

원저

牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼刺戟이 LPS誘發 關節炎의 免疫反應에 미치는 影響

정경연 · 김갑성 · 윤종화

동국대학교 한의과대학 침구학교실

Abstract

The Effect of BUM Aqua-acupuncture on Immune Responses to LPS Induced Arthritis in Mice

Jeong, Kyung-Yeon · Kim, Kap-Sung · Yun, Jong-Hwa

Department of Acupuncture & Moxibustion, college of Oriental Medicine
Dong-Guk University

Objective : To investigate the effect of BUM aqua-acupuncture in treating the RA, the immunosis to logical analysis of LPS induced arthritis in mice to study this.

For 14th day after the injection of LPS & BUM injection, the distribution of fibroblast, collagen, CD54(ICAM-1), CD106(VCAM-1), IL-1 β , IL-2 receptor, CD11b(macrophage) were examined on synovial capsule of mice knee joint.

For 14th day after the injection of LPS & BUM injection, the distribution of CD4(TH cell), CD8(TC cell), CD40(B cell) were examined on common iliac lymph node in mice.

Methods : The experimental model of arthritis was induced by injection of 300 μ g/kg LPS in BALB/c mice weighing 30g.

The 100 μ l BUM aqua-acupuncture which compounded calculus bovis, fel ursi and moschus was injected into GB34 of mice every other day for 12 days.

For 3rd, 7th, 14th day after the injection of LPS, the neutrophil, lymphocyte and monocyte counts in WBC were measured using hemacytometer.

Results : The obtain results are summarized as follows ;

1. In sample group, the neutrophils counts were increased and the lymphocytes counts were decreased compared with control group.

· 접수 : 1월 7일 · 수정 : 1월 15일 · 채택 : 1월 17일

· 교신저자 : 김갑성, 경북 경주시 용강동 357, 동국대 경주한방병원 침구과(Tel. 054-770-1558)

E-mail : kapsung@unitel.co.kr

2. The distribution of fibrosis & fibroblast on synovial membrane were decreased compared with control group.
3. The distribution of collagen fiber on synovial membrane were decreased compared with control group.
4. The distribution of CD54(ICAM-1) & CD106(VCAM-1) on synovial membrane were decreased compared with control group.
5. The distribution of IL-1 β & IL-2 receptor on synovial membrane were decreased compared with control group.
6. The distribution of CD68(macrophage) on synovial membrane were decreased compared with control group.
7. The distribution of CD4(TH cell), CD8(TC cell) and CD40(B cell) in common iliac lymph nodes were decreased compared with control group.

Conclusions : BUM aqua-acupuncture stimulation decreased inflammatory responses LPS induced arthritis in mice.

Key words : rheumatoid arthritis, BUM aqua-acupuncture, LPS, neutrophil, lymphocyte, monocyte, fibroblast, collagen, CD54, CD106, IL-1 β , IL-2 receptor, CD11b, CD4, CD8, CD40.

I. 서론

류마티스 關節炎(Rheumatoid Arthritis, R.A.)은 滑膜의 肥厚와 淋巴球의 浸潤을 特徵으로 하는 慢性 炎症性 疾患으로 自家免疫疾患의 하나로 分類되고 있다.^{1,2)}

류마티스 關節炎의 病理的 機轉은 非正常的으로 活性化된 淋巴球가 滑膜에 浸潤하여 慢性的으로 關節 組織을 破壞하며, 이때 滑膜細胞와 浸潤된 細胞들이 相互作用을 통해 淋巴球가 追加적으로 浸潤되는데,²⁾ 癒着分子는 滑膜炎이 發生하고 持續하는 全過程에 關與하며, 滑膜炎에서 T 淋巴球가 活性化되는 機轉에 重要한 役割을 하고 있다.¹⁾

歷節病은 身體의 氣血과 臟腑가 內虛한 狀態에서 六淫之邪가 侵入하여 痰과 火 및 瘀血을 生成하여 肌肉, 關節에 滯留되고 氣血 循行이 순조롭지 못하여 發生된다^{11,12)}고 하였다. 張⁴⁾이 그 臨床的인 症

狀을 “歷節風, 不可屈伸”, “諸肢節疼痛, 身體魁羸 脚腫如脫”이라 表現하며 最初로 言及한 後, 白虎病,⁷⁾ 白虎歷節風,⁸⁾ 類風濕性關節炎⁹⁾ 등으로 불리고, 이들은 모두 痺症의 範疇에 屬한다고 하였다.¹⁰⁾ 이러한 歷節風, 痺症에서의 關節症狀들은 現代醫學의 류마티스樣 關節炎과 類似的한 臨床症狀를 보이며,¹¹⁾ 治療는 淸熱利濕, 行氣活血, 補肝腎, 消風經絡 等の 方法을 運用하고 있다.¹²⁾

류마티스 關節炎에 對한 研究를 살펴보면, 文獻報告,^{11,13)} 藥物療法,^{14,15)} 艾灸療法,¹⁴⁾ 藥鍼療法,^{16,17)} 등이 있었으며 특히 黃¹⁷⁾ 등은 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼은 多樣한 炎症 疾患 全般에 應用 可能하다고 하였으나 癒着分子와 免疫機轉의 抑制에 關한 報告는 없었다.

이에 著者는 생쥐에 LPS로 關節炎을 誘發시킨 後 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑를 陽陵泉(GB34) 18~20)에 藥鍼 刺戟하여 癒着分子 抑制와 其他 免疫機轉에 미치는 影響을 觀察하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 材料

1) 動物

태령 4週의 BALB/c系 암컷 생쥐(大韓實驗動物 센터)를 無菌 飼育裝置內에서 $22 \pm 2^{\circ}C$ 溫도와 55~60%의 濕度가 維持되는 條件으로, 2週 동안 適應시킨 後, 體重 30g 內外의 건강한 생쥐를 選別하여 實驗에 使用하였다.

2) 藥鍼液

實驗에 使用한 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼鍼(BUM)^{93,94)}은 大韓藥鍼學會에서 牛黃(CALCULUS BOVIS) 5.0g, 熊膽(FEL URSI) 4.0g, 麝香(MOSCHUS) 1.0g을 藥鍼液 調製法²¹⁾에 依據하여 凍結乾燥시켜 最終 抽出된 粉末 0.06g을 供給받아 生理食鹽水 20ml에 溶解시켜 使用하였다.

3) 試藥 및 機器

實驗에 使用한 試藥 中에서 Lipopolysaccharide(LPS; E.coli 055:B5), sodium pentobarbital solution, EDTA solution, paraffin, 0.0125% 3, 3'-diaminobenzidine(DAB) 및 0.05M tris-HCl 완충용액(pH7.4)은 Sigma社(U.S.A.)로부터, paraformaldehyde는 EMS社(U.S.A.)로부터, rat anti-mouse CD106은 Serotec社(England), 0.05% pepsin이 포함된 0.01N HCl 용액(pH2.0)과 0.01% hydrogen peroxide는 Junsei社(Japan)로부터, rat anti-mouse CD11b, rat anti-mouse CD40, rat anti-mouse IL-1 β , rat anti-mouse IL-2R, rat anti-mouse CD54, rat anti-mouse CD4(L3T4), rat anti-mouse CD8(Ly2) 및 avidin biotin complex(ABC)는 Ve-

ctor stain社(U.S.A.)로부터, Weigert's iron hematoxylin과 Van Gieson's stain solution은 Fluka社(Germany)로부터, aldehyde fuchsin, methyl orange solution, Wright stain 및 Giemsa stain은 BDH社(England)로부터, normal goat serum, biotinylated goat anti-rat IgG 은 DAKO社(Denmark) 등에서 購入하여 使用하였다. 實驗에 使用한 機器는 hemacytometer (Superior, Germany), 光學顯微鏡(BH2, Olympus, Japan) 등이었다.

2. 方法

1) 取穴

解剖學的으로 人體의 陽陵泉(GB₃₄)에 相應하는 部位를 骨度分寸法으로 擇하였다.

2) 關節炎 誘發

關節炎은 sodium pentobarbital solution으로 麻酔한 後 무릎부위 皮膚를 切開하여 무릎 뼈를 확인한 後 lipopolysaccharide(LPS; E.coli 055:B5)를 200 μ l의 蒸溜水에 稀釋하여 10 μ g/20 μ l 濃度로 만든 後 300 μ g/kg씩 各 생쥐의 右側 무릎 關節에 注射하여 誘發시켰다.

3) 實驗群의 分類 및 藥鍼處置

實驗動物은 생쥐 7마리를 各各 1群으로 하여 處置하지 않은 正常群(normal)과 LPS로 關節炎을 誘發시킨 對照群(control group) 및 LPS注射 後 第 2, 4, 6, 8, 10 및 12日에 各各 1.0ml 注射器(26gauge, 綠十字醫療工業(株), 그린젝트-1)를 利用하여 藥鍼液 100 μ l씩을 右側 陽陵泉(GB₃₄)에 注入한 藥針刺戟群(sample group)으로 分類하였다.

4) 白血球내 好中球, 淋巴球, 單核球의 分離 및 分布變化 觀察

對照群과 藥鍼刺戟群에서 LPS注射 後 第 3, 7 및 14日에 心臟穿刺를 通하여 採血한 後 Ficoll-Hypaque의 密度差 遠心法²²⁾을 利用해 淋巴球와 單核球를 分離하고 血漿을 10分간 원침하여 好中球를 分離하였다. 이들을 hemacytometer로 計數하였으며 時間 經過에 따른 白血球 構成 成分의 百分率 算定은 Wright 染色을 利用한 通常의인 方法을 使用하였다.

5) 무릎 關節의 脫灰와 標本製作

對照群과 藥鍼刺戟群에서 LPS注射 後 第 3, 7 및 14日 經過 後 sodium pentobarbital solution으로 痲醉한 다음 4% paraformaldehyde로 心臟貫流 固定을 施行하고, 무릎 關節을 摘出하여 24時間 동안 4% paraformaldehyde에서 再固定한 後, 4週 동안 EDTA solution에서 decalcification한 後 蒸溜水로 洗滌하였다.

그런 다음 洗滌된 무릎 關節을 通常의인 方法으로 paraffin에 封埋하고 5 μ m 두께로 連續切片을 만들어, hematoxyline과 eosin으로 染色하여 標本을 製作하였다.

6) 關節 滑液膜內 纖維化와 纖維母細胞의 分布變化 觀察

關節 滑液膜內 纖維化와 纖維母細胞의 分布變化를 觀察하기 爲하여 5 μ m의 連續切片을 Giemsa stain에 依據하여 Wright stain과 Giemsa stain에서 各各 5分, 45分씩 染色하여 光學顯微鏡으로 觀察하였다.

7) 關節 滑液膜內 collagen의 分布變化 觀察

關節 滑液膜內 collagen의 分布變化를 觀察하기 爲하여 5 μ m의 連續切片에 Van Gieson's picric acid-fuchsin stain을 施行하였다.

切片을 Weigert's iron hematoxylin에서 20分

동안 染色한 後 다시 Van Gieson stain solution에서 5分간 染色을 實施하여 染色된 組織 切片을 光學顯微鏡으로 觀察하였다.

8) 關節 滑液膜內 CD54(ICAM-1)의 分布變化 觀察

關節 滑液膜內 CD54(ICAM-1 ; intercellular adhesion molecule-1)의 分布變化를 觀察하기 爲하여 5 μ m의 連續切片에 免疫組織化學的 染色을 實施하였다.

切片을 0.05% pepsin이 包含된 0.01N HCl 溶液(pH2.0)에 5分 동안의 proteolysis 過程을 거친 後 切片을 1:100으로 稀釋된 normal goat serum에 30分 동안 反應시킨 後 PBS(phosphate buffer saline)로 水洗하고, 1:100으로 稀釋된 1次 抗體인 rat anti-mouse CD54, rat anti-mouse CD106에 室溫에서 24時間 동안 反應시킨 後 PBS로 水洗하였다.

그런 다음 1:100으로 稀釋된 2次 抗體인 biotinylated goat anti-rat IgG에 12時間 동안 反應시킨 後 ABC(avidin bition complex)에 30分간 反應시켰다.

0.0125% 3, 3'- diaminobenzidine과 0.01% hydrogen peroxide가 包含된 0.05M tris-HCl 緩衝溶液(pH7.4)에서 發色시킨 後, hematoxylin에 對照染色하여 光學顯微鏡으로 觀察하였다.

9) 關節 滑液膜內 CD106(VCAM-1)의 分布變化 觀察

關節 滑液膜內 CD106(VCAM-1 ; vascular adhesion molecule-1)의 分布變化를 觀察하기 爲하여 5 μ m의 連續切片에 免疫組織化學的 染色을 實施하였다. 切片을 0.05% pepsin이 包含된 0.01N HCl 溶液(pH2.0)에 5分 동안의 proteolysis 過程을 거친 後 切片을 1:100으로 稀釋된 normal goat

serum에 30分 동안 反應시킨 後 PBS로 水洗하고, 1:100으로 稀釋된 1次 抗體인 rat anti-mouse CD54와 rat anti-mouse CD106에 室溫에서 24時間 동안 反應시킨 後 PBS로 水洗하였다.

그런 다음 1:100으로 稀釋된 2次 抗體인 biotinylated goat anti-rat IgG에 12時間 동안 反應시킨 後 ABC에 30分間 反應시켰다. 0.0125% 3, 3'-diaminobenzidine과 0.01% hydrogen peroxide가 包含된 0.05M tris-HCl 緩衝溶液(pH7.4)에서 發色시킨 後, hematoxylin에 對照染色하여 光學顯微鏡으로 觀察하였다.

10) 關節 滑液膜內 IL-1 β 와 IL-2 receptor의 分布變化 觀察

關節 滑液膜內 IL-1 β (interleukin-1 β)와 IL-2R(interleukin-2 receptor)의 分布變化를 觀察하기 위하여 5 μ m의 連續切片에 免疫組織化學的 染色을 實施하였다. 切片을 0.05% pepsin이 包含된 0.01N HCl 溶液(pH2.0)에 5分 동안의 proteolysis過程을 거친 後 切片을 1:100으로 稀釋된 normal goat serum에 30分 동안 反應시킨 後 PBS로 水洗하고, 1:100으로 稀釋된 1次 抗體인 rat anti-mouse IL-1 β 와 rat anti-mouse IL-2R에 室溫에서 24時間 동안 反應시킨 後 PBS로 水洗하였다.

그런 다음 1:100으로 稀釋된 2次 抗體인 biotinylated goat anti-rat IgG에 12時間 동안 反應시킨 後 ABC에 30分間 反應시켰다. 0.0125% 3, 3'-diaminobenzidine과 0.01% hydrogen peroxide가 包含된 0.05M tris-HCl 緩衝溶液(pH7.4)에서 發色시킨 後, hematoxylin에 對照染色하여 光學顯微鏡으로 觀察하였다.

11) 關節 滑液膜內 CD11b(macrophage)의 分布變化 觀察

關節 滑液膜內 CD11b(macrophage)의 分布變化를 觀察하기 위하여 5 μ m의 連續切片에 免疫組織化學的 染色을 實施하였다.

切片을 0.05% pepsin이 包含된 0.01N HCl 溶液(pH2.0)에 5分 동안의 proteolysis過程을 거친 後 切片을 1:100으로 稀釋된 normal goat serum에 30分 동안 反應시킨 後 PBS로 水洗하고, 1:100으로 稀釋된 1次 抗體인 rat anti-mouse CD11b에 室溫에서 24時間 동안 反應시킨 後 PBS로 水洗하였다.

그런 다음 1:100으로 稀釋된 2次 抗體인 biotinylated goat anti-rat IgG에 12時間 동안 反應시킨 後 ABC에 30分間 反應시켰다.

0.0125% 3, 3'-diaminobenzidine과 0.01% hydrogen peroxide가 包含된 0.05M tris-HCl 緩衝溶液(pH7.4)에서 發色시킨 後, hematoxylin에 對照染色하여 光學顯微鏡으로 觀察하였다.

12) 온영덩 淋巴節內의 CD4+ (helper T cell) 과 CD8+ (cytotoxic T cell)의 分布變化 觀察

온영덩 淋巴節 (common iliac lymph node)內의 CD4+ (helper T cell)와 CD8+ (cytotoxic T cell)의 分布變化를 觀察하기 위하여 5 μ m의 連續切片에 免疫組織化學的 染色을 實施하였다.

切片을 0.05% pepsin이 包含된 0.01N HCl 溶液(pH2.0)에 5分 동안의 proteolysis 過程을 거친 後 切片을 1:500으로 稀釋된 normal goat serum에 30分 동안 反應시킨 後 PBS로 水洗하고, 1:100으로 稀釋된 1次 抗體인 rat anti-mouse CD4+와 rat anti-mouse CD8+에 室溫에서 24時間 동안 反應시킨 後 PBS로 水洗하였다.

그런 다음 1:100으로 稀釋된 2次 抗體인 biotinylated goat anti-rat IgG에 12時間 동안 反應시킨 後 ABC에 30分間 反應시켰다.

0.0125% 3, 3'-diaminobenzidine과 0.01% hydrogen peroxide가 포함된 0.05M tris-HCl 緩衝溶液(pH7.4)에서 發色시킨 後, hematoxylin에 對照染色하여 光學顯微鏡으로 觀察하였다.

13) 온영덩 淋巴節內的 CD40(B Cell)의 分布變化 觀察

온영덩 淋巴節(common iliac lymph node)內的 CD40(B Cell)의 分布變化를 觀察하기 위하여 5 μ m의 連續切片에 免疫組織化學的 染色을 實施하였다.

切片을 0.05% pepsin이 包含된 0.01N HCl 溶液(pH2.0)에 5分 동안의 proteolysis 過程을 거친 後 切片을 1:500으로 稀釋된 normal goat serum에 30分 동안 反應시킨 後 PBS로 水洗하고, 1:100으로 稀釋된 1次 抗體인 rat anti-mouse CD40에 室溫에서 24時間 동안 反應시킨 後 PBS로 水洗하였다.

그런 다음 1:100으로 稀釋된 2次 抗體인 bi-otynylated goat anti-rat IgG에 12時間 동안 反應시킨 後 ABC(avidin bition complex)에 30分間 反應시켰다.

0.0125% 3, 3'-diaminobenzidine과 0.01% hydrogen peroxide가 包含된 0.05M tris-HCl 緩衝溶液(pH7.4)에서 發色시킨 後, hematoxylin에 對照染色하여 光學顯微鏡으로 觀察하였다.

14) 統計處理

이 實驗에서 얻은 對照群과 藥鍼刺戟群의 結果에 對하여 student's t-test를 實施하여 有意性 與否를 檢證하였고, p값이 0.05 以下인 境遇에 有意性을 認定하였다.

III. 성적

1. 血液內 白血球 構成 成分의 變化

1) 好中球의 變化

對照群은 LPS注射 後 3日에는 16.7 \pm 3.0, 7日에는 13.0 \pm 2.9, 14日에는 13.4 \pm 3.1로 正常群에 比해서 各各 減少하였다.

藥鍼刺戟群은 LPS注射 後 7日에는 17.0 \pm 2.0, 14日에는 17.9 \pm 1.2로 對照群에 比해서 各各 有意性(P < 0.05)있는 增加가 觀察되었다(Table I).

Table I. The Effect of BUM Aqua-acupuncture on the Neutrophils of WBC in Mice with LPS Induced Arthritis

unit : mm³

Group \ Days	3	7	14
Normal	22.7 \pm 3.1 ¹⁾	22.6 \pm 2.2	23.0 \pm 2.0
Control	16.7 \pm 3.0	13.0 \pm 2.9	13.4 \pm 3.1
Sample	17.0 \pm 2.0	17.9 \pm 1.2 [*]	20.8 \pm 1.3 [*]

1) Mean \pm standard deviation

Normal : Non-treated group

Control : Group of LPS Induced arthritis

Sample : Group of BUM aqua-acupuncture to GB 34(Rt) in mice with LPS induced arthritis

BUM : Aqua solution mixed with Calculus bovis, Fel ursi and Moschus

LPS : Lipopolysaccharide(E.coli 055:B5)

* : Statistically significant as compared with data of control group(* : P < 0.05)

2) 淋巴球의 變化

對照群은 LPS注射 後 3日에는 80.4 \pm 3.4, 7日에는 82.1 \pm 3.5, 14日에는 82.8 \pm 3.2로 正常群에 比해서 各各 增加하였다.

藥針刺戟群은 LPS注射 後 14日에 77.3 \pm 1.5로 對照群에 比해서 有意性(P < 0.05)있는 減少가 觀察되었다(Table II).

Table II. The Effect of BUM Aqua-acupuncture on the Lymphocytes of WBC in Mice with LPS Induced Arthritis

unit : mm³

Group \ Days	3	7	14
Normal	74.3±2.0 ¹⁾	75.1±3.8	74.4±1.7
Control	80.4±3.4	82.1±3.5	82.8±3.2
Sample	79.6±2.3	79.6±3.2	77.3±1.5 [*]

1) Mean ± standard deviation

Normal : Non-treated group

Control : Group of LPS Induced arthritis

Sample : Group of BUM aqua-acupuncture to GB 34(Rt) in mice with LPS induced arthritis

BUM : Aqua solution mixed with Calculus bovis, Fel ursi and Moschus

LPS : Lipopolysaccharide(E.coli 055:B5)

* : Statistically significant as compared with data of control group(* : P < 0.05)

3) 單核球의 變化

對照群은 正常群에 比해서 LPS注射 後 3日에는

Table III. The Effect of BUM Aqua-acupuncture on The Monocytes of WBC in Mice with LPS induced Arthritis.

unit : mm³

Group \ Days	3	7	14
Normal	2.1±0.8 ¹⁾	2.0±0.9	2.0±0.7
Control	1.8±1.3	4.4±1.3	3.0±1.2
Sample	3.4±0.5 [*]	2.3±0.6 [*]	1.7±0.2 [*]

1) Mean ± standard deviation

Normal : Non-treated group

Control : Group of LPS Induced arthritis

Sample : Group of BUM aqua-acupuncture to GB 34(Rt) in mice with LPS induced arthritis

BUM : Aqua solution mixed with Calculus bovis, Fel ursi and Moschus

LPS : Lipopolysaccharide(E.coli 055:B5)

* : Statistically significant as compared with data of control group(* : P < 0.05)

1.8±1.3으로 減少하였고 7日에는 4.4±1.3, 14日에는 3.0±1.2로 顯著히 增加하였다.

藥鍼刺戟群은 LPS注射 後 3日에 3.4±0.5로 對照群에 比해서 有意性(P < 0.05) 있는 增加가, 7日에는 2.3±0.6, 14日에는 1.7±0.2로 各各 有意性(P < 0.05) 있는 減少가 觀察되었다(Table III).

2. 關節 滑液膜 內 構成 成分의 變化

1) 纖維化와 纖維母細胞의 分布變化

LPS注射 後 第 14日에 對照群에서 纖維化가 纖維關節膜周邊 脂肪細胞層 및 關節腔으로 進行되어 있는 것으로 觀察되었으며, 特히 關節囊周邊의 關節軟骨에서 正常群에 比하여 纖維化가 甚하게 일어나 關節軟骨을 損傷시킨 것을 觀察할 수 있었다.

藥鍼刺戟群에서 纖維化와 纖維母細胞의 分布는 對照群에 比해 거의 나타나지 않아 關節損傷의 程度가 크지 않은 것을 觀察할 수 있었다.

2) Collagen의 分布變化

LPS注射 後 第 14日에 對照群에서 Collagen이 潤滑關節膜과 關節 滑液膜內의 纖維化가 일어나는 炎症關聯細胞 沈積地域에서 正常群에 比해 顯著히 增加된 樣相을 보였다.

藥鍼刺戟群에서 Collagen 分布는 對照群에 比하여 減少된 것으로 觀察되었다.

3) CD54 (ICAM-1)의 分布變化

LPS注射 後 第 14日에 對照群에서 CD54이 潤滑關節膜과 關節 滑液膜 內의 纖維化가 일어나는 炎症關聯細胞 沈積地域에서 正常群에 比해 顯著히 增加된 樣相을 보였다.

藥鍼刺戟群에서 CD54는 對照群에 比하여 그 分布가 減少된 것으로 觀察되었다.

4) CD106 (VCAM-1)의 分布變化

LPS注射 後 第 14日에 對照群에서 CD106이 潤滑關節膜과 關節 滑液膜 內의 纖維化가 일어나는 炎症關聯細胞 沈積地域의 血管周邊에서 正常群에 比하여 顯著히 增加된 樣相을 보였다.

藥鍼刺戟群에서 CD106는 對照群에 比하여 그 分布가 減少된 것으로 觀察되었다.

5) IL-1 β 의 分布變化

LPS注射 後 第 14日에 對照群에서 IL-1 β 이 關節軟骨과 潤滑關節膜 連結部位의 纖維化地域에서 正常群에 比하여 顯著히 增加된 樣相을 보였다.

藥鍼刺戟群에서 IL-1 β 는 對照群에 比하여 그 分布가 減少된 것으로 觀察되었다.

6) IL-2 receptor의 分布變化

LPS注射 後 第 14日에 對照群에서 IL-2R이 潤滑關節膜과 關節滑液膜內의 纖維化가 일어나는 炎症關聯細胞 沈積地域에서 正常群에 比하여 顯著히 增加된 樣相을 보였다.

藥鍼刺戟群에서 IL-2R는 對照群에 比하여 그 分布가 減少된 것으로 觀察되었다.

7) CD11b (macrophage)의 分布變化

LPS注射 後 第 14日에 對照群에서는 CD11b이 關節滑液膜內의 纖維化가 일어나는 炎症關聯細胞 沈積地域에서 正常群에 比하여 顯著히 增加된 樣相을 보였다.

藥鍼刺戟群에서 CD11b는 對照群에 比하여 그 分布가 減少된 것으로 觀察되었다.

3. 온영덩 淋巴節內의 分布變化

1) CD4+ T淋巴球(helper T cell)의 分布變化

LPS注射 後 第 14日에 對照群에서는 CD4의 分布가 결피질과 수질동에서 正常群에 比하여 增加하였다.

藥鍼刺戟群에서 CD4는 對照群에 比하여 그 分布가 減少된 것으로 觀察되었다.

2) CD8+ T淋巴球(cytotoxic T cell)의 分布變化

LPS注射 後 第 14日에 對照群에서는 CD8의 分布가 결피질과 수질동에서 正常群에 比하여 增加하였다.

藥鍼刺戟群에서 CD8는 對照群에 比하여 그 分布가 減少된 것으로 觀察되었다.

3) CD40(B cell)의 分布變化

LPS注射 後 第 14日에 對照群에서는 CD40의 分布가 결피질과 수질동에서 正常群에 比하여 增加하였다.

藥鍼刺戟群에서 CD11b는 對照群에 比하여 그 分布가 減少된 것으로 觀察되었다.

IV. 고찰

류마티스 關節炎은 膠原性 疾患의 一種으로 滑液膜의 肥厚와 淋巴球의 局所的 浸潤을 病理學的 特徵으로 하는 慢性 炎症性 疾患이며 多發性 關節炎을 일으키며, 退行性 關節疾患 다음으로 흔히 볼 수 있고, 現在까지 確實한 原因이 알려져 있지 않은 全身 疾患으로, 最近에는 自家免疫性 疾患의 一種인 것으로 認定되고 있다.

류마티스 關節炎을 일으키는 原因 物質들에 關하여 確實히 糾明된 바는 없으나 EBV(Epstein-Barr virus), mycobacteria 및 Type II Collagen 등의 滑膜炎 發生을 誘發할 수 있는 原因 因子들과 class II 遺傳子(HLA-D: Human Leukocyte antigen-D) 등의 遺傳 免疫學的 宿主因子들, 그리고 滑膜의 B 淋巴球에 衣한 體液性 免疫反應, 滑液 組織內

T 淋巴球에 의한 細胞性 免疫反應, ICAM, VCAM, VLA, LFA 等の adhesion molecule(癒着分子), IL-1, TNF- α 및 IFN- β 等の cytokine과 같은 宿主의 免疫 反應 因子들로 因해 發生하는 것으로 推定되고 있다.

류마티스 關節炎의 免疫學的 病理 機轉을 살펴보면, 原因不明의 抗原이 體內的 抗體와 選擇의인 結合을 함으로써 自家免疫反應이 일어나 免疫細胞인 T 및 B 淋巴球가 蓄積되는데, 滑液膜 周圍에 活性化된 T 淋巴球, 大食細胞, 纖維母細胞 및 單核球 等の 浸潤이 나타나므로써 各種 cytokine의 發顯이 促進되어 關節 組織을 破壞하는 細胞性 免疫反應, B 淋巴球가 關與하여 immunoglobulin의 合成을 增加시키고 rheumatic factor를 形成하는 體液性 免疫反應이 誘發되어 滑液膜의 纖維化와 滑膜內 炎症, 關節 組織의 破壞, 關節의 變形과 強直이 나타나게 된다.

류마티스 關節炎의 一般的인 治療에는 비스테로이드 消炎鎮痛劑, 副腎皮質 호르몬劑, IL-1과 IL-2 및 T淋巴球의 活性化를 抑制하는 細胞毒性 抑制劑 및 免疫抑制劑가 投與되어 왔으나 最近에는 류마티스 關節炎의 發生時 中心的 役割을 하는 活性化된 T淋巴球와 炎症性 cytokine 抑制 및 癒着分子 抑制등의 方法이 實驗的, 臨床的으로 많이 研究되고 있다.

歷節病은 <金匱要略>⁴⁾에 “歷節風, 不可屈伸”, “諸肢節疼痛, 身體羸弱 脚腫如脫”라 하여 그 症狀를 描寫하고 있으며, 古代로 歷節風,^{4~6)} 白虎病,⁷⁾ 白虎歷節風⁸⁾ 등으로 表現되고 있으며, 最近 中國에서는 類風濕性關節炎⁹⁾으로 表現하고 있는데 이들은 모두 痺症의 範疇에 屬하는 것으로 痺症은 <素問 痺論>에 “風寒濕三氣雜至, 合而爲痺也”라고 表現하였고, 痺症의 症狀이 筋骨 肌肉 關節 等に 疼痛, 重着, 痲木 및 關節腫大, 屈伸不利, 發赤, 熱感 및 活動障礙 等인 것으로 보아 現代醫學의 류마티스樣 關節炎과

臨床症狀이 類似함을 알 수 있다.

韓醫學에서는 류마티스 關節炎이 身體의 氣血과 臟腑가 內虛한 狀態에서 六淫之邪가 侵入하여 痰, 火와 瘀血을 生成하여 肌肉, 關節을 阻滯하여 氣血 循行이 순조롭지 못하여 發生된다고 알려져 있으며, 류마티스 關節炎에 對한 文獻的 研究로, 權¹¹⁾의 東西醫學的 文獻 考察과 柳²⁷⁾의 白虎湯과 白虎加桂枝湯의 效果에 對한 報告와 金²⁸⁾의 五加皮의 效果에 對한 報告 및 李²⁹⁾의 竝祛湯의 效果에 對한 報告 등이 있다.

류마티스 關節炎 患者에 對한 臨床的 研究로는, 羅³⁰⁾의 東醫治療가 過酸化物 活性도에 有意한 效果가 있었다는 報告, 羅¹⁴⁾의 蓼朮健脾湯, 疎風活血湯, 大防風湯加味方, 靈仙除痛飲加味方이 미치는 效果에 對한 報告와 朴¹⁵⁾의 越痺加朮湯, 清熱利水湯을 류마티스 關節炎에 投與하여 治療한 2例에 關한 報告 등이 있다.

牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼에 對한 研究로, 羅²⁴⁾의 Ajuvant 關節炎에 미치는 影響에 關한 報告, 黃²⁵⁾의 附子로 誘發된 肝損傷의 恢復에 미치는 影響에 關한 報告, 黃²⁶⁾의 附子로 誘發된 肝損傷에 미치는 影響에 關한 電子顯微鏡的 研究 報告 및 黃¹⁷⁾의 류마티스 關節炎 患者의 關節 炎症 抑制 效果에 關한 臨床的 報告가 있었다.

治療에 있어서 羅¹⁴⁾는 關節 周圍 經穴에 針, 附缸, 灸, 物理治療 및 蓼朮健脾湯加味, 疎風活血湯加味方을 各各 投與, 朴¹⁵⁾은 針, 附缸, 灸, 物理治療 및 越痺加朮湯과 清熱利水湯을 各各 投與, 黃¹⁷⁾은 關節 周圍 經穴에 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼, 附缸, 灸 治療 및 蓼朮健脾湯加味, 香砂平胃散加味, 香蘇散合 九味羌活湯加味, 大防風湯加味, 疎風活血湯加味方을 各各 投與하여 症狀이 好轉되었다는 報告를 하였다.

牛黃은 牛科에 屬한 黃牛 또는 水牛의 膽囊結石으로, 效能은 清熱解毒, 化痰鎮痙, 清心開竅하며, 그

作用은 抗炎作用, 增加된 血管 透過性을 抑制, 中樞神經을 鎮靜시키는 作用이 있는 것으로 알려져 있다.

熊膽은 熊科에 屬한 곰의 膽囊을 切取하여 乾燥한 것으로, 效能은 清心平肝, 清熱解毒, 殺蟲하며, 그 作用은 膽汁分泌促進, 血壓降下, 抗痙攣, 抗菌, 抗炎, 抗過敏, 祛痰하는 것으로 알려져 있다.

麝香은 鹿科에 屬한 사향노루 수컷의 臍部와 陰莖사이에 있는 線囊에서 分泌되는 分泌物를 乾燥한 것으로, 效能은 通諸竅, 開經絡, 活血散結, 散瘀止痛, 透肌骨, 催生下胎하며, 그 作用은 強心作用으로 心臟의 收縮力을 增加시키고 中樞神經에 作用하여 興奮 或은 抑制시키며, 特히 強한 抗炎作用이 있는 것으로 알려져 있다.

이에 著者는 LPS로 생쥐에 關節炎을 誘發시킨 後 류마티스 關節炎의 關節 炎症 抑制에 有效하다고 報告되고 있는¹⁷⁾ 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼을 舒筋脈, 清泄濕熱, 疎經絡濕滯, 強健腰腿의 效能으로 膝關節炎의 治療에 常用되는 陽陵泉(GB₃₄)¹⁹⁻²⁰⁾에 刺戟하여, 關節腔 內 免疫反應을 觀察하고자 關節 滑液膜內의 白血球 構成成分, 纖維母細胞, collagen의 分布 變化와 癒着分子(ICAM-1, VCAM-1), cytokine(IL-1 β , IL-2R), macrophage의 分布變化 및 온영덩 淋巴節內의 T와 B 淋巴球 分布變化를 觀察하였다.

本 實驗의 關節炎 誘發 物質로 使用된 LPS는 動物에 各種의 實驗的 自家免疫病을 誘發하는 物質로, macrophage의 腫瘍細胞 壞死 因子의 生成에 關與하며, 活性化된 monocyte나 macrophage에서 分泌되는 炎症反應 媒介物質인 TNF- α 와 prostaglandin E₂의 生成과 分泌를 增加시켜 動物의 關節에 刺入, 急性 關節炎을 誘發할 수 있는 것으로 알려져 있다.

好中球(neutrophil)는 顆粒性 白血球 中の 하나로 骨髓에서 生成되어 末梢血液으로 들어갔다 다

시 血管 밖으로 나와 感染巢로 모이는데 一名 小食細胞로 大食細胞인 macrophage와 함께 細菌과 같은 微生物을 貪食하여 人體를 感染으로부터 防禦하는 機能을 갖고 있다.

好中球는 急性 感染 疾患이나 腫瘍 등이 發生했을 때 增加하며 免疫力과 感染에 代한 防禦力이 低下되었을 때 減少하는 것으로 알려져 있는데, 이 實驗에서는 對照群에서 正常群에 比해 顯著히 好中球가 低下되었으나 第 7日과 14日의 藥鍼刺戟群에서 對照群에 比하여 好中球가 有意性있게 增加한 것으로 觀察되었다.

이와 같은 結果는 關節炎 誘發로 低下되었던 免疫力과 感染에 代한 防禦力이 藥鍼刺戟으로 因해 向上되었음을 나타낸 것으로 實驗 期間을 더 延長했을 때 正常群의 好中球 水準까지 恢復되는지 觀察하는 研究가 더 必要할 것으로 생각된다.

淋巴球의 增加는 免疫反應이 發生하고 있음을 意味하며 特히 T 淋巴球의 增加는 自家免疫反應이 일어나고 있음을 意味하는데, 이 實驗에서는 對照群에서 正常群에 比하여 增加한 淋巴球가 觀察되었으며 第 7日, 14日의 藥鍼刺戟群에서 對照群에 比하여 淋巴球가 有意性있게 減少된 것으로 觀察되었다.

이와 같은 結果는 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼이 류마티스 關節炎 患者의 炎症 反應으로 增加된 血清 ESR과 CRP를 抑制한다는 報告¹⁷⁾와 類似하였으며, 이는 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼이 免疫反應에 關與하는 淋巴球의 增加를 抑制하는 作用을 하는 것으로 思料된다.

單核球는 lymphocyte 등과 함께 류마티스 關節炎이 始作된 滑液膜內로 浸潤되어 炎症을 誘發시키는 細胞로, 白血球 全體에서 차지하는 量은 極히 적으나 macrophage를 增加시켜 活發한 貪食作用을 하여 關節炎의 滑液膜 炎症 反應에 미치는 影響이 큰 것으로 알려져 있고, 免疫과 炎症細胞에서 IL-1의 作用을 抑制하는 蛋白質을 分泌한다고 알려져

있다.

이 實驗에서는 對照群에서 單核球가 正常群에 비해 第 3日에는 多少 減少하였다가 第 7日, 14日에 顯著히 增加하였고 藥鍼刺戟群에서는 對照群에 비하여 第 3日에는 有意性있게 增加하였으며, 第 7日, 14日에는 第 3日에 비하여 有意性있게 減少하였고, 第 14日에는 오히려 正常群보다 줄었음이 觀察되었다.

이와 같은 結果는 黃柏藥鍼이 LPS 로 誘發된 토끼의 關節炎에서 白血球의 移住 誘導와 增殖을 抑制하였다는 報告³¹⁾와 附子로 肝損傷을 誘發한 생쥐에서 血清中 白血球가 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼 刺戟으로 減少하였다는 報告³²⁾와 類似하였는데, 이는 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼이 炎症性 滑膜細胞에 있어서 抗炎 作用을 하는 것으로 思料된다.

關節囊 潤滑膜 組織의 纖維化 및 纖維母細胞의 發顯은 初期 關節炎의 特徵的인 所見으로 알려져 있는데, 關節囊의 가장 안쪽에 位置하는 潤滑膜 細胞는 淺層에서부터 纖維性 結合組織 또는 脂肪組織, 그리고 緻密 纖維組織으로 構成되어 있으며, 潤滑膜 內의 纖維母細胞, 纖維化 發顯은 關節 軟骨 組織을 損傷시킨다고 알려져 있다.

이 實驗에서는 14日에 對照群에서 關節囊 周邊의 關節軟骨에서 纖維母細胞와 甚한 纖維化 및 關節軟骨의 組織損傷을 觀察할 수 있었으며, 藥鍼刺戟群에서 纖維化와 纖維母細胞의 分布는 對照群에 비하여 거의 나타나지 않아 關節損傷의 程度가 크지 않은 것을 觀察할 수 있었다.

이와 같은 結果는 牛黃·熊膽 藥鍼이 關節炎의 滑液膜 上皮細胞 破壞를 抑制한다는 報告¹⁶⁾와 WBC, monocyte, macrophage, fibroblast 및 滑液膜 細胞들이 直接 間接的으로 軟骨 組織 損傷에 關與한다는 報告³³⁾ 등과 類似한데, 이는 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼이 炎症性 滑膜細胞에 있어서

細胞浸潤을 抑制하도록 作用하는 것으로 思料된다.

1977年 Trentham等³⁵⁾에 의해 始作된 collagen 投與로 誘發된 實驗 動物의 關節炎 (collagen-induced arthritis: CIA) 研究에서 人體의 rheumatoid 關節炎과 매우 類似한 病理所見을 報告하고 있으며 또한 關節炎에 罹患된 動物에서 抗 第 2型 collagen 抗體의 역가가 높게 檢出되었다고 報告하는 등 人間의 rheumatoid 關節炎에 對한 理解에 있어 매우 有用한 意味를 갖는다고 알려져 있다.

抗 collagen 抗體가 增加할 때 損傷되었던 軟骨의 治療 效果가 增加하는데, 이 實驗에서는 藥鍼刺戟群에서 collagen fiber로 形成된 纖維化層이 關節炎 誘發群에 비하여 월등히 적은 것으로 觀察되었다.

이와 같은 結果는 collagenase를 關節腔內에 注入하여 滑膜細胞와 軟骨細胞의 代謝作用에 미치는 惡影響에 對해 觀察한 報告³⁴⁾와 類似한 것으로, 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼이 炎症性 滑膜細胞에 있어서 抗 collagen 抗體와 類似하게 作用하는 것으로 思料된다.

癒着分子(adhesion molecules)는 炎症部位에 白血球, 淋巴球, 單核球가 滑膜에 浸透되도록 하는데 重要한 役割을 하며, immunoglobulin superfamily, integrin family, selectin family, cadherin family 등의 分類로 나뉘고 있고, 류마티스 關節炎에서 炎症反應을 促進 또는 惡化시키는 重要한 要因中 하나인데, 滑膜細胞가 炎症性 cytokine의 刺戟을 받아 癒着分子의 發顯을 增殖시키며 增加된 癒着分子는 滑膜細胞와 T cell間的 癒着을 促進시킨다.

류마티스 關節炎에서 癒着分子는 淋巴球가 內皮細胞에 癒着되어 滑膜에 浸潤되고 여러 細胞들과 相互作用하는 全過程에 參與하고, 여러 가지 炎症性 cytokine에 依하여 그 發現量이 크게 增加하며, 活性化된 T淋巴球와 滑液膜細胞間的 癒着에 큰 役割을 하며, 炎症細胞를 滑液膜組織에 募集하고 癒着시

켜서 炎症反應을 促進시켜 關節炎의 症狀를 惡化시키는 重要한 役割을 하므로 血清 및 血漿內에 存在하는 癒着分子을 測定함으로써 免疫 活性度를 間接的으로 測定할 수도 있을 것으로 보여 向後 류마티스 關節炎 患者의 疾患의 活性度, 豫後, 治療에 對한 效果 等を 判定하는데 좋은 指標가 될 것이다.

ICAM(intercellular adhesion molecule)-1은 癒着分子의 分類에서 VCAM과 함께 immunoglobulin superfamily에 屬하며 류마티스 關節炎의 滑液膜에서는 거의 모든 細胞에서 高濃度로 發顯되고, 滑液膜內에서 炎症性 cytokine에 衣해 刺戟되면 그 發顯이 크게 增加하며 特히 大食細胞性 滑膜細胞에서 強하게 發顯되어 滑膜細胞와 T cell間의 癒着에 큰 役割을 하는 것으로 報告되고 있다.

VCAM(vascular cell adhesion molecule)-1은 滑膜細胞中 特히 fibroblast-like cell에서 強하게 發顯되며 resting cell에서는 發顯되지 않으나 滑膜의 炎症性 cytokine에서 刺戟을 받아 ICAM과 마찬가지로 滑膜細胞와 T cell의 癒着 機轉에 큰 役割을 한다.

이 實驗에서는 ICAM-1(CD54)과 VCAM-1(CD106)가 藥鍼刺戟群에서 對照群에 比하여 둘 다 減少하는 樣相이 觀察되었다.

이와 같은 結果는 ICAM-1이 T淋巴球와 滑液膜細胞의 癒着에 크게 기여하였고 抗 ICAM-1 抗體가 細胞間의 癒着을 크게 抑制하였다는 報告¹⁾와 類似한 것으로, 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼이 炎症性 滑膜細胞에 있어서 抗 ICAM-1 抗體 또는 抗 VCAM 抗體와 類似하게 作用하는 것으로 思料된다.

淋巴節은 成熟한 淋巴球가 모여 最終的으로 成熟되는 곳으로 주로 Helper T淋巴球(CD4+)가 浸潤되어 있으며, 그 周圍에는 cytotoxic T淋巴球(CD8)가 浸潤되어 있다.

免疫細胞는 淋巴球의 細胞膜에 存在하는 표면수용체에 따라 크게 T 및 B 淋巴球로 區分되며 T 淋

巴球를 中心으로 한 細胞媒介性 免疫인 細胞性 免疫反應(cell mediated immunity)과 B 淋巴球로부터 形成된 免疫反應에 衣한 體液性 免疫反應(humoral immunity)으로 大別된다.

T 淋巴球는 류마티스 關節炎의 病態 生理의 始作과 進行에 核心的인 役割을 하며, 活性化된 T 淋巴球는 류마티스 關節炎 患者에 있어서 末梢血液, 滑液膜 및 淋巴節에서 發見할 수 있다고 하는데, 이러한 報告를 根據로 하여 류마티스 關節炎의 治療에 T 淋巴球를 減少시키는 方法을 通하여 류마티스 關節炎이 好轉된다고 알려져 있는 것으로 볼 때 T 淋巴球가 류마티스 關節炎의 免疫學的 病因에 重要한 役割을 하고 있음을 알 수 있다.

陽陵泉穴에 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼을 刺戟한 後 測定한 結果, 藥鍼刺戟群에서 對照群에 比하여 淋巴節內의 CD4+와 CD8+의 數와 分布가 顯著히 減少된 것을 觀察할 수 있었다.

이와 같은 結果는 骨關節炎 患者의 滑液膜에 浸潤된 Helper T淋巴球(CD4+)를 觀察할 수 있다는 報告³⁶⁾와 類似하였는데, 이는 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼이 류마티스 關節炎의 免疫 機轉에서 抗 CD4+ 抗體 또는 抗 CD8+ 抗體와 類似하게 作用하는 것으로 思料된다.

B 淋巴球는 抗體生産細胞로 活動하는 淋巴球의 一種으로 體液性 抗體(humoral antibody)를 形成하여 體液性 免疫反應(humoral immunity)을 主導하여 滑液膜內의 局所 류마티스 因子(rheumatic factor, RF)와 免疫複合體의 生成에 關與하는데, 이 實驗에서는 藥鍼刺戟群에서 對照群에 比하여 CD40의 減少를 觀察할 수 있었다.

이와 같은 結果는 류마티스 關節炎 患者 膝關節 滑液膜에서 B 淋巴球의 發顯이 顯著하였다는 報告³⁷⁾와 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼을 류마티스 關節炎 患者의 經穴에 注入하여 體液性 免疫反應을 抑制하였다는 報告¹⁷⁾와 類似하였는데, 이는 牛黃·

熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼이 류마티스 關節炎의 免疫 機轉에서 抗 CD40 抗體와 類似하게 作用하는 것으로 思料된다.

Macrophage는 好中球와 함께 抗原에 對한 食作用을 擔當하는 細胞로, 抗原提示細胞의 細胞表面 主要組織 適合抗原(MHC抗原)에 結合하여 抗原을 效果的으로 T cell receptor에 提示하는 役割을 한다고 알려져 있다.

류마티스 關節炎에서 macrophage는 炎症性 cytokine을 分泌하여 發熱과 炎症 등을 誘發시키는데, 陽陵泉穴에 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼을 刺戟한 後 關節 滑液膜內의 CD11b細胞를 觀察한 結果, 藥鍼刺戟群에서 對照群에 比하여 CD11b 細胞 分布의 減少가 觀察되었다.

이와 같은 結果는 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼이 류마티스 關節炎의 病理 機轉에서 macrophage의 發生을 抑制하는 作用을 하는 것이라고 思料된다.

Cytokine은 細胞의 成長調節에 重要な 役割을 擔當하는데 特히 免疫反應에 關係하는 細胞의 活性을 調節하는 것으로 알려져 있고, 正常 細胞 機能에 重要な 役割을 하는 反面 지나친 生産이나 抑制가 오히려 關節을 破壞시킨다.

IL-1(interlukin-1)은 cytokine의 代表的인 物質中 하나로서 主로 macrophage에서 生成되어 發熱과 炎症 등에 關與하며 IL-1 α 와 IL-1 β 의 두 가지 形態가 있고, T cell, B cell 같은 免疫 細胞를 活性化시키고, 好中球, lymphocyte, monocyte, fibroblast를 增殖시키고 滑膜의 collagenase生産을 促進시킴으로써 關節 軟骨의 破壞를 招來하여 류마티스 關節炎을 일으키는 重要な 媒介物質이다.

IL-1와 류마티스 關節炎의 關係는 軟骨 細胞에서 發顯되는 ICAM-1이 IL-1을 비롯한 各種 cytokine에 依하여 發顯이 顯著히 增加되었다는 報告,³³⁾ 關節炎 患者의 滑液에서 生物學的으로 活性化

된 IL-1 類似 物質이 있었다는 報告,³⁸⁾ 류마티스 關節炎 患者의 血液內에 IL-1의 量이 性狀에 比하여 有意하게 높아져 있었다는 報告³⁹⁾ 등으로 알 수 있다.

류마티스 關節炎에서 IL-1 β 는 癒着分子(ICAM-1, VCAM 等等)의 生成을 促進시켜 白血球의 細胞 浸潤을 增加시키며 T 淋巴球의 機能을 活性化시켜 關節炎이 發生된 關節軟骨의 組織을 損傷 破壞시키므로 IL-1 β 를 抑制 또는 遮斷하면 류마티스 關節炎이 好轉된다고 알려져 있다.

이 實驗에서는 藥鍼刺戟群에서 對照群에 比하여 IL-1 β 가 減少한 것으로 觀察되었는데, 이와 같은 結果는 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼이 류마티스 關節炎의 免疫 機轉에서 IL-1 β 의 發顯을 抑制시키는 作用을 하는 것으로 思料된다.

IL-2(interleukin-2)는 T cell 과 B cell의 增殖과 分化를 誘導하는 物質로 macrophage, monocyte에서 生産되는 IL-1과 活性化된 T cell receptor에 依해 生成되며, T cell의 活性 및 分化로 나타나는 IL-2와 IL-2 receptor의 相互作用에 依해 自家 增殖하여 活性이 增幅되기도 한다. 또한 免疫 反應 調節에 中心 役割을 하는 物質로 重要的 臨床的 意味를 지니고 있고 여러 免疫 疾患의 病因으로도 알려져 있어, 金等⁴⁰⁾은 IL-2 生成 能力의 測定이 臨床에서 免疫 評價의 한 方法으로 利用될 수 있음을 報告하고 있다.

IL-2 receptor는 T 淋巴球의 活性을 抑制하며, IL-2 receptor의 增加는 류마티스 關節炎 炎症의 活性化를 意味하는 것으로, IL-2 receptor의 減少有無는 류마티스 關節炎 治療의 好轉反應에 指標가 되는 것으로 알려져 있다.

이 實驗에서 藥鍼刺戟群은 對照群에 比하여 IL-2 receptor의 分布가 減少한 것으로 觀察되었는데, 이와 같은 結果는 淋巴球의 IL-2 및 IL-2 receptor 生成 能力이 免疫 機能의 尺度가 된다는

報告⁴⁰⁾와 類似한 것으로, 이는 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼 刺戟이 류마티스 關節炎의 免疫 機轉에서 IL-2 receptor의 發顯을 抑制시키는 作用을 하는 것으로 思料된다.

以上の 結果를 綜合하여 보면 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼刺戟은 류마티스 關節炎 動物모델에서 血清 lymphocyte, 血清 monocyte 生成의 減少와 關節滑液膜 組織의 纖維化와 細胞浸潤의 減少, 關節 滑液膜內의 collagen의 減少, 關節 滑液膜內의 癒着分子(ICAM-1, VCAM-1), cytokine (IL-1 β , IL-2 receptor), macrophage, T淋巴球, B淋巴球의 減少가 觀察되어지므로 免疫反應을 抑制함을 알 수 있었다.

이와 같은 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼의 免疫抑制效果는 黃¹⁷⁾의 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼을 류마티스性 關節炎 患者에 注入하여 血液所見과 免疫學的으로 有意한 效果를 얻었다는 報告에 對해 LPS로 關節炎을 誘發시킨 動物 모델을 對象으로 癒着分子 抑制와 其他 免疫 機轉의 抑制 觀察等 더욱 多樣한 結果를 끌어내기는 하였으나, 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼刺戟으로 因한 體液性 免疫反應과 細胞性 免疫反應等 더욱 細分化된 免疫反應에 對한 實驗이 施行되어져야 할 것으로 思料된다.

以上の 結果로 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼刺戟이 류마티스 關節炎 動物모델의 免疫反應을 抑制하는 것이 觀察되어, 류마티스 關節炎 治療中 免疫反應 抑制方法의 하나로 應用可能하리라 생각되며, 앞으로 류마티스 關節炎의 免疫機轉에 對한 多樣한 抑制 研究가 繼續 必要할 것으로 思料된다.

V. 결론

牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼刺戟이 류마티스

關節炎의 免疫反應에 미치는 影響을 觀察하기 爲하여 생쥐에 LPS處置 2日後부터 2日 間隔으로 陽陵泉(GB₃₄)에 牛黃·熊膽·麝香 複合製劑 藥鍼을 100 μ l씩 總 6回 刺戟한 後 neutrophil, lymphocyte, monocyte, fibroblast, collagen, 癒着分子(ICAM-1, VCAM-1), cytokine(IL-1 β , IL-2 receptor), macrophage, T淋巴球, B淋巴球에 대한 變化를 觀察하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 血液內 白血球 構成成分의 變化에서 好中球는 藥鍼刺戟群에서 對照群에 比하여 增加하였고, 淋巴球 및 單核球는 減少하였다.
2. 關節滑液膜內 纖維化와 纖維母細胞 分布는 藥鍼刺戟群에서 對照群에 比하여 減少하였다.
3. 關節滑液膜內 collagen의 分布는 藥鍼刺戟群에서 對照群에 比하여 減少하였다.
4. 關節滑液膜內 ICAM-1의 分布는 藥鍼刺戟群에서 對照群에 比하여 減少하였다.
5. 關節滑液膜內 VCAM-1의 分布는 藥鍼刺戟群에서 對照群에 比하여 減少하였다.
6. 關節滑液膜內 IL-1 β 와 IL-2 receptor의 分布는 藥鍼刺戟群에서 對照群에 比하여 減少하였다.
7. 關節滑液膜內 CD11b(macrophage)의 分布는 藥鍼刺戟群에서 對照群에 比하여 減少하였다.
8. 온영덩 淋巴節內 CD4+(helper T cell)와 CD8+(cytotoxic T cell)의 分布는 藥鍼刺戟群에서 對照群에 比하여 減少하였다.

9. 온영덕 淋巴節內 CD40(B cell)의 分布는 藥鍼刺戟群에서 對照群에 比하여 減少하였다.

VI. 참고문헌

1. 전재범 外 10人 : 류마티스 關節炎 患者의 滑液膜 細胞와 T細胞의 癒着에서 ICAM-1의 役割, 대한류마티스학회지 2(2); 119~125, 1995
2. 김동집 · 박동준 : 류마티스관절염의 병인, 대한류마티스학회지 1; 1~12, 1994
3. Haynes BF, Grover BJ, Whichard LP, Hale LP, Nunley JA, McCollum DE, Singer KH : Synovial microenvironment -T cell interaction. Human T cell bind to fibroblast like synovial cells in vitro. Arthritis Rheum 81; 947~955, 1988
4. 張仲景 : 金匱要略方論, 臺北, 大聯國風出版社, pp. 32~33, 1973
5. 巢元方 : 巢氏諸病源候論, 臺北, 昭人出版社, pp. 11~12, 1974
6. 張介賓 : 景岳全書, 서울, 杏林書院, pp. 153~159, 1975
7. 王燾 : 外臺秘要(中醫學大系 4), 서울, 驪江出版社, pp. 442~736
8. 朱丹溪 : 丹溪心法, 五洲出版社, pp. 206~212, 1978
9. 董黎明 : 實用中醫內科學, 上海, 上海科學技術出版社, pp. 554~569, 1986
10. 정석희 : 痺病의 文獻的 研究, 서울, 大韓韓醫學會誌, 16(1); 10, 1995
11. 권영달, 송용선 : 류마티스 關節炎에 對한 東西醫學的 考察, 大韓醫學會誌, 15(2); 373 ~ 396, 1994
12. 최홍식 · 권오성 · 이준희 · 강운호 : 歷節病에 關한 研究, 韓醫學研究所論文集 5; 97~129, 1996
13. 남상경 : RA 에 對한 考察, 大韓韓醫學會誌, 13(2); 74~87, 1992
14. 羅昌洙, 安秉哲 : 류마티스性 關節炎에 對한 臨床的 考察, 大韓韓醫學會誌 4(2); 205 ~ 215, 1993
15. 朴允燾 : 류마티스性 關節炎에 對한 治療 2例, 大韓韓醫學會誌, 9(2); 71~75, 1988
16. 황병태, 김희철, 황우준 : 牛黃·熊膽 藥鍼이 Adjuvant 關節炎에 미치는 影響, 서울, 藥鍼學會誌, 1(1); 35~52, 1997
17. 黃祐準 : 류마티스性 關節炎에 對한 臨床的 考察, 서울, 大韓鍼灸學會誌, 12(1); 281~290, 1995
18. 李浚茂 外 : 足三里, 陽陵泉이 膝關節炎에 對한 臨床的 效果, 大韓韓醫學會誌, 3(2); 50~53, 1982
19. 林鍾國 : 鍼灸治療學, 서울, 集文堂, pp. 451~452, 1986
20. 全國韓醫科大學 鍼灸·經穴學教室 : 鍼灸學(上), 서울, 集文堂, pp. 648~649, 1988
21. 권은경 · 신혜인 : 藥鍼調劑法研究, 서울, 藥鍼學會 附設藥鍼研究所, pp. 10~13, 1997
22. 서울대학교 출판부 : 免疫學, 서울대학교 醫科大學, pp. 113~135, 1989
23. 金浩淵 : 류마티스 關節炎治療의 最近 傾向, 大韓內科學會誌 5(4)(suppl. II); 271~271, 1996
24. 羅昌洙 : 艾灸와 麝香·牛黃·熊膽 藥鍼이 Ajuvant 關節炎에 미치는 影響, 慶熙大學校 博士學位論文, 1994
25. 황병태, 김희철, 황우준 : 牛黃·熊膽 藥鍼이 附子로 誘發된 肝損傷의 恢復에 미치는 效果

- 에 관한 觀察, 藥鍼學會誌 1(1); 1~21, 1997
26. 황병태, 김정상, 황우준 : 藥鍼이 附子로 誘發된 肝損傷에 미치는 影響에 관한 電子顯微鏡의 研究, 藥鍼學會誌, 1(1); 22~34, 1997
 27. 柳京周 外 4人 : 白虎湯과 白虎加桂枝湯이 류마토이드 關節炎 및 Human Monocyte의 IL-8에 미치는 影響, 東醫物理療法學會誌, 5; 79~100, 1995
 28. 김철호 外 2人 : Human Monocyte의 IL-8 生産抑制에 미치는 류마토이드 關節炎 治療劑로서의 五加皮의 效果, 大韓本草學會誌, 10; 49~58, 1995
 29. 李忠遠 外 4人 : 苙祛湯이 류마토이드 關節炎 및 Human Monocyte의 IL-8에 미치는 影響, 東醫物理療法學會誌, 5; 131~148, 1995
 30. 羅昌洙, 安秉哲, 黃祐準 : 류마티스性 關節炎에서 東醫治療가 過酸化物的 活性度에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 12(2); 41~51, 1991
 31. 朴哲源·金甲成 ; Lipopolysaccharide 誘發된 關節炎에서 黃柏藥鍼이 關節炎症의 抑制에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌 15; 229~248, 1998
 32. 黃秉泰·羅昌洙·黃祐準 : 麝香·牛黃·熊膽藥鍼이 附子로 誘發된 肝損傷의 恢復에 미치는 效果에 관한 觀察, 藥鍼學會誌 1(1); 1~21, 1997
 33. 송관규 外 : 培養된 軟骨細胞에서 各種 cytokine과 成長因子가 $\beta 1$ -integrin 및 ICAM-1의 發顯에 미치는 影響, 대한류마티스학회지 2(1); 69~81, 1995
 34. 박일성 外 : Collagenase로 誘發한 白鼠 膝關節의 退行性 病變에 관한 形態學的 研究, 大韓膝關節學會誌, 6(1); 3~15, 1994
 35. 박동준, 김동집 : 흰쥐에서 Type II Collagen으로 誘發된 關節炎의 임상양상 및 免疫 反應, 카톨릭대학의학부 논문집, 43; 451~468, 1990
 36. Symons JA, McCulloch JF, Wood NC, Duff GW : Soluble CD4 in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. Clin Immunol Immunopathol 60(1); 72~82, 1991
 37. 손정원 外 4人 : 류마티스 關節炎에서 由來된 B 淋巴球線의 抗體 경사슬 가변부 遺傳子에 관한 研究, Korean J. Immunol 17; 65~72, 1995
 38. Wood DD, Ihrie EJ, Dinarello CA, Cohen PL : Isolation of an interleukin-1-like factor from joint effusion, Arthritis Rheum 26; 975, 1983
 39. Fontana A, Hengartner H, Weber E, Fehr LK, Groh, Cohen G : Interleukin-1 activity in the synovial fluids of patients with rheumatoid arthritis. Rheumatol Int 2; 49, 1982
 40. 김정목 外 : 마우스 脾臟 細胞 淋巴球 및 사람 末梢 血液 淋巴球의 Interleukin-2 (IL-2) 生成 機轉에 對한 研究, 大韓免疫學會誌, 11(1); 79~87, 1989