

발 간 등 록 번 호

안내서-0123-02

건강기능식품 기능성 평가 가이드 (민원인 안내서)

뼈 건강 관련, 관절 건강 관련

2020. 9.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

지침서·안내서 제·개정 점검표

명칭

건강기능식품 기능성 평가 가이드
(뼈 건강 관련, 관절 건강 관련)

아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.

등록대상 여부	☐ 이미 등록된 지침서·안내서 중 동일·유사한 내용의 지침서·안내서가 있습니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 기존의 지침서·안내서의 개정을 우선적으로 고려하시기 바랍니다. 그럼에도 불구하고 동 지침서·안내서의 제정이 필요한 경우 그 사유를 아래에 기재해 주시기 바랍니다. (사유 :)	
	☐ 법령(법·시행령·시행규칙) 또는 행정규칙(고시·훈령·예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 1년 이내 한시적 적용 또는 일회성 지시·명령에 해당하는 내용입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 외국 규정을 번역하거나 설명하는 내용입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
☞ 상기 사항 중 어느 하나라도 '예'에 해당되는 경우에 지침서·안내서 등록 대상이 아닙니다. 지침서·안내서 제·개정 절차를 적용하실 필요는 없습니다.		
지침서·안내서 구분	☐ 내부적으로 행정사무의 통일을 기하기 위하여 반복적으로 행정사무의 세부기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)	☐ 예(☞지침서) ☒ 아니오
	☐ 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용)	☒ 예(☞안내서) ☐ 아니오
기타 확인 사항	☐ 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설·강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침서·안내서 제·개정 절차를 진행하시기 바랍니다.	
상기 사항에 대하여 확인하였음. 2020년 9 월 일 담당자 확 인(부서장) 이 혜 영		

이 안내서는 건강기능식품 기능성 원료 평가에 대하여 이해를 돕고자, 현재의 과학기술 수준에서 일반적인 사항과 시험방법 등이 제시된 참고자료이며, 질병에 관련된 내용이 포함되는 경우 기능성에 대한 전반적인 이해를 돕기 위한 것이지, 질병의 치료 및 예방을 목적으로 기능성을 설명하는 것은 아닙니다.

본 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술방식('~하여야 한다' 등)에도 불구하고 민원인 여러분께서 반드시 준수하셔야 하는 사항이 아님을 알려드립니다. 또한, 본 안내서는 2020년 9월 현재의 과학적·기술적 사실 및 유효한 법규를 토대로 작성되었으므로 이후 최신 개정 법규 내용 및 구체적인 사실관계 등에 따라 달리 적용될 수 있음을 알려드립니다.

※ "민원인 안내서"란 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것(식품의약품안전처 지침서등의 관리에 관한 규정 제2조)

※ 본 안내서에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전평가원 식품위해평가부 영양기능연구과로 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-4402, 4416, 4421, 4422, 4423, 4425, 4426, 4430

팩스번호: 043-719-4420

제·개정 이력

연번	제·개정번호	승인일자	주요내용
1	B1-2012-1-002	2012.4.	제정
2	안내서-0123-01	2017.6.1.	「식약처 지침서등의 관리에 관한 규정」에 따른 등록번호 일괄 정비 (규제개혁담당관실-3761호, 2017.5.16.)
3	안내서-0123-02	2020.9.	개정 (기능성 시험방법 등 업데이트)

CONTENTS

※ 건강기능식품의 기능성 개요.....	1
※ 약어.....	3
 Ⅰ 서 론.....	4
 Ⅱ 일반적 사항.....	4
1. 개요.....	4
2. 보건학적 중요성.....	12
 Ⅲ 기능성 시험 방법.....	14
1. 바이오마커의 선정.....	14
2. 주요 바이오마커의 측정 방법.....	26
3. 시험 설계 시 고려사항.....	40
 Ⅳ 참고문헌.....	47

건강기능식품의 기능성 개요

□ 기능성 정의

「건강기능식품에 관한 법률」 제3조(정의) : 기능성이란 인체의 구조와 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 것을 말한다.

□ 기능성 구분

건강기능식품의 기능성은 3가지로 구분할 수 있다.

○ 건강기능식품의 기능성 구분

기능성 구분	기능성 내용	기능성을 가진 원료 또는 성분
영양소 기능	인체의 정상적인 기능이나 생물학적 활동에 대한 영양소의 생리학적 작용	영양소
생리활성 기능	인체의 정상기능이나 생물학적 활동에 특별한 효과가 있어 건강상의 기여나 기능 향상 또는 건강유지·개선을 나타내는 기능	기능성 원료
질병발생 위험감소 기능	질병의 발생 또는 건강상태의 위험감소와 관련한 기능	

□ 건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준

건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준은 다음과 같다.

○ 건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준

구분	기능성 내용	인정기준
질병발생 위험 감소 기능 ¹⁾	○○발생위험 감소에 도움을 줌	기반연구 자료를 통해 생리학적인 효과 또는 기전이 명확하게 입증되어야 하고 일관성 있는 바이오마커의 개선효과가 다수의 인체적용시험 (RCT)에서 확보되어야 함 ※ 질병 관련 바이오마커의 확인
생리활성 기능 ²⁾	○○에 도움을 줄 수 있음	기반연구 자료를 통해 기능성 있는 생리학적인 효과 또는 기전을 추측할 수 있어야 하고 일관성 있는 바이오마커의 개선효과가 최소 1건 이상의 인체적용시험(RCT)에서 확보되어야 함(추측 제안기전과 관련한 바이오마커가 기반연구시험과 인체적용시험에서 일관성 있게 확인되어야 함) ※ 생리활성 관련 바이오마커의 확인

- 1) 제출된 기능성 자료가 질병의 발생 위험 감소를 나타내며, 확보된 과학적 근거 자료의 수준이 상당한 과학적 합의(Significant Scientific Agreement)에 이를 수 있을 정도로 높을 경우 인정. 상당한 과학적 합의(Significant Scientific Agreement)란 성분 또는 원료와 건강효과 간의 상관성이 새로운 과학에 의해 뒤집어지지 않을 정도의 수준으로 관련 분야의 전문가들에 의한 만장일치에 가까운 합의 수준을 말함
- 2) 제출된 기능성 자료가 인체의 정상기능이나 생물학적 활동에 특별한 효과가 있어 건강상의 기여나 기능향상 또는 건강유지개선을 나타내는 경우 인정

약 어

ADL	Activities of daily living
ALP	Alkaline phosphatase
BAP	Bone specific alkaline phsphatase
BMC	Bone mineral content
BMD	Bone mineral density
CBT	Cortical bone thickness
CTX	Urinary cross-linked C-telopeptide of type I collagen
DPD	Deoxypyridinoline
GAG	Glycosaminoglycan
HA	Hyaluronic acid
IGF-1	Insulin-like growth factor-1
KOOS	Knee Injury and osteoarthritis outcome score
LFI	Lequesne functional index
MKSKS	Modified knee society knee score
MMP	Metalloproteinase
NF- κ B	Nuclear factor kappa β
NTX	Urinary cross-linked N-telopeptide of type I collagen
OA	Osteoarthritis
OCN	Osteoclast cell number
OPG	Osteoprotegerin
OSC	Osteocalcin
PDGF	Platelet-derived growth factor
PGE2	Prostaglandin E2
PINP	Procollagen type I N-terminal propeptide
PPAR- α	Peroxisome proliferator-activated receptor- α
PTH	Parathyroid hormone
PYD	Pridinoline
RANKL	Receptor activator of nuclear factor kappa-B
SF-36	Short form-36
TGF- β	Transforming growth factor- β
TNF- α	Tumor necrosis factor- α
TRACP	Serum tartrate-resistant acid phosphase
VAS	Visual analog scale
WOMAC	Western Ontario and McMaster universities osteoarthritis Index
VCAM-1	Vascular cell adhesion molecule-1

I

서론

이 가이드는 건강기능식품 기능성원료를 개발하는 연구자 및 영업자에게 식품의약품안전청의 기능성(뼈 건강 관련, 관절 건강 관련) 평가 원칙 및 기준 등을 알림으로써 산업체의 기능성원료 연구개발에 적정을 기하고 효율성을 높이고자 작성되었다.

II

일반적 사항

1. 개요

가. 뼈/관절의 구조 및 역할

(1) 뼈의 구조와 역할

뼈는 칼슘과 인이 석회화된 단단한 조직으로, 몸을 지탱하고 보호하는 중요한 역할을 한다. 또한, 뼈는 신체 내의 중요한 장기(臟器)들을 보호하며, 우리가 움직일 때 힘을 쓰는 근육이 붙는 자리를 제공하고 지렛대 역할을 해주며 피를 만드는 골수 공간을 제공하고 신체기능에 꼭 필요한 미네랄들을 저장하는 기능을 한다.

뼈는 특수한 형태의 결합조직이며 인산칼슘복염(hydroxyapatite)과 다른 이온들의 석회화로 이루어져 있으며, 콜라겐 섬유(90%가 type I), glycoprotein 및 proteoglycan으로 이루어진 기질(matrix)로 구성되어 있다.

(2) 뼈세포

뼈 조직은 3개의 세포유형, 즉 조골세포(Osteoblast, bone-forming cell), 골세포(Osteocytes), 파골세포(Osteoclast, bone-resorbing cell)로 이루어져 있다. 조골세포(뼈모세포)는 뼈를 형성하는 세포로 완전한 뼈를 형성하지는 않으며 뼈의 구성 부분을 합성한다. Osteocalcin과 bone sialoprotein은 조골세포의 다른 형태의 유기적 산물이다. 이러한 산물들을 통해 조골세포는 유골의 무기질화를 조절한다.

(가) 조골세포

조골세포는 대사활동이 활발하므로 전형적으로 큰 골지기관을 가지고 있다. 이러한 기관은 뼈기질의 주된 성분인 1형 아교질(콜라겐)을 분비한다. 뼈아교질 이외에도 조골세포는 알칼리 인산분해효소(alkaline phosphatase)라고 불리는 효소를 생산한다. 알칼리 인산분해효소의 정확한 기능은 알려져 있지 않으나 뼈세포 생성이 비정상적으로 높은 환자들은 알칼리 인산분해효소의 혈장 내 수치가 증가되어 있다. 이를 볼 때, 연구자들은 유골(osteoid)의 무기질화 과정에 이 효소가 어떤 역할을 담당하는 것으로 결론을 내릴 수 있다. 따라서 알칼리 인산분해효소는 뼈형성 활동에서 유용한 임상적 지표가 된다.

(나) 파골세포

뼈 파괴세포인 파골세포는 단핵구계와 대식세포계의 근원이 되는 골수의 줄기세포에서 유래한 큰 세포로서 뼈 흡수를 위한 신호에 반응한다. 파골세포는 인테그린(integrin)이라고 알려진 수용체에 의해 뼈의 표면에 부착하여 작용한다.

(3) 관절/연골의 구조와 역할

관절은 두 개 또는 그 이상의 뼈들이 맞닿는 곳으로, 관절을 형성하는 두 개의 골단은 한쪽이 볼록한 관절두(joint caput)와 오목한 관절와(joint fossa)가 있다. 관절을 이루는 뼈들의 끝은 연골로 덮여 있어 매끈하기 때문에 자유로운 운동이 가능하고 서로 부딪치지 않는다.

연골은 단단하고 약간 탄력이 있는 투명한 조직으로 연골을 이루는 뼈의 끝 부분은 관절 연골에 의해 둘러싸여 있는데 관절연골이 손실되지 않고 건강한 상태를 유지해 관절을 부드럽게 움직일 수 있게 하고 외력이나 심한 압박에도 견디는 물리적 충격을 완화시켜 줄 수 있다.

(4) 관절/연골의 구성성분

(가) 세포 외 바탕질(Extracellular matrix)

관절연골의 연골세포들이 조직 총 용적의 작은 부분만을 차지하기 때문에 연골물질의 성질은 일차적으로 세포 외 바탕질에 의해 결정된다. 정상 연골에서 수분은 총 젖은 무게의 65%에서 80% 범위로 포함된다. 조직의 젖은 무게의 나머지는 중요한 두 가지 부류의 구조적인 고분자 물질들인 아교질(collagen)과 프로테오글라이칸(proteoglycan)에 의한 것이다. 지질, 인지질, 단백질, 당단백질들을 포함한 몇 가지 다른 부류의 분자들이 세포외 바탕질의 남은 부분을 구성한다.

(나) 아교질(Collagen)

아교질은 세포 외 바탕질의 중요한 구조적인 고분자물질인 삼중 나선 단백질이다. 적어도 29개의 유전적으로 구별되는 사슬들로 구성된 최소 15개의 구별된 아교질 형태들이 있다. 모든 아교질 계통은 분자의 길이 대부분을 구성하는 특징적인 삼중나선구조를 포함한다. 관절연골은 마른 무게의 50% 이상이 아교질로 구성된다. 전체의 90-95%를 나타내는 중요한 연골아교질은 II형으로 알려져 있다.

관절연골아교질은 조직에 당기는 성질을 제공하고 세포 외 바탕질 내에서 프로테오글라이칸을 고정시키는 작용을 한다. 연골에서 아교질섬유들은 힘줄이나 뼈에서 관찰되는 것보다 일반적으로 가늘며 이것은 연골조직에서 상대적으로 많은 양의 프로테오글라이칸과 상호작용하는 기능과 연관되어 있는 것으로 보여진다.

(다) 프로테오글라이칸(Proteoglycan)

프로테오글라이칸은 핵심 단백질과 공유결합되어 있는 다당류 사슬들로 구성된 복합 고분자이다. 글리코스아미노글리칸은 긴 사슬의 가지가 없는 반복되는 이당류 단위로 구성되어 있다. 연골에서는 콘드로이틴 황산염, 황산케라탄, 황산테르마탄 등 세 가지 중요한 형태가 발견되었다.

콘드로이틴황산염은 연골에서 가장 흔한 글리코스아미노글리칸이다. 이것은 전체 글리코스아미노글리칸에서 55%에서 90%를 차지하며 주로 사람의 연령에 따라 달라진다. 각 사슬은 25개에서 30개의 반복되는 이당류 단위로 구성되어 있다.

관절 연골의 황산케라탄 성분은 커다란 응집되어 있는 프로테오글라이칸 내에 주로 위치한다. 히알루론산염 또는 글리코스아미노글리칸의 한 형태이지만 위에서 언급된 것들과는 다르게 황산화 된 것은 아니다.

하일루론산염의 또 다른 구별되는 성질은 핵심 단백질에 결합되어 있지 않다는 것이며 따라서 프로테오글라이칸의 구성성분이 아니다. 연골에서 모든 프로테오글라이칸들의 80-90%는 크게 응집되어 있는 아그리칸(aggregans)이라고 불리는 형태로 되어 있다. 이것은 길게 확장된 핵심 단백질과 핵심 단백질에 공유결합되어 있는 100개 이상의 콘드로이틴 황산염과 50개 이상의 황산케라탄 글리코스아미노글리칸 사슬들로 구성되어 있다. 젊은 사람에서는 황산케라탄의 농도가 상대적으로 낮으며 chondroitin 4-sulfate가 콘드로이틴 황산염의 주된 형태가 된다. 나이가 들면서 황산케라탄의 농도가 증가하면서 chondroitin 6-sulfate가 콘드로이틴황산염의 주된 이성형태가 된다.

나. 뼈/관절 건강의 기능·생리학적 작용

(1) 뼈 건강

(가) 골격대사 조절 (뼈 재형성, Bone Remodeling)

뼈가 발달하는 동안 파골세포에 의한 뼈의 흡수와 조골세포에 의한 형성으로 뼈의 형태가 갖춰지며 이 과정은 평생 동안 계속된다. 건강한 상태에서 뼈의 흡수에 이어 새로운 뼈의 침착이 일어나고 이 과정을 뼈 재형성이라고 부른다.

뼈 재형성은 골격으로부터 무기질을 방출하고 손상된 뼈의 미세한 부위를 제거하는 과정이다. 이와 같이 비록 무기질 항상성이 앞서기는 하지만 뼈 재형성은 무기질 항상성과 골격의 항상성 모두에 기여한다.

뼈 재형성은 화학적이고 기계적인 신호에 의해 시작된다. 주된 화학적 신호는 혈장의 칼슘 수치가 낮을 때 반응하여 분비되는 부갑상선호르몬 (Parathyroid hormone, PTH)이다.

여성 호르몬 역시 중요한 화학적 신호이다. 이것은 파골세포가 조골세포와 함께 작용하도록 해준다. 여성 호르몬이 결핍될 때 파골세포의 활동은 조골세포의 활동을 능가하게 되고 결과적으로 골격의 양은 감소하게 된다. 이러한 것이 폐경 전후 골다공증의 기초가 되는 현상이다.

① 골흡수 관여 인자

호르몬 외 골흡수에 관여하는 인자들은 오스테오프로테그린(osteoprotegerin, OPG)과 RANKL/RANK(receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand) 등이 있다. OPG는 TNF receptor superfamily에 속하며, 대부분의 TNF receptor superfamily와 달리 transmembrane domain이 없는 수용체이다. 동물모델을 이용하여 OPG를 주입한 경우 생리적 골흡수가 억제되었으며 심한 골석회화증(osteopetrosis)이 유발된다. 이와 반대로 OPG-deficient mice의 경우 심한 골다공증이 유발된다. OPG는 osteoclastogenesis를 억제할 뿐만 아니라 성숙 파골세포에도 영향을 끼쳐 골 흡수의 주요한 조절 단백질로서 작용하게 된다. TNF ligand family에 속하는 RANKL은 파골세포의 골흡수 과정에 있어 중요한 조절인자로 알려진 OPG의 리간드로 작용한다. 골재형성에 있어 RANKL은 주요 조절 단백질로서 작용하여 RANKL 결핍 시 성숙한 파골세포의 형성이 되지 않고 심한 골석회증이 유발된다. 이에 OPG와 RANKL은 성숙한 파골세포의 활성화와 파골세포의 분화에 필수적인 신호전달 인자로 작용하게 된다.

② 골형성 관여 인자

파골세포의 골 흡수 과정 후 파골세포는 세포 괴사를 거치게 되고, 조골세포가 골 흡수 부위로 이동하는 과정을 거쳐 증식, 분화 등의 골 무기질화가 발생하게 된다. 조골세포는

TGF- β , 제1형 콜라겐, 오스테오칼신 등에 의해 골 흡수 부위로 이동하게 된다. 이후 증식과정에서는 TGF- β , PDGF, IGFs-I, II 등이 관여하게 된다.

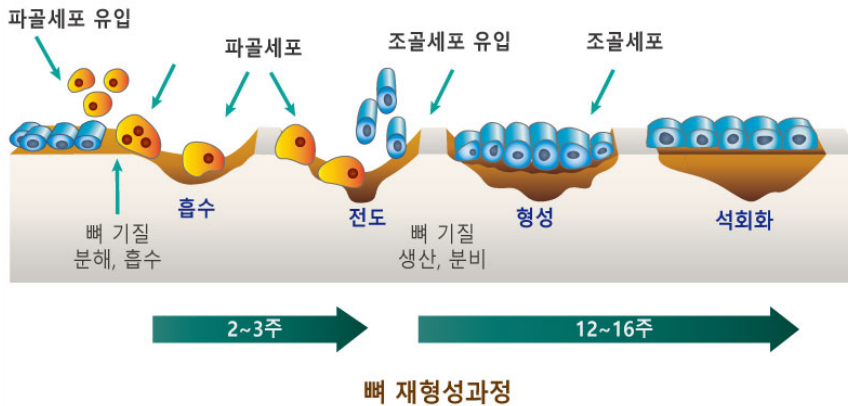


그림 1. 뼈 재형성과정

[출처: J Bone Miner Res(2005;20:177-84)]

(나) 칼슘대사 (칼슘의 항상성 유지)

골격은 세포 밖의 항상성을 유지하는 데 필수 요소인 칼슘, 인과 같은 이온들의 metabolic reservoir 역할을 한다. 혈청에서 이온화된 칼슘의 농도는 매우 좁은 범위를 가지고 있는데, 이는 부갑상선호르몬(PTH), 1,25-dihydroxyvitamin D($1,25(\text{OH})_2\text{D}$), 칼시토닌(calcitonin)의 세 가지 calciotropic 호르몬에 의해 조절된다.

혈중에 이온화된 칼슘의 농도가 낮아지면 부갑상선(parathyroid gland)에 있는 calcium-ion 감지 수용체(calcium sensing receptor)가 이를 감지하고, 이어서 부갑상선호르몬 분비가 증가하게 된다. 부갑상선호르몬은 뼈에 작용하여 칼슘을 유리시키고 신장에서 칼슘을 재흡수 하여 소변으로 배출되는 칼슘의 양을 낮추고, 신장에서 $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 의 생산을 증가시키도록 조절한다. 부갑상선호르몬의 자극에 의해 신장에서 생성된 $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 는 장에서 칼슘의 흡수를 증가시킨다.

혈중에 이온화된 칼슘의 농도가 높아지면 갑상선(thyroid gland)에서 위치한 C-세포에서 분비되는 칼시토닌에 의해 반대 작용이 일어나게 된다. 칼슘은 소장을 통해서 체내에 유입 되고 콩팥 세뇨관을 통해 재흡수 된다. 두 과정에 의해 순환하는 칼슘이온의 수치가 조절된다. 그러나 다른 생리적 필요에 의해 뼈 기질이 분해되어 칼슘이 유리될 수 있기 때문에 미세한 체내 칼슘 필요량의 대부분은 뼈흡수를 통해 공급된다.

그럼에도 불구하고 음식으로 섭취된 칼슘의 소장에서의 흡수는 골격으로 저장되기 위해 필요하다. 24시간 동안 칼슘 500 mg이 파골세포에 의한 뼈흡수에 의해 유리되고 조골세포에

의한 뼈형성을 통해 500 mg이 침착된다. 24시간 내에 칼슘 10,000 mg 가량이 콩팥으로 운반되어 그 중 대다수 (98%)가 저장되고 200 mg만이 소변으로 배설된다. 이 배설되는 200 mg 만큼 식사에 의해 보충되어야 한다. 그러나 소장의 칼슘흡수율은 낮아서 1,000 mg을 섭취하면 200mg만 흡수되고 나머지 800 mg은 대변으로 배설된다. 뼈와 혈장 사이의 교환도 이와 유사하게 균형을 이루고 있다. 칼슘 균형에 영향을 미치는 주된 순환 인자는 부갑상선호르몬, 비타민D, 칼시토닌, 칼슘 등이 있다.

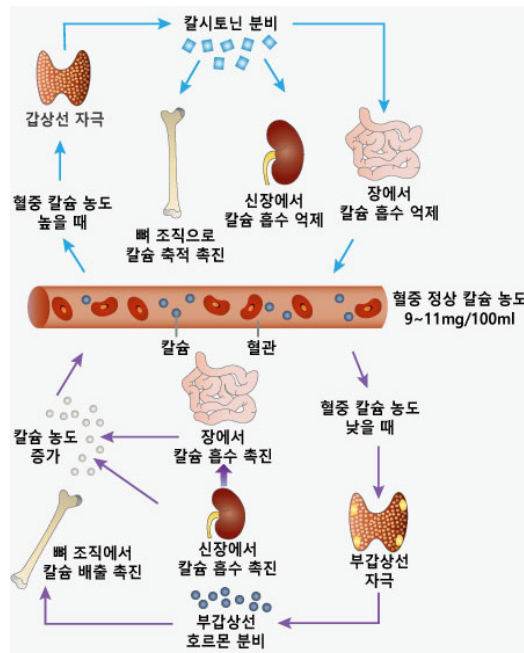


그림 2. 칼슘의 항상성 유지기전

[출처: 기능성식품학, 파워북, 2019]

① 부갑상선호르몬

부갑상선호르몬은 부갑상선에 의해 합성되고 부갑상선 내에 저장된다. 혈청 칼슘의 농도가 낮으면 부갑상선 호르몬은 분비되고 부가적인 보충을 위해 합성이 시작된다. 부갑상선 호르몬은 뼈와 콩팥에서의 칼슘과 인 대사에 효과를 나타낸다. 혈청칼슘이 낮아지면 부갑상선 호르몬은 뼈에 작용하여 칼슘과 인의 유리를 자극한다. 부갑상선호르몬이 작용하는 세포는 파골세포가 아니고 부갑상선호르몬 수용체를 갖고 있는 조골세포이다. 바꿔 말하면 조골세포에서 신호를 전달받은 파골세포는 뼈 흡수를 증가시키고 저장칼슘과 인을 이동시킨다. 부갑상선호르몬은 콩팥에서 칼슘 재흡수를 자극하고 인 흡수를 억제하며 비활성화 비타민D의 수산화(hydroxylation)를 촉진시켜 생물학적으로 활성화 형태로 만든다.

② 비타민 D

비타민 D는 스테로이드 호르몬으로 세포핵에 붙어 유전자 발현과 단백질 합성을 조절한다. 무기질 대사에서 비타민 D의 기능은 혈청 칼슘의 농도를 증가시키는 것이다. 인체는 식이를 통해서 또는 합성을 통해 직접 비타민 D를 얻는다. 비타민 D의 내인성 합성은 피부가 햇빛에 노출될 때 피부에서 시작된다. 자외선은 피부에 있는 비타민D3의 전구물질인 7-dehydrocholesterol에 작용하여 cholecalciferol을 만들고 이들은 수산화되는 장소인 간으로 운반된다. 수산화 반응 화학 명명법에서의 25번 위치에서 일어나고 cholecalciferol은 25-OH cholecalciferol로 변형된다. 그 뒤 25-OH cholecalciferol은 콩팥으로 운반되고 여기에서 다시 수산화된다. 수산화는 1번 또는 24번 위치에서 각각 일어날 수 있고 전자는 활성화 형태이고 후자는 비활성화 형태이다. 어떤 위치에서 수산화가 일어날 것인지는 순환하는 비타민 D와 부갑상선 호르몬의 이용 가능성에 달려 있다. 낮은 수치의 비타민 D와 높은 수치의 부갑상선 호르몬은 1번 위치에서 수산화 과정을 자극하여 비타민의 활성화 형태인 1, 25 (OH)₂ vitamin D가 된다. 마찬가지로 높은 수치의 비타민 D는 되먹임 루프를 생성하고 비활성 24, 25 (OH)₂ vitamin D의 형성을 증가시킨다.

뼈, 소장, 콩팥 등은 비타민 D의 표적 기관들이다. 모든 스테로이드 호르몬처럼 비타민 D는 혈류를 통해 이들 표적기관에 도달한다. 각 기관은 비타민D에 대한 특이 수용체를 가지고 있다. 뼈에서 비타민 D는 칼슘과 인의 유리를 자극한다. 소장에서 비타민D는 단백질 합성을 촉진하고 섭취한 칼슘을 순환계로 이동시킨다. 콩팥에서 비타민 D는 칼슘흡수를 증가시킨다.

③ 칼시토닌

칼시토닌은 갑상선의 C-세포에 의해 분비되고 생산되는 펩타이드이다. 이 펩타이드는 파골세포에 의한 뼈 흡수를 억제하고 크기를 줄임으로써 파골세포에 직접적인 효과를 나타낸다. 칼시토닌은 혈청칼슘 수치에 의해 직접적으로 조절된다. 혈청칼슘 수치가 높을 때 C-세포는 뼈의 파괴나 그로 인한 칼슘의 이동을 감소시키기 위해서 보다 많은 칼시토닌을 생산하고 분비함으로써 반응한다. 칼시토닌은 파골세포의 흡수가 조절되지 않는 여러 질병을 치료하는 데 사용되어 왔으며 골다공증의 치료제로 사용되고 있다.

(다) 골 형성 무기질 저장유지

칼슘, 인, 마그네슘, 아연은 일차적으로 뼈를 형성하는 무기질(bone forming minerals)이다.

따라서 영양학적으로 뼈의 형성과 골격 대사, 무기질 항상성에 영향을 미치는 적절한 무기질의 공급과 콜라겐 매트릭스(바탕질 또는 기질) 형성에 필요한 아미노산의 공급, 다른 영양소의 공급은 골격의 성장과 유지에 매우 중요하게 된다.

(2) 관절 건강

(가) 관절 조직 및 구조변화

관절에서의 만성염증으로 인해 발생되며, 두 개의 주요 부위, 즉 윤활막과 연골에 영향을 미친다. 연골 손상은 매끈매끈한 연골 면이 울퉁불퉁해지면서 연골 밑의 뼈에 이상이 생기게 되는 것이다. 질환의 초기에 염증은 주로 윤활막선을 침윤한다. 대식세포와 T 세포가 폭발적으로 증가하면서 윤활막 조직 두께가 한 개 내지 네 개 세포로부터 수백 개까지 증가할 수 있는 내막두께 증가에 따라 증가한다. 조직 부피가 증가함에 따라 윤활막선은 관절강 내와 연골 표면 위로 확장된다. 조직부피상 이런 증가에 순응하기 위해 혈관신상이 두꺼워진 내막층 아래와 안쪽에서 일어난다. 윤활막은 윤활액의 원천이기 때문에 혈관 투과성 증가와 더불어 부피의 증가로 관절강 내에 액체량이 증가하게 된다(joint effusion). 질환이 진행됨에 따라 연골에서 변화가 일어나고 연골세포의 변화와 사멸로 인해 제2형 콜라겐, 프로테오글리칸 등의 세포외기질의 생산이 감소하고 세포외기질 분해효소에 의한 세포외기질의 분해가 촉진되면서 연골의 기본구조가 파괴되어 관절부하를 견디지 못하게 된다.

세포외기질분해효소 중 특히 metalloproteinase (MMP)의 합성과 활성이 증가하면서 염증이 연골에서 세포 외 바탕질의 조직화를 파괴한다. 연골표면 위에 판누스(pannus) 형성으로 MMP에 의한 효소분해를 통해 세포 외 바탕질 안으로 윤활막 침입 부위를 자리 잡게 된다. MMP의 계속되는 분비와 활성화로 연골은 완전히 붕괴되고 관절은 불안정해지게 된다. 이에 세포외기질이 파괴되면서 생성되는 cartilage oligomeric matrix protein(COMP)은 질병의 중증도를 평가하는 바이오마커로 이용될 수 있다.

(나) 관절에서의 염증반응

연골 파괴과정에서는 기본적으로 염증 관련 사이토카인의 분비량이 증가하게 되는데, 관절의 염증반응은 염증을 유발시키는 사이토카인과 이를 생성하는 대식세포의 수가 증가하거나 면역세포에서 염증을 유발하는 leukotriene B₄가 증가하여 일어난다. 염증부위에서는 과잉의 NO가 생성되어 세포 조직 괴사를 촉진시키는 역할을 하게 된다.

활액 내에서의 염증반응도 활성화되어 PGE₂의 수준이 증가하게 되며, 식이 중 아라키돈산으로부터 PGE₂의 합성을 유도하는 COX의 발현이 증가하게 된다. COX 및 NO를 조절하는 분자생물학적 기전으로는 NF- κ B pathway와 PPAR γ 가 보고되었으며, PPAR γ 는 전사인자로서 NO 발현증가와 관련이 있으며, NF- κ B 신호전달을 통해서도 COX2 활성 촉진과 NO 발현도가 증가된다.

2. 보건학적 중요성

가. 뼈 건강

골격 대사 장애의 대표적인 질환인 골다공증(osteoporosis)은 골의 화학적 조성에는 변화가 없으며 단위 용적내의 골량의 감소를 초래하며 경미한 충격에도 쉽게 골절이 일어나게 되는 질병이며 인구의 고령화로 대두되는 대표적인 노인 질환이다.

그러나 최근 들어 약물남용, 무리한 체중 감량, 만성질환 (갑상선 비대증, 신장병, 당뇨병)의 증가, 이른 폐경, 질병에 의한 젊은 여성들의 난소절제 등에 의한 칼슘과 비타민 D의 흡수 장애 및 부갑상선 호르몬과 에스트로겐의 불균형 등으로 골대사 장애를 일으킨다. 그 결과 젊은 여성뿐만 아니라 성장기 어린이에게도 최대 골밀도의 감소로 인해 골다공증의 발병위험이 커지고 있다.

한편, 골대사(bone metabolism)는 항상 일정한 동적 평형상태에 있으며, 조골세포, 골세포, 파골세포의 상호작용에 의한 골형성(bone formation)과 골흡수(bone resorption)의 생리적인 균형으로 그 강도를 적절하게 유지하고 있다. 그러나 골대사의 불균형으로 인한 골흡수가 골형성보다 많아져 골밀도가 감소하게 되면 골다공증이 발생할 수 있다.

골 질환 관련 유병률을 살펴보면, 50세 이상 성인의 22.4%가 골다공증이며, 47.9%는 골감소증, 정상적 골밀도를 가진 사람은 29.7%로 조사되었다. 여성을 별도로 보면, 38.3%가 골다공증, 48.9%가 골감소증이며 정상은 13.8%에 불과한 것으로 보고되었다. 연령대별로 살펴보면 50대 여성은 골다공증 유병률이 15.4%, 60대는 36.6%, 70대 이상은 68.5%로 보고되었다.

골다공증은 골절이 발생하기 전까지는 특별한 증상이 없으나, 가볍게 넘어지거나 부딪히는 정도의 약한 충격에도 뼈가 쉽게 부러질 수 있다. 주로 폐경이나 노화로 인해 발생하며, 골다공증으로 인한 골절은 개인과 사회에 큰 부담을 초래한다. 특히 고관절 골절(hip fracture)은 사망을 초래할 위험이 높고, 회복되기까지 장기간의 치료와 관리를 필요로 한다. 노령화 사회에서 골다공증에 대한 깊은 주의가 요구되며, 국가 수준에서의 정확한 유병규모 파악은 골다공증의 체계적 관리를 위한 보건정책 수립의 기초가 된다. 따라서 뼈 건강에 도움을 주는 건강기능식품은 뼈의 구성성분을 공급하거나, 골흡수와 골형성의 균형을 통해 뼈의 기능 유지에 도움을 줄 수 있으며, 더 나아가 골다공증의 발병위험을 감소시킬 수 있다.

나. 관절 건강

노화에 따라 연골이 소실되고 관절이 변형되면서 국소적으로 퇴행성 변화가 나타나기도 한다. 퇴행성 관절염은 관절연골의 퇴행성 변화로 발생하며, 주된 증상은 통증이다.

또한, 관절에서 염증반응으로 인해 연골에 손상이 일어나서 매끈매끈한 관절연골 면이 울퉁불퉁해지면서 연골 밑의 뼈에도 이상이 생기게 된다. 40세 이상에서 90% 정도는 방사선학적으로 퇴행성 변화를 보이지만 이 중 30% 정도만이 증상을 보이게 된다.

세계보건기구(World Health Organization, WHO)에서는 골관절염을 통증 및 기능성 장애로 인해 일상생활에 장애를 초래할 뿐만 아니라 우울감, 무력감 및 소외감 등의 육체적 및 정신적 문제를 야기하는 질환으로 정의하고 있으며, 국내에서는 노년기의 경제적 손실이 큰 질병으로 보고되고 있다.

우리나라 50세 이상 성인에서 골관절염 유병률 분석결과, 전체 12.5%, 남자 5.1%, 여자 18.9%로 나타났다. 특히 성별에 따른 차이가 크게 나타나며, 남자보다 여자의 골관절염 유병률이 3.7배 높게 나타나는 것으로 보고되었다. 연령별 분포를 살펴보면, 50대는 전체 4.7%이고, 남자(2.1%)보다 여자(7.2%)의 유병률이 3.4배 높게 나타났고, 60대는 전체 14.0%로 50대보다 3배 높았고, 남자(6.5%)보다 여자(20.8%)의 유병률이 3.2배 높았다. 70대 이상 연령층에서는 여자 10명 중 3명(36.1%)이 골관절염을 가지고 있는 것으로 나타났다.

퇴행성 관절염을 예방하거나 치료하는 약물은 아직 개발되어 있지 않으나, 진통 및 항염 작용을 가진 약물, 즉 COX2 억제제 또는 비스테로이드성 항염제(NSAIDs)가 많이 사용되고 있다. 그러나 장기 복용 또는 남용은 소화기계 및 혈액응고기전의 부작용을 초래할 수 있으며, 면역력과 인체 저항력을 저하시켜 결과적으로 관절염을 악화시킬 우려가 있다.

따라서 관절 건강에 도움을 주는 건강기능식품은 연골 소실 또는 관절 변형에 따른 관절/연골 기능 유지에 도움을 줄 수 있으며, 더 나아가 퇴행성 관절염 위험을 감소시킬 수 있다.

Ⅲ

기능성 시험 방법

1. 바이오마커의 선정

가. 뼈 건강 관련

(1) 연구유형별 바이오마커

뼈 건강 관련 기능성을 확인하기 위한 기전은 골흡수와 골형성의 균형 유지, 칼슘대사 및 호르몬 분비, 골절위험, 소장의 칼슘흡수 증가 등을 들 수 있으며, 바이오마커별 측정 가능한 시험 연구 유형은 다음과 같다.

표 1. 뼈 건강 관련 기능성 확인을 위한 바이오마커

기전	바이오마커	측정가능한 연구유형		
		in vitro	in vivo	Human
골절위험	골밀도		○	○
	골강도		○	
	골면적		○	
소장 칼슘흡수	소장의 가용성 칼슘비율	○		
	소장의 가용성 및 불용성 칼슘합량		○	
	칼슘 흡수율			○
골흡수	Urinary deoxypyridinoline, pyridinoline		○	○
	Serum tartrate-resistant acid phosphatase		○	○
	Urinary & serum type 1 collagen cross-linked telopeptide (NTX, CTX)		○	○
	Urinary & serum pyridinium cross-links		○	○
	Urinary hydroxyproline		○	○
	Urinary hydroxylysine glycosides		○	○
	RANKL	○	○	
	OPG	○	○	
골형성	Serum osteocalcin		○	○
	Serum total alkaline phosphatase		○	○
	Serum Bone alkaline phosphatase	○	○	○
	Serum Type 1 procollagen peptide		○	○
칼슘대사 및 호르몬 분비	혈중 Ca, P 농도		○	○
	뼈의 Ca, P 함량	○	○	○
	혈중 부갑상선 호르몬 분비		○	○
	Serum Calcitonin		○	○
	비타민 D 수준		○	○
	Estrogen		○	○
	성장호르몬		○	○

(2) 바이오마커 설명

(가) 골절위험 관련 지표

① 골밀도

골밀도는 뼈의 강도와 골절위험을 나타내며 골밀도가 낮을수록 골절 위험이 증가한다. 골밀도 지표는 뼈 건강에 있어서 임상적 의의가 매우 중요하다.

② 골강도

골강도는 골절위험의 정의를 나타내는 지표로, 뼈의 양, 미세구조, 골질량과 관련이 있다. 골강도는 장골의 파단력을 측정하는 것으로 뼈가 부러지는 데 필요한 힘을 측정한다.

③ 골면적

골밀도의 간접적인 측정방법으로 골다공증을 진단할 수 있으며 골다공증 유발억제효과를 판단할 수 있는 지표로 사용된다. 보통 해면골의 골면적을 측정하는데 해면골은 골대사 작용이 활발한 곳으로 외부 효과에 의한 골생성 및 골흡수 작용이 가장 빠르게 반응한다.

(나) 소장 칼슘흡수 관련 지표

① 소장의 가용성 칼슘 비율과 가용성 및 불용성 칼슘 함량

칼슘은 소장에서 가용성 칼슘 형태로 흡수된다. 소장에서 칼슘의 가용성이 증가하면 소장 내 칼슘의 흡수가 증가한다. 수산이나 옥살산은 칼슘의 불용성 복합체로 소장에서의 칼슘 흡수를 감소시킨다. 소장의 가용성 칼슘 비율은 불용성 칼슘염의 형성을 억제하는 효과로 측정한다.

② 칼슘 흡수율

칼슘은 흡수율이 낮은 영양소의 하나로 소장 칼슘의 흡수율 증가는 골다공증 예방과 관련이 있다. 생리적 기능으로 활용 가능한 지표이다.

(다) 골흡수 지표

① Urinary deoxypyridinoline(DPD), pyridinoline(PYD)

PYD과 DPD는 골흡수 시, 콜라겐 분해에 의해 혈중으로 방출되어 체내에서는 거의 대사되지 않고 소변으로 배설된다. 소변 중에 포함된 양은 식이에 거의 영향을 받지 않아 골흡수 지표로 특이성이 높다. DPD는 뼈와 상아질에만 존재하나 PYD는 뼈 이외의 많은 결합조직에 분포하여 DPD가 더 특이적으로 골흡수를 반영한다.

② Serum tartrate-resistant acid phosphatase(TRACP)

활성화된 파골세포는 각종 효소를 분비하여 골흡수를 일으키는데, 이 중 acid phosphatase를 포함한다. Acid phosphatase는 파골세포 이외에 전 림선, 혈소판, 적혈구, 비장 등에 존재하는 리보솜 효소로 파골세포에 존재하는 효소인 L-tartrate에 저항성이 있어 tartrate-resistant acid phosphatase라 한다.

③ Urinary/serum type 1 collagen cross-linked telopeptide

골흡수 시 콜라겐 분자의 N-말단부와 C-말단부의 짧은 부분이 파골 세포에 의해 분해되어 혈액 내로 방출된다. 이런 절편은 PYD이나 DPD와 결합되어 telopeptide라 한다. Cross-linked telopeptide는 골흡수에 특이성이 높으며 N-telopeptide(NTX)와 C-telopeptide(CTX)가 있다.

④ Urinary/serum PYD/DPD cross-links

골흡수 시 파골세포가 cross-link된 콜라겐을 분해하면서 PYD와 DPD가 유리되어 생체 내에서 대사되지 않고 소변으로 배설되는데, 40%는 유리형으로 60%는 telopeptide와 결합된 형태로 배설된다. 식이에 포함된 PYD와 DPD는 장에서 흡수되지 않아 비교적 특이도가 높은 골 흡수 지표이다.

⑤ Urinary hydroxyproline

Hydroxyproline은 콜라겐의 삼중나선구조를 안정화시키는 역할을 하며, 콜라겐 분해 시 유출되어 약 10%가 소변으로 배설된다. 그러나 체내 다른 조직에서도 콜라겐이 유리되므로 특이성이 높은 지표는 아니다.

⑥ Urinary hydroxylysine glycosides

Hydroxylysine은 콜라겐이나 콜라겐 유사물질에 존재하는 아미노산으로, 콜라겐 생합성에 재사용되지 않고 콜라겐 섭취에 영향을 받지 않아 비교적 특이한 표지자이다.

⑦ RANKL

RANKL와 그 수용체인 Receptor activator of nuclear factor kappa-B(RANK)는 파골 세포의 형성을 조절하는 주요 인자이다. 세포 및 동물실험에서 기전 연구 바이오마커로 활용할 수 있다.

⑧ OPG

오스테오프로테그린(Osteoprotegerin)은 파골세포형성억제인자로 RANKL과 결합하면 파골세포의 형성을 억제시킨다. 세포 및 동물실험에서 기전 연구 바이오마커로 활용할 수 있다.

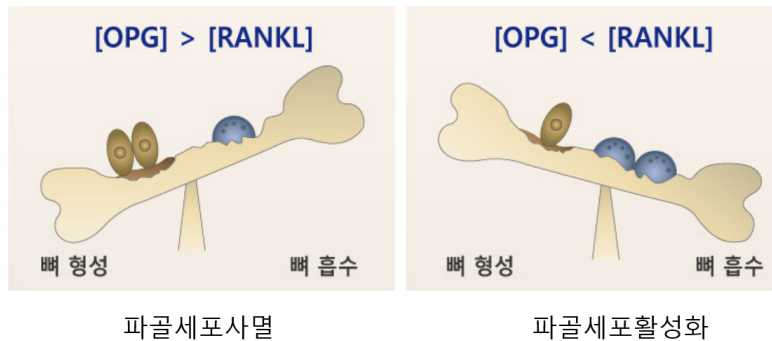


그림 3. 오스테오프로테그린과 RANKL

[출처: J Oral Sci. 59(3):397, 2017]

(라) 골형성 지표

골형성 지표는 생리적 기능 지표로 모두 인체적용시험에서 확인 가능하며, 동물실험을 이용한 기전연구 바이오마커로도 활용가능하다.

① Serum osteocalcin

Osteocalcin은 골과 상아질에 특이성을 가지는 단백질로 조골세포에서 만들어지기 때문에 조골세포의 활동력을 알 수 있어 골형성 정도를 반영해주는 좋은 단일지표이다.

② Serum total alkaline phosphatase(ALP)

ALP는 골아세포에서 분비되는 효소로 조골세포의 활성을 반영해주지만, 혈청 ALP의 반은 뼈에서 유리되며 간, 신장 등에서도 합성되어 특이성이 낮다.

③ Serum bone alkaline phosphatase(BAP)

골아세포에서 생성되어 혈중으로 분비되며 특이도와 예민도가 결여 되는 단점을 보완하여 좋은 표지자가 된다.

④ Type 1 procollagen peptide

1형 콜라겐은 전구물질인 procollagen으로 분비된 후, collagen이 되기 위해 단백질 분해 효소에 의해 C-말단기와 N-말단기가 절단되면서 type 1 procollagen C-terminal peptide와 type 1 procollagen N-terminal peptide가 생성되며 이는 골형성 표지자로 사용될 수 있다.

(마) 칼슘대사 및 호르몬 관련 지표

골형성 지표는 생리적 기능 지표로 모두 인체적용시험에서 확인 가능하며, 동물실험을 이용한 기전연구 바이오마커로도 활용가능하다.

① 혈중 칼슘, 인 농도, 뼈의 칼슘, 인 함량

Calcitropic hormone의 영향을 받아 변화한다. 동물시험에서 난소를 절제하면 혈중 칼슘과 인의 농도가 감소한다. 따라서 난소절제 동물에서 시험물질 섭취 후 혈청 칼슘과 인을 측정하면 혈청 칼슘과 인 손실의 보호 효과를 측정할 수 있다.

② 혈중 부갑상선 호르몬 분비

부갑상선 호르몬은 칼슘 조절 호르몬으로 골흡수를 자극한다. 따라서 혈중 부갑상선 호르몬 농도가 증가하면 골흡수를 증가시키고 골 교체율을 증가시켜 골밀도를 저하시킨다.

③ Serum Calcitonin

Calcitonin은 골흡수 억제 호르몬으로 골형성에는 관여하지 않는다. 에스트로겐이 감소하면 calcitonin이 감소하여 골손실이 증가한다. 혈중 calcitonin은 연령이 증가할수록, 여성의 경우에 함량이 낮다.

④비타민 D 수준

비타민 D는 소장에서 칼슘의 흡수를 증가시키고 신장에서 칼슘의 재흡수를 증가시킨다. 또한 뼈에서 칼슘의 용해를 증가시켜 혈장 칼슘을 증가시킨다. 그러나 비타민 D가 부족하면 소장의 칼슘흡수가 감소하고 혈중 칼슘이 감소하고 부갑상선 호르몬의 분비가 증가한다.

⑤ 에스트로겐

에스트로겐은 부갑상선호르몬을 억제하고 calcitonin을 촉진하며 활성형 비타민 D 합성에 관여한다. 따라서 간접적으로 골흡수량을 저하시킨다. 폐경 여성에서 에스트로겐 분비가 감소하여 폐경 후 골다공증의 원인이 된다.

⑥ 성장호르몬

뇌하수체전엽에서 분비되는 호르몬으로 뼈, 연골의 성장과 근육의 증가 등 성장을 촉진한다. 최대골밀도형성과 신장결정에 중요하며 성인기 동안 골재형성률을 결정하고 골밀도 유지에 영향을 미친다.

나. 관절 건강 관련

(1) 연구유형별 바이오마커

관절 건강 관련 기능성을 확인하기 위한 기전은 항염증 작용, 관절조직 및 구조변화, 그 밖의 임상적 증상 등을 들 수 있으며, 바이오마커 (Biomarker) 별 측정 가능한 시험 연구 유형은 다음과 같다.

표 2. 관절 건강 관련 기능성 확인을 위한 바이오마커

기전	바이오마커	측정가능한 연구유형		
		In vitro	In vivo	Human
임상적 증상	Paw swelling		○	
	Arthritis score		○	
	Severity score		○	
	귀, 무릎부종 수준		○	
	Forepaw inflammation		○	
	무릎 관절상태 관찰(붉은 정도, 절뚝거림, 따뜻한 정도)		○	
	진통효과테스트		○	
	Visual Analogue Scale(VAS)			○
	Pain, Swelling index			○
	Articular index(AI)			○
	Joint line palpation			○
	Knee/hip flexion and extension			○
	Hip internal/external rotation			○
	Joint mobility index			○
	환자, 의사의 주관적 평가			○
	관절의 기능성 측정(Limbering up time, Grip strength, 보행능, 계단 오르내리기, 오리걸음, 일상생활동작)			○
	Western Ontario and McMaster University osteoarthritis index (WOMAC)			○
	Chinese Oxford Knee Score(COKS)			○
	Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score(KOOS)			○
	Lequesne Functional Index			○
	Modified knee society knee score(MKSKS)			○
	Activities of Daily Living(ADL)			○
	Chinese Arthritis Impact Measurement Scale 2-short form(CAIMS2-SF)			○
	Short form-36(SF-36)			○

기전	바이오마커	측정가능한 연구유형		
		In vitro	In vivo	Human
관절 조직 및 구조 변화	Hyaluronic acid(HA)합성 수준	○		
	Metalloproteinase(MMP)-2,9 활성	○		
	연골 Proteoglycan(aggrecan) 합성 수준		○	
	Glycosaminoglycan(GAG) 합성 수준, 분해 수준	○	○	
	Cartilage oligomeric matrix protein(COMP)		○	○
	Serum Pentosidine 수준		○	○
	Collagen 분해 수준	○		
	Elastase 분비 수준	○		
	Joint space width		○	○
	조직병리학적 변화 관찰		○	○
항염증	NO생성 수준, iNOS protein, mRNA 발현 수준	○	○	○
	COX 1,2 활성	○	○	○
	PGE2 생성 수준 및 활성	○	○	○
	염증성 cytokine 생성 수준	○	○	○
	Leukotriene B4 활성	○	○	○
	NFkB, ERK, JNK, p38 MAP kinases 활성	○	○	○
	Polymorphonuclear Leukocyte의 chemotaxis 정도	○	○	○
	PPAR γ 발현 활성화	○	○	○
	경부임파절 세포 수(T, B세포)	○	○	○
	콜라겐 특이적 항체 수준	○	○	○
	면역 관련 조직 무게		○	
	CRP 농도		○	○
	Erythrocyte sedimentation rate		○	○

(2) 바이오마커 설명

(가) 임상적 증상 지표

① 발, 무릎, 귀 부종 억제

발, 무릎, 귀 등의 부종은 관절 건강의 직접적인 바이오마커로 활용된다.

② Arthritis score

동물시험에서 임상적 증상을 여러 가지 방법으로 지수화하여 주관적으로 평가한다.

③ Severity score

동물시험에서 관절염의 심한 정도를 5점 척도로 평가한다.

④ Forepaw inflammation

동물시험에서 발과 꼬리의 전반적 염증상태 및 기능성을 중심으로 평가하며 5점 척도를 사용한다. 점수가 낮을수록 관절염이 개선된 것을 의미한다.

⑤ 진통효과테스트

동물시험에서 Writhing 횟수(등을 쪽 펴거나 뒷다리를 뺀어 제치는 현상)를 관찰하는 것으로 통증 정도를 평가한다.

⑥ Visual Analogue Scale(VAS)

인체적용시험시 통증 측정 시 널리 사용되는 도구이다.

⑦ Pain, Swelling index

인체적용시험시 통증 및 부종을 4점 척도 또는 5점 척도로 주관적으로 평가한다.

⑧ Articular index(AI)

인체적용시험시 관절에 가해진 압력 또는 관절 운동 시 통증에 대한 정량평가의 합으로 표시한다.

⑨ Joint line palpation

인체적용시험시 관절연골 또는 반월판을 손으로 촉진하여 압통의 유무를 측정한다.

⑩ Knee/hip flexion and extension

인체적용시험시 무릎과 고관절의 굽혔다 펴는 정도와 제한정도를 측정함으로써 관절의 운동성을 평가한다.

⑪ Hip internal/external rotation

인체적용시험시 고관절의 외회전 및 내회전 각도와 제한 정도를 측정함으로써 관절의 운동성을 평가한다.

⑫ Joint mobility index

인체적용시험시 관절의 운동성을 주관적으로 평가한다.

⑬ 환자, 의사의 주관적 평가

전반적인 관절염 상태를 환자 및 의사에 의해 점수화하여 주관적으로 평가한다.

⑭ 관절의 기능성 측정

인체적용시험시 관절의 뻣뻣한 정도, 악력, 보행능력, 계단 오르기 등을 통한 관절의 기능성을 측정할 수 있다.

(나) 설문에 의한 통증 및 기능성 평가

① Western Ontario and McMaster University osteoarthritis index(WOMAC)

통증, 뻣뻣함, 일상생활 수행의 어려움 등 3가지 항목의 기능장애 정도를 점수화 한다.

② Chinese Oxford Knee Score(COKS)

12개 문항으로 구성되어 있으며, 무릎통증, 세탁/건조의 불편함, 이동의 불편함, 심한통증 전에 걷는 시간, 앉았다 일어날 때 통증, 걸을 때 다리 절기, 무릎 꿇기의 어려움, 잠잘 때의 통증, 통증으로 인한 일의 어려움, 무릎의 불안정감, 혼자 쇼핑하기, 계단 내려가기의 어려움 등으로 구성되어 있다.

③ Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score(KOOS)

총 42개 문항이며, 통증(9문항), 증상(7문항), ADL 기능(17문항), 운동과 레크레이션 기능(5문항), 삶의 질(4문항)로 구성되어 있다.

④ Lequesne Functional Index(LFI)

관절 기능상태 평가로 총 11문항이며, 통증 또는 불편함(5문항), 최대 걸을 수 있는 거리, 일상생활 활동(5문항)으로 구성되어 있다.

⑤ Modified knee society knee score(MKSKS)

운동성, 불안정성, 통증, 기능성 등의 4개 영역으로 분류되어 있고, 이동 중 통증의 원인과 발생을 바탕으로 평가한다.

⑥ Activities of Daily Living(ADL)

일상생활 수행의 어려움을 측정하며, 걷기, 차타고 내리기, 쇼핑하기, 스타킹 신고 벗기, 변기 앉았다 일어나기 등을 포함한다.

⑦ Chinese Arthritis Impact Measurement Scale 2-short form(CAIMS2-SF)

5가지 영역의 총 22문항으로 구성되어 있으며, 신체활동(10문항), 팔의 기능(5문항), self-care(3문항), 사회적 활동(1문항), 정신적 상태(3문항)로 분류되어 있다.

⑧ Short form-36(SF-36)

총 36개 문항으로 신체적 기능, 신체적 역할, 통증, 일반적 건강, 활력, 사회적 기능, 감정적 역할, 정신건강, 보고된 건강변화 등의 9개 영역으로 분류되며, 건강과 관련된 삶의 질을 측정한다.

(다) 관절 조직 및 대사물질 관련 지표

① Hyaluronic acid(HA)합성 증가

HA는 연골조직의 구성성분으로 연골조직에서 분자간의 결합을 도와 관절의 움직임과 무게에 잘 견뎌내도록 연골을 보강해주는 역할을 한다. 연골과 활액 내의 HA성분 감소는 골관절염 발생 원인의 하나로, 이로 인해 관절의 충격 흡수가 줄어들고 관절이 뻣뻣해져 보행이 불편해진다.

② Metalloproteinase(MMP)-2, 9 활성 억제

MMP는 관절 조직의 분해효소로, 질환 상태일 때 연골조직에서 발현 및 활성이 증가하며 염증성 cytokine에 의해 유발된다. 염증성 cytokine에 의해 활성화된 연골세포는 연골을 파괴하는 MMP의 발현을 유도한다.

③ 연골 Proteoglycan(aggrecan) 합성

골관절염이 진행되면, 염증반응과 함께 활액량이 늘어나는데 이는 연골이 파괴되어 활액 내로 proteoglycan이 방출되기 때문이다. 따라서 활액 내의 proteoglycan 농도를 감소시키는 것은 골관절염 개선에 중요한 마커가 된다. 연골조직에서의 특이적인 proteoglycan을 aggrecan이라 한다.

④ Glycosaminoglycan(GAG) 분비 저해

GAG는 proteoglycan의 분해산물로 관절염이 진행되면 proteoglycan의 방출이 증가하여 GAG 분비가 증가한다. 따라서 GAG의 저해는 관절염 개선에 중요하다.

⑤ Cartilage oligomeric matrix protein(COMP)

COMP는 연골에 주로 존재하는 당단백질로 혈청 또는 활액의 COMP 농도는 골관절염의 발생이나 진행을 감지하는 초기 진단 지표로 많이 사용된다. 골관절염 환자의 활액 COMP 농도는 일반인보다 높다.

⑥ Serum pentosidine 억제

Pentosidine은 advanced glycation end products로 나이가 증가함에 따라 연골에 축적되어 골관절염 발생에 기여한다. 혈청 pentosidine 농도의 증가는 류마티스 관절염과 같은 염증질환과 관련 있다.

⑦ Collagen파괴 억제

Collagen은 관절연골의 중요한 구성요소로 관절염에 의해 collagen 파괴가 일어난다.

⑧ Elastase 분비 억제

Elastase는 류마티스 관절염의 관절, 힘줄, 뼈의 퇴행에 관여하는 중요한 효소이다. 전형적인 증성구는 0.5 pg의 elastase를 포함하며 증성구를 활성화 시키는 여러 물질에 의해 촉진된다. 백혈구의 elastase는 collagen, fibronectin, proteoglycan을 분해할 수 있다.

⑨ 조직병리학적 변화 관찰

Hematoxylin-eosin으로 염색 후, 관절 손상 정도를 광학현미경으로 관찰하여 그 결과를 지수화하여 평가한다.

⑩ Joint space width

관절염의 원인이 되는 '관절간격 폭(joint space width)'의 넓이를 재는 방식으로 관절 건강 상태를 살펴볼 수 있다. 관절간격 폭이 넓을수록 골관절염을 일으키게 되는데 골관절염은 관절염 중에 가장 흔한 증상이다.

(라) 항염증 관련 지표

① NO생성 수준, iNOS protein, mRNA 발현 수준

염증 부위에서는 과다한 양의 NO가 발생하여 세포 조직의 괴사를 촉진한다. iNOS는 외부 자극에 반응하여 생체를 방어하려는 목적으로 단시간에 과량의 NO를 생성하지만, 관절염과 같은 질환에서는 과잉 분비된 NO가 세포괴사, 통증 등의 2차적인 부작용을 일으키므로 iNOS 및 NO의 억제는 골관절염 치료에 중요하다. 기전연구 바이오마커로 활용할 수 있다.

② COX 1, 2 활성

COX는 Arachidonic acid에서 PGE2의 합성을 유도하는 효소로 염증을 유도하는 등 염증 반응에서 중요한 역할을 한다. COX2는 관절질환이 있을 때, 관절 조직에서 과도하게 발현된다.

③ PGE2 합성 수준

골관절염이 진행되면 활액 내의 PGE2가 증가한다. 따라서 PGE2의 농도 감소는 골관절염 개선을 위해 중요하다.

④ 염증성 cytokine 생성(IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10, IL-12) 수준

염증성 cytokine은 COX2 및 iNOS의 발현을 증가시킴으로 염증 및 통증 반응을 유발한다.

⑤ Leukotriene B4(LTB4) 활성

LTB4는 lipoxygenase의 대사산물로 면역세포에서 염증반응을 유발하며 염증성 세포의 활성화에 관여한다.

⑥ NFkB, ERK, JNK, p38 MAP kinases 활성화

NFkB는 많은 유전자의 초기 발현을 유도하며 NF- κ B의 활성화는 COX2와 iNOS의 발현을 유도한다. ERK, JNK, p38 MAP kinases가 활성화되면 NF- κ B를 활성화시키고 이는 COX2와 iNOS의 발현을 유도한다. 대표적인 기전연구 바이오마커로 활용할 수 있다.

⑦ Polymorphonuclear Leukocyte(PMN)의 chemotaxis 정도

PMN은 염증 질환에서의 조직손상이나 염증반응과 관련되어 있다. 면역세포는 chemotaxis에 의해 이동하여 염증반응을 일으키므로 chemotaxis의 저해는 염증반응을 감소시킨다. 기전연구 바이오마커로 활용할 수 있다.

⑧ PPAR γ 발현 활성화

PPAR은 transcription factor로 특정 반응요소와 결합하며 다양한 ligand에 반응하여 전사를 활성화한다. PPAR γ 는 주로 지방조직, 부신, 비장, 대장, 면역체계에서 발현된다. PPAR γ 는 지방세포분화와 포도당 항상성에 중요한 역할을 한다. PPAR γ 는 아라키돈산의 대사산물에 의해 활성화됨으로써 항염증 반응을 가진다. 또한, PPAR γ 의 agonist는 단핵구의 염증성 cytokine의 생성과 iNOS의 발현을 억제하는 것으로 고려된다. 기전연구 바이오마커로 활용할 수 있다.

⑨ 경부임파절 세포 수(T, B세포)

콜라겐 관절염의 발증에는 세포성 면역이 관여하고, 증상의 진행에는 세포성 면역과 체액성 면역의 상호작용이 중요한 역할을 한다. 관절염이 진행됨에 따라 마우스 경부 임파절 세포수의 양은 증가하고 경부 임파절 세포수의 감소는 관절염 진행 억제를 의미한다.

⑩ 콜라겐 특이적 항체 수준

관절염 발증 후, 콜라겐 특이적인 항체 수는 현저히 증가한다. 콜라겐 특이적 항체 수의 감소는 콜라겐에 대한 체액성 면역 억제를 가져와 증상의 진행을 방어한다.

⑪ 면역 관련 조직 무게

비장, 흉선, 부신은 면역 관련 조직으로 관절염에 미치는 면역 관련 조직의 체계적 영향을 보기 위해 측정한다. 기전연구 바이오마커로 활용할 수 있다.

⑫ CRP 농도

CRP는 CVD를 예측하며 염증성 질환의 진행정도를 검사할 수 있다.

⑬ Erythrocyte sedimentation rate

적혈구 침강 속도로 염증 질환이나 류마티스 관절염이 있을 때 증가한다.

2. 주요 바이오마커의 측정 방법

가. 뼈 건강 관련

(1) 골절위험 관련 지표

① 골밀도

척추, 골반, 오른쪽 대퇴골 및 경골의 골밀도(bone mineral density, 이하 BMD), 골무기질 함량(bone mineral content, BMC)과 총골칼슘 함량(total bone calcium contents, TBCa)을 small animal total body option을 가지고 있는 dual energy x-ray absorptiometry (이하 DEXA : Lunar DPX-L, USA)를 이용하여 체중이 실리는 부위인 척추, 골반, 경골, 대퇴골 및 전신의 골밀도를 측정한다. 요추 골밀도는 전후면 투영(anteroposterior projection, AP)으로 측정하고, 요추 골밀도로 표현되는 수치는 제 2요추에서 제 4요추까지의 골밀도의 평균 수치를 사용한다.

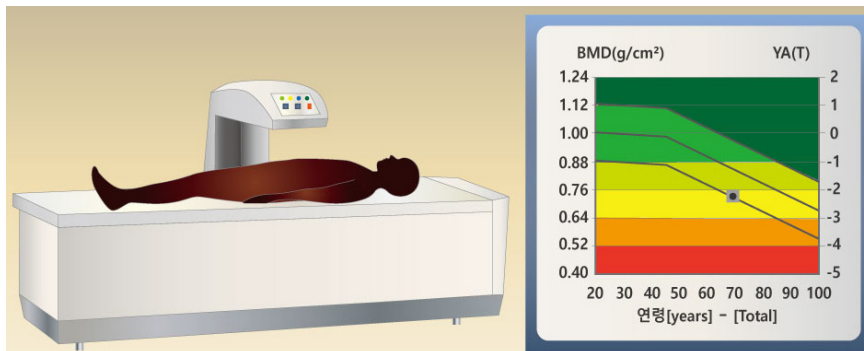


그림 4. 골밀도 측정

② 골강도

골강도 측정은 3-point bending test을 진행한다. 강도별로 부하를 주고 대퇴골이 부러진 강도를 전자 제어장치를 이용해 대퇴골이 부러진 순간 강도를 측정한다.

③ 골면적

골면적은 이미지 프로그램으로 면적을 구한다.

(2) 소장 칼슘흡수 관련 지표

① 소장의 가용성 칼슘 비율과 가용성 및 불용성 칼슘 함량

혈청 중의 칼슘 함량은 습식 회화시킨 후 AAS로 측정하며 칼슘 보유량은 “섭취량-(변중 배설량+노중 배설량)”의 공식으로 구하였으며 칼슘 흡수량은 “섭취량-변중 배설량”으로 구한다. 칼슘의 생체 이용률은 radio-isotope를 이용한 trace method로 측정한다.

② 칼슘 흡수율

시험물질 섭취 후 24-48시간 동안의 뇨를 채취하여 (섭취량-배설량)/섭취량*100으로 계산한다.

(3) 골흡수 지표

① Urinary deoxypyridinoline(DPD), pyridinoline(PYD)

노중 deoxypyridinoline의 측정은 채뇨한 것을 원심분리하여 뇨의 양을 잰 다음 pyrilinks-D kit를 사용하여 ELISA 법에 의해 분석한다.

② Serum tartrate-resistant acid phosphatase(TRACP)

세포를 배양 후 TRAP staining kit(Sigma- Aldrich Chemical Co.)를 사용하여 염색한다. 현미경으로 성숙한 파골세포를 현미경으로 확인한다. 파골세포의 생화학적인 마커인 TRAP의 양을 Microplate Reader 540nm에서 측정한다.

③ Urinary/serum type 1 collagen cross-linked telopeptide

Urinary excretion of type 1 collagen cross linked telopeptide 측정은 아침에 첫 소변을 채뇨한 후 C-terminal cross-linking telopeptide of type I collagen(CTX)의 경우 전기형광면역분석법을 이용하여 측정하고, Cross-linked N-telopeptides of type I collagen (NTx)의 경우 ELISA법으로 측정한다. Serum CTx의 경우는 12시간 이상 공복상태의 혈청을 채취하여 상용화된 ELISA kit를 사용하여 측정한다.

④ Urinary/serum PYD/DPD cross-links

노중 pyridinoline의 측정은 collagen crosslinks kit를 이용하여 ELISA 법에 의해 분석한다. 채뇨한 것을 원심분리하여 뇨의 양을 잰 다음 pyrilinks-D kit 를 사용하여 ELISA법으로 골흡수 지표인 deoxypyridinoline치를 측정한다. Serum PYD 경우는 공복상태의 혈청을 채취하여 상용화된 ELISA kit를 사용하여 측정한다.

⑤ Urinary hydroxyproline

노중 Urinary hydroxyproline(HYP) 측정은 소변을 well plate sampler, a thermostated column compartment와 a high pressure binary gradient pump (flow rate 0.4 mL/min)가 장착된 Agilent 1100 series HPLC(Agilent Technologies Inc., Palo Alto, CA, USA)와 SecurityGuard MAX-RP pre-column(2 x 4 mm, Phenomenex), Oasis MCX solid phase extraction columns(96 well plates 30 μ m (30 mg)로 추출한 후 Maxi Dry Plus(Heto, Hillerød, Denmark)로 30°C에서 진공에서 건조한다. 건조한 잔류물은 50 μ L 0.2 mol/L sodium borate buffer pH 8.8로 용해하고 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate(AQC)(10 mmol/L)이 포함된 물이 제거된 아세톤(9mg/L) 20 μ L을 더한 HYP marker와 반응시킨다. 혼합물은 54°C로 10분 동안 가열하고 50 μ L의 물에 녹인 후, 전기방사장치를 장비한 Quattro LC (Micromass Ltd., Manchester, UK)로 측정한다.

⑥ Urinary hydroxylysine glycosides

노중 hydroxylysine glycosides 측정은 기본적으로 Glc-Gal-Hyl, Gal-Hyl와 unglycosylated Hyl를 사용하여 HPLC에서 측정한다. 소변 Sample을 dansyl로 유도체화하고 125 mL/L 및 500 mL/L acetonitrile을 함유하는 2 개의 완충액 사이의 용매 구배 시스템으로 C18 컬럼상에서 분리한다. 총 Hyl은 Glc-Gal-Hyl, Gal-Hyl 및 unglycosylated Hyl의 합으로 계산한다.

⑦ RALKL

RALKL의 측정은 정맥에서 채취한 혈액을 30분 동안 방치한 후 원심분리하여 얻은 혈청에서 ELISA법으로 측정한다.

⑧ OPG

세포, 동물, 인체시험 모델에서 모두 측정 가능하며, 세포주를 96 well plate에 배양한 다음, 여러 농도의 시험 추출물이 포함된 혈청 부재(serum free) DMEM 배양액 2 mL을 첨가하여 16시간 배양한 후 상층액을 수확한다. OPG 효소 면역측정법 (ELISA)을 이용하여 OPG가 유리된 양을 측정한다. 동물과 인체에서의 측정은 채취한 혈액을 원심분리하여 얻은 혈청에서 ELISA법으로 측정한다.

(4) 골형성 지표

① Serum osteocalcin

혈중 osteocalcin은 osteocalcin myria kit를 이용하여 γ -counter로 radioactivity를 측정한다.

② Serum total alkaline phosphatase(ALP)

Alk phase-B(Metra Biosystem, Mountain View, CA)에서 BALP에 대한 단일세포균 항체를 이용하여 측정하며 간에서 유래한 ALP와의 교차반응은 10% 이내로 알려져 있다. Two site IRMA (Tan dem-R-Ostase, Hybritech, SanDiego, CA)는 두 개의 단일세포균 항체를 이용한 측정 방법으로 간의 ALP와의 교차반응은 16% 정도로 알려져 있다. 아직 어떤 방법이 더 예민한지는 명확하지 않았으나 두 측정 방법 모두 폐경 후 여성에서 총 ALP에 비하여 유의하게 증가하므로 민감도와 특이도가 높다.

③ Serum bone alkaline phosphatase(BALP)

Rosalki와 Ying Foo (1984)의 방법을 개선시킨 Behr와Barnert(1986)의 방법에 따른다. 혈청은 -4 °C에서 24시간 해동하고 lectin 용액은 wheat germ agglutinin을 5 g/L의 농도로 용해하고 Triton-X 100 sol. 은 Triton-X surfactant (Sigma Chem. Co. USA)를 20 g/L의 비율로 희석하여 준비한다. 준비된 혈청 50 μ l에 동량의 lectin sol.을 첨가한 뒤 37°C, 30분간 incubation하고 이 용액에 Triton-X 100 Sol. 5 μ L를 첨가하여 잘 혼합하여 37°C에서 30분간 다시 incubation 한다. 이렇게 제작한 serum mixture를 원심분리하여 상층액과 침전물을 분리한다. 상층액을 취하여 TALP의 측정법과 동일한 방법으로 ALP 값을 측정한다. BALP는 TALP에서 상층액의 ALP 값을 빼고 남은 값으로 한다. B/T는 TALP 중에 차지하고 있는 BALP를 백분율로 계산한다.

④ Type 1 procollagen peptide

혈청 중 Type I collagen propeptide 함량은 ELISA kit을 이용하여 측정한다.

(5) 칼슘대사 및 호르몬 관련 지표

① 혈중 Ca, P 농도, 뼈의 Ca, P 함량

Clark-Collip법(적정법), OCPC 법(비색법), EDTA 법(Chelate 적정법)을 사용하여 칼슘과 인의 함량을 측정할 수 있다.

② 혈중 부갑상선 호르몬

시험관에 부착된 항체와 I^{125} 로 표식된 항체를 함께 사용하여 항원과 항체간에 'sandwich'를 형성하게 하는 non-competitive radioimmunoassay을 이용한 DSL-8000 ACTIVE TM Intact PTH IRMA kit로 radioimmunoassay를 한 후 gamma-counter를 이용하여 항원 항체 결합 정도를 측정한다.

③ Serum Calcitonin

시험관에 부착된 항체와 I^{125} 로 표식된 항체를 함께 사용하여 항원과 항체 간에 'sandwich'를 형성하게 하는 non-competitive radioimmunoassay을 이용한 DSL-7700 ACTIVE TM Calcitonine IRMA kit로 radioimmunoassay를 한 후 gamma-counter를 이용하여 항원 항체 결합 정도를 측정한다. IRMA(Immunoradiometric-assay)법에 의거하여 I^{125} -calcitonine kit로 분석한다.

④ 비타민 D 수준

혈액에서 혈청을 분리 한 다음 ACQUITY TQD 에서 MSMS Vitamin D Kit 를 이용하여 $25(OH)D_2$, $25(OH)D_3$ 을 측정한다.

⑤ Estrogen

혈청 중 estradiol 함량은 estradiol RIA kit (DPC Co. USA)를 사용하여 방사 면역 측정법에 따라 γ -counter로 측정한다.

⑥ 성장호르몬

성장호르몬은 혈액을 혈청분리튜브에 수집하고 실온에서 응고시킨 후 원심분리하여 얻은 혈청에서 ELISA법으로 측정한다.

나. 관절 건강 관련

(1) 임상적 증상 지표

① 발, 무릎, 귀 부종 억제

동물시험에서 발, 귀 또는 무릎 부종을 유도하고 micrometer로 측정하여 부종 억제 정도를 평가한다.

② Arthritis score

동물시험에서 임상적 증상을 여러 가지 방법으로 지수화하여 주관적으로 평가한다.

㉞ 털세움, 털손질, 운동성, 민감성과 귀, 발, 꼬리 등 전체적 면역증상을 0-3점 척도로 평가

㉞ 20개 발가락을 관찰하고 관절의 변형을 4점 척도로 평가

- 0점: 변화 없음, 1점: 발가락 하나에 경한 변화, 2점: 발가락 두 개 이상에 심한 변화, 3점: 발가락이 전부 극심하게 변형

③ Severity score

동물시험에서 관절염의 심한 정도를 5점 척도에 의해 평가한다.

1점: 홍반이나 부종 없음

2점: 발목뼈나 손목뼈의 홍반과 경미한 부종

3점: 발목관절에서 발목뼈로, 팔꿈치 관절에서 손목뼈로 확장된 홍반과 부종

4점: 발목에서 발허리뼈까지 또는 팔꿈치에서 손바닥뼈까지의 홍반 또는 중간 정도의 부종

5점: 적어도 팔 하나의 모든 주요관절의 유의적인 홍반과 부종

④ Forepaw inflammation

동물시험에서 발과 꼬리의 전반적 염증상태 및 기능성을 중심으로 평가하며 5점 척도를 사용한다.

⑤ 진통효과테스트

동물시험에서 Writhing 횟수(등을 쭉 펴거나 뒷다리를 뺏어 제치는 현상)를 관찰하는 것으로 통증정도를 평가한다.

⑥ Visual Analogue Scale(VAS)

통증 측정 시 널리 사용되는 도구로, 피험자에게 전반적 통증 정도를 100mm 직선에 표시하게 한 후, '통증 없음'에서 표시된 지점까지의 길이를 측정한다.

⑦ Pain, Swelling index

통증 및 부종을 4점 척도 또는 5점 척도로 주관적으로 평가한다.

㉞ 0점: 통증이나 부종 없음, 3점: 심한 통증이나 부종

㉞ 0점: 향상 없음, 4점: 통증의 전체적인 완화

⑧ Articular index(AI)

관절에 가해진 압력 또는 관절 운동 시 통증에 대한 정량평가의 합으로 표시한다.

⑨ Joint line palpation

관절연골 또는 반월판을 손으로 촉진하여 압통의 유무를 측정한다.

⑩ Knee/hip flexion and extension

무릎과 고관절의 굽혔다 펴는 정도와 제한 정도를 측정함으로써 관절의 운동성을 평가한다.

Hip flexion의 정상각도: 125도

Knee flexion의 정상각도: 140도

⑪ Hip internal/external rotation

고관절의 외회전 및 내회전 각도와 제한 정도를 측정함으로써 관절의 운동성을 평가한다.
내회전/외회전의 정상 각도는 45도 이다.

⑫ Joint mobility index

관절의 운동성을 주관적으로 평가하며, 0점은 관절 움직임에 제한 없음이며, 3점은 심한 제한 있음으로 판정한다.

⑬ 환자, 의사의 주관적 평가

전반적인 관절염 상태를 환자 및 의사에 의해 점수화하여 주관적으로 평가한다.

⑭ 관절의 기능성 측정

㉞ Limbering up time: 아침에 관절의 뻣뻣한 정도를 측정한다.

㉟ Grip strength: 악력을 측정한다.

㊱ 보행능: 보행능 측정을 위해 20M 평지를 걷는 데 걸리는 시간을 측정한다.

㊲ 계단 오르내리기: 32개의 계단 오르내리기를(16개 오르기, 16개 내리기) 5번 반복한다.

㊳ 오리걸음: 3M 오리걸음을 함으로써 무릎관절에 최대한의 하중을 주고 관절표면이나 반월판의 압축을 유발한다.

(2) 설문에 의한 통증 및 기능성 평가

① Western Ontario and McMaster University osteoarthritis index(WOMAC)

통증, 뻣뻣함, 일상생활 수행의 어려움 등 3가지 항목의 기능장애 정도를 점수화한다. 통증(5개 문항), 뻣뻣함(2개 문항), 기능(17개 문항) 총 24개의 문항으로 구성되고, 점수가 높을수록 증상의 악화, 활동의 제한을 나타낸다(5점 척도로 평가: 0점 통증/어려움 없음, 4점 매우 심함).

한글판 WOMAC 지수						
구분	항목과 평가내용	평가				
	통증	불편하지 않다	조금 불편하다	보통이다	많이 불편하다	매우 많이 불편하다
1	걷기					
2	계단 오르기					
3	야간					
4	휴식					
5	체중부하					
	경직	불편하지 않다	조금 불편하다	보통이다	많이 불편하다	매우 많이 불편하다
1	아침 경직					
2	낮 동안의 경직					
	신체적 기능	불편하지 않다	조금 불편하다	보통이다	많이 불편하다	매우 많이 불편하다
1	계단 내려오기					
2	계단 올라오기					
3	앉은 자세에서 일어나기					
4	서기					
5	무릎 굽히기					
6	평지 걷기					
7	자동차 타기와 내리기					
8	쇼핑하기					
9	양말신기					
10	침대에서 일어나기					
11	양말벗기					
12	침대에 눕기					
13	욕조에 들어가기와 나오기					
14	앉기					
15	화장실에 들어가기와 나오기					
16	힘든 집안일					
17	가벼운 집안일					

② Chinese Oxford Knee Score(COKS)

12개 문항으로 구성되어 있으며 무릎통증, 세탁/건조의 불편함, 이동의 불편함, 심한통증 전에 걷는 시간, 앉았다 일어날 때 통증, 걸을 때 다리 절기, 무릎 꿇기의 어려움, 잠잘 때의 통증, 통증으로 인한 일의 어려움, 무릎의 불안정감, 혼자 쇼핑하기, 계단 내려가기의 어려움 등이 있다. 5점 척도로 평가하며 1점은 가장 좋은 상태, 5점은 가장 나쁜 상태이며, 총점은 0(상태가 가장 나쁨)부터 48(상태가 좋음) 사이의 한 값으로 나타난다.

표 3. Summary of Oxford Knee Score

Question	
Function	Pain
2. Trouble with washing and drying	1. Usual level of knee pain
3. Trouble with transport	4. Walking time before severe pain
6. Limping when walking	5. Pain on standing up from sitting
7. Difficulty with kneeling	8. Pain in bed at night
10. Sense of knee instability	9. Work interference due to pain
11. Doing household shopping alone	
12. Trouble with walking down stairs	

③ Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score(KOOS)

설문은 지난 일주일 동안의 상태를 평가하고, 통증(9문항), 증상(7문항), ADL 기능(17문항), 운동과 레크레이션 기능(5문항), 삶의 질(4문항)로써 총 42문항으로 구성되어 있다. 5점 척도로 평가하며 원점수는 0-168점의 범위 안에 있으며, 낮은 점수가 건강한 상태인데, 정형외과 영역에서는 일반적으로 높은 결과값이 건강한 상태를 의미하므로 항목별 점수를 공식을 이용하여 변환하여 사용하며, 각 척도별로 0-100점의 범위를 갖는다. 최종적으로 점수가 높을수록 높은 삶의 질을 의미하게 된다. Knee Injury Osteoarthritis Outcome Score의 홈페이지(www.koos.nu)에서 변환 수식이 입력된 excel sheet를 제공하고 있다.

④ Lequesne Functional Index(LFI)

기능상태 평가로 총 11문항, 3개 영역으로 분류되어 있으며, 통증 또는 불편함(5문항), 최대 걸을 수 있는 거리, 일상생활 활동(5문항) 등이다.

통증이나 불편감에 관한 설문점수는 0-8점, 일상생활은 0-10점, 최대로 걸을 수 있는 거리는 0-8점의 범위를 가지며, 최대 점수는 26점으로 점수가 높을수록 슬관절의 장애가 심한 것으로 진단되며, 점수가 7점 이하이면 정상적인 기능을 가진 슬관절로 평가한다.

Scale(point)	Subscale(point)
Pain or discomfort (0-8)	Nocturnal pain(0-2), Morning stiffness(0-2), Standing position(0-1), Walking(0-2), Getting up from a seat(0-1)
Maximum distance walked(0-8)	Unlimited(0), More than 1km but limited(1), 1km(2), 500-900m(3), 300-500m(4), 100-300m(5), less than 100m(6), walking one crutch(+1), walking two crutches(+2)
Activities of daily living(0-10)	Ascend stairs(0-2), Go down stairs(0-2), Squatting(0-2), Walk uneven ground(0-2), Shooting pain & sudden weakness(0-2)
Total(26)	

⑤ Modified knee society knee score(MKSKS)

운동성, 불안정성, 통증, 기능성 평가의 4개 영역으로 분류되고, 이동 중 통증의 원인과 발생을 바탕으로 평가한다.

50점: 통증 없음
 40점: 계단 오르내리기 동안만 통증 있음
 30점: 이동 중에 통증 있음
 20점: 자주 통증 있음
 10점: 통증의 지속
 0점: 심한 통증 있음

⑥ Activities of Daily Living(ADL)

걷기, 차타고 내리기, 쇼핑하기, 스타킹 신고 벗기, 변기 앉았다 일어나기 등의 일상생활 수행의 어려움을 측정한다.

⑦ Chinese Arthritis Impact Measurement Scale 2-short form(CAIMS2-SF)

5가지 영역의 총 22문항으로 구성되어 있으며, 신체활동(10문항), 팔의 기능(5문항), self-care(3문항), 사회적 활동(1문항), 정신적 상태(3문항)로 구성된다.

각 5점 척도로 평가하고, 0점은 가장 좋은 상태, 5점은 가장 나쁜 상태이다.

⑧ Short form-36(SF-36)

총 36개 문항으로 9개 영역으로 분류되어 있고, 건강과 관련된 삶의 질을 측정한다. 신체적 기능, 신체적 역할, 통증, 일반적 건강, 활력, 사회적 기능, 감정적 역할, 정신건강 등에 대해 평가하고, 점수가 높을수록 높은 삶의 질 나타낸다.

(3) 관절 조직 및 대사물질 관련 지표

① Hyaluronic acid(HA)합성 증가

채혈한 혈액을 원심분리 하여 혈청을 분리한 후 ELISA kit를 이용하여 측정한다.

② Metalloproteinase(MMP)-2, 9 활성 억제

Metalloproteinase (MMP 9)와 tissue inhibitors of metalloproteinase (TIMP)는 ELISA kit를 이용하여 측정한다. MMP 9와 TIMP를 detect 하기 위해 혈청은 1:20으로 희석하여 분석한다.

③ 연골 proteoglycan(aggrecan) 합성

연골세포를 추출하기 위해 흉곽 뼈를 절개하여 2 mg/mL collagenase type II 을 포함한 DMEM배지에 90분간 배양한 뒤 각각의 늑골 아래 부분을 절개하여 2 mg/ml collagenase type II에 3시간동안 배양한다. 방출된 연골세포를 계대하여 10% foetal calf serum (FCS)를 포함한 DMEM 배지에 배양한다. 연골 proteoglycan 합성 측정은 연골세포에 FCS를 넣지 않고 배양하여 준비한다. 세포막을 용해하고, proteoglycan(PGs)를 1 M NaCl을 함유한 동일한 버퍼에 elution하여 획득한다. PGs를 9배 부피의 96% 에탄올과 4°C에 하룻밤동안 배양하고 17300g에 50분간 원심분리 한다. Pellet은 70% 에탄올로 washing하고 물에 용해시킨다. PGs는 액체섬광계수기로 35S-활성을 측정하여 정량화하고 단백질함량에 맞게 규격화한다.

④ Glycosaminoglycan(GAG) 분비 저해

Glycosaminoglycan (GAG)를 정량 분석하기 위하여 Blyscan Assay Kit를 사용하여 GAG를 염색하고, 염색된 GAG를 12,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 침전물에 dissociation reagent를 첨가한 후 96-well plate에 옮겨 Multiskan GO Microplate Spectrophotometer 를 이용하여 656 nm에서 흡광도를 측정한다.

⑤ Cartilage oligomeric matrix protein(COMP)

채혈한 혈액을 원심분리하여 혈청을 분리한 후 ELISA monoclonal antibodies 17-C10 and 16-F12를 이용하여 측정한다.

⑥ Serum pentosidine 억제

혈청 중 pentosidine 함량은 HPLC를 이용하여 측정한다. Pentosidine monitoring 조건은 $\lambda_{EX}/\lambda_{EM}=335/385$ nm이며 column 온도는 40°C, 이동상유속은 0.5 mL/min 이다.

⑦ Collagen파괴 억제

UVB 조사 후 수용성 콜라겐 생성량은 Sircol™ soluble collagen assay kit을 사용하여 측정한다.

⑧ Elastase 분비 억제

Elastase는 혈청에서 양면 효소 면역측정법 kit로 측정한다.

⑨ 조직병리학적 변화 관찰

Hematoxylin-eosin으로 염색 후, 관절 손상 정도를 광학현미경으로 관찰하여 그 결과를 지수화하여 평가한다.

㉔ 염증세포 침윤 및 연골손상 정도를 4점 척도로 평가

- 0점: 정상, 1점: 경미한 활액의 염증세포 침윤, 2점: 초기 연골손실로 약간 심한
염증세포 침윤, 3점: 심한 염증상태, 심한 연골 손실

㉕ 표피층의 손실, 연골침식, 갈라짐, 프로테오글리칸의 손실, 연골 세포의 분열,
연골세포의 손실, 연골하골의 노출, 군집형성을 5점 척도로 평가

⑩ Joint space width

관절의 구조적 변화를 평가한 것으로 방사선 사진을 통해 경대퇴골 관절 사이 공간을 측정한다.

(4) 항염증 관련 지표

① NO생성 수준, iNOS protein, mRNA 발현 수준

NO는 Griess reagent과 반응시키고, iNOS protein은 nuclear lysis을 진행한 뒤, PCR을 수행한다.

② COX 1, 2 활성

COX 1,2 활성 측정은 혈청에서 total RNA purification kit를 이용하여 RNA를 추출하고 RT-PCR을 수행한다. COX1, 2의 유전자들을 2-DDCT method로 상대값을 분석한다.

③ PGE2 합성 수준

세포 배양 후 상등액을 희석하여 PGE2 antibody plate에 가하고 PGE2-AchE trancer를 처리하여 상온에서 18시간 이상 배양한다. 배양 후 PGE2 antibody plate를 0.05% Tween in PBS로 1분간 5회씩 세척 한 다음, Ellman's reagent를 처리하여 상온에서 약 7시간 동안 배양한다. 405 nm에서 흡광도를 측정한다.

④ 염증성 cytokine 생성(IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10, IL-12) 수준

세포 배양액을 cytokine ELISA kit를 이용해 측정한다. 동물과 인체시험모델에서는 ELISA 분석법을 시행한다.

⑤ Leukotriene B4(LTB4) 활성

Leukotriene B4(LTB4) 활성의 측정은 혈청에서 ELISA kit를 이용하여 측정한다.

⑥ NF- κ B, ERK, JNK, p38 MAP kinases 활성

각 샘플을 RT-PCR 또는 western blot으로 측정한다.

⑦ Polymorphonuclear Leukocyte(PMN)의 chemotaxis 정도

말초정맥 또는 thioglycollate로 유도하여 얻은 PMN의 chemotaxis는 Boyden chamber method로 측정하고 Zigmond-Hirsch checkerboard 분석을 통해 chemotaxis를 분석한다.

⑧ PPAR γ 발현 활성

PPAR γ 측정은 혈액을 Tempus Blood RNA Tubes에 채취한 뒤, Stabilized Blood to Ct Nucleic Acid Preparation Kit for qPCR로 RNA를 정제하고 spectrophotometry로 정량화한다. High Capacity RNA-to-cDNA Kit로 역전사하고 PPAR- γ 에 대한 RT-PCR을 Taqman Gene Expression Assay primer-probe sets로 실시한다.

⑨ 경부임파절 세포 수(T, B세포)

경부임파절 세포 수 측정은 정제된 림프구를 RPMI 또는 PBS에 washing하고 PE-, FITC-, 또는 Quantum Red-conjugated 항체들(B : CD5, CD23, CD43, CD80, CD86; T: CD4, CD8, CD25, CD39)과 30분 동안 배양하여 세포를 표지한다. 표지된 림프구를 EPICS XL-MCL flow cytometer 또는 FACSCalibur flow cytometer 또는 immunofluorescent staining and flow cytometric analysis로 측정한다.

⑩ 콜라겐 특이적 항체 수준

콜라겐 특이적 항체 수준은 혈청에서 ELISA로 측정한다. Chick collagen type 2을 Plates에 5 μ g/ml로 하룻밤동안 4도에 배양하여 붙이고 IgM, IgG, IgG1, IgG2b, 또는 IgG2c conjugated with AP 등의 항체들과 반응시킨 뒤, PNPP substrate로 발색시켜 405nm에서 판독한다. anti-mouse Ig(H+L) (human adsorbed)를 standard로 하여 표준 선형 곡선을 얻는다.

⑪ 면역 관련 조직 무게

면역 관련 조직(Spleen, Thymus 등)의 무게는 실험동물의 희생 전 공복 시 체중을 측정하고 희생 후 면역 관련 조직을 적출함과 동시에 생중량을 측정한다.

immune organ index(IOI)(mg/g) = 면역 기관의 생중량/희생 전 공복 시 체중

⑫ CRP 농도

CRP 농도의 측정은 혈액을 채취한 뒤 20~30분 상온에 방치한 후 혈청을 분리한다. 분리한 혈청을 high sensitivity enzyme-linked immunosorbent assay를 사용하여 CRP를 정량화한다.

⑬ Erythrocyte sedimentation rate

적혈구침강속도는 체내에 존재하는 염증의 정도를 간접적으로 측정하는 방법이다. 길고 얇은 수직 관에 혈액 검체를 떨어뜨려서 적혈구가 침강되는 속도를 측정한다. 결과는 한 시간 후에 관의 상단부에 있는 투명한 혈장의 길이를 밀리미터로 측정한다. 일반적으로 적혈구는 천천히 침강하여 투명한 혈장을 거의 남기지 않지만, 비정상 단백질이나 섬유소원이나 면역 글로불린 등과 같은 급성기반응물질(염증에서 증가함)로 불리는 단백질 혈중 농도가 증가하면 적혈구를 더 빨리 침강하게 된다.

3. 시험 설계 시 고려사항

가. 뼈 건강 관련

(1) 시험관시험

① 시험계 및 바이오마커

조골세포(osteoblastic cells) 및 rat femoral metaphyseal tissue를 이용하여 시험 물질의 효능을 평가한다.

② 바이오마커

시험물질의 작용 기전을 설명하기 위하여 예상되는 되는 대사 경로에 있는 바이오마커의 양, 활성, 단백질 발현, mRNA 발현 등을 측정한다. 세포를 이용한 미네랄 침착 및 동물조직 세포에서의 칼슘함량, 골형성 지표 등을 측정한다.

③ 통계처리

시험결과는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여 $p < 0.05$ 수준 에서 유의성을 판정한다.

(2) 동물시험

① 시험대상

난소절제동물, 칼슘결핍동물 등의 골다공증 동물 모델을 사용할 수 있다.

② 시험설계

시험군은 정상대조군, Sham-operation군, 난소절제군, 기능성원료 투여군 등으로 설정할 수 있다

일반적으로 식이에 혼합하여 시험물질을 공급하거나 강제 경구투여 할 수 있다

☞ 정맥투여, 복강투여, 관절강 내 주사 등의 투여 방법은 적합하지 않다.

③ 바이오마커

골재흡수(PYD, DPD, TRACP 등) 및 골형성(OSC, ALP) 지표, 칼슘대사 및 호르몬 분비, 골절 위험(골밀도, 골강도, 골길이 등), 소장의 칼슘 흡수 지표 등 다양한 바이오마커를 측정할 수 있다.

④ 통계처리

시험결과는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 판정한다.

※ 골다공증 동물 모델

● 난소적출(ovariectomy) 모델

생쥐 등 부위에서 양쪽 신장의 밑쪽에 위치한 부위를 약 3mm 정도로 절개하여 난소를 제거할 수 있다. 난소적출 생쥐는 마치 여성의 폐경기 이후 여성호르몬의 결핍으로 인한 골 손실모델과 흡사하고 자궁 (uterus)이 퇴화되어 있는 모습을 관찰할 수 있다(그림 5의 b)). 이 방법은 가장 일반적으로 사용되는 골다공증 유도 질환모델이다. Ornoy와 Katzburg의 보고에 의하면 생후 3~4 개월부터 성장판의 융합이 이루어지고 약 6~8 개월이 지나면 골단(epiphyses)의 성장이 완전히 닫힌다고 보고한 바 있다. 따라서 생쥐의 난소적출 실험은 최소 생후 6개월 이상의 암컷 쥐를 이용하여야 하고, 이를 실행한 후 최소 한 달 이후에 골 복구 정도를 관찰하여야 한다. 그러나 마우스의 종류와 실험하고자 하는 목적에 따라 7주령 정도의 암컷 생쥐를 사용하기도 한다.

● 두개골 모델

두개골을 이용한 골다공증모델형성은 두개골의 골막(perio steum)으로 파골세포의 분화나 기능을 자극할 수 있는 LPS나 RANKL을 주입 하여 형성할 수 있다. 이 모델의 장점은 1주일 이내에 효과를 관찰할 수 있는 것이다. 두개골의 골다공증 정도는 골수강의 면적으로 판단할 수 있다. 1995년 Nishihara 그룹에서 처음으로 분리 정제된 LPS에 의해서 생쥐의 두개골 흡수가 증가됨을 확인하였다. 그림 5의 d)는 생쥐 (C57BL/1J)에 2.5mg/kg LPS를 골막 부위의 피하에 주입한 이후 4일째에 대조군과 실험군의 두개골 단면을 비교하여 보여주고 있다.

(3) 인체적용시험

① 시험대상

약물이나 에스트로겐을 복용하지 않는 폐경여성 혹은 난소절제 여성 등을 대상으로 한다.

뼈 건강 관련
대상자 선정기준(예시)
• 45-90세 여성 • 건강한 폐경기 여성(5년이상 폐경) • 각 부위의 요추 또는 고관절 BMD T- 점수가 -2.5 미만 -4.0 이상 • 골밀도가 낮고 (T- 점수 ≤ -1.67) 척추 골절 정도가 +1 ~ +5 인 대상자
대상자 제외기준(예시)
○ 질병상태 • 고혈압, 암, 자가 면역 질환, 통풍 또는 높은 요산 및 다음과 같은 장애가 있는 대상 : 심장, 간, 신장, 폐, 정신 및 내분비 장애 (예 : 갑상선, 부갑상선 및 당뇨병 등). • 자궁 절제술 및 / 또는 난소 절제술 이력이 있는 자 ○ 생리적 상태 • 임신부, 임신을 준비하는 사람 • 수유부 ○ 약물복용 • 약물중독 • 골전도 및 골밀도에 영향을 미치는 약물을 사용하는 대상 ○ 생활 습관 • 알코올 중독자 • 담배 중독 (담배 흡연) 10개/일) ○ 알레르기 • 시험물질에 대한 알레르기/부작용이 있는 자 ○ 기타 • 최근 3개월 내 다른 임상 실험 참가자 • 규칙적인 운동 (주 3회 이상) • 그 외 연구자에 의해 실험에 부적합하다고 판단되는 사람

② 시험설계

무작위배정, 위약대조연구(Randomized, controlled trial; RCT)를 기본으로 한다.

③ 바이오마커

골재흡수(PYD, DPD, TRACP 등) 및 골형성(OSC, ALP) 지표, 칼슘대사 및 호르몬 분비, 관절 위험(골밀도 등), 소장 칼슘흡수 지표 등 다양한 바이오마커를 측정할 수 있다.

④ 통계처리

시험결과는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 판정한다.

나. 관절 건강 관련

(1) 시험관시험

① 시험계

마우스 대식세포, 연골세포, 섬유아세포(fibroblast) 등을 사용하여 시험물질의 효능을 평가한다.

② 바이오마커

시험물질의 작용 기전을 설명하기 위하여 예상되는 되는 대사 경로에 있는 바이오마커의 양, 활성, 단백질 발현, mRNA 발현 등을 측정한다. 세포를 이용한 항염증, 관절 구성성분 지표 등을 측정한다.

③ 통계처리

시험결과는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 판정한다.

(2) 동물시험

① 시험대상

관절염을 유도한 동물 모델(mouse, rat, zebra fish 등)을 사용할 수 있다.

※ 관절염 동물 모델

● 골관절염 (Osteoarthritis; OA)모델

OA 모델로 많이 선택하는 동물은 토끼(New Zealand White Rabbit)이며, 개가 사용되기도 한다. 동물의 관절염 유발에서 널리 알려진 방법은 십자인대를 절개한 후 일정 기간 동안 동물을 운동하게 하여 골관절염을 유발하는 방식이다. 이외에 부목 등을 이용하여 다리를 고정하는 방법, 활막 절개 방법 등이 있으며, collagenase를 관절 내에 투여하는 방식도 있다. 토끼나 개의 경우 동물의 크기가 크기 때문에 시험하는 과정에 어려움이 많아, 최근에는 SD 랫드를 이용하기도 하는데, mono-iodoacetate (MIA)를 관절강에 투여하여 유발하는 방법을 사용한다.

● 류마티스성 관절염(Rheumatoid arthritis, RA)모델

RA 모델은 마우스나 랫드에 이종(heterogeneity) collagen과 freund adjuvant를 투여하여 관절염을 유발하는 방법이 가장 잘 알려져 있다. 동물 종으로는 랫드는 Lewis rat, 마우스는 DBA/1 mouse가 널리 쓰이며 Balb/c mouse가 사용되기도 한다. 동물에 Type II collagen을 꼬리 부분에 피내투여한 후, 일정 기간 후에 Complete Freund's Adjuvant 또는 Incomplete Freund's Adjuvant를 투여하여 관절염을 유발시킨다. 최근에는 단기간(20일) 이내에 RA를 유발하는 kit가 개발되어 상업적으로 판매하고 있다.

② 시험설계

시험군은 정상대조군, 관절염 유발군, 기능성원료 투여군 등으로 설정할 수 있다.

일반적으로 식이에 혼합하여 시험물질을 공급하거나 강제경구투여 할 수 있다.

※ 정맥투여, 복강투여, 관절강 내 주사 등의 투여 방법은 적합하지 않다.

③ 바이오마커

항염증 지표, 관절조직 및 구조변화(무릎 관절 GAG 함유량, 연골 PG 생성 등), 임상적 증상(부종, 통증, 무릎 관절 상태 관찰 등) 등 다양한 바이오마커를 측정할 수 있다.

④ 통계처리

시험결과는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여 $p < 0.05$ 수준 에서 유의성을 판정한다.

(3) 인체적용시험

① 시험대상

노화에 의해 연골이 소실되고 관절이 변형되면서 국소적으로 퇴행성 변화가 나타나는 퇴행성 골관절염자를 대상으로 한다.

관절 건강 관련
대상자 선정기준(예시)
• 40-75세의 남녀 • 퇴행성 비대 OA 진단을 받은 자(영상진단) • 무릎 KL(Kellgren-Lawrence) grade가 I-II 등급인 자 • VAS 측정시 30~100 mm인 자 • 체질량 지수 18~29kg/m²인 자 • 스크리닝하기 전 2주일 동안 언제라도 운동이나 신체활동과 관련된 무릎 불편함을 호소하는 대상자
대상자 제외기준(예시)
○ 질병상태 • ACR (미국 류마티스 학회)에 따라 염증성 관절 장애로 진단된 자 • 중등도 또는 중증의 활막염(Kellgren-Lawrence grade III 등급 이상)이 있는 자 • 반월판의 파열이 있는 자 • 신장, 간 또는 위장관, 심혈관, 내분비 또는 신경계의 만성 질환이 있는 자 • 무릎 또는 고관절 대체 수술의 병력이 있는 자 ○ 생리적 상태 • 임신부, 임신을 준비하는 자 • 수유부 ○ 약물복용 • 약물중독 • 지난 3 개월 이내에 글루코사민 설페이트, 콘드로이틴 설페이트, 관절 내 히알루로네이트 또는 전신 또는 관절 내 글루코코르티코이드 등에 대한 사용 이력이 있는 자

항염증제, 보스웰리아, 커큐민, 오메가-3 지방산, 콜라겐 보충제를 30일 이내에 복용한 이력이 있거나 만성적으로 사용하는 자

- 생활 습관
 - 알코올 중독자
 - 흡연중인 자
- 알레르기
 - 시험물질에 대한 알레르기/부작용이 있는 자
- 기타
 - 최근 3개월 내 다른 임상시험에 참가한 자
 - 연구 전체에서 활용되는 보행 또는 운동 테스트를 방해하는 고관절 또는 허리 통증이 있는 경우
 - 그 외 연구자에 의해 시험에 부적합하다고 판단되는 자

② 시험설계

무작위배정, 위약대조연구(Randomized, controlled trial; RCT)를 기본으로 한다.

③ 바이오마커

항염증 지표, 관절조직 및 구조변화, 임상적 증상(VAS, WOMAC, LFI, AI 등) 등 다양한 바이오마커를 측정할 수 있다.

④ 통계처리

시험결과는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 판정한다.

IV

참고문헌

1. 「건강기능식품 기능성 원료 및 기준규격 인정에 관한 규정」, 식품의약품안전처 고시
2. 식품의약품안전청. 건강기능식품 기능성 평가 가이드- 뼈/관절 건강에 도움. 2012
3. 신찬수, 조화영. 뼈의 재형성 및 무기질화. 대한내분비학회지. 20(6): 543-555, 2005
4. 윤종현. 골관절염의 최신지견. 대한내과학회지. 82(2):170-174, 2012
5. 허남욱, 최찬범, 엄완식, 배상철. 국민건강영양조사를 이용한 한국인 관절염의 유병률 현황과 연도별 변화. 대한류마티스학회지. 15(1): 11-18, 2008
6. Balci Yuce H, Gokturk O, Aydemir Turkal H, Inanir A, Benli I, Demir O. Assessment of local and systemic 25-hydroxy-vitamin D, RANKL, OPG, and TNF levels in patients with rheumatoid arthritis and periodontitis. J Oral Sci. 59(3):397-404, 2017
7. Colica C, Merra G, Gasbarrini A, De Lorenzo A, Cioccoloni G, Gualtieri P, Perrone MA, Bernardini S, Bernardo V, Di Renzo L, Marchetti M. Efficacy and safety of very-low-calorie ketogenic diet: a double blind randomized crossover study. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 21(9):2274-2289, 2017
8. EFSA. Guidance on the scientific requirements for health claims related to bone, joints, skin, and oral health. EFSA J. 10(5):2702, 2012
9. Greenblatt MB, Tsai JN, Wein MN. Bone Turnover Markers in the Diagnosis and Monitoring of Metabolic Bone Disease. Clin Chem. 63(2):464-474, 2017
10. Jafarnejhad-Ansariha F, Yekaninejad MS, Jamshidi AR, Mansouri R, Vojdani M, Mahmoudi M, Fattahi MJ, Hashemi SN, Rehm BHA, Matsuo H, Esposito E, Cuzzocrea S, Mirshafiey A. The effects of β -D-mannuronic acid (M2000), as a novel NSAID, on COX1 and COX2 activities and gene expression in ankylosing spondylitis patients and the murine monocyte/macrophage, J774 cell line. Inflammo pharmacology. 26(2):375-384, 2018
11. Lewis AL, Jordan F, Patel T, Jeffery K, King G, Savage M, Shalet S, Illum L. Intranasal Human Growth Hormone (hGH) Induces IGF-1 Levels Comparable With Subcutaneous Injection With Lower Systemic Exposure to hGH in Healthy Volunteers. J Clin Endocrinol Metab. 100(11):4364-71, 2015
12. Mann ST, Stracke H, Lange U, Klör HU, Teichmann J. Alterations of bone mineral density and bone metabolism in patients with various grades of chronic pancreatitis. Metabolism. 52(5):579-85, 2003

13. Nelson AE. Osteoarthritis year in review 2017: clinical. *Osteoarthritis Cartilage*. 26(3):319-325, 2018
14. Watt FE. Osteoarthritis biomarkers: year in review. *Osteoarthritis Cartilage*. 26(3):312-318, 2018
15. Park Y, Lee A, Shim SC, Lee JH, Choe JY, Ahn H, Choi CB, Sung YK, Bae SC. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation in patients with rheumatoid arthritis: a 16-week randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-design multicenter study in Korea. *J Nutr Biochem*. 24(7):1367-72, 2013
16. Pisitkun P, Claudio E, Ren N, Wang H, Siebenlist U. The adaptor protein CIKS/ACT1 is necessary for collagen-induced arthritis, and it contributes to the production of collagen-specific antibody. *Arthritis Rheum*. 62(11):3334-44, 2010
17. Rauch F, Georg M, Stabrey A, Neu C, Blum WF, Remer T, Manz F, Schoenau E. Collagen markers deoxypyridinoline and hydroxylysine glycosides: pediatric reference data and use for growth prediction in growth hormone-deficient children. *Clin Chem*. 48(2):315-22, 2002
18. Rief H, Omlor G, Akbar M, Bruckner T, Rieken S, Förster R, Schlampp I, Welzel T, Bostel T, Roth HJ, Debus J. Biochemical markers of bone turnover in patients with spinal metastases after resistance training under radiotherapy—a randomized trial. *BMC Cancer*. 17;16:231, 2016
19. Sanjeevi N, Lipsky LM, Nansel TR. Greater inflammation and adiposity are associated with lower bone mineral density in youth with type 1 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 144:10-16, 2018
20. Sørensen KU, Kruger MC, Hansen-Møller J, Poulsen HD. Bone biochemical markers for assessment of bone responses to differentiated phosphorus supply in growing-finishing pigs. *J Anim Sci*. 96(11):4693-4703, 2018
21. Wang Y, Yi L, Zhao ML, Wu JQ, Wang MY, Cheng XC. Effects of zinc-methionine on growth performance, intestinal flora and immune function in pigeon squabs. *Br Poult Sci*. 55(3):403-8, 2014

건강기능식품 기능성 평가 가이드(민원인 안내서)

- 뼈 건강, 관절 건강 관련 -

발 행 인 : 이동희

편 집 위 원 장 : 황인균

편 집 위 원 : 이해영, 김종수, 윤태형, 권광일, 국주희, 김규현,
김준영, 주도영, 오재명, 방수진, 류은채, 안정선,
조정화, 김선후, 문상은, 김아름

발 행 처 : 식품의약품안전평가원

발 행 일 : 2020년 9월

문 의 처 : 식품위해평가부 영양기능연구과

(043-719-4402, 4416, 4421, 4422, 4423,
4425, 4426, 4430)

건강기능식품 기능성 평가 가이드 (민원인 안내서)

뼈 건강 관련, 관절 건강 관련



【부패. 공익신고】 신고자 및 신고내용은 보호됩니다.

- ▶ 식약처 홈페이지 “국민소통 > 국민신문고 > 부패.공익신고” 코너
- ▶ 식약처 홈페이지 “국민소통 > 신고센터 > 부패.공익신고 상담” 코너