



환도 · 양릉천 레이저 및 전침이 관절염에 미치는 영향

김미래*^{ID} · 이유미*^{ID} · 최동희^{ID} · 윤대환^{ID} · 나창수^{ID}

동신대학교 한의과대학 경락경혈학교실

Effects of Laser and Electro Acupuncture Treatment with GB30 · GB34 on Change in Arthritis Rat

Mirae Kim*, Yumi Lee*, Donghee Choi, Daehwan Youn, Changsu Na

Department of Acupoint & Meridian, College of Korean Medicine, Dongshin University

Objectives : This study aimed to investigate the effects of electroacupuncture (EA), the laser acupuncture (LA) and the combination therapy (LA+EA) in a collagenase-induced osteoarthritis rat model. **Methods :** Osteoarthritis rat model was induced by injection of collagenase into left lower articular cavity (50 μ l to knee and 10 μ l to ankle). In order to assess the anti-osteoarthritic effects of EA, the 650 nm LA and 650 nm LA+EA, the histopathological findings and plantar withdrawal responses were analyzed. **Results :** All of the treatment methods used in this study were effective in reducing pain. All treatment groups were effective in decreasing inflammatory cytokines of TNF- α and IL-6; the 650 nm LA and 650 nm LA+EA groups significantly reduced IL-1 β . **Conclusions :** 650 nm LA and EA inhibit the production of collagenase-induced inflammatory mediators of osteoarthritis.

Key words : arthritis, laser acupuncture, electro acupuncture, collagenase, combination therapy

서 론

1. 연구 배경 및 필요성

골관절염은 퇴행성 질환으로 잘 알려져 있으며, 노령화 사회로 접어들수록 자주 발생하는 관절 질환으로 통증 및 장애와 건강 비용 지출의 원인이 된다¹⁾. 인체 나이가 고령화가 될수록 청년에서 장년으로 넘어가는 평균 나이부터 절반 이상이 관절 통증 증상으로 호소하고 있고, 골관절염은 대개 손, 무릎, 발목, 척추 및 고관절 등에 영향을 주지만 다른 관절보다 인체 중에서 체중부하가 많이 되는 무릎관절에서 흔히 발견된다²⁾. 퇴행성 관절 질환에 대한 중요한 특징은 병리학적 소견으로 볼 때 관절 연골이 점차적으로 퇴화

하는 것이고, 이로 인해 관절 기능이 감소하며 이는 만성 통증과도 깊은 관련이 있다³⁾.

한의학적 관점으로 퇴행성 관절염은 關節痹證(관절비증)이라 하여 인체에 풍한습의 사기가 침범함으로 인해 관절의 동통, 부종 및 변형 등 임상적 증상으로 나타나는 전신성 관절 질환이다⁴⁾. 관절염을 치료할 때 침치료법은 消風散寒(소풍산한), 通經活絡(통경활락), 化濕清熱(화습청열)의 방법으로 환부의 經氣를 소통시키는 방법으로 사용하는데, 環跳(환도 GB30)와 陽陵泉(양릉천 GB34) 혈위를 중심으로 肝俞(간수), 脾俞(비수), 尺澤(척택), 曲池(곡지), 足三里(족삼리), 懸鍾(현종) 등의 혈위에 침 시술을 통한 방법으로 사용한다⁵⁾.

Received August 18, 2019, Revised September 17, 2019, Accepted September 26, 2019

Corresponding author: **Changsu Na**

Department of Acupoint & Meridian, College of Korean Medicine, Dongshin University, 120-9 Dongsindae-gil, Naju 58245, Korea
Tel: +82-61-330-3522, Fax: +82-61-330-3519, E-mail: nakugi@hanmail.net

*These authors contributed equally to this work.

This research was supported by the Dongshin University research grants. This research was supported by a grant of the Korea Health Technology R&D Project through the Korea Health Industry Development Institute (KHIDI), funded by the Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea (grant number : HI18C1915).

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

근래엔 전통적인 침자요법에서 머물지 않고 다양한 침요법이 개발되고 있으며, 그 중 하나인 전침요법은 1825년 프랑스 의사인 Sarlandiere에 의해 발전된 치료법으로, 최초로 전침을 응용하여 통풍 및 신경계통질환을 치료하였다. 이후 한의학의 침법과 현대 과학기술의 결합으로 근골격 질환을 비롯한 다양한 임상 질환에 응용되고 있다⁶⁾.

또 독일의 Plog에 의하여 발전된 Laser 광선침요법은 1975년 침치료에 He-Ne laser 광선을 도입시켜 임상에 응용하기 시작하였다⁷⁾. 침자법 중 하나인 레이저침은 경혈에 레이저 광선을 조사해서 그 자극으로 체내 경락계통에 영향을 주어 감염의 위험이 없으며 통증을 발생시키지 않으면서 침요법과 유사한 치료효과를 나타내는 치료법이며, 자극 정도를 미세하게 조절가능하다는 장점이 있으며⁸⁾, 저준위 레이저는 인체내에서 광화학적 변화를 일으킴으로 진통 효과에 대한 유효한 결과를 나타낸다⁹⁾.

이같이 다양한 침치료를 함으로써 관절염의 증상을 호전시키고자 하는 연구들이 진행되고 있는데, 이 등¹⁰⁾은 환도와 현측 혈위에 봉약침과 904 nm 레이저침을 각각 사용하거나 병행하여 치료를 시행하였을 때 관절염 개선에 유의한 효과는 낼 수 있다고 연구 결과를 보고하였으며, 이 등¹¹⁾은 족삼리에 강황 약침을 투여하였을 때 관절염을 유효하게 개선할 수 있으며, 약침의 농도와 시술 기간에 따라 효과 차이가 있음을 보고하였고, 나¹²⁾는 통증과 연골 재생에 저출력 레이저가 유의한 효과가 있다고 하였다.

관절질환에 대한 한의학적 치료법이 다양하게 시도되었으나, 관절염에 대한 레이저침요법과 전침요법을 병행한 조합 치료에 대한 연구 보고는 미비한 상태이다. 이에 본 연구에서는 레이저침과 전침 조합 치료 효과를 관찰하기 위하여 collagenase로 관절염을 유발시킨 후 환도(GB30), 양릉천(GB34) 혈위에 650 nm 레이저침, 전침을 개별 및 조합 시술한 후, 통증에 대한 회피반응시간과 자극 강도 변화, pro-inflammatory cytokines 등을 관찰한 결과 다음과 같은 지견을 얻었다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

1) **동물:** 약 170~180 g의 6주령 된 Sprague Dawley계 흰쥐를 실내 습도 40~60%와 실내 온도 24~26°C가 유지되는 항온항습 환경이 준비된 사육장 안에서 물과 사료(Pellet, GMO, 한국)를 충분히 공급하고 1주일 이상 환경에 적응시킨다. 그리고 실험에 사용하였으며, 실험기간에는 물과 고형사료를 자유롭게 섭취하게 하였다.

2. 실험 방법

1) **군 분리:** 실험군은 아무처치를 하지 않은 정상군(Normal, n=5), 관절염 유발 후 치료를 하지 않은 대조군(Control, n=5), 관절염 유발 후 전침 시술군(EA, n=5), 관절염 유발 후 650 nm Laser 침 시술군(650LA, n=5), 관절염 유발 후 650 nm Laser 침과 전침 교차 시술군(650LA+EA, n=5)으로 분리하였다.

2) **Collagenase 관절염 유발:** 관절염 유발은 collagenase (Type VII : Sigma, USA)로 1.5 KU 양을 0.9% sterile saline 600 μ l에 용해하여 흰쥐의 좌측 슬관절 관절에 마리당 50 μ l를 sterile hypodermic syringe (Korea vaccine Co., Korea)로 투여하였으며 실험 내용은 그림과 같다(Fig. 1).

3) **침 시술:** 본 실험 연구를 위하여 원형으로 제작된 레이저침, 전자기 시술 기기(Wontech Co., Ltd., Korea)를 이용하였으며, 사용한 침은 침습조사가 가능하도록 다중모드 광섬유를 금속침 내부에 삽입하였고, 금속침과 광섬유간 연결보호를 위하여 폴리머 소재 보호튜브를 사용한 광케이블로 연결하였다. 침 시술은 관절염 유발 후 일주일째부터 시작하였으며, 2회/주 총 6회에 걸쳐 시행되었다. 치료 시간은 3분으로 동일하게 환측 환도·양릉천 혈위에 시행하였으며 정상군과 대조군을 제외한 각 군을 치료하였다.

(1) **전침치료군:** 동일한 두께로 자극하기 위해 레이저침봉에 전극을 연결하여 3분 동안 30 mW/3 V전기를 흘려주었으며, 이 때 레이저 조사는 하지 않았다.

(2) **레이저침치료군:** 광섬유가 들어가도록 제작된 침을 사용하여 3분 동안 30 mW/100 Hz로 치료하였다.

(3) **조합치료군:** 레이저침봉에 전극을 연결하여 전침을 1분 30초간 시술을 하고, 레이저를 1분 30초간 교차로 조정하면서 시술하였다.

4) **Dynamic Plantar Aesthesiometer 측정:** Stimulator 자극에 대한 이질통 측정 방법은 유발전, 유발후, 6회 치료후에 5분간 안정시킨 후 Dynamic Plantar Aesthesiometer (UGO BASILE 37450, Italy)를 사용하여 철회반응(withdrawal response)을 관찰하였다.

Stimulator 자극에 대한 통증 측정 방법은 2차통각과민에 대한 반응으로 0 g에서 50 g까지 좌측 흰측 발바닥을 자극하여 철회반응 stimulator probe가 발바닥에 접촉하여 떨어질 때까지 시간 (React Time)과, 실험동물이 stimulator probe를 피한 순간의 힘 (Force Intensity)을 얻었다.

5) **혈청 분리:** 심장 채혈로 얻은 혈액은 원심분리기(VS 6000 CFI, Vision, Korea)로 3,000 rpm으로 20분간 실시하여 혈청을 분리하고, Cytokine을 측정하기 전까지 냉동 보관되었다.

6) **TNF- α 측정:** TNF- α 측정을 위해 Rat TNF- α (Invitrogen,

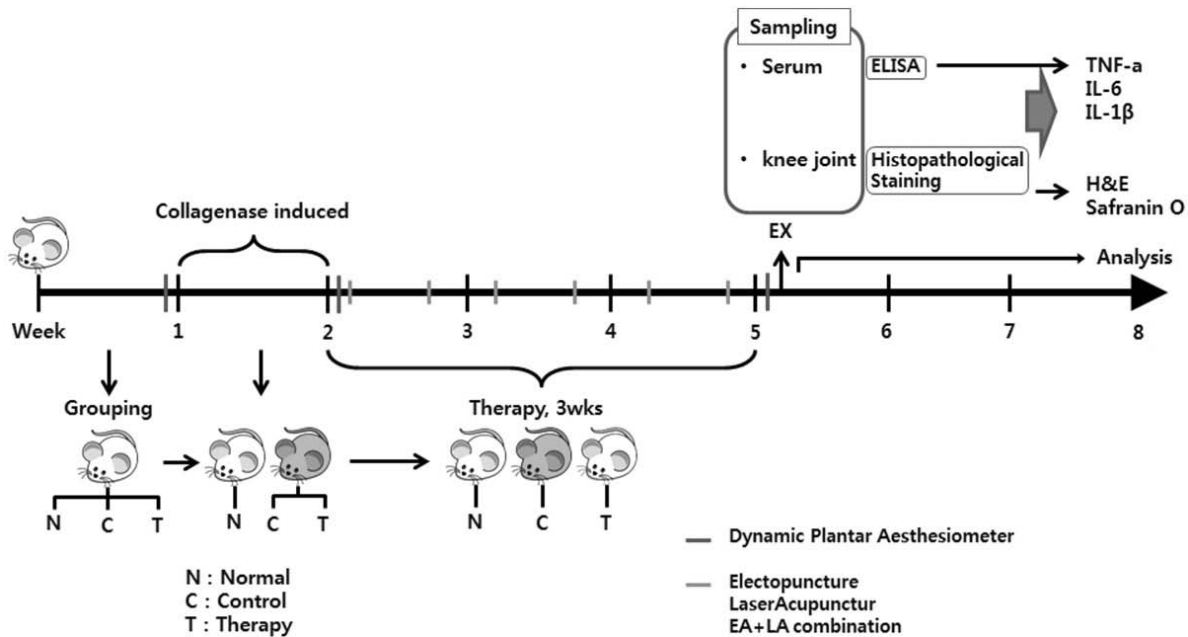


Fig. 1. Animal experiment protocol.

USA)를 사용하였다. Microplate에 100 μ l Rat TNF- α standard, control, serum을 첨가하고 plate cover로 tapping한 후에 mixing하고 실온에 2시간 배양하였다. 400 μ l washing solution으로 4회 세척하고 Rt 100 μ l TNF- α Biotin Conjugate를 첨가하고 plate cover로 tapping하고 실온에 1시간 배양하였다. 400 μ l washing solution으로 4회 세척하고 100 μ l streptavidin-HRP sorking solution를 첨가하고 plate cover로 tapping하고 실온에 30분간 배양하였다. 400 μ l washing solution으로 4회 세척하고 100 μ l stabilized chromogen를 첨가하고 plate cover로 tapping하고 암실상태로 실온에 30분간 배양하였다. 100 μ l stop solution을 plate에 넣고 반응을 중지시키고 microplate reader (EZ Read 400, Biochrom, UK)를 사용하여 450 nm파장에서 OD (Optical density)를 측정하였으며, sample의 TNF- α 양은 standard curve를 만들어 assay하였다.

7) Interleukin-6 (IL-6) 측정: IL-6 측정을 위해 Rat IL-6 (BIOMATIK, USA)를 사용하였다. Microplate에 100 μ l Rat IL-6 standard, control, serum을 첨가하고 plate cover로 tapping하고 mixing한 후 37 $^{\circ}$ C에 2시간 배양하였다. Plate의 용액을 제거해 준 상태에서 세척하지 않고, 100 μ l Rt Biotin-antibody를 첨가하고 plate cover로 tapping하고 실온에 1시간 배양하였다. 200 μ l washing solution으로 2회 세척 후 100 μ l HRP-avidin을 첨가하고 plate cover로 tapping하고 37 $^{\circ}$ C에 1시간 배양하였다. 200 μ l washing solution으로 5회 세척 후 90 μ l TMB

substrate를 첨가하고 plate cover로 tapping하고 암실상태로 실온에 30분간 배양하였다. Plate에 stop solution 50 μ l를 넣고 반응을 중지시키고 microplate reader (EZ Read 400, Biochrom, UK)를 사용하여 450 nm파장에서 OD (Optical density)를 측정하였다. Sample의 IL-6 양은 standard curve를 만들어 assay하였다.

8) Interleukin-1 β (IL-1 β) 측정: IL-1 β 측정을 위해 Rat IL-1 β (BIOMATIK, USA)를 사용하였다. Microplatel에 100 μ l standard, control, serum을 첨가하고 plate cover로 tapping하고 mixing한 후 실온에 2시간 30분간 배양하였다. 300 μ l washing solution으로 5회 세척 후 100 μ l 1X biotinylated antibody를 첨가하고 plate cover로 tapping하고 실온에 1시간 배양하였다. 300 μ l washing solution으로 5회 세척 후 100 μ l streptavidin solution을 첨가하고 plate cover로 tapping하고 실온에 45분간 배양하였다. 300 μ l washing solution으로 5회 세척 후 100 μ l TMB one-step substrate reagent를 첨가한 후 암실상태로 실온에 30분간 배양하였다. 100 μ l stop solution을 plate에 넣고 반응을 중지시키고 microplate reader (EZ Read 400, Biochrom, UK)를 사용하여 450 nm파장에서 OD (Optical density)를 측정하였다. Sample의 IL-1 β 양은 standard curve를 만들어 assay하였다.

9) 조직학적 검사

(1) 조직 제작: 좌측 슬관절을 적출하여 Bouin 용액에 24시간 이상 고정하였으며, 2.5% 질산(nitric acid) 용액에서 7일 동안 매일 질산액을 교환하면서 탈회(decalcification)를 실시하였다. 파

라핀 블록 제작을 위해 채취한 조직은 조직탈수 과정(Alcohol, Xylene)을 거쳐서 파라핀 블록을 제작하여 Microtome (HM325, ThermoScientific, Germany)을 사용하여 8 um 두께로 잘랐다.

(2) **Hematoxylin & Eosin (H&E) stain:** 조직은 deparaffin을 거친 후 Hematoxylin (Muto, Japan)과 Eosin (Muto, Japan)으로 염색한 후 물로 세척하고 dehydration 과정을 거쳐 광학 현미경 (80i, Nikon, Japan)으로 관찰하였으며, Gerwin 등¹³⁾에 고안된 측정방법 중 Osteophyte score를 응용하여 조직학점수를 측정하였다. 응용 방법으로는 각 조직사진을 3등분하여 femur와 tibia 양

쪽의 각 영역 중 가장 큰 osteophyte를 측정된 후 표에 따라 점수를 부여하였으며, 이 때 길이 측정 기준은 스케일 바를 기준하였다 (Table 1).

(3) **Safranin O - fast green 염색:** 조직은 deparaffin을 거친 후 Weigert's Iron Hematoxylin (Sigma, USA)용액에 10분간 반응시킨 후 10분간 흐르는 물에 세척하였고, 0.001% Fast green (Sigma, USA)용액에 5분 동안 염색하고, 다시 1% 아세트산 용액에 10초간 반응시킨 후 0.1% Safranin O (Sigma, USA)용액에 5분간 염색하였다. 그 다음 10분간 충분히 세척하여 dehydration 과정을 거쳐 광학 현미경(Nikon, Japan)으로 관찰하였다.

Table 1. Osteophyte score

Parameter	Grade	Description
Cartilage degeneration	0	Marginal zone proliferative changes < 200 μl
	1	Small 200 ~ 299 μl
	2	Moderate 300 ~ 399 μl
	3	Large 400 ~ 499 μl
	4	Very large ≥ 500 μl

3. 통계 분석

본 연구에서 사용한 통계 분석은 Graph Pad Prism (Ver. 6.01 for Window, USA) 통계 프로그램을 사용하였으며, 평균오차와 표준오차는 (mean ± standard error)로 표시하였다. 관절염 유발 후 각 군간의 통계학적 분석은 One-Way ANOVA test를 시행하였고, 사후검정은 t-test로 그룹간 평균을 비교 분석하였다. 유의수준은

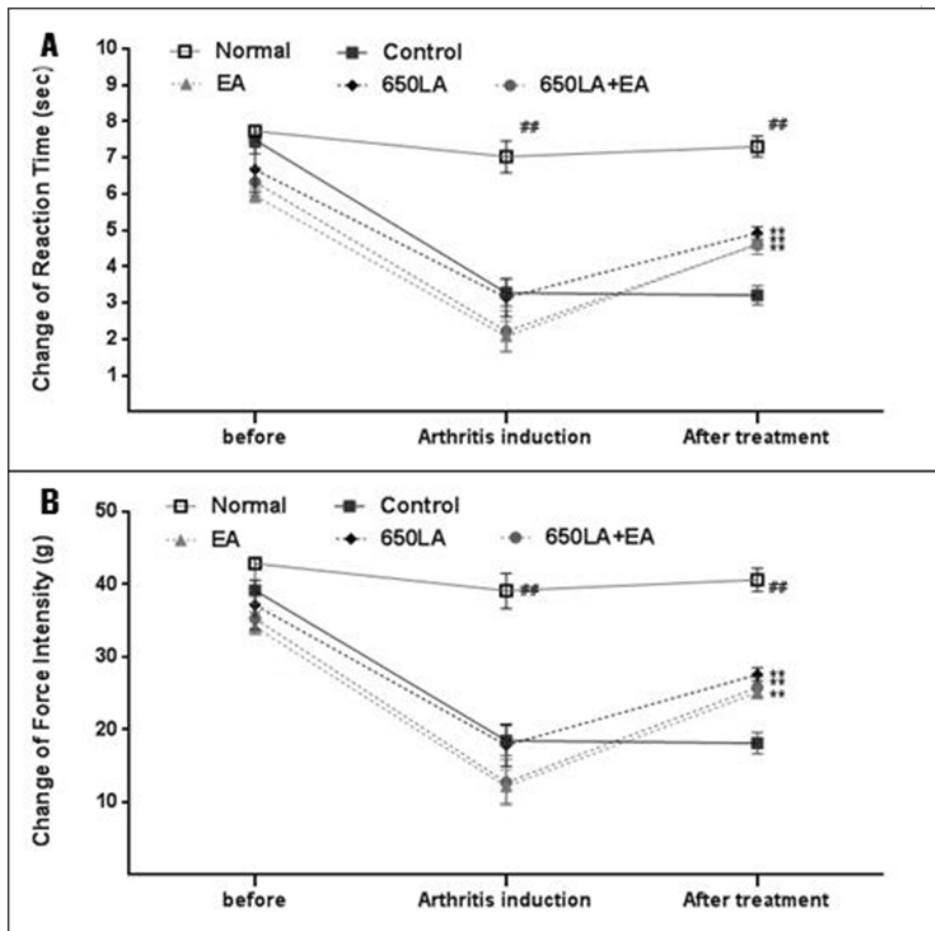


Fig. 2. Effect of Laser/Electro acupuncture of GB30 · GB34 on reaction time and force intensity in collagenase induced arthritis rats.

Normal : no arthritis and no treatment, Control : collagenase, no treatment, EA : collagenase, electro acupuncture at GB30 · GB34, 650LA : collagenase, 650 nm laser acupuncture at GB30 · GB34, 650LA+EA : collagenase, electro acupuncture and 650 nm laser acupuncture at GB30 · GB34. Values are expressed Mean ± SE. ##*p* < 0.01 compared with normal. ***p* < 0.01 compared with control.

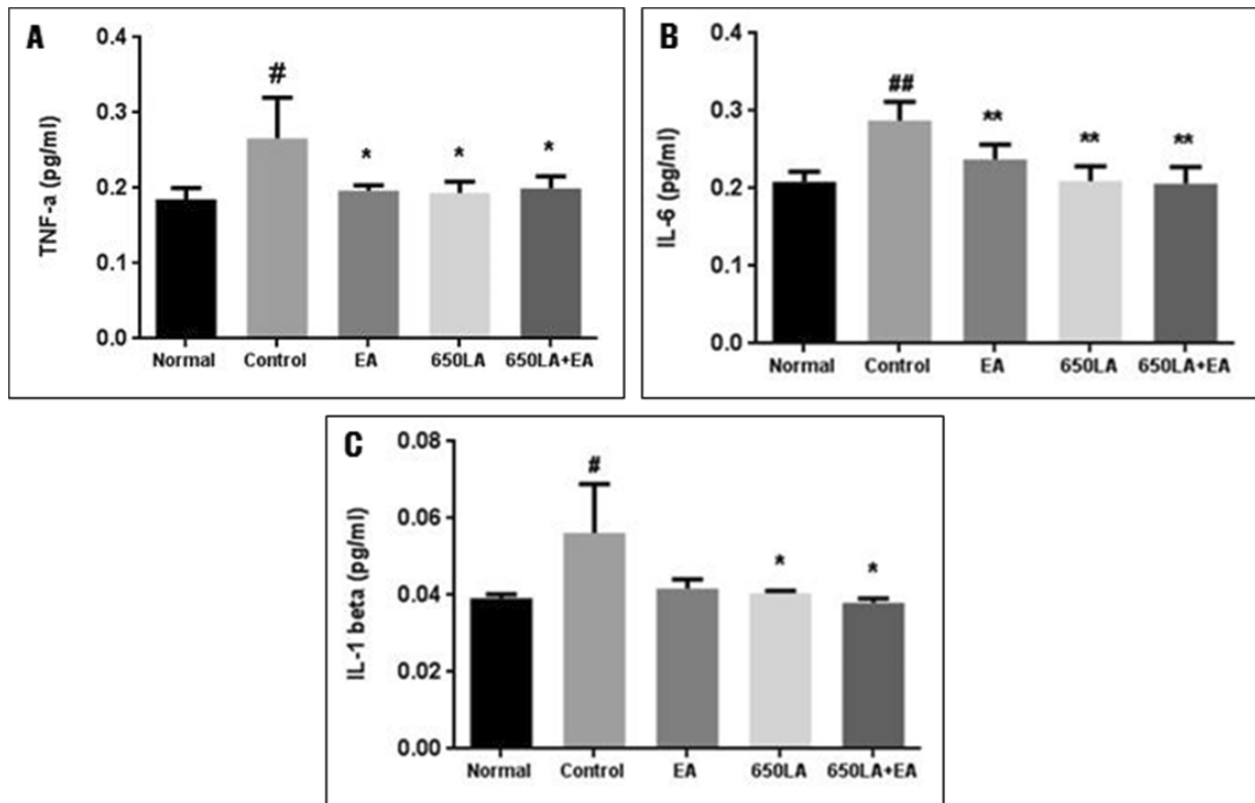


Fig. 3. Effect of Laser/Electro acupuncture of GB30 • GB34 on TNF- α , IL-6 and IL-1 β level in collagenase induced arthritis rats. The groups refer to Fig. 2. (A) Values are expressed Mean \pm SE. [#] p <0.05 compared with normal; ^{*} p <0.05 compared with control. (B) Values are expressed Mean \pm SE. ^{##} p <0.01 compared with normal; ^{**} p <0.01 compared with control. (C) Values are expressed Mean \pm SE. [#] p <0.05 compared with normal; ^{*} p <0.05 compared with control.

p <0.05, p <0.01로 설정하여 확인하였다.

결 과

1. Plantar withdrawal response로 측정된 analgesia 효과

환도 · 양릉천혈에 시술된 650 nm 레이저침 및 전침요법이 Reaction Time 변화(Fig. 2A)와 Force Intensity 변화(Fig. 2B)에 미치는 영향을 관찰한 바, 모든 치료가 끝난 후 정상군에 비해 대조군은 압력에 대한 통증 반응이 유의한 감소를 나타내었고, 대조군에 비해 모든 치료군은 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 2).

2. Pro-Inflammatory cytokine factor에 미치는 영향

1) Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) 함량: 환도 · 양릉천혈에 시술된 650 nm 레이저침 및 전침요법이 TNF- α 함량 변화에 미치는 영향을 관찰한 바, 정상군에 비해 대조군은 유의한 증가

를 나타내었으며, 대조군에 비해 모든 치료군에서 유의한 감소를 나타내었다(Fig. 3A).

2) Interleukin-6 (IL-6) 함량: 환도 · 양릉천혈에 시술된 650 nm 레이저침 및 전침요법이 IL-6 함량 변화에 미치는 영향을 관찰한 바, 정상군에 비해 대조군은 유의한 증가를 나타내었으며, 대조군에 비해 모든 실험군에서 유의한 감소를 나타내었다(Fig. 3B).

3) Interleukin-1 β (IL-1 β) 함량: 환도 · 양릉천혈에 시술된 650 nm 레이저침 및 전침요법이 IL-1 β 함량 변화에 미치는 영향을 관찰한 바, 정상군에 비해 대조군은 유의한 증가를 나타내었으며, 대조군에 비해 650LA, 650LA+EA 치료군에서 유의한 감소를 나타내었다(Fig. 3C).

3. 조직 변화에 미치는 영향

1) Hematoxylin & Eosin (H&E) 염색: 환도 · 양릉천혈에 시술된 650 nm 레이저침 및 전침요법이 조직 변화에 미치는 영향을 H&E stain 염색으로 관찰한 바, 대조군(Fig. 4B)에서는 관절연골이 정상군에 비하여 pannus 형성이 관찰되었고, 활막 부분손상,

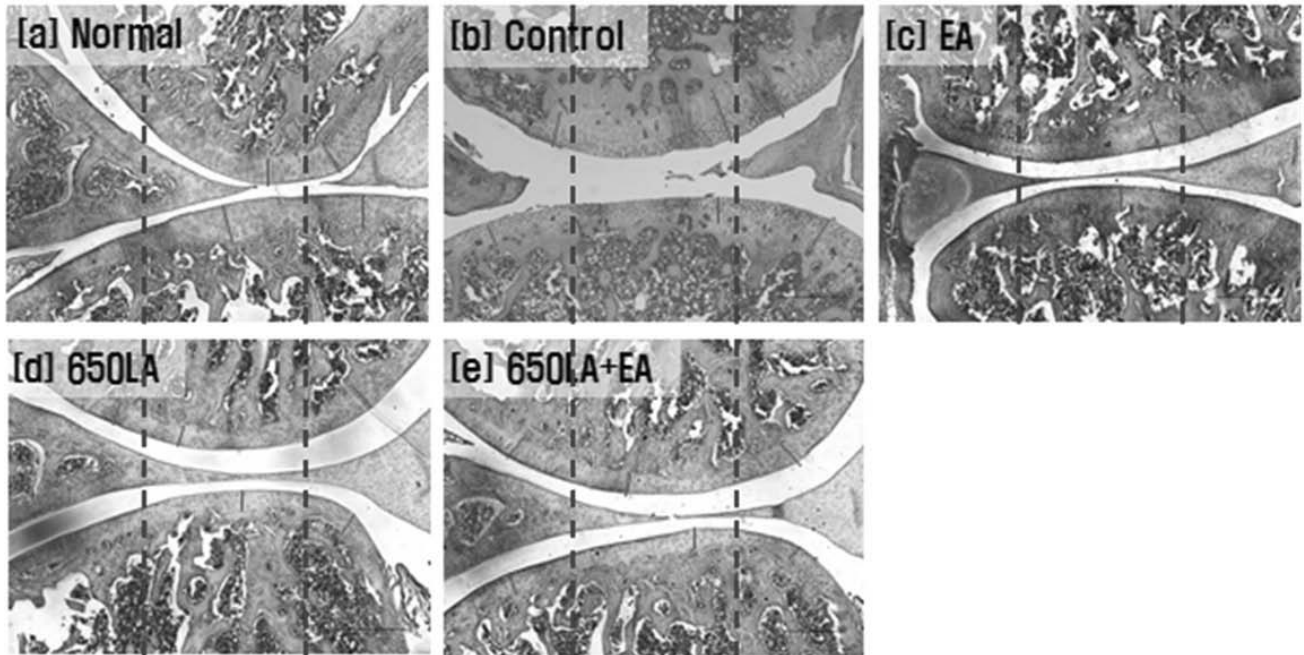


Fig. 4. The changes on the histopathological change (H&E stain) of knee joint after Laser/Electro acupuncture of GB30 · GB34 administrations in collagenase induced arthritis rats. The groups refer to Fig. 2. HE-stain, Scale bars=500 μm.

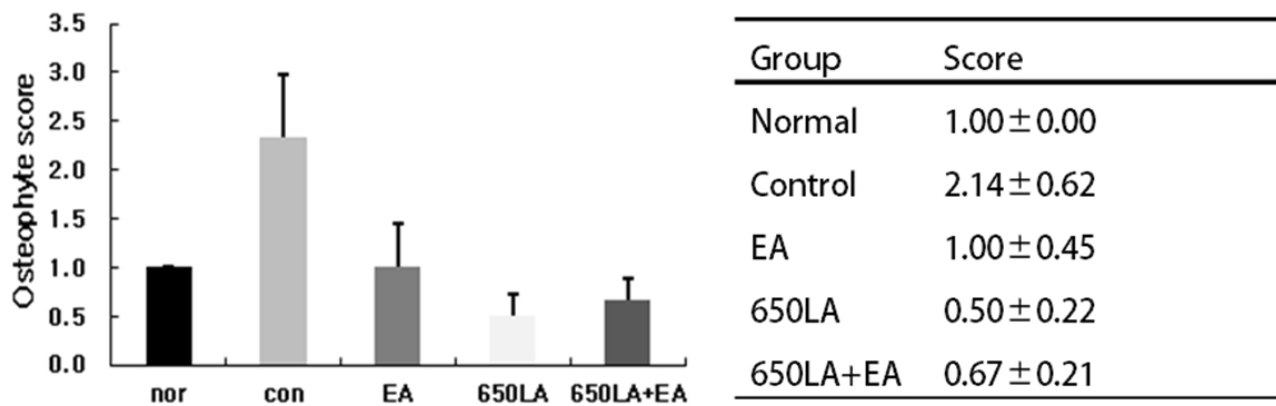


Fig. 5. Osteophyte score.

The largest osteophyte in the section is measured from base to edge at the thickest point (red line) and then given a score based on that measurement.

염증 세포 침윤 등이 관찰되었다. 대조군에 비하여 650LA군(Fig. 4D), 650LA+EA군(Fig. 4E)은 관절 활액막 손상 정도가 비교적 적게 관찰되었으며, 정상군과 같이 윤활막이 균일한 모습을 보여주었고, 연골소강과 연골세포가 대조군에 비하여 뚜렷한 소견을 보였다(Fig. 4). Osteophyte score는 대조군은 정상군에 비해 두꺼운 골증식을 보였으며, 모든 실험군은 대조군에 비해 골증식이 나타나지 않았다(Fig. 5).

2) Safranin O-fast 염색: 환도 · 양릉천혈에 시술된 650 nm 레이저침 및 전침요법이 조직 변화에 미치는 영향을 Safranin O-fast stain 염색으로 관찰한 바, 대조군(Fig. 4B)에서는 proteoglycans 양성반응이 낮게 관찰되었으며, EA군(Fig. 6C), 650LA군(Fig. 6D), 650LA+EA군(Fig. 6E)에서는 대조군에 비하여 골조직과 인접한 연골층에서 proteoglycans 양성반응이 비교적 전체적으로 높게 관찰되었다(Fig. 6).

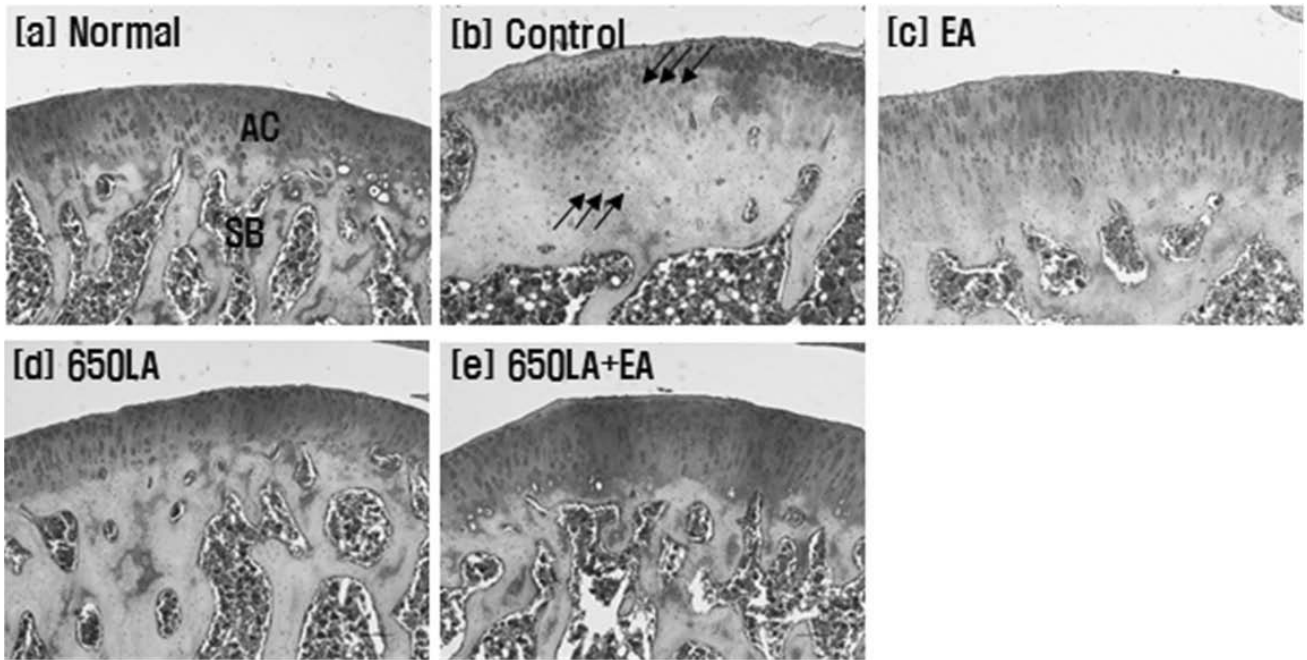


Fig. 6. The changes on the histopathological change (Safranin O stain) of knee joint after Laser/Electro acupuncture of GB30 • GB34 administrations in collagenase induced arthritis rats.

The groups refer to Fig. 2. A number of shrunken nuclei (arrows ↓) were observed in the collagenase control. AC : articular cartilage, SB : spongy bone. The Collagenase-induced arthritis rats were administrated with breeding (control), Electronic acupuncture treatment, 650 nm Laser Acupuncture treatment, 650 nm Laser Acupuncture+Electronic Acupuncture treatment. SafraninO stain, Scale bars=100 μm.

고찰

레이저를 이용한 치료는 저출력 레이저 치료와 고출력 레이저 치료로 구분되며 저출력 레이저는 에너지를 제공하는 광선요법으로 생물 광합성을 일으켜 성장하게 하고 인체에 유익하게 작용하는 장점이 있으며, 고출력 레이저는 수초 내에 세포를 파괴하여 증발시키므로 주변 조직 손상 또는 출혈이나 부종 없이 병변을 제거할 수 있는 장점이 있어 수술 등 외과 분야에서 광범위하게 사용되고 있다¹⁴⁾.

실험적으로 레이저를 조사하여 사용하는 비침습적 레이저 침은 많은 연구가 진행되고 있었으며¹⁵⁾, 1990년대 이후부터는 레이저 광을 혈액에 조사하는 것으로 레이저 침을 혈관 내에 삽입하는 방법이 많이 연구되고 있다¹⁶⁾.

저출력 레이저 종류로는 633 nm 파장을 가진 HeNe 레이저, 633~700 nm 파장대를 가진 InGaAlP 레이저, 780~790 nm 파장대를 가진 GaAlAs 레이저, 904 nm 파장을 가진 GaAs 레이저가 있는데¹⁷⁾, 저출력 레이저 임상응용을 보면, 주로 두통, 중풍, 고지혈, 고콜레스테롤혈증 환자에 응용되고 있고¹⁸⁾, 최근 780~890 nm 영역대 레이저 효과로 오십견 환자나 진통 효과에 대한 실험적 연

구가 진행되고 있다^{19,20)}.

골관절염은 주로 성인에게서 가장 흔히 나타나는 관절 질환으로²¹⁾, 국소적인 관절연골의 점진적인 소실 및 연골 소실의 이차적인 변화와 증상을 동반하며²²⁾, 다양한 경로로 인하여 관절의 모든 조직 구조물의 병적인 변화를 한꺼번에 일으켜 관절의 기능부전을 유발한다²³⁾.

골관절염은 연골에 기계적인 어떠한 자극이 주어졌을 때 연골기질 손상이나 변화로 IL-1, TNF-α 등으로 인해 세포 파괴와 재형성 과정이 이루어지고, IL-8, IL-6, PGE2 등의 분비를 증가시켜²³⁾, proteoglycan, type II collagen 등의 농도 감소와 골세포사멸이 발생하는 과정 중에 관절이 뻣뻣해지는 현상, 점진적인 운동 장애가 발생하며, 관절부위 통증, 발열 등의 증상을 보이게 된다²⁴⁾.

골관절염 치료 방법으로는 약물 치료, 비약물 치료, 수술 치료 등으로 분류할 수 있으며, 약물 치료의 경우 1차로 아세트아미노펜이 사용되며, 그 외에 비스테로이드 항염증제(Non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs/NAIDs)와, 마약성 진통제 등의 약물이나 관절내 주사제 등이 의료진의 진단과 판단 하에 선택적으로 사용되며, 기능장애와 통증이 심한 환자의 경우 약물 치료가 아닌 수술적 치료를 선택적으로 시행한다²⁵⁾.

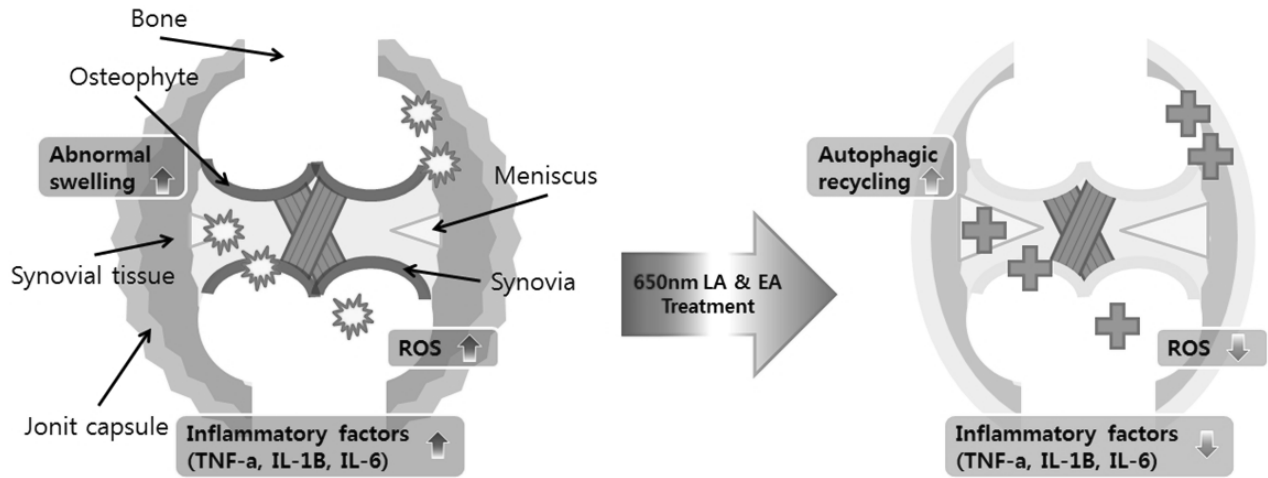


Fig. 7. Mechanism of 650 nm LA & EA combination therapy on collagenase induced arthritis in this study.

골관절염 통증 치료 처방으로 가장 많이 사용되는 NSAIDs는 고용량 아세트아미노펜에 비해 진통효과가 30%나 더 있으나 일부 환자에게서는 효과가 없거나 상부위장관 부작용으로 인한 부작용도 동반될 수 있는 등 사용이 제한적이어서 보다 더 안전하고 효과적인 관절염 치료제가 필요한 실정이다²³⁾.

이에 부작용 문제를 줄이고 해결하고자 한의학적 관절염 치료법으로 약물 치료 외 레이저침과 전침 치료가 주목을 받고 있어 본 실험에서는 골관절염에 대한 650 nm 레이저침 및 전침 요법 효과에 대해 관찰하고자 하였다.

골관절염 실험연구를 위한 관절염 유발방법으로 관절강내에 collagenase를 투여하는 모델이 제시되었는데 관절강 내에 collagenase를 주입하게 되면 인대,半月판 등이 손상되고 기계적 스트레스가 활막세포와 연골세포 대사 작용에 영향을 미쳐 실제 골관절염과 비슷한 상태가 유도되는 것으로 보고되어²⁶⁾, 본 실험에선 collagenase를 이용한 골관절염 모델을 사용하였다.

또, 본 실험에서 사용한 통증 지표로는 물리적 자극에 대한 회피 반응을 보였다. 물리적 자극에 대한 회피반응을 측정하는데 사용하는 von Frey filament를 사용하였으며, 이 방법은 일정한 압력으로 동일한 자극을 가할 때 실험동물이 느끼는 물리적 통증은 회피반응으로 나타나 회피할 때 시간과 압력 값을 정량화하여 객관적으로 증명이 가능한 방법이고²⁷⁾, 염증성 통증이나 신경병성 통증에서 보이는 이차통각과민 측정을 위한 지표로서 적절한 방법이다²⁸⁾.

본 연구에서 650 nm 레이저침 및 전침요법이 통증에 대한 회피 반응시간과 자극 강도 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, von Frey filament를 이용하여 물리적 이질통을 발생시킨 후 회피반응 reaction time과 force intensity에서 모든 치료군이 대조군에 비

해 유의하게 증가하였고, 이는 650 nm 레이저침 및 전침요법이 기계적 자극에 대한 골관절염 회복에 도움을 주었을 것으로 보인다.

TNF- α 는 활성화된 단핵구와 대식세포에 의해 생산되어 세포 활동에 관여하여 이화작용을 일으키는 상위 사이토카인으로 하위 염증 매개 물질 분비를 유발하여 염증을 확대하고 연골을 파괴하는 단백질 분해를 생성하게 하고, 국소 골흡수부위에 모여있는 파골세포를 자극하여 연골 손상, 골관절염 진행을 촉진한다^{29,30)}. 류마티스 관절염에서 TNF- α 농도는 뼈의 파괴 정도와 연관성이 높으며, 관절조직을 파괴하는데 중요한 요인이다³¹⁾. IL-6는 혈청에서보다 관절액에서 더 높은 활성도를 보인다고 하였는데, 이는 IL-6가 골관절염에서 중요한 역할을 담당함을 알 수 있으며, 활막 세포 증식과 파골세포 활동을 촉진해 pannus 형성 및 단백질분해 효소 생산을 야기하여 연골 관절을 파괴한다^{32,33)}. IL-6은 급성 조절단백으로 류마티스 관절염의 염증 반응에서 주요매개체로 작용하며 손상된 관절의 관절액에서 IL-6 활성도가 증가한다. 특히 외상성관절염 및 골관절염보다 높은 활성도를 나타내어 류마티스 질환의 활성도와 연관성이 있다. 이렇듯 IL-6은 류마티스 관절염의 면역반응 매개체로서 병리 과정에 중요한 역할을 담당하고, 그 역할은 특정 TNF- α 나 IL-1 효과를 증폭시키는 것으로 추정하고 있다³⁴⁾.

IL-1 β 는 연골 및 활막세포로부터 prostaglandin E₂, NO 등 염증 매개체 생산과, MMPs 발현을 자극해 연골분해를 일으키는 강력한 cytokine으로 알려져 있으며 통각 과민 유발, 연골 기질 파괴 촉진 등을 통해 통증을 발생시킨다^{35,36)}. IL-1 β 는 T세포와 B세포의 기능을 증가시키며, 섬유모세포의 증식 및 백혈구의 유주를 촉

진한다. 그리고 연골세포와 활막섬유모세포에 작용하여 collagenase와 PGE₂ 생산을 유도하고, osteoclast를 활성화시켜 관절 연골과 뼈를 파괴한다³⁷⁾.

본 연구에서 650 nm 레이저침 및 전침요법이 TNF- α 와 IL-6 및 IL-1 β 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, TNF- α 와 IL-6 변화는 정상군에 비하여 대조군은 유의한 증가를 나타내었으며, 대조군에 비하여 모든 치료군에서 유의한 감소를 나타내었고, IL-1 β 변화는 정상군에 비하여 대조군은 유의한 증가를 나타내었으며, 대조군에 비하여 650LA, 650LA+EA 치료군에서 유의한 감소를 나타내었다.

이는 650 nm 레이저침 및 전침요법이 활막세포 또는 활막 내 침윤된 백혈구의 활성을 억제하여 염증성 사이토카인의 분비를 감소시키고 연골세포 손상을 억제하는 작용이 있어 골관절염 완화에 도움을 주는 것으로 보이며, 전침 자극보다는 레이저 자극에서 염증 억제 및 완화 작용이 뛰어난 것으로 보인다(Fig. 7).

관절 조직의 조직병리학적 변화를 관찰하기 위하여 H&E stain 염색을 한 결과, 대조군에 비하여 650LA군, 650LA+EA군은 관절 활막 손상 정도가 비교적 적게 관찰되었으며, 정상군과 같이 윤활막이 균일한 모습을 보여주었고, 연골소강과 연골세포가 대조군에 비하여 뚜렷한 소견을 보였다. Safranin O-fast stain 염색으로 관찰한 바, 대조군에서는 관절연골은 정상군에 비하여 판누스(pannus) 형성이 관찰되고, proteoglycans 양성반응이 낮게 관찰되었으며, EA군, 650LA군, 650LA+EA군에서는 대조군에 비하여 골조직과 인접한 연골층에서 proteoglycans 양성반응이 비교적 높게 관찰되었다.

실험 결과로 보아 650 nm 레이저침 및 전침 요법은 collagenase로 유발된 골관절염 염증 유발 중간매개체 생성을 억제하여 염증 과정의 억제 및 염증전달물질 생성을 방해하는 작용이 있다. 이는 추후 650 nm 레이저침 및 전침요법이 류마티스 관절염 치료에 활용될 수 있는 가능성을 보여주고 있으나, 조합치료와 전침, 레이저 각각 치료를 비교하였을 때 차이가 없었던 부분은, 관절염 조합치료시 전기 자극과 레이저 강도가 어느 시점일 때 시너지 효과를 가지는지 전극과 레이저 강도 및 주파수 등에 따른 효과 변화에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 보이며, 향후 임상적인 활용을 위해 작용기전 및 안정성에 대한 더욱 상세한 연구가 필요할 것으로 생각한다.

결론

레이저침과 전침 조합 치료 효과 관찰을 위하여 collagenase로 유발된 관절염 모델의 환도(GB30), 양릉천(GB34) 혈위에 650 nm 레이저침, 전침을 개별 및 조합 시술한 후, 통증에 대한 회피반응시간과 자극 강도 변화, pro-inflammatory cytokine 등을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 통증에 대한 회피반응시간과 자극 강도 변화에 미치는 영향에서 대조군에 비하여 모든 실험군은 유의한 차이를 나타내었다.
2. TNF- α 변화에 미치는 영향에서 대조군에 비하여 모든 치료군은 유의한 감소를 나타내었다.
3. IL-6 변화에 미치는 영향에서 대조군에 비하여 모든 치료군은 유의한 감소를 나타내었다.
4. IL-1 β 변화에 미치는 영향에서 대조군에 비하여 650LA, 650LA+EA군이 유의한 감소를 나타내었다.
5. 조직 관찰에서 H&E 염색 결과 650LA, 650LA+EA군에서 균일한 윤활막, 뚜렷한 연골소강, 연골세포와 활막 손상정도가 적은 정도의 소견을 보여주었으며, Safranin O-fast 염색 결과 EA군, 650LA군, 650LA+EA군에서 높은 proteoglycans 양성반응이 뼈조직과 인접한 연골층에서 관찰되었다.

이러한 결과로 보아, 650 nm 레이저침 및 전침 요법은 collagenase로 유발된 골관절염 염증 유발 중간매개체 생성을 억제하여 염증 과정 억제 및 염증전달물질 생성을 방해하는 작용이 있는 것으로 사료된다.

Acknowledgement

This research was supported by a grant of the Korea Health Technology R&D Project through the Korea Health Industry Development Institute (KHIDI), funded by the Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea (grant number : HI18C1915). And this research was supported by the Dongshin University research grants.

Funding

None.

Data availability

The authors can provide upon reasonable request.

Conflicts of interest

저자들은 아무런 이해 상충이 없음을 밝힌다.

References

- Keenan AM, Tennant A, Fear J, Emery P, Conaghan PG. Impact of multiple joint problems on daily living tasks in people in the community over age fifty-five. *Arthritis Rheum.* 2006 ; 55(5) : 757-64.
- Imhof H, Czerny C, Gahleitner A, Grampp S, Kainberger F, Krestan C, et al. Coxarthrosis. *Radiology.* 2002 ; 42(6) : 416-31.
- Moskowitz RW, Kelly MA, Lewallen DG. Understanding osteoarthritis of the knee-causes and effects. *Am J Orthop.* 2004 ; 33 : 5-9.
- The Oriental Rehabilitation Society. *Korean Rehabilitation Medicine.* 4th edition. Seoul : Kunja Publishing INC. 2015 ; 115 : 317.
- Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society. *Acupuncture and moxibustion medicine.* Gyeonggi : Jipmoondang. 2012 : 152-3, 557-82.
- Kim JK. *Theory and Clinic of Electroacupuncture.* Published by Seowondang. 1993 : 14-40.
- Yang CS, Sun SH, Jang IS. High Intensity Laser for Laser Acupuncture Application. *Korean Journal of Acupuncture.* 2011 ; 28(3) : 1-12.
- Editing the Textbook of the Korean Bedding Society. *Bedding Medicine.* Seoul, Korea : Jipmundang. 2012 : 16, 225-30, 152-3, 577-82.
- Kim SC, Cho EH, Na CS. The Study on the Application of He-Ne Laser with Low. *Korean Journal of Acupuncture.* 2011 ; 20(3) : 35-47.
- The acupuncture. Effects of Sweet Bee Venom Pharmacopuncture and Low Level Laser Acupuncture on a Rat Model with Complete Freund's Adjuvant-induced Arthritis. 2015 : 32-3, 1-13.
- The acupuncture. Effects of Curcuma longa LINNE Pharmacopuncture at ST36 on Adjuvant Induced Arthritis in Rats. 2013 : 30-4, 95-105.
- Na SY. Effect of Low level laser on pain and regeneration of cartilage in a model of osteoarthritis rats. Graduate School of DongShin University. 2012.
- Geriwin N, Bendele AM, Glasson S, Carlson CS. The OARSI histopathology initiative - recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the rat. *Osteoarthritis and Cartilage.* 2010 ; 18(3) : 25-34.
- Kim YN. *Oriental medicine physiotherapy.* Seoul, Korea : Seowondang. 1995 : 451-70.
- Gam AN, Thorsen H, Lonnberg F. The effect of low-level laser therapy on musculoskeletal pain: a meta-analysis. *Pain.* 1993 ; 52(1) : 63-6.
- Lee SH, Lee SH, Park HJ, So GS, Lim SBN. Review of Domestic Papers o Low Level Laser therapy -mainly focused on Laser apparatus. *Korean Journal of Acupuncture.* 2005 ; 22(2) : 163-81.
- Lee KG, Shin JH, Lee KJ, Seon SH, Han CH, Jang IS. Review on Laser or LED Therapy for the Photobiomodulation of Diseases of the Cerebral Nervous System. *J Int Korean Med.* 2014 ; 35(4) : 546-55.
- Lee J, Lee D, Lee O, Lee S, Lee J, Jeong J, et al. Inhibitory Effects of Filiform Acupuncture and Laser Acupuncture at the Points of Zhongzhu (TE3), Zulinqi (GB41) on Neuropathic Pain in the Tibial and Sural Nerve Injury-induced Rats. *Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society.* 2014 ; 31(2) : 119-34.
- Stergioulas A. Low-power laser treatment in patients with frozen shoulder: preliminary results. *Photomed Laser Surg.* 2008 ; 26(2) : 99-105.
- Gouw-Soares S, Tanji E, Haypek P, Cardoso W, Eduardo CP. The use of Er:YAG, Nd:YAG and Ga-Al-As lasers in periapical surgery: a 3-year clinical study. *J Clin Laser Med Surg.* 2001 ; 19(4) : 193-8.
- Yoon CH. Osteoarthritis Update. *Korean Journal of Internal Medicine.* 2012 ; 82(2) : 170-4.
- The Korean Orthopedic Association. *Orthopedics.* 7th edition(1).

- Seoul : Coishin Medical Publishing INC. 2013 : 49.
23. Harrison's Principles of Internal Medicine Edit committee of the Korean Association of Internal Medicine. Harrison's Principles of Internal Medicine. 18th edition(2). Seoul : MIP. 2013 : 1990-9, 2782.
 24. Lee EJ, Oh MS. Effects of Keonbodan on MIA-Induced Osteoarthritis in Rat. *J. of Korean Medicine Rehabilitation*. 2014 ; 24(2) : 51-64.
 25. Baek SH, Kim SY. Pharmacologic treatment of osteoarthritis. *J Korean Med Assoc*. 2013 ; 56(12) : 1123-31.
 26. van der Kraan PM, Vitters EL. Degenerative knee joint lesions in mice after a single intra-articular collagenase injection. A new model of osteoarthritis. *J Exp Pathol*. 1990 ; 71(1) : 19-31.
 27. Shir Y, Seltzer Z. Effects of sympathectomy in a model of causalgiform pain produced by partial sciatic nerve injury in rats. *Pain*. 1991 ; 45(3) : 309-20.
 28. Kim J. Neurophysiology of pain. *Korean Neurological Association*. 2000 ; 1 : 5-9.
 29. Lee EJ, Oh MS. Effects of Keonbodan on MIA-Induced Osteoarthritis in Rat. *Journal of Oriental Rehabilitation Medicine*. 2014 ; 24(2) : 51-64.
 30. Lee HE, Oh MS. Effects of Mahwangbujaseshin-tang on MIA-Induced Osteoarthritis Rats. *Journal of Oriental Rehabilitation Medicine*. 2014 ; 24(2) : 65-81.
 31. Helle M, Boeije L, de Groot E, de Vos A, Aarden L. Sensitive ELISA for interleukin-6. Detection of IL-6 in biological fluids: synovial fluids and sera. *J Immunol Methods*. 1991 ; 138(1) : 47-56.
 32. Valdes AM, Arden NK, Tamm A, Kisand K, Doherty S, Pola E, et al. A meta-analysis of interleukin-6 promoter polymorphisms on risk of hip and knee osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2010 ; 18 : 699-704.
 33. Valdes AM, Pu-wei Y, De-yu L, Xiang-dong C, Yang-quan H, Chao Z, et al. Effects of preventive administration of Juanbi Capsules on TNF- α , IL-1 and IL-6 contents of joint fluid in the rabbit with knee osteoarthritis. *Journal of Traditional Chinese Medicine*. 2010 ; 30(4) : 254-8.
 34. Jeong JY, Cho MR. The Effects of Warm Needling at GB30, GB34 on Complete Freund's Adjuvant(CFA)-induced Rheumatoid Arthritis in Rats. *Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society*. 2015 ; 32(2) : 65-75.
 35. Hulejova H, Baresova V, Klezl Z, Polanska M, Adam M, Senolt L. Increased level of cytokines and matrix metalloproteinases in osteoarthritic subchondral bone. *Cytokine*. 2007 ; 38(3) : 151-6.
 36. Lee JM, Hong SY, Oh MS. Effects of Jakyakkamchobuja-tang on Papain-induced Osteoarthritis in Mice. *Journal of Korean Medicine*. 2013 ; 34(1) : 116-35.
 37. Sur B, Kang S, Kim M, Oh S. Inhibition of Carrageenan/Kaolin-Induced Arthritis in Rats and of Inflammatory Cytokine Expressions in Human IL-1 β -Stimulated Fibroblast-like Synovocytes by a Benzylideneacetophenone Derivative. *Inflammation*. 2018. doi : 10.1007/s10753-018-0947-8.