

발간등록번호

11-1541000-000771-01

비만억제 효과를 갖는 키토올리고당의 건강기능식품 개발
(Development of Health functional Food of
chitooligosaccharides with obesity inhibitory effect)

고지방식이쥐와 비만마우스를 이용한 키토산올리고당의
비만억제효능 연구
(Study of obesity inhibitory effect of chitosan oligosaccharides in
Rats Fed on a high-fat diet and *ob/ob* mice)

키토올리고당의 항비만효과
(Anti-obesity effect of chitooligosaccharides)

(주)키토라이프

농림수산식품부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “비만억제 효과를 갖는 키토올리고당의 건강기능식품 개발에 관한 연구” 과제(세부과제 “고지방식이쥐와 비만마우스를 이용한 키토산올리고당의 비만억제효능 연구에 관한 연구” / “키토올리고당의 항비만효과에 관한 연구”)의 보고서로 제출합니다.

2010년 11월 30일

주관연구기관명 : (주)키토라이프

주관연구책임자 : 정 특 래

세부연구책임자 : 양 현 필

연 구 원 : 허 지 연

연 구 원 : 김 원 석

협동연구기관명 : 대구대학교

협동연구책임자 : 윤 중 원

협동연구기관명 : 바이오푸드네트워크사업단

협동연구책임자 : 권 미 란

연구개발보고서 초록

| | | | | | |
|---|--|---------|------------------|---------------------------------|----|
| 과 제 명 | (국문) 비만억제 효과를 갖는 키토올리고당 건강기능식품 개발 | | | | |
| | (영문) Development of Health functional Food of chitooligosaccharides with obesity inhibitory effect | | | | |
| 주관연구기관 | (주)키토라이프 | | 주 관 연 구 책 임 자 | (소속) (주)키토라이프 | |
| 참 여 기 업 | | | | (성명) 정 특 래 | |
| 총연구개발비 (656,396 천원) | 계 | 656,396 | 총 연 구 기 간 | 2008. 12. 1~ 2010. 11.30 (24개월) | |
| | 정부출연 연구개발비 | 480,000 | 총 참 여 수 | 총 인 원 | 17 |
| | 기업부담금 | 176,396 | | 내부인원 | 6 |
| | 연구기관부담금 | | | 외부인원 | 11 |
| <p>○ 연구개발 목표 및 내용</p> <p>목표 :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 비만억제에 효능이 좋은 분자량이 조절된 고순도 키토산올리고당 제조한 후 비만억제 효과를 규명하고 임상시험을 통해 개별인정을 득하여 키토올리고당의 기능성표기를 확대, 표기하여 키토올리고당 시장확대와 매출에 기여하고자 한다. <p>연구내용 :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 각종 분리막을 이용하여 분자량별 키토산올리고당 최적조건 확립 - 분리된 분자량별 키토산올리고당의 분자량 분포 확인 - 고지방 식이 쥐와 비만마우스를 이용한 키토산 올리고당의 비만억제활성 확인 - 키토올리고당의 항비만효과의 유효성 평가를 위한 인체적용시험 - 최적조건하에서 분자량별 키토산올리고당의 대량생산화 모색 - 건강기능식품 개별인정 신청 및 제품화 <p>○ 연구결과</p> <ul style="list-style-type: none"> - 4종류(1K이하, 1-3K, 3-5K 및 5K이상) 분자량별 키토산올리고당의 분리조건을 확립 - 광산란 검출기가 장착된 겔투과 크로마토그래피(SEC-MALS GPC)를 이용하여 분자량 분포도를 확인 - 키토산 올리고당 처리군에서 4주간 식이, 체중감소 효과 12%로 지방세포의 지질대사 개선효과 확인 - 지질대사 개선효과 관련 바이오마커 8종 발견 - 유효성 평가분석 결과 BMI의 감소 효과는 부족하였으나 복부지방(내장지방+피하지방)의 감소 효과를 확인 | | | | | |

- BMI 30kg/m² 이상인 고도비만과 허리둘레 남녀 각각 90cm, 85cm 이상 및 내장지방형 복부비만에서 대조군과 대비하여 유의한 지방감소 효과를 보임
- 분자량별 Millipore membrane을 이용하여 대량생산 체계 구축함
- 건강기능식품 개별인정 신청

○ 연구성과 활용실적 및 계획

- 복부지방(내장지방+피하지방)의 감소 효과를 서울성모병원 임상결과를 통해 확인하였으며, 국외 논문 2편 투고(Plasma proteome analysis for anti-obesity and anti-diabetic potentials of chitosan oligosaccharide in *ob/ob* mice, **Proteomics**, 9(8), pp2149~2162, 2009/ Proteomic analysis in adipose tissue of *ob/ob* mice in response to chitosan oligosaccharides treatment, **Biotechnology and Bioprocess Engineering** 15(4), pp559~571, 2010)와 특허출원 1편(키토산올리고당을 활성성분으로 포함하는 항비만용 조성물, 출원번호 10-2009-0101785)의 성과를 거두었으며, 키토산올리고당의 기능성표기 확대차원에서 개별인정을 신청하여 비만억제 기능성식품과 원료를 상품화하여 침체된 키토산올리고당 시장을 확대하고자 하며, 중소 바이오 업체에 기초연구에서 제품개발, 출시 및 매출 전단계에 성공적인 모델을 제시코자 한다.

요 약 문

I. 제 목

비만억제 효과를 갖는 키토올리고당 건강기능식품 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

최근 비만 인구의 증가와 더불어 웰빙 열풍에 따라 다이어트에 관한 관심이 높아지면서 시중에 다양한 다이어트 식품이 유통되고 있으며 전체 건강기능식품 시장에서 다이어트 제품 시장이 차지하는 비율도 매우 높다. 그러나 이들 제품 대부분이 식약청에서 요구하는 건강기능식품의 기준에 들지 않는 제품이 대부분이며 이에 따라 다이어트 제품에 대한 소비자의 이미지는 좋지않은 상태이다. 따라서 in vivo 및 임상실험을 통하여 제품의 기능이 증명되고 또한 개별인증의 건강기능식품으로 등록이 된 다이어트 식품이 개발된다면 소비자들은 믿고 제품을 복용 가능하게 될 것이다. 실제로 다이어트 식품의 부작용으로 인해 접수된 한국소비자보호원의 상담건을 보면 대부분이 일반식품에 체중감량 등의 표현을 강조한 제품이거나 부작용을 유발할 수 있는 부적격의 성분이 포함된 것이 대부분이었다.

따라서 다이어트 식품은 어느 식품분야보다 더 과학적인 근거가 절실히 필요한 부분이라할 수 있으며 이는 정확한 동물 실험과 임상 실험에 의해서만 얻어질 수 있다고 생각하며, 키토올리고당을 특정분자량으로 분취한 다음 동물실험과 임상실험을 통해 비만억제 효과를 확인하여 건강기능식품 개별인증 신청과 제품화를 모색하고자 한다.

III. 연구개발 내용 및 범위

- 각종 분리막을 이용하여 분자량별 키토산올리고당 최적조건 확립
- 분리된 분자량별 키토산올리고당의 분자량 분포 확인
- 고지방 식이 쥐와 비만마우스를 이용한 키토산 올리고당의 비만억제활성 확인
- 키토올리고당의 항비만효과의 유효성 평가를 위한 인체적용시험
- 최적조건하에서 분자량별 키토산올리고당의 대량생산화 모색
- 건강기능식품 개별인증 신청 및 제품화

IV. 연구개발결과

- 4종류(1K이하, 1-3K, 3-5K 및 5K이상) 분자량별 키토산올리고당의 분리조건을 확립
- 광산란 검출기가 장착된 겔투과 크로마토그래피(SEC-MALS GPC)를 이용하여 분자량 분포도를 확인
- 키토산 올리고당 처리군에서 4주간 식이, 체중감소 효과 12%로 지방세포의 지질대사 개선 효과 확인
- 지질대사 개선효과 관련 바이오마커 8종 발견
- 유효성 평가분석 결과 BMI의 감소 효과는 부족하였으나 복부지방(내장지방+ 피하지방)의 감소 효과를 확인

- BMI 30kg/m² 이상인 고도비만과 허리둘레 남녀 각각 90cm, 85cm 이상 및 내장지방형 복부 비만에서 대조군과 대비하여 유의한 지방감소 효과를 보임
- 분자량별 Millipore membrane을 이용하여 대량생산 체계 구축함
- 건강기능식품 개별인정 신청

V. 연구성과 및 성과활용 계획

- 복부지방(내장지방+ 피하지방)의 감소 효과를 서울성모병원 임상결과를 통해 확인하였으며, 국외 논문 2편 투고(Plasma proteome analysis for anti-obesity and anti-diabetic potentials of chitosan oligosaccharide in *ob/ob* mice, **Proteomics**, 9(8), pp2149~2162, 2009/ Proteomic analysis in adipose tissue of *ob/ob* mice in response to chitosan oligosaccharides treatment, **Biotechnology and Bioprocess Engineering** 15(4), pp559~571, 2010)와 특허출원 1편(키토산올리고당을 활성성분으로 포함하는 항비만용 조성물, 출원번호 10-2009-0101785)의 성과를 거두었으며, 키토올리고당의 기능성표기 확대차원에서 개별인정을 신청하여 비만억제 기능성식품과 원료를 상품화하여 침체된 키토올리고당 시장을 확대하고자 하며, 중소 바이오 업체에 기초연구에서 제품개발, 출시 및 매출 전단계에 성공적인 모델을 제시코자 한다.

SUMMARY

I. Title

Development of Health functional Food of chitooligosaccharides with obesity inhibitory effect

II. Purpose and necessity of the development

With the recent rise in obesity and well-being craze resulting in more concern on diet, a wide variety of diet foods are on the market and their share in the total health foods market is already high. Most of the diet foods, however, fall short of the standards for health foods required by Korean Food and Drug Administration (KFDA) and accordingly, consumers' impression on diet foods are not so favorable. Hence, if the functions of diet foods are verified via in vivo and clinical tests, and individual registrations are obtained as functional health foods, consumers may take the foods with confidence. According to the complaints on diet foods received by The Korea Consumer Agency, most of the cases are about general foods which are used to deceive consumers as diet foods by exaggerating their weight loss effects, and foods containing inappropriate ingredients that may cause adverse effects on health.

As a matter of fact, development of diet foods requires stricter scientific basis than that of any other foods, and it can be attained only through rigorous animal experiments and clinical tests. We want to manufacture diet foods containing chitosan oligosaccharides that have inhibiting effects against obesity confirmed by animal experiments and clinical tests, and then obtain individual registrations as functional health foods.

III. Contents and scope of research and development

- Establishment of an optimal condition for chitosan oligosaccharides by using various separation membranes
- Confirmation of molecular-weight distribution of chitosan oligosaccharides by separated molecular weight
- Confirmation of inhibiting activities of chitosan oligosaccharides against obesity by using mice put on a fatty diet and obese mice.
- In vivo tests in humans to evaluate the effectiveness of anti-obesity effects of chitosan oligosaccharides against obesity
- Method of mass producing chitosan oligosaccharides by molecular weight under the optimal condition
- Application for individual registrations as functional health foods and production of

functional health foods

IV. Results of research and development

- Established 4 kinds (1K and less, 1-3K, 3-5K and 5K and more) of separation condition for chitosan oligosaccharides by molecular weight
- Confirmed a distribution chart of molecular weight by using a gel-permeation chromatography installed with a light scattering detector
- Obtained clinical test results of decrease in weight by 12% from the oligosaccharides-treated group after a 4-week diet program
- Confirmation of improvement effect on lipid metabolism of the fat cell
- Detection of Biomarker of the eight kind with improvement effect on lipid metabolism
- Based on the effectiveness evaluation, confirmed fat reduction effects on the abdomen (visceral fat + subcutaneous fat), even though body mass index (BMI) reduction was insufficient
- Confirmed significant fat reduction effects on the morbid obesity group whose BMI is 30 kg/m² or over, and the male and female groups whose waists are 90 cm or more and 85 cm or more, respectively
- Set up a mass production system by molecular weight by using Milipore membranes
- Application for individual registrations as functional health foods

V. Research performances and our future plan to make a use of them

The fat reduction effects on the abdomen were confirmed by the clinical tests organized by Seoul Catholic Medical Center. We could come up with an English research paper (Plasma proteome analysis for anti-obesity and anti-diabetic potentials of chitosan oligosaccharide in *ob/ob* mice, **Proteomics**, 9(8), pp2149~2162, 2009/ Proteomic analysis in adipose tissue of *ob/ob* mice in response to chitosan oligosaccharides treatment, **Biotechnology and Bioprocess Engineering** 15(4), pp559~571, 2010) and a Korean patent application (Anti-obesity composition containing chitosan oligosaccharides as active ingredients, #10-2009-0101785). We plan to apply for individual registrations to expand the opportunity to mark the functionality of chitosan oligosaccharides and to reinvigorate the sluggish chitosan oligosaccharides market. In addition, we try to provide a successful model of full-scale diet foods business including preliminary research, development, launching and sale of products of a small and medium sized company.

CONTENTS

| | |
|--|----|
| Chapter 1 An overview of research and development projects..... | 11 |
| Chapter 2 The current status of research and development in Korea and abroad..... | 12 |
| Chapter 3 Details and results of research and development..... | 15 |
| 3. 1. Details of research..... | 15 |
| 3. 1. 1. Optimal condition for chitosan oligosaccharides by molecular weight.. | 15 |
| 3. 1. 2. Confirmation of the distribution of the molecular weight of chitosan oligosaccharides by molecular weight..... | 16 |
| 3. 1. 3. Confirmation of inhibiting activities of chitosan oligosaccharides against obesity by using mice put on a fatty diet and obese mice..... | 16 |
| 3. 1. 4. Analysis on proteome in major organs of test animals..... | 16 |
| 3. 1 .5. Investigation on the inhibiting mechanism of chitosan oligosaccharides against obesity via analysis on proteome..... | 17 |
| 3. 1. 6. Evaluation on in vivo tests in humans to evaluate the effectiveness of anti-obesity effects of chitosan oligosaccharides against obesity.... | 17 |
| 3. 1. 7. Application for individual registrations as functional health foods and production of functional health foods..... | 19 |
| 3. 2. Results of research..... | 21 |
| 3. 2. 1. Separation condition for chitosan oligosaccharides by molecular weight..... | 21 |
| 3. 2. 2. Average molecular weight of chitosan oligosaccharides by molecular weight..... | 21 |
| 3. 2. 3. Confirmation of inhibiting effects of chitosan oligosaccharides against obesity..... | 29 |
| 3. 2. 4. Analysis on proteome in major organs of test animals..... | 29 |
| 3. 2. 5. Investigation on the inhibiting mechanism of chitosan oligosaccharides against obesity via analysis on proteome..... | 41 |
| 3. 2. 6. Evaluation on in vivo tests in humans to evaluate the effectiveness of anti-obesity effects of chitosan oligosaccharides against obesity.... | 49 |

| | |
|---|----|
| 3. 2. 7. Application for individual registrations as functional health foods and production of functional health foods..... | 50 |
| Chapter 4 Ratios of accomplishment and contribution to related fields..... | 51 |
| Chapter 5 The outcome of research and development..... | 53 |
| Chapter 6 Overseas information on science and technology collected in the process of research and development..... | 54 |
| Chapter 7 References..... | 55 |
| Appendix. Clinical test Report | |
| Animal test Report | |

목 차

| | | |
|----------|---|----|
| 제 1 장 | 연구개발과제의 개요..... | 11 |
| 제 2 장 | 국내외 기술개발 현황..... | 12 |
| 제 3 장 | 연구개발수행 내용 및 결과..... | 15 |
| 3. 1. | 연구내용..... | 15 |
| 3. 1. 1. | 분자량별 키토산올리고당 최적조건..... | 15 |
| 3. 1. 2. | 분자량별 키토산올리고당 분자량 분포 확인..... | 16 |
| 3. 1. 3. | 고지방 식이 쥐와 비만마우스를 이용한 키토산올리고당의 비만억제활성 확인..... | 16 |
| 3. 1. 4. | 실험동물의 주요 조직별 단백질 분석..... | 16 |
| 3. 1. 5. | 단백체 분석을 통한 키토산올리고당의 비만억제 작용기전 규명..... | 17 |
| 3. 1. 6. | 키토산올리고당의 항비만효과의 유효성 평가를 위한 인체적용시험 평가..... | 17 |
| 3. 1. 7. | 건강기능식품 개별인정 신청 및 제품화..... | 19 |
| 3. 2. | 연구결과..... | 21 |
| 3. 2. 1. | 분자량별 키토산올리고당 분취 조건..... | 21 |
| 3. 2. 2. | 분자량별 키토산올리고당의 평균분자량..... | 21 |
| 3. 2. 3. | 키토산올리고당의 비만억제 효능 확인..... | 29 |
| 3. 2. 4. | 실험동물의 주요 조직별 단백질 분석..... | 29 |
| 3. 2. 5. | 단백체 분석을 통한 키토산올리고당의 비만억제 작용기전 규명..... | 41 |
| 3. 2. 6. | 키토산올리고당의 항비만효과의 유효성 평가를 위한 인체적용시험 평가..... | 49 |
| 3. 2. 7. | 건강기능식품 개별인정 신청 및 제품화..... | 50 |
| 제 4 장 | 목표달성도 및 관련분야에의 기여도..... | 51 |
| 제 5 장 | 연구개발 성과 및 성과활용 계획..... | 53 |
| 제 6 장 | 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보..... | 54 |
| 제 7 장 | 참고문헌..... | 55 |
| 별첨. | 임상시험 보고서 동물실험 보고서(자사 추가 동물실험) | |

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발 개요

최근 비만 인구의 증가와 더불어 웰빙 열풍에 따라 다이어트에 관한 관심이 높아지면서 시중에 다양한 다이어트 식품이 유통되고 있으며 전체 건강기능식품 시장에서 다이어트 제품 시장이 차지하는 비율도 매우 높다. 그러나 이들 제품 대부분이 식약청에서 요구하는 건강기능식품의 기준에 들지 않는 제품이 대부분이며 이에 따라 다이어트 제품에 대한 소비자의 이미지는 좋지않은 상태이다. 따라서 in vivo 및 임상실험을 통하여 제품의 기능이 증명되고 또한 개별인증의 건강기능식품으로 등록이 된 다이어트 식품이 개발된다면 소비자들은 믿고 제품을 복용 가능하게 될 것이다. 실제로 다이어트 식품의 부작용으로 인해 접수된 한국소비자보호원의 상담건을 보면 대부분이 일반식품에 체중감량 등의 표현을 강조한 제품이거나 부작용을 유발할 수 있는 부적격의 성분이 포함된 것이 대부분이었다.

따라서 다이어트 식품은 어느 식품분야보다 더 과학적인 근거가 절실히 필요한 부분이라할 수 있으며 이는 정확한 동물 실험과 임상 실험에 의해서만 얻어질 수 있다고 생각하며, 키토올리고당을 특정분자량으로 분취한 다음 동물실험과 임상실험을 통해 비만억제 효과를 확인하여 건강기능식품 개별인증 신청과 제품화를 모색하고자 한다.

제 2 절 최종목표

비만 억제에 효능이 좋은 분자량이 조절된 고순도 키토산올리고당 제조하여 그 특성을 확인하고 동물실험과 임상시험을 통해 건강기능식품 기능성표기 확대 차원에서 개별인정을 신청하여 제품화하는 것이 목적이다.

제 3 절 연구내용 및 범위

- 각종 분리막을 이용하여 분자량별 키토산올리고당 최적조건 확립
- 분리된 분자량별 키토산올리고당의 분자량 분포 확인
- 고지방 식이 쥐와 비만마우스를 이용한 키토산 올리고당의 비만억제활성 확인
- 키토올리고당의 항비만효과의 유효성 평가를 위한 인체적용시험
- 최적조건하에서 분자량별 키토산올리고당의 대량생산화 모색
- 건강기능식품 개별인증 신청 및 제품화

제 4 절 연구개발의 필요성(중요성)

○ 2005년 국민건강영양조사결과에 따르면, 비만 유병률(20세이상)은 전체 31.8%, 남자 35.2%, 여자 28.3%로 나타났다. 연령별로 비교 해보면 남자는 40대와 50대에서 가장 높았고 여자는 50대와 60대에서 높게 나타나는 등 심각한 수준을 나타내고 있다.

또한 1998년과 2001년을 비교해 보았을 때 1998년엔 전체 26.3%의 비만 유병률을 나타냈으나 2001년엔 29.6%를 나타내며, 성별로는 남성이 25%에서 32.2%로 비만유병률의 증가가 높게 나타났으며, 여성의 경우 27%에서 27.9%로 증가를 보였다. 이처럼 점차 증가하는 추세를 나타내고 있으며, 여성의 경우보다 남성에서 보다 뚜렷한 증가 양상을 보이고 있다.

즉, 국내 총 인구수 4천 800만명을 감안했을 때, 현재 비만인구가 무려 1천 500만에 달하고

있다. 삼성경제 연구소 자료에 따르면, 뷰티산업 중 다이어트 시장 전체 규모가 2001년말 이미 1조원을 돌파한 상태이고, 다이어트 시장은 매년 40% 가장 성장해 2003년에는 2조원을 돌파했으며, 현재는 약 3조원에 육박한 것으로 업계는 분석하고 있다.

○ 다국적 시장조사기관인 'AC닐슨'이 우리나라를 포함한 59개국 소매시장을 조사한 결과, 전년 대비 두 자릿수의 매출 증가를 보인 7개 품목 가운데 5개 품목이 건강 또는 다이어트와 관련된 것으로 나타났다.

또한 다국적 대행사인 '유로 RSCG 월드와이드'의 조사에 따르면, 2004년 전세계 다이어트 식품 시장은 150억달러로, 2005년에는 배가 늘어난 300억달러에 이를 것으로 추산하고 있다. 또한 다이어트 식품의 경우 미국에서는 50조원의 시장규모를 보이고 있으며, 중국에서도 1조 2천 억원대의 규모를 형성하고 있는 것으로 알려졌다.

한편, 국내 다이어트 시장은 2000년 약 2천억원 규모를 이루고 있으며, 2001년에는 비만클리닉, 휘트니스, 다이어트용품, 다이어트 약품 등 다이어트 시장 규모가 약 1조원에 육박했다. 이어 2003년에는 2조원을 넘은 것으로 추산하고 있다.

2001년 영국 이코노미스트지에 따르면, 1인당 다이어트 보조식품 등 건강보조식품 판매량에서 한국이 1인당 27달러로 8위를 차지했다고 보도하고 있다. 각국의 소득수준을 고려하면, 우리나라는 일본의 153달러에 이어 2위로 추정된다. 더구나 우리나라는 비만 인구가 18%로 50% 이상의 선진국에 비해 비만 인구가 월등히 적음에도 선진국들보다 다이어트에 더 치중하는 것으로 나타났다. 한편 미국의 비만 인구는 61%, 영국은 51%, 독일은 50%이다.

○ 소비자 보호원이 2006년 9월 비만관리 경험이 있는 성인 300명을 대상으로 조사한 결과에 따르면, 응답자의 45.9%가 다이어트 식품 섭취를 통하여 비만 관리를 한다고 답한 것으로 집계되었다. 이어 병의원 치료 27.8%, 피부·체형관리실 관리 25.4%를 차지하는 등 의외로 식품을 통한 비만관리 비중이 높은 것으로 조사되어 식이조절, 운동 등과 함께 다이어트 식품 섭취가 일반화 되어가고 있음을 알 수 있다.

○ 최근 비만 인구의 증가와 더불어 웰빙 열풍에 따라 다이어트에 관한 관심이 높아지면서 시중에 다양한 다이어트 식품이 유통되고 있으며 전체 건강기능식품 시장에서 다이어트 제품 시장이 차지하는 비율도 매우 높다. 그러나 이들 제품 대부분이 식약청에서 요구하는 건강기능식품의 기준에 들지 않는 제품이 대부분이며 이에 따라 다이어트 제품에 대한 소비자의 이미지는 좋지않은 상태이다. 따라서 in vivo 및 임상실험을 통하여 제품의 기능이 증명되고 또한 개별 인증의 건강기능식품으로 등록이 된 다이어트 식품이 개발된다면 소비자들은 믿고 제품을 복용 가능하게 될 것이다. 실지로 다이어트 식품의 부작용으로 인해 접수된 한국소비자보호원의 상담건을 보면 대부분이 일반식품에 체중감량 등의 표현을 강조한 제품이거나 부작용을 유발할 수 있는 부적격의 성분이 포함된 것이 대부분이었다.

따라서 다이어트 식품은 어느 식품분야보다 더 과학적인 근거가 절실히 필요한 부분이라할 수 있으며 이는 정확한 동물 실험과 임상 실험에 의해서만 얻어질 수 있다고 하겠다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국내외 관련분야 기술개발현황

○ 국내

- 국내 비만치료제 시장은 빠른 속도로 커지고 있음. 제약업계에 따르면 국내 비만치료제 시장은 지난 2003년 450억원 규모를 형성한 이후 2006년 700억원대 시장으로 확대됐으며 2008년에는 1천억원대 규모로 성장이 예상되는 등 가파른 상승세를 보이고 있음. 여기에 보건복지부와 국민건강보험공단 등 정부기관들까지 최근 대국민 비만퇴치 사업에 나서고 있어 비만치료 수요는 급격히 늘어날 것이라는 게 전문가들의 공통된 전망이다. 현재 국내에서 인정되는 비만 치료제는 식욕억제제인 시부트라민(Reductil)과 지방흡수억제제인 오리스트라트(Xenical)가 전부임.
- 2007년말 현재 국내에서 약 10여개 제약업체에서 총 18개 비만치료제 제품이 600억원대 시장을 놓고 치열하게 경쟁하고 있으며, 비만예방 기능성 식품시장까지 확대해 보면, 전 세계의 기능성 식품시장 규모 470억 달러중 비만과 관련한 다이어트 조절식품시장이 절반에 해당할 정도로 거대시장을 형성하고 있어 산업적으로 매우 중요한 위치를 점하고 있음.

○ 국외

- 전세계 비만 처방약의 시장규모는 연간 약 10억 달러정도로 추정되고, 고성장할 것으로 예측되며, 안전하고 효과적인 체중감량 약물이 개발된다면, 1년에 100억-300억 달러까지 확대될 것으로 예상될 정도로 비만억제/치료제 개발은 시기적으로 매우 중요한 연구주제임.
- 현재 전세계 비만치료제 시장은 Sanofi-Aventis사의 아콤폴리아(Acomplia), 미국 Abbott Laboratories사의 리덕틸 (유럽에서 Reductil, 미국에서는 Meridia), Roche 사의 제니칼 (Xenical, GlaxoSmithKline사 상품명은 Alli) 중심으로 편성되어 있다.

○ 국내 · 외의 연구현황

■ 국내

2001년 2월 Xenical과 10월 중순 Reductil이 국내시장에 시판되면서 비만치료제 시장이 형성되었으며, 이후 구주제약의 녹차 추출물 Xeolise가 일반의약품으로 허가되어 판매, 이 약품은 지방의 소화, 흡수를 억제하고 갈색지방의 열생성 촉진을 통하여 체내 흡수칼로리를 감소하는 작용을 하고 있다.

국내에는 천연물을 이용한 비만치료제 개발이 주를 이루면 이것은 천연물의 축적된 임상정보를 기준으로 활성검색 결과를 통하여 항비만 효과를 발표하며, 기존의 민간요법에서 사용하던 천연물은 약물개발 과정에서 부작용이 적은 안전한 약물을 개발하는데 유용하기 때문에 유효 활성성분을 규명하여 체중조절물질을 활성화하거나 신호전달을 차단하는 분자수준의

약물표적을 찾는 노력이 진행중이다.

■ 국외

현재 전세계 비만치료제 시장은 Sanofi-Aventis사의 아콕플리아(Acomplia), 미국 Abbott Laboratories사의 리덕틸 (유럽에서 Reductil, 미국에서는 Meridia), Roche 사의 제니칼 (Xenical, GlaxoSmithKline사 상품명은 Alli) 중심으로 편성되어 있고, 2005년 이후 다음과 같은 제품들이 개발되어 현재 임상중거나 승인을 앞두고 있음: 일본 시오노기제약의 S-2367, 영국의 바이오벤처인 Alizyme의 ALT-962, Arena제약의 APD356, Metabolic Pharmaceuticals사의 AOD9604, 노보 노디스크사의 Liraglutide 등.

제 2 절 선행조사 및 연구개발 결과

- 키토산 및 키토산올리고당은 천연 동물성 고분자물질로 다이어트효과가 있는 것으로 이미 알려져 있으며 미국과 유럽, 일본 등지에서 이미 제품화 되어 시장을 형성하고 있다. 이들 제품의 기본 컨셉을 몇가지 논문에서 살펴볼 수 있다. 먼저 23가지 각종 섬유소를 각각 고지방 식이와 혼합하여 체내에서의 지방 소화저해정도를 알아본 연구에서 5%의 키토산이 포함된 실험군에서 지방의 배설이 가장 높았으며 체내 지방의 양이 대조군과 비교하여 50% 감소한 것으로 연구결과가 관찰되었다. (Decreasing effect of chitosan on the apparena fat digestibility by rats fed on a high-fat diet, Biosci. Biotech. Biochem. 1994)
- 키토산과 키토산올리고당의 첨가에 따른 식이가 흰쥐의 지방대사에 미치는 영향을 알아본 연구에서는 혈청내 총지방 함량은 키토산과 키토올리고당의 첨가에 의해 감소하였고 혈청 콜레스테롤 함량은 키토산올리고당의 첨가에 의해 감소하는 경향을 보였다고 보고하였다.(Effects of chitosan of different molecular weights on lipid metabolism in rats, Korean Journal of Nutrition. 1998)
- 2005년 실시된 칼로리 제한없이 식이에서 키토산의 지방배설과 흡수저해에 대한 임상실험에서는 키토산을 섭취한 남성의 경우 배설된 지방의양이 하루에 1.8g정도 증가하였다는 결과가 보고되었다. (Chitosan supplementation and fat absorption in men and women, Journal of the American Dietetic Association, 2005)
- Low molecular weight chitosan(MW 46kDa)를 이용한 동물실험을 보면 고지방 식이와 함께 46 kDa 키토산을 하루에 두 번씩(300mg/kg), 20주간 섭취한 쥐의 경우에서 몸무게 증가, 지방세포의 증가 그리고 liver lipids의 증가를 모두 억제하는 결과를 보였으며 담즙산과 지방의 배설이 증가하는 것도 관찰할 수 있었다. 이 결과는 키토산이 체내에서 담즙산과 결합하여 지방의 체내흡수를 저해하는 작용을 하고 지질분해효소활성을 억제하여 소장에서의 콜레스테롤과 triacylglycerol의 흡수를 저해하여 체내 lipids를 감소시켜 비만 억제에 효과적인 작용했음을 알 수 있다.(Low molecular weight chitosan inhibits obesity induced by feeding a high-fat diet long-term in mice, Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2006)

이상의 키토산 및 키토산올리고당 식이중의 체내 지방의 감소는 지방의 흡수 저해에 따른 결과로 유추된다. 즉 식이중의 지방의 흡수를 저해함으로써 지방의 흡수를 저해하고 간접적으로 체내 지방의 감소를 유도하는 것이다. 이를 위해서는 체내흡수가 힘든 키토산이 적절한 효과를 나타낼 것으로 판단된다. 당사는 2006년 키토산 및 키토산 올리고당의 체내 흡수도 실험에서 분자량 13kDa 이상의 키토산올리고당 또는 키토산이 거의 장내 흡수가 일어나지 않는다는 사실을 밝혀냈다. 이는 즉 키토산이 장에서 흡수되어 담즙산과 지방의 배설에 작용하기는 힘들고 식이중의 콜레스테롤, 지방 등의 흡수를 방해하는 것으로 체내 콜레스테롤 또는 lipids의 감소가 일어났을 것으로 예상되며 실지로 위의 여러 연구 결과들과 일치하는 부분이다. 그러나 키토산올리고당의 경우 장에서 흡수가 됨으로서 식이중의 지방 흡수 저해와는 다른 메카니즘으로 체내 지방 감소 효과가 있을 것으로 예상하였다.

이에 본 연구사업에 참여한 위탁 연구기관(대구대학교 생명공학과 윤종원 교수팀)은 체내 흡수율이 뛰어난 분자량대의 키토산올리고당을 이용하여 비만 억제 메카니즘을 밝히고자 했으며 결과적으로 체내 흡수가 용이한 키토산올리고당이 지방세포의 분화를 80% 이상 억제한다는 연구 결과를 보고함으로써 키토산올리고당이 흡수되어 비만 억제 효과를 나타낼 수 있다는 가능성을 보여주었다.

또한 임상시험에서 BMI 30kg/m² 이상인 고도비만과 허리둘레 남녀 각각 90cm, 85cm 이상 및 내장지방형 복부비만에서 대조군과 대비하여 유의한 지방감소 효과를 보임으로써 키토올리고당으로 비만관련 임상시험에서 내장지방형 복부비만에서 유의한 지방감소 효과를 확인한 것은 최초의 일이면 이로 말미암아 건강기능식품 키토올리고당 시장 확대에 이바지 할 것으로 기대된다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 연구내용

3. 1. 1. 분자량별 키토산올리고당 최적조건

가. 키토산의 효소적 가수분해

키토산분해효소는 *Bacillus* sp. 유래이며 pH 5.0 ± 0.5에서 최대활성을 나타내는 효소이고 이 효소의 최적온도는 60℃에서 최대활성을 나타내나 50℃에서 12시간 이상 반응시 활성이 20% 대로 떨어지기 때문에 장시간 반응시 반응온도를 40℃로 하였다.

키토산의 효소적 가수분해를 위한 최적 pH 및 온도조건에서 효소의 첨가량을 변화시키면서 반응시간에 따른 환원당의 생산량을 검토하였다. 즉, 5% 키토산 용액 1L에 효소를 50units(1.0U/g 키토산), 75units(1.5U/g 키토산), 100units(2.0U/g 키토산) 및 125units(2.5U/g 키토산) 씩을 각각 첨가하여 48시간 동안 반응시키면서 일정 시간대별로 10ml 취해 100℃의 끓는 물에서 10분간 효소 불활성화로 반응을 정지시켰다. 반응종료 후 Blix법으로 환원당의 함량을 측정하였다.

나. 효소첨가량과 반응시간

키토산의 효소적 가수분해를 위한 최적 pH 및 온도조건에서의 효소의 첨가량과 반응시간을 변화시켜 환원당 함량을 측정하였다.

다. 분자량별 키토산올리고당 제조

키토산올리고당은 효소분해법으로 제조하였으며, 먼저 교반기가 장착된 30L 효소반응기에 정제수

18 L, 고분자량 키토산 1.5 kg을 넣고 반응온도를 40 °C에서 교반속도 150 rpm 으로 2시간 정도 팽윤 시킨 후 염산(0.6L)을 첨가, 용해하여 pH가 5.0이 되도록 하였다. 이 용액에 키토산 분해효소(Bacillus sp.) 2,250 units를 정제수 5 mL에 용해하여 첨가하고 30분정도 방치한 후 교반속도를 120 rpm으로 낮추어 36시간 동안 가수분해 시켰다. 이 용액은 prefilter (1 μ m) 와 원심분리기를 이용하여 미반응 물질을 제거하고 농축하여 1M 가성소다 용액으로 중화하여 MW300막으로 농축하면서 막 통과액의 전기전도도가 0.1ms/cm이하일 때까지 정제수를 반복 첨가하여 탈염한다. 탈염이 완료된 후 이 용액을 한외여과장치(Millipore, High-Output stirred cell membrane)을 이용하여 분자량별로 통과시킴으로써 분자량별 키토산올리고당을 제조하였다.

자세한 방법은 다음과 같다. 먼저 30 KDa 한외여과막을 이용하여 키토산 분해 효소(분자량 45000)를 제거하고, 30 KDa 한외여과막을 통과한 키토산 올리고당 용액을 5 KDa, 3KDa 및 1KDa의 한외여과막을 단계적으로 이용하여 분자량 크기에 따라 분리하였다. 분리방법은 한외여과장치(Millipore, High-Output stirred cell membrane)에 한외여과막을 장치한 후 키토산 올리고당 용액 10BX, 500ml을 넣고 한외여과장치에 질소를 토출 (토출 압력; 3.5 kgf/cm²)시켜 초기양의 1/5이 되도록 농축시킨 후 다시 정제수를 넣어 500ml이 되도록 하여 다시 동일한 과정으로 농축시켰으며, 이 과정을 5회 반복한 후 이 용액을 다시 5 μ m의 membrane filter를 이용하여 분리과정에서 발생한 먼지 등의 불순물을 제거하고 -40 °C에서 24 시간 동안 동결건조를 통하여 각각의 분자량별 키토산올리고당을 제조하였다(그림 1).

예비 분취 수술을 얻기 위해 효소분해된 키토산올리고당 건조분말 50g을 정제수 500ml에 용해하여 막 분리조건에 따라 분자량별 키토산올리고당을 제조하였다.

3. 1. 2. 분자량별 키토산올리고당 분자량 분포확인

분리된 분자량별 키토산올리고당은 광산란검출기가 장착된 겔투과 크로마토그래피(Gel Permeation Chromatography-Multi Angle Light Scattering, GPC-MALS : DAWN DSP and OPTILAB, Wyatt, USA)를 이용하여 절대분자량과 분자량 분포도를 확인하였다.

3. 1. 3. 고지방 식이쥐와 비만마우스를 이용한 키토산올리고당의 비만억제활성 확인

ob/ob 마우스 그룹별 6마리에 4주간 키토산 올리고당을 식이의 1-5% 수준으로 먹이고 4주간 체중, 체지방, 지방세포 크기, leptin 함량등을 분석하였다.

3. 1. 4. 실험동물의 주요 조직별 단백질 분석

시료 처리 전후의 비만세포 및 실험동물의 혈액 및 주요 조직별 proteome을 분석함. 시료 처리군의 2-DE proteome map상에 나타난 발현차이가 심한 표적단백질들을 PMF, MS-MS 로 동정하고, differential expression 패턴을 종합분석, 비만특이단백질 자료를 획득한 다음, 2DE에서 detection되지 않는 핵심 단백질들은 ICAT 및 Western blotting 분석병행으로 발현패턴을 정밀 분석하였다.

- 2차원 전기영동 (2-DE): IPG IEF, pH 3-10, 17 cm IPG DryStrips, PROTEIN IEF cell (Bio-Rad), 20 × 20 cm 12% polyacrylamide gel

- Rehydration solution: 8 M urea, 2 M thiourea, 4% CHAPS, 1 mM PMSF, 65 mM DTT, 2% IPG buffer.

- Image Acquisition and Data Analysis: UMAX PowerLook 1120 (Maxium Technologies, Inc., Taiwan), 16-bit images (TIF format).
- In-Gel Digestion: 50% acetonitrile (SDS, salts 제거용). Rehydratuion (trypsin, 8-10 ng/ μ L), 8-10 h, 37 °C 정치. 5 μ L 0.5% trifluoroacetic acid 사용 반응중지.
- 단백질 동정: PMF (Ettan MALDI-TOF, Amersham Biosciences).

3. 1. 5. 단백질 분석을 통한 키토산올리고당의 비만억제 작용기전 규명

최종적으로 발굴한 비만 유발 및 억제과정의 마커 단백질/유전자를 통합적으로 분석하여 비만억제 물질의 분자기전을 규명하고자 함 (UCP, leptin/leptin receptor, AMPK 경로 등을 중심으로).

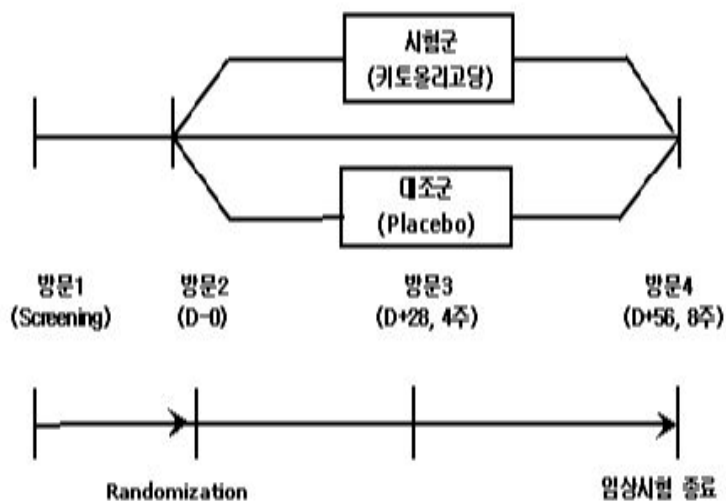
3. 1. 6. 키토산올리고당의 항비만효과의 유효성 평가를 위한 인체적용시험 평가

- 20~65세의 건강한 남녀 중에서 체질량지수가 25이상인 비만인을 대상으로 무작위배정, 이중맹검, 위약대조로 인체적용시험을 진행한다.

- 자의에 의해 임상시험 동의서에 서명한 피험자가 본 임상시험에 등록되면 방문 평가를 통해 선정기준/제외기준 적합 여부를 판정한 뒤, 등록된 순서에 따라 Computer generated randomization schedule을 이용하여 시험군 또는 대조군 중 한 군으로 무작위배정 한다.

- 대상자들은 키토올리고당 캡슐(chitooligosaccharide, 250mg/C, (주)키토라이프)을 아침, 점심, 저녁에 5capsule씩 하루 세 번 총 15개의 capsule을 2개월간 복용한다.

- 섭취 전후 체중, 체질량지수, 허리둘레, 엉덩이 둘레, 허리/엉덩이 둘레비, DEXA를 통한 체지방량, CT를 통한 내장지방, 피하지방, 총 복부지방 등 비만지표와 adiponectin, insulin, leptin, IL-2, IL-4, IFN- α 등 비만 관련지표들의 변화를 비교한다.



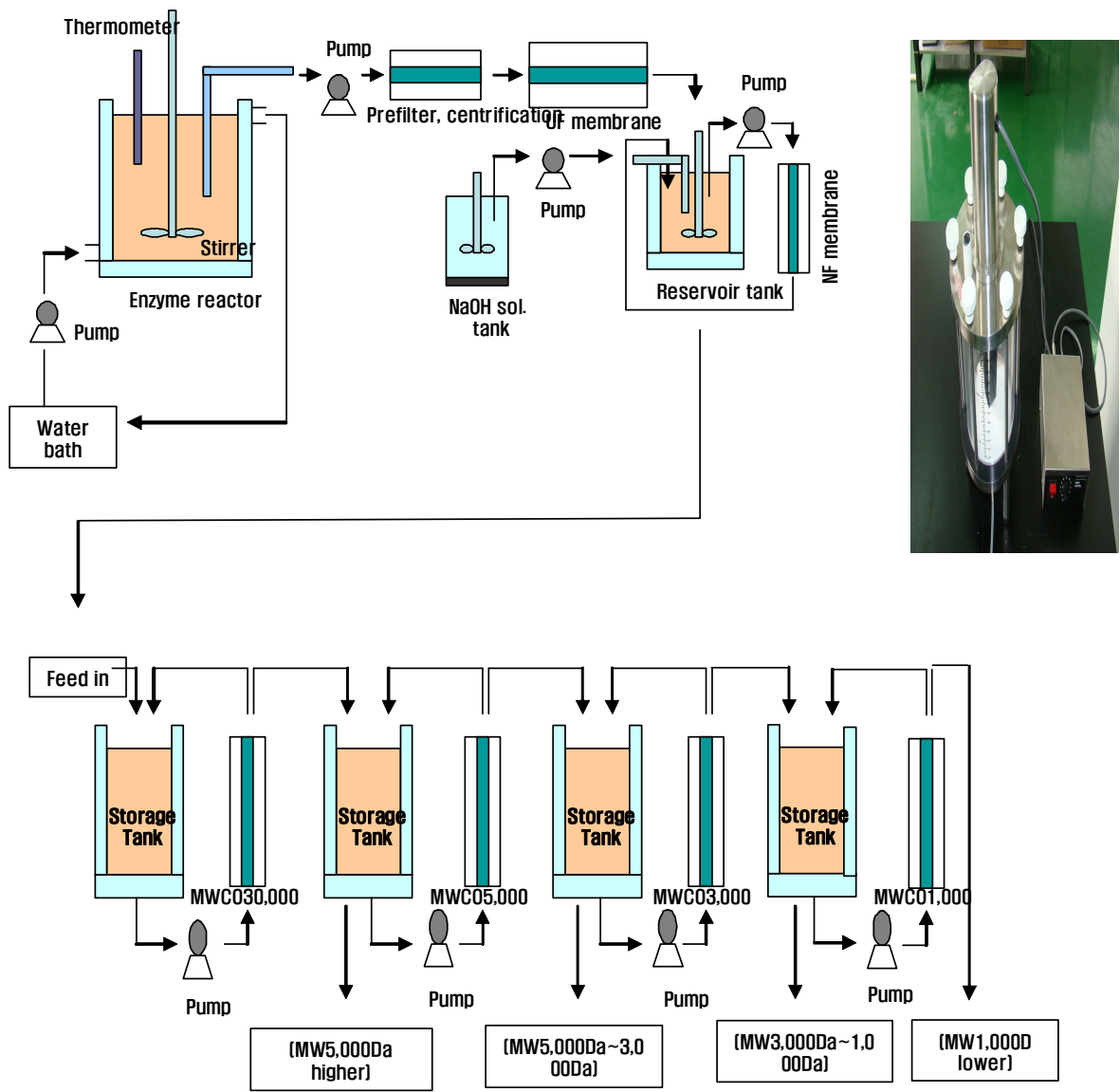


그림 1. 분자량별 키토산올리고당 제조 모식도

- 통계분석 방법

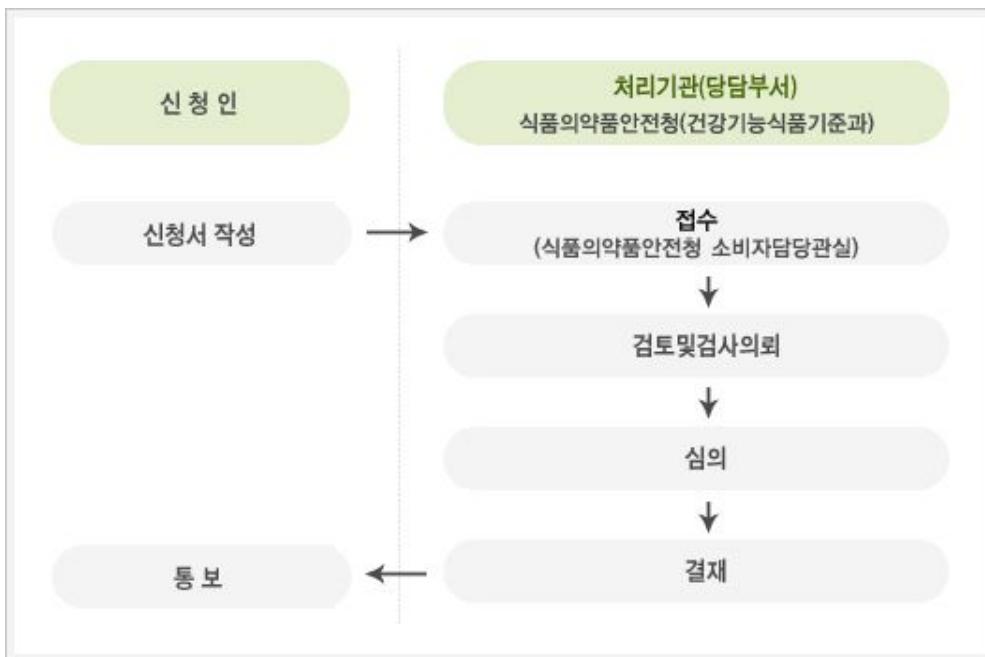
유효성 평가 분석은 1차 유효성 평가변수와 2차 유효성 평가변수는 각 군내에서 투여 전후의 차이는 paired t-test, 투여 군간의 차이는 독립 이 표본 t-test로 비교 분석하였다. 또한 식이섭취량과 운동칼로 리소모량으로 보정하여 투여 군간의 차이를 공분산분석(ANCOVA)을 통하여 비교 분석하였다.

안전성 평가 분석에서 이상반응은 시험기간 동안 보고된 피험자의 모든 이상반응을 도표화한 후 발생률 을 산출하였다. 각 군간 이상반응 여부에 대하여 비율을 계산하고 투여군 별 이상반응 발생률의 차이는 Chi-square test 또는 Fisher's Exact test를 이용하여 비교하였다. 또한 이상반응 발현레수를 도표화하였 으며 임상시험용 건강기능식품과의 관련성에 대하여 군별 사례를 도표화하고 독립성 검정을 실시하였다. 임상병리검사, 활력징후, 심전도 검사는 혈액학적 및 혈액화학적 검사, 활력징후 검사치와 같이 연속형자 료는 군내 비교는 paired t-test, 군간 비교는 독립 이 표본 t-test를 이용하여 분석하였다. 뇨 검사의 일 부 측정변수와 심전도 검사 결과는 정상과 비정상으로 나누어 McNemar 검정을 실시하였다.

3. 1. 7. 건강기능식품 개별인정 신청 및 제품화

최종적으로 In vivo와 임상결과를 토대로 건강기능식품 개별인정을 신청한다. 식약청 홈페이지에서 건강 기능식품 개별인정신청 절차는 아래와 같다.

■ 건강기능식품 기능성 원료 인정신청 처리절차



■ 구비서류

- ▶ 건강기능식품 기능성 원료 인정 신청서(전자문서로 된 신청서 포함)
 - 제출자료 2부 (원본 1부 포함)
 - 제출자료를 수록 CD 1개
 - 제품 또는 시제품 및 기능성분(또는 지표성분) 표준품

- 국내 건강기능식품검사기관이 발행한 시험성적서

※ **제출자료**

- 제출자료 전체의 총괄 요약본
- 기원, 개발경위, 국내·외 인정 및 사용현황 등에 관한 자료
- 제조방법 및 그에 관한 자료
- 원료의 특성에 관한 자료
- 기능성분(또는 지표성분)에 대한 규격 및 시험방법에 관한 자료
- 유해물질에 대한 규격 및 시험방법에 관한 자료
- 안전성에 관한 자료
- 기능성 내용 및 그에 관한 자료
- 섭취량, 섭취 시 주의사항 및 그 설정에 관한 자료
- 의약품과 같거나 유사하지 않음을 확인하는 자료

※ **주의사항**

- 제출자료를 생략하는 경우에는 그 사유를 구체적으로 기재하여야 함
- 모든 제출자료는 원문과 요약본을 함께 제출하여야 하며, 영어 이외의 외국어 자료는 한글 번역문을 제출하여야 함

■ 신청기관 : 식품의약품안전청 소비자담당관실

※ 처리부서 : 영양기능식품기준과 (02-380-1316~9)

■ 수수료 : 100,000원(수입인지)

■ 처리기간

- 신규원료 : 120일
- 기능성추가 : 60일

제 2 절 연구결과

3. 2. 1. 분자량별 키토산올리고당의 분취 조건

가. 키토산의 최적 가수분해조건

키토산의 효소적 가수분해를 위한 최적 pH 및 온도조건에서의 효소의 첨가량과 반응시간을 변화시켜 환원당 함량을 측정된 결과 아래 표 1과 그림 2에 나타내었다.

반응시간은 36시간, 효소량은 2.5unit/g 키토산이 제조비용과 제조조건에서 최적으로 판단되었다.

나. 분자량별 키토산올리고당 분취

예비 분취 수율을 얻기 위해 막 분리조건에 따라 분자량별 키토산올리고당을 제조하였으며, 정제수 첨가량과 동결건조후의 수율을 표 2에 나타내었고, 표 3은 공장에서 제조한 batch별 분자량별 키토산올리고당의 수율을 나타내었다.

3. 2. 2. 분자량별 키토산올리고당 평균분자량

한외여과막을 사용하여 분자량별로 제조한 키토산올리고당의 분자량을 광산란 검출기가 장착된 겔투과크로마토그래피(Gel Permeation Chromatography-Multi Angle Light Scattering, GPC-MALS : DAWN DSP and OPTILAB, Wyatt, USA)를 이용하여 분자량 분포를 측정하였다. 측정결과 한외여과막 MW5,000 이상의 수평균분자량은 8,190Da(그림 3), MW5,000~MW3,000의 평균분자량은 3,380Da(그림 4), MW3,000~MW1,000의 평균분자량은 2,560Da(그림 5) 및 MW1,000이하의 평균분자량은 910Da(그림 6)이었다. 또한 분자량별 키토산올리고당의 GPC 분포도를 그림 7에 나타내었다

(단위; mg/ml)

| 반응시간(hr) | 1unit/ g 키토산 | 1.5unit/ g 키토산 | 2.0unit/ g 키토산 | 2.5unit/ g 키토산 |
|----------|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 4 | 0.568 | 0.908 | 1.124 | 1.363 |
| 8 | 1.092 | 1.41 | 1.658 | 1.756 |
| 12 | 1.466 | 1.635 | 1.787 | 2.025 |
| 16 | 1.654 | 1.738 | 1.978 | 2.398 |
| 20 | 1.755 | 0.813 | 2.511 | 2.907 |
| 24 | 1.918 | 1.937 | 2.728 | 3.577 |
| 36 | 2.099 | 3.232 | 3.475 | 5.331 |
| 48 | 3.004 | 4.194 | 4.352 | 5.618 |

(상 ; 표 1,

하 ; 그림 2)

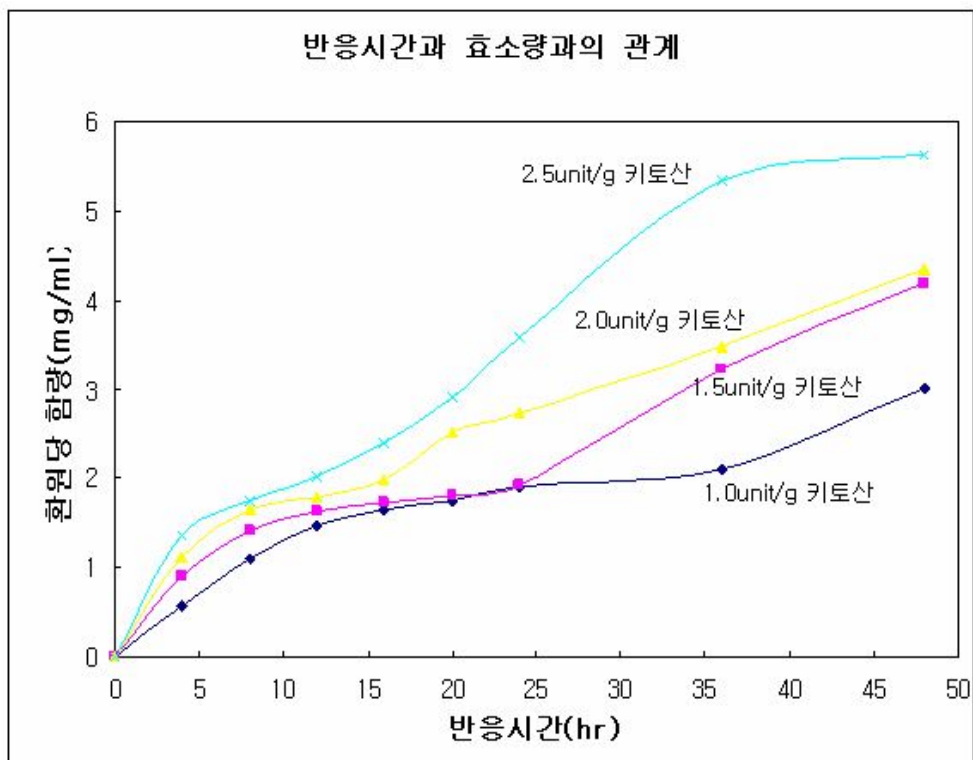


표2. 분자량별 키토산올리고당 제조조건 및 수율

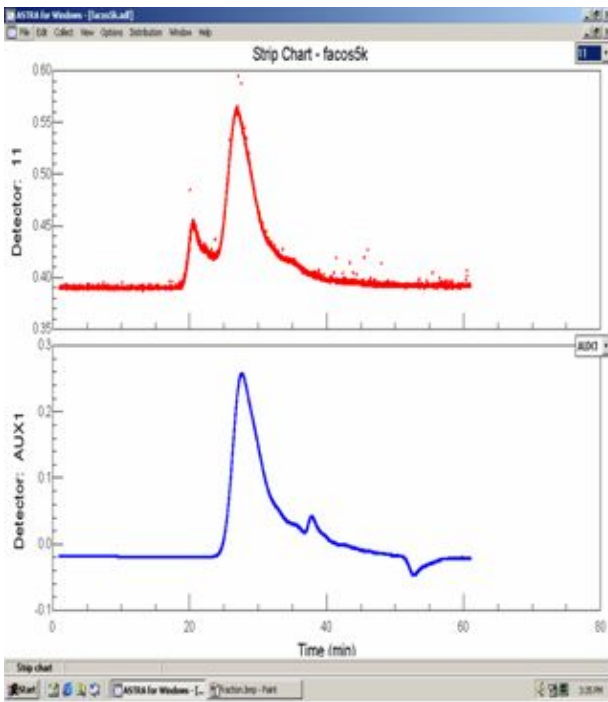
| 분자량별 키토산올리고당 | 정제수 첨가량(ml) | 건조무게(g) | 수율(%) |
|------------------|-------------|---------|-------|
| 5KDa이상(5K 막 사용) | 2,860 | 1.4 | 2.8 |
| 5K-3KDa(3K 막 사용) | 1,790 | 8.7 | 17.4 |
| 3K-1KDa(1K 막 사용) | 1,780 | 3.98 | 7.96 |
| 1KDa이하 | | 27.55 | 55.1 |

표 3. 분자량별 키토올리고당 수율표

| 분자량 Fr. range | 건조량(kg) | 함량(%) | 비 고 |
|---------------|---------|-------|-----|
| 1K이하 | 137 | 66.15 | |
| 1K~3K | 19.8 | 9.56 | |
| 3K~5K | 43.3 | 20.91 | |
| 5K이상 | 7.0 | 3.38 | |
| 합 계 | 207.1 | 100 | |

| 분자량 Fr. range | 건조량(kg) | 함량(%) | 비 고 |
|---------------|---------|-------|-----|
| 1K이하 | 119 | 56.69 | |
| 1K~3K | 21.5 | 10.24 | |
| 3K~5K | 51.8 | 24.68 | |
| 5K이상 | 17.6 | 8.38 | |
| 합 계 | 209.9 | 99.99 | |

| 분자량 Fr. range | 건조량(kg) | 함량(%) | 비 고 |
|---------------|---------|-------|-----|
| 1K이하 | 101.4 | 50.70 | |
| 1K~3K | 15.42 | 7.71 | |
| 3K~5K | 42.34 | 21.17 | |
| 5K이상 | 40.84 | 20.42 | |
| 합 계 | 200 | 100 | |



ASTRA for Windows [facosk.aif]

ASTRA LRS/7 summary Report for facosk

File : E:\ERP\20090901\facosk.aif
 Sample ID : facosk
 Operator : hss

COLLECTION INFORMATION

ASTRA for Windows [facosk.aif]

ASTRA LRS/7 summary Report for facosk

File : E:\ERP\20090901\facosk.aif
 Sample ID : facosk
 Operator : hss

COLLECTION INFORMATION

Collection time : Fri, Sep 04, 2009 00:17 JF Borek Standard Time
 Instrument type : 2400 STD
 Cell type : RS
 Laser wavelength : 690.2 nm
 Solvent name : water
 Solvent RI : 1.333
 Calibration constants
 SARK : 4.462e-06
 +ADT : 2.297e-04
 Flow rate : 0.300 mL/min

PROCESSING INFORMATION

Processing time : Fri, Sep 11, 2009 00:02 JF Borek Standard Time
 DOWNSIZE delay : 0.145 sL
 Fit method / model : Delaye
 Calculation method : ds/str + MS Coarsest
 Detection used : 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18

RESULTS

| | PEAK #1 |
|----------------------------|-----------------|
| Time (min) | 23.087 - 34.542 |
| Slown | 3042 |
| A2 (mol mL ⁻¹) | 0.000e+00 |
| Fit degree | 1 |
| Injected Mass (g) | 1.0000e-01 |

ASTRA for Windows [facosk.aif]

ASTRA LRS/7 summary Report for facosk

File : E:\ERP\20090901\facosk.aif
 Sample ID : facosk
 Operator : hss

COLLECTION INFORMATION

ASTRA for Windows [facosk.aif]

ASTRA LRS/7 summary Report for facosk

File : E:\ERP\20090901\facosk.aif
 Sample ID : facosk
 Operator : hss

COLLECTION INFORMATION

Injected Mass (g) : 1.0000e-01
 Calc. Mass (g) : 1.0000e-01
 dn/dc (mL/g) : 0.159
 Polydispersity(Mw/Mn) : 1.001e+00 (5%)
 Polydispersity(Rz/Mn) : 1.499e+01 (1%)

Molar Mass Moments (g/mol)

| | |
|----|----------------|
| M0 | 6.197e+01 (5%) |
| M1 | 6.907e+01 (5%) |
| M2 | 1.229e+04 (7%) |

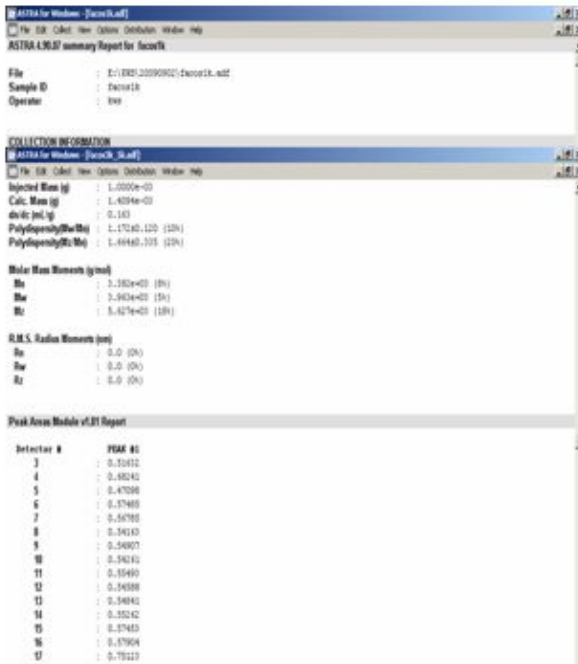
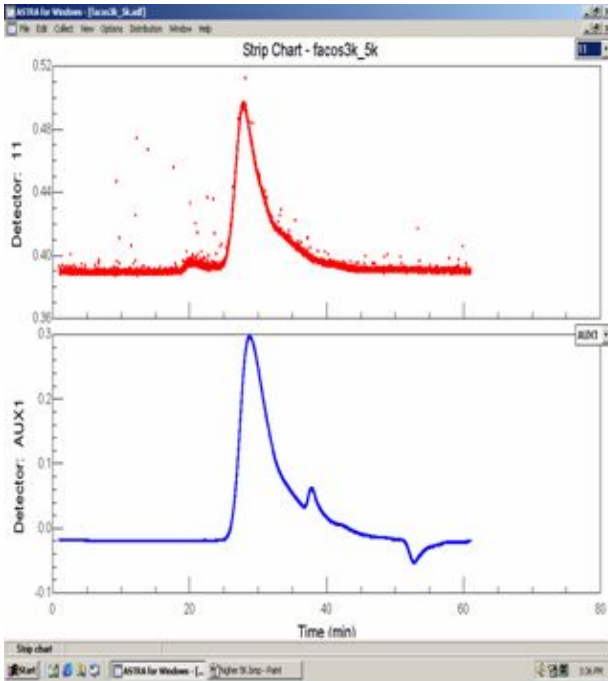
R.M.S. Radius Moments (nm)

| | |
|----|----------|
| R0 | 0.0 (0%) |
| R1 | 0.0 (0%) |
| R2 | 0.0 (0%) |

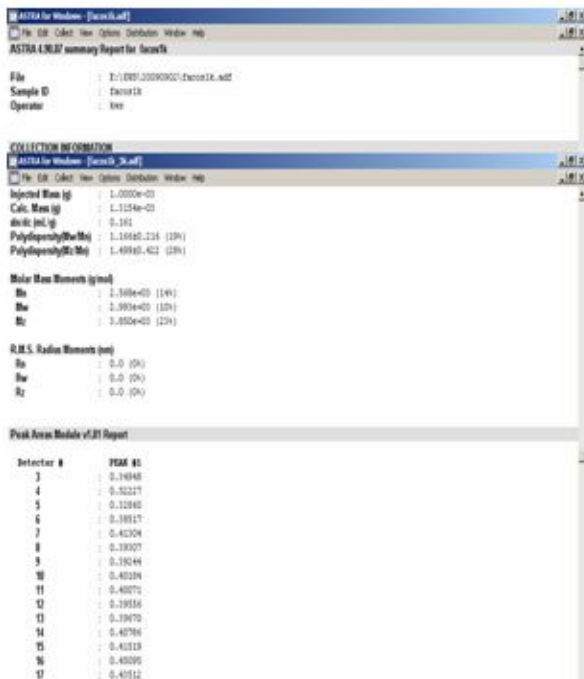
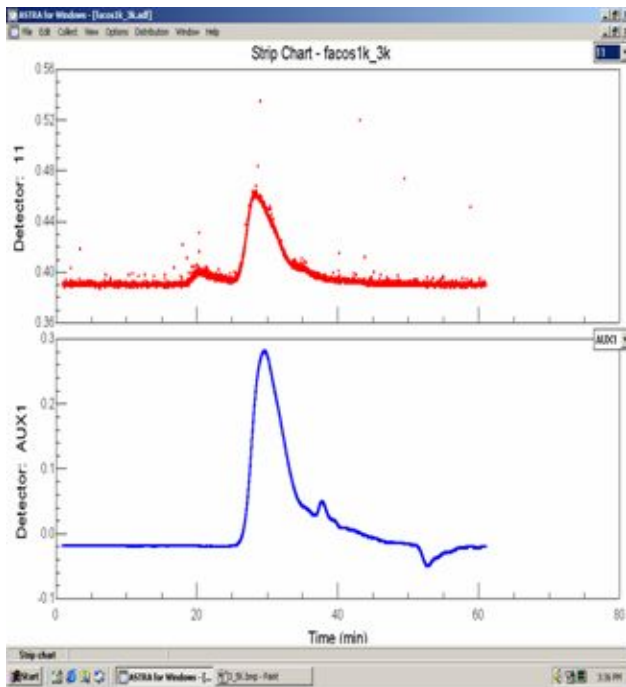
Peak Area Module v5.01 Report

| Detector # | PEAK #1 |
|------------|---------|
| 3 | 0.77121 |
| 4 | 1.02745 |
| 5 | 0.82134 |
| 6 | 0.92119 |
| 7 | 0.92444 |
| 8 | 0.89914 |
| 9 | 0.91800 |
| 10 | 0.90306 |
| 11 | 0.92290 |
| 12 | 0.90907 |
| 13 | 0.92832 |
| 14 | 0.92894 |
| 15 | 0.94844 |
| 16 | 0.92462 |
| 17 | 1.14490 |

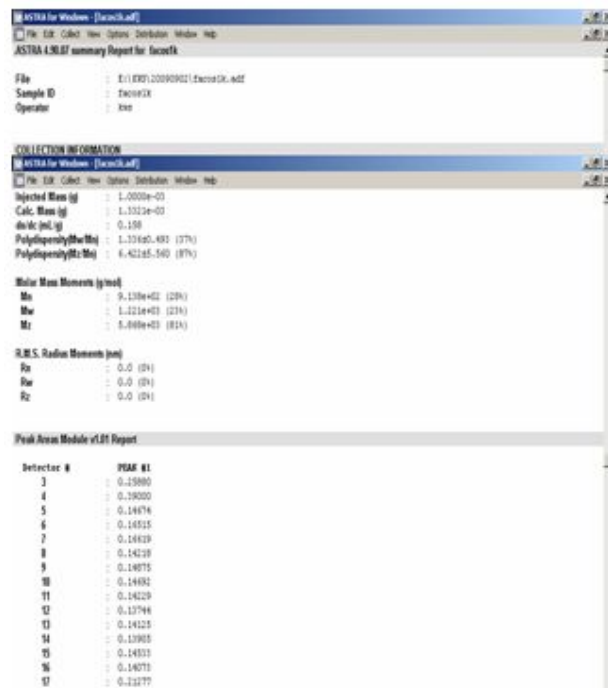
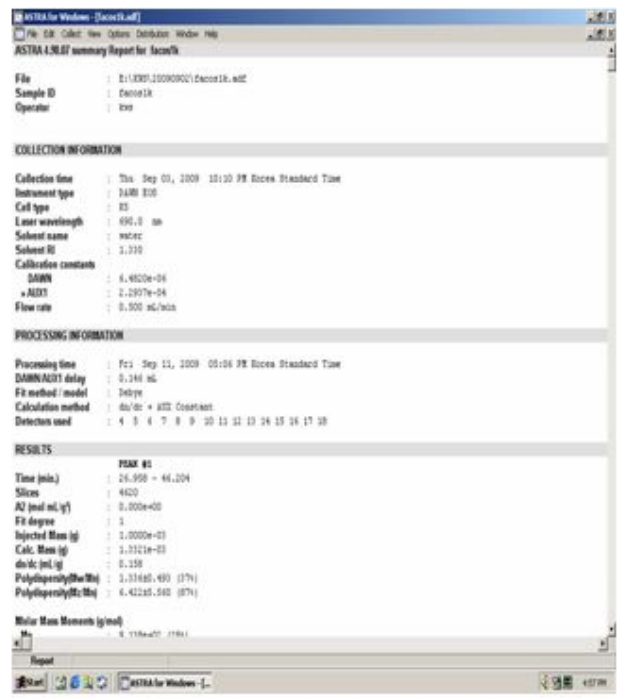
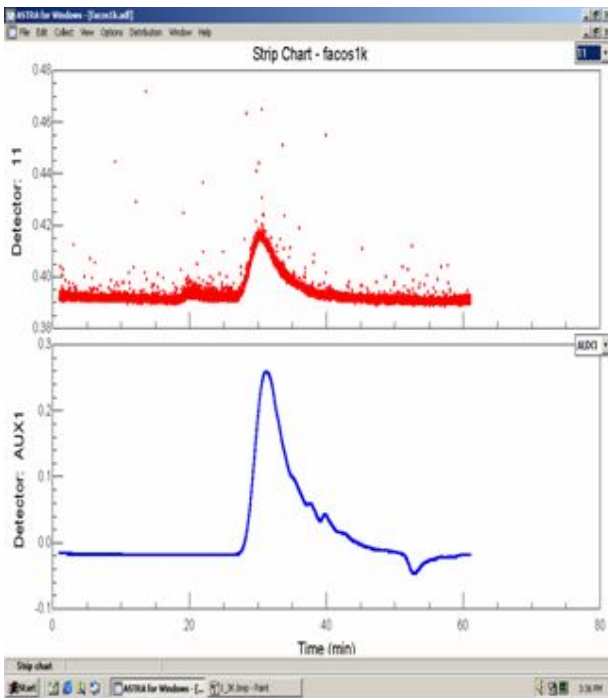
<그림 3. 5KDa 이상의 키토산올리고당>



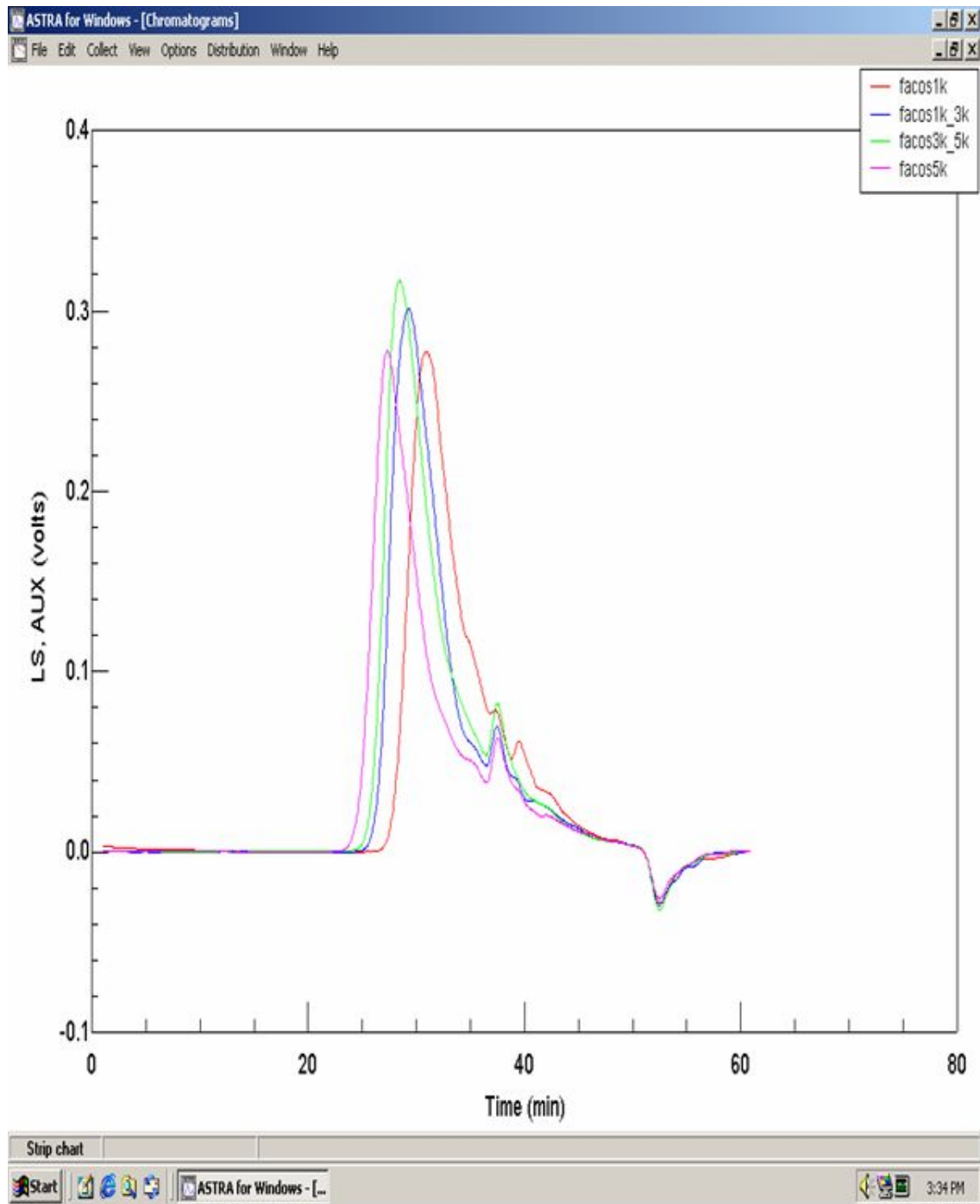
<그림 4. 3K~5KDa의 키토산올리고당>



<그림 5. 1K~3KDa의 키토산올리고당>



<그림 6. 1KDa 이하의 키토산올리고당>



<그림 7. 분자량별 키토산올리고당 GPC 분포도>

3. 2. 3. 키토산올리고당의 비만억제효능 확인

키토산올리고당이 지방세포분화 저해효과를 3T3-L1 마우스 유래 지방전구세포를 이용하여 5 일동안 배양한 후 Oil Red O 염색법으로 확인한 결과 지방분화 기간동안 키토산올리고당이 3T3-L1 지방세포 분화를 유의적으로 억제하는 것을 확인할 수 있었다. 그리고 대조군과 비교하여 농도의존적으로 triglyceride 축적량도 감소하는 것을 알수 있었다. 또한 키토산올리고당의 분자량중에서는 1-3KDa의 키토산올리고당이 가장 효과적으로 triglyceride를 감소시켰다(그림 8,9).

키토산 올리고당의 항비만 효능검증을 위해 4주간 고지방 식이와 함께 키토산 올리고당 (200mg/kg)을 복강 내로 28일 동안 투여하였다. *ob/ob* 마우스의 키토산올리고당 처리군에서 처리하지 않은 그룹에 비해 식이량 13%, 체중증가 12%, 체지방 29% 감소효과를 보였다(그림 10)

대조군 그룹의 쥐는 체중증가와 동시에 만성 고혈당증세를 보이고 있지만, 키토산 올리고당의 처리한 그룹에서는 2주부터 혈당량이 급격한 감소를 보이고 있으며, 이러한 경향은 그림 11B 에서 intra-peritoneal glucose tolerance test (IPGTT) 의 결과와 일치하고 있다.

혈중 중성지방과 콜레스테롤의 양을 측정하기위해 동물실험 마지막 날에 혈액을 채취하여 측정한 결과, 키토산 올리고당 처리 그룹에서 중성지방과 콜레스테롤의 양이 현저히 감소하는 것을 확인 할 수 있었습니다(그림 12). 이는 키토산 올리고당의 항비만 효과를 직접적으로 증명하는 결과이며, 동시에 본 실험동물모델이 단백질체 분석을 통한 키토산 올리고당의 분자 메커니즘 연구를 위한 최적의 모델임을 입증하는 결과이다.

1차 년도에서 실험에 사용한 leptin 유전자 결손마우스 (*ob/ob* mice) 를 사용하는 대신 유전자 조작이 없는 일반 쥐를 사용하여 고지방 식이를 하는 동시에 대조군 그룹은 일반 생리 식염수를 처리하고, 실험그룹은 키토산 올리고당을 oral administration 하였을 때 컨트롤에 비해서 키토산 올리고당을 처리한 그룹의 몸무게가 약 5%가량 감소한 것을 관찰 할 수 있었다(그림 13).

3. 2. 4. 실험동물의 주요 조직별 단백질체 분석

고지방 식이 쥐에 키토산 올리고당을 처리한 쥐와 처리하지 않은 쥐의 혈장액 에서 발현되는 단백질을, 특히 비만과 당뇨 관련 단백질을 중심으로 2차원 전기영동 (2-DE)을 이용한 단백질체 기법을 사용하여 분석하였다(그림 14). 그 결과, 백색지방조직에서 약 500여종의 단백질 중 40개의 발현량의 차이가 나는 단백질을 찾을 수 있었다. 이 중, 키토산 올리고당을 처리한 비만그룹, 처리하지 않은 비만그룹과 정상 쥐 간의 단백질 발현 차이가 두드러지게 증가하거나 감소하는 17개 단백질이 관찰되었다. 지방 수송 단백질인 ApoE, ApoA-IV 와 콜레스테롤 수송 단백질인 ApoA- I 은 이차원전기영동과 western blot(그림 15)에서 키토산 올리고당 처리 그룹에서 현저한 감소와 증가함을 보였고 이 결과는 앞서 혈중 내 지방의 양과 일치 한다. 비만과 당뇨병 같은 대사질환에 관련 있는 RBP4와 산화적 스트레스로부터 세포를 보호하는 작용을 하는 GPx단백질이 키토산 올리고당 처리 그룹에서 발현양이 현저히 감소되고 증가함을 보였다. 또한 당뇨병과 비만의 마커인 Adiponectin 과 Resistin은 western blot결과(그림 16)에서

키토산 올리고당 처리 그룹에서 증가와 감소하는 경향을 보였고, 당뇨와 비만에 관련된 유전자 Adiponectin, TNF- α , IL-6, PPAR γ 를 RT-PCR로 확인한 결과(그림 17) 항 당뇨와 항비만 효과를 보인다는 것을 확인할 수 있었다.

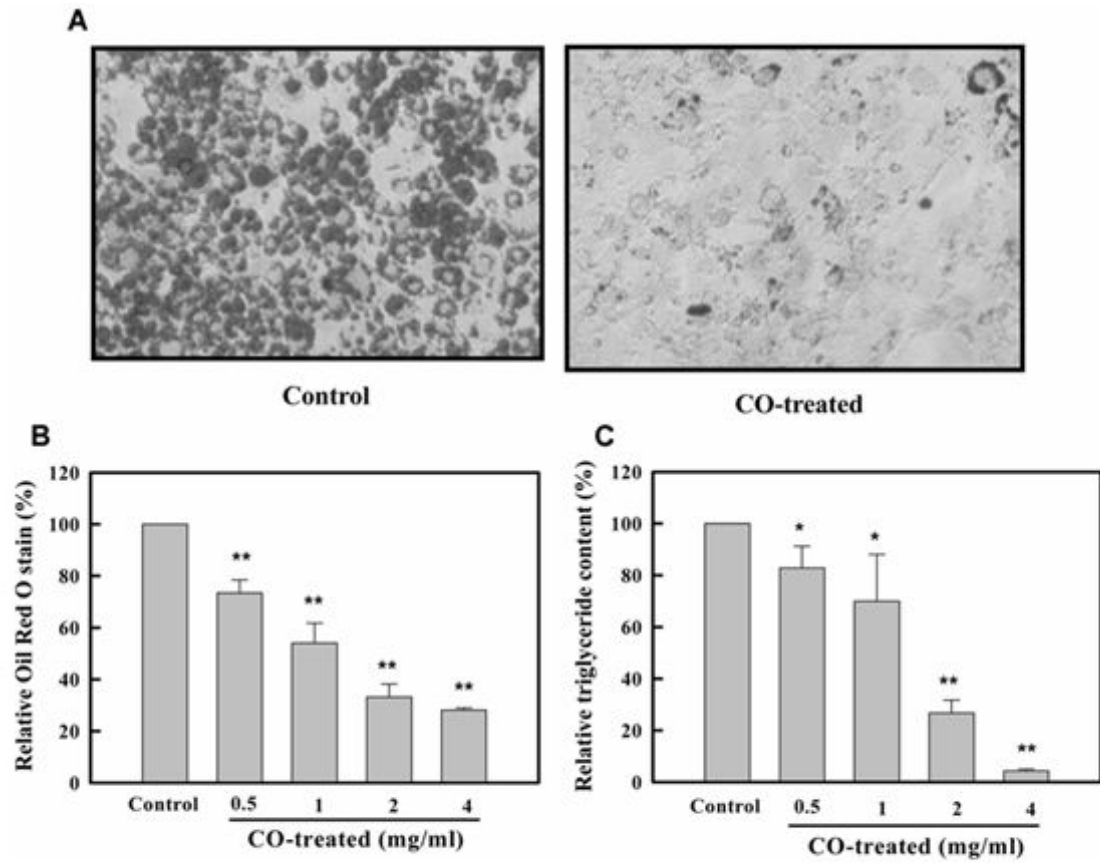


그림 8. 3T3-L1 세포에서 대조구와 키토올리고당 처리구의 지방전구세포에서의 지방 방울(A), Oil Red O 염색에 의한 정량(B), 중성지방 함량(C).

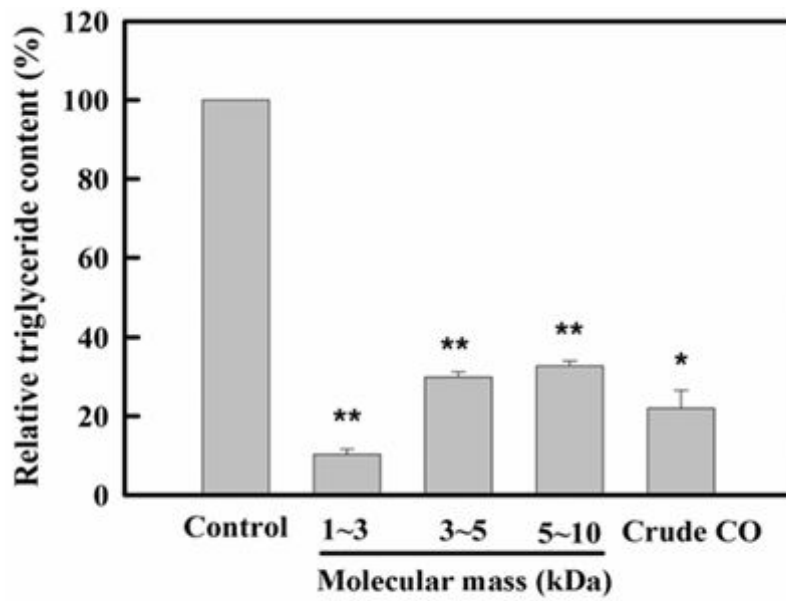


그림 9. 3T3-L1 세포의 중성지방 함량에서 분자량별 키토올리고당의 효과.

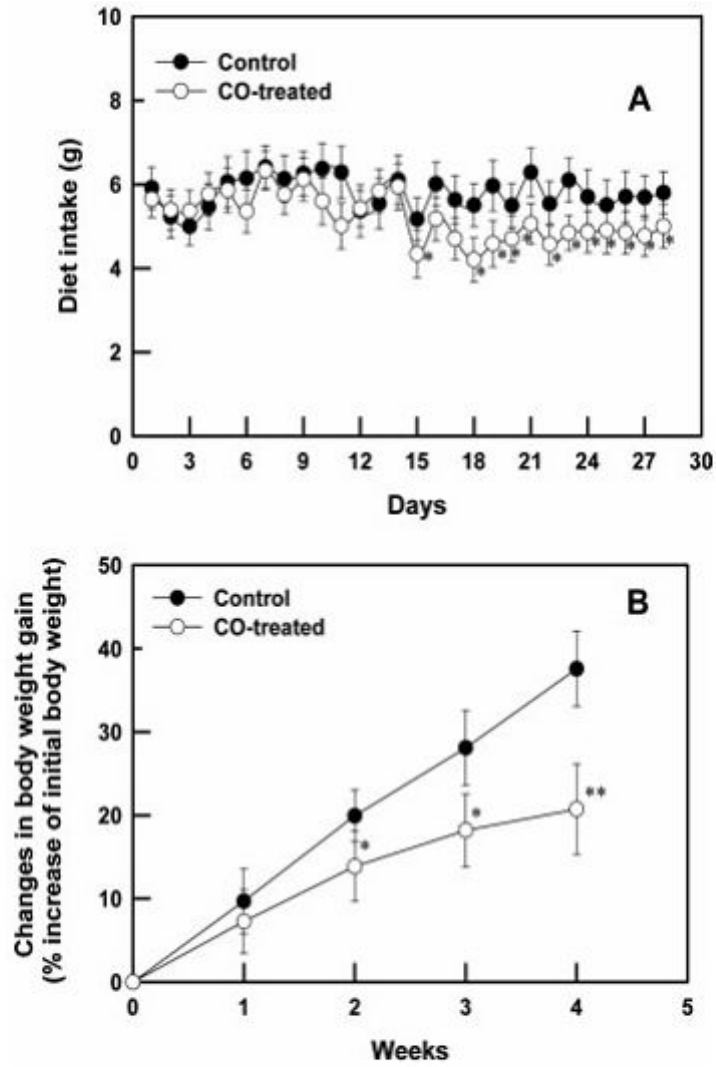


그림 10. *ob/ob* 마우스에서 식이량(A)과 체중(B)에서 키토올리고당(CO)의 효과

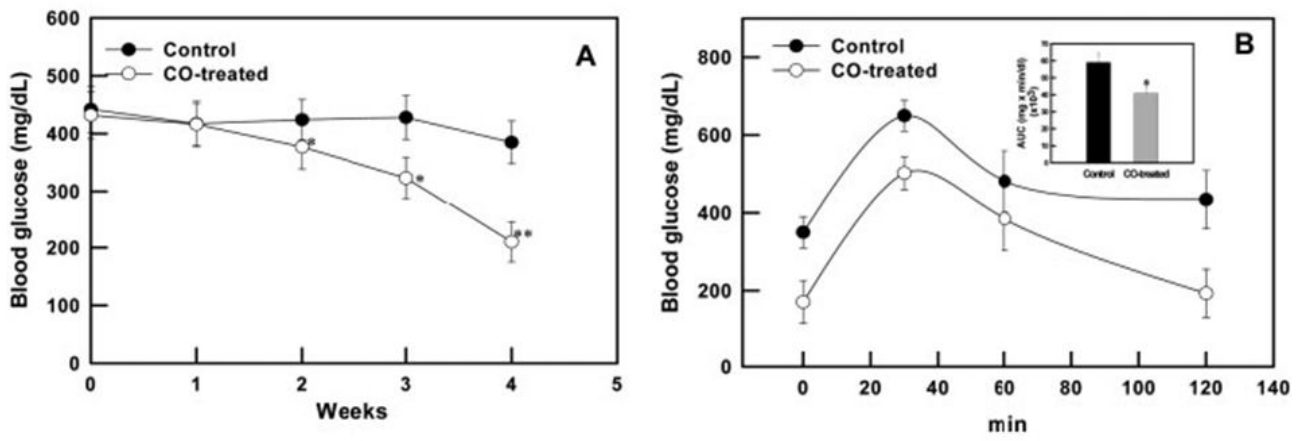


그림 11. 키토산 올리고당 처리가 *ob/ob* 마우스의 혈당강하 (A) 및 내당성실험 결과 (B)

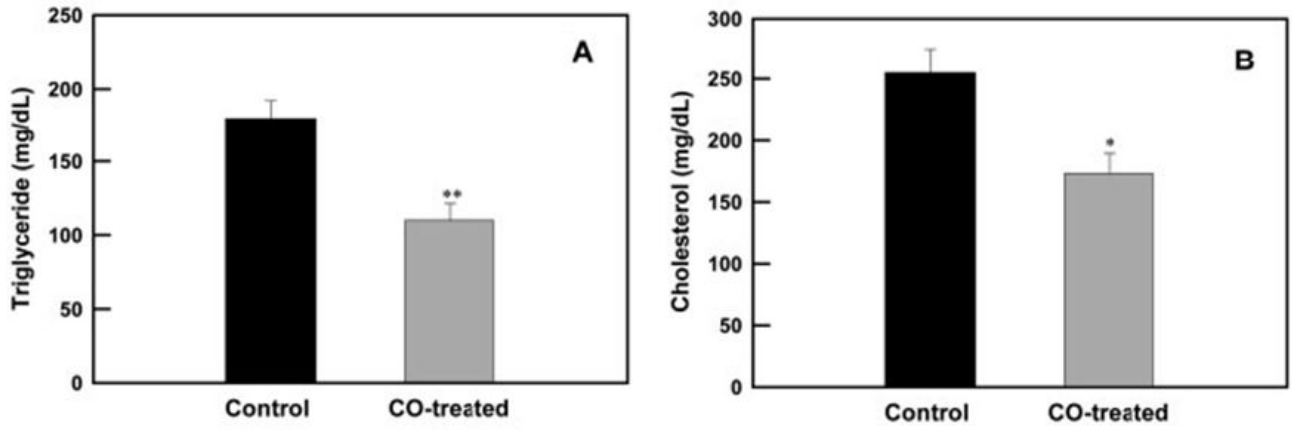


그림 12. 키토산 올리고당 처리가 *ob/ob* 마우스의 혈중 중성지방과 콜레스테롤에 미치는 영향

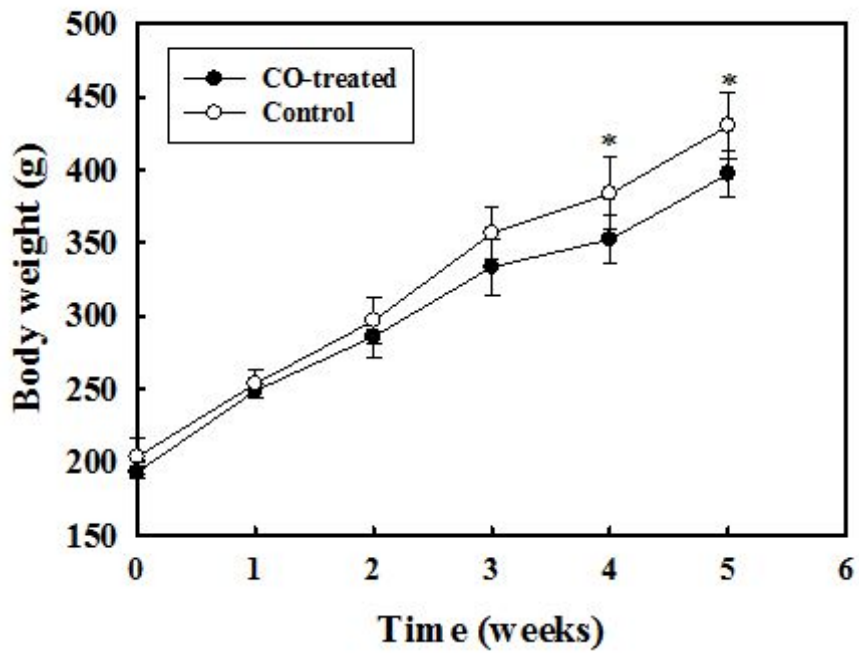


그림 13. 키토산 올리고당 처리가 SD rats에 미치는 영향.

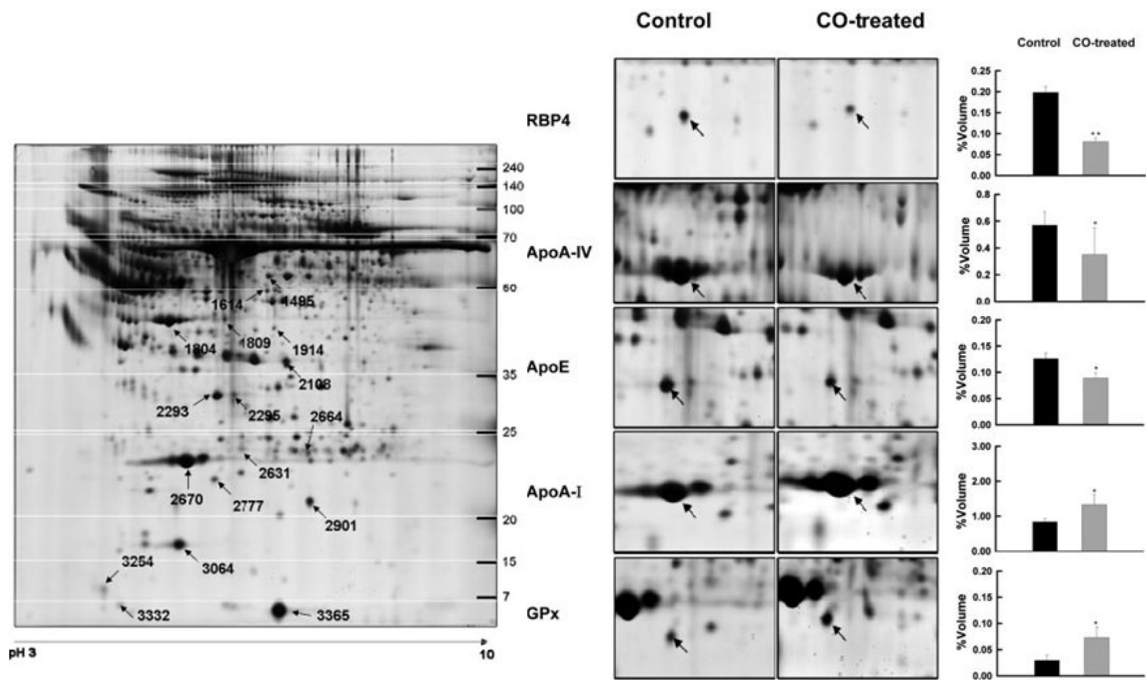


그림 14. Plasma의 2차원 전기영동 결과 (대표 이미지). 키토산 올리고당 처리 전후 발현차이가 큰 단백질을 번호와 함께 화살표로 표시하였음. 오른쪽 그림은 키토산 올리고당 처리전후 발현량 차이가 큰 단백질 (potential biomarkers in plasma).

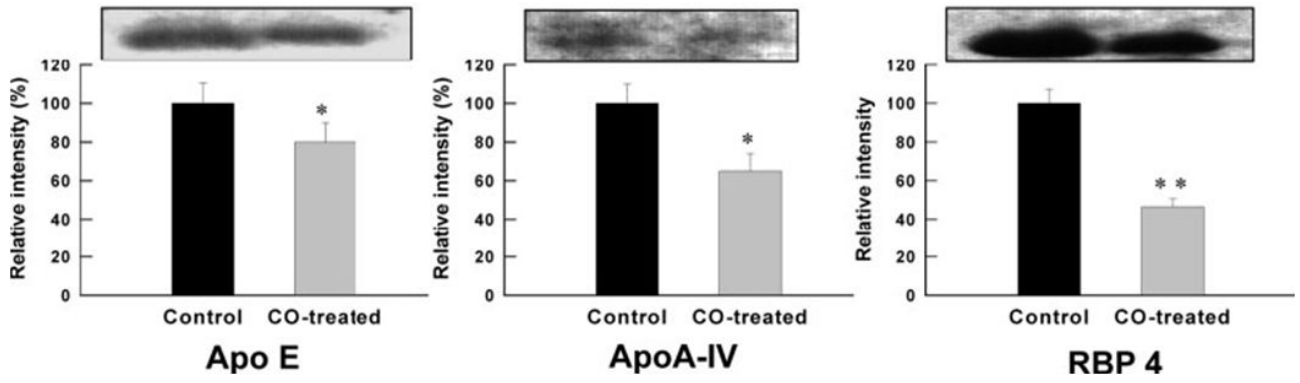


그림 15. Plasma의 2차원 전기영동 결과를 확인하기 위한 western blot 결과

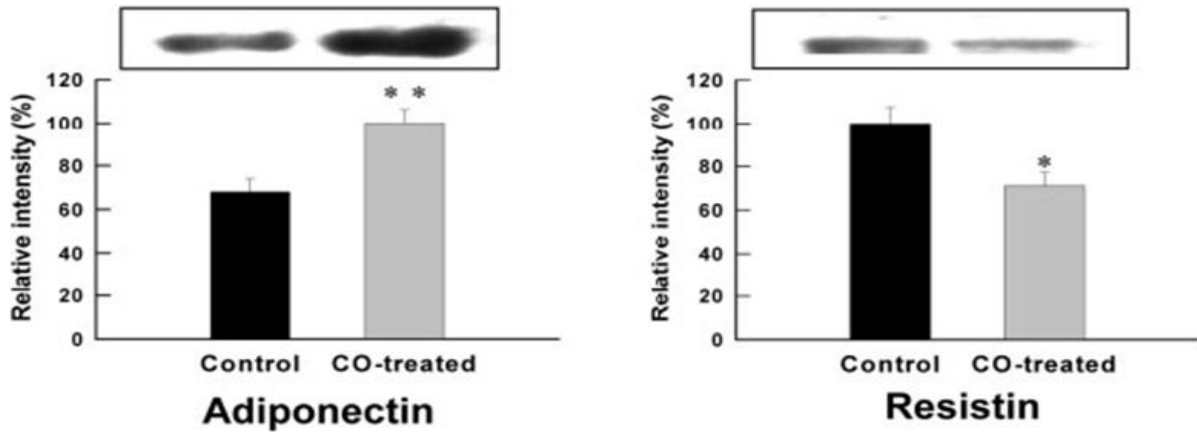


그림 16. 이차원전기영동 결과에 나타나지 않은 단백질로서 당뇨와 비만의 마커

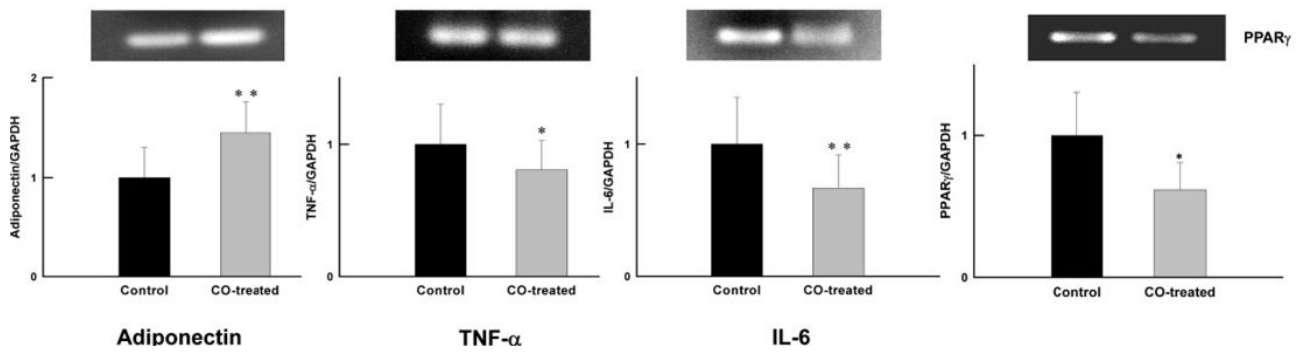


그림 17. 비만과 당뇨에 관련된 유전자를 RT-PCR로 확인한 결과

3. 2. 5. 단백질 분석을 통한 키토올리고당의 비만억제 작용기전 규명

가. 키토산 올리고당 처리 전후 바이오 마커 발굴

본 연구에서 키토산 올리고당을 처리하지 않은 그룹과 처리한 그룹의 백색 지방 조직에서 항비만에 관련 바이오 마커를 발굴하기 위해 실험을 실시하였다. 이차원 전기영동 결과(그림 18) 중 600여개의 Protein 중에 40개의 단백질이 각각 그룹간에 발현차이를 보였고, 그 중에 25개의 단백질을 동정하였다. 그 중에서 Karyopherin beta 1, indoleamine-pyrrole 2,3-dioxygenase, retinoic acid binding protein 발현차이를 최초로 보고함. 이차원 전기영동을 확인하기 위해 그림 19과 같이 western blot으로 확인 하였고, 비만과 관련된 유전자 마커를 RT-PCR로 백색지방세포내의 유전자 발현 정도를 확인한 결과 키토산 올리고당을 처리한 그룹에서 항비만 효과를 확인할 수 있었다 (그림 20, 21).

나. 키토산 올리고당의 작용 메카니즘 제안

이상의 결과를 종합해 보면, 키토산 올리고당을 비만마우스에 식이하였을 경우, 지방조직의 분화억제, 지질대사 개선 등을 통해 비만억제 효능이 있다는 사실을 규명하였다. 아래 그림 22에 결과를 종합적으로 도시하였다.

다. 키토산 올리고당의 비만억제 효능에 관여하는 바이오마커 발굴

고지방식이 비만쥐에서의 키토올리고당 처리시 체중 감소가 지방조직의 무게 감소와 연관이 있을 것이라는 예상하고, 두 종류의 지방조직 (갈색지방조직 BAT, 백색지방조직 WAT)을 적출하여 Proteome 을 8, 12% 겔을 이용한 이차원 전기영동 실험 방법으로 실시하여 (그림 23), 총 8종의 마커단백질을 찾을 수 있었는데, 이들은 지금까지 비만과 연관성이 보고된 적이 없는 새로운 마커단백질들이다 (그림 24). 갈색지방조직에서 **HICH**, 3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase; **TPI1**, Triosephosphate isomerase; **UCR**, Ubiquinol-cytochrome reductase; rGC31394와 같은 단백질들이 새롭게 발견되었고, 백색지방조직에서는 **NAPA**, N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein; **NIT1**, Nitrilase **ValRS**, Valyl-tRNA synthetase; **ECI**, dienoyl-CoA isomerase 등 발현차이가 심한 8종의 단백질을 찾을 수 있었다. 동정된 단백질의 기능과 항비만 효과에 대한 분자적 메카니즘을 설명하기 위해서는 추가연구가 요구된다.

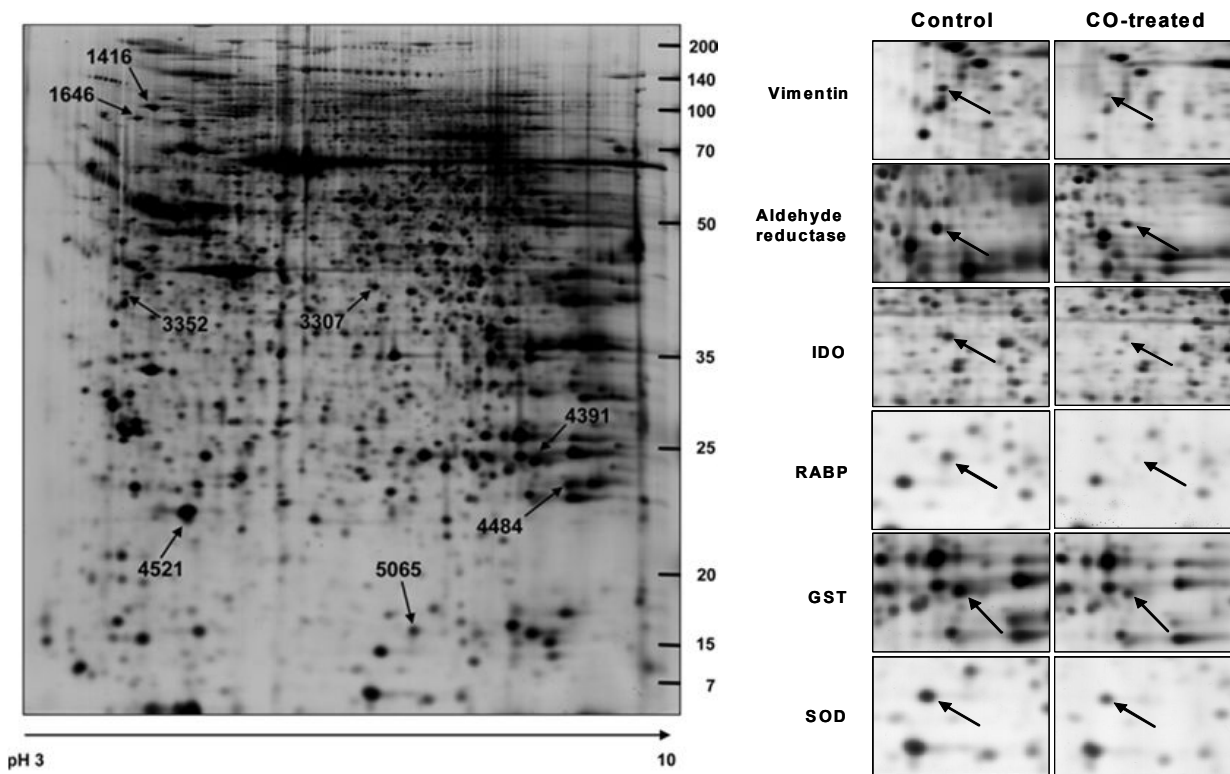


그림 18. 지방조직의 2차원 전기영동 결과 (대표 이미지). 키토산 올리고당 처리 전후 발현차이가 큰 단백질을 번호와 함께 화살표로 표시하였음.

[약어설명] **aP2**, adipocyte protein 2; **AQP7**, Aquaporin-7; **C/EBP**, CCAAT-enhancer-binding proteins; **GAPDH**, glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase; **GST**, glutathione S-transferase; **IDO**, Indoleamine-pyrrole 2,3-dioxygenase; **IL**, interleukin; **PPAR**, peroxisome proliferator-activated receptor; **RABP**, retinoic acid binding protein; **ROS**, reactive oxygen species; **SOD**, superoxide dismutase; **SREBP**, sterol regulatory element-binding protein ; **TNF**, tumor necrosis factor; **WAT**, white adipose tissue.

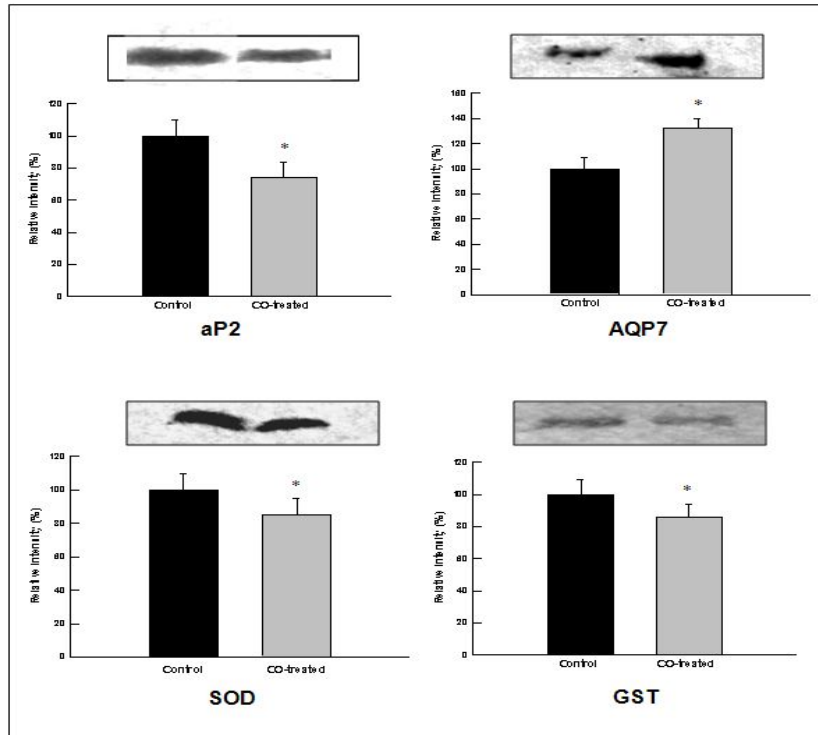


그림 19. 키토산 올리고당의 비만억제 메커니즘 제안을 위한 핵심단백질들의 발현차이 검증 (Western blot결과).

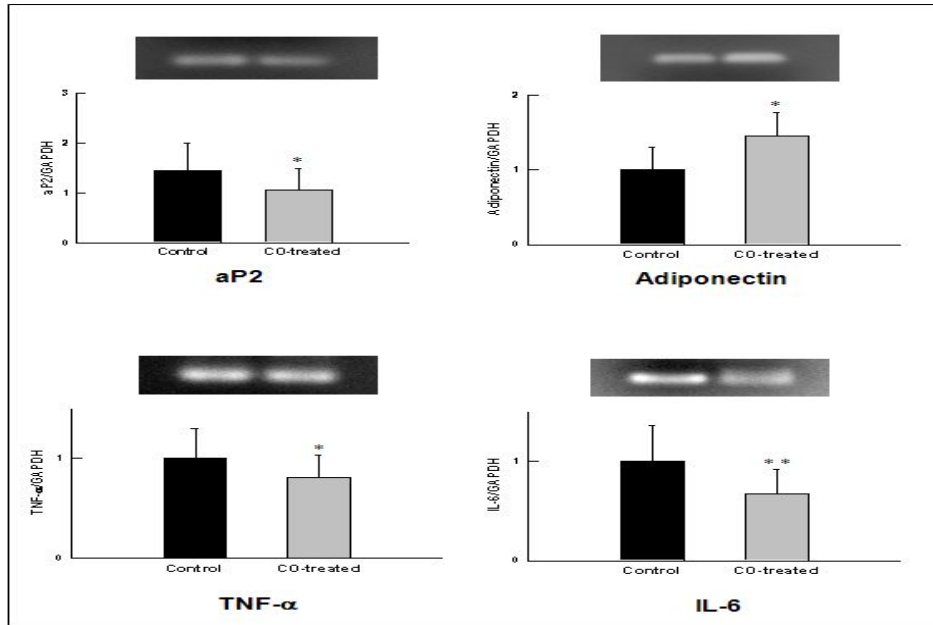


그림 20. 키토산 올리고당의 비만억제 메커니즘 제안을 위한 핵심유전자 (m-RNA)의 발현차이 검정 (Northern blot결과).

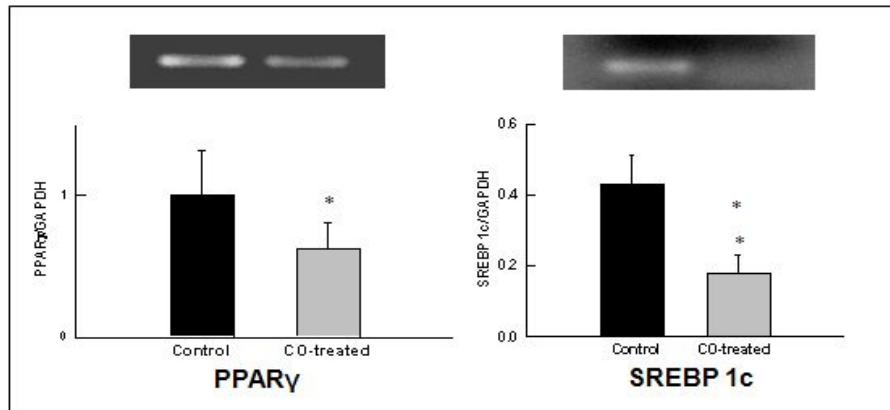


그림 21. 키토산 올리고당의 비만억제 메커니즘 제안을 위한 핵심유전자 (m-RNA)의 발현차이 검정 (Northern blot결과).

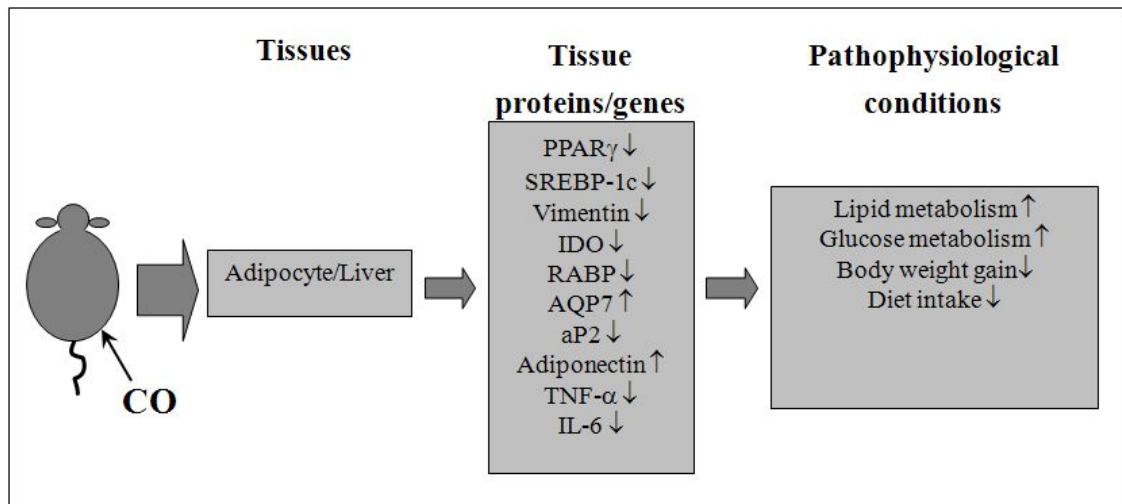


그림 22. *ob/ob* 마우스에서의 키토산올리고당의 비만억제 메커니즘

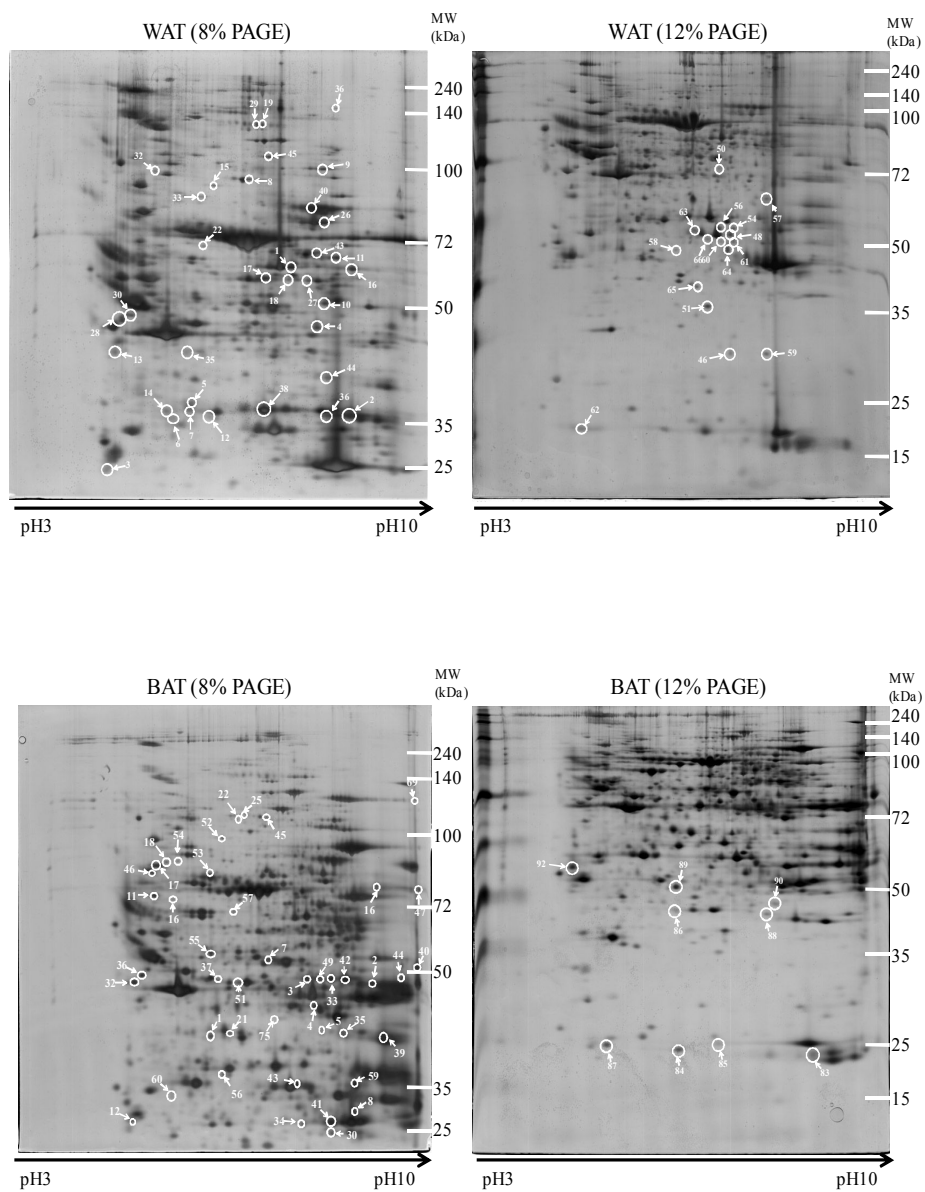


그림 23. 키토산 올리고당을 처리한 쥐의 갈색지방조직 (BAT) 과 백색지방조직 (WAT)의 대표적인 이차원전기영동 이미지

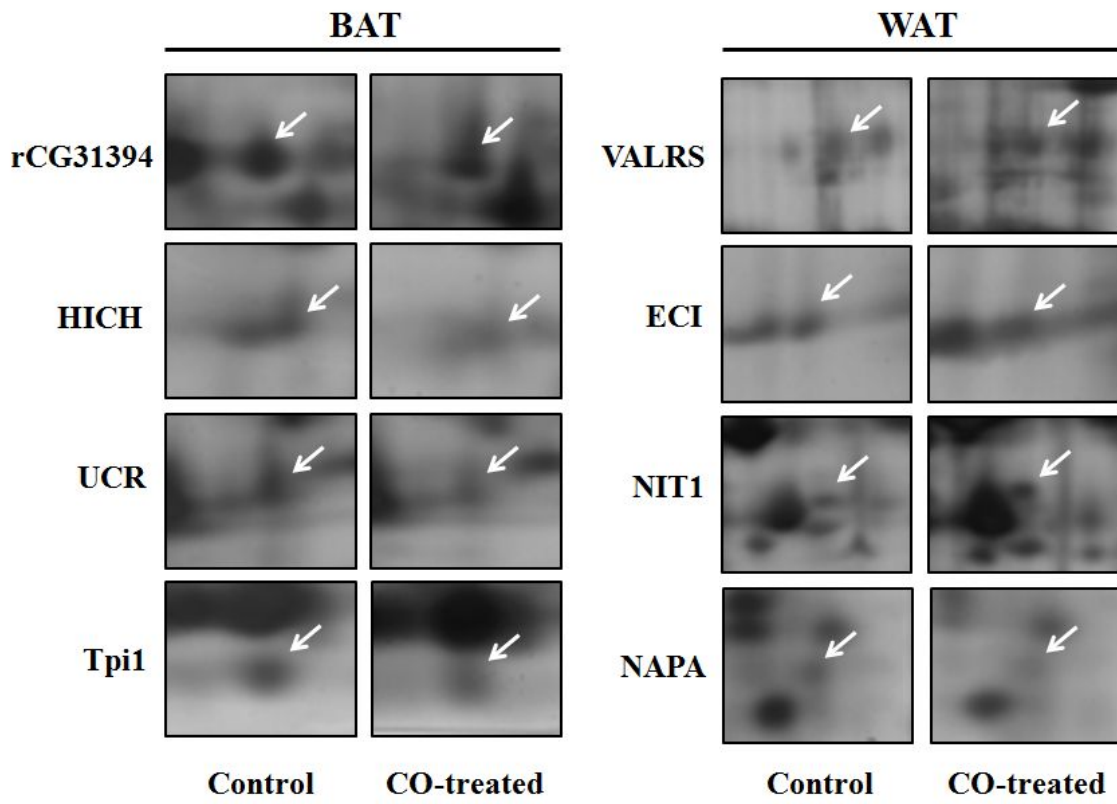


그림 24. 키토산 올리고당 처리 전 후 바이오 마커 발굴.

3. 2. 6. 키토올리고당의 항비만효과의 유효성 평가를 위한 인체적용시험 평가(자료별첨)

가. 피험자 등록

약 80명(한 군당 40명)을 등록할 예정이었고, 실제로 80명이 등록됨.

스크리닝: 87명, 스크리닝 탈락: 7명, 임상시험 등록: 80명(시험군 39명, 대조군 41명), 중도탈락: 8명(시험군 3명, 대조군 5명)

임상시험 완료: 72명(시험군 36명, 대조군 36명)

나. 유효성 평가 결과

(1) 일차 유효성 평가변수인 체지방률(%Fat)에 대하여 ITT set을 대상으로 한 분석에서 투여 8주 후 시험군은 $0.43 \pm 1.44\%$ 감소되었으며, 대조군은 $0.03 \pm 1.41\%$ 증가하였다. 두군 모두 군에 유의차 차이는 관찰되지 않았으며, 군간 유의한 차이도 관찰되지 않았다($p=0.0804$).

(2) 이차 유효성 평가변수에 대하여 ITT set을 대상으로 한 분석에서 투여 0주, 4주, 8주에 측정된 체중, 허리둘레, 엉덩이둘레, 허리/엉덩이둘레 비율, BMI는 모두 군간 유의한 차이가 관찰되지 않았다. 투여 0주, 8주에 측정된 체지방량, 제지방량, 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적, 내장지방/피하지방 면적비에 대한 분석에서 군간 유의한 차이를 보인 평가변수는 총 복부지방 면적이었다. 투여 8주 후 총 복부지방 면적은 시험군은 $13.57 \pm 48.67 \text{cm}^2$ 감소되었고, 대조군에서는 $2.92 \pm 24.03 \text{cm}^2$ 증가하는 결과가 나타나 통계적으로 군간 유의한 차이가 있음을 보였다($p=0.0342$). 투여 0주, 8주에 측정된 Adiponectin, Insulin, Leptin, IFN- γ 분석결과에서는 군간 유의한 차이가 관찰되지 않았다.

(3) 추가로 탐색할 목적을 위해, 투여8주 후 DEXA와 CT를 통해 측정된 유효성 평가변수에 대하여 BMI, 허리둘레, 내장지방/피하지방 면적비에 따른 추가분석을 실시하였다. BMI $30 \text{kg}/\text{m}^2$ 을 기준으로 분석한 결과 BMI $30 \text{kg}/\text{m}^2$ 미만 그룹에서는 군간 유의한 차이를 보인 평가변수가 관찰되지 않았으나 BMI $30 \text{kg}/\text{m}^2$ 이상 그룹에서는 체지방량, 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적에서 군간 유의한 차이가 나타났다. 복부비만의 기준인 허리둘레를 기준으로 분석한 결과에서는 허리둘레 남자 90cm, 여자 85cm 미만 그룹은 제지방량만이 군간 유의한 차이가 관찰되었고, 남자 90cm, 여자 85cm 이상 그룹에서는 체지방량, 총 복부지방 면적에서 두군간 유의한 차이가 관찰되었다. 피하지방형 복부지방과 내장지방형 복부지방을 구분짓는 복부의 내장지방/피하지방 면적비를 기준으로 분석한 결과에서는 내장지방/피하지방 면적비 0.4 미만 그룹(피하지방형 복부지방)은 피하지방 면적, 총 복부지방 면적에서 군간 유의한 차이가 나타났으며, 내장지방/피하지방 면적비 0.4 이상 그룹(내장지방형 복부지방)에서는 체지방률, 내장지방/피하지방 면적비에서 군간 유의한 차이를 보였다.

다. 안전성 평가 결과

(1) 임상시험용 건강기능식품을 투여한 이후 이상반응을 경험한 피험자는 시험군 7명(17.95%, 12건), 대조군 11명(26.83%, 12건)으로 보고되었다. 이중 중대한 이상반응은 대조군 1명(2.44%, 1건)으로 조사되었으며, 발생한 이상반응으로 인한 중도탈락은 대조군 1명(2.44%, 1건)으로 조사되었다. 두 군간의 이상반응 발현율, 중대한 이상반응 발현율, 발생한 이상반응으로 인한 중도탈락 발현율의 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 보고된 이상반응 중 임상시험용 건강기능

식품과의 관련성을 배제할 수 없는(related) 이상반응은 두군 모두 없는 것으로 보고되었다. 대조군에서 발생한 중대한 이상반응은 건강기능식품과의 관련성은 “명확히 관련이 없음”으로 시험자에 의해 판단되었다.

(2) 임상병리검사에 대한 분석에서 군내 및 군간에서 통계적으로 유의한 변화를 보인 항목들이 있었으나 정상치 범위 내에서의 변화였다. 검사결과 중 투여 후 비정상인 검사결과의 경우, 시험자에 의해 모두 “임상적 유의성이 없음(Non-clinical significance)”을 판단하였다

(3) 활력징후와 심전도 검사결과에서 정상/비정상으로 나누어 비교했을 때 군내 및 군간에서 유의한 차이를 나타내지 않았다.

라. 결론

과체중 혹은 비만인을 대상으로 키토올리고당의 유효성과 안전성을 평가하기 위한 임상시험의 결과는 다음과 같다.

- (1) 일차 유효성 평가분석 결과, 체지방률의 감소효과는 없었다.
- (2) 이차 유효성 평가분석 결과, 체중, BMI의 감소 효과는 부족하였으나 복부지방(내장지방+피하지방)의 감소효과를 확인할 수 있었다.
- (3) 추가로 탐색적 목적을 위해 실시한 BMI, 허리둘레, 내장지방/피하지방 면적비에 따른 추가 분석 결과에서 BMI $30\text{kg}/\text{m}^2$ 이상인 고도비만과 허리둘레 남녀 각각 90cm, 85cm 이상 및 내장지방형 복부비만에서 대조군과 대비하여 유의한 지방감소 효과를 보였다.
- (4) 안전성면에서는 유의할만한 사항은 없는 것으로 판단되었다.
- (5) 향후 장기적인 체지방, 복부지방 감소효과에 대한 추가적인 연구가 기대된다.

3. 2. 7. 건강기능식품 개별인정 신청 및 제품화

임상시험결과의 최종 IRB 승인이 2010년 10월 말경에 났기 때문에 현 보고서 작성기간에 개별 인정 신청과 관련해 대행업체와의 미팅등을 전개하고 있으므로 개별인정 신청과 제품화는 본 과제의 최종보고서가 제출된 후에 진행될 예정입니다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 목표달성도

| 연구목표 | 결과 | 목표 달성도 (100%) | 비 고 |
|--|---|------------------|-----|
| <p>각종 분리막을 이용하여 분자량별 키토산올리고당 최적조건 확립</p> | <p>한외여과장치(Millipore, High-Output stirred cell membrane)에 한외여과막을 장치한 후 키토산 올리고당 용액 10BX, 500ml을 넣고 한외여과장치에 질소를 토출 (토출 압력; 3.5 kgf/cm²)시켜 초기양의 1/5이 되도록 농축시킨 후 다시 정제수를 넣어 500ml이 되도록 하여 다시 동일한 과정으로 농축시켰으며, 이 과정을 3회 반복한 후 일정한 통과액 일정한 BX를 유지할 때 중단후 이 용액을 다시 5μm membrnae filter를 이용하여 분리과정에서 발생한 먼지 등의 불순물을 제거하고 -40 °C에서 24 시간 동안 동결건조를 통하여 각각의 분자량별 키토산올리고당을 제조.</p> | 100 | |
| <p>분리된 분자량별 키토산올리고당의 분자량 분포 확인</p> | <p>분자량(Mn) 결과는 1KD이하는 910Da, 1-3KDa는 2,560Da, 3-5KDa는 3,380Da 및 5KDa 이상은 8,190Da의 분자량을 갖는 것을 확인.</p> | 100 | |
| <p>고지방 식이 쥐와 비만마우스를 이용한 키토산 올리고당의 비만억제활성 확인</p> | <p>키토산 올리고당 처리군에서 식이량 13%, 체중증가 12%, 체지방 29% 감소효과로 지방세포의 지질대사 개선효과 확인</p> | 100 | |
| <p>실험동물의 주요 조직별 단백질 분석</p> | <ul style="list-style-type: none"> - 지방조직 단백질 분석완료. - 지질대사 개선효과 관련 바이오마커 8종 발견 | 100 | |
| <p>단백체 분석을 통한 키토산올리고당의 비만억제 작용기전 규명</p> | <p>키토산 올리고당의 비만억제 메커니즘 제안</p> | 100 | |
| <p>과체중 혹은 비만을 대상으로 키토올리고당 섭취 후 체중 및 체지방, 복부지방 감소와 관련된 유효성 평가</p> | <ul style="list-style-type: none"> - 일차 유효성 평가분석 결과, 체지방률의 감소효과는 없음. - 이차 유효성 평가분석 결과, 체중 BMI의 감소 효과는 부족하였으나 복부지방(내장지방 외 하지방)의 감소효과를 확인. - 추가로 탐색적 목적을 위해 실시한 BMI, 허리둘레, 내장지방 외 하지방 면적비에 따른 추가분석 결과에서 | 100 | |

| | | | |
|-------------------|--|----|--|
| | BMI 30kg/m ² 이상인 고도비만과 허리둘레 남녀 각각 90cm, 85cm 이상 및 내장지방형 복부비만에서 대조군과 대비하여 유의한 지방감소 효과를 보임. | | |
| 건강기능식품 개별인정 및 제품화 | 임상시험결과의 최종 IRB 승인이 2010년 10월 말경에 났기 때문에 현 보고서 작성기간에 개별인정 신청과 관련해 대행업체와의 미팅등을 전개하고 있으므로 개별인정 신청과 제품화는 본 과제의 최종보고서가 제출된 후에 진행될 예정. | 50 | |

제 2 절 평가착안점에 입각한 달성도

| 평가항목 | 결과 | 달성도 (%) | 비 고 |
|----------------------|--|---------|-----|
| 국제학술지 논문 2편 투고 | - Plasma proteome analysis for anti-obesity and anti-diabetic potentials of chitosan oligosaccharide in <i>ob/ob</i> mice, Proteomics , 9(8), pp2149~2162, 2009 - Proteomic analysis in adipose tissue of <i>ob/ob</i> mice in response to chitosan oligosaccharides treatment, Biotechnology and Bioprocess Engineering 15(4), pp559~571, 2010 | 100 | |
| 국내 특허 출원 1건 | 키토산올리고당을 활성성분으로 포함하는 항비만용 조성물, (출원번호 10-2009-0101785) | 100 | |
| 비만억제 마커 단백질 5종 이상 발굴 | 지질대사 개선효과 관련 바이오마커 8종 발견 | 100 | |
| 개별인정 신청 및 제품화 | 임상시험결과의 최종 IRB 승인이 2010년 10월 말경에 났기 때문에 현 보고서 작성기간에 개별인정 신청과 관련해 대행업체와의 미팅등을 전개하고 있으므로 개별인정 신청과 제품화는 본 과제의 최종보고서가 제출된 후에 진행될 예정. | 50 | |

제 3 절 관련분야의 기여도

기존의 키토올리고당은 넓은 범위의 분자량을 가짐으로써 특정분자량의 효과를 검증하기에는 한계가 있었으나 이번 한외여과막을 이용하여 분자량별로 분리함으로써 특정 분자량이 가지는 생리기능성을 확인할 수 있는 계기가 되었으며, 임상시험결과 BMI 30kg/m² 이상인 고도비만과 허리둘레 남녀 각각 90cm, 85cm 이상 및 내장지방형 복부비만에서 대조군과 대비하여 유의한 지방감소 효과를 확인함으로써 예전 건강보조식품법 적용 시기에 키토올리고당의 기능성표기 “항균효과”, “콜레스테롤 개선”, “면역기능 증강”, 등으로 표현하여 시장이 활성화 되었으나, 건강기능성 식품법이 발효됨으로써 “콜레스테롤 개선에 효과가 있음” 한 개만 기능성표기를 할 수 있게 되어 키토올리고당 시장이 많이 위축되어 시장이 축소되었으나 이번 연구결과를 토대로 개별인정 신청을 하여 기능성표기 추가 가능하리라 예상됨으로 향후 키토올리고당 시장 확대에 크게 기여할 것으로 판단된다.

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제 1 절 연구개발 성과

1. 국제학술지 논문 2편 투고

가. Plasma proteome analysis for anti-obesity and anti-diabetic potentials of chitosan oligosaccharide in *ob/ob* mice, **Proteomics**, 9(8), pp2149~2162, 2009.

나. Proteomic analysis in adipose tissue of *ob/ob* mice in response to chitosan oligosaccharides treatment, **Biotechnology and Bioprocess Engineering** 15(4), pp559~571, 2010

2. 국내 특허 출원 1건

키토산올리고당을 활성성분으로 포함하는 항비만용 조성물(출원번호 10-2009-0101785)

3. 과체중 혹은 비만인에서 체중 및 체지방 감량에 미치는 키토올리고당의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 8주, 이주맹검, 무작위배정, 위약대조 임상시험 완료(키토올리고당으로 비만관련 임상시험 최초 시행)

제 2 절 성과활용 계획

1. 신뢰도 높은 비만 억제 제품의 개발

세계적인 웰빙에 대한 관심의 고조로 현재 관련 시장이 급속하게 팽창중에 있으며 특히 다이어트와 관련한 시장은 해마다 10%이상의 높은 증가율을 보이고 있다. 국내의 경우도 식생활의 서구화로 인해 전 연령층에서 비만인구가 기하급수적으로 늘어 사회 문제화되고 있으며 많은 비만인들이 실질적인 비만 해소의 방법으로 다이어트 식품을 선택하고 있는 실정에 있다. 현재 국내의 기능성 식품 시장에서 다이어트 관련 건강기능식품은 해마다 비중이 높아지고 있으나 소비자들의 인식율은 그리 높지 않다. 이는 체계적인 연구에 의해 비만의 근본 원인을 해소하는 제품이 아닌 일시적인 유행에 따른 제품 개발이 대부분이다보니 소비자들이 믿고 선택할 수 있는 제품은 시장에서 거의 전무한 상태라고 할 수 있다. 따라서 당 과제의 결과물인 키토

산올리고당의 비만 억제활성의 분자수준의 규명과 비만 억제 임상실험은 소비자들의 제품에 대한 신뢰도를 한차원 높여 믿고 섭취할 수 있는 제품으로 개발이 가능할 것이다.

2. 바이오 관련 업계에 이상적인 성공 모델 제시

현재 많은 바이오 관련 업체들이 건강기능식품 개발을 목표로 연구 진행중에 있으나 원료의 생산 및 개별 인증 획득, 제품화 등의 모든 단계의 연구를 진행하는데 필요한 많은 시간과 연구비 등의 문제로 실질적인 매출 등에 많은 애로를 겪고 있다. 이에 당사는 중소 바이오 업체에 기초연구에서 제품개발, 제품 출시 및 매출 전 단계에 성공적인 모델을 제시코자 한다.

3. 건강기능식품 개별인정 획득과 자체 제품 개발

당사는 키토산올리고당 전문회사로서 원료와 완제를 생산, 판매하고 있으며, 본 연구과제 결과를 바탕으로 건강기능식품 개별인정을 신청하여 기존 기능성표기 “콜레스테롤 개선에 도움을 줌”에 추가로 “체지방 감소에 도움을 줄수 있음”(내장지방형 복부비만 지방감소효과)의 기능성을 인정받아 침체된 키토산올리고당 시장을 확대하고, 자사의 매출신장에 기여하고자 한다.

평가의견을 반영하면 건강기능식품 소재 개별인정은 비교임상 결과를 요구하는 것이 아니라 소재의 기능성효과 임상을 요구하는 것이며, 기존 시장에서 판매되고 있는 소재(CLA, 캄보지아 추출물)와의 비교임상은 현실적으로 임상비용등의 문제로 할 수 없는 사항임.

또한 일일섭취량이 3.75g인 것은 키토산올리고당 함량 50%인 원료를 이야기하는 것이며, 키토산올리고당 함량 80%인 것은 2.35g만 섭취하면 되기 때문에 제형에는 큰 문제가 없다고 판단됨. 최종평가 발표때 사용한 FACOS-M이라는 명칭은 연구소재를 기반으로 제품화하고자하는 소재의 제품코드로 명명한 것임.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

1. 키토산이 2010년도 10대 유망 다이어트 소재로 선정

(DietSpotlight (<http://www.dietspotlight.com/avesil-review/>))

2. 최근 중국에서도 키토산 올리고당 대량생산 회사 등장 (Hangzhou New Asia International Co., Ltd, Guangzhou Zixiutang Biotechnology Co., Ltd. 등).

3. 키토산의 이용성 증가를 위한 비타민제제와 함께 상품화하여 판매하는 추세.

(<http://www.seacoast.com/topic.php?health=diet+chitosan>).

4. 키토산 및 키토산올리고당 관련 연구논문 발표수 추이 (ScienceDirect 검색결과).

| 년도 | 논문수 |
|------|-------|
| 2008 | 2,603 |
| 2009 | 3,195 |
| 2010 | 4,514 |

Keyword: chitosan or chitosan oligosaccharides (<http://www.sciencedirect.com>).

제 7 장 참고문헌

- Regulation of adipocyte development. *Annu. Rev. Nutr.* 14, 99-129(1994).
- Decreasing effect of chitosan on the apparent fat digestibility by rats fed on a high-fat. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry.* 58(9), 1613-1616(1994).
- Preparation of chitin and chitosan oligosaccharides. *한국 키틴키토산 연구회지* 3(2), 140-155(1998).
- Separation and characterization of water-soluble oligomers from the reaction mixture of chitosan treated with chitosanolytic enzymes. *한국 키틴키토산 연구회지* 3(3), 228-232(1998).
- Effect of chitosan of different molecular weights on lipid metabolism in rats. *Korean J. Nutrition.* 31, 143-152(1998).
- Targeted disruption of the adipocyte lipid-binding protein(aP2 protein) gene impairs fat cell lipolysis and increases cellular fatty acid levels. *J. Lipid Res.* 40, 967-972(1999).
- A Comparative Study of Chitooligosaccharide Production from Chitosan. *J. Chitin Chitosan.* 4(2), 96-101(1999).
- Hydrolytic Depolymerization of Chitosan using Organic Acids to Oligo-chitosaccharides. *J. Chitin Chitosan.* 4(2), 90-95(1999).
- Synergistic effect of arachidonic acid and cyclic AMP on glucose transport in 3T3-L1 adipocytes. *Cell Signal.* 11, 53-58(1999).
- Reduction in fat storage during chitin-chitosan treatment in mice fed a high-fat diet. *Int. J. Obesity.* 23, 174-179(1999).
- Continuous production of chitooligosaccharides using a dual reactor system. *Process Biochemistry.* 35, 623-632(2000).
- Comparison of Colorimetry and HPLC Method for Quantitative Analysis of Chitooligosaccharide. *Korean J. Food DCI. TECHNOL.* 32(4), 788-791(2000).
- Adipocyte differentiation and gene expression. *J. Nutr.* 130, 3122-3126(2000).
- Comparative evaluation of fecal fat excretion induced by orlistat and chitosan. *Obesity Res.* 9, 364-367(2001).
- Biochemical and physiological characteristics of fat cell. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 47, 1-12(2001).
- Chitosan: Some pharmaceutical and biological aspects -- an update. *J. Pharm. Pharmacol.* 53, 1047-1067(2001).
- Thermodynamic Characterization of α -, β -, and γ -Chitin. *J. Chitin Chitosan.* 7(3), 154-160(2002).
- Effect on metformin on adipose tissue resistin expression in db/db mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 298, 345-349(2002).
- Expression profiling during adipocyte differentiation of 3T3-L1 fibroblasts. *Gene.* 299, 95-100(2002).
- Chitosan supplementation and fecal fat excretion in men. *Obesity Res.* 11, 683-688(2003).
- Effect of Chitosan oligosaccharides on cholesterol Level and Antioxidant Enzyme Activities

in Hypercholesterolemic Rat. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr* 34(1), 36-41(2005).

Effects of Chitosan on Cholesterol Level and Hepatic Morphology in Ethanol-treated Rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34(6), 814-820(2005).

Chitosan supplementation and fat absorption in men and women. *J Am Diet Assoc.* 105(1), 72-77(2005).

Optimization of chitosan-alginate encapsulation process using pig hepatocytes for development of bioartificial liver. *J. Microbiol. Biotechnol.* 15, 7-13(2005).

Regulation of adipocyte differentiation and function by polyunsaturated fatty acids. *Biochem. Biophys. Acta.* 1740, 266-286(2005).

Adipocyte/macrophage fatty acid binding proteins control integrated metabolic responses in obesity and diabetes. *Cell Metabol.* 1, 107-119(2005).

Evaluating efficacy of a chitosan product using a double-blinded, placebo-controlled protocol. *J. Am Coll Nutr.* 25(5), 389-394(2006).

Antiprotozoal activity of deacetylated chitosan oligosaccharide(dp 2-8) on *Trichomonas vaginalis*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 16, 1984-1989(2006).

Low molecular weight chitosan inhibits obesity induced by feeding a high-fat diet long-term in mice. *J. Pharm. Pharmacol.* 58(2), 201-207(2006).

Low molecular weight chitosan inhibits obesity induced by feeding a high-fat diet long-term in mice. *J. Pharm. Pharmacol.* 58, 201-207(2006).

Effects of forced uncoupling protein 1 expression in 3T3-L1 cells on mitochondrial function and lipid metabolism. *J. Lipid Res.* 48, 826-836(2007).

Chitosan oligosaccharides inhibit adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes. *J Micobiol Biotechnol.* 18(1), 80-87(2008).

Proteomic analysis for inhibitory effect of chitosan oligosaccharides on 3T3-L1 adipocyte differentiation. *Proteomics.* 8(3), 569-581(2008).

Plasma proteome analysis for anti-obesity and anti-diabetic potentials of chitosan oligosaccharides in *ob/ob* mice. *Proteomics.* 9(8), 2149-2162(2009).

주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 농림수산식품기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 농림수산식품기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.

임상시험 결과보고서

과체중 혹은 비만인에서 체중 및 체지방 감량에 미치는
키토올리고당의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한
8주, 이중맹검, 무작위배정, 위약대조 임상시험

| | |
|--------------------|---------------------------------|
| 시험식품 | 키토올리고당 |
| 임상시험 의뢰자 | (주)키토라이프 대표이사 정특래 |
| 임상시험 시작일 | 2009.10.08 (첫 피험자 스크리닝 일) |
| 임상시험 종료일 | 2010.02.19 (마지막 피험자 마지막 방문일) |
| 임상시험책임자 성명 및 직책 | 가톨릭대학교 서울성모병원 가정의학과 김경수 교수 |
| 임상시험 결과보고서 제출일 | 2010.10.11 |

본 임상시험은 국제 임상시험관리기준(ICH GCP)에 준하여 시행되었습니다.
본 보고서에 포함된 모든 정보는 (주)키토라이프의 서면 동의 없이 공개될 수 없습니다.

(주)키토라이프

1. 임상시험 결과보고서 요약

| | |
|-------------|---|
| 시험식품명 | 키토올리고당 |
| 임상시험 제목 | 과체중 혹은 비만인에서 체중 및 체지방 감량에 미치는 키토올리고당의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 8주, 이중맹검, 무작위배정, 위약대조 임상 시험 A 8week, double-blinded, randomized, placebo-controlled clinical trial of chito oligosaccharide for a evaluating efficacy and safety in reducing body weight of overweight subjects |
| 임상시험 계획서 번호 | Kitto oligo_Kittolife (Version No. 2.0) |
| 임상시험 의뢰자 | (주)키토라이프 대표이사 정특래 경기도 평택시 칠괴동 576-1 |
| 임상시험 실시기관 | 가톨릭대학교 서울성모병원 |
| 임상시험 책임자 | 가톨릭대학교 서울성모병원 가정의학과 김경수 교수 |
| 공동연구자 | 숙명여자대학교 생활과학대학 식품영양학과 성미경 교수 |
| 시험기간 | 임상시험 시작일: 2009.10.08 임상시험 종료일: 2010.02.19 |
| 단계 및 디자인 | 단 계 : 기타 (건강기능식품) 디자인 : 8주간, 이중맹검, 무작위배정, 위약대조 |
| 시험대상 | 신체 건강한 과체중 혹은 비만인자 |
| 임상시험 목적 | 본 임상시험은 과체중 혹은 비만인을 대상으로 키토올리고당을 투여했을 때 체중 및 체지방, 복부지방 감소와 관련한 유효성 평가변수를 통해 대조군 (Placebo)과 비교하여 우월한 유효성을 보임을 입증하는 것이다. |

| <p>시험방법</p> | <p>본 임상시험은 이중맹검, 무작위배정, 위약대조 시험으로 디자인 되었다. 자의에 의해 임상시험 동의서에 서명한 피험자가 본 임상시험에 등록되면 방문 평가를 통해 선정기준/제외기준 적합 여부를 판정한 뒤, 등록된 순서에 따라 Computer generated randomization schedule을 이용하여 시험군 또는 대조군 중 한 군으로 무작위배정 되었다.</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------------|---|--------------|-------------|--------------|-----|-------------|----|----|----|------------------------|----|----|----|--|-------------|--------------|-----|------------|----|----|----|---------|----|----|----|--------|----|----|----|
| <p>피험자 수</p> | <p>최종 평가례수는 80명(한 군당 40명)을 분석하기로 계획하였으며, Drop-out(18%)을 고려하여 피험자 수는 총 80명(한 군당 40명)을 등록하기로 계획하였다.</p> <ul style="list-style-type: none"> 계획된 피험자 수: <table border="1" data-bbox="507 1339 1394 1547"> <thead> <tr> <th></th> <th>시험군(키토올리고당)</th> <th>대조군(Placebo)</th> <th>합 계</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>최종평가례수 (PP)</td> <td>33</td> <td>33</td> <td>66</td> </tr> <tr> <td>Drop-out (18%) 고려예수</td> <td>40</td> <td>40</td> <td>80</td> </tr> </tbody> </table> <ul style="list-style-type: none"> 결과분석에 포함된 피험자 수: <table border="1" data-bbox="507 1644 1394 1868"> <thead> <tr> <th></th> <th>시험군(키토올리고당)</th> <th>대조군(Placebo)</th> <th>합 계</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Safety set</td> <td>39</td> <td>41</td> <td>80</td> </tr> <tr> <td>ITT set</td> <td>37</td> <td>40</td> <td>77</td> </tr> <tr> <td>PP set</td> <td>36</td> <td>36</td> <td>72</td> </tr> </tbody> </table> | | 시험군(키토올리고당) | 대조군(Placebo) | 합 계 | 최종평가례수 (PP) | 33 | 33 | 66 | Drop-out (18%) 고려예수 | 40 | 40 | 80 | | 시험군(키토올리고당) | 대조군(Placebo) | 합 계 | Safety set | 39 | 41 | 80 | ITT set | 37 | 40 | 77 | PP set | 36 | 36 | 72 |
| | 시험군(키토올리고당) | 대조군(Placebo) | 합 계 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 최종평가례수 (PP) | 33 | 33 | 66 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Drop-out (18%) 고려예수 | 40 | 40 | 80 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 시험군(키토올리고당) | 대조군(Placebo) | 합 계 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Safety set | 39 | 41 | 80 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ITT set | 37 | 40 | 77 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| PP set | 36 | 36 | 72 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

| | |
|-----------------|--|
| <p>선정기준</p> | <ul style="list-style-type: none"> ① 본 연구의 참여를 동의하고, 서면 동의서에 서명한 자 ② 만 20세 이상 65세 이하의 성인 남녀 ③ 체질량지수(BMI) 25kg/m² 이상인 자 |
| <p>제외기준</p> | <ul style="list-style-type: none"> ① 혈압이 140/90mmHg 이상인 조절되지 않는 고혈압 환자 ② 공복 혈당이 126mg/dl 이상이거나 무작위 혈당이 200mg/dl 이상인 경우, 또는 경구 혈당강하제 또는 인슐린을 복용하고 있는 당뇨병 환자 ③ 심장, 신장, 간, 갑상선, 뇌혈관 질환이 있는 경우 ④ 당뇨병이나 위장관계 질환, 통풍, 천식이 있는 경우 ⑤ 최근 5년 이내 암의 진단 및 치료를 받은 적이 있는 경우 ⑥ 우울증, 정신분열증, 알코올중독증, 약물중독 등의 정신질환자 ⑦ 체중에 영향을 미치는 비만치료제(흡수저해제 및 항우울제, 식욕억제제 등), 이뇨제, 피임약, 스테로이드제제, 여성호르몬제를 복용하고 있는 경우 ⑧ 건강기능식품으로 키토산 또는 키토올리고당을 복용하고 있는 경우 ⑨ 시험시작일로부터 3개월 내에 상업적인 비만프로그램 또는 다이어트 식품을 복용한 경우 ⑩ 심한 근골격계 질환으로 운동을 할 수 없을 것으로 판단되는 경우 ⑪ 계, 새우 등 갑각류에 알레르기가 있는 자 ⑫ 지용성 비타민과 미네랄을 흡수하는데 이상이 있는 사람 ⑬ 임신부 및 수유부 ⑭ 시험자가 본 임상시험에 부적절하다고 판단하는 사람 |
| <p>시험식품</p> | <p>키토올리고당</p> |
| <p>대조식품</p> | <p>옥수수전분</p> |
| <p>시험군 복용방법</p> | <p>1일 3회, 1회 5캡셀을 물과 함께 복용</p> |
| <p>대조군 복용방법</p> | <p>시험군과 동일한 방법으로 복용</p> |

| | |
|---------------|--|
| <p>유효성 평가</p> | <ul style="list-style-type: none"> • 1차 유효성 평가 변수: <ul style="list-style-type: none"> - DEXA를 통한 체지방률(%Fat) • 2차 유효성 평가 변수: <ul style="list-style-type: none"> - 체중 - 허리둘레, 엉덩이둘레, 허리/엉덩이 둘레비 - 체질량지수(BMI) - DEXA를 통한 체지방량, 제지방량 - CT를 통한 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적, 내장/피하지방 면적비 - Clinical lab: Adiponectin, Insulin, Leptin, IL-2, IL-4, IFN-γ |
| <p>안전성 평가</p> | <ul style="list-style-type: none"> ① 이상반응 여부 ② 임상병리검사(혈액학적검사, 혈액화학적 검사, 뇨 검사) ③ 활력징후(맥박, 혈압) ④ 심전도 검사 |
| <p>통계분석방법</p> | <ul style="list-style-type: none"> • 유효성 평가 <p>1차 유효성 평가변수와 2차 유효성 평가변수는 각 군내에서 투여 전후의 차이는 paired t-test, 투여 군간의 차이는 독립 이 표본 t-test로 비교 분석하였다. 또한 식이섭취량과 운동칼로리소모량으로 보정하여 투여 군간의 차이를 공분산분석(ANCOVA)을 통하여 비교 분석하였다.</p> • 안전성 평가 <ul style="list-style-type: none"> - 이상반응: 시험기간 동안 보고된 피험자의 모든 이상반응을 도표화한 후 발생률을 산출하였다. 각 군간 이상반응 여부에 대하여 비율을 계산하고 투여군 별 이상반응 발생률의 차이는 Chi-square test 또는 Fisher's Exact test를 이용하여 비교하였다. 또한 이상반응 발현례수를 도표화하였으며 임상시험용 건강기능식품과의 관련성에 대하여 군별 사례를 도표화하고 독립성검정을 실시하였다. - 임상병리검사, 활력징후, 심전도 검사: 혈액학적 및 혈액화학적 검사, 활력징후 검사치와 같이 연속형자료는 군내 비교는 paired t-test, 군간 비교는 독립 이 표본 t-test를 이용하여 분석하였다. 뇨 검사의 일부 측정 변수와 심전도 검사 결과는 정상과 비정상으로 나누어 McNemar 검정을 실시하였다. |

| | |
|-----------|--|
| <p>결과</p> | <ul style="list-style-type: none"> • 유효성 결과 - 일차 유효성 평가변수인 체지방률(%Fat)에 대하여 ITT set을 대상으로 한 분석에서 투여 8주 후 시험군은 0.43 ± 1.44 % 감소되었으며, 대조군은 0.03 ± 1.41 % 증가하였다. 두군 모두 군내 유의한 차이는 관찰되지 않았으며, 군간 유의한 차이도 관찰되지 않았다($p=0.0804$). - 이차 유효성 평가변수에 대하여 ITT set을 대상으로 한 분석에서 투여 0주, 4주, 8주에 측정한 체중, 허리둘레, 엉덩이둘레, 허리/엉덩이둘레 비율, BMI는 모두 군간 유의한 차이가 관찰되지 않았다. 투여 0주, 8주에 측정한 체지방량, 제지방량, 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적, 내장지방/피하지방 면적비에 대한 분석에서 군간 유의한 차이를 보인 평가변수는 총 복부지방 면적이었다. 투여 8주 후 총 복부지방 면적은 시험군은 13.57 ± 48.67 cm² 감소되었고, 대조군에서는 2.92 ± 24.03 cm² 증가하는 결과가 나타나 통계적으로 군간 유의한 차이가 있음을 보였다($p=0.0342$). 투여 0주, 8주에 측정한 Adiponectin, Insulin, Leptin, IFN-γ 분석결과에서는 군간 유의한 차이가 관찰되지 않았다. - 추가로 탐색적 목적을 위해, 투여 8주 후 DEXA와 CT를 통해 측정한 유효성 평가변수에 대하여 BMI, 허리둘레, 내장지방/피하지방 면적비에 따른 추가분석을 실시하였다. BMI 30 kg/m²을 기준으로 분석한 결과, BMI 30 kg/m² 미만 그룹에서는 군간 유의한 차이를 보인 평가변수가 관찰되지 않았으나 BMI 30 kg/m² 이상 그룹에서는 체지방량, 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적에서 군간 유의한 차이가 나타났다. 복부비만의 기준인 허리둘레를 기준으로 분석한 결과에서는 허리둘레 남자 90 cm, 여자 85 cm 미만 그룹은 체지방량만이 군간 유의한 차이가 관찰되었고, 허리둘레 남자 90 cm, 여자 85 cm 이상 그룹에서는 체지방량, 총 복부지방 면적에서 두 군간 유의한 차이가 관찰되었다. 피하지방형 복부비만과 내장지방형 복부비만을 구분짓는 복부의 내장지방/피하지방 면적비를 기준으로 분석한 결과에서는 내장지방/피하지방 면적비 0.4 미만 그룹(피하지방형 복부비만)은 피하지방 면적, 총 복부지방 면적에서 군간 유의한 차이가 나타났으며, 내장지방/피하지방 면적비 0.4 이상 그룹(내장지방형 복부비만)에서는 체지방률, 내장지방/피하지방 면적비에서 군간 유의한 차이를 보였다. |
|-----------|--|

| | |
|-----------|---|
| <p>결과</p> | <ul style="list-style-type: none"> • 안전성 결과 - 임상시험용 건강기능식품을 투여한 이후 이상반응을 경험한 피험자는 시험군 7명(17.95%, 12건), 대조군 11명(26.83%, 12건)으로 보고되었다. 이 중 중대한 이상반응은 대조군 1명(2.44%, 1건)으로 조사되었으며, 발생한 이상반응으로 인한 중도탈락은 대조군 1명(2.44%, 1건)으로 조사되었다. 두 군간의 이상반응 발현율, 중대한 이상반응 발현율, 발생한 이상반응으로 인한 중도탈락 발현율의 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 보고된 이상반응 중 임상시험용 건강기능식품과의 관련성을 배제할 수 없는 (related) 이상반응은 두군 모두 없는 것으로 보고되었다. 대조군에서 발생한 중대한 이상반응은 임상시험용 건강기능식품과의 관련성은 '명확히 관련이 없음'으로 시험자에 의해 판단되었다. - 임상병리검사에 대한 분석에서 군내 및 군간에서 통계적으로 유의한 변화를 보인 항목들이 있었으나 정상치 범위 내에서의 변화였다. 검사결과 중 투여 후 비정상인 검사결과인 경우, 시험자에 의해 모두 '임상적 유의성이 없음(Non-clinical significance)'을 판단하였다. - 활력징후와 심전도 검사결과에서 정상/비정상으로 나누어 비교했을 때 군내 및 군간에서 유의한 차이를 나타내지 않았다. |
| <p>결론</p> | <p>과체중 혹은 비만인을 대상으로 키토올리고당의 유효성과 안전성을 평가하기 위한 본 임상시험의 결과는 다음과 같이 결론을 내릴 수 있다.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 일차 유효성 평가분석 결과, 체지방률의 감소효과는 없었다. 2. 이차 유효성 평가분석 결과, 체중, BMI의 감소 효과는 부족하였으나 복부지방(내장지방+피하지방)의 감소효과를 확인할 수 있었다. 3. 추가로 탐색적 목적을 위해 실시한 BMI, 허리둘레, 내장지방/피하지방 면적비에 따른 추가분석 결과에서 BMI 30 kg/m² 이상인 고도비만과 허리둘레 남녀 각각 90 cm, 85 cm 이상 및 내장지방형 복부비만에서 대조군과 대비하여 유의한 지방감소 효과를 보였다. 4. 안전성면에서는 유의할만한 사항은 없는 것으로 판단되었다. 5. 향후 장기적인 체지방, 복부지방 감소효과에 대한 추가적인 연구가 기대된다. |

◎ 약어

| | |
|---------------|---|
| ALT(GPT) | Alanine Aminotransferase |
| AST(GOT) | Aspartate Aminotransferase |
| BMI | Body Mass Index |
| CRA | Clinical Research Associate |
| CRF | Case Report Form |
| CRO | Contract Research Organization |
| CT | Computerized Tomography |
| DEXA | Dual Energy X-ray Absorptiometry |
| γ -GTP | Gamma-glutamic transpeptidase |
| Hb | Hemoglobin |
| HCG | Human Chorionic Gonadotropin |
| Hct | Hematocrit |
| IFN- γ | Interferon gamma |
| IL-2 | Interleukine-2 |
| IL-4 | Interleukine-4 |
| IRB | Institutional Review Board |
| KGCP | Korean Good Clinical Practice |
| MCV | Mean Corpuscular Volume |
| MCH | Mean Corpuscular Hemoglobin |
| MCHC | Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration |
| PCT | Platelet Count |
| RBC | Red Blood Cell |
| SAE | Serious Adverse Event |
| TSH | Thyroid Stimulating Hormone |
| Urine S.G | Urine Specific Gravity |
| WBC | White Blood Cell |

2. 목 차

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 1. | 임상시험 결과 보고서 요약..... | 1 |
| 2. | 목차..... | 8 |
| 3. | 윤리적 고려에 대한 기술..... | 14 |
| 3.1 | 임상시험 관리기준..... | 14 |
| 3.2 | 임상시험계획서의 승인..... | 14 |
| 3.3 | 피험자 동의..... | 15 |
| 3.4 | 비밀보장..... | 16 |
| 4. | 시험자 및 연구지원 조직..... | 16 |
| 4.1 | 임상시험 실시기관..... | 16 |
| 4.2 | 임상시험 책임자 및 담당자..... | 16 |
| 4.2.1 | 임상시험책임자..... | 16 |
| 4.2.2 | 공동연구자..... | 16 |
| 4.2.3 | 임상시험담당자..... | 16 |
| 4.2.4 | 관리약사..... | 17 |
| 4.3 | 임상시험 의뢰자..... | 17 |
| 4.4 | 임상시험 수탁기관 (Contract Research Organization, CRO) | 17 |
| 5. | 서론..... | 17 |
| 6. | 임상시험의 목적..... | 18 |
| 7. | 임상시험에 사용되는 건강기능식품..... | 19 |
| 7.1 | 임상시험용 건강기능식품의 개요..... | 19 |
| 7.1.1 | 시험식품 (키토올리고당)..... | 19 |
| 7.1.2 | 대조식품 (Placebo)..... | 19 |
| 7.2 | 배정방법..... | 19 |
| 7.3 | 맹검..... | 19 |
| 8. | 임상시험 계획..... | 20 |
| 8.1 | 임상시험의 설계..... | 20 |
| 8.1.1 | 시험기간..... | 21 |
| 8.1.2 | 시험중지 및 중도탈락..... | 21 |
| 8.2 | 관찰항목, 임상검사항목 및 방법..... | 22 |
| 8.2.1 | 관찰항목..... | 22 |
| 8.2.2 | 관찰 검사 방법(방문별) | 26 |
| 8.3 | 피험자의 선정..... | 30 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 8.3.1 | 대상자..... | 30 |
| 8.3.2 | 목표한 피험자의 수 및 설정 근거..... | 31 |
| 8.4 | 복용방법..... | 33 |
| 8.4.1 | 복용량..... | 33 |
| 8.4.2 | 복용기간..... | 33 |
| 8.4.3 | 과거 및 병용약물 요법..... | 33 |
| 8.5 | 유효성 및 안전성 관련 변수..... | 34 |
| 8.5.1 | 유효성 평가..... | 34 |
| 8.5.2 | 안전성 평가..... | 35 |
| 8.6 | 자료의 질 보증..... | 39 |
| 8.6.1 | 시험계획서의 승인..... | 39 |
| 8.6.2 | 시험계획서의 변경..... | 39 |
| 8.6.3 | 계획서 준수에 대한 모니터링..... | 39 |
| 8.7 | 통계분석 방법..... | 39 |
| 8.7.1 | 결과분석의 일반적 원칙..... | 39 |
| 8.7.2 | 인구통계학적 기초자료..... | 40 |
| 8.7.3 | 유효성 평가변수에 대한 분석..... | 40 |
| 8.7.4 | 안전성 평가변수에 대한 분석..... | 41 |
| 9. | 피험자..... | 42 |
| 9.1 | 피험자의 임상시험 참여상태..... | 42 |
| 9.2 | 임상시험계획서 위반..... | 44 |
| 10. | 유효성 평가결과..... | 44 |
| 10.1 | 분석에 포함할 피험자군의 선정..... | 44 |
| 10.2 | 피험자의 인구학적 정보 및 기타 복용 전 특성에 대한 비교..... | 44 |
| 10.3 | 유효성 평가결과의 제시 및 분석..... | 49 |
| 10.3.1 | 분석의 일반적인 원칙..... | 49 |
| 10.3.2 | 유효성 평가변수에 대한 분석..... | 49 |
| 10.3.3 | 유효성 평가변수에 대한 추가분석..... | 59 |
| 10.3.4 | 기타 분석..... | 67 |
| 10.3.5 | 중도탈락자(Drop-out) 또는 결측치(Missing data)의 처리..... | 68 |
| 10.3.6 | 피험자별 결과자료의 제시..... | 68 |
| 10.3.7 | 약물-약물 및 약물-질병간의 상호작용..... | 68 |
| 10.4 | 유효성에 대한 최종 결론..... | 71 |
| 11. | 안전성 평가결과..... | 72 |
| 11.1 | 복용 순응도..... | 72 |
| 11.2 | 이상반응..... | 73 |

| | | |
|------------|-----------------------------|-----------|
| 11.2.1 | 이상반응에 대한 요약..... | 73 |
| 11.2.2 | 이상반응의 제시..... | 73 |
| 11.2.3 | 이상반응의 분석..... | 75 |
| 11.3 | 중대한 이상반응 및 기타 중요한 이상반응..... | 76 |
| 11.3.1 | 중대한 이상반응 요약..... | 76 |
| 11.3.2 | 중대한 이상반응 상세..... | 76 |
| 11.4 | 실험실적 이상반응의 평가..... | 76 |
| 11.4.1 | 개인별 실험실 검사치와 이상반응의 제시..... | 76 |
| 11.4.2 | 각각의 실험실 검사치의 평가..... | 77 |
| 11.4.3 | 활력징후 검사 결과의 평가..... | 88 |
| 11.4.4 | 심전도 검사 결과의 평가..... | 89 |
| 11.5 | 안전성에 대한 최종 결론..... | 90 |
| 12. | 고찰 및 전반적인 결론..... | 91 |
| 13. | References..... | 93 |
| 14. | Appendix..... | 93 |

Tables

| | | |
|------------------|---|----|
| Table 1. | 임상시험 승인 및 개시..... | 14 |
| Table 2. | 임상시험 계획서 변경에 대한 임상시험 심사위원회의 승인일..... | 15 |
| Table 3. | 본 임상시험의 연구흐름도..... | 29 |
| Table 4. | 목표한 피험자의 수..... | 31 |
| Table 5. | 무작위배정 후 탈락된 피험자..... | 42 |
| Table 6. | 피험자의 인구학적 정보 및 복용 전 특성 (ITT set) | 45 |
| Table 7. | 병력/수술력 (ITT set) | 46 |
| Table 8. | 스크리닝 3개월 이전 약물복용력 (ITT set) | 47 |
| Table 9. | 임신반응 검사 (ITT set) | 48 |
| Table 10. | 갑상선자극호르몬 검사 (ITT set) | 49 |
| Table 11. | 체지방률 변화 비교 (ITT set) | 50 |
| Table 12. | 체지방률 변화 비교 (PP set) | 50 |
| Table 13. | 체중 변화 비교 (ITT set) | 51 |
| Table 14. | 체중 변화 비교 (PP set) | 51 |
| Table 15. | 허리둘레, 엉덩이둘레, 허리/엉덩이 둘레비 변화 비교 (ITT set) | 52 |
| Table 16. | 허리둘레, 엉덩이둘레, 허리/엉덩이 둘레비(PP set) | 53 |
| Table 17. | BMI 변화 비교 (ITT set) | 54 |
| Table 18. | BMI 변화 비교 (PP set) | 54 |
| Table 19. | 체지방량, 제지방량 변화 비교 (ITT set) | 55 |
| Table 20. | 체지방량, 제지방량 (PP set) | 55 |
| Table 21. | 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적, 내장지방/피하지방 면적비의 변화 비교 (ITT set) | 56 |
| Table 22. | 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적, 내장지방/피하지방 면적비의 변화 비교 (PP set) | 57 |
| Table 23. | Clinical lab 변화 비교 (ITT set) | 58 |
| Table 24. | Clinical lab 변화 비교 (PP set) | 58 |
| Table 25. | BMI 30 kg/m ² 미만 그룹의 DEXA, CT 변화 비교 (ITT set) | 60 |
| Table 26. | BMI 30 kg/m ² 이상 그룹의 DEXA, CT 변화 비교 (ITT set) | 61 |
| Table 27. | 허리둘레 남자 90 cm, 여자 85 cm 미만 그룹의 DEXA, CT 변화 비교 (ITT set) | 62 |
| Table 28. | 허리둘레 남자 90 cm, 여자 85 cm 이상 그룹의 DEXA, CT 변화 비교 (ITT set) | 64 |
| Table 29. | 내장지방/피하지방 면적비 0.4 미만 그룹의 DEXA, CT 변화 비교 (ITT set).... | 65 |
| Table 30. | 내장지방/피하지방 면적비 0.4 이상 그룹의 DEXA, CT 변화 비교 (ITT set).... | 66 |

| | | |
|------------------|---|----|
| Table 31. | 식이섭취량 및 운동칼로리소모량 (ITT set) | 67 |
| Table 32. | 병용약물 사용 (ITT set) | 69 |
| Table 33. | 복용 순응도 (ITT set, %)..... | 72 |
| Table 34. | 이상반응 발생 요약 (Safety set) | 73 |
| Table 35. | 이상반응 분류 (Safety set) | 74 |
| Table 36. | 이상반응의 증상정도 및 임상시험용 건강기능식품과의 관련성 (Safety set) | 75 |
| Table 37. | 방문별 혈액학적 검사 (ITT set) | 77 |
| Table 38. | 방문별 혈액화학적 검사 (ITT set) | 80 |
| Table 39. | 방문별 뇨 검사 (ITT set) | 83 |
| Table 40. | 방문별 활력징후 검사 (ITT set) | 88 |
| Table 41. | 방문별 심전도 검사 (ITT set) | 89 |

Figures

| | | |
|------------------|---------------------|----|
| Figure 1. | 임상시험 개요..... | 21 |
| Figure 2. | 피험자의 임상시험 참여상태..... | 43 |

Appendix

Appendix 14.1 임상시험 수행에 대한 정보

- 14.1.1 최종 임상시험계획서 (피험자 동의서 견본 포함)
- 14.1.2 증례기록서 견본
- 14.1.3 임상시험책임자 서명
- 14.1.4 무작위배정표

Appendix 14.2 피험자 일람표

- 14.2.1 임상시험을 종료하지 못한 피험자
- 14.2.2 인구학적 정보
 - 14.2.2.1 피험자의 명단 및 인구학적 배경
 - 14.2.2.2 피험자 병력 및 수술력
- 14.2.3 복용 순응도
- 14.2.4 병용약물 및 과거약물 사용력
 - 14.2.4.1 병용약물 사용력
 - 14.2.4.2 과거약물 사용력
- 14.2.5 평균 식이섭취량
- 14.2.6 운동을 통한 칼로리 소모량
- 14.2.7 유효성 평가 자료
 - 14.2.7.1 DEXA(체지방률, 체지방량, 제지방량)
 - 14.2.7.2 체중, 허리둘레, 엉덩이둘레, 허리/엉덩이 둘레비, 체질량지수
 - 14.2.7.3 CT(내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적, 내장지방/피하지방 면적비)
 - 14.2.7.4 Clinical lab(Adiponectin, Insulin, Leptin, IL-2, IL-4, IFN- γ)
- 14.2.8 안전성 평가 자료
 - 14.2.8.1 이상반응
 - 14.2.8.2 임상병리검사(혈액학적 검사, 혈액화학적 검사, 뇨 검사)
 - 14.2.8.3 활력징후(혈압, 맥박)
 - 14.2.8.4 심전도 검사

3. 윤리적 고려에 대한 기술

3.1 임상시험 관리기준

시험자는 계획서에 서명함으로써, 본 임상시험 계획서, 일반적으로 인정되는 KGCP 규정, 국내의 모든 관련법규와 임상시험 수행에 관련된 규칙 및 규정에 따라서 효과적이고 성실하게 연구를 수행할 것을 동의하였다. 이와 관련된 구체적인 사항을 보면, 시험자는 KGCP와 국내의 모든 관련법규, 규정, 규칙에 따라 임상시험 관련 문서를 정확히 준비, 관리, 완성해야 하였다. 또한 임상시험에 참여하는 각 피험자에 대하여 임상시험 연구가 종료되거나 이를 중단하는 경우, 또는 쥬키토라이프의 계약에 의거하여 요구되는 경우에 모든 작업일지 원본과 그 이외에 본 임상시험 계획서에서 요구되는 자료들을 쥬키토라이프에게 즉시 제출하도록 하였다. 요구가 있는 경우 임상시험 관련 문서는 즉시, 완전하게 쥬키토라이프에게 제공하여야 하고 실시기관에서는 항상 가용한 상태로 보관하도록 하였다.

3.2 임상시험계획서의 승인

임상시험계획서 및 동의서에 대하여 임상시험 실시기관의 독립된 임상시험 심사위원회(IRB)의 승인을 받았으며, 임상시험 승인 이후 임상시험 실시기관에 개시모임을 실시하였고 가톨릭대학교 서울성모병원 가정의학과에 2009년 10월 14일(2009년 10월 8일)에 최초 피험자가 등록되어 임상시험을 실시하였다. 임상시험 심사위원회 승인일 및 개시모임일과 첫 피험자 스크리닝일을 Table 1에 제시하였다.

피험자 제외기준, 진행일정표, 식사일지 수정에 따른 계획서 변경(version 2.0), 증례기록서 변경(version 2.0), 동의서 변경(version 2.0), 연구비 변경에 따른 1차 계획서 변경이 있었으며, 코디네이터 e-IRB 등록에 따른 2차 계획서 변경이 있었고 IRB의 승인을 득하였다. 이후 계획서 변경 내용이 없었다(Table 2).

Table 1. 임상시험승인 및 개시

| 기관명 | 승인일 | 최초 승인된 protocol version | 개시모임일 | 첫 피험자 스크리닝일 |
|------------------|------------|-------------------------|------------|-------------|
| 가톨릭대학교 서울성모병원 | 2009.08.04 | Ver. 1.0 | 2009.08.24 | 2009.10.08 |

Table 2. 임상시험 계획서 변경에 대한 임상시험 심사위원회의 승인일

| 기관명 | 개정사유 | 승인일 | Protocol | CRF | 동의서 |
|------------------|--|------------|----------|----------|----------|
| 가톨릭대학교 서울성모병원 | 1) 피험자 제외기준 변경 2) 진행일정표 수정 3) 식사일지 수정 4) 연구비 변경 | 2009.09.18 | Ver. 2.0 | Ver. 2.0 | Ver. 2.0 |
| | 연구코디네이터 e-IRB 등록 | 2010.01.15 | - | - | - |

3.3 피험자 동의

시험책임자 혹은 시험담당자는 임상시험에 참여하는 피험자에게 사전에 시험의 성격, 범위, 예상되는 결과 등에 대해 쉽게 이해할 수 있도록 설명한 후 서면으로 참가동의를 획득하였다. 피험자에 대한 설명은 서면 및 구두로 하였으며, 피험자 동의는 시험자 및 피험자의 서명 및 날씨가 함께 기재되었다. 시험책임자 혹은 시험담당자는 피험자로부터 동의를 얻기 이전에는 임상시험을 목적으로 한 특정한 검사를 하지 않도록 하였다. 또한 피험자 및 시험자의 서명을 받은 피험자 동의서의 사본은 피험자에게 제공하였으며, 원본은 시험책임자가 보관하도록 하였다.

피험자 동의서에 포함된 내용은 다음과 같고 동의서 양식은 Appendix 14.1에 첨부하였다.

- 연구 목적 및 배경
- 연구 방법
- 피험자가 받게 되는 검사
- 예측 효능효과, 부작용 및 위험성
- 본 질환으로 선택할 수 있는 다른 치료방법 및 이러한 치료의 잠재적 위험과 이익
- 임상연구 동의 후 철회
- 피해발생시 보상 및 치료대책
- 신분의 비밀보장
- 피험자 의무이행사항
- 비용
- 시험참여로 인해 발생할 수 있는 이익
- 임상시험 도중 임상시험 참여가 중지되는 사유
- 임상시험 예상 피험자 수 참여기간
- 임상시험 관련/책임자
- 서명

피험자 동의서는 임상시험 기관의 임상시험 심사위원회로부터 사전 승인을 받았다. 피험자 동의

서 양식은 시험의뢰자가 시험담당자에게 공급하였으며, 의뢰자로부터 위임 받은 모니터는 임상시험의 모든 절차를 시작하기 전에 피험자가 동의서에 서명하였음을 확인하였다.

3.4 비밀보장

모든 피험자명은 비밀로 하고 시험 도중 부여한 번호로 기록 및 평가 시 확인하도록 하였다. 피험자에게 모든 시험 자료가 컴퓨터에 저장되고 엄격히 비밀 사항으로 다루어진다는 것을 알려주었다.

4. 시험자 및 연구지원 조직

시험자 및 시험지원 조직을 아래에 기술하였다.

4.1 임상시험 실시기관

가톨릭대학교 서울성모병원
서울시 서초구 반포동 505

4.2 임상시험 책임자 및 담당자

4.2.1 임상시험 책임자

가톨릭대학교 서울성모병원 가정의학과 김경수 교수

4.2.2 공동연구자

숙명여자대학교 생활과학대학 식품영양학과 성미경 교수

4.2.3 임상시험담당자

가톨릭대학교 서울성모병원 가정의학과 정윤숙 연구원
가톨릭대학교 서울성모병원 가정의학과 박화연 연구원
가톨릭대학교 서울성모병원 가정의학과 남경미 연구원
숙명여자대학교 생활과학대학 식품영양학과 복민경 영양사

4.2.4 관리약사

가톨릭대학교 서울성모병원 임상시험센터 최 선 관리약사
가톨릭대학교 서울성모병원 임상시험센터 류병은 관리약사
가톨릭대학교 서울성모병원 임상시험센터 이수경 관리약사

4.3 임상시험 의뢰자

㈜키티라이프 대표이사 정특래
경기도 평택시 칠괴동 576-1

4.4 임상시험 수탁기관 (Contract Research Organization, CRO)

㈜네오뉴트라
서울시 종로구 연건동 273 국도빌딩 1층

5. 서론

인구구조의 고령화 추세, 소득수준의 향상, 과다한 영양섭취 및 영양불균형이 심화됨에 따라 비만의 유병인구가 증가하는 양상을 보이고 있다. 1997년 세계보건기구에서는 비만의 유병율이 점차 증가하여 영양결핍이나 감염성 질환과 같은 전통적인 공중보건문제보다 더욱 중요한 질환이 되고 있다고 언급하면서 비만을 질병으로 분류하기에 이르렀다. 세계적으로 비만과 과체중의 인구는 증가추세에 있으며, 안전하고 효과적인 비만치료법에 대한 연구들이 다각도로 진행되고 있다. 우리나라의 경우 2005년도 국민건강영양조사(2005년, 보건복지부, 한국보건산업진흥원)에 의하면 20세 이상의 비만유병률은 31.8%이고, 남자의 35.2%, 여자의 28.3%가 비만으로 보고되었다.

비만 치료를 위한 가장 합리적인 방법은 열량을 제한하면서 모든 영양소들은 골고루 섭취하는 열량제한 식품을 사용하는 것이나 열량제한 식품의 사용은 일반적으로 식사를 심하게 제한하므로 식품에 대한 애착과 체중 감소 후 더 많이 먹게 되는 문제점을 야기시킨다. 이러한 점을 비추어 볼 때 모든 영양소들을 골고루 섭취하면서 부작용 없이 비만의 치료를 돕는 기능성 식품이나 기능성 식품의 보조를 받으면서 식사를 하루 한 끼 정도 제한하여 간단하게 체중을 감소시킬 수 있는 현실적인 방법의 개발이 시급하다고 사료된다. 체중 감소는 열량 섭취의 감소와 열량

소모의 증가로 인하여 일어난다. 체중조절용 건강기능 식품은 근육량을 유지하면서 지방량을 감소시키는 것에 중점을 두고 있어 지방대사 촉진, 지방흡수 감소, 지방분해 촉진에 관여하는 기능성 원료들의 연구가 활발하게 진행되고 있다. 그러나 대부분 비만치료에 효과적이라고 보고된 많은 기능성 원료들의 효과는 실제로는 뛰어나지 않고 과학적으로 입증되지 않아 과대선전이나 허위광고가 문제가 될 때마다 희생이 되고 있는 실정이다. 따라서 기능성물질을 주원료로 하는 체중조절용 건강기능식품을 과학적인 임상시험을 통하여 체지방 감소로 인한 체중감소의 효능과 안전성을 입증하는 것이 시급하다.

이에 본 연구사업에 참여한 위탁 연구기관(대구대학교 생명공학과 윤종원 교수팀)은 체내 흡수율이 뛰어난 분자량대의 키토산올리고당을 이용하여 비만 억제 메카니즘을 밝히고자 했으며 결과적으로 체내 흡수가 용이한 키토산올리고당이 지방세포의 분화를 80% 이상 억제한다는 연구 결과를 보고함으로써 키토산올리고당이 흡수되어 비만 억제 효과를 나타낼 수 있다는 가능성을 보여주었다. 특히, 이 과정에서 지방세포의 단백질분석을 통해 총 16종의 특이단백질이 관여한다는 사실을 분자수준에서 규명하였다. 또한 비만마우스(ob/ob)에 키토산올리고당을 투여한 후 식이량과 체중의 변화를 관찰한 결과, 유의하게 감소하는 것을 확인하였다.

따라서 기존에 *in vitro* 및 *in vivo* 실험을 통하여 항비만 효과를 확인한 쥬키토라이프의 키토산올리고당이 지방세포의 분화를 억제시켜 체중 및 체지방, 복부지방이 감소되는 것을 임상시험을 통해 규명하고자 과체중 혹은 비만 성인남녀를 대상으로 8주 동안 유효성 및 안전성을 평가하고자 하였다.

6. 임상시험의 목적

본 임상시험의 목적은 과체중 혹은 비만인을 대상으로 키토산올리고당을 투여했을 때 체중 및 체지방, 복부지방 감소와 관련한 유효성 평가변수를 통해 대조군(Placebo)과 비교하여 우월한 유효성을 보임을 입증하는 것이다.

7. 임상시험에 사용되는 건강기능식품

7.1 임상시험용 건강기능식품의 개요

7.1.1 시험식품 (키토올리고당)

- 주성분명 : 키토올리고당
- 성상 : 연갈색분말
- 제형 : 하드캡셀
- 중량 및 규격 : 250mg/캡셀, 캡셀규격 1호
- 저장방법 : 실온, 밀봉 보관
- 함량 : 1캡셀 중 키토올리고당 분말 250mg(100%) 함유; 지표물질 함량 80% 이상

7.1.2 대조식품 (Placebo)

- 주성분명 : 옥수수전분
- 제형 : 하드캡셀
- 중량 및 규격 : 250mg/캡셀, 캡셀규격 1호
- 함량 : 1캡셀 중 옥수수전분 250mg(100%) 함유; 시험식품과 동일한 중량

7.2 배정 방법

본 임상시험은 시험군 또는 대조군을 무작위배정하여 병행시험으로 진행했으며, 필요한 피험자 수는 탈락률(18%)을 고려하여 한 군당 40명씩 총 80명이다.

피험자의 무작위배정번호는 임상시험 실시 전 시험자에게 무작위배정표를 사전 배포하거나, 별도의 임상시험 코디네이터에게 배정코드를 신청하는 방법을 통하여 피험자 선정기준 및 투약기준에 적합하고, 제외기준에 해당되지 않는 경우에 한하여 피험자가 등록되는 순서에 따라 부여하였다.

7.3 맹검

이중맹검 유지를 위하여 본 임상시험에 사용되는 제품의 생산/포장 및 라벨링에서 언급된 내용 이외에, 각 군별로 고유코드의 할당 내역은 임상시험 담당자가 봉인된 상태로 관리하였으며, 임상

시험 종료 시까지 공개하지 않았다. 임상시험 담당자는 선정된 피험자의 배정번호와 일치하는 고유코드 임상시험용 건강기능식품을 피험자에게 공급하였으며, 결손 및 파손 시에는 여분(고유코드 별)을 사용함으로써 맹검을 유지하도록 하였다.

8. 임상시험 계획

8.1 임상시험의 설계

본 임상시험은 과체중 혹은 비만인을 대상으로 1일 3회, 1회 5캡셀씩 8주 동안 시험군(키토올리고당)과 대조군(Placebo) 간의 체중 및 체지방, 복부지방 감소와 관련한 유효성 평가변수를 비교하고 그 안전성을 평가하고자 한 이중맹검, 무작위배정, 위약대조 비교 임상시험이다.

스크리닝 기간 동안 시험자는 자의에 의해 임상시험 동의서에 서명한 피험자를 대상으로 활력징후, 임상병리검사, 임신반응검사(가임기 여성만 해당), 심전도검사, 신체계측 결과를 종합하여 피험자가 선정기준을 모두 만족하고 제외기준에 해당 사항이 없어 본 임상시험에 참여해도 좋을 것으로 판단되면 본 시험에 참여하도록 하였다.

시험자는 모든 피험자를 대상으로 피험자가 매 방문시 병용약물 투여력 및 이상반응 여부를 평가하도록 하며 임상시험 일정에 따라 8주 시점에서 신체계측, DEXA, CT, Clinical lab, 이상반응 평가를 시행하도록 하였다. 시험기간 중 키토산 또는 키토올리고당 관련 식품의 섭취를 가급적 하지 않도록 식사지도를 하였다.

일차 유효성 평가변수인 DEXA를 통한 체지방률과 이차 유효성 평가변수인 체중, 허리둘레, 엉덩이둘레, 허리/엉덩이 둘레비, 체질량지수, DEXA를 통한 체지방량, 제지방량, CT를 통한 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적, 내장/피하지방 면적비, Clinical lab(Adiponectin, Insulin, Leptin, IL-2, IL-4, IFN- γ)에 대하여 임상시험용 건강기능식품을 투여 받기 전과 투여 8주 후 측정된 결과를 비교하여 키토올리고당의 유효성을 평가하도록 하였으며, 이상반응 발생 여부 등을 근거로 키토올리고당의 안전성을 평가하도록 하였다.

임상시험 진행 일정표 및 그에 따른 세부 내용은 임상시험계획서에 제시되어 있다(Appendix 14.1).

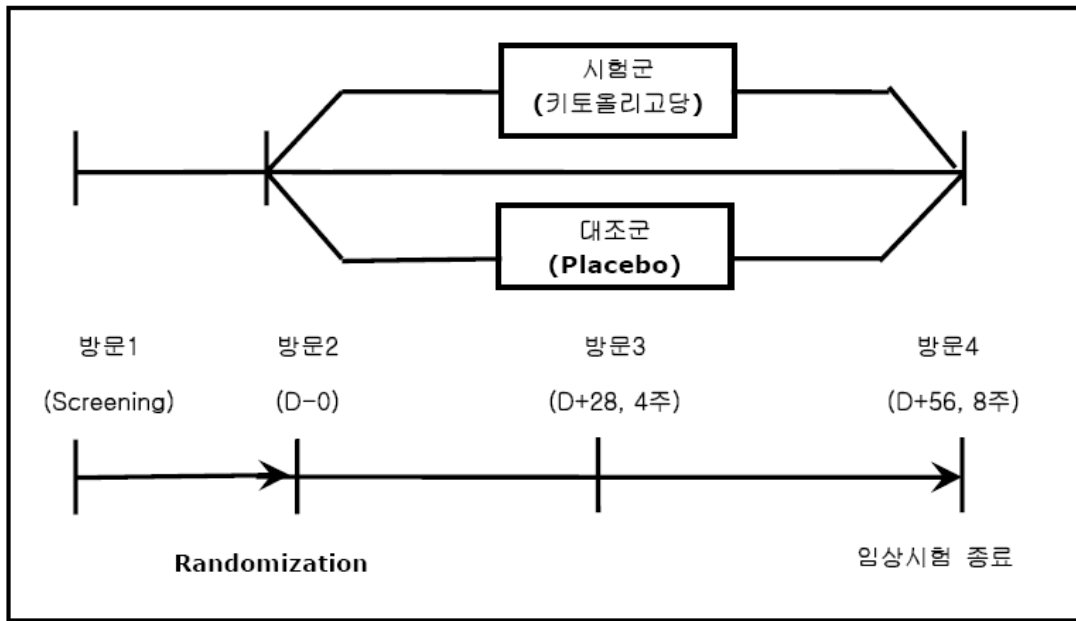


Figure 1. 임상시험 개요

8.1.1 시험기간

본 임상시험은 스크리닝 기간 1주를 포함하여 최대 9주이다.

임상시험실시 총 기간은 임상시험 시작일로부터 1년으로 계획되었으며, 2009년 10월 08일에 첫 피험자가 가톨릭대학교 서울성모병원 가정의학과에서 스크리닝 되어 2009년 10월 14일 첫 등록 되었으며, 2010년 2월 19일 마지막 피험자가 방문하여 약 5개월 동안 시험이 이루어졌다.

8.1.2 시험중지 및 중도탈락

8.1.2.1 시험중지 및 탈락기준

다음에 해당하는 임상시험 진행중인 피험자는 임상시험에서 중지 또는 탈락되었다.

- ① 선정기준/제외기준에 위배된 경우
- ② 피험자에게 중대한 이상 반응(Serious Adverse Events)이 발생한 경우 혹은 이상반응(Adverse Events)으로 인하여 피험자가 시험 중단을 요구하는 경우
- ③ 복용 전 검사에서 발견치 못한 전신질환이 발견된 피험자
- ④ 임상시험 기간 중 만족스럽지 못한 치료 효과로 인하여 피험자 또는 피험자의 법정 대리인이 시험 중단을 요구하는 경우

- ⑤ 연구자나 피험자가 시험계획을 위반하는 경우
- ⑥ 피험자가 임상시험 참가 동의를 철회한 경우
- ⑦ 피험자의 추적이 안 되는 경우
- ⑧ 피험자에게 임상시험용 건강기능식품을 복용하는데 문제가 있는 경우
- ⑨ 임상시험 기간 동안 담당의사의 지시 없이 연구 결과 판정에 영향을 미칠 수 있는 약물 등을 복용한 경우
- ⑩ 시험자의 판단에 의해 연구의 진행이 적합하지 못하다고 판단되는 경우

임상시험이 도중에 중단된 경우 시험 중단 사유 및 날짜 등을 증례기록서에 기록하도록 하였으며, 이 시점에서 임상평가, 종합적인 평가 등을 실시하도록 하였다.

8.1.2.2 임상시험의 순응도와 임상시험계획서 위반에 대한 처리

피험자들이 매 방문 시마다 복용하고 남은 임상시험용 건강기능식품을 가져오도록 하였다. 복용 순응도는 남은 임상시험용 건강기능식품의 개수를 세는 것으로 측정하였고, 그에 대한 내역은 약국파일 및 피험자 증례기록서에 기록하도록 하였다.

중대한 임상시험계획서 위반의 경우, 예컨대, 피험자 중지/탈락 기준에 해당하거나, 피험자 선정/제외기준 위반, 동의서 미취득, 복용하지 않은 경우, 2회 이상이 연속된 검사 누락 또는 종료방문 검사 누락 등 피험자의 안전과 시험결과에 중대한 영향을 미칠 수 있는 위반의 경우 해당 피험자를 연구에서 탈락처리(Drop-out)함을 원칙으로 하였다.

기타 경미한 위반 사항은 위반 또는 지연 정도와 사유를 정확히 기재하고 결과 분석 시 시험연구에 영향을 주었는지 고찰하였다.

8.2 관찰항목, 임상검사 항목 및 방법

8.2.1 관찰항목

8.2.1.1 피험자 동의 및 인구학적 조사

임상시험에 들어가기 전, 본 임상시험의 목적과 내용에 대하여 피험자에게 상세히 설명하고, 문서 동의를 받고 인구학적 정보를 조사하였다. 기록사항은 서면 동의 여부 및 동의 일자와 피험자 이니셜, 성별, 생년월일, 연령, 연락처이다.

8.2.1.2 기타 질환 과거력 및 치료력

문진과 과거 진료 기록 점검 및 면담 등을 통하여 피험자의 기타 질환 과거력 및 치료력, 이학적 검사에 대해 상세히 조사하여 기록하였다. 과거력 및 현 병력에 대하여 발생시기(발생년도 또는 발생년월), 치료기간, 지속여부, 연구자의 의견 등을 기재하였다.

8.2.1.3 이학적 검사

각 방문 시 심혈관계, 폐 및 호흡기계, 위장관/간 및 담도계, 대사/내분비계, 신장/요로계, 생식기계, 근골격계, 피부 및 결합조직, 신경계, 정신계, 기타 신체기관에 대한 피험자의 임상적 상태를 근거로 이학적 검사를 실시하였다.

8.2.1.4 활력징후

각 방문에서 피험자에게 10분 이상 안정상태를 유지시킨 후 맥박과 혈압을 측정하여 기록하였다. 각 방문에서 동일한 장비를 이용하여 동일한 시간대에 동일한 피험자의 혈압을 동일한 시험기관 담당자가 측정하였다.

8.2.1.5 임상병리 검사

임상병리검사를 실시하여 피험자의 전신적인 건강상태를 평가하였다. 시험자는 피험자로 하여금 검사당일 공복상태로 내원하도록 지시하였다. 검사 항목에는 다음이 포함된다.

- 혈액학적 검사: WBC, RBC, Hb, Hct, Platelet count, Neutrophils, Lymphocytes, Monocytes, Eosinophils, Basophils, MCV, MCH, MCHC
- 혈액화학적 검사: Glucose, Urea nitrogen, Creatinine, Total protein, Albumin, AST(GOT), ALT(GPT), Alk.phosphatase, Total bilirubin, Direct bilirubin, Gamma-GPT, Total Cholesterol, Triglyceride, HDL-Cholesterol, LDL-Cholesterol, Sodium, Potassium, Chloride
- 소변검사: Glucose, Color, Leukocyte, Bilirubin, Ketone, Specific gravity, Occult blood, pH, Protein, Urobilinogen, Nitrite, WBC, RBC
- 갑상선검사: TSH (방문1에서만 검사 실시)
- 임신반응검사: Urine HCG (※ 가임기 여성만 해당)

주목할만한 임상병리학적 비정상치 기준을 벗어나는 임상병리검사 결과는 피험자가 피험자의

증례기록서(CRF) 연구자 의견(Comments)란에 평가를 기재하고, 시험자가 적절하다고 판단하는 경우 추가 평가를 실시하였다. 임상병리학적 비정상치로 인하여 임상적 징후/증상이 야기되거나 치료 중재술이 필요한 경우 피험자의 증례기록서(CRF)의 '이상반응' 페이지에 진단 또는 의학적 상태를 입력하였다.

8.2.1.6 심전도 검사

모든 심전도 검사결과의 해석은 자격을 갖춘 의사가 실시하였으며, 판독결과는 증례기록서(CRF)에 기록하였다.

8.2.1.7 기초식이 조사 및 식이요법 교육

방문 1(Screening visit, week -1)에는 피험자가 임상시험기간 동안 평소의 식사섭취량을 유지하기 위해 작성할 식사일기 기록방법을 설명하였고, 방문 2(Baseline visit, week 0) 전까지(가능한 주말 1일 포함)의 식사를 식사기록법에 의해 기록하도록 하였다. 방문 2(Baseline visit, week 0)에서는 피험자가 기록한 식사섭취를 평가하고, 평소 운동을 하는 경우 종류, 시간, 횟수 등을 확인하여, 운동을 통해 소모되는 열량을 분석하였다. 방문 3(Interim visit, week 4)과 방문 4(Closing visit, week 8)에서는 각 방문 전 최근 일주일 중 3일 동안(가능하면 주말 1일 포함) 평소의 식사와 유사한 날의 식사를 식사기록법에 의해 기록하도록 하였다. 방문 2, 3, 4에서 영양사는 피험자가 기록하여 온 식사일기를 확인 후 평가하며, 운동 관련 사항을 확인하여 운동을 통해 소모되는 열량을 분석하였다. 방문 4(Closing visit, week 8)에서 영양사는 피험자들을 대상으로 바람직한 영양섭취와 운동을 위한 교육을 실시하였다. 방문 2, 3, 4의 식사일기를 토대로, 한국영양학회의 Can Pro 3.0 program을 이용하여 식품 및 영양소 섭취량을 분석하였다.

8.2.1.8 신체계측

방문1에는 신장과 체중, 체질량지수(BMI, kg/m^2)를 측정하고 방문2, 3, 4에는 신장, 체중, 체질량지수, 허리둘레, 엉덩이둘레, 허리-엉덩이둘레 비(W/H ratio)를 계측하였다.

체중측정은 가벼운 옷차림 상태에서 공복상태를 기준으로 0.1 kg 단위까지 반올림하여 측정하였다. 신체둘레의 측정은 피험자를 평평한 바닥에 세운 채 tape로 신체 2부분(허리, 엉덩이)의 둘레를 측정하였고, 허리-엉덩이둘레 비도 계측하였다. 신체둘레의 측정은 동일한 방법으로 동일한 시험담당자가 측정할 수 있도록 최선을 다하였다.

- 허리 둘레: 서 있는 상태에서 배꼽을 지나게 하여 둘레를 측정하였다.
- 엉덩이 둘레: 엉덩이에서 가장 돌출된 부위를 지나 둘레를 측정하였다.

8.2.1.9 DEXA (DEXA; Dual Energy X-ray Absorptiometry)

DEXA는 2종류의 X선을 사용하여 뼈와 근육 그리고 지방 등의 연부조직을 나누어 측정하는 방법으로 최근 미국을 비롯한 유럽 등지에서 크게 대두되고 관심을 받고 있는 체성분 측정방법이다. 본 임상시험에서는 미국 Lunar사의 prodigy DEXA를 사용하여 Total Body(% Fat), 체지방량(Fat), 체지방량(Lean body mass)을 방문2, 4에 측정하였다.

8.2.1.10 CT (CT; Computerized Tomography)

복부의 내장지방 및 피하지방 면적을 정확하게 구할 수 있는 방법으로 CT 촬영은 제 4 요추와 제 5 요추 사이의 단면을 측정하였다. 본 임상시험에서는 내장지방 면적(Mesenteric fat area), 피하지방 면적(Subcutaneous fat area), 총 복부지방 면적, 내장지방/피하지방 면적비(Mesenteric fat area/ Subcutaneous fat area)를 방문2, 4에 측정하였다.

8.2.1.11 Clinical lab

Insulin, IL-2, IL-4 검사를 위해 방문2, 4에 혈액을 채취하여 가톨릭대학교 서울성모병원에서 분석하였다. Adiponectin, Leptin, IFN- γ 검사를 위해 방문2, 4에 0.5ml씩 3bottle을 혈액 채취하고, 혈청을 분리하여 분석 전까지 -70 $^{\circ}$ C에 냉동보관 후 숙명여자대학교 식품영양학과에서 분석하였다.

8.2.1.12 선정기준/제외기준 확인 (피험자 적합성 평가)

방문1에 이루어진 피험자 동의여부와 인구학적 조사, 병력 및 약물투여력 조사, 신체계측(키, 체중, BMI), 임상병리검사, 임신반응검사(가임기 여성만 해당), 심전도검사 결과를 종합하여 6.1항 및 6.2항의 선정기준/제외기준에 적합한 피험자인지를 평가하여 기록하였다.

8.2.1.13 이상반응 점검

이상반응에 대한 정보는 임상시험 기간 동안의 각 방문에서 피험자에게 우회적으로 질문(Non-directive questioning)하여 탐색했다. 또한 방문 시 또는 방문 기간 사이에 피험자가 자발적으로 보고하거나 이학적 검사, 임상병리검사 또는 기타 평가를 통하여 확인했다. 이상반응 조사에는 발현일 및 소실일, 이상반응의 정도 및 결과, 임상시험용 건강기능식품과 관련하여 취해진 조치 및 임상시험용 건강기능식품과의 인과관계, 임상시험용 건강기능식품 이외 의심되는 약제명, 이상반응에 대한 치료 여부 및 내용 등이 포함되었다.

8.2.1.14 무작위배정 및 복용

방문2에서 선정기준 및 제외기준에 적합하다고 평가가 이루어진 피험자를 대상으로 시험군(키토올리고당) 또는 대조군(Placebo)으로 무작위배정하고, 무작위 코드에 따라 복용하였다.

8.2.1.15 순응도 확인

본 임상시험에서는 window period를 고려하여 각 방문시 배분될 임상시험용 건강기능식품(시험식품 및 대조식품)의 분량으로 각 방문일의 투여기간에 여유분을 더해 방문2, 3에서 600캡셀을 공급했다. 임상시험 순응도를 평가하기 위해 남은 임상시험용 건강기능식품을 반환하도록 피험자에게 교육했으며, 방문3, 4에 반환받은 임상시험용 건강기능식품으로부터 피험자의 복용순응도를 평가하였다.

8.2.2 관찰 검사 방법 (방문별)

각 방문 시 평가는 다음과 같았다.

8.2.2.1 1차 방문 (Screening visit, week -1)

피험 대상자의 적합성 Screening 검사는 개개 피험자에서 다음의 관찰 및 검사에 의해 임상적으로 유의한 이상이 있는 대상자는 제외하였다.

- ① 피험자를 시험에 참여 시키기 전에 시험 과정을 설명하고, 피험자에게 서면 동의서를 받는다.
- ② 피험자는 순서대로 연구 ID번호를 지정 받는다.
- ③ 피험자의 인구학적 조사, 병력 조사 등을 조사하여 기록한다.
- ④ 신체계측 및 활력징후 검사를 실시한다.
- ⑤ 임상병리검사를 실시한다.
- ⑥ 임신반응검사를 실시한다(가임기 여성만 해당).
- ⑦ 심전도검사를 실시한다.
- ⑧ 식사기록법을 교육한다.
- ⑨ 피험자의 다음 방문 일을 지정한다.

8.2.2.2 2차 방문 (Baseline visit, week 0)

최초 방문일 이후 7일 이내에 다음의 내용에 대하여 시행하였다.

- ① 방문1 평가결과를 종합하여 선정기준/제외기준의 적합성을 평가한다.
- ② 무작위배정한다.
- ③ 신체계측 및 활력징후 검사를 실시한다.
- ④ CT 촬영을 실시한다.
- ⑤ DEXA 촬영을 실시한다.
- ⑥ Clinical lab 검사를 실시한다.
- ⑦ 작성된 식사일기를 확인하고, 평가한다.
- ⑧ 피험자의 다음 방문 일을 지정한다.
- ⑨ 시험식품/대조식품 복용 방법에 대하여 교육하고 복용을 시작한다.

8.2.2.3 3차 방문 (Interim visit, week 4)

임상시험용 건강기능식품 복용 28일(± 7 일) 후에 다음의 내용에 대하여 시행하였다.

- ① 이상반응여부와 내용조사를 실시한다.
- ② 약물투여력 및 병용요법 변화를 확인한다.
- ③ 신체계측 및 활력징후 검사를 실시한다.
- ④ 임상병리검사를 실시한다.
- ⑤ 임신반응검사를 실시한다(가임기 여성만 해당).
- ⑥ 작성된 식사일기를 확인하고, 평가한다.
- ⑦ 복용 및 순응도 확인: 환자가 무작위로 배정된 제품을 전술한 "7.2 복용량, 복용기간 및 복용방법" 따라 복용토록 하고 순응도를 기록한다.
- ⑧ 시험식품 또는 대조식품을 처방하고, 복용방법을 다시 한 번 설명한다.

8.2.2.4 4차 방문 (Closing visit, week 8)

임상시험용 건강기능식품 복용 56일(± 5 일) 후에 다음의 내용에 대하여 시행하였다.

- ① 이상반응 유무를 확인한다.
- ② 약물투여력 및 병용요법 변화를 확인한다.
- ③ 신체계측 및 활력징후 검사를 시행한다.

- ④ 작성된 식사일기를 확인하고, 평가한다.
- ⑤ 식이요법 교육을 실시한다.
- ⑥ 임상병리검사를 실시한다.
- ⑦ 임신반응검사를 실시한다(가임기 여성만 해당).
- ⑧ 심전도검사를 실시한다.
- ⑨ CT 촬영을 실시한다.
- ⑩ DEXA 촬영을 실시한다.
- ⑪ Clinical lab 검사를 실시한다.
- ⑫ 복용 및 순응도를 확인한다.

8.2.2.5 추가방문 (필요 시)

추가방문은 예정된 방문 외에 피험자 요청 또는 시험자가 필요하다고 판단할 때 수시로 이루어지도록 하였다. 본 임상시험에서는 중도탈락(동의철회)으로 추가방문을 실시하였으며 평가내용은 3차 방문의 내용과 같았다.

다음의 Table 3에서 상기의 내용을 정리하였다.

Table 3. 본 임상시험의 연구흐름도

| Period | Screening ¹⁾ | Active Treatment ²⁾ | | |
|---------------------------------|-------------------------|--------------------------------|-------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Visit | -1 | 0 | 4 | 8 |
| Week | | | | |
| Window period ²⁾ | | | +/- 7 | +/-5 |
| 서면동의서 | ✓ | | | |
| 인구학적 조사 | ✓ | | | |
| 병력조사 | ✓ | | | |
| 신체계측 | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| 활력징후 | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| 임상병리검사 ³⁾ | ✓ | | ✓ | ✓ |
| 임신반응검사(가임기여성만 해당) ³⁾ | ✓ | | ✓ | ✓ |
| 심전도 검사 | ✓ | | | ✓ |
| 식사기록법 교육 및 평가 | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| 식이요법 교육 | | | | ✓ |
| 피험자 적합성 평가 | | ✓ | | |
| DEXA | | ✓ | | ✓ |
| CT | | ✓ | | ✓ |
| Clinical lab ⁴⁾ | | ✓ | | ✓ |
| 무작위배정 | | ✓ | | |
| 시험식품 및 대조식품 처방 | | ✓ | ✓ | |
| 이상반응 확인 | | | ✓ | ✓ |
| 순응도 확인 | | | ✓ | ✓ |
| 약물투여력 및 병용요법 변화 확인 | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |

- 1) 방문1의 방문일로부터 1주일 이내에 방문2가 시행되어야 한다.
- 2) 방문3의 방문일은 지정된 날짜 전·후 7일을 허용하며, 방문4의 방문일은 지정된 날짜 전·후 5일을 허용한다.
- 3) 피험자는 채혈하기 전날 12시간 금식상태로 내원하여 다음의 항목을 검사한다. 시험자의 판단에 따라 비정상적인 결과에 대한 임상병리검사, 임신반응검사(가임기여성만 해당) 등을 시행할 수 있다.
- 4) Clinical lab 검사항목은 다음과 같다. : Adiponectin, Insulin, Leptin, IL-2, IL-4, IFN- γ

8.3 피험자의 선정

8.3.1 대상자

특정 질환이 없는 과체중 혹은 비만인으로 체질량지수(BMI) 25 kg/m² 이상인 자를 연구 대상으로 하였다.

8.3.1.1 선정기준

본 임상시험의 선정기준은 다음과 같았다.

- ① 본 연구의 참여를 동의하고, 서면 동의서에 서명한 자
- ② 만 20세 이상 65세 이하의 성인 남녀
- ③ 체질량지수(BMI) 25 kg/m² 이상인 자

8.3.1.2 제외기준

본 임상시험에서 다음과 같은 제외기준 중 한 가지라도 해당되는 피험자는 등록되지 못하는 것으로 계획하였다.

- ① 혈압이 140/90 mmHg 이상인 조절되지 않는 고혈압 환자
- ② 공복 혈당이 126 mg/dl 이상이거나 무작위 혈당이 200 mg/dl 이상인 경우, 또는 경구 혈당강하제 또는 인슐린을 복용하고 있는 당뇨병 환자
- ③ 심장, 신장, 간, 갑상선, 뇌혈관 질환이 있는 경우
- ④ 당뇨병 질환이나 위장관계 질환, 통풍, 천식이 있는 경우
- ⑤ 최근 5년 이내 암의 진단 및 치료를 받은 적이 있는 경우
- ⑥ 우울증, 정신분열증, 알코올중독증, 약물중독 등의 정신질환자
- ⑦ 체중에 영향을 미치는 비만치료제(흡수저해제 및 항우울제, 식욕억제제 등), 이노제, 피임약, 스테로이드제제, 여성호르몬제를 복용하고 있는 경우
- ⑧ 건강기능식품으로 키토산 또는 키토올리고당을 복용하고 있는 경우
- ⑨ 시험시작일로부터 3개월 내에 상업적인 비만프로그램 또는 다이어트 식품을 복용한 경우
- ⑩ 심한 근골격계 질환으로 운동을 할 수 없을 것으로 판단되는 경우
- ⑪ 계, 새우 등 갑각류에 알레르기가 있는 자
- ⑫ 지용성 비타민과 미네랄을 흡수하는데 이상이 있는 사람
- ⑬ 임신부 및 수유부

⑭ 시험자가 본 임상시험에 부적절하다고 판단하는 사람

8.3.2 목표한 피험자의 수 및 설정 근거

8.3.2.1 피험자의 수

탈락률(18%)을 고려하여 피험자 선정, 제외기준에 적합한 80명을 확보하여 복용하도록 하였고, Protocol에 명시된 PP기준에 적합한 최종 유효성평가 레수로 66명 이상(한 군당 33명 이상)을 분석하기로 계획하였다.

Table 4. 목표한 피험자의 수

| | 시험군(키토올리고당) | 대조군(Placebo) | 합 계 |
|--------------------|-------------|--------------|-----|
| 최종평가레수 (PP) | 33 | 33 | 66 |
| Drop-out(18%) 고려예수 | 40 | 40 | 80 |

8.3.2.2 설정 근거

본 임상시험의 일차적인 목적은 투여기간 8주 후 체지방률(%Body Fat) 감소 효과가 시험군이 대조군(placebo)과 비교하여 우월하다는 것을 증명하고자 하였다.

- 투여 전(Baseline visit, week 0), 투여 후(Closing visit, week 8) 시험군과 대조군의 체지방률(%Body Fat) 감소 비교

본 연구의 시험식품인 키토올리고당에 대한 기존의 연구들 중에서 본 임상시험과 동일한 주 평가변수인 체지방률(%Body Fat) 항목에 있어서 유의한 결과를 보인 Kaats GR et al.(2006)⁴⁾의 연구의 결과를 이용하여 피험자의 수를 산정하였다. 참조한 임상시험에서 시험군과 대조군은 체지방률(%Body Fat) 항목에서 기저치(baseline)와 시험종료 시 변화량의 평균(mean)과 표준오차(s.e.m)가 각각 -0.8 ± 0.29 와 0.4 ± 0.3 으로 시험군에서 통계적으로 유의하게 감소하였다. 두 표준오차를 이용하여 합동 표준편차를 추정하면 약 1.96을 추정 할 수 있다.

합동 표준편차 1.96을 구하는 과정은 다음과 같다.

$$S.E_1 = 0.29, S.E_2 = 0.3 \quad \text{이므로 이로부터 각 집단의 표준 편차를 유도할 수 있다.}$$

$$s_1 = \sqrt{n_1} \times SE_1 = \sqrt{46} \times 0.29 = 1.9668757$$

즉, $s_2 = \sqrt{n_2} \times SE_2 = \sqrt{42} \times 0.3 = 1.9442222$ 이다.

이로부터 합동분산(Pooled variance) 유도하면,

$$s_p = \sqrt{\frac{(n_1 - 1) \times s_1^2 + (n_2 - 1) \times s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}} = 1.9561085 \approx 1.96$$

이다.

본 연구의 유효한 피험자 수를 산정하기 위하여 다음을 가정한다.

- 1) 우위성시험(Superiority test)
- 2) 유의수준(Level of significance), 5%, 단측검정
- 3) 제 2종 오류(β)는 0.2로 하여 검정력(Power of the test)은 80%를 유지
- 4) 시험군과 대조군의 시험예수의 비율은 같다.
- 5) 기존 임상연구를 통하여 시험군과 대조군의 %body Fat 변화량의 차이는 -1.2 이고 표준편차는 약 1.96 이다.

이를 검정하기 위한 임상시험의 가설은 다음과 같다.

$H_0 : \mu_t = \mu_c$ (시험종료 시 시험군의 %Body Fat과 대조군의 %Body Fat 의 감소량은 같다).

$H_1 : \mu_t < \mu_c$ (시험종료 시 시험군의 %Body Fat 감소량이 대조군의 %Body Fat 의 감소량보다 크다).

위의 1) - 5)를 가정하였을 때 임상시험에 필요한 시험예수는 다음과 같다. (단측검정)

$$n = \frac{2X (Z_\alpha + Z_\beta)^2 \times \sigma^2}{\Delta^2}$$

$$\text{여기서, } Z_\alpha = 1.645, Z_\beta = 0.84$$

상기 식으로부터 군당 표본의 크기(n)를 구하면 다음과 같다.

$$n = \frac{2 \times (1.645 + 0.84)^2 \times 1.96^2}{1.2^2}$$

$$\approx 33$$

상기 식으로 피험자의 수를 계산하면, 최소 피험자 수는 군당 33명이다.

탈락률(18%)을 고려하면 유효성 평가를 위해 군당 등록할 피험자 수는 약 40명이며, 총 인원은 80명으로 하였다.

8.4 복용방법

8.4.1 복용량

- 시험군(키토올리고당): 1일 3회, 1회 5캡셀을 물과 함께 복용(키토올리고당 3.75 g/day)
- 대조군(Placebo) : 시험식품과 동일

8.4.2 복용기간

시험식품(키토올리고당) 또는 대조식품(Placebo)을 8주간 복용

8.4.3 과거 및 병용약물 요법

본 임상시험에 영향을 미치는 약물을 투여하는 경우에는 시험에 참여할 수 없도록 하였으며, 시험기간 동안 병용투여를 금하였다. 단, 영향을 미치는 약물 이외의 경우 일시적으로 투여하는 것은 허용하였고, 임상시험 기간 동안 사용된 병용약제에 대해서는 증례기록서의 '병용약물 및 병용요법 변화(Concomitant drug and therapy)'에 약제명, 투여량, 투여기간, 이유 등을 상세히 기록하도록 하였다.

다음의 약물은 임상시험 기간 중 복용을 금하였다.

- 경구 혈당강하제, 인슐린
- 비만치료제(흡수저해제 및 항우울제, 식욕억제제 등), 다이어트 관련 약물 및 건강기능식품
- 이뇨제, 피임약, 스테로이드제제, 여성호르몬제
- 키토산 또는 키토올리고당 관련 건강기능식품

본 임상시험 기간 중 피험자의 사정에 의해 상기 약물을 복용한 경우는 시험을 중단하도록 했다.

8.5 유효성 및 안전성 관련 변수

8.5.1 유효성 평가

8.5.1.1 유효성 평가변수

- 1차 유효성 평가 변수

- DEXA를 통한 체지방률(%Fat)

- 2차 유효성 평가 변수

- 체중

- 허리둘레, 엉덩이둘레, 허리/엉덩이 둘레비(WHR)

- 체질량지수(BMI)

- DEXA를 통한 체지방량, 제지방량

- CT를 통한 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적, 내장지방/피하지방 면적비

- Clinical lab: Adiponectin, Insulin, Leptin, IL-2, IL-4, IFN- γ

8.5.1.2 유효성 평가방법

1차 유효성 평가변수는 DEXA를 통한 체지방률(% Fat)의 개선 정도이며, 투여 전, 투여 종료 시(또는 시험 중지 시)에 측정하도록 하였다. 투여 군내 및 군간의 개선 정도를 비교하여 통계적으로 유의한 차이가 있는지 분석하였다.

2차 유효성 평가변수는 체중, 허리둘레, 엉덩이둘레, 허리/엉덩이 둘레비, 체질량지수, DEXA를 통한 체지방량, 제지방량, CT를 통한 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적, 내장지방/피하지방 면적비, Clinical lab(Adiponectin, Insulin, Leptin, IL-2, IL-4, IFN- γ)으로 평가한 개선 정도이며, 투여 전, 투여 종료 시(또는 시험 중지 시)에 측정하도록 하였다. 투여 군내 및 군간의 개선 정도를 비교하여 통계적으로 유의한 차이가 있는지 분석하였다.

8.5.2 안전성 평가

8.5.2.1 안전성 평가변수

- 이상반응
- 임상병리검사(혈액학적/혈액화학적 검사, 뇨 검사)
- 활력징후(맥박, 혈압)
- 심전도 검사

8.5.2.2 안전성 평가방법

피험자 개인별 이상반응 기록표에 기재된 이상반응 빈도, 정도 등과 혈액학적검사, 혈액화학적검사, 뇨 검사 등의 임상병리검사, 맥박 및 혈압의 활력징후, 심전도 검사결과에서의 이상소견을 고려하여 평가했다.

임상병리검사의 이상치, 활력징후 및 심전도 검사결과의 이상소견 중 임상적인 유의성이 있는 경우에는 CRF의 피험자 개인별 이상반응 기록표에 기재하도록 했으며, 통계분석으로 평가했다.

(1) 이상반응 기록표 상의 이상반응에 대한 평가

이상반응이란 임상시험 기간 동안 발생하는 바람직하지 않거나 의도하지 않은 증상, 징후, 질환으로 임상시험용 건강기능식품을 사용한 것과 반드시 인과 관계를 가져야 하는 것은 아니다.

이상반응이 발생되거나 임상검사에서 이상이 나타날 때에는 이상반응의 종류, 발현일, 증상의 정도, 임상시험용 건강기능식품과의 관련성, 처치, 결과, 소실일에 대하여 기록하고 다음의 기준에 따라 평가하였다.

1) 증상의 정도

Spilker 등의 3단계 분류법 및 다음의 일반 기준 분류법을 적용하여 평가하였다.

• Spilker 등의 3단계 분류법

| 등급 | 기준 |
|---------------|---|
| Mild(1) : | 처치가 필요치 않고 피험자의 정상생활(기능)을 크게 저해치 않는 경우 |
| Moderate(2) : | 피험자의 정상생활(기능)을 유의하게 저해하며, 처치가 필요할 수도 있으며 처치 후 회복되는 경우 |
| Severe(3) : | 심한 이상반응으로 고도의 처치가 필요하며, 후유증이 남는 경우 |

• 일반기준 분류법

| 등 급 | 기 준 |
|---------------|-----------------------------|
| Mild(1) : | 쉽게 견딜 수 있는 이상반응 |
| Moderate(2) : | 일상 생활에 상당한 지장을 주는 이상반응 |
| Severe(3) : | 정상적인 일상 생활을 할 수 없을 정도의 이상반응 |

2) 임상시험용 건강기능식품과의 인과관계

임상시험용 건강기능식품과의 인과관계 분석은 다음과 같이 분류하고 시험담당자의 견해를 기재하였다.

① 명확히 관련이 있음 (Definitely related)

- 임상시험용 건강기능식품을 투여하였다는 증거가 있는 경우
- 임상시험용 건강기능식품 투여와 이상 반응 발현의 시간적 순서가 타당한 경우
- 이상반응이 다른 어떤 이유보다 임상시험용 건강기능식품 투여에 의해 가장 개연성 있게 설명되는 경우
- 투여 중단으로 이상반응이 사라지는 경우
- 재투여(Rechallenges)가 가능한 경우에 실시 결과 양성인 경우
- 이상반응이 임상시험용 건강기능식품 또는 동일계열의 물질에 대해 이미 알려져 있는 정보와 일관된 연관을 보이는 경우 등

② 관련이 있다고 생각됨 (Probably related)

- 임상시험용 건강기능식품을 투여하였다는 증거가 있는 경우
- 임상시험용 건강기능식품 투여와 이상 반응 발현의 시간적 순서가 타당한 경우
- 이상반응이 다른 원인보다 임상시험용 건강기능식품 투여에 의해 더욱 개연성 있게 설명되는 경우
- 임상시험용 건강기능식품 투여 중단으로 이상반응이 사라지는 경우 등

③ 관련이 있을 가능성이 있음 (Possibly related)

- 임상시험용 건강기능식품 투여와 이상 반응 발현의 시간적 순서가 타당한 경우
- 이상반응이 다른 가능한 원인들과 같은 수준으로 임상시험용 건강기능식품 투여에 기인한다고 판단되는 경우
- 임상시험용 건강기능식품 투여 중단으로 이상반응이 사라지는 경우 등

④ 관련이 없다고 생각됨 (Probably not related)

- 이상반응에 대해 보다 가능성이 있는 원인이 있는 경우

- 임상시험용 건강기능식품 투여 중단 결과가 음성이거나 모호한 경우
- 임상시험용 건강기능식품 재투여 결과가 음성이거나 모호한 경우 등

⑤ 명확히 관련성이 없음 (Definitely not related)

- 이상반응에 대해 다른 원인이 있는 경우
- 임상시험용 건강기능식품 투여 중단 결과가 음성인 경우
- 임상시험용 건강기능식품 재투여 결과가 음성인 경우

⑥ 불명 (Unknown)

3) 임상시험용 건강기능식품과 관련된 조치

- ① 없음 ② 감량 ③ 일시중단 후 재투여 ④ 투여중단

4) 교정치료 여부

- ① 아니오(아무런 치료를 하지 않는다) ② 예(약물/비약물 치료)

5) 결과

- ① 완전치유(후유증 없음) ② 치유(후유증 있음) ③ 진행중 ④ 영구적 손상 ⑤ 사망

6) 중대한 이상반응 여부

- ① 아니오 ② 예

(2) 실험실적 이상치에 대한 평가

1) 평가항목

- ① 혈액학적 검사: WBC, RBC, Hb, Hct, Platelet count, Neutrophils, Lymphocytes, Monocytes, Eosinophils, Basophils, MCV, MCH, MCHC
- ② 혈액화학적 검사: Glucose, Urea nitrogen, Creatinine, Total protein, Albumin, AST(GOT), ALT(GPT), Alk.phosphatase, Total bilirubin, Direct bilirubin, Gamma-GPT, Total Cholesterol, Triglyceride, HDL-Cholesterol, LDL-Cholesterol, Sodium, Potassium, Chloride
- ③ 뇨검사: Glucose, Color, Leukocyte, Bilirubin, Ketone, Specific gravity, Occult blood, pH, Protein, Urobilinogen, Nitrite, WBC, RBC
- ④ 갑상선검사: TSH (방문1에서만 검사 실시)
- ⑤ 임신반응검사: Urine HCG (※ 가임기 여성만 해당)

2) 평가기준

임상병리검사, 심전도 검사 결과치는 실시기관의 정상범위에 따라 정상, 비정상으로 분류하고, 임상시험용 건강기능식품 투여 후의 임상병리검사, 심전도 검사 결과가 투여 전과 비교하여 임상적인 유의성이 있다고 판단되는 경우에만 해당항목에 체크하고, 이상치에 대한 소견을 **Comments**란에 기록하도록 했다. 임상적 유의성이 있는 비정상치인 경우 이상반응으로 보고하도록 했다.

(3) 이상반응의 보고방법

- 시험책임자는 시험담당자 및 피험자 또는 보호자에게 임상시험용 건강기능식품 복용 후 나타날 수 있는 모든 이상반응에 대하여 교육을 실시하고 복용 후 나타나는 모든 현상에 대하여 보고하도록 교육을 실시하였다.
- 임상시험용 건강기능식품 투여 후 전신적 또는 임상병리학적으로 나타나는 제반증상에 대하여 종류, 발생시간, 정도, 처치, 치료약제, 경과, 임상시험용 건강기능식품과의 인과관계 등에 대한 기록 및 보관은 임상시험 관리기준에 준하도록 피험자 증례기록서에 기입하였다.
- 시험책임자는 임상시험결과보고 시 임상시험 기간 중 발생된 모든 증상에 대하여 서술하고 평가를 실시하며, 시험기간 중 “중대한 이상반응(Serious adverse event)” 발생시에는 임상시험 심사위원회(IRB)에 보고하여 시험의 지속 또는 중단 여부를 결정하고, 신속 보고가 필요한 경우 의뢰자를 통해서 다음 각 항에서 정한 기간 내에 신속히 식품의약품 안전청장에게 보고하도록 하였다.
 - 사망을 초래하거나 생명을 위협하는 경우에는 의뢰자가 이 사실을 보고 받거나 알게 된 날 부터 7일 이내, 다만, 이 경우 상세한 정보는 최초 보고일로부터 7일 이내에 추가로 보고하여야 한다.
 - 다른 모든 중대하고 예상하지 못한 이상반응의 경우에는 의뢰자가 이 사실을 보고 받거나 알게 된 날로부터 15일 이내.
- 추가적인 안전성 정보를 주기적으로 해당 이상약물 반응이 종결(해당 약물유해반응의 소실 또는 추적조사의 불가 등)될 때까지 보고하도록 하였다.
- 시험책임자는 임상시험을 시행함에 있어서 모든 제반 사항을 **Declaration of Helsinki**에 준하여 시행하였다.

8.6 자료의 질 보증

본 임상시험 자료의 질을 보증하기 위하여 다음과 같은 활동이 이루어졌다.

8.6.1 시험계획서의 승인

본 임상시험을 시작하기 전에 임상시험계획서 및 관련 서류를 임상시험 심사위원회에 제출하였다. 임상시험 심사위원회로부터 심사 결과를 통지 받은 후부터 시험을 시작하였다.

8.6.2 시험계획서의 변경

시험자나 의뢰자 어느 쪽도 상대방의 동의 없이는 임상시험 도중 본 임상시험계획서의 내용을 변경하지 않았다. 일단 임상시험이 시작된 후에는 예외적인 경우만 상대방의 동의를 얻어 수정할 수 있도록 하였다. 수정된 내용은 임상시험 심사위원회에 통보하고 필요 시 윤리적 측면에서 승인을 받아 진행하였다.

8.6.3 계획서 준수에 대한 모니터링

임상시험의 모든 상황은 쑤키토라이프가 지정한 임상시험 수탁기관 쑤네오뉴트라 담당 CRA에 의해 주의 깊게 모니터링 되었다. 모니터링은 KGCP에 따라 진행되었다. 담당 CRA는 정기적으로 임상시험실시기관을 방문하여 시험진행에 대하여 논의하고, 시설이 여전히 적합한 상태인지를 확인하였다.

8.7 통계분석 방법

인구학적 평가 분석, 유효성 평가 분석, 안전성 평가 분석 등 모든 분석은 유의수준 0.05로 설정하여 단측검정을 실시하였다. 모든 분석의 p-value 값에 대해서는 소수점 4자리까지 제시하였으며, 모든 분석의 p-value 값이 <0.05면 유의한 것으로 간주하였다. 평균, 표준편차, 백분율 등 소수점 이하의 값을 가지는 수치에 대해서는 소수점 2자리까지 제시하였다.

8.7.1 결과분석의 일반적 원칙

본 임상시험의 피험자로부터 얻어진 자료는 크게 ITT(Intent-to-treat) 분석법과 PP(Per protocol)분석법의 두 가지 형태로 분석하였다.

ITT분석법은 임상시험용 건강기능식품을 적어도 한번 이상 투여하고 유효성 평가변수의 베이스라인 및 베이스라인 이후 평가가 있는 무작위배정된 모든 피험자로부터 얻어진 자료를 모두 분석에 포함하였다. PP분석법은 ITT분석에 포함되는 피험자 중 임상시험계획서에 따라 완료한 피험자로부터 얻어진 자료를 분석에 포함하였다.

유효성에 대한 자료는 ITT 분석을 주분석법으로 하고 PP 분석을 추가적으로 수행하였다. 안전성에 대한 자료는 ITT 분석을 주분석법으로 하였다.

ITT 분석에서 유효성 결과 변수가 어떤 시점에서 결측(Missing)이 되거나 임상시험이 종료되기 전에 피험자가 탈락한다면 LOCF(Last observation carried forward)에 의하여 분석하였다.

8.7.2 인구통계학적 기초자료

등록된 피험자들의 인구통계학적 혹은 임상학적 특성을 파악하기 위하여 임상시험 참가 전 피험자의 특성에 대하여 기술하였다. 대상 피험자의 인구통계학적 자료 및 건강 상태에 관하여 자료에 따라서 적당한 기술통계량들을 구하고 연속형 자료는 군별 평균과 표준편차를 제시하고 군별 비교를 위하여 독립 이 표본 t-test를 실시하고 유의확률 값을 제시하였다. 범주형 자료는 각 수준별로 빈도와 비율을 제시하고 독립성검정을 위한 카이제곱 검정(χ^2 test) 혹은 피셔의 정확검정 (Fisher's exact test)를 실시하고 유의확률 값을 제시하였다.

8.7.3 유효성 평가변수에 대한 분석

8.7.3.1 1차 유효성 평가 변수 분석

1차 유효성 평가변수인 DEXA를 통한 체지방률(% Fat)에 대해서는 각 군내에서 투여 전후의 차이는 paired t-test, 투여 군간의 차이는 독립 이 표본 t-test로 비교 분석하였다. 또한 식이섭취량과 운동칼로리소모량으로 보정하여 투여 군간의 차이를 공분산분석(ANCOVA)을 통하여 비교 분석하였다.

8.7.3.2 2차 유효성 평가 변수 분석

2차 유효성 평가변수인 체중, 허리둘레, 엉덩이둘레, 허리/엉덩이 둘레비, 체질량지수, DEXA를 통한 체지방량, 제지방량, CT를 통한 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적, 내장지방/피하지방 면적비, Clinical lab(Adiponectin, Insulin, Leptin, IL-2, IL-4, IFN- γ)에 대해서는 각 군내에서 투여 전후의 차이는 paired t-test, 투여 군간의 차이는 독립 이 표본 t-test로 비교 분석하였다. 또한 식이섭취량과 운동칼로리소모량으로 보정하여 투여 군간의 차이를

공분산분석(ANCOVA)을 통하여 비교 분석하였다.

8.7.4 안전성 평가변수에 대한 분석

안전성 평가는 크게 임상적으로 측정된 이상반응 여부와 임상병리검사, 활력징후, 심전도 검사결과에 대한 이상에 근거하였다.

8.7.4.1 이상반응

시험기간 동안 보고된 피험자의 모든 이상반응을 도표화한 후 발생률을 산출하였다. 각 군간 이상반응 여부에 대하여 비율을 계산하고 독립성검정을 위한 카이제곱 검정(χ^2 test) 혹은 피셔의 정확검정(Fisher's exact test)을 실시하고 유의확률 값을 제시하였다. 또한 이상반응 발현례수를 도표화하였으며 임상시험용 건강기능식품과의 관련성에 대하여 군별 사례를 도표화하고 독립성검정을 실시하고 유의확률 값을 제시하였다.

8.7.4.2 임상병리검사

혈액학적 및 혈액화학적 검사치와 같이 연속형(Continuous type)자료는 군내 비교는 paired t-test를 이용하였고, 군간 비교는 독립 이 표본 t-test를 이용하여 분석하였다. 뇨검사의 일부 측정 변수의 경우는 정상과 비정상으로 나누어 McNemar 검정을 실시하여 방문1, 방문3, 방문4의 검사결과에 대하여 군내 비교 및 군간 비교를 하였다.

8.7.4.3 활력징후

활력징후 검사결과는 군내 비교는 paired t-test를 이용하였고, 군간 비교는 독립 이 표본 t-test를 이용하여 방문2, 방문3, 방문4의 검사결과에 대하여 분석하였다.

8.7.4.4 심전도 검사

심전도 검사결과는 정상과 비정상으로 나누어 McNemar 검정을 실시하여 방문1과 방문4의 검사결과에 대하여 군내 비교 및 군간 비교를 하였다.

9. 피험자

9.1 피험자의 임상시험 참여상태

본 임상시험은 과체중 혹은 비만인자에게서 키토올리고당을 투여했을 때 체중 및 체지방, 복부지방 감소와 관련한 유효성 평가변수를 통해 대조군(Placebo)과 비교하여 우월한 유효성을 보임을 입증하기 위한 이중맹검, 무작위배정, 위약대조 임상시험이다. 키토올리고당의 유효성 및 안전성 평가를 위해 8주간 임상시험용 건강기능식품을 투여하였다.

본 임상시험은 2009년 10월 8일부터 2010년 2월 19일까지 시행되었다.

본 임상시험에서는 적합한 피험자를 선정하기 위해 총 87명의 피험자에 대해서 Screening 평가를 실시하였다. 선정/제외기준에 적합한 80명의 피험자가 본 임상시험의 대상자로 무작위배정 되었으며, 이 중 80명의 피험자에서 임상시험용 건강기능식품의 투여가 이루어졌다. 이후 이상반응 및 피험자 동의철회, 추적조사실패의 사유로 8명의 피험자가 중도탈락되어 총 72명의 피험자(시험군 36명, 대조군 36명)가 임상시험을 완료하였다.

임상시험기간 동안 중도탈락한 피험자의 구체적인 사유는 투여군별로 요약하여 Table 5에 정리하였다. Figure 2는 임상시험 시작 이후부터 완료 시점까지의 피험자의 임상시험 참여상태를 요약한 것이다.

Table 5. 무작위배정 후 탈락된 피험자

| Group | Randomization No. | Date of termination | Category of reason |
|---------------------------------|-------------------|---------------------|--------------------|
| 1회 이상 투여 후 탈락(유효성 자료 없음) | | | |
| 시험군(키토올리고당) | CS-R065 | 2009-12-11 | 동의철회 |
| | CS-R079 | 2010-01-15 | 동의철회 |
| 대조군(Placebo) | CS-R034 | 2009-11-16 | 동의철회 |
| 1회 이상 투여 후 탈락(유효성 자료 있음) | | | |
| 시험군(키토올리고당) | CS-R007 | 2009-12-23 | 동의철회 |
| | CS-R009 | 2009-11-30 | 이상반응 |
| 대조군(Placebo) | CS-R012 | 2009-12-14 | 추적실패 |
| | CS-R035 | 2009-12-28 | 동의철회 |
| | CS-R033 | 2010-01-12 | 추적실패 |

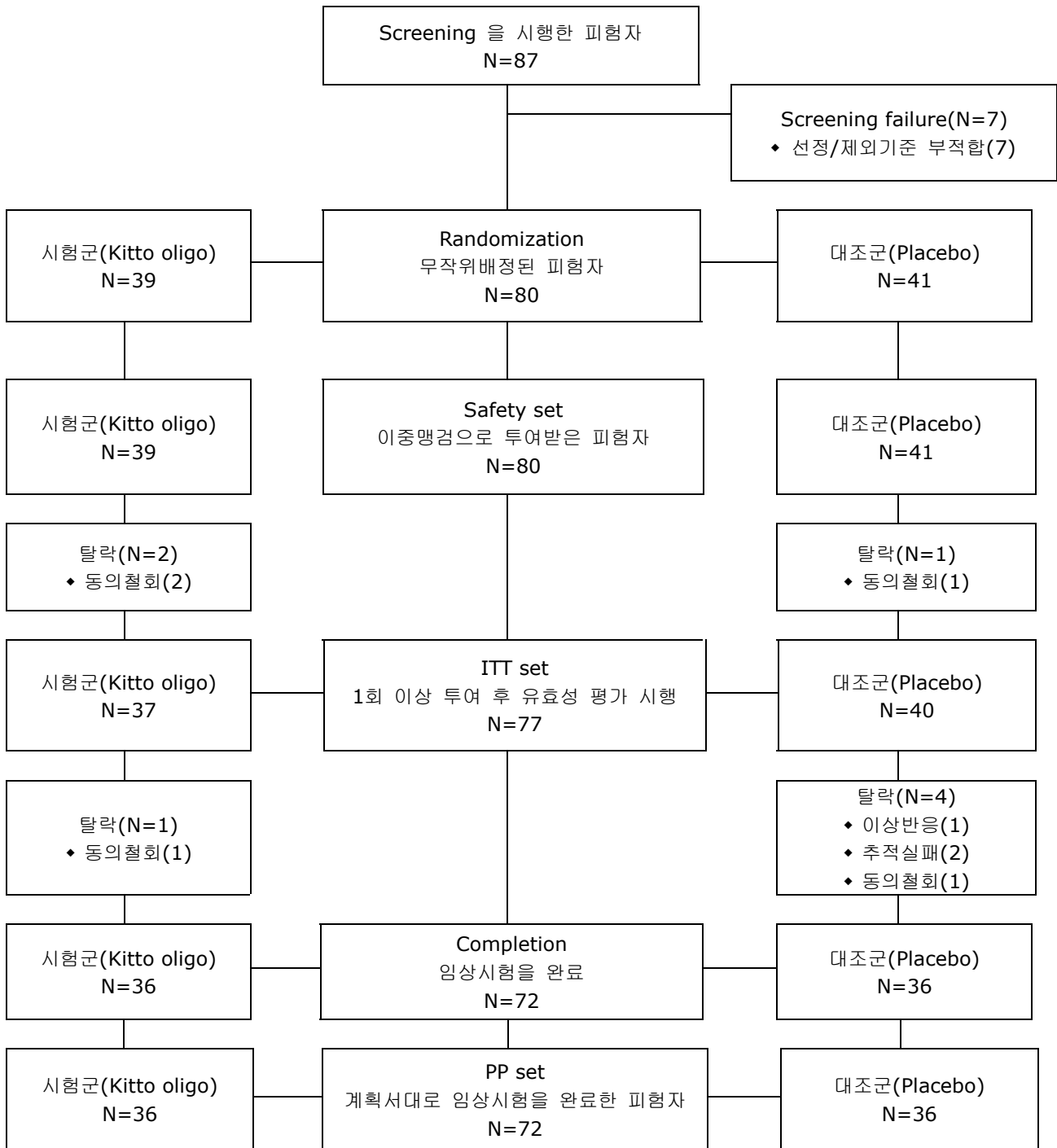


Figure 2. 피험자의 임상시험 참여상태

9.2 임상시험계획서 위반

임상시험계획서에 대한 위반사항 중 유효성 평가에 중대한 영향을 미치는 사안을 중대한 임상시험계획서 위반으로 구분하여 이를 PP set에서 제외하기로 계획하였으나, 본 임상시험에서 중대한 임상시험계획서 위반은 없었다.

10. 유효성 평가 결과

10.1 분석에 포함할 피험자군의 선정

본 임상시험의 유효성 분석은 ITT set을 주 분석 대상자로 하고, PP set을 추가적으로 분석하였다.

본 임상시험에서 과체중 혹은 비만인 피험자 80명(시험군 39명, 대조군 41명)이 무작위배정 되었다. ITT set은 본 임상시험에 등록된 피험자들 중 무작위배정을 받아 임상시험용 건강기능식품을 적어도 한번 이상 투여하고 유효성 평가변수의 베이스라인 및 베이스라인 이후 평가가 있는 피험자를 포함하였다. 무작위배정 후 임상시험용 건강기능식품이 투여된 80명의 피험자에서 ITT set의 경우 총 77명(시험군 37명, 대조군 40명)으로 유효성 분석을 시행하였다.

PP set은 8.7.1에서 서술한 정의에 따라 본 임상시험을 완료한 총 72명(시험군 36명, 대조군 36명)의 피험자로 구성되었다.

10.2 피험자의 인구학적 정보 및 기타 복용 전 특성에 대한 비교

임상시험에 참여한 피험자의 인구학적 정보 및 기타 복용 전 특성을 Table 6에 요약 정리하였다. 본 임상시험에 참여한 피험자의 인구학적 정보를 포함한 복용 전의 모든 특성을 투여군별로 비교하여 투여군별 차이가 있는 요인을 확인하고자 하였다.

임상시험에 참여한 피험자의 성별은 시험군은 남성은 7명(18.92%), 여성은 30명(81.08%), 대조군은 남성은 9명(22.50%), 여성은 31명(77.50%) 이었다($p=0.6988$). 평균 연령은 시험군은 40.11 ± 8.85 세, 대조군은 38.93 ± 8.62 세 였다($p=0.5543$). 체중은 시험군은 71.69 ± 10.33 kg, 대조군은 72.59 ± 9.14 kg 이었고($p=0.6852$), BMI는 시험군이 27.75 ± 2.60 kg/m², 대조군이 27.92 ± 2.26 kg/m² 이었다($p=0.7723$). 상기항목에 대한 군간 유의한 차이는 관찰되지 않

았다.

그 외 맥박, 수축기/이완기 혈압, 식이섭취량, 운동칼로리소모량에 대한 조사에서도 두 투여 군간의 유의한 차이는 없는 것으로 나타나 임상시험용 건강기능식품 투여 전 두 투여군의 기초 정보에서는 유의한 차이를 보인 요인은 없는 것으로 나타났다.

Table 6. 피험자의 인구학적 정보 및 복용 전 특성 (ITT set)

| | | 시험군 (키토올리고당) N=37 | 대조군 (Placebo) N=40 | p-value |
|-------------------------|----------|-------------------------|--------------------------|---------|
| 성별 | 남성, n(%) | 7(18.92) | 9(22.50) | 0.6988† |
| | 여성, n(%) | 30(81.08) | 31(77.50) | |
| 연령(세) | Mean±SD | 40.11±8.85 | 38.93±8.62 | 0.5543* |
| | Min, Max | 26.00, 60.00 | 24.00, 59.00 | |
| 신장(cm) | Mean±SD | 160.43±7.71 | 161.04±7.28 | 0.7221* |
| | Min, Max | 145.20, 178.00 | 145.70, 176.50 | |
| 체중(kg) | Mean±SD | 71.69±10.33 | 72.59±9.14 | 0.6852* |
| | Min, Max | 53.90, 98.10 | 56.80, 93.80 | |
| BMI(kg/m ²) | Mean±SD | 27.75±2.60 | 27.92±2.26 | 0.7723* |
| | Min, Max | 25.00, 38.50 | 25.00, 33.60 | |
| 맥박(회) | Mean±SD | 75.11±9.46 | 73.35±8.49 | 0.3928* |
| | Min, Max | 54.00, 98.00 | 54.00, 88.00 | |
| 수축기압(mmHg) | Mean±SD | 120.11±8.37 | 120.80±8.40 | 0.7186* |
| | Min, Max | 105.00, 140.00 | 103.00, 136.00 | |
| 이완기압(mmHg) | Mean±SD | 78.59±7.46 | 78.10±6.76 | 0.7610* |
| | Min, Max | 69.00, 102.00 | 66.00, 91.00 | |
| 식이섭취량 (kcal/day) | Mean±SD | 1856.77±449.95 | 1687.68±386.52 | 0.0803* |
| | Min, Max | 829.02, 3048.30 | 698.89, 2535.65 | |
| 운동칼로리 소모량(kcal/day) | Mean±SD | 57.87±133.98 | 64.78±167.40 | 0.8428* |
| | Min, Max | 0.00, 639.90 | 0.00, 789.91 | |

*: p-value by t-test

†: p-value by Chi-square test

외과적 수술력을 포함한 과거 병력 및 현병력이 확인된 질환(2년 전부터 스크리닝 참여시점까지)은 총 46명(59.74%)으로 이중 시험군에서 25명(67.57%), 대조군에서 21명(52.50%)이었으며 군간 유의한 차이는 없었다($p=0.1780$). 과거 병력 및 현병력은 증례기록서에 기록되었으며 이에 따라 신체기관별로 분류하였다(Table 7).

Table 7. 병력/수술력 (ITT set)

| | | 시험군 (키토올리고당) N=37, n(%) | 대조군 (Placebo) N=40, n(%) | 합계 n(%) | p- value† |
|-------|------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------|--------------|
| 병력 | 유 | 25(67.57) | 21(52.50) | 46(59.74) | 0.1780 |
| | 무 | 12(32.43) | 19(47.50) | 31(40.26) | |
| 신체기관별 | | | | | |
| | HEENT(Head, Eye, ENT) disorders | 19(20.88) | 13(16.67) | 32(18.93) | |
| | Respiratory disorders | 15(16.48) | 5(6.41) | 20(11.83) | |
| | Cardiovascular disorders | 1(1.10) | 1(1.28) | 2(1.18) | |
| | Gastrointestinal disorders | 10(10.99) | 12(15.38) | 22(13.02) | |
| | Genitourinary disorders | 1(1.10) | 8(10.26) | 9(5.33) | |
| | Neurology disorders | 1(1.10) | 0(0.00) | 1(0.59) | |
| | Hematology and lymphatic disorders | 0(0.00) | 1(1.28) | 1(0.59) | |
| | Endocrine/Metabolic disorders | 4(4.40) | 3(3.85) | 7(4.14) | |
| | Musculoskeletal disorders | 6(6.59) | 10(12.82) | 16(9.47) | |
| | Dermatology disorders | 17(18.68) | 3(3.85) | 20(11.83) | |
| | Psychiatry disorders | 0(0.00) | 0(0.00) | 0(0.00) | |
| | Immunology/Allergic disorders | 0(0.00) | 2(2.56) | 2(1.18) | |
| | Others | 17(18.68) | 20(25.64) | 37(21.89) | |
| | 합계※ | 91(53.85) | 78(46.15) | 169(100.00) | |

†: p-value by Chi-square test

※: 누적집계(건수)

스크리닝 3개월 이전 약물 복용을 한 경험이 있는 피험자는 총 19명(24.68%)으로 시험군이 11명(29.73%), 대조군이 8명(20.00%)이었으며 군간 유의한 차이는 없었다(p=0.3225). 복용한 약물은 증례기록서에 기재하도록 하였으며 이에 따라 신체기관별로 분류하였다(Table 8).

Table 8. 스크리닝 3개월 이전 약물복용력 (ITT set)

| | | 시험군 (키토올리고당) N=37, n(%) | 대조군 (Placebo) N=40, n(%) | 합계 n(%) | p- value† |
|---|---|-------------------------------|--------------------------------|------------------|--------------|
| 약물사용여부 | 유 | 11(29.73) | 8(20.00) | 19(24.68) | 0.3225 |
| | 무 | 26(70.27) | 32(80.00) | 58(75.32) | |
| Alimentary tract and metabolism | | 9(18.37) | 11(26.19) | 20(21.98) | |
| Antidiarrheals, intestinal anti-inflammatory/antiinfective agents | | 1(2.04) | 2(4.76) | 3(3.30) | |
| Drugs for acid related disorders | | 3(6.12) | 3(7.14) | 6(6.59) | |
| Drugs for functional gastrointestinal disorders | | 1(2.04) | 1(2.38) | 2(2.20) | |
| Laxatives | | 1(2.04) | 1(2.38) | 2(2.20) | |
| Mineral suppliments | | 2(4.08) | 3(7.14) | 5(5.49) | |
| Stomatological preparations | | 1(2.04) | 1(2.38) | 2(2.20) | |
| Antiinfectives for systemic use | | 7(14.29) | 8(19.05) | 15(16.48) | |
| Antibacterials for systemic use | | 6(12.24) | 5(11.90) | 11(12.09) | |
| Antimycotics for systemic use | | 0(0.00) | 1(2.38) | 1(1.10) | |
| Vaccines | | 1(2.04) | 2(4.76) | 3(3.30) | |
| Antineoplastic and immunomodulating agents | | 1(2.04) | 0(0.00) | 1(1.10) | |
| Immunosuppressive agents | | 1(2.04) | 0(0.00) | 1(1.10) | |
| Cardiovascular system | | 7(14.29) | 1(2.38) | 8(8.79) | |
| Agents acting on the rennin-angiotensin system | | 1(2.04) | 0(0.00) | 1(1.10) | |
| Beta blocking agents | | 2(4.08) | 0(0.00) | 2(2.20) | |
| Calcium channel blockers | | 2(4.08) | 1(2.38) | 3(3.30) | |
| Lipid modifying agents | | 2(4.08) | 0(0.00) | 2(2.20) | |
| Dermatologicals | | 3(6.12) | 1(2.38) | 4(4.40) | |
| Antibiotics and chemotherapeutics for dermatological use | | 1(2.04) | 0(0.00) | 1(1.10) | |
| Antipsoriatics | | 2(4.08) | 0(0.00) | 2(2.20) | |
| Corticosteroids, dermatological preparations | | 0(0.00) | 1(2.38) | 1(1.10) | |
| Genito urinary system and sex hormones | | 1(2.04) | 0(0.00) | 1(1.10) | |
| Other gynecologicals | | 1(2.04) | 0(0.00) | 1(1.10) | |

| | 시험군 (키토올리고당) N=37, n(%) | 대조군 (Placebo) N=40, n(%) | 합계 n(%) | p- value† |
|--|-------------------------------|--------------------------------|-------------------|--------------|
| Musculo-skeletal system | 5(10.20) | 4(9.52) | 9(9.89) | |
| Antiinflammatory and antirheumatic products | 3(6.12) | 3(7.14) | 6(6.59) | |
| Antigout preparations | 2(4.08) | 0(0.00) | 2(2.20) | |
| Muscle relaxants | 0(0.00) | 1(2.38) | 1(1.10) | |
| Nervous system | 3(6.12) | 2(4.76) | 5(5.49) | |
| Analgesics | 3(6.12) | 1(2.38) | 4(4.40) | |
| Psycholeptics | 0(0.00) | 1(2.38) | 1(1.10) | |
| Respiratory system | 11(22.45) | 10(23.81) | 21(23.08) | |
| Antihistamines for systemic use | 2(4.08) | 3(7.14) | 5(5.49) | |
| Cough and cold preparations | 4(8.16) | 5(11.90) | 9(9.89) | |
| Nasal preparations | 5(10.20) | 2(4.76) | 7(7.69) | |
| Sensory organs | 1(2.04) | 0(0.00) | 1(1.10) | |
| Ophthalmologicals | 1(2.04) | 0(0.00) | 1(1.10) | |
| Systemic hormonal preparations, excl. sex hormones and insulins | 1(2.04) | 5(11.90) | 6(6.59) | |
| Corticosteroids for systemic use | 1(2.04) | 5(11.90) | 6(6.59) | |
| 합계※ | 49(53.85) | 42(46.15) | 91(100.00) | |

†: p-value by Chi-square test

※: 누적집계(건수)

여성 피험자 51명을 대상으로 임신반응 검사를 실시하였다. 시험군의 피험자 37명 중 24명 (64.86%)의 피험자가 임신반응 검사를 실시하였고, 13명(35.14%)의 피험자가 임신반응 검사를 실시하지 않았다. 대조군의 피험자 40명 중 27명(67.50%)의 피험자가 임신반응 검사를 실시하였고, 13명(32.50%)의 피험자가 임신반응 검사를 실시하지 않았다. 미실시 사유로는 남성으로 조사된 피험자가 16명, 폐경으로 조사된 피험자가 10명으로 조사되었다. 임신반응 검사를 실시한 모든 피험자에게서 음성의 결과가 나타났다(Table 9).

Table 9. 임신반응 검사 (ITT set)

| | 시험군(키토올리고당) N=37, n(%) | 대조군(Placebo) N=40, n(%) | 합계 n(%) |
|-----|---------------------------|----------------------------|------------|
| 미실시 | 13(35.14) | 13(32.50) | 26(33.77) |
| 실시 | 24(64.86) | 27(67.50) | 51(66.23) |
| 음성 | 24(100.00) | 27(100.00) | 51(100.00) |
| 양성 | 0(0.00) | 0(0.00) | 0(0.00) |

스크리닝 시점에서 피험자의 갑상선자극호르몬(TSH) 검사에 대하여 조사하였다. TSH 검사결과 시험군은 $1.99 \pm 0.99 \mu\text{IU}/\text{MI}$, 대조군은 $2.58 \pm 1.54 \mu\text{IU}/\text{MI}$ 으로 군간 유의한 차이가 관찰되었으나($p=0.0470$), 두군 모두 정상범위 이내의 결과였다. 정상/비정상으로 나누어 비교한 결과, 시험군에서 3명의 피험자가 비정상이나 임상적 유의성이 없었으며, 대조군에서 4명의 피험자가 비정상이나 임상적 유의성이 없음으로 조사되었다(Table 10).

Table 10. 갑상선자극호르몬 검사 (ITT set)

| | | 시험군(키토올리고당) N=37 | 대조군(Placebo) N=40 | p-value |
|---------------------------------|---------------|---------------------|----------------------|----------------|
| TSH($\mu\text{IU}/\text{MI}$) | Mean \pm SD | 1.99 \pm 0.99 | 2.58 \pm 1.54 | 0.0470* |
| | 정상 n(%) | 34(91.89) | 36(90.00) | 1.0000‡ |
| | 비정상 n(%) | 3(8.11) | 4(10.00) | |

*: p-value by t-test

‡: p-value by Fisher's exact test

10.3 유효성 평가결과의 제시 및 분석

10.3.1 분석의 일반적인 원칙

본 임상시험의 유효성 평가변수는 1차 유효성 평가 변수인 체지방률(%Fat)과 2차 유효성 평가 변수인 체중, 허리둘레, 엉덩이둘레, 허리/엉덩이 둘레비, 체질량지수, 체지방량, 체지방률, 내장 지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적, 내장/피하지방 면적비, Clinical lab(Adiponectin, Insulin, Leptin, IL-2, IL-4, IFN- γ)이다. 피험자의 임상시험용 건강기능식품 투여 전후의 최종평가자료를 이용하여 시험식품(키토올리고당)의 유효성을 평가하였다.

10.3.2 유효성 평가변수에 대한 분석

10.3.2.1 1차 유효성 평가 변수

(1) DEXA를 통한 체지방률(%Fat)

Table 11은 0주, 8주에 DEXA를 통해 측정된 체지방률(%Fat)에 대한 변화를 ITT set을 대상으로 분석한 결과이다.

8주 후 체지방률에 대한 변화를 분석했을 때 시험군은 $0.43 \pm 1.44 \%$ 감소되었으며, 대조군은

0.03±1.41 % 증가하였다. 두군 모두 군내 유의한 차이는 관찰되지 않았으며, 군간 유의한 차이도 관찰되지 않았다(p=0.0804).

PP set에 대한 분석에서도 유사한 결과가 나타났다(Table 12).

Table 11. 체지방률 변화 비교 (ITT set)

| | | 시험군(키토올리고당) | 대조군(Placebo) | | |
|--------|----------------------|-------------|--------------|----------|-----------|
| | | N=37 | N=40 | p-value* | p-value** |
| | | Mean±SD | Mean±SD | | |
| | Baseline(방문 2) | 39.60±4.93 | 39.51±5.86 | | |
| Tissue | 8 주(방문 4) | 39.17±5.54 | 39.54±6.34 | | |
| (%Fat) | Change from baseline | -0.43±1.44 | 0.03±1.41 | 0.0804 | 0.0988 |
| | p-value‡ | 0.0777 | 0.8935 | | |

*: Compared between groups; p-value by t-test

** : Compared between groups; p-value by ANCOVA(식이섭취량과 운동칼로리소모량으로 보정)

‡ : Compared within groups; p-value by paired t-test

Table 12. 체지방률 변화 비교 (PP set)

| | | 시험군(키토올리고당) | 대조군(Placebo) | | |
|--------|----------------------|-------------|--------------|----------|-----------|
| | | N=36 | N=36 | p-value* | p-value** |
| | | Mean±SD | Mean±SD | | |
| | Baseline(방문 2) | 39.39±4.83 | 39.63±5.97 | | |
| Tissue | 8 주(방문 4) | 38.95±5.45 | 39.66±6.49 | | |
| (%Fat) | Change from baseline | -0.44±1.46 | 0.03±1.49 | 0.0877 | 0.1102 |
| | p-value‡ | 0.0777 | 0.8937 | | |

*: Compared between groups; p-value by t-test

** : Compared between groups; p-value by ANCOVA(식이섭취량과 운동칼로리소모량으로 보정)

‡ : Compared within groups; p-value by paired t-test

10.3.2.2 2차 유효성 평가 변수

(1) 체중

Table 13은 0주, 4주, 8주에서 측정된 체중 변화를 ITT set을 대상으로 분석한 결과이다.

시험군에서 체중은 4주, 8주에 각각 0.31±1.03 kg, 0.09±1.22 kg 증가되었으며, 대조군에서는 0.29±1.11 kg, 0.33±1.07 kg 증가되었다. 군내에서는 유의한 차이는 관찰되지 않았으며, 두 군간의 차이에서도 유의한 차이는 관찰되지 않았다(p=0.5334, p=0.1843).

PP set에 대한 분석에서도 유사한 결과가 나타났다(Table 14).

Table 13. 체중 변화 비교 (ITT set)

| | 시험군(키토올리고당) N=37 Mean±SD | 대조군(Placebo) N=40 Mean±SD | p-value* | p-value** |
|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------|-----------|
| Baseline(방문 2) | 71.61±10.64 | 72.40±9.09 | | |
| 4 주(방문 3) | 71.92±10.62 | 72.69±9.38 | | |
| 체중 (kg) | Change from baseline p-value] | 0.31±1.03 0.1099 | 0.5334 | 0.5280 |
| 8 주(방문 4) | 71.70±10.56 | 72.73±9.22 | | |
| Change from baseline p-value] | 0.09±1.22 0.6592 | 0.33±1.07 0.0614 | 0.1843 | 0.1847 |

*: Compared between groups; p-value by t-test

** : Compared between groups; p-value by ANCOVA(식이섭취량과 운동칼로리소모량으로 보정)

] : Compared within groups; p-value by paired t-test

Table 14. 체중 변화 비교 (PP set)

| | 시험군(키토올리고당) N=36 Mean±SD | 대조군(Placebo) N=36 Mean±SD | p-value* | p-value** |
|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------|-----------|
| Baseline(방문 2) | 70.82±9.63 | 71.41±8.52 | | |
| 4 주(방문 3) | 71.14±9.65 | 71.69±8.81 | | |
| 체중 (kg) | Change from baseline p-value] | 0.32±1.05 0.1254 | 0.5478 | 0.4951 |
| 8 주(방문 4) | 70.92±9.54 | 71.77±8.72 | | |
| Change from baseline p-value] | 0.09±1.24 0.6594 | 0.36±1.12 0.0613 | 0.1681 | 0.1610 |

*: Compared between groups; p-value by t-test

** : Compared between groups; p-value by ANCOVA(식이섭취량과 운동칼로리소모량으로 보정)

] : Compared within groups; p-value by paired t-test

(2) 허리둘레, 엉덩이둘레, 허리/엉덩이 둘레비

Table 15은 0주, 4주, 8주에서 측정된 허리둘레, 엉덩이둘레, 허리/엉덩이 둘레비에 대한 변화를 ITT set을 대상으로 분석한 결과이다.

허리둘레 변화를 살펴보면 시험군에서는 4주, 8주에 각각 0.09±1.39 cm, 0.58±1.80 cm 감소했으며, 대조군에서는 0.66±1.64 cm, 0.79±1.91 cm 감소하였다. 각 군내를 비교했을 때 4주, 8주에 대조군에서만 유의한 감소가 관찰되었으며, 군간 유의한 차이는 나타나지 않았다 (p=0.9466, p=0.6861).

엉덩이둘레 변화를 살펴보면 시험군은 4주, 8주에 각각 0.09 ± 1.43 cm 증가, 0.35 ± 1.54 cm 감소했으며, 대조군은 0.33 ± 1.20 cm, 0.44 ± 1.21 cm 감소하였다. 각 군내를 비교했을 때 8주에 대조군에서만 유의한 감소가 나타났으며, 군간 유의한 차이는 관찰되지 않았다($p=0.9174$, $p=0.6078$).

허리/엉덩이 둘레비의 변화를 살펴보면 시험군은 4주, 8주에 각각 0.00 ± 0.01 , 0.00 ± 0.02 감소했으며, 대조군에서는 0.00 ± 0.01 , 0.00 ± 0.02 감소하였다. 각 군내를 비교했을 때 4주에 대조군에서만 유의한 감소가 나타났으며, 군간 유의한 차이는 나타나지 않았다($p=0.8098$, $p=0.7241$).

PP set에 대한 분석에서도 유사한 결과가 나타났다(Table 16).

Table 15. 허리둘레, 엉덩이둘레, 허리/엉덩이 둘레비 변화 비교 (ITT set)

| | | 시험군(키토올리고당) N=37 Mean±SD | 대조군(Placebo) N=40 Mean±SD | p-value* | p-value** |
|---------------|----------------------|--------------------------------|---------------------------------|----------|-----------|
| 허리둘레 (cm) | Baseline(방문 2) | 89.12±7.51 | 88.09±7.13 | | |
| | 4 주(방문 3) | 89.03±7.70 | 87.43±7.64 | | |
| | Change from baseline | -0.09±1.39 | -0.66±1.64 | 0.9466 | 0.9404 |
| | p-value] | 0.6811 | 0.0148 | | |
| | 8 주(방문 4) | 88.54±7.72 | 87.30±7.32 | | |
| | Change from baseline | -0.58±1.80 | -0.79±1.91 | 0.6861 | 0.7027 |
| | p-value] | 0.0580 | 0.0128 | | |
| 엉덩이둘레 (cm) | Baseline(방문 2) | 102.32±5.44 | 102.28±5.03 | | |
| | 4 주(방문 3) | 102.42±5.87 | 101.95±5.07 | | |
| | Change from baseline | 0.09±1.43 | -0.33±1.20 | 0.9174 | 0.8954 |
| | p-value] | 0.6894 | 0.0936 | | |
| | 8 주(방문 4) | 101.97±5.82 | 101.84±5.03 | | |
| | Change from baseline | -0.35±1.54 | -0.44±1.21 | 0.6078 | 0.6004 |
| | p-value] | 0.1726 | 0.0277 | | |
| 허리/엉덩이 둘레비 | Baseline(방문 2) | 0.87±0.06 | 0.86±0.06 | | |
| | 4 주(방문 3) | 0.87±0.06 | 0.86±0.06 | | |
| | Change from baseline | -0.00±0.01 | -0.00±0.01 | 0.8098 | 0.8339 |
| | p-value] | 0.5708 | 0.0405 | | |
| | 8 주(방문 4) | 0.87±0.06 | 0.86±0.06 | | |
| | Change from baseline | -0.00±0.02 | -0.00±0.02 | 0.7241 | 0.7557 |
| | p-value] | 0.4207 | 0.0655 | | |

*: Compared between groups; p-value by t-test

** : Compared between groups; p-value by ANCOVA(식이섭취량과 운동칼로리소모량으로 보정)

] : Compared within groups; p-value by paired t-test

Table 16. 허리둘레, 엉덩이둘레, 허리/엉덩이 둘레비 변화 비교 (PP set)

| | | 시험군(키토올리고당) | 대조군(Placebo) | p-value* | p-value** |
|---------------|----------------------|-------------|---------------|----------|-----------|
| | | N=36 | N=36 | | |
| | | Mean±SD | Mean±SD | | |
| 허리둘레 (cm) | Baseline(방문 2) | 88.82±7.38 | 87.63±6.99 | | |
| | 4 주(방문 3) | 88.72±7.57 | 86.86±7.50 | | |
| | Change from baseline | -0.10±1.41 | -0.76±1.70 | 0.9631 | 0.9615 |
| | p-value] | 0.6812 | 0.0106 | | |
| | 8 주(방문 4) | 88.22±7.58 | 86.75±7.14 | | |
| | Change from baseline | -0.60±1.83 | -0.88±1.99 | 0.7301 | 0.7614 |
| | p-value] | 0.0579 | 0.0125 | | |
| 엉덩이둘레 (cm) | Baseline(방문 2) | 101.75±4.23 | 102.06±5.03 | | |
| | 4 주(방문 3) | 101.79±4.52 | 101.65±4.98 | | |
| | Change from baseline | 0.04±1.41 | -0.40±1.18 | 0.9241 | 0.9068 |
| | p-value] | 0.8604 | 0.0485 | | |
| | 8 주(방문 4) | 101.39±4.67 | 101.57±5.01 | | |
| | Change from baseline | -0.36±1.56 | -0.49±1.27 | 0.6451 | 0.6390 |
| | p-value] | 0.1727 | 0.0275 | | |
| 허리/엉덩이 둘레비 | Baseline(방문 2) | 0.87±0.06 | 0.86±0.06 | | |
| | 4 주(방문 3) | 0.87±0.06 | 0.85±0.06 | | |
| | Change from baseline | -0.00±0.01 | -0.00±0.01 | 0.8708 | 0.8988 |
| | p-value] | 0.6485 | 0.0273 | | |
| | 8 주(방문 4) | 0.87±0.06 | 0.85±0.06 | | |
| | Change from baseline | -0.00±0.02 | -0.01±0.02 | 0.7479 | 0.7954 |
| | p-value] | 0.4210 | 0.0654 | | |

*: Compared between groups; p-value by t-test

** : Compared between groups; p-value by ANCOVA(식이섭취량과 운동칼로리소모량으로 보정)

] : Compared within groups; p-value by paired t-test

(3) 체질량지수(BMI)

Table 17은 0주, 4주, 8주에서 측정된 체질량지수(BMI) 변화를 ITT set을 대상으로 분석한 결과이다.

BMI의 변화를 살펴보면 시험군에서는 4주, 8주에 각각 0.13±0.42 kg/m², 0.03±0.51 kg/m² 증가되었고, 대조군에서는 0.11±0.44 kg/m², 0.13±0.42 kg/m² 증가하였다. 두군 모두 군내 유의한 차이는 관찰되지 않았으며, 군간의 차이에서도 통계적으로 유의한 차이는 없었다(p=0.5686, p=0.1748).

PP set에 대한 분석에서도 유사한 결과가 나타났다(Table 18).

Table 17. BMI 변화 비교 (ITT set)

| | | 시험군(키토올리고당) N=37 Mean±SD | 대조군(Placebo) N=40 Mean±SD | p-value* | p-value** |
|-----------------------------|----------------------|--------------------------------|---------------------------------|----------|-----------|
| BMI (kg/m ²) | Baseline(방문 2) | 27.73±2.78 | 27.85±2.25 | | |
| | 4 주(방문 3) | 27.85±2.73 | 27.96±2.40 | | |
| | Change from baseline | 0.13±0.42 | 0.11±0.44 | 0.5686 | 0.5485 |
| | p-value] | 0.0754 | 0.1211 | | |
| | 8 주(방문 4) | 27.76±2.71 | 27.98±2.40 | | |
| | Change from baseline | 0.03±0.51 | 0.13±0.42 | 0.1748 | 0.1728 |
| | p-value] | 0.7020 | 0.0528 | | |

*: Compared between groups; p-value by t-test

** : Compared between groups; p-value by ANCOVA(식이섭취량과 운동칼로리소모량으로 보정)

] : Compared within groups; p-value by paired t-test

Table 18. BMI 변화 비교 (PP set)

| | | 시험군(키토올리고당) N=36 Mean±SD | 대조군(Placebo) N=36 Mean±SD | p-value* | p-value** |
|-----------------------------|----------------------|--------------------------------|---------------------------------|----------|-----------|
| BMI (kg/m ²) | Baseline(방문 2) | 27.41±2.00 | 27.75±2.18 | | |
| | 4 주(방문 3) | 27.54±1.97 | 27.86±2.31 | | |
| | Change from baseline | 0.13±0.43 | 0.11±0.44 | 0.5856 | 0.5371 |
| | p-value] | 0.0689 | 0.1410 | | |
| | 8 주(방문 4) | 27.44±1.91 | 27.89±2.35 | | |
| | Change from baseline | 0.03±0.52 | 0.15±0.44 | 0.1594 | 0.1496 |
| | p-value] | 0.7022 | 0.0527 | | |

*: Compared between groups; p-value by t-test

** : Compared between groups; p-value by ANCOVA(식이섭취량과 운동칼로리소모량으로 보정)

] : Compared within groups; p-value by paired t-test

(4) DEXA를 통한 체지방량, 제지방량

Table 19는 0주, 8주에서 DEXA를 통해 측정된 체지방량, 제지방량에 대한 변화를 ITT set을 대상으로 분석한 결과이다.

8주 후 체지방량 변화를 살펴보면 시험군은 194.24±1116.27 g 감소했으며, 대조군은 156.70±1055.77 g 증가하였다. 두군 모두 군내 유의한 차이는 나타나지 않았으며, 군간 유의한 차이도 관찰되지 않았다(p=0.0802).

8주 후 제지방량은 시험군에서는 414.89±1072.13 g, 대조군은 162.30±1137.78 g

증가하였으며 시험군에서만 군내 유의한 증가를 나타냈다($p=0.0242$). 군간 유의한 차이는 관찰되지 않았다($p=0.1601$).

PP set에 대한 분석에서도 유사한 결과가 나타났다(Table 20).

Table 19. 체지방량, 제지방량 변화 비교 (ITT set)

| | | 시험군(키토올리고당) N=37 Mean±SD | 대조군(Placebo) N=40 Mean±SD | p-value* | p-value** |
|---------|----------------------|--------------------------------|---------------------------------|----------|-----------|
| Fat(g) | Baseline(방문 2) | 26641.11±4969.37 | 26951.90±5167.89 | | |
| | 8 주(방문 4) | 26446.86±5184.51 | 27108.60±5516.17 | | |
| | Change from baseline | -194.24±1116.27 | 156.70±1055.77 | 0.0802 | 0.0976 |
| | p-value‡ | 0.2969 | 0.3537 | | |
| Lean(g) | Baseline(방문 2) | 40879.08±7826.74 | 41390.35±7342.52 | | |
| | 8 주(방문 4) | 41293.97±8071.87 | 41552.65±7571.80 | | |
| | Change from baseline | 414.89±1072.13 | 162.30±1137.78 | 0.1601 | 0.1825 |
| | p-value‡ | 0.0242 | 0.3725 | | |

*: Compared between groups; p-value by t-test

** : Compared between groups; p-value by ANCOVA(식이섭취량과 운동칼로리소모량으로 보정)

‡ : Compared within groups; p-value by paired t-test

Table 20. 체지방량, 제지방량 변화 비교 (PP set)

| | | 시험군(키토올리고당) N=36 Mean±SD | 대조군(Placebo) N=36 Mean±SD | p-value* | p-value** |
|---------|----------------------|--------------------------------|---------------------------------|----------|-----------|
| Fat(g) | Baseline(방문 2) | 26138.89±3975.08 | 26683.53±5185.09 | | |
| | 8 주(방문 4) | 25939.25±4223.84 | 26857.64±5578.93 | | |
| | Change from baseline | -199.64±1131.62 | 174.11±1113.06 | 0.0811 | 0.0991 |
| | p-value‡ | 0.2971 | 0.3544 | | |
| Lean(g) | Baseline(방문 2) | 40624.25±7780.53 | 40734.56±7048.03 | | |
| | 8 주(방문 4) | 41050.67±8047.59 | 40914.89±7329.73 | | |
| | Change from baseline | 426.42±1085.01 | 180.33±1199.64 | 0.1823 | 0.2174 |
| | p-value‡ | 0.0241 | 0.3733 | | |

*: Compared between groups; p-value by t-test

** : Compared between groups; p-value by ANCOVA(식이섭취량과 운동칼로리소모량으로 보정)

‡ : Compared within groups; p-value by paired t-test

(5) CT를 통한 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적, 내장지방/피하지방 면적비

Table 21은 0주, 8주에서 CT를 통해 측정된 복부의 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적, 내장지방/피하지방 면적비의 변화를 ITT set을 대상으로 분석한 결과이다.

내장지방 면적의 변화를 살펴보면, 시험군은 $9.15 \pm 48.79 \text{ cm}^2$ 감소되었으며, 대조군은 $3.23 \pm 14.93 \text{ cm}^2$ 증가하였다. 두군 모두 군내 유의한 차이는 관찰되지 않았으며, 군간 유의한 차이도 관찰되지 않았다($p=0.0730$).

피하지방 면적의 변화를 살펴보면, 시험군은 $4.41 \pm 29.57 \text{ cm}^2$ 감소되었으며, 대조군에서는 $0.31 \pm 18.70 \text{ cm}^2$ 감소되었다. 두군 모두 군내 유의한 차이는 관찰되지 않았으며, 군간 유의한 차이도 관찰되지 않았다($p=0.2368$).

총 복부지방 면적의 변화를 살펴보면, 시험군은 $13.57 \pm 48.67 \text{ cm}^2$ 감소, 대조군에서는 $2.92 \pm 24.03 \text{ cm}^2$ 증가하였으며 두군 모두 군내 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 두 군간의 차이에서는 통계적으로 유의한 차이가 관찰되었다($p=0.0342$).

내장지방/피하지방 면적비의 변화를 살펴보면, 시험군은 0.05 ± 0.26 감소, 대조군에서는 0.06 ± 0.31 증가하였고 두군 모두 군내 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 군간 유의한 차이는 관찰되지 않았다($p=0.0504$).

PP set에 대한 분석에서도 유사한 결과가 나타났다(Table 22).

Table 21. 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적, 내장지방/피하지방 면적비의 변화 비교 (ITT set)

| | | 시험군(키토올리고당) | 대조군(Placebo) | | |
|------------------------------|----------------------|--------------|--------------|---------------|---------------|
| | | N=37 | N=40 | p-value* | p-value** |
| | | Mean±SD | Mean±SD | | |
| 내장지방 (cm ²) | Baseline(방문 2) | 144.35±55.37 | 119.67±41.13 | | |
| | 8 주(방문 4) | 135.20±50.48 | 122.90±43.59 | | |
| | Change from baseline | -9.15±48.79 | 3.23±14.93 | 0.0730 | 0.0693 |
| | p-value‡ | 0.2614 | 0.1790 | | |
| 피하지방 (cm ²) | Baseline(방문 2) | 257.31±61.15 | 268.00±66.86 | | |
| | 8 주(방문 4) | 252.90±56.00 | 267.69±75.83 | | |
| | Change from baseline | -4.41±29.57 | -0.31±18.70 | 0.2368 | 0.2449 |
| | p-value‡ | 0.3698 | 0.9168 | | |
| 총 복부지방 (cm ²) | Baseline(방문 2) | 401.66±69.84 | 387.67±76.77 | | |
| | 8 주(방문 4) | 388.09±72.16 | 390.59±88.07 | | |
| | Change from baseline | -13.57±48.67 | 2.92±24.03 | 0.0342 | 0.0342 |
| | p-value‡ | 0.0985 | 0.4469 | | |
| 내장/피하지방 면적비 | Baseline(방문 2) | 0.61±0.33 | 0.48±0.24 | | |
| | 8 주(방문 4) | 0.56±0.27 | 0.54±0.38 | | |
| | Change from baseline | -0.05±0.26 | 0.06±0.31 | 0.0504 | 0.0506 |
| | p-value‡ | 0.3031 | 0.1984 | | |

*: Compared between groups; p-value by t-test

** : Compared between groups; p-value by ANCOVA(식이섭취량과 운동칼로리소모량으로 보정)

‡ : Compared within groups; p-value by paired t-test

Table 22. 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적, 내장지방/피하지방 면적비의 변화 비교 (PP set)

| | | 시험군(키토올리고당) | 대조군(Placebo) | | |
|------------------------------|----------------------|--------------|--------------|---------------|---------------|
| | | N=36 | N=36 | p-value* | p-value** |
| | | Mean±SD | Mean±SD | | |
| 내장지방 (cm ²) | Baseline(방문 2) | 143.72±56.02 | 114.19±35.40 | | |
| | 8 주(방문 4) | 134.31±50.90 | 117.78±39.05 | | |
| | Change from baseline | -9.41±49.45 | 3.59±15.72 | 0.0702 | 0.0729 |
| | p-value‡ | 0.2615 | 0.1794 | | |
| 피하지방 (cm ²) | Baseline(방문 2) | 254.61±59.73 | 268.93±66.87 | | |
| | 8 주(방문 4) | 250.07±54.05 | 268.58±76.80 | | |
| | Change from baseline | -4.54±29.98 | -0.35±19.74 | 0.2431 | 0.2599 |
| | p-value‡ | 0.3700 | 0.9169 | | |
| 총 복부지방 (cm ²) | Baseline(방문 2) | 398.32±67.78 | 383.12±75.69 | | |
| | 8 주(방문 4) | 384.38±69.51 | 386.36±88.51 | | |
| | Change from baseline | -13.95±49.30 | 3.24±25.35 | 0.0342 | 0.0384 |
| | p-value‡ | 0.0985 | 0.4477 | | |
| 내장/피하지방 면적비 | Baseline(방문 2) | 0.61±0.33 | 0.45±0.22 | | |
| | 8 주(방문 4) | 0.57±0.28 | 0.52±0.38 | | |
| | Change from baseline | -0.05±0.27 | 0.07±0.32 | 0.0492 | 0.0481 |
| | p-value‡ | 0.3033 | 0.1989 | | |

*: Compared between groups; p-value by t-test

** : Compared between groups; p-value by ANCOVA(식이섭취량과 운동칼로리소모량으로 보정)

‡: Compared within groups; p-value by paired t-test

(6) Clinical lab: Adiponectin, Insulin, Leptin, IL-2, IL-4, IFN-γ

Table 23은 0주, 8주에서 측정한 Adiponectin, Insulin, Leptin, IFN-γ의 변화를 ITT set을 대상으로 분석한 결과이다.

Adiponectin의 변화를 살펴보면 시험군은 0.08±1.93 μg/mL 감소, 대조군은 0.28±1.73 μg/mL 증가하였고 두군 모두 군내 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 두 군간의 차이에서도 유의한 차이는 관찰되지 않았다(p=0.8075).

Insulin의 변화를 살펴보면 시험군은 0.13±6.84 μU/mL 감소, 대조군은 1.53±5.61 μU/mL 증가하였고 두군 모두 군내 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 두 군간의 차이에서도 유의한 차이는 관찰되지 않았다(p=0.1222).

Leptin의 변화를 살펴보면 시험군은 0.34±3.85 ng/mL, 대조군은 0.51±3.50 ng/mL

감소하였고 두군 모두 군내 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 두 군간의 차이에서도 유의한 차이는 관찰되지 않았다($p=0.5798$).

IFN- γ 의 변화를 살펴보면 시험군은 0.01 ± 2.36 pg/mL, 대조군은 0.30 ± 2.22 pg/mL 증가하였고 두군 모두 군내 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 두 군간의 차이에서도 유의한 차이는 관찰되지 않았다($p=0.7090$).

L-2, IL4의 검사결과는 약 60%이상이 Detection limit 이하(Below 1.0, Below 3.2)로 나타나 분석대상에서 제외되었다.

PP set에 대한 분석에서도 유사한 결과가 나타났다(Table 24).

Table 23. Clinical lab 변화 비교 (ITT set)

| | | 시험군(키토올리고당) | 대조군(Placebo) | | |
|------------------------------|----------------------|------------------|------------------|----------|-----------|
| | | N=37 | N=40 | p-value* | p-value** |
| | | Mean \pm SD | Mean \pm SD | | |
| Adiponectin (μ g/mL) | Baseline(방문 2) | 5.95 \pm 3.66 | 5.36 \pm 2.83 | | |
| | 8 주(방문 4) | 5.87 \pm 3.37 | 5.64 \pm 3.41 | | |
| | Change from baseline | -0.08 \pm 1.93 | 0.28 \pm 1.73 | 0.8075 | 0.7821 |
| | p-value] | 0.7967 | 0.3083 | | |
| Insulin (μ U/mL) | Baseline(방문 2) | 10.59 \pm 7.03 | 8.92 \pm 5.33 | | |
| | 8 주(방문 4) | 10.45 \pm 5.65 | 10.45 \pm 6.20 | | |
| | Change from baseline | -0.13 \pm 6.84 | 1.53 \pm 5.61 | 0.1222 | 0.1251 |
| | p-value] | 0.9054 | 0.0919 | | |
| Leptin (ng/mL) | Baseline(방문 2) | 8.05 \pm 5.42 | 8.56 \pm 5.57 | | |
| | 8 주(방문 4) | 7.71 \pm 4.79 | 8.04 \pm 3.77 | | |
| | Change from baseline | -0.34 \pm 3.85 | -0.51 \pm 3.50 | 0.5798 | 0.5819 |
| | p-value] | 0.5911 | 0.3600 | | |
| IFN- γ (pg/mL) | Baseline(방문 2) | 7.50 \pm 1.72 | 7.42 \pm 1.43 | | |
| | 8 주(방문 4) | 7.51 \pm 1.49 | 7.72 \pm 1.60 | | |
| | Change from baseline | 0.01 \pm 2.36 | 0.30 \pm 2.22 | 0.7090 | 0.7421 |
| | p-value] | 0.9785 | 0.3991 | | |

*: Compared between groups; p-value by t-test

** : Compared between groups; p-value by ANCOVA(식이섭취량과 운동칼로리소모량으로 보정)

] : Compared within groups; p-value by paired t-test

Table 24. Clinical lab 변화 비교 (PP set)

| | | 시험군(키토올리고당) | 대조군(Placebo) | | |
|------------------------------|----------------|-----------------|-----------------|----------|-----------|
| | | N=36 | N=36 | p-value* | p-value** |
| | | Mean \pm SD | Mean \pm SD | | |
| Adiponectin (μ g/mL) | Baseline(방문 2) | 6.06 \pm 3.65 | 5.52 \pm 2.83 | | |
| | 8 주(방문 4) | 5.97 \pm 3.36 | 5.83 \pm 3.46 | | |

| | | 시험군(키토올리고당) | 대조군(Placebo) | p-value* | p-value** |
|--------------------|----------------------|-------------|--------------|----------|-----------|
| | | N=36 | N=36 | | |
| | | Mean±SD | Mean±SD | | |
| | Change from baseline | -0.08±1.96 | 0.31±1.82 | 0.8125 | 0.7837 |
| | p-value‡ | 0.7968 | 0.3090 | | |
| Insulin (μU/mL) | Baseline(방문 2) | 10.18±6.66 | 8.63±4.81 | | |
| | 8 주(방문 4) | 10.04±5.12 | 10.33±5.93 | | |
| | Change from baseline | -0.14±6.94 | 1.70±5.90 | 0.1145 | 0.1239 |
| | p-value‡ | 0.9055 | 0.0919 | | |
| Leptin (ng/mL) | Baseline(방문 2) | 7.58±4.66 | 8.74±5.74 | | |
| | 8 주(방문 4) | 7.23±3.84 | 8.17±3.79 | | |
| | Change from baseline | -0.35±3.91 | -0.57±3.69 | 0.5953 | 0.5997 |
| | p-value‡ | 0.5913 | 0.3607 | | |
| IFN-γ (pg/mL) | Baseline(방문 2) | 7.53±1.74 | 7.35±1.46 | | |
| | 8 주(방문 4) | 7.54±1.50 | 7.68±1.65 | | |
| | Change from baseline | 0.01±2.39 | 0.33±2.34 | 0.7168 | 0.7533 |
| | p-value‡ | 0.9785 | 0.3999 | | |

*: Compared between groups; p-value by t-test

** : Compared between groups; p-value by ANCOVA(식이섭취량과 운동칼로리소모량으로 보정)

‡ : Compared within groups; p-value by paired t-test

10.3.3 유효성 평가변수에 대한 추가분석

추가로 탐색적 목적을 위해 DEXA를 통해 측정된 체지방률, 체지방량, 제지방량과 CT를 통해 측정된 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적, 내장지방/피하지방 면적비에 대하여 BMI, 허리둘레, 내장지방/피하지방 면적비에 따른 추가분석을 실시하였다.

10.3.3.1 BMI에 따른 유효성 평가분석

ITT set에서 BMI 30 kg/m²을 기준으로 BMI 30 kg/m² 미만 그룹(시험군 31명, 대조군 34명), BMI 30 kg/m² 이상 그룹(시험군 6명, 대조군 6명)을 대상으로 0주, 8주에 DEXA와 CT를 통해 측정된 유효성 평가변수를 분석하였다.

(1) BMI 30 kg/m² 미만 그룹

8주 후 BMI 30 kg/m² 미만 그룹은 체지방률, 체지방량, 제지방량, 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적, 내장지방/피하지방 면적비 모두에서 두 군간의 유의한 차이는 관찰되지 않았다(Table 25).

Table 25. BMI 30 kg/m² 미만 그룹의 DEXA, CT 변화 비교 (ITT set)

| | | 시험군(키토올리고당) N=31 Mean±SD | 대조군(Placebo) N=34 Mean±SD | p-value* | p-value** |
|---------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------|-----------|
| Tissue (%Fat) | Baseline(방문 2) | 39.43±4.82 | 38.80±5.29 | | |
| | 8 주(방문 4) | 39.03±5.46 | 38.83±5.83 | | |
| | Change from baseline p-value] | -0.40±1.55 0.1632 | 0.04±1.50 0.8914 | 0.1283 | 0.1309 |
| Fat(g) | Baseline(방문 2) | 25373.39±3574.85 | 25733.65±4223.14 | | |
| | 8 주(방문 4) | 25277.42±4009.22 | 25856.79±4642.94 | | |
| | Change from baseline p-value] | -95.97±1141.97 0.6432 | 123.15±1128.57 0.5290 | 0.2199 | 0.2227 |
| Lean(g) | Baseline(방문 2) | 39309.90±6798.98 | 40840.32±6982.45 | | |
| | 8 주(방문 4) | 39767.94±7036.42 | 40914.44±7019.50 | | |
| | Change from baseline p-value] | 458.03±1103.29 0.0279 | 74.12±1097.98 0.6964 | 0.0825 | 0.0885 |
| 내장지방 (cm ²) | Baseline(방문 2) | 139.89±57.68 | 117.32±41.02 | | |
| | 8 주(방문 4) | 133.64±54.10 | 118.35±42.65 | | |
| | Change from baseline p-value] | -6.25±51.86 0.5076 | 1.03±13.32 0.6551 | 0.2267 | 0.2190 |
| 피하지방 (cm ²) | Baseline(방문 2) | 247.13±55.80 | 253.89±58.59 | | |
| | 8 주(방문 4) | 243.52±51.26 | 250.97±64.22 | | |
| | Change from baseline p-value] | -3.61±31.88 0.5332 | -2.92±17.26 0.3313 | 0.4577 | 0.4831 |
| 총 복부지방 (cm ²) | Baseline(방문 2) | 387.02±64.52 | 371.20±63.98 | | |
| | 8 주(방문 4) | 377.16±70.55 | 369.31±70.99 | | |
| | Change from baseline p-value] | -9.86±51.10 0.2912 | -1.89±21.68 0.6146 | 0.2128 | 0.2195 |
| 내장/피하지방 면적비 | Baseline(방문 2) | 0.61±0.34 | 0.50±0.26 | | |
| | 8 주(방문 4) | 0.58±0.29 | 0.51±0.27 | | |
| | Change from baseline p-value] | -0.04±0.29 0.4668 | 0.01±0.07 0.2907 | 0.1723 | 0.1599 |

*: Compared between groups; p-value by t-test

** : Compared between groups; p-value by ANCOVA(식이섭취량과 운동칼로리소모량으로 보정)

] : Compared within groups; p-value by paired t-test

(2) BMI 30 kg/m² 이상 그룹

8주 후 BMI 30 kg/m² 이상 그룹은 체지방량, 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적에서 두 군간의 유의한 차이가 관찰되었다(Table 26).

8주 후 BMI 30 kg/m² 이상 그룹의 체지방량은 시험군에서는 702.00±881.96 g 감소되었으며,

대조군에서는 346.83 ± 486.77 g 증가하였다. 두군 모두 군내 유의한 차이는 관찰되지 않았으나 두 군간의 차이에서는 유의한 차이를 보였다($p=0.0144$).

BMI 30 kg/m^2 이상 그룹의 내장지방 면적은 시험군에서는 $24.16 \pm 26.04 \text{ cm}^2$ 감소되었으며, 대조군에서는 $15.70 \pm 18.67 \text{ cm}^2$ 증가하였다. 두군 모두 군내 유의한 차이는 관찰되지 않았으나 두 군간의 차이에서는 유의한 차이가 관찰되었다($p=0.0062$).

BMI 30 kg/m^2 이상 그룹의 피하지방 면적은 시험군은 $8.58 \pm 13.14 \text{ cm}^2$ 감소되었으며, 대조군에서는 $14.47 \pm 21.25 \text{ cm}^2$ 증가하였다. 두군 모두 군내 유의한 차이는 관찰되지 않았으나 두 군간의 차이에서는 유의한 차이가 관찰되었다($p=0.0237$).

BMI 30 kg/m^2 이상 그룹의 총 복부지방 면적은 시험군은 $32.74 \pm 29.32 \text{ cm}^2$ 감소되었으며, 대조군에서는 $30.17 \pm 18.80 \text{ cm}^2$ 증가하였다. 두군 모두 군내 유의한 차이가 관찰되었으며, 군간 유의한 차이도 관찰되었다($p=0.0007$).

Table 26. BMI 30 kg/m^2 이상 그룹의 DEXA, CT 변화 비교 (ITT set)

| | | 시험군(키토올리고당) | 대조군(Placebo) | p-value* | p-value** |
|--------------------------|----------------------|------------------|-------------------|---------------|---------------|
| | | N=6 | N=6 | | |
| | | Mean±SD | Mean±SD | | |
| Tissue (%Fat) | Baseline(방문 2) | 40.50±5.88 | 43.55±7.75 | | |
| | 8 주(방문 4) | 39.90±6.43 | 43.55±8.13 | | |
| | Change from baseline | -0.60±0.74 | 0.00±0.82 | 0.1065 | 0.1277 |
| | p-value] | 0.1029 | 1.0000 | | |
| Fat(g) | Baseline(방문 2) | 33191.00±6299.07 | 33855.33±4829.46 | | |
| | 8 주(방문 4) | 32489.00±6693.17 | 34202.17±4901.62 | | |
| | Change from baseline | -702.00±881.96 | 346.83±486.77 | 0.0144 | 0.0247 |
| | p-value] | 0.1087 | 0.1414 | | |
| Lean(g) | Baseline(방문 2) | 48986.50±8340.07 | 44507.17±9220.82 | | |
| | 8 주(방문 4) | 49178.50±9111.06 | 45169.17±10174.55 | | |
| | Change from baseline | 192.00±949.44 | 662.00±1337.23 | 0.7507 | 0.6080 |
| | p-value] | 0.6414 | 0.2794 | | |
| 내장지방 (cm^2) | Baseline(방문 2) | 167.39±36.74 | 133.01±42.87 | | |
| | 8 주(방문 4) | 143.22±26.25 | 148.71±43.35 | | |
| | Change from baseline | -24.16±26.04 | 15.70±18.67 | 0.0062 | 0.0353 |
| | p-value] | 0.0721 | 0.0944 | | |
| 피하지방 (cm^2) | Baseline(방문 2) | 309.91±65.39 | 348.00±56.34 | | |
| | 8 주(방문 4) | 301.34±58.77 | 362.47±70.36 | | |
| | Change from baseline | -8.58±13.14 | 14.47±21.25 | 0.0237 | 0.1047 |
| | p-value] | 0.1707 | 0.1563 | | |
| 총 복부지방 (cm^2) | Baseline(방문 2) | 477.30±44.20 | 481.01±81.55 | | |
| | 8 주(방문 4) | 444.56±55.39 | 511.18±81.88 | | |
| | Change from baseline | -32.74±29.32 | 30.17±18.80 | 0.0007 | 0.0096 |
| | | | | | |

| | | 시험군(키토올리고당) | 대조군(Placebo) | p-value* | p-value** |
|----------------|----------------------|-------------|---------------|---------------|-----------|
| | | N=6 | N=6 | | |
| | | Mean±SD | Mean±SD | | |
| | | p-value] | 0.0410 | 0.0111 | |
| 내장/피하지방 면적비 | Baseline(방문 2) | 0.58±0.26 | 0.39±0.12 | | |
| | 8 주(방문 4) | 0.50±0.16 | 0.74±0.78 | | |
| | Change from baseline | -0.09±0.12 | 0.35±0.77 | 0.1118 | 0.1167 |
| | | p-value] | 0.1314 | 0.3118 | |

*: Compared between groups; p-value by t-test

** : Compared between groups; p-value by ANCOVA(식이섭취량과 운동칼로리소모량으로 보정)

] : Compared within groups; p-value by paired t-test

10.3.3.2 허리둘레에 따른 유효성 평가분석

ITT set에서 복부비만의 기준인 허리둘레를 기준으로 남자 90 cm, 여자 85 cm 미만 그룹(시험군 14명, 대조군 14명), 남자 90 cm, 여자 85 cm 이상 그룹(시험군 23명, 대조군 26명)을 대상으로 0주, 8주에 DEXA와 CT를 통해 측정된 유효성 평가변수를 분석하였다.

(1) 허리둘레 남자 90 cm, 여자 85 cm 미만 그룹

8주 후 허리둘레 남자 90 cm, 여자 85 cm 미만 그룹은 제지방량에서 두 군간의 유의한 차이가 관찰되었다(Table 27).

허리둘레 남자 90 cm, 여자 85 cm 미만 그룹의 제지방량은 시험군에서는 761.14±910.98 g, 대조군에서는 86.86±744.09 g 각각 증가하였으며 시험군에서만 군내 유의한 차이가 관찰되었다(p=0.0080). 군간 유의한 차이도 나타났다(p=0.0208).

Table 27. 허리둘레 남자 90 cm, 여자 85 cm 미만 그룹의 DEXA, CT 변화 비교 (ITT set)

| | | 시험군(키토올리고당) | 대조군(Placebo) | p-value* | p-value** |
|------------------|----------------------|------------------|------------------|----------|-----------|
| | | N=14 | N=14 | | |
| | | Mean±SD | Mean±SD | | |
| Tissue (%Fat) | Baseline(방문 2) | 39.06±4.45 | 39.14±5.35 | | |
| | 8 주(방문 4) | 38.57±5.04 | 38.91±6.34 | | |
| | Change from baseline | -0.49±1.32 | -0.23±1.58 | 0.3223 | 0.4011 |
| | | p-value] | 0.1921 | 0.5981 | |
| Fat(g) | Baseline(방문 2) | 23620.50±2615.88 | 23704.57±3579.04 | | |
| | 8 주(방문 4) | 23631.36±2925.78 | 23610.57±4395.16 | | |
| | Change from baseline | 10.86±941.19 | -94.00±1200.97 | 0.6005 | 0.6723 |
| | | p-value] | 0.9662 | 0.7743 | |
| Lean(g) | Baseline(방문 2) | 37139.07±5298.67 | 37018.36±5301.87 | | |

| | | 시험군(키토올리고당) | 대조군(Placebo) | p-value* | p-value** |
|------------------------------|----------------------|------------------|------------------|---------------|---------------|
| | | N=14 | N=14 | | |
| | | Mean±SD | Mean±SD | | |
| | 8 주(방문 4) | 37900.21±5468.85 | 37105.21±5228.50 | | |
| | Change from baseline | 761.14±910.98 | 86.86±744.09 | 0.0208 | 0.0373 |
| | p-value] | 0.0080 | 0.6695 | | |
| 내장지방 (cm ²) | Baseline(방문 2) | 107.27±29.76 | 87.86±25.24 | | |
| | 8 주(방문 4) | 105.74±32.84 | 86.07±26.29 | | |
| | Change from baseline | -1.53±18.78 | -1.79±9.00 | 0.5188 | 0.5108 |
| | p-value] | 0.7659 | 0.4696 | | |
| 피하지방 (cm ²) | Baseline(방문 2) | 230.43±37.98 | 234.68±48.87 | | |
| | 8 주(방문 4) | 229.95±36.03 | 231.50±62.39 | | |
| | Change from baseline | -0.48±26.70 | -3.18±22.74 | 0.6122 | 0.5586 |
| | p-value] | 0.9475 | 0.6098 | | |
| 총 복부지방 (cm ²) | Baseline(방문 2) | 337.70±35.47 | 322.54±48.03 | | |
| | 8 주(방문 4) | 335.70±44.94 | 317.57±60.02 | | |
| | Change from baseline | -2.00±37.08 | -4.97±25.71 | 0.5961 | 0.5506 |
| | p-value] | 0.8428 | 0.4823 | | |
| 내장/피하지방 면적비 | Baseline(방문 2) | 0.49±0.20 | 0.39±0.15 | | |
| | 8 주(방문 4) | 0.47±0.18 | 0.40±0.18 | | |
| | Change from baseline | -0.02±0.09 | 0.01±0.06 | 0.2022 | 0.2266 |
| | p-value] | 0.5508 | 0.5434 | | |

*: Compared between groups; p-value by t-test

** : Compared between groups; p-value by ANCOVA(식이섭취량과 운동칼로리소모량으로 보정)

] : Compared within groups; p-value by paired t-test

(2) 허리둘레 남자 90 cm, 여자 85 cm 이상 그룹

8주 후 허리둘레 남자 90 cm, 여자 85 cm 이상 그룹은 체지방량, 총 복부지방 면적에서 두 군간의 유의한 차이가 관찰되었다(Table 28).

허리둘레 남자 90 cm, 여자 85 cm 이상 그룹의 체지방량은 시험군에서는 319.09±1213.46 g 감소되었으며, 대조군에서는 291.69±966.79 g 증가하였다. 두군 모두 군내 유의한 차이는 관찰되지 않았으나 두 군간의 차이에서는 유의한 차이를 보였다(p=0.0281).

허리둘레 남자 90 cm, 여자 85 cm 이상 그룹의 총 복부지방 면적은 시험군은 20.61±54.09 cm² 감소되었고, 대조군에서는 7.17±22.44 cm² 증가하였다. 두군 모두 군내 유의한 차이는 관찰되지 않았으나 두 군간의 차이에서는 유의한 차이가 관찰되었다(p=0.0147).

Table 28. 허리둘레 남자 90 cm, 여자 85 cm 이상 그룹의 DEXA, CT 변화 비교 (ITT set)

| | | 시험군(키토올리고당) | 대조군(Placebo) | p-value* | p-value** |
|------------------------------|----------------------|------------------|------------------|---------------|---------------|
| | | N=23 | N=26 | | |
| | | Mean±SD | Mean±SD | | |
| Tissue (%Fat) | Baseline(방문 2) | 39.93±5.27 | 39.71±6.21 | | |
| | 8 주(방문 4) | 39.53±5.90 | 39.88±6.43 | | |
| | Change from baseline | -0.40±1.53 | 0.17±1.32 | 0.0860 | 0.1118 |
| | p-value [‡] | 0.2294 | 0.5178 | | |
| Fat(g) | Baseline(방문 2) | 28479.74±5198.59 | 28700.46±5090.88 | | |
| | 8 주(방문 4) | 28160.65±5550.74 | 28992.15±5184.68 | | |
| | Change from baseline | -319.09±1213.46 | 291.69±966.79 | 0.0281 | 0.0353 |
| | p-value [‡] | 0.2205 | 0.1365 | | |
| Lean(g) | Baseline(방문 2) | 43155.61±8326.49 | 43744.50±7281.41 | | |
| | 8 주(방문 4) | 43359.74±8783.70 | 43947.42±7627.71 | | |
| | Change from baseline | 204.13±1125.97 | 202.92±1314.03 | 0.4987 | 0.5766 |
| | p-value [‡] | 0.3940 | 0.4384 | | |
| 내장지방 (cm ²) | Baseline(방문 2) | 166.92±55.55 | 136.80±37.90 | | |
| | 8 주(방문 4) | 153.12±51.42 | 142.73±37.91 | | |
| | Change from baseline | -13.79±60.22 | 5.93±16.85 | 0.0706 | 0.0561 |
| | p-value [‡] | 0.2839 | 0.0846 | | |
| 피하지방 (cm ²) | Baseline(방문 2) | 273.68±67.28 | 285.95±69.10 | | |
| | 8 주(방문 4) | 266.86±61.85 | 287.18±76.27 | | |
| | Change from baseline | -6.81±31.52 | 1.23±16.42 | 0.1302 | 0.1464 |
| | p-value [‡] | 0.3114 | 0.7050 | | |
| 총 복부지방 (cm ²) | Baseline(방문 2) | 440.59±55.24 | 422.75±65.87 | | |
| | 8 주(방문 4) | 419.98±67.22 | 429.91±75.05 | | |
| | Change from baseline | -20.61±54.09 | 7.17±22.44 | 0.0147 | 0.0109 |
| | p-value [‡] | 0.0812 | 0.1160 | | |
| 내장/피하지방 면적비 | Baseline(방문 2) | 0.68±0.37 | 0.53±0.27 | | |
| | 8 주(방문 4) | 0.62±0.31 | 0.62±0.44 | | |
| | Change from baseline | -0.06±0.33 | 0.09±0.38 | 0.0656 | 0.0607 |
| | p-value [‡] | 0.3621 | 0.2227 | | |

*: Compared between groups; p-value by t-test

** : Compared between groups; p-value by ANCOVA(식이섭취량과 운동칼로리소모량으로 보정)

‡ : Compared within groups; p-value by paired t-test

10.3.3.3 내장지방/피하지방 면적비에 따른 유효성 평가분석

복부의 내장지방/피하지방 면적비가 0.4 미만이면 피하지방형 복부비만, 0.4 이상이면 내장지방형 복부비만으로 구분된다. 따라서 ITT set에서 복부의 내장지방/피하지방 면적비를 기준으로 내장지방/피하지방 면적비 0.4 미만 그룹(시험군 11명, 대조군 15명), 내장지방/피하지방 면적비 0.4 이상 그룹(시험군 26명, 대조군 25명)을 대상으로 0주, 8주에 DEXA와 CT를 통해 측정한다

유효성 평가변수를 분석하였다.

(1) 내장지방/피하지방 면적비 0.4 미만 그룹

8주 후 내장지방/피하지방 면적비 0.4 미만 그룹(피하지방형 복부비만)은 피하지방 면적, 총 복부지방 면적에서 두 군간의 유의한 차이가 관찰되었다(Table 29).

내장지방/피하지방 면적비 0.4 미만 그룹의 피하지방 면적은 시험군에서는 $23.97 \pm 27.05 \text{ cm}^2$ 감소되었으며, 대조군에서는 $3.64 \pm 21.88 \text{ cm}^2$ 증가하였다. 시험군에서만 군내 유의한 차이를 보이며 감소하였고($p=0.0148$), 군간 유의한 차이를 보였다($p=0.0042$).

내장지방/피하지방 면적비 0.4 미만 그룹의 총 복부지방 면적은 시험군은 $27.29 \pm 44.32 \text{ cm}^2$ 감소되었고, 대조군에서는 $7.94 \pm 27.78 \text{ cm}^2$ 증가하였다. 두군 모두 군내 유의한 차이는 관찰되지 않았으며, 두 군간의 차이에서는 유의한 차이가 관찰되었다($p=0.0100$).

Table 29. 내장지방/피하지방 면적비 0.4 미만 그룹의 DEXA, CT 변화 비교 (ITT set)

| | | 시험군(키토올리고당) | 대조군(Placebo) | | |
|---------------------------|----------------------|------------------|------------------|---------------|---------------|
| | | N=11 | N=15 | p-value* | p-value** |
| | | Mean±SD | Mean±SD | | |
| Tissue (%Fat) | Baseline(방문 2) | 40.03±3.77 | 42.76±6.29 | | |
| | 8 주(방문 4) | 39.60±3.87 | 42.57±7.06 | | |
| | Change from baseline | -0.43±1.84 | -0.19±1.70 | 0.3666 | 0.4151 |
| | p-value] | 0.4587 | 0.6767 | | |
| Fat(g) | Baseline(방문 2) | 26451.73±4223.22 | 28713.53±5713.82 | | |
| | 8 주(방문 4) | 26329.82±4750.64 | 28803.20±6226.17 | | |
| | Change from baseline | -121.91±1445.69 | 89.67±1310.90 | 0.3502 | 0.3969 |
| | p-value] | 0.7854 | 0.7949 | | |
| Lean(g) | Baseline(방문 2) | 39669.18±6437.91 | 38231.80±5055.24 | | |
| | 8 주(방문 4) | 40005.45±6435.90 | 38553.80±5132.71 | | |
| | Change from baseline | 336.27±1040.53 | 322.00±1048.50 | 0.4864 | 0.5222 |
| | p-value] | 0.3090 | 0.2541 | | |
| 내장지방 (cm ²) | Baseline(방문 2) | 95.93±33.22 | 88.74±27.80 | | |
| | 8 주(방문 4) | 92.62±31.46 | 93.04±38.97 | | |
| | Change from baseline | -3.31±23.88 | 4.30±17.33 | 0.1728 | 0.2083 |
| | p-value] | 0.6553 | 0.3528 | | |
| 피하지방 (cm ²) | Baseline(방문 2) | 302.41±53.56 | 305.06±58.28 | | |
| | 8 주(방문 4) | 278.44±59.21 | 308.70±70.17 | | |
| | Change from baseline | -23.97±27.05 | 3.64±21.88 | 0.0042 | 0.0087 |
| | p-value] | 0.0148 | 0.5304 | | |
| 총 복부지방 (cm ²) | Baseline(방문 2) | 398.35±83.20 | 393.80±80.93 | | |
| | 8 주(방문 4) | 371.06±86.63 | 401.74±96.61 | | |
| | Change from baseline | -27.29±44.32 | 7.94±27.78 | 0.0100 | 0.0183 |
| | | | | | |

| | | 시험군(키토올리고당) | 대조군(Placebo) | p-value* | p-value** |
|----------------|----------------------|-------------|--------------|----------|-----------|
| | | N=11 | N=15 | | |
| | | Mean±SD | Mean±SD | | |
| | | p-value] | | | |
| 내장/피하지방 면적비 | Baseline(방문 2) | 0.31±0.07 | 0.29±0.06 | | |
| | 8 주(방문 4) | 0.33±0.07 | 0.30±0.10 | | |
| | Change from baseline | 0.02±0.06 | 0.01±0.05 | 0.6048 | 0.5937 |
| | p-value] | 0.3932 | 0.3825 | | |

*: Compared between groups; p-value by t-test

** : Compared between groups; p-value by ANCOVA(식이섭취량과 운동칼로리소모량으로 보정)

] : Compared within groups; p-value by paired t-test

(2) 내장지방/피하지방 면적비 0.4 이상 그룹

8주 후 내장지방/피하지방 면적비 0.4 이상 그룹(내장지방형 복부비만)은 체지방률, 내장지방/피하지방 면적비에서 두 군간의 유의한 차이가 관찰되었다(Table 30).

내장지방/피하지방 면적비 0.4 이상 그룹의 체지방률은 시험군에서는 0.43±1.28 g 감소되었으며, 대조군에서는 0.16±1.22 g 증가하였다. 두군 모두 군내 유의한 차이는 관찰되지 않았으나 두 군간의 차이에서는 유의한 차이가 관찰되었다(p=0.0490).

내장지방/피하지방 면적비 0.4 이상 그룹의 내장지방/피하지방 면적비 변화는 시험군은 0.07±0.31 감소되었고, 대조군에서는 0.09±0.39 증가하였다. 두군 모두 군내 유의한 차이는 관찰되지 않았으나 두 군간의 차이에서는 유의한 차이가 관찰되었다(p=0.0475).

Table 30. 내장지방/피하지방 면적비 0.4 이상 그룹의 DEXA, CT 변화 비교 (ITT set)

| | | 시험군(키토올리고당) | 대조군(Placebo) | p-value* | p-value** |
|------------------|----------------------|------------------|------------------|---------------|-----------|
| | | N=26 | N=25 | | |
| | | Mean±SD | Mean±SD | | |
| Tissue (%Fat) | Baseline(방문 2) | 39.42±5.40 | 37.56±4.71 | | |
| | 8 주(방문 4) | 38.99±6.17 | 37.72±5.19 | | |
| | Change from baseline | -0.43±1.28 | 0.16±1.22 | 0.0490 | 0.0521 |
| | p-value] | 0.0978 | 0.5186 | | |
| Fat(g) | Baseline(방문 2) | 26721.23±5329.50 | 25894.92±4609.89 | | |
| | 8 주(방문 4) | 26496.38±5447.01 | 26091.84±4895.00 | | |
| | Change from baseline | -224.85±977.26 | 196.92±896.86 | 0.0576 | 0.0596 |
| | p-value] | 0.2518 | 0.2832 | | |
| Lean(g) | Baseline(방문 2) | 41390.96±8409.28 | 43285.48±7919.87 | | |
| | 8 주(방문 4) | 41839.12±8730.14 | 43351.96±8294.81 | | |
| | Change from baseline | 448.15±1103.75 | 66.48±1198.69 | 0.1212 | 0.1310 |
| | p-value] | 0.0489 | 0.7839 | | |

| | | 시험군(키토올리고당) | 대조군(Placebo) | p-value* | p-value** |
|------------------------------|----------------------|--------------|--------------|---------------|---------------|
| | | N=26 | N=25 | | |
| | | Mean±SD | Mean±SD | | |
| 내장지방 (cm ²) | Baseline(방문 2) | 164.83±50.05 | 138.23±36.63 | | |
| | 8 주(방문 4) | 153.21±46.24 | 140.82±36.20 | | |
| | Change from baseline | -11.62±56.37 | 2.59±13.63 | 0.1112 | 0.1144 |
| | p-value] | 0.3032 | 0.3520 | | |
| 피하지방 (cm ²) | Baseline(방문 2) | 238.23±54.44 | 245.77±62.52 | | |
| | 8 주(방문 4) | 242.09±52.01 | 243.09±69.21 | | |
| | Change from baseline | 3.86±26.96 | -2.68±16.53 | 0.8499 | 0.8436 |
| | p-value] | 0.4721 | 0.4257 | | |
| 총 복부지방 (cm ²) | Baseline(방문 2) | 403.06±65.18 | 384.00±75.62 | | |
| | 8 주(방문 4) | 395.29±65.70 | 383.91±83.88 | | |
| | Change from baseline | -7.77±50.07 | -0.09±21.52 | 0.2394 | 0.2402 |
| | p-value] | 0.4363 | 0.9833 | | |
| 내장/피하지방 면적비 | Baseline(방문 2) | 0.73±0.31 | 0.60±0.24 | | |
| | 8 주(방문 4) | 0.66±0.27 | 0.69±0.41 | | |
| | Change from baseline | -0.07±0.31 | 0.09±0.39 | 0.0475 | 0.0484 |
| | p-value] | 0.2490 | 0.2314 | | |

*: Compared between groups; p-value by t-test

** : Compared between groups; p-value by ANCOVA(식이섭취량과 운동칼로리소모량으로 보정)

] : Compared within groups; p-value by paired t-test

10.3.4 기타 분석

이상과 같은 분석결과에서 **Baseline(방문2)** 식이섭취량은 시험군에서 **1856.77±449.95 kcal**, 대조군에서 **1687.68±386.52 kcal**로 두 군간의 유의한 차이는 없었다(**p=0.0803**). **Baseline(방문2)** 운동칼로리소모량은 시험군에서는 **57.87±133.98 kcal**, 대조군에서는 **64.78±167.40 kcal**로 두 군간의 유의한 차이는 없었다(**p=0.8428**). 또한 이후 시험기간 동안 두 군의 식이섭취량 및 운동칼로리소모량은 군간 유의한 차이를 보이지 않았으며, 운동을 통한 칼로리소모량에 대한 변화도 없었다(**Table 31**).

Table 31. 식이섭취량 및 운동칼로리소모량 (ITT set)

| | | 시험군(키토올리고당) | 대조군(Placebo) | p-value* |
|---------------------|----------------------|----------------|----------------|----------|
| | | N=37 | N=40 | |
| | | Mean±SD | Mean±SD | |
| 식이섭취량 (kcal/day) | Baseline(방문 2) | 1856.77±449.95 | 1687.68±386.52 | 0.0803 |
| | 4 주(방문 3) | 1739.25±451.92 | 1678.83±376.66 | 0.5247 |
| | Change from baseline | -117.52±381.51 | -8.85±430.35 | 0.2462 |
| | p-value] | 0.0691 | 0.8971 | |
| | 8 주(방문 4) | 1806.77±398.82 | 1752.61±368.11 | 0.5373 |
| | Change from baseline | -50.00±367.62 | 64.93±449.16 | 0.2252 |

| | | 시험군(키토올리고당) | 대조군(Placebo) | p-value* |
|----------------------------|----------------------|--------------|--------------|----------|
| | | N=37 | N=40 | |
| | | Mean±SD | Mean±SD | |
| p-value] | | 0.4135 | 0.3662 | |
| 운동칼로리 소모량 (kcal/day) | Baseline(방문 2) | 57.87±133.98 | 64.78±167.40 | 0.8428 |
| | 4 주(방문 3) | 57.87±133.98 | 64.78±167.40 | 0.8428 |
| | Change from baseline | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | . |
| | p-value] | . | . | |
| | 8 주(방문 4) | 57.87±133.98 | 64.78±167.40 | 0.8428 |
| | Change from baseline | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | . |
| p-value] | | . | . | |

*: Compared between groups; p-value by t-test

]: Compared within groups; p-value by paired t-test

10.3.5 중도탈락자(Drop-out) 또는 결측치(Missing data)의 처리

중도탈락자에 대해서는 임상시험용 건강기능식품을 적어도 한번 이상 투여하고 유효성 평가변수의 베이스라인 및 베이스라인 이후 평가가 있는 무작위배정된 모든 피험자로부터 얻어진 자료를 모두 분석에 포함하였다. 또한 중도 탈락으로 인해 결측치(Missing data)가 발생한 경우에는 결측치가 발생한 시점에서 가장 가까운 자료 값으로 결측치를 대체하여 평가하는 LOCF(Last-observation-carried-forward) 분석방법을 이용하였다.

10.3.6 피험자별 결과자료의 제시

투여군 별 각 피험자의 유효성 자료는 Appendix 14.2에 제시되어 있다.

10.3.7 약물-약물 및 약물-질병간의 상호작용

본 임상시험 기간 동안 임상시험용 건강기능식품과 함께 복용한 약물에 대해 조사를 실시하였다. 병용약물은 ATC code에 따라 분류/요약하였다(Table 32).

본 임상시험 기간 중 병용약물 복용경험이 있는 피험자는 시험군 7명(18.92%), 대조군 7명(17.50%)이었고 두 군간의 통계적으로 유의한 차이는 없었다(p=0.8719). 시험군은 호흡기계(Respiratory system), 대조군은 소화기계 및 대사(Alimentary tract and metabolism)에서 가장 높은 비율을 보인 병용약물인 것으로 나타났다.

Table 32. 병용약물 사용 (ITT set)

| | | 시험군 (키토올리고당) N=37, n(%) | 대조군 (Placebo) N=40, n(%) | 합계 n(%) | p- value† |
|---|---|-------------------------------|--------------------------------|------------------|--------------|
| 약물사용여부 | 유 | 7(18.92) | 7(17.50) | 14(18.18) | 0.8719 |
| | 무 | 30(81.08) | 33(82.50) | 63(81.82) | |
| Alimentary tract and metabolism | | 9(24.32) | 17(42.50) | 26(33.77) | |
| | Antidiarrheals, intestinal anti-inflammatory/ antiinfective agents | 3(8.11) | 0(0.00) | 3(3.90) | |
| | Antimetics and anti-nauseants | 0(0.00) | 2(5.00) | 2(2.60) | |
| | Digestives, INCL. Enzymes | 1(2.70) | 2(5.00) | 3(3.90) | |
| | Drugs for acid related disorders | 1(2.70) | 6(15.00) | 7(9.09) | |
| | Drugs for functional gastrointestinal disorders | 2(5.41) | 6(15.00) | 8(10.39) | |
| | Laxatives | 0(0.00) | 1(2.50) | 1(1.30) | |
| | Stomatological preparations | 2(5.41) | 0(0.00) | 2(2.60) | |
| Antiinfectives for systemic use | | 11(29.73) | 4(10.00) | 15(19.48) | |
| | Antibacterials for systemic use | 7(18.92) | 2(5.00) | 9(11.69) | |
| | Antivirals for systemic use | 3(8.11) | 0(0.00) | 3(3.90) | |
| | Vaccines | 1(2.70) | 2(5.00) | 3(3.90) | |
| Antineoplastic and immunomodulating agents | | 1(2.70) | 0(0.00) | 1(1.30) | |
| | Immunosuppressive agents | 1(2.70) | 0(0.00) | 1(1.30) | |
| Blood and blood forming organs | | 0(0.00) | 10(25.00) | 10(12.99) | |
| | Antihemorrhagics | 0(0.00) | 2(5.00) | 2(2.60) | |
| | Blood substitutes and perfusion solutions | 0(0.00) | 8(20.00) | 8(10.39) | |
| Cardiovascular system | | 0(0.00) | 4(10.00) | 4(5.19) | |
| | Calcium channel blockers | 0(0.00) | 1(2.50) | 1(1.30) | |
| | Diuretics | 0(0.00) | 1(2.50) | 1(1.30) | |
| | Peripheral vasodilators | 0(0.00) | 2(5.00) | 2(2.60) | |
| Dermatologicals | | 3(8.11) | 0(0.00) | 3(3.90) | |
| | Antipsoriatics | 3(8.11) | 0(0.00) | 3(3.90) | |
| | Other dermatological preparations | 0(0.00) | 1(2.50) | 1(1.30) | |
| Musculo-skeletal system | | 8(21.62) | 7(17.50) | 15(19.48) | |
| | Antiinflammatory and antirheumatic products | 4(10.81) | 4(10.00) | 8(10.39) | |
| | Muscle relaxants | 0(0.00) | 3(7.50) | 3(3.90) | |
| | Other drugs for disorders of the musculo-skeletal system | 4(10.81) | 0(0.00) | 4(5.19) | |

| | 시험군 (키토올리고당) N=37, n(%) | 대조군 (Placebo) N=40, n(%) | 합계 n(%) | p- value† |
|--|-------------------------------|--------------------------------|--------------------|--------------|
| Nervous system | 4(10.81) | 6(15.00) | 10(12.99) | |
| Analgesics | 4(10.81) | 0(0.00) | 4(5.19) | |
| Anesthetics | 0(0.00) | 3(7.50) | 3(3.90) | |
| Other nervous system drugs | 0(0.00) | 1(2.50) | 1(1.30) | |
| Psycholeptics | 0(0.00) | 2(5.00) | 2(2.60) | |
| Respiratory system | 12(32.43) | 3(7.50) | 15(19.48) | |
| Antihistamines for systemic use | 9(24.32) | 0(0.00) | 9(11.69) | |
| Cough and cold preparations | 3(8.11) | 1(2.50) | 4(5.19) | |
| Throat preparations | 0(0.00) | 2(5.00) | 2(2.60) | |
| Sensory organs | 2(5.41) | 0(0.00) | 2(2.60) | |
| Ophthalmologicals | 2(5.41) | 0(0.00) | 2(2.60) | |
| Systemic hormonal preparations, EXCL. Sex hormones and insulins | 1(2.70) | 1(2.50) | 2(2.60) | |
| Corticosteroids for systemic use | 1(2.70) | 1(2.50) | 2(2.60) | |
| Various | 0(0.00) | 1(2.50) | 1(1.30) | |
| All other therapeutic products | 0(0.00) | 1(2.50) | 1(1.30) | |
| 합계* | 51(48.57) | 54(51.43) | 105(100.00) | |

†: p-value by Chi-square test

*: 누적집계(건수)

10.4 유효성에 대한 최종 결론

본 임상시험은 체질량지수 25 kg/m^2 이상인 과체중 혹은 비만인을 대상으로 키토올리고당을 투여했을 때 체중 및 체지방, 복부지방 감소가 대조군(Placebo)과 비교하여 우월한 효과가 있음을 입증하기 위하여 디자인되었다. 키토올리고당의 유효성 및 안전성 평가를 위해 임상시험용 건강기능식품을 1일 3회, 1회 5캡셀씩 8주간 섭취하는 형태로 이중맹검, 무작위배정, 위약대조 임상시험을 실시하였다.

유효성 평가는 ITT 분석을 주분석법으로 하였으며, PP 분석을 추가적으로 실시하였다.

일차 유효성 평가변수인 체지방률(%Fat)에 대하여 ITT set을 대상으로 한 분석에서 투여 8주 후 시험군은 $0.43 \pm 1.44 \%$ 감소되었으며, 대조군은 $0.03 \pm 1.41 \%$ 증가하였다. 두군 모두 군내 유의한 차이는 관찰되지 않았으며, 군간 유의한 차이도 관찰되지 않았다($p=0.0804$).

이차 유효성 평가변수에 대하여 ITT set을 대상으로 한 분석에서 투여 0주, 4주, 8주에 측정된 체중, 허리둘레, 엉덩이둘레, 허리/엉덩이둘레 비율, BMI는 모두 군간 유의한 차이가 관찰되지 않았다. 투여 0주, 8주에 측정된 체지방량, 제지방량, 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적, 내장지방/피하지방 면적비에 대한 분석에서 군간 유의한 차이를 보인 평가변수는 총 복부지방 면적이었다. 투여 8주 후 총 복부지방 면적은 시험군은 $13.57 \pm 48.67 \text{ cm}^2$ 감소되었고, 대조군에서는 $2.92 \pm 24.03 \text{ cm}^2$ 증가하는 결과가 나타나 통계적으로 군간 유의한 차이가 있음을 보였다($p=0.0342$). 투여 0주, 8주에 측정된 Adiponectin, Insulin, Leptin, IFN- γ 분석결과에서는 군간 유의한 차이가 관찰되지 않았다.

추가로 탐색적 목적을 위해 투여 8주 후 DEXA와 CT를 통해 측정된 유효성 평가변수에 대하여 BMI, 허리둘레, 내장지방/피하지방 면적비에 따른 추가분석을 실시하였다. BMI 30 kg/m^2 을 기준으로 분석한 결과, BMI 30 kg/m^2 미만 그룹에서는 군간 유의한 차이를 보인 평가변수가 관찰되지 않았으나 BMI 30 kg/m^2 이상 그룹에서는 체지방량, 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적에서 군간 유의한 차이가 나타났다. 복부비만의 기준인 허리둘레를 기준으로 분석한 결과에서는 허리둘레 남자 90 cm, 여자 85 cm 미만 그룹은 제지방량만이 군간 유의한 차이가 관찰되었고, 허리둘레 남자 90 cm, 여자 85 cm 이상 그룹에서는 체지방량, 총 복부지방 면적에서 두 군간 유의한 차이가 관찰되었다. 피하지방형 복부비만과 내장지방형 복부비만을 구분짓는 복부의 내장지방/피하지방 면적비를 기준으로 분석한 결과에서는 내장지방/피하지방 면적비 0.4 미만 그룹(피하지방형 복부비만)은 피하지방 면적, 총 복부지방 면적에서 군간 유의한 차이가 나타났으며, 내장지방/피하지방 면적비 0.4 이상 그룹(내장지방형 복부비만)에서는 체지방률, 내장지방/피하지방 면적비에서 군간 유의한 차이를 보였다.

유효성 평가에 대한 모든 분석에서 PP set에 대한 분석도 유사한 양상을 나타냈다.

11. 안전성 평가 결과

안전성 평가는 ITT 분석을 주분석법으로 임상시험에 무작위배정 후 임상시험용 건강기능식품이 투여된 80명의 피험자 중 탈락한 3명을 제외한 총 77명(시험군 37명, 대조군 40명)에 대하여 ITT 분석을 실시하였다. 분석 대상자는 무작위배정되어 임상시험용 건강기능식품을 적어도 한번 이상 투여한 피험자 중 안전성 관련 정보가 수집된 피험자이다. 이상반응 종류 및 발생율을 평가하였으며, 임상병리검사(혈액학적 및 혈액화학적, 뇨 검사), 활력징후, 심전도 검사를 분석하였다. 단, 임상시험용 건강기능식품을 투여 받은 피험자 총 80명(Safety set)에 대하여 무작위배정 이후 발생한 이상반응을 분석하였다.

안전성 평가변수에 대한 군간 검정은 양측검정을 실시하였고, 양측검정에 대한 유의확률 값(p-value)을 제시하였다.

11.1 복용 순응도

본 임상시험에 참여한 피험자의 군별 복용 순응도를 ITT set을 대상으로 분석한 결과를 Table 33에 제시하였다.

$$\text{복용한 식품 수} / \text{복용해야 하는 식품 수} \times 100 = \text{복용 순응도}(\%)$$

모든 임상시험 기간 동안의 시험군의 복용 순응도는 평균 91.11%, 대조군은 94.51%로 통계적으로 유의한 차이가 없었다(p=0.0678). 방문2와 방문3 사이의 복용 순응도는 두 군간의 통계적으로 유의한 차이가 있었으나(p=0.0101), 두군 모두 복용 순응도는 80% 이상이었다. 방문3과 방문4 사이의 복용 순응도는 두 군간의 통계적으로 유의한 차이가 없었다(p=0.7893).

Table 33. 복용 순응도 (ITT set, %)

| | 시험군(키토올리고당) N=37 | | | 대조군(Placebo) N=40 | | | p-value* |
|-----------|---------------------|-------------|---------------|----------------------|-------------|---------------|---------------|
| | n | Mean±SD | Min, Max | N | Mean±SD | Min, Max | |
| 4 주(방문 3) | 37 | 88.08±9.85 | 64.50, 102.60 | 40 | 94.17±10.35 | 72.60, 118.30 | 0.0101 |
| 8 주(방문 4) | 37 | 94.14±10.06 | 63.80, 114.50 | 40 | 94.85±12.76 | 72.60, 140.60 | 0.7893 |
| Total | 37 | 91.11±7.03 | 76.80, 103.90 | 40 | 94.51±8.87 | 72.60, 113.80 | 0.0678 |

*: Compared between groups; p-value by t-test

11.2 이상반응

11.2.1 이상반응에 대한 요약

시험자는 이상반응을 발견해야 할 의무가 있으므로 매 방문 시마다 피험자의 이상반응 유무를 확인하도록 하였고, 여기서 발견된 모든 이상반응에 대한 추적 관찰은 해당 이상반응이 사라지거나, 안정화 되거나 혹은 그 상황이 설명 가능한 시점이 될 때까지 진행될 수 있도록 하였다. 그리고 관찰된 모든 이상반응은 MedDRA preferred term(ver. 9.2)에 따라 Coding 되었다.

본 임상시험 기간 동안 발생한 모든 이상반응을 각각 발생자수와 발생건수의 두 가지로 산출하여 비교하였으며, 임상시험용 건강기능식품과의 관련성(시험식품 및 대조식품) 및 이상반응의 심각성을 각각 분석하여 제시하였다.

임상시험 기간 동안 각 투여군에서 발생한 이상반응은 Table 34와 같다. 이상반응을 경험한 피험자는 시험군 7명(17.95%, 12건), 대조군 11명(26.83%, 12건)으로 조사되었으며, 군간 통계적으로 유의한 차이는 없었다($p=0.3417$). 본 임상시험에서 중대한 이상반응이 발현된 피험자는 대조군 1명(2.44%, 1건)으로 조사되었고, 발생한 이상반응으로 인한 중도탈락은 대조군 1명(2.44%, 1건)으로 두 군간 통계적으로 유의한 차이는 모두 없었다($p=1.0000$).

Table 34. 이상반응 발생 요약 (Safety set)

| | 시험군(키토올리고당) N=39 | | | 대조군(Placebo) N=41 | | | p-value |
|----------------|---------------------|---------|----|----------------------|---------|----|---------|
| | n | 발생율(%) | 례수 | n | 발생율(%) | 례수 | |
| 이상반응(AE) | 7 | (17.95) | 12 | 11 | (26.83) | 12 | 0.3417† |
| 중대한 이상반응(SAE) | 0 | (0.00) | 0 | 1 | (2.44) | 1 | 1.0000‡ |
| 이상반응으로 인한 중도탈락 | 0 | (0.00) | 0 | 1 | (2.44) | 1 | 1.0000‡ |

†: p-value by Chi-square test

‡: p-value by Fisher's exact test

11.2.2 이상반응의 제시

본 임상시험에서 보고된 이상반응을 분류하여 Table 35에 제시하였다.

시험군에서는 Influenza like illness가 7.69%(3건)로 가장 높게 발현하였고, Chronic sinusitis, Allergic rhinitis 등의 이상반응이 조사되었다. 대조군에서는 Chronic periodontitis가 4.88%(2

건)로 가장 높게 발현하였고, Cystitis, Common cold 등의 이상반응이 조사되었다.

Table 35. 이상반응 분류 (Safety set)

| System organ class | Preferred term | 시험군(키토올리고당) | | 대조군(Placebo) | |
|---|----------------------------------|-------------|---------------|--------------|---------------|
| | | N=39 | | N=41 | |
| | | 례수 | 발생율(%) | 례수 | 발생율(%) |
| Infections and infestations | | 1 | (2.56) | 3 | (7.32) |
| | Cystitis | 0 | (0.00) | 1 | (2.44) |
| | Chronic periodontitis | 0 | (0.00) | 2 | (4.88) |
| | Chronic sinusitis | 1 | (2.56) | 0 | (0.00) |
| Immune system disorders | | 1 | (2.56) | 0 | (0.00) |
| | Allergic rhinitis | 1 | (2.56) | 0 | (0.00) |
| Nervous system disorders | | 1 | (2.56) | 0 | (0.00) |
| | Fever | 1 | (2.56) | 0 | (0.00) |
| Eye disorders | | 2 | (5.13) | 0 | (0.00) |
| | Allergic conjunctivitis | 1 | (2.56) | 0 | (0.00) |
| | Disorder of lacrimal gland | 1 | (2.56) | 0 | (0.00) |
| Vascular disorders | | 0 | (0.00) | 1 | (2.44) |
| | Venous insufficiency | 0 | (0.00) | 1 | (2.44) |
| Respiratory, thoracic and mediastinal disorders | | 1 | (2.56) | 1 | (2.44) |
| | Common cold | 0 | (0.00) | 1 | (2.44) |
| | Chronic pansinusitis | 1 | (2.56) | 0 | (0.00) |
| Gastrointestinal disorders | | 0 | (0.00) | 2 | (4.88) |
| | Constipation | 0 | (0.00) | 1 | (2.44) |
| | Gastroesophageal reflux disease | 0 | (0.00) | 1 | (2.44) |
| Skin and subcutaneous tissue disorders | | 1 | (2.56) | 1 | (2.44) |
| | Urticaria | 1 | (2.56) | 1 | (2.44) |
| Musculoskeletal and connective tissue disorders | | 0 | (0.00) | 1 | (2.44) |
| | Arthralgia | 0 | (0.00) | 1 | (2.44) |
| Reproductive system and breast disorders | | 0 | (0.00) | 1 | (2.44) |
| | Adenomyosis | 0 | (0.00) | 1 | (2.44) |
| General disorders and administration site conditions | | 3 | (7.69) | 0 | (0.00) |
| | Influenza like illness | 3 | (7.69) | 0 | (0.00) |
| Investigations | | 1 | (2.56) | 1 | (2.44) |
| | Increased AST/ALT/γ-GTP | 1 | (2.56) | 0 | (0.00) |
| | Increased ALT | 0 | (0.00) | 1 | (2.44) |
| Injury, poisoning and procedural complications | | 1 | (2.56) | 0 | (0.00) |
| | Open wound finger | 1 | (2.56) | 0 | (0.00) |
| Surgical and medical procedures | | 0 | (0.00) | 1 | (2.44) |
| | 3 rd molar extraction | 0 | (0.00) | 1 | (2.44) |
| | 합계※ | 12 | (30.77) | 12 | (29.27) |

※: 누적집계(건수)

11.2.3 이상반응의 분석

Table 36은 피험자가 경험한 이상반응 중 증상정도와 임상시험용 건강기능식품과의 관련성을 요약한 것이다.

본 임상시험기간 동안 발생한 이상반응 중 무작위배정 이후 발생한 이상반응을 통계분석하였으며, 시험자가 평가한 임상시험용 건강기능식품과의 관련성에 따라 '관련 있을 가능성 있음', '관련 있다고 생각됨', '명확히 관련 있음', '불명'으로 보고된 경우를 임상시험용 건강기능식품과 관련성이 있는(**related**) 이상반응으로, '관련이 없다고 생각됨', '명확히 관련이 없음'으로 보고된 경우를 임상시험용 건강기능식품과 관련성이 없는(**not related**) 이상반응으로 평가하여 분석하였다.

증상정도를 분석했을 때 이상반응을 경험한 피험자의 대부분이 경도(Mild)이었으며 경도를 경험한 피험자는 시험군 12건(30.77%), 대조군 11건(26.83%)이었다. 중등도(Moderate)를 경험한 피험자는 시험군은 없었고 대조군에서 1건(2.44%)이 있었으며, 중증(Severe)의 증상을 경험한 피험자는 없었다. 두 군간 비교했을 때 유의한 차이는 나타나지 않았다($p=1.0000$).

임상시험용 건강기능식품과의 관련성에 대하여 분석했을 때 보고된 이상반응 모두 임상시험용 건강기능식품과 관련성이 없는(**not related**) 이상반응이었으며, 가장 높게 나타난 것은 시험군은 '관련이 없다고 생각됨'으로 7건(17.95%)이었으며, 대조군은 '명확히 관련이 없음'으로 8건(19.51%)이었다. 임상시험용 건강기능식품과의 관련성을 배제할 수 없는(**related**) 이상반응은 두군 모두 없는 것으로 나타났다. 두군의 유의한 차이는 없었다($p=0.2191$).

Table 36. 이상반응의 증상정도 및 임상시험용 건강기능식품과의 관련성 (Safety set)

| | | 시험군(키토올리고당) N=39 | | 대조군(Placebo) N=41 | | 합계 N=80 | | p-value |
|------------------------------|---------------------------------------|---------------------|---------|----------------------|---------|------------|---------|---------|
| | | 례수 | 발생율(%) | 례수 | 발생율(%) | 례수 | 발생율(%) | |
| 증상정도 | 경도(Mild) | 12 | (30.77) | 11 | (26.83) | 24 | (30.00) | 1.0000‡ |
| | 중등도(Moderate) | 0 | (0.00) | 1 | (2.44) | 1 | (2.44) | |
| | 중증(Severe) | 0 | (0.00) | 0 | (0.00) | 0 | (0.00) | |
| 임상시험용 건강기능 식품과의 관련성 | 명확히 관련 있음 (Definitely related) | 0 | (0.00) | 0 | (0.00) | 0 | (0.00) | 0.2191† |
| | 관련 있다고 생각됨 (Probably related) | 0 | (0.00) | 0 | (0.00) | 0 | (0.00) | |
| | 관련 있을 가능성 있음 (Possibly related) | 0 | (0.00) | 0 | (0.00) | 0 | (0.00) | |
| | 관련이 없다고 생각됨 (Probably not related) | 7 | (17.95) | 4 | (9.76) | 11 | (13.75) | |

| | 시험군(키토올리고당) N=39 | | 대조군(Placebo) N=41 | | 합계 N=80 | | p-value |
|--|---------------------|---------|----------------------|---------|------------|---------|---------|
| | 례수 | 발생율(%) | 례수 | 발생율(%) | 례수 | 발생율(%) | |
| 명확히 관련이 없음 (Definitely not related) | 5 | (12.82) | 8 | (19.51) | 13 | (16.25) | |
| 불명(Unknown) | 0 | (0.00) | 0 | (0.00) | 0 | (0.00) | |

†: p-value by Chi-square test

‡: p-value by Fisher's exact test

11.3 중대한 이상반응 및 기타 중요한 이상반응

11.3.1 중대한 이상반응 요약

본 임상시험 기간 중 발생한 중대한 이상반응은 모두 1건이었다. 대조군에서 발생한 중대한 이상반응은 자궁선근증(Adenomyosis, CS-R044)이었으며 임상시험용 건강기능식품과의 관련성은 '명확히 관련이 없음'으로 시험자에 의해 판단되었다.

11.3.2 중대한 이상반응 상세

CS-R044/KKO

본 피험자는 대조군으로 2009년 11월 6일 무작위배정이 된 후 Chronic cervicitis로 진료 받던 피험자로 평상시 pelvic pain이 있어 2009년 12월 15일 외래 진료 후 자궁선근증(Adenomyosis)으로 수술 권유받고 입원하였고, 2009년 12월 16일 Total laparoscopic hysterectomy without adnexectomy 수술을 하였다. 2009년 12월 19일 퇴원하였고 임상시험용 건강기능식품과의 관련성은 '명확히 관련이 없음'으로 시험자에 의해 판단되었다.

본 사항은 2009년 12월 31일 본 기관 IRB에 보고되었다.

11.4 실험실적 이상반응의 평가

11.4.1 개인별 실험실 검사치와 이상반응의 제시

각 피험자별 구체적인 실험실 검사치는 Appendix 14.2에 제시하였다.

11.4.2 각각의 실험실 검사치의 평가

본 임상시험에서 실험실 검사는 방문1(Screening visit, week -1)과 방문3(Interim visit, week 4)과 방문4(Closing visit, week 8)에서 시행되었다. 실험실 검사는 혈액학적 검사, 혈액화학적 검사, 뇨 검사로 나누어 평가되었다.

(1) 혈액학적 검사

혈액학적 검사에 대한 분석 결과를 Table 37에 제시하였다.

통계적으로 투여 군내 유의한 차이를 나타낸 혈액학적 검사결과는 시험군 내에서 Neutrophils(방문4 상승), Lymphocytes(방문4 감소) 이었고, 대조군 내에서는 Hct(방문3, 4 상승), Monocytes(방문4 감소), Basophils(방문4 감소), MCV(방문3, 4 상승), MCHC(방문3 감소) 이었다. 그러나 투여 전후 두군 모두 정상범위 이내의 결과를 보였다. 이외의 유의한 변화를 보이는 검사치는 없었다.

투여 군간 통계적으로 유의한 차이를 보인 혈액학적 검사치는 방문4에서 Hct($p=0.0402$), PCT($p=0.0346$) 였으며, 시험군에서는 감소, 대조군에서는 상승을 나타냈으나 투여 후 두군 모두 정상범위 이내의 결과를 보였다.

Table 37. 방문별 혈액학적 검사 (ITT set)

| | | 시험군(키토올리고당) | | 대조군(Placebo) | | p-value* |
|-----|----------------------|-------------|------------|--------------|------------|----------|
| | | n | Mean±SD | n | Mean±SD | |
| WBC | 방문 1 | 37 | 6.44±1.94 | 40 | 6.00±1.29 | |
| | 방문 3 | 37 | 6.45±1.89 | 40 | 6.29±1.57 | |
| | Change from baseline | 37 | 0.00±1.33 | 40 | 0.29±0.99 | 0.2755 |
| | p-value] | | 0.9922 | | 0.0670 | |
| RBC | 방문 4 | 37 | 6.49±1.93 | 40 | 6.27±1.81 | |
| | Change from baseline | 37 | 0.04±1.34 | 40 | 0.27±1.23 | 0.4399 |
| | p-value] | | 0.8422 | | 0.1721 | |
| | 방문 1 | 37 | 4.57±0.33 | 40 | 4.52±0.38 | |
| Hb | 방문 3 | 37 | 4.60±0.34 | 40 | 4.57±0.40 | |
| | Change from baseline | 37 | 0.03±0.17 | 40 | 0.05±0.20 | 0.7262 |
| | p-value] | | 0.2561 | | 0.1356 | |
| | 방문 4 | 37 | 4.53±0.33 | 40 | 4.56±0.40 | |
| Hb | Change from baseline | 37 | -0.04±0.19 | 40 | 0.04±0.19 | 0.0810 |
| | p-value] | | 0.1915 | | 0.2475 | |
| | 방문 1 | 37 | 13.57±1.21 | 40 | 13.26±1.21 | |

| | 시험군(키토올리고당) | | 대조군(Placebo) | | p-value* | |
|-------------|----------------------|---------|---------------|---------|---------------|--------|
| | n | Mean±SD | n | Mean±SD | | |
| | 방문 3 | 37 | 13.67±1.17 | 40 | 13.40±1.22 | |
| | Change from baseline | 37 | 0.10±0.52 | 40 | 0.14±0.62 | 0.7474 |
| | p-value] | | 0.2499 | | 0.1565 | |
| | 방문 4 | 37 | 13.46±1.13 | 40 | 13.37±1.27 | |
| | Change from baseline | 37 | -0.11±0.62 | 40 | 0.11±0.55 | 0.1010 |
| | p-value] | | 0.2831 | | 0.2119 | |
| Hct | 방문 1 | 37 | 40.63±3.32 | 40 | 39.80±3.04 | |
| | 방문 3 | 37 | 41.05±3.31 | 40 | 40.45±3.18 | |
| | Change from baseline | 37 | 0.42±1.53 | 40 | 0.65±1.75 | 0.5466 |
| | p-value] | | 0.1009 | | 0.0238 | |
| PCT | 방문 1 | 37 | 264.86±55.47 | 40 | 254.45±46.43 | |
| | 방문 3 | 37 | 268.19±52.25 | 40 | 260.48±47.79 | |
| | Change from baseline | 37 | 3.32±19.61 | 40 | 6.03±25.46 | 0.6057 |
| | p-value] | | 0.3094 | | 0.1426 | |
| Neutrophils | 방문 1 | 37 | 53.01±8.24 | 40 | 53.47±6.28 | |
| | 방문 3 | 37 | 53.35±7.43 | 40 | 53.44±7.20 | |
| | Change from baseline | 37 | 0.34±9.72 | 40 | -0.03±5.55 | 0.8386 |
| | p-value] | | 0.8324 | | 0.9707 | |
| Lymphocytes | 방문 1 | 37 | 56.48±7.55 | 40 | 54.84±7.17 | |
| | 방문 3 | 37 | 56.48±7.55 | 40 | 54.84±7.17 | |
| | Change from baseline | 37 | 3.46±9.19 | 40 | 1.37±6.11 | 0.2460 |
| | p-value] | | 0.0277 | | 0.1657 | |
| Monocytes | 방문 1 | 37 | 36.64±7.94 | 40 | 36.75±5.71 | |
| | 방문 3 | 37 | 36.18±7.29 | 40 | 36.55±7.09 | |
| | Change from baseline | 37 | -0.46±9.30 | 40 | -0.19±5.24 | 0.8809 |
| | p-value] | | 0.7668 | | 0.8153 | |
| Eosinophils | 방문 1 | 37 | 33.68±8.00 | 40 | 36.11±6.67 | |
| | 방문 3 | 37 | 33.68±8.00 | 40 | 36.11±6.67 | |
| | Change from baseline | 37 | -2.96±8.51 | 40 | -0.63±4.94 | 0.1521 |
| | p-value] | | 0.0415 | | 0.4232 | |
| Eosinophils | 방문 1 | 37 | 6.66±1.62 | 40 | 6.99±1.72 | |
| | 방문 3 | 37 | 6.80±1.57 | 40 | 7.16±1.41 | |
| | Change from baseline | 37 | 0.14±1.51 | 40 | 0.18±1.64 | 0.9011 |
| | p-value] | | 0.5889 | | 0.4915 | |
| Eosinophils | 방문 1 | 37 | 6.66±1.63 | 40 | 6.42±1.67 | |
| | 방문 3 | 37 | 6.66±1.63 | 40 | 6.42±1.67 | |
| | Change from baseline | 37 | -0.01±1.36 | 40 | -0.57±1.72 | 0.1166 |
| | p-value] | | 0.9808 | | 0.0431 | |
| Eosinophils | 방문 1 | 37 | 3.20±2.42 | 40 | 2.34±1.63 | |
| | 방문 3 | 37 | 3.21±2.48 | 40 | 2.39±1.66 | |
| | Change from baseline | 37 | 0.01±1.18 | 40 | 0.06±1.14 | 0.8683 |

| | 시험군(키토올리고당) | | 대조군(Placebo) | | p-value* |
|----------------------|-------------|------------|--------------|---------------|----------|
| | n | Mean±SD | n | Mean±SD | |
| | | 0.9450 | | 0.7506 | |
| | p-value] | | | | |
| 방문 4 | 37 | 2.79±1.94 | 40 | 2.27±1.41 | |
| Change from baseline | 37 | -0.41±1.31 | 40 | -0.07±1.33 | 0.2589 |
| | | 0.0665 | | 0.7592 | |
| | p-value] | | | | |
| Basophils | | | | | |
| 방문 1 | 37 | 0.49±0.28 | 40 | 0.46±0.22 | |
| 방문 3 | 37 | 0.47±0.23 | 40 | 0.45±0.24 | |
| Change from baseline | 37 | -0.02±0.31 | 40 | -0.01±0.21 | 0.8477 |
| | | 0.6723 | | 0.7605 | |
| | p-value] | | | | |
| 방문 4 | 37 | 0.40±0.20 | 40 | 0.38±0.16 | |
| Change from baseline | 37 | -0.09±0.32 | 40 | -0.08±0.21 | 0.8810 |
| | | 0.0926 | | 0.0161 | |
| | p-value] | | | | |
| MCV | | | | | |
| 방문 1 | 37 | 88.99±3.86 | 40 | 88.15±4.67 | |
| 방문 3 | 37 | 89.28±3.37 | 40 | 88.67±4.61 | |
| Change from baseline | 37 | 0.29±0.92 | 40 | 0.52±0.93 | 0.2828 |
| | | 0.0630 | | 0.0012 | |
| | p-value] | | | | |
| 방문 4 | 37 | 89.25±3.66 | 40 | 88.58±4.58 | |
| Change from baseline | 37 | 0.26±1.06 | 40 | 0.43±1.07 | 0.4907 |
| | | 0.1406 | | 0.0148 | |
| | p-value] | | | | |
| MCH | | | | | |
| 방문 1 | 37 | 29.72±1.56 | 40 | 29.34±1.90 | |
| 방문 3 | 37 | 29.73±1.36 | 40 | 29.37±1.94 | |
| Change from baseline | 37 | 0.01±0.52 | 40 | 0.03±0.48 | 0.8499 |
| | | 0.9005 | | 0.6709 | |
| | p-value] | | | | |
| 방문 4 | 37 | 29.76±1.54 | 40 | 29.35±1.96 | |
| Change from baseline | 37 | 0.04±0.55 | 40 | 0.01±0.49 | 0.8148 |
| | | 0.6577 | | 0.8739 | |
| | p-value] | | | | |
| MCHC | | | | | |
| 방문 1 | 37 | 33.39±0.84 | 40 | 33.28±0.84 | |
| 방문 3 | 37 | 33.29±0.75 | 40 | 33.10±0.91 | |
| Change from baseline | 37 | -0.09±0.42 | 40 | -0.18±0.53 | 0.4090 |
| | | 0.1908 | | 0.0346 | |
| | p-value] | | | | |
| 방문 4 | 37 | 33.33±0.89 | 40 | 33.12±0.89 | |
| Change from baseline | 37 | -0.05±0.65 | 40 | -0.16±0.52 | 0.4401 |
| | | 0.6156 | | 0.0615 | |
| | p-value] | | | | |

*: Compared between groups; p-value by t-test

] : Compared within groups; p-value by paired t-test

(2) 혈액화학적 검사

혈액화학적 검사에 대한 분석 결과를 Table 38에 제시하였다.

통계적으로 투여 군내 유의한 차이를 나타낸 혈액화학적 검사결과는 시험군 내에서 Urea nitrogen(방문3 감소), Total protein(방문3 상승), Albumin(방문3 상승), γ -GTP(방문4 감소),

Total cholesterol(방문3, 4 감소), Potassium(방문4 감소), Chloride(방문3 감소) 이었고, 대조군 내에서는 Urea nitrogen(방문4 상승), Total cholesterol(방문3 상승), HDL-cholesterol(방문3 상승), LDL-cholesterol(방문3 상승), Potassium(방문3, 4 감소), Chloride(방문3 감소) 이었다. 그러나 투여 전후 두군 모두 정상범위 이내의 결과를 보였다. 이외의 유의한 변화를 보이는 검사치는 없었다.

투여 군간 통계적으로 유의한 차이를 보인 혈액화학적 검사치는 방문3에서 Urea nitrogen(p=0.0371), Total cholesterol(p=0.0035), LDL-cholesterol(p=0.0045), Potassium(p=0.0326), 방문4에서 Urea nitrogen(p=0.0286), Total cholesterol(p=0.0429), HDL-cholesterol(p=0.0498) 였으나 투여 후 두군 모두 정상범위 이내의 결과를 보였다.

Table 38. 방문별 혈액화학적 검사 (ITT set)

| | | 시험군(키토올리고당) | | 대조군(Placebo) | | p-value* |
|---------------|----------------------|-------------|---------------|---------------|------------|---------------|
| | | n | Mean±SD | n | Mean±SD | |
| Glucose | 방문 1 | 37 | 92.65±8.42 | 40 | 94.35±7.23 | |
| | 방문 3 | 37 | 92.76±8.23 | 40 | 96.38±8.77 | |
| | Change from baseline | 37 | 0.11±7.14 | 40 | 2.03±9.25 | 0.3147 |
| | p-value] | | 0.9271 | | 0.1739 | |
| | 방문 4 | 37 | 94.92±8.19 | 40 | 96.58±8.80 | |
| | Change from baseline | 37 | 2.27±7.38 | 40 | 2.23±8.58 | 0.9803 |
| p-value] | | 0.0694 | | 0.1090 | | |
| Urea nitrogen | 방문 1 | 37 | 13.09±3.24 | 40 | 12.39±3.00 | |
| | 방문 3 | 37 | 12.02±2.94 | 40 | 12.78±3.04 | |
| | Change from baseline | 37 | -1.07±2.73 | 40 | 0.39±3.24 | 0.0371 |
| | p-value] | | 0.0230 | | 0.4535 | |
| | 방문 4 | 37 | 12.94±2.48 | 40 | 13.90±2.87 | |
| | Change from baseline | 37 | -0.15±3.25 | 40 | 1.51±3.26 | 0.0286 |
| p-value] | | 0.7823 | | 0.0057 | | |
| Creatinine | 방문 1 | 37 | 0.72±0.17 | 40 | 0.73±0.13 | |
| | 방문 3 | 37 | 0.72±0.18 | 40 | 0.73±0.14 | |
| | Change from baseline | 37 | 0.01±0.08 | 40 | 0.01±0.06 | 0.9543 |
| | p-value] | | 0.6583 | | 0.5774 | |
| | 방문 4 | 37 | 0.71±0.16 | 40 | 0.71±0.12 | |
| | Change from baseline | 37 | -0.01±0.06 | 40 | -0.01±0.07 | 0.7497 |
| p-value] | | 0.4175 | | 0.2651 | | |
| Total protein | 방문 1 | 37 | 6.95±0.33 | 40 | 6.97±0.33 | |
| | 방문 3 | 37 | 7.04±0.34 | 40 | 7.05±0.36 | |
| | Change from baseline | 37 | 0.08±0.24 | 40 | 0.08±0.32 | 0.9541 |
| | p-value] | | 0.0414 | | 0.1269 | |
| | 방문 4 | 37 | 6.94±0.36 | 40 | 7.05±0.32 | |
| | Change from baseline | 37 | -0.02±0.31 | 40 | 0.08±0.31 | 0.1779 |
| p-value] | | 0.7553 | | 0.1068 | | |
| Albumin | 방문 1 | 37 | 4.34±0.24 | 40 | 4.33±0.20 | |

| | 시험군(키토올리고당) | | 대조군(Placebo) | | p-value* | |
|----------------------|----------------------|---------------|--------------|-------------|-------------|--------|
| | n | Mean±SD | n | Mean±SD | | |
| 방문 3 | 37 | 4.39±0.23 | 40 | 4.38±0.26 | | |
| Change from baseline | 37 | 0.05±0.15 | 40 | 0.05±0.20 | 0.8715 | |
| p-value] | | 0.0373 | | 0.1361 | | |
| 방문 4 | 37 | 5.44±6.52 | 40 | 4.38±0.24 | | |
| Change from baseline | 37 | 1.10±6.49 | 40 | 0.05±0.19 | 0.3283 | |
| p-value] | | 0.3083 | | 0.1382 | | |
| AST(GOT) | 방문 1 | 37 | 21.30±6.09 | 40 | 23.03±11.55 | |
| | 방문 3 | 37 | 20.95±6.24 | 40 | 21.95±13.18 | |
| | Change from baseline | 37 | -0.35±4.58 | 40 | -1.08±5.25 | 0.5228 |
| | p-value] | | 0.6439 | | 0.2029 | |
| ALT(GPT) | 방문 4 | 37 | 20.22±5.87 | 40 | 22.88±13.40 | |
| | Change from baseline | 37 | -1.08±3.59 | 40 | -0.15±6.85 | 0.4533 |
| | p-value] | | 0.0755 | | 0.8905 | |
| | 방문 1 | 37 | 25.43±14.62 | 40 | 26.73±19.07 | |
| 방문 3 | 37 | 24.27±12.62 | 40 | 30.55±39.91 | | |
| Change from baseline | 37 | -1.16±10.90 | 40 | 3.83±31.72 | 0.3536 | |
| p-value] | | 0.5207 | | 0.4502 | | |
| Alkaline phosphatase | 방문 4 | 37 | 23.03±11.49 | 40 | 31.95±40.54 | |
| | Change from baseline | 37 | -2.41±10.88 | 40 | 5.23±32.90 | 0.1718 |
| | p-value] | | 0.1871 | | 0.3213 | |
| | 방문 1 | 37 | 54.35±18.03 | 40 | 51.80±14.66 | |
| 방문 3 | 37 | 54.19±18.82 | 40 | 53.08±16.37 | | |
| Change from baseline | 37 | -0.16±5.76 | 40 | 1.28±5.37 | 0.2608 | |
| p-value] | | 0.8649 | | 0.1415 | | |
| Total bilirubin | 방문 4 | 37 | 53.27±17.32 | 40 | 52.60±16.42 | |
| | Change from baseline | 37 | -1.08±5.88 | 40 | 0.80±6.06 | 0.1714 |
| | p-value] | | 0.2708 | | 0.4086 | |
| | 방문 1 | 37 | 0.69±0.25 | 40 | 0.70±0.22 | |
| 방문 3 | 37 | 0.66±0.28 | 40 | 0.75±0.28 | | |
| Change from baseline | 37 | -0.03±0.20 | 40 | 0.05±0.25 | 0.1141 | |
| p-value] | | 0.3653 | | 0.1897 | | |
| Direct bilirubin | 방문 4 | 37 | 0.67±0.23 | 40 | 0.72±0.23 | |
| | Change from baseline | 37 | -0.03±0.19 | 40 | 0.02±0.23 | 0.3357 |
| | p-value] | | 0.4269 | | 0.5551 | |
| | 방문 1 | 37 | 0.17±0.07 | 40 | 0.18±0.07 | |
| 방문 3 | 37 | 0.16±0.08 | 40 | 0.08±0.07 | | |
| Change from baseline | 37 | -0.00±0.05 | 40 | 0.01±0.07 | 0.5943 | |
| p-value] | | 0.8032 | | 0.6273 | | |
| γ-GTP | 방문 4 | 37 | 0.17±0.07 | 40 | 0.18±0.07 | |
| | Change from baseline | 37 | 0.00±0.05 | 40 | 0.00±0.06 | 0.8559 |
| | p-value] | | 0.5639 | | 0.8001 | |
| γ-GTP | 방문 1 | 37 | 38.97±32.56 | 40 | 37.45±43.83 | |
| | 방문 3 | 37 | 37.84±31.85 | 40 | 38.53±60.37 | |
| | Change from baseline | 37 | -1.14±11.11 | 40 | 1.08±23.65 | 0.5975 |

| | 시험군(키토올리고당) | | 대조군(Placebo) | | p-value* | |
|-------------------|----------------------|---------|---------------|---------------|--------------|---------------|
| | n | Mean±SD | n | Mean±SD | | |
| | | 0.5381 | | 0.7753 | | |
| | 방문 4 | 37 | 33.30±26.05 | 40 | 39.63±62.15 | |
| | Change from baseline | 37 | -5.68±11.44 | 40 | 2.18±25.34 | 0.0816 |
| | p-value] | | 0.0046 | 0.5903 | | |
| Total cholesterol | 방문 1 | 37 | 200.97±31.70 | 40 | 193.88±29.80 | |
| | 방문 3 | 37 | 194.78±28.93 | 40 | 200.25±32.97 | |
| | Change from baseline | 37 | -6.19±16.97 | 40 | 6.38±19.43 | 0.0035 |
| | p-value] | | 0.0329 | 0.0446 | | |
| Total cholesterol | 방문 4 | 37 | 191.81±30.16 | 40 | 193.95±28.80 | |
| | Change from baseline | 37 | -9.16±22.57 | 40 | 0.08±15.78 | 0.0429 |
| | p-value] | | 0.0184 | 0.9762 | | |
| | | | | | | |
| Triglyceride | 방문 1 | 37 | 125.95±62.09 | 40 | 140.05±89.92 | |
| | 방문 3 | 37 | 122.59±63.39 | 40 | 129.25±72.25 | |
| | Change from baseline | 37 | -3.35±50.04 | 40 | -10.80±68.47 | 0.5899 |
| | p-value] | | 0.6861 | 0.3246 | | |
| Triglyceride | 방문 4 | 37 | 115.35±80.08 | 40 | 131.55±74.41 | |
| | Change from baseline | 37 | -10.59±57.19 | 40 | -8.50±75.40 | 0.8918 |
| | p-value] | | 0.2672 | 0.4801 | | |
| | | | | | | |
| HDL-cholesterol | 방문 1 | 37 | 52.38±10.27 | 40 | 50.20±10.24 | |
| | 방문 3 | 37 | 52.68±10.16 | 40 | 52.23±10.88 | |
| | Change from baseline | 37 | 0.30±5.85 | 40 | 2.03±6.05 | 0.2074 |
| | p-value] | | 0.7590 | 0.0408 | | |
| HDL-cholesterol | 방문 4 | 37 | 51.24±9.65 | 40 | 51.55±11.50 | |
| | Change from baseline | 37 | -1.14±5.02 | 40 | 1.35±5.85 | 0.0498 |
| | p-value] | | 0.1773 | 0.1522 | | |
| | | | | | | |
| LDL-cholesterol | 방문 1 | 37 | 119.49±26.67 | 40 | 110.85±22.84 | |
| | 방문 3 | 37 | 115.43±22.86 | 40 | 118.63±27.39 | |
| | Change from baseline | 37 | -4.05±14.73 | 40 | 7.78±20.04 | 0.0045 |
| | p-value] | | 0.1027 | 0.0187 | | |
| LDL-cholesterol | 방문 4 | 37 | 115.35±27.88 | 40 | 113.63±26.70 | |
| | Change from baseline | 37 | -4.14±21.41 | 40 | 2.78±17.00 | 0.1197 |
| | p-value] | | 0.2478 | 0.3084 | | |
| | | | | | | |
| Sodium | 방문 1 | 37 | 140.92±2.05 | 40 | 140.63±1.66 | |
| | 방문 3 | 37 | 140.54±1.88 | 40 | 140.23±1.29 | |
| | Change from baseline | 37 | -0.38±1.62 | 40 | -0.40±1.43 | 0.9506 |
| | p-value] | | 0.1645 | 0.0844 | | |
| Sodium | 방문 4 | 37 | 140.51±1.64 | 40 | 140.33±1.72 | |
| | Change from baseline | 37 | -0.41±1.76 | 40 | -0.30±1.83 | 0.7974 |
| | p-value] | | 0.1686 | 0.3058 | | |
| | | | | | | |
| Potassium | 방문 1 | 37 | 4.32±0.29 | 40 | 4.39±0.28 | |
| | 방문 3 | 37 | 4.35±0.27 | 40 | 4.27±0.30 | |
| | Change from baseline | 37 | 0.03±0.28 | 40 | -0.12±0.30 | 0.0326 |
| | p-value] | | 0.5629 | 0.0175 | | |
| Potassium | 방문 4 | 37 | 4.21±0.28 | 40 | 4.19±0.23 | |
| | | | | | | |

| | 시험군(키토올리고당) | | 대조군(Placebo) | | p-value* |
|----------------------|-------------|---------------|--------------|-------------------|----------|
| | n | Mean±SD | n | Mean±SD | |
| Change from baseline | 37 | -0.11±0.26 | 40 | -0.20±0.27 | 0.1526 |
| p-value] | | 0.0106 | | <0.0001 | |
| 방문 1 | 37 | 104.78±1.69 | 40 | 104.58±1.93 | |
| 방문 3 | 37 | 104.03±1.76 | 40 | 103.63±1.98 | |
| Change from baseline | 37 | -0.76±1.57 | 40 | -0.95±1.75 | 0.6130 |
| p-value] | | 0.0058 | | 0.0015 | |
| 방문 4 | 37 | 104.92±2.03 | 40 | 104.03±1.93 | |
| Change from baseline | 37 | 0.14±1.73 | 40 | -0.55±1.89 | 0.1029 |
| p-value] | | 0.6385 | | 0.0739 | |

*: Compared between groups; p-value by t-test

] : Compared within groups; p-value by paired t-test

(3) 뇨 검사

뇨 검사에 대한 분석 결과를 Table 39에 제시하였다. 뇨 검사항목은 검사 결과치에 대하여 정상/비정상으로 나누어 군내 및 군간 비교하였다. (방문1의 결과와 방문3 및 방문4의 결과 사이의 동일성 여부)

통계적으로 투여 군내 유의한 차이를 나타낸 뇨 검사결과는 시험군 내에서 Urine pH(방문4), Urine Leukocyte(방문3, 4) 이었고 대조군 내에서는 Urine pH(방문4), Urine Leukocyte(방문4), Urine Occult blood(방문4), Urine RBC(방문4) 이었다. 비정상적으로 판독된 결과의 경우, 시험자에 의해 ‘임상적 유의성이 없음(Non-clinical significance)’이 판단되었다.

투여 군간 통계적으로 유의한 차이를 보인 뇨 검사치는 방문3, 4에서 Urine Leukocyte(p=0.0035, p=0.0047) 였으나 시험자에 의해 ‘임상적 유의성이 없음(Non-clinical significance)’이 판단되었다.

Table 39. 방문별 뇨 검사 (ITT set)

| | 시험군(키토올리고당) | | 대조군(Placebo) | | p-value* |
|----------------------|-------------|------------|--------------|-----------|----------|
| | n | Mean±SD | n | Mean±SD | |
| 방문 1 | 37 | 1.02±0.01 | 40 | 1.02±0.01 | |
| 방문 3 | 37 | 1.02±0.01 | 40 | 1.02±0.01 | |
| Change from baseline | 37 | -0.00±0.01 | 40 | 0.00±0.01 | 0.4299 |
| p-value] | | 0.5673 | | 0.5775 | |
| 방문 4 | 37 | 1.02±0.01 | 40 | 1.02±0.01 | |
| Change from baseline | 37 | -0.00±0.01 | 40 | 0.00±0.01 | 0.2476 |
| p-value] | | 0.6071 | | 0.2595 | |

| | | 시험군(키토올리고당) N=37 | | 대조군(Placebo) N=40 | | p-value* |
|----------|----------------------|---------------------|---------------|----------------------|---------------|----------|
| | | n | Mean±SD | n | Mean±SD | |
| Urine pH | 방문 1 | 37 | 5.89±0.91 | 40 | 6.08±0.94 | |
| | 방문 3 | 37 | 5.59±0.75 | 40 | 5.78±0.75 | |
| | Change from baseline | 37 | -0.30±1.00 | 40 | -0.30±0.98 | 1.0000 |
| | p-value] | | 0.0770 | | 0.0599 | |
| | 방문 4 | 37 | 5.54±0.62 | 40 | 5.58±0.98 | |
| | Change from baseline | 37 | -0.35±0.96 | 40 | -0.50±1.08 | 0.5373 |
| | p-value] | | 0.0318 | | 0.0059 | |

Urine Glucose

| 방문1 | | 방문3 | | N | p-value§ | 방문4 | | N | p-value§ |
|-----|----------|-----|-----|----|----------|-----|-----|----|----------|
| | | 정상 | 비정상 | | | 정상 | 비정상 | | |
| 시험군 | 정상 | 37 | 0 | 37 | - | 37 | 0 | 37 | - |
| | 비정상 | 0 | 0 | | | 0 | 0 | | |
| | p-value§ | - | | | | - | | | |
| 대조군 | 정상 | 40 | 0 | 40 | | 40 | 0 | 40 | |
| | 비정상 | 0 | 0 | | | 0 | 0 | | |
| | p-value§ | - | | | | - | | | |

Urine Color

| 방문1 | | 방문3 | | N | p-value§ | 방문4 | | N | p-value§ |
|-----|----------|-----|-----|----|----------|-----|-----|----|----------|
| | | 정상 | 비정상 | | | 정상 | 비정상 | | |
| 시험군 | 정상 | 37 | 0 | 37 | - | 37 | 0 | 37 | - |
| | 비정상 | 0 | 0 | | | 0 | 0 | | |
| | p-value§ | - | | | | - | | | |
| 대조군 | 정상 | 39 | 0 | 40 | | 39 | 0 | 40 | |
| | 비정상 | 1 | 0 | | | 1 | 0 | | |
| | p-value§ | - | | | | - | | | |

Urine Leukocyte

| 방문1 | | 방문3 | | N | p-value§ | 방문4 | | N | p-value§ |
|-----|----------|--------|-----|----|----------|--------|-----|----|----------|
| | | 정상 | 비정상 | | | 정상 | 비정상 | | |
| 시험군 | 정상 | 12 | 2 | 37 | 0.0035 | 10 | 4 | 37 | 0.0047 |
| | 비정상 | 12 | 11 | | | 12 | 11 | | |
| | p-value§ | 0.0075 | | | | 0.0455 | | | |
| 대조군 | 정상 | 12 | 5 | 40 | | 13 | 4 | 40 | |
| | 비정상 | 11 | 12 | | | 12 | 11 | | |
| | p-value§ | 0.1336 | | | | 0.0455 | | | |

Urine Bilirubin

| 방문1 | | 방문3 | | N | p-value§ | 방문4 | | N | p-value§ |
|-----|----------|-----|-----|----|----------|-----|-----|----|----------|
| | | 정상 | 비정상 | | | 정상 | 비정상 | | |
| 시험군 | 정상 | 37 | 0 | 37 | - | 36 | 1 | 37 | |
| | 비정상 | 0 | 0 | | | 0 | 0 | | |
| | p-value§ | - | | | | - | | | |
| 대조군 | 정상 | 40 | 0 | 40 | | 40 | 0 | 40 | |
| | 비정상 | 0 | 0 | | | 0 | 0 | | |
| | p-value§ | - | | | | - | | | |

Urine Ketone

| 방문1 | | 방문3 | | N | p-value§ | 방문4 | | N | p-value§ |
|-----|----------|--------|-----|----|----------|--------|-----|----|----------|
| | | 정상 | 비정상 | | | 정상 | 비정상 | | |
| 시험군 | 정상 | 35 | 1 | 37 | 1.0000 | 34 | 2 | 37 | 0.7055 |
| | 비정상 | 0 | 1 | | | 1 | 0 | | |
| | p-value§ | 0.3173 | | | | 0.5637 | | | |
| 대조군 | 정상 | 37 | 1 | 40 | | 36 | 2 | 40 | |
| | 비정상 | 2 | 0 | | | 2 | 0 | | |
| | p-value§ | 0.5637 | | | | 1.0000 | | | |

Urine S.G

| 방문1 | | 방문3 | | N | p-value§ | 방문4 | | N | p-value§ |
|-----|----------|--------|-----|----|----------|--------|-----|----|----------|
| | | 정상 | 비정상 | | | 정상 | 비정상 | | |
| 시험군 | 정상 | 34 | 0 | 37 | 0.7055 | 34 | 0 | 37 | 0.7055 |
| | 비정상 | 2 | 1 | | | 2 | 1 | | |
| | p-value§ | 0.1573 | | | | 0.1573 | | | |
| 대조군 | 정상 | 35 | 4 | 40 | | 35 | 4 | 40 | |
| | 비정상 | 1 | 0 | | | 1 | 0 | | |
| | p-value§ | 0.1797 | | | | 0.1797 | | | |

Urine Occult blood

| 방문1 | | 방문3 | | N | p-value§ | 방문4 | | N | p-value§ |
|-----|----------|--------|-----|----|----------|---------------|-----|----|----------|
| | | 정상 | 비정상 | | | 정상 | 비정상 | | |
| 시험군 | 정상 | 20 | 5 | 37 | 0.0881 | 22 | 3 | 37 | 0.1266 |
| | 비정상 | 3 | 9 | | | 4 | 8 | | |
| | p-value§ | 0.4795 | | | | 0.7055 | | | |
| 대조군 | 정상 | 11 | 10 | 40 | | 10 | 11 | 40 | |
| | 비정상 | 4 | 15 | | | 3 | 16 | | |
| | p-value§ | 0.1088 | | | | 0.0325 | | | |

Urine pH

| 방문1 | | 방문3 | | N | p-value§ | 방문4 | | N | p-value§ |
|-----|----------|--------|-----|----|----------|--------|-----|----|----------|
| | | 정상 | 비정상 | | | 정상 | 비정상 | | |
| 시험군 | 정상 | 35 | 1 | 37 | 1.0000 | 36 | 0 | 37 | 0.5637 |
| | 비정상 | 0 | 1 | | | 1 | 0 | | |
| | p-value§ | 0.3173 | | | | - | | | |
| 대조군 | 정상 | 39 | 0 | 40 | | 38 | 1 | 40 | |
| | 비정상 | 1 | 0 | | | 1 | 0 | | |
| | p-value§ | - | | | | 1.0000 | | | |

Urine Protein

| 방문1 | | 방문3 | | N | p-value§ | 방문4 | | N | p-value§ |
|-----|----------|--------|-----|----|----------|--------|-----|----|----------|
| | | 정상 | 비정상 | | | 정상 | 비정상 | | |
| 시험군 | 정상 | 30 | 3 | 37 | 0.5930 | 31 | 2 | 37 | 0.5637 |
| | 비정상 | 3 | 1 | | | 4 | 0 | | |
| | p-value§ | 1.0000 | | | | 0.4142 | | | |
| 대조군 | 정상 | 30 | 5 | 40 | | 32 | 3 | 40 | |
| | 비정상 | 3 | 2 | | | 3 | 2 | | |
| | p-value§ | 0.4795 | | | | 1.0000 | | | |

Urine Urobilinogen

| 방문1 | | 방문3 | | N | p-value§ | 방문4 | | N | p-value§ |
|-----|----------|-----|-----|----|----------|-----|-----|----|----------|
| | | 정상 | 비정상 | | | 정상 | 비정상 | | |
| 시험군 | 정상 | 37 | 0 | 37 | - | 37 | 0 | 37 | - |
| | 비정상 | 0 | 0 | | | 0 | 0 | | |
| | p-value§ | - | | | | - | | | |
| 대조군 | 정상 | 40 | 0 | 40 | | 40 | 0 | 40 | |
| | 비정상 | 0 | 0 | | | 0 | 0 | | |
| | p-value§ | - | | | | - | | | |

Urine Nitrite

| 방문1 | | 방문3 | | N | p-value§ | 방문4 | | N | p-value§ |
|-----|----------|-----|-----|----|----------|-----|-----|----|----------|
| | | 정상 | 비정상 | | | 정상 | 비정상 | | |
| 시험군 | 정상 | 36 | 1 | 37 | - | 37 | 0 | 37 | - |
| | 비정상 | 0 | 0 | | | 0 | 0 | | |
| | p-value§ | - | | | | - | | | |
| 대조군 | 정상 | 40 | 0 | 40 | | 40 | 0 | 40 | |
| | 비정상 | 0 | 0 | | | 0 | 0 | | |
| | p-value§ | - | | | | - | | | |

Urine WBC

| 방문1 | | 방문3 | | N | p-value§ | 방문4 | | N | p-value§ |
|-----|----------|--------|-----|----|----------|--------|-----|----|----------|
| | | 정상 | 비정상 | | | 정상 | 비정상 | | |
| 시험군 | 정상 | 20 | 9 | 37 | 0.2568 | 25 | 4 | 37 | 0.6698 |
| | 비정상 | 5 | 3 | | | 5 | 3 | | |
| | p-value§ | 0.2850 | | | | 0.7389 | | | |
| 대조군 | 정상 | 25 | 8 | 40 | | 25 | 8 | 40 | |
| | 비정상 | 6 | 1 | | | 5 | 2 | | |
| | p-value§ | 0.5930 | | | | 0.4054 | | | |

Urine RBC

| 방문1 | | 방문3 | | N | p-value§ | 방문4 | | N | p-value§ |
|-----|----------|--------|-----|----|----------|---------------|-----|----|----------|
| | | 정상 | 비정상 | | | 정상 | 비정상 | | |
| 시험군 | 정상 | 16 | 6 | 37 | 0.2513 | 16 | 6 | 37 | 0.4328 |
| | 비정상 | 5 | 10 | | | 9 | 6 | | |
| | p-value§ | 0.7630 | | | | 0.4386 | | | |
| 대조군 | 정상 | 13 | 6 | 40 | | 10 | 9 | 40 | |
| | 비정상 | 2 | 19 | | | 2 | 19 | | |
| | p-value§ | 0.1573 | | | | 0.0348 | | | |

§: p-value by McNemar test

11.4.3 활력징후 검사 결과의 평가

방문2, 3, 4에 측정된 활력징후(맥박, 혈압)에 대한 분석 결과에서 투여 군내 및 군간 통계적으로 유의한 차이를 나타낸 활력징후는 없었다(Table 40).

Table 40. 방문별 활력징후 검사 (ITT set)

| | | 시험군(키토올리고당) | | 대조군(Placebo) | | p-value* |
|-----------|----------------------|-------------|-------------|--------------|------------|----------|
| | | N=37 | | N=40 | | |
| | | n | Mean±SD | n | Mean±SD | |
| 맥박 (회) | 방문 2 | 37 | 73.89±7.82 | 40 | 72.98±9.63 | 0.6495 |
| | 방문 3 | 37 | 76.68±10.45 | 40 | 74.03±8.13 | |
| | Change from baseline | 37 | 2.78±9.26 | 40 | 1.05±8.52 | 0.3947 |
| | p-value] | | 0.0756 | | 0.4403 | |

| | 시험군(키토올리고당) | | 대조군(Placebo) | | p-value* |
|----------------------|-------------|--------------|--------------|-------------|----------|
| | n | Mean±SD | n | Mean±SD | |
| 방문 4 | 36 | 75.08±9.63 | 36 | 74.33±8.42 | |
| Change from baseline | 36 | 0.89±8.42 | 36 | 0.53±8.29 | 0.8550 |
| p-value] | | 0.5306 | | 0.7046 | |
| 방문 2 | 37 | 118.78±11.28 | 40 | 118.65±8.82 | 0.9538 |
| 방문 3 | 37 | 120.62±9.44 | 40 | 118.43±9.59 | |
| Change from baseline | 37 | 1.84±12.60 | 40 | -0.23±7.55 | 0.3919 |
| p-value] | | 0.3810 | | 0.8515 | |
| 방문 4 | 36 | 115.94±11.04 | 36 | 117.06±8.23 | |
| Change from baseline | 36 | -2.44±10.81 | 36 | -0.50±9.78 | 0.4261 |
| p-value] | | 0.1834 | | 0.7608 | |
| 방문 2 | 37 | 76.84±7.64 | 40 | 77.73±8.17 | 0.6248 |
| 방문 3 | 37 | 77.65±7.85 | 40 | 77.20±7.73 | |
| Change from baseline | 37 | 0.81±7.58 | 40 | -0.53±7.45 | 0.4379 |
| p-value] | | 0.5193 | | 0.6581 | |
| 방문 4 | 36 | 75.86±9.14 | 36 | 76.92±6.64 | |
| Change from baseline | 36 | -1.00±8.29 | 36 | 0.33±7.04 | 0.4645 |
| p-value] | | 0.4741 | | 0.7780 | |

*: Compared between groups; p-value by t-test

] : Compared within groups; p-value by paired t-test

11.4.4 심전도 검사 결과의 평가

투여 전후의 심전도 검사에 대한 분석 결과에서 투여 군내 및 군간에서 통계적으로 유의한 차이는 없었으며, 투여 전후에 비정상적으로 판독된 경우 시험자에 의해 모두 '임상적 유의성 없음(Non-clinical significance)'이 판단되었다(Table 41).

Table 41. 방문별 심전도 검사 (ITT set)

| 방문1 | | 방문4 | | N | p-value§ |
|------------------|----------|--------|-----|----|----------|
| | | 정상 | 비정상 | | |
| 시험군 (키토올리고당) | 정상 | 28 | 2 | 36 | 0.7815 |
| | 비정상 | 4 | 2 | | |
| | p-value§ | 0.4142 | | | |
| 대조군 (Placebo) | 정상 | 25 | 5 | 36 | |
| | 비정상 | 2 | 4 | | |
| | p-value§ | 0.2568 | | | |

§: p-value by McNemar test

11.5 안전성에 대한 최종 결론

안전성 평가는 무작위배정되어 임상시험용 건강기능식품을 적어도 한번 이상 투여한 피험자 중 안전성 관련 정보가 수집된 피험자를 분석 대상으로 하였다.

임상시험용 건강기능식품을 투여한 이후 이상반응을 경험한 피험자는 시험군 7명(17.95%, 12건), 대조군 11명(26.83%, 12건)으로 보고되었다. 이 중 중대한 이상반응은 대조군 1명(2.44%, 1건)으로 조사되었으며, 발생한 이상반응으로 인한 중도탈락은 대조군 1명(2.44%, 1건)으로 조사되었다. 두 군간의 이상반응 발현율, 중대한 이상반응 발현율, 발생한 이상반응으로 인한 중도탈락 발현율의 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 보고된 이상반응 중 임상시험용 건강기능식품과의 관련성을 배제할 수 없는(related) 이상반응은 두군 모두 없는 것으로 보고되었다. 대조군에서 발생한 중대한 이상반응은 임상시험용 건강기능식품과의 관련성은 '명확히 관련이 없음'으로 시험자에 의해 판단되었다.

임상병리검사(혈액학적 검사, 혈액화학적 검사, 뇨검사)에 대한 분석에서 군내 및 군간에서 통계적으로 유의한 변화를 보인 항목들이 있었으나 정상치 범위 내에서의 변화였다. 검사결과 중 투여 후 비정상인 검사결과인 경우, 시험자에 의해 모두 '임상적 유의성이 없음(Non-clinical significance)'을 판단하였다.

활력징후(맥박, 혈압)에 대한 분석에서 군내 및 군간에서 유의한 차이를 보이지 않았다.

심전도 검사결과에서 정상/비정상으로 나누어 비교했을 때 군내 및 군간에서 유의한 차이를 나타내지 않았다.

12. 고찰 및 전반적인 결론

본 임상시험은 체질량지수 25 kg/m^2 이상인 과체중 혹은 비만인을 대상으로 키토올리고당을 투여했을 때 체중 및 체지방, 복부지방 감소가 대조군(Placebo)과 비교하여 우월한 효과가 있음을 입증하기 위하여 디자인되었다. 키토올리고당의 유효성 및 안전성 평가를 위해 임상시험용 건강기능식품을 1일 3회, 1회 5캡셀씩 8주간 섭취하는 형태로 이중맹검, 무작위배정, 위약대조 임상시험을 실시하였다.

전체 80명(시험군 39명, 대조군 41명)의 피험자가 무작위배정 되었으며 3명이 탈락되어 ITT 분석은 77명(시험군 37명, 대조군 40명)의 피험자에 대하여 실시되었다. 이중 5명의 피험자가 중도 탈락되어 PP 분석은 72명(시험군 36명, 대조군 36명)의 피험자에 대하여 실시되었다.

유효성 평가

일차 유효성 평가변수인 체지방률(%Fat)에 대하여 ITT set을 대상으로 한 분석에서 투여 8주 후 시험군은 $0.43 \pm 1.44 \%$ 감소되었으며, 대조군은 $0.03 \pm 1.41 \%$ 증가하였다. 두군 모두 군내 유의한 차이는 관찰되지 않았으며, 군간 유의한 차이도 관찰되지 않았다($p=0.0804$).

이차 유효성 평가변수인 체중, 허리둘레, 엉덩이둘레, 허리/엉덩이둘레 비율, BMI, 체지방량, 체지방량, 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적, 내장지방/피하지방 면적비, Adiponectin, Insulin, Leptin, IFN- γ 에 대하여 ITT set을 대상으로 한 분석에서 군간 유의한 차이를 보인 평가변수는 총 복부지방 면적이었다. 투여 8주 후 총 복부지방 면적은 시험군은 $13.57 \pm 48.67 \text{ cm}^2$ 감소되었고, 대조군에서는 $2.92 \pm 24.03 \text{ cm}^2$ 증가하는 결과가 나타나 통계적으로 군간 유의한 차이가 있음을 보였다($p=0.0342$). 총 복부지방 면적 이외의 평가변수에 대해서는 모두 군간 유의한 차이가 관찰되지 않았다.

탐색

투여 8주 후 DEXA와 CT를 통해 측정된 유효성 평가변수에 대하여 BMI, 허리둘레, 내장지방/피하지방 면적비에 따른 추가분석을 실시하였다. BMI 30 kg/m^2 을 기준으로 분석한 결과, BMI 30 kg/m^2 이상 그룹에서 체지방량, 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적에서 군간 유의한 차이가 나타났다. 복부비만의 기준인 허리둘레 남자 90 cm, 여자 85 cm 이상 그룹에서는 체지방량, 총 복부지방 면적에서 두 군간 유의한 차이가 관찰되었다. 복부의 내장지방/피하지방 면적비를 기준으로 분석한 결과에서는 내장지방/피하지방 면적비 0.4 미만 그룹(피하지방형 복부비만)은 피하지방 면적, 총 복부지방 면적에서 군간 유의한 차이가 나타났으며, 내장지방/피하지방 면적비 0.4 이상 그룹(내장지방형 복부비만)에서는 체지방률, 내장지방/피하지방 면적비에서 군간 유의한 차이를 보였다.

안전성 평가

임상시험용 건강기능식품을 투여한 이후 이상반응을 경험한 피험자는 시험군 7명(17.95%, 12건), 대조군 11명(26.83%, 12건) 이었다. 이 중 중대한 이상반응은 대조군 1명(2.44%, 1건)으로 조사되었으며, 발생한 이상반응으로 인한 중도탈락은 대조군 1명(2.44%, 1건)으로 조사되었다. 두 군간의 이상반응 발현율, 중대한 이상반응 발현율, 발생한 이상반응으로 인한 중도탈락 발현율의 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 보고된 이상반응 중 임상시험용 건강기능식품과의 관련성을 배제할 수 없는(related) 이상반응은 두군 모두 없는 것으로 보고되었다. 대조군에서 발생한 중대한 이상반응은 임상시험용 건강기능식품과의 관련성은 '명확히 관련이 없음'으로 시험자에 의해 판단되었다.

임상병리검사에 대한 분석에서 군내 및 군간에서 통계적으로 유의한 변화를 보인 항목들이 있었으나 정상치 범위 내에서의 변화였다. 검사결과 중 투여 후 비정상인 검사결과의 경우, 시험자에 의해 모두 '임상적 유의성이 없음'을 판단하였다. 활력징후와 심전도 검사에 대한 분석에서 군내 및 군간에서 유의한 차이를 보이지 않았다.

과체중 혹은 비만인을 대상으로 키토올리고당의 유효성과 안전성을 평가하기 위한 본 임상시험의 결과는 다음과 같이 결론을 내릴 수 있다.

1. 일차 유효성 평가분석 결과, 체지방률의 감소효과는 없었다.
2. 이차 유효성 평가분석 결과, 체중, BMI의 감소 효과는 부족하였으나 복부지방(내장지방+피하지방)의 감소효과를 확인할 수 있었다.
3. 추가로 탐색적 목적을 위해 실시한 BMI, 허리둘레, 내장지방/피하지방 면적비에 따른 추가분석 결과에서 BMI 30 kg/m² 이상인 고도비만과 허리둘레 남녀 각각 90 cm, 85 cm 이상 및 내장지방형 복부비만에서 대조군과 대비하여 유의한 지방감소 효과를 보였다.
4. 안전성면에서는 유의할만한 사항은 없는 것으로 판단되었다.
5. 향후 장기적인 체지방, 복부지방 감소효과에 대한 추가적인 연구가 기대된다.

13. References

- 1) Cho EJ, Rahman MA, Kim SW, Baek YM, Hwang HJ, Oh JY, Hwang HS, Lee SH, Yun JW. Chitosan oligosaccharides inhibit adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes. J Microbiol Biotechnol. 2008 Jan;18(1):80-7.
- 2) Rahman A, Kumar SG, Kim SW, Hwang HJ, Baek YM, Lee SH, Hwang HS, Shon YH, Nam KS, Yun JW. Proteomic analysis for inhibitory effect of chitosan oligosaccharides on 3T3-L1 adipocyte differentiation. Proteomics. 2008 Feb;8(3):569-81.
- 3) Kumar SG, Rahman MA, Lee SH, Hwang HS, Kim HA, Yun JW. Plasma proteome analysis for anti-obesity and anti-diabetic potentials of chitosan oligosaccharides in ob/ob mice. Proteomics. 2009 Apr;9(8):2149-62.
- 4) Kaats GR, Michalek JE, Preuss HG. Evaluating efficacy of a chitosan product using a double-blinded, placebo-controlled protocol. J Am Coll Nutr. 2006 Oct;25(5):389-94.
- 5) DEUCHI K, KANAUCHI O, IMASATO Y, KOBAYASHI E. Decreasing effect of chitosan on the apparent fat digestibility by rats fed on a high-fat diet. Bioscience, biotechnology, and biochemistry. 1994, 58(9):1613-1616.
- 6) Lee JM, Son BK. Effect of chitosan of different molecular weights on lipid metabolism in rats. Korean J. Nutrition, 31 143-152, 1998.
- 7) Gades MD, Stern JS. Chitosan supplementation and fat absorption in men and women. J Am Diet Assoc. 2005 Jan;105(1):72-7.
- 8) Sumiyoshi M, Kimura Y. Low molecular weight chitosan inhibits obesity induced by feeding a high-fat diet long-term in mice. J Pharm Pharmacol. 2006 Feb;58(2):201-7.

14. Appendix

별첨

가톨릭대학교 서울성모병원 임상연구심의위원회 심의결과통보서

우편번호 : (137 - 701) 서울특별시 서초구 반포동 505 서울성모병원 전화 : 02-2258-7863,4,6 전송 : 02-2258-7867 담당자 : 정혜림

| | | | | |
|------|---|-------|------|------------|
| 문서번호 | KIRB-00320_31-001 | 수신 | 지원기관 | (주)키토라이프 |
| 시행일 | 2010-10-22 | 시험책임자 | | 가정의학교실 김경수 |
| 연구제목 | 과체중 혹은 비만인에서 체중 및 체지방 감량에 미치는 키토올리고당의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 8주, 이중맹검, 무작위배정, 위약대조 임상시험 | | | |
| 과제번호 | KC09HDSE0233 | | | |
| 심의대상 | 결과보고서 | | | |
| 연구대상 | 건강식품 | | | |
| 연구관련 | 임상단계 | 기타 | | |
| 심의일 | 2010-10-22 (320_31 차) | | | |
| 심의결과 | 승인 | | | |

심의내역

결과보고서

결과 보고 내용 : 1. 본원 피험자 상황
 목표: 80명, 스크리닝: 87명, 스크리닝 탈락: 7명, 등록(enrolled): 80명,
 연구완료: 72명, 중도탈락: 8명, 본원 발생 SAE: 1건

2. Study summary

1) Protocol 요약

① General Information

시험식품: 키토올리고당

성분: 키토올리고당 분말 250 mg/cap

임상시험 책임자 및 실시기관

김경수(서울성모병원 가정의학과)

임상시험 기간: 약 5개월

- 최초 피험자 스크리닝일: 2009년 10월 8일

- 최종 피험자 완료일: 2010년 2월 19일

투여기간: 8주

② 임상연구의 목적

본 임상시험은 과체중 혹은 비만인을 대상으로 키토올리고당을 투여했을 때 체중 및 체지방, 복부지방 감소와 관련한 유효성 평가변수를 통해 대조군(Placebo)과 비교하여 우월한 유효성을 보임을 입증하는 것이다.

③ 임상시험 설계: 이중맹검, 무작위배정, 위약대조

④ 임상시험용 건강기능식품, 용법 및 용량

시험군: 키토올리고당, 1일 3회, 1회 5캡셀씩 8주 동안 경구 투여 받았음

대조군: 옥수수전분, 1일 3회, 1회 5캡셀씩 8주 동안 경구 투여 받았음

⑤ 적응증/선정기준

만 20세 이상 65세 이하의 과체중 혹은 비만(체질량지수 25kg/m² 이상)인 성인 남녀를 대상으로, 본 임상시험의 참여를 동의한 자에 한하여 선정되었다.

⑥ 평가 기준

유효성 평가항목

1차 유효성 평가변수: DEXA를 통한 체지방률(%Fat)

2차 유효성 평가변수:

- 체중
- 허리둘레, 엉덩이둘레, 허리/엉덩이 둘레비
- 체질량지수(BMI)
- DEXA를 통한 체지방량, 제지방량
- CT를 통한 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적, 내장/피하지방 면적비
- Clinical lab: Adiponectin, Insulin, Leptin, IL-2, IL-4, IFN- γ

안전성 평가항목: 이상반응, 임상병리검사, 활력징후, 심전도 검사

⑦ 통계분석 방법

유효성 평가 분석은 1차 유효성 평가변수와 2차 유효성 평가변수는 각 군내에서 투여 전후의 차이는 paired t-test, 투여 군간의 차이는 독립 이 표본 t-test로 비교 분석하였다. 또한 식이섭취량과 운동칼로리소모량으로 보정하여 투여 군간의 차이를 공분산분석(ANCOVA)을 통하여 비교 분석하였다.

안전성 평가 분석에서 이상반응은 시험기간 동안 보고된 피험자의 모든 이상반응을 도표화한 후 발생률을 산출하였다. 각 군간 이상반응 여부에 대하여 비율을 계산하고 투여군 별 이상반응 발생률의 차이는 Chi-square test 또는 Fisher's Exact test를 이용하여 비교하였다. 또한 이상반응 발현례수를 도표화하였으며 임상시험용 건강기능식품과의 관련성에 대하여 군별 사례를 도표화 하고 독립성검정을 실시하였다. 임상병리검사, 활력징후, 심전도 검사는 혈액학적 및 혈액화학적 검사, 활력징후 검사치와 같이 연속형자료는 군내 비교는 paired t-test, 군간 비교는 독립 이 표본 t-test를 이용하여 분석하였다. 뇨 검사의 일부 측정 변수와 심전도 검사 결과는 정상과 비정상으로 나누어 McNemar 검정을 실시하였다.

2) 결과

① 피험자 등록

약 80명(한 군당 40명)을 등록할 예정이었고, 실제적으로 80명이 등록됨.

스크리닝: 87명, 스크리닝 탈락: 7명, 임상시험 등록: 80명(시험군 39명, 대조군 41명), 중도탈락: 8명(시험군 3명, 대조군 5명), 임상시험 완료: 72명(시험군 36명, 대조군 36명)

② 유효성 평가 결과

일차 유효성 평가변수인 체지방률(%Fat)에 대하여 ITT set을 대상으로 한 분석에서 투여 8주 후 시험군은 0.43±1.44 % 감소되었으며, 대조군은 0.03±1.41 % 증가하였다. 두군 모두 군내 유의한 차이는 관찰되지 않았으며, 군간 유의한 차이도 관찰되지 않았다(p=0.0804).

이차 유효성 평가변수에 대하여 ITT set을 대상으로 한 분석에서 투여 0주, 4주, 8주에 측정된 체중, 허리둘레, 엉덩이둘레, 허리/엉덩이둘레 비율, BMI는 모두 군간 유의한 차이가 관찰되지 않았다. 투여 0주, 8주에 측정된 체지방량, 제지방량, 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적, 내장지방/피하지방 면적비에 대한 분석에서 군간 유의한 차이를 보인 평가변수는 총 복부지방 면적이었다. 투여 8주 후 총 복부지방 면적은 시험군은 13.57±48.67 cm² 감소되었고, 대조군에서는 2.92±24.03 cm² 증가하는 결과가 나타나 통계적으로 군간 유의한 차이가 있음을 보였다(p=0.0342). 투여 0주, 8주에 측정된 Adiponectin, Insulin, Leptin, IFN- γ 분석결과에서는 군간 유의한 차이가 관찰되지 않았다.

추가로 탐색적 목적을 위해, 투여 8주 후 DEXA와 CT를 통해 측정된 유효성 평가변수에 대하여 BMI, 허리둘레, 내장지방/피하지방 면적비에 따른 추가분석을 실시하였다. BMI 30 kg/m²을 기준으로 분석한 결과, BMI 30 kg/m² 미만 그룹에서는 군간 유의한 차이를 보인 평가변수가 관찰되지 않았으나 BMI 30 kg/m² 이상 그룹에서는 체지방량, 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적에서 군간 유의한 차이가 나타났다. 복부비만의 기준인 허리둘레를 기준으로 분석한 결과에서는 허리둘레 남자 90 cm, 여자 85 cm 미만 그룹은 체지방량만이 군간 유의한 차이가 관찰되었고, 허리둘레 남자 90 cm, 여자 85 cm 이상 그룹에서는 체지방량, 총 복부지방 면적에서 두 군간 유의한 차이가 관찰되었다. 피하지방형 복부비만과 내장지방형 복부비만을 구분짓는 복부의 내장지방/피하지방 면적비를 기준으로 분석한 결과에서는 내장지방/피하지방 면적비 0.4 미만 그룹(피하지방형 복부비만)은 피하지방 면적, 총 복부지방 면적에서 군간 유의한 차이가 나타났으며, 내장지방/피하지방 면적비 0.4 이상 그룹(내장지방형 복부비만)에서는 체지방량, 내장지방/피하지방 면적비에서 군간 유의한 차이를 보였다.

③ 안전성 평가 결과

임상시험용 건강기능식품을 투여한 이후 이상반응을 경험한 피험자는 시험군 7명(17.95%, 12건), 대조군 11명(26.83%, 12건)으로 보고되었다. 이 중 중대한 이상반응은 대조군 1명(2.44%, 1건)으로 조사되었으며, 발생한 이상반응으로 인한 중도탈락은 대조군 1명(2.44%, 1건)으로 조사되었다. 두 군간의 이상반응 발현율, 중대한 이상반응 발현율, 발생한 이상반응으로 인한 중도탈락 발현율의 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 보고된 이상반응 중 임상시험용 건강기능식품과의 관련성을 배제할 수 없는(related) 이상반응은 두군 모두 없는 것으로 보고되었다. 대조군에서 발생한 중대한 이상반응은 임상시험용 건강기능식품과의 관련성은 '명확히 관련이 없음' 으로 시험자에 의해 판단되었다.

임상병리검사에 대한 분석에서 군내 및 군간에서 통계적으로 유의한 변화를 보인 항목들이 있었으나 정상치 범위 내에서의 변화였다. 검사결과 중 투여 후 비정상인 검사결과의 경우, 시험자에 의해 모두 '임상적 유의성이 없음(Non-clinical significance)' 을 판단하였다.

활력징후와 심전도 검사결과에서 정상/비정상으로 나누어 비교했을 때 군내 및 군간에서 유의한 차이를 나타내지 않았다.

④ 결론

과체중 혹은 비만을 대상으로 키토올리고당의 유효성과 안전성을 평가하기 위한 본 임상시험의 결과는 다음과 같이 결론을 내릴 수 있다.

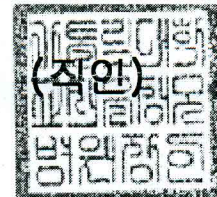
1. 일차 유효성 평가분석 결과, 체지방량의 감소효과는 없었다.
2. 이차 유효성 평가분석 결과, 체중, BMI의 감소 효과는 부족하였으나 복부지방(내장지방+피하지방)의 감소효과를 확인할 수 있었다.
3. 추가로 탐색적 목적을 위해 실시한 BMI, 허리둘레, 내장지방/피하지방 면적비에 따른 추가분석 결과에서 BMI 30 kg/m² 이상인 고도비만과 허리둘레 남녀 각각 90 cm, 85 cm 이상 및 내장지방형 복부비만에서 대조군과 대비하여 유의한 지방감소 효과를 보였다.
4. 안전성면에서는 유의할만한 사항은 없는 것으로 판단되었다.
5. 향후 장기적인 체지방, 복부지방 감소효과에 대한 추가적인 연구가 기대된다.

- * 귀하가 신청하신 심의안건에 대하여 본임상연구심의위원회의 심의결과를 위와 같이 알려드립니다
- * 만약 본위원회의 심사판정에 불복할 경우 심사결과 통보 후 2주일 이내 그 사유를 기록하여 본 위원회로 제출하여 주십시오.
- * 본 임상연구심의위원회는 KGCP 및 ICH-GCP 규정을 준수하며, 생명윤리 및 안전에관한 법률 등 관련 법규를 준수 합니다.
- * 임상시험 문서보관 기한은 10년이며 그 이상 보관을 요청할 경우에는 비용 등 관련절차를 담당자와 상의하시기 바랍니다.

가톨릭대학교

서울성모병원

병원장



바이오푸드 네트워크 사업단 주관 통합지원사업 최종보고서

키토올리고당의 건강기능식품 개별인정형등록을 위한
기능성평가 동물시험

2010년 8월 31일



바이오푸드네트워크사업단

□ 지원대상 업체: (주)키토라이프

□ 지원내용: 키토올리고당의 건강기능식품 개별인정형등록을 위한 기능성평가 동물시험

□ 지원기간: 2009년 2월 13일 ~ 2010년 8월 31일

※ 실험기간 연장으로 협약서 상 지원기간보다 1개월 연장됨

□ 지원사업 총괄 기관: 바이오푸드 네트워크 사업단

□ 지원사업 세부 담당기관: 한국식품연구원

위와 같이 ㈜키토라이프에 대한 통합지원사업 최종보고서를 제출합니다.

2010년 8월 31일

바이오푸드 네트워크 사업단장

■ 담당기관 및 담당자

| | | | | |
|----------------|-------|----------------------------|--|-------------------|
| 세부 담당 기관 | 연구책임자 | (성 명) 전 향 숙 | (소속기관) 한국식품연구원 (부서/직위) 안전성연구단/책임연구원 | |
| | | (E-mail) hschun@kfri.re.kr | (유선전화) 031-780-9273 | (팩스) 031-709-9876 |
| | 실무담당자 | (성 명) 장 현 주 | (소속기관) 한국식품연구원 (부서/직위) 안전성연구단/연구원 | |
| | | (E-mail) hc0860@naver.com | (유선전화)) 031-780-9326 | (팩스) 031-780-9876 |

■ 사업 목표

in vitro 시험에서 나타난 키토올리고당의 3T3-L1 지방세포의 분화 억제효과를 토대로 *in vivo* 마우스 모델에서 키토올리고당의 항비만 효과를 구명하고 지방세포의 분화와 관련이 높은 유전자 바이오마커 분석을 통해 키토올리고당의 항비만효과가 지방세포 분화억제와 관련이 있는지 구명함으로써 키토올리고당의 건강기능식품 개별인정형등록을 위한 기초 기능성 자료를 제공하고자 함.

■ 사업 내용 및 범위

고분자 키토산을 효소분해하여 얻은 저분자의 키토올리고당은 수용성이 증가되면서 다양한 생리적 활성을 나타내는 것으로 알려져 있고, 최근 세포 및 동물을 이용한 항비만 효과가 보고되고 있어 항비만 기능성 소재로서 주목을 받고 있다.

본 연구에 사용된 키토올리고당의 경우 3T3-L1 세포주를 이용한 지방세포 분화 연구에서 지방세포의 분화를 효과적으로 억제하는 것으로 나타나 이러한 효과를 토대로 in vivo 동물실험 모델에서도 키토올리고당이 항비만효과를 나타내는지 살펴보고자 하였다. 특히 본 연구에서는 이러한 키토올리고당의 항비만 효과가 지방세포 분화억제와 관련이 있는지 알아보기 위하여 유전자 바이오마커 검색을 통해 이를 검증함으로써 (주)키토라이프의 키토올리고당의 건강기능식품 개별인정형등록을 위한 기초 기능성 자료를 제공하고자 하였다.

이를 위한 시험 평가 내용 및 방법은 다음과 같다.

1. C57BL/6 마우스에서 고지방식이 (fat calories 45%)로 비만유도 및 키토올리고당의 항비만 효과 검증
 - 체중 및 내장지방의 변화
 - 혈액 및 간의 지질성상을 포함한 생화학 지표 분석
2. 비만이 유도된 마우스 지방조직의 유전자 바이오마커를 분석하기 위하여 cDNA 마이크로어레이 분석을 이용하여 키토올리고당이 나타내는 항비만 효과의 분자적 메커니즘 분석

■ 시험 평가 내용 및 방법

1. 실험동물 및 실험군

7 주령의 C57BL/6 종의 수컷 마우스를 중앙실험동물로부터 구입하여 1 주간 동물실험실 환경에 적응시킨 후 본 실험에 사용하였다. 실험군은 정상대조군, 고지방식이군 (지방함량이 총 식이중량의 24%, 전체 칼로리의 45%), 고지방식이+고키토올리고당 섭취군으로 하여 AIN-93M 0.3%, 1%, 3% 포함하는 시료섭취군으로 하여 실험군당 각 10 마리씩 구성되도록 하였다. 물과 식이는 자유로이 섭취하도록 하였고 온도 22.0 ± 1 °C, 습도 $50 \pm 10\%$ 의 사육실 환경에서 12 시간 명암주기를 유지하여 20 주간 사육하였다. 각 실험군의 식이조성은 Table 1 과 같다.

Table. 1. Composition of experimental diets

| Ingredient (g) | Control | HF | HF+0.3%CO | HF+1% CO | HF+3% CO |
|------------------------|---------|--------|-----------|----------|----------|
| Casein | 140 | 173 | 173 | 173 | 173 |
| Cornstarch | 465.692 | 209.79 | 206.79 | 199.79 | 179.79 |
| Dextrinized cornstarch | 155 | 155 | 155 | 155 | 155 |
| Sucrose | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Soybeanoil | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| Lard | | 200 | 200 | 200 | 200 |
| Fiber | 50 | 62 | 62 | 62 | 62 |
| Mineral mix | 35 | 43 | 43 | 43 | 43 |
| Vitamin mix | 10 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| L-Cystine | 1.8 | 2.2 | 2.2 | 2.2 | 2.2 |
| Choline bitartrate | 2.5 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| t-Butyl hydroquinone | 0.008 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| Chito-oligo | - | - | 3 | 10 | 30 |
| Total (g) | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 |
| Total (kcal) | 3802.8 | 4711.2 | 4699.2 | 4671.2 | 4591.2 |
| Carbohydrate (kcal%) | 75.8 | 39.5 | 39.3 | 38.9 | 37.9 |
| Protein (kcal%) | 14.7 | 14.7 | 14.7 | 14.8 | 15.1 |
| Lipid (kcal%) | 9.5 | 45.8 | 46.0 | 46.2 | 47.0 |
| kcal/g diet | 3.80 | 4.7 | 4.7 | 4.7 | 4.6 |

2. 혈액 및 장기 채취

총 21 주의 실험기간이 종료된 후 에틸에테르로 마취하고 복부대동맥에서 채혈하여 3,000 rpm 에서 15 분간 원심분리 후 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청은 -70°에 냉동보관하여 혈액생화학적 분석에 이용하였다. 또한, 간 및 지방조직을 빠르게 적출하여 무게를 측정하고 급속 동결시킨 후 분석 시까지 -70°C 에서 냉동 보관하였다.

3. 혈액 생화학적 평가

혈청 aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), total cholesterol, triglyceride (TG), HDL-cholesterol (HDL-C), free fatty acids (FFA), glucose 는 autoanalyzer 로 분석하였다. LDL-cholesterol (LDL-C)은 Friedwal 의 공식에 따라 계산하였다. 혈청 leptin 과 adiponectin 농도는 각각 Assay designs 사의 EIA kit 와 Adipogen 사의 ELISA kit 을 이용하여 분석하였다.

4. 간 조직의 지질 분석

간 조직의 총 지질 함량은 Bligh 와 Dyer 의 방법에 따라 간 조직 0.5 g 에 saline 을 가해 homogenizer 로 균질화한 후, chloroform : methanol 혼합액 (Chloroform : MeOH = 1 : 2, v/v) 7.5 ml 을 가해 1 분간 격렬히 vortex 한 후 30 분 이상 정치시켰다. 이후 chloroform 2.5 ml 과 증류수 2.5 ml 을 가하여 3,000 rpm 에서 20 분간 원심분리하여 아래층의 chloroform 분획을 얻었다. 여기에 sodium sulfate (anhydrous) 10 g 을 넣고 여과하여 얻은 chloroform 층을 완전히 건조 시킨 후 항량시켜 무게를 측정하였다. 간의 중성지방과 총 콜레스테롤 함량은 위에서 추출한 총 지질을 메탄올에 녹여 Bio Clinical System 사의 상업용 kit 를 이용하여 비색정량하였다.

5. 지방세포의 조직병리학적 관찰

부고환지방조직은 적출직후 10% 중성 포르말린 용액에 넣어 4 시간 이상 실온에서 고정한 후 paraffin block 을 제조하고 절편기 (Leica LM-3050, Bensheim, Germany)를 이용하여 5 μm 의 두께로 조직 절편을 만들어서 H & E 염색을 하여 광학현미경으로 지방세포형태를 관찰하였다. 지방세포의 크기를 평가하기 위하여 일정 넓이 (600 X 600 μm^2) 들어가는 지방세포의 수를 계수하였다.

6. cDNA 마이크로어레이 기법을 이용한 유전자 발현양상에 대한 연구

1) Total RNA 추출

마우스 부고환지방 조직을 분쇄한 뒤 Qiagen 사의 RNeasy mini kit 을 이용하여 total RNA 를 순수분리하였다. 추출한 RNA 는 UV spectrophotometry 를 이용하여 흡광도 260/280, 230/260 비율이 각각 1.7, 1.3 이상이 됨과 동시에 18s 와 28s 의 비율이 1:1.8 이상이 되는 purity 와 integrity 를 확인 후 마이크로어레이 분석에 사용하였다(Fig. 1A).

2) 마이크로어레이 분석

마이크로어레이 분석용 상용화 칩의 경우, Illumina 사의 mouse 24k DNA chip 을 사용하였고 앞서 순수분리된 RNA 550ng 을 cDNA 로 합성하기 위해 T7 oligo (dT) primer 를 이용하여 역전사 과정을 수행함으로써, 이중가닥의 cDNA 를 제작하였다. 750ng 의 cDNA 에 형광물질인 biotin 을 인지시킨 후, 58°C에서 16-18 시간 동안 마이크로어레이 칩과 반응시켰다. 칩에 부착된 각각의 유전자들이 발현 정도에 따라 형광빛을 발산하는 정도를 스캐너를 통해 이미지로 변환시킴과 동시에 Illumina BeadStudio 프로그램을 이용하여 각각의 유전자 발현에 대한 초기 데이터를 확인하였다. 마이크로어레이를 이용한 분석연구는 아래와 같은 순서도 (Fig. 1B)에 의거하여 진행하여 필터링 과정과 평준화(normalization) 과정을 통과한 유전자에 한하여, 정상대조군 대비 고지방식이 섭취시 2 배 이상의 증가 또는 감소를 보이는 유전자군을 확보하였다. 키토올리고당 섭취에 의해

고지방식이 섭취군 대비 유의적으로 발현이 변화되는 유전자 군을 확인한 후 이를 토대로 관련 유전자의 Gene Ontology 를 바탕으로 기능 분류를 진행하였고 관련 pathway analysis 를 수행하였다.

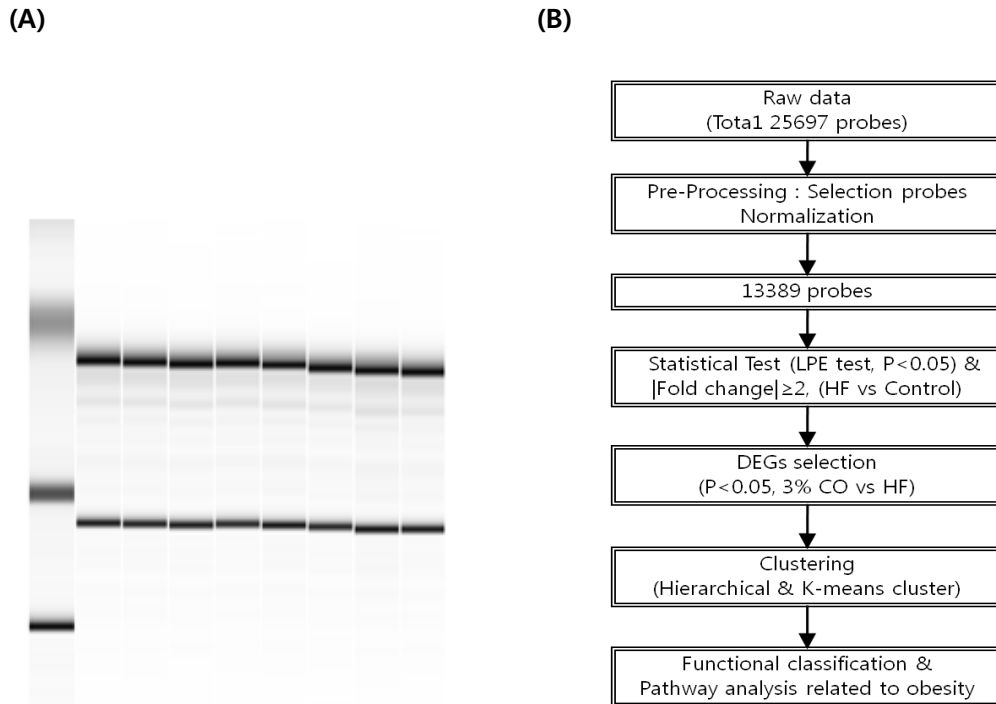


Fig. 1. Quality control of RNA extracted from epididymal adipose tissue (A) and the flow chart of cDNA microarray (B).

7. 통계분석

본 연구에서 얻은 측정결과는 $\text{mean} \pm \text{SEM}$ 으로 나타내었고 SPSS 통계 패키지를 이용하여 분석하였다. 대조군과 시료처리군의 차이를 알아보기 위하여 T-test 를 실시하였고, 통계적 유의수준은 $P < 0.05$ 수준에서 검증하였다. 마이크로어레이 데이터의 경우 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 로 나타내었고 유의유전자 (Differentially expressed genes, DEGs)를 선별하기 위하여 fold 값 및 LPE test 를 실시하였다 ($P < 0.05$).

■ 연구 결과

1. 키토올리고당의 항비만 효과

1) 체중 및 식이 섭취에 미치는 영향

정상대조군과 칼로리의 45%를 지방으로 구성한 고지방식이 및 키토올리고당을 식이의 0.3, 1, 3%로 21주간 급여시 체중 및 식이 섭취에 미치는 영향을 Fig. 1과 Table 2에 나타내었다. 고지방식이 섭취군의 경우 정상대조군에 비하여 유의적으로 체중이 증가되었고 고지방식이 섭취 6주후부터 정상대조군에 비해 유의적인 체중 증가를 나타냈다. 키토올리고당 포함식이 섭취군의 경우 3% 키토올리고당 식이 섭취군에서 약 식이 섭취 8주 후부터 고지방식이 섭취군보다 체중 증가가 낮아지는 경향이었으나 두 그룹간 유의적인 체중 차이는 나타나지 않았으나 (Fig. 2) 체중 증가량으로 살펴봤을 때 고지방식이군이 실험기간 동안 평균 21.8 g의 체중 증가를 나타낸 반면 3% 키토올리고당 섭취군은 평균 18.6 g으로 유의적으로 낮은 체중 증가를 나타냈다.

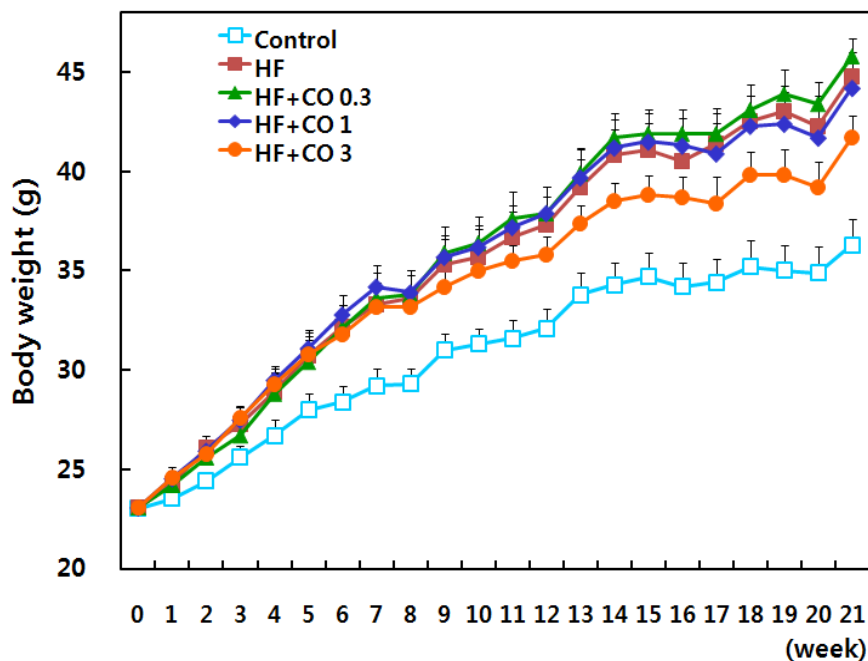


Fig. 2. Effect of chito-oligosaccharides supplementation on body weight change for 21 weeks in mice fed a high fat diet. Values are expressed as mean \pm SEM (n=10/group).

총 식이섭취량은 단위그램당 칼로리가 높은 고지방식이의 경우 정상식이에 비해 낮은 식이 섭취를 보였으나 키토올리고당 섭취에 따른 식이 섭취량에서는 차이를 보이지 않아 식이 효율은 3% 키토올리고당 섭취군에서 고지방식이 섭취군 대비 유의적으로 낮아졌다. 이러한 결과를 볼 때 키토올리고당의 체중감소효과가 식욕, 포만감, 또는 식이선호에 따른 식이 섭취 감소로 인해 나타난 효과가 아님을 알 수 있었다. 또한 간 및 내장지방 조직에 미치는 영향을 살펴본 결과 고지방식이 섭취군에서 유의적으로 간 무게가 증가되었고 3% 키토올리고당 섭취군에서 거의 정상 대조군 수준으로 유의하게 간 무게가 낮아졌다. 또한 총 내장지방의 경우 고지방식이군에서 유의적으로 높았으나 키토올리고당 섭취에 따른 유의적인 감소는 나타나지 않았다. 다만 신장주변 지방조직의 무게가 3% 키토올리고당 섭취군에서 고지방식이군에 비해 유의적으로 낮아졌다.

Table 2. Body weight and food intake in mice fed experimental diets

| | Control | HF | HF+0.3% CO | HF+1% CO | HF+3% CO |
|-------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|----------------|
| Final body weight(g) | 36.3 ± 1.3 | 44.8 ± 1.2 | 45.8 ± 0.9 | 44.2 ± 1.5 | 41.7 ± 1.1 |
| Weight gain(g) | 13.3 ± 1.0 | 21.8 ± 1.0 | 22.7 ± 0.7 | 21.1 ± 1.2 | 18.6 ± 0.8* |
| Total intake(g) | 541 ± 12 | 462 ± 9 | 470 ± 17 | 466 ± 15 | 472 ± 11 |
| FER | 0.025 ± 0.008 | 0.047 ± 0.008 | 0.048 ± 0.007 | 0.045 ± 0.010 | 0.039 ± 0.008* |
| Liver(g) | 1.23 ± 0.06 | 1.79 ± 0.18 | 2.00 ± 0.16 | 1.61 ± 0.15 | 1.29 ± 0.08* |
| Total visceral fat (g) | 2.37 ± 0.28 | 3.83 ± 0.11 | 3.72 ± 0.08 | 3.72 ± 0.21 | 3.52 ± 0.20 |
| Epididymal | 1.33 ± 0.16 | 1.85 ± 0.10 | 1.58 ± 0.11 | 1.82 ± 0.13 | 1.85 ± 0.10 |
| Perirenal | 0.59 ± 0.07 | 1.14 ± 0.07 | 1.17 ± 0.04 | 1.07 ± 0.10 | 0.92 ± 0.07* |
| Mesenteric | 0.35 ± 0.05 | 0.64 ± 0.05 | 0.74 ± 0.04 | 0.61 ± 0.08 | 0.57 ± 0.05 |

* P<0.05 compared to the HF group

2) 혈액 생화학적 지표에 미치는 영향

고지방식이 및 키토올리고당의 보충이 혈액 생화학적 지표에 미치는 영향을 살펴 본 결과 (Table 3), 고지방식이 섭취의 경우 간의 무게 증가와 더불어 간손상 지표가 되는 AST 및 ALT 활성이 크게 증가되었고 3% 키토올리고당 섭취군의 경우 유의적으로 AST 수치가 낮아졌다. 더불어 ALT 수치도 정상대조군 수준으로 낮아졌으나 개체간 차이가 너무 커서 통계적 유의성은 보이지 않았다. 또한 고지방식이 섭취시 혈당은 유의적으로 높아졌고 0.3% 키토올리고당 섭취시 유의적으로 증가되었으나 키토올리고당 1%, 3% 섭취군에서는 고지방식이 섭취군과 유의한 차이를 보이지 않았다.

Table 3. Effect of chito-oligosaccharides supplementation on serum biochemical parameters in mice fed a high fat diet

| | Control | HF | HF+0.3% CO | HF+1% CO | HF+3% CO |
|-----------------|--------------|--------------|---------------|--------------|---------------|
| AST (U/L) | 230.7 ± 23.2 | 253.7 ± 24.5 | 225.3 ± 14.7 | 213.3 ± 18.4 | 181.9 ± 17.7* |
| ALT (U/L) | 82.1 ± 9.8 | 185.3 ± 52.0 | 155.0 ± 24.5 | 118.6 ± 18.8 | 81.4 ± 15.8 |
| Glucose (mg/dL) | 116.7 ± 9.2 | 162.3 ± 6.0 | 212.7 ± 12.5* | 177.7 ± 12.7 | 177.8 ± 6.9 |

* P<0.05 compared to the HF group.

지방세포에서 분비되는 대표적인 지방 유래 호르몬의 일종인 leptin 과 adiponectin 은 일반적으로 비만도가 증가함에 따라 leptin 수치는 증가하고 adiponectin 수치는 감소되는 것으로 알려져 있는데 이들의 혈청 내 함량을 Fig. 3 에 나타내었다. Leptin 의 경우 고지방식이 섭취군에서 정상대조군 대비 3 배 이상 증가되었고 키토올리고당의 섭취로 인해 감소되는 경향을 나타냈으나 통계적 유의성은 보이지 않았다. 반면 혈청 내 adiponectin 의 함량은 고지방식이 및 키토올리고당의 섭취에 따른 유의한 영향이 나타나지 않았다.

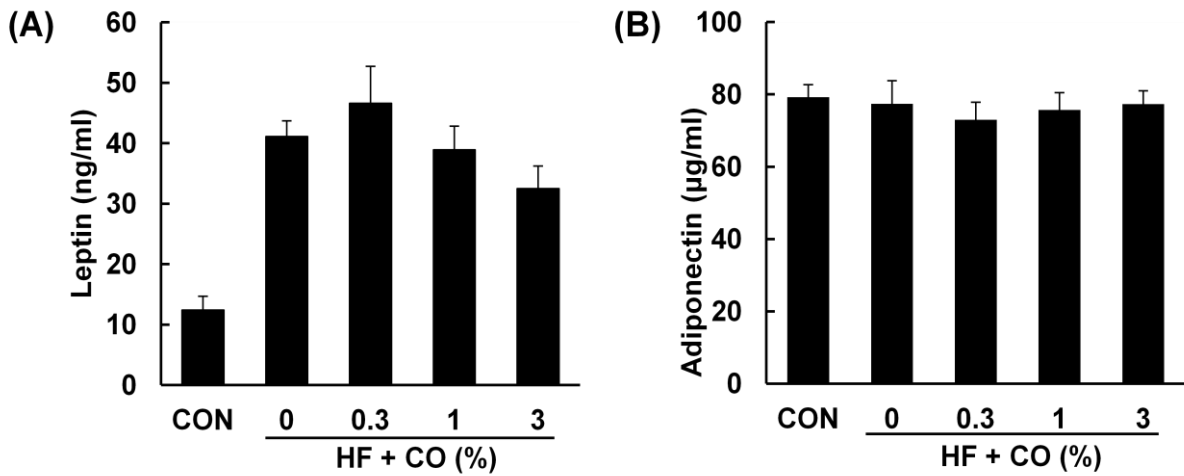


Fig. 3 Effect of chito-oligosaccharides supplementation on serum adipocyte secretory proteins, leptin and adiponectin in mice fed a high fat diet. . Values are expressed as mean \pm SEM (n=10/group).

3) 혈액 및 간의 지질 성상에 미치는 영향

고지방식이와 키토올리고당의 섭취가 혈청지질 성상에 미치는 영향은 Fig. 4에 나타내었다. 혈청 총 콜레스테롤 및 LDL 콜레스테롤의 경우 고지방식이 섭취시 증가되었고 1%, 3% 키토올리고당 섭취에 의해 감소되는 경향을 보였으며, 3% 키토올리고당 섭취군의 경우 유의적으로 콜레스테롤 수준이 감소되었다. HDL 콜레스테롤의 경우 고지방식이 및 키토올리고당 섭취에 따른 영향은 나타나지 않아 혈청 총 콜레스테롤의 감소가 LDL 콜레스테롤의 감소에서 기인됨을 알 수 있었다. 또한 중성지방의 경우 고지방식이 섭취시 정상대조군 대비 약간 증가되었으나 키토올리고당 1% 3% 섭취시 정상대조군 이하로 중성지방이 감소되었고 3% 섭취군에서 유의적인 차이를 나타냈다. 혈청 유리지방산의 경우 고지방식이 섭취로 인한 증가는 나타나지 않았으나 3% 키토올리고당 섭취군에서 유의적으로 감소되는 것으로 나타났다. 이러한 결과를 볼 때, 키토올리고당의 섭취가 혈청 콜레스테롤, 중성지방 및 유리지방산 수준을 낮춤으로써 혈액 내 지질 성상을 개선시킬 수 있는 것으로 사료되었다.

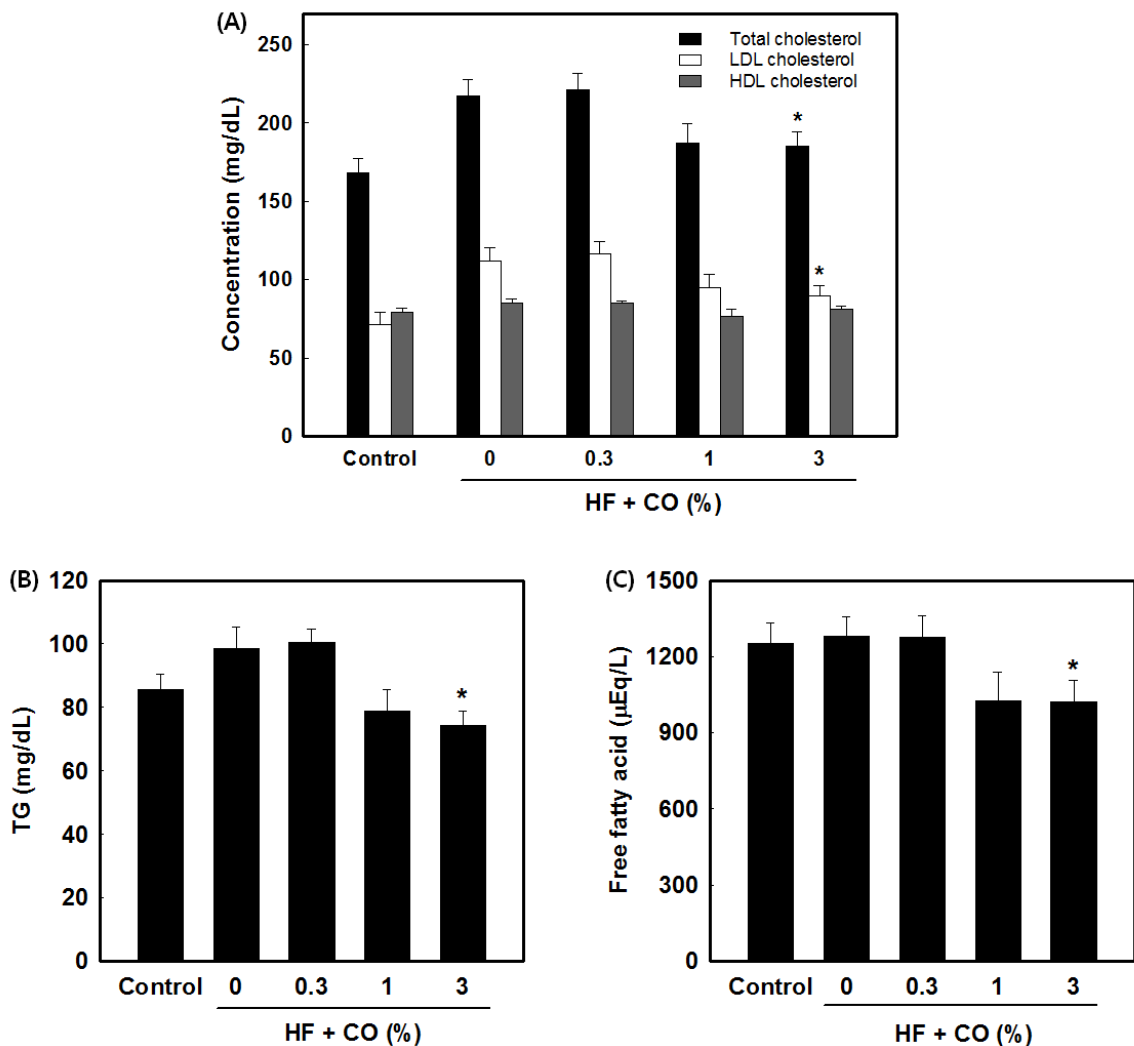


Fig. 4. Effect of chito-oligosaccharides supplementation on serum cholesterol (A), TG (B) and free fatty acid (C) level in mice fed a high fat diet. Values are expressed as mean \pm SEM (n=10/group). * P<0.05 compared to the HF group.

간 조직의 지질 축적 및 성상을 살펴본 결과 (Fig. 5) 간의 총지질은 고지방식이 섭취군에서 정상식이 섭취군에 비해 2배 이상 증가되어 이러한 지질 축적으로 인해 간무게의 증가가 나타났음을 알 수 있었고 3% 키토올리고당 섭취군에서 유의적으로 지방축적이 감소되었다. 콜레스테롤과 중성지방의 함량 역시 1%, 3% 키토올리고당 섭취에 따라 감소되는 경향을 나타냈으나 유의차는 나타나지 않았다. 그러나 중성지방의 경우 거의 정상대조군에 가깝게 감소된 것을 확인할 수 있었다.

이러한 결과를 볼 때 키토올리고당의 섭취는 혈청 지질 성상을 개선시킴과 동시에 간의 지방 축적도 억제하는 것으로 판단되었다. 그러나 0.3% 키토올리고당 섭취군에서는 지질 개선 효과가 전혀 나타나지 않았고 일부 바이오마커에서는 고지방식이 섭취 대조군에 비해 지질 수준이 더 높게 나타나기도 하여 섭취용량에 따른 차이가 나타났다.

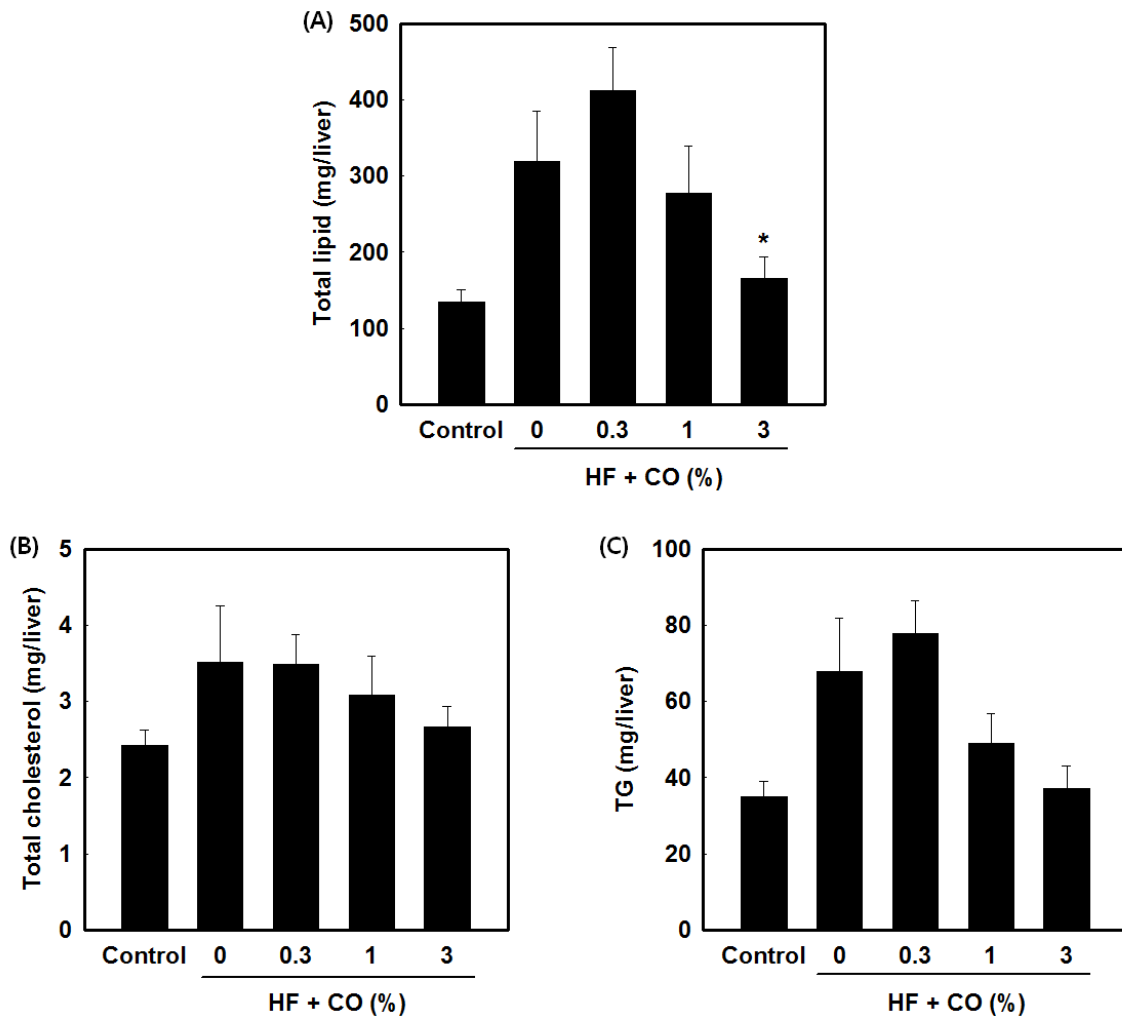


Fig. 5. Effect of chito-oligosaccharides supplementation on liver total lipid (A), total cholesterol (B) and TG (C) level in mice fed a high fat diet. Values are expressed as mean \pm SEM (n=10/group). * P<0.05 compared to the HF group.

4) 지방세포에서의 조직형태학적 변화

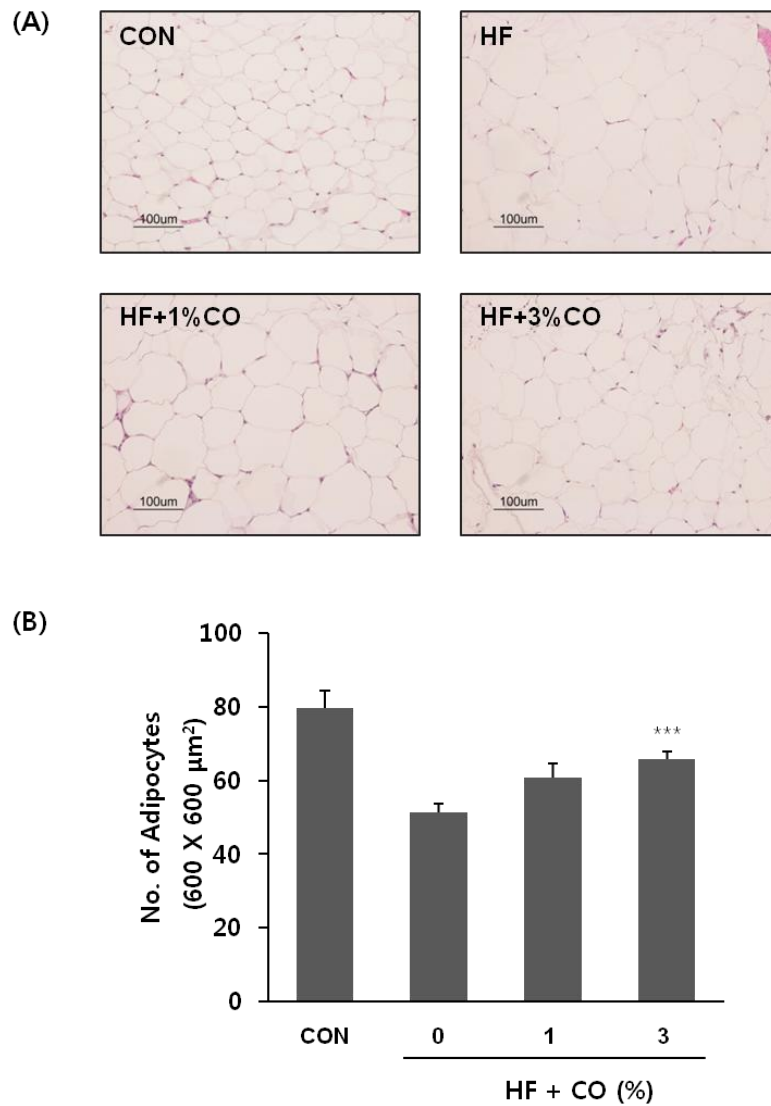


Fig. 6. Effect of chito-oligosaccharides supplementation against fat accumulation in epididymal fat pad from mice fed a high fat diet. (A) Histopathological images of adipocytes in epididymal fat pad. (B) The adipocytes were counted under a microscope (600 × 600 μm^2). Values are expressed as mean \pm SEM (n=10). ***P<0.001 compared to the HF group.

키토올리고당의 섭취가 고지방식이 섭취로 인한 지방세포에서의 지방축적에 미치는 영향을 알아보기 위하여 부고환 지방 조직을 H&E 염색 후 지방세포의 크기를 살펴보았다. Fig. 6(A) 에서 보는바와 같이 고지방식이 섭취시 지방세포의 크기가 커진 것을 확인할 수 있었고 키토올리고당 섭취군에서 지방세포의 크기가 감소되는 것이 확인되었다. 이를 단위면적 ($600 \times 600 \mu\text{m}^2$)당 지방세포의 수로 계수하여 보았을 때 1%, 3% 키토올리고당 섭취군 모두 지방세포의 수가 증가됨을 알 수 있었고 특히 3% 키토올리고당 섭취군의 경우 유의적으로 지방세포 수가 증가되어 키토올리고당의 섭취가 지방세포내 지방축적을 억제하여 지방세포의 크기가 작아진 것으로 사료되었다.

C57BL/6 종의 마우스를 대상으로 고지방식이 (fat 중량으로 24%, 총 칼로리의 45%)와 함께 키토올리고당을 21주간 급여한 결과 3% 키토올리고당의 섭취시 항비만 효과가 관찰되었다. 3% 키토올리고당 급여군의 경우 고지방식이 섭취군에 비해 체중증가량, 식이효율, 간 무게 및 신장주변 지방 무게가 유의적으로 감소되었다. 또한 혈청 AST 수준도 유의하게 감소되었고 특히 혈청 총콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤 및 중성지방과 유리지방산을 감소시켜 고지혈증 개선효과가 뚜렷하게 나타났고 간에서도 지질축적을 억제하는 것으로 나타났다. 이외에도 부고환지방조직에서 지방세포의 크기가 작아져 지방세포로의 지방축적도 억제하는 것으로 나타나 키토올리고당의 항비만효과가 관찰되었다

2. cDNA 마이크로어레이를 이용한 키토올리고당의 분자적 기전 연구

위에서 나타난 키토올리고당의 항비만효과에 대한 분자적 기전을 확인하기 위하여 부고환지방조직으로부터 RNA 를 추출하여 cDNA 마이크로어레이 분석을 실시하였다. 총 25697 개의 probe 를 대상으로 정상대조군 대비 고지방식이 섭취군에서 2 배 이상 발현이 증가되고 LPE-test 에 의해 유의적으로 변화되었던 유전자 810 개를 선별하고 이를 정상대조군 대비 고지방식이 섭취군과 1%, 3% 키토올리고당 보충군에 의한 유전자군의 발현 정도를 육안으로 식별하기 위해 Heatmap

analysis 를 통해 color density 로 나타내었다 (Fig. 7). 붉은색은 정상대조군 대비 유전자 발현이 증가되는 것을 나타내고 초록색은 정상대조군 대비 유전자 발현이 감소되는 것을 나타내며 검은색은 정상대조군과 차이가 없을 것을 나타내는 것이다. 정상대조군 대비 고지방식이 섭취에 의해 총 810 개의 유전자가 유의적으로 증가 또는 감소하였으며, 이 중 512 개의 유전자가 고지방식이 섭취에 의해 특이적으로 발현이 증가하는 것이 확인되었으며, 298 개의 유전자는 발현이 감소되는 것으로 나타났다. 또한 Heatmap 의 color density 를 통해 봤을 때, 키토올리고당을 섭취할수록 검은색을 띄는 유전자 발현이 증가되어 키토올리고당의 섭취가 고지방식이 섭취로 인해 변화되었던 유전자 발현을 정상대조군 수준으로 변화시켜 주는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 유전자군 전체의 발현경향은 K-means cluster analysis 를 통해 총 6 개의 유전자 발현 패턴이 확인되었고 cluster 1 의 경우 고지방식이에 의해 유전자 발현이 증가되었다가 키토올리고당 섭취로 인해 감소되는 경향을 보였고, cluster 2, 3, 5 의 경우 고지방식이 섭취군에서 유전자 발현이 감소되었다가 키토올리고당 섭취시 유전자 발현이 증가되는 경향을 나타냈다.

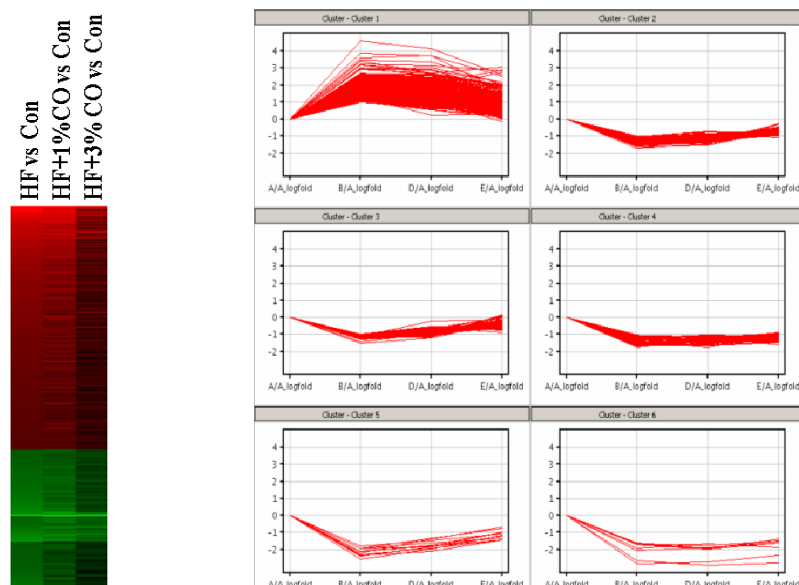


Fig. 7. Heatmap and K-means cluster analysis of all differently regulated genes by high fat diet (red: up-regulated compared to the normal control group, green: down-regulated compared to the normal control)

고지방식이 섭취에 의해 유의적으로 발현이 변화된 총 810 개의 유전자 중에서 3% 키토올리고당 보충에 의해 유의하게 변화된 유전자 수는 191 개로 관찰되었다. 총 191 개의 유전자 중에서 3% 키토올리고당 보충군에서 유의하게 발현이 증가된 유전자는 56 개였고 발현이 감소된 유전자는 135 개였다. 이렇게 키토올리고당에 의해 고지방식이군 대비 유의적으로 발현이 변화된 191 개의 유전자군을 대상으로 DAVID (Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery, <http://david.abcc.ncifcrf.gov>) 분석 프로그램을 활용하여 비만 및 지방세포분화 (adipogenesis)와 관련이 있는 83 개의 유전자를 선별하고 기능별로 분류하였다. 그 결과, 지방세포 분화, lipid metabolism and transport 관련 18 개의 유전자, 지방세포 분화 관련 유전자 4 개, 염증 및 사이토카인 관련 유전자 21 개, 면역 관련 13 개의 유전자 및 단백질 대사관련 21 개의 유전자 등이 규명되었다. 유전자 기능에 따른 분류 및 해당 유전자는 아래의 Table 4 에 나타내었다.

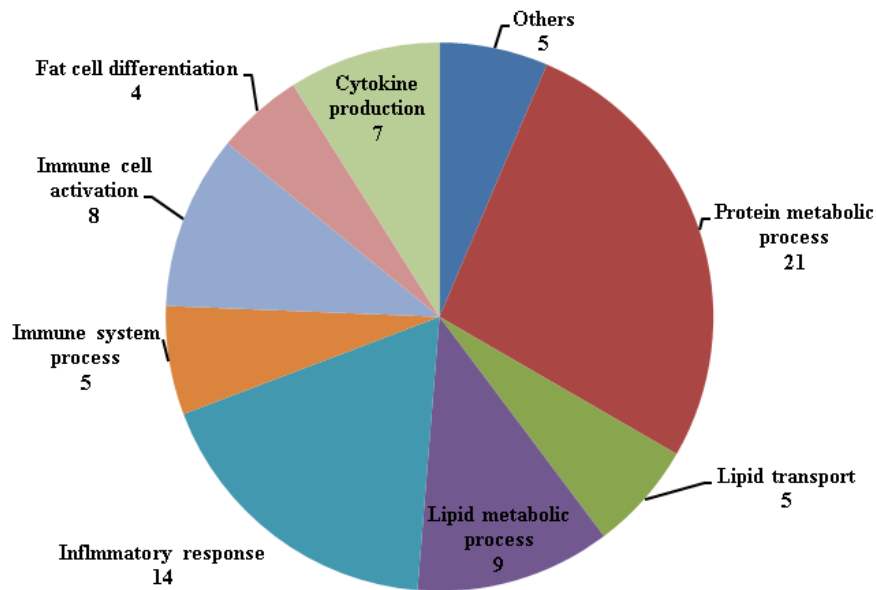


Fig. 8. Pie chart representing major biological functions associated with obesity and adipogenesis. The resulting 83 differentially expressed genes were analyzed by Gene Ontology using DAVID program.

DAVID 에 의해 기능분류가 이루어진 83 개의 유전자를 대상으로 전체적인 유전자 발현 경향을 살펴보면, 총 83 개의 유전자 중 72%에 해당하는 60 개의 유전자가 고지방식이 섭취에 의해 유전자 발현이 정상대조군 대비 2 배 이상 증가하며, 키토올리고당 3% 식이 섭취에 의해 그 발현 정도가 유의적으로 감소하는 것으로 확인되었다 (Fig. 8, Cluster 1). 특히 비만시 지방조직에의 대식세포 침윤이 증가되고 만성적인 염증 상태가 진행되며 이러한 염증 상태는 다시 비만과 관련된 인슐린 저항성, 동맥경화와 같은 대사성 질환을 일으키는 요인이 되는 것으로 알려져 있는데 키토올리고당의 보충이 이러한 염증 및 면역 반응 관련 유전자의 과발현을 억제하는 것으로 나타났다. 싸이토카인 생성을 비롯한 염증 및 면역 반응 관련 유전자 34 개 중 30 개의 유전자가 고지방식이에 의해 유의적으로 발현이 증가되었다가 3% 키토올리고당 섭취군에서 유의적으로 발현이 낮아진 것이 확인되었고 4 개의 유전자가 고지방식이에 의해 발현이 감소되었고 키토올리고당에 의해 유의적으로 발현이 증가되었다. 키토올리고당의 섭취가 지방세포의 분화 및 지방대사에 미친 영향을 살펴보면 지방세포 분화 관련 유전자 4 개, lipid metabolic process 관여 유전자 9 개, lipid transport 관여 유전자 5 개가 분류되었다. 특히 ectonucleotide pyrophosphatase /phosphodiesterase 1 (Enpp1), resistin (Retn), adrenergic receptor, beta 3 (Adrb 3), DNA sequence BC054059 (BC054059, Smaf1)과 같은 지방세포 분화에 관여하는 유전자의 경우 고지방식이에 의하여 나타났던 유전자 발현의 변화가 키토올리고당 섭취에 의해 정상대조군 수준으로 다시 역전되는 것으로 나타났고 이외에도 adipose differentiation related protein (Adfp) 등의 유전자도 키토올리고당에 의해 발현이 조절되는 것으로 확인되었다. 이외에도 protein metabolic process 로 분류된 유전자 중에서 지방세포 분화에 관여하는 것으로 알려진 유전자들이 다수 포함되어 있는데, 비만인 개체의 지방조직에서 다양하게 발현되어 지방세포 분화를 조절하고 지방축적에 관여하는 것으로 알려져 있는 matrix metalloproteinase (Mmp) 3, 12, 13, 14 와 tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (Timp 1) 유전자의 발현이 고지방식이군에서 증가되었다가 키토올리고당 3% 섭취군에서 감소되는 것으로 나타났고 cathepsin K (Ctsk)도 고지방식이 섭취군에서 유전자 발현이 약 8 배 증가되었다가 키토올리고당 식이 섭취에 의해 약 1/3 수준으로 감소되는 것으로 나타났다. 따라서, 키토올리고당의 항비만효과는 위에 나타난 염증을

포함하는 면역 관련 유전자의 발현을 조절하는 것과 더불어 지방세포 분화 및 지방대사 관련 유전자의 발현을 조절함으로써 나타난 것으로 사료된다. 그러나 지방세포 분화 조절의 강력한 전사인자로 알려져 있는 peroxisome proliferator- activated receptor, gamma (Pparg) 및 CCAAT/enhancer-binding protein (Cebp)는 본 실험에서 사용된 고지방식이 및 키토올리고당 식이 섭취에 의한 유전자 발현의 변화가 관찰되지 않았다. 또한 Ingenuity system 8.6 을 이용하여 Ingenuity pathway analysis (IPA)를 실시한 결과 지방세포의 분화 및 지질대사와 관련하여 Mmp/Timp 를 중심으로 하는 pathway 와 Retn 과 fatty acid synthase (Fasn)가 관여하는 pathway 를 확인할 수 있었다 (Fig. 9).

Table 4. Differentially expressed gene by chito-oligosaccharides in high fat diet-induced obese mice

| Fuctional group | Gene name | HF vs Con | HF+CO 3% vs Con | Genebank number | Cluster |
|-------------------------------|---|------------------|------------------------|------------------------|----------------|
| Cytokine production | CD84 antigen (Cd84) | 5.28 ± 0.61 | 2.74 ± 0.43 | NM 013489 | 1 |
| | Fc receptor, IgE, high affinity I, gamma polypeptide (Fcer1g) | 3.09 ± 0.34 | 1.89 ± 0.16 | NM 010185 | 1 |
| | C-type lectin domain family 7, member a (Clec7a) | 2.99 ± 0.48 | 1.38 ± 0.30 | NM 020008 | 1 |
| | solute carrier family 11 (proton-coupled divalent metal ion transporters), member 1 (Slc11a1) | 2.89 ± 0.47 | 2.09 ± 0.26 | NM 013612 | 1 |
| | caspase 1 (Casp1) | 2.84 ± 0.30 | 1.53 ± 0.32 | NM 009807 | 1 |
| | CD83 antigen (Cd83) | 2.22 ± 0.49 | 1.07 ± 0.20 | NM 009856 | 1 |
| | CD209b antigen (Cd209b), transcript variant 1 | -3.22 ± 0.97 | -1.22 ± 0.91 | NM 026972 | 2 |
| Immune cell activation | integrin, alpha D (Itgad) | 11.18 ± 0.19 | 4.15 ± 0.65 | NM001029872 | 1 |
| | linker for activation of T cells family, member 2 (Lat2), transcript variant 2 | 7.74 ± 0.56 | 4.54 ± 0.29 | NM 022964 | 1 |
| | lymphocyte cytosolic protein 1 (Lcp1) | 5.65 ± 0.44 | 2.64 ± 0.21 | NM 008879 | 1 |
| | interleukin 7 receptor (Il7r) | 5.51 ± 0.68 | 2.68 ± 0.40 | NM 008372 | 1 |
| | B-cell linker (Blnk) | 5.00 ± 0.40 | 2.49 ± 0.42 | NM 008528 | 1 |
| | T-cell, immune regulator 1, ATPase, H+ transporting, lysosomalV0proteinA3(Tcirg1) | 4.48 ± 0.56 | 3.03 ± 0.22 | NM 016921 | 1 |
| | vav 1 oncogene (Vav1) | 3.28 ± 0.34 | 2.06 ± 0.35 | NM 011691 | 1 |
| | tumor protein D52 (Tpd52), transcript variant 5 | 3.12 ± 0.40 | 1.68 ± 0.22 | NM 009412 | 1 |
| Immune system process | myosin IF (Myo1f) | 7.70 ± 0.57 | 4.10 ± 0.48 | NM 053214 | 1 |
| | cell adhesion molecule 1 (Cam1) | 5.40 ± 0.83 | 1.73 ± 0.24 | NM 018770 | 1 |
| | coronin, actin binding protein 1A (Coro1a) | 4.44 ± 0.37 | 2.04 ± 0.79 | NM 009898 | 1 |
| | protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 6 (Ptpn6), transcript | 3.97 ± 0.34 | 2.32 ± 0.22 | NM 001077705 | 1 |

| | | | | | |
|---------------------------------|--|--------------|--------------|-----------|---|
| | variant 2 | | | | |
| | G protein-coupled receptor 109A (Gpr109a) | -2.14 ± 0.67 | 1.03 ± 0.31 | NM 030701 | 3 |
| Inflammatory response | chemokine (C-C motif) ligand 4 (Ccl4) | 6.08 ± 0.68 | 2.03 ± 0.60 | NM 013652 | 1 |
| | chemokine (C-C motif) ligand 3 (Ccl3) | 2.60 ± 0.51 | 1.26 ± 0.19 | NM 011337 | 1 |
| | chemokine (C-C motif) receptor 5 (Ccr5) | 4.84 ± 0.42 | 2.07 ± 0.37 | NM 009917 | 1 |
| | CD180 antigen (Cd180) | 4.73 ± 0.53 | 2.78 ± 0.28 | NM 008533 | 1 |
| | toll-like receptor 8 (Tlr8) | 3.43 ± 0.39 | 1.69 ± 0.55 | NM 133212 | 1 |
| | toll-like receptor 13 (Tlr13) | 5.60 ± 0.59 | 2.63 ± 0.25 | NM 205820 | 1 |
| | Fc receptor, IgG, high affinity I (Fcgr1) | 3.33 ± 0.34 | 1.82 ± 0.25 | NM 010186 | 1 |
| | tumor necrosis factor receptor superfamily, member 11a (Tnfrsf11a) | 3.24 ± 0.42 | 1.59 ± 0.26 | NM 009399 | 1 |
| | lymphocyte antigen 86 (Ly86) | 3.08 ± 0.36 | 1.84 ± 0.19 | NM 010745 | 1 |
| | complement component 1, q subcomponent, beta polypeptide (C1qb) | 2.69 ± 0.39 | 1.50 ± 0.19 | NM 009777 | 1 |
| | complement component 1, q subcomponent, C chain (C1qc) | 2.54 ± 0.47 | 1.42 ± 0.16 | NM 007574 | 1 |
| | mast cell protease 6 (Mcpt6) | 2.42 ± 1.46 | 1.02 ± 0.25 | NM 010781 | 1 |
| | interleukin 17 receptor E (Il17re), transcript variant 1 | -2.43 ± 0.51 | -1.38 ± 0.33 | NM 145826 | 2 |
| | orosomuroid 1 (Orm1) | -2.87 ± 0.57 | -1.67 ± 0.40 | NM 008768 | 2 |
| Fat cell differentiation | ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1 (Enpp1) | 2.37 ± 0.53 | 1.28 ± 0.28 | NM 008813 | 1 |
| | resistin (Retn) | -2.13 ± 0.31 | -1.20 ± 0.37 | NM 022984 | 3 |
| | adrenergic receptor, beta 3 (Adrb3) | -2.68 ± 0.28 | -1.10 ± 0.17 | NM 013462 | 3 |
| | cDNA sequence BC054059 (BC054059, Adipogenin, Smaf1) | -2.84 ± 0.48 | -1.58 ± 0.42 | NM 145635 | 2 |
| Lipid metabolic process | prostaglandin D2 synthase 2, hematopoietic (Ptgds2) | 5.79 ± 0.55 | 2.19 ± 0.29 | NM 019455 | 1 |
| | arylacetamide deacetylase-like 1 | 4.66 ± 0.60 | 2.76 ± 0.39 | NM 178772 | 1 |

| | | | | | |
|----------------------------------|---|--------------|--------------|-----------|---|
| | (Aadacl1) | | | | |
| | thromboxane A synthase 1, platelet (Tbxas1) | 3.12 ± 0.56 | 1.61 ± 0.36 | NM 011539 | 1 |
| | RIKEN cDNA E330036I19 gene (E330036I19Rik) | 3.10 ± 0.47 | 2.08 ± 0.27 | NM 144915 | 1 |
| | epoxide hydrolase 2, cytoplasmic (Ephx2) | -2.20 ± 0.39 | -1.48 ± 0.22 | NM 007940 | 3 |
| | phospholipase A2, group IIE (Pla2g2e) | -2.37 ± 0.51 | -1.14 ± 0.56 | NM 012044 | 3 |
| | aldehyde dehydrogenase family 5, subfamily A1 (Aldh5a1) | -2.43 ± 0.30 | -1.46 ± 0.22 | NM 172532 | 2 |
| | fatty acid synthase (Fasn) | -2.43 ± 0.25 | -1.24 ± 0.08 | NM 007988 | 3 |
| | acyl-CoA synthetase medium-chain family member 5 (Acsm5) | -2.87 ± 0.68 | -1.81 ± 0.72 | NM 178758 | 2 |
| Lipid transport | apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide 1 (Apobec1), transcript variant 1 | 4.06 ± 0.20 | 1.96 ± 0.33 | NM 031159 | 1 |
| | adipose differentiation related protein (Adfp) | 2.23 ± 0.30 | 1.30 ± 0.30 | NM 007408 | 1 |
| | apolipoprotein C-I (Apoc1) | -2.26 ± 0.49 | -1.31 ± 0.58 | NM 007469 | 3 |
| | retinol binding protein 4, plasma (Rbp4) | -4.88 ± 0.52 | -2.68 ± 0.69 | NM 011255 | 5 |
| | retinol binding protein 7, cellular (Rbp7) | -5.23 ± 0.39 | -2.34 ± 0.66 | NM 022020 | 5 |
| Protein metabolic process | cathepsin K (Ctsk) | 7.95 ± 0.78 | 2.85 ± 0.29 | NM 007802 | 1 |
| | dipeptidase 2 (Dpep2) | 6.01 ± 0.63 | 2.81 ± 0.40 | NM 176913 | 1 |
| | matrix metalloproteinase 12 (Mmp12) | 4.99 ± 0.91 | 1.64 ± 0.57 | NM 008605 | 1 |
| | a disintegrin and metalloproteinase domain 8 (Adam8) | 4.78 ± 0.58 | 2.81 ± 0.27 | NM 007403 | 1 |
| | plasminogen activator, urokinase (Plau) | 3.88 ± 0.31 | 1.88 ± 0.07 | NM 008873 | 1 |
| | legumain (Lgmn) | 3.75 ± 0.26 | 2.42 ± 0.42 | NM 011175 | 1 |

| | | | | | |
|---------------|---|--------------|--------------|--------------|---|
| | alanyl (membrane) aminopeptidase (Anpep) | 3.62 ± 0.57 | 2.14 ± 0.28 | NM 008486 | 1 |
| | tissueinhibitorofmetalloproteinase 1 (Timp1), transcript variant 2 | 3.14 ± 0.67 | 1.43 ± 0.10 | NM 011593 | 1 |
| | protein kinase C, beta (Prkcb) | 3.09 ± 0.46 | 1.54 ± 0.41 | NM 008855 | 1 |
| | matrix metallopeptidase 14 (membrane-inserted) (Mmp14) | 3.02 ± 0.29 | 1.65 ± 0.49 | NM 008608 | 1 |
| | Rho GTPase activating protein 30 (Arhgap30) | 3.00 ± 0.29 | 1.64 ± 0.32 | NM 001005508 | 1 |
| | cathepsin S (Ctss) | 2.95 ± 0.31 | 1.41 ± 0.37 | NM 021281 | 1 |
| | protein tyrosine phosphatase, receptor type, O (Ptpro) | 2.90 ± 0.38 | 1.57 ± 0.30 | NM 011216 | 1 |
| | mast cell protease 4 (Mcp4) | 2.89 ± 1.35 | 1.23 ± 0.28 | NM 010779 | 1 |
| | carboxypeptidase A3, mast cell (Cpa3) | 2.88 ± 1.33 | 1.02 ± 0.37 | NM 007753 | 1 |
| | testis derived transcript (Tes), transcript variant 1 | 2.47 ± 0.50 | 1.28 ± 0.22 | NM 011570 | 1 |
| | glutaminyl-peptide cyclotransferase (glutaminyl cyclase) (Qpct) | 2.38 ± 0.74 | 1.05 ± 0.42 | NM 027455 | 1 |
| | matrix metallopeptidase 3(Mmp3) | 2.16 ± 0.58 | 1.12 ± 0.14 | NM 010809 | 1 |
| | matrix metallopeptidase 13(Mmp13) | 2.13 ± 0.34 | 1.15 ± 0.29 | NM 008607 | 1 |
| | chymase 1, mast cell (Cma1) | 2.05 ± 1.33 | -1.10 ± 0.30 | NM 010780 | 1 |
| | F-box protein 21 (Fbxo21) | -2.16 ± 0.37 | -1.22 ± 0.26 | NM 145564 | 3 |
| Others | minichromosome maintenance deficient 6 (MIS5 homolog, <i>S. pombe</i>) (<i>S. cerevisiae</i>) (Mcm6) | 2.37 ± 0.31 | 1.35 ± 0.23 | NM 008567 | 1 |
| | IQ motif containing GTPase activating protein 1 (Iqgap1) | 2.26 ± 0.26 | 1.35 ± 0.37 | NM 016721 | 1 |
| | tubulin, beta 6 (Tubb6) | 2.21 ± 0.32 | 1.22 ± 0.18 | NM 026473 | 1 |
| | actin, beta (Actb) | -2.15 ± 0.16 | 1.12 ± 0.96 | NM 007393 | 3 |
| | v-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog 1, lung carcinomaderived(avian)(Myc1) | -3.75 ± 0.49 | -1.67 ± 0.55 | NM 008506 | 5 |

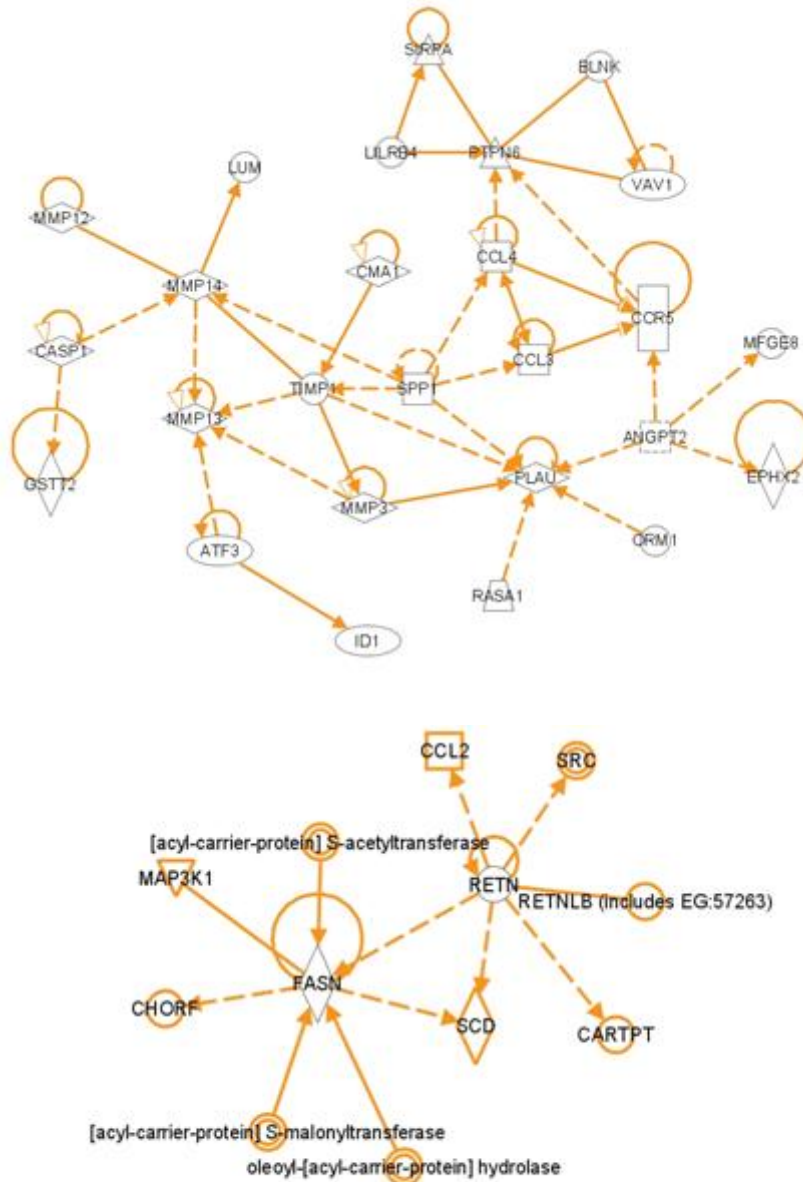


Fig. 9. Pathway analysis from differentially expressed genes by 3% chito-oligosaccharide diet in high fat diet-induced obese mice using Ingenuity system 8.6.

3. 참고문헌

Kim, YJ., Kim, KY., Kim, MS., Lee, JH., Lee, KP., and Park, T. A mixture of the aqueous extract of garcinia cambosia, soy peptide and L-carnitine reduces the accumulation of visceral fat mass in rats rendered obese by a high fat diet. *Genes Nutr* 2008;2:353-358.

Liu, B., Liu, WS., H, BQ., Sun, YY. Antidiabetic effects of chitoolifosaccharides on pancreatic islet cells in streptozotocin-induced diabetic rats. *World J Gastroenterol* 2007;13:725-731.

Novakofski, J. Adipogenesis: Usefulness of in vitro and in vivo experimental models. *J Anim Sci* 2004;82:905-915.

Rahman, MA., Kumar, SG., Kim, SW., Hwang, HJ., Baek, YM., Lee, SH., Hwang, HS., Shon, YH., Nam, KS., and Yun, JW. Proteomic analysis for inhibitory effect of chitosan oligosaccharides on 3T3-L1 adipocyte differentiation. *Proteomics* 2008;8:569-581.

Kim, JH., Kang, SA., Han, SM., and Shim, I. Comparison of the antiobesity effects of the protopanaxadiol- and protopanaxatriol-type saponins of red ginseng. *Phytother Res* 2009;23:78-85.

Lee, H., Kang, R., and Yoon, Y. SH21B, an anti-obesity herbal composition, inhibits fat accumulation in 3T3-L1 adipocytes and high fat diet-induced obese mice through the modulation of the adipogenesis pathway. *J Ethnopharmacol* 2010;127:709-717.

Lin, S., Thomas, TC., Storlien, LH., and Huang, XF. Development of high fat diet-induced obesity and leptin resistance in C57Bl/6J mice. *Int J Obes* 2000;24:639-646.

Bligh, EG., and Dyer, WJ. A rapid method for total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 1959;37:911-917.

Hausman, DB., DiGirolamo, M., Bartness, TJ., Hausman, GJ., and Martin, RJ. The biology of white adipocyte proliferation. *Obes Rev* 2001;2:239-254.

Nadier, S., Stoehr, JP., Schueler, K., Tanimoto, G., Yandell BS., and Attie, AD. The expression of adipogenic genes is decreased in obesity and diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:11371-11376.

Kim, YJ., and Park, T. Genes are differentially expressed in the epididymal fat of rats rendered obese by a high-fat diet. *Nutr Res* 2008;28:414-422.

Lopez, IP., Marti, A., Milagro, FI., Zulet, MML., Moreno-Aliaga, MG., Martinez, JA., and De Miguel, C. DNA microarray analysis of genes differentially expressed in diet-induced (cafeteria) obese rats. *Obese Res* 2003;11:188-194.