

# 개오동이 흰쥐의 Collagen 유발 관절염에 미치는 영향

윤제필\* · 김순중\* · 서일복\*\*

\*세명대학교 한의과대학 재활의학과교실 \*\*세명대학교 한의과대학 해부학교실

## Effects of *Catalpa Ovata* on the Collagen-induced Arthritis in Lewis Rats

Je-Pil, Yoon\* · Sun-Jung, Kim\* · Il-Bok, Seo\*\*

\*Dept. of Oriental Rehabilitation Medicine, Collage of Oriental Medicine Se-Myung University

\*\*Dept. of Anatomy, Collage of Oriental Medicine Se-Myung University Semyung University Graduate School

**Objectives :** The purpose of this study is to find out the effects of *Catalpa Ovata* on the collagen-induced arthritis in the lewis rats. and we infer the effects of *Catalpa Ovata* on the rheumatoid arthritis in the human body.

**Methods :** We investigated the effect of *Catalpa Ovata* on the Collagen-induced arthritis in Lewis rats via morphology, histology and serology as an experimental group, a control group, and a normal group. We feed *Catalpa Ovata* only to an experimental group.

**Results :** According to this research, the abnormal finding in Moiré topography was 53.7% (1,018 students), and students needed X-ray re-examination were 11.2% (213 students). Students diagnosed scoliosis by X-ray re-examination were 1.8%. According to statistical analysis, interval between vertical base line of pelvis and vertical base line of neck, gap between left distance and right distance to the vertical base line of pelvis and difference of contour lines have strong correlations with deformity degree of the body surface examined by Moiré.

### Conclusions :

1. The weight of an experimental group were lower than control group with statistically significant at 15 days later.
2. The paw edema volume of an experimental group were lower than control group at 10 days, 15 days later. but couldn't be found meaning.
3. The size of the tarsal joint of an experimental group were lower than control group at 5 days, 10 days, 15 days later. but couldn't be found meaning.
4. The volume of tumor necrosis factor- $\alpha$  at an experimental group were lower than control group with statistically significant.
5. The volume of interleukin- $1\beta$  at an experimental group were lower than control group with statistically significant.
6. An experimental group and a control group were showed ankylosing osteoarthritis, but an experimental group compared with a control group, alleviated in the fibrous ankylosis, destruction of articular cartilage and destruction of subchondral bony tissue.

According to the above results, it might be considered that *Catalpa Ovata* has the suppression on the advance of the Collagen-induced arthritis and that result were presumed to be connected with suppression of volume of the tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin- $1\beta$  in the blood.

**Key Words :** *Catalpa Ovata*, Collagen-induced arthritis, TNF- $\alpha$ , IL- $1\beta$

## I. 서론

한의학에서 痺, 歷節風, 白虎歷節風, 痛風 및 風濕

性 關節炎 등으로 인식되고 있는<sup>1-2)</sup> 류마티스 관절  
염은 관절 부위의 활액막의 만성 염증을 특징으로  
하며 病이 진행됨에 따라 罹患된 관절의 연골 및  
골과 관절 주위 연골조직의 파괴를 초래하는 전신

■ 교신저자 : 윤제필, 서울시 강남구 신사동 635번지 자생한방병원 한방재활의학과교실  
Tel : (02)3218-2230. Fax : (063) 841-0033 E-mail : enttx@hanmail.net

성 자가면역 질환이다<sup>3)</sup>. 전 세계에 걸쳐 주로 젊은 층에서 發病하며 전 인구의 약 2-4%가 罹患되는 것으로 알려져 있다<sup>4)</sup>.

류마티스 관절염의 원인은 연쇄상구균, diphtheroid, mycoplasma, HBV (Hepatitis B. virus) 등에 의한 감염설, 비타민 결핍, 호르몬 부조화, 자가면역 조절 장애, 유전인자의 관련설 등이 제기되고 있다<sup>5-11)</sup>. 현재까지 정확한 原因은 불명이지만 이러한 환경적인 요인과 유전적 소인이 복합적으로 작용하여 면역조절기전의 이상이 초래됨으로써 각종 cytokine과 단백질 분해 효소를 비롯한 다양한 염증 유발인자에 의해 관절의 손상이 지속적으로 일어나는 것<sup>12)</sup>으로 알려져 있다. 그러나 현재까지 류마티스 관절염을 完治시키거나 疾病의 進行을 막을 수 있는 治療法은 아직 확립되지 않은 실정이다<sup>13)</sup>.

Collagen 유발 關節炎 (Collagen-induced arthritis, CIA)은 류마티스 관절염의 대표적인 실험동물 모델<sup>14)</sup>의 하나로 육안적으로는 足關節과 股關節에 浮腫, 腫脹, 紅斑을 보인다. 조직학적으로는 활막비대, 부활막조직에 염증세포의 침착, 경계영역의 파괴, 골막염, 연골 표면의 단편화가 일어나며<sup>15-17)</sup>, 다양한 면역담당 세포들이 활성화되는 특징을 보여 류마티스 관절염과 유사한 증상을 나타낸다. 따라서 CIA는 류마티스 관절염의 기전 연구와 치료 약물의 약리 효과를 검사하는데 많이 이용되고 있는 방법이다.

류마티스 관절염에서 활막염의 특징은 관절내 활막에서 T세포의 침윤이 보이며<sup>18)</sup>, T-임파구에서 분비되는 cytokine에는 IL(interleukin)-1,2,6,8과 TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor alpha) 등이 포함된다.

이들이 세포의 활성화와 다양한 단백질 분해 효소인 PGE2(prostaglandin E2), oxygen radical 등을 증가시켜서 관절조직의 손상을 초래한다<sup>12)</sup>.

한의학에서 collagen 유발 관절염에 대한 논문으로는 李<sup>19)</sup>의 大羌活湯, 申<sup>20)</sup>의 桂枝芍藥知母湯, 安<sup>21)</sup>의 靈仙除痛飲, 金<sup>22)</sup>의 加味薏苡仁湯, 金<sup>23)</sup>의 斑猫

金<sup>24)</sup>의 秦艽, 金<sup>13)</sup>의 牡丹皮, 徐<sup>25)</sup>의 冬蟲夏草 등에 대한 실험적 연구가 있었다.

金<sup>26)</sup>은 개오동 나무의 樹皮 methanol 추출물이 Sarcoma 180 암세포에 대해 강력한 세포독성작용을 나타낸다고 하였으며, 민간에서는 개오동 나무의 수피를 관절염의 치료에 활용하고 있으나 이에 대한 검증은 아직 이루어지지 않고 있는 상태이다.

이에 저자는 개오동이 CIA형 關節炎에 미치는 영향을 연구하고자 bovine type II collagen을 흰쥐의 꼬리에 주사하고 개오동을 투여하여 CIA의 유발 과정 중 형태학적, 혈액학적, 조직학적 변화에 미치는 영향에 대하여 연구하였으며, 이러한 지표를 비교하여 CIA유발에 미치는 개오동의 영향을 검토한 바 몇 가지 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험동물

체중 130g 내외의 숫컷 SPF Lewis Rat(Harlan Sprague Dawley Inc., USA)를 구입하여 온도 23±1℃, 습도 55±5%로 조정된 항온항습사육장치(대중기 기상사, 한국)내에서 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 전 실험기간동안 사료(제일제당, 한국)와 음수는 자유 섭취케 하였다.

### 2. 약물 및 검액의 제조

실험에 사용된 개오동 (*Catalpa Ovata*)은 시중에서 구입하여 사용하였으며, 개오동 70g을 1,000ml의 증류수에 1시간 동안 침지시킨 후, 2시간 30분 동안 전탕하였다. 전탕액을 여과포로 여과한 후, 감압 농축기(EYELA, NE-1001, Japan)를 이용하여 200ml

로 농축하였으며, 농축액 1ml을 1회 경구투여량으로 하였다.

### 3. 關節炎의 유발

Bovine type II collagen(Sigma Co., USA)을 0.05M acetic acid에 6mg/ml의 농도로 넣고 4℃에서 12시간 이상 교반하여 용해하고, N-acetylmuramyl L-alanyl D-isoglutamine (Sigma Co., USA)을 증류수에 2mg/ml의 농도로 넣고 4℃에서 교반하여 용해하였다. 접종 당일에 collagen 용액과 MDP 용액을 1:1로 섞어 혼합하고, 이 용액을 동량의 Freund's incomplete adjuvant(Sigma Co., USA)와 섞어 homogenizer(Biospec Products, Tissue Tearor, USA)를 이용하여 현탁액으로 만들었다. 20마리의 흰쥐를 대상으로 미근부의 피내 2곳에 현탁액 각각 0.1ml씩 총 0.2ml을 접종하였다. 7일 후에 동일한 방법으로 제조한 현탁액 0.1ml을 미근부의 피내에 추가 접종하여 관절염 모델군(model group)으로 하였다. 정상군(normal group)으로 사용할 6마리에는 상기의 접종액 중 collagen만을 제외한 액을 동일한 방법으로 접종하였다.

### 4. 실험군의 분류 및 처치

1차 collagen 접종 후 2주 후에 총 20마리 중 4마리에서 후지의 지절관절의 발적 및 종창이 확인되기 시작하였으며, 1차 collagen 접종 3주 후에 모델군(model group)에서 육안적으로 후지의 발적 및 종창이 확인된 개체만을 대상으로 좌우 족근관절(tarsal joint)의 폭을 digital caliper(Mitutoyo, CD-15CP, Japan)를 이용하여 각각 3회 측정하고 좌우의 평균값을 구한 후 폭이 7.85mm이상인 개체를 선별하여 군 당 족근관절의 폭이 유사하도록 6마리씩을 대조군(control group)과 처치군(treated group)에 배

정하였다.

1차 collagen 접종 3주 후에는 14마리에서 후지의 지절관절과 족근관절의 발적 및 종창이 확인되어 collagen 접종으로 인한 관절염의 발생율은 70%에 달하였다.

관절염이 발생한 14마리 중 11마리는 양쪽 후지에 모두 관절염이 발생되었으며, 3마리는 한쪽 후지에서만 관절염이 발생되었다. 따라서 대조군 및 처치군에 배정된 개체는 양쪽 후지 모두에서 관절염이 발생한 11마리와 한쪽 후지에서만 관절염이 발생한 3마리 중 가장 족근관절의 폭이 큰 1마리, 총 12마리를 사용하였다. 한쪽 후지에서만 관절염이 발생한 개체는 대조군에 배정하였으며 관절염이 발생되지 않은 쪽은 형태계측학적 측정에서 배제하였다. 정상군 및 대조군에는 증류수 1ml을, 처치군에는 한약감압농축액 1ml을 1일 1회 15일간 경구 투여하였다.

### 5. 형태계측학적 검사

#### 1) 육안관찰

실험(약물투여)개시일, 5일, 10일, 15일(실험종료일)에 모든 개체에 대한 육안관찰을 실시하였다.

#### 2) 체중의 측정

실험개시일, 5일, 10일, 15일 째에 모든 개체의 체중을 측정하였다.

#### 3) 족부종(paw edema volume)의 측정

실험개시일, 5일, 10일, 15일 째에 모든 개체의 좌우 후지의 족부종을 pletysmometer (UGO BASILE, 7141, Italy)를 이용하여 각각 3회 측정하고 좌우의 평균값을 구하였다.

#### 4) 족근관절(tarsal joint)의 폭 측정

실험개시일, 투여 후 5일, 10일, 15일 째에 모든 개체의 좌우 족근관절의 폭을 digital caliper (Mitutoyo, CD-15CP, Japan)를 이용하여 각각 3회 측정하고 좌우의 평균값을 구하였다.

### 6. 혈청학적 검사

실험종료일에 ether 마취 하에 모든 개체로부터 심장채혈하고 3,000rpm에서 20분간 원심하여 혈청을 분리하였으며, 분석 전까지는  $-60^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하였다.

#### 1) 혈중 tumor necrosis factor- $\alpha$ 함량 측정

혈중 TNF- $\alpha$  함량은 Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay(ELISA) kit(Endogen, USA)를 이용하여 측정하였다. 표준액 및 검액은 1시간, biotinylated antibody reagent는 2시간, streptavidin-HRP solution은 30분간, TMB substrate solution을 30분간 반응시킨 후 stop solution으로 반응을 정지시키고 ELISA reader(Molecular Devices, E10514, USA)로 450nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 표준액의 흡광도로부터 회귀방정식을 구한 후, 검액의 흡광도를 이 방정식에 적용하여 TNF- $\alpha$ 의 농도를 구하였다.

#### 2) 혈중 interleukin -1 $\beta$ 함량 측정

혈중 IL-1 $\beta$  함량은 위와 동일한 방법으로 측정하였다.

### 7. 병리조직학적 검사실험

종료일에 우측 족근관절이 포함되도록 경골의 원위부에서 중족골 원위부사이를 적출하여 10% 중성

포르마린 용액에 1일간 고정한 후, 20% formic acid에 침지시켜 3일간 탈회하였다. 탈회된 조직을 24시간 수세한 후, 족근관절의 정중시상단면을 만들어 일반적인 조직처리과정을 거쳐 파라핀 포매한 후 5  $\mu\text{m}$ 의 박절편을 만들어 Hematoxylin & Eosin 염색을 실시하여 광학현미경으로 관찰하였다.

### 8. 통계처리

모든 항목의 결과에 대한 통계는 SPSS (SPSS 9.0 for Windows, USA)를 이용하여 student's t-test를 실시하여 검증하였다.

## III. 결 과

### 1. 형태계측학적 변화

#### 1) 육안소견

Collagen이 함유되지 않은 액을 접종한 정상군에서는 전 실험기간 동안 후지 관절의 특이할 만한 변화가 관찰되지 않았다(Fig. 1).

대조군 및 처치군의 모든 개체는 수척하였고 피모가 거칠었으며, 관절염이 발생된 후지를 끌고 다니는 모습을 나타내었다. 대조군 및 처치군의 후지는 실험 5일까지 모두 발적 및 종창의 정도가 증가되는 경향을 나타내었으나, 그 후 발적의 정도가 점차 감소되어졌다. 실험 15일의 대조군에서는 족근관절의 경직과 함께 중족지절관절(metatarsophalangeal joint) 및 지절관절(interphalangeal joint)이 염주상으로 비후되어 있었다(Fig. 2). 실험 15일의 처치군에서도 족근관절의 경직과 함께 중족지절관절 및 지절관절이 염주상으로 비후되어 있었으나 대조군에 비해서 그 정도가 경한 상태였다(Fig. 3).

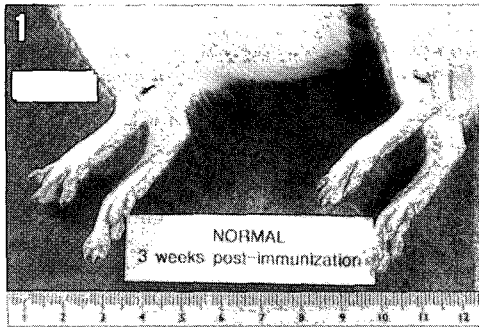


Fig. 1. Hind paws of normal group, showing sunken areas(arrows) above tarsal joint.

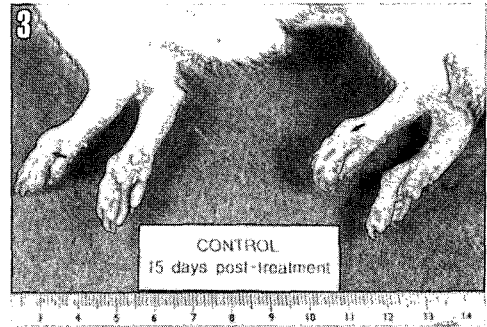


Fig. 2. Hind paws of control group at 15 days post-treatment. Note severe nodulated swelling of metatarsophalangeal joints (arrows)



Fig. 3. Hind paws of Catalpa Ovata treated group at 15 days post-treatment. Compared with Fig. 2, decreased swelling of metatarso-phalangeal joints (arrows).

## 2) 체중의 변화

실험기간 동안 각 군의 체중의 변화는 대조군 및 처치군의 체중이 실험개시일부터 실험종료일 까지 정상군에 비해서 유의성 있게 감소되었다. 실험 5일과 10일에서 처치군의 체중은 대조군과 유의성 있는 변화가 없었으나, 실험 15일에서는 처치군이 대조군에 비해서 유의성 있게 증가되었다(Table I).

Table I. Effects of *Catalpa Ovata* on the Body Weight of Collagen-Induced Arthritic Rats

| Group   | No. of Animals | Body Weight (g)            |                            |                            |                               |
|---------|----------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|
|         |                | 0                          | 5                          | 10                         | 15 (days)                     |
| Normal  | 6              | 258.33±2.47 <sup>al</sup>  | 273.33±2.47                | 279.33±3.66                | 286.83±3.51                   |
| Control | 6              | 187.50±6.42 <sup>***</sup> | 179.17±6.25 <sup>***</sup> | 182.00±5.81 <sup>***</sup> | 185.67±3.78 <sup>***</sup>    |
| Treated | 6              | 193.33±3.33 <sup>***</sup> | 189.17±3.75 <sup>***</sup> | 189.17±3.63 <sup>***</sup> | 201.33±2.75 <sup>***,##</sup> |

a) : mean ± S.E.M.

Normal : Sham injection and distilled water treated

Control : Collagen injection and distilled water treated

Treated : Collagen injection and *Catalpa Ovata* treated

\* : Statistically significant compared with normal group(\*\*\*;P<0.001)

# : Statistically significant compared with control group(##;P<0.01)

3) 족부종(paw edema volume)의 변화

실험기간 동안 각 군의 족부종의 변화는 대조군 및 처치군의 족부종이 실험개시일부터 증가되기 시작하여 실험 10일에 최대에 달하였으며 실험 15일에는 다소 감소되었다. 전 실험기간 동안 대조군 및 처치군의 족부종은 정상군에 비해서 유의성 있게 증가되었다. 실험 10일과 15일의 처치군의 족부종은 대조군에 비해서 감소되었으나 유의성은 관찰되지 않았다 (Table II).

4) 족근관절(tarsal joint) 폭의 변화

실험기간 동안 각 군의 족근관절 폭의 변화는 대조군 및 처치군의 족근관절 폭이 실험개시일부터 증가되기 시작하여 실험 5일에 최대에 달한 후 점차 감소되었다. 전 실험기간 동안 대조군 및 처치군의 족근관절 폭은 정상군에 비해서 유의성 있게 증가되었다. 실험 5일, 10일 및 15일에서 처치군의 족근관절 폭은 모두 대조군에 비해서 감소되었으나 유의성은 관찰되지 않았다(Table III).

Table II. Effects of *Catalpa Ovata* on the Paw Edema Volume of Collagen-Induced Arthritic Rats at 15days after Treatment

| Group   | No. of Animals | Paw Edema Volume (ml)      |                            |                            |                            |
|---------|----------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|         |                | 0                          | 5                          | 10                         | 15 (days)                  |
| Normal  | 6              | 1.598±0.014 <sup>a)</sup>  | 1.620±0.016                | 1.813±0.024                | 1.798±0.020                |
| Control | 6              | 2.123±0.083 <sup>***</sup> | 2.231±0.076 <sup>***</sup> | 3.207±0.120 <sup>***</sup> | 2.283±0.082 <sup>***</sup> |
| Treated | 6              | 2.165±0.124 <sup>**</sup>  | 2.388±0.132 <sup>***</sup> | 2.942±0.084 <sup>***</sup> | 2.195±0.051 <sup>***</sup> |

a) : mean ± S.E.M.

Normal : Sham injection and distilled water treated

Control : Collagen injection and distilled water treated

Treated : Collagen injection and *Catalpa Ovata* treated

\* : Statistically significant compared with normal group(\*:P<0.05, \*\*:P<0.01, \*\*\*:P<0.001)

Table III. Effects of *Catalpa Ovata* on the Thickness of Tarsal Joint of Collagen-Induced Arthritic Rats at 15days after Treatment

| Group   | No. of Animals | Thickness of Tarsal Joint (mm) |                            |                            |                            |
|---------|----------------|--------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|         |                | 0                              | 5                          | 10                         | 15(days)                   |
| Normal  | 6              | 7.165±0.030 <sup>a)</sup>      | 7.158±0.036                | 7.177±0.034                | 7.077±0.043                |
| Control | 6              | 8.918±0.285 <sup>***</sup>     | 9.727±0.294 <sup>***</sup> | 9.587±0.192 <sup>***</sup> | 9.070±0.170 <sup>***</sup> |
| Treated | 6              | 8.860±0.368 <sup>**</sup>      | 9.440±0.388 <sup>***</sup> | 8.928±0.266 <sup>***</sup> | 8.800±0.203 <sup>***</sup> |

a) : mean ± S.E.M.

Normal : Sham injection and distilled water treated

Control : Collagen injection and distilled water treated

Treated : Collagen injection and *Catalpa Ovata* treated

\* : Statistically significant compared with normal group(\*\*:P<0.01, \*\*\*:P<0.001)

2. 혈청학적 변화

(Table IV).

1) 혈중 tumor necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) 함량의 변화

7단계의 TNF- $\alpha$ 표준액 (2500, 1000, 400, 160, 64, 25.6, 10.3 pg/ml)에서 측정된 흡광도로부터 구해진 회귀방정식은 아래의 공식과 같다.

$$\text{TNF-}\alpha\text{함량} = 1437.13 \times \text{흡광도(O.D.)} - 126.57$$

위 공식으로부터 얻어진 각 군별 혈청의 tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )의 함량에서는 대조군이 정상군에 비해서 유의성 있게 증가되었다. 또한 처치군은 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다

2) 혈중 interleukin -1 $\beta$  함량 측정

6단계의 interleukin -1 $\beta$ 표준액(2500, 833, 278, 93, 31,10.3 pg/ml)에서 측정된 흡광도로부터 구해진 회귀방정식은 아래의 공식과 같다.

$$\text{interleukin-1}\beta\text{ 함량} = 367.65 \times \text{흡광도(O.D.)} - 42.66$$

위 공식으로부터 얻어진 각 군별 혈청의 interleukin -1 $\beta$  함량에서는 대조군이 정상군에 비해서 유의성 있게 증가되었으나, 처치군은 대조군 및 정상군에 비해서도 유의성 있게 감소되었다(Table V).

Table IV. Effects of *Catalpa Ovata* on the Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Level of Collagen-Induced Arthritic Rats at 15days after Treatment

| Group   | No. of Animals | Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ Level (pg/ml) |
|---------|----------------|---|
| Normal  | 6              | 26.30 $\pm$ 1.92 <sup>a)</sup>                |
| Control | 6              | 38.82 $\pm$ 2.54 <sup>**</sup>                |
| Treated | 6              | 30.10 $\pm$ 2.93 <sup>#</sup>                 |

a) : mean  $\pm$  S.E.M.

Normal : Sham injection and distilled water treated

Control : Collagen injection and distilled water treated

Treated : Collagen injection and *Catalpa Ovata* treated

\* : Statistically significant compared with normal group(\*\*;P<0.01)

# : Statistically significant compared with control group(#;P<0.05)

Table V. Effects *Catalpa Ovata* on the Interleukin-1 $\beta$  Level of Collagen-Induced Arthritic Rats at 15days after Treatment

| Group   | No. of Animals | Interleukin 1- $\beta$ Level (pg/ml) |
|---------|----------------|--------------------------------------|
| Normal  | 6              | 19.20 $\pm$ 1.84 <sup>a)</sup>       |
| Control | 6              | 41.87 $\pm$ 4.78 <sup>**</sup>       |
| Treated | 6              | 11.12 $\pm$ 2.40 <sup>*###</sup>     |

a) : mean  $\pm$  S.E.M.

Normal : Sham injection and distilled water treated

Control : Collagen injection and distilled water treated

Treated : Collagen injection and *Catalpa Ovata* treated

\* : Statistically significant compared with normal group(\*;P<0.05, \*\*;P<0.01)

# : Statistically significant compared with control group(###;P<0.001)

### 3. 병리조직학적 소견

실험 15일에 얻은 족근관절의 병리조직학적 검사에서 정상군에서는 정강뼈(tibia) 및 발꿈치뼈(central tarsal bone)의 관절연골 및 연골하 골조직, 관절낭, 관절강 등이 모두 정상적인 구조를 취하고 있었다(Fig. 4).

대조군의 모든 예에서 강직성 골관절염(ankylosing osteoarthritis)의 소견이 관찰되었다. 활막은 현저한 염증세포의 침윤과 신생 육아조직의 형성으로 인하여 그 경계를 확인하기 어려운 정도로 현저히 비후되어 있었다. 활막의 증식성 비후는 관절강내로 침습하여 관절강을 가득 채울 정도로 전형적인 섬유성 판누스(fibrous pannus)를 형성하고 있었고, 대부분의 예에서 두 뼈 사이가 pannus에 의해서 연결되어 섬유성 강직증(fibrous ankylosis)을 초래하였다(Fig. 5). 또한 관절연골(articular cartilage)의 대부분이 파괴되어 그 흔적만이 남아 있었으며 연골하 골조직(subchondral bony tissue)도 심하게 파괴되어 섬유성 육아조직으로 대체되어 있었고 파괴된 관절연골 및 골조직의 주변에는 파골세포와 유사한

형태를 지닌 다핵세포들이 밀집되어 있었다(Fig. 6). 관절연골에 연한 골외막 부위에서는 새로운 골 재성형(bone remodeling)으로 형성되는 골증식체(osteophyte)가 여러 부위에서 불규칙하게 형성되어 있었다(Fig. 7).

처치군에서도 기본적인 병리조직학적 소견은 대조군에서와 같았으나, pannus에 의한 두 뼈 사이의 연결 정도(Fig. 7), 관절연골의 파괴정도, 골조직의 파괴 정도(Fig. 8)는 대조군에 비해서 다소 완화되어 있었다.

대조군과 처치군의 각 개체별 병리조직학적 변화를 다음과 같이 요약하였다(Table VI).

섬유성 판누스 형성의 정도는 활막에서 관절강내로 증식되는 정도에 따라서, 활막 주위에서만 증식되어 돌출 되었을 때를 +, 관절강의 절반 정도까지 증식되었을 때를 ++, 관절강의 대부분이 pannus에 의해서 대체되었을 때를 +++ 로 표기하였다.

섬유성 강직증(fibrous ankylosis)의 정도는, 두 뼈 사이에 한 곳에서 선상으로 pannus에 의해서 연결되었을 때를 +, 두 곳 이상에서 선상으로 연결되었을 때를 ++, 두 뼈 사이가 대부분 pannus에 의

Table VI. Histopathological Changes of Tibiotarsal Joints of Rats in *Catalpa Ovata* Treated and Control Group at 15days after Treatment

| Group   | Identification Number | Formation of Fibrous Pannus | Fibrous Ankylosis | Destruction of Articular Cartilage | Destruction of Subchondral Bony Tissue |
|---------|-----------------------|-----------------------------|-------------------|------------------------------------|--|
| Control | C1                    | +++                         | +++               | +++                                | +++                                    |
|         | C2                    | ++                          | +++               | ++                                 | +++                                    |
|         | C3                    | ++                          | ++                | ++                                 | ++                                     |
|         | C4                    | ++                          | ++                | ++                                 | ++                                     |
|         | C5                    | ++                          | ++                | ++                                 | ++                                     |
|         | C6                    | +++                         | +++               | +++                                | ++                                     |
| Treated | T1                    | ++                          | +                 | ++                                 | +                                      |
|         | T2                    | +++                         | +                 | ++                                 | ++                                     |
|         | T3                    | ++                          | -                 | -                                  | -                                      |
|         | T4                    | ++                          | +                 | +                                  | +                                      |
|         | T5                    | ++                          | -                 | ++                                 | +                                      |
|         | T6                    | +++                         | +                 | ++                                 | ++                                     |

+ : mild, ++ : moderate, +++ : severe

Control : Collagen injection and distilled water treated

Treated : Collagen injection and *Catalpa Ovata* treated



해서 연결되었을 때를 +++ 로 표기하였다.

관절연골의 손상(destruction of articular cartilage)의 정도는 국소적으로 관절연골의 파괴가 진행되었을 때를 +, 국소적이거나 다발적으로 연골의 파괴가 진행되었을 때를 ++, 대부분의 관절연골의 파괴가 진행되었을 때를 +++ 로 표기하였다.

연골하 골조직 손상(destruction of subchondral bony tissue)의 정도는 국소적으로 골조직의 파괴가 진행되었을 때를 +, 국소적이거나 다발적으로 골조직의 파괴가 진행되었을 때를 ++, 대부분의 연골하 골조직의 파괴가 진행되었을 때를 +++ 로 표기하였다.

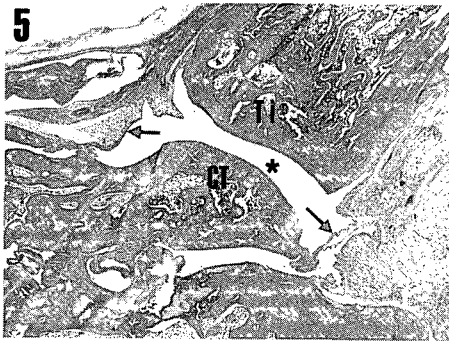


Fig. 4. Sagittal section of tarsal joint of normal group. Note intact distal tibia(Ti), central tarsal bone(CT), joint cavity(\*) and synovial membrane(arrows). H&E stain, Original magnification x 50.

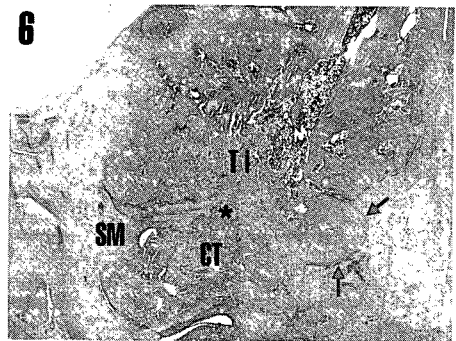


Fig. 5. Sagittal section of tarsal joint of control group. Inflamed synovial membrane(SM) fills most of joint space(\*). Articular surface of distal tibia(Ti) and central tarsal bone (CT) were fused by pannus. Note outgrowing osteophyte(arrows). H&E stain, Original magnification x 50.

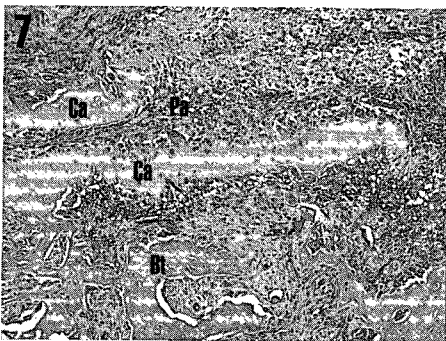


Fig. 6. Higher magnification of Fig. 5. Note fibrous pannus(Pa) formation between articular cartilages(Ca), and destruction of cartilage and subchondral bony tissue(Bt). Osteoclast-like multinucleated giant cells(arrows) appear at the margin of necrotic cartilage and bone. H&E stain, Original magnification x 200.



Fig. 7. Sagittal section of tarsal joint of *Catalpa Ovata* treated group. Note severely inflamed synovial membrane(\*) and ingrowing pannus(arrow), but fibrous ankylosis was alleviated compared with Fig. 5. H&E stain, Original magnification x 50.

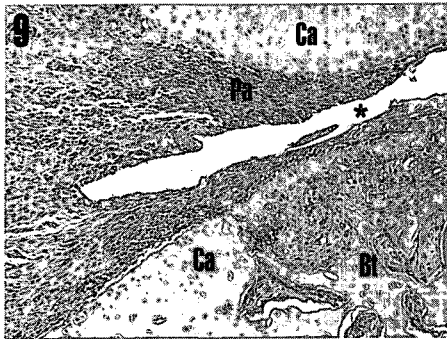


Fig. 8. Higher magnification of Fig. 7. Note ingrowing pannus(Pa) to joint cavity(+). But destruction of articular cartilage(Ca) and subchondral bony tissue(Bt) were allivated compared with Fig. 6. H&E stain, Original magnification x 200.

#### IV. 고찰

개오동나무(*Catalpa ovata* G.Don)는 능소화과에 속하는 낙엽교목으로 한국의 강원, 경기, 평안남·북도 와 중국의 전역에서 자생하며 일본 등에서 재배되고 있다. 개오동나무의 樹皮와 根皮를 梓白皮라고 하며, 木王, 花楸, 河楸, 水桐, 雷電木, 木角豆, 臭梧桐 등으로도 불리워왔다<sup>27-28)</sup>.

개오동 나무의 열매를 子實이라하여 이뇨제로서 신장염 등에 사용되어 왔으며 그 성분으로 Catalposide가 K<sup>+</sup> 배설 작용에 의한 이뇨작용이 있음이 알려져 왔다<sup>29)</sup>. 개오동 나무의 樹皮인 梓白皮에 대해서는 解熱, 解毒, 殺蟲의 效能이 있어, 流行病, 發熱, 黃疸, 反胃, 皮膚瘙癢, 瘡疥 등을 治療한다<sup>27-28)</sup>고 하였다.

關節疾患은 한의학적으로 痺症의 範疇에 속하며 歷節風, 白虎歷節風, 痛風 등으로 표현된다<sup>1-2)</sup>.

痺症의 發病 原因에 대하여 최근문헌<sup>30-34)</sup>에서는 氣候條件, 生活環境 그리고 體質과 抗病能力 등을 들어 體質的 素因인 內的 要因도 痺症의 發病 機轉과 有關함을 강조하였으며, 治法으로는 초기에는 대부분 祛風, 散寒, 逐濕, 溫通經脈하는 방법을 사용하

였고, 慢性으로 移行된 경우에는 益氣養血, 舒筋通絡, 祛濕止痛을 爲主로 하였다<sup>30)</sup>.

관절염의 病理 發生機轉과 治療劑의 개발과 관련된 실험적 연구는 adjuvant유발 관절염 모델<sup>35)</sup>, type II collagen 유발 관절염 모델<sup>36)</sup>, antigen 유발 관절염 모델<sup>37)</sup> 등을 통해서 주로 이루어져 왔다. 이 중 adjuvant 유발 관절염 모델 및 antigen 유발 관절염 모델은 쉽게 다발성 관절염이 유발되며 많은 실험적 자료가 확보되어 있다는 장점 때문에 널리 이용되고 있으나 사람의 류마티스 관절염에서의 發生機轉 및 形態學的 所見과는 차이가 많아 항관절염 제재의 效能 評價에 주로 이용되어 왔다<sup>38)</sup>.

한의학에서 collagen 유발 관절염에 대한 논문으로는 李<sup>19)</sup>의 大羌活湯, 申<sup>20)</sup>의 桂枝芍藥知母湯, 安<sup>21)</sup>의 靈仙除痛飲, 金<sup>22)</sup>의 加味薏苡仁湯, 金<sup>23)</sup>의 斑猫, 金<sup>24)</sup>의 秦艽, 金<sup>13)</sup>의 牡丹皮, 徐<sup>25)</sup>의 冬蟲夏草 등에 대한 실험적 연구가 있었다.

金<sup>26)</sup>은 개오동 나무의 樹皮 methanol 추출물이 Sarcoma 180 암세포에 대해 강력한 세포독성작용을 나타낸다고 하였으며, 민간에서는 개오동 나무의 수피를 관절염의 치료에 활용하고 있으나 이에 대한 검증은 아직 이루어지지 않고 있는 상태이다.

1963년 Steffen과 Timple<sup>39)</sup>이 collagen에 대한 면역학적 특이 반응이 류마티스 관절염의 유발과 악화에 중요한 역할을 할 것이라는 가설을 제시한 이후, 실제로 류마티스 관절염 환자의 혈청과 활액에서 collagen에 대한 항체가 확인되고 疾病의 진행과도 관계가 있음이 보고되었다. 1977년 Trentham<sup>40)</sup> 등에 의해서 흰쥐에서 type II collagen 접종으로 인한 관절염 모델이 확립된 이후, 이 모델이 임상적, 조직학적 및 면역학적으로 사람의 류마티스 관절염과 매우 유사함이 확인되어 류마티스 관절염의 모델로서 널리 이용되고 있다<sup>41)</sup>.

본 연구에서는 Trentham<sup>40)</sup> 등의 방법을 변형하여 bovine type II collagen을 Lewis계 흰쥐에게 접

중한 결과 3주 후에 70%에 달하는 개체에서 관절염이 발생되었다. Type II collagen접종으로 인한 관절염의 발생율은 흰쥐의 품종에 따른 유전적 감수성의 차이, 그리고 접종량 및 접종 방법 등에 따라서 다양하게 보고되고 있으나<sup>42)</sup>, Lewis계 흰쥐를 이용한 대부분의 실험에서 그 발생율을 100%가까이 발생됨<sup>43)</sup>을 비교하면 본 연구에서의 발생율이 다소 낮게 나타난 것은 접종량의 차이 때문이라 생각된다.

류마티스 관절염에서 활막염의 특징은 관절내 활막에서 T세포의 침윤이 보이는 것이며<sup>18)</sup>, T-임파구에서 분비되는 cytokine에는 IL-1,2,6,8과 TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor alpha), GM-CSF(granulocyte-macrophage colony stimulating factor), TGF- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ ) 등이 포함되며, 이들이 세포의 활성화와 다양한 단백 분해효소인 PGE2, oxygen radical 등을 증가시켜서 관절 조직의 손상을 초래한다<sup>12)</sup>.

IL-1은 주로 대식세포에서 생성되는 cytokine의 하나로 면역세포를 활성화시켜서 류마티스 관절염을 일으키는 매개물질이다<sup>44)</sup>.

류마티스에서 IL-1 $\beta$ 는 T임파구의 기능을 활성화시키고 호중구 임파구 및 단핵세포의 침윤을 유발하며, ICAM-1(Integrin-cellular adhesion molecular)의 발현을 촉진하여 내피세포에 대한 백혈구의 유착성을 증가시키고 섬유모세포 활액막세포 및 연골세포에서 PGE2와 collagenase의 생산을 촉진하여 관절연골의 파괴와 골의 재흡수를 초래한다<sup>45)</sup>고 하였다. 본 실험의 혈청학적 검사에서 IL-1 $\beta$ 가 처치군이 대조군에 비해 유의성있게 감소되는 것을 볼 수 있었다(Table V).

TNF- $\alpha$ 는 종양세포를 파괴시키는 인자로 기술되었으나 종양세포의 괴사작용 외에도 백혈구, 섬유아세포 등 몸 안의 각종 세포에 대한 다양한 작용력을 나타내는 것으로 알려져 있다. 이는 활성화된 단핵구나 대식세포에서 분비되는 염증반응 매개물질의

하나로 박테리아의 여러 성분, 특히 LPS(lipopolysaccharide)에 의해 분비가 증가되고 활성화된다<sup>5)</sup>.

TNF- $\alpha$ 는 IL-1과 더불어 활막의 섬유아세포와 연골세포 등에서 교원섬유 분해효소와 단백분해효소의 분비를 촉진시키며 관절연골표면의 proteoglycan의 형성을 억제하고 교원섬유의 분해를 야기하여 결국 관절연골의 파괴를 유도하는데 주된 역할을 한다<sup>46-47)</sup>고 하였다. 본 연구의 혈청학적 검사에서는 처치군이 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었다(Table IV).

병리조직학적 소견으로는 대조군 및 처치군은 모두 pannus의 형성과 더불어 강직성 골관절염의 소견을 나타내었으나, 처치군이 대조군에 비해서 관절연골 손상, 연골하 골조직의 손상 및 섬유성 강직증의 소견이 완화되었다(Table VI). 이는 박<sup>30)</sup>의 논문에서 collagen 유발 관절염 흰쥐의 조직학적 소견에서 활액막의 증식 및 관절내로의 침습, 연골의 파괴, pannus 형성, 뼈의 파괴, 관절강의 섬유화가 보인다는 것과 일치한다.

본 연구에서 관절염의 지표로 삼은 족부종 및 족근관절 폭의 변화는 정상군과 대조군간에 현저한 차이를 나타내어 collagen 접종으로 인한 심한 염증반응이 유발되었음을 확인할 수 있었으며, 이러한 差異는 실험 5일에서 10일(collagen 접종 후 25일에서 30일)사이에 최대에 이른 후 점차 감소되었다. 이러한 소견은 collagen 접종으로 인한 관절염은 매우 빠르게 진행된다. 이러한 경과는 사람과 실험동물에 있어 유발된 류마티스 관절염과의 차이라는 Alison B의 견해와 일치된다<sup>37)</sup>. 또한 실험 15일에 측정된 혈중 TNF- $\alpha$  및 IL-1 $\beta$ 의 함량이 대조군에 비해서 처치군에서 현저히 감소되어 있었음에도 관절염의 육안지표인 족부종 및 족근관절 폭은 실험 15일 및 실험 10일에만 부분적으로 유의성 있게 감소되었다. 이러한 소견은 collagen 접종 관절염의 발생이 매우 신속하게 진행된다는 사실로 미루어 볼

때 이미 관절염이 상당히 진행된 상태에서 개오동이 투여되었기에 그 효과가 관절염의 진행 억제 정도로 나타났으리라 생각된다.

본 연구에서 관찰된 개오동의 혈중 TNF- $\alpha$  및 IL-1 $\beta$  감소 효과로 볼 때 collagen 유발 관절염의 발생 초기에서부터 개오동을 투여할 경우 관절염의 발생 및 진행에 상당한 예방 및 치료효과가 있으리라 기대되어 이에 대한 연구가 필요하리라 사료된다.

### V. 결 론

개오동이 류마티스 관절염에 미치는 영향을 관찰하기 위해서 Lewis계 흰쥐 18마리를 Collagen을 접종하지 않은 정상군, Collagen을 접종하여 관절염을 유발시킨 대조군, Collagen을 접종하여 관절염을 유발시킨 후 개오동 감압농축액을 15일간 경구투여한 처치군으로 분류하여 형태계측학적, 혈액학적 및 병리조직학적 방법으로 그 효과를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 체중은 처치군이 대조군에 비해서 실험 15일에 유의성 있게 증가되었다.
2. 족부종은 처치군이 대조군에 비해서 실험 10일과 15일에 감소되었으나 유의성은 관찰되지 않았다.
3. 족관절 폭은 처치군이 대조군에 비해서 실험 5일, 10일과 15일에 감소되었으나 유의성은 관찰되지 않았다.
4. TNF- $\alpha$  함량은 처치군이 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다.
5. Interleukin -1 $\beta$  함량은 처치군이 대조군에 비

해서 유의성 있게 감소되었으며, 정상군에 비해서도 유의성 있게 감소되었다.

6. 병리조직학적 소견에서 대조군 및 처치군은 모두 강직성 골관절염의 소견을 나타내었으나 처치군이 대조군에 비해서 관절연골 손상, 연골하 골조직 손상 및 섬유성 강직증의 소견이 완화되어 있었다.

이상의 성적을 종합한 결과 개오동은 collagen 유발 관절염의 진행을 억제시키는 효과가 있다고 사료되며, 이는 개오동이 혈중 TNF- $\alpha$  및 interleukin -1 $\beta$ 의 함량을 억제시키는 작용과 관련되리라 예상된다.

### 참고문헌

1. 전국한의과대학한방재활의학교실편. 동의재활의학과학. 서울. 서원당. 1995:95-6, 111-4.
2. 張介賓. 景岳全書(上). 대성문화사. 1988:232.
3. Gay S, Gay RE, Koopman WJ. Molecular and cellular mechanisms of joint destruction in rheumatoid arthritis, Two cellular mechanisms explain joint destruction Ann Rheum Dis. 1994;39-45.
4. Dick WC, Goodacre J. Introduction to Clinical Rheumatology. London. Churchill Livingstone. 1984:46-7.
5. 김호연. 류마티스 관절염의 면역병인의 최근 경향. 대한내과학회지. 1989;36(6):743.
6. 박원. 류마티스 관절염과 골관절염. 의학정보. 1993;3(1):29.
7. 배원식. 최신한방임상학. 서울. 고문사. 1982:399-401.
8. 의학교육연수원. 가정의학. 서울. 서울대학교출

- 관부. 1987:593-4.
9. 이문호. 내과학. 서울. 학림사. 1986:1695-1700.
  10. 허인회. 최신진단과 치료. 서울. 약업신문출판국. 1982:634-5.
  11. 신현대. 동의물리요법과학. 서울. 고문사. 1986: 268-70.
  12. 대한정형외과학회. 정형외과학. 서울. 최신의학사. 1999:175-6.
  13. 김동혁. 牡丹皮가 Collagen 유발 관절염에 미치는 영향. 원광대학교 석사학위논문. 1996:3
  14. Durie FH, Fava RA, Noelle RJ. Collagen-induced arthritis as a model of rheumatoid arthritis. *Clinical Immunol Immunopathol.* 1994; 73(1):11-8.
  15. Cooper WO, Fava RA, Gates CA, Cremer MA, Towns AS. Acceleration of onset of collagen-induced arthritis by infra-articular injection of tumor necrosis factor or transforming growth factor-beta. *Clin Exp Immunol.* 1992;89(2):244-50.
  16. Hom JT, Bendele AM, Carlson DG. In vivo administration with IL-1 accelerates the development of collagen-induced arthritis in mice. *J Immunol.* 1998;141(3):834-41.
  17. Takai Y, Seki N, Senoh H, Yokota T, Lee F, Hmaoka T, Fujiwara H. Enhanced production of interleukin-6 in mice with type II collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum.* 1989;32(5): 594-600.
  18. Postigo AA, Garcia-Vicuna R, Diaz-Gonzalez R, Arroyo AG. increased binding of synovial T lymphocytes from rheumatoid arthritis to endothelial leukocyte adhesion molecule-1 (E1AM-1) and vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1). *J Clin Invest.* 1992;89:1445-52.
  19. 이호근. 大羌活湯이 제II형 Collagen 유발 관절염의 항체에 미치는 영향. *한방물리요법과학회지.* 1994;4(1):97.
  20. 신병희. 桂枝芍藥知母湯이 제II형 Collagen 유발 관절염의 항체에 미치는 영향. *한방물리요법과학회지.* 1994;4(1):121-31.
  21. 안택균. 靈仙除痛飲이 진통 소염작용에 미치는 영향. 서울. 경희 한의대 논문집. 1981;4:71-8.
  22. 김성수. 加味薏苡仁湯의 소염효과 및 성분에 관한 연구. 서울. 경희대학교논문집. 1985;14:243-59.
  23. 김양식. 鍼灸 및 斑描灸가 흰쥐의 Adjuvant관절염에 미치는 영향. 경희대학교대학원. 1988.
  24. 김성재. 秦艽가 Collagen 유발 관절염의 면역반응에 미치는 영향. *대한한의학회지.* 1998;19(1): 368-84.
  25. 서영배. 冬蟲夏草가 Synovial 세포증식과 Collagen에 의해 유발된 생쥐의 관절염 억제에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 박사논문. 2000.
  26. 김민선. 개오동 나무 수피로부터 Sarcoma 180 암세포 독성물질의 분리. *대한암학회지.* 1992;24 (6):807-12.
  27. 김창민. 完譯 中藥大辭典. 서울. 정담. 1988; 4589-92.
  28. 정보섭. 圖解 鄉藥生藥大辭典. 서울. 영림사. 1990:871-2.
  29. Okuda T, Yoshida Y, Ono I. Two new flavone glycosides from *Catalpa ovata*. *phytochemistry.* 1975;14:1654.
  30. 當代名醫臨證精華. 痺證專輯. 北京. 北京新華印刷所. 1990:12-4, 140.
  31. 馬元臺, 張隱庵合註. 黃帝內經素問靈樞. 大北. 臺灣國風出版社. 1972:21,27,87,112,119,183.
  32. 上海中醫學院編. 中醫內科學. 香港. 商務印書官. 1977:200-3.
  33. 中醫學院試用教材編輯部. 中醫內科學講義. 香港.

- 醫藥衛生出版社. 1976:185-9.
34. 河北中醫學院. 中醫學概論. 上海. 科學技術出版社. 1978:162-3.
35. Benslay DN, Bendele AM. Development of a rapid screen for detecting and differentiating immunomodulatory vs. anti-inflammatory compounds in rats. *Agents Action*. 1991;34:254-6
36. Terato K, Hashida R, Miyamoto K, Morimoto T, Kata Y, Kobayashi S, Tajima T, Otake S, Horni H, Nagai Y. Histological, immunological and biochemical studies on type II collagen arthritis in rats. *Biomed, Res*. 1982;3:495-523.
37. Alison B, Jennifer M, Ty G, Tracy M, Gina S, Elizabeth C, Michael G. Animal models of Arthritis. Relevance to human disease. *Toxicologic pathology*. 1999;27(1):134-42.
38. Brackertz D, Mitchell GF, Mackay IR. Antigen-induced arthritis in mice. I. induction of arthritis in various strains of mice. *Arthritis Rheum*. 1997;20:841-50.
39. 박동준. 흰쥐에서 Type II Collagen으로 유발된 관절염의 임상양상 및 면역반응. 카톨릭대학교 대학원 내과학. 1990:4.
40. Trentham D. E. Autoimmunity to Type II collagen. an experimental model of arthritis. *J. Exp. Med*. 1977;146:857-968.
41. 박동준. 흰쥐의 제2형 collagen 유발 관절염의 IgG 항collagen 항체의 변화. 서울 대한 내과학회지. 1991;41(13):423-8.
42. Chondrex, LLC. Protocol for the successful induction of collagen-induced arthritis in rats: 1-5.
43. Robert J, Smith, Laurel M. SLY. Type II collagen-induced arthritis in the diabetic-resistant biobreeding rat. Inflammatory and histopathological features of joint pathology and effects of antiinflammatory and antirheumatic drugs on this chronic arthritic process. 1996:1801.
44. Hom JT, Bendele AM, Carlson DG. In vivo administration with IL-1 accelerates the development of collagen-induced arthritis in mice, *J Immunol*. 1988;141(3):834-41.
45. Seitz M, Loetscher P, Dewald B, Towbin H, Ceska M, Bagiolini M. Production of interleukin-1 receptor antagonist, inflammatory chemotactic protein, and prostaglandin E by rheumatoid and osteoarthritis synoviocytes-Regulation by IFN- $\gamma$  and IL-4. *J Immunol*. 1993;17(20):2060-5.
46. Arend WP, Dayer JM. Cytokines and cytokine inhibitors of antagonists in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1990;33:305.
47. Henderson B, Pettipher ER. Arthritogenic actions of recombinant IL-1 and tumor necrosis factor alpha in the rabbit evidence for synergistic interaction between cytokines in vivo. *Clin Exp Immunol*. 1989;75:306.