

발 간 등 록 번 호

안내서-0122-02

국민의 더 건강한
내일을 위한 정부혁신

보다나은 **식약처**

건강기능식품 기능성 평가 가이드

‘체지방 감소에 도움을 줄 수 있음’ 편

2019. 6.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

지침서 · 안내서 제 · 개정 점검표

명칭

건강기능식품 기능성 평가 가이드
(‘체지방 감소에 도움을 줄 수 있음’편)

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. 2019년 6 월 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 2019년 6월 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 영양기능연구팀으로 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-4416, 4421, 4423, 4428, 4430

팩스번호: 043-719-4420

제·개정 이력

연번	제·개정번호	승인일자	주요내용
1	B1-2012-1-001	2012.3.	제정
2	안내서-0122-01	2017.6.1.	「식약처 지침서등의 관리에 관한 규정」에 따른 등록번호 일괄 정비 (규제개혁담당관실-3761호, 2017.5.16.)
3	안내서-0122-02	2019.6.	개정 (기능성 시험방법 등 업데이트)

CONTENTS

※ 건강기능식품의 기능성 개요	1
※ 약어	3
 Ⅰ 서 론	5
 Ⅱ 일반적 사항	5
1. 개요	5
2. 보건학적 중요성	12
 Ⅲ 기능성 시험 방법	14
1. 바이오마커의 선정	14
2. 주요 바이오마커의 측정 방법	25
3. 시험 설계 시 고려사항	37
 Ⅳ 참고문헌	41

건강기능식품의 기능성 개요

□ 기능성 정의

건강기능식품법률 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

AC	adenylate cyclase
ACC	acetyl CoA carboxylase
ACAD	acyl-CoA dehydrogenase(s)
ACL	acyl CoA synthetase
ACT	acetaldehyde
ACO	acyl-CoA oxidase
ACON	acetone
ADD1	adipocyte determination and differentiation dependent factor
Akt	protein kinase B
AMPK	AMP-activated protein kinase
BIA	bioelectric impedance analysis
BMI	body mass index
BMR	basal metabolic rate
C/EBPs	CCAAT enhancer-binding proteins
CPT	carnitine palmitoyl transferase
CT	computer tomography
DEXA	dual-energy X-ray absorptiometry
DGAT	diacylglycerol acyltransferase
FA	formalaldehyde
FABPs	fatty acid binding proteins
FAS	fatty acid synthase
G6PD	glucose-6-phosphate dehydrogenase
HSL	hormone sensitive lipase
IRS	insulin receptor substrate
LBM	lean body mass
LPL	lipoprotein lipase
MDA	malondialdehyde
ME	malic enzyme
MG	monoacylglycerol
NAD	nicotinamide adenine dinucleotide
NADP	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (reduced form)
NPY	neuropeptide Y

PI3K	phosphoinositide 3 kinase
PGC-1 α	PPAR γ coactivator 1 alpha
PGE2	prostaglandin E2
PPARs	peroxisome proliferator-activated receptors
RMR	resting metabolic rate
RQ	respiratory quotient
SCD1	stearoyl-CoA desaturase-1
SREBPs	sterol regulatory element binding proteins
TEE	total energy expenditure
TEF	thermic effect of food
TG	triglyceride
UCP	uncoupling protein
VLDL	very low density lipoprotein
WHR	waist to hip ratio

I

서론

이 가이드는 건강기능식품 기능성원료를 개발하는 연구자 및 영업자에게 식품의약품안전처의 기능성(체지방 감소에 도움) 평가 원칙 및 기준 등을 알림으로써 산업체의 기능성원료 연구 개발에 적정을 기하고 효율성을 높이고자 작성되었다.

II

일반적 사항

1. 개요

가. 체지방의 정의 및 대사

(1) 체지방이란?

우리의 몸은 수분, 지방, 단백질과 소량의 당질로 구성되어 있다. 체내에 존재하는 지방, 즉 체지방(body fat)은 식품을 통해 섭취되거나 간과 같은 체내 조직에서 합성된다. 지방은 신체의 주요한 구성성분이며, 체내에 에너지를 공급하고 체내 중요 물질의 전구체로 작용하는 등 체내에서 필수적인 기능을 하는 중요한 물질이다. 그러나 체지방이 필요 이상으로 체내에 축적되면 비만이 되고, 당뇨병, 심혈관계 질환과 같은 질병 발생을 높이는 위험인자로 작용할 수 있다고 알려져 있다. 체지방은 크게 피하지방(subcutaneous fat)과 내장지방(visceral fat)으로 구분할 수 있다. 피하지방은 피하조직에 저장되어 있는 지방을 말하며 내장지방은 복강 안쪽의 내장 사이에 저장되어 있는 지방을 말한다. 또한 복부지방(abdominal fat)은 복부의 내장지방과 피하지방을 총칭하는 것이다.

(2) 식이지방의 소화와 흡수

지방의 소화·흡수는 주로 소장에서 이루어진다. 식품에 함유된 지방은 대부분 중성지방(triglyceride)이며 인지질과 스테롤이 혼합되어 있다. 지방은 물에 녹지 않기 때문에 소화기관에서 소화되려면 유화과정을 거쳐야 하며, 지방의 소화·흡수 과정은 다음 그림 1과 같다.

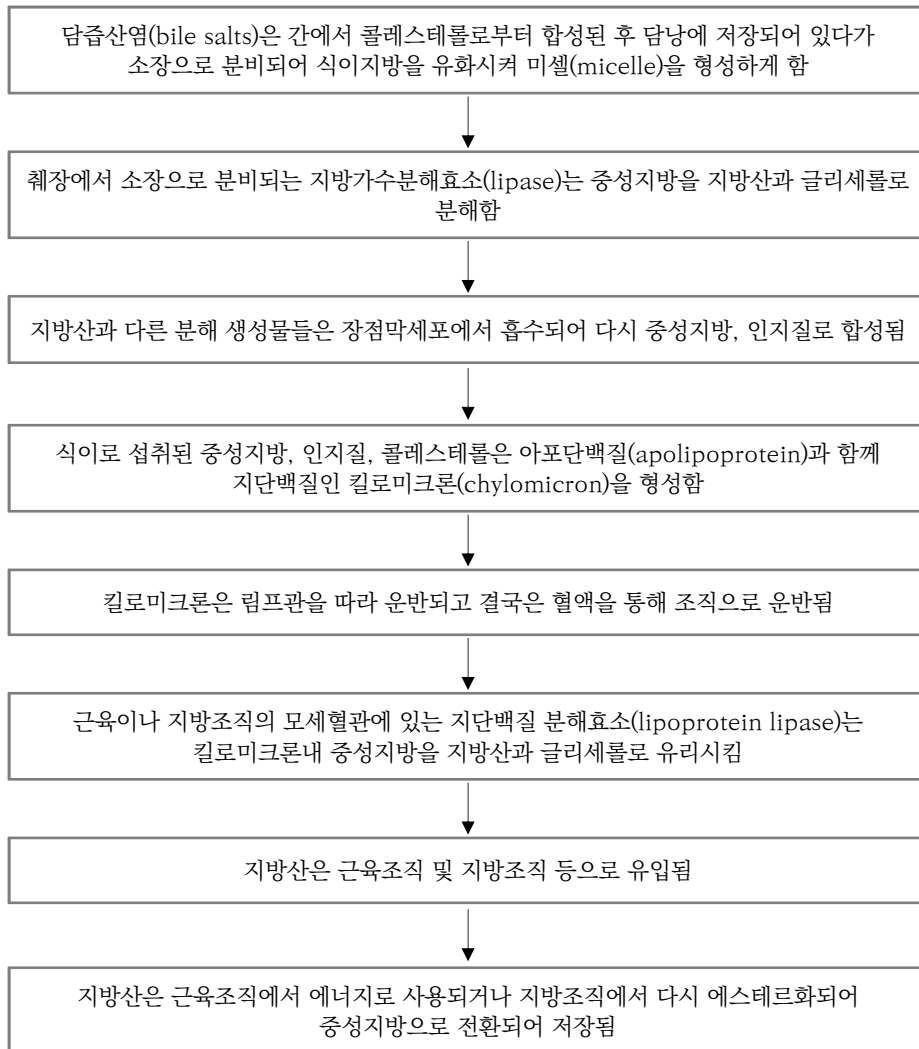


그림 1. 지방의 소화·흡수 과정

(3) 체지방 합성

체내 에너지가 충분한 경우에는 체내에서 중성지방이 합성되어 지방조직에 축적된다. 체내 중성지방 합성은 지방산 합성 과정과 중성지방 합성 과정을 거쳐 일어난다. 지방산 합성은 주로 간의 세포질에서 아세틸 CoA(acetyl CoA)로부터 일어난다. 미토콘드리아에서 생성된 아세틸 CoA는 지방산 합성이 일어나는 세포질로 이동하지 못하기 때문에 옥살로아세트산(oxaloacetate)과 결합하여 구연산염(citrate)을 형성하여 구연산염형태로 세포질로 이동한다. 세포질에서 구연산염은 옥살로아세트산과 아세틸 CoA로 분해된다.

아세틸 CoA는 아세틸 CoA 카복실라아제(acetyl CoA carboxylase, ACC)의 작용에 의하여 말로닐 CoA(malonyl CoA)로 전환되고, 지방산합성효소복합체(fatty acid synthase complex) 작용에 의해 지방산을 합성한다. 식이로부터 섭취한 지방산이나 세포내에서 생성된 지방산은 fatty acyl CoA를 형성한 후 글리세롤과 결합하여 중성지방을 합성한다(그림 2).

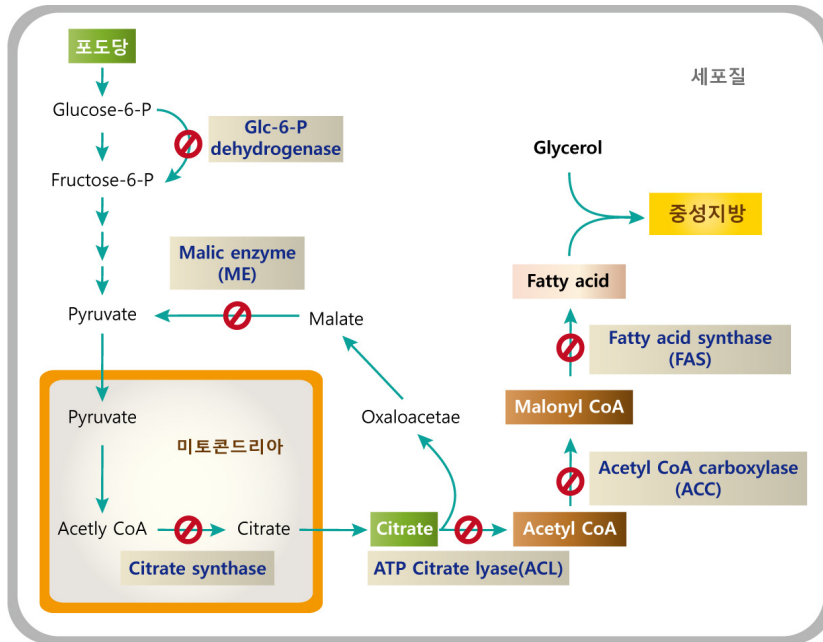


그림 2. 중성지방 합성과정과 주요 효소

(4) 체지방 분해

지방조직에 저장된 중성지방은 신체 내 에너지가 부족한 경우 에너지를 발생시키는 대사 과정을 거쳐 신체 내 에너지를 공급한다. 이를 위해 중성지방은 먼저, 세포질에서 지방산과 글리세롤로 분해된다(lipolysis)(그림 3). 분해된 지방산은 미토콘드리아로 이동하여 베타 산화과정(β -산화)을 거쳐 아세틸 CoA를 생성한다. 아세틸 CoA는 시트르산회로(citric acid cycle)로 들어가 최종적으로 에너지를 발생하게 된다. 지방산이 β -산화과정으로 들어가려면 세포질에서 미토콘드리아로 이동해야 하는데, 이때 L-카르니틴(L-carnitine)은 지방산을 세포질에서 미토콘드리아로 운반해 주는 중요한 운반체 역할을 한다.

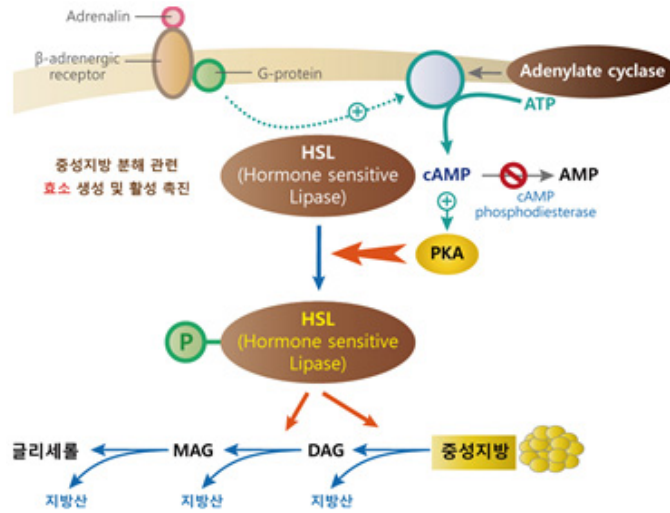


그림 3. 중성지방 분해과정과 주요 효소

나. 체지방 감소 기전

(1) 지방 소화·흡수 억제 기전

소장에서 식이로부터 섭취되는 지방의 소화와 흡수를 억제함으로써 체내 지방 축적을 억제하는 기전이다. 소장에서 식이지방의 소화와 흡수 억제는 소장에서 중성지방을 분해하는 지방분해효소의 작용을 저해하든지, 섭취한 지방과 흡착하여 변으로의 식이지방 배설을 촉진시키는 작용을 통해 가능하다.

(2) 체지방 합성 억제 기전

지방세포는 전구세포(pre-adipocyte)에서 지방세포로 분화되고, 지방세포에서 지방합성이 증가하면서 성숙된 지방세포로 변화되어 지방조직이 증가하므로 지방세포 분화(adipogenesis)와 지방세포 내 지방합성(lipogenesis)을 억제하면 체지방 축적 감소가 가능하다.

지방 전구세포를 지방세포로의 분화를 촉진하는 전사인자들(peroxisome proliferator-activated receptor gamma(PPAR γ), CCAAT/enhancer binding protein alpha(C/EBP α), sterol-regulatory element binding protein(SREBP) 등)의 발현을 억제하면 지방세포로의 분화를 억제할 수 있다(그림 4). 또한 체지방 합성에 관련된 효소들의 활성이나 발현을 억제하므로 체지방 합성을 억제할 수 있다(그림 2).

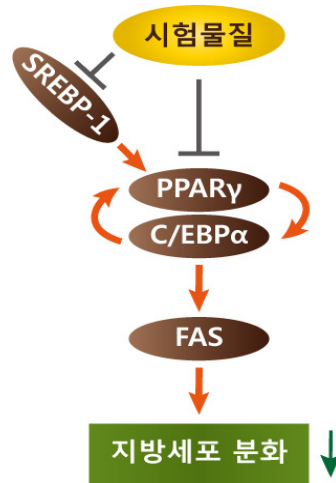


그림 4. 시험물질에 의한 지방세포분화 억제 기전

[출처: J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo) 58(6):393-401, 2012]

(3) 체지방 분해 촉진 기전

식이로부터 섭취된 지방이나 체내 축적된 체지방의 분해를 촉진하거나 베타 산화과정을 촉진시킴으로서 체지방을 축적을 억제하는 기전이다. 체내 지방의 산화를 조절하는 효소활성에 영향을 주어 체내 지방산화를 증가시키면 체내 지방 감소가 가능하다. 예를 들어 지방산은 산화되기 위해 세포질에서 미토콘드리아로 이동되어야 하는데, 이러한 이동을 도와주는 카르니틴 팔미토일 전이효소(carnitine palmitoyl transferase, CPT)의 활성을 증가시키면, 미토콘드리아 내에서의 β -산화가 촉진되고 체내 지방의 산화를 증가시킬 수 있다.

(4) 열 생성 기전

열생산(thermogenesis)을 촉진하면 체지방이 감소 할 수 있다. Uncoupling protein (UCP)은 갈색지방(UCP1), 백색지방(UCP2), 근육세포(UCP3)에서 발견된다. UCP들은 해당 세포 내 미토콘드리아에서 지방산의 산화적 인산화 과정을 uncoupling함으로서 ATP 생성을 감소시키고 열을 발생시킨다(그림 5).

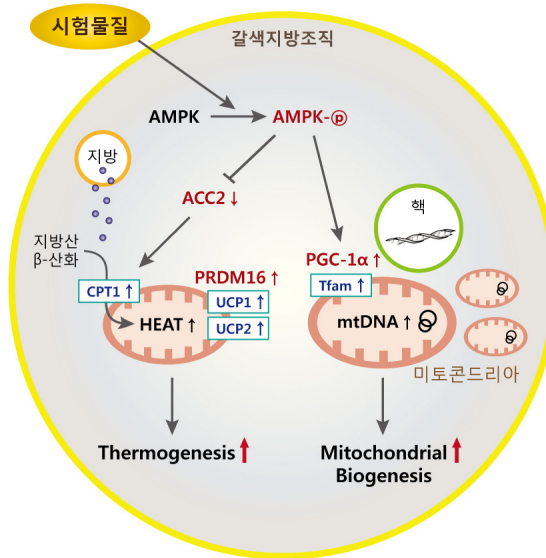


그림 5. 시험물질에 의한 열 생성 증가 기전

[출처: Food Nutr Res 61(1):1325307, 2017]

다. 체지방 조절에 관여하는 인자들

(1) 렙틴과 렙틴 수용체

렙틴은 비만유전자로 알려져 있으며, 주로 지방세포에서 생성된다. 지방조직에 중성지방이 축적되면 렙틴 합성이 촉진된다. 체중에 미치는 렙틴의 효과는 음식섭취를 촉진시키는 neuropeptide Y(NPY)을 저해함으로써 즉, 식욕을 조절하는 뇌하수체에 미치는 영향을 통해서 중재되는 것으로 보인다. 혈액내 렙틴 농도와 체지방율 사이에는 강한 상관관계를 보였고, 이로 미루어 비만인은 렙틴 부족보다는 렙틴 수용체에 대하여 둔감한 것으로 보인다.

(2) 인슐린

인슐린은 식후의 만족감을 주는 호르몬으로 작용하며, 인슐린 수용체와 결합하여 insulin receptor IRS/PI3K/Akt 신호체계를 통하여 지방세포분화와 지방합성에 영향을 준다. Insulin receptor substrate(IRS)는 phosphoinositide 3-kinas(PI3K)로 신호를 전달하고, Akt (protein kinase B)를 인산화 시킴으로 지방세포분화를 촉진한다(그림 6).

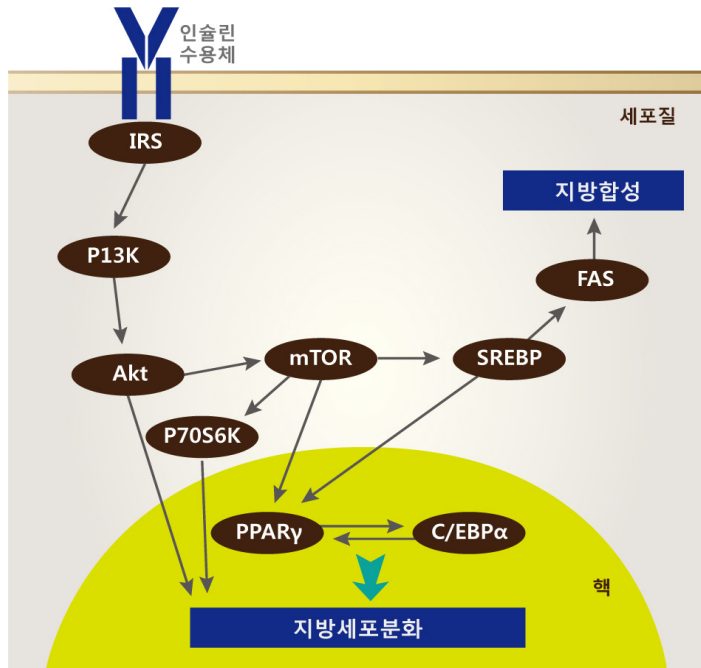


그림 6. 인슐린에 의한 지방세포 분화와 지방합성 기전

[출처: J Microbiol Biotechnol 28:26(11):1836-1844, 2016]

(3) 아디포넥틴

아디포넥틴은 지방조직에서 분비되는 호르몬으로 식욕억제 효과를 가진다. 그리고 아디포넥틴은 AMPK 활성화와 PPAR α 활성화에 영향을 주어 체지방조절에 영향을 준다. 비만이 되면 혈액내 아디포넥틴양이 감소하며 체지방감소는 아디포넥틴 생산을 증가시킨다고 한다.

(4) AMP-activated protein kinase alpha(AMPK- α)

AMPK- α 의 활성화는 지방세포와 고지방식을 섭취한 동물에서 지방세포분화를 촉진하는 전사인자인 PPAR γ , C/EBP- α 의 발현을 감소시키고, ACC 활성을 억제하여 아세틸-CoA가 말로닐-CoA가 되는 것을 억제하여 지방합성을 억제한다고 보고되었다. 그리고 AMPK- α 는 PPAR γ coactivator 1 alpha(PGC-1 α)(미토콘드리아 활성화와 thermogenesis 활성화에 필수적임)와 상호관련을 가진다고 알려졌다. 그러므로 AMPK의 활성화는 체지방 조절에서 중요한 역할을 한다.

2. 보건학적 중요성

가. 체지방 감소의 의의

(1) 비만 유병률

세계보건기구(WHO)는 전 세계적으로 18세 이상 성인의 비만(체질량지수 30kg/m^2 이상) 유병률이 2006년 8.6%에서 2016년 13.1%로 증가하였으며, 과체중(체질량지수 25kg/m^2 이상) 비율은 2006년 33.0%에서 2016년 38.9%로 증가하였다고 보고하고 있다. 전 세계적으로 18세 이상 성인 중 약 19억명이 과체중이고, 약 6억 5천만명이 비만이라고 보고하고 있다. 우리나라의 경우 국민건강영양조사자료(제 7기 1차년도, 2016)에 의하면 전체 19세 이상 성인인구의 비만(체질량지수 25kg/m^2 이상) 유병률이 1998년 26.0%, 2007년 31.7%에서 2016년 34.8%로 계속 증가하는 것으로 보고하고 있다.

체질량 지수(BMI)를 이용한 WHO와 우리나라의 비만기준은 다음 표 1과 같다. 2018년 대한비만학회에서 비만을 비만전단계($23\sim24.9\text{kg/m}^2$), 1단계 비만($25\sim29.9\text{kg/m}^2$), 2단계 비만($30\sim34.9\text{kg/m}^2$), 3단계 비만(35kg/m^2 이상)으로 세분하였다.

표 1. 체질량 지수에 의한 비만기준

구분	세계기준 (WHO, 1998)	국내 기준 (아시아 태평양지역 WHO, 2000)	구분		대한비만학회 (2018)
저체중	18.5 미만	18.5 미만	저체중		18.5 미만
정상	18.5~24.9	18.5~22.9	정상		18.5~22.9
과체중	25~29.9	23.0~24.9	비만 전 단계		23~24.9
비만	30~39.9	25.0~29.9	비만 25 이상	1단계 비만	25~29.9
고도비만	40 이상	30 이상		2단계 비만	30~34.9
				3단계 비만	35 이상

(2) 체지방 감소의 효과

과도하게 축적된 체지방으로 인한 비만은 당뇨병, 심혈관계 질환과 특정 암의 발병위험을 증가시키는 주요 원인이 된다. 과도한 체지방을 감소시키면 혈압이 낮아지고 인슐린 저항성이 감소되며 혈중 지질이 개선된다. 또한 체지방이 감소되면, 혈전 생성이 감소되고 각종 염증 지표들이 낮아지는 등 건강에 도움을 주며 결국 사망률을 낮추는 효과가 있다.

Ⅲ

기능성 시험 방법

1. 바이오마커의 선정

가. 연구유형별 바이오마커

체지방 감소 기능성을 확인하기 위한 측정 가능한 시험 연구유형별 바이오마커(biomarker)는 다음 표 2와 같다.

표 2. 체지방 감소 기능성 확인을 위한 바이오마커

구 분		바이오마커	측정 가능한 연구유형		
			in vitro	in vivo	Human
체지방 수준		체지방량		○	○
		체지방율		○	○
		체지방면적		○	○
		피하지방두께		○	○
		체질량지수		○	○
		체중			○
		허리둘레			○
지방 소화·흡수 억제		허리-엉덩이 둘레 비율			○
		췌장 리파아제 활성	○		
		중성지방 흡수율		○	
		Acylglycerol 대사산물		○	
		킬로미크론내 중성지방량		○	○
체지방 합성 억제	지방 세포 분화	변 지방량		○	○
		지방세포 증식	○	○	
	지방 합성	관련 유전자 발현(단백질, mRNA) - PPAR γ - C/EBP α - SREBP - FABP4(aP2)	○	○	
		지방세포내 지방축적	○	○	
		지단백질 분해효소	○	○	○
		지방세포크기/수	○	○	○
		관련 효소(활성, 단백질, mRNA) - G6PD - ME - Citrate synthase - ACL - ACC - FAS SCD1 DGAT	○	○	

구 분		바이오마커	측정 가능한 연구유형				
			in vitro	in vivo	Human		
		말로닐 CoA 농도	○	○			
		지방생성을	○	○			
체지방 분해 촉진	지방 분해	중성지방분해물질	○	○			
		cAMP 농도	○	○			
		관련 효소(활성, 단백질, mRNA) - ACADs - ACO - HSL - AC - cAMP phosphodiesterase - ACL	○	○			
		지방산화율		○			
		지방대사물질		○	○		
	지방 산화	PPAR α	○	○			
		CPT	○	○	○		
		에너지 소비 촉진	에너지 대사	에너지소비량		○	○
				기초대사량		○	○
	호흡계수				○	○	
열생성	UCP		○	○	○		
	PGC-1 α		○	○	○		
	기초체온변화		○	○			
에너지대사 조절인자		렐틴	○	○	○		
		인슐린	○	○	○		
		아디포넥틴	○	○	○		
		AMPK	○	○			

나. 바이오마커 설명

(1) 체지방 수준

(가) 체지방량/체지방율/체지방면적/피하지방두께

체지방 수준은 체지방량, 체지방율, 지방면적, 피하지방두께를 측정하면 알 수 있다. 체지방율은 전체 체중에서 체지방 무게가 차지하는 것을 백분율(%)로 나타낸 것이며, 정상치는 성인 남자의 경우 15~18%, 여자의 경우 20~25%이다.

(나) 체질량 지수(body mass index, BMI)

체질량 지수는 키와 체중을 이용하여 비만 정도를 평가하는 방법 중 하나로, 체중(kg)을 신장(m)의 제곱으로 나눈 값이다. 키와 체중의 측정만으로도 구할 수 있기 때문에 역학 연구과 임상 진료에 유용한 지표이다. 여러 연구를 통하여 체질량 지수가 총 지방량을 비교적 정확하게 반영하는 유용한 수단이라고 알려져 있다. WHO에서는 체질량 지수 25-29.9 kg/m² 를 과체중, 30 kg/m² 이상을 비만으로 정의하고 있다. 우리나라에서는 23 kg/m² 이상을 비만 전 단계, 25 kg/m² 이상을 비만으로 정의하고 있다. 그러나 체질량 지수는 지방의 총량과 분포를 정확하게 반영할 수 없으며, 체구성 성분 중 근육량이 현저하게 많거나 적은 경우에는 개인의 총 지방량을 정확하게 반영하지 못하는 한계점이 있다.

(다) 체중

체중이 감소하면 체지방이 감소한다고 볼 수 있다. 그러나 체중은 근육량, 수분량에 의해서도 변화할 수 있으므로 체지방량이나 체지방율등을 함께 측정하는 것이 바람직하다.

(라) 허리둘레

허리둘레는 체지방량 분포 및 복부비만을 반영하는 매우 유용한 평가지표이다. 허리둘레는 성별, 연령별, 인종별 차이가 크며 미국에서는 남자 102 cm, 여자 88 cm 이상은 복부 비만의 기준으로 제시하고 있으나 우리나라에서는 남자 90 cm, 여자 85 cm 이상을 복부비만으로 분류하고 있다.

(마) 허리-엉덩이 둘레 비율(waist-hip ratio, WHR)

허리둘레를 엉덩이둘레로 나눈 값으로 복부비만을 진단하는 기준으로 사용된다. 남자의 경우 0.8~1.0, 여자의 경우 0.7~0.85가 정상범위이며, 비율이 높을수록 비만의 정도가 심한 것이다. 최근에는 허리둘레가 복부내장 지방의 적절한 지표임이 확인되어 허리둘레만으로 복부비만을 진단하고 있는 경향이다.

(2) 지방 소화·흡수 억제

(가) 췌장 리파아제(pancreatic lipase) 활성

췌장 리파아제는 췌장에서 합성되어 십이지장으로 분비되는 중성지방 분해효소로, 글리세롤과 지방산의 결합을 가수분해한다. 이와 같이 중성지방은 췌장 리파아제에 의해 분해되어 흡수되기 때문에 췌장 리파아제의 활성이 억제되면 중성지방의 분해와 흡수가 저해되므로 중성지방은 흡수되지 않고 대변으로 배출되게 된다.

(나) 중성지방흡수율(triglyceride absorption rate)

중성지방이 림프관으로 어느 정도 흡수되었는지 측정하는 지표로, 흡수된 함량이 감소하면 체내로의 흡수량이 감소되었다고 볼 수 있다.

(다) Acylglycerol 대사산물

체내로의 지방이 얼마나 흡수되었는지를 파악하기 위해 측정하는 지표이다. 지방 흡수가 증가하면 소장 내 지방대사산물이 증가한다.

(라) 킬로미크론내 중성지방량(chylomicron-triglyceride)

식이 지방은 소장에서 흡수된 후 소장세포에서 지단백질인 킬로미크론을 형성하여 림프계와 혈액을 통해 이동한다. 킬로미크론은 말초조직에 중성지방을 운반하고 남은 지방성분을 간으로 이동하는 지방의 중요한 운반 기능을 담당한다. 따라서 킬로미크론내 중성지방 수준이 저하 되면 섭취한 지방의 흡수가 감소되었다고 볼 수 있다.

(마) 변 지방량(fecal lipids)

섭취한 지방 중 흡수되지 못한 지방은 대변을 통해 배설되므로 대변의 지방 함량이 높은 것은 체내로의 지방 흡수가 저하된 것을 의미한다.

(3) 체지방 합성 억제

(가) 지방세포 분화

① 지방세포 증식

지방세포 증식이 증가하면 지방조직이 증가하는 것을 의미한다.

② 지방세포분화 관련 유전자 발현

지방 전구세포(pre-adipocyte)가 성숙한 지방세포로 분화되는 과정에 관여하는 유전자 발현을 측정한다. 지방세포의 분화가 활발할수록 지방합성이 촉진되고 체지방 축적이 일어난다. 다음은 지방세포분화와 관련된 유전자들이다.

- Peroxisome proliferator-activated receptor gamma(PPAR γ)

PPAR는 peroxisome proliferator를 ligand로 하는 핵 호르몬 수용체(nuclear hormone receptor)로 에너지와 지방 대사를 조절하는 주요 전사인자이다. PPAR γ 는 지방조직에서 주로 발현되어 지방세포의 분화(adipogenesis)를 촉진한다.

- CCAAT/enhancer binding protein alpha(C/EBP α)
백색지방조직과 갈색지방조직에서 발현되는 지방세포분화 전사인자이다. C/EBP β 와 C/EBP δ 는 지방세포 분화과정의 초기 단계에 발현이 증가되어 PPAR γ 의 발현을 유도하며 PPAR γ 의 발현증가는 C/EBP α 의 지방세포 분화 후기의 발현을 유도하며 지방세포 증식과 인슐린 민감도 향진에 관여한다.
- Sterol-regulatory element binding protein(SREBP)
콜레스테롤 농도에 따라 발현이 조절되는 sterol regulatory element에 결합하는 단백질을 SREBP라 한다. SREBP는 콜레스테롤 대사뿐 아니라 인슐린 저항성, 비만 조절에 관여하는데 중성지방 대사와 지방세포 분화에 관여한다. SREBP는 지방합성을 증가시키는 역할을 하는데, PPAR γ 의 작용에 의해 AMPK가 활성화되면 SREBP가 억제되어 ACC, FAS 등 지방합성 효소의 유전자 발현이 감소하여 지방합성이 감소된다. 이들 계열은 SREBP-1 α , -1c, -2로 구성되며 SREBP-1c가 adipocyte determination and differentiation dependent factor(ADD1)의 인간 동종체이다. ADD1/SREBP1c는 지방조직과 간에서 다량 발현되며 지방세포 분화과정 초기에 발현이 유도되며 PPAR γ 의 전사활성을 증가시킨다. ADD1/ SREBP1c는 인슐린에 의해 조절 받으며, 지방산 대사와 지방 생합성에 주로 관여하며 SREBP-2는 콜레스테롤 항상성에 관여한다.
- Fatty acid binding protein 4(FABP4)
에이코사노이드(eicosanoids)와 레티노이드(retinoids)와 같은 지용성 물질을 운반하는 단백질의 집합체로, 세포내외막 사이 지방산의 이동을 촉진하는 것으로 알려졌다. 집합체 중 어떤 단백질은 세포외막에서 PPAR와 같은 특정 세포내 수용체로 친수성 물질을 이동시키는 데 이용된다고 생각되기도 하며, FABP4 지방세포와 대식세포에서 주요하게 발현되는 단백질로 oleic acid나 retinoic acid에 결합하며 aP2로 불리기도 한다.

(나) 지방합성

① 지방세포내 지방축적

세포 내 지방의 축적 정도를 알아보기 위해 총 지방, 중성지방, 지방산량을 측정할 수 있다.

② 지단백질 분해효소(lipoprotein lipase, LPL)

소장에서 흡수된 지방은 지단백질인 키로미크론에 함유하여 림프계와 혈액을 통해 조직으로 운반된다. 혈액 중 중성지방을 운반하는 지단백질은 키로미크론과 VLDL(very low density lipoprotein)로 혈액의 지단백질 내에 있는 중성지방이 지방조직 등의 조직 세포 내로 운반되기 위해서는 중성지방으로부터 지방산이 분해되어야 한다. 이렇게 지단백질의 중성지방을 분해하는 효소를 지단백질 분해효소라고 한다. 즉, LPL은 혈관 내피세포에서 발견되는 효소로 지단백질의 지방산을 조직으로 이동시켜 지방 조직 등 체조직에 지방을 축적하는 역할을 한다.

③ 지방세포크기/수

섭취하는 열량이, 소비되는 열량에 비해 많으면 에너지 대사의 불균형으로 과도한 열량이 체지방으로 축적되며, 이는 지방세포의 크기 그리고/또는 수의 증가에 의해 나타난다. 체지방의 축적이 많을수록 지방세포의 크기가 크고 수가 증가한다.

④ 지방합성 관련 효소

- Glucose-6-phosphate dehydrogenase(G6PD)
포도당으로부터 리보오스를 합성하는데 필요한 효소이다. 이 효소작용으로 생성되는 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate(reduced form) (NADPH)는 fatty acid synthase(FAS)의 보조인자로 작용하여 지방산 합성 과정을 조절한다.
- Acetyl CoA carboxylase(ACC)
아세틸 CoA를 말로닐 CoA로 전환시키며 지방산 생합성을 시작하게 하는 효소이다.
- Fatty acid synthase(FAS) complex
아세틸 CoA와 말로닐 CoA로부터 지방산을 합성하는 효소들의 복합체이다.
- Malic enzyme(ME)
Malate를 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate(NAD) 또는 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate(NADP)의 존재 하에 탈탄산하여 피루브산 생성 반응을 촉매하는 효소이다.
- 구연산 합성효소(citrate synthase)
옥살로아세테이트산과 아세틸 CoA를 결합시켜 구연산으로 전환시키는 효소이다. 구연산합성효소 활성이 증가되면 생성된 구연산은 미토콘드리아에서 세포질로 이동하여 지방산 합성의 초기 반응물질로 작용하게 된다.
- ATP citrate lyase(ACL)
세포질의 구연산을 아세틸 CoA로 전환하여 지방합성 경로를 시작할 수 있게 한다.

- Stearoyl-CoA desaturase-1(SCD1)
지방산 합성과정에서 포화지방산으로부터 단일 불포화지방산을 합성하는 반응을 촉진하는 속도조절단계 효소이다.
- Diacylglycerol acyltransferase(DGAT)
중성지방은 글리세롤에 세 개의 지방산이 결합되어 합성된다. DGAT는 DG에 마지막 지방산을 결합시키는 반응을 촉진하는 효소로 이 효소의 발현이 증가하면 지방조직에서의 중성지방합성이 증가한다.

⑤ 말로닐 CoA 농도

말로닐 CoA는 ACC 작용을 통해 아세틸 CoA로부터 형성된다. 말로닐 CoA는 키르니틴 팔미토일 전이효소 1(carnitine palmitoyl transferase 1, CPT1)을 억제시켜 미토콘드리아 내로의 지방산 유입을 저해하는 역할을 하여 지방산 산화를 억제하는 역할을 한다. 따라서, 말로닐 CoA 농도가 저하되면 지방합성보다 분해 작용이 활발해진다.

⑥ 지방생성을

체내 간, 지방, 소장 조직에서 기질로부터 중성지방 또는 지방산이 생성되는 양을 측정한다.

(4) 체지방 분해 촉진

(가) 지방분해

① 중성지방분해물질

중성지방은 글리세롤 한 분자에 세 개의 지방산이 결합된 형태로 지방세포에 존재한다. 지방세포가 지방분해 신호(예를 들어 에피네프린)를 세포막에서 받아들이면 중성지방이 유리지방산과 글리세롤로 분해되고 혈중으로 분비되어 순환한다. 따라서 혈중의 유리지방산과 글리세롤 농도는 지방분해의 중요한 지표가 된다.

② cAMP 농도

cAMP는 세포 표면 수용체에 β -아드레날린 길항제, 프로스타글린딘 E_2 (prostaglandin E_2 , PGE₂), 히스타민들이 결합하여 adenylate cyclase를 활성화시키거나 세포내 cAMP phosphodiesterase의 작용을 억제함으로써 세포내 농도가 증가된다. cAMP는 지방분해효소인 호르몬 민감성 지방분해효소(hormone sensitive lipase, HSL)를 활성화시켜 중성지방 분해를 촉진하며 열 생성을 촉진하는데 관여한다.

③ 지방분해 관련 효소

- Acyl-CoA dehydrogenase(ACADs)
미토콘드리아내 지방산 β -산화의 첫 단계에서 작용하는 속도제한효소(rate- limiting enzyme)이다. 간, 심장, 근육에서 PPAR α 에 의해 조절 받는다.
- Acyl-CoA oxidase(ACO)
퍼옥시좀(peroxisome)에 존재하는 효소로서, acyl CoA와 O₂로부터 trans-2,3-dehydroacyl-CoA와 H₂O₂를 생산한다. Acyl-CoA dehydrogenase(ACAD)와 같은 역할을 하는, 즉 지방산 β -산화의 첫 단계에서 작용하는 속도제한효소이다.
- Hormone sensitive lipase(HSL)
HSL은 호르몬 민감성 지방분해효소로 지방조직에서 중성지방을 분해하는 단계에서 가장 중요한 효소이다.
- Adenylate cyclase(AC)
cAMP를 합성하는 효소로 활성이 증가되면 중성지방 분해와 열 생성이 촉진된다.
- cAMP phosphodiesterase
이 효소가 활성화되어 cAMP 농도가 감소되면 지방분해, 열 생성이 억제된다.
- Acyl CoA synthetase(ACL)
지방산이 미토콘드리아로 이동하기 전에 CoA와 결합하여 acyl CoA를 형성하는 과정을 촉매하는 효소이다.

(나) 지방산화

① 지방산화율

지방산의 산화율이 증가하면 체지방이 감소하는 기전이 될 수 있다.

② 지방대사물질

지방대사물질인 malondialdehyde(MDA), formalaldehyde(FA), acetone(ACON), acetaldehyde(ACT)등이 증가하면 β -산화가 증가된 것을 의미한다. ACT는 MDA의 분해 또는 지방 산화나 지방 과산화의 결과로 나타나며, ACON은 지방의 β -산화의 결과로 나타나는 것으로 생각된다. FA는 glycerol kinase를 갖고 있는 지방조직이나 다른 조직에서 중성 지방 대사의 결과로 나타나거나 MDA가 acetate나 ACT와 one-carbon fragment (acetoacetic acid에서 분해되면 ACON이 형성됨)로 분해될 때, 생성된다고 보고되고 있다.

③ Peroxisome proliferator-activated receptor alpha(PPAR α)

PPAR α 는 핵 호르몬 수용체(nuclear hormone receptor)로 지방의 이화작용(catabolism)을 촉진한다. PPAR α 는 지방조직과 근육에서 uncoupling protein(UCP)을 통해 지방산의 산화를 촉진한다.

④ 카르니틴 팔미토일전이효소(carnitine palmitoyltransferase, CPT)

지방산은 β -산화가 되기 위해 세포질에서 미토콘드리아로 이동해야 한다. 세포질에서 활성화된 지방산(acyl CoA)이 미토콘드리아 내부로 이동하기 위해서는 미토콘드리아의 막(외막과 내막)을 통과해야 하는데, 이 과정을 촉매 하는 효소가 CPT-1, CPT-2이다.

(5) 에너지 소비

(가) 에너지 대사

① 에너지소비량(total energy expenditure, TEE)/기초대사량

체지방 축적은 에너지섭취와 에너지 소비와의 균형에 의해 조절된다. TEE는 기초대사율(basal metabolic rate, BMR), 식품으로 인한 열효과(thermic effect of food, TEF), 활동에너지(physical activity thermogenesis)로 구성된다. BMR은 공복상태에서 생명을 유지하기 위한 기본적인 대사기능을 유지하는 데 요구되는 에너지이다. BMR은 체지방량(lean body mass, LBM)에 의해 영향을 받으며, 나이가 증가할수록 증가한다. BMR은 측정하기는 어려움이 있어 휴식대사량(rest metabolic rate, RMR)를 측정하기도 한다. TEF는 섭취한 영양소를 분해하고, 흡수하고, 산화하거나 저장하는데 소비되는 에너지이다. TEF는 섭취하는 음식량과 구성에 의해 받는다. 활동에너지는 일상생활에서의 활동에 필요한 에너지이다.

② 호흡계수

일정시간 배설되는 이산화탄소량과 흡수되는 산소량과의 비율을 구하며, 이를 호흡계수(respiratory quotient, RQ)라 한다. RQ는 에너지소비량에 대한 탄수화물, 지방, 단백질의 기여도를 알 수 있다. 포도당이 유일한 대사기질인 경우에는 RQ가 1.0이며, 지방이 유일한 대사기질인 경우에는 RQ가 0.71이다. 높은 RQ(0.71보다 1.0에 가까운)는 지방에 비해 탄수화물의 산화가 더 많음을, 낮은 RQ는 에너지원으로 탄수화물의 사용이 줄어들고 지방의 사용이 증가하였음을 시사한다.

(나) 열생산

① Uncoupling protein(UCP)

세포에서 열(heat)을 생성함으로써 에너지를 소비하는 기능을 하는 단백질로 미토콘드리아 내막에 존재한다. UCP는 ATP 대신 열을 발생시킴으로써 에너지 소비를 증가시킨다. UCP는 갈색지방조직(UCP1)과 백색지방조직(UCP2), 근육세포(UCP3) 등에서 발견되는데 UCP1은 갈색지방조직에서 추위에 반응하여 열을 발생시키는 반면, UCP2와 UCP3는 조직의 지방을 연소시키는 기능을 한다고 생각된다. 따라서 UCP 발현 정도가 에너지 소비량에 영향을 미쳐 체지방과 관련이 있다고 생각된다. UCP 발현이 증가하면 에너지 소비가 증가하여 체지방이 감소하는 가능성이 있다.

② PPAR γ coactivator 1 α (PGC-1 α)

PGC-1 α 는 지방세포의 미토콘드리아에서 유도되는 열생성 지표로, 발현이 증가하면 지방 조직내 지방이 열로 소비되어 체지방이 감소하는 가능성이 있다.

③ 기초체온 변화

기초체온의 변화는 에너지 대사의 변화와 밀접한 관련성이 있다. 실험동물모델에서 비만도가 증가할수록 기초체온이 감소하고, 에너지 대사율도 감소하는 것으로 알려져 있다. 기초체온변화는 에너지 대사의 간접적인 평가방법으로 사용된다.

(6) 에너지 대사 조절인자

(가) 렙틴/렙틴 조절 유전자 발현

렙틴은 지방세포에서 분비되는 단백질이다. 렙틴은 체내 지방 축적이 증가하면 지방세포에서 분비되어 식욕을 감소시켜 에너지 섭취를 줄이고, 에너지 소비를 증가시켜 지방 축적을 억제하는 등 체내 에너지 균형을 조절할 수 있다. 렙틴양이나 렙틴분비를 조절하는 유전자의 발현은 체지방 축적의 지표로 사용될 수 있다.

(나) 인슐린

인슐린은 식후의 포만감을 주는 호르몬으로 작용하며, 인슐린 수용체와 결합하여 IRS/PI3K/Akt 신호체계를 통하여 지방세포분화와 지방합성에 영향을 준다. 인슐린은 인슐린 수용체와 결합 한 후, insulin receptor substrate(IRS)는 phosphoinositide 3 kinase(PI3K)로 신호를 전달하고, Akt(protein kinase B)를 인산화 시킴으로 지방세포분화를 촉진한다. 인슐린양을 측정하거나 인슐린 신호체계의 유전자 발현을 측정할 수 있다.

(다) 아디포넥틴

아디포넥틴은 렙틴처럼 체지방이 증가하면 지방조직에서 발현되고 혈액을 순환하는 단백질이다. 아디포넥틴은 지방의 이화 과정에 관여하는데, 근육에서 지방산의 β -산화를 촉진하고, 지방조직에서는 지방 합성을 억제하는 것으로 알려져 있다. 또한 아디포넥틴은 근육세포로 포도당이 유입되는 것을 촉진하여 인슐린 저항성을 개선한다. 또한, 체지방이 과도하게 축적된 경우 아디포넥틴의 발현량 및 혈중 농도가 감소되므로 체지방 축적의 지표로 사용할 수 있다.

(라) AMP-activated protein kinase(AMPK)

AMPK는 렙틴과 아디포넥틴의 에너지 대사 조절 과정에서 중간 매개체가 된다. AMPK는 전반적으로 ATP를 생성하는 과정을 촉매한다. 즉, 간에서 지방산 산화를 증가시키고 지방산 생합성을 감소시키며 지방조직에서 지방분해를 증가시키고 지방합성을 감소시킨다. 또한 근육에서 지방산 산화를 증가시키고 포도당 유입을 증가시켜 에너지로 사용하며 시상하부에서 식사 섭취를 감소시키는 작용을 한다.

2. 주요 바이오마커의 측정 방법

가. 체지방 수준

(1) 체지방 측정

(가) 수중계체법 또는 수중밀도법

체지방의 참값을 직접 측정하는 방법으로, 수중에서의 체중을 측정하고 신체의 비중을 계산하여 체지방량을 산출한다. 이 방법은 숨을 다 내신 상태에서 물속에 들어가 체중을 재고 물 밖에서 체중을 측정하여 체비중(body density)을 구한 후 특정 공식에 의해 체지방량을 정확히 산출할 수 있다. 그러나 비용이 비싸고 여러 가지 설비가 마련되어야 하므로 임상에서는 실시하기가 어렵고 연구용으로 이용되고 있다.

(나) 생체 전기저항분석법(bioelectric impedance analysis, BIA)

생체 전기저항분석법은 상지와 하지에 표면 전극을 붙여 전기 저항을 측정하는 것으로, 일반적으로 지방조직은 전류가 잘 흐르지 않고 지방을 제외한 기타 조직은 전류가 잘 흐르기 때문에, 전기 저항과 체지방량 사이에는 높은 양의 상관관계가 나타나는 것을 이용하는 방법이다. 대부분의 생체전기저항 분석기에는 성, 연령, 인종에 따른 계산공식이 입력되어 있고 한국인의 신체계측자료를 바탕으로 한 공식이 이용되고 있다. 그러나 이 방법도 비만 정도가 아주 심한 환자에게는 정확도가 떨어지며, 재현성이 낮다는 단점이 있다.

(다) DEXA(Dual-Energy X-ray Absorptiometry)

내장지방면적, 피하지방면적, 총 지방면적을 측정하기에 용이하다. 체지방량(률) 외에도 체지방량(률) 등을 측정할 수 있고 정확도가 높다는 장점이 있으나 비용이 많이 들고, 방사선에 일부 노출된다는 단점이 있다.

(라) 단층촬영법(computer tomography, CT)

단층촬영법은 X-ray가 체조직을 통과하면서 횡단 영상을 보여주는 방법이다. 이 방법은 내장 지방 등의 지방 분포를 정확히 보여주는 장점이 있다. 하지만 비용이 비싸고 방사선에 노출되는 단점이 있다.

(마) 피부주름두께 측정법(skinfold thickness)

신체 여러 부위의 피하지방의 두께를 측정하여 회귀식으로 전체 체지방의 정도를 평가하는 방법이다. 측정 도구로는 피부 주름 측정용 캘리퍼를 사용하는데 이 기구는 피부에 가해지는 압력이 일정하도록 만들어져 있다. 캘리퍼를 사용하여 이두박근, 삼두박근, 견갑골 하부, 장골능의 피부 두께를 측정하고 이를 더한 수치를 회귀식에 적용하여 연령에 따른 체지방률을 산출한다. 이 방법은 비용이 저렴하고 측정이 쉽다는 장점이 있으나 잘 훈련된 측정자가 아닐 경우 측정 오차가 상당히 클 수 있다. 또한 사람에 따라 체지방의 분포가 다르기 때문에 그 정확도가 떨어질 수 있으며, 내장 지방을 반영하지 못한다는 제한점이 있다.

(2) 체중, 체질량 지수(body mass index, BMI)

체중은 체중을 측정하기 전날 과음을 하지 않고 측정 4시간 전부터 음식물과 음료를 섭취하지 않은 상태에서 간편한 옷차림으로 금속성 시계와 장신구를 부착하지 않고 체중계를 이용하여 측정한다. 체중 측정은 항상 같은 요일 (시간)에 같은 옷차림으로 측정하는 것이 중요하다. 실험동물의 경우 체중의 측정은 저울을 이용하여 매일 일정한 시간에 측정한다. 식이 섭취로 인한 체중변동을 막기 위하여, 체중 측정 두 시간 전에 사료를 빼야 한다.

체질량지수는 키와 체중을 이용하여 비만 정도를 평가하는 방법 중 하나로, 체중(kg)을 신장(m)의 제곱으로 나눈 값이다.

$$BMI = \text{kg/m}^2$$

(3) 허리둘레, 허리-엉덩이 둘레 비율

WHO에서 제시하는 허리둘레를 측정하는 방법은 양발 간격을 25~30 cm 정도 벌리고 서서 체중을 균등히 분배시키고, 숨을 편안히 내쉬 상태에서 줄자를 이용하여 측정하는 것이다. 측정 위치는 갈비뼈 가장 아래 위치와 골반의 가장 높은 위치(장골능)의 중간부위이며, 측정 시에는 줄자가 연부조직에 압력을 주지 않을 정도로 느슨하게 하여 0.1 cm까지 측정한다.

허리-엉덩이 둘레비율은 허리둘레를 엉덩이둘레로 나눈 수치로 계산하며, 복부 비만을 알아내는 방법으로 사용된다.

나. 지방 소화·흡수

(1) 췌장 리파아제 활성

리파아제 활성은 기질용액인 p-nitrophenyl butyrate가 췌장 리파아제에 의해 p-nitrophenol로 가수분해 되는 양을 ELISA reader를 사용하여 405nm에서 측정한다. 리파아제 활성도는 저해율(%) = $1 - (\text{시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도} - \text{시료를 첨가한 반응군의 흡광도}) / \text{시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도} \times 100$)으로 계산한다.

(2) 중성지방 흡수율(triglyceride absorption rate)

실험동물에게 (^3H)-triolein (isotope화된 중성지방)을 경구 투여하고 변으로 배설되는 동위원소를 측정하여 경구로 공급된 동위원소와 변으로 배설되는 동위원소의 비를 비교한다. (^3H)-triolein의 흡수량은 각 시간별 림프의 (^3H)-triolein의 방사선 활성도와 지질유화액 제조에 사용된 (^3H)-triolein의 방사선 활성도를 퍼센트 농도(% dose)로 나타낸다.

(3) Acylglycerol 대사산물

지방 흡수가 증가하면 소장 내 지방대사산물이 증가한다. 시료와 기질 용액을 시험관에 넣은 후 1M Tris-HCl buffer용액, 2.2% CaCl_2 용액과 췌장 리파아제를 첨가한다. 이 혼합물을 37°C 의 항온수조에서 2-3회 진탕한다. 그 후 diethyl ether를 첨가하고 원심분리기를 이용하여 두 개의 층으로 분리하고, 상층액에서 수분과 불순물을 제거한다. 이를 TLC silica plate에 넣고 전개용매(hexane : diethyl ether : acetic acid=50:50:1)를 이용하여 분리한다. 전개된 TLC plate에서 monoacylglycerol 또는 diacylglycerol 농도를 분석한다.

(4) 킬로미크론 내 중성지방량(chylomicron-triglyceride)

실험동물이나 인체에서 혈액을 채취하여 혈장을 분리한다. 혈장위에 밀도용액을 넣고, 초고속 원심분리기를 이용하여 킬로미크론을 분리한다. 분리된 킬로미크론 내 중성지방량은 효소비색법(enzymatic colorimetric assay)을 이용한 kit를 사용하여 분석한다.

(5) 변 지방량(fecal lipids)

실험동물의 변을 수집한 후 건조시키고, 균질화한 후 클로로포름-메탄올 용액을 사용하여 지질을 추출한다. 지질 추출액에서 중성지방량과 콜레스테롤량은 효소비색법을 이용한 kit를 사용하여 분석한다.

다. 체지방 합성

(1) 지방세포 분화

(가) 지방세포 증식

지방 세포 증식은 주로 지방전구세포(pre-adipocyte)인 3T3-L1 세포를 이용하여 실험한다. 지방전구세포는 분화를 유도한 후 MTT assay 등을 이용하여 지방세포 증식 정도를 측정한다.

(나) 지방세포분화 관련 유전자 발현

세포 및 조직에서 peroxisome proliferator-activated receptor gamma(PPAR γ), CCAAT/enhancer binding protein alpha(C/EBP α), sterol-regulatory element binding protein(SREBP), fatty acid binding protein 4(FABP4)의 단백질발현이나 mRNA 발현을 측정한다. 단백질은 시험물질에 노출시킨 세포 또는 실험동물 조직에서 단백질시료를 준비한 후 western blotting 방법으로 단백질 발현을 관찰한다. mRNA 발현을 위해서는 시험물질에 노출시킨 세포 또는 실험동물 조직에서 Trizol reagent를 이용하여 RNA를 추출한 후 정량한다. RNA를 가지고 oligo (dT) primer를 사용하여 각 유전자의 cDNA를 합성한다. SYBR Green PCR Master Mix, cDNA, primers, RNase-free water를 넣고 PCR을 증폭시킨다. Sequence Detector software를 사용하여 Amplification data를 분석한다. Relative mRNA expression 수준은 mathematical formulas ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)를 사용하여 분석한다.

(2) 체지방 합성

(가) 지방 세포내 지방축적

세포와 조직에서 클로로포름-메탄을 용액을 사용하여 지질을 추출한다. 지질 추출액에서 총지방량, 중성지방량, 지방산량은 효소비색법을 이용한 kit를 사용하여 분석한다.

(나) 지단백질 분해효소(lipoprotein lipase, LPL)

실험동물과 인체에서 혈액을 채취하여 혈장을 분리한다. LPL 양은 ELISA kit 를 이용하여 측정한다. LPL 활성은 arachidonoyl-1-thioglycerol을 thioglycerol과 arachidonic acid로 전환시키는 활성을 fluorescence를 사용하는 assay kit를 이용하여 측정한다. 세포, 조직, 혈구세포에서 LPL의 단백질발현이나 mRNA 발현을 측정한다. 단백질은 시험물질에 노출시킨 세포, 조직, 혈구세포에서 단백질시료를 준비한 후 western blotting방법으로 단백질 발현을 관찰한다. mRNA 발현을 위해서는 시험물질에 노출시킨 세포, 조직, 혈구세포에서 Trizol reagent를 이용하여 RNA를 추출한 후 정량한다. RNA를 가지고 oligo (dT) primer를 사용하여 LPL의 cDNA를 합성한다. SYBR Green PCR Master Mix, cDNA, primers, RNase-free water를 넣고 PCR을 증폭시킨다. Sequence Detector software를 사용하여 Amplification data를 분석한다. Relative mRNA expression 수준은 mathematical formulas ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)를 사용하여 분석한다.

(다) 지방세포크기/수

지방세포 크기는 지방전구세포인 3T3-L1 세포를 이용하여 분화된 성숙한 지방세포의 형태(morphology)를 현미경으로 관찰하고 세포 크기를 측정한다. 지방세포 수는 Oil-Red-O 염색법으로 측정한다. 지방세포를 포르말데하이드(formaldehyde)가 포함된 인산완충용액으로 1시간 동안 고정시킨 후 PBS로 세척한다. 세포를 Oil-Red-O 염색액으로 염색하여 붉은색 과립이 있는 세포를 분화된 지방세포로 간주하고, 광학현미경으로 관찰하면서 헤마 사이토미터(hemacytometer)로 세포수를 측정한다. 실험동물의 지방조직에서 지방세포크기와 수를 측정한다.

(라) 지방합성 관련 효소

지방세포나 실험동물의 간 또는 지방조직에서 지방합성 과정을 촉매하는 효소인 glucose-6-phosphate dehydrogenase(G6PD), acetyl CoA carboxylase(ACC), fatty acid synthase(FAS) complex, malic enzyme(ME), citrate synthase, ATP citrate lyase(ACL), stearoyl-CoA desaturase-1(SCD1), diacylglycerol acyltransferase(DGAT)의 활성이나

단백질, mRNA 발현을 측정한다. 효소의 활성은 세포나 실험동물의 간 또는 지방조직으로 제조한 시료에 각 효소의 기질액과 효소원을 첨가하여 반응시키고, 흡광도를 이용하여 효소 활성을 측정한다. 시료의 단백질 농도를 측정하여 효소활성을 단위시간당, 단위 단백질량으로 계산한다. 효소의 단백질발현은 시험물질에 노출시킨 세포 또는 실험동물 조직에서 단백질 시료를 준비한 후 western blotting방법으로 관찰한다. mRNA 발현을 위해서는 시험물질에 노출시킨 세포 또는 실험동물 조직에서 Trizol reagent를 이용하여 RNA를 추출한 후 정량한다. RNA를 가지고 oligo (dT) primer를 사용하여 각 유전자의 cDNA를 합성한다. SYBR Green PCR Master Mix, cDNA, primers, RNase-free water를 넣고 PCR을 증폭시킨다. Sequence Detector software를 사용하여 Amplification data를 분석한다. Relative mRNA expression 수준은 mathematical formulas ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)를 사용하여 분석한다.

(마) 말로닐 CoA 농도

균질화된 세포 또는 간, 지방조직에 기질용액(중화 인산 칼륨, NADPH, EDTA, 아세틸 CoA)를 첨가하고, fatty acid synthetase를 넣고 증류수를 대조군으로 하여 흡광도를 측정한다. 말로닐 CoA의 농도는 다양한 농도의 표준물질(말로닐 CoA)에 의한 표준 곡선에 의해 계산한다

(바) 지방생성율

세포에 [^3H]oleate 용액을 첨가하여 배양한 후, 2M NaOH를 첨가하여 지질의 비누화가 일어나도록 1 시간 동안 95℃에서 배양한다. 시료에서 지질을 분리한 후 중성지방을 scintillation vial에 넣고 측정한다. 결과는 단백질에 영입된 oleate농도(nmoles oleate incorporated/mg protein)로 나타낸다. 동물실험에서는 [^2H] water를 꼬리정맥 또는 복강내 주사하고 그 후 12주 동안 마시는 물에 4% [^2H] water를 넣어 사육한 후 조직의 중성지방은 TLC에 의해 다른 acylglycerides 부터 분리시키고, 중성지방 농도는 assay kit로 측정한다.

라. 체지방 분해

(1) 지방분해

(가) 중성지방분해물질

중성지방 분해물질인 glycerol 농도를 측정한다. 균질화된 지방 조직에 완충용액을 첨가한다. 70℃에서 10분간 가열한 다음 glycerol reagent를 첨가하여 다시 1분간 반응시키고, 540 nm 흡광도를 측정한다.

(나) cAMP 농도

세포내 cAMP농도는 0.1N HCl을 함유한 95% 에탄올 용액에 세포를 용해시킨 후 cAMP 측정용 immunoassay kit를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정한다.

(다) 지방분해 관련 효소

지방세포나 실험동물의 간 또는 지방조직에서 지방분해 과정을 촉매하는 효소인 acyl-CoA dehydrogenase(ACADs), acyl-CoA oxidase(ACO), hormone sensitive lipase (HSL), adenylate cyclase(AC), cAMP phosphodiesterase, acyl CoA synthetase (ACL)의 활성이나 단백질, mRNA 발현을 측정한다. 효소의 활성은 세포나 실험동물의 간 또는 지방조직으로 제조한 시료에 각 효소의 기질액과 효소원을 첨가하여 반응시키고, 흡광도를 이용하여 효소활성을 측정한다. 시료의 단백질 농도를 측정하여 효소활성을 단위시간당, 단위 단백질량으로 계산한다. 효소의 단백질발현은 시험물질에 노출시킨 세포 또는 실험동물 조직에서 단백질시료를 준비한 후 western blotting방법으로 관찰한다. mRNA 발현을 위해서는 시험물질에 노출시킨 세포 또는 실험동물 조직에서 Trizol reagent를 이용하여 RNA를 추출한 후 정량한다. RNA를 가지고 oligo (dT) primer를 사용하여 각 유전자의 cDNA를 합성한다. SYBR Green PCR Master Mix, cDNA, primers, RNase-free water를 넣고 PCR을 증폭시킨다. Sequence Detector software를 사용하여 Amplification data를 분석한다. Relative mRNA expression 수준은 mathematical formulas ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)를 사용하여 분석한다.

(2) 지방산화

(가) 지방산화율

지방 세포에 시험물질을 처리하여 2 시간 배양 한 후 배지를 제거하고, 다시 완충용액으로 30분간 배양한다. 배양 후, 시료에 기질 용액(NaCl, KCl, KH₂PO₄, MgSO₄, glucose, [1-¹⁴C] palmitate, L-carnitine)을 첨가하고 2시간(37 °C) 배양한다. 배양액에서 ¹⁴CO₂를 방출량을 액체섬광분광분석기를 통해 분석한다. 지방산 산화율은 수집한 ¹⁴C 양으로 측정 하는데 ¹⁴C의 농도가 높을수록 palmitate 지방산이 활발히 산화되었음을 의미한다.

(나) 지방대사 물질

소변 내 지방대사 물질 분석을 위해 24시간 동안 수집한다. 소변 시료에 2,4-Dinitrophenylhydrazine(DNPH)를 첨가한다. HPLC를 이용하여 malondialdehyde (MDA), formaldehyde(FA), acetaldehyde(ACT), acetone(ACON)을 확인한다. 각 대사물질의 표준곡선을 이용하여 농도를 계산하고, 농도는 체중 kg 당 nmol/12h로 표현한다.

(다) Peroxisome proliferator-activated receptor alpha(PPAR α)

PPAR α 의 단백질발현은 시험물질에 노출시킨 세포 또는 실험동물 조직에서 단백질시료를 준비한 후 western blotting방법으로 관찰한다. mRNA 발현을 위해서는 시험물질에 노출 시킨 세포 또는 실험동물 조직에서 Trizol reagent를 이용하여 RNA를 추출한 후 정량한다. RNA를 가지고 oligo (dT) primer를 사용하여 PPAR α 의 cDNA를 합성한다. SYBR Green PCR Master Mix, cDNA, primers, RNase-free water를 넣고 PCR을 증폭시킨다. Sequence Detector software를 사용하여 Amplification data를 분석한다. Relative mRNA expression 수준은 mathematical formulas ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)를 사용하여 분석한다.

(라) 카르니틴 팔미토일전이효소(carnitine palmitoyltransferase, CPT)

CPT-1과 CPT-2의 단백질발현은 시험물질에 노출시킨 세포 또는 조직에서 단백질시료를 준비한 후 western blotting방법으로 관찰한다. mRNA 발현을 위해서는 시험물질에 노출 시킨 세포 또는 실험동물 조직에서 RNA를 Trizol reagent를 이용하여 추출한 후 정량한다. RNA를 가지고 oligo (dT) primer를 사용하여 CPT-1과 CPT-2의 cDNA를 합성한다. SYBR Green PCR Master Mix, cDNA, primers, RNase-free water를 넣고 PCR을 증폭시킨다. Sequence Detector software를 사용하여 Amplification data를 분석한다. Relative mRNA expression 수준은 mathematical formulas ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)를 사용하여 분석한다.

마. 에너지 소비

(1) 에너지 대사

(가) 에너지소비량(total energy expenditure, TEE)

개인의 에너지소비량을 직접 측정하는 방법으로는 이중표식수법(doubly labeled water)이 가장 정확한 것으로 알려져 있으나 복잡한 기술이 요구된다. 연령, 신장, 체중, 신체활동 수준을 이용한 산출식을 이용하여 계산하는 방법이 많이 사용된다. 그리고 에너지소비량은 1일 생활 시간표를 작성한 후 기초대사량과 활동대사량, 식품이용을 위해 소비되는 에너지량을 합하여 계산할 수 있다.

(나) 기초대사량

기초대사량은 직접측정법, 간접측정법, 연령, 신장, 체중을 이용한 산출식에 의한 방법으로 측정한다. 생체 전기저항분석법(bioelectric impedance analysis, BIA)에 의해서도 측정할 수 있다.

(다) 호흡계수

에너지 소비량은 산소의 소비(VO_2)와 이산화탄소의 생성(VCO_2)을 이용하여 간접 칼로리 미터기로 측정한다. 측정한 VCO_2 와 VO_2 로 호흡계수를 계산한 후 이것으로부터 총 에너지 소모량과 탄수화물과 지방으로부터 사용한 에너지로 사용한 양을 계산한다. 측정 전 30분 동안 휴식을 취하며 호흡계수 변화율은 <5%, 산소 소비량과 이산화탄소 생성량의 변화율을 <10%로 5분 이상 지속적으로 유지되는 평형상태에서 반듯하게 누운 자세로 30분 동안 측정한다. 측정오차를 줄이기 위해 전담 연구원 1명이 적정 실내온도가 유지되는 전용병실에서 측정한다.

(2) 열생산

(가) Uncoupling protein(UCP)

UCP의 단백질발현은 시험물질에 노출시킨 세포 또는 조직에서 단백질시료를 준비한 후 western blotting방법으로 관찰한다. mRNA 발현을 위해서는 시험물질에 노출시킨 세포 또는 실험동물 조직에서 Trizol reagent를 이용하여 RNA를 추출한 후 정량한다. RNA를 가지고 oligo (dT) primer를 사용하여 UCP의 cDNA를 합성한다. SYBR Green PCR Master Mix, cDNA, primers, RNase-free water를 넣고 PCR을 증폭시킨다. Sequence Detector software를 사용하여 Amplification data를 분석한다. Relative mRNA expression 수준은 mathematical formulas ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)를 사용하여 분석한다.

(나) PPAR γ coactivator 1 alpha(PGC-1 α)

PGC-1 α 의 단백질발현은 시험물질에 노출시킨 세포 또는 조직에서 단백질시료를 준비한 후 western blotting방법으로 관찰한다. mRNA 발현을 위해서는 시험물질에 노출시킨 세포 또는 실험동물 조직에서 Trizol reagent를 이용하여 RNA를 추출한 후 정량한다. RNA를 가지고 oligo (dT) primer를 사용하여 PGC-1 α 의 cDNA를 합성한다. SYBR Green PCR Master Mix, cDNA, primers, RNase-free water를 넣고 PCR을 증폭시킨다. Sequence Detector software를 사용하여 Amplification data를 분석한다. Relative mRNA expression 수준은 mathematical formulas ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)를 사용하여 분석한다.

(3) 기초체온 변화

실험동물의 경우 매주 1회, 일정한 시간에 체온계를 직장으로 1 cm 삽입하여 직장온도를 측정하는 방식을 통해 기초체온을 측정한다. 인체의 경우는 기초체온은 아침에 비슷한 시간에 일어나서 가급적 움직임을 최소화하고 말도 적게 한 상태에서 측정한다.

바. 에너지 대사 조절인자

(1) 렙틴/렙틴 조절 유전자

렙틴양은 세포, 실험동물, 인체의 시료에서 ELISA kit를 이용하여 측정할 수 있다. 렙틴과 렙틴조절 유전자(JAK, STAT등)의 단백질발현은 시험물질에 노출시킨 세포, 실험동물, 인체의 시료에서 western blotting방법으로 관찰한다. mRNA 발현을 위해서는 시험물질에 노출시킨 세포, 실험동물, 인체의 시료에서 Trizol reagent를 이용하여 RNA를 추출한 후 정량한다. RNA를 가지고 oligo (dT) primer를 사용하여 렙틴과 렙틴조절 유전자의 cDNA를 합성한다. SYBR Green PCR Master Mix, cDNA, primers, RNase-free water를 넣고 PCR을 증폭시킨다. Sequence Detector software를 사용하여 Amplification data를 분석한다. Relative mRNA expression 수준은 mathematical formulas ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)를 사용하여 분석한다.

(2) 인슐린/IRS/PI3K/Akt 신호체계

인슐린양은 세포, 실험동물, 인체의 시료에서 ELISA kit를 이용하여 측정할 수 있다. 인슐린과 IRS/PI3K/Akt 신호체계의 단백질발현은 시험물질에 노출시킨 세포, 실험동물, 인체의 시료에서 western blotting방법으로 관찰한다. mRNA 발현을 위해서는 시험물질에 노출시킨 세포, 실험동물, 인체의 시료에서 Trizol reagent를 이용하여 RNA를 추출한 후 정량한다. RNA를 가지고 oligo (dT) primer를 사용하여 IRS/PI3K/Akt 신호체계 유전자의 cDNA를 합성한다. SYBR Green PCR Master Mix, cDNA, primers, RNase-free water를 넣고 PCR을 증폭시킨다. Sequence Detector software를 사용하여 Amplification data를 분석한다. Relative mRNA expression 수준은 mathematical formulas ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)를 사용하여 분석한다.

(3) 아디포넥틴

아디포넥틴양은 세포, 실험동물, 인체의 시료에서 ELISA kit를 이용하여 측정할 수 있다. 단백질발현은 시험물질에 노출시킨 세포, 실험동물, 인체의 시료에서 western blotting방법으로 관찰한다. mRNA 발현을 위해서는 시험물질에 노출시킨 세포, 실험동물, 인체의 시료에서 Trizol reagent를 이용하여 RNA를 추출한 후 정량한다. RNA를 가지고 oligo (dT) primer를 사용하여 아디포넥틴의 cDNA를 합성한다. SYBR Green PCR Master Mix, cDNA, primers, RNase-free water를 넣고 PCR을 증폭시킨다. Sequence Detector

software를 사용하여 Amplification data를 분석한다. Relative mRNA expression 수준은 mathematical formulas ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)를 사용하여 분석한다.

(4) AMP-activated protein kinase(AMPK)

AMPK 단백질발현은 시험물질에 노출시킨 세포 또는 실험동물 시료에서 western blotting방법으로 관찰한다. mRNA 발현을 위해서는 시험물질에 노출시킨 세포 또는 실험동물 시료에서 Trizol reagent를 이용하여 RNA를 추출한 후 정량한다. RNA를 가지고 oligo (dT) primer를 사용하여 AMPK의 cDNA를 합성한다. SYBR Green PCR Master Mix, cDNA, primers, RNase-free water를 넣고 PCR을 증폭시킨다. Sequence Detector software를 사용하여 Amplification data를 분석한다. Relative mRNA expression 수준은 mathematical formulas ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)를 사용하여 분석한다.

3. 시험 설계 시 고려사항

가. 시험관시험

(1) 시험계

3T3-L1 등의 지방전구세포를 이용하여 지방세포로 분화하여 사용한다.

(2) 바이오마커

원료의 작용 기전을 설명하기 위하여 예상되는 대사 경로에 위치하고 있는 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

체지방 감소효과를 평가하기 위한 동물실험에는 햄스터(hamster), 랫트(rat), 마우스(mouse) 등의 설치류가 일반적으로 사용된다. 실험동물에서 비만을 유발하는 방법은 식이 유도, 호르몬 변화등으로 유전형질을 변화하지 않는 동물모델과 ob/ob 마우스, db/db 마우스, OLETF (otsuka long-evans tokushima fatty) 랫트 등 유전형질 변이 동물모델이 사용된다. 이 중에서 정상 상태의 실험동물에게 고지방식이 등의 식사로 비만을 유도하는 diet induced obese (DIO) 모델은 사람이 비만해지는 과정과 유사하다는 장점이 있어 가장 보편적인 비만 모델로 사용되고 있다.

※ ob/ob mouse : 식욕 조절 호르몬인 렙틴을 발현하는 ob 유전자에 돌연변이가 나타나면 렙틴이 만들어지지 못하게 되어 과도한 식이 섭취로 인한 비만이 나타나는데, 비만동물모델을 만들 목적으로 ob 유전자에 돌연변이를 유도한 형질전환 실험동물

(2) 바이오마커

실험동물을 대상으로 원료의 경구 투여 또는 식이와 함께 섭취에 의한 체지방량 또는 각종 조직에서의 체지방량의 변화를 측정한다. 원료의 작용 기전을 설명하기 위해 바이오마커의 양, 활성, 단백질 발현, mRNA 발현 등을 측정한다.

(3) 통계처리

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

다. 인체적용시험

(1) 시험대상

(가) 시험대상자(예시)

체질량지수(BMI)를 기준으로 정상($18.5 \sim 24.9 \text{ kg/m}^2$)에서 과체중($25.0 \sim 29.9 \text{ kg/m}^2$)에 속하며 약물을 복용하지 않는 자를 대상으로 한다.

* BMI를 기준으로 $30.0 \sim 34.9 \text{ kg/m}^2$ 에 속하는 자가 일부(윤리적으로 허용되는 범위) 포함될 경우 약물을 복용 하거나 약물 처방이 필요한 자는 반드시 제외되어야 함

(나) 대상자 제외기준(예시)

- 체중
3개월 이내에 5~10% 체중변화/체중 증가/감소가 5kg 이상
- 질병상태
 - 최근 1년 내 비만수술
 - 최근 6개월 내 수술
 - 정신장애(우울증, 조현병), 심리치료
 - 심혈관질환/부정맥/심부전/심근경색/심장조율기 사용 이력
 - 약물치료중이거나 조절 안되는 당뇨병자
 - 위장질환(크론병)/위장절제수술/과민성 대장증후군
 - 간부전
 - 신부전
 - 흡수장애 증후군
 - 자가면역질환

암

갑상선 또는 호르몬 이상증세/이상 갑상선 수치

체중에 영향을 미칠 수 있는 질병

면역시스템이 손상된 경우

빈혈/포르피린 증

췌장질환

뇌혈관질환

섭식장애이력

○ 생리적 상태

임신부, 임신을 준비하는 사람

수유부

출산 후 6개월 이내

○ 약물복용

항비만 약물

약물중독

혈당 강하제/인슐린/당뇨약

이노제

코르티코스테로이드, 항우울제, 항간질제

호르몬피임약(여성)

최근 1년에 피하주사액(헤파린, 인슐린)

에너지대사, 혈당, 식욕, 위장활동에 영향을 주는 약물

탄수화물과 지질대사, 체중과 호르몬에 영향을 끼치는 약물

면역억제제, 양성자펌프 억제제, 수소 차단제, 비스테로이드성 항염증제

○ 생활 습관

과도한 알코올 섭취(> 2 g/일)

올바른 피임방법을 사용하지 않는 여성

최근 몇 년간 다이어트중

최근 3개월 내 체중감소 프로그램 참여

○ 알리지

실험물질에 대한 알리지/부작용

○ 기타

갑상샘 자극 호르몬 ≥ 10 mIU/L

크레아티닌 > 1.5 mg/dL

AST 또는 ALT 수치 > 최대 정상수치의 3배

최근 3개월내 다른 임상실험 참가

연구자에 의해 실험에 부적합하다고 판단되는 사람

(2) 시험설계

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

(3) 바이오마커

주요 바이오마커인 체지방량 또는 체지방율은 DEXA(dual energy X-ray absorption)으로, 내장지방면적 또는 복부지방면적은 CT(computer tomography)등으로 측정한다. 원료의 작용 기전을 설명하기 위해 바이오마커의 양, 활성, 단백질 발현, mRNA 발현 등을 측정한다.

(4) 혼동요인 통제

피험자를 대상으로 인체적용시험 기간 중의 식이 섭취와 운동에 대한 교육을 실시하여 대조군과 시험군 간의 획득 열량 차이를 최소화하며 피험자의 식이에 따른 열량 섭취량과 운동에 따른 열량 소모량을 조사하여 대조군과 시험군 간의 1일 획득 열량에 통계적으로 의미 있는 차이($p < 0.05$)가 있는지를 파악한다.

(5) 통계처리

시험결과는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 판정함

IV

참고문헌

1. 「건강기능식품 기능성 원료 및 기준·규격 인정에 관한 규정」, 식품의약품안전처 고시 제 2018-73호, 2018
2. 건강기능식품(개정판), 김미경, 권오란, 전향숙, 원혜숙, 김지연, 강병철, 제정환, 한재갑, 홍성화, 복혜숙, 김우선, 피재호, 박현용, 김현정, 교문사, 2010
3. 건강기능식품 기능성평가 해설서, 식품의약품안전청, 2008
4. 건강기능식품 시험법 가이드(I), 식품의약품안전청, 2005
5. 대한비만학회. 비만치료지침 2018.
6. 보건복지부·질병관리본부. 국민건강통계-국민건강영양조사 제7기 1차년도(2016). 2018
7. 송미영. 고지방식으로 비만이 유도된 C57BL/6 마우스에서 식이기간에 따른 비만 관련 지표변화에 대한 연구. 한방비만학회지 16:16-26, 2016
8. Al-Muzafar HM, Amin KA. Thiazolidinedione induces a therapeutic effect on hepatosteatosis by regulating stearyl-CoA desaturase-1, lipase activity, leptin and resistin. *Exp Ther Med* 16(4):2938-3948, 2018
9. Boutari C, Perakakis N, Mantzoros CS. Association of adipokines with development and progression of nonalcoholic fatty liver disease. *Endocrinol Metab (Seoul)* 33(1):33-43, 2018
10. Bray GA, Paeratakul S, Popkin BM. Dietary fat and obesity: a review of animal, clinical and epidemiological studies. *Physiol Behavior* 83:549-555, 2004
11. Cha BR, Chae JS, Lee JH, Jang YS, Lee JH, Son JW. The effect of a potential antiobesity-supplement on weight loss and visceral fat accumulation in overweight women. *Korean J Nutr* 36:483-490, 2003
12. Choi J, Kim KJ, Koh EJ, Lee BY. *Antrodia cinnamomea* reduces obesity and modulates the gut microbiota in high-fat diet-fed mice. *Nutrients* 30:9(4):E342, 2017
13. Gwon SY, Ahn JY, Kim TW, Ha TY. *Zanthoxylum piperitum* DC ethanol extract suppresses fat accumulation in adipocytes and high fat diet-induced obese mice by regulating adipogenesis. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 58(6):393-401, 2012
14. Kang MJ, Kim KK, Son BY, Nam SW, Shin PG, Kim GD. The anti-adipogenic activity of a new cultivar, *pleurotus eryngii* var. *ferulae* 'Beesan No. 2', through down-regulation of PPAR γ and C/EBP α in 3T3-L1 cells. *J Microbiol Biotechnol*

- 28;26(11):1836-1844, 2016
15. Kim GW, Lin JE, Blomain ES, Waldman SA. New advances in models and strategies for developing antiobesity drugs. *Expert Opin Drug Discov* 8(6): 655-671, 2013
 16. Lee MS, Shin Y, Jung S, Kim Y. Effects of epigallocatechin-3-gallate on thermogenesis and mitochondrial biogenesis in brown adipose tissues of iet-induced obese mice. *Food Nutr Res* 61(1):1325307, 2017
 17. Mulya A, Haus JM, Solomon TP, Kelly KR, Malin SK, Rocco M, Barkoukis H, Kirwan JP. Exercise training-induced improvement in skeletal muscle PGC-1 α -mediated fat metabolism is independent of dietary glycemic index. *Obesity* 25(4):721-729, 2017
 18. Ortmeyer HK, Goldberg AP, Ryan AS. Exercise with weight loss improves adipose tissue and skeletal muscle markers of fatty acid metabolism in postmenopausal women. *Obesity* 25(7):1246-1253, 2017
 19. Qi R, Yang F, Huang J, Peng H, Liu Y, Liu Z. Supplementation with conjugated linoeic acid decreases pig back fat deposition by inducing adipocyte apoptosis. *BMC Vet Res* 26;10:141, 2014
 20. Riccardi G, Aggett P, Brighenti F, Delzenne N, Frayn K, Nieuwenhuizen A, Pannemans D, Theis S, Tuijtelars S, Vessby B. PASSCLAIM1 – Body weight regulation, insulin sensitivity and diabetes risk, *Eur J Nutr* 43 II 7-II 43 [Suppl 2], 2004
 21. Yang C, Li L, Yang L, Lǎ H, Wang S, Sun G. Anti-obesity and hypolipidemic effects of garlic oil and onion oil in rats fed a high-fat diet. *Nutr Metab (Lond)* 20;15:43, 2018
 22. Vargas D, López C, Acero E, Benitez E, Wintaco A, Camacho J, Carreño M, Umaña J, Jimenez D, Díaz S, Lizcano F. Thermogenic capacity of human periaortic adipose tissue is transformed by body weight. *PLoS One* 19;13(3):e0194269, 2018
 23. <http://apps.who.int/gho/data/view.main.GLOBAL2461A?lang=en>

건강기능식품 기능성 평가 가이드(민원인 안내서) - ‘체지방 감소에 도움을 줄 수 있음’ 편 -

발 행 인 : 이동희

편 집 위 원 장 : 황인균

편 집 위 원 : 이해영, 권용관, 허수정, 서은채, 국주희, 김준영,
이미영, 오재명, 황경미, 방수진, 이요아, 정혜진,
김선후, 송진희

발 행 처 : 식품의약품안전평가원

발 행 일 : 2019년 6월

문 의 처 : 식품위해평가부 영양기능연구팀

(043-719-4416, 4421, 4423, 4428, 4430)

건강기능식품 기능성 평가 가이드

‘체지방 감소에 도움을 줄 수 있음’ 편



【부패. 공익신고】 신고자 및 신고내용은 보호됩니다.

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