

혈당조절 기능성식품의 실험적 평가

박 인 선

인하대학교 의과대학 해부학교실

고혈당증은 당대사의 이상을 바탕으로 하고 있기 때문에 다른 질병보다 음식물의 섭취에 의해 많은 영향을 받는다. 현재 우리나라를 중심으로 고혈당의 예방과 치료(관리)를 위한 기능성식품의 개발과 실용화를 위한 다양한 시도가 진행되고 있음에도 불구하고 아직 이에 대한 객관적인 평가방법이 마련되어 있지 않다. 혈당관련 기능성 평가체계를 구축하기 위해서는 ◆ biomarker의 정립, ◆ 실험모델의 다양화와 평가기법의 체계정립, ◆ 기능성의 평가결과와 기능성표시와의 연계관계가 제시되어야 한다.

1. 혈당관련 기능성식품의 소비대상범위

기능성 식품은 당뇨병의 치료를 목적으로 개발되는 약품이 아니므로 정상인과 당뇨병 진단 범위 사이의 금식혈당장애(IFG, impaired fasting glucose) 또는 내당능장애(IGT, impaired glucose tolerance)를 각각 나타내거나 IFG와 IGT를 동시에 나타내는 경계인의 범주에 해당되는 사람들이 소비대상이 될 수 있도록 하는 방안이 바람직하다.

2. 혈당관련 기능성식품 평가를 위한 Biomarker의 정립

혈당관련 기능성식품의 평가체계를 구축하기 위해서는 먼저 biomarker의 정립이 중요하다. 본 연구에서는 혈당조절 기능성식품의 활성평가를 위한 biomarker를 혈당관계영역(blood glucose-related biomarker)과 인슐린관계영역(insulin-related biomarker)으로 대별할 수 있다.

2-1. 혈당관련영역의 biomarker와 측정

- ◆ 공복혈당(fasting plasma glucose): 최소한 8시간 금식 후 정맥혈에서 측정된 혈당농도(plasma glucose)를 mmol/L 또는 mg/dl로 표시한다. 사람과 실험동물에 모두 적용된다.
- ◆ 내당능(glucose tolerance): 내당능검사는 포도당의 투여 경로에 따라 경구당부하검사(oral glucose tolerance test, OGTT), 정맥주사 당부하검사(intravenous glucose tolerance test, IVGTT) 및 (intraperitoneal glucose tolerance test, IPGTT)로 불린다. 사람의 경우 경구당부하검사(oral glucose tolerance test, OGTT)를 주로 시행한다.
- ◆ 식후혈당농도(postprandial glucose level): 이는 엄밀한 의미에서 OGTT의 실험결과 중 120분에 나타나는 혈당농도를 지칭하며 2h-glucose(식후 2시간 후 혈당)로 표시될 수 있다. 그러나 기능성식품의 인체적용 실험의 기능성식품을 이용하는 동안 정해

진 식사 2시간 후의 혈당농도로 정할 수 있으며, 실험동물의 경우도 이에 준할 수 있다고 생각된다.

- ◆ **당화혈색소(glycated hemoglobin):** 적혈구에 있는 hemoglobin의 일부인 HbA_{1c}는 혈구의 생존기간동안 서서히 포도당과 비효소적으로 결합하여 당화된다. 그러므로 HbA_{1c}의 당화정도는 혈구의 생존기간인 혈중 포도당농도를 가늠하게 한다. 그러므로 당화혈색소는 혈당 조절을 표현하는 가장 기본적인 지표로 널리 이용되고 있으며, 당화혈색소의 값(glycated hemoglobin value)으로 지난 수주일 동안의 혈당농도를 추정할 수 있다. 당화혈색소의 측정은 장기간에 걸친 혈당의 변화를 통합하여 내는 좋은 지침이 되며 1회의 채혈로 측정이 가능하다. 그러나 당화혈색소를 비교하기 위해서는 최소한 8주 이상의 실험기간이 요구된다.

****혈당의 측정:** 혈당의 측정은 실험관에 채혈하여 혈장을 분리한 다음 혈당분석기(glucose analyser, 예, Backman glucose analyser)로 분석한다. 그러나 이 방법은 일상적이고 지속적으로 혈당을 측정하기 어렵기 때문에 시중에 상품화 되어 있는 다양한 종류의 capillary type의 휴대용 혈당측정기(glucometer)를 이용하여 간편하고 신속하게 혈당을 측정할 수 있다. 다만 capillary type의 휴대용 혈당측정기로 측정된 혈당의 값은 혈류에서 즉시 얻은 sample을 측정하기 때문에 혈당측정기기를 이용하여 측정된 값보다 다소(약 7%이내) 높을 수 있음을 감안하여야 한다.

2-2. 인슐린관련영역의 biomarker와 측정

인슐린은 췌장의 베타세포에서 prepro-insulin→pro-insulin으로 합성되며, prohormon convertase에 의해 proinsulin이 되며, 이는 다시 A, B chain으로 이루어진 인슐린과 C-peptide로 나뉘어진다. 그러므로 insulin과 C-peptide는 모두 insulin 영역의 biomarker가 될 수 있다. 또한 인슐린을 생산하는 췌장 베타세포내의 인슐린 분비능과 합성능 및 베타세포 생성성측정 등도 이 영역의 biomarker가 될 수 있다.

- ◆ **혈장 insulin과 C-peptide농도:** 전술한 바와 같이 혈당과 인슐린은 탄수화물의 대사작용과 연계되어 동반 증감을 반복한다. 베타세포에서의 인슐린의 분비는 주로 혈중 포도당농도에 의해서 자극 받으며, 스트레스와 약물 등에 의해서도 영향을 받기 때문에 공복에 측정하여야 한다. C-peptide는 proinsulin의 분해과정에서 인슐린과 같은 비율로 생기지만 인슐린처럼 간이나 다른 말초조직에서 이용되지 않은 상태로 존재하며 반감기도 인슐린보다 길어 측정하기 편리하며, 그 측정치는 인슐린의 분비정도를 반영한다.
- ◆ **췌장베타세포의 기능성 측정:** 이자섬에는 insulin을 분비하는 베타(β)세포들이 존재하며, 이들 베타세포의 인슐린 합성과 분비 및 생존여부(viability)를 측정하는 것이 기능성식품에 의한 베타세포의 기능변화여부를 설명해 줄 수 있는 지표로 이용될 수 있다. 또한 베타세포의 인슐린 분비기능은 베타세포에 포함된 인슐린 함량정도, 인슐

린 mRNA 발현 정도 등을 측정하여 평가할 수 있다.

2-3. Alpha-glucosidase 활성억제 측정

장내에서 glucose의 흡수를 방해함으로써 혈당을 조절하는 것으로 생각되는 식품에 대해서는 alpha-glucosidase 효소활성 억제 정도를 측정한다. 모든 탄수화물은 장내에서 단당류로 분해되어야 흡수가 가능하다. Alpha-glucosidase는 소장점막 미세융모막에 존재하는 효소로서 다당류의 탄수화물을 단당류로 분해하는 탄수화물의 소화에 필수적인 효소이다. 기능성식품 중 alpha-glucosidase 활성억제 작용이 있는 것으로 판단되는 것들은 이 효소의 억제 정도를 측정하는 것으로 그 기능을 판단한다. Alpha-glucosidase 활성억제 측정은 실험관 내에서 기질과의 반응역학분석(kinetic analysis)하는 방법과 소화관 내에서 sucrose의 분해 흡수를 억제하는 것을 측정하는 OGTT로 검사하는 *in-vivo* 검사법을 이용한다.

3. 혈당관련 기능성식품 *in-vitro* 평가체계 구축

혈당관련 기능성식품 *in-vitro* 평가는 *in-vivo* 실험 결과를 확인하거나, *in-vivo*에서는 시행할 수 없는 실험을 할 수 있다. *In-vitro* 실험에서도 실험 목적에 알맞은 실험대상과 방법을 선택하여야 할 것으로 생각된다. 기능성식품을 이용한 *in-vitro* 실험에는 다음과 같은 체계내 분비세포들이 이용될 수 있다.

3-1. 실험대상의 선택

◆ **Isolated islet 또는 primary beta cell:** 기능성식품을 투여한 실험동물의 췌장조직에서 이자섬을 분리하여 베타세포의 기능적 변화를 관찰하거나 이자섬을 다시 효소 처리하여 primary beta cell을 얻을 수 있다. 또한 분리된 이자섬이나 primary beta cell을 배양하면서 실험물질 또는 그 분획을 투여하여 나타나는 변화를 관찰할 수 있을 것이다.

◆ **Biomarker의 측정**

Insulin monitoring/ Cell viability monitoring/ Thymidine uptake/ 세포사멸 분석

4. 혈당관련 기능성식품 *in-vitro* 실험동물 모델과 기능성 평가

In-vivo 평가방법으로는 임상실험과 동물실험이 있을 수 있으나 여기에서는 현실적으로 가능한 동물실험을 중심으로 기술하도록 한다. 동물실험을 위해서는 목적에 따라 1) 알맞은 실험모델 동물을 선택하고 이에 따르는 2) 실험방법과 3) 실험결과에 대한 평가를 수행되어야 할 것이다.

4-1. 실험모델의 선택

당뇨병에 관한 실험동물은 어떤 질병모델보다 더 다양하게 개발되어 있으며, 이들은 사람의

당뇨병에서 나타나는 여러 특징을 특이적으로 나타내기 때문에 실험목적에 따라 선택적으로 사용할 수 있다. 본 보고서에서는 사람의 당뇨병 유형과 매우 유사한 특징을 나타내며, 우리나라에서 비교적 용이하게 제작하거나 획득할 수 있는 당뇨병 모델 실험동물로 a) streptozotocin 이나 alloxan과 같은 베타세포 독성물질로 사람의 1형 및 2형 당뇨병의 단면을 표현하는 모델과 b) 유전적 소인에 의해 당뇨병의 특징이 나타나는 동물모델을 이용할 수 있다.

4-1-2. Streptozotocin 모델

- ◆ **고용량 streptozotocin의 단회투여 모델 (제1형 당뇨병 모델):** 흰쥐에서 고용량의 streptozotocin(60-70mg/kg)을 정맥 내에 투여하면 심한 고혈당과 함께 베타 세포의 파괴가 일어나며 제1형 당뇨병이 유도된다 (Park et al., 1999).
- ◆ **저용량 streptozotocin의 반복투여 모델 (제1형 당뇨병 모델):** 이러한 실험모델에서는 insulinitis에 의한 베타세포로 특징적인 제1형 당뇨병을 유발시키나, 베타세포의 파괴 후에는 알파세포의 동반재생이 관찰된다 (Kim et al., 2001).
- ◆ **Neonate streptozotocin 모델 (제2형 당뇨병모델, 비-비만형):** 이 모델은 베타세포의 증식을 유도하며 제2형 당뇨병을 유발시키는 실험모델로 이용될 수 있다. 갓 태어난 흰쥐에 streptozotocin(35mg/kg)을 처리하면 생후 12주에 이르면, 중등도의 고혈당증이 계속되고 glucose 자극에의 인슐린 분비반응이 나타나지 않는다 (Kim et al., 2001).

4-1-3. 유전적 소인에 의해 당뇨병이 발현되는 모델

유전적으로 당뇨병이 발현되는 실험동물 모델의 경우 β 세포의 재생능력 결여가 사람 당뇨병에서 나타나는 특징과 같을 수 있으므로 중요시되고 있다. 다음과 같은 종류의 모델동물들이 있다.

- ◆ **db/db mouse (제2형 당뇨병모델, 비만형)/◆ ob/ob mouse(제2형 당뇨병모델, 비만형)**
- ◆ **Non-obese diabetic(NOD) mice (제1형 당뇨병모델)/◆ GK rat ◆ Zucker fatty rat**
- ◆ **OLETF 쥐 ◆ KK 마우스 ◆ BB rat ◆ Yellow obese mouse**

5. 혈당관련 기능성식품 인체적용 평가

5-1. 혈당조절 기능성 식품의 인체 실험대상 혈당의 범위

기능성 식품은 당뇨병의 치료를 목적으로 개발되는 약품이 아니므로 인체적용실험의 경우 약품의 실험대상인 당뇨병환자의 진단범위에 속하는 표본은 이용될 수 없으며, 1) 정상인, 2) 정상인과 당뇨병 진단범위 사이의 2) 금식혈당조절장애 (IFG, impaired fasting glucose) 또는 3) 내당능장애 (IGT, impaired glucose tolerance)를 각각 나타내거나 4) IFG와 IGT를 동시에 나타내는 사람을 대상으로 할 수 있다.

5-2. 실험의 진행

실험의 진행은 2단계로 시행한다 (복수교차시험의 경우 3단계).

- ◆ 1단계는 예비 관찰기로 실험군과 placebo대조군 모두 placebo만 투여한다. 이 시기의 실험 결과는 이후 2단계 실험결과 판정의 지표가 될 수 있다. 또한 1 단계의 실험에서 나타나는 실험의 문제점을 파악하고 이후 실험의 진행을 수정할 수 있는 중요한 단계로 최소 2주 이상의 기간을 두는 것이 좋다.
- ◆ 2단계는 본실험으로 각 실험군에게 기능성식품과 placebo를 투여한다. 이는 최소 12주의 기간이 필요하다.
- ◆ 필요에 따라 3단계 교차 실험을 시행할 수 있는데 이는 2단계에서 기능성 식품을 투여 받은 군은 placebo로 placebo 투여군은 기능성 식품으로 전환하여 진행하며 실험전 최소 2주 정도의 휴식기 (washout)가 요구된다. 휴식기란 기능성식품의 생리활성이 소멸될 수 있는 기간을 의미한다.

5-3. 기능의 측정

인체적용실험에서는 혈당관련 biomarker 모두, 즉 금식혈당, 내당능, 식후혈당, 당화혈색소를 측정할 수 있지만, 인슐린 관련 biomarker로는 혈장 인슐린 및 C-peptide 농도 측정만이 가능하며, 베타세포내의 인슐린 분비나 합성 측정은 부적합하다. 이와 관련된 연구기법은 전술한 바와 같다. 피검자들은 각 단계의 연구가 시작될 때와 끝나는 시점에서 의료진에 의해 문진, 혈압 및 부작용 평가를 받으며, 시료 투여 종료 2주후 이내까지 발생한 모든 부작용은 보고하도록 한다. 또한 실험 개시일과 최종 실험 종료일에는 전반적인 혈액 검사 및 생화학검사를 수행한다. 부작용의 판정은 대조군과 실험군 간의 부작용 종류와 빈도를 비교하여 판단한다.

6. 평가체계의 제안

혈당조절관련 기능성식품을 예상 활성에 따라 다음과 같이 4범주로 분류한다.

- ◆ 제1형 기능성식품: 탄수화물의 흡수를 방해하여 혈당을 조절하는 것으로 생각되는 식품
- ◆ 제2형 기능성식품: 인슐린분비 자극으로 혈당을 조절하는 것으로 예상되는 식품
- ◆ 제3형 기능성식품: 베타세포에 대한 손상을 억제시켜 고혈당을 교정시키는 식품
- ◆ 제4형 기능성식품: 말초조직에서 인슐린저항성을 완화시켜 당대사를 원활히 하는 식품

이러한 분류에 따라 그 기능성의 평가실험을 다음 그림에 표시한 것과 같이 시행할 것을 제안하고자 한다.

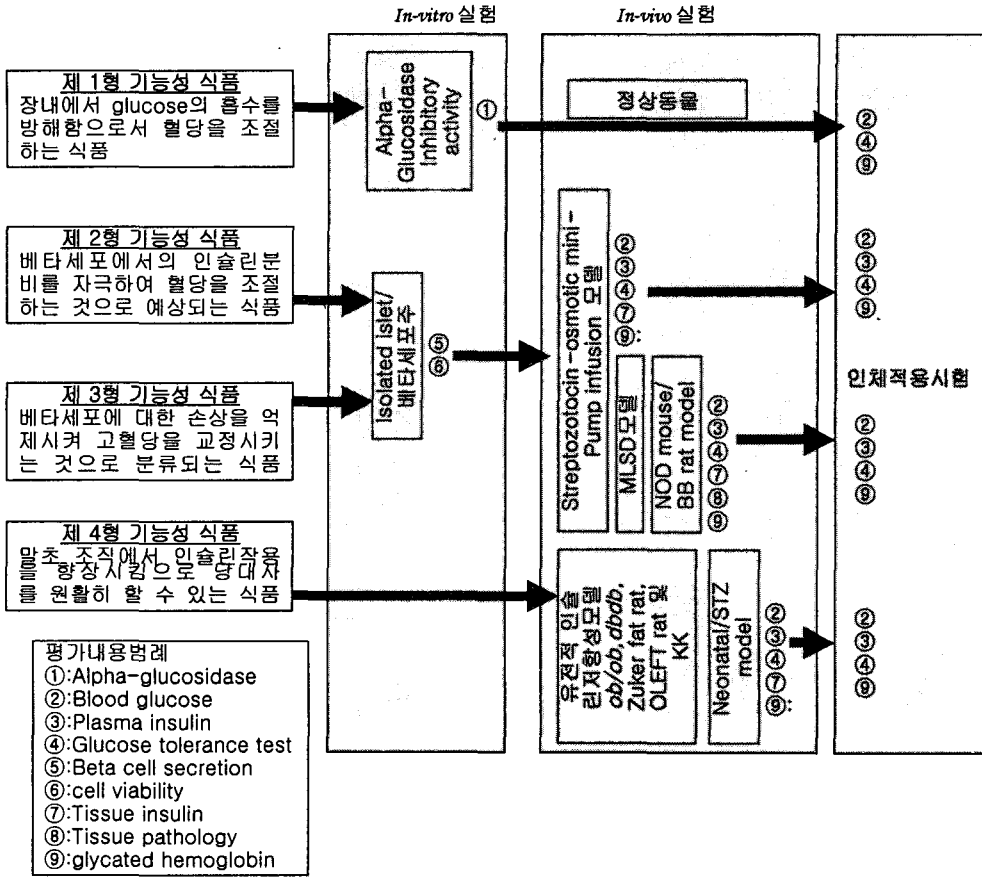


그림 1. 기능성식품의 평가체계 요약도