

발간등록번호
안내서-0772-01

청림[·]韓[·]세상

건강기능식품 기능성 평가 가이드[민원인 안내서]

- ‘요로 건강에 도움을 줄 수 있음’ 편 -

2017. 7.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

지침서·안내서 제·개정 점검표

명칭	건강기능식품 기능성 평가 가이드-요로 건강에 도움	
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·안 내서 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.		
2017 년 7 월 28 일		
담당자 확 인(부서장)		구 태 현 오 금 순

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 2017년 7월 28일 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 지침서 등의 관리에 관한 규정 제2조)

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

전화번호: 043-719-4416

팩스번호: 043-719-4420

제·개정 이력

연번	제개정번호	승인일자	주요내용
1	안내서-0772-01	2017. 7. 28.	제정

목 차

* 약어	1
I. 서론	2
II. 일반적 사항	2
1. 개요	2
2. 보건학적 중요성	12
III. 기능성 시험방법	13
1. 바이오마커의 선정	13
2. 주요 바이오마커의 측정 방법	14
IV. 참고문헌	21

약 어

AOPP	Advanced oxidation protein product
COX	Cyclooxygenase
ESR	Electron spin resonance spectroscopy
HRBC	Human red blood cell
ICSI	Interstitial cystitis symptoms index
ICPI	Interstitial cystitis problem index
IκB	Inhibitory of kappa B
LPS	Lipopolysaccharides
NF-κB	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
PGE2	Prostaglandin E2
PMN	Peripheral blood mononuclear
TNF-α	Tumor necrosis factor alpha
UTI	Urinary tract infection

I

서론

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

II

일반적 사항

1. 개요

가. 요로의 구조

요로란 소변이 지나가는 길을 뜻하는 말로 크게 상부요로와 하부요로로 나뉘게 된다. 상부요로는 신장의 신우로부터 요관방광 이행부까지를 말하고 하부요로는 방광으로부터 요도입구까지를 뜻한다(그림 1).

1) 신우

신우는 신장에서 만들어진 소변이 처음으로 모이는 공간으로 여러 개의 콩팥잔(calyx)이 합쳐져 연결된다.

2) 요관

성인 요관의 평균 길이는 20-30 cm이며 대체로 키에 비례하고 완만한 S자 곡선을 그리며 아래쪽으로 내려간다. 요관의 연동운동에 의해서 신장에서 방광으로 소변이 운반된다.

3) 방광

방광은 속이 빈 주머니 모양의 근육기관으로 주된 기능은 소변을 저장하는 것이다. 성인 방광의 평균 용적은 약 250~500 mL로 개인차가 있으며 비어 있을 때 두덩결합 뒤쪽에 위치하며 충만해 있을 때는 두덩뼈 위쪽으로 상승하여 쉽게 촉진되거나 타진된다.

4) 요도

방광내의 소변을 체외로 배설하는 기관으로 남성은 전립선을 지나서 음경 내를 주행하여 귀두 끝에서 개구하며 여성은 질의 전방을 주행하여 외요도구로 개구한다. 요도의 길이는 남성은 음경이 있어서 16~20 cm이지만 여성은 3~5 cm로 상당히 짧아 하부요로감염에 보다 취약하다.

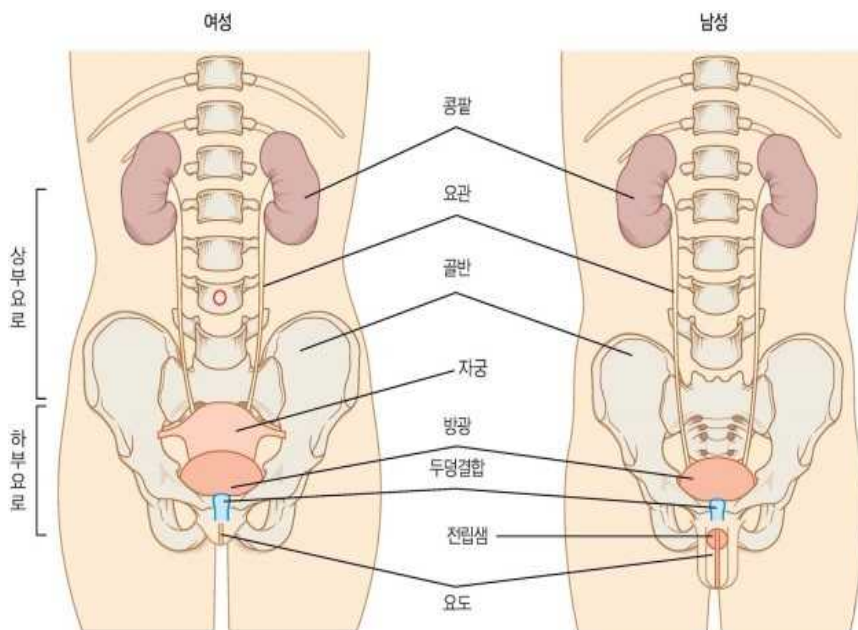


그림 1. 요로

[출처 : 해부·병태 생리로 이해하는 SIM 통합내과학 : 감염 2]

나. 추측 기전 및 관련 인자

1) 요로 감염의 정의

요로감염은 콩팥, 요관, 방광, 요도와 전립샘 등의 요로계에 미생물이 있을 때를 말한다. 또한 청결 채취된 소변에서 세균이 분리될 때 이를 세균뇨라 하고 일반적으로 청결 채취된 소변에서 연속적으로 2번 배양하여 세균 집락수가 $10^5/\text{mL}$ 이상이면 요로감염이 있다고 한다. 농뇨는 백혈구가 소변 내에 존재하는 경우로 염증반응의 증거로 관찰된다.

위요로감염의 경우 패혈증으로 진행되거나 콩팥흉터 등에 의한 콩팥기능저하 같은 합병증으로 치명적인 결과를 초래할 수 있는 중요한 병이다. 아래요로감염의 경우 위요로감염 같이 치명적인 경우는 드물지만 배뇨증상과 불쾌감 등을 유발하여 삶의 질을 저하시킬 수 있다.

2) 요로 감염의 분류

요로감염은 다음과 같은 카테고리로 분류된다.

1. 여성에서의 단순 급성 요로감염(Acute uncomplicated (lower) UTI in women)
2. 단순 급성 신우신염(Acute uncomplicated pyelonephritis)
3. 남성에서의 복잡 요로감염(Complicated UTI and UTI in men)
4. 무증상 세균뇨(Asymptomatic bacteriuria)
5. 재발성 요로감염(Recurrent UTI)

소변검사에서 균의 집락수로 정의한 요로감염은 다음과 같다.

요로감염	균의 집락수
단순 급성 방광염(여성)	$10^3/\text{mL}$ 개 이상의 대장균균 집락수 또는 농도가 동반된 $10^2/\text{mL}$ 개 이상의 비대장균 집락수
단순 급성 신우신염	$10^4/\text{mL}$ 개 이상의 대장균균 집락수 또는 $10^3/\text{mL}$ 개 이상의 <i>staphylococci</i> 집락수
요로감염(남성)	$10^4/\text{mL}$ 개 이상의 세균 집락수
무증상 세균뇨	$10^5/\text{mL}$ 개 이상의 세균 집락수 또는 농도가 동반된 $10^4/\text{mL}$ 개 이상의 세균 집락수

3) 발병 기전

요로감염은 세균이 편모운동에 의해 표적 조직에 접근한 뒤 술(fimbria)을 이용하여 살이나 요로상피세포의 수용기(receptor)에 부착됨으로써 시작된다. 부착된 세균은 침입부위에서 정착, 증식하거나 침입부위에서 주위조직으로 직접 확산하면서 염증을 일으킨다.

요로감염의 원인균으로는 장내세균이 주종을 이루며 그중에서도 대장균이 80~90%를 차지한다. 따라서 요로감염을 일으키는 세균은 대부분 환자 본인의 대변에서 비롯된다고 볼 수 있다. 항문에 가까이 위치한 질 구멍이나 바깥요도구멍 주위는 대변으로부터 나온 장내세균에 의해 오염된 뒤 상행성 전파를 일으키는 정거장 역할을 한다. 한편 젊은 여성의 요로감염에서 비교적 자주 발견되는 *Staphylococcus saprophyticus*는 피부가 주 공급원으로서 중간기착지인 질을 거쳐 감염되는 것으로 추정된다. 요로감염을 일으키는 세균은 다양하나 요로감염의 원인균으로서 가장 자주 발견되며 장내세균의 대표적인 대장균을 표본으로 설명한다(그림 2).

대장균은 이미 유전체의 염기서열 연구가 완결되어 있는 그람음성막대

균으로서 장내세균에 속한다. 대장균의 숙주에 대한 부착력은 대장균이 갖고 있는 표면의 술, 털(pili)의 수와 기능에 좌우되며 독성은 대장균이 갖고 있는 독소에 의해 결정된다. 대장균은 그 표면에 돌출되어 있는 3가지 부속기를 갖고 있는데 첫째, 운동을 담당하는 편모(flagella), 둘째, 유전물질의 접합통로(conjugated transfer) 역할을 하는 술, 셋째, 전이증식(colonization) 과정 중 부착을 담당하는 술이다.

전이증식을 일으키는 술에는 질이나 아래요로점막에 부착을 잘 일으키는 1형(Type 1)이 있고 콩팥의 요집합계점막에 잘 부착되는 p술이 있다. 이처럼 술의 형태에 따라 기능이 달라진다. 같은 세균이라도 주위환경에 따라 술 형태의 유전자 발현이 달라지는 것은 숙주가 요로점막의 sIgA를 이용하여 세균을 견제하는 것을 피하기 위한 대장균이 가진 고유의 기능이다.

보통 대장균 표면의 술의 수는 100~300개 정도이며 이 술은 항원성을 가지고 특정 수용체에만 부착될 수 있다. 술은 mannose에 의해 불활성화되는 mannose sensitive형(Type 1)과 그렇지 않은 mannose resistant형(p fimbria)로 나뉘는데 이로 인해 숙주조직에 있는 술수용체가 mannose를 갖고 있는지 여부와 더불어 대장균의 술 형태가 감염력을 결정하는 요인이 된다. 이 술들은 요로점막의 표면에 존재하는 당지질 수용체와 결합하여 감염으로 이어지므로 요로감염의 기전을 이해하는데 매우 중요하다.

이 술들의 유전자 발현은 주위환경, 즉 온도, 당의 존재 유무, 특정 아미노산의 존재, 특정 항생제에 대한 기왕의 노출 정도 등에 의해 조절되므로 이는 대장균이 주위환경에 적응하여 감염을 일으키는 능력, 즉 병원성을 결정하는 기전이 된다. 따라서 숙주의 대장 내 환경에 따라 대장균을 포함한 장내세균의 술의 성질이 달라질 수 있다는 사실도 개인별 요로감염의 감수성 차이를 설명하는 근거가 된다. 또한 질과 요도의 정상균 집락의 종류에 의해서도 영향을 받는데 정상균 집락의 대사산물이 미치는 영향, 예를 들어

pH의 변화 등이 요로감염에 대한 감수성을 증감시킬 수 있다.

세균의 부착력과 더불어 대장균의 독력(virulence)도 요로감염의 감수성을 결정하는 요인이 되는데 여기에는 혈청형을 결정하는 항원인 O형, K형, H형의 발현 정도가 세균의 항혈청 저항력과 더불어 중요한 인자로 꼽힌다.

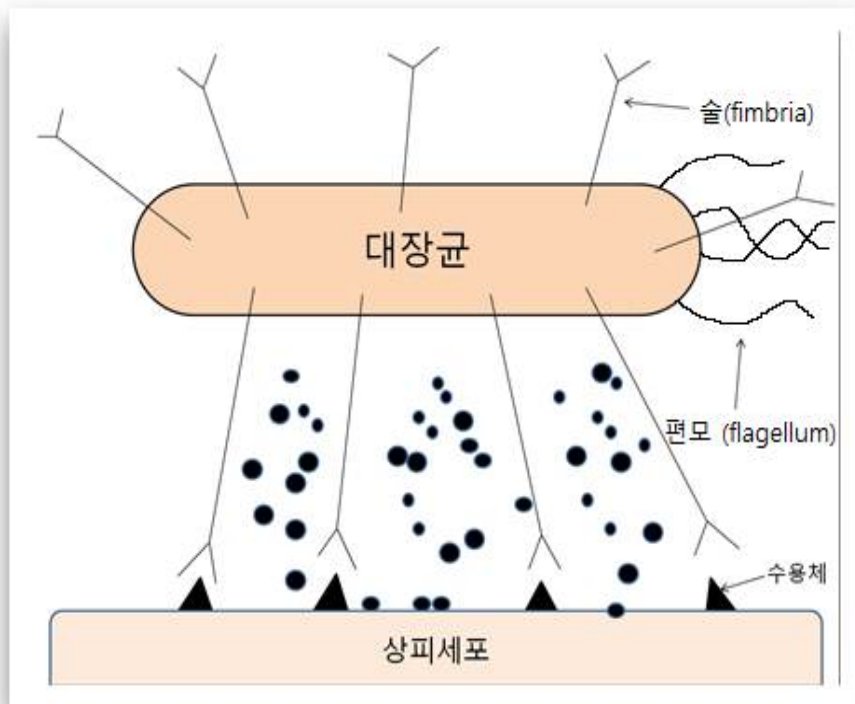


그림 2. 대장균의 부착 기전

4) 방어 기전

요로감염의 숙주인 인체가 갖고 있는 요로감염의 방어기전으로는 소변의 항균작용, 요로계의 구조 및 기능에 의한 방어, 면역기능에 의한 방어로 대변할 수 있다.

가) 소변의 감염 억제 능력

물론 소변은 세균의 배양액 역할을 할 수도 있으나 소변의 삼투압, 요소 농도, 유기산의 농도가 일정 수준 이상으로 유지되면 세균을 억제하거나 소멸시킬 수 있으며 소변의 pH가 낮을 때도 세균 억제능력이 있다. 소변의 낮은 pH는 직접적으로 세균을 억제하기도 하지만 간접적으로는 요중 유기산의 비이온화를 조장하여 세균을 억제하는데, pH 5에서 유기산은 항균작용이 강한 비이온화형으로 바뀐다. 또한 정상소변에 들어있으며 Tamm-Horsfall 단백질로 알려져 있는 요점액성 단백질과 소당류는 대장균이 요로점막에 착상하는 것을 억제한다.

나) 감염 억제를 위한 요로의 특수한 해부학적 구조

요로감염은 주로 외부의 세균이 요도를 거쳐 상행하여 발생한다. 따라서 요로계의 최상부인 콩팥에서 만들어져 하행한 뒤 요도를 통해 배출되는 소변은 하행배설이라는 기계적 기전을 통해 상행감염을 방지하는 중요한 방어기전이 된다. 콩팥잔과 깔때기에 모인 소변은 정수압, 중력 그리고 요관의 꿈틀 운동에 의해 쉽게 방광으로 내려가게 되므로 아래요도로부터 세균이 올라오는 것을 견제하고 방광에 모인 소변은 방광 수축 시 진행되는 방광삼각 수축으로 인해 소변의 역류를 방지하는 기전이 강화된 뒤 체외로 배출되게 되어 있다. 한편 이 과정에서 수반되는 위요로 내의 정수압증가를 막기 위해 콩팥유두의 해부학적 구조는 콩팥잔 내압이 증가할 때 틈새 형태로 변해 역류를 방지하여 세균이 콩팥속질로 침투하는 것을 방지할 뿐만 아니라 상대적으로 세균에 빈번하게 노출되기 쉬운 아래요로의 점막과 근육층은 위 요로에 비해 두터워 세균에 대한 기계적 장벽을 강하게 형성하게 된다. 그리고 여성의 경우 요로감염을 일으키는 장내세균의 중간 기착지에 해당하는 질은 원래 갖고 있는 정상균 집락과 적정 산도 (pH 5)를 유지하여

병원성 균의 증식을 견제한다.

다) 소변내의 면역기능(IgA, IgG, IgM)

따라서 소변량을 저하시키는 발열이나 기타 원인에 의한 탈수, 방광염에 의한 방광삼각 유연성의 감소, 내시경검사 등에 의한 기계적 손상, 당뇨병이나 악성종양 같은 소모성 병에 의한 면역기능저하는 정상적인 방어기전을 약화시켜 쉽게 요로감염이 시작되거나 확산될 수 있다.

5) 부착방해

가) 부착방해 효과

세균이 요로상피세포에 부착하는 과정은 감염의 시작에 필수적인 과정 중 하나이다. 이러한 작용은 세균의 부착 성향, 상피 표면의 수용 성향, 양 표면의 유동체에 따라 달라진다.

대장균의 숙주에 대한 부착력은 대장균이 갖고 있는 표면의 술, 털(pili)의 수와 기능에 좌우되며 독성은 대장균이 갖고 있는 독소에 의해 결정된다.

나) 적혈구 응집 시험

대장균의 술은 mannose에 의해 불활성화되는 mannose sensitive형(Type 1)과 그렇지 않은 mannose resistant형(p fimbria)로 나뉘는데 이로 인해 숙주조직에 있는 술수용체가 mannose를 갖고 있는지 여부와 더불어 대장균의 술 형태가 감염력을 결정하는 요인이 된다. 이는 적혈구 응집 시험을 통해 이러한 mannose에 반응하는 술의 응집정도를 확인하여 대장균의 부착정도를 확인할 수 있다.

6) 요산성화

가) 소변의 pH

가장 중요한 소변의 감염억제 기전은 소변의 삼투압, 요소농도, 유기산의 농도, 소변의 산도로 삼투압, 요소, 유기산의 농도가 일정수준 이상으로 유지되면 세균을 억제하거나 소멸시킬 수 있으며 소변의 pH가 낮을 때도 세균 억제능력이 있다.

7) 항염증효과

가) 염증 관련 마커

임상에서 요로감염 치료의 효과를 확인하는 데에는 증상의 완화가 중요하게 작용하는데 병원체에 의한 염증반응이 이에 관여한다. 최근에 항염증 작용이 이러한 증상의 완화에 큰 영향을 미칠 수 있다는 것이 알려졌다. NF- κ B(nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)는 세포 성장과 염증반응과 관련된 유전자의 발현을 조절하는 전사 인자이다. 다양한 염증성 사이토카인, 병리적 미생물, 세균 LPS는 NF- κ B의 빠른 인산화 반응을 자극하고 NF- κ B가 핵으로 이동하여 염증성 사이토카인, 케모카인의 조절을 유도한다. 따라서 NF- κ B의 활성화는 TNF- α 와 대장균과 연관된 다른 사이토카인의 전사를 증가시킨다.

나) COX 억제, PGE 분비

Cyclooxygenase(COX-1과 COX-2)는 arachidonic acid를 prostanoid fatty acid(prostaglandin, PGE2)로의 대사에 중요한 역할을 한다. PGE2의 증가는 많은 병리적 상태와 연관이 있고 특히 염증과 연관이 많다. COX 억제는 PGE2의 분비를 줄여줌으로써 항염증 효과가 있다.

8) NF- κ B

NF- κ B는 DNA의 전사와 사이토카인 생성, 세포의 생존을 조절하는 단백질 집합체이다. NF- κ B는 대부분의 동물 세포 종류에서 관찰되고 스트레스, 사이토카인, 유리기(free radical), 자외선, 산화된 LDL, 세균, 바이러스 항원 등의 자극에 반응하는 세포 반응에 연관되어있다. NF- κ B는 감염에 면역반응을 조절하는 중요한 역할을 한다. NF- κ B의 잘못된 조절은 암, 염증반응, 자가 면역질환, 패혈성 쇼크, 바이러스 감염, 잘못된 면역반응과 관련되어있다.

9) 항산화효과

가) 산화 스트레스(AOPP)

산화 스트레스의 감소는 면역작용을 조절하여 인체의 면역체계를 상승시키고 요로감염에 대항할 수 있는 잠재적인 기능을 할 수 있다. AOPP(advanced oxidation protein product)는 산화제에 의한 단백질 손상을 계산하고 산화 스트레스를 줄이는 치료 계획의 잠재적인 능력을 예측하는 마커로 사용된다.

2. 보건학적 중요성

많은 여성들이 만성적으로 재발하는 요로감염에 시달리고 있다. 의학적인 치료로는 항생제의 장기복용이 필요할 수 있으나 이는 내성을 유발할 수 있어 치료가 어려워 고통 받는 사람들이 많다.

요로감염의 증상은 감염부위에 따라 다르다. 위요로감염인 신우신염은 급성기에는 열, 오한, 옆구리 통증이 오고 경우에 따라 방광자극증상, 즉 배뇨통과 잦은 배뇨, 야간뇨, 절박뇨 등이 나타나며 심한 배뇨증상과 쇠약감 같은 전신증상을 보인다. 신우신염 환자에서는 콩팥과 소화기관 사이의 상관관계, 즉 장기의 위치와 신경 분포의 인접성으로 인해 욕지기, 구토나 설사와 같은 소화 증상이 자주 동반된다. 나이가 어릴수록 증상이 비특이적이며 영유아에서는 뇌막자극 증상이나 소화 증상 또는 발육저하와 같은 다소 엉뚱한 증상으로 나타날 수 있고 신생아에서는 면역체계의 불완전성으로 인해 전신적인 패혈증으로 나타나기도 한다.

Ⅲ

기능성 시험 방법

1. 바이오마커의 선정

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

구분	바이오마커	측정 가능한 연구유형		
		시험관	동물	인체
부작방해	부작방해 효과	O	O	O
	적혈구 응집 시험	O	O	O
요산성화	소변 pH		O	O
항염증 효과	염증관련 마커	O	O	O
	COX 억제, PGE2 분비	O	O	
	NF-κB	O	O	
항산화 효과	항산화 용량		O	O
	산화 스트레스(AOPP)		O	O
임상관련 마커	농뇨			O
	세균뇨			O
	요로감염 증상			O

2. 주요 바이오마커의 측정방법

가. 부착방해 관련 평가지표

1) 부착방해 효과

시험관 실험의 경우 Human T24 epithelial cell-line 등을 이용한다. 세균을 Luria-Bertani broth 5% v/v를 포함한 사람의 소변에서 하룻밤 동안 키운 뒤 원심 분리하여 세균 세포를 모으고 McCoy medium에 재부유 한다. 그 후 T24 cell line의 monolayer에 첨가하고 37℃에서 배양한다. Phosphate buffered saline에 세척 후 methanol에 고정시키고 Gemasa 20% v/v로 염색한 뒤 현미경으로 관찰한다. T24 cell 당 세균의 평균수는 100 T24 cell로 계산하고 adhesion index로 기록한다.

2) Hemagglutination test

P-fimbria와 Type 1 pili의 생산을 증폭시키기 위해 세균들을 37℃에서 하룻밤 동안 계대 배양한다. 소변을 20분간 이들과 함께 배양하고 mannose resistant human red blood cell(HRBC) assay를 이용해 적혈구의 응집능력을 확인한다.

3% w/v HRBC의 suspension을 첨가하여 휘젓는다. 각 well의 hemagglutination 존재 유무를 현미경으로 검사한다. HRBC가 응집되지 않았다면 시험시료의 부착방해 효과로 생각할 수 있다.

나. 요산성화

1) 소변 pH

인체적용시험과 동물시험의 경우, 소변검체를 채취하여 소변의 pH를 pH meter(유리전극과 비교전극으로부터 얻어지는 전위차, 변동을 직류 또는 교류 증폭으로 측정)로 측정한다.

다. 항염증 효과

1) 염증 관련 마커

시험관시험은 human peripheral blood mononuclear(PMN) cells의 IL-1 β 와 IL-6의 분비를 자극하기 위해 *E. coli* LPS로 처리하고 분비된 사이토카인은 ELISA(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)로 계산한다.

TNF- α 의 분비 확인을 위해 human PMN cell을 37°C에서 시험시료와 배양된다. Phosphate buffered saline에 세척하고 37°C에서 10% fetal bovine serum(FBS)을 포함한 EMEM(Eagle' minimal essential medium)에 배양한 후 분비된 TNF- α 는 ELISA kit로 분석된다.

동물시험 및 인체적용시험의 경우 실험군, 위약군에 각각 시험시료 처리 후 소변, 혈청검사를 통해 cytokine, interleukin, TNF를 분석한다.

2) COX 억제, PGE2 분비

COX-2 assay는 PGE2의 생산을 계산함으로써 설명된다.

Reaction mixture를 Tris-Cl buffer, heme, phenol, epinephrine, COX-2 효소 등과 시험시료 및 대조군을 준비한다. 반응은 arachidonic acid로 시작하여 배양하고 인도메타신으로 멈춘 후 ELISA kit를 이용해 PGE2를 계산한다. 시료들은 NaCl, bovine serum albumin, sodium azide, Na₄EDTA를 포함

한 potassium phosphate buffer로 희석하여 Goat antimouse IgG로 코팅된 96 well plate에 옮겨 PGE2-acetylcholinesterase, primary PGE2 항체를 추가한다. 그 후 하룻밤동안 배양하고 혼합물은 제거되며 sodium azide와 Tween 20를 포함한 potassium phosphate buffer에 희석한다. Ellman' reagent가 추가하여 37℃에서 3시간동안 배양하면 PGE2의 standard curve가 만들어진다. 그 결과를 대조군과 최종 비교한다.

3) NF- κ B

Jurkat-derived clone(human T lymphocytes), 5.1-cell line 등에 안정적으로 firefly luciferase gene과 NF- κ B 활성화에 의존하는 promoter를 포함한 plasmid를 형질 주입한다.

NF- κ B의 전사를 관찰하기 위해 5.1 cell은 시험시료와 대조군을 30분간 배양하고 6시간동안 TNF- α 로 자극하며 배양한다. 그 후 Tris-phosphate, MgCl₂, DTT, Triton X-100, glycerol에 첨가 후 Luminometer를 이용해 Luciferase activity을 계산한다.

라. 항산화 효과

1) 항산화 용량

수소 원자나 전자가 free radical을 만드는 능력을 계산하기 위해 potassium nitrosodisulphonate(Fremy's salt)를 electron spin resonance spectroscopy(ESR)를 이용하여 관찰한다. Fremy's salt와 희석된 시험시료를 혼합 후 5분간 둔다. Fremy's radical의 low field resonance의 spectrum을 ESR을 이용하여 5분 후 기록한다. 신호의 강도는 대조군으로서 증류수와 비교하여 계산한다. Spectrometer를 이용하여 spectra를 얻는다. 항산화 용량은 Fremy's radicals이 감소된 정도로 표현한다.

2) 산화스트레스(AOPP)

인체적용시험에서 피험자의 정맥체혈을 통해 AOPP를 측정하고 동물시험의 경우 천자를 통해 AOPP를 검사한다.

마. 요로감염 임상관련 인자

1) 농뇨, 세균뇨

가장 정확한 소변 검사의 시기는 식사 1~2시간 후 1시간 안에 검사하는 것이 오류가 가장 적다. 정확한 검사를 위해서는 benzalkonium chloride 또는 hexachlorophene을 이용하여 요도입구를 깨끗이 닦아낸 후 중간뇨를 채취하여야 한다.

농뇨의 정의는 현미경상 HPF(high power field)당 5개 이상의 백혈구가 관찰되는 것을 의미한다. Squamous epithelial cell이 함께 관찰된다면 검체가 오염되었을 가능성이 크다.

세균뇨는 세균에 소변에 존재함을 의미한다. 일반적으로 한 종류의 세균이 CFU(colony forming unit)당 10^5 개 이상 관찰될 때 확인할 수 있으나 임상적으로 이보다 적은 양의 세균이 관찰되었다 하더라도 감염의 가능성을 제외할 수는 없다. 다양한 종류의 유기체들이 검출되었다면 오염되었을 가능성이 크다.

2) 요로감염 증상

요로감염 증상의 유무는 환자의 주관적인 호소와 의사의 이학적 검사를 통해 확인할 수 있다. 기 인정된 원료의 대다수의 논문에서 요로감염의 증상을 배뇨통, 빈뇨 등의 증상 유무로만 판단한 경우가 대부분이었는데 일부에서 ICSI(Interstitial cystitis symptoms index), ICPI(interstitial cystitis problem index)를 활용한 경우도 있었다.

ICSI/ICPI의 목적은 간질성 방광염의 주요증상을 파악하고, 잠재적 간질성 방광염 환자를 사정할 수 있도록 고안된 것으로, 도구 개발자들과 다른 연구자들에 의해 도구의 신뢰성과 타당성이 검증되었다. 이 도구는 증상지수(ICSI) 4항목, 문제 지수(ICPI) 4항목으로 구성되어 있어 대상자의 증상 정도와 대상자가 지각한 문제 정도를 동시에 파악할 수 있다(그림 3).

그림. 3 한국판 간질성 방광염 증상지수/문제지수(ICSI/ICPI-K)

다음 질문은 간질성 방광염의 증상과 그 심한 정도를 알기 위한 것입니다. 지난 1달 동안의 경험 중 자신에게 가장 적합한 답을 골라 해당 숫자에 V를 해주세요
간질성 방광염 증상지수 (ICSI-K)

1. 갑자기 참을 수 없어 배뇨를 하는 일이 얼마나 자주 있습니까?

- ◎ 전혀 없다
① 5번 중 1번 미만
② 2번 중 1번 미만
③ 2번 중 1번 정도
④ 2번 중 1번 이상
⑤ 거의 항상 그렇다

2. 소변을 본 후 2시간 이내에 또 가야 되는 경우가 있습니까?

- ◎ 전혀 없다
① 5번 중 1번 미만
② 2번 중 1번 미만
③ 2번 중 1번 정도
④ 2번 중 1번 이상
⑤ 거의 항상 그렇다

3. 밤에 잠자기 시작하여 아침에 일어날 때까지 몇 번 정도 소변을 봅니다?

- ◎ 0회 ① 1회 ② 2회 ③ 3회 ④ 4회 ⑤ 5회 또는 그 이상

4. 방광(하복부)에 통증이나 타는 느낌이 있습니까?

- ◎ 전혀 없다
② 가끔 있다
③ 때때로 있다
④ 매우 자주 있다
⑤ 거의 항상 있다

증상지수 총점 ()

간질성 방광염 문제지수(ICPI-K)

5. 깨어있는 동안 자주 소변을 보는 것이 얼마나 힘들니까?

- 힘들지 않다
- ① 아주 조금 힘들다
- ② 조금 힘들다
- ③ 힘들다
- ④ 심하게 힘들다

6. 밤에 소변을 보기 위해 일어나는 일이 얼마나 힘들니까?

- 힘들지 않다
- ① 아주 조금 힘들다
- ② 조금 힘들다
- ③ 힘들다
- ④ 심하게 힘들다

7. 갑자기 소변을 참을 수 없는 것이 얼마나 힘들니까?

- 힘들지 않다
- ① 아주 조금 힘들다
- ② 조금 힘들다
- ③ 힘들다
- ④ 심하게 힘들다

8. 방광(하복부)이 타는 것처럼 느끼고, 아프고, 불쾌감을 느끼거나 짓누르는 듯한 느낌으로 얼마나 힘이 듭니까?

- 힘들지 않다
- ① 아주 조금 힘들다
- ② 조금 힘들다
- ③ 힘들다
- ④ 심하게 힘들다

문제지수 총점 ()

[출처: 여성건강간호학회지; 14(4); 290-296 (2008)]

1. Lowe FC, Fagelman E. Cranberry juice and urinary tract infections: what is the evidence? *Urology* 57:407-13. (2007)
2. Sobota AE. Inhibition of bacterial adherence by cranberry juice: potential use for the treatment of urinary tract infections. *J Urol* 131:1013-6 (1984)
3. Di Martino P, Agniel R, David K, Templer C, Gaillard JL, et al. Reduction of *Escherichia coli* adherence to uroepithelial bladder cells after consumption of cranberry juice: a doubleblind randomized placebo-controlled cross-over trial. *World J Urol* 24:21-7. (2006)
4. Raz R, Chazan B, Dan M. Cranberry juice and urinary tract infection. *Clin Infect Dis* 38:1413-9. (2004)
5. Zafriri D, Ofek I, Adar R, Pocino M, Sharon N. Inhibitory activity of cranberry juice on adherence of type 1 and type P fimbriated *Escherichia coli* to eucaryotic cells. *Antimicrob Agents Chemother* 33:92-8. (1989)
6. Ofek I, Goldhar J, Zafriri D, Lis H, Adar R, Sharon N. Anti-*Escherichia coli* adhesin activity of cranberry and blueberry juices. *N Engl J Med* 324:1599. (1991)
7. Howell AB, Vorsa N, Der Marderosian A, Foo LY. Inhibition of the adherence of P-fimbriated *Escherichia coli* to uroepithelial cell surfaces by proanthocyanidin extracts from cranberries. *N Engl J Med* 339:1085-6. (1998)

8. Terris MK, Issa MM, Tacker JR. Dietary supplementation with cranberry concentrate tablets may increase the risk of nephrolithiasis. *Urology* 57:26-9. (2001)
9. Foo LY, Lu Y, Howell AB, Vorsa N. The structure of cranberry proanthocyanidins which inhibit adherence of uropathogenic P-fimbriated *Escherichia coli* in vitro. *Phytochemistry* 54:173-81. (2000)
10. Gupta K, Chou MY, Howell A, Wobbe C, Grady R, Stapleton AE. Cranberry products inhibit adherence of p-fimbriated *Escherichia coli* to primary cultured bladder and vaginal epithelial cells. *J Urol* 177:2357-60. (2007)
11. MacMicking J, Xie QW, Nathan C. Nitric oxide and macrophage function. *Annu Rev Immunol* 15:323-50. (1997)
12. Rhee KY, Charles M. Antimicrobial mechanisms of cranberry juice. *Clin Infect Dis* 39:877. (2004)
13. Huang Y, Nikolic D, Pendland S, Doyle BJ, Locklear TD, Mahady GB. Effects of cranberry extracts and ursolic acid derivatives on P-fimbriated *Escherichia coli*, COX-2 activity, pro-inflammatory cytokine release and the NF-kappabeta transcriptional response in vitro. *Pharm Biol* 47:18-25. (2009)
14. Youdim KA, McDonald J, Kalt W, Joseph JA. Potential role of dietary flavonoids in reducing microvascular endothelium vulnerability to oxidative and inflammatory insults. *J Nutr Biochem* 13:282-8. (2002)
15. J.-P. Lavigne; G. Bourg; C. Combescure; H. Botto; A. Sotto ; In-vitro and in-vivo evidence of dose-dependent decrease of uropathogenic *Escherichia coli* virulence after consumption of commercial *Vaccinium macrocarpon* (cranberry) capsules. *Clin Microbiol Infect* 14:350-355. (2008)

16. M. Karlsson, J. Jass, Lactobacilli differently regulate expression and secretion of CXCL8 in urothelial cells. *Beneficial Microbes*. 3(3):195-203. (2002)

17. I Palikova, J Vostalova, A Zdarilova; A Svobodova; P Kosina; R Vecera; D Stejskal; J Proskova; J Hrbac; P Bednar; V Maier; D Cernochova; V Simanek ;J Ulrichova ; Long-Term Effects of Three Commercial Cranberry Products on the Antioxidative Status in Rats: A Pilot Study. *J. Agric. Food Chem*. 58:1672-1678. (2010)

18. Sobota AE. Inhibition of bacterial adherence by cranberry juice: potential use for the treatment of urinary tract infections. *J Urol* 131:1013-6. (1984)

19. J.-P. Lavigne; G. Bourg; C. Combescure; H. Botto; A. Sotto ; In-vitro and in-vivo evidence of dose-dependent decrease of uropathogenic *Escherichia coli* virulence after consumption of commercial *Vaccinium macrocarpon* (cranberry) capsules. *Clin Microbiol Infect* 14:350-355. (2008)

20. Comalada M, Camuesco D, Sierra S, Ballester I, Xaus J, Galvez J, et al. In vivo quercitrin anti-inflammatory effect involves release of quercetin, which inhibits inflammation through down-regulation of the NF- κ B pathway. *Eur J Immunol* 35:584-592. (2005)

21. Mi Joung K; , Jeong O;, Jung Hee K; Ho-Kyung K ; Effects of freeze-dried cranberry powder on serum lipids and inflammatory markers in lipopolysaccharide treated rats fed an atherogenic diet. (*Nutr Res Pract*) 5(5):404-411. (2011)

22. Kontiokari T, Sundqvist K, Nuutinen M, Pokka T, Koskela M, Uhari M. Randomised trial of cranberry-lingonberry juice and *Lactobacillus* GG drink for the prevention of urinary tract infections in women. *BMJ* 322:1571-1573. (2001)

23. Stothers L. A randomized trial to evaluate effectiveness and cost effectiveness of naturopathic cranberry products as prophylaxis against urinary tract infection in women. *Can J Urol* 9:1558-62. (2002)
24. Stapleton AE, Dziura J, Hooton TM, Cox ME, Yarova-Yarovaya Y, Chen S, et al. Recurrent urinary tract infection and urinary *Escherichia coli* in women ingesting cranberry juice daily: a randomized controlled trial. *Mayo Clin Proc* 87:143-750 (2012)
25. Wing DA, Rumney PJ, Preslicka CW, Chung JH. Daily cranberry juice for the prevention of asymptomatic bacteriuria in pregnancy: a randomized, controlled pilot study. *J Urol* 180:1367-072. (2008)
26. Barbosa-Cesnik C, Brown MB, Buxton M, Zhang L, DeBusscher J, Foxman B. Cranberry juice fails to prevent recurrent urinary tract infection: results from a randomized placebo-controlled trial. *Clin Infect Dis* 52:23-230. (2011)
27. McMurdo ME, Argo I, Phillips G, Daly F, Davey P. Cranberry or trimethoprim for the prevention of recurrent urinary tract infections? A randomized controlled trial in older women. *J Antimicrob Chemother* 63:389-395. (2009)
28. Beerepoot MA, ter Riet G, Nys S, van der Wal WM, de Borgie CA, de Reijke TM, et al. Cranberries vs antibiotics to prevent urinary tract infections: a randomized double-blind noninferiority trial in premenopausal women. *Arch Intern Med* 171:1270-n8. (2011)
29. Walker EB, Barney DP, Mickelsen JN, Walton RJ, Mickelsen RA. Cranberry concentrate: UTI prophylaxis. *J Fam Pract* 45:167-78. (1997)

30. Efros M, Bromberg W, Cossu L, Nakeleski E, Katz AE. Novel concentrated cranberry liquid blend, UTI-STAT with Proantinox, might help prevent recurrent urinary tract infections in women. *Urology* 76:841-65. (2010)
31. McMurdo ME, Bissett LY, Price RJ, Phillips G, Crombie IK. Does ingestion of cranberry juice reduce symptomatic urinary tract infections in older people in hospital? A double-blind, placebo-controlled trial. *Age Ageing* 34:256-461. (2005)
32. Kirchhoff M, Renneberg J, Damkjaer K, Pietersen I, Schroll M. Can ingestion of cranberry juice reduce the incidence of urinary tract infections in a department of geriatric medicine? *Ugeskr Laeger* 163:2782-n6. (2001)
33. Dignam R, Ahmen M, Denman S. The effect of cranberry juice on UTI rate in a long-term care facility. *J Am Geriatr Soc* 45:169. (1997)
34. Takahashi S, Hamasuna R, Yasuda M, Arakawa S, Tanaka K, Ishikawa K, et al. A randomized clinical trial to evaluate the preventive effect of cranberry juice (UR65) for patients with recurrent urinary tract infection. *J Infect Chemother* 19:112-27. (2013)
35. Haverkorn MJ, Mandigers J. Reduction of bacteriuria and pyuria using cranberry juice. *JAMA* 272:590. (1994)

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

발 행 인 : 손여원

편 집 위 원 장 : 홍진환

편 집 위 원 : 오금순, 권용관, 이화정, 허수정, 서일원, 구태현,
문명희, 신용운, 황경미, 오재명, 강윤정, 임푸름,
배민주, 정태용

발 행 처 : 식품의약품안전평가원

발 행 일 : 2017. 7. 28

문 의 처 : 영양기능연구팀(043-719-4416)
