

牛膝藥鍼이 Rat의 Adjuvant 關節炎에 미치는 影響

張通榮* · 朴喜守*

ABSTRACT

Effects of Achyranthis Radix Herbal-Acupuncture on Adjuvant Arthritis in Rats

Tong-Young Chang*, Hee-Soo Park*

* Dept. of Acu. & Mox., College of Oriental Medicine, Sang Ji UNIV

To investigate effects of Achyranthis Radix herbal-acupuncture on adjuvant arthritis in rats, the edema rate, the number of WBC, the quantity of total protein, albumin and globuline in the blood serum and histological test of the muscular tissue were measured in the arthritis part.

1. After eliciting arthritis of Sprague dawley(SD) rats by injection of Freund's complete adjuvant for 2 weeks, normal saline was injected for the Exp.I group and Achyranthis Radix herbal-acupuncture was injected for the Exp.II group during 30days. Selected point was *Dúbí*(ST₃₅) in both the groups. And then the volume of the paw were checked. The volume of the paw was 0.84 ± 0.14 mm in the Exp.I group and 0.47 ± 0.11 mm in the Exp.II group, the swelling of the paw was restricted significantly in the Exp.II group($P < 0.05$).

* 尙志大學校 韓醫科大學 鍼灸科 教室

2. The number of WBC was $10.34 \pm 0.14(10^3/\text{ml})$ in the normal group and $37.47 \pm 5.46(10^3/\text{ml})$ in the Exp. I group. It was $21.24 \pm 2.58(10^3/\text{ml})$ in the Exp. II group. This fact showed that the group Exp. II with *Achyranthis Radix* herbal-acupuncture was more effective than the Exp. I group in the treatment of arthritis ($P < 0.05$).

3. The content of the total protein in the blood serum was $6.14 \pm 0.43\text{g/dl}$ in the normal group, $7.95 \pm 0.94\text{g/dl}$ in the Exp. I group, and $6.41 \pm 0.68\text{g/dl}$ in the Exp. II group. There was no significance in total protein between the Exp. II group and the Exp. I group from the statistical analysis.

4. The content of albumin in the blood serum was $2.94 \pm 0.13\text{g/dl}$ in the normal group, $2.01 \pm 0.48\text{g/dl}$ in **Chang Tong-young** the Exp. I group and $3.15 \pm 0.27\text{g/dl}$ in the Exp. II group. This fact showed that the Exp. II group had significant increase in the serum albumin from the statistical analysis compared with the Exp. I group.

5. The content of the globulin in the blood serum was $3.19 \pm 0.48\text{g/dl}$ in the normal group, $4.70 \pm 1.26\text{g/dl}$ in the Exp. I group and $3.26 \pm 0.57\text{g/dl}$ in the Exp. II group. There was no significance in the serum globulin between the Exp. II group and Exp. I group from the statistical analysis.

6. In histological finding, because of severe inflammatory reaction, remarkably irregular tissue and large amount of inflammatory cells were found in the Exp. I group. But the Exp. II group showed small amount of inflammatory cells, the refrained inflammatory state and even recovering state.

I. 緒 論

最近 診療機關에서 診療하는 모든 外來 患者의 10%以上이 筋骨格系의 症狀을 呼 訴하고 있으며,¹⁾ 全體 關節疾患中에서 Rheumatoid 關節炎은 原因 不明의 慢性 全身性 炎症性 疾患이며, 有病率은 人口의 0.3 - 2.1%程度로 退行性 關節疾患 다음으 로 흔하고, 全世界의 모든 種族에서 나타 날 수 있는데, 最近에는 遺傳的 要素가 많 이 作用하는 自家免疫疾患의 一種으로 생 각되고 있다.¹⁻³⁾

韓方에서 痺症은 邪氣가 軀體 혹은 內臟 의 經絡을 阻閉하므로 惹起되는 病症으로

通常 風, 寒, 濕 三種의 邪氣가 肌表 및 骨 節을 侵犯하여 關節疼痛, 酸澀, 腫脹, 硬直, 屈伸不利 등의 運動制限 및 感覺異常, 機能消失을 나타내는 疾患을 말하는데 Rheumatoid 關節炎, 退行性 關節炎(骨關節 炎), 痛風 등이 이에 該當된다고 볼 수 있 다.⁴⁻⁷⁾

Adjuvant 關節炎은 結核菌의 油性 懸濁 液을 接種하여 惹起시킨 慢性 多發性 關節 炎으로 急慢性 炎症에 의하여 局所의 關節 뿐만 아니라 肝臟 等 內臟의 諸臟器와 Lymphatic system 등에 障礙를 미쳐 全身 症狀이 發顯하게 되는, Rheumatoid 關節 炎과 매우 類似한 疾患이다.⁸⁾

現在까지 關節炎을 完治 또는 根絶시키는 劃期的인 治療法이 없는 實情에서^{9,10)} 各國의 醫學者들은 東洋醫學에 對하여 많은 觀心과 研究 努力을 기울이고 있으며, 最近에는 韓醫學의 治療法中 藥鍼療法이 關節炎 治療에 效果가 있음이 報告되고 있다. 특히 Adjuvant 關節炎에 對하여 康¹¹⁾은 草烏 水鍼이, 宋¹²⁾은 加味消風活血湯 水針이, 羅¹³⁾는 麝香 牛黃 熊膽 藥鍼이, 權¹⁴⁾은 熊膽·牛黃 藥鍼과 猪膽·牛黃 藥鍼이 有意할만한 效果가 있다고 報告하고 있으나 아직 牛膝藥鍼에 관한 報告는 接하지 못하였다.

牛膝은 活血祛瘀,¹⁵⁻²²⁾ 通利關節,^{15,23-26)} 補肝腎,^{18,25-30)} 強筋骨,^{18,25-29)} 腰膝關節疼痛,^{16,22,26,31-35)} 風寒濕痺^{22,26,32-35)} 등에 效能이 있으며 犢鼻穴(ST₃₅, 外膝眼)은 消腫止痛, 通經活血, 疏風散寒의 穴性³⁶⁻³⁸⁾이 있다. 이에 著者는 牛膝의 藥鍼液을 製造하여, Adjuvant 關節炎을 誘發시킨 Rat를 對象으로 人體 犢鼻穴(ST₃₅, 外膝眼)의 相應 部位에 施術한 後 各各 正常群, 關節炎 誘發 後 食鹽水藥鍼處理群(Exp. I), 關節炎 誘發 後 牛膝藥鍼處理群(Exp. II)으로 나누어 浮腫率 및 白血球數 測定, 血清學的 檢査, 組織學的 檢査를 施行하여 본 結果 有意性 있는 實驗 結果를 얻었기에 報告 하는 바이다.

II. 實驗 材料 및 方法

1. 材料

1) 動物

實驗에 使用된 動物은 (株)대한실험동물 센터에서 4週齡의 體重 150g內외의

Sprague Dawley(SD)系 雄性 쥐를 분양받아 抗生劑가 添加되지 않은 固形飼料 [三養飼料(株), 韓國, 表 1] 를 물과 함께 充分히 供給하면서 本 實驗室의 恒溫恒濕機 (명진기계 MJ-721cs, 韓國)에서 溫度(22±2℃) 및 濕度(40-60%)를 自動으로 調整하여 1週日間 適應시킨 後 實驗에 使用하였다.

Table 1. Composition of Pellet

Component	Composition (%)
Crude protein	22.1
Crude fat	3.5
Crude fiber	5.0
Crude ash	8.0
Ca	0.6
P	0.4
Others	60.4
Total	100.0

2) 藥材

實驗에 使用된 牛膝(Achyranthis Radix)은 乾燥된 狀態로 市中 乾材 藥材社에서 300g을 求入하여 雜質을 除去하고 形態가 完全한 것만을 精選하여 使用하였다.

2. 方法

1) 증류수추출알콜침전법에 의한 藥鍼液 製造

牛膝 200g을 3000ml의 등근 플라스크에 1500ml의 蒸溜水를 넣고 heating mantle (Hana instrument CORPS., HMI-F, Korea.)에서 3時間 동안 煎湯한 後 8점의

거즈로 濾過시킨 後 이를 蒸發濃縮機 (Yamato, Japan)에서 濃縮하였다. 濃縮液에 蒸溜水를 加하여 全量을 200ml로 調整한 다음, 실온까지 冷却한후 ethanol을 가하여 75% ethanol 溶液으로 만든 다음 冷蔵庫 4℃에서 하루동안 放置하였다. 하루 동안 放置된 액의 沈澱物을 濾過한 後 다시 減壓濃縮機로 減壓濃縮한 濃縮液에 蒸溜水 100ml를 가하고 溶解시킨 後, ethanol을 가하여 85% ethanol 溶液으로 만든 다음 冷蔵庫 4℃에서 하루동안 放置하였다. 하루동안 放置된 액의 沈澱物을 濾過한 後 다시 減壓濃縮機로 減壓濃縮한 濃縮液에 蒸溜水 100ml를 가하고 溶解시킨 後, ethanol을 가하여 95% ethanol 溶液으로 만든 다음 冷蔵庫 4℃에서 하루동안 放置하였다. 하루동안 放置된 액의 沈澱物을 濾過한 後 다시 減壓濃縮機로 減壓濃縮한 濃縮液에 蒸溜水 100ml를 만들고 0.1N NaOH로 pH 7.2-7.4로 調整하여 membrane filter (0.45 μ m, 25mm)를 끼운 眞空濾過器 (milipore, U.S.A)를 加壓滅菌시켜 濾過하고, 다시 0.25 μ m syringe filter(WATMAN, U.S.A)를 濾過시켜 藥鍼瓶에 담아서 autoclave(韓國케미코, SJP-04-8, Korea.)에서 加壓滅菌한 後 藥鍼液으로 使用하였다.

2) 關節炎 誘發

Rosenthal 등의 方法에 따라 Freund's complete adjuvant液(SIGMA, U.S.A.)을 1日 1回 0.05 ml/ea씩 2週 동안 흰쥐의 右後趾足低(발바닥)에 皮下注射하였다.

3) 藥鍼液의 投與

SD rat을 平均體重에 가까운 個體를 無作爲로 選拔하여 使用하였으며 各群을

10마리씩 配定하여 正常群(Normal group), 關節炎誘發 後 食鹽水藥鍼處理群(Exp. I), 關節炎誘發 後 牛膝藥鍼處理群(Exp. II)으로 나누어 藥鍼液을 每日 200 μ l씩 1회 犢鼻穴(ST₃₅, 外膝眼)에 30日間 處理(Exp. II)하였고, 對照群(Exp. I)은 同一한 量의 saline을 投與하였다.

4) 採血 및 血清의 分離

SD rat를 케타라(유한양행)로 痲醉하여 解剖板에 固定하고 1回用 注射器로 心臟에서 약 5ml 採血하였다. 採血된 血液을 plastic tube와 抗凝固劑가 든 EDTA Tube(E.D.T.A-2K, 綠十字醫療工業(株), Korea)에 나눠 옮겼다. plastic tube에 든 血液은 1時間 동안 실온에서 放置하고 작은 유리봉으로 凝固된 血液을 數回 휘저은 後 遠心分離機로 2000 rpm에서 30分間 遠心分離시켜 上層의 血清을 다른 tube에 취하였다. 回收된 血清으로 血清學的 實驗을 施行하였다. 또한, EDTA Tube에 든 血液은 充分히 혼든 後 白血球數 測定에 使用하였다.

III. 測定 項目

1. 浮腫率 測定

Freund's complete adjuvant液(SIGMA, U.S.A.)을 0.05ml/ea씩 흰쥐의 右後趾足低(발바닥)에 皮下注射하기 前과 皮下注射한 後 右後趾足低(발바닥)의 容積을 測定하여 浮腫率을 測定하고 關節炎誘發 後 食鹽水藥鍼處理群(Exp. I), 關節炎誘發 後 牛膝藥鍼液處理群(Exp. II)의 浮腫率을 測定하여 浮腫抑制率을 測定하였다.

$$\text{浮腫率(\%)} = \frac{V_t - V_n}{V_n} \times 100$$

Vt : 注射後 後足趾의 容積

Vn : 注射前 後足趾의 容積

$$\text{浮腫抑制率(\%)} = \frac{Cr - Tr}{Cr} \times 100$$

Cr : 對照群의 平均 浮腫率

Tr : 實驗群의 平均 浮腫率

2. 白血球數 測定

EDTA Tube에 든 血液을 WBC pipette(Superior, Germany)에 0.5 눈금까지 채우고 稀釋液인 1% HCl을 11 눈금까지 채운 後 3분동안 充分히 섞은 後에 cover glass가 덮인 Improved Neubauer's counting chamber를 使用하여 白血球數를 測定하였다.

3. 血清學的 檢查

血中內의 Total Protein, Albumin, Globulin의 量은 Cleantech TG-S(아산제약) kit로 定量分析하였다. 反應한 試料를 Hitachi U-2000 spectrophotometer(Hitachi, Japan) 自動分析裝置로 各 Group의 各 酵素의 量을 定量 分析하였다.

1) 血清 Total protein의 測定³⁹⁾

血清 Total protein의 測定은 Biuret method에 의하여 Spectrophotometer(U-2000, Hitachi, Japan)로서 Total protein 測定用試藥(아산제약(주), 韓國)을 利用하여 測定하였다. 血清 50 μ l를 정색시약과 함께 混合하여 37 $^{\circ}$ C에서 30分間 放置 後 試藥blank를 對照로 하여 540nm에서 吸光度를 測定하여 標準液의 검정선에 의

한 Total protein量을 計算하였다. 이 方法은 血清에 알칼리성으로 구리이온을 作用시키면, 착염을 形成하여 靑紫色으로 나타내므로 波長 540nm에서 吸光度를 測定하여 Total protein量을 測定하였다.

2) 血清 Albumin의 測定

血清 Albumin의 測定은 B.C.G法에 의하여 Spectrophotometer(U-2000, Hitachi, Japan)로서 Albumin 測定用試藥(아산제약(주), 韓國)을 利用하여 測定하였다. 血清 20 μ l를 정색시약과 함께 混合하여 실온에서 10分間 放置 後 試藥 blank를 對照로 하여 630nm에서 吸光度를 測定하여 標準液의 검정선에 의한 Albumin量을 計算하였다. 이 方法은 Albumin이 pH 4.0 부근에서 B.C.G와 反應하여 Albumin量에 比例하여 綠色을 나타내므로 波長 630nm에서 吸光度를 測定하여 Albumin量을 測定하였다.

3) 血清 Globulin의 測定

總 蛋白의 測定置에서 albumin 測定置를 뺀 값을 Globulin 測定置로 하였다.

4. 組織 檢查

正常群(Normal group), 關節炎誘發 後食鹽水藥鍼處理群(Exp. I), 關節炎誘發 後牛膝藥鍼液處理群(Exp. II)의 關節 部位의 組織을 10% formalin에 固定한 後 使用하였다.

1) 組織切片의 slide製作

使用할 slide를 100% alcohol과 glacial acetic acid를 10:1의 比率로 混合한 洗滌

液으로 洗滌한 後 subbing solution(0.5% gelatin, 0.5mg chromium potassium sulfate)으로 slide subbing過程을 거쳐 coating된 slide를 準備하였다. 組織은 2日 程度 Bouin 溶液으로 固定한 後 흐르는 물로 洗滌하여 脫水하였다. 脫水 過程은 50%, 70%, 80%, 95%, 100% ethanol과 methylsalicylic acid에 하루동안 담귀둔 後 toluene에 2時間 脫水 過程을 거쳤다. 脫水 가 끝난 組織을 paraffin 溶液으로 6時間 vacuum oven에서 infiltration 시켰다. 60°C paraffin溶液으로 組織을 포매시킨 後 10 μ m 程度의 microtome으로 잘랐다. 잘려진 組織 切片을 Mayer's Albumin 溶液을 입힌 slide에 올려놓았다. 이 slide를 slide warmer에서 하루동안 말렸다.

2) 組織 染色

모든 組織은 HE stain(Harris hematoxylin-Eosin)을 實施하였다. xylene 으로 脫paraffin한 後 100%, 90%, 80%, 70% alcohol로 段階別 脫水시켰다. Harris hematoxylin 溶液에 3-5分間 染色한 뒤 1% HCl alcohol溶液과 Ammonia水로 各 各 2-3分間 沈積시킨 다음 Eosin 溶液으로 1-2分間 染色하였다. 95%, 95%, 100%, 100% alcohol液에서 脫水 시킨 後 xylene 溶液에 담귀 淸明하게 한 뒤 封入하였다.

5. 統計 處理

實驗 結果의 統計 處理는 SPSS for Windows(Release 5.0.2, Copyright Spss Inc.)에 의한 法으로 검정하였으며 P-value가 0.05보다 작은 값을 보인 변수에는 有意性이 있는 것으로 간주하였다.

IV. 實驗 結果

1. 浮腫率 測定

關節炎 誘發 rat의 犢鼻穴(ST₃₅, 外膝眼)에 牛膝을 藥鍼處理한 後 浮腫의 크기를 測定하였다. 正常群(Normal group)의 경우 浮腫이 없는 關係로 後足 容積은 0.21 \pm 0.08mm로 나타났으나 2週間 Freund's complete adjuvant를 注射하여 關節炎이 誘發된 對照群(Control group)의 後足 容積은 1.21 \pm 0.09mm으로 結果의으로 有意性 있게 增加하였다(P<0.05). 30日間 犢鼻穴에 食鹽水를 處理한 對照群(Exp. I)의 後足 容積은 0.84 \pm 0.14mm를 나타냈고 牛膝藥鍼液 處理群(Exp. II)은 0.47 \pm 0.11mm로 浮腫의 容積이 有意性 있게 抑制되었다(P<0.05). Figure 2는 實驗 終了時 浮腫의 程度를 實際 比較한 寫眞으로 역시 牛膝藥鍼液 處理群(Exp. II)이 對照群(Exp. I)보다 浮腫狀態가 보다 더 改善되었음을 나타내주고 있다(Table II, Fig. 1, 2.).

Table II. The effect of aqua-acupuncture with Achyranthis Radix on paw edema in rats with Freund's complete adjuvant.

Group	Administration	Animals	Edema (mm)
Normal	-	10	0.21 \pm 0.08 ^a
Control	Freund's complete adjuvant	10	1.21 \pm 0.09 ^b
Exp. I	Saline solution (0.2ml/ea)	10	0.84 \pm 0.14 ^c
Exp. II	Achyranthis Radix (0.2ml/ea)	10	0.47 \pm 0.11 ^d

Normal Group : Non-treated rats

Control Group : Freund's complete adjuvant-injected rats

Exp. I Group : Saline-injected rats with freund's complete adjuvant (0.2ml/ea)

Exp. II Group : Achyranthis Radix-injected rats with freund's complete adjuvant (0.2ml/ea)

• : Mean \pm Standard Deviation

a, b, c, d : Means on the same column with different superscripts are significantly different(P<0.05)

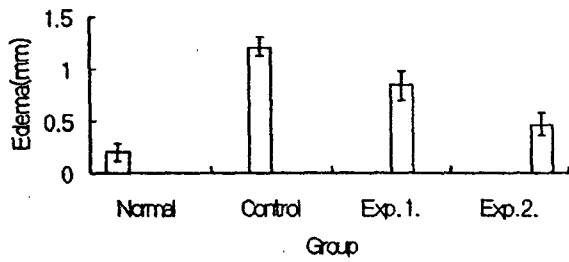


Fig. 1. The effect of aqua-acupuncture with Achyranthis Radix on paw edema in rats with Freund's complete adjuvant.

Normal Group : Non-treated rats

Control Group : Freund's complete adjuvant-injected rats

Exp. I Group : Saline-injected rats with Freund's complete adjuvant (0.2ml/ea)

Exp. II Group : Achyranthis Radix-injected rats with Freund's complete adjuvant (0.2ml/ea)

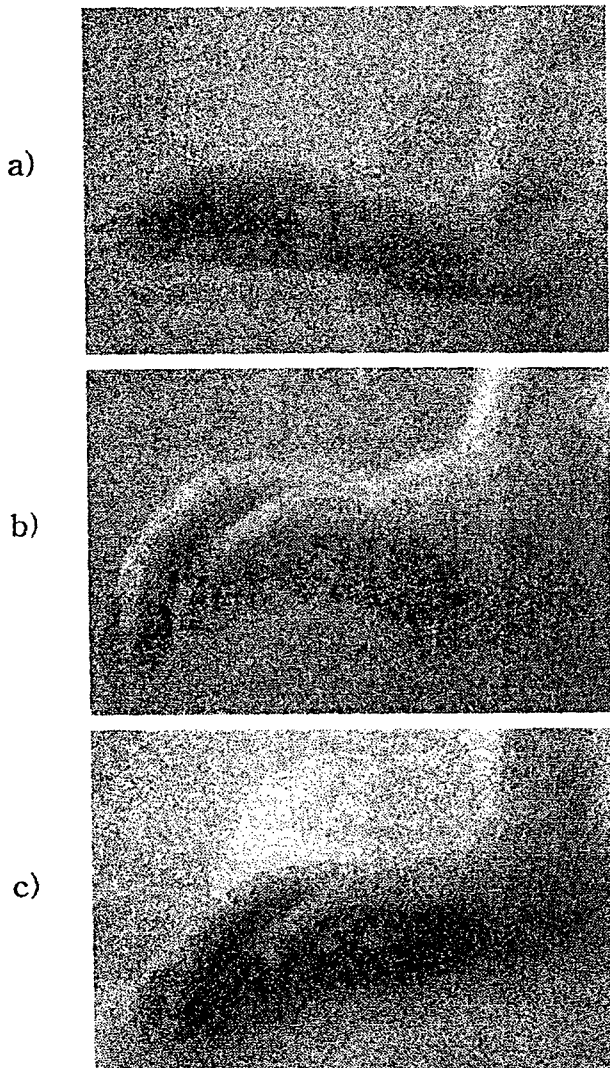


Fig. 2. The effect of herbal-acupuncture with Achyranthis Radix on the edema in rats with Freund's complete adjuvant.

a) Normal Group : Non-treated rats

b) Exp. I Group : Saline-injected rats with Freund's complete adjuvant (0.2ml/ea)

c) Exp. II Group : Achyranthis Radix-injected rats with Freund's complete adjuvant (0.2ml/ea)

2. 白血球數 測定

Freund's complete adjuvant 關節炎 誘發 Rat에 牛膝藥鍼液을 犢鼻穴(ST₃₅, 外膝眼)에 施術한 後 血液內 白血球 總數를 檢討하였다. 正常群(Normal group)의 경우 白血球 總數는 $10.34 \pm 0.14(10^3/ml)$, 食鹽水를 投與한 對照群(Exp. I)의 白血球 總數는 $37.47 \pm 5.46(10^3/ml)$ 이었다. 牛膝藥鍼液 處理群(Exp. II)은 $21.24 \pm 2.58(10^3/ml)$ 로 藥鍼處理群(Exp. II)이 對照群(Exp. I)보다 낮은 數値를 보여 關節炎 治療에 效果를 보였다(Table III, Fig. 3.).

Table III. The effect of aqua-acupuncture with Achyranthis Radix on total counts of WBC in rats with Freund's complete adjuvant.

Group	Administration	Animals	WBC ($10^3/ml$)*
Normal	-	10	10.34 ± 0.14^a
Exp. I	Saline solution (0.2ml/ea)	10	37.47 ± 5.46^b
Exp. II	Achyranthis Radix (0.2ml/ea)	10	21.24 ± 2.58^c

Normal Group : Non-treated rats

Exp. I Group : Saline-injected rats with Freund's complete adjuvant (0.2ml/ea)

Exp. II Group : Achyranthis Radix-injected rats with Freund's complete adjuvant (0.2ml/ea)

* : Mean \pm Standard Deviation

a, b, c : Means on the same column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$)

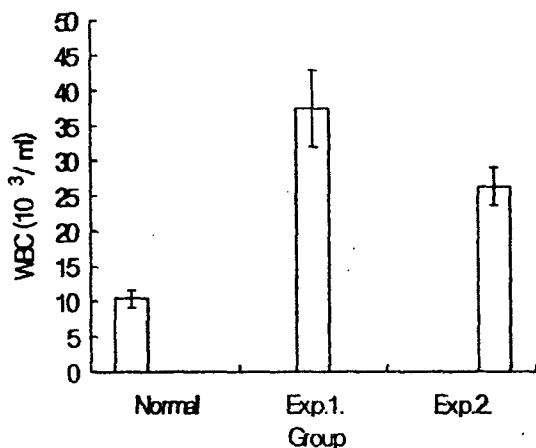


Fig. 3. The effect of aqua-acupuncture with Achyranthis Radix on total counts of WBC in rats with Freund's complete adjuvant

Normal Group : Non-treated rats

Exp. I Group : Saline-injected rats with Freund's complete adjuvant (0.2ml/ea)

Exp. II Group : Achyranthis Radix-injected rats with Freund's complete adjuvant (0.2ml/ea)

3. 血清學的 檢査

1) 血清 Total protein의 測定

血清 Total protein의 含量을 보면, 正常群(Normal group)은 6.14 ± 0.43 g/dl이고, 對照群(Exp. I)은 7.95 ± 0.94 g/dl이며, 藥鍼液投與群(Exp. II)은 6.41 ± 0.68 g/dl이었다. 여기서 對照群(Exp. I)과 藥鍼液投與群(Exp. II)에 有意性있는 差異는 없었다 (Table IV, Fig. 4).

2) 血清 Albumin의 測定

血清 Albumin의 含量을 보면, 正常群(Normal group)은 2.94 ± 0.13 g/dl이고, 對照群(Exp. I)은 2.01 ± 0.48 g/dl이며, 藥鍼液投與群(Exp. II)은 3.15 ± 0.27 g/dl이었다. 여기서 對照群(Exp. I)에 비하여 藥鍼液投與群(Exp. II)은 有意性있는 增加($P < 0.05$)를 보였다.(Table V, Fig. 5).

Table IV. The effect of aqua-acupuncture with Achyranthis Radix on the serum Total protein in rats with Freund's complete adjuvant.

Group	Administration	Animals	Total protein (g/dl)*
Normal	-	10	6.14 ± 0.43^a
Exp. I	Saline solution (0.2ml/ea)	10	7.95 ± 0.94^b
Exp. II	Achyranthis Radix (0.2ml/ea)	10	6.41 ± 0.68^b

Normal Group : Non-treated rats

Exp. I Group : Saline-injected rats with Freund's complete adjuvant (0.2ml/ea)

Exp. II Group : Achyranthis Radix-injected rats with Freund's complete adjuvant (0.2ml/ea)

* : Mean \pm Standard Deviation

a, b : Means on the same column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$)

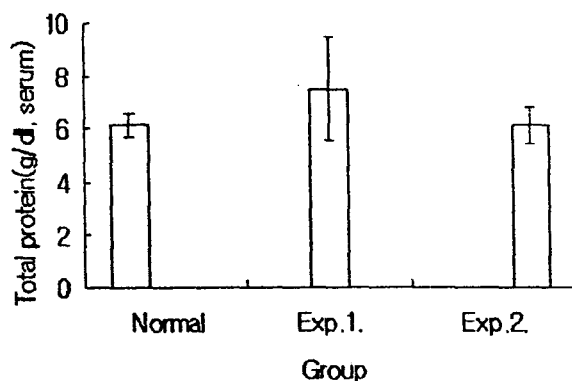


Fig. 4. The effect of aqua-acupuncture with Achyranthis Radix on the serum Total protein in rats with Freund's complete adjuvant.

Normal Group : Non-treated rats

Exp. I Group : Saline-injected rats with Freund's complete adjuvant (0.2ml/ea)

Exp. II Group : Achyranthis Radix-injected rats with Freund's complete adjuvant (0.2ml/ea)

Table V. The effect of Aqua-acupuncture with Achyranthis Radix on the serum Albumin in rats with Freund's complete adjuvant.

Group	Administration	Animals	Albumin (g/dl)*
Normal	-	10	2.94±0.13 ^a
Exp. I	Saline solution (0.2ml/ea)	10	2.01±0.48 ^b
Exp. II	Achyranthis Radix (0.2ml/ea)	10	3.15±0.27 ^c

Normal Group : Non-treated rats

Exp. I Group : Saline-injected rats with Freund's complete adjuvant (0.2ml/ea)

Exp. II Group : Achyranthis Radix-injected rats with Freund's complete adjuvant (0.2ml/ea)

* : Mean ± Standard Deviation

a, b, c : Means on the same column with different superscripts are significantly different (P<0.05)

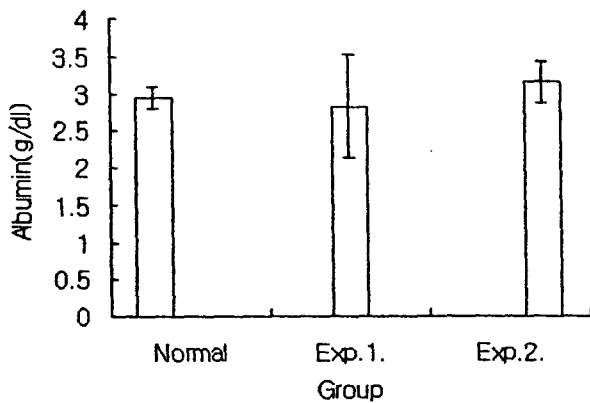


Fig. 5 The effect of Aqua-acupuncture with Achyranthis Radix on the serum Albumin in rats with Freund's complete adjuvant.

Normal Group : Non-treated rats

Exp. I Group : Saline-injected rats with Freund's complete adjuvant (0.2ml/ea)

Exp. II Group : Achyranthis Radix-injected rats with Freund's complete adjuvant (0.2ml/ea)

3) 血清 Globulin의 測定

血清 Globulin의 含量을 보면, 正常群 (Normal group)은 3.19±0.48g/dl이고, 對照群(Exp. I)은 4.70±1.26g/dl이며, 藥鍼液 投與群(Exp. II)은 3.26±0.57g/dl이었다. 여기서 對照群(Exp. I)과 藥鍼液投與群(Exp. II)에 有意性있는 差異는 없었다.(Table VI, Fig. 6).

Table VI. The effect of aqua-acupuncture with Achyranthis Radix on the serum Globulin in rats with Freund's complete adjuvant.

Group	Administration	Animals	Globulin (g/dl)*
Normal	-	10	3.19±0.48 ^a
Exp. I	Saline solution (0.2ml/ea)	10	4.70±1.26 ^b
Exp. II	Achyranthis Radix (0.2ml/ea)	10	3.26±0.57 ^c

Normal Group : Non-treated rats

Exp. I Group : Saline-injected rats with Freund's complete adjuvant (0.2ml/ea)

Exp. II Group : Achyranthis Radix-injected rats with Freund's complete adjuvant (0.2ml/ea)

* : Mean ± Standard Deviation

a, b : Means on the same column with different superscripts are significantly different (P<0.05)

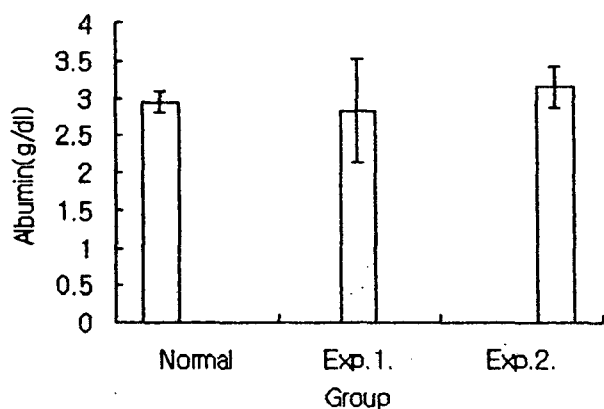


Fig 5 The effect of Acua-acupuncture with Achyranthis Radix on the serum Albumin in rats with Freund's complete adjuvant.

Normal Group : Non-treated rats

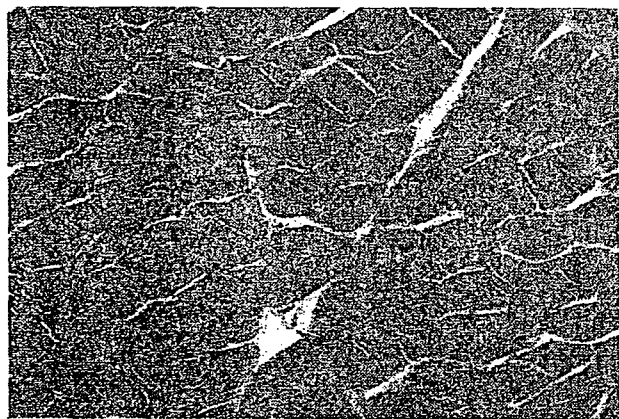
Exp. I Group : Saline-injected rats with Freund's complete adjuvant, (0.2ml/ea)

Exp. II Group : Achyranthis Radix-injected rats with Freund's complete adjuvant, (0.2ml/ea)

4.組織 檢査

正常群(Normal group)에서는 筋肉組織의 形態가 매끄럽고 炎症狀態가 보이지 않았으며 炎症細胞 또한 드물었다.(Fig. 7)

Fig. 7.



A : Cross section of skeletal muscle fiber



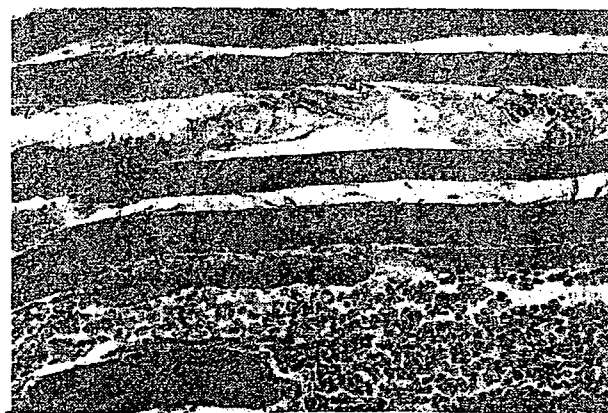
B : Longitudinal section of skeletal muscle fiber

對照群(Exp. I)에서는 炎症反應이 심하게 나타나 組織의 形態가 매우 不規則하고 炎症細胞 등이 多數 보였다.(Fig. 8)

Fig. 8.



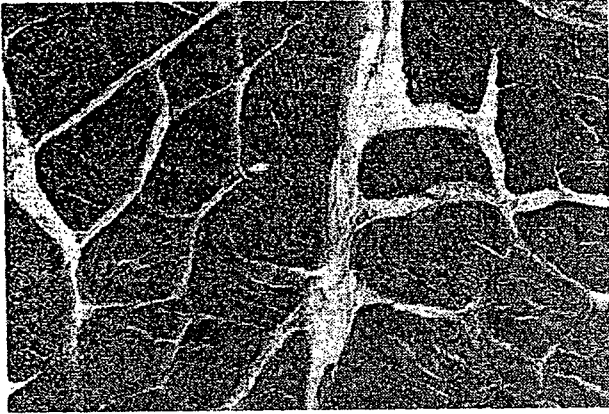
A : Cross section of skeletal muscle fiber



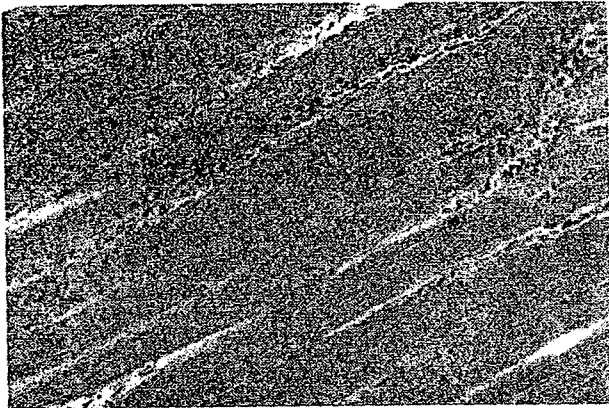
B : Longitudinal section of skeletal muscle fiber

牛膝藥鍼液處理群(Exp. II)은 다소 組織이 恢復된 狀態의 證候가 보이고 lymphocyte와 大食細胞 등이 多數 보여 炎症狀態가 抑制됨을 알 수 있었다.(Fig. 9)

Fig. 9.



A : Cross section of skeletal muscle fiber



B : Longitudinal section of skeletal muscle fiber

Fig. 7.8.9. The effect of herbal-acupuncture with *Achyranthis Radix* on the physiological microscopic status in rats with Freund's complete adjuvant.

V. 考 察

痺는 閉阻 不通의 뜻으로 韓方에서 痺症

이라 함은 通常 風, 寒, 濕의 三種의 邪氣가 軀體 및 內臟의 經絡을 閉阻하고 骨節을 侵犯하여 肌肉, 關節, 筋骨에 疼痛, 酸楚, 麻木, 重着, 關節腫大, 運動制限 등을 惹起하는 疾患을 말한다.^{4.7.40)}

痺症의 原因을 《素問·痺論》^{41.42)}에서는 “風寒濕三氣雜至 合而爲痺也.”, “以冬遇此者爲骨痺, 以春遇此者爲筋痺, 以夏遇此者爲脈痺, 以至陰遇此者爲肌痺, 以秋遇此者爲皮痺.”라 하여 風, 寒, 濕의 三氣 및 季節 등의 外因으로 痺症이 發病한다고 하였고, 以後 巢⁴³⁾는 內寒과 外風의 相搏으로, 李⁴⁴⁾는 “內傷於七情, 外傷於六氣”라 하여 血受熱以後 步冷水, 立濕地, 漏取涼, 臥當風 등으로, 李⁴⁵⁾는 風, 寒, 濕外에 氣血虛, 濕痰, 瘀血 등으로, 張⁴⁶⁾은 巢氏의 原因外에 勞倦과 調理保護 不良 등으로 發病한다고 하였다. 卽, 痺症은 氣血不足 精氣虛弱等 人體內의 內因이 存在하거나, 飲酒 飲食 勞倦 痰飲 瘀血 등으로 인해 人體의 內因이 誘發된 狀態에 風, 寒, 濕 및 熱의 外邪가 侵入하여 經絡關節에 流走하게 되고 氣血運行이 不暢하게 되므로 痺症이 發生된다고 볼수있다.¹³⁾ 以上과 같은 原因과 特徵的 症狀에 따라 臨床에서는 주로 痺症을 肢體가 酸痛하고 疼痛이 流走하여 定處가 없는 風痺(行痺, 周痺), 肢體 疼痛의 程度가 極烈하며 痛症이 寒氣를 만나면 심해지고 熱氣를 만나면 감소하는 寒痺(痛痺), 肌膚가 麻木되고 關節이 重着하며 痛處가 固定되어 不移하는 濕痺(着痺), 關節이 紅腫 熱痛하고 보통 發熱 惡風 口渴 胸悶 등의 全身症狀을 隨伴하는 熱痺로 나누는데,^{4.47.48)} 이러한 痺症은 現代醫學的으로 미만성 증식성의 滑膜炎으로 인하여 周圍

組織 및 軟骨 破壞와 關節의 浮腫과 疼痛, 發赤, 熱感, 骨糜爛(erosion)을 일으키고 결국에는 關節의 變形을 가져와서 關節強直, 運動制限 등을 招來하는 Rheumatoid 關節炎과 類似하다고 할 수 있다.^{1,3,10)}

Rheumatoid 關節炎은, 現在 一次 診療 機關에서 外來患者의 10% 以上을 차지하며 여러 가지 原因으로 그 數 및 病의 程度가 增加하고 있는 筋骨格系疾患中, 退行性 關節炎 다음으로 發病頻도가 높은 關節疾患으로 全體人口의 0.3 - 2.1%에서 發生하는데 그 原因은 遺傳, Virus의 感染 등 특히 外部因子가 免疫反應을 誘導하고 어떤 特定人에서 이 免疫反應이 增幅되고 持續된다는 假說과 Immunoglobulin G에 대한 抗體가 발견되는 것으로 보아 免疫 抗體 生成을 調節하는 細胞의 制御에 一次的인 異常이 있다는 自家免疫疾患이라는 假說 등이 있으나 아직까지 완전히 糾明되지 못한 狀態이며, 治療面에 있어서도 여러 가지 藥物療法 등이 使用되고 있지만 疾病을 完治시키거나 進行을 막을 수 있는 確實한 方法이 없는 狀況^{1,2,10,49,50)}에서 韓醫學의 藥鍼이 一定한 效果를 나타내고 있음이 動物 實驗을 통하여 報告되고 있다.^{11-14,51-53)}

關節炎 研究를 위한 動物 實驗 model로 代表的인 것은 Collagen 誘發 關節炎 (Collagen - induced arthritis, CIA)⁵⁴⁾과 Adjuvant 關節炎⁵⁵⁾이며 그중 Adjuvant 關節炎은 實驗動物의 皮膚에 結核菌의 油性 懸濁液인 Freund's complete adjuvant를 注射하면 사람의 Rheumatoid 關節炎에서도 서로 交叉 反應하는 抗體가 發見되고 있는 peptidoglycan 成分으로 알려진 誘發 因子에 의하여 2週後에 多發性 關節炎 및

脾臟과 副腎의 腫大, 體重減少, 白血球 增加 등의 典型的인 症狀이 局所 및 全身에 發顯되는데, 그 類似性으로 인하여 人體의 Rheumatoid 關節炎 研究를 위한 model로서 廣範圍하게 利用되고 있다.^{8,11-14,55,56)}

藥針療法은 經絡學說의 原理에 의거하여 有關한 穴位, 壓通點 혹은 體表의 觸診으로 얻어진 陽性反應點에 一定한 方法으로 製劑된 韓藥 抽出液을 注入하여 鍼刺의 效果와 藥物의 效果를 同時에 얻도록 하는 新鍼療法인데, 秦艽,⁵¹⁾ 防風,⁵⁷⁾ 草龍膽,⁵⁸⁾ 草烏¹¹⁾, 加味疎風活血湯¹²⁾ 및 麝香 熊膽 牛黃 複合製劑¹³⁾와 牛黃 熊膽 複合製劑¹⁴⁾ 등을 活用한 藥鍼의 關節炎 治療 效能에 關한 報告가 있었으나 아직 牛膝에 關한 報告는 접하지 못하였다.

이에 著者는 芎藭科(비름과)에 屬한 多年生草本인 쇠무릎의 根^{15,32)}으로 活血祛瘀,¹⁵⁻²²⁾ 通利關節,^{15,23-26)} 補肝腎,^{18,25-30)} 強筋骨,^{18,25-29)} 腰膝關節疼痛,^{16,22,26,31-35)} 風寒濕痺^{22,26,32-35)} 등의 效能을 갖는 牛膝의 藥鍼液을 製造하여 Adjuvant 關節炎을 誘發시킨 흰쥐에 人體의 犢鼻穴(ST36, 外膝眼)과 相應하는 穴位에 施術하는 實驗을 하였다. 犢鼻의 穴性은 消腫止痛, 通經活血, 疏風散寒으로 膝關節炎, 脚氣, 下肢麻木, 屈伸不利를 主治로 한다.³⁶⁻³⁸⁾

炎症은 살아있는 組織에서 일어나는 損傷에 대한 血管組織의 反應이며 發赤, 浮腫, 發熱, 疼痛 등의 症狀이 나타난다. 그중에서도 浮腫이란 細胞間이나 組織間의 體腔에 體液 즉, 炎症性 浮腫液이 過多하게 蓄積되는 것을 말하는데 이 炎症性 浮腫液은 血漿蛋白, 주로 albumin이 많이 含有되고 흔히 白血球가 포함되어 있다. 이

러한 滲出液(exudate)은 炎症에 의해 內皮細胞의 透過性이 亢進되어 생기는데 histamine, bradykinine, prostaglandin, anaphylatoxin 등이 關與하는 것으로 알려져 있으며 炎症이 심할수록 增加한다.³⁾ 結局 炎症이 심해지면 滲出液이 增加되어 浮腫이 심해지게 되므로 浮腫率을 測定하여 보면 炎症의 甚한 程度 및 進行過程을 間接的으로 確認할 수 있다고 思料된다. 本實驗에서 30日間 犢鼻穴(ST₃₅, 外膝眼)에 食鹽水를 處理한 對照群(Exp. I)의 後足容積은 0.84 ± 0.14 mm인데 比하여 牛膝藥鍼液 處理群(Exp. II)은 浮腫의 容積이 0.47 ± 0.11 mm로 有意性 있게 抑制되었으며 浮腫의 程度를 實際 比較한 寫眞에서도 牛膝藥鍼液處理群(Exp. II)에서 浮腫狀態가 훨씬 더 改善되었음을 나타내주고 있다 (Table II, Fig. 1, 2).

白血球는 感染症, 組織壞死, 惡性腫瘍, 中毒, 藥物, 急性出血, 急性溶血, 血液疾患, 脾臟機能亢進證, 自家免疫疾患 및 influenza 感染 등 많은 疾患에서 增減하므로 이들 疾患이 疑心될 境遇는 물론이고 入院시 혹은 健康診斷時 같은 screening 檢査로 利用되는 方法으로,⁵⁹⁻⁶¹⁾ Adjuvant 關節炎을 誘發한 後 白血球數 測定에서 牛膝藥鍼 處理群(Exp. II)은 $21.24 \pm 2.58(10^3/ml)$ 로 對照群(Exp. I)의 $37.47 \pm 5.46(10^3/ml)$ 에 比하여 낮은 數値를 보여 關節炎 治療에 效果를 보였었다 (Table III, Fig. 3).

血清에 存在하는 蛋白質은 albumin과 globulin으로 나눌 수 있다. albumin은 全身의 組織 및 細胞의 營養蛋白質의 補給原이며 其他 金屬, ion, bililubin, 脂肪酸, vitamin, hormone, 藥物 및 各種 成分을

結合하여 必要한 것을 細胞로 運搬하고 不必要한 것을 除去하는 機能이 있으며, globulin은 各種 抗體, 酵素, 凝固因子 등 매우 多樣한 蛋白成分이 혼재한다. 임상에서는 통상 total protein과 albumin을 定量하면 globulin 種類의 大略的인 量을 把握할 수 있는데, albumin은 變動이 없거나 減少하는 반면, globulin은 廣範圍한 感染症 및 炎症性疾患, 腫瘍 등으로 增加되는 것이 여러 가지 疾病에 全般的인 傾向이다.^{59,62-64)} 本實驗에서는, 血清 total protein의 量을 統計 處理한 結果 藥鍼液 投與群(Exp. II)은 6.41 ± 0.68 g/dl로 正常群(Normal group)의 6.14 ± 0.43 g/dl보다 多少 增加하기는 하였지만 對照群(Exp. I)의 7.95 ± 0.94 g/dl와 比較하여 有意性은 없었다 (Table IV, Fig. 4). 血清 albumin 含量에 있어서는 藥鍼液投與群(Exp. II)에서 3.15 ± 0.27 g/dl로 正常群(Normal group)의 2.94 ± 0.13 g/dl보다도 도리어 높게 나오는 정도로 有意性 있는 結果를 보였고 對照群(Exp. I)은 2.01 ± 0.48 g/dl로 아주 낮게 나타났었다 (Table V, Fig. 5). 血清 globulin을 測定한 結果 正常群(Normal group)은 3.19 ± 0.48 g/dl, 對照群(Exp. I)은 4.70 ± 1.26 g/dl, 牛膝藥鍼處理群(Exp. II)은 3.26 ± 0.57 g/dl로 나타나 albumin에 비하여 有意性이 별로 없었다 (Table VI, Fig. 6). 本實驗에서 牛膝藥鍼液이 Freund's complete adjuvant 關節炎 誘發 Rat의 免疫 globulin 및 albumin에 作用하여 組織學的으로 筋肉組織의 壞死를 抑制하고 復舊시킴으로, 關節炎으로 인한 炎症에 대하여 治療 效果가 있음을 시사한다.

또, 正常群(Normal group)과 藥鍼液投與群(Exp. II), 對照群(Exp. I)의 各 組織을

縱斷面과 橫斷面으로 切片하여 HE stain 을 實施하고 顯微鏡으로 檢査하여 본 結果 正常群(Normal group)에서는 筋肉組織의 形態가 全體的으로 매끄럽고 炎症狀態는 보이지 않았으며 炎症細胞 또한 드물었다 (Fig.7). 반면에 對照群(Exp. I)에서는 炎症反應이 심하게 나타나 組織의 形態가 매우 不規則하고 炎症細胞 등이 다수 보였다 (Fig.8). 牛膝藥鍼液 處理群(Exp. II)은 多少 組織이 회복된 狀態로 正常群(Normal group)에 近接한 組織細胞의 模樣을 보이고 lymphocyte와 macrophage 등이 보여 炎症狀態가 改善되고 있음을 알 수 있었다 (Fig.9).

以上の 結果로 보아 牛膝藥鍼은 원주의 Adjuvant 關節炎에 有效하게 作用하여 炎症狀態를 改善시킬 수 있는 것으로 나타났다으며, 앞으로 持續的인 研究를 통해 臨床에 活用할 수 있을 것이라고 思料된다.

VI. 結 論

牛膝藥鍼液에 의한 Rat의 關節炎 治療에 미치는 影響을 알아 보기 위하여 浮腫率 測定, 白血球數 測定, 血清學的 檢査로 血清內 Total protein, Albumin, Globulin의 量을 測定하였고, 關節炎 部位의 筋肉組織을 組織學的으로 檢査한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 2週間 Freund's complete adjuvant를 注射하여 關節炎을 誘發한 後 30日間 犢鼻穴에 食鹽水를 處理한 對照群(Exp. I)의 後足 容積은 $0.84 \pm 0.14\text{mm}$ 를 나타냈고 牛膝藥鍼液 處理群(Exp. II)은 $0.47 \pm 0.11\text{mm}$ 로 浮腫의 容積이 有意性 있게 抑制되었다

($P < 0.05$).

2. 正常群(Normal group)의 경우 白血球 總數는 $10.34 \pm 0.14(10^3/\text{ml})$, 食鹽水를 投與한 對照群(Exp. I)의 白血球 總數는 $37.47 \pm 5.46(10^3/\text{ml})$ 이었다. 牛膝藥鍼液處理群(Exp. II)은 $21.24 \pm 2.58(10^3/\text{ml})$ 로 藥鍼處理群(Exp. II)이 對照群(Exp. I)보다 낮은 數値를 보여 關節炎 治療에 效果를 보였다 ($P < 0.05$).

3. 血清 Total protein의 含量은 正常群(Normal group)은 $6.14 \pm 0.43\text{g/dl}$ 이고, 對照群(Exp. I)은 $7.95 \pm 0.94\text{g/dl}$ 이며, 藥鍼液投與群(Exp. II)은 $6.41 \pm 0.68\text{g/dl}$ 로 나타나 對照群(Exp. I)과 藥鍼液投與群(Exp. II)에 有意性있는 差異는 없었다($P < 0.05$).

4. 血清 Albumin의 含量은 正常群(Normal group)은 $2.94 \pm 0.13\text{g/dl}$ 이고, 對照群(Exp. I)은 $2.01 \pm 0.48\text{g/dl}$ 이며, 藥鍼液投與群(Exp. II)은 $3.15 \pm 0.27\text{g/dl}$ 로 나타나 對照群(Exp. I)에 비하여 藥鍼液投與群(Exp. II)은 有意性있는 增加를 보였다 ($P < 0.05$).

5. 血清 Globulin의 含量을 보면, 正常群(Normal group)은 $3.19 \pm 0.48\text{g/dl}$ 이고, 對照群(Exp. I)은 $4.70 \pm 1.26\text{g/dl}$ 이며, 藥鍼液投與群(Exp. II)은 $3.26 \pm 0.57\text{g/dl}$ 로 나타나 對照群(Exp. I)과 藥鍼液投與群(Exp. II)사이에 有意性있는 차이는 없었다.

6. 組織 檢査 結果 對照群(Exp. I)에서는 炎症反應이 심하게 나타나 組織의 形態가 매우 不規則하고 多數의 炎症細胞 등이 보였고 牛膝藥鍼液 處理群(Exp. II)은 組織이 多少 恢復된 狀態의 證候가 보이고 炎症細胞의 수가 줄고 炎症狀態가 抑制됨을 알 수 있었다.

以上の 結果를 綜合하여 볼 때 牛膝藥鍼液은 Freund's complete adjuvant 關節炎

誘發 Rat에 作用하여 炎症을 抑制시키고 炎症狀態를 나타내는 白血球의 總數를 有意性있게 감소시키며 血清내 免疫 Globulin 및 albumin에 作用하여 組織學的으로 筋肉組織의 壞死를 抑制시켜 關節炎으로 인한 炎症에 대하여 治癒 效果를 나타냈다. 이로 보아 牛膝藥鍼은 炎症 抑制 效果를 통한 關節 疾患 治療에 미치는 影響이 클 것으로 생각되어 차후 持續的인 研究가 必要할 것으로 思料된다.

參 考 文 獻

1. HARRISON'S 내과학 : 해리슨 번역 편찬위원회, 서울, 도서출판 정담, pp. 590-596, 1777-1785, 1816-1841, 1997.
2. 오늘의 진단 및 치료 : 강병철, 서울, 도서출판한우리, pp.875-900, 1999.
3. 病理學 : 大韓病理學會, 서울, 高文社, pp. 1210-1220, 1991.
4. 韓醫學辭典 : 金賢濟, 洪元植 編譯, 서울, 圖書出版 成輔社, pp. 478-482, 1988.
5. 권제식 外 編 : 痺症, 서울, 鼎談出版社, pp. 23-29, 1993.
6. 整形外科學 : 大韓整形外科學會, 서울, 最新出版社, pp. 55-167, 1993.
7. 中醫內科學 : 上海中醫學院編, 香港, 商務印書官, pp. 200-205, 1983.
8. Schorlemmer H.U., Bartlett R.R., Schleyerbach R., Seiler F.R. : Immunosuppressive activity of 15-deoxyspergualin (15-DOS) on various models of rheumatoid arthritis. Drug Exp. Clin. Res., 17(10/11):471-483, 1991.
9. 陳貴延 : 實用中西醫結合診斷學, 北京, 中國醫藥科技出版社, pp. 637- 641, 1991.
10. 재활의학: 김진호, 한태륜, 서울, 군자출판사, pp. 373-378, 1997.
11. 康秀一, 崔容泰 : 穴位別 草烏 水針刺 戟이 흰쥐의 Adjuvant 關節炎에 미치는 影響, 서울, 慶熙韓醫大論文集, 13:203-217, 1990,
12. 宋彦錫, 安秉哲, 朴東錫 : 加味消風活 血湯 水針이 Adjuvant 關節炎에 미치는 影響, 서울, 大韓鍼灸學會誌, 7(1):19-38, 1990.
13. 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 博士學位論文, 1994.
14. 權五燮 : 配合別로 製造된 熊膽·牛 黃 藥鍼과 猪膽·牛黃 藥鍼이 흰쥐의 Adjuvant 關節炎에 미치는 影響, 圓光 大學校 博士學位論文, 1998.
15. 原色臨床本草學 : 辛民教, 서울, 영림 출판사, pp. 468-469, 483, 498, 1989.
16. 中國藥材學 : 徐國均 外, 中國醫藥科 技出版社, pp. 140-146, 1996.
17. 上海中醫學院 : 新編中醫學教材 中草 藥學, 商務印書官香港分官, pp. 388 -389, 1977.
18. 吳儀洛 : 本草從新, 杏林書院, 서울, pp. 64-65, 1972.
19. 本經 : 東洋醫藥叢書, 國際韓醫學學 生會, pp. 230-232, 1990.
20. 本草鉤沈 : 葉桔泉, 醫聖堂出版, pp. 75-77, 1993.
21. 本草藥材圖鑑 : 傳統文化研究所, 成 輔社, P. 295, 1994.
22. 中藥大辭典 : 강소신의학원, 정담,

- pp. 4177-4186, 1998.
23. 東醫學辭典 : 科學百科辭典綜合出版社, P. 566, 1990.
24. 現代本草學 : 慶熙大, 高文社, pp. 342-343, 1975.
25. 本草學 : 東醫學研究所, 東醫學研究所出版, pp. 310-311, 1993.
26. 동약학개론 : 구정희 등, 서울, 여강출판사, pp. 310-311, 1991.
27. 中草藥單方大全 : 王文安, 醫聖堂出版 P. 371, 1994.
28. 本草學 : 李尙仁, 醫藥社 pp. 425-427, 1975.
29. 圖解鄉藥(生藥)大辭典 : 鄭普燮, 辛民教, 圖書出版永林社, pp. 340-343, 1990.
30. 本草蒙筌 : 陳嘉謨, 明, 서울學古房, P. 38, 1988.
31. 東醫寶鑑 : 許俊, 麗江出版社, pp. 917, 975, 988, 1081, 1042, 2723, 1994.
32. 申氏本草學 : 申佶求, 壽文社, pp. 527-529, 1988.
33. 千金翼方 : 孫思邈, 大成文化社, P. 20, 1989.
34. 標準本草學 : 金最壽, 進明出版社, pp. 278-279, 1975.
35. 臨床配合本草學 : 康秉秀, 金永坂, 永林社, pp. 393-396, 1994.
36. 腧穴研究鍼灸學 : 朴喜守 編著, 서울, 도서출판 醫聖堂, P. 73, 1996.
37. 鍼灸學 : 崔容泰 外, 서울, 集文堂, pp. 381-382, 1991.
38. 經穴學叢書 : 安榮基 編著, 서울, 成輔社, pp.194-195, 1990
39. Witt, I., and C. Trendelenburg : J. Clin. Chem. Clin. Biochem, 20:235, 1982
40. 痺症治驗 : 婁多峰, 河南, 河南科學技術出版社, P. 1, 1983.
41. 黃帝內經素問校釋(上冊) : 山東中醫學院·河北醫學院 校釋, 一中社, pp. 557-571, 1980.
42. 類經 : 張介賓, 서울, 大星出版社, pp. 375-377, 1990.
43. 巢元方 : 巢氏諸病源候論, 臺北, 昭人出版社, pp. 11-12, 1974.
44. 李東垣 : 東垣十種醫書, 서울, 大星文化社, pp. 452-453, 861-865, 1991.
45. 李梴 : 原本編註醫學入門, 서울, 南山堂, pp. 1454-1457, 1985
46. 張介賓 : 景岳全書(上), 서울, 大星文化社, pp. 229-234, 1992.
47. 중의명사술어사전 : 한중울·소균 번역, 서울, 圖書出版醫聖堂, pp. 286-288, 1991.
48. 中國醫學大辭典 : 謝觀 編纂, 臺灣商務印書館, pp. 3540-3543, 中華民國七十年三月臺十三版.
49. Color Atlas 임상의학 : Forbes · Jackson저, 전국의과대학임상교수편역, pp. 125-139, 1998.
50. CECIL TEXTBOOK OF MEDICINE : Claude Bennett & Fred Plum, U.S.A., W.B.Saunders Company. pp. 1459-1466, 1517-1521, 1996.
51. 金成宰 : 秦芫가 Collagen誘發 關節炎의 免疫反應에 미치는 影響, 圓光大學校 碩士學位論文, 1996.
52. 金東赫 : 牧丹皮가 Collagen誘發 關節炎에 미치는 影響, 圓光大學校 碩士學位論文, 1996.
53. 慎鏞明 : 五味子 水鍼이 鎮痛效果에 미치는 影響, 圓光大學校 碩士學位論文, 1990.

54. Durie FH, Fava RA, and Noelle RJ : Collagen-induced arthritis as a model of rheumatoid arthritis, *Clinical Immunol Immunopathol* 73(1) : 11-18, 1994. 의학, pp. 121-143, 1994
55. 최영길 : 류마티드 關節炎의 原因 및 病態 生理, 서울, 醫藥情報誌, 11:45-47, 1986.
56. Omata T., Segawa Y., Inoue N., Tsuzuike N., Itokazu Y., Tamaki H. : Methotrexate suppresses nitric oxide production ex vivo in macrophages from rats with adjuvant-induced arthritis. *Res. Exp. Med.*, 197:81-90, 1997.
57. 李種國, 姜成吉 : 防風水鍼이 鎮痛 消炎 解熱 및 鎮痙에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 3:11-24, 1986.
58. 金甲成, 姜成吉 : 草龍膽水鍼에 의한 肝機能 改善이 膝關節 浮腫에 미치는 影響, 서울, 慶熙大學校 博士學位論文, 1987.
59. 임상병리과일 : 이귀녕 · 이종순, 서울, 도서출판의학문화사, pp. 171-172, 740-741, 1993.
60. 臨床血液學 : 邊大勳, 서울, 圖書出版大學書林, P. 135, 1996.
61. 임상병리학 : 대한임상병리학회, 서울, 도서출판 고려의학, pp. 34 -35, 173-181, 1994.
62. 臨床化學實技 : 김기홍감수, 서덕규 이주섭 김약수 원기은편저, 서울, 고문사, P. 71, 1977.
63. 臨床病理檢査法 : 이삼열, 서울, 연세대학교출판부, pp. 199-203, 1978.
64. 臨床化學實驗 : 김중호 나영악 원기은 이화재 추상규, 서울, 도서출판고려