

발 간 등 록 번 호

안내서-0136-02

건강기능식품 기능성 평가 가이드

(민원인 안내서)

위 건강 관련

2020. 9.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

지침서·안내서 제·개정 점검표

명칭

건강기능식품 기능성 평가 가이드
(위 건강 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(☞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. 2020년 9월 일 담당자 확 인(부서장) 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 2020년 9월 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 식품의약품안전평가원 식품위해평가부 영양기능연구과로 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-4402, 4416, 4421, 4422, 4423, 4425, 4426, 4430

팩스번호: 043-719-4420

제·개정 이력

연번	제·개정번호	승인일자	주요내용
1	B1-2016-1-003	2016.6.	제정
2	안내서-0136-01	2017.6.1.	「식약처 지침서등의 관리에 관한 규정」에 따른 등록번호 일괄 정비 (규제개혁담당관실-3761호, 2017.5.16.)
3	안내서-0136-02	2020.9.	개정 (기능성 시험방법 등 업데이트)

CONTENTS

※ 건강기능식품의 기능성 개요	1
※ 약어	3
I 서 론	4
II 일반적 사항	4
1. 개요	4
2. 보건학적 중요성	15
III 기능성 시험 방법	16
1. 바이오마커의 선정	16
2. 주요 바이오마커의 측정 방법	26
3. 시험 설계 시 고려사항	41
IV 참고문헌	46

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 생리학적인 효과 또는 기전이 명확하게 입증되어야 하고 일관성 있는 바이오마커의 개선효과가 다수의 인체적용시험 (RCT)에서 확보되어야 함 ※ 질병 관련 바이오마커의 확인
생리활성 기능 ²⁾	○○에 도움을 줄 수 있음	기반연구 자료를 통해 기능성 있는 생리학적인 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 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

약 어

5-HT4	5-hydroxytryptamine 4
CCK	cholecystokinin
¹³ C-UBT	¹³ C-urea breath test
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
EPS	epigastric pain syndrome
FD-QOL	functional dyspepsia related quality of life
GLP-1	glucagon-like peptide-1
GIP	gastric inhibitory peptide
GIS	gastrointestinal symptom
GSRS	Gastrointestinal Symptom Rating Scale
H2	histamine 2
HKID	Hong Kong index of dyspepsia
<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
IFN	interferon
IL	interleukin
iNOS	inducible nitric oxide synthase
MIC	minimum inhibitory concentration
MPO	myeloperoxidase
NDI-K	Nepean Dyspepsia Index-Korean version
NO	nitric oxide
NF-κB	nuclear factor kappa B
NSAID	nonsteroidal anti-inflammatory drug
PAGI-SYM	Patient Assessment of Upper Gastrointestinal Symptom Severity Index
PBS	phosphate buffered saline
PDS	postprandial distress syndrom
PEG	polyethylene glycol
PGA	patients global assessment
PGE ₂	prostaglandin E ₂
PYY	peptide YY
RT-PCR	reverse transcription polymerase chain reaction
SBT	sucrose breath test
TNF	tumor necrosis factor

I

서론

이 가이드는 건강기능식품 기능성원료를 개발하는 연구자 및 영업자에게 식품의약품안전처의 기능성(위 건강 관련) 평가 원칙 및 기준 등을 알림으로써 산업체의 기능성원료 연구개발에 적정을 기하고 효율성을 높이고자 작성되었다.

II

일반적 사항

1. 개요

가. 소화기능 개선

소화란 음식물이 체내 흡수가 가능한 단위로 분해되는 과정을 말한다. 소화 작용은 화학적 소화와 기계적 소화로 나눌 수 있다. 화학적 소화 과정은 고분자 음식물이 소화 효소에 의해 저분자 영양소로 분해되는 것이고, 기계적 소화 과정은 소화관 운동에 의해 음식물이 분해되고, 소화액과 잘 섞이며, 이동되는 것을 말한다. 그러므로 소화 기능 개선은 이러한 두 가지 측면이 모두 고려되어야 한다. 즉, 소화기능 개선에는 소화 효소 활성 촉진이나 소화액 분비 촉진 효과 및 소화관의 운동 기능 개선이 포함된다.

(1) 소화기계 구성

소화기계는 구강에서 시작하여 인두, 식도 위, 소장, 대장, 항문까지 이어지는 음식물이 이동하는 주요 기관과 침샘, 간, 담낭, 췌장과 같이 소화를 도와주는 물질들을 생성 분비하는 부속기관들로 이루어져 있다(그림 1). 간에서는 콜레스테롤로부터 담즙이 생산되고 생산된 담즙은 담낭에 저장되어 있다가 필요 시 십이지장으로 분비된다. 췌장에서 분비되는 췌장액에는 중탄산염(bicarbonate)과 소화 효소들을 함유하고 있다.

위장관은 점막층(mucosa), 점막하층(submucosa), 근육층(muscularis), 장막층(serosa)으로 구성되며 소장의 경우 환상근, 종주근으로 이루어져 두 방향으로 수축이 된다. 또한 위장관에는 정맥, 동맥, 신경계, 림프관 등이 퍼져 있다(그림 1).

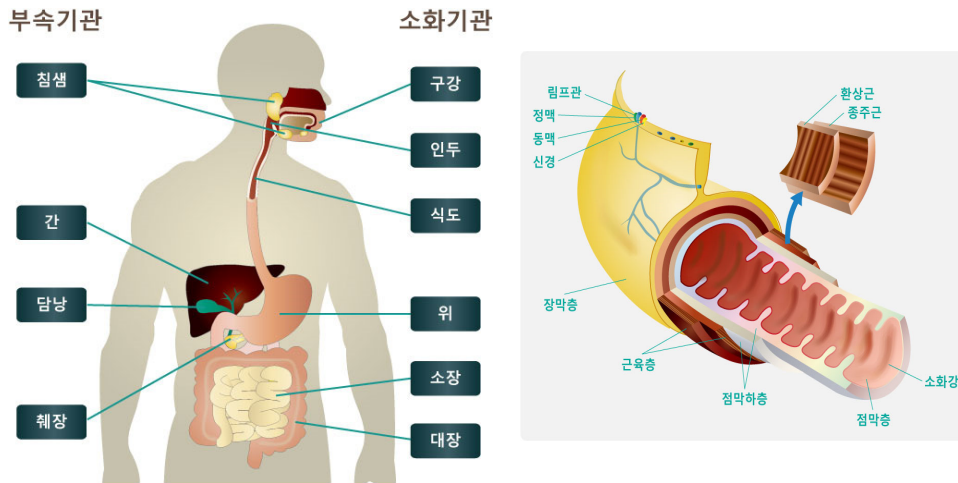


그림 1. 소화기계와 소화관 구조

[참고: McGuire M, Beerman K. Nutritional Science, 2018]

(2) 소화기계 기능

(가) 화학적 소화와 물리적 소화

소화 과정은 크게 소화효소 작용에 의해 일어나는 화학적 소화 과정과 치아와 근육이 작용하는 물리적 소화 과정으로 나뉜다.

① 화학적 소화

화학적 소화는 소화효소 작용에 의해서 탄수화물, 단백질, 지질이 흡수될 수 있는 형태로 분해되는 과정이다. 탄수화물을 분해하는 효소에는 전분분해효소(α -amylase), 이당분해효소 등이 있으며, 구강, 췌장, 소장 점막세포에서 생성되고 분비된다. 단백질 분해효소는 펩신(pepsin), 트립신(trypsin), 엘라스타아제(elastase), 디펩티데아즈(depeptidase) 등이 있으며, 단백질 분해효소는 위, 췌장에서 생성되고 분비된다. 소장점막세포에는 디-, 트리 펩타이드를 분해하는 효소들이 있다. 단백질 분해효소는 활성이 없는 전구체 형태로 생성, 분비된 후 식이 단백질을 만나면 활성화되어 단백질의 펩타이드 결합을 분해한다. 지질분해효소는 중성 지방을 글리세롤과 지방산으로 분해하며 구강에서 약간 분비되고, 주로 췌장에서 분비된다.

② 물리적 소화

물리적 소화는 기계적 소화라고도 하며 소화 효소의 작용 없이 음식물을 작은 형태로 자르거나 이동시키는 것을 말한다. 물리적 소화는 구강에서 저작작용으로부터 시작한다. 위에서는 고체를 액체 형태로 분해하고 소장으로 음식물을 이동시키며, 음식물은 소장, 대장을 거쳐 이동된다.

(나) 운동

① 위 운동

위는 음식물을 저장하고, 음식물과 위액을 섞는 작용을 통해서 음식물을 유미즙(chyme) 형태로 만들어 십이지장으로 내보내는 역할을 한다. 또한, 위에서는 효소에 의한 단백질 소화가 시작된다. 음식물과 위액 등의 위 내용물이 섞이는 혼합작용은 위 전정부의 수축(antral contraction)에 의하며, 이 연동운동성 수축(peristaltic contraction)은 혼합작용뿐만 아니라 유미즙 형태의 음식물을 십이지장으로 밀어내기도 한다. 한편 위 내용물의 배출은 음식물의 영양성분 구성비, 성상, 농도 등의 영향을 받는다고 알려져 있는데, 칼로리, 점성, 삼투압 등이 높은 유미즙은 영양소 성분이 없는 액체류에 비해 천천히 배출된다(그림 2).

십이지장 내 식이 지질, 산 등에 의해 십이지장 수용기가 활성화되고, 신경 또는 호르몬 반응이 촉발되면, 위의 평활근 운동성이 지연되고 유문동 연동운동 감소로 위 배출이 지연된다. 호르몬 반응으로는 가스트린은 위 운동을 촉진하고, 세크레틴, 콜레시스토킨, gastric inhibitory peptide 등은 위 배출을 감소시킨다.

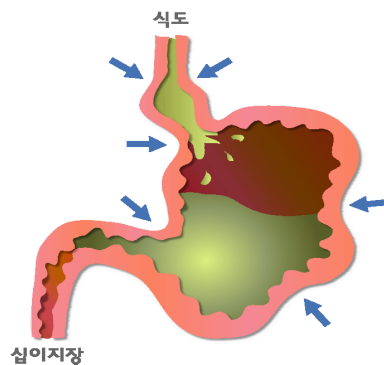


그림 2. 위 연동운동성 수축

② 소장 운동

소장은 공복 동안에도 주기적인 소화 운동(motility)을 유지하다가, 위에서 유미즙이 소장으로 내려가면서 운동성(motor activity)이 훨씬 강해지게 된다. 이 과정에서 소장 내 음식물은

소장 평활근의 수축과 이완이 반복되는 분절운동(segmentation)에 의해 작은 덩어리로 나뉘면서 소화액과 혼합되고, 소장 벽과 접촉되면서 영양소의 흡수가 원활히 이루어지게 된다(그림 3). 소장 상부일수록 분절운동이 강하고 빈도도 높아서 십이지장의 경우 분당 약 12회, 회장은 약 9회 정도 일어난다. 또한, 음식물을 소장의 상부에서 하부로 이동시켜주는 연동운동도 소장 상부일수록 빠르고 하부로 갈수록 느려진다.

소장 운동은 근육과 신경에 의해 조절되며, 약물, 음식, 연령의 증가, 스트레스 등 근육과 신경기능에 영향을 줄 수 있는 다양한 요인의 영향을 받는다.

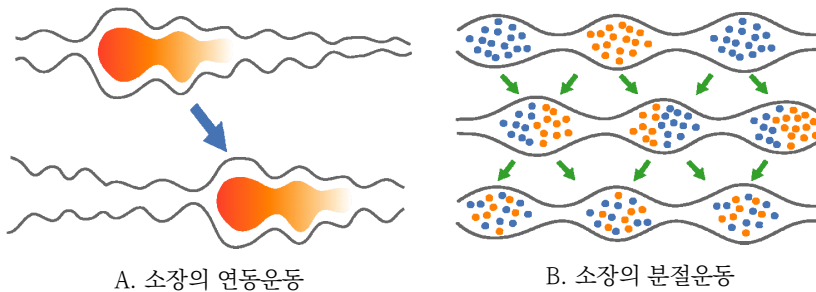


그림 3. 소장의 연동운동과 분절운동

(다) 분비

① 소화효소

침샘에서 구강으로 분비되는 침에는 점액, 항균제 등과 함께 전분분해효소인 α -아밀라아제(amylase)가 함유되어 있다. 침 1L 속에는 약 0.4g의 아밀라아제가 함유되어 있으며, 전분을 맥아당, 말토트리오스, 올리고당 등으로 가수분해하는 작용을 한다. 위에서는 펩시노겐(pepsinogen)이 염산(HCl)에 의해 활성형인 펩신으로 활성화되어 단백질을 펩타이드로 분해하는 작용을 한다. 췌장에서 만들어져 췌관을 통해 십이지장으로 분비되는 췌장액에는 물, 중탄산염 이외에 전분을 맥아당과 포도당으로 분해하는 α -아밀라아제, 펩티드결합을 절단하는 트립신, 엘라스타아제, 중성지방의 글리세롤로부터 지방산을 절단하는 지질분해효소인 리파아제(lipase) 등의 소화 효소가 포함된다.

소장 점막은 융모(villi)라고 하는 주름 형상을 이루고 있으며, 이 융모에 배열된 점막 세포는 미세융모(microvilli)를 가지고 있다. 점막 세포에는 소화 효소가 존재하는데, 수크라아제(sucrase)는 서당을 포도당과 과당으로 분해하며, 말타아제(maltase)는 맥아당을 포도당 2분자로, 락타아제(lactase)는 유당을 포도당과 갈락토오스(galactose)로 분해한다. 점막 세포에는 또한 펩티다아제(peptidase)도 포함되어 있다.

② 위액

위산은 위점막의 벽세포(parietal cell)에서 분비되는데, 위에서 분비되는 가스트린, 히스타민, 아세틸콜린에 의해 양성자 펌프(proton pump)인 H^+ / K^+ ATPase 펌프를 경유하여 분비된다 (그림 4).

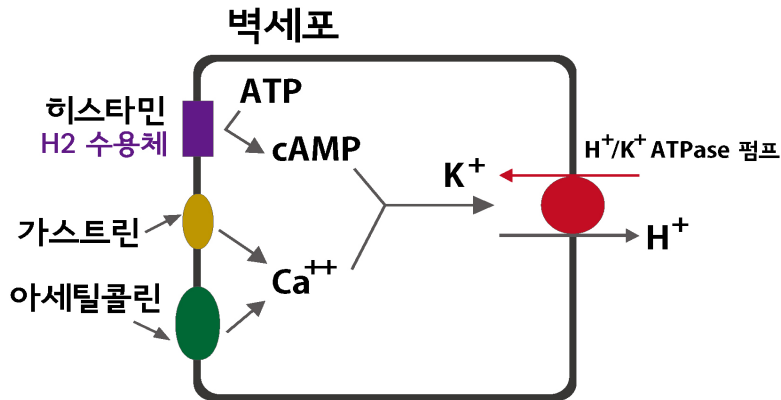


그림 4. 위산 분비 기전

음식물의 자극으로 위 전정부의 G 세포에서 분비된 가스트린(gastrin)이나, 미주신경의 축삭에 의해 방출된 아세틸콜린(acetylcholine)은 위 벽세포에 작용하여 위산 분비를 자극하고, 점막의 장크로민화성 유사 세포(enterochromaffin-like cell, ECL cell)로부터 히스타민 방출을 자극한다. 히스타민은 H2 수용체(receptor)와 결합함으로써 H^+ / K^+ ATPase 펌프에 의한 위산 분비를 촉진시킨다. 또한, 가스트린은 콜레시스토키닌 2 수용체(cholecystokinin 2 receptor, CCK2r)를 활성화시키고, 아세틸콜린은 무스카린 아세틸콜린 수용체 M3(muscarinic acetylcholine receptor M3, M3r)를 활성화시킨다. 활성화된 수용체들은 세포 내 cAMP와 Ca^{2+} 의 농도를 증가시켜 H^+ / K^+ ATPase 펌프를 활성화시켜 위산분비를 촉진한다.

고농도의 위산은 전체 위액을 pH 2 이하의 산성으로 만든다. 위액의 강한 산성은 섭취한 단백질의 3차 구조를 변성시켜 소화되기 쉽게 하며, 주세포(chief cell)에서 분비된 펩시노젠을 활성형의 펩신으로 분해하여, 펩신을 활성화하는 역할을 한다. 펩신은 단백질을 부분적으로 소화시키는 작용을 한다. 또한, 위산은 음식물에 포함된 대부분의 미생물을 사멸시키는 살균 작용을 한다.

③ 췌장액

위에서 유미즙이 십이지장으로 내려오면 췌장에서는 오디팔락신을 통해 췌장액을 십이지장으로 분비한다. 췌장액에는 중탄산염과 여러 소화효소(탄수화물 소화효소: 아밀라아제, 단백질 분해효소: 트립시노젠(trypsinogen), 키모트립시노젠(chymotrypsinogen), 엘라스타아제(elastase), 프로-카복시펩티다아제(procarboxypeptidase), 지질분해효소: 리파아제, 코-리파아제(co-lipase), 뉴클레오타이드 분해효소: 리보뉴클레아즈(ribonuclease), 디옥시리보뉴클레아제(deoxyribonuclease))를 포함하고 있어 본격적인 화학적 소화 과정이 일어나도록 한다. 십이지장으로 넘어온 유미즙은 산성이므로 이를 중화하기 위해 중탄산염이 분비된다.

④ 담즙

담즙은 담즙산(bile acid), 빌리루빈(bilirubin), 콜레스테롤, 지방산, 인지질 등의 복합체로 이루어진 수용성 용액으로 음식물이 소장으로 유입되면 담낭에서 십이지장으로 분비된다. 담즙산은 음식으로 섭취한 중성지방을 유화시켜 작은 구조인 마이셀(micelles)을 형성하는데, 이는 지질 성분이 효율적으로 소화, 흡수될 수 있도록 해준다.

(라) 흡수

소장 점막은 영양소 흡수에 적합하도록 넓은 표면적을 가지고 있고, 점막을 통해 췌장액 내 효소나 점막세포 효소에 의해 분해된 최종산물이 체내로 흡수된다. 포도당과 갈락토오스, 비타민, 무기질 등은 능동수송에 의해 소장 점막세포로 흡수되고, 과당은 촉진확산에 의해 흡수된다. 그리고 수용성 물질은 수동확산에 의해 액체공극(aqueous pore)을 통해서 세포막을 통과하거나 점막세포 측면 공간이나 연접결합(tight junction) 부위를 통해 흡수될 수 있다. 유리 지방산과 모노글리세라이드(monoglycerides)는 마이셀을 형성하여 확산에 의해 비교적 반수층(unstirred water layer)을 통과하여 흡수 표면에 도달한 후, 마이셀은 붕괴되고 지질은 세포막을 통해 점막세포 내로 확산된다. 대장에서는 소장에서 소화, 흡수되지 않은 일부 비타민 및 무기질, 수분이 흡수된다.

흡수불량(malabsorption)이란 소화된 영양소의 위장관을 통한 흡수가 완전하지 않고 비정상적인 상태를 말하며, 특정 당류, 지질, 단백질, 비타민, 무기질 등의 흡수불량 문제를 포함한다. 이러한 영양소 흡수불량의 요인으로는 췌장액 효소 등의 결핍이 있으며, 철 흡수불량의 경우 비헴철이 일반적으로 장에서 잘 흡수되지 않는 것이 문제가 된다. 유당불내증(lactose intolerance)으로 인한 유당 흡수 불량, 과당 등의 단당류 흡수불량은 위장관 불편감을 유발한다.

(3) 소화기계 조절

(가) 신경계

소화기계에는 장 신경계와 중양신경계가 분포되어 있어 소화 과정을 조절한다. 소화기계에는 감각수용체(sensory receptor)가 분포되어 있는데 화학수용체(chemoreceptor)는 장내 화학물질을 인식하고, 기계적 수용체(mechanoreceptor)는 음식물에 의한 장관 벽의 확장을 인식하여 소화 과정을 조절한다. 또한, 중양신경계는 소화기계로부터 오는 자극에 반응하고, 감각과 감정적 자극이 소화기계를 조절한다. 예를 들어 음식을 섭취하지 않더라도, 음식을 보거나 냄새를 맡는 것만으로도 소화기계의 운동이 영향을 받으며, 소화 효소나 호르몬의 분비가 자극받는다. 이와 같이 소화기계는 장 신경계와 중양신경계의 조절을 받아 소화 과정을 진행한다.

(나) 호르몬

위장관 점막층의 점막세포에는 호르몬을 분비하는 내분비세포가 존재하는데, 위장관의 분비나 흡수, 그리고 운동은 이 호르몬들의 작용을 받는다. 위장관 호르몬은 대부분 펩티드로서 약 10여종이 분포하고 있다. 소화를 조절하는 주요 위장관 호르몬의 종류와 대사는 표 1과 같다.

표 1. 소화를 조절하는 호르몬

호르몬	분비자극	주분비조직 (기관)	작용
가스트린 (Gastrin)	음식 내 단백질 성분	위 전정부 G 세포	위산분비 자극 소화관 점막 성장 자극 위 운동 증강 위 점막구조 유지
세크레틴 (Secretin)	위산	십이지장 S 세포	췌장액 분비 촉진 위산, 가스트린 분비 억제 위 배출 지연
콜레시스토키닌 (Cholecystokinin)	지방산, 아미노산	십이지장, 공장 I 세포	담낭수축 췌장액 효소 분비 자극 위 배출 지연
GIP (Gastric inhibitory peptide)	포도당, 지질, 위산	십이지장, 공장 K 세포	가스트린 생성 억제 위산 분비 억제 위 운동 억제
Glucagon-like peptide-1 (GLP-1)	영양분, 혈당	회장, 대장 L 세포	위 배출 및 위 운동 억제
PYY (Peptide YY)	지방산, 포도당, 가수분해 단백질	회장, 대장 L 세포	위산, 췌장액 분비 억제 위장 운동 억제
그렐린 (Ghrelin)	금식	위 기저부 신경내분비 세포	시상하부 작용을 통한 식욕 증가 위산 분비 증가, 위운동 촉진

위장관 호르몬은 위장관 기능에 중요한 역할을 하지만, 일중 변동(하루 중 시간대별로 다름)이 크고, 섭취하는 음식의 영향을 많이 받기 때문에 측정 시에 적절한 방법을 선정하는 것이 중요하다. 판정 기준에 있어 논란의 여지가 있는 호르몬들로서 GLP-1 (glucagon-like peptide-1)은 젊은 연령층에서는 오히려 식후에 증가하여 혈당을 낮추는 좋은 효과도 가지며, 적절한 식사 후에 자연스럽게 분비되는 호르몬이므로, 위 배출이나 위 운동을 억제하는 기능을 한다고 하여 이 호르몬의 감소가 소화기능을 증진시킨다고는 할 수 없다. 또한, 콜레시스토키닌의 경우 고령에 따른 식욕 저하의 원인으로 추정되는 호르몬인 만큼 반드시 증가한다고 하여 소화를 증진시킨다고 할 수 없다.

(4) 소화불량

소화불량은 광범위한 질환군을 가지는 일반적인 증상으로 병태생리학적인 원인도 다양하다. 증상은 식후 포만감, 명치통증 또는 작열감 등을 나타내며, 약 25%의 환자만이 기질적인 원인을 가지며 대부분은 기질적 원인이 없다.

(가) 기질 문제에 의한 소화불량

소화불량의 중요한 기질적 원인에는 소화성 궤양, 위암, 위식도 역류질환과 같은 위장관계 질환, 간 질환, 담체 질환, 약물, 전신질환, nonsteroidal anti-inflammatory drug(NSAIDs) 사용 등이 대표적이며, 이외에 위 침윤성 질환, 당뇨병성 신경근병증, 간암, 장 허혈, 대사성 이상(고칼슘혈증, 중금속중독) 등이 있다.

(나) 기능성 소화불량(functional dyspepsia)

기능성 소화불량은 소화성궤양, 위식도역류질환, 위장관 악성 종양, 췌담도 질환 등 뚜렷한 인과관계를 가지는 기질적 질환이 없으면서 증상이 만성적이고 반복적으로 나타나는 경우를 말한다. 증상으로는 상복부 통증, 상복부 팽만감, 조기 만복감, 식후 포만감, 오심, 구토, 트림 등이 있다. Rome IV 기준에 의하면 ‘기능성 소화불량증은 4가지 증상 중 1가지 이상이 진단 6개월 이전부터 있었고, 최근 3개월 이내에도 증상이 지속될 때’라고 정의한다. 4가지 증상은 불쾌한 식후 포만감(위내에 음식이 계속 남아 있는 것 같은 불편한 증상), 불쾌한 조기 만복감(식사를 시작하자 곧 배가 부르고 더 이상 식사를 할 수 없는 느낌), 불쾌한 상복부 통증(명치 부위 복통), 불쾌한 속쓰림이다. 기능성 소화불량증은 식후 불쾌감증후군(postprandial distress syndrom, PDS)과 상복부 통증증후군(epigastric pain syndrome, EPS), 두 증상의 정도가 비슷하여 어느 한쪽 아형에 분류될 수 없는 PDS/EPS 중복군으로 나뉜다. PDS는 6개월 전에 시작하여 3개월 이상 지속되는 식후 포만감 또는 조기 만복감이 1주일에 3일 이상 있는 경우이고, EPS는 6개월 전에 시작되어 3개월 이상 지속되는 상복부 통증 또는 상복부

속쓰림 증상이 1주일에 1일 이상 있는 경우이다. 기능성 소화불량의 병태생리학은 장관의 운동이상, 내장감각과민성, 중추신경계조절이상, 장관감염과 염증 등의 요인과 정신적 요인이나 스트레스도 작용한다. 기능성 소화불량증 환자의 30~40%에서 위 배출 지연이 있다는 보고가 있으며, 위장관 운동 촉진은 기능성 소화불량 개선에 도움을 줄 수 있다.

나. 위 점막

위 점막은 위 점막에 대한 공격인자들의 작용을 감소시키고, 방어인자들의 작용을 증진시킴으로써 건강하게 유지될 수 있다. 또한, *Helicobacter pylori* 감염 예방, 증식 억제를 통해서도 위 점막 건강을 유지할 수 있다.

(1) 위 점막 보호

위는 점막층(mucosa), 점막하층(submucosa), 근육층(muscularis mucosa), 장막층(serosa)의 4개 층으로 구성되며, 위 점막은 흡수와 분비를 하는 세포층으로 구성되어 있으며 점막층이 손상되면 궤양이 발생한다(그림 5).

건강한 점막 상태에서 위 점막의 벽세포(parietal cell)와 주세포(chief cells)의 세포막은 위 내강 속의 산을 거의 통과시키지 않는데, 이는 알칼리성 점액층, 중탄산이온(HCO_3^-), 프로스타글란딘(prostaglandin) 작용, 연접결합, 손상된 세포의 빠른 재생 등의 여러 가지 보호 기전이 존재하기 때문이다.

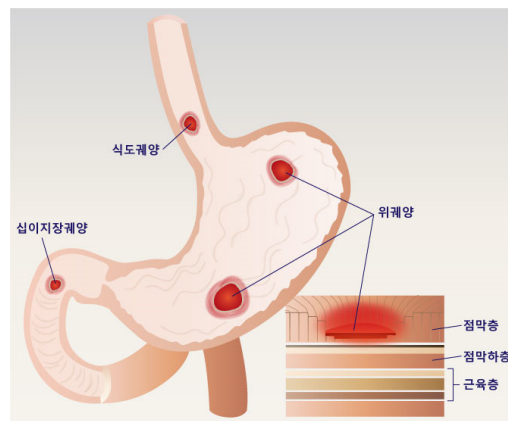


그림 5. 위 점막 손상

[참고: McGuire M, Beerman K. Nutritional Science, 2018]

점액은 위액의 구성성분으로서 점막의 방어기능을 수행한다. 위 점막의 배상세포(goblet cells)에서는 트레포일 펩타이드(trefoil peptide)와 뮤신 당 단백질의 혼합물을 분비하고, 이들이 점액을 형성하는데, 점액은 겔(gel) 형태로 상피세포의 표면을 덮는다. 뮤신(mucin)은 병원성 미생물을 감싸는 작용을 통해 점막을 보호하는 작용을 하는데, 상재균(commensal bacteria)의 경우에는 특이 뮤신에 접착함으로써 집락 형성이 용이하게 되기도 한다.

산성 음식물 섭취로 십이지장이 자극을 받으면 세크레틴이 분비되어 췌장액 분비를 촉진한다. 췌장액에 함유된 중탄산염(bicarbonate)은 위산을 중화시킨다. 위 점막에 의해 생성되는 프로스타글란딘은 위 점막을 재생하고 보호하는 역할을 하며, 융합막은 위산이 점막 조직으로 새어 나가는 것을 막는 작용을 한다. 위 내벽은 매분 50만개의 세포를 제거하고 새로운 세포로 교체하여 3일마다 전체 상피가 재생되는데, 이때 손상된 세포의 재생은 위점막 보호 효과를 가진다.

(2) 위 점막 손상

위 점막 손상은 위 점막을 보호하는 방어인자와 위 점막을 손상시키는 공격인자 사이의 균형이 깨어져 위염이나 소화성 궤양이 유발되는 것을 말한다(그림 6). 이때 위점막을 보호하는 방어인자는 위에서 언급한 위점막 보호 기전을 나타내는 요소들이고, 공격인자는 위산, 펩신, 헬리코박터 파이로리(*H. pylori*), 비스테로이드성 항염제(NSAIDs, nonsteroidal anti-inflammatory drugs) 등이다. 위염이나 소화성 궤양은 이러한 공격인자가 강해지거나 방어인자가 약해짐에 따라 발생하며, 위점막 손상이 발생하였을 때, 위산이나 펩신(pepsin) 분비가 증가할수록 위점막 손상이 악화된다.

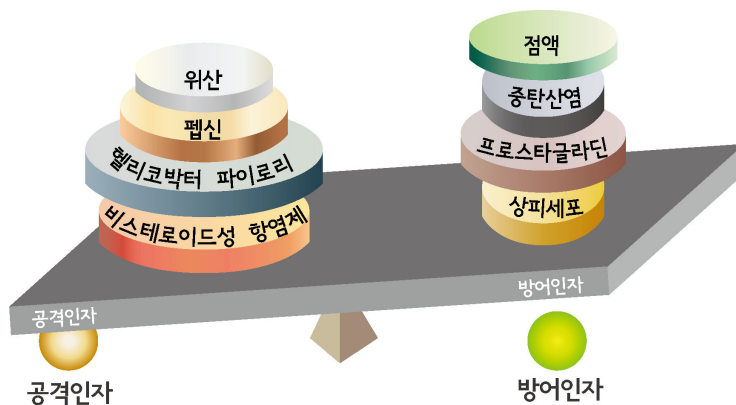


그림 6. 위점막의 공격인자와 방어인자 균형

위산이나 펩신은 과다 분비되거나 방어인자가 약해졌을 때 공격인자로 작용하여 자기소화 (autolysis) 작용을 통해 위 점막에 손상을 일으킨다. NSAIDs는 프로스타글란딘 생산을 억제함으로써 위궤양을 일으키며, 자기소화로 위장벽이 파괴되면 위산이 점막을 통해 점막하 조직으로 새어나와 직접적인 조직손상과 염증을 야기한다. 염증 중 장크롬친화성 유사 세포에서 방출되는 히스타민은 더 많은 산분비와 점막 손상을 초래하는데, 이를 급성위염(acute gastritis)이라고 한다.

만성위염(chronic gastritis)은 위의 만성적 염증으로 위 점막에 나타나는 염증세포의 출현, 상피세포의 파괴 또는 구조적인 변형의 유무 및 체부와 전정부 선의 위축의 유무가 특징이다. 만성위염의 병인은 아직 명확히 밝혀지지 않았으나 *H. pylori* 감염에 의한 만성위염이 가장 흔하다. 만성위염의 증상으로는 복부 팽만감, 오심, 구토, 가슴앓이, 상복부 동통 등이 있다. 소화성 궤양이란 위액 중에 함유된 위산이나 펩신의 자기소화에 의해서 위장 점막 조직을 지나 밑에 있는 조직까지 손상된 상태를 말하며, 일반적으로 위·십이지장 궤양이 소화성 궤양으로 총칭되고 있다. *H. pylori*는 소화성 궤양의 주요 공격인자로서 최근 주목받고 있다. 위와 같이 만성위염이나 소화성궤양 등의 위 관련 증상 및 질환은 *H. pylori*가 많은 부분 관여하고 있다.

사이토카인(cytokine)은 위 상피세포에서 분비되며, IFN- γ (interferon γ), TNF- α (tumor necrosis factor- α), IL(interleukin)(IL-1 β , IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-18) 등은 염증을 유발하는 작용을 하고, IL-10은 염증성 Th1 면역반응을 억제하는 작용을 한다.

2. 보건학적 중요성

가. 소화기능 개선

음식물의 소화와 영양소 흡수는 다양한 소화효소와 분비기관, 호르몬 작용, 근육, 신경이 함께 작용하는 복잡하고도 통합적, 고효율적인 과정이다. 유전적 영향, 노화, 스트레스, 섭취하는 음식, 약물 등 여러 가지 요인의 영향으로 소화효소 분비, 위장관 운동 등에 문제가 발생하면 소화 및 흡수불량 증상이 생길 수 있다. 소화 및 흡수 불량은 체내 영양소 손실의 측면 뿐 아니라 그 주된 증상이 식후 답답함, 속쓰림, 조기포만감, 상복부 통증 등으로 이들 증상을 겪는 사람의 삶의 질을 저하시킨다.

기능성 소화불량증은 일반 인구의 10-20%를 차지할 정도로 흔한 질환이다. 소화불량증으로 일차의료기관을 찾는 환자는 5% 정도로 흔한 질병이며, 소화불량증 중증 80% 정도가 기능성 소화불량인 것으로 보고되고 있다. 따라서 소화흡수 불량 문제 원인을 해결하거나 원인이 불분명한 경우라도 소화 기능을 증진시키는 노력이 필요한데, 식품 섭취를 통해서도 소화기능 증진을 통해 소화불량 증상 완화 효과를 얻을 수 있다.

나. 위 점막 개선

위 점막은 점액, 중탄산염, 프로스타글란딘 등의 작용으로 건강한 점막 상태가 유지되지만, 헬리코박터균 감염, NSAIDs, 스트레스, 알코올 등의 여러 가지 요인에 의해 위 점막 손상이 발생할 수 있다. 위 점막 손상은 급성위염, 만성위염, 소화성궤양으로 발전할 수 있으며, 이들은 음식물 소화불량의 문제, 위 불편감 등을 야기한다. 그러므로 위점막 손상을 유발하는 요인을 억제하거나 위 점막 보호 작용을 할 수 있는 식품의 섭취는 위 점막의 건강 상태 유지에 도움을 줄 수 있다.

Ⅲ

기능성 시험 방법

1. 바이오마커의 선정

가. 유형별 바이오마커

위 건강 관련 기능성을 확인하기 위한 측정 가능한 연구유형별 바이오마커(biomarker)는 다음 표 2와 3과 같다.

표 2. 소화기능 개선 기능성 확인을 위한 바이오마커

구 분		바이오마커	측정 가능한 연구유형		
			in vitro	in vivo	Human
소화 과정	소화효소 활성	전분분해효소(α -amylase) 활성	○	○	
		단백질분해효소 활성	○	○	○
		지질분해효소 활성	○	○	
	담즙산분비	담즙산 농도		○	
	위액분비	위산도		○	
		펩신 활성		○	
	호르몬 분비	가스트린		○	○
		Gastric inhibitory peptide(GIP)		○	○
		Peptide YY(PYY)		○	○
	소화관 흡수	Sucrose breath test(SBT)			○
		분변 내 총 지질 농도		○	○
	위/소장 운동	위배출(gastric emptying)		○	○
		위/소장 운동능		○	○
		5-hydroxytryptamine(5-HT) 수용체		○	
		Dopamine-D ₂ 수용체		○	
임상적 증상		Functional Dyspepsia-Related Quality of Life(FD-QoL) Questionnaire 24			○
		Gastrointestinal Symptom Rating Scale(GSRS)			○
		Patient's global assessment(PGA)			○
		Gastrointestinal Symptom(GIS) Questionnaire			○
		Hong Kong index of dyspepsia(HKID)			○
		Nepean Dyspepsia Index-Korean version(NDI-K)			○
		삶의 질 개선(SF-36)			○
		Patient Assessment of Upper Gastrointestinal Symptom Severity Index (PAGI-SYM)			○

표 3. 위 점막 개선 기능성 확인을 위한 바이오마커

구 분		바이오마커	측정 가능한 연구유형		
			in vitro	in vivo	Human
위 점막	위점막 상태	위 점막 손상		○	○
		염증 정도		○	○
		펩시노겐 I 과 펩시노겐 II 비율		○	○
	방어인자	뮤신	○	○	○
		중탄산염		○	○
		프로스타글란딘 E ₂		○	
		Defensins	○	○	○
	공격인자	위산 분비	○	○	
		혈장 히스타민 농도		○	○
		히스타민 2 수용체	○	○	
		콜레스티스토키닌 2 수용체	○	○	
		무스카린 아세틸콜린 수용체 M3	○	○	
		cAMP 농도	○	○	
		H ⁺ /K ⁺ ATPase 발현	○	○	
		헬리코박터 감염 측정 지표	○	○	○
		Myeloperoxidase(MPO) 활성	○	○	
		산화질소(nitric oxide, NO)	○	○	○
		Inducible nitric oxide synthase(iNOS)	○	○	
		Nuclear factor-kB(NF-kB)	○	○	○
	공통인자	사이토카인(TNF, IFN, IL 등)	○	○	○
임상적 증상		Gastrointestinal Symptom Rating Scale(GSRS)			○
		Visual Analogue Scale(VAS)			○
		삶의 질 개선(SF-36)			○
		Patient's global assessment(PGA)			○

나. 바이오마커 설명

(1) 소화과정

(가) 소화효소 활성화

① 전분분해효소(α -Amylase) 활성화

전분분해효소 중 α -아밀라아제는 타액과 췌장액에 함유된 소화효소이다. 타액 아밀라아제에 의해 일부 전분이 맥아당과 덱스트린으로 분해되며, 췌장 아밀라아제에 의해 맥아당, 말토트리오스, 올리고당 등으로 분해된다. α -아밀라아제 활성이 증가하면 소화에 도움을 준다고 볼 수 있다.

② 단백질분해효소(Protease) 활성화

단백질분해효소는 단백질과 펩타이드 등의 펩타이드 결합을 가수분해하는 효소이다. 단백질 분해효소는 위에서 생성되는 펩신 뿐만 아니라 췌장액 내 트립신, 엘라스타아제, 그리고 소장 솔가장자리(brush border) 효소 중의 펩티다아제를 포함한다. 단백질 분해효소의 활성이 증가하면 단백질 소화 증진이 기대된다. 한편 엘라스타아제-1은 췌장액에 함유된 단백질 분해 효소로서 다른 췌장 효소의 영향을 받지 않고, 장을 통과할 때 담즙염과 결합하여 분해되지 않고 대변으로 대부분 배설되기 때문에 췌장의 외분비 기능 지표가 된다.

③ 지질분해효소(Lipase) 활성화

지질분해효소는 주로 췌장에서 합성되어 췌장액에 함유되어 분비되는 가수분해효소로서 중성지방을 지방산과 글리세롤로 가수분해하는 반응을 촉매하는 역할을 한다. 따라서 리파아제 활성이 증가하면 지질 소화가 증진된다고 할 수 있다.

(나) 담즙산 분비

위에서 배출된 유미즙이 십이지장에 도달하면 콜레시스토키닌이 분비된다. 이 호르몬의 작용으로 담낭의 수축이 자극되어 담즙이 분비된다. 담즙 내 존재하는 담즙산은 식이지질을 작은 입자인 마이셀로 분산시키는 유화작용을 하여 수용성 소화효소인 췌장 지질분해효소의 작용을 쉽게 함으로써 지방 소화 작용에 영향을 준다. 따라서 적절한 담즙산 분비는 지질 소화에 도움을 준다.

(다) 위액분비

① 위산도

위에서는 위산을 포함하는 위액이 분비되어 위산도는 높게, 즉 pH는 낮게 유지된다. 그러나 위산분비가 저하되면 위내 산도가 낮아지고 낮은 pH에서 활성을 가지는 단백질분해효소인 펩신의 활성이 감소하고, 소화 호르몬 분비가 변화하여 담즙분비, 췌장의 소화액, 소화효소 분비 감소로 섭취한 음식의 소화에 영향을 줄 수 있다. 따라서 위의 산도를 적정수준으로 유지하는 것은 음식물 소화에 도움이 될 수 있다. 한편 위염 등 위점막에 손상이 있을 때에는 위 산도를 낮추는 것이 도움을 줄 수 있다.

② 펩신 활성화

위에서 분비되는 단백질분해효소의 전구체인 펩시노겐은 위산으로 인한 강한 산성상태에서 단백질분해 활성을 가지는 펩신으로 활성화된다. 따라서 펩신 활성이 증가하면 단백질 소화가 증진되는 효과가 기대된다. 한편 위산과 마찬가지로 위점막에 손상이 있을때는 펩신 활성이 감소되는 것이 도움을 줄 수 있다.

(라) 호르몬 분비

① 가스트린

가스트린은 주로 위전정부 G 세포에서 분비되는 호르몬으로서 위액 분비를 촉진시키고, 위 운동을 증가시키는 역할을 한다.

② Gastric inhibitory peptide(GIP)

GIP는 십이지장과 공장 점막의 K세포에서 분비되는 호르몬이다. 십이지장 내 포도당, 지질이 증가하거나 위산도가 높아지면 분비되는 GIP는 가스트린 생성을 억제하며, 위 운동과 위산 분비를 억제하는 역할을 한다.

③ Peptide YY(PYY)

PYY는 말단 회장, 대장, 직장의 L형 내분비 세포에서 생성되는, 36개의 아미노산으로 구성된 펩타이드이다. 회장 내에서 PYY1-36과 PYY3-36의 두 가지 형태로 존재한다. PYY1-36은 담낭수축 억제 등의 작용을 하고, PYY3-36은 위 배출 억제, 위산 분비 억제, 췌장의 내분비, 외분비 기능 억제, 장 통과시간 지연 등의 생리작용을 한다.

(마) 소화관 흡수**① Sucrose breath test(SBT)**

서당(sucrose)이 소장 점막세포에 존재하는 서당분해효소인 수크라아제(sucrase)에 의해 분해되는 원리를 이용하여 수크라아제 활성을 측정할 수 있다. 수크라아제 활성이 저하된다는 것은 소장 점막세포의 손상을 의미하고 흡수가 저하된다는 것으로 볼 수 있다.

② 분변 내 총 지질 농도

식이 지질의 대부분은 소장에서 소화, 흡수되며 대변에는 소량만 남겨진다. 분변 내에는 장쇄지방산, 콜레스테롤, 중성지방, 인지질과 같은 지질성분이 존재하며, 배설된 지질이 증가 함은 소장에서의 지질 소화 및 흡수가 효과적으로 일어나지 않음을 의미할 수 있다.

(바) 위/소장 운동**① 위 배출(Gastric emptying, GE)**

위 배출은 액체 또는 고체의 음식물이 위에서 십이지장으로 배출되는 시간을 말한다. 위 배출 시간이 지연된다는 것은 위의 연동운동에 장애가 있다는 것을 의미하므로 위 배출 시간이 긴 것은 소화불량의 주요 원인으로 생각된다.

② 위/소장 운동능

위는 섭취한 음식을 일시적으로 저장하면서 근육의 수축 운동으로 음식을 분해하고 위산 및 소화효소와 혼합하는 작용을 한다. 음식물이 잘게 분해되면, 위 내용물은 십이지장으로 배출된다. 위 내용물을 받은 소장은 근육층의 수축, 이완작용을 통해 소화액과 음식을 혼합시켜 효소에 의한 소화 과정을 촉진하고, 음식을 소장에서 대장으로 이동시키는 작용을 한다. 여러 요인에 의해 위와 소장의 운동능력은 영향을 받으며, 위/소장 운동능력이 감소하면 소화불량의 위험이 증가한다고 볼 수 있다.

③ 5-Hydroxytryptamine(5-HT) 수용체

세로토닌(5-Hydroxytryptamine, 5-HT)은 위장관에서 분비되는 신경전달물질로, 수용체를 통해 위장관의 운동과 감각을 조절한다. 5-HT₃ 수용체와 5-HT₄ 수용체가 위 장관에서 세로토닌의 수용체로서 중요하게 작용하며, 특히 5-HT₄ 수용체는 장 연동, 전해질 분비, 내장 구심성 감각을 매개하는 역할을 한다.

④ Dopamine-D₂ 수용체

위장관 운동은 자율신경에 의해 조절되며, 도파민(dopamine)은 신경전달물질로서 콜린성 신경원에서 아세틸콜린 유리를 억제함으로써 위 장관 운동을 억제하는 역할을 한다. Dopamine 수용체 중 D₂ 수용체가 주로 위 장관 운동성과 관련되어 있으므로, D₂ 수용체를 차단하면 도파민 작용을 막고, 아세틸콜린이 유리되어 위 수축 항진을 통해 위장관 운동이 증진될 수 있다.

(2) 위점막

(1) 위점막 상태

① 위 점막 손상

인체의 정상적인 위 점막은 핑크빛 광택이 있고, 0.5cm 이하의 위 주름 두께를 가진다. 그러나 염증 등으로 위 점막이 손상되면, 부종, 적색 반점, 출혈성 경향, 삼출물, 편평미란, 용기형미란, 점막주름의 비대, 주름의 위축, 점막하 혈관의 투영성, 내 출혈반, 점막의 결절 모양 등이 나타난다. 시험물질을 섭취하여 위 점막 상태를 관찰하여 위 점막 손상 정도를 알아 볼 수 있다.

② 염증 정도

위의 점막을 적출하여 조직학적 관찰을 통해 염증 정도를 평가할 수 있다. 인체의 경우 위 장관의 점막을 내시경으로 확대 관찰함으로써 점막의 형태, 염증정도와 혈관 상등 표면 미세 구조를 관찰한다.

③ 펩시노겐 I 과 펩시노겐 II 비율

펩시노겐은 위액의 단백질 분해효소 펩신의 전구물질로서, 위저부와 체부의 주세포에서 분비되는 펩시노겐 I 과 전체 위점막의 주세포 및 점액세포에서 분비되는 펩시노겐 II 2종류가 있다. 혈청 펩시노겐은 위축성 위염의 지표가 될 수 있으며 위염 발생 시 펩시노겐 I 감소와 펩시노겐 I /펩시노겐 II 비율 감소가 나타난다.

(2) 방어인자

① 뮤신

뮤신은 위에서 분비되는 점액의 주요성분으로서 점막을 보호하는 작용을 한다. 인체에서는 최소한 9개의 뮤신 유전자가 발견되었으며, 위에서는 MUC5AC, MUC6, MUC1 이 발현된다. 위 조직 내 뮤신 분비량이나 뮤신 유전자 발현의 증가는 위 점막 보호효과를 나타낸다.

② 중탄산염(Bicarbonate)

위에서 배출된 산성인 유미즙이 십이지장으로 내려오면, 이 자극에 의해 세크레틴이 분비되어 췌장액 분비를 촉진한다. 췌장액에 함유된 중탄산염은 위산을 중화시킨다. 중탄산염에 의해 유미즙이 중화되지 않으며 소장 조직이 손상 받으며, 소화효소의 작용이 적절하게 일어나지 않는다.

③ 프로스타글란딘 E₂(Prostaglandin E₂)

위 점막에 의해 생성되는 프로스타글란딘은 위 점막을 재생하고 보호하는 역할을 하며, 위 조직 내 프로스타글란딘 분비량 증가는 위 점막 보호 효과를 나타낸다.

④ Defensins

위 상피세포는 α -defensin 및 β -defensin과 cathelicidin LL-37과 같은 다양한 항세균성 단백질을 생산한다. 이러한 단백질들은 세균의 성장을 억제하여 세균에 대한 방어작용을 한다.

(3) 공격인자

① 위산 분비

위산은 위 내 소화에 있어서 필수요소지만 위 손상을 유발하기도 한다. 위산 분비가 정상보다 많으면 위 점막이 손상될 수 있는 위험이 증가한다.

② 혈장 히스타민 농도

가스트린과 아세틸콜린의 위 점막 자극에 의해 방출되는 히스타민은 위 자극이나 염증 상태에서는 더 많은 산 분비와 점막 손상을 초래하여 증상을 악화시킨다.

③ 히스타민 2(Histamine 2, H₂) 수용체

히스타민은 위 벽세포의 H₂ 수용체와 결합함으로써 H⁺ /K⁺ ATPase 펌프에 의한 위산 분비를 촉진시킨다. 따라서 위 조직 내 H₂ 수용체의 발현 감소는 위산 분비 억제를 통해 위점막 보호 효과를 나타낼 수 있음을 의미한다.

④ 콜레스িস토키닌 2 수용체

가스트린은 위 벽세포의 콜레스িস토키닌 2 수용체를 활성화함으로써 H⁺ /K⁺ ATPase 펌프에 의한 위산 분비를 촉진시킨다. 그러므로 콜레스িস토키닌 2 수용체를 측정하면 위산 분비정도를 파악할 수 있다.

⑤ 무스카린 아세틸콜린 수용체 M3

아세틸콜린은 위 벽세포의 무스카린 아세틸콜린 수용체 M3를 활성화함으로써 H^+ / K^+ ATPase 펌프에 의한 위산 분비를 촉진시킨다. 그러므로 무스카린 아세틸콜린 수용체 M3를 측정하면 위산분비 정도를 파악할 수 있다.

⑥ cAMP 농도

위 벽세포에서 히스타민, 아세틸콜린, 가스트린 자극에 의해 각 수용체가 활성화되면, 이는 세포 내 cAMP와 Ca^{2+} 농도를 증가시켜 H^+ / K^+ ATPase 펌프를 활성화시킨다. 따라서 세포 내 cAMP 농도의 증가는 위산분비를 증가시킴으로써 위 점막 손상을 악화시킬 수 있다.

⑦ H^+ / K^+ ATPase 발현

위벽에서 양자 펌프인 H^+ / K^+ ATPase 펌프가 활성화되면 위산이 분비된다. 따라서 위 조직 내 H^+ / K^+ ATPase 발현 감소는 위산 분비 억제를 통한 위 점막 보호 효과를 나타낼 수 있다.

⑧ 헬리코박터 감염 측정 지표

Helicobacter pylori (*H. pylori*)는 미세호기성 그람 음성 막대균으로 1983년 처음 위 점막에서 분리, 배양된 이후 만성위염, 소화성궤양, 위 변연부 B세포 림프종, 그리고 위암의 원인인자로 규명되었다. 최근 발표된 여러 진료지침들은 기능성 소화불량증 환자에서 *H. pylori* 검사를 하고, *H. pylori*가 있을 경우 치료를 해야 한다는 것을 권고하고 있다.

⑨ Myeloperoxidase(MPO) 활성

MPO는 중성구에 풍부하게 존재하는 효소로서 염증이 발생하여 중성구가 활성화되면 분비가 증가되므로 조직의 염증 정도를 나타내는 양적 지표로 사용할 수 있다.

⑩ Nuclear factor-kB(NF-kB)

NF-kB는 염증반응과 발생과정에 중요한 신호전달 물질로서 세포에 염증을 발생시키는 자극을 주게 되면 NF-kB가 활성화되어 염증성 사이토카인 유전자를 발현을 조절한다.

⑪ 산화질소(nitric oxide, NO)

NO는 활성질소 종의 하나로, 과량의 NO는 정상 세포를 공격하고 염증을 유도하여 염증 질환의 매개인자로 알려져 있다.

⑫ Inducible nitric oxide synthase(iNOS)

iNOS는 L-아르지닌(L-arginine)을 산화시켜 시트룰린(L-citrulline)과 NO를 생성하는 효소이다. 정상상태에서는 방어작용, 신경전달물질과 혈관 조절 기능 등을 수행하나 염증 반응에서는 강한 독성을 가지는 과량의 NO를 발생시켜 세포 손상 및 만성 염증의 원인이 된다고 알려져 있다.

(라) 공통 인자(사이토카인)

사이토카인은 분비되는 종류에 따라 방어기전이나 공격인자로 작용할 수 있다. 위점막에서는 다양한 사이토카인이 분비되는데 $\text{INF-}\gamma$, $\text{TNF-}\alpha$, IL($\text{IL-1}\beta$, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12 등)의 증가, IL-10의 감소는 위염의 위험도를 증가시킨다.

(3) 임상적 증상

(가) Functional Dyspepsia-Related Quality of Life(FD-QoL) Questionnaire 24

FD-QoL은 HRQoL(Health-Related Quality of Life)을 토대로 소화불량 환자의 삶의 질을 평가하기 위한 설문지이다. 섭식에 대한 질문, 생활 활력에 관한 질문, 정서에 관한 질문, 사회적 기능에 관한 질문 총 4영역, 21개 문항으로 구성된 설문지로서, 소화불량과 관련된 삶의 질의 평가에 활용되고 있다.

(나) Gastrointestinal Symptom Rating Scale(GSRS)

GSRS는 자기보고형 위장관 증상 척도로서 총 15개의 증상항목으로 상부 및 하부 위장관 증상을 모두 포함하고 있다. 증상들은 5개의 영역으로 구분되어 점수화되어 있고 각각 7등급으로 점수화할 수 있다. GSRS는 위식도 역류질환에서 타당도가 검증되었다.

(다) Patient's global assessment(PGA)

PGA는 대상자가 증상을 전체적으로 어떻게 느끼는지를 평가하는 설문으로 2개의 질문으로 이루어져 있다.

(라) Gastrointestinal Symptom(GIS) Questionnaire

GIS 설문지는 소화불량의 정도를 정량적으로 조사하기 위한 타당도가 검증된 설문지로, 총 10개의 소화불량 증상(상복부통증, 경련성 복통, 포만감, 조기 만복감, 식욕 부진, 권태감, 메스꺼움, 구토, 흉골후방 불편감, 위산역류/속쓰림)에 대한 질문으로 구성된다.

(마) Hong Kong index of dyspepsia(HKID)

HKID 는 소화불량 증상의 심한 정도를 조사하기 위한 타당도가 검증된 설문지로, 12개의 소화불량 증상(일반적인 위통, 상복부 팽만, 상복부 둔통, 식전 위통, 불안시의 위통, 구토, 메스꺼움, 트림, 위산역류, 속쓰림, 위산 과다, 식욕 부진)에 대한 질문으로 구성되어 있다.

(바) Nepean Dyspepsia Index-Korean version(NDI-K)

Nepean dyspepsia index(NDI)는 소화불량증의 삶의 질 평가 도구이다. NDI는 신뢰도가 있으며, 증상 변화와 전반적 삶의 질 변화에 대한 반응도가 높아 한국판 NDI(Nepean dyspepsiaindex-Korean version, NDI-K)이 개발되었다. NDI-K는 증상 점수표, 삶의 질에 관한 문항과 가중치에 대한 문항으로 구성된다. 1차 관측변수는 기능성 소화불량증 환자의 증상 개선 효과이며 2차 관측변수는 치료 전후에 삶의 질 평가가 가능하다. 15가지 증상(상복부 통증, 상복부 불쾌감, 상복부 쓰림, 가슴 쓰림, 상복부 경련, 가슴 통증, 조기 만족감, 위산 역류, 식후 포만감, 상복부 압박감, 상복부 팽만감, 구역, 트림, 구토 및 숨쉬기가 좋지 않음)에 대한 빈도, 강도, 괴로운 정도에 대한 각각의 점수를 평가하여 총합으로 최종 평가한다. 삶의 질은 긴장/수면, 일상생활의 방해, 먹고 마심, 인식/조절, 일/공부 등 5개 25문항으로 이루어져 있다.

(사) 삶의 질 개선(SF-36)

SF-36는 전반적인 삶의 질 개선 여부를 조사하는 설문지로서 소화기능 개선 여부에 대한 부가적인 참고자료로 활용할 수 있다.

(아) Patient Assessment of Upper Gastrointestinal Symptom Severity Index (PAGI-SYM)

PAGI-SYM은 기능성 소화불량, 위식도역류질환과 같은 상부 위장관 질환의 증상 강도 및 치료 반응을 평가하기 위한 검증된 설문지로 재현성과 문항간의 일치도가 일관성이 확보되어 있다. 단점은 각각의 개별 증상 점수를 합산할 때 똑같은 가중치로 평가한다는 점과 기능성 소화불량증 이외의 증상도 포함되어 있다는 점이다.

(자) Visual Analogue Scale (VAS)

VAS는 직접적으로 쉽게 측정되지 않으며, 연속적인 값에 대한 태도와 특징을 측정하고자 하는 도구이다. 예를 들어 환자가 느끼는 고통의 정도는 ‘없음(none)’에서부터 ‘매우 높음(extreme)’ 까지 연속적인 범위를 가질 수 있다. 환자가 느끼는 고통의 정도는 ‘없음’, ‘경증’, ‘중증’, ‘심각함’등 구획화 될 수 없을 수 있다. 그러므로 VAS는 고통을 연속적인 도구로 측정하는 것을 기초로 하고 있다.

2. 주요 바이오마커의 측정 방법

가. 소화과정

(1) 소화효소 활성

(가) 전분분해효소(α -Amylase) 활성

시험관시험과 실험동물의 췌장조직에서 α -아밀라아제 활성을 측정할 수 있다. 시험관 시험에서는 PBS(phosphate buffered saline) 50 mL에 0.1 g BSA, 0.01 g/L NaN₃, 돼지 췌장 α -아밀라아제 0.2857 g을 용해시켜 효소용액을 준비하고, PBS에 p-nitrophenyl- α -D-maltopentoglycoside 를 5 mM 농도로 용해하여 기질용액을 만든다. 그 다음 효소용액 0.5 mL에 시험물질 0.1 mL을 넣은 후 405 nm에서 흡광도를 측정한다. 흡광도 측정 후 5분간 실온에 방치한 후, 기질용액 0.5 mL을 넣고 5분간 반응시켜 흡광도를 측정한다. 두 반응의 흡광도 차이를 통해서 효소활성의 변화를 측정한다. 동물시험에서 시험물질 섭취가 끝난 후, 실험동물을 희생시켜 췌장을 적출하여 α -아밀라아제 활성을 측정할 수 있다.

(나) 단백질분해효소 활성

시험관시험과 실험동물의 췌장조직 등에서 단백질 분해효소인 트립신, 키모트립신, 엘라스타아제 등의 활성을 측정할 수 있다. 시험관시험에서 트립신 활성 측정 방법은 다음과 같다. 0.01%가 되도록 10 mM sodium acetate buffer(pH 7.5)에 용해한 트립신 0.015 mL에 시험물질 0.185 mL을 혼합하여 37°C에서 10분간 전 처리한다. 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 azocasein을 3% 농도가 되도록 용해한 후 0.8 mL을 취하여 전처리 용액에 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 뒤 110 mM trichloroacetic acid reagent(TCA) 1.0mL을 첨가하여 반응을 정지시킨다. 상온에서 15분간 반응액을 정지하여 단백질을 침전시키고 10,000×g에서 20분간 원심분리한 뒤 상층액 1.2 mL에 1 N NaOH 1.4 mL을 혼합하여 440 nm에서 흡광도를 측정한다. 한편 엘라스타아제-1은 췌장액에 함유된 단백분해효소로서 다른 췌장 효소의 영향을 받지 않고, 장을 통과할 때 담즙염과 결합하여 분해되지 않고 대변으로 대부분 배설되기 때문에 췌장의 외분비 기능 지표가 된다. 인체의 경우에는 변에서 단백질분해효소의 농도를 효소면역측정법(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)을 이용하여 측정한다.

(다) 지질분해효소 활성

시험관시험과 실험동물의 췌장조직에서 지질분해효소(리파아제)의 활성을 측정할 수 있다.

시험관시험에서 리파아제 활성 측정 예는 다음과 같다. 시험물질 0.25 mL, 지질분해효소 800 unit/mL 0.5 mL과 0.05 M PBS(pH 6.5) 0.5 mL을 혼합하여 37℃에서 15분간 전처리한 후 10%로 isooctane에 용해시킨 올리브 오일 1.25 mL을 첨가하여 37℃에서 20분간 진탕배양 한다. 아세톤 5mL로 반응을 정지시킨 후 5% cupric acetate 1 mL을 첨가하여 혼합한 뒤 상온에서 정지하여 상층액 1 mL을 720 nm에서 흡광도를 측정한다. 동물시험의 경우, 개복하여 소장을 적출하고, 소장내용물을 취하여 균질화 및 원심분리 과정을 거쳐 얻은 상층액에 대해서 효소법을 이용한 kit를 사용하여 측정할 수 있다.

(2) 담즙산 분비

동물시험에서 담즙산 분비는 담즙산 농도를 측정하여 알 수 있다. 실험동물에게 수술을 시행하여 관류도관(십이지장, 유문부에서 20 cm 원위부)과 흡인도관(관류도관 보다 15 cm 원위부)를 삽입한다. 시험식은 고형식과 유동식을 혼합한 것으로, 유동식은 유동식 표지자인 PEG(polyethylene glycol)를 함유하도록 만들고, 고형식은 표지자인 ^{99m}Tc sulfur colloid (175 μCi)를 부착시킨다. 십이지장 관류액은 ^{14}C -PEG(15 $\mu\text{Ci/L}$)를 함유한 0.9% NaCl을 사용한다. 실험은 도관 삽입 2주째부터 의식이 있는 상태에서 실시하며, 하루 1회, 1주일에 1-2회 실시한다. 실험동물은 물을 제외하고 18시간 동안 금식시킨 후, 실험 시작 1시간 전부터 관류액을 관류(2 mL/min)하고, 시험식을 투여한다. 15분 마다 십이지장 흡인도관에서 검사물을 채취하여 담즙산을 측정한다. 담즙산 분비량은 십이지장내 유량 $\times$ 십이지장 검사물의 담즙산 농도 의 식을 통해 구한다. 담즙산은 hydroxysteroid dehydrogenase를 사용하여 hydroxy group의 C-17, C-19, C-24 위치를 산화시켜 유리된 H^+ 이온이 NAD(nicotinamide adenine dinucleotide)와 결합하여 NADH를 형성한 것을 분광광도계를 이용하여 340 nm에서 측정한다.

(3) 위액 분비

(가) 위산도

위산도는 실험동물에서 위액을 수집하여 실험동물에서 측정한다. 실험동물을 24시간 절식시킨 후 개복하여 유문부를 결찰하고, 시험물질(또는 대조물질)을 십이지장에서 위 내로 주입한 후 다시 봉합한다. 절식, 절수 하에서 6시간 동안 방치한 다음, 에테르로 마취하여 위를 적출하고 위액을 모아 원심분리(4,000 $\times$ g, 15분) 한다. 위액 1 mL을 취하여 phenolphthalein을 지시약으로 0.01N NaOH로 중화적정을 통해 총산도($\mu\text{Eq/mL}$)를 측정하며, 총 산도는 총 위액량을 고려하여 총 위산분비량($\mu\text{Eq/6hr}$)을 계산한 후 단위시간으로 환산한다.

(나) 펩신 활성

펩신의 활성은 위산도 측정에서와 같은 방법으로 위액을 얻어 실험한다. 위액 0.01 mL와 25℃의 헤모글로빈 기질용액 2 g을 0.06N HCl에 녹여 100 mL로 하고 pH 1.8에 맞춘 후 4,000×g에서 15분간 원심분리한다. 원심분리 후 상층액 5 mL와 0.01 N-HCl 0.99 mL를 가하여 37℃에서 20분간 원심분리(4,000×g, 15 분)한다. 다시 상층액 5 mL를 취하고 0.5N NaOH 10 mL를 가한 다음 1 : 3으로 희석된 Folin-ciocalteau's agent 3 mL를 가하여 5-10분 내에 595 nm에서 흡광도를 측정한다. 표준용액은 0.2N HCl에 용해시킨 tyrosine용액 1 mL에 0.2N HCl 4 mL를 가하여 0-1 mM의 농도를 조제하고, 펩신 활성은 mg tyrosine produced/hr로 구한다.

(4) 호르몬 분비

(가) 가스트린

실험동물과 인체의 혈액을 채취하여 분리한 혈장이나 혈청에서 농도를 측정한다. 실험 최종일에 실험동물을 12시간 절식시킨 다음, 에테르로 마취시키고, 경동맥에서 혈액을 채취한다. 혈액을 혈청용 튜브에 받아 1,600×g에서 15분간 원심분리하여 혈청을 얻어 분석 시까지 -80℃에서 보관한다. 혈청 가스트린 농도는 가스트린 kit를 이용하여 분석하며, 405 nm의 파장에서 흡광도를 측정한다. 사람의 경우, 공복시, 음식 섭취 후 20분, 40분에 팔의 주정중 피정맥(median cubital vein)에서 2 mL 가량의 혈액을 채취하여 헤파린 처리된 튜브에 넣고, 얼음에 보관한 다음 원심분리(4℃) 하여 혈장을 얻는다. 분리된 혈장 0.5 mL에 trasylol을 첨가하여 -20℃에 보관 후 가스트린 농도를 방사면역측정법을 이용하여 측정한다.

(나) Gastric inhibitory peptide(GIP)

실험동물이나 인체의 혈장에서 GIP 농도를 분석할 수 있다. 동물시험에서 간 문맥 내 삽관술(portal vein cannulation)을 이용하여 십이지장내 포도당이나 시험물질을 주입한 후, 간 문맥 혈장을 취하여, 혈장 GIP를 RIA kit를 이용하여 분석한다. 사람의 경우, 전완부의 정맥(antecubital vein)에서 정맥혈을 공복 시, 식후 180분 동안 일정 간격으로 채취하여 GIP 농도를 측정한다.

(다) Peptide YY(PYY)

동물시험에서 실험 최종일에 실험동물을 12시간 절식시킨 다음, 혈액을 채취하고, 원심 분리하여 얻은 혈청에서 혈청 PYY3-36은 PYY3-36 방사선면역측정법 kit로 측정한다. 인체의 경우 시험물질 섭취 전과 섭취 후 180분까지 일정 시간 간격으로 혈액을 채취하여 혈장을 분리하고, PYY를 방사선면역측정법 kit를 사용하여 측정한다.

(5) 소화관 흡수

(가) Sucrose breath test(SBT)

SBT는 동위원소가 표지된 서당을 섭취한 후 호흡으로 나오는 동위원소가 표지된 CO₂를 측정하는 방법을 이용한다. 안정동위원소 ¹³C로 표지된 서당(sucrose)을 섭취하면 소장에서 수크라아제에 의해 ¹³C 포도당과 과당으로 분해되고 ¹³C 포도당은 점막세포를 통해 흡수된다. 흡수된 ¹³C 포도당은 대사되어 ¹³CO₂를 발생시킨다. 호흡으로 나오는 ¹³CO₂를 측정하면 소장에서의 수크라아제 활성을 알 수 있다.

(나) 분변 내 총 지질 농도

실험동물이나 인체의 분변에서 총 지질 농도를 측정한다. 대변은 3일치를 수집하고, 대변 무게를 측정하고 99℃ 오븐에서 24시간 동안 건조시킨다. 건조된 샘플에서 지질을 분석한다. 즉, 일정량의 건조 분변을 취하여, 4 M HCl에서 끓여 산 가수분해한 후 여과하고, pH가 중성이 될 때까지 여과지를 뜨거운 물로 씻어낸다. 산분해물을 건조시켜 petroleum ether(60-80℃)로 지질을 추출하여 무게를 측정한다.

(6) 위/소장 운동

(가) 위 배출(gastric emptying)

위 배출은 음식물이 위에서 배출되는 시간을 측정한다(gastric emptying test). 방사선 동위원소를 부착한 표준 식이를 섭취한 후, 시간에 따른 위 내 남아있는 방사선 동위원소의 양을 측정함으로써 위 배출능을 측정할 수 있다. 위 내 남아있는 방사선 동위원소의 양이 적을수록(위 배출량이 증가할수록) 위 배출능이 증진됨을 의미한다.

시험물질 섭취가 끝난 후, 공복 상태에서 혈액 채취를 위한 캐놀라를 왼쪽 antecubital 정맥에 삽입한다. 회복 15분 후, 유지-포도당 음료를 섭취한다. 위 배출능은 유지-포도당 음료(200 mL) 섭취(2분 이내) 직후부터 210분 동안 측정하며, 음료에 함유된 올리브유는 20 MBq 99mTc-(V)-thiocyanate로 표지되어 있으며, 포도당은 8 MBq 67Gallium-EDTA로 표지되어 있다. 방사성 동위원소 데이터는 첫 30분 동안에는 30초 간격으로, 그 이후 180분 동안은 3분 간격으로 수집되며, 위 전체 부위에 대해 측정하여, 유지와 포도당이 남아 있는 비율 (t=0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210분)을 계산한다.

(나) 위/소장 운동능

동물실험이나 인체에서 측정할 수 있다. 동물시험에서 탄말이나 황산바륨이 포함된 유동식을 투여한 다음, 소화관 부위를 떼어내어 탄말이나 황산바륨의 이동거리를 구해 소화관 운동능을 평가하거나 장관 운동 기록법(Physio graph)으로 소화관 운동능을 평가할 수 있다. 실험동물의 회장을 약 15 cm 채취하여, 자체 제작한 연동함(peristaltic chamber)에 넣는다. 이 때, 연동함은 혼합 기체(95% O₂+5% CO₂)가 공급되고, Krebs-Henseleit(K-H) 용액(pH 7.4, 118 mM NaCl, 4.8 mM KCl, 2.5 mM CaCl₂, 1.2 mM KH₂PO₄, 1.5 mM MgSO₄, 25 mM NaHCO₃, 11 mM glucose)이 채워져 있으며, K-H 용액은 37℃로 유지된다. 윤상근의 기계적 수축을 측정하기 위해 클립을 2.5cm 간격으로 구축, 중간, 항문측 장막 표면에 고정시킨다. 클립에 연결한 실을 장관의 종축과 직각 방향으로 하여 장력 변환기(tension transducer)에 연결하고 기초 장력을 1g으로 한다. 60분 동안 평형을 유지시킨 후, 연동 펌프를 통해 장 내강 내로 K-H 용액을 0.4 mL/min의 유속으로 관류시켜 연동 수축파를 유발한다. 컴퓨터 소프트웨어로 연동 수축파의 압력, 수축 곡선하 면적(area under curve, AUC) 및 전파 속도(cm/sec)를 측정하여 시험물질 투여 전 기저 측정값을 구한다(전파 속도는 소장 연동 운동 구축 수축파에서 항문측 수축파까지의 거리(5 cm)를 걸린 시간(sec)으로 나누어 계산한다). 실험물질을 투여하고 5분 후 다시 연동 수축파의 압력, 수축 곡선하 면적, 전파속도를 측정 한다(각 추출물은 연동함 K-H 용액 내로 1 µg/mL부터 증량하여 누적 투여하고, 측정값의 증가나 감소가 뚜렷할 경우 다음 용량에서의 실험을 중단한다).

인체에서는 내시경을 통하여 위장관이 운동성 및 압력을 검사하여 위 유문부와 소장의 신경-근육계의 기능을 평가함으로써 운동 이상을 판정한다.

(다) 5-hydroxytryptamine 4(5-HT₄) 수용체

실험동물의 위장관 조직에서 5-HT₄ 수용체의 유전자 발현을 quantitative reverse-transcription polymerase chain reaction(RT-PCR) 방법으로 측정할 수 있다. 시료에 Trizol을 넣어 균질기로 분쇄하여 chloroform을 첨가한 후 혼합하여 방치 후, 원심분리한다. 원심분리 상층액을 회수하여 2-propanol을 혼합하여 방치한다. 이를 다시 원심분리한 후 80% 에탄올로 세척하여 건조시킨다. 추출한 RNA는 DEPC 물에 녹여 first strand cDNA로 합성한다. 합성된 cDNA에 5-HT₄ 수용체 primer를 반응시켜 타겟 유전자를 증폭시킨 후, 유전자 발현량을 분석한다.

(라) Dopamine-D₂ 수용체

실험동물의 뇌조직, 소화관조직 등에서 Dopamine-D₂ 수용체 발현을 quantitative RT-PCR 방법으로 측정할 수 있다. 시료에 Trizol을 넣어 균질기로 분쇄하여 chloroform을 첨가한 후 혼합하여 방치 후, 원심분리한다. 원심분리 상층액을 회수하여 2-propanol을

혼합하여 방치한다. 이를 다시 원심분리한 후 80% 에탄올로 세척하여 건조시킨다. 추출한 RNA는 DEPC 물에 녹여 first strand cDNA로 합성한다. 합성된 cDNA에 Dopamine-D₂ 수용체 primer를 반응시켜 타겟 유전자를 증폭시킨 후, 유전자 발현량을 분석한다.

나. 위 점막

(1) 위점막 상태

(가) 위 점막손상

실험동물과 인체에서 측정할 수 있다. 동물실험의 경우 시험물질 투여가 끝난 후, 실험동물을 24시간 절식시킨 다음 150 mM HCl 60% ethanol 1 mL를 경구투여 하고, 절식, 절수 하에서 1시간 동안 방치하여 급성 위염을 유발한다. 급성 위염 유발 후, 실험동물을 에테르로 마취하여 위를 적출한다. 적출한 위를 1% 포르말린 용액에 10분간 담가 고정시킨다. 고정시킨 위의 대만부를 절개하여 손상정도를 확인한다. 이미지 프로그램을 이용하여 발생된 손상면적 (mm²)을 측정하여 총합을 위 손상지수로 한다. 위 손상 억제율은 다음 식을 통해 구한다.

$$\text{위손상 억제율(\%)} = \frac{[(\text{대조군 위손상지수 (mm}^2\text{)} - \text{시험군 위손상지수 (mm}^2\text{)})]}{\text{대조군 위손상지수 (mm}^2\text{)}} \times 100$$

인체의 경우는 내시경을 통하여 위 점막 손상을 판정 할 수 있다.

(나) 염증 정도

동물시험에서 위의 염증 상태를 조직병리학적으로 점수화하여 평가할 수 있다. 0점에서 5점까지로 점수화 하며, 0점은 점막이나 점막하에 염증반응이 없는 상태이며, 5점은 점막, 점막하, 근육층에 호중구와 대식세포 침윤, 위 상피의 모든 부분에 광범위한 괴사, 부종, 미란, 궤양이 있는 상태이다. 인체의 경우는 내시경을 통하여 위 염증 상태를 판정 할 수 있다.

(다) 펩시노겐 I 과 펩시노겐 II

12시간 공복을 유지한 후 혈액을 채취하여 라텍스응집면역비탁법을 이용하여 혈중 펩시노겐 I, 펩시노겐 II, 펩시노겐 I / 펩시노겐 II 비율을 구한다.

(2) 방어인자

(가) 뮤신

세포와 실험동물, 인체에서 quantitative RT-PCR 방법으로 뮤신 유전자 발현을 측정할 수 있다. 동물시험에서 조직에서 뮤신 분비량은 뮤신의 6 탄당(hexose)를 검출하는 분광광도법을 이용하여 분석한다. 사람의 경우에 위생검 조직으로부터 quantitative RT-PCR이나 면역조직화학법으로 분석할 수 있다.

(나) 중탄산염

실험동물이나 인체에서 체장액을 채취하여 중탄산염을 측정할 수 있다. 인체의 경우 체장액은 췌관에 도관을 삽입한 후 세크레틴과 CCK로 자극을 주어 체장액을 얻어 중탄산염의 농도는 Corning CO₂ analyzer를 이용하여 측정한다.

(다) 프로스타글린딘 E₂

동물시험에서 위 점막 조직의 무게를 측정하고, 3 N HCl 을 가하여 균질화 한다. 그 다음 에틸에테르로 2회 추출하여, 에테르는 휘발시켜 제거하고, 남은 잔여물로 ELISA kit를 사용하여 프로스타글린딘 E₂ 함량을 측정한다.

(라) Defensins

세포실험으로는 Human gastric cancer cell line인 MKN45 등에서 quantitative RT-PCR의 방법으로 측정 가능하고, 실험동물이나 사람의 경우는 혈장, 위액에서 방사면역 측정법(radioimmunoassay)으로 측정할 수 있다. 희석한 검체와 표준 펩타이드 용액(100 μ L)를 100 μ L antiserum diluent(final dilution 1:4,200,000)를 처리하여 24시간 동안 반응시킨다. ¹²⁵I-라벨 용액(16,000 cpm in 100 μ L)을 첨가하여, 다시 24시간 동안 반응시킨다. Normal rabbit serum과 anti-rabbit IgG goat serum을 첨가하여 16시간 동안 반응시키고, 원심분리한다. 모든 과정은 4 ℃에서 수행하며, 5 mL의 혈장과 1-2 mL의 위액이 필요하다.

(3) 공격인자

(가) 위산 분비

시험관 시험과 동물시험에서 제산 능을 측정할 수 있다. 시험관 시험에서는 0.1 N 염산과 시험물질을 반응시키고, pH 측정을 통해 중화곡선을 작성하여 제산능을 측정한다. 동물시험에서는 우레탄(0.8 g/kg)을 복강 내 투여하여 실험동물을 마취시키고, 복부를 절개한 후 유문과 십이지장 사이를 봉합사로 묶고 catheter를 삽입한다. 생리식염수 3 mL로 4회 위 내용물을

세척한 후, 1시간 동안 안정시킨다. 1시간 안정 후 위액을 취하여 pH를 측정한다. 경구 존대를 사용하여 시험물질(5 mL/kg)을 투여하고 시간별로 catheter를 통하여 위액 0.4mL씩을 취하여 pH를 측정한다. 채취한 위액은 pH 측정 후 catheter를 통하여 다시 위에 넣어 준다. 시료 대신 생리식염수를 같은 양 투여한 군을 대조군으로 한다.

(나) 혈장 히스타민 농도

실험동물과 인체에서 시험물질 투여에 따른 히스타민 저해활성을 측정할 수 있다. 시험물질 섭취 후 혈액을 채취하여 혈장을 분리하고, 효소면역법을 이용한 히스타민 kit를 사용하여 분석한다.

(다) 히스타민 2 수용체

실험동물의 위 조직에서 위 벽세포를 분리하여, 시험물질을 처리한 후 quantitative RT-PCR 방법을 이용하여 히스타민 2 수용체 발현을 측정할 수 있다. 실험동물의 위 점막 조직 등에서 히스타민 2 수용체의 발현을 quantitative RT-PCR 방법을 이용하여 측정할 수 있다. 시료에 Trizol을 넣어 균질기로 분쇄하여 chloroform을 첨가한 후 혼합하여 방치 후, 원심분리한다. 원심분리 상층액을 회수하여 2-propanol을 혼합하여 방치한다. 이를 다시 원심분리한 후 80% 에탄올로 세척하여 건조시킨다. 추출한 RNA는 DEPC 물에 녹여 first strand cDNA로 합성한다. 합성된 cDNA에 히스타민 2 수용체 primer를 반응시켜 타겟 유전자를 증폭시킨 후, 유전자 발현량을 분석한다.

(라) 콜레시스토키닌 2 수용체

실험동물의 위 벽세포를 분리하여 배양하거나 실험동물의 위점막조직 등에서 콜레시스토키닌 2 수용체의 발현을 quantitative RT-PCR 방법을 이용하여 측정할 수 있다. 시료에 Trizol을 넣어 균질기로 분쇄하여 chloroform을 첨가한 후 혼합하여 방치 후, 원심분리한다. 원심분리 상층액을 회수하여 2-propanol을 혼합하여 방치한다. 이를 다시 원심분리한 후 80% 에탄올로 세척하여 건조시킨다. 추출한 RNA는 DEPC 물에 녹여 first strand cDNA로 합성한다. 합성된 cDNA에 콜레시스토키닌 2 수용체 primer를 반응시켜 타겟 유전자를 증폭시킨 후, 유전자 발현량을 분석한다.

(마) 무스카린 아세틸콜린 수용체 M3

실험동물의 위 벽세포를 분리하여 배양하거나 실험동물의 위점막조직 등에서 무스카린 아세틸콜린 수용체 M3 수용체의 발현을 quantitative RT-PCR 방법을 이용하여 측정할 수 있다. 시료에 Trizol을 넣어 균질기로 분쇄하여 chloroform을 첨가한 후 혼합하여 방치 후, 원심분리한다. 원심분리 상층액을 회수하여 2-propanol을 혼합하여 방치한다. 이를 다시

원심분리한 후 80% 에탄올로 세척하여 건조시킨다. 추출한 RNA는 DEPC 물에 녹여 first strand cDNA로 합성한다. 합성된 cDNA에 무스카린 아세틸콜린 수용체 M3 수용체 primer를 반응시켜 타겟 유전자를 증폭시킨 후, 유전자 발현량을 분석한다.

(바) cAMP 농도

실험동물의 위 조직으로부터 벽세포를 분리하여 배양한 세포에 시험물질을 histamine 0.1mM과 함께 30분 동안 처리한 다음 media를 제거한 후 scraper를 이용해 세포를 분리해 낸다. Pipette을 이용하여 suspension 한 뒤 10분간 원심분리 하고 그 상층액을 사용한다. 측정을 위해 cAMP direct immunoassay kit를 이용하여 제조사의 프로토콜에 따라 실험하고, ELISA reader를 이용하여 측정한다.

(사) H^+ / K^+ ATPase 발현

실험동물의 위 조직으로부터 분리, 배양한 위 벽세포나 시험동물의 위 점막조직에서 quantitative RT-PCR 방법을 이용하여 H^+ / K^+ ATPase 발현을 측정할 수 있다. 시료에 Trizol을 넣어 균질기로 분쇄하여 chloroform을 첨가한 후 혼합하여 방치 후, 원심분리한다. 원심분리 상층액을 회수하여 2-propanol을 혼합하여 방치한다. 이를 다시 원심분리한 후 80% 에탄올로 세척하여 건조시킨다. 추출한 RNA는 DEPC 물에 녹여 first strand cDNA로 합성한다. 합성된 cDNA에 H^+ / K^+ ATPase primer를 반응시켜 타겟 유전자를 증폭시킨 후, 유전자 발현량을 분석한다.

(아) 헬리코박터 감염 측정 지표

① 최소 억제 농도(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)

MIC는 항균력을 측정하는 가장 기초적인 지표로 시험관내 세균 감수성 검사(in vitro sensitivity test)에서 미생물의 번식을 억제할 수 있는 항생제의 최저농도로 정의한다. 시험관 시험에서 시험물질이 첨가된 배지에 *H. pylori*를 배양하여 균의 생육이 관찰되지 않는 최소한의 시험물질 농도를 결정한다. 최소 억제 농도 값이 낮을수록 *H. pylori*에 대한 항균능력이 강하다고 할 수 있다. 시험물질을 최고 농도 500 $\mu\text{g/mL}$ 부터 최저 농도 25 $\mu\text{g/mL}$ 까지 brucella agar로 계열희석 한다. *H. pylori*를 10^7 CFU/mL 농도로 접종하고 미호기적 조건에서 3일간 배양한다. 배양액을 취하여 배지에 도말하고 미호기적 조건에서 3일간 배양하여 균의 생육이 관찰되지 않는 시험물질의 가장 낮은 농도를 최소 억제 농도(MIC)로 한다.

② *H. pylori* 균 수

시험물질의 *H. pylori*에 대한 생장억제 효과를 측정하기 위해서 *H. pylori* 액체 배양액에 시험물질 첨가 배지를 넣어 배양한 후, 처음 원액의 균체 수와 배양 후 균체 수를 조사하여 세균

성장 억제 정도를 평가할 수 있다. 처음 원액의 균체 수에서 시험물질과 배양 후 균체 수가 많이 감소할수록 *H. pylori*에 대한 항균 효과가 크다고 할 수 있다. *H. pylori*를 액체배양한 후(OD600=1) 세균배양액 100 μ L을 시험물질이 10 mg/mL 혹은 1 mg/mL의 농도로 첨가된 배지 5mL에 넣은 후 가습된 37℃ 10% CO₂ 배양기에서 50rpm으로 천천히 진탕하면서 6시간 동안 배양한다. 처음 원액의 균체와 6시간 배양 후의 균체 수를 평판배지법으로 조사한다. 시험물질이 첨가되지 않은 대조군과 비교하여 시험물질 첨가에 의한 세균 성장 억제율을 백분율로 표시한다.

③ NADPH oxidase 활성

NADPH 산화효소(NADPH oxidase)는 NADPH를 전자공급체, 산소를 전자수용체로 하는 산화효소로서, 막부착 단백질인 p91phox, p22phox와 세포질 인자인 GTPaseRac1, p67phox, p47phox로 구성되며, 자극에 의해 세포 내 활성산소(reactive oxygen species, ROS)를 생성한다. *H. pylori* 감염 후 중성구, 혈관내피세포, 위 점막세포 등에 의해 활성산소가 생산될 때 NADPH 산화효소가 촉매 역할을 한다. 따라서 NADPH 산화효소 활성 증가를 통해서 *H. pylori* 감염에 의한 활성산소 생성이 증가함을 알 수 있다. Human gastric epithelial AGS cells 에 시험물질을 처리하고, 2시간 후에 *H. pylori*를 처리한다. 그 다음 세포의 세포막과 시토솔(cytosol)을 분리하여 NADPH 산화효소의 활성을 측정한다. NADPH 산화효소 활성은 lucigenin assay를 이용하여 측정한다. 50 mM TrisMes buffer(2mM KCN, 10 μ M lucigenin 함유, pH 7.0)와 기질로서 100 μ M NADPH를 사용한다. 10 μ g 단백질을 함유하는 세포막 부분을 첨가하여 반응을 시작하고, 광자 방출(photon emission)은 microtiterplate luminometer를 이용하여 매 15초 마다 5분간 측정한다.

④ 요소분해효소 활성

*H. pylori*가 가지고 있는 요소분해효소(urease) 활성을 측정함으로써 시험물질의 *H. pylori*에 대한 성장억제 효과를 확인할 수 있다. 요소와 pH 지시약을 처리하여 요소분해효소가 요소를 분해하여 암모니아가 생성되면 pH 상승에 따라 지시약의 색이 노란색에서 빨간색으로 변한다. 색의 변화를 통해서 요소분해효소의 활성 및 *H. pylori*의 성장 정도를 평가할 수 있다. Brucella agar plate 에 배양한 *H. pylori*를 20 mM phosphate buffer(pH 7.2) 로 현탁시키고 2회 세척한다. *H. pylori*를 4℃에서 6분간 sonication 시키고 110 × g에서 10분간 원심분리하여 상등액을 취한다. 상등액의 단백질 농도를 bradford 방법에 따라 측정한다. 1 mL urea R broth에 50 μ L 요소분해효소를 첨가하여 실온에서 2시간 동안 반응시키면서 pH 변화와 560 nm에서의 흡광도 변화를 측정하여 요소분해효소활성을 측정한다. 시험물질 처리에 따른 요소분해효소 활성 억제효과를 측정하기 위해서 10 mL urea R broth에 시험물질을 최종농도가 10 mg/mL 이 되도록 첨가한 후, pH를 7.0으로 보정한다.

그 다음 500 μL 의 요소분해효소를 첨가하여 2시간 동안 반응시키면서 10분 간격으로 pH 변화를 측정한다. 반응 2시간 후 시험물질이 들어가지 않은 대조군의 pH 변화를 100%로 하였을 때, 반응시간과 시험물질에 따른 요소분해효소 활성 억제율을 계산한다.

⑤ ^{13}C -urea breath test(^{13}C -UBT)

동위원소 ^{13}C 나 ^{14}C 로 표지한 요소를 섭취하여 위 내에서 일정 시간 반응시킨 후 호기중의 $^{13}\text{CO}_2$ 나 $^{14}\text{CO}_2$ 의 농도를 측정하여 *H. pylori* 감염 여부를 확인할 수 있다. *H. pylori*가 위 내에 존재한다면 표지된 요소는 *H. pylori*의 요소분해효소에 의해 암모니아와 이산화탄소로 분해되어, $^{13}\text{CO}_2$ 나 $^{14}\text{CO}_2$ 의 형태로 호기 중에 포집된다. 호흡으로 검출된 이산화탄소의 비($^{13}\text{CO}_2 / ^{12}\text{CO}_2$ 또는 $^{14}\text{CO}_2 / ^{12}\text{CO}_2$)를 측정하여 감염여부를 알 수 있다.

⑥ *H. pylori* cagA/vac A 유전자 감별

*H. pylori*의 유전체에는 많은 유전적 다형성이 존재한다. *H. pylori*의 독성인자인 cagA (cytotoxin-associated gene), vacA(vacuolating cytotoxin) 유전자를 증폭하여 cagA, vacA 유전자가 발현되었을 때 *H. pylori* 양성으로 판정한다.

⑦ 가스트린-17

가스트린은 위 전정부의 G 세포에서 분비되는 호르몬으로 위산과 펩시노젠 분비를 자극하는 기능을 한다. *H. pylori* 감염 등에 의한 전정부 위축성 위염이 있을 경우, 전정부 G 세포 수의 감소에 따라 G 세포에서 주로 분비되는 가스트린-17 수준이 감소하므로, 혈청 가스트린-17 감소를 통해 *H. pylori* 감염 여부를 판정할 수도 있다. 가스트린-17양은 혈액에서 측정할 수 있다. 혈액은 aprotinin 튜브(2000 IU Trasylol for 10 mL of blood)에 채취하여, 즉시 얼음 속에 보관한다. Aprotinin 튜브를 1,500 g에서 10분간(4℃) 원심분리하여, 혈청을 얻은 후 분석 시까지 -70℃에서 보관한다. 혈청 가스트린-17양은 EIA test kit를 사용하여 분석한다.

(자) Myeloperoxidase(MPO) 활성

MPO는 실험동물의 위점막에서 측정할 수 있다. 일정량의 점막을 취하여 0.5% hexadecyl-trimethylammonium bromide(HETAB)와 10 mM EDTA가 포함된 10 mM PBS, pH 7.0, 1 mL를 넣고 -70℃로 얼렸다 녹이기를 3번 반복하고 나서 20,000 g, 4℃에서 30분간 원심분리하고 상층액을 얻는다. 상층액에 1.6 mM tetramethyl benzidine을 넣고 37℃에서 5분간 반응시키고, 0.1 또는 0.3 mM H_2O_2 를 첨가하여 37℃에서 3분간 반응시키고 나서 catalase(20 $\mu\text{g}/\text{mL}$)와 0.2 M sodium acetate를 첨가하여 반응을 종결시킨다. Spectrophotometer로 655 nm에서 흡광도를 측정하고 결과해석은 1 unit은 1분 동안에

1 μmol 의 H_2O_2 를 물로 환원시키는 능력으로 정의하고 최종적인 단위는 protein 양으로 나누어 unit/mg protein으로 한다.

(차) 산화질소(nitric oxide, NO)

NO 농도는 시험물질을 처리한 세포나 시험물질을 섭취시킨 실험동물의 혈액이나 조직, 인체의 혈액에서 양에서 Griess reaction 법, ELISA 법에 의한 상용화된 kit, chemiluminescent technique, spectrometry-based method 등으로 측정할 수 있다. Griess reaction 법은 시료 중에 존재하는 NO^2 의 형태를 griess reagent를 이용하여 측정한다. 시료를 96 well plate에 넣고 griess reagent(1% sulfanilamide in 5% phosphoric acid, 1% α -naphthylamide in H_2O)와 혼합하여 실온에서 방치한 후 microplate reader를 이용하여 흡광도를 측정한다.

(카) Inducible nitric oxide synthase(iNOS)

iNOS는 시험물질을 처리한 세포나 시험물질을 섭취시킨 실험동물의 혈액이나 조직에서 단백질 발현과 유전자 발현을 측정할 수 있다. 전기영동법을 통한 단백질발현을 측정하기 위해 시료를 균질화한 후 상층액을 얻어 단백질을 정량한다. 일정량의 단백질을 sodium dodecyl sulfatepolyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE)로 분리한 후, membranes에 이동시킨다. Membranes은 skim milk나 BSA(bovine serum albumin)로 blocking 과정을 거친 후, iNOS 1차 항체를 첨가하여 반응시킨다. 그 후 2차 항체를 첨가하여 반응시킨 다음 ECL 용액으로 반응시켜 X-ray film에 노출시킨 다음 각각의 band를 정량화한다. RT-PCR 방법으로 mRNA 발현수준을 측정할 수 있다. 시험물질을 처리한 세포나 시험물질을 섭취시킨 실험동물의 조직에서 유전자 발현을 측정할 수 있다. 시료에 Trizol을 넣어 균질기로 분쇄하여 chloroform을 첨가한 후 혼합하여 방치 후, 원심분리한다. 원심분리 상층액을 회수하여 2-propanol을 혼합하여 방치한다. 이를 다시 원심분리한 후 80% 에탄올로 세척하여 건조시킨다. 추출한 RNA는 DEPC 물에 녹여 first strand cDNA로 합성한다. 합성된 cDNA에 iNOS의 primer를 반응시켜 타겟 유전자를 증폭시킨 후, 유전자 발현량을 분석한다.

(타) Nuclear factor- κ B(NF- κ B)

NF- κ B는 시험물질을 처리한 세포나 시험물질을 섭취시킨 실험동물의 혈액이나 조직에서 단백질 발현과 유전자 발현을 측정할 수 있다. 단백질 발현은 전기영동법으로, 유전자 발현은 RT-PCR 방법으로 mRNA 발현수준을 측정할 수 있다. 전기영동법을 통한 단백질발현을 측정하기 위해 시료를 균질화한 후 상층액을 얻어 단백질을 정량한다. 일정량의 단백질을 SDS-PAGE로 분리한 후, membranes에 이동시킨다. Membranes은 skim milk나 BSA로 blocking 과정을 거친 후, NF- κ B 1차 항체를 첨가하여 반응시킨다. 그 후 2차 항체를 첨가하여 반응시킨 다음 ECL 용액으로 반응시켜 X-ray film에 노출시킨 다음 각각의 band를

정량화한다. RT-PCR 방법으로 mRNA 발현을 측정하기 위해 시료에 Trizol을 넣어 균질기로 분쇄하여 chloroform을 첨가한 후 혼합하여 방치 후, 원심분리한다. 원심분리 상층액을 회수하여 2-propanol을 혼합하여 방치한다. 이를 다시 원심분리한 후 80% 에탄올로 세척하여 건조시킨다. 추출한 RNA는 DEPC 물에 녹여 first strand cDNA로 합성한다. 합성된 cDNA에 NF- κ B의 primer를 반응시켜 타겟 유전자를 증폭시킨 후, 유전자 발현량을 분석한다.

(3) 사이토카인

시험물질을 처리한 세포나 시험물질을 섭취시킨 실험동물의 혈액이나 조직, 인체의 혈액에서 사이토카인의 양, 단백질 발현과 유전자 발현을 측정할 수 있다. 사이토카인의 양은 ELISA 법에 의해, 단백질 발현은 전기영동법, 유전자발현은 RT-PCR 방법으로 mRNA 발현 수준을 측정할 수 있다. 사이토카인양은 사용화 된 ELISA kit를 사용하여 측정할 수 있다. 전기영동법을 통한 단백질 발현을 측정하기 위해 시료를 균질화 한 후 상층액을 얻어 단백질을 정량한다. 일정량의 단백질을 SDS-PAGE로 분리한 후, membranes에 이동시킨다. Membranes은 skim milk나 BSA로 blocking 과정을 거친 후, 개별 사이토카인 1차 항체를 첨가하여 반응시킨다. 그 후 2차 항체를 첨가하여 반응시킨 다음 ECL 용액으로 반응시켜 X-ray film에 노출시킨 다음 각각의 band를 정량화한다.

RT-PCR 방법으로 mRNA 발현을 측정하기 위해 시료에 Trizol을 넣어 균질기로 분쇄하여 chloroform을 첨가한 후 혼합하여 방치 후, 원심분리한다. 원심분리 상층액을 회수하여 2-propanol을 혼합하여 방치한다. 이를 다시 원심분리한 후 80% 에탄올로 세척하여 건조시킨다. 추출한 RNA는 DEPC 물에 녹여 first strand cDNA로 합성한다. 합성된 cDNA에 개별 사이토카인의 primer를 반응시켜 타겟 유전자를 증폭시킨 후, 유전자 발현량을 분석한다.

다. 임상적 증상

(1) Functional Dyspepsia-Related Quality of Life(FD-QoL) Questionnaire 24

FD-QoL은 섭식에 대한 질문, 생활 활력에 관한 질문, 정서에 관한 질문, 사회적 기능에 관한 질문 총 4영역, 21개 문항으로 구성된 설문지로서, 소화불량과 관련된 삶의 질의 평가에 활용되고 있다. 각 문항에 대하여 '전혀 그렇지 않다 0점', '조금 그렇다 1점', '중간 정도 그렇다 2점', '많이 그렇다 3점', '매우 많이 그렇다 4점'의 5점 Likert scale로 구성된다.

(2) Gastrointestinal Symptom Rating Scale(GSRS)

GSRS(위장관 증상 등급 산정 척도)는 소화성 궤양환자와 과민성증후군의 위장관 증상에 대한 등급을 측정하는 도구이다. 1. 복통(abdominal pain), 2. 속쓰림(heartburn), 3. 산역류(acid regurgitation), 4. 심하부의 찢는 느낌(sucking sensations in the epigastrium), 5. 오심과 구토(nausea and vomiting), 6. 복명(borborygmus), 7. 복창(abdominal distension), 8. 트림(eructation), 9. 증가된 방귀(increased flatus), 10. 감소된 대변통과(decreased passage of stools), 11. 증가된 대변통과(increased passage of stools), 12. 무른 변(loose stools), 13. 경변(hard stools), 14. 배변긴급(urgent need for defecation), 15. 불완전배출(feeling of incomplete evacuation)등 15가지 항목에 대해서 7등급의 점수를 부여한다.

(3) Patient's global assessment(PGA)

PGA는 “시험물질 섭취를 통해서 증상 개선이 있었습니까?”와 라는 첫 번째 질문과 “5점 척도(증상 없음, 뚜렷한 개선, 중간 정도 개선, 변화 없음, 악화) 중 증상 개선이 정확하게 어느 쪽에 더 가깝습니까?”라는 2개의 질문으로 구성되어 있어 증상이 전체적인 개선을 평가한다.

(4) Gastrointestinal Symptom(GIS) Questionnaire

GIS는 상복부통증, 경련성 복통, 포만감, 조기 만복감, 식욕 부진, 권태감, 메스꺼움, 구토, 흉골후방 불편감, 위산역류/속쓰림등 10개의 증상에 대해서 5점 척도(증상없음 0, 가벼운 정도 1, 중간정도 2, 심한정도 3, 매우 심함 4)로 구성되어 있다. 점수가 증가할수록 소화불량 증상이 심함을 나타낸다.

(5) Hong Kong index of dyspepsia(HKID)

HKID는 일반적인 위통, 상복부 팽만, 상복부 둔통, 식전 위통, 불안시의 위통, 구토, 메스꺼움, 트림, 위산역류, 속쓰림, 위산 과다, 식욕 부진등 12개의 소화불량 증상에 대해서 5점 척도(증상없음 0, 경미한 정도 1, 중간 정도 2, 심한 정도 3, 매우 심한 정도 4)로 구성된다.

(6) Nepean Dyspepsia Index-Korean version(NDI-K)

NDI-K는 기능성 소화불량증상과 삶의 질을 측정하는 설문지이다. NDI-K의 증상 점수표는 상복부 통증, 상복부 불쾌감, 상복부 쓰림, 가슴 쓰림, 상복부 경련, 가슴 통증, 조기 만복감, 위산 역류, 식후 포만감, 상복부 압박감, 상복부 팽만감, 구역, 트림, 구토 및 숨쉬기가 좋지

앓음의 15가지 증상을 빈도, 강도 및 괴로운 정도로 나눈 것이다. 빈도는 지난 2주간 증상이 며칠 동안 있었는지 5단계로 평가한다(0:전혀 없었다, 1:1~4일, 2:5~8일, 3:9~12일, 4:매일 또는 거의 매일 있었다). 증상의 강도는 6단계로(0:전혀 없었다, 1:매우 약했다, 2:약하게 나타났다, 3:조금 심했다, 4:심했다, 5:매우 심했다), 괴로운 정도는 5단계로 평가한다. 증상의 빈도, 강도, 괴로운 정도의 총 점수로 증상의 심한 정도를 평가한다. 삶의 질은 긴장/수면 9문항, 일상생활의 방해 6문항, 먹고 마심 3문항, 인식/조절 4문항, 일/공부 3문항 총 25문항으로 구성된다. 각 문항은 5점 척도로 평가한다.

(7) 삶의 질 개선(SF-36)

SF-36은 기능적 상태, 안녕 상태, 전반적 건강 상태의 3개 영역의 36개 문항으로 구성되어 있으며, Likert 척도를 사용하여 점수가 높을수록 삶의 질이 높다고 판정한다.

(8) Patient Assessment of Upper Gastrointestinal-Symptom Severity Index (PAGI-SYM)

PAGI-SYM은 총 20문항에 대해 5점 척도로 평가한다. 6개의 증상(속쓰림/만복감/조기만복감, 메스꺼움/구토, bloating, 상복부 통증과 하복부 통증)으로 나뉜 20개의 증상으로 구성되어 있다. 각 문항은 0점(없음)에서 5점(매우 심함)으로 증상의 심각성을 측정한다.

(9) Visual Analogue Scale(VAS)

VAS는 고통을 연속적인 도구로 측정하는 것이다. 일반적으로 10 cm 길이의 수직선을 제시하고 환자는 현재 자신이 느끼는 고통의 정도를 표에 표시한다. VAS는 왼쪽으로부터 환자가 표시한 점 까지 mm로 측정한다. 측정 도구의 예는 그림 7과 같다.

질문: 오늘 당신이 느끼시는 통증은 어느정도 심각합니까?

아래의 선에 통증의 정도를 측정해 주세요

통증 없음 | _____ | 매우 심각한 통증이 있음

그림 7. VAS 측정 도구

3. 시험 설계 시 고려사항

가. 시험관 시험

(1) 시험계

AGS cell(human gastric epithelial cell), MK45(human gastric cancer cell), NCIH292(epithelial cells), L929(murine fibrosacroma) 등과 같은 세포 주를 사용하여 시험물질의 효능을 평가한다.

(2) 바이오마커

시험물질의 작용 기전을 설명하기 위하여 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) 실험동물

건강한 동물이나 물리적, 화학적 방법에 의해 소화불량이나 위 점막에 손상을 유발시킨 동물모델을 이용하여, 시험물질을 투여한 후 소화기능과 위 점막과 관련된 바이오마커를 측정한다. 관찰하고자 하는 목적에 따라 다양한 모델을 사용하며, 한가지 모델이 아니라 기전에 맞는 여러 가지 모델을 함께 실험할 수 있다. 기능성 소화불량실험에 사용되는 동물모델의 예는 표 4와 같고 위 점막 손상 실험에 사용되는 동물모델의 예는 표 5와 같다.

표 4. 기능성 소화불량과 관련된 실험을 위한 동물모델

구분	내용
약물투여에 의한 모델 (drug administration model)	Clonidine, atropine, dopamine, apomorphine, 5-hydroxytryptamine, 5-HT ₃ receptor agonist, corticotropin releasing factor, cisplatin, soybean oil 등의 약물을 투여하여 각각의 기전에 따라 소화불량을 유발시킴
신생아기 중재 모델 (neonatal intervention model)	신생아기에 neonatal gastric irritation, neonatal colon inflammation, neonatal maternal separation 등을 통하여 성장후 소화불량을 유발시킴
스트레스 자극 모델 (stress stimulation model)	Water-immersion restraint stress, tail clamping, chronic mild unpredictable stimulation과 같은 스트레스를 주어 소화불량을 유발시킴
기타 중재 모델 (other intervention model)	Gastric distention, laparotomy, duodenal acidification, chronic 고지방식이 섭취 등 다양한 중재방법으로 소화불량을 유발시킴
복합적 유도 모델 (multiple feature model)	두 가지 이상방법을 복합적으로 사용하여 소화불량모델을 유발시킬 수 있음 예) 신생아기 neonatal maternal separation 후 성장 후에 water-immersion restraint stress를 주면 각각의 방법을 사용할 때 보다 위배출지연이 더 심하게 나타남
유전적 모델	Flinders sensitive line rat, Wistar Kyoto rat, Biobreeding Diabetes-prone rat 등의 특징적인 종이 있음

표 5. 위 점막 손상과 관련된 실험을 위한 동물모델

구분	내용
Water-immersion restraint stress model	머리를 제외한 몸전체를 물에 담가 몇 시간을 두면 스트레스로 인해 위운동이 감소함
초산 유도 모델 (acetic acid induced gastric ulcer model)	인체의 만성궤양과 유사한 모델임. 실험동물의 체중에 따라 주입하는 초산의 양이 다르고, 궤양유발에 대한 개체차이가 커서 주의를 해야 함
알코올 유도 모델 (acidified ethanol induced gastric ulcer model)	이 방법은 간편하고 오차가 적음.
NSAID 유도 모델	NSAID(예, indomethacin)를 투여하여 위궤양을 유발시킴. 알코올 유도 모델에 비해 위궤양 면적이 적게 발생함

(2) 바이오마커

시험물질의 작용 기전을 설명하기 위해 바이오마커의 양, 활성, 단백질 발현, mRNA 발현 등을 측정한다. 한 가지 지표의 변화 보다는 기전에 따른 일련의 바이오마커의 변화를 종합적으로 평가한다.

(3) 통계처리

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

다. 인체적용시험

(1) 시험대상

인체적용시험의 대상자의 선정/제외기준은 원료의 특징과 작용 기전에 따라 인체적용시험 IRB 승인 시 구체적으로 결정할 수 있다. 본 평가 가이드는 인체적용시험의 선정/제외기준을 설정 시 고려되어야 할 사항을 예시로 제공하고 있다.

(가) 시험대상자(예시)

① 소화기능 개선

- 최소 6개월 동안 Rome IV로 분류된 소화불량 증상(불쾌한 식후 포만감, 조기 포만감, 상복부 통증, 상복부 쓰라림) 중 1개 이상을 3개월 이상 갖고 있는 자 (이런 증상을 설명할 기질적 질환의 증거(위내시경을 포함한 검사에서)가 없음)로 조속한 약물치료를 요하지 않는 자
- NDI-K의 주요 증상 8개 평가항목 중 중등도 이상의 증상을 최소 2개 이상이며 총점의 합이 6점 이상인 자

② 위점막 개선

- 상복부에 통증이 있는 자
- 위 내시경 검사 결과 손상이 있으나 약물 치료를 요하지 않는 대상자

(나) 대상자 제외기준(예시)

- 질병상태
 - 현재 위장관 출혈, 장폐색 또는 위장관 천공이 발생된 경우
 - 과거 위산분비 억제 수술을 받은자
 - 맹장 수술을 제외한 위장관 수술 이력이 있는 자
 - 무증상 담석증을 제외한 담도질환

- 대장암, 위암, 염증성 장 질환과 같은 장 질환의 이력이 있는 자
- 염증성 전신질환자
- 심혈관질환/부정맥/심부전/심근경색/심장조율기 사용이력이 있는 자
- 고혈압 질환자
- 약물치료중이거나 조절되지 않는 당뇨병자
- 간 질환자
- 신장 질환자
- 폐, 호흡기질환자
- 근골격 질환자
- 신경·정신장애(우울증, 조현병)를 가진 자
- 암환자
- 생리적 상태
 - 임신부, 임신을 준비하는 자
 - 수유부
 - 올바른 피임방법을 사용하지 않는 여성
 - 출산 후 6개월 이내 여성
- 약물복용
 - 약물중독
 - 위염치료 목적을 약물을 섭취하는 자
 - 시험물질의 효과 평가에 영향을 줄수 있는 약물(위장관운동 촉진제, 산 분비억제제, 프로톤펌프 억제제, 비스테로이드성 소염제, 항콜린제, 에리스로마이신, 부신피질호르몬제, 항우울제등)을 복용하고 있는 자
- 생활 습관
 - 알코올 섭취
(남자: <30 g/일 (맥주 3잔, 소주 3잔 정도, 여자: <20 g/일 (맥주 2잔, 소주 2잔 정도)
- 알레르기
 - 시험물질에 대한 알레르기/부작용이 있는 자
- 기타
 - 소화기계 증상에 영향을 미칠 수 식품 및 기능성 식품의 섭취 중단을 거부한 자
(프로바이오틱스, 프리바이오틱스, 젯산이나 비피도박테리아를 포함한 식품 등)
 - 최근 3개월 내 다른 임상시험에 참가한 자
 - 그 외 연구자에 의해 실험에 부적합하다고 판단되는 자

(2) 시험설계

무작위배정, 위약대조연구(Randomized, controlled trial; RCT)를 기본으로 한다.

(3) 바이오마커

시험물질의 작용기전을 설명하기 위해 바이오마커의 양, 활성, 단백질 발현, mRNA 발현 등을 측정한다. 바이오마커는 기전별로 다양한 지표들이 포함되어 있기 때문에 연구 목적에 부합하는 기전을 선정하고, 한 가지 지표의 변화가 아닌 일련의 바이오마커의 변화를 종합적으로 평가한다.(Ⅲ. 기능성 시험방법 1. 가. 연구유형별 바이오마커 참고)

(4) 통계처리

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

IV

참고문헌

1. 건강기능식품 기능성 원료 및 기준·규격 인정에 관한 규정, 식품의약품안전처 고시
2. 건강기능식품(개정판), 김미경, 권오란, 전향숙, 원혜숙, 김지연, 강병철, 제정환, 한재갑, 홍성화, 복혜숙, 김우선, 피재호, 박현용, 김현정, 교문사, 2010
3. 건강기능식품 기능성평가 해설서, 식품의약품안전처, 2008
4. 건강기능식품 시험법 가이드(I), 식품의약품안전처, 2005
5. 강창돈, 김광희, 이홍식, 김창덕, 이정환, 허병원, 진유태, 전훈재, 송치욱, 엄순호, 이상우, 최재현, 류호상, 현진해. 췌장 질환에서 혈청 및 대변 pancreatic elastase-1 측정의 임상적 의의. 대한내과학회지 58(4):392-401, 2000
6. 김성은, 김나영, 박선미, 김원희, 백광호, 조윤주, 박경식, 이주엽, 심기남, 김광하, 이봉은, 홍수진, 박선영, 최석채, 오정환, 김현진. 기능성 소화불량증 환자에서 헬리코박터 파일로리 제균 치료 효과 및 관련 요인: 국내 전향적, 다기관 연구. 대한소화기학회지 72(6):286-294, 2018
7. 김신정, 김용규, 박건영. 염산-에탄올에 의해 유발된 흰쥐 위염에 대한 생강 및 법제생강 추출물의 억제작용. 한국식품영양과학회지 41(11):1528-1533, 2012
8. 김재민, 차명희, 이돈행, 이운규. 동물모델을 이용한 MMSC(DL-Methionine Methylsulfonium Chloride)의 기능성소화불량증 개선효과. 한국식품영양과학회지 42(12):2076-2081, 2013
9. 남다운, 김옥경, 심태진, 이점균, 황권택. 위염 동물모델과 위 벽세포에서 히스타민 경로를 통한 매스틱 검(Chios Mastic Gum)의 위산 분비 억제효과 및 기전 연구. 한국식품영양과학회지 43(10):1500-1509, 2014
10. 노임환, 남승우, 양미라, 명나혜, 김정택, 신지현. Helicobacter pylori 관련성 위장질환 치료를 위한 계란항체(Immunoglobulin Yolk)의 기대 효과. 대한소화기학회지 39:260-268, 2002
11. 모정민, 이선훈, 박미나, 이연숙. 알코올로 유도한 만성위궤양 흰쥐 모델에서 비타민 E 보충이 위궤양 치유에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지 37(3):309-316, 2008
12. 백인기, 조종래, 신원창. 한국인의 정상 대조군 및 위장관 환자군에서 Helicobacter pylori 항체에 대한 연구. 감염 28(1):67-71, 1996
13. 박경식, 이주엽. 복부 초음파검사를 이용한 기능성소화불량 정도 평가 가능성 탐색. 대한소화기학회지 66(2):67-69, 2015
14. 박재호, 김정욱, 박종규, 신철민, 정기욱. 기능성 소화불량증과 연관된 중개연구 현황. 대한소화기학회지 68(3):132-137, 2016
15. 백창렬, 정인식, 남관우, 권정현, 장재혁, 서정필, 박재명, 조유경, 이인석, 김상우, 최명규.

- Helicobacter pylori* 양성, 음성 환자에서 각종 상부위장관 질환과 나이에 따른 펩시노겐 I/II 비. 대한소화기학회지 50:84-91, 2007
16. 신철민. 기능성 위장관질환에 있어서 식이 및 영양요법: 기능성 소화불량. 대한 내과학회지 90(2):98-104, 2016
 17. 오정환, 권중구. 기능성 소화불량증. 대한소화기학회지 73(2):77-83, 2019
 18. 이광재, 박정호, 성인경, 이상무, 정유진, 신해원, 이선희. 위소장 내압검사. 신의료기술평가 보고서 1(50):1-67, 2009
 19. 이바울, 최명숙, 임동술, 최성숙. 소함홍탕 에탄올 추출물 및 황련 알칼로이드의 헬리코박터 파일로리에 대한 항균활성. 생약학회지 45(2):168-173, 2014
 20. 이상권, 정현, 전해명, 김응국. 식이유도 비만 흰쥐에서 루와이 위위술이 체중, 그렐린 및 PYY3-36에 미치는 영향. J Korean Surg Soc 79:155-162, 2010
 21. 이재준, 최현숙, 이정화, 정창주, 이명렬. 지유가 흰쥐의 급성위염 및 소화성 궤양에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지 34(10):1545-1552, 2005
 22. 이정선, 이명현, 손흥수, 맹영선. 메틸급여가 Streptozotocin 유발 당뇨쥐의 췌장 소화효소 활성에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지 25(5):831-838, 1996
 23. 이정준, 김성훈, 장병식, 이증복, 허철성, 김태종, 백영진. 약용식물 추출물의 *Helicobacter pylori*에 대한 항균활성. 한국식품과학회지 31(3):764-770, 1999
 24. 이한희, 정혜경, 최명규. 기능성 소화불량증 치료제의 임상시험 평가 가이드라인 권고안. 대한소화기학회지 72(4):70-178, 2018
 25. 김광진 등. 인체생리학. 234-236, 1990
 26. 임정현, 김희선, 최은주, 심창구, 박효진. 지실 추출물이 기니 픽 위장관 운동에 미치는 영향 : in vitro, in vivo 연구. 대한소화관운동학회지 14:7-17, 2008
 27. 장영선, 정종문. 포도씨 추출물의 항산화 효과 및 소화효소 저해 효과. 한국식품영양과학회지 39(6):783-788, 2010
 28. 정재복, 강진경, 최홍재, 박인서, 정재복, 이상인, 송시영, 정준표, H. Tohno, E.P.DiMagno. 개에서 회장내 단백질 췌효소 및 담즙분비와 위배출 및 소장주행 시간에 미치는 영향. 대한 소화기병학회지 25(6): 1135-1147, 1993
 29. 최상욱, 정진우, 박두호, 김부성, 심여림, 김명석, 박인선, 정진웅 등. 만성위염 환자의 유문부 Gastrin세포의 분포 및 Gastrin 농도. 대한내과학회잡지 36(1):12-18, 1989
 30. 한재필, 홍수진. 헬리코박터 파일로리 감염의 면역. Korean J Helicobacter Up Gastrointest Res 13(4):220-223, 2013
 31. 홍예지 등. 양배추즙 및 양배추 혼합즙의 인체위암세포(AGS) 성장 억제효과와 HCl-Ethanol로 유발된 흰쥐의 항위염 효과. 한국식품영양과학회지 42(5):682-689, 2013

32. 황인경, 지근익. 위장관 관련 기능성 시험. 식약처 기능성 평가 가이드라인. 512-597, 2003
33. 황지영, 한지숙. 조릿대잎 추출물의 탄수화물 소화효소활성 저해 및 식후혈당강화효과. 한국 식품영양과학회지 36(8):989-994, 2007
34. Aksoy A, Duran N, Koksall F. In vitro and in vivo antimicrobial effects of mastic chewing gum against *Streptococcus mutans* and *mutans streptococci*. Archives of Oral Biology 51:476-481, 2006
35. Asha MK, Debraj D, Prashanth D, Edwim JR, Srikanth HS, Muruganantham N, Dethe SM, Anirban B, Jaya B, Deepak M, Agarwal A. In vitro anti-*Helicobacter pylori* activity of a flavonoid rich extract of *Glycyrrhiza glabra* and its probable mechanisms of action. J Ethnopharmacol 145:581-586, 2013
36. Beckoff K, MacIntosh CG, Chapman IM, Wishart JM, Morris HA, Horowitz M, Jones KL. Effects of glucose supplementation on gastric emptying, blood glucose homeostasis, and appetite in the elderly. Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol 280:570-576, 2001
37. Benedek B, Geisz N, Jäger W, Thalhammer T, Kopp B. et al. Choleric effects of yarrow (*Achillea millefolium* s.l.) in the isolated perfused rat liver. Phytomedicine 13:702-706, 2006
38. Bona SG, Bono L, Daghetta L, Marone P. Bactericidal activity of *Pistacia lentiscus* gum mastic against *Helicobacter pylori*. Am J Gastroenterol 96:49, 2001
39. Brownlee I. The impact of dietary fibre intake on the physiology and health of the stomach and upper gastrointestinal tract. Bioactive Carbohydrate and Dietary Fibre 4:155-169, 2014
40. Brzozowski T. Experimental production of peptic ulcer, gastric damage and cancer models and their use in pathophysiological studies and pharmacological treatment—Polish achievements. J Physiol Pharmacol 54(Suppl 3):99-126, 2003
41. Byun E, Lim JW, Kim JM, Kim H, α -Lipoic Acid Inhibits *Helicobacter pylori*-Induced oncogene expression and hyperproliferation by suppressing the activation of NADPH oxidase in gastric epithelial cells. Mediators Inflamm, 2014
42. Cao W, Zhao AG. Prescription rules of Chinese herbal medicines in treatment of gastric cancer. Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao 7:1-8, 2009
43. Carbajal D, Molina V, , Noa M, Valdés S, Arruzazabala ML, Aguilar C, Más R. et al. Effect of D-002 on gastric mucus composition in ethanol-induced ulcer. Pharmacol Res 42:329-332, 2000

44. Carbone F, Vandenberghe A, Holvoet L, Vanuytsel T, Van Oudenhove L, Jones M, Tack J. Validation of the Leuven Postprandial Distress Scale, a questionnaire for symptom assessment in the functional dyspepsia/postprandial distress syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 44: 989-1001, 2016
45. Chen G, Zhu L, Liu Y, Zhou Q, Chen H, Yang J. Isoliquiritigenin, a flavonoid from licorice, plays a dual role in regulating gastrointestinal motility in vitro and in vivo. *Phytother Res* 23:498-506, 2009
46. Claudia CRT, Robayo-Torres CC1, Opekun AR, Quezada-Calvillo R, Villa X, Smith EO, Navarrete M, Baker SS, Nichols BL. ¹³C-breath tests for sucrose digestion in congenital sucrase isomaltase deficient and sacrosidase supplemented patients. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 48(4):412-418, 2009
47. Comelli EM, Lariani S, Zwahlen MC, Fotopoulos G, Holzwarth JA, Cherbut C, Dorta G, Corthésy-Theulaz I, Grigorov M. Biomarkers of human gastrointestinal tract regions *Mamm Genome* 20:516-527, 2009
48. Cummings et al., Antoine JM, Azpiroz F, Bourdet-Sicard R, Brandtzaeg P, Calder PC, Gibson GR, Guarner F, Isolauri E, Pannemans D, Shortt C, Tuijtelars S, Watzl B. PASSCLAIM-Gut health and immunity. *Eur J Nutr [Suppl 2]*, 43 II/118-II/173, 2004
49. Dabos KJ, Sfika E, Vlatia LJ, Frantzi D, Amygdalos GI, Giannikopoulos G. et al. Is Chios mastic gum effective in the treatment of functional dyspepsia? A prospective randomised double-blind placebo controlled trial. *J Ethnopharmacol* 127:205-209, 2010
50. Dabos KJ, Sfika E, Vlatia LJ, Giannikopoulos G. The effect of mastic gum on *Helicobacter pylori*: A randomized pilot study. *Phytomedicine* 17:296-299, 2010
51. Dabos KJ, Sfika E, Vlatia LJ, Frantzi D, Amygdalos GI, Giannikopoulos G. Is Chios mastic gum effective in the treatment of functional dyspepsia? A prospective randomised double-blind placebo controlled trial. *J Ethnopharmacol* 127(2): 205-209, 2010
52. De Cutis M, Santamaria F, Ercolini P, Vittoria L, De Ritis G, Garofalo V, Ciccimarra F. Effect of taurine supplementation on fat and energy absorption in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 67(9):1082-1085, 1992
53. Francesca Valerio, De Bellis P, Lonigro SL, Morelli L, Visconti A, Lavermicocca P. In vitro and In Vivo Survival and Transit Tolerance of Potentially Probiotic.

- Strains Carried by Artichokes in the Gastrointestinal Tract. *Applied and Environmental Microbiology* 72(4):3042-3045, 2006
54. Gewirtz AT, Yu, Y1, Krishna US, Israel DA, Lyons SL, Peek RM Jr. *Helicobacter pylori* Flagellin Evades Toll-Like Receptor 5-Mediated Innate Immunity. *J Infect Dis* 189(10):1914-1920, 2004
 55. Hu ML, Rayner CK, Wu KL, Chuah SK, Tai WC, Chou YP, Chiu YC, Chiu KW, Hu TH. Effect of ginger on gastric motility and symptoms of functional dyspepsia. *World J Gastroenterol* 17(1):105-110, 2011
 56. Illnait J, Terry H, Más R, Fernández L, Carbajal D. Effects of D-002, a product isolated from beeswax, on gastric symptoms of patients with osteoarthritis treated with piroxicam: a pilot study. *J Med Food* 8:63-68, 2005
 57. Illnait J, Rodríguez I, Mendoza S, Fernández Y, Mas R, Miranda M, Piñera J, Fernández JC, Mesa M, Fernández L, Carbajal D, Gámez R. Effects of D-002, a mixture of high molecular weight beeswax alcohols, on patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Korean J Intern Med* 28:439-448, 2013
 58. Isomoto H, Mukae H, Ishimoto H, Nishi Y, Wen CY, Wada A, Ohnita K, Hirayama T, Nakazato M, Kohno S. High concentrations of human beta-defensin 2 in gastric juice of patients with *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol* 11(31):4782-4787, 2005
 59. Jump DB, Botolin D, Wang Y, Xu J, Demeure O, Christian B. Docosahexaenoic acid (DHA) and hepatic gene transcription. *Chem Phys Lipids* 153:3-13, 2008
 60. Juvonen KR, Purhonen AK, Salmenkallio-Marttila M, Lähteenmäki L, Laaksonen DE, Herzig KH, Uusitupa MI, Poutanen KS, Karhunen LJ. Viscosity of oat bran-enriched beverages influences gastrointestinal hormonal responses in healthy humans. *J Nutr* 139:461-466, 2009
 61. Khayyal MT, Seif-El-Nasr M, El-Ghazaly MA, Okpanyi SN, Kelber O, Weiser D. Mechanisms involved in the gastro-protective effect of STW 5 (Iberogast) and its components against ulcers and rebound acidity. *Phytomedicine* 13 Suppl. 5:56-66, 2006
 62. Kulich KR, Madisch A, Pacini F, Piqué JM, Regula J, Van Rensburg CJ, Ujszászy L, Carlsson J, Halling K, Wiklund IK. Reliability and validity of the Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS) and Quality of Life in Reflux and Dyspepsia (QOLRAD) questionnaire in dyspepsia: a six-country study. *Health Qual Life*

- Outcomes 31:6:12, 2008
63. Lanigan RS, Yamarik TA. Final report on the safety assessment of PEG-6, -8, and -20 sorbitan beeswax. *Int J Toxicol* 20 Suppl 4:27-38, 2001
 64. Marakis G, Walker AF, Middleton RW, Booth JC, Wright J, Pike DJ. Artichoke leaf extract reduces mild dyspepsia in an open study. *Phytomedicine* 9:694-699, 2002
 65. McGuire M, Beerman K. *Nutritional Science*, 2018
 66. Molina V, Carbajal D, Arruzazabala L, Más R. Therapeutic effect of D-002 (abexol) on gastric ulcer induced experimentally in rats. *J Med Food* 8:59-62, 2005
 67. Morgan LM, Tredger JA, Wright J, Marks V. The effect of soluble- and insoluble-fibre supplementation on post-prandial glucose tolerance, insulin and gastric inhibitory polypeptide secretion in healthy subjects. *Br J Nutr* 64:103-110, 1990
 68. Oozeer R, Rescigno M, Ross RP, Knol J, Blaut M, Khlebnikov A, Doré J. Gut health: predictive biomarkers for preventive medicine and development of functional foods. *Br J Nutr* 103(10):1539-1544, 2010
 69. Overduin J, Guérin-Deremaux L, Wils D, Lambers TT. NUTRALYS® pea protein: characterization of in vitro gastric digestion and in vivo gastrointestinal peptide responses relevant to satiety. *Food Nutr Res* 59:25622, 2015
 70. Park JW, Ko SJ, Han G, Yeo I, Ryu B, Kim J. The effects of Banha-sasim-tang on dyspeptic symptoms and gastric motility in cases of functional dyspepsia: a randomized, double-blind, placebo-controlled, and two-center trial. *Evid Based Complement Alternat Med* 1-10, 2013
 71. Park JW, Ryu B, Yeo I, Jerng UM, Han G, Oh S, Lee J, Kim J. Banha-sasim-tang as an herbal formula for the treatment of functional dyspepsia: a randomized, double-blind, placebo-controlled, two-center trial. *Trials* 11:83, 2010
 72. Pérez Y, Oyárzabal A, Mas R, Molina V, Jiménez S. Protective effect of D-002, a mixture of beeswax alcohols, against indomethacin-induced gastric ulcers and mechanism of action. *J Nat Med* 47:182-189, 2013
 73. Pérez Y, Oyárzabal A, Mas R, Molina V, Jiménez S. Protective effect of D-002, a mixture of beeswax alcohols, against indomethacin-induced gastric ulcers and mechanism of action. *J Nat Med* 67:182-189, 2013
 74. Saénz Rodríguez T, García Giménez D, de la Puerta Vázquez R. Choleretic activity and biliary elimination of lipids and bile acids induced by an artichoke leaf extract

- in rats. *Phytomedicine* 9:687-693, 2002
75. Schemann M, Michel K, Zeller F, Hohenester B, Rühl A. Region-specific effects of STW 5 (Iberogast) and its components in gastric fundus, corpus and antrum. *Phytomedicine* 13 Suppl 5:90-99, 2006
 76. Tohru F, Ayako K, Toshiaki I, Kazuo I, Etsuro S. An extract of gymnema sylvestre leaves and purified gymnemic acid inhibits glucose-stimulated gastric inhibitory peptide secretion in rats. *J Nutr* 122(12):2367-2373, 1992
 77. Urita Y, Hike K, Torii N, Kikuchi Y, Kanda E, Kurakata H, Sasajima M, Miki K. Breath sample collection through the nostril reduces false-positive results of ¹³C-urea breath test for the diagnosis of helicobacter pylori infection. *Dig Liver Dis* 36:661-665, 2004
 78. Vesterhus M, Raeder H, Kurpad AJ, Kawamori D, Molven A, Kulkarni RN, Kahn CR, Njølstad PR. Pancreatic function in carboxyl-ester lipase knockout mice. *Pancreatology* 10:467-476, 2010
 79. Wada A, Ogushi K, Kimura T, Hojo H, Mori N, Suzuki S, Kumatori A, Se M, Nakahara Y. Helicobacter pylori-mediated transcriptional regulation of the human beta-defensin 2 gene requires NF-κB. *Cell Microbiol* 3(2):115-123, 2001
 80. Walkowiak J, Wadolowska L, Szaflarska-Poplawska A, Lisowska A, Bugajewska A, Przyslawski J. The elimination of meat from the diet selectively decreases pancreatic elastase secretion. *Br J Nutr* 98:154-158, 2007
 81. Weijnen CF, Hendriks HA, Hoes AW, Verweij WM, Verheij TJ, de Wit NJ. New immunoassay for the detection of Helicobacter pylori infection compared with urease test, ¹³C breath test and histology: validation in the primary care setting. *J Microbiol Methods* 46:235-240, 2001
 82. Wewers ME, Lowe NK. A critical review of visual analogue scales in the measurement of clinical phenomena. *Res Nurs Health* 13:227-236, 1990
 83. Wittschier N, Faller G, Hensel A. Aqueous extracts and polysaccharides from liquorice roots (Glycyrrhiza glabra L.) inhibit adhesion of Helicobacter pylori to human gastric mucosa. *J Ethnopharmacol* 125:218-223, 2009
 84. Zamora Z, Molina V, Mas R, Ravelo Y, Perez Y, Oyarzabal A. Protective effects of D-002 on experimentally induced gastroesophageal reflux in rats. *World J Gastroenterol* 20:2085-2090, 2014

건강기능식품 기능성 평가 가이드(민원인 안내서)

- 위 건강 관련 -

발 행 인 : 이동희

편 집 위 원 장 : 황인균

편 집 위 원 : 이혜영, 김종수, 윤태형, 권광일, 국주희, 김규현,
김준영, 주도영, 오재명, 방수진, 류은채, 안정선,
조정화, 김선후, 문상은, 김아름

발 행 처 : 식품의약품안전평가원

발 행 일 : 2020년 9월

문 의 처 : 식품위해평가부 영양기능연구과

(043-719-4402, 4416, 4421, 4422, 4423,
4425, 4426, 4430)

건강기능식품 기능성 평가 가이드 (민원인 안내서)

위 건강 관련



【부패. 공익신고】 신고자 및 신고내용은 보호됩니다.

- ▶ 식약처 홈페이지 “국민소통 > 국민신문고 > 부패.공익신고” 코너
- ▶ 식약처 홈페이지 “국민소통 > 신고센터 > 부패.공익신고 상담” 코너