

초음파가 Adjuvant로 유도된
rat의 관절염에 미치는 영향

연세대학교 보건대학원
보건정책 및 관리학과
이 동 진

초음파가 Adjuvant로 유도된
rat의 관절염에 미치는 영향

지도 박 창 일 교수

이 논문을 보건학석사학위 논문으로 제출함

2002년 6월 일

연세대학교 보건대학원

보건정책 및 관리학과

이 동 진

이동진의 석사 학위논문을 인준함

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

연세대학교 보건대학원

2002년 6월 일

감사의 글

본 논문이 완성되도록 바쁘신 가운데도 관심과 가르침으로 이끌어주신 박창일 교수님과 논문의 세심한 부분까지 신경을 써주신 김덕용 교수님, 그리고 연구의 틀에서부터 글자 하나하나에까지 수정을 봐주신 배하석 교수님께 머리숙여 진심으로 감사드립니다.

자료분석에 도움을 주신 통계학 교실의 강대룡 선생님께 진심으로 감사드리고 실험 진행에 많은 도움을 주신 충북대학교 수의학 교실의 강성수 선생님께도 진심으로 감사드립니다.

학업의 기회를 주시고 대학원을 마칠수 있도록 도와주신 청주 성모병원 재활의학과 김재욱 과장님 그리고 김양수 실장님과 직원분들께도 감사드리며 바쁜 시간을 내어 도움을 주시고 응원해준 이형국, 유경태, 김준오, 주기찬 선생님과 냉철한 직언과 옆에서 항상 힘이 되어주신 이병옥 선생님께도 감사드립니다.

많은 가르침을 주시고 모자란 저를 일깨워 주신 보건대학원 교수님들께도 진심으로 감사드립니다.

항상 뒤에서 묵묵히 저를 믿어주시고 이끌어주신 부모님께도 머리숙여 감사드리며 마지막으로 논문이 완성될때까지 옆에서 따뜻한 마음으로 용기와 희망을 준 사랑하는 아내에게도 감사의 마음을 전하며 부족하지만 이 논문을 내어놓습니다.

2002년 6월

이 동 진 올림

차 례

국문요약	v
I. 서 론	1
1. 연구의 필요성	1
2. 연구의 목적	5
3. 연구의 가설	5
II. 연구방법	6
1. 연구 모형	6
2. 실험 재료	7
3. 실험 방법	7
3.1 CFA 유도 관절염의 유발	7
3.2 초음파 투여 방법	7
3.3 부종 측정	8
3.4 X-ray 촬영 및 평가	9
3.5 병리조직제작 및 평가	9
4. 분석 방법	10

Ⅲ. 결 과	11
1. 체중의 변화	11
2. 우측 후지의 부종억제 효과	13
3. 좌측 후지의 부종억제 효과	15
4. 방사선 검사 소견	17
5. 병리조직학적 소견	21
Ⅳ. 고 찰	23
Ⅴ. 결 론	32
참고문헌	34
영문초록	40

List of tables

Table 1. Radiological evaluation of arthritis	9
Table 2. Body weight in arthritic rats after CFA injection	12
Table 3. Right ankle thickness in arthritic rats after CFA injection	14
Table 4. Left ankle thickness in arthritic rats after CFA injection	16
Table 5. Radiological arthritic score of hindlimb	18

List of figures

Figure 1. Frame of study	6
Figure 2. Radiographic view of hindlimb from (A) normal group and (B) A group 30 days after CFA injection	19
Figure 3. Radiographic view of hindlimb from (A) B group and (B) control group 30 days after CFA injection	20
Figure 4. Histopathological findings of distal interphalangeal joint Synovial joint (A) : distal interphalangeal joint of hind paw from control group 30 days after CFA injection. (H&E, ×100) Synovial joint (B) : distal interphalangeal joint of hind paw from B group 30 days after CFA injection. (H&E, ×100) Synovial joint (C) : distal interphalangeal joint of hind paw from A group 30 days after CFA injection. (H&E, ×100)	22

국문 요약

초음파는 진단 및 치료목적으로 의학의 여러 분야에서 사용되고 있으며 재활의학 영역에서는 점액낭염, 피막염, 상과염등 관절주위의 염증과 류마치스 관절염 등 만성 환자들에게 많이 이용되고 있다. 초음파의 생리적 효과로 온열 효과와 비 온열 효과가 있으며 만성기 환자들에게는 초음파의 온열 효과가 많이 이용되는 반면 급성기에는 염증의 활성화로 인해 초음파가 쓰이지 않고 있으며 또한 급성기 류마치스 관절염에 초음파의 비 온열 효과를 이용한 연구는 거의 없었다. 그러므로 본 연구의 목적은 인위적으로 흰 쥐에 급성기 류마치스 관절염을 유발하고 온열효과를 가지는 연속형 초음파와 비 온열 효과를 가지는 단속형 초음파를 대조군과 비교해 봄으로써 급성기때 비 온열 효과를 가지는 단속형 초음파가 미치는 영향을 알아 보는데 있다. 실험은 Complete Freund's Adjuvant를 흰 쥐의 우측 발바닥에 마리당 0.1ml을 투여하여 인위적으로 관절염을 유발한 후 각각 8마리씩 대조군과 1MHz의 빈도에 0.5W/cm²의 강도와 1 : 4 비율의 단속형 초음파 치료군을 A군으로 하였고 1MHz의 빈도에 2W/cm² 강도의 연속형 초음파 치료군을 B군으로 나누어 2주 동안 실험하였다. 체중 측정, 부종 측정, 방사선 소견 판독, 병리조직학적 소견을 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 체중은 세 군 모두 감소하였고 대조군이 초음파 치료군 보다 비교적 체중이 많이 감소한 경향을 보였지만 통계적으로 유의성은 없었다.

2. 우측 후지의 부종은 세 군 모두 증가하는 경향을 보였고 통계적으로 유의한 차이는 보이지 않았지만, 좌측 후지에서 29일에는 대조군에 비해 A군에서 부종이 통계적으로 유의하게 감소하였다($P < 0.05$).

3. 좌, 우측 후지의 방사선 사진 소견에서 A군이 관절염 점수가 제일 작아 관절염 억제에 효과적인 경향이 있었지만 통계적으로 유의하게 영향을 미치지 않았다.

4. 조직병리 소견에서 A군이 대조군과 B군에 비해 관절의 염증과 염증세포의 침윤 정도가 감소하였다.

본 연구 결과에서 보는 바와 같이 단속형 초음파의 치료로 좌측 후지에서 일부 부종이 감소하였지만, 급성기 류마치스 관절염에 초음파의 치료로 인한 전반적인 통계적 유의성은 없었다. 앞으로 급성기 류마치스 관절염의 임상적 및 방사선학적, 병리조직학적 관찰에서 관절염의 정도를 좀더 정량적으로 판정할 수 있는 민감도가 높은 검사방법의 개발과 초음파 치료시기의 선정과 방법에 대한 지속적인 연구가 필요하리라 생각된다.

I. 서 론

1. 연구의 필요성

류마티스 관절염은 만성 활액염을 주 병변으로 하는 매우 흔한 자가면역질환이다. 그 유병율은 약 1% 내외로 추정되고 있으며 정확한 원인이 아직까지 밝혀지지 않고 있다(Alarcon, 1995). 류마치스 척도가 1958년 처음 분류된 이래 30년 동안 사용하다가 1988년 개정되었다(Arnett 등, 1988). 개정된 내용으로 임상 증후로는 적어도 한시간 동안의 morning stiffness, 연부 조직의 종창이 세 군데 이상 생기며 근위 중족골, 지질관절 또는 손목관절의 대칭적인 부종발생이 있고 피하결절에서 류마치스 인자의 양성반응을 보이며 방사선학적으로 골 변형, erosion 등이 나타났을 때 류마치스 관절염이라 하였다(Harris, 1990).

현재까지 밝혀진 병태 생리 기전은 항원의 자극을 받게되면 항원 제시세포가 T 림프구를 활성화시키고 이에 따른 결과로 각종 싸이토카인들이 항원제시세포나 T 림프구에서 분비되어 활막의 염증과 골의 파괴를 유도한다는 것이다(Harris, 1990). 관절염을 유발하는 싸이토카인들 중에는 interleukin-1, tumor necrosis factor- α , granulocyte/macrophage colony stimulating factor, interleukine-6 등이 주로 대식구나 섬유모세포에서 생산되어 면역반응의 촉발에 관여한다. 이러한 싸이토카인들은 세포의 증식, 프로스타글란딘 합성증가, 기질단백 분해효소 활성의 증가, 발열, 골 흡수 등의 작용을 한다. 이러한 싸이토카인들은 모두 류마치스 관절염환자의 활막

에서 생산됨이 증명되었다(Deleuran 등, 1992; Di 등, 1988; Haworth 등, 1991). 또한 최근 류마치스 관절염의 병태생리를 밝히는데 중요한 과제로 부각되는 신혈관생성(angiogenesis)은 판누스(pannus)의 증가된 종괴를 유지시키고, 판누스에 염증세포와 염증물질을 공급하는 역할을 한다고 알려져 있어 (Paleolog, 1996), 류마치스 관절염에서 대표적인 신혈관 생성 인자인 vascular endothelial growth factor(VEGF)는 저산소증에 의해 유발되는 cytokine으로 최근 많은 연구자들이 신혈관 생성을 억제하여 류마치스 관절염의 진행을 막으려고 시도하고 있다(Koch, 1998).

재활요법의 하나인 온열요법은 히포크라테스 이래로 현재까지 관절염의 치료에 광범위하게 사용되고 있다. 그러나 예전에는 관절염에 superficial heat로 치료하였으나 열로 인하여 류마치스 활막 섬유증의 증식이 관절 파괴에 기여한다고 하였고 이러한 연구들은 급성 관절염 환자의 superficial heat의 적용에 의문을 갖게 하였다(Harris, 1974).

초음파는 귀로 들을 수 있는 가청능력이상(17000Hz이상)의 주파수를 갖는 음파의 진동(acoustic vibration)을 말하며 치료목적으로 사용되는 초음파는 진단목적(3.5-7.0MHz)보다 짧은 주파수의 초음파(0.8-1.0MHz)를 사용한다 (Lehman과 Delateur, 1996). 치료목적의 초음파는 점액낭염, 피막염, 상과염, 건염등의 관절주위 염증과 만성 관절염에 이용되고 있으며 치료 후 관절 가동영역 및 통증의 호전 등의 효과를 보인다(Weber 등, 1996). 이러한 기전은 초음파의 온열효과(thermal effect)로 인한 체온의 상승으로 혈류량의 증가, 세포막의 투과성의 변화로 인한 통증, 매개물질의 세척, 신경전도의 변화 및 동통 역치의 변화 등으로 생각되나 임상적으로 초음파가 동통 및 근경축을 감소시키고 관절 및 근육의 운동성을 증가시키기 위해 물리치

료에 사용된 초음파 치료의 생리적 효과에 대한 연구는 매우 적다. 초음파의 생리적 효과에는 온열 효과 외에 비 온열 효과(non-thermal effect)가 있으며 여기에는 공동화(cavitation), 매질운동(media motion), 정상파(standing wave)등이 있다(Dyson 등, 1982). 이러한 원리를 통해 비 온열 효과를 유발하는 단속형 초음파 실험에서 혈류의 흐름과 염증의 조절, 백혈구의 이동, 교원질 합성과 생성 등에 영향을 미친다고 하였다(Linda, 1992). 비 온열 효과로 나타나는 생리적 변화로는 생물학적 막의 투과성의 변화가 있는데 이는 초음파장(ultrasonic field)내에서의 매질의 흐름(streaming)에 의한 효과로 생각되며 그 외에도 초음파의 치명적 효과(lethal effect)로 불안전 공동화로 인한 세포, 조직의 파괴 등이 있으나 초음파의 비 온열 효과의 임상적인 의의에 대한 연구는 많지 않다(Lejbkowitz 등, 1993; Mortimer 등, 1988; Ramirez 등, 1997). 비 온열 효과를 강조하여 손상된 조직의 치유를 증진시키기 위한 치료 프로토콜이 아직까지 명백하게 제시되어 있지는 않으나 단속적 파장을 사용하는 것이 적절하고(Dinno, 1989) 낮은 강도($0.1 \sim 0.5 \text{w/cm}^2$)를 사용하는 것이 좋다는 연구가 있다(Byl 등, 1992). 초음파가 세포의 증식에 미치는 영향에 대한 연구에서는 피부에서 얻은 섬유모세포에 1MHz의 단속성 초음파 조사(pulsed irradiation, 2msec on, 8msec off)를 30초간 시행하여 세포증식을 시킨다는 보고가 있다(Deyne 등, 1995). 임상에서 사용하고 있는 1.0MHz의 주파수를 사용하여 0.5W/cm^2 의 강도를 선택하였으며 1: 4의 단속성으로 180초간 초음파 치료를 한 후에 류마치스 관절염의 염증과 파괴에 중요한 영향을 주는 금속단백분해효소 가운데 콜라게나제와 스트로멜리신으로 인한 활막 세포 증식에 유의한 영향을 미치지 않았다고 하였고(김현숙, 2000), 1.5W/cm^2 와 3.0W/cm^2 강도로 적용시에 1MHz

와 3MHz 모두 6분을 전후하여 가장 많은 온도상승이 있다고 하였으며, 3MHz의 초음파를 1.5W/cm²의 강도로 10분간 적용시 1 : 4의 단속성으로 적용하였을 때는 평균 0.12. C의 온도상승이 있었으나 1 : 9와 1 : 19의 단속성으로 적용하였을 때는 거의 온도 상승이 없었다고 보고하였다(김순희, 2000). 지금까지 급성기 류마치스 관절염에서 초음파의 비 온열적 효과에 대해 조사한 연구는 거의 없었다.

현재 관절염의 치료는 medication의 발달로 주로 비스테로이드성 항염제, 스테로이드성 항염제 및 면역 억제제 등의 약물을 사용하고 있다 (Ostenson 등, 1998). 보존적인 치료 방법의 하나인 초음파는 만성 류마치스 관절염 환자들의 근 통증완화 및 관절 구축방지를 위해 많이 시행되고 있으나 급성기에 온도 상승으로 인한 염증의 활성화 등으로 인해 금기로 되어있다. 본 연구에서는 인위적으로 관절염을 유발한 흰 쥐에 연속형 초음파와 단속형 초음파를 각각 투여하고 부종 측정과 방사선 촬영 및 병리 조직표본 제작을 통해 그동안 급성기나 아급성기시에 류마치스 관절염 환자에게 금기 되어왔던 초음파가 미치는 영향을 알아보고, 단속형 초음파와 연속형 초음파의 효과를 대조군과 서로 비교해 봄으로써 실험을 통해 나온 결과치를 임상에 적용하는데 조금이나마 보탬이 되고자 한다.

2. 연구의 목적

본 실험은 Complete Freund's Adjuvant를 주입하여 발생한 흰 쥐의 류마치스 관절염에 연속형 초음파와 단속형 초음파를 조사하여 육안적, 방사선학적 및 병리조직학적 양상을 측정하여 급성기와 아급성기 시기에 초음파가 류마치스 관절염에 미치는 효과를 평가하고자 하였다.

연구의 세부목적은 다음과 같았다.

첫째, 실험적으로 유도된 흰쥐의 관절염에 연속형 초음파를 적용하여 후지족관절의 부종을 측정하고 방사선 소견 및 병리조직학적 변화를 관찰하였다.

둘째, 실험적으로 유도된 흰쥐의 관절염에 단속형 초음파를 적용하여 후지족관절의 부종을 측정하고 방사선 소견 및 병리조직학적 변화를 관찰하였다.

셋째, 치료를 하지 않은 대조군과 연속형 초음파 치료군 그리고 단속형 초음파 치료군의 치료결과를 비교분석 하고자 하였다.

3. 연구의 가설

급성 류마치스 관절염을 유발한 흰 쥐에서 단속형 초음파 치료와 연속형 초음파 치료가 부종 정도, 방사선 및 병리조직학적 소견에서 효과적인 영향을 미칠 것이다.

II. 연구 방법

1. 연구 모형

흰 쥐를 실험실에서 3주간 적응기간을 거친 후 Complete Freund's Adjuvant 투여 후에 2주간 관절염의 유발 유무를 확인한 다음에 대조군과 단속형 초음파 치료군 및 연속형 초음파 치료군으로 분리하여 체중 측정, 부종의 두께, 방사선 사진 측정, 병리조직학적 소견을 관찰하였다(Figure 1).

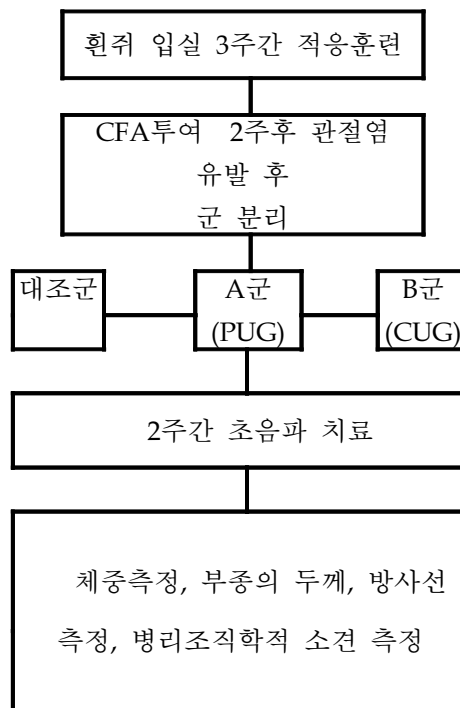


Figure 1. Frame of Study

Group A: Pulsed Ultrasound Group(PUG)

Group B: Continuous Ultrasound Group(CUG)

2. 실험 재료

5주령의 Sprague-Dawley계 암컷 흰 쥐 26마리를 3주일간 실험실 환경에 적응시킨 후에 실험 동물로 공시하였다. 실험 기간 동안 동물은 항온·항습조건($23\pm 2^{\circ}\text{C}$, $50\pm 10\%$)하에 래트용 polycarbonate cage($260\times 420\times 180\text{mm}$)를 사용하고 실험 기간동안 사료(삼양사료주식회사)와 음수는 자유롭게 섭취하도록 하였다.

3. 실험 방법

3.1. CFA 유도 관절염의 유발

관절염 유발은 Chang 등(1979)의 방법으로 Complete Freund's Adjuvant인 Mycobacterium Butyrium(Life Technologies, USA)을 흰 쥐의 우측 후지 발바닥에 마리당 0.1ml를 1회 투여하여 인위적으로 관절염을 유발하였다.

3.2. 초음파 투여 방법

CFA 투여 후 14일째 되는 날 관절염 증상이 나타난 흰 쥐를 각 처치군 간 증상의 차이가 최소화 되도록 군 분리를 실시하였다. 우선 총 24마리 각각의 개체에 대하여 Standard Vernier Caliper로 하퇴의 족관절 부위의 경골의 내과와 비골의 외과 사이의 거리를 0.05mm 단위까지 측정하여 측정

치의 합이 큰 순서대로 배열하고 각 군에 차례대로 배분하였다. 8마리씩 관절염 유발 후에 허위 치료 군을 대조군, 단속형 초음파 치료군을 A군, 연속형 초음파 치료군을 B군으로 하여 CFA 투여 15일째부터 2주 동안 초음파 치료를 실시하였다.

관절염 유발 후에 초음파 치료(Theramini 3C, RICHMAR, U.S.A)를 하지 않은 군을 대조군으로 하였다.

A군은 단속형 초음파 치료(Pulsed Ultrasound Group)를 이용하여 기포가 제거된 물을 플라스틱 용기에 담아 흰 쥐를 고정틀에 묶은 다음에 양하지를 물에 담그고 좌, 우측 후지와 초음파 헤드사이의 거리는 1.2cm를 유지하는 간접 조사법을 이용하였다. 재활 치료에 많이 사용되는 주파수인 1.0MHz로 비 온열적 방법으로 부종감소에 효과를 보인 Fyfe와 Chahl(1980)의 방법으로 1 : 4의 단속형 비율을 사용하였고 0.5W/cm²의 강도로 3분 동안 초음파 치료를 시행하였다.

B군은 연속형 초음파 치료(Continuous Ultrasound Group)를 이용하여 A군과 동일한 방법으로 하되 1.0MHz의 주파수를 연속형으로 투여하였으며 강도는 2W/cm²으로 3분 동안 치료하였다.

3.3. 부종 측정

관절염의 객관적 평가를 위해 좌, 우측 후지에 내, 외측 족관절의 직경을 Standard Vernier Caliper를 이용하여 0.05mm 단위까지 측정하고, CFA 투여 후 4회 측정하여 일반적 소견을 관찰하고 초음파 치료 과정동안 주 2회씩 5회 측정하여 총 9회 측정하였다.

3.4. X-ray 촬영 및 현상

CFA 주입으로 관절염 유발 후에 초음파 치료 전 및 1주일 후 그리고 처치 후 촬영하여 평가하였다. 방사선사진 촬영(BLD-15RK, 동아엑스레이, 한국)은 배복측 방향(40KV, 10mAs)으로 촬영한 후 방사선사진 자동현상기(KODAK, USA)를 이용하여 필름을 현상하였다.

Trentham 등(1977)이 보고한 방사선학적 소견을 토대로 Mainarde 등(1979)의 방법을 변형하여 연부 조직의 종창, 관절의 파괴정도, 신생골 형성, 관절 구축 등의 정도에 따라 0점에서 3점까지 점수화하여 평가하였다 (Table 1).

Table 1. Radiological Evaluation of Arthritis

Grade	Radiologic Index
0	Normal
1	Joint space narrowing, soft tissue swelling, bone erosion
2	Marked narrowing, prominent periosteal new bone formation
3	Loss of joint space narrowing and ankylosis

3.5. 병리조직표본 제작 및 평가

모든 처치가 끝난 후에 육안적 및 조직학적 소견을 관찰하기 위해 흰 쥐를 희생시켜 두번째 후지 지절관절 주위를 절개하여 관절 연골을 적출한 후 10% 중성 포르말린에 고정한 후 10% formic acid(Sigma, USA)를 사용하

여 실온에서 2시간 동안 탈회하였다. 파라핀 포매는 자동조직처리기의 포매기(Lecia 820, Germany)로 4 μ m 절편을 만들어 Hematoxylin & Eosin 으로 염색한 후 광학현미경으로 조직표본을 검정하였다.

4. 분석 방법

통계학적 분석은 SAS(Statistical Analysis System) 통계 분석 프로그램을 이용하였다. 모든 실험군의 수치는 평균치와 표준편차를 산출한 후 비모수적 방법으로 세 군의 비교를 Kruskal-Wallis test를 이용하였다. 대조군과 치료군들의 비교는 Wilcoxon rank sum Test로 하였다. 모든 통계적 검정에서의 유의성 기준은 P값이 0.05 미만일 때로 하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 체 중의 변화

CFA 투여 후에 초음파 치료전인 14일까지 체중 변화에서 일반적인 소견으로 stress 등으로 세 군 사이에 큰 차이가 없이 모두 체중이 감소하는 경향을 보였고, 초음파 치료 15일 후의 체중 변화를 보면 대조군이 10.3g 감소하였으며 A군이 4.1g, B군이 5.8g 감소하여 대조군에서 체중이 더 감소하는 경향을 보였지만 세 군간에 통계적으로 큰 유의성이 없었고, 대조군과 A군 및 B군의 비교에도 유의하게 차이가 나타나지 않았다(Table 2).

Table 2. Body Weight in Arthritic Rats after CFA Injection

Unit: g

Days after CFA ¹⁾ Injection	Body Weight		
	Control	Group A ²⁾	Group B ³⁾
1	220.6±9.9	221.5±5.1	220.1±8.0
7	226.0±15.5	222.4±7.8	220.9±12.4
14	218.6±16.7	215.6±8.7	216.5±11.0
15	215.2±17.3	213.6±11.0	215.3±11.4
19	209.6±15.2	210.5±11.3	212.1±11.8
23	206.2±10.1	209.7±10.4	205.4±13.4
29	204.9±11.6	209.5±16.6	209.5±16.6

Values are mean±standard deviation

1) CFA: Complete Freund's Adjuvant

2) Group A: The Ultrasound was sonicated in a pulse mode 1 : 4

3) Group B: The Ultrasound was sonicated in a continuous mode

P>0.05

2. 우측 후지의 부종억제 효과

CFA투여 후에 부종 정도의 일반적 소견을 보면 초음파 투여전인 14일까지는 대조군이 평균 9.91mm에서 12.44mm로 부종이 증가하였으며 A군이 평균 9.67mm에서 12.27mm, B군이 평균 9.34mm에서 11.92mm로 부종이 세 군 모두 큰 폭으로 증가하였다. 초음파 치료 15일 동안에는 세 군 모두 소폭의 증가 추세를 보였고 치료 종료시에 대조군에서 부종 정도가 치료군들에 비해 적었지만 세 군의 차이가 비슷한 경향을 보였다. 그러나 초음파 투여 후에 세 군간 유의한 차이는 없었고, 대조군과 A군 및 B군과의 비교시에도 통계적인 유의성이 없었다. (Table 3).

Table 3. Right Ankle Thickness in Arthritic Rats after CFA Injection

Unit: mm

Days after CFA ¹⁾ Injection	Control	Group A ²⁾	Group B ³⁾
1	9.91±0.59	9.67±0.62	9.34±0.99
5	11.08±0.67	10.74±0.61	10.31±1.81
9	11.96±0.86	11.28±1.02	11.08±1.36
14	12.44±0.71	12.27±0.78	11.92±1.98
15	12.31±1.12	12.08±0.82	11.96±2.08
19	12.38±1.33	12.82±0.73	12.94±1.96
23	11.98±1.68	12.69±0.61	12.53±2.29
26	12.15±1.92	13.14±0.96	12.68±2.70
29	12.33±1.83	12.98±0.89	12.70±2.92

Values are mean±standard deviation

1) CFA: Complete Freund's Adjuvant

2) Group A: The Ultrasound was sonicated in a pulse mode 1 : 4

3) Group B: The Ultrasound was sonicated in a continuous mode

P>0.05

3. 좌측 후지의 부종억제 효과

CFA투여 후 부종 정도의 일반적 소견을 보면 초음파 투여전인 14일 까지는 대조군이 평균 6.14mm에서 6.42mm로 증가하였으며 A군이 6.06mm에서 6.22mm로, B군에서 5.87mm에서 6.18mm로 부종 정도가 소폭 증가하는 경향을 볼 수 있었다. 특히 대조군에서 초음파 투여 후에도 꾸준한 증가가 계속되는 반면 A군에서는 염증성 부종이 증가하다 29일에는 감소하는 경향이 보였고, B군에서는 23일까지 염증성 부종이 증가하다가 그 이후로 대조군에 비해 감소하는 경향이 보이지만, 29일에는 A군에 비해 부종 정도가 높은 경향을 보였다. 그러나 세 군 사이에 통계적인 유의한 차이는 없었고, 29일째에 대조군에 비해 A군에서 통계적으로 유의한 부종감소 효과가 있었다 (Table 4).

Table 4. Left Ankle Thickness in Arthritic Rats after CFA Injection

Unit: mm

Days after CFA ¹⁾ Injection	Control	Group A ²⁾	Group B ³⁾
1	6.14±0.21	6.06±0.50	5.87±0.25
5	6.01±0.27	6.01±0.29	5.84±0.12
9	5.94±0.17	6.10±0.25	6.03±0.26
14	6.42±1.05	6.22±0.74	5.95±0.25
15	7.81±1.77	6.78±2.05	7.06±1.73
19	9.54±2.15	8.87±2.46	8.16±2.81
23	9.48±1.72	8.81±2.08	9.40±2.66
26	9.20±1.72	8.85±2.29	8.76±2.51
29	9.86±2.54	8.26±1.86*	8.44±2.59

Values are mean±standard deviation

1) CFA : Complete Freund's Adjuvant

2) Group A: The Ultrasound was sonicated in a pulse mode 1 : 4

3) Group B: The Ultrasound was sonicated in a continuous mode

*P<0.05(compared with control)

4. 방사선 검사 소견

관절염으로 인해 좌측 후지의 치료 종료 후에 A군에 비해 대조군과 B군에서 관절 내의 X선 비투과성이 항진되었고, 연부 조직의 종창이나 관절의 파괴 정도와 음영의 소실 정도가 큰 것을 알 수 있었다. 초음파 치료전과 후의 좌측 후지에 관절염 점수의 차이가 대조군에서 평균 1.33점으로 연부조직의 종창과 관절의 침습 정도가 가장 심한 반면 B군은 평균 1.00점을 보였고, A군에서 평균 0.86점으로 가장 소폭의 증가를 보여서 관절염의 억제에 효과적인 경향이 보였으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 우측 후지에서 대조군은 치료 후에 초음파 치료전에 비해 관절염 점수가 평균 1.17점의 증가를 보였고 B군은 1.25점의 증가를 보인 반면에 A군은 0.86점으로 가장 소폭의 증가를 보였다. 치료 종료 후에 우측 후지에서 세 군 모두 관절면이 좁아지고 연조직의 종창이 생겼을 뿐 아니라 대조군과 B군에서 A군보다 심한 X선 비투과성 항진과 인접골에서 소주(trabecula) 음영 소실을 보였고, 연부 조직의 부종, 관절의 파괴, 병적인 신생골이 형성된 관절 경직 증상을 보여서 우측 후지가 좌측 후지보다 전반적으로 증상이 심한 것을 알 수 있었다. 그러나 좌, 우측 후지 모두 세 군 사이에 통계적으로 유의한 차이는 없었고, 대조군과 초음파군의 비교에서도 유의한 차이가 없었다(Figure 2~3, Table 5).

Table 5. Radiological Arthritic Score of Hindlimb

Days after US treatment	Control		Group A ¹⁾		Group B ²⁾	
	Rt	Lt	Rt	Lt	Rt	Lt
Before US treatment	1.00±0.00	0.00±0.00	1.00±0.00	0.00±0.00	1.00±0.00	0.00±0.00
After 1 week	1.83±0.41	1.00±0.63	1.38±0.92	0.63±0.74	2.00±0.76	0.75±0.46
After 2 weeks	2.17±0.41	1.33±0.52	1.86±0.69	0.86±0.69	2.25±0.71	1.00±0.76

Values are mean±standard deviation

1) Group A: The Ultrasound was sonicated in a pulse mode 1 : 4

2) Group B: The Ultrasound was sonicated in a continuous mode

P>0.05

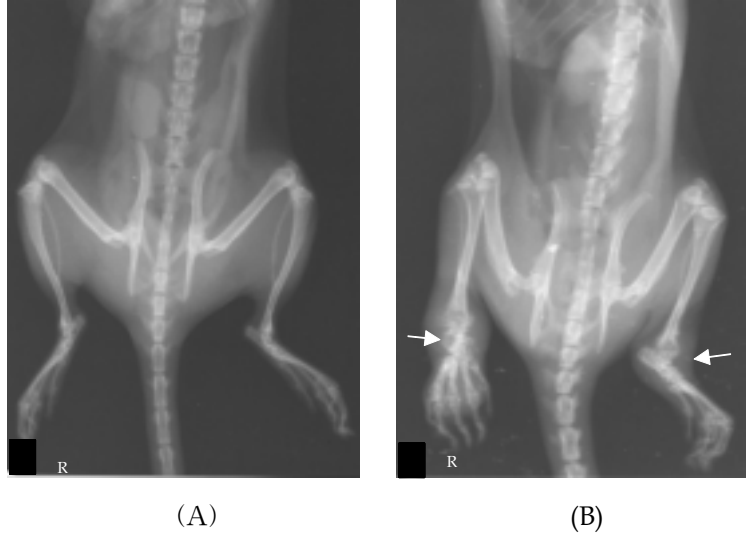


Figure 2. Radiographic view of hindlimb
(A). Normal group(Right: 0점, Left: 0점)
(B). Group A 30 days after CFA injection(Right: 2점, Left: 1점);
There are destructive change on both hindlimb joint

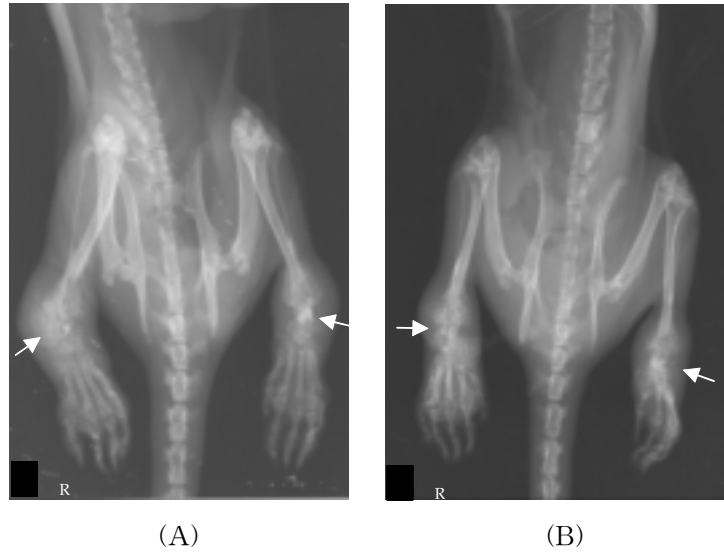


Figure 3. Radiographic view of hindlimb

(A). Group B 30 days after CFA injection (Right: 2점, Left: 2점)

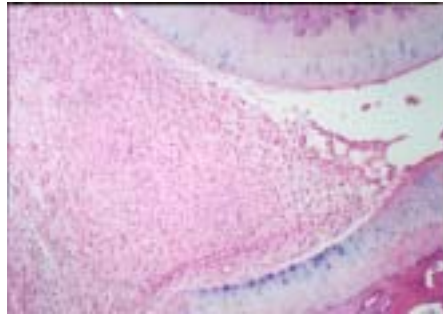
(B). Control group 30 days after CFA injection (Right: 3점, Left : 2점)

;There are destructive change on both hindlimb joint

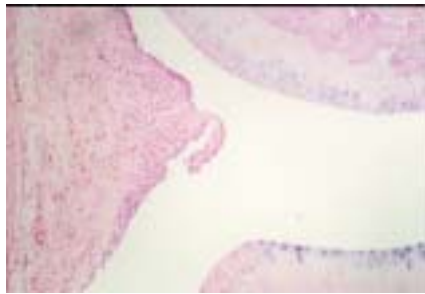
5. 병리조직학적 소견

병리조직학적 소견은 초음파 투여 종료 후에 육안적 및 조직학적소견을 관찰하기 위해 흰 쥐의 후지 두 번째 지절관절 주위를 절개하여 관찰하였다. 대조군이 A군과 B군에 비하여 연부 조직과 관절에 심한 다형핵백혈구의 침윤을 보였다. 염증성 활액막의 증식이 관찰되며 관절 연골(articular cartilage)이 손상된 소견을 보였고 관절 강직이 유발되었다(Figure 4-A). B군에서는 대조군과 비교하여 관절 연골의 손상 및 섬유소 침착, 비정상적으로 증식된 염증성 활막의 침습 정도가 조금 덜하지만 거의 비슷함을 알 수 있다(Figure 4-B).

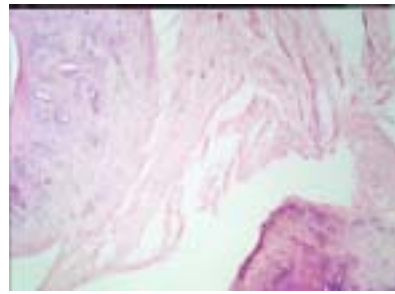
A군은 대조군에 비해 비정상적으로 증식된 활막의 침윤 정도가 제일 경하였으며 염증 세포가 가장 적게 나타난 것이 관찰되며, 관절 연골(articular cartilage)의 파괴 정도가 비교적 제일 적은 소견이 관찰되었다(Figure 4-C).



(A)



(B)



(C)

Figure 4. Histopathological findings of distal interphalangeal joint.
Synovial joint (A) : distal interphalangeal joint of hind paw from control group 30 days after CFA injection. Erosion of articular cartilage was present and infiltration of inflammatory cells were prominently observed. (H&E, $\times 100$)
Synovial joint (B) : distal interphalangeal joint of hind paw from B group 30 days after CFA injection. Erosion of articular cartilage and infiltration of inflammatory cells were observed. (H&E, $\times 100$)
Synovial joint (C) : distal interphalangeal joint of hind paw from A group 30 days after CFA injection. Erosion of articular cartilage and infiltration of inflammatory cells were decreased. (H&E, $\times 100$)

IV. 고 찰

류마치스 관절염은 남자와 여자에게 모두 발생하는 질환으로 40~60세 사이에 가장 많이 유발되며 여성이 남성보다 약 2배정도 발병률이 높다고 알려져 있다. 그 이유에는 구강 피임약, 에스트로겐 복용, 임신 등으로 인한 호르몬의 변화에 따른 면역체계의 변화에서 기인하며 약 30% 정도는 유전적인 요인의 영향을 받고 나머지는 흡연 등에 의한 그 외의 환경 요소의 영향을 받는다고 하였다(Alarcon 등, 1995). 관절염의 증상은 부종과 발적, joint lining의 염증과 비후, 연골의 미란이 생겨서 관절을 움직일 때 관절 사이의 뼈와 뼈의 마찰이 생겨서 통증이 유발되고, 급성 염증의 악화로 관절염은 더욱 심하게 되어 외관으로 변형과 기능장애를 보이는 다발성 관절염이 발생한다고 하였다(Butler 등, 1992).

사이토카인이란 주로 대식구, 섬유모세포 등에서 생성되어지는 적은 분량의 단백질로서 류마치스 활막염을 일으키는 인자로서 작용을 한다. Interleukin-1, Interleukin-6, Colony-stimulating factor-1, tumor necrosis factor- α 는 섬유모세포와 대식세포에 의해 합성되어져 초기 면역반응에 관여하여 세포증식, 프로테글라딘, 프로테아제의 작용에 영향을 미친다고 하였다(Harris 등, 1990). 이러한 사이토카인은 류마치스 활막에 저농도의 열을 유발시켜 염증과 상관관계가 있는것으로 보고되었다(Firestein 등, 1988).

면역보강제로 관절염을 유발하는 adjuvant arthritis와 collagen-induced arthritis 모델은 질병 발생의 표준성과 짧은 기간에 임상병리학적으로 질병의 발달 과정을 연구 할 수 있어서 가장 많이 사용되고 있으며 Complete

Freund's Adjuvant를 투여한 후에 관절염의 초기 외관적 증상은 부종과 발적이고 7~9주 후에 최고조에 달한다고 하였다(Glant 등, 1987). 면역성 유발관절염은 보통 16주 이상 유지된다고 보고하였고(Dumonde와 Glym, 1962), Incomplete Freund's Adjuvant를 사용했을 때 21일 경과 후 혈중 항체는 Complete Freund's Adjuvant의 사용시와 차이가 없었지만 관절의 부종은 감소된다고 하였다(Pettipher 등, 1988). 흰 쥐의 tibio-tarsal joint와 plantar region의 CFA 주입 6주 후 방사선 검사에서 plantar region군에서 모든 쥐에 족부의 연부조직의 부종이 있었고 지절관절, 중족지절관절, 발목부위에 골 증식과 관절의 파괴가 있었으며 6마리는 꼬리에서도 유발되었다고 하였다(Bulter 등, 1992). 이는 본 실험의 CFA 주입 후 좌, 후측 후지의 부종 및 관절염 증상에 일치하는 소견이었다.

주사 요법인 corticosteroid 치료는 류마치스 환자의 관절강내 온도를 감소시키고 2년간 관절강내 주입으로 관절의 침습이 지연된다는 보고가 있다(McCarty, 1972). 장기간의 약물 치료시 단점으로는 비스테로이드성 약물은 위장계통과 신장계통에 자극을 주고, 스테로이드성 약물의 장기 복용은 부신과 뇌하수체에 작용하여 기능 저하, 무기력, 창상치유의 지연, 면역억제, 부종, 부정맥 등의 부작용이 발생하기도 한다(Calin, 1983).

만성 류마치스 관절염의 보존적 방법중의 하나인 hot pack은 목과 어깨 등에 통증경감과 근 이완의 효과가 있지만 류마치스 환자의 손 부위에 파란편육으로 치료한 결과 유의할만한 효과가 없다고 보고하였다(Harris 등, 1955). 관절염의 한냉 적용에서 한냉이 통증 역치를 증가시키고 구축이 있는 주위 조직을 완화시키며 관절액의 백혈구 수와 콜라겐 분해효소의 수를 감소시키기 때문에 급성으로 염증이 있는 관절에 효과적이라고 하였다

(Hicks와 Shah, 1990). 온도가 섭씨 2도 감소할 때마다 연골 콜라겐의 분해가 3배씩 감소하며 섭씨 30도 이하에서는 거의 분해가 일어나지 않는다고 보고하였지만 생체 내 실험에서 온도 저하에 의한 효과는 아직 입증되어 있지 않다(Harris, 1974).

초음파는 음파와 그 일반적인 특성이 비슷하여 전파되기 위해 매질이 필요하며 압축(compression)과 희박화(rarefaction)의 반복되는 파로 구성되고 에너지를 전달하며 집중되거나 반사되는 성질을 갖는다. 재활의학 분야에서 사용되는 치료적 초음파는 집중, 투과 및 표준화 등을 고려해 진단적 목적으로 사용하는 초음파보다 짧은 주파수인 0.8~1.0MHz의 초음파를 사용한다(김진호와 한태륜, 1997). 초음파의 치료효과에는 온열 효과(thermal effect)와 비온열 효과(non thermal effect)가 있다. 온열 효과(thermal effect)로는 만성 외상 및 좌상, 동통 완화, 만성 관절염 등의 치료를 위해 많이 이용된다. 비온열 효과에는 정맥류 케양의 치유, 조직 재생, 만성 허혈성근의 혈액순환, 섬유모세포의 단백질 합성, 건 치유 등을 촉진시킨다고 보고하였다. 생물학적 세포 효과로써 비온열 효과(non thermal effect)는 초음파의 기계적 효과로 공동화(cavitation)현상, 정상파(standing wave), 음파의 흐름(acoustic streaming), 미세 흐름(microstreaming)등이 있다(Dyson, 1982). 공동화(cavitation)현상은 압력에 의해 방출되는 기포의 운동을 표현하는 용어로 안정 공동화(stable cavitation)와 한 주기의 압박과정에서 불안정한 확산과 파괴로 오는 불안정 공동화(unstable cavitation)가 있으며 불안정 공동화는 파괴적인 높은 압력으로 국소 부위의 조직 손상과 세포의 죽음을 초래하는 반면 안정 공동화는 적당한 진동(oscillation)을 통해 혈류의 흐름을 증진시킨다(Miller 등, 1979). 정상파(standing wave)란 음파의 공명의 중

첩(resonant superposition)과 음파의 파장의 1.5배 길이의 간격으로 고압과 저압의 고정된 압력부위(fixed regions of high and low pressure)를 형성하는 것을 말하는데 이로 인하여 다른 밀도를 갖는 조직 경계면에 국소적으로 열을 발생시키고 음파장 내에서 파장길이의 1/2간격으로 적혈구의 울혈(stasis)을 일으킨다(Frizzell과 Dunn, 1990). 음파의 흐름(acoustic streaming)은 초음파의 압력으로 편축 운동을 하여 조직과 세포 같은 매개체를 통해 방사를 일으킨다(Nyborg 등, 1974). 초음파가 세포에 미치는 효과에는 치명적인 효과(lethal effect)와 세포막의 투과성의 변화와 미토콘드리아의 변화 등으로 생각되는 비 치명적 효과(nonlethal effect)가 있다. 치명적 효과는 불안전 공동화로 인해 유발되며 쥐의 백혈병 세포에 1MHz의 주파수로 15W/cm² 강도의 초음파를 10초간 조사한 연구에서는 M-phase 세포들이 주로 손상을 입는 것으로 보고되었다(Frizzell과 Dunn, 1990).

초음파의 효과로 조직치유(wound healing)를 증진시키는 작용이 있으며 이는 부종의 감소(Fyfe and Chahl, 1980), 혈류 증진, 대식 세포와 산소를 증진시켜 교원섬유의 배열을 촉진하며 재구성한다(Dyson 등, 1978). Abramson 등(1960)은 Yucatan돼지의 실험 연구에서 20%의 단속형, 0.5W/cm²의 강도로 1MHz의 빈도로 초음파 치료를 할 경우 조직치유 등에 효과가 있었다고 보고하였다. Dyson등(1978)은 조직치유를 위한 초음파 실험에서 0.5W/cm², 1.5W/cm²의 강도로 2초 “ON” 그리고 8초 “OFF” 로 단속형으로 투여하여 조직 치유에 효과가 있다고 하였고 또한 족부의 정맥류 육창 치료에서 비 온열 효과에 의해 단백질 합성, 세포 내 칼슘이온의 이동 등으로 조직치유에 효과가 있음이 밝혀졌다(Dyson, 1982). 인체의 섬유모세포를 조직 배양하여 비 온열 단속형 초음파를 1MHz의 빈도와 2초 “ON” 그

리고 8초 “OFF” 의 단속형으로 0, 30, 60, 90초를 투여한 결과 용량에 따라 세포 분해와 만성 염증의 탐식 촉진 등이 관찰되었고 30초 동안 투여 후에 mitotic spindle의 손상이 관내(in vitro) 실험에서 연구되었다(Deyne 과 Kirsch-volder, 1995). 초음파는 세포막을 통해 칼슘이온 전달을 원활하게 하며 히스타민, 세로토닌 같은 화학적 효소의 삼투성을 증가시켜 호중구, 대식세포의 움직임을 원활히 함으로써 조직치유에 기여한다고 하였다(Mortimer와 Dyson, 1988). 치료적 초음파의 생물학적, 조직학적 효과는 1 MHz의 빈도와 0.5~3W/cm² 사이의 강도가 보편적으로 많이 이용되고 효과로 세포막의 이온의 흐름을 원활히 증진시켜주고 칼슘 이온을 증가시켜 세로토닌, 세포의 이동, 성장요소 합성을 유도하여 조직을 치유한다는 연구도 있다(Deyne 등, 1995). 염증 매개체로서 중요한 역할을 하는 histamine은 amino-acid histidine의 decarboxylase의 작용으로 형성된다. 히스타민의 중요한 요소는 거대 세포의 원형질내 과립으로써 과립감소와 히스타민의 용해는 세포 손상과 anaphylotoxin등에 의해 이루어지며 IgG항체의 항원에 의해서도 형성되고 동맥 확장과 세정맥 협착 등은 히스타민의 방출로 인해 유발된다고 한다(Linda, 1992). 또 초음파는 대식 세포의 칼슘이온 통로의 증가로 인해 과립구의 secretion이 세포막을 투과하는데 영향을 미친다고 하였다(Dyson, 1985). 히스타민의 방출이나 증가는 모세 정맥에서 염증성 삼출액의 과도한 형성으로 부종을 지속시키고 염증성 삼출액의 제거를 지속한다. 손상시 관계하는 매개체로 히스타민과 더불어 arachidonic acid와 platelet activating factor도 중요한 역할을 한다. 이 매개체들은 prostaglandine과 leukotrienes를 유도하는데 이것들은 염증 성분에 중요한 작용을 하여 혈관 확장을 유도하며 염증성 물질에 서서히 반응하여 혈관 침투를 증가시킨다.

초음파가 이러한 매개체에 미치는 영향에 대해서는 확실히 알려져 있지는 않지만 막 세포의 교란을 유도하고 그것이 염증반응에 변화를 준다고 하였다(Linda, 1992). 손상된 세포 안의 백혈구의 축적은 염증반응을 구성하는 중요한 요소로 혈관벽에 유착되어 있으며 내피세포를 통해 국소적으로 이동을 한다고 하였고 확실히 증명되지는 않았지만 초음파는 염증세포의 유착을 조절한다고 하였다. 실험적 연구에서 쥐의 세포내 포도상구균 독소가 초음파에 의해 감소하였다고 하였으며, 혈류의 흐름과 염증의 조절, 백혈구의 이동, 교원질 합성과 생성 등에 영향을 준다고 보고하였다(Anderson과 Barrett, 1981).

육안적 소견으로 흰 쥐의 피하 내 질산은 주사 주입으로 급성 부종반응을 유발하고 초음파를 $0.5W/cm^2$ 의 강도로 2~5분 동안 2.9, 1.5, 0.79MHz의 빈도로 1 : 1과 1 : 4의 비율로 단속형 초음파 치료후에 부종 감소의 실험에서 2.9, 1.5MHz의 빈도로 실험을 하였을 때는 유의한 감소를 보이지 않았지만 0.79MHz의 빈도에 1 : 1과 1 : 4의 비율로 단속형 초음파를 2~5분 적용으로 투여하여 부종의 의미있는 감소를 보였다고 하였다(Fyfe와 Chahl, 1980). 이는 단속형 초음파 투여시에 좌측 후지에서 29일째에 부종 감소가 대조군에 비해 유의하게 감소된 소견과 일치하였다. 그러나 우측 후지 발바닥에 관절염 주사를 주입함으로써 좌측보다 홍반과 부종을 동반한 관절염 증세가 2주정도 빨리 유발되었고 염증 정도가 너무 심해 초음파 치료에도 불구하고 오히려 대조군에서 부종의 두께가 조금 경미한 소견을 보였다. 치료 효과의 평가는 종창이나 족부 용적으로 많이 하지만 이 방법은 관절염에서 볼 수 있는 여러 관찰치의 일부분의 정보만을 사용한다는 단점이 있고 종창의 정도와 관절염의 중증도가 반드시 일치한다고 보기는 어렵다.

체중 측정 소견에서 토끼의 건 절제 후 초음파 치료 실험에서 대조군이 치료군에 비해 체중의 감소가 컸지만 통계적으로는 유의하지 않았다고 하여서(Enwemeka, 1989), 본 실험에서 대조군이 초음파 투여군보다 먹이 섭취등의 어려움과 스트레스로 인해 체중 감소의 폭이 컸지만 통계적으로 유의하지 않다는 결과와 일치하는 소견이었다.

Glant 등(1987)이 CFA 주입 21일 후 X선 사진 상에서 인근 연부조직 종창, X선 비투과성 향진과 소주음영의 소실, 심한 연부조직 종창, 관절 주위에 골과괴와 신생골 형성, 관절강적을 보인다는 소견과 일치하였다. 방사선 소견으로 초음파 투여 종료후에 우측 후지는 관절강의 협착, 골침습, 골막에 신생골이 발생되었으며 초음파 투여후의 차이로 대조군이 1.17점, 단속형 초음파 치료군인 A군이 0.86점, 연속형 초음파 치료군인 B군이 1.15점 증가로 A군에서 류마치스 관절염 억제 효과가 가장 크게 나타나는 경향이 보였다. 좌측 후지에 관절강 협착, 연부 조직 부종, 골 침습이 일어나 초음파 투여 후에 차이를 비교해 보면 대조군이 1.33점, A군이 0.86점, B군에서 1.00점의 증가가 있어 A군에서 류마치스 관절염의 억제 효과가 있었지만 통계적으로는 유의하지 않았다(Figure 3, 4). 우측 후지에 부종 측정과 방사선 측정에서 약간의 차이가 있는데 이는 우측 후지에 염증 정도와 부종이 심하게 발생되었다가 점차 부종이 감소하며 관절 내의 문제로 전이된 것으로 사료된다.

Issekutz(1991) 등은 adjuvant arthritis의 조직병리 연구에서 다핵 백혈구와 림프구의 침윤이 심하였다고 하여 본 실험과도 일치하였다. 연골의 변화에 대해서는 보고자마다 차이가 있는데 대체로 관찰 시기와 항원의 용량에 따라 연골의 변화 양상이 달랐으며 조직절편의 방향과도 관계 있으리

라 여겨진다. 본 실험에서도 대조군에서 관절 연골(articular cartilage)의 손상과 관절 내에 경고한 물질이 침착되어 관절 강직증(ankylosis)이 일부 유발되었다. 대조군과 B군에서 A군에 비해 염증성 활막이 관절내로 침습하여 관절 연골의 파괴 정도가 심한 소견을 보였다(Figure 4). 본 실험에서는 조직병리 소견을 정량화하기 위해 흰 쥐의 지절 관절에서 일정한 위치의 활막에서 절편하여 관찰하였으나 정확하게 같은 위치를 맞추기 어려운 점이 있었다. 또 같은 위치의 활막에서 침윤된 세포의 수를 세는 방법도 있으나 실제 적용시 세포의 수 역시 오차가 크다는 문제가 있다. 병리 소견을 점수화 하는 방법에서 어떤 소견을 포함시키고, 포함시킨 소견의 상대적 비중을 어떻게 정하는가 하는 문제가 있어 향후 이에 대한 연구도 필요하리라 생각된다.

이상의 결과로 보아 29일에 급성기 류마치스 관절염에 좌측 후지에서 A군이 대조군에 비해 유의한 부종 감소가 있었고 조직 병리학적 소견에서 약간의 차이를 보였을 뿐 전반적으로 A군과 B군의 치료 효과에 대해서는 대조군에 비해 큰 차이가 없었다. 이는 실험적으로 유도된 관절염이 인체의 관절염과 완전히 일치한다고 보기는 어렵고 특히 관절의 파괴속도가 인체의 류마치스 관절염에 비해 빠르기 때문에 두 질환의 병태생리학적 차이가 영향을 주었을 가능성도 배제할 수는 없다(Trentham 등, 1978). 인체의 대부분의 관절은 흰 쥐의 족관절에 비해 월등히 크기 때문에 본 연구의 결과를 그대로 적용하기는 곤란할 것으로 보이나, 류마치스 관절염에서는 잘 이환되는 인체의 지절 관절 등 작은 관절에서는 같은 현상이 관찰될 가능성을 배제할 수는 없다고 생각된다. 또한 관절염의 측정 도구의 하나로 혈액의 염증수치 검사인 Erythrocyte Sedimentation Rate를 검사하여야 하였

으나 측정 시기와 방법의 문제로 검사를 하지 못한 것도 개선해야 할 문제점으로 사료되며 향후 연구에서는 초음파 투여시에는 만성기와 아급성기 때의 관절강내 온도의 측정을 병행하고, ESR측정을 병행하여 초음파의 온열 효과와 비 온열 효과를 정확히 측정해 봄이 바람직 할 것으로 사료된다.

본 연구를 시행하는데 몇 가지 제한점이 있었다. 첫째, 좌, 우측 후지의 관절염 정도에 따른 초음파의 투여시기를 적절하게 하지 못했다. 둘째, 흰 쥐의 수가 각 군당 8마리씩 가지고 측정하여 일반적으로 대표성을 가지기에는 수가 부족하였다. 셋째, 류마치스 관절염의 검사중 하나인 혈액검사로 적혈구 침강속도를 측정하지 못했다. 넷째, 초음파 투여시에 강도와 시간 및 빈도 등을 조금 더 다양한 방법으로 측정함이 바람직 할 것이라고 사료된다. 다섯째, 초음파 투여동안 류마치스에 쓰이는 약물과 병행하여 나타나는 차이점과 그에 따른 효과에 대한 연구도 필요할 것이라 생각되어지며 이러한 제한점을 보완하여 지속적이고 체계적으로 연구함이 바람직 할 것으로 사료된다.

V. 결 론

Sprague-Dawley계 암컷 흰 쥐를 Complete Freund's Adjuvant(CFA) 모델인 Mycobacterium Butyricum을 우측 후지 발바닥에 마리당 0.1ml씩 1회 투여하여 관절염을 유발시켰다. CFA 투여 2주 후에 염증성 부종과 관절염을 확인한 후에 대조군과 1Mhz의 빈도에 0.5W/cm²의 강도와 1 : 4 비율의 단속형 초음파 투여군을 A군 그리고 1Mhz의 빈도에 2W/cm² 강도의 연속형 초음파 치료군을 B군으로 분류하여 좌, 우측 후지의 족관절에 초음파를 각각 2주 동안 투여하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 체중의 측정에서 실험 종료후에는 관절염에 의해 대조군이 A군과 B군에 비해 체중이 줄었지만 대조군과 초음파 치료군들과의 비교에서 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

2) 육안적 소견에서 우측 후지의 부종 정도가 대조군과 A군 그리고 B군의 비교시에 통계적으로 유의한 차이는 없었지만, 좌측 후지에서 29일째에 대조군에 비하여 A군이 통계적으로 유의한 부종 감소가 있었다($p < 0.05$).

3) 방사선 소견으로 흰 쥐의 좌, 우측 후지 관찰시에 A군이 관절염 점수가 제일 낮아서 관절염 억제에 효과적인 경향은 있었지만 대조군과 A군 그리고 B군의 비교에서 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

4) 조직병리 소견에서 A군이 대조군과 B군에 비해 염증 세포의 침윤과 활막의 비후와 침윤 정도가 적은 소견을 보였다.

이상의 결과로부터 CFA에 의해 유발된 관절염 흰 쥐에 단속형 초음파를 투여한 군에서 좌측 후지에 일부 부종억제의 경향은 있었지만, 다른 검사에서 대조군에 비해 효과적인 부종억제가 되지 않았고, 연속형 초음파군과도 큰 차이가 없어서 급성기 류마치스 관절염에 초음파가 관절염 억제효과에 효과적인 작용을 하였다고는 볼 수 없었다. 급성기 류마치스에 대한 치료 효과를 좀더 정량적으로 판정할 수 있는 민감도가 높은 검사방법을 개발하여 객관적으로 입증하기 위한 노력과 향후 적절한 초음파 치료 시기와 초음파 치료 방법의 다각적 노력이 필요하리라 생각된다.

참고 문헌

- 김순희. 티탄바륨형 방사도자에서 발생된 초음파의 적용이 생체활성에 미치는 효과. 경희대학교 대학원 박사학위논문. 2000: 10-16
- 김진호, 한태륜. 재활의학, 군자출판사, 서울, 1997: 27-40
- 김현숙. 초음파가 류마치스 관절염 환자의 섬유모양 활막세포에 미치는 영향. 서울대학교 대학원 박사학위논문 2000: 23-28
- Alarcon GS. Epidemiology of rheumatoid arthritis. Rheum DisClin North Am 1995; 21: 589-604
- Arnett FC, Edworthy DM, Bloch DA, et al. The American rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1988; 31: 315-324
- Abramson DI, Burnett C, Bell Y, Tuck S Jr, Rejal H, Fleisher CJ. Changes in bloodflow oxygen uptake and tissue temperatures produced by therapeutic physical agent: I Effect of Ultrasound. Am J Phys Med 1960; 39: 51-62
- Anderson DW, Barrett JT. Depression of Phagocytosis by Ultrasound in Medicine and Biology 1981; 7: 267-273
- Butler SH, Godecfroy JM, Besson J. Weil-Fugazza. A limited arthritis model for chronic pain studies in the rat. Pain 1992; 48(1): 73-81
- Byl NN, Mckenzie AL, West JM, Whitney JD, Hunt TK, Scheuenstuhl

- HA: Low-dose ultrasound effects on wound healing: a controlled study with yuncatan pig. *Arch Phys Med Rehabil* 1992; 73: 656-664
- Calin A. In common clinical usage nonsteroidal anti-inflammatory drugs infrequently produce adverse effects on the kidney. PMID 1983; 2(4): 485-488
- Chang YH, ML Bliven. Anti-arthritis effect of bee venom. *Agent & Actions* 1979; 9(2): 205-211
- Deleuran B, Chu CQ, Field M, et al. Localization of interleukin 1 a (IL-La), type 1 IL-I receptor and interleukin 1 receptor antagonist protein in the synovial membrane and cartilage/pannus junction in rheumatoid arthritis. *Br J Rheum* 1992; 31: 801-809
- Deyne PG, Kirsch-volder M. In vitro effects of therapeutic ultrasound on the nucleus of human fibroblasts. *physical Therapy* 1995; 75(7): 629-643
- Di GF, Nuki G, Duff GW. Tumor necrosis factor in synovial exudates. *Ann Rheum Dis* 1988; 47: 768
- Dinno M, Dyson M, Young S, et al. The significance of membrane change in the safe and effective use of therapeutic and diagnostic ultrasound. *Phys Med Biol* 1989; 34 : 1543-1552
- Dumonde DC, Glym LE. The production of arthritis in rabbits by an immunologic reaction to fibrin. *Br J Exp Path* 1962; 13:

373-383

- Dyson M, Suckling J. Stimulation of tissue repair by ultrasound: a survey of the mechanisms involved. *physiotherapy* 1978; 64: 105-108
- Dyson M. Non-thermal cellular effects of ultrasound. *Br J Cancer* 1982; 45: 165-171
- Dyson M: Therapeutic application of ultrasound' in: Nybord WL and Ziskin MC, *Biological effects of ultrasound*, Churchill Livingstone, Edinburgh 1985
- Enwemeka C. The effect of therapeutic ultrasound in tendon healing. *Am J Phys Med Rehabil* 1989; 68: 283-287
- Firestein GS, Xu W-D, Townsend K, et al. Cytokines in chronic inflammatory arthritis. I. Failure to detect T cell lymphokines (interleukin 2 and interleukin 3) and presence of macrophage colony-stimulating factor and a novel mast cell growth factor in rheumatoid synovitis. *J Exp Med* 1988; 168: 1573-1586
- Frizzell LA, Dunn F. Bioeffects of ultrasound. In: *Therapeutic Heat and Cold*, 4th ed, Williams & Wilkins, Baltimore 1990: 398-416
- Fyfe MC, Chahl. The effects of ultrasound on experimental oedema in rat. *Ultrasound Med Biol* 1980; 6: 107-111
- Glant TT, Mikecz A, Arzoumanian AR. Poole Preteoglycan-induced arthritis in BALB/C mice. Clinical features and

- histopathology. *Arthritis Rheum* 1987; 30(2): 201-212
- Harris ED Jr, Mccroskery PA. Influence of temperature and fibril stability on degradation of cartilage collagen by rheumatoid synovial collagenase. *N Engl J Med* 1974; 290: 1-6
- Harris ED Jr. Rheumatoid arthritis: Pathophysiology and implications for therapy. *New Engl J Med* 1990; 332: 1277-1289
- Harris R, Millard JB. Paraffin-Wax baths in treatment of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1955; 14: 278-282
- Haworth C, Brennan FM, Chantry D, et al. Expression of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in rheumatoid arthritis: regulation by tumor necrosis factor-alpha. *Euro J Immunol* 1991; 21: 2575-2579
- Hick JE & Shah Jp. PM & R secrets hanley & belfus: Medical and rehabilitative management of rheumatic diseases. INC, Philadelphia 1990: 283-367
- Issekutz AC, Issekutz TB. Quantitation and kinetics of polymorphonuclear leukocyte and lymphocyte accumulation in joints during adjuvant arthritis in rat. *Clin Immunol Immunopathol* 1991; 61(3): 436-447
- Koch AE. Review: angiogenesis: implication for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 951-962
- Lehman JF, Delateur BJ. Diathermy and superficial heat, Laser, and cold therapy. In: *Handbook of physical Medicine and*

Rehabilitation, W.B.Saunders company, Philadelphia 1996:
285-367

Lejbkowitz F, Zwiran M, Salzberg S. The response of normal and malignant cells to Ultrasound in vitro. *Ultrasound in Med & Bio* 1993; 19(1): 75-82

Linda M. Therapeutic ultrasound: its effects on the cellular and molecular mechanisms of inflammation and repair. *physiotherapy* 1992; 78(6): 421-426

Mainardi CL, Walter JM, Spiegel PK, Goldkamp OG, Harris ED: Rheumatoid arthritis; failure of daily heat therapy to affect its progression. *Arch Phys Med Rehabil* 1979; 60: 390-393

McCarty DJ. Treatment of rheumatoid joint inflammation with triamcinolone hexacetonide. *arthritis rheum* 1972; 15: 157-173

Miller DL, Nyborg WL & Whitcomb CC. Platelet aggregation induced by ultrasound under specialized conditions in vitro. *science* 1979; 205: 505

Mortimer AJ, Dyson M. The effect of therapeutic ultrasound on calcium uptake in fibroblasts. *Ultrasound in Med&Biol* 1988; 14(6): 499-506

Nyborg WL and Gershoy A. Microsonation of cells under near-threshold conditions. In *ultrasonic in medicine*. Amsterdam. Excerpta Media 1974: 360

Ostenson. M., R. Ramsey-Goldman. Treatment of inflammatory

rheumatic disorders in pregnancy: what are the safest treatment option?[In Precess Citation]. Drug Saf 1998; 19(5): 289-410

Paleolog EM. Angiogenesis: a critical process in the pathogenesis of RA-a role for VEGF? [editorial].Br J Rheumatol 1996; 35: 917-919

Pettipher ER, Henderson B. Leucocyte infitvation and cartilage proteoglycan loss in the immunologically induced arthritis in the rabbit. Br J Pharmacol 1988; 95: 169-176

Ramirez A, Schane JA, Mcfarland C, Starcher B. The effect of ultrasound on allagen synthesis and fiblast proliferation in vitro. Medicine and Science in Sports and Exercise, 1997,27:326-332

Trentham DE, Dynesius RA, Rocklin RE, et al. Cellular sensitivity to collagen in rheumatoid arthritis. New Engl J Med 1978; 299: 327-332

Trentham DE, Townes AS, Kang AH. Autoimmunity to type II collagen: an experimental model of arthritis. J Exp Med 1977; 146: 857-868

Weber DC, Brown AW. Physical agent modalities, In: Physical Medicine and Rehabilitation, W.B. Saunders company, Philadel-phia 1996: 449-463

= Abstract =

Effects of Ultrasound on Adjuvant-induced Arthritis in Rats

Dong Jin Lee

Graduate School of

Health Science and Management

Yonsei University

Directed by Professor Chang-il Park, M.D., Ph.D.

This study was conducted to assess the effects of ultrasound on adjuvant-induced arthritis in rats. Adjuvant arthritis was induced in 26 female Sprague-Dawley rats by the subcutaneous injection of a single dose of 0.1mL of Complete Freund's Adjuvant (CFA) (1 mg of *Mycobacterium Butyricum* suspended in 0.1mℓ paraffin oil) into the right hind paw. After confirming inflammatory edema and arthritis in the paw 2 weeks later, the arthritic rats were divided into 3 groups, i.e., control group, pulsed ultrasound group (Group A), and continuous

ultrasound group (Group B) with 8 rats placed in each group. The rats in Group A were treated with pulsed ultrasound at 1MHz frequency with $0.5W/cm^2$ intensity in 1 : 4 mode for 3 min. The rats in Group B were treated with continuous ultrasound at 1MHz frequency with $2W/cm^2$ intensity in the continuous mode for 3 minutes. Ultrasound treatment was done in the left and right ankles for 2 weeks. We then evaluated clinical, radiographic and histopathologic findings before and after treatment and obtained the following results.

1) Although the average body weight decreased in the rats in Group A and Group B (treated groups) after ultrasound treatment compared with those in control group, no significant difference was present in body weight between control group and treated groups.

2) No statistically significant difference was present in the degree of edema at the right hind paw according to visual observation between control group, Group A and Group B. But a statistically significant decrease in edema at the left hind paw was seen in the rats in Group A that were treated with pulsed ultrasound by 29 days after treatment started ($p<0.05$).

3) The tendency of suppressed arthritis formation was seen according to the score of arthritis, which was the lowest in Group A upon the

observation of radiographs of the left and right hind paws. However, no statistically significant difference was present in the score between control group, Group A and Group B.

4) According to histopathologic findings, the degree of infiltration by inflammatory cells and hypertrophy of the synovium were less in Group A compared with control group and Group B.

From these results, we concluded that ultrasound therapy is ineffective on acute rheumatoid arthritis since no effective reduction of edema was seen according to different tests although decreased edema was seen in Group A, in where the rats with CFA-induced arthritis were treated with pulsed ultrasound, by 29 days after ultrasound treatment started compared with control group. More effort is needed to objectively prove the effectiveness of ultrasound by developing more sensitive testing methods that could quantitatively evaluate the treatment effect of acute rheumatoid arthritis and by evaluating the effect from various angles such as determining the appropriate treatment time frame and trying out different US treatment methods.