

명세서

발명의 명칭

히알루론산과 줄기세포를 포함하는 연골손상 관련 질환 치료용 약학

5 조성물

기술분야

본 발명은 히알루론산과 줄기세포를 포함하는 연골손상 관련 질환 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

10

배경기술

퇴행성 관절염은 관절을 보호하고 있는 연골의 점진적인 손상이나 퇴행성 변화로 인해 관절을 구성하고 있는 뼈와 인대 등에 손상을 초래하여 염증과 통증이 생기는 질환이다. 퇴행성 관절염의 약물치료 요법 중 하나로서 사용되는 히알루론산(hyaluronic acid, HA)은 관절의 연골에서 기질을 구성하는 성분으로서, 15 프로테오글리칸(proteoglycan)을 만드는데 관여하는 점액성 다당류의 일종이다. 현재, 관절의 연골을 재생하기 위해 히알루론산 나트륨(Sodium Hyaluronate, Hyruran®)이 사용되고 있다.

또한, 2000년대 이후 줄기세포에 대한 연구가 활발해지면서, 0.5% 농도의 20 히알루론산을 골수 또는 지방 유래 간엽줄기세포와 혼합하여 골관절염 모델에 투여하는 연구가 수행된 바 있다(Alexander Mathiessen *et al.*, *Arthritis Research & Therapy.*, 19:18, 2017; Éva Kriston-Pál *et al.*, *The Canadian Journal of Veterinary Research.*, 81:73-78, 2017).

나아가, 간엽줄기세포를 4% 농도의 히알루론산과 혼합하여 연골 손상 부 25 위에 채워 넣는 방식으로 수술에 사용하고 있다. 하지만, 히알루론산 나트륨을 관절 내에 투여하는 것은 과민반응, 일시적인 통증, 부종, 온열감과 같은 부작용을 동반하기도 한다(대한 통증학회지 2004.17.170-174). 또한, 4% 농도의 히알루론산은 농도가 높은 편으로, 주사제형으로 이용하기 불편하다는 단점이 있다.

따라서, 히알루론산 및 줄기세포를 이용한 관절염 치료에 있어서, 최적화 30 된 치료방법에 대한 지속적인 연구가 필요한 상황이다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

이에 본 발명자들은 히알루론산 및 간엽줄기세포를 이용하여 효과적으로 연골손상 관련 질환을 치료하기 위한 방법을 예의 연구한 결과, 골관절염 유발
5 래트에 히알루론산을 먼저 투여하고 그 이후에 간엽줄기세포를 투여하면, 히알루론산 및 간엽줄기세포를 혼합하여 투여하는 경우보다 우수한 관절염 치료 효과를 나타냄을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

과제 해결 수단

10 본 발명의 일 측면은, 히알루론산과 간엽줄기세포를 포함하는 연골손상 관련 질환 치료용 약학 조성물로서, 상기 약학 조성물을 필요로 하는 환자에게 투여 시에, 히알루론산을 먼저 투여하고 그 이후에 간엽줄기세포를 투여하는 것을 특징으로 하는 약학 조성물을 제공한다.

본 발명의 다른 측면은, (i) 개체에 히알루론산을 투여하는 단계; 및
15 (ii) 상기 (i) 단계 이후에 개체에 간엽줄기세포를 투여하는 단계를 포함하는 연골손상 관련 질환을 치료하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

본 발명에 따라 히알루론산을 먼저 투여하고 그 이후에 간엽줄기세포를
20 투여할 경우, 히알루론산 및 간엽줄기세포를 혼합하여 투여하는 경우보다 관절염이 유발된 관절 조직의 병증 개선 효과가 우수하며, 무릎의 체중부하를 감소시킬 수 있다. 따라서, 본 발명의 약학 조성물은 연골손상 관련 질환을 치료하는데 유용하게 사용될 수 있다.

25 도면의 간단한 설명

도 1은 G1 내지 G5 그룹의 래트의 관절 조직을 H&E(Hematoxylin & Eosin), Safranin-O 및 항-II형 콜라겐 항체를 이용해 염색한 사진이다.

도 2는 G1 내지 G5 그룹의 래트의 관절 조직을 염색한 후, 병변의 정도에 따라 점수화하여 그래프로 나타낸 도면이다.

30 도 3은 Panlab INCAPACITANCE TESTER를 이용하여 래트의 체중부하를 측정

하는 모습을 나타낸 도면이다.

도 4는 0주째 및 16주째에 래트의 체중부하를 측정하여 나타낸 도면이다.

도 5는 G1 내지 G5 그룹의 래트의 관절 조직을 Micro-CT로 촬영한 사진이다.

5

발명의 실시를 위한 최선의 형태

이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

본 발명의 일 측면은, 히알루론산과 간엽줄기세포를 포함하는 연골손상 관련 질환 치료용 약학 조성물로서, 상기 약학 조성물을 필요로 하는 환자에게
10 투여 시에, 히알루론산을 먼저 투여하고 그 이후에 간엽줄기세포를 투여하는 것을 특징으로 하는 약학 조성물을 제공한다.

상기 히알루론산은 단량체인 N-아세틸글루코사민(N-acetylglucosamine)과 D-글루쿠로닉산(D-glucuronic acid)이 연속적으로 연결된 선형 다당류(linear polysaccharide)의 고분자 화합물이다. 히알루론산은 상처를 회복시키는데
15 도움을 주는 생체 적합성(biocompatible) 물질이다.

또한, 히알루론산은 에테르 결합을 통해서 수용액 상에서 불용성이면서도, 우수한 점탄성과 높은 수분 흡수 능력을 가지고 있어, 생체 내에서 일정기간 동안 형태를 유지하다 분해되어 체내 흡수될 수 있다. 하지만, 천연 히알루론산은 체내에 주입시 히알루론산 분해효소(hyaluronidase)에 의해 빨리
20 분해되기 때문에, 이러한 분해속도를 조절하기 위하여 여러 가지 방법으로 가교시키거나 벤질알콜 등의 화학물질을 이용하여 구조를 변형시킨 히알루론산 유도체를 만들어 사용할 수 있다.

상기 히알루론산은 천연 히알루론산, 이의 염, 이의 유도체 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 상기 히알루론산의 염은 생체에 적용하기에 적합한 임의의 염
25 형태일 수 있으며, 히알루론산 나트륨, 히알루론산 칼륨, 히알루론산 마그네슘, 히알루론산 아연, 히알루론산 코발트, 히알루론산 테트라부틸암모늄염, 또는 이들의 임의의 조합일 수 있다. 또한, 히알루론산의 유도체는, 천연 히알루론산 또는 이의 염이 가교제에 의해 가교화된 히알루론산 가교물일 수 있다.

상기 히알루론산은 용액으로서 주사제형으로 제제화하여 사용할 수 있다.
30 상기 히알루론산 용액은 천연 히알루론산, 이의 염, 이들의 혼합물 또는 이의

유도체를 생리식염수, 인산염완충식염수 또는 생체 적합성 식염수에 용해한 용액을 의미한다. 상기 히알루론산 용액은 투여 목적에 따라 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형으로 제제화할 수 있다.

- 5 상기 히알루론산 용액 내 히알루론산의 농도는 0.5 %(w/v) 내지 2.0 %(w/v), 0.7 %(w/v) 내지 1.8 %(w/v), 0.8 %(w/v) 내지 1.6 %(w/v), 또는 1.0 %(w/v) 내지 1.5 %(w/v)일 수 있다. 상기 히알루론산 용액이 상기 농도 범위일 때, 치료 효과가 우수하고, 용액의 점성이 주사기 또는 앰플 용기 충전에 적합하여 개체의 환부에 용이하게 투여할 수 있다. 상기 히알루론산은 관절강 내
10 투여될 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서는, 0.5 %(w/v) 농도의 히알루론산 용액을 주사기에 충전하여 관절강 내 투여하였다.

- 상기 간엽줄기세포는 다양한 대상으로부터 수득한 간엽줄기세포일 수 있다. 구체적으로, 상기 간엽줄기세포는 인간을 포함한 포유동물로부터 수득될 수 있다. 또한, 상기 간엽줄기세포는 다양한 기원의 조직으로부터 유래된
15 간엽줄기세포일 수 있다. 바람직하게는, 상기 간엽줄기세포는 체대혈로부터 유래된 것일 수 있다.

- 상기 간엽줄기세포는 상기 히알루론산 용액과 별개의 용액으로서 주사제형으로 제제화하여 사용할 수 있다. 구체적으로, 상기 간엽줄기세포 용액은 간엽줄기세포를 생리식염수, 인산염완충식염수, 생체 적합성 식염수,
20 또는 배양배지에 현탁시킨 용액일 수 있다. 또한, 상기 간엽줄기세포 용액은 냉동보관된 간엽줄기세포를 해동한 후 냉동제형(freezing solution)이 포함된 상태 그대로의 용액일 수 있다. 상기 간엽줄기세포 용액은 투여 목적에 따라 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형으로 제제화할 수 있다.

- 25 상기 간엽줄기세포 용액 내 간엽줄기세포의 함량은 1×10^5 세포(cells)/ml 내지 1×10^8 세포/ml일 수 있다. 구체적으로, 간엽줄기세포의 함량은 1×10^5 세포/ml 내지 1×10^8 세포/ml, 2×10^5 세포/ml 내지 5×10^7 세포/ml, 5×10^5 세포/ml 내지 2×10^7 세포/ml, 1×10^6 세포/ml 내지 1×10^7 세포/ml 또는 2×10^6 세포/ml 내지 5×10^6 세포/ml 일 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서는, 5×10^4
30 세포수의 간엽줄기세포를 포함하는 용액을 주사기에 충전하여 관절강 내

투여하였다.

상기 간엽줄기세포는 상기 히알루론산을 개체의 환부에 투여한 후, 바로 이어서 투여할 수 있으며, 1시간 내지 48시간, 3시간 내지 36시간, 6시간 내지 24시간 또는 9시간 내지 12시간의 간격을 두고 투여할 수도 있다.

- 5 상기 연골손상 관련 질환은 기계적 자극이나 염증 반응에 의해 연골 또는 연골 조직이 손상, 변성, 상실 또는 결함되어 발병되는 질환을 의미한다. 상기 연골 손상 관련 질환은 연골 또는 연골 조직의 손상, 변성, 상실 또는 결함으로 인해 발병되는 질환이거나, 연골 또는 연골 조직의 손상, 변성, 상실 또는 결함이 나타나지 않고, 주변 활막이나 관절포(articular capsule)의 염증으로
- 10 인해 발병되는 질환일 수 있다. 구체적으로, 상기 연골손상 관련 질환은 골관절염, 반월상 연골 파열(Meniscus tear), 변형성 관절증(arthrosis deformans) 또는 연골연화증(chondromalacia)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- 상기 골관절염의 발생 부위는 턱 관절, 어깨 관절, 팔꿈치 관절, 팔목
- 15 관절, 손가락 관절, 척추 관절, 엉덩이 관절, 무릎 관절, 발목 관절 또는 발가락 관절일 수 있다. 상기 약학 조성물은 상기 관절의 관절강 내에 투여될 수 있다.

본 발명의 다른 측면은, (i) 개체에 히알루론산을 투여하는 단계; 및 (ii) 상기 (i) 단계 이후에 상기 개체에 간엽줄기세포를 투여하는 단계를 포함하는 연골손상 관련 질환을 치료하는 방법을 제공한다.

- 20 상기 히알루론산 및 간엽줄기세포는 상기 약학 조성물에서 상술한 바와 동일하다. 또한, 상기 연골손상 관련 질환도 상기 약학 조성물에서 상술한 바와 동일하다.

상기 개체는 연골손상 관련 질환을 앓고 있는 개체일 수 있다. 또한, 상기 개체는 포유동물일 수 있으며, 구체적으로는 인간일 수 있다.

- 25 상기 히알루론산의 투여량은 0.5 mg/kg 내지 1.0 mg/kg일 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서는 300 g 내지 350 g의 래트에 10 mg/ml 농도의 히알루론산 용액을 25 μ l 투여하였다. 이때, 래트 한 마리에 투여된 히알루론산의 양은 0.25 mg으로, 체중 1 kg을 기준으로 환산하면 0.7 mg/kg 내지 0.8 mg/kg의 투여량 해당한다.

- 30 또한, 상기 간엽줄기세포의 투여량은 1×10^6 세포/개체 내지 1×10^8

세포/개체일 수 있다. 상기 간엽줄기세포의 투여량은 치료하고자 하는 연골 손상 부위의 크기에 따라 가감할 수 있으며, 일반적으로, 약 2 cm² 크기의 성인 슬관절의 경우 약 2×10^6 내지 1×10^8 세포수의 간엽줄기세포를 투여할 수 있다.

구체적으로, 상기 간엽줄기세포의 투여량은 5×10^4 세포/kg 내지 1×10^6 세포/kg, 1×10^5 세포/kg 내지 7×10^5 세포/kg, 2×10^5 세포/kg 내지 5×10^5 세포/kg일 수 있다. 또한, 상기 히알루론산의 투여량이 0.5 mg/kg 내지 1.0 mg/kg이고, 상기 간엽줄기세포의 투여량이 1×10^6 세포/개체 내지 1×10^8 세포/개체일 수 있다.

상기 히알루론산 및 간엽줄기세포는 필요에 따라 당업계에서 사용되는 통상적인 방법, 투여 경로, 투여량에 따라 적절하게 개체에 투여될 수 있다. 투여 경로의 예로는 관절강 내로 투여될 수 있다. 또한, 당업계에 공지된 방법에 따라 적절한 투여량 및 투여 횟수가 선택될 수 있으며, 실제로 투여되는 상기 조성물의 양 및 투여 횟수는 예방 또는 치료하고자 하는 증상의 종류, 투여 경로, 성별, 건강 상태, 식이, 개체의 연령 및 체중, 및 질환의 중증도와 같은 다양한 인자에 의해 적절하게 결정될 수 있다.

발명의 실시를 위한 형태

이하, 본 발명을 하기 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 범위가 이들만으로 한정되는 것은 아니다.

실시예 1: 골관절염 유발 래트 제작 및 약물 투여

골관절염 유발 래트를 제작하기 위해, Sprague-Dawley 래트에 5 mg/kg 용량의 졸레틸 50(Zoletil 50, VIRBAC, France) 및 2.5 mg/kg 용량의 자일라진(xylazine, Rompun®, BayerAG, Germany)을 복강 내 투여하여 마취시켰다. 그 후, 클리퍼(clipper)를 이용하여 양쪽 무릎 주변부를 제모하였다. 절개할 부위를 포비돈(povidone) 및 70% 알코올을 이용하여 소독한 후, 무릎의 피부를 절개하였다. 주변 피부 조직을 둔성분리(blunt dissection)하여, 우측 대퇴부 말단의 관절면을 노출시켰다. 그 후, 전십자 인대를 가위로 절단하였고, 4-0 나일론을 사용하여 창상을 봉합하였다. 7일 후, 연골 파괴 및 통증을

유발시키는 MIA(Monosodium iodoacetate)를 1 ml 주사기에 충전하여 60 mg/ml의 농도로 관절강 내 50 μ l 투여하였다. 좌측 무릎은 전십자인대를 절단하지 않고 MIA 투여만 실시하였다.

정상 래트 모델 및 골관절염 유발 래트 모델을 이용하여 총 5개의 그룹으로 구성하였다. 상기 각 그룹의 래트에 5 mg/kg 용량의 졸레틸 50 및 2.5 mg/kg 용량의 자일라진을 복강 내 투여하여 마취시켰다. 투여할 부위인 우측 무릎을 포비돈 및 70% 알코올로 소독하였다. 그 후, C-arm(ARCADIS Varic, SIEMENS Co.)으로 관절강을 확인하고, 31 게이지 니들(gauge needle)이 장착된 인슐린 주사기를 이용하여 우측 무릎의 슬관절강 내에 약물을 투여하였다. 투여 후 16주째, 조직병리학적 검사와 체중부하 실험(incapacitance test)을 진행하였다.

이때, 히알루론산은 10 mg/ml 농도(0.5 %)의 용액을 제조하여 25 μ l씩 투여하였다. 또한, 래트 한 마리 당 5×10^4 세포수의 간엽줄기세포를 투여하였다. 상기 간엽줄기세포(메디포스트, 한국)는 제대혈로부터 최초로 간엽줄기세포를 분리한 후, 액체질소에 냉동 보관되었던 간엽줄기세포를 해동하여 사용하였다.

또한, G1 그룹은 약물을 투여하지 않은 정상 래트 그룹이며, G2 그룹은 약물을 투여하지 않은 골관절염 유발 래트 그룹이다. 또한, G3 그룹은 골관절염 유발 래트에 0.5 %(w/v) 농도의 히알루론산을 투여한 그룹이고, G4 그룹은 골관절염 유발 래트에 0.5 %(w/v) 농도의 히알루론산과 제대혈 유래 간엽줄기세포를 혼합하여 투여한 그룹이다. G5 그룹은 골관절염 유발 래트에 0.5 %(w/v) 농도의 히알루론산을 먼저 투여한 후, 이후에 제대혈 유래 간엽줄기세포를 투여한 그룹이다.

실시에 2: 조직병리학적 검사

각 그룹의 래트들을 16주째 되는 날 희생시켜, 관절 조직을 채취한 후, 그 조직을 탈회, 삭정, 탈수, 파라핀 포매, 박절 과정을 거쳐 조직병리학적 검사를 위한 검체를 제작하였다. 그 후, H&E 염색(Hematoxylin & Eosin stain), Safranin-O 염색 및 II형 콜라겐(Type II Collagen)에 대한 항체를 이용하여 염색을 실시하고, 광학 현미경(Olympus BX53, Japan)을 이용하여 관찰하였다(도 1 및 도 2).

또한, 상기 광학 현미경을 이용해 촬영한 염색 사진을 기반으로 조직병리학적 검사를 진행하였다. 조직병리학적 검사는 골관절염에서 관찰되는 변화를 i) 관절면의 불규칙(surface irregularity) 정도, ii) 관절면의 궤양(ulceration) 정도, iii) 연골의 세열화(fibrillation) 정도, iv) 연골손실에 따른 골조직의 노출(exposure of subchondral bone) 정도, v) 변성 또는 괴사(degeneration/necrosis) 정도, vi) 연골 염색 감소(reduction of stain cartilage) 정도 및 vii) 섬유연골 대체(replacement of fibrocartilage) 정도의 7 가지 항목으로 구분하여 평가하였다. 각 병변의 정도는 병변이 없는 경우 0 점, 정도의 경우 1 점, 중등도의 경우 2 점, 고도의 경우 3 점의 총 4 단계로 구분하여 평가하였다. 평가 결과는 각 그룹별 평균값으로 계산하여 하기 표 1에 나타내었다.

[표 1]

n=8	G1	G2	G3	G4	G5
관절면의 불규칙 정도 (Surface irregularity)	0.1	2.9	3	2.9	2.4
관절면의 궤양 정도 (Ulceration)	0	2.8	2.6	2.4	1.9
연골의 세열화 정도 (Fibrillation)	0	2.9	2.9	2.9	2.6
연골손실에 따른 골조직의 노출 (Exposure of subchondral bone)	0	2	1.6	1.6	1.4
변성 정도 (Degeneration)	0.9	3	3	2.7	2.6
연골 염색 감소 정도 (Reduction of stain cartilage)	0.9	2.8	2.3	2.4	2
섬유연골 대체 정도 (Replacement of fibrocartilage)	0	2.8	2.8	2.4	2.1

상기 표 1에 나타난 바와 같이, G5 그룹은 궤양, 연골의 변성 및 연골의 염색 감소 항목에서 G4 그룹에 비하여 유의하게 낮은 것으로 나타났다. 또한, G5 그룹은 다른 대부분의 항목에서도 G4 그룹에 대비 낮은 경향을 나타냈다.

먼저, i) 관절면의 불규칙 정도는 G4 그룹에 비하여 G5 그룹에서 낮게 나타났고, 모든 관절염 유발 그룹(G2 내지 G5)의 관절면의 불규칙 정도는 G1에 비하여 유의하게 높은 것으로 관찰되었다($p < 0.001$).

또한, ii) 관절면 궤양 정도는 G2 그룹에 비하여 G5 그룹에서 유의하게 낮은 것으로 나타났고($p<0.05$), G4 그룹의 궤양 정도는 2.4인 반면, G5 그룹의 궤양 정도는 1.9로 G4 그룹보다 낮게 나타났다. 모든 관절염 유발 그룹(G2 내지 G5)의 관절면의 궤양 정도는 G1 그룹에 비하여 유의하게 높은 것으로 관찰되었다($p<0.001$).

나아가, iii) 연골의 세열화 정도는 G4 그룹의 세열화 정도는 2.9인 반면, G5 그룹의 연골의 세열화 정도는 2.6으로 G4 그룹보다 낮게 나타났다. 모든 관절염 유발 그룹(G2 내지 G5)의 연골의 세열화 정도는 G1 그룹에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났다($p<0.001$).

또한, iv) 골조직 노출 정도는 G4 그룹에 비하여 G5 그룹에서 낮게 나타났다. 모든 관절염 유발 그룹(G2 내지 G5)의 골조직 노출 정도는 G1 그룹에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났다($p<0.001$ 또는 $p<0.01$).

나아가, v) 변성 정도는 G4 그룹에 비하여 G5 그룹에서 낮게 나타났다. 모든 관절염 유발 그룹(G2 내지 G5)의 변성 정도는 G1 그룹에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났다($p<0.001$ 또는 $p<0.01$).

또한, vi) 연골 염색 감소 정도는 G4 그룹에 비하여 G5 그룹에서 낮게 나타났다. 모든 관절염 유발 그룹(G2 내지 G5)의 연골 염색 감소 정도는 G1 그룹에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났다($p<0.001$ 또는 $p<0.01$).

나아가, vii) 섬유연골 대체 정도는 G4 그룹에 비하여 G5 그룹에서 낮게 나타났다. 모든 관절염 유발 그룹(G2 내지 G5)의 섬유연골 대체 정도는 G1 군에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났다($p<0.001$ 또는 $p<0.01$).

실시예 3: 체중부하 실험

체중부하 실험은 약물 투여 후, 0주제 및 16주제에 Panlab INCAPACITANCE TESTER를 이용하여 플라스틱으로 된 래트 고정대를 60도 기울기로 세운 후, 각 군의 래트 뒷다리에 10초 동안 가해진 힘의 평균으로 계산하였다. 약물이 주입된 뒷다리에 분포된 체중의 백분율은 하기와 같은 계산식을 통해 측정하였다(도 3).

[계산식 1]

$$\text{백분율(\%)} = \frac{\text{유발된 하지의 무게}}{\text{정상 하지의 무게}} \times 100$$

그 결과, 약물 투여 후 16주째에, 모든 관절염 유발 그룹(G2 내지 G5)의 체중부하 정도는 G1 그룹에 비하여 통계학적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났다($p<0.001$). 또한, G4 그룹은 G3 그룹보다 체중부하가 유의하게 개선되었다($p<0.05$). 나아가, G5 그룹은 G3 그룹 및 G4 그룹보다 체중부하가
 5 유의하게 개선되었다($p<0.05$ 및 $p<0.001$) 이를 통해, 히알루론산을 먼저 투여한 후, 간엽줄기세포를 투여하는 경우, 체중부하에 의한 통증을 완화시킬 수 있음을 확인하였다(도 4).

실시예 4: 미세단층 촬영(Micro-CT)

10 Micro CT를 이용하여 약물 투여 전 및 16주째 희생 후, 무릎 관절 손상부위의 촬영을 실시하였다. 무릎 관절 평가는 촬영한 경골부(tibia)와 대퇴부(femur)의 횡단면 영상에서 구조적 요소와 골밀도를 프로그램(HP DECwindows Motif for OpenVMS, Version 1.7)을 이용해 분석하였다.

먼저, 경골부의 분석결과는 각 그룹별 평균값으로 계산하여 하기 표 2에
 15 나타내었다.

[표 2]

항목	G1 (n=8)	G2 (n=8)	G3 (n=8)	G4 (n=8)	G5 (n=8)
골면적 비율/총 면적 (bone volume /total volume)	0.31	0.18	0.20	0.21	0.24
골 표면적/골면적 비율 (bone surface area /bone volume)	3.24	4.17	3.78	4.01	3.71
골지주 수 (bone trabecular number)	0.57	2.9	0.3	0.31	0.36
골지주 두께 (bone trabecular thickness)	0.52	0.32	0.38	0.38	0.37
골지주 분리 (bone trabecular separation)	1.16	2.52	2.08	2.16	1.94

상기 표 2에 나타난 바와 같이, 약물 투여 후, 16 주째에 G5 그룹의 골면적 비율/총 면적(bone volume/total volume)은 G2 그룹 및 G4 그룹에 비하여
 20 유의하게 높게 나타났다($p<0.01$). 또한, 골 표면적/골면적 비율(bone surface area/bone volume)은 G4 그룹에 비하여 G5 그룹에서 낮게 나타났다.

나아가, G5 그룹의 경우, 16 주째 골지주 두께(bone trabecular number)를 제외한 골지주 수(bone trabecular number) 및 골지주 분리(bone trabecular separation) 모두 G4 그룹과 비교하여 유의한 차이가 관찰되거나, 개선되는 경향을 확인할 수 있었다.

- 5 또한, 대퇴부의 분석결과는 각 그룹별 평균값으로 계산하여 하기 표 3에 나타내었다.

[표 3]

항목	G1 (n=8)	G2 (n=8)	G3 (n=8)	G4 (n=8)	G5 (n=8)
골면적 비율/총 면적 (bone volume /total volume)	0.29	0.15	0.14	0.18	0.23
골 표면적/골면적 비율 (bone surface area /bone volume)	3.49	4.30	3.77	4.24	3.74
골지주 수 (bone trabecular number)	0.56	0.28	0.28	0.30	0.39
골지주 두께 (bone trabecular thickness)	0.55	0.39	0.43	0.47	0.37
골지주 분리 (bone trabecular separation)	1.23	2.73	2.81	2.53	2.11

- 상기 표 3에 나타난 바와 같이, 약물 투여 후, 16 주째에 G5 그룹의 골면적 비율/총 면적은 G2 그룹에 비하여 유의하게 높았으며($p<0.01$), G4 그룹에
10 비해서도 높게 나타났다. 또한, 골 표면적/골면적 비율은 G4 그룹에 비하여 G5 그룹에서 낮게 나타났으며, 골지주 수는 G4 그룹에 비하여 G5 그룹에서 높게 나타났다. G5 그룹의 골지주 분리는 G2 그룹에 비하여 유의하게 낮았으며($p<0.05$), G4 그룹에 비해서도 낮게 나타났다.

- 15 나아가, G5 그룹의 경우, 16 주째 골지주 두께를 제외한 모든 검사 항목에서 G4 그룹과 비교하여 유의한 차이가 관찰되거나, 개선되는 경향을 확인하였다(도 5).