



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0060385
(43) 공개일자 2017년06월01일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/68 (2006.01) G01N 33/50 (2017.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/68 (2013.01)
G01N 33/5088 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0164790
(22) 출원일자 2015년11월24일
심사청구일자 2015년11월24일

(71) 출원인
이화여자대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)
(72) 발명자
권오란
서울특별시 용산구 서빙고로 67, 34층 105-3401호
김유진
서울특별시 강서구 양천로67길 54, 201-603호
(74) 대리인
이원희

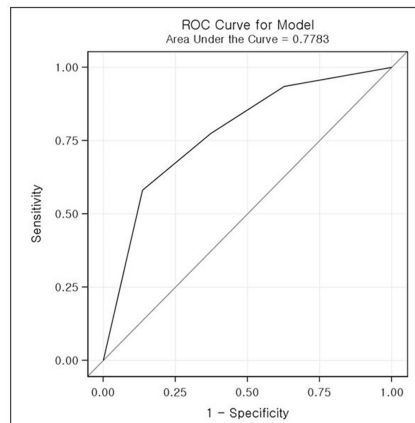
전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 **항산화 및 항염증 식품 소재의 중재 효과 예측 지표 대사체**

(57) 요약

본 발명은 항산화 식품 소재의 중재 효과 예측 지표 대사체에 관한 것으로, 항산화 활성이 있는 식품 소재를 섭취하였을 때 혈 중 생화학적 지표 및 뇨 대사체의 변화를 관찰한 결과, 초기 뇨 대사체(glycine 및 N-phenylacetylglycine) 수준이 높을수록 식품 소재의 섭취로 인한 항산화능(GSH:GSSG ratio)의 변화를 잘 설명하는 것을 확인하였으므로, 상기 두 대사체를 이용하여 산화적 손상 정도가 높은 사람을 진단하고 항산화 식품 소재의 중재 효과를 예측할 있는 키트로써 활용할 수 있다.

대표도 - 도3



Variable	Sens	Spec	PPV	NPV
Set	58.1	86.4	69.2	79.7

(52) CPC특허분류

G01N 33/6812 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2012M3A9C4048761

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 바이오의료기술개발사업

연구과제명 인체시험기반 MC/MT 효능검증 기술개발

기 여 율 1/1

주관기관 이화여자대학교 산학협력단

연구기간 2012.09.01 ~ 2022.08.31

명세서

청구범위

청구항 1

- 1) 일회성의 중강도 트레드밀 운동(treadmill exercise)을 수행한 개체로부터 소변을 채취하는 단계;
- 2) 상기 단계 1)의 채취한 소변에서 글라이신(glycine) 및 N-페닐아세틸글라이신(N-phenylacetyl glycine)을 포함하는 대사체의 농도를 측정하는 단계;
- 3) 상기 단계 2)의 글라이신의 농도가 0.086 ppm 이상이고 N-페닐아세틸글라이신의 농도가 0.026 ppm 이상인 개체를 선별하는 단계;
- 4) 상기 단계 3)에서 선별된 개체에 식품을 섭취시키고, 일회성의 중강도 트레드밀 운동 전 및 후에 혈액을 채취하는 단계; 및
- 5) 상기 단계 4)에서 채취된 혈액으로부터 산화적 손상 관련 지표의 변화를 측정하는 단계를 포함하는, 식품 소재의 항산화능을 예측하는 방법.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 단계 1) 및 4)의 중강도 트레드밀 운동은 최대산소섭취량(maximum oxygen consumption, VO_{2max})의 60%의 강도에서 30분간 수행되는 것을 특징으로 하는, 식품 소재의 항산화능을 예측하는 방법.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 단계 1)의 개체는 만 30세 이상 60세 미만의 과체중 ($23 \leq BMI(kg/m^2) < 30$)인 성인남녀인 것을 특징으로 하는, 식품 소재의 항산화능을 예측하는 방법.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 단계 4)의 섭취는 1일에 30 g씩 4주간 섭취하는 것을 특징으로 하는, 식품 소재의 항산화능을 예측하는 방법.

청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 단계 5)의 산화적 손상 관련 지표는 적혈구 내의 글루타티온(reduced glutathione)에 대한 산화된 글루타티온(oxidized glutathione)의 비율(GSH:GSSG)인 것을 특징으로 하는, 식품 소재의 항산화능을 예측하는 방법.

청구항 6

- 1) 일회성의 중강도 트레드밀 운동(treadmill exercise)을 수행한 개체로부터 소변을 채취하는 단계;
- 2) 상기 단계 1)의 채취한 소변에서 글라이신(glycine) 및 N-페닐아세틸글라이신(N-phenylacetyl glycine)을 포함하는 대사체의 농도를 측정하는 단계;
- 3) 상기 단계 2)의 글라이신의 농도가 0.086 ppm 이상이고 N-페닐아세틸글라이신의 농도가 0.026 ppm 이상인 개

체를 선별하는 단계;

- 4) 상기 단계 3)에서 선별된 개체에 항산화 효과를 가지는지 판단하고자 하는 식품을 섭취시키고, 일회성의 중강도 트레드밀 운동 전 및 후에 혈액을 채취하는 단계; 및
- 5) 상기 단계 4)에서 채취된 혈액으로부터 산화적 손상 관련 지표의 변화를 측정하는 단계를 포함하는, 항산화 효과를 가지는 식품을 선별하는 방법.

청구항 7

제 6항에 있어서, 상기 단계 1) 및 4)의 중강도 트레드밀 운동은 최대산소섭취량(maximum oxygen consumption, VO_{2max})의 60%의 강도에서 30분간 수행되는 것을 특징으로 하는, 항산화 효과를 가지는 식품을 선별하는 방법.

청구항 8

제 6항에 있어서, 상기 단계 1)의 개체는 만 30세 이상 60세 미만의 과체중 ($23 \leq BMI(kg/m^2) < 30$)인 성인남녀인 것을 특징으로 하는, 항산화 효과를 가지는 식품을 선별하는 방법.

청구항 9

제 6항에 있어서, 상기 단계 4)의 섭취는 1일에 30 g씩 4주간 섭취하는 것을 특징으로 하는, 항산화 효과를 가지는 식품을 선별하는 방법.

청구항 10

제 6항에 있어서, 상기 단계 5)의 산화적 손상 관련 지표는 적혈구 내의 글루타티온(reduced glutathione)에 대한 산화된 글루타티온(oxidized glutathione)의 비율(GSH:GSSG)인 것을 특징으로 하는, 항산화 효과를 가지는 식품을 선별하는 방법.

청구항 11

- 1) 일회성의 중강도 트레드밀 운동(treadmill exercise)을 수행한 개체로부터 소변을 채취하는 단계; 및
- 2) 상기 단계 1)의 채취한 소변에서 글라이신의 농도가 0.086 ppm 이상이고 N-페닐아세틸글라이신의 농도가 0.026 ppm 이상인 개체를 선별하는 단계를 포함하는, 산화적 손상 정도가 높은 개체를 판단하는 방법.

청구항 12

제 11항에 있어서, 상기 단계 1)의 중강도 트레드밀 운동은 최대산소섭취량(maximum oxygen consumption, VO_{2max})의 60%의 강도에서 30분간 수행되는 것을 특징으로 하는, 산화적 손상 정도가 높은 개체를 판단하는 방법.

청구항 13

제 11항에 있어서, 상기 단계 1)의 개체는 만 30세 이상 60세 미만의 과체중 ($23 \leq BMI(kg/m^2) < 30$)인 성인남녀

인 것을 특징으로 하는, 산화적 손상 정도가 높은 개체를 판단하는 방법.

청구항 14

- 1) 일회성의 중강도 트레드밀 운동(treadmill exercise)을 수행한 개체로부터 소변을 채취하는 단계;
- 2) 상기 단계 1)의 채취한 소변에서 글라이신의 농도가 0.086 ppm 이상이고 N-페닐아세틸글라이신의 농도가 0.026 ppm 이상인 개체를 선별하는 단계;
- 3) 상기 단계 2)에서 선별된 개체에 식품을 섭취시키고, 일회성의 중강도 트레드밀 운동 전 및 후에 혈액을 채취하는 단계; 및
- 4) 상기 단계 3)에서 채취된 혈액으로부터 산화적 손상 관련 지표의 변화를 측정하는 단계를 포함하는, 개인 맞춤형 항산화 식품 소재 스크리닝 방법.

청구항 15

제 14항에 있어서, 상기 단계 1) 및 3)의 중강도 트레드밀 운동은 최대산소섭취량(maximum oxygen consumption, VO_{2max})의 60%의 강도에서 30분간 수행되는 것을 특징으로 하는, 개인 맞춤형 항염증 또는 항산화 식품 소재 스크리닝 방법.

청구항 16

제 14항에 있어서, 상기 단계 1)의 개체는 만 30세 이상 60세 미만의 과체중 ($23 \leq BMI(kg/m^2) < 30$)인 성인남녀인 것을 특징으로 하는, 개인 맞춤형 항염증 또는 항산화 식품 소재 스크리닝 방법.

청구항 17

제 14항에 있어서, 상기 단계 3)의 섭취는 1일에 30 g씩 4주간 섭취하는 것을 특징으로 하는, 개인 맞춤형 항염증 또는 항산화 식품 소재 스크리닝 방법.

청구항 18

제 14항에 있어서, 상기 단계 4)의 산화적 손상 관련 지표는 적혈구 내의 글루타티온(reduced glutathione)에 대한 산화된 글루타티온(oxidized glutathione)의 비율(GSH:GSSG)인 것을 특징으로 하는, 개인 맞춤형 항염증 또는 항산화 식품 소재 스크리닝 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 항산화 식품 소재의 중재 효과 예측 지표 대사체에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 인체는 정상적인 대사 과정에서 지속적으로 활성 산소균을 생성하는데 이 활성산소균이 신체에 과량 축적되면 인체의 다불포화 지방산, 아미노산, DNA 등에 대해 산화적 손상을 유발하고, 이는 노화, 비만, 당뇨병, 심장질환, 백내장, 황반변성 등 산화적 스트레스와 관련된 만성질환을 유발할 수 있다.

[0003] 항산화영양소는 활성 산소균을 제거하는 역할을 하여 신체 내 과량의 활성 산소균의 축적을 방어하고 산화적 손

상(스트레스) 및 이와 관련된 만성 질환을 방어하거나 지연시킬 수 있다. 저농도의 활성산소는 세포의 증식이나 방어 기작을 약화시키는 반면, 고농도의 활성산소는 노화나 질병을 유발하며, 초고농도의 활성산소는 세포의 사멸을 유발한다. 그렇기 때문에, 세포 내 적정 활성산소의 유지는 항상성을 유지하는 측면에서 매우 중요하다고 할 수 있다. 산화스트레스란 이러한 활성산소의 불균형을 뜻한다.

[0004] 일반적으로 활성산소(자유라디칼)는 체내에 들어온 산소가 완전연소하지 못하고 일부 불완전 환원되는데, 이 때 생긴 화합물을 말하는 것으로, 그 주된 원인은 호흡하는 과정이나 음식물 대사과정을 통하여 필연적으로 발생되고, 담배의 타르성분, 매연의 가스, 변비, 가공식품, 스트레스 및 자외선 등이 활성산소를 유발 또는 활성화시킨다.

[0005] 활성산소의 반응성은 산소분자처럼 매우 낮은 것에서부터 과산화 라디칼(superoxide radical, $O_2 \cdot$), 수산화 라디칼(hydroxyl radical, $OH \cdot$), 과산화수소(hydrogen peroxide, H_2O_2), 단일체 산소(singlet oxygen, 1O_2)와 같이 매우 높은 것에 이르기까지 다양하다(Wettasinghe M, Shahidi F. Scavenging of reactiveoxygen species and DPPH free radicals by extracts of borage and evening primrose meals. Food Chem. 70: 17-26 (2000)). 이들은 생체에 치명적인 산소독성을 일으키며, 세포막 분해, 단백질 분해, 지질 산화, DNA 변성 등을 초래하여 세포의 기능장애를 유발하고 암을 비롯한 뇌졸중, 파킨슨 병 등의 뇌질환과 심장질환, 동맥경화, 염증, 노화, 자가면역질환 등의 각종 질병을 일으키는 것으로 알려져 있다(Sawyer DT, Valentine JS. How super is superoxide ACC. Chem. Res. 14: 393 (1981); Fridorich, I. Biological effects of the superoxide radical. Arch. Biophys. 247: 1-11 (1986); Ames BN. Dietary carcinogens and anticarcinogens. Oxygen radical and degenerative diseases. Science. 221: 1256-1264 (1983)). 특히 생체막의 구성 성분인 불포화지방산을 공격하여 생성되는 과산화 지질의 축적은 생체 기능의 저하나 노화 및 성인병을 유발하는 것으로 알려져 있다(Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. Physiol. Rev. 59:527-605 (1979)). 그러므로 활성 산소를 방어하는 항산화 물질이 이러한 질병의 치료 가능성 때문에 주목받고 있으며, 그 중 천연물에서 추출한 천연 항산화제에 관한 연구가 활발하다.

[0006] 이에, 본 발명자들은 식품 소재의 항산화능을 예측하고 항산화능 식품에 대한 효과를 판단할 수 있는 기준을 찾고자 노력한 결과, 초기 뇨 중 특정 대사체의 특정 농도에서 이러한 식품 소재의 항산화능을 예측할 수 있으며 이러한 항산화능 식품에 대한 효과를 판단할 수 있음을 확인함으로써, 개인 맞춤 영양을 위한 항산화 식품 소재를 선별하는데 사용할 수 있음을 확인하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 항산화 식품 소재의 중재 효과를 예측하기 위한 지표 대사체를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명은,

[0009] 1) 일회성의 중강도 트레드밀 운동(treadmill exercise)을 수행한 개체로부터 소변을 채취하는 단계;

[0010] 2) 상기 단계 1)의 채취한 소변에서 글라이신(glycine) 및 N-페닐아세틸글라이신(N-phenylacetylglutamine)을 포함하는 대사체의 농도를 측정하는 단계;

[0011] 3) 상기 단계 2)의 글라이신의 농도가 0.086 ppm 이상이고 N-페닐아세틸글라이신의 농도가 0.026 ppm 이상인 개체를 선별하는 단계;

[0012] 4) 상기 단계 3)에서 선별된 개체에 식품을 섭취시키고, 일회성의 중강도 트레드밀 운동 전 및 후에 혈액을 채취하는 단계; 및

- [0013] 5) 상기 단계 1) 및 4)에서 채취된 혈액으로부터 산화적 손상 관련 지표의 변화를 측정하는 단계를 포함하는, 식품 소재의 항산화능을 예측하는 방법 및 항산화 효과를 가지는 식품을 선별하는 방법을 제공한다.
- [0014] 또한, 본 발명은
- [0015] 1) 일회성의 중강도 트레드밀 운동(treadmill exercise)을 수행한 개체로부터 소변을 채취하는 단계;
- [0016] 2) 상기 단계 1)의 채취한 소변에서 글라이신의 농도가 0.086 ppm 이상이고 N-페닐아세틸글라이신의 농도가 0.026 ppm 이상인 개체를 선별하는 단계를 포함하는, 산화적 손상 정도가 높은 개체를 판단하는 방법을 제공한다.
- [0017] 아울러, 본 발명은
- [0018] 1) 일회성의 중강도 트레드밀 운동(treadmill exercise)을 수행한 개체로부터 소변을 채취하는 단계;
- [0019] 2) 상기 단계 1)의 채취한 소변에서 글라이신의 농도가 0.086 ppm 이상이고 N-페닐아세틸글라이신의 농도가 0.026 ppm 이상인 개체를 선별하는 단계;
- [0020] 3) 상기 단계 2)에서 선별된 개체에 식품을 섭취시키고, 일회성의 중강도 트레드밀 운동 전 및 후에 혈액을 채취하는 단계; 및
- [0021] 4) 상기 단계 1) 및 3)에서 채취된 혈액으로부터 산화적 손상 관련 지표의 변화를 측정하는 단계를 포함하는, 개인 맞춤형 항산화 식품 소재 스크리닝 방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0022] 본 발명은 항산화 식품 소재의 중재 효과 예측 지표 대사체에 관한 것으로, 항산화 활성이 있는 식품 소재를 섭취하였을 때 혈 중 생화학적 지표 및 뇨 대사체의 변화를 관찰한 결과, 초기 뇨 대사체(glycine 및 N-phenylacetylglutathione) 수준이 높을수록 식품 소재의 섭취로 인한 항산화능(GSH:GSSG ratio)의 변화를 잘 설명하는 것을 확인하였으므로, 상기 두 대사체를 이용하여 산화적 손상 정도가 높은 사람을 진단하고 항산화 식품 소재의 중재 효과를 예측할 있는 키트로서 활용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0023] 도 1은, 본 발명의 실험 과정에 대한 모식도이다.
- 도 2는, 본 발명의 실험 분석 방향에 대한 모식도이다.
- 도 3은, glycine(≥ 0.086 ppm) 및 N-PAG (≥ 0.026 ppm)가 복분자 섭취로 인한 적혈구의 글루타티온(reduced glutathione)에 대한 산화된 글루타티온(oxidized glutathione)의 비율(GSH:GSSG)의 변화를 예측하는데 적합한 지표임을 나타내는 ROC 곡선(receiver operating characteristic curve)을 나타낸 도이다:
- Sens, 감도; spec, 특이도; PPV, 양성 예측 값; 및 NPV, 음성 예측 값.
- 도 4는, 뇨 중 글리신(glycine) 및 N-PAG(N-phenylacetylglutathione)의 기저시점 수준에 따라 구분된 개체 (glycine(≥ 0.086 ppm) 및 N-PAG (≥ 0.026 ppm)인 개체: 보라색 막대, 및 glycine(< 0.086 ppm) 및 N-PAG (< 0.026 ppm)인 개체: 흰색 막대)에서, 생화학적 마커에 대한 복분자 섭취의 효과를 나타낸 도이다:
- (A) 기저 시점에서의 적혈구 GSSG의 기하학적 평균값, GSH:GSSG 비율, 및 TNF- α ; 및
- (B) 기저시점 및 4주째로부터 적혈구 GSH 및 GSH:GSSG의 비율에서의 최소 제곱 평균(LSmean) 변화(SSG, 산화된 글루타티온; GSH, 환원된 글루타티온; N-PAG, N-phenylacetylglutathione).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0024] 이하, 본 발명을 구체적으로 설명한다.

- [0025] 본 발명은,
- [0026] 1) 일회성의 중강도 트레드밀 운동(treadmill exercise)을 수행한 개체로부터 소변을 채취하는 단계;
- [0027] 2) 상기 단계 1)의 채취한 소변에서 글라이신(glycine) 및 N-페닐아세틸글라이신(N-phenylacetyl glycine)을 포함하는 대사체의 농도를 측정하는 단계;
- [0028] 3) 상기 단계 2)의 글라이신의 농도가 0.086 ppm 이상이고 N-페닐아세틸글라이신의 농도가 0.026 ppm 이상인 개체를 선별하는 단계;
- [0029] 4) 상기 단계 3)에서 선별된 개체에 식품을 섭취시키고, 일회성의 중강도 트레드밀 운동 전 및 후에 혈액을 채취하는 단계; 및
- [0030] 5) 상기 단계 4)에서 채취된 혈액으로부터 산화적 손상 관련 지표의 변화를 측정하는 단계를 포함하는, 식품 소재의 항산화능을 예측하는 방법을 제공한다.
- [0031] 상기 단계 1) 및 4)의 중강도 트레드밀 운동은 최대산소섭취량(maximum oxygen consumption, VO_{2max})의 60%의 강도에서 30분간 수행되는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- [0032] 상기 단계 1)의 개체는 만 30세 이상 60세 미만의 과체중 ($23 \leq BMI(kg/m^2) < 30$)인 성인남녀인 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- [0033] 상기 단계 4)의 섭취는 장기 섭취인 것이 바람직하며, 1일에 30 g씩 4주간 섭취하는 것이 가장 바람직하고, 본 발명에서는 4주간 3포/회 및 3회/일로 섭취하였다.
- [0034] 상기 단계 5)의 산화적 손상 관련 지표는 적혈구 내의 글루타티온(reduced glutathione)에 대한 산화된 글루타티온(oxidized glutathione)의 비율(GSH:GSSG), 말론디알데히드(malondialdehyde; MDA) 및 산화된 LDL(oxLDL)인 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 GSH:GSSG 비율이다.
- [0035] 본 발명의 구체적인 실험예에서, 복분자(*Rubus Coreanus* Miquel)의 섭취가 일회성 중강도 트레드밀 운동으로 유도된 산화적 스트레스에 대한 체내의 생리학적 기능에 미치는 영향을 평가하기 위하여 피험자는 만 30세 이상 60세 미만의 과체중 ($23 \leq BMI(kg/m^2) < 30$)인 성인남녀를 대상으로 실험 시작 전 약 2주간 항산화능이 높은 식품(과일, 야채, 차류 등)을 섭취를 적게 유지시킨 다음(run-in period), 4주간 시험 식품(복분자)을 섭취(3포/회, 3회/일)시켰다(intervention period). 대조군(플라시보)은 유당으로 구성된 분말을 섭취하였고 실험군인 복분자군은 복분자 분말을 섭취하게 하였으며 하루에 약 30 g씩 섭취하도록 하였다. 산화적 스트레스를 부여하기 위해 일회성의 중강도 트레드밀 운동을 수행하였으며, 시험식품을 배정받은 시점(기저시점)과 4주간의 시험 식품 섭취를 완료한 시점(종료시점)에서 최대산소섭취량(maximum oxygen consumption, VO_{2max})의 60%의 강도에서 30분간 수행하였다. 이후 혈액을 채취하여 생화학적 지표(항산화능, 염증) 및 뇨 중 대사체(총 64종)의 변화를 관찰하였다.
- [0036] 본 발명자들은 산화적 스트레스를 가함으로써 복분자 섭취(단기 섭취 및 장기 섭취)에 따라 유의하게 변화하는 혈중 항산화 및 염증 지표를 확인하고자 하였고 그 결과, 복분자의 장기 섭취(4주간 섭취)로 인하여 적혈구의 산화된 글루타티온(oxidized glutathione; GSSG, $\beta = -1.197$, $P = 0.021$)은 유의하게 감소하는 것으로 확인되었으며, 환원된 글루타티온(reduced glutathione; GSH) 및 산화된 글루타티온(GSSG)의 비율($\beta = 1.113$, $P = 0.011$)은 유의하게 증가하는 것으로 확인되었다. 산화적 손상 지표인 말론디알데히드(malondialdehyde; MDA) 및 산화된 LDL(oxidized LDL; oxLDL)은 복분자의 장기 섭취에 따라 유의하게 감소하는 것을 확인하였다($\beta = -0.121$, $P = 0.046$ for MDA; $\beta = -0.102$, $P = 0.02$ for oxLDL). 염증 지표인 IL-6 수준도 복분자의 장기 섭취(4주간 섭취)에 따라 유의하게 감소하는 것을 확인하였다($\beta = -0.458$, $P = 0.0001$)(표 1 참조).
- [0037] 또한, 본 발명자들은 산화적 스트레스를 가함으로써 복분자 섭취(단기 섭취 및 장기 섭취)에 따라 유의하게 변화하는 혈장 및 뇨 중 대사체의 변화를 확인하고자 하였다. 복분자의 장기 섭취에 따라 뇨 중 알라닌(alanine), 아스파라진(asparagine), 글루타메이트(glutamate), 글라이신(glycine), 히스티딘(histidine), 라이신(lysine), 구연산염(citrate), 포름산염(formate), 3-인독시설페이트(3-indoxysulfate), 베타인(betaine), N-phenylacetyl glycine, N6-acetyllysine, 아세트산페닐(phenylacetate)은 유의하게 증가($0.001 \leq \beta \leq 0.399$, $0.0001 \leq P \leq 0.025$)한 것을 확인할 수 있었으나, 아데닌(adenine, $\beta = -0.286$, $P = 0.024$) 및 카르니틴(carnitine).

$\beta = -0.555$, $P = 0.001$)은 유의하게 감소하는 것을 확인하였다(표 2 참조).

- [0038] 또한 본 발명자들은 기능성 식품 소재의 섭취에 따른 항산화능 또는 항염증 활성 변화를 가장 잘 예측할 수 있는 뇨 중 대사체의 선정에 대해, 복분자 섭취를 통하여 생화학적 지표와 양/음의 상관관계를 가지는 대사체를 분류하였다. 그 결과, 양의 상관관계를 가진 생화학적 지표와 대사체로는, 적혈구의 GSH:GSSG 비율과, glycine($P = 0.007$) 및 N-phenylacetylglycine(PAG; $P = 0.002$), oxLDL 및 serine($P = 0.040$), IL-6 및 formate($P = 0.014$)이며, 음의 상관관계를 가진 생화학적 지표와 대사체는 적혈구의 GSSG 변화값 및 기저시점의 trimethylamine($P = 0.043$), MDA 수준의 변화 및 기저시점의 adenine($P = 0.028$), IL-6 수준의 변화 및 기저시점의 N6-acetyllysine($P = 0.038$)이다(표 3 참조).
- [0039] 또한, 본 발명자들은 뇨 중 선별된 대사체(glycine 및 N-PAG)가 복분자 섭취로 인한 적혈구의 GSH:GSSG 비율의 변화를 예측하는데 가장 적합한 지표임을 확인하기 위하여 ROC 곡선(receiver operating characteristic curve)을 이용하여 민감도, 특이도 및 기준점을 확인하였다. 그 결과, ROC 곡선 분석에서 ROC 곡선 면적(area under curve)은 0.778이었고, 58.1%의 민감도(sensitivity) 및 86.4%의 특이도(specitivity)를 나타내는 것을 확인하였다(도 3 참조).
- [0040] 또한 본 발명자들은 상기 예측가능지표로 선정된 초기의 뇨 중 대사체, glycine 및 N-PAG의 적합성을 판단하기 위해 특정 농도 수준, 즉 glycine(≥ 0.086 ppm) 및 N-PAG (≥ 0.026 ppm)보다 모두 높은 사람과 그렇지 않은 사람을 비교하였고 그 결과, 기저시점(Week 0)에서 두 대사체 농도가 특정 농도, 즉 glycine(≥ 0.086 ppm) 및 N-PAG (≥ 0.026 ppm)보다 높은 사람에게서 적혈구의 산화된 글루타티온(GSSG)($P = 0.037$)과 혈장의 TNF- α ($P = 0.085$)이 유의하게 높거나 또는 높은 경향이 나타났으며, 적혈구의 GSH:GSSG 비율($P = 0.029$)이 유의하게 낮은 것을 확인하였다(도 4a 참조). 이는 glycine과 N-PAG를 각각 0.086과 0.026 ppm 이상의 농도를 가진 사람들에게서 산화적 손상이 높은 것을 예상해 볼 수 있다.
- [0041] 이를 바탕으로, 기저시점(Week 0)에서 두 대사체 농도가 높은 사람 및 그렇지 않은 사람에게 4주간의 복분자를 섭취하게 한 결과 적혈구의 글루타티온($P = 0.020$) 및 GSH:GSSG 비율($P = 0.008$)이 유의하게 향상된 것을 확인하였다(도 4b 참조). 이는 초기의 산화적 손상 정도가 높은 사람들에게서 식품 소재 섭취로 인한 효과가 잘 나타났음을 확인할 수 있었다.
- [0042] 따라서, 뇨 중 glycine(≥ 0.086 ppm)과 N-PAG (≥ 0.026 ppm)가 복분자 섭취로 인한 적혈구의 글루타티온:산화된 글루타티온(GSH:GSSG) 비율의 변화를 예측하는데 가장 적합한 지표인 것으로 확인되었다.
- [0043] 또한, 본 발명은
- [0044] 1) 일회성의 중강도 트레드밀 운동(treadmill exercise)을 수행한 개체로부터 소변을 채취하는 단계;
- [0045] 2) 상기 단계 1)의 채취한 소변에서 글라이신(glycine) 및 N-페닐아세틸글라이신(N-phenylacetylglycine)을 포함하는 대사체의 농도를 측정하는 단계;
- [0046] 3) 상기 단계 2)의 글라이신의 농도가 0.086 ppm 이상이고 N-페닐아세틸글라이신의 농도가 0.026 ppm 이상인 개체를 선별하는 단계;
- [0047] 4) 상기 단계 3)에서 선별된 개체에 항산화 효과를 가지는지 판단하고자 하는 식품을 섭취시키고, 일회성의 중강도 트레드밀 운동 전 및 후에 혈액을 채취하는 단계; 및
- [0048] 5) 상기 단계 4)에서 채취된 혈액으로부터 산화적 손상 관련 지표의 변화를 측정하는 단계를 포함하는, 항산화 효과를 가지는 식품을 선별하는 방법을 제공한다.
- [0049] 상기 단계 1) 및 4)의 중강도 트레드밀 운동은 최대산소섭취량(maximum oxygen consumption, VO_{2max})의 60%의 강도에서 30분간 수행되는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- [0050] 상기 단계 1)의 개체는 만 30세 이상 60세 미만의 과체중 ($23 \leq BMI(kg/m^2) < 30$)인 성인남녀인 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- [0051] 상기 단계 4)의 섭취는 장기 섭취인 것이 바람직하며, 1일에 30 g씩 4주간 섭취하는 것이 가장 바람직하고, 본 발명에서는 4주간 3포/회 및 3회/일로 섭취하였다.

- [0052] 상기 단계 5)의 산화적 손상 관련 지표는 적혈구 내의 글루타티온(reduced glutathione)에 대한 산화된 글루타티온(oxidized glutathione)의 비율(GSH:GSSG), 말론디알데히드(malondialdehyde; MDA) 및 산화된 LDL(oxLDL)인 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 GSH:GSSG 비율이다.
- [0053] 또한, 본 발명은
- [0054] 1) 일회성의 중강도 트레드밀 운동(treadmill exercise)을 수행한 개체로부터 소변을 채취하는 단계;
- [0055] 2) 상기 단계 1)의 채취한 소변에서 글라이신의 농도가 0.086 ppm 이상이고 N-페닐아세틸글라이신의 농도가 0.026 ppm 이상인 개체를 선별하는 단계를 포함하는, 산화적 손상 정도가 높은 개체를 판단하는 방법을 제공한다.
- [0056] 상기 단계 1)의 중강도 트레드밀 운동은 최대산소섭취량(maximum oxygen consumption, VO_{2max})의 60%의 강도에서 30분간 수행되는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- [0057] 상기 단계 1)의 개체는 만 30세 이상 60세 미만의 과체중 ($23 \leq BMI(kg/m^2) < 30$)인 성인남녀인 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- [0058] 또한, 본 발명은
- [0059] 1) 일회성의 중강도 트레드밀 운동(treadmill exercise)을 수행한 개체로부터 소변을 채취하는 단계;
- [0060] 2) 상기 단계 1)의 채취한 소변에서 글라이신의 농도가 0.086 ppm 이상이고 N-페닐아세틸글라이신의 농도가 0.026 ppm 이상인 개체를 선별하는 단계;
- [0061] 3) 상기 단계 2)에서 선별된 개체에 식품을 섭취시키고, 일회성의 중강도 트레드밀 운동 전 및 후에 혈액을 채취하는 단계; 및
- [0062] 4) 상기 단계 3)에서 채취된 혈액으로부터 산화적 손상 관련 지표의 변화를 측정하는 단계를 포함하는, 개인 맞춤형 항염증 또는 항산화 식품 소재 스크리닝 방법을 제공한다.
- [0063] 상기 단계 1) 및 3)의 중강도 트레드밀 운동은 최대산소섭취량(maximum oxygen consumption, VO_{2max})의 60%의 강도에서 30분간 수행되는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- [0064] 상기 단계 1)의 개체는 만 30세 이상 60세 미만의 과체중 ($23 \leq BMI(kg/m^2) < 30$)인 성인남녀인 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- [0065] 상기 단계 3)의 섭취는 장기 섭취인 것이 바람직하며, 1일에 30 g씩 4주간 섭취하는 것이 가장 바람직하고, 본 발명에서는 4주간 3포/회 및 3회/일로 섭취하였다.
- [0066] 상기 단계 4)의 산화적 손상 관련 지표는 적혈구 내의 글루타티온(reduced glutathione)에 대한 산화된 글루타티온(oxidized glutathione)의 비율(GSH:GSSG), 말론디알데히드(malondialdehyde; MDA) 및 산화된 LDL(oxLDL)인 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 GSH:GSSG 비율이다.
- [0067] 따라서, 본 발명은 항산화 활성이 있는 식품 소재를 섭취하였을 때 혈 중 생화학적 지표 및 뇨 대사체의 변화를 관찰한 결과, 초기 뇨 대사체(glycine 및 N-phenylacetyl glycine) 수준이 높을수록 식품 소재의 섭취로 인한 항산화능(GSH:GSSG ratio)의 변화를 잘 설명하는 것을 확인하였으므로, 상기 두 대사체를 이용하여 산화적 손상 정도가 높은 사람을 진단하고 항산화 식품 소재의 중재 효과를 예측할 있는 키트로써 활용할 수 있다.
- [0068] 이하, 본 발명을 실시예 및 실험예에 의해서 상세히 설명한다.
- [0069] 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명이 하기 실시예 및 실험예에 의해서 한정되는 것은 아니다.

[0070] <실시예 1> 복분자 (*Rubus coreanus* Miquel) 섭취를 이용한 인체 적용 시험 과정

[0071] 본 발명의 인체적용시험은 무작위배정, 이중맹검, 대조식품 대조, 평생설계연구로서 복분자(*Rubus Coreanus* Miquel)의 섭취가 일회성 중강도 트레드밀 운동으로 유도된 산화적 스트레스에 대한 체내의 생리학적 기능에 미치는 영향을 평가하기 위하여 수행되었다.

[0072] 구체적으로, 피험자는 만 30세 이상 60세 미만의 과체중 ($23 \leq \text{BMI (kg/m}^2) < 30$)인 성인남녀를 대상으로 하였다. 본 연구는 선정 및 제외기준에 적합한 피험자를 모집한 다음, 운동부하검사를 실시하여 일회성 중강도 트레드밀 운동의 강도를 결정하였다. 최대산소섭취량은 개체들의 운동강도를 결정하기 위한 기준으로 운동부하검사를 통해 산출하고, 검사는 트레드밀과 호흡가스분석기(COSMOD사의 Quark CPET)을 이용하여 2분마다 트레드밀의 경사도와 속도를 증가시키는 방법을 이용하였다. 개체는 안정시 심박수와 혈압을 측정하였고 매 1분마다 심박수를 기록하였다. 최대운동부하 검사 과정에서 개체의 호기가스와 산소 섭취량 및 이산화탄소 생성량, 호흡교환비율(RER) 등은 자동 측정되었다. 모든 개체가 최대한도로 운동을 할 수 있을 때까지 검사를 진행한 다음, 각 개체의 최대산소섭취량 산출은 검사 과정에서 수집된 산소 섭취량들 중 최고치(peak oxygen uptake, ml/kg/min)를 기준으로 하였다. 개체들의 중강도 트레드밀 운동은 부하검사에서 도출한 최대산소섭취량(maximum oxygen consumption, $\text{VO}_{2\text{max}}$)의 60% 강도에서 30분간 수행하였다.

[0073] 시험식품을 배정하기 전 약 2주간은 항산화능이 높은 식품(과일, 야채, 차류 등)을 섭취를 적게 유지시킨 다음(run-in period), 등록된 순서에 따라 대조군($n=24$) 또는 복분자군($n=21$)으로 무작위 배정한 다음, 4주간 시험 식품(복분자)을 섭취(3포/회, 3회/일)시켰다(intervention period). 본 발명에 사용된 대조군(플라시보)은 유당으로 구성된 분말을 섭취하였고 실험군인 복분자군은 복분자 분말을 섭취하게 하였으며 하루에 약 30 g씩 섭취하도록 하였다. 본 발명에 사용된 플라시보와 시험식품(복분자)은 농촌진흥청에서 제조하여 공급하였으며, 복분자는 성숙한 복분자 열매를 동결건조하여 분쇄한 것을 사용하였다.

[0074] 산화적 스트레스를 부여하기 위한 일회성의 중강도 트레드밀 운동은 시험식품을 배정받은 시점(기저시점)과 4주간의 시험식품 섭취를 완료한 시점(종료시점)에서 수행하였다. 기저시점에서 12시간 공복을 유지한 개체의 안정상태의 혈액과 소변을 채취한 다음, 물과 시험식품(대조식품 또는 복분자)을 섭취하고 일회성의 중강도 트레드밀 운동(최대산소섭취량(maximum oxygen consumption, $\text{VO}_{2\text{max}}$)의 60%의 강도에서 30분간 수행)을 실시하였다(단회 섭취 과정). 운동 직후 혈액을 채취하여 생화학적 지표(항산화능, 염증) 및 뇨 중 대사체(총 64종)의 변화를 관찰하였다. 이후에 시험식품을 4주간 섭취한 다음, 종료시점에 방문하여 12시간 공복을 발유지한 개체의 안정상태의 혈액과 소변을 다시 채취한 다음, 물과 시험식품(대조식품 또는 복분자)을 섭취하고 일회성의 중강도 트레드밀 운동을 실시하였다(장기 섭취 과정). 운동 직후 혈액을 채취하여 생화학적 지표(항산화능, 염증) 및 뇨 중 대사체(총 64종)의 변화를 관찰하였다. 본 발명의 전체적인 실험 과정의 모식도를 도 1 및 도 2에 나타내었다.

[0075] <실험예 1> 혈액 중 생화학적 지표 확인

[0076] 본 발명자들은 상기 <실시예 1>과 같이 산화적 스트레스를 가함으로써 복분자 섭취(단기 섭취 및 장기 섭취)에 따라 유의하게 변화하는 혈중 항산화 및 염증 지표를 확인하고자 하였다.

[0077] 구체적으로, 베타 추정치(β ; 추정된 기울기)는 모든 데이터의 선형 혼합-효과 모델로부터 각 변수를 위해 측정되었다($N = 45$; 플라시보, $n = 24$; 복분자, $n = 21$). "복분자 및 대조군(플라시보)의 섭취" 및 "기저시점 및 종료시점" 간의 주요 고정된 상호 작용 효과는 두 처리 그룹 간의 섭취 기간 동안의 평균 변화(4주간 섭취에 대한 베타)로 해석될 수 있고, 반면에 "처리군"의 주요 고정 효과는 평가의 기저시점에서 처리군 간의 평균 변화(단회 섭취에 대한 베타)로 해석된다(절편은 제 1 측정 포인트를 중심으로 함). P-값(P-value)은 선형 혼합-효과 회귀 모델로부터 유도되었으며 $P < 0.05$ 의 확률은 유의한 것으로 판단하였다.

[0078] 그 결과, 표 1에 나타낸 바와 같이 복분자의 장기 섭취(4주간 섭취)로 인하여 적혈구의 산화된 글루타티온(oxidized glutathione; GSSG, $\beta = -1.197$, $P = 0.021$)은 유의하게 감소하는 것으로 확인되었으며, 환원된 글루타티온(reduced glutathione; GSH) 및 산화된 글루타티온(GSSG)의 비율($\beta = 1.113$, $P = 0.011$)은 유의하게 증가하는 것으로 확인되었다. 산화적 손상 지표인 말론디알데히드(malondialdehyde; MDA) 및 산화된 LDL(oxidized LDL; oxLDL)은 복분자의 장기 섭취에 따라 유의하게 감소하는 것을 확인하였다($\beta = -0.121$, $P = 0.046$ for MDA; $\beta =$

0.102, $P=0.02$ for oxLDL). 염증 지표인 IL-6 수준도 복분자의 장기 섭취(4주간 섭취)에 따라 유의하게 감소하는 것을 확인하였다($\beta=-0.458$, $P=0.0001$)(표 1).

표 1

[0079] 과체중 성인에 있어서 섭취 기간(supplement duration)에 따른 복분자(Korean black raspberry; *Rubus coreanus* Miquel)의 산화 및 염증에 대한 효과 예측

변수	단회 섭취			장기 섭취		
	추정	SE	P-value	추정	SE	P-value
억제제(항산화제)						
GSH	-1.101	1.839	0.553	0.407	1.074	0.706
GSSG	-0.086	0.908	0.925	-1.197	0.513	0.021
GSH:GSSG ratio	-0.043	0.076	0.577	0.113	0.044	0.011
손상						
MDA	0.059	0.147	0.69	-0.121	0.06	0.046
산화된 LDL	0.066	0.109	0.551	-0.102	0.044	0.02
염증						
IL-6	-0.015	0.162	0.927	-0.458	0.111	<0.001
TNF-alpha	0.259	0.708	0.716	-0.298	0.656	0.65

[0080] GSH, 환원된 글루타티온; GSSG, 산화된 글루타티온; MDA, 말론디알데히드; LDL, 저밀도 지질 단백질; IL, 인터루킨; TNF, 종양 괴사 인자; 및 SE, 계수 추정치의 표준 오차.

[0081] <실험예 2> 뇨 중 대사체의 변화 확인

[0082] 본 발명자들은 상기 <실시예 1>과 같이 산화적 스트레스를 가함으로써 복분자 섭취(단기 섭취 및 장기 섭취)에 따라 유의하게 변화하는 혈장 및 뇨 중 대사체의 변화를 확인하고자 하였다.

[0083] 구체적으로, SE(standard error of the coefficient estimate)는 계수 추정치의 표준 오차를 나타내며, 베타 추정치(β ; 추정 기울기)는 모든 데이터의 선형 혼합-효과 모델에서 각 변수에 대해 측정되었다($N = 45$; 플라시보, $n = 24$; 복분자, $n = 21$). "복분자 및 대조군(플라시보)의 섭취" 및 "기저시점 및 종료시점" 간의 주요 고정된 상호 작용 효과는 두 처리 그룹 간의 섭취 기간 동안의 평균 변화(4주간 섭취에 대한 베타)로 해석될 수 있고, 반면에 "처리군"의 주요 고정 효과는 평가의 기저시점에서 처리군 간의 평균 변화(단회 섭취에 대한 베타)로 해석된다(절편은 제 1 측정 포인트를 중심으로 함). P-값(P-value)은 선형 혼합-효과 회귀 모델로부터 유도되었으며, P 값 < 0.05의 확률은 유의한 것으로 판단하였다.

[0084] 그 결과, 표 2에 나타난 바와 같이 복분자의 단기 섭취(단회 섭취)에 의해서는 혈중 지표에서 어떠한 변화도 관찰할 수 없었으나, 복분자의 단기 섭취로 인해 뇨 중 트리메틸아민(trimethylamine)은 유의하게 증가($\beta=0.222$, $P=0.013$)하였고, 세린(serin)은 유의하게 감소($\beta=0.008$, $P=0.030$)한 것을 확인하였다(표 2).

[0085] 또한, 표 2에 나타난 바와 같이 복분자의 장기 섭취에 따라 뇨 중 알라닌(alanine), 아스파라진(asparagine), 글루타메이트(glutamate), 글라이신(glycine), 히스티딘(histidine), 라이신(lysine), 구연산염(citrate), 포름산염(formate), 3-인독시설페이트(3-indoxysulfate), 베타인(betaine), N-phenylacetyl glycine, N6-acetyllysine, 아세트산페닐(phenylacetate)은 유의하게 증가($0.001 \leq \beta \leq 0.399$, $0.0001 \leq P \leq 0.025$)한 것을 확인할 수 있었으나, 아데닌(adenine. $\beta=-0.286$, $P=0.024$) 및 카르니틴(carnitine. $\beta=-0.555$, $P=0.001$)은 유의하게 감소하는 것을 확인하였다(표 2).

표 2

[0086] 과체중 성인에 있어서 소변 및 혈장 대사체의 변화에 대한 복분자(Korean black raspberry; *Rubus coreanus* Miquel) 섭취의 효과 예측: 장기 섭취 중 기저시점 및 종료시점에서 트레이드밀 운동에 대한 반응

대사체	단회 섭취			장기 섭취		
	추정치	SE	P-value ³	추정	SE	P-value
3-Indoxylsulfate	-0.092	0.153	0.549	0.399	0.119	0.001
Adenine	0.184	0.131	0.166	-0.286	0.125	0.024
Alanine	-0.115	0.105	0.279	0.194	0.071	0.007
Asparagine	-0.068	0.084	0.425	0.199	0.088	0.025
Aspartate	-0.003	0.002	0.157	0.003	0.002	0.067
Betaine	-0.089	0.137	0.521	0.295	0.114	0.01
Carnitine	0.132	0.2	0.515	-0.555	0.171	0.001
Citrate	-0.016	0.026	0.545	0.029	0.012	0.02
Formate	-0.166	0.134	0.224	0.314	0.13	0.017
Glutamine	-0.125	0.074	0.098	0.22	0.056	<0.001
Glycine	-0.133	0.148	0.373	0.2	0.073	0.007
Histidine	-0.006	0.006	0.365	0.018	0.006	0.002
Isoleucine	-0.0002	0.0002	0.348	0.0003	0.0001	0.058
Leucine	-0.0003	0.0004	0.398	0.0005	0.0003	0.068
Lysine	-0.314	0.208	0.138	0.329	0.122	0.008
N-Phenylacetylglutamine	-0.004	0.002	0.083	0.007	0.002	0.003
N6-Acetyllysine	-0.001	0.001	0.336	0.001	0	0.013
Phenylacetate	0	0.001	0.708	0.002	0.001	0.008
Serine	-0.222	0.086	0.013	0.248	0.089	0.006
Trimethylamine	0.008	0.004	0.03	0.008	0.004	0.047
Valine	-0.107	0.079	0.181	0.134	0.069	0.054

[0087] <실험예 3> 혈중 생화학적 지표 변화 및 뇨 중 대사체 간의 관계 확인

[0088] 기능성 식품 소재의 섭취에 따른 항산화능 또는 항염증 활성 변화를 가장 잘 예측할 수 있는 뇨 중 대사체의 선정을 위해, 상기 <실시예 1>과 같이 복분자 섭취를 통하여 생화학적 지표와 양/음의 상관관계를 가지는 대사체를 분류하였다.

[0089] 구체적으로, 종속 변수로서의 혈액 생화학적 지표의 변화, 그리고 메인 예측 인자(공변량)로서의 초기 소변 대사체를 이용하여 계층적 로지스틱 회귀 분석(hierarchical logistic regression analysis)에 의한 분석(n=45)을 실시하였다. 개체 내에서 반복된 분석은 임의의 효과로써 모델에 입력되었다. 오차 비율(OR)은 복분자의 만성 섭취(chronic supplementation) 후 소변 초기 대사체 상태와 관련이 있는 혈액 생화학적 변화의 오차를 나타내었다. β , SE, 및 CI는 고정된 효과(로짓 규모), 표준 오차(로짓 규모), 및 95% 신뢰구간에 대한 추정 결과를 나타낸다. 낮은 초기 대사체 값을 가지는 개체는 레퍼런스로 분류하였다.

[0090] 그 결과, 표 3에 나타낸 바와 같이 양의 상관관계를 가진 생화학적 지표와 대사체는 다음과 같다:

[0091] 적혈구의 GSH:GSSG 비율과, glycine($P=0.007$) 및 N-phenylacetylglutamine(PAG; $P=0.002$),

[0092] oxLDL 및 serine($P=0.040$),

[0093] IL-6 및 formate($P=0.014$),

[0094] 또한, 음의 상관관계를 가진 생화학적 지표와 대사체는 다음과 같다:

[0095] 적혈구의 GSSG 변화값 및 기저시점의 trimethylamine($P=0.043$),

[0096] MDA 수준의 변화 및 기저시점의 adenine($P=0.028$),

[0097] IL-6 수준의 변화 및 기저시점의 N6-acetyllysine($P=0.038$).

표 3

[0098] 일반화된 혼합 모델에서, 혈액 생화학적 변화에 대해 소변에서 예측 가능한 대사체

Fixed effects	β	SE	P-value	OR	CI
GSSG					

Trimethylamine	-0.95	0.45	0.043	0.39	(0.15, 0.97)
GSH:GSSG ratio					
Glycine	1.54	0.54	0.007	4.67	(1.56, 13.99)
N-Phenylacetyl glycine	1.78	0.55	0.002	5.95	(1.95, 18.16)
MDA					
Adenine	-1	0.44	0.028	0.37	(0.15, 0.89)
oxLDL					
Serine	1.01	0.47	0.04	2.74	(1.05, 7.13)
IL-6					
Formate	1.46	0.57	0.014	4.29	(1.36, 13.49)
N6-Acetyllysine	-1.22	0.57	0.038	0.3	(0.09, 0.93)

[0099] GSSG, 산화된 글루타티온; GSH, 환원된 글루타티온; MDA, 말론디알데히드; oxLDL, 산화된 LDL; IL, 인터루킨; CIs, 신뢰 구간.

[0100] <실험예 4> 중재효과 예측지표로서의 가능성 확인을 위한 수신자 조작 특성(Receiver operating characteristic; ROC) 커브 분석

[0101] 뇨 중 상기 <실험예 3>에서 선별된 대사체(glycine 및 N-PAG)가 복분자 섭취로 인한 적혈구의 GSH:GSSG 비율의 변화를 예측하는데 가장 적합한 지표임을 확인하기 위하여 ROC 곡선(receiver operating characteristic curve)을 이용하여 민감도, 특이도 및 기준점을 확인하였다.

[0102] 구체적으로, 상기 <실험예 3>에서 측정한 뇨 중 glycine(≥ 0.086 ppm)과 N-PAG (≥ 0.026 ppm)를 SAS, ver 9.4 프로그램(SAS Institute 사)을 사용하여 ROC 곡선 분석을 수행하였다. 이항형 변수(유효한 범주의 개수가 두 개)로써 적혈구의 GSH:GSSG 비율의 변화를 상태 변수(종속변수)로, 뇨 중 glycine과 N-PAG가 높은지 여부를 검정 변수(독립 변수)로 정의하여 ROC 곡선을 그린 다음, 유덴 인덱스(Youden Index; $Y = \text{민감도} + 1 - \text{특이도}$)를 이용하여 궁극의 기준점을 선정하였다(Sens, 감도; spec, 특이도; PPV, 양성 예측 값; 및 NPV, 음성 예측 값).

[0103] 이외에도 상기에서 제안한 예측지표의 적합성을 평가하기 위하여 교차검증방법인 LOOCV(Leave One Out Cross Validation)을 사용하였다. 이는 사용하는 N개의 데이터셋을 N개의 부분집합으로 나눈 후 (N-1)개의 부분집합을 훈련 데이터(training data)로 사용하고, 나머지 1개를 테스트 데이터(test data)로 사용하여 평가를 수행한다. 이를 N번 반복하여 평균 제곱근 오차(root mean square error; RMSE)와 평균 절대 오차(mean absolute error; MAE)를 구하여 예측지표의 적합성을 정량적으로 비교하였다. RMSE와 MAE는 실제값과 추정값 사이의 상대적 오차의 평균 크기를 나타내며, 값이 작을수록 좋은 모델로 판정할 수 있다.

[0104] 그 결과, 도 3에서 나타난 바와 같이 ROC 곡선 분석에서 ROC 곡선 면적(area under curve)은 0.778이었고, 58.1%의 민감도(sensitivity) 및 86.4%의 특이도(specitivity)를 나타내는 것을 확인하였다(도 3). 리브 원 아웃 교차검증(leave-one-out cross-validation; LOOCV)을 한 결과, RMSE(0.61158) 및 MAE(0.377778)이 낮아 예측모델의 정확도가 낮지 않음을 확인할 수 있었다.

[0105] 이로써, 뇨 중 glycine(≥ 0.086 ppm)과 N-PAG (≥ 0.026 ppm)가 복분자 섭취로 인한 적혈구의 글루타티온:산화된 글루타티온(GSH:GSSG) 비율의 변화를 예측하는데 가장 적합한 지표인 것으로 확인되었다.

[0106] <실험예 5> 중재효과 예측지표로서 뇨 대사체의 적합성

[0107] 상기 <실험예 4>에서 예측가능지표로 선정된 초기의 뇨 중 대사체, glycine 및 N-PAG의 적합성을 판단하기 위해 특정 농도 수준, 즉 glycine(≥ 0.086 ppm) 및 N-PAG (≥ 0.026 ppm)보다 모두 높은 사람(평균 농도: glycine 0.131 ppm, N-PAG 0.034 ppm)과 그렇지 않은 사람(평균 농도: glycine 0.076 ppm, N-PAG 0.024 ppm)을 비교하였다. 정규 분포 데이터는 평균±표준편차로 나타내었다. P-값은 Student's t-test로부터 유도하였으며, 5% 미만의 확률은 유의하다고 판단하였다(GSSG, 산화된 글루타티온; GSH, 환원된 글루타티온; N-PAG, N-phenylacetyl glycine).

[0108] 그 결과, 도 4에 나타난 바와 같이 기저시점(Week 0)에서 두 대사체 농도가 특정 농도, 즉 glycine(≥ 0.086

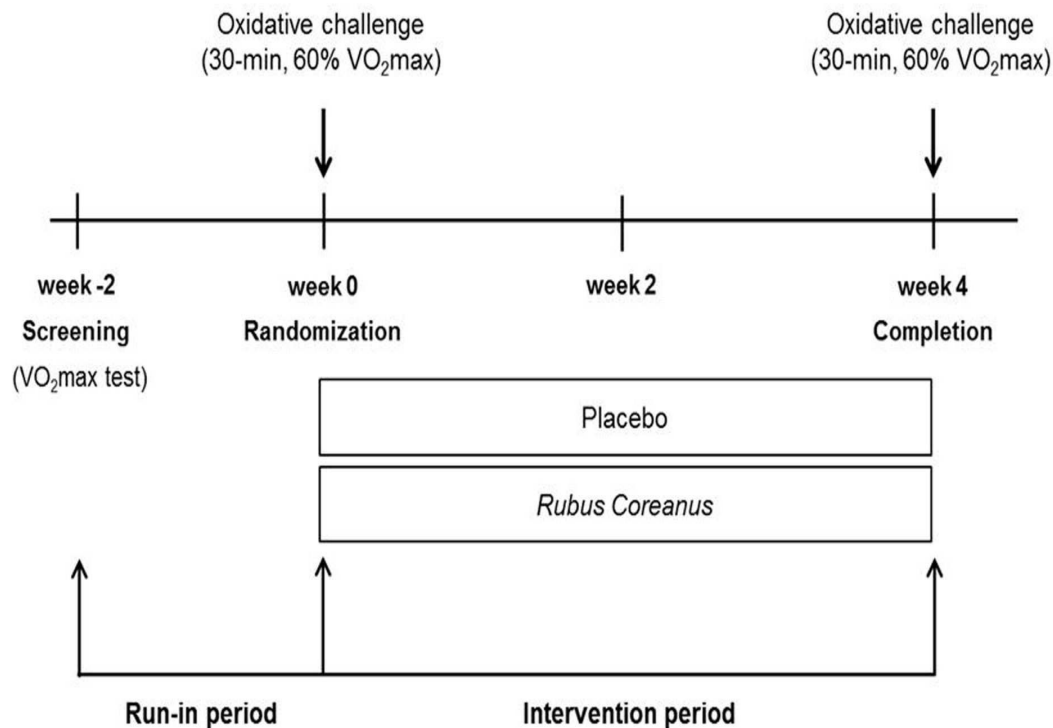
ppm) 및 N-PAG (≥ 0.026 ppm)보다 높은 사람에게서 적혈구의 산화된 글루타티온(GSSG)($P=0.037$)과 혈장의 TNF- α ($P=0.085$)이 유의하게 높거나 또는 높은 경향이 나타났으며, 적혈구의 GSH:GSSG 비율($P=0.029$)이 유의하게 낮은 것을 확인하였다(도 4a). 이는 glycine과 N-PAG를 각각 0.086과 0.026 ppm 이상의 농도를 가진 사람들에게서 산화적 손상이 높은 것을 예상해 볼 수 있다.

[0109] 이를 바탕으로, 기저시점(Week 0)에서 두 대사체 농도가 높은 사람 및 그렇지 않은 사람에게 4주간의 복분자를 섭취하게 한 결과 두 대사체 농도가 높은 사람에게서 적혈구의 산화된 글루타티온($P=0.020$) 및 GSH:GSSG 비율($P=0.008$)이 유의하게 향상된 것을 확인하였다(도 4b). 이는 초기의 산화적 손상 정도가 높은 사람들에게서 식품 소재 섭취로 인한 효과가 잘 나타났음을 확인할 수 있었다.

[0110] 따라서, 설정한 초기 뇨 대사체의 농도는 사람의 산화적 손상 정도를 평가하기에 적합한 것을 확인할 수 있으며, 식품 소재 섭취에 따른 유의미한 변화 또한 예측할 수 있다.

도면

도면1

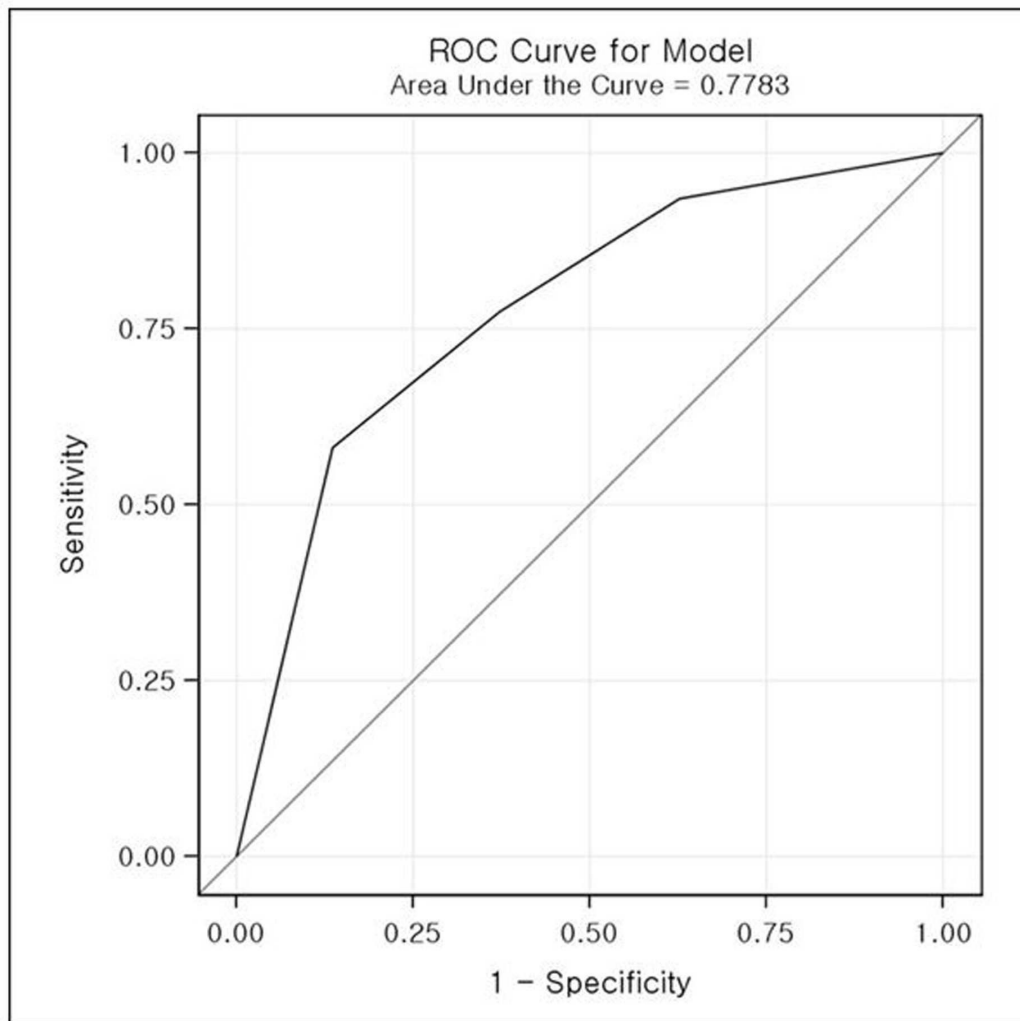


도면2



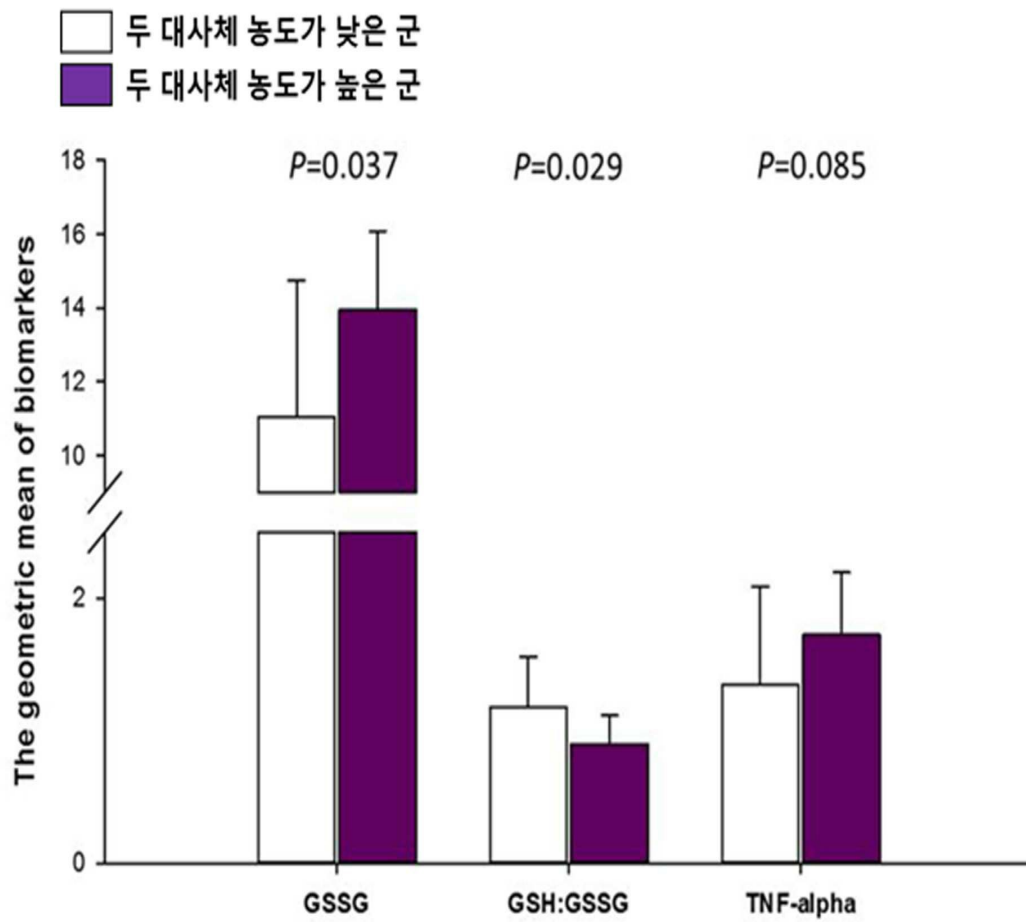
* ROC curve : receiver operating characteristic curve

도면3



Variable	Sens	Spec	PPV	NPV
Set	58.1	86.4	69.2	79.7

도면4a



도면4b

