

|             |
|-------------|
| 발간등록번호      |
| 안내서-0123-01 |

# 건강기능식품 기능성 평가 가이드

- (II) ‘뼈/관절 건강에 도움’ 편 -

2012. 4.

## 지침서·안내서 제·개정 점검표

|                                                                                         |                                                                                                                             |                                                                             |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| <b>명칭</b>                                                                               | <b>건강기능식품 기능성 평가 가이드_뼈/관절 건강에 도움</b>                                                                                        |                                                                             |
| <b>아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.</b>                                                      |                                                                                                                             |                                                                             |
| <b>등록대상<br/>여부</b>                                                                      | <input type="checkbox"/> 이미 등록된 지침서·안내서 중 동일·유사한 내용의 지침서·안내서가 있습니까?                                                         | <input type="checkbox"/> 예<br><input checked="" type="checkbox"/> 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.<br>(사유 : ) |                                                                             |
|                                                                                         | <input type="checkbox"/> 법령(법·시행령·시행규칙) 또는 행정규칙(고시·훈령·예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까?                                           | <input type="checkbox"/> 예<br><input checked="" type="checkbox"/> 아니오       |
|                                                                                         | <input type="checkbox"/> 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까?                                                                       | <input type="checkbox"/> 예<br><input checked="" type="checkbox"/> 아니오       |
|                                                                                         | <input type="checkbox"/> 1년 이내 한시적 적용 또는 일회성 지시·명령에 해당하는 내용입니까?                                                             | <input type="checkbox"/> 예<br><input checked="" type="checkbox"/> 아니오       |
|                                                                                         | <input type="checkbox"/> 외국 규정을 번역하거나 설명하는 내용입니까?                                                                           | <input type="checkbox"/> 예<br><input checked="" type="checkbox"/> 아니오       |
|                                                                                         | <input type="checkbox"/> 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까?                                                          | <input type="checkbox"/> 예<br><input checked="" type="checkbox"/> 아니오       |
| ☞ 상기 사항 중 어느 하나라도 '예'에 해당되는 경우에 지침서·안내서 등록 대상이 아닙니다.<br>지침서·안내서 제·개정 절차를 적용하실 필요는 없습니다. |                                                                                                                             |                                                                             |
| <b>지침서·안<br/>내서 구분</b>                                                                  | <input type="checkbox"/> 내부적으로 행정사무의 통일을 기하기 위하여 반복적으로 행정사무의 세부기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)                                   | <input type="checkbox"/> 예(☞지침서)<br><input checked="" type="checkbox"/> 아니오 |
|                                                                                         | <input type="checkbox"/> 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용)               | <input checked="" type="checkbox"/> 예(☞안내서)<br><input type="checkbox"/> 아니오 |
| <b>기타 확인<br/>사항</b>                                                                     | <input type="checkbox"/> 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설·강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까?                                                   | <input type="checkbox"/> 예<br><input checked="" type="checkbox"/> 아니오       |
|                                                                                         | ☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침서·안내서 제·개정 절차를 진행하시기 바랍니다.                                                        |                                                                             |
| <b>상기 사항에 대하여 확인하였음.</b>                                                                |                                                                                                                             |                                                                             |
| <b>2017 년      6 월      1 일</b>                                                         |                                                                                                                             |                                                                             |
| 담당자<br>확 인(부서장)                                                                         |                                                                                                                             | 구 태 현<br>오 금 순                                                              |

이 안내서는 기능성 평가에 대하여 알기 쉽게 설명하거나 식품의약품안전처의 입장을 기술한 것입니다.

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 2012년 4월 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 지침서 등의 관리에 관한 규정 제2조)

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

전화번호: 043-719-4416

팩스번호: 043-719-4420

## 제.개정 이력

| 연번 | 제개정번호         | 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<br>(규제개혁담당관실-3761호, 2017.5.16.) |

# 목 차

|                          |    |
|--------------------------|----|
| * 건강기능식품의 기능성 개요 .....   | 1  |
| * 약어 .....               | 4  |
| I. 서론 .....              | 5  |
| II. 일반적 사항 .....         | 5  |
| 1. 개요 .....              | 5  |
| 2. 보건학적 중요성 .....        | 18 |
| 3. 기능성 내용 인정 범위 .....    | 20 |
| III. 기능성 시험방법 .....      | 22 |
| 1. 바이오마커의 선정 .....       | 22 |
| 2. 주요 바이오마커의 측정 방법 ..... | 43 |
| 3. 시험 설계 시 고려사항 .....    | 48 |
| IV. 기능성 인정 원칙 및 기준 ..... | 56 |
| 1. 인정 원칙 .....           | 56 |
| 2. 인정 기준 .....           | 58 |
| V. 기능성 심사 사례 .....       | 61 |
| 1. 심사 항목별 사례 .....       | 61 |
| 2. 종합 심사 사례 .....        | 63 |

|                |    |
|----------------|----|
| VI. 참고문헌 ..... | 69 |
|----------------|----|

**[별첨]**

|                              |    |
|------------------------------|----|
| 1. ‘뼈/관절 건강’ 기능성 원료 현황 ..... | 70 |
|------------------------------|----|

# 건강기능식품의 기능성 개요

## □ 기능성 정의

건강기능식품법 제3조(정의) : 기능성이란 인체의 구조와 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 것을 말한다.

## □ 기능성 구분

건강기능식품의 기능성은 3가지가 있다.

| 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                                      |                  |

## □ 기능성 등급 및 내용

건강기능식품 기능성 원료의 기능성에는 질병발생위험감소기능 및 생리활성기능이 있다.

질병발생위험감소기능은 제출된 기능성 자료가 질병의 발생 위험 감소를 나타내며, 확보된 과학적 근거 자료의 수준이 과학적 합의(Significant Scientific Agreement)에 이를 수 있을 정도로 높을 경우 인정하며,

※ 상당한 과학적 합의(Significant Scientific Agreement) : 성분 또는 원료와 건강효과 간의 상관성이 새로운 과학에 의해 뒤집어지지 않을 정도의 수준으로 관련 분야의 전문가들에 의한 만장일치에 가까운 합의 수준을 말함

생리활성기능은 제출된 기능성 자료가 인체의 정상기능이나 생물학적 활동에 특별한 효과가 있어 건강상의 기여나 기능향상 또는 건강유지·개선을 나타내는 경우 인정한다.

생리활성기능은 과학적 근거 정도에 따라 3가지 등급으로 구분된다.

| 기능성 등급         |     | 기능성 내용                                     | 인정 기준                                                                                                                                                                                                      |
|----------------|-----|--------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 질병발생위험<br>감소기능 |     | ○○발생위험<br>감소에<br>도움을 줌                     | 기반연구자료를 통해 생리학적인 효과 또는<br>기전이 명확하게 입증되어야 하고 일관성<br>있는 바이오마커의 개선효과가 다수의<br>인체적용시험(RCT)에서 확보되어야 함<br>* 질병 관련 바이오마커의 확인                                                                                       |
| 생리활성<br>기능     | 1등급 | ○○에<br>도움을 줌                               | 기반연구자료를 통해 생리학적인 효과 또는<br>기전이 명확하게 입증되어야 하고 일관성<br>있는 바이오마커의 개선효과가 다수의 인체<br>적용시험(RCT)에서 확보되어야 함<br>* 생리활성 관련 바이오마커의 확인                                                                                    |
|                | 2등급 | ○○에<br>도움을 줄 수<br>있음                       | 기반연구자료를 통해 가능성 있는 생리학<br>적인 효과 또는 기전을 추측할 수 있어야<br>하고 일관성 있는 바이오마커의 개선효과가<br>최소 1건 이상의 인체적용시험(RCT)에서<br>확보되어야 함<br>(추측 제안기전과 관련한 바이오마커 1개<br>라도 기반연구시험과 인체적용시험에서<br>일관성 있게 확인되어야 함)<br>* 생리활성 관련 바이오마커의 확인 |
|                | 3등급 | ○○에 도움을<br>줄 수 있으나<br>관련<br>인체적용시험이<br>미흡함 | 기반연구자료를 통해 생리학적인 효과 또는<br>기전을 추측할 수 있는 자료가 있으나,<br>인체적용시험(RCT)에서 기능성을 확보할<br>수 없음                                                                                                                          |

# 약어

|       |                                                                |
|-------|----------------------------------------------------------------|
| ADL   | Activities of daily living                                     |
| ALP   | Alkaline phosphatase                                           |
| BAP   | Bone specific alkaline phsphatase                              |
| BMC   | Bone Mineral Content                                           |
| BMD   | Bone mineral density                                           |
| Ca    | Calcium                                                        |
| CBT   | Cortical bone thickness                                        |
| CTX   | Urinary cross-linked C-telopeptide of type I collagen          |
| DPD   | Doxypyridinoline                                               |
| GAG   | Glycosaminoglycan                                              |
| HA    | Haluronic acid                                                 |
| KOOS  | Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score                   |
| LFI   | Lequesne functional index                                      |
| MKSKS | Modified knee society knee score                               |
| MMP   | Metalloproteinase                                              |
| NTX   | Urinary cross-linked N-telopeptide of type I collagen          |
| OA    | Ooarthritis                                                    |
| OCN   | Osteoclast cell number                                         |
| OPG   | Osteoprotegerin                                                |
| OSC   | Osteocalcin                                                    |
| P     | Phosphate                                                      |
| PG    | Poteoglycan                                                    |
| PGE2  | Postaglandin E2                                                |
| PINP  | Procollagen type I N-terminal propeptide                       |
| PTH   | Parathyroid hormon                                             |
| SF-36 | Short form-36                                                  |
| TRACP | Srum tartrate-resistant acid phosphatase                       |
| PYD   | Pridinoline                                                    |
| TBV   | Trabecular bone volume                                         |
| TBT   | Trabecular bone thickness                                      |
| TBL   | Trabecular bone length                                         |
| TBN   | Trabecular bone number                                         |
| VAS   | Visual analog scale                                            |
| WOMAC | Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index |

## I

# 서론

이 가이드는 건강기능식품 기능성원료를 개발하는 연구자 및 영업자에게 식품의약품안전청의 기능성(관절/뼈 건강에 도움) 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 신체내의 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 가지고 있다

뼈는 특수한 형태의 결합조직이며 인산칼슘복염 (hydroxyapatite) 과 다른 이온들의 석회화로 이루어져 있으며, collagen 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 구성부분을 합성한다. Osteocalcin과 bone sialoprotein은 조골세포의 다른 형태의 유기적 산물이다. 이러한 산물들을 통해 조골세포는 유골의 무기질화를 조절한다.

### 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 알칼리인산분해효소의 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 알칼리인산분해효소는 뼈형성 활동에서 유용한 임상적 지표가 된다.

### 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 뼈에 부착하여 이 표면에서 일을 하게 된다.

### 3) 관절/연골의 구조와 역할

관절은 두 개 또는 그 이상의 뼈들이 맞닿는 곳으로, 관절을 형성하는 두개의 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 관절연골에 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

#### ① 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.

#### ② 아교질(Collagen)

아교질은 세포외 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 다른 무계의 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 아마도 연골조직에서 상대적으로 많은 양의 프로테오글라이칸과 상호작용하는 기능과 연관되어 있을 것이다.

### ③ 프로테오글라이칸(Proteoglycan)

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

콘드로이틴황산염은 연골에서 가장 흔한 글리코사미노글리칸이다. 이것은 전체 글리코사미노글리칸에서 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 글리코사미노글리칸의 한 형태이지만 위에서 언급된 것들과는 다르게 황산화 된 것은 아니다.

히알루론산염의 또 다른 구별되는 성질은 핵심 단백질에 결합되어 있지 않다는 것이며 따라서 프로테오글라이칸의 구성 성분이 아니다. 연골에서 모든 프로테오글라이칸들의 80-90%는 크게 응집되어 있는 아글리칸(aggrecans)이라고 불리는 형태로 되어 있다. 이것은 길게 확장된 핵심 단백질과 핵심단백질에 공유결합되어 있는 100개 이상의 콘드로이틴황산염과 50개 이상의 황산케라탄 글리코사미노글리칸 사슬들로 구성되어 있다. 젊은 사람에서는 황산

케라탄의 농도가 상대적으로 낮으며 chondroitin 4-sulfate가 콘드로이틴 황산염의 주된 형태가 된다. 나이가 들면서 황산케라탄의 농도가 증가하면서 chondroitin 6-sulfate가 콘드로이틴 황산염의 주된 이성형태가 된다.

## 나. 뼈/관절의 기능 · 생리학적 작용

### 1) 뼈 건강

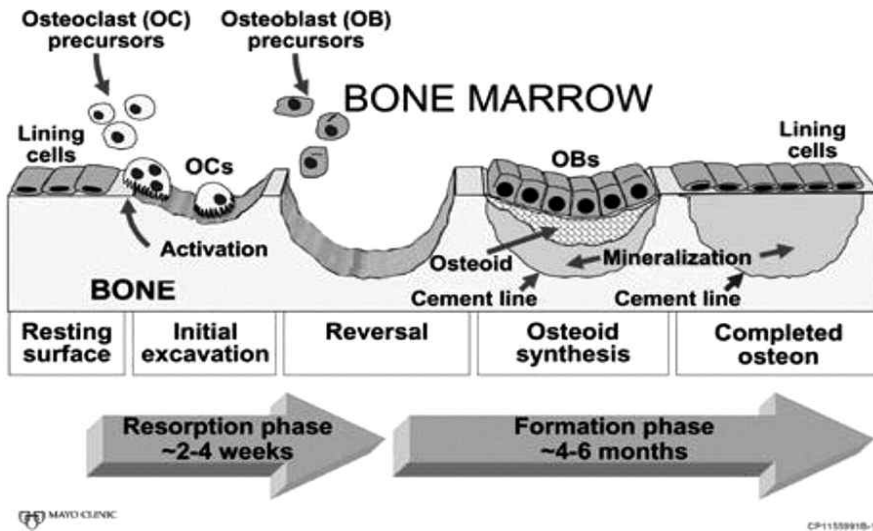
#### ① 골격대사 조절 (뼈 재형성, Bone Remodeling)

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

뼈 재형성은 골격으로부터 무기질을 방출하고 손상된 뼈의 미세한 부위를 제거한다. 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.



<뼈의 재형성 과정 [출처: J Bone Miner Res(2005;20:177 - 84)]>

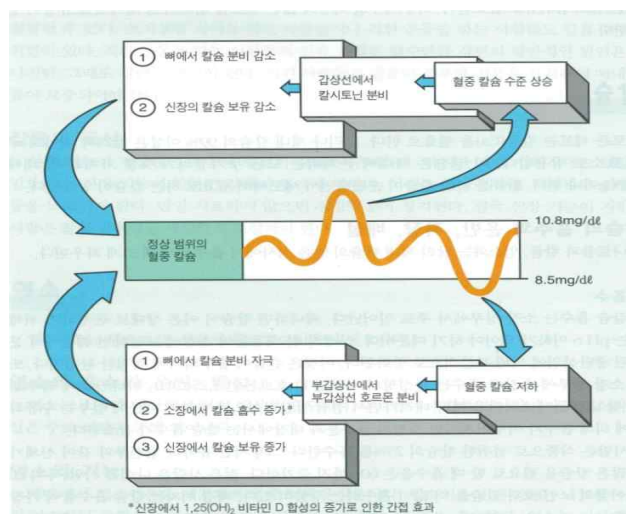
## ② 칼슘대사 (칼슘의 항상성 유지)

골격은 세포 밖의 항상성을 유지하는데 필수 요소인 칼슘, 인과 같은 이온들의 metabolic reservoir 역할을 한다. 혈청에서 이온화된 칼슘의 농도는 매우 좁은 범위를 가지고 있는데 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 유입되고 콩팥세뇨관을 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 500mg이 뼈파괴세포에 의한 뼈흡수에 의해 유리되고 뼈모세포에 의한 뼈형성을 통해 500mg이 침착 된다. 24시간 내에 칼슘 10000mg 가량이 콩팥으로 운반되어 그 중 대다수 (98%)가 저장되고 200mg만이 소변으로 배설된다. 이 배설되는 200mg만큼 식사에 의해 보충되어야 한다. 그러나 소장의 칼슘흡수율은 낮아서 1000mg을 섭취하면 200mg만 흡수되고 나머지 800mg은 대변으로 배설된다. 뼈와 혈장 사이의 교환도 이와 유사하게 균형을 이루고 있다.



<칼슘의 항상성 유지기전 [출처: 생활속의 영양학, 라이프사이언스, 2005]>

칼슘 균형에 영향을 미치는 주된 순환인자는 부갑상선호르몬, 비타민D, 칼시토닌, 칼슘 등이 있다.

## 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.

## 비타민D

비타민D는 스테로이드 호르몬으로 세포핵에 붙어 유전자 발현과 단백질 합성을 조절한다. 무기질 대사에서 비타민D의 기능은 혈청칼슘의 농도를 증가시키는 것이다. 인체는 식이를 통해서 또는 합성을 통해 직접 비타민D를 얻는다. 비타민D의 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 cholecalciferol으로 변형된다. 그 뒤 25-OH cholecalciferol은 콩팥으로 운반되고 여기에서 다시 수산화된다. 수산화는 1번 또는 24번 위치에서 각각 일어

날 수 있고 전자는 활성화 형태이고 후자는 비활성화 형태이다. 어떤 위치에서 수산화가 일어날 것인가에 대한 결정은 순환하는 비타민D와 부갑상선 호르몬의 이용 가능성에 달려 있다. 낮은 수치의 비타민D와 높은 수치의 부갑상선 호르몬은 1번 위치에서 수산화 과정을 자극하여 비타민의 활성화 형태인 1, 25 (OH)<sub>2</sub> vitamin D가 된다. 마찬가지로 높은 수치의 비타민D는 되먹임 루프를 생성하고 비활성 24, 25 (OH)<sub>2</sub> vitamin D의 형성을 증가시킨다. 뼈, 소장, 콩팥 등은 비타민D의 표적 기관들이다. 모든 스테로이드 호르몬처럼 비타민D는 혈류를 통해 이들 표적기관에 도달한다. 각 기관은 비타민D에 대한 특이 수용체를 가지고 있다. 뼈에서 비타민D는 칼슘과 인의 유리를 자극한다. 소장에서 비타민D는 단백질 합성을 촉진하고 섭취한 칼슘을 순환계로 이동시킨다. 콩팥에서 비타민D는 칼슘 흡수를 증가시킨다.

## 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 치료하는데 사용되어 왔으며 골다공증의 치료제로 사용되고 있다.

### ③ 골 형성 무기질 저장 · 유지

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

### ① 관절에서의 염증반응

관절의 염증 반응은 염증을 유발시키는 cytokine과 이를 생성하는 대식세포의 수가 증가하거나 면역세포에서 염증을 유발하는 leukotriene B4가 증가하여 일어난다.

관절에서 염증반응으로 인해 연골에 손상이 일어나서 매끈매끈한 관절 연골 면이 울퉁불퉁해지면서 연골 밑의 뼈에 이상이 생기게 되는 것이다.

관절 질환에서처럼 만성 염증은 해로울 수 있다. 연골의 파괴가 점점 진행되면서 관절 불안정성과 기능소실이 초래된다. 이러한 해로운 영향 때문에 염증은 어떤 상황에서는 억제되어야 한다.

만성염증은 관절들에 있는 두 개의 주요 부위, 즉 윤활막과 연골에 영향을 미친다. 질환의 초기에 염증은 주로 윤활막선을 침범한다. 질환이 진행됨에 따라 연골에서 변화가 일어나고 연골세포의 사망이 최고조에 다다르고 세포외 바탕질의 붕괴에 의해 연골의 파괴가 완전히 일어난다.

염증은 수많은 백혈구가 윤활막에 침윤되게 하여 대식세포와 T, S 림프구의 수가 엄청나게 증가한다. 윤활막 조직 두께가 한 개 내지 네 개 세포로부터 수백 개 까지 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).

연골에 대한 염증의 영향은 염증과정 자체에 이차적인 것처럼 보이며 심지어 최초 염증과는 별개일 수 있다. 만성 관절 질환에서 염증이 억제되더라도 연골퇴화가 계속된다는 것이 몇몇 연구들에서 관찰되었다.

연골세포에 의한 프로테오글라이칸 합성이 감소하고 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.

## 다. 주요 작용 기전

### 1) 뼈와 관절의 구성성분 공급

- 연골의 구성성분을 제공함으로써 건강한 뼈와 관절의 탄성과 원활성 유지
- 체내에서 섬유나 수분과 결합하여 관절의 유연성, 탄력성 유지

### 2) 장내 미네랄 흡수 증가

- 단쇄지방산에 의해 장내가 산성화되어 미네랄 성분의 용해도를 증가시켜 미네랄의 흡수 증가

### 3) 골흡수와 골형성의 균형 유지

- 골흡수와 골형성의 균형을 통한 기능 유지

### 4) 칼슘대사 및 호르몬 분비

- 혈장의 칼슘이온 농도는 칼슘을 조절하는 호르몬들이 소장과 뼈, 신장에 영향을 미치면서 일정하게 유지
- 부갑상선 호르몬, 칼시토닌 및 비타민 D 등이 관여

### 5) 관절 내 염증반응 억제

- 염증생성물질을 억제하여 염증반응에 영향을 주어 관절 건강에 도움

## 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, 심장병, 당뇨병)의 증가, 이른 폐경, 질병에 의한 젊은 여성들의 난소 절제 등에 의한 칼슘과 비타민 D의 흡수 장애 및 부갑상선 호르몬과 에스트로겐의 불균형 등으로 골대사 장애를 일으킨다. 그 결과 젊은 여성 뿐만 아니라 성장기 어린이에게도 최대 골밀도의 감소로 인해 골다공증의 발병위험이 높아지고 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.

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.

현재 식품의약품안전청에서 인정한 “뼈 건강” 기능성을 표방하는 기능성 원료로는 ‘대두이소플라본’, ‘흑효모배양액분말’이 있다

## 나. 관절 건강

노화에 따라 연골이 소실되고 관절이 변형되면서 국소적으로 퇴행성 변화가 나타나기도 한다. 퇴행성 관절염은 관절 연골의 퇴행성 변화에 의해 발생하며, 주된 증상은 통증이다.

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

퇴행성 관절염을 예방하거나 치료하는 약물은 아직 개발되어 있지 않으나, 진통 및 항염 작용을 가진 약물, 즉 Cox-2억제제 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 관절염위험을 감소시킬 수 있다.

현재 식품의약품안전청에서 인정한 “관절 및 연골 건강” 기능성을 표방하는 고시형 기능성 원료로 류코·다당단백, 글루코사민, N-아세틸글루코사민이 있으며, 개별인정 기능성 원료로 초록입홍합추출오일복합물, 황금추출물등복합물, 로즈힙분말, Dimethylsulfone(MSM), 지방산복합물, 차조기등복합추출물, 호프추출물, 전칠삼추출물등복합물, 가시오갈피등복합추출물이 있다

### 3. 기능성 내용 인정 범위

#### 가. 인정되는 기능성 내용 : 뼈/관절 건강에 도움

뼈/관절 건강의 기능성은 ‘골흡수와 골형성의 균형을 통한 뼈의 기능 유지’와 ‘연골 소실 또는 관절 변형에 따른 관절/연골 기능 유지’ 등을 통해 뼈/관절 기능을 유지 또는 개선시키는 것을 의미한다.

기능성 내용의 인정 범위에는 종말점(endpoint)과 관련된 내용만 포함되며 그 작용 기전(mechanism)에 대한 내용은 제외한다.

(예시)

- ‘골흡수와 골형성의 균형을 통해 뼈 건강에 도움’ (불인정)  
→ ‘뼈 건강에 도움’ (인정)
- ‘염증유발물질의 억제를 통해 관절 건강에 도움’ (불인정)  
→ ‘관절 건강에 도움’ (인정)

#### 나. 인정되지 않는 기능성 사례

일반적으로 건강기능식품의 기능성은 질병의 치료·예방 효과를 표현하거나 의약품의 효능·효과로 사용되는 ‘증상’과 동일한 표현은 타당하지 않으므로 다음과 같은 사례는 적합하지 않다.

(예시)

- 골다공증 치료에 도움
- 관절염증의 완화에 도움
- 무릎 통증 감소에 도움
- 관절의 회복 및 관절염 예방에 도움

## 다. 기능성 인정 등급에 따른 기능성 내용의 표현

### 1) 뼈 건강

- ① 질병발생 위험 감소 기능 : 골다공증 위험 감소에 도움을 줌
- ② 생리활성기능 1등급 : 뼈 건강에 도움을 줌
- ③ 생리활성기능 2등급 : 뼈 건강에 도움을 줄 수 있음
- ④ 생리활성기능 3등급 : 뼈 건강에 도움을 줄 수 있으나 관련  
인체적용시험이 미흡함

### 2) 관절 건강

- ① 질병발생 위험 감소 기능 : 퇴행성관절염 위험 감소에 도움을 줌
- ② 생리활성기능 1등급 : 관절 건강에 도움을 줌
- ③ 생리활성기능 2등급 : 관절 건강에 도움을 줄 수 있음
- ④ 생리활성기능 3등급 : 관절 건강에 도움을 줄 수 있으나 관련  
인체적용시험이 미흡함

Ⅲ

기능성 시험 방법

1. 바이오마커의 선정

가. 뼈 건강

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

뼈 건강 기능성 확인을 위한 바이오마커

| 기전     | 바이오마커                                                       | 측정가능 한 연구유형 |         |       |
|--------|-------------------------------------------------------------|-------------|---------|-------|
|        |                                                             | In vitro    | In vivo | Human |
| 골 흡수   | Urinary deoxypyridinoline, pyridinoline                     |             | ○       | ○     |
|        | Serum tartrate-resistant acid phosphatase                   |             | ○       | ○     |
|        | Urinary type 1 collagen cross-linked telopeptide (NTX, CTX) |             | ○       | ○     |
|        | Urinary pyrinidium cross-links                              |             | ○       | ○     |
|        | Urinary hydroxyproline                                      |             | ○       | ○     |
|        | Urinary hydroxylysine glycosides                            |             | ○       | ○     |
| 골 형성   | Serum osteocalcin                                           |             | ○       | ○     |
|        | Serum total alkaline phosphatase                            |             | ○       | ○     |
|        | Serum Bone alkaline phosphatase                             | ○           | ○       | ○     |
|        | Serum Type 1 procollagen peptide                            |             | ○       | ○     |
| 칼슘대사 및 | 혈중 Ca, P 농도                                                 |             | ○       | ○     |
|        | 뼈의 Ca, P 함량                                                 | ○           | ○       | ○     |

|             |                        |   |   |   |
|-------------|------------------------|---|---|---|
| 호르몬<br>분비   | 혈중 부갑상선 호르몬 분비         |   | ○ | ○ |
|             | Serum Calcitonin       |   | ○ | ○ |
|             | 비타민 D 수준               |   | ○ | ○ |
|             | Estrogen               |   | ○ | ○ |
|             | 성장호르몬                  |   | ○ | ○ |
| 골절위험        | 골밀도                    |   | ○ | ○ |
|             | 골강도                    |   | ○ |   |
|             | 골면적                    |   | ○ |   |
| 소장<br>칼슘 흡수 | 소장의 가용성 칼슘비율           | ○ |   |   |
|             | 소장의 가용성 및 불용성 칼슘<br>합량 |   | ○ |   |
|             | 칼슘 흡수율                 |   |   | ○ |

## 1) 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 결합 조직에 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 전립선, 혈소판, 적혈구, 비장 등에 존재하는 리보솜 효소로 파골세포에 존재하는 효소인 L-tartrate에 저항성이 있어 tartrate-resistant acid phosphatase라 한다.

### ③ Urinary type 1 collagen cross-linked telopeptide

콜레스테롤 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 콜레스테롤에 특이성이 높으며 N-telopeptide(NTX)와 C-telopeptide(CTX)가 있다.

### ④ Urinary PYD/DPD cross-links

콜레스테롤 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 콜레스테롤 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.

## 2) 골형성 지표

### 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 반영해 주지만, 혈청 ALP의 반은 뼈에서 유리되며 간, 신장 등에서도 합성되어 특이성이 낮다.

### ③ Serum bone alkaline phosphatase(BAP)

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

### ④ Type 1 procollagen peptide

1형 콜라겐은 전구물질인 procollagen으로 분비된 후, collagen이 되기 위해 단백질 분해효소에 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.

### 3) 칼슘대사 및 호르몬 관련 지표

#### ① 혈중 Ca, P 농도, 뼈의 Ca, P 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 보호효과를 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. 에스트로젠이 감소하면 Calcitonin이 감소하여 골손실이 증가한다. 혈중 Calcitonin은 연령이 증가할수록, 여성의 경우에 함량이 낮다.

#### ④ 비타민 D 수준

비타민 D는 소장에서 칼슘의 흡수를 증가시키고 신장에서 Ca의 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 Estrogen

Estrogen은 부갑상선호르몬을 억제하고 calcitonin을 촉진하며 활성형 비타민D 합성에 관여한다. 따라서 간접적으로 골흡수량을 저하시킨다. 폐경 여성에서 Estrogen 분비가 감소하여 폐경 후 골다공증의 원인이 된다.

## ⑥ 성장호르몬

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

# 4) 골절위험 관련 지표

## ① 골밀도

골밀도는 뼈의 강도와 골절위험을 나타내며 골밀도가 낮을수록 골절 위험이 증가한다.

## ② 골강도

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

## ③ 골면적

골밀도의 간접적인 측정방법으로 골다공증을 진단할 수 있으며 골다

공중 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.

## 5) 소장 칼슘흡수 관련 지표

### ① 소장의 가용성 칼슘비율과 가용성 및 불용성 칼슘 함량

칼슘은 소장에서 가용성 칼슘 형태로 흡수된다. 소장에서 칼슘의 가용성이 증가하면 소장 내 칼슘의 흡수가 증가한다. Phytate나 oxalate는 칼슘의 불용성 복합체로 소장에서의 칼슘 흡수를 감소시킨다. 소장의 가용성 칼슘비율은 불용성 Ca complex의 형성을 억제하는 효과로 측정한다.

### ② 칼슘 흡수율

칼슘은 흡수율이 낮은 영양소의 하나로 소장 칼슘의 흡수율 증가는 골다공증 예방과 관련이 있다. 시험물질 섭취 후 24-48시간 동안의 뇨를 채취하여 (섭취량-배설량)/섭취량\*100으로 계산한다.

## 나. 관절 건강

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

### 관절 건강 기능성 확인을 위한 바이오마커

| 기전           | 바이오마커                                      | 측정가능한 연구유형 |         |       |
|--------------|--------------------------------------------|------------|---------|-------|
|              |                                            | In vitro   | In vivo | Human |
| 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 $\gamma$ 발현 활성화                       | ○          | ○       | ○     |
|              | 경부임파절 세포 수(T, B세포)                         | ○          | ○       | ○     |
|              | 콜라겐 특이적 항체 수준                              | ○          | ○       | ○     |
|              | 면역 관련 조직 무게                                |            | ○       |       |
|              | CRP 농도                                     |            | ○       | ○     |
|              | Erythrocyte sedimentation rate             |            | ○       | ○     |
| 관절조직 및 구조 변화 | Hyaluronic acid(HA) 합성 수준                  | ○          |         |       |
|              | Metalloproteinase(MMP)-2,9 활성              | ○          |         |       |
|              | 연골 Proteoglycan 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                          |            |         | ○     |

| 기전        | 바이오마커                                                                           | 측정가능한 연구유형 |         |       |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------|------------|---------|-------|
|           |                                                                                 | In vitro   | In vivo | Human |
| 임상적<br>증상 | 조직병리학적 변화 관찰                                                                    |            | ○       | ○     |
|           | Paw swelling                                                                    |            | ○       |       |
|           | Arthritis score                                                                 |            | ○       |       |
|           | Severity score                                                                  |            | ○       |       |
|           | 귀, 무릎부종 수준                                                                      |            | ○       |       |
|           | Forepaw inflammation                                                            |            | ○       |       |
|           | 무릎 관절상태 관찰(붉은 정도,<br>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,<br>Grip strength, 보행능, 계단 오르내리기,<br>오리걸음, 일상생활동작) |            |         | ○     |
|           | Western Ontario and McMaster<br>University osteoarthritis index<br>(WOMAC)*     |            |         | ○     |
|           | Chinese Oxford Knee Score(COKS)*                                                |            |         | ○     |
|           | Knee Injury and Osteoarthritis<br>Outcome Score(KOOS)*                          |            |         | ○     |
|           | Lequesne Functional Index*                                                      |            |         | ○     |
|           | Modified knee society knee<br>score(MKSKS)*                                     |            |         | ○     |
|           | Activities of Daily Living(ADL)*                                                |            |         | ○     |
|           | Chinese Arthritis Impact Measurement<br>Scale 2-short form(CAIMS2-SF)*          |            |         | ○     |
|           | Short form-36(SF-36)*                                                           |            |         | ○     |

## 1) 항염증 관련 지표

### ① NO생성 수준, iNOS protein, mRNA 발현 수준

염증부위에서는 과다한 양의 NO가 발생하여 세포 조직의 괴사를 촉진한다. iNOS는 외부자극에 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.

### ② COX 1, 2 활성

COX는 Arachidonic acid에서 PGE2의 합성을 유도하는 효소로 염증을 유도하고 염증반응에서 중요한 역할을 한다. COX2는 관절질환이 있을 때, 관절조직에서 단백질 발현을 과도하게 일으킨다.

### 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- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-10, IL-12) 수준

염증성 cytokine은 COX2 및 iNOS의 발현을 증가시킴으로 염증 및 통증반응을 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-kB의 활성화는 COX2와 iNOS의 발현을 유도한다. ERK, JNK, p38MAP kinases가 활성화되면 NFkB를 활성화시키고 이는 COX2와 iNOS의 발현을 유도한다.

## ⑦ Polymorphonuclear Leukocyte(PMN)의 chemotaxis 정도

PMN은 염증질환에서의 조직손상이나 염증반응과 관련되어 있다. 면역세포는 chemotaxis에 의해 이동하여 염증반응을 일으키므로 chemotaxis의 저해는 염증반응을 감소시킨다.

## ⑧ PPAR $\gamma$ 발현 활성화

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

## 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.

#### ⑫ CRP 농도

CRP는 CVD를 예측하며 염증성 질환의 진행정도를 검사할 수 있어 측정한다.

#### ⑬ Erythrocyte sedimentation rate

적혈구 침강 속도로 염증질환이나 류마티스 관절염이 있을 때 증가한다.

## 2) 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 충격흡수가 줄어들고 관절이 뻣뻣해져 보행이 불편해진다.

### ② Metalloproteinase(MMP)-2, 9 활성 억제

MMP는 관절조직의 분해효소로, 질환상태일 때 연골조직에서 발현 및 활성이 증가하며 염증성 cytokine에 의해 유발된다. 염증성 cytokine에 의해 활성화된 연골세포는 연골을 파괴하는 MMP의 발현을 유도한다.

### ③ 연골 Proteoglycan 합성

골관절염이 진행되면, 염증반응과 함께 활액량이 늘어나는데 이는 연골이 파괴되어 활액내로 Proteoglycan이 방출되기 때문이다. 따라서 활액 내의 Proteoglycan 농도를 감소시키는 것은 골관절염 개선에 중요한 마커가 된다.

### 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 중성구는 0.5pg의 elastase를 포함하며 중성구를 활성화시키는 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 지수화 하여 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 연골손실

㉕ 표피층의 손실, 연골침식, 갈라짐, 프로테오글리칸의 손실, 연골세포의 분열, 연골세포의 손실, 연골하골의 노출, 근집형성을 5점 척도로 평가

#### ⑩ Joint space width

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

### 3) 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.

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

㉡ 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 평가함

- 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 중간정도의 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. 점수가 낮을수록 관절염이 개선된 것을 의미한다.

#### ⑤ 진통효과테스트

동물시험에서 Writhing 횟수(등을 쪽 펴거나 뒷다리를 뺀어 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.

㉠ 0점: 통증이나 부종 없음, 3점: 심한 통증이나 부종

㉡ 0점: 항상 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 제한정도를 측정함으로써 관절의 운동성을 평가한다.
- Hip flexion의 정상각도: 125도, Knee flexion의 정상각도: 140도

### ⑪ Hip internal/external rotation

- 고관절의 외회전 및 내회전 각도와 제한정도를 측정함으로써 관절의 운동성을 평가한다.
- 내회전/외회전의 정상 각도: 45도

### ⑫ Joint mobility index

- 관절의 운동성을 주관적으로 평가한다.
- 0점: 관절 움직임에 제한 없음, 3점: 심한 제한 있음

### ⑬ 환자, 의사의 주관적 평가

- 전반적인 관절염 상태를 환자 및 의사에 의해 점수화하여 주관적으로 평가한다.

#### ⑭ 관절의 기능성 측정

㉠ Limbering up time

- 아침에 관절의 뻣뻣한 정도를 측정한다.

㉡ Grip strength

- 악력을 측정한다.

㉢ 보행능

- 보행능 측정을 위해 20M 평지를 걷는데 걸리는 시간을 측정한다.

㉣ 계단 오르내리기

- 32개의 계단 오르내리기를(16개 오르기, 16개 내리기) 5번 반복한다.

㉤ 오리걸음

- 3M 오리걸음을 함으로서 무릎관절에 최대한의 하중을 주고 관절표면이나 반원판의 압축을 유발한다.

#### 4) 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.
- 통증(5개 문항), 뻣뻣함(2개 문항), 기능(17개 문항) 총 24개의 문항으로 구성된다.
- 5점 척도로 평가: 0점 통증/어려움 없음, 4점 매우 심함

## ② Chinese Oxford Knee Score(COKS)

- 12개 문항으로 구성: 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
- 5점 척도로 평가: 1점은 가장 좋은 상태, 5점은 가장 나쁜 상태

## ③ Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score(KOOS)

- 총 42개 문항으로 이루어진다.
- 5개 영역으로 분류: 통증(9문항), 증상(7문항), ADL 기능(17문항), 운동과 레크레이션 기능(5문항), 삶의 질(4문항)
- 5점 척도로 평가: 0점 문제없음, 4점 심각한 문제 있음

## ④ Lequesne Functional Index(LFI)

- 기능상태 평가로 총 11문항으로 이루어진다.
- 3개 영역으로 분류: 통증 또는 불편함(5문항), 최대 걸을 수 있는 거리, 일상생활 활동(5문항)
- 점수가 낮을수록 좋다.

## ⑤ Modified knee society knee score(MKSKS)

- 4개의 영역으로 분류: 운동성, 불안정성, 통증, 기능성
- 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

- 기능성은 이동거리를 바탕으로 평가한다.(점수는 0-50점)

#### ⑥ Activities of Daily Living(ADL)

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

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

- 5가지 영역의 총 22문항으로 구성: 신체활동(10문항), 팔의 기능(5문항), self-care(3문항), 사회적 활동(1문항), 정신적 상태(3문항)
- 5점 척도로 평가: 0점은 가장 좋은 상태, 4점은 가장 나쁜 상태

#### ⑧ Short form-36(SF-36)

- 건강과 관련된 삶의 질을 측정한다..
- 총 36개 문항으로 9개 영역으로 분류: 신체적 기능, 신체적 역할, 통증, 일반적 건강, 활력, 사회적 기능, 감정적 역할, 정신건강, 보고된 건강변화
- 점수가 높을수록 높은 삶의 질 나타냄

## 2. 주요 바이오마커의 측정 방법

### Bone alkaline phosphatase (BALP)

Rosalki와 Ying Foo (1984)의 방법을 개선시킨 Behr와 Barnert(1986)의 방법에 따른다. 혈청은 -4 °C에서 24시간 해동하고 Lectin 용액은 wheat germ agglutinin (*Triticum vulgaris*, wheat germ lectin. Sigma Chem. Co. USA)을 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  $\mu$ l에 동량의 lectin sol.을 첨가한 뒤 37 °C, 30분간 incubation하고 이 용액에 Triton-X 100 Sol. 5  $\mu$ l를 첨가하여 잘 혼합하여 37 °C, 30분간 다시 incubation 한다. 이렇게 제작한 serum mixture를 2000 rpm에서 15분간 원심분리 하여 상층액과 침전물을 분리한다. 상층액을 취하여 TALP의 측정법과 동일한 방법으로 ALP치를 측정한다. BALP는 TALP에서 상층액의 ALP치를 빼고 남은 값으로 한다. B/T는 TALP 중에 차지하고 있는 BALP를 백분율로 계산한다.

### Osteocalcin

혈중 osteocalcin은 osteocalcin myria kit (Techno genetis Co. Italy)를 이용하여  $\gamma$ -counter로 radioactivity를 측정한다.

### Type I collagen propeptide

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

## Type I collagen telopeptide

노중 Type I collagen telopeptide 함량은 ELISA kit (Rot No 8003, Quidel co, San Diego, U.S.A.)를 이용하여 측정한다.

## Pyridinoline

노중 pyridinoline의 측정은 collagen crosslinks kit를 이용하여 ELISA 법에 의해 분석한다.

## Deoxyypyridinoline

노중 deoxyypyridinoline의 측정은 채노한 것을 원심분리 하여 노량을 쟀 다음 pyrilinks-D kit (Metra biosystem, U.S.A.)를 사용하여 ELISA 법에 의해 분석한다.

## 칼슘함량

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

## 총 무기질 함량

혈액에서 칼슘은 AOAC법에 의하여 422.7 nm에서 AAS로 측정한다. 무기인 (Pi)의 함량은 비색법 (spectro-photometric method)에 따라 무기인 측정용 Kit를 사용한다. 분석에 쓰인 모든 초자기구는 오염을 막기 위하여 수시간 3 N HCl에 담근 후 사용한다.

## Parathyroid hormone

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 kit (Diagnostic System Laboratories Inc., USA)로 radioimmunoassay를 한 후 gamma-counter를 이용하여 항원 항체 결합 정도를 측정한다.

## 혈중 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 kit (Diagnostic System Laboratories Inc., USA)로 radioimmunoassay를 한 후 gamma-counter를 이용하여 항원 항체 결합 정도를 측정한다. IRMA (Immunoradiometric- assay)법에 의거하여  $I^{125}$ -calcitonine kit(CT-U.S.-IR MA)로 분석한다.

## Estrogen

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

## 골밀도, 골무기질 함량 및 총 골칼슘 측정

실험 후 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.

## **Hyaluronic acid**

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

## **Pentosidine**

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

## **Metalloproteinase 9 and Tissue inhibitors of metalloproteinase**

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

## **Antigenic keratan sulfate**

채혈한 혈액을 원심분리 하여 혈청을 분리한 후 kit를 이용하여 측정한다.

## **Cartilage oligometric matrix protein (COMP)**

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

## **Bone Alkaline Phosphatase (BALP)**

Rosalki와 Ying Foo (1984)의 방법을 개선시킨 Behr와Barnert (1986)의

방법에 따른다. 혈청은  $-4^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 해동하고 lectin 용액은 wheat germ agglutinin (*Triticum vulgaris*, wheat germ lectin. Sigma Chem. Co. USA)을 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  $\mu\text{l}$ 에 동량의 lectin sol.을 첨가한 뒤  $37^{\circ}\text{C}$ , 30분간 incubation하고 이 용액에 Triton-X 100 Sol. 5  $\mu\text{l}$  첨가하여 잘 혼합하여  $37^{\circ}\text{C}$ , 30분간 다시 incubation 한다. 이렇게 제작한 serum mixture를 2000 rpm에서 15분간 원심분리 하여 상층액과 침전물을 분리한다. 상층액을 취하여 TALP의 측정법과 동일한 방법으로 ALP치를 측정하였다. BALP는 TALP에서 상층액의 ALP치를 빼고 남은 값으로 한다. B/T는 TALP 중에 차지하고 있는 BALP를 백분율로 계산한다.

## Osteocalcin

혈중 osteocalcin은 osteocalcin myria kit (Techno genetis Co. Italy)를 이용하여  $\gamma$ -counter로 radioactivity를 측정한다.

## Deoxypyridinoline

채뇨한 것을 원심분리 하여 노량을 잰 다음 pyrilinks-D kit (Metra biosystem, U.S.A.)를 사용하여 ELISA법으로 골 흡수 지표인 deoxypyridinoline치를 측정한다.

## 병리조직학적 관찰

현미경을 이용하여 연골, 표면관절활액막 등의 부종, 섬유화 등을 관찰한다.

## Radiological evaluation

영상진단법으로 초음파, MRI 등의 장비를 이용하여 촬영한다.

### 3. 시험 설계 시 고려사항

#### 가. 뼈 건강

##### 1) 시험관시험

###### ① 시험계 및 바이오마커

- 조골세포(osteoblastic cells)에서 미네랄 침착 등을 확인하거나 rat femoral metaphyseal tissue에서 CA 함량, 골형성 지표 등을 측정할 수 있다.

###### ② 통계처리

- 시험결과는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여  $p < 0.05$  수준에서 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 강제경구투여할 수 있다
- ☞ 정맥투여, 복강투여, 관절강 내 주사 등의 투여 방법은 적합하지 않다.

### ③ 바이오마커

- 골재흡수(PYD, DPD, TRACP 등) 및 골형성(OSC, ALP) 지표, 칼슘 대사 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 주입하여 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.
- 골대사에 영향을 미치는 질환(갑상선 질환, 당뇨병, 신장질환, 난소암 등)을 앓고 있는 피험자, 현재 호르몬대체요법을 받은 자는 제외한다.

#### ② 시험설계

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

#### ③ 바이오마커

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

#### ④ 통계처리

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

## 나. 관절 건강

### 1) 시험관시험

#### ① 시험계 및 바이오마커

- 마우스 대식세포, 연골세포, 섬유아세포(fibroblast) 등을 사용하여 각종 바이오마커를 측정한다.

#### ② 통계처리

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

### 2) 동물시험

#### ① 시험대상

- 관절염을 유도한 동물 모델을 사용할 수 있다.

#### ② 시험설계

- 시험군은 정상대조군, 관절염 유발군, 기능성원료 투여군 등으로 설정할 수 있다
- 일반적으로 식이에 혼합하여 시험물질을 공급하거나 강제경구투여할 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  $p < 0.05$  수준에서 유의성을 판정한다.

## ※ 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 mouse 가 사용되기도 한다. 동물에 Type II collagen 을 꼬리 부분에 피내투여한 후, 일정 기간 후에 Complete Freund's Adjuvant 또는 Incomplete Freund's Adjuvant 를 투여하여 관절염을 유발시킨다. 최근에는 단기간(20일)이내에 RA을 유발하는 키트가 개발되어 상업적으로 판매하고 있다.

### 3) 인체적용시험

#### ① 시험대상

- 노화에 의해 연골이 소실되고 관절이 변형되면서 국소적으로 퇴행성 변화가 나타나는 퇴행성 골관절염자를 대상으로 한다.
- ☞ 관절염 의약품을 복용하거나 당뇨병, 신장질환 등 질환보유자는 제외한다.

#### 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.

## 1. 인정 원칙

### 가. 뼈 건강

- 1) ‘뼈 건강’ 관련 기능성을 인정받기 위해서 뼈 건강의 직접적인 지표 (종말점, end point)이자 골절과 상관관계가 있는 ‘골밀도(Bone Mineral Density, BMD)’의 개선 효과를 인체에서 확인하는 것이 가장 좋다고 할 수 있다.

그러나 이와 같은 결과를 얻기 위해서는 장기간(1년 이상) 통제된 조건 하에서 연구해야 하며 순응도가 떨어지는 등 연구의 한계점이 있을 수 있다.

따라서 인체적용시험에서는 기능성원료 섭취를 통해 나타나는 생물학적 지표(골형성·골흡수 지표, 칼슘대사, 무기질 함량, 호르몬 변화 등)의 확인을 통해서 생리활성기능을 인정할 수 있다.

- 2) 인체적용시험 결과를 과학적으로 뒷받침할 수 있는 기반연구자료 (시험관시험 또는 동물시험)를 제출하여야 한다.

기반연구자료에서는 인체적용시험에서 확인한 생물학적 지표를 실험동물모델에서 다시 확인하거나 기능성 원료의 추측 가능한 작용 기전을 시험관시험 또는 동물시험을 통하여 설명할 수 있어야 한다.

- 3) 참고로, 기반연구자료에서는 뼈의 재형성 및 재흡수의 균형을 통한 뼈의 기능 유지 등을 확인할 수 있다.

## 나. 관절 건강

- 1) ‘관절/연골 건강’ 관련 기능성은 노화에 의해 연골이 소실되고 관절이 변형되면서 국소적으로 나타나는 퇴행성 변화에 대하여 관절기능과 통증 개선을 통해 삶의 질(Quality of Life)을 개선하거나 연골 형성 및 관절의 정상기능 유지·개선을 의미한다.

따라서 인체적용시험에서는 주로 WOMAC, KOOS, LFI, AI, VAS 등의 지표를 통해 임상적 증상의 개선을 평가한다.

- 2) 인체적용시험 결과를 과학적으로 뒷받침할 수 있는 기반연구자료(시험관시험 또는 동물시험)를 제출하여야 한다.

기반연구자료에서는 인체적용시험에서 확인한 생물학적 지표를 실험동물모델에서 다시 확인하거나 기능성 원료의 추측 가능한 작용 기전을 시험관시험 또는 동물시험을 통하여 설명할 수 있어야 한다.

- 3) 참고로, 퇴행성 골관절염에서 통증이 유도되는 작용기전이 염증과 관련되므로 기반연구자료에서는 항염증(anti-inflammatory) 작용을 통해 통증의 경감 효과를 주로 확인하거나, 연골의 주요성분의 합성 촉진 및 연골기질 분해의 억제 효과 등을 확인할 수 있다.

- 4) ‘관절/연골 건강’ 관련 기능성의 기대효과는 질병의 예방 또는 치료가 아니라 신체의 생리기능 활성화를 통하여 건강유지·증진을 목적으로 하고 있다.

## 2. 인정 기준

### 가. 뼈 건강

#### 1) 질병발생위험감소기능

- ‘뼈 건강’ 관련 과학적 근거 자료가 골다공증 발생 위험 감소를 과학적 합의(Significant scientific agreement)에 이를 수 있을 정도로 강력하게 입증할 수 있는 경우에 인정한다.

골다공증 위험 감소에 도움을 줌

#### 2) 생리활성기능1등급

- 기반연구자료(시험관시험 또는 동물시험)를 통해 생리학적인 효과 또는 기전이 명확하게 입증되어야 하고 기전과 관련된 바이오마커의 개선효과가 다수의 인체적용시험(RCT)에서 일관성 있게 입증되는 경우 인정한다.

뼈 건강에 도움을 줌

#### 3) 생리활성기능2등급

- 기반연구자료(시험관시험 또는 동물시험)를 통해 가능성 있는 생리학적인 효과 또는 기전을 추측할 수 있어야 하고 일관성 있는 바이오마커의 개선효과가 최소 1건 이상의 인체적용시험(RCT)에서 입증되는 경우 인정한다.

뼈 건강에 도움을 줄 수 있음

#### 4) 생리활성기능3등급

- 기반연구자료(시험관시험 또는 동물시험)를 통해 가능성 있는 생리학적인 효과 또는 기전을 추측할 수 있으나, 인체적용시험(RCT)에서 일관성 있는 바이오마커의 개선 효과가 입증되지 못하는 경우 인정한다.

뼈 건강에 도움을 줄 수 있으나  
관련 인체적용시험 근거가 미흡함

### 나. 관절 건강

#### 1) 질병발생위험감소기능

- ‘관절 건강’ 관련 과학적 근거 자료가 퇴행성관절염 발생 위험 감소를 과학적 합의(Significant scientific agreement)에 이를 수 있을 정도로 강력하게 입증할 수 있는 경우에 인정한다.

퇴행성 관절염 위험 감소에 도움을 줌

#### 2) 생리활성기능1등급

- 기반연구자료(시험관시험 또는 동물시험)를 통해 생리학적인 효과 또는 기전이 명확하게 입증되어야 하고 기전과 관련된 바이오마커의 개선효과가 다수의 인체적용시험(RCT)에서 일관성 있게 입증되는 경우 인정한다.

관절/연골 건강에 도움을 줌

### 3) 생리활성기능2등급

- 기반연구자료(시험관시험 또는 동물시험)를 통해 가능성 있는 생리학적인 효과 또는 기전을 추측할 수 있어야 하고 일관성 있는 바이오마커의 개선효과가 최소 1건 이상의 인체적용시험(RCT)에서 입증되는 경우 인정한다.

관절/연골 건강에 도움을 줄 수 있음

### 4) 생리활성기능3등급

- 기반연구자료(시험관시험 또는 동물시험)를 통해 가능성 있는 생리학적인 효과 또는 기전을 추측할 수 있으나, 인체적용시험(RCT)에서 일관성 있는 바이오마커의 개선 효과가 입증되지 못하는 경우 인정한다.

관절/연골 건강에 도움을 줄 수 있으나  
관련 인체적용시험 근거가 미흡함

## 1. 심사 항목별 사례

### 가. 피험자 선정의 부적합

[사례] 류마티스관절염 환자, 관절강 내에 corticosteroids 또는 hyaluronic acid를 주입한 사람을 시험대상자로 선정한 경우

[평가] 피험자는 노화에 의해 연골이 소실되고 관절이 변형되면서 국소적으로 퇴행성 변화가 나타나는 퇴행성골관절염 자를 대상으로 하여야 하며, 약물 섭취로 인하여 기능성에 영향을 미치는 요인은 배제되어야 한다.

### 나. 시험물질의 부적합

[사례] ‘대두이소플라본’의 ‘뼈 건강’ 기능성을 확인하기 위한 시험물질이 ‘대두이소플라본, 비타민D, 칼슘의 복합물’이고 대조물질을 ‘말토덱스트린’으로 시험한 경우

[평가] ‘뼈 건강’ 기능성에 영향을 미칠 수 있는 비타민D, 칼슘이 혼합되어 기능성 상승효과를 나타낼 수 있으므로 시험식품으로서 적합하지 않다. 다만, 기능성원료 단독의 효과를 확인할 수 있도록 대조식품으로 대두이소플라본과 동량으로 기능성에 영향을 미치지 않는 부형제(예 : 말토덱스트린 등)를 사용하고 다른 성분은 시험식품과 동일하게 구성하여야 한다.

☞ 대조식품(Placebo)은 시험식품과 비교할 목적으로 사용되는 식품으로 모양, 크기, 무게, 색깔, 맛, 냄새 등이 서로 같아서 시험식품과 구별되지 않아야 한다.

## 다. 적절한 혼동요인의 통제

[사례] 골대사에 영향을 미칠 수 있는 요인(의약품 등)을 적절하게 통제하지 못하는 경우

[평가] 골대사에 영향을 미칠 수 있는 의약품(호르몬 제제, 지질대사 개선제, 내분비계 질환 치료제, 부신피질·갑상선 치료제) 및 건강기능식품 등의 섭취를 하지 못하도록 적절히 통제하여야 한다.

## 2. 종합 심사 사례

### 가. 뼈 건강

#### ■ 제안된 기능성내용 및 섭취량

- 기능성 내용 : 뼈 건강에 도움을 줄 수 있음
- 일일 섭취량 : 신청원료 로서 100 mg/일

#### ■ 기능성 제출자료

| 총 제출자료 | 검토자료 |       |      |        | 검토제외 <sup>1)</sup> |
|--------|------|-------|------|--------|--------------------|
|        |      | 시험관시험 | 동물시험 | 인체적용시험 |                    |
| 6      | 4    | 1     | 2    | 1      | 2                  |

<sup>1)</sup>자료의 요건에 적합하지 않음 : 초록(1), 사내연구보고서(1)

#### 1) 시험관시험

[시험관시험자료 요약]

| 시험<br>물질 | 시험계                                        | 결과                                                                                                             |
|----------|--------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 신청<br>원료 | newborn ddY mice로부터 분리한 조골세포<br>0~10 µg/ml | <ul style="list-style-type: none"> <li>미네랄 침착이 신청원료 농도 의존적으로 (0~10 µg/ml) 유의하게 증가(대조군대비, p&lt;0.05)</li> </ul> |

## 2) 동물시험

[동물시험자료 요약]

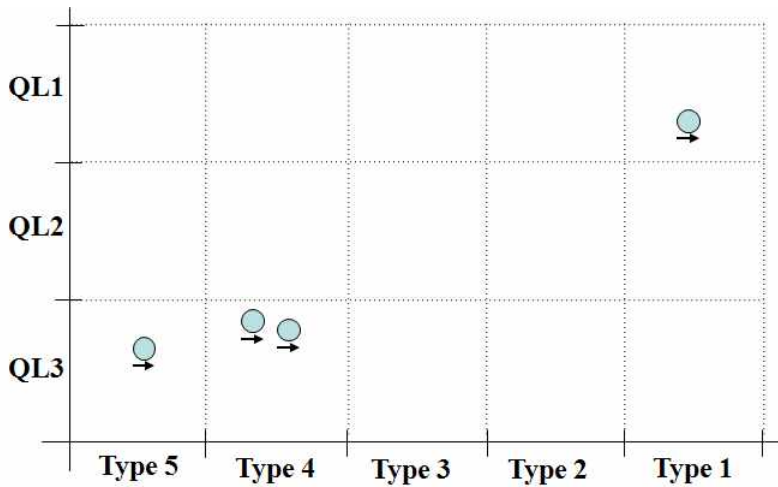
| 시험<br>물질 | 실험동물                                        | 섭취량/<br>섭취기간                   | 바이오마커                                                   | 결과                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|----------|---------------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 신청<br>원료 | 난소절제 동물모델<br>SD Rat, 6주령<br>(n=30)          | 100 mg/kg bw<br>4주             | 요의 DPD<br>혈청 ALP, OSC                                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 요중 DPD 유의하게 감소(대조군대비, p,0.05)</li> <li>• 혈청 ALP 유의하게 감소(대조군대비, p,0.05)</li> <li>• 혈청 OSC 유의하게 감소(대조군대비, p,0.05)</li> </ul>                                                                                                    |
| 신청<br>원료 | 늑골 골절 유도<br>female SD Rat,<br>8주령<br>(n=60) | 50, 100, 150<br>mg/kg bw<br>4주 | 골밀도, 골강도<br>Ca, P(혈청, 대퇴부, 경골)<br>조직형태학적변화<br>(대퇴골, 경골) | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 대퇴부 골밀도 및 골강도가 시험물질 농도 의존적으로 유의하게 증가(대조군대비, p&lt;0.05)</li> <li>• 혈청, 대퇴부 및 경골의 Ca 및 P 함량은 시험물질 농도 의존적으로 유의하게 증가(대조군대비, p&lt;0.05))</li> <li>• 대퇴골 및 경골 조직형태학적 분석 결과, TBV, TBT, TBL, CBT 유의하게 증가(대조군대비, p&lt;0.01)</li> </ul> |

## 3) 인체적용시험

[인체적용시험자료 요약]

| 시험<br>물질 | 디자인       | 대상자                                   | 섭취량/<br>섭취기간    | 바이오마커                                               | 결과                                                                                                                                                                                          |
|----------|-----------|---------------------------------------|-----------------|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 신청<br>원료 | DB<br>RCT | 45세 이상의<br>갱년기 여성<br>(n=60→58명<br>완료) | 100 mg/일<br>12주 | 골대사 지표<br>(ALP, OSC, DPD)<br>혈청 Ca, P 함량<br>대퇴부 골밀도 | <ul style="list-style-type: none"> <li>• DPD, ALP, OSC 유의하게 감소(대조군대비, p&lt;0.001)</li> <li>• 혈청 Ca 및 P 함량 유의하게 증가(대조군대비, p&lt;0.05)</li> <li>• 대퇴부 골밀도 유의하게 증가(대조군대비, p&lt;0.05)</li> </ul> |

## ■ 기능성 평가 Table



## ■ 기능성 종합의견

- 시험관시험에서 조골세포의 미네랄 침착이 증가되었으며,
- 난소절제술 또는 늑골 골절로 골다공증을 유도한 동물모델에서 뼈의 분해를 나타내는 지표인 Deoxypyridinoline(DPD)의 배설을 감소시키고 대퇴부 골밀도 및 골강도 등이 증가됨이 확인되었음
- 한편, 45세 이상의 갱년기 여성을 대상으로 시험한 인체적용시험에서 골대사 지표(DPD, ALP, OSC) 및 골밀도가 대조군에 비해 유의하게 개선되었음
- 따라서 기반연구자료 및 인체적용시험자료에서 골흡수 및 골형성의 균형을 통한 뼈 기능 유지가 일관성 있게 확인되었으나 연구의 수가 제한적이므로 '뼈 건강에 도움을 줄 수 있음(생리활성 기능2등급)'으로 기능성을 인정함

## 나. 관절 건강

### ■ 제안된 기능성내용 및 섭취량

- 기능성 내용 : 관절 건강에 도움을 줄 수 있음
- 일일 섭취량 : 신청원료 로서 0.5 g/일

### ■ 기능성 제출자료

| 총 제출자료 | 검토자료 |       |      |        | 검토제외 <sup>1)</sup> |
|--------|------|-------|------|--------|--------------------|
|        |      | 시험관시험 | 동물시험 | 인체적용시험 |                    |
| 7      | 6    | 2     | 3    | 1      | 1                  |

<sup>1)</sup>시험물질이 신청원료와 상이함

### 1) 시험관시험

[시험관시험자료 요약]

| 시험<br>물질 | 시험계                                            | 결과                                                                                                                                                                                                                                              |
|----------|------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 신청<br>원료 | 토끼의 무릎 관절연골조직                                  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 토끼의 연골조직에 시험물질을 처리한 결과,<br/>-연골 구성성분인 proteoglycan 함량 유의하게 증가(대조군대비, <math>p&lt;0.05</math>)<br/>-GAG release 및 collagen degradation이 유의하게 감소(대조군대비, <math>p&lt;0.05</math>)</li> </ul>                |
| 신청<br>원료 | LPS로 자극된 RAW 264.7 대식세포<br>0~10 mg/ml, 24~48hr | <ul style="list-style-type: none"> <li>• PGE2 생성 및 iNOS, COX-2 단백질과 mRNA 유전자 발현이 유의하게 감소하였으며, 전구염증 사이토카인(IL-1<math>\beta</math>, IL-6, TNF-<math>\alpha</math>) 및 염증성 사이토카인(IL-2, IL-12)의 생성이 유의하게 감소(대조군대비, <math>p&lt;0.05</math>)</li> </ul> |

## 2) 동물시험

[동물시험자료 요약]

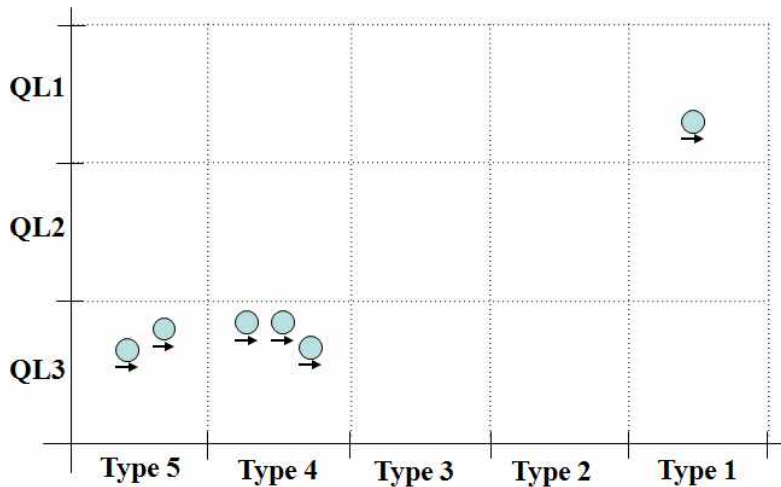
| 시험<br>물질 | 실험동물                                            | 섭취량/<br>섭취기간           | 바이오마커                                                                   | 결과                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|----------|-------------------------------------------------|------------------------|-------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 신청<br>원료 | 오른쪽 무릎의 전방 십자인대를 절단하여 골관절염을 유도한 토끼, 13주령 (n=15) | 100 mg/kg bw<br>8주     | 조직병리학적검사                                                                | <ul style="list-style-type: none"> <li>연골조직의 침식(erosions) 및 섬유화(fibrillations) 유의하게 감소(대조군대비, <math>p&lt;0.01</math>)</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                      |
| 신청<br>원료 | Na-iodoacetate로 퇴행성 관절염을 유도한 랫드(6주령) (n=30)     | 50 mg/kg bw<br>3주      | GAG, PG<br>임상적증상<br>-severity score                                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>GAG 및 PG 함량 유의하게 증가(대조군대비, <math>p&lt;0.01</math>)</li> <li>Severity score 유의하게 감소(대조군대비, <math>p&lt;0.05</math>)</li> </ul>                                                                                                                                                                                   |
| 신청<br>원료 | Collagen-induced DBA/1J mice, 6주령 (n=45)        | 50, 100 mg/kg bw<br>2주 | 관절염지수<br>조직학적 평가<br>NO, PGE2<br>iNOS, COX-2<br>mRNA 유전자 발현<br>염증관련사이토카인 | <ul style="list-style-type: none"> <li>관절염 지수 유의하게 감소(대조군대비, <math>p&lt;0.01</math>)</li> <li>NO 생성, PGE2 농도 의존적으로 유의하게 감소(대조군대비, <math>p&lt;0.01</math>)</li> <li>iNOS, COX-2 mRNA 유전자 발현 유의하게 감소(대조군대비, <math>p&lt;0.05</math>)</li> <li>염증 관련 사이토카인(IL-6, TNF-<math>\alpha</math>, IL-10, IL-12) 유의하게 감소(대조군대비, <math>p&lt;0.05</math>)</li> </ul> |

## 3) 인체적용시험

[인체적용시험자료 요약]

| 시험<br>물질 | 디자인       | 대상자                               | 섭취량/<br>섭취기간  | 바이오마커                      | 결과                                                                                                                                                                                                             |
|----------|-----------|-----------------------------------|---------------|----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 신청<br>원료 | DB<br>RCT | 6개월 이상 무릎관절통증이 있는 40세 이상 남녀(n=80) | 0.5 g/일<br>8주 | VAS<br>WOMAC<br>LFI<br>KPS | <ul style="list-style-type: none"> <li>VAS 유의하게 감소(대조군대비, <math>p&lt;0.05</math>)</li> <li>WOMAC 점수 유의하게 감소(대조군대비, <math>p&lt;0.05</math>)</li> <li>LFI, KPS 유의하게 개선(대조군대비, <math>p&lt;0.05</math>)</li> </ul> |

## ■ 기능성 평가 Table



## ■ 기능성 종합의견

- 시험관시험에서 연골 구성성분의 증가 및 염증지표가 감소 되었으며,
- 관절염을 유도한 동물에서도 연골 구성성분의 증가, 연골조직의 섬유화 억제 및 염증관련 지표의 개선 효과가 확인되었음
- 한편, 40세 이상의 무릎관절통이 있는 성인을 대상으로 시험한 인체 적용시험에서 VAS, KPS, WOMAC, LFI가 대조군에 비해 유의하게 개선되었음
- 따라서 기반연구자료 및 인체적용시험자료에서 연골 형성 및 관절의 정상기능 유지·개선, 항염증 효과가 일관성 있게 확인 되었으나 연구의 수가 제한적이므로 ‘관절 건강에 도움을 줄 수 있음(생리활성기능2등급)’으로 기능성을 인정함

1. 「건강기능식품 기능성 원료 및 기준·규격 인정에 관한 규정」, 식품의약품안전청 고시 제2011-34호, 2011
2. 건강기능식품 기능성평가 교육프로그램 개발, 식품의약품안전청, 2010
3. 건강기능식품(개정판), 김미경, 권오란, 전향숙, 원혜숙, 김지연, 강병철, 제정환, 한재갑, 홍성화, 복혜숙, 김우선, 피재호, 박현용, 김현정, 교문사, 2010
4. 건강기능식품 기능성평가 해설서, 식품의약품안전청, 2008
5. 건강기능식품의 기능성내용 교육 프로그램 개발, 식품의약품안전청, 2007
6. 건강기능식품 시험법 가이드(Ⅲ), 식품의약품안전청, 2005

## [별 첨]

### 1) ‘뼈/관절 건강’ 기능성 원료 현황

#### ■ 뼈 건강

| 구분       | 기능성 원료                     | 기능성 내용                                                | 기능(지표) 성분           | 일일섭취량                            | 섭취 시 주의사항                                                                                                     |
|----------|----------------------------|-------------------------------------------------------|---------------------|----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 고시<br>형  | 대두<br>이소플라본                | 뼈 건강에 도움을 줄 수<br>있음                                   | 대두 이소플라본<br>비배당체    | 대두 이소플라본<br>비배당체로서<br>24~27 mg/일 | ①영유아, 어린이 임신<br>부와 수유 여성은 섭<br>취에 주의<br>②대두에 알레르기를<br>나타내는 사람은 섭취<br>에 주의<br>③에스트로겐 호르몬에<br>민감한 사람은 섭취에<br>주의 |
| 개별<br>인정 | 흑효모배양액<br>분말<br>(제2011-2호) | 뼈 건강에 도움을 줄 수<br>있으나 관련<br>인체적용시험이 미흡함<br>(생리활성기능3등급) | 베타글루칸<br>(β-glucan) | 흑효모배양액분<br>말로서<br>150 mg/일       | -                                                                                                             |

## ■ 관절 건강

| 구분       | 기능성 원료                                                                                      | 기능성 내용                          | 기능(지표) 성분                                                                    | 일일섭취량                                  | 섭취 시 주의사항                                                       |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| 고시<br>형  | 글루코사민                                                                                       | 관절 및 연골 건강에 도움을 줄 수 있음          | 글루코사민<br>황산염 또는<br>염산염                                                       | 글루코사민<br>황산염 또는<br>염산염으로서<br>1.5~2 g/일 | 게 또는 새우에 알레르기가 있는 사람은 섭취에 주의 (게 또는 새우를 원재료로 사용한 경우에 한함)         |
|          | N-아세틸<br>글루코사민                                                                              |                                 | N-아세틸글루코<br>사민                                                               | N-아세틸글루코사<br>민으로서<br>0.5~1 g/일         | 게 또는 새우에 알레르기가 있는 사람은 섭취에 주의 (게 또는 새우를 원재료로 사용한 경우에 한함)         |
|          | 유코다당·단백<br>단백                                                                               |                                 | 유코다당·단백단<br>백질과<br>콘드로이친황산                                                   | 유코다당단백으로서<br>1.2~1.5 g/일               | -                                                               |
| 개별<br>인정 | 초록입홍합추<br>출오일<br><br>(제2004-8호<br>제2009-49호)                                                | 관절건강에 도움을 줄 수 있음<br>(생리활성기능2등급) | 에이코사펜타엔<br>산(EPA),<br>도코사헥사엔산(DHA),<br>알파리놀렌산( $\alpha$ -<br>Linolenic acid) | 초록입홍합추출오<br>일로서<br>200 mg/일            | ①혈전용해제를 복용하<br>시는 분은 의사와 상담<br>하여 주시기 바랍니다.                     |
|          | 황금추출물등<br>복합물<br>(제2006-3호)                                                                 |                                 | 바이칼린(Baicalin)<br>카테킨(Catechin)                                              | 황금추출물등복합<br>물로서<br>1,100 mg/일          | ①본 원료를 주성분으<br>로 제조한 제품은 과<br>절관련 질환의 치료<br>목적으로 사용될 수<br>없습니다. |
|          | 로즈힙분말<br>(제2006-7호<br>제2007-22호<br>제2008-81호)                                               |                                 | 하이페로사이드<br>(Hyperside)                                                       | 로즈힙분말로서<br>5 g/일                       | -                                                               |
|          | Dimethylsulfo<br>ne(MSM)<br>(제2007-17호<br>제2007-20호<br>제2008-12호<br>제2008-54호<br>제2009-70호) |                                 | 디메틸설펜<br>(Dimethylsulfone)                                                   | MSM 으로서<br>1.5~2 g/일                   | ①본 제품은 관절건강<br>에 도움을 줄 수 있<br>으나 치료의 목적으로<br>사용될 수 없습니다.        |

| 구분 | 기능성<br>원료                      | 기능성 내용 | 기능(지표)<br>성분                                                                             | 일일섭취량                        | 섭취 시<br>주의사항                                                                                                     |
|----|--------------------------------|--------|------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | 제2010-45호<br>제2011-24호)        |        |                                                                                          |                              |                                                                                                                  |
|    | 차조기등복합<br>추출물<br>(제2007-13호)   |        | 푸에라린(Puerarin)<br>스코폴레틴(Scopol<br>etin)<br>아피제닌(Apigenin)                                | 차조기등복합추출물<br>로서<br>2.4 g/일   | -                                                                                                                |
|    | 지방산복합물<br>(제2009-2호)           |        | 미리스토올레산<br>(Myristoleic<br>acid)                                                         | 지방산복합물로서<br>1,248 mg/일       | ①임산부 및 수유기 여<br>성은 섭취에 주의                                                                                        |
|    | 호프추출물<br>(제2009-25호)           |        | 알파산<br>(alpha acids,<br>iso-alpha acids)                                                 | 호프추출물로서<br>1~2 g/일           | ①어린이, 임산부 및 수<br>유여성은 섭취에 주의<br>②호프추출물에 알레르<br>기 반응을 나타내는<br>분은 섭취에 주의<br>③항우울제 또는 호르<br>몬제를 복용하시는 분<br>은 섭취에 주의 |
|    | 전칠삼추출물<br>등복합물<br>(제2010-47호)  |        | 진 세 노 사 이 드<br>Fb1(Ginsenoside Fb1)<br>스테키오스(Stachyose)<br>엘레우테로사이드<br>E(Beutheroside E) | 전칠삼추출물등복<br>합물로서<br>800 mg/일 | -                                                                                                                |
|    | 가시오갈피등<br>복합추출물<br>(제2011-28호) |        | 엘레우테로사이드<br>E(Beutheroside E)<br>리구스틸라이드<br>(Ligustilide)<br>비칼린(Baicalin)               | 가시오갈피등복합<br>추출물로서<br>1.5 g/일 | -                                                                                                                |



# 건강기능식품 기능성 평가 가이드

- (Ⅱ) ‘뼈/관절 건강에 도움’ 편 -

---

발 행 인 : 이희성

편 집 위 원 장 : 김승희

편 집 위 원 : 손문기, 오혜영, 장영수, 이혜영, 오금순, 이근영,  
박경식, 장귀현, 김성주, 유지현, 신승정, 정현숙,  
문진아, 박여진

발 행 처 : 식품의약품안전청

문 의 처 : 건강기능식품기준과

Tel. 043-719-2454~2463 Fax. 043-719-2450

ffkfda@korea.kr

---