

건강기능식품 기능성 평가 가이드

(민원인 안내서)

근육 관련

2024. 5.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

지침서·안내서 제·개정 점검표		
명칭	건강기능식품 기능성 평가 가이드 (근육 관련)	
아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.		
등록대상 여부	☐ 이미 등록된 지침서·안내서 중 동일·유사한 내용의 지침서·안내서가 있습니까?	☒ 예 ☐ 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. (사유 :)	
	☐ 법령(법·시행령·시행규칙) 또는 행정규칙(고시·훈령·예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 1년 이내 한시적 적용 또는 일회성 지시·명령에 해당하는 내용입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 외국 규정을 번역하거나 설명하는 내용입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☒ 상기 사항 중 어느 하나라도 '예'에 해당되는 경우에 지침서·안내서 등록 대상이 아닙니다. 지침서·안내서 제·개정 절차를 적용하실 필요는 없습니다.	
지침서·안내 서 구분	☐ 내부적으로 행정사무의 통일을 기하기 위하여 반복적으로 행정사무의 세부기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)	☐ 예(지침서) ☒ 아니오
	☐ 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용)	☒ 예(안내서) ☐ 아니오
기타 확인 사항	☐ 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설·강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☒ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침서·안내서 제·개정 절차를 진행하시기 바랍니다.	
상기 사항에 대하여 확인하였음.		
2024년 5월 일		
담당자 확 인(부서장)		서 은 채 이 혜 영

이 안내서는 건강기능식품 기능성 원료 평가에 대하여 이해를 돕고자, 현재의 과학기술 수준에서 일반적인 사항과 시험방법 등이 제시된 참고자료이며, 질병에 관련된 내용이 포함되는 경우 기능성에 대한 전반적인 이해를 돕기 위한 것이지, 질병의 치료 및 예방을 목적으로 기능성을 설명하는 것은 아닙니다.

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 2023년 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 지침서등의 관리에 관한 규정 제2조)

※ 본 안내서에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품 안전평가원 식품위해평가부 영양기능연구과으로 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-4402, 4409, 4416, 4417, 4419, 4422, 4428, 4429

팩스번호: 043-719-4420

제·개정 이력

연번	제·개정번호	승인일자	주요내용
1	안내서-1055-01	2020.9.	제정 (근력 관련)
2	안내서-1055-02	2023.12.	· 노화로 인해 감소 될 수 있는 근력 유지에 도움을 줄 수 있음(개정) · 노화로 인해 감소도리 수 있는 근기능 유지에 도움을 줄 수 있음(제정) * 기능성 내용의 세분화에 따른 대상자 선정·제외기준, 바이오마커 등 명확화
3	안내서-1055-03	2024.5.	개정 (일반적사항, 기능성 시험 방법)

※ 건강기능식품의 기능성 개요	1
------------------------	---

※ 약어	3
------------	---

I 서론	4
-------------	----------

II 일반적 사항	4
------------------	----------

1. 개요	4
-------------	---

III 기능성 시험 방법	23
----------------------	-----------

1. 바이오마커 선정	23
-------------------	----

2. 바이오마커 측정 방법	35
----------------------	----

3. 시험 설계 시 고려사항	46
-----------------------	----

4. 안전성 평가	53
-----------------	----

IV 참고문헌	54
----------------	-----------

건강기능식품의 기능성 개요

□ 기능성 정의

「건강기능식품에 관한 법률」제3조(정의) : 기능성이란 인체의 구조와 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 것을 말한다.

□ 기능성 구분

건강기능식품의 기능성은 3가지로 구분할 수 있다.

○ 건강기능식품의 기능성 구분

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 기능향상 또는 건강 유지·개선을 나타내는 기능	기능성 원료
질병발생 위험감소 기능	질병의 발생 또는 건강 상태의 위험감소와 관련한 기능	

□ 건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준

건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준은 다음과 같다.

○ 건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준

구분	기능성 내용	인정기준
질병발생 위험 감소 기능 ¹⁾	○○발생위험 감소에 도움을 줌	기반연구 자료를 통해 생리화학적 효과 또는 기전이 명확하게 입증되어야 하고 일관성 있는 바이오마커의 개선효과가 다수의 인체적용시험(RCT)에서 확보 되어야 함 ※ 질병 관련 바이오마커의 확인
생리활성 기능 ²⁾	○○에 도움을 줄 수 있음	기반연구 자료를 통해 기능성 있는 생리화학적 효과 또는 기전을 추측할 수 있어야 하고 일관성 있는 바이오마커의 개선효과가 최소 1건 이상의 인체 적용시험(RCT)에서 확보되어야 함(추측 제안기전과 관련한 바이오마커가 기반연구시험과 인체적용 시험에서 일관성 있게 확인되어야 함) ※ 생리활성 관련 바이오마커의 확인

¹⁾ 제출된 기능성 자료가 질병의 발생 위험 감소를 나타내며, 확보된 과학적 근거 자료의 수준이 상당한 과학적 합의(Significant Scientific Agreement)에 이를 수 있을 정도로 높을 경우 인정. 상당한 과학적 합의(Significant Scientific Agreement)란 성분 또는 원료와 건강효과 간의 상관성이 새로운 과학에 의해 뒤집어지지 않을 정도의 수준으로 관련 분야의 전문가들에 의한 만장일치에 가까운 합의 수준을 말함

²⁾ 제출된 기능성 자료가 인체의 정상기능이나 생물학적 활동에 특별한 효과가 있어 건강상의 기여나 기능향상 또는 건강유지개선을 나타내는 경우 인정

약어

Ach	Ach(acetylcholine)
AWGS	Asian Working Group for Sarcopenia
BIA	Bioelectrical Impedance Analysis
CAT	Catalase
CSA	Cross-sectional area
CT	Computed tomography
DCF-DA	Dichlorofluorescein diacetate
DXA	Dual-Energy X-ray Absorptiometry
EI	Echo intensity
EtBr	Ethidium Bromide
EWGSOP	European Working Group on Sarcopenia in Older People
FoxO3a	Forkhead box O 3a
IGF-1	Insulin-like growth factor-1
IL-6	Interleukin 6
MDA	Malondialdehyde
MEF2	Myocyte enhancer factor 2
MHC	Myosin heavy chain
MRI	Magnetic resonance imaging
mTOR	mammalian target of rapamycin
MuRF1	Muscle RING finger 1
Myf5	Myogenic regulatory factor 5
MyoD	Myoblast determination protein 1
NF- κ B	Nuclear factor kappa B
OCR	Oxygen consumption rate
Pax7	Paired box protein7
PI3K	Phosphatidylinositol-3-kinase
ROS	Reactive oxygen species
SPPB	Short physical performance battery
SOD	Superoxide dismutase
S6K	70-kDa ribosomal S6 protein kinase
TAS	Total antioxidant status
TNF- α	Tumor necrosis factor- α
TUG	Timed up and go
4E-BP1	4E-binding protein 1
8-OH-dG	8-hydroxy-2'-deoxyguanosine
8-oxodG	8-Oxo-2'-deoxyguanosine

I 서론

이 가이드는 건강기능식품 기능성원료를 개발하는 연구자 및 영업자에게 식품의약품 안전처의 기능성(근육 관련) 평가 원칙 및 기준 등을 알림으로써 산업체의 기능성 원료 연구개발에 적정을 기하고 효율성을 높이고자 작성되었다.

II 일반적 사항

1. 개요

가. 인체와 근육

근육(muscle)은 체중의 약 40~50%를 차지하며, 근육의 수축과 이완을 통해 움직임을 지속할 수 있다.

(1) 근육의 형태

근육의 종류는 크게 세 종류로 나누어지는데 골격근(뼈대근육), 내장근, 심장근이다. 골격근은 몸무게의 약 절반을 차지하고 건을 통해 뼈에 붙어 있다. 주된 기능은 관절운동이며 자세유지와 열생산도 한다. 체성신경계의 자극을 받아 의지대로 움직일 수 있는 수의근이다. 현미경으로 보면 골격근 세포는 다핵이며 가로무늬(횡문근)가 있다. 인체에서 가장 많은 양을 차지하고 있는 골격근 위에 피부가 위치하고 있다. 내장근은 내장벽과 혈관을 구성하고 있다. 내장과 혈관 등의 운동을 담당하고 있으며 의지대로 움직일 수 없는 불수의근이다. 내장근의 세포는 단핵이며 가로무늬(민무늬근)가 없다. 심장근은 오직 심장벽에만 존재한다. 심장근의 세포는 단핵이고, 가로무늬(횡문근)가 있으며 의지대로 움직일 수 없는 불수의근이다.

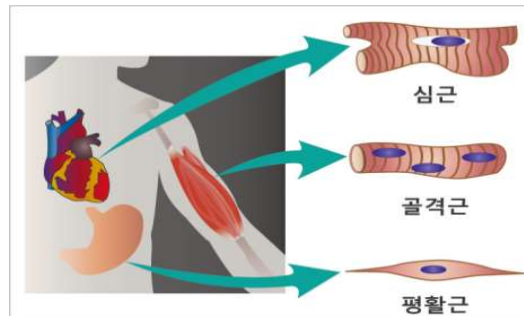


그림 1. 근육의 형태

[출처: 근육학 쉽게 공부하기, 2018]

(가) 골격근

일반적으로 근육은 대부분 골격근을 말하는데 골격근은 근육섬유(muscle fiber, 근섬유(myofiber) 또는 근육세포(muscle cell)라고도 함) 및 관련 결합 조직의 매우 특별하고 잘 형성된 배열이 특징이다. 각 근육섬유는 수천 개의 근원섬유(myofibrils)로 구성되어 있으며 수십억 개의 근잔섬유(myofilaments)를 포함한다. 또한 각각은 근형질막(sarcolemma)으로 둘러싸여 있으며 근내막(endomysium)은 근육섬유를 둘러싸고 있다(그림 2). 이러한 근육섬유들이 모여서 근육다발(fasciculus)을 이루고 근육다발은 근육다발막(perimysium)으로 알려진 고유한 결합조직 외피로 둘러싸여 있다. 이 외피의 결합조직은 근육의 몸체를 말하며 근육바깥막(epimysium)으로 알려진 덮개로 싸여 골격근을 이룬다.

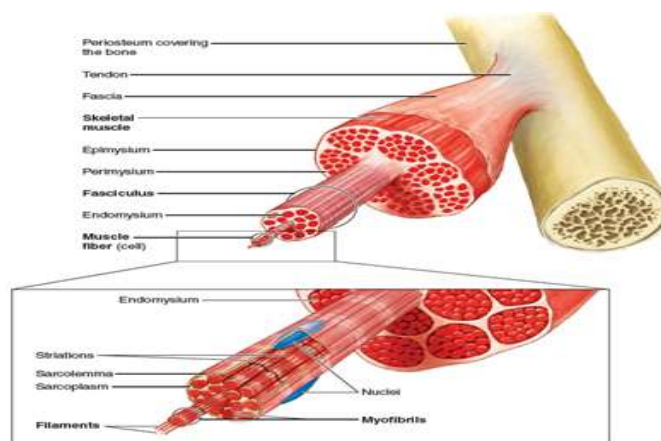


그림 2. 골격근의 구조

[출처: Fox, Stuart Ira. Human physiology. fourteenth edition. McGraw-Hill, 2016]

① 근육섬유(muscle fiber)

근육은 가늘고 긴 근육세포(근육섬유라고도 함)가 모인 것으로 골격근에서 하나의 세포는 수백~수천 개나 되는 세포가 융합된 것이다. 골격근의 운동 단위인 근육섬유는 긴 모양의 길쭉한 세포이며, 길이는 1~50 cm, 직경은 10~100 μm 이다. 각 근육섬유는 긴 원통 모양의 근원섬유로, 근원섬유는 근육분절(근절, 근육섬유 마디, sarcomeres)이라는 수축성 단위로 구성된다. 각 근육분절은 Z선에서 Z선까지이고 가는 미세섬유(thin filament), 액틴(actin)과 굵은 미세섬유(thick filament), 미오신(myosin)이라는 수축성 단백질의 배열로 이루어진다(그림 3).

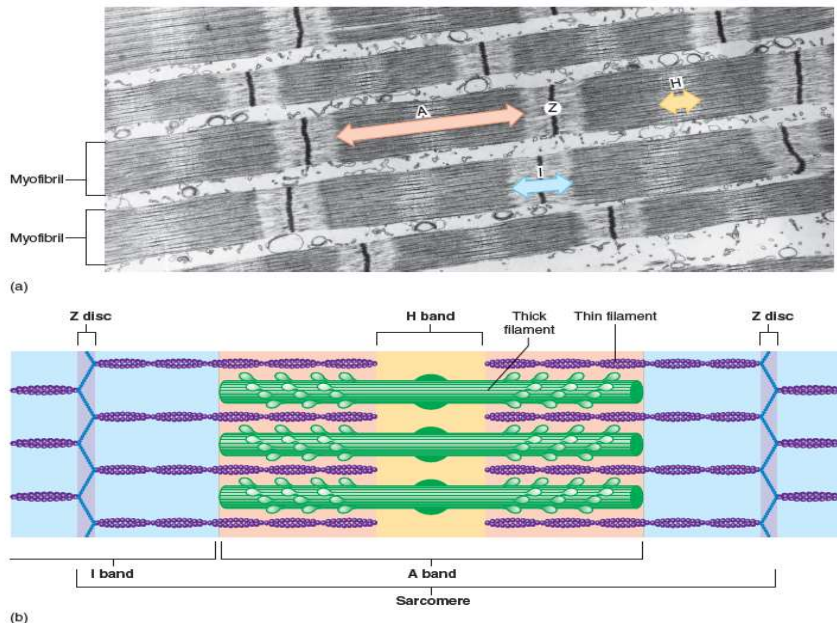


그림 3. 근육섬유

[출처: Fox, Stuart Ira. Human physiology, fourteenth edition, McGraw-Hill, 2016]

② 근형질(sarcoplasm)

근형질은 근육세포 내의 세포질로 근원섬유 약 50%, 근형단백질(sarcoplasmic proteins, 헤모 색소(미오글로빈), 해당효소, 미토콘드리아 산화효소, 리소좀 효소(카텝신), 핵단백질 등이 해당) 25%, 근형질막 5%, 미토콘드리아(mitochondria)와 근소포체(sarcoplasmic reticulum) 막단백질과 그 외 글리코젠(glycogen)과 글루코오스(glucose)로 구성되어 있다.

(2) 근육과 운동

(가) 운동신경종판(motor end-plate) 및 운동 단위(motor unit)

생체 내에서 각각의 근육섬유는 체세포 운동 뉴런(somatic motor axon)으로부터 신호를 받는다. 운동 뉴런은 신경근 접합부(neuromuscular junction)에서 아세틸콜린을 방출함으로써 근육섬유의 수축을 자극한다. 근육섬유에서 신경근 접합부의 특정 부위를 운동신경종판이라 한다(그림 4). 활동전위에 의한 운동 뉴런 축삭의 탈분극은 아세틸콜린의 방출을 야기하며 방출된 아세틸콜린은 운동 뉴런의 축삭 말단과 근육섬유의 운동신경종판 사이의 시냅스 틈을 통해 빠르게 확산되어 근육섬유의 니코틴-아세틸콜린 수용체(nicotin ACh receptor)에 결합한다. 이 결합은 아세틸콜린 수용체 이온 채널을 열리게 하여 활동전위를 자극하는 탈분극을 생성한다. 이렇게 생성된 활동전위(activity potential)는 골격근의 수축을 야기한다.

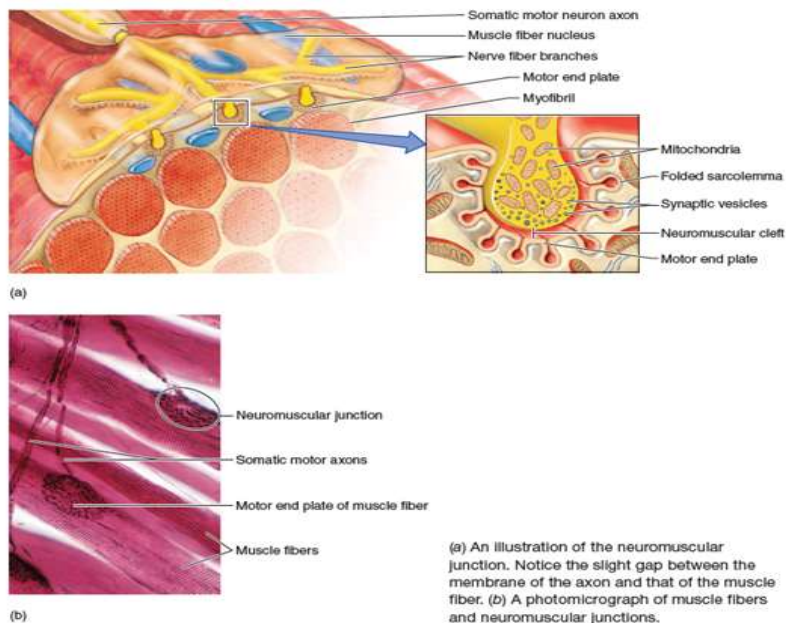


그림 4. 운동신경종판

[출처: Fox, Stuart Ira. Human physiology. fourteenth edition. McGraw-Hill, 2016]

체세포 운동 뉴런의 세포체(cell body)는 척수 회백질의 전각(ventral horn)에 위치해 있으며 척수 신경의 전근(central root)으로 단일 축삭을 생성할 수 있다. 이 축삭들은 근육섬유에 신경을 전달하기 위해 많은 가지를 생성할 수 있다. 각각의 체세포 운동 뉴런은 많은 축삭을 통해 연결된 근육섬유와 함께 운동 단위를 형성한다(그림 5). 각각의 체세포 운동 뉴런이 활성화될 때 연결되어있는 모든 근육섬유가 함께 수축하도록 자극한다. 즉, 하나의 체세포 운동 뉴런과 연결된 모든 근육섬유로 구성되어있는 하나의 운동 단위는 함께 조절된다. 근수축 강도에 대한 미세한 신경 제어는 많은 작은 운동 단위로 구성되어 있을 때 효율적이다. 근수축의 힘을 점진적으로 증가 시킬 때에는 두 가지 과정이 발생한다. 첫 번째는 수축을 자극하는 신호의 힘이 커질 수 있도록 신호 전달 빈도를 증가시키는 것이며 두 번째는 수축의 강도를 증가시키기 위해 운동 뉴런 당 연결된 근육섬유의 수를 증가시켜 더 큰 운동 단위를 구성하는 것이다.

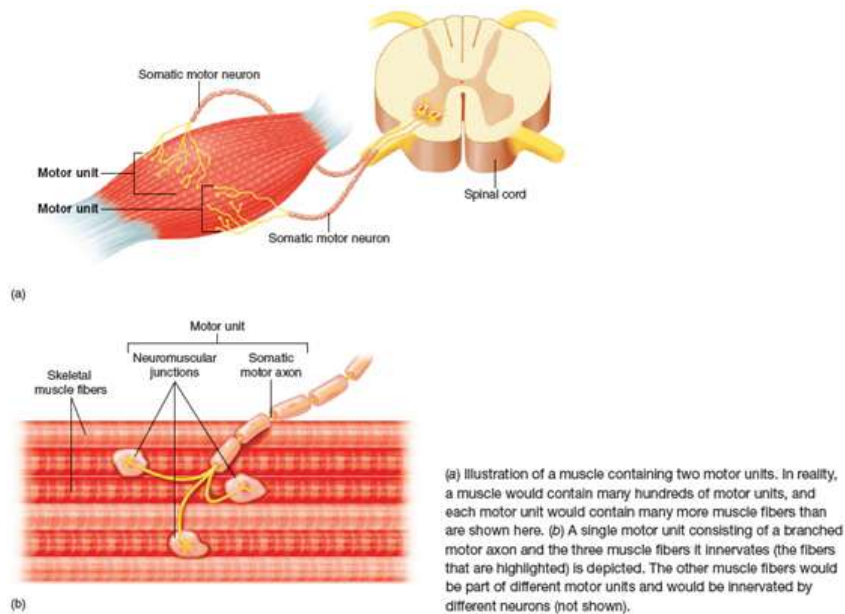


그림 5. 운동 단위

[출처: Fox, Stuart Ira. Human physiology. fourteenth edition. McGraw-Hill, 2016]

(3) 수축 메커니즘

(가) 근수축 활주설(sliding filament theory of contraction)

근육이 수축하게 되면 근육섬유들의 수축으로 인하여 그 길이가 줄어든다. 근육섬유의 수축은 근원섬유의 수축으로 인하여 나타나는 현상이고 이는, Z선으로부터 Z선 까지의 거리가 줄어들게 됨에 따라 나타난다. A band가 짧아지지는 않지만, 그 위치가 서로 가까이 위치하게 됨으로써 근절이 짧아진다. 연속적인 A band 사이의 거리를 의미하는 I band는 근육이 수축함에 따라 그 길이가 짧아진다. 하지만 I band를 구성하는 가는 섬유의 길이가 짧아지는 것은 아니다. 근육이 수축할 때, 가는 섬유와 두꺼운 섬유의 길이 자체는 변하지 않는다. 근절이 짧아지는 것은 근육섬유가 짧아짐으로써가 아니라, 가는 섬유와 두꺼운 섬유가 sliding하기 때문이다. 근육의 수축 과정에서, 양쪽 A band에 위치한 얇은 섬유는 중앙으로 더 깊게 slide 하여 두꺼운 섬유와 겹치는 부분의 비중이 커지게 되는 원리로 I band와 H band의 길이가 짧아져 보이게 된다(그림 6).

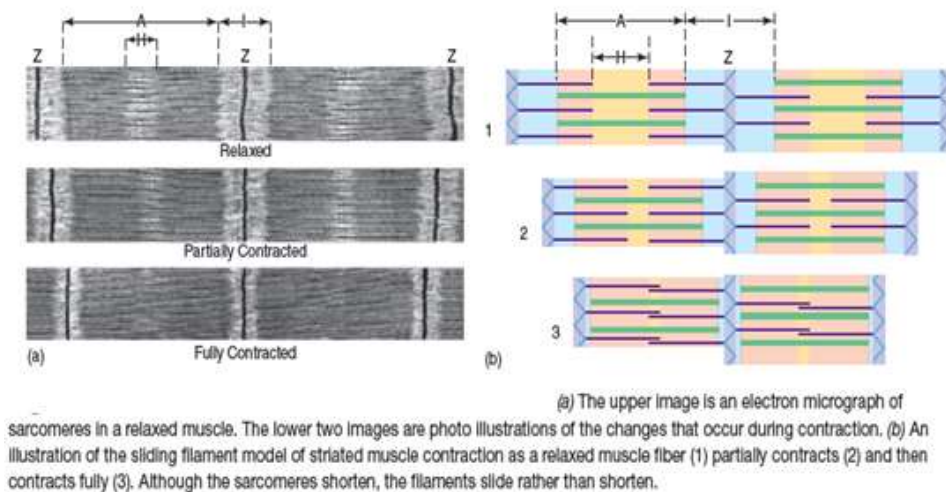


그림 6. 근수축

[출처: Fox, Stuart Ira. Human physiology. fourteenth edition. McGraw-Hill, 2016]

(나) 근수축의 조절

① Ca^{2+} 의 역할

근육세포가 수축하도록 자극을 받으면 근형질 내에 근소포체에 있던 Ca^{2+} 을 방출하면서 Ca^{2+} 을 빠르게 상승시킨다. Ca^{2+} 중 일부는 트로포닌(troponin)에 부착되어 교차결합(cross bridge)이 액틴에 부착될 수 있도록 트로포닌 복합체(troponin complex)와 부착된 트로포미오신(tropomyosin)을 이동시키는 구조적 변화를 일으킨다(그림 7). 미오신 머리가 액틴의 결합부위와 결합한 후 굴곡하게 되면 액틴필라멘트가 근절 중앙으로 끌려 들어가서 근절의 길이가 짧아지게 된다. 이것이 근육의 수축현상이며 활동전위가 끝나면 근소포체로 Ca^{2+} 이 재흡수되고 액틴과 미오신의 상호작용이 사라지면서 트로포미오신 작용이 회복되어 액틴필라멘트는 원래 위치로 돌아와 근육이 이완하게 되는 것이다.

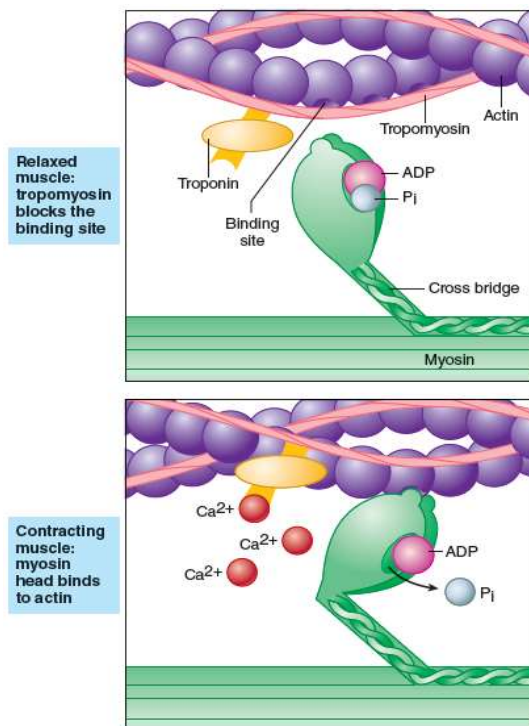


그림 7. 근수축에서 Ca^{2+} 의 작용

[출처: Fox, Stuart Ira. Human physiology, fourteenth edition, McGraw-Hill, 2016]

② 직렬탄성요소(series-elastic component)

근육이 수축할 때 짧아지기 위해서는 근육의 수축되지 않은 부분과 힘줄의 결합조직이 먼저 팽팽하게 당겨져야 한다. 이러한 구조, 특히 근육의 힘줄과 결합조직의 콜라겐 섬유와 근절 내의 티틴(titin) 분자는 탄성을 가지고 있다. 즉, 그들은 팽창에 저항하고 팽창하는 힘이 해제되면 휴식 길이(resting lengths)로 되돌아간다. 이러한 탄성구조는 근수축의 힘과 일직선에 있기 때문에 소위 직렬탄성요소라고 한다.

(다) 수축의 기본 형태

① 연축(single twitch)

역치 이상의 자극에 의하여 근육이 급속히 한 번 수축하였다가 이어서 이완되기까지의 과정을 말한다.

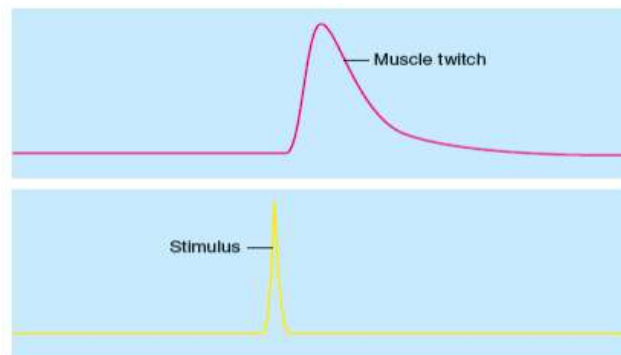


그림 8. 근육의 연축

[출처: Fox, Stuart Ira. Human physiology, fourteenth edition. McGraw-Hill, 2016]

② 등장성 수축(isotonic contraction)

장력의 변화 없이 근육의 길이가 변화되어 일어나는 수축이다. 근육의 길이가 늘어나면서 수축하는 원심성 수축(eccentric contraction)과 근육의 길이가 짧아지면서 수축하는 구심성 수축(concentric contraction)으로 분류된다.

③ 등척성 수축(isometric contraction)

근육의 양 끝을 고정시켜 근육의 길이는 변화 없고 장력만을 나타내는 수축이다.

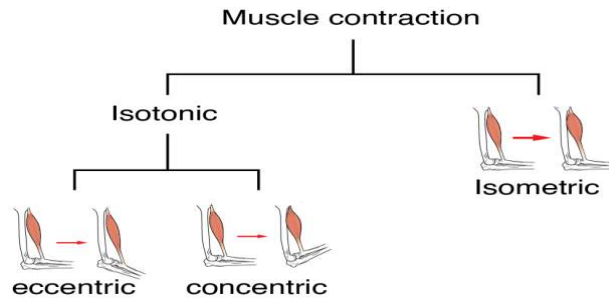


그림 9. 근수축의 종류

[출처: <https://open.oregonstate.edu/aandp/chapter/10-4-nervous-system-control-of-muscle-tension/>]

④ 강축(tetanus)

적당한 시간적 간격에 의한 자극으로 연속이 합쳐져 더 크고 지속적인 수축이 일어나는 현상이다.

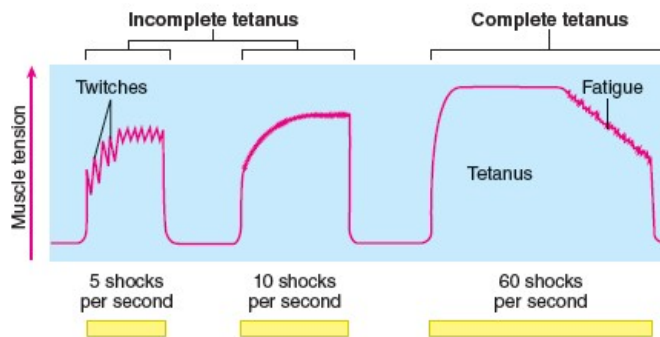


그림 10. 근육의 강축

[출처: Fox, Stuart Ira. Human physiology. fourteenth edition. McGraw-Hill, 2016]

⑤ 긴장(tonus)

계속적인 약한 자극으로 근육이 항상 약한 수축을 하고 있는 현상이다.

⑥ 구축(contracture)

몸이 굳어서 뻣뻣해진 상태이다.

⑦ 마비(paralysis)

중추신경계와 운동신경계의 손상으로 흥분전달이 차단되어 수의적 수축이 불가능한 현상이다.

⑧ 비대(hypertrophy)

과도한 근육운동에 의해 근육부피가 커지고 수축력이 커지는 현상이다.

(4) 근육의 에너지 요구량

(가) 근육의 대사

① 최대 산소 섭취량 젖산 역치(maximal oxygen uptake and lactate threshold)

신체의 최대 산소 소비율을 최대 산소 섭취량($VO_2 \max$)이라고 부른다. 운동 강도는 젖산 역치를 통해 알 수 있다. 이는 혈중 젖산 수치가 크게 증가하는 최대 산소 섭취량을 백분율로 표현한다.

② 운동 중 에너지 사용량(energy usage during exercise)

가벼운 운동 시 근육의 에너지는 지방산의 호기성 호흡에서 얻는다. 이는 주로 지방 조직에 저장된 지방에서 파생된다. 격렬한 운동 시 근육 글리코겐이 주요 에너지원이고 실제로 근육의 글리코겐 함량은 격렬한 운동을 얼마나 오래 유지할 수 있는지 결정할 수 있는 요인 중 하나이다.

③ 산소 부채(oxygen debt)

운동을 중단했을 때 산소 섭취율이 운동 전 수준으로 즉시 돌아가지 않고 천천히 돌아온다. 운동을 중단하고 나면 한동안 심호흡을 하게 되고 이 여분의 산소는 운동 중에 부족한 산소를 공급하는데 사용한다. 산소 부채에는 혈액의 헤모글로빈과 근육의 미오글로빈, 신진대사에 필요한 산소, 혐기성대사 동안 생성된 젖산의 대사에 필요한 산소가 포함된다.

④ 인산크레아틴(phosphocreatine)

짧고 강렬한 운동을 하는 동안 ATP는 무산소 대사와 유산소 호흡보다 더 빨리 소모된다. 이때 ATP의 빠른 재생은 운동을 지속하는데 중요하며 ADP가 인산크레아틴 또는 크레아틴 인산염과 결합함으로써 달성된다. 근육 세포 내에서 인산크레아틴 농도는 ATP 농도의 3배 이상이며 ATP의 생산은 매우 효율적이기 때문에 휴식에서 운동까지 ATP 분해속도가 급격히 증가하더라도 유산소에 적응한 근육에서는 근육 내 ATP 농도가 약간만 감소하게 된다. 반대로 휴식 시에는 고갈된 인산크레아틴은 역반응(ATP에서

파생된 인산염과 크레아틴의 인산화)을 통해 회복된다(그림 11).

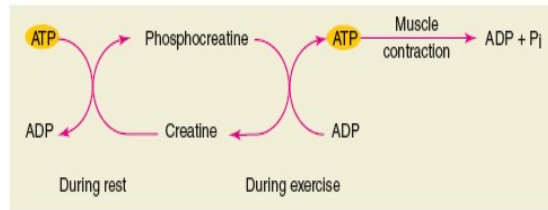


그림 11. 근육에서 인산크레아틴의 생산과 사용

[출처: Fox, Stuart Ira. Human physiology, fourteenth edition. McGraw-Hill, 2016]

(나) 근육의 섬유유형

근육섬유는 수축하는 속도에 따라 느리게 수축하는 제1형(type I)과 빠르게 수축하는 제2형(type II)로 분류된다. 느리게 수축하는 제1형 근육섬유는 모세혈관이 풍부하며, 미토콘드리아의 수가 많고, 유산소 호흡에 사용되는 효소 및 미오글로빈이 풍부한 특징을 가지고 있다. 따라서 느리게 수축하는 제1형 근육섬유는 붉으며, 미토콘드리아의 유산소 호흡을 통해 필요한 ATP를 얻기 때문에 피로감 없이 다른 근육에 비해 오래 수축할 수 있다. 반면, 빠르게 수축하는 제2형 근육섬유는 느리게 수축하는 제1형 근육섬유에 비해 적은 모세혈관, 적은 양의 미토콘드리아와 미오글로빈을 함유하고 있다. 빠르게 수축하는 제2형 근육섬유는 많은 양의 글리코겐과 높은 농도의 해당 작용에 사용되는 효소를 저장하고 있음으로써, 산소가 부족한 환경에서도 적응을 한다. 제1형과 제2형 근육섬유 이외에도, 인간의 근육은 제1형과 제2형 근육섬유의 중간적 특성을 가진 근육섬유인 제2X형(type IIX)가 존재한다. 제2A형(type IIA) 근육섬유의 경우 근수축이 빠르지만 산화적 능력(oxidative capacity)이 높아 비교적 근육의 피로에 저항성을 가진다. 또 다른 섬유인 제2X형 근육섬유는 높은 해당 작용의 비중으로 인하여 산소가 부족한 조건에서 적응할 수 있다(그림 12).

Feature	Slow Oxidative/Type I (Red)	Fast Oxidative/Type IIA (Red)	Fast Glycolytic/Type IIX (White)
Diameter	Small	Intermediate	Large
Z-line thickness	Wide	Intermediate	Narrow
Glycogen content	Low	Intermediate	High
Resistance to fatigue	High	Intermediate	Low
Capillaries	Many	Many	Few
Myoglobin content	High	High	Low
Respiration	Aerobic	Aerobic	Anaerobic
Oxidative capacity	High	High	Low
Glycolytic ability	Low	High	High
Twitch rate	Slow	Faster	Fastest
Myosin ATPase rate	Low	Higher	Highest

그림 12. 근육의 섬유유형

[출처: Fox, Stuart Ira. Human physiology, fourteenth edition. McGraw-Hill, 2016]

(다) 근육의 피로

근육의 피로는 힘을 생성하는 근육의 능력이 운동으로 인해 가역적으로 감소하는 것으로 정의할 수 있다. 극도로 무거운 중량을 들어 올릴 때와 같이 모든 운동 단위가 사용되고 최대 수축 동안의 피로는 세포 외 K^+ 의 축적 때문이며 이는 근육섬유의 막전위를 탈분극시켜 활동전위 생성을 방해한다. 또한 근육 피로는 어떤 운동을 했는지에 따라 달라질 수 있다. 피로에 기여할 수 있는 운동으로 인한 근육 변화는 4가지로 첫 번째는 세포질에서 인산크레아딘의 분해로 PO_4^{3-} 의 농도가 증가하는 것이다. 두 번째는 ATP의 감소로 근소포체 주변에서 Ca^{2+} 펌프 작용을 방해하는 것이다. 세 번째로 근육 글리코겐의 고갈로 인해 근소포체에서 Ca^{2+} 의 방출을 감소하는 것이다. 마지막으로 세포질에서 ADP가 증가하는 것이다. 이는 근육 피로 동안 근수축의 속도를 감소시키게 된다.

나. 노화와 근육의 변화

(1) 위성세포(satellite cell)

줄무늬근을 구성하는 근육섬유는 스스로 분열할 수 없다. 따라서 근육섬유의 손상에 대해 위성세포로 불리는 줄기세포를 근막 사이에 가지고 있다. 위성세포는 손상된 근육 부위에서 활성화되어 근원세포(myoblast)로 분화하며 손상된 근육섬유와 융합하여 손상된 근육섬유를 재생시킨다. 또한 근육의 증가나 근육섬유의 두께 증가로 인해 부피가 커질 때, 근육섬유의 핵의 수는 부피에 비례하여 증가해야 한다. 이때 증가하는 핵은 위성세포로부터 획득하게 된다. 즉, 위성세포는 골격근의 항상성을 유지하고 재생시키는 역할을 한다. 노화 시 위성세포의 수적 감소가 관찰되며 특히 제 2형 근육섬유에서의 감소가 두드러진다. 이러한 위성세포의 감소로 인해 근육 손상에 대한 회복이 더뎒으며 골격근 항상성에 문제가 발생한다. 위성세포의 수 감소 외에도 노화에 따라 증가되는 interleukin 6(IL-6)와 같은 염증성 사이토카인이 insulin-like growth factor1(IGF-1)과 같은 단백질 합성 기전을 억제하거나 위성세포를 노화시킴으로써 위성세포의 활성을 억제하고 근육의 위축을 야기할 수 있다.

(2) 근육섬유(muscle fiber)

(가) 근육섬유의 양적변화

팔다리의 골격근은 근육섬유의 다발로 구성되어 있고 정상적인 성인의 근육섬유 크기는 12~15세 사이에 도달하는 것을 알려져 있으며 평균적으로 총 근육의 양과 크기는 24세에 최대치에 도달하는 것으로 알려져 있다. 근육섬유의 양은 노화에 따라 감소하는데 80세에서 약 40% 감소 된 근육섬유의 양이 확인된다. 이러한 감소량 중 5% 정도는 50세까지 감소하는 것으로 알려져 있으며 대부분인 35%는 50~80세 사이에 나타나는 것으로 알려져 있다.

(나) 근육섬유의 질적변화

노화과정에서 근육섬유의 크기 감소가 근 위축을 유발하는 가장 큰 원인이나 근육섬유의 질적 변화도 주요한 원인으로 부상하고 있다. 근육섬유는 크게 느리게 수축하는 제1형(type I)과 빠르게 수축하는 제2형(type II)으로 나뉜다. 노인의 근감소증에서 관찰되는 근육의 위축과 손실은 제2형 근육섬유의 감소와 연관 있다고

알려져 있다. 또한 노화에 따른 근육섬유의 질적 변화의 가장 큰 특징은 크기에 의해 보정한 근육섬유 단위당 낼 수 있는 힘의 감소로 약 34%까지 감소하는 것으로 관찰되었다. 이러한 근육섬유의 질적변화는 노화에 의한 위성세포, 흥분수축결합 (excitation-contraction coupling) 과정, 근원섬유 간 상호작용, 미토콘드리아 기능, 지방세포의 변화에 따른 환경변화로 인해 발생한다고 알려져 있다.

(다) 지방세포의 침윤(infiltration)

근육 내의 지방 함량 증가는 근력 감소와 관련되어 있다. 과잉 영양 또는 노화로 인해 대사질환이 발생할 때 근육 내의 지방이 축적되게 된다. 이렇게 근육 내에 축적된 지방세포들은 tumor necrosis factor- α (TNF- α)와 같은 염증성 사이토카인을 생성하여 분비하게 되고 근육 내 염증 반응을 유발한다. 또한 근세포 내 칼슘항상성에 불균형을 야기하여 흥분수축결합을 방해함으로써 근수축에 이상을 야기할 수 있다.

(라) 미토콘드리아 기능

근육 세포의 노화에 따른 주요한 변화는 미토콘드리아 함량 및 기능의 이상이다. 미토콘드리아는 ATP의 생산하는 생체 내 주요한 기능을 담당하고 있으며 이외에도 활성산소(reactive oxygen species, ROS) 생산 및 투과에 의한 이동을 조절하며 생체 내 수많은 신호 전달에 관여하고 있다. 근육섬유에서 노화에 따른 여러 변화에 의해 미토콘드리아 합성 능력이 저하되고 손상된 미토콘드리아의 축적이 야기되어 미토콘드리아의 기능이 저하되는 것으로 알려져 있으며 이는 근육의 기능의 저하의 한 원인으로 작용할 수 있다.

(3) 근력의 변화

근육의 양과 근력은 30세경에 최대가 된다. 40~50대 이후부터 근육은 감소하는데 근력이 근육량에 비해 약 2배 정도 많이 감소하며, 70세 이후가 되면 양과 강도 모두 그 이전보다 약 2배씩 빠른 속도로 감소한다. 결과적으로 근육량은 20세에서 90세 사이에 약 50% 정도씩 감소된다.

(4) 근감소의 원인

(가) 단백질 섭취와 근육량

한 단면 연구에서 70세 이상의 노인을 대상으로 단백질 섭취 권장량(0.8 g/kg/day) 미만으로 단백질을 섭취하고 있는 비율이 거의 40%였다고 보고하였으며, 이러한 단백질 섭취량이 권장량 미만 노인에서는 근육량과 근력의 유의한 감소가 있었다. 우리나라도 2009년 국민영양통계에 따르면 65세 이상 남자, 여자 모두 50%가 2010년 한국인 영양섭취기준 미만으로 단백질을 섭취하고 있다. 이와 같이 노인의 근육량 감소는 부적절한 영양 섭취와 필수 아미노산과 같은 영양에 대한 근육의 적응 실패가 한 원인으로 의심되고 있으며 근육량 유지를 위해서는 단백질을 적정량 섭취해야한다. 하지만 단백질 섭취량이 과도해지면 죽상동맥경화증을 유발할 수 있다는 연구결과가 나왔으며 신장의 대사활동이 늘어나 소변보는 횟수가 잦아지고, 체중 증가, 메스꺼움, 변비 등과 같은 증상이 나타날 수 있다. 따라서 맹목적으로 단백질 섭취량을 증가시키기보다 적정량을 섭취하는 것이 중요하며 최근에는 단백질만의 섭취가 근감소증에서 중요하지만 같이 섭취하는 영양분도 중요하다고 여겨지고 있다.

(나) 미토콘드리아의 기능부전(mitochondrial dysfunction) 및 산화적 스트레스(oxidative stress)

미토콘드리아 DNA의 산화적 손상에 의해 야기되는 미토콘드리아 기능부전은 노화 과정을 촉진하는 주요 원인이다. 여러 횡단면 인간 연구(cross sectional human studies)에 의해 미토콘드리아 기능은 연령 증가에 따라 감소한다는 것이 입증되었으며, 미토콘드리아 기능의 장애는 단백질 항상성 유지를 손상시킨다. 또한 볼티모어 종단 연구(Baltimore Longitudinal Study)에서는 골격근에서 미토콘드리아 호흡의 감소가 생체 내 산화 능력, 심폐 적합성 및 근력 감소와 병행한다는 것을 보여주었고, 연령에 따른 골격근 내 미토콘드리아 양의 감소는 느린 보행 속도, 피로도 증가 및 근감소증의 원인이 된다고 보고하였다. 근감소증 전임상 모델에서도 미토콘드리아의 세포사멸 촉진 인자의 방출, 형태학적 변화 (fusion and fission), 저하된 ATP에 의해 유도된 에너지 스트레스, 활성산소 생성 증가를 보여 미토콘드리아 기능과 근육량 조절 사이의 밀접한 연관성이 있다는 것을 보여준다. 노화 골격근에서 산화적 스트레스와 밀접하게 관련된 활성산소는 근감소증을 유발하는 주요 원인이다. 활성산소 축적은 조직 분해, 골격근 위축, 근육기능 감소 그리고

섬유성 조직 증가를 유발하며 DNA 손상을 초래하여 telomere 단축(shortening)을 유발한다. 이처럼 증가된 활성산소 생성과 미토콘드리아 DNA 손상 그리고 미토콘드리아 기능부전은 노화 골격근에서 근감소증과 관련하여 보고되고 있다.

(다) 호르몬의 영향

노화는 성장호르몬인 IGF-1과 부신피질호르몬인 코티솔(cortisol), 성호르몬인 남성호르몬(testosterone) 및 여성호르몬(estrogen) 생산과 감수성의 변화와 연관 있다고 알려져 있다. 이러한 호르몬은 근육 단백질 대사의 동화 작용뿐만 아니라 이화작용에 영향을 미친다고 알려져 있다. 노인에서 흔히 관찰되는 IGF-1의 감소는 내장 지방의 증가와 근육량 감소, 골밀도 감소와 연관이 있다고 알려져 있다. 코티솔의 혈중 농도가 증가 된 전형적인 고코티솔 혈증의 대표질환인 쿠싱 증후군 환자에서도 역시 성장 호르몬/IGF-1 결핍 환자에서 관찰되는 근육량의 감소가 특징적으로 관찰된다. 남성 호르몬의 대표적인 테스토스테론은 단백질 이화/동화 경로의 활성뿐만 아니라 중배엽 줄기 세포가 지방 전구 세포로 분화되는 것을 방해하고 위성 세포로 분화 촉진한다고 알려져 있다. 남성에서 남성호르몬의 분비는 30세 이후부터 매년 1%씩 감소하며 이러한 변화는 근력의 감소 양상과 유사하다고 알려져 있고, 또 다른 연구에서는 저용량 테스토스테론 치료에서 근육량이 증가하고 고용량 테스토스테론에서는 근력이 증가한다고 보고된 바 있다. 비타민D는 골대사에서 중요한 역할을 하지만 근육 대사에서도 중요한 역할을 한다고 여겨지고 있다. 여러 기전이 제시되고 있는데 비타민 D는 근육 세포 내 비타민 D의 수용체와 결합하여 단백질 합성을 촉진시키고 세포막을 통한 칼슘 이동을 자극한다. 임상적으로도 비타민 D 결핍환자에서 흔히 근위 근력 약화 (proximal myopathy)가 보고되고 있으며 조직 소견으로 type II 근육섬유에서 주로 위축 소견이 관찰된다.

(라) 염증 유발 사이토카인

In vitro, in vivo 연구에서 염증 유발 사이토카인(proinflammatory cytokines: TNF- α , IL-1, IL-6 등)은 근원섬유단백질(myofibrillar protein)의 분해를 촉진하고 단백질 합성을 감소시켜 직접적으로 근육 소모를 유발하였다. TNF- α 는 여러 세포 내 인자를 활성화하여 유비퀴틴 의존적 단백질 분해가 촉진 되도록 유도하고 세포사멸을 유도한다고 알려져 있다. 세포 안에서 TNF- α 가 근아세포(myoblasts)에 작용하여 초기에는 유비퀴틴 의존적 단백질 분해가 유도되도록 작용하나 nuclear factor kappa B (NF- κ B)를 활성화시켜 근아세포의 세포사멸을 방지하지만 이후 지속적으로 TNF- α 에

노출되면 NF- κ B도 비활성화 되어 세포사멸도 결국 활성화 된다. 특히 이러한 TNF- α 신호 전달체계의 변화는 근육섬유의 종류에 따라 다르게 나타나는데 특히 type II 섬유에서 보다 두드러지게 나타난다고 보고되고 있다. 또한 IL-1과 IL-6 등 다른 염증 유발 사이토카인 역시 TNF- α 와 같은 기전으로 동일한 영향을 주는 것으로 알려져 있다. 근감소증에서는 나이가 증가함에 따라 증가하는 내장 지방과 이와 동반되어 염증 유발 사이토카인이 증가하는 만성적인 낮은 염증(chronic low-grade inflammation)이 근감소증의 원인으로 의심되고 있어 노인에서의 지방의 재 분포에 따르는 복부비만과 근감소증 간의 상호관계를 설명할 수도 있다.

[참고]

(1) 근감소증의 정의

근감소증(sarcopenia)은 그리스어에서 기원한 muscle을 뜻하는 “sarco”와 감소되어 있다는 뜻의 “penia”가 합성된 단어로서 초기에는 근육량의 감소에 국한하여 논의되었지만 근육량이 뚜렷하게 감소한 상태에서도 근력과 기능 수준이 정상 또는 그 이상인 경우가 상당히 많기 때문에 근육량뿐 아니라 근력과 신체 기능의 감소까지 포함한다. 여기에서 “근(muscle)”이란 골격근(skeletal muscle)을 의미하고 평활근 (smooth muscle)과는 관계가 없다.

(2) 근감소증의 진단

2010년 유럽 근감소증 가이드라인(the European Working Group on Sarcopenia in Older People, EWGSOP1)에서는 약력과 보행 속도를 진단 기준에 필요 요소로 포함하여 근육량 뿐만 아니라 근력과 기능을 진단 기준에 포함하게 되었다. 이후 2018년에 개정이 이루어졌으며 EWGSOP2에서는 근력을 근감소증의 일차적 지표로 정하고 근력 저하가 확인되면 probable sarcopenia로 판단할 수 있고, 추가로 근육량 저하를 확인하면 근감소증이 확진되고 보행 속도 등 신체 기능을 측정하여 근감소증의 중증도를 반영하는 지표로 제시하였다. 2013년 아시아 작업 그룹(Asian Working Group for Sarcopenia, AWGS1)에서도 근감소증의 진단 기준이 제시되었고, 2019년 AWGS2에 의하면 병원 환경에서 근감소증을 확진하는 과정은 근력 측정, 신체 기능검사, 그리고 근육량 측정 세 가지를 순차적으로 진행해서 근육량이 저하되고 근력 또는 신체 기능이 저하되었을 때 근감소증으로 확진할 수 있고, 세 가지 요소가 다 문제가 있으면 중증 근감소증으로 판단하는 알고리즘을 제시하였다. 우리나라에서도 기존 노인 코호트 연구 결과들을 중심으로 근감소증의 여러 기준에 대한 진단을 보고하고 있으며 최근에는 대한근감소증·골대사·노인병학회에서 ‘근감소증 선별·진단에 대한 전문가 합의문’을 대한노인병학회 학술지 AGMR(2023년)에 공개하여 근감소증을 근육량, 근력, 신체기능 세 가지로 진단하고 중증 근감소증, 근감소증, 기능적 근감소증으로 세분화하여 진단할 수 있도록 제시하였다.

[출처: 임재영. 근감소증의 정의와 진단 기준에 대한 전문가 합의의 최신동향. Geriatric Rehabilitation.2020]

(국외)



(국내)

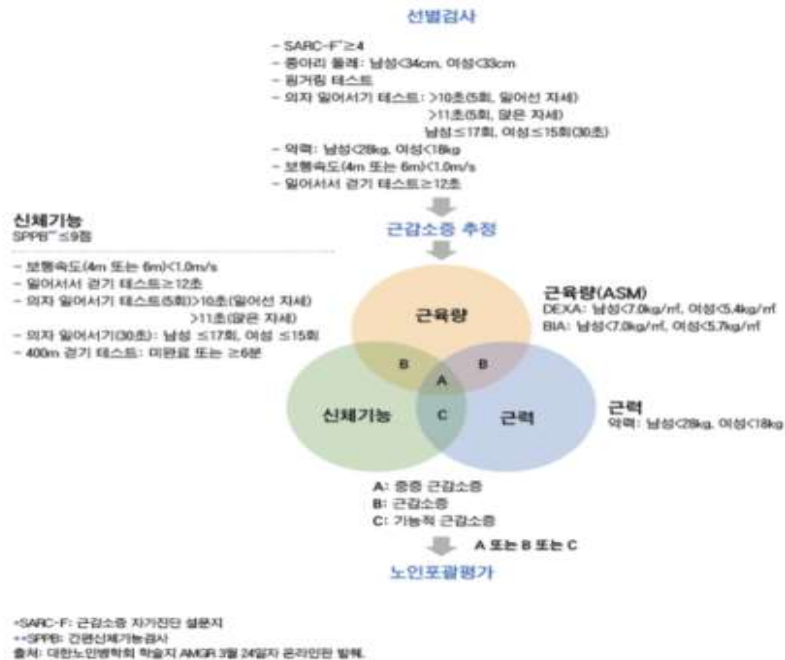


그림 13. 근감소증 진단기준

[출처: 대한노인병 학술지 온라인판,

<http://www.monews.co.kr/news/articleView.html?idxno=321957>]

III 기능성 시험 방법

1. 바이오마커 선정

가. 연구유형별 바이오마커

근육 관련 기능성 내용은 ‘노화로 인해 감소될 수 있는 근력 유지에 도움을 줄 수 있음’, ‘노화로 인해 감소될 수 있는 근기능 유지에 도움을 줄 수 있음’으로 구분할 수 있으며, 기능성 관련 바이오마커*는 아래의 표를 참고할 수 있다.

* 작용 기전 또는 인체적용시험 설계에 따라 적절한 바이오마커를 선택할 수 있음

표 1. 근육관련 기능성에 대한 바이오마커

구 분	바이오마커	측정 가능한 연구유형		
		<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>	Human
근육 단백질 합성 증가	위성세포(satellite cell, Pax7 ⁺) 증식조절	O	O	
	단백질 합성 관련 신호전달 (IGF-1, Akt, mTOR, S6K, 4E-BP1 등)	O	O	
	근육분화 관련 신호전달 (MyoD, Myf5, Myogenin, Myf6, MEF2 등)	O	O	
근육 단백질 분해 억제	Atrogenes (MuRF1, Atrogin1)	O	O	
	Forkhead box O(FoxO)3a	O	O	
	Myostatin	O	O	O
	Cathepsin L과 proteasome activity	O	O	
	Inflammation (TNF α , IL-1, IL-6 등 cytokine)	O	O	O

구 분	바이오마커	측정 가능한 연구유형		
		<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>	Human
근육에서의 산화적 스트레스 억제	항산화 활성(ROS, TAS, 글루타티온, DNA damage, MDA, SOD, CAT 등)	O	O	O
	미토콘드리아 기능(OCR, ATP 등)	O	O	
근력	악력(hand grip), 매달리기(hanging test)		O	O
	등속성운동력(isokinetic exercise)			O
신체 기능	간이신체활동 배터리(SPPB)			O
	보행속도			O
	400 m 보행			O
	6분 보행			O
	의자에서 5회 일어서기			O
	일어서서 걷기(TUG)			O
	로타로드(rotarod), 트레드밀 등		O	
근육의 질/양 등	근육섬유(MHC I, II형), 근육과 지방밀도 비율		O	O
	근육량		O	O
	근육섬유 굵기	O		
	근육 단면적		O	
	Myosin Heavy Chain(MHC)	O	O	
	근육 내 triglyceride 함량	O	O	
	Sarcopenia index		O	O

※ 주평가지표

- 노화로 인해 감소될 수 있는 근력 유지에 도움을 줄 수 있음 : 근력(근육의 질/양 등)
- 노화로 인해 감소될 수 있는 근기능 유지에 도움을 줄 수 있음 : 근력, 신체기능(근육의 질/양 등)

나. 바이오마커 설명

생리학적 작용 또는 과정을 설명하는 근육 단백질 합성 증가, 근육 단백질 분해억제, 근육에서의 산화스트레스 억제, 근력, 신체기능, 근육의 질, 근육량 관련 바이오마커로 구분할 수 있다.

(1) 근육 단백질 합성 증가

(가) 위성세포(satellite cell, Pax7⁺) 증식조절

근육의 줄기세포라 불리는 위성세포는 새로운 근육 생성 시에 nucleus의 공급원으로써 근육의 성장 및 발달에 중요한 역할을 한다. 근형질막과 기저막(basal lamina) 사이에 존재하는 위성세포는 평소에는 비활성 상태로 유지되는데, 외상과 같은 자극에 의해 활성화되어 새로운 근육으로 분화하거나, 기존의 근육섬유에 융합하여 근육을 재생한다. 이 때 Pax7(paired box protein7)은 전사인자로서 위성세포의 증식 조절을 통하여 근육생성에 중요한 역할을 한다.

(나) 단백질 합성 관련 신호전달(IGF-1, Akt, mTOR, S6K, 4E-BP1 등)

정상적인 골격근 내 단백질 분해시스템(proteolytic system)은 단백질을 포함한 여러 소기관의 구성요소를 보존하기 위해 정교하게 조절되어지며, 정상적인 조건하에서 자가포식은 지속적인 단백질 전환(protein turnover)을 통해 세포 내 질적 조절을 위한 작용을 한다. 하지만, 노화된 골격근에서 억제된 자가포식작용이 단백질 전환의 손상으로 인해 변형된 단백질 축적으로 결국 항상성과 생존 유지에 요구되는 다양한 생물학적인 경로의 항상성을 저하시켜 근육섬유의 변성과 약화의 원인이 되어 노화 촉진 작용에 관여되고 있다. IGF-1과 인슐린 작용으로 phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K)/Akt 경로를 통해 근육의 크기는 조절이 된다. 특히 이러한 PI3K/Akt가 활성화되어 근육 단백질 합성을 자극하는 mammalian target of rapamycin (mTOR)이 자극을 받으면 70-kDa ribosomal S6 protein kinase (S6K), 4E-binding protein 1 (4E-BP1)의 인산화 작용을 통해 단백질 대사가 촉진된다.

(다) 근육분화관련 신호전달(MyoD, Myf5, Myogenin, Myf6, MEF2 등)

근육분화(myogenesis)는 근원전구세포인 근육위성세포가 수축성을 가지는 다핵성의 근육섬유로 형성되는 과정을 말한다. 평상시 대기/휴지기 상태였던 위성세포(Pax7⁺MyoD⁻)가 자극에 의해 세포주기(cell cycle)로 들어가게 되면 근육생성전사인자(myogenic transcription factors) 중 일차 근육생성조절인자로 분류되는 myoblast determination protein 1 (MyoD)와 myogenic regulatory factor 5 (Myf5)의 발현이 증가되어 증식되게 된다. 증식된 위성세포에서 Pax7가 감소하게 되고 체세포를 근육아세포로 유도하는 역할을 한다. 이 때 이차 근육생성조절인자인 myogenin과 Myf5, myocyte enhancer factor 2 (MEF2)가 증가하게 되는데 근육아세포를 근관세포로 분화시키는 역할을 한다.

(2) 근육단백질 분해 억제

(가) Atrogenes (MuRF1, Atrogin1)

① MuRF1 (muscle RING finger 1)

MuRF1(TRIM63이라고도 함)은 근육 단백질을 분해하는 E3 ubiquitin ligase로서 MuRF1이 활성화되면 근위축이 발생하는 것으로 알려져 있다.

② Atrogin-1

Atrogin-1(MAFbx1이라고도 함)은 MuRF1과 함께 근육 특이 E3 ubiquitin ligase로서 근육위축의 초기과정에서 유도되어 근육량의 감소에 선행하여 증가하는 것으로 알려져 있다. Atrogin-1이 결핍된 동물은 근위축에 저항성을 갖는데, 이는 Atrogin-1이 근육의 핵심단백질에 손상을 준다는 것을 나타낸다.

(나) Forkhead box O (FoxO)3a

운동을 포함한 여러 스트레스 상황은 세포 순환 조절, 분화, 증식과 같은 세포 생존에 이르는 여러 세포 기능에 관여하는 FoxO의 활성화는 자가포식 작용 관련 단백질을 유도하여 자식작용 신호전달체계를 촉진하는 것으로 알려져 있다. FoxO의 활성화는 세포 내 mTOR의 발현 억제를 통해 세포 성장에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 또한 지속적인 FoxO3a의 활성화는 단백질 분해를 유도하여 근소모증을 유발하는 것으로 알려져 있는데, FoxO 전사인자는 MuRF1 및

Atrogin-1의 단백질 발현을 증가시켜 골격근 위축을 유발한다.

(다) Myostatin과 Smad

근육에서 생산되고 방출되는 myostatin은 transforming growth factor- β family로 Akt /mTOR/p70S6K 신호계를 억제하여 골격근 위축을 유도하는 마이오카인(myokine)이다. Myostatin은 Smad2/3 전사인자를 매개하여 FoxO전사를 활성화함으로써 MuRF1, Atrogin-1의 전사를 촉진한다.

(라) Cathepsin L과 proteasome activity

근육 단백질 분해는 유비퀴틴-프로테아좀(ubiquitin-proteasome)과 리보솜 경로 (lysosomal pathway)의 활성화에 의해 매개된다. 유비퀴틴-프로테아좀은 유비퀴틴 결합효소에 의해 목표 단백질에 유비퀴틴이 결합되면 프로테아좀에 의해 인식되어 분해되는 과정을 의미하며, 리보솜 경로는 리보솜 효소인 cathepsin L에 의해 단백질이 분해되는 것을 의미한다.

(마) Inflammation(TNF α , IL-1, IL-6 등 cytokine)

염증 유발 사이토카인(TNF- α , IL-1 및 IL-6)은 근원 섬유단백질의 분해를 촉진하고 단백질 합성을 감소시켜 직접적으로 근육 소모를 유발한다. TNF- α 는 여러 세포내 인자들을 활성화시켜서 유비퀴틴 의존적 단백질 분해가 촉진 되도록 유도하고 세포사멸을 유도한다고 알려져 있다. IL-1와 IL-6 등 다른 염증 유발 사이토카인 역시 TNF- α 와 같은 기전으로 동일한 영향을 주는 것으로 알려져 있다. 또한 내장 지방의 증가로 복부비만과 염증 유발 사이토카인이 증가되어 만성적인 낮은 등급의 염증(chronic low-grade inflammation)이 근감소증의 원인이 된다.

(3) 근육에서의 산화적 스트레스 억제

근육세포에서 활성 산소가 생성되고 이로 인해 산화적 스트레스가 유발되어 근육세포의 손상이 유발된다.

(가) 항산화 활성(ROS, TAS, 글루타티온, DNA damage, MDA, SOD, CAT 등)

① 활성산소(ROS)

생체 내에서 산화 스트레스는 과도한 ROS를 생성시킨다. ROS는 superoxide radical ($O_2^{\cdot-}$), hydroxyl radical ($OH^{\cdot}$), 과산화수소(H_2O_2) 등의 여러 물질들을 포함하며 DNA 손상, 단백질과 지질의 산화, 세포 및 조직의 손상, 노화를 촉진시킨다. 근육과 관련해서 ROS는 근육 기능의 장애를 일으키는 중요한 요인이 된다. 근육 세포의 거대분자인 단백질과 지질, DNA 등을 손상시켜 세포사멸을 유도하며 나아가 근감소증을 유발하기도 한다.

② Total Antioxidant Status(TAS)

체내에 존재하는 활성산소에 대해 스스로 방어할 수 있는 능력을 검사하는 것으로 결과 수치가 높을수록 우리 몸이 활성산소를 방어하는 능력이 높다는 것을 의미한다.

③ 글루타티온(glutathione)

글루타티온은 간에서 만들어지는 3개의 아미노산(glutamate, cysteine, glycine)이 결합된 펩타이드로 산화적 손상으로부터 보호하는 역할을 하는 항산화 물질이다. 글루타티온은 친전자성 물질, 활성산소 및 과산화 지질을 무독화하는 과정에 이용된다. 글루타티온은 glutathione peroxidase가 관여하는 항산화 대사 작용을 위해 필요한 전자를 내어주며, hydroxyl radical과 singlet oxygen을 제거하는 역할을 한다. 또한 지질 과산화(lipid peroxidation)의 환원에 관여하는데, 이는 글루타티온이 여러 활성증가물질과 결합(conjugation)을 이루어 glutathione S-transferase와 같은 효소의 작용으로 소변으로 배설되어 체내의 독성물질을 제거한다.

④ DNA damage

· Comet assay : 개개의 세포 수준에서 DNA 손상을 눈으로 직접 확인하는 방법이다. 전기영동 후 EtBr(Ethidium Bromide)로 염색하여 형광현미경으로 관찰하면, DNA 손상을 입은 세포는 tail로 나타나게 되고, tail의 길이 및 tail의 형광 강도를 측정하여 DNA 손상을 정량화 할 수 있다.

· 8-oxo-2'-deoxyguanosine (8-oxodG) : DNA를 구성하는 염기 중 guanine 분자의 8번째 위치에 있는 수산화기의 산화가 일어나 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OH-dG)가 생성된다. 따라서 8-OH-dG의 정량적 측정은 활성 산화물에 의한 체내 DNA의 손상 정도를 평가하는 지표로 이용될 수 있다.

⑤ Malondialdehyde(MDA)

활성산소에 의해 지질이 산화되어 생성되는 지질대사 산물(지질과산화물질)로써 활성산소에 의한 산화를 측정하는 기준 물질이다.

⑥ Superoxide dismutase(SOD)

SOD는 superoxide radical ($O_2^{\cdot-}$)로부터 H_2O_2 와 O_2 형성을 촉매하는 효소로 활성산소에 의한 세포 손상에 대응하는 첫 번째 방어 라인을 구성한다.

⑦ Catalase(CAT)

Catalase는 H_2O_2 를 사용하여 다른 물질을 산화함으로써 세포 내에서의 H_2O_2 축적을 방지하도록 도와준다.

(나) 미토콘드리아 기능(OCR, ATP 등)

미토콘드리아 DNA의 산화적 손상에 의해 야기되는 미토콘드리아 기능부전은 노화 과정을 촉진하는 주요 원인이다. 특히, 미토콘드리아 DNA는 산화적 손상을 받기 쉬운데, 그 이유는 미토콘드리아 DNA는 핵 DNA에 비해 전자전달계에 근접하여 위치하고 덜 효율적인 방어시스템을 소유하고 있기 때문이다. 더군다나 미토콘드리아의 DNA 돌연변이는 결함이 있는 전자전달계 구성요소 합성을 유도하여 산화적 인산화 장애, ATP 생성 감소 그리고 활성산소 생성을 유발한다. 이처럼 증가된 미토콘드리아 활성산소 생성과 미토콘드리아 DNA 손상, 그리고 미토콘드리아 기능부전은 노화 골격근에서 근감소증과 관련하여 보고되고 있다.

(4) 근력

근력측정은 동물실험 또는 인체적용시험에서 시험물질 투여 전후의 근력을 평가할 수 있는 주요한 바이오마커로서 악력이나 등속성 운동력 측정을 통해 평가할 수 있다.

① 악력(hand grip), 매달리기(hanging test)

인체는 노화에 따라 근육량과 근력이 점점 감소하고 탄력을 잃게 된다. 여러 가지 근력 중에서 손의 근력을 악력이라 하며, 손의 기능 또는 작업능력을 평가하기 위해 필요하다.

설치류에서 측정할 수 있는 매달리기(hanging test)는 설치류의 모든 사지 근육을 사용하여 와이어에 매달려 있는 시간을 측정한다. 버티는 시간들을 측정하여 골격근의 기능을 비교적 쉽게 평가할 수 있어 근육연구에 널리 사용된다.

② 등속성(isokinetic)운동력

등속성 운동이란 가해지는 힘과는 상관없이 미리 정해진 각속도로 움직이는 기구를 이용한 운동으로, 관절운동 범위의 처음부터 끝까지 최대한의 저항(근력 증가를 위한 자극)을 가할 수 있는 장점이 있어 등척성 운동(isometric exercise)이나 등장성 운동(isotonic exercise)에 비해 근력강화 효과가 뛰어나다는 것이 여러 임상 실험 및 근전도 검사를 통해 알려져 있다.

(5) 신체기능

① 간이신체활동 배터리(SPPB)

간이신체활동 배터리는 하지기능을 평가하는 수행검사로 직립균형검사, 보행속도, 의자에서 일어나기 3가지 항목으로 각 과제마다 수행불능 0점, 수행차이에 따라 1점에서 4점까지 점수를 부여해 각 과제당 4점씩 모두 성공했을 경우 12점 만점으로 한다.

② 보행속도

보행속도를 측정하는 방법은 뇌졸중 환자의 재활 후 회복정도를 측정하는데 많이 추천되는 방법으로 빠르고 쉽게 보행장애 정도를 측정할 수 있다. 또한, 보행속도를 측정하는 방법은 뇌졸중 환자의 일상생활능력이나 예후를 파악하는데 있어서 비교적 간단하면서도 정확한 방법 중 하나이다. 보행속도를 측정하는 방법은 매우 다양하다. 연구자들은 보통 2~10 m 거리를 측정하는 방법을 사용하고 있으며, 환자 본인이 선택한 가장 편안한 안정 보행속도(selfselective comfortable gait speed)와 안전하다고 느끼면서 최대한 빨리 걸을 수 있는 최대 보행속도(maximal gait speed)를 측정한다.

③ 400 m 보행

400m 보행검사는 간이 신체활동능력검사로 유산소 능력을 측정할 수 있다.

④ 6분 보행

심폐능력 및 보행 지구력을 반영하는 것으로 뇌졸중에 의한 하지의 근력약화, 강직, 조절장애, 균형저하 등의 원인으로 보행 능력이 제한된 환자를 평가하는데 유용한 도구로 보고되고 있다.

⑤ 의자에서 5회 일어서기(5 repetition chair rise test)

의자에서 일어서는 능력은 하루에 여러 번 수행되는 기능적 과제이고 이 움직임은 하지근력과 동적 균형이 요구되는 과제이다. 따라서 의자에서 일어서기 운동평가를 통해 하지근력과 균형능력을 평가할 수가 있다. 노인들은 하지근력의 약화로 인하여 의자에서 일어서기 동작의 어려움이 나타나며, 파킨슨병 환자에서도 의자에서 일어서기의 어려움을 보이고 있는데 이러한 어려움은 하지 신체기능과 밀접한 관련이 있다고 할 수 있다.

⑥ 일어서서 걷기(TUG)

일어서서 걷기는 기본적인 동적균형 및 이동능력을 짧은 시간동안 쉽게 측정할 수 있는 검사로 팔걸이가 있는 의자에 앉아 신호와 함께 일어서서 3 m 전방 목표물 주위를 뒀을 수 있는 한 빨리 돌아와 다시 의자에 앉는 시간을 측정하는 방법이다.

⑦ 로타로드(rotarod), 트레드밀 등

로타로드 측정은 설치류의 신체기능을 평가하는 방법 중 하나이다. 하나의 축을 중심으로 한 방향으로 회전하는 원통 위에서 설치류는 떨어지지 않기 위해 앞으로 걷게 된다. 이때 머무는 시간은 균형 감각, 신체 상태, 그리고 운동협응(motor coordination)을 판단할 수 있는 근거가 된다. 신약 개발 시 신약 사용으로 인한 인간의 운동 장애를 방지하기 위해 약물 개발 초기 단계에서 자주 사용된다. 트레드밀 검사는 동물실험에서 동물을 컨베이어 벨트 위에 올려놓고 속도를 일정한 조건으로 증가시킨다. 빠른 속도를 감당하기 힘들어서 지쳐서 더 이상 뛰지 못할 때 실험을 중단시킨 후 달린 시간 및 거리를 측정한다.

(6) 근육의 질/근육량

(가) 근육섬유(MHC I,II형), 근육과 지방밀도 비율

① 근육섬유(MHC I,II형)

골격근에 존재하는 근육섬유는 크게 느리게 수축하는 제1형(type I)과 빠르게 수축하는 제2형(type II)으로 나뉜다. 노인에서의 근감소증에서 관찰되는 근육의 위축과 손실은 제2형 근육섬유의 감소와 연관 있다고 알려져 있다. 따라서 근육의 질적 상태에 대해서는 제1형 근육과 제2형 근육을 구분할 수 있는 방법 또는 이에 상응하는 방법이 요구된다.

② 영역별 근육과 지방의 밀도 비율

근육의 지방화가 많이 진행될수록 근육의 질은 저하될 수밖에 없는데, 이러한 근육의 질이 근육건강을 가늠하는 지표가 될 수 있다.

(나) 근육량

노화는 신체구성성분에 주된 영향을 주는데, 정상적인 노화의 경우라 하더라도 점진적인 체지방의 증가를 나타낸다. 따라서 노화로 인한 신체구성성분의 변화는 근육량의 감소와 지방량의 증가, 즉 근육의 지방으로의 전환이라고 할 수 있다.

① 자기공명영상(magnetic resonance imaging, MRI)

자기공명영상은 근골격의 구조 및 체성분 구성을 비침습적으로 단면 영상화할 수 있다. 전리방사선을 사용하지 않기 때문에 청소년이나 소아에 적용가능하며 반복촬영이 가능하여 종적연구(longitudinal study)에 매우 적합하다. 또한 뛰어난 연부조직 대조도를 통해 근육 분할 및 단면적 측정이 용이하다.

② 컴퓨터단층촬영(computed tomography, CT)

컴퓨터단층촬영은 자기공명영상과 같이 근골격의 구조 및 체성분 구성을 비침습적으로 단면 영상화할 수 있다. 빠른 시간에 영상획득이 가능하고 골격영상 가시도가 매우 좋다. 하지만 전리방사선을 사용하기 때문에 피폭 허용 범위에서 제한적으로 사용해야 하고 특히 방사선 민감도가 높은 청소년 및 소아에게 사용이 극히 제한적이다. 또한 연부조직 대조도가 낮기 때문에 근조직의 분할에 일부 제한적이다.

③ 이중에너지 방사선흡수법(DXA)

골조직, 제지방 조직, 지방 조직이 이중 X-선 에너지를 감쇠시키는 성질을 이용한 것으로 체지방의 측정에 있어서 가장 정확하다. MRI로 측정한 값과 높은 상관관계가 있다고 알려져 있고 임상적으로도 낮은 방사선 조사량과 검사 편의성으로 근감소증의 진단 방법으로 사용되고 있다. 하지만 DXA 측정은 근육의 부종이나 근육 내 지방 침착 시 근육량이 최대 8% 과대 측정되는 제한점도 있다.

④ 초음파 측정법

근감소증의 진단 과정에서 초음파는 비교적 안전하고, 방사선 조사가 없으며, 연부 조직의 영상화가 우수하고, dynamic test에 유용하며, 저렴하고, 짧은 시간에 쉽게 측정할 수 있다. 또한 bedside에서 결과를 즉시 확인할 수 있는 추가 장점들이 있다. 단점으로는 비만 환자에게 제한적일 수 있고, 다양한 측정 깊이나 해상도에 따라 여러 가지 probe가 필요할 수 있으며, image의 질이나 결과의 해석이 사용자에 따라 달라질 수 있고(user dependent), low muscle mass에 대한 진단적 기준점이 아직까지 확립되지 않은 것이다.

⑤ 생체전기저항측정법(BIA)

체내 수분을 전기적인 방법을 이용하여 측정하는 기술로 신체에 미세한 전류를 흘렸을 때 수분, 지방, 근육 등에서의 전류저항 및 전도성이 각각 다르게 나타나는 성질을 이용하여 전기 저항치의 측정으로 간편하게 체내 수분, 체지방 등의 신체 조성을 측정한다(스크리닝 용도로 사용). 즉, 지방은 전기전도에서의 효율이 매우 떨어져 저항이 크며, 수분과 전해질을 포함하는 제지방조직은 전류에 저항이 낮다는 점을 이용하여 간접적으로 지방량을 측정한다.

(다) 근육섬유 굵기

연령에 따라 근육의 양만이 감소하는 것이 아니라 근육섬유의 굵기 및 근육섬유 수도 감소하게 된다. 이러한 변화는 근력 감소를 일으키게 하여 근감소증을 유도한다. 위성세포 또는 근원세포는 분화 유도 자극에 의하여 근관세포로 분화하게 되며, 노화, 산화적 스트레스, 약물 처리 등의 외부적 스트레스에 의하여 굵기가 감소될 수 있다.

(라) 근육 단면적

근육의 단면적(cross-sectional area, CSA)은 해부학적 단면적과 생리학적 단면적 두 가지로 나뉜다. 해부학적 단면적은 근육의 장축에 수직인 근육의 단면적을 의미한다. 생리학적 단면적은 근육섬유에 수직인 근육의 단면적으로 정의된다. 근력은 해부학적 단면적보다는 생리학적 단면적과 더 밀접한 관련이 있는데, 생리학적 단면적은 근육의 수축과 동시에 활성화될 수 있는 액틴-미오신 교차 브리지의 최대수를 반영하기 때문이다.

(마) Myosin Heavy Chain(MHC)

골격근에 존재하는 MHC는 MHC1, 2A, 2B과 같은 isoform을 가지고 있으며, 이는 서로 다른 특징을 가지고 있다. MHC1은 산화적 지근(oxidative slow type)이고 2B는 해당적 속근(glycolytic fast type)으로, 노화가 진행될수록 속근 섬유의 선택적인 위축이 일어난다고 알려져 있으며 fast-to-slow로 MHC 변환(transition)이 유발된다.

(바) 근육 내 triglyceride 함량

노화는 신체구성성분에 주된 영향을 주는데, 정상적인 노화의 경우라 하더라도 점진적인 체지방의 증가를 나타낸다. 따라서 노화로 인한 신체구성성분의 변화는 근육량의 감소와 지방량의 증가, 즉 근육의 지방으로의 전환이라고 할 수 있다. 근육 내 지방 축적은 근세포 또는 근육 조직 내 축적된 triglyceride의 측정으로 가능하다.

(사) Sarcopenia index

혈청 creatinine/cystatin C(크레아티닌/시스타틴 C) 비율을 말하며 근육량을 평가하기 위해 만들어진 신규 지표이다. 실제로 혈청 크레아티닌은 근육 단백질 전환의 바이오마커로 볼 수 있는데 혈중 농도는 신장 기능에 크게 의존하게 된다. 따라서 이 비율은 신장 기능의 또 다른 바이오마커인 시스타틴 C로 크레아티닌을 정량함으로써 이러한 한계를 피하기 위해 개발되었다. Sarcopenia index는 근육 단면적, 악력 강도와 상관관계를 나타내는 지표로 보고되었다.

2. 바이오마커 측정 방법

(1) 근육 단백질 합성 증가

(가) 위성세포(satellite cell, Pax7⁺) 증식조절

실험동물로부터 근육을 적출한 뒤 위성세포를 분리하여 증식 및 분화정도를 측정한다.

(나) 단백질 합성 관련 신호전달(IGF-1, Akt, mTOR, S6K, 4E-BP1 등)

유전자 발현을 측정하기 위하여 근육세포 혹은 근육조직으로부터 total RNA를 추출한 후, 역전사 중합효소(reverse transcriptase)를 사용하여 cDNA를 만든다. 합성된 cDNA와 각각의 유전자별 primer를 qRT-PCR로 증폭한 후 유전자의 발현 정도를 측정한다. 또는 근육단백질을 Western blot을 통해 측정할 수 있다. 근육 조직 내 IGF-1 함량은 효소 면역측정법(ELISA)으로 정량하거나, Western blot으로 발현량을 측정한다.

(다) 근육분화관련 신호전달(MyoD, Myf5, Myogenin, Myf6, MEF2 등)

근육세포 혹은 동물의 골격근 내 myogenic transactription factors 관련 유전자 및 단백질의 발현을 qRT-PCR 및 Western blotting 방법을 통해 분석한다.

(2) 근육단백질 분해 억제

(가) Atrogenes(MuRF1, Atrogin1)

근육세포 또는 근육조직으로부터 분리된 근육 단백질을 Western blot을 통해 측정하거나, RNA를 추출하여 qRT-PCR를 통해 발현 정도를 측정할 수 있다.

(나) FoxO3a

근육세포 또는 근육조직으로부터 분리된 근육 단백질을 Western blot을 통해 측정하거나, RNA를 추출하여 qRT-PCR를 통해 발현정도를 측정할 수 있다.

(다) Myostatin과 Smad

근육세포 또는 근육조직으로부터 분리된 근육 단백질을 Western blot을 통해

측정하거나, RNA를 추출하여 qRT-PCR를 통해 발현정도를 측정할 수 있다. 또한 myostatin은 혈액에서 많이 증가된다고 알려져 있기 때문에 혈액 내 존재하는 myostatin을 측정할 수 있다.

(라) Cathepsin L과 proteasome activity

근육세포 혹은 동물의 골격근 내 cathepsin L랑 20s proteasome activity kit을 이용하여 측정한다.

(마) Inflammation (TNF α , IL-1, IL-6 등 cytokine)

근육세포 또는 동물의 근육조직에서 사이토카인 생성을 효소면역측정법으로 정량하거나 RNA를 추출하여 mRNA 발현을 qRT-PCR로 정량하여 측정가능하다. 사람의 경우, 침습적인 방법을 이용하는 데에 어려움이 있기 때문에 혈액 및 peripheral blood mononuclear cells(PBMC)에서 효소면역측정법(ELISA)으로 정량하는 것이 일반적이다.

(3) 근육에서의 산화적 스트레스 억제

(가) 항산화 활성(ROS, TAS, 글루타티온, DNA damage, MDA, SOD, CAT 등)

ROS는 dichlorofluorescein diacetate(DCF-DA) 분석법을 이용하여 비형광물질인 DCFDA가 세포 내 hydrogenperoxide와 관련된 peroxides 존재 시 ROS에 의해 산화되어 초록색을 띠는 형광분석법을 이용한다. 글루타티온, MDA, TAS, SOD, CAT의 측정은 상용화된 kit 및 spectrophotometer를 이용할 수 있다. DNA damage를 위한 Comet assay 측정은 개개의 세포 수준에서 DNA 손상을 눈으로 직접 확인하는 방법이다. 전기영동 후 EtBr로 염색하여 형광현미경으로 관찰하면, DNA 손상을 입은 세포는 tail로 나타나게 되고, tail의 길이 및 tail의 형광의 강도를 측정하여 DNA 손상을 정량화 할 수 있다. 또한 8-oxodG는 소변, 혈액 및 조직에서 측정이 가능하다. DNA를 구성하는 염기 중 guanine 분자의 8번째 위치에 있는 수산화기의 산화가 일어나 8-oxodG가 생성된다. 따라서 8-oxodG의 정량적 측정은 활성 산화물에 의한 체내 DNA의 손상 정도를 평가하는 지표로서 이용될 수 있다. 효소면역법을 이용하여 측정할 수 있다(guanine의 C8이 산화되어 G가 T로 전환되는 것을 측정).

(나) 미토콘드리아 기능(OCR, ATP 등)

Oxygen consumption rate(OCR)는 근육세포나 실험동물로부터 분리된 근육을 가지고 Seahorse XF96 analyzer를 사용하여 OCR을 측정한다. ATP content는 ATP synthase enzyme activity assay kit를 이용하여 루시페린-루시페라제 기반 생물 발광 분석으로 측정 가능하다.

(4) 근력

(가) 악력(hand grip), 매달리기(hanging test)

① 동물시험

- 매달리기(hanging test): 동물이 모든 사지 근육을 사용하여 거꾸로 와이어에 매달려 있는 시간을 측정한다.
- Bioseb Grip Strength Test (BIO-GS3, BIO Science and Experimental Biology, Florida, USA) : 실험동물의 양측 전지로 실험도구의 Bar를 잡고 체중부하를 견딜 때 측정되는 수치를 기록한다.

② 인체적용시험

- 악력을 측정할 때는 팔걸이와 등받이가 있는 의자를 이용하며, 측정 시마다 같은 의자를 사용하고, 의자 끝에 손목을 위치하며 엄지를 위로 향하게 하고 짝 쥐는 것을 일정 횟수 시행하여 가장 좋은 점수를 측정한다.

(나) 등속성(isokinetic)운동력

① Contrex dynamometer 이용

- 대퇴사두근의 근력은 등속성 장비(Con-trex MJ; CMVAG, Dubendorf, Switzerland)를 사용하여 측정한다. 먼저 등속성 장비의 회전축 자체의 영점과 슬관절의 해부학적 영점을 조절한 뒤 각속도는 60°로 맞추고 측정 각도는 굴곡 80°에서 신전 10°, 휴식 시 각도를 60°로 설정한다. 대상자의 슬관절 통증 유무를 확인하여 장비에 앉힌 후 등 지지면은 지상을 기준으로 85° 기울기로 위치시키고 엉덩이를 밀착시키며 동시에 대상자의 슬관절은 바닥 지지면보다 2cm 앞에 나올 수 있도록 한다. 대상자의 불필요한 움직임을 최소화하기 위하여 흉부와 골반에

두 개의 스트랩을 이용하여 교차로 고정시키며 마찬가지로 검사 측 대퇴부의 원위부 3분의 1 지점과 비 검사 측 하퇴부의 원위부 3분의 1 지점에 스트랩 및 고정 장치를 이용하여 고정시켰다. 장비의 회전축을 검사측 슬관절의 기준점(lateral femoral epicondyle)의 위치에 일치시키며 하퇴부 원위부의 3분의 1 지점에 회전축과 검사 측 하지의 연결 장치를 고정시킨다. 본 측정 전에 예상되는 최대 노력의 20~80% 강도로 20회 이하의 횟수를 반복하여 준비운동을 실시한다. 측정자는 정확한 측정을 위해 신전 수행 시 시작 신호와 횟수를 명백하고 일정한 음높이의 큰 소리로 전달 및 지시한다. 또한 대상자에게 전 범위를 가능한 가장 강하고 빠른 속도로 밀도록 교육한다. 이미 설정된 각속도로 5회 연속 슬관절 신전 및 굴곡을 수행한 뒤 최대 피크값을 사용한다.



그림 14. 등속성 운동력 측정(Contrex dynamometer)

[출처: J Arthroplasty 31(8):1711-1716, 2016]

② Biodex™ 이용

- 등속성 운동검사는 Biodex™ isokinetic testing machine (Biodex Medical Systems, Shirley, NY, USA)과 같은 기기를 이용하며, 검사 전 모든 피험자에게 검사의 목적과 기계의 작동 원리에 대해 설명하여 운동검사 시 최대의 힘을 발휘하도록 교육한다. 모든 피험자는 양측 발목 모두 검사를 받으며, 근력 검사 전 10분간의 발목관절 운동을 시킨 후 우세(dominant) 족부를 먼저 검사한다. 피험자를 기구에 편한 자세로 앉힌 후 가슴과 골반 앞쪽으로 벨트를 착용하여 상체를 고정시키고, 무릎을 10도 정도 구부린 자세로 다리와 발을 각각 지지대에 고정시키며, 3가지 크기의 동일한 검사용 운동화 중 하나를 착용시킨다. 근력 검사 중 하퇴부의 회전운동이 발목의 내번 또는 외번근 근력측정에 미치는 영향을 방지하기 위해 검사 보조자가 피험자의 슬관절 전방부를 눌러 지지대 위에서의 움직임을 최소화시킨다.

최대 근력을 확인하기 위한 느린 속도의 30o/s 각속도에서의 운동검사와 달리기 및 점프 등의 빠른 관절운동 시에 요구되는 근력을 확인하기 위한 90 o/s 각속도에서의 운동검사를 실시한다. 먼저 30 o/s 각속도 검사에서는 최대 강도의 50% 강도로 3회의 연습을 시킨 후, 최대 강도에서 발목관절의 신전(족배굴곡), 굴곡(족저굴곡), 내번, 외번 운동을 각각 5회씩 시행하여 근력을 측정한다. 다음으로 90o/s 각속도 검사에서도 유사한 방식으로 발목관절의 신전, 굴곡, 내번, 외번 운동을 각각 10회씩 시행하여 측정한다.



그림 15. 등속성 운동력 측정(A; 배굴근, B; 발바닥 굴근, C; 내번근력, D; 외번근력)

[출처: J Korean Foot Ankle Soc, 19(4):142-150, 2015]

(5) 신체기능

(가) 간이신체활동 배터리(SPPB)

SPPB는 하지기능을 평가하는 수행검사로 직립균형검사, 보행속도, 의자에서 일어나기 3가지 항목으로 각 과제마다 수행불능 0점, 수행차이에 따라 1점에서 4점까지 점수를 부여해 각 과제당 4점씩 모두 성공했을 경우 12점 만점으로 한다.

- 직립균형 검사(standing balance test): 직립균형 검사는 양발자세(side by side stance), 한쪽 뒤꿈치옆 부분이 다른 발 엄지발가락에 닿기(semi tandem stance), 한쪽 뒤꿈치를 다른 발 엄지발가락 끝에 위치(tandem stance)를 10초 이상 유지를 평가한다. side by side stance와 semi tandem stance를 10초 이상 각각 1점, tandem stance는 3~9초 1점, 10초 이상 2점을 주어 만점을 4점으로 한다.

- 보행속도 검사(gait velocity test): 보행속도는 4 m를 걷는데 걸리는 시간으로 2번 수행하여 빠른 시간을 기준으로 한다. 수행불능 0점, 8.7초 초과 1점, 6.21~8.7초 2점, 4.82~6.20초 3점, 4.82초 미만 4점으로 한다.
- 의자일어서기 검사(repeated chair stands): 하지근력 검사로 손을 가슴에 팔짱을 낀 자세로 5회 일어서기를 반복하는 시간을 초(s)로 평가한다. 5회 반복 수행을 못하거나 60초 이상 0점, 16.7초 이상 1점, 13.70~16.69초 2점, 11.20~13.69초 3점, 11.19초 이하 4점으로 평가한다.

(나) 보행속도

- 안정 보행속도(self-selective comfortable gait speed): 안정 보행속도를 측정하기 위하여 대상자 본인이 가장 안정하다고 느끼면서 편하게 걷는 속도를 측정한다. 10 m 걷는 속도를 1회 연습과정을 거친 후 3회 반복측정하여 평균값을 구한다.
- 최대 보행속도(maximal gait speed): 최대 보행속도는 측정자가 안전하게 느끼면서 최대한 빨리 걷는 속도를 측정한다. 10 m 걷는 속도를 1회 연습과정을 거친 후 3회 반복 측정하여 평균값을 구한다. 대상자에게 총 14 m를 걷게 하고, 전후 2 m를 제외한 10 m 보행속도를 측정한다. 측정자는 첫 번째 발이 출발점을 지나는 시간에서 그 발이 종착점을 지나는 시간을 측정한다.

(다) 400 m 보행

400 m를 가능한 빨리 걷는데 소요되는 시간과 검사 시작 전 후 심박동 수를 측정한다. 힘들다면 1번 쉴 수 있는 기회가 있으며 1번 쉴 때 60초를 넘길 수 없다. 2번 쉬거나 60초를 넘겨 휴식하게 되면 검사는 종료되고, 환자가 검사 종료를 원하면 종료하고, 그 때까지의 거리를 검사 결과로 본다.

(라) 6분 보행

20 m의 직선거리를 반복적으로 걷는 방법으로 시행한다. 검사 전 준비 운동은 시행하지 않으며 시작 전 의자에 앉은 채로 시행방법에 대하여 교육을 한다. 6분 동안 가능한 많은 거리를 걷도록 하며, 걷는 속도와 휴식시간은 개인의 능력에 맞추어 스스로 조절할 수 있도록 한다. 출발 신호에 의하여 출발 후, 걷는 동안 동기 부여에 의한 오류를 제거하기 위하여, 남은 시간과 지침에서 허용된 문구('잘하고 있어요', '계속 하세요')만을 사용한다.

(마) 의자에서 5회 일어서기(5 repetition chair rise test)

등받이가 있으며 팔걸이가 없는 의자(높이 43 cm, 의자 깊이 47.5 cm)를 사용한다. 손을 가슴에 팔장 끼고 의자에 바르게 앉은 자세에서 시작이라는 명령과 함께 완전히 일어난 후 다시 의자에 앉는 것을 5회 반복 수행하고, 대상자가 5회 일어서기를 수행하는 동안 시간을 측정하였으며, 대상자가 일어서기 위해 등이 의자에서 떨어지는 순간에 시간 측정이 시작되고 5회 수행 후 앉은 자세에서 등이 닿을 때까지의 시간을 측정한다.

(바) 일어서서 걷기(TUG)

일어서서 걷기(TUG)는 기본적인 동적균형 및 이동능력을 짧은 시간 동안 쉽게 측정할 수 있는 검사로 팔걸이가 있는 의자에 앉아 신호와 함께 일어서서 3 m 전방 목표물 주위를 될 수 있는 한 빨리 돌아와 다시 의자에 앉는 시간을 측정하는 방법이다. 바닥에 테이프를 이용하여 보행하는 거리와 반환점을 표시하고, 검사자는 대상자가 의자에서 일어나 테이프가 부착된 반환점까지 걸어가서 다시 되돌아와 의자에 앉는 과정을 초단위로 측정한다.

(사) 로타로드(rotarod), 트레드밀 등

- 로타로드(rotarod): 동물이 가속되는 rotating rod에서 떨어지는데 걸리는 시간을 측정함으로써 균형감각, 운동 학습능력, 약물 스크리닝을 위한 운동능력 등을 측정한다.
- 트레드밀: 실험동물을 본 실험 전 2일 동안 일정시간을 달리게 하여 트레드밀에 적응시킨다. 본 실험에서는 일정 속도로 시작하여 동물이 지칠

때까지 속도를 증가시키면서 최대 주행 거리 및 시간을 측정한다. 운동성 측정 프로토콜은 동물의 신체나이를 고려하여 수행한다.

(6) 근육의 질/근육량

(가) 근육섬유(MHC I,II형), 근육과 지방밀도 비율

① 근육섬유(MHC I, II형)

세포 혹은 동물의 골격근 내 근육섬유 MHC I, II형 isoforms의 유전자 및 단백질의 발현을 qRT-PCR 및 Western blotting 방법을 통해 분석한다. 또는 근육에서 MHC 타입의 면역조직화학 염색을 수행하여 근육섬유 타입의 구성 비율을 확인한다.

② 영역별 근육과 지방의 밀도 비율

각 영역별 근육과 지방의 비율은 CT, MRI, 초음파 등을 통해 측정할 수 있다. 초음파로 측정한 에코 강도(echo intensity, EI)는 근육의 질(muscle quality)을 측정하는 기술로서 특히 각광을 받고 있다. EI는 조직이 초음파를 반사하고 흡수하는 능력, 즉 파생된 초음파를 통해 얻은 이미지의 밝기를 의미하는데, 이미지가 하얗게 될수록 제1형(slow-twitch) 근육섬유와 근육 내 지방 조직의 비율이 높아진다. EI 값이 높을수록 근육의 질과 악력은 낮아지는 경향이 있다.

(나) 근육량

① 자기공명영상(MRI)

자석을 내장한 장치에서 인체에 고주파를 쏘아 사지에서 돌아오는 신호를 검출하여 영상화한 자료를 통해 근골격계 질환을 진단하는 근골격계 자기공명영상 검사를 실시한다.

② 컴퓨터단층촬영(CT)

CT를 통한 근육량 분석은 요추 3번 위치의 근육과 내장, 피하지방조직을 상용워크스테이션(Aquaris Workstation; TeraRecon, San Mateo, CA, USA)을 이용해 영상의학과 전문의가 정량적으로 분석한다. 또한 동물의 경우는 미세단층촬영장치(micro-CT)를 활용하여 체내 지방 및 근육 부피를 측정할 수 있다.

③ 이중에너지방사선흡수법(DXA)

Lunar PRODIGY(GE system, Madison, WI, USA)와 같은 기기를 사용한다. 시험자들은 가벼운 옷차림을 한 후 모든 착용물을 제거하고, 머리부터 발끝까지 연속적인 횡축 촬영에 의해 검사가 시행되며 10~15분 정도 소요된다. 실험동물은 InAlyzer (Medikors Inc., Korea)를 활용하여 진정제 투여 또는 단순마취 상태로 살아있는 상태에서 체성분(골질량, 근육량, 지방량 등)을 측정할 수 있다.

④ 초음파 측정법(Ultrasonography)

가급적 검사 30분 전부터 환자를 원하는 자세와 위치에 있게 한다. 검사할 근육을 선택하고, 최대 근육 두께(maximal muscle bulk)를 찾기 위한 방법을 체크한다. 적절한 방법을 통해, 세로(longitudinal) 측정 지점의 위치를 결정하게 하는 해부학적 랜드마크를 찾는다. 그리고 연필로 피부에 이 지점을 표시한다. 근육의 내측과 외측을 찾아 연필로 표시한다. 이 두 개 마크의 중간 지점을 표시한다. 이 지점이 올바른 측정 지점이다. 초음파 probe를 근육섬유 다발에 맞추어 세로 방향으로 유지한다. 이 위치에서 근육의 두께(muscle thickness), pennation angle, fascicle length를 측정한다. Probe를 90도 돌려서 근육의 단면적을 측정한다. 아마 완벽한 타원이 아닐 것이기 때문에, 근육의 둘레는 커서로 수동으로 그릴 수 있다. 이 최대 영역을 이용하여 EI를 측정한다. 모든 측정은 세 번 반복하고, 이 측정치의 평균값을 사용한다.

⑤ 생체전기저항측정법(BIA)

InBody 3.0(Biospace co., Ltd, Seoul, Korea)와 같은 기기를 사용한다. 피검자는 가벼운 복장을 하고 신체에서 금속 성분을 모두 제거한 후 직립자세로 팔과 다리를 약간 벌린 자세를 취하고 측정계에 표시된 위치에 맨발로 올라선 후 손으로 전극 손잡이를 잡고 기계의 측정 순서대로 측정을 시행한다. 기기에 내장된 프로그램에 의해 부위별 전기 저항에 따라 체지방량(body fat mass, kg), 근육량(lean body mass, kg), 체지방률(percent body fat, %)을 측정한다.

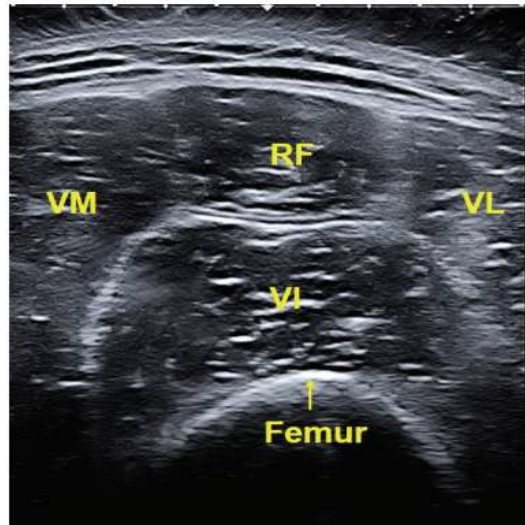


그림 16. 초음파를 이용한 대퇴사두근의 형태
(RF, 대퇴직근; VM, 내측광근; VL, 외측광근; VI, 중간광근)

[출처: 한국스포츠학회지, 17(4):1617-1624, 2020]

(다) 근육섬유 굵기

근원세포주를 분화시켜 근관세포를 형성시키고 굵기가 굵어지는 정도를 세포면역형광염색으로 관찰하고 측정한다. 이 때 융합지수(fusion index)와 근관직경(myotube diameter)를 측정할 수 있으며 융합지수는 총 핵 대비 근관세포에 국한된 핵의 평균수를 계산해서 측정하며 근관직경은 근관의 직경을 측정하여 평균 내어 계산한다.

(라) 근육 단면적

실험동물로부터 분리된 근육조직을 포르말린으로 고정하고 조직을 절편하여 H&E staining을 진행하거나 동결 고정한 조직 절편을 laminin으로 면역 형광 염색하여 현미경 하에서 관찰하고 사진촬영 후 근육단면의 면적을 측정한다.

(마) Myosin Heavy Chain(MHC)

세포 혹은 동물의 골격근 내 MHC isoforms을 유전자 및 단백질의 발현을 qRT-PCR 및 Western blotting 방법을 통해 분석한다. 또는 근육에서 MHC 타입의 면역조직화학 염색을 수행하여 타입의 구성 비율을 확인한다.

(바) 근육 내 triglyceride 함량

동물의 골격근 내 triglyceride는 이화학적 분석 kit를 이용하여 측정한다.

(사) Sarcopenia index

혈청에서의 크레아티닌 및 시스타틴C를 측정하고 [혈청 크레아티닌(mg/dL)/
혈청 시스타틴 C(mg/dL)] x 100에 대입하여 계산한다.

3. 시험 설계 시 고려사항

가. 시험관 시험

(1) 시험계

C2C12와 같은 근원세포주 등을 활용하여 근관세포로의 분화 조절능을 평가하거나, 근관세포에 glucocorticoids, fatty acids 및 hydrogen peroxide 등을 처리하여 근관세포 굵기 및 근위축 유발 관련 근육 합성·분해 단백질의 발현을 측정한다.

(2) 바이오마커

시험물질의 작용 기전을 설명하기 위하여 예상되는 대사 경로에 위치하고 있는 유전자, 효소, 전사인자, 신호전달물질, 대사산물 등에 대한 활성 및 발현 정도 등을 측정한다.

(3) 통계처리

시험물질 처리에 따른 변화에 대해 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 판정한다.

나. 동물시험

(1) 실험동물

근력손상을 유도한 동물모델을 이용하여, 시험물질을 투여한 후 근육과 관련된 바이오마커를 측정한다. 관찰하고자 하는 목적에 따라 다양한 모델을 사용할 수 있으며 동물모델의 예시는 표 2와 같다.

표 2. 동물모델 예시

Model	
mouse, rat	근위축 모델(dexamethasone, AICAR 등 유도)
	비만성 근감소 모델(고지방식이섭취 비만 유도)
	노화 모델(마우스 기준 18~24 월령, 랫드 기준 22~30 월령)
	부동마우스 모델(뒷다리 고정 등)
	악액질(cachexia) 동물모델

(2) 바이오마커

실험동물을 대상으로 원료를 일정기간 경구 투여하여 행동적 지표와 생리적 지표의 변화를 측정한다.

(3) 통계처리

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

다. 인체적용시험

(1) 시험대상자

(가) 선정기준(예시)

○ 노화로 인해 감소될 수 있는 근력 유지에 도움을 줄 수 있음

- 50~85세의 성인남녀
- 악력 측정치가 표준치 이하에 해당하는 자

○ 노화로 인해 감소될 수 있는 근기능 유지에 도움을 줄 수 있음

- 50~85세의 성인남녀
- 악력 측정치가 표준치 이하에 해당하는 자
- 신체기능검사(SPPB)결과가 9점을 초과하는 자
- * 보행속도, 400 m 걷기, 의자 일어서기, 일어서서 걷기 등에서 근감소증 진단범위에 해당하지 않는 자

(나) 제외기준(예시)

- 근감소증으로 진단받은 자
- 질병상태
 - 심각한 하지 근골격계 이상이나 손상이 있는 환자(척수관 협착증과 같은 척추질환으로 수술이 필요할 정도의 보행에 제한이 있는 자)
 - 신장질환: 치료가 필요한 신질환을 앓고 있거나 혈청 creatinine이 2.0 mg/dL 초과인 자
 - 간질환: 치료가 필요한 간 질환이 있거나 AST 또는 ALT가 참고범위 상한치의 3배 이상인 경우
 - 당뇨: 조절되지 않는 당뇨병(즉, HbA1C > 7.0%)
 - 고혈압: 조절되지 않는 고혈압(SBP > 150 mmHg 또는 DBP > 90 mmHg)
 - 우울증: 정신과 질환으로 신경정신과에서 약물을 복용하고 있는 자

(단 수면장애로 인해 간헐적 투약을 하는 경우, 적절하게 치료된 우울증은 등록에 적합)

- 악성종양 : 5년 내에 암의 병력이 있거나 현재 치료받고 있는 자
(단, 흑색종 이외의 피부종양은 제외)
- 치매, 파킨슨병으로 대화나 보행이 불가능한 자(경도의 증상은 참여 가능)
- 취약성 고관절 골절이 있는 환자
- 첫 방문 3개월 내 심근경색증, 관상동맥 우회로 이식술, 경피적 관상동맥 중재술
(예: 혈관성형술 또는 스텐트 삽입) 또는 활동성의 불안정 협심증, 뉴욕심장협회 Class
III 및 IV로 분류된 심부전, 중증의 심장 판막 질환 또는 결함(예: 대동맥 또는 승모판
협착), 뇌졸중, 치료하고 있지 않은 심방세동이 발생한 자

○ 약물복용

- 약물중독
- 시험시작 4주 이내에 경구용 스테로이드제, 부신피질호르몬제를 복용한자

○ 생활 습관

- 평소에 알코올을 140g/주(소주로 약 2.5병/주, 약 2.5잔/일) 이상 섭취하는 자

○ 알리지

- 실험물질에 대한 알리지/부작용

○ 기타

- 시험시작 2주 이내에 근력개선과 관련된 건강기능식품을 복용한 자
- 첫 번째 방문 전 3개월 이내에 지속적으로 에어로빅이나 저항성 운동에 참여했던 자
- 최근 3개월 내 다른 임상실험 참가
- 연구자에 의해 실험에 부적합하다고 판단되는 사람

(2) 시험설계

무작위배정, 위약대조연구(Randomized, controlled trial)를 기본으로 하며, 성별, 연령, 체중, 체지방 등의 인구학적 정보 및 기초특성을 조사하고, 시험기간 중식이섭취와 운동에 대한 교육 및 중재를 통해 열량(단백질섭취량 등), 운동량의 차이를 최소화 하도록 한다. 시험자가 섭취하는 대조·시험식품이 어떤 것인지 알 수 없도록 이중맹검법(double blind randomization)을 실시하도록 한다.

해당 연령층이 수행하기에 적절한 운동을 병행하도록 하며, 기능성 내용의 특성상 성별, 연령, 우성수(dominant), 비우성수(non-dominant) 등의 영향을 받을 수 있으므로 필요 시 층화무작위 배정을 수행할 수도 있다.

(3) 바이오마커

원료의 작용기전을 설명하기 위하여 예상되는 대사경로 및 인체적용시험 설계를 고려하여 적절한 바이오마커를 선택하여 측정한다.

(4) 교란변수(confounding factors)의 고려

시험결과에 영향을 줄 수 있는 식이(열량, 단백질 섭취량 등), 운동량, 알코올 및 카페인 섭취량 등을 고려하여 조사할 필요가 있다.

(5) 통계처리

인구학적 자료 및 기초특성의 측정지표에 대한 통계분석방법을 기술하고 분석군(ITT, FAS, PP)에 대해 명확하게 정의하여 주분석군 설정에 대한 설명이 계획서와 결과보고서에 기술되도록 한다. 또한, 기능성 평가지표에 대한 통계분석방법 및 중도탈락자 및 결측 처리에 대한 통계분석방법을 명확히 한다. 연구 개시 후 측정 시기 및 방법의 변화가 있는 경우, 그 변경 사유를 기술하여야 하며, 층화 분석, 보정분석 등이 제출된 경우, 사전 계획 여부가 기술되도록 한다. 이때, 각 군별 기능성 평가지표에 대한 분석결과에 사용된 통계분석방법, 군간 통계적 유의성, 시험대상자 수, 평균, 표준편차 등이 확인될 수 있도록 하여야 하며 통계분석방법의 변경이 있는 경우, 변경사항에 대해 기술하도록 한다.

1. 종속변수가 범주형일 경우

- 범주형 변수는 크게 명목 척도와 순위 척도로 구분할 수 있음
 - 명목 척도 : 성별, 국가, 흡연 여부 등 연속되지 않으며 범주 간 서열이 존재하지 않는 범주형 척도
 - 순위 척도 : 질병의 병기(1기, 2기, 3기) 등 연속되지 않으나 범주 간 서열이 존재하는 범주형 척도
 - 연속형 변수는 수치화된 변수로 연속성이 있으며, 평균, 표준편차 등을 계산할 수 있는 변수임

1.1. Chi-square test

- 두 군간의 차이를 비교할 때 사용됨
 - * 빈도가 5 미만인 항목이 있는 경우 Fisher's exact test를 사용

1.2. McNemar's test

- 군 내의 전후 차이를 비교할 때 사용됨

2. 종속변수가 연속형이고 비교군이 2개일 경우

※ 연구 내 비교군이 2개(대조군, 시험군)일 경우 사용되는 분석 모델임

2.1. Paired T-test : 군 내의 전후 차이를 비교할 때 사용됨

2.1.1. Wilcoxon's signed-ranks T-test

- 군 내의 전후 차이 비교 시, 변수의 분포가 정규분포를 따르지 않는 경우 사용됨

2.2. Independent T-test : 두 군간의 차이를 비교할 때 사용됨

2.2.1. Wilcoxon's rank sum T-test

- 두 군간의 차이 비교 시, 변수의 분포가 정규분포*를 따르지 않는 경우 사용됨

2.3. Linear mixed effect model

- 유효성 평가 지표 측정 시점이 3회 이상일 경우 사용할 수 있음*

* 방문 시점 간의 공분산 구조(covariance structure)를 결정하여 분석에 적용할 수 있는 모델이며, 효과의 크기(slope), linear function의 절편(intercept) 등의 방문시점, 대상자 등에 따른 고정효과(fixed effect) 또는 무작위효과(random effect)의 여부를 결정하여 model안에 혼합(mixed effect)하여 적용할 수 있음

3. 종속변수가 연속형일 경우 AND 비교군이 3개 이상일 경우

※ 연구 내 비교군이 3개(대조군, 시험군1, 시험군2 등)일 경우 사용되는 분석 모델임

3.1. ANOVA(Analysis of variance) : 군 간의 차이를 비교할 때 사용

3.2. Kruskal Wallis test : 군 간의 차이 비교 시, 변수의 분포가 정규분포를 따르지 않는 경우 사용

※ 변수 분포의 정규성 검정

- 정규성 검정 방법은 Kolmogorov-Smirnov test, Shapiro-Wilk test 등의 방법으로 검정할 수 있음. 일반적으로 p value가 0.05 미만일 경우, 정규분포를 따르지 않는 것으로 판단함. 그러나 현실에서 해당 기준에서 정규분포를 따르는 경우가 많지 않으므로, p value가 0.05 이상이라도 marginal한 p value를 확인하거나 Q-Q plot을 육안으로 확인하는 등 연구자가 자의적으로 정규분포를 따르는 것으로 판단할 수 있음
- 군 당 sample size가 30 이상인 경우, 중심극한정리를 이용하여 정규성을 가정하는 경우가 있음. 그러나 중심극한정리는 표본집단이 대표하는 모집단이 무한모집단이라는 가정 하에 사용됨. 즉, 모집단에 대한 가정이 불확실한 경우 또는 유한모집단인 경우가 있으므로 군 당 sample size가 30 이상이라고 해도 정규성 검정이 필요할 수 있음. 또한 30명이라는 기준은 연구자가 임의적으로 설정한 것임을 고려하여 절대적인 기준이 되지 않을 수 있음

4. 교란변수 보정이 필요한 경우

- Randomized Clinical Trial(중재연구)은 randomization을 통해 대상자가 군에 배정 되므로, 교란변수를 통제할 수 있는 설계의 연구임. 그러나 우연에 의해 baseline의 특성이 군 간 차이를 보이는 경우가 발생할 수 있음. 이럴 경우, 연구자는 해당 변수를 공변량(covariate)으로 model에 포함시켜 분석할 수 있음. 그러나 가능할 경우, randomization block으로 생성하여 randomization 단계에서 층화무작위배정 등으로 미리 불균형을 방지하는 것이 바람직할 수 있음

4.1. ANCOVA

- 보정하고자 하는 변수를 모델 내 공변량(covariate)으로 추가할 수 있음

4.2. Linear mixed effect model

- 보정하고자 하는 변수를 모델 내 공변량(covariate)으로 추가할 수 있음

4. 안전성 평가

인체적용시험에서 시험물질의 섭취로 인한 안전성 평가를 위해 일반적으로 활력징후, 심전도 검사, 혈액학적 검사, 혈액화학적 검사, 뇨검사를 실시하는 것이 일반적이며 기능성 원료의 특성과 기능성 내용에 따라 안전성 평가항목이 추가될 수 있다.

※ [참고] 안전성 검사항목(예시)

- (활력징후) 체중, 체온, 맥박, 혈압 등
- (혈액학적 검사) WBC, RBC, Hb, Hct, PLT, MCV, MCH, MCHC, Neutrophil, Lymphocyte, Monocyte, Eosinophil, Basophil 등
- (혈액화학적 검사) AST, ALT, BUN, creatinine, glucose, total protein, albumin, total cholesterol, LDL, HDL, triglyceride, GGT, ALP, CPK, LDH 등
- (뇨검사) pH, Nitrite, specific gravity, Protein, Glucose, Ketone, Bilirubin, Blood, Urobilinogen, Color 등

IV 참고문헌

1. Fox, Stuart Ira. Human physiology. fourteenth edition. McGraw-Hill, 2016
2. Boland M, Kaur L, Chian FM, Astruc T. Muscle proteins. Encyclopedia of food chemistry, 164-179, 2018.
3. 원장원. 일차의료에서 근감소증의 진단. Journal of the Korean Medical Association /Taehan Uisa Hyophoe Chi, 63(10), 2020
4. 「건강기능식품 기능성 원료 및 기준규격 인정에 관한 규정, 식품의약품안전처 고시
5. 건강기능식품(개정판), 김미경, 권오란, 전향숙, 원혜숙, 김지연, 강병철, 제정환, 한재갑, 홍성화, 복혜숙, 김우선, 피재호, 박현용, 김현정, 교문사, 2010
6. 강승록, 김경, 정구영, 서영범, 정장식, 김정자, 권대규. 전동식 운동기기의 부하방식에 따른 근력증진 효과. 한국정밀공학회지, 29(2):229-238, 2012
7. 권기선. 운동 능력 향상 및 근육 손상 회복에 효과적인 노인성 근감소증의 예방 및 치료약물. 한국생명공학연구원, 2006
8. 권미지. 뇌졸중 환자와 노인의 의자에서 일어서기 수행평가. J Korean Soc Phys Med, 9(1):101-106, 2014
9. 공성아, 성순창, 김현수. 근감소증의 진단과 신경학적 견해. 운동학 학술지, 18(4):15-23, 2016
10. 김기진. 여성 노인의 운동프로그램 수행 후 근육량, 혈중 글루코스 대사변인 및 사이토카인 농도의 변화. 코칭능력개발지, 21(3):86-93, 2019
11. 김선옥. 외래에서평가하는노소증. 분당서울대병원내과연수강좌, 2017
12. 김보성, 김명진, 박주형, 백형진, 이준화. MPS 근육학 쉽게 공부하기. 예방의학사, 2018
13. 김은혜, 김선미. 노인의 근감소증. Korean J Clin Geri, 16(1):1-7, 2015
14. 김정현, 황지혜, 고문주, 민경빈, 박원하, 권대규. 슬관절 골관절염 환자의 무릎 통증이 대퇴 근력과 고유수용성감각 및 균형에 미치는 영향. 대한스포츠의학회지,

- 31(1):1-6, 2013
15. 대한근감소증학회. 근감소증. 군자출판사, 2017
 16. 문연실, 한설희. 근감소증의 진단과 신경학적 견해. 대한신경과학회지, 35(4):16-19, 2017
 17. 맹접. 오미자 추출물이 골격근량에 미치는 영향 분석을 통한 노화성 근기능 저하방지에 대한 이중맹검 무작위배정 임상연구. 동아대학교 대학원, 2016
 18. 박석원. 노인의 근감소증. 대한내분비학회지, 22(1):.1-7, 2007
 19. 백선은, 박은지, 김혜원, 유정은. 한약을 결합한 감로수 절식요법이 여성의 체성분 변화에 미치는 영향: 증례보고. 한방비만학회지, 18(2):152-158, 2018
 20. 서윤정, 류재환. 홍삼의 Dexamethasone 유도 근감소증 모델 백서에 대한 효과 연구. 대한한방내과학회지, 39(6):1168-1180, 2018
 21. 송제호. 노화와 근육운동. 스포츠과학, 32-33, 2011
 22. 윤보라, 김영현, 이종석, 홍희도, 이영경, 조장원, 김영찬, 이옥환. C2C12 근육세포의 산화적 손상에 대한 홍경천-홍삼 추출물 혼합액 발효물의 보호효과. 한국식품영양학회지, 26(3):485-491, 2013
 23. 이상교, 이정아, 김진영, 김영주, 박혜순. 한국 노인 남성에서 근감소증과 연관된 위험요인평가 : 2009년 국민건강영양조사 자료를 이용하여. Korean J Obes, 23(1):23-31, 2014
 24. 이원희, 강보윤, 김윤정, 김현경, 박정규, 박수이. Kinect 센서를 활용하는 노인 하체 근력 강화 시스템 연구. 한국정보통신학회논문지, 21(11):2095-2102, 2017
 25. 이온, 김연수. 한국 노인의 근력감소와 건강 관련 삶의 질 간의 연관성. 대한스포츠의학회지, 36(1):15-23, 2018
 26. 이창호, 김영언, 김인호, 한대석, 성기승, 양동흠, 송태철. 생약 열수추출물의 근력향상 효능평가. 한국식품영양과학회지, 36(6):687-682, 2007
 27. 장학철. 근감소증과 근감소성 비만. J Korean Geriatr Soc, 15(1):1-7, 2011
 28. 허준원, 노미현, 박동호, 강주희, 곽효범. 노화성 근감소증과 운동. 아시아 운동학 학술지, 19(2):43-59, 2017

29. 홍상모, 최응환. Sarcopenia의 최신지견: 근감소증. 대한내과학회지, 83(4):444-454, 2012
30. 공성아, 성순창, 김현수. 근감소증 진단 지표의 효용성에 관한 연구. 운동학 학술지, 18(4):15-23, 2016
31. 이승열. 초음파를 이용한 근감소증의 평가. 대한노인재활의학회지, 10(2):50-57, 2020
32. 임창현, 김창근. 골격근의 혈류차단 후 재 관류 시 운동훈련의 형태가 골격근 재생 및 회복에 미치는 영향. 운동과학, 26(1):49-60, 2017
33. 서대운, 배준현, 방현석, 곽이섭. 골격근 위축에 대한 운동 메커니즘: 기전적 분석. 운동과학, 29(3): 202-207, 2020
34. 노은. 노쇠와 근감소증에 있어 노화 관련 만성 염증의 역할. 대한노인재활의학회지, 11(1): 18-26, 2021
35. 박정환, 임진영, 이민아, 성은정, 이준수. C2C12 근육세포에서 과산화수소로 유도된 산화 스트레스에 대한 시체 (柿蒂) 의 보호효과. 대한한의학방제학회지, 29(4):181-189, 2021
36. Kumagai H, Cohen P, Kim SJ. 노인성 근감소증 개선을 위한 mitochondrial-derived peptide. BT NEWS, 28(2):36-42, 2021
37. Frontera WR and Ochala J. Skeletal muscle: a brief review of structure and function. Calcified tissue international, 96: 183-195, 2015
38. Baek JY, Jung HW, Kim KM, Kim M, Park CY, Lee KP, Lee SY, Jang IY, Jeon OH, and Lim JY. Korean Working Group on Sarcopenia guideline: expert consensus on sarcopenia screening and diagnosis by the Korean Society of Sarcopenia, the Korean Society for Bone and Mineral Research, and the Korean Geriatrics Society. Annals of Geriatric Medicine and Research, 27(1): 9, 2023
39. Ammar A, Turki M, Chtourou H, Hammouda O, Trabelsi K, Kallel C, Abdelkarim O, Hoekelmann A, Bouaziz M, Ayadi F, Driss T, Souissi N. Pomegranate Supplementation Accelerates Recovery of Muscle

- Damage and Soreness and Inflammatory Markers after a Weightlifting Training Session. PLoS One, 11(10), 2016
40. Aoi W, Takeda K, Sasaki A, Hasegawa Y, Nakamura Y, Park EY, Sato K, Iwasa M1, Nakayama A, Minamikawa M, Kobayashi Y, Shirota K, Suetome N. The effect of Katsura-uri (Japanese pickling melon, Cucumis melo var. conomon) and its derived ingredient methylthioacetic acid on energy metabolism during aerobic exercise. Springerplus, 4:377, 2015
 41. Belemtougri RG, Constantin B, Cognard C, Raymond G, Sawadogo L. Effects of two medicinal plants Psidium guajava L. (Myrtaceae) and Diospyros mespiliformis L. (Ebenaceae) leaf extracts on rat skeletal muscle cells in primary culture. J Zhejiang Univ Sci B, 7(1):56-63, 2006
 42. Berry SD, Ramachandran VS, Cawthon PM, Gona P, McLean RR, Cupples LA, Kiel DP. Procollagen type III N-terminal peptide (P3NP) and lean mass: a cross-sectional study. J Frailty Aging, 2(3):129-34, 2013
 43. Buchwald-Werner S, Naka I, Wilhelm M, Schutz E, Schoen C, Reule C. Effects of lemon verbena extract (Recoverben®) supplementation on muscle strength and recovery after exhaustive exercise: a randomized, placebo-controlled trial. J Int Soc Sports Nutr, 15:5, 2018
 44. Bering T, Diniz KGD, Coelho MPP, Vieira DA, Soares MMS, Kakehasi AM, Correia MITD, Teixeira R, Queiroz DMM, Rocha GA, Silva LD. Association between pre-sarcopenia, sarcopenia, and bone mineral density in patients with chronic hepatitis C. J Cachexia Sarcopenia Muscle, 9(2):255-268, 2018
 45. Castro B, Kuang S. Evaluation of Muscle Performance in Mice by Treadmill Exhaustion Test and Whole-limb Grip Strength Assay. Bio Protoc, 7(8), 2017
 46. Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, Boirie Y, Bruyere O, Cederholm T, Cooper C, Landi F, Rolland Y, Sayer AA, Schneider SM, Sieber CC, Topinkova E, Vandewoude M, Visser M, Zamboni M: Writing Group

- for the European Working Group on Sarcopenia in Older People 2 (EWGSOP2), and the Extended Group for EWGSOP2. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age Ageing*, 48(1):16-31, 2019
47. Turck D, Castenmiller J, De Henauw S, Hirsch-Ernst KI, Kearney J, Knutsen HK, Maciuk A, Mangelsdorf I, McArdle HJ, Naska A, Pelaez C, Pentieva K, Thies F, Tsabouri S, Vinceti M, Bresson JL, Burlingame B, Dean T, Fairweather-Tait S, Heinonen M, Neuhauser-Berthold M, Nowicka G, Sanz Y, Sjödin A, Stern M, Tomé D, Van Loveren H, Willatts P, Martin A, Strain JJ, Heng L, Valtueña Martínez S, Siani A. Guidance on the scientific requirements for health claims related to muscle function and physical performance (Revision 1). *EFSA Journal*, 16(10):5434, 2018
 48. Denison HJ, Cooper C, Sayer AA, Robinson SM. Prevention and optimal management of sarcopenia: a review of combined exercise and nutrition interventions to improve muscle outcomes in older people. *Clin Interv Aging*, 10:859-69, 2015
 49. Dutt V, Gupta S, Dabur R, Injeti E, Mittal A. Skeletal muscle atrophy: Potential therapeutic agents and their mechanisms of action. *Pharmacol Res*, 99:86-100, 2015
 50. Evans WJ, Hellerstein M, Orwoll E, Cummings S, Cawthon PM. D₃-Creatine dilution and the importance of accuracy in the assessment of skeletal muscle mass. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 10(1):14-21, 2019
 51. Gharahdaghi N, Rudrappa S, Brook MS, Idris I, Crossland H, Hamrock C, Abdul Aziz MH, Kadi F, Tarum J, Greenhaff PL, Constantin-Teodosiu D, Cegielski J, Phillips BE, Wilkinson DJ, Szewczyk NJ, Smith K, Atherton PJ. Testosterone therapy induces molecular programming augmenting physiological adaptations to resistance exercise in older men. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2019

52. Gomes MJ, Martinez PF, Pagan LU, Damatto RL, Cezar MDM, Lima ARR, Okoshi K, Okoshi MP. Skeletal muscle aging: influence of oxidative stress and physical exercise. *Oncotarget*, 8(12):20428-20440, 2017
53. Hak Chul Jang. How to Diagnose Sarcopenia in Korean Older Adults?. *AGMR*, 22(2):73-79, 2018
54. Haramizu S, Asano S, Butler DC, Stanton DA, Hajira A, Mohamed JS, Alway SE. Dietary resveratrol confers apoptotic resistance to oxidative stress in myoblasts. *J Nutr Biochem*, 2017
55. Iyer SR, Valencia AP, Hernandez-Ochoa EO, Lovering RM. In Vivo Assessment of Muscle Contractility in Animal Studies. *Methods Mol Biol*, 1460:293-307, 2016
56. Jeong JW, Kim JW, Ku SK, Kim SG, Kim KY, Kim GY, Hwang HJ, Kim BW, ChungHY, Kim CM, Choi YH. Essential oils purified from *Schisandrae semen* inhibits tumor necrosis factor- α -induced matrix metalloproteinase-9 activation and migration of human aortic smooth muscle cells. *BMC Complement Altern Med*, 15:7, 2015
57. Jones TE, Stephenson KW, King JG, Knight KR, Marshall TL, Scott WB. Sarcopenia—mechanisms and treatments. *J Geriatr Phys Ther*, 32(2):83-9, 2009
58. JD. Beas-Jimenez, G. Lopez-Lluch, I. Sanchez-Martinez, A. Muro-Jimenez, E. Rodriguez-Bies, P. Navas. Sarcopenia: implications of physical exercise in its pathophysiology, prevention and treatment. *Rev Andal Med Deporte*, 4(4):158-166, 2011
59. Kawabata K, Kitamura K, Irie K, Naruse S, Matsuura T, Uemae T, Taira S, Ohigashi H, Murakami S, Takahashi M, Kaido Y, Kawakami B. Triterpenoids Isolated from *Ziziphus jujuba* Enhance Glucose Uptake Activity in Skeletal Muscle Cells. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 63(3):193-199, 2017

60. Kayashita J, Shimaoka I, Nakajoh M, Kondoh M, Hayashi K, Kato N. Muscle hypertrophy in rats fed on a buckwheat protein extract. *Biosci Biotechnol Biochem*, 63(7):1242-5, 1999
61. Kim CH, Shin JH, Hwang SJ, Choi YH, Kim DS, Kim CM. Schisandrae fructus enhances myogenic differentiation and inhibits atrophy through protein synthesis in human myotubes. *Int J Nanomedicine*, 11:2407-15, 2016
62. Kim JH, Kim JH, Sutikno LA, Lee SB, Jin DH, Hong YK, Kim YS, Jin HJ. Identification of the minimum region of flatfish myostatin propeptide (Pep45-65) for myostatin inhibition and its potential to enhance muscle growth and performance in animals. *PLoS One*, 14(4), 2019
63. Kim KY, Ku SK, Lee KW, Song CH, An WG. Muscle-protective effects of Schisandrae Fructus extracts in old mice after chronic forced exercise. *J Ethnopharmacol*, 212:175-187, 2018
64. Kim JW, Ku SK, Han MH, Kim KY1, Kim SG, Kim GY, Hwang HJ, Kim BW, Kim CM, Choi YH. The administration of Fructus Schisandrae attenuates dexamethasone-induced muscle atrophy in mice. *Int J Mol Med*, 36(1):29-42, 2015
65. Konda MR, Alluri KV, Janardhanan PK, Trimurtulu G, Sengupta K. Combined extracts of *Garcinia mangostana* fruit rind and *Cinnamomum tamala* leaf supplementation enhances muscle strength and endurance in resistance trained males. *J Int Soc Sports Nutr*, 15(1):50, 2018
66. Lattari E, Oliveira BRR, Monteiro Junior RS, Marques Neto SR, Oliveira AJ, Maranhao Neto GA, Machado S, Budde H. Acute effects of single dose transcranial direct current stimulation on muscle strength: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, 13(12), 2018
67. Lee ES, Park HM. Prevalence of Sarcopenia in Healthy Korean Elderly Women. *J Bone Metab*, 22(4):191-195, 2015

68. Lotri-Koffi A, Pauly M, Lemarie E, Godin-Ribuot D, Tamisier R, Pepin JL, Vivodtzev I. Chronic neuromuscular electrical stimulation improves muscle mass and insulin sensitivity in a mouse model. *Sci Rep*, 9(1):1-10, 2019
69. Lee ES, Yang YJ, Lee JH, Yoon YS. Effect of high-dose ginsenoside complex (UG0712) supplementation on physical performance of healthy adults during a 12-week supervised exercise program: A randomized placebo-controlled clinical trial. *J Ginseng Res*, 42(2):192-198, 2018
70. Liao CD, Chen HC, Huang SW, Liou TH. The Role of Muscle Mass Gain Following Protein Supplementation Plus Exercise Therapy in Older Adults with Sarcopenia and Frailty Risks: A Systematic Review and Meta-Regression Analysis of Randomized Trials. *Nutrients*, 11(8), 2019
71. Machado AS, da Silva W, Souza MA, Carpes FP. Green Tea Extract Preserves Neuromuscular Activation and Muscle Damage Markers in Athletes Under Cumulative Fatigue. *Front Physiol*, 9:1137, 2018
72. Nagai N, Yagyu S, Hata A, Nirengi S, Kotani K, Moritani T, Sakane N. Maslinic acid derived from olive fruit in combination with resistance training improves muscle mass and mobility functions in the elderly. *J Clin Biochem Nutr*, 64(3):224-230, 2019
73. Nachar A, Eid HM, Vinqvist-Tymchuk M, Vuong T, Kalt W, Matar C, Haddad PS. Phenolic compounds isolated from fermented blueberry juice decrease hepatocellular glucose output and enhance muscle glucose uptake in cultured murine and human cells. *BMC Complement Altern Med*, 17(1):138, 2017
74. Nedergaard A, Sun S, Karsdal MA, Henriksen K, Kjær M, Lou Y, He Y, Zheng Q, Suetta C. Type VI collagen turnover-related peptides-novel serological biomarkers of muscle mass and anabolic response to loading in young men. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 4(4):267-75, 2013
75. Ng TP, Feng L, Nyunt MS, Feng L, Niti M, Tan BY, Chan G, Khoo SA,

- Chan SM, Yap P, Yap KB. Nutritional, Physical, Cognitive, and Combination Interventions and Frailty Reversal Among Older Adults: A Randomized Controlled Trial. *Am J Med*, 128(11):1225-1236, 2015
76. Puzzo D, Raiteri R, Castaldo C, Capasso R, Pagano E, Tedesco M, Gulisano W, Drozd L, Lippiello P, Palmeri A, Scotto P, Miniaci MC. CL316,243, a β 3-adrenergic receptor agonist, induces muscle hypertrophy and increased strength. *Sci Rep*, 5, 2016
77. Terruzzi I, Vacante F, Senesi P, Montesano A, Codella R, Luzi L. Effect of Hazelnut Oil on Muscle Cell Signalling and Differentiation. *J Oleo Sci*, 67(10):1315-1326, 2018
78. Saris WH, Antoine JM, Brouns F, Fogelholm M, Gleeson M, Hespel P, Jeukendrup AE, Maughan RJ, Pannemans D, Stich V. PASSCLAIM - Physical performance and fitness. *Eur J Nutr*, 1:50-95, 2003
79. Stephen D. Anton, Azumi Hida, Robert Mankowski, Andrew Layne, Laurence M. Solberg, Arch G. Mainous, III, Thomas Buford. Nutrition and Exercise in Sarcopenia. *Current Protein and Peptide Science*, 19:649-667, 2018
80. Szentesi P, Csernoch L, Dux L, Keller-Pinter A. Changes in Redox Signaling in the Skeletal Muscle with Aging. *Oxid Med Cell Longev*, 2019
81. Vlatcheski F, Naimi M, Murphy B, Hudlicky T, Tsiani E. Rosmarinic Acid, a Rosemary Extract Polyphenol, Increases Skeletal Muscle Cell Glucose Uptake and Activates AMPK. *Molecules*, 22(10), 2017
82. Xia N, Pautz A, Wollscheid U, Reifenberg G, Forstermann U, Li H. Artichoke, cynarin and cyanidin downregulate the expression of inducible nitric oxide synthase in human coronary smooth muscle cells. *Molecules*, 19(3):3654-68, 2014
83. Wang SY, Huang WC, Liu CC, Wang MF, Ho CS, Huang WP, Hou CC, Chuang HL, Huang CC. Pumpkin (*Cucurbita moschata*) fruit extract

- improves physical fatigue and exercise performance in mice. *Molecules*, 17(10):11864-76, 2012
84. Withee ED, Tippens KM, Dehen R, Tibbitts D, Hanes D, Zwickey H. Effects of Methylsulfonylmethane (MSM) on exercise-induced oxidative stress, muscle damage, and pain following a half-marathon: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Int Soc Sports Nutr*, 14:24, 2017
 85. Zembroń-Łacny A, Dziubek W, Rogowski Ł, Skorupka E, Dąbrowska G. Sarcopenia: monitoring, molecular mechanisms, and physical intervention. *Physiol Res*, 63(6):683-691, 2014
 86. Ziaaldini MM, Marzetti E, Picca A, Murlasits Z. Biochemical Pathways of Sarcopenia and Their Modulation by Physical Exercise: A Narrative Review. *Front Med (Lausanne)*, 4:167, 2017
 87. Deacon Robert MJ. Measuring motor coordination in mice. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, 75:e2609, 2013
 88. Shiotsuki H, Yoshimi K, Shimo Y, Funayama M, Takamatsu Y, Ikeda K, Takahashi R, Kitazawa S, Hattori N. A rotarod test for evaluation of motor skill learning. *J Neurosci Methods*, 189(2):180-5, 2010
 89. Bakalian MJ, Fernstrom JD. Effects of L-tryptophan and other amino acids on electroencephalographic sleep in the rat. *Brain research*, 528(2):300-307, 1990
 90. Bonetto A, Andersson DC, Waning DL. Assessment of muscle mass and strength in mice. *BoneKEy reports*, 4, 2015
 91. Ueno H, Takahashi Y, Murakami S, Wani K, Miyazaki T, Matsumoto Y, Okamoto M, Ishihara T. The prevention of home-cage grid climbing affects muscle strength in mice. *Scientific reports*, 12(1):15263, 2022
 92. Dougherty JP, Springer DA, Gershengorn MC. The Treadmill Fatigue Test: A Simple, High-throughput Assay of Fatigue-like Behavior for

- the Mouse. JoVE (Journal of Visualized Experiments), 111:e54052, 2016
93. Castro B, Kuang S. Evaluation of Muscle Performance in Mice by Treadmill Exhaustion Test and Whole-limb Grip Strength Assay. Bio-protocol, 7(8):e2237-e2237, 2017
94. Deschenes MR. Effects of Aging on Muscle Fibre Type and Size. Sports medicine, 34:809-824, 2004
95. Miljkovic N. Lim JY, Miljkovic I, Frontera WR. Aging of skeletal muscle fibers. Annals of rehabilitation medicine, 39(2):155-162, 2015

건강기능식품 기능성 평가 가이드(민원인 안내서)

- 근육 관련 -

발 행 인 : 식품의약품안전평가원장 박윤주
편 집 위 원 장 : 식품위해평가부장 오금순
편 집 위 원 : 이혜영, 김용무, 안종훈, 서은채, 고수일, 정유경, 이다선, 김남숙, 이미영,
최정호, 이세윤, 전해련, 류다연
발 행 처 : 식품의약품안전평가원
주 소 : 충청북도 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명2로 187
문 의 처 : 영양기능연구과(043-719-4402)
