KOREAN J. FOOD SCI. ANI. RESOUR. Vol. 23. No. 2, pp. 137~144(2003)

KoSFA
1978

초유로부터 분리 · 정제된 IGFs의 안전성 평가에 관한 연구

조양희 · 이수원[1] · 정명섭 · 백승화[2] · 제갈승주[3] · 박강용*
한국보건산업진흥원, [1]성균관대학교 식품생명자원학과, [2]충북과학대학 식품생명과학과,
[3]원광보건대학 임상병리과

Safety Evaluation of IGFs Separated and Refined from Colostrum

Yang Hee Cho, Soo Won Lee[1], Myung Sub Chung, Seung Hwa Baek[2], Seung Joo Jekal[3] and Gang Yong Park*
Korea Health Industry Development Institute,
[1]Department of Food & Life Resource, Sung Kyun Kwan University,
[2]Department of Food Science & Biotechnology, Chungbuk Provincial University of Science & Technology
[3]Department of Clinical Pathology, Wonkwang Health Science College

Abstract

This study was carried out to investigate safety evaluation of IGFs separated and refined from bovine milk and commercial recombinant human IGFs. In order to evaluate toxicity of these samples, acute toxicity test and short term toxicity test were investigated with IGF-I separated and refined from colostrum and commercial recombinant human IGF-I from R&D systems company. For acute toxicity test, we selected recombinant human IGF-I from R&D systems company and establish one control group and three dose-level groups(0, 10, 20 and 50 ㎍ per rat). We have intravenously injected tail of rats with selected sample once. After 20 days, pathological cellular tissue analyses were investigated with liver, kidney and spleen of 12 rats in all test groups. However, Morbid tissue and abnormal statistical results were not discovered in all cellular tissues. For short term toxicity test, we selected IGF-I separated and refined from colostrum and establish one control group and three dose-level groups(0, 5, 10 and 15 ㎍/day per rat). Rats were orally injected with selected sample once a day during two weeks. After short term toxicity test period, Pathological cellular tissue analyses were investigate with liver, kidney and spleen of 12 rats in all test groups. However, Morbid tissue and abnormal statistical results were not discovered in all cellular tissues. These results suggest that IGF-I treated groups show no significant toxicological findings with changes of body weight, food consumption, water consumption, and pathological findings compared with control groups.

Key words : IGFs, Acute toxicity, Short term toxicity, Pathological cellular tissue analyses

서 론

최근 식생활의 변화와 소득수준의 향상에 따라 기능성 식품에 대한 관심이 증가되었고 소비자들이 식품을 선택하는 기준도 식품의 영양적 가치나 기호성에서 식품이 지닌 생리활성기능 위주로 변화되고 있다. 이러한 기능성 식품에 대한 소비자들의 관심과 인식이 높아짐에 따라 우유의 주요 생리활성물질을 함유하고 있는 whey protein의 기능성 물질에 대한 연구도 활발히 진행되고 있으며 whey protein의 주요 성분이라 할 수 있는 β-lactoglobulin, α-lactalbumin나 lactoferrin 등은 영 · 유아용조제분유, 영양보충용 식품, 환자용 식품, 화장품, 의약품와 동물치료제 등의 원료로서의 활용이 점차 증가하고 있다. 또한 그 외에도 여러 종류의 proteins 또는 peptides가 유용하게 활용되어지고 있는 추세이다. 이러한 whey protein 내에 존재하는 생리활성물질 중에 인슐린유사성장인자(Insulin-like Growth Factors: IGFs)는 우유 및 인유를 포함한 포유동물의 젖에 존재하는 성장촉진물질로서 미량이 존재하나 임신초기부터 태아의 초기성장에 중요하게

***Corresponding author** : Gang-Yong Park, Korea Health Industry Development Institute, 57-1, Noryangjin-dong, Dongjac-ku, Seoul 156-800, Korea. Tel: 82-19-9208-3714, Fax: 82-2-2194-7449, E-mail: parkgy@khidi.or.kr

관여하는 생리조절인자이며 특히 어린이의 신경조직, 내장기관, 근육조직 등의 성장발달에 영향을 주고 성인에게도 노화에 의하여 촉진되는 골다공증, 골절 등이 체내에서 합성되는 IGFs의 결핍과도 관련이 있는 것으로 알려지고 있으므로 (Tomas et al., 1996) 천연활성이 풍부한 IGFs를 다량 함유하고 있는 초유를 비롯한 유제품의 섭취를 통한 건강증진효과를 기대할 수 있을 것이다.

기능성 식품이라는 용어는 1980년대 일본에서 처음 사용되었는데 식품성분이 생체방어, 질병의 예방과 회복 등 생체조절기능을 발휘하도록 가공된 식품을 의미하였으나 공식적으로 인정되지 못하던 것이 1990년대 이후 기능성 식품에 관한 연구개발이 가속화되면서 최근에는 세계 각국에서 법제화를 추진하고 있다. 초유에 존재하는 여러 종류의 IGFs 중에 IGF-Ⅰ의 N-말단 Gly-Pro-Glu이 소실된 구조를 가진 des(1-3) IGF-I은 IGFs와 결합하는 IGFBP(Insulin-like Growth Factors Binding Proteins)과의 친화력 감소로 인하여 생체 내의 활성이 정상적인 IGF-I에 비하여 약 10배에서 약 100배 정도 더 높은 것으로 알려져 있다. 따라서 초유에 존재하는 미량의 des(1-3)IGF-I을 포함한 IGFs를 안정화하는 기술이나 분리·정제하여 농축하는 기술을 개발하려는 시도가 활발히 이루어지고 있다. 이러한 기능성 식품의 효과적인 개발을 위해서는 식품의 생리활성을 나타내는 IGFs를 추출·분리하여 이를 식품에 첨가 또는 강화하여 인체에 유용한 기능 및 기대효과를 과학적으로 검증하는 것이 필요하다. 그러나 이러한 일련의 개발과정에 앞서 기능성 식품의 원료로서의 안전성에 관한 평가가 우선적으로 수행되어야 할 것이다(FPCS, 1970).

따라서 본 연구에서는 천연의 풍부한 생리활성을 지닌 IGFs를 다양한 기능성 유제품에 적용하기 전에 먼저 수행되어야 할 단계로서 현재 시중에 판매중인 상업용 IGFs 및 초유로부터 분리·정제된 IGFs의 안전성을 평가하여 새로운 기능성 소재로서의 IGFs의 가능성을 검토해 보고자 하였다.

재료 및 방법

단회투여독성시험

1) 시험물질 및 투여경로

R&D Systems社의 Recombinant Human IGF-Ⅰ(250 ㎍)을 시험물질로 하여 생리식염수 4 ml을 용매로 하여 시험당일 투여 전에 조제하여 사용하였고 대조군은 vehicle인 0.9 % 생리식염수를 투여하였다. 투여경로는 정맥투여로 실험동물의 꼬리정맥에 주사하여 투여하였다.

2) 실험동물 및 투여용량

생후 4주된 Sprague-Dawley계(♂) 흰 쥐(rat)를 1주일동안 고형사료로 적응시킨 뒤 순화기간 중 건강하다고 판정된 동물 중에서 체중 155 g으로 측정된 12마리를 선별하여 무작위법으로(IPCS & JECFA, 1984) 각 3마리씩 4군으로 나누어 어 62.5 ㎍/ml 농도의 시험물질을 각 실험군 별로 용량을 달리하여 Table 1과 같이 투여하였다.

3) 사육환경 및 조건

청정구역에서 생산된 SPF(특정병원체부재) SD계(♂) rat를 Damool Science社로부터 받아 온도 22±1℃, 습도 50±5%, 조도 300~500 Lux (형광등을 12시간 간격으로 점멸함)의 사육환경에서 polycarbonate cage에 1마리씩 넣어 사육하였다. 사료는 Damool Science社로부터 실험동물용 사료를 받아 멸균음용수와 같이 자유로이 공급하였으며 사료섭취량 및 음용수섭취량을 매일 측정하였다(Ono, 1984).

4) 임상증상의 관찰 및 기록

모든 실험동물군에 대한 일반증상, 독성증상, 회복증상 및 사망발현의 유무를 투여 당일에는 투여 후 2시간마다 관찰하였으며 투여 익일부터 1주일동안은 1일 2회씩 관찰하였고 투여 1주일이후부터 20일째까지는 1일 1회씩 관찰하였다. 시험동물의 체중은 투여당일부터 매 4일에 1회씩과 시험종료직후에 측정하였고 사료 및 물섭취량은 투여 익일부터 시험종료일까지 매일 측정하였다.

5) 실험동물의 부검 및 장기적출

실험기간 종료 후 실험동물을 부검하여 표적장기에 대한 육안검사를 실시하였고 간장, 신장, 비장을 적출하여 중량을 측정하였다.(OECD, 1993) 적출한 장기를 10 % formalin 15~20 mL로 채운 시험관에 넣어 보관하였다.

6) 병리조직검사

① 적출된 조직(간장, 신장, 비장)을 10 % 중성의 buffered formalin에서 24시간동안 고정하였다.

② Automatic tissue processor(Shandon, England)를 이용하여 탈수, 투명, 침투과정을 진행하고 paraplast로 포매한

Table 1. Weight and volume RH IGF-I injected into tail of SD rat

Dose	Sample wt.(㎍)	Sample vol.(mL)	No. of rat	Remarks
Control	0	0.32	3	vehicle
Group 1	10	0.16	3	IGF-Ⅰ+vehicle
Group 2	20	0.32	3	IGF-Ⅰ+vehicle
Group 3	50	0.80	3	IGF-Ⅰ+vehicle

다음 회전형 박절기(Microm, Germany)를 사용하여 4 um 두께의 파라핀 절편을 제작하였다.

③ 파라핀 절편은 모두 자일렌에 탈파라핀하고 하강계열 알코올과정을 진행하여 함수한 후, hematoxylin-eosin 염색을 하였다.

④ 신장조직의 경우에는 사구체 모세혈관의 기저막을 관찰하기 위해 별도로 2 ㎛ 두께의 파라핀 절편을 제작하여 periodic acid Schiff 염색을 하였다.

⑤ 염색이 끝난 모든 절편은 탈수, 투명과정을 거쳐 카나다발삼으로 봉입하여 광학현미경(Olymphus BX50, Japan)으로 관찰하였다.

반복투여독성시험

1) 시험물질 및 투여경로

초유로부터 분리·정제된 IGF-Ⅰ을 0.9 % 생리식염수를 용매로 하여 시험개시 당일 투여 전에 조제한 후 분주하여 사용하였고 deep freezer(-40℃)에 보관하면서 14일동안 1일 1회 투여하였다. 대조군은 vehicle인 0.9 % 생리식염수를 투여하였으며(USFDA, 1993) 투여경로는 경구투여로 강제투여 보조장치를 사용하여 투여하였다.

2) 실험동물 및 투여용량

생후 4주된 Sprague-Dawley계(♀) 흰 쥐(rat)를 1주일동안 고형사료로 적응시킨 뒤 순화기간 중 건강하다고 판정된 동물 중에서 약 160 g의 체중을 지닌 12마리를 선별하여 무작위법을 이용 각 3마리씩 4군으로 나누어 Table 2와 같이 각 실험군 별로 농도를 달리한 시험물질용액을 개체당 1일 1회 1 mL씩 14일간 반복투여하였다(KFDA, 1998).

3) 사육환경 및 조건

사육환경 및 조건은 단회투여독성시험과 동일하였다.

4) 임상증상의 관찰 및 기록

모든 실험동물군에 대한 일반증상, 독성증상, 회복증상 및 사망발현의 유무를 투여개시일에는 투여 후 2시간마다, 투여개시 익일부터는 1일 2회씩 관찰하였다(JMHW, 1996)

Table 2. Weight and volume of IGF-Ⅰ from colostrum oral injected into SD rat

Dose	Sample wt.(㎍)	Sample wt. injection vol.(mL)	No. of rat	Remarks
Control	0	0/42	3	vehicle
Group 1	5	210/42	3	IGF-Ⅰ+vehicle
Group 2	10	420/42	3	IGF-Ⅰ+vehicle
Group 3	15	630/42	3	IGF-Ⅰ+vehicle

시험동물의 체중은 투여개시일, 부검일 그리고 투여개시 익일부터 매 2일에 1회씩 측정하였고 사료 및 물섭취량은 투여개시일부터 매일 측정하였다.

5) 실험동물의 부검 및 장기적출

최종투여일 종료 후 충분한 관찰기간을 두고 임상증상을 관찰한 후, 부검하여 육안검사를 실시하였고 간장, 신장, 비장을 적출하여 중량을 측정하였다. 적출한 장기는 10 % formalin 15~20 mL로 채운 시험관에 넣어 보관하였다.

6) 병리조직검사

적출한 간장, 신장, 비장을 대상으로 단회투여독성시험에서와 동일한 방법으로 병리조직검사를 실시하여 표적장기에 대한 독성작용을 확인하였다.

결과 및 고찰

단회투여독성시험

1) 임상증상의 관찰결과

시험물질의 투여 후 20일간 사망동물이 발생하지 않았으며 명확한 독성증상의 발현이나 사망이 지연되는 경우도 나타나지 않았다. 일부 시험군에서 운동성 감소를 보이는 실험동물이 관찰되었으나 유의성을 보이는 관찰소견은 없었고 결과적으로 뚜렷한 이상증상이 발견되지 않았다. 주요 이상증상을 관찰한 결과를 Table 3과 Table 4에 개체수로 나타내었다.

2) 체중변화의 측정결과

실험동물에 대한 시험물질 투여에 따른 체중변화를 측정하였으나 모든 시험군에서 대조군에 비해 이상증상이라 할 수 있는 변화의 소견이 없었다.

3) 사료 및 물섭취량의 통계처리

실험기간동안의 사료 및 물섭취량을 측정하고 그 결과값을 ANOVA를 이용한 Duncan's Multiple Range Test를 95% 의 신뢰도($p<0.05$)에서 통계처리한 결과, 유의성을 보이는 관찰소견은 확인되지 않았다. 통계처리결과를 Table 5~10에 나타내었다.

4) 병리조직검사의 결과

실험기간 종료 후, 모든 실험동물을 부검하여 육안검사를 실시한 결과, 명확한 이상소견이 없었고 표적장기로 신장, 간장, 비장을 적출하여 세포조직의 절편을 탈수, 투명과정을

Table 3. Clinical signs of intravenously injected with RH IGF-Ⅰ in SD rat (Ⅰ)

Dose	Clinical signs	Days of observation										Note
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Control	PE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	DA	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	NAD	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
Group 1	PE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	DA	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	
	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	NAD	2	3	3	3	3	3	3	3	2	3	
Group 2	PE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	DA	1	-	-	-	1	-	-	-	1	-	
	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	NAD	2	3	3	3	2	3	3	3	2	3	
Group 3	PE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	DA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	NAD	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	

PE : Piloereaction, DA : Decreased Motor Activity, D : Diarrhea, NAD : No abnormalities were detected.

Table 4. Clinical signs of intravenously injected with RH IGF-Ⅰ in SD rat (Ⅱ)

Dose	Clinical signs	Days of observation										Note
		11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
Control	PE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	DA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	NAD	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
Group 1	PE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	DA	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	
	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	NAD	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	
Group 2	PE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	DA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	NAD	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
Group 3	PE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	DA	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	
	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	NAD	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	

PE : Piloereaction, DA : Decreased Motor Activity, D : Diarrhea, NAD : No abnormalities were detected.

Table 5. The changes of food consumption in SD rat intravenously injected with RH IGF-Ⅰ(Ⅰ) (unit : g)

Dose	Day of observation					
	1~2	2~3	3~4	4~5	5~6	6~7
Control	-2.00±5.49[a]	1.75±5.73[a]	-1.15±4.68[a]	0.43±4.79[a]	0.63±6.77[a]	2.98±4.81[a]
Group 1	3.30±2.34[a]	4.59±2.68[a]	2.52±4.01[a]	2.74±3.01[a]	3.42±2.69[a]	8.22±3.83[a]
Group 2	1.74±1.23[a]	3.02±1.42[a]	-0.10±1.02[a]	1.13±1.49[a]	1.94±0.07[a]	6.07±1.94[a]
Group 3	-1.54±1.74[a]	1.30±0.61[a]	-0.97±1.23[a]	-0.85±0.79[a]	0.99±1.43[a]	2.71±1.45[a]

Table 6. The change of food consumption in SD rat intravenously injected with RH IGF-Ⅰ(Ⅱ) (*unit : g*)

Dose	Day of observation					
	7~8	8~9	9~10	10~11	11~12	12~13
Control	0.58±5.52[a]	1.56±5.78[a]	2.86±5.42[a]	3.22±5.64[a]	2.66±5.70[a]	1.42±4.58[a]
Group 1	2.91±4.34[a]	4.72±2.65[a]	4.81±2.91[a]	3.85±2.79[a]	4.67±3.59[a]	4.29±4.24[a]
Group 2	1.52±0.70[a]	1.11±0.59[a]	3.05±0.05[a]	3.96±0.54[a]	3.35±0.56[a]	3.39±1.86[a]
Group 3	1.70±1.54[a]	0.33±2.02[a]	2.50±1.14[a]	1.85±0.46[a]	1.77±0.55[a]	1.89±0.20[a]

Table 7. The change of food consumption in SD rat intravenously injected with RH IGF-Ⅰ(Ⅲ) (unit : g)

Dose	Day of observation					
	13~14	14~15	15~16	16~17	17~18	18~19
Control	4.26±4.69[a]	2.05±6.95[a]	3.84±5.92[a]	1.44±4.83[a]	2.60±4.84[a]	1.52±5.43[a]
Group 1	6.77±2.84[a]	4.85±2.74[a]	5.23±2.73[a]	5.75±3.60[a]	4.23±3.83[a]	5.43±3.88[a]
Group 2	3.16±0.63[a]	4.28±1.72[a]	3.01±1.25[a]	4.06±1.53[a]	1.29±1.02[a]	3.59±0.75[a]
Group 3	1.77±2.02[a]	1.51±1.46[a]	4.13±2.35[a]	1.37±0.80[a]	2.14±2.39[a]	1.06±1.70[a]

Table 8. The change of water consumption in SD rat intravenously injected with RH IGF-Ⅰ(Ⅰ) (unit : mL)

Dose	Day of observation					
	1~2	2~3	3~4	4~5	5~6	6~7
Control	22.67±2.89[a]	1.67±2.89[ab]	-3.33±2.89[a]	0.00±5.00[a]	0.00±5.00[a]	1.67±2.89[b]
Group 1	23.33±2.89[a]	-3.33±2.89[b]	-3.33±2.89[a]	1.67±7.64[a]	1.67±5.77[a]	6.67±2.89[ab]
Group 2	17.00±7.21[a]	3.33±2.89[ab]	-3.33±2.89[a]	5.00±5.00[a]	1.67±2.89[a]	11.67±2.89[a]
Group 3	22.00±2.65[a]	5.00±5.00[a]	-3.33±7.64[a]	3.33±5.77[a]	1.67±5.77[a]	5.00±5.00[ab]

Table 9. The change of water consumption in SD rat intravenously injected with RH IGF-Ⅰ(Ⅱ) (unit : mL)

Dose	Day of observation					
	7~8	8~9	9~10	10~11	11~12	12~13
Control	-1.67±7.64[a]	5.00±0.00[a]	1.67±2.89[a]	1.67±2.89[a]	1.67±2.89[a]	1.67±2.89[b]
Group 1	3.33±2.89[a]	10.00±5.00[a]	6.67±5.77[a]	5.00±5.00[a]	8.33±2.89[a]	10.00±0.00[a]
Group 2	1.67±2.89[a]	3.33±2.89[a]	10.00±0.00[a]	8.33±2.89[a]	6.67±2.89[a]	3.33±2.89[b]
Group 3	3.33±7.64[a]	6.67±5.77[a]	10.00±8.66[a]	6.67±5.77[a]	5.00±5.00[a]	5.00±5.00[ab]

Table 10. The change of water consumption in SD rat intravenously injected with RH IGF-Ⅰ(Ⅲ) (unit : mL)

Dose	Day of observation					
	13~14	14~15	15~16	16~17	17~18	18~19
Control	1.67±2.89[b]	0.00±0.00[a]	6.67± 2.89[a]	1.67±2.89[a]	6.67±2.89[a]	5.00±0.00[b]
Group 1	10.00±5.00[a]	8.33±7.64[a]	13.33± 2.89[a]	11.67±7.64[a]	13.33±2.89[a]	13.33±2.89[a]
Group 2	10.00±0.00[a]	10.00±0.00[a]	11.67± 2.89[a]	6.67±2.89[a]	6.67±2.89[a]	10.00±5.00[ab]
Group 3	5.00±5.00[ab]	10.00±8.66[a]	11.67±10.41[a]	3.33±7.64[a]	8.33±7.64[a]	6.67±5.77[ab]

거쳐 카나다발삼으로 봉입하고 광학현미경으로 관찰한 결과도 임상병리학적으로 이상을 보이는 관찰소견이 나타나지 않아 모든 시험군에서 급성독성이 없는 것으로 확인되었다.

반복투여독성시험

1) 임상증상의 관찰결과

투여개시일부터 부검일까지 사망동물이 발생하지 않았으며 명확한 독성증상의 발현이나 사망이 지연되는 경우도 나타나지 않았다. 일부 시험군에서 운동성 감소 등을 보이기도 하였으나 유의성을 보이지는 않았다. 결과적으로 임상증상에서 명확한 이상증상의 관찰소견은 없었다. 주요 임상증상을 관찰한 결과를 Table 11과 Table 12에 개체수로 나타내었다.

2) 체중변화 측정결과

시험물질 투여기간 중에 모든 실험동물의 체중변화를 측정하였으나 대조군에 비해 모든 실험군에서 유의성 있는 이

Table 11. Clinical signs SD rat(♂) oral injected with IGF-Ⅰ Separated and Refined (Ⅰ)

Dose	Clinical signs	Days of observation							Note
		1	2	3	4	5	6	7	
Control	PE	–	–	–	–	–	–		
	DA	1	–	1	–	–	–	–	
	D	–	–	–	–	–	–	–	
	NAD	2	3	2	3	3	3	3	
Group 1	PE	–	–	–	–	–	–	–	
	DA	–	–	2	–	–	–	–	
	D	–	–	–	–	–	–	–	
	NAD	3	3	1	3	3	3	3	
Group 2	PE	–	–	–	–	–	–	–	
	DA	–	–	–	1	–	–	–	
	D	–	–	–	–	–	–	–	
	NAD	3	3	3	2	3	3	3	
Group 3	PE	–	–	–	–	–	–	–	
	DA	1	–	–	–	–	–	–	
	D	–	–	–	–	–	–	–	
	NAD	2	3	3	3	3	3	3	

PE : Piloereaction, DA : Decreased Motor Activity, D : Diarrhea, NAD : No abnormalities were detected.

Table 12. Clinical signs SD rat(♂) oral injected with IGF-Ⅰ Separated and Refined (Ⅱ)

Dose	Clinical signs	Days of observation							Note
		8	9	10	11	12	13	14	
Control	PE	–	–	–	–	–	–	–	
	DA	–	–	–	–	–	–	–	
	D	–	–	–	–	–	–	–	
	NAD	3	3	3	3	3	3	3	
Group 1	PE	–	–	–	–	–	–	–	
	DA	–	–	1	–	–	–	–	
	D	–	–	–	–	–	–	–	
	NAD	3	3	2	3	3	3	3	
Group 2	PE	–	–	–	–	–	–	–	
	DA	–	–	–	–	–	–	–	
	D	–	–	–	–	–	–	–	
	NAD	3	3	3	3	3	3	3	
Group 3	PE	–	–	–	–	–	–	–	
	DA	–	–	1	–	–	–	–	
	D	–	–	–	–	–	–	–	
	NAD	3	3	2	3	3	3	3	

PE : Piloereaction, DA : Decreased Motor Activity, D : Diarrhea, NAD : No abnormalities were detected.

상소견이 없었다.

3) 사료 및 물섭취량의 통계처리

시험물질 투여기간 중의 사료 및 물섭취량을 측정하고 그 결과값을 ANOVA를 이용한 Duncan's Multiple Range Test를 95 %의 신뢰도($p<0.05$)에서 통계처리한 결과, 반복적인 강제투여에 따른 일시적인 약간의 변화가 있었으나 전체 실험기간으로는 유의성을 보이는 명확한 이상소견은 확인되지 않았다. 통계처리결과를 Table 13~18에 나타내었다.

4) 병리조직검사의 결과 및 최종소견

투여기간 종료 후, 단회투여독성시험과 동일한 방법으로 육안검사를 실시하고 신장, 간장, 비장을 적출하여 병리조직검사를 실시한 결과, 모든 시험군에서 임상병리학적으로 이상을 보이는 관찰소견이 확인되지 않았다. 결론적으로 본 연구의 모든 투여농도에서 반복투여독성시험을 비롯한 기본적인 독성평가에 있어 초유로부터 분리·정제된 IGF-Ⅰ의 안전성에는 명확한 이상소견이 없었다. 따라서 본 연구의 초유 IGF-Ⅰ은 안전성에서 기능성 식품의 원료로서 충분한 가능성이 확인되었다.

요 약

Table 13. The change of food consumption in SD rat oral injected with IGF-Ⅰ Separated & Refined (Ⅰ) (unit : g)

Dose	Day of observation				
	1~2	2~3	3~4	4~5	5~6
Control	1.10±0.75[a]	0.00±0.36[a]	0.00±0.30[a]	0.00±0.46[a]	3.33±0.21[a]
Group 1	1.43±0.49[a]	0.60±0.40[a]	-1.80±0.15[b]	1.80±0.45[a]	1.07±0.10[a]
Group 2	1.47±0.15[a]	0.80±0.32[a]	0.00±0.40[a]	0.00±0.23[a]	3.33±0.00[a]
Group 3	-0.83±0.15[b]	0.66±0.15[a]	0.00±0.25[a]	0.00±0.06[a]	3.34±0.25[a]

Table 14. The change of food consumption in SD rat oral injected with IGF-Ⅰ Separated & Refined (Ⅱ) (unit : g)

Dose	Day of observation				
	6~7	7~8	8~9	9~10	10~11
Control	0.44±0.67[a]	-3.70±0.06[b]	-0.20±0.85[a]	1.96±0.29[a]	1.34±0.25[a]
Group 1	-0.47±0.35[a]	-0.93±0.78[b]	-0.57±0.31[a]	1.14±0.40[a]	0.46±0.38[a]
Group 2	-3.40±0.10[a]	0.20±0.10[a]	-1.30±0.10[a]	0.33±0.31[a]	1.87±0.10[a]
Group 3	-3.40±0.21[a]	1.93±0.10[a]	-3.73±0.12[a]	3.00±0.12[a]	-1.67±0.10[b]

Table 15. The change of food consumption in SD rat oral injected with IGF-Ⅰ Separated & Refined (Ⅲ) (unit : g)

Dose	Day of observation			
	11~12	12~13	13~14	14~15
Control	1.83±0.44[a]	-3.37±0.31[a]	1.24±0.51[a]	0.30±0.06[a]
Group 1	1.40±0.35[a]	-1.03±0.10[a]	-1.13±0.15[a]	3.73±0.30[a]
Group 2	2.17±0.23[a]	-1.80±0.15[a]	1.86±0.21[a]	-0.90±0.12[a]
Group 3	2.37±0.21[a]	1.16±0.12[a]	-1.60±0.31[ab]	0.60±0.12[a]

Table 16. The change of water consumption in SD rat oral injected with IGF-Ⅰ Separated & Refined (Ⅰ) (unit : mL)

Dose	Day of observation				
	1~2	2~3	3~4	4~5	5~6
Control	-13.33±2.52[a]	3.33±5.00[a]	1.67±2.08[a]	3.34±1.53[a]	5.00±3.06[a]
Group 1	-13.33±3.21[a]	1.66±2.08[a]	-5.00±1.53[b]	6.67±1.00[a]	0.00±2.65[a]
Group 2	-16.67±0.58[a]	3.34±3.21[a]	-1.67±3.61[b]	1.67±4.16[a]	0.00±4.04[a]
Group 3	-20.00±5.29[a]	0.00±3.61[a]	1.67±4.04[a]	1.66±2.08[a]	3.34±4.51[a]

Table 17. The change of water consumption in SD rat oral injected with IGF-Ⅰ Separated & Refined (Ⅱ) (unit : mL)

Dose	Day of observation				
	6~7	7~8	8~9	9~10	10~11
Control	0.00±2.08[a]	0.00±1.53[a]	8.33±2.65[a]	1.67±1.53[a]	1.66±2.52[a]
Group 1	5.67±2.08[a]	4.33±3.61[a]	1.67±2.08[a]	5.00±2.08[a]	3.33±1.73[a]
Group 2	3.33±4.58[a]	1.33±4.04[a]	5.34±3.21[a]	0.00±4.93[a]	-6.67±3.00[b]
Group 3	0.00±4.04[a]	0.00±5.51[a]	15.00±4.73[a]	5.00±5.69[a]	18.34±0.58[a]

Table 18. The change of water consumption in SD rat oral injected with IGF-Ⅰ Separated & Refined (Ⅲ) (unit : mL)

Dose	Day of observation			
	11~12	12~13	13~14	14~15
Control	-3.33±3.61[a]	- 1.67±2.08[b]	-5.00±0.58[a]	6.67±1.00[a]
Group 1	-3.33±1.53[a]	-13.34±1.53[b]	-6.66±3.21[a]	6.66±1.53[a]
Group 2	3.33±3.06[b]	6.67±2.65[a]	0.00±3.46[a]	0.00±4.58[a]
Group 3	3.34±4.73[b]	1.66±3.21[a]	-6.66±5.51[a]	3.33±3.00[a]

본 연구에서는 IGFs를 다양한 기능성 유제품에 적용하기 전에 먼저 상업용 IGFs 및 초유로부터 분리·정제된 IGFs의 안전성을 평가하여 새로운 기능성 소재로서의 IGFs의 가능성을 검토해 보고자 하였다. 이를 위하여 독성평가에서 기본적으로 수행되고 있는 단회투여독성시험과 반복투여독성시험을 실시하였다. 단회투여독성시험에서는 R&D Systems社의 Recombinant Human IGF-Ⅰ을 시험물질로 하고 생후 4주된 Sprague-Dawley계(♀) 흰쥐(rat)를 실험동물로 하여 개체당 0, 10, 20, 50 ㎍씩 투여하는 시험군을 설정한 후, 꼬리정맥에 주사하여 20일간 관찰하면서 체중변화, 식이섭취변화를 측정하고 최종적으로 부검하여 육안검사 및 간장, 신장, 비장에 대한 병리조직검사를 실시한 결과, 명확한 이상소견이 나타나지 않아 모든 시험군에서 급성독성이 확인되지 않았다. 반복투여독성시험에서는 초유로부터 분리·정제된 IGF-Ⅰ을 시험물질로 하고 생후 4주된 Sprague-Dawley계(♀) 흰쥐(rat)를 실험동물로 하여 개체당 0, 5, 10, 15 ㎍씩 투여하는 시험군을 설정한 후, 14일간 반복적으로 강제경구투여하면서 임상증상을 관찰하면서 체중변화, 식이섭취변화를 측정하였고 최종적으로 부검하여 육안검사 및 간장, 신장, 비장에 대한 병리조직검사를 실시한 결과, 명확한 이상소견이 나타나지 않아 모든 투여농도에서 반복투여독성시험을 비롯한 기본적인 독성평가에 있어서 초유 내 IGF-Ⅰ의 안전성에는 명확한 이상소견이 없는 것으로 판단되었다.

참고문헌

1. Food Protection Committee Subcommittee on Toxicology (FPCS) : Evaluating the safety of food chemicals. p.1-55 (1970).
2. Frank M. Tomas, Spencer E. Knowles, Philip C. Owens, Judith L. Burgoyne, Colin S. Chandler, and F. John Ballard : Conjoint IGF-I and Insulin Infusion Shows Diverse Interactive Effects in Diabetic Rats, *Diabetes*. Vol. 45. p.170-177 (1996).
3. Hiroshi Ono : Proceedings of the ILSI international symposium on safety assessment, Problem relating toxicity test method, International Life Science Institute. p. 117-127 (1984).
4. IPCS & JECFA : Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food, *IPCS*. p.1-180 (1984).
5. KFDA : Studies on the international Level Standardization of food Safety Evaluation, p. 256-317 (1998).
6. OECD : 1993. OECD Guidelines for the testing of chemicals, Organisation for Economic Co-operation and Development. section 4. 401. p.1-7 (1993).
7. The Ministry of Health and Welfare (Japan) : Guidelines for designation of food additives, and for revision of standards for use of food additives. p. 12-37 (1996).
8. USFDA : Toxicological Principle for safety Assessment of direct food additives and color additives used in food, Center for food safety and applied nutrition. p.88-103 (1993).

(2003. 1. 23 접수 ; 2003. 5. 15. 채택)