

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2019년 10월 3일 (03.10.2019) **WIPO | PCT**

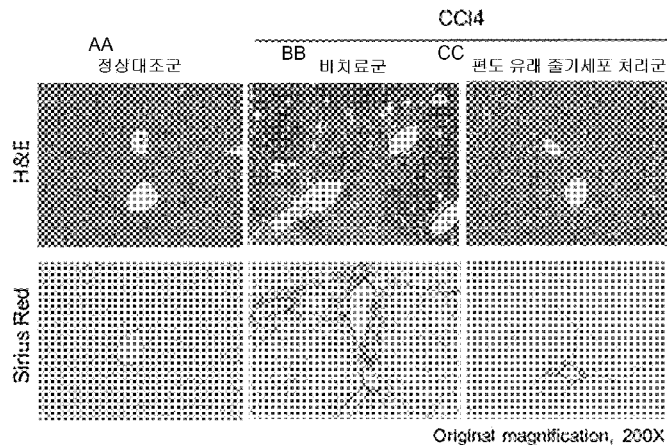


(10) 국제공개번호
WO 2019/190218 A1

- (51) 국제특허분류: *A61K 35/28* (2006.01) *A61P 1/16* (2006.01)
A23L 33/10 (2016.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2019/003626
- (22) 국제출원일: 2019년 3월 28일 (28.03.2019)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2018-0037755 2018년 3월 30일 (30.03.2018) KR
- (71) 출원인: 이화여자대학교 산학협력단 (EWHHA UNIVERSITY - INDUSTRY COLLABORATION FOUNDATION) [KR/KR]; 03760 서울시 서대문구 이화여대길 52, Seoul (KR).
- (72) 발명자: 유경하 (RYU, Kyung Ha); 06081 서울시 강남구 영동대로118길 76, 102동 202호, Seoul (KR). 우소연 (WOO, So Youn); 04097 서울시 마포구 독막로 209, 103동 1501호, Seoul (KR). 박주원 (PARK, Joo Won); 07987 서울시 양천구 목동동로 350, 512동 106호, Seoul (KR). 조인호 (JO, In Ho); 31114 충청남도 천안시 서북구 천안대로 999-7, 101동 2001호, Chungcheongnam-do (KR). 김한수 (KIM, Han Su); 07979 서울시 양천구 목동서로 2길 22, 112동 310호, Seoul (KR). 조경아 (CHO, Kyung Ah); 06337 서울시 강남구 개포로110길 43, 104동 605호, Seoul (KR). 김윤희 (KIM, Yu Hee); 10902 경기도 파주시 동패로 117, 202동 503호, Gyeonggi-do (KR). 박민화 (PARK, Min Hwa); 14597 경기도 부천시 상일로 71, 1816동 505호, Gyeonggi-do (KR).
- (74) 대리인: 김순웅 (KIM, Soon Woong); 08380 서울시 구로구 디지털로 31길 20, 601호, Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,

(54) Title: COMPOSITION, COMPRISING TONSIL-DERIVED MESENCHYMAL STEM CELL-CONTROLLING MEDIUM, FOR PREVENTION OR TREATMENT OF HEPATIC DISEASE

(54) 발명의 명칭: 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정 배지를 포함하는 간질환 예방 또는 치료용 조성물



AA ... Normal control group
BB ... Non-treated group
CC ... Tonsil-derived stem cell-treated group

(57) Abstract: The present invention relates to a composition comprising a tonsil-derived mesenchymal stem cell-controlling medium as an effective ingredient for prevention, alleviation, or treatment of hepatic diseases. The composition for prevention, alleviation, or treatment of hepatic diseases of the present invention exhibits different profiles for immunoregulatory elements and hepatic fibrosis inhibiting elements in the controlling medium in contrast with controlling media of mesenchymal stem cells derived from other tissues and, as a result, has excellent effects on the prevention, alleviation, and treatment of hepatic diseases.

[다음 쪽 계속]



WO 2019/190218 A1

CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))
- 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

(57) 요약서: 본 발명은 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지를 유효성분으로 포함하는 간질환 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 간질환 예방, 개선 또는 치료용 조성물은 타유래 중간엽 줄기세포의 조정 배지와 대비하여, 조정 배지 내 면역 조절 인자, 간섬유화 억제 인자들의 상이한 프로파일을 가지고 이로 인하여 간질환의 예방, 개선 및 치료에 우수한 효과를 가진다.

명세서

발명의 명칭: 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정 배지를 포함하는 간질환 예방 또는 치료용 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정 배지를 유효성분으로 포함하는 간질환 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.
- [2] 본 발명은 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지를 포함하는 간질환 예방 또는 개선용 식품 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [3] 간은 우리 몸에서 지질 등의 대사 작용, 해독, 담즙의 배설, 각종 영양소의 저장, 조혈이나 혈액 응고, 및 순환 혈액량의 조절 등 다양한 역할을 담당하고 있으며, 생명 유지를 위한 필수적인 장기 중 하나이다. 간의 기능을 보다 구체적으로 살펴보면, 우선, 에너지 대사를 관리하는 기능이 있어 음식물에서 흡수된 모든 영양소들이 간에서 에너지를 생산할 수 있는 물질로 대사되어 전신에 공급되거나 저장된다. 둘째, 간은 약 2,000 여종의 효소, 알부민, 응고 인자들의 혈청 단백질, 담즙산, 인지질, 콜레스테롤 등의 지방 등을 합성하고 저장하며 분배하는 기능이 있다. 셋째, 해독 및 분해 기능으로서 약물, 술, 독성물질 등을 해독시키는 기능, 각종 대사산물을 십이지장으로 배설하는 기능 및 면역 기능이 있어 생명 유지에 중요한 역할을 하고 있다.
- [4] 일반적으로 간에 염증이 생기는 간염이 간질환의 대부분을 차지하며, 양상에 따라 급성 간염과 만성 감염, 원인에 따라 바이러스성 간염, 알코올성 간염, 약물성 간염 등으로 나눌 수 있다. 또한, 이런 이상으로 유발되는 간질환에는 지방간, 간염, 간경변증, 간암 등이 있다. 간질환의 진행 과정의 기전은 완전히 밝혀지지 않는으나 일차적으로 지방간이 발생된 후 이차적인 세포 손상이 수반되어 지방간 및 간경화 등의 진행성 간질환으로 발전하는 것으로 알려져 있다. 또한, 간질환은 초기에 자각 증상이 없어 상당히 진행되어서야 발견되기 때문에, 국내뿐만 아니라 세계적으로 사망 원인의 수위를 차지하고 있다.
- [5] 한편, 줄기세포(stem cell)는 생물 조직을 구성하는 다양한 세포들로 분화할 수 있는 세포로서 배아, 태아 및 성체의 각 조직에서 얻을 수 있는 분화되기 전 단계의 미분화 세포들을 총칭한다.
- [6] 치료 방법으로서 최근 줄기세포 및 조직공학을 이용한 이식치료법이 개발되고 있다. 하지만, 이러한 이식 치료 기법으로는 치료효과가 뛰어나고 인체의 면역반응을 일으키지 않는 안전한 세포 치료제를 개발하기 어렵다는 문제가 있다. 그 동안 여러 가지 줄기세포를 이용하여 세포 치료제로써 활용하기 위한 시도들이 진행되고 있지만, 면역 조절 능력에 대한 확인은 아직 부분적으로만 진행되고 있다. 또한, 최근에는 줄기세포를 직접 손상된 조직에 이식하는 방법

이외에 줄기세포의 배양액에 포함된 매개성 물질의 탁월한 측분비 효과가 생체내 또는 생체외 실험에서 입증되고 있다. 줄기세포는 인체 내에서 일생 동안 세포의 성장과 재생에 관련된 다양한 성장인자와 사이토카인 등을 분비하고, 줄기세포 배양액에는 이러한 단백질 성분들이 함유되어 있으며, 세포이식 시의 부작용인 면역거부반응을 회피할 수 있으므로, 줄기세포 배양액은 치료제로 개발하기에 유리한 장점을 가지기 때문에 관련 연구개발이 진행되고 있다.

- [7] 상기와 같은 줄기세포 관련 연구를 진행하기 위해서는 줄기세포의 원활한 공급이 필요하다. 그러나, 중간엽 줄기세포 중에서도 몇몇 줄기세포는 그 이용에 있어서 세포를 얻는데 큰 제한이 있기 때문에 그 이용이 어렵다. 예를 들어, 제대혈, 지방조직으로부터 유래한 중간엽 줄기세포는 침습적인 방법을 이용해 얻어야만 한다. 가장 비침습적인 방법을 이용해 얻을 수 있는 세포는 골수채취를 통한 중간엽 줄기세포이지만, 골수채취는 마취가 필요하고 고통을 유발하여, 그 이용에 제한이 있다. 이에 대한 대안으로 환자 맞춤형 줄기세포를 분리하기 위해 말초혈액을 이용한 세포획득법 등이 요구되고 있으나 말초혈액만으로는 성인에서 분리할 수 있는 중간엽 줄기세포의 수가 너무 적고 분리방법이 경제적이지 못하며, 분리해낸다고 해도 세포치료에 사용가능한 양만큼 증식이 원활하지 않은 경우가 대부분이기에 좀 더 실용성을 높일 수 있는 대체 방안이 필요하다. 또한, 고령인 환자에서 얻는 성체 줄기세포는 낮은 연령에게서 얻는 세포들에 비해 세포능이 현저히 떨어지며 각종 인자들의 분비 및 줄기세포의 이동 능력 등이 떨어지기 때문에, 저연령의 환자로부터 자연스럽게 분리될 수 있거나 버려지는 조직으로부터 세포를 얻을 필요성이 있다. 또한, 이렇게 얻어진 세포는 실험에 용이한 양적 확보가 가능하고 세포의 계대 배양 시에 분화능이 잘 유지될 필요성이 있다.

- [8] 또한, 줄기세포들은 그 유래에 따라 그 특성이 상이하다.

- [9] 따라서 특정 질환에 대한 치료를 위해 질환에 따라 치료에 적합한 특성을 가지는 줄기세포를 선택하고 이의 특성을 이용하여 특정 질환에 대한 치료 방법을 개발할 필요가 있다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [10] 본 발명은 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지를 유효 성분으로 포함하는 간질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [11] 본 발명은 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지를 포함하는 간질환 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [12] 본 발명은 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정 배지를 치료학적 유효량으로 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 간질환의 치료방법을 제공한다.
- [13] 본 발명은 간질환의 치료를 위한 약제의 제조에서 편도 유래 중간엽

줄기세포의 조정배지의 용도를 제공한다.

- [14] 본 발명은 간질환의 치료에 사용하기 위한 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지를 포함하는 조성물을 제공한다.

과제 해결 수단

- [15] 본 발명자들은 간질환을 예방 또는 치료할 수 있는 적합한 종류의 줄기세포를 확인하던 중, 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지가 IL-1Ra, proMMP-1 및 preprostromelysin로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상을 높은 함량으로 조정 배지 내 함유하고 타 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지와 다른 프로파일의 함량으로 그 조성을 달리 가짐으로써 간질환의 치료에 효과적임을 확인하여 본 발명을 완성하였다.
- [16] 본 발명에 있어서, 편도 유래 중간엽 줄기세포란 목의 안쪽과 코의 뒷부분에 위치하여 외부에서 침입하는 세균 등의 물질로부터 일차적으로 우리 몸을 방어함과 동시에 림프상피 면역조직으로 작용을 수행하는 조직인 편도에서 유래된 자기 복제 능력을 가지면서 두 개 이상의 새로운 세포로 분화하는 능력을 가진 미분화된 줄기세포를 의미한다.
- [17] 본 발명에 있어서, "편도 유래 중간엽 줄기세포 조정 배지"는 편도 유래 중간엽 줄기세포를 배양하여 수득된 배양액으로부터 편도 유래 중간엽 줄기세포가 제거된 배양액 또는 상층액을 의미하며, "편도 유래 중간엽 줄기세포 배양 상층액", "편도 유래 중간엽 줄기세포 조건 배양액" 또는 "편도 유래 중간엽 줄기세포 배양 배지"와 호환적으로 사용될 수 있다.
- [18] 본 발명에서 용어 "예방"이란 본 발명에 따른 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정 배지의 투여로 간 질환의 발병을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 말한다. 본 발명에서 용어 "치료"는 본 발명에 따른 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정 배지의 투여로 상기 질환의 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 말한다. 본 발명에서 "개선"이란 본 발명의 조성물을 개체에 투여하거나 섭취시켜 간질환의 나쁜 상태를 좋게 하는 모든 행위를 의미한다.
- [19] 본 발명에서 용어 "간 질환"이란 간이 수행하는 여러 가지 기능 중 한 가지 이상의 기능에 문제가 생겨 정상적으로 대사를 수행할 수 없는 것을 말한다. 간 질환에서 가장 많이 나타나는 것은 간염으로 급성 간염과 만성 간염으로 나뉘며, 일반적으로는 급성 간염이 치료하기 쉽고 양성에 속한다. 급성 간염은 원인 별로 바이러스성 간염, 알코올성 간염, 중독성 간염 등이 있다. 본 발명에서 간 질환은 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정 배지를 이용하여 치료될 수 있는 것이라면 제한 없이 포함될 수 있으나, 그 예로 간염, 간독성, 담즙울체, 지방간, 간경변, 간허혈, 알코올성 간 질환, 간성 혼수, 간위축증 및 간암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다. 본 발명에서는 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정 배지를 사용하여 간질환의 억제 및 치료효과를 확인하였다. 바람직하게 상기 간질환은 간경변이다.

- [20] 본 발명은 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지를 유효 성분으로 포함하는 간질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [21] 본 발명에 따른 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지는 타 유래 중간엽 줄기세포의 조정 배지와 대비하여 IL-1Ra, proMMP-1 및 preprostromelysin로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 함량이 높으며, 조정 배지 내 면역 조절 인자, 간섬유화 억제 인자들의 상이한 프로파일 등을 가짐으로써 간질환의 예방 및 치료에 우수한 효과를 가진다. 특히 간의 섬유화 억제에 우수한 효과를 나타낸다.
- [22] 즉, 본원 발명에 따른 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지는 IL-1Ra, proMMP-1 및 preprostromelysin로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상을 일정 수준 이상, 예를 들어 치료학적으로 효과를 나타낼 수 있는 일정 수준 이상으로, 함유함으로써 간질환의 예방 및 치료에 우수한 효과를 가진다.
- [23] 또한, 본 발명에 따른 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정 배지는 편도 유래 중간엽 줄기세포가 타 유래 줄기세포와 대비하여 기원 조직인 편도의 획득이 용이하며 수술 후 버려지는 편도 조직의 재활용이 가능하고 초기 수득율이 매우 높다는 점에서 주입해야 하는 조정 배지를 용이하게 얻을 수 있고 주입 가능한 양을 타유래 줄기세포 조정배지와 대비하여 자유롭게 조절할 수 있어 큰 장점을 가진다.
- [24] 본 발명에 있어서, 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지는 개체로부터 분리, 배양 및 특수한 조작을 통해 제조된 조정 배지를 포함하며, 치료, 진단 및 예방의 목적으로 사용되는 의약품으로 사용되어 간질환에 사용될 수 있다.
- [25] 본 발명에 있어서 간질환은 상기 언급된 바와 같다.
- [26] 본 발명에 있어서, 편도 유래 중간엽 줄기세포는 당업계에 알려진 방법에 따라 편도로부터 추출 가능하다. 예컨대, 대한민국특허 제10-1508413호 등에 기재된 방법에 따라 편도로부터 추출가능하다.
- [27] 편도 유래 중간엽 줄기세포 배양액은 편도 유래 중간엽 줄기세포를 배양하고 세포를 제거한 후, 수득된 배양액, 배양 상층액 또는 이의 농축물이거나 이의 동결건조물일 수 있다.
- [28] 본 발명에 있어서, 편도 유래 중간엽 줄기세포 배양액은 편도 유래 중간엽 줄기세포를 혈청 배지에서 계대 배양한 후, 무혈청 배지에서 배양하여 수득될 수 있다.
- [29] 편도 유래 중간엽 줄기세포는 줄기세포 배양용 배지를 사용하여 통상적으로 배양될 수 있다. 편도 유래 중간엽 줄기세포 배양액은 편도 조직으로부터 수득된 편도 유래 중간엽 줄기세포를 혈청 배지에서 계대배양한 후, 무혈청 배지에서 계대 배양하여 수득되고, 이를 그대로 사용하거나 또는 원심분리나 필터를 이용한 여과에 의해 줄기세포 및 거대분자를 제거한 후에 수득된 상층액을 사용할 수 있다. 또한, 수득된 상층액은 그대로 사용하거나 또는 농축하여 수득된 농축물로 사용할 수 있다.

- [30] 본 발명에 있어서, 편도 유래 중간엽 줄기세포 배양액은 혈청이 첨가되는 단계가 없이 편도 유래 중간엽 줄기 세포를 지속적으로 무혈청 배지에서 계대 배양하면서 수득되는 조정 배지일 수 있다.
- [31] 위 무혈청 배지에서의 배양에 따라 이를 그대로 사용하거나 또는 원심분리나 필터를 이용한 여과에 의해 줄기세포 및 거대분자를 제거한 후에 수득된 상층액을 사용할 수 있다. 또한, 수득된 상층액은 그대로 사용하거나 또는 농축하여 수득된 농축물로 사용할 수 있다.
- [32] 편도 유래 중간엽 줄기세포의 배양을 위한 배양용 배지 및 배양 조건은 본 발명이 속하는 기술분야에서 잘 알려져 있으며, 통상의 지식을 가진 자가 적절하게 선택하거나 변형하여 이용할 수 있다.
- [33] 상기 본 발명에 따른 조정 배지를 얻기 위해 사용되는 배양 배지는 예를 들어 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 트레오닌, 트립토판, 발린, 아르기닌, 히스티딘, 알라닌, 아미노아세트산, 프롤린, 세린, N-아세틸-L-시스테인 등과 같은 아미노산류; Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Cl^- , 아세테이트-, 말레이트- 등과 같은 전해질류; 및 레티놀 팔미테이트, 에르고칼시페롤, 토크페롤 아세테이트, 아스코브산, 염화티아민, 인산리보플라빈나트륨, 니코틴산, 염화피리독신, 텍스판테놀 등과 같은 비타민류 등을 포함할 수 있다.
- [34] 상기 혈청 배지는 편도 유래 중간엽 줄기세포와 동일한 세포형을 유지하고 보관하는데 적합한 배지로서, 혈청이 보충된 DMEM 배지일 수 있다. 혈청은 우태아혈청(FBS)일 수 있으나, 이에 한정되지 않으며, 혈청 배지의 총 중량에 대해 1 내지 10 중량%일 수 있다. 필요에 따라, 항생제, 항진균제 및 마이코플라스마 억제제 등을 포함할 수 있으며, 이들은 배지의 총 중량에 대해 1 중량%일 수 있다. 항생제는 페니실린-스트렙토마이신 등 세포 배양에서 통상적으로 사용되는 항생제를 포함하고, 항진균제는 암포테리신-B(fungizone) 등을 포함하며, 마이코플라스마 억제제는 겐타마이신, 시프로플록사신, 타일로신 등을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [35] 상기 혈청을 포함하는 배지에서 배양 후, 무혈청 배지 중에서 배양은 혈청 배지에서의 배양액을 제거하고, 세포를 인산염 완충용액으로 세척한 후에 수행될 수 있다.
- [36] 바람직하게, 상기 혈청 배지는 5 내지 12% 우태아혈청 및 1%의 항생제가 보충된 DMEM 배지일 수 있다.
- [37] 바람직하게, 상기 무혈청 배지는 혈청을 포함하지 않는 DMEM 배지일 수 있다.
- [38] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 편도 유래 중간엽 줄기세포 배양액은 편도로부터 단리된 편도 조직을 잘게 자른 후, 편도 조직을 배양 플레이트의 바닥에 부착시키고, 10% 우태혈청(선택적으로) 및 1% 페니실린-스트렙토마이신이 보충된 DMEM 배지 중에서 37°C 및 5% CO_2 상태의 배양기에서 배양하는 단계, 세포의 밀도가 80%의 포화상태 (confluence)에 도달했을 때, 세포를 분리하고 계대 배양시키는 단계, 세포를 3 내지 4일간

배양한 후, 인산염 완충용액으로 세척하는 단계, 세척된 세포를 혈청 및 항생제를 포함하지 않는 DMEM 배지에서, 37°C 및 5% CO₂ 상태의 배양기에서 배양하는 단계에 의해 획득될 수 있다.

[39] 본 발명의 일실시양태에 따르면, 편도 유래 중간엽 줄기세포 배양액은 편도 유래 중간엽 줄기세포 배양액을 원심분리나 여과시켜 세포를 제거하는 단계에 의해 획득될 수 있다.

[40] 본 발명의 약학 조성물은 통상의 방법에 따라 액제, 현탁액, 에멀전, 로션, 연고, 동결건조제 등 다양한 제형으로 제제화될 수 있다.

[41] 본 발명의 약학 조성물은 약학적 분야의 통상의 방법에 따라 환자의 신체 내 투여에 적합한 단위투여형의 약학적 제제로 제형화시켜 투여할 수 있으며, 상기 제제는 1회 또는 수회 투여에 의해 효과적인 투여량을 포함한다. 이러한 목적에 적합한 제형으로는 비경구투여 제제로서 주사제, 주입제 등이 바람직하다. 또한, 상기 간질환 예방 또는 치료용 약학 조성물은 약학적으로 허용가능한 통상의 불활성 담체 및 희석제를 포함할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물에 포함될 수 있는 약학적으로 허용가능한 담체 및 희석제는 전분, 당, 및 만니톨과 같은 부형제, 칼슘 포스페이트 등과 같은 충전제 및 증량제, 카르복시메틸셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스 등과 같은 셀룰로오스 유도체, 젤라틴, 알긴산염, 및 폴리비닐 피롤리돈 등과 같은 결합제, 활석, 스테아린산 칼슘, 수소화 피마자유 및 폴리에틸렌 글리콜과 같은 윤활제, 포비돈, 크로스포비돈과 같은 붕해제, 폴리소르베이트, 세틸알코올, 및 글리세롤 등과 같은 계면활성제를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 상기 약학적으로 허용되는 담체 및 희석제는 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정 배지 및 이를 투여받을 수혜자에 대해 생물학적 및 생리학적으로 친화적인 것일 수 있다. 희석제로는 이에 한정되지 않으나, 염수, 수용성 완충액, 용매 및/또는 분산제(dispersion media)를 들 수 있다. 이외에도, 예를 들어, 주사제의 경우에는 보존제, 무통화제, 가용화제 또는 안정화제 등을, 국소투여용 제제의 경우에는 기제(base), 부형제, 윤활제 또는 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물은 동결되지 않은 채 사용되거나 차후 사용을 위해 동결될 수 있다. 동결되어야 할 경우, 표준 냉동보존제 (예를 들어 DMSO, 글리세롤, 에피라이프 (Epilife) 세포 동결 배지 (Cascade Biologics))가 동결 전 세포 집단에 첨가될 수 있다.

[42] 또한, 당업계에서 통상적으로 사용하는 투여방법을 이용하여 투여될 수 있으며, 바람직하게는 치료가 필요한 환자의 질환 부위에 직접 투여가 가능하나 이에 한정되지는 않는다. 또한, 상기 투여는 카테터를 이용한 비외과적 투여 및 질환부위 절개 후 주입 등 외과적 투여방법 모두 가능하다. 투여량은 농축 정도에 따라 그 투여량이 달라질 수 있으나 10 µl/kg 내지 1 ml/kg 체중을 1회 또는 수회로 나누어 투여할 수 있다.

[43] 그러나, 유효성분의 실제 투여량은 치료하고자 하는 질환, 질환의 중증도, 투여경로, 환자의 체중, 연령 및 성별 등의 여러 관련 인자에 비추어 결정되어야

하는 것으로 이해되어야 하며, 따라서, 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

- [44] 본 발명은 또한 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지를 포함하는 간질환 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [45] 본 발명은 통상적으로 이용되는 식품으로써 일반적으로 사용될 수 있다.
- [46] 본 발명의 식품 조성물은 건강기능식품으로서 사용될 수 있다. 상기 "건강기능식품"이라 함은 건강기능식품에 관한 법률에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, "기능성"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.
- [47] 본 발명의 식품 조성물은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 상기 "식품 첨가물"로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전처에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.
- [48] 상기 "식품 첨가물 공전"에 수제된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류들을 들 수 있다.
- [49] 본 발명의 식품 조성물은 조성물 총 중량에 대하여 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지를 0.01 내지 95 중량%, 바람직하게는 5 내지 90 중량%로 포함할 수 있다.
- [50] 또한, 본 발명의 식품 조성물은 간질환의 예방 및/또는 개선을 목적으로, 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공할 수 있다.
- [51] 예를 들어, 캡슐 형태의 건강기능식품 중 경질캡슐제는 통상의 경질캡슐에 본 발명에 따른 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지, 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물을 충전하여 제조할 수 있으며, 연질캡슐제는 본 발명에 따른 식품 조성물 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물을 젤라틴 등 캡슐기체에 충전하여 제조할 수 있다. 상기 연질캡슐제는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.
- [52] 상기 부형제, 결합제, 붕해제, 활택제, 교미제, 착향제 등에 대한 용어 정의는 당업계에 공지된 문헌에 기재된 것으로 그 기능 등이 동일 내지 유사한 것들을 포함한다 (대한약전 해설편, 문성사, 한국약학대학협의회, 제 5 개정판, p33-48, 1989).
- [53] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한이 없으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품을 모두 포함한다.
- [54] 본 발명은 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정 배지를 치료학적 유효량으로 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 간질환의 치료방법을

제공한다.

[55] 본 발명에 "편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정 배지", "간질환", "투여" 등의 용어는 상기에서 설명한 바와 동일하다.

[56] 상기 대상체는 동물을 말하며, 전형적으로 본 발명의 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정 배지를 이용한 치료로 유익한 효과를 나타낼 수 있는 포유동물일 수 있다. 이러한 대상체의 바람직한 예로 인간과 같은 영장류가 포함될 수 있다. 또한 이와 같은 대상체들에는 간질환의 증상을 갖거나 이와 같은 증상을 가질 위험이 있는 대상체들이 모두 포함될 수 있다.

[57] 본 발명은 또한 간질환의 치료를 위한 약제의 제조에서 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지의 용도를 제공한다.

[58] 본 발명은 또한 간질환의 치료에 사용하기 위한 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지를 포함하는 조성물을 제공한다.

[59] 본 발명은 또한 간질환의 치료를 위한 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지의 용도를 제공한다.

발명의 효과

[60] 본 발명의 간질환 예방 또는 치료용 약학 조성물은 타유래 중간엽 줄기세포의 조정 배지와 대비하여, 조정 배지 내 면역 조절 인자, 간섬유화 억제 인자들의 상이한 프로파일을 가지고 이로 인하여 간질환의 예방 및 치료에 우수한 효과를 가진다.

도면의 간단한 설명

[61] 도 1은 간질환 모델에서 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정 배지(T-MSC CM)의 치료 효과 확인 실험의 스케줄을 나타낸다.

[62] 도 2는 CCl_4 전처치로 손상된 간 조직에서 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지 처리에 따른 회복 효과를 H&E 염색 및 Sirius 염색을 통해 확인한 결과를 나타낸다.

[63] 도 3은 CCl_4 전처치로 손상된 간 조직에서 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지 처리에 따른 섬유화 회복 효과를 확인한 결과를 나타낸다.

[64] 도 4는 CCl_4 전처치로 손상된 간 조직에서 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지 처리에 따른 collagen type 1 alpha 1 (Col1a1), transforming growth factor beta 1 (Tgfb1)과 metalloproteinase inhibitor 1 (Timp1)의 발현 변화를 확인한 결과를 나타낸다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[65] 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예, 제조예를 제시한다. 하기의 실시예, 제조예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예, 제조예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[66] <실시예 1> 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정 배지의 제조

[67] 편도 유래 중간엽 줄기세포(Tonsil-derived mesenchymal stem cell, T-MSC)는

이대목동병원 이비인후-두경부외과에서 편도적출술을 시행하는 환자로부터 적출된 편도조직(4-20세의 저연령층 조직, 임상윤리위원회 심의 통과: ECT 11-53-02)으로부터 얻었다. 이는 대한민국 등록 특허 제10-1508413호와 같이 제조되었으며, 편도 유래 중간엽 줄기세포 (7~8 passage)는 10% FBS, 1% 페니실린/스트렙토마이신이 보충된 DMEM 하에 배양되었다.

[68] 조정 배지를 제조하기 위해 편도 유래 중간엽 줄기세포는 80 % confluency까지 배양되었고, 이에 도달한 후에 FBS와 항생제가 포함되지 않은 신선한 배양 배지로 교환되었다. 세포는 48 시간 추가로 배양되었고 조정 배지가 회수되었다. 조정 배지는 Amicon Ultra centrifugal filter(3 kDa cut-off)를 이용하여 60분 간 5000g로 원심분리에 의해 20배 농축되었다.

[69] <실시예 2> CCl₄ 간질환 모델에서 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지 투여에 의한 치료 효과 확인

[70] 간경화는 사염화탄소(carbon tetrachloride, CCl₄)를 이용하여 유도하였으며, 실험 스케줄은 도 1에 나타내었다.

[71] 7주령의 C57BL/6 마우스를 무작위로 미처리군과 사염화탄소 처리군으로 나누었다. 사염화탄소의 1회 투여량은 10 µl/g으로 사염화탄소를 미네랄오일에 10% 농도로 희석하여 일주일에 2차례 3주간에 걸쳐 복강내 투여하였다. 전처치를 마친 실험동물을 3그룹으로 나누어 사염화탄소 투여 직후 희생 (CCl₄ +No treatment, n=3), 1x10⁶개의 편도줄기세포를 48시간 동안 DMEM에 배양하여 수득한 조정배지를 20배 농축하여 꼬리정맥을 통해 2회 투여(CCl₄+T-CM, n=4)한 후, 2주 후 마우스를 희생하여 간조직을 획득하였다. 실험 및 절차는 이화여자대학교 동물 윤리위원회의 승인 하에 수행되었고, 모든 실험은 관련 규제 및 가이드라인 하에 수행되었다.

[72] 1. 조직학적 분석

[73] 조직학적 분석을 위하여 5 µm 두께의 간 조직 파라핀 절편을 제작하여 헤마톡실린과 에오신 (hematoxylin & eosin, H&E) 염색을 수행하였다. 간 조직의 섬유화는 콜라겐 축적을 시리우스 레드(Sirius Red) 염색으로 확인한 후, 콜라겐 섬유의 염색 정도를 단위 면적 당 화소밀도(pixel densities)로 수치화하여 콜라겐 인덱스를 계산하였다.

[74] 그 결과를 도 2에 나타내었다. H&E 염색 결과, CCl₄ 전처치로 손상된 간 조직이 편도줄기세포 조정배지(T-CM) 처리에 의해 회복됨을 확인할 수 있었고, 시리우스 레드 염색 결과, CCl₄ 주입 그룹에서 확인된 광범위한 콜라겐 축적 병변이 편도줄기세포 조정배지 처리에 의해 대조군과 같은 수준으로 감소함을 확인할 수 있었다.

[75] 이를 콜라겐 인덱스로 수치화한 결과를 도3에 나타내었다.

[76] 도 3에서 확인되는 바와 같이 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정 배지(T-CM)투여에 의해 통계학적으로 유의한 간 섬유화의 감소를 확인하였다(***p<0.001).

[77] 2. 간질환 표지 유전자 발현 확인

[78] CCl₄ 전처리 및 편도줄기세포 조정배지 주입에 의한 간조직에서의 간질환, 특히 간경변 관련 유전자 발현의 변화를 확인하기 위하여, 간 조직의 mRNA를 추출하여 cDNA로 합성 후, real-time PCR을 통하여 collagen type 1, alpha 1 (Col1a1), transforming growth factor beta 1 (Tgfb1)과 metalloproteinase inhibitor 1 (Timp1)의 발현을 확인하였다. 사용한 프라이머의 서열을 다음과 같다.

[79] [표1]

프라이머 서열 정보

유전자		서열 (5'→3')	Product length
Col1a1 (NM_007742.4)	Forward	GCT CCT CTT AGG GGC CAC T (서열번호 1)	103
	Reverse	CCA CGT CTC ACC ATT GGG G (서열번호 2)	
Tgfb1 (NM_011577.2)	Forward	CTC CCG TGG CTT CTA GTG C (서열번호 3)	133
	Reverse	GCC TTA GTT TGG ACA GGA TC (서열번호 4)	
Timp1 (NM_003254.2)	Forward	CTT GGT TCC CTG GCG TAC TC (서열번호 5)	150
	Reverse	ACC TGA TCC GTC CAC AAA CAG (서열번호 6)	
Gapdh (NM_008084.3)	Forward	AGG TCG GTG TGA ACG GAT TT (서열번호 7)	123
	Reverse	TGT AGA CCA TGT AGT TGA GG (서열번호 8)	

[80] 위 분석 결과를 도 4에 나타내었다.

[81] 도 4에서 확인되는 바와 같이, 유전자 발현 분석 결과 CCl₄ 전처리 그룹에서 증가한 간경변 표지유전자(Col1a1, Tgfb1, Timp1)의 발현이 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지 처리에 의해 통계적으로 유의하게 감소한 것을 확인하였다 (*p<0.05, **p<0.01).

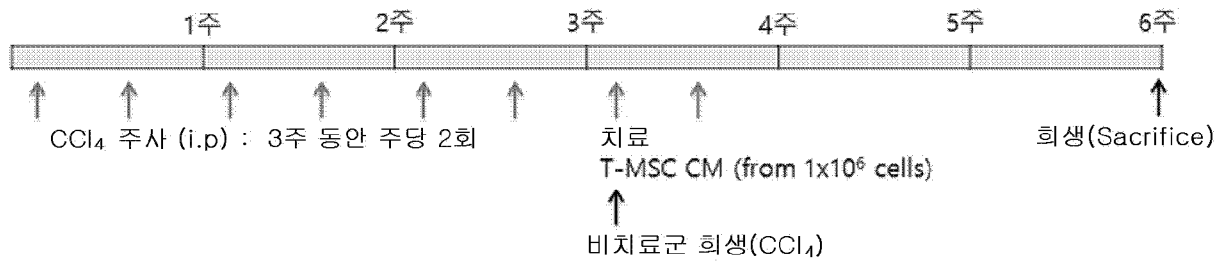
[82] 상기 결과들로부터 본원 발명에 따른 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지가 간질환의 예방 및 치료에 우수한 효과가 있음을 확인하였다.

청구범위

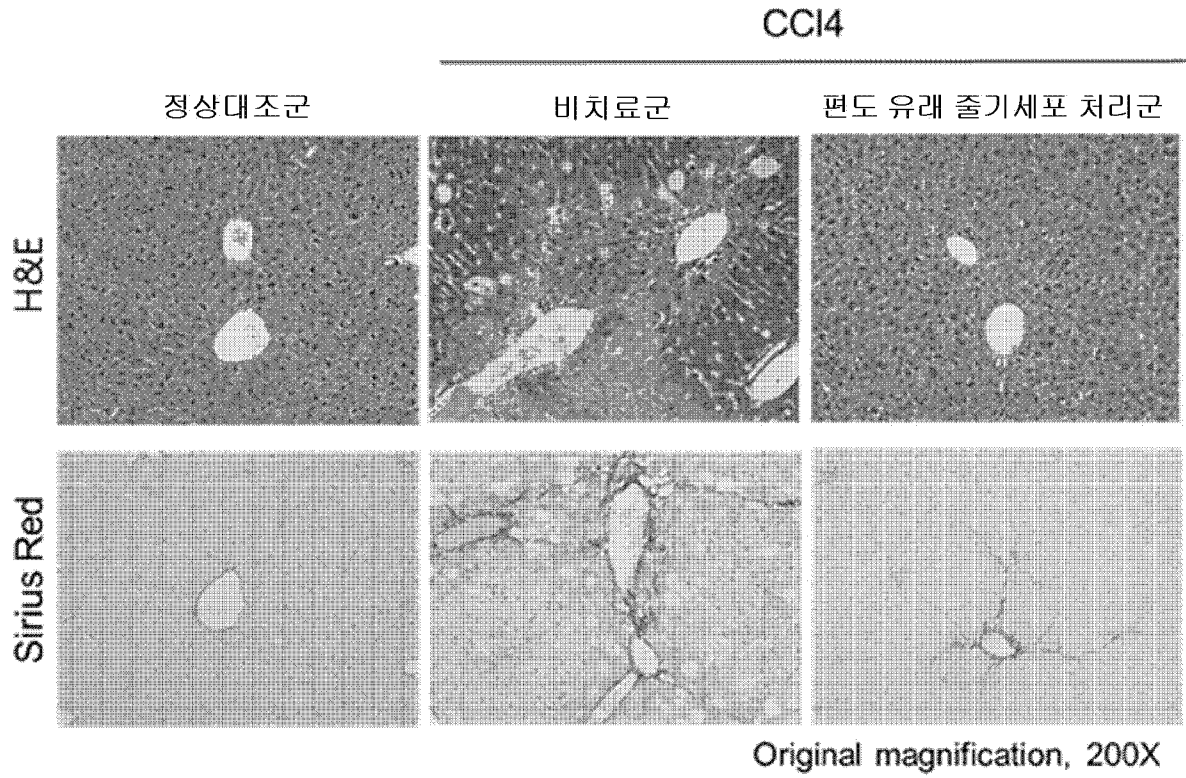
- [청구항 1] 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지를 포함하는 간질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 간질환은 간염, 간독성, 담즙울체, 지방간, 간경변, 간허혈, 알코올성 간 질환, 간성 혼수, 간위축증 및 간암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 간질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 3] 제2항에 있어서, 상기 간질환은 간경변인 간질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정 배지는 무혈청 배지에서 배양된 배양액, 배양상층액 또는 이의 농축물인 간질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 5] 제1항에 있어서, 상기 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정 배지는 IL-1Ra, proMMP-1 및 preprostromelysin로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상을 포함하는 것인 간질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 6] 제1항에 있어서, 상기 간질환 예방 또는 치료는 섬유화 억제에 의한 것인 간질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 7] 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지를 포함하는 간질환 예방 또는 개선용 식품 조성물.
- [청구항 8] 제7항에 있어서, 상기 간질환은 간염, 간독성, 담즙울체, 지방간, 간경변, 간허혈, 알코올성 간 질환, 간성 혼수, 간위축증 및 간암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 간질환 예방 또는 개선용 식품 조성물.
- [청구항 9] 제8항에 있어서, 상기 간질환은 간경변인 간질환 예방 또는 개선용 식품 조성물.
- [청구항 10] 제7항에 있어서, 상기 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정 배지는 무혈청 배지에서 배양된 배양액, 배양상층액 또는 이의 농축물인 간질환 예방 또는 개선용 식품 조성물.
- [청구항 11] 제7항에 있어서, 상기 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정 배지는 IL-1Ra, proMMP-1 및 preprostromelysin로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상을 포함하는 것인 간질환 예방 또는 개선용 식품 조성물.
- [청구항 12] 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정 배지를 치료학적 유효량으로 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 간질환의 치료방법.
- [청구항 13] 제12항에 있어서, 상기 간질환은 간염, 간독성, 담즙울체, 지방간, 간경변, 간허혈, 알코올성 간 질환, 간성 혼수, 간위축증 및 간암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 간질환의 치료방법.
- [청구항 14] 간질환의 치료를 위한 약제의 제조에서 편도 유래 중간엽 줄기세포의

- 조정배지의 용도.
- [청구항 15] 제14항에 있어서, 상기 간질환은 간염, 간독성, 담즙울체, 지방간, 간경변, 간허혈, 알코올성 간 질환, 간성 혼수, 간위축증 및 간암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 용도.
- [청구항 16] 간질환의 치료에 사용하기 위한 편도 유래 중간엽 줄기세포의 조정배지를 포함하는 조성물.
- [청구항 17] 제16항에 있어서, 상기 간질환은 간염, 간독성, 담즙울체, 지방간, 간경변, 간허혈, 알코올성 간 질환, 간성 혼수, 간위축증 및 간암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 조성물.

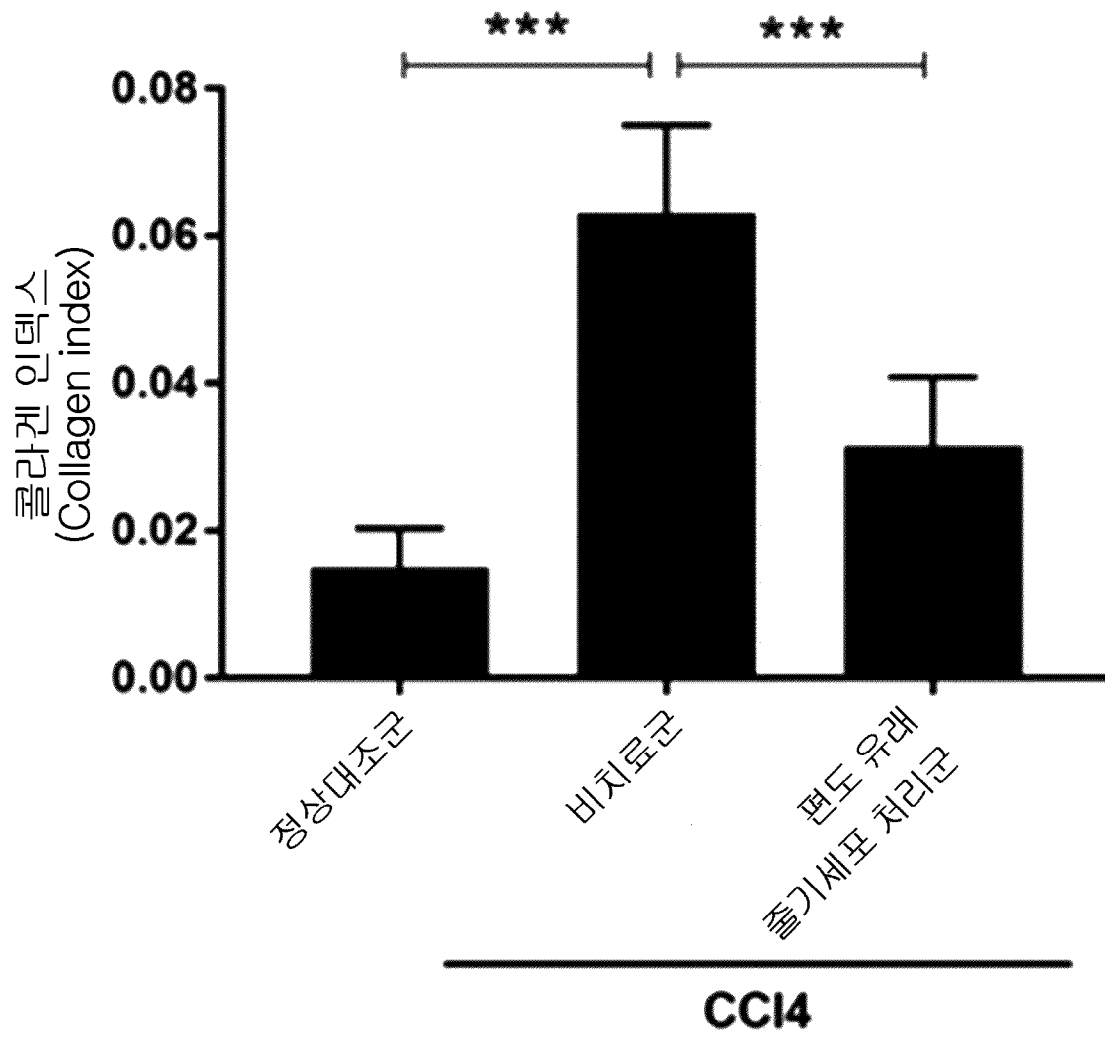
[도1]



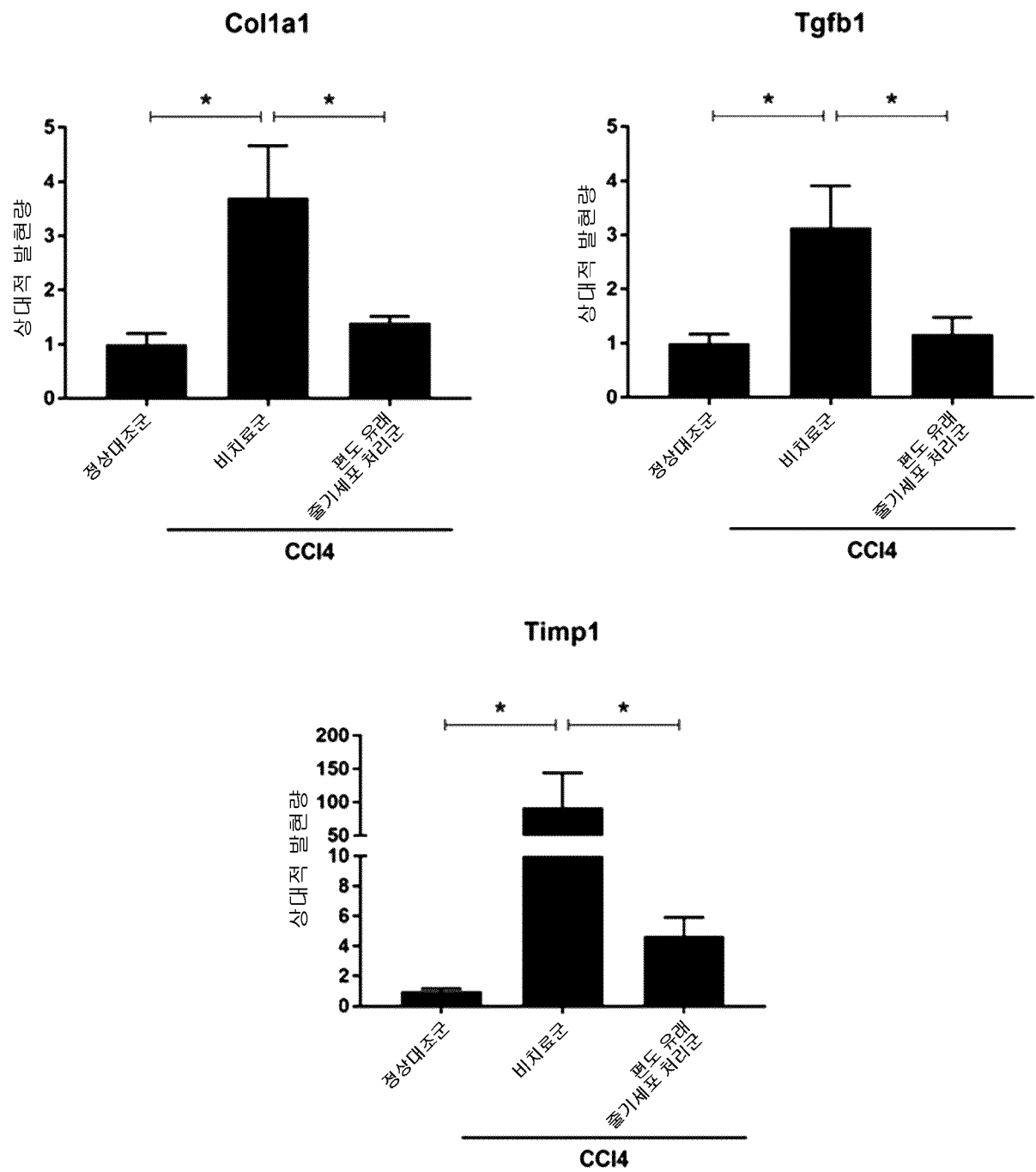
[도2]



[도3]



[도4]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2019/003626

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 35/28(2006.01)i, A23L 33/10(2016.01)i, A61P 1/16(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 35/28; A61K 35/12; A23L 33/10; A61P 1/16

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean utility models and applications for utility models: IPC as above

Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: tonsil-derived mesenchymal stem cell, liver disease, CC14, hepatitis

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GAZDIC, M. et al. Mesenchymal stem cell-dependent modulation of liver diseases. International Journal of Biological Sciences. 2017, vol. 13, no. 9, pages 1109-1117 See abstract; and page 1112.	1-4,6-10,14-17
Y		5,11
Y	CHO, K.-A. et al. Conditioned media from human palatine tonsil mesenchymal stem cells regulates the interaction between myotubes and fibroblasts by IL-1Ra activity. Journal of Cellular and Molecular Medicine. 2017, vol. 21, no. 1, pages 130-141 See abstract; and pages 131-133, 139.	5,11
A	SANG, J.-F. et al. Combined mesenchymal stem cell transplantation and interleukin-1 receptor antagonism after partial hepatectomy. World Journal of Gastroenterology. 2016, vol. 22, no. 16, pages 4120-4136 See abstract; and page 4121.	1-11,14-17
A	PARK, M. et al. Tonsil-derived mesenchymal stem cells ameliorate CCl4-induced liver fibrosis in mice via autophagy activation. Scientific Reports. 2015, vol. 5, Article 8616, pages 1-7 See abstract; and page 2.	1-11,14-17



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

16 JULY 2019 (16.07.2019)

Date of mailing of the international search report

16 JULY 2019 (16.07.2019)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsu-ro, Seo-gu,
Daejeon, 35208, Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2019/003626

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2014-0135367 A (EWHA UNIVERSITY-INDUSTRY COLLABORATION FOUNDATION) 26 November 2014 See abstract; and claims 1-17.	1-11,14-17
PX	KIM, Y.-H. et al. Conditioned medium from tonsil-derived mesenchymal stem cells relieves CCl ₄ -induced liver fibrosis in mice. Tissue Eng. Regen. Med. 2019[online publication date:19 October 2018], vol. 16, no. 1, pages 51-58 See the entire document.	1-11,14-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2019/003626

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **12-13**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 12 and 13 pertain to a method for treatment of the human body by therapy, and thus pertain to a subject matter on which the International Searching Authority is not required to carry out an international search under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Information on patent family members

PCT/KR2019/003626

14/05/2015

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 35/28(2006.01)i, A23L 33/10(2016.01)i, A61P 1/16(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 35/28; A61K 35/12; A23L 33/10; A61P 1/16

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 편도유래 중간엽 줄기세포(tonsil-derived mesenchymal stem cell), 간질환(liver disease), CC14, 간염(hepatitis)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	GAZDIC, M. 등, "Mesenchymal stem cell-dependent modulation of liver diseases", International Journal of Biological Sciences, 2017, 제13권, 제9호, 페이지 1109-1117 초록; 및 페이지 1112 참조.	1-4, 6-10, 14-17
Y		5, 11
Y	CHO, K.-A. 등, "Conditioned media from human palatine tonsil mesenchymal stem cells regulated the interaction between myotubes and fibroblasts by IL-1Ra activity", Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2017, 제21권, 제1호, 페이지 130-141 초록; 및 페이지 131-133, 139 참조.	5, 11
A	SANG, J.-F. 등, "Combined mesenchymal stem cell transplantation and interleukin-1 receptor antagonism after partial hepatectomy", World Journal of Gastroenterology, 2016, 제22권, 제16호, 페이지 4120-4136 초록; 및 페이지 4121 참조.	1-11, 14-17
A	PARK, M. 등, "Tonsil-derived mesenchymal stem cells ameliorate CC14-induced liver fibrosis in mice via autophagy activation", Scientific Reports, 2015, 제5권, 아티클 8616, 페이지 1-7 초록; 및 페이지 2 참조.	1-11, 14-17

☒ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

"A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일

2019년 07월 16일 (16.07.2019)

국제조사보고서 발송일

2019년 07월 16일 (16.07.2019)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

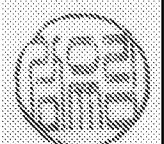
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

감유림

전화번호 +82-42-481-3516



C(계속). 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	KR 10-2014-0135367 A (이화여자대학교 산학협력단) 2014.11.26 요약; 및 청구항 1-17 참조.	1-11, 14-17
PX	KIM, Y.-H. 등, "Conditioned medium from tonsil-derived mesenchymal stem cells relieves CCl4-induced liver fibrosis in mice", Tissue Eng. Regen. Med., 2019[온라인 공개일:2018.10.19.], 제16권, 제1호, 페이지 51-58 전문 참조.	1-11, 14-17

제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☒ 청구항: 12-13
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
청구항 제12항 및 제13항은 치료에 의한 사람의 처치방법에 관한 것이므로 PCT 조약 제17조(2)(a)(i) 및 PCT 규칙 39.1(iv)의 규정에 의하여 국제조사기관이 국제조사할 의무가 없는 대상에 해당됩니다.
2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,
3. ☐ 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제3기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

1. ☐ 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합니다.
2. ☐ 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를 요구하지 아니하였습니다.
3. ☐ 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.
4. ☐ 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

이의신청에
관한 기재

- ☐ 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.
- ☐ 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된 기간 내에 납부되지 아니하였습니다.
- ☐ 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

국제조사보고서에서
인용된 특허문헌

공개일

대응특허문헌

공개일

KR 10-2014-0135367 A

2014/11/26

KR 10-1520536 B1

2015/05/14