



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0078695
(43) 공개일자 2011년07월07일

(51) Int. Cl.

A61K 36/60 (2006.01) A61P 37/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2009-0135568

(22) 출원일자 2009년12월31일

심사청구일자 2009년12월31일

(71) 출원인

건양대학교산학협력단

충남 논산시 내동 26 건양대학교 산학협력단

(72) 발명자

유영춘

대전광역시 유성구 하기동 송림아파트 604-1001

이경복

서울특별시 강남구 압구정동 미성아파트 2-202

명상규

충청남도 논산시 내동 대학로 건양대학교 산학협력관 301호

(74) 대리인

특허법인 원진

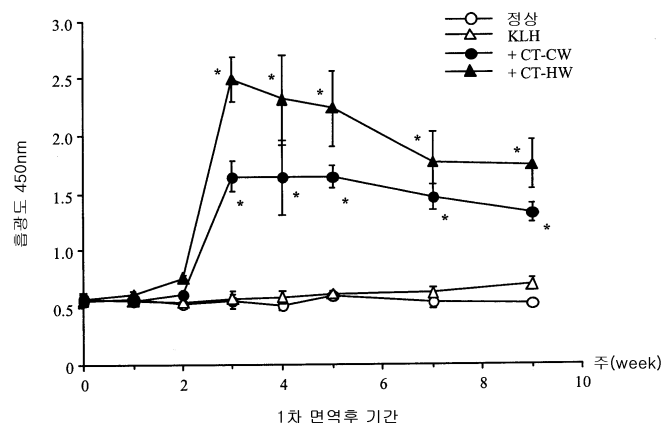
전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 꾸찌뽕 나무 추출액을 포함하는 면역보강제

(57) 요약

본 발명은 꾸찌뽕 나무 추출액을 유효성분으로 포함하는 면역보강제에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 꾸찌뽕 나무로부터 추출된 수추출액을 포함하므로써 항원에 대한 체액 반응 및 세포 면역 반응 특이성을 향상시키는 것을 특징으로 하는 면역보강제에 관한 것이다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

꾸찌뽕 나무로부터 추출된 수추출액을 포함하는 것을 특징으로 하는 면역보강제.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 꾸찌뽕 나무로부터의 수추출액은 꾸찌뽕 나무의 뿌리껍질 또는 수피를 물에 침지한 후, 저온에서 교반하여 얻어지는 차가운 수추출액 또는 가열하여 얻어지는 뜨거운 수추출액인 것을 특징으로 하는 면역보강제.

청구항 3

제 2항에서 있어서, 상기 차가운 수추출액은 꾸찌뽕 나무의 껍질:물의 부피비율을 1:1~1:3으로 하여 3~5℃의 물에 침지시켜서, 2~4일 동안 교반한 후, 원심분리하여 얻은 상청액을 0.3~0.5 μ m 기공크기의 필터로 여과하여 얻어지는 것을 특징으로 하는 면역보강제.

청구항 4

제 2항에 있어서, 상기 뜨거운 수추출액은 꾸찌뽕 나무의 껍질:물의 부피비율을 1:1~1:3으로 하여 물에 침지시켜서, 70~90℃로 10~15시간 동안 가열한 후, 원심분리하여 얻은 상청액을 0.3~0.5 μ m 기공크기의 필터로 여과하여 얻어지는 것을 특징으로 하는 면역보강제.

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 꾸찌뽕 나무 추출액을 유효성분으로 포함하는 면역보강제에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 꾸찌뽕 나무로부터 추출된 수추출액을 포함하므로써 항원에 대한 체액 반응 및 세포 면역 반응 특이성을 향상시키는 면역보강제에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 면역보강제가 면역-관련 세포의 기능을 조절할 수 있고, 체내에서 외래 항원에 대하여 체액 반응 및 세포 면역 반응을 향상시킬 수 있다는 것은 잘 알려져 있다. 현재, 알루미늄히드록사이드 및 알루미늄포스페이트와 같은 알루미늄-함유 화합물들(alum)은 임상에서 승인된 면역보강제로 널리 사용되고 있고, 실제로 몇몇 백신용 면역보강제로서 현재 사용되고 있다. 그러나, 알룸(alum) 면역보강제는, 모든 면역원에 대해 활성이 있는 것은 아니고, 주요 체액 반응을 자극하고[Audibert 등, 1993], IgE 항체의 선택적 유도로 인한 알러지를 일으킬 수 있는[Gupta 등, 1995] 몇 가지 단점을 가지고 있다. 따라서, 대체 가능한, 보다 안전하고 더욱 효과적인 면역보강제의 개발이 필요하다.

[0003] 한편, 꾸찌뽕 나무(*Cudrania tricuspidata*: CT)는, 한국, 중국 및 일본과 같은 동아시아 국가에 분포되어 있는 낙엽수이다. CT의 수피 및 뿌리 껍질은 다양한 질병의 치료를 위해 전통 중국 약재로서 사용되고 있고[Jeong 등, 2008], 종종 동양에서 급성 골반내감염을 치료하기 위해 사용되고 있다[Lee 등, 1996]. 또한 CT의 부분들은 항암, 항위염, 간 손상 치료를 위한 전통적인 허브 치료제 중 하나이다[Jeong 등, 2008; Tian 등, 2005]. 또한 CT 및 유사 종들은, 암세포의 자연사 유도[Lee 등, 1996; Seo 등, 2001; Rho 등, 2007], 고혈압 억제[Kang 등, 2002], 항산화[Lee 등, 2005], 저혈당 효과[Park 등, 2001], 대동맥 혈관평활근 세포의 억제[Han 등, 2007; Kim 등, 2007] 등에 중요한 역할을 하는, 생물학적으로 활성이 있는 다수의 화합물을 포함한다. 그러나, 상기와 같이 CT의 다양한 생물학적 기능들이 보고되어 있을지라도, 숙주 방어 시스템에 대한 상기 식물의 효능은 잘 알려져 있지 않다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

- [0004] 본 발명의 목적은, 꾸찌뽕 나무로부터 추출한 추출액을 포함하므로써, 면역보강제와 관련된 종래 기술들의 문제점을 해결하여, 더욱 강력하고 효과적인 면역보강제를 제공하는 것이다.
- [0005] 본 발명의 다른 목적은, 상기 면역보강제와, 선택적으로 추가적인 활성 성분(들)을 함께 포함하는 새로운 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [0006] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 면역보강제 또는 상기 약학적 조성물을 치료 또는 예방적 백신의 제조에 사용하는 것이다.

과제 해결수단

- [0007] 본 발명에 따른 면역보강제는 꾸찌뽕 나무로부터 추출된 수추출액을 유효 성분으로 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0008] 본 명세서에서 사용되는, 용어 "면역보강제"는, 활성 항원에 대한 체액성 및/또는 세포 매개성(세포성) 면역반응을 향상시키거나, 유도하거나 조절할 수 있게 하기 위해, 활성 항원에 대한 면역화에 첨가 및/또는 공동제제화되는 물질을 의미한다. 바람직하게는 본 발명에 따른 면역보강제는 또한 선천성 면역 반응을 향상시키거나 유도해낼 수 있다.
- [0009] 본 발명에 사용되는 상기 면역보강제는 전신성으로서 유용하고, 특히 항체 생성 B 림프구의 수를 증가시키는 비경구적 면역보강제로서 유용하다.
- [0010] 본 발명에 사용되는 상기 꾸찌뽕 나무로부터의 수추출액은 꾸찌뽕 나무의 뿌리껍질 또는 수피, 바람직하게는 뿌리껍질을 물에 침지하여, 저온에서 교반하여 얻어지는 차가운 수추출액(CT-CW) 또는 가열하여 얻어지는 뜨거운 수추출액(CT-HW)이다.
- [0011] 본 발명에 사용되는 꾸찌뽕 나무의 차가운 수추출액은 꾸찌뽕 나무의 뿌리껍질 또는 수피를, 꾸찌뽕 나무껍질(또는 수피):물의 부피비율을 1:1~1:3으로 하여 3~5℃의 물에 침지시켜서, 2~4일 동안 교반한 후, 원심분리하여 얻은 상청액을 0.3~0.5 μ m 기공크기의 필터로 여과하여 얻을 수 있다. 이 때, 물의 부피비율이 1 미만이면 고형물의 농도가 너무 높아 추출하기가 어려워 바람직하지 않고, 3을 초과하면 고형물의 농도가 낮아져 추출하기에는 좋으나, 동결건조할 때 장시간이 소요되어 바람직하지 않다.
- [0012] 상기 교반기간이 2일 미만이면 추출이 충분히 이루어지지 않을 수 있고, 4일을 초과하더라도, 더 이상의 추출 향상 효과가 없다.
- [0013] 그리고, 상기 여과에 사용되는 필터의 기공크기가 상기 범위를 벗어나면 고형물이 제대로 여과되지 못하여 바람직하지 않다.
- [0014] 본 발명에 사용되는 꾸찌뽕 나무의 뜨거운 수추출액은 꾸찌뽕 나무의 뿌리껍질 또는 수피를 물에 침지시켜서(이 때, 꾸찌뽕 나무 껍질과 물의 부피비율은 상기 차가운 수추출액 제조시와 동일하다), 70~90℃로 10~15시간 동안 가열한 후, 상기 차가운 수추출액 제조와 동일하게 원심분리 및 여과하여 얻을 수 있다. 이 때, 상기 가열온도가 70℃ 미만이거나 가열시간이 10시간 미만이면 추출이 미흡할 수 있고, 상기 가열온도가 90℃를 초과하거나 가열시간이 15시간을 초과하는 경우는 더 이상의 추출 향상효과가 없다.
- [0015] 본 발명의 면역보강제는 투여 대상의 체중 1kg 당 0.1~2mg의 투여량으로 투여하는 것이 적합하다.
- [0016] 본 발명의 약학적 조성물에는 상기한 꾸찌뽕 나무의 수추출액 이외에, 텍스트란 등의 활성성분들을 통상의 함량 범위로 포함할 수 있다.

효 과

- [0017] 본 발명에 따른 면역보강제는 시험관내 및 생체내 모델들에서 항원-특이적인 항체 반응들과 세포 면역 반응들을 강화시킬 수 있는 강력한 보조활성을 나타낸다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

- [0018] 이하 본 발명을 실시예를 통하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나 이들 실시예가 본 발명의 범위를 제한하는 것은 아니다.
- [0019] **재료 및 방법**
- [0020] 하기 실시예에서 사용된 재료들과 실험 방법들은 다음과 같다.
- [0021] **A. 동물들**
- [0022] 특별한 병원균이 없고, 7~8주일된 Balb/C 마우스들을 오리엔트바이오 Co. Ltd로부터 구입했다. 마우스들을 건양대학교의 IUACUC의 규정에 따라서 건양대학교 의과대학, 동물실험실내에 보관했다.
- [0023] **B. 꾸찌뽕 나무 수추출액의 재료**
- [0024] 꾸찌뽕 나무(CT)의 뿌리껍질들을 한국의 남부지역에 위치한 지리산으로부터 2005년 4월에 수집하였다.
- [0025] **C. 마우스들의 면역화 방법**
- [0026] 그룹 당 7마리의 Balb/C 마우스들(암컷, 7주일령)에 대하여, 항원으로서 키홀-림펫 헤모시아닌(KLH)(20 μ g/마우스)을 단독으로, 또는 상기 KLH와 CT-CW 또는 CT-HW(5 μ g 또는 50 μ g/마우스)를 함께 혼합하여 피하주사했다. 1차 면역화 후 2주째에, 마우스들을 동일한 조건으로 피하주사하여 2차 면역화시켰다. 면역화된 마우스들은 1차 면역화 후, 지정된 주에 레트로-오비탈 혈액동(후안구동)으로부터 혈액을 채취하고, 항체 테스트를 위하여 혈청 시료들을 수집하였다.
- [0027] **D. KLH 특이적 항체 역가(antibody titer)의 결정**
- [0028] KLH에 대한 혈청 검체의 항체 역가를, 다소의 부분적인 변경과 함께, ELISA법(enzyme-linked immunosorbent assay)[Yoo 등, 1998]에 의해서 측정하였다. 마이크로타이터 플레이트(Nunc, Rochester, NY)에 50mM 비카보네이트 완충액(pH 9.6) 내의 KLH(1 μ g/50 μ l/웰)을 4℃에서 오버나이트(overnight)로 인큐베이션하여 코팅하였고, 그 다음에 37℃에서 2시간 동안 1% BSA(bovine serum albumin)로 블로킹(blocking)시켰다. 세척용 완충액(0.05% Tween20을 포함하는 PBS)으로 행구어낸 후, PBS로 1000배 희석한 혈청을 각각의 웰에 첨가하고, 37℃에서 2시간 동안 인큐베이션시켰다. 세척 후, PBS 내의 퍼옥시다제-콘쥬게이트 염소 항-마우스 IgG+A+M(Zymed, S. San Francisco, CA)를 제 2의 항체로 각각의 웰에 첨가하고, 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션시켰다. 면역글로불린 이소타입(isotype) 분석에서는 퍼옥시다제-콘쥬게이트 토끼 항-마우스 IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 및 IgM 항체(Zymed, S. San Francisco, CA)를 제 2의 항체로 사용하였다. 플레이트를 4회 다시 세척하고, TMB 기질(Sigma, St. Louis, MO) 용액을 웰 당 200 μ l씩 첨가하여 현상시켰다. 37℃에서 30분 동안 인큐베이션 후, 흡광도를 마이크로플레이트 판독기(Bio-rad, San Diego, CA)를 사용하여 415nm에서 판독하였다.
- [0029] **E. KLH 특이적 항체 생산 세포에 대한 검정**
- [0030] CT-CW 또는 CT-HW와 혼합된 KLH, 또는 KLH 단독으로 면역화된 마우스로부터 분리된 비장세포(splenocytes)의 항체 생산의 검정은 ELISPOT(enzyme-linked immunospot) 분석법[Yoon 등, 2001]에 따라 수행하였다. 1차 면역화 후 3주 째에 회수된 적혈구 없는 비장세포(1.5×10^6 /100 μ l/웰)를 KLH(20 μ g/ml)로 코팅된 평평한 바닥 플레이트의 각 웰에 분주한 후, 3% BSA로 블로킹시켰다. 6시간 동안 인큐베이션한 후, 플레이트를 PBS-0.005% Tween 20으로 3회 세척하고, 37℃에서 2시간 동안 서양고추냉이 퍼옥시다제-표지 토끼 항-마우스 IgG+IgA+IgM 항체의 1000배 희석액 100 μ l와 반응시켰다. 그 후, 플레이트를 PBS로 5차례 세척하고, Trueblue 기질(Invitrogen, Carlsbad, CA) 200 μ l/웰과 함께 인큐베이션시켰다. 물로 세척 후, 스폿 형성 콜로니(SFC)의 수를 확인하였다.
- [0031] **F. 임파구 증식과 사이토카인 생산의 검정**
- [0032] 다소의 변경과 함께, 공지된 방법[Yoo 등, 1998]으로 여러 가지의 콤비네이션으로 면역화된 마우스로부터 얻어진 비장세포를 사용하여 임파구 증식의 검정을 수행하였다. 그룹 당 3마리의 마우스를 2주 간격으로 KLH, KLH+CT-CW 또는 KLH+CT-HW로 2회 피하주사로 면역화시켰다. 1차 면역화 후 4주 째에, 면역화된 마우스들로부터 얻어진 비장세포(1×10^6 /100 μ l/웰)를 96-웰 플레이트에 분주하고, KLH의 특정 사용량(100 μ l/웰)을 첨가하여 48시간 동안 공동-인큐베이션시켰다. 배양 세포의 증식을 세포 카운팅(cell counting) 키트를 사용하여 측정하였다(Dohindo, Kumamoto, Japan). 면역화된 마우스의 T 임파구에 의한 사이토카인(IL-2와 IL-4) 생산의 검정을 위하여, 상기 임파구 세포 증식 검정에서 사용된 비장세포(2×10^6 /100 μ l/웰)를 48시간 동안 KLH(1 μ g/ml)로 재자극하였다. 배양 상등액 내의 KLH 특이적 IL-2와 IL-4의 농도는 ELISA 키트(Endogen, Woburn, MA)를 이용하여

제조사의 설명에 따라 결정하였다.

[0033] **G. 지연된 유형의 과민증(DTH) 테스트**

[0034] 그룹 당 5마리의 Balb/C 마우스를 KLH, KLH+CT-CW 또는 KLH+CT-HW로 2회 피하주사하여 면역화시켰다. 1차 면역화 후 7주 후에, 모든 마우스에 KLH($20\mu\text{g}$ /부위)로 대퇴부 내(I.F.) 주사를 하였다. 대퇴부 내 주사 후 48시간째에 발바닥 두께를 측정하였고, DTH 반응은 이전의 문헌[Yoo 등, 1008]에 기재된 바와 같이, 주사 부위에서 발바닥의 붓기 증가 백분율로 나타내었다.

[0035] **제조예 1**

[0036] CT-CW를 제조하기 위하여, 다져서 자른 CT 뿌리껍질 1g을 증류수 100ml에 넣고, 3일 동안 4°C 에서 교반시켰다. 2500rpm에서 30분간 원심분리시킨 후, 상등액을 $0.4\mu\text{m}$ 기공크기의 필터로 여과시킨 다음, 동결건조시켰다. 여기서 얻어진 분말을 PBS로 용해시키고, 사용시까지 -30°C 에서 보관하였다.

[0037] **제조예 2**

[0038] CT-HW는 다져서 자른 CT 뿌리껍질 1g을 증류수 100ml에 넣고, 70°C 에서 12시간 동안 가열시키는 것을 제외하고는 제조예 1과 동일하게 제조하였다.

[0039] **실시예 1**

[0040] 상기 설명한 마우스들의 면역화 방법에 따라, KLH $20\mu\text{g}$ /마우스와, 상기 제조예 1로부터 제조된 CT-CW $50\mu\text{g}$ /마우스로 마우스들을 면역화시킨 후, 채혈하여, 항체 테스트를 위한 혈청 검체를 수집하였다.

[0041] **실시예 2**

[0042] 상기 제조예 2로부터 제조된 CT-HW $50\mu\text{g}$ /마우스를 사용한 것을 제외하고는 실시예 1과 동일하게 수행하였다.

[0043] **실시예 3**

[0044] 상기 제조예 1로부터 제조된 CT-CW $5\mu\text{g}$ /마우스를 사용한 것을 제외하고는 실시예 1과 동일하게 수행하였다.

[0045] **실시예 4**

[0046] 상기 제조예 2로부터 제조된 CT-HW $5\mu\text{g}$ /마우스를 사용한 것을 제외하고는 실시예 1과 동일하게 수행하였다.

[0047] **KLH 특이적 항체 반응의 유도에 대한 CT 추출물의 효과(항체 역가 결정)**

[0048] KLH에 대한 항체 역가를 증가시키기 위한 CT-CW와 CT-HW의 능력을 검사하기 위하여, 상기 C의 면역화 방법에 따라, CT-CW $50\mu\text{g}$ /마우스(실시예 1) 또는 CT-HW $50\mu\text{g}$ /마우스(실시예 2)와 혼합된 KLH 또는 KLH 단독(대조군)으로 면역화된 마우스의 항체 생산에 대하여, 상기 D의 방법으로 시간 경과에 따른 분석을 실시하였다. 본 실험에서, CT 추출물에 의한 면역보강제 활성을 명확하게 시험하기 위하여, 낮은 면역원성을 갖는 낮은 투여량의 KLH 항원($20\mu\text{g}$ /마우스)을 사용하였다. 도 1에 나타난 바와 같이, KLH+CT-CW와 KLH+CT-HW로 면역화된 마우스들은 1차 면역화 후, 3주 째부터 대조군(KLH 단독)보다 KLH에 대하여 상당히 더 큰 IgG+A+M 항체 역가를 나타내었는데, 실시예 1의 경우에는 KLH보다 3배 이상, 실시예 2의 경우에는 KLH보다 5배 이상의 흡광도를 나타내었다. KLH 특이적 항체 반응의 향상에 대한 실시예 1 및 실시예 2의 효과는 1차 면역화 후 적어도 9주 째까지 지속되었다. 또한, KLH 항원에 의해 유도된 항체 반응을 향상시키는 CT-HW의 활성도는 CT-CW의 활성도보다 높았다. CT 추출물의 낮은 투여량($5\mu\text{g}$ /마우스)을 적용한 실시예 3 및 4를 이용한 실험에 있어서, 실시예 3 및 4는 항원 특이적 항체 생산을 향상시키는데 여전히 효과적이었으며, 그 결과는 도 2에 나타나 있다. 또한, 도 1의 결과와 유사하게, 낮은 투여량 $5\mu\text{g}$ /마우스를 사용한 경우에도 CT-HW의 활성도가 CT-CW의 활성도보다 높았다.

[0049] **KLH 특이적 항체의 이소타이핑(Isotyping)**

[0050] KLH에 대하여 생성된 면역글로불린 항체(IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 및 IgM)의 양을 1차 면역화 후 3주 째에 서브-클래스 특이적 2차 항체를 사용하여 ELISA법에 의해 측정하였고, 그 결과를 도 3에 나타내었다. 실시예 1 및 실시예 2로 면역화된 마우스에서 IgG1, IgG2a 및 IgG2b 항체 역가는 KLH 단독으로 면역화된 마우스에서의 항체 역가보다 훨씬 높았다. 또한, IgG1, IgG2a 및 IgG2b의 항체 역가는 실시예 2의 활성도가 실시예 1의 활성도보다 우수하였다. 그러나, IgM과 IgG3에 있어서는 실시예 1 및 실시예 2 간의 차이가 없었다.

[0051] **KLH 특이적 항체 생산 세포의 검정**

[0052] 항체 생산 세포에 대한 CT 추출물의 효과를 시험하기 위하여, KLH+CT-CW(50 μ g/마우스)와 KLH+CT-HW(50 μ g/마우스)로 1차 면역화 후 3주 후에 마우스로부터 얻은 비장세포를 사용하여, 상기 E의 방법에 따라 ELISPOT 분석에 의해 KLH 특이적 항체 생산 B 임파구의 수를 측정하였다. KLH+CT-CW(50 μ g/마우스)와 KLH+CT-HW(50 μ g/마우스)로 면역화된 마우스의 비장세포는 KLH 단독으로 면역화된 마우스의 비장세포 보다 더 높은 수치의 IgG+A+M 항체 스폿 형성 콜로니(SFC)를 나타내었다(도 4).

[0053] **KLH 특이적 T 세포 반응에 대한 CT 추출물의 효과(임파구 증식 및 사이토카인 생산)**

[0054] T 임파구에 의해 증채된 KLH 특이적 세포성 면역반응의 강화에 관한 CT 추출물들의 효과를, 상기 F의 방법에 따라, 시험관 내의 세포 증식 평가에 의해 측정하였다. 1차 면역화 후 4주 후에 4그룹의 마우스로부터 얻어진 비장세포를 여러 가지 농도의 KLH 존재하에서 48시간 동안 인큐베이션하였다. KLH+CT-CW(50 μ g/마우스)와 KLH+CT-HW(50 μ g/마우스)로 면역화된 마우스의 비장세포는 KLH 단독으로 면역화된 마우스의 비장세포 보다 투여량-의존적으로 더 높은 증식 활성도를 나타내었다(도 5a). 항체 반응과 유사하게, T 임파구 증식을 향상시키기 위한, KLH+CT-HW(50 μ g/마우스)로 면역화된 활성도는 KLH+CT-CW(50 μ g/마우스)로 면역화된 활성도보다 컸다.

[0055] CT 추출물에 의한 KLH 특이적 면역 반응의 향상에서 T 임파구의 관계를 더 시험하기 위하여, KLH 특이적 Th1 타입 및 Th2 타입 사이토카인, 즉, IL-2와 IL-4 각각의 생성을 측정하였다(도 5b). 도 5b에 나타난 바와 같이, KLH+CT-CW(50 μ g/마우스)와 KLH+CT-HW(50 μ g/마우스)로 처리된 마우스의 비장세포는 KLH 항원 단독으로 처리된 것 보다 훨씬 높은 수준의 KLH 특이적 IL-2와 IL-4를 생산하였다. 이러한 결과로부터 CT 추출물은 Th1 타입(IgG2a)과 Th2 타입(IgG1) 항체를 생산하여 KLH에 대한 면역원성을 증대시키고, 항원 특이적 항체 반응에 관한 이들의 향상된 효과는 IL-2와 IL-4와 같은 양 타입의 사이토카인의 생산과 관계될 수 있음을 알 수 있다.

[0056] **DTH 반응의 유도에 대한 CT 추출물의 효과**

[0057] KLH에 의해 향상된 세포 면역 반응에 있어서, CT-CW와 CT-HW의 효과를 더 시험하기 위하여, 상기 G의 방법에 따라, 생체 내에서 DTH 반응을 향상시킬 수 있는 이들의 활성도를 시험하였다. 마우스를 KLH, KLH+CT-CW(50 μ g/마우스)와 KLH+CT-HW(50 μ g/마우스)로 2회 면역화시키고, 1차 면역화 후, 7주 후에 KLH로 대퇴부 주사하였다. KLH+CT-CW(50 μ g/마우스)와 KLH+CT-HW(50 μ g/마우스)로 면역화된 마우스는 KLH 단독으로 면역화된 마우스와 비교할 때, KLH의 대퇴부 주사 후 2일 후에 DTH 반응의 상당한 증가를 나타내었다(도 6).

[0058] 위와 같은 실험 결과로부터 CT 추출물은 KLH 항원이 체액성 면역 반응과 세포성 면역 반응을 유도할 수 있는 능력을 향상시키기 위한 면역보강제로서 작용하는 것이 명백함을 알 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0059] [도 1] KLH-특이적인 항체반응의 유도에 대한 CT-CW와 CT-HW의 효과를 나타낸 그래프. * $p < 0.001$, 2차에 의해 수행된 t 테스트에 의해 대조군(KLH 단독)과 비교된 것.

[0060] [도 2] KLH 특이적 항체 반응의 유도에 대한 CT-CW와 CT-HW의 낮은 투여량의 효과를 나타낸 그래프. $p < 0.001$, 2차에 의해 수행된 t 테스트에 의해 대조군(KLH 단독)과 비교된 것.

[0061] [도 3] 혈청 검체들내에서 KLH-특이적 항체의 이소타이핑의 결과를 나타낸 그래프. $p < 0.05$; ** $p < 0.001$, 2차에 의해 수행된 t 테스트에 의해 대조군(KLH 단독)과 비교된 것.

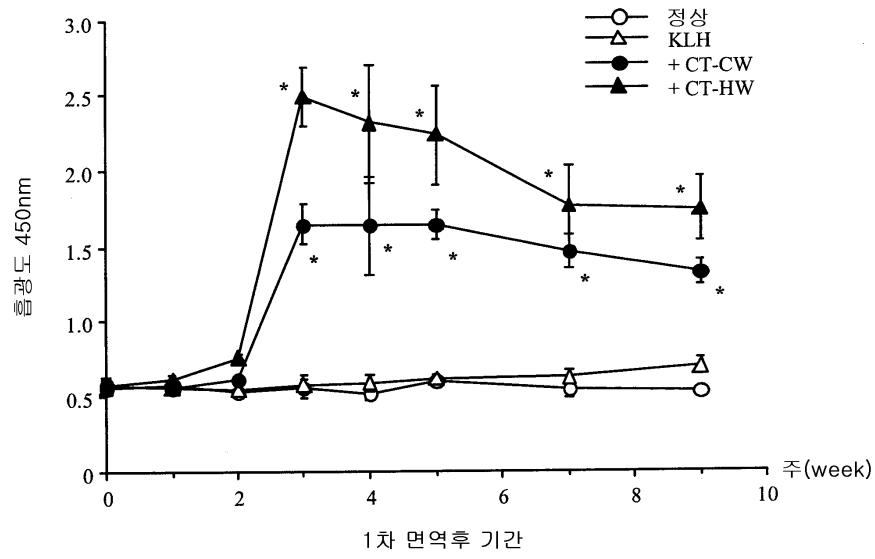
[0062] [도 4] KLH-특이적 항체 생산 세포에 대한 검정 결과를 나타낸 그래프. * $p < 0.001$, 2차에 의해 수행된 t 테스트에 의해 대조군(KLH 단독)과 비교된 것.

[0063] [도 5] KLH에 대한 T 세포 반응에 대한 CT-CW와 CT-HW의 효과를 나타낸 그래프. $p < 0.01$; ** $p < 0.001$, 2차에 의해 수행된 t 테스트에 의해 대조군(KLH 단독)과 비교된 것.

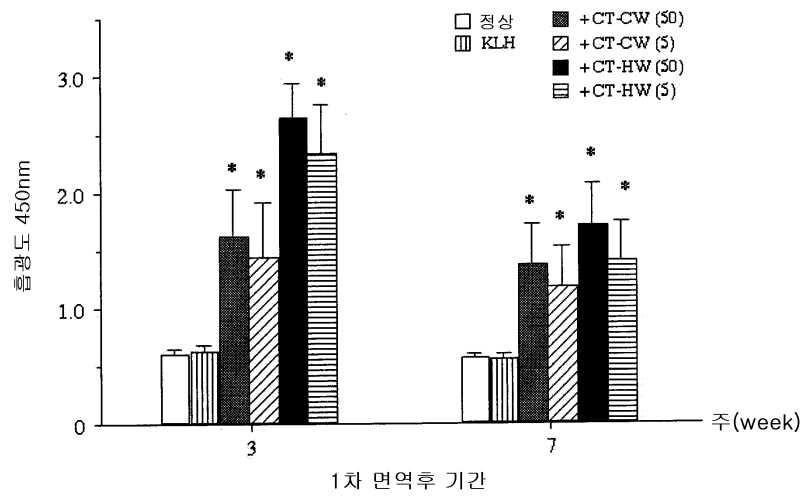
[0064] [도 6] KLH-특이적 DTH 반응의 유도에 대한 CT-CW와 CT-HW의 효과를 나타낸 그래프. $p < 0.01$, 2차에 의해 수행된 t 테스트에 의해 대조군(KLH 단독)과 비교된 것.

도면

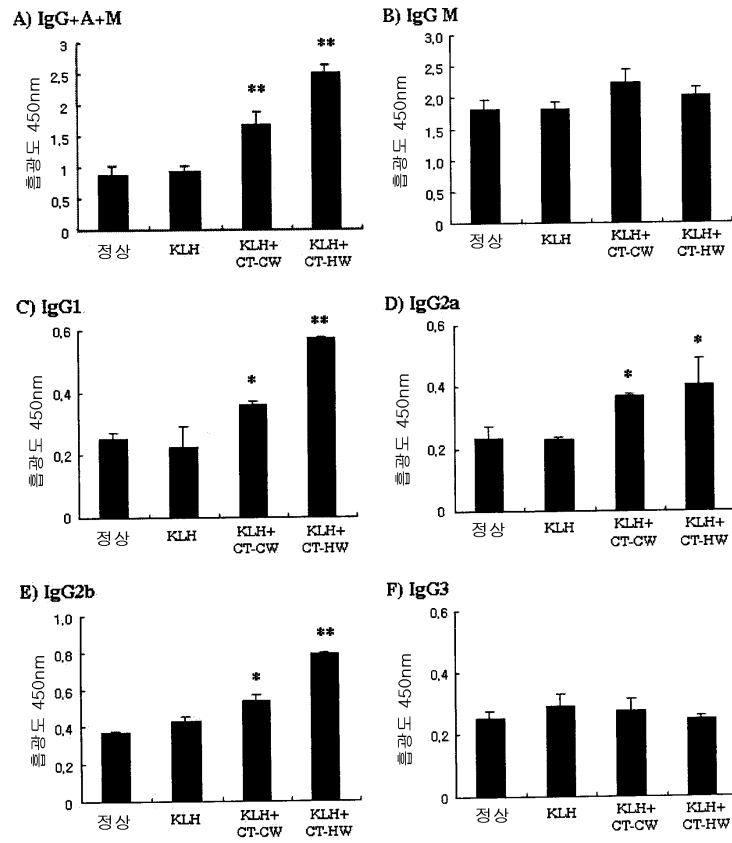
도면1



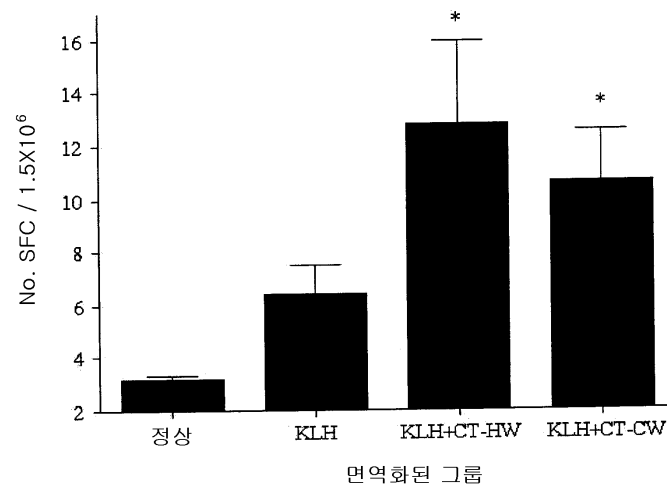
도면2



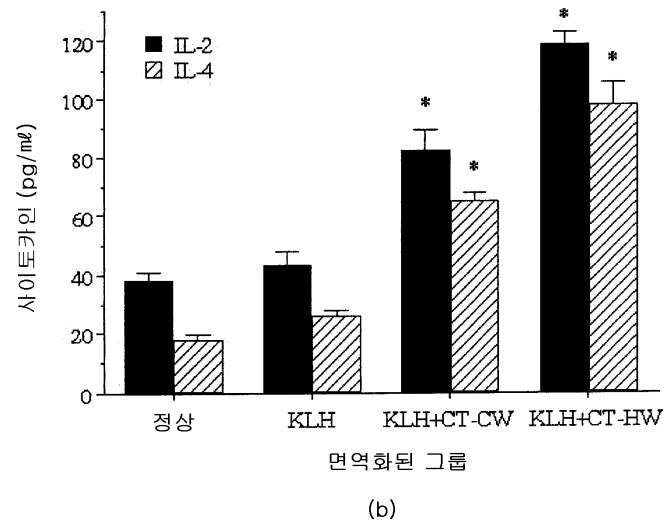
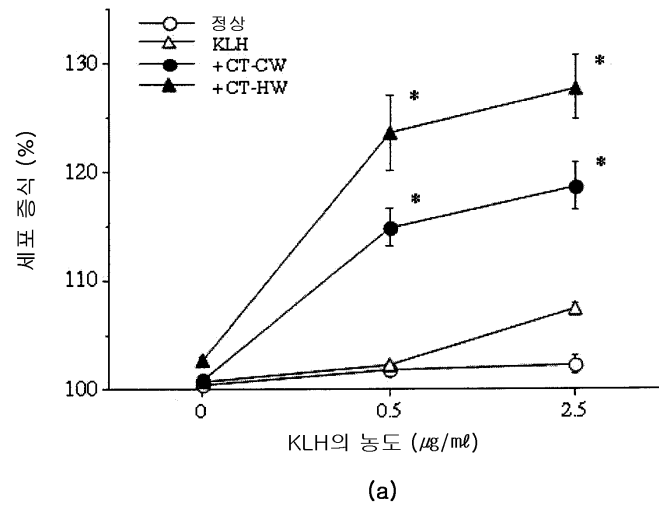
도면3



도면4



도면5



도면6

