

발 간 등 록 번 호

안내서-0832-02

국민 **안심**이 기준입니다

건강기능식품 기능성 평가 가이드 (민원인 안내서)

-수면건강 관련-

2022. 7.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

지침서 · 안내서 제 · 개정 점검표

명칭	건강기능식품 기능성 평가 가이드 (수면건강 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 · 안내서 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(☒ 지침서) ☐ 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.		
2022년 7 월 일		
담당자 확 인(부서장) 이 해 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 2022년 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(식품의약품 안전처 지침서등의 관리에 관한 규정 제2조)

※ 본 안내서에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전평가원 식품위해 평가부 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-0832-01	2017.12	제정
2	안내서-0832-02	2022.7.	개정 (시험 설계 시 고려사항 등 업데이트)

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

※ 약어	3
------------	---

I 서론	4
-------------	---

II 일반적 사항	4
------------------	---

1. 수면의 정의와 의의	4
2. 수면의 구조	5
3. 수면 각성 조절의 기전	7
4. 수면 장애의 종류 및 개념	12

III 기능성 시험 방법	14
----------------------	----

1. 바이오마커의 선정	14
2. 주요 바이오마커의 측정 방법	22
3. 시험 설계 시 고려사항	34

IV 참고문헌	41
----------------	----

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 기능 향상 또는 건강유지·개선을 나타내는 기능	기능성 원료
질병발생 위험감소 기능	질병의 발생 또는 건강상태의 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 인체적용시험(RCT)에서 확보되어야 함(추측 제안기전과 관련한 바이오마커가 기반연구시험과 인체적용시험에서 일관성 있게 확인 되어야 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 건강유지·개선을 나타내는 경우 인정

약 어

ADL	Activity of Daily Living
AHI	Apnea-Hypopnea Index
BBB	Blood-brain barrier
EEG	Electroencephalogram
EMG	Electromyography
FFT	Fast Fourier Transform
GABA	Gamma aminobutyric acid
ICSD	International Classification of Sleep Disorders
ISI	Insomnia Severity Index
MSLT	Multiple Sleep Latency Test
NREM	Non-Rapid Eye Movement
ORX	Orexin
PSG	Polysomnography
PSQI	Pittsburgh Sleep Quality Index
RCT	Randomized, Controlled Trial
RDI	Respiratory Disturbance Index
REM	Rapid Eye Movement
RNA	Ribonucleic acid
SCN	Suprachiasmatic nucleus
6-SMT	6-Sufatoxymelatonin
TWT	Total wake time
TST	Total sleep time
VLPO	Ventrolateral preoptic nucleus
WASO	Wake time after sleep onset

I 서론

이 평가 가이드[민원인 안내서]는 건강기능식품 기능성원료를 개발하는 연구자 및 영업자에게 기능성(수면건강에 도움)에 대한 바이오마커 등의 정보를 제공함으로써 산업체의 기능성원료 연구개발에 적정을 기하고 효율성을 높이하고자 작성되었다.

II 일반적 사항

1. 수면의 정의와 의의

수면은 건강을 유지하는 데 있어서 가장 필수적이고 중요한 생리현상이다. 수면은 조직, 특히 중추신경계의 항상성 회복, 에너지 저장, 체온 조절, 감각, 과 부하된 뇌로부터 부적절한 기억의 제거 등의 기능을 수행하는 현상이며, 외부환경을 인식하고 반응하는 능력이 가역적, 반복적, 정상적으로 정지된, 움직이지 않는 상태로 정의한다.

수면은 단순한 휴식을 넘어서 신체와 정신의 건강을 위하여 꼭 필요한 과정으로, 좋은 수면을 유지하는 것은 삶의 질을 높이고 각종 신체, 정신질환을 예방하는 데 중요한 요소이다. 수면이 부족하거나 수면의 질이 나빠지면 신체와 정신활동에 문제가 발생할 뿐만 아니라 각종 질환에 걸릴 위험성이 높아지며, 일상생활에 큰 장애를 가져온다.

쥐에 대한 수면박탈 실험 결과, 잠을 못 잔 쥐들은 전신쇠약, 피부병, 체중감소, 에너지 소비 증가 및 체온하강 등의 현상이 나타났고, 궁극적으로는 수명이 단축되었다. 사람에서도 정상인을 대상으로 24시간 이상 계속해서 깨어있게 하는 수면박탈실험 결과를 보면, 깨어있는 시간이 길수록 피로감이 점차 증가하여 밤 12시 이후에 급격하게 증가하는데, 이는 수면이 신체피로를 회복하는데 절대적으로 필요하다는 것을 의미한다. 또한 수면박탈 직후에 집중력과 절차기억(procedural memory)검사 결과에서도 각성시간이 길수록 정확도가 떨어지고 실수가 증가하였다. 이는 수면이 인지기능유지에도 중요함을 보여준다. 스트레스 호르몬인 코티솔, 에피네프린과 노르에피네프린이 수면박탈 후 전날보다 유의하게 높아진 결과는 수면부족이 스트레스의 원인이 될 수 있음을 의미한다.

장기간 수면이 부족하면 근골격계 질환, 심폐질환, 위장관 질환이 증가하고 어린이에서는 성장지연이 나타날 수 있다. 이는 적절한 수면이 신체의 정상적인 기능을 유지하는데 꼭 필요하고 성장호르몬 분비도 촉진함을 알 수 있다. 고혈압, 당뇨병, 심장동맥질환의 발병률도 높아지는데, 이는 수면이 심혈관질환과 대사질환을 예방하고 건강한 혈관의 유지에도 중요함을 시사한다. 또한, 짜증을 잘 내고, 감정조절에 문제가 발생하며, 우울증 등 기분장애의 발생률도 높아진다. 따라서 적절한 수면은 감정을 순화시키고 안정적으로 조절하는 데 필요하다. 그 외에 수면이 부족하면 발기부전 같은 성기능장애도 발생할 수 있다. 결론적으로, 수면은 학습과 기억, 정신과 육체활동에 필요하며, 정신건강과 육체건강을 유지하는데 필수적인 과정이다.

2. 수면의 구조

수면은 두 가지 생리적 상태, 즉 렘수면[급속 눈 운동수면, REM(rapid eye movement) 수면]과 비렘수면[비급속눈운동수면, NREM(non-rapid eye movement)수면]으로 구성되어 있다. 정상 성인의 밤 수면에서는 4~6회의 렘수면-비렘수면 주기가 반복된다(그림 1).

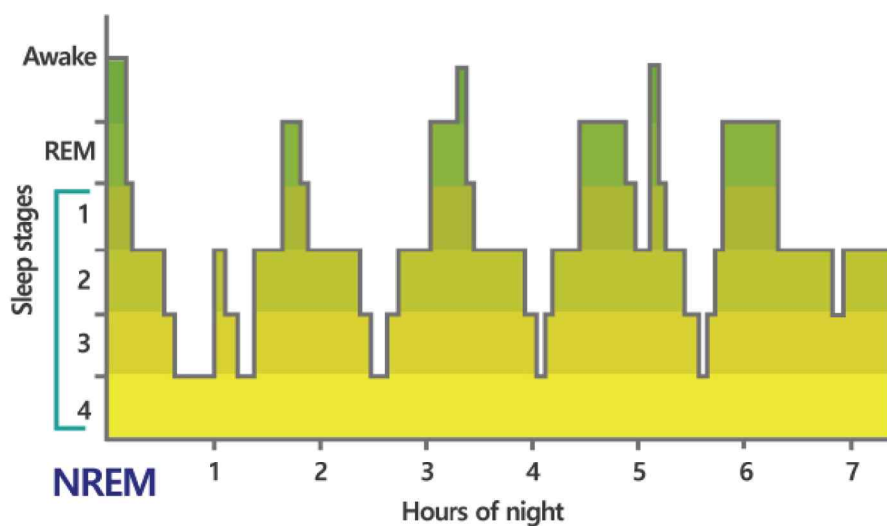


그림 1. 일반적인 수면의 구조(hypnogram)

[출처: Erman *et al.*, 2001]

수면은 대개 비렘수면으로 시작하여 점점 깊은 수면으로 들어간다. 수면 시작 후 80~100분에 첫 번째 렘수면이 나타나고 그 후로는 비렘수면과 렘수면이 약 90분을 주기로 반복한다. 비렘수면은 반응소실의 깊이와 뇌파에 따라 네 단계로 분류하는데, 3단계와 4단계는 섞여서 나타나는 경우가 많고, 이를 구분하는 것이 임상적으로 별 의미가 없어 현재는 이 두 가지를 합쳐 3단계 수면이라 한다. 3단계 수면은 ‘서파수면’ 혹은 ‘델타수면’과 같은 의미다. 서파수면은 대개 수면주기의 전반부에 나타나고 렘수면은 후반부에 더 많이 나타난다. 젊은 성인의 밤 수면의 약 3/4은 비렘수면이고 1/4은 렘수면이다.

(1) 비렘수면(비급속 눈 운동수면)

비렘(NREM)수면은 성인에서 수면시간의 약 75~80%를 차지하며, 부교감신경이 우세하고, 심박수와 혈압은 감소하며 호흡은 느리고 규칙적이고, 정신적 활동이 현저히 감소하는 것이 특징이다. 이로 인해 체온을 조절하고 낮에 소진된 에너지를 보충하며 근골격계 피로회복에 중요한 역할을 한다.

비렘수면은 다시 1단계, 2단계, 3단계 수면의 세 단계로 구분되며 이중 3단계는 서파수면으로 가장 깊은 잠을 자는 단계이다. 전체 수면시간에서 1단계비렘수면 (N1)은 3~8%, 2단계(N2)는 45~55%, 3단계(N3)는 15~20% 정도다.

(2) 렘수면(급속 눈 운동수면)

렘수면(REM)은 전체 수면시간의 20~25%를 차지한다. 렘수면의 큰 특징 중의 하나가 꿈이다. 렘수면 중에 정신활동이 활발하여 꿈을 꾸는데 이때 깨어나면 꿈을 기억하는 경우가 85% 정도 되지만, 렘수면이 끝난 후에 깨면 꿈을 거의 기억하지 못한다. 렘수면에서는 교감신경계가 우세해서 심박수와 호흡수가 증가하고 불규칙 하며 체온조절이 어렵고, 호흡장애가 발생하기 쉽다. 렘수면은 정신활동의 피로를 회복시키고 기억력을 강화하는 기능이 있다.

3. 수면 각성 조절의 기전

(1) 수면 항상성과 하루주기리듬

인간의 각성과 수면은 환경요인뿐 아니라 내부적으로 항상성(homeostasis)과 하루주기리듬(circadian rhythm)의 복잡한 상호작용으로 조절된다. 수면항상성이란 잠을 자는 시간이 길어지면 깨어나려는 부하가 걸리고 각성상태에 오래 있다면 수면욕구가 증가하는 내부적인 조절을 말한다.

수면욕구, 즉 졸림은 자기 직전에 깨어있던 시간뿐 아니라 하루주기리듬에 의해서도 결정된다. 하루주기리듬이란 약 24시간의 주기성을 갖는 모든 생리현상을 뜻한다. 이런 하루주기리듬을 관장하는 것을 생체시계(biological clock)라고 하고 시상하부(hypothalamus)의 시신경교차상핵(suprachiasmatic nucleus, SCN)이 하루주기 조정자 (circadian pacemaker)의 역할을 한다(그림 2).

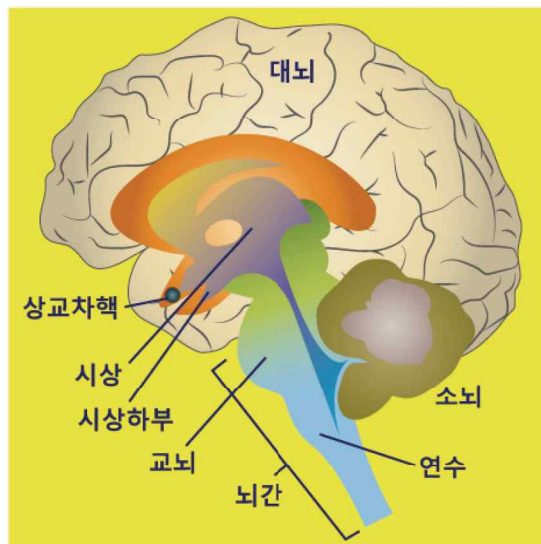


그림 2. 시상하부의 상교차핵(SCN)에 존재하는 생체시계

[출처: 대한수면연구학회, www.sleepnet.or.kr]

이런 내적 생체시계를 외부 24시간에 적응시키는 것을 유입(entrainment)이라고 한다. 유입을 일으키는 인자를 동기화인자(zeitgeber)라고 하는데 빛, 어둠, 기온 같은 외부환경이 중요하며 활동, 자세, 식사, 환경, 약물, 사회규범도 동기화 요인으로 작용한다. 이 중 빛이 가장 중요한데 망막에 들어온 빛 자극은 망막 시상하부로(retinohypothalamic tract)를 따라 시신경교차상핵에 전달된다.

수면 항상성과 하루주기리듬이 상호작용을 해서 약 16시간의 각성과 약 8시간의 수면을 이룬다(그림 3).

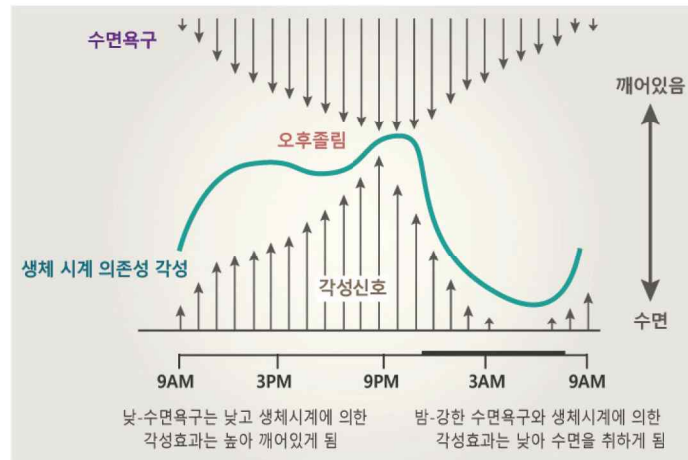


그림 3. 수면과 각성의 조절

[출처: 대한수면연구학회, www.sleepnet.or.kr]

(2) 멜라토닌과 체온

멜라토닌(melatonin)은 트립토판(tryptophan)과 세로토닌(serotonin)을 거쳐서 합성된다. 혈중농도는 새벽 3~4시에 최고치가 된다. 시신경교차상핵의 리듬이 여러 차례 시냅스 후 송과체(pineal gland)로 전해짐으로써 멜라토닌의 분비리듬이 나타난다. 체온은 초저녁에 최고점에 도달하다가 새벽 3~6시에 최저점에 이르는데 대개 기상 3시간 전이다. 혈중 멜라토닌 최고점과 체온의 최저점을 이루는 시간대가 최대수면상태이다.

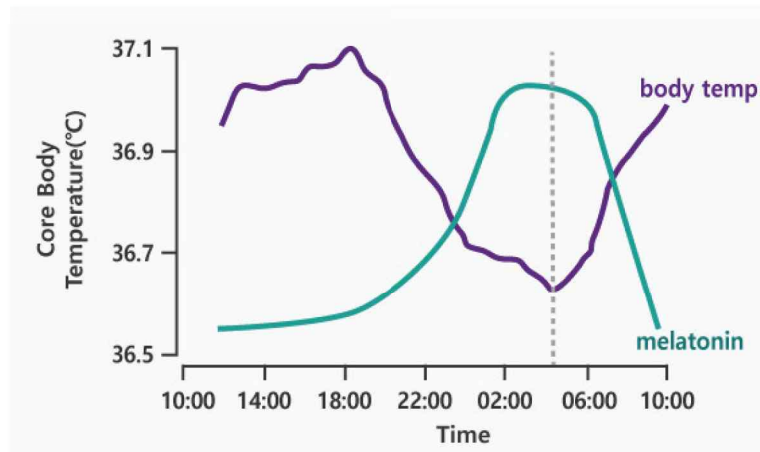


그림 4. 혈중 멜라토닌 농도와 심부체온의 하루주기리듬

[출처: Kholmanskiy and Zaytseva, Int J Res Pharm Biosci, 2018]

(3) 수면-각성과 연관된 생화학물질

수면과 각성은 하나의 수면-각성 중추에 의해 조절되는 것이 아니라 주로 뇌줄기(brain stem) 등에 위치한 다양한 부위들의 상호억제와 활성화과정에 의해 조절되는 복잡한 과정이다. 하나의 생화학적 물질이 수면을 유도하고, 각성을 유발 한다기 보다는 다음의 각 생화학물질이 서로 작용하여 수면-각성 작용에 관여하게 된다.

(가) 아세틸콜린(acetylcholine)

아세틸콜린은 각성과 렘수면을 일으킨다. 망상체 속의 콜린성신경세포는 각성과 렘수면을 취하고 있을 때 활성화되고 비렘수면 때 비활성화된다.

(나) 히스타민(histamine)

후시상하부 안에 있는 결절유두핵 (tuberomammillary nucleus)의 히스타민 분비신경은 대뇌 피질의 각성을 촉진한다. 항히스타민제는 이 구조물에 작용하여 진정작용을 일으킨다.

(다) 오렉신(orexin) 혹은 히포크레틴(hypocretin)

흥분성 수면각성신경펩티드인 히포크레틴은 오렉신(orexin, ORX)이라고도 불리며 시상하부에서 생산된다. 글루탐산염(glutamate)이 히포크레틴 분비신경을 활성화하고, 이렇게 활성화한 신경들은 다시 시상하부의 글루탐산염 양을 늘리는 되먹임양상을 보임으로써 히포크레틴 분비신경의 활성을 유지한다.

(라) 감마아미노부티르산(GABA)

신경계통물질의 GABA(γ -Aminobutyric acid)는 중추신경계에서 억제성 아미노산 으로 포유류의 중추신경계 필수 구성요소이다. GABA receptor가 주로 뇌조직에 존재하고 신경전달물질인 GABA가 리간드로 작용하여 결합되어 중추신경계에서 억제성 신경물질로 작용하며, GABA의 양이 증가되면 전향적으로 정서적 안정과 항정신불안증, 항경련효과, 수면유도 및 수면유지를 나타낸다.

(마) 아데노신(adenosine)

아데노신은 오랜 시간 깨어 있으면 증가했다가 수면을 취하면 감소한다. 아데노신은 수면항상성과 관련한 물질로 알려졌으며 카페인을 아데노신수용체를 억제하여 각성효과를 나타낸다.

(바) 도파민(dopamine)

도파민은 일반적으로 운동조절, 감정, 동기부여, 수면, 학습 등 다양한 범위에서 영향을 미치고, 적당량 분비시에는 행복감을 주게 된다. 그러나 도파민의 분비가 줄어들면 우울증의 위험도가 높아지고, 도파민이 과량으로 분비될 경우에는 신경 흥분으로 인해 각성상태를 유발하게 된다.

(사) 노르에피네프린(norepinephrine)

노르에피네프린은 노르아드레날린이라고도 하며 카테콜아민의 하나로 체내 호르몬과 신경전달물질로서 다양한 기능을 한다. 노르에피네프린은 전구물질인 도파민으로부터 생성될 수 있다. 대뇌피질로 각성에 관한 신경전달을 하지만 렘수면을 유도하는데도 중요한 역할을 한다.

(4) 수면-각성 조절의 flip-flop 스위치 기전

콜린성뉴런, 단가아민계 뉴런 집단 및 외측시상하부의 오렉신 뉴런 등으로부터 뿜어 나온 신경 섬유들이 각성을 유발하는 협동작용을 하고, 수면기 동안에는 전시상하부에 존재하는 배가쪽시각교차앞핵(ventrolateral preoptic nucleus, VLPO)이 각성회로를 억제한다. VLPO은 GABA와 galanin과 같은 억제성 신경전달물질을 함유하고 있으며 오렉신 억제 역할을 한다. 노르에피네프린과 세로토닌성 뉴런은 VLPO 뉴런을 억제한다. 또한 모노아민성 부위와 히스타민성 부위로 신경을 내보내며 아세틸콜린성, 노르아드레날린성, 세로토닌성 신경 같은 각성과 연관한 부위로부터 입력을 받아 역되먹임고리를 형성한다 (그림 5).

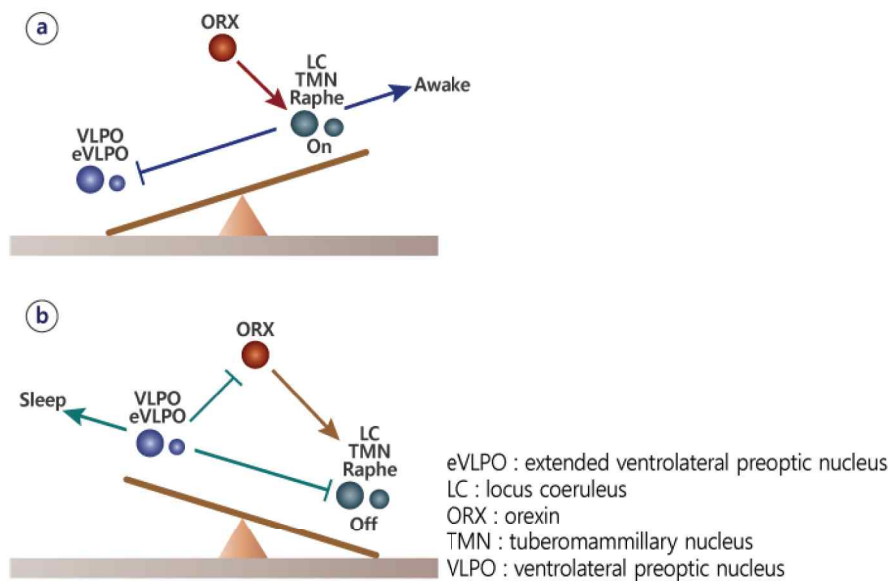


그림 5. 배가쪽시각교차앞핵(VLPO)의 활성화에 의해 수면각성교대를 설명하는 flip-flop 스위치 기전(a. 각성시, b. 수면시)

[출처: Clifford *et al.*, 2005]

4. 수면 장애의 종류 및 개념

수면장애의 분류와 정의는 매우 다양하게 공존하며 꾸준히 그 개념이 변화되어 왔다. 현재 임상에서는 ICSD-3(International Classification of Sleep Disorders 3th edition, American Academy of Sleep Medicine, 2014)의 분류법을 사용하고 있다. ICSD-3에서는 수면 장애를 불면증(insomnia), 수면관련호흡장애(sleep-related breathing disorder), 중추성 과다수면(central disorders of hypersomnolence), 일주기 리듬 수면-각성장애(circadian rhythm sleep-wake disorders), 사건수면 (parasomnia, 예: 몽유병, REM 수면 행동장애, 악몽 등), 수면관련 운동 장애(예: 하지불안증후군, 주기성 사지운동장애, 코골이 등), 기타수면장애 등 총 6개 영역으로 분류하고 있다.

(1) 불면증

불면증은 가장 흔하고 널리 알려진 수면장애이며, 불면증의 유병률은 전체 인구의 30~50%이며, 일상생활능력(activity of daily living, ADL)의 저하까지 동반한 불면증은 10~15%이다. 노인, 여성, 우울증 같은 정신질환, 교대근무자에서 유병률이 높다.

불면증의 진단은 병력 청취와 다양한 수면설문지를 통해 이뤄진다. 수면개시 또는 유지가 어려운지, 수면패턴과 수면각성주기가 어떠한지, 수면위생 및 코골이나 하지불안증후군 등의 다른 증상이 없는지, 주간기능 및 기분이 어떠한지 등의 병력 청취를 통한 정보가 핵심적이고 지표로 사용된다.

“불면증”이란 “수면의 시작 또는 유지가 힘든 상태”를 의미하며 일과성 혹은 지속적으로 나타날 수 있다.

흔히 불면증의 치료제로 사용되는 수면제는 벤조디아제핀 또는 비벤조디아제핀 계열의 GABA- α 수용체에 작용하는 약물과 항우울제 및 항히스타민제 등이 있는데, 수면제는 인지기능 저하와 주간졸림과 같은 부작용 및 의존성으로 인해 4주 이상의 장기간 섭취는 일반적으로 권장하지 않는다.

(2) 수면호흡장애

폐쇄성/중추성 수면무호흡증 등이 있다. 수면무호흡증은 수면다원검사를 통해 얻은 수면무호흡지수(Apnea-Hypopnea Index, AHI)가 진단 및 중증도 평가에 이용된다.

(3) 기면병 및 과다수면증

수면각성주기의 교란과 렘수면의 혼란으로 일어나며, 심한 주간과다졸림증 등의 증상이 일어난다. 밤잠에 대한 검사인 수면다원검사와 주간졸림의 정도를 평가하는 수면잠복기 반복검사(multiple sleep latency test, MSLT)를 통해 진단한다.

(4) 하루주기리듬장애

생체시계의 수면시간과 외부환경의 24시간 활동 사이의 불일치가 생기면 하루주기 리듬 수면장애가 생긴다.

내적 생체시계 변화로 인한 수면장애에는 흔히 야간형 또는 올빼미형이라고 불리는 ‘수면위상지연장애(delayed sleep phase disorder)’ 등이 있고, 내적 생체시계는 정상 리듬이지만 외부환경의 시간이 변함으로써 발생하는 시차장애(jet lag disorder), 교대근무 수면장애(shift work sleep disorder) 등이 있다. 이러한 환자는 적정 수면시간대에서는 불면을 호소하고 각성이 필요한 시간대에서는 과다졸림증을 호소하여 사회활동과 직업 활동이 저하된다. 이러한 유형의 수면장애는 광 치료(light therapy), 멜라토닌, 생체리듬치료(chronotherapy)가 효과적이다.

(5) 사건수면

사건수면(parasomnias)은 수면에 방해가 되는 모든 상황을 총칭하는 광범위한 용어이다. 가장 일반적인 사건수면은 수면-각성장애이며, 몽유병, RME 수면행동 장애, 악몽 등을 포함한다. 수면과 각성사이의 혼재된 시간 동안에 일어나며, 복잡한 행동을 할 수 있을 정도로 각성하게 되지만, 당시 활동을 기억하지는 못한다. 일부 유전되는 경향이 있으며 특정한 약물 복용 시 심각한 증상을 보이기도 한다.

(6) 수면관련 운동장애

수면관련 운동장애로는 하지불안증후군, 주기성 사지운동장애, 코골이 등이 있습니다. 하지불안증후군은 다리 혹은 팔에서도 증상이 발생하고 가만히 앉아 있거나 누워있을 때, 자려고 할 때 불편한 느낌 등을 호소하는 증상이다. 심한 경우 통증으로 느끼기로 하며 잠들기가 어려워 불면증이 생기는 경우도 있다. 이에 낮 동안에 비정상적으로 과도하게 졸리는 현상도 나타난다. 주기성 사지운동장애 역시 밤 동안에 다리에 증상이 발생하여 잠을 방해하는 또다른 질병이다. 무의식적 혹은 불수의적으로 발생하고 다리가 저절로 움직여 수면에 방해를 일으키게 된다.

III 기능성 시험 방법

1. 바이오마커의 선정

가. 연구유형별 바이오마커

수면건강 기능성을 확인하기 위한 시험관시험, 동물시험 및 인체적용시험의 바이오마커는 아래의 표를 참고할 수 있다.

표 1. 수면건강 기능성 확인을 위한 바이오마커

구 분	바이오마커		측정 가능한 연구유형		
			in vitro	in vivo	Human
수면 관련 신경전달물질 분석	GABA, 세로토닌, 오렉신 등		O	O	O
생화학지표	혈중/타액 중 멜라토닌 소변 중 6-SMT			O	O
수면의 평가	신경생리학적 모니터링	수면다원검사 (PSG, EEG/EMG)		O	O
		수면각성 활동량 검사 (sleep actigraphy)			O
		수면시간측정		O	O
	체위모니터링	수면 중 체위측정 (Accelerometer)		O	O
수면설문검사	PSQI(Pittsburgh Sleep Quality Index) ISI(Insomnia Severity Index) Sleep diary				O

나. 바이오마커 설명

(1) 수면 관련 신경전달물질 분석

수면은 매우 복잡한 생리현상으로 GABA, 세로토닌, 히스타민, 아데노신 등 다양한 신경전달 물질들과 밀접하게 관련되어 있으며, 작용 기작이 다른 다양한 수면제들이 현재 출시되었거나 개발되고 있다.

수면 관련 신경전달물질 분석은 *in vitro*에서 수면증진 기능성을 가질 수 있는 가능성을 탐색하기 위한 방법으로 사용될 수 있다. 그러나 수면 건강의 특성상, *in vitro*에서 가능성이 있었다고 해도, blood-brain barrier(BBB) 투과성을 알 수 없기 때문에 *in vivo*에서의 효능 확인이 매우 중요하다. 또한, 세포 실험에서는 효과가 없는 물질이라도 경구 투여 후 그것의 대사체가 수면을 유도할 수도 있다.

(가) GABA

GABA는 중추신경계의 억제성 아미노산으로 GABA 양이 증가되면 정서적 안정과 수면유도 및 수면 유지를 나타낸다.

(나) 세로토닌

수면을 조절하는 요인들 가운데 하나로 수면의 항상성(homeostatic) 유지에 영향을 미친다. 뇌 속 뉴런의 주요 개체군이 있는 봉선핵(raphe nuclei)이라는 곳이 있으며, 이곳에서 주로 세로토닌을 형성하게 된다. 봉선핵을 유전적으로 제거한 동물모델을 이용하여 실험시 세로토닌의 분비량이 현저히 감소되었으며, 이는 수면의 시간 감소와 직접적으로 연관을 나타내게 된다.

(다) 오렉신

오렉신 또는 히포크레틴은 동물의 뇌에서 다른 그룹의 연구자들에 의해 동시에 발견된 흥분성 신경펩타이드(neuropeptide) 호르몬으로서 다양한 뇌 영역의 도파민, 노르에피네프린, 히스타민, 아세틸콜린 시스템과 같은 각성에 관여되는 중요 세포들을 자극한다.

(2) 생화학지표

(가) 혈중/타액 중 멜라토닌

멜라토닌은 신체 각 기관의 생체리듬을 조절하는 역할을 한다. 이 멜라토닌은 뇌의 송과선이라는 곳에서 주로 분비된다. 망막·홍채·모양체·눈물샘·위장관·피부 등의 기관에서도 일부 생성된다. 건강한 성인의 멜라토닌 혈중 농도는 오전 2~4시에 가장 높고, 외부에서 빛이 들어오면 송과선에서 멜라토닌 분비를 억제해 잠에서 깨게 하는 작용을 한다. 일반적으로 혈중 및 타액 중 멜라토닌을 측정하여 멜라토닌 생성 여부를 확인한다.

(나) 소변 중 6-sulfatoxymelatonin (6-SMT)

6-SMT는 소변 중에 나타나는 멜라토닌의 주요 대사산물이기 때문에 멜라토닌 생성 여부를 측정하는 지표가 된다. 소변 중 6-SMT는 안정한 상태이기 때문에 24-48시간 동안 측정이 가능하며, 아침에 측정하는 6-SMT 수준은 수면 패턴에 영향을 받지 않는 것으로 알려져 있기 때문에 혈장 멜라토닌 농도와 직접적으로 관련이 있다. 멜라토닌은 주로 밤에 분비되고 이른 아침에 그 농도가 최고가 되므로, 첫 번째 아침 소변을 수집하여 6-SMT를 측정한다면, 밤 동안의 멜라토닌 생산량을 평가하는데 유용하게 사용할 수 있다.

(3) 수면의 평가

(가) 신경생리학적 모니터링

□ 수면다원검사(polysomnography, PSG)

수면상태의 생리적 변화를 연속으로 기록할 수 있는 임상신경생리학 검사방법으로 일반적으로는 하루 밤 동안에 걸쳐 뇌파(EEG), 안구운동(EOG), 하악 근전도(Chin EMG), 다리 근전도(Leg EMG), 심전도(EKG), 코골이(snoring), 호흡(respiratory airflow), 호흡 운동(respiratory effort), 혈중산소포화농도(oxymeter)를 측정하고 동시에 기록하게 된다. 그래서 주간 졸림, 원인 불명의 불면증, 주기적 사지 운동증, 수면 중 이상 행동을 보이는 환자의 정확한 진단 및 치료뿐만 아니라 코골이와 수면 무호흡 환자의 진단, 치료 방향과 치료 후 예후 판정에도 중요한 역할을 수행한다. 수면다원검사는 포괄적이고 정확한 수면양상을 살펴볼 수 있어 가장 신뢰도와 타당도가 높은 객관적 측정방법으로 사용되고 있다.

□ 수면각성활동량검사

수면일지의 보조적 수단 및 circadian rhythm 측정에 도움이 되며, 단독으로 살펴보는 경우에는 전체 수면의 질을 판단하기에는 무리가 있으나, 수면 주기 및 수면 중 각성 등을 간접적으로 측정하는 방법으로 사용할 수 있다.

□ 수면시간측정

수면시간은 수면의 평가에 있어서 매우 중요한 바이오마커로 활용되며, 동물이나 인체를 대상으로 시험물질의 섭취 전후 수면시간을 측정하여 수면 개선 정도를 파악할 수 있다.

(나) 체위모니터링

단독으로 살펴보는 경우에는 전체 수면의 질을 판단하기에는 무리가 있으나, 진동가속도계 (accelerometer)로 체위를 계속해서 기록하는 것은 수면 중 코골음과 상기도의 폐쇄가 증력에 영향을 받기 때문에 주요한 마커로 사용할 수 있다.

(4) 수면설문검사

(가) 피츠버그 수면의 질 지표(Pittsburgh Sleep Quality Index, PSQI)

피츠버그 수면의 질 평가 도구는 국내외적으로 가장 널리 사용하고 있는 도구 중 하나로 총 19문항으로 이루어진 자가 보고 형식의 설문지이다. 지난 한 달간의 수면시간과 입면에 걸리는 시간(sleep latency), 주관적인 수면의 질(subjective sleep quality), 수면 지속시간(sleep duration), 일상적인 수면의 효율성(habitual sleep efficiency), 수면과 관련된 문제(sleep disturbance), 수면 약물 사용(use of sleeping medication), 낮 동안의 기능 부전(daytime dysfunction) 등 7개의 구성요소로 평가할 수 있다. 추가로 함께 사는 사람이 측정하는 5문항은 포함시키지 않고 임상정보를 얻는데 활용한다.

표 2. 한국판 피츠버그 수면의 질 지표

다음은 지난 1달 동안 당신의 일상적인 수면습관에 관한 질문입니다. 지난 1달 동안 대부분의 일상에서 가장 적합한 답변에 V 표시 혹은 기록을 해주시기 바랍니다.

(반드시 모든 질문에 답하여 주시기 바랍니다.)

1. 지난 한달 동안, 당신은 평소 몇 시에 잠자리에 들었습니까?	보통 오전/오후 0시 0분에 잠자리에 든다.
2. 지난 한달 동안, 당신은 밤에 잠자리에 들어서 잠이 들기까지 보통 얼마나 오래 걸렸습니까?	0시간 0분이 걸린다.
3. 지난 한달 동안, 당신은 평소 아침 몇 시에 일어났습니까?	보통 오전/오후 0시 0분에 일어난다.
4. 지난 한달 동안, 당신이 밤에 실제로 잠잔 시간은 얼마나 됩니까? (이것은 당신이 잠자리에서 보낸 시간과 다를 수 있습니다.)	하루 밤에 0시간 0분

다음 문항(5)에서 가장 적합한 응답을 하나만 고르십시오. 모든 질문에 응답해 주시기 바랍니다.

5. 지난 한달 동안, 당신은 아래의 이유로 잠자는 데 얼마나 자주 문제가 있었습니까? (우측 칸의 V 표시하세요)	지난 한달 동안 없었다. (없다)	한 주에 1번보다 적게 (주1회 미만)	한 주에 1~2번 정도 (주 1~2회)	한 주에 3번 이상 (주 3회 이상)
a. 취침 후30분 이내에 잠들 수 없었다.				
b. 한밤중이나 새벽에 깼다.				
c. 화장실에 가려고 일어나야했다.				
d. 편안하게 숨 쉴 수가 없었다.				
e. 기침을 하거나 시끄럽게 코를 골았다.				
f. 너무 춥다고 느꼈다.				
g. 너무 덥다고 느꼈다				
h. 나쁜 꿈을 꾸었다				
I. 통증이 있었다.				
j. 그 외에 다른 이유가 있다면, 기입해 주세요. (이유는? _____) 지난 한달 동안, 위에 기입한 이유들 때문에 잠자는 데 얼마나 자주 어려움이 있었습니까?				

다음 문항(6-10)에서 가장 적합한 응답을 하나만 고르십시오. 모든 질문에 응답해 주시기 바랍니다.

6. 지난 한달 동안, 당신은 전반적으로 수면의 질이 어느 정도라고 평가하십니까?

☐ 매우 좋음 ☐ 상당히 좋음 ☐ 상당히 나쁨 ☐ 매우 나쁨

7. 지난 한달 동안, 당신은 잠이 들기 위해 얼마나 자주 약을 복용했습니까?

(처방약 또는 약국에서 구입한 약)

☐ 지난 한달 동안 없었다 ☐ 한 주에 1번보다 적게 ☐ 한 주에 1~2번 정도 ☐ 한 주에 3번 이상

8. 지난 한달 동안, 당신은 운전하거나, 식사 때 혹은 사회활동을 하는 동안 얼마나 자주 졸음을 느꼈습니까?

☐ 지난 한달 동안 없었다 ☐ 한 주에 1번보다 적게 ☐ 한 주에 1~2번 정도 ☐ 한 주에 3번 이상

9. 지난 한달 동안, 당신은 일에 열중하는데 얼마나 많은 문제가 있었습니까?

☐ 전혀 없었다 ☐ 매우 조금 있었다 ☐ 다소 있었다 ☐ 매우 많이 있었다

10. 당신은 다른 사람과 같은 잠자리에 자거나 집을 같이 쓰는 사람이 있습니까?

☐ 같은 잠자리에 자거나 집을 같이 쓰는 사람이 없다

☐ 집에 다른 방을 쓰는 사람이 있다

☐ 방을 같이 쓰지만 같은 잠자리에서 자지 않는다

☐ 같은 잠자리에 자는 사람이 있다

만일 같은 방을 쓰거나 같은 잠자리에서 자는 사람이 있다면, 그 사람에게 지난 한 달간, 당신이 다음과 같은 행동을 얼마나 자주 했는지 물어보십시오.

a) 심하게 코골기

☐ 지난 한달 동안 없었다 ☐ 한 주에 1번보다 적게 ☐ 한 주에 1~2번 정도 ☐ 한 주에 3번 이상

b) 잠잘 때 숨을 한동안 멈추고 다시 숨쉬기

☐ 지난 한달 동안 없었다 ☐ 한 주에 1번보다 적게 ☐ 한 주에 1~2번 정도 ☐ 한 주에 3번 이상

c) 잠잘 때 다리를 갑자기 떨거나 흔들기

☐ 지난 한달 동안 없었다 ☐ 한 주에 1번보다 적게 ☐ 한 주에 1~2번 정도 ☐ 한 주에 3번 이상

d) 잠자다가 잠시 시간, 장소, 상황을 인식하지 못하거나 혼란스러워함

☐ 지난 한달 동안 없었다 ☐ 한 주에 1번보다 적게 ☐ 한 주에 1~2번 정도 ☐ 한 주에 3번 이상

e) 잠자는 동안 다른 뒤척거리는 행동들이 있었으면 직접 기입해 주십시오.

☐ 지난 한달 동안 없었다 ☐ 한 주에 1번보다 적게 ☐ 한 주에 1~2번 정도 ☐ 한 주에 3번 이상

[출처 : Sohn SI *et al.*, Sleep Breath 2012]

(나) 불면증 중증도(심각도) 지표(Insomnia Severity Index, ISI)

불면증의 정도를 측정하기 위해 개발되었으며, 임상빈도가 높다. 주관적 설문 항목으로 대상자 선정 기준에서 스크리닝 작업시 활용될 수 있다. 잠들기 어려움, 잠의 유지가 어려움, 잠이 깬, 수면패턴의 만족도, 일상생활 방해도, 삶의 질 정도 등으로 문항이 구성되어 있다.

불면증 심각도					
아래 각 질문에서 수면상황을 고려하여 해당번호에 V표 해주십시오.					
1. 현재 (지난 2주) 불면문제(들)의 심각도를 평가하십시오.					
a) 잠들기 어려움	☐ 없음	☐ 약간	☐ 중간	☐ 심함	☐ 매우
b) 잠을 유지하기 어려움	☐ 없음	☐ 약간	☐ 중간	☐ 심함	☐ 매우
c) 너무 일찍 깨는 문제	☐ 없음	☐ 약간	☐ 중간	☐ 심함	☐ 매우
2. 현재 당신의 수면패턴에 대해 얼마나 만족하고 있습니까?					
☐ 매우 만족	☐ 만족	☐ 중간	☐ 불만족	☐ 매우 불만족	
3. 불면증이 일상생활(예: 주간피로, 업무 혹은 일상적 가사능력, 집중력, 기억력, 기분 등)을 어느 정도 방해한다고 생각합니까?					
☐ 전혀 방해되지 않음	☐ 조금 방해됨	☐ 다소 방해됨	☐ 많이 방해됨	☐ 매우 많이 방해됨	
4. 불면증으로 인한 삶의 질 손상 정도가 다른 사람들에게 어떻게 보인다고 생각합니까?					
☐ 전혀 현저하지 않음	☐ 조금 현저함	☐ 다소 현저함	☐ 많이 현저함	☐ 매우 많이 현저함	
5. 현재 불면증에 관하여 얼마나 걱정하고 있습니까?					
☐ 전혀	☐ 조금	☐ 다소	☐ 많이	☐ 매우 많이	

그림 8. 한국판 불면증 심각도 평가척도
(Korean Version of Insomnia Severity Index, ISI-K)

[출처 : Cho YW et al., J Clin Neurol, 2014]

(다) 수면일지(Sleep diaries)

수면일지는 환자의 실제 수면패턴을 기록하여 파악하기 위해 취침시간, 기상시간, 잠드는 데 걸리는 시간, 자다가 깬 횟수, 잠이 들었다가 깨서 자지 못한 시간을 일주일이상 작성하도록 한다. 수면 각성시간, 수면 지속시간과 매일의 수면- 각성시간의 변화에 대해 정보를 얻을 수 있다. 수면일지는 불면증을 진단하는 용도는 아니며, 임상에서는 1-2주간의 수면일지 작성을 통해 환자의 수면- 각성시간의 변화를 추적하는데 이용한다.

이름 : _____

1. 잠자리에 누운 시간을 아래쪽 화살표(▼)로 표시하십시오.
2. 잠자리에서 일어난 시간을 위쪽 화살표(▲)로 표시하십시오.
3. 잠잔 시간을 까맣게 (■) 표시하십시오.

NOTES							
정 오						☐	
						☐	
11:00 A.M.							
10:00 A.M.							
9:00 A.M.							
8:00 A.M.							
7:00 A.M.	☐	☐	☐	☐	☐		
	☐	☐	☐	☐	☐		
6:00 A.M.							
5:00 A.M.							
4:00 A.M.							
3:00 A.M.							
2:00 A.M.							
1:00 A.M.						→	→
자 정			→	→			
11:00 P.M.	→	→			→		
10:00 P.M.							
9:00 P.M.							
8:00 P.M.							
7:00 P.M.							
6:00 P.M.							
5:00 P.M.							
4:00 P.M.							
3:00 P.M.							
2:00 P.M.							☐
							☐
1:00 P.M.							
날 짜							
요 일	월	화	수	목	금	토	일

그림 9. 수면일지(Sleep diaries)

[출처 : 정재훈 외, 수면 및 스트레스 관련 기능성 시험, 2004]

2. 주요 바이오마커의 측정방법

(1) 수면 관련 신경전달물질 분석

(가) GABA

수면을 유도하는 성분을 찾기 위해 신경전달물질 수용체에 대한 결합 활성을 우선적으로 평가할 수 있다. 방사선 동위원소를 사용하는 radio-ligand binding assay는 간편하고 재현성 있는 결과를 얻을 수 있어 수용체 결합 활성을 측정하는데 가장 널리 이용된다. *In vitro*에서 GABA type A 수용체의 benzodiazepine site(GABAA-BZD receptor)에 대한 결합 활성이 농도 의존적으로 증가하면 수면 개선 효과를 나타내는 것으로 판단할 수 있다. 결합 활성 평가 후에 patch clamp와 같은 전기생리학(electrophysiology) 기법이나 calcium imaging 기법을 이용한 작용 기능 평가(functional assay)를 추가적으로 실시하여 효능제 혹은 길항제로서의 구분이 필요하다.

Serum, plasma, tissue homogenates, 세포배양층 등을 통해 GABA 수준을 측정할 수 있으며, 상용화된 enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) 키트를 이용하여 공급사의 매뉴얼에 따라 측정한다. 일반적으로 96 well에 각각의 primary antibody를 넣고 인큐베이션한다. 그 후 secondary antibody를 넣고 1시간 정도 상온에 방치하고, 기질 종료 시약을 처리한 후 450nm에서 microplate reader로 측정한다.

① calcium imaging

- 칼슘을 감지할 수 있는 형광물질을 세포 내에 투입하여 칼슘농도를 측정
- G protein-coupled receptor의 활성화에 따른 세포내 칼슘 증가량 분석 가능

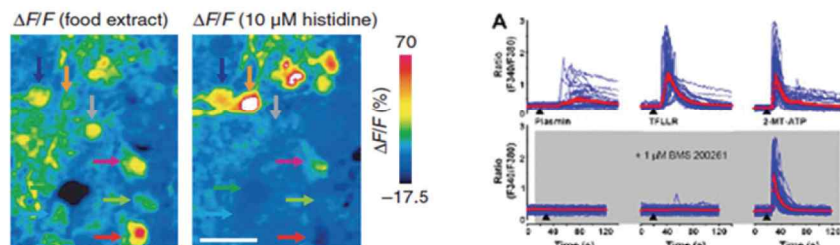


그림 10. calcium imaging characterization

[출처: Marvin et al., 2013]

② Patch clamp

- Ion channel의 활성도를 가장 정확하게 측정할 수 있는 technique
- 단일 세포 내의 전기적 변화를 측정할 수 있어 single channel 수준의 분석이 가능

③ Voltage clamp

- 개구리의 난모세포(oocyte)에 수용체 RNA를 injection하여 발현시킴
- 발현된 ion channel의 활성도를 전류의 흐름으로 분석

(나) 세로토닌

세로토닌의 혈중 농도는 상용화된 ELISA 키트를 사용할 수 있다. ELISA 분석법은 제조사가 제공한 방법으로 분석한다. 뇌조직을 이용한 Western blotting의 경우 단백질 정량을 위한 시료준비 후 SDS-PAGE를 이용하여 단백질을 분리한다. SDS-PAGE에서 분리된 단백질은 PVDF membrane으로 transfer시킨다. PVDF membrane은 Ponceau S 용액으로 염색하고, skim milk를 이용한 blocking 과정을 거친다. 그 후 1차 및 2차 항체 반응을 시키고, ECL solution을 이용하여 단백질을 검출한다. GABA와 마찬가지로 신경전달물질 수용체에 대한 결합 활성 평가를 시험계 실험을 통해 진행할 수 있으며, patch clamp, calcium imaging 기법을 이용한 작용 기능 평가도 진행할 수 있다.

(다) 오렉신

혈중(serum, plasma) 샘플, tissue homogenates, 세포배양층 등을 통해 오렉신 수준을 측정할 수 있으며, 상용화된 ELISA 키트를 이용하여 공급사의 매뉴얼에 따라 측정한다. GABA 및 세로토닌과 마찬가지로 신경전달물질 수용체에 대한 결합 활성 평가를 시험계 실험을 통해 진행할 수 있으며, patch clamp, calcium imaging 기법을 이용한 작용 기능 평가도 진행할 수 있다.

(2) 생화학지표

(가) 혈중/타액 중 멜라토닌

정맥관을 통하여 혈액을 자주(시간 당 3회 이상) 채취하여 혈중 멜라토닌 농도를 측정하는 방법을 사용하는 것이 가장 정확하다. 통상적으로 혈액에서 측정되는 멜라토닌의 농도는 타액에서 측정되는 농도의 약 3배정도가 되기 때문에 타액 농도를 측정하여 혈중 농도를 예측하여 침습적 시험빈도를 최대한 줄일 수 있도록 하기도 한다. 농도는 상용화된 ELISA 키트를 이용 하여 공급사의 매뉴얼에 따라 측정한다.

(나) 소변 중 6-sulfatoxymelatonin(6-SMT)

소변에서 측정하는 방법은, 2시간 간격으로 모은 소변에서 멜라토닌의 대사물질인 6-SMT의 농도를 측정하는 것이다. 농도는 상용화된 ELISA 키트를 이용하여 공급사의 매뉴얼에 따라 측정한다.

(3) 수면의 평가

(가) 신경생리학적 모니터링

□ 수면다원검사(polysomnography, PSG)

1) 인체에서의 수면다원검사

- ① 머리에 붙이는 뇌파전극(C3-A2, C4-A1, O1-A2, O2-A1), 안전도(left outer canthus-A1, right outer canthus-A2), 턱근전도를 통해 수면의 단계와 각성을 판정한다.
- ② 수면 중 열전대(thermal sensor)와 압력 감지기(presser sensor)로 호흡량을 측정하여 수면무호흡 또는 저호흡의 횟수와 정도를 파악한다.
- ③ 심전도로 수면중 심장의 활동을 모니터한다.
- ④ 수면 중 흉곽 및 복부 벨트(piezo-crystal respiratory belt recording)를 이용해 호흡을 위한 가슴과 배의 운동을 측정하는데 이것은 수면 무호흡증의 형태를 진단하는데 필요하며, 호흡장애 시 환자가 겪는 스트레스의 지표가 된다.
- ⑤ 수면 중 혈중 산소량을 지속적으로 모니터한다.

- ⑥ 수면 중 코골이 정도를 측정한다.
- ⑦ 다리근육(양측 전경골근)의 근전도전극을 통하여 수면 중 다리 움직임 및 이상행동을 관찰한다.
- ⑧ 몸의 위치를 감지하는 센서로 잠을 잘 때 어떻게 누워 있는지 측정한다. 여러 가지의 몸 위치별로 잠잔 시간을 산출한다.

2) 수면다원검사의 해석

수면다원검사에서는 30초 단위의 에포크(epoch)라는 시간단위를 기본으로 판독한다. 판독자는 각 에포크와 전후 에포크의 양상을 종합하여 해당 에포크가 수면의 어느 단계인지를 결정하는 staging을 시행함으로써 각성, 비렘수면 (N1, N2, N3), 렘수면을 구분한다. 각성상태에서는 자발적이거나 비자발적인 눈 움직임과 높은 근긴장도, 뇌파에서는 알파리듬이 나타난다.

N1단계는 전두엽 중앙부와 두정영역(vertex area)에서 나타나며, 하룻밤 수면의 5% 이하를 차지하며 각성으로부터 수면으로 이행하는 잠이 드는 과정이다. 본 단계에서는 알파리듬이 에포크의 50% 이하로 감소하고 느린 세타파로 대체된다. 또 느린 눈 운동(slow eye movement)이 나타나고 근긴장도가 떨어진다.

N2단계는 하룻밤 수면의 45~55%를 차지하며, K복합파(K-complex)와 수면 방추파(sleep spindle)가 나타나는 것이 특징이고 한 에포크에서 델타파는 20% 미만 에서 나타나며, 근긴장도는 더욱 떨어진다.

N3단계는 서파수면이라고도 하며, 하룻밤 수면의 15~20%를 차지한다.

렘수면은 저진폭의 혼합성 주파수와 톱니바퀴(sawtooth)모양의 뇌파가 나타나 N1단계 수면의 뇌파와 유사하며, 특징적으로 안구가 매우 빠르게 움직이는 현상을 동반한다. 생리적인 특징도 비렘수면과 달라 근육의 긴장도가 수면 중 최하 수준으로 감소하여 수면 중 움직임은 정상적인 경우에 나타나지 않는다. 하룻밤 수면의 20~25%를 차지한다.

수면다원검사를 통해 수면 효율(sleep efficiency)이 떨어져 있는 경우를 진단할 수 있으며, 수면잠복기(sleep latency)가 증가되어 있거나 입면 후 각성시간(wake time after sleep onset, WASO)이 증가해있는 경우를 말한다.

표 3. 수면다원검사를 통해서 측정 가능한 항목의 판독

검사 항목	의미
Sleep Efficiency	수면 효율, 총 수면 시간을 총 기록시간(검사실의 불이 꺼진 후 부터 불이 다시 켜질 때까지의 시간)으로 나눈 값 *100
Sleep Latency	수면 잠복기, 검사실의 불이 꺼진 후부터 수면이 시작되기까지 걸린 시간
Rem Latency	렘수면 잠복기, 수면이 시작된 시간에서 나타날 때까지 걸린 시간
TWT(total wake time)	총 각성시간, 검사실의 불이 꺼진 후 일어날 때까지의 각성 시간을 의미, 각성은 뇌파 수파수의 변화가 3초 이상 지속될 때로 두 각성 사이에 적어도 10초 이상은 수면 상태여야 함
TST(total sleep time)	총 수면시간, 입면부터 아침에 마지막으로 기상할 때까지의 시간
Stage 1	1단계 수면, 뇌파에서 4~7Hz의 세타(θ)파를 보이고 각성기에 비해 전위가 낮아지고 두정부 예파(vertex sharp wave)가 나타나는 수면
Stage 2	2단계 수면, 뇌파에서 비교적 낮은 전위로 여러 주파수의 뇌파가 나타나고 특징적으로 K복합체(K-complex)와 수면 방추체(sleep spindle)가 나타나는 수면
Stage 3	3단계 수면, 뇌파에서 고진폭(>75μV)의 델타(δ)파가 20% 이상을 차지하는 수면, 가장 깊은 수면 상태를 말함
Stage REM	렘수면, 눈의 빠른 움직임이 나타나는 렘수면 상태를 말함
RDI(respiratory disturbance Index)	호흡장애지수
REM supine RDI	바로 누운 자세의 렘수면 상태에서의 호흡장애지수
NREM supine RDI	바로 누운 자세의 비렘수면 상태에서의 호흡장애지수
REM lateral RDI	옆으로 누운 자세의 렘수면 상태에서의 호흡장애지수
NREM lateral RDI	옆으로 누운 자세의 비렘수면 상태에서의 호흡장애지수
Obs AI(Obstructive apnea arousal index)	폐쇄성 무호흡지수, 무호흡은 호흡이 10초 이상 정지된 경우
Cent AI(Central apnea arousal index)	중추성 무호흡지수
HI(hypopnea index)	전체 수면시간 동안의 전체 저호흡 횟수를 전체 수면시간으로 나누어 계산하였음 저호흡은 기류가 기저치의 50%이상 감소된 상태가 10초이상 지속되고 이로 인해 혈액산소포화도가 4% 이상 감소하는 경우를 말함
Ar.I(Arousal Index)	각성지수
F1.Ar.I(RERA, Respiratory effort-related arousal)	호흡 노력에 의한 각성
Spon Ar.I(Spontaneous arousal index)	자발적인 각성
Total Ar.I(total arousal index)	총 각성지수, 입면 후 나타난 각성수에 60을 곱한 값을 총 수면시간으로 나눈 값으로 시간 당 각성 횟수를 나타냄
WASO(Wake after sleep onset)	입면 후 각성, 총 기록시간에서 수면 잠복기를 뺀 시간 중에서 나타남 각성시간

[출처: Iber et al., 2007, Koo and Kim, 2013]

3) 동물에서의 수면 구조 분석

동물에서의 수면 구조 및 프로파일 분석(electroencephalogram, EEG/ electromyography, EMG)은 수면-각성주기나 수면의 질을 평가할 수 있어 수면 증진 효과를 보다 정확하고 구체적으로 평가할 수 있는 중요한 평가 방법이다. 이것은 EEG/EMG의 분석을 통해 이루어지며, 주로 C57BL/6 마우스 및 SD 랫드가 이용된다. 또한, 수용체 knockout 마우스를 사용하거나 기존에 작용 기작이 밝혀진 약물들을 이용하여 작용기작도 규명할 수 있다.

하지만 EEG/EMG 레코딩을 위한 외과적인 수술이 필수적이고 최소 1개월 이상의 긴 시간이 요구된다. 특히, 안정적인 결과를 도출하기 위해서는 외과 수술, 뇌파 레코딩 및 수면 구조분석에 대한 오랜 경험이 필요하다.

수면 구조 및 프로파일 분석은 fast fourier transform(FFT) 알고리즘(그림 7)에 의해 이루어지며, 보통 10초 단위로 wakefulness(Wake, W), REM 수면, NREM 수면으로 구분한다(그림 8).

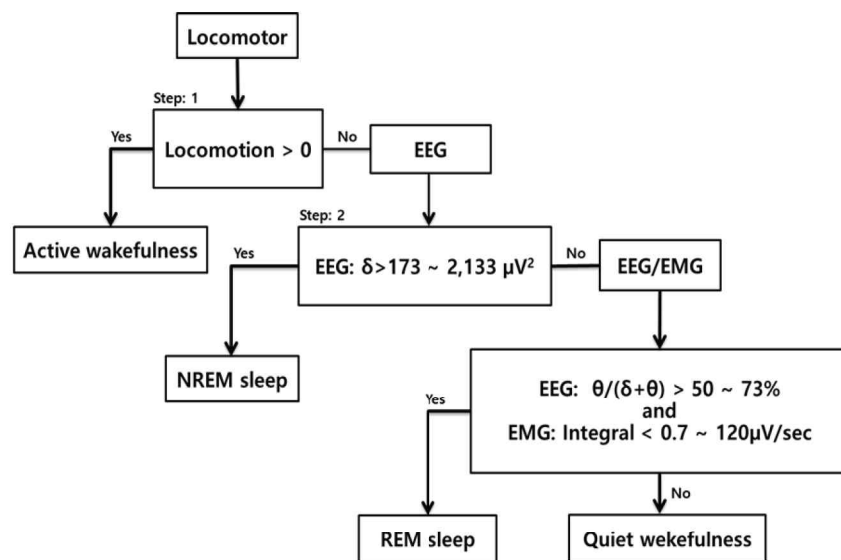


그림 11. FFT 알고리즘에 의한 분석흐름도

[출처: Kohtoh, 2008]

□ 수면각성활동량검사(sleep actigraphy)

시계처럼 생긴 장치 내 압전가속장치가 개체의 움직임을 측정하여 운동성을 평가하며, 정해진 알고리즘에 의해 수면상태와 각성상태로 구분되어 저장되어 사용할 수 있다. 시행이 간편하고 비용이 저렴하며, 일주기리듬의 평가에 도움이 되며 장기간 연속된 날에 대한 평가가 가능하다. 그러나 단독으로 사용할 경우에는 수면다원검사에 비하여 신뢰도 및 정확도가 떨어질 수 있다.

□ 수면시간측정

인체 뿐 아니라 동물에서도 다음의 방법을 이용하여 수면 유도 시간(입면시간), 수면 지속 시간을 측정할 수 있다.

① Pentobarbital 유도수면 시험

설치류(마우스 또는 랫드)를 이용한 pentobarbital 유도수면시험(pentobarbital-induced sleep test)은 방법이 간단하고 빠른 시일 내에 결과를 얻을 수 있는 수면증진 동물효능 평가방법으로 알려져 있다. 시험물질이 마취제인 pentobarbital로 유도되는 수면을 더욱 증진시킬 수 있느냐를 평가하여 수면 유도 효력증진 시험을 진행할 수 있다.

- i) 그룹 당 8-10 마리의 마우스 또는 랫드를 사용하며, 실험 전 24시간 동안 동물을 절식시켜 오후 1시에서 6시 사이의 일정한 시간 내에 진행한다.
- ii) 모든 시료는 pentobarbital 투여 45분 전에 경구 투여(p.o)하며, pentobarbital은 40-50 mg/kg(hypnotic dosage, 수면유도 역치농도)의 농도로 복강 주사(i.p.) 한다.
- iii) Pentobarbital 처리 후 각각의 개체를 독립된 공간에 옮겨 수면 잠복기(sleep latency)와 수면 시간(sleep duration)을 측정한다.
- iv) 수면잠복기는 pentobarbital을 복강주사한 후 정반사(righting reflex)를 1분 이상 상실할 때까지의 경과시간으로 간주하고, 수면시간은 다시 정반사를 회복할 때까지의 시간으로 설정한다.

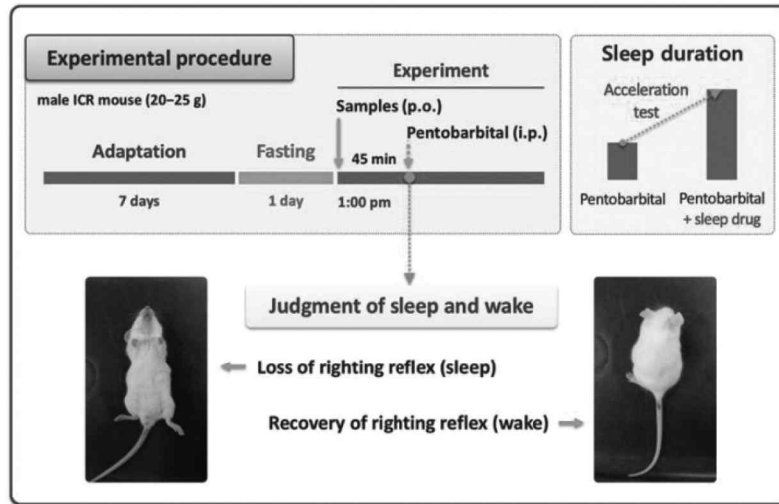


그림 12. Pentobarbital 유도 수면시험

[출처: 조승목 외, 2013]

② locomotor 활동시험

설치류를 이용하여 총 이동한 시간, 총 이동 거리, 방향전환 각도의 총합, rearing을 측정할 수 있으며, 보통 시험물질 투여 후 30분 후에 20분간 video-tracking system을 활용하여 측정한다.

③ Palpebral test

본 방법은 동물이 졸음을 느끼는 정도 또는 휴식기(resting state)로 진입하고자 하는 경향 정도를 측정하기 위해 Jansen에 의해 제안된 방법으로서 중추신경 진정(depression)과 이완(relaxation) 정도를 측정한다. 주로 SD 랫드 등의 설치류가 이용되며, 기능성 식품을 투여하고 30분 후에 10분간 눈을 감고 있는 시간을 측정한다.

(나) 체위모니터링

수면 모니터는 신체 활동을 측정하여 현재 상태를 파악한다. 신체활동은 스마트시계 혹은 심장센서, 수면측정밴드 등을 이용하여 신체활동을 측정한다. 일반적으로 한 시간 동안 움직이지 않으면 잠을 자고 깊은 수면으로 간주하며, 이동시 데이터가 다른 레지스티 (light sleep)로 이동한다.

(4) 수면설문검사

(가) 피츠버그 수면의 질 지표(Pittsburgh Sleep Quality Index, PSQI)

PSQI는 19문항의 본인 평가 문제와 5문항의 함께 취침하는 사람에 의한 평가를 포함하고 있다. 채점은 10번 문항을 제외한 본인 평가 문제만 해당되며, 18문항은 7개의 component로 구성된다. 각 component에서 0점은 아무런 어려움이 없다는 것을 나타내며, 3점은 심각한 어려움을 나타낸다. 총점은 각 component 합에 따라 0~21점 사이가 되며, 점수가 높을수록 수면의 질이 나쁜 것을 의미한다. PSQI 는 주관적인 수면의 질을 평가하여 ‘수면문제 있음(bad sleepers)’과 ‘수면 문제없음 (good sleepers)’으로 구분할 수 있다. 5점 이상인 경우 ‘수면 문제 있음’으로 판별한다.

Component 1 : 주관적 수면의 질	
질문 #6을 검사하고, 다음과 같이 평가한다.	
대답	component 1 점수
아주 좋다	0
대체로 좋다	1
대체로 나쁘다	2
아주 나쁘다	3
component 1 점수 _____	
component 2 : 수면 잠복	
1. 질문 #2를 검사하고, 다음과 같이 평가한다.	
대답	점수
15분 이내	0
16-30분 이내	1
31-60분 이내	2
60분 이상	3
질문 #2 점수 _____	
2. 질문 #5a를 검사하고, 다음과 같이 평가한다.	
대답	점수
지난 한 달간 없었다	0
주당 한번 이하	1
주당 한 두 번	2
주당 세 번 혹은 그 이상	3
질문 #5a 점수 _____	
3. #2 문제 점수와 #5a 점수를 더한다	
#2와 #5a 점수의 합계 _____	
4. component 2 점수를 다음과 같이 평가한다.	
#2와 #5a의 점수 합계	component 2 점수
0	0
1-2	1
3-4	2
5-6	3
component 2 점수 : _____	

Component 3 : 수면 기간

문제 #4를 검사하고 점수를 다음과 같이 평가한다.

대답	component 3 score
7시간 이상	0
6-7시간	1
5-6시간	2
5시간 이하	3

component 3 점수 : _____

component 4 : 습관적 수면 효과

(1) 수면 시간 숫자를 적으시오 (#4 문제) : _____

(2) 침실에서 보낸 시간을 계산하시오

일어난 시간(#3 문제) : _____

- 취침 시간 (#1 문제) : _____

침실에서 보낸 시간 : _____

(3) 다음과 같이 습관적 수면 효율도를 계산하시오.

(잔 시간 수 / 침실에서 보낸 시간 수) X 100 = 습관적 수면 효율도 (%)

(_____/_____) X 100 = _____%

(4) component 4를 다음과 같이 평가하시오:

습관적 수면 효율도 %	component 4 score
85% 이상	0
75-84%	1
65-74%	2
65% 이하	3

component 4 점수 : _____

component 5 : 수면 방해

(1) #5b-#5j를 검사하고 각각의 질문 점수를 다음과 같이 평가하시오.

대답	점수
지난 한 달간 없었다	0
주당 한번 이하	1
주당 한 두 번	2
주당 세 번 혹은 그 이상	3

#5b 점수 : _____

c 점수 : _____

d 점수 : _____

e 점수 : _____

f 점수 : _____

g 점수 : _____

h 점수 : _____

i 점수 : _____

j 점수 : _____

(2) #5b-5j 까지 질문의 점수를 더하시오

#5b-5j 합계 : _____

(3) component 5 점수를 다음과 같이 평가하시오

#5b-5j 합계	component 5 점수
0	0
1-9	1
10-18	2
19-27	3

component 5 score : _____

component 6 : 수면 약물 이용

#7 문제를 검사하고 다음과 같이 점수를 평가하시오

대답	component 6 점수
지난 한 달간 없었다	0
주당 한번 이하	1
주당 한 두 번	2
주당 세 번 혹은 그 이상	3

component 6 점수 : _____

component 7 : 낮시간 기능장애

(1) #8 문제를 검사하고 다음과 같이 점수를 평가하시오

대답	점수
지난 한 달간 없었다	0
주당 한번 이하	1
주당 한 두 번	2
주당 세 번 혹은 그 이상	3

#8 문제 점수 : _____

(2) #9 문제를 검사하고 다음과 같이 점수를 평가하시오

대답	점수
아무 문제 없었다	0
단지 작은 문제만 있었다	1
어느정도 문제가 있었다	2
아주 큰 문제가 있었다	3

#9 문제 점수 : _____

(3) #8과 #9 점수를 더하시오

문제 #8 #9 합계 : _____

(4) component 7 점수를 다음과 같이 평가하시오

#8과 #9 합계	component 7 합계
0	0
1-2	1
3-4	2
5-6	3

component 7 점수 : _____

전체적 PSQI 점수

일곱 component 점수를 모두 더하시오

전체적 PSQI 점수 : _____

그림 13. 피츠버그 수면 질 조사 평가 점수

[출처: Buysse et al., Psychiatry Res, 1989]

(나) 불면증 중증도(심각도) 지표(Insomnia Severity Index, ISI)

5문항으로 구성되어 있고, 문항별 점수는 순차적으로 0~4점으로 평가한다. 점수는 최소 0점에서 최대 28점이 가능하다. 0~7점은 불면증이 없는 것으로, 8~14점은 약간의 불면증이 있는 것으로, 15~21점은 중증도의 불면증으로 22~28점이면 심한 불면증으로 구분한다.

(다) 수면일지(Sleep diaries)

대상자가 실제 작성한 수면일지를 활용하여 취침시간, 기상시간, 잠드는 데 걸리는 시간, 자다가 깬 횟수, 잠이 들었다가 깨서 자지 못한 시간에 대한 데이터를 임상자가 판단하고, 수면 각성시간, 수면 지속시간과 매일의 수면-각성시간의 변화를 보고 수면장애 개선 여부를 파악해 볼 수 있다.

3. 시험 설계 시 고려사항

가. 시험관시험

(1) 시험계

Rat C6 glioma cell 등을 이용하여 신경전달물질(GABA receptor)의 활성을 확인하는 기전 연구를 진행한다. 더불어, 신경세포인 PC12, L292세포를 확인하여 추출물의 독성 시험을 진행할 수 있도록 한다.

(2) 바이오마커

시험물질의 작용 기전을 설명하기 위한 바이오마커의 양, 활성, 단백질 발현, mRNA 발현 등을 측정한다.

(3) 통계처리

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

나. 동물시험

(1) 실험 동물계

수면 촉진 효과는 수면 반응 시 유발되는 행동양상의 변화, 눈감음 등의 생리반응을 지표로 검정할 수 있으며, 뿐만 아니라 수면을 방해하는 물리적 자극(온도 변화), 화학적 자극(카페인 등) 및 전기적 자극에 대한 저항 효과를 검증함으로써 확인할 수 있다.

실험동물은 C57BL/6 mice, Sprague-Dawley 흰쥐(SD Rat), ICR 생쥐, 고양이 등을 선택하고 1주일간 안정화시킨 후에 시험 목적에 맞게 처치하는데, 수면에 영향을 미칠 수 있는 인자들이 배제된 환경, 즉, 소음(40 dB 이하) 조명(200~300 LUX 12시간/1일), 항온($22 \pm 3^\circ\text{C}$), 습도 ($55 \pm 15\%$) 등의 조건을 유지해야한다. 또한 drosophila 모델을 이용하여 야간 활동성, 수면시간 등의 연구를 진행한다.

수면장애 유발 확인 시험은 Caffeine 1 mg/kg 투여, 빛 자극(300 LUX 이상 유지), 소리 자극 및 전기 자극(Mouse - 1mA 0.3 초간, Rat - 3mA 0.3초간)을 통하여 알 수 있다.

수면 개선 효과를 평가하기 위한 동물실험에는 para-chlorophenylalanine 혹은 pentobarbital 약물을 이용하여 수면을 유도한 동물모델, 카페인으로 수면을 박탈한 모델 등을 이용하여 수면의 각성 및 수면의 질을 연구할 수 있다.

(2) 바이오마커

시험물질의 작용기전을 설명하기 위해 바이오마커의 양, 활성, 단백질 발현, mRNA 발현 등을 측정한다. 한 가지 지표의 변화가 아닌 일련의 바이오마커의 변화를 종합적으로 평가한다.

(3) 통계처리

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

다. 인체적용시험

의약품이 필요한 대상자를 기능성식품의 인체적용시험 대상으로 선정하는 것은 윤리적으로 문제가 될 수 있어서 대상자 선정기준을 신중하게 설정하는 것이 필요하다. 임상에서 주로 사용하는 ICSD-3 진단 기준에 따라 불면증, 수면관련 호흡장애, 중추성 과다수면, 일주기 리듬 수면-각성장애, 사건수면, 수면관련 운동장애 등으로 구분할 수 있다.

불면증이란 입면 또는 수면 유지의 어려움, 일어나는 것과 원기회복의 어려움 그리고 낮 동안의 기능저하 등의 증상이 뚜렷한 신체적 또는 정신적 상태와는 관계없이 발생하는 것이 특징이다. 수면관련 임상연구들에서는 불면증 진단 기준에 근거한 전문의의 수면장애 여부 판단과 수면의 질에 대한 측정도구를 통한 수면장애 상태를 종합하여 대상자 선정 기준을 설정하고 있다.

(1) 시험대상 : 유사한 수면을 경험하는 환경 조건

- 고려 인자 : 성, 나이, 교육 정도, 결혼 여부, 종교, 직업, 병력, 생활환경 등
- 기준 외 여타 수면에 영향을 미칠 수 있는 변인의 통제
(예 : 카페인 및 알콜 섭취, 운동량, 수면 습관 등)

- 수면장애의 진단기준(disease criteria)을 완전히 만족시키지는 않는 반(半) 건강인을 건강기능식품의 시험대상으로 해야 할 것임.
(미국수면의학회의 수면무호흡(AHI) 기준을 적용하여 30 이상의 Obstructive sleep apnea(폐쇄성수면무호흡) 중증대상자는 반드시 제외)

(가) 시험대상자(예시)

- 만 19세에서 65세 사이의 성인 남녀
- 수면 개시 또는 수면 유지에 어려움이 있거나, 새벽에 깨고 다시 잠이 들지 않는 증상, 자도 잔 것 같지 않고 깨운하지 않은 증상을 적어도 주 1회 이상, 적어도 2개월 이상 지속되는 경우(DSM-V)
- 주관적 수면평가 척도인 Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI) 점수가 5점 이상으로 주관적 수면 문제를 호소하는 사람, 수면의 질이 낮은 자

(나) 대상자 배제기준(예시)

- 질병상태
 - PSQI 점수로 평가하였을 때 불면증(심각한 불면증)에 해당하는 경우 혹은 Insomnia severity index ≥ 22 점
 - 수면장애를 유발하는 다음 질환(정신질환 포함)이 있는 자
 - : 코골이, 수면 무호흡증(sleep apnea), 하지불안 증후군(restless legs syndrome), 주기성 사지운동장애(periodic limb movement during sleep), 우울증, 기면증(narcolepsy)
 - 수면의 질에 영향을 미칠 수 있는 만성기저질환자(간질환, 심혈관질환, 소화기장애, 호흡기장애 등)
 - BMI 18.5 kg/m^2 이하 혹은 35 kg/m^2 이상 인자
 - 치료를 요하는 임상적으로 유의한 질환을 가지고 있는 자
 - 조절되지 않는 당뇨 및 고혈압 환자
- 생리적 상태
 - 임신, 수유 중인 여성 또는 본 인체적용시험기간 동안 임신 계획이 있는 자
- 약물복용
 - 수면장애를 흔히 유발하는 것으로 알려진 약물(코르티코스테로이드, 히스타민제, 각성제 등)을 복용 중인 자

- 수면제, 신경안정제, 항정신병약물(예시: zolpidem, 벤조디아제핀계열, 항정신병약물 등)를 최근 1개월 동안 복용한 자
 - 호르몬 요법 중인 자(피임약 포함)
 - 약물중독자
- 생활 습관
- 알코올 섭취(남자 30g(맥주 3잔, 소주 3잔 정도), 여자 20g(맥주 2잔, 소주 2잔 정도))
 - 흡연자(25 개비/일 이상)
 - 평소 카페인 섭취가 과도한 자(하루 3잔 이상)
 - 야간근무 교대자 또는 평소 직업 등의 이유로 취침 시간이 불규칙한 자
 - 첫 번째 방문 1개월 이내에 시차가 다른 국가로 장거리 여행을 다녀온 자
- 알레르기
- 시험물질에 대한 알레르기/부작용이 있는 자
- 기타
- 최근 3개월 내 다른 인체적용시험에 참여한 자
 - 그 외 연구자에 의해 시험에 부적합하다고 판단되는 자

(2) 시험설계

이중눈가림, 무작위배정, 위약대조연구(Randomized, controlled trial; RCT)를 기본으로 한다. 시험설계 시 대상자 선정·제외 기준을 명확히 하여 기관생명윤리위원회 (IRB)에서 약물 치료가 필요한 대상자가 시험에 포함되지 않도록 한다. 이때, 기관명과 승인일이 기술 되도록 한다.

대상자 수의 산출방법과 근거, 검정력 등이 기술되어야 하며, 이중눈가림이 이루어진 경우, 배정된 군에 대해 비밀이 유지된 대상 (예: 연구대상자, 연구담당자, 결과분석자 등), 비밀유지방법, 눈가림의 해제 등에 대해 기술하고 비뚤림 방법을 최소화하기 위한 방법(무작위배정)이 기술되어야 한다.

또한, 평가지표에 영향을 미칠 수 있는 기저시점에서의 각 군 대상자들의 인구학적 특성, 기초특성(성별, 연령, 신체 활동량, 흡연력, 약물 복용력, 식이 섭취량, 체중, 운동, 음주 등)을 군간 차이로 기술한다.

(3) 바이오마커

기능성 내용을 확인할 수 있는 수면건강 관련 바이오마커의 변화를 측정한다. 바이오마커는 기전별로 다양한 지표들이 포함되어 있기 때문에 연구 목적에 부합하는 추측 기전을 선정하고, 관련된 바이오마커의 결과에 일관성이 나타나야 한다(III. 기능성 시험방법 1. 가. 연구유형별 바이오마커 참고).

(4) 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 signed-ranks 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 이상이어도 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 배정되므로, 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

IV 참고문헌

1. 「건강기능식품 기능성 평가 가이드[민원인안내서]-‘수면건강에 도움을 줄 수 있음’ 편」, 식품의약품안전평가원, 2017
2. 건강보험심사평가원. 수면장애진료인원. 2018 (<http://www.mindpost.or.kr/news>)
3. 건강보험심사평가원. 연령대별 수면장애 유병률. 2018 (<http://www.mindpost.or.kr/news>)
4. 대한수면연구학회, www.sleepnet.or.kr
5. 조승목 외, 식품의 수면증진 기능성 클레임과 평가방법, 2013
6. 정재훈 외, 수면 및 스트레스 관련 기능성 시험, 2004
7. Adib-Hajbaghery M, Mousavi SN. The effects of chamomile extract on sleep quality among elderly people: A clinical trial. *Complement Ther Med* 35:109-114, 2017
8. Askari VR, Baradaran Rahimi V, Ghorbani A, Rakhshandeh H. Hypnotic effect of ocimum basilicum on pentobarbital-induced sleep in mice. *Iran Red Crescent Med J* 27;18(7):e24261, 2016
9. Baradaran Rahimi V, Askari VR, Tajani AS, Hosseini A, Rakhshandeh H. Evaluation of the sleep-prolonging effect of Lagenaria vulgaris and Cucurbita pepo extracts on pentobarbital-Induced sleep and possible mechanisms of action. *Medicina (Kaunas)* 54(4):55, 2018
10. Buysse DJ, Reynolds CF 3rd, Monk TH, Berman SR, Kupfer DJ. The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res* 28(2):193-213, 1989
11. Byun JI, Shin YY, Chung SE, Shin WC. Safety and efficacy of gamma-aminobutyric acid from fermented rice germ in patients with insomnia symptoms: A randomized, double-blind trial. *J Clin Neurol* 14(3):291-295, 2018

12. Caro DC, Rivera DE, Ocampo Y, Franco LA, Salas RD. Pharmacological evaluation of *Mentha spicata* L. and *Plantago major* L., medicinal plants used to treat anxiety and insomnia in colombian caribbean coast. *Evid Based Complement Alternat Med* 2018:5921514, 2018
13. Cho YW, Song ML, Morin CM. Validation of a Korean version of the insomnia severity index. *J Clin Neurol* 10(3):210-5, 2014
14. Choi HS, Ko BS, Kim HD, Hong KB, Suh HJ. Effect of valerian/hop mixture on sleep-related behaviors in *drosophila melanogaster*. *Biol Pharm Bull* 40(7):1101-1110, 2017
15. Clifford BS, Thomas ES, Jun L. Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms, *Nature* 437:1257-1263, 2005
16. Damjuti W, Fuangfoo T, Palanuvej C, Li T, Ruangrunsi N. *Leptocarpus disjunctus* prolongs sleeping time and increases nonrapid eye movement sleep with additional anxiolytic capacity. *J Adv Pharm Technol Res* 8(3):97-101, 2017
17. Deshpande A, Irani N, Balakrishnan R. Study protocol and rationale for a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study to evaluate the effects of Ashwagandha (*Withania somnifera*) extract on nonrestorative sleep. *Medicine (Baltimore)* 97(26):e11299, 2018
18. Erman MK. Sleep architecture and its relationship to insomnia. *J Clin Psychiatry* 62 Suppl 10:9-17, 2001
19. Forouzanfar F, Ghorbani A, Hosseini M, Rakhshandeh H. Hydroalcoholic extract of needles of *Pinus eldarica* enhances pentobarbital-induced sleep: possible involvement of GABAergic system. *Avicenna J Phytomed* 6(4):449-457, 2016
20. Forouzanfar F, Hosseini A, Amiri MS, Rakhshandeh H. Potentiating effects of *Perovskia abrotanoides* Karel. on pentobarbital-induced sleep. *Avicenna J Phytomed* 7(3):214-222, 2017

21. Forouzanfar F, Vahedi MM, Aghaei A, Rakhshandeh H. Hydroalcoholic extract of cuscuta epithymum enhances pentobarbitalinduced sleep: possible involvement of GABAergic System. *Curr Drug Discov Technol* 17(3):332-337, 2020
22. González-Trujano ME, Brindis F, López-Ruiz E, Ramírez-Salado I, Martínez A, Pellicer F. Depressant effects of *Salvia divinorum* involve disruption of physiological sleep. *Phytother Res* 30(7):1137-1145, 2016
23. Guerrero FA, Medina GM. Effect of a medicinal plant (*Passiflora incarnata* L) on sleep. *Sleep Sci* 10(3):96-100, 2017
24. Hajiaghaee R, Faizi M, Shahmohammadi Z, Abdollahnejad F, Naghdibadi H, Najafi F, Razmi A. Hydroalcoholic extract of *Myrtus communis* can alter anxiety and sleep parameters: a behavioural and EEG sleep pattern study in mice and rats. *Pharm Biol* 54(10):2141-2148, 2016
25. Hamed S, Forouzanfar F, Rakhshandeh H, Arian A. Hypnotic Effect of *Portulaca oleracea* on pentobarbital-induced sleep in mice. *Curr Drug Discov Technol* 16(2):198-203, 2019
26. Hong KB, Han SH, Park Y, Suh HJ, Choi HS. Romaine lettuce/skullcap mixture improves sleep behavior in vertebrate models. *Biol Pharm Bull* 41(8):1269-1276, 2018
27. Hosseini A, Sobhanifar MA, Forouzanfar F, Aghaee A, Rakhshandeh H. Hypnotic effect of red cabbage (*Brassica oleracea*) on pentobarbital-induced sleep in mice. *J Pharm Bioallied Sci* 10(1):48-53, 2018
28. Iber C, Ancoli-Israel S, Chesson A, Quan SF. The AASM manual of the scoring of sleep and associated events: rules, terminology and technical specifications, 1st ed. Westchester, IL: American Academy of Sleep Medicine, 2007
29. Janto K, Prichard JR, Pusalavidyasagar S. An update on dual orexin receptor antagonists and their potential role in insomnia therapeutics. *J Clin Sleep Med* 14(8):1399-1408, 2018

30. Jo K, Choi HS, Jeon S, Ahn CW, Suh HJ. *Nelumbo nucifera* seed extract promotes sleep in *drosophila melanogaster*. *Biol Pharm Bull* 41(3):399-408, 2018
31. Jo K, Jeon S, Ahn CW, Han SH, Suh HJ. Changes in *drosophila melanogaster* sleep-wake behavior due to *Lotus (Nelumbo nucifera)* seed and *Hwang Jeong (Polygonatum sibiricum)* Extracts. *Prev Nutr Food Sci* 22(4):293-299, 2017
32. Jo K, Kim H, Choi HS, Lee SS, Bang MH, Suh HJ. Isolation of a sleep-promoting compound from *Polygonatum sibiricum* rhizome. *Food Sci Biotechnol* 27(6):1833-1842, 2018
33. Jo K, Suh HJ, Choi HS. *Polygonatum sibiricum* rhizome promotes sleep by regulating non-rapid eye movement and GABAergic/serotonergic receptors in rodent models. *Biomed Pharmacother* 105:167-175, 2018
34. Kaushik MK, Kaul SC, Wadhwa R, Yanagisawa M, Urade Y. Triethylene glycol, an active component of *Ashwagandha (Withania somnifera)* leaves, is responsible for sleep induction. *PLoS One* 212(2):e0172508, 2017
35. Kholmanskiy A, Zaytseva N. Chiral factor of circadian rhythm of human physiology, *Int J Res Pharm Biosci* 5(4):6-10, 2018
36. Kim GH, Kim Y, Yoon S, Kim SJ, Yi SS. Sleep-inducing effect of *Passiflora incarnata* L. extract by single and repeated oral administration in rodent animals. *Food Sci Nutr* 8(1):557-566, 2019
37. Kim HC. Neuroanatomy of Sleep-Wake Regulation and its Application to Pharmacotherapy. *Korean J Psychopharmacol* 18(3):133-142, 2007
38. Ko YH, Shim KY, Lee SY, Jang CG. Evodiamine reduces caffeine-induced sleep disturbances and excitation in mice. *Biomol Ther (Seoul)* 26(5):432-438, 2018
39. Kohtoh S. Algorithm for sleep scoring in experimental animals based on fast Fourier transform power spectrum analysis of the electroencephalogram. *Sleep Biol Rhythms* 6:163-171, 2008

40. Koo DL, Kim JH. The physiology of normal sleep. *Hanyang Med Rev* 33:190-196, 2013
41. Lemoine P, Bablon JC, Da Silva C. A combination of melatonin, vitamin B6 and medicinal plants in the treatment of mild-to-moderate insomnia: A prospective pilot study. *Complement Ther Med* 45:104-108, 2019
42. Magaji MG, Musa AM, Abdullahi MI, Ya'u J, Hussaini IM. Isolation of bergenin from the root bark of *Securinega virosa* and evaluation of its potential sleep promoting effect. *Avicenna J Phytomed* 5(6):587-596, 2015
43. Marvin JS, Borghuis BG, Tian L, Cichon J, Harnett MT, Akerboom J, Gordus A, Renninger SL, Chen TW, Bargmann CI, Orger MB, Schreiter ER, Demb JB, Gan WB, Hires SA, Looger LL. An optimized fluorescent probe for visualizing glutamate neurotransmission. *Nat Methods* 10(2):162-70, 2013
44. Nishimon S, Yamaguchi M, Muraki H, Sakai N, Nishino S. Intraperitoneal injection of ginkgolide B, a major active compound of *Ginkgo biloba*, dose-dependently increases the amount of wake and decreases non-rapid eye movement sleep in C57BL/6 mice. *Neurosci Lett* 722:134832, 2020
45. Rahimi S, Alaei H, Reisi P, Zolfaghari B, Siahmard Z, Pourshanazari A. The effect of hydro-alcoholic of *Phoenix Dactylifera* extract on sleep and EEG in rat. *Avicenna J Phytomed* 27(6):511-518, 2017
46. Sateia MJ. International classification of sleep disorders-Third edition. *Chest* 146(5):1387-1394, 2014
47. Smyth C. The Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI). *J Gerontol Nurs* 25(12):10-11, 1999
48. Sohn SI, Kim DH, Lee MY, Cho YW. The reliability and validity of the Korean version of the Pittsburgh Sleep Quality Index. *Sleep Breath* 16(3):803-12, 2012
49. Sun Y, Zhang N, Qu Y, Cao Y, Li J, Yang Y, Yang T, Sun Y. Shuangxia decoction alleviates p-chlorophenylalanine induced insomnia through the modification of serotonergic and immune system. *Metab Brain Dis* 35(2):315-325, 2020

50. Xu J, Huang L, Sun GP. Urinary 6-sulfatoxymelatonin level and breast cancer risk: systematic review and meta-analysis. *Sci Rep* 7:5353, 2017
51. Yan Y, Li Q, DU HZ, Shen CX, Li AP, Pei XP, DU CH, Qin XM. Determination of five neurotransmitters in the rat brain for the study of the hypnotic effects of *Ziziphi Spinosae Semen* aqueous extract on insomnia rat model by UPLC-MS/MS. *Chin J Nat Med* 17(7):551-560, 2019
52. Zhuo K, Gao C, Wang X, Zhang C, Wang Z. Stress and sleep: a survey based on wearable sleep trackers among medical and nursing staff in Wuhan during the COVID-19 pandemic. *Gen Psychiatr* 33(3):e100260, 2020
53. <https://www.silversurfers.com/health/diet-exercise/oh-to-sleep/>

건강기능식품 기능성 평가 가이드(민원인 안내서)

- 수면건강 관련 -

발 행 인 : 서경원

편 집 위 원 장 : 윤혜정

편 집 위 원 : 이혜영, 윤태형, 권광일, 서은채, 이유경, 고경욱, 정유경,
홍은경, 김규현, 이미영, 안정선, 최정호, 이세윤, 이민아

발 행 처 : 식품의약품안전평가원

발 행 일 : 2022년 7월

문 의 처 : 식품위해평가부 영양기능연구과
(043-719-4402, 4409, 4416, 4417, 4419, 4422,
4428, 4429)



건강기능식품 기능성 평가 가이드 (민원인 안내서)

MINISTRY OF FOOD AND DRUG SAFETY
www.mfds.go.kr



【공직자 부조리 및 공익신고안내】 신고자 및 신고내용은 보호됩니다.

- ▶ 부조리 신고 : 식약처 홈페이지 “국민신문고 > 공직자 부조리 신고” 코너
- ▶ 공익 신고 : 식약처 홈페이지 “국민소통 > 신고센터 > 부패·공익신고 상담” 코너