

## Monosodium iodoacetate에 의해 유도된 골관절염 마우스 모델에서 별갑 물추출물의 효과

천진미 책임연구원<sup>1</sup>, 이지혜 교수<sup>2</sup>, 남현화 선임연구원<sup>1</sup>, 문병철 책임연구원<sup>1</sup>,  
박준홍 책임연구원<sup>1\*</sup>

1. 한국한의학연구원 한약자원연구센터
2. 세명대학교 한의과대학

### Effects of aqueous extract of Pelodiscis Carapax on monosodium iodoacetate induced mice

Jin Mi Chun<sup>1</sup>, Ji Hye Lee<sup>2</sup>, Hyeon-Hwa Nam<sup>1</sup>, Byeong Cheol Moon<sup>1</sup>, Jun Hong Park<sup>1\*</sup>

1. Herbal Medicine Resources Research Center, Korea Institute of Oriental Medicine
2. College of Korean Medicine, Semyung University

#### Abstract

This study aimed to investigate the effects of aqueous extract of Pelodiscis Carapax (PCE) in monosodium iodoacetate (MIA)-induced osteoarthritis (OA) mice. PCE (200 mg/kg) was orally administered to C57BL/6 mice for 2 weeks. After MIA injection (75 mg/mL), we performed a behavior test (open field test, rotarod test) followed by micro-computed tomography, histopathological analysis, and real-time quantitative PCR analysis on knee joint tissues. PCE treatment improved general gait locomotor activity, joint morphological features, and histopathological features compared to the MIA-induced mice. In addition, it confirmed that the mRNA expression levels of tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP)-1 in the joint tissues were increased in the PCE-treated group. Our result revealed that PCE treatment phenotypically improved OA symptoms.

#### Correspondence: 박준홍(Jun Hong Park)

111, Geonjae-ro, Naju-si, Jeollanam-do, Rep. of Korea  
Tel: +82-10-9070-1434, E-mail: jhpark@kiom.re.kr  
Received 2022-11-09, revised 2022-12-06, accepted 2022-12-11, available online 2022-12-13  
doi:10.22674/KHMI-10-2-2



**Keywords:** Pelodiscus Carapax, Monosodium iodoacetate, Osteoarthritis, Locomotor activity, Tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP)-1

## 서론

최근 한방의료이용 및 한약소비실태조사 결과에 따르면 한방의료를 이용한 질환 중 다빈도 처방(조제)된 질환으로 근골격계통 질환이 가장 높은 순위로 나타났다. 등통증, 디스크, 어깨병변, 관절염 등이 포함되는 근골격계통 질환은 치료법별(한약제제, 침약, 약침, 한방 물리요법 등) 건강보험급여 확대 시 우선 적용이 필요한 질환에 1순위로 나타나 한방의료 이용자들의 근골격계 질환에 대한 이용실태와 관심이 매우 높은 것을 알 수 있다<sup>1)</sup>.

근골격계 질환은 통증이 주요 원인으로 삶의 질을 저하시키고, 유병률이 높은 것으로 알려져 있어 고령화가 증가하는 추세에 따른 사회적 비용 부담은 더욱더 증가할 것으로 예측된다<sup>2)</sup>. 이에 속하는 골관절염은 관절을 보호하고 있는 연골의 손상이나 퇴행성 변화로 인해 관절을 이루고 있는 뼈와 인대 등에 손상이 생겨 염증과 통증이 동반되는 질환이다. 그 중에서도 관절에서 염증성 질환이 가장 높은 빈도를 차지하며, 노화, 비만, 관절 외상이나, 이형성증, 유전적 소인 등에 의해 관절 연골조직이 점차적으로 퇴행하여 파괴되는 과정으로 진행된다<sup>3)</sup>.

만성 통증은 골관절염의 주요 임상적 특징이며, 동물모델에서 통증에 대한 평가는 유용성을 평가하는 데 필수적이고, 통증 및 관절 운동 개선 지표를 통해 증상 개선 여부를 확인할 수 있다. 통증을 객관적으로 평가하기는 어렵지만, 골관절염 동물모델에서 통증 평가는 주로 행동 실험을 기반으로 하며, 직간접적인 다양한 방법들을 통해서 이루어지고 있다<sup>4)</sup>.

현재까지 퇴행성 변화가 발생한 관절을 정상으로 복구할 수 있는 치료법은 없는 것으로 알려져 있으며, 증상 완화와 악화 요인의 개선을 통해 관절염의 진행과정 지연과 통증 개선을 중심으로 치료가 이루어지고 있다<sup>5)</sup>. 또한, 노령화와 관련된 만성질환자 수의 증가에 따라 질병의 치료와 더불어 예방의 중요성이 부각되고 있으며<sup>6)</sup>, 상대적으로 부작용의 우려가 적은 천연물을 소재로 한 연구가 활발히 이루어지고 있다.

그중에서도 미래 먹거리로 주목받고 있는 곤충 등을 포함하는 《동의보감(東醫寶鑑)》속 충부(蟲部) 약재들의 다양한 효능의 근거를 기반으로한 유효성 실험 결과들이 많이 보고됨에 따라 현대의학에서 매우 중요한 치료 의약 소재로서 그 가치를 입증하고 있다<sup>7)</sup>. 충부 약재에 속하는 별갑(鼈甲)은 기원이 자라 *Pelodiscus sinensis* (Wiegmann) (자라과 Trionychidae)의 등딱지[背甲]로 되어 있다<sup>7,8)</sup>. 별갑의 한의학적 적응증 중에서 골증노열(骨蒸勞熱)은 오후나 밤이 되면서 낮은 열이 발생하여 마치 골내(骨內)에서 외부로 향하여 투발(透發)하는 듯한 열감이 있는 병증으로, 예로부터 뼈마디 사이의 노열을 내리는 데 사용되었다고 한다<sup>9,10)</sup>. 이와 관련하여 별갑의 열증 증상의 치료 근거를 통해 관절의 움직임이나 염증이 생겨 불편한 증상에 도움이 되고 치료 효과를 기대할 수 있어 골관절염에 대한 효과 연구의 필요성이 제기된다. 별갑에 관한 최근 연구에서 항산화 활성, 방사선에 의한 고환 손상 보호 효과 및 골다공증 효과가 보고되었으나<sup>11-13)</sup>, 골질환 관련 효과에 대한 연구가 많이 이루어지지 않은 상황이다. 따라서, 한의학적 효능과 연계하여 별갑은 골질환 관련 효과에 대한 가능성을 제시하므로, 본 연구에서는 monosodium iodoacetate (MIA) 유도 마우스 모델을 이용하여 별갑추출물의 골관절염 개선 효과를 확인해보고자 수행하였다.



## 본론

### 1. 재료 및 방법

#### 1) 실험재료 및 추출물 제조

본 실험에서 사용한 별갑은 광명당제약(울산, 한국)에서 구입하였고, 최고야 박사(한국한의학연구원)의 형태 감별을 통해 실험에 사용하였으며, 시료 표본은 한국한의학연구원 한약표준표본관에 보관되어 있다(표본관 코드 KIOM, 표본 번호 2-14-0119). 추출물 제조방법은 이전 보고에 자세히 설명된 바와 같이<sup>12)</sup> 잘게 절단된 별갑을 환류추출한 후 감압농축기로 농축한 다음 동결건조하여 물추출물을 얻었다(수득율 3.80%, w/w).

#### 2) 실험동물 및 실험디자인

C57BL/6J 암컷 마우스(7주령, 20~23g)는 두얼바이오텍(서울, 한국)에서 구입하여 한국한의학연구원 한약자원연구센터내 동물실에서 온도, 습도, 조명이 자동조절기에 의해 조절되는 환경에서 일주일간 순화시킨 후 사용하였고, 물은 자유급수와 일반 고형사료를 충분히 공급하였다. 본 실험은 한국한의학연구원 동물실험 윤리위원회의 승인을 받아 진행하였다(승인번호 KIOM 20-028).

마우스는 대조군(Control), 골관절염 유발군(MIA), 골관절염 유발과 별갑 추출물 투여군(PCE) 총 3그룹(n=6-7 per group)으로 무작위로 나누었고, 실험진행 절차는 그림 1A와 같다. 골관절염의 별갑에 대한 예방효과를 확인하기 위해, 추출물 투여군은 관절염 유발 전 2주 동안 200 mg/kg 용량으로 경구투여하였고, 용량 수준은 예비실험 결과 및 선행연구<sup>12-14)</sup>를 참고하여 선정하였다. 골관절염 유발을 위해 MIA 유도 동물모델을 이용하였고, 이전 보고를 토대로 무릎 주변을 제모한 후 MIA (0.75 $\mu$ g/10  $\mu$ L)를 오른쪽 무릎 관절강 내에 주사하였다<sup>15)</sup>.

#### 3) 보행 운동 기능성 평가

마우스의 일반 보행활동성 평가는 MIA 유도 후 7일이 경과한 시점에서 Truscan 동물 활동 자동 모니터링시스템(Coulbourn Instruments, 앨런타운, 미국)을 이용하여 측정하였다. 마우스(n=5 per group)를 투명한 챔버(40 × 40 × 40 cm) 중앙에 배치하고, 방음실에서 10분 동안 자유롭게 탐색이 가능하도록 하였다. 시스템은 수평(XY-move time)과 수직활동(rearing)을 별도로 모니터링 할 수 있도록 설계되었으며, 측정된 변수들(Total distance moved distance, total movement time, rearing time, rearing frequency)을 산출하여 보행 운동 활동성을 평가하였다.

Rotarod 검사는 MIA 유도 후 마우스(n=5 per group)를 rotarod treadmill (Rotamex, Columbus instruments)을 이용하여 일정한 속도로 5분 동안 훈련한 후, 속력 5 rpm에서 30초 동안 적응한 다음 40 rpm까지 가속력 방법으로 5분까지 세팅해서 시행하는 과정에서 마우스가 rod에서 떨어지는 시간을 측정하였다. 평가 시 3차례 시도하여 이들의 최대 및 평균 지속시간을 모두 분석하였다.

#### 4) Micro-CT 분석

실험종료시점에서 마우스를 희생시키고, 오른쪽 무릎 부위를 절단하고 피부와 여분의 조직을 제거한 다음 10% 포르말린에 고정시켰다. 마우스(n=3 per group)의 연골 하골에서 형태학적 분석을



위해 생체내 미세 단층시스템 (in vivo Biograph mCT Series PET/CT Scanner imaging system, Siemens, 워싱턴, 미국)을 이용하였다. 이 시스템에서 얻은 이미지 데이터는 3D 뷰어 소프트웨어를 통해 재구성하고, AccuCT micro-CT 분석 소프트웨어(PerkinElmer, 월섬, 미국)를 이용하여 분석하였다.

#### 5) 조직병리학적 분석

Micro-CT 스캔 후 고정된 관절 조직은 순차적으로 탈회, 탈수시킨 후 파라핀 블록을 제작한 다음 연속적으로 표본을 자른 뒤 준비된 절편은 hematoxylin과 eosin (H&E) 및 safranin-O로 염색하였다. 염색된 슬라이드는 PANNORAMIC desk instrument (3DHISTECH, 부다페스트, 헝가리)를 이용하여 스캔하였고, 이를 통해 관절연골내 세포, 기질, proteoglycan 등의 조직학적 변화를 관찰하였다.

#### 6) Real-time qPCR 분석

마우스의 무릎 관절 조직(n=3 per group)에서 총 RNA 분리는 Easy-Spin Total RNA Extraction Kit (iNtRON Biotechnology, 서울, 한국)를 사용하였다. cDNA 합성은 SuperScript4 cDNA Synthesis Kit (Thermo Fisher Scientific, 월섬, 미국)를 이용하였고, qPCR 분석은 SYBR Green Master MIX (Thermo Fisher Scientific)를 사용하여 CFX96 실시간 PCR 검출 시스템(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)으로 분석하였다.

#### 7) 통계 분석

통계 분석은 GraphPad Prism 7 프로그램(GraphPad Software, 샌디에고, 미국)을 사용하여 수행하였다. 본 실험결과는 평균±표준편차로 나타냈고, one-way analysis of variance (ANOVA)의 다중 비교 검증을 통해 유의성을 검증하였다.

## 2. 결과

### 1) 일반 보행 운동 기능성 평가 결과

MIA로 유도된 골관절염 마우스에서 별갑추출물의 효과를 평가하기 위해 오픈필드 시스템과 로타로드를 이용하여 보행 운동 활성성을 확인하였다. 보행 운동성 결과, MIA에 처리된 마우스가 처리되지 않은 대조군에 비해 보행 운동 활성성의 모든 지표(총 이동시간, 이동거리, 수직 이동 빈도수 및 수직이동 시간)에서 유의하게 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 1B). 이러한 결과는 동물 활동성의 감소가 염증단계에 해당할 수 있음을 시사하고, 설치류 모델에서 임상 골관절염과 운동사이에 관찰된 연관성을 반영하거나 동물의 염증 단계에 따라 운동 활성성이 변화되었음을 시사한다<sup>16,17</sup>. MIA 처리군에 비해 별갑추출물을 섭취한 마우스에서는 총 이동시간 및 이동거리 지표에서 유의적으로 호전되는 것으로 나타나 운동 활성성이 회복되는 것을 알 수 있었다.

Rotarod 분석은 학습 및 기억 능력뿐만 아니라 무릎관절에 대한 압력 및 스트레스에 따른 운동기능을 평가할 수 있어 골관절염 모델에서 통증 및 보행 능력 평가에 사용된다<sup>18</sup>. 본 실험에서는 MIA 유도 마우스는 rod에서 떨어지는 시간이 대조군에 비해 유의적으로 낮아졌고, 그에 비해 별갑추출물 섭취군은 MIA 유도군 대비 평균 지속시간이 길게 나타났다(Fig. 1C). 따라서 이로 인해 MIA



유도군에 비해 보행운동 기능성이 높은 것을 확인할 수 있었다.

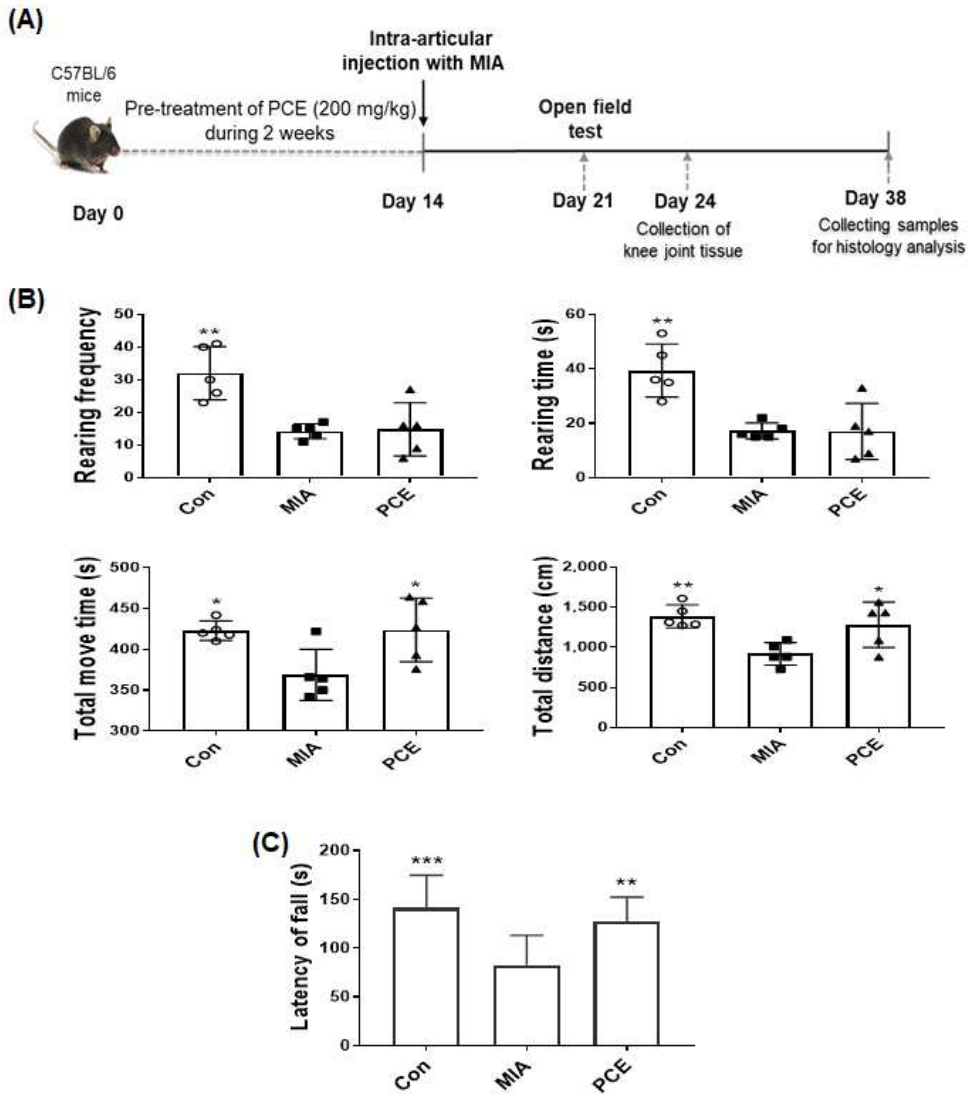


Figure 1. Effects of Pelodiscus Carapax extract (PCE) on open field and rotarod analysis in monosodium iodoacetate (MIA)-induced Osteoarthritis (OA) mice. (A) Experimental scheme of oral pretreatment of PCE. (B) At 7 days after MIA injection, behavioral and locomotor activity was measured by an open field test with monitoring system. (C) Rotarod test was analyzed by rotarod treadmill. Data were analyzed with one-way analysis of variance (ANOVA) (n=5 per group). \* p < 0.05, \*\* p < 0.01, \*\*\* p < 0.001 vs. MIA group. Con, untreated with saline; MIA, MIA-injected with pretreatment of saline; PCE, MIA-injected with pretreatment of PCE mice.

2) 관절조직의 형태학적 구조 변화 결과

관절조직의 형태학적 구조 변화는 micro-CT 분석에 의한 이미지를 통해 연골주변 대퇴골과 경골 부위를 관찰하였다. MIA 유도 골관절염 유발 실험군의 관절 주변 대퇴골과 경골에서는 골관절염의 특징인 뼈결돌기(osteophytes)와 연골하 미세골절(subchondral microfracture)들이 관찰되었으나 별갑추출물 섭취군에서는 뼈결돌기와 미세골절의 경향이 감소하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2A & B). 또한 연골하골 이미지 분석에서도 동일한 결과를 확인할 수 있었다. 추가적인 micro-CT 분석 결과에서는 골밀도(bone mineral density)와 골부피(bone volume)는 골관절염 유도에 의한 변화는 없었으나, 피질골 두께는 증가하는 경향을 보여주었다(Fig. 2D).

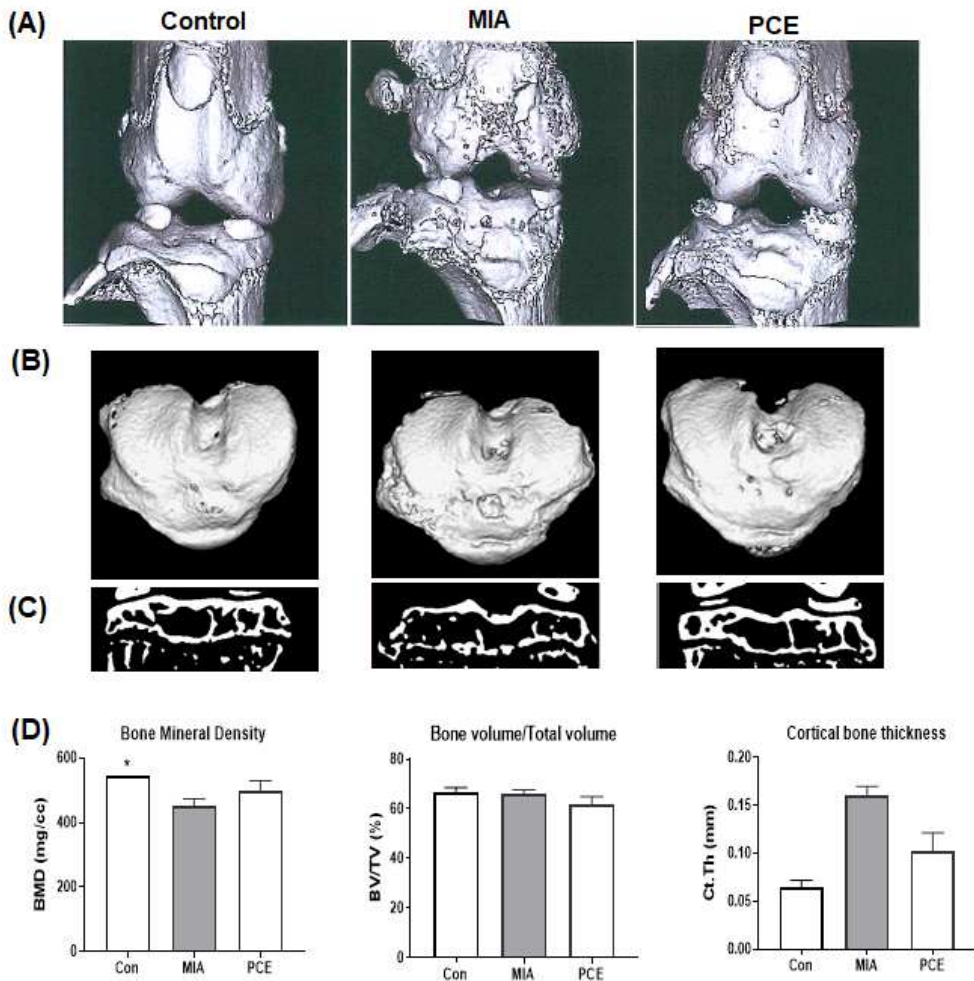


Figure 2. Effects of Pelodiscus Carapax extract (PCE) on micro-computed tomography (micro-CT) images and quantitative parameters in MIA-induced OA mice. (A) Representative 3D micro-CT images of whole knee joint (B) Coronal views of the images (C) 2D reconstruction of subchondral bone of mouse tibia (D) Histomorphometric parameters of subchondral bone. Data were analyzed with one-way analysis of variance (ANOVA) (n=3 per group). \* p < 0.05 vs. MIA group. Con, untreated with saline; MIA, MIA-injected with pretreatment of saline; PCE, MIA-injected with pretreatment of PCE mice.

### 3) 관절조직의 조직병리학적 변화 결과

관절조직의 H&E와 safranin-O 염색으로 조직병리학적 분석을 통해 별갑추출물의 효과 여부를 확인하였다. 관절조직의 H&E에서는 연골부위의 손상을 확인할 수 있었다(Fig. 3A). 또한 관절 주위의 부종과 대식세포, 과립구세포 등의 침윤이 관찰되었다. 골의 퇴행성 정도를 평가하기 위하여 safranin-O 염색을 실시한 결과에서는 MIA에 의해 골관절염이 유도된 대퇴골과 경골의 연골에서는 섬유조직의 증가, 연골조직 상실 및 fibrous covering 소실 등이 관찰되었으나, 별갑추출물 섭취군에서는 이러한 병리학적 진행이 경감되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3B).

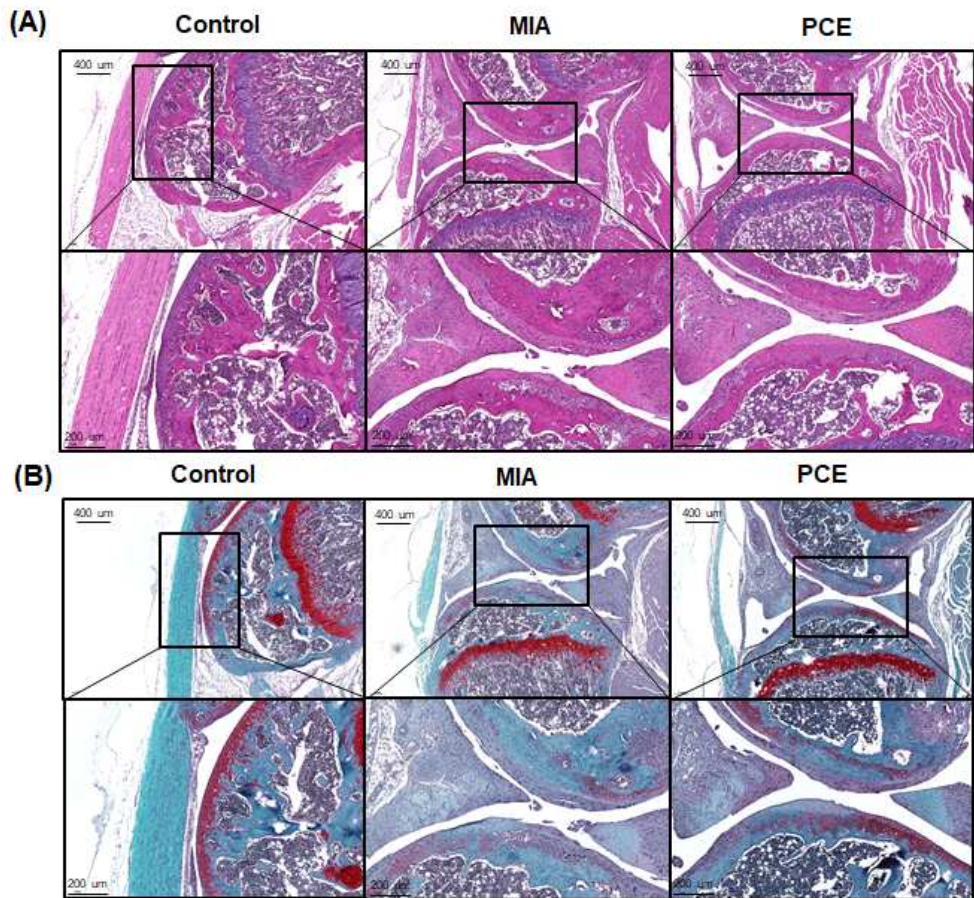


Figure 3. Effects of Pelodiscus Carapax extract (PCE) on histology features of knee joint lesions in MIA-induced OA mice. Representative photographs of knee joint sections stained with (A) hematoxylin and eosin (H&E) and (B) Safranin O-fast green. Scale bars = 400 μm. Con, untreated with saline; MIA, MIA-injected with pretreatment of saline; PCE, MIA-injected with pretreatment of PCE mice.

#### 4) 관절조직내 유전자 발현 양상 결과

관절조직에서 qPCR 분석을 이용한 골관절염 관련 주요 인자들의 유전자 발현양상 결과, MIA 처리마우스에서 matrix metalloproteinases (MMP)-2가 유의적으로 증가하였고, 그 염증성인자인 IL-4와 iNOS 모두 MIA에 의해 증가 양상을 보였다. MIA처리군에 비해 별갑추출물 섭취군은 모두 낮아지는 경향성을 보였다. 또한, 별갑추출물 섭취군은 TIMP1과 TIMP2 발현양상 모두 증가시키는 것으로 나타났다(Fig. 4).

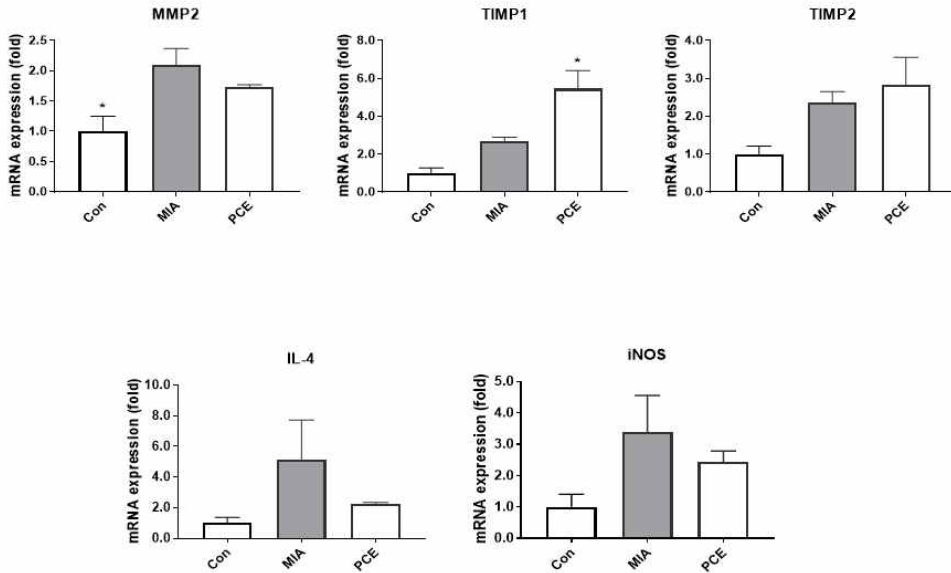


Figure 4. Effects of Pelodiscus Carapax extract (PCE) on mRNA expression of osteoarthritis related genes in MIA-induced OA mice. Data were analyzed with one-way analysis of variance (ANOVA) (n=3 per group). \* p (0.05 vs. MIA group. Con, untreated with saline; MIA, MIA-injected with pretreatment of saline; PCE, MIA-injected with pretreatment of PCE mice.

### 3. 고찰

별갑(龜甲)은 자라과(Trionychidae)에 속하는 자라의 등딱지로서 한방에서는 이를 채취하여 잔육을 제거하고 햇볕에 말린 것을 사용한다<sup>8)</sup>. 별갑의 효능과 관련하여 기존 선행 연구를 살펴본 결과, 아토피 피부염 동물모델에서 알리지성 염증 반응에 억제 효과<sup>14)</sup>가 있었고, 별갑약침이 두통 환자(3례)의 증상개선에 유의한 치료 효과<sup>19)</sup>를 확인할 수 있었으며, 녹각, 구판, 별갑 등의 한약재로부터 교질(콜라겐) 성분을 추출해 만든 백절탕의 관절 연골 보호 효과<sup>20)</sup>를 입증하였다. 따라서, 별갑의 한의학적 효능<sup>9,10)</sup>과의 연계성 및 선행 연구를 토대로 골관절 질환에 대한 유효성을 기대할 수 있으며, MIA 유도 골관절염 모델은 연골 손상, 통증 및 기능장애 등이 실제 임상에서의 골관절염 증상과 유사하여<sup>21)</sup> 이를 대상으로 한약의 유효성 연구에서 많이 사용되고 있다<sup>22,23)</sup>. 따라서, 본 연구에서는 MIA 유도 마우스 모델을 대상으로 별갑 추출물의 골관절염에 대한 보호 효과 확인하기 위해 행동실험 기반인 보행운동 기능성 평가와 무릎 관절 조직의 형태학적 구조변화 분석, 조직병리학적 분석





및 관절조직내 유전자 발현 분석을 수행하였다.

통증은 골관절염에서 염증과 함께 나타나는 주요 증상으로, 신체 불균형을 초래하여 운동장애를 유발한다. 골관절염에서 주요 증상으로 수반되는 통증을 평가하기 위해 동물모델에서 행동 테스트 기반 광범위한 평가들이 이루어지고 있다. 골관절염의 동물모델에서 통증 평가지표들은 임상적 증상을 나타내어 약물의 효과 여부에 대해 객관적으로 평가할 수 있어 이들을 해석하는데 필수적인 지표 중 하나이다<sup>4)</sup>. 본 실험에서는 오픈필드 시스템과 rotarod를 이용하여 보행 운동 활성성을 확인한 결과, MIA 유도군에 비해 별갑 물추출물 섭취군에서 총 이동시간 및 이동거리지표 및 rod에서의 평균 지속시간 증가로 보행 운동 가능성이 호전되는 것을 확인하였다.

통증 완화 효과로 인한 보행 행동기능 회복 현상을 확인하기 위해 Micro-CT를 촬영하여 분석한 결과, 별갑 물추출물은 통증을 유발하는 주요 요인으로 알려진 뼈결절기 발생의 감소와 함께 연골 미세골절의 감소가 확인되었다. 이러한 결과를 종합하면 별갑 물추출물의 투여는 골관절염으로 유발되는 뼈결절기와 연골 미세골절을 감소시켜 통증의 완화를 유도하고 이로인해 보행 운동 기능성 회복에 영향을 주는 것으로 판단할 수 있었다.

골관절염은 관절내 연골 기질이 감소하고 파괴되어 골 경화, 미세골절, 활막 염증 등과 같은 병리적 특징을 나타내는 데 본 실험에서 별갑추출물은 미세골절의 감소 경향과 병리학적 진행 양상이 완화되는 것을 확인할 수 있었다.

또한, 별갑 추출물은 연골 손상인자인 matrix metalloproteinase (MMP)-2와 염증성 인자인 IL4, iNOS 유전자 발현 패턴을 감소시키고, MMP 저해인자인 tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)1과 TIMP2를 증가시키는 것으로 나타났다. 관절연골은 연골기질이 주성분으로 이루어져 있고, 골관절염에서는 이러한 성분들이 분해되는데 그 과정 중에 MMP, TIMP 등 주요 효소들이 관여하는 것으로 잘 알려져 있다<sup>24)</sup>. 내인성 단백질 분해효소 억제제인 TIMPs는 MMPs의 활성을 저해시키는데, 그 중에서도 본 결과에서 별갑추출물에 의해 유의적으로 증가한 TIMP1은 MMP13과의 결합 친화력이 매우 높아서 MMP13 관련 연골세포 노화 및 연골 기질 변화를 기능적 조절자 역할을 통해 TIMP1의 활성 조절은 골관절염을 치료하는 효과적인 방법으로 간주된다<sup>25,26)</sup>. MMP와 TIMPs 사이의 균형은 관절 연골의 효소적 이화작용에 필수적이며<sup>27)</sup>, 별갑추출물은 이들의 조절에 일부 관여하는 것으로 보인다.

본 연구는 행동분석 기반 MIA에 의해 유도된 골관절염 마우스에서 별갑추출물의 효과를 통해 한의학적 효능과 연계하여 골관절염 질환에 대한 효과를 확인한 것에 의미가 있다. 결과적으로 별갑은 골관절염 질환에 대한 유용한 소재로서의 가치를 기대할 수 있고, 유효성을 보이는 추가 작용기전 연구가 필요할 것으로 판단된다.

## 결론

본 연구에서는 MIA 유도 골관절염 마우스 모델을 이용하여 별갑 물추출물의 골관절염 개선 효과를 확인하고자 일반 보행 운동 기능성 평가, 관절조직의 형태학적 구조 분석, 조직병리학적 분석 및 유전자 발현 변화를 분석하였다.

1. 일반 보행 운동 기능성 평가 결과 별갑 추출물 섭취군은 MIA 유도군 대비 총 이동시간 및 이동거리 지표에서 유의적으로 증가했고, rotarod에서도 MIA 유도군에 비해 평균 지속시간 증가로 보행 운동 기능성이 호전되는 것을 확인하였다.



2. 관절조직의 형태학적 구조변화 결과 별갑 추출물 섭취군은 MIA 유도군에 비해 뼈결절기 발생과 연골하 미세골절을 감소시키는 것으로 확인되었다.
3. 관절조직의 조직병리학적 변화 결과 별갑 추출물 섭취군에서 관절 주위의 골관절염 병리학적 진행 양상이 완화되는 것을 확인할 수 있었다.
4. 관절조직내 골관절염 관련 인자들의 유전자 발현양상 결과 MIA 유도군 대비 별갑추출물 섭취군에서 MMP2, IL-4, iNOS 모두 낮아지는 경향성을 확인하였고, TIMP1, TIMP2 모두 증가양상을 나타내었다.

이상의 결과에서 별갑 물추출물은 골관절염 유도 마우스에서 일반 보행 운동기능성을 회복시켜 통증을 완화시키고, 연골과 관절조직을 보호하는 효과를 확인할 수 있었다. 추후 이에 대한 추가 작용기전 연구가 필요하다.

### 감사의 글

본 연구는 한국한의학연구원 「지속가능한 한약표준자원 활용기술 개발」(과제번호 KSN2012320) 사업 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

1. 한국한의학진흥원. 2020 년 한방의료이용실태조사 기초보고서 - 이용자. 서울:한국한의학진흥원. 2021:34-54.
2. 정혜선, 이윤주. 근골격계 만성통증 노인의 삶의 질 영향요인. 근관절건강학회지. 2018;25(2):92-103.
3. 질병관리청. 국가건강정보포털. 골관절염. Available from: [https://health.kdca.go.kr/healthinfo/biz/health/gnrlzHealthInfo/gnrlzHealthInfo/gnrlzHealthInfoView.do?cntnts\\_sn=1988](https://health.kdca.go.kr/healthinfo/biz/health/gnrlzHealthInfo/gnrlzHealthInfo/gnrlzHealthInfoView.do?cntnts_sn=1988) (accessed 2022-10-07).
4. Piel MJ, Kroin JS, Wijnen AJ, Kc R, Im H-J. Pain assessment in animal models of osteoarthritis. Gene. 2014;537(2):184-8.
5. 조경숙. 우리나라 만성질환의 발생과 관리 현황. 주간 건강과 질병. 2021;14(4):166-77.
6. Park G, Kim YU, Kusuma IW. Discovery of Novel Animal-Based Medicinal Products with Therapeutic Potential in Evidence-Based Traditional Medicine. Evid Based Complement Alternat Med. 2019; 2019:1626543.
7. Heo J. Donguibogam, Korea:Donguibogam. 2006:2082-103.
8. Korea Institute of Oriental Medicine. Defining Dictionary for Medicinal Herbs [Korean, 'Hanyak Giwon Sajeon']. Available from: <https://oasis.kiom.re.kr/herblib/hminfo/hbmcod/hbmcodList.do>. (accessed 2022-10-10).
9. Korea Institute of Oriental Medicine. Standard Korean Medicine Glossary. Available from: <https://cis.kiom.re.kr/terminology/search.do>. (accessed 2022-10-10).
10. 충부약재 해설서 편찬위원회. 동의보감 충부약재 해설서. 전주:도서출판 우석. 2022:52-8.



11. 제재영, 조미정, 안창범. 별갑 추출물의 효소적 가수분해 및 항산화 활성. 수산과학연구소 논문집, 2008;17(1):41-8.
12. 서윤수, 이아영, 송준호, 문병철, 박건혁 외 2 인. 방사선에 의한 고환 손상에 대한 별갑 추출물의 보호 효과. 한국정보연구회지. 2020;8(1):13-24.
13. 박종혁, 윤철호, 정지천. 난소 절제 흰쥐의 골대사에 미치는 별갑의 영향. 대한한의학회지. 2002;23(3):54-62.
14. 심태경, 고대경, 김현창, 백연중, 이재석 외 1 인. 별갑이 아토피 피부염에서의 알리지성 염증 반응에 미치는 영향. 대전대학교 한의학연구소 논문집. 2011;20(1):69-83.
15. Pitcher T, Sousa-Valente J, Malcangio M. The Monoiodoacetate Model of Osteoarthritis Pain in the Mouse. J Vis Exp. 2016;(111):53746.
16. Alsalem M, Haddad M, Altarifi A, Aldossary SA, Kalbouneh H et al., Impairment in locomotor activity as an objective measure of pain and analgesia in a rat model of osteoarthritis. Exp Ther Med. 2020;20(6):165.
17. More AS, Kumari RR, Gupta G, Lingaraju MC, Balaganur V et al, Effect of iNOS inhibitor S-methylisothiourrea in monosodium iodoacetate-induced osteoarthritic pain: implication for osteoarthritis therapy. Pharmacol Biochem Behav. 2013;103(4):764-72.
18. Ruan MZC, Patel RM, Dawson BC, Jiang M-M, Lee BHL. Pain, motor and gait assessment of murine osteoarthritis in a cruciate ligament transection model. Osteoarthritis Cartilage, 2013;21(9):1355-64.
19. 황윤경, 김원일, 김광록. 원발성 두통에 대한 별갑약침의 임상적 효과 3 례 보고. 대한한방내과학회지. 2017;38(5):834-84.
20. Moon PD, Jeong HS, Chun CS, Kim HM. Baekjeolyusin-tang and its active component berberine block the release of collagen and proteoglycan from IL-1 $\beta$ -stimulated rabbit cartilage and down-regulate matrix metalloproteinases in rabbit chondrocytes. Phytother Res. 2011 ;25(6):844-50.
21. Combe R, Bramwell S, Field MJ. The monosodium iodoacetate model of osteoarthritis: a model of chronic nociceptive pain in rats? Neurosci Lett, 2004;370(2-3):236-40.
22. Chun JM, Lee AY, Nam JY, Lee MY, Choe MS et al., Protective effects of *Phlomis umbrosa* extract on a monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis model and prediction of molecular mechanisms using transcriptomics. Phytomedicine, 2021;81:153429.
23. Chun JM, Lee AY, Nam JY, Lim KS, Choe MS et al., Effects of *Dipsacus asperoides* Extract on Monosodium Iodoacetate-Induced Osteoarthritis in Rats Based on Gene Expression Profiling. Front Pharmacol, 2021;12:615157.
24. 진소영, 강성수, 이동화, 임수재, 윤여현 외 1 인. 인체 골관절염의 관절연골에서 Matrix Metalloproteinase (MMP)-1, MMP-3, Nitrotyrosine 발현과 세포자멸사. 대한병리학회지. 2001;35(4):319-29.
25. Knäuper V, Cowell S, Smith B, López-Otin C, O'Shea M et al., The role of the C-ter

- minal domain of human collagenase-3 (MMP-13) in the activation of procollagenase-3, substrate specificity, and tissue inhibitor of metalloproteinase interaction, *J Biol Chem.* 1997;272(12):7608-16.
26. Zhu Z, Zhong L, Li R, Liu Y, Chen X. et al., Study of Osteoarthritis-Related Hub Genes Based on Bioinformatics Analysis. *Biomed Res Int.* 2020 Aug 5;2020:2379280.
27. Tchetterikov I, Lohmander LS, Verzijl N, Huizinga TWJ, TeKoppele JM et al., MMP protein and activity levels in synovial fluid from patients with joint injury, inflammatory arthritis, and osteoarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2005;64(5):694-8.

© The Author(s) 2022, khmi.or.kr

