(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。Int. Cl.
A61K 35/74 (2006.01)

(45) 공고일자 2006년11월27일
(11) 등록번호 10-0650451
(24) 등록일자 2006년11월21일

(21) 출원번호 10-2005-0075517
(22) 출원일자 2005년08월18일
심사청구일자 2005년08월18일

(65) 공개번호
(43) 공개일자

(73) 특허권자 고려대학교 산학협력단
서울 성북구 안암동5가1 고려대학교 내

(72) 발명자 박용근
서울 도봉구 도봉동 한신아파트 122-1304

윤원석
서울 노원구 공릉1동 590-1 현대아파트 101-202

김정진
서울 서대문구 연희동 69-48 20/1

(74) 대리인 이문섭
윤여강

심사관 : 한정희

전체 청구항 수 : 총 3 항

(54) 아토피성 피부염에 치료효과를 갖는 약독화된 살모넬라균주

(57) 요약

본 발명은 아토피성 피부염에 대한 치료효과를 보이는 약독화된 살모넬라 균주의 새로운 용도에 관한 것으로서, 더욱 구체적으로는 약독화된(attenuated) 살모넬라(Salmonella typhimurium) 균주를 유효성분으로 함유하는 아토피성 피부염 치료용 조성물에 관한 것이다.

본 발명이 제공하는 살모넬라 균주는 병원성이 없는 약독화된 살모넬라 균주로써 동물에 주사할 때 체내 사이토카인의 변화를 유도하여 아토피피부염의 억제인자중 하나인 인터페론 감마(Interferon-gamma)의 발현을 높이고 활성인자인 IL-4의 발현을 낮추어 주었으며 동시에 IgE의 발현을 억제하는 효과를 보여주었다. 이 결과로 피부염완화를 유도하고 아토피성 피부염의 증상인 가려움증 및 피부염증의 증상완화효과를 보여주었다. 따라서, 본 발명의 살모넬라 제제는 난치성 질환으로 적절한 치료제가 부제한 아토피성질환의 치료 및 보조 예방제제로서 의약산업에 매우 유용하게 사용될 수 있다.

대표도

도 3a

특허청구의 범위

청구항 1.

약독화된(attenuated) 살모넬라 균주(*Salmonella typhimurium*)를 유효성분으로 함유하는 아토피성 피부염 치료용 조성물.

청구항 2.

제1항에 있어서, 상기 약독화된 살모넬라 균주는 장티프스 예방용 약독화 백신인 것을 특징으로 하는 아토피성 피부염 치료용 조성물.

청구항 3.

제1항에 있어서, 상기 약독화된 살모넬라 균주는 살모넬라 티피머리움(*Salmonella typhimurium*) BRD509인 것을 특징으로 하는 아토피성 피부염 치료용 조성물.

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 아토피성 피부염에 대한 치료효과를 보이는 약독화된 살모넬라 균주의 새로운 용도에 관한 것으로서, 더욱 구체적으로는 약독화된(attenuated) 살모넬라(Salmonella typhimurium) 균주를 유효성분으로 함유하는 아토피성 피부염 치료용 조성물에 관한 것이다.

아토피성 피부염(Atopic dermatitis)은 현대의학기술로도 정확하게 규정지을수 없는 난치성질병으로 면역학적으로 외부의 자극에 대해 체내의 면역계가 과민반응을 유도하여 발생하는 것으로 알려져 있다. 주로 혈액중 IgE의 농도 상승을 지표로하여 과민하게 히스타민(histamine)류의 분비가 가려움증 및 염증을 유도하는 것으로 알려져있다. 하지만 그 원인이 다양하고 복잡하여 적절한 치료제가 현재 개발되어 있지 않은 상황이다.

한편 최근들어 국내외적으로 아토피성 피부염발병이 소아에서 성인에 이르기까지 광범위하게 발생하고 있어 치료제의 개발이 시급하다. 현재는 스테로이드 계열의 아토피성 피부염 억제제가 치료제로 사용되고 있으나 아토피성 피부염의 원천적인 해결방법이 아닌 일시적인 경감효과를 보여주며 동시에 내성이 생기는 부작용이 알려진바 적절하고 광범위한 치료제 개발이 필요하다.

본 발명에서는 기존의 화학제제처럼 면역계를 저하하는 물질이 아닌 살모넬라 타이피뮤리움(Salmonella Typhimurium)으로 불리우는 미생물을 생물학적 제제로 사용하였다. 제조된 살모넬라제제를 투여하였을때 체내 면역학적 환경을 활성화시켜서 아토피성 피부염의 개선을 유도하는 기술로 체내 면역시스템의 원천적인 변화로 아토피성 피부염의 증상완화 및 해결을 기술적 목표로 한다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

따라서, 본 발명의 목적은 아토피성 피부염에 대한 뛰어난 치료효과를 보이는 새로운 생물학적 제제를 제공하는데 있다.

본 발명의 생물학적 제제는 적절한 치료제가 없는 아토피성 피부질환에 대한 치료제로서 유용하게 이용될 수 있다.

발명의 구성

본 발명의 한 양태에 따르면, 본 발명은 약독화된(attenuated) 살모넬라(*Salmonella typhimurium*) 균주를 유효성분으로 함유하는 아토피성 피부염 치료용 조성물을 제공한다.

본 발명에 있어서, 살모넬라(*Salmonella typhimurium*) 균주는 장티푸스를 유발하는 group D Salmonella에 속하는 병원균으로서, 본 발명에서는 상기 살모넬라 균주의 병원성을 없애기 위하여 약독화된(attenuated) 살모넬라 균주를 사용하였다.

본 발명에 있어서, 상기 약독화된 살모넬라 균주는 장티프스 예방용 약독화 백신인 것을 특징으로 한다. 여기서, 약독화(attenuation)란 살아있는 병원체의 독성을 인공적으로 약하게 한 것으로, 병원체의 필수 대사에 관여하는 유전자를 변이시켜 체내에서 질병을 일으키지 못하고, 면역 체계만을 자극해서 면역성을 유도하는 것을 의미한다.

장티프스 예방용 백신으로는 이미 당업계에 주사제와 경구용 약독화 백신이 많이 개발되어 있다. 경구용 생백신 제조에 가장 많이 사용되는 약독화 살모넬라 균주는 galE gene에 변이가 있어 uridine diphosphate(UDP) galactose-4-epimerase를 지니지 못하는 변이주 Ty21a이다 (Levine MM, et al., Progress in vaccines against typhoid fever. Rev Infect Dis 11: 552-567, 1989).

본 발명의 상기 목적은 병독성이 없는 살모넬라를 이용하여 생물제제형태를 만들고 이를 아토피성 피부염을 유도한 마우스(NCNGa) 에 피하로 투여하여, 그에 의한 염증억제 효과및 피부염 완화효과를 살모넬라를 투여하지 않은 대조군에 의한 효과와 비교 분석하여 확인함으로써 달성하였다.

본 발명의 구체적인 실시예에 사용된 살모넬라 균주는 살모넬라 타이피뮤리움(*Salmonella typhimurium*) BRD 509 균주로, 병원성이 없는 약독화된 균주이다. 상기 균주의 약독화 방법은 aro A, aro B 의 유전자를 변형시켜서 균주의 대사에 비정상이 일어나게 만들었으며, 이로 인한 약독화 결과를 이용해서 본 발명에서 백신으로 사용하였다.

본 발명에서 피부염 완화효과를 유도하는 살모넬라 균주는 당업계에서 통상 사용되는 배양방법에 의해 제조 가능하다.

본 발명의 약학적 조성물은 정제, 캡슐제, 과립제, 현탁제와 같은 경구용 제제뿐만 아니라, 피하, 정맥 내 및 근육 내 주사용 앰플제 형태의 주사제 또는 기타 적합한 약제학적 형태로 투여할 수 있다.

또한, 본 발명의 약학적 조성물은 약제학적 제제에 통상적으로 사용되는 생리학적으로 내성이 있는 부형제 및/또는 희석제 및/또는 보조제를 더 포함할 수 있다.

본 발명의 약학적 조성물은 상기 활성성분인 약독화된 살모넬라 균주를 기준으로 성인에게 10^6생균수/일 내지 10^7생균수/일 투여할 수 있으며, 아토피성 피부염의 심각정도에 따라 증감할 수 있다.

이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하기로 한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것이므로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는다.

실시예 1: 아토피성 피부염을 완화하는 살모넬라제제의 제조

먼저, 당업계에서 용이하게 입수할 수 있는 약독화된 살모넬라 균주 BRD509(*Salmonella typhimurium* BRD509) (R Strugnell, et al., Infect. Immun., 10 1992, 3994-4002, US Patent 5,547,664)를 루리아 벌테니(Luria Bertani) 배지에서 37℃ 배양하였다. 배양된 상기 살모넬라 균주를 다시 100mL의 양으로 24시간 배양한 후 파장 600nm의 광학흡광도(O.D.600) 및 0.7을 나타내는 배양농도에서 세균을 5500rpm의 속도로 원심분리하였다. 이때 얻어진 세균을 생리식염수에 희석하여 보관하며 용량은 1ml의 생리식염수에 10^7의 세균이 포함되게 제조하였다. 그 결과 얻어진 살모넬라제제를 동물시험에서 피하주사하는데 사용하였다.

실시예 2: 본 발명의 살모넬라 균주의 피부염억제효과 확인

1) 동물모델에서 화학적 피부염 조성법

5-6주령이된 Nc/Nga 마우스(SLC. Japan)의 등부위를 제모한후에 피부의 미세 상처가 치유되도록 24시간 방치하였다. 이후 아세톤과 올리브오일이 3:1로 혼합되어있는 용액에 1% DNCB(Sigma, USA)가 혼합된 반응액을 준비하여 혼합액 200ul 를 등부위에 도포하였다. 4일후부터 1주일에 2-3번씩 0.2% DNCB용액 150ul 를 등 부위에 도포하였다. 4-5주 처리후에 피부염이 유발되었고 이 상태에서 10^5 의 살모넬라 생균이 포함된 PBS용액 100ul 를 피하주사하고 증상의 변화를 관찰하였다.

2) 살모넬라균주제제의 투여에 의한 IgE 발현억제와 사이토카인의 발현변화

본 발명의 살모넬라 생균 제제를 투여후 2주후 쥐의 눈에서 혈액을 채취하여 IgE의 발현 양상을 측정하였으며 비장세포를 분리하여 10^5 의 비장세포에 대해 살모넬라 균주를 동일양으로 첨가하여 10% FBS가 첨가된 RPMI세포배양배지하에서 2일간 배양후에 배지내에 발현된 사이토카인의 변화를 ELISA실험법을 통해서 확인하였다.

도 1에서 (a)는 살모넬라 균주를 처리한 피부염 쥐에서의 IgE 발현억제 모습을 나타내고 있으며 (b)는 살모넬라 주입시에 체내에 아토피관련 사이토카인의 발현양상을 비교하여 보여주었다. 도 1로부터, 본 발명의 생균 제제가 아토피피부염의 억제인자중 하나인 인터페론 감마(Interferon-gamma)의 발현을 높이고 활성인자인 IL-4의 발현을 낮추어 주었으며 동시에 임뮤노글로블린E (IgE)의 발현을 억제하는 효과를 나타냄을 알 수 있다.

3) 마우스에서 살모넬라 제제 투여로 인한 피부염의 증상완화

또한, 본 발명의 살모넬라 생균 제제를 투여후 2주후 피부염의 양상을 Nc/Nga 마우스 피부염의 임상적인 육안 평가법을 이용하여 관능평가를 하였다.

도 2에서는 살모넬라 균주를 처리한 쥐에서의 피부염 완화증상을 관찰한 도면을 비교하여 제시하였고 도 3에서는 피부염의 지표(Number of scratching: 마우스가 아토피질환으로 몸을 긁는횟수의 정도, Dermatitis score: 마우스의 피부에 발발한 아토피 피부염을 시각으로 평가한 질병의 양상정도)를 도표로 제시하여 살모넬라균의 아토피 피부염억제효과를 제시하였다. 도 2로부터, 아토피성 피부염을 유도한 마우스에 있어서 대조군 마우스에 비해 살모넬라 처리한 마우스가 피부염 증상이 현저히 완화되었음을 알 수 있다. 도 3으로부터, 아토피성 피부염을 유도한 마우스에 있어서 대조군 마우스에 비해 살모넬라 피부염의 지표가 현저히 저하됨을 알 수 있다.

발명의 효과

이상 설명한 바와 같이, 본 발명이 제공하는 살모넬라 균주는 병원성이 없는 약독화된 살모넬라 균주로써 동물에 주사할 때 체내 사이토카인의 변화를 유도하여 아토피피부염의 억제인자중 하나인 인터페론 감마(Interferon-gamma)의 발현을 높이고 활성인자인 IL-4의 발현을 낮추어 주었으며 동시에 IgE의 발현을 억제하는 효과를 보여주었다. 이 결과로 피부염 완화를 유도하고 아토피성 피부염의 증상인 가려움증 및 피부염증의 증상완화효과를 보여주었다. 따라서, 본 발명의 살모넬라 제제는 난치성 질환으로 적절한 치료제가 부제한 아토피성질환의 치료 및 보조 예방제제로서 의약산업에 매우 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

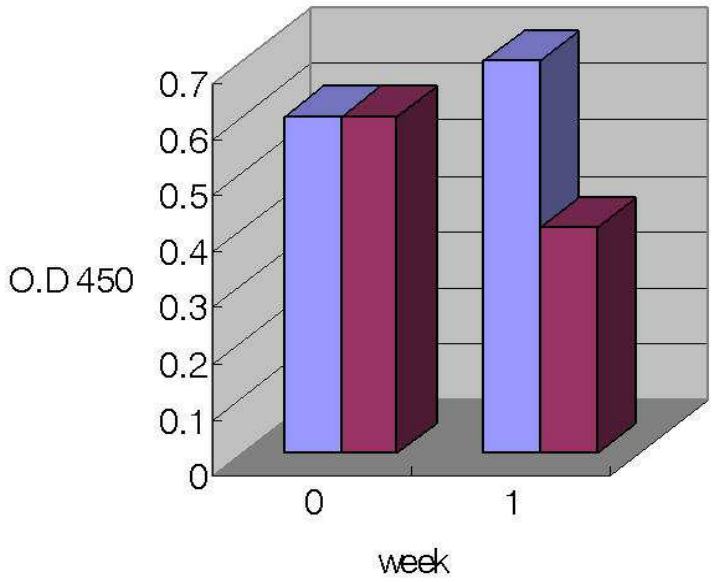
도 1은 아토피성 피부염을 유도한 마우스에 살모넬라 타이피뮤리움을 투여한후 임뮤노글로블린E (IgE)의 저하효과와 사이토카인의 발현변화를 보여주는 도면이다.

도 2는 아토피성 피부염을 유도한 마우스에 있어서 피부의 염증의 완화를 보여주는 도면이다.

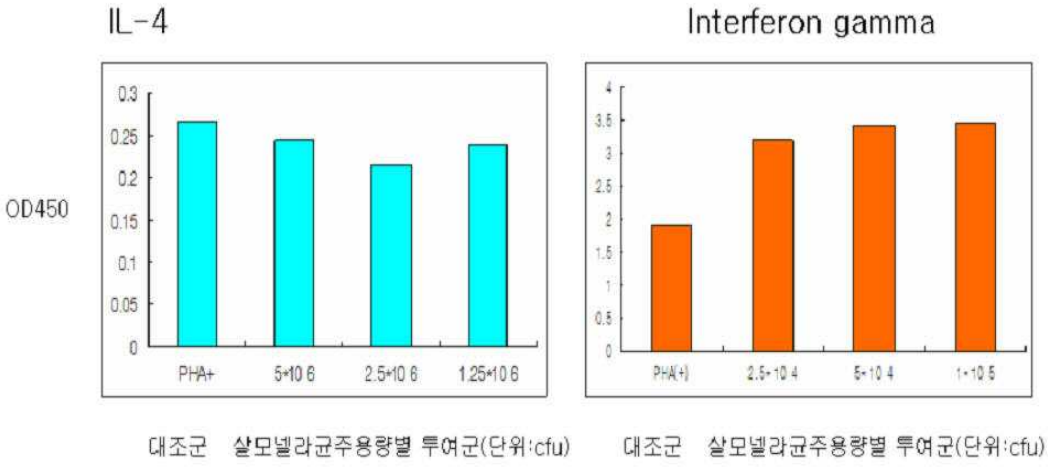
도 3은 아토피성 피부염을 유도한 마우스에 있어서 피부염증상을 나타내는 지표의 완화를 보여주는 도면이다.

도면

도면1a



도면1b



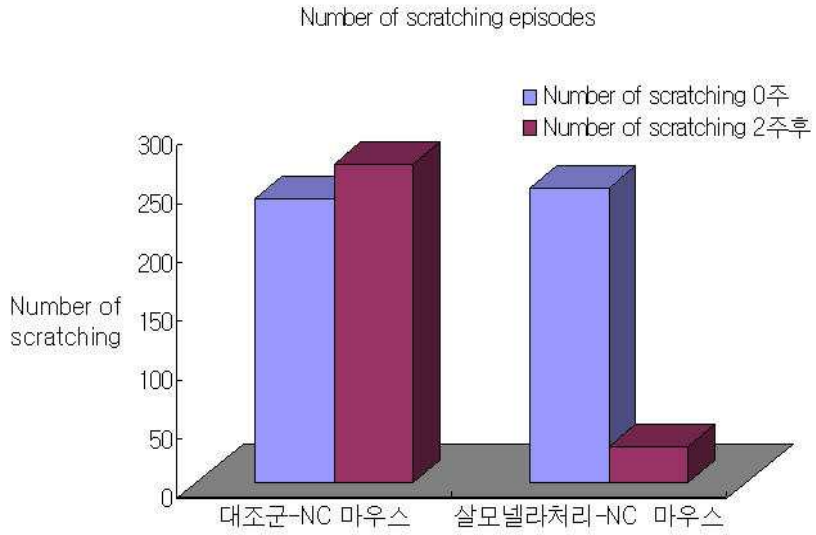
도면2a



도면2b



도면3a



도면3b

