

퇴행성 관절염, 류마티드 관절염 및 대조군에서 항-제 II 형 교원질 항체의 역가의 차이에 대한 연구

동국대학교 의과대학 정형외과학교실

김용민 · 황정수 · 정필현

서울대학교 의과대학 정형외과학교실

정문상 · 백구현

— Abstract —

Differences in Anti-type II Collagen Antibody Titers Among Degenerative Arthritis, Rheumatoid Arthritis and Control Groups

Yong-Min Kim, M.D., Chung-Soo Hwang, M.D., Phil-Hyun Chung, M.D.

Department of Orthopaedic Surgery, College of Medicine, Dongguk University, Pohang, Korea

Moon-Sang Chung, M.D., Goo-Hyun Baek, M.D.

Department of Orthopaedic Surgery, College of Medicine, Seoul National University, Seoul, Korea

Collagen is the major structural protein in the human body, especially in connective tissues. There are more than 13 types of collagen. Among them, type II collagen is a main component of articular cartilage structure. Altered immunological conditions against type II collagen may be closely related to the pathologic conditions of joint, especially arthritis. Since 1977, animal model for collagen-induced arthritis(CIA) has been developed and used in the investigation of arthritis. In those animals, high titers of anti-type II collagen antibody were noticed. Pathologic findings were similar to rheumatoid arthritis of human, which suggested that rheumatoid arthritis might be one of the autoimmune diseases. There had been many reports about elevation of serum and synovial level of anti-type II collagen antibody in rheumatoid arthritis patients. But majority of them did not discriminate the antibody titers according to the type of immunoglobulin(i.e. IgG, IgM). And the question whether the elevated antibody titers are cause or effect of the arthritis is still in controversy.

In this study, the serum levels of anti-type II collagen antibody were determined in 82 persons(35

※ 통신저자 : 김 용 민

경북 포항시 죽도2동 646-1

동국대병원 정형외과

degenerative arthritis patients, 24 rheumatoid arthritis patients and 22 normal controls without any joint problem) via ELISA method. In each person the serum IgG, IgM and IgG+M+A antibody levels against bovine type II collagen and chicken type II collagen were determined individually. Statistical evaluation of these data among degenerative arthritis group, rheumatoid arthritis group and normal control group was performed.

The results were as follows ;

1. Degenerative arthritis group revealed significant elevation of anti-type II collagen antibody(IgG, IgG+M+A) compared to normal control($p<0.05$).

2. Rheumatoid arthritis group showed significant elvation of IgM and IgG+M+A compared to normal control.

3. Between degenerative arthritis and rheumatoid arthritis group, no sigificant difference was noticed.

4. Rheumatoid arthritis group showed significant increase of IgM antibody level compared to normal control.

5. Female rheumatoid arthritis group showed significant increase of IgM level compared to female degenerative arthritis group.

These findings suggested that the elevation of anti-type II collagen antibody titer is not specific for rheumatoid arthritis and related with general pathologies destroying articular cartilage. And it is suggested that anti-type II collagen antibody associated with rheumatoid arthritis is mainly IgM proportion, especially in female patients. So further investigation of anti-type II collagen antibody associated with rheumatoid arthritis is needed to target IgM antibody.

Key Words: Anti-type II collagen antibody, Degenerative arthritis, Rheumatoid arthritis

서 론

정형외과 영역의 대상 질환은 매우 다양하고 각 질환에 대한 치료형태 또한 매우 다양하다. 그 중에서도 관절의 병적상태에 의한 질환이 차지하는 비중이 적지 않다. 외상과 관련된 경우도 있고 감염성의 관절질환도 있으나 정형외과에서 마주치는 관절병 환자의 대부분은 퇴행성 관절염과 류마토이드 관절염이라 할 수 있다. 이중 퇴행성 관절염은 관절 연골의 만성적인 기계적 마모가 원인으로 생각되며 병력과 방사선 소견을 토대로 진단이 비교적 용이하고 치료방법의 적용도 단순하다고 할 수 있다. 이에 비하면 류마토이드 관절염은 자가면역기전에 의한 활액막의 염증반응이 원인이라고 추정되고 있으나 정확한 기전은 아직 확인되지 못하였다. 진단 면에서도 임상적 소견에 주로 의존하고 있어 확실한 진단에 어려움을 겪는 경우가 종종 있다. 또한 류마토이드 관절염의 치료면에서도 아직까지 원인적 치료나 예방은 불가능한 실정이다.

교원질은 인체의 결합 조직의 가장 중요한 구성 단백질로 13종 이상이 규명되었으며 그중 제II형이 연골의 주요 구성성분이다. 관절염은 원인이 무엇인든 관절 연골의 파괴 과정이 뒤따르며 따라서 관절염의 병리 현상의 이해에 있어서 교원질(특히 제II형)에 대한 이해가 중요할 것이다. 1977년 Trentham등에 의해 시작된 교원질 투여로 유발된 실험 동물의 관절염(collagen-induced arthritis:CIA)이 인체의 류마토이드 관절염과 매우 유사한 병리 소견을 보이며 또한 이 관절염에 이환된 동물에서 항 제II형 교원질 항체의 역가가 높게 검출됨이 관찰되면서 류마토이드 관절염과 교원질, 그리고 항교원질 항체에 대한 관심이 높아지게 되었다. 인체를 대상으로 항 제II형 교원질 항체의 역가에 대한 연구가 활발히 이뤄졌으며 류마토이드 관절염 환자의 혈청 및 활액에 이 항체가 증가됨이 밝혀졌다. 그러나 항체 면역 글로불린의 종류(IgG, IgM 등)에 따른 차이는 확실히 규명된 바 없으며 류마토이드 관절염 외에 다른 관절질환에서는 어떠한 의미를 갖는 지에 대해서도 아직은 명확히 밝혀지지 않아 임상적

의미를 갖기 위해서는 보다 다양한 임상 및 실험 연구가 필요하다. 특히 국내에서는 항교원질 항체에 대한 연구 자체가 거의 미미한 실정이다.

정상인과 비교하여 각종 관절염 환자에서 항 제Ⅱ형 교원질 항체의 역가가 연령, 성별 등 여러 환자 유형별로, 또 항체 유형별로 어떻게 증가되는지, 또 관절염의 종류에 따라 항 교원질 항체의 역가가 의미있게 차이가 있는지가 먼저 연구되어야 할 것이다. 그에 따른 진단적 가치와 치료 효과의 척도로서의 가치가 있는지도 밝혀져야 할 것이다. 그리고 항 제Ⅱ형 교원질 항체의 증가 및 그와 관련된 면역반응이 관절염의 원인 또는 악화요인인지 아니면 관절 연골의 파괴에 따른 결과인지도 구별되어야 하며 관절염의 원인이라면 이 항 제Ⅱ형 교원질 항체의 면역 반응의 제어로 임상적인 치료 효과를 기대할 수 있을 것이다.

대상 및 연구방법

1. 대상

동국대학교 병원 정형외과의 입원 및 외래 환자중 퇴행성 관절염 35명, 류마토이드 관절염 25명 그리고 22명의 대조군(관절증상이 없는 정형외과 환자) 등 모두 82명을 대상으로 하였다. 퇴행성 관절염군은 관절증상(동통, 부종, 변형)이 있으면서 그 관절의 방사선 검사상 퇴행성 관절염의 징후(골극형성, 관절간격감소, 골 경화 등)가 있는 환자중 다른 관절염이 없는 환자로 하였다. 류마토이드 관절염군은 1987년 American College of Rheumatology에서 정한 진단 기준에 부합되는 환자 중에서 특히 RA factor 양성인 환자를 위주로 선정하였다. 대조군은 외상등으로 진료받은 정형외과 환자중 임상적, 방사선적 및 혈청학적으로 관절염 및 기타 관절기능 장애가 전혀 없고 연령이 40세 이상인 자를 위주로 하였다.

이들의 연령 및 성별 분포를 보면 먼저 연령분포는 퇴행성 관절염군이 37세에서 82세까지(평균 63세)로 가장 높았고 반 이상이 60대 이상이었으며 80대도 4명이었다. 류마토이드 관절염군은 14세에서 69세까지(평균 41.4세)로 반 이상이 40세 미만이었다. 대조군은 24세에서 62세까지(평균 49.5세)였고

50대가 10명으로 가장 많았다. 82명 전체의 평균은 52.8세였다.

성별 분포는 퇴행성 관절염 군이 남녀비가 12:23으로 여자가 두배가량 많았고 류마토이드 관절염 군은 10:15, 대조군은 11:11이었다. 전체적으로는 남녀비가 33:49 였다.

2. 연구방법

가) 소의 연골조직으로부터 제Ⅱ형 교원질의 분리 정제

도축장에서 구한 소의 장골로부터 소의 관절부위의 연골을 채취하였다. 채취한 연골을 우선 주위 조직과 분리하여 식염수로 몇번 씻고 초저온 냉동고에 보관하였다. 이렇게 모은 연골 50g을 잘게 분쇄한 후, 300ml의 0.1% papain(Calbiochem), 20mM phosphate buffer, 3mM EDTA, 20mM cysteine, pH 7.0용액을 가하여 4℃에서 48 시간동안 처리하였다. 이 용액을 원심분리(30,000g × 30분)한 후, 침전물을 250mM NaCl, pH 7.0 용액으로 부유시키고 iodoacetic acid(Sigma)를 최종농도가 1mM이 될때까지 가하여, papain의 활성을 없앴다. 이와 같은 원심분리와 세척과정을 2회 반복하였다. 침전물을 다시 300ml의 증류수로 2회 세척하고, 200ml의 100mM acetic acid, pH 2.5 용액에 녹인 후, 1g의 pepsin을 가하였다. 이 용액을 4℃에서 24시간 동안 처리한 후, 3,000g에서 30분동안 원심분리하였다. 상청액에 NaCl을 최종농도가 5% wt/volume이 되게 가하고, 10,000g에서 30분간 원심분리를 시행하였다. 침전물을 200ml의 450mM NaCl, 20mM EDTA, pH 7.5 용액에 녹인후, NaCl을 20% wt/volume이 되게 가하여 재침전시켰다. 이 침전과정을 3회 반복하였다. 이 침전물을 100ml의 400mM NaCl, 20mM EDTA, pH 7.5에 녹인 후 5 liter의 증류수에 투석하고, 최종적으로 20mM sodium hydrogen phosphate에 투석하였다. 이 투석액을 10,000g에서 30분간 원심분리하고, 침전물을 200mM NaCl, 50mM Tris, pH 7.4에 녹였다. 이 용액을 DEAE column에 통과시켜서 얻은 용액을 10mM acetic acid에 투석한 후, 동결건조 하였다. 이러한 방법으로 2g의 우형 제Ⅱ형 교원질(bovine collagen type II)를 얻을 수 있었다.

나) 정제한 bovine collagen type II의 전기영동
정제된 bovine collagen type II의 순도(purity)를 알아보기 위하여, 6% running gel과 4% stacking gel로 이루어진 discontinuous SDS-PAGE(polyacrylamide gel electrophoresis)를 시행하였다. Polyacrylamide gel의 한 well에는 6×SDS sample buffer를 이용하여, 1×SDS sample buffer 조성으로 dilution된 정제된 type II collagen 50 μ g을 loading하고, 옆의 well에는 SDS-PAGE molecular weight marker를 loading 하였다. 일곱 시간 동안 20mA의 constant current로 전기영동을 시행한 후, gel을 분리하여 Commassie protein gel staining을 시행하였다.

SDS-PAGE 전기영동과 protein gel staining 결과, type II collagen의 protein band와 200 kD 이상의 collagen beta component 이외의 어떠한 protein band도 발견할 수 없었다(Fig. 1). 따라서 충분한 정도의 순도로 bovine type II collagen을 정제한 것으로 보고, ELISA에 사용하였다.

닭의 제 II형 교원질도 이상과 같은 과정을 통하여 추출 및 정제되었다.

다) 효소 면역 측정법(ELISA)을 이용한 혈청내 anti-type II collagen antibody의 검출

퇴행성 또는 류마티드 관절염 환자 혹은 정상군(대조군)의 혈청내 anti-type II collagen antibody의 검출을 위하여 효소 면역 측정법을 사용하였다. 항원으로는 소와 닭의 관절연골에서 추출, 정제된 제 II형 교원질(bovine and chicken collagen type II)이 쓰였고 2차 항체로는 anti-human IgG+M+A antibody, anti-human IgG, anti-human IgM이 사용되었다. 우선 microtiter plate(Danatech Immulon plate type IV)의 각 well에 10 μ g/ml bovine articular collagen 혹은 10 μ g/ml chicken type II collagen(Sigma) 50 μ 씩을 가하였다. 밤새 4°C에서 incubation한 후, collagen 용액을 제거 하였다. 이후 각 well에 100 μ 의 2% bovine serum albumin in phosphate buffered saline, pH 7.2를 가하였다. 밤새 4°C에서 incubation한 후, bovine serum albumin 용액을 제거 하였다. 각 well에 2% bovine serum albumin in phosphate buffered saline, pH

Fig. 1. SDS-PAGE of purified collagen from bovine articular cartilage. The electrophoresis was carried out at a constant current of 20mA for 7 hours on 6% polyacrylamide gel. Lane A was loaded with molecular weight standard. Lane B was loaded with purified type II collagen. Only trace amount of beta component was detected and the major band represents the collagen alpha 1(II) polypeptide. No other protein band was detected by Coomassie staining methods.

7.2로 1:1 dilution한 환자 혹은 대조군의 혈청을 50 μ 씩 가하였다. 밤새 4°C에서 incubation한 후, 혈청을 제거하였다. 각 well을 phosphate buffered saline, pH 7.2, 0.05% Tween으로 충분히 세척한 후, 각 well에 Horse Radish Peroxidase와 conjugation된 antihuman IgG antibody 혹은 anti-human IgM antibody 또는

anti-human IgG + IgM + IgA antibody를 가하고, 37°C에서 1시간 동안 incubation 하였다. 이후 위 용액을 제거하고, 각 well을 phosphate buffered saline, pH 7.2, 0.05% Tween으로 충분히 세척한 후, 50 μ l의 O-phenylene diamine을 함유하는 substrate solution을 가하였다. 충분히 발색이 된 뒤, 50 μ l의 0.5N H₂SO₄ 용액을 가하여 반응을 정지시켰다. 이후 TiterTeck의 Multiscan Plus P ELISA reader로 495nm파장의 빛에 대한 각 well의 흡광도를 측정하였다.

연구 결과

혈청내 항 제Ⅱ형 교원질 항체의 역가에 대한 판정은 각 검체의 ELISA흡광도수치를 기준으로 하였다. 2종류의 항원(bovine collagen 및 chicken collagen)에 3종류의 2차 항체(IgG, IgM, IgG+M+A)를 각각 반응시켜 6가지의 검사를 시행하였다. 이 6가지 검사의 결과로 얻어진 ELISA흡광도를 세 군(퇴행성 관절염, 류마티드 관절염, 대조군)간의 차이를 알아보기 위해 통계처리하였다. 통계는 SPSS/PC로 자료처리한 뒤 Kolmo-Smorvov 방법으로 분포상태를 알아보았으며 각 군간의 비교는 Student's t-test를 이용하였다. ELISA흡광도수치가 연령, 성별과 어떤 correlation을 갖는가를 알아보고 각 군간에 의미있는 차이가 있는지를 알아보았다. 각 군간의 차이는 대조군과 퇴행성 관절염군, 대조군과 류마티드 관절염군 그리고 퇴행성 관절염군과 류마티드 관절염군에 대해 각군간에 통계적으로 유의한 차이가 있는지를 알아보았다. 이러한 통계학적 검증을 남녀 구분없이 전체적으로 실시한 뒤 남자와 여자로 구분하여 실시하였다.

먼저 남녀 구분없이 전체 환자를 대상으로 한 퇴행성 관절염군과 대조군간의 비교에서는 bovine IgG+M+A(bovine collagen type Ⅱ를 항원으로 하고 환자 혈청과 anti-human IgG+M+A antibody를 반응시킨 경우) 검사와 chicken IgG(chicken collagen type Ⅱ를 항원으로 하여 환자 혈청과 anti-human IgG antibody를 반응시킨 경우) 검사에서 p value가 0.01이하로(Fig. 2), chicken IgG+M+A 검사에서는 p value가 0.05이하로 유의한 차이를 보였으며(Fig. 3), 다른 검사에서는 유의

한 차이가 발견되지 않았다(Table 1).

류마티드 관절염 군과 대조군 사이에서는 chicken IgG+M+A검사와(Fig. 3) chicken IgM 검사(chicken collagen type Ⅱ를 항원으로 하고 환자혈청과 anti-human IgM antibody를 반응시킨 경우)에서 p value가 0.05이하로 유의한 차이를

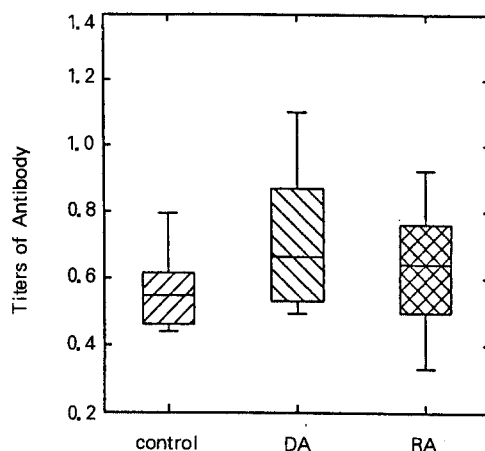


Fig. 2. DA : degenerative arthritis
RA : rheumatoid arthritis

Comparison of titers of Ig G+M+A antibody against Bovine type Ⅱ collagen among the disease groups(total).

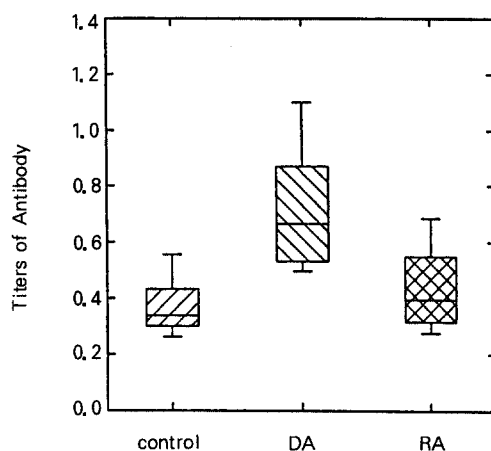


Fig. 3. DA : degenerative arthritis
RA : rheumatoid arthritis

Comparison of titers of Ig G+M+A antibody against Chicken type Ⅱ collagen among the disease groups(total).

보였으며 다른 검사에서는 유의한 차이가 없었다.

퇴행성 관절염 군과 류마티오이드 관절염 군은 6가지 검사 모두에서 통계적으로 유의한 차이를 볼 수 없었다(Table 1).

남자와 여자를 구분하여 같은 통계처리를 다시 하여 보았더니 몇가지 다른 결과를 볼 수 있었다. 남자에서는 오히려 남녀구분 없이 전체를 대상으로 한 경우보다도 통계학적으로 유의한 결과를 볼 수 없었다(Table 2). 그에 비해 여자에서는 보다 현저한 경향을 보였으며 전체 환자에서 보였던 차이는 결국

여자에서 보인 차이 때문이라고 생각되었다(Fig. 4). 특히 여자에서 chicken IgM 검사결과상 퇴행성 관절염군에 비해 류마티오이드 관절염군의 항체 역가가 p value 0.05이하로 통계적 유의성을 보이게 높았다(Fig. 5). 또한 bovine 이나 chicken 모두에서 IgG+M+A 항체 역가가 대조군보다 높았다(Table 3).

연령과 성별이 항체 II형 교원질 항체의 역가와 어떤 연관을 갖는지에 대한 correlation검사에서 대상인원을 전체로 보았을 때 아무런 유의성이 없었

Table 1. ELISA Values of Each Groups(Total)

Ag	Ab	Control (n=22)	DA (n=35)	RA (n=25)
Bov	G+M+A	0.556±0.120	0.724±0.232**	0.633±0.208
Chk	G+M+A	0.338±0.067	0.441±0.206*	0.467±0.225 *
Bov	G	0.898±0.206	1.140±0.527	1.033±0.462
Chk	G	0.464±0.199	0.828±0.561**	0.749±0.595
Bov	M	0.889±0.123	0.910±0.197	0.975±0.200
Chk	M	0.591±0.153	0.658±0.254	0.764±0.280 *

Bov : bovine Chk : chicken G:IgG M : IgM

* : p<0.05 ** : p<0.01 compared to control

Table 2. ELISA Values of Each Groups(Male)

Ag	Ab	Control (n=11)	DA (n=13)	RA (n=9)
Bov	G+M+A	0.618±0.125	0.672±0.245	0.594±0.216
Chk	G+M+A	0.338±0.081	0.407±0.235	0.374±0.118
Bov	G	0.931±0.171	1.185±0.647	0.894±0.366
Chk	G	0.506±0.263	0.849±0.730	0.592±0.349
Bov	M	0.882±0.135	0.909±0.136	0.886±0.244
Chk	M	0.566±0.181	0.685±0.259	0.623±0.219

Table 3. ELISA Values of Each Groups(Female)

Ag	Ab	Control (n=11)	DA (n=22)	RA (n=16)
Bov	G+M+A	0.500±0.089	0.754±0.224**	0.656±0.207 *
Chk	G+M+A	0.338±0.054	0.462±0.189	0.520±0.256 *
Bov	G	0.869±0.239	1.113±0.456	1.111±0.501
Chk	G	0.427±0.119	0.816±0.454*	0.838±0.692
Bov	M	0.896±0.119	0.911±0.229	1.025±0.157 *
Chk	M	0.614±0.129	0.642±0.255#	0.843±0.285 #

* : p<0.05 ** : p<0.01 compared to control

: p<0.05 RA compared to DA

다. 각군별로 나누어 조사하였을 때 대조군 및 류마 토이드 관절염 군에서는 역시 아무런 유의성을 보이지 않았다(Table 4, 6). 다만 퇴행성 관절염 군에서 연령이 높아질수록 항체의 역가가 높아지는 경향을

볼 수 있었는데 이를 다시 남녀별로 구분하였더니 여자에서는 상관관계가 없었던 데 비해 남자에서는 강한 상관관계를 보였다(Table 5).

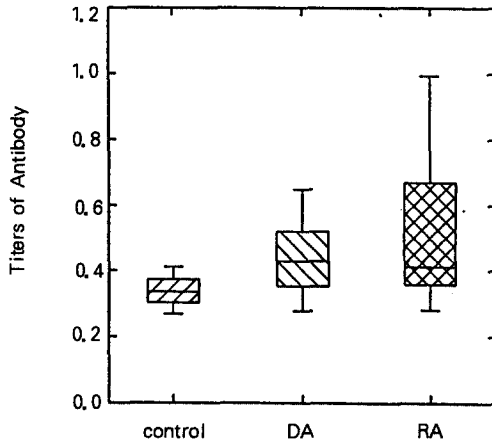


Fig. 4. DA : degenerative arthritis
RA : rheumatoid arthritis

Comparison of titers of Ig M antibody against Chicken type II collagen among the disease groups(female).

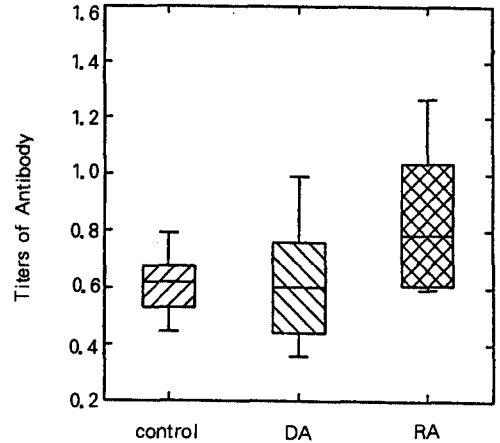


Fig. 5. DA : degenerative arthritis
RA : rheumatoid arthritis

Comparison of titers of Ig G+M+A antibody against Chicken type II collagen among the disease groups(female).

Table 4. Correlation Coefficient between Age & ELISA Value(Control)

Ag	Ab	Total	Male	Female
Bov	G+M+A	0.5041	0.4287	0.3715
Chk	G+M+A	0.3265	0.6363	0.1592
Bov	G	0.1131	0.0256	0.0653
Chk	G	0.3705	0.4787	0.2352
Bov	M	0.1849	0.6527	-0.0482
Chk	M	0.1615	0.6112	-0.0244

Table 5. Correlation Coefficient between Age & ELISA Value(DA)

Ag	Ab	Total	Male	Female
Bov	G+M+A	0.5181 **	0.8181 **	0.3715
Chk	G+M+A	0.4634 *	0.6470 *	0.3777
Bov	G	0.2351	0.6145	-0.0402
Chk	G	0.4600 *	0.6912 *	0.4427
Bov	M	0.1232	0.5328	-0.0438
Chk	M	0.0942	0.6062	-0.1594

* : $p < 0.05$

** : $p < 0.01$

Table 6. Correlation Coefficient between Age & ELISA Value(RA)

Ag	Ab	Total	Male	Female
Bov	G+M+A	0.2184	0.3185	0.0796
Chk	G+M+A	0.2556	0.5322	0.1062
Bov	G	0.1245	0.2157	-0.0104
Chk	G	0.3240	0.5714	0.2327
Bov	M	0.1251	-0.6527	0.4579
Chk	M	0.1852	-0.2298	0.0244

고 찰

교원질(collagen)은 인체의 결합조직의 기본이 되는 가장 중요한 단백질로 13종류 이상의 교원질이 규명되어 있다. 교원질은 아미노산 배열이 Gly-X-Y로 구성되는 polypeptide chain(α -chain) 세 개가 꼬인 triple helix 구조를 통해 결합조직으로서의 특유의 강도를 갖게 된다. 13종의 교원질 중 제Ⅱ형 교원질은 연골구성에 있어서의 가장 중요한 교원질이다⁴⁹⁾.

인체에서 연골로 구성된 기관으로는 관절연골이 가장 많고 그외에 호흡기관, 청각기관등에 분포되어 있다. 따라서 이 기관들의 병리의 이해에 있어서 제Ⅱ형 교원질의 비중이 매우 클 것이며 교원질의 병적 변화의 이해에 있어서 교원질을 항원으로 생겨나는 항체, 특히 자가 항체에 대한 이해가 중요할 것이다. 임상적인 측면에서 볼 때 각종 연골질환으로 고통받는 환자의 비중이 매우 크며 이에 대한 보다 발전된 이해와 치료방법의 모색이 필요할 것이다. 이 비인후과 영역에서는 Ishibe와 Yoo²¹⁾(1990)가 원숭이의 내이에 제Ⅱ형 교원질이 많이 분포되어 있음을 보고하였고, Joliat²⁴⁾(1992)은 Meniere씨 병 등 내이의 질환에 있어서 항 제Ⅱ형 교원질 항체의 증가를 관찰하였다. 정형외과 영역에서는 각종 관절염으로 고통받는 환자들의 수가 매우 많으며 대부분 장기적인 치료를 요하는 환자들이다. 또한 류마티드 관절염은 자가면역에 의한 병태생리가 많이 밝혀지고 있으므로 항 교원질 항체에 대한 이해가 더욱 중요하다 하겠다.

1977년 Trentham⁴⁴⁾에 의해 쥐에 제Ⅱ형 교원질을 투여함으로써 발생한 관절염이 보고된 이래 여

러 저자에 의해 여러 다른 동물에서 교원질 유발 관절염(collagen-induced arthritis; CIA)에 대한 연구가 이뤄져왔다²⁰⁾. 국내에서도 박과 김¹⁾(1990)이 쥐에 유발시킨 CIA에 대해 보고한 바 있다. 이 CIA는 임상적 및 조직병리학적으로 인체의 류마티드 관절염과 유사한 소견을 보이며 이 관절염에 이환된 동물의 혈청에서 항 제Ⅱ형 교원질 항체(anti-typeⅡ collagen antibody)가 증가됨으로 인해 인간의 류마티드 관절염에 대한 이해에 있어서 매우 유용한 의미를 갖는다. Brahn⁶⁾(1991)의 예를 보면 제Ⅱ형 교원질을 rat에게 파내주사하고 난뒤 10-16일 사이에 심한 관절염이 발생되어 erosion 및 ankylosis에 이르게 되며 이때 anti-typeⅡ collagen antibody가 혈청내에서 나타난다. 그는 이 관절염이 T-lymphocyte에 의해 매개된다고 하였고 이 과정에서 HSP(heat shock protein)이 관련되어 있다고 하였다. 이런 경우는 제Ⅱ형 교원질 투여에 의한 관절염(능동면역)의 예인데 반해 Wooley⁴⁷⁾(1984)은 RA factor음성이면서 항 제Ⅱ형 교원질 항체의 역가가 높은 환자로부터 얻은 IgG를 쥐에 정맥주사 또는 슬관절내 주입하여 일시적인 관절염이 유발되는 수동 면역현상을 보고하였다.

인체의 질환의 치료를 위해 동물의 교원질을 투여하는 경우들이 늘고 있으나 이로 인해 발생한 관절염에 대한 보고는 볼 수 없었다. Aragona²⁾(1991)는 방광-요도 역류의 치료에 이용되고 있는 교원질 주사(injectable bovine collagen)를 투여한 환자에서 이에 대한 항체 역가가 높아짐을 관찰하였으며 관절염등의 부작용이 초래될 수 있을 것이라고 경고하였고, Schnitzler³⁹⁾(1991)도 교원질 주사가 여러 질환의 치료에 광범위하게 사용됨에 대해 면역성에 대해 유의하여 사용할 것을 권장하였다.

최근 들어 교원질에 의해 유발된 관절염(CIA)의

치료 또는 예방에 관한 여러 형태의 실험이 이뤄지고 있다^{8, 25, 34, 38, 46}. Hayashi등¹⁹ (1991)은 buclamine의 효과에 대해, Nagai등³¹ (1992)은 zinc protoporphyrin disodium (Zn-PP-2Na)을 이용하여 CIA가 억제됨을 보고하였다. Gu등¹⁸ (1992)은 중국산 약초의 일종인 Tripterygium wilfordii Hook f.가 CIA에서 임상적으로는 물론 항체역가의 감소면에서도 효과적인 결과를 얻었다고 하였다.

Cannon등¹⁰ (1990)은 CIA에 있어서 면역억제제인 cyclosporin과 cyclophosphamide가 예방적 효과가 있고 치료에 있어서는 이 제재들 뿐 아니라 methotrexate도 효과를 보인다고 하였다. Brahn등⁷ (1991)은 cyclosporin과 methotrexate의 복합 투여로 CIA가 강력히 억제된다고 하였다.

Nordling등³² (1991)은 CIA유발 실험에서 교원질 투여 직후에 anti-idiotypic antibody를 투여함으로써 CIA를 현저하게 억제할 수 있다고 하였으며 이 방법이 항체 역가에는 별 영향을 미치지 않았다고 보고하였다. Kobayshi등²⁷ (1991)도 monoclonal antibody를 이용하여 비슷한 결과를 얻었음을 보고하였다.

항 제Ⅱ형 교원질 항체가 관절염과 어떤 관련성을 갖는지에 대해서는 아직 많은 연구가 진행중이며 정확한 기전이 밝혀지진 못하고 있다. Jasin등²³ (1993)은 항 제Ⅱ형 교원질 항체가 토끼의 정상 관절 연골보다는 손상된 연골에 현저하게 결합됨을 관찰하고 정상 관절연골의 표면에는 이 항체로부터 연골을 보호하는 물질이 있을 것이라고 가정하였으며 이 물질이 관절염의 초기에 중요한 역할을 할 것이라고 하였다.

류마토이드 관절염 환자를 대상으로 혈청이나 활액 내의 항 제Ⅱ형 교원질 항체를 검사하는 연구는 비교적 활발히 진행되어 왔다. Menzel등²⁸ (1975)은 류마토이드 관절염 환자의 활액내에 항 교원질 항체가 높게 측정됨을 보고하였으며 collagenase의 투여로 항체의 역가가 더욱 높아짐을 보고하였다. Clague등¹⁴ (1980)은 류마토이드 관절염 환자의 40%, 강직성 척추염 환자의 32%에서 제Ⅱ형 교원질 항체가 양성이었으며 양성 여부와 임상적인 척도들 (ESR, RA factor 등)과는 무관하였다고 하였다. Steffen등⁴⁰ (1980)은 연소기 류마토이드 관절염 환자의 31.8%에서 항 제Ⅱ형 교원질 항체가 양성이었

다고 보고하였는데 같은 환자군에서 RA factor는 latex test로 6.8%였다. Banerjee등⁵ (1988)은 류마토이드 관절염의 29%에서 양성이었다고 하였는데 증상의 정도 또는 치료의 효과와는 무관하였다. Beard등⁴ (1980)은 면역형광법을 이용한 검사에서 류마토이드 관절염의 3.3%가 양성이라 하였는데 이러한 차이들이 있는 이유는 각 검사 방법, 항원 및 항체의 종류, 양성반응의 기준점이 다른 때문으로 생각되었다. Clague등¹¹ (1983)은 류마토이드 관절염 환자의 혈청내 항 제Ⅱ형 교원질 항체의 측정의 여러 방법을 적용한뒤 그중 radiimmunoassay가 가장 민감한 방법이라고 하였으며 항원으로는 열처리된 교원질 (heat-denatured native collagen)이 사용되었을때 항체의 역가가 높았다 하였다. 이들은 또한 항원의 종(어떤 동물의 collagen을 항원으로 하였는지)에 따른 차이는 없었고 항체의 유무와 임상증상과는 관련이 없다고 하였다. Fujii등¹⁷ (1992)은 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)를 이용한 검사에서 480명의 류마토이드 환자중 22.7%에서 항 제Ⅱ형 교원질 항체가 양성이라고 하였고 이 항체가 퇴행성 관절염 등에서는 양성으로 나타나지 않으므로 진단적 가치가 있고 RA factor보다 먼저 나타나므로 특히 관절염 초기와 단일 관절 침범시에 의미가 있다고 하였다.

항 제Ⅱ형 교원질 항체가 류마토이드 관절염에만 특징적으로 반응하는 자가항체이며 따라서 이 질환의 발생 및 진행의 중요한 요소인지 아니면 일반적인 연골침범에 대한 반응으로 생성된 이차적인 항체인지에 대해서는 이견이 많았다. Clague등¹³ (1981)은 류마토이드 관절염과 다른 만성 관절염들 사이에서 IgG 및 IgM항체의 연관성에 대해 알아본 결과 류마토이드 관절염에서 두가지 다 의미있게 높았으며 특히 IgM이 다른 만성관절염들과 비교시 양성율이 높았는데 이는 본 연구에서도 류마토이드 관절염 환자의 IgM 항체의 역가가 대조군은 물론 퇴행성 관절염과 유의한 차이를 보인 것과도 일맥상통하였다. 그러나 대부분의 연구들에서 면역 글로불린의 종류를 나누지 않고 항체 양성여부를 정하였기 때문에 IgM 항체가 류마토이드 관절염과 특별한 관계가 있는지, 어떤 관계인지는 앞으로 더 많은 연구를 통해 규명되어야 할 것으로 보인다.

Mottonen등³⁰ (1988)은 나중에 류마토이드 관절

염이 발병된 환자의 발병전 혈청 항 제Ⅱ형 교원질 항체의 역가는 정상군과 차이가 없었다고 하였는데 이는 이 항체가 류마티스 관절염의 일차적 원인으로 보기는 어렵다는 견해를 뒷받침하고 있다. Bari 등³⁾(1989)은 류마티스, 퇴행성 및 감염성 관절염을 앓는 개들의 혈청 항 제Ⅱ형 교원질 항체의 양성율이 각각 72.4%, 52%, 88%였고 collagenase에 의한 항체 역가의 상승을 종합하여 이 항체가 관절염의 원인이기보다는 관절 연골의 파괴에 따른 결과 일 것이라고 주장하였다. Morgan 등²⁹⁾(1933)은 발병 12개월 이내의 초기 류마티스 관절환자들의 혈청 내 항 제Ⅱ형 교원질 항체의 역가가 정상범위의 상한선에 든다고 하였는데 이는 주로 IgM 항체들이었다. 진행된 류마티스 관절염에서 항체의 역가가 높은 것을 볼 때 이 항체는 관절염의 일차적 원인이 아니라 이차적인 산물로 생각된다고 하였다. Klarreskog 등²⁶⁾(1986)은 류마티스 관절염과 퇴행성 관절염 환자의 연골 및 관절조직에 대한 면역조직화학 검사에서 정상인과는 달리 두 관절염 모두 제Ⅱ형 교원질 항체에 염색이 됨을 보고하였다.

항 제Ⅱ형 교원질 항체가 류마티스 관절염의 발병원인은 아니라 해도 면역반응에 참여함으로써 관절염의 진행 내지 악화에 있어서 중요한 역할을 가질 것이라는 견해는 일반적으로 받아들여지는 듯하다. Clague와 Moore¹²⁾(1984)는 류마티스 관절염 환자의 혈청과 활액 내의 IgG 및 IgM 항 제Ⅱ형 교원질 항체를 검사하여 혈청 수치와 활액내 수치의 연관이 있다고 하였고 collagenase의 투여시 활액내 항체 역가가 상승함이 활액내에 항원-항체 복합체가 있음을 의미한다고 하였다. Rowley 등³⁶⁾(1986)은 류마티스 관절염 환자에서, 변성된 제Ⅱ형 교원질(denatured collagen type Ⅱ)에 대한 항체반응이 현저히 높았으며 변성되지 않은 자연상태의 교원질(native collagen)에 대해서는 정상인과 별 차이가 없었다는 관찰을 통해 denatured collagen이 류마티스 관절염의 면역매개 진행(immune-mediated perpetuation)의 중요한 이차적 반응물질(reactant)이라는 추측을 뒷받침한다고 하였다. Tarkowski 등⁴³⁾(1989)은 활액막의 제Ⅱ형 교원질 항체 분비 세포에 관한 연구에서 혈청내 항교원질 항체의 역가와 관절내 항 교원질 항체의 생산과는 별 관계가 없으며 따라서 류마티스 관절염 환자의 관절내

에는 교원질에 반응하는 T-cell이 있다고 하였다. 반면 Rowley 등³⁷⁾(1987)은 류마티스 관절염 환자의 활액과 혈청에 대해 동시에 항 제Ⅱ형 교원질 항체의 역가를 조사한 결과 활액내에서 더 높게 측정됨을 통해 활액에서 이 항체를 생산한다는 것과 이 항체에 의해 류마티스 관절염이 더 악화될 수 있을 것이라고 주장하였다.

항 제Ⅱ형 교원질 항체가 관절파괴 과정에 간여하는 기전에 대해 Jasin과 Taurog²²⁾(1991)는 항 제Ⅱ형 교원질 항체에 의한 관절 연골의 파괴에 있어서 다핵 중성구에서 분비되는 neutrophil elastase의 역할이 중요하다고 하였다. Takagi와 Jasin^{41,42)}(1992)은 항 제Ⅱ형 교원질 항체와의 반응으로 연골세포 효소(chondrocyte caseinase 등)가 증가됨을 관찰한 뒤 이 항체가 연골세포와의 상호작용을 통해 관절의 파괴효과를 초래한다고 하였다.

Ronnelid 등³⁵⁾(1994)은 류마티스 관절염 환자의 활액막에서 ELISPOT 방법을 이용하여 제Ⅱ형 교원질에 반응하는 세포를 관찰하였다. 이 세포들은 환자의 약 50%에서 관찰되었으며 임상적인 척도들과는 무관하였다. 이들은 교원질에 대한 자가면역이 류마티스 관절염의 병인일 것이라고 추정하였다. 연령이 높을수록 양성율이 높았는데 이는 대부분의 자가항체들이 연령이 높을수록 많이 나타나는 것과 일치하였다. 본 연구에서도 퇴행성 관절염 군에서는 연령이 높을수록 항체의 역가가 높았는데 연령 자체의 영향과 연령이 높을수록 관절파괴가 심할 것이라는 두 요소가 같이 관련된 것으로 생각된다.

항 제Ⅱ형 교원질 항체에 관한 최근의 연구 방향은 항원성에 대한 규명과 이와 관련된 유전자적 분석이라 하겠다. Burkhardt 등⁹⁾(1991)은 교원질의 어떤 부분이 항원성을 갖는 부분(epitope)인지를 찾는 연구에서 CNBr-fragment 11을 이용한 결과 항원성을 갖는 부분의 아미노산 배열을 밝혔다고 하였는데 이 부분이 65-kDa mycobacterial protein, CMV 등 관절염을 유발하는 다른 단백질과 유사함을 보고하였다. 이는 Brahn⁶⁾(1991)이 고찰한 바대로 CIA와 유사하게 동물에서 mycobacterium이나 streptococcal cell wall의 단백질이 관절염을 일으키는 것과 유관하게 보이며 이러한 항원성에 관한 연구가 앞으로 관절염의 이해 및 치료에 있어 중요한 의미를 지닐 것으로 보인다. Dybwad 등¹⁶⁾

(1993)은 nanopeptide phage library를 이용한 분석에서 류마티드 관절염 환자의 면역 글로불린 중 peptide 1의 Gly-Gly-Ala 배열의 아미노산이 면역결합에 있어서 매우 중요하다고 하였다.

본 연구에서는 ELISA를 이용하여 세 집단(퇴행성 관절염, 류마티드 관절염, 대조군)의 제Ⅱ형 교원질항체의 역가의 차이를 t-test로, 즉 각 집단의 평균 \pm 표준편차를 이용하여 비교하였다. 각 군의 연령이 차이가 나는 것은 각 질환 자체에 특성에 의한 것이므로 통일이 불가능하였다. 통계학적으로는 전 대상인원(82명), 대조군, 류마티드 관절염군에서 연령에 의한 영향은 없는 것으로 나왔다. 다만 퇴행성 관절염군에서 연령이 높을수록 항체 역가가 높아지는 경향을 볼 수 있었는데 여자보다는 남자에서 현저하였으며 연령이 높을수록 대체로 관절염이 심하기 때문으로 생각되었다.

Bovine 및 chicken IgG+M+A 검사와 chicken IgG 검사에서 대조군과 퇴행성 관절염군 사이에서 유의한 차이가 보였으며 류마티드 관절염군도 chicken IgG+M+A 검사에서 유의한 차이를 보였다(Fig. 2). 이는 관절염의 종류에 무관하게 관절병변에 의해 관절연골이 파괴되고 이 파괴된 관절연골(제Ⅱ형 교원질)에 대해 이차적으로 항체가 생성되었다는 추측을 가능하게 하며 특히 IgG 항체가 이와 관련되어 보였다. Chicken IgG 검사에서는 대조군과 퇴행성 관절염군 사이에서, chicken IgM 검사에서는 대조군과 류마티드 관절염군 사이에서 유의한 차이를 보였는데 이를 볼 때 류마티드 관절염에서 의미있는 항 제Ⅱ형 교원질 항체는 IgM일 것이라 생각되었다. Clague등¹³⁾(1981)의 연구에서 류마티드 관절염 환자에서 다른 만성 관절염에 비해 특히 IgM 항체가 의미 있었다는 것과 Morgan 등²⁹⁾(1993)이 초기 류마티드 관절염 환자에서 주로 IgM 항체의 역가가 증가됨을 보고한 것은 모두 이를 뒷받침하고 있다. Xu등⁴⁸⁾(1994)은 류마티드 관절염 환자의 혈청과 활액내에서 저분자량 IgM(low molecular weight IgM)이 현저히 증가됨을 관찰하였고 그 원인으로 정상형태의 IgM pentamer 구성의 내재적 결합을 지목하였다. 류마티드 관절염에 있어서의 항 교원질 항체에 대한 연구는 IgM 항체를 중심으로 이뤄져야 할 것으로 생각되었다.

여자 환자만을 따로 비교하였을 때 류마티드 관절염군의 항체 역가가 보다 의미있어지는 것도 특별한 점이었다. 특히 chicken IgM 검사에서는 퇴행성 관절염 군과도 통계적 유의성이 보였다. 그 원인에 대해서는 성 호르몬의 영향, 유전자적인 영향 등이 관련될 것으로 생각된다. 최근들어 DiSanto등¹⁵⁾(1993)과 Padayachee등³³⁾(1993)은 hyperimmunoglobulinemia M(HIGM1)에서 IgG의 감소에 의한 면역결핍과 IgM의 과다생성이 X염색체(Xq26)의 유전자적인 결함 때문이라고 보고하여 IgM의 생성 또는 대사가 X염색체와 밀접한 관계가 있을 것으로 시사하였다. 앞으로 이런 부분도 관심 있게 살펴보고 연구해야 할 것으로 보인다. 본 연구에서는 류마티드 관절염은 여자에서, 퇴행성 관절염은 남자에서 특징적인 경향을 보였다.

항원(제Ⅱ형 교원질)이 소의 연골이거나 닭의 연골이거나 하는 것은 검사 결과에 큰 영향은 없었던 것으로 보이나 류마티드 관절염 군에서 비교적 chicken 항원 검사에서 일관된 반응을 보이는 인상을 받았다.

이상의 결과를 임상적으로 응용한다면 기질적인 관절병변의 유무를 알기 위해서는 전반적인 항 제Ⅱ형 교원질 항체의 역가가 중요하고, 류마티드 관절염을 가려내는데는 IgM항체의 역가를 기준으로 삼을 수 있을 것이며 특히 여자 환자에서 유용할 것으로 보인다.

앞으로의 연구 과제로는 항 제Ⅱ형 항체의 역가가 관절염외의 관절이상(외상후 강직 등)과도 유관한지를 밝히고, 성별에 따라 다른 양상을 보이는 이유에 대한 연구도 중요할 것으로 보인다. 최근 들어 항 제Ⅱ형 교원질 항체에 대해 유전자적 측면에서의 연구들이 진행 중이며 이를 통해 제Ⅱ형 교원질중 무엇이 항원성을 갖는 부분(epitope)인지가 밝혀질 것으로 기대된다. 마지막으로 항 제Ⅱ형 교원질 항체 역가의 측정이 보통 임상 검사실에서 쉽게 가능하도록 실용화되게 하는 것이 중요한 과제라 하겠다.

요약 및 결론

퇴행성 관절염 및 류마티드 관절염 환자에서 항 제Ⅱ형 교원질 항체의 역가가 어떠한 변화를 보이는지 알기 위해 35명의 퇴행성 관절염, 25명의 류마티

이드 관절염 및 22명의 정상인(대조군)을 대상으로 하여 ELISA를 이용하여 혈청내 항 제Ⅱ형 항체의 역가를 측정하였다. IgG, IgM, IgG+M+A에 대해 각각 따로 역가를 측정하였으며 퇴행성 관절염군, 류마티드 관절염군 및 대조군 사이에 항 제Ⅱ형 교원질 항체 역가를 Student's t-test를 이용, 통계적 유의성을 검증하였다.

1. 퇴행성 관절염군은 대조군에 비해 IgG, IgG+M+A의 항체의 역가가 유의하게 높았다.

2. 류마티드 관절염군과 퇴행성 관절염 군 사이에서는 유의한 차이를 볼 수 없었지만 여자만 따로 놓고 보았을 때 퇴행성 관절염 군에 비해 류마티드 관절염 군에서 IgM 항체의 역가가 유의하게 높았다.

3. 류마티드 관절염 군은 대조군에 비해 IgM 항체 역가의 유의한 증가를 보였다.

이상의 결과에서 항 제Ⅱ형 교원질 항체(주로 IgG 성분)는 관절염의 유형과는 무관하게 관절염쪽에 병변이 있는 경우 이차적으로 증가하는 것으로 생각되었다. 또한 류마티드 관절염에서는 IgM 항체가 의미있게 증가되는 것으로 생각되었고 특히 여자 환자에서 의미가 있다고 보였다.

항 제Ⅱ형 교원질 항체의 역가는 관절염의 유무, 류마티드 관절염의 구별에 있어 하나의 유용한 진단 수단이 될 수 있을 것으로 보이며 류마티드 관절염과 항 제Ⅱ형 교원질 항체에 관한 앞으로의 연구에 있어서 IgM 항체의 중요성이 강조될 수 있을 것으로 보였다.

REFERENCES

- 1) 박동준, 김동집 : 흰 쥐에서 type Ⅱ collagen으로 유발된 관절염의 임상 양상 및 면역반응. *가톨릭대학의학부논문집*, 43-2:451-468, 1990.
- 2) Aragona F : Is bovine collagen safe? *J. Urol*, Paris, 97:279-281, 1991.
- 3) Bari AS, Carter SD, Bell SC, Morgan K and Bennett D : Anti-type Ⅱ collagen antibody in naturally occurring canine joint diseases. *Br. J. Rheumatol*, 28:480-486, 1989.
- 4) Beard HK, Ryvar R, Skingle J and Greenbury CL : Anti-collagen antibodies in sera from rheumatoid arthritis patients. *J. Clin. Pathol*, 33:1077-1081, 1980.
- 5) Banerjee S, Luthra HS, Moore SB and O'Fallon WM : Serum IgG anti-native type Ⅱ collagen antibodies in rheumatoid arthritis: association with HLA DR4 and lack of clinical correlation. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 6:373-380, 1988.
- 6) Brahn, E : Animal models of rheumatoid arthritis, clues to etiology and treatment. *Clin. Orthop*, 265: 42-53, 1991.
- 7) Brahn E, Peacock DJ and Banquerigo ML : Suppression of collagen-induced arthritis by combination cyclosporin A and methotrexate therapy. *Arthritis-Rheum*, 34:1282-1288, 1991.
- 8) Breban M, Fournier C, Gougerot-Pocidallo MA, Muffat-Joly M and Pocidallo JJ : Protective effects of ciprofloxacin against type Ⅱ collagen induced arthritis in rats. *J. Rheumatol*, 19:216-222, 1992.
- 9) Burkhardt H, Holmdahl R, Deutzmann R, Wiedmann H, von der Mark H, Goodman S and von der Mark K : Identification of a major antigenic epitope on CNBr-fragment 11 of type Ⅱ collagen recognized by murine autoreactive B cells. *Eur. J. Immunol*, 21:49-54, 1991.
- 10) Cannon GW, McCall S, Cole BC, Griffiths MM, Radov LA and Ward JR : Effects of indomethacin, cyclosporin, cyclophosphamide and placebo on collage-induced arthritis of mice. *Agents-Actions*, 29:315-323, 1990.
- 11) Clague RB, Firth SA, Holt PJ, Skingle J, Greenbury CL and Webley M : Serum antibodies to type Ⅱ collagen in rheumatoid arthritis: comparison of 6 immunological methods and clinical features. *Ann. Rheum. Dis.*, 42:537-544, 1983.
- 12) Clague RB and Moore LJ : IgG and IgM antibody to native type Ⅱ collagen in rheumatoid arthritis serum and synovial fluid. Evidence for the presence of collagen-anticollagen immune complexes in synovial fluid. *Arthritis Rheum*, 27:1370-1377, 1984.
- 13) Clague RB, Shaw MJ and Holt PJ : Incidence and correlation between serum IgG and IgM antibodies to native type Ⅱ collagen in patients with chronic inflammatory arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 40:6-10, 1981.
- 14) Clague RB, Shaw MJ and Holt PJ : Incidence of serum antibodies to native type Ⅰ and type Ⅱ collagens in patients with inflammatory arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 39:201-206, 1980.
- 15) DiSanto JP, Bennetfoy JY, Gauchat JF, Fischer A and De Saint Basile G : CD40 ligand mutations in

- X-linked immunodeficiency with hyper-IgM. *Nature*, 361:541-543, 1993.
- 16) **Dybwad A, Forre O, Kjeldsen-Kragh J, Natvig JB and Sloud M** : Identification of new B cell epitopes in the sera of rheumatoid arthritis patients using a random nanopeptide phage library. *Eur. J. Immunol.*, 23-12:3189-3193, 1993.
 - 17) **Fujii K, Tsuji M, Kitamura A and Murota K** : The diagnostic significance of anti-type II collagen antibody assay in rheumatoid arthritis. *Int. Orthop.*, 16:272-276, 1992.
 - 18) **Gu WZ, Brandwein SR and Banerjee S** : Inhibition of type II collagen induced arthritis in mice by an immunosuppressive extract of *Tripterygium wilfordii* Hook f. *J. Rheumatol.*, 19: 682-688, 1992.
 - 19) **Hayashi M, Matsunaga K, Okahara A and Mita S** : Effect of bucillamine(SA96) on type II collagen-induced arthritis in rats. *J. Rheumatol.*, 18:691-695, 1991.
 - 20) **Holmdahl R, Andersson M, Goldschmidt TJ, Gustaffson K, Jansson L and Mo JA** : Type II collagen autoimmunity in animals and provocations leading to arthritis. *Immun. Rev.*, 118:193-232, 1990.
 - 21) **Ishibe T and Yoo TJ** : Type II collagen distribution in the monkey ear. *Am. J. Otol.*, 11:33-38, 1990.
 - 22) **Jasin HE and Taurog JD** : Mechanism of disruption of the articular cartilage surface in inflammation. Neutrophil elastase increases availability of collagen type II epitopes for binding with antibody on the surface of articular cartilage. *J. Clin. Invest.*, 87:1531-1536, 1991.
 - 23) **Jasin HE, Noyori K, Takagi T and Taurog JD** : Characteristics of anti-type II collagen antibody to articular cartilage. *Arthritis-Rheum.*, 36:651-659, 1993.
 - 24) **Joliat T, Seyer J, Bernstein J, Krug M, Ye XJ, Cho JS, Fujiyoshi T and Yoo TJ** : Antibodies against a 30 kilodalton cochlear protein and type II and IX collagens in the serum of patients with inner ear diseases. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 101:100-1006, 1992.
 - 25) **Kamiya M, Sohen S, Yamane T and Tanaka S** : Effective treatment of mice with type II collagen induced arthritis with lethal irradiation and bone marrow transplantation. *J. Rheumatol.*, 20:225-230, 1993.
 - 26) **Klareskog L, Johnell O, Hulth A, Holmdahl R and Rubin K** : Reactivity of monoclonal anti-type II collagen antibodies with cartilage and synovial tissue in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Arthritis Rheum.*, 29:730-738, 1986.
 - 27) **Kobayashi S, Terato K, Harata Y, Moriya H and Taniguchi M** : Suppression of type II collagen-induced arthritis by monoclonal antibodies. *Arthritis-Rheumatol.*, 34:48-54, 1991.
 - 28) **Menzel J, Steffen C, Kolarz G, Eberal G, Frank O and Thumb N** : Demonstration of antibodies to collagen and of collagen-anticollagen immune complexes in rheumatoid arthritis synovial fluids. *Ann. Rheum. dis.*, 35:446-450, 1975.
 - 29) **Morgan K, Clague RB, Reynolds I and Davis M** : Antibodies to type II collagen in early rheumatoid arthritis. *Br. J. Rheumatol.*, 32:333-335, 1993.
 - 30) **Mottonen T, Hannonen P, Oka M, Rautiainen J, Joikinen I, Arvilommi H, Palusuo T and Aho K** : Antibodies against native type II collagen do not precede the clinical onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 31:776-779, 1988.
 - 31) **Nagai H, Kitagaki K, Kuwabara K and Koda A** : Anti-inflammatory properties of zinc protoporphyrin disodium(Zn-PP-2Na). *Agents-Actions.*, 37:273-2283, 1992.
 - 32) **Nordling C, Holmdahl R and Klareskog L** : Down-regulation of collagen arthritis after in vivo treatment with a syngeneic monoclonal anti-idiotypic antibody to a cross-reactive idiotope on collagen II auto-antibodies. *Immunology.*, 72:486-490, 1991.
 - 33) **Padayachee M, Levinsky RJ, Kinnon C, Finn A, McKeown C, Feighery C, Notrangelo LD, Hendrick RW, Read AP and Malcolm S** : Mapping of the X linked form of hyper IgM syndrome (HIGM1). *J. Med. Genet.*, 30-3:202-205, 1993.
 - 34) **Rahman J, Loh J and Saines NA** : Low-affinity antibodies against collagen type II produced by lymph node cells are associated with pathology in collagen-induced arthritis in rats. *Clin. Exp. Immunol.*, 88:461-466, 1992.
 - 35) **Ronneld J, Lysholm J, Engstrom-Laurent A, Klareskog L and Heyman B** : Local anti-type II collagen antibody production in rheumatoid arthritis synovial fluid. Evidence for an HLA-DR4-restricted IgG response. *Arthritis Rheum.*, 37:1023-1029, 1994.
 - 36) **Rowley M, Tait B, Mackay IR, Cunningham T**

- and Phillips B** : Collagen antibodies in rheumatoid arthritis. Significance of antibodies to denatured collagen and their association with HLA-DR4. *Arthritis Rheum.*, 29:174-184, 1986.
- 37) **Rowley MJ, Williamson DJ and Mackay IR** : Evidence for local synthesis of antibodies to denatured collagen in the synovium in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 30:1420-1425, 1987.
- 38) **Seki N, Sudo Y, Mizuhara H, Orito K, Imasaki A, Ono S, Hamaoka T, Senoh H and Fujiwara H** : Type II collagen-induced murine arthritis : Induction of arthritis depends on antigen-presenting cell function as well as susceptibility of host to an anticollagen immune response. *J. Immunol.*, 148:3093-3099, 1992.
- 39) **Schnitzler L** : The injectable collagens. Technique of implantation, indications, limits. *Rev. Fr. Gynecol. Obstet.*, 86:469-473, 1991.
- 40) **Steffen C, Sanger L and Menzel J** : Demonstration of antibodies to denatured type I and type II collagen in juvenile rheumatoid arthritis, Still's syndrome and controls by [14C] collagen radioimmunoassay. *Scand. J. Rheumatol.*, 9:69-76, 1980.
- 41) **Takagi T and Jasin HE** : Interactions between anticollagen antibodies and chondrocytes. *Arthritis-Rheum*, 35:224-230, 1992.
- 42) **Takagi T and Jasin HE** : Interactions of synovial fluid immunoglobulins with chondrocytes. *Arthritis Rheum*, 35:1502-1509, 1992.
- 43) **Tarkowski A, Klareskog L, Carlsten H, Herberts P and Koopman WJ** : Secretion of antibodies to types I and II collagen by synovial tissue cells in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 32:1087-1092, 1989.
- 44) **Trentham DE, Townes AS and Kang AH** : Autoimmunity to type II collagen : an experimental model of arthritis. *J. Exp. Med.*, 146:857-868, 1977.
- 45) **Vuorio E and Crombrughe B** : The family of collagen genes. *Annu. Rev. Biochem.*, 59:837-872, 1990.
- 46) **Williams RO, Feldmann M and Maini RN** : Antitumor necrosis factor ameliorates joint disease in murine collagen-induced arthritis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 89:9784-9788, 1992.
- 47) **Wooley PH, Luthra HS, Singh SK, Huse AR, Stuart JM and Davis CS** : Passive transfer of arthritis to mice by injection of human anti-type II collagen antibody. *May o Clinic Proc*, 59:737-743, 1984.
- 48) **Xu H, Geddes R and Roberts-Thompson PJ** : Low molecular weight IgM and CD5 B lymphocytes in rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis*, 53:383-390, 1994.