

상심자추출복합물의 퇴행성관절염 개선 효능에 대한 동물실험 및 임상연구

김진구^{1#}, 하정구¹, 이화², 정종문^{3*}

1 : 인제대학교 서울 백병원 정형외과, 2 : (주)벤스랩 중앙연구소, 3 : 수원대학교 생명과학과

Animal and Clinical Study of the Efficacy of Mulberry Extract Complex on Degenerative Arthritis

Jinku Kim^{1#}, Jeongku Ha¹, Hua Li², Jong-Moon Jeong^{3*}

1 : Division of Orthopedic Surgery, Inje University Seoul Paik Hospital, 2 : Research Center of Ben's Lab Co., Ltd,
3 : Department of Life Science, The University of Suwon

ABSTRACT

Objectives : This study was performed to investigate the efficacy and safety of the Mulberry Extract Complex in a placebo-controlled randomized clinical trial and animal study on degenerative arthritis.

Methods : Animal study: Mulberry Extract Complex is composed of extracts of mulberry (*Morus alba* L.) fruit, mulberry leaves and black beans (*Glycine max* (L.) Merr.). To evaluate the serum level of interleukin-2, interferon- γ , and prostaglandin E₂, an animal model of degenerative arthritis induced by monosodium iodoacetate was employed.

Clinical study: The efficacy index (VAS, K-WOMAC) was compared among patients with symptoms of degenerative arthritis before and after Mulberry Extract Complex ingestion as well as the one in groups. Evaluations of the improvement by the subjects and by doctor assessment were also performed.

Results : Animal study: Mulberry Extract Complex reduced the serum level of interferon- γ and prostaglandin E₂ in an animal model with degenerative arthritis.

Clinical study: The VAS change showed statistical significance in the experimental groups after 4 weeks (PP set) and 8 weeks (ITT set) of ingestion. When the K-WOMAC was analyzed using a modified ITT set to determine the effectiveness, statistically significant results were obtained in the fields of pain & symptom within the Mulberry Extract Complex group as well as between the Mulberry Extract Complex and placebo groups after 8 weeks of ingestion. Results from the improvement evaluation by subjects and the assessment of improvement by doctors showed statistical significance in the experimental groups (PP set) after 8 weeks.

Conclusions : Mulberry Extract Complex could be useful for the improvement of various symptoms of degenerative arthritis based on its anti-inflammatory activity and its reduction of VAS and K-WOMAC pain scores.

Key words : Mulberry, Arthritis, K-WOMAC, VAS, Efficacy, Safety

서론

퇴행성관절염(degenerative arthritis, degenerative joint disease)은 골관절염(osteoarthritis)이라고도 하는 가장 흔한 관절염의 유형으로 외상이나 질병 및 관절기형으로 인해 발생

하는 경우가 있으나 주로 관절을 보호하는 연골의 퇴행성 손상으로 인해 염증과 통증이 유발되는 질병이다¹⁻³⁾. 일반적으로 퇴행성관절염의 주요 발병원인은 노화이지만 성별, 유전적 요소, 비만 정도, 생활습관 등도 중요한 요인으로 작용하고 있다.

*Corresponding author : Jong-Moon Jeong, Department of Life Science, The University of Suwon
· Tel : +82-31-222-6514 · Fax : +82-31-222-6552 · E-mail : jmjeong@suwon.ac.kr
#First author : Jinku Kim, Division of Orthopedic Surgery, Inje University Seoul Paik Hospital
· E-mail : boram107@hanmail.net
· Received : 21 April 2015 · Revised : 15 May 2015 · Accepted : 18 May 2015

중증 퇴행성관절염은 관절경을 이용한 유리체 및 활액막 제거, 활막 절제, 소파관절 성형, 다발성 천공, 인공관절 치환 등 수술적 방법으로 치료하며 중증이 아닌 경우 약물요법이 주 치료방법이다⁴⁾. 퇴행성관절염의 치료 혹은 개선에 사용되는 천연물 의약품에는 조인스정, 디세렌(Diacerein), 아보카도-소야 불검화추출물(Avocado-Soya Unsaponifiables), S-adenosyl-L-methioine, 황산글루코사민, 황산콘드로이친 등의 제품이 있고 퇴행성관절염의 치료에 사용되는 약물에는 acetaminophen, ibuprofen이나 indomethacin과 같은 비스테로이드성 항염제(NSAIDs), 히알루론산(hyaluronic acid) 혹은 합성스테로이드(steroid)가 있으나 질병의 근원적인 치료가 불가능하고 장기간 사용 시 위장관 및 신장 부작용, 심혈관계 부작용, 과민반응, 면역체계 약화 등을 야기할 수 있다⁵⁻⁷⁾. 따라서, 단순히 증상을 일시적으로 완화시키는 제품이 아닌 염증개선 및 연골재생 등을 통한 근본적인 퇴행성관절염 치료제의 개발이 절실하다. 특히, 다른 합성의약품과 비교할 때 장기간 섭취해도 부작용의 위험이 적으면서 소염 및 진통의 효과가 우수한 천연물을 이용한 제품에 대한 소비자의 관심과 욕구가 높은 편이다.

桑椹子(Mulberry, 오디)는 桑椹, 桑實, 烏椹, 黑椹이라고도 하며 罌나무과(Moraceae), 罌나무속(Morus)에 속하는 罌나무(Morus alba L.)의 열매이다. 桑椹子는 베리(berry)류로서 다른 식물에 비해 안토시아닌 계열의 색소(cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3-rutinoside) 및 다양한 페놀화합물을 함유하고 있다⁸⁻¹⁰⁾. 桑椹子는 DPPH 라디칼을 소거하는 항산화 기능¹¹⁾, 알코올 분해능을 통한 숙취해소¹²⁾, 혈관내피 세포의 이동 억제를 통한 혈관신생억제¹³⁾, 항당뇨¹⁴⁾ 등의 생리활성기능들이 보고되어 있다.

桑葉(Mulberry leaf)은 鐵扇子 또는 蠶葉으로 불리우는 罌나무의 잎으로서 rutin, chlorogenic acid, quercetin 3-(6-malonylglucoside), kaempferol 3-(6-malonylglucoside) 등 다양한 페놀화합물¹⁵⁾이 다량 함유되어 있어 항암활성¹⁶⁾ 및 간보호¹⁷⁾ 등의 생리활성이 보고되어 있다.

서리태(Black bean)는 黑豆라고도 하며 껍질이 검은색이지만 속이 파랗다고 하여 속칭이라고도 한다. 서리태는 daidzein, genistein과 같은 isoflavone이 다량 함유되어 있어 여성호르몬인 에스트로젠(estrogen)과 유사한 생리기능을 한다고 알려져 있다¹⁸⁾.

선행연구에서는 桑椹子, 桑葉, 서리태 복합추출물의 퇴행성관절염 개선효과를 퇴행성관절염 동물모델을 이용한 연구를 통해 보고하였으며¹⁹⁻²⁰⁾, 이에 본 연구에서는 상심자추출복합물이 monosodium iodoacetate (MIA)로 골관절염이 유도된 동물모델의 혈중 염증지표에 미치는 영향을 조사하였다. 또한, 경증의 퇴행성 골관절염 증상을 가진 사람들의 관절건강에 대한 상심자추출복합물의 유효성과 안전성을 무작위 배정, 이중맹검, 위약대조 임상시험으로 평가하였다.

재료 및 방법

1. Mulberry Extract Complex (MEC)의 제조

상심자추출복합물(Mulberry Extract Complex, MEC)의

제조는 선행연구 방법¹⁹⁾에 따라 수득하였다. 즉 桑椹子 생과를 식품용 분쇄기로 분쇄한 후 3배량(w/v)의 40% 에탄올 수용액을 가하여 50℃에서 4시간 추출하고, 추출액을 여과하여 여액을 감압농축한 후 동결건조하여 추출분말을 얻었다. 桑葉 추출분말은 桑葉 분쇄 분말에 4배량(w/v)의 50% 에탄올 수용액을 첨가하여 60℃에서 4시간 추출 후, 여과하여 얻은 여액을 감압농축한 후 동결건조하여 얻었다. 서리태 추출분말은 서리태 분쇄 분말에 4배량(w/v)의 30% 에탄올 수용액을 첨가하여 60℃에서 4시간 추출한 다음, 여과하여 얻어진 여액을 감압농축한 후 동결건조하여 얻었다.

桑椹子, 桑葉, 서리태 추출물 중 항염증효과를 나타내는 물질들의 함량을 고려하여 상심자추출복합물을 제조하였다. 상심자추출물 중 안토시아닌(ca. 1%), 상엽추출물 중 루틴(ca. 1%), 서리태추출물 중 이소플라본(ca. 0.2%)의 함량을 고려하여 70 : 14 : 16의 중량비로 혼합하여 제조하고 이를 MEC라 명하였다.

2. 윤리적 고려

본 연구 중 동물실험은 동물실험윤리위원회의 승인(USW-IACUC-EDU-2015-01-01)을 받고 시작되었으며, 임상시험은 임상시험심사위원회의 승인(IRB No. SIT-2012-166)을 얻어 시작되었다. 임상시험의 전 과정은 국제 임상시험 통일안(ICH) 및 임상시험관리기준(GCP)을 준수하여 수행되었다.

3. 동물실험

1) MIA 유도 퇴행성관절염 동물모델 제작 및 MEC 경구투여

생후 7주령의 Sprague Dauley계 흰쥐를 샘타코(주)(Seoul, Korea)에서 분양받아 사육하였다. 사료와 식수는 자유로 급여하였고, 사육실은 온도 22 ± 1℃, 상대습도 55 ± 5%로 유지하였다. 명암은 12시간 주기(07:00 ~ 19:00)를 유지하면서 2주간 실험동물을 안정화시켰다.

MIA(40 mg/mL)를 0.85% 생리식염수에 녹여 흰쥐의 오른쪽 무릎 관절강내에 50 μL씩 주입하여 골관절염을 유도하였다. Sham군에는 MIA 대신 동량의 생리식염수를 주입하였다. 24시간 후부터 Table 1에 나타난 바와 같이 군별로 정제수, 정제수에 녹인 MEC 혹은 ibuprofen을 14일간 매일 일정한 시간에 경구투여 하였다.

Table 1. Induction of degenerative arthritis by MIA and oral dose of sample.

Groups	Induction of arthritis	Oral dose of sample/day (for 14 days)	Number of animals
Sham	Treated with saline	Distilled water	10
Negative control		Distilled water	10
Positive control		Ibuprofen 20 mg/kg body weight	10
MEC100	Treated with MIA (40 mg/mL, 50 μL/rat)	MEC 100 mg/kg body weight	10
MEC400		MEC 400 mg/kg body weight	10

2) 혈중 IL-2, IFN- γ , PGE₂ 농도 측정

MIA로 퇴행성관절염이 유도된 흰쥐의 혈청을 분리하여 혈중 IL-2 (R&D systems, Minneapolis, Minnesota, USA), IFN- γ 와 PGE₂ (abcam, Cambridge, Massachusetts, USA)를 각 제조회사가 제시한 방법(ELISA kit)으로 측정하였다.

3) 통계학적 분석

동물실험결과는 3회 반복으로 측정하여 평균 \pm 표준편차 (Mean \pm SD)로 나타냈으며, SPSS (PASW statistics 18)를 사용하여 ANOVA (Scheffe test)로 통계적 유의성이 있는지 판단하였다($p < 0.05$).

4. 임상시험

1) 연구대상

2012년 8월부터 2013년 8월까지 인제대학교 서울백병원 정형외과를 방문한 경증의 퇴행성 골관절염 증상이 있는 지원자를 연구대상으로 선정하였다.

2) 피험자의 선정기준

지원자들에 대해 이학적 관찰을 거친 후 혈액 및 방사선 검사를 통하여 연구대상 가능 여부를 검증하였고 선정기준을 다음과 같이 하였다.

- (1) 남녀 구분 없이 만 40세~75세의 성인
- (2) Visual Analogue Scale (VAS) 30 mm 이상에 해당되는 자
- (3) X-ray상에서 슬관절 또는 고관절 등의 Kellgren & Lawrence grading scale이 1등급 혹은 2등급에 해당되는 자
- (4) 관절염 관련 의약품 또는 건강기능식품 wash out 기간을 1주 이상 가진 자
- (5) 시험이 시작되기 전에 인체적용시험 참여 동의서 (informed consent)를 작성한 자
퇴행성 관절염의 진단을 위하여 방사선 검사로는 슬관절 또는 고관절 X-ray를 시행하고 그 정도를 Kellgren & Lawrence grade로 평가하였다. Kellgren & Lawrence grade는 5등급으로 분류되며, 각 등급은 다음과 같다.

- ① 0등급(정상) : 방사선상 골관절염의 특징적인 변화가 없음
- ② 1등급(의심) : 관절강의 감소가 없이 최소한 골극 존재
- ③ 2등급(경증) : 관절강의 적은 감소가 있으면서 최소한 골극 존재
- ④ 3등급(중등도) : 관절강의 중등도 감소가 있으면서 중등도 골극 존재
- ⑤ 4등급(중증) : 연골하 골의 경화로 관절강이 거의 또는 전체가 감소

3) 제외기준

- (1) 연구책임자의 판단으로 퇴행성 이외의 특정요인에 의한

관절염에 해당하는 사람

- (2) 관절 간격이 2 mm 이상 감소한 사람
- (3) 관절 주위의 골극 현상, 불규칙한 관절면, 관절의 연골하 골낭종 등이 동반되어 있으며 중등도의 관절염으로 판단되는 사람
- (4) 현재 관절통 이외에 임상적으로 유의한 심혈관계, 면역계, 감염성, 종양성 질환을 가진 사람
- (5) 위염, 위궤양 치료 중인 사람
- (6) 조절되지 않는 고혈압 환자(170/100 mmHg이상, 피험자 스크리닝 당시 기준)
- (7) 혈당이 조절되지 않는 당뇨병 환자(공복 혈당 180 mg/dl 이상, 피험자 스크리닝 당시 기준)
- (8) 갑상선 질환으로 진단받아 치료 중인 사람
- (9) AST(GOT)와 ALT(GPT)가 수행기관의 검사 정상범위의 3배 이상인 자
- (10) Creatinine이 수행기관의 검사 정상범위의 2배 이상인 자
- (11) 임신 중이거나 3개월 이내에 임신 예정인 사람
- (12) 심각한 정신 질환을 앓고 있는 사람
- (13) 본 인체적용시험 기간 중에 다른 인체적용시험에 참여할 예정인 사람
- (14) 기타 연구자가 본 시험에 부적절하다고 판단하는 사람

4) Randomization & enrollment

자의에 의해 인체적용시험 동의서에 서명한 피험자가 본 인체적용시험에 등록되면 방문평가를 통해 선정기준 / 제외기준 적합 여부를 판정한 뒤, 등록된 순서에 따라 computer-generated randomization schedule을 이용하여 시험군 또는 대조군 중 한 군으로 무작위 배정하였다. 인체적용시험에 사용된 상심자추출복합물을 함유한 시험식품은 다음과 같이 제조되었다. 결정셀룰로오스 등 부형제를 첨가한 적갈색 코팅 정으로, 800 mg/정 중 300 mg의 시험물질이 함유되게 하였다. 시험군에게는 시험식품인 MEC(시험물질로서 300 mg/정)를 1일 2회, 1회 2정씩 식수와 함께 섭취(시험물질로서 1,200 mg/day)시켰고, 대조군에게는 결정셀룰로오스로서 외관상 성상이 시험식품과 동일한 placebo제품을 섭취시켰다.

5) 관찰항목, 임상검사 항목 및 방법

피험자의 서면 동의 여부 및 피험자의 성별, 연령, 신장, 체중, 병력 및 약물 투여력, 이학적 검사(심혈관계, 폐 및 호흡기계, 위장관 / 간 및 담도계, 대사 / 내분비계, 신장 / 요로계, 생식기계, 근골격계, 피부 및 결합조직, 신경계), 활력징후(혈압, 맥박), 임상병리검사(혈액학적, 혈액화학적)를 진행하였다. 혈액학적 검사로는 red blood cell (RBC), white blood cell (WBC), hemoglobin (Hb), hematocrit (Hct), platelet count, segmented neutrophils (Seg. Neu), lymphocyte, monocyte, eosinophil, basophil을 분석하였다. 혈액화학적 검사로는 AST(GOT), ALT(GPT), total cholesterol, low density lipoprotein (LDL), high density lipoprotein (HDL),

triglyceride (TG), glucose, total protein, blood urea nitrogen (BUN), creatinine, uric acid, Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca²⁺ 등 항목에 대해 분석을 실시하였다.

6) 식사지도 및 식사기록지 확인

시험기간 동안 피험자에게 평소 섭취하던 식사형태를 유지하고, 상심자추출복합물 관련 식품을 정기적으로 먹거나 마시지 않도록 권고하였다. 상심자추출복합물 관련 식품으로는 桑椹子, 桑葉, 서리태 등이 있으며, 이에 대한 섭취여부를 조사하였다. 피험자에게 식사일지에 시험기간 동안 자신이 섭취한 상심자추출복합물 관련 식품의 섭취 빈도수를 기록할 것을 교육하였다.

본 연구에서는 Kellgren & Lawrence grading scale의 1, 2등급에 해당하며 VAS pain 30 mm 이상의 증상이 있는 사람을 피험자로 선정하였고 baseline, 4주 투약, 8주 투약 종료 후, 통증에 대한 평가(Visual Analog Scale, VAS)와 기능 및 상태에 대한 평가(Korean-Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis index (K-WOMAC)로 하지 슬관절 및 고관절의 퇴행성관절염 척도를 평가하였다.

7) 통계 분석방법

임상시험에 대한 통계분석은 SAS® (Version 9.2, SAS institute, Cary, North Carolina, USA)를 이용하여 분석하였다. 유효성 평가분석의 주 분석대상은 intent to treat (ITT) set로 하고, per protocol (PP) set를 추가적으로 실시하였다. 유효성 평가변수의 투여 전후 변화의 정도는 paired *t*-test를 이용하여 분석하였고, 투여 군간의 차이는 two sample *t*-test, Wilcoxon rank sum test를 이용하여 통계적으로 유의한지 여부를 평가하였다.

결 과

1. 동물실험

1) Interleukin-2 (IL-2), interferon-γ (IFN-γ), prostaglandin E₂ (PGE₂) 생성억제

MIA로 퇴행성관절염을 유도한 동물모델에게 MEC를 14일간 경구투여한 후 혈중 IL-2, IFN-γ, PGE₂의 농도를 측정하여 Table 2에 나타내었다. MIA를 주입하고 정제수를 14일간 경구투여한 음성대조군의 경우, 혈중 IL-2가 58.2 ± 7.9 pg/mL였고, 관절염 치료제로 사용되는 합성의약품인 Ibuprofen을 경구투여한 경우, 53.3 ± 7.9 pg/mL였으며, MEC를 400 mg/kg 체중의 투여량으로 투여한 경우에는 49.3 ± 6.9 pg/mL로서 IL-2 감소 경향을 보이긴 하였으나 통계적으로 유의한 차이는 아니었다. IFN-γ의 경우 음성대조군에서 428.6 ± 59.0 pg/mL로 나타났고 Ibuprofen 군에서는 301.0 ± 88.3 pg/mL, MEC400군에서는 232.4 ± 72.8 pg/mL로 음성대조군에 비해 통계적으로 유의하게 낮았다(*p* < 0.05). MEC100 및 MEC400군 혈중 PGE₂의 농도는 각각 258.9 ± 39.2 pg/mL와 225.4 ± 27.9 pg/mL로서, 음성대조군의 혈중 PGE₂ 농도(410.3 ± 83.5 pg/mL)에 비해 통계적으로 유의하게 낮았다(*p* < 0.05).

Table 2. Effect of MEC on the serum concentrations of IL-2, IFN-γ, and PGE₂ in animal model of degenerative arthritis.

(Unit: pg/mL)

	Sham	Negative control	Positive control (Ibuprofen)	MEC100	MEC400
IL-2	39,6 ± 7,9 ^a	58,2 ± 7,9 ^b	53,3 ± 7,9 ^{ab}	55,1 ± 3,7 ^b	49,3 ± 6,9 ^{ab}
IFN-γ	263,8 ± 39,1 ^a	428,6 ± 59,0 ^b	301,0 ± 88,3 ^{ab}	314,3 ± 43,0 ^{ab}	232,4 ± 72,8 ^a
PGE ₂	162,5 ± 31,5 ^a	410,3 ± 83,5 ^c	330,8 ± 36,9 ^{bc}	258,9 ± 39,2 ^{ab}	225,4 ± 27,9 ^a

1) All data are presented as means ± SD of three independent experiments.
2) Different letters (a, b, c) within a line denote statistically significant differences (*p* < 0,05)

2. 임상시험

1) 피험자의 인체적용시험 참여 상태

본 인체적용시험에서는 적합한 피험자를 선정하기 위하여 총 122명의 지원자에 대해 screening을 실시하였다. 시험군 45명, 대조군 45명이 무작위로 배정되었으나, 선정기준을 위반하여 시험군에서 1명이 탈락되었고, 병용금지약물 복용으로 2명, 연락두절로 인해 1명, 동의철회로 인해 1명 등 4명의 피험자가 대조군에서 중도탈락하여, 인체적용시험을 최종 완료한 피험자는 총 85명이었다. 시험군중 순응도 80% 미만으로 9명, 대조군중 순응도 80% 미만으로 4명(총 13명)이 시험 완료 후 탈락되어 총 72명의 피험자(시험군 35명, 대조군 37명)가 계획서대로 인체적용시험을 종료하였다.

2) 피험자의 인구학적 정보 및 섭취전 특성

Table 3에 피험자의 인구학적 정보 및 섭취 전 특성을 비교하여 나타내었다. 섭취 전 피험자들의 인구학적 정보와 특성에 대하여 조사한 결과, 성별 항목에서는 시험군(MEC group)에 남성이 11명(24.44%), 여성이 34명(75.56%) 포함되었고, 대조군(Placebo group)에 남성이 10명(22.22%), 여성이 35명(77.78%) 포함되어 군간 유의적인 차이를 나타내지 않았다(*p*=0,8032). 연령에서 시험군은 평균 59,02 ± 8,45세, 대조군은 평균 56,98 ± 7,23세로 두 그룹 간에 통계적으로 유의적인 차이는 없었다(*p*=0,2207). 또한, 현재 흡연여부 및 운동여부에서도 섭취군간 통계적으로 유의한 차이가 나타나지 않아 섭취군간 비교성(comparability)을 가정할 수 있었다.

Table 3. Baseline characteristics of study population (ITT set)

	Treatment N=45	Placebo N=45	<i>p</i> -value	
Sex n(%)	Men	11 (24,44)	0,8032	
	Women	34 (75,56)		35 (77,78)
Age	Mean ± SD	59,02 ± 8,45	0,2207	
	Min, Max	41, 76		41, 72
Smoking n(%)	Never	42 (93,33)	1,0000	
	< 0,5 box/day	2 (4,44)		2 (4,44)
	0,5~1 box/day	1 (2,22)		0 (0,00)
	1~2 box/day	0 (0,00)		0 (0,00)
Exercise n(%)	> 2 box/day	0 (0,00)	0,8143	
	Never	18 (40,00)		20 (44,44)
	Once a week	3 (6,67)		5 (11,11)
	2~3 times/week	6 (13,33)		5 (11,11)
	> 3 times/week	18 (40,00)	15 (33,33)	

3) 유효성 평가결과의 제시 및 분석

(1) 유효성 평가 VAS

Table 4는 0주, 4주, 8주에서 측정된 VAS 변화를 ITT set 대상으로 분석한 결과를 나타낸 표이다. ITT set의 VAS 변화량 분석에서 시험군(MEC group)은 섭취 4주 후 15.44 ± 21.29 감소하였고($p < 0.0001$), 8주 후에는 20.71 ± 18.90 감소하여($p < 0.0001$), 섭취 8주 후에는 섭취군 간에 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p=0.0473$: two sample t -test, $p=0.0419$: Wilcoxon rank sum test).

Table 4. Effect of MEC on the VAS (ITT set)

	Treatment N=45 Mean±SD	Placebo N=45 Mean±SD	p -value*	p -value [§]
Baseline (Visit 1)	44.31 ± 10.49	41.87 ± 11.21	0.2885	0.0815
4 weeks (Visit 3)	28.87 ± 21.50	31.22 ± 16.28		
Change from baseline	-15.44 ± 21.29	-10.64 ± 16.66	0.2367	0.1153
p -value**	<.0001	<.0001		
8 weeks (Visit 4)	23.60 ± 17.98	29.09 ± 19.59		
Change from baseline	-20.71 ± 18.90	-12.78 ± 18.52	0.0473	0.0419
p -value**	<.0001	<.0001		

*: Compared between groups; p -value by two sample t -test
 **: Compared within groups; p -value by paired t -test
 §: Compared between groups; p -value by Wilcoxon rank sum test

Table 5는 0주, 4주, 8주에서 측정된 VAS 변화를 PP set 을 대상으로 분석한 결과를 나타낸 표이다. PP set의 VAS 변화량 분석에서 시험군(MEC group)은 섭취 4주 후 18.77 ± 15.79 감소하였고($p < 0.0001$), 8주후에는 22.37 ± 17.66 감소하였으며($p < 0.0001$), 섭취 4주 후에는 두 섭취군 간에 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p=0.0316$: two sample t -test, $p=0.0336$: Wilcoxon rank sum test).

Table 5. Effect of MEC on the VAS (PP set).

	Treatment N=35 Mean±SD	Placebo N=37 Mean±SD	p -value*	p -value [§]
Baseline (Visit 1)	45.11 ± 11.23	41.76 ± 10.33	0.1907	0.1091
4 weeks (Visit 3)	26.34 ± 18.21	31.51 ± 17.22		
Change from baseline	-18.77 ± 15.79	-10.24 ± 17.13	0.0316	0.0336
p -value**	<.0001	0.0009		
8 weeks (Visit 4)	22.74 ± 17.32	27.92 ± 20.31		
Change from baseline	-22.37 ± 17.66	-13.84 ± 20.03	0.0598	0.0704
p -value**	<.0001	<.0002		

*: Compared between groups; p -value by two sample t -test
 **: Compared within groups; p -value by paired t -test
 §: Compared between groups; p -value by Wilcoxon rank sum test

(2) K-WOMAC

MEC는 桑椹子, 桑葉, 서리태 복합 추출물이기 때문에, 서리태를 주 1회 이상 식사에 포함시킨 피험자를 분석에서 제외(시험군 7명, 대조군 5명)한 modified ITT set 대상으로 0주, 4주, 8주에서 K-WOMAC의 변화를 분석하였고, 분석한 결과를 Table 6에 나타내었다. K-WOMAC의 변화를 modified ITT set 대상으로 분석하였을 때, 섭취 4주 후에는 K-WOMAC의 각 항목 및 총점에서 섭취군 간에 통계적으로 유의한 차이가 나타나지 않았으나, 섭취 8주 후에는 통증 및 증상 항목에서 섭취군간 유의적인 차이가

있었으며 또한, 시험군내에서도 유의적인 차이를 보였다 ($p=0.0439$; two sample t -test, $p=0.0203$; paired t -test). 또한, 섭취 8주후에 총점 항목에서 시험군내 유의적인 차이가 있었다($p=0.0497$; paired t -test).

Table 6. Effect of MEC on the K-WOMAC (mITT set¹⁾) scores.

	Treatment N=38 Mean ± SD	Placebo N=40 Mean ± SD	p -value*	p -value [§]	
Baseline (Visit 2)	21.95 ± 4.31	21.53 ± 3.88	0.6501	0.4728	
4 weeks (Visit 3)	22.61 ± 3.67	21.43 ± 4.30			
Pain & Symptom	Change from baseline	0.66 ± 3.63	-0.10 ± 2.94	0.3129	0.9277
p -value**	0.2706	0.8309			
8 weeks (Visit 4)	23.24 ± 3.39	21.30 ± 4.39			
Change from baseline	1.29 ± 3.28	-0.23 ± 3.25	0.0439	0.1419	
p -value**	0.0203	0.6635			
Baseline (Visit 2)	55.58 ± 9.72	51.48 ± 11.04	0.0861	0.0889	
4 weeks (Visit 3)	55.58 ± 9.83	51.50 ± 11.80			
Change from baseline	0.00 ± 5.48	0.03 ± 7.36	0.9865	0.9042	
p -value**	1.0000	0.9830			
8 weeks (Visit 4)	57.29 ± 9.38	52.38 ± 11.32			
Change from baseline	1.71 ± 6.80	0.90 ± 9.08	0.6580	0.7561	
p -value**	0.1294	0.5345			
Baseline (Visit 2)	77.53 ± 13.07	73.00 ± 14.07	0.1457	0.1401	
4 weeks (Visit 3)	78.18 ± 13.10	72.93 ± 15.55			
Change from baseline	0.66 ± 7.56	-0.08 ± 9.25	0.7036	0.9521	
p -value**	0.5948	0.9594			
8 weeks (Visit 4)	80.53 ± 12.19	73.68 ± 15.11			
Change from baseline	3.00 ± 9.11	0.68 ± 11.31	0.3222	0.4676	
p -value**	0.0497	0.7079			

*: Compared between groups; p -value by two sample t -test
 **: Compared within groups; p -value by paired t -test
 §: Compared between groups; p -value by Wilcoxon rank sum test
 1) modified intention to treat

(3) 피험자 자신에 의한 개선도 평가

Table 7은 섭취 4주, 8주에 실시한 피험자 자신에 대한 개선도 평가를 ITT Set 대상으로 분석한 결과를 나타낸 표이다. 방문 3에서 중도탈락한 피험자(시험군 1명, 대조군 3명)는 개선도 평가에 참여하지 않아 분석대상에 포함되지 않았다. 섭취 전과 비교하여 섭취 4주 후 시험군이 대조군에 비해 전반적인 증상의 개선이 있어, 섭취 군간 유의적인 차이가 나타났다($p=0.0416$: two sample t -test). 그러나 섭취 8주 후에는 유의한 변화가 나타나지 않았다.

Table 7. Evaluation of improvement by subjects (ITT set).

	Treatment N=44 Mean ± SD	Placebo N=42 Mean ± SD	p -value*	p -value [§]
4 weeks (Visit 3)	2.55 ± 0.63	2.81 ± 0.55	0.0416	0.0578
8 weeks (Visit 4)	2.52 ± 0.82	2.67 ± 0.69	0.3815	0.4747

*: Compared between groups; p -value by two sample t -test
 §: Compared between groups; p -value by Wilcoxon rank sum test

Table 8은 섭취 4주, 8주에 실시한 피험자 자신에 의한 개선도 평가를 PP Set 대상으로 분석한 결과를 나타낸 표이다. 섭취 전과 비교하여 섭취 4주 후 시험군이 대조군에 비해 전반적인 증상의 개선이 있어, 섭취 군간 유의한 차이를 나타냈다($p=0.0039$: two sample t -test, $p=0.0068$: Wilcoxon rank sum test). 또한, 섭취 8주 후에도 시험군 및 대조군간에 유의한 차이가 나타났다($p=0.0227$: two sample t -test, $p=0.0429$: Wilcoxon rank sum test).

Table 8. Evaluation of improvement by subjects (PP set).

	Treatment N=35 Mean ± SD	Placebo N=37 Mean ± SD	p-value*	p-value [§]
4 weeks (Visit 3)	2.43 ± 0.61	2.84 ± 0.55	0.0039	0.0068
8 weeks (Visit 4)	2.29 ± 0.71	2.68 ± 0.71	0.0227	0.0429

*: Compared between groups; p-value by two sample t-test
 §: Compared between groups; p-value by Wilcoxon rank sum test

(4) 담당의사에 의한 개선도 종합평가

Table 9는 섭취 4주, 8주에 실시한 담당의사에 의한 개선도 종합평가를 ITT Set 대상으로 분석한 결과이다. 방문 3에서 중도탈락한 피험자(시험군 1명, 대조군 3명)는 개선도 평가를 수행하지 않아 분석대상에 포함되지 않았다. ITT Set에서는 섭취 기간 통계적 유의차가 나타나지 않았다.

Table 9. Doctor assessment of improvement (ITT set).

	Treatment N=44 Mean ± SD	Placebo N=42 Mean ± SD	p-value*	p-value [§]
4 weeks (Visit 3)	2.52 ± 0.59	2.71 ± 0.51	0.1111	0.1143
8 weeks (Visit 4)	2.48 ± 0.76	2.64 ± 0.69	0.2953	0.3528

*: Compared between groups; p-value by two sample t-test
 §: Compared between groups; p-value by Wilcoxon rank sum test

Table 10은 섭취 4주, 8주에 실시한 담당의사에 의한 개선도 종합평가를 PP Set 대상으로 분석한 결과이다. PP Set 분석결과 시험군, 대조군에서 전반적인 증상의 개선을 보였으며, 섭취 4주 후 섭취 기간에서 통계적 유의차가 나타났다(p=0.0192 : two sample t-test, p=0.0253 : Wilcoxon rank sum test). 또한, 섭취 8주 후에도 섭취 기간에서 통계적으로 유의한 차이가 나타났다(p=0.0184 : two sample t-test, p=0.0320 : Wilcoxon rank sum test).

Table 10. Doctor assessment of improvement (PP set).

	Treatment N=44 Mean ± SD	Placebo N=42 Mean ± SD	p-value*	p-value [§]
4 weeks (Visit 3)	2.43 ± 0.56	2.73 ± 0.51	0.0192	0.0253
8 weeks (Visit 4)	2.26 ± 0.66	2.65 ± 0.72	0.0184	0.0320

*: Compared between groups; p-value by two sample t-test
 §: Compared between groups; p-value by Wilcoxon rank sum test

4) 유효성 평가변수에 대한 추가분석 결과

(1) 로지스틱 회귀분석 (Logistic regression analysis)

Table 11은 VAS가 20이상 감소한 사람에 대하여 로지스틱 회귀분석을 실시한 표이다. VAS 20이상 감소여부를 종속변수로 하고 섭취식품을 설명변수로 로지스틱 회귀분석을 실시한 결과, VAS가 20이상 감소한 피험자 중 시험군 27명(61.4%), 대조군 17명(38.6%)으로 시험군에서 통계적으로 유의하게 감소(p=0.0365)하였으며, 로지스틱 회귀분석 결과에서도 Odds Ratio가 ITT Set에서 2.471로 대조군에 비하여 약 2.5배 높은 효과를 보이고 있다. 한편 PP Set에서는 1.969로 약 2배 증가하였으나 통계적으로 유의한 차이는 보이지 않았다.

Table 11. Logistic regression analysis against subjects who have VAS change is higher than 20

Variable	ITT Set		PP Set	
	OR ¹⁾ (95% CI ²⁾	p-value	OR(95% CI)	p-value
Visit4-Visit2				
Group				
Placebo (n=17)	1(Reference)	-	1(Reference)	-
Treatment (n=27)	2.471 (1.058-5.768)	0.0365	1.969 (0.770-5.031)	0.1571

¹⁾ Odds Ratio
²⁾ Confidence Interval

(2) 연령대 및 성별의 그룹화에 따른 추가분석

Table 12는 ITT Set의 여자를 대상으로 얻은 VAS를 분석한 결과이다. 섭취 4주 후 VAS가 13.18 ± 22.20 감소하였으며(p=0.0015), 섭취 8주 후에는 21.32 ± 17.30 감소하였다(p < 0.0001). 섭취 8주 후에 섭취군 간에 통계적으로 유의한 차이가 나타났다(p=0.0280 : two sample t-test, p=0.0336 : Wilcoxon rank sum test).

Table 12. VAS of women (ITT Set)

	Treatment N=34 Mean ± SD	Placebo N=35 Mean ± SD	p-value*	p-value [§]
Baseline (Visit 1)	44.82 ± 11.16	43.37 ± 12.03	0.6052	0.2714
4 weeks (Visit 3)	31.65 ± 22.27	32.54 ± 17.20		
Change from baseline	-13.18 ± 22.20	-10.83 ± 17.74	0.6285	0.4748
VAS p-value**	0.0015	0.0010		
8 weeks (Visit 4)	23.50 ± 16.54	32.03 ± 20.53		
Change from baseline	-21.32 ± 17.30	-11.34 ± 19.51	0.0280	0.0336
p-value**	<.0001	0.0016		

*: Compared between groups; p-value by two sample t-test
 **: Compared within groups; p-value by paired t-test
 §: Compared between groups; p-value by Wilcoxon rank sum test

Table 13은 ITT Set에서 나이가 50세에서 79세까지의 사람을 대상으로 얻은 VAS를 분석한 결과를 나타낸 표이다. 섭취 4주 후에는 16.61 ± 21.33 감소하였으며(p < 0.0001), 섭취 8주 후에는 VAS가 23.68 ± 17.38 감소하였다(p < 0.0001). 섭취 8주 후에는 섭취군 간에 통계적으로 유의한 차이가 나타났다(p=0.0151 : two sample t-test, p=0.0144 : Wilcoxon rank sum test).

Table 13. VAS of subjects aged between 50~79 (ITT Set)

	Treatment N=38 Mean ± SD	Placebo N=39 Mean ± SD	p-value*	p-value [§]
Baseline (Visit 1)	44.76 ± 11.10	41.13 ± 10.28	0.1400	0.0576
4 weeks (Visit 3)	28.16 ± 21.37	29.59 ± 16.20		
Change from baseline	-16.61 ± 21.33	-11.54 ± 15.93	0.2405	0.0849
VAS p-value**	<.0001	<.0001		
8 weeks (Visit 4)	21.08 ± 16.47	27.95 ± 19.70		
Change from baseline	-23.68 ± 17.38	-13.18 ± 19.57	0.0151	0.0144
p-value**	<.0001	0.0002		

*: Compared between groups; p-value by two sample t-test
 **: Compared within groups; p-value by paired t-test
 §: Compared between groups; p-value by Wilcoxon rank sum test

3. 안전성 평가 결과

안전성 평가는 safety 분석을 주분석법으로 시행하였으며 임상병리검사(혈액학적검사, 혈액화학적검사) 및 활력징후(맥

박, 혈압)를 분석하여 Table 14와 15에 나타내었다.

Table 14는 방문별 혈액학적 검사결과를 분석한 표이다. Platelet는 섭취 8주 후 시험군에서 8.24 ± 23.89 증가하였으며($p=0.0253$), 대조군에서는 9.60 ± 18.63 증가하였으며($p=0.0012$) 이들 섭취 기간에 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 또한, 대조군에서 섭취 8주 후 Monocyte($p=0.0045$)와 Basophil($p=0.0035$) 항목이 섭취군내 유의적 차이를 보였으나, 모두 정상범위 이내의 변화이거나 임상적 의미가 없는 것으로 판단되었다. 섭취 4주 후 Basophil 항목에서 섭취 기간 통계적 유의적 차이를 보였으나($p=0.0115$) 모두 정상 범위 이내의 변화였다. 이외의 모든 항목에서 섭취기간 통계적으로 유의한 결과는 나타나지 않았다.

Table 14. Blood test (safety set).

	Treatment N=45 Mean \pm SD	Placebo N=45 Mean \pm SD	<i>p</i> -value *	
Platelet	Baseline (Visit 1)	243.13 \pm 51.62	237.73 \pm 46.93	0.6049
	4 weeks (Visit 3)	243.96 \pm 54.65	237.96 \pm 45.56	
	Change from baseline	0.82 \pm 21.44	0.22 \pm 19.70	0.8904
	<i>p</i> -value **	0.7982	0.9400	
	8 weeks (Visit 4)	251.38 \pm 54.49	247.33 \pm 47.47	
	Change from baseline	8.24 \pm 23.89	9.60 \pm 18.63	0.7647
<i>p</i> -value **	0.0253	0.0012		
Monocyte	Baseline (Visit 1)	6.09 \pm 1.67	5.75 \pm 1.64	0.3317
	4 weeks (Visit 3)	6.39 \pm 2.17	5.93 \pm 1.71	
	Change from baseline	0.30 \pm 1.84	0.18 \pm 1.16	0.7227
	<i>p</i> -value **	0.2835	0.2987	
	8 weeks (Visit 4)	6.48 \pm 1.51	6.37 \pm 1.61	
	Change from baseline	0.39 \pm 1.64	0.62 \pm 1.39	0.4767
<i>p</i> -value **	0.1163	0.0045		
Basophil (mg/dl)	Baseline (Visit 1)	0.50 \pm 0.35	0.41 \pm 0.23	0.1351
	4 weeks (Visit 3)	0.45 \pm 0.29	0.48 \pm 0.27	
	Change from baseline	-0.05 \pm 0.20	0.07 \pm 0.26	0.0115
	<i>p</i> -value **	0.0749	0.0704	
	8 weeks (Visit 4)	0.54 \pm 0.35	0.49 \pm 0.24	
	Change from baseline	0.04 \pm 0.22	0.08 \pm 0.18	0.3230
<i>p</i> -value **	0.2332	0.0035		

*: Compared between groups; *p*-value by two sample *t*-test

**: Compared within groups; *p*-value by paired *t*-test

Table 15는 방문별 혈액화학적 검사결과를 분석한 것으로 분석항목 중 섭취군 간에 통계적으로 유의함을 보이는 결과는 없었다.

Table 15. Blood chemical test (safety set).

	Treatment N=45 Mean \pm SD	Placebo N=45 Mean \pm SD	<i>p</i> -value *	
AST(GOT)	Baseline (Visit 1)	24.29 \pm 4.51	25.62 \pm 8.56	0.3586
	4 weeks (Visit 3)	24.09 \pm 6.65	24.07 \pm 6.07	
	Change from baseline	-0.20 \pm 6.25	-1.56 \pm 8.34	0.3854
	<i>p</i> -value **	0.8311	0.2174	
	8 weeks (Visit 4)	24.71 \pm 4.98	25.00 \pm 7.05	
	Change from baseline	0.42 \pm 4.89	-0.62 \pm 9.12	0.5005
<i>p</i> -value **	0.5652	0.6493		
ALT(GPT)	Baseline (Visit 1)	20.58 \pm 6.28	23.62 \pm 12.91	0.1597
	4 weeks (Visit 3)	20.11 \pm 7.24	21.27 \pm 10.39	
	Change from baseline	-0.47 \pm 6.64	-2.36 \pm 10.87	0.3232
	<i>p</i> -value **	0.6396	0.1532	
	8 weeks (Visit 4)	20.16 \pm 7.78	21.64 \pm 10.22	
	Change from baseline	-0.42 \pm 6.11	-1.98 \pm 12.79	0.4644
<i>p</i> -value **	0.6451	0.3054		

Creatinine	Baseline (Visit 1)	0.78 \pm 0.19	0.75 \pm 0.13	0.3808
	4 weeks (Visit 3)	0.77 \pm 0.18	0.74 \pm 0.13	
	Change from baseline	-0.01 \pm 0.05	-0.01 \pm 0.06	0.9571
	<i>p</i> -value **	0.4219	0.5687	
	8 weeks (Visit 4)	0.76 \pm 0.17	0.75 \pm 0.12	
	Change from baseline	-0.02 \pm 0.07	0.00 \pm 0.07	0.0927
<i>p</i> -value **	0.0557	0.6891		
BUN	Baseline (Visit 1)	15.44 \pm 3.55	14.47 \pm 3.17	0.1716
	4 weeks (Visit 3)	14.89 \pm 3.71	14.22 \pm 3.62	
	Change from baseline	-0.56 \pm 3.26	-0.24 \pm 3.52	0.6647
	<i>p</i> -value **	0.2589	0.6440	
	8 weeks (Visit 4)	14.78 \pm 3.73	15.16 \pm 3.84	
	Change from baseline	-0.67 \pm 3.39	0.69 \pm 3.32	0.0584
<i>p</i> -value **	0.1941	0.1704		

*: Compared between groups; *p*-value by two sample *t*-test

**: Compared within groups; *p*-value by paired *t*-test

활력징후인 맥박, 혈압과 체중 측정을 매 방문시마다 시행하였는데 시험군, 대조군에서 섭취기간에 통계적으로 유의미한 결과를 보이는 항목은 없었다(Data not shown).

고찰

선행연구^{19,20)}를 통해 상심자추출복합물의 퇴행성관절염 개선 효능 및 안전성을 확인하였다. 상심자추출복합물을 14일간 MIA로 퇴행성관절염이 유도된 동물모델에게 섭취시켰을 때, 혈중 염증지표(TNF- α , IL-1 β)의 증가를 억제시켰고 Carrageenan으로 급성염증이 유도된 동물모델의 족부 부종을 억제시켰으며²⁰⁾ MIA에 의한 슬관절 연골의 손상을 감소시켰다¹⁹⁾. 桑椹子, 桑葉 및 서리태추출물을 배합한 상심자추출복합물의 퇴행성관절염 개선효능을 심도 있게 확인하기 위하여 본 연구에서는 MIA로 골관절염을 유도시킨 동물을 이용한 동물실험(혈중 IL-2, IFN- γ , PGE₂ 측정)과 임상시험(VAS, K-WOMAC)을 수행하여 그 효능을 평가하였다.

관절연골의 구조는 연골세포의 정상적인 기능에 의해 결정되는데 MIA는 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase 활성 억제제로서 해당작용을 저해함으로써 연골세포의 대사를 방해하여 결국 연골의 분해를 유도하는 물질이다²¹⁾. MIA를 이용한 골관절염 동물모델은 1987년에 Kalbhen²²⁾에 의해 처음 보고되었고 MIA로 골관절염을 유도한 동물모델의 관절 퇴행성의 조직학적 변화는 사람의 골관절염의 상태와 매우 유사하여 퇴행성 골관절염의 병태생리학적인 실험과 약물연구에 많이 사용되고 있다²³⁾.

골관절염이 진행되면 TNF- α , IL-1 β 등 염증을 일으키는 cytokine의 생성이 증가하고 collagenase, stromelysin 등 관절연골 분해효소의 분비가 증가되므로 이들 cytokine의 생성억제와 연골분해효소 활성의 억제는 골관절염의 치료에 매우 중요한 요소이다²⁴⁾. TNF- α 는 면역반응 초기에 분비되어 초기염증과 더불어 관절 연골기질의 proteoglycan 감소 촉진 및 재합성을 억제하여 골관절염을 진행 시킨다²⁵⁾. 또 IL-1 β 는 골관절염에서 연골 기질파괴를 증가시키고, PGE₂의 생성을 촉진하여 proteoglycan을 소실시키고 재합성을 억제한다²⁶⁾. 본 연구에서 상심자추출복합물을 14일간 MIA로 퇴행성관절염이 유도된 동물모델에게 섭취시켰을 때 혈중 IFN- γ ,

PGE₂ 염증지표의 생성을 통계적으로 유의하게 억제시켰다. PGE₂는 COX-2의 효소작용에 의해 생성되는데 퇴행성관절염에서 흔히 발생하는 증상인 골극(osteophytes)을 형성하여 비정상적 골 성장 및 통증을 수반한다²⁷⁾. 본 연구에서 상심자추출복합물의 섭취가 퇴행성관절염 동물모델의 혈중 PGE₂의 생성을 억제한 것은 선행연구결과에서 혈중 IL-1 β 의 생성을 억제하고, COX-2의 발현을 감소시킨데 따른 것으로 사료된다.

상심자추출복합물의 퇴행성관절염 개선 효능에 대한 전임상연구 결과에 근거하여 본 연구에서는 이것의 임상학적 효능과 안전성을 평가하기 위하여 인체적용시험에 동의한 피험자를 대상으로 이중 맹검 무작위 배정의 임상시험을 수행하였다. Kellgren & Lawrence grading scale의 1, 2등급에 해당하며 VAS pain 30 mm 이상의 경증의 퇴행성관절염 증상이 있는 사람을 대상으로 하였고 방사선 검사에서 골극이나 연골하 낭종 등 중증도 이상의 관절염 증상을 가진 환자들을 배제하여 본 치료제가 목표로 하는 초기 골관절염에서의 효능을 입증하는데 초점을 맞추었다. 또한, 천연물신약의 안전성 측면을 조사하기 위하여 기존의 NSAIDs가 보유한 위장관계의 부작용 특히 위염과 위궤양 환자들을 배제하여 선별하였다. 컴퓨터로 생성된 무작위 배정순서에 따라 내원한 인체적용시험대상자를 배정하였으며, 인체적용시험대상자, 약사, 의사, 검사자 모두에게 배정결과를 알리지 않는 이중 맹검을 철저히 수행하였다. 최종 방문 시까지 맹검을 유지하였고 연구기간동안 이중 맹검과 관련한 문제는 발생하지 않았다. 복용 순응도는 양군 모두 약 90%로 우수한 결과를 나타내어 본 시험의 신뢰도를 더욱 높여주었다.

상심자추출복합물의 관절건강에 대한 유효성을 평가한 결과, 섭취 8주 후 상심자추출복합물이 대조군(placebo)에 비해 통증을 개선(VAS 점수 감소가 8)하는 효과가 우수함을 확인할 수 있었다. Uebelhart 등²⁸⁾은 Kellgren & Lawrence grading scale의 1-3등급에 해당하는 골관절염 증상이 있는 사람 120명을 대상으로 chondroitin sulfate와 placebo를 비교하여 보고하였는데, 12주 섭취 후 chondroitin sulfate group에서 VAS 점수의 감소가 평균 15.9였고 placebo group에서는 12로 그 차이는 3.9였다. 그러나, 본 연구의 상심자추출복합물 group에서는 8주 섭취 후에 보인 VAS 점수의 차이가 8로서 Uebelhart 등²⁸⁾의 chondroitin sulfate에 비해 섭취기간이 4주 짧았는데도 불구하고 VAS 점수차이가 4이상 높은 통증감소 효과를 보였다. Park 등²⁹⁾은 Kellgren & Lawrence grading scale의 1-3등급에 해당하는 골관절염 증상이 있는 사람 198명을 대상으로 GCSB-5(상품명 신바로)와 Celecoxib를 비교하여 시행한 randomized, double-blind, multicenter comparative study 결과를 보고한 바 있는데, GCSB-5 group에서 4주째 평균 11.1, 8주째 21.3의 VAS 점수의 감소를 보여주었으며 Celecoxib group에서는 4주째 16.3, 8주째 24.2가 감소하여 4주째 그룹간의 VAS 점수의 차이는 5.2였고 8주째 차이는 2.9였다. 본 연구 결과에서는 섭취 4주째 상심자추출복합물 group에서 VAS 점수의 감소가 15.4, placebo group의 VAS 점수 감소가 10.6, 그룹간의 VAS 점수 차이가 4.8로 Park 등²⁹⁾이 보고한 GCSB-5와 비슷한 결과라고 사료된다. Thorne 등³⁰⁾은 100명을 대상으로 4주간 진행한 tramadol과 placebo의 비교연구에서 섭취 4주 후 tramadol group에서 평균 13.4의 VAS 점수의 감소를

보였다고 보고하였다. 이는 본 연구의 결과(상심자추출복합물 섭취 4주 후 VAS 점수 감소가 15.4)보다 열등하다고 할 수 있다.

K-WOMAC (modified ITT set) 항목에서는 상심자추출복합물 섭취군의 통증 및 증상 점수가 8주 후 유의하게 감소하였을 뿐만 아니라 섭취군 간에도 유의한 차이가 나타났다. 기능 항목에서는 섭취 군내 및 섭취 군간 모두 차이가 없었는데 이는 만성적으로 진행되어온 퇴행성관절염에 동반된 관절연골, 반월상연골, 활액막의 염증성 변화가 8주간의 짧은 복용기간내에 유의미한 변화를 보이기는 어려운 것에 기인한 것으로 사료된다.

인체적용시험대상자가 스스로 개선도를 평가하는 항목에서는 4주, 8주 모두 상심자추출복합물 섭취군에서 더 높은 개선이 있었고(PP set), 연구자가 평가하는 항목에서도 4주, 8주 모두 상심자추출복합물 섭취군에서 더 높은 개선이 있었다(PP set). 퇴행성관절염의 주된 임상표현은 통증이고 부종이나 기능상의 저해 등은 부차적인 경우가 많으므로, 이와 같은 개선도 평가 항목에서의 유의미한 호전은 통증의 호전으로 인한 것으로 사료된다.

이상의 연구결과들과 비교했을 때 상심자추출복합물의 통증 개선 정도는 기존의 소염진통제 혹은 천연물 의약품과 비슷하거나 더 우수하다고 사료되며, 천연물추출복합물로서 장기간 복용하여도 내약성이 우수할 것으로 예상되어 만성적인 진행으로 인해 장기적인 치료가 중요시 되는 퇴행성관절염의 특성에 부합되는 천연물 복합제라고 사료된다.

결론

상심자추출복합물(MEC)의 퇴행성관절염 개선 효능에 대한 연구결과는 다음과 같다.

1. MEC의 섭취는 SD rat에서 MIA에 의해 증가되는 IL-2의 생성을 억제하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 아니었고, 그에 반해 IFN- γ , PGE₂의 생성을 통계적으로 유의하게 억제시켰다.
2. VAS 변화량(ITT set) : 섭취 8주 후에 MEC군과 placebo군의 군간 유의적 차이가 나타났는데, MEC군의 VAS 감소가 placebo군에 비해 뚜렷하여 통계적으로 유의한 결과를 보였다.
3. K-WOMAC(mITT set) : 섭취 8주 후에 섭취군 간(MEC, placebo)에서 통증 및 증상의 유의적인 차이가 나타났으며 MEC군 내에서도 통계적으로 유의적인 차이가 있었다.
4. 안전성 평가 : 임상병리검사(혈액학적검사, 혈액화학적검사) 및 활력징후(맥박, 혈압) 분석항목에서 통계적으로 유의한 차이를 보여주는 항목은 없었다.

결론적으로, 상심자추출복합물(MEC)을 이용한 경증의 골관절염 환자의 이중맹검, 무작위 대조군 연구에서 4주 및 8

주 섭취 후 통계적으로 유의미한 통증의 개선이 확인되었으며, 주관적이나 객관적 개선도 평가에서도 유의미한 개선효과를 확인할 수 있었다. 따라서, 상심자추출복합물(MEC)은 초기 골관절염 대상자의 단기간 내 통증 및 여러 증상을 개선하는데 많은 도움을 줄 수 있을 것이라고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부의 "식품 기능성평가 지원사업"의 지원 및 한국식품연구원과 (주)벤스랩 중앙연구소의 공동연구로 수행되었으며 이에 감사를 드립니다.

References

- Chang MC, Hung SC, Chen YK, Chen TL, Lee CF, Lee HC, Wang KL, Chiou CC, Wei YH. Accumulation of mitochondrial DNA with 4977-bp deletion in knee cartilage an association with idiopathic osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2005 ; 13(11) : 1004-11.
- Kraan PM, Berg WB. Osteoarthritis in the context of ageing and evolution loss of chondrocyte differentiation block during ageing. *Ageing Res Rev*. 2008 ; 7(2) : 106-13.
- Yeom HE. Symptoms, aging-stereotyped beliefs, and health-promoting behaviors of older women with and without osteoarthritis. *Geriatr Nurs*. 2013 ; 34(4) : 307-13.
- Castaneda S, Blas JAR, Largo R, Beaumont GH. Subchondral bone as a key target for osteoarthritis treatment. *Biochem Pharmacol*. 2012 ; 83(3) : 351-23.
- Laine L, White WB, Rostom A, Hochberg M. COX-2 selective inhibitors in the treatment of osteoarthritis. *Semin. Arthritis Rheum*. 2008 ; 38(3) : 165-87.
- Boer TN, Huisman AM, Polak AA, Neihoff AG, Rinsum AC, Saris D, Bijlsma JWJ, Lafeber FJPG, Mastbergen SC. The chondroprotective effect of selective COX-2 inhibition in osteoarthritis: *Ex vivo* evaluation of human cartilage tissue after *in vivo* treatment. *Osteoarthritis Cartilage*. 2009 ; 17(4) : 482-8.
- Bdouet L, Pascale F, Bonneau M, Wassef M, Laurent A. *In vitro* evaluation of (S)-ibuprofen toxicity on joint cells and explants of cartilage and synovial membrane. *Toxicol Vitro*. 2011 ; 25(8) : 1944-52.
- Park SW, Jung YS, Ko KC. Quantitative analysis of anthocyanins among mulberry cultivars and their pharmacological screening. *J Korean Soc Hort Sci*. 1997 ; 38(6) : 722-4.
- Kim HB, Kim AJ, Kim SY. The analysis of functional materials in mulberry fruit and food product development trends. *Food Sci Industry*. 2003 ; 36(3) : 49-60.
- Kim EO, Lee YJ, Leem HH, Seo IH, Yu MH, Kang DH, Choi SW. Comparison of nutritional and functional constituents, and physicochemical characteristics of mulberry from seven different *Morus alba* L. cultivars. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2010 ; 39(1) : 1467-75.
- Jun HI, Kim YA, Kim YS. Antioxidant activities of *Rubus coreanus* miquel and *Morus alba* L. fruits. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2014 ; 43(3) : 381-8.
- Lee EJ, Bae JH. Study on the alleviation of an alcohol induced hangover and the antioxidant activity by mulberry fruit. *Korean J Food Nutr*. 2011 ; 24(2) : 204-9.
- Lee SH, Kim GH. Inhibitory effect of mulberry extracts on angiogenesis in porcine artery endothelial cells. *J Life Sci*. 2008 ; 18(5) : 653-9.
- Kim TW, Kwon YB, Lee JH, Yang IS, Youm JK, Lee HS, Moon JY. A study on the antidiabetic effect of mulberry fruits. *J Seric Entomol Sci*. 1996 ; 38(2) : 100-7.
- Katsube T, Tsurunaga Y, Sugiyama M, Furuno T, Yamasaki Y. Effect of air-drying temperature on antioxidant capacity and stability of polyphenolic compounds in mulberry (*Morus alba* L.) leaves. *Food Chem*. 2009 ; 113(4) : 964-9.
- Bae MJ, Ye EJ. Antioxidant activity and *in vitro* for anticancer effects of manufactured fermented mulberry leaf tea. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2010 ; 39(6) : 796-804.
- Kim HJ, Kim JK, Whang WK, Ham IH, Kwon SH. Effects of Mori folium and Crataegus pinnatifida leave extracts on CCl4-induced hepatotoxicity in rats. *Yakhak Hoeji*. 2003 ; 47(4) : 2006-11.
- Oh HS, Park YH, Kim JH. Isoflavone contents, antioxidant and fibrinolytic activities of some commercial cooking-with-race soybeans. *Korean J Food Sci Technol*. 2002 ; 34(3) : 498-504.
- Seo HH, Jeong JM. Beneficial effects of Phyto-Extract Complex (MEC) on degenerative arthritis. *Kor J Herbol*. 2013 ; 28(6) : 87-93.
- Seo HH, Jeong JM. Inhibitory effects of complex of mulberry extract on degenerative arthritis. *Korean J Medicinal Crop Sci*. 2014 ; 22(4) : 262-9.
- Combe R, Bramwell S, Field MJ. The monosodium iodoacetate model of osteoarthritis: a model of chronic nociceptive pain in rats? *Neurosci Lett*. 2004 ; 370(2-3) : 236-40.
- Kalbhen DA. Chemical model of osteoarthritis—a pharmacological evaluation. *J Rheumatol*. 1987 ; 14 : 130-1.
- JanuszJanusz MJ, Hookfin EB, Heitmeyer SA, Woessner JF, Freemont AJ, Hoyland JA, Brown KK, Hsieh LC, Almstead NG, De B, Natchus MG,

- Pikul S, Taiwo YO. Moderation of iodoacetate – induced experimental osteoarthritis in rats by matrix metalloproteinase inhibitors. *Osteoarthritis Cartilage*. 2001 ; 9(8) : 751–60.
24. Takanori K, Tomohiro S, Toshijiro Y. Intra – articular injection of collagenase induces experimental osteoarthritis in mature rabbits. *Osteoarthritis Cartilage*. 1998 ; 6(3) : 177–86.
25. Lim CK, Yun YG. Anti–rheumatoid arthritis effects of I–Myo–San water extract. *Korean J Orient Med Prescription*. 2009 ; 17(1) : 99–111.
26. Martel–Pelletier J, Pelletier JP, Fahmi H. Cyclooxygenase – 2 and prostaglandins in articular tissues. *Semin Arthritis Rheum*. 2003 ; 33(3) : 155–67.
27. Hardy MM, Seibert K, Manning PT, Currie MG, Woerner BM, Edwards D, Koki A, Tripp CS. Cyclooxygenase 2–dependent prostaglandin E₂ modulates cartilage proteoglycan degradation in human osteoarthritis explants. *Arthritis Rheum*. 2002 ; 46(7) : 1789–803.
28. Uebelhart D, Malaise M, Marcolongo R, DeVathaire F, Piperno M, Mailleux E, Fioravanti A, Matoso L, Vignon E. Intermittent treatment of knee osteoarthritis with oral chondroitin sulfate: a one–year, randomized, double–blind, multicenter study versus placebo. *Osteoarthritis Cartilage*. 2004 ; 12(4) : 269–76.
29. Park YG, Ha CW, Han CD, Bin SI, Kim HC, Jung YB, Lim HC. A prospective, randomized, double–blind, multicenter comparative study on the safety and efficacy of Celecoxib and GCSB–5, dried extracts of six herbs, for the treatment of osteoarthritis of knee joint. *J Ethnopharmacol*. 2013 ; 149(3) : 816–24.
30. Thorne C, Beaulieu AD, Callaghan DJ, Omahony WF, Bartlett JM, Knight R, Kraag GR, Akhras R, Piraino PS, Eisenhoffer J, Harsanyi Z, Darke AC. A randomized, double–blind, crossover comparison of the efficacy and safety of oral controlled – release tramadol and placebo in patients with painful osteoarthritis. *Pain Res Manag*. 2008 ; 13(2) : 93–102.