



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0039291
(43) 공개일자 2020년04월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 35/36 (2015.01) *A61K 45/06* (2006.01)

A61P 11/02 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 35/36 (2013.01)

A61K 45/06 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2018-0119014

(22) 출원일자 2018년10월05일

심사청구일자 2018년10월05일

(71) 출원인

한림대학교 산학협력단

강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)

(72) 발명자

김동규

서울특별시 송파구 올림픽로 435, 301동 1802호(신천동, 파크리오 아파트)

김대우

서울특별시 양천구 목동로 212, 701동 1401호(목동, 목동7단지 아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

유민규

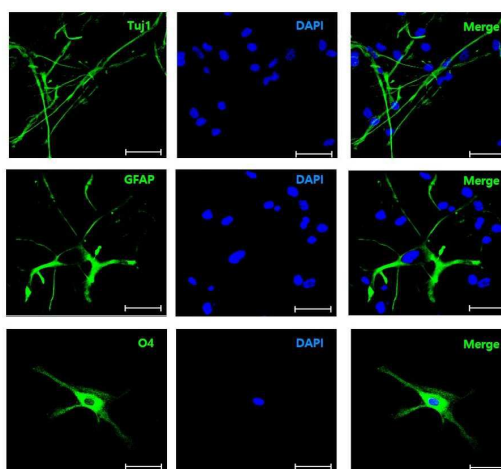
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 후각장애 치료용 조성물

(57) 요약

본원은 향 TNF- α (tumor necrosis factor- α) 화합물, 향 IL-5(interleukin-5) 화합물, 후각 구세포(olfactory sphere cells) 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함하는, 후각장애 치료용 조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61P 11/02 (2018.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

(72) 발명자

이재준

강원도 춘천시 삭주로 77, 춘천성심병원 마취통증
의학과(교동)

피지훈

서울특별시 관악구 관악로 304, 103동 706호(봉천
동, 관악현대아파트)

최승아

서울특별시 중로구 대학로 101 서울대병원 의학혁
신센터(연건동)

김승기

서울특별시 서초구 방배로 14, 6동 603호(방배동,
임광아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2017M3A9E8033231

부처명 과학기술정보통신부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 임상의과학자 연구역량강화사업

연구과제명 알레르기 비염환자의 후각장애의 병태생리 규명과 후각신경줄기세포 치료제 개발연구

기 여 율 1/2

주관기관 한림대학교산학협력단

연구기간 2018.01.01 ~ 2018.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2017M3A9E8049714

부처명 과학기술정보통신부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 임상의과학자 연구역량강화사업

연구과제명 임상의과학자 아이디어의 실용화를 위한 인프라 구축

기 여 율 1/2

주관기관 한림대학교산학협력단

연구기간 2018.01.01 ~ 2018.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

항 TNF- α (tumor necrosis factor- α) 화합물, 항 IL-5(interleukin-5) 화합물, 후각 구세포(olfactory sphere cells) 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함하는, 후각장애 치료용 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 조성물은 TNF- α 및/또는 IL-5 에 의한 상기 후각 구세포의 손상 또는 세포자연사(apoptosis)를 방지하는, 후각장애 치료용 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 후각 구세포는 후각 점막(olfactory mucosa)에서 줄기세포 역할을 하는 것인, 후각장애 치료용 조성물.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 조성물은 Th2 면역 반응을 억제시키는 것인, 후각장애 치료용 조성물.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 항 TNF- α 화합물은 TNF- α 길항제, TNF- α 합성 억제제, 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택된 것을 포함하는 것인, 후각장애 치료용 조성물.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

상기 항 IL-5 화합물은 IL-5 길항제, IL-5 합성 억제제, 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택된 것을 포함하는 것인, 후각장애 치료용 조성물.

청구항 7

제 1 항에 있어서,

상기 후각장애는 후각상실증, 후각감퇴증, 후각과민증, 이상후각증, 후맹증, 환후각증 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택된 질병인 것인, 후각장애 치료용 조성물.

청구항 8

제 1 항에 있어서,

상기 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 추가 포함하는, 후각장애 치료용 조성물.

청구항 9

제 8 항에 있어서,

상기 담체는 완충액, 주사용 멸균수, 일반 식염수, 인산염 완충 식염수, 슈크로스, 히스티딘, 염, 폴리솔베이트, 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택된 것을 포함하는, 심장 질환 치료용 조성물.

청구항 10

제 1 항에 있어서,

상기 조성물은 주사, 경구투여 또는 경피투여 경로로 투여되는 것인, 후각장애 치료용 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본원은 알레르기 비염으로 인한 후각장애를 치료하기 위한, 후각장애 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 냄새의 인지는 다양한 후각 자극 물질이 후각 수용체와 결합하면서 시작되어 아데닐산 시클라아제(adenylyl cyclase)를 활성화시켜 cAMP(cyclic AMP)의 농도를 증가시키고, 증가된 cAMP 가 후각 신경세포 내의 칼슘 농도 증가를 유발함으로써 후각 신경세포의 세포막 전위를 변화시켜 화학적인 신호를 전기적 신호로 변환하고 뇌에 전달된 후 인지하는 과정으로 이루어진다. 즉, 공기 중의 냄새 분자가 후각 상피 세포의 세포막에 존재하는 후각 수용체와 결합하면, G_{olf} (olfactory G protein)을 우선적으로 활성화시키고, 곧이어 AC_3 (type III adenylyl cyclase)를 활성화시킨다. AC_3 는 후각 세포 내에서 ATP로부터 cAMP의 생성을 촉진시키고, 칼슘 이온 채널을 활성화시켜서 궁극적으로 뇌로 신호를 전달하여 냄새 분자를 인식하는 작용을 하게 된다.

[0003] 사람의 경우 대략 1,200 종류의 후각 수용체 이소폼(isoform)이 존재하는 것으로 보고되었고, 이는 인간이 가진 유전자의 약 3%를 차지하고 있다. 단일 후각 수용체가 담당하는 냄새 분자는 2, 3 가지 정도이며, 약 100 여가지 후각 수용체의 조합에 따라 사람은 1 만 가지 정도의 냄새(또는 냄새 분자)를 구별할 수 있게 된다.

[0004] 후각장애는 특징에 따라 전혀 냄새를 맡지 못하는 후각상실증(무후각증), 강한 자극을 가진 냄새는 맡을 수 있지만 약한 자극을 가진 냄새는 맡지 못하는 후각감퇴증(후각저하), 냄새를 더 예민하게 맡는 후각과민증(고후각증), 어떤 냄새를 다른 냄새로 잘못 감지하는 이상후각증, 어떤 특정한 냄새만 맡지 못하는 후맹증, 냄새가 나는 물질이 없는 데도 냄새를 호소하는 환후각증 등으로 분류된다.

[0005] 후각장애는 비염, 부비동 질환, 감기와 같은 상부 호흡기 감염 등에 의해 발병하는 것이 일반적이나, 드물게는 파킨슨 질병, 알츠하이머 질병, 간질 등 신경과적 질환, 유전성 질환인 칼만 증후군과 같은 질병에 기인하기도 하며, 현대에는 산업재해, 대기오염, 노화 등에 인한 후각장애 환자가 늘어나고 있는 추세이다.

[0006] 이러한 후각장애의 치료를 위한 약물로서, 스테로이드제, 비타민제, 아연제제 등이 알려져 있으나, 그 효과가 뚜렷하지는 않고 이외에 뚜렷한 치료 방법이 현재 나와 있지 않은 실정이다.

[0007] 본원의 배경이 되는 기술인 대한민국 등록특허 제 10-0793321 호는 후각장애 치료 및 예방용 조성물에 관한 것이다. 상기 등록특허는 HMG-Co A 환원효소 저해제인 스타틴계 약물 중 1 종 이상을 유효성분으로 포함하는 후각

장애 치료용 조성물을 개시하고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본원은 전술한 종래 기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로서, 후각장애 치료용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0009] 다만, 본원의 실시예가 이루고자 하는 기술적 과제는 상기된 바와 같은 기술적 과제들에 한정되지 않으며, 또 다른 기술적 과제들이 존재할 수 있다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기한 기술적 과제를 달성하기 위한 기술적 수단으로서, 본원의 제 1 측면은, 항 TNF- α (tumor necrosis factor- α) 화합물, 항 IL-5(interleukin-5) 화합물, 후각 구세포(olfactory sphere cells) 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함하는, 후각장애 치료용 조성물을 제공한다.

[0011] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 조성물은 TNF- α 및/또는 IL-5 에 의한 상기 후각 구세포의 손상 또는 세포자연사(apoptosis)를 방지하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0012] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 후각 구세포는 후각 점막(olfactory mucosa)에서 줄기세포 역할을 하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0013] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 조성물은 Th2 면역 반응을 억제시키는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0014] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 항 TNF- α 화합물은 TNF- α 길항제, TNF- α 합성 억제제, 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택된 것을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0015] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 항 IL-5 화합물은 IL-5 길항제, IL-5 합성 억제제, 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택된 것을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0016] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 후각장애는 후각상실증, 후각감퇴증, 후각과민증, 이상후각증, 후맹증, 환후각증 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택된 질병인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0017] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 추가 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0018] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 담체는 완충액, 주사용 멸균수, 일반 식염수, 인산염 완충 식염수, 슈크로스, 히스티딘, 염, 폴리솔베이트, 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택된 것을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0019] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 조성물은 주사, 경구투여 또는 경피투여 경로로 투여되는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0020] 상술한 과제 해결 수단은 단지 예시적인 것으로서, 본원을 제한하려는 의도로 해석되지 않아야 한다. 상술한 예시적인 실시예 외에도, 도면 및 발명의 상세한 설명에 추가적인 실시예가 존재할 수 있다.

발명의 효과

[0021] 전술한 본원의 과제 해결 수단에 의하면, 본원은 알레르기 비염에서 후각장애가 발생하는 병태생리가 TNF- α 및/또는 IL-5 에 의한 후각 구세포의 세포자멸사의 결과임을 밝혔다. 이를 바탕으로, 본원의 후각장애 치료용 조성물은 항 TNF- α , 항 IL-5, 후각 구세포를 주입하여 TNF- α 및/또는 IL-5 에 의한 상기 후각 구세포의 손상 또는 세포자연사(apoptosis)를 방지하거나 Th2 면역 반응을 억제시킴으로써 후각장애를 치료할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0022] 도 1 은 후각 점막에서 후각 구세포가 신경줄기세포로서 분화능력이 있는지 검증한 면역형광 이미지이다.

도 2 는 실험군(알레르기 비염 동물 모델)의 후각 점막에서 후각 구세포를 배양한 것을 촬영한 전자현미경 이미

지이다.

도 3 은 대조군(정상 동물 모델)과 실험군(알레르기 비염 동물 모델)의 후각 점막을 비교하여 후각 구세포 발현을 나타낸 면역형광 이미지이다.

도 4 의 (a) 내지 (c)는 각각 세포 실험 1 일차 내지 실험 3 일차 동안 IL-4, IL-5, IL-17a, TNF- α 의 농도에 따른 후각 구세포의 생존율을 나타낸 그래프이다.

도 5 의 (a)는 IL-4 및/또는 TNF- α 에 의한 후각 구세포의 생존율을 나타낸 그래프이고, 도 5 의 (b)는 IL-5 및/또는 TNF- α 에 의한 후각 구세포의 생존율을 나타낸 그래프이다.

도 6 의 (a)는 TNF- α 및/또는 IL-5 에 의해 후각 구세포의 세포자멸사가 발생하는 것을 촬영한 면역형광 이미지이고, 도 6 의 (b)는 Ki67 의 발현 정도를 정량화한 그래프이고, 도 6 의 (c)는 세포자멸사의 마커인 Caspase-3 의 발현 정도를 정량화한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0023] 아래에서는 첨부한 도면을 참조하여 본원이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 본원의 실시예를 상세히 설명한다.
- [0024] 그러나 본원은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 실시예에 한정되지 않는다. 그리고 도면에서 본원을 명확하게 설명하기 위해서 설명과 관계없는 부분은 생략하였으며, 명세서 전체를 통하여 유사한 부분에 대해서는 유사한 도면 부호를 붙였다.
- [0025] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부분이 다른 부분과 "연결"되어 있다고 할 때, 이는 "직접적으로 연결"되어 있는 경우뿐 아니라, 그 중간에 다른 소자를 사이에 두고 "전기적으로 연결"되어 있는 경우도 포함한다.
- [0026] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부재가 다른 부재 "상에", "상부에", "상단에", "하에", "하부에", "하단에" 위치하고 있다고 할 때, 이는 어떤 부재가 다른 부재에 접해 있는 경우뿐 아니라 두 부재 사이에 또 다른 부재가 존재하는 경우도 포함한다.
- [0027] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함" 한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.
- [0028] 본 명세서에서 사용되는 정도의 용어 "약", "실질적으로" 등은 언급된 의미에 고유한 제조 및 물질 허용오차가 제시될 때 그 수치에서 또는 그 수치에 근접한 의미로 사용되고, 본원의 이해를 돕기 위해 정확하거나 절대적인 수치가 언급된 개시 내용을 비양심적인 침해자가 부당하게 이용하는 것을 방지하기 위해 사용된다. 또한, 본원 명세서 전체에서, "~ 하는 단계" 또는 "~의 단계"는 "~를 위한 단계"를 의미하지 않는다.
- [0029] 본원 명세서 전체에서, 마쿠시 형식의 표현에 포함된 "이들의 조합"의 용어는 마쿠시 형식의 표현에 기재된 구성 요소들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 혼합 또는 조합을 의미하는 것으로서, 상기 구성 요소들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것을 의미한다.
- [0030] 본원 명세서 전체에서, "A 및/또는 B" 의 기재는, "A 또는 B, 또는, A 및 B" 를 의미한다.
- [0031] 본원 명세서 전체에서, "후각장애"는, 주관적으로 냄새를 맡는 기능이 떨어진 상태를 의미한다.
- [0032] 이하에서는 본원의 후각장애 치료용 조성물에 대하여 구현예 및 실시예와 도면을 참조하여 구체적으로 설명하도록 한다. 그러나, 본원이 이러한 구현예 및 실시예와 도면에 제한되는 것은 아니다.
- [0034] 본원의 제 1 측면은, 항 TNF- α (tumor necrosis factor- α) 화합물, 항 IL-5(interleukin-5) 화합물, 후각 구세포(olfactory sphere cells) 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함하는, 후각장애 치료용 조성물을 제공한다.
- [0035] 종래의 기술은 후각 점막에서 후각 구세포가 줄기세포 역할을 하는 것을 규명하였으나, 후각장애 환자에게서 상기 후각 구세포가 어떠한 역할을 하는지 병태생리를 규명한 바가 없었다. 이에, 본 발명자들은 알레르기 비염에서 후각장애가 발생하는 병태생리가 TNF- α 및/또는 IL-5 에 의한 후각 구세포의 세포자멸사의 결과임을 밝혔다. 이를 바탕으로, 본원의 후각장애 치료용 조성물은 항 TNF- α , 항 IL-5, 후각 구세포를 주입하여 TNF- α 및/또는 IL-5 에 의한 상기 후각 구세포의 손상 또는 세포자멸사(apoptosis)를 방지하거나 Th2 면역 반응을 억

제시킴으로써 후각장애를 치료할 수 있는 조성물을 개발하였다. 이에 대해서는 실험예에서 도 2 내지 도 6 를 참조하여 보다 상세히 후술하기로 한다.

- [0036] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 조성물은 TNF- α 및/또는 IL-5 에 의한 상기 후각 구세포의 손상 또는 세포자연사(apoptosis)를 방지하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0037] 상기 TNF- α 는 대식세포 등에서 생산되는 사이토카인(cytokine)의 일종이다. 상기 TNF- α 는 알레르기 염증반응에서 조기에 합성되는 전염증 사이토카인으로서, 알레르기 비염 환자에서 증가되고, 동물실험에서 알레르기 항원 감작 후 혈청 TNF- α 단백질이 증가된다. IgE(면역글로불린 E)에 의해 매개된 알레르기 반응 동안 상기 TNF- α 는 비만세포와 대식세포에서 분비되어 세포접착분자의 발현을 증가시키고, 알레르기 항원에 대응하여 백혈구를 표적장기로의 이동을 촉진하고, 에오타신(eotaxin)의 발현을 증가시키고, IL-5 분비를 증가시킨다. 상기 IL-5 는 비만세포, 호산구(eosinophil) 등이 생산하는 사이토카인이다. 상기 IL-5 는 B 세포나 호산구에 작용하여 그 증식이나 분화를 촉진한다.
- [0038] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 후각 구세포는 후각 점막(olfactory mucosa)에서 줄기세포 역할을 하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 도 1 은 후각 점막에서 후각 구세포가 신경줄기세포로서 분화능력이 있는지 검증한 면역형광 이미지이다. 도 1 을 참조하면, 신경세포(neuron) 분화 마커인 Tuj1, 별아교세포(astrocyte) 분화 마커인 GFAP, 희소돌기아교세포(oligodendroglia) 분화 마커인 O4 모두 후각 구세포에서 발현되어 있음을 확인할 수 있다. 이를 통해, 후각 구세포는 줄기세포임을 입증할 수 있다.
- [0039] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 조성물은 Th2 면역 반응을 억제시키는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 Th2 면역 반응은 IL-4, IL-5, IL-13 과 같은 사이토카인의 분비 증가, IgE 증가, 호산구 및 비만세포의 증가 등이 있다.
- [0040] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 항 TNF- α 화합물은 TNF- α 길항제, TNF- α 합성 억제제, 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택된 것을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 바람직하게는, 상기 항 TNF- α 화합물은 TNF- α 길항제를 포함하는 것일 수 있다.
- [0041] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 항 IL-5 화합물은 IL-5 길항제, IL-5 합성 억제제, 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택된 것을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 바람직하게는, 상기 항 IL-5 화합물은 IL-5 길항제를 포함하는 것일 수 있다.
- [0042] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 후각장애는 후각상실증, 후각감퇴증, 후각과민증, 이상후각증, 후맹증, 환후각증 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택된 질병인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 본 발명에서 후각장애는 후각이 둔해지거나 없어지는 상태를 의미하며, 후각 중추나 그 신경 경로가 침해된 것과 비강 속에 장애가 있는 것을 포함한다. 후각장애의 원인은 축농증 등 부비동 질병, 감기, 알레르기 비염, 두부 손상에 의한 후각 감각기 세포의 손실, 약물 또는 산업성 유해물질 등의 독성 물질에의 노출, 당뇨, 호르몬이상, 알츠하이머병, 파킨슨병, 뇌종양, 부비강 수술 후 합병증 등일 수 있다.
- [0043] 상기 후각장애는 후각상실증, 후각감퇴증, 후각과민증, 이상후각증, 후맹증, 환후각증 등을 포함한다. 상기 후각상실증은 전혀 냄새를 맡지 못하는 질병을 의미하고, 상기 후각감퇴증은 강한 자극을 가진 냄새는 맡을 수 있지만 약한 자극을 가진 냄새는 맡지 못하는 질병을 의미하며, 상기 후각과민증은 냄새를 더 예민하게 맡는 질병을 의미하고, 상기 이상후각증은 어떤 냄새를 다른 냄새로 잘못 감지하는 것을 의미하며, 상기 후맹증은 어떤 특정한 냄새만 맡지 못하는 것을 의미하고, 상기 환후각증은 냄새가 나는 물질이 없는 데도 냄새를 호소하는 질병을 의미한다.
- [0044] 상기 후각상실증(무후각증)은 전혀 냄새를 맡지 못하는 즉, 후각이 상실된 병적 상태를 말한다. 보다 상세하게는, 상기 후각상실증은 급성 또는 만성적 비염, 비중격의 이상, 비염 등 신생물로 인해 비강이 폐색되고 공기가 후신경이 있는 후부에 이르지 못하는 경우와 부비강염이나 결핵·종양 등으로 후부에 이상이 생겼을 경우 및 뇌종양이나 히스테리 등 후각의 중추기능에 이상·실조가 있는 경우 등에 의해 나타날 수 있다. 상기 후각감퇴증(후각저하)은 냄새 맡는 부위 즉, 후각부에서 자극을 인지하는 정도가 감소하여 강한 자극을 가진 냄새는 맡을 수 있지만 약한 자극을 가진 냄새는 맡지 못하는 질병을 의미하며, 후각상실증과 같이 급성 또는 만성적 비염이나 감기 등이 원인이 될 수 있다.
- [0045] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 추가 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0046] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 담체는 완충액, 주사용 멸균수, 일반 식염수, 인산염 완충 식염수, 슈크로스, 히스티딘, 염, 폴리술베이트, 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택된 것을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0047] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 조성물은 주사, 경구투여 또는 경피투여 경로로 투여되는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 조성물은 경구투여 또는 경피투여 경로로 투여될 수 있으며, 투여량은, 이에 제한되지는 않으나 물질의 성질, 독성, 투여 대상의 종류, 연령, 체중 및 건강 등의 조건을 기초로 당업자가 판단하여 적절하게 결정할 수 있다.
- [0048] 이하 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 하나, 하기의 실시예는 단지 설명의 목적을 위한 것이며 본원의 범위를 한정하고자 하는 것은 아니다.
- [0050] [실시예]
- [0051] 후각 구세포의 배양을 위해 마우스 후각 조직을 해부하고 확보하였다. 확보된 조직은 1 mg/ml 파파인(27 U / mg; Sigma, St. Louis, MO), 0.2 mg/ml 시스테인 (cysteine; Sigma) 및 0.2 mg/ml EDTA(Sigma)을 함유한 Earle 평형염류용액(Earle's Balanced Salt Solution; Invitrogen, San Diego, CA)와 함께 37℃에서 50 분 동안 혼합하였고, 오보뮤코이드(ovomucoid; Sigma)가 포함된 마우스 줄기세포 성장 배지(STEMCELL Technologies, Vancouver, BC, Canada)에 옮겨 기계적으로 해리 시켰다. 분리된 단일 세포를 Corning® BioCoat™ Poly-D-Lysine/Laminin 배양 플레이트(Corning, NY) poly-D-lysine/laminin 에 접종하고 20 ng/ml 표피 성장 인자(EGF) 및 10 ng/ml 섬유 아세포 성장 인자 2(FGF-2)가 포함된 마우스 줄기세포 성장 배지에서 배양 하였다. 부착된 세포가 약 80% 플레이트에 차게 되면 계대배양을 하였다. 첫번째 계대배양 이후 분리된 세포가 비처리 배양 플레이트(Nunc, Rochester, NY)에서 구체를 형성하는지 여부를 확인하고, 구체를 단일 세포로 분리하여 다시 배양 플레이트에 갈아주었다. 모든 세포는 가슴 상태에서 5% CO₂, 37℃로 유지되는 배양기에서 배양하였고, 모든 실험에서 2 번 내지 3 번 계대배양한 세포가 사용되었다.
- [0052] [실험예]
- [0053] 도 2 는 실험군(알레르기 비염 동물 모델)의 후각 점막에서 후각 구세포를 배양한 것을 촬영한 전자현미경 이미지이다.
- [0054] 도 2 와 같이 상기 실험군(알레르기 비염 동물 모델)의 후각 점막에서 상기 후각 구세포를 배양한다. Musashi 와 SOX2 는 대표적인 신경줄기 세포마커이다.
- [0055] 도 3 은 대조군(정상 동물 모델)과 상기 실험군(알레르기 비염 동물 모델)의 후각 점막을 비교하여 상기 후각 구세포의 발현을 나타낸 면역형광 이미지이다.
- [0056] 도 3 을 참조하면 상기 대조군(정상 동물 모델)에 비해 상기 실험군(알레르기 비염 동물 모델)의 후각 점막에서 상기 후각 구세포의 발현이 저하되어 있는 것을 확인할 수 있으며, 이는 상기 후각 구세포가 후각장애와 연관이 있음을 알 수 있다.
- [0057] 도 4 의 (a) 내지 (c)는 각각 세포 실험 1 일차 내지 실험 3 일차 동안 IL-4, IL-5, IL-17a, TNF- α 의 농도에 따른 후각 구세포의 생존률을 나타낸 그래프이다.
- [0058] 도 4 의 (a) 내지 (c)를 참조하면, 세포 실험을 통해 알레르기 비염 사이토카인의 한 종류인 IL-4, IL-5, IL-17a, TNF- α 의 농도가 진할수록 상기 후각 구세포가 손상되는 것을 확인할 수 있다. 특히, IL-5 및/또는 TNF- α 의 농도가 진할수록 상기 후각 구세포의 손상이 심하다.
- [0059] 도 5 의 (a)는 IL-4 및/또는 TNF- α 에 의한 후각 구세포의 생존률을 나타낸 그래프이고, 도 5 의 (b)는 IL-5 및/또는 TNF- α 에 의한 후각 구세포의 생존률을 나타낸 그래프이다.
- [0060] 도 5 의 (a) 및 (b)를 참조하면, 세포 실험을 통해 알레르기 비염 사이토카인의 한 종류인 TNF- α , IL-4, IL-5 에 의해 상기 후각 구세포가 손상되는 것을 확인할 수 있으며, 특히, TNF- α 와 IL-4/IL-5 가 동시에 존재하는 환경에서 후각 구세포의 손상이 가장 심하다.
- [0061] 도 6 의 (a)는 TNF- α 및/또는 IL-5 에 의해 후각 구세포의 세포자멸사가 발생하는 것을 촬영한 면역형광 이미지이고, 도 6 의 (b)는 Ki67 의 발현 정도를 정량화한 그래프이고, 도 6 의 (c)는 세포자멸사의 마커인

Caspase-3 의 발현 정도를 정량화한 그래프이다.

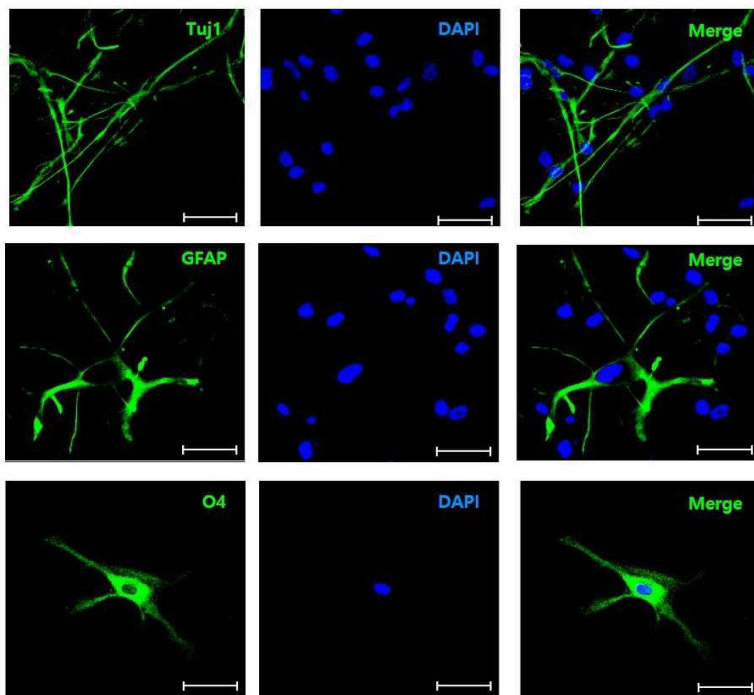
[0062] 도 6 의 (a) 내지 (c)를 참조하면, 상기 TNF- α 및/또는 IL-5 에 의해 상기 후각 구세포가 세포자멸사 하는 것을 확인할 수 있으며, TNF- α 와 IL-5 가 동시에 존재하는 환경에서 세포자멸사가 의미있게 증가하는 것을 확인할 수 있다.

[0063] 전술한 본원의 설명은 예시를 위한 것이며, 본원이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본원의 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.

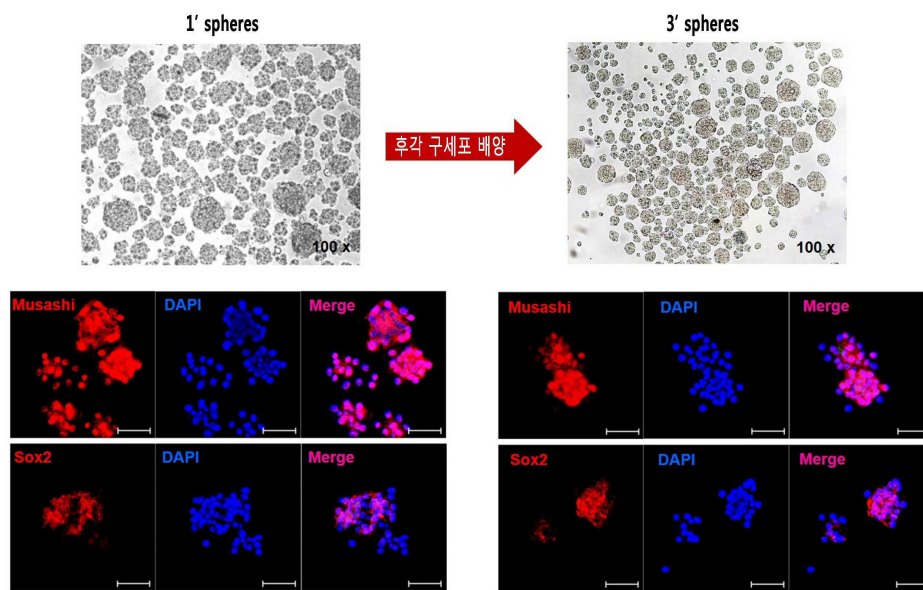
[0064] 본원의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본원의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

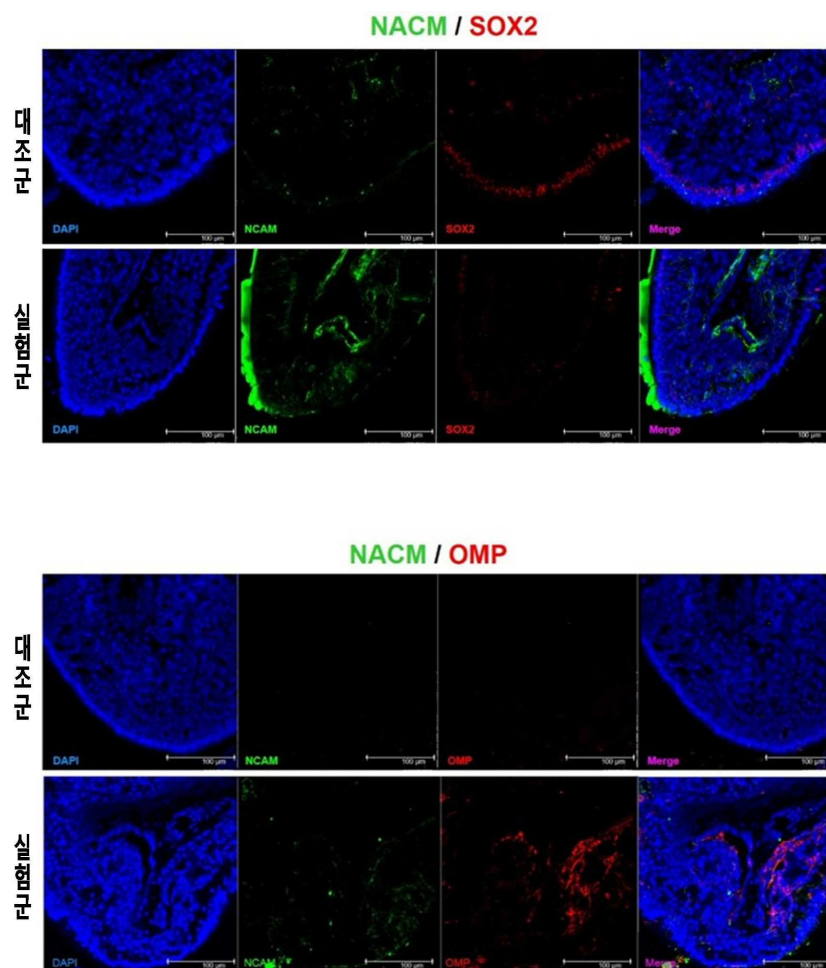
도면1



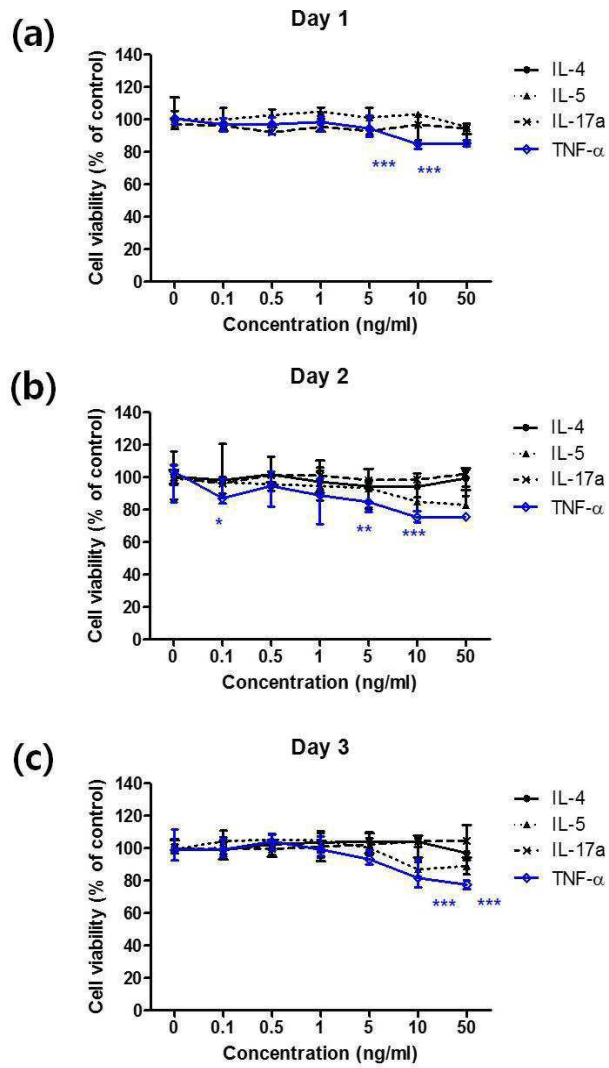
도면2



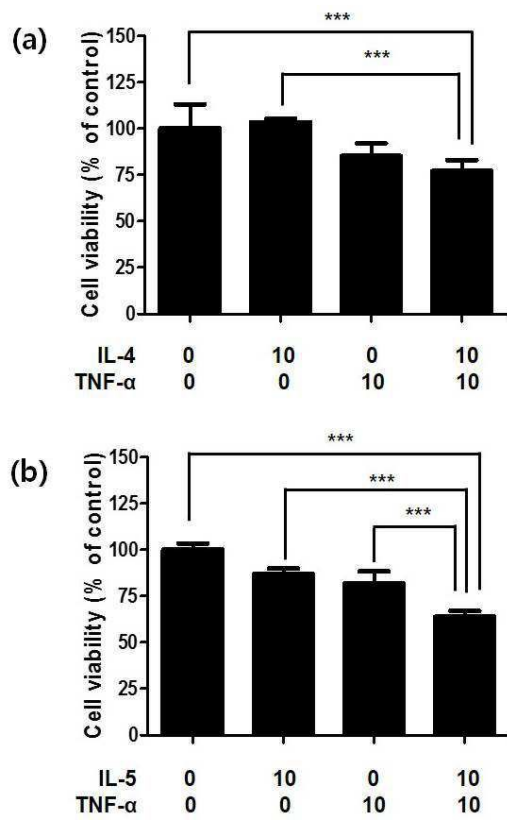
도면3



도면4



도면5



도면6

