



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0006145  
(43) 공개일자 2025년01월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 35/747 (2015.01) A23L 33/10 (2022.01)  
A23L 33/135 (2016.01) A61K 45/06 (2006.01)  
A61P 27/10 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
A61K 35/747 (2013.01)  
A23L 33/10 (2022.01)  
(21) 출원번호 10-2024-7038134  
(22) 출원일자(국제) 2023년04월25일  
심사청구일자 없음  
(85) 번역문제출일자 2024년11월15일  
(86) 국제출원번호 PCT/JP2023/016344  
(87) 국제공개번호 WO 2023/210657  
국제공개일자 2023년11월02일  
(30) 우선권주장  
JP-P-2022-072596 2022년04월26일 일본(JP)

(71) 출원인  
가부시키가이샤 쓰보타 라보  
일본국 도쿄도 신주쿠구 시나노마치 35 게이오 유니버시티 시나노마치 캠퍼스 빌딩 2 나인쓰 플로어 씨알아이케이 시나노마치 이7  
(72) 발명자  
츠보타 카즈오  
1600016 일본국 도쿄도 신주쿠구 시나노마치 34번치 토신 시나노마치 에키마에 빌딩 304 가부시키가이샤 쓰보타 라보 내  
쿠리하라 토시히데  
1600016 일본국 도쿄도 신주쿠구 시나노마치 34번치 토신 시나노마치 에키마에 빌딩 304 가부시키가이샤 쓰보타 라보 내  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
김종선, 이형석

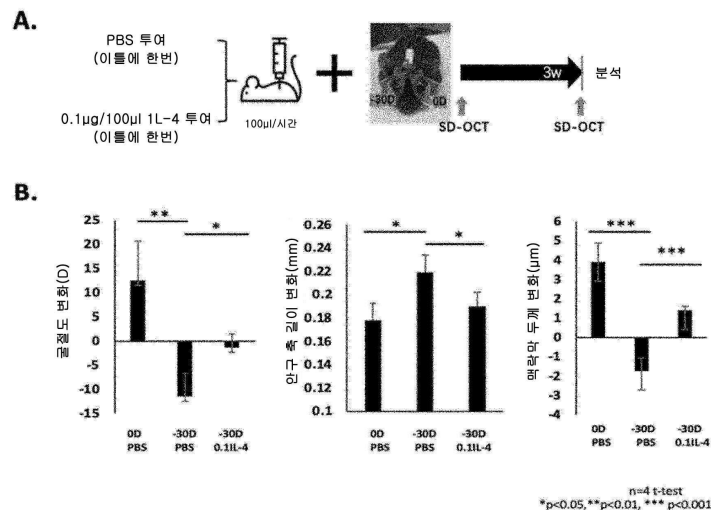
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 근시를 예방 또는 치료하기 위한 방법 및 조성물

(57) 요약

본 발명은 근시를 예방, 치료하기 위한 방법 및 그것에 사용하는 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다. 본 발명에 의해, M2 매크로파지 분극 유도 물질, 마스트 셀 스테빌라이저, 케미컬 매디에이터 유리 억제약 등의 맥락막 상주성(choroid-resident) 면역 세포 기능 조절 물질, 또는 유산균을 투여함으로써, 근시를 억제, 개선 또는 치료하는 방법 및 조성물이 제공된다. 맥락막에 있어서의 M2 매크로파지에의 분극을 유도하는 것, 또는 마스트 셀 스테빌라이저, 케미컬 매디에이터 유리 억제약, 혹은 유산균을 투여하는 것 등의 맥락막 상주성 면역 세포의 기능을 조절하는 것은 근시 예방, 치료에 효과적이다.

대표도 - 도5



(52) CPC특허분류

**A23L 33/135** (2016.08)

**A61K 45/06** (2013.01)

**A61P 27/10** (2018.01)

**A23V 2002/00** (2023.08)

**A23V 2200/30** (2013.01)

**A23V 2400/165** (2023.08)

(72) 발명자

**이케다 신이치**

1600016 일본국 도쿄토 신주쿠쿠 시나노마치 34반  
치 토신 시나노마치 에키마에 빌딩 304 가부시키가  
이샤 쓰보타 라보 내

**호우 정**

1600016 일본국 도쿄토 신주쿠쿠 시나노마치 34반  
치 토신 시나노마치 에키마에 빌딩 304 가부시키가  
이샤 쓰보타 라보 내

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

치치를 필요로 하는 대상에 대해서, 치료 유효량의 맥락막 상주성(choroid-resident) 면역 세포 기능 조정 물질, 또는 유산균을 투여하는 것을 포함하는 근시를 억제, 개선 혹은 치료하기 위한 방법.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질이 M2 매크로파지 분극 유도 물질, 마스트 셀 스테빌라이저, 또는 케미컬 매디에이터 유리 억제약인, 방법.

#### 청구항 3

제2항에 있어서,

M2 매크로파지 분극 유도 물질이 단백질, 펩티드, 핵산, 저분자 화합물 및 고분자 화합물로 이루어지는 군에서 선택되는, 방법.

#### 청구항 4

제2항에 있어서,

M2 매크로파지 분극 유도 물질이 IL-4, IL-10, IL-13, TLR2, TLR4, TLR7, TLR9 및 상기 TLR에 대한 리간드, 비산트렌이염산염, 트립톨라이드(triptolide), 로바스타틴(lovastatin), QS11, 레고라페닙(regorafenib), 소라페닙(sorafenib), 익사조미브(ixazomib), GW-843682X, KW 2449, 엑시티닙(axitinib), JTE 013, 퍼모프아민(purmorphamine), 아르사이라플라빈 A(arcyriaflavin A), 다사티닙(dasatinib), NVP-LDE225, 1-나프틸 PP1(1-naphthyl PP1), MGCD-265, 보수티닙(bosutinib)으로 이루어지는 군에서 선택되는, 방법.

#### 청구항 5

제2항에 있어서,

마스트 셀 스테빌라이저, 또는 케미컬 매디에이터 유리 억제약이 크로모글산, 혹은 페미로라스트, 또는 그 염인, 방법.

#### 청구항 6

제1항에 있어서,

유산균이 락토바실러스속(Lactobacillus)인, 방법.

#### 청구항 7

제1항에 있어서,

유산균이 락토바실러스 파라카제이균(Lactobacillus paracasei)인, 방법.

#### 청구항 8

제1항에 있어서,

맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질, 또는 유산균이 의약조성물, 보충제 또는 식품 중에 포함되어 있는, 방법.

#### 청구항 9

제1항에 있어서,

굴절의 저하, 안구 축의 신장 및/또는 맥락막의 비박화(thinning)가 억제되는, 방법.

#### 청구항 10

치료 유효량의 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질, 또는 유산균을 함유하는, 근시를 억제 혹은 치료하기 위한 조성물.

#### 청구항 11

유효량의 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질, 또는 유산균을 함유하는, 근시를 억제 또는 개선하기 위한 보충제.

#### 청구항 12

유효량의 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질, 또는 유산균을 함유하는, 근시를 억제 또는 개선하기 위한 식품.

#### 청구항 13

근시를 억제 혹은 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서의, 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질, 또는 유산균의 사용.

#### 청구항 14

근시를 억제 혹은 치료하기 위한 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질, 또는 유산균의 사용.

### 발명의 설명

#### 기술 분야

[0001] 본 발명은 근시를 예방 또는 치료하기 위한 방법 및 조성물에 관한 것이며, 보다 상세하게는 근시의 진행을 억제하기 위해서 맥락막에 있어서의 면역 세포에 작용하는 조성물에 관한 것이고, 보다 상세하게는 M2 매크로파지 등의 분극을 유도하는 것, 또는 마스트 셀 스테빌라이저, 케미컬 매디에이터 유리 억제약, 혹은 유산균을 투여하는 것 등의 맥락막 상주성(choroid-resident) 면역 세포의 기능을 조정함에 의한 방법 및 조성물에 관한 것이다.

#### 배경 기술

[0002] 근시는 안구 축 길이의 신장 때문에 망막 앞에 초점이 맺히는 상태를 가리키며, 안구 축 길이가 길수록 강한 근시라고 할 수 있다. 근시의 유병률의 증가에 따라, 근시의 발생에 관여하는 요인과 근시 진행 억제나 예방법에 대한 관심이 높아지고 있다. 최근의 연구에 의해, 맥락막이 안구의 성장의 조절과 근시의 발생에 중요한 것이 시사되고 있으며, 맥락막의 비박화(thinning)는 근시의 구조적 특징인 것이 나타나 있다. 맥락막의 두께와 축방향의 길이 사이에 음의 상관관계가 있기 때문에, 맥락막의 두께의 변화가 안구 축 길이의 신장의 예측 바이오마커일 가능성이 시사되고 있다. 그러나, 맥락막이 근시의 발생이나 진행에 관여하는 상세한 메커니즘은 아직 불명확하다.

[0003] 맥락막은 세밀한 혈관이 풍부한 망막의 외층을 덮는 조직이며, 망막의 세포에 산소나 영양을 공급하는 기능에 더해서, 안구 외층의 공막의 조직 리모델링 및 안구의 성장의 조절에 관여하는 성장 인자를 공급하는 기능을 갖는다. 맥락막의 두께의 감소, 또는 혈류의 감소가 공막의 허혈과 저산소증에 기여하여, 안구 축 길이가 신장되는 공막 구조의 변화에 영향을 미치고 있다고 생각된다. 그래서 맥락막의 두께나 혈류를 유지, 증가시키는 것은 근시의 예방이나 치료에 있어서의 새로운 타겟으로서 주목받고 있다.

[0004] 맥락막의 두께를 유지, 증가시킴에 의해 근시 진행을 억제하기 위한 방법이 제안되어 있으며, 예를 들면, 크로세틴 섭취(비특허문헌 1 참조), 바이올렛라이트의 조사(비특허문헌 2) 등이 제안되어 있다.

[0005] 크로세틴은 항염증성 작용이나 면역 조정 작용이 있는 것이 알려져 있으며, T세포의 Th1/Th2 및 Th17/Treg의 밸런스의 조정이나 매크로파지 등 염증 매디에이터(TNF- $\alpha$ , IL-6, IFN- $\gamma$  등)를 생산하는 세포의 NF- $\kappa$ B 경로의

억제를 통해서 그 작용을 발현하는 것이 알려져 있다(비특허문헌 3~5).

[0006] 맥락막에는 13종류의 세포가 존재하며, 그 중 4종류는 면역 세포이다. 조직 상주성의 면역 세포는 면역 응답 이외에 조직 항상성이나 구조의 유지를 맡고 있으며, 예를 들면 매크로파지가 결손된 마우스나 비만 세포의 탈과립을 유도한 마우스에서는 맥락막이 비박화되는 것이 보고되었다(비특허문헌 6~7).

## 선행기술문헌

### 비특허문헌

[0007] (비특허문헌 0001) Mori et al., Sci Rep. 2019. 22;9(1):295.  
 (비특허문헌 0002) Jiang et al. Proc Natl Acad Sci USA. 2021. 1;118(22):e2018840118.  
 (비특허문헌 0003) Oxid Med Cell Longev. 2021 Sep 10;2021:6631929.  
 (비특허문헌 0004) Eur J Pharmacol. 2012 Jan 15;674(2-3):391-6.  
 (비특허문헌 0005) Biofactors. 2023 Feb 6. doi: 10.1002/biof.1942.  
 (비특허문헌 0006) Elife. 2020 Apr 1;9:e55564.  
 (비특허문헌 0007) FASEB J. 2020 Aug;34(8):10117-10131.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0008] 본 개시는 근시를 예방 또는 치료하기 위한 방법 및 그것에 사용하는 조성물, 특히 맥락막 상주성 면역 세포, 특히 매크로파지나 비만 세포를 표적으로 한 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

### 과제의 해결 수단

[0009] 본 발명자들은 맥락막에 있어서의 매크로파지의 M2 매크로파지에의 분극이 맥락막의 비박화를 억제하여, 근시의 예방, 치료에 효과적인 것을 알아냈다.

[0010] 또한, 비만 세포(마스트 셀)는 소혈관 주위에 많이 분포하며, 혈관으로 이루어지는 조직인 맥락막에 있어서도 그 존재가 확인되어, 맥락막의 형태 유지에의 관여가 시사되고 있는 바, 본 발명자들은 비만 세포의 탈과립을 억제하는 약제(마스트 셀 스테빌라이저)의 점안에 의해 근시 진행이 억제되는 것을 알아냈다. 즉, 본 발명자들은 오목 렌즈 착용에 의한 근시 모델 마우스에게 항알레르기약의 일종인 마스트 셀 스테빌라이저(크로모글산나트륨, 페미로라스트 칼륨)를 점안 투여함으로써 근시 진행을 억제하는 것을 알아냈다. 또, 오목 렌즈 착용에 의한 근시 유도 중인 마우스에게 다른 항알레르기약인 항히스타민약(레보카바스틴)을 점안 투여해도, 근시 진행의 억제는 확인되지 않았다.

[0011] 또한, 락토바실러스 파라카제이균(Lactobacillus paracasei) 등의 락토바실러스속(Lactobacillus) 등의 유산균은 그 투여에 의해 M2 매크로파지에의 분극을 유도·활성화하는 것이 알려져 있는 바, 본 발명자들은 락토바실러스 파라카제이균(Lactobacillus paracasei) 등의 락토바실러스속(Lactobacillus) 등의 유산균의 투여가 근시 진행을 억제하는 것을 알아냈다. 이러한 점과, 전술한 비특허문헌 6~7의 지견을 종합해서 생각하면, 맥락막에 상주하는 면역 세포를 표적으로 한 개입에 의해 맥락막 구조(두께)를 유지할 수 있다면 근시 진행에 대해서 억제적으로 작용한다고 생각되며, 이들 지견은 매크로파지나 비만 세포 등의 맥락막에 존재하는 면역 세포를 표적으로 하여, 각각의 성질을 적절한 상태로 유도하는 조성물은 근시 진행 억제 작용을 갖는다고 생각된다. 본 발명은 이와 같은 지견에 의거하는 것이며, 이하의 태양을 포함한다.

[0012] [태양 1]

[0013] 처치를 필요로 하는 대상에 대해서, 치료 유효량의 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질, 또는 유산균을 투여하는 것을 포함하는 근시를 억제, 개선 혹은 치료하기 위한 방법.

[0014] [태양 2]

- [0015] 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질이 M2 매크로파지 분극 유도 물질, 마스트 셀 스테빌라이저, 또는 케미컬 매디에이터 유리 억제약인, 태양 1에 기재된 방법.
- [0016] [태양 3]
- [0017] M2 매크로파지 분극 유도 물질이 단백질, 펩티드, 핵산, 저분자 화합물 및 고분자 화합물로 이루어지는 군에서 선택되는, 태양 2에 기재된 방법.
- [0018] [태양 4]
- [0019] M2 매크로파지 분극 유도 물질이 IL-4, IL-10, IL-13, TLR 2, 4, 7, 9 및 그 리간드, 비산트렌이염산염, 트립톨라이드(triptolide), 로바스타틴(lovastatin), QS11, 레고라페닙(regorafenib), 소라페닙(sorafenib), 익사조미브(ixazomib), GW-843682X, KW 2449, 엑시티닙(axitinib), JTE 013, 퍼모프아민(purmorphamine), 아르사이리아플라빈 A(arcyriaflavin A), 다사티닙(dasatinib), NVP-LDE225, 1-나프틸 PP1(1-naphthyl PP1), MGCD-265, 보수티닙(bosutinib)으로 이루어지는 군에서 선택되는, 태양 2에 기재된 방법.
- [0020] [태양 5]
- [0021] 마스트 셀 스테빌라이저, 또는 케미컬 매디에이터 유리 억제약이 크로모글산, 혹은 페미로라스트, 또는 그 염인, 태양 2에 기재된 방법.
- [0022] [태양 6]
- [0023] 유산균이 락토바실러스속(Lactobacillus)인, 태양 1에 기재된 방법.
- [0024] [태양 7]
- [0025] 유산균이 락토바실러스 파라카제이균(Lactobacillus paracasei)인, 태양 1에 기재된 방법.
- [0026] [태양 8]
- [0027] 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질, 또는 유산균이 의약조성물, 보충제 또는 식품 중에 포함되어 있는, 태양 1에 기재된 방법.
- [0028] [태양 9]
- [0029] 굴절의 저하, 안구 축의 신장 및/또는 맥락막의 비박화가 억제되는, 태양 1에 기재된 방법.
- [0030] [태양 10]
- [0031] 치료 유효량의 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질, 또는 유산균을 함유하는, 근시를 억제 혹은 치료하기 위한 조성물.
- [0032] [태양 11]
- [0033] 유효량의 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질, 또는 유산균을 함유하는, 근시를 억제 또는 개선하기 위한 보충제.
- [0034] [태양 12]
- [0035] 유효량의 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질, 또는 유산균을 함유하는, 근시를 억제 또는 개선하기 위한 식품.
- [0036] [태양 13]
- [0037] 근시를 억제 혹은 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서의, 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질, 또는 유산균의 사용.
- [0038] [태양 14]
- [0039] 근시를 억제 혹은 치료하기 위한 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질, 또는 유산균의 사용.
- 발명의 효과**
- [0040] 본 개시에 따르면 맥락막 상주성 면역 세포의 기능을 조정함으로써, 보다 구체적으로는 맥락막에 있어서의 M2

매크로파지의 분극을 유도함으로써, 또는 마스트 셀 스테빌라이저, 케미컬 매디에이터 유리 억제약, 혹은 유산균을 투여함으로써, 근시의 예방, 치료의 새로운 방법을 제공할 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0041]

도 1은 LPS 투여에 의한 근시화 유도의 결과이다. (A)는 실험 스케줄을 나타내는 도면이다. (B)는 굴절값(좌측), 안구 축 길이(중앙) 및 맥락막 두께(우측)의 변화를 나타내는 그래프이다.

도 2는 LPS 투여에 의한 M1 매크로파지 마커 유전자 및 산화스트레스 관련 유전자의 발현 변화를 나타내는 그래프이다.

도 3은 IL-4 투여에 의한 M2 매크로파지 분극 유도의 결과이다. (A)는 실험 스케줄을 나타내는 도면이다. (B)는 IL-4 투여에 의한 맥락막에 있어서의 CD206 단백질 및 인산화 STAT6의 발현 변화를 나타내는 그래프이다. (C)는 IL-4 투여에 의한 CD163, CD206의 mRNA의 발현 변화를 나타내는 그래프이다.

도 4는 IL-4 투여에 의한 M2 매크로파지 마커 유전자 및 산화스트레스 관련 유전자의 발현 변화를 나타내는 그래프이다.

도 5는 IL-4 투여에 의한 근시화 억제 실험의 결과이다. (A)는 실험 스케줄을 나타내는 도면이다. (B)는 근시 유도 기간 중의 IL-4 투여에 의한 굴절(좌측), 안구 축 길이(중앙), 맥락막 두께(우측)의 변화를 나타내는 도면이다.

도 6은 IL-13 투여에 의한 근시화 억제 및 M2 매크로파지 분극 유도의 결과이다. (A)는 실험 스케줄을 나타내는 도면이다. (B)는 근시 유도 기간 중의 IL-13 투여에 의한 굴절(좌측 상단), 안구 축 길이(우측 상단), 맥락막 두께(좌측 하단), 혈류(우측 하단)의 변화를 나타내는 그래프이다. (C)는 근시 유도 및 IL-13 투여에 의한 매크로파지 수 및 M2 매크로파지 비율의 변화를 나타내는 그래프이다.

도 7은 마스트 셀 스테빌라이저 점안에 의한 근시 억제 효과를 나타내는 결과이다. (A)는 안구 축 길이의 변화량을 나타내는 그래프이다. (B)는 굴절값의 변화량을 나타내는 그래프이다. (C)는 맥락막 두께의 변화량을 나타내는 그래프이다. 각각, 좌측이 대조군 vs 페미로라스트 칼륨 점안군을 나타내고, 우측이 대조군 vs 크로모글산 점안군을 나타낸다. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ , student's t-test

도 8은 마스트 셀 스테빌라이저 점안과 히스타민 수용체 저해약에 의한 근시 억제 효과의 비교를 나타내는 그래프이다. (A)는 안구 축 길이의 변화량을 나타내는 그래프이다. (B)는 굴절값의 변화량을 나타내는 그래프이다. (C)는 맥락막 두께의 변화량을 나타내는 그래프이다. 각각, 좌측부터 대조군, 레보카바스틴 점안군(히스타민 수용체 저해약), 페미로라스트 칼륨 점안군(마스트 셀 스테빌라이저)을 나타낸다. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ , student's t-test

도 9는 락토바실러스 파라카제이균(Lactobacillus paracasei)의 투여에 의한 근시 진행 억제 효과를 나타내는 결과이다. (A)는 안구 축 길이의 변화량을 나타내는 그래프이다. (B)는 굴절값의 변화량을 나타내는 그래프이다. (C)는 맥락막 두께의 변화량을 나타내는 그래프이다. 각각, 좌측이 대조군을 나타내고, 우측이 락토바실러스 파라카제이균(Lactobacillus paracasei)의 투여군을 나타낸다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0042]

본 발명에 따른 상세에 대하여 설명한다. 본 발명은 이하의 실시형태 및 실시예의 내용에 한정되지 않으며, 본 발명의 요지를 포함하는 범위에서 각종 변형이나 응용예를 포함한다.

[0043]

[근시를 억제 혹은 치료하기 위한 방법]

[0044]

상기한 바와 같이 최근 맥락막의 비박화라는 변화가 근시의 발생에 관여하는 것이 명백해지고 있다. 본 발명자들은 이 비박화를 제어하는 인자에 대하여 예의 연구한 결과, 맥락막에 있어서의 매크로파지의 상태의 변화(분극)에 의해서 맥락막의 두께가 변화하여, 근시 진행을 제어하고 있는 것을 알아냈다.

[0045]

매크로파지의 상태에는 M1 매크로파지와 M2 매크로파지가 있으며, M1 매크로파지는 주로 염증의 야기에 관여하는 것에 반해서, M2 매크로파지는 염증의 종말·억제에 관여하는 길항적인 작용을 한다. 본 발명자들은 맥락막에 있어서 M1 매크로파지에의 분극을 유도함으로써, 맥락막의 비박화 및 근시의 진행이 확인되는 것, 한편, M2 매크로파지에의 분극을 유도함으로써, 맥락막의 비박화 및 근시의 진행이 억제되는 것을 처음으로 알아냈다. 또한, 비만 세포(마스트 셀)는 소혈관 주위에 많이 분포하며, 혈관으로 이루어지는 조직인 맥락막에 있어서도 그

존재가 확인되어, 맥락막의 형태 유지에의 관여가 시사되고 있는 바, 본 발명자들은 비만 세포의 탈과립을 억제하는 약제(마스트 셀 스테빌라이저)의 점안에 의해 근시 진행이 억제되는 것을 알아냈다. 또한, 락토바실러스 파라카제이균(*Lactobacillus paracasei*) 등의 락토바실러스속(*Lactobacillus*) 등의 유산균은 그 투여에 의해 M2 매크로파지의 분극을 유도·활성화하는 것이 알려져 있는 바, 본 발명자들은 락토바실러스 파라카제이균(*Lactobacillus paracasei*) 등의 락토바실러스속(*Lactobacillus*) 등의 유산균의 투여가 근시 진행을 억제하는 것을 알아냈다. 이와 같이 본 발명자들은 맥락막 상주성 면역 세포의 기능을 조정함으로써, 근시의 진행을 억제할 수 있는 것을 알아냈다.

[0046] 따라서, 본 개시의 하나의 측면은 맥락막 상주성 면역 세포의 기능을 조정함으로써, 보다 구체적으로는 맥락막에 있어서 매크로파지를 M2 매크로파지 분극시킴으로써, 또는 마스트 셀 스테빌라이저, 케미컬 메디에이터 유리 억제약, 혹은 유산균을 투여함으로써, 근시를 억제, 개선 혹은 치료하기 위한 방법에 관한 것이다.

[0047] 본 개시의 하나의 측면은 맥락막 상주성 면역 세포의 기능을 조정함으로써, 보다 구체적으로는 M2 매크로파지 분극 유도 물질을 사용해서, 맥락막에 있어서의 M2 매크로파지에의 분극을 유도함으로써, 또는 마스트 셀 스테빌라이저, 케미컬 메디에이터 유리 억제약, 혹은 유산균을 투여함으로써, 근시를 억제, 개선 혹은 치료하기 위한 방법에 관한 것이다.

[0048] 본 개시의 하나의 측면은 처치를 필요로 하는 대상에 있어서, 맥락막 상주성 면역 세포의 기능을 조정하는 것, 보다 구체적으로는 대상 맥락막에 M2 매크로파지 분극 유도 물질을 전달하는 것, 또는 마스트 셀 스테빌라이저, 케미컬 메디에이터 유리 억제약, 혹은 유산균을 투여하는 것을 포함하는 굴절의 저하, 안구 축의 신장 및/또는 맥락막의 비박화를 억제하기 위한 방법에 관한 것이다.

[0049] 또한, 본 개시의 하나의 측면은 근시 발생의 메커니즘인 맥락막의 비박화를 제어하기 위한, M2 매크로파지에의 분극을 촉구하는 성분 등의 맥락막 상주성 면역 세포의 기능을 조정하는 물질을 탐색하는 스크리닝 방법 및 근시의 예방 및 치료에 유효한 성분을 탐색하는 스크리닝 방법에 관한 것이기도 하다.

[0050] <맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질>

[0051] 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질은 맥락막 상주성 면역 세포의 기능을 조정하는 물질이다. 맥락막 상주성 면역 세포의 기능을 조정하는 물질로서는 바람직하게는 맥락막에 있어서의 염증을 억제하기 위한 조정을 하는 물질, 맥락막을 항염증적인 환경으로 되도록 조정하는 물질을 들 수 있다. 맥락막 상주성 면역 세포로서는 예를 들면, 매크로파지, 비만 세포 등을 들 수 있다. 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질로서는 M2 매크로파지 분극 유도 물질, 마스트 셀 스테빌라이저, 케미컬 메디에이터 유리 억제약, 유산균 등을 들 수 있다.

[0052] <M2 매크로파지 분극 유도 물질>

[0053] 매크로파지는 기능이 서로 다른 염증형의 M1 매크로파지와 항염증형의 M2 매크로파지로 분류되며, 사이토카인이나 자극성 성분 등에 의한 시그널에 응답해서 분극화되어 특이적인 기능 발현을 행하게 된다.

[0054] 따라서, 본 개시에 있어서의 M2 매크로파지 분극 유도 물질에는 맥락막에 있어서의 M2 매크로파지에의 분극을 유도하는 시그널 전달에 관여하는 각종 물질이 포함되며, 단백질, 펩티드, 핵산 의약, 저분자 화합물, 고분자 화합물 등을 특별히 제한 없이 사용할 수 있다.

[0055] 그 예로서는 Th2 세포가 생산하는 IL-4, IL-13 등의 사이토카인 외에, 류신 지퍼(leucine zipper) 전사 인자 c-Maf, 탄수화물 결합 렉틴 galectin-3 등을 들 수 있다. 또한, M2 매크로파지에는 몇 가지 포플레이션이 있는 것이 알려져 있으며, M2a 매크로파지를 유도하는 앞서 언급한 IL-4, IL-13 외에, M2c 매크로파지의 유도에 관여하는 IL-10, 당질 코르티코이드 호르몬(GC), M2d 매크로파지의 유도에 관여하는 TLR2, TLR4, TLR7, TLR9 및 그 리간드(TLR에 대한 리간드) 등도 본 개시에 있어서의 M2 매크로파지 분극 유도 물질로서 들 수 있다.

[0056] 또한 본 개시에 있어서의 M2 매크로파지 분극 유도 물질의 예로서는 각종 저분자 화합물, 예를 들면, 비산트렌 이염산염, 트립톨라이드(triptolide), 로바스타틴(lovastatin), QS11, 레고라페닙(regorafenib), 소라페닙(sorafenib), 익사조미브(ixazomib), GW-843682X, KW 2449, 엑시티닙(axitinib), JTE 013, 퍼모르파민(purmorphamine), 아르사이라플라빈 A(arcyriaflavin A), 다사티닙(dasatinib), NVP-LDE225, 1-나프틸 PP1(1-naphthyl PP1), MGCD-265, 보수티닙(bosutinib) 등을 들 수 있다.

[0057] M2 매크로파지 분극 유도 물질로서, 상기 물질의 아고니스트도 사용할 수 있다. 또, 당업자는 예를 들면, RAW264 세포, J774 세포, U937 세포 등의 단구계 세포주, 마우스 복강 내 매크로파지, 골수 유래 매크로파지 등의 세포를 평가 대상의 물질을 포함하는 배지(culture medium)에서 배양하여, M2 매크로파지 마커의 발현을 평

가하는 인 비트로(in vitro)의 평가계 등을 사용해서, 물질이 M2 매크로파지 분극 유도능을 갖는지의 여부를 평가함으로써, 본 명세서에 구체적으로 기재되어 있는 M2 매크로파지 분극 유도 물질 이외에도, 본 개시의 방법 및 조성물에 있어서의 사용에 적합한 M2 매크로파지 분극 유도 물질을 얻을 수 있다.

[0058] M2 매크로파지 분극 유도 물질이 단백질이나 펩티드인 경우에는 그들을 코딩하는 DNA, RNA의 형태로 대상에 투여될 수 있다. M2 매크로파지 분극 유도 물질을 코딩하는 핵산은 플라스미드 혹은 발현 벡터를 사용해서 대상에 투여해도 된다. 발현 벡터는 예를 들면, 바이러스 벡터, 특히 아데노바이러스 벡터일 수 있지만, 이것에 한정되는 것은 아니다. 다른 사용 가능한 바이러스 벡터로서는 예를 들면, 레트로바이러스, 아데노 수반 바이러스, 폭스, 바콜로바이러스, 백시니아, 단순 헤르페스, 엡스타인바, 제미니바이러스 및 카리모바이러스 벡터 등을 들 수 있다. M2 매크로파지 분극 유도 물질을 코딩하는 핵산은 단백질을 맥락막 또는 RPE 특이적으로 발현시키기 위한 조절 엘리먼트를 포함하고 있어도 된다. 즉, M2 매크로파지 분극 유도 물질을 코딩하는 핵산은 프로모터나 인핸서 등의 조절 엘리먼트와 작동 가능하게 연결되어 있어도 된다.

[0059] <마스트 셀 스테빌라이저>

[0060] 마스트 셀 스테빌라이저(mast cell stabilizer)는 마스트 세포 안정화제나, 마스트 세포 안정약 등으로도 불린다. 마스트 셀 스테빌라이저는 예를 들면, 마스트 세포로부터의 알레르기 물질의 방출을 억제하는 약이며, 예를 들면, 마스트 세포의 세포막을 안정화시켜서 마스트 세포로부터의 알레르기 물질의 방출을 억제하는 약이다. 마스트 셀 스테빌라이저로서는 예를 들면, 아시타자노라스트수화물액(제페린), 암렉사녹스(에릭스), 페미로라스트 칼륨(알레기살), 페미로라스트 칼륨(페미라스톤), 크로모글산나트륨(인탈), 트라닐라스트(리자벤), 트라닐라스트(트라멜라스), 이부딜라스트(케타스),  $\beta$ 2-아드레날린아고니스트, 크로몰린나트륨, 크로모글산, 케토티펜, 메틸잔틴, 오말리주맙, 페미로라스트, 케르세틴 등을 들 수 있고, 바람직하게는 크로모글산 혹은 페미로라스트 또는 그 염 등을 들 수 있다.

[0061] <케미컬 메디에이터 유리 억제약>

[0062] 케미컬 메디에이터 유리 억제약은 예를 들면, 비만 세포 등의 면역 세포로부터의 케미컬 메디에이터의 방출을 억제함으로써 알레르기 반응을 억제하는 약이며, 예를 들면, 비만 세포(마스트 세포)의 세포막을 안정화시켜서, 히스타민 등이 외부로 방출되지 않도록 하는 약이며, 예를 들면, 비만 세포로부터 히스타민, LTB4, LTC4, LTD4, PGD2, TXB2, PAF 등의 알레르기 물질(알레르기 반응을 일으키는 물질)이 유리하는 것을 억제하는 약이다. 케미컬 메디에이터 유리 억제약으로서는 예를 들면, 아시타자노라스트수화물액(제페린), 암렉사녹스(에릭스), 페미로라스트 칼륨(알레기살), 페미로라스트 칼륨(페미라스톤), 크로모글산나트륨(인탈), 트라닐라스트(리자벤), 트라닐라스트(트라멜라스), 이부딜라스트(케타스),  $\beta$ 2-아드레날린아고니스트, 크로몰린나트륨, 크로모글산, 케토티펜, 메틸잔틴, 오말리주맙, 페미로라스트, 케르세틴 등을 들 수 있고, 바람직하게는 크로모글산 혹은 페미로라스트 또는 그 염 등을 들 수 있다.

[0063] <유산균>

[0064] 유산균으로서의 예를 들면, 호모 유산균, 헤테로 유산균 등을 들 수 있다. 또한, 유산균으로서의 예를 들면, 구형상의 유산균, 막대 형상의 유산균 등을 들 수 있다. 유산균으로서의 예를 들면, 그람 양성이며, 간균 또는 구균이고, 아포가 없고, 운동성이 없고, 소비 포도당에 대해서 50% 이상의 유산을 생성하고, 나이아신(B3)을 필수 요구하는 균류를 들 수 있다. 유산균으로서의 예를 들면, 장관계 유산균, 동물성 유산균, 식물성 유산균, 해양 유산균 등을 들 수 있다. 유산균으로서의 예를 들면, 락토바실러스목의 유산균, 방선균문의 유산균 등을 들 수 있다. 락토바실러스목의 유산균으로서의 예를 들면, 락토바실러스속(Lactobacillus)의 유산균, 엔테로코커스속(Enterococcus)의 유산균, 락토코커스속(Lactococcus)의 유산균, 페디오코커스속(Pediococcus)의 유산균, 류코노스톡속(Leuconostoc)의 유산균, 스트렙토코커스속(렌사구균속)(Streptococcus)의 유산균 등을 들 수 있다. 방선균문의 유산균으로서의 예를 들면, 비피도박테리움속(Bifidobacterium)의 유산균 등을 들 수 있다. 락토바실러스속(Lactobacillus)의 유산균으로서의 예를 들면, 락토바실러스 파라카제이균(Lactobacillus paracasei), 락토바실러스 플란타럼균(Lactobacillus plantarum), 락토바실러스 브레비스균(Lactobacillus brevis), 락토바실러스 델브루에키이균(Lactobacillus delbrueckii), 락토바실러스 아시도필루스균(Lactobacillus acidophilus), 락토바실러스 카제이균(Lactobacillus casei), 락토바실러스 불가리쿠스균(Lactobacillus bulgaricus), 락토바실러스 가세리균(Lactobacillus gasseri), 락토바실러스 아시도필루스균(Lactobacillus acidophilus), 락토바실러스 프루티보란스균(Lactobacillus fructivorans), 락토바실러스 힐가르디균(Lactobacillus hilgardii), 락토바실러스 람노서스균(Lactobacillus rhamnosus), 락토바실러스 플란타럼균(Lactobacillus plantarum), 락토바실러스 카제이 시로타균(Lactobacillus casei Shirota) 등을 들 수 있

다. 엔테로코커스속(*Enterococcus*)의 유산균으로서는 예를 들면, 엔테로코커스 페칼리스균(*Enterococcus faecalis*), 엔테로코커스 페시움균(*Enterococcus faecium*) 등을 들 수 있다. 락토코커스속(*Lactococcus*)의 유산균으로서는 예를 들면, 락토코커스 락티스균(*Lactococcus lactis*), 락토코커스 크레모리스균(*Lactococcus cremoris*) 등을 들 수 있다. 페디오코커스속(*Pediococcus*)의 유산균으로서는 예를 들면, 페디오코커스 담노서스균(*Pediococcus damnosus*) 등을 들 수 있다. 류코노스톡속(*Leuconostoc*)의 유산균으로서는 예를 들면, 류코노스톡 메센테로이데스균(*Leuconostoc mesenteroides*) 등을 들 수 있다. 스트렙토코커스속(*Streptococcus*)의 유산균으로서는 예를 들면, 스트렙토코커스 써모필러스균(*Streptococcus thermophiles*), 스트렙토코커스 뮤탄스균(*Streptococcus mutans*) 등을 들 수 있다. 비피도박테리움속(*Bifidobacterium*)의 유산균으로서는 예를 들면, 비피도박테리움 비피덤균(*Bifidobacterium bifidum*), 비피도박테리움 아돌레센티스균(*Bifidobacterium adolescentis*) 등을 들 수 있다.

[0065] 락토바실러스 파라카제이균(*Lactobacillus paracasei*)의 투여에 의해 간의 Kupffer cell(간 상주 매크로파지)을 M2로 시프트함으로써 비알코올성 지방간염의 증상을 개선한 것이 알려져 있다(Sohn et al, Dig Dis Sci, 2015 Nov;60(11):3340-50). 락토바실러스 파라카제이균(*Lactobacillus paracasei*)의 투여는 M2 매크로파지를 활성화함으로써 블루라이트에 의한 망막 변성을 완화하는 것이 알려져 있다(Morita et al, Nutrients, 2018 Dec15;10(12):1991). 락토바실러스 플란타럼균(*Lactobacillus plantarum*)의 투여는 M1 매크로파지로부터 M2 매크로파지로의 분극을 촉진함으로써 대장염을 완화하는 것이 알려져 있다(Jang et al, Int Immunopharmacol, 2014 Jul;21(1):186-92). 락토바실러스 브레비스균(*Lactobacillus brevis*)의 투여는 M1 매크로파지로부터 M2 매크로파지로의 분극을 촉진함으로써 대장염을 완화하는 것이 알려져 있다(Jang et al, J Appl Microbiol, 2013 Sep;115(3):888-96). 이와 같이 락토바실러스속(*Lactobacillus*) 등의 락토바실러스목(*Lactobacillus*)의 유산균은 그 투여에 의해 M2 매크로파지에의 분극을 유도·활성화하는 것이 알려져 있다. 따라서, 유산균은 바람직하게는 락토바실러스속(*Lactobacillus*) 등의 락토바실러스목(*Lactobacillus*)의 유산균이다.

[0066] M2 매크로파지 분극 유도 물질, 마스트 셀 스테빌라이저, 케미컬 메디에이터 유리 억제약 등의 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질의 대상 맥락막에의 전달에 DDS를 사용해도 된다.

[0067] 예를 들면, M2 매크로파지 분극 유도 물질, 마스트 셀 스테빌라이저, 케미컬 메디에이터 유리 억제약 등의 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질이 핵산일 경우, M2 매크로파지 분극 유도 물질, 마스트 셀 스테빌라이저, 케미컬 메디에이터 유리 억제약 등의 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질을 코딩하는 DNA 또는 RNA(메신저 RNA)는 리포좀 등의 DDS를 사용해서 대상에 투여해도 된다. 다른 이용 가능한 DDS로서는 하전 지질, 핵산-단백질 복합체 및 생체 폴리머 등을 들 수 있다. 또한, M2 매크로파지 분극 유도 물질, 마스트 셀 스테빌라이저, 케미컬 메디에이터 유리 억제약 등의 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질은 단백질의 형태로 대상에 투여해도 된다. 투여는 예를 들면, 맥락막에의 국소 투여에 의해 행해질 수 있다.

[0068] 대상 맥락막에의 M2 매크로파지 분극 유도 물질, 마스트 셀 스테빌라이저, 케미컬 메디에이터 유리 억제약 등의 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질의 전달은 M2 매크로파지 분극 유도 물질, 마스트 셀 스테빌라이저, 케미컬 메디에이터 등의 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질을 분비하는 세포를 대상에 이식함으로써 행해도 된다. M2 매크로파지 분극 유도 물질, 마스트 셀 스테빌라이저, 케미컬 메디에이터 등의 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질을 분비하는 세포는 예를 들면, 망막색소상피세포(RPE) 등일 수 있다. 또는 유전자공학적으로 M2 매크로파지 분극 유도 물질, 마스트 셀 스테빌라이저, 케미컬 메디에이터 등의 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질을 분비하도록 변형된 세포여도 된다.

[0069] 본 개시의 근시를 억제 혹은 치료하기 위한 방법에 있어서의 대상은 인간을 포함하는 포유류, 개, 고양이, 소, 말을 포함하는 비인간 포유류일 수 있지만, 바람직하게는 인간이다.

[0070] [근시를 억제 혹은 치료하기 위한 조성물]

[0071] 본 개시의 하나의 측면은 M2 매크로파지 분극 유도 물질, 마스트 셀 스테빌라이저, 케미컬 메디에이터 유리 억제약 등의 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질, 또는 유산균을 사용해서 근시를 억제, 개선 혹은 치료하기 위한 조성물에 관한 것이다. 보다 상세하게는 본 개시의 태양 중 하나는 치료 유효량의 M2 매크로파지 분극 유도 물질, 마스트 셀 스테빌라이저, 케미컬 메디에이터 유리 억제약 등의 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질, 또는 유산균을 함유하는 근시를 억제 혹은 치료하기 위한 조성물에 관한 것이다. 이와 같은 조성물은 대상 맥락막에 M2 매크로파지 분극 유도 물질, 마스트 셀 스테빌라이저, 케미컬 메디에이터 유리 억제약 등의 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질, 또는 유산균을 전달하기 위해서 사용될 수 있다. 이와 같은 조성물은 의약품, 식품, 또는 보충제일 수 있다.

- [0072] 본 개시에 따른 의약조성물은 예를 들면, 안구 국소에 투여된다. 본 조성물의 투여 형태로서는 예를 들면, 점안 투여(안연고의 점안, 세안(eyewash)도 포함하는 것으로 한다), 결막하 투여, 결막낭내 투여, 테논낭하 투여 등을 들 수 있다.
- [0073] 본 조성물의 제형은 특별히 한정되지는 않지만, 예를 들면, 점안제, 안연고, 주사제, 부형제, 겔, 삽입제 등을 들 수 있으며, 예를 들면, 점안제가 바람직하다. 또, 이들은 당해 분야에서 범용되고 있는 통상의 기술을 사용해서 조제할 수 있다.
- [0074] 점안제는 염화나트륨, 염화칼륨, 농글리세린 등의 등장화제; 인산나트륨, 아세트산나트륨, 이프실론-아미노카프로산 등의 완충화제; 폴리옥시에틸렌소르비탄모노올레이트, 스테아르산폴리옥실40, 폴리옥시에틸렌 경화 피마자유 등의 계면활성제; 구연산나트륨, 에데트산나트륨 등의 안정화제; 파라벤 등의 방부제 등에서 필요에 따라 선택해서 사용하여 조제할 수 있으며, pH는 안과제제에 허용되는 범위 내에 있으면 되지만, 통상 4~8의 범위 내가 바람직하다. 안연고는 백색 바셀린, 유동 파라핀 등의 범용되는 기제를 사용하여 조제할 수 있다.
- [0075] 또한, 본 개시에 따른 의약조성물은 안구 국소에의 투여에 한정되지 않으며, 경장 투여(경구, 경관, 경주 등), 비경구 투여(경정맥, 경동맥, 경피, 근육주 등) 등의 임의의 투여 경로로 투여할 수도 있다. 이들 투여 형태에 사용하는 조성물의 제형은 적절하게 선택할 수 있지만, 예를 들면 정제, 과립제, 산제, 캡슐제, 저작제 등의 고형제제나, 액제, 시럽제, 주사제, 점적제 등의 액체제제 등으로 할 수 있다.
- [0076] 본 개시에 따른 의약조성물에는 본 발명의 효과를 손상시키지 않는 범위에서, 그 밖의 성분을 적정량 배합할 수 있다. 그 밖의 성분으로서의 임의의 담체(carrier), 완충제, 희석제, 부형제, 현탁제, 율활제, 애주버트, 매체, 전달 시스템, 유화제, 정제 분해 물질, 흡수제, 보존제, 계면활성제, 착색제, 향료, 또는 감미료 등을 들 수 있다. 이들 성분은 1종 단독으로 또는 2종 이상을 적절하게 조합해서 배합할 수 있다.
- [0077] 의약조성물 100중량% 중의 M2 매크로파지 분극 유도 물질, 마스트 셀 스테빌라이저, 케미컬 메디에이터 유리 억제약 등의 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질, 또는 유산균의 함유 비율은 예를 들면 0.001~99.99중량%의 범위에서 적절하게 설정할 수 있다.
- [0078] 본 개시에 따른 의약조성물의 투여량으로서 특별히 제한은 없으며, 투여 형태나, 투여 대상의 연령, 체중, 원하는 효과의 정도 등에 따라서 적절하게 선택할 수 있다. M2 매크로파지 분극 유도 물질, 마스트 셀 스테빌라이저, 케미컬 메디에이터 유리 억제약 등의 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질, 또는 유산균의 투여량은 예를 들면, 1일당 100~1000000nmol, 바람직하게는 150~100000nmol로 하고, 투여 빈도는 예를 들면, 한 달당 1~100회로 할 수 있다.
- [0079] 또한, 본 개시에 따른 조성물은 식품 또는 보충제일 수 있다. 식품 또는 보충제의 형태로서는 예를 들면, 액체상, 고형상, 정제상, 과립상, 분상, 캡슐상, 페이스트상, 겔상 등, 예를 들면 상기한 고형 또는 액체제제 등을 임의로 선택할 수 있다. 식품의 구체예로서, 예를 들면, 과즙 음료, 야채 주스, 청량 음료, 차 등의 음료류, 수프, 푸딩, 요거트, 케이크 프리믹스 제품, 과자류, 쿠키, 캔디, 젤리, 껌 등의 각종 일반 가공 식품 외에, 특별 용도 식품, 특정 보건용 식품, 영양 기능 식품, 기능성 식품, 영양 보조 식품, 건강 보조 식품, 영양 강화 식품, 영양 조정 식품 등, 예를 들면 보충제, 드링크제 등을 들 수 있다.
- [0080] 본 개시에 따른 식품 또는 보충제는 임의의 기능성 소재(비타민류, 미네랄류 등), 임의의 부형제, 임의의 첨가제(향미제, 감미료, 산미료, 착색제, 증점제, 결합제, 강화제, 붕괴제, 완충제, 계면활성제, 용해보조제, 재흡수촉진제, 분산제, 안정화제, 겔화제, 유화제, 산화방지제, 계면활성제, 보존제, 방습제, pH조정제, 착색료, 무통화제, 등장화제 등)를 포함할 수 있다.
- [0081] 본 개시의 하나의 측면은 근시를 억제 혹은 치료하기 위한 M2 매크로파지 분극 유도 물질, 마스트 셀 스테빌라이저, 케미컬 메디에이터 유리 억제약 등의 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질, 또는 유산균의 사용에 관한 것이다. 또한, 본 개시의 다른 측면은 근시의 억제 혹은 치료에 사용하는 의약의 제조에 있어서의 M2 매크로파지 분극 유도 물질, 마스트 셀 스테빌라이저, 케미컬 메디에이터 유리 억제약 등의 맥락막 상주성 면역 세포 기능 조정 물질, 또는 유산균의 사용에 관한 것이다.
- [0082] [스크리닝 방법]
- [0083] 본 개시의 하나의 측면은 근시 발생의 메커니즘인 맥락막의 비박화를 제어하기 위한, 매크로파지의 M2 매크로파지계의 분극을 촉진하는 성분을 탐색하는 스크리닝 방법 및 근시의 예방 및 치료에 유효한 성분을 탐색하는 스크리닝 방법에 관한 것이다.

- [0084] 몇 가지 실시형태에 있어서, 스크리닝 방법은 (i) 모델 동물에 후보 물질을 투여하는 공정, (ii) 모델 동물에 있어서의 안구 축 길이, 맥락막의 두께, 굴절도를 측정하는 공정을 포함한다. 몇 가지 실시형태에 있어서, 스크리닝 방법은 (i) 모델 동물에 후보 물질을 투여하는 공정, (ii) 모델 동물 유래의 시료에 있어서의 M2 매크로파지 마커 등의 맥락막 상주성 면역 세포 마커의 발현을 측정하는 공정을 포함한다. 몇 가지 실시형태에 있어서, 스크리닝 방법은 (iii) M1 매크로파지 마커 등의 맥락막 상주성 면역 세포 마커의 발현을 측정하는 공정을 더 포함한다.
- [0085] 또한, 몇 가지 실시형태에 있어서, RAW264 세포, J774 세포, U937 세포 등의 단구계 세포주, 마우스 복강 내 매크로파지, 골수 유래 매크로파지 등의 맥락막 상주성 면역 세포 등의 세포를 후보 물질을 포함하는 배지에서 배양하여, M2 매크로파지 마커 등의 맥락막 상주성 면역 세포 마커의 발현을 평가하는 인 비트로(in vitro)의 스크리닝 방법도 포함한다.
- [0086] 몇 가지 실시형태에 있어서, 모델 동물은 근시 유도 처치 중의 동물일 수 있다.
- [0087] 몇 가지 실시형태에 있어서, M2 매크로파지 마커 등의 맥락막 상주성 면역 세포 마커는 CD163, CD206, 아르기나제, IL-10일 수 있다. 매크로파지 마커 등의 맥락막 상주성 면역 세포 마커의 측정 방법으로는 정량 PCR, 유세포 분석, 면역염색법, 루시페라제 어세이, 아르기나제 활성 염색 등을 들 수 있다.
- [0088] 이와 같은 스크리닝 방법에 의해 동정된 물질은 근시를 억제 또는 치료하기 위해서 사용할 수 있다.
- [0089] 본 명세서에는 본 발명의 바람직한 실시태양을 나타내고 있지만, 그와 같은 실시태양이 단순히 예시의 목적으로 제공되고 있는 것은 당업자에게는 명백하며, 당업자라면, 본 발명으로부터 이탈하지 않고, 다양한 변형, 변경, 치환을 가하는 것이 가능할 것이다. 본 명세서에 기재되어 있는 발명의 다양한 대체적 실시형태가 본 발명을 실시할 때에 사용될 수 있는 것이 이해되어야 한다. 또한, 본 출원은 특원2022-72596을 출원번호로 하는 일본국 특허출원의 우선권의 이익을 주장하는 바, 당해 일본국 특허출원의 내용, 그리고 본 명세서 중에 있어서 참조하고 있는 특허 및 특허출원서류를 포함하는 모든 간행물에 기재된 내용은 그 인용에 의해서, 본 명세서 중에 명기된 내용과 마찬가지로 도입되어 있다고 해석해야 한다.
- [0090] (실시예)
- [0091] 이하, 실험예에 의해 본 발명을 더 상세히 설명한다.
- [0092] <시험예 1 LPS 투여에 의한 맥락막 비박화 및 근시화>
- [0093] M1 매크로파지에의 분극이 맥락막의 비박화 및 근시화에 관여하는지의 여부를 확인하기 위해서, LPS 투여 후의 맥락막에 있어서의 분극 마커 유전자의 발현과 맥락막 두께, 안구 축 길이 및 굴절값의 측정을 행했다.
- [0094] 2주간 LPS를 투여한 마우스와 PBS를 투여한 대조 마우스에 있어서 맥락막 두께, 안구 축 길이 및 굴절값의 측정을 행하여, 그 변화량을 산출했다(도 1의 A, B). 그 후 안구를 적출하고, 정량 PCR법으로 분극 마커 유전자의 발현을 측정했다(도 2).
- [0095] C57BL6J 마우스(각 군 n=4)를 사용했다.
- [0096] LPS 투여군에는 LPS 용액을 10mg/kg BW의 투여량으로 매일 복강 내 투여했다.
- [0097] PBS 투여군에는 LPS 용액 대신에 PBS를 투여했다.
- [0098] (안구 축 길이, 맥락막의 두께, 굴절도의 측정)
- [0099] 각 군의 마우스의 안구 축 길이, 맥락막의 두께, 굴절도를 측정했다. 스펙트럼 도메인 광 코히어런스 토모그래피(Envisu R4310, Leica사제)를 사용해서 안구 축 길이의 측정과 맥락막의 두께의 측정을 행했다. 마우스용 적외선 포토리플렉터(Infrared photorefractor for mice, Tubingen대학 Schaeffel교수 제작)를 사용해서 굴절도의 측정을 행했다.
- [0100] (전자현미경에 의한 맥락막의 관찰)
- [0101] 각 군의 마우스의 안구를 채취하여, PBS(Phosphate Buffered Saline) 중의 2.5% 글루타르알데히드에 의해 4℃에서 하룻밤 고정하고, 0.1M 카코딜산나트륨 완충액으로 1시간 행구었다. 다음으로, 0.1M 카코딜산 완충액 중의 1% OsO<sub>4</sub>에서 2시간 고정한 후, 단계적 에탄올 용액으로 탈수를 행했다. 또한, 안구를 프로필렌옥시드와 에폰-아랄다이트의 1:2 혼합물 중에 하룻밤 침투시키고, 100% 수지에 포매(embedding)했다. 블록을 절단하여, 투과형

전자현미경(JEM1400 plus; JEOL)을 사용해서 가속 전압 100kV에서 관찰했다.

[0102] (유전자 마커의 발현 평가)

[0103] 상기한 바와 같이 2주간 LPS를 투여한 마우스로부터 맥락막, 망막 및 공막 샘플을 채취하여, 정량 PCR법으로, M1 매크로파지 마커 유전자 및 산화스트레스 관련 유전자의 발현 해석을 행했다.

[0104] (결과)

[0105] PBS 투여를 행한 대조군에 대해서, LPS 투여군에서는 1주간, 2주간 어느 투여 기간에 있어서도 굴절의 저하(도 1의 B 좌측), 안구 축의 신장(도 1의 B 중앙), 맥락막의 비박화(도 1의 B 우측)가 확인되었다.

[0106] 또한, 유전자 발현 해석의 결과, 특히 맥락막에 있어서 M1 마커 유전자 및 산화스트레스 관련 유전자의 발현 향진이 확인되었다(도 2).

[0107] 이들 결과에 나타나는 바와 같이, 맥락막에 있어서의 M1 매크로파지의 증가는 근시화를 유도하는 것이 확인되었다.

[0108] <시험예 2 IL-4, IL-13 투여에 의한 M2 매크로파지에의 분극 및 근시 억제 효과>

[0109] M1 매크로파지는 주로 염증의 야기에 관여하는 것에 반해서, M2 매크로파지는 염증의 종언·억제에 관여하는 길항적인 작용을 갖는다. M1 매크로파지가 근시 유도 작용을 가지므로 M2 매크로파지는 근시증·진행에 대해서 억제적으로 작용한다고 생각된다.

[0110] 그래서 M2 매크로파지에의 분극에 필요한 사이토카인인 IL-4를 마우스에게 투여하고, 맥락막에 있어서 M2에의 분극이 발생하는지를 M2 매크로파지 마커인 CD163, CD206의 발현량 해석에 의해서 행했다(도 3의 A, B).

[0111] <IL-4 투여>

[0112] C57BL6J 마우스(각 군 n=4)에게, IL-4 용액 0.1 $\mu$ g/100 $\mu$ l(10 $\mu$ g/kg BW)를 복강 내 투여하고, 0시간(투여 전) 및 투여 4, 24, 48시간 후에 맥락막, 망막 및 간 샘플을 채취하여, 웨스턴 블롯 및 실시간 PCR로, M2 매크로파지 마커 유전자의 발현 해석을 행했다(도 3). 또한, 0시간(투여 전) 및 투여 후 4, 24시간에 맥락막 및 망막 샘플을 채취하여, 실시간 PCR로, 산화스트레스 관련 유전자의 발현 해석을 행했다(도 4).

[0113] 또한 근시 유도 중인 마우스에게 IL-4를 투여하고, 근시 억제 효과가 있는지의 여부를 평가했다(도 4).

[0114] 근시 유도 중인 C57BL6 마우스(-30D 렌즈, n=4)에게, IL-4 용액 0.1 $\mu$ g/100 $\mu$ l(10 $\mu$ g/kg BW)를 복강 내에 3주간 투여했다. 대조군으로서, 근시 유도 중인 C57BL6J 마우스(0D 렌즈, -30D 렌즈, 각 군 n=4)를 사용했다. 3주간 후, 시험예 1과 마찬가지로 해서, 굴절, 안구 축의 신장, 맥락막의 비박화를 측정했다.

[0115] (결과)

[0116] 그 결과, IL-4의 투여에 의해서 맥락막에 있어서 M2 마커인 CD163과 CD206의 발현량의 증가가 확인되어(도 3의 B, C), M2 매크로파지에의 분극이 확인되었다. 또한, 유전자 발현 해석에 의해, M2 매크로파지 마커 유전자의 발현 향진 및 산화스트레스 관련 유전자의 발현 억제가 확인되었다(도 5). 이들 결과로부터, IL-4의 투여에 의해, M2 매크로파지에의 분극이 유도되고, 산화스트레스 관련 유전자의 발현이 억제되어, 근시의 진행이 억제되는 것이 시사되었다(도 5).

[0117] 또한, 근시 유도 기간 중에 IL-4를 투여함으로써 굴절의 저하의 억제(도 5의 B 좌측), 안구 축의 신장의 억제(도 5의 B 중앙), 맥락막의 비박화의 억제(도 5의 B 우측)가 확인되었다.

[0118] 이상의 결과로부터, IL-4 투여에 의한 맥락막 매크로파지의 M2에의 분극은 근시 억제 효과를 나타내는 것이 확인되었다.

[0119] <IL-13 투여>

[0120] IL-4와 마찬가지로 매크로파지를 M2에 분극시키는 사이토카인으로서 알려진 IL-13을 근시 유도 기간 중에 투여함으로써, IL-4의 결과와 마찬가지로, 오목 렌즈 착용에 의한 안구 축의 신장, 굴절의 근시화 및 맥락막의 비박화가 억제되는 것 및 M2 매크로파지에의 분극이 유도되는 것이 C57BL6J 마우스를 사용해서 확인되었다(도 6).

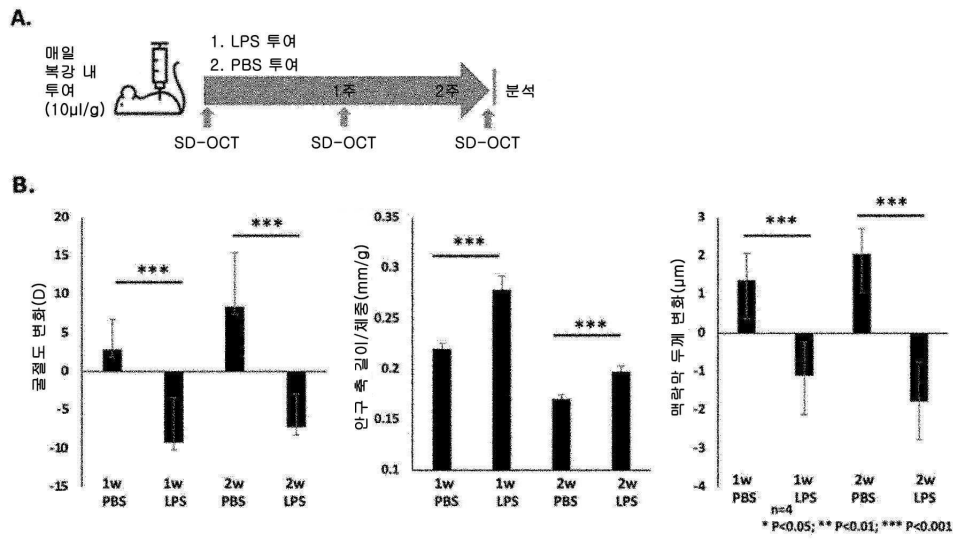
[0121] 또, 혈류 변화, 매크로파지 수의 계측은 이하와 같이 행했다.

[0122] 혈류 변화는 파장 스위프형 광간섭 단층계(OCT S-1, Canon)를 사용해서 측정했다.

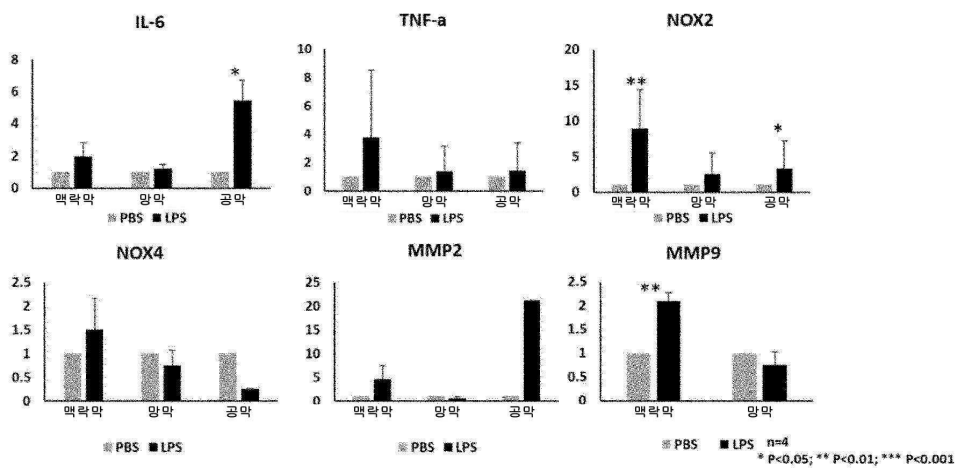
- [0123] 매크로파지 수는 맥락막의 소화 후, F4/80 항체 및 CD11b 항체로 염색하고, 플로 사이트미터(CytoFLEX S, 벡크만쿨터)로 측정했다. M2 매크로파지 수의 측정은 CD206 항체에 의한 염색 과정을 추가한 것 외에는 매크로파지 수의 측정과 마찬가지로 해서 측정했다.
- [0124] 시험에 1, 2의 결과에 나타나는 바와 같이, 특히 맥락막에 있어서의 매크로파지의 상태를 제어함으로써 근시를 유도하거나 억제할 수 있는 것이 확인되었다. 근시 진행 억제 및 치료라는 관점에서 보면, 특히 M2 매크로파지에의 분극을 촉구하는 것이 그 달성에 유효한 것을 나타내고 있다.
- [0125] <시험에 3 마스트 셀 스테빌라이저 점안에 의한 근시화의 억제>
- [0126] 마스트 셀 스테빌라이저 점안에 의한 근시 진행의 억제 효과를 검증하기 위해서, 마우스에게 오목 렌즈를 착용함으로써 근시를 유도하는 렌즈 유발 근시(Lens-induced myopia) 모델을 사용해서, 그 근시 유도 기간 중에 1일 1회 크로모글산 용액(4% 용액) 또는 페미로라스트 칼륨(0.1% 용액)을 점안 투여했다.
- [0127] 상기한 시험 방법에 따라서, 3주간의 근시 유도 및 크로모글산 용액 또는 페미로라스트 칼륨 용액의 점안 투여를 행한 마우스와 대조 마우스에 있어서 안구 축 길이, 굴절값 및 맥락막 두께의 측정을 행하여, 그 변화량을 산출했다(도 7의 A, B, C).
- [0128] 그 결과, PBS 투여를 행한 대조군의 오목 렌즈 착용 안구는 대조 안구와 비교하여, 안구 축의 신장(도 7의 A), 굴절의 근시화(도 7의 B) 및 맥락막의 비박화가 확인되었다. 한편, 크로모글산 용액 또는 페미로라스트 칼륨 용액의 점안 투여의 투여군에서는 PBS 투여군에서 확인된 상술한 변화가 확인되지 않았다.
- [0129] 이들 결과에 나타나는 바와 같이, 마스트 셀 스테빌라이저 점안 투여는 근시 진행을 억제하는 것이 확인되었다.
- [0130] <시험에 4 마스트 셀 스테빌라이저 점안과 히스타민 수용체 저해약 점안의 근시 억제 효과의 비교>
- [0131] 항알레르기약은 마스트 셀의 탈과립을 저해하는 마스트 셀 스테빌라이저와, 마스트 셀의 탈과립에 의해 분비되는 히스타민의 작용을 저해하는 히스타민 수용체 저해약의 2종류로 크게 구별된다. 시험에 3의 마스트 셀 스테빌라이저 점안의 근시 억제 효과가 항알레르기약의 작용인지, 마스트 셀의 탈과립을 저해한 것에 의한 것인지를 명백히 하기 위해서, LIM에 의한 근시 유도를 실시한 마우스에게 마스트 셀 스테빌라이저로서 페미로라스트 칼륨(0.1% 용액)을, 히스타민 수용체 저해약으로서 레보카바스틴 용액(0.025% 용액)을 점안 투여하여, 그 근시 억제 효과를 비교했다. 결과를 도 8에 나타낸다.
- [0132] 도 8에 나타내는 바와 같이 그 결과, 시험에 3과 마찬가지로, 페미로라스트 칼륨 투여군에서는 대조군에서 확인되는 안구 축의 신장, 굴절의 근시화 및 맥락막의 비박화가 확인되지 않았다. 한편, 레보카바스틴 투여군에서는 대조군과 마찬가지로, 안구 축의 신장, 굴절의 근시화 및 맥락막의 비박화가 확인되었다.
- [0133] 이상의 결과로부터, 항알레르기약 중에서도, 마스트 셀 스테빌라이저에 의한 근시 억제 효과가 확인되었다.
- [0134] <시험에 5 락토바실러스 파라카제이균(Lactobacillus paracasei)의 투여에 의한 근시 진행의 억제>
- [0135] M2 매크로파지의 유도가 근시 진행을 억제할 수 있기 때문에, 유산균으로서 야쿠르트(가부시키가이샤야쿠르트 본사)에 포함되는 락토바실러스 파라카제이균(Lactobacillus paracasei)을 배양·증식시켜서 근시 모델 마우스에게 투여하고, 시험에 3~시험에 4와 마찬가지로, 안구 축 길이, 굴절값 및 맥락막 두께의 측정을 행하여, 그 변화량을 산출했다(도 9). 그 결과, 유산균의 투여는 근시 진행을 억제하는 것이 확인되었다(도 9).

## 도면

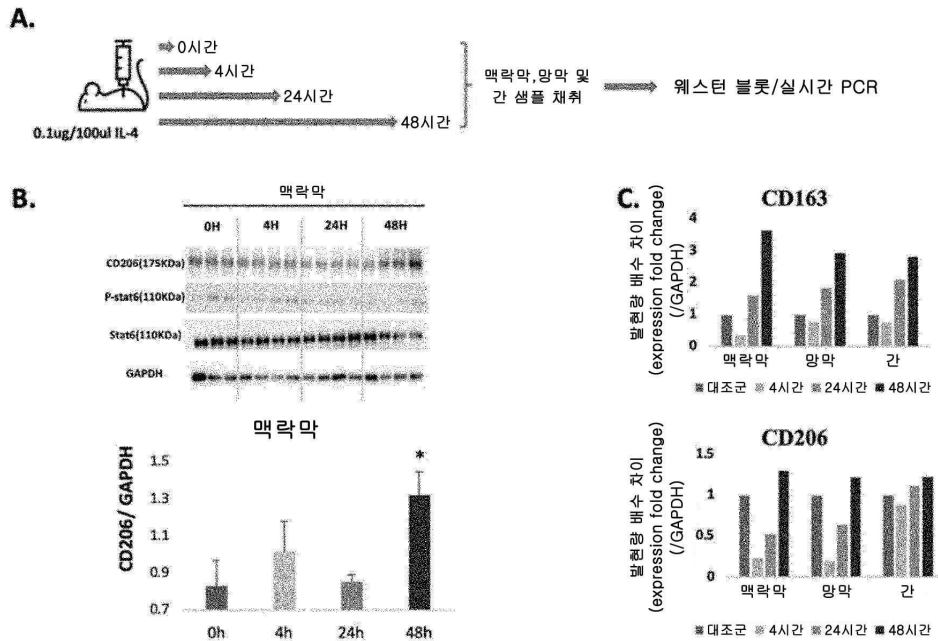
### 도면1



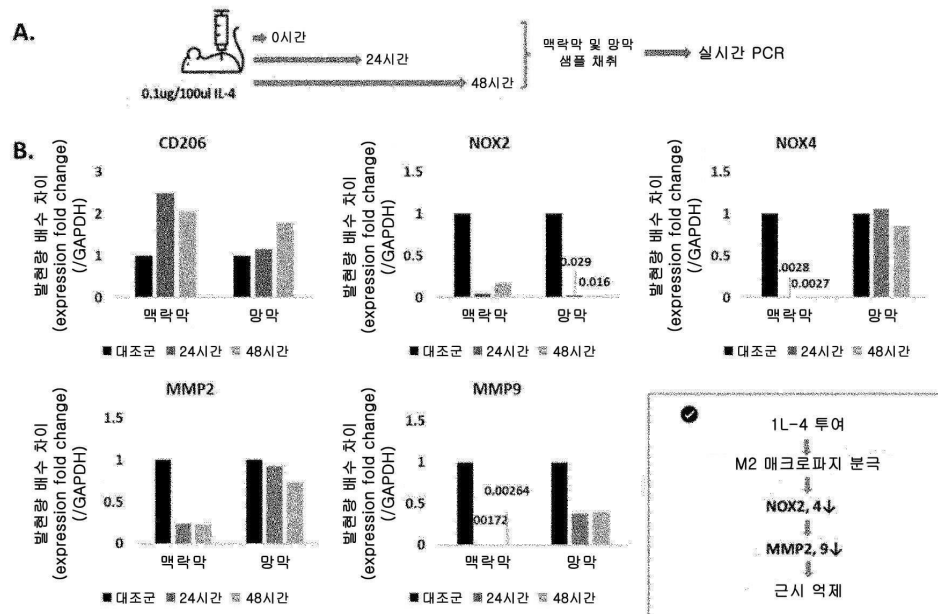
### 도면2



### 도면3

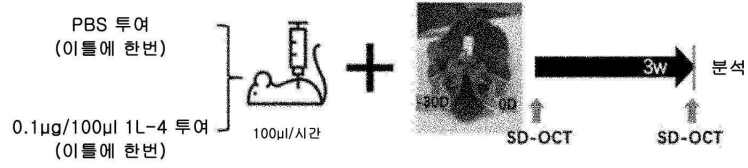


### 도면4

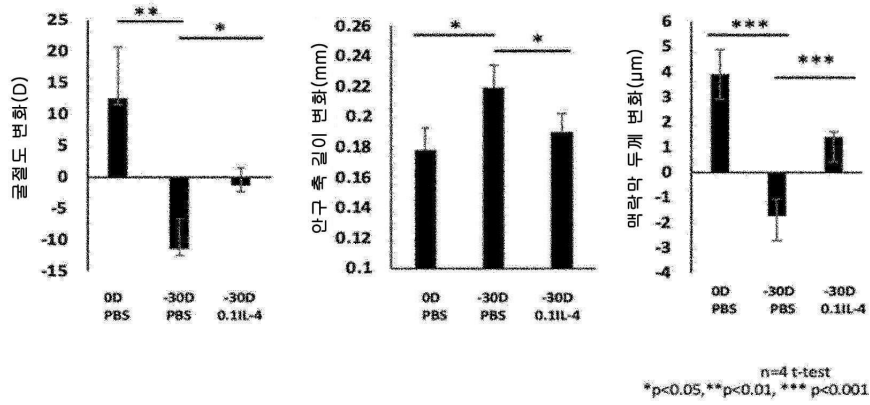


도면5

A.

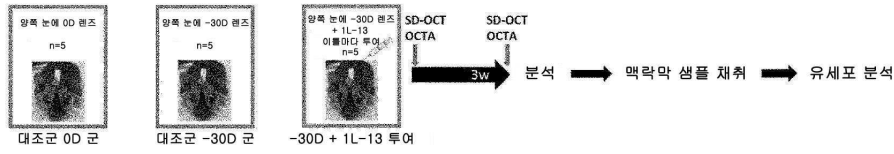


B.

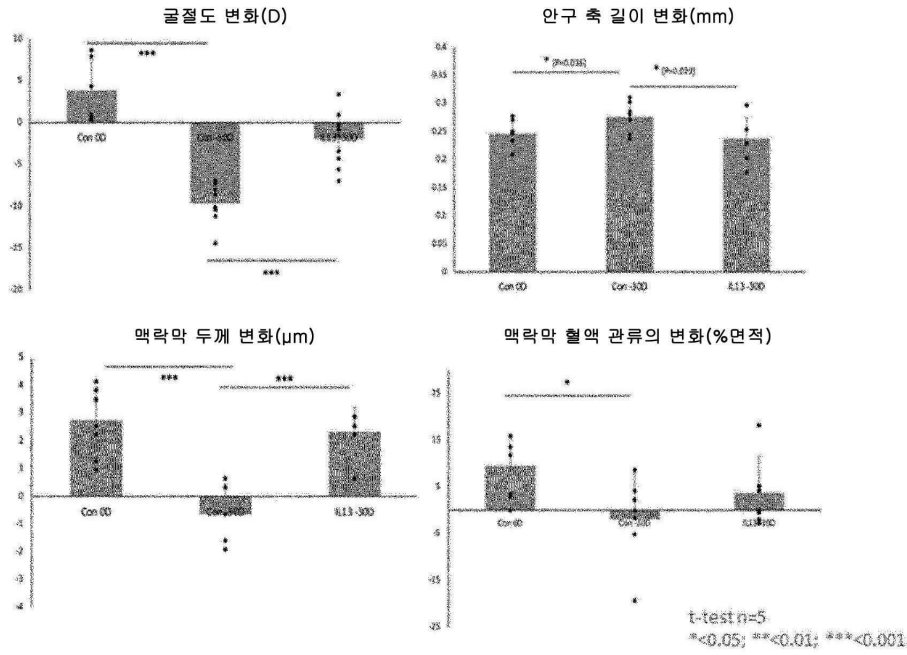


도면6

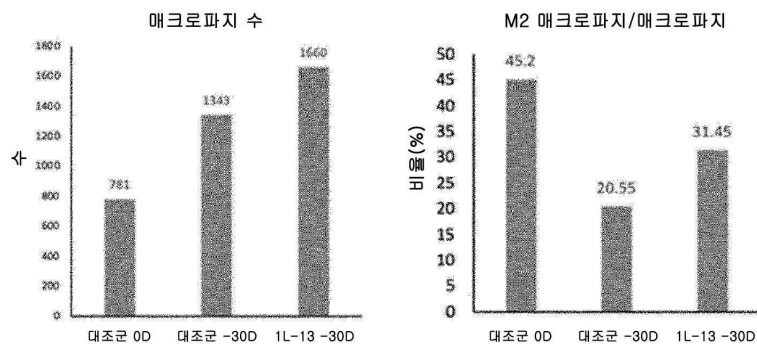
A.



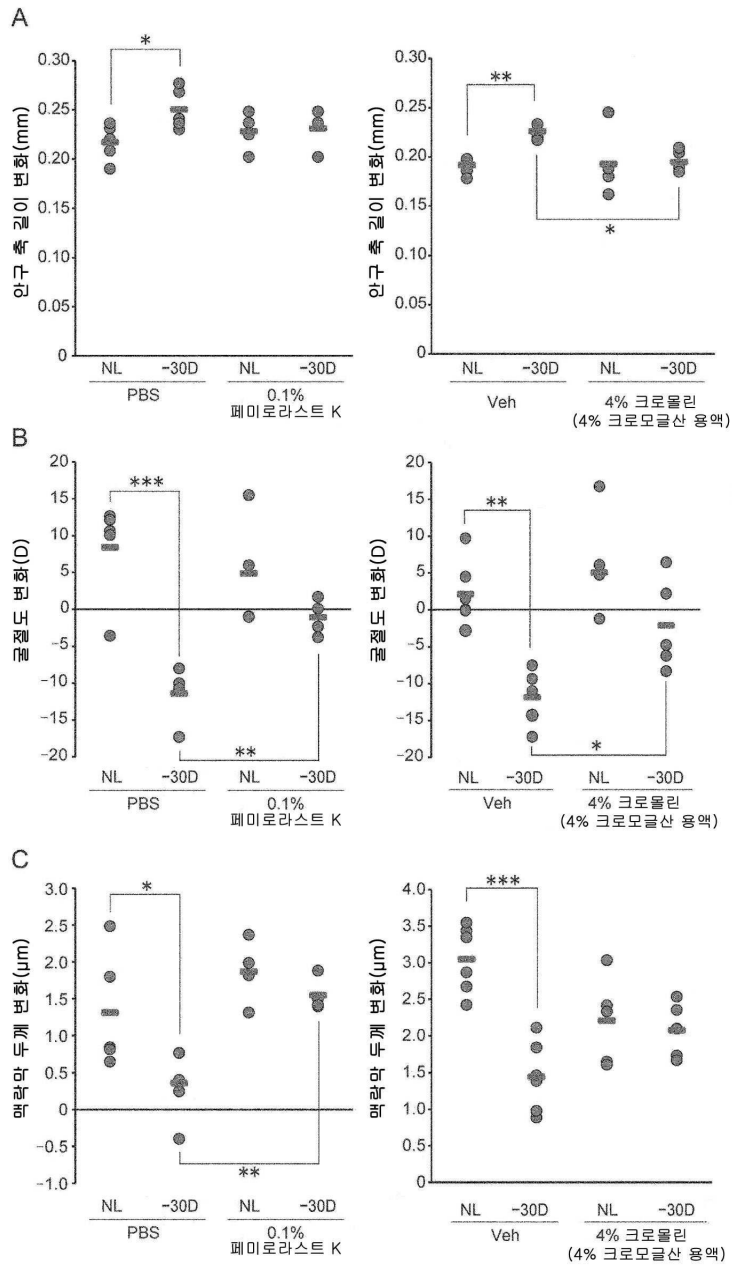
B.



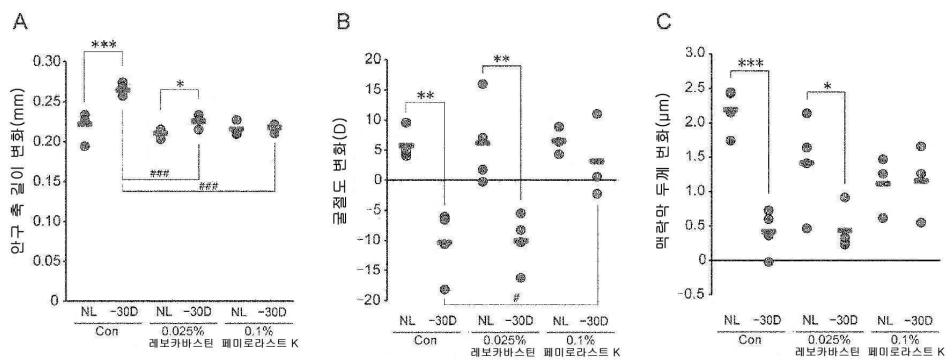
C.



도면7



도면8



도면9

