindpaw in continuous ultrasound treatment group(A) and pulsed ultrasound treatment group (B)29 days after CFA injection.

너지를 전달하여 집중되거나 반사되는 성질을 갖는다. 물리치료에서 사용되는 치료적 초음파는 집중, 투과 및 표준화 등을 고려하여 진단 목적으로 사용하는 초음파보다 짧은 주파수인 0.8-3 MHz의 초음파를 사용한다고 보고되고 있다(민경욱, 1996).

초음파의 생리적인 효과에는 온열효과와 비 온열효과가 있으며 물리치료 시 사용하는 초음파는 주로 온열효과를 이용한다. 초음파 조사 후 발생하는 국소적 온도 상승은 초음파 에너지의 흡수로 인한 분자의 진동과 조사시 발생하는 particle velocity gradient와 이와 동반된 viscous shear 효과 등으로 발생하며, 또한 국소적인 온도 상승으로 혈류량이 증가하며 혈관의 확장으로 영양분, 백혈구, 항체, 대사 부산물, 조직파편(tissue debris) 등이 혈류속으로 나와서 염증을 완화시키고 건의 신전성을 증진시키며 통증을 완화시키는 것으로 알려져 있으며(김진호, 1995), 통증 완화의 기전은 피부의 반대자극(curaneous counterirritant), 혈관 확장으로 인한 허혈성 통증의 완화, 혈관 확장으로 인한 통증 매개물질의 배출, endorpin-mediated response, 신경전도의 변화 및 세포막의 투과성의 변화 등으로 설명될 수 있

으며(Weber, 1996), 초음파의 비 온열효과에는 공동화, 음파흐름, 정상파(standing waves), 기계적 변형(mechanical deformation), 충격파(shock wave) 등이 있다.

본 연구에서는 흰쥐의 우측 후지 발바닥에 Complete Freund's Adjuvant를 투여하여 관절염을 유발시켰다. 관절염 유발 후 15일째부터 지속적인 초음파와 맥동 초음파를 사용하여 초음파에 의한 온열효과와 비 온열효과와 임상소견과 관절염의 지수변화 및 방사선학적인 변화를 연구하였다. Glant(1987) 등은 CFA를 투여 후 관절염의 초기 증상은 종창과 발적이고 7-9주 후에 최고에 달한다고 하였고, Issekutz(1991) 등은 관절에 polymorphonuclear leukocyte와 lymphocyte 침윤이 adjuvant arthritis에서 현저하였다고 한다. Pearson(1959)은 *Mycobacterium butyricum*을 투여한 실험에서 우측 후지뿐만 아니라 좌측 후지 및 전지에까지 전이되어 관절염이 발생되었다는 보고와, Calvino(1987)의 실험에서 쥐의 전지와 후지뿐만 아니라 꼬리에서까지 관절염이 발생되었다는 보고와 본 연구에서도 우측 후지뿐만 아니라 좌측 후지와 전지에서도 관절염이 발생한 소견과 일치하였다.

관절염 지수는 CFA투여 9일부터 증가하기 시작하여 15~19일 후에 최고조에 달하였으며, PCG군과 USC군에 비하여 USP군에 있어서 유의하게 감소하였다. 다른 연구에서는 제2형 콜라겐으로 유도된 관절염에 Methotrexate를 투여한 3일 후부터 감소하는 양상을 보였다고 보고하여(서택혁, 2001), 관절염 유발 방법에서 다소 차이는 있지만 본 실험의 맥동 초음파치료에서의 결과와 일치한다고 하겠다. 한편

방사선 소견은 CFA를 투여 11일 후에는 모든 군에서 관절과 뼈에 특이한 병적 증상을 보이지 않았지만, 우측 후지의 연부조직에 있어서 종창이 관찰되었고, 20일 후에는 거의 모든 군에서 관절 인접 부위의 심한 종창과 소주(trabecula)의 음영의 소실과 관절내 X-ray 비 투과성이 항진되었다. 29일 후에는 유발대조군인 PCG군과 USC군에서 맥동 초음

파근 보다 심한 연부조직의 종창과 관절내의 X선 비투과성이 항진되어 관절 주위의 뼈에서는 골막 반응과 신생골이 형성되어 관절 경직 증상을 보였는데 이는 Bulter(1992)등과 강성수(1999)의 연구에서 CFA투여 2-6주후에 방사선 사진상에서 관절의 소견이 관찰된다는 연구와 일치되는 소견이었다.

흰쥐의 adjuvant arthritis 모델에서 초음파 치료에서 지속적인 초음파 치료 보다 맥동 초음파 치료에서 치료 효과가 좋았는데 이는 초음파의 생리적인 효과에서 온열 치료보다 비온열 치료가 치료 효과가 좋았으며, 비온열 치료의 기전으로서는 컷제, 미세공기 방울(microbubbles) 혹은 공동화(cavitation)가 생기면서 초음파에 의해 압박을 받으며 미세공기방울들이 진동 운동(oscillatory movement)과 음향 흐름(acoustic streamin)을 일으켜서 세포막의 침투성을 증가시킨다는 이론이 있다. 그 결과 세포막의 확산이 촉진되고, 단백질합성능력을 증진시켜 치유 과정을 촉진하고, 신경의 전기 활성화에 영향을 주어 통증 완화에도 관여한다는 이론이다(Mortimer and Dyson, 1988; Ryaby et al., 1991). 둘째 이론은 세포막의 표면에 기계적인 압박이 가해지면 Sachs(1991)에 의해 제안된 양이온 통로(cation channel)에서 신장수용기(stretch receptor)를 활성화시킨다는 이론으로 설명되어 질 수 있을 것이다.

본 연구에서 흰쥐의 adjuvant arthritis 모델에서 맥동 초음파치료군에서 관절염지수와 방사선학적인 소견을 통하여 치료효과를 확인할 수 있었다. 그러나 좀 더 객관적인 판단을 위해서는 보다 많은 모델을 이용하여 민감도가 높은 검사방법을 통한 치료 효과에 대해 연구를 시행하는 것이 바람직하리라 생각되며, 흰쥐의 관절에 피하조직이 거의 없어 지속적인 초음파 치료가 관절 강내 온도 상승으로 인한 치료효과의 저하와 동물에서의 adjuvant arthritis 유발이 모든 개체에서 일정하게 유발되지 않는 것도 고려해야 할 것이다. 또한 모든 치료를 2주간의 치료로 비교적 짧은 시간을 적용했기 때문에 관절염의 치료 효과에 대해 만성 관절염의 치료 효과로 일반

화시키는데 대한 제한점을 가지고 있음을 주지해야 할 것으로 생각된다.

## V. 결 론

본 연구에서는 흰쥐(Sprague-Dawley; SD계) 암컷 32마리를 우측 후지 발바닥에 Complete Freund's adjuvant를 마리당 0.1ml를 투여하여 관절염을 유발시켰다. 관절염 유발후 15일째부터 지속적인 초음파 1MHz를 0.5 W/cm<sup>2</sup>로 6분간의 자극 치료와 맥동 초음파는 맥동비 1:9로하여 1MHz를 0.5 W/cm<sup>2</sup>로 6분간 치료하여 초음파에 의한 온열효과와 비온열효과의 임상소견과 조직 손상의 치유 정도 및 방사선학적인 변화를 연구하였다. 맥동 초음파치료와 지속적인 초음파치료 효과의 차이를 분석 연구하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 종창의 억제 효과는 대조군에 비하여 맥동 초음파 치료군에서 유의하게 억제하였다.
2. 관절염 지수의 변화에서 극저전류 맥동 초음파 치료군에서 대조군에 비해 감소하였다.
3. 방사선 소견에서 맥동 초음파 치료군에서 대조군에 비해 종창을 효과적으로 예방하였다.

이상의 결과에서 CFA에 의해 유발된 흰쥐의 초기 관절염치료에 맥동 초음파 치료에서 육안적소견, 관절염 지수의 변화 및 방사선학적인 소견에서 관절염의 발달을 효과적으로 억제하였다. 초기 관절염에 지속적인 초음파 적용 시 관절염 지수 및 방사선학적인 소견에서 종창의 증가와 연골 세포의 파괴와 염증 세포의 침윤이 심하여 관절염을 더욱 악화시키는 것으로 치료 시 신중을 기해야 할 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

- 강성수. 생복독이 adjuvant 의해서 유발된 레트관절염에 대한 임상치료 효과. 충북대학교 석사학위논문; 1999.
- 김진호, 권용욱, 이성재, 윤기성, 이경무. 적외선 요법이 흰 쥐의 제2형 콜라겐 유발 관절염에 미치는 영향에 관한 연구. 대한재활의학지 19(4):700-706, 1995.
- 민경옥. 전기치료학 II. 현문사, 15-61, 185-240, 1996.
- 서택혁. 제2형 콜라겐에 의해 유도된 쥐의 슬관절염에서 고용량 Methotrexate의 치료 효과. 고신대학교 석사학위논문; 2001.
- 이형렬. 讀斷藥鍼이 Adjuvant 關節炎에 미치는影響. 대전대학교석사학위논문; 2000.
- Basford JR. Physical agents. In : Delisa K.A., Gans B.M. editors, Rehabilitation medicine : Principles and practice. Philadelphia : Lippincott-Raven; 483-503, 1998.
- Butler SH, Godecroy P, Besson JM, Weil-Fugazza J. A limited arthritis model for chronic pain studies in the rat. *Pain*, 48(1):73-81, 1992.
- Burrai I, Henderson B, Knight SC, Staines NA. Suppression of collagen type II induced arthritis by transfer of lymphoid cell from rats immunized with collagen. *Clin Exp Immunol*, 61(2):368-372, 1985.
- Byl NN, McKenzie AL, West JM., Whitney JD, Hunt TK, Scheuenstuhl HA. Low-dose ultrasound effects on wound healing : a controlled study with yucatan pig. *Arch Phys Med Rehabil*, 73(7):656-664, 1992.
- Calvino B, Villanueva L, Le Bars D. Dorsal hon(convergent) neurones in the intact anaesthetized arthritic rat. II. Heterotopic inhibitory influences. *Pain*, 31(3):359-79, 1987.
- Chang YH, Bliven ML. Anti-arthritic effect of bee venom. *Agents Action*, 9(2):205-11, 1979.
- Dinno MA, Dyson M, Young SR, Mortimer AJ, Hear J, Crum LA. The significance of membrane changes in the safe and effective use of therapeutic and diagnostic ultrasound. *Phy Med Biol*, 34(11):1543-52, 1989.
- Glant TT, Mikedcz K, Arzoumanian A, Poole AR. Preteoglycan-induced arthritis in BALV/c mice. Clincl features and histopathology. *Arthritis Rheum*, 30(3):201-212, 1987.
- Issekutz AC, Issekutz TB. Quantitation and kinetics of polymorphonuclear leukocyte and lymphocyte accumulation in joints during adjuvant arthritis in the rat. *Lab Invest*, 64(5):656-63, 1991.
- Lehmann JF, De Lateur BJ. Therapeutic heat. In : Lehmann J.F, editor. Therapeutic heat and cold. Baltimore : Williams & Wilkins, 417-581, 1990.
- Mainardi CL, Walter JM, Spiegel PK, Goldkamp OG, Harris ED Jr. Rheumatoid arthritis: failure of daily heat therapyb to affect its progression. *Arch Phys Med Rehabil*, 60(9):390-393, 1979.
- Maxwell L. Therpeutic ultrasound : its effects on the cellular and molecular mechanism of inflammation and repair. *Physiotherapy*, 78(6):421-426, 1992.
- Mortimer AJ, Dyson M. The effect of therapeutic ultrasound on calcium uptake in fibroblasts. *Ultrasound Med & Biol*, 14(6):499-506, 1988.
- Nassbaum EL. Therapeutic ultrasound. Behrens B, Michlovitz S. editors. Physical agents : Theory and parctice for the phytsical therapy assistant. Philadelphia: FA Davis; 81-117, 1996.
- Nassbaum EL. The influence of ultasound on healing tissues. *J Hand Therapy*, 11:140-147, 1998.
- Pearson CM. Devolpment of arthritis, periarthritis

and perostitis in rats given adjuvant. *Proc. soc. Exp. Bio*, 91:95-101, 1959.

Ryaby JT, Bachner EJ, Bendo JA, et al. Low intensity pulsed ultrasound increases calcium incorporation in both differentiation cartilage and bone cell culture. *Trans Orthop Res Soc*, 14:15, 1991.

Roberts M, Rutherford JH, Harris D. The effect of ultrasound on flexor tendon repairs in the rabbit. *Hand*, 14(1):17-20, 1982.

Trentham DE, Townes AS, Kang AH. Autoimmunity to type II collagen an experimental model of arthritis. *J Exp Med*, 146(8):857-868, 1977.

Weber DC, Brown AW. Physical agent modalities, In: *Physical Medicine and Rehabilitation*, W.B. Saunders company. *Philadelphia*; 449-463, 1996.