

# 건강기능식품 기능성 평가 가이드 (민원인 안내서)

기관·기관지 상태(기침·가래 등) 관련

2024. 10.



식품의약품안전처  
식품의약품안전평가원



## 지침서 · 안내서 제 · 개정 점검표

명칭

건강기능식품 기능성 평가 가이드  
(기관·기관지 상태 (기침 · 가래 등) 관련)

아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.

<b>등록대상 여부</b>	<input type="checkbox"/> 이미 등록된 지침서 · 안내서 중 동일 · 유사한 내용의 지침서 · 안내서가 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 기존의 지침서 · 안내서의 개정을 우선적으로 고려하시기 바랍니다. 그럼에도 불구하고 동 지침서 · 안내서의 제정이 필요한 경우 그 사유를 아래에 기재해 주시기 바랍니다. (사유 : )	
	<input type="checkbox"/> 법령(법 · 시행령 · 시행규칙) 또는 행정규칙(고시 · 훈령 · 예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 1년 이내 한시적 적용 또는 일회성 지시 · 명령에 해당하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 외국 규정을 번역하거나 설명하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	☞ 상기 사항 중 어느 하나라도 '예'에 해당되는 경우에 지침서 · 안내서 등록 대상이 아닙니다. 지침서 · 안내서 제 · 개정 절차를 적용하실 필요는 없습니다.	
<b>지침서 · 안내서 구분</b>	<input type="checkbox"/> 내부적으로 행정사무의 통일을 기하기 위하여 반복적으로 행정사무의 세부기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)	<input type="checkbox"/> 예(☞ <b>지침서</b> ) <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 대내외적으로 법령 또는 고시 · 훈령 · 예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용)	<input checked="" type="checkbox"/> 예(☞ <b>안내서</b> ) <input type="checkbox"/> 아니오
<b>기타 확인 사항</b>	<input type="checkbox"/> 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설 · 강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침서 · 안내서 제 · 개정 절차를 진행하시기 바랍니다.	
<b>상기 사항에 대하여 확인하였음.</b>  2024년 10월 일  담당자 확 인(부서장)		



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

본 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술방식(“~하여야 한다” 등)에도 불구하고 민원인 여러분께서 반드시 준수하셔야 하는 사항이 아님을 알려드립니다. 또한, 본 안내서는 2024년 10월 현재의 과학적·기술적 사실 및 유효한 법규를 토대로 작성되었으므로 이후 최신 개정 법규 내용 및 구체적인 사실관계 등에 따라 달리 적용될 수 있음을 알려드립니다.

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

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

전화번호: 043-719-4402, 4409, 4416, 4417, 4419, 4422, 4428, 4429

팩스번호: 043-719-4420



## 제·개정 이력

연번	제·개정번호	승인일자	주요내용
1	안내서-1049-01	2020.8.	제정
2	안내서-1049-02	2024.10.	개정
3			



# CONTENTS

※ 건강기능식품의 기능성 개요	1
※ 약어	3
I 서론	5
II 일반적 사항	5
1. 개요	5
2. 보건학적 중요성	16
III 기능성 시험 방법	22
1. 바이오마커의 선정	22
2. 주요 바이오마커의 측정 방법	34
3. 시험 설계 시 고려사항	55
4. 안전성 평가	61
IV 참고문헌	62



## 건강기능식품의 기능성 개요

### □ 기능성 정의

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

### □ 기능성 구분

건강기능식품의 기능성은 3가지로 구분할 수 있다.

#### ○ 건강기능식품의 기능성 구분

기능성 구분	개 념	기능성을 가진 원료 또는 성분
영양소 기능	인체의 정상적인 기능이나 생물학적 활동에 대한 영양소의 생리학적 작용	영양소
생리활성 기능	인체의 정상기능이나 생물학적 활동에 특별한 효과가 있어 건강상의 기여나 기능 향상 또는 건강유지·개선을 나타내는 기능	기능성 원료
질병발생 위험감소 기능	질병의 발생 또는 건강상태의 위험감소와 관련한 기능	

## □ 건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준

건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준은 다음과 같다.

### ○ 건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준

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

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

## 약어

AKT	a protein cloned from the v-akt oncogene of retrovirus AKT8
APC	antigen presenting cell
BALF	bronchoalveolar lavage fluid
Bax	Bcl-2-associated X protein
BCSS	breathless, cough, and sputum scale
CAT	COPD assessment test
COAT	cough assessment test
COPD	chronic obstructive pulmonary disease
COX	cyclooxygenase
CXCL	chemokine (C-X-C motif) ligand
CXCR	CXC chemokine receptor
DC	dendritic cells
DCF-DA	2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate
DVAS	dyspnea visual analogue scale
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
ERK	extracellular signal-regulated kinases
FEF	forced expiratory flow
FeNO	Fractional Exhaled Nitric Oxide
FEV1	forced expiratory volume at 1 second
FVC	forced vital capacity
GM-CSF	granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
GPx	glutathione peroxidase
GSH	glutathione
IFN- $\gamma$	interferon- $\gamma$
Ig	immunoglobulin
IGF-1	insulin-like growth factor-1
IL	interleukin
iNOS	inducible nitric oxide synthase
JNK	c-Jun N-terminal kinases
LPS	lipopolysaccharide
MARK	mitogen-activated protein kinase
MCP	monocyte chemoattractant protein

MLI	mean linear intercept
MMP	matrix metalloproteinase
mMRC	modified medical research council dyspnea scale
NE	neutrophil elastase
NF- $\kappa$ B	nuclear factor- $\kappa$ B
NO	nitric oxide
PAS	periodic acid-schiff
PDGF	platelet-derived growth factor
PEF	peak expiratory flow
PGE2	prostaglandin E2
PI3K	phosphoinositide 3-kinases
PLA2	phospholipase A2
PTEN	prime time entertainment network
RANTES	regulated on activation, normal T cell expressed and secreted
ROS	reactive oxygen species
RT-PCR	reverse transcription polymerase chain reaction
SGRQ	saint george's respiratory questionnaire
SOD	superoxide dismutase
STAT-6	signal transducer and activator of transcription 6
TGF- $\beta$	transforming growth factor- $\beta$
Th2	T helper type 2
TNF- $\alpha$	tumor necrosis factor- $\alpha$
VCAM-1	vascular cell adhesion molecule-1
VEGF	vascular endothelial growth factor

## I

## 서론

이 가이드라인은 건강기능식품 기능성원료를 개발하는 연구자 및 영업자에게 식품 의약품안전처의 기능성(기관·기관지 상태(기침·가래 등) 관련)에 대한 바이오마커 등의 정보를 제공함으로써 산업체의 기능성원료 연구개발에 적정을 기하고 효율성을 높이고자 작성되었다.

## II

## 일반적 사항

## 1. 개요

## 가. 호흡계의 구조

호흡계는 공기와 혈액 사이의 실제 기체교환이 일어나는 호흡영역(respiratory zone)과 호흡영역에 이르기까지 공기가 통과하는 전도영역(conductory zone)으로 나뉘며, 상기도(upper respiratory tract)와 하기도(lower respiratory tract), 폐실질(lung parenchyme)로 구성되어 있다(그림 1). 상기도는 입, 코, 기관의 초입을 포함하고 있으며, 하기도는 기관(trachea), 기관지(bronchi), 세기관지(bronchiole), 폐조직을 포함하고 있다. 폐조직은 폐포관, 폐포낭, 폐포(alveolus)로 구성되어 있으며, 그 외 흉막, 횡격막, 호흡근육 등이 있다. 폐실질은 폐의 가장 작은 기능단위인 폐포와 그 주변 조직을 말하며, 기도(conducting airway) 및 호흡근육(muscle of respiration)과 함께 주 호흡기능을 담당하고 있다. 정상적인 호흡 기능에서 공기는 상기도를 통해 기관지, 폐실질(세기관지에서 폐포로 내려가는)로 유입되며 여기서 이산화탄소와 산소의 가스교환이 발생한다.

하기도는 기관(trachea)에서 시작하여, 기관분지점(carina)에서 좌우의 주 기관지(right/left mainbronchus)로 나누어지고, 불규칙하지만 대개 2개씩 분지되어 약 20~25세대까지 분지되어 폐포에 이른다. 폐포는 작은 공기주머니가 포도송이처럼 달려있으며, 폐에서의 가스교환은 약 3억개에 이르는 작은 폐포를 통해 일어난다(그림 2). 폐포의 면적은 매우 커서 다량의 산소를 저장할 수 있으며, 폐포에 있는 확장수용기(stretch receptor)로부터 감각 신경섬유가 미주신경을 통해 연수에 자극을 전달한다. 세기관지의 평활근은 교감신경과 부교감신경의 지배를 받는다. 부교감신경이 흥분하면 세기관지는 수축되고, 교감신경이 흥분되면 세기관지가 확장되어 환기작용이 증가한다.

기관은 목을 기관지에 연결하는 통로 역할을 한다. 기관은 두 기관지로 나뉘고, 하나는 왼쪽 폐로, 다른 하나는 오른쪽 폐로 이어진다. 갈라진 구조로 인해 유입된 공기의 속도가 감소되어 세균, 먼지 등의 대부분 이물질은 폐포 말단 부위까지 이르지 않고, 기관지의 내벽에 침착한다. 침착한 이물질은 기관지 내로 분비된 점액과 섬모운동으로 폐 밖으로 이동되고 제거된다. 또한, 점액과 섬모 운동은 외부에서 침입한 세균에 대한 면역작용도 수행한다. 폐 내부에서 각 기관지는 세기관지로 나뉘고 세기관지 끝에는 폐포(alveolus)가 있다. 폐포는 작은 주머니 모양으로 많은 수의 모세혈관과 접하여 산소와 이산화탄소의 가스교환을 하는 부분이다.

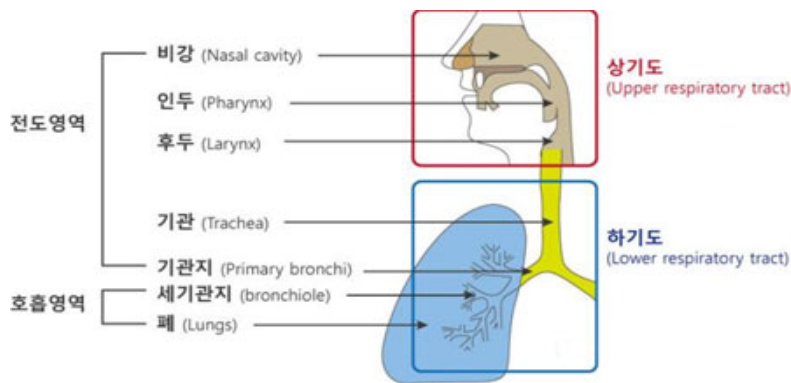


그림 1. 호흡기의 구조

[출처: 강남이 등, 영양생리학, 2017, 일부수정]

기관에서 분지되는 기관지의 직경은 점차 작아지지만 총 단면적은 점차 증가하여 말단세 기관지에 이르게 되면 확연히 단면적이 증가하여 주기관지 면적의 약 90배로 증가하고, 호흡 가스의 유속은 점차 감소된다.

정상적인 호흡 조건에서는 대기와 폐포 간의 압력 차만으로도 기도를 통한 공기의 이동이 충분하다. 공기 저항이 가장 큰 부분은 크기가 작은 세기관지가 아니라 기관에 가까운 큰 기관지 쪽에 있다. 이는 각 분지별로 본 단면적의 합과 통과하는 공기량과의 상관관계에 의한다. 그러나 천식, 만성 폐쇄성 폐질환(chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 같은 만성 기도질환이 있는 경우에는 작은 세기관지가 공기저항에 미치는 영향이 크고 직경이 좁아서 쉽게 막힐 수 있으며, 이는 그 벽을 이루고 있는 평활근이 쉽게 수축하기 때문이다.

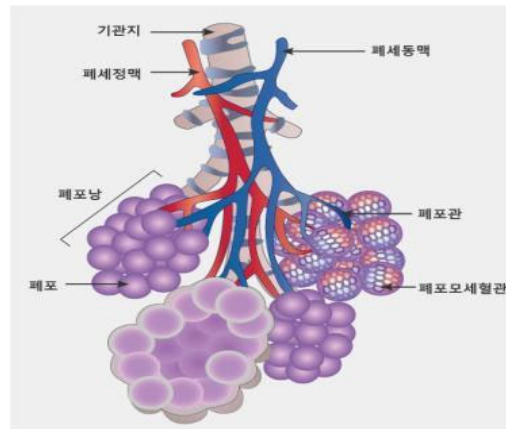


그림 2. 폐포의 구조

[출처: 강남이 등, 영양생리학, 2017]

## 나. 호흡계의 작용

호흡계(respiratory system)는 체내 호흡기능을 주관하며, 호흡기능은 체내로 공기를 흡입하고 내쉬는 과정을 말한다. 이는 에너지를 생성하기 위해 산소를 흡수하고, 체내 대사 부산물인 이산화탄소를 배출하는 것이다.

호흡은 외부로부터 산소를 체내로 흡입하여 세포로 운반하고 세포가 산소를 소비하여 대사 후 발생한 이산화탄소를 몸 밖으로 배설하는 과정을 말한다. 호흡의 첫 번째 단계를 외호흡(external respiration)이라 하며 외기와 폐포 사이의 공기가 교환되는 환기(ventilation) 과정과 폐포 공기와 폐모세혈관 사이에서 산소와 이산화탄소 확산(diffusion)에 의한 교환의 두 가지 과정을 거친다. 호흡의 두 번째 단계를 내호흡(internal respiration)이라고 하고, 모세혈관을 통해서 혈액과 조직 사이에서 산소와 이산화탄소가 교환되는 것을 말한다.

### (1) 기도 점액 분비로 방어작용

기도 내부의 점액은 상피세포층을 덮고 있으며 점액섬모 청소(mucociliary clearance) 기능을 통하여 비산 화학물질, 미세분진 입자, 병원 미생물 등 인체 외부에서 유입되는 유해 인자들을 포집함으로써 기도 내부를 독성 자극으로부터 보호하게 된다.

기도 점액(mucus) 혹은 객담(sputum)은 타액, 혈청 단백질 삼출물, 박리된 상피세포들과 이들에 함유된 수분, 지질, 당단백질, 단백질, 염류, 효소, 항효소 물질, 산화성 물질, 항산화성

물질, 외인성 세균, 내인성 항균물질, DNA, 히스타민 등 염증 매개물질과 뮤신(점액소, mucin)의 혼합물을 지칭한다. 특히 뮤신은 점액에서 점탄성(viscoelasticity)을 부여하는 주요한 생화학적 구성요소이다. 이러한 기관지 점액은 정상적으로 기관지점막에 분포해 있는 점액선(mucous glands)과 점막하선을 구성하는 점액선세포와 장액선(serous glands) 세포로부터 분비된다. 점액은 95%가 수분, 나머지 5% 정도는 당단백질, 지질 및 무기질 등으로 이루어져 있는데 당단백질의 구조가 올리고 당질 사슬로 길게 이어진 선형중합체 이중구조로 되어 있는 겔 형태라서 끈적이는 양상을 보인다.

당단백질은 기도에서 표면 상피 세포인 배상세포(goblet cell)와 점막하 분비선에 있는 점액 세포(mucus cell)에서 만들어진다. 정상적으로 기관지 점액은 기관지 표면을 살짝 덮어 항상 촉촉하게 유지함으로써 기관지를 물리적 자극으로부터 보호할 뿐 아니라, immunoglobulin A(IgA)와 같은 면역물질들을 포함하고 있으면서 병원균이 호흡점막에 부착되는 것을 방해하고 여러 독성물질을 불활성화시킴으로써 많은 해로운 물질로부터 기도를 보호하는 중요한 방어 역할을 한다(그림 3). 따라서 기관지 점액 생성 자체는 우리 인체의 중요한 방어기전 중의 하나로 생리적 현상이라고 할 수 있다.

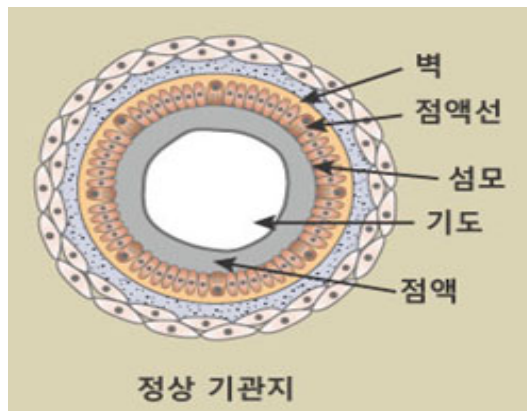


그림 3. 정상 기관지

[출처: MSD 매뉴얼]

## (2) 섬모운동

섬모는 기도를 덮고 있는 점액 수분층을 밀어낸다. 점액층은 병원균과 다른 이물입자를 포획하여 폐에 도달하지 못하게 한다. 섬모는 기관을 에워싸고 있는 점액을 이동시켜 점액층에 갇힌 병원균과 입자를 기침으로 내뱉게 하거나 구강에서 삼킬 수 있게 한다. 기관점액의 점성도 또는 분비가 증가하거나, 산소가 부족, 너무 과할 때, 탈수, 담배연기와 같은 오염물질에 영향을 받았을 때 섬모운동이 감소하고, 이는 질병을 악화시킬 수 있다.

## (3) 대식세포능

폐포는 가스교환이 필요하기 때문에 점액과 섬모를 통해 보호될 수 없다. 대신 폐포 내 대식세포는 폐세포 내 존재하는 고착형(fixed form) 식작용을 하며, 해로운 물질, 균 등을 흡식하여 감염을 예방할 수 있는 1차적인 역할을 담당한다. 폐가 중대한 위협에 처하면 순환계에서 추가적인 백혈구, 호중구 등이 유입되어 대식세포를 돕는다. 따라서 많은 양의 먼지를 들이마시거나 미생물에 의해 감염이 될 경우 폐포 내에 대식세포와 호중구의 수가 증가할 수 있다.

## 다. 주요 기전

작용기전은 기도 염증 반응, 점액 분비, 기도 평활근 증식, 상피세포 투과성 등으로 작용 기전이 설명될 수 있다.

### (1) 기도 염증 반응

기도의 만성적인 염증은 유전적 요인과 바이러스, 알레르기 항원, 산화적 스트레스(oxidative stress), 직업적 노출 등 다양한 원인에 의해서 발생한다(그림 4).

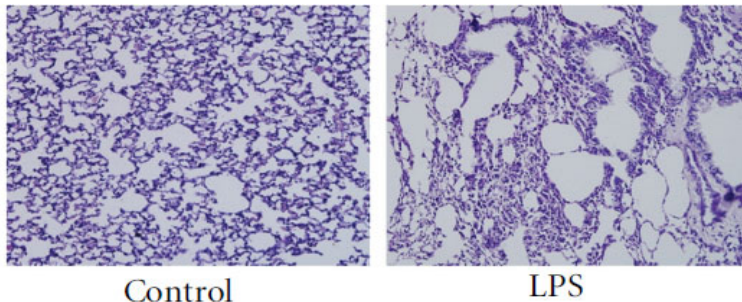


그림 4. LPS로 염증이 유도된 폐 조직

[출처: Lee et al, Evid Based Complement Alternat Med. 2012, 2012:ID769830]

알레르기성 기도 염증의 경우 대기 중의 알레르기 항원이 기도로 들어와 알레르기 항원이 항원표시세포(antigen presenting cell, APC)인 수지상세포(dendritic cell)와 결합하여 림프절로 이동하게 된다. 항원과 결합된 항원표시세포가 림프절 내의 naive T-helper cell(Th0)에 작용하여 Th0가 Th2 세포로 분화되어 각종 사이토카인을 분비한다. 이들은 각종 세포들을 자극하여 IgE 및 염증 매개 물질들을 분비하여 만성적인 기도 염증 상태를 만들게 된다. 기도의 호산구성 염증은 Th2 사이토카인에 의해 촉진된다. Interleukin(IL)-4는 B 세포에서 IgE의 생성과 내피세포에서 세포부착인자(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)의 발현에 관여하고, IgE 생성에는 signal transducer and activator of transcription 6(STAT-6)의 신호전달 경로를 통하게 된다. IL-13은 비만세포를 자극하고, 기도상피세포의 IL-4R $\alpha$ 에 결합하여 산화질소(nitric oxide, NO)를 분비시키고, 배상세포 이형화 및 점막하 상피세포의 섬유화에 관여한다. Th2 사이토카인 중 IL-5는 골수에서 호산구의 분화와 활성화를 위해 중요한 역할을 하며, IL-9은 비만세포를 자극하여 IL-5, IL-6, IL-13 등의 사이토카인 분비를 더욱 자극하며, 히스타민, 류코트리엔, 프로스타글란딘 등의 염증 매개 물질을 분비한다(그림 5).

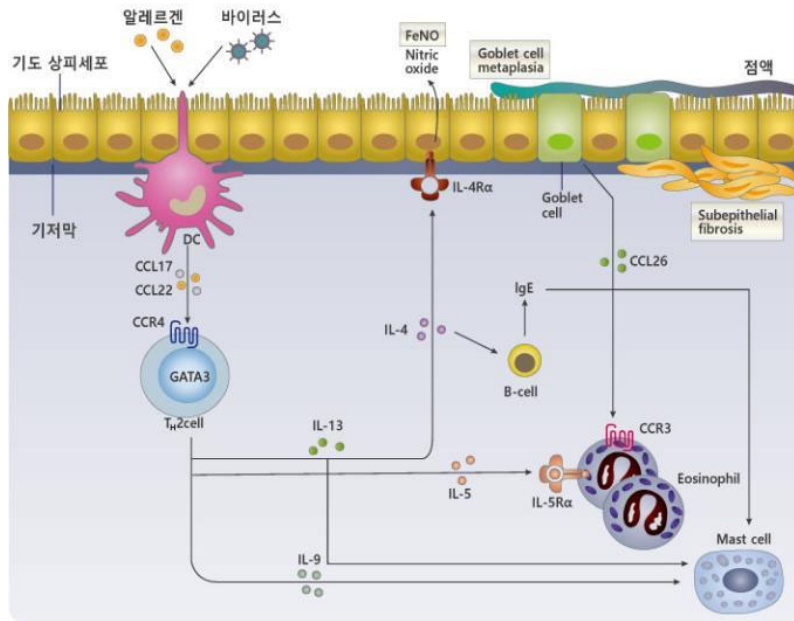


그림 5. Type2 cytokine profiles in airway disease

[출처: Barnes et al. Nat Rev Immunol. 2018, 18(7): 454-466]

산화적 스트레스에 의해 발생하는 염증은 주로 호중구성 염증 반응이다. 상피세포에서 tumor necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ), chemokine (C-X-C motif) ligand(CXCL) -1, CXCL-8 등이 분비되고, 이는 호중구의 CXC chemokine receptor(CXCR)-2와 결합하여 중성구를 끌어들이는 작용을 한다. 호중구는 배상세포를 이형화시켜 점액 과분비를 유도한다. 대식세포에서 IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18, IL-23 등이 분비되며, IL-23은 Th17 세포를 자극시켜 IL-17 분비를 유도한다. IL-17은 TNF- $\alpha$ , CXCL-1, CXCL-8 등의 분비를 더욱 촉진시켜, 호중구는 더욱더 활성화된다(그림 6).

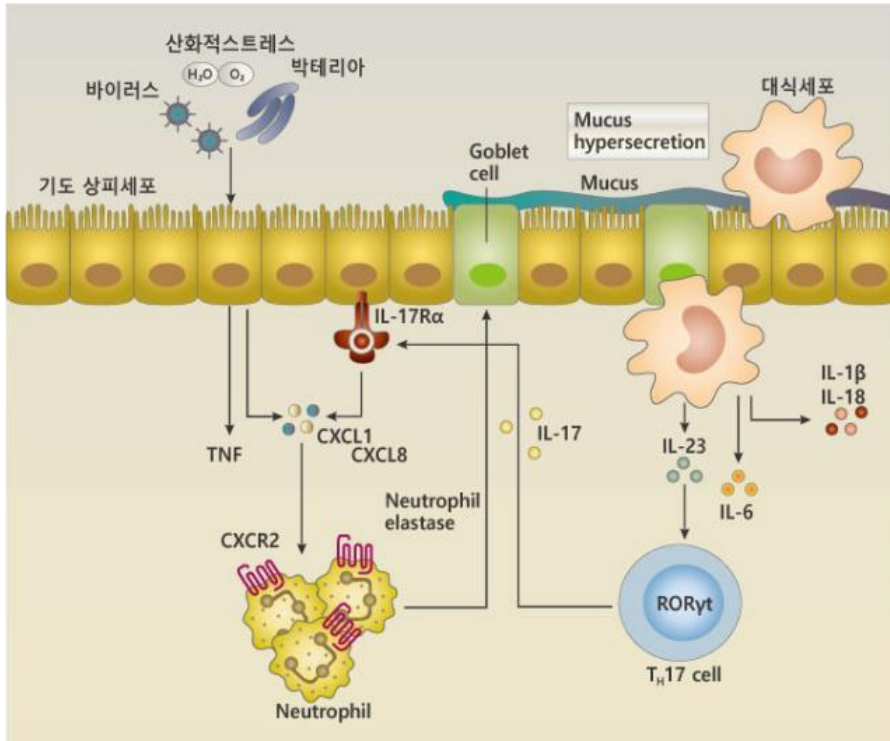


그림 6. Non-type 2 cytokine profiles in airway disease

[출처: Barnes et al. Nat Rev Immunol. 2018, 18(7):454-466]

한편, 산화적 스트레스는 폐포 대식세포(macrophage)와 호중구(neutrophil)를 활성화시킨다. 이들에서 분비된 단백분해효소와 반응산소종(reactive oxygen species, ROS)이 폐 손상을 야기시킨다. 대식세포는 TNF- $\alpha$ , IL-8, CXC 화학주성물질 등 염증 매개 물질과 산소기를 생성하고, 동시에 matrix metalloproteinase(MMP)-1, MMP-9, MMP-12, cathepsin 등의 단백분해효소를 분비한다. 호중구에서도 neutrophil elastase(NE), proteinase 3, MMP-8, MMP-9 등의 발현이 증가하여 전체적으로 단백분해효소의 활성은 증가되고, 항단백분해 활성은 저해된다(그림 7). 단백분해효소와 항단백분해효소 활성의 불균형이 발생하면, 폐 조직 및 결합조직의 손상이 증가하게 되고, 이는 폐 조직 파괴에 기여하게 된다.

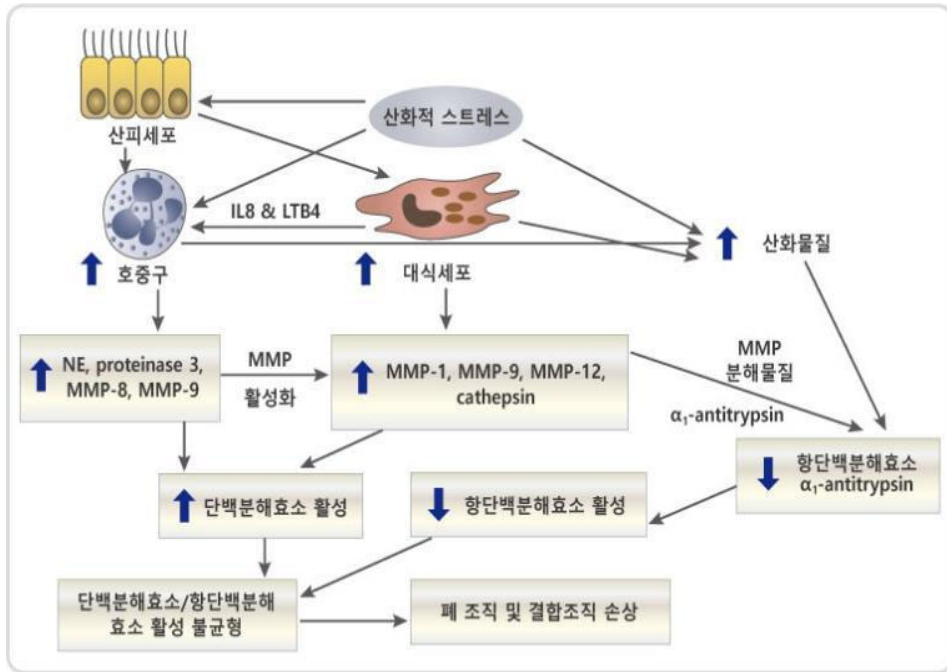


그림 7. 단백질분해효소 및 항단백분해효소 활성의 불균형

[출처: Abboud et al. Int J Tuberc Lung Dis. 2008, 12(4): 361-367]

## (2) 점액 생성 증가

기관지 점액 분비가 비정상적으로 증가하게 되면, 기관지 내 이물감, 기관지 폐쇄, 그로 인한 환기 장애 및 호흡 곤란 등이 나타나기 때문에 가래의 형태로 이를 배출한다. 기도에서 생성되는 점액의 양은 주로 생성되는 속도와 흡수, 증발, 섬모운동에 의해 제거되는 속도의 균형에 의해 조절된다. 많은 임상 질환들이 이러한 점액의 생성과 제거의 불균형으로 인해 발생한다. 정상인은 생성되는 객담의 양 자체가 그리 많지 않을 뿐 아니라 목까지 올라오더라도 대부분 무의식적으로 삼켜버리기 때문에 실제로 밖으로 배출되는 경우가 거의 없지만, 기관지 염증을 초래하는 병적 상태에서는 기관지 점액 분비가 비정상적으로 증가하여 가래 배출량이 많아지게 된다. 병적인 상태에서 비정상적으로 가래가 많이 생성되면 우선 기관지 내의 이물감으로 인하여 기침을 자주하게 되고, 생성된 가래로 인하여 기관지가 막히면 무기폐가 발생하여 고열, 흉통, 호흡곤란 등이 나타난다. 호흡점막에서 흔히 발견되는 병리학적 소견은 점액섬모상피의 배상세포 이형화(goblet cell metaplasia)와 점액분비세포의 과증식(hyperplasia)에 의한 점액과분비(mucus hypersecretion)이다(그림 8).

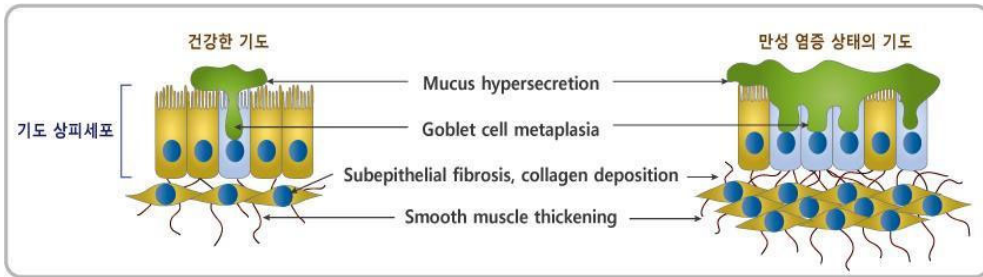


그림 8. 기도 내 점액 생성 증가 및 평활근 증식

[출처: 최병철. 약학정보원, 2019]

### (3) 기도 평활근 증식

상피세포하 섬유화에 따른 기도의 구조적 변화는 콜라겐 섬유와 프로테오글리칸 (proteoglycan)의 기저막하 침착 결과로 나타나게 된다. 이는 기도 평활근의 비후 (hypertrophy)와 과형성(hyperplasia)이 발생하여 기도벽 두께가 증가하는데, 이 과정은 질환의 중증도와 연관되고 성장인자와 같은 염증매개체에 의해 유발된다. 평활근 증식에 관여하는 사이토카인은 granulocyte-macrophage colony-stimulating factor(GM-CSF), IL-5, IL-6, IL-12 등이 있고, 케모카인으로는 eotaxin, regulated on activation, normal T cell expressed and secreted(RANTES), IL-8, monocyte chemoattractant protein(MCP)-1,2,3 등이 있다. 성장인자로는 platelet-derived growth factor (PDGF), prostaglandin2(PGE2), insulin like growth factor-1(IGF-1), vascular endothelial growth factor(VEGF) 등이 있으며, 그 외 phospholipase A2(PLA2)가 관여하고 있다 (그림 9).

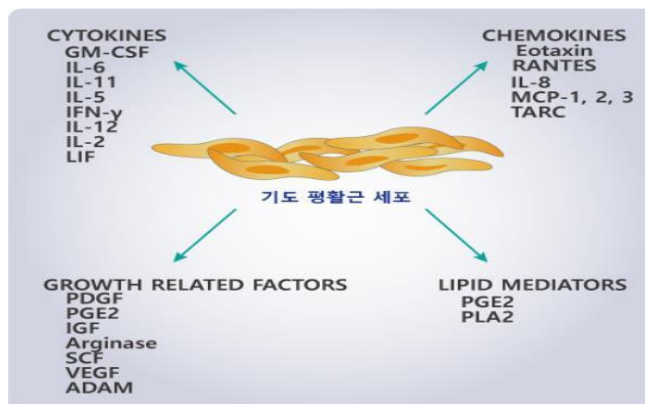


그림 9. 기도 평활근 증식 관여 인자

[출처: Moon et al. Allergy Immunol. 2019,4[e-pub]]

#### (4) 상피세포 투과성 증가

세포의 기능을 정상적으로 유지하기 위해서는 산화물질의 독성과 세포 안팎의 항산화 물질의 보호작용이 균형을 이루어야 하고, 일반적으로 건강한 사람들에서는 glutathione(GSH), SOD(superoxide dismutase), catalase 등의 항산화 효소에 의해 산화물질이 체내에서 제거되고 있다. 산화물질과 항산화물질의 균형이 산화물질 쪽으로 기울 상태를 '산화스트레스(oxidative stress)'라 하고, 이는 세포 대사과정에서 과부하를 초래할 수 있다. 폐포 상피세포는 산화 스트레스에 매우 민감하고, 엘라스틴 등의 세포 밖 조직 성분들도 손상되어 합성과 복구에 장애가 발생하게 된다. 산화적 스트레스로 손상된 폐포의 상피세포에서는 특히 알파-1 단백질분해억제제( $\alpha$ -1 antitrypsin)를 불활성화하여 세포 내 과도한 단백질분해반응이 일어나 폐포의 투과성을 증가시키게 된다. 세포의 투과성이 증가되면, 외부로부터 항원의 침입이 용이해지며, 과도한 염증 반응을 야기하게 된다.

## 2. 보건학적 중요성

건조한 봄이나 겨울철에 호흡기 질환이 많이 발생하는데 호흡계는 외부환경에 직접적으로 노출되어 꽃가루, 곰팡이, 집먼지 진드기, 담배연기 등 공기 중에 존재하는 유해물질에 쉽게 노출되기 쉽다. 특히 대표적인 공기 유해물질 중 하나인 미세먼지는 기도점막을 자극하고 기관지 전체와 폐조직 염증을 유발하여 정상인에게서도 기침, 가래 등의 호흡기 증상을 유발한다. 호흡기를 통해 유입된 미세먼지 등의 환경 유해요소는 하부기관지 및 폐실질까지 침착되어 폐기능 감소, 만성 폐쇄성 폐질환, 천식 등 호흡기 증상을 초래한다고 보고되고 있다. 대기의 질은 지속 나빠지고 있으며 이로 인해 천식, 만성 폐쇄성 폐질환 등의 호흡기 질환은 지속 증가될 전망이다.

호흡기 질환은 대부분 외부로 부터 유입된 물질들에 대한 호흡기 점막 상피세포의 염증 반응 및 면역반응에 기인하며, 지속적인 외부 자극은 호흡기 질환으로 이환될 가능성이 있다. 바이러스나 세균 등 병원균 감염에 의해 급성 염증을 유발하는 급성 상기도 감염(감기), 폐렴, 급성 기관지염 등 급성 호흡기 질환은 약물을 통한 치료가 필요하지만, 하기도(기관 또는 기관지)쪽에 만성적 염증으로 만성폐질환 증상(기침, 가래 등)이 있더라도 규칙적인 약물 치료가 필요하는 않는 사람의 경우 기도내 점막 상피세포의 염증반응과 면역반응 등을 조절하여 기관·기관지 상태를 정상적으로 유지하도록 하거나, 개선하는 것은 건강기능식품의 기능성으로 보건학적 의미가 있다.

따라서, 건강기능식품에 있어서 기관·기관지 관련 기능성은 ‘폐활량 검사, 영상 검사 등을 통해 만성폐질환 증상이 있더라도 규칙적인 약물 치료가 필요하지 않은 사람에서 기관·기관지 상태(기침, 가래 등) 개선에 도움’을 의미한다.

## 〈참고〉

### ○ 만성폐쇄성 폐질환

#### (1) 개요

만성 폐쇄성 폐질환(Chronic Obstructive Pulmonary Disease, COPD)은 기도의 협착과 폐포의 파괴 등으로 인한 만성염증질환으로 “완전히 회복되지 않고 점차 진행되는 기류제한을 특징으로 하는 만성 폐질환으로 흡연, 직업적 이나 실내외 먼지, 가스에 의해서 기도와 폐포가 손상되어 호흡기 증상을 일으키는 질환”으로 정의된다. 여기서 기류제한이라 함은 숨을 쉴 때 공기의 흐름이 제한되어 줄어든다는 의미로 폐활량 측정법을 하여 FEV/FVC <0.7인 경우에 해당한다.

만성 폐쇄성 폐질환의 특징인 기류제한은 장기간에 걸쳐 진행된다. 담배와 같은 유해한 입자나 유해가스를 흡입하게 되면 폐는 비정상적인 염증반응이 발생한다. 이러한 염증반응은 기관지 벽을 두껍게 하고 점액분비를 증가시킨다. 또한 소기도의 구조를 변화시키고 폐의 실질을 파괴하여 폐기종과 소기도 섬유화를 초래할 수 있다. 이러한 폐의 변화로 인해 기류제한이 발생하며 숨을 내쉴 때 공기가 충분히 빠져나가지 못해 호흡곤란을 일으키게 된다. 한편, COPD의 기도 병변을 만성기관지염 및 만성 세기관지염이라 하고 폐포 손상 병변을 폐기종이라 한다.

일명 COPD라고 불리는 만성 폐쇄성 폐질환은 천식과 달리 좁아진 기도가 다시 확장되지 않는 특징이 있으며, 기도 내 공기 흐름을 병적으로 제한하는 질병을 일컫는 질환으로 만성 기관지염, 폐기종, 그리고 다른 폐 질환을 아우르는 용어이다. 주로 흡연에 의하지만, 알파 1 항 트립신 효소 결핍과 같은 선천성 요인 뿐만 아니라 석탄 가루, 석면 혹은 유기 용매와 같은 공기 중 다른 유해 물질에 의해 발생할 수도 있다.

#### (2) 주요 원인

만성 폐쇄성 폐질환의 위험인자로 가장 중요하고 잘 알려진 것은 흡연이다. 전체 만성 폐쇄성 폐질환 환자의 약 80~90%가 흡연에 의해 발생하는 것으로 추정되고 있다. 또한 직업성 분진이나 화학물질, 대기오염, 낮은 사회 경제적 수준, 만성기관지염이나 호흡기 감염 등도 만성 폐쇄성 폐질환의 위험인자이다.

① 흡연

흡연은 전세계적으로 가장 흔한 위험인자로, 물론 개개인의 질환에 대한 감수성이 다르고 외부 인자 노출의 정도도 다를 수 있기 때문에 모든 흡연자가 다 만성 폐쇄성 폐질환으로 발전하지는 않는다. 하지만 비흡연자에 비해 흡연자에서 호흡기 증상의 발생과 폐 기능 이상 소견을 더 자주 볼 수 있으며, 폐기능의 연간 감소 속도도 빠르며 사망률도 높다. 이러한 차이는 흡연량에 따라 직접적으로 비례한다. 담배 연기의 간접 흡연도 잦은 호흡기 증상과 만성 폐쇄성 폐질환을 일으킬 수 있다. 임신 중의 흡연 역시 태아의 폐 성장과 발생에 영향을 미치며, 면역 체계를 작동시킴으로써 나중에 만성 폐쇄성 폐질환의 발생 위험 인자로 작용하게 된다.

② 직업성 분진과 화학물질

직업성 분진(석탄분진 등)과 화학약품(증기, 자극물질, 연기)도 충분히 강하고 지속적인 노출이라면 흡연과는 별도로 만성 폐쇄성 폐질환을 일으킬 수 있다. 여기에 흡연을 하면 만성 폐쇄성 폐질환의 위험이 더 커지게 된다.

③ 실내 외 공기 오염

도시 내 공기오염이 심하면 심장이나 폐질환자에게는 해롭다. 실외 공기오염이 만성 폐쇄성 폐질환을 발생시키는지는 아직 확실하지 않지만, 흡연에 비해서는 그 역할이 적다고 한다. 환기가 되지 않는 주거지에서 조리과 난방으로 사용하는 유기물에너지(Biomass)의 연소로 인해 발생하는 실내 공기 오염도 만성 폐쇄성 폐질환의 발생과 관련된다.

표 1. 만성 폐쇄성 폐질환의 위험인자



[출처: 질병관리청 국가건강정보포털]

### (3) 폐기능 검사

만성 폐쇄성 폐질환은 폐활량을 측정하는 폐기능 검사를 통해 진단할 수 있다. 만성적이고 진행성인 호흡곤란, 기침, 가래가 있으며, 흡연과 같은 위험인자에 노출된 병력이 있는 경우 만성 폐쇄성 폐질환을 의심하여 폐기능 검사를 진행하는 것이 중요하다.

기본적인 폐활량측정은 숨을 힘껏 끝까지 들이마신 후 다시 빠른 속도로 내쉴 수 있을때까지 내신다. 폐활량측정법은 끝까지 내신 전체 숨의 양을 나타내는 노력성 폐활량(Forced Vital Capacity, FVC), 1초간 내신 양을 측정하는 1초간 강제 호기량(Forced Expiratory Volume, FEV1) 및 1초간 강제 호기량의 노력성 폐활량에 대한 비(FEV1 /FVC)가 주로 이용된다. 폐활량측정법에 의한 검사 결과치를 해석하는데 있어서 연령, 키 및 성별을 고려하여 동일 조건 정상인의 추정 정상치와 비교하여 판독하게 된다. 만성 폐쇄성 폐질환 환자에서는 기관지 확장제 투여 후 FEV1 /FVC 가 70% 미만이면 완전히 가역적이지 않는 기류 제한의 존재가 확인된다.

### (4) 주요 증상

가장 특징적인 만성 폐쇄성 폐질환의 증상은 만성적이고 진행성인 호흡곤란, 기침, 가래이며, 특히 흡연 등 위험인자에 노출된 적이 있는 경우 만성 폐쇄성 폐질환을 의심하여야 한다.

#### ① 기침

만성기침이 만성 폐쇄성 폐질환의 첫 증상일 수 있지만, 흡연하는 만성 폐쇄성 폐질환 환자는 흡연 때문이라고 무시하는 경우가 흔하다. 기침은 처음에는 간헐적이지만 시간이 경과하면 매일 있게 되며 때로는 하루 종일 지속되기도 한다. 기침할 때 가래가 동반되기도 한다.

#### ② 객담

만성 폐쇄성 폐질환 환자들에서는 흔히 기침 발작 후에 소량의 끈끈한 객담이 나온다. 다른 원인질환 없이 가래가 1년에 3개월 이상 발생하고, 이러한 가래가 2년 연속 있는 경우 만성기관지염이라고 할 수 있으며, 이 환자들에게서 기류제한이 있을 수 있으며 만성 폐쇄성 폐질환으로 진단될 수 있다.

③ 호흡곤란

호흡곤란은 대부분의 환자들이 의사를 찾는 이유이며, 이 질환과 관련된 장애 및 불안증의 주된 원인이다. 호흡곤란은 지속적으로 진행하며 폐기능의 악화로 호흡곤란이 더욱 증가하게 된다.

표 2. 만성 폐쇄성 폐질환을 의심할 수 있는 임상 지표

만성기침	간헐적이거나 매일, 때로 하루 종일 : 야간에만 있는 경우는 드물다
만성객담	만성 객담 배출
호흡곤란	진행성 (점차 악화) 지속적 (매일 존재) 증상표현", 숨이 차다", "가슴이 답답하다", 혹은 "숨이 가쁘다" 운동시 악화 호흡 감염 중에 악화
위험인자 노출 과거력	흡연 직업적인 먼지 및 화학물질 요리 및 난방 연료에서 발생하는 연기

※ 위 지표의 일부가 존재하면 만성폐쇄폐질환을 고려하고 폐활량측정법을 시행하다. 이 지표는 그 자체로 진단이 이루어지는 것은 아니지만 여러 가지 주요 지표가 존재한다는 것은 만성폐쇄폐질환 진단의 가능성을 높인다. 폐활량측정법은 만성폐쇄폐질환 확진에 필요하다.

[출처: 질병관리청 국가건강정보포털]

## ○ 천식

### (1) 개요

기관지 천식은 기도 과민증과 가역적인 기도폐쇄를 보이는 만성 기도 염증 질환이다. 천식을 가리키는 영어 단어(asthma)는 그리스어의 '숨을 헐떡이다'는 말에서 유래되었다. 전 세계적으로 환자가 3억명 가량에 이르는 보건학적으로 중요한 문제이다. 천식의 증상은 폐 속에 있는 기관지가 때때로 좁아져서 호흡 곤란, 기침, 천명(쌉쌉거림) 등 호흡기 증상이 반복해서 발작적으로 나타난다. 전 세계적으로 유병률이 증가하고 있으며, 우리나라에서도 소아 청소년층과 40세 이후 성인에서 유병률이 증가하고 있다. 천식은 치료비 등의 직접적인 의료비뿐 아니라 결석, 결근, 일상생활 장애 등을 일으켜 사회 경제적 부담이 큰 질병이다.

### (2) 주요 원인

천식을 일으키거나 증상을 악화시키는 인자는 '원인 인자'와 '악화 인자'로 나눌 수 있다. 원인인자로는 집먼지진드기, 꽃가루, 곰팡이, 반려동물, 바퀴벌레, 음식물, 직업적 환경에서 노출되는 물질이 있고, 악화 인자로는 기후변화, 대기오염, 담배 연기/ 화학 물질/강한 냄새, 상기도 감염, 감기, 신체적 활동, 운동, 약물 스트레스 등이 있다.

### (3) 주요 증상

천식의 주요 증상들은 주로 염증과 부종으로 인한 기도의 수축으로 인해 발생한다. 알레르기 원인 물질을 흡입하면 우리 몸의 면역계는 흡입된 물질에 대해 항체를 생산한다. 이후에 천식 환자가 같은 원인 물질을 흡입할 경우, 이 항체들이 이것을 인지하고, 면역계를 활성화시켜 염증 반응의 결과로 화학 물질이 생산된다. 이는 기도의 염증과 부종, 수축을 일으켜 더 많은 점액이 분비되게 합니다. 이러한 과정에 의해 기관지가 좁아지면 그로 인해 천식의 증상들이 다양하게 나타난다.

호흡 곤란, 기침, 천명(쌉쌉거림) 등 전형적인 천식 증상 외에도 다양한 증상이 나타난다. 예를 들어 반복적인 마른기침, 가슴이 답답하거나 흉부 압박감, 또는 목구멍에 가래가 걸려 있는 것 같은 증상 등이 있다. 감기에 걸린 후에 호흡 곤란이 악화되거나, 달리기 같은 운동 후에 호흡 곤란, 쌉쌉거리는 숨소리 등 증상들이 나타나는 경우가 많다. 천식과 유사한 증상을 나타낼 수 있는 질환에는 만성 폐쇄성 폐질환, 알레르기, 아토피 그리고 알레르기 비염 등이 있다.

### Ⅲ 기능성 시험 방법

#### 1. 바이오마커의 선정

##### 가. 연구유형별 바이오마커

기관·기관지 상태(기침·가래 등) 관련 기능성을 확인하기 위한 시험관시험, 동물시험 및 인체적용시험의 바이오마커\*는 아래의 표 3을 참고할 수 있다.

\* 작용기전 또는 인체적용시험 설계에 따라 적절한 바이오마커를 선택할 수 있음

표 3. '기관·기관지 상태(기침·가래 등) 개선에 도움을 줄 수 있음' 관련

구분		바이오마커	측정 가능한 연구유형		
			in vitro	in vivo	Human
염증 관련 지표	기관지 내 알레르기성 염증개선	면역세포: 총 염증세포(total inflammatory cell) 수, 총 백혈구(leukocyte) 수, 호산구(eosinophil) 수, 비만세포(mast cell), T 세포, B 세포, Th2 세포수, Th1/Th2 ratio	○	○	○
		면역물질: 인터루킨(IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, IL-17, IL-23), TNF- $\alpha$ , IgE, 류코트리엔, Eotaxin	○	○	○
		관련기전: NF- $\kappa$ B(IK-B, p50, p65 등) pathway, MAPK(ERK, p38, JNK 등) pathway, PTEN/PI3K/AKT pathway, STAT6	○	○	
	만성 염증상태 개선	면역세포: 총 면역세포(total inflammatory cell) 수, 총 백혈구(leukocyte) 수, 호산구(eosinophil) 수, 호중구(neutrophil) 수, 단핵구(monocyte) 수, 대식세포(alveolar macrophage) 수, CD4 <sup>+</sup> T 세포, CD8 <sup>+</sup> T 세포, Th1, Th17		○	○
		면역물질: TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IgG, CXCL-1, CXCL2(MIP-2)	○	○	○
		관련효소: iNOS, COX-2	○		
		관련기전: NF- $\kappa$ B(IK-B, p50, p65 등) pathway, MAPK(ERK, p38, JNK 등) pathway, PTEN/PI3K/AKT pathway	○	○	
	기관지내 항산화능 개선	항산화 효소 활성(GP <sub>x</sub> , GSH, SOD, catalase 등)	○	○	○
		과산화물질 농도(ROS, 8-isoprostane, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , NO 등)	○	○	○

구분		바이오마커	측정 가능한 연구유형		
			in vitro	in vivo	Human
병리 적 지표	근육수축 정도 개선	기도 평활근 수축 정도		○	
		기도과민성측정		○	
	조직섬유화 개선	기관지 두께		○	
		평활근 두께(콜라겐 정량)	○	○	
	점액과분비 개선	점액분비세포의 과증식, 배상 세포수	○	○	
		점액 생성량, 뮤신 생성량, 거담활성		○	○
MUC5AC, MUC5B, MUC2		○	○		
임상 지표	기관· 기관지 상태 측정	기침빈도, 가래 빈도, 가래 배출량		○	○
		노력성폐활량(FVC), 1초간 노력성 호기량(FEV1), FEV1/FVC 비율, 호기산화질소			○
		최대호기유량(PEF), 최대흡기유량, 분당환기량		○	○
	주관적 설문	BCSS(Breathless, cough, and sputum scale) 설문지			○
		CSS(기침증상점수, Cough Symptom score)			○
		LCQ(레스터기침설문조사, Leicester Cough Questionnaire)			○
		VAS(기침증상시각아날로그척도, Cough Severity Visual Analogue Scale)			○
		COAT(cough assessment test) 설문지			○
		삶의 질 평가(EQ-5D) 설문지			○
		SGRQ(Saint George's Respiratory Questionnaire) 설문지			○
		CAT(COPD assessment test) 설문지			○
		mMRC(modified Medical Research Council Dyspnea Scale) 설문지			○

## 나. 바이오마커 설명

### (1) 염증관련지표

#### (가) 기관지 내 알레르기성 염증개선

##### ① 면역세포

##### ■ 총 염증세포(total inflammatory cell) 수

염증세포(Inflammatory cell)는 비만세포(mast cell), 호중구(neutrophil), 호산구(eosinophil), 대식세포(macrophage), 림프구 등을 포괄하고 있으며, 사이토카인, 성장인자, 분해 효소를 분비하여 염증 반응 및 감염에 대한 방어 등에서 필수적인 역할을 한다. 총 염증세포수는 염증 반응 지표로 활용할 수 있다.

##### ■ 총 백혈구(total leukocyte) 수

백혈구(leukocyte)는 크게 과립성과 무과립성으로 구분할 수 있고, 과립성에는 호산구, 호염기구, 호중구가 있으며, 무과립성에는 림프구와 단핵구가 있다. 총 백혈구수(total leukocyte count, TLC)는 염증 반응 지표로 활용할 수 있다.

##### ■ 호산구(eosinophil) 수

호산구는 염증성 단백질을 함유하고 있으며, 기도상피세포에 직접 손상을 야기하고 기도 과민성을 증가시키며 비만세포 탈과립을 유발한다. 또한, 류코트리엔을 함유하고 있어 기도수축, 혈관투과성을 증가시킨다.

##### ■ 비만세포(mast cell)

비만세포는 기도 내의 점막에서 성숙한 후 IgE에 알레르기항원이 결합하면 비만세포에 존재하는 히스타민과 류코트리엔 등이 방출된다. 그 외 IL-1,2,3,4,5, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  생산에 관여하여 알레르기성 및 만성 염증에 기여한다. 알레르기 초기 반응 시 비만세포로부터 히스타민과 류코트리엔 등이 분비되어 염증 반응 지표로 활용할 수 있다.

##### ■ T 세포, B 세포

T 세포(T lymphocyte)는 항원 특이적인 적응 면역을 담당하는 림프구이고, 체내 항원 침입 시 성숙한 효과 T 세포로 활성화되어 적응 면역이 시작되어 염증 반응 지표로 활용할 수 있다. B 세포(B lymphocyte)는 림프구 중 항체를 생산하는 세포이며, 특히 알레르기성 염증 반응 시 활성화가 되어 IgE의 생산을 증가시키므로 알레르기성 염증 반응 지표로 활용할 수 있다.

- T 세포 subunit(Th2, Th1/Th2 ratio)

알레르기항원에 의해 자극된 전구 T 세포는 주로 Th2 세포로 분화하게 된다. Th2 세포는 여러 종류의 인터루킨(interleukin, IL)을 분비하고, B 세포가 형질 세포로 분화하도록 도와준다.

## ② 면역물질

- 인터루킨: IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, IL-17, IL-23

Th2 세포에서는 IL-1 $\beta$ , 4, 5, 6, 13 등의 사이토카인 분비를 자극하여 알레르기성 기도 염증을 유발한다. IL-1 $\beta$ 의 경우 심각한 염증 상황에서 분비되며, 대식세포 활성화와 호중구성 염증반응 유발과 관련이 있다. IL-4는 IL-13과 함께 Th2 세포 분화에 관여하고, 폐조직으로의 호산구성 염증반응을 유발하며, 이 과정에서 Th2 전사인자인 GATA-3를 활성화시킨다. 또한 점액과분비(배상세포의 이형화), 기도 섬유화 등에 관여하며 IgG를 IgE로 스위치하는 데에도 관여한다. IL-5는 호산구성 염증의 주요 사이토카인으로써 골수에서 호산구로의 분화를 촉진한다. 또한, 기도 내 호산구가 생존할 수 있는 환경을 구축하게 된다. IL-6도 호산구 이동 및 호산구 생존에 관여한다. IL-6의 경우는 염증 반응을 촉진시키면서 Th2 세포 및 Th17 세포에서 조절되는 면역 반응에 관여하며, 만성염증자의 객담 및 혈액에서 증가된다. IL-13은 Th2 세포 분화에 관여하고, B세포 활성화, 점액물질 과형성, 배상세포 이형화, 기저막 두께 증가에 관여한다. IL-17은 심각한 상태의 알레르기성 염증반응 시 분비 되고, 호중구성 염증반응을 유발시키기도 한다. IL-23은 Th17 세포의 주요 조절자 역할을 담당한다.

- TNF- $\alpha$

만성염증으로 활성화된 대식세포 및 기도 상피세포에서 분비되며, 지속적인 염증을 야기 시킨다.

- IgE

IL-4는 B 세포를 자극하여 IgE의 생산을 증가시킨다. 생산된 IgE는 혈관 내로 순환하다가 조직 내 비만세포와 말초혈액 내의 호염구(basophil)의 표면에 있는 high-affinity IgE 수용체에 부착되고, 이때 알레르기 항원이 IgE와 결합하게 되면 비만세포가 활성화되고, 히스타민, 류코트리엔, 사이토카인 등 여러 염증 매개 물질이 분비된다.

- 류코트리엔(leukotriene)

류코트리엔은 호산구 및 비만세포에 존재하며 기도수축 및 혈관투과성을 증가시키는 물질이다. 만성적인 기도염증을 유발하며, 점액 생산을 촉진하는 물질이다.

- eotaxin

호중구 특이성 C-C 케모카인(eosinophil specific C-C chemokine)이면서, 혈관 밖으로 나온 면역세포들이 기도로 이동하는데 작용하는 대표적인 케모카인이다. 특히 알레르기 반응 후 기도 조직으로 호산구의 이동을 촉진시키는 대표적인 물질이다.

### ③ 관련기전

- NF- $\kappa$ B pathway

알레르기 항원 혹은 산화적 스트레스로 야기된 기도 상피세포 손상으로 인해 NF- $\kappa$ B가 활성화 된다. 주로 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 에 의해 활성화되며 알레르기성 염증 및 만성 염증 환자의 기도 상피세포에서 활성이 증가하고, 이 때 세포는 염증 매개 물질을 다량으로 분비하게 된다. 염증 매개 물질들은 폐포 대식세포와 호중구를 주로 활성화시키고, 단백분해효소가 유리되면서 활성산소종과 함께 폐손상을 야기하게 된다.

- MAPK pathway

Mitogen-activated protein kinase (MAPK)는 외부의 신호를 내부로 전달하여 세포의 성장, 사멸, 그리고 분열에 중요한 역할을 한다. MAPK는 MAPKKK $\rightarrow$ MAPKK $\rightarrow$ MAPK로 연결된 protein kinase cascade를 통하여 활성화된 후, 여러 가지의 표적 유전자의 발현을 조절함으로써 세포 반응을 유발한다.

- PTEN/PI3K/AKT pathway

PI3K의 저해가 기도 과민성을 약화시키고 기관지 조직으로의 호산구 침윤이나 호산구의 활성화를 저해시켜 염증 유발을 억제하게 된다.

- STAT6(signal transducer and activator of transcription 6)

B 세포에 있는 수용체와 Th2 세포에서 분비된 IL-4, IL-13 등이 결합하면 STAT6의 신호전달 경로가 진행되고, 이로써 IgE 가 생성된다.

## (나) 만성염증상태개선

### ① 면역세포

#### ■ 총 염증세포(total inflammatory cell) 수

염증세포는 비만세포, 호중구, 호산구, 대식세포, 림프구 등을 포괄하고 있으며, 사이토카인, 성장인자, 분해 효소를 분비하여 염증 반응 및 감염에 대한 방어 등에서 필수적인 역할을 한다. 총 염증세포수는 염증 반응 지표로 활용할 수 있다.

#### ■ 총백혈구(leukocyte) 수

백혈구는 크게 과립성과 무과립성으로 구분할 수 있고, 과립성에는 호산구, 호염기구, 호중구가 있으며, 무과립성에는 림프구와 단핵구가 있다. 총 백혈구 수는 염증 반응 지표로 활용할 수 있다.

#### ■ 호중구(neutrophil) 수

호중구는 만성 기도 염증 환자의 기관지폐포세척액 및 혈액 내에서 증가한다. 호중구의 활성화로 인해 직접적으로 폐조직 파괴를 야기하게 되며, 호중구에는 단백분해효소가 존재하므로 폐조직 파괴에 기여한다.

#### ■ 단핵구(monocyte) 수

단핵구는 만성 기도 염증환자에서 증가하며, 특히 CXCL에 의해 활성화된다.

#### ■ 대식세포(macrophage)

대식세포는 만성염증 호흡기 질환자의 기도, 폐실질과 기관지폐포세척액에서 정상인보다 5~10배 이상 증가된 경향을 보이며, 질환의 중증도와 상관성이 있다. 대식세포의 활성화는 TNF- $\alpha$ 와 IL-8, CXC 화학주성물질 등의 염증매개물질을 생성하고 동시에 MMP-2, MMP-9 등의 단백분해효소를 분비하여 폐조직을 손상시킨다.

#### ■ CD4<sup>+</sup> T 세포(Th1, Th17)

만성염증에 의해 자극된 전구 T 세포는 Th1과 Th17 세포로 분화하게 된다. CD<sup>+</sup> Th1 세포는 IFN- $\gamma$ 를 직접적으로 분비하고, 대식세포, 호중구, 호산구, CD8<sup>+</sup> T세포, B 세포 등의 여러 가지 염증 세포들을 손상된 조직으로 동원하게 된다. Th17 세포는 호중구를 기도 내 염증 부위로 집중시키는 데 관여한다. 기도 내 만성염증 시에는 혈액 및 폐 조직 중 Th17 세포의 수가 증가하고, 일반적으로 FEV1의 기능을 저해하고, 기류의 흐름을 방해하는 것으로 알려져 있다.

- CD8<sup>+</sup> T 세포

만성염증에 의해 기도, 소기도, 폐실질에 널리 분포하고, 그 숫자가 많을수록 기류 폐쇄와 폐기종의 중증도가 심해지고 조직 손상에 관여하는 중요한 세포이다. 직접적으로는 세포 자멸사를 촉진시켜 폐실질 파괴를 유도하게 된다.

## ② 면역물질

- 인터루킨: IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8

Th1 세포에 의해 IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8의 사이토카인 및 화학주성물질이 분비되며, 만성 염증을 지속적으로 발생시킨다. IL-1 $\beta$ 의 경우 심각한 염증 상황에서 분비되며, 대식세포 활성화와 호중구성 염증반응 유발과 관련이 있다.

- TNF- $\alpha$

만성염증으로 활성화된 대식세포 및 기도 상피세포에서 분비되며, 지속적인 염증을 야기시킨다. 호중구성 염증 반응을 자극하고, 대식세포를 활성화시킨다.

- TGF- $\beta$

만성염증으로 활성화된 기도 세포에서 증가되며, 과립구 모집에 관여한다. 소기도의 섬유화에 기여하는 면역 지표로 활용된다.

- IgG

알레르기성 기도 염증 및 만성기도염증 환자에서 IgG의 수준이 높게 나타나고 있어 기도 염증의 면역 지표로 활용된다.

- IFN- $\gamma$

호흡기 내 만성염증 시 Th1의 전사인자를 자극하고 Th1 림프구를 활성화시킨다. 특히 T-bet 인자를 자극하여 IFN- $\gamma$ 를 지속적으로 생성하는 positive loop로 작용한다.

- CXC ligand(CXCL1, CXCL2)

단핵구를 기도 염증부위로 이동시키는 데 관여한다. 기도 내 만성 염증 시 BALF (Bronchoalveolar Lavage Fluid)와 객담내 CXCL1이 매우 증가한다.

## ③ 관련 효소

## ▪ iNOS(inducible nitric oxide synthase)

iNOS는 L-arginine을 산화시켜 L-citrulline과 NO를 생성하며, 사이토카인의 자극으로 발현된다.

## ▪ COX-2(cyclooxygenase-2)

COX-2는 arachidonic acid를 PGE2로 전환시키는 효소로 염증이나 면역자극에 의해 발현된다.

## ④ 관련기전

▪ NF- $\kappa$ B pathway

알레르기원 혹은 산화적 스트레스로 야기된 기도 상피세포 손상으로 인해 NF- $\kappa$ B가 활성화된다. 주로 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 에 의해 활성화되며 알레르기성 염증 및 만성 염증 환자의 기도 상피세포에서 활성이 증가하고, 이 때 세포는 염증 매개 물질을 대량으로 분비하게 된다. 염증 매개 물질들은 폐포 대식세포와 호중구를 주로 활성화시키고, 단백질해효소가 유리되면서 활성산소종과 함께 폐손상을 야기하게 된다.

## ▪ MAPK pathway

Mitogen-activated protein kinase (MAPK)는 외부의 신호를 내부로 전달하여 세포의 성장, 사멸, 그리고 분열에 중요한 역할을 한다. MAPK는 MAPKKK $\rightarrow$ MAPKK $\rightarrow$ MAPK로 연결된 protein kinase cascade를 통하여 활성화된 후, 여러 가지의 표적 유전자의 발현을 조절함으로써 세포 반응을 유발한다.

## ▪ PTEN/PI3K/AKT pathway

PI3K의 저해가 기도 과민성을 약화시키고 기관지 조직으로의 호산구 침윤이나 호산구의 활성화를 저해시켜 염증 유발을 억제하게 된다.

### (다) 기관지 내 항산화능 개선

#### ① 항산화효소(GPx, GSH, SOD, catalase) 활성

항산화 효소 중 SOD, catalase, glutathione peroxidase(GPx) 등의 활성은 기도 염증을 저해시키는 데 관여한다.

#### ② 과산화물질 농도(ROS, 8-isoprostane, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, nitric oxide(NO))

과산화물질에 의한 산화적 스트레스는 질환의 중증도에 관여하고, 염증반응을 더욱 촉진시키는 역할을 한다. 기도 내 만성질환자에서는 ROS와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 과산화물질 발현량이 증가한다. 지질과산화의 지표인 8-isoprostane도 객담 내 증가된다. 산화적 스트레스와 더불어 기도 세포 내 생성되는 NO는 과산화물질과 결합하여 강력한 라디칼인 peroxynitrite를 형성하고, 이는 기도 내 단백질의 nitrosylation을 초래하게 된다.

## (2) 병리적 지표

### (가) 근육수축 정도 개선

#### ① 기도 평활근 수축정도

기도 평활근의 수축은 알레르기성 및 만성 기도 염증의 결과로 나타나는 현상 지표이다.

#### ② 기도과민성측정(Penh value)

메타콜린으로 기도과민성을 측정하고, Penh는 기도저항을 나타내는 지표로서 활용된다.

### (나) 조직섬유화개선

#### ① 기관지 두께

알레르기염증 및 만성기도염증 환자들에서 기도벽의 단면적이 현저히 두꺼워지므로, 조직섬유화 지표로 활용할 수 있다.

#### ② 평활근 두께

알레르기염증 및 만성기도염증 환자들에서 평활근의 단면적이 현저히 두꺼워진다.

### (다) 점액과분비 개선

#### ① 점액분비세포의 과증식

표면상피세포에서 점액이 분비되기 위해서는 상피세포에서 배상세포로의 이형성화(metaplasia)가 필요하다. 이형성화가 진행됨과 더불어 점액생산이 증가하게 된다. 전체 상피세포의 숫자는 변하지 않은 상태에서 비과립성 분비세포의 숫자가 줄어드는 것은 배상세포들이 분화되었음을 의미한다. 배상세포의 이형성 자극은 박테리아나 바이러스 감염, 알레르기성 천식, 담배연기, 기타 흡입성 자극물질들에 의해 야기된다.

#### ② 점액(뮤신) 생성량

기도 점액은 인간의 기도 배상세포(goblet cell) 및 점막하 점액선(submucosal gland) 등으로부터 생성, 분비되어 기도 내강 표면에 존재하면서 유해한 물질 제거에 중요한 역할을 한다. 그러나 만성기관지염, 기관지 확장증 등의 만성 염증성 호흡기 질환에서는 끈끈한 점액의 과다 생성 및 과다분비가 되어 기관내강 폐쇄, 기도 공기유입 저해 등을 유발할 수 있다.

#### ③ 점액생성 유전자 발현도(MUC5AC, MUC5B, MUC2)

겔 형성 뮤신 유전자는 MUC5AC, MUC5B, MUC2 등이 있으며, 특히 MUC5AC는 폐와 기도표면 상피세포에서 다량 발견되는 뮤신이며, MUC5B는 타액선, 기관-기관지 점막하 점액선에 존재하며, MUC2는 폐에서 일부 존재한다.

## (3) 임상 지표

### (가) 기관·기관지 상태 측정

#### ① 기침 빈도, 가래 빈도, 가래 배출량

기침과 가래는 호흡기 질환의 직접적인 지표가 된다.

#### ② 노력성 폐활량(FVC), 1초간 노력성 호기량(FEV1), FEV1/FVC 비율

노력성 폐활량(forced vital capacity, FVC)은 최대한으로 숨을 들이쉬게 한 다음 최대의 노력으로 숨을 끝까지 내쉬게 했을 때 내신량이다. 숨을 최대한으로 들이쉬는 다음에 자기의 노력을 다해 내릴 때 첫 1초간 내신량이 FEV1이 된다. 1초간 노력성 호기량(forced expired volume in one second, FEV1)은 첫 1초간 얼마나 빨리 숨을 내릴 수 있는지를 보는 지표이다. 보통 정상인은 자기 노력성 폐활량의 70% 이상을 첫 1초에 내릴 수 있다. 즉

FEV1/FVC>0.7이 된다. 반면 노력성 폐활량에 비교하여 첫 1초에 내쉬는 양이 적다면 FEV1/FVC<0.7가 되고, 이는 내쉬는데 장애가 있음을 시사한다. 따라서 FEV1/FVC는 기류 제한 유무를 확인하는 유용한 지표가 된다.

### ③ 최대호기유량, 최대흡기유량, 분당환기량

#### ■ 최대호기유량(Peak expiratory flow, PEF)

최대호기유량은 호흡근육을 이용하여 기도에서 공기를 얼마나 빨리 내של 수 있는가를 측정하여 호흡기능의 임상 지표가 된다.

#### ■ 최대흡기유량

최대호기유량은 호흡근육을 이용하여 기도에 공기를 유입시키는 양을 측정하여 호흡기능의 임상 지표가 된다.

#### ■ 분당환기량(Minute ventilation)

분당 환기량은 1분 동안 흡기와 호기되는 공기의 양을 뜻하며, 호흡기능의 안정화 지표가 된다.

## (나) 주관적 설문

### ① BCSS(Breathless, cough, and sputum scale) 설문지

BCSS 설문지는 주요 호흡기 증상인 호흡곤란, 기침, 가래의 증상평가 스케일이며, 기관지염의 급성 악화 증상을 평가하는 데 주로 사용한다. 대상자 스스로 Likert의 5점 척도를 사용하여 평가할 수 있는 자각증상 평가지이며, 주요 결과변수의 보조결과 변수로 사용할 수 있다.

### ② CSS(기침증상점수, Cough Symptom score) 설문지

기침의 빈도, 강도 등의 증증도를 주관적으로 간단히 평가할 수 있는 도구로 낮과 밤 각각 기침으로 인한 불편도를 최소 0점 최대 5점으로 매긴다.

### ③ LCQ(레스터기침설문조사, Leicester Cough Questionnaire)

간단하고 쉽게 작성할 수 있도록 영국에서 제작되었고 만성기침의 평가를 위해 가장 많이 사용되는 설문으로 3개의 영역(신체적, 정신적, 사회적)에 대한 19개의 항목으로 구성된 설문이다.

④ VAS(기침증상 시각 아날로그 척도, Cough Severity Visual Analogue Scale) 설문지  
기침의 주관적인 평가를 위해 흔히 사용되는 방법으로 100 mm의 선을 그어 양쪽 끝의 '기침 없음'에서 '최고로 심함' 중 본인이 해당된다고 생각하는 위치에 상태를 표시하는 방법의 검사이다.

⑤ COAT(Cough Assessment Test) 설문지

기침은 외부 물질의 흡인으로부터 기관지와 폐를 보호하기 위한 반사기전이지만, 특정 원인이 제거된 후에도 기침이 정상화되지 않고, 장기간(성인은 8주 이상, 소아는 4주 이상) 지속될 경우 만성기침으로 구분하고 있다.

⑥ 삶의 질 평가 설문지(EQ-5D)

건강 관련 삶의 질 측정도구(EQ-5D)문항은 130개 이상의 언어로 번역되어 다양한 분야에 널리 이용되고 있는 삶의 질 평가 설문지이다. 특정 질환을 가진 환자뿐 아니라 일반 집단 대상에서도 신뢰도와 타당도가 검증된 설문지이다.

⑦ SGRQ 설문지(St. George's respiratory questionnaire, 세인트조지 호흡기 설문)

SGRQ는 호흡기 증상에 있어 경증의 환자에서도 건강 관련 삶의 질 정도를 구분할 수 있다. 만성적으로 소모적인 질환의 삶의 질을 향상시키는 것 역시 치료의 중요한 목표가 되고 있기 때문에 일상생활 중의 수행능력과 삶의 질을 향상시키는 지표로 활용될 수 있다.

⑧ CAT 설문지(COPD assessment test)

만성 폐쇄성 폐질환(COPD) 평가테스트(CAT)로 호흡곤란에 대한 주관적 지표로 활용할 수 있다. SGRQ의 설문지를 축약하여 만든 것으로 대상자의 육체적, 정신적 건강과 일상 생활에 미치는 영향을 평가하기 위한 것이다.

⑨ mMRC(modified medical research council dyspnea scale) 설문지

호흡기능의 심각도를 평가하기 위해 미국 Thoracic society에서 고안된 방법이다. mMRC 설문지는 거리 및 계단 오르기의 정도에 따른 활동력과 관련된 5개의 척도(0, 1, 2, 3, 4)를 사용하여 호흡곤란이 일상생활에 미치는 영향을 평가한다.

## 2. 주요 바이오마커의 측정 방법

### (1) 염증관련지표

#### (가) 기관지 내 알레르기성 염증개선

##### ① 면역세포

###### ■ 총 염증세포(total inflammatory cell) 수

세포의 종류 및 수의 차이를 분석하기 위해서 각 세포 샘플을 염색시약에 정해진 항체를 이용하여 10분간 염색한 후 유세포분석기(FACS)를 이용하여 분석한다. 분석 결과를 관련 소프트웨어를 이용하여 세포를 분석하고, 분석한 세포 수와 백분율을 이용해 총 세포 수 및 %를 계산한다. 또는 bronchoalveolar lavage fluid(BALF) 내 존재하는 각종 면역 세포의 개수를 확인하기 위해 cytopsin을 이용하여 면역 세포들을 슬라이드 글라스에 부착시킨 후 hematoxylin & eosin(H&E 염색)(혹은 Wright's 염색, Diff-Quick 시약) 염색 후 광학 현미경이나 이미지 소프트웨어로 관찰할 수 있다. 또한, 자동 세포 카운터(automated cell counter)를 사용할 수 있다.

###### ■ 총 백혈구(leukocyte) 수

세포의 종류 및 수의 차이를 분석하기 위해서 각 세포 샘플을 염색시약에 정해진 항체를 이용하여 10분간 염색한 후 유세포분석기(FACS)를 이용하여 분석한다. 분석 결과를 관련 소프트웨어를 이용하여 세포를 분석하고, 분석한 세포 수와 백분율을 이용해 총 세포 수 및 %를 계산한다.

###### ■ 호산구(eosinophil) 수

세포의 종류 및 수의 차이를 분석하기 위해서 각 세포 샘플을 염색시약에 정해진 항체를 이용하여 10분간 염색한 후 유세포분석기(FACS)를 이용하여 분석한다. 분석 결과를 관련 소프트웨어를 이용하여 세포를 분석하고, 분석한 세포 수와 백분율을 이용해 총 세포 수 및 %를 계산한다.

###### ■ 비만세포(master cell)

세포의 종류 및 수의 차이를 분석하기 위해서 각 세포 샘플을 염색시약에 정해진 항체를 이용하여 10분간 염색한 후 유세포분석기(FACS)를 이용하여 분석한다. 분석 결과를 관련 소프트웨어를 이용하여 세포를 분석하고, 분석한 세포 수와 백분율을 이용해 총 세포 수 및

%를 계산한다. 일반적인 조직염색법을 이용하여 측정할 수도 있으며, 이때 염색시약은 toluidine blue를 사용한다.

- T 세포, B 세포

세포의 종류 및 수의 차이를 분석하기 위해서 각 세포 샘플을 염색시약에 정해진 항체를 이용하여 10분간 염색한 후 유세포분석기(FACS)를 이용하여 분석한다. 분석 결과를 관련 소프트웨어를 이용하여 세포를 분석하고, 분석한 세포 수와 백분율을 이용해 총 세포수 및 %를 계산한다.

- T 세포 subunit(Th2, Th1/Th2 ratio)

세포의 종류 및 수의 차이를 분석하기 위해서 각 세포 샘플을 염색시약에 정해진 항체를 이용하여 10분간 염색한 후 유세포분석기(FACS)를 이용하여 분석한다. 분석 결과를 관련 소프트웨어를 이용하여 세포를 분석하고, 분석한 세포 수와 백분율을 이용해 총 세포 수 및 %를 계산한다.

## ② 면역물질

- 인터루킨: IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, IL-17, IL-23

객담, 혈장, BALF 등에서 측정 가능하며, enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA), western blotting, reverse transcription polymerase chain reaction(RT-PCR) 방법 등을 이용한다. ELISA는 제조사가 제공한 방법으로 실험하며, 일반적으로 western blotting 96-well에 각각의 1'-항체를 4℃, overnight으로 인큐베이션한다. Tween 20이 0.05% 포함된 PBS로 well을 세척하고, 1% BSA로 blocking 한다. 각각의 well에 BALF 샘플을 넣고, 2시간 상온에서 방치한다. 그 후 2'-항체를 이용하여 1시간 상온에 방치 및 기질/종료 시약을 처리한 후 450nm에서 microplate reader로 측정한다. 상용화된 enzyme immunoassay kit는 제조사가 제공한 방법으로 분석한다. RT-PCR 분석을 위해서는 각 세포와 조직에서 유전자 발현 분석을 위해 RNA를 추출하고, RTase, dNTP, Oligo-dT를 이용하여 cDNA를 합성한다. 합성된 cDNA는 각 유전자 조건으로 real-time PCR을 실시한다. 각 유전자 발현은 housekeeping 유전자(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH 등)를 internal control로 사용하여 상대적 정량값을 비교 분석한다.

- TNF- $\alpha$

객담, 혈장, BALF 등에서 측정 가능하며, ELISA, western blotting, RT-PCR 방법 등을 이용한다. ELISA, western blotting, RT-PCR 방법은 상기 명기한 바와 동일하다.

- IgE

상용화된 ELISA kit를 활용하여 450 nm에서 microplate spectrophotometer로 측정한다.

- 류코트리엔(Leukotriene)

세포배양 후 상층액 혹은 혈장을 이용하여 류코트리엔 농도를 측정할 수 있으며, ELISA나 western blotting 방법을 이용한다. ELISA는 제조사가 제공한 방법으로 측정한다.

- eotaxin

혈장, BALF에서 측정하며, ELISA, western blotting 등을 이용한다. ELISA는 450nm에서 microplate reader를 이용하여 측정한다. 세포 내 eotaxin 발현도는 mRNA를 측정하며 qRT-PCR을 이용한다.

### ③ 관련기전

- NF- $\kappa$ B pathway

기전은 주로 western blotting을 통한 단백질을 정량하고, mRNA를 이용한 RT-PCR을 사용하기도 한다. luciferase 활성 측정으로 유전자 발현에 미치는 영향을 정량적으로 측정할 수 있으며, 상용화된 Kit와 제조사가 제공한 방법에 따라 측정한다.

- MAPK pathway

기전은 주로 western blotting을 통한 단백질 정량을 하고, mRNA를 이용한 RT-PCR을 사용하기도 한다. RT-PCR 방법은 상기 명기한 바와 동일하다.

- PTEN/PI3K/AKT pathway

기전은 주로 western blotting을 통한 단백질 정량을 하고, mRNA를 이용한 RT-PCR을 사용하기도 한다. RT-PCR 방법은 상기 명기한 바와 동일하다.

## (나) 만성염증상태개선

### ① 면역세포

- 총 염증세포(total inflammatory cell) 수

세포의 종류 및 수의 차이를 분석하기 위해서 각 세포 샘플을 염색 시약에 정해진 항체를 이용하여 10분간 염색한 후 유세포분석기(FACS)를 이용하여 분석한다. 분석 결과를 관련

소프트웨어를 이용하여 세포를 분석하고, 분석한 세포 수와 백분율을 이용해 총 세포 수 및 %를 계산한다. 또는 BALF 내 존재하는 각종 면역 세포의 개수를 확인하기 위해 cyto-spin을 이용하여 면역 세포들을 슬라이드 글라스에 부착시킨 후 H&E 염색 후 광학 현미경으로 관찰할 수 있다.

■ 총 백혈구(leukocyte) 수

세포의 종류 및 수의 차이를 분석하기 위해서 각 세포 샘플을 염색시약에 정해진 항체를 이용하여 10분간 염색한 후 유세포분석기(FACS)를 이용하여 분석한다. 분석 결과를 관련 소프트웨어를 이용하여 세포를 분석하고, 분석한 세포 수와 백분율을 이용해 총 세포수 및 %를 계산한다.

■ 호중구(neutrophil) 수

세포의 종류 및 수의 차이를 분석하기 위해서 각 세포 샘플을 염색시약에 정해진 항체를 이용하여 10분간 염색한 후 유세포분석기(FACS)를 이용하여 분석한다. 분석 결과를 관련 소프트웨어를 이용하여 세포를 분석하고, 분석한 세포 수와 백분율을 이용해 총 세포 수 및 %를 계산한다.

■ 단핵구(monocyte) 수

세포의 종류 및 수의 차이를 분석하기 위해서 각 세포 샘플을 염색시약에 정해진 항체를 이용하여 10분간 염색한 후 유세포분석기(FACS)를 이용하여 분석한다. 분석 결과를 관련 소프트웨어를 이용하여 세포를 분석하고, 분석한 세포 수와 백분율을 이용해 총 세포 수 및 %를 계산한다.

■ 대식세포(macrophage) 수

세포의 종류 및 수의 차이를 분석하기 위해서 각 세포 샘플을 염색시약에 정해진 항체를 이용하여 10분간 염색한 후 유세포분석기(FACS)를 이용하여 분석한다. 분석 결과를 관련 소프트웨어를 이용하여 세포를 분석하고, 분석한 세포 수와 백분율을 이용해 총 세포 수 및 %를 계산한다.

■ T 세포 subunit(Th1, Th17)

세포의 종류 및 수의 차이를 분석하기 위해서 각 세포 샘플을 염색시약에 정해진 항체를 이용하여 염색한 후 유세포분석기(FACS)를 이용하여 분석한다. 분석 결과를 관련 소프트웨어를 이용하여 세포를 분석하고, 분석한 세포 수와 백분율을 이용해 총 세포 수 및 %를 계산한다.

## ② 면역물질

▪ 인터루킨; IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8

BALF에서 분석할 수 있으며, ELISA, western blotting, RT-PCR 등을 이용할 수 있다. ELISA는 제조사가 제공한 방법으로 실험하며, 일반적으로 western blotting 96-well에 각각의 항체를 4 $^{\circ}$ C, overnight으로 인큐베이션한다. Tween 20이 0.05% 포함된 PBS로 well을 세척하고, 1% BSA로 blocking 한다. 각각의 well에 BALF 샘플을 넣고, 2시간 동안 상온에서 방치한다. 그 후 2'-항체를 이용하여 1시간 상온에 방치 및 기질/종료 시약을 처리한 후 450nm에서 microplate reader로 측정한다. 상용화된 enzyme immunoassay kit는 제조사가 제공한 방법으로 분석한다. RT-PCR 분석을 위해서는 각 세포와 조직에서 유전자 발현 분석을 위해 RNA를 추출하고, RTase, dNTP, Oligo-dT를 이용하여 cDNA를 합성한다. 합성된 cDNA는 각 유전자 조건으로 real-time PCR을 실시한다. 각 유전자 발현은 housekeeping 유전자 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH 등)를 internal control로 사용하여 상대적 정량값을 비교 분석한다.

▪ TNF- $\alpha$ 

BALF, 혈장 등에서 ELISA, western blotting, RT-PCR 방법을 이용하여 분석할 수 있다. ELISA, western blotting, RT-PCR 방법은 상기 명기한 내용과 동일하다.

▪ TGF- $\beta$ 

BALF, 혈장 등에서 ELISA, western blotting, RT-PCR 방법을 이용하여 분석할 수 있다. ELISA, western blotting, RT-PCR 방법은 상기 명기한 내용과 동일하다.

## ▪ IgG

BALF, 혈장 등에서 ELISA, western blotting, RT-PCR 방법을 이용하여 분석할 수 있다. ELISA, western blotting, RT-PCR 방법은 상기 명기한 내용과 동일하다.

▪ IFN- $\gamma$ 

BALF, 혈장 등에서 ELISA, western blotting, RT-PCR 방법을 이용하여 분석할 수 있다. ELISA, western blotting, RT-PCR 방법은 상기 명기한 내용과 동일하다.

## ▪ CXC ligand(CXCL1, CXCL2)

BALF, 혈장 등에서 ELISA, western blotting, RT-PCR 방법을 이용하여 분석할 수 있다. ELISA, western blotting, RT-PCR 방법은 상기 명기한 내용과 동일하다.

## ③ 관련 효소

## ■ iNOS

효소의 활성은 western blotting 및 RT-PCR을 이용하여 분석할 수 있다. Western blotting, RT-PCR 방법은 상기 명기한 내용과 동일하다.

## ■ COX-2

효소의 활성은 western blotting 및 RT-PCR을 이용하여 분석할 수 있다. Western blotting, RT-PCR 방법은 상기 명기한 내용과 동일하다.

## ④ 관련기전

■ NF- $\kappa$ B pathway

기전은 주로 western blotting을 통한 단백질 정량을 하고, RNA를 이용한 RT-PCR을 사용하기도 한다. Western blotting, RT-PCR 방법은 상기 명기한 내용과 동일하다.

## ■ MAPK pathway

기전은 주로 western blotting을 통한 단백질 정량을 하고, RNA를 이용한 RT-PCR을 사용하기도 한다. Western blotting, RT-PCR 방법은 상기 명기한 내용과 동일하다.

## ■ PTEN/PI3K/AKT pathway

기전은 주로 western blotting을 통한 단백질 정량을 하고, RNA를 이용한 RT-PCR을 사용하기도 한다. Western blotting, RT-PCR 방법은 상기 명기한 내용과 동일하다.

## (다) 기관지내 항산화능개선

## ① 항산화효소(GPx, GSH, SOD, catalase) 활성

항산화 효소 중 SOD, catalase, GPx 등의 활성은 혈장이나 적혈구에서 측정한다. 각 효소의 상용 kits로 검출하거나 SOD는 Oyanagui법, catalase는 Aebi법으로 540 nm에서 흡광도를 측정한다.

폐 조직 중 항산화효소의 활성은 폐 조직을 균질화하여 원심분리 후 상층액을 이용하여 측정한다. 일반적으로 상용화된 enzymatic assay kit를 사용하여 측정하고, 제조사가 제공한 방법에 따라 실험한다.

② 과산화물질 농도(ROS, 8-isoprostane, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NO)

## ▪ ROS 측정

2',7'-dichlorofluorescein diacetate(DCF-DA)를 이용하여 세포 배양후 ROS 수준을 측정할 수 있다. 간단하게는 세포를 serum-free RPMI 1640과 DCF-DA에서 배양한다. 세포는 3.7% 포르말린으로 고정한 후 PBS로 세척한다. 세포 내 DCF-DA 감도는 microplate reader를 이용하여 495 nm/529 nm에서 측정한다. ROS 수준은 생존 세포에 대한 DCF-DA 비율을 이용해서 계산한다. 또한, CellROX Green detection reagent를 이용할 수 있다. 이는 형광 탐침을 이용하여 산화적 스트레스 정도를 측정할 수 있으며, ROS 정도가 강해지면 밝은 녹색 형광 비율이 감소하게 된다. 정량적 분석을 위해서는 Muse Oxidative Stress Kit와 Muse cytometer를 이용할 수 있다. 키트 내부의 negative control과 positive control을 이용하여 계산한다.

▪ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 측정

amplex red assay로 측정하고, 형광분석을 이용한다.

## ▪ 8-isoprostane 측정

세포 상등액을 이용하여 일반적으로 상용화된 enzymatic assay kit를 사용하여 측정하고, 제조사가 제공한 방법에 따라 실험한다.

## ▪ NO 측정

NO는 Griess assay를 통해 세포 상등액을 이용하여 측정한다. 제조사가 제공한 방법으로 실험을 진행하며, 일반적으로 세포 상등액과 Griess 염색 시약을 혼합하여 5분간 배양시킨 후 아질산염의 농도를 microplate reader로 570nm에서 흡광도를 측정하여 분석한다. 검량선 작성을 위해 sodium nitrite(NaNO<sub>2</sub>)를 표준품으로 하여 비교한다.

## (2) 병리적 지표

### (가) 근육수축 정도 개선

#### ① 기도 평활근 수축정도

Epithelium intact와 denuded tracheal ring(TR)을 챔버를 활용하여 측정한다. 동물을 희생한 후 기관을 4-5mm 정도로 절단한다. Epithelium을 제거하고, TR을 이용해 한쪽은 Krebs 용액 속에 연결하고, 다른 한쪽은 strain gauge transducer에 연결한다. Carbachol 또는 아세틸콜린을 투여해 기도 평활근을 수축시킨 후 시험물질을 이용하여 수축 변화 정도를 관찰한다.

세포의 경우 공초점(Confocal) 현미경을 이용하여 세포 내 칼슘이온 농도를 측정하여 수축정도를 판단할 수 있다.

#### ② 기도과민성측정(Penh value)

챔버 내에서 메타콜린을 농도별로 초음파 연무기로 스프레이한다. 기관지 수축정도는 whole-body plethysmography를 이용하여 측정하고, 에어로졸로 3분간 흡입 후 3분 동안의 enhanced pause(Penh) 값을 구하여 기도 저항성을 측정한다. 공식은 다음과 같다.

$$\text{Penh} = (\text{Te}/\text{TR}-1) \times \text{PEF}/\text{PIF}$$

Te: 흡기 끝에서 다음 흡기까지의 시간(ch)

RT: 호기동안 호기량이 일회호흡량의 30%가 남을 때 까지 걸리는 시간

PEF: peak expiratory flow rate (mL/s)

PIF: peak inspiratory flow rate (mL/s)

### (나) 조직섬유화개선

#### ① 기관지 두께

기관지 하부의 섬유화 정도는 masson's trichrome 염색으로 측정하고, 기저막 하부에 교원섬유가 염색된 푸른색의 화소수를 측정하여 퍼센트로 계산한 섬유화지수(fibrosis index)를 구하거나 기관지 직경을 측정한다. 루멘직경의 측정과 가장 긴 부분에 걸쳐 평활근의 가장 바깥층 원형 또는 타원형 기관지에서 가장 짧은 수직 부분을 이미지 프로그램을 이용하여 형태학적으로 측정한다.

## ② 평활근 두께

Masson's Trichrome 염색을 시행하여 기저막 하부에 평활근으로 염색되는 부위의 면적을 측정한다. 모든 기관지는 기저막 둘레의 길이를 기준으로 크기가 유사하고 비교적 원형 모양을 띠는 2개 또는 3개를 정해 평균값을 계산한다. 또는 hydroxy proline assay, Sircol assay를 활용할 수 있다. Hydroxy proline assay는 검체를 가수분해시킨 뒤 상층액에 수산화나트륨 수용액을 첨가하여 중화한다. 콜라겐 표준품을 이용하여 표준용액을 조제한 후 염산 용액을 이용하여 희석하고 수산화나트륨 수용액을 첨가하여 중화한다. 중화한 시료와 표준용액에 chloramine-T 용액을 분주한다. 그 후 시료에 ehrlich's aldehyde reagent를 첨가한다. 최종 반응 후 분광광도계로 550 nm에서 흡광도를 측정한다. Sircol assay는 폐 조직의 콜라겐 축적 정도를 판단할 수 있으며, 상용화된 sircol collagen assay kit를 이용하고, 매뉴얼에 따라 측정한다. 콜라겐 축적 정도는 조직학적 염색법에 따라서도 측정가능하며 sirius red-picric 용액을 이용하여 염색한다. 염색된 조직은 현미경을 이용하여 관찰하며, 이미지 프로그램으로 측정량을 산정한다.

## (다) 점액과분비개선

### ① 점액분비세포의 과증식

기관지 상피세포에서 술잔세포는 periodic acid-schiff(PAS) 염색으로 확인하고, 전체 기관지 상피세포 중에서 PAS에 염색되는 세포의 비율에 따라서 5단계로 점수를 부여하여 측정한다. 즉 PAS 양성 세포가 하나도 없는 경우는 0점, 25% 미만이 양성인 경우는 1점, 25-50% 미만이 양성인 경우는 2점, 50-75% 미만이 양성인 경우는 3점, 75-100% 미만이 양성인 경우 또는 점액에 의해 기관지가 막힌 경우는 4점으로 한다.

### ② 점액(뮤신)생성량

가래를 없애는 거담활성 측정은 마우스 모델을 이용한 페놀레드 배출법으로 측정한다. 페놀레드를 복강 주사하고 30분 후 동물모델의 기관(trachea)을 분리한다. 분리된 기관은 세척하고, 원심분리 후 상등액을 분리하고, 수산화나트륨 시약을 첨가한다. 546 nm에서 흡광도를 측정하여 배출된 페놀레드의 농도로 거담 활성을 평가한다.

세포에서는 뮤신생성량을 세포배양 후 상층액에서 enzyme-linked lectin-assay를 이용하여 측정한다.

### ③ 점액생성 유전자 발현도(MUC5AC, MUC5B, MUC2)

기전은 주로 western blotting을 통한 단백질 정량을 실시하고, RNA를 이용한 RT-PCR을 사용하기도 한다.

### (3) 임상 지표

#### (가) 기관·기관지 상태 측정

##### ① 기침빈도, 가래 빈도, 가래 배출량

기침, 가래 빈도 등은 인체적용시험 시에는 주관적 문답으로 진행한다. 동물실험의 경우 챔버를 이용하여 기침 빈도를 측정한다. 챔버 내에서 시험물질을 스프레이하여 시험 시작전과 후의 특정시간동안(예. 2분) 기침 빈도, 기침 정도를 확인할 수 있다. 동물의 가래는 거담활성으로 측정하며, 페놀레드시약을 복강 내 주사하고, 동물 희생 후 기관지를 분리하고, 기관지에 식염수를 통과시켜, 식염수를 받아낸다. 이후 식염수는 1 mL NaHCO<sub>3</sub>를 첨가한 후 558nm의 분광광도계를 이용하여 흡광도를 측정한다.

##### ② 노력성 폐활량(FVC), 1초간 노력성 호기량(FEV1), FEV1/FVC 비율

폐기능검사는 spirometry를 이용하여 대상자가 시간에 따라 호기와 흡기의 부피와 유량을 측정한다. 동물시험 시 일 호흡량(tidal volume)과 호흡률은 MP-35 등의 설비를 이용하여 측정할 수 있다.

##### ③ 최대호기유량, 최대흡기유량, 분당환기량

인체적용시험시 최대호기유량과 최대흡기유량은 호기유속기(peak flow meter)를 이용하여 측정하고, 기도가 좁을수록 점수가 낮아진다.

분당환기량은 1회 호흡량과 분당호흡수에 의해 결정되고, 안정 시 분당 호흡수는 약 12회 정도이고, 1회 호흡량은 약 0.5 L 정도이다.

##### ④ 호기산화질소(FeNO; Fractional Exhaled Nitric Oxide)

호기산화질소(FeNO) 검사는 기도 염증 정도를 확인하는 검사로 측정기에 연결된 마우스 피스를 물고 약 10초간 일정한 속도로 숨을 내쉬게 하여 검사한다.

## (나) 주관적 설문

## ① BCSS 설문지

호흡곤란, 기침, 객담 3가지 분류에 대해 각각 5점 척도로 기록하게 되어있고, 0(무증상)~4(매우 심각) 단계까지 있다.

How much difficulty did you have breathing today?
0=None - unaware of any difficulty
1=Mild - noticeable during strenuous activity (e.g. running)
2=Moderate - noticeable during light activity (e.g. bedmaking)
3=Marked - noticeable when washing or dressing
4=Severe - almost constant, present even when resting
How was your cough today?
0=None - unaware of coughing
1=Rare - cough now and then
2=Occasional - less than hourly
3=Frequent - one or more times an hour
4=Almost constant - never free of cough or need to cough
How much trouble was your sputum today?
0=None - unaware of any difficulty
1=Mild - rarely caused problem
2=Moderate - noticeable as a problem
3=Marked - caused a great deal of inconvenience
4=Severe - an almost constant problem

그림 10. BCSS 설문지

[출처: Leidy et al. Respir Med. 2003, 97(Suppl A):S59-S70]

## ② CSS 설문지

낮과 밤 각각의 기침 빈도, 강도 등의 증증도를 주관적으로 평가하는 도구로 기침으로 인한 불편도가 전혀 없으면 0점, 최대로 심한 경우에는 10점이 된다.

**낮에 기침을 얼마나 하시나요?**

- ⓐ 낮에 기침 없음
- ① 낮에 잠깐 동안의 기침이 한 번 정도
- ② 낮에 잠깐 동안의 기침이 두 번 이상
- ③ 낮에 기침이 자주 있지만 일상 생활에 지장을 주지는 않음
- ④ 낮에 잦은 기침으로 일상 생활에 지장이 있음
- ⑤ 낮에 거의 종일 매우 심하게 기침함

**밤에 기침을 얼마나 하시나요?**

- ⓐ 밤에 기침 없음
- ① 밤에 깨어 있을 때만 기침, 자면 괜찮음
- ② 밤에 기침으로 한 번 정도 자다가 깨거나 일찍 일어남
- ③ 밤에 기침으로 자주 잠을 깬
- ④ 거의 밤새 기침함
- ⑤ 거의 밤새 잠을 잘 수 없도록 심하게 기침함

**그림 11. CSS 설문지**

[출처: 대한결핵 및 호흡기학회, 기침진료지침(2020)]

③ LCQ 설문지

기침에 따른 삶의 질을 측정하기 위한 19문항으로 구성되어 있고 신체적, 정신적, 사회적 영역으로 나누어져 있고 각각 1점에서 7점의 점수로 되어 있어 점수가 높을수록 건강한 상태를 의미한다.

이 설문지는 당신 삶의 다양한 측면에 대한 기침의 영향을 평가하기 위한 것입니다. 각 질문을 주의 깊게 읽고 귀하께 가장 잘 해당되는 답을 표시하십시오. 가능한 정확하게 모든 질문에 답해 주시기 바랍니다.

01. 지난 2주 동안, 기침으로 인해 가슴통증이나 복통을 느낀 적이 있습니까?

1. 항상      2. 대부분 시간      3. 상당한 시간      4. 때때로      5. 약간      6. 거의 없음      7. 전혀 없음

02. 지난 2주 동안, 기침할 때 가래 때문에 불편했습니까?

1. 항상      2. 대부분      3. 여러 번      4. 때때로      5. 드물게      6. 거의 없음      7. 전혀 없음

03. 지난 2주 동안, 기침 때문에 피곤을 느꼈습니까?

1. 항상      2. 대부분 시간      3. 상당한 시간      4. 때때로      5. 약간      6. 거의 없음      7. 전혀 없음

04. 지난 2주 동안, 당신이 기침을 조절할 수 있다고 느꼈습니까?

1. 전혀 안됨      2. 거의 안됨      3. 약간 조절      4. 때때로 조절      5. 상당히 조절      6. 대부분 조절      7. 항상 조절됨

05. 지난 2주 동안, 당신은 기침 때문에 얼마나 자주 곤란함을 느꼈습니까?

1. 항상      2. 대부분 시간      3. 상당한 시간      4. 때때로      5. 약간      6. 거의 없음      7. 전혀 없음

06. 지난 2주 동안, 나는 기침 때문에 걱정스러웠다.  
 1. 항상      2. 대부분 시간   3. 상당한 시간   4. 때때로      5. 약간      6. 거의 없음      7. 전혀 없음
07. 지난 2주 동안, 나는 기침 때문에 직장 생활이나 일상 생활을 하는데 지장이 있었다.  
 1. 항상      2. 대부분 시간   3. 상당한 시간   4. 때때로      5. 약간      6. 거의 없음      7. 전혀 없음
08. 지난 2주 동안, 기침은 내가 일상생활을 즐겁게 보내는 것에 방해가 되었다.  
 1. 항상      2. 대부분 시간   3. 상당한 시간   4. 때때로      5. 약간      6. 거의 없음      7. 전혀 없음
09. 지난 2주 동안, 나는 페인트 냄새나 매연을 맡으면 기침을 하였다.  
 1. 항상      2. 대부분 시간   3. 상당한 시간   4. 때때로      5. 약간      6. 거의 없음      7. 전혀 없음
10. 지난 2주 동안, 기침 때문에 잠을 자는 데 지장이 있었습니까?  
 1. 항상      2. 대부분 시간   3. 상당한 시간   4. 때때로      5. 약간      6. 거의 없음      7. 전혀 없음
11. 지난 2주 동안, '기침이 발작적으로 계속 나오는 경우가 하루에 몇 번이나 있었습니까?'  
 1. 항상      2. 대부분 시간   3. 상당한 시간   4. 때때로      5. 약간      6. 거의 없음      7. 전혀 없음
12. 지난 2주 동안, 나는 기침 때문에 좌절감을 느꼈다.  
 1. 항상      2. 대부분 시간   3. 상당한 시간   4. 때때로      5. 약간      6. 거의 없음      7. 전혀 없음
13. 지난 2주 동안, 나는 기침이 지긋지긋하다고 느꼈다.  
 1. 항상      2. 대부분 시간   3. 상당한 시간   4. 때때로      5. 약간      6. 거의 없음      7. 전혀 없음
14. 지난 2주 동안, 당신은 기침 때문에 심 목소리로 고생한 적이 있습니까?  
 1. 항상      2. 대부분 시간   3. 상당한 시간   4. 때때로      5. 약간      6. 거의 없음      7. 전혀 없음
15. 지난 2주 동안, 당신은 활력이 넘쳤습니까?  
 1. 전혀 없음      2. 거의 없음      3. 약간      4. 때때로      5. 상당한 시간      6. 대부분 시간      7. 항상
16. 지난 2주 동안, 당신은 기침 때문에 심각한 병이 있을까 봐 걱정을 한 적이 있습니까?  
 1. 항상      2. 대부분 시간   3. 상당한 시간   4. 때때로      5. 약간      6. 거의 없음      7. 전혀 없음
17. 지난 2주 동안, 당신은 기침 때문에 다른 사람들이 당신 건강에 문제가 있다고 생각할까 봐 걱정한 적이 있습니까?  
 1. 항상      2. 대부분 시간   3. 상당한 시간   4. 때때로      5. 약간      6. 거의 없음      7. 전혀 없음
18. 지난 2주 동안, 기침 때문에 대화나 전화 통화에 지장이 있었다.  
 1. 항상      2. 대부분 시간   3. 상당한 시간   4. 때때로      5. 약간      6. 거의 없음      7. 전혀 없음
19. 지난 2주 동안, 나는 내 기침 때문에 동료나 가족, 친구들이 불편했을 것이라고 생각한다.  
 1. 기침할 때마다 항상      2. 대부분      3. 상당한 부분      4. 때때로      5. 약간      6. 거의 없음      7. 전혀 없음

### 그림 12. LCQ 질문지

[출처: 대한결핵 및 호흡기학회, 기침진료지침(2020)]

#### ④ VAS 설문지

기침의 심한 정도에 대한 주관적 평가 방법으로 기침의 강도를 0에서 10까지 측정하는 것으로 기침 없음에서 최고로 심함으로 해석한다. 기침이 나올 것 같은 충동의 정도, 기침의 빈도, 기침의 강도 등에도 각각 사용될 수 있다.

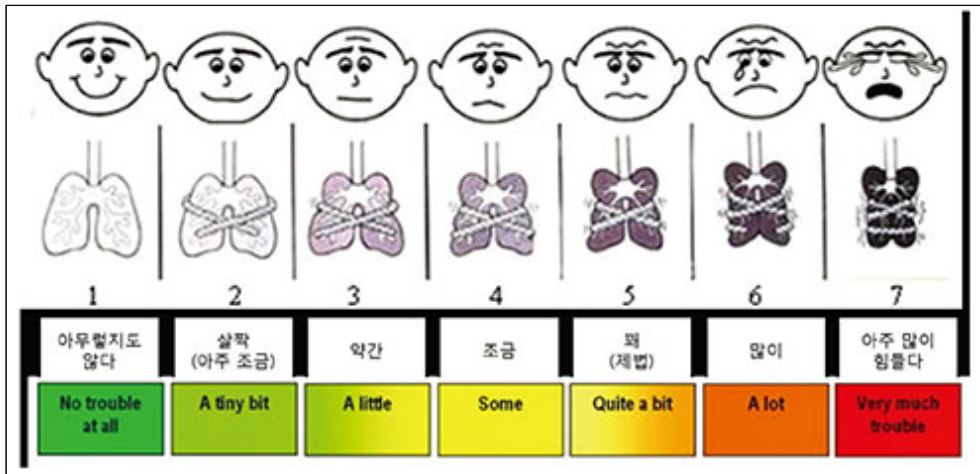


그림 13. VAS 설문지

[출처: Allergy Asthma RespirDis. 5(5):262-268(2017)]

⑤ COAT 설문지

가래, 기침, 호흡곤란 등을 0~4점으로 점수화한다. 점수가 높을수록 나빠짐을 의미한다.

COAT는 기침의 심한 정도를 측정하기 위한 설문지로 5가지 문항(기침의 빈도, 일상생활의 장애, 수면 장애, 피로감, 기도 과민성)으로 구성된다. 각 문항당 0~4점 척도로 총 점수는 0~20점이다.

	Not at all	Occasionally	Somewhat	Very much	Extremely
How frequent did you cough?	①	②	③	④	⑤
How much did coughing affect your daily life?	①	②	③	④	⑤
How bothersome was the cough on your sleep?	①	②	③	④	⑤
How easily did you feel fatigued by the cough?	①	②	③	④	⑤
Did you cough more often when in dust, smelling irritant odor or inhaling cold air?	①	②	③	④	⑤
<b>Total score</b>					

그림 14. COAT 설문지

[출처: Koo et al. Respiriology. 2019, 24(6):551-557]

⑥ 삶의 질 평가 설문지

주관적 설문지로 삶의 질에 대한 평가를 점수화하고 각 구분별로 레벨이 올라갈수록 질은 나빠짐을 의미한다.

EuroQol그룹에서 개발한 일반적 건강관련 삶의 질(health related quality of life, HRQOL) 측정도구로 운동능력(mobility), 자기관리(self-care), 일상활동(usual activities, 예: 일, 공부, 가사일, 가족 또는 여가 활동), 통증/불편감(pain/discomfort), 불안/우울감(anxiety/ depression)의 5개 차원으로 구성되어 있고 3가지 척도(어려움 없음, 약간 어려움, 어려움 많음)로 분류하고 있다.

차원	항목	척도
운동능력	나는 걷는데 지장이 없다	<input type="checkbox"/>
	나는 걷는데 다소 지장이 있다	<input type="checkbox"/>
	나는 종일 누워있어야 한다	<input type="checkbox"/>
자기관리	나는 목욕을 하거나 옷을 입는데 지장이 없다	<input type="checkbox"/>
	나는 혼자 목욕을 하거나 옷을 입는데 다소 지장이 있다	<input type="checkbox"/>
	나는 혼자 목욕을 하거나 옷을 입을 수가 없다	<input type="checkbox"/>
일상활동	나는 일상활동을 하는데 지장이 없다	<input type="checkbox"/>
	나는 일상활동을 하는데 다소 지장이 있다	<input type="checkbox"/>
	나는 일상활동을 할 수가 없다	<input type="checkbox"/>
통증/불편	나는 통증이나 불편감이 없다	<input type="checkbox"/>
	나는 다소 통증이나 불편감이 있다	<input type="checkbox"/>
	나는 매우 심한 통증이나 불편감이 있다	<input type="checkbox"/>
불안/우울	나는 불안하거나 우울하지 않다	<input type="checkbox"/>
	나는 다소 불안하거나 우울하다	<input type="checkbox"/>
	나는 매우 심하게 불안하거나 우울하다	<input type="checkbox"/>

그림 15. EQ-5D 질문지

[출처: Kim et al. Qual Life Res. 2005, 14(5):1401-1406]

### ⑦ SGRQ 설문지

SGRQ 점수는 총 100점으로 합산할 수 있으며, 점수가 높을수록 호흡기 증상이 나빠짐을 의미하고, 0점에 가까울수록 삶의 질이 가장 좋은 것으로 해석한다.

총 50개의 문항으로 구성되어 있으며, ‘증상 심각도’, ‘신체활동’, ‘영향정도’에 대한 영역 별 판단과 ‘총 점수’로 구분하여 판단할 수 있다. 증상의 심각도는 최근 4주간의 경험을 바탕으로 판단하며, 신체활동은 일상생활능력을 기준으로 판단한다. 영향정도는 현재 발생하는 호흡기 증상으로 인해 일상생활에 미치는 영향을 판단할 수 있으며, 총 점수는 모든 영역의 점수를 합산한다.

## St. George's Respiratory Questionnaire PART 1

**Questions about how much chest trouble you have had over the past 3 months.**

Please tick (✓) *one* box for each question:

	most days a week	several days a week	a few days a month	only with chest infections	not at all
1. Over the past 3 months, I have coughed:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Over the past 3 months, I have brought up phlegm (sputum):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Over the past 3 months, I have had shortness of breath:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Over the past 3 months, I have had attacks of wheezing:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. During the past 3 months how many severe or very unpleasant attacks of chest trouble have you had?	Please tick (✓) <i>one</i> : more than 3 attacks <input type="checkbox"/> 3 attacks <input type="checkbox"/> 2 attacks <input type="checkbox"/> 1 attack <input type="checkbox"/> no attacks <input type="checkbox"/>				
6. How long did the worst attack of chest trouble last? (Go to question 7 if you had no severe attacks)	Please tick (✓) <i>one</i> : a week or more <input type="checkbox"/> 3 or more days <input type="checkbox"/> 1 or 2 days <input type="checkbox"/> less than a day <input type="checkbox"/>				
7. Over the past 3 months, in an average week, how many good days (with little chest trouble) have you had?	Please tick (✓) <i>one</i> : No good days <input type="checkbox"/> 1 or 2 good days <input type="checkbox"/> 3 or 4 good days <input type="checkbox"/> nearly every day is good <input type="checkbox"/> every day is good <input type="checkbox"/>				
8. If you have a wheeze, is it worse in the morning?	Please tick (✓) <i>one</i> : No <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/>				

## St. George's Respiratory Questionnaire PART 2

### Section 1

How would you describe your chest condition?

Please tick (✓) one:

- The most important problem I have
- Causes me quite a lot of problems
- Causes me a few problems
- Causes no problem

If you have ever had paid employment.

Please tick (✓) one:

- My chest trouble made me stop work altogether
- My chest trouble interferes with my work or made me change my work
- My chest trouble does not affect my work

### Section 2

**Questions about what activities usually make you feel breathless these days.**

Please tick (✓) in *each box* that applies to you *these days*:

	True	False
Sitting or lying still	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Getting washed or dressed	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Walking around the home	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Walking outside on the level	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Walking up a flight of stairs	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Walking up hills	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Playing sports or games	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**Section 3**

**Some more questions about your cough and breathlessness these days.**

Please tick (✓) in **each box** that applies to you **these days**:

	True	False
My cough hurts	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
My cough makes me tired	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
I am breathless when I talk	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
I am breathless when I bend over	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
My cough or breathing disturbs my sleep	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
I get exhausted easily	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**Section 4**

**Questions about other effects that your chest trouble may have on you these days.**

Please tick (✓) in **each box** that applies to you **these days**:

	True	False
My cough or breathing is embarrassing in public	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
My chest trouble is a nuisance to my family, friends or neighbours	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
I get afraid or panic when I cannot get my breath	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
I feel that I am not in control of my chest problem	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
I do not expect my chest to get any better	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
I have become frail or an invalid because of my chest	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Exercise is not safe for me	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Everything seems too much of an effort	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**Section 5**

**Questions about your medication, if you are receiving no medication go straight to section 6.**

Please tick (✓) in **each box** that applies to you **these days**:

	True	False
My medication does not help me very much	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
I get embarrassed using my medication in public	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
I have unpleasant side effects from my medication	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
My medication interferes with my life a lot	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

## Section 6

**These are questions about how your activities might be affected by your breathing.**

Please tick (✓) in **each box** that applies to you **because of your breathing**:

	True	False
I take a long time to get washed or dressed	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
I cannot take a bath or shower, or I take a long time	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
I walk slower than other people, or I stop for rests	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Jobs such as housework take a long time, or I have to stop for rests	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
If I walk up one flight of stairs, I have to go slowly or stop	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
If I hurry or walk fast, I have to stop or slow down	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
My breathing makes it difficult to do things such as walk up hills, carrying things up stairs, light gardening such as weeding, dance, play bowls or play golf	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
My breathing makes it difficult to do things such as carry heavy loads, dig the garden or shovel snow, jog or walk at 5 miles per hour, play tennis or swim	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
My breathing makes it difficult to do things such as very heavy manual work, run, cycle, swim fast or play competitive sports	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

## Section 7

**We would like to know how your chest usually affects your daily life.**

Please tick (✓) in **each box** that applies to you **because of your chest trouble**:

	True	False
I cannot play sports or games	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
I cannot go out for entertainment or recreation	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
I cannot go out of the house to do the shopping	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
I cannot do housework	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
I cannot move far from my bed or chair	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

## St. George's Respiratory Questionnaire

**Here is a list of other activities that your chest trouble may prevent you doing. (You do not have to tick these, they are just to remind you of ways in which your breathlessness may affect you):**

- Going for walks or walking the dog
- Doing things at home or in the garden
- Sexual intercourse
- Going out to church, pub, club or place of entertainment
- Going out in bad weather or into smoky rooms
- Visiting family or friends or playing with children

Please write in any other important activities that your chest trouble may stop you doing:

.....

.....

.....

.....

Now would you tick in the box (one only) which you think best describes how your chest affects you:

- It does not stop me doing anything I would like to do
- It stops me doing one or two things I would like to do
- It stops me doing most of the things I would like to do
- It stops me doing everything I would like to do

*Thank you for filling in this questionnaire. Before you finish would you please check to see that you have answered all the questions.*

### 그림 16. SGRQ 설문지

[출처: Jones et al., Am Rev Respir Dis, 145:1321-1327(1992)]

#### ⑧ CAT 설문지

총 8가지 문항으로 구성되어 있고, 각 문항이 0-5점으로 평가한다. 각 문항의 점수를 합산하여 0~40점까지 산정하고 점수가 높을수록 호흡기 증상이 삶의 질에 심각한 영향을 미치는 것으로 판단한다.

		점수					
나는 전혀 기침을 하지 않는다	0 1 2 3 4 5	나는 항상 기침을 한다					
나는 가슴에 전혀 가래가 없다	0 1 2 3 4 5	나는 가슴에 가래가 가득 차 있다					
나는 전혀 가슴이 답답함을 느끼지 않는다	0 1 2 3 4 5	나는 가슴이 매우 답답함을 느낀다					
나는 먼덕이나 개먼을 오를 때 전혀 숨이 차지 않는다	0 1 2 3 4 5	나는 먼덕이나 개먼을 오를 때 매우 숨이 차다					
나는 집에서 활동하는데 전혀 제약을 받지 않는다	0 1 2 3 4 5	나는 집에서 활동하는데 많은 제약을 받는다					
폐질환에도 불구하고 나는 외출하는데 자신이 있다	0 1 2 3 4 5	폐질환으로 인하여 나는 외출하는데 전혀 자신이 없다					
나는 잠을 깊어 잔다	0 1 2 3 4 5	폐질환으로 인하여 나는 잠을 깊어 자지 못한다					
나는 기운이 왕성하다	0 1 2 3 4 5	나는 전혀 기운이 없다					

그림 17. CAT 설문지

[출처: Hwang et al. Tuberc Respir Dis (Seoul), 2013, 74: 256-263]

⑨ mMRC scale

호흡기능의 심각한 정도를 각 문항의 점수에 따라 호흡기능을 판단한다. 0점과 1점은 심각성이 좀 덜한 편이며, 2점 이상이면 호흡곤란 정도가 심하다고 판단한다.

Grade	호흡곤란 정도
0	힘든 일을 할 때만 숨이 차다
1	평지를 빠르게 걷거나 약간 경사진 길을 오르면 숨이 차다.
2	평지에서 걸을 때 숨이 차서 같은 나이의 정상인에 비해 늦게 걷거나 내 속도에 맞게 걸을 때도 숨이 차서 멈추어야 한다.
3	평지에서 100m 정도 걷거나 몇 분만 걸어도 숨이 차서 멈추어야 한다.
4	너무 숨이 차서 집에서 나오기 힘들거나 옷을 갈아입을 때도 숨이 차다.

그림 18. mMRC

[출처: Bestall et al. Thorax. 1999, 54:581-586]

### 3. 시험 설계 시 고려사항

#### 가. 시험관시험

##### (1) 시험계

인간기도평활근세포(ASMC), 인간기도상피세포(NHBE), 대식세포(rat alveolar macrophage, Raw 264.7 cell), 기관지상피세포(primary bronchial epithelial cell)를 활용하여 염증성 사이토카인이나 염증개선 기전 연구에서 단백질 발현 변화 등을 관찰한다. 세포는 대부분 LPS, TNF- $\alpha$  또는 산화적 스트레스로 염증을 자극한다.

##### (2) 바이오마커

원료의 작용 기전을 설명하기 위하여 바이오마커의 양, 활성, 단백질 발현, mRNA 발현 등을 측정한다.

##### (3) 통계처리

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

#### 나. 동물시험

##### (1) 실험동물

관찰하고자 하는 목적에 따라 다양한 모델을 사용하여 기관·기관지 상태 개선에 대한 효과를 종합적으로 판단하며, 사용되는 동물모델의 예는 표 4와 같다.

표 4. 동물모델 사례

동물모델	유도방법
알레르기 염증 유도 모델	Ovalbumin-induced BALB/c
	ODE(유기먼지추출물)-induced C57BL/6
만성 염증 유도모델	Cigarette smoke induced SD rat
	ODE(유기먼지추출물)-induced C57BL/6
	LPS-induced BALB/c
	PM(미세먼지)-induced SD rat

## (2) 바이오마커

실험동물을 대상으로 원료의 작용기전을 설명하기 위해 바이오마커의 양, 활성, 단백질 발현, mRNA 발현 등을 측정한다.

## (3) 통계처리

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

## 다. 인체적용시험

### (1) 시험대상

#### (가) 시험대상자(예시)

- 40세 이상 80세 이하의 성인
- ex-smoker(시험시작 3개월 이전에 금연한 자)
- 폐활량 검사, 영상 검사 등을 통해 만성폐질환 증상이 있더라도 규칙적인 약물치료가 필요하지 않은 자

(나) 대상자 제외기준(예시)

- 현재 흡연자
- 질병상태
  - alpha1-antitrypsin 결핍증
  - 지난 3개월간 천식, 만성염증상태, 전신감염상태였던 경우
  - 간질환 혹은 심장질환이 있는 경우
- 생리적 상태
  - 임신부, 임신을 준비하는 사람
  - 수유부
- 약물복용
  - 약물중독
  - 면역억제제 복용자
  - 항혈전제, 항당뇨제, 항우울제 복용자
  - 글루코코르티코이드 복용자
- 생활 습관
  - 알코올 섭취 > 20 g/일(여성, 맥주 2잔 혹은 소주 2잔), 30 g/일(남성, 맥주3잔 혹은 소주3잔)
- 알레르기
  - 시험물질에 대한 알레르기/부작용이 있는 자
- 기타
  - 시험시작 2주 이내에 호흡기 건강개선과 관련된 건강기능식품을 복용한 자
  - 최근 3개월 내 다른 임상 실험 참가자
  - 그 외 연구자에 의해 실험에 부적합하다고 판단되는 사람
  - 만성 호흡기 질환을 갖고 있어 약물 치료자는 제외

(2) 시험설계

시험디자인은 무작위배정(randomization), 위약대조연구(Randomized, controlled trial, RCT)를 기본으로 한다. 연구대상자는 통계적으로 power calculation을 수행하여 대상자수 산출방법을 적절히 가지도록 한다.

연구에 참여한 연구대상자들의 기초 특성이 자세히 고려될 수 있도록 하며, 선정 및 배제 기준을 고려하여 선택된 대상자의 기초특성에 대한 차이 분석이 필요하다. 특히 시험물질 순응도를 반드시 확인하여, 군간 순응도 차이가 나타나지 않도록 함이 권장된다.

시험기간 및 섭취량은 2주~16주까지 광범위하게 조사되고 있으므로, 시험물질에 따른 적절한 증재기간을 설정할 수 있도록 한다.

시험 결과에 영향을 미칠 수 있는 중요한 요소(성별, 연령, 흡연력, 음주력, 약물복용력, 음주습관, 알레르기원, 비만도, 식이섭취량, 신체활동량, 선행·병용약물 복용, 동반질환, 계절, 직업 등)가 편중되지 않도록 한다.

### (3) 바이오마커

바이오마커는 기전별로 다양한 지표들이 포함되어 있기 때문에 연구 목적에 부합하는 기전을 선정하고, 관련된 바이오마커의 결과에 일관성이 나타나야 한다.(Ⅲ. 기능성 시험방법 1. 가. 연구유형별 바이오마커 참고)

### (4) 통계처리

인구학적 자료 및 기초특성의 측정지표에 대한 통계분석 방법을 기술하고 분석군(ITT, FAS, PP)에 대해 명확하게 정의하여 주분석군 설정에 대한 설명이 계획서와 결과보고서에 기술되도록 한다. 또한, 기능성 평가지표에 대한 통계분석방법 및 중도탈락자 및 결측 처리에 대한 통계분석 방법을 명확히 한다. 연구 개시 후 측정 시기 및 방법의 변화가 있는 경우, 그 변경 사유를 기술하여야 하며, 층화 분석, 보정분석 등이 제출된 경우, 사전 계획 여부가 기술되도록 한다. 이때, 각 군별 기능성 평가지표에 대한 분석 결과에 사용된 통계분석 방법, 군간 통계적 유의성, 시험대상자 수, 평균, 표준편차 등이 확인될 수 있도록 하여야 하며 통계 분석 방법의 변경이 있는 경우, 변경사항에 대해 기술하도록 한다. 시험결과는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여  $p < 0.05$  수준에서 유의성을 판정한다.

## 1. 종속변수가 범주형일 경우

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

### 1.1. Chi-square test

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

### 1.2. McNemar's test

- 군 내의 전후 차이를 비교할 때 사용됨

## 2. 종속변수가 연속형이고 비교군이 2개일 경우

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

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

#### 2.1.1. Wilcoxon's signed-ranks test

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

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

#### 2.2.1. Wilcoxon's rank sum T-test

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

### 2.3. Linear mixed effect model

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

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

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

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

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

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

※ 변수 분포의 정규성 검정

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

### 4. 교란변수 보정이 필요한 경우

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

#### 4.1. ANCOVA

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

#### 4.2. Linear mixed effect model

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

## 4. 안전성 평가

인체적용시험에서 시험물질의 섭취로 인한 안전성 평가를 위해 활력징후, 심전도 검사, 혈액학적·혈액화학적 검사, 뇨검사를 실시하는 것이 일반적이며 기능성 원료의 특성과 기능성 내용에 따라 안전성 평가항목이 추가될 수 있다.

※ [참고] 안전성 검사항목(예시)

- (활력징후) 체중, 체온, 맥박, 혈압 등
- (혈액학적 검사) WBC, RBC, Hb, Hct, PLT, MCV, MCH, MCHC, Neutrophil, Lymphocyte, Monocyte, Eosinophil, Basophil 등
- (혈액화학적 검사) AST, ALT, BUN, creatinine, glucose, total protein, albumin, total cholesterol, LDL, HDL, triglyceride, GGT, ALP, CPK, LDH 등
- (뇨검사) pH, Nitrite, specific gravity, Protein, Glucose, Ketone, Bilirubin, Blood, Urobilinogen, Color 등

## IV

## 참고문헌

1. 강남이, 권순형, 김경민, 김순미, 정혜경, 조미숙. 영양생리학. 지구문화사, 2017
2. 권순석, 김치홍, 안중현, 김승준, 이숙영, 김영균, 김관형, 문화식, 송정섭, 박성학, 김영실. 비씨지가 집먼지 진드기 유도성 알레르기성 천식 마우스의 기도개형에 미치는 영향. 대한내과학회지. 2004, 67(supple2):388-397
3. 권오경, 강성희. 기니픽에서 heparin 및 protamine이 기도 평활근 수축에 미치는 영향. 대한마취과학회지. 2005, 48:177-181
4. 김선태. 점액의 생산 및 분비. Korean J otolarynol. 2005, 48:556-562
5. 김진숙, 이정미, 김승준, 이숙영, 권순석, 김영균, 김관형, 문화식, 송정섭, 박성학. 마우스 만성천식모델에서 경구면역관용 유도에 의한 알레르기 염증의 예방효과. Tuberc respir dis 2004, 57:425-433
6. 나가영, 이혜인, 김영광, 문영호. 후박마황탕이 ovalbumin으로 유도된 천식 모델 생쥐에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2018, 39(4):451-462
7. 신한재, 광효민, 이문용, 경중수, 장경화, 한창균, 양원경, 김승형. 배암차즈기와 홍삼 복합물의 호흡기 보호 및 질환 치료 상승 효과. Korean J Medicinal Crop Sci. 2019, 27(3):218-231
8. 안태준, 윤형규. 만성 폐쇄성 폐질환의 유병률 및 사회 경제적 부담. 대한의사협회지. 2018, 61(9):533-538
9. 양은주, 원혜숙, 이현숙, 이은, 박희정, 이선희. 새로쓰는 임상영양학. 교문사. 2019
10. 오주석, 최경호, 김세경, 왕영필, 나석주. 햄스터에서 유발된 amiodarone에 의한 폐섬유화모델에서 vitamin E와 N-acetylcysteine의 효과. 대한응급의학회지. 2003, 14(1): 71-78
11. 유철규. 만성 폐쇄성 폐질환의 병인과 병태생리. 대한내과학회지. 2009, 77(4):383-400
12. 유이란, 김진후, 양원경, 김승형, 박양춘. 미세먼지 관련 호흡기질환 임상연구 동향. 대한한방내과학회지. 2019, 40(3):443-457
13. 이관호. COPD의 진단. 대한내과학회지. 2009, 77(4):401-406
14. 이상엽. 인광호. 천식의 면역학적 기전. Tuberculosis and respiratory disease. 2006, 60(4):1-12
15. 이한별, 김우진, 양세란. 산화스트레스와 항산화효과가 만성 폐쇄성 폐질환의 발생과 악화에 미치는 영향. Obstructive lung disease. 2016, 4(1):8~8
16. 이현재. 염증성 호흡기 질환에서 기도점액 과다분비의 병태생리학적 의의 및 조절 방법 탐색. 약학회지. 2017, 61(1):30-40

17. 최병철. 만성호흡기질환, 이슈&트렌드. 약학정보원, 2019
18. Abboud RT, Vimalanathan S. Pathogenesis of COPD. Part I. The role of protease-antiprotease imbalance in emphysema. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2008, 12(4):361-367
19. Almohawes ZN, Alruhaimi HS. Effect of *Lavandula dentata* extract on Ovalbumin-induced Asthma in Male Guinea Pigs. *Braz J Biol.* 2019, 18:pii: S1519-69842019005002108
20. An X, Zhang AL, May BH, Lin L, Xu Y, Xue CC. Oral Chinese herbal medicine for improvement of quality of life in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review. *J Altern Complement Med.* 2012, 18(8):731-743
21. Barnes PJ. Targeting cytokines to treat asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Nat Rev Immunol.* 2018,18(7):454-466
22. Bestall JC, Paul EA, Garrod R, Garnham R, Jones PW, Wedzicha JA. Usefulness of the Medical Research Council (MRC) dyspnoea scale as a measure of disability in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax.* 1999, 54: 581-586
23. Chen HY, Lin YH, Thien PF, Chang SC, Chen YC, Lo SS, Yang SH, Chen JL. Identifying core herbal treatments for children with asthma: implication from a chinese herbal medicine database in taiwan. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013, 2013:125943
24. Chiu PR, Lee WT, Chu YT, Lee MS, Jong YJ, Hung CH. Effect of the Chinese herb extract osthol on IL-4-induced eotaxin expression in BEAS-2B cells. *Pediatr Neonatol.* 2008, 49(4):135-140
25. Ci X, Zhong W, Ren H, Wen Z, Li D, Peng L. Esculentoside a attenuates allergic airway inflammation via activation of the Nrf-2 Pathway. *Int Arch Allergy Immunol.* 2015, 167(4):280-290
26. Clark CE, Arnold E, Lasserson TJ, Wu T. Herbal interventions for chronic asthma in adults and children: a systematic review and meta-analysis. *Prim Care Respir J.* 2010, 19(4):307-314
27. COPD 진료지침 (2018), 대한결핵 및 호흡기학회, COPD 진료지침 개정위원회
28. Ge Y, Zhang F, Qin Q, Shang Y, Wan D. In Vivo Evaluation of the antiasthmatic, antitussive, and expectorant activities and chemical components of three *Elaeagnus* leaves. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2015, 2015:428208

29. Gerald CL, McClendon CJ, Ranabhat RS, Waterman JT, Kloc LL, Conklin DR, Barton KT, Khatiwada JR, Williams LL. Sorrel extract reduces oxidant production in airway epithelial cells exposed to swine barn dust extract in vitro. *Mediators Inflamm.* 2019, 2019:7420468
30. Hwang KA, Hwang YJ, Song J. Aster yomena extract ameliorates pro-inflammatory immune response by suppressing NF- $\kappa$ B activation in RAW 264.7 cells. *J Chin Med Assoc.* 2018, 81(2):102-110
31. Hwang YI, Jung KS, Lim SY, Lee YS, Kwon NH. A validation study for the Korean version of Chronic Obstructive Pulmonary Disease Assessment Test (CAT). *Tuberc Respir Dis (Seoul).* 2013, 74:256-263
32. Hwang YI, Park YB, Yoo KH. (2017). Recent Trends in the Prevalence of Chronic Obstructive Pulmonary Disease in Korea. *Tuberc Respir Dis (Seoul).* 80(3), 226-9
33. Hocaoglu AB, Karaman O, Erge DO, Erbil G, Yilmaz O, Bagriyanik A, Uzuner N. Glycyrrhizin and long-term histopathologic changes in a murine model of asthma. *Curr Ther Res Clin Exp.* 2011, 72(6):250-261
34. Hocaoglu AB, Karaman O, Erge DO, Erbil G, Yilmaz O, Kivcak B, Bagriyanik HA, Uzuner N. Effect of Hedera helix on lung histopathology in chronic asthma. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2012, 11(4):316-323
35. Hong M, Hong C, Chen H, Ke G, Huang J, Huang X, Liu Y, Li F, Li C. Effects of the Chinese herb formula Yufeining on stable chronic obstructive pulmonary disease: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Medicine (Baltimore).* 2018, 97(39):e12461.
36. Huntley A, Ernst E. Herbal medicines for asthma: a systematic review. *Thorax.* 2000, 55(11):925-9.
37. Jeon WY, Shin IS, Shin HK, Jin SE, Lee MY. Aqueous extract of Gumiganghwaltang, a traditional herbal medicine, reduces pulmonary fibrosis by transforming growth factor- $\beta$ 1/Smad signaling pathway in murine model of chronic asthma. *PLoS One.* 2016, 14:11(10):e0164833: 1-15
38. Jin H, Cai C, Li B, Jin W, Xia J, Wang L, Ma S. Modified Si-Jun-Zi-Tang attenuates airway inflammation in a murine model of chronic asthma by inhibiting Teff cells via the mTORC1 pathway. *Front Pharmacol.* 2019, 10:161:1-10
39. Jung TY, Lee AY, Song JH, Lee MY, Lim JO, Lee SJ, Ko JW, Shin NR, Kim JC, Shin IS, Kim JS. *Scrophularia koraiensis* Nakai attenuates allergic airway inflammation

- via suppression of NF- $\kappa$ B and enhancement of Nrf2/HO-1 Signaling. *Antioxidants* (Basel). 2020, 9(2):pii E99-112.
40. Koo HK, Jeong I, Kim JH, Kim SK, Shin JW, Park SY, Rhee CK, Choi EY, Moon JY, Kim YH, Lee H, Kang HS, Min KH, Kim JW, Kim JH, Lee SH, Yoo KH, Kim DK, Yoon HK, Kim DG, Kim HJ, Jung KS, Jang SH; Cough Study Group of the Korean Academy of Tuberculosis and Respiratory Diseases. Development and validation of the COugh Assessment Test (COAT). *Respirology*. 2019, 24(6):551-557
  41. Kim MH, Cho YS, Uhm WS, Kim S, Bae SC. Cross-cultural adaptation and validation of the Korean version of the EQ-5D in patients with rheumatic diseases. *Qual Life Res*. 2005, 14(5):1401-1406
  42. Koshak A, Koshak E, Heinrich M. Medicinal benefits of *Nigella sativa* in bronchial asthma: A literature review. *Saudi Pharm J*. 2017, 25(8):1130-1136.
  43. Lee H, Kim Y, Kim HJ, Park S, Jang YP, Jung S, Jung H, Bae H. Herbal formula, PM014, attenuates lung inflammation in a murine model of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2012, 2012:article ID769830
  44. Lee H, Jung KH, Park S, Kil YS, Chung EY, Jang YP, Seo EK, Bae H. Inhibitory effects of *Stemona tuberosa* on lung inflammation in a subacute cigarette smoke-induced mouse model. *BMC Complement Altern Med*. 2014, 14:513-525
  45. Leidy NK, Schmier JK, Jones MK, Lloyd J, Rocchiccioli K. Evaluating symptoms in chronic obstructive pulmonary disease: validation of the Breathlessness, Cough and Sputum Scale. *Respir Med*. 2003, 97(Suppl A):S59-S70
  46. Lin SC, Shi LS, Ye YL. Advanced molecular knowledge of therapeutic drugs and natural products focusing on inflammatory cytokines in asthma. *Cells*. 2019, 8(7):685-709
  47. Liu S, Chen J, Zuo J, Lai J, Wu L, Guo X. Comparative effectiveness of six Chinese herb formulas for acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review and network meta-analysis. *BMC Complement Altern Med*. 2019, 19(1):226-240
  48. Mahajan SG, Banerjee A, Chauhan BF, Padh H, Nivsarkar M, Mehta AA. Inhibitory effect of n-butanol fraction of *Moringa oleifera* Lam. seeds on ovalbumin-induced airway inflammation in a guinea pig model of asthma. *Int J Toxicol*. 2009, 28(6):519-527

49. Moon J, Cho ES, Lee MY, Son HY, Lee K. Magnesium augments immunosuppressive effects of a corticosteroid in obese mice with airway inflammation. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2019,4. doi: 10.12932/AP-091018-0412. [Epub ahead of print]
50. Ni L, Dong C. Roles of Myeloid and Lymphoid Cells in the Pathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Front Immunol.* 2018, 9:1431-1443
51. Santos Serafim Machado M, Ferreira Silva HB, Rios R, Pires de Oliveira A, Vilany Queiroz Carneiro N, Santos Costa R, Santos Alves W, Meneses Souza FL, da Silva Velozo E, Alves de Souza S, Sarmento Silva TM, Silva ML, Pontes-de-Carvalho LC, Alcântara-Neves NM, Figueiredo CA. The anti-allergic activity of *Cymbopogon citratus* is mediated via inhibition of nuclear factor kappa B (Nf-*K*b) activation. *BMC Complement Altern Med.* 2015, 15:168-182
52. She YS, Ma LQ, Liu BB, Zhang WJ, Qiu JY, Chen YY, Li MY, Xue L, Luo X, Wang Q, Xu H, Zang DA, Zhao XX, Cao L, Shen J, Peng YB, Zhao P, Yu MF, Chen W, Nie X, Shen C, Chen S, Chen S, Qin G, Dai J, Chen J, Liu QH. Semen cassiae extract inhibits contraction of airway smooth muscle. *Front Pharmacol.* 2018, 4:9:article ID 1389.
53. Seo JH, Bang MA, Kim G, Cho SS, Park DH. *Erythronium japonicum* attenuates histopathological lung abnormalities in a mouse model of ovalbumin-induced asthma. *Int J Mol Med.* 2016, 37(5):1221-1228
54. Soriano JB, Rodriguez-Roisin R. (2011). Chronic obstructive pulmonary disease overview: epidemiology, risk factors, and clinical presentation. *Proc Am Thorac Soc.* 8(4), 363-7
55. Sumi Y, Hamid Q. Airway remodeling in asthma. *Allergol Int.* 2007, 56(4):341-348
56. Xu B, Huang S, Wang C, Zhang H, Fang S, Zhang Y. Anti-inflammatory effects of dihydromyricetin in a mouse model of asthma. *Mol Med Rep.* 2017, 15(6): 3674-3680
57. Yang N, Liang B, Srivastava K, Zeng J, Zhan J, Brown L, Sampson H, Goldfarb J, Emala C, Li XM. The *Sophora flavescens* flavonoid compound trifolirhizin inhibits acetylcholine induced airway smooth muscle contraction. *Phytochemistry.* 2013, 95:259-267
58. Zheng M, Guo X, Pan R, Gao J, Zang B, Jin M. Hydroxysafflor yellow a alleviates ovalbumin-induced asthma in a guinea pig model by attenuateing the expression of inflammatory cytokines and signal transduction. *Front Pharmacol.* 2019, 5(10):

328-339

59. Zu Y, Li D, Lei X, Zhang H. Effects of the Chinese herbal formula San-Huang Gu-Ben Zhi-Ke treatment on stable chronic obstructive pulmonary disease: study protocol of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Trials*. 2019, 20(1):647-654
60. 국가건강정보포털 [health.cdc.go.kr](http://health.cdc.go.kr)
61. 대한결핵 및 호흡기학회 (2016). 2016 폐기능검사 지침
62. 대한천식알레르기학회 (2015). 한국천식진료지침
63. 서울아산병원 질환백과 <http://www.amc.seoul.kr/asan/healthinfo/disease/diseaseSubmain.do>
64. 질병관리청 국가건강정보포털(<https://health.kdca.go.kr>) > 건강정보 > 호흡 > 질병 및 장애 > 만성 폐쇄성 폐질환 또는 천식 [https://health.kdca.go.kr/healthinfo/biz/health/gnrlzHealthInfo/gnrlzHealthInfo/gnrlzHealthInfoView.do?cntnts\\_sn=5839](https://health.kdca.go.kr/healthinfo/biz/health/gnrlzHealthInfo/gnrlzHealthInfo/gnrlzHealthInfoView.do?cntnts_sn=5839)
65. Global Initiative for Asthma (2020). Global Strategy for Asthma Management and Prevention, 2020. [www.ginasthma.org](http://www.ginasthma.org)
66. MSD 매뉴얼 [www.msdmanuals.com/ko](http://www.msdmanuals.com/ko)

## 건강기능식품 기능성 평가 가이드(민원인 안내서)

- 기관·기관지 상태(기침·가래 등) 관련 -

---

발행인 : 강석연

편집위원장 : 오금순

편집위원 : 이해영, 김용무, 박유경, 서은채, 정유경, 이다선,  
성예지, 전해린, 류다연, 김기욱

발행처 : 식품의약품안전평가원

발행일 : 2024년 10월

문의처 : 식품위해평가부 영양기능연구과  
043-719-4402

---

## 건강기능식품 기능성 평가 가이드 (민원인 안내서)

### 기관·기관지 상태(기침·가래 등) 관련



**【부패. 공익신고】 신고자 및 신고내용은 보호됩니다.**

- ▶ 식약처 홈페이지 “국민소통 > 국민신문고 > 부패.공익신고” 코너
- ▶ 식약처 홈페이지 “국민소통 > 신고센터 > 부패.공익신고 상담” 코너