

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2016년 10월 13일 (13.10.2016)



(10) 국제공개번호
WO 2016/163698 A1

- (51) 국제특허분류:
C12Q 1/68 (2006.01) *A61K 31/352* (2006.01)
G01N 33/50 (2006.01) *A23L 1/30* (2006.01)
G01N 33/68 (2006.01) *A61P 17/00* (2006.01)
A61K 8/49 (2006.01) *A61Q 19/00* (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2016/003464
- (22) 국제출원일: 2016년 4월 4일 (04.04.2016)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2015-0048509 2015년 4월 6일 (06.04.2015) KR
10-2015-0074846 2015년 5월 28일 (28.05.2015) KR
10-2016-0040355 2016년 4월 1일 (01.04.2016) KR
- (71) 출원인: (주)아모레퍼시픽 (AMOREPACIFIC CORPORATION) [KR/KR]; 140-777 서울시 용산구 한강대로 106, Seoul (KR).
- (72) 발명자: 김형준 (KIM, Hyoung-June); 17074 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽기술연구원, Gyeonggi-do (KR). 차나리 (CHA, Na Ri); 17074 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽기술연구원, Gyeonggi-do (KR). 박주열 (PARK, Ju Yearl); 17074 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽기

술연구원, Gyeonggi-do (KR). 정창조 (JUNG, Changjo); 17074 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽기술연구원, Gyeonggi-do (KR). 권이경 (KWON, Lee-Kyoung); 17074 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽기술연구원, Gyeonggi-do (KR). 신동욱 (SHIN, Dong Wook); 17074 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽기술연구원, Gyeonggi-do (KR). 이태룡 (LEE, Tae Ryong); 17074 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽기술연구원, Gyeonggi-do (KR).

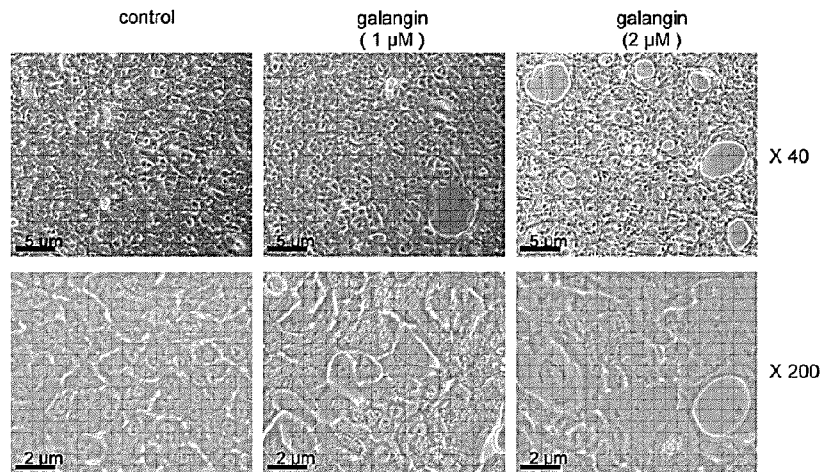
(74) 대리인: 김순영 (KIM, Sun-young); 110-727 서울시 종로구 종로 5길 58 석탄회관빌딩 10층, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

[다음 쪽 계속]

(54) Title: COMPOSITION FOR DIAGNOSING SKIN DAMAGE CAUSED BY FINE DUST, AND COMPOSITION COMPRISING GALANGIN AS ACTIVE INGREDIENT

(54) 발명의 명칭: 미세먼지에 의한 피부 손상 진단용 조성물 및 갈랑긴을 유효성분으로 포함하는 조성물



(57) Abstract: The present specification discloses a biomarker for diagnosing skin cell damage caused by fine dust, a kit using the same, and a novel use of a composition comprising galangin as an active ingredient. Specifically, it is possible to conveniently check skin damage caused by fine dust by measuring and comparing the expression amounts of the biomarker in normal cells and cells damaged by fine dust. In addition, a composition of the present invention comprising galangin, an isomer thereof, a pharmaceutically acceptable salt thereof, a prodrug thereof or a solvate thereof as an active ingredient can normalize the gene expression of skin damaged by fine dust and promote differentiation of skin keratinocytes, thereby having a skin moisturizing or skin-barrier strengthening effect. Accordingly, since the composition can be used to prevent, treat, or alleviate skin diseases such as atopy, psoriasis, etc. the composition is useful.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]



WO 2016/163698 A1



(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,

SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

본 명세서에는 미세먼지에 의한 피부 세포 손상 여부를 진단하는 바이오마커 및 이를 이용한 키트와, 갈랑긴을 유효성분으로 함유하는 조성물의 신규한 용도가 개시된다. 구체적으로, 상기 바이오마커의 발현양을 정상세포와 미세먼지에 의해 손상된 세포로부터 측정 및 비교하여, 미세먼지에 의한 피부 손상 여부를 간편하게 확인할 수 있다. 또한, 본 발명의 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물을 유효성분으로 함유하는 조성물은 미세먼지에 의해 손상된 피부의 유전자 발현을 정상화하고, 피부 각질형성세포의 분화를 촉진하여 피부 보습 또는 피부 장벽 강화 효과를 가져올 수 있다. 이에 따라, 아토피, 건선 등의 피부 질환을 예방, 치료 또는 개선하는데 사용할 수 있으므로, 유용하다.

명세서

발명의 명칭: 미세먼지에 의한 피부 손상 진단용 조성물 및 갈랑긴을 유효성분으로 포함하는 조성물

기술분야

- [1] 본 명세서에는 미세먼지에 의한 피부 손상 여부를 진단하는데 사용될 수 있는 바이오마커와 이를 포함하는 조성물, 이를 포함하는 키트, 및 갈랑긴을 유효성분으로 함유하는 조성물의 신규한 용도가 개시된다.

배경기술

- [2] 피부의 구성층 중 표피는 인체 내부의 수분 증발을 방지하는 중요한 역할을 한다. 표피는 외부로부터 순서대로 각질층, 과립층, 유극층, 기저층으로 구분되며, 각질층의 세포들은 벽돌과 같은 역할을 하고 각질세포 사이의 세포간 지질들은 모르타르와 같은 역할로 작용하여 피부 장벽을 구성한다(J. Invest. Dermatol. 80 (Suppl.), 44-49. 1983). 또한, 건강한 사람의 각질세포에는 고농도의 자연보습인자(Natural Moisturing Factor, NMF)가 존재하여 피부의 수분 보유를 돕는데, 예를 들면 아미노산과 같은 물질은 수용성이기 때문에 효과적으로 수분과 결합하여 피부에서 수분이 건조되는 것을 억제한다(J. Invest. Dermatol. 54, 24-31, 1970).
- [3] 그러나, 요즘과 같이 환경의 변화나 생활 패턴의 변화에 따른 냉/난방의 인위적인 온도 조절, 사회 생활에서 발생하는 각종 스트레스와 환경 오염으로 인한 피부 스트레스, 화장 습관에 따른 잦은 세안 및 연령 증가에 따른 자연적인 피부 노화 등의 여러 가지 원인으로 인하여 각질층의 수분이 감소하여 피부가 건조해지고 표면이 거칠게 되며 피부가 푸석거리고 축축함을 잃어 생기가 없어 보이는 등의 현상이 발생하기 때문에 피부 보습제의 필요가 증가하고 있다. 또한 외부로부터 받는 과도한 물리적, 화학적 자극, 자외선, 스트레스 및 영양결핍 등은 피부의 정상기능을 저하시키고 탄력손실, 각질화, 주름생성 등의 피부노화현상을 촉진시키게 되는데, 특히 자외선에 의해 표피 진피 경계부는 심하게 손상을 받는다. 특히 최근에는, 황사 또는 먼지가 많은 지역에 주거하는 사람들의 피부에서는 색소 침착과 팔자 주름 등이 늘어나는 것이 관찰된 바 있다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [4] 일 측면에서, 본 발명의 목적은, 미세먼지에 의한 피부 손상 여부를 진단할 수 있는 방법을 제공하는 것이다.
- [5] 일 측면에서, 본 발명의 목적은 미세먼지에 의한 피부 손상 여부를 진단하는데 사용할 수 있는 바이오 마커 및 이를 함유하는 조성물을 제공하는 것이다.
- [6] 일 측면에서, 본 발명의 목적은, 갈랑긴(galangin)을 유효성분으로 함유하는

조성물을 제공하는 것이다.

- [7] 다른 측면에서, 본 발명의 목적은, 피부 보습, 피부 장벽 기능 강화 또는 피부 각질형성세포 분화 유도 효과가 있는 조성물을 제공하는 것이다.
- [8] 다른 측면에서, 본 발명의 목적은, 피부 건조 또는 피부 장벽 기능 이상과 관련된 피부 질환을 예방 또는 개선하는 것이다.
- [9] 다른 측면에서, 본 발명의 목적은, 미세먼지에 의해 손상된 피부를 개선하는데 사용할 수 있는 조성물을 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

- [10] 일 측면에서 본 발명은, 은 S100A7(NM_002963), S100A8(NM_002964), S100A9(NM_002965), CYP1A1(NM_000499), CYP1B1(NM_000104), PI3(NM_002638), IL36G(NM_019618), IL1B(NM_000576), CCL27(NM_006664), IL8(NM_000584), PTGS2(NM_000963), NOX5(NM_001184779), XDH(NM_000379), CXCL14(NM_004887), SOD3(NM_003102), KRT1(NM_006121), H19(NR_002196), CASP14(NM_012114), KRT10(NM_000421), CASP8(NM_001080125), KRT15(NM_002275) 및 KRT13(NM_002274)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 이의 단백질의 발현 정도를 측정하는 제제를 포함하는, 미세먼지에 의한 피부 세포 또는 피부 장벽의 손상 여부 진단용 조성물을 제공한다.
- [11] 또한, 일 측면에서, 본 발명은 상기 조성물을 포함하는, 미세먼지에 의한 피부 세포 또는 피부 장벽의 손상 여부 진단용 키트를 제공한다.
- [12] 일 측면에서, 본 발명은 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물을 유효성분으로 포함하는 피부 보습용 조성물을 제공한다.
- [13] 다른 측면에서, 본 발명은 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물을 유효성분으로 포함하는 피부 장벽 기능 강화용 조성물을 제공한다.
- [14] 다른 측면에서, 본 발명은 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물을 유효성분으로 포함하는 피부 각질형성세포 분화 유도용 조성물을 제공한다.
- [15] 또한, 본 발명은 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물을 유효성분으로 포함하는 미세먼지에 의한 피부 손상 개선용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [16] 일 측면에 있어서, 미세먼지에 의한 피부 세포 손상 여부 진단용 바이오 마커와 이를 함유하는 조성물을 이용하면, 미세먼지에 의한 피부 세포의 손상 여부에 따라서 발현이 증가되거나 감소되는 유전자의 발현량을 확인함으로써 피부 세포의 손상 여부를 간편하면서 빠르게 진단할 수 있으며, 상기 유전자가

암호화하는 단백질의 작용이 억제 또는 증가하는지를 확인하여 미세먼지에 의한 피부 세포 손상 억제제를 용이하게 스크리닝할 수 있다.

- [17] 또한, 본 발명의 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물을 유효성분으로 함유하는 조성물은 필라그린 및 케라틴의 합성을 촉진하고, 피부 각질형성세포의 분화를 촉진하여 피부 보습 또는 피부 장벽 강화 효과가 있어 아토피, 건선 등의 피부 질환을 예방, 치료 또는 개선하는데 사용할 수 있다. 또한, 미세먼지로 인해 손상된 피부를 개선하는데 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [18] 도 1은 미세먼지 추출액의 처리에 의한 세포생존율을 나타낸 것이며, 여기에서 ADSP는 아시아 먼지 바람 입자(Asian dust storm particle)로서 황사를 나타내고, PM10(Particulate matter 10)은 입자크기가 $10\mu\text{m}$ 인 미세먼지를 나타내며, PM2.5(Particulate matter 2.5)는 입자크기가 $2.5\mu\text{m}$ 인 미세먼지를 나타낸다.
- [19] 도 2a 내지 도 2k는 미세먼지에 의해 자극된 피부 세포에서 발현량이 증가한 유전자들이 갈랑긴의 처리에 의해 발현량이 감소함을 보이는 도이다.
- [20] 도 3a 내지 도 3k는 미세먼지에 의해 자극된 피부 세포에서 발현량이 감소한 유전자들이 갈랑긴의 처리에 의해 발현량이 증가함을 나타내는 것이다.
- [21] 도 4a 내지 도 4e는 인간 정상 각질 피부세포에서의, 처리된 갈랑긴(galangin)의 농도에 따른 필라그린(Filaggrin), 케라틴 10(Keratin 10), 케라틴 1(Keratin 1), 케라틴 13(Keratin 13), 및 케라틴 15(Keratin 15)의 상대적 mRNA 발현량을 측정하는 것이다.
- [22] 도 5는, 처리된 갈랑긴의 농도에 따른 미세먼지 처리하지 않은 각질형성세포의 분화정도를 확인한 것이다.
- [23] 도 6은, 미세먼지 처리 하지 않은 인간 정상 각질 피부에서, 처리된 갈랑긴의 농도에 따른 필라그린 단백질의 합성 정도를 확인한 것이다.

발명의 실시를 위한 형태

- [24] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [25] 본 발명에서 사용되는 용어“미세먼지”는, 인간의 눈에 보이지 않는 아주 작은 물질로 대기 중에 오랫동안 떠다니거나 흩날리는 입자상의 물질로서, 입경 $10\mu\text{m}$ 이하의 물질을 의미할 수 있다. 특히 입경이 $2.5\mu\text{m}$ 이하인 입자상의 물질은 “초미세먼지”라 하는데, 본원발명에서 “미세먼지”는 “초미세먼지”도 포함하는 것으로 의도된다.
- [26] 본 발명은 특정 유전자 및 상기 유전자로부터 암호화되는 단백질로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 미세먼지에 의한 피부 세포 또는 피부 장벽의 손상 여부 진단용 바이오마커에 관한 것이다.
- [27] 상기 특정 유전자는 S100A7(NM_002963), S100A8(NM_002964), S100A9(NM_002965), CYP1A1(NM_000499), CYP1B1(NM_000104),

PI3(NM_002638), IL36G(NM_019618), IL1B(NM_000576), CCL27(NM_006664), IL8(NM_000584), PTGS2(NM_000963), NOX5(NM_001184779), XDH(NM_000379), CXCL14(NM_004887), SOD3(NM_003102), KRT1(NM_006121), H19(NR_002196), CASP14(NM_012114), KRT10(NM_000421), CASP8(NM_001080125), KRT15(NM_002275) 및 KRT13(NM_002274)으로 이루어지는 군에서 선택되는 하나 이상의 유전자일 수 있다.

- [28] 상기 유전자 중 1개 이상, 바람직하게는 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상, 5개 이상, 6개 이상, 7개 이상, 8개 이상, 9개 이상, 10개 이상, 11개 이상, 12개 이상, 13개 이상, 14개 이상, 15개 이상, 16개 이상, 17개 이상, 18개 이상, 19개 이상, 20개 이상, 21개 이상, 또는 22개 이상의 유전자, 또는 상기 유전자 전부가 미세먼지에 의한 피부 세포 또는 피부 장벽의 손상 여부 진단용 바이오마커로서 이용될 수 있다.
- [29] 본 발명은, 다른 측면에서, 상기 유전자들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 이의 단백질의 발현 정도를 측정하는 제제를 포함하는, 미세먼지에 의한 피부 세포 또는 피부 장벽의 손상 여부 진단용 조성물이다.
- [30] 본 발명은 일 측면에서, 미세먼지에 의한 피부 세포 또는 피부 장벽의 손상 여부 진단을 위한 조성물의 제조에 있어서, S100A7(NM_002963) 유전자, S100A8(NM_002964) 유전자, S100A9(NM_002965) 유전자, CYP1A1(NM_000499) 유전자, CYP1B1(NM_000104) 유전자, PI3(NM_002638) 유전자, IL36G(NM_019618) 유전자, IL1B(NM_000576) 유전자, CCL27(NM_006664) 유전자, IL8(NM_000584) 유전자, PTGS2(NM_000963) 유전자, NOX5(NM_001184779) 유전자, XDH(NM_000379) 유전자, CXCL14(NM_004887) 유전자, SOD3(NM_003102) 유전자, KRT1(NM_006121) 유전자, H19(NR_002196) 유전자, CASP14(NM_012114) 유전자, KRT10(NM_000421) 유전자, CASP8(NM_001080125) 유전자, KRT15(NM_002275) 유전자, 및 KRT13(NM_002274) 유전자로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자들로부터 암호화되는 단백질의 발현 정도를 측정하는 제제의 사용이다.
- [31] 본 발명은, 일 측면에서, 미세먼지에 의한 피부 세포 또는 피부 장벽의 손상 여부 진단을 위한, S100A7(NM_002963) 유전자, S100A8(NM_002964) 유전자, S100A9(NM_002965) 유전자, CYP1A1(NM_000499) 유전자, CYP1B1(NM_000104) 유전자, PI3(NM_002638) 유전자, IL36G(NM_019618) 유전자, IL1B(NM_000576) 유전자, CCL27(NM_006664) 유전자, IL8(NM_000584) 유전자, PTGS2(NM_000963) 유전자, NOX5(NM_001184779) 유전자, XDH(NM_000379) 유전자, CXCL14(NM_004887) 유전자, SOD3(NM_003102) 유전자, KRT1(NM_006121) 유전자, H19(NR_002196) 유전자,

CASP14(NM_012114) 유전자, KRT10(NM_000421) 유전자, CASP8(NM_001080125) 유전자, KRT15(NM_002275) 유전자, 및 KRT13(NM_002274) 유전자로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자들로부터 암호화되는 단백질의 발현 정도를 측정하는 제제의 용도이다.

- [32] 본 발명은 일 측면에서, S100A7(NM_002963) 유전자, S100A8(NM_002964) 유전자, S100A9(NM_002965) 유전자, CYP1A1(NM_000499) 유전자, CYP1B1(NM_000104) 유전자, PI3(NM_002638) 유전자, IL36G(NM_019618) 유전자, IL1B(NM_000576) 유전자, CCL27(NM_006664) 유전자, IL8(NM_000584) 유전자, PTGS2(NM_000963) 유전자, NOX5(NM_001184779) 유전자, XDH(NM_000379) 유전자, CXCL14(NM_004887) 유전자, SOD3(NM_003102) 유전자, KRT1(NM_006121) 유전자, H19(NR_002196) 유전자, CASP14(NM_012114) 유전자, KRT10(NM_000421) 유전자, CASP8(NM_001080125) 유전자, KRT15(NM_002275) 유전자, 및 KRT13(NM_002274) 유전자로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자들로부터 암호화되는 단백질의 발현 정도를 측정하는 제제를 이용한, 미세먼지에 의한 피부 세포 또는 피부 장벽의 손상 여부 진단 방법이다.

- [33] 상기 제제는 유전자의 mRNA에 상보적인 폴리뉴클레오티드 또는 이의 단편, 상기 유전자를 증폭시킬 수 있는 프라이머 또는 프로브, 또는 상기 단백질을 특이적으로 인식하는 항체, 예를 들어 모노클로날 항체 또는 폴리클로날 항체일 수 있다.

- [34] 일 측면에서, 본 발명은, 상기 미세먼지에 의한 피부 세포 또는 피부 장벽의 손상 여부 진단용 조성물을 포함하는 키트이다. 본 발명에 따른 키트를 사용함으로써, 미세먼지에 의한 피부 세포 또는 피부 장벽의 손상 여부를 빠르고 간편하게 진단할 수 있다.

- [35] 일 구현예에서, 상기 키트를 이용하여, 1) 피험자의 피부세포로부터 측정된, CXCL14(NM_004887) 유전자, SOD3(NM_003102) 유전자, KRT1(NM_006121) 유전자, H19(NR_002196) 유전자, CASP14(NM_012114) 유전자, KRT10(NM_000421) 유전자, CASP8(NM_001080125) 유전자, KRT15(NM_002275) 유전자, KRT13(NM_002274) 유전자, 및 필라그린(Filaggrin) 유전자로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 이들로부터 암호화되는 단백질의 발현정도가 미세먼지에 의해 손상되지 않은 피부 세포 시료 내에서 보다 낮거나, 2) 피험자의 피부세포로부터 측정된, S100A7(NM_002963) 유전자, S100A8(NM_002964) 유전자, S100A9(NM_002965) 유전자, CYP1A1(NM_000499) 유전자, CYP1B1(NM_000104) 유전자, PI3(NM_002638) 유전자, IL36G(NM_019618) 유전자, IL1B(NM_000576) 유전자, CCL27(NM_006664) 유전자, IL8(NM_000584) 유전자, PTGS2(NM_000963)

유전자, NOX5(NM_001184779) 유전자 및 XDH(NM_000379) 유전자로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 이들로부터 암호화되는 단백질의 발현정도가 미세먼지에 의해 손상되지 않은 피부 세포 시료 내에서 보다 높은 경우, 미세먼지에 의해 피부가 손상된 것으로 판단할 수 있다.

[36] 일 구현예에서, 상기 키트는 S100A7, S100A8, S100A9, CYP1A1, CYP1B1, PI3, IL36G, IL1B, CCL27, IL8, PTGS2, NOX5, XDH, CXCL14, SOD3, KRT1, H19, CASP14, KRT10, CASP8, KRT15 및 KRT13으로 이루어진 군에서 선택되는 1개 이상, 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상, 5개 이상, 6개 이상, 7개 이상, 8개 이상, 9개 이상, 10개 이상, 11개 이상, 12개 이상, 13개 이상, 14개 이상, 15개 이상, 16개 이상, 17개 이상, 18개 이상, 19개 이상, 20개 이상, 21개 이상, 또는 22개 이상의 유전자 또는 이들 유전자 전부에 의하여 암호화되는 단백질을 특이적으로 인식하는 항체를 하나 이상 포함할 수 있고, 진단 대상 피부 세포에서 상기 항체에 결합된 항원의 양을 측정하여, 미세 먼지에 의한 피부의 손상 여부를 판단할 수 있다.

[37] 일 측면에서, 본 발명은, 미세먼지에 의한 피부 세포 또는 피부 장벽의 손상 여부를 진단하는 방법이다. 구체적으로 상기 방법은, a) 피험자의 피부 세포 시료로부터, S100A7(NM_002963) 유전자, S100A8(NM_002964) 유전자, S100A9(NM_002965) 유전자, CYP1A1(NM_000499) 유전자, CYP1B1(NM_000104) 유전자, PI3(NM_002638) 유전자, IL36G(NM_019618) 유전자, IL1B(NM_000576) 유전자, CCL27(NM_006664) 유전자, IL8(NM_000584) 유전자, PTGS2(NM_000963) 유전자, NOX5(NM_001184779) 유전자, XDH(NM_000379) 유전자, CXCL14(NM_004887) 유전자, SOD3(NM_003102) 유전자, KRT1(NM_006121) 유전자, H19(NR_002196) 유전자, CASP14(NM_012114) 유전자, KRT10(NM_000421) 유전자, CASP8(NM_001080125) 유전자, KRT15(NM_002275) 유전자 및 KRT13(NM_002274) 유전자로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 이로부터 암호화되는 단백질의 발현 정도를 측정하는 단계; 및 b) 상기 발현 정도를, 미세먼지에 의해 손상되지 않은 피부 세포 시료 내에서의 상기 유전자의 mRNA 또는 이로부터 암호화되는 단백질의 발현 정도와 비교하는 단계를 포함할 수 있다.

[38] 상기와 같은 측면에서, 상기 방법은, 1) 피험자의 피부세포로부터 측정된, CXCL14(NM_004887) 유전자, SOD3(NM_003102) 유전자, KRT1(NM_006121) 유전자, H19(NR_002196) 유전자, CASP14(NM_012114) 유전자, KRT10(NM_000421) 유전자, CASP8(NM_001080125) 유전자, KRT15(NM_002275) 유전자, KRT13(NM_002274) 유전자, 및 필라그린(Filaggrin) 유전자로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 이들로부터 암호화되는 단백질의 발현정도가 미세먼지에 의해 손상되지 않은 피부 세포 시료 내에서 보다 낮거나, 2) 피험자의 피부세포로부터 측정된,

S100A7(NM_002963) 유전자, S100A8(NM_002964) 유전자, S100A9(NM_002965) 유전자, CYP1A1(NM_000499) 유전자, CYP1B1(NM_000104) 유전자, PI3(NM_002638) 유전자, IL36G(NM_019618) 유전자, IL1B(NM_000576) 유전자, CCL27(NM_006664) 유전자, IL8(NM_000584) 유전자, PTGS2(NM_000963) 유전자, NOX5(NM_001184779) 유전자 및 XDH(NM_000379) 유전자로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 이들로부터 암호화되는 단백질의 발현정도가 미세먼지에 의해 손상되지 않은 피부 세포 시료 내에서 보다 낮은 경우, 미세먼지에 의해 피부 세포 또는 피부 장벽이 손상된 것으로 판정하는 단계를 더 포함할 수 있다.

- [39] 상기와 같은 측면에서, 상기 유전자의 mRNA 또는 단백질의 발현 정도를 측정하는 방법은 마이크로어레이, PCR, NGS(Nest Generation Sequencing; 차세대 염기서열분석), 웨스턴 블롯, 노던 블롯, ELISA, 방사선 면역 분석, 방사 면역 확산법, 조직면역 염색 및 면역침전 분석법으로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.
- [40] 본 발명에서 사용되는 유전자 발현량 등의 “정상 수준”이라 함은, 미세먼지에 의해 자극받지 않은 정상적인 피부 세포에서의 유전자 발현량을 의미하는 것이다. 본 발명에서는 진단 대상 피부 세포에서 상기 유전자들 중 하나 이상의 mRNA 또는 이의 단백질의 양을 측정하고, 그 측정값을 미세먼지에 의해 자극받지 않은 정상적인 피부 세포에서의 발현량과 비교함으로써, 피부 세포의 손상 여부를 평가하게 된다.
- [41] 본 발명에서 사용되는 용어 “많거나 적음”은 기준이 되는 양과 비교하여 차이가 있음을 의미하는 것으로서, 그 양이 기준이 되는 양에 비하여 1.5배 이상, 2배 이상, 바람직하게는 2.2배 이상 증가 또는 감소되어 양에 차이가 생긴 경우를 나타낸다.
- [42] 본 발명에서 사용되는, 미세먼지에 의해 발현량이 증감되는 유전자는 하기 표 1 및 2에 제시되어 있다. 표 1은 미세먼지에 의해 발현량이 증가되는 유전자를 나타내는 것이고, 표 2는 미세먼지에 의해 발현량이 감소되는 유전자를 나타내는 것이며, 이들 표에서 Name은 NCBI의 genebank accession ID를 의미하는 것이고, Gene Symbol은 공식 유전자 심볼을 의미하며, Gene title은 각 유전자의 이름을 의미한다.

[43] [표1]

증가유전자		
Name	GeneSymbol	Gene title
NM_002963	S100A7	S100 calcium binding protein A7
NM_002964	S100A8	S100 calcium binding protein A8
NM_002965	S100A9	S100 calcium binding protein A9
NM_000499	CYP1A1	cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1
NM_000104	CYP1B1	cytochrome P450, family 1, subfamily B, polypeptide 1
NM_002638	PI3	peptidase inhibitor 3, skin-derived
NM_019618	IL36G	interleukin 36, gamma
NM_000576	IL1B	interleukin 1, beta
NM_006664	CCL27	chemokine (C-C motif) ligand 27
NM_000584	IL8	interleukin 8
NM_000963	PTGS2	Cyclooxygenase-2 (COX-2)
NM_001184779	NOX5	NADPH oxidase, EF-hand calcium binding domain 5
NM_000379	XDH	xanthine dehydrogenase

[44] [표2]

감소유전자		
Name	GeneSymbol	Gene title
NM_004887	CXCL14	chemokine (C-X-C motif) ligand 14
NM_003102	SOD3	superoxide dismutase 3, extracellular
NM_006121	KRT1	keratin 1
NR_002196	H19	H19, imprinted maternally expressed transcript
NM_012114	CASP14	caspase 14, apoptosis-related cysteine peptidase
NM_000421	KRT10	keratin 10
NM_001080125	CASP8	caspase 8, apoptosis-related cysteine peptidase
NM_002275	KRT15	keratin 15
NM_002274	KRT13	keratin 13

[45]

[46] 본 발명의 키트에서 프로브로 사용되는 폴리뉴클레오티드는 미세먼지에 의한 자극에 의해 발현량이 증가하거나 감소하는 마커 유전자의 전장(full length) 또는 이의 단편을 포함한다. 단편의 길이는 10개 이상의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 것이 바람직한데, 이는 프로브의 길이가 10bps 이하이면 비특이적으로 결합되기 때문이다.

[47] 본 발명의 키트에서 프라이머로 사용되는 폴리뉴클레오티드는 그 길이가 크게 제한되지는 않지만, 바람직하게는 18~22개인 프라이머를 사용하는 것이 유리하다.

[48] 본 발명의 키트에 포함되는, 마커 유전자에 의하여 암호화되는 폴리펩티드에 대한 모노클로날 항체는 일반적인 모노클로날 항체 제조방법으로 제조될 수 있다.

[49] 또한, 본 발명은 미세먼지에 의해 손상된 피부 세포에서 특정 유전자의 발현량을 정상 수준으로 조절함으로써, 미세먼지에 의한 피부 세포의 손상을 억제 또는 개선하는 조성물을 제공한다.

[50] 본 발명에서 미세먼지에 의해 발현량이 영향을 받는 피부 세포 내 유전자로는 S100A7, S100A8, S100A9, CYP1A1, CYP1B1, PI3, IL36G, IL1B, CCL27, IL8, PTGS2, NOX5, XDH, CXCL14, SOD3, KRT1, H19, CASP14, KRT10, CASP8, KRT15, KRT13 등을 포함한다. S100A7, S100A8, S100A9, CYP1A1, CYP1B1, PI3, IL36G, IL1B, CCL27, IL8, PTGS2, NOX5 및 XDH는 미세먼지에 의해 발현량이

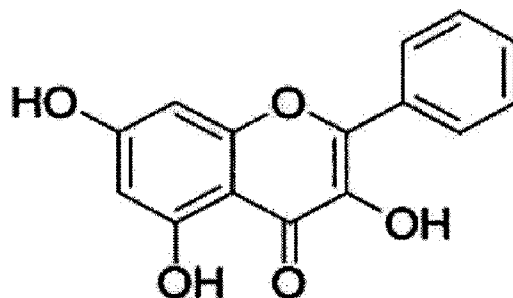
증가하는 유전자이므로, 이들 유전자의 발현량을 정상 수준으로 감소시킴으로써 피부 세포의 손상을 억제한다. 또한, CXCL14, SOD3, KRT1, H19, CASP14, KRT10, CASP8, KRT15 및 KRT13는 발현량이 감소하는 유전자이므로, 이들 유전자의 발현량을 정상 수준으로 증가시킴으로써 피부 세포의 손상을 억제한다.

- [51] 일 측면에서, 본 발명은, 피부세포에 미세먼지를 처리하는 단계; 미세먼지를 처리한 피부세포에 시험 물질을 처리하는 단계; 및 상기 시험 물질을 처리한 피부세포에서, 시험 물질 처리 전후의 S100A7(NM_002963) 유전자, S100A8(NM_002964) 유전자, S100A9(NM_002965) 유전자, CYP1A1(NM_000499) 유전자, CYP1B1(NM_000104) 유전자, PI3(NM_002638) 유전자, IL36G(NM_019618) 유전자, IL1B(NM_000576) 유전자, CCL27(NM_006664) 유전자, IL8(NM_000584) 유전자, PTGS2(NM_000963) 유전자, NOX5(NM_001184779) 유전자, XDH(NM_000379) 유전자, CXCL14(NM_004887) 유전자, SOD3(NM_003102) 유전자, KRT1(NM_006121) 유전자, H19(NR_002196) 유전자, CASP14(NM_012114) 유전자, KRT10(NM_000421) 유전자, CASP8(NM_001080125) 유전자, KRT15(NM_002275) 유전자, 및 KRT13(NM_002274) 유전자로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자들로부터 암호화되는 단백질로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 발현 정도를 확인하는 단계를 포함하는, 미세먼지에 의한 피부 손상 개선 물질 스크리닝 방법이다.
- [52] 상기와 같은 측면에서, 상기 방법은, 시험물질 처리 전에 비하여 시험물질 처리 후에 1) CXCL14(NM_004887) 유전자, SOD3(NM_003102) 유전자, KRT1(NM_006121) 유전자, H19(NR_002196) 유전자, CASP14(NM_012114) 유전자, KRT10(NM_000421) 유전자, CASP8(NM_001080125) 유전자, KRT15(NM_002275) 유전자, KRT13(NM_002274) 유전자, 및 펠라그린(Filaggrin) 유전자로 이루어지는 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자들로부터 암호화되는 단백질로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 발현정도가 증가하거나, 2) S100A7(NM_002963) 유전자, S100A8(NM_002964) 유전자, S100A9(NM_002965) 유전자, CYP1A1(NM_000499) 유전자, CYP1B1(NM_000104) 유전자, PI3(NM_002638) 유전자, IL36G(NM_019618) 유전자, IL1B(NM_000576) 유전자, CCL27(NM_006664) 유전자, IL8(NM_000584) 유전자, PTGS2(NM_000963) 유전자, NOX5(NM_001184779) 유전자, 및 XDH(NM_000379) 유전자로 이루어지는 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자들로부터 암호화되는 단백질로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 발현정도가 감소하는 경우, 미세먼지에 의한 피부 손상 개선 물질로 판단하는 단계를 더 포함할 수 있다.

- [53] 일 구현예에서, 상기 피부세포는, 각질형성세포일 수 있다.
- [54] 상기한 바와 같은 방법에 의해 스크리닝된, 미세먼지에 의한 피부 세포 또는 피부 장벽의 손상을 억제 또는 개선하는 물질로는 이에 한정되는 것은 아니지만, 갈랑긴(galangin)을 포함한다.
- [55] 본 발명은 일 관점에서, 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물을 유효성분으로 포함하는 피부 보습용 조성물이다.
- [56] 본 발명은, 일 측면에서, 필요로 하는 대상에게 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물을 투여하는 단계를 포함하는, 피부 보습 방법이다.
- [57] 또한, 일 측면에서, 본 발명은, 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물의 피부 보습에 있어서의 용도이다.
- [58] 또한, 일 측면에서, 본 발명은, 피부 보습용 조성물을 제조하는데 있어서의 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물의 사용이다.
- [59] 본 명세서에서, “갈랑긴(Galangin)”은, 플라보노이드(flavonoid)의 일종인, 황색 바늘 모양의 결정이다. 화학식은 $C_{15}H_{10}O_5$ 이고, 분자량은 270이며, 녹는점은 $214\sim 215^{\circ}C$ 이다. 프로폴리스(Propolis), *Helichrysum aureonitens*, 양강(*Alpinia officinarum*), 가랑갈(galangal) 뿌리 등에서 얻을 수 있다. 갈랑긴은 항미생물, 항바이러스, 유방암 세포의 성장 저해 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 갈랑긴의 구조는 하기 화학식 1과 같다.

[60] [화학식 1]

[61]



- [62] 또한, 상기 갈랑긴은, 트리아세틸 갈랑긴($C_{15}H_7O_2(OCOCH_3)_3$) 또는 트리메틸 갈랑긴($C_{15}H_7O_2(OCH_3)_3$)와 같은 유도체를 가질 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [63] 본 명세서에서 "이성질체"는 특히 광학 이성질체(optical isomers)(예를 들면, 본래 순수한 거울상 이성질체(essentially pure enantiomers), 본래 순수한 부분 입체 이성질체(essentially pure diastereomers) 또는 이들의 혼합물)뿐만 아니라, 형태 이성질체(conformation isomers)(즉, 하나 이상의 화학 결합의 그 각도만

다른 이성질체), 위치 이성질체(position isomers)(특히, 호변이성체(tautomers)) 또는 기하 이성질체(geometric isomers)(예컨대, 시스-트랜스 이성질체)를 포함한다.

- [64] 본 명세서에서 "본래 순수(essentially pure)"란, 예컨대 거울상 이성질체 또는 부분 이성질체와 관련하여 사용한 경우, 거울상 이성질체 또는 부분 이성질체를 예로 들 수 있는 구체적인 화합물이 약 90% 이상, 구체적으로 약 95% 이상, 더 구체적으로 약 97% 이상 또는 약 98% 이상, 보다 더 구체적으로 약 99% 이상, 보다 더욱 더 구체적으로 약 99.5% 이상(w/w) 존재하는 것을 의미한다.
- [65] 본 명세서에서 "약학적으로 허용 가능"이란 통상의 의약적 복용량(medicinal dosage)으로 이용할 때 상당한 독성 효과를 피함으로써, 동물, 더 구체적으로는 인간에게 사용할 수 있다는 정부 또는 이에 준하는 규제 기구의 승인을 받을 수 있거나 승인 받거나, 또는 약전에 열거되거나 기타 일반적인 약전으로 인지되는 것을 의미한다.
- [66] 본 명세서에서 "약학적으로 허용 가능한 염"은 약학적으로 허용 가능하고 모 화합물(parent compound)의 바람직한 약리 활성을 갖는 본 발명의 일측면에 따른 염을 의미한다. 상기 염은 (1) 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산 등과 같은 무기산으로 형성되거나; 또는 아세트산, 프로파이온산, 헥사노산, 사이클로펜테인프로피온산, 글라이콜산, 피루브산, 락트산, 말론산, 숙신산, 말산, 말레산, 푸마르산, 타르타르산, 시트르산, 벤조산, 3-(4-하이드록시벤조일)벤조산, 신남산, 만델산, 메테인설폰산, 에테인설폰산, 1,2-에테인-디설폰산, 2-하이드록시에테인설폰산, 벤젠설폰산, 4-클로로벤젠설폰산, 2-나프탈렌설폰산, 4-톨루엔설폰산, 캄퍼설폰산, 4-메틸바이사이클로 [2,2,2]-oct-2-엔-1-카르복실산, 글루코헵톤산, 3-페닐프로파이온산, 트리메틸아세트산, tert-부틸아세트산, 라우릴 황산, 글루콘산, 글루탐산, 하이드록시나프토산, 살리실산, 스테아르산, 류콘산과 같은 유기산으로 형성되는 산 부가염(acid addition salt); 또는 (2) 모 화합물에 존재하는 산성 프로톤이 치환될 때 형성되는 염을 포함할 수 있다.
- [67] 본 명세서에서 "프로드럭(prodrug)"은 어떤 약물을 화학적으로 변화시켜 물리적, 화학적 성질을 조절한 약물을 의미하며, 그 자체는 생리 활성을 나타내지 않지만 투여 후 체내에서 화학적 혹은 효소의 작용에 의해 원래의 약물로 바뀌어 약효를 발휘할 수 있다.
- [68] 본 명세서에서 "수화물(hydrate)"은 물이 결합되어 있는 화합물을 의미하며, 물과 화합물 사이에 화학적인 결합력이 없는 내포 화합물을 포함하는 광범위한 개념이다.
- [69] 본 명세서에서 "용매화물"은 용질의 분자나 이온과 용매의 분자나 이온 사이에 생긴 고차의 화합물을 의미한다.
- [70] 본 발명은 다른 관점에서, 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물을 유효성분으로 포함하는

피부 장벽기능 강화용 조성물이다.

- [71] 본 발명은, 일 측면에서, 필요로 하는 대상에게 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물을 투여하는 단계를 포함하는, 피부 장벽기능 강화 방법이다.
- [72] 또한, 일 측면에서, 본 발명은, 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물의 피부 장벽기능 강화에 있어서의 용도이다.
- [73] 또한, 일 측면에서, 본 발명은, 피부 장벽기능 강화용 조성물을 제조하는데 있어서의 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물의 사용이다.
- [74] 또한, 본 발명은 다른 관점에서, 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물을 유효성분으로 포함하는 피부 각질형성 세포 분화 유도용 조성물이다.
- [75] 본 발명은, 일 측면에서, 필요로 하는 대상에게 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물을 투여하는 단계를 포함하는, 피부 각질형성 세포 분화 방법이다.
- [76] 또한, 일 측면에서, 본 발명은, 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물의 피부 각질형성 세포 분화 유도에 있어서의 용도이다.
- [77] 또한, 일 측면에서, 본 발명은, 피부 각질형성 세포 분화 유도용 조성물을 제조하는데 있어서의 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물의 사용이다.
- [78] 본 발명은 일 관점에서, 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물을 유효성분으로 포함하는 미세먼지에 의한 피부 손상 개선용 조성물이다.
- [79] 본 명세서에서 피부 손상이란, 피부 기능의 저하 또는 약화를 포함하는 광의의 개념이다. 예컨대, 피부 장벽 기능의 저하, 피부 보습력의 저하 또는 피부 탄력의 저하 등을 포함할 수 있다.
- [80] 본 발명은, 일 측면에서, 필요로 하는 대상에게 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물을 투여하는 단계를 포함하는, 미세먼지에 의해 손상된 피부 상태의 개선 방법이다.
- [81] 또한, 일 측면에서, 본 발명은, 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물의 미세먼지에 의한 피부 손상 개선에 있어서의 용도이다.
- [82] 또한, 일 측면에서, 본 발명은, 미세먼지에 의한 피부 손상 개선용 조성물을 제조하는데 있어서의 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물의 사용이다.
- [83]

- [84] 본 발명의 일 관점인, 조성물에 있어서, 조성물은, 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물을, 조성물 총 중량을 기준으로 0.000001 내지 30중량%로 포함할 수 있다. 그 함량이 0.000001 내지 30중량%인 경우, 상기 성분에 의한 피부 보습 효과, 피부 장벽기능 강화 효과, 및 피부 각질형성세포 분화 유도 효과 등이 우수하였다.
- [85] 구체적으로, 0.0000001 중량% 이상, 0.0000005 중량% 이상, 0.0000007 중량% 이상, 0.0000009 중량% 이상, 0.000001 중량% 이상, 0.000002 중량% 이상, 0.000004 중량% 이상, 0.000006 중량% 이상, 0.000008 중량% 이상, 0.00001 중량% 이상, 0.00003 중량% 이상, 0.00005 중량% 이상, 0.00007 중량% 이상, 0.00009 중량% 이상, 0.0001 중량% 이상, 0.0003 중량% 이상, 0.0005 중량% 이상, 0.0007 중량% 이상, 0.0009 중량% 이상, 0.001 중량% 이상, 0.01 중량% 이상, 0.1 중량% 이상, 1 중량% 이상, 3 중량% 이상, 5 중량% 이상, 7 중량% 이상, 9 중량% 이상, 10 중량% 이상, 13 중량% 이상, 15 중량% 이상, 17 중량% 이상, 19 중량% 이상, 21 중량% 이상, 23 중량% 이상, 25 중량% 이상, 27 중량% 이상, 29 중량% 이상, 30 중량% 이상, 31 중량% 이상일 수 있고, 32 중량% 이하, 31 중량% 이하, 30 중량% 이하, 29 중량% 이하, 28 중량% 이하, 26 중량% 이하, 24 중량% 이하, 22 중량% 이하, 20 중량% 이하, 18 중량% 이하, 16 중량% 이하, 14 중량% 이하, 12 중량% 이하, 10 중량% 이하, 9 중량% 이하, 8 중량% 이하, 6 중량% 이하, 4 중량% 이하, 2 중량% 이하, 1 중량% 이하, 0.1 중량% 이하, 0.09 중량% 이하, 0.04 중량% 이하, 0.01 중량% 이하, 0.006 중량% 이하, 0.001 중량% 이하, 0.0009 중량% 이하, 0.0007 중량% 이하, 0.0005 중량% 이하, 0.0003 중량% 이하, 0.0001 중량% 이하, 0.00009 중량% 이하, 0.00007 중량% 이하, 0.00005 중량% 이하, 0.00003 중량% 이하, 0.00001 중량% 이하, 0.000009 중량% 이하, 0.000007 중량% 이하, 0.000005 중량% 이하, 0.000003 중량% 이하, 0.000001 중량% 이하, 0.0000009 중량% 이하, 0.0000007 중량% 이하, 0.0000005 중량% 이하, 0.0000003 중량% 이하, 0.0000002 중량% 이하, 0.0000001 중량% 이하, 0.00000009 중량% 이하일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [86] 상기와 같은 관점에서, 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물의 농도는, 총 조성물 부피에 대하여, 0.1 내지 5 μ M 일 수 있다. 구체적으로, 0.1 μ M 이상, 0.2 μ M 이상, 0.3 μ M 이상, 0.4 μ M 이상, 0.45 μ M 이상, 0.47 μ M 이상, 0.49 μ M 이상, 0.5 μ M 이상, 0.51 μ M 이상, 0.53 μ M 이상, 0.55 μ M 이상, 0.6 μ M 이상, 0.7 μ M 이상, 0.8 μ M 이상, 0.9 μ M 이상, 1.0 μ M 이상, 1.1 μ M 이상, 1.2 μ M 이상, 1.3 μ M 이상, 1.5 μ M 이상, 1.7 μ M 이상, 1.9 μ M 이상, 2.0 μ M 이상, 2.1 μ M 이상, 2.3 μ M 이상, 2.5 μ M 이상, 2.7 μ M 이상, 2.9 μ M 이상, 3.0 μ M 이상, 4.0 μ M 이상, 4.5 μ M 이상, 5.0 μ M 이상, 5.1 μ M 이상일 수 있고, 5.1 μ M 이하, 4.6 μ M 이하, 4.1 μ M 이하, 3.6 μ M 이하, 3.1 μ M 이하, 2.6 μ M 이하, 2.3 μ M 이하, 2.2 μ M 이하, 2.1 μ M 이하, 2.0 μ M 이하, 1.9 μ M 이하, 1.8 μ M 이하, 1.6 μ M 이하, 1.4 μ M 이하, 1.2 μ M 이하, 1.1 μ M 이하, 1.0 μ M 이하, 0.9 μ M 이하, 0.8 μ M 이하, 0.6 μ M 이하, 0.5 μ M 이하, 0.4 μ M 이하, 0.3 μ M 이하 또는 0.2 μ M

이하일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 한편, 상기 농도가 0.2 μM 이상일 경우, 조성물의 효과가 더욱 우수할 수 있다.

- [87] 상기와 같은 관점에서, 조성물은, CXCL14(NM_004887) 유전자, SOD3(NM_003102) 유전자, KRT1(NM_006121) 유전자, H19(NR_002196) 유전자, CASP14(NM_012114) 유전자, KRT10(NM_000421) 유전자, CASP8(NM_001080125) 유전자, KRT15(NM_002275) 유전자, KRT13(NM_002274) 유전자 및 필라그린(Filaggrin) 유전자, 로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 발현을 촉진할 수 있다. 또한, 상기 조성물은, 필라그린 단백질 또는 케라틴 단백질의 합성을 촉진할 수 있다.
- [88] 또한, 상기 조성물은, S100A7(NM_002963) 유전자, S100A8(NM_002964) 유전자, S100A9(NM_002965) 유전자, CYP1A1(NM_000499) 유전자, CYP1B1(NM_000104) 유전자, PI3(NM_002638) 유전자, IL36G(NM_019618) 유전자, IL1B(NM_000576) 유전자, CCL27(NM_006664) 유전자, IL8(NM_000584) 유전자, PTGS2(NM_000963) 유전자, NOX5(NM_001184779) 유전자 및 XDH(NM_000379) 유전자로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 발현을 감소시킬 수 있다.
- [89] 따라서, 본 발명의 일 관점인 조성물은, 아토피피부염, 건선, 건조피부염 등의 예방, 개선 또는 치료에 우수한 효과를 보인다.
- [90] 본 발명의 일 관점인, 상기 조성물은, 화장품 조성물일 수 있고, 약학적 조성물일 수 있으며, 건강기능식품 조성물일 수 있다.
- [91] 화장품 조성물은, 에센스, 각종 크림, 로션, 각종 크림, 로션, 스킨 등과 같은 화장품 류와 클렌징, 세안제, 비누, 미용액 등이 있다.
- [92] 본 발명의 상기 갈랑긴을 함유하는 조성물이 첨가된 화장품은 용액, 유화물, 점성형 혼합물 등의 형상을 취할 수 있다.
- [93] 즉, 본 발명의 화장품은 그 제형에 있어서 특별히 한정되지 않으며, 예를 들어 유액, 크림, 화장수, 에센스, 팩, 젤, 파우더, 메이크업 베이스, 파운데이션, 로션, 연고, 패취, 미용액, 클렌징폼, 클렌징크림, 클렌징워터, 바디로션, 바디크림, 바디오일, 바디에센스, 샴푸, 린스, 바디세정제, 비누, 염모제, 분무제 등과 같은 제형을 들 수 있다.
- [94] 각 제형의 화장품 조성물에 있어서, 상기의 갈랑긴 이외에 다른 성분들은 기타 화장품의 제형 또는 사용 목적에 따라 당업자가 어려움 없이 적의선정하여 배합할 수 있다.
- [95] 상기한 제제는 피부 보습 효과, 피부 장벽기능 강화 효과, 및 피부 각질형성세포 분화 유도 효과를 증가시키기 위하여 피부 흡수 촉진 물질을 함유할 수 있다.
- [96] 또한, 본 발명의 화장품은 수용성 비타민, 유용성 비타민, 고분자 펩티드, 고분자 다당, 스펅지 지질 및 해초 엑기스로 이루어진 군에서 선택된 조성물을 포함할 수 있다.
- [97] 본 발명의 화장품에는 상기 필수 성분과 더불어 필요에 따라 통상 화장품에

배합되는 다른 성분을 배합해도 된다.

- [98] 이외에 첨가해도 되는 배합 성분으로서는 유지 성분, 보습제, 에몰리엔트제, 계면 활성제, 유기 및 무기 안료, 유기 분체, 자외선 흡수제, 방부제, 살균제, 산화 방지제, 식물 추출물, pH 조정제, 알콜, 색소, 향료, 혈행 촉진제, 냉감제, 제한(制汗)제, 정제수 등을 들 수 있다.
- [99] 또한, 이외에 첨가해도 되는 배합 성분은 이에 한정되는 것은 아니며, 또, 상기 어느 성분도 본 발명의 목적 및 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 배합 가능하다.
- [100] 본 발명의 갈랑긴을 포함하는 약학 조성물은 약학조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.
- [101] 그 제형으로는 본 발명에 따른 갈랑긴을 포함하는 약학 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 연고, 겔, 크림, 패취 또는 분무제 등의 외용제 등을 비롯하여 약제학적 제제에 적합한 어떠한 형태로든 제형화하여 사용할 수 있다.
- [102] 상기 제제의 투여량은 대상자의 연령, 성별, 체중, 증상, 투여 방법에 의해 상이하나, 1일당 1.0 내지 3.0 ml로 이를 1일 1 내지 5회 도포하여 1개월 이상 계속하는 것이 좋다.
- [103] 또한, 건강식품은, 일상 식사에서 결핍되기 쉬운 영양소나 인체에 유용한 기능을 가진 원료나 성분(기능성원료)을 사용하여 제조한 것으로, 인체의 정상적인 기능을 유지하거나 생리기능 활성화를 통하여 건강을 유지하고 개선하는 식품을 의미할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 건강식품은 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조, 가공될 수 있으나, 이에 한정되지 않으며 법률에 따라 어떤 형태로든지 제조, 가공될 수 있다.
- [104] 본 발명의 일 측면에서 건강 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 화합물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드 폴리사카라이드, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제 (타우마틴, 스테비아 추출물 (예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진등) 및 합성 향미제 (사카린, 아스파르탐 등)를 사용할 수 있다.
- [105] 일반적으로 건강식품 조성물에 의해 투여되는 유효성분량은 0.0001mg/kg/일 내지 대략 1000mg/kg/일의 범위일 수 있다. 더 바람직한 투여량은 0.02mg/kg/일 내지 6mg/kg/일 수 있다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다.
- [106] 이하, 하기의 실시예를 통하여 본 발명을 보다 구체적으로 설명한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명에 대한 이해를 돕기 위해 예시의 목적으로만 제공된 것일 뿐, 본 발명의 범주 및 범위가 이에 한정되지 않는다.
- [107]

- [108] [실시예 1] 미세먼지 포집 및 추출
- [109] 미세먼지의 포집은 로우 볼륨 에어 샘플러(Sensidyne, Gillian, Low Volume Air Sampler, FL, U.S.A.)를 이용하였고, Filter pack은 매 측정일 오전 10시 전후에 필터와 디누더를 교체하여 약 24시간 동안 시료를 채취하였다. 2014년 2월 1일부터 2014년 2월 28일까지 서울의 풍하지역(경기도 용인시 처인구 소재, 한국외국어대학교 외국학 종합연구센터 생활관 6층 옥상)에서 매일 미세먼지를 포집하였으며, 측정시간은 진공펌프를 켜면서 타이머를 작동시키고 진공펌프를 끌 때 타이머의 시간을 기록하였다. 채취 유량은 16.7L/min으로 하여 측정 시작시 유량계(Model 4143, TSI Inc.)로 유량을 측정하고 측정이 끝날 때 다시 유량을 측정하였다. filter pack에 들어가는 Teflon 필터는 시료 채취 전과 후에 무게를 측정하였다. Teflon 필터의 무게를 측정하기 전 24 시간 동안 상대습도 40%의 데시케이터(NIKKO, Japan)에 항량시킨 후 소수점 5자리가 표시되는 전자저울(DVG215CD, Ohaus)에 무게를 두 번 측정하여 평균값을 기록하였다. 시료를 채취한 후에도 무게를 측정하기 전에 데시케이터에서 24시간 항량시킨 후 무게를 두 번 측정하여 채취 전에 측정한 무게와 비교하여 질량농도를 산출하였다. 미세먼지의 추출은 Teflon 필터를 1mL의 에탄올에 적신 후 14mL의 DW를 넣어 필터의 에어로졸 포집면이 수면에 닿도록 한 상태에서 뚜껑을 닫은 후 초음파 세척기로 30분간 초음파를 주어 실행하였다. 여과단계에서 수분에 의한 오차를 최소화하기 위하여 건조기(decicator)에서 48시간 동안 필터의 수분을 완전히 제거한 후, 0.1mg까지 측정할 수 있는 초정밀저울계(Mettler Toledo Company)를 이용하여 필터의 무게를 칭량하여 필터의 추출 전, 후 무게를 칭량하였다.
- [110]
- [111] [실시예 2] 인간정상각질피부 세포의 배양
- [112] 인간정상각질피부세포(Human epidermal neonatal keratinocyte cells)는 론자사(Lonza, Inc. 미국 메릴랜드주 워커스빌 소재)에서 구입하여 계대배양한 후 CO₂ 배양기(CO₂ incubator)에서 37°C, 5% CO₂ 조건 하에서 배양하였다. 세포 배양액은 론자사의 지침서에 따랐다. 500 ml의 KBM-2(KBM™-2, CC-3103) 배지에 KGM-2 볼렛 키트 CC-4152 (KGM™-2 Bullet kit, CC-4152)(성분: BPE(Bovine pituitary extract)), 인간표피 성장인자(human epidermal growth factor, hEGF), 인슐린(Insulin), 하이드로코티손(Hydrocortisone), 트랜스페린(Transferrin), 에피네프린(Epinephrine), 및 젠타마이신 설페이트+암포페리신-B(Gentamycin Sufate + Amphotericin-B: GA-1000))을 첨가한 KGM-2 볼렛키트 CC-3107 (KGM™-2 Bullet Kit, CC-3107)를 사용하였다.
- [113]
- [114] [실시예 3] 정상사람 각질형성세포주에 미세먼지의 처리 및 세포독성 측정
- [115] 미세먼지 처리를 통한 세포독성 여부 확인을 위하여, Mossman 등(J.Immunol. Methods, 65, 55-63, 1983)의 방법으로 (정상사람)각질형성세포주를 이용한 MTT

실험을 수행하였다.

- [116] 구체적으로, 24-웰 플레이트를 사용하고 상기 실시예 1의 채취하여 얻은 직경이 $10\mu\text{m}$ 인 미세먼지와 직경이 $2.5\mu\text{m}$ 인 미세먼지를 각각 정제수에 분산시켜서 미세먼지 분산액을 제조한 다음, 실시예 2의 세포배양조건으로 2.5×10^5 웰 세포수인 조건에서 배양한 세포에 상기 미세먼지 분산액을 처리하여 24시간 동안 배양한 후, MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2,5-diphenyltetrazolium bromide) 5mg/ml 을 혼합하여 37°C 에서 3시간 동안 추가 배양하였다. 이 후 배지를 제거하고 형성된 포르마잔 크리스탈(formazan crystal)을 DMSO $500\mu\text{l}$ 에 용해하였다. 그 용해물을 96-웰 플레이트로 옮겨 분주(aliquot)하고 흡광도 540nm 에서 OD값을 측정하였다. 측정 결과는 도 1에 나타내었다.
- [117] 도 1에 나타낸 바와 같이, 상기 세포주에서 2.5 마이크로미터 및 10 마이크로미터 이하 미세먼지를 분산시킨 분산액에 의한 세포독성에 대하여 80% 생존율을 보이는 농도(IC₂₀)값은 2.5 마이크로미터 및 10 마이크로미터 이하 미세먼지 수용성 추출액의 경우 모두 $12.5\mu\text{g/ml}$ 이었다.
- [118]
- [119] [실시예 4] 차세대 염기서열분석(Next Generation Sequencing)을 통한 미세먼지의 세포 유전자 변화 확인
- [120] RNA-염기서열 데이터 처리 및 분석을 위해, Trapnell et al.(2012)에 의해 개발된 일반적인 분석 단계를 참조하였다.
- FastQC(<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>)를 사용하여 RNA-seq 데이터 품질을 확인하였고,
- FASTX(http://hannonlab.cshl.edu/fastx_toolkit/)를 사용하여, 정확도가 떨어지는 베이스 및 어댑터 서열을 제거하였다. 이후 Tophat(Trapnell et al., 2009)과 인간 유전체(hg19)를 사용하여 얼라인먼트를 수행하였고, 각 샘플의 데이터량을 RSeQC로 재명명된 EVER-seq을 사용하여 확인하였다(Wang et al., 2012). 또한, Cufflinks를 사용하여 전사체(transcript)의 발현 수준을 정량하였고, 2가지 미세먼지 분산액 처리 샘플과 정상 샘플의 사이에서 전사 수준을 비교하였다(Trapnell et al., 2010). FDR adjusted p-value <0.05 로, ≥ 2.0 fold-change의 엄격한 컷오프를 적용하여, 직경이 $2.5\mu\text{m}$ 인 미세먼지의 분산액 및 직경이 $10\mu\text{m}$ 인 미세먼지의 분산액의 처리시 유의미한 발현 차이를 나타내는 유전자를 결정하였다. 측정 결과는 하기 표 3 및 4에 나타내어져 있다.

[121] [표3]

증가유전자		
Name	GeneSymbol	배수 변화량
NM_002963	S100A7	9.515833375
NM_002964	S100A8	3.766981583
NM_002965	S100A9	5.179254242
NM_000499	CYP1A1	48.06825714
NM_000104	CYP1B1	34.49696749
NM_002638	PI3	6.738762497
NM_019618	IL36G	6.742761413
NM_000576	IL1B	11.31259177
NM_006664	CCL27	2.97282529
NM_000584	IL8	2.258148839
NM_000963	PTGS2	2.284968542
NM_001184779	NOX5	3.303502622
NM_000379	XDH	2.57463302

[122] [표4]

감소유전자		
Name	GeneSymbol	배수 변화량
NM_004887	CXCL14	-12.19511071
NM_003102	SOD3	-4.341912612
NM_006121	KRT1	-3.259468923
NR_002196	H19	-4.151100642
NM_012114	CASP14	-2.396041041
NM_000421	KRT10	-2.269122522
NM_001080125	CASP8	-2.25127321
NM_002275	KRT15	-4.343467673
NM_002274	KRT13	-3.269661942

[123]

[124] [실시예 5] 실시간 RT-PCR 정량

- [125] 실시예 1에서 추출한 직경이 $2.5\mu\text{m}$ 인 미세먼지를 실시예 2에서 배양한 인간정상각질피부세포에 세포배양배지 1ml에 $12.5\mu\text{g}$ 의 양으로 처리하고, 하기 표 5 및 6에 나타난 유전자의 프라미어(applied biosystems TaqMan® Primers)로 상대적 mRNA 발현량을 측정하였다.

- [126] [표5]

증가유전자		
Name	GeneSymbol	TaqMan® 프라이머
NM_002963	S100A7	Hs00161488_m1
NM_002964	S100A8	Hs00374263_m1
NM_002965	S100A9	Hs00268204_m1
NM_000499	CYP1A1	Hs00153120_m1
NM_000104	CYP1B1	Hs00164383_m1
NM_002638	PI3	Hs00160066_m1
NM_019618	IL36G	Hs00219742_m1
NM_000576	IL1B	Hs01555410_m1
NM_006664	CCL27	Hs00171157_m1
NM_000584	IL8	Hs00174103_m1
NM_000963	PTGS2	Hs00153133_m1
NM_001184779	NOX5	Hs00225846_m1
NM_000379	XDH	Hs00166010_m1

[127] [표6]

감소유전자		
Name	GeneSymbol	TaqMan® 프라이머
NM_004887	CXCL14	Hs01557413_m1
NM_003102	SOD3	Hs00162090_m1
NM_006121	KRT1	Hs00196158_m1
NR_002196	H19	Hs00262142_g1
NM_012114	CASP14	Hs00201637_m1
NM_000421	KRT10	Hs00166289_m1
NM_001080125	CASP8	Hs01018151_m1
NM_002275	KRT15	Hs00267035_m1
NM_002274	KRT13	Hs02558881_s1

[128]

[129]

상기 미세먼지를 처리한 인간정상각질형성세포의 배양배지 또는 실시예 2에서 배양한 미세먼지를 처리하지 않은 인간정상각질형성세포의 배양배지에 갈랑긴을 농도별(0.25 μ M, 0.5 μ M, 1 μ M 및 2 μ M)로 각각 처리하고 24시간 경과 후, 배양액을 제거하고, 2ml의 인산염 완충액(Phosphate Buffered Saline, PBS)으로 세포를 세척한 다음, 트리졸 시약(Trizol reagent, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)을 사용하여 세포 내의 RNA를 분리하였다. 단, S100A8, S100A9, CYP1A1, CYP1B1, PI3, IL36G, IL1B, CCL27, IL8, NOX6, XDH, CXCL14, H19, CASP14, 및 CASP8에 대해서는 0.25 μ M의 갈랑긴을 처리하고 발현 정도를 측정하였다.

갈랑긴(galangin)은, CAS 번호가 548-83-4인, 난징사(Nanjing Chemlin Chemical)의 것을 상업적으로 구입하여 사용하였다. 분리된 RNA를 키아젠사의 RNA 키트(QIAGEN RNeasy kt, QIAGEN, Valencia, CA)로 한번 더 정제한 후, 애질런트사의 바이오어널라이저 2100 모델 기기(Agilent 2100 BioAnalyzer, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)를 사용하여 RNA의 질(quality)을 확인하였다. 인비트로젠사의 역전사키트(Superscript Reverse Transcriptase (RT) kit, Invitrogen, Carlsbad, CA)를 이용하여 상기 RNA로부터 cDNA를 합성하였고, 이를 하기 표 5 및 6의 프라이머를 이용한 실시간 역전사 중합 효소

연쇄반응(Q-RT-PCR: real time-reverse transcription polymerase chain reaction)을 통해 정량적으로 분석하였다. 유전자의 발현 패턴 변화를

어플라이드바이오시스템사의 택맨 유전자 발현 시스템(TaqMan gene expression assay kit, Applied Biosystems, Foster City, CA)을 이용하여 세포의 유전자 변화를 실시간 PCR로 평가하였으며, 그 결과를 도 2와 도3에 나타내었다. 이용한 Q-RT-PCR과 실시간 PCR은 모두 라이프테크놀로지에서 배포하는 표준

프로토콜에 따라서 실행하였으며, 구체적으로 95°C에서 20초 동안 처리한 후, 95°C에서 3초 및 60°C에서 30초를 처리하는 공정을 40주기 진행하였다.

[130] 도 2와 도 3에 나타낸 바와 같이, 미세먼지에 의해 자극된 피부 세포에서 발현량이 증가 또는 감소하는 유전자가 존재하며, 갈랑긴의 처리에 의하여 유전자의 발현량이 정상 수준으로 되돌아갔다.

[131]

[132] [실시예 6] 갈랑긴 처리시 정상각질 피부세포에서 유전자 발현 변화 측정

[133]

[134] 갈랑긴을 농도별(0 μ M, 0.5 μ M, 1 μ M, 2 μ M)로 실시예 2에서 배양한 인간정상각질피부세포에 처리하고, 필라그린(Filaggrin), 케라틴 10(Keratin 10), 케라틴 1(Keratin 1), 케라틴 13(Keratin 13) 및 케라틴 15(Keratin 15)의 상대적 mRNA 발현량을 측정하였다.

[135] 상기 배지에 갈랑긴을 농도별로 각각 처리하고 24시간 경과 후, 배양액을 제거하고, 2 ml의 인산염 완충액(Phosphate Buffered Saline, PBS)으로 세포를 세척한 다음, 트리졸 시약(Trizol reagent, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)을 사용하여 세포 내의 RNA를 분리하였다.

[136]

[137] 그 후 실시예 5의 방법과 동일하게 세포의 유전자 변화를 실시간 PCR로 평가하였으며, 그 결과를 도 4에 나타내었다. 이때, 각 유전자 증폭을 위해 사용한 프라이머는 상기 표 5 및 6과 같으며, 필라그린의 프라이머는 TaqMan®사의 Hs00856927_g1를 사용하였다.

[138]

[139] 그 결과, 도 4에 나타난 바와 같이 필라그린(Filaggrin), 케라틴 10(Keratin 10), 케라틴 1(Keratin 1), 케라틴 13(Keratin 13) 및 케라틴 15(Keratin 15)는 미세먼지 처리를 하지 않은 세포에서도, 갈랑긴의 농도가 증가함에 따라 발현량이 증가하는 것을 알 수 있었다.

[140]

[141] [실시예 7] 갈랑긴 처리시 피부 각질형성 세포의 분화 확인

[142] 갈랑긴을 농도별(0 μ M, 1 μ M, 2 μ M)로 실시예 2에서 배양한 인간정상각질피부세포에 처리하고, 24시간 경과 후, 배양액을 제거한 후, 각질형성세포의 분화정도를 광학현미경(Olympus IX71 모델)으로 관찰하였다(40배, 200배). 그 결과, 도 5에 나타난 바와 같이, 갈랑긴 농도의 증가에 따라, 미세먼지 처리를 하지 않은 인간정상각질피부세포의 분화가 활발해지는 것을 알 수 있었다.

[143]

[144] [실시예 8] 갈랑긴 처리시 필라그린 단백질 발현 증가 확인

[145] 갈랑긴을 농도별(0 μ M, 0.5 μ M, 1 μ M, 2 μ M)로 실시예 2에서 전처리한 인간정상각질피부세포에 처리하고, 24시간 경과 후, 배양액을 제거하고, 2 ml의

인산염 완충액(Phosphate Buffered Saline, PBS)으로 세포를 세척한 후, 세포 용해(cell lysis) 용액을 넣고 볼텍스(vortex)하여 상층액을 얻은 후 단백질을 정량하였다. 정상 피부 표피와 건조 피부 표피의 단백질을 SDS-Gel 에 로딩한 후 필라그린 항체(filaggrin, Covance, france)를 사용하여 블롯팅하였다. 상대적인 정량 값은 베타액틴(β -actin, Sigma, USA)을 보정하였다. 그 결과, 도 6에 나타난 바와같이, 갈랑긴의 농도가 증가할수록 필라그린 단백질이 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

[146]

[147] 이하, 본 발명에 따른 조성물의 제형예를 설명하나, 약학 조성물 및 화장품 조성물은 여러 가지 제형으로 응용 가능하며, 이는 본 발명을 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

[148]

[149] [제형예 1] 비누

[150] [표7]

배합성분	함량(%)
갈랑긴	5.00
유지	적량
수산화나트륨	적량
염화나트륨	적량
향료	적량
정제수	잔량

[151]

[152] [제형예 2] 로션

[153] [표8]

배합성분	함량(%)
갈랑긴	5.00
L-아스코르빈산-2-인산마그네슘염	1.00
수용성 콜라겐 (1 % 수용액)	1.00
시트르산나트륨	0.10
시트르산	0.05
감초 엑기스	0.20
1,3-부틸렌글리콜	3.00
정제수	잔량

[154]

[155] [제형예 3] 크림

[156] [표9]

배합성분	함량(%)
갈랑긴	3.00
폴리에틸렌글리콜모노스테알레이트	2.00
자기유화형모노스테아르산글리세린	5.00
세틸알코올	4.00
스쿠알렌	6.00
트리2-에틸헥산산글리세릴	6.00
스핑고당지질	1.00
1,3-부틸렌글리콜	7.00
정제수	잔량

[157]

[158] [제형예 4] 연고

[159] [표10]

배합성분	함량(%)
갈랑긴	5.00
폴리비닐알코올	13.00
L-아스코르빈산-2-인산마그네슘염	1.00
라우로일히드록시프로린	1.00
수용성 콜라겐 (1 % 수용액)	2.00
1,3-부틸렌글리콜	3.00
에탄올	5.00
정제수	잔량

[160]

[161] [제형예 5] 미용액 제조

[162] [표11]

배합성분	함량(%)
갈랑긴	3.00
히드록시에틸렌셀룰로오스(2 % 수용액)	12.00
크산탄검(2 % 수용액)	2.00
1,3-부틸렌글리콜	6.00
진한 글리세린	4.00
히알루론산나트륨 (1 % 수용액)	2.00
정제수	잔량

[163]

[164] [제형예 6] 건강식품

[165] [표12]

배합 성분	함량
갈랑긴	2mg
비타민 A 아세테이트	70 μ g
비타민 E	1.0mg
비타민 B1	0.13mg
비타민 B2	0.15mg
비타민 B6	0.5mg
비타민 B12	0.2 μ g
비타민 C	10mg
비오틴	10 μ g
니코틴산아미드	1.7mg
엽산	50 μ g
판토텐산 칼슘	0.5mg
황산 제1철	1.75mg
산화아연	0.82mg
탄산마그네슘	25.3mg
제1인산칼륨	15mg
제2인산칼슘	55mg
구연산칼륨	90mg
탄산칼슘	100mg
염화마그네슘	24.8mg

[166]

[167] [제형에 7] 건강음료

[168] [표13]

배합성분	함량
갈랑긴	50mg
구연산	1000mg
올리고당	100 g
타우린	1g
정제수	잔량

청구범위

- [청구항 1] S100A7(NM_002963) 유전자, S100A8(NM_002964) 유전자, S100A9(NM_002965) 유전자, CYP1A1(NM_000499) 유전자, CYP1B1(NM_000104) 유전자, PI3(NM_002638) 유전자, IL36G(NM_019618) 유전자, IL1B(NM_000576) 유전자, CCL27(NM_006664) 유전자, IL8(NM_000584) 유전자, PTGS2(NM_000963) 유전자, NOX5(NM_001184779) 유전자, XDH(NM_000379) 유전자, CXCL14(NM_004887) 유전자, SOD3(NM_003102) 유전자, KRT1(NM_006121) 유전자, H19(NR_002196) 유전자, CASP14(NM_012114) 유전자, KRT10(NM_000421) 유전자, CASP8(NM_001080125) 유전자, KRT15(NM_002275) 유전자, KRT13(NM_002274) 유전자로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 이의 단백질의 발현 정도를 측정하는 제제를 포함하는, 미세먼지에 의한 피부 세포 또는 피부 장벽의 손상 여부 진단용 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 단백질의 발현 정도를 측정하는 제제는 상기 유전자의 mRNA에 상보적인 폴리뉴클레오티드 또는 이의 단편, 상기 유전자를 증폭시킬 수 있는 프라이머 또는 프로브인 것을 특징으로 하는 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 단백질의 발현 정도를 측정하는 제제는 상기 단백질을 특이적으로 인식하는 항체인 것을 특징으로 하는 조성물.
- [청구항 4] 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는, 미세먼지에 의한 피부 세포 또는 피부 장벽의 손상 여부 진단용 키트.
- [청구항 5] 미세먼지에 의한 피부 세포 또는 피부 장벽의 손상 여부를 진단하는 방법으로서,
상기 방법은,
a) 피험자의 피부 세포 시료로부터,
S100A7(NM_002963) 유전자, S100A8(NM_002964) 유전자, S100A9(NM_002965) 유전자, CYP1A1(NM_000499) 유전자, CYP1B1(NM_000104) 유전자, PI3(NM_002638) 유전자, IL36G(NM_019618) 유전자, IL1B(NM_000576) 유전자, CCL27(NM_006664) 유전자, IL8(NM_000584) 유전자, PTGS2(NM_000963) 유전자, NOX5(NM_001184779) 유전자, XDH(NM_000379) 유전자, CXCL14(NM_004887) 유전자, SOD3(NM_003102) 유전자, KRT1(NM_006121) 유전자, H19(NR_002196) 유전자, CASP14(NM_012114) 유전자, KRT10(NM_000421) 유전자, CASP8(NM_001080125) 유전자, KRT15(NM_002275) 유전자 및

KRT13(NM_002274) 유전자로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 이로부터 암호화되는 단백질의 발현 정도를 측정하는 단계; 및

b) 상기 발현 정도를, 미세먼지에 의해 손상되지 않은 피부 세포 시료 내에서의 상기 유전자의 mRNA 또는 이로부터 암호화되는 단백질의 발현 정도와 비교하는 단계를 포함하는, 미세먼지에 의한 피부 세포 또는 피부 장벽의 손상 여부를 진단하는 방법.

[청구항 6]

제 5항에 있어서,
상기 방법은,

1) 피험자의 피부세포로부터 측정된, CXCL14(NM_004887) 유전자, SOD3(NM_003102) 유전자, KRT1(NM_006121) 유전자, H19(NR_002196) 유전자, CASP14(NM_012114) 유전자, KRT10(NM_000421) 유전자, CASP8(NM_001080125) 유전자, KRT15(NM_002275) 유전자, KRT13(NM_002274) 유전자, 및 필라그린(Filaggrin) 유전자로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 이들로부터 암호화되는 단백질의 발현정도가 미세먼지에 의해 손상되지 않은 피부 세포 시료 내에서 보다 낮거나,
2) 피험자의 피부세포로부터 측정된, S100A7(NM_002963) 유전자, S100A8(NM_002964) 유전자, S100A9(NM_002965) 유전자, CYP1A1(NM_000499) 유전자, CYP1B1(NM_000104) 유전자, PI3(NM_002638) 유전자, IL36G(NM_019618) 유전자, IL1B(NM_000576) 유전자, CCL27(NM_006664) 유전자, IL8(NM_000584) 유전자, PTGS2(NM_000963) 유전자, NOX5(NM_001184779) 유전자 및 XDH(NM_000379) 유전자로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 이들로부터 암호화되는 단백질의 발현정도가 미세먼지에 의해 손상되지 않은 피부 세포 시료 내에서 보다 높은 경우, 미세먼지에 의해 피부 세포 또는 피부 장벽이 손상된 것으로 판정하는 단계를 더 포함하는, 미세먼지에 의한 피부 세포 또는 피부 장벽의 손상 여부를 진단하는 방법.

[청구항 7]

제5항에 있어서, 상기 유전자의 mRNA 또는 단백질의 발현 정도를 측정하는 방법은 마이크로어레이, PCR, NGS(Nest Generation Sequencing; 차세대 염기서열분석), 웨스턴 블롯, 노던 블롯, ELISA, 방사선 면역 분석, 방사 면역 확산법, 조직면역 염색 및 면역침전 분석법으로 이루어진 군에서 선택되는 것임을 특징으로 하는, 방법.

[청구항 8]

피부세포에 미세먼지를 처리하는 단계;
미세먼지를 처리한 피부세포에 시험 물질을 처리하는 단계; 및
상기 시험 물질을 처리한 피부세포에서, 시험 물질 처리 전후의 S100A7(NM_002963) 유전자, S100A8(NM_002964) 유전자,

S100A9(NM_002965) 유전자, CYP1A1(NM_000499) 유전자, CYP1B1(NM_000104) 유전자, PI3(NM_002638) 유전자, IL36G(NM_019618) 유전자, IL1B(NM_000576) 유전자, CCL27(NM_006664) 유전자, IL8(NM_000584) 유전자, PTGS2(NM_000963) 유전자, NOX5(NM_001184779) 유전자, XDH(NM_000379) 유전자, CXCL14(NM_004887) 유전자, SOD3(NM_003102) 유전자, KRT1(NM_006121) 유전자, H19(NR_002196) 유전자, CASP14(NM_012114) 유전자, KRT10(NM_000421) 유전자, CASP8(NM_001080125) 유전자, KRT15(NM_002275) 유전자 및 KRT13(NM_002274) 유전자로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자들로부터 암호화되는 단백질의 발현 정도를 확인하는 단계를 포함하는, 미세먼지에 의한 피부 손상 개선 물질 스크리닝 방법.

[청구항 9]

제8항에 있어서,

상기 방법은,

시험물질 처리 전에 비하여 시험물질 처리 후에

1) CXCL14(NM_004887) 유전자, SOD3(NM_003102) 유전자,

KRT1(NM_006121) 유전자, H19(NR_002196) 유전자,

CASP14(NM_012114) 유전자, KRT10(NM_000421) 유전자,

CASP8(NM_001080125) 유전자, KRT15(NM_002275) 유전자,

KRT13(NM_002274) 유전자 및 필라그린(Filaggrin) 유전자로 이루어지는

군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 상기

유전자들로부터 암호화되는 단백질로 이루어진 군으로부터 선택되는

하나 이상의 발현정도가 증가하거나,

2) S100A7(NM_002963) 유전자, S100A8(NM_002964) 유전자,

S100A9(NM_002965) 유전자, CYP1A1(NM_000499) 유전자,

CYP1B1(NM_000104) 유전자, PI3(NM_002638) 유전자,

IL36G(NM_019618) 유전자, IL1B(NM_000576) 유전자,

CCL27(NM_006664) 유전자, IL8(NM_000584) 유전자,

PTGS2(NM_000963) 유전자, NOX5(NM_001184779) 유전자 및

XDH(NM_000379) 유전자로 이루어지는 군으로부터 선택된 하나 이상의

유전자의 mRNA 또는 상기 유전자들로부터 암호화되는 단백질로

이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 발현정도가 감소하는 경우,

미세먼지에 의한 피부 손상 개선 물질로 판단하는 단계를 더 포함하는,

미세먼지에 의한 피부 손상 개선 물질 스크리닝 방법.

[청구항 10]

제8항에 있어서,

상기 피부세포는, 각질형성세포인, 미세먼지에 의한 피부 손상 개선 물질 스크리닝 방법.

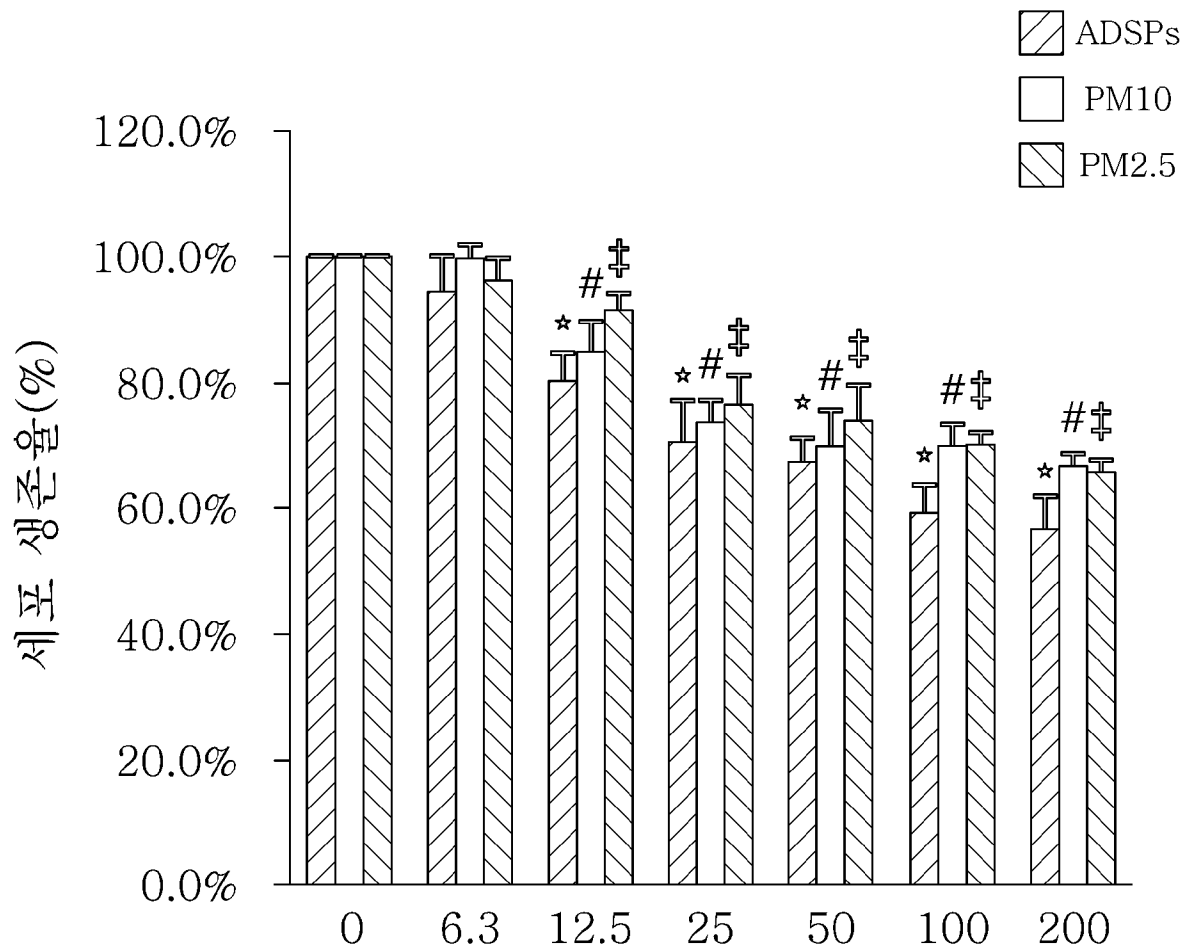
- [청구항 11] 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물을 유효성분으로 포함하는 피부 보습용 조성물.
- [청구항 12] 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물을 유효성분으로 포함하는 피부 장벽기능 강화용 조성물.
- [청구항 13] 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물을 유효성분으로 포함하는 피부 각질형성 세포 분화 유도용 조성물.
- [청구항 14] 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물을 유효성분으로 포함하는 미세먼지에 의한 피부 손상 개선용 조성물.
- [청구항 15] 제11항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은, 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물을, 조성물 총 중량을 기준으로 0.000001 내지 30중량%로 포함하는 조성물.
- [청구항 16] 제11항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 갈랑긴, 이의 이성질체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 프로드럭, 이의 수화물 또는 이의 용매화물의 농도는, 조성물 총 부피에 대해, 0.1 내지 5 μ M인 조성물.
- [청구항 17] 제11항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은, CXCL14(NM_004887) 유전자, SOD3(NM_003102) 유전자, KRT1(NM_006121) 유전자, H19(NR_002196) 유전자, CASP14(NM_012114) 유전자, KRT10(NM_000421) 유전자, CASP8(NM_001080125) 유전자, KRT15(NM_002275) 유전자, KRT13(NM_002274) 유전자 및 필라그린(Filaggrin) 유전자로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 발현을 촉진하는 것인 조성물.
- [청구항 18] 제11항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은, S100A7(NM_002963) 유전자, S100A8(NM_002964) 유전자, S100A9(NM_002965) 유전자, CYP1A1(NM_000499) 유전자, CYP1B1(NM_000104) 유전자, PI3(NM_002638) 유전자, IL36G(NM_019618) 유전자, IL1B(NM_000576) 유전자, CCL27(NM_006664) 유전자, IL8(NM_000584) 유전자, PTGS2(NM_000963) 유전자, NOX5(NM_001184779) 유전자 및 XDH(NM_000379) 유전자로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의

발현을 감소시키는 것인, 조성물.

[청구항 19] 제11항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 조성물은, 필라그린 단백질 또는 케라틴 단백질의 합성을 촉진하는
것인 조성물.

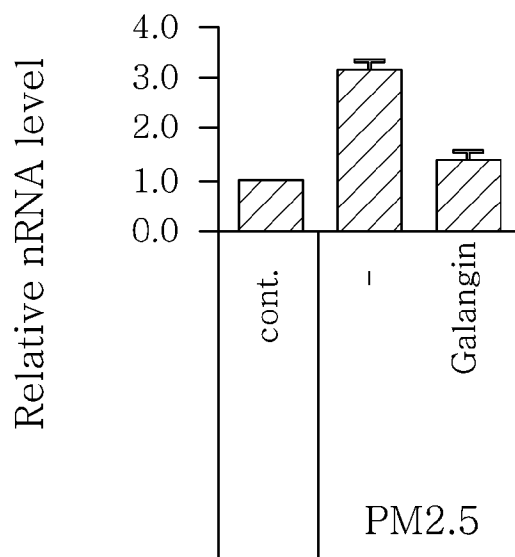
[청구항 20] 제11항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 조성물은, 화장료 조성물, 약학적 조성물 또는 건강식품 조성물인
조성물.

[도1]



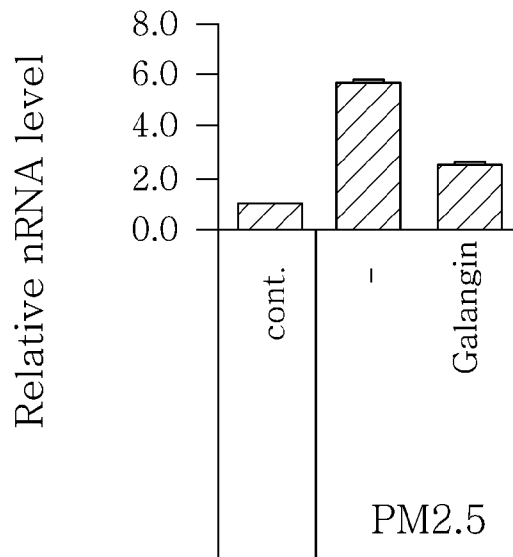
[도2a]

S100A8



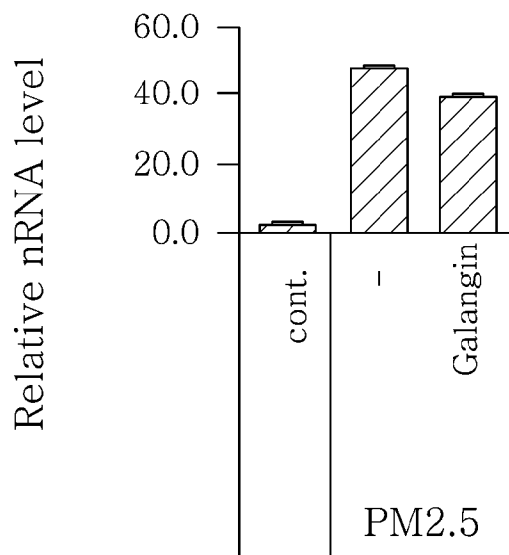
[도2b]

S100A9



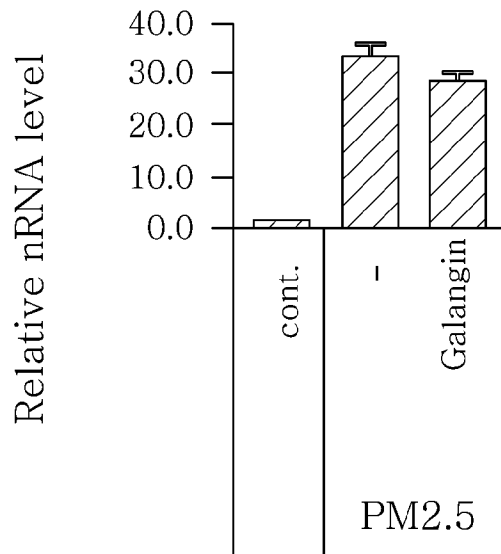
[도2c]

CYP1A1



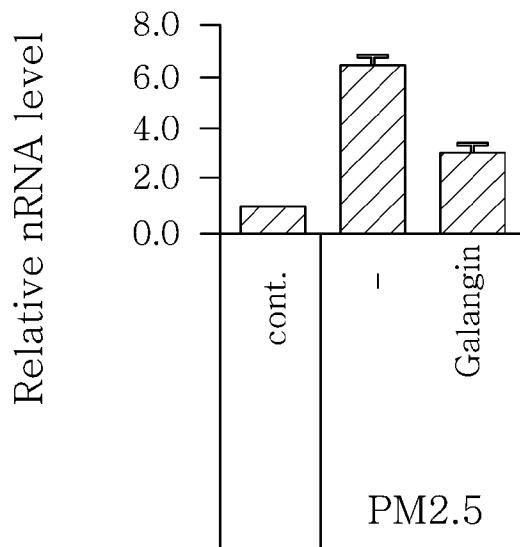
[도2d]

CYP1B1



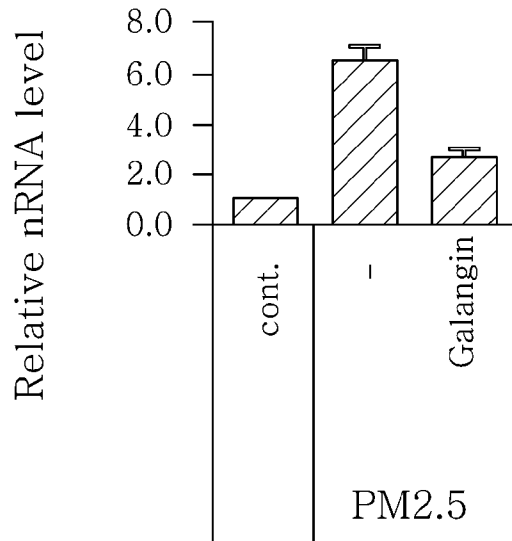
[도2e]

PI3



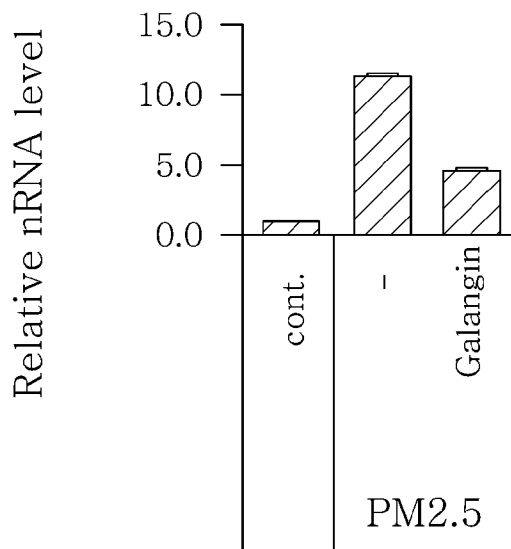
[도2f]

IL36G



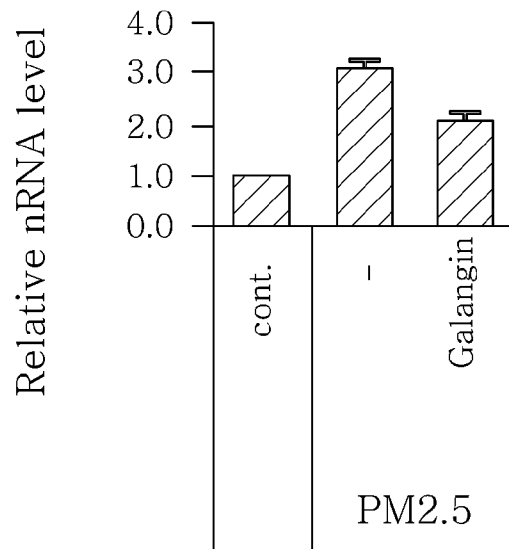
[도2g]

IL1B



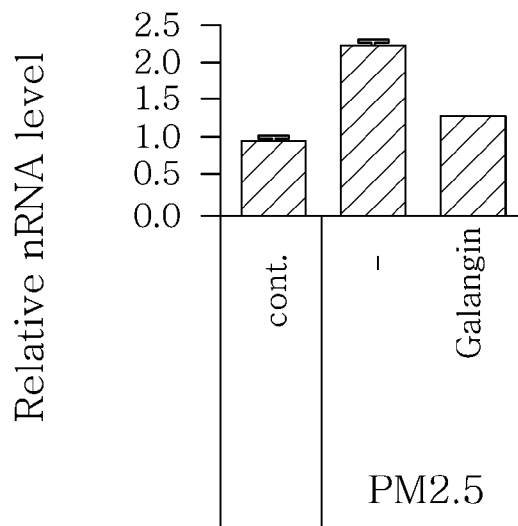
[도2h]

CCL27

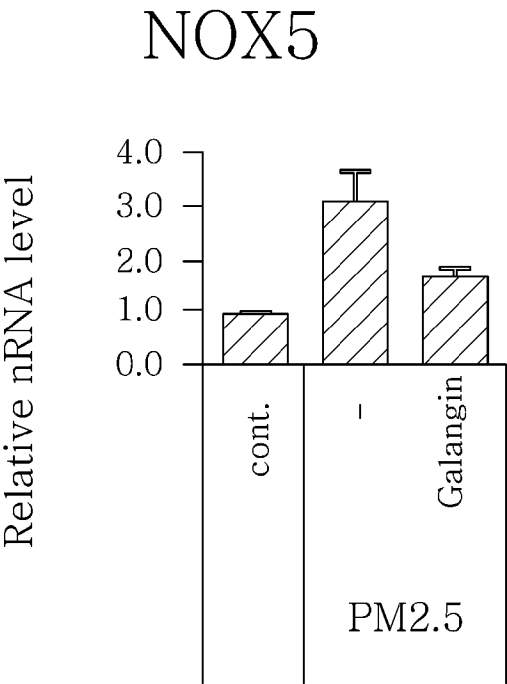


[도2i]

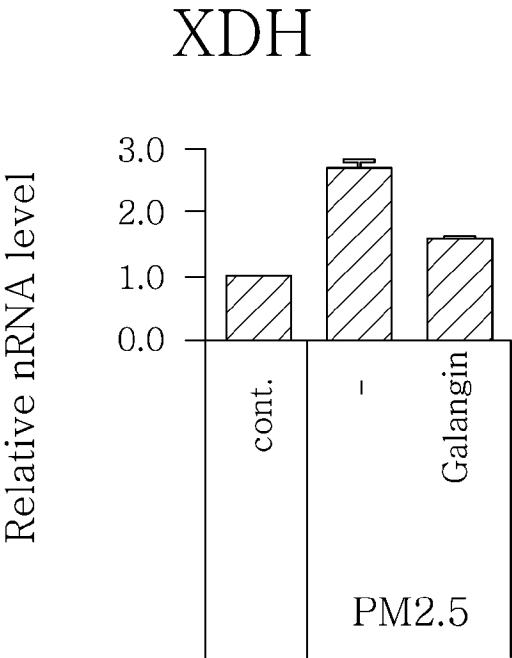
IL8



[도2j]

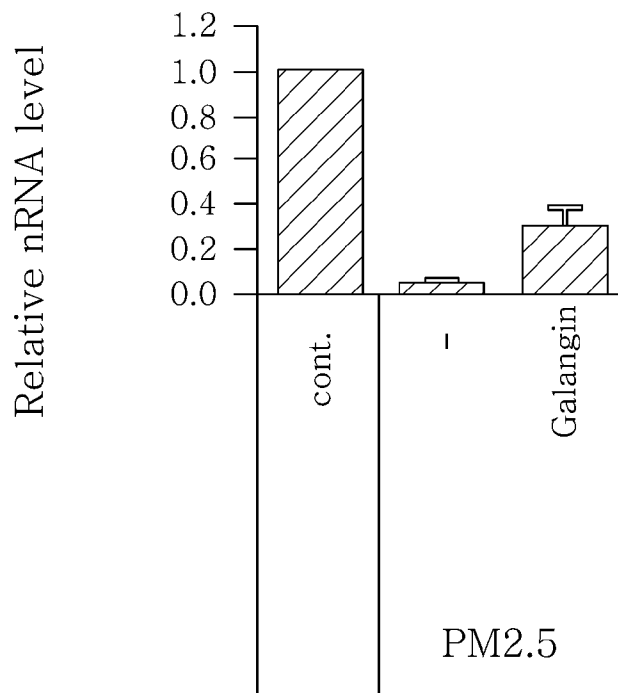


[도2k]



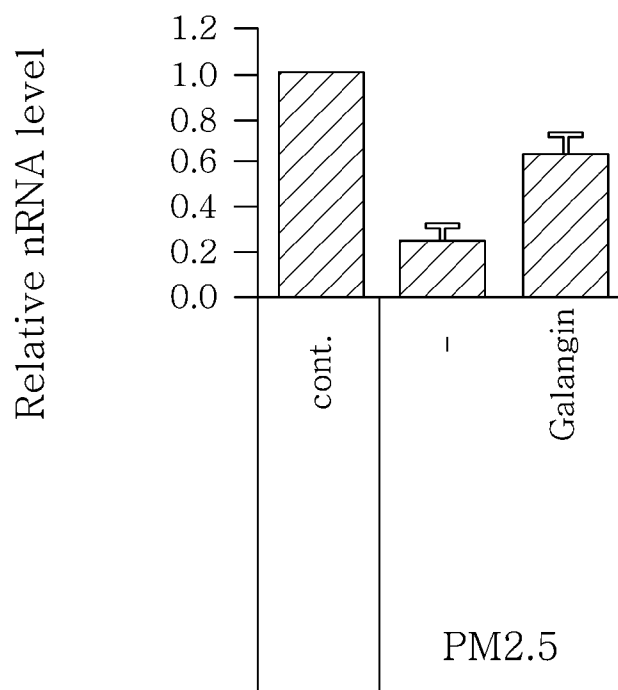
[도3a]

CXCL14



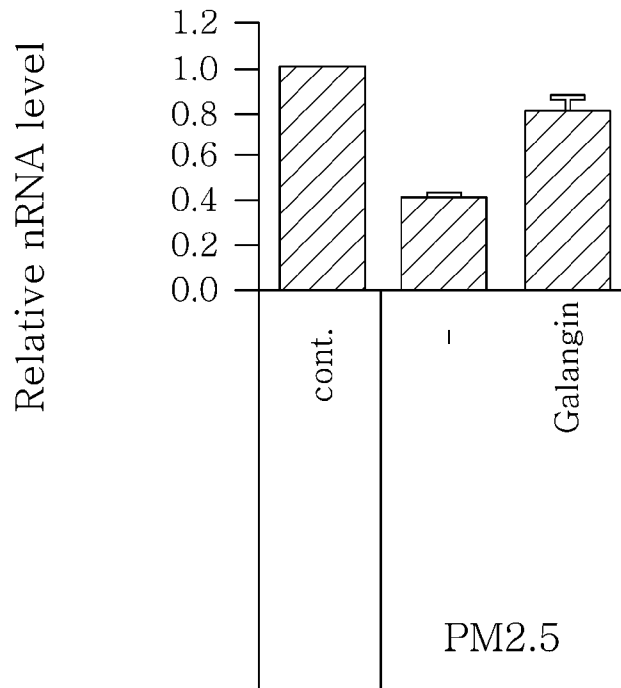
[도3b]

H19



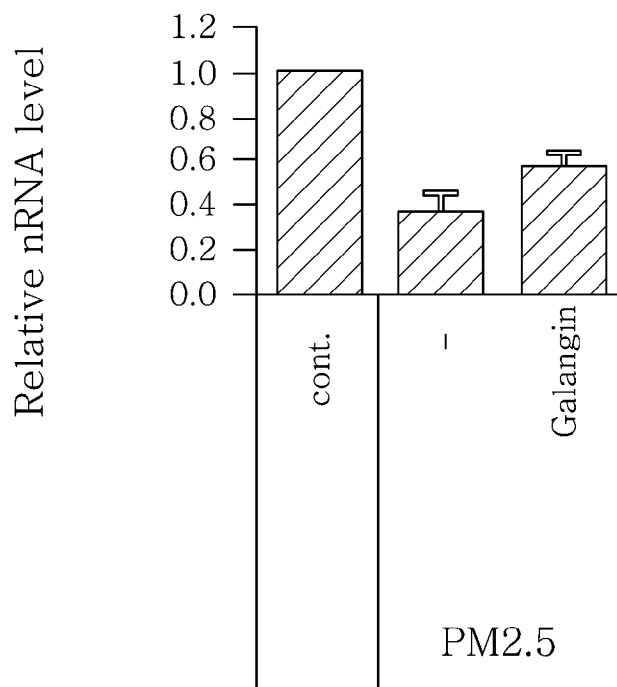
[도3c]

CASP14



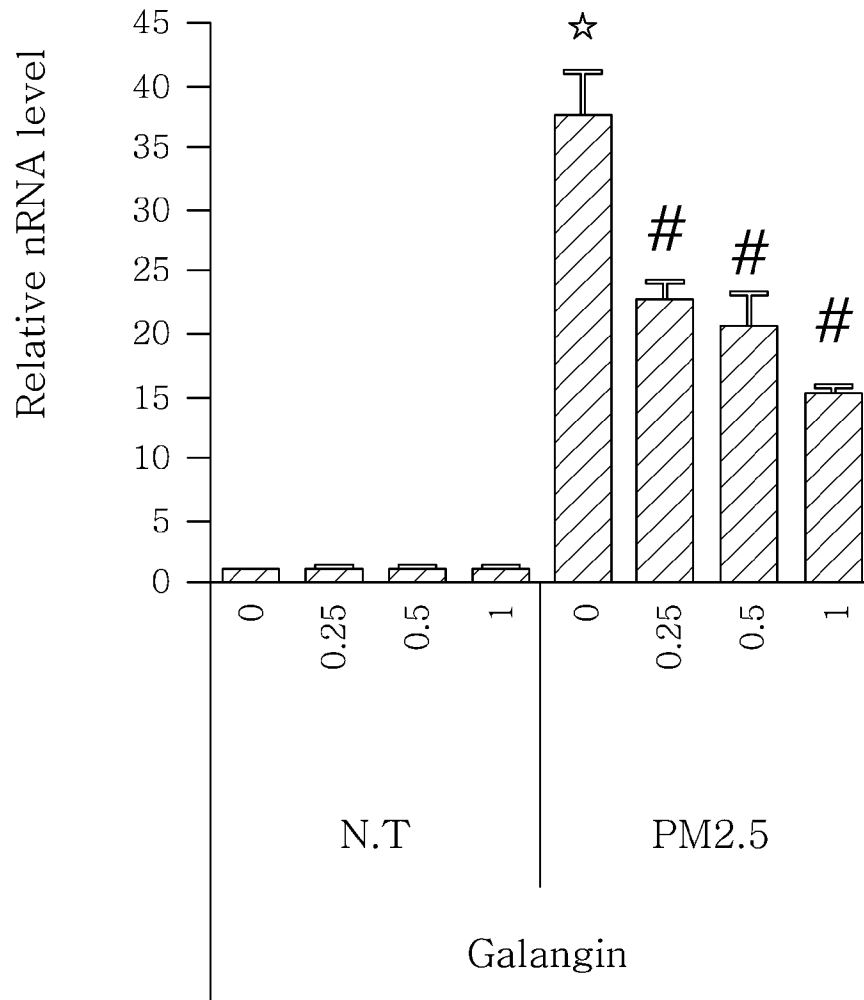
[도3d]

CASP8



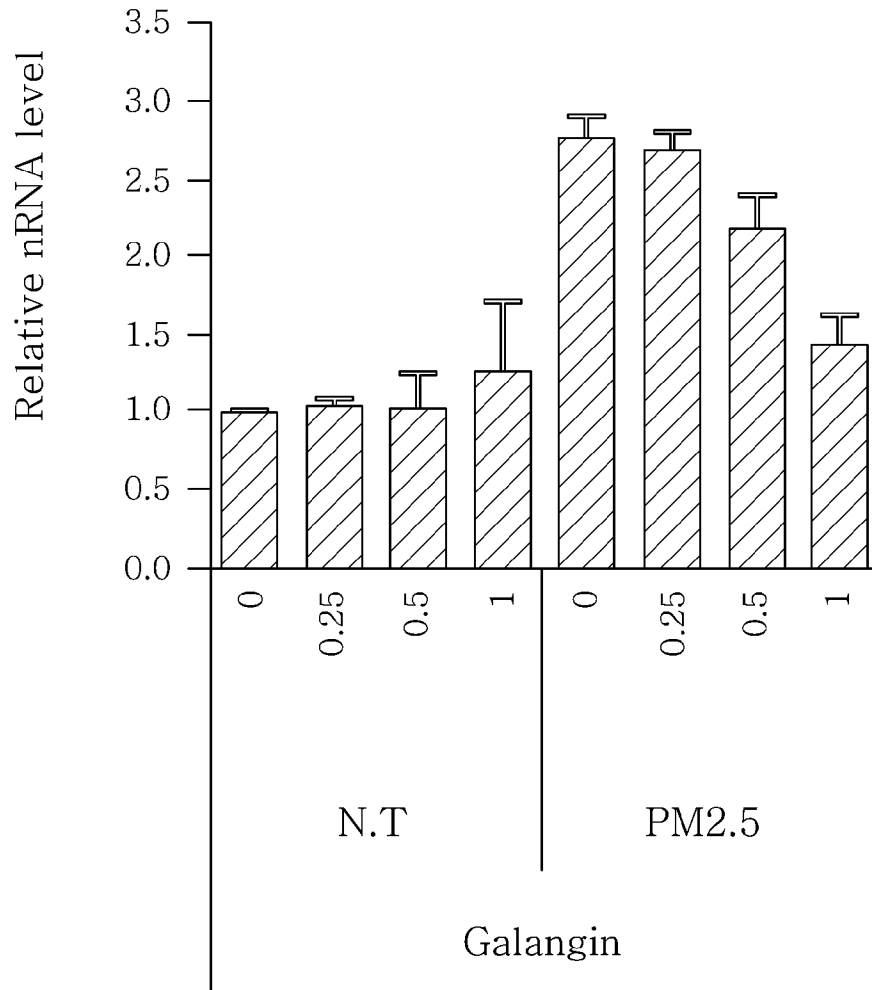
[도3e]

Psoriasin(S100A7)



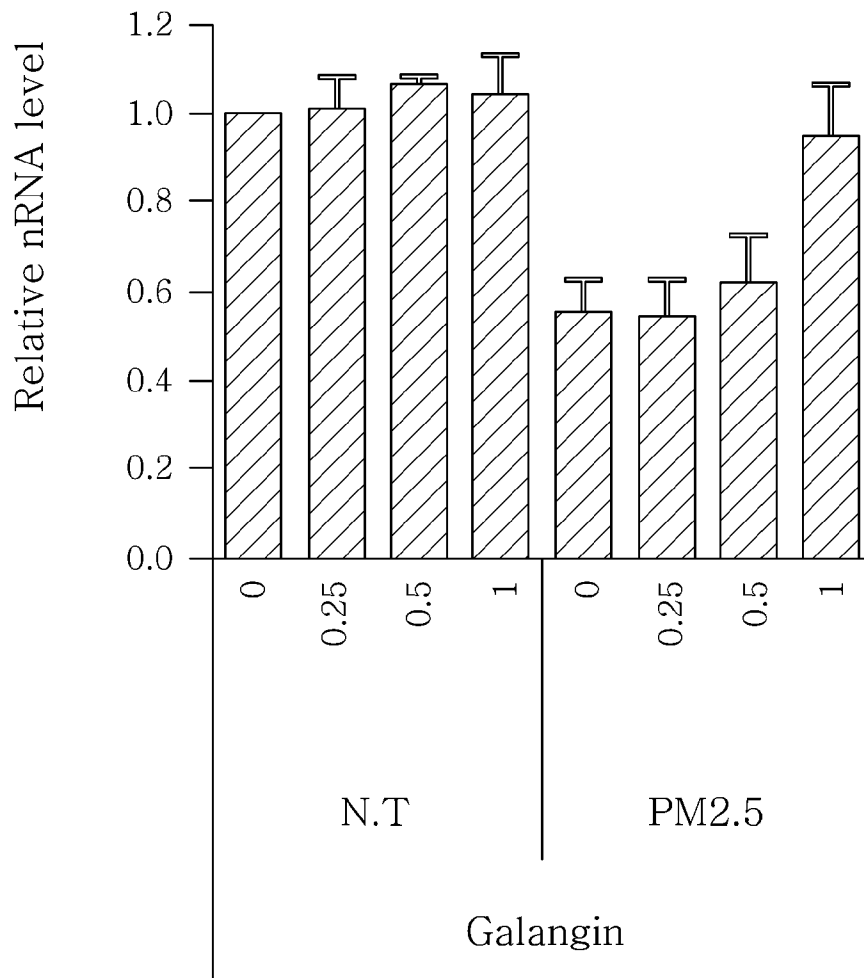
[도3f]

PTGS2(COX2)

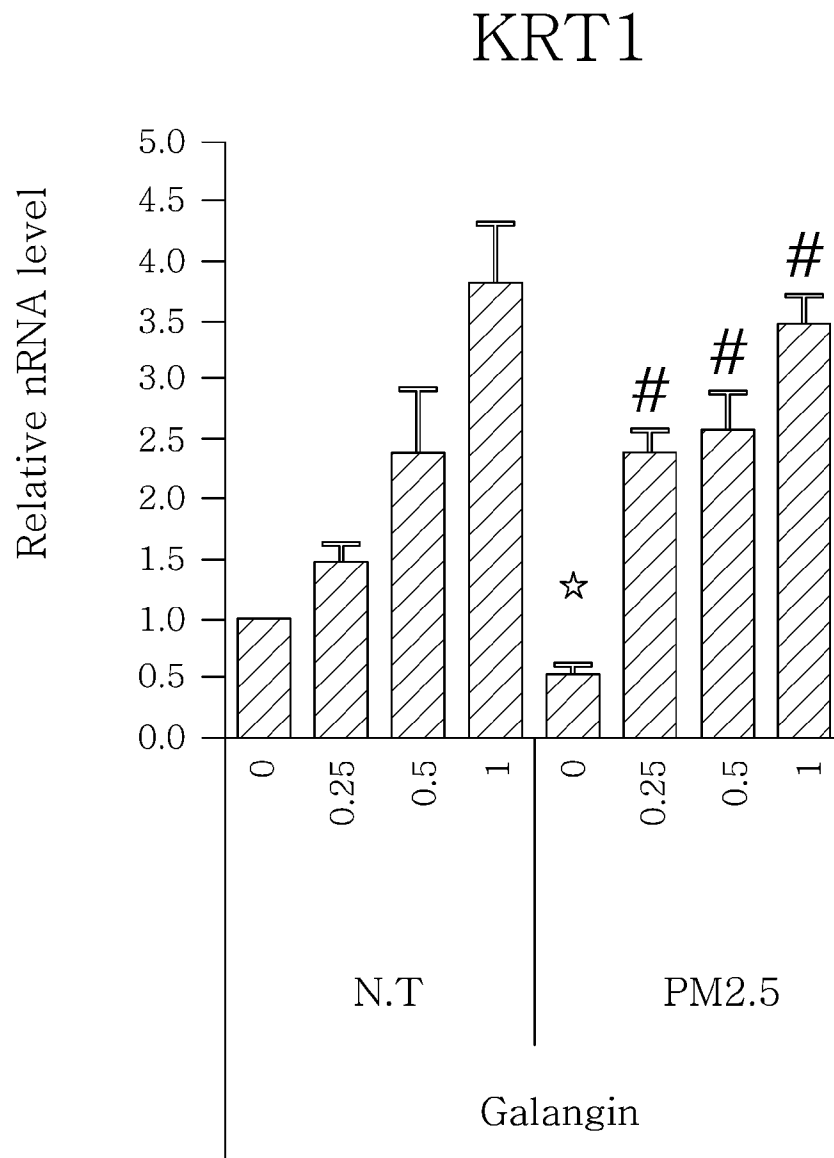


[도3g]

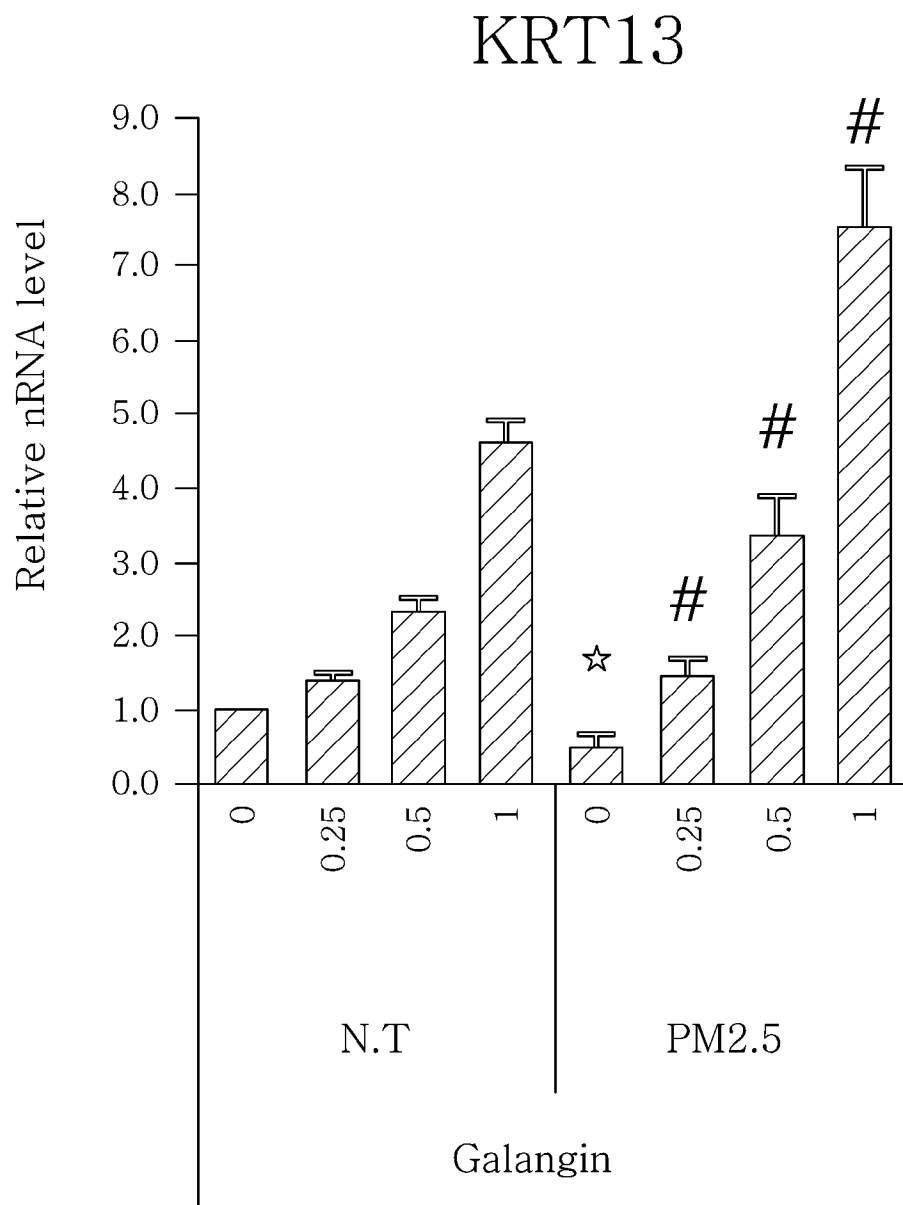
SDO3



[도3h]

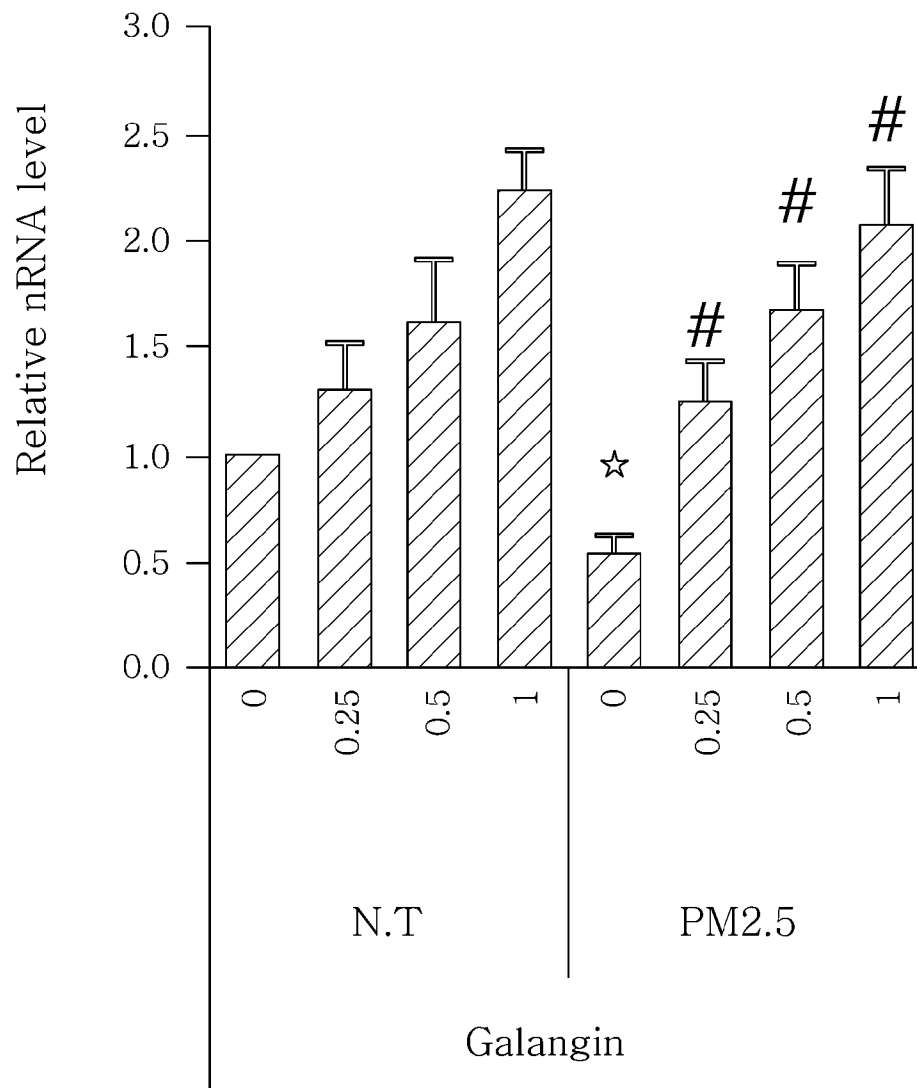


[도3i]

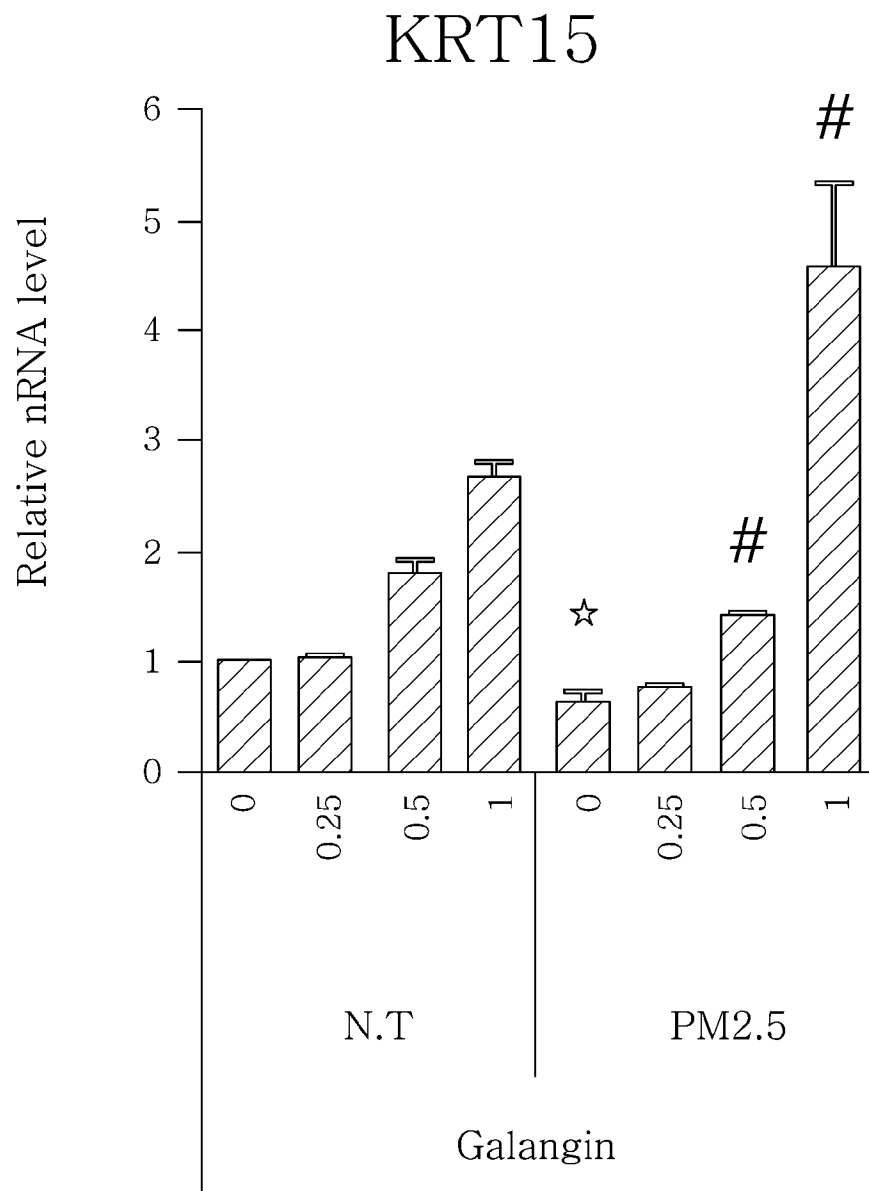


[도3j]

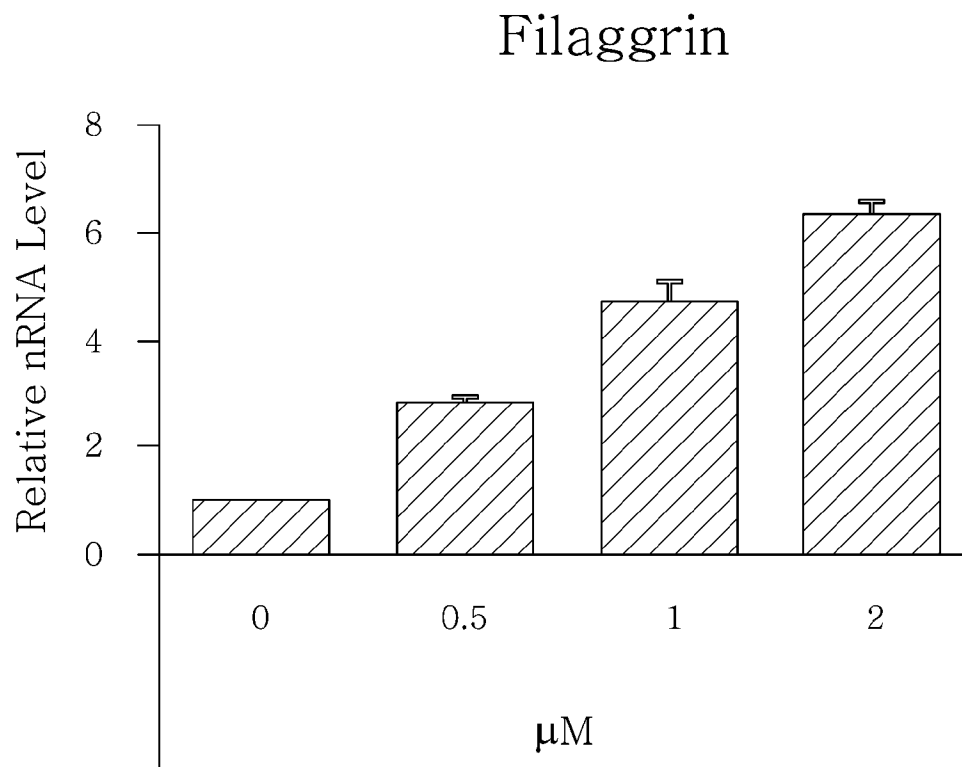
KRT10



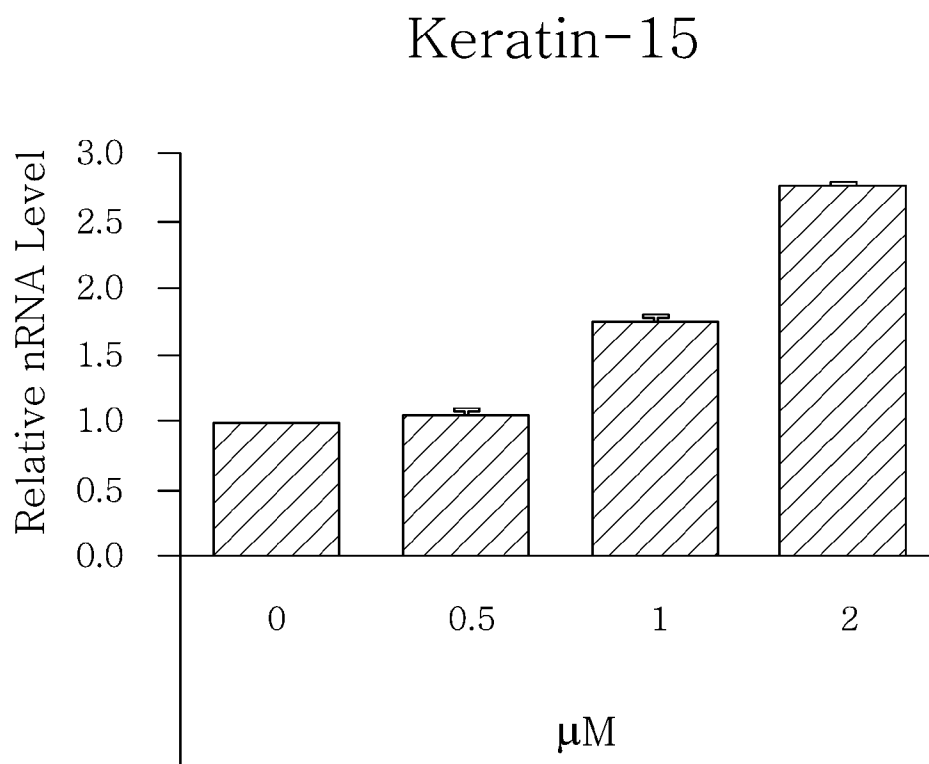
[도3k]



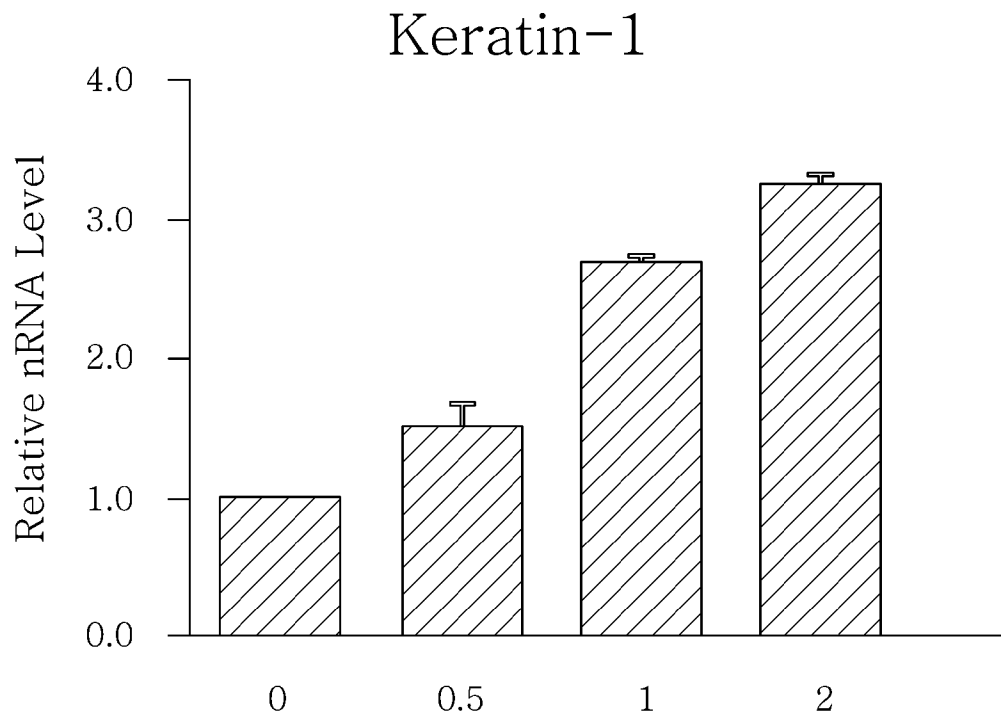
[도4a]



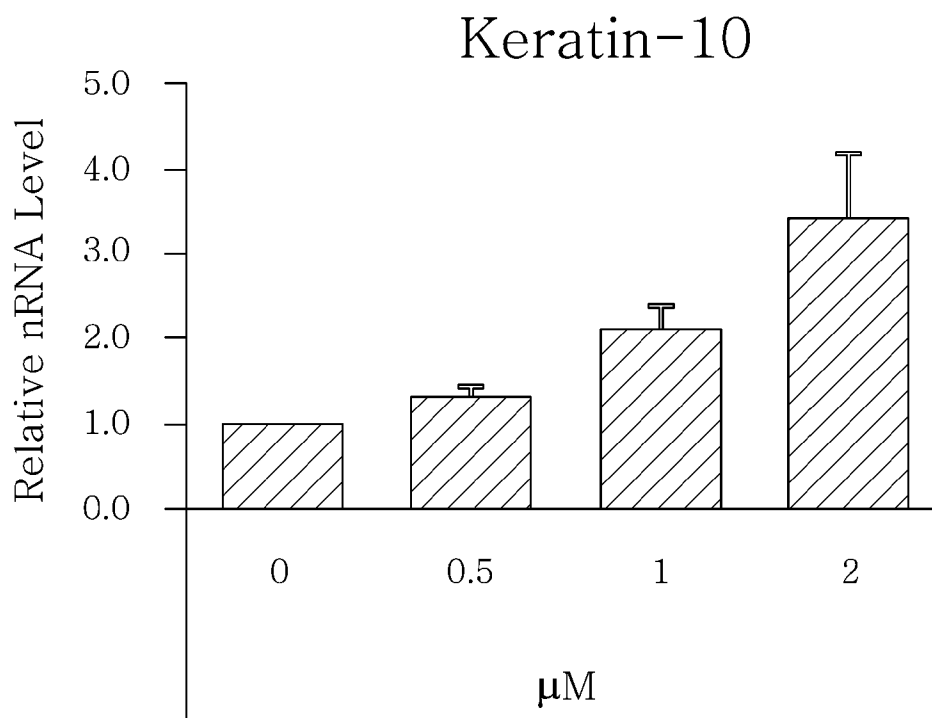
[도4b]



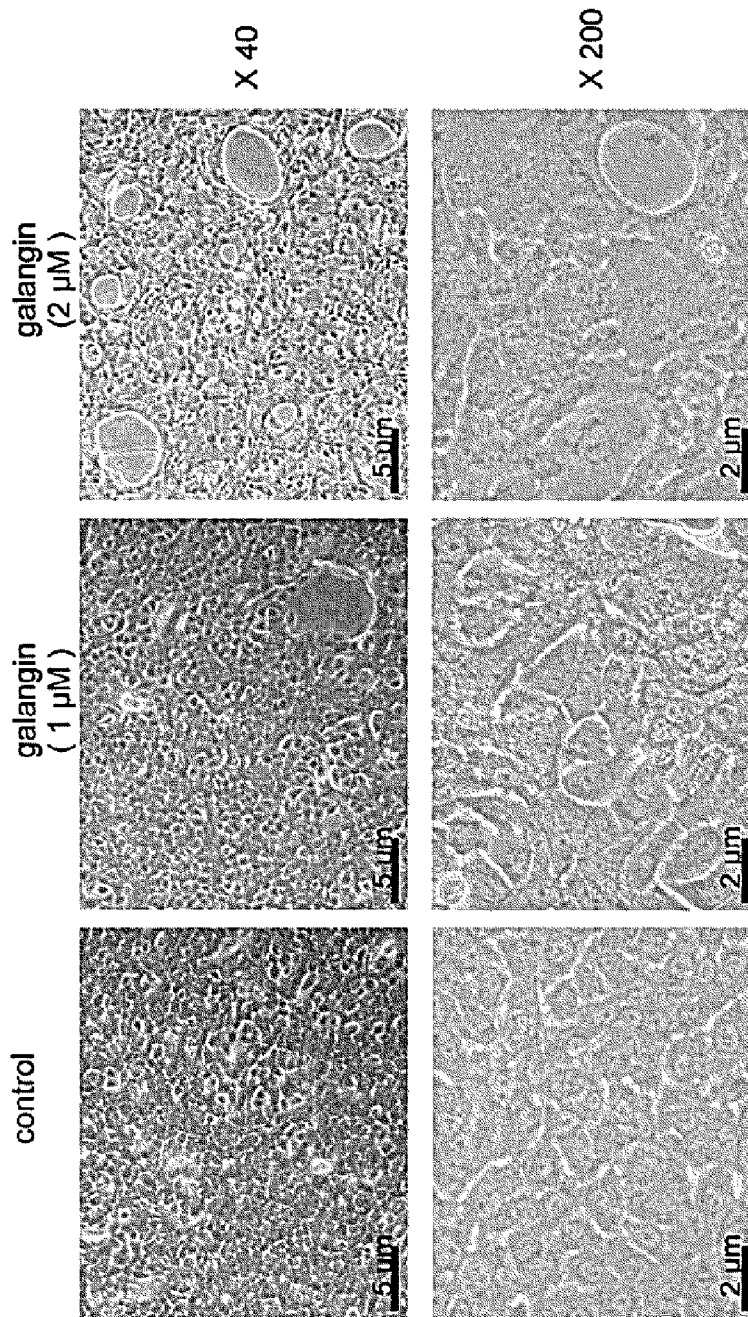
[도4c]



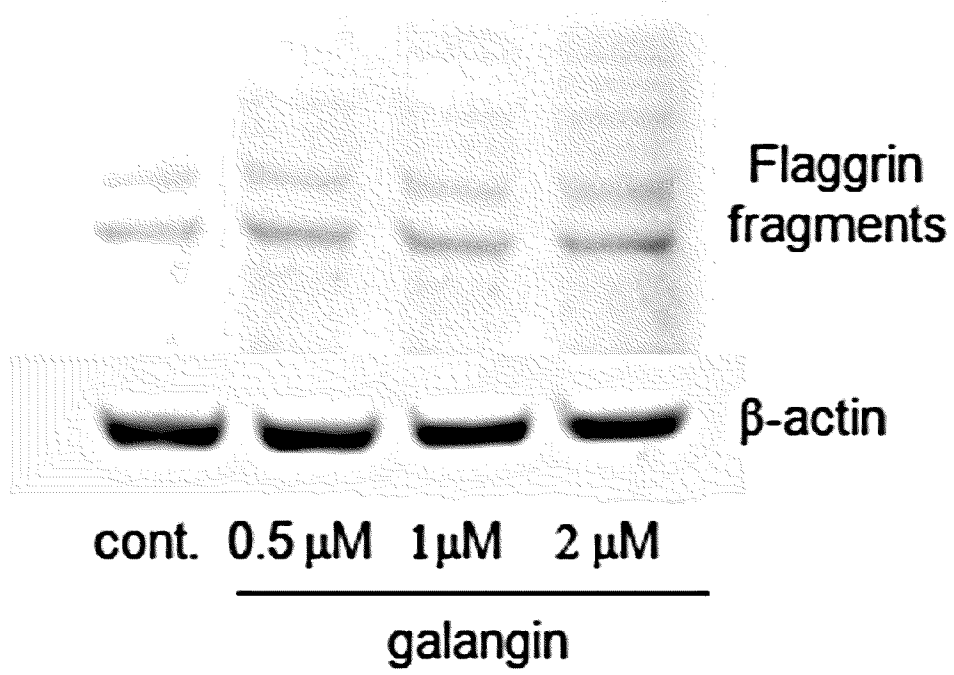
[도4d]



[도5]



[도6]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2016/003464**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER****C12Q 1/68(2006.01)i, G01N 33/50(2006.01)i, G01N 33/68(2006.01)i, A61K 8/49(2006.01)i, A61K 31/352(2006.01)i, A23L 1/30(2006.01)i, A61P 17/00(2006.01)i, A61Q 19/00(2006.01)i**

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12Q 1/68; G01N 33/48; C12N 15/10; C12N 15/09; G01N 33/53; A61K 8/97; G01N 33/68; A61K 38/18; A61K 38/48; G01N 33/50; A61K 8/49; A61K 31/352; A23L 1/30; A61P 17/00; A61Q 19/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: micro dust, skin damage, S100A7, S100A8, S100A9, CYP1A1, CYP1B1, PI3, IL36G, IL1B, CCL27, IL8, PTGS2, NOX5, XDH, CXCL14, SOD3, KRT1, H19, CASP14, KRT10, CASP8, KRT15, KRT13

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KR 10-2014-0069917 A (AMOREPACIFIC CORPORATION) 10 June 2014 See paragraph [0014] and claims 1, 4, 6, 11.	1-10
A		11-20
X	KR 10-1993-0008763 B1 (PACIFIC CHEMISTRY CORP.) 15 September 1993 See page 3 and claims 1-2, 6.	11-20
A	WO 2007-046087 A2 (YEDA RESEARCH AND DEVELOPMENT CO., LTD.) 26 April 2007 See claims 25-26.	1-20
A	KR 10-2009-0123049 A (AMOREPACIFIC CORPORATION et al.) 02 December 2009 See paragraphs [0022]-[0024], [0036]-[0037] and claims 5-6, 13-14.	1-20
A	KR 10-2014-0113152 A (INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION, YONSEI UNIVERSITY) 24 September 2014 See claims 1, 4, 7-8, 12.	1-20



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

08 JULY 2016 (08.07.2016)

Date of mailing of the international search report

08 JULY 2016 (08.07.2016)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2016/003464

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The inventions of groups 1-22: claims 1-10 partially pertain to a skin damage diagnosis composition using the expression level of mRNAs of S100A7 (group 1), S100A8 (group 2), S100A9 (group 3), CYP1A1 (group 4), CYP1B1 (group 5), PI3 (group 6), IL36G (group 7), IL1B (group 8), CCL27 (group 9), IL8 (group 10), PTGS2 (group 11), NOX5 (group 12), XDH (group 13), CXCL14 (group 14), SOD3 (group 15), KRT1 (group 16), H19 (group 17), CASP14 (group 18), KRT10 (group 19), CASP8 (group 20), KRT15 (group 21) or KRT13 (group 22) gene, or the expression level of proteins thereof; a diagnostic method, and a method for screening for an alleviation material.

The invention of group 23: claims 11-20 pertain to a composition for improving a skin condition, containing galangin.

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2016/003464

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2014-0069917 A	10/06/2014	NONE	
KR 10-1993-0008763 B1	15/09/1993	KR 10-1992-0021130 A	18/12/1992
WO 2007-046087 A2	26/04/2007	AU 2006-305550 A1	26/04/2007
		AU 2006-305550 B	02/05/2013
		CA 2626361 A1	26/04/2007
		EP 1945244 A2	23/07/2008
		EP 1945244 B1	04/05/2016
		IL 171451 A	12/03/2006
		IL 190841 D0	03/11/2008
		JP 2009-511572 A	19/03/2009
		JP 2014-001231 A	09/01/2014
		US 2012-0144504 A1	07/06/2012
		US 2015-0329867 A1	19/11/2015
		WO 2007-046087 A3	26/07/2007
KR 10-2009-0123049 A	02/12/2009	KR 10-1587869 B1	03/02/2016
KR 10-2014-0113152 A	24/09/2014	KR 10-1512121 B1	17/04/2015

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

C12Q 1/68(2006.01)i, G01N 33/50(2006.01)i, G01N 33/68(2006.01)i, A61K 8/49(2006.01)i, A61K 31/352(2006.01)i, A23L 1/30(2006.01)i, A61P 17/00(2006.01)i, A61Q 19/00(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

C12Q 1/68; G01N 33/48; C12N 15/10; C12N 15/09; G01N 33/53; A61K 8/97; G01N 33/68; A61K 38/18; A61K 38/48; G01N 33/50; A61K 8/49; A61K 31/352; A23L 1/30; A61P 17/00; A61Q 19/00

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 미세 먼지, 피부 손상, S100A7, S100A8, S100A9, CYP1A1, CYP1B1, PI3, IL36G, IL1B, CCL27, IL8, PTGS2, NOX5, XDH, CXCL14, SOD3, KRT1, H19, CASP14, KRT10, CASP8, KRT15, KRT13

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	KR 10-2014-0069917 A ((주)아모레퍼시픽) 2014.06.10 문단 [0014] 및 청구항 1, 4, 6, 11 참조.	1-10
A		11-20
X	KR 10-1993-0008763 B1 (주식회사 태평양화학) 1993.09.15 페이지 3 및 청구항 1-2, 6 참조.	11-20
A	WO 2007-046087 A2 (YEDA RESEARCH AND DEVELOPMENT CO., LTD.) 2007.04.26 청구항 25-26 참조.	1-20
A	KR 10-2009-0123049 A ((주)아모레퍼시픽 등) 2009.12.02 문단 [0022]-[0024], [0036]-[0037] 및 청구항 5-6, 13-14 참조.	1-20
A	KR 10-2014-0113152 A (연세대학교 산학협력단) 2014.09.24 청구항 1, 4, 7-8, 12 참조.	1-20

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2016년 07월 08일 (08.07.2016)

국제조사보고서 발송일

2016년 07월 08일 (08.07.2016)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

김승범

전화번호 +82-42-481-3371



제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☐ 청구항:
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,
3. ☐ 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제3기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

제1-22군 발명: 청구항 1-10은 부분적으로 S100A7 (제1군), S100A8 (제2군), S100A9 (제3군), CYP1A1 (제4군), CYP1B1 (제5군), PI3 (제6군), IL36G (제7군), IL1B (제8군), CCL27 (제9군), IL8 (제10군), PTGS2(제11군), NOX5 (제12군), XDH (제13군), CXCL14 (제14군), SOD3 (제15군), KRT1 (제16군), H19 (제17군), CASP14 (제18군), KRT10 (제19군), CASP8 (제20군), KRT15 (제21군) 또는 KRT13 (제22군) 유전자의 mRNA 또는 이의 단백질의 발현 정도를 이용한 피부 손상 진단 조성물, 진단 방법, 개선 물질 스크리닝 방법에 관한 것이고,
제23군 발명: 청구항 11-20은 갈라진을 포함하는 피부 상태 개선을 위한 조성물에 관한 것입니다.

1. ☐ 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합니다.
2. ☒ 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를 요구하지 아니하였습니다.
3. ☐ 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.
4. ☐ 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

이의신청에
관한 기재

- ☐ 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.
- ☐ 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된 기간 내에 납부되지 아니하였습니다.
- ☐ 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2014-0069917 A	2014/06/10	없음	
KR 10-1993-0008763 B1	1993/09/15	KR 10-1992-0021130 A	1992/12/18
WO 2007-046087 A2	2007/04/26	AU 2006-305550 A1	2007/04/26
		AU 2006-305550 B2	2013/05/02
		CA 2626361 A1	2007/04/26
		EP 1945244 A2	2008/07/23
		EP 1945244 B1	2016/05/04
		IL 171451 A	2006/03/12
		IL 190841 D0	2008/11/03
		JP 2009-511572 A	2009/03/19
		JP 2014-001231 A	2014/01/09
		US 2012-0144504 A1	2012/06/07
		US 2015-0329867 A1	2015/11/19
		WO 2007-046087 A3	2007/07/26
KR 10-2009-0123049 A	2009/12/02	KR 10-1587869 B1	2016/02/03
KR 10-2014-0113152 A	2014/09/24	KR 10-1512121 B1	2015/04/17