

발효굴추출물의 경구 섭취가 소아 신장 성장에 미치는 효과 및 안전성 평가를 위한 무작위배정, 이중눈가림, 위약 대조 인체적용시험: 인체적용시험 프로토콜

김희연^{1,5} · 박범찬^{1,5} · 천진홍^{1,5} · 최준용^{2,5} · 안병민³ · 박정현⁴ · 이배진⁴ · 김기봉^{1,5,*}

¹부산대학교한방병원 한방소아과, ²부산대학교한방병원 한방내과, ³㈜제너럴바이오텍,
⁴㈜마린바이오프로세스, ⁵부산대학교 한의학전문대학원

Abstract

Randomized, Double-blind, and Placebo-controlled a Human Study for Growing of Stature via the Analysis of Effect of Ferment Oyster Extract: Study Protocol

Kim Hee-Yeon^{1,5} · Park Beom-Chan^{1,5} · Cheon Jin-Hong^{1,5} · Choi Jun-Yong^{2,5} · An Byeong-Min³ · Park Joung-Hyun⁴ · Lee Bae-Jin⁴ · Kim Kibong^{1,5,*}

¹Department of Korean Pediatrics, Pusan National University Korean Medicine Hospital
²Department of Korean Internal Medicine, Pusan National University Korean Medicine Hospital
³General Biotech, ⁴Marine Bioprocess Co. Ltd.
⁵School of Korean Medicine, Pusan National University

Objectives

The purpose of this study is to confirm the efficacy and safety of the treatment of with fermented oyster extract on height growth in children with short stature.

Methods

A total of 100 people, between 6 and 11 years old, will be participated in a randomized, double-blind, and placebo-controlled human study. The fermented oyster group will take 500 mg of fermented oyster extract once a day for 24 weeks. The placebo group will take 3400 mg of fructooligosaccharide as placebo once a day for 24 weeks. The outcomes of the intervention will be measured at the baseline, 6 week, 12 week, 18 week, and 24 week. The primary outcome is the changes in height from the baseline. The secondary outcomes are growth rate, height SDS, bone age, GH, IGF-1, IGFBP-3, osteocalcin, BALP, DPD, and LH.

Results

This trial was approved by the institutional review board of Pusan National University Korean Medicine Hospital (registry number: PNUKHIRB-2019002). Recruitment of the research participants will be opened from May 2019 till December 2019.

Conclusions

This study will provide clinical information to determine the efficacy and safety of the treatment with fermented oyster extract on height growth in children with short stature

Key words: Ferment oyster extract, Short stature, Growth, Human study, Protocol

I. Introduction

소아의 가장 큰 특징인 성장은 연령에 따라 신장, 체중 및 기관의 무게가 양적으로 증가해나가는 과정을 의미하나 일반적으로 신장 증가에 국한되어 사용하는 경우가 많다. 신장 성장에 영향을 미치는 요인으로는 출생 시 체중, 부모의 신장, 인종, 염색체 이상, 선천성 대사이상 및 호르몬 분비 이상 등의 유전적 요인 외에도 영양, 질병, 운동, 심리적 요인, 사회 경제적 요인 등 환경적 요인이 있다¹⁾. 이렇듯 복합적인 요인들이 작용하기 때문에 정기적 성장평가를 통해 정상적인 성장을 확인하는 것은 병적 원인으로 인한 성장장애의 조기 발견과 연관되어 소아 진료에 있어 중요한 일이 아닐 수 없다²⁾. 의학적으로 성장장애는 신장이 같은 연령, 성별 소아의 표준 평균치에서 -2.0 표준편차 이하이거나, 3 백분위 수 이하인 경우를 말한다³⁾. 최근 사회 경제적 발전 및 서구화된 식습관의 영향으로 평균 신장이 증가되고⁴⁾, 큰 키와 마른 체형을 동경하는 사회적 분위기가 형성됨에 따라 신장 성장에 대한 관심이 높아지고 있으며⁵⁾, 더불어 성장장애에 해당하지 않는 정상 성장범위의 소아들도 성장치료를 높은 관심을 갖는 것으로 나타났다⁶⁾.

한의학적으로 소아의 성장발육은 선천의 근본인 신(腎), 후천의 근본인 비(脾)와 밀접한 관련이 있다. 신(腎)은 腎藏精, 腎主骨, 齒者骨之餘, 髮者腎之榮이라 하여 소아 성장에 주도적인 역할을 하며, 비(脾)는 脾主肌肉, 脾主四末, 氣血生化之原이라 하여 영양공급을 통해 정상적인 성장이 가능케 한다. 따라서 先天不足, 後天失調하면 성장발육에 장애를 받아 신장, 체중 뿐 아니라 골격, 치아, 모발 등 다양한 영향을 미치게 된다⁷⁾.

모려육(牡蠣肉)은 굴과에 속하는 참굴, 긴굴, 강굴, 토굴, 돌굴, 근강모려(近江牡蠣)의 살(肉)로 甘鹹, 平無毒하며, 解丹毒, 養血, 悅色, 調中, 除酒後煩熱, 滋陰, 止渴의 효능으로 癩瀝 및 心神不安 등의 치료에 활용되어왔다⁸⁾.

최근 알코올성 지방간 동물모델에서 굴 추출물 투여 후 alanine aminotransferase (ALT)와 gamma-glutamyl transferase (GGT) 수준이 유의적으로 감소하며, 손상된 간세포가 회복됨을 확인하였고⁹⁾, 특히 굴 추출물의 유효성분 중 하나인 타우린의 항산화 효과¹⁰⁻¹²⁾, 간기능 개선¹³⁻¹⁵⁾ 등 다양한 효능에 대한 연구가 진행되었다.

또한 굴은 gamma-amino butyric acid (GABA)의 전구물질인 glutamic acid (글루탐산)를 함유하고 있으며, 발효 과정을 통해 생성된 GABA의 스트레스 해소 및 수면 유도 효과에 대해서도 보고된 바 있다¹⁶⁾. 또한 GABA가 성장호르몬의 전구체로서 성장호르몬을 증가시킨다는 보고¹⁷⁾가 있었고, 수면촉진물질로서 수면의 질을 향상시킴으로써 성장호르몬의 분비를 증가시킨다는 보고¹⁸⁾ 등이 있어 발효굴추출물이 신장 성장에 유의한 효과가 있음을 확인할 수 있었지만 관련 인체적용시험은 전무하여 임상적 유효성은 확인 할 수 없었다. 이에 본 연구진은 저 신장 소견을 보이는 소아를 대상으로 신장 성장에 있어 발효굴추출물의 임상적 유효성과 안전성 검증을 위하여 인체적용시험을 계획하였다.

II. Materials & Methods

등록된 시험 대상자는 발효굴추출물 투여군 또는 대조군에 무작위 배정된다. 발효굴추출물 투여군은 발효굴추출물 500 mg이 함유된 연조엑스제를 24주간 1일 1회, 취침 전에 1포 섭취한다. 대조군은 프락토올리고당 3400 mg이 함유된 연조엑스제를 24주간 1일 1회, 취침 전에 1포 섭취한다 (Fig. 1).

1. 연구디자인

본 연구는 발효굴추출물의 경구 섭취가 소아 신장 성장에 미치는 효과 및 안전성 평가를 위한 무작위 배정, 이중눈가림, 위약 대조 인체적용시험이다. 인체적용시험 실시기관은 부산대학교한방병원이며, 2019년 04월 09일 부산대학교한방병원 연구윤리심의위원회 심의를 통과하였다 (IRB No. PNUKHIRB-2019002). 본 인체적용시험은 IRB 승인일로부터 24개월 간 진행될 예정이다.

2. 시험대상자 선정

1) 선정기준

시험대상자는 만 6세 이상 11세 이하의 남녀를 대상으로 한다. 시험대상자는 (1) 특발성 (idiopathic)으로 2017 표준성장 도표 백분위수 기준 해당 성별 및 연령의 신장 25 백분위수 이하의 아동으로 (2) 본 인체적용시험에 대한 자세한 설명을 듣고 완전히 이해한 후, 자

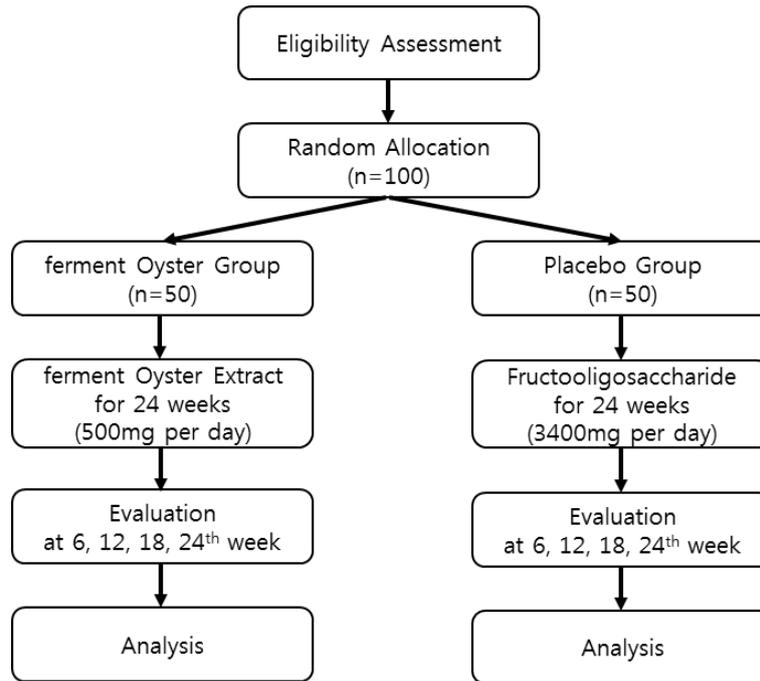


Fig. 1. Flow chart of the clinical trial

의로 참여할 것을 결정하고, 서면동의서에 시험대상자와 부모(또는 법정 대리인)가 자의로 서명 동의한 자여야 한다.

2) 제외기준

- (1) 내분비 질환 (성장호르몬 결핍증, 갑상선기능 저하증, 제 1형 당뇨병 등)으로 성장 지연에 해당하는 자
- (2) 성조숙증 (여아 만 8세 미만 breast Tanner stage II, 남아 만 9세 미만 Testicular size Tanner stage II)에 해당하는 자
- (3) 중대한 감염성 질환의 현증, 종양 등으로 치료 중인 자
- (4) 방문1 이전 4주 이내에 성장 호르몬을 투여한 자
- (5) 방문1 이전 2주 이내에 신장 성장 개선을 목적으로 하는 의약품 및 건강식품을 복용한 자
- (6) 혈당이 조절되지 않는 당뇨병 환자 (공복혈당이 126 mg/dl 이상인 경우 또는 당뇨병의 전형적인 증상 (다뇨, 다음, 설명되지 않는 체중감소와 임의 혈당 200 mg/dl 이상)인 경우)
- (7) Thyroid stimulating hormone (TSH), triiodothyronine (T3), free thyroxine (FT4) 검사치가 연구기관의 정상치에서 벗어난 자
- (8) Creatinine 기관 별 정상 상한치의 2배 이상인 비

정상적인 신기능을 가진 자

- (9) Aspartate aminotransferase (AST) 또는 ALT 기관 별 정상 상한치의 2배 이상인 비정상적인 간기능을 가진 자
- (10) 선천성심질환 등의 중증 심장질환으로 현재 치료 중인 자
- (11) 본 인체적용시험 중에 다른 시험에 참가할 계획이 있는 자
- (12) Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) 로 methylphenidate 약물 복용중인 자
- (13) 어패류에 대한 알레르기가 있는 자
- (14) 기타 시험에 부적합하다고 시험책임자가 판단한 자

3) 시험 중지 및 탈락기준

- (1) 선정/제외기준 위반
- (2) 시험대상자 또는 대상자의 법정 대리인이 시험 중단을 요구한 경우
- (3) 시험을 지속할 수 없는 이상반응 (중대한 이상반응 포함)이 발생 한 경우
- (4) 시험대상자의 약물 복용 불순응 (70% 미만) 또는 대상자의 추적 관찰이 불가능한 경우
- (5) 시험에 중대한 영향을 줄 수 있는 인체적용시험 계획을 위반한 경우

- (6) 본 인체시험에 영향을 미칠 수 있는 의약품 또는 건강기능식품 등을 복용했거나 복용해야 하는 경우
- (7) 시험용 식품을 연속 5일을 초과하여 복용하지 않은 경우
- (8) 기타 연구 진행이 적합하지 못하다고 판단되는 경우

4) 시험대상자 수

본 인체적용시험에서는 신장 성장의 시험군-대조군 간 통계적 차이를 확인하기 위하여, 평가변수의 통계적 가설검정은 양측검정으로 하였으며, 유의수준은 5%를 기준으로 하였다. 또한 기존 연구¹⁹⁾를 참조하여 예상되는 신장 차이는 0.51 cm, 표준편차 (σ)는 0.813로 설정하였다. 위의 설정을 바탕으로 본 연구에 필요한 시험대상자 수는 군당 약 50명이며, 탈락률은 20% 이내로 고려하였다.

5) 인체적용시험 기간

연구윤리심의위원회 최종 승인일로부터 24개월 동안 진행된다. 시험대상자는 이 기간 내 방문 1 (screening), 방문 2 (기초방문), 방문 3, 4, 5 (중간 방문), 방문 6 (최종 방문)의 총 6회 방문을 한다 (Table 1).

6) 모집

본 인체적용시험은 홍보 포스터를 제작하여 병원 내 부착 및 병원 홈페이지 광고를 통해 연구 알람을 시행한다. 대상자가 방문 혹은 유선으로 연락 시 본 연구에 대해 상세히 소개하고 동의 여부를 확인한다.

7) 연구 설계

본 연구는 단일기관, 이중눈가림, 무작위배정, 대조식품 비교 인체적용시험으로, 본 시험에 참여할 것을 서면으로 동의하면 스크리닝 후 선정기준에 부합하는 시험대상자를 무작위 배정하여 6개월 간 시험식품 또는 대조식품을 섭취 후 유효성 및 안전성을 평가한다. 시험식품 투여군은 발효굴추출물 500 mg 6개월간 1일 1회, 자기 전에 섭취하며, 대조식품 투여군은 프락토 올리고당 3400 mg을 6개월간 1일 1회, 자기 전에 섭취한다.

1일 투여량은 동물실험을 통해 산정하였다. 발효굴추출물을 28일간 매일 1회 100 mg/kg, 200 mg/kg으로 경구 투여한 결과 모든 군에서 독성을 나타내지 않았다. 인체섭취량을 고려하여 식품의 기능성을 나타내는 200 mg/kg을 체표면적 30 kg 소아 기준 섭취량으로 환산하여 500 mg 산정되었다.

Table 1. A Flow Chart of Clinical Trial Process

	visit 1 (screening) (Day 14~)	visit 2 (Day 0)	visit 3 (Day 42±7)	visit 4 (Day 84±7)	visit 5 (Day 126±7)	visit 6 (Day 168±7)
Informed consent	✓					
Inclusion & Exclusion criteria	✓					
Basic information	✓					
Medical history	✓					
Physical exam	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Vital signs	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Laboratory test (Blood, Urine)	✓					✓
Distribution of food		✓	✓	✓	✓	
Outcome evaluation (Except Height, growth speed, Height SDS)	✓	✓				✓
Outcome evaluation (Height, Height SDS)	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Outcome evaluation (growth speed)			✓	✓	✓	✓
Dietary Assessment	✓	✓				✓
Adverse events			✓	✓	✓	✓
Concomitant medication		✓	✓	✓	✓	✓
Adherence Assessment			✓	✓	✓	✓

8) 무작위배정

시험의뢰기관 (주)마린바이오프로세스에서 nQuery Advisor 7.0을 사용하여 무작위배정을 수행한다. 각 대상자별 무작위 배정내역을 각각의 비 투과용 봉투에 담아 밀봉하여 실시기관에 공급한다. 배정이 은폐되고 제품번호만이 표기된 상태로 시험식품과 대조식품의 형태를 시험대상자가 구별할 수 없도록 완전 포장된 시험용 식품을 제조하여 공급한다.

9) 관찰항목 및 임상검사

1차 방문 시 (visit 1) 서면 동의서 취득 및 대상자 기초 정보 조사, 생체징후, 병력 및 병용약물 조사, 신체검사, 유효성 평가변수 측정 (신장, 신장 Standard Deviation Scores (SDS), 골 연령 X-ray, 임상실험실 검사) 및 식이평가를 시행한다. 방문1 (visit 1)의 스크리닝에서 인체적용시험 참여에 적합하다고 판단되어 시험대상자로 선정되면, 2주 이내에 방문 2 (visit 2)를 통하여 식품을 처방 받는다. 이후 방문 2 (visit 2)로부터 6주 ± 7일에 방문 3 (visit 3)을, 12주 ± 7일에 방문 4 (visit 4), 18주 ± 7일에 방문 5 (visit 5), 24주 ± 7일에 방문 6 (visit 6)을 시행한다. 방문 3, 4, 5 (visit 3, 4, 5)에는 생체징후, 신체검사, 병용약물 조사, 유효성 평가변수 측정 (신장, 신장 SDS, 성장속도), 이상반응 확인, 순응도 평가, 반납 식품 회수 및 식품 배분을 시행하며, 방문 6 (visit 6)에는 생체징후, 병용약물 조사, 신체검사, 임상실험실 검사, 유효성 평가변수 측정 (신장, 신장 SDS, 성장속도, 골 연령 X-ray, 임상실험실 검사), 식이 평가, 순응도 평가, 이상반응 확인 및 반납 식품 회수를 시행한다.

10) 평가변수

1차 유효성 평가변수는 신장의 변화이다. 시험대상자는 방문 1, 방문 3, 방문 4, 방문 5, 방문 6에 1차 유효성 평가를 위해 신장을 측정한다. 신장은 하루 중 비슷한 시간 (± 1시간)에 신장체중계 GL-150P (주)지테크인 터내셔널, 경기, 대한민국)로 측정한다.

2차 유효성 평가변수는 성장속도, 신장 SDS, 골 연령 X-ray, 혈청 내 성장조절지표인 성장호르몬, 인슐린양 성장인자-1 (Insulin like growth factor-1; IGF-1), 혈청 인슐린양 성장인자 결합단백질-3 (Insulin-like growth factor binding protein-3; IGFBP-3), 골격대사 관련지표인 Osteocalcin, Bone alkaline phosphatase (BALP),

Urine Deoxypyridinoline (DPD) 및 황체형성호르몬인 Luteinizing hormone (LH)이며, 방문 1과 방문 6에서 측정한다. 성장속도, 신장 SDS 외 임상실험실 검사 (혈액 검사, 소변검사) 및 골 연령 X-ray는 양산부산대학교 병원 혹은 타 검사기관 검사실로 이송하여 검사를 시행하며 해당기관의 프로토콜에 따른다.

11) 식이평가

영양섭취상태 조사지는 24시간 회상법을 사용하여 방문 1과 방문 6에 시행하며, CAN pro 4.0 (한국영양학회, 서울, 한국)을 사용하여 분석한다.

12) 통계분석

(1) 분석군

Intention-To-Treat (ITT) 분석에 포함되는 대상은 모든 무작위 배정된 대상자에서 첫 방문 후 최소한 1회 이상의 1차 또는 2차 유효성 평가변수 자료가 확보된 모든 대상자이다. Per-Protocol (PP) 분석 대상자는 ITT 분석에 포함되는 대상자 중 인체적용시험 계획서에 따라 본 연구를 성공적으로 완료한 대상자를 대상으로 한다. 선정/제외 기준에 따른 대상자 선택기준에 적합하고, 시험용 식품을 연속하여 5일분을 초과하여 거르지 않아야 하며, 전체 식품 섭취 순응도가 70% 이상인 경우를 포함한다.

(2) 인구통계학적 자료 및 기타 치료 전 피험자 특성

방문 1 시점에서 측정된 인구통계학적 변수들에 대하여 각 군별로 요약하고, 군간 비교를 위한 검정을 실시한다. 연속형 자료는 t-test 또는 rank sum test를 이용하여 검정하고, 범주형 자료에 대하여는 chi-square test 또는 Fisher's exact test를 실시한다.

(3) 통계학적 가설, 모델 및 분석방법

두 군간 연속형 변수의 차이를 검정하기 위해 자료가 정규분포를 따를 경우 independent t-test를, 그렇지 않을 경우 Mann-Whitney's U test를 수행한다. 또, 군 내 시점에 따른 차이 검정을 위해 자료가 정규분포를 따를 경우 paired t-test를, 그렇지 않을 경우 Wilcoxon's signed rank test를 수행한다. 연속형 변수의 정규성 검정은 Shapiro-Wilk's test를 이용한다. 통계적 유의성 검정을 위한 유의수준은 5%로 한다.

각 주 평가변수에 영향을 미칠 수 있는 변수는 군간 차이가 있을 경우 통제변수로 고려해 공변량 분석

을 추가로 수행한다. 연속형 자료, 임상실험실 검사치, 활력징후 변수들에 대해서는 기초상태 (baseline), 각 방문시점, 최종 평가시점, 그리고 기초상태에서 최종평가 시점까지의 변화량에 대하여 기술통계량 (시험대상자 수, 평균, 표준편차, 최소치, 중앙값, 최대값)을 제시한다. 범주형 자료에 대해서는 분할표를 제공한다. 추가적으로 필요한 경우 95% 신뢰구간이 계산될 것이며 중간분석은 실시하지 않는다. ITT 분석을 위해 최종 유효성 평가 자료가 결측된 경우, Last Observation Carried Forward (LOCF) 방법에 의하여 분석될 것이다.

(4) 안전성 평가

안전성 평가항목은 이상반응 여부, 생체 징후 및 문진에 의한 소견 여부, 임상실험실 검사 결과의 이상여부가 포함되며, 이상반응 발생 비율을 계산하여 군내에서 95% 신뢰구간을 구하고 군간 비교, 각 실험실적 검사 결과, 생체징후와 같은 연속형 자료는 Baseline과 비교하여 어떤 변화가 있는지 paired t-test 혹은 t-test를 이용하여 분석한다. 정규성을 만족하지 않으면 비모수 통계기법 (Wilcoxon signed rank Test 혹은 Wilcoxon rank sum test)을 수행할 것이다. 범주형 자료는 각 범주별 빈도 및 비율을 제시하며, 군간 차이가 있는지를 chi-square test, Fisher's exact test 등을 이용하여 분석한다.

13) 연구관리

데이터 관리와 대상자의 안전 및 권리 침해 여부는 (주)제너럴바이오에서 주기적으로 모니터링을 실시한다. 또한, 연구의 특성상 부작용 발생 확률은 적으나 이에 대비하여 보험에 가입할 예정이다.

14) 연구윤리

본 인체적용시험 프로토콜은 부산대학교한방병원 연구윤리심의위원회의 승인을 받았다 (IRB No. PNUKHIRB-2019002). 본 인체적용시험은 모든 시험대상자로부터 자발적인 동의를 받으며, 시험대상자의 개인식별정보에 대한 비밀 유지 및 보호를 받게 된다.

III. Discussion & Conclusion

소아의 성장은 적절한 영양공급과 호르몬의 복합작용에 의해 이루어지고 있으며, 어느 하나라도 이상이

생기면 정상적인 성장이 이루어지기는 어렵다. 성장장애는 골격계의 내인적 결함으로 인한 1차성 성장장애와 외부 환경적 인자로 인한 2차성 성장장애, 특별한 원인 없이 다른 모든 검사에서 정상인 특발성 성장 지연으로 분류한다²⁰. 1차성 성장장애는 골 연령과 역연령에 차이가 없고, 성장 지연은 태생 전부터 시작되어 태생 후에도 지속된다는 특징이 있다. 2차성 성장장애는 후천적으로 발생하며, 원인질환 교정 시 성장장애가 회복될 수 있다는 특징이 있다. 저 신장으로 병원을 찾는 소아 중 80%는 정상적인 성장호르몬 분비 기능을 가지고 있고, 영양결핍, 만성 전신성 질환, 정신 질환, 내분비질환 등이 없는 특발성 성장지연이다²¹. 이 경우 성장속도는 정상이나 사춘기 발현이 늦고, 골 연령이 감소되어 있으며 대부분 가족력이 있다. 서양의 학적으로 3 백분위수 이하에 해당하는 경우에 저 신장의 치료 대상으로 보며, 대부분 성장호르몬 (Somatropin)을 투여하게 된다. Somatropin은 소아의 근골격, 결합조직의 성장을 촉진하는 직접 효과와 IGF-1의 생성을 촉진하여 연골형성, 골격 및 연조직 성장에 직접적인 영향을 주는 간접 효과의 두 가지 대사효과로 성장에 관여한다²². 성장호르몬이 신장 성장에 있어 중요한 역할을 하는 것은 이미 알려진 사실이지만, 무분별하게 사용한다면 부작용을 유발할 수 있다. 실제로 보고된 국소 부작용으로는 두드러기, 부종, 발적, 동통, 주사부위 지방 괴사 등이 있으며, 전신 부작용으로는 혈당상승, 대퇴골두 골단 분리증, 전신 알레르기 반응, 두개내 고혈압, 췌장염, 여성화 유방, 암 발생 등이 있다^{23,24}. 그럼에도 불구하고 큰 키를 선호하는 사회 분위기 속에 실제 임상 현장에서는 치료 대상에 해당되지 않더라도 신장 성장을 위해 성장호르몬 투여를 하는 경우가 많은 것으로 보고되고 있으며²⁵, 신장 성장 관련 기능성식품으로 황기, 홍삼, 녹용, 가시오가피 추출물 등을 함유한 제품들의 개발 및 판매도 증가하고 있다. 하지만 식품의약품안전처로부터 성장에 대한 기능성 효과를 인정받은 것은 황기추출물 함유 복합물 (HT-042)¹⁹이 유일하다.

이에 본 연구에서는 저 신장의 소견을 보이는 소아를 대상으로 발효굴추출물의 신장 성장 유효성과 안전성 검증을 위하여 인체적용시험을 계획하였다.

발효굴추출물의 유효성분 중 하나인 GABA는 중추신경계의 억제성 신경전달물질 중 하나로 간 기능 보호²⁶, 항혈압²⁷, 항산화²⁸ 및 항비만 효과²⁹ 등 다양한 생리활성기능을 보유하고 있다. GABA의 섭취를 통해

근육의 성장 관련 인자인 비타민 D와 IGF-1의 혈중 농도의 증가가 보고된바 있고³⁰⁾, 증가된 IGF-1에 의해 활성화된 mTOR/p70S6K 신호전달 기전에 따라 근육의 성장 증가가 보고된 바 있다³¹⁾. 또한 최근 일본에서 진행된 임상연구에서 26-48세의 남성을 대상으로 8주간 점진적-저항성 근력운동 시행 후 GABA를 투여한 결과 혈장 성장호르몬 농도가 유의하게 증가됨을 확인하였고, 12주 후 전신의 근육량 또한 유의하게 증가됨을 확인하였다³²⁾.

본 인체적용시험 계획 전 시험의뢰기관 (주)마린바이오프로세스에서 수행한 동물실험에서 발효굴추출물의 투여 후 운동능력 개선 및 근 기능 향상 효능이 확인되었으며^{33,34)}, 이후 경성대학교에서 건강한 중년 여성을 대상으로 시행한 무작위 배정, 이중 맹검, 대조군 비교 인체적용시험에서 8주간 발효굴추출물을 복용한 결과 근육의 강도, 혈장 성장호르몬 농도가 통계학적으로 유의하게 증가됨을 확인하였다³⁵⁾. 하지만 성인을 대상으로 진행한 연구이므로 성장호르몬 증가에 따른 신장 성장 효과는 확인할 수 없었기에 본 인체적용시험을 계획하게 되었다.

본 연구는 발효굴추출물의 신장 성장 효과와 안전성을 평가하기 위한 연구로 만 6세 이상 11세 이하, 즉 2차 성징이 나타나기 이전의 소아로 제한하였다. 또한 2017 표준성장 도표 백분위수 기준 해당 성별 및 연령이 신장 25 백분위수를 초과하는 경우, 성장지연의 원인 질환이 있는 경우, 시험식품의 섭취가 부적절한 경우, 성장관련 치료를 받고 있는 경우는 제외하였으며, 식품의 안전성 평가에 영향을 미칠 수 있는 어패류에 대한 알레르기가 있는 경우도 제외 대상에 포함시켰다.

시험식품의 복용 기간은 성장호르몬 치료효과에 대한 문헌보고에서 적어도 6개월 이상 투여 시 유의한 효과³⁶⁾가 있음을 확인하였기에 총 24주로 설정하였다.

질환에 의한 성장장애의 가능성 배제 및 인체적용시험 참여에 적합한 대상자를 선별하기 위해 스크리닝 검사를 시행한다. 갑상선기능 저하증 배제를 위한 갑상선기능검사 (TSH, T3, FT4), 성장호르몬 결핍증 배제를 위한 IGF-1, IGFBP-3 측정, 골 연령 X-ray 검사, 성조숙증 배제를 위한 LH 측정을 시행하며, 일반혈액 검사 (CBC), 생화학적 검사, 혈당검사 등을 시행하여 제외기준에 해당하는 질병을 선별한다.

본 연구의 1차 유효성 평가 변수는 신장의 변화로 가능한 하루 중 비슷한 시간 (± 1 시간)에 신장체중계로 측정하여 발효굴추출물 섭취 전, 섭취 중, 섭취 후를

비교한다. 2차 유효성 평가변수는 성장속도, 신장 SDS, 골 연령 X-ray와 성장조절관련 지표인 성장호르몬, IGF-1, IGFBP-3, 골격대사관련 지표인 Osteocalcin, BALP, DPD와 LH의 변화이며, 신장 측정으로 확인 가능한 성장속도와 신장 SDS는 매 방문 마다, 그 외 2차 성 유효성 평가변수는 섭취 전, 후 비교를 위해 방문 1과 방문 6에 측정한다.

신장 측정은 양쪽 발을 모은 후 발뒤꿈치를 계측기 뒤판에 닿도록 하고, 양측 다리와 엉덩이가 일직선이 되도록 하며, 머리는 외이도와 안와하연이 동일 수평선에 있도록 한 후 측정³⁷⁾하여 측정자에 따른 오차를 줄이도록 한다. 총 3회 측정하여 평균값을 기록한다.

성장속도는 식품을 섭취하는 6주 동안 변화된 신장의 차이를 6주로 나누어 계산하며, 신장 SDS는 측정된 대상자의 신장에서 같은 연령과 성별에 따른 평균 신장을 뺀 값을 해당 연령과 성별에 따른 표준편차로 나누어 계산하는 일반적인 방법³⁸⁾을 사용하여 측정한다. 골 연령 X-ray의 경우 양산부산대학교 병원 혹은 타 검사기관 검사실로 이송하여 검사를 시행하며, 영상의학과 전문의의 판독결과에 따른다.

혈청 성장조절관련 지표는 성장호르몬, IGF-1, IGFBP-3를 측정한다. 성장호르몬은 출생 후의 성장에 관여하는 호르몬으로 소량 분비되고, 박동성으로 분비되기 때문에 측정시간에 따라 다른 값을 보인다는 단점이 있다³⁹⁾. 이에 성장호르몬의 말초조직 작용효과를 측정하는 IGF-1을 측정하여 보완하는 방법을 많이 사용한다. IGF-1은 체내에서 비교적 일정 농도를 유지하기 때문에 측정이 용이하고, 내인성 성장호르몬 분비 평가에 주요한 지표이다⁴⁰⁾. 하지만 IGFBP-3의 농도에 따른 활성의 차이를 보이고, 성별, 연령, 신장, 체질량지수, 영양상태, 성성속도 등에 따라 차이가 있기 때문에 IGFBP-3을 함께 측정하는 것이 일반적이다³⁹⁾.

골격대사관련 지표로는 Osteocalcin, BALP, DPD를 측정한다. Osteocalcin은 골기질에서 가장 많은 비교원성 단백질로 주로 조골세포에 의해서 생성되므로 골모세포의 marker로서 흔히 사용된다⁴¹⁾. 따라서 혈청 Osteocalcin 농도는 골격 성장의 지표로서 농도의 감소는 골격형성의 감소를 의미한다⁴²⁾. 성장판에서 hypertrophic chondrocytes와 조골세포에 의해 합성되는 BALP의 혈청 농도는 성장속도를 반영할 뿐 아니라 신장 성장 치료 시 성장속도 반응의 지표로서 의미를 갖는다⁴³⁾. DPD는 개인에 있어 변화가 다양하여 민감도가 낮다는 단점이 있으나 소변을 통해서만 확인 할 수

있는 골격 흡수의 소변지표이다⁴³⁾. 따라서 소아의 성장 평가에서 성장호르몬 분비기능 평가에서는 IGF-1 과 IGFBP-3의 측정이, 골격대사 평가에서는 혈청 Osteocalcin, BALP 농도 측정이 필수적이라고 할 수 있다.

발효굴추출물 섭취 전후 비교를 위한 객관적 임상 자료 수집을 위하여 임상실험실 검사를 실시한다. 임상실험실 검사는 일반혈액검사, 생화학적 검사, 혈당 및 소변검사를 시행하며, 검사 항목별 이상조건 발생 빈도를 분석하여 안전성을 평가한다. 이 외에도 안전성 평가를 위하여 매 방문 시 이상반응, 생체징후 분석 및 주기적인 모니터링을 받도록 하였다.

본 연구의 인체적용시험 계획서와 증례 기록서는 부산대학교한방병원 연구윤리심의위원회의 관리 하에 수차례 승인과정을 통해 개발되었다. 하지만 시험을 진행하는 동안 다양한 변수가 발생할 수 있기 때문에 추가적으로 수정 및 보완 과정이 필요할 수 있다.

발효굴추출물의 신장 성장에 대한 인체적용시험이 없었던 현 시점에서 본 논문대로 인체적용시험이 완료되면, 신장 성장에 대한 발효굴추출물의 유효성 및 안정성에 대한 유의한 결과를 얻을 수 있을 것이라 기대된다. 신장 성장에 대한 건강기능식품에 대한 관심이 높아져가는 가운데, 식품의약품안전처로부터 성장에 대한 기능성을 인정받는다면 성장장애로 고통 받고 있는 소아들의 고민해결에 큰 도움이 될 것으로 사료된다.

Acknowledgment

이 논문은 2017년 해양수산부 재원으로 한국해양과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구임 (수산물 유래 기능성 식품 소재 및 관련 응용제품 개발)

References

1. Rona RJ, Chinn S. Genetic and environmental influences on growth. *J Med Screen.* 1995;2(3):133-9.
2. Lee KH. Growth assessment and diagnosis of growth disorders in childhood. *J Kor Pediatr.* 2003;46(12):1171-7.
3. Rosenfeld RG. Disorders of growth hormone and insulin-like growth factor secretion and action. In: *SperlingamAed. Pediatric Endocrinology.* Philadelphia: WB Saunders Co. 2002:116-69.
4. Kim JE, Baek JH. Effects of herbal medicine for growth of children: a retrospective study. *J Pediatr Korean Med.* 2016;30(4):87-98.
5. Yoon HJ, Kim DG, Lee JY. A study for the parent's recognition of the oriental medical treatment and the expectation of children's growth. *J Korean Orient Pediatr.* 2011;25(1):119-27.
6. Huh K, Park MJ. Questionnaire-based analysis of growth-promoting attempts among children visiting a university growth clinic. *Korean J Pediatr.* 2009;52(5):576-80.
7. Wang BY. *Chinese Pediatrics.* 1st ed. Seoul: Eui Seong Dang Publishing Co, 1996:34-5.
8. Korean Traditional Knowledge Portal. Molyeoyug [Internet] Korean Traditional Knowledge Portal; 2007 [Updated 2007 Dec; cited 2019 Oct 10]. Available from: <https://doi.org/10.20929/KTKP.MED.0000077722>
9. Osaki K, Arakawa T, Kim BS, Lee MJ, Jeong CS, Kang NG. Hepatoprotective effects of oyster (*Crassostrea gigas*) extract in a rat model of alcohol-induced oxidative stress. *Korean Soc Food Sci Nutr.* 2016;45(6):805-11.
10. Jeong EJ, Um YS, Ih JY, Park TS. Effects of oral taurine supplementation on blood antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in healthy female adults. *J Korean Nutr Soc.* 2000;33(7):745-54.
11. Kang SY, Kang SM. After intake of taurine, a meridian massage positively affects blood fatigue, antioxidants, and hormone in middle-aged females. *Journal of the Korea Soc Beauty and Art.* 2015;16(2):7-25.
12. Lee YK, Kim YH, Kim HI, Jung H, Min JA, Seo HB, Ryu SP, Kee SC. Effects of taurine ingestion before exercise on lipid metabolism, glycogen storage and antioxidant system in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Phy edu.* 2007;46(2):461-71.
13. Cho ESR, Park GH, Shim KS. Effects of taurine supplementation on heat shock protein 70 and In vitro protein syntheses in liver of broiler chicks under chronic heat stress. *Korean J Poult Sci.* 2016;43(4):213-8.
14. Choi MJ, Seo JN. The effect of dietary taurine supplementation on plasma and liver lipid concentrations in

- rats. *J East Asian Soc Diet Life*. 2006;16(2):121-7.
15. Yoon JA, Shin KO, Choi KS. Studies on the function of taurine: review. *Korean J Food Nutr*. 2015;28(5):880-93.
16. Woo NS, Seo YB. Stress relaxation and sleep induction effect of fermented sea tangle *Saccharina japonica* and *Oyster Crassostrea gigas* powder. *Kor J Fish Aquat Sci*. 2013;46(6):702-7.
17. Cavagnini F, Invitti C, Pinto M, Maraschini C, Di Landro A, Dubini A, Marelli A. Effect of acute and repeated administration of gamma aminobutyric acid (GABA) on growth hormone and prolactin secretion in man. *Acta Endocrinol (Copenhagen)*. 1980;93(2):149-54.
18. Powers M. GABA supplementation and growth hormone response. *Med Sport Sci*. 2012;59:36-46.
19. Lee DH, Lee SH, Song JB, Jee HJ, Cha SH, Chang GT. Effects of astragalus extract mixture HT042 on height growth in children with mild short stature: A multicenter randomized controlled trial. *Phytother Res*. 2018;32(1):49-57.
20. Hong CU. *Pediatrics*. 11th ed. Seoul:Miraen. 2016:2-3, 10-2.
21. Ranke MB. Towards a consensus on the definition of idiopathic short stature. 1996;45(Suppl 2):64-6.
22. Woelfle J, Chia DJ, Rotwein P. Mechanisms of growth hormone (GH) action. Identification of conserved Stat5 binding sites that mediate GH-induced insulin-like growth factor-I gene activation. *J Biol Chem*. 2003; 278(1):51261.
23. Kim HS. The role of the insulin-like growth factors and insulin-like growth factor binding proteins in growth disorders. *Endocrinol Metab*. 2003;18(6):543-51.
24. Kawai M, Momoi T, Yorifuji T, Yamanaka C, Sasaki H, Furusho K. Unfavorable effects of growth hormone therapy on the final height of boy with short stature not caused by growth hormone deficiency. *J Pediatr*. 1997;130(2):205-9.
25. Yang SW. Management of children with short stature. *J Korean Soc Endocrinol*. 2003;18(6):561-70.
26. Lee BJ, Senevirathne M, Kim JS, Kim YM, Lee MS, Jeong MH, Kang YM, Kim JI, Nam BH, Ahn CB, Je JY. Protective effect of fermented sea tangle against ethanol and carbon tetrachloride-induced hepatic damage in Sprague-Dawley rats. *Food Chem Toxicol*. 2010; 48:1123-8.
27. Inoue K, Shirai T, Ochiai H, Kasao M, Hayakawa K, Kimura M, Sansawa H. Blood-pressure-lowering effect of a novel fermented milk containing γ -aminobutyric acid (GABA) in mild hypertensives. *Eur J Clin Nutr*. 2003;57(3):490-95.
28. Lee BJ, Kim JS, Kang YM, Lim JH, Kim YM, Lee MS, Jeong MH, Ahn CB, Je JY. Antioxidant activity and γ -aminobutyric acid (GABA) content in sea tangle fermented by *Lactobacillus brevis* BJ20 isolated from traditional fermented foods. *Food Chem*. 2010;122(1): 271-6.
29. Okai Y, Higashi-Okai K, Nakamura S. Identification of heterogenous antimutagenic activities in the extract of edible brown seaweeds, *Laminaria japonica* (Makonbu) and *Undaria pinnatifida* (Wakame) by the umu gene expression system in *Salmonella typhimurium* (TA1535/ pSK100 2). *Mutat Res*. 1993;303(2):63-70.
30. Witkowska-Sedek E, Kucharska A, Ruminska M, Pyrzak B. Relationship between 25(OH)D and IGF-I in children and adolescents with growth hormone deficiency. *Adv Exp Med Biol*. 2016;912:43-9.
31. Choi WC, Reid S, Ryu J, Kim Y, Jo YH, Jeon BH. Effects of γ -aminobutyric acid-enriched fermented sea tangle (*Laminaria japonica*) on brain derived neurotrophic factor-related muscle growth and lipolysis in middle aged women. *Algae*. 2016;31(2):175-87.
32. Sakashita M, Nakamura U, Horie N, Yokoyama Y, Kim MJ, Fujita S. Oral Supplementation using gamma-aminobutyric acid and whey protein improves whole body fat-free mass in men after resistance training. *J Clin Med Res*. 2019;11(6):428 - 34.
33. Ihn HJ, Kim JA, Lim SM, Nam SH, Hwang SH, Lim JW, Kim GY, Choi YH, Jeon YJ, LeeBJ, Bae JS, Kim YH, Park EK. Fermented oyster extract prevents ovariectomy-induced bone loss and suppresses osteoclastogenesis. *Nutrients*. 2019;11(6):1392.
34. Jeong JW, Choi SH, Han MH, Kim GY, Park C, Hong SH, Lee BJ, Park EK, Kim SO, Leem SH, Jeon YJ, Choi YH. Protective effects of fermented oyster extract against RANKL-induced osteoclastogenesis through scavenging ROS generation in RAW 264.7 Cells. *Int J Mol Sci*. 2019;20(6):1439.

46 Randomized, Double-blind, and Placebo-controlled a Human Study for Growing of Stature via the Analysis of Effect of Ferment Oyster Extract: Study Protocol

35. Choi WC, Reid Storm SN, Ryu JK, Kim Y, Jo YH, Jeon BH, Effects of γ -aminobutyric acid-enriched fermented sea tangle (*Laminaria japonica*) on brain derived neurotrophic factor-related muscle growth and lipolysis in middle aged women. *ALGAE*. 2016;31(2): 175-187.
36. Cheong EJ, Chun PS. Effect of growth hormone therapy on height in children and adolescents. *Yakhak Hoeji*. 2016;60(4):211-21.
37. Korea Centers for Disease Control and Prevention : <http://www.cdc.go.kr/menu.es?mid=a40504100200>
38. World Health Organization. Global database on child growth and malnutrition [Internet]. World Health Organization; 1997 [Updated 1997; cited 2019 Oct 10]. Available from: <https://www.who.int/nutgrowthdb/about/introduction/en/index4.html>
39. Jeon JK, Kim JB, Yoo HW. Normative data on serum levels of IGF-I, IGFBP-3 in healthy korean children: effect of age sex, height, body mass index, and pubertal maturation on the serum levels. *J Korean Soc Pediatr Endocrinol*. 2000;5(1):75-82.
40. Juul A, Kastrup KW, Pedersen SA, Skakkebaek NE. Growth hormone (GH) provocative retesting of 108 young adults with childhood-onset GH deficiency and the diagnostic value of insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF-binding protein-3. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82(4):1195-201.
41. Kannisto S, Korppi M, Arikoski P, Remes K, Voutilainen R. Biochemical markers of bone metabolism in relation to adrenocortical and growth suppression during the initiation phase of inhaled steroid therapy. *Pediatr Res*. 2002;52(2):258-62.
42. Johansen JS, Giwercman A, Hartwell D, Nielsen CT, Price PA, Christiansen C, Skakkebaek NE. Serum bone Gla-protein as a marker of bone growth in children and adolescents: correlation with age, height, serum insulin-like growth factor I, and serum testosterone. *J Clin Endocrinol Metab*. 1988;67(2):273-8.
43. Crofton PM, Wade JC, Taylor MR, Holland CV. Serum concentrations of carboxyl-terminal propeptide of type I procollagen, amino-terminal propeptide of type III procollagen, cross-linked carboxyl-terminal telopeptide of type I collagen, and their interrelationships in schoolchildren. *Clin Chem*. 1997;43(9):1577-81.