

발간등록번호

안내서-1276-01

국민안심이 기준입니다

# 건강기능식품 기능성 평가 가이드 (민원인 안내서)

-어린이 키성장에 도움을 줄 수 있음-

2023. 5.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원



## 지침서 · 안내서 제 · 개정 점검표

건강기능식품 기능성 평가 가이드  
(어린이 키성장에 도움을 줄 수 있음)

아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.

등록대상 여부	<input type="checkbox"/> 이미 등록된 지침서 · 안내서 중 동일 · 유사한 내용의 지침서 · 안내서가 있습니까? <span style="float: right;"> <input type="checkbox"/> 예  <input checked="" type="checkbox"/> 아니오                 </span>
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 기존의 지침서 · 안내서의 개정을 우선적으로 고려하시기 바랍니다. 그럼에도 불구하고 동 지침서 · 안내서의 제정이 필요한 경우 그 사유를 아래에 기재해 주시기 바랍니다. (사유 : _____ )
	<input type="checkbox"/> 법령(법 · 시행령 · 시행규칙) 또는 행정규칙(고시 · 훈령 · 예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까? <span style="float: right;"> <input type="checkbox"/> 예  <input checked="" type="checkbox"/> 아니오                 </span>
	<input type="checkbox"/> 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까? <span style="float: right;"> <input type="checkbox"/> 예  <input checked="" type="checkbox"/> 아니오                 </span>
	<input type="checkbox"/> 1년 이내 한시적 적용 또는 일회성 지시 · 명령에 해당하는 내용입니까? <span style="float: right;"> <input type="checkbox"/> 예  <input checked="" type="checkbox"/> 아니오                 </span>
	<input type="checkbox"/> 외국 규정을 번역하거나 설명하는 내용입니까? <span style="float: right;"> <input type="checkbox"/> 예  <input checked="" type="checkbox"/> 아니오                 </span>
	<input type="checkbox"/> 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까? <span style="float: right;"> <input type="checkbox"/> 예  <input checked="" type="checkbox"/> 아니오                 </span>
☞ 상기 사항 중 어느 하나라도 '예'에 해당되는 경우에 지침서 · 안내서 등록 대상이 아닙니다. 지침서 · 안내서 제 · 개정 절차를 적용하실 필요는 없습니다.	
지침서 · 안내서 구분	<input type="checkbox"/> 내부적으로 행정사무의 통일을 기하기 위하여 반복적으로 행정사무의 세부기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용) <span style="float: right;"> <input type="checkbox"/> 예(☞지침서)  <input checked="" type="checkbox"/> 아니오                 </span>
	<input type="checkbox"/> 대내외적으로 법령 또는 고시 · 훈령 · 예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용) <span style="float: right;"> <input checked="" type="checkbox"/> 예(☞지침서)  <input type="checkbox"/> 아니오                 </span>
기타 확인 사항	<input type="checkbox"/> 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설 · 강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까? <span style="float: right;"> <input type="checkbox"/> 예  <input checked="" type="checkbox"/> 아니오                 </span>
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침서 · 안내서 제 · 개정 절차를 진행하시기 바랍니다.
상기 사항에 대하여 확인하였음.  2023년 5 월 일  <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <span>담당자 확 인(부서장)</span> <span>이 해 영</span> </div>	

이 안내서는 건강기능식품 기능성 원료 평가에 대하여 이해를 돕고자, 현재의 과학기술 수준에서 일반적인 사항과 시험방법 등이 제시된 참고자료이며, 질병에 관련된 내용이 포함되는 경우 기능성에 대한 전반적인 이해를 돕기 위한 것이지, 질병의 치료 및 예방을 목적으로 기능성을 설명하는 것은 아닙니다.

본 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술방식 ('~하여야 한다' 등)에도 불구하고 민원인 여러분께서 반드시 준수하셔야 하는 사항이 아님을 알려드립니다. 또한, 본 안내서는 2023년 현재의 과학적·기술적 사실 및 유효한 법규를 토대로 작성되었으므로 이후 최신 개정 법규 내용 및 구체적인 사실관계 등에 따라 달리 적용될 수 있음을 알려드립니다.

※ “민원인 안내서”란 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것(식품의약품안전처 지침서등의 관리에 관한 규정 제2조)

※ 본 안내서에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전평가원 식품위해평가부 영양기능연구과으로 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-4402, 4404, 4409, 4416, 4419, 4422, 4428, 4429, 4431

팩스번호: 043-719-4420

## 제·개정 이력

연번	제·개정번호	승인일자	주요내용
1	안내서-1276-01	2023.5.9	제정



※ 건강기능식품의 기능성 개요 ..... 1

※ 약어 ..... 3

**I** 서론 4

**II** 일반적 사항 4

1. 개요 ..... 4

2. 보건학적 중요성 ..... 13

**III** 기능성 시험 방법 14

1. 바이오마커의 선정 ..... 14

2. 주요 바이오마커의 측정 방법 ..... 19

3. 시험 설계 시 고려사항 ..... 24

4. 안전성 평가 ..... 29

5. 통계처리 ..... 30

**IV** 참고문헌 33



## 건강기능식품의 기능성 개요

### □ 기능성 정의

「건강기능식품에 관한 법률」 제3조(정의) : 기능성이란 인체의 구조와 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 것을 말한다.

### □ 기능성 구분

건강기능식품의 기능성은 3가지로 구분할 수 있다.

#### ○ 건강기능식품의 기능성 구분

기능성 구분	기능성 내용	기능성을 가진 원료 또는 성분
영양소 기능	인체의 정상적인 기능이나 생물학적 활동에 대한 영양소의 생리학적 작용	영양소
생리활성 기능	인체의 정상기능이나 생물학적 활동에 특별한 효과가 있어 건강상의 기여나 기능향상 또는 건강 유지·개선을 나타내는 기능	기능성 원료
질병발생 위험감소 기능	질병의 발생 또는 건강 상태의 위험감소와 관련한 기능	

## □ 건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준

건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준은 다음과 같다.

### ○ 건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준

구분	기능성 내용	인정기준
질병발생 위험 감소 기능 <sup>1)</sup>	○○발생위험 감소에 도움을 줌	기반연구 자료를 통해 생리화학적 효과 또는 기전이 명확하게 입증되어야 하고 일관성 있는 바이오마커의 개선효과가 다수의 인체적용시험(RCT)에서 확보되어야 함 ※ 질병 관련 바이오마커의 확인
생리활성 기능 <sup>2)</sup>	○○에 도움을 줄 수 있음	기반연구 자료를 통해 기능성 있는 생리화학적 효과 또는 기전을 추측할 수 있어야 하고 일관성 있는 바이오마커의 개선효과가 최소 1건 이상의 인체적용시험(RCT)에서 확보되어야 함(추측 제안기전과 관련한 바이오마커가 기반연구시험과 인체적용시험에서 일관성 있게 확인되어야 함) ※ 생리활성 관련 바이오마커의 확인

- 1) 제출된 기능성 자료가 질병의 발생 위험 감소를 나타내며, 확보된 과학적 근거 자료의 수준이 상당한 과학적 합의(Significant Scientific Agreement)에 이를 수 있을 정도로 높을 경우 인정. 상당한 과학적 합의(Significant Scientific Agreement)란 성분 또는 원료와 건강효과 간의 상관성이 새로운 과학에 의해 뒤집어지지 않을 정도의 수준으로 관련 분야의 전문가들에 의한 만장일치에 가까운 합의 수준을 말함
- 2) 제출된 기능성 자료가 인체의 정상기능이나 생물학적 활동에 특별한 효과가 있어 건강상의 기여나 기능향상 또는 건강유지·개선을 나타내는 경우 인정

## 약 어

BV	Bone volume
BV/TV	Bone volume fraction
BMP-2	Bone morphogenetic protein 2
BMD	Bone mineral density
BrdU	Bromodeoxyuridine
Cs.Th	Cross section thickness
FITC	Fluorescein isothiocyanate
GHRH	Growth hormone-releasing hormone
HAZ	Length/height-for-age z-score
IGF-1	Insulin-like growth factor
IGFBP	Insulin-like growth factor binding protein
MMI	Mean polar moment of inertia
MSC	Mesenchymal stem cell
SMI	Structure model index
TBMC	Total body bone mineral content
TGF- $\beta$	Transforming growth factor-beta
Tb.N	Trabecular number
Tb.Pf	Trabecular bone pattern factor,
Tb.Sp	Trabecular separation
Tb.Th	Trabecular thickness
vBMD	volumetric Bone mineral density,

## I 서론

이 가이드는 건강기능식품 기능성원료를 개발하는 연구자 및 영업자에게 식품의약품 안전처의 기능성(어린이 키성장에 도움을 줄 수 있음) 평가 원칙 및 기준 등을 알림으로써 산업체의 기능성원료 연구개발에 적정을 기하고 효율성을 높이고자 작성되었다.

## II 일반적 사항

### 1. 개요

#### 가. 어린이 성장의 정의와 의의

##### (1) 성장의 정의

성장(growth)이란 키와 체중 등이 양적으로 증가해가는 과정을 의미하며, 외부적 으로는 적절한 영양공급과 내부적으로는 호르몬의 복합 작용에 의하여 이루어진다. 성장은 소아기의 특징이며, 성장의 변화 추이는 어린이의 건강 상태와 밀접한 관계가 있으며, 정신적, 사회적 건강 상태와도 상호 영향을 미치게 된다.

성장 장애는 영아 및 소아에서 신체적 성장이 또래보다 현저히 작은 경우를 의미하며, 운동 및 언어발달과 사회 정서적 기능의 장애를 동반할 수 있기 때문에 그 의의가 크다고 할 수 있다.

##### (2) 성장 조절 인자

일반적으로 키성장에는 다양한 요인이 영향을 미치며, 유전적인 요인과 더불어 영양상태, 운동 정도, 수면 상태, 스트레스 등의 환경적인 요인에 의해 복합적으로 영향을 받는 것으로 알려져 있다.

유전은 대표적인 성장 관여 인자로 부모의 신장에 따라 자녀의 신장이 어느 정도는 결정된다. 특발성 저신장의 가장 많은 원인이 가족성 저신장증이 있는 경우로 보고되고 있으며 이와 더불어 최근에는 성장호르몬 혹은 성장호르몬 수용체의 호르몬들의 유전자 다형성에 따라서 성장에 미치는 영향이 다른 것으로 보고되고 있다. 성장호르몬수용체 유전자다형성(rs13153388, G/T)에 따라 남녀 신장의 차이가 나타나는 것이 보고되었다(그림 1).

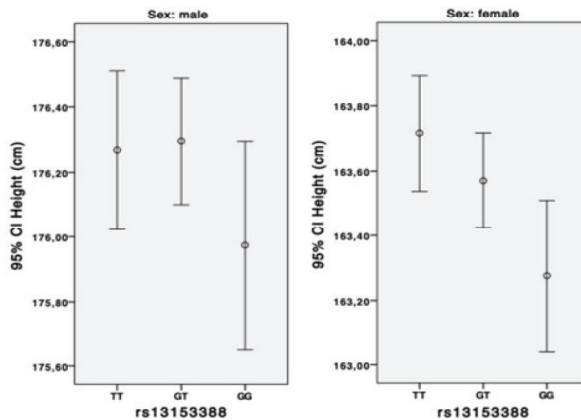


그림 1. 성장호르몬수용체 유전자다형성(rs13153388, G/T)에 따른 신장 차이

[출처: Hallengren *et al.*, BMC Genomics. 2017]

영양상태는 각 성장 시기에 따라 매우 중요한 영향을 미친다. 성장시기에는 신체 조직이 성장하므로 신체유지에 필요한 영양공급 외에도 체조직을 합성하는데 필요한 여러 영양소들이 추가로 공급되어야 하는 시기이다. 전체적인 열량 공급도 중요하며 단백질의 공급이 증가할수록 신장이 증가하는 것으로 나타난다. 또한 철 섭취량이나 아연의 섭취 상태에 따라서도 성장률이 다르게 나타난다.

장기적인 스트레스는 직접적으로 뇌하수체에 영향을 미쳐 성장호르몬의 분비를 저해하며, 스트레스로 인해 혈중 콜레스테롤 농도가 높아지면 성호르몬 분비를 촉진시켜 조기 성숙을 유도할 수 있다. 과도한 스트레스는 숙면을 방해하기 때문에 숙면 중 원활히 분비되는 성장호르몬의 분비를 저해하는 결과를 초래하기도 한다.

수면과 성장호르몬과의 관계는 연구가 많이 진행되고 있으며, 일반적으로 잠이 들면 1, 2단계 수면으로 접어들고, 일정 시간 후 깊은 수면단계로 들어가게 된다. 깊은 수면 단계 시 성장호르몬의 분비가 왕성해져 평소의 약 5배 이상 분비된다(그림 2).

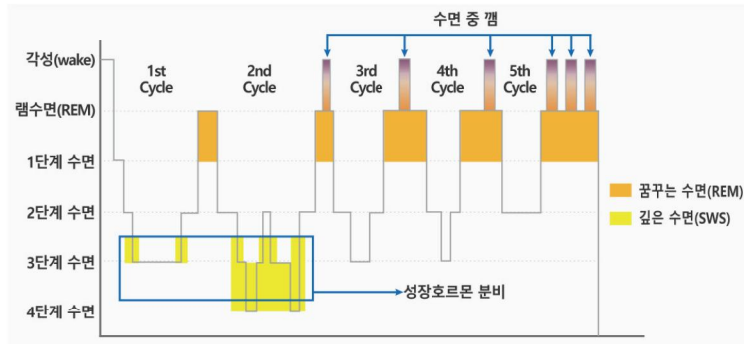


그림 2. 수면단계와 성장 호르몬과의 관계

[출처: Chae KY. Korean J Pediatr, 2007 ]

## 나. 성장 단계

### (1) 성장 단계

성장기는 일반적으로 4단계로 나뉘며, 1차급속성장기, 일반성장기, 2차급속성장기, 감속성장기의 기본단계가 있다(그림 3). 1차급속성장기는 출생 후 2~3세까지 1년에 10~20 cm 정도 급격히 자라는 시기이며, 이시기에 저체중아로 태어난 영아의 경우 따라잡기 성장(catch-up growth)이 일어나는 시기이기도 하다. 3세 이후 사춘기 시작 전까지는 성장의 속도가 감소하게 되고 일년에 평균 5~6 cm 정도 자란다. 사춘기가 되면 다시 급성장을 하게 되는 2차급속성장기에 들어가게 되고 여아는 가슴이 발달하고 성숙하는 태너척도<sup>1)</sup> 2-3기, 남아는 고환의 용적이 커지는 태너척도 3-4기에 급격히 성장한다. 남아가 여아보다 2년 정도 늦게 사춘기가 시작하는 경향을 보이며, 남아는 이시기에 10~14 cm, 여아는 8~12 cm가 성장하게 된다. 2차 급성장기 후반부터는 점차적으로 완만한 성장속도를 보이다가 뼈의 골단(epiphysis)이 융합되면서 성장이 멈추게 된다.



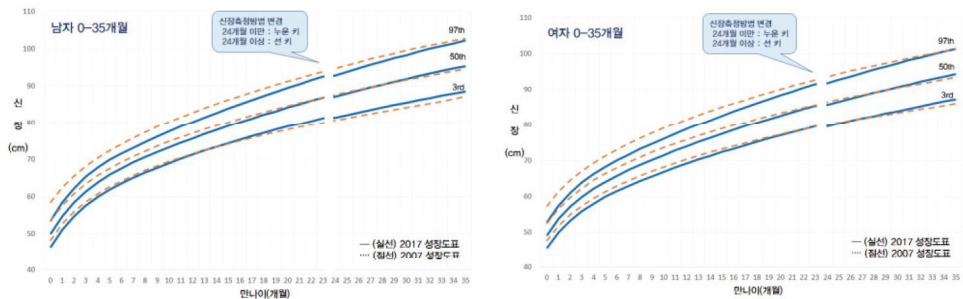
그림 3. 성장단계

[출처: 홍용희. 클리닉저널. 2018.05.17. Barstow and Rerucha. Am Fam Physician. 2015]

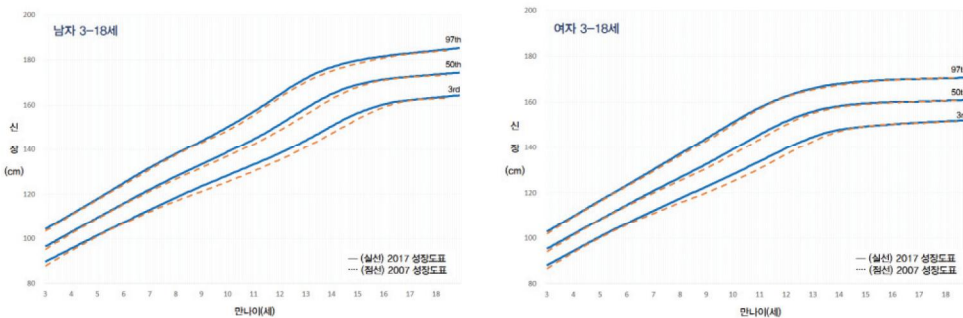
1) 태너척도(Tanner scale): 신체 발달정도를 1차 성장과 2차 성장을 기반으로 구분한 기준

## (2) 표준성장곡선

성장도표는 우리나라 소아청소년의 신장, 체중 등 신체계측치의 분포를 보여주는 백분위 곡선으로 저신장, 저체중, 비만 등 소아청소년의 성장상태를 평가하는 지표로 활용되고 있다. 보건복지부와 대한소아과학회는 공동으로 1967년부터 약 10년마다 성장도표를 제정·발표하고 있으며, 2017년 12월 「2017 소아청소년 성장도표」를 제정·발표하였다(그림 4). 2017 소아청소년 성장도표의 경우 3세 미만(0~35개월)은 최적의 성장환경에서 성장한 건강한 모유수유아만을 포함하여 산출하여 현재 개발된 성장도표 중 가장 표준에 가깝다고 평가받고 있는 WHO Growth Standards를 적용하였고, 이후 연령은 「2007 소아청소년 표준 성장도표」의 제한점을 보완하여 재산출하여 사용하고 있다.



[0-35개월의 표준 성장도표]



3-18세의 표준 성장도표

그림 4. 표준 성장도표

[출처: 질병관리청, 2017 소아청소년 성장도표]

## 다. 성장 기전

### (1) 성장호르몬

뇌하수체에서 생성되는 성장호르몬의 분비는 기본적으로 growth hormone-releasing hormone(GHRH)과 somatostatin에 의해 통제되며 일반적으로 성장호르몬 촉진 분비 물질에 영향을 받아 뇌하수체에서의 성장호르몬 분비가 조절되는 것으로 알려져 있다(그림 5).

성장호르몬은 191개의 아미노산으로 되어 있으며, 뇌하수체에서 성장호르몬이 분비되면 골 조직, 지방 조직, 근육 조직, 간 조직 등으로 이동하여 각 장기와 조직의 성장 및 기능에 관여한다. 골 조직에서는 파골세포 분화를 증가시키고, 조골세포 활성을 증가시켜 골밀도를 증가시키게 되고, 지방조직에서는 lipoprotein lipase 활성저해 및 hormone sensitive lipase를 촉진시켜 조직 내 지방합성을 감소시키게 된다.

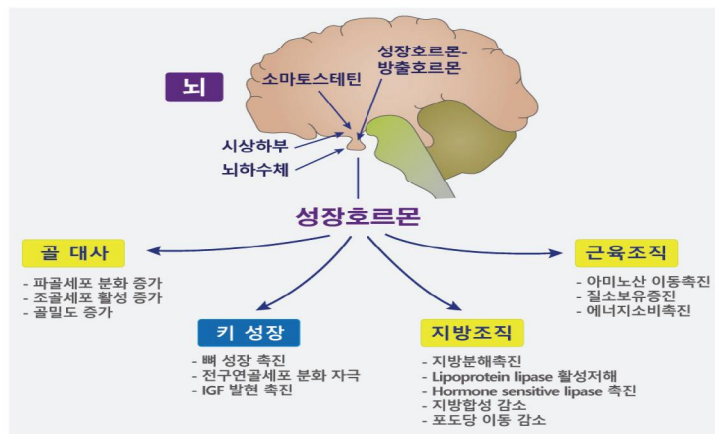


그림 5. 성장 기전

[출처: 박용훈. 영남의대학술지, 2005]

### (2) 인슐린유사성장인자의 조절작용

Insulin-like growth factor(IGF-1)는 성장호르몬에 의해 간에서 합성된 후 다시 혈액을 통해 각 기관과 조직으로 이동하게 된다. 따라서 성장호르몬 분비뿐만 아니라 IGF-1의 분비 또한 성장과 밀접한 관계를 가지고 있다고 할 수 있다(그림 6).

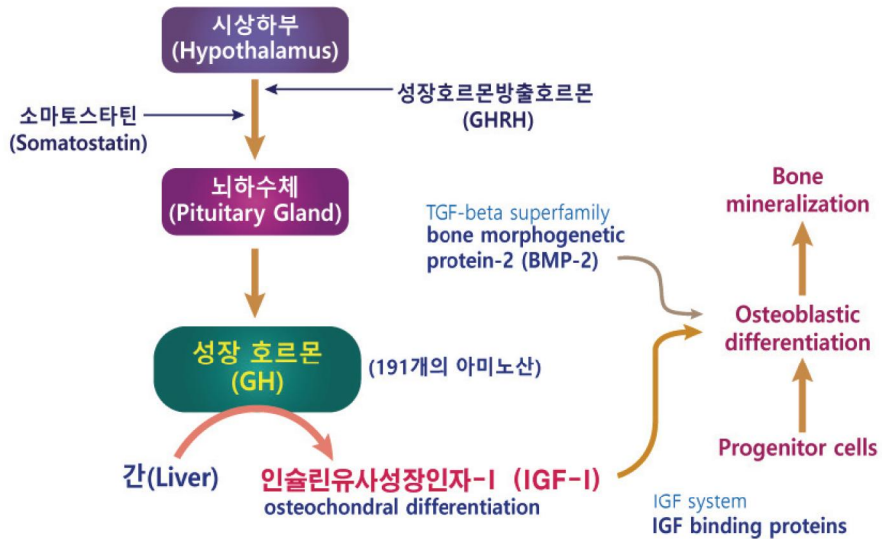


그림 6. 성장 호르몬과 IGF-1

[출처: Underwood *et al.*, *Ped Clin North Am*, 1980, Zapf *et al.*, *Current topics in cellular regulation*, 1981, 신재훈, *대한소아과학회지*, 1996]

IGF-1은 70개의 아미노산으로 구성된 단일쇄폴리펩타이드로서 간에서 주로 분비되어 IGF-1 수용체와의 결합을 통해 기능을 나타내게 된다. IGF-1은 인슐린과 분자 구조가 유사한 호르몬으로 세포증식의 촉진과 관련된 중요한 역할을 한다. 또한 조직의 성장주도인자 (growth-promoting factor)로서 성장호르몬의 조절을 받고, 간에서 생성되어 다시 혈중으로 분비되며 혈중에서 결합단백과 함께 이동하다가 세포가 필요시에는 결합단백과 분리되어 영양소 중 아미노산을 세포내로 유입하게 하는데 필요한 물질이다. 세포에서는 세포 기질 합성작용, 단백동화작용, 세포증식 작용을 담당한다.

IGF-1은 전구인슐린과 구조가 비슷하여 인슐린유사성장인자라고 하며, 본 물질의 수용체 또한 인슐린 수용체와 구조가 비슷하여 고농도에서는 혈당의 세포내 유입에 관여하여 혈당 저하를 유도하기도 한다. 혈중에서의 농도는 나이에 따라 차이가 많으며 출생 후 사춘기까지 점차 증가하였다가 그 후 점차 감소하여 성장호르몬 결핍 시에는 50 ng/mL이하로 감소하는 것으로 알려져 있다. 성장호르몬 결핍증 아동에게 성장호르몬을 투여할 때 혈중 IGF-1의 생성 지표는 점차 증가하여 성장호르몬 치료 판정에 사용되기도 한다.

인슐린유사성장인자는 골격 형성을 자극하는 anabolic polypeptide이기도 하다. 조골세포는 IGF와 Insulin-like growth factor binding protein(IGFBP)를 독립적으로 생성하고 IGFBP양과 IGF에 대한 IGFBP affinity가 골격 성장과 발육에 IGF 활성을 결정하게 된다.

인슐린유사성장인자 3형 결합단백(IGFBP-3)은 성장호르몬에 의하여 조절되어 성장호르몬 결핍 시에는 감소하며, 성장호르몬 투여 후에는 점차 증가한다. 실제 IGFBP-3의 조절작용을 보면 Laron syndrome(성장호르몬 수용체 이상증) 환자에서 감소하고 IGF-1을 투여하면 증가하는 것으로 나타나 IGF-1에 의해 성장을 조절하는 것으로 판단된다.

### (3) Bone morphogenetic protein-2(BMP-2)

BMP-2는 multifunctional growth factor이며, transforming growth factor-beta (TGF- $\beta$ ) super family에 포함된다. 특히 골격의 형성과정에서 많은 역할을 하며, 배아발생 초기 단계부터 골격의 축 형성에 관여하고, 성인에서의 뼈의 항상성과 remodeling에 관여하는 인자이다. BMP-2는 간엽줄기세포(mesenchymal stem cell, MSC)에서 조골세포로 분화시 반드시 필요한 인자이며, BMP-2가 부족하면 기형발생을 유도할 수 있다. BMP-2는 적절한 골 형성, 연골형성에 필수적인 인자이며, BMP-2 유전자 결핍 쥐에서는 성장 저해가 일어나는 것으로 보고된다.

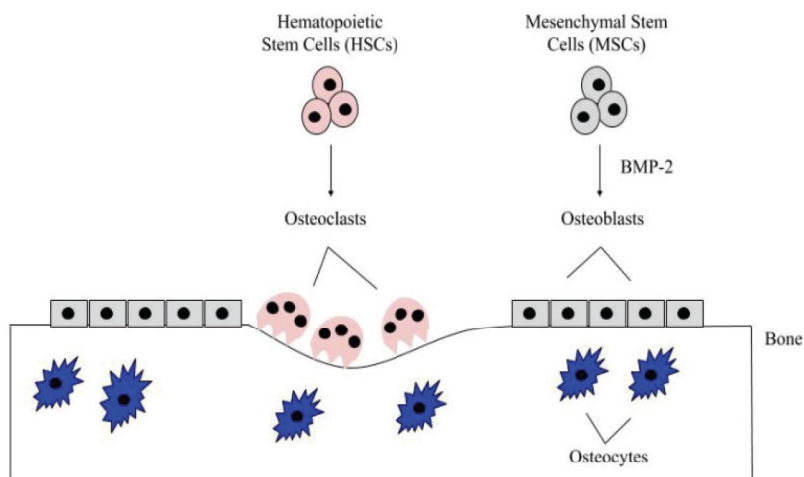


그림 7. BMP-2와 조골세포; HSC: 조혈모세포, MSC: 간엽줄기세포

[출처: Halloran *et al.*, J Dev Biol, 2020]

## 라. 성장장애의 분류

성장장애는 일차성 성장장애, 속발성 성장장애로 구분할 수 있으며, 동일 연령 및 동일 성별에 따른 표준치에서 3백분위수 미만 또는  $-2.0$  SD(표준편차) 이하인 경우 성장 장애를 의심해 볼 수 있다.

### (1) 일차성 성장장애

골격계의 내인적 결함에 의한 성장 장애를 일차성 성장 장애(primary growth disorder)라고 하며, 이 질환의 특징은 골 연령의 지연이 없다는 것과 성장 지연이 자궁 내에서 부터 존재하였으며 태생 후에도 지속적인 성장 장애가 지속된다는 것이다. 골격 형성 장애는 유전질환이며 대표적으로 연골무형성증(achondroplasia)이 있다. 상염색체 및 성염색체의 이상이 있을 때 저신장을 볼 수 있으며 특히 상염색체성 질환일 경우 지능저하도 동반된다. 염색체 이상 중 저신장이 현저히 관찰되는 대표적 질환이 터너(turner) 증후군으로 약 97% 에서 저신장이 존재한다. 이외에 다운(down) 증후군에서도 성장 지연이 관찰된다.

자궁 내 성장 지연은 태아 초기에 기관이 형성된 후 불특정 요인에 의해 선천성 기형, 비대칭성과 흔치 않은 신체적 특징을 가질 수 있으며 또한 출생 후 현저한 저신장도 동반 될 수 있다. 출생 시 신장/체중이 재태연령에 대해 10 백분위수 미만인 경우가 해당 된다. 자궁 내 성장지연을 가진 환자의 90% 정도에서는 생후 2~3세까지 따라잡기 성장 (catch-up growth)을 하지만 10% 정도의 환자에서는 저신장이 초래되면 조기 사춘기 또는 성조숙증 등이 발생되어 성장기간이 짧아져 더욱 심한 저신장증을 초래하게 된다.

### (2) 속발성 성장장애

속발성 혹은 이차성 성장장애라고도 하며, 영양결핍, 만성질환, 약물, 호르몬 결핍이나 과다 상태 등으로 인해 발생할 수 있다.

만성적인 영양결핍의 경우 신장과 체중의 증가지연이 나타나게 되며, 만성질환에 의해서는 영양불량, 단백질 소실, 만성 염증, 만성질환 치료에 따른 부작용 등에 의해 성장장애가 나타날 수 있다. 약물 중 당류코르티코이드류는 뇌하수체에서의 성장 호르몬 분비감소, 간에서의 IGF-1 생성 저하와 연골에서 단백질합성 저하 등을 일으켜 성장 장애를 초래한다.

정상적인 성장에 관여하는 호르몬으로는 성장호르몬, 갑상선호르몬, 인슐린, 성호르몬, 부신피질 호르몬 등이 있으며, 이들 호르몬들은 직접적으로 성장에 관여하는 호르몬들과 성장인자의 합성 및 분비에 영향을 주어 성장에 영향을 미치게 된다. 따라서 갑상선호르몬 부족증, 부신피질호르몬 과잉증, 성장호르몬 부족증, 성호르몬 과잉증 등에 의해 저신장이 발생하게 된다.

갑상선호르몬은 중추신경계의 성장 및 발달에 필수적이다. 갑상선호르몬은 뇌하수체의 성장호르몬의 합성에 영향을 미쳐 성장에 영향을 미치게 되고, 갑상선 호르몬이 성장호르몬 생성 유전자에 결합하여 성장호르몬 생성에 관여한다. 실제 갑상선 호르몬이 부족할 경우 성장호르몬의 합성 및 분비 장애를 관찰할 수 있으며, 성장장애, 식욕 부진, 변비, 거친 피부 및 모발상태 불량 등이 관찰되며, 골연령이 저하 되는 경우가 발견된다.

성장호르몬 결핍은 일차성 뇌하수체성 질환으로 인해 발생하는 경우로 뇌하수체 발생 중에 형성부전(hypoplasia, aplasia)이 오거나 무뇌증(anencephaly) 또는 중격-시신경 형성이상(septo-optic dysplasia), 전전뇌증(holoprosencephaly)과 같이 구조적 결손이 발생 되는 경우가 있다. 그러나 대부분의 성장호르몬 결핍은 뇌하수체에 별 이상이 없는 특발성 성장호르몬 결핍인 경우가 많다.

성호르몬은 골격계를 직접 자극하여 성장을 촉진할 수 있으며 또한 뇌하수체에서의 성장호르몬 합성을 증가시킴으로써 성장을 촉진시킬 수 있다. 사춘기에 급성장이 나타나는 이유는 성호르몬의 급격한 증가로 성장호르몬 합성 및 분비가 현저하게 증가하기 때문이다. 성호르몬이 병적으로 많을 경우 신장의 증가를 가져올 수 있으나 골격계의 성숙이 더 빨리 진행되어 조기 골단융합(early epiphyseal maturation)이 초래 되어 최종 성인의 신장은 작아지게 되는 경향이 나타날 수 있다.

표 1. 성장장애의 분류

일차성성장장애	속발성성장장애
염색체이상 터너증후군, 다운증후군 자궁내 성장지연 골격 형성 장애 연골무/저형성증 선천성 기형증후군	영양결핍 내분비질환 성장호르몬 결핍증 뇌하수체 기능저하증 갑상선 기능저하증 성조숙증 만성질환 약물 부신피질호르몬 과다투여 성호르몬 과다투여

[출처: 양세원. 대한내분비학회지, 2003 및 신충호, 한국소아과학회지, 2006]

## 2. 보건학적 중요성

국내 경제 성장과 식사 섭취량의 향상으로 삶의 질에 대한 관심이 두드러지게 증가하고 있다. 신장은 외모의 중요한 부분으로 작용하고 큰 키를 선호하는 사회적 통념이 광범위하게 받아들여지면서 작은 키로 인한 열등감은 저신장증 청소년들의 심리적 문제를 유발하기도 한다. 또한 후천적 요인에 의해 신장을 증가시킬 수 있다는 인식이 보편화되면서 아동·청소년의 키 성장을 위해 다방면으로 노력을 기울이고 있다.

성장 촉진방법으로는 성장호르몬 제제 투여, 다리연장수술이 있다. 성장호르몬 약제는 주사부위의 소양감, 발적, 동통, 지방위축과 고혈압, 당 불내성, 췌장염, 전신 알레르기 반응, 성장호르몬 항체 양성 등의 부작용이 알려져 있고, 다리연장수술의 경우 감염과 패혈증의 위험이 있다.

이에, 성장 촉진을 위해 사용되는 방법들의 부작용 및 불확실한 결과에 대한 소비자의 혼돈을 막기 위해 '어린이 키성장에 도움을 줄 수 있음' 기능성 표시에 대한 과학적 근거가 있다면 건강기능식품으로 제공하는 것은 보건학적인 의의가 있다고 보겠다.

### Ⅲ 기능성 시험 방법

#### 1. 바이오마커의 선정

##### 가. 연구유형별 바이오마커

기능성을 확인하기 위한 시험관시험, 동물시험 및 인체적용시험의 바이오마커는 아래의 표 2를 참고할 수 있다.

표 2. 기능성 바이오마커

구 분	바이오마커	측정 가능한 연구유형		
		<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>	Human
골성장 지표	신장, 성장속도(Growth velocity)			○
	연령별 신장의 표준점수 (Length/height-for-age z-score, HAZ)			○
	뼈 길이(bone length), 경골 길이(tibial length)		○	
	성장판 두께(growth plate thickness) 근위경골성장판높이(height of proximal tibial growth plate)		○	○
	골연령(Bone age radiograph of hands and wrists)			○
골밀도	골밀도(Bone mineral density, BMD) 용적당 골밀도(volumetric bone mineral density, vBMD)		○	○
	경골의 건조중량 대비 회분(ash) 중량의 비율 (Total body bone mineral content, TBMC)		○	
	해면골 미세구조(trabecular bone microarchitecture)		○	
	피질골 미세구조(cortical bone microarchitecture)		○	
성장 인자	간 조직 내 IGF-1 및 IGFBP-3 발현	○	○	
	성장판 내 IGF-1 및 BMP-2		○	
	혈중 성장호르몬(GH), IGF-1 및 IGFBP-3 농도		○	○

## 나. 바이오마커 설명

### (1) 골성장지표

골성장은 골격 길이의 증가를 의미하며, 뼈의 종적 증가는 연골 내골화에 의해 일어나며 뼈의 성장은 연골조직이 골 조직으로 전환되어 일어난다. 뼈 길이, 뼈 길이 성장률을 볼 수 있으며, 경골 길이 및 성장판 두께 등을 통해 종합적으로 판단할 수 있다.

#### (가) 신장, 성장속도(Growth velocity)

신장 및 성장속도는 성장을 판정하는 가장 정확한 방법으로 알려져 있다. 일정기간(최소 6개월~1년) 동안 주기적으로 신장을 측정하여 성장속도를 측정할 수 있다.

#### (나) 연령별 신장의 표준점수(Length/height-for-age z-score, HAZ)

성장도표는 우리나라 소아청소년의 신장, 체중 등 신체계측치의 분포를 보여주는 백분위 곡선으로 저신장, 저체중, 비만 등 소아청소년의 성장상태를 평가하는 지표로 활용되고 있다. 보건복지부와 대한소아과학회는 공동으로 1967년부터 약 10년마다 성장도표를 제정·발표하고 있으며, 2017년 12월 「2017 소아청소년 성장도표」를 제정·발표하였다. 2017 소아청소년 성장도표의 경우 3세 미만(0~35개월)은 최적의 성장환경에서 성장한 건강한 모유수유아만을 포함하여 산출하여 현재 개발된 성장도표 중 가장 표준에 가깝다고 평가받고 있는 WHO Growth Standards를 적용하였고, 이후 연령은 「2007 소아청소년 표준 성장도표」의 제한점을 보완하여 재산출하여 제공되고 있다. 따라서 HAZ의 경우 소아청소년의 성장상태 지표로 반드시 고려되어야 한다.

#### (다) 뼈 길이(bone length), 경골 길이(tibial length)

뼈 길이는 장골길이라고도 하며 골 생성이 가장 활발한 성장기에 골성장판 하부의 골신생부에 가장 많이 침착하여 선을 형성하는데 이를 이용하여 일정기간을 두고 각선 사이의 길이 변화를 측정한다. 세로골 성장은 연골 세포 증식 및 성장판에서의 비대 분화에 이어 연골 중간체가 새로운 뼈로 전환된 결과이다. 이 과정을 연골내 골화라고 하며, 장골 길이 성장은 신체의 신장과 골격을 결정짓는다. 뼈 길이와 경골 길이 변화를 성장지표로 측정할 수 있으며, 특히 장골의 근위부 성장판 성장이 뼈 및 경골 길이 성장과정에서 중요한 척도가 된다.

(라) 성장판두께(growth plate thickness), 근위경골성장판높이(height of proximal tibial growth plate)

골연골판이 존재할 시 골간과 골단의 성장이 지속되며, 골간의 성장이 더 크다. 성장판은 연골세포(chondrocyte)를 증식시키는 증식층(proliferation zone)과 연골세포의 성숙과 비대 작용을 하는 성숙층(maturation zone)과 비대층(hypertrophic zone)으로 나뉘지고, 이들의 상호작용으로 장골의 길이 성장이 이루어진다. 성장판 두께는 성장의 예측이 가능하므로 어린이 키성장의 주요지표가 될 수 있으며, 주로 인체에 있어서는 근위경골성장판높이를 측정하게 된다.

(마) 골연령(Bone age radiograph of hands and wrists)

골연령은 역연령<sup>2)</sup>과 다르며, 골격의 골화와 변형의 진행 상태에 따른 신체발육의 연령을 나타낸다. 일반적으로 골연령의 성숙도는 초경 등 생식계의 발달이나 성장 호르몬 영향과 일치하므로 향후 발육상태를 예견하는 지표로 사용될 수 있다. 골연령은 좌측 손이나 손목관절을 이용하며, 수근골, 중수골, 지골 등의 X선 사진으로 판정 한다.

(2) 골밀도

(가) 골밀도(Bone mineral density, BMD), 용적당 골밀도(volumetric bone mineral density, vBMD)

골밀도는 뼈에 있는 칼슘 등 무기질의 양을 나타내는 것으로 일반적으로 칼슘 등의 무기질량이 많을 경우 골밀도가 높고, 성장에 미치는 영향이 크다고 할 수 있다. 다만, 인체에 있어서는 10세 미만에 대한 표준치가 없으므로 인체적용시험에서는 지표로 사용하기가 어렵다. 동물실험을 통한 골밀도 변화는 지표로 사용할 수 있다.

(나) 경골의 건조중량 대비 회분(ash) 중량의 비율(Total body bone mineral content, TBMC)

경골에서의 회분 중량 비율로 체내 무기질 침착정도를 파악할 수 있다. 실제 경골을 적출하여 뼈 기질의 손실 정도를 살펴볼 수 있으며, 동물실험에서 뼈 기질 손실을 유도한 음성대조군 대비 실험군에서의 회복력을 살펴보는 지표이다.

2) 역연령(chronological age): 출생을 기점으로 한 나이

(다) 해면골미세구조(trabecular bone microarchitecture)

해면골의 미세구조를 살펴보기 위한 구조적 파라미터로는 뼈 체적비(bone volume fraction, BV/TV, %), 뼈 잔 기둥의 두께(trabecular thickness, Tb.Th, mm), 뼈 잔 기둥간 거리(trabecular separation, Tb.Sp, mm<sup>-1</sup>), 뼈 잔 기둥의 개수(trabecular number, Tb.N, mm), 해면골 패턴 요소(trabecular bone pattern factor, Tb.Pf, mm<sup>-1</sup>)를 활용할 수 있다(그림 8). BV/TV는 관심 부피 안에서 해면 뼈의 부피 비를 의미하고, Tb.Th는 뼈 잔 기둥의 평균 두께를 의미한다. Tb.Sp는 뼈 잔 기둥간의 평균 거리를 의미하고, Tb.N은 단위길이 당 뼈 잔 기둥의 개수를 의미한다. Tb.Pf는 해면 뼈의 연결성을 나타내는 값으로 낮은 값일수록 연결성이 높음을 의미한다. 이에 해면골의 구조적 요소값을 이용하여 해면골의 강도를 예측해볼 수 있으며, 해면골의 미세구조가 밀접할수록 골밀도가 높아짐을 의미한다.

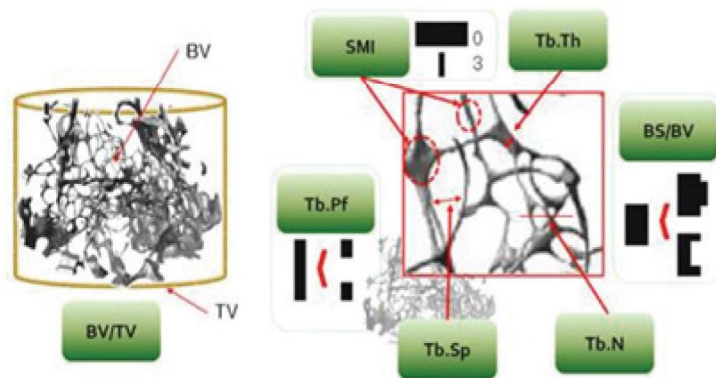


그림 8. 해면골의 구조적 파라미터

[출처: 서동현, 연세대학교, 2010]

(라) 피질골미세구조(cortical bone microarchitecture)

피질골의 미세구조를 살펴보기 위한 구조적 파라미터는 뼈 부피(bone volume, BV, mm<sup>3</sup>), 극 관성 모멘트(mean polar moment of inertia, MMI, mm<sup>4</sup>), 뼈 단면 두께(cross section thickness, Cs.Th, mm)를 활용할 수 있다(그림 9). BV는 피질골의 부피를 의미하고, MMI는 피질골이 비틀림에 저항하는 능력을 말하고, Cs.Th는 피질골 단면의 두께를 의미한다. 피질골의 경우 근육이 직접적으로 결합하는 부위이며, 해면골에 비해 두께는 얇지만 단단하고 치밀해 뼈의 강도를 유지하는 데에 중요한 역할을 하며, 피질골의 미세구조가 촘촘해지는 것은 골밀도가 높아짐을 의미한다.

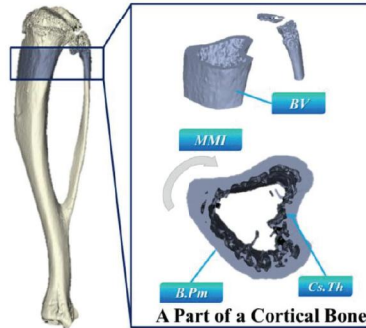


그림 9. 치밀골의 구조적 파라미터

[출처: 엄시내, 연세대학교, 2014]

### (3) 성장인자

#### (가) 간 조직 내 IGF-1 및 IGFBP-3 발현

성장호르몬은 결합단백질과 결합하여 간으로 이동하며, 간세포에서 IGF-1의 유전자 발현을 촉진하기 때문에 혈중 IGF-1의 경우 간접적으로 성장호르몬 분비를 평가할 수 있다. IGF-1은 인슐린의 표적조직에서 당질, 지질, 단백질의 합성을 자극하여 인슐린과 유사한 작용을 하며, 세포의 증식과 분화에 관여함으로써 성장에 영향을 미치게 된다. 결합단백질은 6가지 종류가 있으며, 이중 IGFBP-3와 80% 정도 결합하는 것으로 알려져 있다.

#### (나) 성장판 내 IGF-1 및 BMP-2

골생성이 활발한 성장판내에서의 IGF-1, BMP-2의 발현을 살펴보고 성장 인자의 활성을 판단해볼 수 있다. 성장판 내의 휴지부, 증식부 및 비대부의 연골세포를 관찰할 수 있고, 성장기간 동안 발현이 증가하므로 직접적인 활성을 면역조직화학염색법을 통해 확인할 수 있다.

#### (다) 혈중 성장호르몬(GH), IGF-1 및 IGFBP-3 농도

IGF는 세포실험에서 osteoblastic phenotype의 발현을 조절하고, 조골세포의 증식을 자극하며, 동물실험에서 IGF의 투여는 골격형성과 해면골질량에 증가를 초래하므로 골격 성장과 발육의 생리과정에서 영향을 미치게 된다. IGF-1은 체내에서 일정한 농도를 유지하므로 측정이 비교적 용이하며 내인성 성장호르몬 분비 평가에 유용한 진단적 지표이다. 다만, 작용이 국부적일수 있기 때문에 혈중 IGF-1 수준을 단독으로 평가하기 보다는 혈중 IGFBP-3, 성장호르몬과 함께 골격 성장을 판단하는 것이 바람직하다.

## 2. 주요 바이오마커의 측정방법

### (1) 골성장지표

#### (가) 신장, 성장 속도(Growth velocity)

신장, 성장속도의 측정은 성별, 연령에 따른 표준성장도표(그림 4)를 참고할 수 있으며, 인체적용시험에서 성장속도는 3개월, 6개월, 1년 혹은 그 이상의 측정치를 참고하여 성장속도를 측정하게 된다. 키 측정을 위해서는 harpenden stadiometer 등을 추천하며, 3개월마다 보정된 기기로 0.01 cm까지 기록하기를 권고한다.

#### (나) 연령별 신장의 표준 점수(Length/height-for-age z-score, HAZ)

신장을 일반적인 방법으로 측정하고, 표 3을 이용하여 0~2세, 2~18세의 신장수준을 판단할 수 있으며, 두 나이군 모두 3백분위수 미만을 저신장으로 판단한다.

표 3. 2017 소아청소년 성장도표 선별 기준

	0~2세		2~18세	
	성장도표	선별기준	성장도표	선별기준
저신장	연령별 신장	3백분위수 미만	연령별 신장	3백분위수 미만
소두증	연령별 머리둘레	3백분위수 미만		
저체중	연령별 체중	5백분위수 미만	연령별 체중	5백분위수 미만
과체중	신장별 체중	95백분위수 이상	연령별 체질량지수	85백분위수 이상이면서 95백분위수 미만
비만			연령별 체질량지수	3백분위수 이상

#### (다) 뼈 길이(bone length), 경골 길이 (tibial length)

동물실험에서는 형광현미경으로 관찰하여 뼈의 길이 변화를 측정할 수 있다. 형광인자 투여 1일 후에 흰쥐를 마취시켜 개흉한 다음, 우심실을 절개하고 needle을 좌심실에 주입한 후 헤파린 처리된 5% sodium nitrite 생리식염수를 심장에 관류시키고, 이어서 0.1 M phosphate buffer에 녹인 pH 7.4의 4% formalin 고정액으로 관류시킨다. 그 후 흰쥐의 좌우 족경골(tibia)을 떼어내어 2시간 동안 0.1 M phosphate buffered formalin 고정액에 후 고정 시키고, 50 mM EDTA에 2~3일 동안 방치하여 탈회 후, 동결에 대한 보호를

위해 30% sucrose에 담가 4°C에서 overnight하여 유지한다. 고정된 골 조직을 동결한 후 sliding microtome을 사용하여 족경골(tibia) 근위(proximal part)부의 시상절편(sagittal section)을 매 40  $\mu\text{m}$ 씩 수집한다.

매 40  $\mu\text{m}$ 로 수집된 족경골 근위부 시상절편을 슬라이드 글라스 위에 올리고 건조한 후 형광현미경을 이용하여 골 조직 내 형광인자의 침착으로 형성된 선과 성장판사이의 길이를 측정하여 골 성장 지표로 사용한다.

경골 길이 측정 시 생체내 X-ray 미세단층(micro CT) 촬영 장치를 이용하여 경골전체에 대한 *in vivo* 스캐닝을 수행할 수도 있다(그림 10). 영상으로부터 경골의 근위부 말단(tibia proximal end)에서 종아리뼈 원위부 말단(fibula distal end)까지의 길이를 3D 이미지로 정량적 분석이 가능하다.



그림 10. 생체내 미세단층촬영장치

[출처:<https://www.advancedsciencenews.com/skyscan-micro-ct-product-line-for-3d-x-ray-imaging/>]

(라) 성장판두께(growth plate thickness), 근위경골성장판높이(height of proximal tibial growth plate)

일반적으로는 조직표본제작 및 증식영역의 길이를 측정할 수 있다. 실험동물에게 중재 종료 후, 동물 마취 후 개흉한 다음 헤파린 처리된 PBS를 좌심실에 주입한다. 이어 0.1 M phosphate buffer에 녹인 pH 7.4의 4% 포르말린 고정액으로 관류시킨 후, 흰쥐의 좌우 족경골을 떼어 내어 0.1 M phosphate buffered formalin 고정액에 고정시킨 다음 골조직을 파라핀 절편으로 제작한다. Hematoxyline & Eosin(H&E) 염색 후 광학현미경으로 관찰하고 형상 분석프로그램을 이용하여 성장판 내 증식영역의 길이를

측정한다. 또는 골 성장 길이를 측정 시료를 사용하여, crystal violet 염색한 다음 성장판 내의 휴지부, 증식부 및 비대부의 연골세포를 관찰하고, 전체 높이를 측정할 수도 있다.

생체내 미세단층촬영장치 경골 영상에서 뼈 조직과 성장판(growth-plate)을 분리하여 3차원으로 재구성 한 후 성장판의 부피(total volume of growth-plate, GV, mm<sup>3</sup>)를 측정하기도 한다. 성장판에서 가장 용기가 크게 일어난 부위의 단면에서 두 개의 최대 용기 부분의 두께를 각각 측정한다(thickness I, II of growth-plate, Gp.Th I, II)(그림 11).

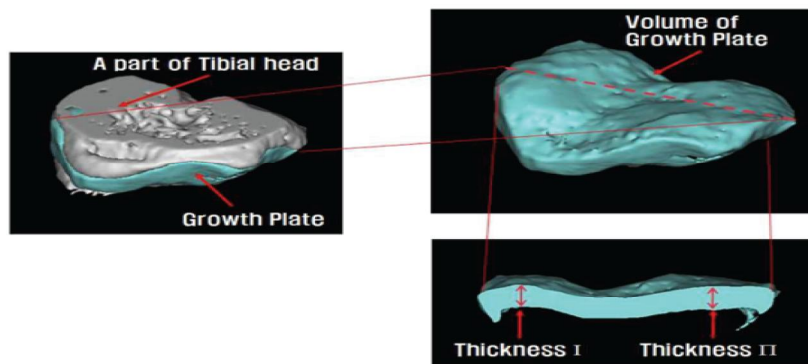


그림 11. 경골 성장판의 부피와 두께 측정

[출처: 서동현, 연세대학교, 2010]

#### (마) 골연령(Bone age radiograph of hands and wrists)

골연령의 측정방법은 신체부위에 따라 다양하며 대표적으로 많이 이용되고 있는 방법은 그로일리히-파일(Greulich-Pyle)법과 태너-화이트하우스(Tanner-Whitehouse)가 있다. 그로일리히-파일(Greulich-Pyle)법은 왼쪽 손목사진을 연령별로 표본사진이 나열되어 있는 표준 방사선 사진과 비교하여 골연령을 측정하는 것이다. 태너-화이트하우스(Tanner-Whitehouse) 방법은 손목과 손의 각 부위별 뼈 성숙도에 따라 등급을 매기고 이에 따른 점수를 합산하여 골연령을 측정하는 것이다. 왼손과 손목의 7개 수근골, 11개의 수지골, 요골과 척골의 원위부의 총 20개의 골을 각모양과 밀도를 분석하여 A부터 H 또는 I까지, 8단계 또는 9단계로 나누어 분석한다.

## (2) 골밀도

### (가) 골밀도(Bone mineral density, BMD), 용적당 골밀도(volumetric bone mineral density, vBMD)

일반적으로 Dual-energy-X ray absorptiometry(DXA)를 이용하여 측정한다. DXA는 골밀도 측정의 표준검사로 이용되는 방법으로 모든 골의 골밀도 측정이 가능하지만, 골절빈도가 높고 골다공성 골절예측률이 높은 L1-4부위의 골밀도 평균치와 대퇴골 경부 및 전체의 골밀도를 측정하여 가장 낮게 측정된 수치를 기준으로 진단한다.

### (나) 경골의 건조중량 대비 회분(ash) 중량의 비율(Total body bone mineral content, TBMC)

경골의 결합조직을 깨끗하게 정리하고 각각의 중량을 측정하고, 회분 함량을 위해서는 900℃ 회화로에서 24시간 동안 완전히 회화시킨 후 충분히 식혀 회분의 무게를 측정한다.

### (다) 해면골 미세구조(trabecular bone microarchitecture)

마이크로 CT를 이용하여 획득한 뼈(대퇴골, 경골 등)의 영상으로부터 해면골의 구조적 파라미터(structural parameter)를 구한다. 마이크로 CT의 3D 분석 프로그램을 이용하여 영상으로부터 해면골의 미세구조를 유추해볼 수 있다(그림 12). 해면골의 구조적 파라미터로 BV/TV, Tb.Th, Tb.Sp, Tb.N, Tb.Pf 등을 활용하여, 구조적 모델지수(structure model index, SMI)를 구하여 뼈의 미세구조를 판단하여 할 수 있다. SMI는 뼈 잔 기둥의 형태학적 특성을 나타내는 값으로 0이면 이상적인 판 형태의 구조를, 3이면 막대 형태의 구조, 4이면 구 형태의 구조를 의미한다. SMI가 판구조(plate-like structure)를 가질 때 골강도가 높은 것으로 분석할 수 있다.

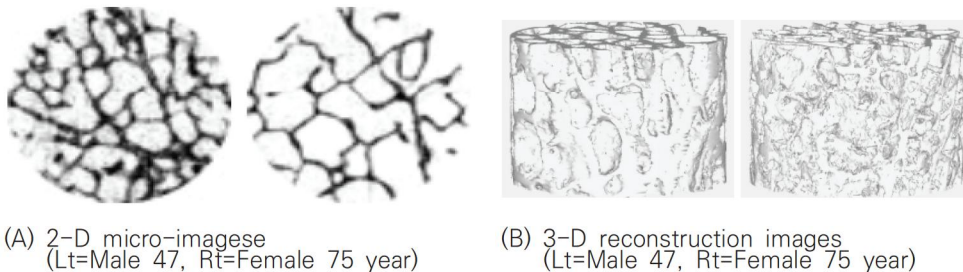


그림 12. 미세단층 촬영 및 구조분석사례

[출처: 백명현, 대한골다공증학회지, 2009]

### (라) 피질골 미세구조(trabecular bone microarchitecture)

마이크로 CT를 이용하여 획득한 뼈(대퇴골, 경골 등)의 영상으로부터 피질골의 구조적 파라미터를 구할 수 있다. BV, MMI, Cs.Th의 파라미터가 있으며, MMI는 피질골이 힘에 저항할 수 있는 능력을 나타내며, Cs.Th는 피질골 단면의 평균 두께를 나타낸다. 이들 수치가 증가되는 것은 미세구조의 치밀함을 의미하여 골강도가 강해졌다는 것을 의미한다.

## (3) 성장인자

### (가) 간 조직 내 IGF-1 및 IGFBP-3 발현

간 조직 내 IGF-1 및 IGFBP-3는 시험물질을 섭취시킨 실험동물의 간 조직에서 면역조직화학법으로 측정하거나, 간 조직내 IGF-1 및 IGFBP-3 mRNA 발현을 통해 측정할 수 있다. 또한 세포(GH3 또는 HepG2 세포)를 이용하여 mRNA 발현이나 세포의 상층액을 이용하여 IGF-1의 분비 정도를 살펴볼 수 있다.

### (나) 성장 판 내 IGF-1 및 BMP-2

면역조직화학염색을 통해 IGF-1과 BMP-2의 성장판 내 발현을 관찰할 수 있다. 면역조직화학염색을 위해 조직절편을 40  $\mu\text{m}$  정도로 준비한다. 조직 절편들을 Triton-X100 용액 등을 이용하여 씻어낸 다음, 1차 항체와 함께 상온에서 하룻밤 동안 반응시킨다. 1차 항체로는 각각 IGF-1 antibody와 BMP-2 antibody를 사용하고, 세척 후 IGF-1의 2차 항체로는 anti-rabbit antibody를 사용하고, BMP-2의 2차 항체로 anti-goat antibody를 사용할 수 있다. 각 조직절편들을 최종적으로 0.05%의 3,3-diaminobenzidine과 0.03% 과산화수소가 있는 0.1 M phosphate buffer에 반응시킨다. 발색 후 새로운 0.1 M phosphate buffer에 각 조직절편을 넣어 반응을 중지한 뒤 관찰한다.

### (다) 혈중 성장호르몬(GH), IGF-1 및 IGFBP-3 농도

Immunoradiometric assay 방법 혹은 ligand blotting 방법을 사용할 수 있다.

### 3. 시험 설계 시 고려사항

#### 가. 시험관 시험

##### (1) 시험계

세포실험의 경우 골아세포(osteoblast) 및 연골세포의 증식능력을 측정하는데, 주로 사용하는 세포는 MG63(human osteosarcoma cells)와 MC3T3E1(murine osteoblast like cells) mouse chondrogenic cell line ATDC5, Rat chondrosarcoma RCS cells 등을 사용할 수 있다(표 4). 골아세포는 골수의 간엽줄기세포(mesenchymal stem cell)로부터 기원한 것으로, 지방세포, 근원세포, 연골세포 및 섬유아세포로 분화되기도 한다. 조골세포는 뼈의 세포외 기질(type 1 collagen)을 합성하고 칼슘 침착 및 미네랄화를 조절하며 기계적 자극에 반응함으로써 뼈의 형성 및 재형성 과정에서 중요한 역할을 한다.

표 4. 세포의 특성

구분	내용
MG63 세포	Human osteosarcoma 에서 분리된 조골세포로, 골기질의 석회화에 관여함
MC3T3-E1 세포	C57BL/6의 두개골에서 분리된 조골세포로, 섬유아세포 형태를 보이다가 장기간 배양시 높은 ALP활성을 보임. 조골세포와 골세포로 분화 가능하며 골기질의 석회화를 일으키는 세포로 알려져 있음.
ATDC5세포	마우스의 연골 세포주로 기형암종 AT805에서 유래되었으며, 뼈의 석회화 단계에 관여함. BMP-2(Bone morphogenetic protein-2)에 의해 자극되고, 부갑상선 호르몬(PTH)/PTH-관련 펩티드(PTHrP) 수용체의 활성화는 뼈 분화 능력을 억제시킴.
RCS 세포	랫트의 연골육종세포주에서 유래된 연골세포주이며, 세포에 섬유아 세포 성장 인자 2(fibroblast growth factor 2(FGF2))를 첨가하면 섬유아 세포 성장 인자 수용체 3(fibroblast growth factor receptor, FGFR3) 시그널이 활성화되어, 골형성을 증가시킴

##### (2) 바이오마커

시험물질의 작용 기전을 설명하기 위한 세포 증식능을 측정할 수 있다. 골아세포 및 연골세포의 증식능이 증가하게 되면, 뼈의 성장이 가능해진다고 판단할 수 있다.

##### (3) 통계처리

시험결과는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여  $p < 0.05$  수준에서 유의성을 판정한다.

## 나. 동물시험

### (1) 시험계

동물의 경우 yak, rat, swine, piglet, sheep, turkey, bird, chicken 등이 다양하게 활용될 수 있다. 설치류의 경우 Sprague-Dawley 혹은 Wistar 종이 사용되며, 3~4 주령부터 실험에 사용될 수 있으며, 3~4 주령의 체중은 45~80 g 정도이다. 실험물질 투여는 2~5주간으로 진행한다.

뼈의 발달 상태를 파악하기 위해 설치류 하악골 천공모델을 사용하여 골형성 지수와 신생골 면적 등을 파악할 수 있다. 또한 성장장애를 유도하기 위해 불규칙 수면 유발 동물모델 사용하기도 한다. 불규칙 수면 유발 동물모델은 6주 동안 LD phase(L : Light(07:00~19:00), D : Dark(19:00~07:00))의 적용으로 정상 수면 생활을 유지하며 사육하는 군과 6주 동안 0~2주간 LD phase, 2~4주간 DL phase (D(19:00~07:00), L(07:00~19:00)), 4~6주간 LD phase의 적용으로 6주간 2주 간격으로 총 두 번의 수면주기의 반전을 일으킴으로써 불규칙한 수면 생활을 유지하며 사육한 군을 서로 비교하여 진행할 수 있다.

표 4. 동물모델

구분	내용
설치류 하악골 천공모델	설치류 중 백서(500-540 g 이상)의 한쪽 하악골 협측에 수술을 통해 결손부를 형성. 결손부의 골회복상태를 파악할 수 있음.
불규칙 수면 유발 동물모델	불규칙 수면을 유도하여, 성장에 미치는 영향을 탐색함.

### (2) 바이오마커

시험물질의 작용기전을 설명하기 위해 IGF-1, IGFBP-3, BMP-2 등에 관한 단백질 발현, mRNA 발현 등을 측정한다. 동물실험의 경우 대퇴부 길이, 무게, 부피, 밀도, 면적, 무기질함량, 무기질 밀도 등을 함께 측정하여 한 가지 지표의 변화가 아닌 일련의 바이오마커의 변화를 종합적으로 평가한다.

### (3) 통계처리

시험결과는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여  $p < 0.05$  수준에서 유의성을 판정한다.

## 다. 인체적용시험

### (1) 시험대상

「2017년 소아청소년 성장도표」에 따르면 한국인 연령별 신장 백분위수 성장 곡선에서 동일 성별·연령대에서 신장이 3백분위수 미만인 경우를 저신장 어린이로 보고 있다.

#### (가) 시험대상자(예시)

- 한국인 연령별 신장 백분위수 성장곡선 중 동일 성별·연령대에서 신장이 3백분위수 이상에 해당되는 어린이
- 2차 성징 단계에 해당되지 않는 자
  - \* 소아 및 소아의 부모가 서면 동의한 경우
  - \*\* 상기 조건이 모두 만족되어야 함

#### (나) 대상자 배제기준(예시)

- 성장 및 영양상태
  - 한국인 연령별 신장 백분위수 성장곡선 중 동일 성별·연령대에서 신장이 3백분위수 미만 또는  $-2SD$  이하에 해당하는 자
  - 최근 1년 이내 급격한 체중변화를 나타낸 자
  - 심각한 빈혈이 있는 경우
    - \* 6개월~6세 Hb<11 g/dL 미만, 6~14세 Hb<12 g/dL 미만
  - WHO Growth Standards에 따라 연령별 체중이 5백분위수 미만에 해당되는 경우
- 질병상태
  - 내분비 질환이 있는 자(성장호르몬 결핍증(<10 ng/mL), 갑상선기능저하증, 구루병, 뇌하수체 종양 등)
  - 염색체 이상(생식선 이형성 등), 유전자 이상, 기타증후군에 해당되는 질환자
  - 감염, 종양 등으로 치료 중인 자
  - 제1형 당뇨병에 해당되는 자
  - 신장질환, 간질환, 호흡기 질환 등 만성질환으로 치료 중인 자

- 임상시험 담당자가 임상평가에 지장을 초래할 수 있다고 판단되는 여타의 질환을 가지고 있는 자
- 약물복용
  - 3개월 이내 키 성장 관련 의약품 및 식품 섭취자
  - 성장호르몬 요법 중인 자
  - ADHD 약물 복용자(methylphenidate 등의 약물계는 약물부작용으로 성장지연 가능성 있음)
- 알레르기
  - 시험물질에 대한 알레르기/부작용이 있는 자
- 기타
  - 최근 3개월 내 다른 임상시험 참가자
  - 그 외 연구자에 의해 시험에 부적합하다고 판단되는 자

## (2) 시험설계

무작위배정, 위약대조연구(Randomized, Controlled Trial: RCT)를 기본으로 하며, 성별, 연령, 체중 등의 인구학적 정보 등의 균간 차이를 최소화하여야 한다. 시험자와 피험자가 섭취하는 대조·시험식품이 어떤 것인지 알 수 없도록 이중맹검법(double blind randomization)을 실시 하도록 한다. 기능성의 특성상 성별, 연령 등의 분포에 따른 영향을 받을 수 있으므로 필요시 층화무작위 배정을 추가로 수행할 수도 있다. 투여 기간은 최소 6개월이 바람직하며, 6~12개월 정도의 중재기간이 주로 연구되고 있다. 측정은 투여 전(0주), 투여 후 3개월, 6개월의 주기로 측정하여 성장추이를 관찰하고, 차후 1년까지도 지속적인 관찰을 하는 것을 권고 한다.

- 대상자
  - 성별 : 남녀 인원수를 균등한 비율로 모집하며 균간 통계적 유의성이 없어야 함
  - 연령 : 6~12세를 기본으로 모집하며 균간 통계적 유의성이 없어야 함
  - 사춘기 유무 : 2차 성징(사춘기) 해당 대상자는 반드시 제외
    - \* 테스토스테론, 에스트라디올, 여포자극호르몬(FSH), 황체형성호르몬(LH) 농도 측정, 월경여부, 성성속도(유방, 고환크기) 등을 측정. 시험기간 중 2차 성징 발생 대상자도 제외

- 대상자수 : 남녀 및 연령 등을 고려한 평가지표의 유의성에 대한 추가 확인이 필요할 수 있어 층화무작위배정을 고려한 적절한 대상자수가 모집되어야 함

○ 중재 사항

- ※ 시험결과에 영향을 미칠 수 있는 혼돈요인 관련

- 영양상태, 식이섭취량, 운동량, 야외활동시간, 수면시간, 병력, 약물복용여부 : 시험전후, 시험전 구간 유의적 차이 여부 확인

○ 기타

- 골연령 : 손목의 X-ray 검사를 실시, 전문가 2인 이상의 판독을 권고함
  - \* 시험전 구간 유의적 차ий여부 확인
- 출생 신장·체중, 부모 신장 등 : 기초자료 확보 필요

### (3) 바이오마커

인체적용시험에서 기능성을 확인할 수 있는 직접적인 지표는 신장, 성장속도이며, 혈중 성장호르몬(GH), IGF-1, IGFBP-3 등을 측정하여 종합적으로 기능성을 평가할 수 있다. 또한 일반적인 영양상태에 의존해서 성장이 나타날 수 있기 때문에 기초식이에 대한 조사가 필요하다(중재기간 동안의 차이가 없어야 함).

### (4) 통계처리

시험결과는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여  $p < 0.05$  수준에서 유의성을 판정한다.

#### 4. 안전성 평가

성장 관련 호르몬 치료 시에는 간과 신장 기능에 영향을 미칠 수 있으며, 부작용사례로서 혈당증가에 대한 보고가 꾸준히 나오고 있다. 어린이 키성장 관련 인체적용시험에서는 농축된 천연물 형태로 성장을 유도하는 것이므로, AST, ALT, creatinine 및 혈당, 뇨검사 등을 안전성 지표로 활용하는 것이 바람직하다. 또한 체내 호르몬 영향을 확인 할 수 있는 스테로이드 합성 분석법(OECD test guideline 456: H295R streoidogenesis assay, 성선비대반응시험법(OECD test guideline 441 : Hershberger Bioassay in rats) 등을 통해 용량 반응 관계 및 성조숙증 관련 호르몬에 대한 영향 등이 확인되어야 한다. H295R 세포를 이용한 스테로이드 합성 분석법은 성호르몬인 스테로이드 호르몬(테스토스테론, 에스트로겐, LH, FSH 등)의 합성을 교란하는 물질을 검색하는 시험법이다. H295R 세포는 대부분의 스테로이드 합성 관련 효소 유전자를 발현시키기 때문에 시험물질에 의해 스테로이드 합성 과정에서 교란 장애가 발생하는지를 판단할 수 있다. 시험방법은 H295R 세포 배양 후 기본적인 호르몬 농도를 측정하고, 대표적인 호르몬 합성 유도제인 Forskolin과 호르몬 저해제인 Prochloraz를 처리하면 테스토스테론과 에스트라디올의 합성변화를 관찰할 수 있다. 성선비대반응시험법은 수컷 설치류에서 내분비계 장애물질의 단기간 안드로젠 특성을 살펴볼 수 있는 in vivo 시험법이다. 안드로젠은 남성 호르몬이며, 안드로젠성 식품물질은 안드로젠 수용체에 결합하여 전사활성을 유도할 수 있으므로, 체내 남성호르몬 분비에 직접적으로 영향을 미치는지에 대한 안전성지표로 활용할 수 있다. 시험방법은 비거세 미성숙동물이나 고환 절제 동물을 이용할 수 있으며, 동물모델을 이용하여 시험물질을 10일간 투여하여 표적장기(전립선 등)의 무게변화를 관찰하는 시험이다.

## 5. 통계처리

인구학적 자료 및 기초특성의 측정지표에 대한 통계분석방법을 기술하고 분석군(ITT, FAS, PP)에 대해 명확하게 정의하여 주분석군 설정에 대한 설명이 계획서와 결과보고서에 기술되도록 한다. 또한, 기능성 평가지표에 대한 통계분석방법 및 중도탈락자 및 결측 처리에 대한 통계분석방법을 명확히 한다. 연구 개시 후 측정 시기 및 방법의 변화가 있는 경우, 그 변경 사유를 기술하여야 하며, 층화 분석, 보정분석 등이 제출된 경우, 사전 계획 여부가 기술되도록 한다. 이때, 각 군별 기능성 평가지표에 대한 분석결과에 사용된 통계분석방법, 군간 통계적 유의성, 시험대상자 수, 평균, 표준편차 등이 확인될 수 있도록 하여야 하며 통계분석방법의 변경이 있는 경우, 변경사항에 대해 기술 하도록 한다.

### 1. 종속변수가 범주형일 경우

- 범주형 변수는 크게 명목 척도와 순위 척도로 구분할 수 있음
  - 명목 척도 : 성별, 국가, 흡연 여부 등 연속되지 않으며 범주 간 서열이 존재하지 않는 범주형 척도
  - 순위 척도 : 질병의 병기(1기, 2기, 3기) 등 연속되지 않으나 범주 간 서열이 존재하는 범주형 척도
  - 연속형 변수는 수치화된 변수로 연속성이 있으며, 평균, 표준편차 등을 계산할 수 있는 변수임

#### 1.1. Chi-square test

- 두 군간의 차이를 비교할 때 사용됨
  - \* 빈도가 5 미만인 항목이 있는 경우 Fisher's exact test를 사용

#### 1.2. McNemar's test

- 군 내의 전후 차이를 비교할 때 사용됨

### 2. 종속변수가 연속형이고 비교군이 2개일 경우

※ 연구 내 비교군이 2개(대조군, 시험군)일 경우 사용되는 분석 모델임

#### 2.1. Paired T-test : 군 내의 전후 차이를 비교할 때 사용됨

##### 2.1.1. Wilcoxon's signed-ranks T-test

- 군 내의 전후 차이 비교 시, 변수의 분포가 정규분포를 따르지 않는 경우 사용됨

#### 2.2. Independent T-test : 두 군간의 차이를 비교할 때 사용됨

##### 2.2.1. Wilcoxon's signed-ranks T-test

- 두 군간의 차이 비교 시, 변수의 분포가 정규분포\*를 따르지 않는 경우 사용됨

#### 2.3. Linear mixed effect model

- 유효성 평가 지표 측정 시점이 3회 이상일 경우 사용할 수 있음\*

\* 방문 시점 간의 공분산 구조(covariance structure)를 결정하여 분석에 적용할 수 있는 모델이며, 효과의 크기(slope), linear function의 절편(intercept) 등의 방문시점, 대상자 등에 따른 고정효과(fixed effect) 또는 무작위효과(random effect)의 여부를 결정하여 model안에 혼합(mixed effect)하여 적용할 수 있음

### 3. 종속변수가 연속형일 경우 AND 비교군이 3개 이상일 경우

※ 연구 내 비교군이 3개(대조군, 시험군1, 시험군2 등)일 경우 사용되는 분석 모델임

3.1. ANOVA(Analysis of variance) : 군 간의 차이를 비교할 때 사용

3.2. Kruskal Wallis test : 군 간의 차이 비교 시, 변수의 분포가 정규분포를 따르지 않는 경우 사용

※ 변수 분포의 정규성 검정

- 정규성 검정 방법은 Kolmogorov-Smirnov test, Shapiro-Wilk test 등의 방법으로 검정할 수 있음. 일반적으로 p value가 0.05 미만일 경우, 정규분포를 따르는 것으로 판단함. 그러나 현실에서 해당 기준에서 정규분포를 따르는 경우가 많지 않으므로, p value가 0.05 이상이라도 marginal한 p value를 확인하거나 Q-Q plot을 육안으로 확인하는 등 연구자가 자의적으로 정규분포를 따르는 것으로 판단할 수 있음
- 군 당 sample size가 30 이상인 경우, 중심극한정리를 이용하여 정규성을 가정하는 경우가 있음. 그러나 중심극한정리는 표본집단이 대표하는 모집단이 무한모집단이라는 가정 하에 사용됨. 즉, 모집단에 대한 가정이 불확실한 경우 또는 유한모집단인 경우가 있으므로 군 당 sample size가 30 이상이라고 해도 정규성 검정이 필요할 수 있음. 또한 30명이라는 기준은 연구자가 임의적으로 설정한 것임을 고려하여 절대적인 기준이 되지 않을 수 있음

### 4. 교란변수 보정이 필요한 경우

○ Randomized Clinical Trial(중재연구)은 randomization을 통해 대상자가 군에 배정되므로, 교란변수를 통제할 수 있는 설계의 연구임. 그러나 우연에 의해 baseline의 특성이 군 간 차이를 보이는 경우가 발생할 수 있음. 이럴 경우, 연구자는 해당 변수를 공변량(covariate)으로 model에 포함시켜 분석할 수 있음. 그러나 가능할 경우, randomization block으로 생성하여 randomization 단계에서 층화무작위배정 등으로 미리 불균형을 방지하는 것이 바람직할 수 있음

#### 4.1. ANCOVA

- 보정하고자 하는 변수를 모델 내 공변량(covariate)으로 추가할 수 있음

#### 4.2. Linear mixed effect model

- 보정하고자 하는 변수를 모델 내 공변량(covariate)으로 추가할 수 있음

## IV 참고문헌

1. 강인현, 김미경, 김태성, 남혜선, 홍순근, 윤혜정. OECD 내분비계장애물질 검색시험법 현황. 식품과학과산업 43(2):105-114, 2010
2. 구광수, 최효정, 홍예주. 골성숙 정도에 따른 중학생의 체격, 골연령 및 예측신장 비교분석. 한국발육발달학회지 26(4):449-453, 2018
3. 김세영, 양세원. 골연령 측정에서 Greulich-Pyle 법과 Tanner-Whitehouse법의 비교 분석. 대한내분비학회지 13(2):198-204, 1998
4. 김초영, 장규태. 저체중 소아의 성장과 골성숙도에 관한 임상적 연구. 대한한방소아과학회지 24(2):147-158, 2010
5. 서동현. 불규칙 수면으로 인한 일주기 리듬의 교란이 성장기 쥐의 생체말초조직에 미치는 영향. 연세대학교 석사학위논문 2010
6. 신재훈. 성장장애의 진단과 치료. 한국소아과학회지 39(9):1201-1209, 1996
7. 신중호, 권영혁, 박준봉, 허익. 탈회 동결 건조골과 탈단백 우골의 백서 치조골 천공결손에 대한 치유효과. 대한치주과학회지 31(1):73-89, 2001
8. 신충호. 성장호르몬 치료의 최신 지견. 한국소아과학회지 49(7):703-709, 2006
9. 박상용, 묘윤림. 12주간 맞춤형운동 프로그램이 저신장 학생들의 운동기능 및 키 성장에 미치는 영향. 한국체육과학회지 27(2):1101-1114, 2018
10. 박용훈. 저신장 소아를 위한 성장호르몬 치료. 영남의대학술지 22(1):1-12, 2005
11. 박지선, 진욱, 박소영, 배민선, 김덕윤, 최봉근, 류경남. 골밀도 측정에 있어서 말단부 골밀도측정법의 유용성: 중축골 이중에너지방사선흡수법과의 비교. 대한영상의학회지 62:555-561, 2010
12. 백명현, 원예연, 최문권, 김영은. 해면뼈의 구조적 특성과 기계적 강도의 상관관계. 대한골다공증학회지 7(2):84-95, 2009
13. 양동식, 차민호, 강봉주, 오세욱, 김영언, 윤유식. 가시오가피가 함유된 성장촉진용 조성물의 골성장효과 연구. 한국식품과학회지 35(4):702-707, 2003

14. 양세원. 최근 성장장애에서 성장호르몬 치료. 대한내분비학회지 18(6):561-570, 2003
15. 엄시내. 자유낙하에 의한 충격자극이 성장기 쥐 뼈 성장에 미치는 영향. 연세대학교 석사학위논문 2014
16. 이기형. 소아의 성장평가 및 성장장애의 진단. 대한소아과학회지 46(12):1171-1177, 2003
17. 이후정, 이재목, 최병주, 유현모, 서조영, MC3T3-E1세포의 ALP activity에 대한 IGF-1의 영향. 대한치주과학회지 27(4):669-684, 1997
18. 질병관리청. 2017 소아청소년 성장도표
19. 홍용희. 소아저신장의 진단 및 치료방법. 클리닉저널. 2018.05.17
20. Argente J. Challenges in the management of short stature. Horm Res Paediatr 85:2-10, 2016
21. Baek M, Seo M, Lee JH, Kim IW, Kim MA, Hwang JS. Osteoblastogenic activity of locusta migratoria ethanol extracts on pre-osteoblastic MG-63 Cells. J Life Sci 28(12):1448-1454, 2018
22. Barstow C, Rerucha C. Evaluation of short and tall stature in children. Am Fam Physician 92(1):43-50, 2015
23. Choi S, Cha PH, Kim HY, Choi KY. Indirubin-3'-oxime stimulates chondrocyte maturation and longitudinal bone growth via activation of the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. Exp Mol Med 51(9):1-10, 2019
24. Craft WH, Underwood LE, Van Wyk JJ. High incidence of perinatal insult in children with panhypopituitarism. J pediatr 96:397-401, 1980
25. Chae KY. Physiology of sleep. Korean J Pediatr 50:711-717, 2007
26. Cho CY, Kim EY, Kim DH, Kim MB, Kim SB, Yang KJ, Sohn YJ, Jung HS. Effects of bia-hwan on the ovariectomized rat model of osteoporosis. J Korean Med Rehabil 27(2):19-27, 2017
27. EFSA Panel on Dietetic Products. Calcium and contribution to the normal development of bones: evaluation of a health claim pursuant to Article 14 of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA J 14(10):e04587, 2016

28. EFSA Panel on Dietetic Products. Scientific substantiation of a health claim related to  $\alpha$ -linolenic acid and linoleic acid and growth and development of children pursuant to Article 14 of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA J* 783:1-9, 2008
29. Goh LH, How CH, Ng KH. Failure to thrive in babies and toddlers. *Singapore Med J* 57(6):287-91, 2016
30. Gonzalez-Bulnes A, Ovilo C, Lopez-Bote CJ, Astiz S, Ayuso M, Perez-Solana ML, Sanchez-Sanchez R, Torres-Rovira L. Gender-specific early postnatal catch-up growth after intrauterine growth retardation by food restriction in swine with obesity/leptin resistance. *Reproduction* 144(2):269-78, 2012
31. Gool S, Kamp G, Odink R, Keizer-Schrama S, Waal H, Oostdijk W. High-dose GH treatment limited to the prepubertal period in young children with idiopathic short stature does not increase adult height. *Eur J Endocrinol* 162:653-660, 2010
32. Hallengren E, Almgren P, Svensson M, Gallo W, Engstrom G, Persson M, Melander O. Genetic determinants of growth hormone and GH-related phenotypes. *BMC Genomics* 24:18(1):822, 2017
33. Halloran D, Durbano HW, Nohe A. Bone morphogenetic protein-2 in development and bone homeostasis. *J Dev Biol* 8(3):19, 2020
34. Hasegawa Y, Hasegawa T, Aso T, Kotoh S, Nose O, Ohyama Y. Clinical utility of IGFBP-3 in the evaluation and treatment of short children with suspected GH deficiency. *Eur J Endocrinol* 131:27-32, 1994
35. Hong CU. *Pediatrics*. 11th ed. Seoul: Miraen. 2016
36. Hu R, Wang Z, Peng Q, Zou H, Wang H, Yu X, Jing X, Wang Y, Cao B, Bao S, Zhang W, Zhao S, Ji H, Kong X, Niu Q. Effects of GHRP-2 and Cysteamine Administration on Growth Performance, Somatotrophic Axis Hormone and Muscle Protein Deposition in Yaks (*Bos grunniens*) with Growth Retardation. *PLoS One* 11(2):e0149461, 2016

37. Jeong A, Park BC, Kim HY, Choi JY, Cheon J, Park JH, Lee BJ, Kim K. Efficacy and safety of fermented oyster extract for height of children with short stature: a randomized placebo-controlled trial. *Integr Med Res* 10(2):100691, 2021
38. Kim HJ, Lee SH, Lee SH, Lee J, Kim H, Chang GT, Lee D. Longitudinal bone growth stimulating effect of allium macrostemon in adolescent female rats. *Molecules* 25(22):5449, 2020
39. Kong XJ, Wan G, Tian R, Liu S, Liu K, Clairmont C, Lin X, Zhang X, Sherman H, Zhu J, Wang Y, Fong M, Li A, Wang BK, Wang J, Liu J, Yu Z, Shen C, Cui X, Cao H, Du T, Cao X. The effects of probiotic supplementation on anthropometric growth and gut microbiota composition in patients with Prader-Willi Syndrome: A randomized double-blinded placebo-controlled trial. *Front Nutr* 8:587974, 2021
40. Laron Z. Syndrome of familial dwarfism and high plasma immunoreactive growth hormone. *Isr J Med Sci* 10:1247-1248, 1974
41. Lee AM, Shandala T, Nguyen L, Muhlhausler BS, Chen KM, Howe PR, Xian CJ. Effects of resveratrol supplementation on bone growth in young rats and microarchitecture and remodeling in ageing rats. *Nutrients* 6(12):5871-87, 2014
42. Lee D, Lee SH, Song J, Jee HJ, Cha SH, Chang GT. Effects of astragalus extract mixture HT042 on height growth in children with mild short stature: A multicenter randomized controlled trial. *Phytother Res* 32(1):49-57, 2018
43. Lee H, Hwangbo H, Ji SY, Kim MY, Kim SY, Kim DH, Hong SH, Lee SJ, Assefa F, Kim GY, Park EK, Park JH, Lee BJ, Jeon YJ, Choi YH. Gamma aminobutyric acid-enriched fermented oyster (*Crassostrea gigas*) increases the length of the growth plate on the proximal tibia bone in sprague-dawley rats. *Molecules* 25(19):4375, 2020

44. Lee SH, Lee HJ, Lee SH, Kim YS, Lee D, Chun J, Lee JY, Kim H, Chang GT. Effects of Huang Bai (Phellodendri Cortex) on bone growth and pubertal development in adolescent female rats. *Chin Med* 13:3, 2018
45. Liu J, Tang J. Effects of pomegranate extract in supplementing gonadotropin-releasing hormone therapy on idiopathic central precocious puberty in Chinese girls: a randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial. *Food Funct* 8(2):695-700, 2017
46. Marshall WA, Tanner JM. Variations in the pattern of pubertal changes in boys. *Arch Dis Child*. 1970 Feb;45(239):13-23. doi: 10.1136/adc.45.239.13. PMID: 5440182; PMCID: PMC2020414.
47. Marshall WA, Tanner JM. Variations in pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child*. 1969 Jun;44(235):291-303. doi: 10.1136/adc.44.235.291. PMID: 5785179; PMCID: PMC2020314.
48. Miller SL, Sutherland AE, Supramaniam VG, Walker DW, Jenkin G, Wallace EM. Antenatal glucocorticoids reduce growth in appropriately grown and growth-restricted ovine fetuses in a sex-specific manner. *Reprod Fertil Dev*24(5):753-58, 2012
49. Miyagaki S, Yamaguchi M, Ota T, Kawabe Y, Morimoto H, Oka Y, Mori J. Alfacalcidol improves the growth velocity in children with vitamin D deficiency/insufficiency: A single center retrospective cohort study. *PLoS One* 16(3):e0247886, 2021
50. Mohammed AA, Zaki RS, Negm EA, Mahmoud MA, Cheng HW. Effects of dietary supplementation of a probiotic (*Bacillus subtilis*) on bone mass and meat quality of broiler chickens. *Poult Sci* 100(3):100906, 2021
51. OECD. Test No. 456: H295R Steroidogenesis Assay, OECD guidelines for the testing of chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, 2011. <https://doi.org/10.1787/9789264122642-en>.

52. OECD. Test No. 441: Hershberger bioassay in rats: A short-term screening assay for (anti)androgenic properties, OECD guidelines for the testing of chemicals, section 4, OECD Publishing, Paris, 2009.  
<https://doi.org/10.1787/9789264076334-en>.
53. Oh HS, Oh SK, Lee JS, Choi JS, Lee SJ. Brown rice (*Oryza sativa* L. cv. Hiam) extract promotes cellular growth by upregulation of GH and IGF-1 expression and secretion. *Food Sci Biotechnol* 25(1):335-339, 2016
54. Perez-Colon S, Lazareva O, Purushothaman R, Malik S, Ten S, Bhangoo A. Baseline IGFBP - 3 as the key element to predict growth response to growth hormone and IGF - 1 therapy in subjects with non - GH deficient short stature and IGF - 1 deficiency. *Int J Endocrinol Metab* 16(3):e58928, 2018
55. Prentice A, Dibba B, Sawo Y, Cole TJ. The effect of prepubertal calcium carbonate supplementation on the age of peak height velocity in Gambian adolescents. *Am J Clin Nutr* 96(5):1042-50, 2012
56. Prentice A, Schoenmakers I, Laskey MA, de Bono S, Ginty F, Goldberg GR. Nutrition and bone growth and development. *Proc Nutr Soc* 65(4):348-60, 2006
57. Song J, Lee SH, Lee D, Kim H. Astragalus extract mixture HT042 improves bone growth, mass, and microarchitecture in prepubertal female rats: A microcomputed tomographic study. *Evid Based Complement Alternat Med* 2017:5219418, 2017
58. Souza FM, Collett-Solberg PF. Adverse effects of growth hormone replacement therapy in children. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 55:559-65, 2011
59. Stein D, Lee Y, Schmid MJ, Killpack B, Genrich MA, Narayana N, Marx DB, Cullen DM, Reinhardt RA. Local simvastatin effects on mandibular bone growth and inflammation. *J Periodontol* 76(11):1861-70, 2005

60. Yang J, Bakshi A, Zhu Z, Hemani G, Vinkhuyzen AA, Lee SH, Robinson MR, Perry JR, Nolte IM, van Vliet-Ostaptchouk JV, Snieder H; LifeLines Cohort Study, Esko T, Milani L, Magi R, Metspalu A, Hamsten A, Magnusson PK, Pedersen NL, Ingelsson E, Soranzo N, Keller MC, Wray NR, Goddard ME, Visscher PM. Genetic variance estimation with imputed variants finds negligible missing heritability for human height and body mass index. *Nat Genet* 47(10):1114-20, 2015
61. Underwood LE, D'Ercole AJ, Van Wyk JJ. Somatomedin-C and assessment of growth. *Ped Clin North Am* 27:771-82, 1980
62. Yoshida K, Urakami T, Mine Y, Suzuki J. Efficacy of zinc supplementation on growth and IGF-1 in prepubertal children with idiopathic short statures and low serum zinc levels. *Clin Pediatr Endocrinol* 29(2):63-68, 2020
63. Zapf J, Froesch ER, Humbel RE. The insulin like growth factors(IGFs) of human serum:Chemical and biological characterization and aspects of their possible physiological role. *Current topics in cellular regulation* 19:257-309, 1981
64. Zhang Y, Wu Q, Wang W, van Velthoven MH, Chang S, Han H, Xing M, Chen L, Scherpbier RW. Effectiveness of complementary food supplements and dietary counselling on anaemia and stunting in children aged 6-23 months in poor areas of Qinghai Province, China: a controlled interventional study. *BMJ Open*. 31:6(10):e011234, 2016



## 건강기능식품 기능성 평가 가이드(민원인 안내서)

- 어린이 키성장에 도움을 줄 수 있음 -

---

발 행 인 : 서경원

편집위원장 : 오금순

편 집 위 원 : 이해영, 윤태형, 권광일, 고수일, 서은채, 이수은, 정유경, 김남숙,  
김규현, 이미영, 최정호, 류은채, 전해련, 이세윤, 이민아

발 행 처 : 식품의약품안전평가원

발 행 일 : 2023년 5월

문 의 처 : 식품위해평가부 영양기능연구과

(043-719-4402, 4409, 4416, 4417, 4419, 4422, 4428, 4429)

---



# 건강기능식품 기능성 평가 가이드 (민원인 안내서)

MINISTRY OF FOOD AND DRUG SAFETY  
[www.mfds.go.kr](http://www.mfds.go.kr)



**【공직자 부조리 및 공익신고안내】 신고자 및 신고내용은 보호됩니다.**

- ▶ 부조리 신고 : 식약처 홈페이지 “국민신문고 > 공직자 부조리 신고” 코너
- ▶ 공익 신고 : 식약처 홈페이지 “국민소통 > 신고센터 > 부패·공익신고 상담” 코너