

# 원적외선 전신조사가 류마티스 관절염 유발 흰쥐에 미치는 영향

김계엽 · 조경오<sup>1</sup> · 김명희 · 정현우\*

동신대학교 한의과대학, 1: 전남대학교 수의과대학

## The Effects of Far-Infrared on Rheumatoid Arthritis Induced Rats

Gye Yeop Kim, Kyoung Oh Cho<sup>1</sup>, Myung Hee Kim, Hyun Woo Cheong\*

Collage of Oriental Medicine, Dongshin University, 1: Collage of veterinary Medicine, Chonnam University

The purpose of this study was to observe the effects of far-infrared on rheumatoid arthritis induced rats by type II collagen with the change of arthritis index, hind paw volume, TNF- $\alpha$  and histopathologic findings. Thirty-six Sprague-Dawley rats which were divided into four group. Group I : Normal group, Group II : Collagen-Induced Arthritis group, Group III : Far-Infrared 25 cm radiation group, Group IV : Far-Infrared 35 cm radiation group. The results of this study were as follows: In arthritis index, far-infrared radiation group(III, IV) are more decreased than collagen-induced arthritis group(II). Group III and IV showed the most significant effect at 14 day(p<0.05). In hind paw, far-infrared 25 cm radiation group(III) significantly decreased more than only collagen-induced arthritis group on day 14(p<0.05). Far-infrared 35 cm radiation group(IV) significantly decreased more than collagen-induced arthritis group on day 3, 7 and 14(p<0.05). In the ELISA study of TNF- $\alpha$  concentration, collagen-induced arthritis group significantly increased in the concentration more than normal group. Far-infrared radiation group(III, IV) decreased in TNF- $\alpha$  concentration more than collagen-induced arthritis group(II) on day 14. In histopathologic findings, collagen-induced arthritis(II) and far-infrared 25 cm radiation group(III) increased in synovial membrane thickness on 3 day. Far-infrared 35 cm radiation group(IV) decreased in the concentration more than collagen-induced arthritis group on day 14. The above results suggest that far-infrared radiation effectively reduced in rheumatoid arthritis. It would be considered that far-infrared has an effects on relieving rheumatoid arthritis.

Key words : rheumatoid arthritis, Collagen-Induced Arthritis, Far-Infrared

### 서 론

류마티스 관절염(Rheumatoid Arthritis)은 뼈와 연골의 손상을 수반하는 만성적이고 전신적인 염증성 질환으로 만성 관절염 중 퇴행성 관절염 다음으로 흔히 볼 수 있는 질환이다<sup>1)</sup>. 이는 관절의 심한 손상과 장애를 초래하고 만성 활액막염을 주 병변으로 하는 자가면역 질환으로, 활액막에 비정상적인 면역반응이 일어나 IL(Interleukin)-1, IL-6, IL-8, IL-10, IFN(Interferon)- $\gamma$ , TNF(tumor necrosis factor)- $\alpha$  등의 전염증성 cytokine이 관여하여, 심각한 자가면역 반응을 초래하게 된다<sup>2,3,4)</sup>. 이러한 류마티스 관절염은 유전요소와 환경요인이 복합적으로 작용하여 발병하지만, 정확한 원인은 아직까지 밝혀지지 않고 있다<sup>5,6)</sup>. 일부 주장되

는 기전으로는 자기 혹은 외부항원에 대한 과민반응으로 면역세포에서 방출되는 TNF- $\alpha$ , IL-1, Prostaglandin E<sub>2</sub>, Collagenesis, Prosteainase 등이 연골과 콜라겐을 감소시켜 활액막의 증식과 염증을 유도하여 결국 연골과 뼈의 파괴를 초래하게 되는 자가면역 질환으로 규정하고 있다<sup>7,8,9)</sup>.

관절염의 분류에서 류마티스 관절염은 사람에게 평생동안 많은 통증을 주기 때문에 이에 대한 연구를 하기 위해 실험동물에 인위적으로 유발 물질을 주사하여 관절염을 유발하는데 실험적 쥐모델에는 Adjuvant-Induced Arthritis(AIA), Collagen-Induced Arthritis(CIA), Streptococcal cell wall-induced arthritis(SCWIA)이 있다<sup>10)</sup>. AIA는 쥐에서 만성적으로 발생하는 염증으로 Freund's adjuvant type의 활성을 가진 물질의 현탁액 또는 유탁액을 흰쥐의 꼬리기저부에 주사하여 유발한다<sup>11)</sup>. CIA는 adjuvant와 제2형 콜라겐을 섞은 유탁액을 쥐의 피내에 한번의 접종과 7일 후의 추가접종을 하여 발생시키며<sup>12,13)</sup>, 유발시 조직

\* 교신저자 : 정현우, 전남 나주시 대호동 252, 동신대학교 한의과대학

· E-mail : hwdolsan@dsu.ac.kr, · Tel : 061-330-3524

· 접수 : 2004/07/21 · 수정 : 2004/08/25 · 채택 : 2004/09/24

학적, 면역학적으로 인간의 자가면역성 관절염과 유사하게 유도되는 제2형 콜라겐을 사용한다. SCWIA는 세포벽 절편을 쥐에 주사하여 병을 발생시킨다. 주로 group A Streptococci의 세포벽 절편이 사용되어지며 주사 후 24시간 이내에 급성 염증이 최고조에 달하고 그 후 서서히 사라진다<sup>14,15</sup>. 이 중에서 AIA와 CIA는 질병 발생의 표준성과 짧은 기간에 임상병리학적으로 질병의 발달과정을 연구할 수 있어서 가장 많이 사용하고 있다<sup>10,16</sup>. 특히, CIA의 조직병리학적 증상은 판누스의 형성과 연골의 광범위한 손상 등이 인간의 류마티스 관절염의 조직병리학적 증상들과 유사한 형태를 보여 동물의 관절에서 류마티스 관절염의 발병과 병태생리학적 현상을 연구하기 위해 제2형<sup>12</sup> 콜라겐을 쥐에게 피내 주사하여 관절염을 발생시킨 이후, 설치류에서 많이 이용되어지고 있다<sup>10,17,18</sup>. 이에 본 연구에서도 제2형 콜라겐으로 관절염을 유발하여 실험을 하였다.

류마티스 관절염의 치료에는 약물치료, 수술치료, 치료적 운동을 포함한 물리치료 등이 사용된다. 류마티스 관절염에 사용되는 물리치료는 온열치료, 냉치료, 수중치료, 전기치료 등이 있다<sup>19</sup>. 이 중 온열치료는 히포크라테스 이래로 현재까지 만성 관절염의 치료에 광범위하게 사용되고 있으며, 온열치료에 의해 류마티스 관절염 환자의 통증과 강직(stiffness)이 감소한다고 하였다. 이에 대한 진통효과는 Melzack과 Wall의 관문조절설<sup>20</sup>로 설명되어지고, 강직의 감소효과는 온도상승이 근방추의 구심성 섬유 발사율(spindle afferent discharge)을 변화시켜 근 긴장을 감소시키고 콜라겐의 신장도를 증가시킴으로써 얻어진다고 알려져 있다. 또한 온열치료는 혈액의 관류량을 증가시키고 염증 및 부종의 완화를 돕는다<sup>21</sup>.

온열치료 방법 중 표재열에 속하는 원적외선은 긴 파장으로 특히 강한 열작용을 갖는 방사선을 말하며, 인체 파장대 중 가장 많은 영역을 차지하고 있는 8~14 $\mu$ m 파장이므로, 인체에 조사할 경우 기분 좋은 느낌을 느낄 수 있다. 또한, 인체 세포에 공명흡수작용을 하여 인체 깊숙이 침투할 수 있을 뿐만 아니라, 세포를 형성하는 분자에 흡수되어 생리, 화학적인 변화를 일으키게 한다. 그러므로 체내의 세포가 활성화되고, 대사가 촉진된다<sup>22,23,24</sup>.

원적외선은 근육의 이완과 진정을 돕고 근작용의 효율성을 증가시켜 섬유수축과 이완을 보다 신속하게 하며<sup>25</sup>, 열의 발생, 감각신경자극, 말초혈관 충혈, 혈관확장 반사작용 등의 생리학적 특성을 가진다<sup>23</sup>. 원적외선의 의학적 이용은 자율신경계의 조절, 간뇌 자극, 스트레스에 영향을 미칠 수 있고, 재활관련 분야에서는 골격근 질환, 관절염, 전기진단 전 단계, 혈액순환 촉진, 통증 완화, 중추신경계손상 환자의 통증완화와 치료 전의 이완을 목적으로 널리 이용되고 있다. 하지만 이러한 원적외선의 많은 장점에도 불구하고 류마티스 관절염에 대한 원적외선 치료에 관한 기초적인 자료는 매우 미미한 실정이다.

본 연구에서는 흰쥐에 제2형 콜라겐으로 류마티스 관절염을 유발시킨 후 원적외선을 각각 25 cm 지점과 35 cm 지점에서 전체 체표면을 수직으로 직접 조사한 후 관절염 지수, 족부종율, ELISA 기법을 이용한 TNF- $\alpha$  및 조직병리학적 변화를 연구함으로써 원적외선 전신조사가 류마티스 관절염 유발 흰쥐에 어떤

한 영향이 있는지를 평가하는데 목적이 있다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

#### 1) 실험동물 및 실험설계

실험동물은 생후 8주령의 체중 약 250 $\pm$ 50 g의 암컷 Sprague-Dawley계 흰쥐를 36마리 사용하였다. 실험실 온도는 25 $\pm$ 1  $^{\circ}$ C, 습도는 55 $\pm$ 10%를 유지하였으며 명암은 12시간 주기로 하였다. 고형 사료와 물은 충분히 공급하였다. 실험동물군은 4개 군으로 나누었다. 실험군 I은 정상군 (n=9)으로 saline(0.9%)용액을 투여한 군, 실험군 II는 대조군으로 collagen II을 투여하여 류마티스 관절염을 유발한 군(n=9)이다. 실험군 III은 collagen II을 투여하여 류마티스 관절염을 유발한 후 원적외선을 25 cm 거리에서 조사한 군(n=9), 실험군 IV는 collagen II을 투여하여 류마티스 관절염을 유발한 후 원적외선을 35 cm 거리에서 조사한 군(n=9)이다(Table 1).

Table 1. Experimental design

Group	No. of rats	Treatment
I	9	Normal
II	9	CIA*
III	9	CIA* + FIR** 25 cm radiation
IV	9	CIA* + FIR** 35 cm radiation

\*CIA : Collagen-Induced Arthritis, \*\*FIR : Far-infrared

### 2. 연구 과정

#### 1) 제2형 콜라겐에 의한 관절염의 유발

Chicken type II collagen(Sigma, St, Louis, MO, USA)을 0.1 ml 아세트산에 2 mg/ml의 농도로 용해시킨 후 4  $^{\circ}$ C에서 12시간 정도 저어준 다음 같은 양의 Freund's incomplete Adjuvant(Sigma, St, Louis, MO, USA)를 혼합하여 emulsion으로 만들었다<sup>26,27</sup>. 그 후, 0.1 ml의 emulsion을 Sprague-Dawley계 흰쥐의 족척에 피하주사 하였다. 일차 주사 후, 7일째에 0.2 ml의 emulsion을 꼬리의 기시부에 추가 접종을 하였다. 마지막 접종일로부터 14일에 육안으로 관절주위의 발적이나 부종 등 임상적인 관절염 증후를 관찰 평가하여 개체를 선별한 다음날부터 실험을 하였다.

#### 2) 원적외선 치료 적용

원적외선 거리는 흰쥐의 직장온도와 체표온도를 측정하여 체표온도 46  $^{\circ}$ C, 직장온도 39.8  $^{\circ}$ C인 25 cm와 체표온도 38  $^{\circ}$ C, 직장온도 37.8  $^{\circ}$ C인 35 cm로 정하였다. 이와 같은 선행연구 결과를 바탕으로 관절염으로 평가된 실험쥐를 나누어 하나는 25 cm지점에서, 다른 하나는 35 cm지점에서 원적외선(FIR-350, Taewon CO, Korea)을 흰쥐의 전체 체표면에 수직으로 직접 15분간 조사한다.

#### 3) 육안적 소견인 관절염 지수를 이용한 관절염 평가

관절염 지수의 평가는 Wood의 방법을 변형한 Burrai 등<sup>28</sup>의 방법에 따라 흰쥐의 각 지점에서 관절 종창과 관절주위부 발적정도를 육안 관찰하여 0점에서 4점으로 점수를 배점하였고 다시 4지의 점수를 합산하여 0점에서 16점의 관절염 지수로 채점

하였으며, 관절염의 평균 지수는 6~8점이다<sup>29,30,31)</sup>(Table 2).

Table 2. Clinical evaluation of arthritis

Group	Arthritis
0	No evidence of disease
1	Inflammation of small digital joints
2	Inflammation of digits and foot pad
3	Inflammation of entire foot
4	Inflammation of foot and ankle

4) 방사선 촬영 및 평가

방사선 촬영기(X-ray, Hyundai, Korea)를 이용하여 후전면상을 촬영하였고, Trentham<sup>12)</sup>이 보고한 방사선학적 소견을 토대로 Mainardi<sup>31)</sup>의 방법을 변형하여 연부 조직의 종창, 관절의 파괴정도, 신생골 형성, 관절 구축 등의 정도를 관찰하였다.

5) 족 부종 측정

족 부종 측정은 plethysmometer(Ugo Basile, Italy)를 이용하여 콜라겐 유발물질을 투여한 오른쪽 부위의 족부종을 2회 반복 측정하여 평균치를 사용하였다. 수치 단위는 cc을 사용한다. 유발 후, 조사 3일 후, 조사 7일 후, 조사 14일 후에 실험쥐의 족부종을 측정하여 실험시작시의 부피와 비교하여 관절염의 족 부종 정도를 표시한다. 부종율은 CIA 투여 직후 및 원적외선 조사 3일, 7일, 14일 후의 발 부피의 변화를 이용하여 다음 식으로 족 부종율(% swelling)을 구하였다.

$$\text{족부종율}(\%) = \frac{V - V_1}{V_1} \times 100$$

V : 3일, 7일, 14일의 발부피, V<sub>1</sub> : 주사직후 발부피

족 부종 억제율(% inhibition)은 다음의 식을 이용하여 산출하였다.

$$\text{부종억제율}(\%) = \left[ 1 - \frac{\text{처치군의족부종율}}{\text{대조군의족부종율}} \right] \times 100$$

6) ELISA를 이용한 TNF-α 측정

혈중 TNF-α(Tumor necrosis factor-α)를 측정하기 위해 심장 천자로 혈액을 채취하여 혈청을 분리하였고, 측정시까지 검체는 영하 70 °C에서 보관하였다. 혈청 중의 TNF-α 측정은 solid-phase ELISA kit를 이용한 sandwich enzyme immunoassay법으로 하였다. Rat TNF-α에 대한 단클론항체가 coating된 polystyrene microplate에 샘플과 농도를 알고 있는 TNF-α 표준용액을 첨가한 뒤 실온에서 2시간 방치한 후, PBS로 4회 세척을 하였으며, biotinylated antibody를 가하여 실온에서 2시간 방치하였다. 그 후, PBS로 4회 세척을 하고 substrate 용액을 가한 후 실온에서 20분간 방치를 하고 나서 반응중단 용액으로 발색반응을 중단시켰다. ELISA reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도 측정을 하고, TNF-α 표준용액의 농도와 측정된 흡광도를 이용하여 표준곡선 작성을 하였다. 마지막으로 표준곡선으로 TNF-α 농도 측정을 하였다.

7) 조직학적 평가

(1) 조직 채취

실험동물을 경추 탈골법으로 희생시킨 후 해부용 고정 틀에 고정시켰다. 수술용 메스로 대퇴골과 경골 그리고 슬개골을 부각시킨 상태의 오른쪽 슬관절을 적출한다. 모든 군은 유발 후, 조사 3일 후, 조사 7일 후, 조사 14일 후 간격으로 각각 2마리씩 동일한 방법으로 슬관절을 적출하였다. 적출된 조직은 축화 및 변형을 방지하기 위해 10% 포르말린 용액에 고정하였다. 고정된 조직은 24시간 후 흐르는 물에 수세한 다음 일반적인 조직의 탈수, 투명 및 침투과정을 자동조직 처리장치(Model No. 4640B, Sakura, Japan) 기기를 사용하여 14시간동안 처리하였으며, 고정된 적출한 뼈는 10% formic acid를 사용하여 실온에서 2시간 동안 탈회한 후 탈수, 투명, 침투과정을 거쳤다. 파라핀 블록의 제작과 냉각은 자동 포매장치(Tissue-TEX, Sakura, Japan)를 사용하였다. 제작된 파라핀 블록을 회전식 미세박절기(Rotary Microtome 2040, Sakura, Japan)를 사용하여 조직을 수직방향으로 4-5 μm 두께로 연속절편하여, 부유온수조와 신전기 과정을 거쳐 슬라이드에 부착시켰다.

(2) 조직병리학적 관찰

박절한 조직절편을 hematoxylin으로 염색한 다음 과염색된 부분은 흐르는 수돗물로 세척한 다음 1% HCL, 70% A/C 용액에 3~5회 dipping 한 후, 다시 흐르는 수돗물에 수세한 다음 1% 암모니아수에 5~10회 dipping함으로써 핵을 청화 하였다. 그 다음 수세물 5-10분 정도 충분히 수세하여 핵이 청명한 색이 되도록 세포질 대조염색으로 염색한 다음 15초간 과도한 eosine용액을 흐르는 물로 세척하고 탈수 및 투명과정을 거쳤다. 광학현미경(Olympus BX50, Olympus Optical Co, Japan)을 사용하여 각각의 조직절편의 염색세포의 침윤정도, 연골과 뼈의 파괴 유무, 세포 파괴 유무를 관찰하였으며, 현미경에 장착된 CCD 카메라(Toshiba, Japan)로 각 군의 조직들을 촬영하였다.

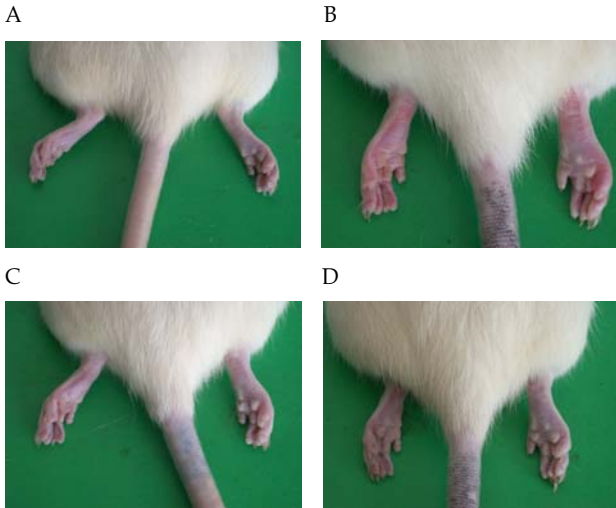
3. 통계처리

본 연구의 통계학적 분석은 SPSS 10.0 ver. for windows를 사용하였다. 시간에 따른 실험군간의 통계적 유의성을 검증하기 위하여 반복측정 분산분석(Repeated ANOVA)을 실행하였고, 사후 검정으로는 Tukey's multiple range test를 사용하였다. 실험군별 측정시기에 따른 차이를 검정하기 위하여 짝비교 T-검정(Paired t-test)을 실행하였다. 분석 시 유의수준은 p<0.05로 하였다.

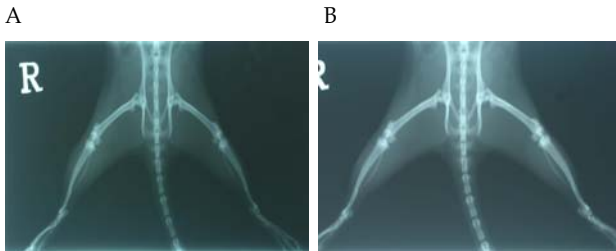
실험 결과

1. 육안적 소견을 바탕으로 한 관절염 지수 평가

정상군에 비하여 류마티스 관절염을 유발시킨 군인 실험군 II에서 뒷다리의 부종과 발적이 심하게 나타났으며(Fig. 1), 원적외선을 25 cm에서 조사한 군인 실험군 III은 처음에는 뒷다리의 부종과 발적이 심하게 나타났으나 점차 완화되었다. 원적외선을 35 cm에서 조사한 군인 실험군 IV의 뒷다리의 부종과 발적은 점차적으로 완화되는걸 알 수 있었다(Fig. 1).



**Fig. 1. Gross findings of hind paw in each groups.** A : Normal rat (0 day), B : Collagen-Induced Arthritis rat (0 day), C : Collagen-Induced Arthritis + Far-Infrared 25cm treatment rat (14 day), D : Collagen-Induced Arthritis + Far-Infrared 35cm treatment rat (14 day)



**Fig. 2. Radiologic finding in Arthritis induced rat model.** A : Normal rat (0 day), B : Collagen-Induced Arthritis rat (0 day)

관절염 지수 평가에서 관절염을 유발시킨 후의 관절염 지수는 평균 8.0을 나타내었다. 실험군 II는 유발 후부터 계속 증가하여 조사 3일 후에 9.33±0.50을 보였고, 조사 7일 후부터는 점차 감소하여 조사 14일 후에 7.89±0.60이 되었다. 실험군 III은 조사 3일 후까지 증가하여 8.89±0.78이 되었다가 조사 7일 후부터 점차 감소하는 경향을 보여 조사 14일 후에는 6.94±0.53을 나타내었다. 실험군 IV는 조사 3일 후에 8.63±0.97로 증가되었다가 점차 감소하여 조사 14일 후에는 6.57±0.70을 나타내었다(Fig. 1). 시간에 따른 실험군간의 통계적 유의성 검정에서 유의한 차이가 있었고(p<0.05), 사후검정에서 실험군 II와 실험군 III, 실험군 IV간에 유의한 차이를 보였다. 각 실험군에서 측정시기에 따른 검정은 실험군 II, 실험군 III과 실험군 IV에서 조사 3일 후, 7일 후, 14일 후에 유의한 차이를 보였다(p<0.05).

**2. 족부종율 소견**

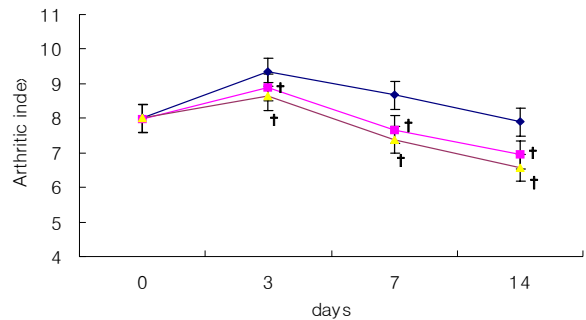
족부종율은 평균 37.98로, 대조군인 실험군 II는 37.98±1.49에서 족부종율이 점차 증가하여 조사 7일 후에 40.90±1.35로 되었다가, 조사 14일 후에는 38.64±1.86으로 감소되었음을 알 수 있었다. 실험군 III은 실험군 II과 비교하였을 때, 조사 3일 후까지는 39.39±2.24로 족부종율이 증가되었다가 조사 7일 후부터는 점차 감소하여 조사 14일 후에 32.00±1.40을 나타내었고, 실험군 IV는 실험군 II와는 반대

로 조사 3일 후부터 점차 감소하여 조사 14일 후에 30.59±2.55를 나타내었다(Fig. 4). 시간에 따른 실험군간의 통계적 유의성 검정은 유의한 차이(p<0.05)가 있었고(Table 4), 사후검정에서 실험군 II와 실험군 III, 실험군 IV군간에 유의한 차이를 보였다. 각 실험군에서 측정시기에 따른 검정은 실험군 II, 실험군 III와 IV군에서 조사 3일 후, 7일 후, 14일 후에 유의한 차이를 보였다(p<0.05).

**Table 3. Effects of far-infrared on arthritic index**

Group	Pre	Day		
		3*	7*	14*
I	-	-	-	-
II	8.00±0.70	9.33±0.50	8.67±0.70	7.89±0.60
III	7.99±0.78	8.89±0.78†	7.67±0.50†	6.94±0.53†
IV	8.00±1.05	8.63±0.97†	7.38±0.67†	6.57±0.70†

Values are showed mean±SD, Tested by repeated ANOVA( \* : p<0.05) and multiple comparison test : group II-group III(† : p<0.05), group II-group IV(† : p<0.05), Tested by paired t-test, Group II, group III, group IV: 3 day-7 day(p<0.05), 3 day-14 day(p<0.05), 7 day-14 day(p<0.05)

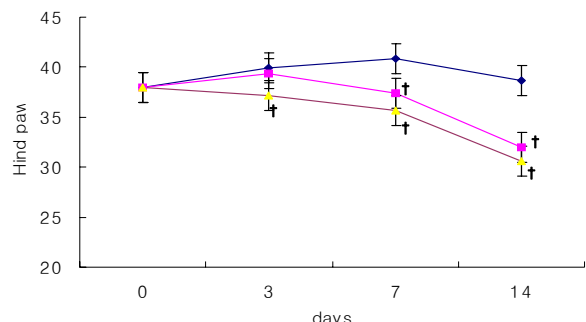


**Fig. 3. Effect of far-infrared on arthritic index.** ◆ : Collagen-Induced Arthritis group, ■ : CIA + FIR 25 cm radiation group, ▲ : CIA + FIR 35 cm radiation group, Tested by repeated ANOVA( \* : p<0.05) and multiple comparison test : group II-group III(† : p<0.05), group II-group IV(† : p<0.05)

**Table 4. Effect of far-infrared on hind paw volume(cc)**

Group	Pre	Day		
		3*	7*	14*
I	-	-	-	-
II	37.98±1.49	39.94±1.27	40.90±1.35	38.64±1.86
III	37.99±2.12	39.39±2.24	37.45±2.02†	32.00±1.40†
IV	37.98±2.86	37.22±3.49†	35.70±3.41†	30.59±2.55†

Values are showed mean±SD, Tested by repeated ANOVA( \* : p<0.05) and multiple comparison test : group II-group III(† : p<0.05), group II-group IV(† : p<0.05), Tested by paired t-test, Group II, group III, group IV: 3 day-7 day(p<0.05), 3 day-14 day(p<0.05), 7 day-14 day(p<0.05)



**Fig. 4. Effect of far-infrared on hind paw volume(cc)** ◆ : Collagen-Induced Arthritis group, ■ : FIR-25 cm Tx group, ▲ : FIR-35 cm Tx group Tested by repeated ANOVA( \* : p<0.05) and multiple comparison test : group II-group III(† : p<0.05), group II-group IV(† : p<0.05)

Table 5. Effect of far-infrared on TNF- $\alpha$  in 14 day (pg/ml)

	Group			
	I	II	III	IV
TNF- $\alpha$	27.34	75.67	63.35	67.51

Values are showed mean $\pm$ SD

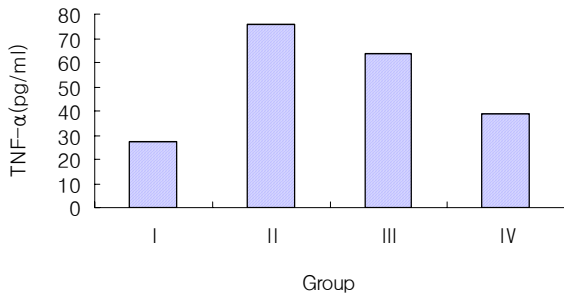


Fig. 5. Effect of far-infrared on TNF- $\alpha$  in 14 day (pg/ml)

4. 조직병리학적 소견

조직학적 소견은 흰쥐의 슬관절 부위의 경골과 활액막의 병리조직학적 소견을 관찰하기 위해 흰쥐의 오른쪽 슬관절을 적출하여 보았다. 주로 슬관절에서 활액막과 관절연골의 변화, 염증세포 침윤 등을 관찰하였다.

실험군 II는 실험군 I에 비해 활액막이 두터워지고 염증세포들이 많이 침윤될 것 알 수 있었다(Fig. 6). 실험군 III은 조사 3일 후까지 활액막 비후와 염증세포들의 침윤, 관절연골의 변화 등이 증가됨을 관찰할 수 있었고(Fig. 6), 조사 7일 후부터는 점차 감소하여 조사 14일 후에 활액막과 염증세포들의 침윤정도, 관절연골의 변화가 많이 완화되었음을 관찰할 수 있었다(Fig. 6). 실험군 IV는 치료 3일 후부터 계속 감소하여 조사 14일 후에 활액막의 비후와 염증세포들의 침윤정도, 관절연골의 변화 등이 많이 완화되었음을 관찰할 수 있었다(Table 6)(Fig. 6).

Table 6. Changes of synovial membrane in knee joint of rat

Group	Pre	Day		
		3	7	14
I	- <sup>1</sup>	-	-	-
II	+++	+++ <sup>4</sup>	+++	++
III	+++	+++ <sup>4</sup>	++	+ <sup>2</sup>
IV	+++	++ <sup>3</sup>	++	+

-<sup>1</sup> : No inflammation reaction observed, +<sup>2</sup> : A few inflammation reaction observed in knee joint of rat, ++<sup>3</sup> : considerable number of inflammation reaction observed in knee joint of rat, +++<sup>4</sup> : Marked number of inflammation reaction observed in knee joint of rat.

고찰

류마티스 관절염(Rheumatoid Arthritis)은 만성적인 염증성 질환으로 관절을 싸고 있는 활액막내로 단핵구가 침윤되면서 점차적으로 진행되어 광범위한 관절의 침식 및 파괴가 일어나는 질환이다. 주로 말단 관절을 침범하는 만성 양측성 침식성 활액막염으로 특징 지을 수 있으며, 관절활액막염이 점진적으로 진행되어 관절연골, 연골하골 관절주위 연체조직의 파괴를 초래한다<sup>2)</sup>.

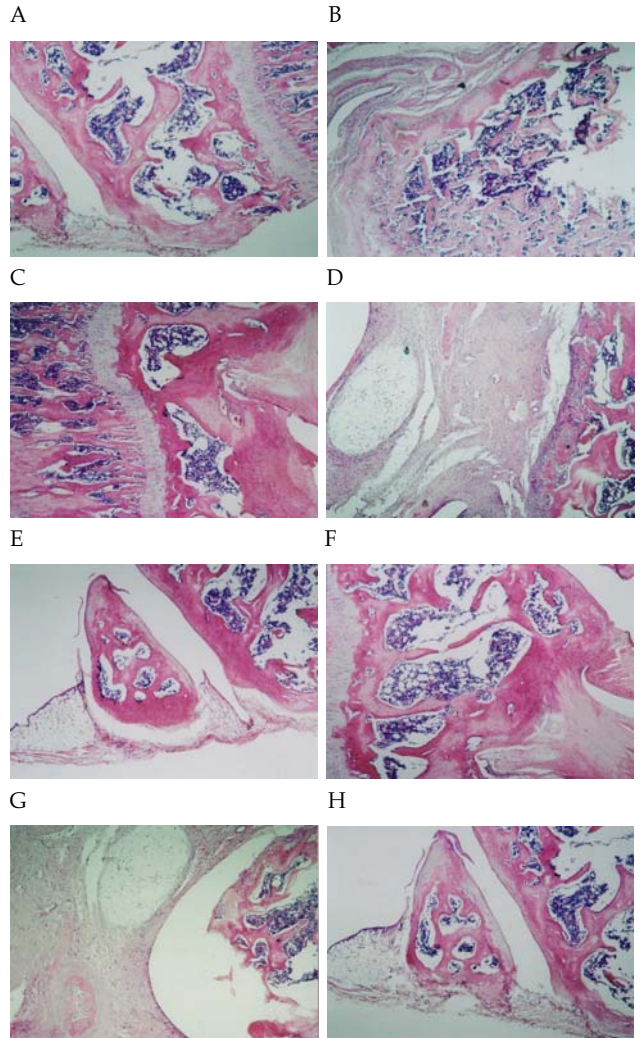


Fig. 6. Microscopic lesions of paraffin-embedded rat knee joint (H&E stain). A : Microscopic findings of normal rat on 0 day. ( $\times 40$ ), B : Microscopic findings of CIA rat on 0 day : Note severe hyperplasia of synovial membrane and destruction of hyaline cartilage. ( $\times 40$ ), C : Microscopic findings of CIA+FIR 25 cm radiation on 3 day : Note the formation of pannus in hyaline cartilage. ( $\times 100$ ), D : Microscopic findings of CIA+FIR 25 cm radiation on 7 day : Note the hyperplasia of synovial membrane and the infiltration of inflammatory cell. ( $\times 40$ ), E : Microscopic findings of CIA+FIR 25 cm radiation on 14 day : Note mild edema and hyperplasia of synovial membrane. ( $\times 40$ ), F : Microscopic findings of CIA+FIR 35 cm radiation on 3 day : Note the formation of pannus in hyaline cartilage. ( $\times 100$ ), G : Microscopic findings of CIA+FIR 35 cm radiation on 7 day : Note the hyperplasia of synovial membrane and the infiltration of inflammatory cell. ( $\times 40$ ), H : Microscopic findings of CIA+FIR 35 cm radiation on 14 day : Note mild edema and hyperplasia of synovial membrane. ( $\times 40$ )

류마티스 관절염의 진단에는 흔히 발병과정의 임상소견, 혈청검사, 방사선 검사, 조직생검 등이 적용된다<sup>32)</sup>. 본 연구에서 육안적 소견은 정상군에 비하여 류마티스 관절염을 유발시킨 군인 실험군 II에서 뒷다리의 부종과 발적이 심하게 나타났고, 관절염 지수는 유발 후에 평균 8.0을 나타내었고, 족부종율은 유발 후에 평균 37.98 cc을 나타냈으며, X선 사진상에서는 Glant 등<sup>33)</sup>이 인근 연부조직 종창, 관절주위에 골 파괴와 신생골 형성, 관절강직을 관찰할 수 있다는 것과 같이 본 연구에서도 유발군은 정상군에 비해서 오른쪽 다리의 관절 부종과 관절 간격의 협소가 현저함이 관찰되었다(Fig. 5).

류마티스 관절염의 치료방법에는 약물치료, 수술치료, 물리치료 등이 있다. 주 치료인 약물치료에는 아스피린과 비스테로이드성 소염제, 저용량 경구 스테로이드제, 항류마티스약제(DMARDs), 관절내 스테로이드제 주사 등이 있다. 이들은 초기에 진통작용, 항염증 작용, 해열작용으로 증상을 감소시키고, 기능을 향상시키나 질병의 진행, 관절손상을 예방할 수 없는 단점이 있다<sup>34,35</sup>.

최근까지의 연구에 의하면 원적외선<sup>36</sup>은 신진대사증진, 모세혈관 확장, 동통완화, 근이완 작용을 하고, 류마티스 관절염, 신경통, 신경염 등에 적용된다고 하였고, 원적외선의 온열작용이 인체에 전달되는 경로는 복사에 의한 피부표면에 대한 직접작용과 공명흡수에 의한 피부내면의 온열반응 2가지를 생각할 수 있다. 첫 번째, 복사에 의한 직접적인 온열작용은 인체에 조사된 원적외선이 1~2 mm깊이 정도 흡수되므로 말초부위(피부표피부분, 손, 발, 얼굴 등)의 모세혈관을 확장시켜 혈액순환 촉진작용과 피부에 존재하는 땀샘을 자극하여 발한작용을 증대시켜서 인체 내의 노폐물 배설을 촉진시킨다. 두 번째, 공명흡수에 의한 피부내면의 온열작용은 피부의 가장 바깥층인 각질층과 표피층을 통과하여 흡수된 원적외선이 피부의 가장 깊은 층인 진피 층에 존재하는 온열감각 수용체에 자극을 주어서 심부에서 온열반응이 일어나게 된다. 이렇게 발생한 열은 피부표면에서 3~5 cm깊이의 조직 내부에서 반응하여 심층부 조직의 대사기능을 촉진한다<sup>37</sup>. 또한 저혈압<sup>24</sup> 증세를 보이는 경우에도 원적외선 온열효과를 인체에 주기적으로 주어서, 혈액순환을 개선하고 산소의 생성을 촉진하여 정상혈압으로 회복하는게 가능하다고 하였다. 또한, 원적외선은 미세혈관을 확장시켜 미세혈류의 흐름을 증진시키므로 피부재생에 효과적이다<sup>38</sup>라고 하였다. 이에 본 연구에서는 류마티스 관절염에 사용되는 물리치료 방법 중 온열치료인 원적외선이 류마티스 관절염에 영향을 미치는 면역기전에 영향을 줄 거라 사료되어 원적외선을 관절염이 유발된 흰쥐의 전체 체표면에 조사하여 육안적 소견, 관절염 지수, 족부종율, TNF- $\alpha$ 를 측정하고, 조직병리학적 변화를 관찰하였다.

그 결과, 육안적 소견에서 원적외선을 25 cm에서 조사한 군인 실험군 III은 처음에는 뒷다리의 부종과 발적이 원적외선 조사 3일 후에 심하게 나타났다가 그 후 점차 완화되었고, 원적외선을 35 cm에서 조사한 군인 실험군 IV의 뒷다리의 부종과 발적은 원적외선을 조사한 3일 후부터 점차적으로 완화되는걸 알 수 있었다. 류마티스 관절염의 경과 정도를 관찰하는 지표로 활용되어지고 있는 관절염 지수는 원적외선을 조사한 군인 실험군 III은 조사 후 3일 8.89 $\pm$ 0.78, 7일 7.67 $\pm$ 0.50, 14일 6.94 $\pm$ 0.53을 나타내었고, 실험군 IV는 조사 후 3일 8.63 $\pm$ 0.97, 7일 7.38 $\pm$ 0.67, 14일 6.57 $\pm$ 0.70을 나타내었다. 대조군인 실험군 II는 유발 후부터 계속 증가하여 조사 후 3일 9.33 $\pm$ 0.50, 7일 8.67 $\pm$ 0.70, 14일 7.89 $\pm$ 0.60을 나타내었다. 위의 결과에서 점차 시간이 경과함에 따라 관절염 지수의 경감은 현저한 차이가 나는 것으로 관찰할 수 있었다.

족부종율에서도 대조군인 실험군 II는 조사 후 3일 39.94 $\pm$ 1.27, 7일 40.90 $\pm$ 1.35, 14일 38.64 $\pm$ 1.86을 나타내었고, 실험

군 III은 조사 후 3일 39.39 $\pm$ 2.24, 7일 37.45 $\pm$ 2.02, 14일 32.00 $\pm$ 1.40을 나타내었다. 실험군 IV는 조사 후 3일 37.22 $\pm$ 3.49, 7일 35.70 $\pm$ 3.41, 14일 30.59 $\pm$ 2.55를 나타내었다. 위의 결과에서 대조군과 실험군은 조사 후 14일에 족부종율의 차가 현저함을 통계적으로 검증할 수 있었다.

인체내에 면역반응에 참여하는 세포중에서 임파구들은 중추적 역할을 관여하지만, 단핵구 및 대식세포는 염증반응에 직접 참여하며 이들은 임파구와는 달리 이물질에 대해 특이적으로 반응하지 않고 병원체가 침입한 초기에 병원체와 접촉하여 cytokine을 분비함으로써 염증이거나 병원체 반응에 큰 영향을 주고 있다. 여기에 TNF- $\alpha$ 는 대표적인 cytokine으로 그 양에 따라 인체 내에서 그 작용이 달라지는데, 소량 및 생리적 농도일 경우에는 백혈구와 상피세포 조절기능을 하고, 효율적인 염증반응을 유발시켜 숙주를 보호한다. 그러나 인체에서 다량으로 생산되거나, 투여할 경우 숙주에 치명적인 피해를 유발한다. 이러한 작용<sup>39</sup>에 따라 TNF- $\alpha$ 가 억제되어지면 다른 염증성 cytokine도 억제되어진다고 하여 류마티스 관절염에 있어서 치료의 목표가 되고 있다. 본 연구에서 TNF- $\alpha$  수치는 조사 14일 후에서 원적외선을 25 cm에서 조사한 실험군 III에서 63 pg/ml, 원적외선을 35 cm에서 조사한 실험군 IV에서 67 pg/ml을 나타내어 원적외선을 조사한 군이 유발한 군보다 효과가 있었다.

류마티스 관절염의 조직병리학적 소견은 Nouri<sup>40</sup>와 같이 콜라겐 유발 류마티스 관절염 흰쥐에서의 슬관절의 일반적인 형태 변화와 활액막세포의 과형성과 활액막 두께의 비후, 관절낭 전체로의 섬유화, 관절연골의 손상, 그리고 백혈구의 침윤 등을 관찰할 수 있었다<sup>41,42,43</sup>. 이에 본 연구에서도 원적외선을 적용한 후의 조직병리학적 소견을 살펴보면, 실험군 III은 조사 7일 후, 14일 후의 조직 병리학적 소견이 점차 완화되는 걸 관찰할 수 있었고, 실험군 IV는 실험군 II와 반대로 조사 3일 후부터 계속 감소하여 조사 14일 후에 활액막의 비후와 염증세포들의 침윤정도, 관절연골의 변화, 슬관절 부위에서 적절한 조직에서 활액막 증식, 염증세포 침윤, 연골의 손상 등을 대조군과 비교한 결과 많이 완화되었음을 관찰할 수 있었다. 이상의 결과로 미루어 보아 원적외선의 적용이 콜라겐 유발 류마티스 관절염에서 통증완화 및 관절염 증상을 완화시키는데 효과가 있어 그 작용과 기전에 대해서는 향후 지속적인 연구가 필요하리라 사료된다.

## 결 론

본 연구에서는 류마티스 관절염 유발 흰쥐에 원적외선 전신 조사가 어떠한 영향을 주는지 알아보려고 흰쥐 36마리를 정상군에 9마리, 실험군에 각각 9마리씩 나누어 원적외선의 조사거리 변화를 주어 제2형 콜라겐 유발 관절염이 있는 흰쥐의 전체 체표면에 수직으로 각각 15분씩 조사함으로써 각각의 육안적 소견에 의한 관절염 지수, 족부종율, ELISA를 이용한 TNF- $\alpha$ , 조직병리학적 소견을 바탕으로 다음과 같은 결과를 얻었다.

관절염 지수 소견은 조사 14일 후에 원적외선을 25 cm 거리에서 조사한 실험군 III과 원적외선을 35 cm 거리에서 조사한 실험

험군 IV에서 족부종과 발적의 감소로 인한 관절염 지수가 실험군 II에 비해 유의한 감소가 있었다( $p < 0.05$ ). 족부종울 소견은 조사 14일 후에 원적외선을 25 cm 거리에서 조사한 실험군 III은 실험군 II에 비해 유의한 감소가 있었다( $p < 0.05$ ). 원적외선을 35 cm 거리에서 조사한 실험군 IV는 조사 3일 후, 7일 후, 14일 후 모두에서 실험군 II에 비해 유의한 감소가 있었다( $p < 0.05$ ). ELISA를 이용한 TNF- $\alpha$  소견은 원적외선을 조사한 실험군 III과 IV 모두가 유발군에 비해 감소되었다. 조직학적 소견은 활액막 비후, 관절 연골 손상, 염증세포들의 침윤 등이 관절염을 유발한 실험군 II와 원적외선을 25 cm에서 조사한 실험군 III에서 조사 3일 후에 가장 심하였으며, 조사 14일후에 원적외선을 35cm에서 조사한 실험군 IV는 실험군 II에 비해 활액막 비후, 관절 연골 손상, 염증세포들의 침윤 등이 현저히 감소하였다.

이상의 결과로 보아 원적외선 전신조사 방식을 이용한 온열 치료가 류마티스 관절염 증상을 완화시키는데 있어 효과적인 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 한국과학재단지정 동신대학교 산업용 가속기 이용 생물연구센터의 지원에 의한 것입니다.

## 참고문헌

- Carrie MB, Krishna V : Transgenic animals in inflammatory disease models. *Current Opinion in Biotechnology*, 14; 652-658, 2003.
- 강응식 : 수부의 류마티스 관절염. *한국관절염연구회. Arthritis Today*, WINTER 6; 31-36, 2001.
- Brennan FM, Feldmann M : Cytokines in autoimmunity. *Curr Opin Immunol*, 8(6); 872-877, 1996.
- Xu WD, Firestein GS, Taettle R, Kaushanaky K, Zvaifer NJ : Cytokines in chronic inflammatory arthritis II granulocyte - macrophage colony-stimulating factor in rheumatoid synovial effusions. *J. Clin Invest*, 83(3); 876-882, 1995.
- Alarcon GS : Epidemiology of rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am*, 21; 589-604, 1995.
- Staub A, Dolenko B, Fink DJ, Fruh J, Nikulin AE, Otto M et al : Disease pattern recognition testing for rheumatoid arthritis using infrared spectra of human serum. *Clibica Chmica Acta*, 308; 79-89, 2001.
- 김재윤 : 원적외선이 제2형 콜라겐 유발관절염 흰쥐 모델에 미치는 영향. 대구대학교 대학원 석사학위논문, 2003.
- Keren DF, Levinson SS : Free light chains of immunoglobulins : clinical laboratory analysis. *Clin Chem*, 40(10); 1869-1878, 1994.
- Mers LK, Rosloniec EF, Cremer MA, Kang AH : Collagen -induced arthritis, an animal model of autoimmunity. *Life Science*, 61(19); 1861-1878, 1997.
- Bina Joe, Ronald L, Wilder : Disease models : Animal models of rheumatoid arthritis. *Molecular Medicine Today*, 1999.
- Gary DA, Scott DH, Kelly LM, Margaret EB, Peter CI, Susan AG : Selective inhibition of cyclooxygenase reverse inflammation and expression of COX-2 and interleukin 6 in rat adjuvant arthritis. *J Clin Invest*, 97(11); 2672-2679, 1996.
- Trentham DE : Collagen arthritis as a relevant model for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 25; 911-916, 1982.
- Waksman Y, Hod I, Friedman A : Therapeutic effects of estradiol benzoate on development of collagen-induced arthritis in the lewis rat are mediated via suppression of the humoral response against denatured collagen type II. *Clin Ex Immunol*, 103; 376-383, 1996.
- Wiedermann U, Tarkowski A, Bremell T, Hanson LA, Kahu H, Dahlgren UI : Vitamin A deficiency predispose to Staphylococcus aureus infection. *Infection and Immunity*, 64(1); 209-214, 1996.
- Wilder RL, Allen JB : Regulation of susceptibility to bacterial cell wall-induced arthritis in rats. *Arthritis Rheum*, 28; 1318-1319, 1985.
- 김진호, 권용욱, 이성재, 윤기성, 이경무 : 적외선 요법이 흰 쥐의 제2형 콜라겐유발 관절염에 미치는 영향에 관한 연구. *대한재활학회지*, 19(4); 700-706, 1995.
- Caulfield JP : Morphologic demonstration of two stage in the development of type II collagen-induced arthritis in mice. *Nature*, 283; 666-670, 1989.
- Cremer MA : Collagen-induced arthritis in rodent : a review of clinical, histological and immunologic feature. *Rymachi*, 24; 45-56, 1984.
- 원종임 : 류마티스 관절염 환자를 위한 물리치료. *한국전문 물리치료학회지*, 1(1); 88-91, 1994.
- Melzack R, Wall PD : Pain mechanism: a new theory. *Science*, 70; 30-40, 1965.
- 이경무 : 냉, 온요법이 가토의 면역성 유발관절염에 미치는 영향. 서울대학교 대학원 박사학위 논문, 1993.
- 姜世求 : 遠赤外線 溫熱效果가 人體에 미치는 生理的 效果에 관한 研究. 全北大學校. 大學院 석사학위 논문, 2003.
- Udagawa Y, Nagasawa H : Effects of far-infrared ray on reproduction, growth, behavior and some physiological parameters in mice. *In Vivo*, 14(2); 321-326, 2000.
- Udagawa Y, Nagasawa H, Kiyokawa S : Inhibition by whole-body hyperthermia with far-infrared rays of the spontaneous mammary tumors in mice. *Anticancer Res*, 19(5); 4125-4130, 1999.
- 함용운 : 광선치료학, p. 39-62, 현문사, 1995.

26. Matsushita I, Matsuno H, Kadowaki KM et al. : Immunomodulating effects of the new anti-rheumatic drug tenidap on collagen-induced arthritis. *Int J Immu*, 17(3); 213-219, 1995.
27. Maturra M, Imayoshi T, Okumoto T : Effect of FTY720, a novel immunosuppressant, on adjuvant and collagen-induced arthritis in rats. *Int J Immu*, 22; 323-331, 2000.
28. Burrai I, Henderson B, Knight SC et al. : Suppression of collagen type II induced arthritis by transfer of lymphoid cells from rats immunized with collagen. *Clin Exp Immunol*, 61,368-372, 1985.
29. Erenest B, Derea JP, Mona LB : Suppression of collagen-induced arthritis by combination cyclosporin and methotrexate therapy. *Arthritis and Rheum*, 34(10); 1991.
30. Schoen RT, Greene MI, Trentham DE : Antigen-specific suppression of type II collagen-induced arthritis by collagen-coupled spleen cell. *J Immunol*, 129; 2668-2672, 1982.
31. Mainardi CI, Walter JM, Speigel PK : Rheumatoid arthritis : Failure of daily heat therapy to affect its progression. *Arch Phys Med Rehabil*, 60; 390-393, 1979.
32. 황건성 : 류마티오이드 관절염의 조기진단과 예후판정. 한국관절염연구회. *Arthritis Today*, WINTER 6; 14-17, 2001.
33. Glant TT, Mikedcz K, Arzoumanian A, Poole AR : Preteoglycan-induced arthritis in BALV/c mice : Clinical features and histopathology. *Arthritis Rheum*, 30(2); 201-212, 1987.
34. Staib A, Dolenko B, Fink DJ et al : Disease pattern recognition testing for rheumatoid arthritis using infrared spectra of human serum. *Clibica. Chmica Acta*, 308; 79-89, 2001.
35. 김현수 : 원적외선이 생물에 미치는 영향. 한국조명전기설비학회, 75-103, 1995.
36. 박래준, 박찬의 : 광선치료학, p. 69-98, 대학서림, 1997.
37. 황인수 : 건강에서의 원적외선 응용. 한국조명전기설비학회, 39-56, 1992.
38. Jiang P, Luo L : The effect of far-infrared rays on the survival of randomized skin flap in the rat. *Zhongguo Xiu Fu*, 11(2); 69-71, 1997.
39. Feldmann M : Role of cytokine in rheumatoid arthritis. *Annu Rev Immunol*, 14; 397-440, 1996.
40. Nouri AM, Panayi GS, Sally M : Cytokine and the chronic inflammation of rheumatic disease. *Clin Exp Immunol*, 55; 295-302, 1984.
41. Azizul HM, YoshiNo S, Inada S et al. : Suppression of adjuvant arthritis in rats by induction of oral tolerance to mycobacterial 65-kda heat shock protein. *Eur J Immunol*, 26; 2650-2656, 1996.
42. Beckmann N, Bruttel K, Schuurman HA : Effects of sandimmune neoral on collagen-induced arthritis in DA rats : Characterization by high resolution three-dimensional magnetic resonance imaging and by histology. *J Mag Reso*, 131; 8-16, 1998.
43. Stuart JM, Townes AS, Kang AH : Nature and specificity of the immune response to collagen in type II collagen induced arthritis in mice. *J Clin. Invest*, 69; 673-683, 1982.