

곰피추출물의 간기능 개선 효과 평가를 위한 12주, 무작위배정, 이중맹검, 위약-대조 인체적용시험

김정희^{1,3} · 김은진¹ · 강다혜¹ · 김형빈¹ · 장재영² · 엄애선^{3*} · 김종욱^{1*}

¹(주)네추럴웨이 R&D센터

²순천향대학교 서울병원 소화기내과

³한양대학교 생활과학대학 식품영양학과

The Effects of *Ecklonia stolonifera* Extracts on Improvement of Hepatic Function: a Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Clinical Study

Junghee Kim^{1,3}, Eun Jin Kim¹, Dahye Kang¹, Hyung-Bin Kim¹, Jae Young Jang², Ae-Son Om^{3*}, Jongwook Kim^{1*}

¹R&D Center, Naturalway Co. Ltd., Pocheon, Gyeonggi, Korea

²Department of Internal Medicine, Institute for Digestive Research, Digestive Disease Center,
Soonchunhyang University College of Medicine, Seoul, Korea

³Department of Food and Nutrition, College of Human Ecology, Hanyang University, Seoul, Korea

(Received April 29, 2022/Revised May 26, 2022/Accepted June 13, 2022)

ABSTRACT - Hepatic diseases are divided into two types: alcoholic and non-alcoholic. Non-alcoholic liver injury finally induces fatty liver and damages liver function. Many studies have demonstrated that *Ecklonia stolonifera* has antioxidative, anti-inflammatory, and hepatoprotective activities. We conducted a 12-week double-blind, placebo-controlled, randomized trial to examine the efficacy of *E. stolonifera* extracts (ESE) on biochemical markers of hepatic function. Sixty-five subjects with mild or moderate liver injuries were randomly allocated to receive either 420 mg/d of ESE or a placebo for 12 weeks. Fifty-five participants completed the trial. No significant adverse events were observed among the subjects during the study. The primary end points were changes in plasma levels of aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT), and γ -glutamyltransferase (γ -GT). The secondary end points were changes in lipid profile levels, including total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high-density lipoprotein cholesterol (HDL), and low-density lipoprotein cholesterol (LDL). Compared with the baseline, AST and ALT levels decreased significantly in the ESE group compared to those in the placebo group ($P < 0.001$). In addition, γ -GT levels in the ESE group were significantly lower than those in the placebo group ($P = 0.016$). There were no differences in the TC, TG, HDL, and LDL levels between groups. In conclusion, ESE consumption for 12 weeks improved liver parameters in subjects with liver injury. Regular consumption of ESE could maintain liver health in individuals at risk of hepatic damage.

Key words: *Ecklonia stolonifera* extract, Liver injury, Hepatic function, Health functional food

*Correspondence to: Ae-Son Om, Department of Food and Nutrition, College of Human Ecology, Hanyang University, Seoul 04763, Korea

Tel: +82-2-2220-1203

E-mail: aesonom@hanyang.ac.kr

*Correspondence to: Jongwook Kim, R&D Center, Naturalway Co. Ltd., Pocheon, Gyeonggi 11160, Korea

Tel: +82-2-3442-7773, Fax: +82-2-3442-7779

E-mail: jwkim@naturalway.co.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

간은 우리 몸에서 가장 큰 내장 장기이다. 동서양을 막론하고 고대인들은 간에 많은 양의 혈액이 가득 차 있는 것을 보고 생명유지에 필수적인 장기로 판단하였다¹⁾. 간은 흔히 침묵의 장기라고 불리며 간세포가 서서히 파괴되어 기능이 반 이상 저하되어도 특별한 증상이 나타나지 않기 때문에 평소에 간 기능을 잘 유지하는 것이 중요하다²⁾.

간질환의 원인은 바이러스나 세균에 의한 감염, 음주, 독성물질 등 다양하며 원인에 따라 바이러스간염, 알코올간질환, 비알코올 지방간질환, 독성 간염, 자가면역 간질환 등이 발생한다¹⁾. 그리고 때에 따라서는 만성적인 경과를 거쳐 간경변증이나 간암 등으로 진행될 수 있다. 이중 비알코올 지방간질환(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)은 유의한 알코올 섭취나 약물 복용 등이 없이 생기는 것으로 알려져 있다³⁾.

최근에는 음주가 NAFLD 환자에게 미치는 영향에 대한 연구 결과가 보고되고 이에 따른 제한점을 보완하고자 대사(이상)관련 지방간질환(metabolic dysfunction associated fatty liver disease)이라는 용어가 제안되기도 하였다⁴⁾. NAFLD는 제2형 당뇨병, 비만, 대사증후군 등과 밀접한 관련이 있음을 시사한다⁵⁾. 다양한 요인에 의한 간 손상은 대사에 영향을 줄 수 있고 이로 인해 간 조직 내 지방이 축적될 수 있다.

NAFLD의 유병률은 비만 및 당뇨병 인구의 증가와 함께 전 세계적으로 급격하게 증가하고 있으며, 국내 유병률은 약 20-30% 정도로 추정된다^{6,7)}. 하지만 현재까지 NAFLD의 치료제로 개발된 게 없으며 개발 중인 치료제들은 광범위한 표적을 대상으로 하고 있다^{8,9)}. 또한, NAFLD는 질환이 진행되는 데 오랜 시간이 걸린다는 점에서 약물치료는 선택적으로 적용할 필요가 있다. 적절한 식이약적 예방 및 치료법 개발이 필요하다고 할 수 있다.

이러한 실정을 반영하듯 국내외에서는 간기능에 도움을 줄 수 있는 식품 소재 연구가 활발하다. 최근 간 건강 기능성 원료로서 식품의약품안전처에 등록된 소재에는 개뽕속추출분말(제2021-19호), 인삼(제2021-10호)이 있다¹⁰⁾. 해조류의 경우 식이섬유소, 비타민, 무기질이 풍부해 식품으로서 가치가 높는데 Choi 등의 연구에서는 식용 갈조류에서 분리한 fucosterol이 간세포 보호에 효과가 있다고 보고한 바 있다¹¹⁾. 식용 갈조류 중 하나인 곰피(*Ecklonia stolonifera*)는 한국, 일본 등에 분포하고 있다. 국내 해안에서는 동해안을 기반으로 남서해 지역으로 서식지가 확대되어 전남 여수지역까지 자생지역이 확인되었다¹²⁾.

Byun 등¹³⁾에 따르면 carbon tetrachloride (CCl₄)로 간 손상을 유도한 동물에 곰피추출물(*E. stolonifera* extract, ESE)을 투여한 결과 시험군에서는 대조군보다 aspartate aminotransferase (AST) 및 alanine aminotransferase (ALT) 수치가 감소하였다. ESE 투여는 조직 내 항산화 효소를 증가시켜 CCl₄에 의한 산화 스트레스를 억제하고 cytochrome P450 2E1을 저해함으로써 간을 보호하는 것으로 나타났다¹³⁾. ESE뿐만 아니

라 이로부터 분리한 물질의 생리활성도 다수 보고되었다^{14,17)}.

본 연구에서는 이와 같은 ESE의 *in vitro* 및 *in vivo* 생리활성을 기반으로 경증 또는 중증도의 간기능 이상 소견을 보이는 자를 대상으로 ESE의 간기능 개선 유효성과 안전성을 평가하였다.

Materials and Methods

연구 대상

본 인체적용시험에는 순천향대학교 서울병원 소화기내과를 방문한 만 20세 이상의 성인 남녀 144명이 지원하였다. 이중 선정기준에 적합하고 제외기준에 해당하지 않는 시험대상자 65명을 선정하여 12주간의 무작위, 이중맹검, 전향적 연구를 수행하였다(IRB 승인번호: SCHUH2014-09-004-002).

시험대상자는 인체적용시험에 서면 동의하고 스크리닝 검사결과, ALT가 남성은 33 U/L, 여성은 25 U/L를 초과하고 다음 범위 이내의 범위에 있는 자(남성 33-149 IU/L, 여성 25-89 IU/L), 또는 AST가 남성은 40 U/L, 여성은 30 U/L를 초과하고 다음 범위 이내의 범위에 있는 자(남성 40-149 IU/L, 여성 30-89 IU/L), 또는 gamma-glutamyltransferase (γ -GT)가 남성은 50 U/L, 여성은 30 U/L를 초과하고 다음 범위 이내의 범위에 있는 자(남성 50-149 IU/L, 여성 30-89 IU/L)를 대상으로 하였다. 곰피 및 기타 해산물에 과민증 또는 그 병력이 있는 시험대상자, 바이러스성 간염 항체 양성인 자, 분유 또는 유제품 복용 시 알레르기 등 이상반응을 경험한 자 등 제외기준에 해당하는 시험대상자와 이외에 시험의 준수사항을 따를 수 없거나 기타 부적합하다고 판단되는 시험대상자를 제외하였다.

인체적용시험 식품 섭취

선정기준과 제외기준에 맞추어 시험대상자로 적합한

Table 1. Ingredient of investigator's product

Ingredient	ESE (%) ^{a)}	Placebo (%)
ESE	10.5	-
Lactose	32.8	36.7
Vegetable cream	21.0	23.7
Maltitol	16.3	18.6
Xylitol	10.0	11.6
Strawberry powder	5.2	5.2
Strawberry flavor powder	2.0	2.0
Fructo oligosaccharide	1.8	1.8
Enzymatically modified stevia	0.4	0.4
Total	100.0	100.0

^{a)} ESE 420 mg/day (ESE 210 mg each, twice a day).

경우 무작위배정 기법에 따라 시험식품군(ESE)과 대조식품군(Placebo)으로 배정하여 시험을 수행하였다. 선정된 시험대상자는 난수표의 무작위코드대로 낮은 번호부터 할당하였다. 인체적용시험 담당자는 0주(방문 2)와 6주(방문 3)에 시험대상자에게 인체적용시험 식품을 코드대로 지급하였다. 그리고 시험대상자는 시험식품 또는 대조식품을 12주간 하루 2포씩(아침과 저녁 식전 30분에 1포씩) 섭취하였다. 인체적용시험 식품의 조성은 Table 1에 나타내었다.

측정항목 및 방법

인구통계학적 특성

인구통계학적 특성으로 시험대상자의 연령, 성별, 신장, 체중, 체질량지수(body mass index, BMI), 수축기 및 이완기 혈압, 흡연, 음주, 운동, 심전도를 측정하였다. 신체검사는 방문마다 시행하였고 체중은 시험 기간 동일한 체중계를 사용하며, 신장은 신발을 벗고 cm 단위로 측정하였다. 활력 징후는 병원 도착 후 30분이 경과한 후 같은 장소에서 혈압, 맥박수, 체온을 측정하였다. 또한, 시험대상자의 선행 및 병용 약물을 조사하기 위해 인체적용시험 참가 4주 이내에 약물을 복용한 이력과 시험 진행 중에 병용한 약물의 종류, 용량, 용법, 투여 기간을 조사하였다.

안전성 평가 변수

실질적 검사를 위한 혈액채취는 방문 1, 방문 3, 방문 4에 최소 8시간 이상 금식한 상태에서 실시하였다. 안전성 평가 분석은 시험식품을 섭취한 후 1회 이상 안전성에 대하여 조사가 된 시험대상자 61명(intention-to-treat)을 대상으로 하였다. 검사는 혈액학적 검사, 혈액화학적 검사, 소변 검사, 활력 징후 항목을 분석하였다. 혈액학적 검사는 whole blood cell (WBC), red blood cell (RBC), hemoglobin, hematocrit, platelet을 측정하였고, 혈액화학적 검사로는 total bilirubin, direct bilirubin, protein, albumin, alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH), glucose, blood urea nitrogen (BUN), creatinine, uric acid, hemoglobin A1c (HbA1c), free thyroxine 4 (Free T4), thyroid stimulating hormone (TSH)를 검사하였다. 또한, 소변 검사는 pH, specific gravity, protein, glucose를 측정하였으며 임신기 여성은 임신 반응 검사를 시행하였다. 활력 징후로는 이완기 혈압과 수축기 혈압을 측정하였다.

유효성 평가 변수

유효성 평가 분석은 총 65명의 시험대상자 중 선정제외 기준 위반(3건), 자진 동의철회(3건) 및 방문날짜 위반(4건)의 중도 탈락자 10명을 제외하고 인체적용시험을 완료한 55명(per-protocol, PP)을 대상으로 하였다. 1차 유효성 평

가변수는 간기능 지표로서 혈중 AST, ALT, γ -GT 수치 변화를 평가하였다. 2차 유효성 평가변수로는 지질대사 지표인 혈중 total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high-density lipoprotein cholesterol (HDL), low-density lipoprotein cholesterol (LDL) 수치를 검사하여 대조식품 및 시험식품 섭취 전후의 개선 여부를 평가하였다.

통계분석

시험대상자로부터 얻은 자료는 SPSS (Version 22.0, IBM, Armonk, NY, USA) 프로그램을 이용하여 분석하였다. 통계적 유의성은 $P < 0.05$ 수준에서 검정하였고 분석 결과는 평균 \pm 표준편차 또는 빈도와 백분율로 나타내었다. 대조식품 또는 시험식품 섭취 전후의 군내 비교는 연속형 변수의 경우 Wilcoxon signed rank test를 실시하였고 범주형 변수는 Chi-square test 또는 Fisher's exact test로 분석하였다. 대조식품 또는 시험식품 섭취 전후 군 간의 차이는 Mann Whitney U-test와 각 군의 baseline 값을 보정한 공분산분석(analysis of covariance)을 이용하여 검정하였다.

Results and Discussion

인구통계학적 특성

총 144명을 스크리닝하여 선정기준에 부적합한 79명이 탈락하고 65명을 본 인체적용시험의 연구대상자로 등록하였다. 무작위배정 방법에 따라 시험식품군과 대조식품군에 각각 33명, 32명으로 총 65명을 할당하였다. 그러나 선정제외기준 위반, 방문일 초과, 자진 동의철회에 의한 중단 등 10명이 중도 탈락하여 최종 55명이 시험을 완료하였다(Fig. 1).

시험식품군과 대조식품군의 인구통계학적 특성을 분석한 결과 연령은 23세부터 71세까지로 시험식품군의 평균 연령은 45.5 ± 13.8 세였고, 대조식품군은 47.9 ± 14 세로 군 간

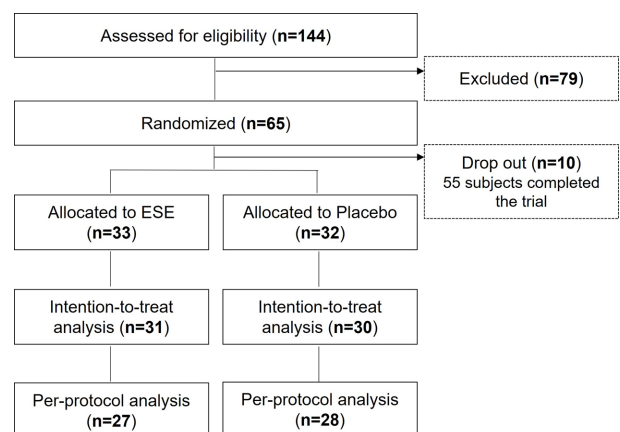


Fig. 1. Flowchart of the study.

Table 2. Demographics and clinical characteristics at baseline (per-protocol)

Variables	ESE (n=27)	Placebo (n=28)	P-value
Age (yrs)	45.5±13.8	47.9±14	0.479 ^{a)}
Sex (n, %)			
Men	17(63.0)	17(60.7)	1.000 ^{b)}
Women	10(37.0)	11(39.3)	
Hight (cm)	166.9±8.7	166.8±9.2	0.960 ^{a)}
Body weight (kg)	76.4±14.4	74.3±12.4	0.613 ^{a)}
Body mass index (kg/m ²)	27.3±3.9	26.7±4.4	0.395 ^{a)}
Blood pressure (mmHg)			
Systolic	130.3±17	129.2±12.5	0.987 ^{a)}
Diastolic	79.7±10.2	78.1±8.1	0.418 ^{a)}
Smoking			
None	19(70.4)	21(75.0)	
Former	2(7.4)	3(10.7)	0.747 ^{b)}
Current	6(22.2)	4(14.3)	
Drinking			
None	15(55.6)	14(50.0)	
Moderate	9(33.3)	10(35.7)	1.000 ^{b)}
Excessive	3(11.1)	4(14.3)	
Physical activity			
None	8(29.6)	7(25.0)	
Irregular	19(70.4)	21(75.0)	0.768 ^{b)}
Regular	0(0.0)	0(0.0)	
Electrocardiogram			
Normal	21(77.8)	21(75.0)	1.000 ^{b)}
Abnormal (NCS)	6(22.2)	7(25.0)	
Comorbidity			
No	18(66.7)	19(67.9)	1.000 ^{b)}
Yes (NCS)	9(33.3)	9(32.1)	
Drug use			
No	19(70.4)	22(78.6)	0.547 ^{b)}
Yes (NCS)	8(29.6)	6(21.4)	

Data are presented as number(%) or mean±SD. NCS, no clinical significance.

^{a)} Compared between groups : P-value by Mann Whitney U-test.

^{b)} Compared between groups : P-value by Fisher's exact test.

의 차이는 없었다. 두 군의 성별 구성 역시 군 간 차이를 보이지 않았다. 또한, 신장, 체중, BMI, 수축기 및 이완기 혈압, 흡연, 음주, 운동, 심전도 분석 결과에서도 군 간의 유의미한 차이는 없었다. 시험대상자가 인체적용시험 개시 전에 복용한 약물을 조사한 결과에서도 군 간 차이를 보이지 않았다(Table 2).

안전성 평가 변수

섭취 전후의 혈액학적 및 혈액화학적 검사결과는 Table 3에 나타내었다. WBC 수치는 시험식품군에서 섭취 후에 유의하게 증가하였으나 정상 범위(4.0-10.0×10⁶/μL) 내의 변화로 임상적 의미는 없다고 판단하였다. 그리고 대조식품군과의 군간 차이는 없었으며 baseline 보정 후에도 유의한 차이를 보이지 않았다. 이외에 RBC, hemoglobin, hematocrit, platelets 검사결과도 섭취 전후 군 간의 의미 있는 차이는 보이지 않았으며 정상 범위 이내로 나타났다.

혈액화학적 검사항목 중 LDH는 시험식품군에서 섭취 후에 유의하게 감소하였으나 정상 범위인 0-250 U/L 이내로 임상적 의미는 없다고 판단하였다. 그리고 대조식품군과의 군간 차이가 없었으며 baseline 보정 후에도 유의한 차이를 보이지 않았다. 이밖에 total bilirubin, direct bilirubin, protein, albumin, ALP, glucose, BUN, creatinine, uric acid, HBA1c 수치도 섭취 전후로 군 간의 유의한 차이를 보이지 않았고 정상 범위 이내였다. 또한, 시험대상자의 갑상선 기능을 확인하고자 baseline에서 Free T4와 TSH를 측정된 결과 두 군 모두 정상 범위 이내로 나타났다. 소변 검사결과 및 활력 징후에서도 섭취 전후로 군 간의 임상적 의미를 부여할 만한 차이는 보이지 않았다.

유효성 평가 변수

12주간 인체적용시험을 완료한 시험대상자를 대상으로 간기능 개선 여부를 평가하기 위해 1차 유효성 평가 지표로 ALT, AST, γ-GT를 측정하였고, 2차 유효성 평가 지표로는 TC, TG, LDL, HDL을 측정하였다(Table 4).

시험식품군과 대조식품군의 섭취 전후 ALT 수준을 분석한 결과, 시험식품군은 섭취 전 평균 57.67±28.24 U/L에서 섭취 후 43.96±26.92 U/L로 유의하게 감소하였다. 반면 대조식품군은 섭취 전 평균 40.82±24.22 U/L에서 섭취 후 50.75±35.34 U/L로 유의하게 증가하였다. 이는 군간 의미 있는 차이를 보였으며(P<0.001), baseline 값의 영향을 보정한 후에도 유의한 차이를 보였다(P<0.001).

AST 결과 역시 시험식품군은 섭취 전 평균 39.67±19.29 U/L에서 섭취 후 30.33±11.50 U/L로 유의하게 감소하였고, 대조식품군은 섭취 전 평균 30.75±17.66 U/L에서 섭취 후 34.68±18.00 U/L로 유의하게 증가하여 군간 유의한 차이를 보였다(P<0.001). 또한, baseline 값의 영향을 보정한 결과에서도 유의한 차이를 보였다(P<0.001).

γ-GT의 경우 시험식품군은 섭취 전 평균 68.04±60.20 U/L에서 섭취 후 60.78±62.26 U/L로 유의하게 감소하였고, 대조식품군은 섭취 전 평균 61.86±40.41 U/L에서 섭취 후 68.96±52.30 U/L로 증가하였다. 군간 변화된 정도는 유의한 차이를 보였으며(P=0.015), baseline 값의 영향을 보정한 결과에서도 유의한 차이를 보였다(P=0.016).

2차 유효성 평가 지표인 지질대사 지표 분석 결과, TC

Table 3. Changes in safety end points during randomized period (intention-to-treat)

Variable	ESE (n=31)			Placebo (n=30)			<i>P</i> -value ^{b)}	<i>P</i> -value ^{c)}
	Baseline	12 wks	<i>P</i> -value ^{a)}	Baseline	12 wks	<i>P</i> -value ^{a)}		
WBC (10 ⁶ /μL)	6.4±1.4	7.0±2.2	0.018	7.0±2.0	7.3±2.3	0.454	0.406	0.393
RBC (10 ⁶ /μL)	4.8±0.6	4.8±0.6	0.610	4.7±0.4	4.8±0.4	0.658	0.498	0.268
Hb (g/dL)	14.6±1.5	14.0±2.8	0.120	14.4±1.3	14.5±1.3	0.819	0.200	0.193
Ht (%)	44.0±4.4	42.3±8.5	0.170	43.9±3.8	43.9±3.7	0.970	0.462	0.233
Platelet (10 ³ /μL)	245.1±47.9	253.8±53.7	0.094	240.0±48.1	242.4±53.8	0.805	0.289	0.383
T-Bil (mg/dL)	0.8±0.4	0.8±0.5	0.818	0.7±0.3	0.6±0.2	0.315	0.581	0.255
D-Bil (mg/dL)	0.3±0.1	0.3±0.1	0.682	0.3±0.1	0.3±0.1	0.683	0.589	0.448
Protein (g/dL)	7.3±0.4	7.3±0.4	0.881	7.4±0.3	7.3±0.4	0.600	0.794	0.594
Albumin (g/dL)	4.7±0.3	4.6±0.3	0.215	4.6±0.2	4.6±0.2	0.622	0.485	0.620
ALP (U/L)	68.8±15.6	69.0±17.6	0.882	64.6±16.5	66.1±15.0	0.130	0.141	0.653
LDH (U/L)	194.2±40.5	186.2±36.5	0.048	179.0±23.1	178.1±21.2	0.926	0.161	0.460
Glucose (mg/dL)	123.5±46.4	111.7±30.0	0.109	107.1±25.2	114.7±23.7	0.006	0.004	0.058
BUN (mg/dL)	12.8±3.0	13.2±5.5	0.487	12.5±3.6	12.7±3.9	0.845	0.851	0.733
Cr (mg/dL)	0.8±0.2	0.8±0.2	0.387	0.9±0.2	0.8±0.2	0.773	0.530	0.671
UA (mg/dL)	5.5±2.0	5.5±1.9	0.624	5.9±1.7	5.8±1.3	0.288	0.675	0.678
HBA1c (%)	6.0±1.2	6.0±1.3	0.897	5.7±0.7	5.8±0.8	0.153	0.293	0.449
Free T4 (ng/dL)	1.3±0.2	-	-	1.2±0.2	-	-	0.007	-
TSH (μU/mL)	1.8±0.8	-	-	2.2±1.0	-	-	0.082	-

Data are presented as mean±SD. ALP, alkaline phosphatase; ANCOVA, analysis of covariance; BUN, blood urea nitrogen; Cr, creatinine; D-Bil, direct bilirubin; Free T4, free thyroxine 4; Hb, hemoglobin; HBA1c, hemoglobin A1c; Ht, hematocrit; LDH, lactate dehydrogenase; RBC, red blood cell; T-Bil, total bilirubin; TSH, thyroid stimulating hormone; UA, uric acid; WBC, white blood cell.

^{a)} Compared within groups : *P*-value by Wilcoxon signed rank test.

^{b)} Compared between groups : *P*-value by Mann Whitney U-test.

^{c)} Compared between groups : *P*-value by ANCOVA (adjustment with baseline).

Table 4. Changes in efficacy end points during randomized period (per-protocol)

Variable	ESE (n=27)			Placebo (n=28)			<i>P</i> -value ^{b)}	<i>P</i> -value ^{c)}
	Baseline	12 wks	<i>P</i> -value ^{a)}	Baseline	12 wks	<i>P</i> -value ^{a)}		
Primary end point								
ALT (U/L)	57.67±28.24	43.96±26.92	<0.001	40.82±24.22	50.75±35.34	0.009	<0.001	<0.001
AST (U/L)	39.67±19.29	30.33±11.50	<0.001	30.75±17.66	34.68±18.00	0.025	<0.001	<0.001
γ-GT (U/L)	68.04±60.20	60.78±62.26	0.035	61.86±40.41	68.96±52.30	0.108	0.015	0.016
Secondary end point								
TC (mg/dL)	211.93±49.51	206.04±41.13	0.548	189.89±26.68	192.14±29.19	0.674	0.429	0.760
TG (mg/dL)	224.81±199.94	197.56±103.05	0.876	166.71±88.42	173.32±79.84	0.295	0.490	0.954
LDL (mg/dL)	135.37±38.90	136.37±40.88	0.737	124.11±27.46	126.18±29.04	0.550	0.993	0.849
HDL (mg/dL)	52.07±13.46	52.70±13.10	0.718	52.54±10.77	52.89±13.53	0.990	0.794	0.946

Data are presented as mean±SD. ALT, alanine aminotransferase; ANCOVA, analysis of covariance; AST, aspartate aminotransferase; γ-GT, gamma-glutamyltransferase; HDL, high-density lipoprotein cholesterol; LDL, low-density lipoprotein cholesterol; TC, total cholesterol; TG, triglyceride.

^{a)} Compared within groups: *P*-value by Wilcoxon signed rank test.

^{b)} Compared between groups: *P*-value by Mann Whitney U-test.

^{c)} Compared between groups: *P*-value by ANCOVA (adjustment with baseline).

Table 5. Changes in efficacy end points during randomized period

Variable	ESE (n=24)			Placebo (n=24)			P-value ^{b)}	P-value ^{c)}
	Baseline	12 wks	P-value ^{a)}	Baseline	12 wks	P-value ^{a)}		
Primary end point								
ALT (U/L)	54.63±26.37	42.33±27.75	<0.001	40.75±25.54	51.29±37.34	0.020	<0.001	<0.001
AST (U/L)	39.00±20.19	29.83±12.00	<0.001	30.67±18.88	34.83±19.13	0.035	<0.001	<0.001
γ-GT (U/L)	51.38±34.85	46.38±38.39	0.034	51.13±28.72	55.33±35.33	0.334	0.051	0.063
Secondary end point								
TC (mg/dL)	212.17±51.60	207.21±43.47	0.668	192.46±26.53	193.29±30.20	0.875	0.649	0.874
TG (mg/dL)	224.38±211.47	194.54±108.55	0.883	156.83±72.34	169.29±85.06	0.261	0.477	0.884
LDL (mg/dL)	136.00±40.12	139.38±41.33	0.486	128.46±26.71	127.83±29.41	0.661	0.496	0.423
HDL (mg/dL)	51.21±13.16	52.79±12.75	0.460	52.92±10.65	52.54±13.17	0.617	0.370	0.566

Data are presented as mean±SD. ALT, alanine aminotransferase; ANCOVA, analysis of covariance; AST, aspartate aminotransferase; γ-GT, gamma-glutamyltransferase; HDL, high-density lipoprotein cholesterol; LDL, low-density lipoprotein cholesterol; TC, total cholesterol; TG, triglyceride.

^{a)} Compared within groups : P-value by Wilcoxon signed rank test.

^{b)} Compared between groups : P-value by Mann Whitney U-test.

^{c)} Compared between groups : P-value by ANCOVA (adjustment with baseline).

는 시험식품군에서는 섭취 전과 비교하여 감소하였고, 대조식품군에서는 증가하였으나 군간 차이는 없었다($P=0.429$). TG 역시 시험식품군에서는 섭취 전과 비교하여 감소하였고, 대조식품군에서는 증가하였으나 군간 차이는 없었다($P=0.490$). 또한, HDL 및 LDL도 섭취 전후로 군 간의 통계적으로 의미 있는 차이를 보이지 않았다.

비알콜성 시험대상자의 유효성 평가를 위하여 PP군 내에서 다량음주자(소주 360 mL 기준 1/2병 초과/주)를 제외하고 분석한 결과를 Table 5에 나타내었다. ALT는 시험식품군은 섭취 전 평균 54.63±26.37 U/L에서 섭취 후 42.33±27.75 U/L로 유의하게 감소하였고, 반면 대조식품군은 섭취 전 평균 40.75±25.54 U/L에서 섭취 후 51.29±37.34 U/L로 유의하게 증가하였다. 이는 군간 유의한 차이를 보였고($P<0.001$), baseline 값의 영향을 보정한 후에도 유의하였다($P<0.001$).

AST의 경우 시험식품군은 섭취 전 평균 39.00±20.19 U/L에서 섭취 후 29.83±12.00 U/L로 유의하게 감소하였고, 대조식품군은 섭취 전 평균 30.67±18.88 U/L에서 섭취 후 34.83±19.13 U/L로 유의하게 증가하였다. 이는 군간 의미 있는 차이를 보였으며($P<0.001$), baseline 보정 후에도 유의한 차이를 보였다($P<0.001$).

γ-GT는 시험식품군에서는 유의하게 감소하였고 대조식품군에서는 섭취 전 대비 증가하였지만 군 간의 유의한 차이를 나타내지는 않았다($P=0.051$). 2차 유효성 평가 변수인 TC, TG, LDL, HDL 측정 결과에서도 섭취 전후로 군간 유의한 차이를 나타내지 않았다.

간기능 관련 아미노전이효소인 ALT와 AST는 간세포 손상을 확인하는 데 유용한 지표이다. ALT와 AST는 간 손

상 시 혈청 내로 흘러나와 혈중 농도가 증가하므로 간세포 피사의 표지자로 이용된다. AST는 심장, 근육, 신장 세포 등에도 존재하지만, ALT는 간에만 존재하는 간세포 특이적 효소이기 때문에 ALT의 상승은 간세포 독성을 직접적으로 반영한다²⁾.

12주간의 ESE 섭취는 혈중 AST 및 ALT 수준을 유의하게 감소시키는 것으로 나타났다. γ-GT 수준 역시 섭취 전과 비교하여 유의하게 감소하였다. 이는 ESE를 이용한 동물실험 결과와 연결된다. Bang 등은 에탄올로 간 손상을 유도한 쥐에 ESE를 투여했을 때 혈청 AST와 ALT가 감소함을 보였다¹⁸⁾. 에탄올이 간 손상을 유발한다는 것은 잘 알려져 있으며 6주간 에탄올 식이를 섭취한 군은 간 조직 내에 지질과산화물이 축적되어 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이 증가하였다. 간 조직 내 ROS 증가는 산화 스트레스에 의한 간 손상을 유발한다¹⁹⁾. 알코올 섭취는 지방산 산화에 관여하는 peroxisome proliferator activated receptor-α와 carnitine acyltransferase 1 유전자 발현은 감소시키는 반면 지방산 합성에 관여하는 sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c) 발현은 증가시키는데²⁰⁻²²⁾ ESE군에서는 ROS 생성은 감소하고 이러한 유전자 발현이 긍정적으로 조절되었다. ESE에 풍부한 디에콜 등의 플로로탄닌류가 ROS 생성을 효과적으로 억제하여 ROS 매개의 간 손상을 개선하였을 것으로 사료된다^{23,24)}.

한편, 본 연구에서는 PP군 내에서도 유의한 알코올 섭취가 없는 시험대상자군을 별도로 분석하였다(Table 5). 다량음주자를 제외하는 때도 동일한 효과가 나타나는지를 알아보았다. 그 결과 시험식품군은 대조식품군과 비교하

여 AST, ALT 수준이 유의하게 감소하였다. 앞서 Byun 등의 연구에서도 비알콜성 간 손상을 유도한 동물에서 이와 같은 결과를 보고한 바 있다. ESE의 항산화 물질이 간 조직 내 superoxide dismutase, catalase, glutathione을 증가시켜 산화 스트레스를 낮추고 결과적으로 간기능 효소 수치를 개선하는 것으로 사료된다^{11,25)}.

비만은 비알콜성 간 손상 및 지방간의 주요 위험 인자이다. Jin 등²⁶⁾은 고지방식이로 간 내 지방 축적을 유도한 생쥐에 ESE를 투여했을 때의 변화를 측정하였는데, ESE 투여군은 대조군보다 지방 축적이 적었을 뿐 아니라 혈청 AST, ALT 수준이 유의하게 감소하였다. ESE는 간에서의 지방 합성을 조절하는 SREBP-1, lipin1, diacylglycerol acyltransferase 1의 단백질 발현을 감소시켜 간 손상 및 지방증을 개선하는 것으로 판단된다.

본 연구에서는 간 지방증이 있는 대상자가 아닌 간기능 지표에 이상 소견을 보이는 사람을 대상으로 하였다. 추후 연구에서는 단순 지방간 및 간 손상이 있는 자를 대상으로 시험을 설계하는 것도 의미가 있다고 생각한다. 또한, 최근 인정받은 간 건강 기능성 소재인 개똥썩추출분말의 경우 간기능 효소 수치뿐만 아니라 전반적인 피로도 설문검사인 다차원피로척도(mutidimensional fatigue scale)에서도 유의한 개선 효과를 나타냈다²⁷⁾. 이러한 연구결과를 참고하여 간기능 유효성 평가에는 바이오마커로서 임상 증상 개선 지표를 함께 설정하는 것도 적절하다고 생각한다.

본 인체적용시험에서는 12주간의 ESE 섭취에 따른 유효성과 안전성을 평가하였다. 실험실 검사결과 임상적으로 유의한 차이는 보이지 않았으며 모든 검사 수치가 정상 범위 이내로 나타났다. 간 건강 생화학적 지표의 유의적인 개선과 섭취 안전성 결과를 종합하면, ESE 섭취는 간기능 장애를 개선하는 데 효과가 있다고 판단하며 건강 기능식품 소재로 활용할 수 있을 것으로 보인다.

Acknowledgement

이 논문은 2015년도 농림축산식품부 기술사업화지원사업 및 2022년도 해양수산부 재원으로 해양수산과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구임(20200362, 해양바이오 전략소재 개발 및 제품 상용화 지원).

국문요약

본 연구에서는 경증 또는 중등도 간기능 이상 소견자를 대상으로 ESE의 간기능 개선 효과를 평가하기 위해 시험식품군과 대조식품군으로 나누어 단일기관, 위약대조, 무작위배정, 이중눈가림 평행 인체적용시험으로 연구를 수행하였다. 12주간 ESE 420 mg(210 mg/포, 1일 2회)을 함

유한 시험식품 또는 대조식품을 섭취하였을 때 ESE의 간기능 개선 유효성과 안전성을 평가하였다. 유효성 평가 결과, 섭취 후 시험식품군은 대조식품군과 비교하여 ALT, AST, γ -GT 수준이 유의하게 감소하였다. 반면, 지질대사 지표는 두 군간의 의미 있는 차이를 보이지 않았다. 또한, 비알콜성 시험대상자군을 대상으로 분석하였을 때도 ALT 및 AST 수준이 유의하게 감소하였으며 γ -GT의 경우 감소하는 경향성을 보였다. 안전성 평가로서 혈액, 소변, 활력 징후를 검사한 결과 대부분 항목에서 시험식품군과 대조식품군 군간 차이가 없었으며 몇몇 유의성이 나타난 지표도 임상적 의미는 없었다. 따라서 ESE는 간기능 개선에 도움을 줄 수 있을 것으로 보이며 안전한 식품 소재로 판단된다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Junghee Kim	https://orcid.org/0000-0002-0603-950X
Eun Jin Kim	https://orcid.org/0000-0002-8417-5419
Dahye Kang	https://orcid.org/0000-0002-7157-3362
Hyung-Bin Kim	https://orcid.org/0000-0003-4777-8541
Jae Young Jang	https://orcid.org/0000-0001-5335-752X
Ae-Son Om	https://orcid.org/0000-0002-9452-9647
Jongwook Kim	https://orcid.org/0000-0001-5128-8938

References

1. Lee, H.J., White paper on liver diseases in Korea. Korean Association for the Study of the Liver, 21 (2021).
2. National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Guides for safety and efficacy evaluation of health functional food(May help to liver health), (2020).
3. Kim, H.K., Suh, C.J., Yoon, H.J., Hwang, Y.H., Lee, K.Y., Park, H.Y., Kim, K.H., Kang, M.H., Association between non-alcoholic fatty liver and metabolic diseases. *J. Kor. Endocrine. Soc.*, **17**, 526-534 (2002).
4. Eslam, M., Sanyal, A.J., George, J., Sanyal, A., Neuschwander-Tetri, B., Tiribelli, C., Kleiner, D.E., Brunt, E., Bugianesi, E., Yki-Järvinen, H., MAFLD: a consensus-driven proposed nomenclature for metabolic associated fatty liver disease. *Gastroenterology*, **158**, 1999-2014 (2020).
5. Seo, Y., Lee, S.H., Hwang, H.S., Choe, S.Y., Effects of non-alcoholic fatty liver in rats by *Acer tagmentosum* Maxim. Extract. *Korean J. Food & Nutr.*, **29**, 307-312 (2016).
6. Friedman, S.L., Neuschwander-Tetri, B.A., Rinella, M., Sanyal, A.J., Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. *Nat. Med.*, **24**, 908-922 (2018).

7. Lee, H.J., Non-alcoholic fatty liver disease clinical practice guidelines. Korean Association for the Study of the Liver, 5-14 (2021).
8. Liss, K.H., Finck, B.N., PPARs and nonalcoholic fatty liver disease. *Biochimie*, **136**, 65-74 (2017).
9. Lee, H.J., Non-alcoholic fatty liver disease clinical practice guidelines. Korean Association for the Study of the Liver, 40-45 (2021).
10. Ministry of Food and Drug Safety, 2022.02.11., Available from: <https://www.foodsafetykorea.go.kr/main.do>
11. Choi, J.S., Han, Y.R., Byeon, J.S., Choung, S.Y., Sohn, H.S., Jung, H.A., Protective effect of fucosterol isolated from the edible brown algae, *Ecklonia stolonifera* and *Eisenia bicyclis*, on tert-butyl hydroperoxide- and tacrine-induced HepG2 cell injury. *J. Pharm. Pharmacol.*, **67**, 1170-1178 (2015).
12. Yu, S., Kim, W., Health beneficial effects of brown algae *Ecklonia stolonifera* in liver. *Food Sci. Ind.*, **51**, 334-342 (2018).
13. Byun, J.H., Kim, J., Choung, S.Y., Hepaprotective Effect of Standardized *Ecklonia stolonifera* Formulation on CCl4-Induced Liver Injury in Sprague-Dawley Rats. *Biomol. Ther. (Seoul)*, **26**, 218-223 (2018).
14. Goo, H.R., Choi, J.S., Na, D.H., Quantitative determination of major phlorotannins in *Ecklonia stolonifera*. *Arch. Pharm. Res.*, **33**, 539-544 (2010).
15. Lee, M.S., Kim, J.I., Utsuki, T., Park, N.G., Kim, H.R., Cytoprotective effects of phlorofucofuroeckol A isolated from *Ecklonia stolonifera* against tacrine-treated HepG2 cells. *Fitoterapia*, **83**, 1060-1067 (2012).
16. Lee, M.S., Shin, T., Utsuki, T., Choi, J.S., Byun, D.S., Kim, H.R., Isolation and identification of phlorotannins from *Ecklonia stolonifera* with antioxidant and hepatoprotective properties in tacrine-treated HepG2 cells. *J. Agric. Food Chem.*, **60**, 5340-5349 (2012).
17. Yoon, J.S., Kasin Yadunandam, A., Kim, S.J., Woo, H.C., Kim, H.R., Kim, G.D., Dieckol, isolated from *Ecklonia stolonifera*, induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma Hep3B cells. *J. Nat. Med.*, **67**, 519-527 (2013).
18. Bang, C.Y., Byun, J.H., Choi, H.K., Choi, J.S., Choung, S.Y., Protective effects of *Ecklonia stolonifera* extract on ethanol-induced fatty liver in rats. *Biomol. Ther. (Seoul)*, **24**, 650-658 (2016).
19. Browning, J.D., Horton, J.D., Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J. Clin. invest.*, **114**, 147-152 (2004).
20. Wang, N., Kong, R., Luo, H., Xu, X., Lu, J., Peroxisome proliferator-activated receptors associated with nonalcoholic fatty liver disease. *PPAR Res.*, 6561701 (2017).
21. Horton, J.D., Goldstein, J.L., Brown, M.S., SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J. Clin. invest.*, **109**, 1125-1131 (2002).
22. You, M., Crabb, D.W., Recent advances in alcoholic liver disease II. minireview: molecular mechanisms of alcoholic fatty liver. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **287**, G1-G6 (2004).
23. Kang, H.S., Chung, H.Y., Kim, J.Y., Son, B.W., Jung, H.A., Choi, J.S., Inhibitory phlorotannins from the edible brown alga *Ecklonia stolonifera* on total reactive oxygen species (ROS) generation. *Arch. Pharm. Res.*, **27**, 194-198 (2004).
24. Katagiri, T., Sunagawa, Y., Maekawa, T., Funamoto, M., Shimizu, S., Shimizu, K., Katanasaka, Y., Komiyama, M., Hawke, P., Hara, H., Mori, K., Hasegawa, K., Morimoto, T., *Ecklonia stolonifera* Okamura extract suppresses myocardial infarction-induced left ventricular systolic dysfunction by inhibiting p300-HAT activity. *Nutrients*, **14**, 580 (2022).
25. Han, X., Kim, W.H., Choi, S.I., Men, X., Lee, S.j., Jin, H., Oh, H.J., Kang, D., Kim, H., Lee, B.Y., Lee, O.H., Antioxidant and anti-cholesterol activities of standardized *Ecklonia Stolonifera* extract. *J. Food Hyg. Saf.*, **36**, 353-362 (2021).
26. Jin, H., Lee, K., Chei, S., Oh, H.J., Lee, K.P., Lee, B.Y., *Ecklonia stolonifera* extract suppresses lipid accumulation by promoting lipolysis and adipose browning in high-fat diet-induced obese male mice. *Cells*, **9**, 871 (2020).
27. Han, B., Kim, S.M., Nam, G.E., Kim, S.H., Park, S.J., Park, Y.K., Baik, H.W., A randomized, double-Blind, placebo-controlled, multi-centered clinical study to evaluate the efficacy and safety of *Artemisia annua* L. extract for improvement of liver function. *Clin. Nutr. Res.*, **9**, 258 (2020).