



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0109425
(43) 공개일자 2018년10월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/185 (2016.01) A61K 38/16 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/185 (2016.08)
A61K 38/168 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-0039159
(22) 출원일자 2017년03월28일
심사청구일자 2017년03월28일

(71) 출원인
경상대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
(72) 발명자
김명옥
경상남도 진주시 가호로44번길 7, 102동 303호 (호탄동, 대동아파트)
(74) 대리인
최규환

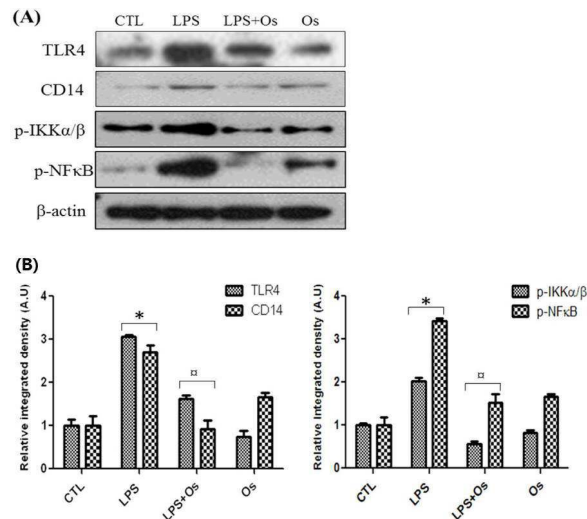
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 오스모틴 단백질을 유효성분으로 함유하는 항염증 또는 면역증진용 조성물

(57) 요약

본 발명의 오스모틴 단백질은 세포독성이 없으며, LPS 수용체인 CD14 및 TLR4 단백질의 세포 표면 발현을 억제하고, I κ B α 인산화 억제를 통해 NF- κ B의 활성화를 억제시킬 뿐만 아니라, COX-2(cyclooxygenase-2), iNOS(inducible nitric oxide synthase), TNF- α (tumor necrosis factor- α) 및 IL-1 β (Interleukin-1 β)의 발현을 저해하므로, 항염증 또는 면역증강을 위한 건강기능식품 또는 의약품에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/324 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2016M3C7A1904391

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 뇌과학원천기술 개발사업

연구과제명 퇴행성 뇌질환 및 대사조절 신규 제어물질 개발 및 효과 검증 ; 에너지 대사 활성화 물질 개발을 통한 실용화 기반 확립

기 여 율 1/1

주관기관 경상대학교

연구기간 2016.06.01 ~ 2021.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

오스모틴 단백질을 유효성분으로 함유하는 항염증 또는 면역증진용 건강기능식품 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 염증은 관절염, 비염, 간염, 각막염, 위염, 장염, 신장염, 기관지염, 흉막염, 복막염, 척추염, 채장염, 요도염, 방광염, 화상 염증, 피부염, 치주염, 치은염 및 신경염증으로 이루어지는 군으로부터 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 항염증 또는 면역증진용 건강기능식품 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 오스모틴 단백질은 TLR4(toll-like receptor 4), CD14, p-IKK α/β (phospho-I κ B Kinase α/β) 및 p-NF κ B(phospho-nuclear factor kappa B)의 발현을 저해하는 것을 특징으로 하는 항염증 또는 면역증진용 건강기능식품 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 오스모틴 단백질은 COX-2(cyclooxygenase-2), iNOS(inducible nitric oxide synthase), TNF- α (tumor necrosis factor- α) 및 IL-1 β (Interleukin-1 β)의 발현을 저해하는 것을 특징으로 하는 항염증 또는 면역증진용 건강기능식품 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 조성물은 분말, 과립, 환, 정제, 캡슐, 캔디, 시럽 및 음료 중에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조되는 것을 특징으로 하는 항염증 또는 면역증진용 건강기능식품 조성물.

청구항 6

오스모틴 단백질을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 염증성 질환은 관절염, 비염, 간염, 각막염, 위염, 장염, 신장염, 기관지염, 흉막염, 복막염, 척추염, 채장염, 요도염, 방광염, 화상 염증, 피부염, 치주염, 치은염 및 신경염증으로 이루어지는 군으로부터 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 8

제6항에 있어서, 상기 오스모틴 단백질 이외에 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 9

제6항에 있어서, 상기 조성물은 캡슐제, 산제, 과립제, 정제, 현탁액, 에멀전, 시럽 및 에어로졸 중에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조되는 것을 특징으로 하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 오스모틴 단백질을 유효성분으로 함유하는 항염증 또는 면역증진용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0001]

[0002] 염증(inflammation)이란 어떤 자극에 대한 생체조직의 방어반응의 하나로, 조직 변질, 순환장애와 삼출 및 조직 증식을 병발하는 복잡한 병변을 일컫는다. 여러 가지 형태의 감염(infection)이나 생체 내 대사산물 중의 자극 성 물질에 대한 생체 내 방어기전의 발현이라 할 수 있고, 다양한 화학적 매개체가 염증의 발현 기전에 관여하고 있으며, 그 병인도 매우 복잡하다. 이는 조직의 상해 또는 파괴에 의해 유발되는 국소 보호 반응으로, 상해 유발 물질과 상해된 조직 모두를 파괴 또는 약화시키거나 차폐하는 작용을 한다. 이러한 염증의 특징은 미세혈관이 천공되고, 혈액 성분이 틈새 공간으로 누출되며, 백혈구가 염증 조직으로 이동한다는 것으로, 통상적으로 홍반, 부종, 통각과민(hyperalgesia), 통증 등의 임상적 증상들을 동반한다. 생체에 있어, 염증의 발생 원인으로는 다양한 생화학적 현상이 관여하고 있으며, 특히 산화질소(nitric oxide, NO)를 발생시키는 효소인 일산화질소 합성효소(nitric oxide synthase, NOS)와 프로스타글란딘(prostaglandin)의 생합성에 관련된 효소들의 염증 반응을 매개하는데 있어서 중요한 역할을 하고 있는 것으로 알려진 바 있다. 이에 L-아르기닌(L-Arginine)으로부터 NO를 생성시키는 효소인 NOS나, 아라키돈산(Arachidonic acid)으로부터 프로스타글란딘류를 합성하는데 관련된 효소인 COX(cyclooxygenase)는 염증을 유발하는데 있어서 주된 작용을 하고 있다.

[0003] 최근의 연구 결과에 따르면, NOS는 뇌에 존재하는 bNOS(brain NOS), 신경계에 존재하는 nNOS(neuronal NOS), 혈관계에 존재하는 eNOS(endothelial NOS) 등이 있으며, 체내에 항상 일정수준으로 발현되고 있고, 이들에 의해 소량 생성되는 NO는 신경전달이나 혈관확장을 유도하는 등 정상적인 신체의 항상성 유지에 중요한 역할을 한다. 이에 반하여, 각종 사이토카인(cytokines)이나 외부 자극물질에 의해 유도되는 iNOS(inducible NOS)에 의해 급격히 과량 발생하는 NO는 세포독성이나 각종 염증반응을 일으키는 것으로 알려져 있으며, 만성 염증은 iNOS 활성의 증가와 관련 있다는 연구가 있다.

[0004] TNF- α 와 같은 다기능성 사이토카인(cytokine)은 정상조직에서 발현될 뿐만 아니라 병변 과정에서 그 발현 정도가 증가되며, 특히 암 촉진 과정에서 일어나는 피부염증에 중요한 역할을 한다. TNF- α 가 인간의 염증성 피부 질환과 관련이 있음은 이미 많이 보고되고 있다. 따라서, 발암촉진단계와 밀접한 관계가 있는 염증단계에 중추적 역할을 하고 있는 사이토카인인 TNF- α 의 발현을 저해시키거나 COX-2 활성저해에 기인하는 프로스타글란딘 PGE2(Prostaglandin E2)의 생성 억제를 통해 초기 염증성 분자(proinflammatory molecule)의 증가를 수반하는 병변 과정을 조절할 수 있을 가능성이 높은 것으로 알려져 있다.

[0005] 현재까지의 비스테로이드성 항염증 약물(nonsteroidal antiinflammatory drug, NSAID) 사용으로 인한 염증의 감소는 흔히 상당한 기간 동안 통증의 완화를 초래해 왔으며, 비마약성 진통제(아스피린 등)의 대부분 역시 항염증 효과를 가지므로 급성 및 만성 염증 질환의 치료에 적절히 사용되어 왔다. 즉, 염증 반응의 물리적 불편함을 감소시키는 제약학적 제제를 투여하여 치료하고 있으나 일반적인 항염증성 약제는 광범위한 질병의 치료에 사용되고, 동일한 약제가 종종 상이한 질병의 치료에 이용되기 때문에 치료 작용 및 부작용을 공유하게 된다. 이 중 부작용에는 호흡촉진현상, 순환계 붕괴, 상복부 통증, 구토, 위장출혈, 간 손상 및 혈소판 저해 등의 증상이 알려진 바 있다. 이러한 부작용 때문에 기존의 항염증성 약제는 장기적으로 사용하기가 곤란하고, 현재까지의 치료법에 부작용의 심각성이 너무 크기 때문에 새롭거나 개선된 치료제 개발은 필수적이고 시급한 실정이며, 부작용에 대한 우려가 없는 인체에 안전한 항염제의 필요성이 대두되고 있다.

[0006] 한편, 한국등록특허 제1049041호는 항염증 및 면역억제 효과를 갖는 여뀌 메탄올 추출물을 개시하고 있으며, 한국공개특허 제2016-0107934호는 오스모틴을 포함하는 기억력 증진 또는 학습능력 향상용 조성물을 개시하고 있다. 하지만, 본 발명의 오스모틴 단백질을 유효성분으로 함유하는 항염증 또는 면역증진용 조성물에 대해 아직까지 개시된 바가 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명에서는 오스모틴 단백질이 세포독성이 없으며, LPS(lipopolysaccharide) 수용체인 CD14 및 TLR4(toll-like receptor 4) 단백질의 발현을 저해하고, NF κ B(nuclear factor kappa B)의 세포질로부터 핵 내로의 이동을 억제할 뿐만 아니라, 염증매개 인자인 COX-2(cyclooxygenase-2), iNOS(inducible nitric oxide synthase), TNF- α (tumor necrosis factor- α) 및 IL-1 β (Interleukin-1 β)의 발현을 저해하여 항염증 또는 면역증강 효과를 나타내는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 오스모틴 단백질을 유효성분으로 함유하는 항염증 또는 면역증진용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0009] 또한, 본 발명은 오스모틴 단백질을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0010] 본 발명의 오스모틴 단백질은 세포독성이 없으며, LPS 수용체인 CD14 및 TLR4(toll-like receptor 4) 단백질의 발현을 저해하고, NF- κ B(nuclear factor kappa B)의 세포질로부터 핵 내로의 이동을 억제할 뿐만 아니라, COX-2(cyclooxygenase-2), iNOS(inducible nitric oxide synthase), TNF- α (tumor necrosis factor- α) 및 IL-1 β (Interleukin-1 β)의 발현을 저해하므로, 항염증 또는 면역증진을 위한 건강기능식품 또는 의약품에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0011] 도 1은 본 발명의 오스모틴 단백질 처리에 따른 마우스 해마 유래의 TLR4, CD14, p-IKK α/β 및 p-NF κ B 단백질의 발현 저해효과를 확인한 웨스턴 블롯 밴드(A) 및 이를 정량화한 그래프(B)이다. CTL은 대조군(Control)을 나타내며, Os는 오스모틴(osmotin) 단백질을 나타낸다. (B)에서 *는 대조군에 대비하여 LPS를 처리하였을 때, TLR4, CD14, p-IKK α/β 및 p-NF κ B 단백질의 발현 증가가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.001 미만인 것을 의미하며; α 는 LPS 처리군에 대비하여 오스모틴 단백질 및 LPS를 함께 처리하였을 때, TLR4, CD14, p-IKK α/β 및 p-NF κ B 단백질의 발현 감소가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.001 미만인 것을 의미한다.

도 2는 본 발명의 오스모틴 단백질 처리에 따른 마우스 해마의 CA1 및 CA3 영역에서 p-NF κ B의 핵 전좌(nuclear translocation)의 억제효과를 확인한 현미경 사진(A) 및 이를 정량화한 그래프(B)이다. control은 대조군을 나타낸다. (B)에서 *는 대조군에 대비하여 LPS를 처리하였을 때, 마우스 해마의 CA1 영역에서 p-NF κ B의 핵 전좌(nuclear translocation)의 증가가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.001 미만인 것을 의미하며; #는 대조군에 대비하여 LPS를 처리하였을 때, 마우스 해마의 CA3 영역에서 p-NF κ B의 핵 전좌(nuclear translocation)의 증가가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.01 미만인 것을 의미하며; $\emptyset$ 는 LPS 처리군에 대비하여 오스모틴 단백질 및 LPS를 함께 처리하였을 때, 마우스 해마의 CA1 및 CA3 영역에서 p-NF κ B의 핵 전좌(nuclear translocation)의 감소가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.01 미만인 것을 의미한다.

도 3은 본 발명의 오스모틴 단백질 처리에 따른 미세아교 세포(microglial cell)의 세포생존력(A) 및 세포독성(B)을 확인한 결과이다.

도 4는 본 발명의 오스모틴 단백질 처리에 따른 TLR4, p-NF κ B 및 TNF- α 단백질의 발현 저해를 확인한 웨스턴 블롯 밴드(A) 및 이를 정량화한 그래프(B)이다. CTL은 대조군(Control)을 나타내며, Os는 오스모틴(osmotin) 단백질을 나타내며, TAK242는 TLR4 신호전달 억제제로 양성대조군을 나타내며, β -액틴은 로딩컨트롤을 나타낸다. (B)에서 *는 대조군에 대비하여 LPS를 처리하였을 때, TLR4 및 TNF- α 단백질의 발현 증가가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.001 미만인 것을 의미하며; χ 는 대조군에 대비하여 LPS를 처리하였을 때, p-NF κ B 단백질의 발현 증가가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.05 미만인 것을 의미하며; α 는 LPS 처리군에 대비하여 오스모틴 단백질 및 LPS를 함께 처리하였을 때, TLR4 및 TNF- α 단백질의 발현 저해가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.001 미만인 것을 의미하며; α 는 LPS 처리군(LPS-treated)에 대비하여 TAK242 및 LPS를 함께 처리하였을 때, TLR4 단백질의 발현 저해효과가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.001 미만인 것을 의미하며; $\emptyset$ 는 LPS 처리군에 대비하여 오스모틴 단백질 및 LPS를 함께 처리하였을 때, p-NF κ B 단백질의 발현 저해가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.05 미만인 것을 의미하거나 LPS 처리군에 대비하여 TAK242 및 LPS를 함께 처리하였을 때, p-NF κ B 및 TNF- α 단백질의 발현 저해가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.05 미만인 것을 의미한다.

도 5는 본 발명의 오스모틴 단백질 처리에 따른 아디포넥틴 수용체 AdipoR1 및 TLR4/CD14 복합체 단백질의 발현 저해를 확인한 웨스턴 블롯 밴드(A) 및 이를 정량화한 그래프(B)이다. (A)에서 IP는 면역침강(immunoprecipitation)이며, IB는 면역블롯(immunoblot)을 의미한다. (B)에서 *는 대조군(CTL)에 대비하여 LPS를 처리하였을 때, TLR4 및 CD14 단백질의 발현 증가가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.001 미만인 것을 의미하며; α 는 LPS 처리군(LPS-treated)에 대비하여 오스모틴 단백질 및 LPS를 함께 처리하였을 때, TLR4 및 CD14 단백질의 발현 저해가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.001 미만인 것을 의미한다.

도 6은 미세아교 세포에 AdipoR1의 siRNAs(small interfering RNAs)를 처리하여 TLR4 및 p-NF κ B의 발현 저해 효과를 확인한 웨스턴 블롯 밴드(A) 및 이를 정량화한 그래프(B)이다. (B)에서 χ 는 대조군에 대비하여 LPS를 처리하였을 때, TLR4 단백질의 발현 증가가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.05 미만인 것을 의미하며; *는 대조군에 대비하여 LPS를 처리하였을 때, p-NF κ B 단백질의 발현 증가가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.001 미만인 것을 의미하며; α 는 LPS 처리군에 대비하여 LPS 및 AdipoR1 siRNA를 함께 처리하였을 때, TLR4 및 p-NF κ B 단백질의 발현 저해가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.001 미만인 것을 의미한다.

도 7은 본 발명의 오스모틴 단백질 처리에 따른 미세아교 세포에서 TLR4 단백질의 발현 저해효과 및 AdipoR1의 단백질 발현 증가를 확인한 현미경 사진(A) 및 이를 정량화한 그래프(B)이다. (B)에서 #은 대조군에 대비하여 LPS를 처리하였을 때, TLR4 단백질의 발현 증가가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.01 미만인 것을 의미하며; *는 대조군에 대비하여 LPS를 처리하였을 때, AdipoR1 단백질의 발현 저해가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.001 미만인 것을 의미하며; $\emptyset$ 는 LPS 처리군에 대비하여 오스모틴 단백질 및 LPS를 함께 처리하였을 때, TLR4 단백질의 발현 감소 및 AdipoR1 단백질의 발현 증가가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.01 미만인 것을 의미한다.

도 8은 본 발명의 오스모틴 단백질 처리에 따른 COX-2, iNOS, TNF- α 및 IL-1 β 단백질의 발현 저해를 확인한 웨스턴 블롯 밴드(A) 및 이를 정량화한 그래프(B)이다. (B)에서 *는 대조군에 대비하여 LPS를 처리하였을 때, COX-2, TNF- α 및 IL-1 β 단백질의 발현 증가가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.001 미만인 것을 의미하며; χ 는 대조군에 대비하여 LPS를 처리하였을 때, iNOS 단백질의 발현 증가가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.05 미만인 것을 의미하며; α 는 LPS 처리군에 대비하여 오스모틴 단백질 및 LPS를 함께 처리하였을 때, COX-2 및 TNF- α 단백질의 발현 저해가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.001 미만인 것을 의미하며; $\emptyset$ 는 LPS 처리군에 대비하여 오스모틴 단백질 및 LPS를 함께 처리하였을 때, iNOS 및 IL-1 β 단백질의 발현 저해가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.05 미만인 것을 의미한다.

도 9는 본 발명의 오스모틴 단백질 처리에 따른 마우스 해마의 CA1, CA3 및 DG(dentate gyrus) 영역에서 TNF- α 의 단백질 발현 저해를 확인한 현미경 사진(A) 및 이를 정량화한 그래프(B)이다. (B)에서 #은 대조군에 대비하여 LPS를 처리하였을 때, DG 영역에서 TNF- α 단백질의 발현 증가가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.01 미만인 것을 의미하며; *는 대조군에 대비하여 LPS를 처리하였을 때, CA1 및 CA3 영역에서 TNF- α 단백질의 발현 증가가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.001 미만인 것을 의미하며; $\emptyset$ 는 LPS 처리군에 대비하여 오스모틴 단백질 및 LPS를 함께 처리하였을 때, CA1 및 DG 영역에서 TNF- α 단백질의 발현 저해가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.05 미만인 것을 의미하며; α 는 LPS 처리군에 대비하여 오스모틴 단백질 및 LPS를 함께 처리하였을 때, CA3 영역에서 TNF- α 단백질의 발현 저해가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.001 미만인 것을 의미한다.

도 10은 본 발명의 오스모틴 단백질 처리에 따른 마우스 해마의 열극 및 해마 DG 영역에서 LPS 처리로 인해 활성화된 성상세포(GFAP-반응성 세포) 수의 감소효과를 확인한 현미경 사진(A) 및 이를 정량화한 그래프(B)이다. (B)에서 *는 대조군에 대비하여 LPS를 처리하였을 때, 마우스 해마의 열극 영역에서 성상세포(GFAP-반응성 세포) 수의 증가가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.001 미만인 것을 의미하며; #은 대조군에 대비하여 LPS를 처리하였을 때, DG 영역에서 성상세포(GFAP-반응성 세포) 수의 증가가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.01 미만인 것을 의미하며; α 는 LPS 처리군에 대비하여 오스모틴 단백질 및 LPS를 함께 처리하였을 때, 마우스 해마의 열극 영역에서 성상세포(GFAP-반응성 세포) 수의 감소가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.001 미만인 것을 의미하며, $\emptyset$ 는 LPS 처리군에 대비하여 오스모틴 단백질 및 LPS를 함께 처리하였을 때, DG 영역에서 성상세포(GFAP-반응성 세포) 수의 감소가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.01 미만인 것을 의미한다.

도 11은 본 발명의 오스모틴 단백질 처리에 따른 마우스 해마의 열극 및 해마 DG 영역에서 LPS 처리로 인해 활성화된 소교세포(Iba-1-반응성 세포) 수의 감소효과를 확인한 현미경 사진(A) 및 이를 정량화한 그래프(B)이다. (B)에서 *는 대조군에 대비하여 LPS를 처리하였을 때, 마우스 해마의 열극 영역에서 소교세포(Iba-1-반응성 세포) 수의 증가가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.001 미만인 것을 의미하며; #은 대조군에 대비하여 LPS를 처리하였을 때, DG 영역에서 소교세포(Iba-1-반응성 세포) 수의 증가가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.01 미만인 것을 의미하며; α 는 LPS 처리군에 대비하여 오스모틴 단백질 및 LPS를 함께 처리하였을 때, 마우스 해마의 열극 영역에서 소교세포(Iba-1-반응성 세포) 수의 감소가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.001 미만인 것을 의미하며; $\emptyset$ 는 LPS 처리군에 대비하여 오스모틴 단백질 및 LPS를 함께 처리하였을 때, DG 영역에서 소교세포(Iba-1-반응성 세포) 수의 감소가 통계적으로 유의하다는 것으로, p 값이 0.01 미만인 것을 의

미한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0012] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 오스모틴 단백질을 유효성분으로 함유하는 항염증 또는 면역증진용 건강기능식품 조성물을 제공한다.
- [0013] 본 발명의 항염증 또는 면역증진용 건강기능식품 조성물에서, 상기 염증은 관절염, 비염, 간염, 각막염, 위염, 장염, 신장염, 기관지염, 흉막염, 복막염, 척추염, 채장염, 요도염, 방광염, 화상 염증, 피부염, 치주염, 치은염 및 신경염증으로 이루어지는 군으로부터 선택된 어느 하나인 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0014] 또한, 상기 오스모틴 단백질은 TLR4(toll-like receptor 4), CD14, p-IKK α/β (phospho-I κ B Kinase α/β) 및 p-NF κ B(phospho-nuclear factor kappa B)의 발현을 저해하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0015] 또한, 상기 오스모틴 단백질은 COX-2(cyclooxygenase-2), iNOS(inducible nitric oxide synthase), TNF- α (tumor necrosis factor- α) 및 IL-1 β (Interleukin-1 β)의 발현을 저해하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0016] 상기 조성물은 분말, 과립, 환, 정제, 캡슐, 캔디, 시럽 및 음료 중에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0017] 본 발명의 건강기능식품 조성물을 식품첨가물로 사용하는 경우, 상기 건강기능식품 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분은 그의 사용 목적에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시 본 발명의 건강기능식품 조성물은 원료에 대하여 15 중량부 이하, 바람직하게는 10 중량부 이하의 양으로 첨가된다. 그러나 건강을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로 사용될 수 있다.
- [0018] 상기 건강기능식품의 종류에 특별한 제한은 없다. 상기 건강기능식품 조성물을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 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 건강식품을 모두 포함한다.
- [0019] 또한, 본 발명의 건강기능식품 조성물은 식품, 특히 기능성 식품으로 제조될 수 있다. 본 발명의 기능성 식품은 통상적으로 첨가되는 성분을 포함할 수 있다. 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소 및 조미제를 포함한다. 예컨대, 드링크제로 제조되는 경우에는 유효성분 이외에 천연 탄수화물 또는 향미제를 추가 성분으로서 포함시킬 수 있다. 상기 천연 탄수화물은 모노사카라이드(예컨대, 글루코오스, 프럭토오스 등), 디사카라이드(예컨대, 말토스, 수크로오스 등), 올리고당, 폴리사카라이드(예컨대, 텍스트린, 시클로텍스트린 등) 또는 당알코올(예컨대, 자일리톨, 소르비톨, 에리쓰리톨 등)인 것이 바람직하다. 상기 향미제는 천연 향미제(예컨대, 타우마틴, 스테비아 추출물 등)와 합성 향미제(예컨대, 사카린, 아스파르탐 등)를 이용할 수 있다.
- [0020] 상기 건강기능식품 조성물 이외에 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 탄산화제 등을 더 함유할 수 있다. 이러한 상기 첨가되는 성분의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 건강기능식품 조성물 100 중량부에 대하여, 0.01 내지 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- [0021] 또한, 본 발명은 오스모틴 단백질을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0022] 본 발명의 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물에서, 상기 염증성 질환은 관절염, 비염, 간염, 각막염, 위염, 장염, 신장염, 기관지염, 흉막염, 복막염, 척추염, 채장염, 요도염, 방광염, 화상 염증, 피부염, 치주염, 치은염 및 신경염증으로 이루어지는 군으로부터 선택된 어느 하나인 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0023] 본 발명의 약학 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수 있다.
- [0024] 본 발명에 따른 조성물의 약학적 투여 형태는 단독으로 또는 타 약학적 활성 화합물과 결합뿐만 아니라 적당한 집합으로 사용될 수 있다.

[0025] 본 발명에 따른 약학 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 상기 오스모틴 단백질을 포함하는 약학 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유 등을 포함한 다양한 화합물 혹은 혼합물을 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 오스모틴 단백질에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트, 수크로오스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이 외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔, 마크로골, 트윈 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[0026] 본 발명의 약학 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다.

[0027] 이하, 실시예를 이용하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들에 의해 제한되지 않는다는 것은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어 자명한 것이다.

[0028] 재료 및 방법

[0029] 1. 인비트로(*In vitro*) 세포배양 및 시약처리

[0030] BV2 미세아교 세포(microglial cell)는 10%의 FBS(fetal bovine serum), 페니실린(penicillin) 및 스트렙토마이신(streptomycin)을 함유한 DMEM(basal Dulbecco's modified Eagle's medium) 배지에서 배양하여 배양 4일째에 하기 6개의 조건을 처리한 후 5일째 세포를 수득하여 하기 실시예에 사용하였다.

[0031] (1) 대조군(control): DMEM 배양액에서 24시간 동안 배양

[0032] (2) LPS(Lipopolysaccharide) 처리: LPS(1 μ g/ml)를 포함한 DMEM 배양액에서 24시간 동안 배양

[0033] (3) 오스모틴(osmotin) 단백질 및 LPS 처리: LPS(1 μ g/ml) 및 오스모틴 단백질(0.4 μ M)을 포함한 DMEM 배양액에서 24시간 동안 배양

[0034] (4) 오스모틴 단백질 처리: 오스모틴 단백질(0.4 μ M)을 포함한 DMEM 배양액에서 24시간 동안 배양

[0035] (5) TAK242 및 LPS 처리: TAK242(1 μ M)를 포함한 DMEM 배양액에서 2시간 동안 배양한 후 LPS(1 μ g/ml)를 처리하여 24시간 동안 배양

[0036] (6) AdipoR1 siRNA 처리: AdipoR1 siRNA(30pM)를 포함한 DMEM 배양액에서 48시간 동안 배양한 후 LPS(1 μ g/ml) 및 오스모틴 단백질(0.4 μ M)을 처리하여 24시간 동안 배양

[0037] 2. ApoTox-Glo triplex 분석

[0038] ApoTox-Glo triplex 분석(Promega, Promega BioSciences, LLC, San Luis Obispo, CA, USA)은 알리 등의 방법(Ali, T. et al., 2015, *Sci. Rep.* 5, 11708)을 이용하여 수행하였다. BV2 미세아교 세포주는 200 μ l의 DMEM 배지를 함유한 96-웰 플레이트(1 $\times$ 10⁵ cells/well)에 접종하였으며, 상기 오스모틴 단백질, LPS, TAK242 및 AdipoR1 siRNA와 GF-AFC 기질 및 bis-AAF-R110 기질을 포함한 세포생존 및 세포독성 시약을 각각 웰-플레이트에 처리하였다. 세포는 30초간 교반한 후 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 배양하였으며, 이후 세포생존을 분석은

400/505nm에서 흡광도를 측정하였고, 세포독성 분석은 485/520nm에서 흡광도를 측정하였다.

3. 웨스턴 블롯(Western Blot) 분석

웨스턴 블롯 분석은 염증성 단백질의 발현 수준을 측정하기 위해 수행하였다. 미세아교 세포 유래의 단백질을 원심분리한 후 reducing 조건에서 노벡스(Novex) 4-12% 비스-트리스 플러스 겔(Bis-Tris Plus gels, Life Technologies)에서 분리하여 수집하였다. 분리된 단백질들은 PVDF(polyvinylidene difluoride)에 옮겼으며, 단백질의 분자량을 검출하기 위해 광범위한 범위의 단백질 마커(7-200kDa; GangNam-STAIN, iNtRON Biotechnology)를 병렬로 나열하여 수행하였다. 스킵밀크는 비특이적인 결합을 줄이기 위해 멤브레인 블로킹(membrane blocking)으로 사용하였으며, 면역블로팅(Immunoblotting)은 1차 및 2차 항체를 사용하여 수행하였다. 항-액틴 항체는 로딩컨트롤로 사용하였으며, 면역복합체(Immunocomplex)는 이지 웨스트 루미 웨스턴 블로팅 검출 시약(Ez West Lumi western blotting detection reagent, Atto Corporation Tokyo)을 이용하여 시각화하였다. X-레이 필름은 스캔하였으며, 밴드의 광학 밀도는 시그마 겔 소프트웨어(computer-based Sigma Gel software, Jandel Scientific, USA)를 기초로 한 컴퓨터를 이용하여 측정하였다.

4. 면역침강반응(Immunoprecipitation)

면역침강반응 분석은 TLR4, CD14, 및 AdipoR1 수용체 사이의 상호작용을 확인하기 위해 수행하였다. 더 상세하게는, 미세아교 세포는 RIPA 버퍼(Radioimmunoprecipitation assay buffer)를 이용하여 수집하였으며, 단백질 시료에 단백질 A/G 플러스-아가로오스 비드(20 μ l)를 처리하여 2시간 동안 반응시킨 후, 비드는 2,500rpm에서 원심분리하여 상등액을 제거한 다음 10 μ l의 1차 항체(anti-TLR4, goat polyclonal, Santa Cruz Biotechnology)를 처리하였다. 단백질 시료를 회전 장치에서 4℃의 조건으로 밤새동안 반응시킨 후, 단백질 A/G 아가로오스 비드(40 μ l)를 처리하여 2시간 동안 반응시켰다. 항체-결합 비드는 원심분리(2500 rpm, 5 min)하여 수집하고, 원심분리를 반복한 후 PBS로 3번 세척하였으며, 마지막 펠렛을 30 μ l의 2×전기영동 시료 버퍼(electrophoresis sample buffer)에서 가용화한 다음, 3~4분 동안 끓인 후 웨스턴 블롯 분석에 사용하였다.

5. 인비보(In vivo) 시약처리

20~30g의 C657LB 수컷 마우스(n=40, Gyeongsang National University Animal Breeding Center, Jinju, South Korea)는 온도 제어 환경에서 사육하고, 자유식 식이를 공급하였으며, 12시간 명/암 주기(lights on at 6:00 am)를 유지하였다. 마우스는 임의로 하기 내용과 같이 4그룹으로 나누어 염수(saline), LPS 또는 오스모틴 단백질을 처리하였다.

- (1) 대조군 그룹(Control group, 1주일 동안 복강 내 saline 주입)
- (2) LPS 처리그룹(LPS group, 1주일 동안 복강 내 250 μ g/g의 LPS 주입)
- (3) 오스모틴 단백질 및 LPS 처리그룹(LPS + osmotin group, 주 3회 복강 내 15 μ g/g 주입)
- (4) 오스모틴 단백질 처리그룹(osmotin group, 주 3회 복강 내 15 μ g/g 주입)

6. 조직 시료 조제(Tissue sample preparation)

적출한 마우스 뇌(그룹당 5개)는 0.9%의 생리식염수 및 4%의 차가운 파라포름알데히드로 경심관류(transcardial perfusion)한 후 3일 동안 20% 수크로오스 인산 버퍼(sucrose phosphate buffer)에 침지시켜 3일 동안 파라포름알데히드로 고정시켰다. 뇌 조직은 O.C.T. 화합물(A.O. Co., USA)로 동결하고, 관상면(Leica cryostat CM 3050, Germany)을 이용하여 12~14 μ m의 절편(section)을 제조하였다. 절편은 실온에서 프로보-온 플러스-차지드 슬라이드(Fisher, USA)에 해동-장착하여 70℃에서 보관하였다.

7. 면역형광 분석(Immunofluorescence assays)

조직 슬라이드는 0.01M의 PBS에 5분 동안 2번 세척한 후 밤새동안 건조하였으며, 조직 시료에 프로테이나아제

K(proteinase K)를 처리하여 5분 동안 반응시킨 후, PBS로 행군 다음 60분 동안 정상혈청(Vector Laboratories, 1:20 in PBS)으로 차단하였다. 1차 항체(TLR4, NF κ B, Tnf α 및 IL-1 β)는 2% 혈청 및 0.1% 트리톤 X-100을 함유하는 PBS와 1:100으로 희석하여 4℃에서 밤새동안 반응시켰다. FITC- 또는 TRITC-라벨된 2차 항체(anti-rabbit, anti-goat 또는 anti-mouse)들은 PBS와 1:50으로 희석하여 실온에서 90분 동안 반응시켰다. 슬라이드는 PBS로 5분 동안 2번 세척하였으며, 이중 면역형광법(double immunofluorescence)에 사용한 1차 및 2차 항체는 다음날 사용하였다. 글라스 커버 슬립은 형광봉입제(fluorescent mounting medium, Dako 53023)를 이용하여 글라스 슬라이드에 올려놓았으며, 이미지는 공초점 레이저 현미경(confocal laser scanning microscope, FV 1000MPE, Olympus, Japan)을 이용하여 캡처하였다.

8. 데이터 분석 및 통계처리

데이터는 평균±표준오차(SEM)로 나타내었으며, 데이터들 사이의 유의성을 결정하기 위해, Student's *t*-test에 따른 ANOVA 분석을 수행하였다.

실시예 1. 오스모틴 단백질 처리에 따른 TLR4-NF κ B 경로 저해효과

본 실시예 1에서는 웨스턴 블롯 분석을 수행하여 TLR4 및 CD14 수용체의 LPS-유도성 활성화에 대한 본 발명의 오스모틴 단백질의 저해효과를 확인하였다. 그 결과, 도 1에 개시한 바와 같이 LPS 처리군은 아무것도 처리하지 않은 대조군(CTL; Control)에 비해 성체 마우스의 해마에서 TLR4 및 CD14의 발현을 증가시킨 반면, 본 발명의 오스모틴 단백질과 LPS를 함께 처리한 경우 LPS 처리로 인해 증가된 TLR4 및 CD14의 발현을 현저하게 감소시키는 것을 확인할 수 있었다. LPS-TLR4 신호전달을 통해 전사인자 NF κ B의 인산화 및 핵 전좌(nuclear translocation)를 증대하며, IKK β 의 인산화는 다양한 전염증성 자극에 의해 촉발되는 NF κ B 활성화에 관여하고 있다. 따라서, 웨스턴 블롯 및 면역형광 분석을 수행하여 LPS 처리로 인해 유도된 NF κ B 활성화에 대한 오스모틴 단백질의 항염증 효과를 확인하였다. 웨스턴 블롯 분석 결과, LPS 처리군은 아무것도 처리하지 않은 대조군(CTL)에 비해 p-IKK α / β (phospho-IKK α / β) 및 NF κ B의 발현을 현저하게 증가시킨 반면, 본 발명의 오스모틴 단백질과 LPS를 함께 처리한 경우 p-IKK α / β 및 NF κ B의 발현 모두 현저하게 감소시키는 것을 확인할 수 있었다(도 1).

또한, 본 발명의 오스모틴 단백질과 LPS를 함께 처리한 후, 공초점 현미경을 이용하여 마우스 해마의 CA1 및 CA3 영역에서 NF κ B의 국소화(localization)를 관찰한 결과, 도 2에 개시한 바와 같이 대조군(Control)에 비해 LPS를 처리하였을 때, NF κ B의 국소화가 증가한 반면, 본 발명의 오스모틴 단백질과 LPS를 함께 처리한 경우 LPS 처리군에 비해 LPS-유도성 NF κ B의 핵 전좌(nuclear translocation)를 현저히 감소시키는 것을 확인할 수 있었다(도 2).

실시예 2. BV2 미세아교 세포에서의 LPS-유도성 신경염증에 대한 오스모틴 단백질의 항염증 효과

본 실시예 2에서는 LPS-유도성 신경염증에 대한 오스모틴 단백질의 세포독성 및 항염증 효과를 확인하기 위해, CNS(central nervous system)에서 1차적 LPS-응답성 세포인 BV2 미세아교 세포(microglial cell)를 이용하여 웨스턴 블롯, 면역침강 및 면역형광 분석을 수행하였으며, Apo-Tox Glo 삼중 분석 키트를 이용해 대조군(CTL), LPS 처리군(LPS), 오스모틴 단백질 및 LPS 처리군(LPS+Os)과 LPS 및 TAK242 처리군(LPS+TAK242)에서의 미세아교 세포의 생존력 및 세포독성을 조사하였다. TAK242는 TLR4 신호전달 억제제로 양성대조군이며, TLR4 활성화에 후속하는 하류방향 신경염증을 억제한다. 그 결과, 도 3에 개시한 바와 같이 본 발명의 오스모틴 단백질 및 LPS를 함께 처리한 경우, LPS 및 TAK242를 함께 처리하였을 때와 유사하게 세포 생존력을 유지하였으며, 농도의존적으로 세포독성을 감소시키는 효과를 나타내었다.

미세아교 세포에서 웨스턴 블롯을 분석한 결과, 도 4에 개시한 바와 같이 오스모틴 단백질은 LPS 처리로 인해 증가된 TLR4, p-NF κ B 및 TNF- α 의 발현량을 현저하게 감소시켰으며, 이러한 결과는 오스모틴 단백질의 항염증 효과를 뒷받침해준다. 또한, 면역침강 분석을 통해, 미세아교세포에서 대조군(CTL), LPS와 오스모틴 단백질 처리군(LPS+Os) 및 LPS 처리군(LPS)에서 아디포넥틴 수용체인 adipor1(Adiponectin receptor 1)과 TLR4 및 이의 보조수용체인 CD14와의 상호작용을 확인하였다. 그 결과, 도 5에 개시한 바와 같이 LPS만을 처리한 경우, AdipoR1 및 TLR/CD14 복합체의 단백질 발현이 증가된 것을 확인할 수 있었으며, AdipoR1과 결합한 오스모틴 단

백질이 주요 TLR4/CD14 수용체 복합체로부터 리간드-수용체 복합체를 분리함으로써 TLR4의 하류방향 신호전달을 억제하는 것을 확인할 수 있었다. 또한, TLR4의 하류방향 신호전달 저해는 미세아교 세포에 AdipoR1의 siRNAs(small interfering RNAs) 처리를 통해 LPS-유도성 염증 마커인 TLR4 및 p-NF κ B의 발현을 현저하게 억제하는 것을 확인할 수 있었다(도 6).

[0061] 또한, 이중-표지 면역형광법을 이용하여 미세아교 세포에서의 TLR4 및 AdipoR1의 위치 및 분포 변화를 확인하였다. 그 결과, 대조군(control)에 대비하여 LPS 처리군에서 TLR4의 발현이 증가되고 AdipoR1의 발현이 감소된 반면, 오스모틴 단백질 처리를 통해 LPS 처리군에 비해 TLR4의 발현을 감소시키고, AdipoR1의 발현을 증가시키는 것을 확인할 수 있었다(도 7). 이러한 결과들은 TLR4/CD14 수용체 복합체의 하류방향 신호전달 경로에 대해 AdipoR1가 관여한다는 사실을 뒷받침해준다.

[0062] 실시예 3. 오스모틴 단백질 처리에 따른 COX-2, iNOS, TNF- α 및 IL-1 β 의 발현 저해효과

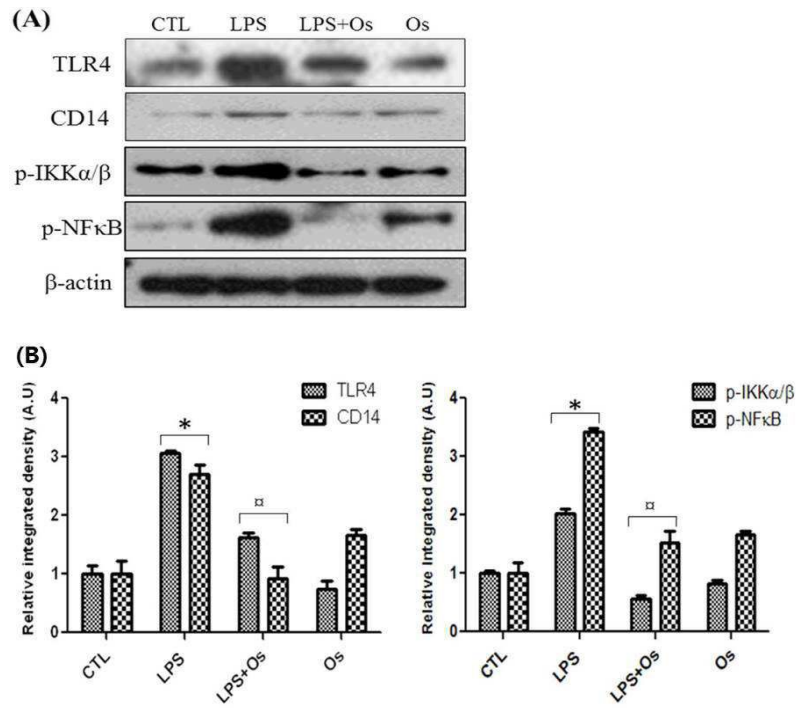
[0063] NF κ B 활성화는 전염증성 신호전달 경로의 진행에서 1차적인 과정으로, 본 실시예 3에서는 LPS를 처리하여 iNOS(Inducible nitric oxide synthase) 활성화 및 염증 마커인 TNF- α 및 IL-1 β 의 방출을 유도하였으며, 본 발명의 오스모틴 단백질 처리에 따른 해마에서의 염증 마커인 COX-2, iNOS, TNF- α 및 IL-1 β 의 단백질 발현 감소효과를 확인하였다. 그 결과, 도 8에 개시한 바와 같이 LPS 처리로 인해 대조군에 대비하여 COX-2, iNOS, TNF- α 및 IL-1 β 의 발현이 증가하였으나, 본 발명의 오스모틴 단백질 및 LPS를 함께 처리한 경우 상기 COX-2, iNOS, TNF- α 및 IL-1 β 의 발현이 감소된 것을 확인할 수 있었으며, TNF- α 의 면역형광법 검출을 통해 오스모틴 단백질이 해마의 DG, CA1 및 CA3 영역에서 LPS로 인해 증가된 TNF- α 수준을 현저하게 감소시키는 것을 확인할 수 있었다(도 9).

[0064] 실시예 4. 성체 마우스의 해마에서 오스모틴 단백질 처리에 따른 정상세포 및 소교세포의 활성화 저해효과

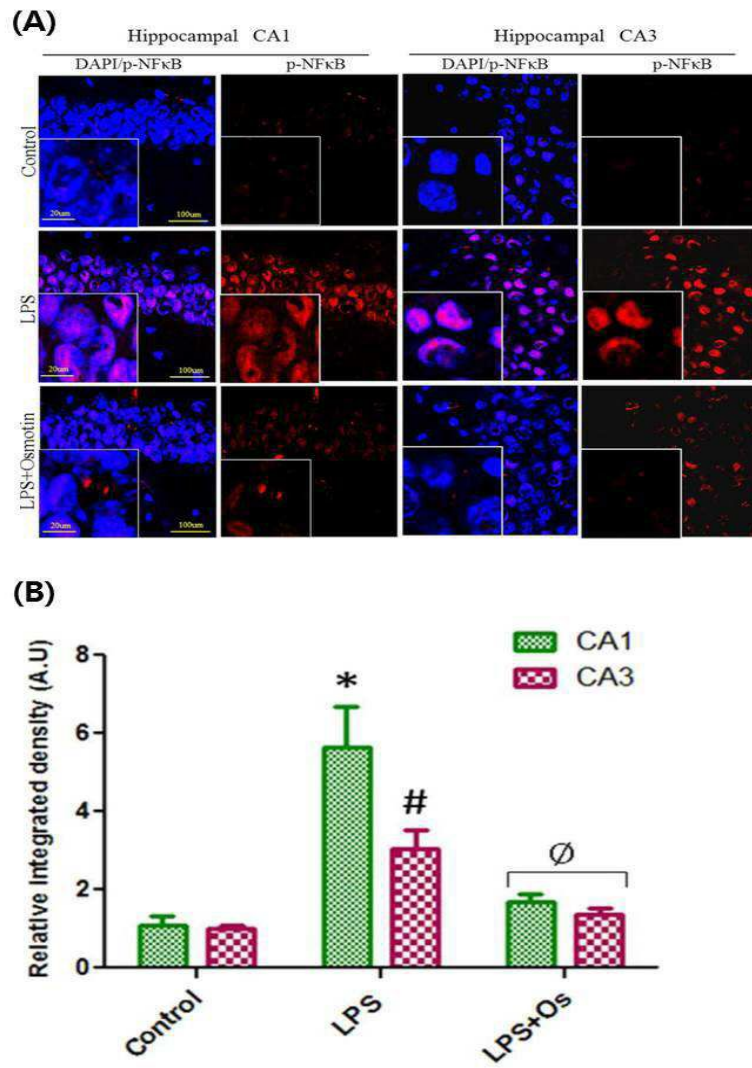
[0065] 정상세포(astrocyte) 및 소교세포(microglia)의 활성화는 신경염증 진행의 주된 요소이며, 활성화된 교질세포(glia cell)는 방출된 염증 사이토카인들을 위한 풀(pools)이다. LPS는 정상세포 및 소교세포를 활성화시키므로, 본 실시예 4에서는 LPS-유도성 정상세포 및 소교세포의 활성화에 대한 오스모틴 단백질의 저해 효과를 확인하였다. 그 결과, 도 10 및 11에 개시한 바와 같이 공초점 현미경 관찰을 통해, 전신(systemic) LPS 투여가 성체 마우스의 피질 및 해마에서 활성화된 정상세포(GFAP-반응성 세포) 및 소교세포(Iba-1-반응성 세포)의 수를 현저히 증가시키는 것을 확인하였으며, 본 발명의 오스모틴 단백질 및 LPS를 함께 처리한 경우 상기 LPS 처리군에 비해 GFAP- 및 Iba-1-반응성 세포의 발현을 현저하게 감소시키는 것을 확인할 수 있었다.

도면

도면1

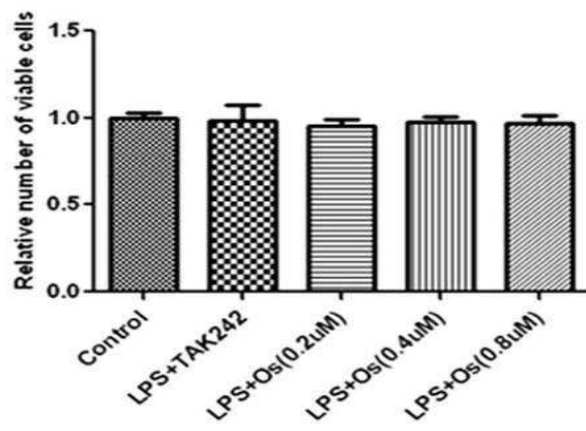


도면2

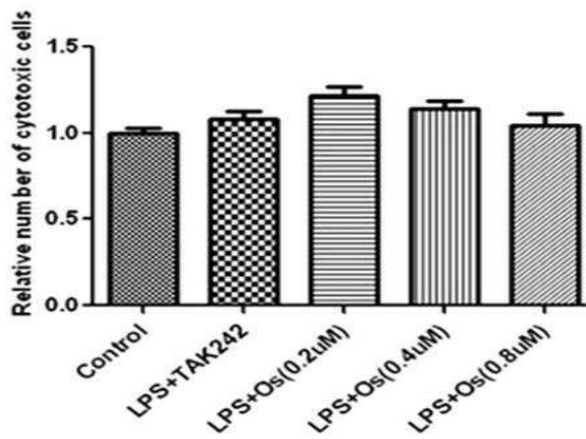


도면3

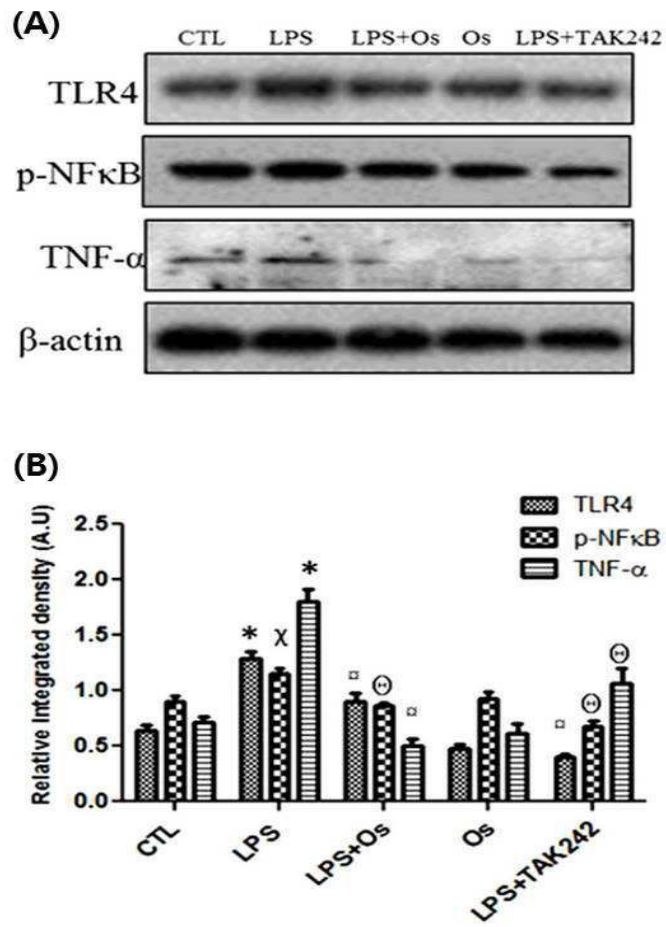
(A)



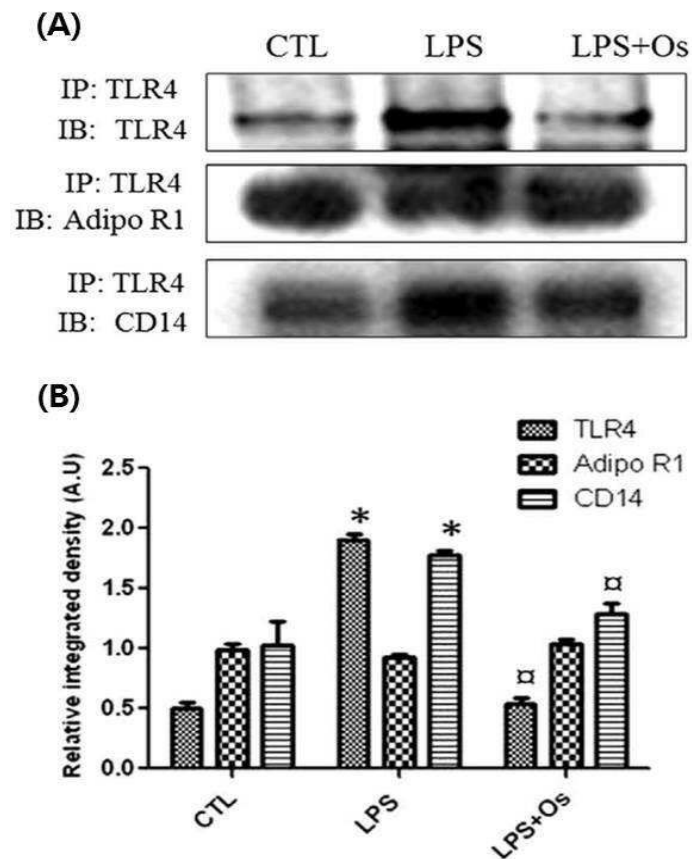
(B)



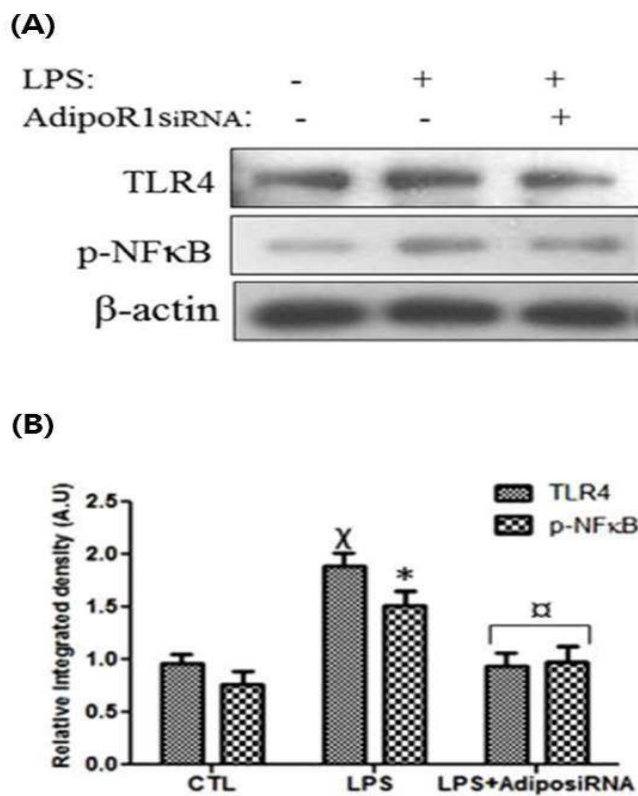
도면4



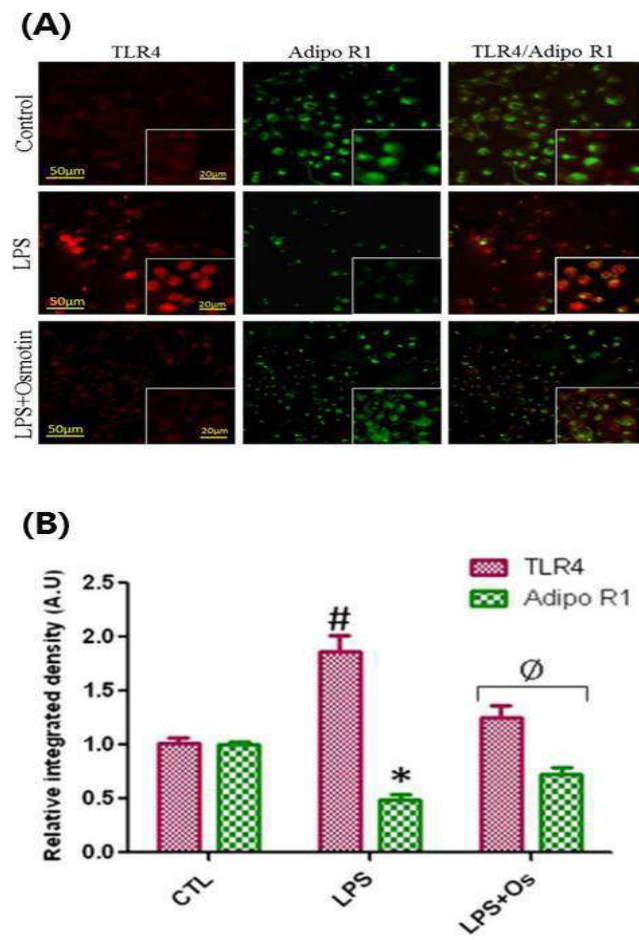
도면5



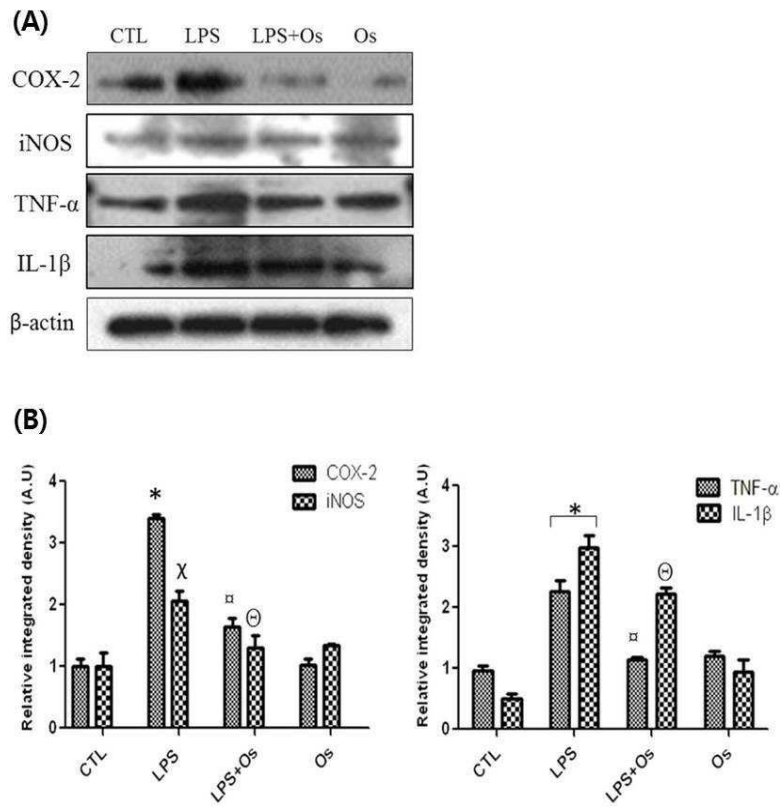
도면6



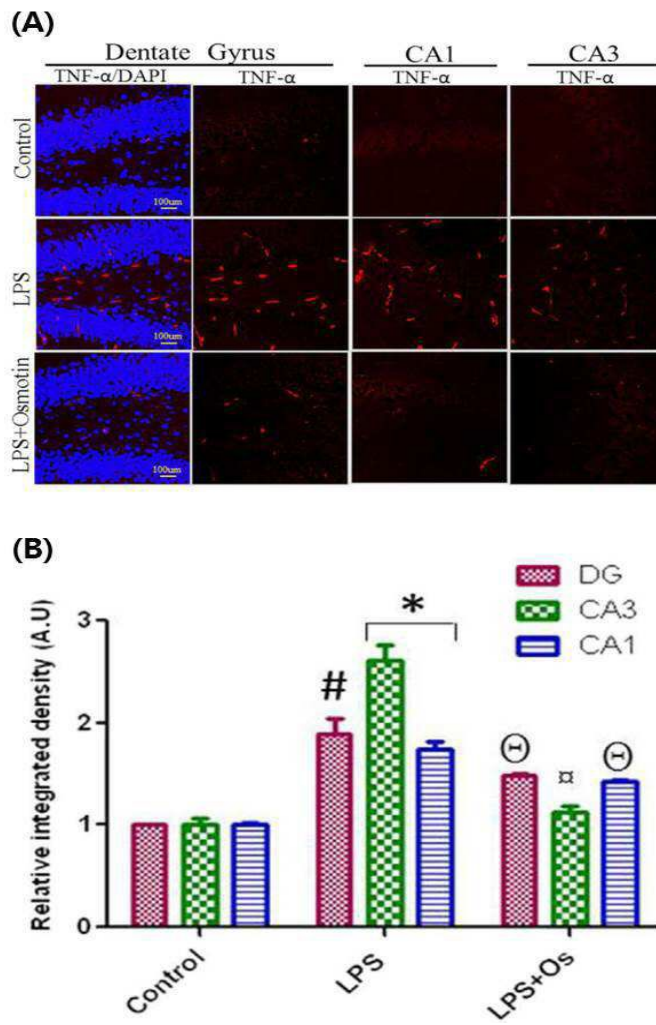
도면7



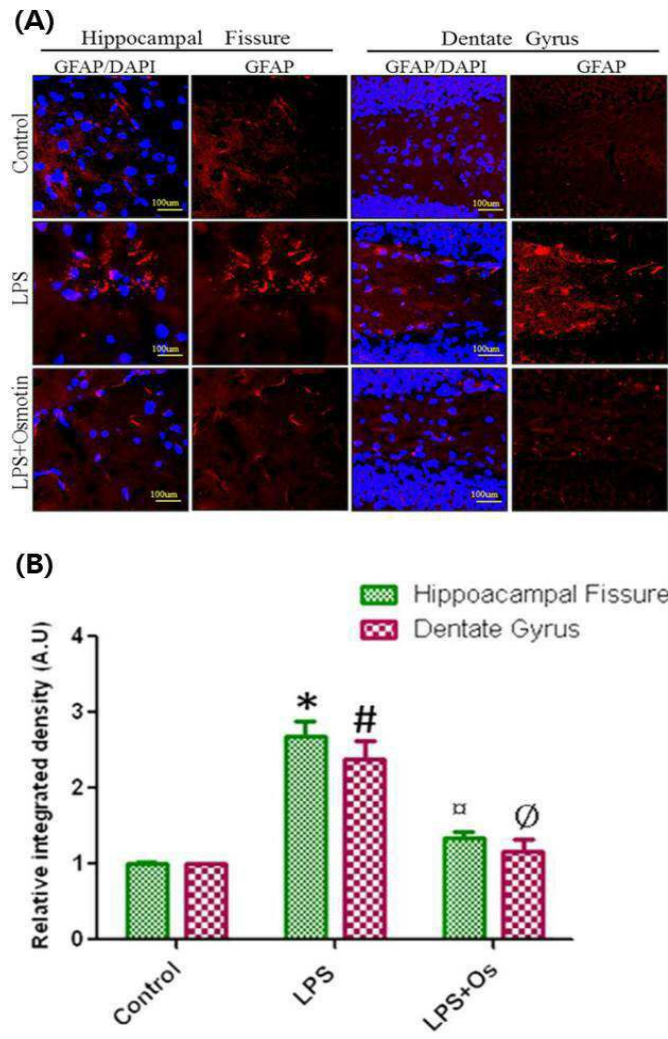
도면8



도면9



도면10



도면11

