

건강기능식품 기능성 평가 가이드

‘장건강에 도움을 줄 수 있음’ 편

2015. 12



건강기능식품 기능성 평가 가이드

‘장건강에 도움을 줄 수 있음’ 편

2015. 12



이 가이드라인은 기능성 평가에 대한 식품의약품안전평가원의 입장을 기술한 것으로, 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아닙니다.

본 가이드는 건강기능식품 기능성 원료 평가에 대하여 이해를 돕고자, 현재의 과학기술 수준에서 일반적인 사항과 시험방법 등이 제시된 참고자료입니다. 새로운 논리에 대한 과학적 타당성이 확인될 경우 언제든지 변경될 수 있고, 기능성 원료의 특성마다 다르게 해석될 수 있음을 알려드립니다.

※ 가이드라인이란 대외적으로 특정한 사안 등에 대하여 식품의약품안전평가원의 입장을 기술한 것임(식품의약품안전처 지침등의 관리에 관한 규정(식약처 예규))

※ 본 가이드라인에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전평가원 식품위해평가부 영양기능연구팀로 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-4422

팩스번호: 043-719-4420

목 차

* 약어	1
I. 서론	3
II. 일반적 사항	3
1. 개요	3
2. 보건학적 중요성	21
III. 기능성 시험방법	22
1. 바이오마커의 선정	22
2. 바이오마커의 측정 방법	24
IV. 참고문헌	41

약어

CRP	C-Reactive Protein
DCs	Dendritic cells
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
ESR	Erythrocyte Sedimentation Rate
GALT	Gut-associated lymphoid tissue
H&E	Hematoxylin-Eosin
HAPCs	High-amplitude propagated contractions
IBD	Inflammatory bowel disease
IBS	Irritable bowel syndrome
IBS-QOL	Irritable bowel syndrome-Quality of Life
IBS-SSS	Irritable bowel syndrome Severity Scoring System
IFN- γ	Interferon- γ
IgA/IgM/IgE	Immunoglobulin A/M/E
IL-6/IL-10	Interleukin-6/10
iNOS	Inducible nitric oxide synthase
LAP	Latency-associated peptide
LPS	Lipopolysaccharide
LTB ₄	Leukotriene B ₄
M	M cell
MPO	Myeloperoxidase
PAMPs	Pathogen-associated molecular patterns
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear cells
PCR	Polymerase Chain Reaction
PGE ₂	Prostaglandin E ₂
PMNL	Polymorphonuclear Leukocyte
sIgA/sIgM	Secretory Immunoglobulin A/M
TCR	Time to Complete Relief
TFF	Trefoil factor
TFR	Time to First Relief

Th1/Th2

TNF- α

VAS

T-helper cell 1/2

Tumor Necrosis Factor- α

Visual Analogue Scale

I

서론

이 가이드라인은 건강기능식품 기능성원료를 개발하는 연구자 및 영업자에게 기능성(장건강에 도움)에 대한 바이오마커 등의 정보를 제공함으로써 산업체의 기능성원료 연구개발에 적정을 기하고 효율성을 높이고자 작성되었다.

II

일반적 사항

1. 개요

가. 장의 구조와 기능

장(intestine)은 소화기계를 이루는 주요 장기 중 하나로 소장(small intestine)과 대장(large intestine)으로 구분된다. 소장은 십이지장(duodenum), 공장(jejunum), 회장(ileum)으로 구성되는데, 길이가 6-7 m로 소화관에서 가장 길며 다양한 소화 효소 분비 및 활발한 장운동을 통해 다량 영양소인 탄수화물, 단백질, 지방과 미네랄, 비타민 등의 미량 영양소 및 수분 대부분이 소화, 흡수되는 곳이다. 대장은 회맹판(ileocecal valve, 회장에서 맹장으로 넘어가는 부위로 조임근의 역할 수행)을 경계로 소장과 구분되는데, 맹장(cecum), 충수(appendix), 결장(colon), 직장(rectum)으로 이루어져 있다. 대장은 소장에서 소화, 흡수되지 않은 음식물의 분해 및 배설을 주로 담당하며, 일부 전해질과 수용성 비타민이 흡수되는 곳이기도 하다.

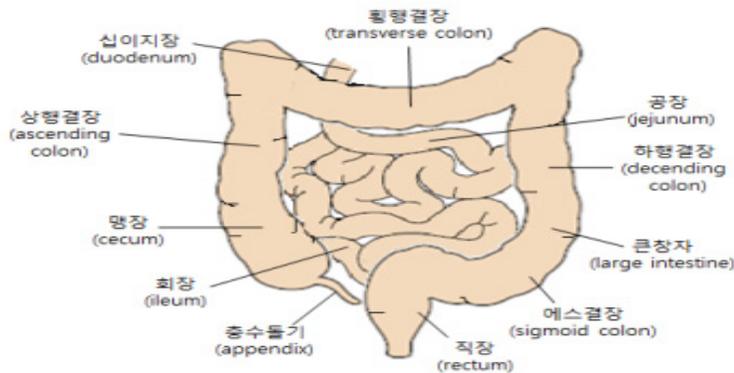


그림 1. 장의 구조

(1) 소화와 흡수

식품의 소화와 영양소 흡수는 고도의 효율적 대사 반응이 통합적으로 연계된 과정이다. 즉, 위(stomach)에서 일부 소화과정을 거친 음식물이 소장부터 대장으로 이어진 장관(intestinal tract)을 따라 이동하는 과정에서 신경계와 근육, 소화효소 분비기관, 장 유래 호르몬 등이 복합적으로 관여된다. 연령, 성별, 인종, 생활습관에 따라 소화, 흡수 기능이 영향을 받을 수 있고, 개인차가 있으므로 정상적인 기능에 대해 획일화된 기준을 정하기는 어렵다.

(가) 소장

① 기계적 소화

소장은 공복 동안에도 주기적인 소화운동(motility)을 유지하다가, 식사를 하게 되면 위에서 소화된 미즙(chyme)이 소장으로 내려가면서 운동성(motor activity)이 훨씬 강해지게 된다. 이 과정에서 소장 내 음식물은 소장 평활근의 수축과 이완이 반복되는 분절운동(segmentation)에 의해 작은 덩어리로 나뉘면서 소화액과 혼합되고, 소장벽과 접촉되면서 영양소의 흡수가 원활히 이루어지게 된다. 소장 상부일수록 분절운동이 강하고 빈도도 높아서 십이지장의 경우 분당 약 12회, 회장은 약 9회 정도 일어난다. 또한 음식물을 소장의 상부에서 하부로 이동시켜주는 연동운동(peristalsis)도 소장 상부일수록 빠르고 하부로 갈수록 늦어지는데, 소장 내 음식물이 대장에 이르기까지는 대략 3-5시간 정도 소요된다.

② 화학적 소화 및 흡수

소장은 열량 영양소가 최종 흡수단위로 분해되는 주요 장소로서 췌장에서 분비되는 췌장액, 간에서 합성되어 분비되는 담즙, 장내에서 분비되는 소화효소의 화학 작용이 활발히 이루어지는 곳이다. 췌장액에는 위산을 중화시키는 중탄산염(bicarbonate)과 탄수화물, 지방, 단백질을 소화시키는 소화효소가 함유되어 있다. 담즙은 담즙산(bile acid), 빌리루빈(bilirubin), 콜레스테롤, 지방산, 인지질 등의 복합체로 이루어진 수용성 용액으로 음식물이 소장으로 유입되면 담낭에서 십이지장으로 분비된다. 담즙산은 음식으로 섭취한 중성지방을 유화시켜 마이셀(micelles)을 형성하는데, 이는 지질 성분이 효율적으로 소화, 흡수될 수 있도록 해준다. 대부분의 담즙산은 결국 회장 말단부에서 재흡수 되어 다시 간문맥을 통해 간

으로 이동된다. 소장 점막은 영양소 흡수에 적합하도록 넓은 표면적을 가지고 있고, 장세포(enterocyte)의 장내 표면은 올리고당, 펩타이드를 각각 단당류와 아미노산으로 분해할 수 있는 다양한 효소들을 함유하고 있어, 음식물의 소화를 돕는다. 최종적으로 소화된 영양소들은 특정 운반체 의한 능동수송 또는 수동 확산에 의해 세포막을 통과하거나 점막 세포 사이의 공간이나 연접결합(tight junction) 부위를 통해 흡수될 수 있다.

(나) 대장

① 기계적 소화

대장은 소장에서 흡수되지 않은 음식 잔여물의 소화가 완료되는 곳이다. 대장의 소화운동은 매우 느리지만 분절운동이 약 30분마다 일어나 대장 내용물을 혼합해주는 역할을 한다. 결장에서는 소장의 연동운동과 유사한 수축운동이 일어남으로써 대장 마디 사이에 수축하지 않는 부분이 불룩하게 나와 염주 같은 모양을 띠게 된다.

② 흡수

대장점막에서는 알칼리성 점액이 분비되나 소화효소는 함유되어 있지 않아서 화학적 소화는 일어나지 않으며, 소장에서 소화, 흡수되지 않은 일부 비타민 및 미네랄, 수분이 흡수된다.

③ 박테리아에 의한 발효

대장은 소화운동이 느리며, 소장에서 흡수되지 않고 대장으로 내려온 음식 잔여물이 남아 장내 미생물이 성장, 번식할 수 있는 배지 역할을 하므로 미생물의 성장과 번식에 매우 좋은 환경이라 할 수 있다. 따라서 대장에서 일어나는 주요한 생리반응에서 장내 미생물의 역할이 매우 중요하다. 장내 미생물이 음식 잔여물, 특히 소화되지 않은 다당류를 발효하는 과정에서 단쇄지방산(short-chain fatty acids)이 생성되는데 이는 장내 미생물 및 대장 상피세포(intestinal epithelial cell)의 주요 에너지원으로 사용된다. 그 외에도 소장에서 재흡수 되지 않은 담즙산은 대장 박테리아에 의해 대사되어 이차성 담즙산으로 전환되는데 이는 대장에서 다시 재흡수 되거나 변을 통해 배설된다. 장내 박테리아는 또한 암모니아와 요소

(urea)로부터 아미노산을 합성하기도 하며, 비타민 K, 비오틴, 엽산, 판토텐산 등의 비타민을 합성하기도 한다.

(2) 노폐물 배설

전해질과 수분이 흡수된 후 남은 노폐물들이 직장으로 이동되면 직장내압(rectal pressure)이 증가되어, 항문 괄약근이 이완되고 배변이 일어난다. 직장내압이 특정 수준(30-40 mmHg)으로 상승되면 배변반사(defecation reflex)가 나타난다. 건강한 배변활동을 위하여 장운동(motility)과 장 내 수분의 적절한 유지가 중요하며, 이들은 배변량, 변 내 수분함량, 음식물의 대장통과시간(intestinal transit time), 배변횟수 등의 배변습관을 결정하는 중요 요소라 할 수 있다.

(가) 배변량(fecal bulk)

인종, 성별, 연령에 따라 차이가 있으며, 개인별로도 호르몬, 식사패턴, 기분, 기온 등에 영향을 받을 수 있다. 남성이 여성보다, 젊은 사람이 나이 든 사람에 비해 배변량이 많은 것으로 조사되었다. 건강한 사람의 경우 음식의 양과 질(구성성분)에 의해 배변량이 달라지는데, 음식 섭취량이 많을수록 그리고 셀룰로오스(cellulose) 등 수분 보유 능력이 있는 식이섬유를 많이 섭취할수록 배변량이 증가되는 것으로 알려져 있다. 또한 변에 함유된 수분함량도 배변량에 영향을 줄 수 있다. 일반적으로 약 100 ml의 수분이 대장에서 흡수되지 않고 변을 통해 배설되는데, 체내 수분 균형이 잘 유지될 경우 대장 내 수분 재흡수와 배설이 적절한 균형을 이루게 되므로 배변량이 정상적으로 유지되는데 도움이 될 수 있다.

(나) 변 굳기와 형태

변의 형태는 단단하고 작은 새똥 형태에서부터 길쭉한 모양, 또는 죽과 같은 무정형의 모양에 이르기까지 다양하다. 변의 형태는 변 내 수분함량, 즉 변 굳기와 관련이 있는데 보통 정상적인 상태에서는 변 내 수분함량이 70-80% 정도인 것으로 알려져 있다.

(다) 대장통과시간(intestinal transit time)

섭취한 음식물은 평균 24-72시간 동안 장에 머무르는데, 위와 소장 통과 시간

은 4-8시간에 불과하며, 18-64시간을 대장, 특히 결장에 머무르게 된다. 설사 증상이 있는 사람은 통과시간이 빠르며, 대변이 단단하거나 배변횟수가 적은 사람은 그 반대이다.

(라) 배변횟수

신생아 때의 1일 배변횟수는 4회 정도로 높은 편이고, 4세가 되면 성인과 같은 배변횟수 패턴(1일 1회)을 보인다. 개인차는 있으나 일반적으로 1주일 동안 세 번 미만으로 배변할 때, 3일 이상 배변하지 않을 때, 한 번의 배변량이 25 g 이하일 때 배변이 원활하지 않은 것으로 판단하며, 반대로 배변 횟수가 하루에 3회를 초과할 경우에도 비정상적인 것으로 볼 수 있다.

(3) 장 내 생체 방어(gut defense)

장은 체내에서 표면적이 가장 넓은 기관으로(약 400 m²) 외부로부터 유입된 물질들이 접촉되는 주요 장소이다. 장의 표면을 이루고 있는 점막에서는 음식물, 병원균 등 외부로부터 유입된 물질과 장내 미생물의 상호작용이 이루어지며, 다양한 외부 자극으로부터 우리 몸을 보호해주는 중요한 역할을 담당한다. 장 내 방어는 1차적으로 장관의 구조적 특성과 고유한 운동성에 의해 가능한데, 이때 관여하는 것이 장내 미생물(gut flora), 점막 장벽(mucosal barrier; intestinal epithelial cell barrier), 장운동(intestinal motility)이다. 2차적으로는 세포성, 체액성 면역에 의한 방어기전이 작용하게 된다.

(가) 비면역성 방어(primary non-immune defense)

① 점막 장벽

㉠ 물리적 장벽

구조적으로 보면, 장관 벽은 단일층으로 이루어진 장 상피세포(intestinal epithelial cells)와 점막층(mucus layer), 각종 기질들로 구성되어 있다. 장 점막 상피(intestinal epithelium)는 융모(villus)의 선와(crypts)에 존재하는 다분화능 장 상피 줄기세포(pluripotent intestinal epithelial stem cells)에 의해 세포의 증식, 분화, 교체 등이 이루어지면서 지속적으로 교체된다. 즉, 새로 분화된 장 상피 세포가 융모 기저부로부터 융모 상단 부위로 이동되면서, 융모 상단 부위에

있던 기존 상피세포가 장벽에서 분리된다. 이때 장 점막에 붙어 있던 병원성 물질도 함께 떨어져 나가게 됨으로써 병원성 물질이 상피세포에 침투하기 어렵게 된다. 장 상피세포의 교체는 2-5일 주기로 빠르게 일어나는데, 병원균에 의한 감염이 있을 경우 교체 속도가 빨라진다.

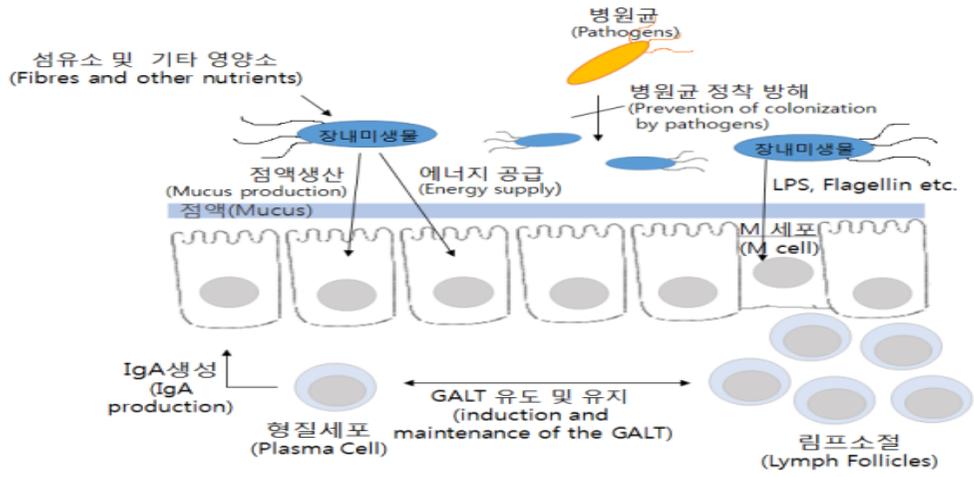
장 점막층은 뮤신(mucins), TFF(trefoil factor)와 같이 다양한 점막 분비물로 구성된 겔(gel)로 이루어져 있다. 이 층은 장의 내강 환경(luminal environment)과 장 상피를 물리적으로 분리시킴으로써 외부로부터 유입된 물질을 1차적으로 방어해준다. 즉 점막층은 강한 소수성(hydrophobicity)을 가지고 있기 때문에 수용성 독소가 장 상피로 유입되는 것을 막아준다. 사람을 포함한 여러 포유류의 경우 위장과 대장 상단 부위 점막층은 소수성이 매우 큰 반면, 영양소의 흡수가 활발한 소장 점막층은 소수성이 매우 작다. 또한 위장의 경우 점막층의 두께가 450 μm 로 두껍지만, 소장에서 다시 얇아지고, 회맹판(ileocecal valve)을 지나면서 점막층 두께와 소수성이 점차 증가된다.

㉠ 화학적 장벽(chemical barrier)

장에서 분비되는 소화액은 화학 작용을 통해 병원성 미생물에 의한 감염을 막는다. 예를 들어 췌장액(pancreatic juice)은 세균의 발육을 억제시키는 정균 능력(bacteriostatic activity)이 있는데, 췌장액 결핍 환자의 경우 감염으로 인한 급성 설사가 더 쉽게 유발되는 것으로 알려져 있다. 또한 시험관 시험에서 비결합담즙산(deconjugated bile acid) 역시 미생물 성장을 저해하는 것으로 확인된 바 있다. 이외에도 장세포(enterocyte) 및 소장 파네스세포(small intestinal Paneth cells)에서 분비되는 항균성 펩타이드(antimicrobial peptides)는 내재적 방어 기전에서 중요한 역할을 한다. 소장에는 상당수의 파네스세포가 존재하기 때문에 대장에 비해 장내 미생물 수가 현저히 적다. 사람의 경우 파네스세포에서 분비되는 물질이 백혈구의 식균작용 중에 분비되는 물질과 유사한 것으로 보고되고 있다. 즉, 라이소자임(lysozyme), 분비성 인지질분해효소 A2(secretory phospholipase-A2), DNA 분해효소(DNAses), 트립신(trypsin), 알파-디펜신(α -defensin) 등이 분비된다.

㉡ 장내 미생물(gut flora)

장 점막에 서식하는 장내 미생물은 체내 방어 기전에서 매우 중요한 역할을 한다. 실제로 무균(germ free) 동물들의 경우 감염에 더 취약한 것으로 보고되고 있으며, 사람의 경우도 항생제 사용 등으로 장내 미생물 균형이 파괴될 경우 설사가 유발될 수 있다. 상재균(commensal bacteria)의 경우 병원균(pathogen)의 성장을 저해하는 항균물질을 분비할 수 있고, 외부에서 침입된 유기체(invading organisms)와 장 점막 결합부위(binding site)에 대해 경쟁함으로써 유해 물질이 장점막을 통과하지 못하도록 하는 장벽(barrier) 역할을 한다(그림 2).



IgA, Immunoglobulin A; GALT, Gut-associated lymphoid tissue;
LPS, Lipopolysaccharide

그림 2. 장내 미생물이 장관 장벽에서 하는 역할

③ 장운동(intestinal motility)

장운동은 장내 미생물의 성장과 증식을 조절함으로써 장 내 생체방어의 역할을 한다. 즉, 소장에서 끊임없이 일어나는 분절운동과 연동운동은 미생물이 소장 내에서 안정적인 군집을 이루는 것을 막는데, 만약 질병이 있는 상태에서 소장의 운동성이 감소하면 소장 내에서도 세균이 과다하게 성장할 수 있고 이는 복부 더부룩함 또는 복부팽만이나 흡수 불량 등의 문제를 일으킬 수 있다. 반대로 감염성 위장염은 소장의 빠른 운동 패턴을 유도하고, 장 내로 수분 분비가 증가되어 설사를 유발한다.

(나) 점막 면역(mucosal immunity)

점막에서는 체액성 면역(systemic immunity)이 유도되기 전에 1차적인 면역 방어를 담당하는데, 이러한 방어체계가 원활히 작용할 경우 체액성 면역반응에 대한 필요성이 감소될 수 있다. 점막에서 이루어지는 면역 시스템은 항체 분비를 통해서 미생물이 표면에 서식(colonisation)하는 것을 방해하고, 면역원을 제거하여 잠재적으로 위험한 물질의 침투를 막는 '면역적 배제(immune exclusion)'(그림 3의 ①)와 무해한 항원에 대한 과민반응을 줄여주는 면역 억제(immunosuppressive) 기전이 관여하는 '면역 관용(immune tolerance)'으로 이루어진다(그림 3의 ②).

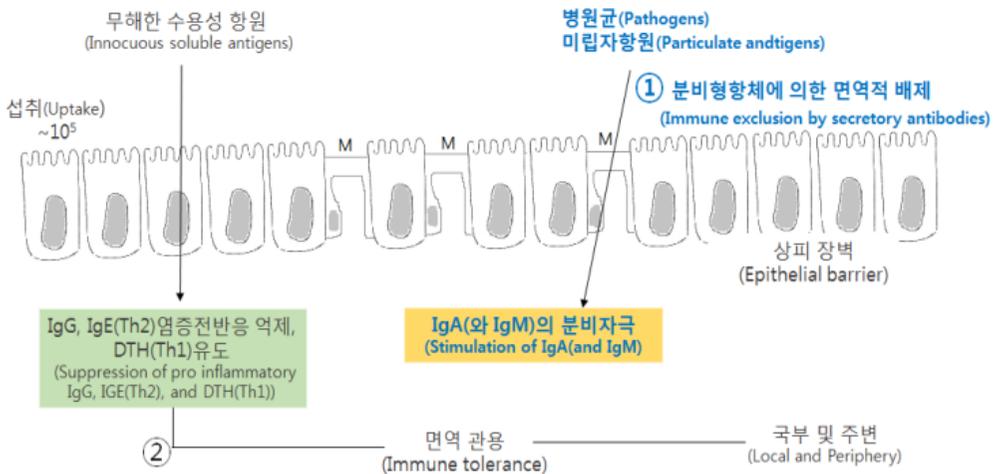


그림 3. 점막 면역 기전

① 면역적 배제(immune exclusion)

체내에서 활성화된 B 세포의 80 % 이상이 점막에 존재할 정도로 점막은 면역 작용에 중요한 역할을 한다. 면역적 배제는 선천성 면역방어(innate immunity) 기전과 함께 분비성 IgA(secretory immunoglobulin A; sIgA)과 분비성 IgM(secretory immunoglobulin M; sIgM)에 의해 중재된다. 즉, 병원성 미생물 또는 항원이 M 세포로 유입되면 소화관점막림프조직(gut-associated lymphoid tissue; GALT)이 자극되어 면역반응이 유도된다.

점막 면역에서 핵심적인 역할을 하는 것이 바로 장 상피세포(intestinal epithelial cells)인데, 이는 앞서 설명한 바와 같이 외부 병원균에 대한 물리적 장벽을 제공할 뿐만 아니라 장 점막에서 이루어지는 면역 시스템, 즉 선천성 면역반응(innate immune response)과 적응 면역반응(adaptive immune response)에 관여한다. 장 상피세포가 미생물에 존재하는 PAMPs(Pathogen-associated molecular patterns)을 빠르게 인식하면, PAMPs와 결합할 수 있는 수용체(toll-like receptors, NOD-family receptors)를 발현시킴으로써 선천성 면역이 시작된다. 또한 미생물 침입에 대해 반응으로서 전사인자인 NF- κ B를 활성화시킴으로써 친염증성 단백질(proinflammatory proteins)의 발현을 증가시킨다. 따라서, 상피세포는 화학주성인자(chemoattractants)를 통해 호중구(neutrophils)와 친염증성 사이토카인(proinflammatory cytokines)을 감염부위로 집중시키고 산화질소(nitric oxide), 프로스타글란딘(prostaglandins), 류코트리엔(leukotrienes) 합성에 관여하는 효소의 발현을 증가시킨다. 이 외에도 장 상피세포는 MHC class II와 non-classical MHC class I 분자를 발현할 수 있으므로 항체 제시세포(antigen-presenting cells)로서도 기능할 수 있다. 이처럼 장 상피세포는 장 점막에서 이루어지는 선천성 면역반응 개시에 중요한 신호들을 제공하고, 면역반응에 관련된 면역세포들과 매개 인자들을 모아주는 역할을 한다.

② 면역 관용(immune tolerance)

명확한 기전은 밝혀져 있지 않지만, 장 점막에서는 체내에 무해한 항원(식품 단백질이나 무해한 세균 등)에 대해 과민성(hypersensitivity)을 억제해주는 기전도 동시에 이루어진다. 이로써 정상적인 상태에서는 식품 단백질에 대한 알레르기 반응과 상재균(commensal bacteria)에 대한 면역 반응은 상대적으로 낮게 된다.

나. 장 기능 관련 인자

(1) 소화, 흡수 불량

섭취한 음식물의 소화나 흡수 불량은 장에서 발생할 수 있는 영양 결핍의 문제나 장 불편감의 문제를 일으키므로 이를 개선하는 것이 건강 유지에 도움이 될 수 있다. 대표적인 문제로 소장 세균 과증식, 유당불내증 등을 들 수 있다.

(가) 소장 세균 과증식(small intestinal bacterial overgrowth)

본래 위장과 근위부 소장에는 세균이 많이 서식하지 않지만, 소장 내 세균이 과증식하게 되면 탄수화물, 단백질, 지질, 비타민 등의 대사와 흡수에 영향을 주게 된다. 점막 손상으로 인한 용모의 이당류분해효소의 활동이 저하되고 세균에 의해 솔비톨, 과당, 유당 등이 발효되면서 탄수화물 흡수장애가 나타날 수 있다. 또한 혐기성 세균이 비타민을 소모시킴으로써 비타민 B₁₂ 결핍 등이 야기되기도 한다. 과민성 장증후군 증상과 유사하게 복통, 복부팽만, 고창, 설사 등이 수반되는 경우가 흔하다.

(나) 유당 불내증(lactose intolerance)

성인의 경우 유당 불내증 유병률이 상당히 높은 편으로 북유럽 및 미국의 경우 5-15%, 아프리카, 아시아의 경우 50-100%에 이른다. 유당불내증의 가장 큰 원인은 유당을 소화시키는 효소인 유당분해효소(lactase)의 활성 감소이다. 유전적으로 소장의 유당분해효소가 선천적으로 부족한 경우, 성장과정에서 분비가 감소되거나 설사 등으로 인해 유당 분해 효소의 분비가 일시적으로 감소되어 나타나기도 한다.

소장에서 유당이 충분히 소화 흡수되지 않고 대장으로 내려오면 대장 내에서 수분 불균형으로 설사를 일으키거나 동시에 대장 내 세균에 의해 분해되어 포도당, 유산, 그리고 가스가 생성된다. 이로 인해 대장의 연동운동이 자극되고, 가스에 의한 복통 등의 증상이 나타날 수 있다. 과민성 장증후군(Irritable bowel syndrome; IBS)이 있는 사람들 중 일부는 유당 또는 솔비톨이나 과당과 같은 단당류의 흡수불량으로 인해 장내 불편감을 겪는다.

(2) 배변장애

대변은 음식을 섭취하고 보통 24-72시간 후에 배설되는데, 결장 안에 대변이 오랜 시간 머물러 있는 증상을 변비(constipation)라고 한다. 개인차는 있으나 일반적으로 배변횟수로는 1주일 동안 세 번 미만 배변할 때를 변비라고 판정하지만, 이 외에도 다양한 증상을 나타낼 수 있다. 임상에서 가장 널리 사용되는 진단기준인 '로마기준 III(Rome III criteria)' 는 다음과 같다.

표 1. 기능성 변비의 로마Ⅲ 진단 기준

- 최근 3개월 동안 일주일에 3회 미만의 배변이 있는 경우
- 최근 3개월 동안 굳거나 덩어리진 변이 배변 4회 중 1회 이상인 경우
- 최근 3개월 동안 대변을 보기 위해 과도한 힘을 준 적이 배변 4회 중 1회 이상인 경우
- 최근 3개월 동안 배변 후 잔변감이 배변 4회 중 1회 이상인 경우
- 최근 3개월 동안 배변할 때 변이 나오지 않는 느낌이 배변 4회 중 1회 이상인 경우
- 최근 3개월 동안 배변을 완전히 보기 위해 손으로 항문 주위를 누르거나 대변을 제거한 경험이 4회 중 1회 이상인 경우

변비는 소화관의 운동 기능이 저하되거나 수분 조절에 문제가 생겼을 때 발생한다. 소화관 운동 기능이 떨어지는 것은 장 내용물들의 이동시간(transit time)을 길어지게 만드는 작용을 한다. 결장에서는 두 가지 특징적인 운동이 일어나는데, 반복적인 비진행성(nonpropulsive) 수축과 고진폭 추진성 수축(high-amplitude propagated contractions; HAPCs)이 그것이다. 반복적인 비진행성 수축은 내용물을 섞고 흡수시키는 방식으로 변을 이동시키고, HAPCs는 상행결장으로부터 변을 가지고 와서 좌측 결장으로 내려 보내는 일을 하는데, 변비일 때, 이 HAPCs의 횟수가 줄어든다.

결장의 기능은 수분을 흡수하고 남은 찌꺼기를 직장으로 이동시키는 것인데, 변 찌꺼기로부터 수분을 제거하는 것은 시간 의존적이고 능동적으로 조절된다. 체내 수분이 극도로 부족한 탈수 상태(dehydrated states)에서는 신세뇨관(renal tubule)에서 알도스테론(aldosterone)이 분비되어 나트륨과 수분의 재흡수를 자극함에 따라 나트륨은 몇 가지 능동 수송 채널을 통해서 결장 안에 있는 내용물로부터 체내로 재흡수 되며, 이와 함께 수분도 수동적으로 삼투 기울기(osmotic gradients)에 의해 수동적으로 이동한다. 결장 속에 변이 오래 머물러 있게 되면 수분의 체내로의 재흡수가 증가되어 변은 점점 건조되고, 자갈 모양 변(pebble-like stools)을 만든다. 이 변이 더 커지고 딱딱해지면 항문관을 통과하기가 어려워진다. 배변이 원활하지 않은 사람의 경우 변 수분 함량은 70 % 미만으로 알려져 있다.

만성변비(chronic constipation) 유병률은 성인의 경우 2-27 %이며, 여성 대 남성의 비율은 2.2:1이라고 알려져 있다. 연령이 증가할수록 유병률이 증가하며,

특히 65세 이상의 노인의 경우 더 높다. 노인의 경우 대장통과시간의 증가, 각종 질환(당뇨병, 파킨슨병과 같은 신경학적 문제 등) 발병 증가, 약물 복용 등이 주요 원인으로 제시되고 있다. 또한 성별 차이에 대해서는 대장통과시간과 여성호르몬 등에 의한 것으로 설명되기도 하지만 아직 합일된 의견은 없다. 다만, 임신 말기에는 프로게스테론(progesterone)의 증가로 인해 음식물의 대장통과시간이 길어지기 때문에 배변 장애가 흔하게 나타난다.

(3) 장 손상

(가) 장 점막 장벽 손상 및 염증반응

장 내 점막 장벽은 장 내강(intestinal lumen)에 있는 세균이 점막층을 투과하여 상피세포로 이동되는 '장내 세균 전위(bacterial translocation)'를 차단한다. 생균이든 사균이든 점막을 투과하여 상피세포로 이동될 경우 면역 시스템이 빠르게 활성화된다. 장 점막 장벽이 손상되거나 기능적 이상이 있을 경우 상당수준의 생균(보통 그람 음성 호기성 균)이 장점막을 투과하여 림프(lymph)를 통해 체내로 유입되지만, 장간막에 존재하는 림프절(lymph node), 간, 비장, 폐는 모두 세균이 체내로 급속히 퍼지는 것을 차단해준다.

'장내 세균 전위(bacterial translocation)'는 장 상피세포의 투과성(permeability)에 의존적인데, 장 상피세포의 투과성에 영향을 주는 것이 바로 세포 사이에 존재하는 밀착연접(tight junction)이다. 본래 소장에서 물질이 흡수되는 경로는 'paracellular pathway'와 'transcellular pathway'가 있는데, 'paracellular pathway'는 장 세포 간 틈새로 물질이 통과하는 것으로 분자량이 작은 물질은 이 방법으로 장벽을 통과한다(그림 4). 밀착연접은 장 세포 간 틈새를 조절함으로써 물질의 장관 투과에 영향을 줄 수 있다. 장내 자극이나 손상으로 인해 밀착연접이 느슨해지면 유해한 분자(병원균, 독소, 항원 등)들이 장 상피에 과량 투과되어 내독소혈증(endotoxemia)이 유발되고, 점막 면역 시스템 혼란과 염증반응이 유도되어, 궁극적으로 장 관련 또는 전신질환이 유발될 수도 있다. 외부로부터 유입한 다양한 종류의 세균이 장 내에 서식하게 되는데, 경우에 따라 병원성 세균이 상피세포와 상호작용을 하면서 밀착연접을 손상시킴으로써 비정상적인 전해질 및 수분 이동, 조직 염증 등을 일으킬 수도 있다. 이러한 손상은 직접 상피세포에 접촉하거나 독소를 분비함으로써 이루어진다. 이렇게 밀착연접이 느슨해져 장의

투과성이 증가된 상태를 장누수증후군(leaky gut syndrome)이라 부르기도 한다.

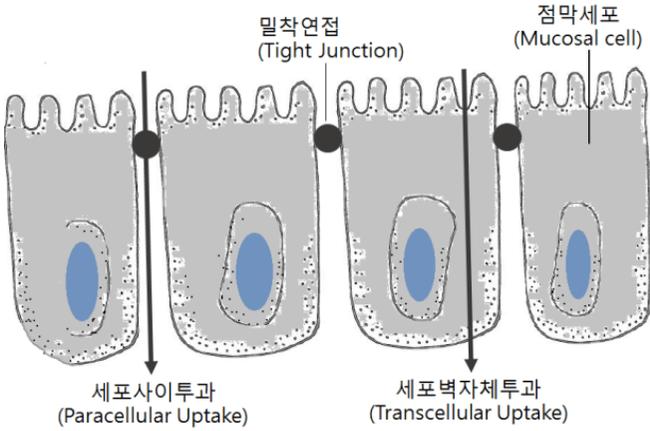


그림 4. Paracellular and transcellular pathway

장누수증후군으로 인해 다량의 독소들과 항원들이 장 상피를 통과하여 혈중으로 유입되면 면역체계가 과다하게 감작되어, IL-13, TNF- α , IFN- γ 와 같은 친염증성 사이토카인의 분비가 증가되는데, 이러한 현상과 체내 병리적 변화는 수술 후 패혈증(postoperative sepsis), 급성 중증 췌장염(acute severe pancreatitis), 진행된 간경변(advanced liver cirrhosis) 환자들에게서 명확히 관찰되고 있어 장관벽 손상이 여러 질환 발병과 상관성이 클 것으로 예측되고 있다.

여러 연구들에서 식품 성분들이 밀착연접 조절에 영향을 주는 것으로 보고되고 있는데, 글루타민, 폴리페놀, 프로바이오틱스 등은 장벽 온전성(barrier integrity)을 보호하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 반면 알코올 또는 그 대사물인 아세트알데하이드는 장벽에 손상을 주어 장누수증후군을 촉진하는 것으로 보고되고 있다.

과도한 염증반응은 주로 장내 미생물 불균형과 동반되어 나타나는데, 여러 연구들에 따르면 건강한 사람은 자신의 장내 미생물에 대한 내성을 가지고 있지만, 염증성 장질환(inflammatory bowel disease; IBD)이 있는 사람들은 내성이 저하되어 있는 것으로 보고되고 있다. 장내 미생물은 장내 삼투압을 안정화시키고, 항원을 분해하는 것으로 알려져 있으며, IgA의 반응을 증진시키고, 친염증성 사이토카인과 항염증성 사이토카인 분비 간에 균형 조절을 중재함으로써

면역기능을 조절할 수 있는 것으로 제안되고 있다(그림 5).

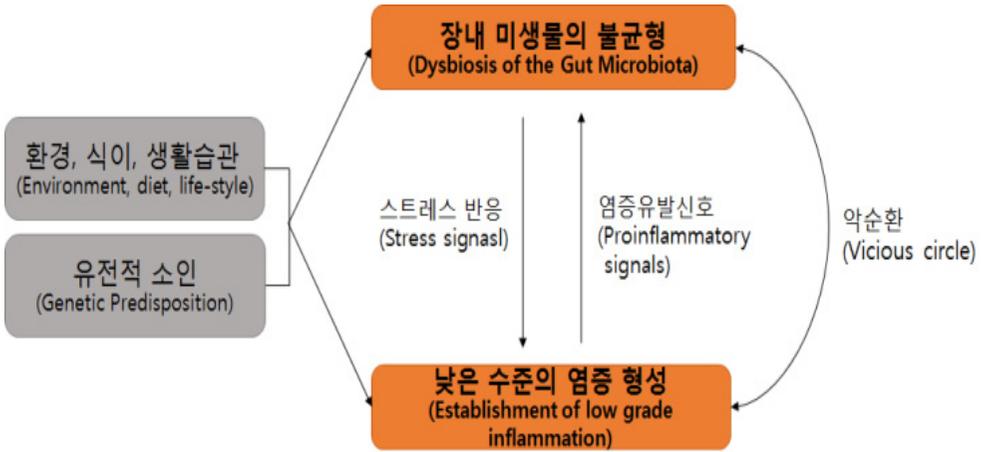


그림 5. 장내 미생물 불균형과 만성적 염증반응

(나) 식품 알레르기(food allergy)

식품 알레르기는 ‘면역 관용(immune tolerance)’ 장애로 인해서 일어난다고 알려져 있다. 즉, 모든 사람의 면역 시스템(immune system)은 식품 항원(food antigen)을 외부 물질로 인식하기는 하지만, 식품 알레르기를 가진 사람들은 이러한 항원에 대해서 병적인 면역 반응을 나타내고, 재노출(re-exposure)에 대해서도 즉각적으로 부정적인 증상을 보인다. ‘면역 관용’ 기전에 문제가 있는 경우 DCs(dendritic cells)가 활성화 되면 helper T cell 2 (Th2)가 자극되어 IL-4, IL-5, IL-13 등의 사이토카인이 분비된다. 이는 B세포의 면역글로불린 E(IgE) 생성을 촉진하게 되는데, IgE는 장 비만세포(mast cell) 표면에 있는 고친화력 수용체(high affinity receptor)에 결합되어 알레르겐(allergen; 알레르기 유발항원)에 반응성을 가지도록 한다. 식품 알레르기는 성인의 약 1-2 %, 소아(어린이)의 약 2-8 %가 가지고 있다고 알려져 있으며, 전 세계적으로 식품 알레르기가 증가하는 것으로 보고되고 있다. 식품 알레르기 발생 원인은 유전적인 요인과 환경적인 요인이 있으며, 환경적인 요인으로는 Th2와 Th1 세포 반응을 증가시키는 환경 인자 등이 제시되고 있다.

(4) 장내 미생물 불균형

(가) 장내 미생물의 발달

사람의 장내 미생물은 출생 직후부터 유아기까지는 다양한 환경적 인자에 의해 지속적으로 변화된다. 출생 초기에는 장내 미생물의 수도 적고 불안정하지만, 보통 걷기 시작하는 나이가 되면, 장내 미생물이 다양해지고, 안정화되어 성인과 유사한 상태가 된다. 장내 미생물 발달 단계 중 유아기에는 수유방법(모유수유인지 인공수유인지)에 따라, 유아기와 아동기 초기에는 식이요인, 감염, 항생제에 대한 노출 정도에 따라 장내 미생물의 성장과 분포가 변화될 수 있다(그림 6).

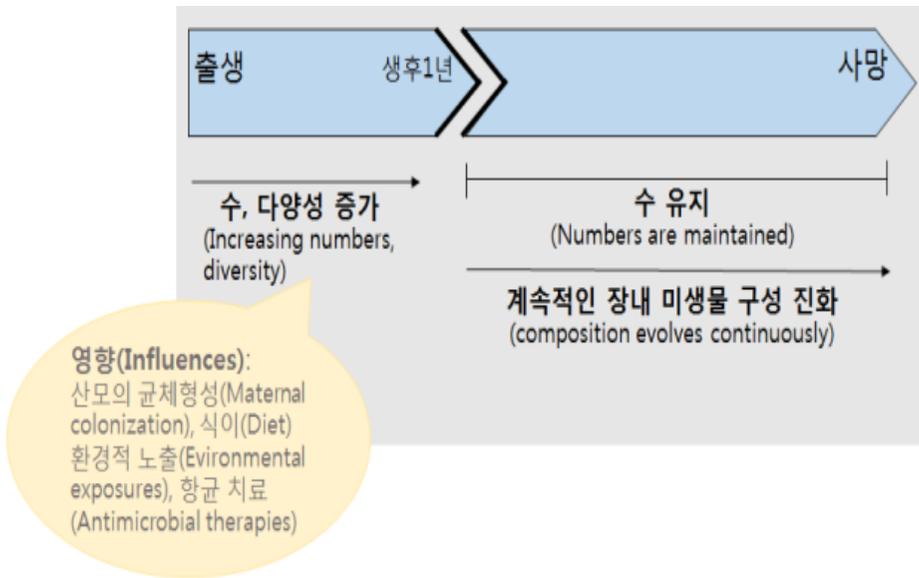


그림 6. 장내 미생물의 발달

(나) 장내 미생물 분포

사람의 장 표면에는 다양한 미생물들이 군집을 이루고 있다. 십이지장(duodenum)에는 그람 양성 구균과 간균 등이 분포하고, 공장(jejunum)에는 *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus*, *Diphtheroids*, 효모인 *Candida albicans* 등이 존재하지만 장관 통과 시간이 짧고 담즙 및 췌장액 등이 분비되는 등 미생물 서식이 어려운 환경적 조건을 가지고 있어 서식하는 미생물 수가 매우 적다. 그러나 회장(ileum)에서는 미생물 수와 종류가 급격히 증가되어 회장말단부의 회맹판(ileocecal valve)에서는 10^{7-8} CFU/g에 이르게 된다. 회장은 pH가 점점 높아짐에 따라 대장에 있는 미생물상의 특징을 보이면서 그람음성 세균과 장내세균과(*Enterobacteriaceae*)에 속하는 세균들이 서식한다.

대장은 체내에서 가장 큰 미생물 군집을 갖는데, 대변을 현미경으로 관찰하면 습중량(wet weight) 1 g당 약 10^{12} 마리의 미생물들이 관찰되며 사람의 대변에서는 400여종 이상의 세균들이 분리된다. 이러한 미생물들은 주로 혐기성 그람양성 세균과 그람양성 간균으로 구성되어 있다. 수적으로 우세한 세균은 *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Fusobacterium* 등 다양한 그람양성 구균이다.

표 2. 사람 위장관에서의 장내 미생물 분포

기관명	미생물 수	미생물 종류
위 (Stomach)	$0-10^2$	<i>Lactobacillus</i> , <i>Candida</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Helicobacter pylori</i> , <i>Peptostreptococcus</i>
십이지장 (Duodenum)	10^2	<i>Streptococcus</i> , <i>Lactobacillus</i>
공장 (Jejunum)	10^2	<i>Streptococcus</i> , <i>Lactobacillus</i>
근위부회장 (Proximal ileum)	10^3	<i>Streptococcus</i> , <i>Lactobacillus</i>
원위부회장 (Distal ileum)	10^7-10^8	<i>Clostridium</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Actinomycinae</i> , <i>Corynebactera</i>
결장(Colon)	$10^{11}-10^{12}$	<i>Bacteroides</i> , <i>Clostridium</i> groups IV and XIV, <i>Bifidobacterium</i> , <i>Enterobacteriaceae</i>

(다) 유익균과 유해균

장내 미생물 무리는 장 연동운동 등의 물리적 작용으로 지속적으로 이동하고, 제거되며, 항상성 유지를 위해 분열 등을 통해서 지속적으로 대체된다. 정상적인 상태에서 장내 미생물은 자가조절(self-regulation)을 통해 미생물들 간에 또는 미생물과 숙주 사이에서 경쟁과 상리공생에 의해 일정한 상태를 유지하지만, 섭취하는 식이, 약물, 생균제품, 기후, 스트레스 등의 외부 요인과 세균 상호간의 관계에 의해 발생하는 내부요인에 의해 그 구성이 변화하여 장내 미생물 불균형이 초래될 수 있다.

Bifidobacteria, *Lactobacilli*와 같은 균들은 상피세포나 점막세포에 대해서 병원균들과 접촉 경쟁을 함으로써 병원균의 침입을 막기도 하지만 병원균의 활성을 저해할 수 있는 물질을 생산함으로써 병원균을 감소시키는 역할을 한다. *Bifidobacteria*, *Lactobacilli*는 난소화성 당류를 분해해서 아세트산(acetic acid)과

젖산(lactic acid) 등 대사산물을 생성하고, 이를 통해 장 내 pH를 저하시킴으로써 산에 민감한 *E. coli*, *Clostridium perfringens*와 같은 유해세균의 성장을 저해시킨다. 한편 *E. coli*, *Clostridium perfringens*와 같은 유해균들은 내독소(endotoxin)를 생산하거나 유해 효소들을 생산함으로써 건강에 나쁜 영향을 주게 된다. 장내 미생물을 통해서 건강을 유지하기 위해서는 *Bifidobacteria*, *Lactobacilli* 등의 유익균을 증가시키고, 유해균을 감소시키는 것이 도움이 될 수 있다.

(라) 장내 미생물 불균형에 영향을 주는 요인과 위험집단

장내 미생물 분포는 식이에 의해 크게 좌우되는데, 고단백식이의 경우 잠재적으로 유해한 세균 산물의 생산을 증가시킬 수 있다. 소화되지 않은 단백질은 장내 미생물에 의해 발효되어 잠재적으로 유해한 대사 산물인 암모니아, 아민, 페놀, 황화물, 인돌 등을 만들어낸다. 전체적인 단백질이 많은 식이보다, 특히 동물성 단백질 함량이 높은 식이는 장내 미생물에 특히 더 영향을 주는데, β -glucuronidase, azoreductase, nitroreductase, 7- α -hydroxysteroid dehydroxylase 등의 특정 세균 효소를 증가시킨다. 이러한 효소들의 증가는 장에서 잠재적 독성이 있는 대사산물을 분비시키는 작용을 하는 것으로 보고되고 있다. 항생제 사용도 장내 미생물 불균형을 유발시키는 요인 중 하나로 장내 미생물 성장을 억제함으로써 단쇄지방산 생산에 영향을 주어 전해질 불균형과 설사를 유발한다. 또한 장내에 이미 서식하고 있던 곰팡이나 *Clostridium difficile*과 같은 유해한 미생물 성장을 촉진하고, 설사 및 독소 분비로 인한 장 손상을 유발시킬 수 있다. 그 외에도 여러 연구들에서 스트레스가 장내 미생물 균형에 중요한 변화를 유도하는 것으로 보고되고 있는데, 스트레스에 의해서 *Lactobacilli*, *Bifidobacteria*와 같은 유익균은 유의적으로 감소되고 *E.coli*와 같은 유해균은 증가된 것으로 나타났다. 이러한 변화는 노르에피네프린(norepinephrine) 분비에 의해 그람 음성균의 성장이 증가되고, 스트레스로 인한 장관 운동성, 분비능 변화 때문인 것으로 추측되고 있다.

(5) 장 불편감

정상적 상태와 불편감 간의 경계가 모호하기 때문에 장 불편감을 명확히 정의

하기는 어렵지만, 특정 질환이나 체내 생리적 반응에 이상이 없는 상태에서 복부 더부룩함 또는 복부팽만(bloating), 복통(abdominal pain)이나 복부 경련(abdominal cramp), 복명(borborygmi, 배 속의 장운동이 증가하여 장 속의 가스가 이동하면서 나는 소리), 잔변감(sensation of incomplete evacuation) 등이 나타나는 경우로 설명할 수 있다. 불편감이 나타나는 횟수나 정도는 개인차가 있을 수 있는데, 일상생활에서 삶의 질을 저하시키는 건강문제 중 하나이다. 장 불편감 감소 여부는 장 기능 개선 정도를 반영할 수 있는 지표로서 불편감이 감소될 경우 체내에 유의한 영향을 주는 것으로 받아들여지고 있다.

장 불편감의 원인으로 식습관, 장내 미생물 무리(gut flora)의 불균형 등이 제안되고 있다. 복부 더부룩함 또는 복부팽만이나 가스를 유발하는 식품들(콩류, 우유, 감자, 옥수수, 양배추 등)을 습관적으로 많이 섭취하거나 대장에서 장내 세균에 의한 발효가 지나치게 증가할 경우, 유당불내증과 같이 특정 영양소의 소화 문제에 문제가 있는 경우에도 과도한 가스 생성 및 복통 등과 같은 불편감이 유발될 수 있다.

2. 보건학적 중요성

우리가 섭취한 음식물은 위와 소장에서 주로 소화, 흡수되고, 흡수되지 않은 잔여물은 대장에서 분해된 후, 남은 찌꺼기는 직장을 통해 배설된다. 또한 사람의 장에는 100종류 이상, 약 100조 이상의 균이 서식하면서 소화되지 않은 다당류를 발효시켜 단쇄지방산을 생성하여 이용하거나 장 상피세포(intestinal epithelial cell)의 에너지원으로 제공한다. 장내 서식균 중 비피더스균 등의 유익균은 병원균 등의 유해균과 접촉 경쟁을 함으로써 병원균의 침입을 막거나 난소화성 당류 분해산물로서 아세트산, 젖산 등의 유기산을 생성함으로써 장 내 pH를 저하시켜 산에 민감한 유해균의 성장을 저해하는 역할을 한다. 장은 외부로부터 유입된 물질들이 접촉되는 주요 장소로서 장의 표면을 이루고 있는 점막에서는 음식물, 병원균 등 외부로부터 유입된 물질과 장내 미생물의 상호작용이 이루어지며, 다양한 외부 자극으로부터 우리 몸을 보호해주는 중요한 역할을 담당한다. 장 내 방어는 장관의 구조적 특성, 운동성, 세포성 및 체액성 면역에 의해 이루어진다. 이와 같이 장 고유의 기능인 음식물의 소화, 흡수, 분해, 배설의 기능 뿐만 아니라, 장 내 유익균과 유해균 균형, 면역 기능을 포함하는 장 방어 기능이 적절하게 유지될 때 건강한 장이라고 할 수 있다.

Ⅲ

기능성 시험 방법

1. 바이오마커의 선정

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

구분	바이오마커		측정 가능한 연구유형		
			시험관	동물	인체
소화, 흡수 개선	유당 호기 검사(lactose breath test)				○
	포도당 호기 검사(glucose breath test)				○
배변 습관 개선	변 중량			○	○
	변의 균기 및 형태	변의 수분함량		○	○
		변의 형태			○
	소화관 운동능	대장통과시간(intestinal transit time)		○	○
		장관 운동능		○	
임상적 증상	배변 횟수, 변 균기, 통변감 등				○
장관 면역 조절	점막 장벽 기능	장 투과성 검사 (intestinal permeability test)		○	○
		장내 세균 전위 평가 (bacterial translocation)		○	○
		점막 장벽 온전성 (mucosal barrier integrity)		○	○
		뮤신 분비 및 유전자 발현		○	○
과도한 염증반응 억제	사이토카인	TNF- α , IL-1 β 등		○	○
	면역작용	식균작용 (phagocytic activity)		○	○
		Oxidative(respiratory) burst		○	○
		IgG, IgA		○	○
		림프구아형 (lymphocyte subsets)		○	○

			T-세포 조절인자		○	○
	염증반응 관련 인자		Leukotriene B ₄		○	○
			Prostaglandin E ₂		○	○
			C-Reactive Protein		○	○
			Inducible nitric oxide synthase		○	○
			NF-κB 발현		○	○
			Myeloperoxidase 활성화		○	○
		적혈구 침강 속도			○	○
	조직 변화	조직학적 손상 정도 및 병변			○	
	지사 효과	설사 빈도, 완화 소요 시간 등			○	○
	임상적 증상	설사 수준 (Visual analogue scale, Likert scale)				○
장내 미생물 개선	세균 동정 및 세균수	유익균	비피더스균, 락토바실러스균 등	○	○	○
		유해균	병원성 대장균, 황색포도상구균 등	○	○	○
	메타지노믹스(metagenomics)					○
	장내 세균에 의한 부패산물			○	○	○
	장내 유해효소 활성화(β-glucuronidase)			○	○	○
	장내 pH			○	○	○
	단쇄지방산(short chain fatty acids)			○	○	○
	탄소원이용능			○		
	Caco-2 세포에 대한 병원균 접촉저해 활성화			○		
장 불편감 개선	방귀 횟수					○
	불편감 수준: 복부통증, 복부 더부룩함 또는 복부팽만 등					○
	삶의 질					○

2. 바이오마커의 측정방법

가. 소화, 흡수 개선

당(sugars)의 흡수불량을 평가하기 위한 방법으로 호기검사가 있는데, 평가하고자 하는 특정 당(예를 들어 유당 등)을 섭취한 뒤 호흡할 때 내쉬는 날숨(호기) 속의 수소(H_2) 가스 배출량을 측정하는 것이 일반적이다. 소장에서 소화, 흡수되지 않은 당은 결장 내 세균에 의해 발효되면서 수소 가스가 생성되고, 생성된 수소가 폐를 통해 호기로 배출된다는 원리를 이용한 것이다. 따라서 호기 내 수소 배출량 증가는 당의 소화, 흡수가 잘 되지 않았음을 의미하고, 감소되었다는 것은 소화, 흡수가 개선되었음을 의미한다. 다만 개인에 따라 수소가 잘 생성되지 않는 사람이 있어 검사결과에 영향을 주기도 한다. 예를 들어 전체 인구의 약 15% 정도는 수소보다 메탄이 잘 생성되며, 일부 사람들의 경우 결장 내 pH가 너무 낮아 세균의 활동이 억제됨으로써 수소 가스 생성이 어려울 수 있다.

이러한 제한점을 극복하기 위해, 사전에 수소가스 생성이 안되는 사람을 선별하기도 하는데, 가장 많이 사용되는 방법이 락툴로오스(lactulose) 호기검사이다. 락툴로오스는 정상인의 소장에서 소화되지 않기 때문에 섭취 2-3시간 후 호기 내 수소 농도가 최고 수준에 도달하는데, 수소 농도가 증가되지 않는 사람(즉, 검사 결과가 음성인 사람)을 선별할 수 있다. 반대로 일부 사람들의 경우 수소 생성량이 과도한 경우가 있는데, 이 경우도 호기검사 결과의 정확도에 영향을 줄 수 있다. 이런 사람들에게는 검사 전 수일동안 난소화성 탄수화물의 섭취를 엄격하게 제한시키면 문제를 극복할 수 있다. 수소가스 생성이 되지 않은 사람들의 경우 호기 내 메탄가스를 측정하기도 하나 현재까지 표준화된 방법이 없어 널리 이용되지는 않는다. 최근 ^{13}C 와 같은 안정동위원소(stable isotope)를 이용한 측정법이 대안으로 제시되고 있기는 하나 방사능 노출 문제로 널리 사용되지는 못하고 있다.

(1) 유당 호기검사

12시간 이상 금식 후 구강을 청결히 한 상태에서 내쉬는 공기를 공기 주머니에 모은 후 기저 수소농도를 측정한다. 이후 유당 25 g을 물에 혼합하여 섭취한 후, 유당 섭취 전 및 섭취 후 4시간째까지 호기를 채취하여 수소 농도를 측정

한다. 유당 복용 후 호기 내 수소 농도가 20 ppm 이상 증가할 때 유당 흡수 장애로 진단할 수 있다.

(2) 포도당 호기검사

소장의 소화, 흡수 기능을 간접적으로 확인하기 위해 호기검사를 이용할 수도 있다. 포도당은 본래 소장에서 흡수되는 것이 정상적이거나 소장 내 세균이 과도하게 증식되는 등 기능저하가 나타날 경우 섭취한 포도당이 장에서 흡수되기 전에 소장 내 세균에 의해 발효가 일어나 수소가 생성되게 된다. 방법은 유당 호기검사와 동일하며 유당 대신 포도당을 섭취한다는 점만 다르다.

나. 배변습관 개선

(1) 변 중량

변의 양(bulk)이 많아지면 장의 연동운동이 촉진되고, 배출시간이 감소하므로 배변활동이 개선되었음을 반영한다. 실험동물 혹은 사람의 배변 활동 후 빠른 시간 내에 변을 채취하여 즉시 저울을 이용해 습중량을 측정한다. 1일 평균 변 무게는 연속되는 3-5일 동안의 총 습중량을 측정하여 평균을 구한다.

(2) 변의 굳기 및 형태

(가) 변의 수분함량

변이 적당한 수분을 함유하면 부드러워져 배변활동이 원활해진다. 정상적인 수분함량은 70-80%로 변비 증상을 가진 사람들은 수분함량이 70% 미만인 딱딱한 변의 특성을 보인다. 실험동물 혹은 사람의 배변 직후 변의 습중량을 측정 후, 변을 냉동건조하여 건중량을 측정한다. 습중량에서 건중량을 뺀 값을 변의 수분량으로 한다.

(나) 변의 형태(Bristol stool scale)

브리스톨 대학에서 개발된 7단계 측정도구를 사용해서 육안으로 변 굳기의 단계를 측정한다. 타입 1, 2에 속하는 경우 변비일 가능성이 높으며, 3, 4단계는 정상적인 변의 상태이다. 5, 6, 7은 단계가 높아질수록 설사에 가깝고 위급한 증상이

다. 하지만, 이 경우 변의 굳기(농도)에만 초점이 맞춰져있어 잔변감과 복부 더부룩함 또는 복부 팽만감 등 다른 부작용을 파악하기는 어렵다.

유형 1		Separate hard lumps, like nuts (hard to pass) 분리되고 단단한 덩어리. 견과류와 비슷 (배변이 어렵다)
유형 2		Sausage-shaped but lumpy 소시지 모양이지만 표면이 울퉁불퉁함
유형 3		Like a sausage but with cracks on its surface 소시지와 비슷하지만 그 표면에 갈라진 틈이 있음
유형 4		Like a sausage or snake, smooth and soft 소시지나 뱀 같은 모양으로 매끄럽고 부드러움
유형 5		Soft blobs with clear-cut edges (passed easily) 윤곽이 뚜렷한 부드러운 작은 덩어리 (배변이 쉽다.)
유형 6		Fluffy pieces with ragged edges, a mushy stool 울퉁불퉁하고 거품 같은 조각들. 죽 같은 대변
유형 7		Watery, no solid pieces. Entirely Liquid 고형물이 없고 물 같음. 완전히 액체로 이루어짐

그림 7. 브리스톨 대변 형태 척도(Bristol stool scale)

[출처: 과민성장증후군 치료제의 임상시험 평가 가이드라인. 식품의약품안전처. 2014]

(3) 소화관 운동능

(가) 대장통과시간(intestinal transit time)

대장통과시간(intestinal transit time)은 어떠한 물질을 섭취하여 그 물질이 장을 통과해서 변으로 나오는 데 걸리는 시간을 의미한다. 대장통과시간이 지나치게 긴 것은 변비와 관련 있기 때문에 장 운동성 평가지표로 사용될 수 있다. 대장 통과시간 측정방법은 다양한데, 방사선비투과물질(radio- opaque pellets)을 다량 1회 섭취하거나 소량 매끼 식사 때마다 복용한 후 대변으로 나올 때까지 걸리는 시간을 측정하는 방법들이 있다. 다른 방법들은 방사선비투과물질이나 방사능을 나타내는 시험물질을 복용한 후 복부를 각각 방사선이나 감마-카메라로 촬영한다. 또한 대장통과시간이 지나치게 짧은 것은 설사와 관련이 있기 때문에 설사의 개선을 평가할 때 대장통과시간을 활용하기도 한다.

(나) 장관 운동능

동물연구에서 사용할 수 있는 방법으로 소화관 부위를 떼어내어 근육절편의 수축력과 수축빈도, 수축 장력 값을 장관운동기록법(physio graph)을 이용하여 분석한다. 이외에도 황산바륨을 이용한 방법이 있는데, 동물실험에서 일정기간 시험물질을 제공한 후 16시간 절식시키고 소장의 운동에 영향을 주는 물질과 함께 10% 황산바륨을 경구투여 한다. 그 다음 소화관 부위를 떼어내어 황산바륨의 이동거리를 구해 소화관 운동능을 평가한다.

(4) 임상적 증상

배변 습관과 관련된 증상에 대하여 문진 및 설문조사를 실시하여 증상 개선을 평가한다. 배변횟수, 배변량, 변 굳기(stool consistency), 변의 색, 변의 냄새, 배변 후 상쾌함, 잔변감, 통변감, 가스생성 등에 대해서 대상자가 Likert 척도 또는 시각적 아날로그 척도(Visual analogue scale;VAS)를 이용하여 측정하고, 이를 전문가가 평가하는 방법이 널리 이용되고 있다.

다. 장관 면역 조절

(1) 점막 장벽 기능(mucosal barrier function) 평가

내시경 또는 수술 시 장 점막을 생검하여 점막층의 비극성 수준(hydrophobicity)을 직접 측정하거나 수술을 통해 장점막 일부를 얻어 이온 또는 특정 지표(만니톨, EDTA, peroxide 등)의 통과 수준을 전위차(electrical potential differences)로 기록하여 실시간 모니터링 하는 방법이 있다. 하지만 이 방법들은 침습적 방법(invasive method)으로 인체연구에 적용하기에는 어려움이 따른다. 이러한 어려움을 해소하기 위해 다음과 같이 점막 장벽 기능을 간접적으로 측정할 수 있는 비침습적 방법도 개발되어 있다.

(가) 장 투과성 검사(intestinal permeability test)

이 방법은 경구 섭취한 시험물질의 소변 배설량을 측정하는 원리를 기본으로 하고 있는데, 이 때 사용하는 시험물질은 장관에서 수동확산(passive diffusion)에 의해

구조 변화 없이 흡수될 수 있어야 하고, 체내에서 대사되지 않고 소변을 통해 배설되어야 하며, 소변에서 쉽게 검출 가능해야 한다. 보통 분자량이 다른 시험물질로 함께 사용하여, 'transcellular permeability pathways'와 'paracellular permeability'를 동시에 측정한다.

가장 많이 사용하는 방법으로는 만니톨(mannitol)과 락툴로오스(lactulose)를 동시에 사용하여 측정하는 방법이 있다. 만니톨은 transcellular pathway에 의해 장관을 쉽게 통과할 수 있으나 락툴로오스는 보통 장관에서 거의 흡수되지 않는다. 하지만 장관 장벽 기능에 이상이 생긴 경우 장 투과도가 증가되어 paracellular pathway를 통해 락툴로오스가 과량 투과되게 된다. 결과적으로 소변 내 락툴로오스:만니톨 비율이 증가하게 된다. 검사 방법은 공복에 만니톨과 락툴로오스가 일정량 혼합된 용액을 마시고 난 뒤 일정시간 후 소변을 채취하여 소변 내 성분을 분석하여 체내 흡수된 양을 측정해 장 투과성 정도를 판정한다. 락툴로오스 대신 셀로비오스(cellobiose)를 만니톨 대신 람노오스(rhamnose)를 사용하기도 한다.

대장의 경우 장운동이 느리기 때문에 세균 증식이 빠르고, 독소도 상당 수준 축적되게 되므로 장점막 장벽 기능은 특히 대장에서 중요한데, 이 방법은 주로 소장의 장 투과성을 반영한다는 제한점이 있다. 동위원소(⁵¹Cr-EDTA, ⁹⁹Tc-DTPA)를 경구 섭취하여 소변 중 배설수준을 측정하는 방법도 있으나 방사능 노출 등의 문제로 널리 사용되지는 않는다.

(나) 장내 세균 전위 평가(bacterial translocation test)

장내 세균 전위란 장내 세균이 장관(intestinal tract)을 통해서 장외(extraintestinal) 공간(장간막림프절, 간, 비장, 신장, 혈류 등)으로 침입하는 것을 말한다. 장내 세균 전위의 정도를 측정함으로써 점막 장벽 기능을 평가할 수 있다. 간접적으로 혈청 내독소(endotoxin)를 측정할 수도 있으나 건강한 사람들의 경우 혈청에서 내독소가 감지되지 않을 수 있다는 단점이 있다. 이외에도 혈청에 존재하는 세균의 16S rRNA를 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction; PCR)을 통해 증폭하여 염기배열을 확인하고, 변 검체에서 세균의 존재를 확인하는 방법도 이용된다. 비침습적이기는 하나 소요 시간이 길고, 고도의 분석기술이 필요하다는 제한점이 있다.

(다) 점막 장벽 온전성(mucosal barrier integrity)

변에서 α 1-antitrypsin(A1AT)의 함량을 측정하여 평가할 수 있다. 이 단백질은 일반적으로 혈청 트립신 저해제(serum trypsin inhibitor)로 알려져 있는데, 다양한 범위의 단백질 분해효소의 작용을 저해하는 역할을 한다. 염증성 세포로부터 나오는 효소, 특히 호중구의 엘라스타아제(neutrophil elastase)로부터 조직을 보호하는 역할을 하는데, 급성 염증 반응에서 농도가 급격히 증가한다. 이 외에도 알파 디펜신(α -defensin), 베타 디펜신(β -defensin), 칼프로텍틴(calprotectin), 라이소자임(lysozyme), 호중구-유래 엘라스타아제(neutrophil-derived elastase) 등의 항균성 펩타이드, E-카드헤린(E-cadherin), 성장인자(growth factors), 밀착연접 단백질(tight junction molecules) 등을 측정하기도 한다.

(라) 뮤신 분비 및 유전자 발현

장 점막에서 분비되는 점액물질로서 결장 장벽(barrier) 기능을 한다. 인체에서는 최소한 9개의 뮤신 유전자가 발견되었으며, 결장에는 MUC1, MUC2, MUC3, MUC4, MUC5AC 유전자가 발현된다. 이 중에서 MUC2는 소장, 대장의 주요 겔 형성(gel-forming) 뮤신이다. 동물의 결장 조직에서 뮤신 mRNA 발현을 RT-PCR로 정량하거나 뮤신 분비를 방사성 동위원소 면역측정법을 이용하여 측정한다.

(2) 과도한 염증반응 억제 및 면역 조절

(가) 사이토카인

사람의 경우, 침습적인 방법을 이용하는 데에 어려움이 있기 때문에 혈청(serum), 혈장(plasma), peripheral blood mononuclear cells(PBMC)에서 효소면역측정법(enzyme-linked immunosorbent assay;ELISA)으로 정량하는 것이 일반적이다. 또한 장에서의 염증반응을 측정하는 것이므로 변에서 사이토카인을 측정할 수도 있다. 동물의 경우는 대장 조직에서의 이들 사이토카인 생성을 효소면역측정법으로 정량하거나 대장 점막에서 RNA를 추출하여 사이토카인 mRNA 발현을 RT-PCR로 정량하는 것이 일반적이거나 연구에 따라 회장 등 다른 장 조직에서도 측정 가능하다.

① Tumor necrosis factor(TNF)- α

장 조직의 호중구를 끌어 모으는데 중요한 역할을 하며, 육아종 형성 등을 통해 염증성 장질환의 기전에 관여한다. TNF- α 생성량의 변화에 따라서 장 손상 개선 효과를 평가할 수 있다. TNF- α 생성이 증가하면 염증성 매개체로 작용하며 장 조직으로 염증세포의 침윤을 촉진하는 등, 장의 염증 반응을 촉진한 것이며, TNF- α 생성이 감소했다면 항염증 효과에 의해 염증성 장질환의 염증 반응을 억제하여 장 손상을 개선하였다고 판단할 수 있다.

② Interferon(IFN)- γ

염증성 장 질환에서 증가한다고 알려진 사이토카인 중 하나다. 시험물질이 IFN- γ 생성에 미치는 영향을 관찰함으로써 염증성 장 질환에서 항염증 효과에 의한 장 손상 개선의 효과를 평가한다.

③ Interleukin(IL)-1 β

염증반응을 유도하는 대표적인 사이토카인으로 염증성 장 질환과 관련된 염증 매개체이다. IL-1 β 는 eicosanoid 생성과 T 림프구의 활성화, 혈관 투과성의 항진 등을 유발하여 염증 과정에서 중요한 역할을 하며, NF- κ B를 활성화 시켜 염증을 발생시키기에 염증과 관련하여 예민한 지표로 알려져 있다. IL-1 β 생성이 증가하면 염증성 매개체로 작용하며 면역 세포를 활성화하는 등 장의 염증 반응을 촉진시키며, IL-1 β 생성이 감소했다면 항염증 효과에 의해 염증성 장질환의 염증 반응을 억제하여 장손상을 개선하였다고 판단할 수 있다.

④ Interleukin(IL)-6

염증성 장 질환에서 증가한다고 알려진 사이토카인 중 하나로 IL-6생성에 미치는 영향을 관찰함으로써 염증성 장질환에서 항염증 효과에 의한 장 손상 개선의 효과를 평가한다. IL-6은 염증성 매개체로 작용하며 면역 세포를 활성화하는 등 장의 염증 반응을 촉진하며, 시험물질에 의해 IL-6 생성이 감소했다면 항염증 효과에 의해 염증성 장질환의 염증 반응을 억제하여 장 손상을 개선하는데 효과가 있다고 해석할 수 있다.

⑤ Interleukin(IL)-8

친염증성 사이토카인으로, 호중구나 과립성 백혈구에 주화성(chemotaxis)을 유도하여 이들 세포를 감염 부위로 이동하도록 만들고, 식균작용(phagocytosis)을 유도한다.

⑥ Interleukin(IL)-10

항염증성 사이토카인으로, 생성이 증가하면 염증 반응을 억제하고 장 상피세포층의 견고함을 유지시켜 주는 역할을 한다. IL-10 생성에 미치는 영향을 관찰함으로써 염증성 장 질환에서 항염증 효과에 의한 장 손상 개선의 효과를 평가한다. IL-10 생성이 증가하면 항염증 효과에 의해 염증성 장질환의 염증 반응을 억제하여 장 손상을 개선하는데 효과가 있다고 판단할 수 있다.

(나) 면역 작용

① Phagocytic activity(식균작용)

호중구와 단핵백혈구에 의한 식균작용(phagocytosis)을 측정하여 면역기능을 평가할 수 있다. 동물이나 사람의 전혈(whole blood)을 채취하여 식균 작용이나 식균 활동에 참여하는 세포의 수를 유세포 분석기(flow cytometry)등의 방법을 사용하여 측정할 수 있다. 식균 작용 측정은 oxidative burst와 함께 측정될 수 있다.

② Oxidative(respiratory) burst

호중구나 단핵백혈구로부터 활성산소종(reactive oxygen species)이 빠르게 분비되는 것을 말하는데, 식균세포가 침입한 박테리아 등을 분해(degradation)할 때 발생한다. 동물이나 사람의 전혈(whole blood)을 채취하여 oxidative burst에 참여하는 세포의 수 또는 각 세포의 활성(activity)를 유세포 분석기(flow cytometry)등의 방법을 사용하여 측정할 수 있다.

③ IgG, IgA

IgG와 IgA의 농도는 염증성 장질환의 활동도에 따라 차이를 나타내기 때문에 장 염증 여부를 판단하는 지표로 사용된다. Y자형 항체의 줄기에 해당하는

FC부위의 아미노산 서열에 따라 나뉜 면역글로불린이며 세포 외액에 있는 바이러스나 박테리아에 대한 전반적인 특이적 면역반응을 제공한다. 장 세척액(intestinal washings)이나 동물의 대장 조직에서 IgG와 IgA의 농도를 효소면역측정법(enzyme-linked immunosorbent assay;ELISA) 등으로 측정하거나 변에서 측정할 수 있다. 또한 혈청에서 측정할 수도 있다. IgG와 IgA 농도의 변화는 비정상적인 Th2 세포의 반응으로 인한 염증을 완화시킬 수 있다는 것을 증명한다.

④ 림프구아형(lymphocyte subsets)

T 세포와 B 세포를 포함하는 면역세포는 세포 표면에 존재하는 단백질 분자에 의해서 구분되는데, 모든 T 세포는 CD3이, 모든 B세포에는 CD19와 CD20이 발현된다. T 세포 아형(subsets)으로는 세포독성 T세포(cytotoxic T cell), 조력 T세포(T-helper cell, Th), 조절 T세포(regulatory T cell)가 있는 각각 CD8, CD4, CD4 및 CD25가 발현된다. 각 림프구아형이 체내에서 하는 역할이 다르다. 조력 T세포(T-helper cell;Th)는 Th1과 Th2로 나뉘며, Th1은 interferon(IFN)- γ , tumor necrosis factor(TNF)- α 와 같은 사이토카인을 분비함으로써 대식세포(macrophage)를 활성화시키고, 세포독성 T세포의 역할을 포함하는 표적세포를 제거하는 반응(killing mechanism)을 유도한다. Th2는 IL-4, IL-5, IL-13 등의 사이토카인을 분비하는데, 이들 사이토카인은 IgE가 중재하는 알레르기 반응(IgE-mediated allergic reaction)에 관여한다. 즉 IL-4 와 IL-13은 B세포를 분화시켜 IgE를 생산하도록 하며, IL-5는 호산구를 자극한다. 조절 T세포는 면역반응을 억제하는 역할을 함으로써, 면역반응을 일으키는 세포독성 T세포, 조력 T세포와는 서로 반대되는 역할을 한다. 유세포분석기(flow cytometry)를 이용하여 동물이나 사람의 전혈(whole blood)에서 그 구성 변화를 측정함으로써 어떠한 면역반응이 일어났는지 알 수 있다.

⑤ T-세포 조절인자(CD4+CD25^{high}, CD4+LAP+)

조절 T세포(regulatory T cell)는 CD4+CD25+ T세포와 type 1 regulatory T세포(Tr1)를 포함한다. 조절 T세포와 Tr1세포는 대장염 동물 모델에서 염증을 조절하는 역할을 한다. 조절 T세포 중에서 세포 표면에 transforming growth factor(TGF)- β 의 불활성 형태를 표현하는 latency-associated peptide(LAP) T 세

포의 경우, TGF- β -의존 메커니즘을 통해서 실험상의 대장염을 억제하는 것으로 알려져 있다. 사람의 경우 조절 활동을 하는 CD4+CD25+ T세포는 세포 표면에 CD25가 강하게 발현(high expression)된다. 동물의 대장 조직이나 사람의 PBMC에서 CD4+CD25^{high} T 세포나 CD4+LAP+ T세포의 발현 증가는 항염증 효과가 있다고 해석될 수 있다. 조절 T세포(regulatory CD4+CD25+ T cells)의 생성과 기능을 위한 주요 전사 인자인 FOXO를 함께 측정할 수도 있다. Foxp3 mRNA 발현의 증가는 조절 T세포의 분화 및 기능이 증가됨을 의미한다.

(다) 염증 반응 관련 인자

① Leukotriene B₄(LTB₄)

루코트리엔(Leukotriene;LT) B₄는 아라키돈산으로부터 유도되는 eicosanoids의 일종으로, 염증반응 제2기에 활동하는 백혈구 중 주로 polymorphonuclear leukocyte(PMNL)에서 생합성 되어 백혈구 응집, 침윤, 주화성, 라이소좀 효소의 유리 등의 작용을 나타내는 물질로 면역세포에서 염증반응을 유발하며 염증성 세포의 활성화에 관여하므로 강력한 염증 매개체로 작용한다. LTB₄ 증가 시 염증성 장질환이 유발되기에 이를 억제하는 것이 염증 치료에 주요한 기전으로 판단된다. 동물모델의 경우 시험물질의 섭취가 시험동물 대장 조직 내 LTB₄ 생성에 미치는 영향을 관찰하여 장손상 개선 효과를 평가하며, 사람의 경우 혈청과 혈장에서 측정 가능하다.

② Prostaglandin E₂(PGE₂)

면역 세포가 활성화되어 IL-1, IL-6와 같은 사이토카인이 분비되어 뇌 혈관의 내피세포에 작용하여 내피세포에서 프로스타글란딘 합성 효소군에 의해 프로스타글란딘 E₂라는 물질이 만들어진다. 궤양성 대장염을 포함한 장의 염증 반응에 있어서 장 점막 손상을 유발하는 물질로 동물의 대장 조직에서 효소 면역측정법(enzyme immunoassay)을 통해 측정하거나 사람의 혈장, PBMC에서 측정할 수도 있다.

③ C-Reactive Protein(CRP)

급성 염증반응에서 가장 중요한 단백질로서 간세포에서 분비된다. 건강한 사람의 혈액에 있어서는 1 mg/L 미만의 낮은 농도로 유지되지만, IL-6, TNF- α ,

IL-1 β 등의 사이토카인에 의해 유도되는 급성 염증반응 시에 350~400 mg/L의 농도까지 급격히 상승한다. 정상적인 면역반응에서 나타나는 증가 현상은 자연스러운 현상이지만 장건강에 문제가 있어 낮은 수준의 염증상태가 만성적으로 지속되는 경우 관련 질환으로 진행될 가능성이 있으므로 높아진 CRP 수준을 개선시키는 것이 중요하다. 10~40 mg/L 의 농도는 만성 염증 또는 바이러스 감염을 나타낸다. 동물이나 사람의 혈청이나 혈장에서 측정할 수 있다.

④ Inducible nitric oxide synthase(iNOS)

염증반응 동안에 대식세포의 세포기능을 조절하는 데 주요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. IL-1, TNF- α , IFN- γ 와 같은 염증성 사이토카인의 자극에 의해서 증가되어 과도한 NO 생성을 통해 만성적인 염증반응에 있어서 해로운 역할을 한다. 동물의 대장 조직에서 발현을 측정하거나 사람의 경우 PBMC에서 측정할 수 있다.

⑤ NF- κ B

NF- κ B는 산화 스트레스 및 염증반응에 관여하는 신호전달 물질이다. 세포에 염증을 발생하는 자극을 주게 되면 NF- κ B가 활성화 되어 핵 내의 target gene에 붙어 좋지 않은 물질들을 생성하게 된다. 따라서 장 조직 내 NF- κ B 활성을 지연시키는 것은 염증 반응을 억제함으로써 장 손상을 개선하는 데 효과가 있다고 판단한다. 동물의 대장 조직에서 발현을 측정하거나 사람의 경우 PBMC에서 측정할 수 있다.

⑥ MPO(Myeloperoxidase)활성

MPO는 호중구(neutrophil)에 풍부한 효소로서, 염증 발생 시 활성화되어 MPO 분비가 증가되므로 조직의 염증정도를 나타내는 양적 지표로 사용될 수 있다. 시험동물의 대장 조직에서 활성을 측정할 수 있으며, 사람의 경우 혈청과 혈장에서 측정 가능하다.

(라) 적혈구 침강 속도(Erythrocyte Sedimentation Rate;ESR)

적혈구 침강 속도는 혈장에서 적혈구가 이동하는 속도인데, 이는 혈장 내 적혈구의 크기와 농도에 따라 달라진다. 항응고제가 포함된 전혈을 수직으로 세우고, 1시간 후 맨 위 눈금에서 적혈구가 침강한 곳까지의 길이를 mm로 표시한 것

이 ESR이다. 적혈구는 rouleaux 형성(초기 10분), 일정 속도 침강(40분), RBC packing(10분)의 과정을 거쳐 혈장으로부터 밑으로 가라앉는다. 동물이나 사람의 전혈에서 측정하며, 염증, 조직손상으로 인해 ESR이 증가하게 된다.

(3) 장의 조직학적 평가

장 염증모델을 이용한 동물실험에서 염증성 장 질환에서 볼 수 있는 점막 조직의 비후, 발적, 염증, 조직괴사로 인한 궤양 등의 대장병변의 정도를 육안으로 관찰하거나 조직 절편을 Hematoxylin-Eosin(H&E) 이중염색 한 후 현미경을 통해 관찰한다.

표 3. 장의 조직학적 평가 척도(육안 관찰)

점수	전체적 형태 (Gross morphology)
0	손상 없음 (no damage)
1	발적 (hyperemia)
2	발적 후 비후 (hyperemia or thickening)
3	발적이나 비후가 없는 선상의 궤양 (linear ulceration without hyperemia or thickening)
4	2 부위 이상의 궤양 (2 or more sites of ulceration)
5	1cm 이상의 궤양 (ulceration > 1cm along the length of colon)
6-10	2cm 이상의 궤양, 1cm 마다 1점씩 추가 (If ulceration > 2cm, the score is increased by 1 for each additional cm of involvement)

표 4. 장의 조직학적 평가 척도(현미경 관찰)

점수	전체적 형태 (Gross morphology)
	<궤양 (ulceration)>
0	궤양 없음 (no ulcer)
1	3mm 미만의 작은 궤양 (small ulcers < 3mm)
2	3mm 이상의 큰 궤양 (large ulcers > 3mm)
	<염증 (inflammation)>
0	없음 (no inflammation)
1	경도 염증 (mild inflammation)
2	중증도 염증 (moderate inflammation)
3	고도 염증 (severe inflammation)
	<손상 깊이 (depth lesion)>
0	없음 (none)
1	점막하 (sub mucosa)
2	고유근층 (muscularis propria)
3	장막 (seros)
8	최대 점수 (maximum score)

[출처: 건강기능식품의 기능성 시험 가이드-위장관 관련 기능성 시험. 513-597. 2004]

인체에서도 장관 면역 조절에 문제가 있는 경우 단핵구와 같은 염증세포 침윤 등으로 인해 만성 염증 소견을 나타내게 된다. 장 손상 정도(부종, 미란, 염증 정도, 괴사 및 궤양의 정도 등)를 장 조직을 절편으로 만들고 Hematoxylin-Eosin(H&E) 이중염색으로 장 점막 조직을 염색해 현미경을 통해 관찰하여 점수화하여 평가할 수는 있으나 생검이 필요한 침습적 방법이므로 질병이 없는 건강한 사람들에게 적용하는 데는 한계가 있다.

(4) 지사 효과

시험동물에게 감염원(로타바이러스 등의 바이러스, 살모넬라, 비브리오, 대장균 등의 세균, 기생충 등)을 투여하여 감염을 유도한 후, 실험 식이를 공급하면서 설사의 빈도를 조사하고 분변에서 감염원의 농도를 측정함으로써 시험식이의 효과를 검증할 수 있다. 또한 동물실험에서 설사가 유도된 동물을 대상으로 시험물질 섭취 후 변 내 수분량을 측정하여 설사가 완화되는지 여부를 확인하기도 한다.

인체 연구에서는 연구 대상자의 기록 내용을 근거로 설사가 완화될 때까지 소요된 시간을 측정할 수 있다. 지사효과가 처음 나타날 때까지의 소요시간(time to first relief, TFR)이 24시간 이내일 경우 조기효과가 있는 것으로 간주하며, 완전한 지사효과가 나타나는 때까지의 소요시간(time to complete relief, TCR)은 TFR 이후 48시간 동안 형태 있는 대변만을 보거나 또는 배변이 없는 경우 처음 시험물질 복용 시간으로부터 48시간의 시작 시간까지로 한다.

(5) 임상적 증상

설사의 심한 정도를 자가 판단하여 작성하도록 하고 이를 근거로 Likert scale 또는 VAS를 이용하여 평가함으로써 장 건강에 문제가 있는 대상자들의 임상 증상 개선도를 평가할 수 있다.

라. 장내 미생물 개선

(1) 세균 동정 및 세균 수

장내 서식하는 세균의 수와 종류를 측정함으로써 장내 환경의 적합성을 판단하는데 이용된다. 장내 세균 증식 상태를 반영하는 변 검체를 채취하고, 변을 균질화하여 배지를

사용해 도달한 뒤 일정시간동안 혐기적·호기적 배양하여 배양된 집락의 수를 계수하여 주요한 유익균 또는 유해균의 분포를 확인하는 방법이 있고, 전체 세균의 분포를 확인하는 방법이 있다. 세균의 colony 수를 log CFU/mL로 나타내어 값이 클수록 해당 균이 잘 자라는 것으로 판단할 수 있다.

(2) 메타지노믹스(metagenomics)

장내 미생물의 종류와 수가 워낙 많고, 혐기적 조건이 필요하기 때문에 장내 미생물의 80% 정도는 변 내 미생물 세포배양을 통해서 분리동정하기 어렵다는 한계가 있다. 이러한 제한점을 해결하기 위해 PCR (polymerized chain reaction)과 'full bacterial sequencing'기법을 활용한 메타지노믹스가 활용되고 있으나 고도의 기술이 필요한 방법이므로 널리 사용되고 있지는 못하다. 또한 최근에는 형광 단백질 표지방법을 활용하여, 본래 장에 존재하던 미생물종과 섭취한 미생물종을 구분하여 분석하는 방법도 활용되고 있다. 사람의 경우 주로 변에서 측정되어진다.

(3) 장내 세균에 의한 부산물 측정

(가) 부패산물 측정

장내세균 중 유해균(*E. coli*, *Clostridium*, *Bacterodaceae*, *Streptococcus faecalis*, *Proteus*)들은 부패산물을 생성한다. *E. coli*와 *Clostridium*은 암모니아, 아민을, *Bacterodaceae*와 *Streptococcus faecalis*는 니트로소아민, 아글리콜, 2차 담즙산을, *Proteus*는 암모니아, 아민, 인돌을 생산한다. 반면, 비피더스균이 증식되면 유기산의 생성을 증가시켜 암모니아, 인돌, 페놀 등 유해물질들의 생성을 억제하므로 장 기능 개선 평가에 사용된다. 시험동물이나 사람의 변에서 이들 부패산물의 농도를 측정하여 유해균이 증가했음을 판단할 수 있다. 세포 실험에서도 측정 가능하다.

(나) 질소 배출 측정

유해균의 경우 대사물로서 바이오제닉아민(biogenic amine)을 생성하는 경우가 많으므로 변 내 질소 함량을 측정하여 장내 유해균의 증식 수준을 가늠할 수 있다. 시험동물이나 사람의 변에서 Kjeldahl법으로 측정 가능하다.

(4) 장내 유해효소(β -glucuronidase) 활성 측정

β -glucuronidase는 장내 세균에 의해 생성되는 효소로 장관 내 각종 질환에 핵심적 역할을 한다고 알려져 있다. β -glucuronidase는 장간 순환 물질의 탈포합(deconjugation)에 주로 관여한다. 즉 간에서 벤조피렌 등의 지용성 유독 물질과 글루쿠론산(glucuronic acid)등의 친수성 그룹은 포함되어 glucuronic acid conjugate 형태로 무독화되어 장으로 보내지는데, 장내에 존재하는 β -glucuronidase는 글루쿠론산과의 결합을 끊어 주어 포합체를 가수분해하고, 결과적으로 독성 물질을 제공하게 된다. 장관 내 염증은 장내균총에 의해 생성되는 β -glucuronidase의 활성에 기인한다고 알려져 있으며, 몇몇 연구에서는 이 효소의 활성 증가가 결장 종양 형성 증가와 관련되어 있음을 검증하였다. β -glucuronidase의 활성은 장내 미생물 무리의 구성에 의해 영향을 받으며 주로 *Clostridium perfringens*, *E. coli*, *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Peptostreptococcus* 등의 장내 유해균에 의해 생성되는 것으로 알려져 있다. 시험동물이나 사람의 변을 증류수로 희석하고 혐기적 배양하여 효소반응액과 혼합하여 반응을 시킨 뒤 원심분리 하여 흡광도를 측정한다. β -glucuronidase 활성이 낮을수록 흡광도는 낮게 측정되며 유해균의 증식 억제 효과를 나타내어 장내 환경을 개선하였다고 판정한다.

(5) 장내 pH

장내 미생물 중 유익균인 유산균(*Bifidobacteria* 등)을 증식시켜 장내에서 높은 상태로 유지시켜 준다면 유산균은 유산 및 초산 등 유기산을 생성하여 장내의 pH가 저하된다. 장내 세균이 생성하는 효소들은 장 질환과 밀접한 관계를 가지며 장내의 pH에 의해 영향을 받는데, 장내의 높은 pH에 의해 유해효소의 활성이 유도된다. 따라서 장내 pH를 낮추면 부패성 세균의 증식을 억제하고 유해효소 활성을 저하시킴으로써 장내 환경이 개선된다. pH는 시험동물이나 사람의 변을 증류수로 희석하고 pH meter를 이용하여 측정한다. 세포 실험에서도 측정 가능하다.

(6) 단쇄지방산(short chain fatty acids)

난소화성 다당류 섭취 시 장내균총에 의해 생성되는 단쇄지방산은 대장 내

세균의 세포증식을 촉진시키고, 대장 내 질소를 세균의 단백질합성에 이용하게 하여 결과적으로 대장 내 질소를 감소시킨다. 또한 생성된 단쇄지방산은 장 내 pH를 저하시켜 높은 pH 조건에서 성장하기 쉬운 유해균을 억제시키고, 유해효소의 활성을 저해함으로써 건강에 유익한 장내균총 환경을 형성하는 역할을 한다. 세포 실험에서 측정할 수 있고, 동물이나 사람의 변에서 측정한다.

※ pH나 단쇄지방산의 경우 이들 바이오마커 단독으로 효과를 검증하는 방법으로 사용되기 보다는 유익균이나 유해균 수의 증감, 유해균이 만들어내는 유해효소의 활성 변화 등을 설명하는 메커니즘을 설명하는 수단이 될 수 있다.

(7) 탄소원 이용능

시험관 시험에서 장내 세균의 올리고당 등의 탄소원을 이용하는 능력을 알아보기 위해 배양한 균주에 탄소원을 첨가한 후 흡광도를 측정하여 균주의 탄소원 이용능을 측정할 수 있다. HPLC로 배양 전 배지에서 탄소원을 정량하고 배양 후 배지에 잔존해 있는 탄소원을 정량해서 소모된 탄소원을 측정해 백분율로 당이용률을 계산할 수도 있다. 장내세균 중 유해균이나 유익균의 특정 탄소원 이용능을 분석하면 해당 균의 양을 상대적으로 비교할 수 있다.

(8) Caco-2 세포에 대한 병원균 접착저해 활성

시험관 시험에서 장세포 유사(enterocyte-like) 세포인 Caco-2 세포에 유익균인 비피더스균, 병원균인 *E. coli* 를 각각 처리하거나 함께 처리한 후 접착된 세균의 수를 비교함으로써 유익균의 병원균 접착저해 활성을 측정할 수 있다.

마. 장 불편감 개선

(1) 방귀 횟수

장 불편감을 느끼는 사람들의 경우 종종 복부에 가스가 차는 것을 경험한다. 장 내 가스는 방귀의 형태로 배출될 수 있으므로, 장 불편감 감소를 방귀의 횟수가 감소되는 것으로 평가할 수 있다.

(2) 불편감 수준: 복부통증, 복부 더부룩함 또는 복부팽만 등

연구대상자가 Likert 척도, 시각적 아날로그 척도(Visual analogue scale;VAS)

또는 IBS Severity Scoring System(IBS-SSS) 같은 과민성 장증후군에 특화된 설문지에 복부 통증(abdominal cramps), 복부 더부룩함 또는 복부팽만(bloating), 트림(belching) 등 불편감의 수준을 표시하도록 하며, 전문가가 이를 통해 불편감 개선을 평가한다.

(3) 삶의 질(quality of life) 조사

연구들에서 장건강과 관련된 삶의 질 평가도구로서 IBS-Quality of Life(IBS-QOL) 등이 이용되고 있는데, 불쾌감, 활동장애, 건강에 대한 염려, 음식 거부감, 대인관계 등 과민성 장증후군이 있는 사람들의 삶의 질을 평가한다. 외에도 전반적인 삶의 질을 평가하는 36-Item Short-Form Health Survey(SF-36)를 측정하기도 하는데, 점수가 높을수록 삶의 질이 높다고 판정한다.

표 5. 삶의 질 평가 설문지

구분	항목	문항 수
IBS-QOL	불행감	총 34문항, 8개영역
	행동장애	
	신체상	
	건강염려	
	음식섭취 거부감	
	사회생활	
	성생활	
SF-36	대인관계	총 36문항, 8개영역
	신체적 기능	
	역할기능(신체)	
	신체통증	
	일반 건강	
	활력	
	사회적 기능	
	역할기능(정서)	
정신건강		

1. An HM, Park SY, Lee do K, Kim JR, Cha MK, Lee SW, Lim HT, Kim KJ, Ha NJ., Antiobesity and lipid-lowering effects of Bifidobacterium spp. in high fat diet-induced obese rats., *Lipids Health Dis.* 10(116) p1-8, 2011
2. Andrew CN, Storr M. The pathophysiology of chronic constipation, *Can J Gastroenterol* 25(B):16B - 21B, 2011
3. Ann Nutr Metab ,52:204 - 208 In School-Aged Children a Combination of Galacto-Oligosaccharides and Lactobacillus GG Increases Bifidobacteria More than Lactobacillus GG on Its Own Ayabe T et al. Secretion of microbicidal α -defensins by intestinal Paneth cells in response to bacteria. *Nat Immunol* 1:113-118, 2000
4. Beong Ou Lim¹, Yong Jun Jeong, Mi Hyoun Park, Jong Dai Kim, Sung Joo Hwang and Byung Pal Yu. Immunoregulatory Effects of Saengshik on DSS-Induced Inflammatory Bowel Disease in Mouse Model System. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 36(1): 32~42. 2007
5. Bischoff SC. 'Gut Health': a new objective in medicine?, *BMC Medicine* 9(24):1-14, 2011
6. Bjarnason I et al. Intestinal permeability: an overview. *Gastroenterology* 108:1566-1581, 1995
7. Bliss DZ, Stein TP, Schleifer CR, Settle RG. Supplementation with gum arabic fiber increases fecal nitrogen excretion and lowers serum urea nitrogen concentration in chronic renal failure patients consuming a low-protein diet. *Am J Clin Nutr.* 63(3):392-8. 1996
8. Bo Shen, Wendy Liu. The American Journal of Gastroenterology. Enterochromaffin Cell Hyperplasia in Irritable Pouch Syndrome. *Journal of Clinical Gastroenterology.* 20(1):27-32, 1995
9. Boila RJ, Salomon MD, Milligan LP, Aherne FX. The effect of dietary propionic acid on cholesterol synthesis in swine. *Nutr Rep Int* 23:1113-1121, 1981
10. Bouhnik Y, Flourié B, D'Agay-Abensour L, Pochart P, Gramet G, Durand M, Rambaud JC. Administration of transgalacto-oligosaccharides increases fecal bifidobacteria and modifies colonic fermentation metabolism in

- healthy humans. *J Nutr.* 127(3):444-8. 1997
11. Brandtzaeg P. History of oral tolerance and mucosal immunity. *Ann NY Acad Sci* 778:1-27, 1996
 12. Castro-Sánchez P, Martín-Villa JM. Gut immune system and oral tolerance, *Br J Nutr* 109:S3-S11, 2013
 13. Chang JH, Shim YY, Cha SK, Reaney MJ, Chee KM., Effect of *Lactobacillus acidophilus* KFRI342 on the development of chemically induced precancerous growths in the rat colon., *J Med Microbiol.* 61(3) p361-368, 2012
 14. Choudari CP, O'Mahony S, Brydon G, Mwantembe O, Ferguson A. Gut lavage fluid protein concentrations: objective measures of disease activity in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterology.* 104. 1064-1071. 1993
 15. Chung H, Kasper DL. Microbiota-stimulated immune mechanisms to maintain gut homeostasis, *Curr Opin Immunol* 22(4):455-460, 2010
 16. Cummings et al. PASSCLAIM-Gut health and immunity, *Eur J Nutr [Suppl 2]* 43:II/118 - II/173, 2004
 17. European Food Safety Authority(EFSA). Guidance on the scientific requirements for health claims related to gut and immune function, *EFSA Journal* 9(4):1-12, 2011
 18. Gaya DR, Lyon TD, Duncan A, Neilly JB, Han S, Howell J, Liddell C, Stanley AJ, Morris AJ, Mackenzie JF. Faecal calprotectin in the assessment of Crohn's disease activity. *QJM.* Jun;98(6):435-41. 2005
 19. Geuking MB, Köller Y, Rupp S, McCoy KD. The interplay between the gut microbiota and the immune system, *Gut Microbes* 5(3):411-418, 2014
 20. Gibson GR and Roberfroid M. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 125:1401-1412, 1995
 21. Groll D, Vanner SJ, Depew WT, DaCosta LR, Simon JB, Groll A, Roblin N, Paterson WG. The IBS-36: A New Quality of Life Measure for Irritable Bowel Syndrome. *Am J Gastroenterol.* Apr;97(4):962-71. 2002
 22. Gudiel-Urbano M, Goñi I. Effect of short-chain fructooligosaccharides and

- cellulose on cecal enzyme activities in rats, *Ann Nutr Metab* 46(6):254-258, 2002
23. Ha NJ. The combination of mixed lactic acid bacteria and dietary fiber lowers serum cholesterol levels and fecal harmful enzyme activities in rats, *Arch Pharm Res* 34(1):23-29, 2011
 24. Hawrelak JA, Mayers SP. The causes of intestinal dysbiosis:A Review, *Alternative Medicine Review* 9(2):180-197, 2004
 25. Hollister EB, Gao C, Versalovic J. Compositional and functional features of the gastrointestinal microbiome and their effect on human health, *Gastroenterology* 146:1449-1458, 2014
 26. Hong T, Jin GB, Yoshino G, Miura M, Maeda Y, Cho S, Cyong JC., Protective effects of Polygalae root in experimental TNBS-induced colitis in mice., *J Ethnopharmacol* 79(3) p341-346, 2002
 27. Ito H, Tanabe H, Kawagishi H, Tadashi W, Yasuhiko T, Sugiyama K, Kiriya S, Morita T., Short-chain inulin-like fructans reduce endotoxin and bacterial translocations and attenuate development of TNBS-induced colitis in rats., *Dig Dis Sci.* 54(10) p2100-2108, 2009
 28. Jacobs LR, Lupton JR. Relationship between colonic lurninal pH, cell proliferation and colon carcinogenesis in l , 2-dimethylhydrazine treated rats fed high fiber diets. *Cancer Res* 46:1727-1734, 1986
 29. Joh EH, Jeong JJ, Kim DH., Kalopanaxsaponin B inhibits LPS-induced inflammation by inhibiting IRAK1 Kinase., *Cell Immunol.* 279(1) p103-108, 2012
 30. Kalafateli M, Triantos C, Theocharis G, Giannakopoulou D, Koutroumpakis E, Chronis A, Sapountzis A, Margaritis V, Thomopoulos K, Nikolopoulou V. Health-related quality of life in patients with inflammatory bowel disease: a single-center experience. *Ann Gastroenterol.* 26(3):243-248. 2013
 31. Kamada N, Núñez G. Regulation of the immune system by the resident intestinal bacteria, *Gastroenterology* 146(6):1477-1488, 2014
 32. Kindon H et al. Threfoil peptide protection of intestinal epithelial barrier function: cooperative interaction with mucin glycoprotein. *Gastroenterol* 109:516-523, 1995

33. Koh SB, Chang SJ, Kang MG, Cha BS, Park JK. Reliability and Validity on Measurement Instrument for Health Status Assessment in Occupational Workers. *Korean J Prev Med.* Jun;30(2):251-266. 1997
34. Kono H, Fujii H, Ogiku M, Tsuchiya M, Ishii K, Hara M., Enteral diets enriched with medium-chain triglycerides and N-3 fatty acids prevent chemically induced experimental colitis in rats. *Transl Res.* 156(5). 2010
35. Lee do K, Park SY, Jang S, Baek EH, Kim MJ, Huh SM, Choi KS, Chung MJ, Kim JE, Lee KO, Ha NJ., The combination of mixed lactic acid bacteria and dietary fiber lowers serum cholesterol levels and fecal harmful enzyme activities in rats., *Arch Pharm Res.* 34(1) p23-29, 2011
36. Leonard SG, Sweeney T, Bahar B, Lynch BP, O'Doherty JV., Effect of dietary seaweed extracts and fish oil supplementation in sows on performance, intestinal microflora, intestinal morphology, volatile fatty acid concentrations and immune status of weaned pigs., *Br J Nutr.* 105(4) p549-560, 2011
37. Lewis SJ, Heaton KW. Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time, *Scand J Gastroenterol* 32(9):920 - 924, 1997
38. Lichtenberger LM. The hydrophobic barrier properties of gastrointestinal mucus. *Ann Rev Physiol* 57:565-583, 1995
39. Lichtman SM. Bacterial translocation in humans. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 33:1-10, 2001
40. Longstreth GF, Thompson WG, Chey WD, Houghton LA, Mearin F, Spiller RC. Functional bowel disorders, *Gastroenterology* 130:1480-1491, 2006
41. Lugea A et al. Surface hydrophobicity of the rat colonic mucosa is a defensive barrier against macromolecules and toxins. *Gut* 46:515-521, 2000
42. Maaser C and Kangnoff MF. Role of the intestinal epithelium in orchestrating innate and adaptive mucosal immunity. *Z Gastroenterol* 40:525-529, 2002
43. Markus F. Neurath. Cytokines in inflammatory bowel disease. *Nature Reviews Immunology* 14: 329 - 342. 2014
44. Matsuo K et al. Histochemistry of the surface mucous gel layer of the human colon. *Gut* 40:782-789, 1997

45. Medings JB and Gibbons I. Discrimination of site-specific alterations in gastrointestinal permeability in the rat. *Gastroenterology* 114:83-92, 1998
46. Molan AL, Liu Z, Tiwari R., The ability of green tea to positively modulate key markers of gastrointestinal function in rats., *Phytother Res.* 24(11) p1614-1619, 2010
47. Mugie SM, Benninga MA, Di Lorenzo C. Epidemiology of constipation in children and adults: A systemic review, *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 25(1):3-18, 2011
48. Na JR, Oh KN, Park SU, Bae D, Choi EJ, Jung MA, Choi CY, Lee DW, Jun W, Lee KY, Kim YJ, Kim S. The laxative effects of Maesil (*Prunus mume* Siebold & Zucc.) on constipation induced by a low-fibre diet in a rat model, *Int J Food Sci Nutr* 64(3):333-345, 2013
49. Okazaki, M, Fujikawa, S, Matsumoto, N. Effects of xylooligosaccharide on growth of bifidobacteria. *Journal of the Japanese Society of Nutrition and Food Science* Vol. 43 No. 6 pp. 395-401. 1990
50. Ouellette AJ et al. Paneth cell defensins and innate immunity of the small bowel. *Inflamm Bowel Dis* 7:43-50, 2001
51. Paroni R, Fermo I, Molteni L, Folini L, Pastore MR, Mosca A, Bosi E. Lactulose and mannitol intestinal permeability detected by capillary electrophoresis. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* Apr 13;834(1-2):183-7. 2006
52. Pérez-Berezo T, Ramírez-Santana C, Franch A, Ramos-Romero S, Castellote C, Pérez-Cano FJ, Castell M., Effects of a cocoa diet on an intestinal inflammation model in rats. *Exp Biol Med (Maywood)*. 237(10) p1181-1188, 2012
53. Peterson LW and Artis D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nature Reviews. Immunology* 14(3):141-153, 2014
54. Porter EM et al. The multifaceted Paneth cell. *Cell Mol Life Sci* 59:156-170, 2002
55. Remesy C, Demigne C. Metabolism of short chain fatty acids. Consequences for the effect of fiber. In : *The role of dietary fiber in enteral nutrition.* (Cumming JH, ed) pp 14-23, Abbott laboratories, Abbott park, IL, 1989

56. Romagnuolo J, Schiller D, Bailey RJ. Using breath test wisely in a gastroenterology practice: an evidence-based review of indications and pitfalls in interpretation, *Am J Gastroenterol* 97(5):1113-1126, 2002
57. Ross AH, Eastwood MA, Brydon WG, Anderson JR, Anderson DM. A study of the effects of dietary gum arabic in humans. *Am J Clin Nutr.* 37(3):368-75. 1983
58. Salminen S et al. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Br J Nutr* 80:147-171, 1998
59. Sandborn WJ, et al. Adalimumab for maintenance treatment of Crohn's disease: results of the CLASSIC II trial. *Gut.* Sep;56(9):1232-9. 2007
60. Sang-Myeong Lee, Wan-Kyu Lee. Effects of Lactic Acid Bacteria on Intestinal Microbial Enzyme Activity and Composition in Rats Treated with Azoxymethane. *The Journal of Microbiology* 39(3): 154-161. 2001
61. Sarker SA, Gyr K. Non-immunological defense mechanisms of the gut. *Gut* 33:987-993, 1992
62. Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel diseases, *Gastroenterology* 134(2):577-594, 2008
63. Schoenfeld P and Talley NJ. *Am J Gastroenterol* 101:1066-1068, 2006
64. Serra J et al. Intestinal gas dynamics and tolerance in humans. *Gastroenterol* 115:542-550, 1998
65. Shimura S. Saeki Y. Ito Y. Suzuki K. Goto S. Effects of galacto-oligosaccharides and fructo-oligosaccharides on mineral utilization in rats. *Journal of the Japanese Society of Nutrition and Food Science* 44(4): 287-291. 1991
66. Simrén M, Doré J. Gut microbiota for health-Current insight and understanding, *European Gastroenterology & Hepatology Review* 8(2):77-81, 2012
67. Staiano A, Simeone D, Del Giudice E, Miele E, Tozzi A, Toraldo C. Effect of the dietary fiber glucomannan on chronic constipation in neurologically impaired children. *THE JOURNAL OF PEDIATRICS* 136(1):41-45, 2000.
68. Such J et al. Detection and identification of bacterial DNA in patients

- with cirrhosis and culture-negative, nonneurocytic ascites. *Hepatology* 36:135-141, 2002
69. Suwendi E, Iwaya H, Lee JS, Hara H, Ishizuka S., Zinc deficiency induces dysregulation of cytokine productions in an experimental colitis of rats., *Biomed Res.* 33(6) p329-336, 2012
 70. Takahashi H, Wako N, Okubo T, Ishihara N, Yamanaka J, Yamamoto T. Influence of Partially Hydrolyzed Guar Gum on Constipation in Women, *J Nutr Sci Vitaminol* 40(3): 251-259, 1994
 71. Tsune I, Ikejima K, Hirose M, Yoshikawa M, Enomoto N, Takei Y, Sato N., Dietary glycine prevents chemical-induced experimental colitis in the rat., *Gastroenterology.* 125(3) p775-785, 2003
 72. 김미경, 권오란, 전향숙, 원혜숙, 김지연, 강병철, 제정환, 한재갑, 홍성화, 복혜숙, 김우선, 피재호, 박헌용, 김현정. 건강기능식품 개정판, 교문사, 2010.
 73. 김정목. 장내미생물무리의 조성과 대사가 건강과 질병에 미치는 영향, *Korean J Gastroenterol* 62(4):191-205, 2013
 74. 나미희, 김우경. 자일로올리고당의 섭취가 변 내 비피더스 균수, Lactic Acid 농도와 지질대사에 미치는 영향, *한국영양학회지* 40(2):154-161, 2007
 75. 미생물·면역분과학회. 최신면역학, 라이프사이언스, 2011.
 76. 송인성, 김정룡, 정현채, 김윤준, 김병관, 장동경, 우광훈, 한철주, 김진. The Change of Intestinal Permeability in Chronic Inflammatory Bowel Disease. *Korean J Gastroenterol* 27(3): 317-322. 1995
 77. 이해준, 김세라, 문창중, 김종춘, 배춘식, 강성수, 정우희, 박혜란, 조성기., Trinitrobenzene sulfonic acid에 의해 유발된 랫드의 대장염에서 HemoHIM의 항염증 효과., *Korean J Vet Res.* 47(1) p19-24, 2007
 78. 임정현, 김희선, 최은주, 심창구, 박효진. 지질 추출물이 기니 픽 위장관 운동에 미치는 영향 : in vitro, in vivo 연구, *대한소화관운동학회지* 24:7-17, 2008
 79. 최일주, 김선미, 류지곤, 정현채, 송인성, 김정룡. 만성염증성장질환 환자의 장세척액에서 IgG와 알부민 측정의 의의. *대한소화기학회지*: 제28권 제3호, 1996
 80. 황인경, 지근익. 위장관 관련 기능성 시험, 식약처 기능성 평가 가이드라인 512-597.

건강기능식품 기능성 평가 가이드

- '장 건강에 도움을 줄 수 있음' 편 -

발 행 인 : 손여원

편 집 위 원 장 : 서세정

편 집 위 원 : 구용의, 이화정, 오현숙, 최윤주, 권용관, 서일원,
오재명, 이진희, 신용운, 김민식, 황경미, 유광수,
구태현, 배윤영, 강윤정, 문명희, 임용래, 권혜진,
최문지

발 행 처 : 식품의약품안전평가원

발 행 일 : 2015. 12.

문 의 처 : 영양기능연구팀(043-719-4422)



식품의약품안전평가원
NATIONAL INSTITUTE OF FOOD AND DRUG SAFETY EVALUATION

식품의약품안전평가원 영양기능연구팀

충북 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명2로 187 오송보건의료행정타운

TEL : 043) 719-4422 FAX : 043) 719-4420

www.mfds.go.kr

건강기능식품 기능성 평가 가이드

‘장건강에 도움을 줄 수 있음’ 편