



Research Article

Anti-inflammatory and cartilage-protective effects of Yeonsan Ogye bone hydrolysate in a rat model of osteoarthritis

골관절염 랫드 모델에서 연산오계 뼈 가수분해물의 항염증 및 연골 보호 효과

Joong Gu Ji*

지중구*

Department of Sports Health Management, Joongbu University, Geumsan 32713, Korea

중부대학교 스포츠건강관리학

Abstract Osteoarthritis (OA) is a chronic degenerative joint disease characterized by progressive cartilage destruction and persistent inflammation. The present study aimed to evaluate the anti-inflammatory and chondroprotective effects of *Yeosan Ogye* bone hydrolysate (YOBH) in a monosodium iodoacetate (MIA)-induced rat model of osteoarthritis. Rats were orally administered YOBH at doses of 500, 1,000, and 2,000 mg/kg/day following MIA injection. We evaluated treatment effects using serum biomarkers, mRNA expression, weight-bearing distribution, and micro-computed tomography. Compared with the osteoarthritis control group, YOBH significantly reduced the serum levels of interleukin-1 beta (IL-1 β), prostaglandin E2 (PGE₂), and cyclooxygenase-2 (COX-2) ($p < 0.05$), and decreased the mRNA expression levels of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and MMP-13 in cartilage tissue ($p < 0.05$). YOBH treatment also reduced the serum levels of C-terminal telopeptide of type II collagen (CTX-II) and cartilage oligomeric matrix protein (COMP), preserved cartilage volume, and improved hindlimb weight-bearing capacity ($p < 0.05$). The results indicate that YOBH alleviates inflammatory responses and cartilage degradation in osteoarthritis and may be a potential therapeutic option for its management.



OPEN ACCESS

Citation: Ji JG. Anti-inflammatory and cartilage-protective effects of *Yeosan Ogye* bone hydrolysate in a rat model of osteoarthritis. Food Sci. Preserv., 33(3), 534-542 (2026)

Received: March 31, 2026

Revised: May 19, 2026

Accepted: May 22, 2026

*Corresponding author

Joong Gu Ji
Tel: +82-41-750-6528
E-mail: jjg1970@joongbu.ac.kr

Copyright © 2026 The Korean Society of Food Preservation. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Keywords osteoarthritis, monosodium iodoacetate, *Yeosan Ogye* bone hydrolysate, inflammation, cartilage degradation

1. 서론

골관절염(osteoarthritis, OA)은 관절 연골의 점진적인 퇴행과 함께 연골 하골의 구조적 변화 및 활막 염증을 동반하는 대표적인 만성 퇴행성 질환이다(Guo 등, 2021; He 등, 2020; Primorac 등, 2020). 이러한 병리적 변화는 염증성 사이토카인과 연골 기질 분해 효소의 상호작용에 의해 진행되는 복합적인 과정으로 알려져 있다(Kapoor 등, 2011; Motta 등, 2023). 특히 interleukin-1 beta (IL-1 β)는 cyclooxygenase-2 (COX-2) 및 prostaglandin E2 (PGE₂)의 생성을 유도하여 matrix metalloproteinases (MMPs)의 발현을 증가시켜 연골 기질의 분해를 촉진하는 것으로 알려져 있다(Kapoor 등, 2011; Motta 등, 2023; Mukherjee와 Das, 2024). 그 결과 C-terminal telopeptide of type II collagen (CTX-II) 및 cartilage oligomeric matrix protein (COMP) 등이 연골 손상 정도를 반영하는 지표로 활용되고 있다(Deveza 등, 2019; Katz 등, 2021; Motta 등, 2023).

현재 골관절염 치료는 비스테로이드성 항염증제(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)를 중심으로 통증 완화에 초점이 맞추어져 있으나, 질환의 근본적인 연골 손상을 억제하지 못하며

장기 복용 시 다양한 부작용이 보고되고 있다(Katz 등, 2021; Primorac 등, 2020). 이에 따라 염증 반응을 조절하고 연골 손상을 완화할 수 있는 안전한 기능성 소재에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 특히 생체이용률이 높은 단백질 가수분해물 기반 소재가 주목받고 있다(Khatri 등, 2021; Larder 등, 2023; Martínez-Puig 등, 2023).

연산오계(*Yeonsan Ogye*, *Gallus gallus domesticus*)는 동의 보감에 기재되어 있는 토종 가금류로서 항염증 및 생리활성 효과가 보고되었으며, 최근 연구에서는 연산오계 유래 추출물이 면역 반응 조절 및 염증 억제, 뼈 대사 조절에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 보고된 바 있다(Choi 등, 2016; Do와 Kim, 2018; Kim 등, 2015; Sim 등, 2017). 또한 관절염 동물모델에서 연산오계 추출물이 관절 손상 및 염증 반응을 완화하는 효과가 확인되었으나(Sim 등, 2017), 연산오계 뼈를 활용한 단백질 가수분해물이 골관절염의 진행 억제 및 연골 보호에 미치는 효능에 관한 연구는 아직 보고된 바가 없다.

따라서 본 연구에서는 monosodium iodoacetate (MIA)로 유도된 골관절염 랫드 모델을 이용하여 연산오계 뼈 유래 가수분해물(*Yeonsan Ogye bone hydrolysate*, YOBH)의 항염증 및 연골 보호 효과를 평가하고자 하였다. 이를 위해 혈청 내 염증성 매개인자(IL-1 β , PGE₂, COX-2)와 연골 손상 바이오마커(CTX-II, COMP)를 분석하고, 연골 조직에서의 MMP-9 및 MMP-13 유전자 발현을 측정하였으며, 체중 부하 분석과 micro-computed tomography (micro-CT)를 통해 골관절염을 위한 기능성 소재로서의 활용 가능성을 종합적으로 평가하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 연산오계 뼈 유래 가수분해물 제조

연산오계 뼈는 지산농원(충남 논산, 한국)에서 구매하여 뼈 표면의 불순물과 부착된 연조직을 제거한 후 증류수로 세척하였다. 세척한 뼈는 60-70°C의 물에서 30분간 가열하여 탈지하여, 상온에서 건조된 뼈를 증류수에 1:10 (w/v)의 비율로 혼합한 후 100°C에서 3시간 동안 환류 추출하였다. 여과한 추출액에 식품용 단백질 분해 효소인 Alcalase® 2.4 L (Novozymes, Bagsvaerd, Denmark)를 기질 대비 1% (w/w) 농도로 첨가하여 55°C에서 4시간 동안 효소 가수분해를 진행하고 반응 종료를 위해 95°C에서 10분간 가열하여 효소를 불활성화하였다. 이후 가수분해물은 10,000 ×g에서 20분간 원심 분리하여 상등액을 회수하였으며, 감압 농축 후 동결 건조하여 분말 형태로 제조하였다. 제조된 가수분해물은 -20°C에서 보관하였으며, 동물 투여 직전에 증류수에 현탁하여 균질화한 후 사용하였다.

제조된 YOBH의 수율은 건조 중량 기준 7-11%였으며, 총단백질 함량은 75-85%로 나타났다. 아미노산 조성 분석 결과, 콜라겐의 주요 지표 성분인 glycine, alanine, proline 및 hydroxyproline

이 높은 비중을 차지하고 있어 뼈 유래 저분자 펩타이드의 특성을 확인하였다. 또한, YOBH의 주요 분자량 분포는 3 kDa 이하(주요 획분 500-1,500 Da)로 확인되었고 상세한 이화학적 특성은 Table 1에 제시하였다.

2.2. 실험동물

6주령 수컷 Sprague-Dawley (SD) 랫드(170-200 g)는 (주)라온바이오(경기 용인, 한국)에서 구매하였다. 실험동물은 온도 22±2°C, 상대습도 50±10%, 12시간 light/dark cycle의 환경에서 사육하였으며, 고형사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 하였다. 1주일간의 순환 기간을 거친 후 실험에 사용하였다.

모든 동물실험은 대전대학교 동물실험윤리위원회의 승인 후 수행되었으며(승인번호: DJUARB2026-006), 관련 지침에 따라 진행하였다.

2.3. 실험 설계 및 골관절염 유발

실험군은 정상군(normal control, NC), 골관절염군(osteoarthritis control, OAC), 연산오계 뼈 가수분해물 투여군(YOBH 500, 1,000, 2,000 mg/kg/day) 등 5개 군으로 나누어 6마리씩 배정하고 총 6주 동안 1일 1회 2 mL로 고정하여 경구 투여하였으

Table 1. Nutritional and structural profiles of *Yeonsan Ogye bone hydrolysate*

Parameter	Value (estimated range)	Unit
Yield (dry basis)	7-11	% (w/w)
Total protein content	75-85	% (dry weight)
Moisture content	<5	%
Major amino acids		% (relative composition)
Glycine	13-22	%
Alanine	8-11	%
Proline	9-10	%
Hydroxyproline	6-10	%
Glutamic acid	7-10	%
Aspartic acid	4-6	%
Essential amino acids (total)	20-30	%
Molecular weight distribution	<3 kDa (major fraction)	Da
Bioactive peptide range	500-1,500	Da
Degree of hydrolysis (estimated)	20-35	%
Dominant peptide type	Collagen-derived peptides	-

며, YOBH의 투여 용량(500, 1,000, 2,000 mg/kg/day)은 이전 연구(Sim 등, 2017)를 참고하여 설정하였다.

골관절염은 경구 투여 2주 후 MIA를 이용하여 isoflurane 흡입 마취를 진행하고 우측 무릎 관절강 내에 MIA (60 mg/mL)를 멸균 생리식염수에 용해하여 50 μ L 주입하였다.

2.4. 혈청 내 IL-1 β , PGE₂, COX-2, CTX-II, COMP 측정

실험 종료 후 채혈한 혈액은 상온에서 응고시킨 뒤 1,740 $\times$ g로 15분간 원심 분리하여 혈청을 분리하였다. 혈청 내 interleukin-1 beta (IL-1 β), prostaglandin E2 (PGE₂), cyclooxygenase-2 (COX-2), C-terminal telopeptide of type II collagen (CTX-II), cartilage oligomeric matrix protein (COMP)의 농도는 상용화된 ELISA kit (Mybiosource, San Diego, CA, USA)를 이용하여 제조사의 지침에 따라 분석하였다.

흡광도는 microplate reader (SpectraMax ABS, Molecular Devices, San Jose, CA, USA)를 이용하여 측정하였으며, 각 실험 결과는 표준 곡선을 이용하여 산출하였다.

2.5. 정량적 실시간 RT-PCR 분석

실험 종료 후 무릎 관절에서 연골 조직을 채취하여 RNA를 추출하였다. 총 RNA는 RNA extraction kit (Intron Biotechnology, Seongnam, Korea)를 이용하여 분리하였으며, 1 μ g의 RNA를 사용하여 first-strand cDNA synthesis kit (Bioneer, Daejeon, Korea)로 cDNA를 합성하였다.

정량적 실시간 PCR은 SYBR Green master mix와 real-time PCR system (PCR Biosystems, London, UK)을 이용하여 수행하였다. PCR 반응 조건은 초기 변성 95°C에서 5분, 이후 95°C 15초, 60°C 30초, 72°C 30초를 40 cycle 반복하였다. 각 유전자의 발현 수준은 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)를 내재 대조군(reference gene)으로 하여 2^{- $\Delta\Delta$ CT} 방법으로 상대 정량하였다. 사용된 프라이머의 염기서열은 Table 2에 제시하였다.

Table 2. Primer sequences used for real-time PCR analysis

Gene	Sequence (5' to 3')
MMP-9	Forward: AGCCGGAACGTATCTGGA
	Reverse: TGGAACTCACACGCCAGAAG
MMP-13	Forward: CCCTGGAATTGGCGACAAAG
	Reverse: GCATGACTCTACAATGCGATTAC
GAPDH	Forward: GCTTAAGAGACAGCCGCATCT
	Reverse: CGACCTTACCATTGTTGTCTACA

2.6. 뒷다리 체중 부하 평가

뒷다리 체중 부하 분포는 incapitance tester (Linton Instrumentation, Norfolk, UK)를 이용하여 측정하였다. 각 실험동물은 장비에 적응시킨 후 양쪽 뒷다리에 가해지는 체중을 각각 측정하였으며, 동일 개체에 대해 3회 반복 측정 후 평균값을 사용하였다.

체중 부하 비율은 정상측 뒷다리에 대한 환측 뒷다리의 체중 비율(%)로 계산하였다. 측정은 MIA 주입을 기준으로 7, 12, 17, 22, 27, 32일차에 수행하였다.

2.7. Micro-computed tomography (Micro-CT) 분석

무릎 관절은 micro-computed tomography system (SkyScan 1076, Bruker, Kontich, Belgium)을 이용하여 분석하였다. 스캔 조건은 50 kV, 200 μ A, 0.5 mm aluminum filter를 사용하였으며, voxel size는 9 μ m로 설정하였다. 획득된 영상은 전용 소프트웨어(NRecon, CTAn, Bruker, Kontich, Belgium)를 이용하여 재구성 및 분석하였다.

관절 연골 영역은 일정한 threshold 기준을 적용하여 설정하였으며, 관심영역(region of interest, ROI) 내에서 잔존 연골 체적(cartilage volume, mm³)을 정량적으로 분석하였다.

2.8. 통계 분석

모든 실험 결과는 평균 $\pm$ 표준편차(mean $\pm$ SD)로 나타내었다. 통계 분석은 SPSS software (version 21.0, IBM, Armonk, NY, USA)를 이용하여 수행하였다. 그룹 간 유의성 검정은 one-way analysis of variance (ANOVA)를 실시한 후 Dunnett's post hoc test를 적용하였다. p-value가 0.05 미만인 경우 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 판단하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 염증 매개체(IL-1 β , PGE₂, COX-2) 생성량

YOBH가 골관절염 모델에서 염증 반응에 미치는 영향을 확인하기 위하여 혈청 내 IL-1 β , PGE₂ 및 COX-2 생성량을 측정 한 결과는 Fig. 1과 같다. IL-1 β , PGE₂ 및 COX-2는 NC군 대비 OAC군에서 유의적으로 증가하여 염증 반응이 유도된 것을 확인할 수 있었다(p<0.05). 반면 YOBH 투여군에서는 측정된 염증 매개체 모두 감소하는 경향을 나타내었으며, 특히 고농도 투여군에서 유의적인 억제 효과가 관찰되었다.

IL-1 β 생성량은 OAC군에서 72.35 $\pm$ 7.98 ng/mL로 증가한 반면, 1,000 mg/kg/day 및 2,000 mg/kg/day 투여군에서 각각 57.93 $\pm$ 6.14 ng/mL, 52.32 $\pm$ 5.13 ng/mL로 감소하였으며, COX-2 생성량 역시 OAC군 1.24 $\pm$ 0.14 ng/mL 대비 1,000 mg/kg/day 및 2,000 mg/kg/day 투여군에서 각각 1.03 $\pm$ 0.18 ng/mL, 0.90 $\pm$ 0.17

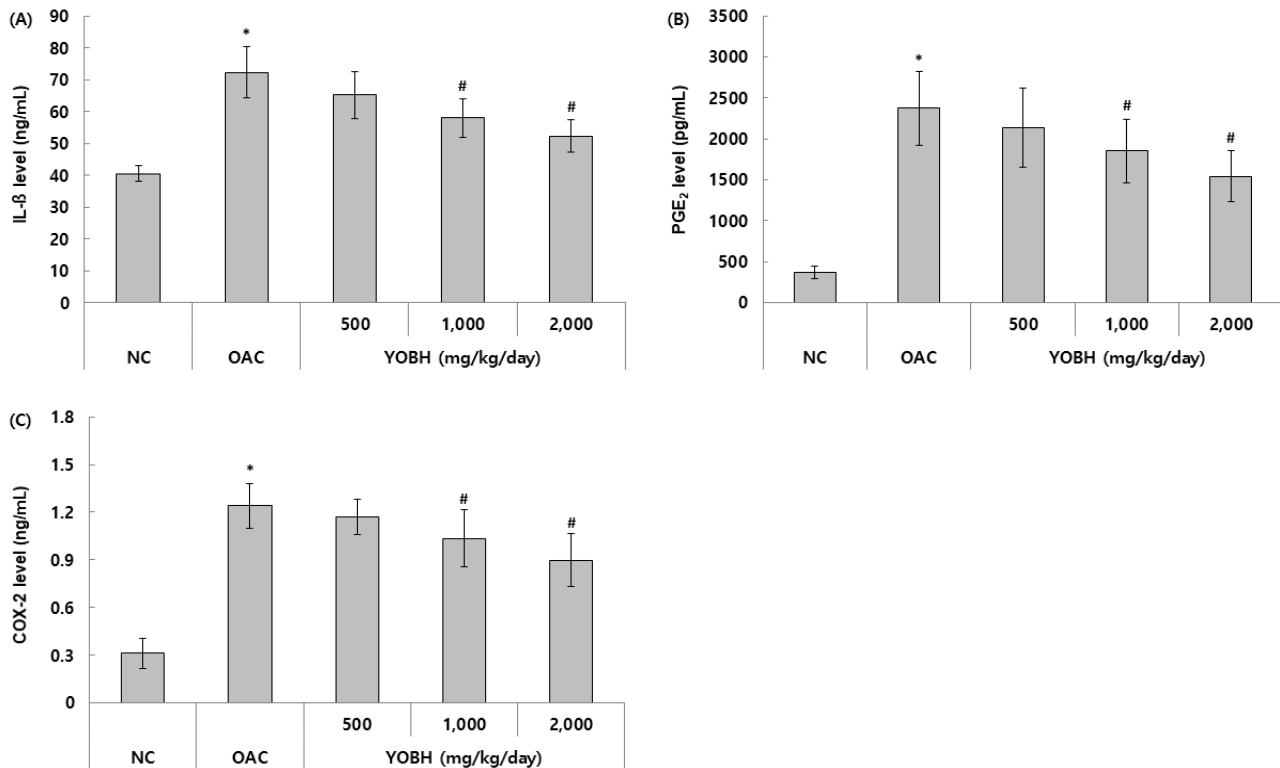


Fig. 1. Effects of *Yeonsan Ogye* bone hydrolysate (YOBH) on serum inflammatory mediators in MIA-induced osteoarthritis rats. Serum levels of (A) interleukin-1 beta (IL-1 β), (B) prostaglandin E₂ (PGE₂), and (C) cyclooxygenase-2 (COX-2) were measured. NC, normal control; OAC, osteoarthritis control; YOBH, *Yeonsan Ogye* bone hydrolysate (500, 1,000, 2,000 mg/kg/day). All values are mean $\pm$ SD (n=6). Statistical significance was determined by one-way ANOVA followed by Dunnett's post hoc test. *p<0.05 compared to NC group; #p<0.05 compared to OAC group.

ng/mL로 감소하였다. PGE₂ 생성량은 OAC군이 2,372.95 $\pm$ 447.71 pg/mL로 나타난 반면, 1,000 mg/kg/day 및 2,000 mg/kg/day 투여군에서 각각 1,825.64 $\pm$ 312.58 pg/mL, 1,498.27 $\pm$ 265.41 pg/mL로 감소하여 모든 염증 매개체에서 일관된 억제 경향이 유의적으로 확인되었다(p<0.05).

IL-1 β 는 관절 염증 반응을 유도하는 주요 사이토카인으로 COX-2와 PGE₂ 생성을 촉진하는 것으로 알려져 있으며, 염증 자극에 의해 발현된 COX-2는 arachidonic acid를 prostaglandin으로 전환하는 과정에서 PGE₂ 생성에 관여하는 핵심 효소로 작용한다(Goldring과 Otero, 2011; Kapoor 등, 2011; Simmons 등, 2004). 이에 따라 축적된 PGE₂는 관절 내 염증 반응을 증폭시키고 통증을 유발하는 주요 매개체로 보고되어, 이와 같은 염증 매개체의 변화는 골관절염에서 염증 반응의 정도를 반영하는 중요한 지표로 평가된다(Ricciotti와 FitzGerald, 2011). 또한 최근 연구(Wang 등, 2020; Yang 등, 2016) 등을 통해 혈액 내 순환하는 COX-2 수치를 측정하여 질환의 예후나 염증 상태를 반영하는 지표로 활용되고 있다.

이러한 기전적 특성에 따라 골관절염 모델에서 IL-1 β 및

PGE₂의 증가는 관절 염증과 통증의 주요 원인으로 보고되어 있으며, 이러한 염증 매개체의 억제는 질환 개선과 밀접하게 연관되는 것으로 보고된 바 있다(Malemud, 2015). 또한 COX-2 억제에 따른 PGE₂ 감소가 염증 완화 및 통증 억제와 직접적으로 연관된다는 보고와도 일치하는 경향을 나타낸다(Ricciotti와 FitzGerald, 2011). 본 연구에서 확인된 YOBH의 IL-1 β , PGE₂, COX-2 억제 효과는 골관절염의 초기 염증 반응을 제어하는 데 있어 중요한 의미를 가지며, 특히 혈청 내 IL-1 β 와 PGE₂의 유의미한 감소는 난각막 가수분해물 연구에서 보고된 항염증 양상과 일관된 경향을 나타내었다(Sim 등, 2015). 난각막 가수분해물이 농도 의존적으로 PGE₂를 감소시켜 통증 후반기 작용을 억제한 것과 같이, YOBH 역시 고농도 투여군에서 PGE₂ 생성량을 억제하여 염증 반응을 차단함이 확인되었다. 또한, 연산오계 육질 사용하여 골관절염 효능을 분석한 Sim 등(2017)의 연구에서 다루지 않았던 혈청 내 COX-2 수치를 직접적으로 측정하여 질환의 예후와 염증 상태를 반영하는 구체적인 지표로 제시한 점은 YOBH가 단순 영양 보급을 넘어 병리적 염증 경로를 조절하는 기능성 소재로서의 가치가 있음을 뒷받침한다

(Sim 등, 2017). 특히, 단백질 가수분해물은 단순 추출물에 비해 아미노산 흡수율이나 생체이용률 면에서 유리한 저분자 펩타이드를 풍부하게 함유하고 있어 골관절염과 같은 만성 퇴행성 질환에서 기존 추출물 대비 더욱 효율적인 생리활성을 나타낼 수 있을 것으로 사료된다.

3.2. 연골 분해 효소(MMP-9, MMP-13) 유전자 발현량

YOBH가 골관절염 모델에서 연골 기질 분해에 미치는 영향을 확인하기 위하여 연골 조직 내 MMP-9 및 MMP-13 mRNA 발현량을 분석한 결과는 Fig. 2와 같다. MMP-9 및 MMP-13은 NC군 대비 OAC군에서 유의적으로 증가하여 연골 분해가 촉진된 것을 확인할 수 있었다($p<0.05$). 반면 YOBH 투여군에서는 확인한 분해 효소 모두 감소하는 경향을 나타내었으며, 특히 고농도 투여군에서 유의적인 억제 효과가 관찰되었다.

MMP-9 발현은 OAC군에서 1.00 ± 0.09 로 나타난 반면, 1,000 mg/kg/day 및 2,000 mg/kg/day 투여군에서 각각 0.85 ± 0.06 , 0.78 ± 0.07 로 감소하였으며, MMP-13 발현 역시 OAC군 1.00 ± 0.07 대비 2,000 mg/kg/day 투여군에서 0.79 ± 0.05 로 감소하여 연골 기질 분해 효소가 유의적으로 억제된 것으로 확인되었다($p<0.05$).

MMP-9과 MMP-13은 연골 기질을 구성하는 collagen 및 proteoglycan을 분해하는 주요 matrix metalloproteinases로서, 골관절염의 진행 과정에서 연골 조직의 구조적 손상을 유도하는 데 관여하는 것으로 알려져 있다(Murphy와 Nagase, 2008). 특히 MMP-13은 type II collagen 분해에 높은 특이성을 가지는 효소로 보고되어 연골 기질 붕괴와 직접적으로 연관되며, MMP-9 또한 염증 반응과 연계되어 기질 분해를 촉진하는 역할을 수행하는 것으로 제시된 바 있다(Burrage 등, 2006). 이와 같은 특성으로 인해 두 효소의 발현 증가는 골관절염에서 연골

손상 정도를 반영하는 지표로 활용된다.

실제로 기존 연구에서도 MMP-9 및 MMP-13의 발현 증가는 연골 손상 및 질환 진행과 밀접하게 관련되는 것으로 보고되어 있으며, 이들 효소의 억제가 연골 보호와 관련된다는 결과가 제시된 바 있다(Little 등, 2009; Neuhold 등, 2001). 본 연구의 소재와 관련된 이전 연구(Sim 등, 2015, Sim 등, 2017)들과 비교해 볼 때, 이전 연구들에서는 혈청 내 MMP-9 단백질 생성량 감소를 통해 효능을 입증했던 것과 달리, 본 연구에서는 연골 조직 내 MMP-9 및 MMP-13의 mRNA 발현량을 분석하여 유전자 수준에서의 억제 효과를 규명하였다. 특히 제2형 콜라겐 분해에 높은 특이성을 가지는 MMP-13의 발현이 2,000 mg/kg/day 투여군에서 유의적으로 감소한 결과는 YOBH가 연골 기질의 구조적 붕괴를 근본적으로 지연시킬 수 있음을 시사하며, 이는 단백질 분해 효소와 그 억제 시스템 간의 불균형을 해소하는 데 기여할 것으로 사료된다.

3.3. 연골 손상 마커(CTX-II, COMP) 생성량

YOBH가 골관절염 모델에서 연골 손상에 미치는 영향을 확인하기 위하여 혈청 내 CTX-II 및 COMP 생성량을 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. CTX-II 및 COMP는 NC군 대비 OAC군에서 유의적으로 증가하여 연골 손상이 유도된 것을 확인할 수 있었다($p<0.05$). 반면 YOBH 투여군에서는 확인한 연골 손상 지표 모두 감소하는 경향을 나타내었으며, 특히 고농도 투여군에서 유의적인 억제 효과가 관찰되었다.

CTX-II 생성량은 OAC군에서 214.17 ± 21.64 ng/mL로 증가한 반면, 2,000 mg/kg/day 투여군에서 171.51 ± 23.06 ng/mL로 감소하였으며, COMP 생성량 역시 OAC군 134.19 ± 18.86 ng/mL 대비 1,000 mg/kg/day 및 2,000 mg/kg/day 투여군에서 각각 112.80 ± 11.17 ng/mL, 102.30 ± 9.92 ng/mL로 감소하여 연골 손상

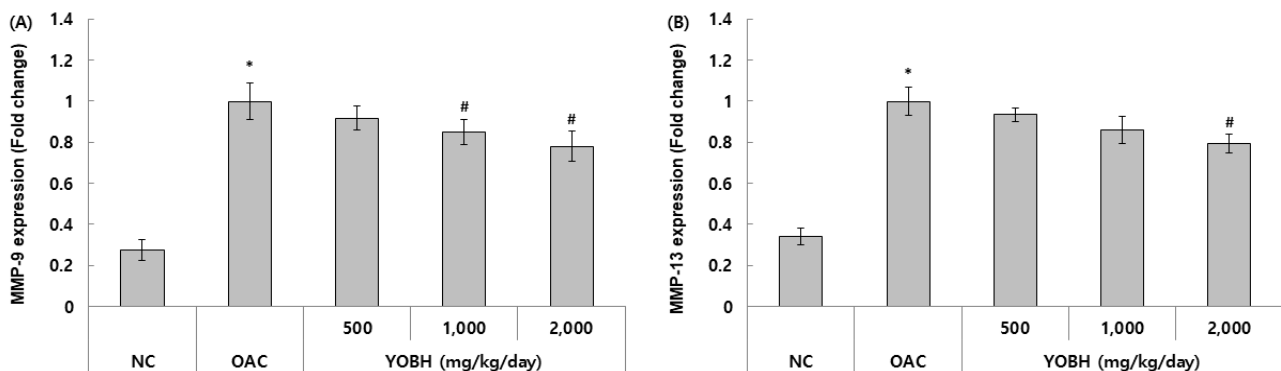


Fig. 2. Effects of YOBH on mRNA expression of cartilage-degrading enzymes in MIA-induced osteoarthritis rats. Expression levels of (A) matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and (B) matrix metalloproteinase-13 (MMP-13) were analyzed. NC, normal control; OAC, osteoarthritis control; YOBH, Yeosan Ogye bone hydrolysate (500, 1,000, 2,000 mg/kg/day). All values are mean $\pm$ SD (n=6). Statistical significance was determined by one-way ANOVA followed by Dunnett's post hoc test. * $p<0.05$ compared to NC group; # $p<0.05$ compared to OAC group.

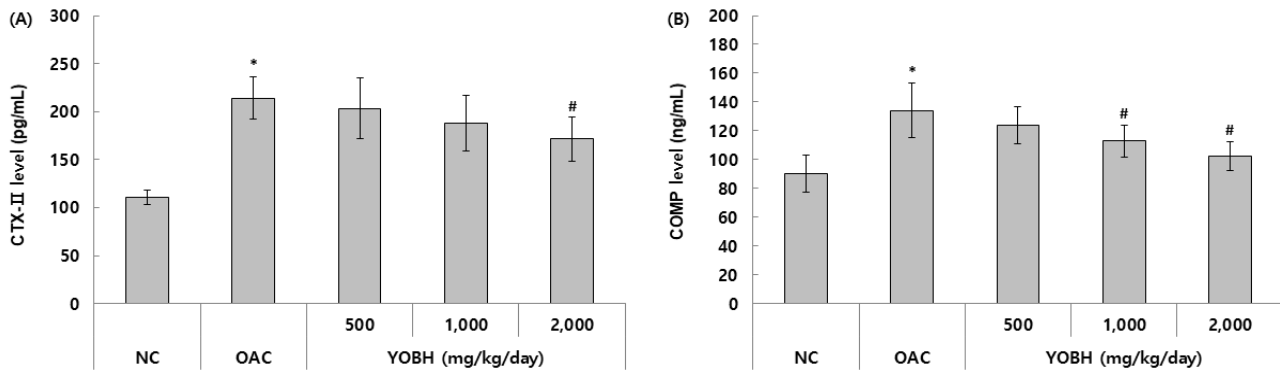


Fig. 3. Effects of YOBH on serum biomarkers of cartilage degradation in MIA-induced osteoarthritis rats. Serum levels of (A) C-terminal telopeptide of type II collagen (CTX-II) and (B) cartilage oligomeric matrix protein (COMP) were measured. NC, normal control; OAC, osteoarthritis control; YOBH, *Yeonsan Ogye* bone hydrolysate (500, 1,000, 2,000 mg/kg/day). All values are mean $\pm$ SD (n=6). Statistical significance was determined by one-way ANOVA followed by Dunnett's post hoc test. *p<0.05 compared to NC group; #p<0.05 compared to OAC group.

지표가 전반적으로 억제된 것이 유의적으로 확인되었다(p<0.05).

CTX-II는 type II collagen 분해 과정에서 생성되는 대표적인 분해 산물로서 연골 기질 손상의 정도를 반영하는 지표로 활용되며, COMP 또한 연골 구조 단백질의 분해와 관련된 지표로서 골관절염에서 연골 손상 진행과 밀접하게 연관되는 것으로 보고되어 있다(Clark 등, 1999; Garnero 등, 2002). 이러한 지표들의 증가는 연골 기질 붕괴와 구조적 손상의 진행을 의미하며, 질환의 진행 정도를 평가하는 데 중요한 기준으로 활용된다.

선행 연구에서도 CTX-II 및 COMP의 증가는 연골 손상 및 골관절염의 진행과 밀접한 관련이 있으며, 이들 지표의 감소는 연골 보호 효과와 연관된 것으로 보고된 바 있다(Garnero 등, 2002). 본 연구의 소재와 관련된 이전 연구(Sim 등, 2015, Sim 등, 2017)들에서도 CTX-II와 COMP의 생성을 억제하여 골 파괴 방어 효과를 보고하였고 YOBH 투여군 역시 고농도에서 CTX-II 및 COMP 생성량을 유의하게 낮춤으로써, 골관절염에서 발생하는 연골 기질 붕괴와 구조적 손상을 방어하는 데 효과가 있음을 재확인하였다.

3.4. 뒷다리 체중 부하(Weight-bearing)

YOBH가 골관절염 모델에서 관절 기능 및 통증에 미치는 영향을 확인하기 위하여 뒷다리 체중 부하를 측정된 결과는 Table 3과 같다. NC군을 기준으로 OAC군에서는 측정 시작 시점인 7일차부터 52.9 $\pm$ 6.07% 수준으로 감소한 이후 32일차까지 낮은 수준이 지속되어 관절 기능 저하가 진행되었으나, YOBH의 고농도 투여군에서 상대적으로 우수한 결과가 측정되었다.

YOBH 1,000 mg/kg/day 투여군은 7일차부터 32일차까지

59.60 $\pm$ 5.62%에서 66.77 $\pm$ 12.61% 수준으로 확인되었으며, 2,000 mg/kg/day 투여군의 경우 62.53 $\pm$ 2.56%에서 69.24 $\pm$ 12.03% 수준을 유지하여 OAC군 대비 가장 높은 체중 부하를 나타내었다(p<0.05).

체중 부하 감소는 골관절염에서 통증 및 관절 기능 저하를 반영하는 대표적인 기능적 지표로 알려져 있으며, 관절 내 염증 반응과 연골 손상으로 인해 통증이 유발되면서 체중 지지 능력이 감소하는 것으로 보고되어 체중부하 감소의 억제는 관절 기능 감퇴의 진행이 완화되는 양상을 반영하는 지표로 활용될 수 있다(Fernihough 등, 2005). 본 연구 결과에서는 YOBH 투여군에서 대조군 대비 유의미한 개선이 관찰되었으며, 이는 연산 오제 육질의 효능을 보고한 Sim 등(2017) 및 난각막 가수분해 물의 효능을 입증한 Sim 등(2015)의 선행 연구 결과와 일치하는 것으로 나타났다. 이러한 체중 부하 비율의 회복은 앞선 혈액 및 조직 분석을 통해 확인된 연골 보호 효과와 종합해 볼 때, YOBH가 관절 내 염증 및 연골 기질 손상으로 유발된 통증을 효과적으로 억제하고 관절 기능을 실질적으로 개선시켰음을 시사한다. 다만, 30일차에 관찰된 체중 부하의 소폭 상승은 Fernihough 등(2004)의 보고와 같이 동물이 환측의 통증을 피하기 위해 무게 중심을 이동시키는 보상적 자세 조절 또는 장기적 통증 자극에 대한 신경학적 적응이 반영된 결과로 생각된다.

3.5. Micro-CT 분석

YOBH 투여에 따른 골관절염 모델의 구조적 변화를 평가하기 위하여 micro-computed tomography (Micro-CT)를 이용한 연골 볼륨 분석을 수행한 결과는 Fig. 4와 같다. NC군에서는 연골 양이 3.62 $\pm$ 0.08 mm³로 안정적으로 유지된 반면, OAC군에서는 2.24 $\pm$ 0.12 mm³로 감소하여 MIA 유발에 의한 연골 양

Table 3. Effects of YOBH on hindlimb weight-bearing distribution in MIA-induced osteoarthritis rats

Group	Hindlimb weight-bearing distribution (%)					
	Days after MIA injection					
	7	12	17	22	27	32
NC ¹⁾	100.00±7.57 ²⁾	100.00±7.90	100.00±4.47	100.00±3.88	100.00±3.34	100.00±1.64
OAC	52.90±6.07 ^{*3)}	59.29±3.83 [*]	59.62±5.04 [*]	59.74±6.15 [*]	54.21±5.72 [*]	57.19±7.74 [*]
YOBH 500	54.35±11.14	58.62±14.70	59.15±11.15	62.35±13.21	58.93±12.32	62.36±9.03
YOBH 1,000	59.60±5.62	65.36±5.38 ^{#2)}	67.87±4.42 [#]	69.04±4.41 [#]	70.12±5.70 [#]	66.77±12.61
YOBH 2,000	62.53±2.56 [#]	71.19±5.55 [#]	71.88±2.13 [#]	72.20±2.18 [#]	65.78±6.51 [#]	69.24±12.03

¹⁾NC, normal control; OAC, osteoarthritis control; YOBH, *Yeonsan Ogve* bone hydrolysate (500, 1,000, 2,000 mg/kg/day); MIA, monosodium iodoacetate.

²⁾All values are mean±SD (n=6).

³⁾Statistical significance was determined by one-way ANOVA followed by Dunnett's post hoc test. ^{*}p<0.05 compared to NC group; [#]p<0.05 compared to OAC group.

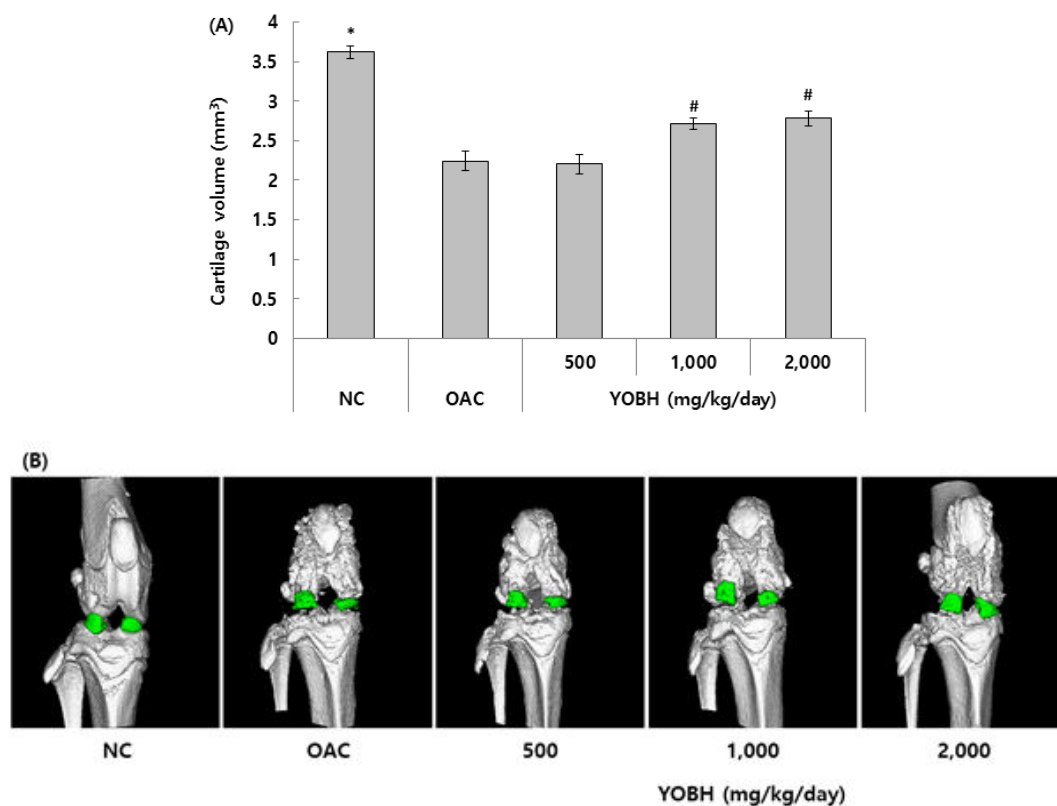


Fig. 4. Effects of YOBH on cartilage volume and structural changes in MIA-induced osteoarthritis rats. (A), cartilage volume (mm³) was analyzed using micro-computed tomography; (B), representative three-dimensional images of knee joints. NC, normal control; OAC, osteoarthritis control; YOBH, *Yeonsan Ogve* bone hydrolysate (500, 1,000, 2,000 mg/kg/day). All values are mean±SD (n=6). Statistical significance was determined by one-way ANOVA followed by Dunnett's post hoc test. ^{*}p<0.05 compared to NC group; [#]p<0.05 compared to OAC group.

감소가 확연하게 나타났다(p<0.05). 이에 비해 YOBH 투여군에서는 연골 양의 감소가 전반적으로 완화되는 양상이 관찰되

었으며, 특히 1,000 및 2,000 mg/kg/day 투여군에서 이러한 변화가 명확하게 나타났다.

YOBH 1,000 mg/kg/day 및 2,000 mg/kg/day 투여군의 연골 양은 각각 $2.71 \pm 0.07 \text{ mm}^3$ 및 $2.78 \pm 0.09 \text{ mm}^3$ 로 나타나 OAC군 대비 유의적으로 높은 것을 확인하였으며($p < 0.05$), 3D로 변환한 CT 결과에서도 뼈 표면 변화와 연골 파괴가 적게 나타났다.

연골 양의 감소는 염증 반응, 기질 분해 효소 활성화 및 연골 구성 성분 손실 등이 복합적으로 작용하여 발생하는 주요 임상적 특징으로 골관절염의 진행 정도를 반영하는 핵심 지표로 알려져 있다(He 등, 2020; Primorac 등, 2020). 본 연구에서 확인된 연골 양의 변화는 YOBH 투여가 앞서 확인한 염증 매개체, 연골 분해 효소 및 연골 손상 마커들을 유의미하게 조절한 결과로 생각된다. 이러한 연골 보호 효과는 이전 연구들에서도 micro-CT 및 조직염색을 통해 연골 파괴와 골 부식 억제 효과와 연골 부피를 정량화하여 연골 보존 효능을 보고하였다(Sim 등, 2015, Sim 등, 2017).

특히 본 연구에서 관찰된 연골 체적의 보존은 혈청 내 MMP-9 및 MMP-13 등 기질 분해 효소의 유전자 발현 억제 결과와 연계된 결과로 사료되며, 이는 YOBH가 분자 생물학적 수준에서 연골 파괴를 방어하고 있음을 뒷받침한다. 일반적으로 Micro-CT만으로는 방사선 투과성이 높은 연골 조직을 직접 정밀 측정하는 데 한계가 있을 수 있으나, YOBH 투여군에서 관절 간격이 유의미하게 유지된 결과는 앞서 확인한 분자 생물학적 지표들이 실제 관절의 구조적 보존으로 이어졌음을 입증하는 결과로 YOBH가 관절 구조의 퇴행을 지연시키는 유효한 소재임을 시사한다.

비록 본 연구에 비스테로이드성 소염진통제나 글루코사민과 같은 임상적 양성대조군이 포함되지는 않았으나, 염증 매개체에 대한 YOBH의 용량 의존적 억제 효과는 골관절염 개선에 대한 유의미한 근거를 제공한다. 향후 표준화된 대조 약물과 YOBH의 상대적인 효능 분석이 보완된다면, 골관절염 치료 및 관리를 위한 기능성 소재로서 YOBH의 활용 가능성은 더욱 확고해질 것으로 사료된다.

4. 요약

본 연구에서는 연산오제 뼈 유래 가수분해물의 항염증 및 연골 보호 효과를 평가하였다. MIA로 관절염을 유발한 랫드에 YOBH를 경구 투여한 후 혈청 및 연골 조직을 분석한 결과, IL-1 β , PGE₂ 및 COX-2 등의 염증 매개체 생성과 MMP-9, MMP-13 등의 연골 분해 효소 유전자 발현을 감소시켰다. 또한, CTX-II 및 COMP 등의 연골 손상 생성 감소가 확인되었고, 체중 부하 및 micro-CT 평가를 통해 연골 양의 감소, 뼈 손상, 체중 지지 등 임상적 특징을 완화시키는 것으로 확인되었다. 비록 비스테로이드성 소염진통제 등 임상적 양성대조군이 포함되지 않았다는 제한점이 있으나, YOBH의 용량 의존적 억

제 효과는 관절 건강 개선 및 관리를 위한 기능성 소재로서의 높은 활용 가능성을 제시하고 있다.

Funding

None.

Acknowledgements

The research was submitted with the support of the 2025 Joongbu University Academic Research Grant.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflicts of interest.

Author contributions

Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Methodology; Validation; Writing: Ji JG.

Ethics approval

This research was approved by IACUC from the Daejeon University (approval no. DJUAR2026-006 date 2026.3.17.).

ORCID

Joong Gu Ji (First & Corresponding author)
<https://orcid.org/0000-0001-6961-0489>

References

- Burrage PS, Mix KS, Brinckerhoff CE. Matrix metalloproteinases: Role in arthritis. *Front Biosci*, 11, 529-543 (2006)
- Choi HJ, Sim BY, Joo IH, Yoo SK, Kim DH. Study of innate immunity suppression of Yeonsan Ogye listed on Dong-eui-bo-gam. *J Physiol Pathol Korean Med*, 30, 236-241 (2016)
- Clark AG, Jordan JM, Vilim V, Renner JB, Dragomir AD, Luta G, Kraus VB, Hochberg MC. Serum cartilage oligomeric matrix protein reflects osteoarthritis presence and severity. *Arthritis Rheum*, 42, 2356-2364 (1999)
- Deveza LA, Nelson AE, Loeser RF. Phenotypes of osteoarthritis: Current state and future implications. *Osteoarthritis Cartilage*, 27, 36-46 (2019)
- Do YM, Kim DH. Comparative study of anti-inflammatory and immunological activities by different gender and parts of Yeonsan Ogye. *J Physiol Pathol Korean Med*, 32, 99-105 (2018)
- Fernihough J, Gentry C, Bevan S, Winter J. Regulation of calcitonin gene-related peptide and TRPV1 in a rat model of osteoarthritis. *Neurosci Lett*, 388, 75-80 (2005)

- Fernihough J, Gentry C, Malcangio M, Fox A, Rediske J, Pellas T, Kidd B, Bevan S, Winter J. Pain related behaviour in two models of osteoarthritis in the rat knee. *Pain*, 112, 83-93 (2004)
- Garnero P, Ayral X, Rousseau JC, Christgau S, Sandell LJ, Dougados M, Delmas PD. Uncoupling of type II collagen synthesis and degradation predicts progression of joint damage in patients with knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum*, 46, 2613-2624 (2002)
- Goldring MB, Otero M. Inflammation in osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol*, 23, 471-478 (2011)
- Guo H, Ding D, Wang L, Yan J, Ma L, Jin Q. Metformin attenuates osteoclast-mediated abnormal subchondral bone remodeling and alleviates osteoarthritis via AMPK/NF- κ B/ERK signaling pathway. *PLoS One*, 16, e0261127 (2021)
- He Y, Li Z, Alexander PG, Ocasio-Nieves BD, Yocum L, Lin H, Tuan RS. Pathogenesis of osteoarthritis: Risk factors, regulatory pathways in chondrocytes, and experimental models. *Biology*, 9, 194 (2020)
- Kapoor M, Martel-Pelletier J, Lajeunesse D, Pelletier JP, Fahmi H. Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol*, 7, 33-42 (2011)
- Katz JN, Arant KR, Loeser RF. Diagnosis and treatment of hip and knee osteoarthritis: A review. *JAMA*, 325, 568-578 (2021)
- Khatri M, Naughton RJ, Clifford T, Harper LD, Corr L. The effects of collagen peptide supplementation on body composition, collagen synthesis, and recovery from joint injury and exercise: A systematic review. *Amino Acids*, 53, 1493-1506 (2021)
- Kim JW, Sim BY, Choi HJ, Lee HJ, Kim DH. The study on biological activities of *Yeonsan Ogye* listed on Dong-ui-bo-gam. *Korean J Herbology*, 30, 23-28 (2015)
- Larder CE, Iskandar MM, Kubow S. Collagen hydrolysates: a source of bioactive peptides derived from food sources for the treatment of osteoarthritis. *Medicines*, 10, 50 (2023)
- Little CB, Barai A, Burkhardt D, Smith SM, Fosang AJ, Werb Z, Shah M, Thompson EW. Matrix metalloproteinase 13-deficient mice are resistant to osteoarthritic cartilage erosion. *Arthritis Rheum*, 60, 3723-3733 (2009)
- Malemud CJ. Biologic basis of osteoarthritis: state of the evidence. *Curr Opin Rheumatol*, 27, 289-294 (2015)
- Martínez-Puig D, Costa-Larrión E, Rubio-Rodríguez N, Gálvez-Martín P. Collagen supplementation for joint health: The link between composition and scientific knowledge. *Nutrients*, 15, 1332 (2023)
- Motta F, Barone E, Sica A, Selmi C. Inflammaging and osteoarthritis. *Clin Rev Allergy Immunol*, 64, 222-238 (2023)
- Mukherjee A, Das B. The role of inflammatory mediators and matrix metalloproteinases in the progression of osteoarthritis. *Biomater Biosyst*, 13, 100090 (2024)
- Murphy G, Nagase H. Progress in matrix metalloproteinase research. *Mol Aspects Med*, 29, 290-308 (2008)
- Neuhold LA, Killar L, Zhao W, Sung ML, Warner L, Kulik J, Turner J, Wu W, Billingham C, Meijers T, Poole AR. Postnatal expression in hyaline cartilage of constitutively active human collagenase-3 induces osteoarthritis in mice. *J Clin Invest*, 107, 35-44 (2001)
- Primorac D, Molnar V, Rod E, Jeleč Ž, Čukelj F, Matišić V, Vrdoljak T, Hudetz D, Hajsok H, Borić I. Knee osteoarthritis: A review of pathogenesis and non-operative therapeutic considerations. *Genes*, 11, 854 (2020)
- Ricciotti E, FitzGerald GA. Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 31, 986-1000 (2011)
- Sim BY, Bak JW, Jin H, Jun JA, Choi HJ, Kwon CJ, Kim HY, Ruff KJ, Brandt K, Kim DH. Effects of natural eggshell membrane (NEM) on monosodium iodoacetate-induced arthritis in rats. *J Nutr Health*, 48, 310-318 (2015)
- Sim BY, Choi HJ, Ji JG, Kim DH. Effects of *Yeonsan Ogye* on monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis in rats. *Korean J Herbology*, 32, 41-47 (2017)
- Simmons DL, Botting RM, Hla T. Cyclooxygenase isozymes: The biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacol Rev*, 56, 387-437 (2004)
- Wang B, Huang X, Lin J. Serum COX-2 and FOXO3a in patients with rheumatoid arthritis and correlation with disease activity. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 20, 910-916 (2020)
- Yang M, Chen Y, Ma J, Chen J, Wan S. Expression of COX-2 in different types of arthritis. *Int J Clin Exp Pathol*, 9, 6543-6548 (2016)