



Original Article / 원저

와송 추출물의 면역기능 개선 효과 및 안전성 연구: 단일기관, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 비교, 임상연구 프로토콜

최진용^{1,2}, 최준용^{1,2}, 임현우³, 김정⁴, 김소연^{1,2*}, 한창우^{1,2*}

¹부산대학교 한방병원 한방내과, ²부산대학교 한의학전문대학원 한의학과,
³기능성식의약임상지원센터, ⁴남원허브

Research on Immune Enhancing Effect and Safety of Wasong (*Orostachys japonicus*) Extract: Study Protocol for a Single Center, Randomized, Double-blind, Placebo-controlled, Clinical Trial

Jin Yong Choi^{1,2}, Jun Yong Choi^{1,2}, Hyun Woo Lim³, Jeong Kim⁴, So Yeon Kim^{1,2*}, Chang Woo Han^{1,2*}

¹Department of Internal Medicine, Korean Medicine Hospital of Pusan National University

²Department of Korean Medicine, School of Korean Medicine, Pusan National University

³Clinical support center of functional food & drug

⁴Namwon herb Co.,Ltd.

ABSTRACT

Objectives : This trial aimed to determine if Wasong (*Orostachys japonicus*) extract can enhance immune system and is safe enough to be approved as a health functional food.

Methods : Total 62 people, aged 45 and older, will be recruited to participate in a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. This study will compare Wasong extract and placebo. Wasong group will take 1g of Wasong extract, once a day, for 8 weeks. Placebo group will take 1g of crystalline cellulose as placebo, once a day, for 8 weeks. Outcomes will be measured at the baseline, the end of 4th week, and 8th week. Primary outcomes are the ratio of NK cells/total lymphocytes and the ratio of T-helper cells/T-suppressor cells. Secondary outcomes are total white blood cell count, the ratio of neutrophils, lymphocytes, and monocytes in

total leukocytes, the ratio of total T cells, T-helper cells, T-suppressor cells, and B cells to lymphocytes, the amount of blood IgM, IgG, IgA, and cytomegalovirus (CMV) IgG, and blood metabolite target & global analysis.

Results : This trial was approved by institutional review board of Pusan National University Korean Medicine Hospital (registry number: 2016006), and registered in Clinical Research information Service, one of WHO International Clinical Trials Registry Platform (registry number: PRE20161006-002). Recruitment opened in February 2017 and is supposed to be completed by August 2017. The result is expected to be published by June 2018.

Conclusion : This trial will provide clinical information to determine the efficacy and safety of Wasong in enhancing immune system of middle-aged and older people.

Key words : Wasong, *Orostachys japonicus*, immune system, clinical trial, protocol

I. 서론

21세기에 들어 다양한 요인에 의한 만성 난치성 질환들의 발병이 증가함에 따라, 예방의학의 중요성이 더욱 부각되고 있으며, 더불어 인체의 면역력을 증진시킬 수 있는 치료법들에 대한 관심도 고조되고 있다^{1,2)}. 일부 연구에 따르면 인체의 면역기능을 유지하는데 있어 섭식 상태는 매우 중요한 영향을 미친다고 하며³⁻⁵⁾, 이러한 연구 결과들에 따라 면역기능 개선에 도움이 되는 식이요법과 건강기능식품의 개발에 대한 관심 역시 증가하고 있다⁶⁾.

와송(*Wasong*, *Orostachys japonicus* A. Berger)은 돌나무과(Crassulaceae) 또는 경천과(景天科)의 여러해살이식물로 오래된 기와지붕 위나 깊은 산의 바위 위에 자라고, 잎은 살쥔 버들잎 모양으로 줄기를 둘러싸고 무더기로 자라나는데, 기와지붕 위에서 자라는 모양이 소나무 잎이나 꽃을 닮아서 우리나라에서는 와송 또는 바위솔이라고 불린다. 와송은 육질(肉質)의 다년생 초본으로 10~30cm 썸 곧게 자라며 꽃이 피고 열매를 맺으면 고사하는 특징이 있으며 여름부터 가을에 걸쳐 채취하며 뿌리를 제거한 전초를 햇볕에 말려 약용으로 사용한다^{7,8)}.

와송은 우리나라에서 오래전부터 민간요법으로 간염, 종기에 대한 면역작용, 지혈제 및 암치료제 등으로 사용되어 왔으며, 최근 와송에 존재하는 phytochemicals로

sterol, triterpenoid류, flavonoid 및 phenol 화합물 등이 분리되었고, 소화기 계통의 암에 효과가 좋은 것으로 알려지면서 이에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다⁹⁾. 또한, 안전성 측면에서 한국 식품의약품안전처 식품원재료데이터베이스에 식품사용 가능 품목으로 등재되어 있다¹⁰⁾

와송에 대한 기존 연구들을 확인해본 결과, 와송 추출물을 이용한 세포실험 및 동물시험에서 와송 추출물이 면역증진 효과가 있는 것으로 확인되었지만¹¹⁾, 이를 입증할 만한 인체적용 시험은 아직 시행되지 않았다. 이에 본 연구는 무작위 배정을 통해 와송 추출물 투여군과 결정 셀룰로오스 대조군을 비교하여 와송 추출물이 인체 면역기능 개선에 어떠한 영향을 미치는지 평가하며, 동시에 와송 추출물의 안전성을 평가하기 위한 임상연구를 계획하였다.

II. 대상 및 방법

등록된 피험자는 와송 추출물 투여군 또는 결정 셀룰로오스 대조군에 무작위 배정된다. 와송 추출물 투여군은 와송 추출물 1g을 8주간 1일 1회, 아침 또는 저녁에 1회 1포를 섭취한다. 대조군은 동일한 무게의 결정 셀룰로오스를 8주간 1일 1회, 아침 또는 저녁에 1회 1포를 섭취한다(Figure 1).

* Corresponding author : So Yeon Kim. Department of Korean Medicine, School of Korean Medicine, Pusan National University, 49, Busandaehak-ro, Mulgeum-eup, Yangsan-si, Gyeongsangnam-do, 50612, Republic of Korea.
Tel : +82-55-360-5954, Fax : +82-50-4181-6118, E-mail : omdksy@gmail.com

* Corresponding author : Chang Woo Han. Department of Korean Medicine, School of Korean Medicine, Pusan National University, 49, Busandaehak-ro, Mulgeum-eup, Yangsan-si, Gyeongsangnam-do, 50612, Republic of Korea.
Tel : +82-55-360-5957, Fax : +82-50-4181-6118, E-mail : hancw320@pusan.ac.kr

• Received : April 25, 2017 / Revised : May 18, 2017 / Accepted : May 22, 2017

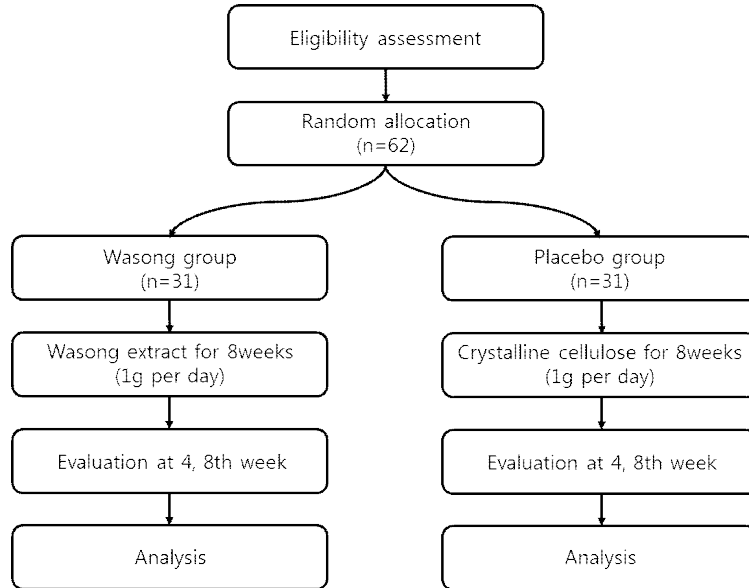


Figure 1. Flow Chart of the Trial

1. 피험자 선정

1) 대상자

만 45세 이상의 성인 남녀. 면역기능이 자연 노화로 저하되는 현상을 면역 노화(immunosenescence)라고 하며, 일반적으로 중년기부터 이러한 변화가 시작 되는 것으로 알려져 있어, 중년기의 시작인 45세를 피험자 선정 기준으로 하였다¹²⁾.

2) 선정기준

만 45세 이상의 성인 남녀로서 연구 기간 동안 추적 관찰을 위한 방문과 혈액채취를 포함하여 본 연구에서 측정하고자 하는 검사가 가능한 자이며, 본 임상시험에 자발적으로 참여를 결정하고, 연구 참여 동의서(informed consent)에 서명한 경우 피험자로 선정한다.

3) 제외기준

면역계통에 영향을 줄 수 있는 질환이나 상태 (예: 감염성 질환, 자가면역성 질환, 혈액 질환, 악성 종양, 뚜렷한 영양실조 등)에 있는 자; 면역계통에 영향을 줄 수 있는 약물 (예: 스테로이드, 호르몬제 등)이나 시험식품의 흡수, 대사, 배설에 영향을 줄 수 있는 약물을 최근 1개월 이내에 복용한 경험이 있는 자; 임상시험용의약품의 흡수에 영향을 줄 수 있는

위장관계 질환 (예: 크론씨병, 궤양 등)이나 수술 (단, 단순 맹장수술이나 탈장수술은 제외)의 과거력이 있는 자; 와송이나 유사 식물에 대한 과민반응이나 부작용의 병력이 있는 자; 과다 알코올 섭취자 (American Association for the Study of Liver Diseases 기준에 의거하여 남자는 168g/주 이상, 여자는 112g/주 이상¹³⁾); 임신부, 수유부 및 적절한 피임 방법을 사용하지 않는 가임 여성; 그리고 기타 사유로 인하여 시험담당자 혹은 시험책임자가 임상시험 참여에 부적합하다고 판단한 자의 경우 피험자에서 제외한다.

4) 피험자 수

본 연구는 와송 추출물의 면역기능 개선 효과 및 안전성을 평가하기 위한 임상연구이다. 평가변수의 통계적 가설검정은 양측검정으로 하였으며, 유의수준은 5%를 기준으로 하였다. 제 2 종 오류는 0.2로 하여 검정력은 80%를 유지하였으며 시험군과 대조군의 시험예수의 비율은 시험군의 수 : 대조군의 수 = 1 : 1로 하였다. 또한 기존 연구를 참조하여 NK cell 비율 차이($\mu - \mu$)는 2%, 표준편차(σ)는 2.5로 설정하였다^{14,15)}. 위의 설정을 바탕으로 아래와 같이 대상자 수를 계산하면, 본 연구에 필요한 피험자수는 군당 약 25명이며, 탈락율을 20% 이내로 고려하여 각 군당 등록할 대상자 수를 31명으로 산정하며, 총 대상

자수를 62명으로 설정하였다.

5) 피험자 모집

피험자는 전단지, 신문 광고, 부산대학교한방병원 홈페이지 등을 통해 모집한다.

2. 시험기간

시험기간은 임상시험심사위원회(IRB) 승인일로부터 12개월로 한다.

3. 연구설계

본 연구는 단일기관, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 비교 인체적용시험으로, 본 인체적용시험에 참여할 것을 서면으로 동의하면 스크리닝 후 선정기준에 부합하는 시험대상자가 무작위 배정 받아 8주간 시험식품(와송 추출물) 또는 대조식품(결정 셀룰로오즈)을 섭취하여 유효성 및 안전성을 평가한다. 와송 추출물 투여군은 와송 추출물 1g을 8주간 1일 1회, 아침 또는 저녁에 1회 1포를 섭취하며, 대조군은 동일한 무게의 결정 셀룰로오즈 1g를 8주간 1일 1회, 아침 또는 저녁에 1회 1포를 섭취한다.

4. 무작위배정

시험의뢰기관(에스에프씨 기능성식의약품상지원센터)에서 SPSS v23을 사용하여 무작위배정 하였다.

5. 할당은닉, 눈가림

시험의뢰기관(에스에프씨 기능성식의약품상지원센터)에서 독립적으로 무작위배정을 시행하여 배정이 은폐되고 제품번호만이 표기된 있는 상태로 완전 포장된 실험용 식품을 공급한다. 와송 추출물과 결정 셀룰로오즈의 형태는 피험자가 구별할 수 없도록 제조하여 공급한다.

6. 와송 투여군 처치

와송 투여군은 와송 추출물 1g을 8주간 1일 1회, 아침 또는 저녁에 1회 1포를 섭취한다. 실험에 사용된 와송 추출물은 건조된 국내산 와송을 열수추출, 여과, 농축, 동결건조 및 분말화하는 공정으로 제조하며, 지표성분인 gallic acid를 1%함유하도록 규격화하였다. 식품 및 식품첨가물 제조기준에 따라 관련 제조업 허가를 보유한 전문 제조업체에서 생산 및 관

리하며, 생산된 원료는 확립된 기준규격에 맞는지 자가시험 또는 공인기관 분석을 통하여 확인 관리한다.

7. 결정 셀룰로오즈 대조군 처치

대조군은 결정 셀룰로오즈 1g을 8주간 1일 1회, 아침 또는 저녁에 1회 1포를 섭취한다.

8. 관찰 및 임상검사

1차 방문 시(visit 1) 서면동의서 취득 및 인구학적 조사, 활력징후 및 신체계측, 운동습관 및 음주습관 조사, 이학적 검사, 병력 및 약물 투여력 조사, 선정/제외기준 조사, 심전도 검사, 혈액 검사, 소변 검사, 임신반응 검사(가임여성에만 해당)를 시행한다. 방문 1(visit 1)의 스크리닝에서 임상시험 참여에 적합하다고 판단되면, 2주 이내에 방문 2(visit 2)를 통하여 무작위 배정 및 인체시험용 제품을 처방 받는다. 이후 방문 2(visit 2)로부터 4주±7일에 방문 3(visit 3)을, 방문 2(visit 2)로부터 8주±7일에 방문 4(visit 4)를시행한다. 방문 3(visit 3)과 방문 4(visit 4)시에는 활력징후 및 신체계측, 운동습관 및 음주습관 조사, 이학적 검사, 병력 및 약물 투여력 조사, 혈액 검사, 소변 검사, 임신반응 검사(가임여성에만 해당), 인체시험용 제품 처방, 이상반응 확인, 반납제품회수 및 순응도 평가를 시행한다.

9. 평가변수

1차 유효성 평가 및 2차 유효성 평가 항목은 Table 1과 같다. NK cell의 비율(림프구 중에서 NK cell의 퍼센트), T-helper cell과 T-suppressor cell의 비율(T cell 중에서 CD4+/CD8+ 비율), 혈중 총 백혈구(WBC) 수, 백혈구 중에서 호중구(neutrophil), 림프구(lymphocyte) 및 단핵구(monocyte)의 비율, 림프구에서 총 T cell, T-helper cell, T-suppressor cell, 및 B cell의 비율, 혈중 IgM, IgG, IgA, cytomegalovirus(CMV) IgG 량 검사는 'Green Cross Labcell'에 의뢰하며 측정 방법은 해당기관의 프로토콜에 따른다. 혈중 대사체분석 target & global analysis는 'Korea Food Research Institute'에 의뢰하며 해당기관의 프로토콜을 따른다.

Table 1. Outcome Measure

Primary outcomes
1. The ratio of NK cells (percentage of NK cells in total lymphocyte population)
2. The ratio of T-helper cells/T-suppressor cells (the ratio of CD4+/CD8+ in T cell population)
Secondary outcomes
1. Total White Blood Cell (WBC) count
2. The ratio of neutrophils, lymphocytes and monocytes in total WBC population
3. The ratio of total T cells, T-helper cells, T-suppressor cells, and B cells in total lymphocyte population
4. Blood IgM, IgG, IgA, and CMV IgG
5. Blood metabolite target & global analysis (LC/MS)

10. 통계분석방법

1) 분석군

Intention-to-treat analysis에 포함되는 대상은 ITT 원칙에 의해 제공되는 개념과 가능한 한 근접하는 이상적인 연구대상 집단으로 모든 무작위 배정된 대상자에서 최소한의 정당한 제외사유를 가진 연구대상자를 제거한 대상자를 대상으로 한다. 이 시험에서는 무작위 배정된 대상자 중 주요한 선정, 제외기준을 위배하거나, 인체적용시험용 식품을 단 한번이라도 투여 받지 못하거나, 무작위 배정 이후 자료가 전무한 경우 한해서는 주 분석에서 제외할 수 있다. Per-protocol analysis 대상은 intention-to-treat analysis에 포함되는 대상자 중 인체적용시험계획서에 따라 본 연구를 성공적으로 완료한 대상자를 대상으로 한다. 이 시험에서는 시험 종료 시 전체 복용 순응도가 80% 이상인 경우를 포함한다.

2) 인구통계학적 자료 및 기타 치료 전 피험자 특성

인구통계학적 자료 및 기타 치료 전 피험자의 특성에 대하여 각 시험군 별로 연속형 자료는 평균, 표준편차, 최소최대치 등을 제시하고 범주형 자료는 빈도표를 제시한다. 시험군과 대조군간 통계학적 차이가 있는지 검정하기 위해, 연속형 자료는 independent t-test로 분석하고, 범주형 자료는 chi-square test를 이용하여 분석한다.

3) 통계학적 가설, 모델 및 분석방법

유효성 평가에서, 각 평가항목들은 각 군 별로 평균±표준편차로 제시한다. 치료군과 대조군에 대해 Baseline 값과 종료 시 값의 차이를, 각 군의 Baseline 값을 covariate로 설정하고 각 군을 fixed factor로 설정하는 ANCOVA 검정을 시행한다.

4) 안전성 평가

안전성 평가는 인체적용시험에 참여하여 최소한 1회 이상 인체적용시험용 식품을 복용한 대상자로부터 얻어진 자료(이상반응, 실험실검사, 활력징후, 진단검사의학 검사 결과)를 모두 분석한다. 이상반응 빈도 차이는 chi-square test로 분석한다. 단, 이상 반응이 양적 변수로 측정 가능한 경우는 independent t-test를 함께 시행한다.

11. 이상반응

1) 이상반응의 정의

이상반응(Adverse Event, AE)은 인체적용시험에 사용되는 시험식품을 투여 받은 시험대상자에 발생한 바람직하지 않고 의도되지 않은 징후(sign), 증상(symptom), 질병(disease)을 말하며, 해당 인체적용 시험에 사용된 시험식품과 반드시 인과관계를 가져야 하는 것은 아니다. 임상적 상태, 일반적인 실험실적 결과, 활력징후 등에서 임상적으로 유의할 만한 변화는 이상반응으로 간주한다.

2) 중대한 이상반응의 정의

중대한 이상반응(Serious Adverse Event, SAE)은 인체적용시험에 사용되는 식품의 임의의 용량에서 발생한 이상반응 중에서 다음 각 항목의 한 가지에 해당하는 경우를 말한다: 사망을 초래하거나 생명을 위협하는 경우, 입원할 필요가 있거나 입원 기간을 연장할 필요가 있는 경우, 지속적 또는 의미 있는 불구나 기능 저하를 초래하는 경우, 그리고 선천적 기형 또는 이상을 초래하는 경우.

3) 반응의 기록

인체적용시험 중 발생하는 모든 이상반응을 기록하는 것은 인체적용시험책임자와 담당자의 의무이다. 이상반응은 의학 진단 용어로 기록하여야 하며, 이것이 불가능할 경우 인체적용시험책임자 또는 담당자가

관찰하거나, 시험대상자가 보고한 증상 및 징후에 대한 용어를 기록한다.

인체적용시험 중에 발생한 이상반응을 조사하여 증례기록양식의 이상반응 양식에 증상, 증상의 발현기간(시작 및 종료 시점), 중증도, 중대한 이상반응의 여부(예/아니오), 총 투약기간, 마지막 투약일 및 투약시간, 시험식품과의 인과관계, 이상반응에 관련하여 취해진 조치, 이상반응의 진행상황 등에 관하여 기록한다.

인체적용시험담당자는 이상반응을 고려하여 모든 추가정보를 기록하여야 한다. 중대한 이상반응을 포함하여 모든 이상반응은 이상반응이 소실될 때까지 추적조사 한다. 이때 인체적용시험책임자는 더 이상의 추적조사가 필요한지를 판단하여야 하며 마지막 관찰결과와 일시를 기록한다. 또한, 임상검사치의 경우 임상적으로 의미 있는 비정상치를 파악하여 증례 기록서에 기록한다.

4) 이상반응의 일시 기록

시작일은 이상반응이 발생한 날짜를 기록한다. 이상반응이 재발한 경우 첫번째 발현한 날짜를 기록한다. 중증도의 변화 시에는 이상반응 정도가 변한 날짜를 기록한다. 이 날짜는 이전의 이상반응 정도가 끝난 날짜이며 동시에 이상반응의 정도가 새롭게 변화되어 발생한 날짜이다. 종료일은 이상반응 발현이 중단되었거나, 그 정도가 변한 날짜를 기록한다. 재발한 이상반응인 경우에는 맨 마지막 이상반응이 중지된 날짜 또는 그 정도가 변화된 날짜를 기록한다.

5) 이상반응의 중증도 기준

이상반응의 중증도 기준은 다음과 같다. ① 경증(mild) : 자각적 또는 타각적 증상은 있으나 해당 이상반응으로 인하여 일상생활에 지장이 없는 정도의 증상 ② 중등증(moderate) : 해당 이상반응으로 인하여 일상생활에 지장을 느껴 치료를 필요로 하는 정도의 증상 ③ 중증(severe) : 해당 이상반응으로 인하여 일상생활을 제대로 할 수 없는 정도의 증상

6) 식품과의 인과관계 기준

식품과의 인과관계 기준은 다음과 같다. ① 관련성이 명백함(Definitely) : 이 시험식품의 투여와 이상반응 발현의 시간적 순서가 타당한 경우, 이상반응이

다른 어떤 원인보다 이 시험식품 투여에 의해 가장 개연성있게 설명되는 경우, 투여중단으로 이상반응이 사라지는 경우, 재투여 시(가능한 경우에만 실시) 이상반응이 다시 재발하는 경우, 이상반응이 이 시험식품 또는 동일계열의 식품에 대해 이미 알려져 있는 정보와 일관된 양상을 보이는 경우. ② 관련성이 많음(Probably) : 이 시험식품의 투여와 이상반응 발현의 시간적 순서가 타당한 경우, 이상반응이 다른 원인보다 이 시험식품 투여에 의해 더욱 개연성 있게 설명되는 경우, 투여중단으로 이상반응이 사라지는 경우. ③ 관련성이 의심됨(Possibly) : 이 시험식품의 투여와 이상반응 발현의 시간적 순서가 타당한 경우, 이상반응이 다른 가능성 있는 원인들과 같은 수준으로 이 시험식품에 기인한다고 판단되는 경우, 투여중단으로(실시된 경우) 이상반응이 사라지는 경우. ④ 관련성이 적음(Probably not) : 이상반응에 대해 보다 가능성 있는 다른 원인이 있는 경우, 투여중단(실시된 경우)하여도 이상반응이 사라지지 않거나 판단이 모호한 경우. ⑤ 관련성이 없음(Definitely not) : 시험식품을 투여하지 않은 경우 또는 이 시험식품의 투여와 이상반응 발현의 시간적 순서가 타당하지 않은 경우, 이상반응의 명백한 다른 원인이 있는 경우. ⑥ 평가 불가능(Unassessable) : 정보가 불충분하거나 상충되어 판단할 수 없고 이를 보완 하거나 확인할 수 없는 경우.

12. 윤리적 문제

본 임상시험 프로토콜은 부산대학교 한방병원 임상시험심사위원회(IRB)의 승인을 받았다 (registry number: 2016006). 본 연구에서는 모든 피험자들로부터 자발적인 동의를 받은 것이며, 모든 피험자는 신원에 대한 비밀을 보장 받는다.

III. 고찰 및 결론

현재까지 알려진 와송의 성분으로는 triterpenoid 류인 friedelin, epi-friedianol, glutinone, glutinol과 sterol 계열물질인 β -sitosterol, campesterol이 있으며 aromatic acid인 4-hydroxybenzoic acid, 3,4-dihydroxybenzoic acid, gallic acid와 flavonoid인 kaempferol, quercetin 등이 보고되어 있다¹⁶⁻¹⁸⁾. 지금까지 알려진 와송의 효능으로는 항돌연변이,

HIV-1 protease 억제, 항산화작용, 발암물질로 알려진 N-Nitrosodimethylamine(NDMA)생성 억제 작용, 혈관 수축작용, 호흡 흥분 작용, 장관의 긴장도 증강 작용, 혈압강화, 이노작용 및 해열작용 등이 있다.¹⁹⁻²³⁾.

또한 와송의 면역 및 항암 효과를 관찰한 기존 연구에서, 와송은 생쥐의 비장 및 흉선세포의 생존율을 증가시켰으며, lymphocyte 아집단분석 결과 비장 T cell을 유의성있게 증가시켰는데 비장 T cell 중의 CD4+ cell 및 CD8+ cell이 모두 증가되었고, 혈청 γ -interferon의 생성을 현저하게 증가시켰다. 또한 L1210 cell 및 U937 cell 등의 leukemic cell의 apoptosis를 촉진시키는 항암작용도 확인되었다¹¹⁾.

본 임상연구를 계획하기 전 시험의뢰기관(에스에프씨 기능성식의약품상지원센터)에서 수행한 전임상연구에서도 와송의 다양한 면역기능개선 효능이 확인되었다. 와송이 면역저해물질인 cyclophosphamide(Cy)의 독성에 의한 SD rat 비장세포 증식률에 미치는 영향을 분석한 결과, 비장세포 증식률은 와송 처리농도에 비례하여 증가하였다. 또 피부암세포(B16F10 melanoma cell line)를 이용한 실험에서는 와송 추출물이 농도 의존적으로 피부암세포의 증식을 억제하는 것으로 나타났다. Cy로 유도된 면역력 저하 Wister rat에 와송을 투여한 경우 대조군에 비해 수명 시간이 증가하고, 면역과 관련된 비장 및 흉선 조직의 중량 감소가 완화되었다. 또, 대조군에 비해 백혈구, 임파구, 과립구, 및 단핵구 수의 감소가 완화되었으며, 면역 관련 인자들인 TNF- α , IL-2, 및 INF- γ 를 증가시켰다 (연구 결과는 아직 출판되지 않았으며, 곧 관련 저널에 게재 예정임).

노화에 따른 면역력 저하는 감염 빈도 증가, 감염 중증도 증가, 자가면역 질환 발생, 암의 발생 등을 초래하는 것으로 알려져 있다²⁴⁾. 인체의 면역 시스템에서 특히 NK cell은 면역 감시 체계를 조절하여 암의 발생이나 바이러스 감염을 억제하는데 중요한 역할을 한다²⁵⁾. 젊은 사람들과 고연령자들을 비교하였을 때 NK cell의 활동성은 고연령자들에서 더 저하되며, 따라서 NK cell의 비율 및 활동성을 상승시키는 것은 고연령자들의 건강을 지키고 질병을 예방하는데 중요한 역할을 한다고 한다²⁶⁾. 한편 노화에 따른 면역력 저하에서 T-helper cell (CD4+)/ T-suppressor cell (CD8+) 비율이 낮아지는 현상이 나타나는 것으

로 알려져 있는데, 고연령자들을 대상으로 한 추적연구에서 CD4+ 비율이 낮고 CD8+ 비율이 높을수록 장기 생존률이 낮은 것으로 확인되었다²⁷⁾. 면역 기능이 저하될수록 cytomegalovirus (CMV)와 같은 지속 감염 바이러스의 활성화 빈도가 높아져 관련 항체가 증가하는 것으로 알려져 있으며, CMV 경우 CMV 항체 역가가 높을수록 생존기간이 감소한다는 연구도 발표된 바 있다^{28,29)}. 따라서, 본 연구에서는 위에서 언급한 노화의 과정에서 잘 관찰되는 면역기능의 변화를 확인하기 위해 NK cell, T-helper cell, T-suppressor cell 및 CMV IgG의 변화를 관찰하기로 하였다. 또한, 면역세포 및 면역글로불린의 전체적 변화 가능성도 고려하여 호중구, 림프구, 단핵구, IgM, IgG, 및 IgA의 변화도 측정하기로 하였다.

최근 임상시험의 증가와 함께 프로토콜 사전 공개의 중요성이 강조되고 있다. 이는 프로토콜을 사전에 공개함으로써 과학적이고 윤리적인 임상실험을 수행하게 하고, 신뢰할 수 있는 결과를 얻을 수 있을 것으로 기대되기 때문이다. 본 연구 역시 연구 과정의 투명성을 확보하고 그 결과의 신뢰성을 제고하고자 프로토콜을 국립보건연구원 임상연구정보서비스(Clinical Research information Service; CRiS)에 등록하였으며 (registry number: PRE20161006-002), 온라인 등록 과정에서 공개되지 않은 상세한 세부 항목에 대해서도 충분히 밝혀 두기 위해 이 원고를 게재하고자 하였다.

피험자 모집은 2017년 2월부터 시작되었고, 2017년 8월 이내에 완료 예정이며, 그 결과는 수개월 이내에 정리하여, 다음 연도 상반기 내에 발표할 계획이다. 와송의 경우 아직 인체를 대상으로 한 연구가 없었던 상황에서 본 프로토콜을 바탕으로 임상 연구가 완료되면, 와송의 면역기능개선 효능과 안전성에 대한 유용한 정보를 얻을 수 있을 것으로 기대되며, 향후 관련 약제나 식품으로서의 활용에 도움이 될 것으로 기대된다.

감사의 말씀

본 연구는 ‘농림축산식품부 2016년도 식품기능성평가 지원사업’ 연구비 지원으로 이루어졌다.

References

1. Lee SJ, Li SS, Kim DH. A Study on the trends of Meebyung research. The Journal Of Korean Medical Classics. 2010;23(5):23-34.
2. Lee E, Lee Y, Park K, Yoo J, Lee S. A study on recognition of Mibyeong and its prevalence in Korean public : national survey. The Journal of Oriental Medical Preventive. 2015;19(3):1-10.
3. Lim YS. Modulation of immunocompetence by aging process and nutritional status : I. Focus on cytokine production and delated cutaneous hypersensitivity response. Seoul: SOOKMYUNG WOMEN'S UNIVERSITY; 1995.
4. Kim KS, Lee HM. An Investigation into Effect of Exercise Intensity and Nutrition on Immunity Function. Journal of Dong-Eui university institute of sport science. 2003;2(-):75-89.
5. Kim BS, Kim YY, Park JH, Kim NI, Choue RW. Effects of Medical Nutrition Therapy on Dietary Quality, Plasma Fatty Acid Composition and Immune Parameters in Atopic Dermatitis Patients. Korean J Community Nutrition. 2008;13(1):80-90.
6. Kim JY, Lee YK, Kang YJ, Lee KJ, Seo IW, Park KS. Biomarkers and Study Design to Measure Immunomodulation in Health/Functional Food. Food industry and nutrition. 2008;13(2):34-40.
7. Kim JW. Korean Plant Ecology Trace. Seoul: Nature and Ecology. 2013:1063-4
8. Illustrated plant book of Wasong, *Orostachys japonicus* A. Berger. Available from: URL:<http://www.nature.go.kr/kbi/plant/pilbk/selectPlantPilbkDtl.do?plantPilbkNo=32603>
9. Park HJ, Lim SC, Lee MS, Han SY. Triterpene and Steroids from *Orostachys japonicus*. Korean Journal of Pharmacognosy. 1994;25(1):20-3.
10. Safety of Wasong as food. Available from: URL: http://fse.foodnara.go.kr/origin/search_content_detail.jsp?idx=4781&query=%BF%CD%BC%DB
11. Kwon J, Han KS. Effects of *Orostachys japonicus* A. Berger on the Immune System. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 2004;12(4):315-20.
12. Haynes L, Maue AC. Effects of aging on T cell function. Current opinion in immunology. 2009;21(4):414-7.
13. O'Shea RS, Dasarathy S, McCullough AJ, Practice Guideline Committee of the American Association for the Study of Liver D, Practice Parameters Committee of the American College of G. Alcoholic liver disease. Hepatology. 2010;51(1):307-28.
14. Lee H, Kim DY, Lee MA, Jang JY, Choue R. Immunomodulatory effects of kimchi in chinese healthy college students: a randomized controlled trial. Clin Nutr Res. 2014;3(2):98-105.
15. Moro-Garcia MA, Alonso-Arias R, Baltadjieva M, Fernandez Benitez C, Fernandez Barrial MA, Diaz Ruisanchez E, et al. Oral supplementation with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 8481 enhances systemic immunity in elderly subjects. Age (Dordr). 2013;35(4):1311-26.
16. Park HJ, Young HS, Park KY, Rhee SH, Chung HY, Choi JS. Flavonoids from the Whole Plants of *Orostachys japonicus*. Archives of Pharmacal Research. 1991;14(2):167-71.
17. Park HJ, Moon SH, Park KY, Choi JS, Chung HY, Young HS. Antimutagenic Effect of *Orostachys japonicus*. Yakhak Hoeji. 1991;35(4):253-7.
18. Park JC, Kim MS, Park KY, Park JG, Hur JM, Park SJ, et al. Phenolic Compounds from *Orostachys japonicus* having Anti - HIV-1 Protease Activity. Natural Product Sciences. 2000;6(3):117-21.
19. Yoon Y, Kim KS, Hong SG, Kang BJ, Lee MY, Cho DW. Protective effects of *Orostachys japonicus* A. Berger (Crassulaceae) on H₂O₂-induced apoptosis in GT1-1 mouse hypothalamic neuronal cell line. Journal of ethnopharmacology. 2000;69(1):73-8.
20. Choi SY. Effect of *Orostachys japonicus* extracts on antioxidative activity and N-nitrosodimethylamine formation. Jinju: Gyeongsan National University; 2006.
21. Choi SY, Kim JG, Sung NJ. Studies on the Physicochemical Characteristics and NDMA

- Formation of *Orostachys japonicus* A. Berger. THE KOREAN JOURNAL OF FOOD AND NUTRITION. 2008;21(2):148-56.
22. Park JC, Han WD, Park JR, Choi SH, Choi JW. Changes in hepatic drug metabolizing enzymes and lipid peroxidation by methanol extract and major compound of *Orostachys japonicus*. J Ethnopharmacol. 2005;102(3):313-8.
23. Shin JH, Lee SJ, Cha JY, Seo JK, Cheon EW, Sung NJ. The Antioxidants Activities of Hot-Water Extracts of Wa-song (*Orostachys japonicus* A. Berger) on Edible oil and Fat. Korean Journal of Food and Cookery Science. 2008;24(6):748-56.
24. DelaRosa O, Pawelec G, Peralbo E, Wikby A, Mariani E, Mocchegiani E, et al. Immunological biomarkers of ageing in man: changes in both innate and adaptive immunity are associated with health and longevity. Biogerontology. 2006;7(5-6):471-81.
25. Takeda K, Okumura K. Effects of a Fermented Milk Drink Containing *Lactobacillus casei* Strain Shirota on the Human NK-Cell Activity. The Journal of nutrition. 2007;137(3):791S-3S.
26. Hodes RJ. Aging and the immune system. Immunological reviews. 1997;160:5-8.
27. Ferguson FG, Wikby A, Maxson P, Olsson J, Johansson B. Immune parameters in a longitudinal study of a very old population of Swedish people: a comparison between survivors and nonsurvivors. The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences. 1995;50(6):B378-82.
28. Hadrup SR, Strindhall J, Kollgaard T, Seremet T, Johansson B, Pawelec G, et al. Longitudinal studies of clonally expanded CD8 T cells reveal a repertoire shrinkage predicting mortality and an increased number of dysfunctional cytomegalovirus-specific T cells in the very elderly. Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950). 2006;176(4):2645-53.
29. Caruso C, Buffa S, Candore G, Colonna-Romano G, Dunn-Walters D, Kipling D, et al. Mechanisms of immunosenescence. Immun Ageing. 2009;6:10.