

加減木防己湯이 흰쥐의 Adjuvant 유발 관절염에 미치는 영향

Effects of *Kagammokbanggi-Tang* on the Adjuvant-Induced

Arthritis in Rats

황덕순, 김순중, 서일복¹⁾

세명대학교 한의과대학 한방재활의학과교실, 1:세명대학교 한의과대학

Abstract

Effects of *Kagammokbanggi-Tang* on the Adjuvant-Induced

Arthritis in Rats

Duk-Soon Hwang, Sun-Jung Kim, Il-Bok Seo¹⁾

Dept. of Oriental Rehabilitation Medicine, College of Oriental Medicine, Se-Myung University

1 : College of Oriental Medicine, Se-Myung University

Objectives : This study was to investigate the effect of *Kagammokbanggi-tang* on the Freund's Complete Adjuvant(FCA)-induced arthritis in rats.

Methods : Arthritis was induced by intradermal injection of FCA into base of tail. Arthritic rats were divided into control(n=10) and sample(n=10) group. Control group was taken normal saline for twenty days and sample group was taken extracts of *Kagammokbanggi-tang* for same duration. Normal group(n=10), non-arthritic group, was injected with mineral oil and was taken normal saline for twenty days. Body weight, paw edema volume and ankle joint thickness were measured at 0, 10, 15, 20 days after treatment. TNF- α , IL-1 β , IL-6, PGE₂ in synovia were analysed by ELISA at 20 days after treatment. Histochemical investigation of NADPH-d in the PAG and histopathological study on the ankle joint were performed at 20 days after treatment.

Results : Paw edema volume, ankle joint thickness, TNF- α , IL-1 β , IL-6, PGE₂, NADPH-d of sample group were significantly decreased compared with control group.

Conclusions : These results indicated that *Kagammokbanggi-tang* has antiarthritic and analgesic effects, and inhibited expression of NOS on the progression of FCA- induced arthritis in rats.

Keywords : *Kagammokbanggi-tang*, Adjuvant arthritis, NOS, NADPH-d

I. 서론

류마티오이드 관절염은 만성 활막염을 주병변으로 하는 자가면역질환으로 전체 인구의 5~10% 정도에서 유병율을 보이고 있으며, 여성이 남성보다 2~3배 더 많이 발생하는 것으로 알려져 있다¹⁻³⁾.

초기에 활액막의 만성적 비대와 염증반응이 나타나 관절연골이나 주위조직을 파괴하며, 점차 관절의 변형과 강직이 유발되어 관절기능의 장애를 초래하게 되는데 진행성의 관절염 이외에도 골, 피부, 심장, 혈관, 폐 등의 장기조직을 침범하여 전신적으로 쇠약해지는 경우도 있다⁴⁻⁶⁾.

자가면역질환인 류마티오이드 관절염은 항원의 자극에 의해 T림프구가 활성화되고, 이에 각종 cytokine이 분비되어 활막의 염증과 골 파괴를 유도하는 것으로¹⁾, 대표적 자가항원으로 관절내 연골의 주요 성분인 제Ⅱ형 collagen이 알려져 있으며^{7,8)}, 최근에는 Nitric oxide synthase(NOS)에 의해 합성되는 Nitric oxide(NO)가 류마티오이드 관절염에 관여한다는 사실과 함께 연골세포와 활막세포 그리고 류마티오이드 관절염을 앓고 있는 환자의 활액 내에서 염증세포가 분비하는 NO 등이 증가하고 있음이 보고된 바 있다⁹⁻¹¹⁾.

痺證은 氣血이 不足하거나 氣血運行이 不暢하여 筋脈關節의 濡養이 失調되거나, 腠理가 空疎할 때 風寒濕의 邪氣에 感受되어 肢體와 關節에 疼痛, 麻木, 重着 등이 발생하며 이로 인한 活動障礙를 主要症狀으로 하는 病變으로서, 류마티오이드 관절염과 유사하다고 볼 수 있다¹²⁾.

관절염 연구를 위한 동물실험 model로 대표적인 것은 collagen 유발 관절염과 adjuvant 유발 관절염으로, 그 중 adjuvant 유발 관절염은 실험 동물의 피부에 결핵균의 유성 현탁액인 Freund's complete adjuvant(FCA)를 주사하여, 사람의 류

마티오이드 관절염에서도 발견되는 peptidoglycan 성분으로 알려진 유발인자에 의해 다발성 관절염 및 비장과 부신의 종대, 체중감소, 백혈구 증가 등을 유발시켜 인체의 류마티오이드 관절염 연구를 위한 model로서 광범위하게 이용되고 있다¹³⁾.

최근 adjuvant 유발 관절염 연구로 血府逐瘀湯¹⁴⁾, 行濕流氣散¹⁵⁾, 三氣飲¹⁶⁾, 大防風湯¹⁷⁾, 防己¹⁸⁾, 魚腥草¹⁹⁾, 防風湯²⁰⁾, 天授根²¹⁾, 獨活寄生湯²²⁾, 大羌活湯²³⁾, 活絡湯²⁴⁾, 羌活除痛飲²⁵⁾ 등이 유효한 효과가 있는 것으로 보고된 바 있으나, 暑濕痺證에 사용되는 加減木防己湯²⁶⁾을 이용한 실험적 보고는 찾을 수 없었다.

이에 저자는 加減木防己湯이 류마티오이드 관절염에 미치는 영향을 알아보기 위하여 흰쥐에 adjuvant로 관절염을 유발한 후 형태계측학적 검사, 족부 삼출물내 Tumor necrosis factor- α (TNF- α), Interleukin-1 β (IL-1 β), Interleukin-6(IL-6), Prostaglandin E₂(PGE₂)의 함량측정, 족근관절의 병리조직학적 검사 및 NADPH-diaphorase 양성 신경세포 등을 측정된 결과 유의한 성적을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험방법

1. 재료

1) 동물

체중 190 g 내외의 수컷 Sprague-Dawley Rat (샘타코, 한국)를 구입하여 온도 23±1℃, 습도 55±5%로 조정된 항온항습사육장치(대중기기상사, 한국) 내에서 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 전 실험기간동안 사료(제일제당, 한국)와 음수는 자유 섭취케 하였다.

2) 약재

실험에 사용한 加減木防己湯의 처방내용은 <<溫

病條辨》²⁶⁾에 의거하였으며, 약제는 세명대학교 부속한방병원에서 구입한 후 엄선하여 사용하였다. 1첩의 처방 내용과 분량은 다음과 같다 (Table 1).

Table 1. Prescription of *Kagammokbanggi-Tang*

Name of Herbs	Pharmacognostic Name	Weight(g)
防己	<i>Stephaniae Radix</i>	12
石膏	<i>Cypsum Fibrosum</i>	12
杏仁	<i>Ansu Semen</i>	8
滑石	<i>Talcum</i>	8
桂枝	<i>Cinnamomi Ramulus</i>	6
薏苡仁	<i>Coicis Semen</i>	6
白通草	<i>Tetrapanacis Medulla</i>	4
Total		56

2. 방 법

1) 검액의 조제

加減木防己湯 4첩 분량(224 g)을 2,000 ml의 증류수에 1시간 동안 침지시킨 후, 2시간 30분간 전탕하였다. 전탕액을 원심하여 침전된 성분을 제거한 후 감압농축기(EYELA, NE-1001, Japan)로 100 ml로 농축시켰다. 체중 비례로 환산하여 60 Kg 성인의 1일 복용량의 5배에 해당되는 용량인 농축액 1 ml를 흰쥐 마리 당 1일 투여량으로 하였다.

2) 관절염의 유발

M. tuberculosis strain H37Ra(Difco, USA)를 유발에 곁게 갈아 light mineral oil(Sigma, USA)로 5 mg/ml의 농도가 되도록 FCA를 제조하여 FCA 0.1 ml를 흰쥐의 미근부 피내에 1회 주입하여 관절염을 유발시켰다.

3) 대조군의 설정

FCA 대신 light mineral oil만을 주입하고 20일간 생리식염수 1 ml/day를 경구투여한 정상군(n=10), FCA를 주입하여 관절염을 유발시키면서

생리식염수 1 ml/day를 경구투여한 대조군(n=10), FCA를 주입하여 관절염을 유발시키면서 加減木防己湯 농축액 1 ml/day를 경구투여한 실험군(n=10)으로 분류하였다.

4) 형태계측학적 검사

(1) 관절염 발생을 및 관절염 지수의 평가

FCA 주입 후 7일부터 매일 관절염의 발생 여부를 육안으로 관찰하여 관절염 발생율을 구하였다. 관절염 지수는 정상 상태를 0점, 족지절간 관절에 국한된 발적이 있을 경우를 1점, 가벼운 족근관절의 발적 및 종창이 있을 경우를 2점, 족근관절의 심한 발적 및 종창이 있을 경우를 3점으로 하여 양측 후지 관절의 점수를 합산하여 평가하였다.

(2) 체중의 측정

실험 0일, 10일, 15일 및 20일에 모든 개체의 체중을 측정하였다.

(3) 족부종의 측정

실험 0일, 10일, 15일 및 20일에 모든 개체의 양측 후지의 족부종을 pletysmometer(UGO BASILE, 7141, Italy)를 이용하여 각각 3회 측정하고 좌우의 평균값을 구하였다.

(4) 족근관절 두께의 측정

실험 0일, 10일, 15일 및 20일에 모든 개체의 좌우 족근관절 두께를 digital calipper(Mitutoyo, CD-15CP, Japan)를 이용하여 각각 3회 측정하고 좌우의 평균값을 구하였다.

5) 족부 삼출물내 cytokine 함량 검사

실험 20일에 체중 kg당 pentobarbital sodium(Sigma, USA)을 100 mg의 농도로 복강주사하여 마취시켜 좌측 후지를 적출하였다. 멸균된 메스를 이용하여 족근관절 및 족부의 여러 부위를 절개

한 후, 10,000 g에서 10분간 원심하여 삼출물을 추출하였다. 추출물을 재원심하여 부유물을 침전시키고 맑은 상층액을 취하여 측정 전까지 -70℃에 냉동보관 하였다.

(1) Tumor necrosis factor- α 함량 측정

즉부 삼출물내 TNF- α 함량은 Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay(ELISA) kit(Endogen, USA)로 측정하였다. 표준액 및 검액은 1시간, biotinylated antibody reagent는 2시간, streptavidin-HRP solution은 30분간 반응시키고, TMB substrate solution을 30분간 반응시켜 발색시킨 후 stop solution으로 반응을 정지시키고 ELISA reader(Molecular Devices, E10514, USA)로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

6단계의 TNF- α 표준액(2500, 833, 278, 93, 31, 10.3 pg/ml)에서 측정된 흡광도로 부터 선형회귀 방정식 [TNF- α 함량 = (818 \times 흡광도) + 12] 을 구하였으며, 검액의 흡광도를 이 방정식에 적용하여 TNF- α 의 농도를 구하였다.

(2) Interleukin-1 β 함량 측정

삼출물내 IL-1 β 함량은 ELISA kit를 이용하여 측정하였다. 표준액 및 검액은 2시간, biotinylated antibody reagent는 30분간, streptavidin-HRP solution은 30분간, TMB substrate solution을 30분간 반응시킨 후 stop solution으로 반응을 정지시키고 ELISA reader로 450 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.

6단계의 IL-1 β 표준액(2500, 1000, 400, 160, 26, 10.4 pg/ml)의 흡광도를 측정하여 선형회귀방정식 [IL-1 β 함량 = (6460 \times 흡광도) - 35] 을 구하였고, 검액의 흡광도를 이 방정식에 적용하여 IL-1 β 의 함량을 구하였다.

(3) Interleukin-6 함량 측정

삼출물내 IL-6 함량은 ELISA kit를 이용하여 측정하였다. 표준액 및 검액은 2시간, biotinylated antibody reagent는 1시간, streptavidin-HRP solution은 30분간, TMB substrate solution을 30분간 반응시킨 후 stop solution으로 반응을 정지시키고 ELISA reader로 450 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.

8단계의 IL-6 표준액(2000, 1000, 500, 250, 125, 62, 31, 15.5 pg/ml)의 흡광도를 측정하여 선형회귀방정식 [IL-6 함량 = (1820 \times 흡광도) + 21] 을 구하였고, 검액의 흡광도를 이 방정식에 적용하여 IL-6의 함량을 구하였다.

(4) Prostaglandin E₂ 함량 측정

삼출물내 PGE₂ 함량은 Enzyme Immunoassay (EIA) kit(Cayman, USA)를 이용하여 측정하였다. 96 well plate에 표준액 및 검액을 분주한 후 Prostaglandin E₂ AChE Tracer와 Prostaglandin E₂ Monoclonal Antibody 용액을 분주하여 4℃에서 24시간 반응시킨 후 Ellman's reagent 용액으로 발색시키고 ELISA reader로 405 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.

8단계의 PGE₂ 표준액(1000, 500, 250, 125, 62, 31, 16, 8 pg/ml)의 흡광도를 측정하여 ELISA reader에 제공된 프로그램을 이용하여 아래의 4-parameter logistic 방정식을 구하였으며, 측정된 검액의 흡광도를 이 방정식에 적용하여 검액의 PGE₂ 함량을 계산하였다.

$$Y(\text{흡광도}) = ((A-D)/(1+(\text{검액의 농도}(x)/C)^B)) + D$$

(A:0.458, B:0.959, C:49.092, D:-0.013 R²:0.997)

6) 병리조직학적 검사

실험 20일에 정상군에서는 무작위로 선별한 8

마리, 대조군 및 실험군에서는 족부종이 가장 심하게 증가된 8마리를 선별하였다. 흰쥐의 체중 kg 당 pentobarbital sodium(Sigma, USA)을 100 mg의 농도로 복강주사하여 마취시킨 후, 4% paraformaldehyde 용액으로 심장관류고정하고 우측 후지를 적출하였다.

우측 후지를 동일한 고정액에 24시간 후고정하고 0.5M EDTA 용액에 침지시켜 2일간 탈회하였다. 탈회된 조직을 24시간 수세한 후, 족근관절의 정중시상단면을 만들어 일반적인 조직처리과정을 거쳐 파라핀 포매하고 5 μ m의 박절편을 만들었으며, Hematoxylin & Eosin 염색을 실시하여 광학 현미경으로 관찰하였다.

7) NADPH-diaphorase 양성 신경세포의 측정

병리조직학적 검사를 위해 희생시킨 각 군당 8마리의 뇌를 적출하여 4°C에서 4% paraformaldehyde 용액으로 24시간 후고정한 후 냉동손상을 방지하기 위해서 15% sucrose 용액에 24시간, 30% sucrose 용액에 48시간 담가둔 후 냉동절편기(Leica, CM1850, Germany)를 이용하여 40 μ m 두께의 뇌조직 연속절편을 만들었다. 흰쥐 뇌조직단면도²⁷⁾를 참조하여 중뇌수도관주위회색질(periaqueductal gray matter, PAG) 부위를 선택하여 NADPH-d 조직화학염색을 실시하였다.

냉동절편조직을 0.1% β -NADPH, 0.01% nitroblue tetrazolium, 0.3% Triton X-100을 0.1M PB(pH 7.5)에 녹인 반응혼합액에 넣어 37°C 수조에서 24시간 반응시켰다. 조직을 PBS로 세척하고 gelatin-coated slide에 얹어서 2시간 실온에서 건조시킨 후 xylene으로 투명화시켜 Canada balsam으로 봉입하였다. PAG에서 NADPH-d에 양성으로 염색된 신경세포를 좌우로 나누어 측정 후 평균하여 표시하였다.

8) 통계처리

측정된 항목의 결과에 대한 통계는 SPSS(SPSS[®] 9.0 for Windows, USA) 프로그램을 이용하여 student's t-test를 실시하였으며, 유의수준은 $p < 0.05$ 로 하였다.

III. 성 적

1. 육안소견 및 관절염 발생율

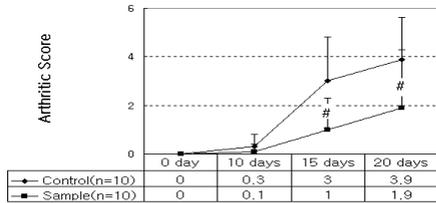
대조군에서는 FCA 주입 후 10일부터 후지의 발적 및 종창이 나타나는 개체가 발생되기 시작하여, 15일에는 모든 개체에서 후지의 발적 및 종창이 관찰되었다. 20일에는 후지의 발적 및 종창의 정도가 더욱 더 심하게 관찰되었다. 대조군 10예 중 2예에서만 편측성으로 염증이 발생되었고, 나머지 8예 모두에서 양측성으로 염증이 발생되어 100%의 관절염 발생율을 나타내었다.

실험군에서는 FCA 주입 후 10일부터 후지의 발적 및 종창이 1예에서 발생되었으며, 15일에는 3예에서, 20일에는 5예에서 관절염의 육안소견이 확인되어 50%의 관절염 발생율을 나타내었다. 실험 20일에 관절염이 발생된 5예 중 2예는 편측성으로 염증이 국한되었고, 3예는 양측성으로 발생되었다. 양측성으로 관절염이 발생된 개체의 발적 및 종창의 정도도 대조군에 비해서 현저히 완화되었다.

2. 관절염 지수의 변화

대조군에서는 FCA 주입 후 10일부터 관절염 지수가 급격히 상승되었으나, 실험군에서는 관절염 지수가 15일부터 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었다 (Fig. 1).

Fig.1. Arthritic score of control and sample group

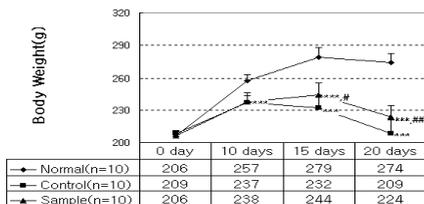


Control : Freund's complete adjuvant injected and distilled water treated group
 Sample : Freund's complete adjuvant injected and *Kagammokbanggi-Tang* treated group
 # : Statistically significant compared with control group(#,p<0.05)

3. 체중의 변화

정상군의 체중은 실험 15일까지 급격히 증가되다가 실험 20일에는 다소 감소되었다. 대조군 및 실험군의 체중은 정상군에 비해서 실험 10일부터 전 실험기간 동안 유의성 있게 감소되었다. 대조군은 10일 이후부터 체중의 감소가 진행되었으나, 실험군은 10일부터 15일까지 일정한 상태를 보이다가 그 후로 체중의 감소가 진행되었다. 실험군의 체중은 실험 15일부터 대조군에 비해서 유의성 있게 증가되었다 (Fig. 2).

Fig. 2. Effect of *Kagammokbanggi-Tang* on the body weight in adjuvant-induced arthritic rats

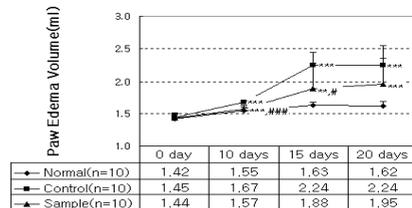


Normal : Light mineral oil injected and distilled water treated group
 Control : Freund's complete adjuvant injected and distilled water treated group
 Sample : Freund's complete adjuvant injected and *Kagammokbanggi-Tang* treated group
 * : Statistically significant compared with normal group(***,p<0.001)
 # : Statistically significant compared with control group(#,p<0.05, ##,p<0.01)

4. 족부종의 변화

대조군 및 실험군의 족부종은 전 실험기간 동안 정상군에 비해서 현저히 증가되었다. 대조군의 족부종은 실험 0일부터 10일까지는 완만히 증가되다가 15일까지는 급격히 증가되고 이후에는 일정한 수준을 유지하였다. 실험군에서도 족부종이 증가되는 추세는 대조군과 유사하였으나 실험 10 및 15일에 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다. 실험 20일에는 대조군에 비해서 실험군의 족부종이 감소되었으나, 통계학적 유의성은 인정되지 않았다 (Fig. 3).

Fig. 3. Effect of *Kagammokbanggi-Tang* on the paw edema volume in adjuvant-induced arthritic rats



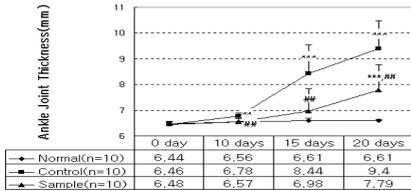
Normal : Light mineral oil injected and distilled water treated group
 Control : Freund's complete adjuvant injected and distilled water treated group
 Sample : Freund's complete adjuvant injected and *Kagammokbanggi-Tang* treated group
 * : Statistically significant compared with normal group(**,p<0.01, ***,p<0.001)
 # : Statistically significant compared with control group(#,p<0.05, ###,p<0.001)

5. 족근관절 두께의 변화

대조군 및 실험군의 족근관절 두께는 전 실험기간 동안 정상군에 비해서 현저히 증가되어 있었다. 대조군의 족근관절 두께는 실험 0일부터 10일까지 완만하게 증가되다가 그 후에 급격히 증가되었으며 전 실험기간 동안 정상군에 비해서 유의성 있게 증가되었다. 실험군은 실험 20일에서만 정상군에 비해서 유의성 있게 증가되었으며,

대조군에 비해서 실험 10일, 15일 및 20일 모두 유의성 있게 감소되었다(Fig. 4).

Fig.4. Effect of *Kagammokbanggi-Tang* on the ankle joint thickness of adjuvant-induced arthritic rats

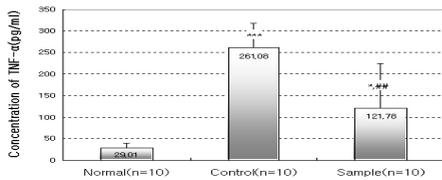


Normal : Light mineral oil injected and distilled water treated group
 Control : Freund's complete adjuvant injected and distilled water treated group
 Sample : Freund's complete adjuvant injected and *Kagammokbanggi-Tang* treated group
 * : Statistically significant compared with normal group (**,p<0.01, ***,p<0.001)
 # : Statistically significant compared with control group(##,p<0.01)

6. Tumor necrosis factor- α 함량의 변화

실험 20일에 측정된 족부 삼출물내 TNF- α 함량은 대조군 및 실험군 모두 정상군에 비해서 유의성 있게 증가되었다. 실험군의 TNF- α 함량은 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다 (Fig. 5).

Fig. 5. Effect of *Kagammokbanggi-Tang* on the Tumor necrosis factor- α in paw exudate of adjuvant-induced arthritic rats

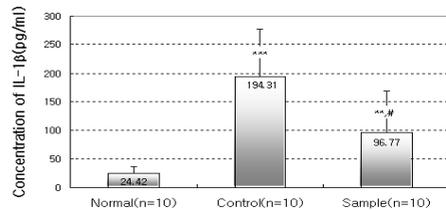


Normal : Light mineral oil injected and distilled water treated group
 Control : Freund's complete adjuvant injected and distilled water treated group
 Sample : Freund's complete adjuvant injected and *Kagammokbanggi-Tang* treated group
 * : Statistically significant compared with normal group (*,p<0.05, ***,p<0.001)
 # : Statistically significant compared with control group(##,p<0.01)

7. Interleukin-1 β 함량의 변화

실험 20일에 측정된 족부 삼출물내 IL-1 β 함량은 대조군 및 실험군 모두 정상군에 비해서 유의성 있게 증가되었다. 실험군의 IL-1 β 함량은 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다(Fig. 6).

Fig. 6. Effect of *Kagammokbanggi-Tang* on the Interleukin-1 β in paw exudate of adjuvant-induced arthritic rats

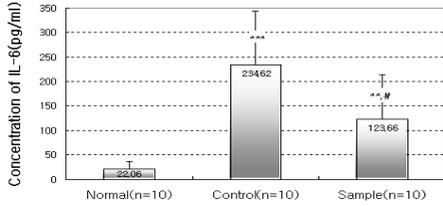


Normal : Light mineral oil injected and distilled water treated group
 Control : Freund's complete adjuvant injected and distilled water treated group
 Sample : Freund's complete adjuvant injected and *Kagammokbanggi-Tang* treated group
 * : Statistically significant compared with normal group (**,p<0.01, ***,p<0.001)
 # : Statistically significant compared with control group(#,p<0.05)

8. Interleukin-6 함량의 변화

실험 20일에 측정된 족부 삼출물내 IL-6 함량은 대조군 및 실험군 모두 정상군에 비해서 유의성 있게 증가되었다. 실험군의 IL-6 함량은 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다(Fig. 7).

Fig. 7. Effect of *Kagammokbanggi-Tang* on the Interleukin-6 in paw exudate of adjuvant-induced arthritic rats

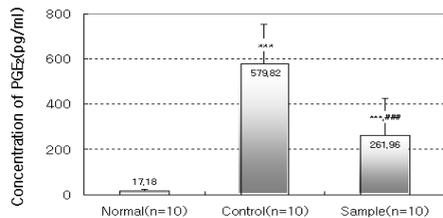


Normal : Light mineral oil injected and distilled water treated group
 Control : Freund's complete adjuvant injected and distilled water treated group
 Sample : Freund's complete adjuvant injected and *Kagammokbanggi-Tang* treated group
 * : Statistically significant compared with normal group (**, p < 0.01, ***, p < 0.001)
 # : Statistically significant compared with control group (#, p < 0.05)

9. Prostaglandin E₂ 함량의 변화

실험 20일에 측정된 족부 삼출물내 PGE₂ 함량은 대조군 및 실험군 모두 정상군에 비해서 유의성 있게 증가되었다. 실험군의 PGE₂ 함량은 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다(Fig. 8).

Fig. 8. Effect of *Kagammokbanggi-Tang* on the Prostaglandin E₂ in paw exudate of adjuvant-induced arthritic rats



Normal : Light mineral oil injected and distilled water treated group
 Control : Freund's complete adjuvant injected and distilled water treated group
 Sample : Freund's complete adjuvant injected and *Kagammokbanggi-Tang* treated group
 * : Statistically significant compared with normal group (***, p < 0.001)
 # : Statistically significant compared with control group (###, p < 0.001)

10. 병리조직학적 소견

정상군의 모든 개체의 족근관절은 정상적인 구조를 취하고 있었다. 활막상피세포는 단층으로 일정하게 배열되어 있었으며, 각 관절연골의 표면은 매끈하며 관절강이 충분히 확장되어 있었다.

대조군의 8예 모두에서 증식성 화농성 활막염이 주된 병변으로 관찰되었다. 모든 관절 활막은 활막상피세포의 증식과 함께 상피하조직에 많은 염증세포의 침윤이 확인되었고 부위에 따라서는 상피하조직이 붕괴되어 낭을 형성하기도 하였다. 침윤된 염증세포는 호중구가 대부분을 이루고 있었으며 대식세포 및 림프구도 상당수 침윤되어 있었다. 증식성 활막염의 소견과 함께 활막에서 증식되어 관절강내로 침윤 성장되는 섬유성 pannus가 형성된 경우는 7예에서 관찰되었다. 그러나 pannus의 형성으로 인한 두 관절연골간의 섬유성 유착은 관찰되지 않았다. 대조군 8예 중 6예에서는 골외막의 골손상에 따른 반응성 증식성 변화로 신생골조직이 증식되어 있었으며, 2예에서는 그 정도가 현저하여 치밀골의 두께와 유사한 정도로 두터워져 있었다. 대조군 8예 모두에서 다양한 정도의 관절연골의 변성 및 괴사가 확인되었으며, 8예 중 4예에서는 대부분의 관절연골이 손상되어 있었고, 관절하 골조직의 괴사도 현저히 진행되어 있었다. 관절하 골조직이 괴사된 예에서는 많은 수의 파골세포의 증식 및 활성을 관찰할 수 있었으며 신생육아조직의 증식이 두드러지게 관찰되었다.

실험군에서는 8예 중 4예에서만 증식성 화농성 활막염이 관찰되었으며, 4예의 활막은 가벼운 충혈정도만이 관찰되었을 뿐 정상적인 소견을 나타내었다. 활막염이 관찰된 예에서도 염증세포의 침윤정도는 대조군에 비해서 현저히 완화되어 있었다. 섬유성 pannus는 2예에서만 관찰되었고, 관

절연골 및 연골하 골조직의 파괴가 동반된 예도 2예에서만 관찰되었다.

대조군 및 실험군에서 병리조직학적으로 관찰된 활막세포의 증식, 활액막하 염증, pannus의 형성, 골막반응, 연골하 골조직의 파괴, 파골세포의 증식 등의 관찰 결과를 아래에 요약하였다 (Table 2).

Table 2. Histopathological Changes of Tibiotarsal Joints in Adjuvant-Induced Arthritic Rats at 20 Days after Adjuvant Injection

Group	Identification Number	Hyperplasia of Synoviocytes	Subsynovial Inflammation	Pannus Formation
Control	C1	+++	+++	++
	C2	+++	++	+
	C3	++	++	++
	C4	++	+	+
	C5	++	++	+
	C6	++	+	+
	C7	+	+	+
	C8	+	+	-
Sample	T1	+++	++	++
	T2	++	+	+
	T3	++	+	-
	T4	+	+	-
	T5	-	+	-
	T6	-	-	-
	T7	-	-	-
	T8	-	-	-

Group	Identification Number	Periosteal Reaction	Destruction of Cartilage and Subchondral Bony tissue	Proliferation of Osteoclasts
Control	C1	+++	+++	+++
	C2	+++	+++	++
	C3	+++	+++	++
	C4	+	++	+
	C5	-	+	+
	C6	++	+	+
	C7	-	+	+
	C8	+	+	-
Sample	T1	+++	++	++
	T2	++	++	+
	T3	+	-	+
	T4	+	-	+
	T5	+	-	-
	T6	-	-	-
	T7	-	-	-
	T8	-	-	-

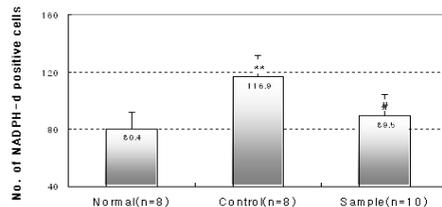
+ : mild, ++ : moderate, +++ : severe, - : no lesion
 Control : Freund's complete adjuvant injected and distilled water treated group
 Sample : Freund's complete adjuvant injected and *Kagammokbanggi-Tang* treated group

11. NADPH-diaphorase 양성 신경세포의 변화

NADPH-d 양성 반응은 PAG의 후외측부 (DLPAG) 및 외측부(LPAG)에서 신경세포체 및 신경돌기에 진한 청색으로 염색되었다.

정상군에서는 신경세포체에 양성반응이 나타났으나, 신경돌기에는 매우 드물게 나타났다. 대조군에서는 신경세포체와 신경돌기 모두 강한 양성 반응이 나타났으며, 양성 반응이 나타난 신경세포의 수도 증가되었다. 실험군에서의 염색 양상은 정상군에서와 유사한 정도였다. 대조군의 NADPH-d 양성 신경세포수는 정상군에 비해서 유의성 있게 증가되었고, 실험군은 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다(Fig. 9).

Fig. 9. Effect of *Kagammokbanggi-Tang* on the number of NADPH-d positive neurons in periaqueductal grey matter of adjuvant-induced arthritic rats



Normal : Light mineral oil injected and distilled water treated group
 Control : Freund's complete adjuvant injected and distilled water treated group
 Sample : Freund's complete adjuvant injected and *Kagammokbanggi-Tang* treated group
 * : Statistically significant compared with normal group (**;p<0.01)
 # : Statistically significant compared with control group (#;p<0.05)

IV. 고찰

류마티오이드 관절염은 자가면역질환의 일종으로 활액막의 만성적 비대 및 염증반응을 유발시켜

관절 연골과 그 주위 조직을 파괴하는 질환이며 주로 다발성 관절염을 일으킨다. 초기에는 관절의 부종과 통증을 초래하나 진행됨에 따라 특징적인 관절변형 및 강직이 나타난다²⁸⁾.

이 질환의 정확한 원인은 아직 밝혀지지 않았지만, 자가면역 과정에서 유발되는 관절강내 구성 성분의 변화는 활액내의 type II collagen의 증가²⁹⁾, proteoglycan의 감소³⁰⁾, heat shock protein의 증가²⁾, PGE₂의 증가^{31,32)} 등이며, 여기에는 IL-1³⁰⁾, IL-6³³⁾, TNF- α ³⁴⁾ 등의 proinflammatory cytokine 이 관여하여 관절 손상을 유도하는 것으로 알려져 있다.

최근 연구에 의하면 NO가 연골 proteoglycan의 합성을 방해하고 복잡한 과정을 거쳐 염증반응에 관여하며, 류마토이드 관절염을 앓고 있는 환자의 활액내에서 NO가 증가되는 것으로 나타나 NO가 류마토이드 관절염의 진행에 관여하는 것으로 알려져 있다⁹⁻¹¹⁾.

치료법으로는 살리실산염, NSAIDs, 부신피질호르몬 등의 약물이 사용되고 있으나 장기간 계속되는 질환의 産物 등을 유의미하게 개선시키지는 못하며, 장기간 사용시 순환계와 위장관계 및 신장계에 심각한 부작용을 초래할 수도 있어 보다 안정적이고 효과적인 치료제의 개발이 필요한 실정이다^{35,36)}.

류마토이드 관절염은 한의학에서 痛風, 歷節風, 鶴膝風, 白虎風 등으로 표현되어 주로 痺證의 범주에 속하며, 素體虛弱, 正氣不足, 氣血虛弱, 陽氣不足, 營衛氣虛, 陰陽不足, 腎虛, 血虛 및 肝腎不足 등으로 인하여 風寒濕邪 등이 侵襲함으로써 內因과 外因이 相合하여 經絡에 壅滯되고, 筋脈, 肌肉, 筋骨에 侵襲하여 氣血凝滯 및 氣血運行을 不暢하게 하여 筋脈과 關節의 腫脹, 畸形 및 屈伸不利를 일으키는 것이라 하였다³⁷⁻⁴⁰⁾.

加減木防己湯은 清代의 吳瑭이 지은 《溫病條辨》²⁶⁾에서 暑濕痺證의 主藥으로 언급된 처방으로, 처방 구성은 祛風除濕, 利水消腫, 行氣止痛하는 防己⁴¹⁾, 發汗解肌, 溫經通脈, 助陽化氣하는 桂枝⁴¹⁾, 解肌清熱, 除煩止渴하는 石膏⁴¹⁾, 降氣止咳平喘, 潤腸通便하는 杏仁⁴¹⁾, 利水通淋, 清熱解暑, 祛濕斂瘡하는 滑石⁴¹⁾, 利水清熱하는 白通草⁴¹⁾, 健脾滲濕, 除痺止瀉, 清熱排膿하는 薏苡仁⁴¹⁾으로 이루어져 있다.

류마토이드 관절염의 병태모델로서는 collagen 유발 관절염, adjuvant 유발 관절염, aviridine 유발 관절염, pristance 유발 관절염 및 oil 유발 관절염 등 많은 방법이 알려져 있는데^{42,43)}, 그 중 adjuvant 유발 관절염은 1956년 Pearson⁴⁴⁾에 의해 최초로 언급된 실험적 질환으로⁴⁵⁾ 비장과 부신의 종대, 체중감소, 다발성관절염, 백혈구 증가 등이 나타나 그 임상경과가 인체의 류마토이드 관절염과 매우 유사하여 관절염의 연구와 항염제의 연구개발에 유용하게 사용되는 실험 모델이다⁴⁶⁾.

한의학에서 adjuvant 유발 관절염에 대하여 약침⁴⁷⁻⁵²⁾ 및 한약투여^{16-18,53-57)} 등을 통한 연구가 시행되어져 왔으나 暑濕痺證에 활용되는 加減木防己湯을 이용한 연구는 없었다.

이에 저자는 加減木防己湯이 류마토이드 관절염에 미치는 치료효과를 규명하기 위해 FCA를 흰쥐에게 투여하여 adjuvant 관절염을 유발한 후 증류수를 20일간 경구투여한 대조군과 加減木防己湯을 20일간 경구투여한 실험군으로 분류하여 형태계측학적 검사, 족부 삼출물내 염증 매개인자 함량검사, 병리조직학적 검사 및 PAG의 NADPH-diaphorase 양성 신경세포를 측정하였다.

류마토이드 관절염은 형태계측학적으로 관절부종, 변형, 체중감소 등의 증상이 나타날 수 있으며⁵⁸⁾, 본 연구에서 대조군에서는 실험 15일에 모든 개

체에서 후지의 발적 및 종창이 관찰되었으며, 그 중 80%는 양측성으로 나타난 반면, 加減木防己湯을 투여한 실험군에서는 실험 15일에 3예, 20일에 5예로 50%의 관절염 발생율을 나타내었다. 양측성으로 나타난 경우도 3예로 대조군에 비해 관절염 발생 정도가 적었다. 또한 관절염 지수도 실험군의 경우 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었다.

대조군 및 실험군 모두 실험 10일부터 정상군에 비해 체중이 유의성 있게 감소되었으나 실험군의 경우 실험 15일부터 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 보였다.

족부종 및 족근관절의 두께를 측정한 결과 대조군 및 실험군 모두 정상군에 비해 현저히 증가되었으나 실험 10일 및 15일에 실험군의 족부종은 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었으며, 족근관절 두께의 경우 실험군은 대조군에 비해 실험 10일, 15일 및 20일에 측정한 결과 모두 유의성 있게 감소되었다.

이상의 형태계측학적 소견에서 加減木防己湯은 관절염의 발생억제 및 진행속도를 저하시키는 효과가 있는 것으로 관찰되었다.

류마토이드 관절염은 관절 활막에 염증을 나타내는 만성 염증성 질환으로 활막에는 혈관신생, 백혈구침윤, 활막세포의 증식이 나타나며 이와 관련된 cytokine으로서 IL-1 β , TNF- α 가 중요한 역할을 담당하고 있다⁵⁹. IL-1 β 는 감염이나 염증 및 면역반응을 유발하는 초기 급성 반응의 중요한 매개물질로서⁶⁰, leukocyte의 증식, 세포기질인 proteoglycan의 분해 및 prostaglandin의 합성을 촉진하는 것으로 나타났다⁶¹. TNF- α 는 골흡수를 촉진시키는 cytokine으로 알려져 있고 주로 단핵구와 대식구에 의하여 생성되며, 염증과정에 주로 관여하여 혈관 내피세포를 자극하여 IL-1의 분비

를 유도하며 백혈구의 유착을 증가시킨다⁶².

IL-1 β 와 TNF- α 는 IL-6의 생산 및 분비를 유도하는데, IL-6은 PGE₂ 및 collagenase의 생산을 촉진시키며 IL-1 β 과 TNF- α 의 효과를 증대시킨다⁶³. 류마토이드 관절염 환자의 혈청에서 IL-1 β , TNF- α , IL-6가 골관절염과 같은 다른 형태의 관절염 환자의 혈청에 비해 3~5 배 높은 수치를 보이는 것으로 알려져 있어⁶⁴, 류마토이드 관절염의 연구에서 이들의 측정은 중요하다.

본 연구에서 실험 20일에 측정된 족부 삼출물 내 TNF- α , IL-1 β , IL-6의 함량은 실험군의 경우 대조군에 비해서 모두 유의성있게 감소되어 加減木防己湯이 관절염의 진행에서 TNF- α , IL-1 β , IL-6의 발현을 억제하는 효과가 있음을 확인하였다.

PGE₂는 화학적, 물리적 또는 IL-1 β 등의 여러 종류의 cytokine 작용으로 인지질효소가 활성화되면 세포막 인지질이 arachidonic acid로 분해되고 arachidonic acid가 cyclooxygenase의 작용으로 분해되어 생성되는 세포막 인지질의 최종 대사산물이다⁶⁵. PGE₂는 과골세포를 활성화시키는 생리적 골흡수 유도체로서 염증반응시 많은 염증세포들로부터 분비되어 혈관확장, 발열 및 통증을 유발하는 중요 인자로 류마토이드 관절염에서 증가되는 것으로 알려져 있다^{65,66}.

본 연구에서 실험 20일에 측정된 PGE₂의 함량은 대조군이 정상군에 비해 약 34배 가량 증가되었으나, 실험군은 약 15배 가량 증가되어 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었다. 이를 통해 加減木防己湯이 PGE₂ 생산을 억제하는 것을 알 수 있었다.

병리조직학적 관찰에서 대조군의 8예 모두 증식성 화농성 활막염이 주된 병변으로 관찰되었다. 모든 관절 활막은 활막상피세포의 증식과 함께

상피하조직에 많은 염증세포의 침윤이 관찰되었으며, 활막에서 증식되어 관절강내로 침윤 성장하는 섬유성 pannus가 형성된 경우는 7예에서 관찰되었다. 대조군 8예 중 6예에서 골외막의 골손상에 따른 반응성 증식성 변화로 신생골조직이 증식되었으며, 그 중 4예에서는 대부분의 관절연골이 손상되어 있었고 관절하 골조직의 괴사도 현저히 진행되어 있었다.

실험군에서는 8예 중 4예에서만 증식성 화농성 활막염이 관찰되었으나 염증세포의 침윤정도는 대조군에 비해 현저히 낮았으며, 섬유성 pannus의 형성은 2예에서만 관찰되어 병리조직학적 관찰에서도 加減木防己湯이 관절염의 발병을 억제하고 진행을 완화하는데 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

NO는 L-arginine의 guanidino nitrogen이 NOS에 의해 산화되어 생성되는데 면역계에서 주로 방어물질로 작용하여 항암 및 항미생물 작용을 하는 것으로 알려져 있다. 면역계에서 cytokine의 영향을 받아 면역효과세포가 많은 양의 NO를 생성할 수 있게 유도되면 NO가 면역염증부위에 유리되어 Fe-S를 함유하는 효소의 작용을 억제시키거나 DNA에 손상을 미쳐 세포의 성장을 저해시키거나 치사시키는 작용이 있다. 따라서 많은 양의 NO는 면역염증 반응시 조직의 손상을 야기시킬 뿐만 아니라 주위의 정상 조직까지 손상을 초래할 수 있다⁶⁷⁾.

NOS는 항상 존재하는가 혹은 어떤 물질에 의해 유도되는가에 따라 구성효소 형태인 cNOS와 유도효소 형태인 iNOS로 나뉘며, 최근 연구결과에 따르면 IL-1 β , TNF- α 에 의해 관절 연골세포 및 활막세포에서 iNOS가 유도되고 이로 인해 NO가 생성된다고 하였다⁶⁸⁾.

NO에 관한 연구는 NO의 작용시간이 매우 짧기

때문에 주로 NOS나 그 안정화된 부산물인 nitrite 혹은 nitrate를 대상으로 이루어지고 있다. 즉 조직이나 세포에서 NOS의 발현 유무를 보아 간접적으로 NO의 생성을 알아낼 수 있는 것이다⁶⁸⁾.

NOS를 관찰하는 방법으로 NADPH-d 조직화학을 사용하는데 이 방법은 NOS가 nitroblue tetrazolium(NBT)을 물에 녹지 않는 NBT formazan으로 환원시키는 NADPH-d 활성작용이 있다는 원리를 이용한 방법이다. 이 작용에는 NADPH가 필요하며 NOS는 NADPH를 전자 공여자로 필요로 하며 NOS의 효소활성은 NADPH-d 활성도와 비례한다고 알려져 있다⁶⁹⁾.

본 연구에서는 흰쥐의 뇌를 적출하여 PAG 부위를 선택하여 NADPH-d 조직화학염색을 실시하여 PAG에서 NADPH-d에 양성으로 염색된 신경세포를 측정하였다. NADPH-d 양성 반응은 PAG의 후외측부(DLPAG) 및 외측부(LPAG)의 신경세포에서 발현되었으며 신경세포체 및 신경돌기에 진한 청색으로 염색되었다.

정상군에서는 신경세포체에 양성반응이 나타났으나 신경돌기에는 매우 드물었으며 대조군에서는 신경세포체와 신경돌기 모두 강한 양성 반응이 나타났으며 양성반응이 나타난 신경세포의 수는 정상군보다 약 1.5배 가량 많아 정상군에 비해 유의성 있게 증가되었다. 加減木防己湯을 투여한 실험군의 경우 염색 양상은 정상군과 유사한 정도로 대조군에 비해서 NADPH-d 양성 세포수는 유의성 있게 감소하였다.

이상의 내용으로 살펴보면 加減木防己湯이 adjuvant 유발 관절염의 발생을 감소시키고 증상을 완화시키며 병변의 진행 및 NOS의 발현을 억제하는데 효과가 있음을 알 수 있다. 하지만 실험에 사용된 쥐는 생리적 특성, 체중, 평균수명, 병의 진행과정 등이 사람과는 차이가 있으며⁷⁰⁾, 류

마토이드 관절염은 증식성 활막염으로 시작되는⁵⁸⁾ 반면 adjuvant 유발 관절염은 골외막염 및 화농성 활막염으로 시발되는⁴³⁾ 병리발생의 차이가 있다. 또한 사람의 류마토이드 관절염과는 달리 adjuvant 유발 관절염의 경우 그 과정이 수 주 내로 매우 신속하게 진행된다는 차이가 있다.

따라서 앞으로 加減木防己湯에 대한 투여시기, 투여용량, 투여방법, 투여기간 및 실험대상 등 다각적인 연구가 이루어져 향후 임상에서 류마토이드 관절염의 치료제로서 加減木防己湯이 널리 활용되길 기대한다.

- 실험 20일에 병리조직학적으로 관찰된 화농성 활막염 및 관절의 파괴성 병변은 실험군이 대조군보다 완화되어 있었다.

- 실험 20일의 PAG 에서의 NADPH-d 양성 신경세포 수는 실험군이 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다.

이상의 성적을 종합한 결과, 加減木防己湯은 FCA 유발 관절염의 발생을 억제하고 진행을 완화시키며 NOS의 발현을 억제하는 효과가 있음을 알 수 있었다.

V. 결 론

加減木防己湯이 adjuvant 유발 관절염 및 NOS의 발현에 미치는 영향을 알아보기로 한 쥐를 모델로 형태계측학적 검사, 족부 삼출물내 염증 매개인자 함량 검사, PAG에서의 NADPH-d 조직화학적검사 및 족관절의 병리조직학적 검사를 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- FCA 주입 20일 후 실험군의 관절염 발생율은 대조군에 비해 현저하게 감소되었다.
- 관절염 지수는 실험 15일과 20일에 실험군이 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다.
- 체중은 실험 15일과 20일에 실험군이 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다.
- 족부종은 실험 10일과 15일에 실험군이 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다.
- 족관절두께는 실험 10일, 15일, 20일에 실험군이 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다.
- 실험 20일의 족부 삼출물내 TNF- α , IL-1 β , IL-6, PGE₂ 함량은 실험군이 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다.

참고문헌

1. Harris ED Jr. Rheumatoid arthritis; Pathophysiology and implication for therapy. N. Engl. J. Med. 1990;1277-89.
2. 해리슨 번역 편찬위원회. 해리슨 내과학. 서울: 도서출판정담. 1997:1779-85.
3. 전국의과대학교수 역. 오늘의 진단 및 치료. 서울:한우리. 1999:892-9.
4. 서울대학교 의과대학 내과학교실. 내과학. 서울:군자출판사. 1996:1243-87.
5. 김동집, 박동준. 류마티스 關節炎의 병인. 대한 류마티스학회지. 1994;1(1):1-12.
6. 大韓病理學會. 病理學. 서울:高文社. 1990: 1166-70.
7. 박경아, 이원택, 박미경, 이종은. 조직학. 서울: 고려의학. 1992:127.
8. 김노경. 내과학. 서울:고려의학. 1998:877-8, 884.
9. Stefanovic-Racic M. Nitric Oxide and Arthritis. Arthritis and Rheumatism. 1993; 36(8):1036-45.
10. Evans CH, Stefanovic-Racic M, Lancaster JR.

- Nitric Oxide and Its Role in Orthopaedic Disease. Clin Orthop. 1995;312:275-296.
11. Evans CH. Nitric Oxide in Arthritis. Methods. 1996;10(1):38-42.
 12. 權宰植. 痺證. 서울:鼎談. 1993:207-8.
 13. 구민숙. 柴胡藥鍼이 생쥐의 Adjuvant 誘發 關節炎에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2002; 19(3):51-63.
 14. 諸正鎭. 血府逐瘀湯이 Adjuvant 誘發 關節炎에 미치는 影響. 경희대학교대학원. 1993.
 15. 李世鉉. 行濕流氣散이 Adjuvant 關節炎에 미치는 影響. 대전대학교대학원. 1992.
 16. 申剛雨. 三氣飲과 三氣飲去附子が Adjuvant 關節炎에 미치는 實驗的 比較 研究. 대전대학교대학원. 1995.
 17. 金在柱. CFA(Complete Freund's Adjuvant)에 의해 유발된 關節炎 白鼠모델에 있어서 大防風湯의 鎮痛效果. 圓光大學校 韓醫學專門大學院. 2001.
 18. 金吟勳. 류마티스樣 關節炎에 應用되는 防己의 效能에 관한 實驗的 研究. 慶熙大學校大學院. 1987.
 19. 李鍾秀. 實驗的 關節炎에 節食療法 및 魚腥草 投與가 미치는 影響에 관한 研究. 慶熙大學校大學院. 1998.
 20. 李敏湜. 防風湯이 Adjuvant 誘發 關節炎에 미치는 影響. 東醫物理療法科學會誌. 1994;4(1): 135-46.
 21. 趙允亨. 天授根이 Adjuvant 유발 관절염에 미치는 영향. 한방재활의학과학회지. 2002;12(2): 175-86.
 22. 서해경. 獨活寄生湯加猫脛骨이 Adjuvant 관절염에 미치는 영향. 한방재활의학과학회지. 2001;11(2):111-24.
 23. 서윤정. CFA(Complete Freund's Adjuvant)에 의해 유발된 關節炎 白鼠모델에 있어서 大羌活湯의 鎮痛效果. 圓光大學校 韓醫學專門大學院. 2003.
 24. 권순정. 活絡湯이 Adjuvant 誘發 關節炎의 浮腫 및 血液에 미치는 影響. 경원대학교대학원. 2002.
 25. 김기영. 羌活除痛飲 및 羌活除痛飲加紅花子が Adjuvant 關節炎에 미치는 影響. 동신대학교대학원. 2000.
 26. 吳 瑭. 溫病條辨. 北京:中國書店. 1994:125-6.
 27. Paxinos G. and Watson C. The Rat Brain in stereotaxic coordinates. 4th ed. California: Academic Press. 1998:48-53.
 28. James B. Wyngaarden. Cecil Textbook of Medicine. Philadelphia:WA Saunders company. 1992:1508-15.
 29. Klareskog L, Johnell O, Hulth A, et al. Reactivity of monoclonal anti-type II collagen antibodies with cartilage and synovial tissue in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. Arthritis and Rheumatism. 1986;29(6):730-8.
 30. Mc. Donnell J, Hoerrner LA, Lark MW, et al. Recombinant human interleukin-1 β induced increase in levels of proteoglycans, stromelysin, and leukocytes in rabbit synovial fluid. Arthritis and Rheumatism. 1992;35:799-805.
 31. Hart PH, Vitti GF, Burgess DR, et al. Potential antiinflammatory effects of interleukin 4 : Suppression of human monocyte tumor necrosis factor α , interleukin 1, and prostaglandin E $_2$. Medical

- Science. 1989;86:3803-7.
32. Angel J, Colard O, Chevy F, Fournier C. Interleukin-1 mediated phospholipid breakdown and arachidonic acid release in human synovial cells. *Arthritis and Rheumatism*. 1993;36(2):158-167.
33. Houssiau FA, Devogelaer JP, Damme JV, et al. Interleukin-6 in synovial fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory arthritis. *Arthritis and Rheumatism*. 1988;31(6):784-8.
34. Manicout DH, Triki, Fukuda K, Devogelaer JP, et al. Levels of circulating tumor necrosis factor α and interleukin-6 in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism*. 1993;36(4):490-9.
35. 김성윤. 류머티스 관절염의 진단과 치료. 가정 의학회지. 1993;15(1):51-7.
36. 金種云. 藥物療法. 서울:서울대학교 출판사. 1992:305-11.
37. 周命新. 醫門寶鑑. 서울:一中社. 1990:224-5.
38. 喻昌. 醫門法律. 上海:上海科學技術出版社. 1992:117.
39. 婁多峰. 痺證治驗. 河南:河南科學技術出版社. 1983:1.
40. 葉橘泉. 現代實用中藥. 香港:醫林書局. 1957: 276-7.
41. 全國韓醫科大學 本草學教授 共編著. 本草學. 圖書出版 永林社:서울. 1995:263-4, 124-5, 160-1, 478-9, 316-7, 317-8, 306-7.
42. Socoloff L. Animal models of rheumatoid arthritis. *Int Rev Exp Pathol*. 1984;26:107-45.
43. Bendele A, McComb J, Gould T, Sennello G, Chlipala E, Guy M. Animal models of arthritis: Relevance to human disease. 1999;27:134-42.
44. Pearson CM. Development of arthritis, peri-arthritis and periostitis in rats given adjuvant. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1956;91:95-100.
45. 孫東佑. 趁痛散이 흰쥐의 adjuvant 유발 관절염 및 척수내 c-fos 발현에 미치는 영향. 세명대학교대학원. 2004.
46. 長紹元. 生藥에 의한 Adjuvant 關節炎의 抑制. 生藥學會誌. 1982;36, 78-81.
47. 金正坤. 鍼灸 및 秦芫 水鍼이 흰쥐의 Adjuvant 關節炎에 미치는 影響. 慶熙大學校 大學院. 1989.
48. 羅昌洙. 艾灸와 麝香牛黃熊膽 藥鍼이 Adjuvant 關節炎에 미치는 影響. 慶熙大學校 大學院. 1994.
49. 朴吉炳. 濃度別 蜂毒 藥鍼이 白鼠의 Adjuvant 關節炎 및 血清學的 變化에 미치는 影響. 大田大學校大學院. 1996.
50. 俞元根. 濃度別 紅花 水鍼이 흰쥐의 Adjuvant 誘發 關節炎에 미치는 影響. 東國大學校大學院. 1997.
51. 金泳兌. 天授根 藥鍼이 Adjuvant 誘發 關節炎에 미치는 影響. 慶熙大學校大學院. 2001.
52. 金容湜. 玄胡索·赤芍藥·紅花 混合藥鍼이 Adjuvant 關節炎에 미치는 影響. 暎園大學校 大學院. 2001.
53. 權垞. 木瓜의 Adjuvant 關節炎에 대한 實驗的 研究. 尙志大學校大學院. 2002.
54. 申智元. 鹿角의 Adjuvant 關節炎에 대한 實驗的 研究. 尙志大學校大學院. 2002.
55. 金荀中. Adjuvant 關節炎에 疏經活血湯合黃連解毒湯이 미치는 實驗的 研究. 大田大學校大

- 學院. 1992.
56. 金在柱. CFA(Complete Freund's Adjuvant)에 의해 유발된 關節炎 白鼠 모델에 있어서 大防風湯의 鎮痛效果. 圓光大學校 韓醫學專門大學院. 2001.
57. 金吟勳. 류마티스樣 關節炎에 應用되는 防己의 效能에 관한 實驗的 研究. 慶熙大學校大學院. 1987.
58. Lee DM. Rheumatoid arthritis. Lancet. 2001;358(15):903-11.
59. Arend WP and Dayer JM. Cytokines and cytokine inhibitors or antagonists in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 1990;33:305-315.
60. Di Giovine FS, Duff GW. Interleukin 1: The first interleukin. Immunol. 1990;11:13-20.
61. 윤덕상. 마우스에서 IL-1 β 가 염증의 발현에 미치는 영향에 관한 연구. 대치교정지. 1998; 28(4):611-26.
62. Gamble JR, Harlan JM, Klebanoff SJ and Vadas MA. Stimulation of the adherence of neutrophils to umbilical vein endothelium by human recombinant tumor necrosis factor. Proc. Natl. Acad. Sci. 1985;82:8667-71.
63. 이정수. 전신성홍반성낭창과 류마티스양관절염에서의 IL-6의 의의. 이화의대지. 1999;22(2): 131-7.
64. Madhok R, Crilly A, Watson J. Serum interleukin-6 levels in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis. 1993;52:232-4.
65. 대한병리학회. 병리학. 서울:고문사. 2003:79, 80.
66. 김형룡, 강장숙. Cyclic AMP analog와 PGE₂가 마우스 조골세포의 활성화에 미치는 영향. The Journal of Wonkwang Biomaterial-Implant Research Institute. 1996;5(2):63-76.
67. 金貞娟, 宋勇善. 虎杖根에 의한 NO 生成抑制가 Adjuvant로 誘發된 關節炎에 미치는 影響. 韓方再活醫學會誌. 1997;7(1):46-63.
68. 권용화. 염증성 관절염에서 Nitric Oxide(NO)의 역할에 관한 연구. 한양대학교대학원. 1995.
69. 李政縣. 耳鍼刺戟이 絶食Stress로 인한 흰쥐의 大腦皮質 NADPH-diaphorase 神經細胞에 미치는 影響. 世明大學校大學院. 2001.
70. Durie FH, Fava RA, Noelle RJ. Short analytical review: Collagen-induced arthritis as a model of rheumatoid arthritis. Clin. Immunol. Immunopathol. 1994;73:11-8.