

Collagenase로 유발된 동물모델에서 ChondroT의 진통효과에 관한 연구

원정윤 · 정지원 · 나창수* · 김선중

동신대학교 한의과대학 한방재활의학과교실, 동신대학교 한의과대학 경락경혈학회*

Analgesic Effects of ChondroT in Collagenase-induced Osteoarthritis Rat Model

Jeong-Yoon Won, K.M.D., Ji-Won Jeong, K.M.D., Chang-Su Na, K.M.D.*, Seon-Jong Kim, K.M.D.

Department of Korean Rehabilitation Medicine, College of Korean Medicine, Dongshin University, Department of Meridian and Acupoint, College of Korean Medicine, Dongshin University*

본 연구는 보건복지부 한의약선도기술
사업의 지원에 의하여 이루어진 것임
(과제고유번호 : H113C2285).

RECEIVED June 16, 2016

ACCEPTED July 2, 2016

CORRESPONDING TO

Seon-Jong Kim, Department of
Korean Medical Rehabilitation, Mokpo
Oriental Hospital of Dongshin
University, 313 Baengnyeong-daero,
Mokpo 58665, Korea

TEL (061) 280-7905

FAX (061) 280-7788

E-mail mofoster@hanmail.net

Copyright © 2016 The Society of
Korean Medicine Rehabilitation

Objectives The purpose of this study was to find out the effects of ChondroT on arthralgia of the Collagenase-induced osteoarthritis in rats.

Methods Osteoarthritis was induced into rat by injecting Collagenase in its knee joint. Rats are divided into a total of 8 groups (n=6). Normal group was not induced for osteoarthritis whereas control groups were induced for osteoarthritis by Collagenase. Positive-A (Indomethacin) was injected with Collagenase and after 8 days, 2 mg/kg of Indomethacin was medicated. Positive-B (JOINS TAB) was injected with Collagenase and after 8 days, 20 mg/kg of JOINS TAB was medicated. Experimental groups (Chondro T) at three dose levels (50, 100 and 200 mg/kg) were injected with Collagenase and after 8days they were medicated with 10 ml/kg. Indomethacin, JOINS TAB and ChondroT were medicated each substances once a day for 10 days. Thereafter, the changes in plantar withdrawal response of osteoarthritis rats by dynamic plantar aesthesiometer were observed and then RT-PCR analysis was done to investigate the expression of related proteins.

Results 1. ChondroT significantly decreased withdrawal response of mechanical allodynia compared with control group in all of the experimental groups (ChondroT-A, ChondroT-B, ChondroT-C). 2. ChondroT significantly reduced Bax/Bcl-2 ratio in all of the experimental groups (ChondroT-A, ChondroT-B, ChondroT-C). 3. ChondroT significantly reduced the expression of INF- γ compared with control group in group ChondroT-B, ChondroT-C.

Conclusions This results suggest that ChondroT may be meaningful for suppressing the pain of osteoarthritis. Further study is needed to conduct a rigorous clinical research. (**J Korean Med Rehabil 2016;26(3):17-30**)

Key words ChondroT, Analgesic effect, Collagenase, Osteoarthritis

서론»»»»

痺病의 병인병리와 임상 증상은 서양의학에서 말하는 각종 관절염과 근육 및 골격에 통증을 나타내는 질환들과 증상이 유사하다.痺란 閉, 즉 막혀서 잘 통하지 않는다

는 뜻으로 痺病의 주요 임상증상은 통증이다. 이는 風寒 濕熱의 邪氣가 인체가 허약한 틈을 타고 관절에 응체됨으로써 氣血 運行을 저해하여 나타나는 것이므로 관절에 疼痛, 重着, 腫脹, 屈伸不利등의 증상이 나타나고 심하면 관절의 강직성 변형을 초래하는 병증의 하나이다¹⁾.

골관절염은 점진적, 비가역적으로 관절연골이 소실되어 통증과 변형이 초래되는 가장 흔한 관절염으로 주로 체중부하를 받는 척추와 하지의 관절에서 발생한다²⁾. 노화, 관절 정렬의 이상, 외상, 과체중, 관절지지 근육의 약화 등의 요인과 관련이 깊고 관절통, 압통, 경직, 잠김감, 부종 등의 주증상과 함께 관절 염발음이나 근육경련이 동반되기도 한다¹⁾. 관절염의 지속적인 통증은 일상생활에 불편함을 초래 할 뿐 아니라 환자의 삶의 질에 영향을 미치는 가장 중요한 증상으로 보고되고 있다³⁾. 골관절염은 관절 연골의 퇴행성 변화에 의해 발생하여 만성적인 경과를 밟으며, 자연적으로 치유될 가능성이 거의 없기 때문에 병의 진행 과정이나 치료 방법, 관절을 보호하는 법칙 등을 환자들에게 교육을 시키는 것이 가장 중요하고, 치료의 목적은 변형의 예방과 교정, 기능의 보존 및 회복, 통증의 완화에 있다⁴⁾.

통증은 1994년 국제 통증 연구회에 의해 감각 및 판별 정보 뿐 아니라 감정 및 인식정보를 포함하는 좋지 않은 개인적 경험으로 정의되었다⁴⁾. 통증에는 과통증(hyperalgesia), 이질통(allodynia), 자발통(spontaneous pain) 등이 있고⁵⁾, 그 중 이질통(allodynia)은 정상적으로는 동통을 일으키지 않는 자극에 대해서 통증을 느끼는 것이다. 최근 골관절염에 대한 연구로 지⁶⁾는 MIA로 유발된 골관절염에 대한 선모약침의 치료효과에 대하여 보고하였고, 이⁷⁾는 Papain으로 유도된 골관절염에 작약감초부자탕을 투여하여 병리조직학적 변화를 통해 효능을 입증하였으며, 서⁸⁾는 Chollagenase로 유발된 골관절염에 대한 봉독약침의 진통효과 및 항염증작용에 대해 보고하였다.

ChondroT는 현재 관절질환 치료를 위해 보건산업진흥원 한의약선도기술개발사업의 일환으로 개발중인 처방으로 임상에서 동통에 사용되는 羌活除痛飲⁹⁾의 구성약재 중 散寒, 祛風, 除濕, 止痛의 효능이 있다고 알려져 있는 羌活과 祛風除濕, 通經活絡, 止痛하는 威靈仙과 清熱燥濕,

瀉火解毒하는 黃柏¹⁰⁾과 活血止痛, 行血祛風 하는 當歸¹¹⁾에 항염증¹²⁻¹³⁾, 세포보호¹⁴⁾ 작용이 있는 金銀花를 加하여 처방을 구성하였다.

이에 저자는 ChondroT가 Collagenase로 유발된 골관절염의 동통 모델에 미치는 영향을 실험적으로 규명하고자 이질통에 대한 회피반응시간 및 자극강도의 변화, 척수에서 Bax, Bcl-2의 변화, Bax/Bcl-2 ratio, INF- γ 등을 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법»»»»

1. 실험 재료

1) 동물

체중이 약 170~180 g의 Sprague Dawley계의 백서를 항온항습 환경의 사육장(실내온도 24~26°C, 습도 40~60%)내에서 고형사료(Pellet, GMO, 한국)와 물을 충분히 공급하면서 1주일 이상 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였으며, 실험기간 동안에도 물과 고형사료를 자유롭게 섭취하도록 하였다. 본 실험은 동물실험윤리위원회의 승인(승인번호:2015-10-05)을 받아 동물윤리 준칙에 의거하였다.

2) 약재

약재는 (주)윌니허브(대구, 한국)에서 구입하였고, 정우신약(주)에서 제조하였다. 5가지 생약을 정선하여 원료약품의 분량대로 각 생약을 달아 추출기에 넣고 8~10 배량의 정제수를 넣어 90~100°C에서 3~4시간 추출하여 추출액을 여과하고 여액을 60°C 이하에서 감압농축하고, 감압 건조하여 건조엑스 얻었다. 수득률은 약 29.4%이며, 지표성분을 확인하기 위해 high-performance liquid chroma-

Table I. Composition of ChondroT

Latin name	Scientific name	Family	Rate	Source
Osterici Radix	<i>Ostericum koreanum</i> Maximowicz	Umbelliferae	6	Korea
Angelicae Gigantis Radix	<i>Angelica gigas</i> Nakai	Umbelliferae	4	Korea
Clematidis Radix	<i>Clematis manshurica</i> Ruprecht	Ranunculaceae	4	China
Lonicerae Folium	<i>Lonicera japonica</i> Thunberg	Caprifoliaceae	4	China
Phellodendri Cortex	<i>Phellodendrom amurense</i> Ruprecht	Rutaceae	3	China

tography (HPLC)를 통해 羌活 중 oxypeucedanin hydrate (C₁₆H₁₆O₆ : 304.29), 金銀花 중 chlorogenic acid (C₁₆H₁₈O₅ : 354.31), 當歸 중 총 decursin [decursin (C₁₉H₂₀O₅ : 328.36), decursinol angelate (C₁₉H₂₀O₅ : 328.36)], 黃柏 중 berberine chloride (C₂₀H₁₈ClNO₄ : 371.81)의 4 종 성분을 확인하였다. ChondroT의 처방 구성은 다음과 같다(Table 1).

2. 실험 방법

1) Collagenase 골관절염 유발

관절염 유발은 Collagenase (TypeVII : Sigma, USA)로 1.5 KU 양을 0.9% sterile saline 600 μl에 용해하여 백서의 왼쪽 무릎 관절강에 Sterile Hypodermic syringe (Korea vaccine co, Korea)로 마리당 50 μl를 투여하였으며, 유발시 부종 측정을 위해 백서의 왼쪽 발목 관절에 25 μl를 투여하였다.

2) 군 분리

백서는 각각 정상군(Normal, n=6), 관절염을 유발시킨 후 약물 처치를 하지 않은 대조군(Control, n=6), 관절염을 유발시킨 후 INDOMETHACIN 2 mg/kg을 구강투여한 군(Positive-A, n=6), JOINS TAB 20 mg/kg을 구강투여한 군(Positive-B, n=6), ChondroT 50 mg/kg을 구강투여한 군(ChondroT-A, n=6), ChondroT 100 mg/kg을 구강투여한 군(ChondroT-B, n=6), ChondroT 200 mg/kg을 구강투여한 군(ChondroT-C, n=6)으로 나누었다.

3) 약물 투여

약물의 구강투여는 관절염 유발 후 8일째부터 시작하였으며, 1일에 각 1회씩 총 10회에 걸쳐 시행되었다. 1회 투여량 10 ml/kg을 구강 투여하였다.

4) Dynamic plantar aesthesiometer 측정

Stimulator 자극에 의한 이질통 측정 방법은 실험 시작 전, 유발 후, 약물투여 후 2일째, 약물투여 후 4일째, 약물투여 후 6일째, 약물투여 후 8일째, 약물투여 후 10일째에 Dynamic Plantar Aesthesiometer (UGO BASILE 37450, Italy)를 이용하여, 각각 이에 대한 철회반응(withdrawal response)을 망으로 된 cage에 옮겨 5분간 안정시킨 후 관찰하였다.

Stimulator 자극에 의한 이질통 측정 방법은 0 g에서부터 50 g 강도까지 환측 발바닥 부위를 자극하여 발의 철회반응의 Reaction Time (Stimulator가 발바닥에 Contact 하여 다시 떨어질 때까지의 시간: Second)과 Force Intensity (실험체가 Stimulator를 피한 순간의 힘: gram)를 얻었다.

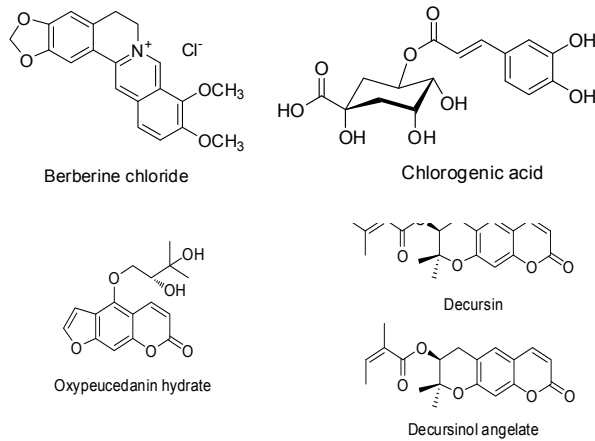
5) Total RNA 분리 및 reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

(1) Total RNA 분리

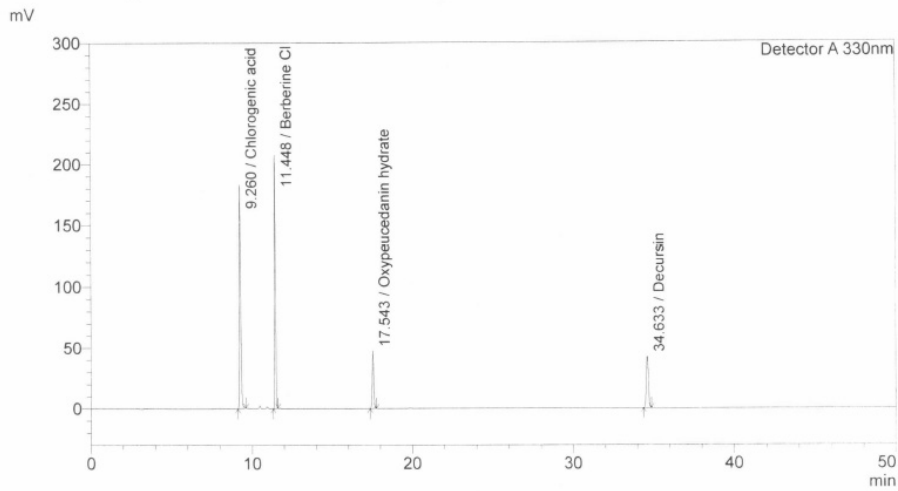
Total RNA의 분리는 Spinal Cord 부위의 조직(60 mg)을 800 μl TRIZOL reagent (Gibco-BRL, U.S.A.)로 균질화하고 균질액에 대해 200 μl의 chloroform (Sigma,



Fig. 1. Chemical structure of the four marker compounds and HPLC chromatogram of ChondroT.



<Chromatogram>



<Peak Table>

Peak#	Name	Ret. Time	Area	Tailing F	Theoretical Plate	Resolution
1	Chlorogenic acid	9.26	1035867	1.17	53709	--
2	Berberine Cl	11.45	891316	1.17	124207	15.11
3	Oxypeucedanin hydrate	17.54	303562	1.05	151023	39.26
4	Decursin	34.63	393317	1.01	296175	78.55
Total			2624062			

Fig. 1. Continued.

U.S.A.)을 가하여 15초 동안 흔들어 잘 혼합한 후, 실온상태에서 5분 방치하고 난 다음 세포 잔유물을 제거하기 위하여 4°C, 14,000 rpm에서 5분 동안 원심분리하였다. 원심분리로 얻어진 상층액과 500 µl의 isopropanol (sigma, USA)을 첨가하여 실온상태에서 5분 동안 방치한 후 RNA pellet을 얻기 위하여 4°C, 14,000 rpm에서 8분간 원심분리하고, 원심분리로 생긴 pellet에 냉장 보관된 70% ethanol과 함께 DEPC를 넣고 4°C, 7,500 rpm에서 5분간 원심분리 후 pellet만 남기고 모두 제거하고, 남은 ethanol은 실온에서 5분간 방치시켜 건조시킨 다음 DEPC-treated wa-

ter에 녹여 spectrophotometer (Eppendorf, Germany)에서 OD260 값을 읽어 RNA의 순도 및 농도를 정량하였다. 이들 Spinal Cord 부위 조직의 total RNA는 사용 시까지 -70°C에서 보관하였다.

(2) Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

분리된 total RNA 5 µg과 2.5 µl Oligo (dT), DEPC-treated water를 RT premix (Bioneer, Korea)에 넣어 Mastercycler gradient (Eppendorf, Germany)를 이용하여 20 µl cDNA를 합성하여 PCR 증폭을 위한 template

로 사용하였다. 이때 housekeeping 유전자인 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) (sense primer: 5'-ACTCCATCACCATCTTCCAG-3', antisense primer: 5'-CCTGCTTTCACCACCTCCTTG-3')를 internal control로 사용하였다. Reverse transcription temperature cycle은 42°C에서 1 시간 동안 cDNA synthesis, 94°C에서 5 분간 denature 그리고 4°C에서 5분간 cooling시키는 단계를 거쳤다. Polymerase chain reaction은 cDNA 10 pg, sense primer 10 pg, antisense primer, DEPC-treated water를 PCR premix (Bioneer, Korea)에 넣었다. PCR temperature cycle은 cDNA의 증폭을 위하여 95°C에서 30초 동안 pre-denaturation, 94°C에서 40초 동안 melting, 55°C에서 40초 동안 annealing, 72°C에서 90초 동안 extension하는 과정을 30회 반복 수행하고 마지막 cycle에서 72°C에서 600초 동안 extension 단계를 거쳐 INF- γ 유전자 증폭을 primer (forward primer: 5'-AACGCTACACACTGCAATCTTGG-3', reverse primer: 5'-CTCGGATGAGCTCATTGAATGC-3'), Bax 유전자 증폭은 primer (forward primer: 5'-CATCTTCTTCCAGATGGTGA-3', reverse primer: 5'-GTTTCATCCAGGATCGAGCAG-3'), Bcl2 유전자 증폭은 primer (forward primer: 5'-CGGTTTCAGGTACTCAGTCAT-3', reverse primer: 5'-ACTTTGCACAGATGTCCAGT-3')를 이용하여 Mastercycler gradient (Eppendorf, Germany)에서 시행하였다.

이렇게 증폭된 INF- γ , Bax, Bcl-2의 DNA를 Greenview nucleic acid gel stain (IO Rodeo, 1:10,000)를 포함한 1.5% agarose gel상에서 0.5x TBE buffer (80 mM Tris-HCL, 80 mM boric acid, 2 mM EDTA, pH 8.3)로 100 V에서 전기 영동시켜 관찰한 후 Image Station (Kodak, U.S.A)을 이용하여 촬영하였으며, Kodak MI Software (Kodak, U.S.A)를 이용하여 측정하였다.

3. 통계 분석

본 연구의 통계학적 분석은 SPSS 21.0 ver. for windows를 사용하였다. 관절염 유발 후 용량별 투여에 따른 각 군간의 통계학적 분석은 One-Way ANOVA test를 시행하였고 사후검정은 LSD test로 분석하였다. 실험의 분석에서 유의수준은 $p < 0.05$ 로 설정하여 검정하였다.

결과

1. Plantar withdrawal response로 측정된 allodynia 효과

Collagenase로 관절염을 유발한 백서에 ChondroT 용량별 투여가 plantar withdrawal response의 reaction time, force intensity에 대하여 미치는 영향을 투여 일수 및 군간으로 비교 관찰하였다.

1) 투여 일수별 reaction time 변화

ChondroT 용량별 투여가 Collagenase로 유발된 골관절염 백서의 reaction time 변화에서 투여 후의 일간 변화는 다음과 같다.

(1) 약물투여 2일째

2일째 reaction time 변화에서 정상군은 7.0 ± 0.24 Sec, 대조군은 1.4 ± 0.10 Sec, Positive-A군은 1.4 ± 0.07 Sec, Positive-B군은 1.6 ± 0.09 Sec, ChondroT-A군은 1.7 ± 0.09 Sec, ChondroT-B군은 1.9 ± 0.18 Sec, ChondroT-C군은 1.6 ± 0.21 Sec를 각각 나타내었다. 대조군에 비하여 각 실

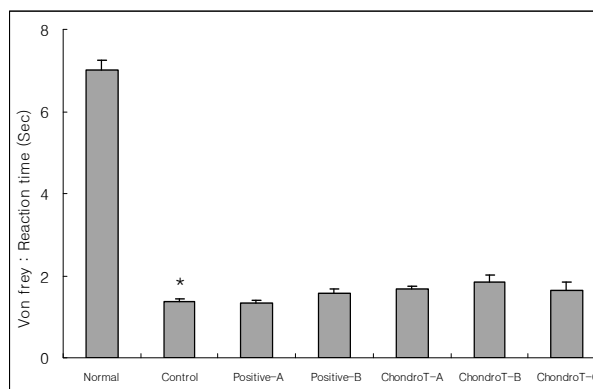


Fig. 2. Effect of ChondroT treatment on the reaction time at the 2nd day after ChondroT administrations in collagenase induced arthritis rats.

Normal: Normal rat group, Control: Collagenase-induced osteoarthritis rat group, Positive-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Indomethacin treated, Positive-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Joins Tab treated, ChondroT-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 50 mg/kg ChondroT treated, ChondroT-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 100 mg/kg ChondroT treated, ChondroT-C: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 200 mg/kg ChondroT treated.

* $p < .01$ compared with normal.

험군은 유의한 차이가 없었다(Fig. 2).

(2) 약물투여 4일째

4일째 reaction time 변화에서 정상군은 6.9 ± 0.25 Sec, 대조군은 1.5 ± 0.12 Sec, Positive-A군은 2.0 ± 0.10 Sec, Positive-B군은 1.8 ± 0.10 Sec, ChondroT-A군은 2.2 ± 0.12 Sec, ChondroT-B군은 2.1 ± 0.17 Sec, ChondroT-C군은 2.3 ± 0.13 Sec를 각각 나타내었다. 대조군에 비하여 ChondroT-B군, ChondroT-C군이 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 3).

(3) 약물투여 6일째

6일째 reaction time 변화에서 정상군은 6.4 ± 0.26 Sec, 대조군은 1.8 ± 0.14 Sec, Positive-A군은 3.5 ± 0.27 Sec, Positive-B군은 3.0 ± 0.15 Sec, ChondroT-A군은 3.1 ± 0.11 Sec, ChondroT-B군은 3.2 ± 0.15 Sec, ChondroT-C군은 3.4 ± 0.22 Sec를 각각 나타내었다. 대조군에 비하여 Positive-A군, Positive-B군, ChondroT-A군, ChondroT-B군, ChondroT-C군 모두 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 4).

(4) 약물투여 8일째

8일째 reaction time 변화에서 정상군은 6.4 ± 0.12 Sec, 대조군은 2.3 ± 0.25 Sec, Positive-A군은 4.0 ± 0.33 Sec, Positive-B군은 4.2 ± 0.13 Sec, ChondroT-A군은 3.8 ± 0.31

Sec, ChondroT-B군은 4.3 ± 0.25 Sec, ChondroT-C군은 4.3 ± 0.24 Sec를 각각 나타내었다. 대조군에 비하여

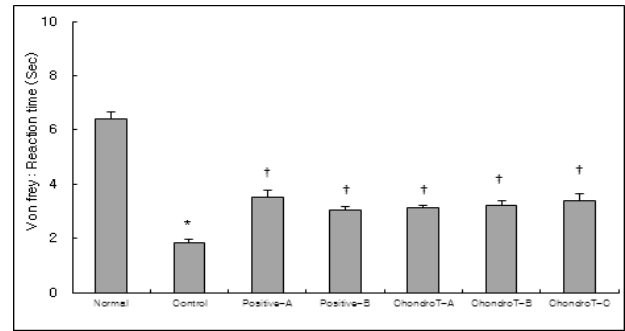


Fig. 4. Effect of ChondroT treatment on the reaction time at the 6th day after ChondroT administrations in collagenase induced arthritis rats.

Normal: Normal rat group. Control: Collagenase-induced osteoarthritis rat group. Positive-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Indomethacin treated, Positive-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Joins Tab treated, ChondroT-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 50 mg/kg ChondroT treated, ChondroT-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 100 mg/kg ChondroT treated, ChndroT-C: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 200 mg/kg ChondroT treated.

*p<.01 compared with normal, †p<.01 compared with control group.

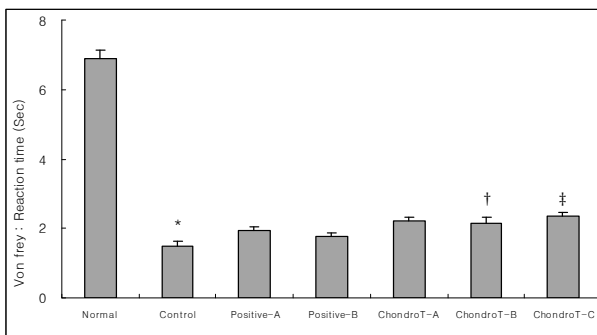


Fig. 3. Effect of ChondroT treatment on the reaction time at the 4th day after ChondroT administrations in collagenase induced arthritis rats.

Normal: Normal rat group. Control: Collagenase-induced osteoarthritis rat group. Positive-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Indomethacin treated, Positive-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Joins Tab treated, ChondroT-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 50 mg/kg ChondroT treated, ChondroT-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 100 mg/kg ChondroT treated, ChndroT-C: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 200 mg/kg ChondroT treated.

*p<.01 compared with normal, †p<.05, ‡p<.01 compared with control group.

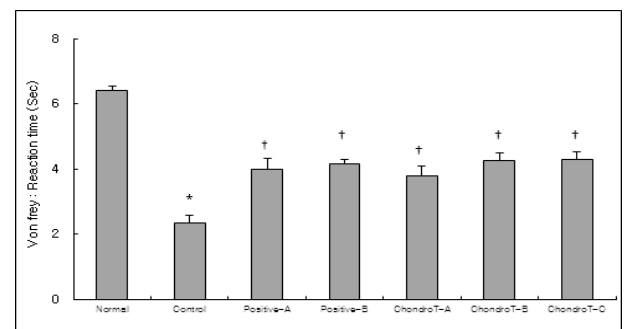


Fig. 5. Effect of ChondroT treatment on the reaction time at the 8th day after ChondroT administrations in collagenase induced arthritis rats.

Normal: Normal rat group. Control: Collagenase-induced osteoarthritis rat group. Positive-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Indomethacin treated, Positive-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Joins Tab treated, ChondroT-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 50 mg/kg ChondroT treated, ChondroT-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 100 mg/kg ChondroT treated, ChndroT-C: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 200 mg/kg ChondroT treated.

*p<.01 compared with normal, †p<.01 compared with control group.

Positive-A군, Positive-B군, ChondroT-A군, ChondroT-B군, ChondroT-C군 모두 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 5).

(5) 약물투여 10일째

10일째 reaction time 변화에서 정상군은 6.5±0.40 Sec, 대조군은 2.3±0.12 Sec, Positive-A군은 4.3±0.13 Sec, Positive-B군은 4.1±0.26 Sec, ChondroT-A군은 3.9±0.33 Sec, ChondroT-B군은 4.4±0.16 Sec, ChondroT-C군은 4.5±0.17 Sec를 각각 나타내었다. 대조군에 비하여 Positive-A군, Positive-B군, ChondroT-A군, ChondroT-B군, ChondroT-C군 모두 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 6).

2) Reaction time에 대한 투여 일수 및 군간 비교

ChondroT 용량별 투여가 Collagenase로 유발된 골관절염 백서에 미치는 영향을 plantar withdrawal response의 reaction time에 대하여 투여일수에 따라 비교한 결과, 정상군에 비하여 대조군은 1~5일째까지 모두 유의한 감소를 나타내었고, 대조군에 비하여 Positive-A군과 Positive-B군은 6~10일째에 유의한 증가를 나타내었고, ChondroT-A군은 6~10일째에 유의한 증가를 나타내었고, ChondroT-B군과 ChondroT-C군은 4~10일째에 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 7).

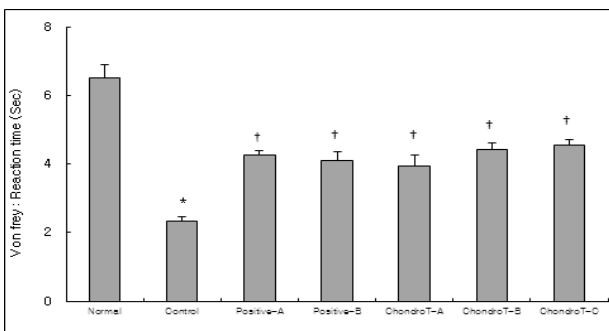


Fig. 6. Effect of ChondroT treatment on the reaction time at the 10th day after ChondroT administrations in collagenase induced arthritis rats.

Normal: Normal rat group, Control: Collagenase-induced osteoarthritis rat group, Positive-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Indomethacin treated, Positive-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Joins Tab treated, ChondroT-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 50 mg/kg ChondroT treated, ChondroT-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 100 mg/kg ChondroT treated, ChondroT-C: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 200 mg/kg ChondroT treated, *p<.01 compared with normal, †p<.01, compared with control group.

3) 투여 일수별 force intensity 변화

ChondroT 용량별 투여가 Collagenase로 유발된 골관절염 백서의 force intensity 변화에서 투여 후의 일간 변화는 다음과 같다.

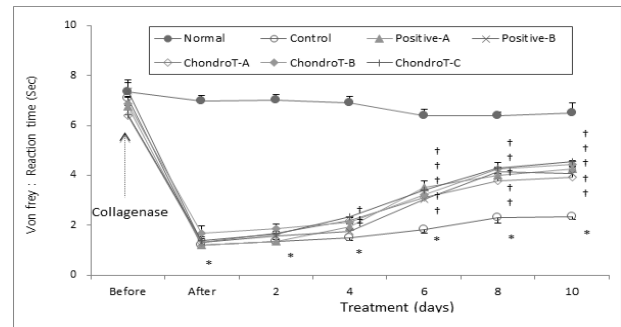


Fig. 7. Effect of ChondroT treatment on the reaction time of plantar withdrawal response at all groups in collagenase induced arthritis rats.

Normal: Normal rat group, Control: Collagenase-induced osteoarthritis rat group, Positive-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Indomethacin treated, Positive-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Joins Tab treated, ChondroT-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 50 mg/kg ChondroT treated, ChondroT-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 100 mg/kg ChondroT treated, ChondroT-C: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 200 mg/kg ChondroT treated, *p<.01 compared with normal, †p<.01, ‡p<.05 compared with control group.

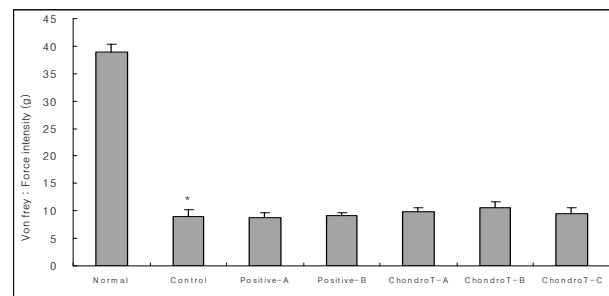


Fig. 8. Effect of ChondroT treatment on the force intensity at the 2nd day after ChondroT administrations in collagenase induced arthritis rats.

Normal: Normal rat group, Control: Collagenase-induced osteoarthritis rat group, Positive-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Indomethacin treated, Positive-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Joins Tab treated, ChondroT-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 50 mg/kg ChondroT treated, ChondroT-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 100 mg/kg ChondroT treated, ChondroT-C: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 200 mg/kg ChondroT treated, *p<.01 compared with normal.

(1) 약물투여 2일째

2일째 force intensity 변화에서 정상군은 38.9 ± 1.32 g, 대조군은 9.0 ± 1.25 g, Positive-A군은 8.8 ± 0.85 g, Positive-B군은 9.2 ± 0.58 g, ChondroT-A군은 9.8 ± 0.80 g, ChondroT-B군은 10.6 ± 0.97 g, ChondroT-C군은 9.5 ± 1.15 g을 나타내었다. 대조군에 비하여 각 실험군은 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 8).

(2) 약물투여 4일째

4일째 force intensity 변화에서 정상군은 38.4 ± 1.36 g, 대조군은 9.3 ± 0.96 g, Positive-A군은 11.2 ± 1.50 g, Positive-B군은 10.2 ± 0.80 g, ChondroT-A군은 12.6 ± 0.61 g, ChondroT-B군은 12.2 ± 0.85 g, ChondroT-C군은 13.3 ± 0.73 g을 나타내었다. 대조군에 비하여 ChondroT-C군은 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 9).

(3) 약물투여 6일째

6일째 force intensity 변화에서 정상군은 35.6 ± 1.44 g, 대조군은 10.6 ± 0.78 g, Positive-A군은 19.9 ± 1.83 g, Positive-B군은 17.2 ± 0.69 g, ChondroT-A군은 20.9 ± 2.29 g, ChondroT-B군은 20.8 ± 1.98 g, ChondroT-C군은 21.0 ± 0.64 g을 나타내었다. 대조군에 비하여 Positive-A군,

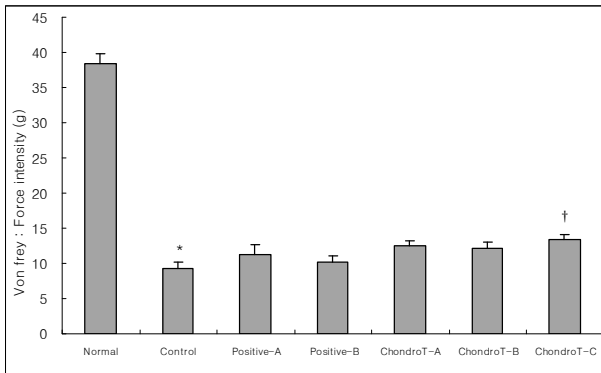


Fig. 9. Effect of ChondroT treatment on the force intensity at the 4th day after ChondroT Administrations in Collagenase Induced Arthritis Rats.

Normal: Normal rat group, Control: Collagenase-induced osteoarthritis rat group, Positive-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Indomethacin treated, Positive-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Joins Tab treated, ChondroT-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 50 mg/kg ChondroT treated, ChondroT-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 100 mg/kg ChondroT treated, ChondroT-C: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 200 mg/kg ChondroT treated, * $p < .01$ compared with normal, † $p < .05$ compared with control group.

Positive-B군, ChondroT-A군, ChondroT-B군, ChondroT-C군 모두 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 10).

(4) 약물투여 8일째

8일째 force intensity 변화에서 정상군은 35.7 ± 0.67 g,

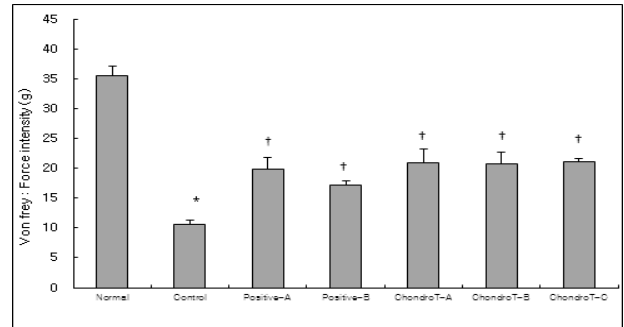


Fig. 10. Effect of ChondroT treatment on the force intensity at the 6th day after ChondroT administrations in collagenase induced arthritis rats.

Normal: Normal rat group, Control: Collagenase-induced osteoarthritis rat group, Positive-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Indomethacin treated, Positive-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Joins Tab treated, ChondroT-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 50 mg/kg ChondroT treated, ChondroT-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 100 mg/kg ChondroT treated, ChondroT-C: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 200 mg/kg ChondroT treated, * $p < .01$ compared with normal, † $p < .01$ compared with control group.

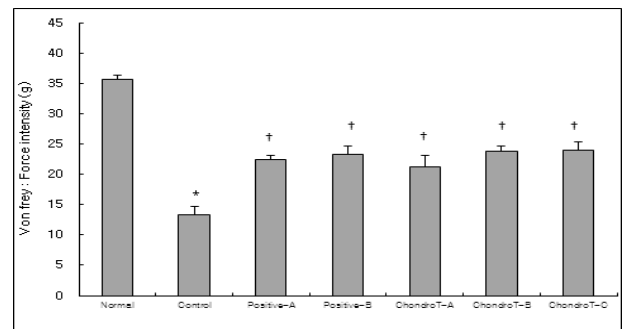


Fig. 11. Effect of ChondroT treatment on the force intensity at the 8th day after ChondroT administrations in collagenase induced arthritis rats.

Normal: Normal rat group, Control: Collagenase-induced osteoarthritis rat group, Positive-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Indomethacin treated, Positive-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Joins Tab treated, ChondroT-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 50 mg/kg ChondroT treated, ChondroT-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 100 mg/kg ChondroT treated, ChondroT-C: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 200 mg/kg ChondroT treated, * $p < .01$ compared with normal, † $p < .01$ compared with control group.

대조군은 13.3 ± 1.36 g, Positive-A군은 22.4 ± 0.72 g, Positive-B군은 23.3 ± 1.42 g, ChondroT-A군은 21.3 ± 1.80 g, ChondroT-B군은 23.8 ± 0.90 g, ChondroT-C군은 24.0 ± 1.35 g을 나타내었다. 대조군에 비하여 Positive-A군, Positive-B군, ChondroT-A군, ChondroT-B군, ChondroT-C군 모두 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 11).

(5) 약물투여 10일째

10일째 force intensity 변화에서 정상군은 36.2 ± 2.20 g, 대조군은 13.3 ± 0.64 g, Positive-A군은 25.0 ± 1.22 g, Positive-B군은 25.3 ± 1.48 g, ChondroT-A군은 22.4 ± 0.80 g, ChondroT-B군은 23.6 ± 0.63 g, ChondroT-C군은 25.4 ± 0.97 g을 각각 나타내었다. 대조군에 비하여 Positive-A군, Positive-B군, ChondroT-A군, ChondroT-B군, ChondroT-C군 모두 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 12).

4) Force intensity에 대한 투여 일수 및 군간 비교

ChondroT 용량별 투여가 Collagenase로 유발된 골관절염 백서에 미치는 영향을 plantar withdrawal response의 force intensity에 대하여 투여일수에 따라 비교한 결과, 정상군에 비하여 대조군은 1~5일째까지 모두 유의한 감소를 나타내었고, 대조군에 비하여 Positive-A군과

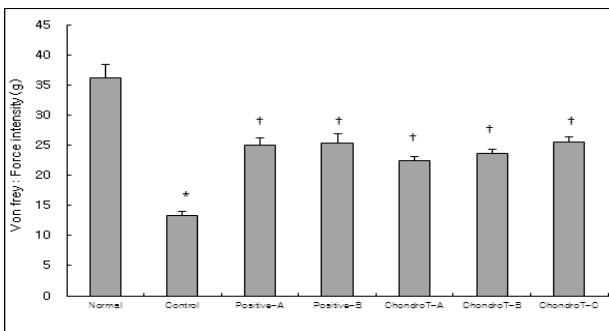


Fig. 12. Effect of ChondroT treatment on the force intensity at the 10th day after ChondroT administrations in collagenase induced arthritis rats.

Normal: Normal rat group, Control: Collagenase-induced osteoarthritis rat group, Positive-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Indomethacin treated, Positive-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Joins Tab treated, ChondroT-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 50 mg/kg ChondroT treated, ChondroT-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 100 mg/kg ChondroT treated, ChndroT-C: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 200 mg/kg ChondroT treated,

*p<.01 compared with normal, †p<.01 compared with control group.

Positive-B군은 6~10일째에 유의한 증가를 나타내었고, ChondroT-A군과 ChondroT-B군은 6~10일째에 유의한 증가를 나타내었고, ChondroT-C군은 4~10일째에 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 13).

2. Bax, Bcl-2, Bax/Bcl-2 ratio에 미치는 효과

1) Bax 변화

ChondroT 용량별 투여가 Collagenase로 유발된 골관절염 백서에 미치는 영향을 Bax의 변화로 관찰한 결과, 정상군은 97.4 ± 6.3 ($\times 1,000$ O.D), 대조군은 147.5 ± 6.7 ($\times 1,000$ O.D), Positive-A군은 145.8 ± 6.2 ($\times 1,000$ O.D), Positive-B군은 109.0 ± 7.5 ($\times 1,000$ O.D), ChondroT-A군은 126.0 ± 7.0 ($\times 1,000$ O.D), ChondroT-B군은 124.7 ± 7.7 ($\times 1,000$ O.D), ChondroT-C군은 118.0 ± 6.3 ($\times 1,000$ O.D)를 나타내었다. 대조군에 비하여 Positive-B군과 ChondroT-C군은 유의한 감소를 나타내었다(Fig. 14).

2) Bcl-2 변화

ChondroT 용량별 투여가 Collagenase로 유발된 골관절염 백서에 미치는 영향을 Bcl-2의 변화로 살펴본 결과, 정

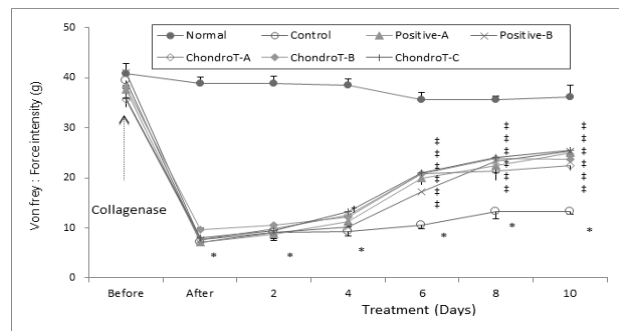


Fig. 13. Effect of ChondroT treatment on the force intensity of plantar withdrawal response at all groups in collagenase induced arthritis rats.

Normal: Normal rat group, Control: Collagenase-induced osteoarthritis rat group, Positive-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Indomethacin treated, Positive-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Joins Tab treated, ChondroT-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 50 mg/kg ChondroT treated, ChondroT-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 100 mg/kg ChondroT treated, ChndroT-C: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 200 mg/kg ChondroT treated,

*p<.01 compared with normal, †p<.05, ‡p<.01 compared with control group.

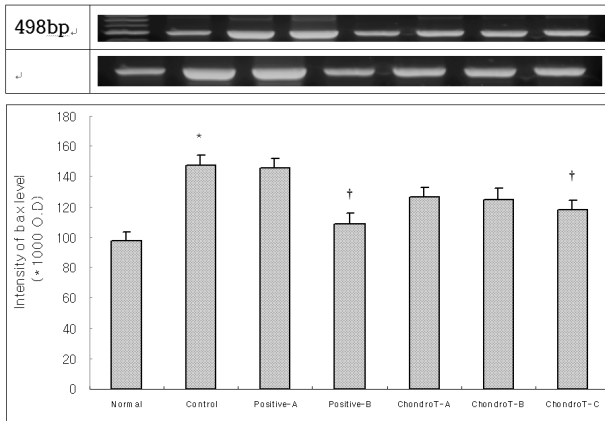


Fig. 14. Effect of ChondroT treatment on the bax level after ChondroT administrations in collagenase induced arthritis rats. Normal: Normal rat group. Control: Collagenase-induced osteoarthritis rat group. Positive-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Indomethacin treated. Positive-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Joins Tab treated. ChondroT-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 50 mg/kg ChondroT treated. ChondroT-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 100 mg/kg ChondroT treated. ChndroT-C: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 200 mg/kg ChondroT treated. **p*<.05 compared with normal, †*p*<.05 compared with control group.

상군은 96.3±2.4 (×1,000 O.D), 대조군은 148.0±2.3 (×1,000 O.D), Positive-A군은 103.2±3.6 (×1,000 O.D), Positive-B군은 126.1±3.9 (×1,000 O.D), ChondroT-A군은 121.9±5.0 (×1,000 O.D), ChondroT-B군은 133.0±2.9 (×1,000 O.D), ChondroT-C군은 140.1±2.8 (×1,000 O.D)를 나타내었다. 대조군에 비하여 Positive-A군, Positive-B군, ChondroT-A군, ChondroT-B군, ChondroT-C군 모두 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 15).

3) Bax/Bcl-2 ratio 변화

ChondroT 용량별 투여가 Collagenase로 유발된 골관절염 백서에 미치는 영향을 Bax/Bcl-2 변화로 관찰한 결과, 정상군은 1.01±0.07 (Index), 대조군은 1.88±0.14 (Index), Positive-A군은 1.42±0.10 (Index), Positive-B군은 0.87±0.07 (Index), ChondroT-A군은 0.90±0.07 (Index), ChondroT-B군은 0.94±0.08 (Index), ChondroT-C군은 0.98±0.09 (Index)를 나타내었다. 대조군에 비하여 Positive-B군, ChondroT-A군, ChondroT-B군, ChondroT-C군은 유의한 감소를 나타내었다(Fig. 16).

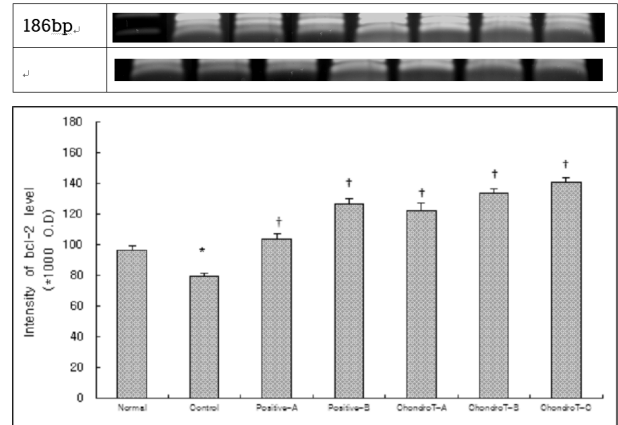


Fig. 15. Effect of ChondroT treatment on the Bcl-2 level after ChondroT administrations in collagenase induced arthritis rats. Normal: Normal rat group. Control: Collagenase-induced osteoarthritis rat group. Positive-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Indomethacin treated. Positive-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Joins Tab treated. ChondroT-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 50 mg/kg ChondroT treated. ChondroT-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 100 mg/kg ChondroT treated. ChndroT-C: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 200 mg/kg ChondroT treated. **p*<.01 compared with normal, †*p*<.01 compared with control group.

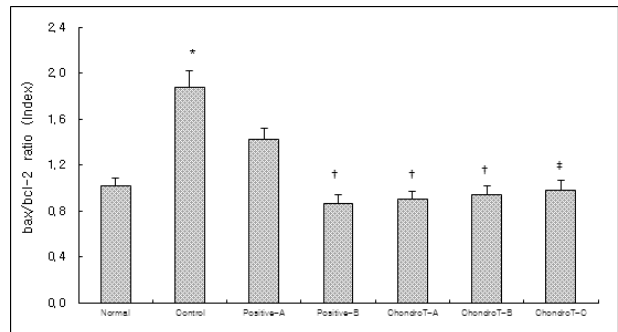


Fig. 16. Effect of ChondroT treatment on the Bax/Bcl-2 ratio after ChondroT administrations in collagenase induced arthritis rats. Normal: Normal rat group. Control: Collagenase-induced osteoarthritis rat group. Positive-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Indomethacin treated. Positive-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Joins Tab treated. ChondroT-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 50 mg/kg ChondroT treated. ChondroT-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 100 mg/kg ChondroT treated. ChndroT-C: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 200 mg/kg ChondroT treated. **p*<.01 compared with normal, †*p*<.01, ‡*p*<.05 compared with control group.

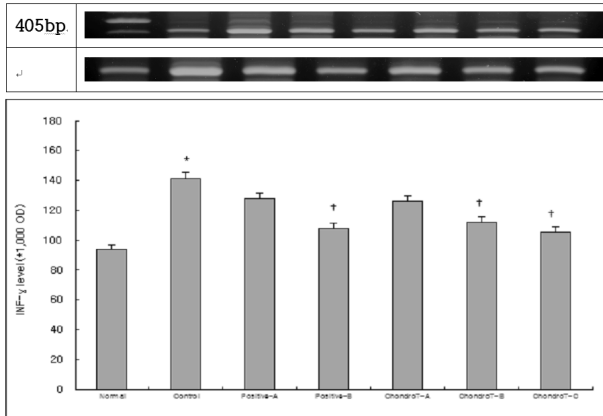


Fig. 17. Effect of ChondroT treatment on the INF- γ after ChondroT administrations in collagenase induced arthritis rats. Normal: Normal rat group. Control: Collagenase-induced osteoarthritis rat group. Positive-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Indomethacin treated. Positive-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and Joins Tab treated. ChondroT-A: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 50 mg/kg ChondroT treated. ChondroT-B: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 100 mg/kg ChondroT treated. ChondroT-C: Collagenase-induced osteoarthritis rat and 200 mg/kg ChondroT treated. * $p < .01$ compared with normal, † $p < .01$ compared with control group.

3. INF- γ 변화

ChondroT 용량별 투여가 Collagenase로 유발된 골관절염 백서에 미치는 영향을 INF- γ 의 변화로 관찰한 결과, 정상군은 93.5 ± 3.4 ($\times 1,000$ O.D), 대조군은 141.4 ± 4.3 ($\times 1,000$ O.D), Positive-A군은 127.6 ± 3.9 ($\times 1,000$ O.D), Positive-B군은 107.6 ± 3.6 ($\times 1,000$ O.D), ChondroT-A군은 125.7 ± 3.9 ($\times 1,000$ O.D), ChondroT-B군은 111.7 ± 3.6 ($\times 1,000$ O.D), ChondroT-C군은 105.2 ± 3.8 ($\times 1,000$ O.D)를 나타내었다. 대조군에 비하여 Positive-B군, ChondroT-B군, ChondroT-C군은 유의한 감소를 나타내었다(Fig. 17).

고찰»»»»

골관절염은 관절연골이 소실되어 관절의 변형을 초래하고 통증이 나타나는 가장 흔한 관절염으로¹⁾ 2010년 국민건강영양조사 결과에 따르면 고혈압과 함께 60세 이상 인구에서 가장 유병률이 높은 질환이다. 우리나라 50대 인구

에서는 5.7%의 유병률을 보이며, 60대에서는 50대 유병률의 3배, 70대 이상에서는 5배로 급상승하고 있다¹⁵⁾.

골관절염의 초기에 가장 흔하게 나타나는 증상은 경도의 통증으로 통증은 주로 휴식에 의해 완화되지만, 한밤 중에는 수면을 방해할 정도로 심하게 나타나기도 하며¹⁾ 휴식 시에도 통증이 있는 경우는 관절염이 보다 더 심하게 진행되었다는 것을 짐작하게 한다⁴⁾.

골관절염의 치료는 비약물치료를 기본으로 하되 필요시 NSAID나 아스피린 등의 약물과 코르티코스테로이드(corticosteroids)의 관절 내 주사를 병행하기도 하며²⁾ 관절 변형으로 운동 장애가 극심한 경우에는 수술적 치료를 실시하게 된다⁴⁾. 하지만 아스피린과 NSAID는 신, 간, 위장의 부작용이 흔하여²⁾ 골관절염에 대한 높은 위험성을 가진 노인들에게는 치료 외적인 부작용을 고려하지 않을 수 없다. 이에 따라 최근에는 안전하고 부작용이 적으며 진통 작용 뿐 아니라 연골 보호 및 재생에도 효과적인 새로운 치료제 개발의 필요성이 점차 대두되고 있다.

한의학적으로 볼 때 관절염은痺症 또는歷節風,鶴膝風 등의 범주에 해당된다¹⁶⁾. Chondro T는 “治風濕相搏,肢節腫痛,不可屈伸”하는 大羌活湯과 “治濕熱脚氣腫痛諸症”하는 清熱瀉濕湯을 합방하여 白朮, 蘇葉, 檳榔, 枳殼, 香附子를 去하고 燈心, 皂角刺, 金銀花, 蒲公英을 加한 후 유전자정보처리(bio-informatics) 기법을 이용하여 선정된 羌活, 威靈仙, 當歸, 黃柏, 金銀花 등 5개의 약재로 구성되어 현재 관절질환 치료를 위해 개발 중에 있는 처방이다¹⁷⁾.

羌活은 散寒祛風除濕止痛의 효능이 있어 관절을 通利하여 痺證을 풀어주고 止痛하는 작용이 있다¹¹⁾. 威靈仙은 祛風除濕, 通經活絡하여 止痛하는 작용으로 羌活과 함께關節疼痛 및 痺證에 많이 응용되는데¹¹⁾ 최근에 김 등¹⁸⁾에 의해 羌活과 威靈仙이 배합되어 사용될 경우 항염증 활성에 대해 상승작용이 나타난다는 연구결과가 보고된 바 있다. 當歸는 甘溫한 성질로 風濕痺痛을 치료할 때에는 祛風濕藥과 배합하여 사용되며¹⁰⁾ 약리작용으로 항염증¹⁹⁾ 및 혈액순환 개선 등에 대한 연구가 보고되었다. 金銀花는 解毒作用의 효능으로 소염작용을^{12,13)}, 黃柏은 清熱燥濕, 瀉火解毒하는 작용으로¹⁰⁾ 관절염에서의 유의한 항염증 작용이²⁰⁾ 있음이 보고되었다.

Chondro T와의 효능 비교를 위하여 양성 대조군으로 설정된 Indomethacin은 비스테로이드성 소염제(NSAIDs)로 미국의 Merk Sharp & Dohme사의 Sharett 등²¹⁾이 합

성한 350종의 indole 화합물을 Winte 등²²⁾이 screening하여 발견하였으며, 항염증작용과 통증 완화 효과로 임상에서 류마티스 관절염을 비롯한 여러 급만성 질환에 많이 사용되고 있다.

JOINS TAB은 威靈仙, 瓜蒌根, 夏枯草로 구성된 약으로 항염증 작용을 통하여 만성염증의 진행을 억제하며 면역 조절 작용과 함께 관절조직의 허혈성 스트레스를 방지하고 연골 분해를 억제하는 작용으로 관절염 치료제로 널리 쓰이고 있는 약물이다. 하지만 기존 관절염 치료제에 비해 부작용은 적으나 소화 장애, 심혈관계 이상, 신장 이상 등의 부작용이 나타나는 것으로 보고되었다²³⁾.

이에 본 연구는 Chondro T가 Collagenase로 유발된 백서의 관절염 통증에 미치는 영향을 알아보기 위해 정상군(Normal)과 관절염을 유발시킨 후 약물처치를 하지 않은 대조군(Control), INDOMETHACIN 2 mg/kg을 구강투여한 군(Positive-A), JOINS TAB 20 mg/kg을 구강투여한 군(Positive-B), ChondroT 50 mg/kg을 구강투여한 군(ChondroT-A), ChondroT 100 mg/kg을 구강투여한 군(ChondroT-B), ChondroT 200 mg/kg을 구강투여한 군(ChondroT-C)으로 나누어 dynamic plantar aesthesiometer를 이용하여 이질통에 대한 회피반응시간 및 자극 강도의 변화, 척수에서 Bax 및 Bcl-2의 발현, Bax/Bcl-2 ratio의 변화, INF- γ 의 변화를 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

Dynamic plantar aesthesiometer는 0 g에서 50 g 강도까지 점진적으로 힘을 증가시키며 기계적 이질통을 유발하여 회피반응시의 reaction time과 force intensity를 측정할 수 있다²⁴⁾. Reaction time은 stimulator가 발바닥에 contact하여 다시 떨어질 때까지의 시간, force intensity는 실험체가 stimulator를 피한 순간의 힘을 측정하는 것으로 백서의 관절염이 있는 쪽의 발바닥을 데지 않으려는 특성을 이용하여 낮아진 신경역치에 대한 ChondroT의 작용에 대해 살펴볼 수 있다. Plantar response의 reaction time에 대하여 ChondroT를 용량별로 투여 일수에 따라 비교한 결과 대조군에 비하여 ChondroT-A군은 6~10일째에 유의한 증가를 나타내었고, ChondroT-B군과 ChondroT-C군은 4~10일째에 유의한 증가를 나타내었으며, force intensity에 있어서는 대조군에 비하여 ChondroT-A군과 ChondroT-B군은 6~10일째에 유의한 증가를 나타내었고, ChondroT-C군은 4~10일째에 유의한 증가를 나타내었다. 물리적 이질통을

감소시키는 효과는 저용량군인 ChondroT-A군에서도 나타났으며, 대체로 고용량에서 더 큰 효과를 나타내는 경향을 보였다. ChondroT가 Collagenase로 유발된 골관절염 통증 모델의 이질통을 감소시키는 효과가 있으며, 그 효과는 용량 의존적인 경향이 있었다.

Bax는 신경세포사 기전에 관련된 단백질로서 미토콘드리아 막을 탈분극시켜 cytochrome C, Apaf-1, AIF 등과 같이 세포자멸사에 작용하는 물질들을 밖으로 유출시킨다. Bcl-2는 Bax의 작용을 억제하는 단백질로서 미토콘드리아 막의 탈분극화를 억제하고 미토콘드리아 내에 존재하는 cytochrome C등의 유출을 억제한다²⁵⁾. 본 실험에서 Bax 변화를 관찰한 결과 대조군에 비하여 ChondroT-C군은 유의한 감소를 나타내었다. Bcl-2 변화를 관찰한 결과 대조군에 비하여 ChondroT-A군, ChondroT-B군, ChondroT-C군 모두 유의한 증가를 나타내었다. Bax/Bcl-2 ratio 변화를 관찰한 결과 대조군에 비하여 ChondroT-A군, ChondroT-B군, ChondroT-C군은 유의한 감소를 나타내었다. Bax 변화에 있어서 ChondroT-C군만 감소를 나타내어 용량 의존적인 경향을 나타내었고, 모든 ChondroT군에서 Bcl-2의 증가와 Bax/Bcl-2 ratio의 감소를 나타내어 이는 ChondroT가 세포 자멸사를 억제하여 세포 생존을 유지, 촉진하는 효과가 있음을 확인하였다.

INF- γ 는 염증반응의 시작과 유지에 작용하는 cytokine으로 관절염에서 염증의 국소적 매개체로 작용하며 TNF- α 와의 협조 작용으로 염증이 있는 곳에서 단핵구의 수를 증가 시킨다²⁶⁾. INF- γ 변화를 관찰한 결과 대조군에 비하여 ChondroT-B군, ChondroT-C군은 유의한 감소를 나타내었다.

이상의 결과를 종합해보면 Collagenase로 유발된 관절염 통증모델에 ChondroT가 물리적 이질통에 의한 회피반응과 Bcl-2의 변화, Bax/Bcl-2 ratio에 있어 모든 ChondroT군이 유의한 효과를 보였고, Bax의 변화에서는 ChondroT-C군, INF- γ 변화에서는 ChondroT-B군과 C군이 유의한 효과를 보인 것을 확인하였다. 이를 통해 ChondroT가 관절염 통증의 억제효과가 있으며, 나아가 세포 생존을 촉진하는데 영향을 미칠 수 있음을 알 수 있었다. ChondroT는 현재 보건산업진흥원 한의약선도기술개발 한약제제 사업의 일환으로 개발 중인 처방으로 골관절염을 유발한 동물실험에서 ChondroT의 진통효과를 확인할 수 있었다는 점에서 의의가 있고, 추후 약제에 대한

안전성연구, 표준화연구, 다른 실험적 모델에서의 유효성 연구와 함께 임상적 연관성에 대해서도 심도 있는 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결론»»»»»

ChondroT 용량별 투여가 Collagenase로 유발된 골관절염 백서에 미치는 영향을 plantar withdrawal response의 reaction time, force intensity, Bax, Bcl-2, Bax/Bcl-2 ratio의 변화, INF- γ 의 변화에 미치는 영향을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Plantar withdrawal response의 reaction time에 있어서 대조군에 비하여 Positive-A군과 Positive-B군은 6~10일째에 유의한 증가를 나타내었고, ChondroT-A군은 6~10일째에 유의한 증가를 나타내었고, ChondroT-B군과 ChondroT-C군은 4~10일째에 유의한 증가를 나타내었다.
2. Plantar withdrawal response의 force intensity에 있어서 대조군에 비하여 Positive-A군과 Positive-B군은 6~10일째에 유의한 증가를 나타내었고, ChondroT-A군과 ChondroT-B군은 6~10일째에 유의한 증가를 나타내었고, ChondroT-C군은 4~10일째에 유의한 증가를 나타내었다.
3. Bax 변화에 있어서 대조군에 비하여 Positive-B군과 ChondroT-C군은 유의한 감소를 나타내었다.
4. Bcl-2의 변화에 있어서 대조군에 비하여 Positive-A군, Positive-B군, ChondroT-A군, ChondroT-B군, ChondroT-C군 모두 유의한 증가를 나타내었다.
5. Bax/Bcl-2 ratio에 있어서 대조군에 비하여 Positive-B군, ChondroT-A군, ChondroT-B군, ChondroT-C군은 유의한 감소를 나타내었다.
6. INF- γ 변화에 있어서 대조군에 비하여 Positive-B군, ChondroT-B군, ChondroT-C군은 유의한 감소를 나타내었다.

References»»»»»

1. The Society of Korean Medicine Rehabilitation. Korea Rehabilitation Medicine 4. Seoul: KoonJa Publishing Inc. 2015:102,15.

2. American Academy of Orthopaedic Surgeons American Academy of Pediatrics. Essentials of Musculoskeletal care 4. 2010:32,7.

3. Koo ST, Shin JK, Choi YY, Song JB, Kim JH, Kim KS, Sohn IC. Effect of moxi-tar herbal acupuncture on the carrageenan-induced arthritis in rats. The Korean Journal of Meridian & Acupoint. 2006;23(1):67-85.

4. The Korean Orthopaedic Association. Orthopaedics 6. Seoul:ChoeShin. 2006:227-8,6.

5. Lee BH, Sohn JH, Park YG. Effectiveness of Opioids in the Management of Neuropathic Pain. The Journal of Korean Brain Society. 2001;1(1):53-64.

6. Ji MJ, Lim SC, Kim JS, Lee HJ, Lee YK. Effects of Curculiginis Rhizoma Pharmacopuncture at ST₃₆ on Monosodium Iodoacetate(MIA)-induced Osteoarthritic Rat. The Acupuncture. 2015;32(1):53-66.

7. Lee JM, Hong SY, Oh MS. Effects of Jakyakkamchobuja-tang on Papain-induced Osteoarthritis in Mice. J Korean Oriental Med. 2013;34(1):116-35.

8. Seo BK, Park DS, Baek YH. Antinociceptive Effect and the Mechanism of Bee Venom Pharmacopuncture on Inflammatory Pain in the Rat Model of Collagen-induced Arthritis: Mediation by 5HT-3 Muscarinic Cholinergic Receptors. The Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Society. 2011;28(1):37-44.

9. Kim YH, CheongGamEuGam. Seoul : SeongBoSa. 1995:315.

10. Korean Medicine University Herbology Editing Commission. Herbology. Seoul: YoungLimSa. 2011:159,305,221,631.

11. Kang BS. Application of Clinical Combination of Herbal Medicine. Seoul: YoungLimSa. 2004:152,449,646.

12. Lee YS, Jang SI. Study on the Anti-inflammatory Effects of the Remedy Prescribed with Lonicerae Flos and Scutellariae Radix in U937 cells. The Korean Journal of Oriental Medical Prescription. 2010;18(1):121-32.

13. Kang YG, Ryu IH, Kim SB, Choi CM, Seo YJ, Cho HB. A Study on the Inhibitory Effect and Mechanism of Lonicera Japonica on Type I Interferon. J. Korean Obstet Gynecol. 2013;26(2):17-32.

14. Cho WJ, Yoon HS, Kim YH, Kim JM, Yoo IJ, Han MD, Bang IS. Cytoprotective Effects and Gene Expression Patterns Observed Based on the Antioxidant Activity of Lonicera japonica Extract. 2013;23(8):989-97.

15. Kim HR, Kim EJ. Prevalence of Osteoarthritis and Its Affecting Factors among a Korean Population Aged 50 and over. Journal of Korean Public Health Nursing. 2013;27(1):27-39.

16. Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society. The Acupuncture and Moxibustion Medicine. GyeongGi: JipMoon. 2012:559.

17. Bae KJ, Jeong JW, Song MY, Kim TG, Kim SJ. The domestic Trends of Osteoarthritis-related Research on Each constituent Herb of ChondroT - Focused on the Journal

- of Korean Medicine. *Journal of Korean Medicine Rehabilitation*, 2015;25(4):55-63.
18. Kim SJ, Chun JM, Yang WK, Cheon MS, Sung YY, Park JY, Kim HK. Synergistic Effect of *Notopterygium incisum* with *Clematis manshurica* in the Anti-inflammatory Activity. *Kor. J. Herbology*. 2010;25(4):11-6.
 19. Shin S, Jeon JH, Park D, Jang JY, Joo SS, Hwang BY, Choe SY, Kim YB. Anti-inflammatory effects of and ethanol extract of *Angelica gigas* in a carrageenan-airpouch inflammation model. *Japanese Association for Laboratory Animal Science*. 2009;58 : 431-6.
 20. Kim JY, Lee H. A Study of the Effect of Herbal-acupuncture with *Phellodendri Cortex* Solution on Collagen-induced Arthritis in DBA/1J Mice. *The Korean Journal of Meridian & Acupoint*. 2007;24(2):163-84.
 21. Shen, Sharett et al. *J Am Chem Soc*. 1963:488.
 22. Winter CA, Risley EA, Nuss GW. Anti inflammatory and antipyretic activities of indomethacin. *J Pharmacol Exptl Therap*. 1963:141,369.
 23. Cho YB. Development of a New Herbal Anti-Arthritis Drug, JoinsTM(SKI 306X). *International Symposium On East-West Medicine*. 2001;1:255-69.
 24. Ramakrishna Nirogi, Venkatesh Goura, Dhanalakshmi Shanmuganathan, Pradeep Jayarajan, Renny Abraham. Comparison of manual and automated filaments for evaluation of neuropathic pain behavior in rats. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 2012;66(1): 8-13.
 25. Lee SC, Kim YS. Effets of *Polygalae Radix* on Apoptosis in PC-12 cell. *Kor. J. Herbol*. 2015;(30)1:59-65.
 26. Chae CH, Choi SM, Yim YK. A study on the Effect of *Luffae Fructus* Retinervus Herbal Acupuncture at ST36 on Collagen-induced Arthritis in Mice. *The journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Society*. 2005;22(1): 131-44.