

烏鷄卵이 MIA 골관절염 병태 모델에 미치는 영향

주인환[#], 김동희^{*}

대전대학교 한의과대학 병리학교실

Effects of Yeonsan-Ogye Egg on MIA-induced Osteoarthritis Rat

In-Hwan Joo[#], Dong-Hee Kim^{*}

Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Daejeon University

ABSTRACT

Objectives : The purpose of this study is to investigate the preventive and therapeutic efficacy of osteoarthritis using a Yeonsan-Ogye egg, so, we researched at effects of Yeonsan-Ogye egg extract on MIA-induced Osteoarthritis animal models.

Methods : Yeonsan-Ogye egg extract was administered 500 mg/kg/day, 1000 mg/kg/day and 2000 mg/kg/day to SD-Rat for 2 weeks. After that, osteoarthritis was induced with 60 mg/ml of monosodium iodoacetate (MIA) and further administration was continued for 4 weeks. 3D imaging of cartilage patella were obtained using a Micro-CT system and the pathology change of knee was observed by H&E and safranin-O staining. The weight bearing ratio was measured by incapitance test meter. MMP-2, MMP-9, COMP, CTX II, calcitonin and glycosaminoglycan level in serum were measured using a ELISA.

Results : Micro-CT and Histopathological analysis showed the volume of the patella cartilage and the proteoglycan contents were increased in all groups, also weight bearing ratio was decreased in all groups compared with control group. Calcitonin production was increased in and 2000 mg/kg/day group and glycosaminoglycan production was increased in all groups. In addition, MMP-2, MMP-9, COMP and CTX II production were decreased in 1000 and 2000 mg/kg/day groups respectively in comparison with control.

Conclusions : The results for Yeonsan-Ogye egg showed prevention and treatment efficacy against arthritis at serum and the cartilage. These results may be used a remedy for new korea medicine to ease the symptoms mentioned above, also, suggest that Yeonsan-Ogye egg can be used preventive and therapeutic material for osteoarthritis.

Key words : bone metabolism, korean medicine remedy, osteoarthritis, Yeonsan-Ogye, Yeonsan-Ogye egg

I. 서 론

국제연합 (UN)은 65세 이상 인구가 차지하는 비율이 7% 이상인 경우 고령화사회, 14% 이상은 고령사회, 20% 이상은 초고령사회로 구분하게 되는데, 행정안전부 자료에 따르면 우리나라의 65세 이상 주민등록 인구는 2017년 8월말 기준 약 725만명으로 전체 인구 대비 비율이 14% 이상으로 집계되어 고령사회로 진입했음을 보고하였다¹⁾. 이러한 이유로 대표적인

노인성 질환인 골관절염에 대한 사회적 관심도가 고취되고 있다.

퇴행성관절염이라고 불리는 골관절염은 관절 주변 및 관절 내 연골의 과다 생성, 관절 연골의 파괴, 관절의 변형 등을 특징으로 하는 퇴행성 관절 질환이며, 관절 부위의 통증 및 강직감으로 인한 운동 장애를 일으킨다^{2,3)}.

현재 골관절염의 약물적인 치료인 연골보호제, 소염진통제, 비스테로이드성 항염증제, 스테로이드제의 관절강 내 주사 등과 비약물적인 치료인 연골 이식술, 관절 성형술, 관절 고정술

*Corresponding author : Dong-Hee Kim, Daejeon University, Korea.

· Tel : +82-42-280-2636 · E-mail : dhkim@dju.ac.kr

#First Author : In-Hwan Joo, Daejeon University, Korea.

· Tel : +82-42-280-2828 · E-mail : dlsghks109@naver.com

· Received : 10 October 2017 · Revised : 2 November 2017 · Accepted : 15 November 2017

등의 수술적 처치는 관절의 변형 예방, 기능 회복 및 통증 감소를 주된 목적으로 한다⁴⁾. 이와 같은 약물 치료 및 수술 요법은 과거에 비하여 상대적으로 치료율이 높아졌지만 아직까지도 위장관 질환 또는 수술 부위의 염증과 재수술에 대한 부작용은 여전히 문제시 되고 있다^{5,6)}.

한의학에서 골관절염은 대부분 ‘痺證’의 범주로 인식하여 왔으며, 병인은 크게 外因인 風, 寒, 濕 邪氣로 인한 경우와 內因인 관절에 직접적인 영양을 제공하는 肝腎의 虛로 의한 경우로 보고되고 있다⁷⁾.

현재 본 질환에 대한 유병율을 보면 발생 연령이 고령화로 갈수록 높아져 임상에서는 補肝腎 약물과 祛風寒濕 약물을 병용하는 치료법이 가장 다용되고 있으며, 실제로 많은 환자가 한의학적 치료법을 이용하고 있는 현실이다. 또한, 실험적 연구에서도 골관절염이 유발된 동물 모델을 통한 한약⁸⁻¹¹⁾ 및 약침¹²⁻¹⁵⁾의 효능을 입증한 다양한 연구들이 보고되었다.

본 연구에 사용된 烏鷄卵은 《東醫寶鑑 湯液編》¹⁶⁾에서 性微溫, 無毒, 主心病吐病, 除心腹惡氣, 及風濕攣痺, 補虛羸, 安胎, 治折傷, 并癰疽. 라고 기재되어 있으며, 생리활성 효능¹⁷⁾, 선천면역 반응 억제¹⁸⁾에 관한 연구가 진행되었고, 육질을 통한 골관절염에 대한 효능¹⁹⁾이 보고된 바가 있는 천연기념물 제265호 연산 화악리의 烏鷄의 부산물로 아직까지 문헌적 효능과 실험적 연구를 통해 효능이 밝혀진 바가 없다.

이에 본 연구에서는 오계의 다양한 효능에 대한 연구결과¹⁷⁻¹⁹⁾ 중 오계의 육질이 골관절염에 효능이 있다고 보고한 심등²⁰⁾의 연구에 착안하여 烏鷄卵 역시 골관절염에 효능이 있을 것이라 판단되어 MIA로 골관절염을 유발한 동물병태 모델을 통해 micro-CT, 조직병리학적 검사, 체중부하 및 혈청 내 바이오마커 등을 측정하여 결과, 관절염에 대한 효능이 검증되었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 시료 제작

본 연구에 사용한 연산 烏鷄卵 (Yeonsan Ogye Egg, 이하, YOE로 표기)은 충남 논산에 위치한 지산농원 (Korea)에서 구입하였고, 껍질을 제거한 YOE 500 g을 물 5 l 에 풀어 3 시간 동안 교반하며 환류 추출하였다. 이후 여과액을 얻어 감압 농축하고 동결 건조하여 48.1 g (수득율 9.62%)의 분말을 획득하였다. 획득한 분말은 초저온 냉동고 (-80℃)에서 보관하며 실험에 필요한 농도로 증류수에 희석하여 사용하였다.

2. 시약 및 기기

본 연구에 사용된 시약은 MIA : Monosodium iodoacetate, ether, formaldehyde (Sigma Co., U.S.A.), Rat Calcitonin ELISA kit, Rat Glycosaminoglycans (GAGs) ELISA kit, Cartilage Oligomeric Matrix Protein (COMP) ELISA kit, Rat Cross-Linked C-Terminal Telopeptides of Type II Collagen (CTX-II) ELISA kit (MyBioSouce Co., U.S.A.), Total MMP-2 quantikine kit, Rat total MMP-9

quantikine kit (R&D system, U.S.A.) 등을 사용하였으며, 기기는 rotary vacuum evaporator (BüchiB-480 Co., Switzerland), ELISA reader (Molecular Devices Co., U.S.A.), freeze dryer (EYELA FDU-540 Co., Japan), Incapacitance Test Meter (IITC Life Science, California, U.S.A.) 등을 사용하였다.

3. 동물

수컷 6주령의 SD-Rat (170-200 g)을 (주)라온바이오 (Korea)에서 공급 받았으며, 동물은 실험 당일까지 일반 고형 사료를 충분히 공급하고, 온도 22±2℃, 습도 55±15%, 12 시간 (light-dark cycle)의 환경에서 2 주간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 본 실험은 대전대학교 동물실험 윤리위원회의 승인 (동물사용 윤리위원회 승인번호 - DJUAR2016-018)을 받아 동물윤리준칙에 의거하여 실험 하였다.

4. 관절염 유발

2주간의 경구 투여 이후 마취제 (케타민 0.4 ml + 림폰 0.1 ml)로 실험동물을 마취하여 오른쪽 무릎관절 주변을 깨끗이 제모한 후, 골관절염 유발물질인 MIA를 생리식염수에 용해시키고 제모한 무릎의 관절강 내에 60 mg/ml의 농도로 50 μl씩 투여하여 유발하였다.

5. 실험군 분류 및 시료 투여

실험군은 관절염을 유발하지 않은 정상군과 관절염 유발 후 증류수만을 투여한 대조군 및 관절염을 유발하기 2주 전부터, 유발 후 4주간 YOE를 3개의 농도로 경구 투여 한 실험군 등 총 5개의 그룹으로 배분하였으며, 정상군 6마리를 제외한 나머지 그룹은 각 10마리씩 분류하고 MIA로 관절염을 유도한 후 유발되지 않은 동물과 그룹 당 필요한 마릿수인 6마리를 초과한 경우는 동물윤리준칙에 맞게 안락사를 진행하여 최종적으로 그룹 당 6마리로 실험을 진행하였다. YOE의 투여 농도는 비임상 시험관리 기준(식약청고시 제2012-61)'을 바탕으로 500 mg/kg/day, 1,000 mg/kg/day, 2,000 mg/kg/day로 농도로 설정하여 실험을 진행하였다.

6. Micro-CT 측정

실험종료 후 우측 무릎 부위를 적출하여 포르말린에 고정한 뒤 동국대학교 (Korea)에 의뢰하여 정면과 측면의 촬영결과를 3D로 변환하여 연골 부위를 판독하였다.

7. 조직병리학적 검사

Micro-CT 측정이 종료된 조직을 KPNT (Korea)에 H&E 염색과 Safranin-O 염색을 의뢰하였다. 이후 염색된 조직을 광학현미경으로 관찰하여 조직병리 검사를 진행하였다.

8. 뒷발 체중부하 측정

실험 종료 전 실험동물을 플라스틱 케이지에 비스듬히 세운 후, 10초 동안 각 뒷발에 가해진 세기를 Incapacitance Test Meter를 이용하여 측정하였다. 측정된 결과는 관절염을 유발한 우측 뒷발과 좌측 뒷발의 체중을 다음과 같은 방정식을 이용하여 계산한 뒤 다시 대조군을 기준으로 백분율로 표시하였다.

$$\text{Weight bearing ratio}(\%) = \left(\frac{\text{weight on right hind limb}}{\text{weight on left hind limb}} \right) \times 100$$

9. 혈청 내 바이오마커 측정

실험 종료 후 심장 채혈하여 분리한 혈액을 3,000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 얻은 혈청을 통해 다음과 같이 측정하였다.

- 1) Calcitonin, Glycosaminoglycans (GAGs), Cartilage Oligomeric Matrix Protein (COMP), C-Terminal Telopeptides of Type II Collagen (CTX II) 생성량

96 well plate에 각각의 standard와 control, sample 50 μl 에 HRP-conjugate reagent를 100 μl 씩 추가한 후 1시간 동안 반응시켰다. 이후, washing 작업을 실행하고 chromogen solution A와 B를 50 μl 씩 넣어 15분 동안 반응시킨 후, 50 μl 의 stop solution을 넣어 ELISA reader 450 nm 파장에서 측정하였다.

- 2) Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) 생성량

96 well plate에 각각의 standard와 control, sample 50 μl 를 넣고 2시간 동안 plate shaker를 이용하여 혼합하였다. 이후, washing 작업을 실행하고 200 μl 의 Total MMP-2 Conjugate를 넣어 다시 2시간 동안 plate shaker에서 혼합하였다. 다시 washing 작업 후 substrate solution 용액 200 μl 를 첨가하여 30분 동안 37°C에서 빛을 차단한 채 반응시키고 50 μl 의 stop solution을 넣어 ELISA reader 450 nm 파장에서 측정하였다.

- 3) Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) 생성량

96 well plate에 각각의 standard와 control, sample 50 μl 를 넣고 2시간 동안 plate shaker를 이용하여 혼합하였다. 이후, washing 작업을 실행하고 100 μl 의 Total MMP-9 Conjugate를 넣어 다시 2시간 동안 plate shaker에서 혼합하였다. 다시 washing 작업 후 substrate solution 용액 100 μl 를 첨가하여 30분 동안 37°C에서 빛을 차단한 채 반응시키고 100 μl 의 stop solution을 넣어 ELISA reader 450 nm 파장에서 측정하였다.

10. 통계처리

본 연구의 실험 결과는 평균값 \pm 표준 편차 (mean \pm S.D.)로 표시하였다. 각 처리군의 비교는 one-way analysis of variance (ANOVA) 방법을 이용하였고, Student's t-test를

사용하여 통계적 유의성 ($p < 0.001$, $p < 0.01$, $p < 0.05$)을 검증하였다.

III. 결 과

1. Micro-CT

무릎 관절을 micro CT를 이용하여 촬영한 결과, 정상군에 비해 대조군과 YOE 투여군의 연골의 양 (Cartilage volume, 노란색 원형표기)이 감소하였으며, 상대적으로 YOE 투여군이 대조군에 비해 연골의 양이 더 보존되었음을 확인할 수 있었다(Fig. 1).

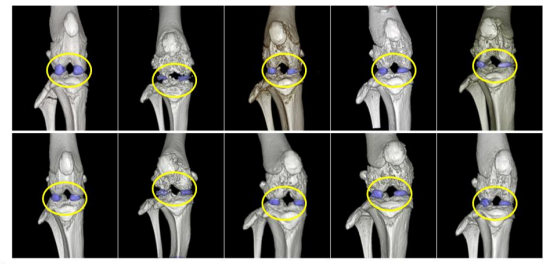


Fig. 1. Effects of Yeonsan-Ogye Egg on imaging of cartilage patella using micro CT in joint of MIA-induced osteoarthritis rat.

2. 조직 병리

무릎 관절의 H&E 염색을 실시한 결과, 정상군에 비해 대조군과 YOE 투여군의 대퇴골과 경골 사이의 연골의 양 (Cartilage, 노란색 원형표기)이 감소하였고 연골 주변으로 침윤세포 (Infiltrative cell)가 많이 생성되어 있었으며, 상대적으로 YOE 투여군이 대조군에 비해 연골의 양이 더 보존되고 침윤세포의 범위나 밀집도의 감소를 확인할 수 있었다. 또한 Safranin-O 염색을 실시한 결과, 정상군에 비해 대조군과 YOE 투여군은 연골 주변과 활막 내에 붉은 색으로 염색된 프로테오글리칸 (proteoglycan, 노란색 화살표)이 고르게 형성되어 있지 않은 것을 확인할 수 있었으나 대조군은 프로테오글리칸이 소실된 개체를 보인 반면, YOE 투여군은 대조군에 비해 연골 주변과 활막 내 프로테오글리칸의 분포 증가를 확인할 수 있었다(Fig. 2)

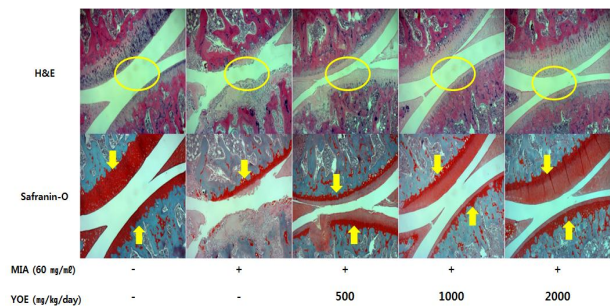


Fig. 2. Effects of Yeonsan-Ogye Egg on joint pathology (Hematoxylin & eosin and safranin-O staining) from joint of MIA-induced osteoarthritis rats. Histology in the knees were observed using a visible-light microscope at a magnification of 200 \times .

3. 뒷발 체중 부하

뒷발 체중 부하를 측정된 결과, 대조군은 정상군에 비해 체중 부하 비율이 감소하였다. 이에 비해 YOE는 모든 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있는 증가가 나타났다(Fig. 3).

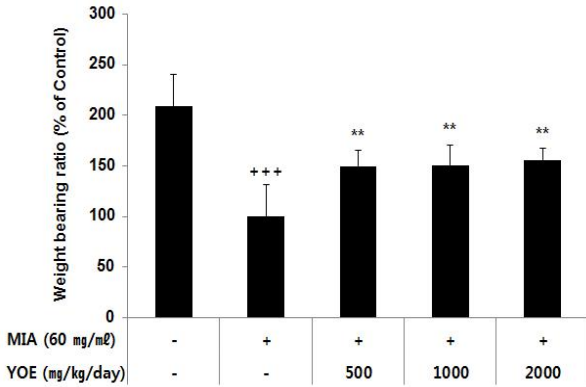


Fig. 3. Effects of Yeosan-Ogye Egg on weight bearing ratio in the hind paw of MIA-induced osteoarthritis rat. The results were expressed as mean \pm S.D. from 6 osteoarthritis rats. The statistical significance of differences between normal and control groups (+++ : $p < 0.001$) or control and YOE groups (** : $p < 0.01$) based on ANOVA with student's t -test determined.

4. 혈청 내 바이오마커 측정

1) Calcitonin 생성량

혈청 내 calcitonin 생성량을 측정된 결과, 대조군은 정상군에 비해 calcitonin 생성량이 감소하였다. 이에 비해 YOE는 2,000 mg/kg/day 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있는 증가가 나타났다(Fig. 4).

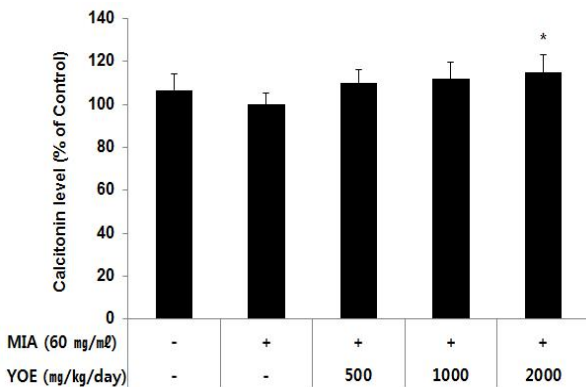


Fig. 4. Effects of Yeosan-Ogye Egg on calcitonin level in the serum of MIA-induced osteoarthritis rat. The results were expressed as mean \pm S.D. from 6 osteoarthritis rats. The statistical significance of differences between control and YOE groups (* : $p < 0.05$) based on ANOVA with student's t -test determined.

2) Glycosaminoglycan 생성량

혈청 내 glycosaminoglycan 생성량을 측정된 결과, 대조군은 정상군에 비해 glycosaminoglycan 생성량이 감소하였다. 이에 비해 YOE는 모든 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있는 증가가 나타났다(Fig. 5).

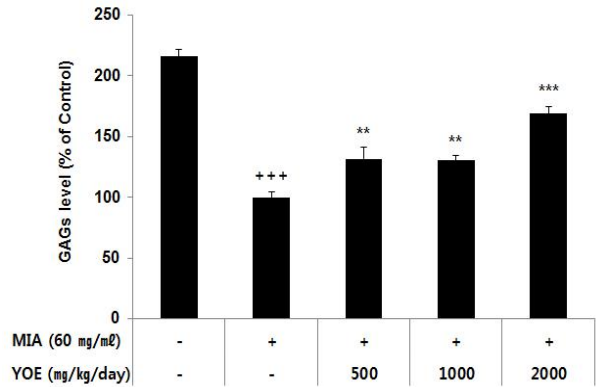


Fig. 5. Effects of Yeosan-Ogye Egg on glycosaminoglycan level in the serum of MIA-induced osteoarthritis rat. The results were expressed as mean \pm S.D. from 6 osteoarthritis rats. The statistical significance of differences between normal and control groups (+++ : $p < 0.001$) or control and YOE groups (** : $p < 0.01$, * : $p < 0.05$) based on ANOVA with student's t -test determined.

3) MMP-2 생성량

혈청 내 MMP-2 생성량을 측정된 결과, 대조군은 정상군에 비해 MMP-2 생성량이 증가하였다. 이에 비해 YOE는 농도 의존적인 감소가 나타났으며, 1,000과 2,000 mg/kg/day 투여군에서 대조군에 비해 유의성이 나타났다(Fig. 6).

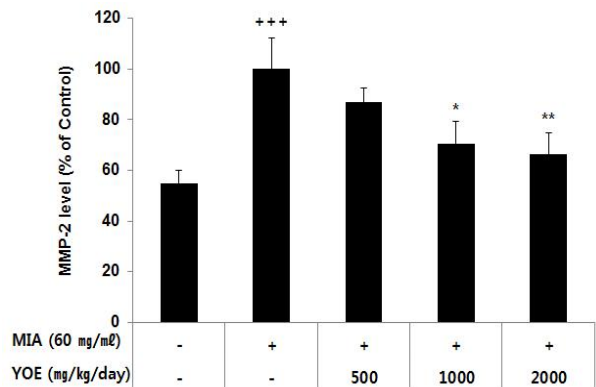


Fig. 6. Effects of Yeosan-Ogye Egg on MMP-2 level in the serum of MIA-induced osteoarthritis rat. The results were expressed as mean \pm S.D. from 6 osteoarthritis rats. The statistical significance of differences between normal and control groups(+++ : $p < 0.001$) or control and YOE groups(** : $p < 0.01$, * : $p < 0.05$) based on ANOVA with student's t -test determined.

4) MMP-9 생성량

혈청 내 MMP-9 생성량을 측정된 결과, 대조군은 정상군에 비해 MMP-9 생성량이 증가하였다. 이에 비해 YOE는 1,000과 2,000 mg/kg/day 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있는 감소가 나타났다(Fig. 7).

5) COMP 생성량

혈청 내 COMP 생성량을 측정된 결과, 대조군은 정상군에 비해 COMP 생성량이 증가하였다. 이에 비해 YOE는 1,000과 2,000 mg/kg/day 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있는 감소가 나타났다(Fig. 8).

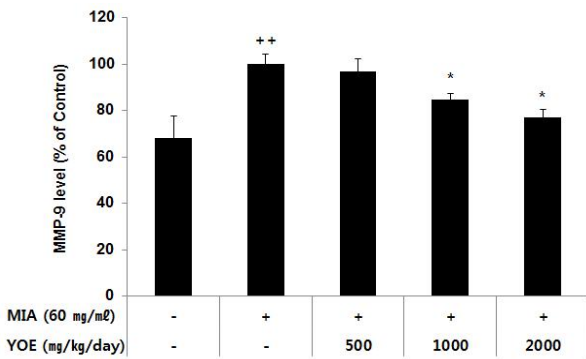


Fig. 7. Effects of Yeonsan-Ogye Egg on MMP-9 level in the serum of MIA-induced osteoarthritis rat. The results were expressed as mean \pm S.D. from 6 osteoarthritis rats. The statistical significance of differences between normal and control groups(++ : $p < 0.01$) or control and YOE groups(* : $p < 0.05$) based on ANOVA with student's t -test determined.

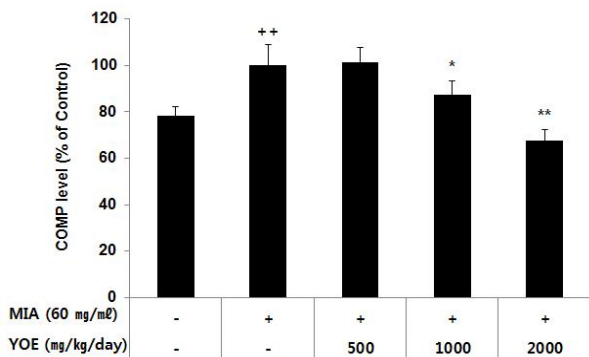


Fig. 8. Effects of Yeonsan-Ogye Egg on COMP level in the serum of MIA-induced osteoarthritis rat. The results were expressed as mean \pm S.D. from 6 osteoarthritis rats. The statistical significance of differences between normal and control groups(+++ : $p < 0.001$) or control and YOE groups(** : $p < 0.01$, * : $p < 0.05$) based on ANOVA with student's t -test determined.

6) CTX II 생성량

혈청 내 CTX II 생성량을 측정된 결과, 대조군은 정상군에 비해 CTX II 생성량이 감소하였다. 이에 비해 YOE는 1,000과 2,000 mg/kg/day 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있는 감소가 나타났다(Fig. 9).

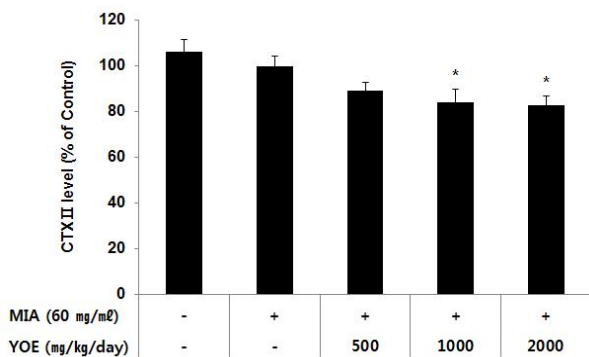


Fig. 9. Effects of Yeonsan-Ogye Egg on CTXII level in the serum of MIA-induced osteoarthritis rat. The results were expressed as mean \pm S.D. from 6 osteoarthritis rats. The statistical significance of differences between control and YOE groups(* : $p < 0.05$) based on ANOVA with student's t -test determined.

IV. 고 찰

골관절염은 나이, 비만, 성별, 유전적 요인에 의해 특정 관절 부위에 발생하는 일차성(특발성)과 외부적인 충격 및 질병 등에 의한 관절 연골에 손상으로 발생하는 이차성(속발성)으로 분류하며²¹⁾, 관절 연골의 감소와 이와 관련된 2차적인 변화를 통해 통증 및 관절 기능의 이상이 나타난다²⁾.

한의학에서 골관절염은 痺證의 범주에 해당한다. 痺症은 風寒濕熱의 邪氣가 인체가 허약한 틈을 타고 經絡으로 침입하거나 關節에 응체됨으로써 血氣運행을 저해하여 肌肉, 筋骨, 關節에 麻木, 重着, 疼痛, 腫脹, 屈伸不利, 심하면 관절의 강직성 변형을 초래한다^{3,7)}.

烏鷄는 《東醫寶鑑 湯液編 禽部》¹⁶⁾에서 烏雌鷄로 기재되어 寒濕痹의 증상의 치료와 더불어 補虛羸, 安胎, 癰疽, 折傷, 中風 등의 다양한 증상에 활용되며 血, 膽, 腸, 糞 등의 부산물 역시 折骨痛, 瘡, 遺尿, 中風 등의 主治가 기재되어 있으나, 烏鷄卵은 문헌적으로 효능이 기록되어 있지 않고 실험적 연구 역시 진행된 바가 없다.

이에 본 저자는 이전 연구결과인 烏鷄의 다양한 효능¹⁷⁻¹⁹⁾ 중 관절염에 대한 실험 결과와 심 등²⁰⁾의 난각막(Natural eggshell membrane, NEM)을 통한 결과에 준하여 烏鷄卵을 통한 관절염 효능을 확인하고자 烏鷄卵을 500, 1000, 2000 (mg/kg/day) 농도로 실험 동물에게 총 6주간 경구 투여하는 동안 투여 3주 차에 MIA로 관절염을 유발함으로써 관절 손상에 대한 방어능을 micro-CT, 조직병리학적 검사, 체중부하 및 혈청 내 바이오마커 분석을 통해 확인하였다.

골관절염에서 중요한 연골세포 조직은 collagen, 금속단백질 분해효소 조직억제제인 TIMP (tissue inhibitors of metalloproteinase), 프로테오글리칸 등이 관여하는 동화작용(anabolism)과 금속단백질 분해효소인 MMP (matrix metalloproteinase), collagenase, nitric oxide 등이 관여하는 이화작용(catabolism)의 상호 보완적인 반응을 통해 물리학적, 생물학적 균형을 유지한다^{22,23)}.

우선, 烏鷄卵 투여 종료 후 골관절염의 주된 증상인 연골 손상에 대한 여부를 판단하기 위해 Micro-CT 및 조직병리 검사를 실시한 결과, 烏鷄卵 투여군은 대조군에 비해 대퇴골(Femure)와 정강뼈(Tibia) 사이의 연골의 양과 연골 주변의 프로테오글리칸(proteoglycan) 층의 면적이 넓게 나타났다. 이와 같은 결과는 烏鷄卵 투여가 골관절염으로 인한 연골 손상이 적은 것이 육안적으로 검증되었으며, 연골 손상으로 인해 하체의 중심이 관절염이 유발되지 않는 쪽으로 기울어지는 것을 확인한 뒷발 체중부하 측정 결과에서도 대조군에 비해 약 1.5배 정도 높게 나타나, 烏鷄卵이 연골 손상 방어를 통한 통증 감소 역시 효능이 있음을 보여주고 있다.

烏鷄卵 투여가 연골 손상 방어능이 확인됨에 따라 이에 대한 기전을 확인하고자 연골의 형성과 파괴에 관여하는 대표적인 바이오마커를 확인하였다.

체내의 칼슘(Calcium) 농도의 항상성을 조절하여 혈액 내 칼슘을 뼈에 축적시키는 호르몬인 칼시토닌(Calcitonin)과 외부의 충격으로부터 관절을 보호하고 프로테오글리칸을 구성하는 글리코사미노글리칸(glycosaminoglycan) 생성량을 측정된 결과, 烏鷄卵 투여는 대조군에 비해 칼시토닌은 2000

mg/kg/day 그룹에서, 글리코사미노글리칸은 모든 투여군에서 유의성 있는 증가가 나타남으로써 연골 손상 시 연골의 재형성과 회복에 관여함이 나타났다. 특히, 글리코사미노글리칸 생성량 증가에 대한 유의적인 결과는 조직병리 검사를 통해 연골 주변에 프로테오글리칸 층이 넓게 형성된 결과와 부합되어 烏鷄卵 투여가 연골에 효과적임을 더욱 뒷받침하고 있다.

Metalloproteinases (MMPs)는 구조와 기능적 특성에 따라 여러 subfamily로 나뉘고 생명현상 유지에 필수적인 조절 단백질이며, 연골조직에 손상이 나타나면 활성화 되어 발현이 증가하고 이로 인해 연골의 기질 구성 요소를 파괴하는 분해 효소로 알려져 있다^{24,25}. MMP subfamily 중 gelatinase에 속하는 MMP-2와 MMP-9은 기저막의 collagen을 분해하여 프로테오글리칸층을 감소시키고 관절의 변형 및 손상을 야기함으로써 collagen type II (CTX II)와 같은 기질이 혈액으로 유입된다^{14,26}. 이와 같은 원인이 지속되면 연골을 구성하는 단백질은 분해된 후 혈액을 통해 순환되어 혈액 내 cartilage oligomeric matrix protein (COMP)의 증가가 나타내는데, 혈액 내 COMP 농도는 임상에서 연골 손상 정도를 나타내는 지표로 활용되고 있다²⁷. 연골 파괴에 관여하는 바이오마커 (MMP-2, MMP-9, COMP, CTX II 등) 생성량을 측정한 결과, 烏鷄卵 투여는 대조군에 비해 1000, 2000 mg/kg/day 투여군에서 유의성 있게 감소가 나타남으로써 연골 파괴에 의한 손실을 방어하는 것이 확인되었다. 다만, 500 mg/kg/day 투여군에서는 유의성 있는 감소가 나타나지 않았는데, 이는 대조군보다 연골 보존이 되는 했으나, 1000, 2000 mg/kg/day에 비해 연골 파괴 마커들을 감소시키지 못함으로써 조직병리 검사 결과에서 상대적으로 대퇴골 부위의 연골 소실이 진행 된 것을 확인할 수 있었다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 烏鷄卵은 골관절염에 대한 효능이 혈액, 방사선 및 조직학적인 다양한 실험을 통해 효능과 복용량을 확인하였다. 심 등¹⁶의 결과와 비교하였을 때 烏鷄卵은 烏鷄肉에 비해 관절염에 대한 효능은 상대적으로 낮게 검증 되었으나, 농도 의존적인 결과를 나타냄으로써 골관절염에 대한 건강기능성 식품 소재 및 치료 처방의 구성 약으로 활용될 가능성을 확인하였다. 또한, 심 등²⁰이 난각막을 통한 관절염 효능을 보고함에 따라 烏鷄卵의 난각막 역시도 가능성이 있을 것으로 사료되므로 추 후 연구를 통해 기초적 자료를 확립해 보고자 한다.

V. 결 론

본 연구는 골관절염에 대한 烏鷄卵의 예방 및 치료 효능을 과학적으로 검증하고자 烏鷄卵을 500, 1000, 2000 (mg/kg/day) 농도로 실험 동물에게 총 6주간 경구 투여하는 동안 투여 3주 차에 MIA로 관절염을 유발함으로써 관절 손상에 대한 방어능을 micro-CT, 조직병리학적 검사, 체중부하 및 혈청 내 바이오마커 분석을 통해 확인한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Micro-CT 촬영 결과, YOE 투여군은 대조군에 비해 골 손상이 적게 나타나 연골의 양이 보존되었다.

2. 조직병리검사 결과, YOE 투여군은 대조군에 비해 침윤 세포의 감소와 활막 내 프로테오글리칸 층의 증가를 나타내었다.

3. 체중부하 측정 결과, YOE 투여군은 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다.

4. 연골의 재형성과 회복에 관련된 바이오마커 측정 결과, YOE 투여군은 calcitonin 생성량을 2,000 mg/kg/day 투여군에서, glycosaminoglycan 생성량은 모든 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다.

5. 연골 파괴와 관련된 바이오마커 측정 결과, YOE 투여군은 MMP-2, MMP-9, COMP, CTX II 생성량을 1,000과 2,000 mg/kg/day 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 나타내었다.

전체적인 결과를 종합해볼 때, 烏鷄卵은 micro-CT, 조직병리 결과, 연골의 손상 및 파괴 관련 바이오마커 측정 결과를 통해 골관절염의 예방 및 치료 효능이 규명되었으며, 농도 의존적인 효능을 나타내었다. 따라서 본 연구는 임상연구에 대한 기초적인 자료를 제공하고 한의학적 처방 및 기능성 식품 소재로 활용할 수 있음을 시사하고 있다.

감사의 글

본 연구는 산업통상자원부 지정 대전대학교 난치성 면역질환의 동서생명의학연구 지역혁신센터의 지원에 의한 것입니다.

References

1. Ministry of the Interior and Safety. 2017. Available from : URL : http://www.mois.go.kr/frt/bbs/type010/commonSelectBoardArticle.do?bbsId=BBSMSTR_0000000008&nttId=59453
2. Korean College of Rheumatology. KCR textbook of rheumatology. Koonja, 2014.
3. The Society of Korean Medicine Rehabilitation. Oriental rehabilitation medicine, 2nd revision, Koonja, 2005 ; 84, 97.
4. Yang KG, Saris DBF, Dhert WJA, Verboort AJ. Osteoarthritis of the knee : current treatment options and future directions. Current Orthopaedics, 2004 ; 18 : 311-20.
5. Park S, Kim YS, Lee D, Kwon Y, Park J, Lee SY, et al. Efficacy and safety of HT008 and glucosamine sulfate in the treatment of knee osteoarthritis: a randomized double-blind trial. The Korea Journal of Herbology. 2014 ; 29(4) : 45-52.
6. Han JD, Shin JH, Hwang HC, Kim DY, Cho WH, Im

- GI, Interaction of cytokines in osteolysis, Journal of Korean orthopaedic research society, 2000 ; 3(2) : 125-32.
7. Korean Acupuncture & Moxibustion Society. The Acupuncutre and Moxibustion Medicine, Jibmoondang ; 2012.
 8. Lee JM, Hong SY, Oh MS. Effects of Jakyakkamchobuja-tang (芍藥甘草附子湯) on Papain-induced Osteoarthritis in Mice, Journal of Korean Medicine, 2013 ; 34(1) : 116-35.
 9. Sung YS, Choi HJ, Oh JM, Ji JG, Bak JW, Kim DH. The effect of KKBT in papain-induced osteoarthritis mice models, The Journal of Daejeon Oriental Medicine, 2012 ; 21.
 10. Park DS, Jung SH, Kim SJ, Seo IB, Effects of Gagamsosokmyeong-tang treatment on the monosodium iodoacetate-induced mild osteoarthritis in rats, Journal of Korean Rehabilitaion Medicine, 2011 ; 21(4) : 49-65
 11. Choi JY, Oh MS. Effects of Kamchobuja-tang (Gancaofuzi-tang) on papain-induced osteoarthritis in mice, Journal of Korean Medicine Rehabilitation, 2012 ; 22(4) : 37-57.
 12. Kim SJ, Effects of Hominis Placenta Herbal-acupuncture and Cervi Pantotrichum Cornu Herbal-acupuncture in MIAInduced degenerative arthritis and chondrocyte, Department of Korean Medicine, Graduate School of Dongshin University, 2008
 13. Park, DS, Jung SH, Kim SJ, Seo IB, Effects of Bee-venom Treatment on the Expression of NOS, C-fos, Serotonin and Substance P in Central Nerve System of Monosodium Iodoacetate-induced Osteoarthritic Pain Model, Journal of Korean Rehabilitaion Medicine, 2007 ; 17(3) : 1-18.
 14. Kim HY, Choi JB, Effects of Bee Venom and Cervi Cornu Parvum Pharmacopuncture in Monosodium Iodoacetate(MIA)-Induced Osteoarthritis Rat, Journal of Korean Rehabilitaion Medicine, 2010 ; 20(1) : 61-77.
 15. Baek YH, Park DS, Effect of Aralia Cordata Pharmacopuncture on Cartilage Protection and Apoptosis Inhibition In Vitroand in Collagenase-induced Arthritis Rabbit Model, Journal of Korean Medicine, 2007; 28(4) : 114-23
 16. Heo, J, DongEuiBoGam, DongEuiBoGamBooks, 2006 ; 2025-6.
 17. Kim JW, Sim BY, Choi HJ, Lee HJ, Kim DH. The Study on Biological Activities of Yeonsan Ogye listed on Dong-ui-bo-gam, The Korea Journal of Herbology, 2015 ; 30(5) : 23-8.
 18. Choi HJ, Sim BY, Joo IH, Yoo SK, Kim DH. Study of Innate Immunity Suppression of Yeonsan Ogye listed on Dong-eui-bo-gam, Journal of Physiology & Pathology in Korean Medicine, 2015 ; 30(4) : 236-41.
 19. Sim BY, Choi HJ, Ji JG, Kim DH, Effects of Yeonsan Ogye on monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis in rats, The Korea Journal of Herbology, 2017 ; 32(2) : 41-7.
 20. Sim BY, Bak JW, Lee HJ, Jun J, Choi HJ, Kwon CJ, et al. Effects of natural eggshell membrane (NEM) on monosodium iodoacetate-induced arthritis in rats, Journal of Nutrition and Health, 2015 ; 48(4) : 310-8.
 21. Park H, Lee SK. Association of obesity with osteoarthritis in elderly Korean women, Maturitas, 2011 ; 70(1) : 65-8.
 22. Sasai M, Saeki Y, Ohshima S, Nishioka K, Mima T, Tanaka T, et al. Delayed onset and reduced severity of collagen-induced arthritis in interleukin-6-deficient mice, Arthritis & Rheumatism, 1999 ; 42(8) : 1635-43.
 23. Abaskharoun M, Bellemare M, Lau E, Margolis RU. Expression of hyaluronan and the hyaluronan-binding proteoglycans neurocan, aggrecan, and versican by neural stem cells and neural cells derived from embryonic stem cells, Brain research, 2010 ; 1327 : 6-15.
 24. Rho YS, Han JY, Kim YH, Yoon HK, Kim WH, Lee HC. Matrix Metalloproteinase(MMP)-1, 2, 3, 9 and Tissue Inhibitors of MMP(TIMP)-1, 2 Expressions in Squamous Cell Carcinomas of the Oral Cavity, Inje Medical Journal 2002 ; 23(4) : 595-609.
 25. Noh KC. Expression of the Matrix Metalloproteinase-1, 2, 3, 9, 13 and TIMP-1 in Degenerative Osteoarthritis, Department of Medical Science, Graduate School of Korea University, 2007.
 26. Kim GS. Mechnism of signal transduction on endogenous expression of matrix metalloproteinase-9 and -2 genes in HT1080 cells, Department of Biochemistry, Graduate School of Chungnam National University, 2005.
 27. Sharif M, Saxne T, Shepstone L, Kirwan JR, Elson CJ, Heinegård D, et al. Relationship between serum cartilage oligomeric matrix protein levels and disease progression in osteoarthritis of the knee joint, Rheumatology, 1995 ; 34(4) : 306-10.