

백서에서 유발된 염증에 대한 Triamcinolone Acetonide
이온도입 경피투과 효과

대성의원 물리치료실

정대인

동신대학교 물리치료학과

김태열 · 김계엽

광주보건대학 물리치료학과

김명훈

**The Effects of Triamcinolone Acetonide by Iontophoretic Transdermal Delivery
on Inflammation Induced Rat**

Jung, Dae-In P.T., M.P.T.

Dept. of Physical Therapy, Daesung Clinic

Kim, Tae-Youl, P.T., Ph.D., Kim, Kye-Yoep, Ph.D.

Dept. of Physical Therapy, Dongshin University

Kim, Myong-Hoon, P.T., Ph.D.

Dept. of Physical Therapy, Kwangju Health College

<Abstract>

This study investigated the effects of triamcinolone acetonide by iontophoretic transdermal drug delivery on anti-inflammatory action into the rats and which had carrageenan-induced hyperalgesia and edema in the feet, trauma-induced tissue damage in the thigh.

Each group was treated under the following conditions.

1. Group I : Control group
2. Group II : Application of direct current
3. Group III : Application of 0.1% triamcinolone acetonide solution
4. Group IV : Iontophoresis of 0.1% triamcinolone acetonide solution

The degree of anti-inflammation was evaluated by the paw withdrawal latency, the change in volume of foot the change of paw edema, histological change in rats.

1. In paw withdrawal latency, group IV showed the most significant therapeutic effect than the other groups at 0, 3, 6 and 9 hours($p < 0.001$).
2. In paw edema experiment in the foot, group IV showed the most significant effect than

group I at 0, 3, 6 and 9 hours. It meant that there was effective anti-inflammatory reaction in group I ($p < 0.001$).

3. In the light microscopic observation, group IV showed the most significant reduction of haemorrhage, hyperemia and infiltrative inflammation.

From the results, the iontophoresis with triamcinolone acetonide is more effective than using each groups. It is one of the effective physical agent which delivered large molecular weight drug into the body. The continuous study is needed for many interesting issues of iontophoretic transdermal drug delivery in new future.

Key Words : Iontophoretic transdermal delivery, Triamcinolone acetonide, Inflammation.

I. 서론

피부는 보호장벽으로 작용하는 인체에서 가장 큰 기관 중에 하나이며 인체 내로 약물을 투여 하는데 있어 가장 원활한 비-침습적 수송(non-invasive delivery)이 가능한 부위이다 (Foldvari 2000). 인체의 피부는 넓은 표면적 및 전체 순환혈류의 1/3을 공급받고 있으므로 약물흡수 및 투여부위로서 이용되고 있으며, 이에 대한 체계적인 연구가 이루어지고 있다 (Chien 1987).

피부를 통해 약물을 투여 하는 경피약물수송 (transdermal drug delivery; TDD)은 인체 내에서 약물이 전신순환된 후 표적부위에 도달하게 하는 방법이다 (안현아 1991). 그 중 경피약물수송은 경구투여나 주사에 비해 여러 가지 장점을 가지고 있다. 주사로 인한 거부감과 부작용을 피할 수 있어 안전하며, 경구투여 시 위장관 내부의 환경변화를 방지할 수 있다 (Bronaugh and Maibach 1989). 사용이 간편하고 장기투여가 가능하다는 잇점이 있다 (Petelenz et. al. 1992). 대부분의 약물들은 낮은 경피투과도를 가지고 있어서 일반화하는데 어려움을 가진다. 이는 피부의 장벽기능을 하는 가장 외부에 있는 각질층에 의한 것으로, 이러한 각질층의 화학적 투과도를 증가시키거나 물리적 힘에 의해 각질층의 장벽기능을 극복하고 경피약물수송을 촉진시키는 여러 가지 방법들이 발달되어 오고 있다 (Barry 2001). 대표적으로 사용되는 물리적인 요인은 전류, 초음파, 자장을 이용하고 있으며, 화학적 방법으로는 다양한 종류의 기제, 계면활성제, 용매류 및 지방산류 등이 복합체로 사용된다 (Kim 1993). 화학적 방법은 경피흡수를 증가시키기 위하여 경피흡수촉진제가 사용되는데, 이것은 각질층의 물리·화학적 특성을 변화시키거나 손상을 입혀서 피부방어기능을 떨어뜨린다는 단점을 가지고 있다 (Chien 1987). 그러므로 물리적 동인을 이용한 다양한 촉진경피흡수 방법이 피부의 손상을 최소화시키면서 조직을 통하여 약물을 흡수시키는 장점이 있어 활발한 연구가 진행 중이다 (Varghese 1996). 물리적 요인을 이용한 방법은 직류(direct current)를 이용하는 이온도입법(iontophoresis)과, 고전압 맥동전류(high voltage pulsed current)를 이용한 전기영동(electroporation), 초음파를 이용한 음파영동법(phonophoresis) 등이 있다.

이온도입법은 물리적 동인을 이용한 대표적인 경피약물수송 방법으로 1700년대부터 전기력을 이용한 약물의 경피투여 가능성에 대한 보고 후 이온도입법에 대한 많은 문헌들이 소개되었으며,

직류의 경피약물투과 실험이 발표되면서 이온도입이 경피약물투여를 위한 전기치료 방법으로 사용되었다 (Harris 1967, Licht 1983). 이온도입에 영향을 미치는 중요한 요소들은 약물용액의 농도, 전류강도, 약물이온의 전도도 및 약물의 전기화학적 특성 그리고 생체조직의 자극을 위한 전극과 통전시간 등이다 (Russo and Lipman 1980, Costello and Jeske 1995). 이온도입 약물의 투과기전(permeation mechanism)은 전류와 약물 사이의 전기적 반발력은 피부를 투과하는 정전기에 의한 직접적인 반발력(direct electrostatic repulsion)과 반대이온(counter ion)의 이동 방향으로 용매가 이동하는 간접 투과로 설명된다 (Gangarosa and Park 1979). 이온도입의 임상적용에 대한 연구로 pilocarpine을 이용한 췌장 낭성섬유증의 진단 (Gibson and Cooke 1959), 리도카인을 이용한 이온도입은 피부절개 시 국소 마취를 위해 사용되며(Jacobsen and Stephen 1978), 주사 전 국소마취 (Gangarosa 1974), 인슐린의 경피투여 (Chien et. al. 1987), 항생제 경피투여 (Rigano et. al. 1992)에 사용되고 있다. 근골격계 병변의 소염진통제에 대한 다양한 연구들로는 여러 활성이온(active ion)을 사용한 이온도입치료는 부종, 허혈성 피부궤양, 진균감염, 관절성 통풍, 근피성 염증 및 다른 상태의 치료에 이온도입치료가 사용되어 왔다 (Gersh 1992).

염증은 국소적인 자극에 대한 혈관이 있는 조직의 반응으로 어떠한 원인에 의하여 손상을 받았을 때 손상을 국소화시키고 손상된 부위를 정상상태로 되돌리려는 생체의 고도로 발달된 방어 기전이다 (김상호 등 1998). 손상인자에 대하여 조기에 반응하는 생체 반응이 급성염증이다. 급성염증을 구성하는 세 가지의 요소는 첫째, 혈관내경의 변화와 그에 따른 혈류량의 증가, 둘째, 미세혈관의 구조변화와 혈장 단백 및 백혈구의 삼출, 셋째, 삼출된 백혈구의 이동과 손상 국소에서의 백혈구 축적이다 (대한 병리학회 2000). 손상으로 인해 야기되는 부종은 손상의 영향을 증대시킬 뿐 아니라 국소 빈혈로 인한 조직의 상실까지도 초래할 수 있다.

스테로이드는 3개의 6-carbone hexane 고리와 1개의 5-carbone pentane 고리로 이루어진 cyclo-pentenoperhy-drophenathrane 핵을 기본구조로 가진다. 스테로이드는 부신피질에서 합성되어 저장되거나, 알파 글로블린이나 인슐린 같은 다른 단백질류와 결합하거나 유리형의 형태로 순환하다가 수용체에 작용하게 된다 (Isselbacher et. al. 1994). 일반적으로 스테로이드는 관절염, 구강궤양 등 염증 질환에 적용되며, 당뇨, 고혈압, 소화성 궤양(peptic ulcer), 바이러스 감염, 결핵 등이 있는 경우에는 일반적으로 사용하지 않는 것이 원칙이다 (김수관 등 1998). Triamcinolone acetonide(TA)는 합성 glucocorticoid 계열 중 대표적인 약물로 항염증작용, 부종경감효과 등과 직접적인 세포막 안정효과를 가지며 C섬유의 신경전달을 억제하는 기능이 있다 (Jeal and Faulds 1997). 스테로이드제제의 이온도입에 관한 연구로 Hasson 등(1992)은 지연성근육통(DOMS)에 대한 덱사메타손(dexamethasone)을 이용한 이온도입 효과를 보고하였고, Reid 등(1994)은 측두하악관절 기능장애로 인한 통증에 적용하였으며, 유창현 등(1990)과 황경상 등(1992)은 수용성 corticoid인 dexamethasone sodium phosphate와 4% lidocaine을 근골격계 환자에게 이온도입을 적용하여 유의한 차이가 있었다고 보고하였다.

따라서 본 연구는 백서를 이용하여 carrageenan-유발 통각 역치 실험과 족 부종 실험, 외상에 의한 조직염증 실험을 통하여 triamcinolone acetonide의 이온도입 경피투과가 항염작용에 미치는

효과를 알아보려고 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시약 및 기기

Triamcinolone acetonide (Sigma, T6501, USA)를 이용하여 함량이 0.1 w/v %가 되도록 이온도입용 용액을 제조하였다. 통각역치 및 족 부종 측정을 위하여 λ -carrageenan type IV(Sigma, C-3889, USA)을 사용하였으며, 조직염색은 Harri's hematoxyline solution(Sigma, MHS-32, USA)으로 핵염색을, Eosine Y solution(Sigma, HT110-2-32, USA)으로 세포질 염색을 하였다. 조직 블록제작을 위하여 Tissue-Tek(Sakura, 4640B, Japan)과 tissue embedding console system(Sakura, Tissue-Tek, Japan)을, 조직절편은 rotary microtome(Sakura, 2040, Japan)을 사용하였으며, 조직관찰은 light microscopy(Olympus BX50F4, Japan)을 사용하였다.

이온도입용 전기자극기는 전류용량(current dosage) 표시가 가능한 Iontophoresor(Iomed, PM700, USA)를 사용하였으며, 전극은 면적이 7.2 cm², 4.0 mA에서 전류밀도가 0.56 mA/cm², 0.5 mA/cm²의 전류밀도를 산출시키는데 필요한 전류량이 3.6mA인 일회용 전극 (Iomed, Trans Q, USA)을 사용하였다.

2. 실험방법

실험동물은 체중 250 ± 50 g의 Sprague-Dawley계 랫트(8주령, 웅성, 대한실험동물)를 발 도피 잠복기 측정 및 족 부종 측정에 각각 24마리를 사용하여 각 군당 시간대별로 5마리씩 할당하였으며, 조직염증 실험에 80마리를 사용하였다. 사육실은 온도 25 ± 1 °C, 습도 55 ± 10%로 유지하였으며, 명암주기는 12시간 주기로 하였다. 고형사료와 물은 자유롭게 먹도록 하였다.

1) 발 도피 잠복기 실험

발 도피 잠복기를 측정하기 위하여 랫트의 우측 족저부에 1% λ -carrageenan 0.1 mL을 주사하여 통각과민을 유발시켰다. 발 도피 잠복기 유발 3시간 전에 처치를 실시하였으며, 실험군 I은 대조군으로 아무런 처치를 적용하지 않았고, 실험군 II는 0.9% saline solution 1 mL을 이온도입용전극에 충전하여 적류를 통전시켰다. 실험군 III은 0.1% triamcinolone acetonide 용액 1 mL을 이온도입용 전극 크기에 준하는 면적에 도포하였으며, 실험군 IV는 0.1% triamcinolone acetonide 용액 1 mL을 이온도입용 전극에 충전하여 이온도입을 적용하였다. 실험군 II와 IV는 케타민(ketamin HCl) 0.1 mL를 주사하여 마취시킨 후 복부에 분산전극이 부착될 부위를 삭모하였다. 이온도입용 전극은 랫트의 족부 크기에 맞게 변형하여 사용하였으며, triamcinolone acetonide 용액을 충전시킨 활성전극의 극성을 양극으로하여 우측 족저부에, 분산전극은 복부에 배치하였다. 실험군 II와 IV군의 총 전류용량(total current dosage)은 80 mA · min이었다.

정량적 열 통각 역치를 측정하기 위해 행동반응 관찰을 통한 발 도피 잠복기 검사를 실시하였

다. 측정은 λ -carrageenan의 투여 전과 투여 후 0시간, 3시간, 6시간, 9시간대에서 3회 반복 측정하여 평균값으로 정하였으며, 각 시간대에서 반복측정 간격은 5분으로 하였다. 발 도피 잠복기는 체중을 지지하고 있는 랫트의 족 저부에 열이 적용된 순간부터 발 도피가 유발되는 시점까지의 시간으로 결정하였다. 실험동물을 표면온도가 30 °C를 유지하고 있는 열판 위에 올려놓고 10분간 적용시킨 후, 다시 열판의 표면온도를 46±0.1 °C로 상승시켜 발 도피 잠복기의 시간을 측정하였다.

2) 족 부종 실험

족부종 실험은 Winter(1962) 등이 개발한 방법을 사용하였다. 족 부종 은 랫트의 우측 족배부에 1% λ -carrageenan 0.1 mL을 주사하여 유발시켰다. 처치는 족 부종 유발 3시간 전에 발 도피 잠복기 측정과 동일한 방법으로 실시하였다. 발 도피 잠복기 및 족 부종 실험의 처치는 대조군을 제외한 모든 실험군에서 1회씩 적용하였다.

족 부종 부피측정은 λ -carrageenan의 투여 전과 투여 후 3시간, 6시간, 9시간대에서 3회 반복 측정하여 평균값으로 정하였다. 부종율은 λ -carrageenan 주사 직후 및 각 시간대의 발 부피의 변화를 이용하여 다음 식으로 족 부종율(% , swelling)을 구하였다.

$$\text{족부종율}(\%) = \frac{V - V_1}{V_1} \times 100$$

V : 3, 6, 9시간 후의 발부피

V₁ : 주사직후 발부피

족 부종 억제율(% , inhibition)을 다음의 식을 이용하여 산출하였다.

$$\text{부종억제율}(\%) = \left[1 - \frac{\text{처치군의족부종율}}{\text{대조군의족부종율}} \right] \times 100$$

3) 조직실험

외상유발은 백서를 고정 틀에 고정 한 후, 우측 대퇴부 후외측 부위에 직사각형 나무판(1×1×0.3 mm)을 대고 거즈로 세 겹을 싼 후 피부가 파열되는 것을 방지하고 충격력이 고르게 분포되도록 하여 125 g 쇠구슬을 60 cm높이의 원통관에서 2분 간격으로 3회 떨어뜨려 외상성 출혈이 일어나지 않을 정도로 손상을 입혔다. 처치는 발 도피 잠복기 측정과 동일한 방법으로 실시하였으며, 활성전극의 극성을 양극으로 하여 우측대퇴부 후외측에 부착하였으며, 분산전극은 복부에 배치하였다. 처치는 대조군을 제외한 모든 실험군에서 1회씩 적용하였다.

각 군당 0시간, 24시간, 48시간, 72시간 후에 5마리씩 희생시킨 후 고정하여 대퇴이두근(biceps femoris)부위를 중심으로 1.5 cm²씩 적출하여 10% 중성 포르말린에 고정하였다. 일반적인 조직의 탈수, 투명 및 침투과정은 H & E 염색과정을 거쳐 광학현미경을 사용하여 염증정도를 관찰하였

다.

3. 통계방법

본 연구의 통계학적 분석은 SAS software version 8.2를 사용하여 일요인 분산분석(one-way ANOVA)과 사후 검정으로 Duncan's multiple range test, 반복 측정된 이요인 분산분석(repeated two-way ANOVA)을사용하였다. 분석 시 유의수준은 $\alpha=0.05$ 로 설정하여 검정하였다.

III. 결 과

1. 발 도피 잠복기 실험

발 도피 잠복기 실험에서 각 군들의 유발 전, 유발 후 0시간, 3시간, 6시간, 9시간에서의 발 도피 잠복기의 변화는 실험군 I은 시간이 경과함에 따라 지속적으로 감소하였으며, 실험군 II는 유발 전에서 유발 후 6시간까지 지속적으로 감소하다 9시간에서 다소 증가하였다. 실험군 III은 시간의 경과에 따라 증감이 반복되었다. 실험군 IV는 유발 후 3시간에서 최대가 되었다가 다소 감소되는 경향을 보였다. 각 실험군별 측정시기에 따른 차이를 확인하기 위하여 일요인 분산분석한 결과 통계학적으로 매우 유의한 차이를 나타내었으며($p<0.001$), 사후검증에서는 실험군 III과 IV에서 유의한 차이를 나타내었다 (Table 1). 각 군간 측정시간에 따른 발 도피 잠복기의 변화를 이요인 반복분산분석한 결과 실험군간과 시간, 실험군 및 시간에 대한 상호작용에서도 통계학적으로 매우 유의한 차이를 ($p<0.001$)나타내었다 (Table 2).

Table 1. Effect of triamcinolone acetonide iontophoresis on change of paw withdrawal latency (sec)

Time Group	Pre	0h	3h	6h	9h	Post-hoc
I	7.92±1.04	5.95±0.22	4.15±0.23	3.95±0.28	3.92±0.20	C
II	7.28±0.52	6.36±0.14	3.54±0.24	3.40±0.12	4.08±0.37	C
III	9.42±0.74	7.37±0.71	6.73±0.58	8.25±0.61	7.18±0.45	B
IV	9.38±1.13	8.10±0.81	10.54±0.87	9.97±0.63	9.16±0.32	A
F-value 68.59*						

mean±S.E.

* : $p<0.001$

I : Control group

II : Application of direct current

III : Application of 0.1% triamcinolone acetonide solution

IV : Iontophoresis of 0.1% triamcinolone acetonide solution

Table 2. The results of two-way repeated measured ANOVA on paw withdrawal latency

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Group	3	404.62	134.87	62.91	0.001
Time	4	94.96	23.74	11.07	0.001
Time*Group	12	113.13	9.42	4.40	0.001

2. 족 부종 실험

족 부종 실험에서 각 군들의 처치 전, 처치 후 3시간, 6시간, 9시간에서 측정된 족 부종율의 변화에서 실험군 I 은 9시간까지 지속적으로 증가되었으나, 나머지 실험군에서는 지속적으로 감소되는 추세를 나타내었으며, 특히 실험군 IV에서 족 부종율의 감소가 현저하였다. 각 실험군별 측정 시기에 따른 차이를 확인하기 위하여 일요인 분산분석한 결과 통계학적으로 매우 유의한 차이를 나타내었으며($p<0.001$), 사후검정에서는 실험군 I 과 IV는 유의한 차이가 있었으나, 실험군 II와 III은 유의한 차이가 없었다 (Table 3). 각 군간 측정시간에 따른 족 부종 변화를 이요인 반복분산 분석한 결과 실험군간과 시간, 실험군 및 시간에 대한 상호작용에서도 통계학적으로 매우 유의한 차이를 ($p<0.001$)나타내었다 (Table 4, Figure 1).

족 부종 억제율은 실험군 II, III, IV 모두에서 시간이 경과함에 따라 지속적으로 감소되는 추세를 나타내었으며, 특히 실험군 IV의 족 부종 억제율이 가장 높게 나타났다.

Table 3. Effect of triamcinolone acetonide iontophoresis on change of swelling & inhibition rate

Group	Time	Post 3h	Post 6h	Post 9h	Post-hoc
	Swelling(%)				
I	Swelling(%)	35.07±3.61	43.18±6.26	44.49±6.14	A
	Inhibition(%)	41	61	68	
II	Swelling(%)	20.89±4.45	17.05±9.39	15.00±8.12	B
	Inhibition(%)	32	53	86	
III	Swelling(%)	24.15±1.89	20.50±2.81	6.24±2.21	B
	Inhibition(%)	32	53	86	
IV	Swelling(%)	11.68±3.40	1.82±4.43	0.198±3.39	C
	Inhibition(%)	66	95	106	
F-value 24.15*					

mean±S.E.

* : $p<0.001$

I : Control group

II : Application of direct current

III : Application of 0.1% triamcinolone acetonide solution

IV : Iontophoresis of 0.1% triamcinolone acetonide solution

Table 4. The results of two-way repeated measured ANOVA on swelling formation

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Group	3	9335.29	3111.76	34.01	0.001
Time	3	6919.78	2306.59	25.21	0.001
Time*Group	9	4531.54	503.50	5.50	0.001

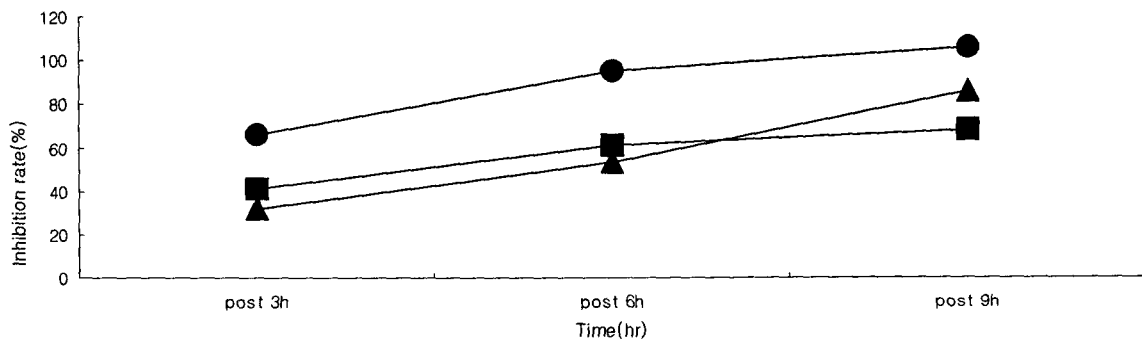


Figure. 1. Effect of triamcinolone acetonide iontophoresis on change of inhibition rate

- : Application of direct current
- ▲ : Application of 0.1% triamcinolone acetonide solution
- : Iontophoresis of 0.1% triamcinolone acetonide solution

3. 조직실험

각 군의 0시간에서 실험동물 모두가 손상부위의 모세혈관에 출혈과 충혈이 관찰되었다 (Table 5).

실험군 I에서는 손상 후 24시간에서 모세혈관의 충출혈 및 염증반응이 심한 경우가 4 마리, 중등도가 1 마리로 나타났으며, 염증세포는 주로 호중성 백혈구의 침윤이 관찰되었다. 손상 후 48시간에서는 모세혈관의 충출혈 및 염증반응이 심함이 2 마리, 중등도 3 마리로 나타났으며, 염증세포는 림프구 및 단핵구 침윤이 관찰되었다. 손상 후 72시간에서는 모세혈관의 출혈과 충혈 및 염증세포의 침윤이 심한 경우가 2 마리, 중등도가 2 마리, 약한 경우가 1 마리로 나타났으며, 염증세포는 호중성 백혈구가 많이 감소하고 림프구 및 단핵구 침윤이 관찰되었다 (Table 5, Figure 2).

실험군 II에서는 손상 후 24시간에서 모세혈관의 충출혈 및 염증반응의 정도가 심한 경우가 4 마리, 중등도 1 마리로 나타났으며, 염증세포로는 호중성 백혈구가 관찰되었다. 손상 후 48시간에서는 모세혈관의 출혈과 충혈 및 염증세포의 침윤이 심한 경우가 3 마리, 중등도가 2 마리, 약한 경우가 2 마리로 나타났으며, 염증세포는 호중성 백혈구가 감소하였고 림프구 및 단핵구 침윤이 관찰되었다. 손상 후 72시간에서는 모세혈관의 출혈과 충혈 및 염증세포의 침윤이 심한 경우가 2 마리, 중등도가 2 마리, 약한 경우가 1 마리로 나타났으며, 염증세포로 호중성 백혈구는 많이 감소하고 림프구 및 단핵구 침윤이 관찰되었다 (Table 5, Figure 3).

실험군 III에서는 손상 후 24시간에서 모세혈관의 충출혈 및 염증반응이 심함 3 마리, 중등도 2 마리였으며 호중성 백혈구를 주로한 염증반응이 관찰되었다. 손상 후 48시간에서는 출혈과 충혈 및 염증세포의 침윤이 심한 경우가 1 마리, 중등도인 경우가 3 마리, 약한 경우가 1 마리로 나타났으며, 염증세포로 호중성 백혈구는 감소하였고 림프구 및 단핵구 침윤도 나타나지만 실험군 I

및 실험군 II에 비하여는 감소되었다. 손상 후 72시간에서는 출혈과 충혈 및 염증세포의 침윤이 중등도인 경우가 2 마리, 약한 경우가 3 마리로 나타났으며, 염증세포로 호중성 백혈구 거의 나타나지 않고 림프구 및 단핵구 침윤이 나타나지만 실험군 I 및 실험군 II에 비하여 현저히 감소되었다 (Table 5, Figure 4).

실험군 IV에서는 손상 후 24시간에서 출혈과 충혈 및 염증세포의 침윤이 심한 경우가 2 마리, 중등도인 경우가 3 마리로 나타났으며, 염증세포로 호중성 백혈구가 관찰되었으나 실험군 I 및 실험군 II에 비하여 많이 감소되었다. 손상 후 48시간에서는 출혈과 충혈 및 염증세포의 침윤이 중등도인 경우가 3 마리, 약한 경우가 1 마리로 나타났으며, 염증세포로 호중성 백혈구가 거의 나타나지 않고 림프구 및 단핵구 침윤이 나타나지만 실험군 I 및 실험군 II에 비하여는 많이 감소되었다. 1 마리에서 출혈 및 충혈, 염증세포의 침윤이 관찰되지 않았다. 손상 후 72시간에서는 출혈과 충혈 및 염증세포의 침윤이 중등도인 경우가 1 마리, 약한 경우가 2 마리로 염증세포는 거의 나타나지 않았으며, 2 마리에서 출혈 및 충혈, 염증세포의 침윤이 관찰되지 않았다 (Table 5, Figure 5).

Table 5. Histological change in muscle of rats in belonging in each group

Group	Time(hr)	No. of rat	Micro ¹			
			- ²	+ ³	++ ⁴	+++ ⁵
I	0	5	0	0	0	5/5
	24	5	0	0	1/5	4/5
	48	5	0	0	3/5	2/5
	72	5	0	1/5	2/5	2/5
II	0	5	0	0	0	5/5
	24	5	0	0	1/5	4/5
	48	5	0	1/5	2/5	2/5
	72	5	0	2/5	3/5	0
III	0	5	0	0	0	5/5
	24	5	0	0	2/5	3/5
	48	5	0	1/5	3/5	1/5
	72	5	0	3/5	2/5	0
IV	0	5	0	0	0	5/5
	24	5	0	0	3/5	2/5
	48	5	1/5	1/5	3/5	0
	72	5	2/5	2/5	1/5	0

1 : Hemorrhage and hyperemia in capillary and infiltration of inflammation cells; 2 : 0; 3 : Slight to mild; 4 : Moderate; 5 : Severe; 6 : Number of rat having microscopic lesions/number of rats

I : Control group

II : Application of direct current

III : Application of 0.1% triamcinolone acetonide solution

IV : Iontophoresis of 0.1% triamcinolone acetonide solution

IV. 고찰

본 연구에서는 이온도입에 의한 triamcinolone acetonide의 경피투과가 항염작용에 미치는 효과

를 알아보기 위하여 랫트를 이용하여 발 도피 잠복기 및 족 부종 측정하였으며, 외상에 의한 조직 염증의 변화를 관찰하였다.

발 도피 잠복기 측정에서는 랫트의 발바닥에 triamcinolone acetonide을 적용한 이온도입으로 전 처치를 하여 이차성 열 통각 역치를 알아보기 위해 발바닥 움추림 잠복기를 평가하였다. 실험군 I 은 시간이 경과함에 따라 지속적으로 감소하였고, 실험군 II는 6시간까지 지속적으로 감소하다 9시간에서 증가하였다. 실험군 III은 시간이 경과함에 따라 증감이 반복되었다. 실험군 IV는 유발 후 3시간에서 최대가 되었다가 다소 감소되는 경향을 보였다. 모든 군에서 유발 직후에는 통증 역치에 대한 처치가 영향을 미치지 못하는 양상을 보이다가 유발 3시간 후부터 통증역치에 대한 처치의 효과를 나타내는 추이를 보였다. 이러한 결과는 실험군 II는 열 발 도피 잠복기에 영향을 미치지 못한 것으로 사료되는 반면, 실험군 III과 IV는 현저한 유의성을 보였다. 실험군 III에서는 triamcinolone acetonide가 인지질로부터 arachidonic acid 유출을 억제함으로써 염증에 있어서 중요한 역할을 하는 prostaglandin, prostaglandin endoperoxides, thromboxane 등의 형성을 감소시켜 (Blackwell 1978), 발 도피 잠복기를 감소시키는 양상을 보인 것으로 사료되며, 실험군 IV는 이온도입이 약물을 체내 흡수를 촉진시켜 실험군 III에 비해 빠른 발 도피 잠복기 감소양상을 보인 것으로 사료된다.

Carrageenan에 의해 유발된 염증은 histamin, kinins, serotonin, prostaglandin E2 등을 유리시키며 (Capasso et. al. 1975, Willis 1969) histamin 및 serotonin 등의 유리에 의한 충혈을 일으키며 (Vinegar et. al. 1969) bradykinin의 유리에 의한 지속적인 부종 (Diroso et. al. 1971, Ferreira et. al. 1974)에 의해 염증반응이 일어난다. Ferreira (1978)는 동물모델을 사용하여 쥐의 다리에 carrageenan으로 염증을 유발시켜 체적의 증가를 측정하였으며, Gemmel 등(1979)도 이 방법을 단순화시켜 적합한 자극제를 주사한 후 증가된 쥐 다리의 직경을 측정하였다. 본 연구의 족 부종 실험에 대한 결과는 족 부종 유발 후 3시간대에서는 실험군 III의 억제율이 실험군 II의 억제율보다 증가하였으나, 6시간 이후부터는 실험군 III의 억제율이 증가하는 경향을 나타내었다. 실험군 IV의 억제율이 가장 유의하게 증가하는 경향을 보였다. 실험군 I 에 비해 실험군 IV, 실험군 III, 실험군 II 순으로 부종억제효과를 보였다. triamcinolone acetonide의 세포막 안정화 작용과 이온도입으로 인한 조직대사작용을 증가시킴으로써 부종이 억제된 것으로 사료된다. 이와 같은 결과는 신동호 (1990)의 nifedipine을 이용한 실험과 최윤석 (1996)의 laser 침을 이용한 부종억제와 항염실험 결과와 일치함을 보였다.

외상성 손상이 조직에 가해지면 조직액의 간질 내 축적에 의해 부종이 나타나게 되며 손상된 조직 내로의 혈류가 감소하고, 모세혈관 사이의 간격이 넓어져서 산소 및 기타 생체물질의 전달이 어려워진다 (Heughan et. al. 1972). 손상으로 야기되는 부종은 손상의 영향을 증대시킬 뿐 아니라 국소 빈혈로 인한 조직의 상실까지도 야기할 수 있다 (Amin et. al. 1983). 외상에 의해 손상이 일어나면 세포막의 인지질이 기계적, 화학적 자극을 받아서 arachidonic acid(AA)가 인지질에서 분리가 되면 cyclooxygenase pathway와 lipoxygenase pathway라는 두 과정을 거쳐 여러종류의 중계자를 분비하게 된다. cyclooxygenase pathway에서 cyclooxygenase는 AA를 즉시 prostaglandin

endoperoxide(PGG₂)로 전환시키며 PGG₂는 효소적 과산화반응에 의해 PGH₂로 변환되는데 이 과정 중에 산소유리기가 만들어지고 PGG₂에서 변환된 PGH₂는 Tromboxane A₂, Prostacycline, PGE₂, DGE₂ 및 PGD₂등의 산물로 전환하게 된다. Lipoxygenase pathway 과정은 AA가 분해되어 수과산화 유도체(hydroperoxy eicosatetraenoic acid : HPETE)가 되며, HPETE는 과산화반응을 거쳐 hydroxy-eicosatetraenoic acid(HPETE)가 되는데 이것은 호중구에 대한 강한 주화성을 나타내고 백혈구 응집을 유발하고 LTC₄와 LTD₄ 및 LTE₄ 등은 혈관수축과 투과성을 항진시킨다 (Michlotitz 1995, 대한병리학회 1990).

본 연구에서는 스테로이드제제를 적용한 이온도입이 랫트의 외상성 손상으로 유발된 부종에 항염제 투여시간에 따라 염증 치유에 어떠한 추이를 보이는지 알아보기 위해 시간대별로 실험을 실시하였다. 실험군 III과 실험군 IV의 손상 후 24시간 조직학적 소견에서 실험군 I과 실험군 II에 비하여 손상부위의 충출혈 및 염증반응이 많이 감소되었으며 특히, 실험군 IV에서는 현저한 감소를 보였다. 48시간 조직학적 소견에서도 실험군 I과 실험군 II에 비하여 실험군 III와 실험군 IV에서 충출혈 및 염증반응이 많이 감소되었으며 특히, 실험군 IV에 대다수에서 음성반응이 관찰되어 실험군 III과도 차이가 있었다. 72시간에서 조직학적 소견상 실험군 IV의 거의가 음성반응 보여 실험군 I, 실험군 II과는 현저한 차이를 보였으며 실험군 III와도 차이가 많았다. 염증의 초기에는 부종, 섬유성 침착, 모세혈관 팽창, 백혈구의 이동, 식세포의 작용 등이 억제되며, 염증의 후기에는 모세혈관 증식, 섬유아세포 증식, 교원질 침착 등을 각각 억제시킴으로서 염증을 감소시킨다. 합성스테로이드 제제를 조직 내에 투여하면 호중구와 단핵구와 같은 식세포가 염증부위로 이동하는 것을 억제하고 결과적으로 호중구의 염증부위의 모세혈관 내피세포에 대한 부착 특성을 합성스테로이드제제가 억제하는 작용을 한다. 본 연구의 결과는 세포막 손상 시 세포막의 인지질로부터 phospholipase A₂의 작용으로 AA를 유리시키는데 triamcinolone acetoneide와 같은 당질 코르티코이드는 phospholipid에서 AA가 분리되는 것을 막는다. 이러한 일련의 과정들은 세포막 손상시 인지질에서 분리된 AA가 거치는 cyclooxygenase 경로와 lipoxygenase 경로 모두를 차단함으로써 인해, prostaglandin endoperoxides와 PGH₂ 관련 화합물과 leukotrienes 관련 물질의 형성을 감소시킴으로써 화학주성에 의한 염증반응을 저지하는 것으로 사료된다 (Michloritz 1995).

따라서 carrageenan에 의해 유발된 통각과민이나 부종, 외상에 의해 유발된 급성 염증반응에 의해 근육 및 지주조직에 염증성 반응으로 발통물질이 증가한 통증에 triamcinolone acetoneide를 이용한 이온도입 경피투과가 유의한 항염작용을 한 것으로 사료된다.

V. 결론

본 연구는 이온도입에 의한 triamcinolone acetoneide의 경피투과가 항염작용에 미치는 효과를 알아보기 위하여 랫트를 이용한 발 도피 잠복기 및 족 부종 측정과 외상에 의한 조직염증의 변화를 관찰하였다.

1. Carrageenan-유발 발 도피 잠복기 실험에서 대조군에 비하여 처치 군들의 통각역치가 증가되

었으며, 특히 이온도입군에서의 통각역치의 증가가 뚜렷하였다. 각 군간의 처치효과에 대한 차이를 비교한 결과 통계학적으로 매우 유의한 차이를 보였으며($p < 0.001$), 사후검증에서는 약물도포군과 이온도입군에서 유의한 차이를 보였다. 각 군간 측정시간에 따른 발 도피 잠복기의 변화를 반복분산분석한 결과 실험군간과 시간, 실험군 및 시간에 대한 상호작용에서도 통계학적으로 매우 유의한 차이를 나타냈다($p < 0.001$).

2. Carrageenan-유발 족부종 실험에서 대조군에 비하여 처치군들의 부종율이 감소되었으며, 특히 이온도입군에서의 감소는 더욱 뚜렷하였다. 각 군간 처치효과의 차이를 비교한 결과 통계학적으로 매우 유의한 차이를 보였으며($p < 0.001$), 사후검정에서는 대조군과 이온도입군에서 유의한 차이가 보였다. 각 군간 측정시간에 따른 발 부피의 변화를 반복분산분석한 결과 실험군간과 시간, 실험군 및 시간에 대한 상호작용에서도 통계학적으로 매우 유의한 차이를 나타냈다($p < 0.001$).

3. 외상에 의한 조직염증 변화를 처치 후 24시간, 48시간, 72시간대에서 관찰한 결과에 비하여 처치군들의 염증반응이 감소하는 경향을 나타냈으며, 특히 이온도입군에서 손상부위의 충혈 및 출혈, 염증반응의 감소가 현저하게 나타났다.

참 고 문 헌

- 김수관, 박노승, 여환호: 스테로이드. *Oral Bio Rese*, 22(1); 259-263, 1998.
- 김상호, 문형배, 서재홍 등: 일반병리학. 4판. 서울; 32-48. 1998.
- 대한병리학회: 병리학. 고문사; 34-35. 2000.
- 대한병리학회: 병리학. 고문사; 1990.
- 안현아: 이온토포레시스에 의한 양이온성 약물 아이소프로마이드의 경피흡수. 서울대학교 대학원, 석사학위논문, 1991.
- 유창현, 안경희, 나영설: 이온삼투요법을 이용한 통증치료. *대한재활의학회지*, 14(1); 35-39, 1990.
- 신동호: 흰쥐에서 carrageenan에 의한 족부종에 대한 nifedipine의 영향. *대한수의학회지*, 30(3); 283-286, 1990.
- 황경상, 나은우, 조미애: 이온삼투요법을 이용한 근골격계 질환의 치료에 관한 연구. *대한재활의학회지*, 16(1); 88-93, 1992.
- 최윤석: Laser침이 Carrageenan에 의해 유발된 백서의 족척 부종과 염증 처치 효과. *대한침구학회지*, 13(1); 55-65, 1996.
- Amin MM, Engel MB, Laskin DM: Effect of indomethacin on postsurgical edema in rats. *Oral Surg*, 55; 244, 1983.
- Barry BW: Novel mechanism and devices to enable successful transdermal drug delivery. *Euro J of Phamace Sci*, 14; 101-114, 2001.
- Blackwell GJ, Flower RJ, Nijkamp FP: Phospholipase A₂ activity of guinea pig isolated perfused lungs: stimulation and inhibition by anti-inflammatory steroids. *Br J Pharm*, 62; 79-89, 1978.
- Bronaugh RL, Maibach HI: Percutaneous absorption. Marcel Dekker, New York; 1-12, 1989.
- Capasso F, Dunn CJ, Yamamoto S et al: Further studies on carrageenan-induced pleurisy in rats. *J Pathol*; 116-117, 1975.

- Chien YW: Transdermal controlled Systemic Medications. Dekker. New York, 1987.
- Chien YW, Shiddiqui O, Sun WM et al: Transdermal iontophoretic delivery of therapeutic peptides/proteins. *Biological Approaches to the Controlled Delivery of Drugs*. Ann NY Acad Sci, 507; 32-51, 1987.
- Dirosa M, Giround JP, Willoughby DA: Studies on the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. *J Pathol*, 104; 15-29, 1971.
- Ferrerira SH, Moncada S, Vane JR: Prostaglandins, aspirin-like drugs and edema of inflammation. *Nature*, 246; 217, 1973.
- Ferreira SH, Moncado S, Parsons M et al; The concomitant release of bradykinin and prostaglandin in the inflammatory response to carrageenan. *Brit J Pharm*, 52; 108-109, 1974.
- Foldvari M: Non-invasive administration of drugs through the skin: challenges in delivery system design. *PSTT*, 3(12); 2000.
- Gangarosa LP, Park NH: Increased Penetration of Nonelectrolytes Into Mouse Skin During Iontophoretic Water Transport (iontohydrokinase). *J pharma ther*, 26; 377-388, 1979.
- Gemmel DK, Cottney J, Lewis AJ: Comparative effects of drugs on four paw edema models in the rats. *Agents Action*, 9; 107, 1979.
- Gersh MR: *Electrotherapy in Rehabilitation*. F.A. DAVIS COMPANY, Philadelphia; 338, 1992.
- Gibson LE, Cooke RE: A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics*, 23; 545, 1959.
- Hasson SM, Wible CL, Barnes WS et al: Dexamethasone Iontophoresis: Effect on Delayed Muscle Soreness and Muscle Function. *Can J Spt Sci*, 17(1); 8-13, 1992.
- Harris R: Ionthophoresis. In, "Therapeutic Electricity and Ultraviolet Radiation", 2nd ed., Licht s (Ed). Elizabeth Licht, New haven; 156-178, 1967.
- Heughan C, Ninikoski J, Hunt TK: Effect of excessive infusion of saline solution on tissue oxygen transport. *Surg Gynecol Obstet*, 135; 257, 1972.
- Isselbacher KJ et al; *Harrissons Principle of Internal medicine*. 13 ed. 13; 2033-2144, 1994.
- Jacobsen S, Stephen R: Drugs delivered without a needle via ionization. *Med. News. Int Rep*, 6; 1, 1978.
- Jeal W, Faulds D: Triamcinolone acetone. *Drug*, 53(2); 257-280, 1997.
- Kim A, Green PG, Rao G: Convective solvent flow across the skin during iontophoresis. *Pharm Res*, 10; 1315-1320, 1993.
- Michloritz SL: *Thermal Agents in Rehabilitation*. Yeong Mun Publish Com; 1995.
- Petelenz TJ, Buttke JA, Bonds C et al: Iontophoresis of dexamethazone: laboratory studies. *J controlled Release*, 20; 55-66, 1992.
- Reid KI, Dionne RA, Sicard-Rosenbaum L et al: Evaluation of iontophoretically applied dexamethasone for painful pathologic temporomandibular joints. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 77(6); 605-609, 1994.
- Rigano W, Yanik M, Barone FA: Antibiotic iontophoresis in the management of burned ears. *J Burn Care Rehabil*, 13(4); 407-409, 1992.
- Russo J, Lipman AG, Comostocck TJ et al: Lidocine Anesthesia: " comparison of Iontophresis, injection, and swabbing". *Am J Hosp Pharm*, 37; 843-847, 1980.

Varghese E, Khar RK: Enhanced skin permeation of diclofenac by iontophoresis: in vitro and in vivo studies. J of Contro Relea, 38; 21-27, 1996.

Vinegar R, Schreiber W, Hugo R: Biphasic development of carrageenan oedema in rats. J Pharm Exp Ther, 166; 95-103, 1969.

Willis AL: Release of histamine, kinin and prostaglandins during carrageenan-induced inflammation in the rat. In: Monteggazza P and Horton EW, eds. Prostaglandins, Peptides and Amines. New York: Academic Press; 31, 1969.

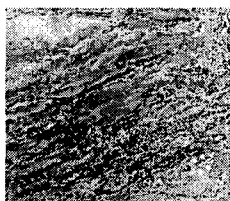


Fig2.Histological change of Group I at 72 hours

The biceps femoris of 72 hours-Group I showed diffused severe infiltration with neutrophil and lymphocyte and hyperemia (H & E Stain, $\times 100$)

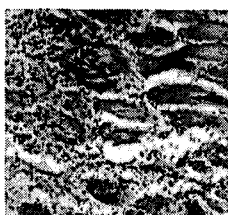


Fig3.Histological change of Group II at 72 hours

The biceps femoris of 72 hours-Group II showed diffuse moderate inflammation and mild edema of interstitial (H&E Stain, $\times 200$)

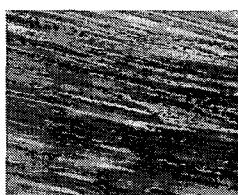


Fig4.Histological change of Group III at 72 hours

The biceps femoris of 72 hours-Group III showed diffuse slightly infiltration with major neutrophil and lymphocyte and slight interstitial edema (H&E Stain $\times 100$)

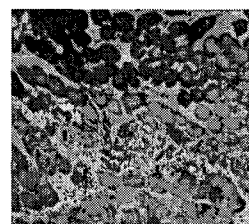


Fig5.Histological change of Group IV at 72 hours

The biceps femoris of 72 hours-Group IV showed focal slightly inflammation with infiltration of neutrophil and lymphocyte (H&E Stain, $\times 100$)