



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0137397
(43) 공개일자 2019년12월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/739 (2006.01) A23L 33/125 (2016.01)
A23L 33/135 (2016.01) A23L 33/18 (2016.01)
A61K 35/744 (2014.01) A61K 38/19 (2006.01)
A61K 38/21 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/739 (2013.01)
A23L 33/125 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2018-0063517

(22) 출원일자 2018년06월01일

심사청구일자 2018년06월01일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

정대균

경기도 용인시 수지구 이종무로169번길 11-12 (고기동)

김한근

경기도 수원시 권선구 입북로 50, 109동 1204호 (입북동, 서수원 자이아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인 하나

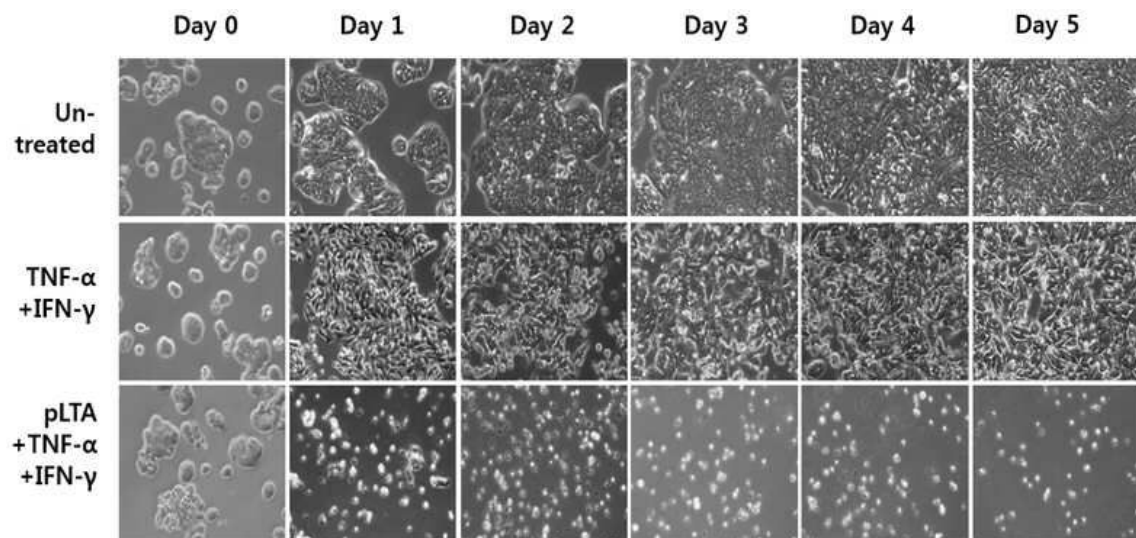
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 리포테이코익산, TNF- α 및 IFN- γ 를 유효성분으로 함유하는 항암용 조성물

(57) 요약

본 발명은 리포테이코익산, TNF- α 및 IFN- γ 를 유효성분으로 포함하는 항암용 조성물이 제공된다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A23L 33/135 (2016.08)
A23L 33/18 (2016.08)
A61K 35/744 (2013.01)
A61K 38/191 (2013.01)
A61K 38/217 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/308 (2013.01)

(72) 발명자

전보람

강원도 정선군 고한읍 고한10길 30, 102동 1506호
 (고한주공아파트)

장경옥

경기도 수원시 영통구 청명로 8, 203호 (영통동)

김형은

경기도 시흥시 함송로29번길 38, 202동 901호 (정왕동, 세종아파트)

안지은

강원도 춘천시 동면 소양강로 100, 109동 1402호
 (춘천장학엘에이치1단지)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	NRF-2016R1A2B1009889
부처명	과학기술정보통신부(미래창조과학부)
연구관리전문기관	한국연구재단
연구사업명	개인연구지원사업(중견연구)
연구과제명	유산균 리포테이코익산과 사이토카인을 이용한 대장암 세포의 자가사멸 유도 및 재조합 유산균 배송 체계를 이용한 새로운 대장암 치료 기술 개발
기 여 율	1/1
주관기관	경희대학교(국제캠퍼스) 산학협력단
연구기간	2016.06.01 ~ 2019.05.31

명세서

청구범위

청구항 1

리포테이코익산, TNF- α 및 IFN- γ 를 유효성분으로 포함하는 항암용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

암세포의 자가사멸을 24시간 이내에 유도하는 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 암은 간암, 위암, 대장암, 폐암, 유방암, 직장암, 췌장암 및 혈액암으로 이루어진 군에서 하나 이상 선택된 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 리포테이코익산은 유산균의 세포벽에서 유래한 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 TNF- α 및 IFN- γ 의 농도는 각각 1 ng/mL 이상인 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 리포테이코익산 100 μ g/mL 이상, 상기 TNF- α 5 ng/mL 이상, 및 IFN- γ 5 ng/mL 이상을 포함하는 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 리포테이코익산, TNF- α 및 IFN- γ 은 동시적으로(simultaneous), 별도로(separate), 또는 순차적(sequential)으로 투여되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 리포테이코익산, TNF- α 및 IFN- γ 은 체내에서 공동 작용을 통해 항암 활성을 나타내는 조성물.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 10

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는 암의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 11

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는 항암 보조제 조성물.

청구항 12

리포테이코익산, TNF- α 및 IFN- γ 를 동시적으로(simultaneous), 별도로(separate), 또는 순차적(sequential)으로 투여하는 단계를 포함하는 인간을 제외한 동물의 암 치료 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 리포테이코익산, TNF- α 및 IFN- γ 를 유효성분을 포함하는 항암용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 대장암은 결장과 직장에 생기는 악성 종양을 말하며, 세계적으로 2000년 발생률(945,000명 신규 발생, 세계 전체 암의 9.4%)과 사망률(492,000명 사망, 전체 암중 7.9%)이 모든 암 중 세 번째로 높고, 성별로 비교해보면 남자와 여자에게서 비슷한 비율로 발생한다(남:여 1.1:1).

[0003] 대장암 발병은 환경적인 요소와 매우 밀접한 관련이 있다. 특히, 서구화된 식습관으로 인해 발병률이 증가하고 있는 추세이며, 관련된 요인으로는 과도한 동물성 지방, 당분, 알코올 섭취와 섬유소, 항산화 비타민, 야채나 과일의 섭취 부족 등이 주요 원인으로 알려져 있다.

[0004] 특히 동물성 지방과 육류를 많이 섭취하면 채소나 곡물 등의 섬유질 식품 섭취와는 달리 대변 양이 적고 내용물이 대장을 통과하여 배설되는 시간이 많이 걸린다.

[0005] 또한 담즙산과 스테롤의 배설이 증가하며 대장 내에 존재하는 세균종의 구성에도 변화를 일으켜 이들 물질을 화학적으로 변화시키는 세균의 종류가 증가한다. 따라서 발암물질이 많이 생성되고 발암물질이 대장 내에 머물고 접촉하는 시간도 길어져서 대장암이 자주 발생하게 된다.

[0006] 대장암의 경우 혈관을 중심으로 많은 수의 세포들이 서로 덩어리진 형태로 성장하는 대표적인 고형암 세포로서 치료방법이 극히 제한적으로 완치가 어려운 암 중 하나이다.

[0007] 즉, 덩어리진 대장암 세포의 중심부까지 약물이 제대로 투과하지 못하기 때문에 대장암 세포를 완전히 제거하기란 쉬운 일이 아니다.

[0008] 현재 약물로써 대장암을 치료할 수 있는 방법은 거의 없는 실정이고, 수술요법이나 방사선요법 등과 같은 외과적인 치료만이 대장암을 치료하는 제한적인 방법이며, 또한 이러한 치료법으로는 대장암의 완치가 어렵다.

[0009] 따라서 많은 연구자가 대장암 세포의 성장을 효과적으로 억제할 수 있는 방법을 개발함으로써 대장암 세포뿐만 아니라 대부분의 암세포의 성장을 효과적으로 억제하기 위해서 많은 연구를 수행하고 있다.

[0010] 자가사멸(apoptosis)은 대부분의 항암제가 암세포의 증식억제 효과를 나타내는 중요한 작용기작으로, 세포 내부에 프로그램된 신호를 따라 여러 유전자 및 단백질들의 발현과 활성이 조절되어 일어나는 능동적인 죽음이다.

[0011] 자가사멸은 생명체의 여러 정상적인 생리적 현상에서 쉽게 관찰된다. 예를 들면 자가사멸은 생명체의 초기 발생 단계에서 관찰되는 여러 형태적 변화과정과 면역계 또는 신경계의 기능적 자가 조직화과정에서 중요한 역할을 담당한다. 또한, 성인이 된 이후에도 조직 항상성 세포 수의 조절, 손상된 세포의 제거, 감염에 대한 방어 기작으로서 필수적으로 작용한다.

[0012] 자가사멸은 여러 질환들의 발병과정에도 깊이 관여하는데 비정상적인 자가사멸의 발생은 퇴행성뇌신경질환, 면역계 이상, 그리고 심장 혈관계질환 등의 원인이 될 수 있으며, 자가사멸의 비정상적인 억제는 암의 원인이 될 수 있다.

[0013] 자가사멸이 정상적인 조절과정에서 벗어나 비정상적으로 발현하거나 억제되어 나타나는 질병을 좀 더 자세히 살펴보면, p53, p16와 Bcl-2 등의 유전자의 이상 발현에 의해 유도되는 암들, HIV, Herpes 및 독감 바이러스들은 여러 감염증, 그리고 당뇨, 류마티스 관절염, 다발성 경화증과 근무력 등과 같은 자가면역 질환들이 있다.

[0014] 이와 같이, 자가사멸은 생명체의 다양한 생리작용을 정상적으로 유지하는데 중요한 역할을 할 뿐만 아니라, 여러 질병의 발병과정에도 밀접한 관련이 있다.

- [0015] 개체를 구성하는 각 세포의 자가사멸은 유전적으로 손상을 입은 세포나 분화 자극제에 의해 부적절한 분화의 유도에 의한 종양의 발달을 막기위해 이들 비정상적인 세포를 개체에서 제거하기 여러 수단, 즉 회복 불가능한 유전적 상처를 지닌 세포들을 개체에서 제거하기 위한 일반적인 수단이다.
- [0016] 이 개념은 일반적으로 사용되는 항암제가 암세포의 증식억제와 연관된 자가사멸 과정을 통해 암세포 사멸을 유도한다는 사실에 의해 뒷받침되고 있다.
- [0017] 따라서 자가사멸 과정의 교란은 손상되거나 손상이 시작된 세포의 생존과 그들 세포의 성장을 유도하기 때문에 자가사멸의 억제는 암화과정에서 중요한 역할을 한다. 아울러 암예방 효과가 있는 물질들은 이러한 비정상적인 세포의 자가사멸을 유도하며, 이들에 의한 자가사멸의 유발은 최소한 그들의 암예방 활성과 연관되어 있음이 보고되었다.
- [0018] 종래의 대장암 치료제로는 카페시타빈(Capecitabine), 루코보린(Leucovorin) 및 이리노테칸(Irinotecan)이 알려져 있으나, 이들은 간부전, 위창공, 피부손상 등의 부작용이 발생할 수 있다.
- [0019] 또한, 대장암의 치료 방법으로, 세포의 자가사멸에서 중요한 역할을 수행하는 유전자들 즉, Bcl-2 family, p53, Inhibitory apoptosis proteins(IAPs), caspases에 대한 치료용 약물 및 유전자 치료가 수행되나, 이러한 방법은 암세포뿐만 아니라 정상세포에도 영향을 주는 문제가 있다.
- [0020] 또한, 현재 연구되고 있는 물질들은 항암제와의 콤비네이션 테라피로 사용되고 있는데 이는 치료 효과를 증진시키는 결과를 보여주었지만 동시에 항암제에 대한 내성 발생 및 정상세포 사멸 등에 대한 문제점이 지적되고 있다.
- [0021] 따라서 암세포 특이적인 사멸유도와 즉각적인 효과를 확인할 수 있는 새로운 방식의 치료방법의 개발이 시급하다.
- [0022] 한편, 최근 연구에 의해 장내 세균의 조성을 조절함으로써 대장암의 발명을 줄일 수 있는 것이 밝혀지면서, 새로운 대장암 치료 방법으로 프로바이오틱스(Probiotics) 및 프리바이오틱스(Prebiotics)이 주목받고 있다. 프로바이오틱스와 프리바이오틱스는 락토바실러스(lactobacillus), 비피도박테리아(Bifidobacteria)와 같은 유용한 미생물의 장내 군수를 증가시키고, 반대로 유해 미생물의 수를 줄여준다.
- [0023] 이러한 방법은 장내 염증반응을 억제 시키고 면역기능과 항암 활성을 강화시킴으로서 종양형성을 막을 수 있다. 또한, 프로바이오틱스는 육류에 포함되어 있는 발암인자와 결합하여 그 활성을 억제 시키고, β 같은 발암물질 전구체를 가수분해 하는 박테리아 효소의 생성을 감소시킬 수 있다.
- [0024] 따라서, 암세포에 특이적으로 작용하는 항암제의 개발이 대두되는 가운데, 본 발명자들은 유산균에서 유래한 리포테이코익산(Lipoteichoic acid)과 TNF- α 및 IFN- γ 를 혼합한 조성물이 정상세포에 영향을 주지 않고, 암세포의 자가사멸을 유도하는 데에 주목하여, 이를 항암제의 소재로 활용하고자 하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0025] 본 발명은 기존의 항암제가 암세포뿐만 아니라 정상세포 사멸도 유도하는 문제를 해결하기 위해서, 암세포만 특이적으로 사멸하는 항암용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0026] 본 발명의 일 측면에 따르면, 리포테이코익산, TNF- α 및 IFN- γ 를 유효성분으로 포함하는 항암용 조성물이 제공된다.
- [0027] 일 실시예에 있어서, 상기 조성물은 암세포의 자가사멸을 24시간 이내에 유도할 수 있다.
- [0028] 일 실시예에 있어서, 상기 암은 간암, 위암, 대장암, 폐암, 유방암, 직장암, 췌장암 및 혈액암으로 이루어진 군에서 하나 이상 선택될 수 있다.
- [0029] 일 실시예에 있어서, 상기 리포테이코익산은 유산균의 세포벽에서 유래할 수 있다.
- [0030] 일 실시예에 있어서, 상기 TNF- α 및 IFN- γ 의 농도는 각각 1 ng/mL 이상일 수 있다.
- [0031] 일 실시예에 있어서, 상기 조성물은 상기 리포테이코익산 100 μ g/mL 이상, 상기 TNF- α 5 ng/mL 이상, 및 IFN-

γ 5 ng/mL 이상을 포함할 수 있다.

- [0032] 일 실시예에 있어서, 상기 리포테이코익산, TNF- α 및 IFN- γ 은 동시적으로(simultaneous), 별도로(separate), 또는 순차적(sequential)으로 투여될 수 있다.
- [0033] 일 실시예에 있어서, 상기 리포테이코익산, TNF- α 및 IFN- γ 은 체내에서 공동 작용을 통해 항암 활성을 나타낼 수 있다.
- [0034] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 상기 조성물을 포함하는 암 예방 및 치료용 약학 조성물이 제공된다.
- [0035] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 상기 조성물을 포함하는 암 예방 및 개선용 건강기능식품이 제공된다.
- [0036] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 상기 조성물을 포함하는 항암 보조제 조성물이 제공된다.
- [0037] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 리포테이코익산, TNF- α 및 IFN- γ 를 동시적으로(simultaneous), 별도로(separate), 또는 순차적(sequential)으로 투여하는 단계를 포함하는 인간을 제외한 동물의 암 치료 방법이 제공된다.

발명의 효과

- [0038] 본 발명에 따르면, 항암용 조성물은 리포테이코익산, TNF- α 및 IFN- γ 이 타겟 세포에 작용함으로써, 암세포 특이적으로 자가사멸과 관련된 신호전달 체계를 활성화하기 때문에 기존의 항암제보다 부작용이 적다.
- [0039] 특히, 리포테이코익산의 활성 부위에 대한 유도체를 합성하여 항암 효과의 효율성을 높일 뿐만 아니라, 24시간 이내에 암세포가 사멸하기 때문에 항암 효과가 탁월하다.
- [0040] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 상세한 설명 또는 청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

도면의 간단한 설명

- [0041] 도 1은 발명의 일 실시예에 따른 조성물의 세포에 따른 세포 사멸을 평가한 그래프이다. 혈액암 세포(THP-1) 및 대장암 세포(HT-29)는 암세포이고, 생쥐의 체장에서 분리한 것(splenocytes), primary 세포주(fibroblast), primary 대장 세포(CCD18co)는 정상 세포이다.
- 도 2는 발명의 일 실시예에 따른 시료의 조성에 따른 대장암 세포(HT-29)의 변화를 5일 동안 관찰한 이미지이다.
- 도 3은 발명의 일 실시예에 따른 시료의 조성에 따른 TNF- α 및 IFN- γ 의 농도에 따른 대장암 세포(HT-29)의 사멸을 평가한 그래프이다.
- 도 4는 발명의 일 실시예에 따라 리간드 농도에 따른 대장암 세포(HT-29)의 변화를 3일간 측정된 그래프이다.
- 도 5는 발명의 일 실시예에 따라 다양한 리간드에 따른 대장암 세포(HT-29)의 사멸을 측정된 그래프이다.
- 도 6 내지 8은 발명의 일 실시예에 따른 조성물에 의해 암세포의 자가사멸이 유도되었음을 확인한 것이다. 도 6은 DNA ladder링이고, 도 7은 Nucleus shrinking이며, 도 8은 Tunnel assay이다.
- 도 9 내지 12는 발명의 일 실시예에 따른 조성물의 항암 효과를 마우스에서 검증한 결과이다.
- 도 9는 CT-26 마우스 대장암 세포에 대한 항암 실험 이미지이고, 도 10은 실험 3주 후 암세포의 무게를 측정된 그래프이다.
- 도 11는 실험 3주 후 암세포의 크기를 측정된 그래프이다.
- 도 12는 실험 3주 후 적출한 암세포의 크기를 측정된 이미지이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0042] 본 명세서에서 사용되는 용어는 본 발명에서의 기능을 고려하면서 가능한 현재 널리 사용되는 일반적인 용어들을 선택하였으나, 이는 당 분야에 종사하는 기술자의 의도 또는 관례, 새로운 기술의 출현 등에 따라 달라질 수 있다. 또한, 특정한 경우는 출원인이 임의로 선정한 용어도 있으며, 이 경우 해당되는 발명의 설명 부분에서 상세히 그 의미를 기재할 것이다. 따라서 본 발명에서 사용되는 용어는 단순한 용어의 명칭이 아닌, 그 용어가 가

지는 의미와 본 발명의 전반에 걸친 내용을 토대로 정의되어야 한다.

- [0043] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.
- [0044] 수치 범위는 상기 범위에 정의된 수치를 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최대의 수치 제한은 낮은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼 모든 더 낮은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최소의 수치 제한은 더 높은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼 모든 더 높은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 수치 제한은 더 좁은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼, 더 넓은 수치 범위 내의 더 좋은 모든 수치 범위를 포함할 것이다.
- [0045] 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 더 구비할 수 있다는 것을 의미한다.
- [0046] 본 명세서에 포함되는 용어를 포함하는 다양한 과학적 사전이 잘 알려져 있고, 당업계에서 이용가능하다. 본 명세서에 설명된 것과 유사 또는 등가인 임의의 방법 및 물질이 본원의 실험 또는 시험에 사용되는 것으로 발견되나, 몇몇 방법 및 물질이 설명되어 있다. 당업자가 사용하는 맥락에 따라, 다양하게 사용될 수 있기 때문에, 특정 방법학, 프로토콜 및 시약으로 본 발명이 제한되는 것은 아니다.
- [0047] 이하, 첨부한 도면을 참조하여 본 발명을 설명하기로 한다. 그러나 본 발명은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며, 따라서 여기에서 설명하는 실시예로 한정되는 것은 아니다.
- [0048] 본 발명의 일 측면에 따르면, 리포테이코익산, TNF- α 및 IFN- γ 를 유효성분으로 포함하는 항암용 조성물이 제공되고, 본 발명의 다른 측면에 따르면, 리포테이코익산, TNF- α 및 IFN- γ 를 동시적으로(simultaneous), 별도로(separate), 또는 순차적(sequential)으로 투여하는 단계를 포함하는 암 치료 방법이 제공된다.
- [0049] 상기 “유효성분으로 포함하는”은 항암 효과를 나타낼 수 있는 것으로, 암세포의 성장을 감소하는 정도의 유효량을 함유하는 것을 의미할 수 있다.
- [0050] 상기 항암 효과는 본 발명의 조성물에 의해 암세포의 자가사멸을 유도하는 것이다. 상기 리포테이코익산과 사이토카인 TNF- α 및 IFN- γ 는 세포 표면의 수용체에 결합한 후 신호전달 과정을 조절함으로써 24 내지 72 시간 내에 암세포의 자가사멸을 유도할 수 있다.
- [0051] 상기 항암 효과는 특정 유전자에 대한 결핍(knock out)을 필요로 하지 않기 때문에 부작용이 종래의 항암제에 비해 적으며, 암 치료 기간을 단축시킬 수 있다.
- [0052] 또한, 상기 리포테이코익산과 사이토카인 TNF- α 및 IFN- γ 은 정상 세포(primary cells)에서는 자가사멸을 유도하지 않기 때문에 종래의 항암제에 비해 부작용이 적다.
- [0053] 상기 암은 간암, 위암, 대장암, 폐암, 유방암, 직장암, 췌장암 및 혈액암으로 이루어진 군에서 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0054] 상기 리포테이코익산은 유산균의 세포벽에서 유래될 수 있고, 유산균은 락토바실러스 속(*Lactobacillus* sp.)일 수 있다.
- [0055] 상기 락토바실러스 속은 락토바실러스 펜토서스(*Lactobacillus pentosus*), 락토바실러스 브레비스(*Lactobacillus brevis*), 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*), 락토바실러스 카제이(*Lactobacillus casei*) 또는 락토바실러스 아시도필루스(*Lactobacillus acidophilus*)일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0056] 상기 TNF- α 및 IFN- γ 는 면역세포에서 분비되는 사이토카인이다. 상기 IFN- γ 는 암세포의 자가사멸에 필요한 caspase 유전자의 발현을 증가시키고, 상기 TNF- α 는 caspase 단백질의 연속적인 활성을 유도한다.
- [0057] 종래의 연구에서 상기 TNF- α 와 IFN- γ 처리에도 불구하고 완전한 세포 사멸을 보이지 않았는데, 이는 Bcl2와 같은 anti-apoptotic factor가 암세포의 자가사멸을 억제하기 때문이다.
- [0058] 그러나 본 발명에서 상기 리포테이코익산은 anti-apoptotic factors의 발현 억제를 유도하여 TNF- α 와 IFN- γ 에

의한 세포의 자가사멸을 유도시킬 수 있다.

- [0059] 상기 리포테이코익산에 의한 Bcl2의 발현 억제는 primary 세포주인 CCD18co에서는 발생하지 않으며, 그 결과 리포테이코익산, TNF- α 및 IFN- γ 조합에 의한 세포 사멸이 정상세포에서는 발생하지 않는다.
- [0060] 상기 TNF- α 및 IFN- γ 의 농도는 각각 1 ng/mL 이상일 수 있고, 바람직하게는 상기 항암용 조성물이 상기 리포테이코익산 100 μ g/mL 이상, 상기 TNF- α 5 ng/mL 이상, 및 IFN- γ 5 ng/mL 이상을 포함할 수 있다.
- [0061] 상기 TNF- α 및 IFN- γ 의 농도가 각각 1 ng/mL 미만인 경우 암세포의 자가사멸을 억제하는 효과가 구현되지 않을 수 있고, 대상체의 특성이나 건강 상태를 고려하여 각 성분의 농도 상한선을 결정할 수 있다.
- [0062] 상기 리포테이코익산, TNF- α 및 IFN- γ 은 동시적으로(simultaneous), 별도로(separate), 또는 순차적(sequential)으로 투여될 수 있고, 상기 리포테이코익산, TNF- α 및 IFN- γ 은 체내에서 공동 작용을 통해 항암 활성을 나타낼 수 있다.
- [0063] 통상적으로 상기 리포테이코익산, TNF- α 및 IFN- γ 은 조성물로서 동시에 투여되는 것이 일반적일 것이나, 시차를 두고 상기 각 유효성분이 인체에 투여되더라도 개별적으로 투여된 각 유효성분이 체내에서 동시에 작용함으로써 동등한 수준의 항암 활성을 구현할 수 있다.
- [0064] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 상기 조성물을 포함하는 암 예방 및 치료용 약학 조성물이 제공된다.
- [0065] 상기 암은 대장암, 간암, 유방암, 췌장암 및 백혈병, 악성림프종, 다발성골수증, 재생불량성 빈혈 등을 포함하는 질병이다.
- [0066] 상기 “예방”은 병리학적 현상의 발생 빈도 또는 정도를 감소시키는 모든 행위를 의미한다. 예방은 완전할 수 있으며 또는 부분적일 수도 있다. 이 경우에는 개체 내의 발암 증상이 상기 조성물을 사용 하지 않은 경우와 비교하여 감소하는 현상을 의미할 수 있다.
- [0067] 상기 “치료”는 치료하고자 하는 대상 또는 세포의 천연 과정을 변경시키기 위하여 임상적으로 개입하는 모든 행위를 의미하며, 임상 병리 상태가 진행되는 동안 또는 이를 예방하기 위하여 수행할 수 있다.
- [0068] 목적하는 치료 효과는 질병의 발생 또는 재발을 예방하거나, 증상을 완화시키거나, 질병에 따른 모든 직접 또는 간접적인 병리학적 결과를 저하시키거나, 전이를 예방하거나, 질병 진행 속도를 감소시키거나, 질병 상태를 경감 또는 일시적 완화시키거나, 예후를 개선시키는 것을 포함할 수 있다.
- [0069] 상기 조성물은 경구적 전달, 비경구적 전달의 형태로 투여될 수 있다. 상기 조성물은 전신 또는 국소 투여될 수 있으며, 상기 투여는 경구 투여 및 비경구 투여를 포함할 수 있다. 상기 조성물은 적절한 투여 형태를 제공하도록 적합한 양의 약학적으로 허용되는 비히클 또는 담체와 함께 제형화될 수 있다.
- [0070] 상기 조성물은 약학 조성물의 제조에 사용되는 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유를 들 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0071] 또한, 상기 조성물은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제제화 하여 사용할 수 있다.
- [0072] 경구 투여를 위한 고형제제는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 사용될 수 있고, 상기 고형제제는 상기 화합물과 이의 분획물들에 적어도 하나 이상의 부형제, 예컨대, 전분, 칼슘카보네이트, 수크로스, 락토오스, 또는 젤라틴 등을 혼합하여 조제할 수 있다. 또한, 상기 부형제 이외에 마그네슘 스테arate, 탈크 같은 윤활제가 사용될 수 있다.
- [0073] 경구 투여를 위한 액상 제제는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 사용될 수 있고, 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 외에 여러 가지 부형제, 예컨대 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 사용될 수 있다.
- [0074] 비경구 투여를 위한 제제는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 사용될 수 있다. 상기 비수성용제, 현탁제는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르가 사용될 수 있다. 상기 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴이 사용될 수 있다.

- [0075] 상기 조성물은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수해/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 약학적으로 유효한 양이 투여될 수 있으며, 유효 용량 수준은 개체 종류 및 중증도, 연령, 성별, 질병의 종류, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.
- [0076] 상기 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와 순차적 또는 동시에 투여될 수 있다. 그리고 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0077] 상기 암의 예방 또는 치료를 목적으로 하는 개체이면 특별히 한정되지 않고, 어떠한 개체이든 적용 가능하다. 예컨대, 원숭이, 개, 고양이, 토끼, 모르모트, 랫트, 마우스, 소, 양, 돼지, 염소 등과 같은 비인간동물 및 인간 등 어느 개체에나 적용할 수 있으며, 투여의 방식은 당업계의 통상적인 방법 이라면 제한 없이 포함한다.
- [0078] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 상기 조성물을 포함하는 암 예방 및 개선용 건강기능식품이 제공된다.
- [0079] 상기 건강기능식품은 건강기능식품에 관한 법률에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, 상기 기능성은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미할 수 있다.
- [0080] 상기 건강기능식품은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 상기 식품 첨가물은 다른 규정이 없는 한 식품의약품 안전처에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 적합성 여부를 판단할 수 있다.
- [0081] 상기 식품 첨가물 공전에 기재된 품목은 예컨대 케틴류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류를 들 수 있다.
- [0082] 상기 건강기능식품은 암의 예방 또는 개선을 위한 식품 및 음료 등에 다양하게 이용될 수 있으며, 예컨대, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능성 보조 식품, 식품 첨가제 등에 사용될 수 있다.
- [0083] 상기 건강기능식품은 암의 예방 또는 개선을 목적으로 정제, 과립, 분말, 캡셀, 액상의 용액 및 환으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조 및 가공될 수 있다.
- [0084] 구체적으로 상기 정제 형태의 건강기능식품은 상기 화합물, 부형제, 결합제, 붕해제 및 다른 첨가제와의 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축 성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형하여 제조할 수 있다. 또한, 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수 있으며, 필요에 따라 적당한 제피제로 제피할 수도 있다.
- [0085] 상기 캡셀 형태의 건강기능식품 중 경질캡셀제는 통상의 경질캡셀에 상기 화합물 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물 또는 그의 입상물 또는 제피한 입상물을 충전하여 제조할 수 있으며, 연질캡셀제는 상기 화합물 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물을 젤라틴 등 캡셀기체에 충전하여 제조할 수 있다. 상기 연질캡셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 솔비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.
- [0086] 상기 환 형태의 건강기능식품은 상기 화합물, 부형제, 결합제, 붕해제 등의 혼합물을 적당한 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 적당한 제피제로 제피를, 또는 전분, 탈크 또는 적당한 물질로 환의를 입힐 수도 있다.
- [0087] 상기 과립형태의 건강기능식품은 상기 화합물, 부형제, 결합제, 붕해제 등의 혼합물을 적당한 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.
- [0088] 또한, 상기 부형제, 결합제, 붕해제, 활택제, 교미제, 착향제 등에 대한 용어 정의는 당업계에 공지된 문헌에 기재된 것으로 그 기능 등이 동일 내지 유사한 것들을 포함할 수 있다.
- [0089] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 상기 조성물을 포함하는 항암 보조제 조성물이 제공된다.
- [0090] 상기 "항암 보조제"는 항암제의 항암효과를 개선, 향상 또는 증대시킬 수 있는 제제를 의미한다. 예컨대, 상기 항암 보조제는 항암제와 함께 사용될 경우, 상기 항암제의 항암효과를 개선, 향상 또는 증대시킬 수 있다.
- [0091] 다른 예로서, 농도의존적인 항암활성을 나타내는 제제를 그 자체로는 항암활성을 나타내지 않은 수준으로 항암제와 함께 사용할 경우, 상기 항암제의 항암효과를 개선, 향상 또는 증대시킬 수 있는 항암 보조제로서 사용할

수 있다.

[0092] 상기 항암 보조제는 처리농도에 따라 항암제 또는 항암 보조제로서 사용할 수 있으며, 그 자체로는 항암활성을 나타내지 않는 처리농도 범위에서 항암 보조제로 사용할 수 있다.

[0093] 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자라면 본 발명의 기재내용에 기초하여 각 구성의 종류, 도입 비율 등을 변화시켜 적용할 수 있을 것이며, 상기 변형에도 불구하고 동등한 기술적 효과가 구현되는 경우라면, 본 발명의 기술적 사상에 포괄된다고 할 것이다.

[0094] 이하 실시예를 통해, 본 발명을 더욱 상술하나 하기 실시예에 의해 본 발명이 제한되지 아니함은 자명하다.

[0095] **실시예 1 : 암세포 특이적 사멸 유도**

[0096] 본 발명 조성물의 암세포 특이적 사멸 유도를 확인하기 위해 다양한 세포에 조성물을 처리하고 세포 사멸정도를 측정하였다.

[0097] 사람으로부터 분리한 암세포주인 THP-1 (혈액암 세포), HT-29 (대장암 세포)와 primary 세포주인 fibroblast, primary 대장 세포인 CCD18co, 생쥐의 체장에서 분리한 splenocytes에 대하여, 0 내지 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 pLTA(유산균 L. plantarum K8의 세포벽으로부터 분리한 리포테이코익산)을 18시간 동안 전처리하였다.

[0098] 10ng/mL의 TNF- α 및 IFN- γ 를 24시간 동안 처리한 후, WST-1 Cell Proliferation Assay System(DoGenBio, Korea)을 이용하여 세포 사멸 정도를 측정하였다(도 1).

[0099] 도 1을 참조하면, 암세포주인 HT-29와 THP-1 세포의 경우 pLTA의 농도가 증가함에 따라 세포의 생존율이 감소하였다. 그러나 암세포가 아닌 CCD18co(대장에서 분리한 primary cells), Fibroblasts(피부에서 분리한 섬유아세포) 및 Splenocytes에서 세포 사멸 효과는 나타나지 않았다.

[0100] 상기 결과는 pLTA와 TNF- α /IFN- γ 처리에 의한 세포 사멸이 암세포, 특히 대장암세포와 혈액암세포에 특이적임을 시사한다.

[0101] **실시예 2 : 대장암 세포의 시간에 따른 사멸 유도**

[0102] 실시예 1의 암세포 특이적 사멸 과정을 시간대 별로 관찰하기 위해, HT-29 대장암 세포를 관찰하였다.

[0103] HT-29 대장암 세포를 6 well plate에 seeding 한 후 10 ng/mL의 TNF- α 와 IFN- γ 를 처리한 실험군, 100 $\mu\text{g/mL}$ pLTA를 18 시간 전 처리한 후 10 ng/mL의 TNF- α 와 IFN- γ 를 재처리한 실험군, 아무것도 처리하지 않은 대조군으로 나누어 5일간 세포 사멸 정도를 관찰하였다(도 2).

[0104] 도 2를 참조하면, 아무것도 처리하지 않은 대조군은 시간이 지남에 따라 세포의 수가 급격하게 증가하였다. TNF- α +IFN- γ 실험군의 경우 Day1과 Day2에서 세포 사멸이 관찰되었으나, Day3부터 암세포의 수가 증가하였다.

[0105] 그러나 pLTA와 TNF- α /IFN- γ 실험군의 경우 Day1에서 대부분의 암세포가 사멸하였고 Day2부터 모든 암세포가 사멸하여 다시 증식하지 않았다.

[0106] 상기 결과는 pLTA와 TNF- α /IFN- γ 처리에 의해 대장암 세포의 효과적인 사멸을 유도할 수 있다는 것을 의미한다.

[0107] TNF- α +IFN- γ 의 경우 일부 암세포 사멸이 관찰되지만 시간이 지남에 따라 다시 증식하였다.

[0108] 상기 결과는 TNF- α 와 IFN- γ 만을 이용한 암치료제가 실제 상용화 될 수 없음을 시사한다.

[0109] **실시예 3 : TNF- α +IFN- γ 처리농도에 의한 세포 사멸**

[0110] TNF- α +IFN- γ 의 처리 농도에 따른 항암 효과를 관찰하기 위해, HT-29 세포에서 실험하였다.

[0111] 100 $\mu\text{g/mL}$ pLTA를 18 시간 전 처리 또는 전 처리 하지 않은 HT-29 세포에 0 내지 10 ng/mL 농도의 TNF- α 와 IFN- γ 를 24시간 동안 처리 한 후 WST-1용액을 이용하여 세포 사멸 정도를 측정하였다(도 3).

[0112] 도 3을 참조하면, pLTA의 전 처리 없이 TNF- α +IFN- γ 만을 처리한 경우 HT-29 세포 사멸은 5+5 (5 ng/mL TNF- α +5 ng/mL IFN- γ 로부터 나타나기 시작하여 처리 농도가 증가함에 따라 세포 사멸도 증가하였다.

[0113] 반면, 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 pLTA를 18시간 동안 전 처리 한 후 TNF- α +IFN- γ 를 처리할 경우 0.125+0.125로부터 약간의 세포 사멸이 보였고 유의성 있는 세포 사멸은 TNF- α +IFN- γ 농도 1+1에서 나타났다. 그러나 가장 이상적인 대장암 세포 사멸은 100 $\mu\text{g/mL}$ pLTA와 TNF- α /IFN- γ 5+5 ng/mL 이상을 처리할 경우이며, 이때 암 세포의 재성

장이 관찰되지 않았다.

[0114] 실시예 4 : 리간드 처리 시간에 따른 세포 사멸

[0115] 대장암 세포주인 HT-29 세포에 전 처리 없이 100 μ g/mL pLTA, 0.5 μ g/mL LPS, 10 ng/mL TNF- α , 10 ng/mL IFN- γ 를 조합하여 또는 개별적으로 처리 하였다.

[0116] 실험에 사용된 리간드의 자체 독성을 검증하기 위하여 지시된 농도의 리간드를 단독 처리하였다.

[0117] 모든 실험에서 리간드 처리 24, 48, 72 시간 후 WST-1 용액을 이용하여 세포 사멸 정도를 측정하였다(도 4).

[0118] 도 4를 참조하면, 리간드 단독처리에 의한 세포 사멸은 3일째에 pLTA와 IFN- γ 에 의해 일부 관찰되었다.

[0119] TNF- α +IFN- γ 를 처리한 경우 처리 1일째부터 나타나기 시작하여 3일째에 약 50%의 세포 사멸이 관찰되었다. LPS와 TNF- α +IFN- γ 를 동시 처리했을 때 유사한 수준의 세포 사멸이 관찰되었다.

[0120] 또한 pLTA와 TNF- α (pLTA+T) 또는 IFN- γ 를 동시 처리했을 때에도 3일째에 약 50%의 세포 사멸이 관찰되었다.

[0121] 반면, pLTA와 TNF- α +IFN- γ (pLTA+T+I)를 동시에 처리할 경우 1일째 약 45%, 2일째 75%, 3일째 약 95%의 세포 사멸이 관찰되었다.

[0122] 상기 결과는 대장암 세포주인 HT-29 세포의 효과적인 사멸이 pLTA와 TNF- α +IFN- γ 조합에 의해 발생됨을 시사한다.

[0123] 실시예 5 : 다양한 리간드에 의한 대장암 세포 사멸 측정

[0124] 암세포 사멸에 대하여 pLTA와 TNF- α +IFN- γ 의 조합이 특이적으로 작용하는 지를 알아보기 위하여 다양한 리간드의 전 처리 후 TNF- α +IFN- γ 재처리 의한 세포 사멸을 측정하였다.

[0125] 리간드 aLTA(*S. aureus*의 세포벽으로부터 분리한 리포테이코익산), pLTA(*L. plantarum* 세포벽으로부터 분리한 리포테이코익산), LPS(그람음성세균의 내독소 세포벽 성분인 리포폴리사카라이드), MPLA(monophosphoryl lipid A), PGLPS(*Porphyromonas gingivalis*로부터 분리한 LPS), AALPS(*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*로부터 분리한 LPS), fPGN(*Shigella flexneri*로부터 분리한 펩티도글리칸), P3C4(합성 TLR2 리간드), pPGN(*L. plantarum*으로부터 분리한 펩티도글리칸)을 18시간동안 전 처리한 후 10 ng/mL의 TNF- α +IFN- γ 를 24 시간 동안 처리한 후 WST-1 용액을 이용하여 세포 사멸 정도를 측정하였다(도 5).

[0126] 도 5를 참조하면, 리간드와 TNF- α +IFN- γ 조합에 의한 대장암 세포 사멸은 그람양성세균의 리포테이코익산을 전 처리한 경우에 관찰되었다.

[0127] 리포테이코익산 이외의 LPS 또는 펩티도글리칸은 이러한 세포 사멸이 유도되지 않았다.

[0128] TLR2의 리간드인 Pam3CSK4를 전 처리할 경우 TNF- α +IFN- γ 에 의한 암 세포 사멸이 약간 발생했으나 같은 TLR2 리간드인 리포테이코익산에 대비 현저하게 미약하였다.

[0129] 상기 결과는 다양한 박테리아 유래 리간드 중 LTA만이 특이적으로 TNF- α +IFN- γ 와 함께 암세포 사멸을 유도할 수 있다는 것을 시사한다.

[0130] 실시예 6 : Apoptosis에 의한 세포 사멸

[0131] pLTA와 TNF- α +IFN- γ 조합에 의한 대장암 세포 사멸이 Apoptosis에 의해 발생하는지를 확인하기 위한 실험을 수행하였다.

[0132] 대장암 세포주인 HT-29 세포에 100 μ g/mL의 pLTA를 18시간 동안 전 처리한 후 10 ng/mL의 TNF- α +IFN- γ 를 24 시간 동안 재처리 하였다.

[0133] 대조군으로 100 μ g/mL의 pLTA만을 처리한 군과 10 ng/mL의 TNF- α +IFN- γ 만을 처리한 실험군을 사용하였다.

[0134] TNF- α +IFN- γ (TI)만을 처리한 경우에도 Apoptosis가 증가하긴 했지만 pLTA와 TNF- α +IFN- γ 를 함께 처리할 경우 급격한 Apoptosis가 발생하는 것을 확인할 수 있다.

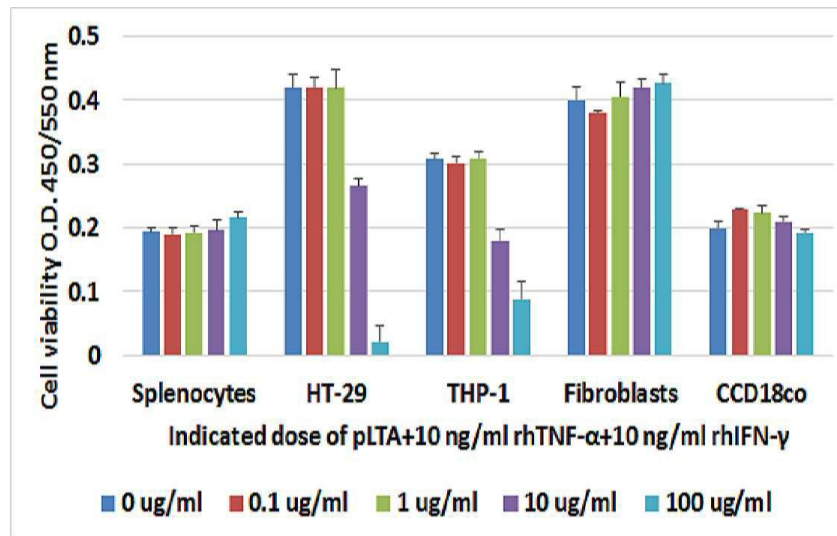
[0135] 도 6을 참조하면, 대표적인 Apoptosis의 증거인 DNA ladder링이 pLTA와 TNF- α +IFN- γ (pLTI)에 의해 증가하였다.

[0136] 도 7을 참조하면, Nucleus shrinking이 pLTA와 TNF- α +IFN- γ 에 의해 크게 증가하였다.

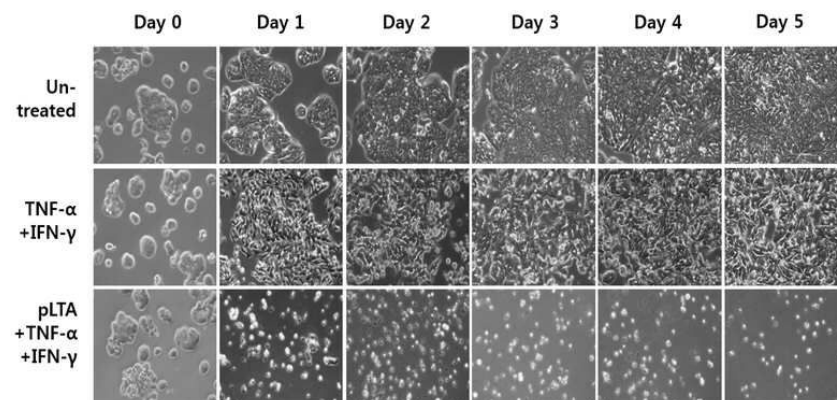
- [0137] 도 8를 참조하면, Tunnel assay를 통해 Apoptosis가 진행되고 있는 세포가 pLTA와 TNF- α +IFN- γ 에 의해 증가하였다.
- [0138] 상기 결과는 pLTA와 TNF- α +IFN- γ 에 의한 세포 사멸이 Apoptosis를 통해 발생하고 있음을 시사한다.
- [0139] **실시예 7 : 마우스 항암 실험**
- [0140] 본 발명 조성물의 항암 효과를 확인하고자, Balb/c 마우스(n=3)에 마우스 대장암 세포주인 CT-26(5×10^5 cells/200 μ L)을 옆구리에 피하주사 하였다.
- [0141] 2일 후부터 실험군에는 10 mg/kg의 pLTA를 피하 주사한 후 1일 뒤 50 μ g/kg의 TNF- α 와 IFN- γ 를 피하 주사하였다(pLTA+TNF- α +IFN- γ)
- [0142] 2일 후 다시 pLTA와 TNF- α +IFN- γ 를 반복 주사하는 방법으로 3주간 실험을 수행하였다. 대조군은 PBS를 3일 간격으로 피하 주사하였다.
- [0143] pLTA 군은 100 mg/kg의 pLTA만을 3일 간격으로, TNF- α +IFN- γ 군은 50 μ g/kg의 TNF- α +IFN- γ 만을 3일 간격으로 피하 주사하였다.
- [0144] 도 9를 참조하면, Control 및 pLTA 단독 처리에 비해 TNF- α +IFN- γ 와 pLTA+TNF- α +IFN- γ 실험군의 암세포 성장이 억제되었다. 실험 마지막 날 쥐로부터 암세포를 분리하여 암세포의 무게와 크기를 측정하였다(도 10, 12).
- [0145] 대조군(control)에 비해 pLTA를 단독 처리했을 때 암세포의 성장이 일부 억제되었다.
- [0146] 반면, TNF- α +IFN- γ 를 처리한 실험군의 경우 암세포의 무게 및 크기가 크게 감소하였는데, 이는 실험에 사용한 TNF- α +IFN- γ 의 농도가 다소 높았던 것으로 추정된다.
- [0147] 또한, pLTA+TNF- α +IFN- γ 처리군의 경우 암세포의 성장이 가장 크게 억제되었다.
- [0148] 도 12를 참조하면, pLTA와 TNF- α +IFN- γ 를 처리하지 않은 암세포의 경우 3주 후 크게 성장하였다.
- [0149] 반면, pLTA와 TNF- α +IFN- γ 를 피하 주사한 암세포의 성장은 대조군에 비해 현저히 억제되었다. 특히, pLTA+TNF- α +IFN- γ 를 처리한 마우스 암세포의 성장이 가장 효과적으로 억제되었다.
- [0150] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수 있다.
- [0151] 본 발명의 범위는 후술하는 청구범위에 의하여 나타내어지며, 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

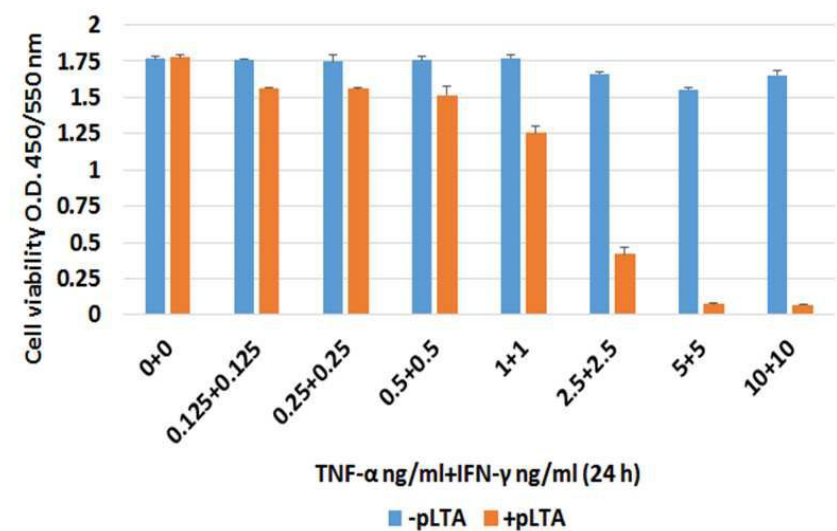
도면1



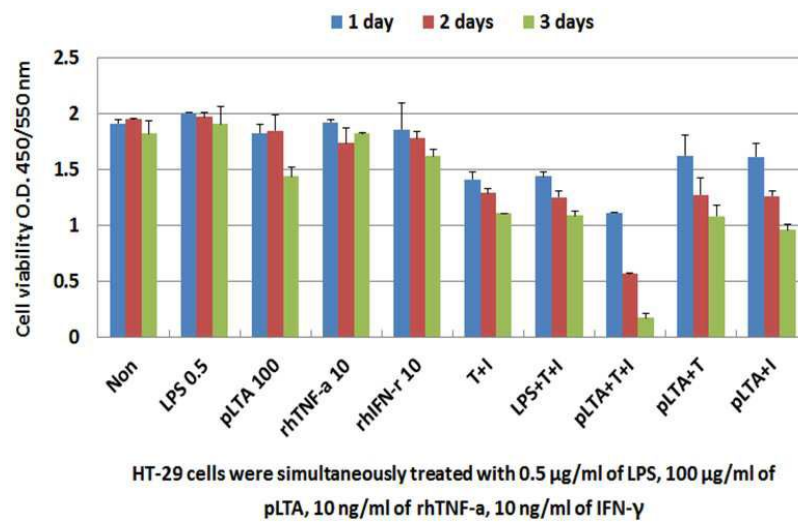
도면2



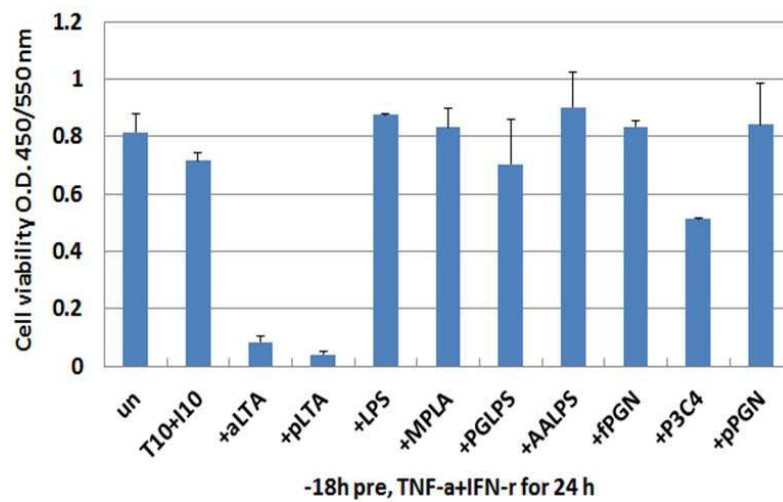
도면3



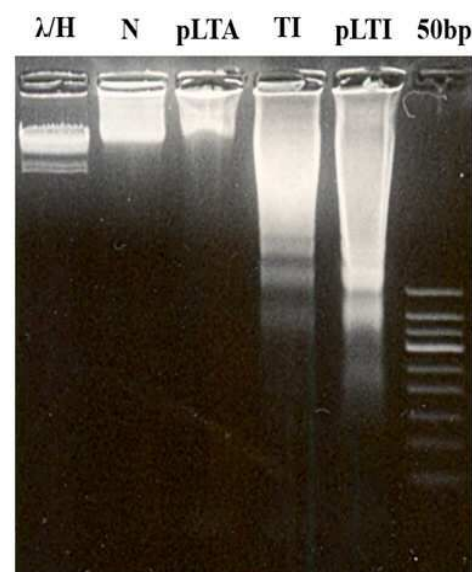
도면4



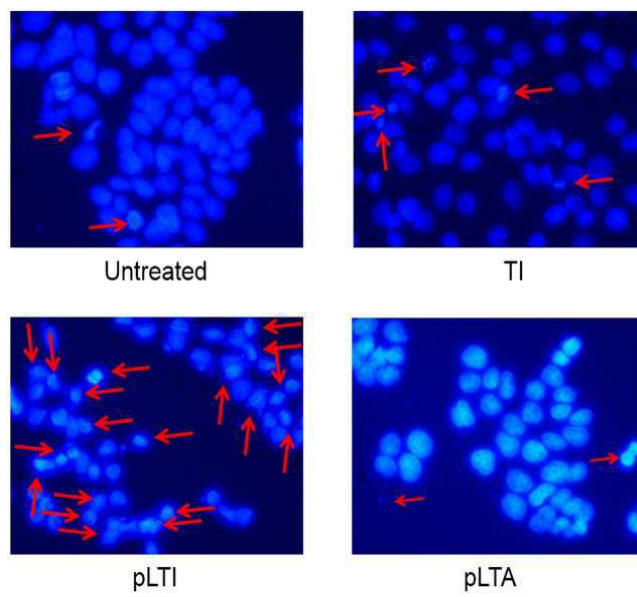
도면5



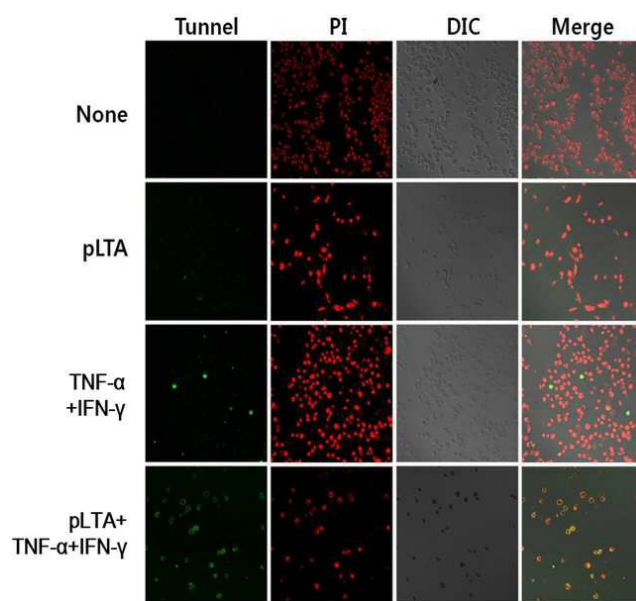
도면6



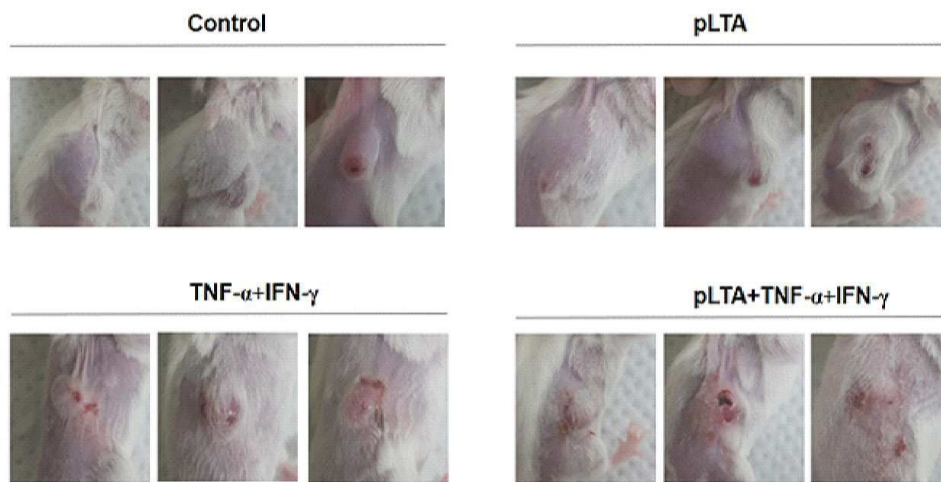
도면7



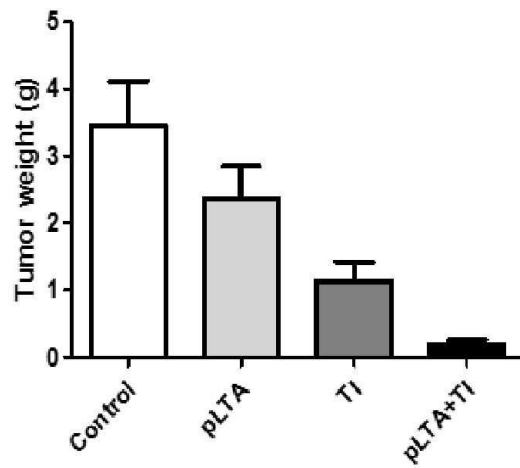
도면8



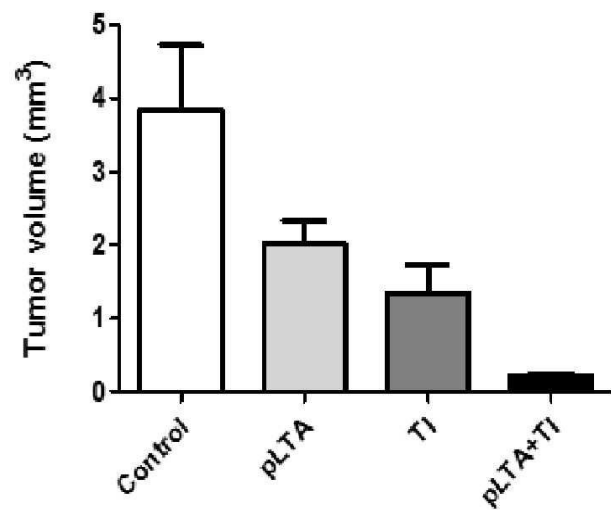
도면9



도면10



도면11



도면12

