

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0107308

(43) 공개일자 2025년07월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12N 1/20 (2006.01) *A23L 33/135* (2016.01)*A61K 35/747* (2015.01) *A61P 37/00* (2006.01)*A61P 5/14* (2006.01) *C12R 1/24* (2006.01)

(52) CPC특허분류

C12N 1/205 (2021.05)*A23L 33/135* (2016.08)

(21) 출원번호 10-2024-0001337

(22) 출원일자 2024년01월04일

심사청구일자 2024년01월04일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

윤철원

서울특별시 노원구 덕릉로79길 23 (중계동, 염광아파트)

(74) 대리인

특허법인(유)남아이피그룹, 특허법인 남앤남

전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 신규한 락토바실러스 브레비스 NE 4 2 8 균주 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 신규한 락토바실러스 브레비스 NE428 균주 및 이의 용도에 관한 것으로, 구체적으로 본 발명은 락토바실러스 브레비스 NE428 균주(수탁번호: KCTC15727BP), 상기 균주를 유효성분으로 포함하는 그레이브스병의 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및 그레이브스병의 예방 또는 개선용 건강기능식품에 관한 것이다. 본 발명에 따른 신규한 락토바실러스 브레비스 NE428 균주는 그레이브스병에 의해 혈액 내 증가된 갑상선호르몬의 농도를 감소시키고 갑상선의 크기를 감소시키는 등 그레이브스병을 예방, 개선 및 치료할 수 있는 효과가 있어, 그레이브스병의 새로운 치료제 및 건강기능식품의 제조에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도4

Negative Control



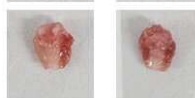
EGFP



TSHR



PTU

*L. brevis*

(52) CPC특허분류

A61K 35/747 (2013.01)

A61P 37/00 (2018.01)

A61P 5/14 (2018.01)

C12R 2001/24 (2021.05)

명세서

청구범위

청구항 1

락토바실러스 브레비스 NE428 균주(수탁번호: KCTC15727BP).

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 균주는 김치로부터 분리 및 동정된 것을 특징으로 하는, 락토바실러스 브레비스 NE428 균주.

청구항 3

락토바실러스 브레비스 NE428 균주(수탁번호: KCTC15727BP)를 유효성분으로 포함하는, 그레이브스병의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 균주는 균주의 균체, 균체의 파쇄물, 균주의 배양물, 균주의 배양물에서 균체를 제거한 배양액, 균주의 균체 추출물, 균주의 배양물의 추출물 또는 균주의 배양물에서 균체를 제거한 배양액의 추출물 중에서 선택되는 것을 특징으로 하는, 그레이브스병의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

제3항에 있어서,

상기 균주는 김치로부터 분리 및 동정된 것을 특징으로 하는, 그레이브스병의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 6

제3항에 있어서,

상기 조성물은 그레이브스병에 의해 혈액 내 증가된 갑상선호르몬의 농도를 감소시키고, 갑상선의 크기를 감소시키는 효과를 갖는 것을 특징으로 하는, 그레이브스병의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 7

락토바실러스 브레비스 NE428 균주(수탁번호: KCTC15727BP)를 유효성분으로 포함하는, 그레이브스병의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 균주는 균주의 균체, 균체의 파쇄물, 균주의 배양물, 균주의 배양물에서 균체를 제거한 배양액, 균주의 균체 추출물, 균주의 배양물의 추출물 또는 균주의 배양물에서 균체를 제거한 배양액의 추출물 중에서 선택되는 것을 특징으로 하는, 그레이브스병의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 균주는 김치로부터 분리 및 동정된 것을 특징으로 하는, 그레이브스병의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 10

제7항에 있어서,

상기 조성물은 그레이브스병에 의해 혈액 내 증가된 갑상선호르몬의 농도를 감소시키고, 갑상선의 크기를 감소시키는 효과를 갖는 것을 특징으로 하는, 그레이브스병의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 신규한 락토바실러스 브레비스 NE428 균주 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 그레이브스병(Graves' disease, GD)은 갑상선에 영향을 미치는 자가면역질환의 일종으로, 환자 자신의 면역세포가 갑상선 세포에 결합할 수 있는 항체를 생성하는 질환이다. 이렇게 생성된 항체는 갑상선을 자극해서 갑상선 자극호르몬을 과도하게 생성한다. 또한 이러한 항체는 눈 뒤의 조직에도 반응해서 안구 돌출 등의 눈 증상이 발생한다.

[0003] 한편, 그레이브스병의 정확한 원인은 밝혀져 있지 않으나, 유전적, 환경적 요인이 복합되어 작용할 것으로 예측하고 있다.

[0004] 그레이브스병 치료를 위한 방법으로는 갑상선 호르몬 생산을 감소시키는 항 갑상선제, 방사선 요오드 치료법 및 갑상선 절제술(외과적 절제술)이 있다. 실제로 갑상선 기능 항진증 환자에게 바로 수술 하는 것은 위험하므로 갑상선 절제술 전에 항 갑상선제를 투여하여 갑상선 기능 저하를 일으킨 후 수술을 진행한다.

[0005] 항 갑상선제 치료는 효과가 나타나려면 6개월에서 2년 간 투여해야 하며, 약물 중단 시 갑상선 기능 항진 상태는 재발할 수 있다. 재발 위험은 약 40-50%이며, 항 갑상선제의 평생 치료는 무과립구증 및 간 질환과 같은 부작용이 발생할 수 있다. 또한 항 갑상선제의 부작용으로 백혈구 수치가 잠재적이고 치명적으로 감소하는 문제도 있다. 방사성 요오드 치료는 미국에서 가장 보편적인 치료법으로 사용되고 있으나, 갑상선 호르몬 보충을 매일 해줘야 하는 번거로움이 있으며, 갑상선을 파괴하기 위해 천천히(수개월에서 수년에 걸쳐) 사용되며, 모든 환자에 대해 치료효과를 나타내지 않을 수 있는 문제점이 있다.

[0006] 따라서 체내 부작용을 유발시키지 않으면서 우수한 치료효과를 갖는 그레이브스병에 대한 새로운 치료제의 개발이 필요하다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 10-2021-0089214

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 이에 본 발명자들은 종래 그레이브스병 치료방법의 문제점을 해결할 수 있으면서 체내 안전한 새로운 치료제를 유산균을 대상으로 발굴하기 위해 연구하던 중, 김치로부터 분리된 신규한 락토바실러스 브레비스 NE428 균주가 그레이브스병에 대한 예방, 개선 및 치료 효과가 우수함을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0009] 따라서 본 발명의 목적은 신규한 락토바실러스 브레비스 NE428 균주(수탁번호: KCTC15727BP)를 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 다른 목적은 락토바실러스 브레비스 NE428 균주(수탁번호: KCTC15727BP)를 유효성분으로 포함하는, 그레이브스병의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 락토바실러스 브레비스 NE428 균주(수탁번호: KCTC15727BP)를 유효성분으로 포함하는, 그레이브스병의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0012] 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위해서, 본 발명은 락토바실러스 브레비스 NE428 균주(수탁번호: KCTC15727BP)를 제공한다.
- [0013] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 균주는 김치로부터 분리 및 동정된 것일 수 있다.
- [0014] 또한 본 발명은 락토바실러스 브레비스 NE428 균주(수탁번호: KCTC15727BP)를 유효성분으로 포함하는, 그레이브스병의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0015] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 균주는 균주의 균체, 균체의 파쇄물, 균주의 배양물, 균주의 배양물에서 균체를 제거한 배양액, 균주의 균체 추출물, 균주의 배양물의 추출물 또는 균주의 배양물에서 균체를 제거한 배양액의 추출물 중에서 선택되는 것일 수 있다.
- [0016] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 균주는 김치로부터 분리 및 동정된 것일 수 있다.
- [0017] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 조성물은 그레이브스병에 의해 혈액 내 증가된 갑상선호르몬의 농도를 감소시키고, 갑상선의 크기를 감소시키는 효과를 갖는 것일 수 있다.
- [0018] 또한 본 발명은 락토바실러스 브레비스 NE428 균주(수탁번호: KCTC15727BP)를 유효성분으로 포함하는, 그레이브스병의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.
- [0019] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 균주는 균주의 균체, 균체의 파쇄물, 균주의 배양물, 균주의 배양물에서 균체를 제거한 배양액, 균주의 균체 추출물, 균주의 배양물의 추출물 또는 균주의 배양물에서 균체를 제거한 배양액의 추출물 중에서 선택되는 것일 수 있다.
- [0020] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 균주는 김치로부터 분리 및 동정된 것일 수 있다.
- [0021] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 조성물은 그레이브스병에 의해 혈액 내 증가된 갑상선호르몬의 농도를 감소시키고, 갑상선의 크기를 감소시키는 효과를 갖는 것일 수 있다.

발명의 효과

- [0022] 본 발명에 따른 신규한 락토바실러스 브레비스 NE428 균주는 그레이브스병에 의해 혈액 내 증가된 갑상선호르몬의 농도를 감소시키고 갑상선의 크기를 감소시키는 등 그레이브스병을 예방, 개선 및 치료할 수 있는 효과가 있어, 그레이브스병의 새로운 치료제 및 건강기능식품의 제조에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0023] 도 1은 본 발명의 일실시예에서 그레이브스병 마우스모델 구축 및 김치로부터 분리된 유산균 투여에 대한 실험 스케줄을 나타낸 것이다.
- 도 2는 김치로부터 분리된 유산균 중에서 본 발명에서 선발한 락토바실러스 브레비스 NE428 균주에 대한 혈액 내 T4 증가량 감소 효능을 확인한 결과를 나타낸 것으로, 대조군(PBS 처리군, EGFP 발현유도군), TSHR 발현 유도 아테노바이러스(Ad-TSHR)를 투여한 그레이브스병 마우스 군(Ad-TSHR), Ad-TSHR와 본 발명의 락토바실러스 브레비스 NE428 신균주를 함께 투여한 마우스 군으로부터 각각 혈액을 채취하고, 혈액 내 T4의 수준을 분석한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 3은 정상마우스, EGFP 발현유도 대조군, TSHR 발현 유도 아테노바이러스(Ad-TSHR)를 투여한 그레이브스병 마우스 군(Ad-TSHR), Ad-TSHR와 그레이브스병 치료제로 알려진 PTU를 함께 투여한 군, 및 Ad-TSHR와 본 발명의 락토바실러스 브레비스 NE428 신균주를 함께 투여한 군으로부터 각각 2주 후(상단 도면) 및 3주 후(하단 도면), 혈액 내 T4의 수준을 분석한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 4는 PBS만을 처리한 정상 마우스, EGFP 발현유도 대조군, TSHR 발현 유도 아테노바이러스(Ad-TSHR)를 투여한 그레이브스병 마우스 군(Ad-TSHR) 및 Ad-TSHR와 본 발명의 락토바실러스 브레비스 NE428 신균주를 함께 투여한 마우스 군으로부터 갑상선 조직을 각각 분리한 후, 색과 크기를 관찰한 사진을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0024] 본 발명은 그레이브스병(Graves' disease, GD)의 예방 또는 치료를 위한 새로운 치료제로서 락토바실러스 브레

비스 NE428 신규주를 사용할 수 있음을 규명한 점에 특징이 있다.

- [0025] 본 발명자들은 그레이브스병의 새로운 치료제로서 종래 사용되던 합성 화합물이 아닌 미생물 치료제를 개발하기 위해 연구하던 중, 김치로부터 다수의 유산균들을 분리하였고, 분리된 유산균들 중에서 그레이브스병 발병 시 나타나는 혈액 내 갑상선호르몬(티록신(T4))의 농도를 가장 효과적으로 억제할 수 있는 유산균을 선발한 결과, 종래 알려지지 않은 신규한 락토바실러스 브레비스 균주를 동정하였고, 이를 ‘락토바실러스 브레비스 NE428(*Lactobacillus brevis* NE428)’ 균주로 명명하였으며, 한국생명공학연구원 생물자원센터 기관에 2023년 12월 08일자로 기탁하여 기탁번호 KCTC15727BP를 부여받았다.
- [0026] 따라서 본 발명은 신규한 락토바실러스 브레비스 NE428 균주(수탁번호: KCTC15727BP)를 제공할 수 있다.
- [0027] 또한 본 발명은 락토바실러스 브레비스 NE428 균주(수탁번호: KCTC15727BP)를 유효성분으로 포함하는, 그레이브스병의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공할 수 있다.
- [0028] 본 발명에서 상기 조성물에 유효성분으로 포함될 수 있는 균주는 이에 제한되지는 않으나, 균주의 균체, 균체의 파쇄물, 균주의 배양물, 균주의 배양물에서 균체를 제거한 배양액, 균주의 균체 추출물, 균주 배양물의 추출물 또는 균주 배양물에서 균체를 제거한 배양액의 추출물을 모두 포함할 수 있다.
- [0029] 또한 본 발명의 락토바실러스 브레비스 NE428 균주(수탁번호: KCTC15727BP) 신규주는 그레이브스병을 예방 및 치료할 수 있는 특징이 있다.
- [0030] 본 발명의 일실시예에서는 그레이브스병을 유발시킬 수 있도록 갑상선 자극호르몬 수용체(Thyroid Stimulating Hormone Receptor: TSHR)의 유전자를 도입한 아데노바이러스를 본 발명의 락토바실러스 브레비스 NE428 균주와 함께 마우스에 투여한 군과, TSHR 유전자를 도입한 아데노바이러스만을 마우스에 투여하여 그레이브스병이 유발된 마우스 군(Ad-TSHR) 및 대조군(PBS 처리군, TSHR 대신 EGFR 유전자가 도입된 아데노바이러스를 투여한 군) 마우스로부터 갑상선을 각각 추출한 후, 갑상선의 크기와 색깔을 분석하였다.
- [0031] 그 결과, TSHR 과발현이 유도되어 그레이브스병이 유도된 마우스 군의 경우, 갑상선의 크기가 대조군들에 비해 현저하게 증가되어 있는 것으로 나타났고 색도 짙은 갈색으로 변화되어 있는 것으로 나타났다.
- [0032] 반면, 본 발명의 락토바실러스 브레비스 NE428 균주를 처리한 군의 경우, 대조군과 거의 유사한 갑상선의 크기 및 색을 보이는 것으로 나타났다.
- [0033] 이러한 결과를 통해 본 발명자들은 본 발명의 락토바실러스 브레비스 NE428 신규주는 그레이브스병을 예방 및 치료하는 효능이 있음을 알 수 있었다.
- [0034] 본 발명의 다른 일실시예에서는, 그레이브스병을 마우스에 유발시킨 후, 이후 본 발명의 락토바실러스 브레비스 NE428 신규주를 상기 마우스에 경구 투여한 결과, 본 발명의 신규주 처리군이 상기 신규주를 처리하지 않은 군에 비해 혈액 내 갑상선호르몬(T4)의 농도가 현저하게 감소된 것으로 나타났고, 이러한 효과는 종래 그레이브스병 치료제로 알려진 PTU를 처리한 군과 유사한 수준으로 나타났다.
- [0035] 이러한 결과를 통해 본 발명자들은 본 발명의 락토바실러스 브레비스 NE428 균주가 그레이브스병을 예방 및 치료하는 효과가 있음을 재확인할 수 있었다.
- [0036] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구제 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화되어 사용할 수 있고, 제형화를 위하여 약학 조성물의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 또는 희석제를 포함할 수 있다.
- [0037] 상기 담체 또는, 부형제 또는 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로오스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유 등을 포함한 다양한 화합물 혹은 혼합물을 들 수 있다.
- [0038] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 제조할 수 있다.
- [0039] 경구 투여를 위한 고형제제는 본 발명의 락토바실러스 브레비스 NE428 균주에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘 보네이트, 수크로스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 제조할 수 있다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용할 수 있다.

- [0040] 경구를 위한 액상 제제로는 현탁액, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용하는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등을 포함할 수 있다.
- [0041] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수용성제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수용성제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등을 사용할 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔(witepsol), 마크로골, 트윈(Tween)61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤젤라틴 등을 사용할 수 있다.
- [0042] 본 발명에 따른 약학 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태, 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나, 바람직한 효과를 위해서는 1일 0.0001 내지 2,000 mg/kg으로, 바람직하게는 0.001 내지 2,000 mg/kg으로 투여할 수 있다. 투여는 하루에 한 번 투여할 수도 있고, 수회 나누어서 투여할 수도 있다. 다만, 상기 투여량에 의해서 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0043] 본 발명에 따른 약학 조성물은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유 물에 다양한 경로로 투여할 수 있다. 투여의 모든 방식은 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하 주사 등에 의해 투여할 수 있다.
- [0044] 또한 본 발명은 락토바실러스 브레비스 NE428 균주(수탁번호: KCTC15727BP)를 유효성분으로 포함하는, 그레이브스병의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공할 수 있다.
- [0045] 상기 균주는 전술한 바와 같으며, 본 발명의 신균주의 용량은 1×10^6 CFU/mL 내지 1×10^{10} CFU/mL일 수 있고, 1×10^8 CFU/mL 내지 1×10^{10} CFU/mL인 것이 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0046] 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물에 있어서, 상기 락토바실러스 브레비스 NE428 균주(수탁번호: KCTC15727BP)를 건강기능식품의 첨가물로 사용하는 경우 이를 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 예방, 건강 또는 치료 등의 각 사용 목적에 따라 적절하게 결정할 수 있다.
- [0047] 건강기능식품의 제형은 산제, 과립제, 환, 정제, 캡슐제의 형태뿐만 아니라 일반 식품 또는 음료의 형태 어느 것이나 가능하다.
- [0048] 상기 식품의 종류에는 특별히 제한은 없고, 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초콜렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함할 수 있다.
- [0049] 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 상기 본 발명의 신균주는 원료 100 중량부에 대하여 15 중량부 이하, 바람직하게는 10 중량부 이하의 양으로 첨가할 수 있다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있다.
- [0050] 본 발명에 따른 건강기능식품 중 음료는 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스 및 같은 디사카라이드 및 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜일 수 있다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명에 따른 음료 100 mL당 약 0.01 ~ 0.04 g, 바람직하게는 약 0.02 ~ 0.03 g일 수 있다.
- [0051] 상기 외에 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제를 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 제한되지 않으나 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물 100 중량부 대비 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- [0052] 또한 본 발명에 따른 락토바실러스 브레비스 NE428 균주는 김치로부터 분리되었다는 점에서 발효용 스타터 또는 발효식품용 종균 조성물을 첨가하여 발효식품으로 제조할 수 있다.

[0053] 상기 발효식품은 요거트, 김치, 치즈 등 다양할 수 있으며, 상기 발효식품 역시 그레이브스병의 예방 또는 개선 효과를 가질 수 있다.

[0055] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0057] <실시예 1>

[0058] 김치로부터 신규한 락토바실러스 브레비스 NE428 균주의 분리 및 동정

[0059] 본 발명자들은 그레이브스병 치료 효능을 갖는 미생물을 김치로부터 분리 및 동정하기 위해 다음과 같은 실험을 수행하였다. 시중에서 시판되고 있는 김치를 멸균수로 현탁한 현탁액을 MRS 한천배지에 도말하고 배양하여 생성되는 단일 콜로니를 채취한 다음, 각 콜로니를 배양하여 배양된 각 균주들에 대한 16s rRNA 염기서열을 분석하였다.

[0060] 여러 종류의 김치로부터 총 32개의 콜로니를 분리하였고, 16s rRNA의 염기서열을 분석한 결과, 락토바실러스 브레비스, 락토바실러스 사케이, 락토바실러스 커베이투스, 류코노스톡 메센테로이데스, 류코노스톡 락티스 등의 유산균들이 확인되었다.

[0062] <실시예 2>

[0063] 본 발명에 따른 락토바실러스 브레비스 NE428 신규주의 그레이브스병 치료효능 확인

[0064] 김치로부터 분리된 유산균들을 대상으로, 그레이브스병 치료 효능이 있는 유산균의 선발을 위해 그레이브스병 동물모델을 대상으로 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0065] 6주령의 Balb/c 암컷 마우스에 본 발명에서 분리한 상기 김치 유래 유산균과 TSHR(thyroid stimulating hormone receptor) 단백질의 1번째 아미노산으로부터 289번째 아미노산을 포함하는 펩타이드의 코딩 염기서열이 도입된 아데노바이러스를 투여한 후, 유산균 투여에 따른 그레이브스병의 개선 여부를 혈중 갑상선호르몬 T4의 농도를 측정하여 확인하였다. 여기서 상기 TSHR 단백질의 아미노산 서열은 서열번호 2에 나타내었다.

[0066] 또한 상기 TSHR 단백질을 코딩하는 염기서열을 포함하는 아데노바이러스의 투여는 10^{10} particle을 3주씩 3차례 투여하였고, 유산균은 10^9 /kg 양으로 매일 9주간 투여하였다(도 1). 실험은 대조군을 포함하여 총 9그룹으로(PBS, EGFP, Ad-TSHR, 유산균 처리), 그룹 당 5마리씩 진행하였다.

표 1

	Virus	유산균
Injection 위치	허벅지	경구
Buffer	PBS	PBS
Concentration	10^{10}	10^9 /kg
Volume	40ul	50ul
Term	3주 마다, 3번	9주 간, 매일

[0067]

[0068] 분석 결과, 그레이브스병을 유발시키지 않은 대조군(PBS, EGFP 처리군)에 비해, Ad-TSHR로 9주간 그레이브스병을 유도한 마우스의 혈액에서는 유도 전에 비해 혈중 T4 (thyroxine) 농도가 약 3배 정도 증가한 것으로 나타났

다.

- [0069] 이러한 결과는 본 발명에 따른 TSHR 염기서열이 도입된 아데노바이러스의 감염을 통해 그레이브스병 마우스 모델이 잘 구축되었음을 나타낸다.
- [0070] 또한, Ad-TSHR로 그레이브스병 마우스 모델 유도와 동시에 김치로부터 분리된 유산균을 투여한 마우스 군에서의 혈액 내 T4의 증가량을 분석한 결과, 대조군 및 Ad-TSHR 단독 투여군에 비해 유산균을 처리한 군이 혈액 내 T4의 증가량이 감소된 것으로 나타났으며, 다른 유산균들에 비해 특히 혈액 내 T4의 증가가 현저하게 낮은 군주를 선별한 후, 상기 군주에 대한 16s rRNA 염기서열을 분석하였다.
- [0071] 그 결과, 선별된 군주는 락토바실러스 브레비스(*Lactobacillus brevis*) 군주와 99%의 상동성을 가지며 종래 알려진 바 없는 신규한 군주로 확인되었다. 본 발명에서 동정한 락토바실러스 브레비스 NE428 신규주의 16s rRNA 서열은 서열번호 1에 나타내었다.
- [0072] 상기 실험에서 선별된 락토바실러스 브레비스 군주 처리에 따른 혈액 내 T4의 증가량 감소 확인 결과는 도 2에 나타내었다. 이는 락토바실러스 브레비스가 그레이브스병을 예방 할 수 있다는 가능성을 보여준다.
- [0073] 이에 본 발명자들은 상기 군주를 ‘락토바실러스 브레비스(*Lactobacillus brevis*) NE428’ 군주로 명명하였고, 이를 한국생명공학연구원 생물자원센터 기관에 2023년 12월 08일자로 기탁하여 기탁번호 KCTC15727BP를 부여받았다.

[0075] <실시예 3>

[0076] 본 발명에 따른 락토바실러스 브레비스 NE428 신규주의 그레이브스병 치료효능 확인

- [0077] 본 발명자들은 상기 실시예 1에서 동정된 락토바실러스 브레비스 NE428 신규주가 그레이브스병의 예방 효능을 실시예 2에서 확인한 바, 이에 더하여 치료 효능이 있는지를 확인하기 위해 다음과 같은 실험을 수행하였다. 이를 위해 마우스 동물모델을 대상으로 그레이브스병을 9주 동안 먼저 유도시킨 뒤, 본 발명의 락토바실러스 브레비스 NE428 군주를 처리하여 본 발명의 신규주에 따른 그레이브스병 예방 또는 치료 효과를 확인하였다. 이때 본 발명의 락토바실러스 브레비스 NE428 군주는 10^9 /kg 군수로 매일 3주간 실험용 마우스에 경구 투여하였고, 각 실험군은 10마리씩 진행하였다.
- [0078] 이후 각 실험군의 마우스로부터 혈액을 채취하였고, 혈액 내 T4의 농도를 확인하였다. 혈액 내 T4의 농도는 락토바실러스 브레비스 NE428 군주를 섭취하게 한 후, 2주 및 3주 후에 혈액을 채취하여 측정하였다.
- [0080] 그 결과, 도 3에 나타낸 바와 같이, 락토바실러스 브레비스 NE428 군주 섭취 후, 2주 후에 혈액 내 T4의 농도를 분석한 결과, 대조군인 PBS를 처리한 마우스와 EGFP를 과발현시킨 경우 낮은 수준의 T4 농도를 유지하는 것으로 나타났으나, Ad-TSHR을 과발현 시킨 군은 대조군인 PBS 처리군에 비해 약 5배 정도로 T4 농도가 증가한 것으로 나타났다. 반면 그레이브병 치료제의 하나인 PTU를 처리한 군은 Ad-TSHR을 과발현시킨 군에 비해 약 30%의 T4 농도가 감소하는 것으로 나타났으며, 본 발명의 락토바실러스 브레비스 NE428 군주를 처리한 군에서도 Ad-TSHR 과발현시킨 군에 비해 약 30%의 T4 농도가 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 본 발명의 군주를 섭취시킨 후, 3주 이후에도 혈액 내 T4의 농도는 본 발명의 군주를 섭취 후 2주 후와 유사하게 나타났다.
- [0082] 나아가 본 발명자들은 상기 각 실험군 마우스로부터 갑상선을 각각 추출하였고 크기 변화를 분석하였다.
- [0083] 그 결과, 도 4에 나타낸 바와 같이, 대조군인 PBS 처리군과 EGFP 발현군은 갑상선의 색이나 크기에 큰 변화나 차이가 없는 것으로 나타났다. 반면, Ad-TSHR을 과발현시킨 군의 경우, 갑상선의 색이 짙고 크기가 대조군(PBS 처리군)에 비해 커진 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 그레이브스병이 갖는 특징 중 하나에 해당된다.
- [0084] 한편, Ad-TSHR을 과발현시킨 후 현재 알려진 치료제인 PTU (propylthio uracil)을 처리한 경우 갑상선의 색이 옅어진 것을 확인 할 수 있었고, 특히 본 발명의 락토바실러스 브레비스 NE428를 처리한 군의 경우는 갑상선의 색이나 크기가 대조군(PBS 처리군) 그리고 PTU처리군과 거의 유사한 수준인 것을 확인할 수 있었다.

[0086] 이러한 결과를 통해 본 발명자들은 본 발명에서 동정한 락토바실러스 브레비스 NE428 신균주가 그레이브스병의 증상을 예방, 개선 및 치료할 수 있음을 알 수 있었다.

[0087] 이상의 결과를 통해 본 발명자들은 김치로부터 분리 및 동정한 본 발명의 락토바실러스 브레비스 NE428 신균주는 그레이브스병을 예방, 개선 또는 치료할 수 있는 의약품 및 건강기능식품에 유용하게 사용할 수 있음을 알 수 있었다.

[0088]

[0089] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

수탁번호

[0090]

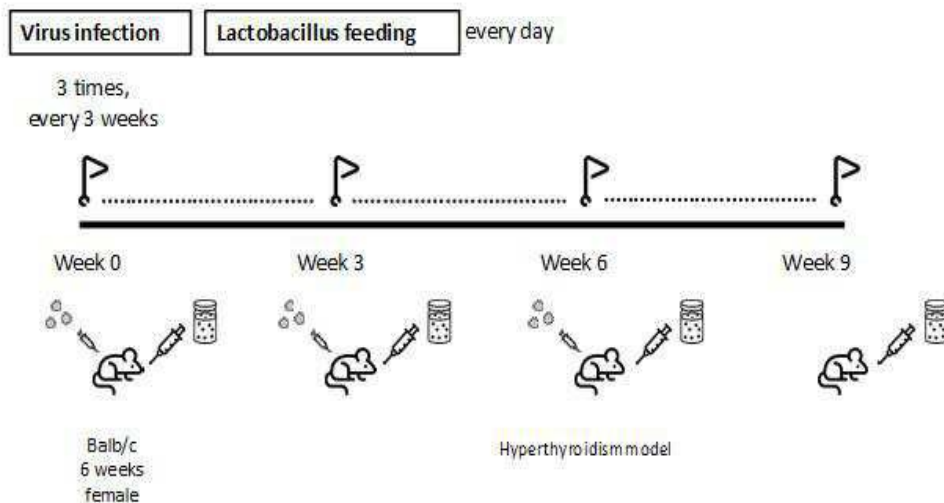
기탁기관명 : 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC)

수탁번호 : KCTC15727BP

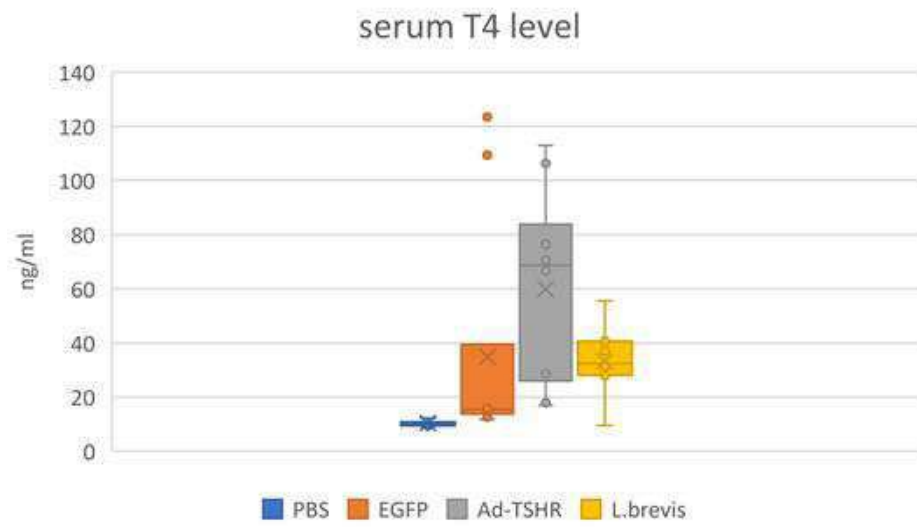
수탁일자 : 20231208

도면

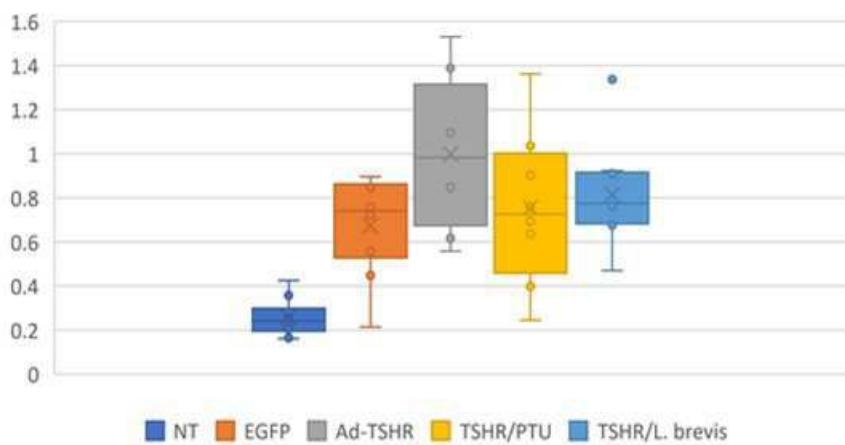
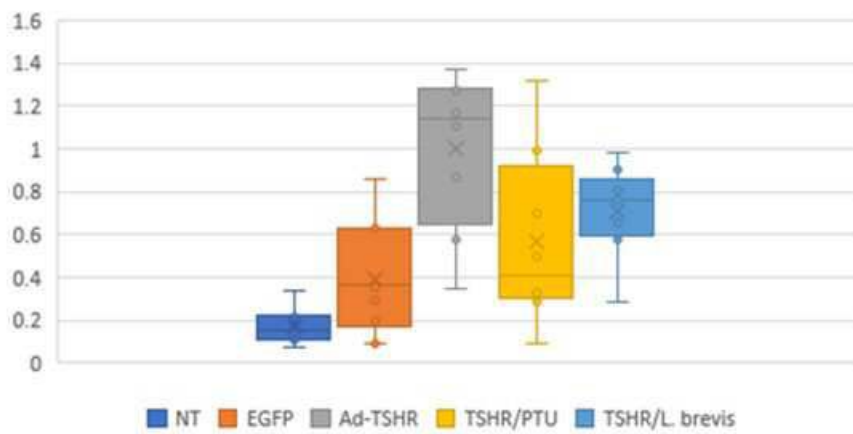
도면1



도면2



도면3



도면4

Negative Control



EGFP



TSHR



PTU



L. brevis



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.