

## 소아 키 성장에 미치는 한삼덩굴추출분말의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 무작위배정, 이중눈가림, 위약 대조 인체적용시험: 인체적용시험 프로토콜

장수비<sup>1</sup> · 최봄<sup>1</sup> · 천진홍<sup>1,2</sup> · 김기봉<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>부산대학교한방병원 한방소아과, <sup>2</sup>부산대학교 한의학전문대학원

### Abstract

### Randomized, Double-blind, and Placebo-controlled Human Trial to Evaluate the Efficacy and Safety of *Humulus japonicus* Extract Powder on Child Height Growth: Study Protocol

Jang Subi<sup>1</sup> · Choi Bom<sup>1</sup> · Cheon Jin Hong<sup>1,2</sup> · Kim Ki Bong<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Korean Pediatrics, Pusan National University Korean Medicine Hospital

<sup>2</sup>School of Korean Medicine, Pusan National University

### Objectives

We aimed to confirm whether *Humulus japonicus* Extract Powder can enhance child height growth significantly and safely compared with a placebo.

### Methods

A total of 150 children between the 3rd and 25th percentiles in height and between the ages of 6 and 9 years will be recruited to participate in this randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. The participants will be randomly assigned to the treatment or placebo group. Participants in the treatment group will take one pack per day (700 mg of *Humulus japonicus* Extract Powder) for 24 weeks. Participants in the placebo group will take one package of placebo per day (0 mg of *Humulus japonicus* Extract Powder) for 24 weeks. The primary outcome will be a change in height after 12 weeks, and the secondary outcomes will be the height after 24 weeks, growth rate, height standard deviation, growth hormone, insulin-like growth factor-1 (IGF-1), insulin-like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3), bone alkaline phosphatase (BALP), and osteocalcin after 12 and 24 weeks.

### Results

This protocol was approved by the Institutional Review Board (IRB) of the Korean Medicine Hospital of Busan University (IRB No. PNUKHIRB-2023-03-002). Research participants will be recruited from June 2023 to December 2023.

### Conclusions

The results of this study provide clinical information regarding the effectiveness and safety of the *Humulus japonicus* Extract Powder in increasing child height.

**Key words:** *Humulus japonicus* Extract Powder, Short stature, Growth, Human Study, Protocol

• Received: August 01, 2023 • Revised: August 19, 2023 • Accepted: August 22, 2023

\*Corresponding Author: Kibong Kim

Department of Korean Pediatrics, Pusan National University Korean Medicine Hospital, Geumro-ro 20, Mugeum-eup, Yangsan-si, Gyeongsangnam-do, 50612, Republic of Korea  
TEL: +82-55-360-5952 / FAX: +82-55-360-5952  
E-mail: kkb@pusan.ac.kr

© The Association of Pediatrics of Korean Medicine. All rights reserved. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## I . Introduction

성장이란 소아의 나이가 증가함에 따라 양적으로 측정 가능한 키와 체중, 장기의 무게 등이 증가하는 현상으로<sup>1)</sup>, 정상적인 소아의 성장에는 유전 및 환경 요인이 지속적이고 복잡하게 상호작용하며 영향을 미친다. 유전적 요인은 이미 출생 시부터 결정되어 있는 부분으로 인종, 민족, 가계, 성별 등이 있으며, 환경적 요인에는 사회경제적 요인 외에도 만성질병, 계절, 영양, 그리고 심리적 요인 등이 있다<sup>2)</sup>. 성장 과정 중에 있는 소아청소년의 신체 계측치 변화 추이는 건강상태를 잘 반영하므로, 정기적이고 정확한 성장 평가는 소아 청소년의 진료에 있어서 중요하다<sup>3)</sup>.

의학적으로 저신장은 같은 성별 및 연령 어린이의 표준 평균치에서 신장이 - 2.0 표준편차 미만 혹은 3 백분위수 미만인 경우이다<sup>4)</sup>. 최근 한국 사회의 경제 성장 및 식습관의 서구화 등으로 국내 소아 청소년의 평균 신장이 증가한 것과 더불어, 큰 키를 선호하는 사회적 분위기로 인해 평균 키보다 작지만 정상 범위에 해당하는 신장을 가진 경우에도 성장 상태에 높은 관심을 갖는 것으로 나타나고 있다<sup>5)</sup>.

임상 현장에서 가장 많이 사용되는 성장 치료는 성장호르몬 주사요법으로, 국내의 경우 성장호르몬 결핍성 저신장증, 터너 증후군, 만성 신부전, 프래더-윌리 증후군 등의 질환에서 적용되고 있다. 부작용이 적은 편이고 비교적 안전하다고 하나, 1년에 약 1,000만 원 이상이라는 고가의 비용 대비 효과에 대한 만족도가 높지 않은 편이고, 거의 매일 주사를 맞아야 하는 것이 소아에게 부담이 될 수 있다<sup>6,7)</sup>. 또한 종양의 위험도를 증가시키는 것에 대해서는 논란이 있으나, 부작용으로 수분 축적, 두개뇌압상승, 두통, 갑상선 수치 이상, 혈당 이상, 척추 측만증 악화 및 대퇴골두 골단 분리증 등이 있어 간과할 수 없고, 장기간 사용하는 경우 정기적이고 세심한 추적관찰이 필요하다<sup>8,9)</sup>.

한삼덩굴 또는 환삼덩굴 (*Humulus japonicus Siebold & Zucc.*)은 한국, 일본, 중국 등의 동아시아 국가에 흔히 분포하는 1년생 혹은 다년생의 한해살이 초본성 동굴 식물로, 일반적으로 여름철 채취하여 뿌리를 제외하고 햇볕에 말린 전초를 율초 (葎草)라고 한다<sup>10)</sup>. 율초의 성분연구에 의하면 luteolin, glucoside, cosmosin, asparagine, choline 및 정유 성분 등이 포함되어 있으며, 정유 성분에는 주로 β-humulene, caryophyllene, α-copaene,

α-selinene, β-selinene 등이 있다<sup>11)</sup>.

율초는 梁代 陶弘景의 <名醫別錄>에 ‘勒草’로 처음 수록되어 있고, 효능으로 清熱, 消炎, 鎮痛, 解毒, 利尿 등이 알려져 있다<sup>12)</sup>. 이와 관련하여 지금까지 국내외의 다양한 연구를 통하여 항지질<sup>13)</sup>, 항균<sup>14)</sup>, 항염<sup>15)</sup>, 항암 및 항산화<sup>16)</sup> 등의 효과가 활발하게 보고되어 있지만 한의학에서 활용 빈도는 높지 않은 편이다<sup>17)</sup>. 한삼덩굴의 열수추출물 및 복합물로 시행된 시험관시험 결과, 세포 증식 및 인슐린양 성장인자 (Insulin-like growth factor-1, IGF-1), IGF binding protein-3 (IGFBP-3), Bone alkaline phosphatase (BALP), Osteocalcin과 같은 성장 인자 발현 효과가 확인되었고, 동물실험에서 Sprague Dawley rats의 신체 (코 - 항문, 코 - 꼬리) 길이, 뼈 (대퇴골, 종골) 길이 성장, 골분화유도 성장인자인 Bone morphogenetic protein 2 (BMP-2) 발현 증가 효과가 확인되었다<sup>18,19)</sup>. 그러나 현재 성장기 소아의 키 성장에 관련된 인체적용시험은 전무한 실정으로, 아직 임상적인 효과가 확증되지 않은 상태이다. 이에 본 연구진은 저신장 성장기 소아를 대상으로 키 성장에 대한 한삼덩굴추출분말의 유효성과 안전성을 검증하기 위한 인체적용시험을 계획하였다.

## II . Materials & Methods

### 1. 연구디자인

본 연구는 성장기 소아의 키 성장에 대한 한삼덩굴 추출분말의 유효성 및 안전성을 확인하기 위해 무작위 배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험으로 설계되었다 (Fig. 1).

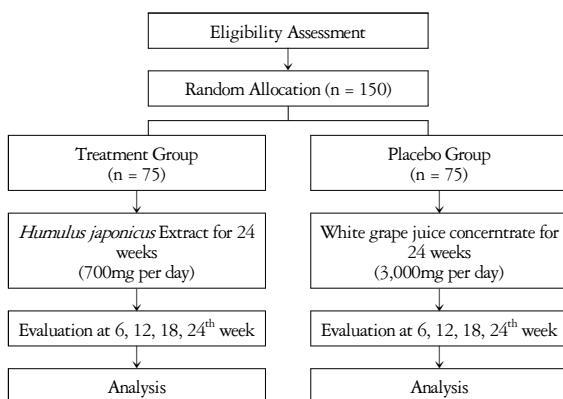


Fig. 1. Flow chart of the clinical trial

인체적용시험 실시기관은 부산대학교 한방병원으로, 임상시험 승인일로부터 24개월 간 진행될 예정이며, 2023년 3월 부산대학교 한방병원 연구윤리심의위원회 (Institutional Review Board, IRB)의 심의를 통과하였다 (PNUKHIRB-2023-03-002).

## 2. 시험대상자 선정

### 1) 선정기준

- (1) **스크리닝** 검사일 기준, 연령이 만 6세 이상, 만 9세 미만인 자
- (2) 2017 소아청소년 성장도표<sup>20)</sup> 상 키가 동일 성별 및 연령을 기준으로 3 백분위수 이상, 25 백분위 수 미만에 해당하는 자
- (3) 본 인체적용시험 시작 전 참여에 동의하고, 서면 동의서 (Informed consent form, ICF)에 자의로 대상자와 부모 (또는 법정대리인)가 서명한 자

### 2) 제외기준

아래 기술된 조건에 1가지 이상 해당되는 자는 대상자에서 제외된다.

- (1) 중증의 심혈관계, 호흡기계, 면역계, 위장관/간 및 담도계, 신경계, 근골격계, 신장 및 비뇨기계, 정신성, 감염성 질환 및 악성종양 등으로 현재 치료 중인 자
- (2) 성장호르몬 치료가 필요한 질환 (만성신부전증으로 초래된 신장장애, 프레더-윌리 증후군, 터너 증후군, 태아발육부전증, 특발성 저신장, 누난 증후군 등)을 진단받은 자
- (3) 성장지연에 영향을 줄 수 있는 내분비적 질환 (갑상선 기능 저하증, 성장호르몬 결핍증, 뇌하수체 이상, 구루병 등)을 진단받은 자
- (4) 불안정하고 조절되지 않는 내과적 질환 (고혈압, 당뇨병, 갑상선 질환 등)을 진단받은 자
- (5) 재태기간이 37주 이하 혹은 출생 시 몸무게가 2.5kg 이하인 자
- (6) 성 성숙도 평가 상 Tanner Stage 2단계 이상인 자
- (7) **스크리닝** 검사로부터 3개월 이내에 급격한 체중 변화가 있었던 자

- (8) 키 성장에 관련된 의약품/한약/건강기능식품을 복용한 자
- (9) **스크리닝** 검사 전 4주 이내에 키 성장 관련 호르몬 (성장 호르몬, 갑상선 호르몬, 부신피질 호르몬, 성 호르몬 등) 치료를 받은 자
- (10) **스크리닝** 검사 전 4주 이내에 주의력결핍 과잉 행동장애 (Attention-Deficit Hyperactivity Disorder, ADHD) 약물 (Methylphenidate 등)을 투여한 자
- (11) **스크리닝** 검사로부터 3개월 이내에 키 성장 관련 의약품 또는 한약 및 건강기능식품을 사용한 자
- (12) 2017 소아청소년 성장도표<sup>20)</sup> 기준, 체질량 지수 (Body mass index, BMI)가 해당 성별 및 연령의 95 백분위 수 이상이거나 체중이 해당 성별 및 연령의 5 백분위 수 미만인 자
- (13) 다음에 해당하는 진단검사의학검사 결과를 보이는 자
  - ① 빈혈이 있는 자 (Hemoglobin < 12 g/dL)
  - ② Creatinine ≥ 실시기관 정상 상한치의 2배
  - ③ Aspartate aminotransferase (AST), Alanine aminotransferase (ALT) ≥ 실시기관 정상 상한치의 2배
- (14) 본 인체적용시험용 식품의 성분에 대하여 민감하거나 알레르기가 있는 자
- (15) **스크리닝** 검사로부터 3개월 이내에 인체적용시험을 포함하여 다른 중재적 임상시험에 참여했거나, 본 시험 시작 이후 인체적용시험을 포함한 다른 중재적 임상시험에 참여할 계획이 있는 자
- (16) 시험자가 본 인체적용시험의 참여에 부적절하다고 판단하는 자

### 3) 시험 중지 및 탈락기준

- (1) 선정/제외기준을 위반한 경우
- (2) 대상자에게 발생한 중대한 이상반응 (Serious adverse events) 혹은 이상반응 (Adverse events)으로 인해 시험자가 시험 지속이 곤란하다고 판단하는 경우
- (3) 대상자에게 **스크리닝** 검사에서는 발견하지 못했던 전신질환이 발견된 경우

Table 1. A Flow Chart of Clinical Trial Process

Period	Screening			Intake period		
	1	2	3	4	5	6
Visit						
Week	- 2	0	6	12	18	24
Window period (day)				± 2	± 7	± 2
Informed consent	✓					
Basic information	✓					
lifestyle survey	✓					✓
Medical history	✓	✓				
Medication history	✓	✓				
Change in medical conditions				✓	✓	✓
Physical exam	✓				✓	✓
Inclusion & Exclusion criteria	✓	✓				
Randomization		✓				
Vital signs	✓				✓	✓
Tanner stage	✓					
Weight, Body mass index	✓				✓	✓
Validation assessment						
Height	✓				✓	✓
Bone age	✓				✓	✓
Growth regulation markers	✓				✓	✓
Bone markers	✓				✓	✓
Laboratory test (Blood, Urine, Thyroid Hormone test)	✓				✓	✓
Sex hormones (Testosterone, Estradiol, Follicle-stimulating hormone, Luteinizing hormone)	✓				✓	✓
Dietary assessment		✓			✓	✓
Distribution of human trial products		✓			✓	
Adverse events check			✓	✓	✓	✓
Adherence Assessment				✓		✓

- (4) 대상자 또는 부모 (또는 법정대리인)이 인체적용 시험 참여 동의를 철회하는 경우
- (5) 대상자의 추적이 되지 않는 경우
- (6) 대상자에게 인체적용시험용 식품 섭취에 문제가 있는 경우
- (7) 인체적용시험 기간 동안 연구결과 판정에 영향 을 줄 수 있는 약물 (또는 제품)등을 시험자의 지시 없이 복용/투여한 경우
- (8) 기타 시험자 판단 시 대상자의 시험 진행이 적합 하지 못한 것으로 판단되는 경우

#### 4) 시험대상자 수

본 인체적용시험과 동일하게 키 성장을 평가변수로 이용한 기존 연구 결과<sup>21)</sup>를 참조해, 임상적으로 의미가 있는 시험군과 대조군 간의 신체 변화량 차이를 0.57 cm로 설정하였다. 대상자 수 계산에는 보수적으로 접근하고자 표준편차 ( $\sigma$ )는 1.07 cm로 설정하였다. 위의 가정에 따라, 적정 유효성 평가를 위해 필요한 시험 대

상자 수를 산출했을 때, 탈락률 (25%)을 고려하여 군당 필요한 대상자 수는 약 75명이었으며, 총 150명을 등록하는 것으로 하였다.

#### 3. 인체적용시험 기간

IRB의 인체적용시험 승인일로부터 24개월 동안 진행될 예정이나, 대상자 등록 속도에 따라 변경될 수 있으며, 대상자는 이 기간 동안 스크리닝 방문을 포함하여 총 6회 방문이 예정되어 있다 (Table 1). 다만, 대상자의 요청이 있거나 시험자의 판단에 따라 예정된 방문 이외 추가방문을 허용하되, 이상반응, 병용약물 및 병용요법을 확인하고 시험자의 판단 하에 필요한 검사를 할 수 있도록 하며, 해당 내용을 근거문서 및 중례기록서에 기록하도록 한다.

#### 4. 모집

실시기관 내외의 홍보물 부착 등을 통하여 대상자를 모집할 예정이며, 실시기관에 방문한 저신장의 성

장기 소아 가운데 인체적용시험계획서와 시험자의 임상적인 판단에 따라 대상자를 선정하고, 최종적으로 150명의 대상자가 등록될 때까지 지속한다.

## 5. 연구 설계

대상자 본인과 대상자의 부모 (또는 법정대리인)가 서면동의서 작성을 완료하고, 스크리닝 검사 결과 선정/제외기준에 모두 적합한 시험대상자를 시험군 또는 대조군에 1 : 1의 비율로 충화 무작위 배정한다. 총 24 주간 1일 1회, 1회 1스티 시험식품 또는 대조식품을 섭취하며, 두 군 모두 15,000mg의 스틱 젤리를 복용하게 되는데, 시험군에만 한삼덩굴추출분말 700mg/day이 포함되어있다.

기존 동물모델 연구<sup>18)</sup>에서 Rat에 투여한 한삼덩굴 복합물의 용량은 50~300 mg/kg으로, Body surface area (BSA) 정규화 방법을 통해 인체등가용량 (Human equivalent dose, HED)으로 환산<sup>22)</sup>하면 8~48 mg/kg이며, 체중 30 kg (청소년)으로 계산하면 240~1,440 mg이다. 한삼덩굴 복합물 가운데 한삼덩굴추출물의 비율은 8:2로, 한삼덩굴추출분말은 192~1,152 mg이다. 이를 토대로 본 인체적용시험에서 한삼덩굴추출분말 일일 섭취량을 700 mg/day로 설정하였다.

## 6. 무작위배정

섭취 군간의 균형 있는 배정을 위해 대상자를 성별에 따라 충화 무작위배정법의 할당코드에 의해 1:1의 비율로 시험군 혹은 대조군으로 나누며, 무작위배정표는 인체적용시험 전에 미리 Statistical Analysis System (SAS)의 Randomization program으로 생성한 난수 (A, B의 random number)의 순열을 대상자 번호 1번부터 순차적으로 적용시킨다. 시험기간 동안 연구자와 시험대상자, 대상자의 부모 (또는 법정대리인) 모두 무작위 배정 정보에 대해 알 수 없으며, 이중눈가림은 모든 시험 대상자들이 시험을 완료하기 전까지 해제하지 않는다.

## 7. 관찰항목 및 임상검사

대상자 및 부모 (또는 법정대리인)에게 스크리닝 방문 (Screening visit, Week - 2) 시 시험에 대한 설명 후 서면 동의서 취득하고 인구학적 조사, 생활습관 조사, 병력 및 약물투여력, 비약물치료력, 신체검진, 활력징후 (맥박), 임상병리검사, 성호르몬 검사, Tanner stage, 신체계측 (체중, BMI, 신장), 골 연령, 성장 관련 지표,

골 형성 지표 검사 후 1차 적합성 평가를 시행한다.

2차 방문 (Randomization visit, Week 0)은 최초 방문 일로부터 14일 이내에 이루어져야 하고, 병력 및 약물투여력, 비약물치료력 변화 확인, 24시간 식이조사 및 식사지도, 식이조사지 배부 및 작성법 교육, 최종 적합성 평가, 무작위배정, 식품 배부 및 섭취 방법 교육, 다음 방문일 지정의 과정을 시행한다.

이후 3차 방문 (Interim visit, Week 6)과 5차 방문 (Interim visit, Week 18)은 전화방문으로, 2차 방문일 이후 각각 42일 ( $\pm 2$ ), 126일 ( $\pm 2$ ) 이내에 이루어져야 하며, 이상반응 확인, 병용약물 및 병용요법 변화 확인, 그리고 다음 방문일 지정이 이뤄진다.

4차 방문 (Interim visit, Week 12)은 2차 방문일 이후 84일 ( $\pm 7$ ) 이내를 지정하여 이상반응 확인, 병용약물 및 병용요법 변화 확인, 신체검진, 활력징후 (맥박), 임상병리검사, 성호르몬 검사, 신체계측 (체중, BMI, 신장), 골연령, 성장 관련 지표 및 골 형성 지표 검사, 식사지도 및 식이조사, 식이조사지 배부 및 작성 방법 교육, 인체적용시험용 식품 배부 및 섭취 방법 교육, 인체적용시험용 식품 반납 및 순응도 확인, 그리고 다음 방문일 지정이 이루어진다.

6차 방문 (Closing visit, Week 24)은 종료방문으로 2차 방문일 이후 168일 ( $\pm 7$ ) 이내에 성 성숙도를 제외한 모든 검사를 받고 자가 평가 설문을 시행한다.

## 8. 평가변수

1차 유효성 평가변수는 섭취 12주 후의 신장이다.

1차 유효성 평가를 위해 섭취 전 스크리닝 방문 (방문1: Week -2)과 섭취 후 (방문4: Week 12) 신장을 측정하여 섭취 군내 및 군간의 변화를 비교하여 통계적 유의성이 있는지 분석한다. 키는 매 방문 (방문1, 4, 6) 같은 시간대에 3회 연속 측정하며, cm 단위로 소수점 첫째 자리까지 반올림하여 표기하고 동일한 신장체중계 GL-150P ((주)지테크인터내셔널, 경기, 대한민국)로 측정한다.

2차 유효성 평가변수는 섭취 24주 후의 신장 그리고 각각 12주 후와 24주 후의 성장속도, 연령별 신장 표준 점수 (Height for age Z-score, HAZ), 성장 관련 지표 (IGF-1, IGFBP-3, Growth hormone), 골 형성 지표 (BALP, Osteocalcin)이다. 섭취 전 (방문1: Week -2)과 섭취 후 (방문4, 6: Week 12, 24)에 섭취 24주 후 신장, 섭취 12주 후, 24주 후 HAZ, 성장 관련 지표, 골 형성

지표의 변화를 통해 섭취 군내 및 군간의 개선 정도를 비교하여 통계적으로 유의한 차이가 있는지 분석한다. 그리고 섭취 후(방문4, 6: Week 12, 24)에 섭취 12주 후, 24주 후 성장속도에 대한 군간의 개선 정도를 비교하여 통계적으로 유의한 차이가 있는지 분석한다.

임상실험 검사(혈액검사 및 소변검사), 성호르몬 검사, 성장 관련 지표, 골 형성 지표 및 골연령 X-ray는 타 검사기관 검사실에 분석 의뢰하며 해당 기관의 프로토콜에 따른다.

## 9. 식사지도 및 식이조사

인체적용시험 기간 동안 대상자에게 평소 섭취하던 일반적인 식사형태와 신체 활동량, 그리고 식이 섭취량을 유지하되 한삼덩굴과 관련된 식품을 정기적으로 먹지 않도록 권고한다.

인체적용시험 기간 동안 대상자의 평상시 식이를 조사하기 위해, 방문2, 4에 대상자 또는 부모(또는 법정대리인)에게 식이 조사지를 배부하여 방문4, 6의 방문일 전 최근 일주일 중 가능한 주말 1일을 포함한 3일 간의 평소와 유사한 식사를 기록하도록 한다.

작성된 식이 조사지는 한국영양학회의 영양평가용 프로그램 (CAN-Pro 5.0)<sup>23)</sup>을 사용하여 식품 및 영양소 섭취량을 분석한다.

## 10. 통계분석

SAS<sup>®</sup> version 9.4 (SAS Institute, Cary, North Carolina, USA)를 통계분석에 이용하며, 일차적으로 섭취 12주 후 시험군의 키 성장이 대조군 대비 우수함을 증명하기 위해, 차이 (Difference)에 대한 유의성은 양측검정으로  $P < 0.05$  수준에서 검증한다.

### 1) 결과분석의 일반적 원칙

무작위 배정을 받은 인체적용시험 대상자를 모두 분석 대상으로 보는 원칙 (Intention-to-treat, ITT)에 따라, Full analysis set (FAS) 분석에 포함되는 대상은 주요 선정/제외기준 위반사항이 없고, 무작위 배정 이후 인체적용시험용 식품을 최소 1회 이상 섭취하고 유효성 평가를 최소한 1회 이상 시행한 집단을 대상으로 시행한다. PPS 분석은 FAS 분석에 포함된 대상자 중 중대한 위반사항 없이 인체적용시험 계획서에 따라 본 연구를 성공적으로 종료한 시험대상자를 대상으로 시행한다.

본 인체적용시험의 대상자로부터 얻어진 자료 중 유효성 관련 자료는 Per protocol set (PPS) 분석을 주된 분석법으로 하고, 안전성 자료에 대한 평가는 Safety set 분석을 주 분석법으로 시행한다.

FAS 분석에서 결측치가 발생한 경우, Last observation carried forward (LOCF) 방법을 통해 분석하되, 유효성 평가 변수 외 나머지 모든 분석 항목에 대해서는 결측치 대체 없이 있는 그대로의 자료로 분석을 시행한다.

### 2) 유효성 평가

통계적으로 유의한 차이가 있는지 평가하기 위해, 1차 유효성 평가 변수(섭취 12주 후 신장) 및 2차 유효성 평가 변수(섭취 12주 후, 24주 후 성장속도, 연령별 신장의 HAZ, 성장 관련 지표, 골 형성 지표) 결과에 대해서 정규성 만족 여부에 따라 Two sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test를 실시한다. 섭취 전후 변화에 대한 군내 비교는 Paired t-test 혹은 Wilcoxon signed rank test를 이용하여 분석할 수 있다. 인구학적 및 생활습관 조사 상 실험군과 대조군을 비교하여 통계적으로 유의한 차이가 있거나 임상적으로 유의한 경우에는, 해당 기저 특성을 공변량으로 하는 공분산분석 (Analysis of Covariance, ANCOVA)을 실시할 수 있다.

### 3) 안전성 평가

안전성 평가항목에는 이상반응 여부, 임상병리검사(혈액학적/혈액화학적 검사, 뇨 검사) 결과, 활력 징후(맥박) 및 성호르몬(테스토스테론, 에스트라디올, 난포자극호르몬(FSH), 황체형성호르몬(LH)) 검사 결과의 이상여부가 포함된다. 인체적용시험용 식품 섭취 후 발생한 모든 이상반응을 도표화한 뒤 발생률을 산출하여, 카이제곱검정 (chi-square test) 또는 피셔의 정확검정 (Fisher's exact test)을 이용해 비교 분석한다. 임상병리검사 결과나 생체징후 등과 같은 연속형 자료의 군내 비교는 paired t-test를 이용하여 분석하고, 군간의 비교는 정규성 만족 여부에 따라 Two sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test를 실시하여 통계적 유의한 차이가 있는지 평가한다.

## 11. 이상반응

이상반응 (Adverse events)은 인체적용시험 시작 전에는 관찰되지 않았으나, 인체적용 시험기간 동안 대

상자에게 새롭게 나타난 증상으로, 의도하지 않았던 증상 (symptom), 증후 (sign) 및 질병을 총칭한다. 시험 시작일로부터 시험 종료 시점까지 시험책임자는 심각성, 발현 정도, 섭취제품과의 연관성과 별개로 이상반응으로 예상되는 모든 현상 (증세 및 증상, 시작일, 지속 기간 등)을 보고하고 증례기록서에 빠짐없이 의학적 용어로 기록해야 하며, 가능하다면 이에 대한 진단을 실시해야 한다. 인체적용시험용 제품과의 인과관계는 시험자가 평가 기준에 따라 6단계 (명확히 관련이 있음, 관련이 있다고 생각됨, 관련이 있을 가능성이 있음, 관련이 없다고 생각됨, 명확히 관련이 없다고 생각됨, 불명)로 분류하여 평가한다. 이상반응 발생 즉시 필요한 검사 및 치료를 받도록 관리해야 한다. 중대한 이상반응 또는 약물이상반응이 발생하는 경우에는 시험을 중단하고 이상반응 보고방법 및 각 담당자의 의무에 따라 신속하고 적절한 조치를 취하여 이상반응을 최소화해야 한다.

## 12. 연구관리

대상자의 권리와 복지 보호, 인체적용시험 데이터 및 인체적용시험용 식품의 관리에 대한 모니터링은 네오뉴트라(주) 모니터요원의 정기적인 인체적용시험 실시기관 방문과 전화를 통해 이루어진다. 모니터 요원은 시험진행상황을 잘 살피고, 매 방문 시 증례기록서, 인체적용시험 대상자 기록 원본, 시험용 식품 관리 기록, 보관 자료를 확인하여 문제가 있을 경우 인체적용시험 시험자와 상의한다.

이상반응이 발생하는 것에 대비하여 적절히 치료가 이루어질 수 있도록 시험대상자 모두에 대해 보험을 가입한다.

## 13. 연구윤리 및 인체적용시험 대상자 안전 보호 대책

본 인체적용시험 프로토콜을 변경하고자 하는 경우에는 변경 계획서에 대해 IRB의 승인을 받아야 한다. 인체적용시험 책임자 또는 공동연구자는 본 시험의 실시에 있어 시험대상자와 부모 (또는 법정대리인)에게 인체적용시험에 대한 내용 및 효과, 이상반응 및 안전성에 대해 충분히 설명해야 한다. 그리고 자발적인 동의서 작성을 위해 대기 시간을 충분히 제공해야 하며, 인체적용시험 책임자 또는 공동연구자 역시 동의서에 본인의 서명과 날짜를 기재한다.

모든 대상자는 개인 신원을 파악할 수 있는 기록에 대한 비밀 유지 및 보호를 받게 된다. 본 인체적용시험의 자료는 전자증례기록서 (Electronic Case Report Form, eCRF)를 통해 수집되며 인체적용시험 시험자나 위임 받은 경우가 아니면 eCRF와 근거 문서를 입력 및 수정 할 수 없다. 전자 데이터 캡처 (Electronic Data capture, EDC) 시스템에 접속하기 위해서는 권한이 필요하며, EDC를 통해 eCRF를 입력/수정/저장/삭제하는 모든 추적 사항이 기록된다.

## III. Discussion & Conclusion

성장은 여러 종류의 호르몬과 세포의 작용 및 대사의 총체적인 결과 신장 및 신체 각 기관의 형태학적, 해부학적 크기와 기능이 증가하는 것이다. 소아의 성장은 신체적, 정신적, 그리고 사회적 건강 상태와 밀접한 관련성이 있으며 정상 발달과도 서로 영향을 주고 받는다<sup>24)</sup>. 소아는 출생 후 첫 1년간 약 25 cm 정도 크며, 이후 만 4세까지 8 - 10 cm/년, 만 4세이후부터 사춘기 전까지는 5 - 6 cm/년 정도 성장한다<sup>25)</sup>.

성장장애는 키가 같은 성별, 또래의 평균치보다 3백분위수 미만이거나 - 2.0 표준편차 미만인 경우로, 골격계 자체의 문제로 생각되는 1차성 성장장애와 만성질환 또는 내분비 질환에 의한 2차성 성장장애, 그리고 명확한 원인을 찾을 수 없는 특발성 저신장으로 나누어볼 수 있다<sup>26)</sup>. 질병은 없으나 유전적인 성향 및 체질적인 이유로 키가 작은 정상 변이 저신장도 넓은 의미의 특발성 저신장에 포함된다. 연구를 시행한 국가나 병원의 크기, 연구 대상자 인구 집단의 특징에 따라 빈도가 다르지만, 키가 작아 내원하는 대부분의 소아는 정상적으로 키가 작은 경우가 많다<sup>27)</sup>. 미국의 경우 소아 저신장의 원인을 정상 변이 저신장 (75%), 병적 저신장 (14%), 내분비질환 (5%) 순서로 보고했고<sup>28)</sup>, 이란에서는 가족성 저신장 (33.6%), 체질성 성장지연 (19.7%), 특발성 저신장 (11.5%), 자궁내 성장부진 (9.8%), 일차성 갑상샘 저하증 (2.5%) 순으로 보고하고 있다<sup>29)</sup>.

성장호르몬은 체내의 제지방 조직 (lean body mass)과 골밀도를 증가시키고, 주로 간에서 IGF-1의 생성을 촉진하는데, IGF-1은 골세포 분화와 길이 성장에 관여

하여 성장에 중요한 역할을 하고 있다<sup>6)</sup>. 저신장을 동반하는 여러 질환에서 성장호르몬 치료가 시도되는데 현재는 성장호르몬 결핍증 외에도 만성 신부전, 터너 증후군, 누난 증후군, 프래더-윌리 증후군, 부당 경량아, 특발성 저신장에서 사용되고 있다<sup>30)</sup>. 최근 성장 치료에 대한 관심이 증가하며 의학적인 저신장에 해당되지 않는 소아에게도 성장호르몬 치료가 사용되고 있다<sup>31,32)</sup>. 성장 호르몬 치료는 부작용이 적은 편으로 비교적 안전하며, 현재까지 임상적으로 의미 있는 metabolic side-effects가 보고된 적 없다. 하지만 염분저류에 의한 부종, 두개뇌압상증에 의한 두통, 갑상선 수치 이상, 인슐린저항성으로 혈당이상, 급격한 성장에 따른 이차적 성장으로 인한 척추 측만증 악화 및 대퇴골두 골단 분리증 등이 부작용으로 보고된 적 있고, 장기간 사용하는 경우 정기적이고 세심한 추적관찰이 필요하다고 권고된다<sup>2)</sup>.

한의학에서는 소아의 성장에 대해 “腎爲先天之本”, “脾爲後天之本”이라 하여, 脾氣가 충만하고 脾氣가 건강할 때 성장발육 상태가 양호하지만, 脾氣가 미약해 主骨하지 못하는 경우 성장지연이 발생하고, 脾의 水穀運化 기능에 문제가 생기면 성장발육에 장애를 받아 신장 및 체중 외에도 골격, 모발, 치아, 운동, 지력 등 다양한 방면에 영향을 미친다고 설명한다<sup>33,34)</sup>. 또한 소아의 생리적 특성을 生機旺盛 發育迅速으로 설명하고 있는데, 소아는 생장발육이 신속한데 비해 臟腑嬌嫩 形氣未充하고 脾常不足하기 때문에, 脾의 運化 기능이 왕성하지 못하여 성장장애로 이어질 수 있다<sup>35)</sup>. 따라서 한의학에서 성장장애의 치료는 益氣補脾하여 식욕을 증진시키거나 소아의 전신 상태를 조절하여 臟腑 불균형을 치료하며, 혈액순환을 촉진해 신체에 충분한 혈액과 영양을 공급하여 충분한 생리기능을 발휘하도록 하는 것에 중점을 두고 있다<sup>36)</sup>.

성장에 대한 관심이 높아지며 황기, 가시오가피, 녹용 추출물, 홍삼 등 키 성장 관련 기능성 제품의 개발 및 판매가 증가하고 있으며, 최근에는 발효굴추출물의 키 성장 효과를 평가하기 위한 임상시험도 진행 중이다<sup>27)</sup>. 하지만 식품의약안전처로부터 인정받은 소아의 키 성장 기능성 원료로는 황기추출물 등 복합물 (HT-042)<sup>21)</sup>이 유일하다.

본 인체적용시험에 사용되는 한삼덩굴추출분말의 원재료인 율초 (*Humulus japonicus*, 蓬草)는 삼과 (Cannabaceae)에 속하는 1년생 혹은 다년생 초본의 전초를 여름, 가을에 채취해 햇볕에 건조시킨 덩굴성 한해살

이풀이다. 한삼덩굴은 한국과 중국 등지에서 쉽게 볼 수 있지만, 한방에서 활용 빈도는 높지 않다<sup>15,17)</sup>. 중국의 중약대사전에 율초는 맛이 달고 쓰며 성질은 차고 독이 없어 열을 내리고 이뇨하며 어혈을 제거하고 해독하는 효능이 있다고 하였으며, 梁代 陶弘景이 저술한 《名醫別錄》에는 ‘勒草’라는 이름으로 최초로 수록되어 있다<sup>37)</sup>. 《東醫寶鑑》에는 “性寒, 味甘, 無毒. 主五淋, 止水痢, 除瘧, 主癲瘡.”이라 하여 微苦甘寒無毒한 性味가 있고 肝肺大腸膀胱經에 入하여 淸熱利尿, 消炎退熱, 消瘀解毒, 潤五臟, 建胃, 消五穀하는 효능으로 五淋을 치료해 利尿하며 水痢를 멎추고 瘧疾을 치료하며 나병으로 인한 부스럼 및 피부 발진 등을 낫게 한다고 하였다<sup>12,17)</sup>. 한삼덩굴은 luteolin, glucoside, cosmosin, 정유 등을 주요 성분으로 하며, 염증성 질환의 유효성에 관련된 다양한 연구들이 진행되고 있다. 기존 연구에 따르면 동물 실험 결과 진통, 소염 및 이뇨 작용에 유의한 효과가 있음이 보고되었는데<sup>12)</sup>, 黃 등<sup>38)</sup>은 한삼덩굴 전초 추출물의 rat의 paw edema를 감소시키는 등의 항염, 이뇨 효과를 밝혔고, 박 등<sup>39)</sup>이 한삼덩굴 전초 추출물로부터 분리한 Luteolin glucoside의 활성산소 소거능을 입증하였다.

본 인체적용시험이 계획되기 전 시험의뢰기관 PENZ(주)에서 수행한 동물시험에서 한삼덩굴 등 복합물 섭취에 의해 간과 뼈에서 IGF-1과 IGFBP-3의 혈청 수준과 IGF-1과 IGFBP-3 mRNA의 발현이 증가했고 간에서 JAK2/STAT5의 인산화가 증가함을 확인했다<sup>18)</sup>. 또한 SD Rat의 신체 (코-항문, 코-꼬리) 길이와 뼈 (대퇴골, 정강이뼈) 길이가 증가, 골분화유도 성장인자인 BMP-2 발현 증가 등을 확인할 수 있었다<sup>19)</sup>. 하지만 이는 모두 동물을 대상으로 진행한 연구이므로 소아 키 성장에 대한 한삼덩굴추출분말의 유효성과 인체에서 안전성을 평가하고자 본 시험을 계획하게 되었다.

본 연구는 한삼덩굴추출분말의 성장기 소아 키 성장 유효성과 안전성을 평가하기 위한 연구로, 2017년 표준성장도표 상<sup>20)</sup> 3 백분위수 이상, 25 백분위수 미만에 해당하는 만 6세 이상 9세 미만의 남녀 소아로 대상을 제한하였다. 다수의 부모들이 자신의 자녀가 연령 평균치 이상으로 되길 바라며, 성장장애 진단기준에 해당하지 않더라도 성장치료를 희망한다는 박<sup>40)</sup> 등의 연구와 한방의료기관에 성장장애를 주소로 내원하는 소아 중 25백분위수 내외가 많다는 기존 연구결과<sup>41)</sup>를 참고하여 본 인체적용시험의 대상자 선정 기준을 확립하였다.

적합한 대상자를 선별하기 위해서 스크리닝 검사 전 4주 이내에 키 성장 관련 호르몬 (성장호르몬, 갑상선호르몬, 부신피질호르몬, 성호르몬 등)을 투여 받았거나 주의력결핍 과잉행동장애 (Attention-Deficit Hyperactivity Disorder, ADHD) 약물을 복용한 경우와 3개월 이내에 키 성장 관련 약품/한약 및 건강기능식품을 복용한 자는 대상에서 제외했다. 또한, 질환에 의한 성장장애의 가능성을 배제하기 위해 내분비질환 혹은 성장호르몬 치료가 필요한 질환으로 성장지연에 해당하는 경우, Tanner stage 2단계 이상인 경우, 빈혈이 있는 경우 (Hemoglobin < 12 g/dL), AST, ALT, Creatinine이 수행 기관 정상 상한치 2배 이상인 경우를 제외했다. 갑상선 기능저하증, 성조숙증, 성장호르몬결핍증 등의 질환을 스크리닝 검사에서 배제하기 위해 Thyroid Stimulating Hormone (TSH), Triiodothyronine (T3), Free thyroxine (Free T4), IGF-1, IGFBP-3 측정, 성호르몬 (Estradiol, Follicle stimulating hormone, Luteinizing hormone, Testosterone) 검사를 시행하며, 제외 기준에 해당하는 질병 선별을 위해 일반 혈액 검사 (CBC), 생화학적 검사, 혈당검사 등을 시행한다. 인체적용시험 식품의 복용 기간은 기존의 성장호르몬 치료 효과에 대한 문헌 보고에서 최소 6개월 이상 투여했을 때 유의한 효과가 있었다는 것을 참고하여, 총 24주로 설정하였다.<sup>42)</sup>

본 연구의 1차 유효성 평가는 변수는 섭취 12주 후의 신장으로, 키를 정확하게 측정하기 위해 매 방문 같은 시간대에 3회 연속 측정하여 그 평균값을 기록하는데 눈금은 0.1cm 단위로 기록한다. 머리 뒷부분과 어깨부터 엉덩이, 그리고 발뒤꿈치가 신장 계측기에 닿도록 하고 안와외이면 (Frankfurt line)이 수평이 되도록 소아의 시선을 정면으로 고정시킨 후 측정한다.

2차 유효성 평가는 변수는 섭취 24주 후 신장, 섭취 12주 후 그리고 24주 후의 성장 속도, HAZ, 골연령, 성장 관련 지표 (Growth Hormone, IGF-1, IGFBP-3), 그리고 골 형성 지표 (Osteocalcin, BALP)이다. 신장 측정으로 확인할 수 있는 성장속도와 연령별 신장 표준 점수, 그리고 그 외 2차 유효성 평가 변수는 방문1, 4, 6에 평가한다.

성장속도는 인체적용시험용 식품을 섭취한 12주, 24주 간의 신장 증가분 (cm)을 년으로 환산해 cm/년 단위로 산출하며, 연령별 신장 표준 점수는 대상자의 키 측정값에서 같은 성별, 연령에 대비한 평균 키를 뺀 값을 같은 연령과 성별에 따른 표준편차로 나누고 소수

점 둘째 자리 표기하는 방법<sup>43)</sup>을 사용하였다. 골연령의 경우, 인체적용시험 대상자를 외부 진단검사실로 이송하여 X-ray 검사를 시행하고 해당 기관의 영상의학과 전문의가 Tanner Whitehouse 3 (TW3) 방법을 사용하여 골 성숙 정도를 평가한다. TW3 방법은 왼쪽 수골 X-Ray 이미지로부터 13개 부위 성장판의 골성숙 정도를 판정해 점수를 채점하고, 점수를 모두 더하여 RUS (Radius, Ulna, Short Bone) Score라고 불리는 골성숙 점수를 계산해 골연령을 산출하는 방식이다.

IGF-1, IGFBP-3, 성장호르몬을 성장조절지표로, Osteocalcin, BALP를 골관련지표로 측정한다. 성장 호르몬은 뇌하수체 전엽 호르몬으로, 간 및 골격에서 IGF-1 합성 및 분비를 증가시키고, 뼈, 연골의 성장과 근육의 증가 등을 촉진하여 2세 이후의 키 성장에 있어 가장 핵심적인 호르몬이지만, 박동적으로 분비되기 때문에 측정 시간에 따라 다른 값을 나타낸다는 한계점이 있다<sup>44,45)</sup>. 혈중 IGF-1을 측정하여 보완하는 방법이 가장 많이 이용되는데, 체내에서 비교적 일정 농도를 유지 하므로 측정이 용이하고 성장 호르몬 분비에 따라 IGF-1 농도 역시 상승하여 내인성 성장호르몬 분비의 지표가 되기 때문이다<sup>46)</sup>. 혈중에 가장 많이 존재하는 IGFBP인 IGFBP-3은 혈중 IGF-1과 결합하여 IGF-1의 생물학적 활성도를 조절하므로 IGF-1과 IGFBP-3를 함께 측정하는 것이 일반적이다<sup>47)</sup>.

Osteocalcin은 골과 상아질에 특이성을 가지는 비교 원성 단백질로 조골세포로부터 생성되기 때문에 골모 세포의 marker로 흔히 사용되는 지표이다<sup>48)</sup>. BALP는 hypertrophic chondrocytes와 골아세포의 골형성 과정에서 분비되므로 성장속도를 잘 반영한다<sup>49)</sup>.

인체적용시험용 식품 섭취 전후 비교를 위한 객관적인 임상 데이터 수집과 안전성 평가를 위해 혈액학적/혈액화학적검사 및 뇨검사 등의 임상병리검사를 스크리닝 방문, 방문4, 6에 시행하여 검사치에 대해 섭취 전후 변화를 분석한다. 또한, 안전성 평가를 위해 추가로 매 방문 시 활력징후 (맥박), 문진을 시행하여 이상반응을 확인하고 주기적인 모니터링을 시행할 예정이다.

부산대학교 한방병원 IRB의 관리 하에 수차례 승인 과정을 거치며 본 연구의 인체적용시험 계획서와 중례 기록서가 개발되었으며, 시험을 진행하는 동안 발생하는 다양한 변수에 대해 추가적인 수정 보완 과정이 필요할 것으로 생각된다. 일례로 본 연구의 제외 기준 중 '빈혈이 있는 자 (Hemoglobin< 12 g/dL 미만)'가 포함

되어 있는데, 식품의약품안전평가원의 소아 키 성장 관련 건강기능식품 기능성 평가 가이드(민원인 안내서)<sup>50)</sup> 역시 ‘심각한 빈혈이 있는 경우 (6-14세 Hemoglobin < 12 g/dL)’를 시험 대상자 배제기준으로 언급하고 있다. 임상에서 빈혈은 Hemoglobin이나 적혈구 수, 또는 두 가지 모두가 정상치보다 저하된 상태로, 일반적으로 같은 나이와 성별의 Hemoglobin 평균에서 2 표준편차 미만<sup>51)</sup>으로 정의된다. 그러나 세계보건기구에 따르면<sup>52)</sup> 빈혈을 진단하는 Hemoglobin 기준은 5-11세에서 11.5 g/dL 미만이며, 마찬가지로 현재 국내 의과대학에서 한글판 소아과학 교과서로 통용되는 ‘소아과학’에도 6-12세 소아의 Hemoglobin 정상 하한치를 11.5 g/dL<sup>25)</sup>로 제시하고 있다. 서울아산병원 진단검사의학과의 소아 연령별 적혈구 참고치<sup>53)</sup> 역시 6-12세 소아의 Hemoglobin 농도의 평균치를 13.5 g/dL, 정상 하한치는 11.5 g/dL로 제시하고 있다. 따라서 본 연구 제외기준에 해당하는 Hemoglobin 농도가 인체적용시험 대상자의 연령(만 6세 이상, 9세 미만)을 고려했을 때 실제 임상 현장에서 사용되고 있는 정상 하한치에 비해 높게 설정된 측면이 있어, 실제 연구 진행 시 스크리닝 탈락 확률을 높일 수 있다는 우려가 있다. 따라서 제외기준 변경이 필요할 것으로 생각된다.

지금까지 한삼덩굴추출분말을 활용한 소아 키 성장 인체적용시험이 전무했지만, 본 프로토콜에 따른 인체적용시험이 완료된다면, 한삼덩굴추출분말의 성장기 소아 키 성장에 대한 유효성과 안전성에 대해 임상적으로 유의미한 결과를 얻을 것으로 기대된다. 또한 외모에 대한 사회적 관심이 높아지는 가운데, 항기추출물 등 복합물 (HT-042) 외에 식품의약안전처로부터 소아 키 성장 기능성을 인정받는다면, 성장으로 고민하는 소아 및 부모의 선택의 폭을 넓히는 데 도움이 될 것으로 사료된다.

#### IV. Acknowledgement

본 결과물은 농림축산식품부의 재원으로 농림식품 기술기획평가원의 고부가가치식품기술개발사업의 지원을 받아 연구되었음 (No. 121023-3). 본 연구는 2023년도 부산대학교병원 임상연구비 지원으로 이루어졌음.

#### V. References

- LIM YK, Min SR, Hur KW, Kim HM, Chun SY, Suh KS, Kim Y, Lee H, Park HJ, Baik YS, Kim HC. Relationship between bone age, chronological age, anthropometric parameters, and diagnosed pulse rate on secondary sexual character development of child-adolescence. J Korean Med. 2014;35(1):88-98.
- Nam HK. Approach to short stature in children and adolescent. Ewha Med J. 2021;44(4):111-6.
- Sung IK. Monitoring growth in childhood: practical clinical guide. J Korean Med Assoc. 2009;52(3):211-24.
- Korean Society of Pediatric Endocrinology. Pediatric Endocrinology. 3rd ed. Paju: Koonja. 2020:83-92.
- Lee YJ, Baek JH, Ko MJ, Seo JM. Herbal medicine promotes growth of children. J Pediatr Korean Med 2011;25(1):49-62.
- Lee KH. Growth hormone therapy in short stature children. J Korean Med Assoc. 2008;51(9):849-55.
- Jang SB, Lee JH, Park SK, Lee BR. Development of Korean medicine health promotion program for short stature children. SPKOM. 2022;26(1):1-10.
- Kemp SF, Kuntze J, Attie KM, Maneatis T, Butler S, Frane J, Lippe B. Efficacy and safety results of long-term growth hormone treatment of idiopathic short stature. J Clin Endocrinol Metab. 2005;90(9):5247-53.
- Cianfarani S. Risk of cancer in patients treated with recombinant human growth hormone in childhood. Ann Pediatr Endocrinol Metab. 2019;24(2):92-8.
- Shin MK. Clinical Traditional Herbalogy. Seoul: Younglimsa. 1997:449-50.
- Heo JY, Jeong CH, Shim KH. Chemical components of *Humulus japonicus* leaves and stalks. J Agric Life Sci. 2003;37(1):1-7.
- Lim DB, Lee YJ. The Effect of *Humulus japonicus* on analgesia, anti-inflammation, and urination. Kor J Herbology. 1993;8(1):69-75.
- Chung YH, Bang YS, Kang CM, Goh JW, Lee HS, Hong SM, Kim DS, Park ES, Jung TW, Shin YK, Lee JH, Jeong JH. Aqueous extract of *Humulus japonicus* attenuates hyperlipidemia and fatty liver in obese mice. J Med Food. 2018;21(10):999-1008.

14. Park SW, Woo CJ, Chung SK, Chung KT. Antimicrobial and antioxidative activities of solvent fraction from *Humulus japonicus*. Korean J Food Sci Technol. 1994; 26(4):464-70.
15. Hwang SY, Jo MJ, Kim SC, Jee SY. Anti-inflammatory effects of the MeOH extract of *Humulus japonicus* *in vivo*. J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol. 2009;22(2):92-103.
16. Lee YR, Kim KY, Lee SH, Kim MY, Park HJ, Jeong HS. Antioxidant and antitumor activities of methanolic extract form *Humulus japonicus*. Korean J Food Sci Technol. 2012;25(2):357-61.
17. Heo J. A New Translation Donguibogam. Seoul: Bubin Publishing Co. 2005:769,3565.
18. Kim OK, Yun JM, Lee MH, Park SJ, Kim DK, Oh DH, Kim HS, Kim GY. A Mixture of *Humulus japonicus* increases longitudinal bone growth rate in Sprague Dawley rats. Nutrients. 2020;12(9):2625.
19. Kim OK, Yun JM, Lee MH, Park SJ, Kim DK, Oh DH, Kim HS, Lee JM. Effects of a mixture of *Humulus japonicus* on longitudinal bone growth in hypophysectomized rats. J Med Food. 2021;24(5):497-504.
20. Kim JH, Yun SH, Hwang SS, Shim JO, Chae HW, Lee YJ, Lee JH, Kim SC, Lim DH, Yang SW, Oh KW, Moon JS. The 2017 Korean national growth charts for children and adolescents: development, improvement, and prospects. Korean J Pediatr. 2018;61(5):135-49.
21. Ra JC, Park HG, Choi MK, Lee HY, Kang KS. The development of functional food with plant extracts for enhancing growth rate. J Food Hyg Saf. 2004;19(3): 112-8.
22. U.S. Food and Drug Administration. Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers [Internet]. Center for Drug Evaluation and Research (CDER); 2005 [Updated 2018 Dec, cited 2023 Aug 1]. Available from: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/estimating-maximum-safe-starting-dose-initial-clinical-trials-therapeutics-adult-healthy-volunteers>.
23. The Korean Nutrition Society. Can Program Introduction [Internet]. The Korean Nutrition Society; 2015 [Updated 2015 Sept, cited 2023 Aug 1]. Available from: [https://www.kns.or.kr/can/CanPro5.asp](http://www.kns.or.kr/can/CanPro5.asp).
24. Rhie YJ. Metabolic effects of growth hormones in children. Korean J Obes. 2015;24(2):87-91.
25. Ahn HS, Shin HY. Hong Changui Pediatrics. 11th ed. Seoul: Mirae N. 2008;13-9,897
26. Rogol AD, Hayden GF. Etiologies and early diagnosis of short stature and growth failure in children and adolescents. J Pediatr. 2014;164(5 Suppl):S1-14.
27. Polidori N, Castorani V, Mohn A, Chiarelli F. Deciphering short stature in children. Ann Pediatr Endocrinol Metab. 2020;25(2):69-79.
28. Lindsay R, Feldkamp M, Harris D, Robertson J, Rallison M. Utah Growth Study: growth standards and the prevalence of growth hormone deficiency. J Pediatr. 1994; 125(1):29-35.
29. Shiva S, Nikzad AR. Etiology of short stature in East Azerbaijan, Iran. Iran J Pediatr. 2009;19(1):35-40.
30. Seok EM, Park HK, Rho JG, Kum CD, Lee HS, Hwang JS. Effectiveness of growth hormone therapy in children with Noonan syndrome. Ann Pediatr Endocrinol Metab. 2020;25(3):182-6.
31. Ranke MB, Wit JM. Growth hormone - past, present and future. Nat Rev Endocrinol. 2018;14(5):285-300.
32. Kim JE, Baek JH. Effects of herbal medicine for growth of children: a retrospective study. J Pediatr Korean Med. 2016;30(4):87-98.
33. Han JE, An TEB, Park JK, Sung HK, Yeon JH, Sung SH. Treatments of Korean medicine for pediatric growth: a literature review of clinical studies. J Pediatr Korean Med. 2021;35(1):18-29.
34. Kwon JH, Cho SW, Yu SA. Review of Clinical Researches for Herbal Medicine Treatment in Pediatric Growth - Focusing on recent national studies -. J Pediatr Korean Med. 2018;32(4):103-12.
35. Department of Pediatrics, Nationwide Korean Medicine College. Pediatrics of Korean Medicine. Seoul: Ui Sung Dang Publishing Co. 2020:814-7.
36. Park SG, Park SH, Lee SH, Lee JY. Review of clinical researches in Chinese medical journal for acupuncture, moxibustion, and manual therapy of pediatric growth. J Pediatr Korean Med. 2019;33(1):58-77.
37. Do HK. Myeongguibyeolrok. Bejing: Inminwisaeng Publishing, Inc. 1986:165

38. Hwang SY, Jung HJ, Jang WS, Jo MJ, Kim SC, Jee SY. Anti-inflammatory effects of the MeOH extract of *Humulus japonicus* in vitro. *J Korean Med Ophthalmol Otalaryngol Dermatol.* 2009;22(3):71-9.
39. Park SW, Chung SK, Park JC. Active Oxygen Scavenging Activity of Luteolin-7-O- $\beta$ -D-Glucoside Isolated from *Humulus japonicus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2000; 29(1):106-10.
40. Park ES, Lee JY, Kim DK. A Study for satisfaction and expectation of effect on the growth of children treated with herbal medicine. *J Pediatr Korean Med.* 2010;24(1):36-45.
41. Choi SH, Park EJ. A clinical study of the pediatric patients who visited oriental medical hospital for growth treatment. *J Pediatr Korean Med.* 2018;32(4):51-62.
42. Cheong EJ, Chun PS. Effect of growth hormone therapy on height in children and adolescents. *Yakhak Hoeji.* 2016;60(4):211-21.
43. World Health Organization. Global database on child growth and malnutrition [Internet]. World Health Organization; 1997 [Updated 1997; cited 2019 Oct 10]. Available from: <https://www.who.int/nutgrowthdb/about/introduction/en/index4.html>.
44. Ministry of Food and Drug Safety. Health Functional Food Functional Evaluation Guide (Related to bone health, related to joint health) [Internet]. National Institute of Food and Drug Safety Evaluation; 2020 [Updated 2020 Sept, cited 2023 Aug 1]. Available from: [https://www.mfds.go.kr/brd/m\\_1060/view.do?seq=14658&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm\\_seq\\_1=0&itm\\_seq\\_2=0&multi\\_itm\\_seq=0&company\\_cd=&company\\_nm=&page=36](https://www.mfds.go.kr/brd/m_1060/view.do?seq=14658&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=36)
45. Jeon JK, Kim JB, Yoo HW. Normative data on serum levels of IGF-1, IGFBP-3 in healthy korean children: effect of age sex, height, body mass index, and pubertal maturation on the serum levels. *J Korean Soc Pediatr Endocrinol.* 2000;5(1):75-82.
46. Juul A, Kastrup KW, Pedersen SA, Skakkebaek NE. Growth hormone (GH) provocative retesting of 108 young adults with childhood-onset GH deficiency and the diagnostic value of insulin-like growth factor I (IGF-1) and IGF-binding protein-3. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(4):1195-201.
47. Yang GH, Jung HL, Kim DS, Shim JW, Shim JY, Park MS. Evaluation of serum insulin-like growth factor (IGF)-1, insulin-like growth factor binding protein (IGFBP)-2 and IGFBP-3 levels in healthy Korean children. *Clinical and Experimental Pediatrics.* 2005;48(3):298-305.
48. Kannisto S, Korppi M, Arikoski P, Remes K, Voutilainen R. Biochemical markers of bone metabolism in relation to adrenocortical and growth suppression during the initiation phase of inhaled steroid therapy. *Pediatr Res.* 2002;52(2):258-62.
49. Crofton PM, Wade JC, Taylor MR, Holland CV. Serum concentrations of carboxyl-terminal propeptide of type I procollagen, amino-terminal propeptide of type III procollagen, cross-linked carboxyl-terminal telopeptide of type I collagen, and their interrelationships in schoolchildren. *Clin Chem.* 1997;43(9):1577-81.
50. Ministry of Food and Drug Safety. Health Functional Food Functional Evaluation Guide (Can Help Children Grow Taller) [Internet]. National Institute of Food and Drug Safety Evaluation; 2023 [Updated 2023 May, cited 2023 Aug 1]. Available from: file:///C:/Users/admin/Downloads/%EA%B1%B4%EA%B0%95%EA%B8% B0%EB%8A%A5%EC%8B%9D%ED%92%88+%E A%B8% B0%EB%8A%A5%EC%84% B1+%ED%8F %89%EA% B0%80+%EA% B0%80%EC%9D% B4% EB%93%9C(%EC%96% B4%EB%A6% B0%EC%9D% B4+%ED%82% A4%EC%84% B1%EC%9E% A5+ %EA% B4%80%EB% A0% A8).pdf.
51. Van Vranken M. Evaluation of microcytosis. *Am Fam Physician.* 2010;82(9):1117-22.
52. World Health Organization. Haemoglobin concentrations for the diagnosis of anaemia and assessment of severity [Internet]. World Health Organization; 2011 [Updated 2013 Aug; cited 2023 Aug 1]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/85839>
53. Asan Medical Center. Studies on Normal Values for Red Blood (RBC) by age group. [Internet]. Asan Medical Center Laboratory Medicine, 2003 [cited 2023 Aug 1]. Available from: <https://amc.seoul.kr/asan/depts/amccp/K/bbsDetail.do?menuId=558&contentId=112377>