(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0082481
(43) 공개일자 2011년07월19일

(51) Int. Cl.
A61K 35/37 (2006.01) *A61K 35/56* (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-0000661
(22) 출원일자 2011년01월04일
심사청구일자 없음
(30) 우선권주장
1020100002292 2010년01월11일 대한민국(KR)

(71) 출원인
포항공과대학교 산학협력단
경상북도 포항시 남구 효자동 산31 포항공과대학교내
(72) 발명자
김윤근
경상북도 포항시 남구 지곡동 교수아파트 8동 1302호
고용송
경상북도 포항시 남구 지곡동 교수아파트 4동 1003호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인이룸

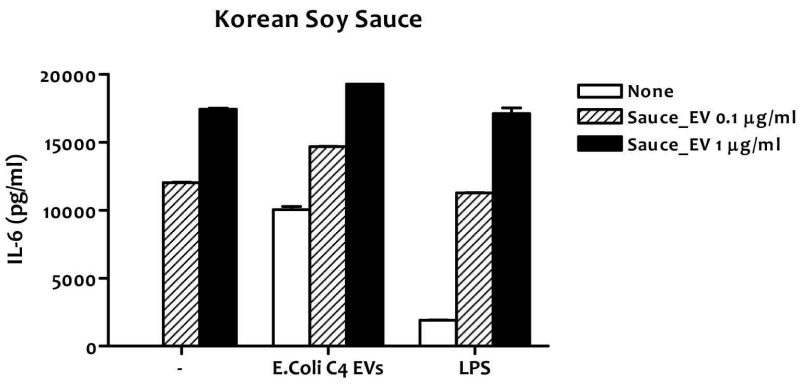
전체 청구항 수 : 총 47 항

(54) 발효식품에서 유래된 세포밖 소포체를 포함하는 조성물 및 이의 용도

(57) 요 약

본 발명은 발효식품에서 분리한 세포밖 소포체를 이용하여 염증성 질환 및 암을 치료 또는 예방하는 방법 등에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 발효식품에서 유래된 세포밖 소포체를 유효성분으로 함유하는 염증성 질환 및 암의 예방 및/또는 치료용 조성물, 상기 세포밖 소포체를 유효성분으로 함유하는 염증성 질환 및 암의 치료 또는 예방용 백신을 제공한다. 또한, 본 발명의 발효식품 유래 세포밖 소포체를 이용하여 발효식품의 안전성을 진단할 수 있다.

대 표 도 - 도5



(72) 발명자

신태섭

경상북도 포항시 남구 효자동 산 31번지 포항공과대학교 생명공학연구센터 208호

김유선

경상북도 포항시 남구 효자동 포항공대 생명공학연구센터 380호

이원희

경상북도 포항시 남구 효자동 포항공대 생명공학연구센터 380호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	20100002053
부처명	교육과학기술부
연구관리전문기관	가천의과학대학교산학협력단
연구사업명	미래기반기술개발_바이오분야
연구과제명	점막에 발생하는 외인성 면역질환의 원인물질 규명 및 제어기술 개발
기여율	1/1
주관기관	포항공과대학교 산학협력단
연구기간	2010.04.01 ~ 2011.03.31

특허청구의 범위

청구항 1

발효식품에서 유래된 세포밖 소포체를 유효 성분으로 함유하는, 염증성 질환의 치료 또는 예방용 조성물.

청구항 2

발효식품에서 유래된 세포밖 소포체를 유효 성분으로 함유하는, 암의 치료 또는 예방용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 염증성 질환은 호흡기질환, 소화기질환, 피부질환, 패혈증, 동맥경화증, 관절염, 뇌질환 및 이의 합병증으로 이루어지는 군에서 선택되는 것인, 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 호흡기 질환은 비염, 천식, 및 만성폐쇄성폐질환을 포함하는 것인, 조성물.

청구항 5

제3항에 있어서,

상기 소화기 질환은 위염, 소화성궤양, 및 염증성대장염을 포함하는 것인, 조성물.

청구항 6

제3항에 있어서,

상기 피부 질환은 아토피피부염, 건선, 및 접촉피부염을 포함하는 것인, 조성물.

청구항 7

제2항에 있어서,

상기 암은 폐암, 위암, 및 대장암을 포함하는 것인, 조성물.

청구항 8

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 세포밖 소포체는 세균에 의해 발효된 발효식품 유래 세포밖 소포체인, 조성물.

청구항 9

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 세포밖 소포체는 곰팡이에 의해 발효된 발효식품 유래 세포밖 소포체인, 조성물.

청구항 10

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 세포밖 소포체는 포유동물 세포에서 염증성 매개체의 분비를 억제하는 것인, 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 염증성 매개체는 인터루킨 6(IL-6)인, 조성물.

청구항 12

제10항에 있어서,

상기 세포는 상피세포 또는 염증세포인, 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 염증세포는 대식세포 또는 호산구인, 조성물.

청구항 14

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 세포밖 소포체는 그 평균 직경이 20 nm 내지 200 nm 인, 조성물.

청구항 15

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 조성물은 약학적 조성물, 식품 조성물, 또는 화장료 조성물인, 조성물.

청구항 16

발효식품에서 유래된 세포밖 소포체를 유효성분으로 함유하는, 염증성 질환의 치료 또는 예방용 백신.

청구항 17

발효식품에서 유래된 세포밖 소포체를 유효성분으로 함유하는, 암의 치료 또는 예방용 백신.

청구항 18

제16항에 있어서,

상기 염증성 질환은 호흡기질환, 소화기질환, 피부질환, 패혈증, 동맥경화증, 관절염, 뇌질환 및 이의 합병증으로 이루어지는 군에서 선택되는 것인, 백신.

청구항 19

제18항에 있어서,

상기 호흡기 질환은 비염, 천식, 및 만성폐쇄성폐질환을 포함하는 것인, 백신.

청구항 20

제18항에 있어서,

상기 소화기 질환은 위염, 소화성궤양, 및 염증성대장염을 포함하는 것인, 백신.

청구항 21

제18항에 있어서,

상기 피부 질환은 아토피피부염, 건선, 및 접촉피부염을 포함하는 것인, 백신.

청구항 22

제17항에 있어서,

상기 암은 폐암, 위암, 및 대장암을 포함하는 것인, 백신.

청구항 23

제16항 또는 제17항에 있어서,

상기 백신은 세포밖 소포체를 단독으로 사용하는 것인, 백신.

청구항 24

제16항 또는 제17항에 있어서,

상기 백신은 상기 세포밖 소포체와 병원성 소포체를 혼합하여 사용하는 것인, 백신.

청구항 25

제24항에 있어서,

상기 병원성 소포체는 체내 공생 세균에서 유래한 병원성 소포체인, 백신.

청구항 26

제24항에 있어서,

상기 병원성 소포체는 그람 양성 세균에서 유래한 병원성 소포체인, 백신.

청구항 27

제24항에 있어서,

상기 병원성 소포체는 공기에 존재하는 병원성 소포체인, 백신.

청구항 28

제16항 또는 제17항에 있어서,

상기 세포밖 소포체는 그 평균 직경이 20 nm 내지 200 nm 인, 백신.

청구항 29

발효식품에서 유래된 세포밖 소포체를 치사량 미만으로 포유동물에게 투여하는 단계를 포함하는, 질환에 대한 예방 또는 치료 방법.

청구항 30

제29항에 있어서,

상기 질환은 호흡기질환, 소화기질환, 피부질환, 패혈증, 동맥경화증, 관절염, 뇌질환 및 이의 합병증, 및 암으로 이루어지는 군에서 선택되는 것인, 방법.

청구항 31

제30항에 있어서,

상기 호흡기 질환은 비염, 천식, 및 만성폐쇄성폐질환을 포함하는 것인, 방법.

청구항 32

제30항에 있어서,

상기 소화기 질환은 위염, 소화성궤양, 및 염증성대장염을 포함하는 것인, 방법.

청구항 33

제30항에 있어서,

상기 피부 질환은 아토피피부염, 건선, 및 접촉피부염을 포함하는 것인, 방법.

청구항 34

제30항에 있어서,

상기 암은 폐암, 위암, 및 대장암을 포함하는 것인, 방법.

청구항 35

제29항에 있어서,

상기 방법은 세포밖 소포체를 단독으로 사용하는 것인, 방법.

청구항 36

제29항에 있어서,

상기 방법은 상기 세포밖 소포체와 병원성 소포체를 혼합하여 사용하는 것인, 방법.

청구항 37

제36항에 있어서,

상기 병원성 소포체는 체내 공생 세균에서 유래한 병원성 소포체인, 방법.

청구항 38

제36항에 있어서,

상기 병원성 소포체는 그람 양성 세균에서 유래한 병원성 소포체인, 방법.

청구항 39

제36항에 있어서,

상기 병원성 소포체는 공기에 존재하는 병원성 소포체인, 방법.

청구항 40

제 29항에 있어서,

상기 투여는 피하주사, 정맥주사, 비강투여, 설하투여, 흡입투여, 경구복용, 항문투여, 및 피부투여로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 41

발효식품 유래 세포밖 소포체를 이용하여 발효식품의 안전성을 진단하는 방법으로, 하기 단계를 포함하는 방법:

(a) 발효식품으로부터 세포밖 소포체를 분리하는 단계;

(b) 상기 분리된 세포밖 소포체를 세포에 처리하여 배양하는 단계; 및

(c) 상기 세포 배양액 중의 염증성 매개체의 수준을 측정하는 단계.

청구항 42

제41항에 있어서,

상기 (a) 단계는 발효식품을 원심분리하여 불순물, 곰팡이 및 세균 등을 제거하는 단계; 및 상기 제거 후 초원심분리를 수행하여 세포밖 소포체를 분리하는 단계를 포함하는 것인, 방법.

청구항 43

제41항에 있어서,

상기 (b) 단계의 세포는 상피세포 또는 염증세포인 방법.

청구항 44

제41항에 있어서,

상기 (c) 단계의 염증성 매개체는 인터루킨 6(IL-6)인, 방법.

청구항 45

제41항에 있어서,

상기 세포밖 소포체는 세균에 의해 발효되는 발효식품에서 유래하는 세포밖 소포체인, 방법.

청구항 46

제41항에 있어서,

상기 세포밖 소포체는 곰팡이에 의해 발효되는 발효식품에서 유래하는 세포밖 소포체인, 방법.

청구항 47

제41항에 있어서,

상기 세포밖 소포체는 그 평균 직경이 20 nm 내지 200 nm 인, 방법.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 발효식품에서 분리한 세포밖 소포체를 유효성분으로 함유하는 염증성 질환 및 암의 치료 또는 예방용 조성물, 및 상기 세포밖 소포체를 이용한 식품의 안전성 진단 방법 등에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 염증(Inflammation)은 세포 및 조직의 손상이나 감염에 대한 국소적인 또는 전신적인 방어 기작이다. 염증은 주로 면역계를 이루는 수많은 체액성 매개체(humoral mediator)가 직접 반응하거나 국소적 또는 전신적 작동 시스템(effector system)을 자극함으로써 일어나는 연쇄적인 생체반응에 의해 유발된다. 이러한 염증반응에 관여하는 매개체들로는 조력 T 림프구 (helpher T lymphocyte, Th cell), cytotoxic T lymphocyte (Tc cell) 등과 같은 면역세포, 대식세포 (macrophage), 호중구 (neutrophil), 호산구 (eosinophil), 비반세포 (mast cell) 등과 같은 염증세포와 이들 세포에서 분비되는 사이토카인 등이 있다. 염증성 질환은 특히, 염증성 사이토카인의 분비, 이로 인한 조직손상과 치유의 불균형에 의한 조직개형을 특징으로 한다. 현재까지 알려진 주요한 염증성 사이토카인으로는 대식세포 및 단핵구 세포에 의해 생성되는 TNF-α(tumor necrosis factor-α), IL-1 (interleukin-1, 인터루킨-1), IL-6 및 IL-8 등이 있다. 이와 같은, 염증성 사이토카인의 불균형에 의한 염증성 질환을 치료하기 위하여 상기 염증성 사이토카인을 억제하고자 하는 연구가 다양하게 이루어지고 있다.

[0003] 주요 염증성 질환으로는 천식, 만성폐쇄성폐질환, 비염 등의 호흡기질환, 아토피 피부염 등의 피부질환, 위염, 위궤양, 염증성장염 등의 소화기질환이 포함되며, 기타 감염성 비염, 알레르기성 비염, 만성 비염, 급성 부비동염 및 만성 부비동염 등과 같은 비염 및 부비동염; 급성화농성 중이염 및 만성화농성 중이염 등과 같은 중이염;

세균성 폐렴, 기관지 폐렴, 대엽성 폐렴, 레지오렐라 폐렴 및 바이러스성 폐렴 등과 같은 폐렴; 급성 또는 만성 위염; 감염성 소장결장염, 크론씨 병(Crohn's disease), 특발성 궤양성 대장염, 위막성 대장염 등과 같은 장염; 화농성 관절염, 결핵성 관절염, 퇴행성 관절염 및 류마티스 관절염 등과 같은 관절염; 및 당뇨병, 동맥경화증 등이 있다.

[0004] 암의 발생에 염증이 중요하다는 가설은 수세기 이전부터 제기되어 왔었고, 만성 염증에 따른 조직손상과 이의 치유과정의 잘못으로 암이 발생한다고 제안되었다. 또한, 대장에 발생하는 염증성장염의 발생에 장내 세균이 중요하다고 알려져 있다. 염증성장염에는 크게 Th1 면역반응을 특징으로 하는 크론병과 Th17 면역반응을 특징으로 하는 궤양성대장염이 있다. 만성염증성장염이 대장암의 위험인자로 주목을 받고 있는데, 특히 궤양성대장염 환자에서 대장암의 발생률이 현저히 증가한다고 알려져 있다. Th17 면역반응의 발생에는 IL-6의 역할이 매우 중요하고, 이는 STAT3를 통한 신호전달경로를 통해 naive T 세포에 대하여 IL-17을 분비하는 Th17 세포로 분화를 유도한다.

[0005] 최근 보고에 의하면 장내 세균중에서 metalloprotease toxin을 분비하는 Bactroides fragillus 균이 IL-6 분비를 유도하고, 이는 STAT3 신호를 통해 Th17 면역반응을 유도하여, 대장암을 발생시킨다는 동물실험결과가 주목을 받고 있다.

[0006] 원핵세포 또는 진핵세포는 세포밖 소포체를 분비하고, 분비된 세포밖 소포체는 여러 기능들이 있음이 최근 보고되었다. 그람 음성균에서 분비된 세포밖 소포체는 내독소(lipopolysacharide, LPS)와 세균 유래 단백질들을 함유하고 있고, 염증성 질환을 유도 하는 것으로 알려져 있다. 또한, 여러 종의 암세포에서 유래된 세포밖 소포체는 암세포의 성장 및 전이에 필요한 단백질들을 함유하고 있음이 보고되었다.

[0007] 최근 본 발명자들은 그람 양성균이 세포밖 소포체를 분비하고, 프로테옴 분석을 통해 소포체내에 질병을 일으키는 단백질이 포함되어 있음을 보고하였고, 이를 피부에 투여하였을 때 아토피피부염이 발생함을 보고하였다.

[0008] 한편, 발효식품은 세균 혹은 효모 등이 원래 식품이 가지고 있는 기질을 대사함으로 인해 발효 이전의 성분과는 전혀 다른 성분을 함유하고 있다. 발효 산물의 항염증 및 항암 효과에 대해 수많은 보고가 있었지만, 아직까지 발효식품 내 발효를 일으키는 세균 혹은 효모에 의한 세포밖 소포체의 생성 유무, 이의 역할 및 임상적인 중요성에 대해서는 알려진 바 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명은 발효식품에서 유래하는 세포밖 소포체를 이용하여 염증성 질환 및 암을 예방 및/또는 치료하는 방법을 제공하고자 한다. 구체적으로, 본 발명은 상기 세포밖 소포체를 유효성분으로 함유하는, 염증성 질환 및 암의 예방 및/또는 치료용 조성물, 염증성 질환 및 암의 치료 또는 예방용 백신을 제공한다. 이에 더하여, 본 발명은 발효식품에서 유래하는 세포밖 소포체를 이용하여 발효식품의 안정성을 진단하는 방법 등을 제공한다.

[0010] 그러나, 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0011] 본 발명은 발효식품에서 유래된 세포밖 소포체를 유효 성분으로 함유하는, 염증성 질환 및 암의 치료 또는 예방용 조성물을 제공한다. 상기 염증성 질환은 호흡기질환, 소화기질환, 피부질환, 등의 국소 염증질환, 패혈증, 동맥경화증, 관절염, 뇌질환 등의 전신 염증질환, 및 이의 합병증 등을 포함한다.

[0012] 본 발명의 예시적 구현예에 있어서, 상기 세포밖 소포체는 포유동물의 세포에서 염증성 매개체의 분비를 억제하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 세포는 상피세포 및 염증세포를 포함한다. 상기 염증세포는 대식세포 및 호산구를 포함한다.

[0013] 본 발명의 예시적 구현예에 있어서, 상기 염증성 매개체는 인터루킨 6(IL-6)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0014] 본 발명의 예시적 구현예에 있어서, 상기 세포밖 소포체는 세균에 의해 발효된 발효식품에서 유래된 것 및 곰팡이에 의해 발효된 발효식품에서 유래된 것을 포함한다. 상기 세포밖 소포체는 발효식품에 존재하는 효모 유래의 세포밖 소포체일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한 상기 세포밖 소포체는 발효식품에 존재하는 세균 유래의 세포밖 소포체일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0015] 본 발명의 세포밖 소포체는 평균 직경이 20 nm 내지 200 nm 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0016] 본 발명의 조성물은 약학적 조성물, 식품 조성물, 화장료 조성물 등일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0017] 또한, 본 발명은 발효식품에서 유래된 세포밖 소포체를 유효성분으로 함유하는, 염증성 질환 및 암의 치료 또는 예방용 백신을 제공한다. 상기 백신은 세포밖 소포체를 단독으로 사용하거나, 상기 세포밖 소포체와 병원성 소포체를 혼합하여 사용할 수 있다. 상기 병원성 소포체는 체내 공생 세균에서 유래한 병원성 소포체, 그람 양성 세균에서 유래한 병원성 소포체, 및 공기에 존재하는 병원성 소포체 등을 포함한다.

[0018] 또한, 본 발명은 발효식품에서 유래된 세포밖 소포체를 치사량 미만으로 포유동물에게 투여하는 단계를 포함하는, 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공한다. 상기 질환은 염증성 질환 및 암 등을 포함한다.

[0019] 또한, 본 발명은 발효식품 유래 세포밖 소포체를 이용하여 발효식품의 안전성을 진단하는 방법을 제공한다.

[0020] 본 발명의 예시적 구현예로, 상기 방법은 하기 단계를 포함할 수 있다: 발효식품으로부터 세포밖 소포체를 분리하는 단계; 상기 분리된 세포밖 소포체를 세포에 처리하여 배양하는 단계; 및 상기 세포 배양액 중의 염증성 매개체의 수준을 측정하는 단계.

[0021] 본 발명의 예시적 구현예로, 발효식품으로부터 세포밖 소포체를 분리하는 단계는 하기를 포함할 수 있다: 발효식품을 원심분리하여 불순물, 곰팡이 및 세균 등을 제거하는 단계; 및 초원심분리를 수행하여 세포밖 소포체를 분리하는 단계.

발명의 효과

[0022] 본 발명자들은 발효식품에서 분리된 세포밖 소포체가 염증성 질환과 관련된 염증성 매개체인 IL-6의 분비를 억제하는 항염증효과가 있으며, 또한 대장암 동물모델에서 암 발생을 억제하는 항암효과가 있음을 발견하였다. 따라서, 발효식품에서 유래된 세포밖 소포체를 유효성분으로 함유하는 본 발명의 조성물은 염증성 질환 및 암을 예방 또는 치료할 수 있는 약학적 조성물, 식품 조성물, 및 화장료 조성물 등으로 이용될 수 있다.

[0023] 또한, 발효식품에서 유래된 본 발명의 세포밖 소포체는 염증세포의 염증성 매개체의 분비를 유발시킬 수 있기 때문에, 상기 세포밖 소포체를 이용하여 발효식품의 안전성을 진단할 수 있다. 이에 더하여, 발효식품에 존재하는 세포밖 소포체는 염증을 유도할 수 있기 때문에, 식품의 제조과정에서 세포밖 소포체를 제거함으로써 식품의 안전성을 높일 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0024] 도 1은 된장과 간장에서 세포밖 소포체를 추출하는 과정을 나타낸 프로토콜이다.

도 2는 세포밖 소포체 추출 과정 중에서 density gradient 초고속원심분리 후의 모습과 fraction을 분리 후 각 fraction의 단백질 농도 및 밀도를 측정한 결과이다.

도 3은 된장 (좌)과 간장 (우)에서 추출한 세포밖 소포체를 투과전자현미경 (transmission electron microscope, TEM)으로 관찰한 사진이다.

도 4는 우리나라 전통 된장에서 분리한 세포밖 소포체가 대장균 유래 세포밖 소포체 또는 LPS에 의한 염증성 매개체 분비에 미치는 영향을 평가하기 위하여 대식세포 (RAW 246.7 세포)에 처리한 뒤 세포 배양액에서 염증성 매개체 IL-6를 측정한 결과이다.

도 5는 우리나라 전통 간장에서 분리한 세포밖 소포체가 대장균 유래 세포밖 소포체 또는 LPS에 의한 염증성 매

개체 분비에 미치는 영향을 평가하기 위하여 대식세포 (RAW 246.7 세포)에 처리한 뒤 세포 배양액에서 염증성 매개체 IL-6를 측정한 결과이다.

도 6은 일본식 된장에서 분리한 세포밖 소포체가 대장균 유래 세포밖 소포체 또는 LPS에 의한 염증성 매개체 분비에 미치는 영향을 평가하기 위하여 대식세포 (RAW 246.7 세포)에 처리한 뒤 세포 배양액에서 염증성 매개체 IL-6를 측정한 결과이다.

도 7은 일본식 간장에서 분리한 세포밖 소포체가 대장균 유래 세포밖 소포체 또는 LPS에 의한 염증성 매개체 분비에 미치는 영향을 평가하기 위하여 대식세포 (RAW 246.7 세포)에 처리한 뒤 세포 배양액에서 염증성 매개체 IL-6를 측정한 결과이다.

도 8은 일본식 간장에서 분리한 세포밖 소포체가 그람 양성균인 포도상구균 (S. aureus) 유래 세포밖 소포체에 의해 염증성 매개체 분비에 미치는 영향을 평가하기 위하여 대식세포 (RAW 246.7 세포)에 처리한 뒤 세포 배양액에서 염증성 매개체 IL-6를 측정한 결과이다.

도 9는 Lactobacillus acidophilus 유산균 음료에서 세포밖 소포체를 분리하여 동적광산란법으로 소포체의 크기를 측정한 그림이다.

도 10은 대장암세포에 의한 대장암동물모델에 Lactobacillus acidophilus 유산균음료에 포함된 세포밖 소포체를 투여하여 항암효과를 평가하기 위한 프로토콜이다.

도 11은 Lactobacillus acidophilus 유산균 음료에서 분리한 세포밖 소포체가 항암효과를 나타낸 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0025] 본 발명자들은 발효식품에 세포밖 소포체가 존재하고, 발효식품의 제조방법에 따라 발효식품에 존재하는 세포밖 소포체의 생물학적 활성이 다름을 발견하였다. 이와 관련하여, 우리나라의 전통적인 방법으로 제조한 간장에 존재하는 세포밖 소포체인 경우에는 소포체 자체에 의한 IL-6 분비기능이 현저히 증가되어 있었으나, 일본식으로 제조한 간장인 경우에는 반대로 염증질환을 유도하는 그람 음성균 유래 세포밖 소포체뿐만 아니라 그람 양성균 유래 세포밖 소포체에 의한 IL-6 분비를 효율적으로 억제한다는 사실을 발견하였다. 또한, 본 발명자들은 유산균음료에 세포밖 소포체가 존재함을 확인하고, 이를 분리하여 대장암 동물모델에 투어하였을 때 세포밖 소포체가 암의 발생을 효율적으로 억제함을 발견하여 본 발명을 완성하게 되었다.

[0026] 따라서, 본 발명은 발효식품에서 유래된 세포밖 소포체를 유효 성분으로 함유하는, 염증성 질환 및 암의 치료 또는 예방용 조성물을 제공한다.

[0027] 본 발명에서, "발효"란 식품의 제조과정시 무산소상태에서 세균 혹은 효모 등에 의해 탄수화물이 알코올 및 이산화탄소 혹은 유기산 등으로 전환되는 것을 의미하며, 콩, 곡류, 채소, 과일, 생선, 육류 등에 세균 혹은 효모를 이용하여 발효식품을 제조할 수 있다.

[0028] 본 발명에서 "발효식품에서 유래된 세포밖 소포체"란 콩, 곡류, 채소, 과일, 생선, 육류 등의 발효식품에 존재하는 세포밖 소포체를 포함하며, 크기가 원래의 세포보다 작은 것을 특징으로 하나, 이에 제한되는 것은 아니다. 본 발명의 세포밖 소포체는 발효식품에 존재하는 세균 혹은 곰팡이에 의하여 분비되는 세포밖 소포체일 수 있다. 상기 발효식품에 존재하는 곰팡이는 발효를 유도하는 효모를 포함한다.

[0029] 또한, 본 발명은 발효식품에서 유래된 세포밖 소포체를 유효성분으로 함유하는, 염증성 질환 및 암의 치료 또는 예방용 백신을 제공한다. 상기 백신은 세포밖 소포체를 단독으로 사용하거나, 상기 세포밖 소포체와 병원성 소포체를 혼합하여 사용할 수 있다. 상기 병원성 소포체는 체내 공생 세균에서 유래한 병원성 소포체, 그람 양성 세균에서 유래한 병원성 소포체, 및 공기에 존재하는 병원성 소포체 등을 포함한다.

[0030] 발효식품에서 상기 세포밖 소포체를 분리하는 방법은 세포밖 소포체를 순수하게 분리할 수 있다면 특별히 제한되지 않으며, 예컨대 발효식품에서, 원심분리, 초원심분리, 필터에 의한 여과, 겔 여과 크로마토그래피, 프리-플로우 전기영동, 모세관 전기영동 등의 방법 및 이들의 조합을 이용하여 세포밖 소포체를 분리할 수 있다. 또한, 불순물의 제거를 위한 세척, 수득된 세포밖 소포체의 농축 등의 과정을 추가로 포함할 수 있다.

[0031] 상기 방법에 의하여 분리된 세포밖 소포체는 평균 직경이 500 nm 이하일 수 있으며, 바람직하게는 20 nm 내지 200 nm 일 수 있다.

[0032] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 조성물은 약학적 조성물로 제조될 수 있다. 치료 및/또는 예방에 사용하

기 위해 본 발명의 세포밖 소포체 자체를 투여하는 것이 가능할 수 있지만, 약학적 조성물의 활성 성분으로서 상기 세포밖 소포체가 포함되는 것이 바람직하다.

[0033] 상기 약학적 조성물은 상기 분리된 세포밖 소포체를 유효 성분으로 함유하며, 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 상기 약학적으로 허용가능한 담체는 제제 시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 사이클로덱스트린, 덱스트로즈 용액, 말토덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올, 리포좀 등을 포함하지만 이에 한정되지 않으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액 등 다른 통상의 첨가제를 더 포함할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제, 윤활제 등을 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다. 적합한 약학적으로 허용되는 담체 및 제제화에 관해서는 레밍턴의 문헌 (Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Company, Easton PA)에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 제형에 특별한 제한은 없으나 주사제, 흡입제, 피부 외용제 등으로 제제화할 수 있다.

[0034] 본 발명의 약학적 조성물의 투여방법은 특별히 제한되는 것은 아니나, 목적하는 방법에 따라 정맥내, 피하, 복강 내, 흡입, 피부도포, 설하 투여, 비강투여, 항문 투여, 경구 복용 등을 선택할 수 있다.

[0035] 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다. 일일 투여량은 치료를 필요로 하는 개체에 투여됨으로서 경감된 질병 상태에 대한 치료에 충분한 본 발명의 치료용 물질의 양을 의미한다. 치료용 물질의 효과적인 양은 특정 화합물, 질병 상태 및 그의 심각도, 치료를 필요로 하는 개체에 따라 달라지며, 이는 당업자에 의해 통상적으로 결정될 수 있다. 비제한적 예로서, 본 발명에 의한 조성물의 인체에 대한 투여량은 환자의 나이, 몸무게, 성별, 투여 형태, 건강 상태 및 질환 정도에 따라 달라질 수 있으며, 몸무게가 70 ㎏인 성인 환자를 기준으로 할 때, 일반적으로는 0.01 ~ 1000 ㎎/일, 바람직하게는 1 ~ 500 ㎎/일이며, 일정시간 간격으로 1일 1회 내지 수회에 분할 투여할 수도 있다.

[0036] 본 발명의 다른 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물은 화장료 조성물로 제조될 수 있다. 본 발명의 화장료 조성물에 포함되는 성분은 유효 성분으로서의 상기 세포밖 소포체를 함유하는 것 이외에, 화장료 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함하며, 예컨대 항산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 및 담체를 포함할 수 있다.

[0037] 본 발명의 화장료 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클린싱, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 보다 상세하게는, 영양 크림, 수렴 화장수, 유연 화장수, 로션, 에센스, 영양젤 또는 마사지 크림의 제형으로 제조될 수 있다.

[0038] 본 발명의 또 다른 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물은 식품 조성물로 제조될 수 있다. 본 발명의 조성물이 식품 조성물로 제조되는 경우, 유효성분으로서 상기 세포밖 소포체를 함유할 뿐만 아니라, 식품 제조시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함하며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소, 조미제 및 향미제를 포함할 수 있다. 예컨대, 본 발명의 식품 조성물이 드링크제로 제조되는 경우에는 본 발명의 세포밖 소포체 이외에 구연산, 액상과당, 설탕, 포도당, 초산, 사과산, 과즙 등을 추가로 포함시킬 수 있다.

[0039] 본 발명에서 "염증성 질환의 치료 또는 예방"이란, 염증성 질환의 경감, 완화 및 증상의 개선을 포함하며, 또한 염증성 질환이 걸릴 가능성을 경감하는 것을 포함하는 의미이다.

[0040] 본 발명에서 "염증성 질환"이란, 포유동물 체내의 염증 반응에 의하여 유발되는 질환을 의미하며, 대표적인 예로는, 천식, 만성폐쇄성폐질환, 비염 등의 호흡기질환; 아토피피부염, 건선, 접촉피부염 등의 피부질환; 위염, 소화기궤양, 염증성장염 등의 소화기질환; 패혈증, 동맥경화증, 관절염, 뇌질환 등의 전신 염증질환, 및 이의 합병증 등을 포함한다. 또한, 상기 염증성 질환은 일반적인 염증성 질환 이외에도, 염증 반응과 관련된 암을 포함하는 의미로 사용되며, 예컨대, 폐암, 위암, 대장암 등을 포함한다.

[0041] 본 발명의 조성물은 포유동물의 염증세포에서 염증성 매개체의 분비를 억제함으로써, 염증성 질환의 치료 또는 예방이 가능하다. 특히, 본 발명의 발효식품에서 분리한 세포밖 소포체가 염증성 질환 또는 암의 발생과 관련된 중요한 바이오마커인 IL-6의 분비를 억제하는 것이 가능하기 때문에, 본 발명의 조성물은 IL-6를 매개로 하는 Th-17 염증성 질환 및 IL-6 또는 Th-17 염증 반응에 의한 암을 치료 또는 예방하는 것이 가능하다. 이에 더하여, 본 발명자들은 유산균음료와 같은 발효식품에 존재하는 세포밖 소포체가 대장암 동물모델에서 암 발생을 효율적으로 억제함을 확인하였다. 따라서, 유산균음료와 같은 발효식품에 존재하는 세포밖 소포체를 포함하

는 조성물을 투여함으로써 암 치료 및 예방 효과를 기대할 수 있다.

[0042] 또한, 본 발명은 발효식품에서 유래된 세포밖 소포체를 이용하여 식품의 안전성을 진단하는 방법을 제공한다. 발효식품에서 분리된 세포밖 소포체는 염증세포의 염증성 매개체의 분비를 유발시킬 수 있다. 따라서, 상기 진단 방법은, 발효식품에서 세포밖 소포체를 분리하는 단계; 상기 분리된 세포밖 소포체를 염증세포에 처리하여 배양하는 단계; 및 상기 세포 배양액 중의 염증성 매개체의 수준을 측정하는 단계를 포함할 수 있다. 즉, 상기 분리된 세포밖 소포체를 체외에서 염증세포에 투여하여 함께 배양하고, 상기 염증세포에서 분비되는 염증성 매개체의 종류 및 수준을 측정하여, 식품의 안전성을 진단하는 것이 가능하다.

[0043] 예컨대, 상기 분리된 세포밖 소포체를 대식세포 배양액 중에 첨가하여 함께 배양하고, 상기 대식세포가 분비하는 IL-6의 수준을 측정함으로써 식품에 의한 염증성 질환의 발생 혹은 악화 여부를 진단할 수 있다. 또한, 상기 분리된 세포밖 소포체를 실험 동물에 직접 투여하여, 실험 동물의 체내에 생성되는 염증성 매개체(예컨대, IL-6)의 수준을 측정함으로써, 세포밖 소포체를 분리한 대상 개체의 염증성 질환의 발생 혹은 악화 여부를 예측하는 것이 가능하다.

[0044] 또한, 본 발명은 발효식품에 존재하는 세포밖 소포체를 제거하여 식품의 안전성을 높이는 방법을 제공한다. 발효식품에 존재하는 세포밖 소포체는 염증을 유도할 수 있으므로, 다양한 방법으로 발효식품에 존재하는 세포밖 소포체를 제거하여 보다 안전한 식품을 제조할 수 있다.

[0045] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0046] **실시예 1. 발효식품인 간장 (soy sauce) 및 된장 (soybean paste) 유래 세포밖 소포체의 분리 및 이의 특성**

[0047] 도 1에 나타낸 프로토콜에 따라, 간장 60 ml을 고속원심분리 튜브 (high speed centrifuge tube)에 담은 후, 4° C, 10,000 x g에서 15분 동안 고속원심분리 (high speed centrifugation)를 연속으로 2번 수행하였다. 상층액을 70 ml 용량의 초원심분리 튜브 (ultracentrifuge tube)에 담고 4° C, 100,000 x g에서 4시간 동안 초원심분리 (ultracetrifugation)를 하였다. 상층액은 버리고 튜브 아래에 존재하는 침전물을 50% Optiprep solution으로 녹여내었다. 이후 Optiprep density gradient 방법으로 추가 정제를 수행하였다. 5 ml 용량의 초원심분리 튜브에 침전물이 함유된 50% Optiprep solution, 40%, 30%, 20%, 10%의 Optiprep solution을 각각 1 ml씩 순서대로 넣고, 4° C, 100,000 x g에서 4시간 동안 초원심분리를 하였다 (도 1 참조). 초원심분리 후 세포밖 소포체는 밀도에 따라 20% Optiprep solution과 30% Optiprep solution 층 사이에 위치하였다 (도 2 참조). 튜브의 윗쪽부터 용액을 제거하여 세포밖 소포체가 포함된 층을 분리하였다.

[0048] 된장에서 세포밖 소포체 분리 시, 된장 10 g을 100 ml PBS가 들어있는 비커에 4° C, 1시간 동안 녹여내고 거즈를 이용하여 큰 이물질들을 걸러냈다. 이 후 과정은 간장에서 세포밖 소포체 분리와 동일하게 수행하였다. 상기의 방법으로 추출한 세포밖 소포체의 투과전자현미경 (transmission electron microscope, TEM)으로 관찰한 결과, 세포밖 소포체는 지질 이중층으로 이루어져 있으며, 크기가 50-100 nm이고 대체로 구형을 이루고 있음을 확인하였다 (도 3 참조).

[0049] **실시예 2. 한국 된장 및 간장 (혹은 조선 된장 및 간장)에서 분리한 세포밖 소포체에 의한 염증성 매개체 분비 및 LPS 혹은 대장균 유래 세포밖 소포체에 의한 염증성 매개체 분비에 미치는 영향**

[0050] 마우스 대식세포 (RAW264.7)에 한국 된장 및 간장에서 분리한 세포밖 소포체 (0.1, 1 μg/ml)를 단독으로 처리하거나 LPS(10 ng/ml) 또는 대장균 유래 세포밖 소포체(100 ng/ml)와 함께 처리하고 15시간 동안 배양한 뒤 세포 배양액에서 염증성 매개체 IL-6의 발현 정도를 확인 하고 그 결과를 도 4 및 도 5에 나타내었다.

[0051] 도 4 및 도 5에 나타난 바와 같이, 대조군과 비교하여 한국 된장 및 간장에서 분리한 세포밖 소포체를 처리해준 실험군에 염증성 매개체인 IL-6가 증가하는 것을 알 수 있다. 또한, 한국 된장 및 간장에서 분리한 세포밖 소포체를 LPS 또는 대장균 유래 세포밖 소포체와 함께 처리한 실험군에서는 함께 처리한 한국 된장 및 간장 유래 세포밖 소포체의 양이 증가함에 따라 대장균 유래 세포밖 소포체나 LPS를 단독으로 처리한 실험군에 비해 IL-6가 증가하는 것을 확인 하였다.

[0052] 상기 결과는 한국 된장 및 간장 유래 세포밖 소포체는 단독으로도 염증성 매개체 분비를 증가 시킬 수 있으며 대장균 유래 세포밖 소포체 및 LPS에 의한 염증성 매개체의 발현 증가를 더욱 촉진 시킬 수 있음을 의미한다.

[0053] **실시예 3. 일본 된장 (혹은 왜된장)에서 분리한 세포밖 소포체에 의한 염증성 매개체 분비 및 LPS, 혹은 대장균 유래 세포밖 소포체에 의한 염증성 매개체 분비에 미치는 영향**

[0054] 마우스 대식세포 (RAW264.7)에 일본 된장에서 분리한 세포밖 소포체 (0.1, 1, 10 μg/ml)를 단독으로 처리하거나, LPS(10 ng/ml), 대장균 유래 세포밖 소포체(10 ng/ml)와 함께 처리하고 15시간 동안 배양한 뒤 세포 배양액에서 염증성 매개체 IL-6의 발현 정도를 확인 하고 그 결과를 도 6에 나타내었다.

[0055] 도 6에 나타난 바와 같이, 일본 된장에서 분리한 세포밖 소포체 만을 투여한 경우에는 IL-6 분비가 증가하지 않았으나, LPS 혹은 대장균 유래 세포밖 소포체와 함께 일본 된장 유래 세포밖 소포체를 10 μg/ml 농도로 처리한 실험군에서는 대조군 (LPS 또는 대장균 유래 세포밖 소포체만을 처리한 실험군)에 비교하여 IL-6가 증가함을 알 수 있다.

[0056] 상기 결과는, 일본 된장 유래 세포밖 소포체는 염증 반응을 유도하는 LPS, 대장균 유래 세포밖 소포체에 의한 염증성 매개체의 발현을 증가시킬 수 있음을 의미한다.

[0057] **실시예 4. 일본 간장 (혹은 왜간장)에서 분리한 세포밖 소포체에 의한 염증성 매개체 분비 및 LPS, 대장균유래 세포밖 소포체, 혹은 포도상구균유래 세포밖 소포체에 의한 염증성 매개체 분비에 미치는 영향**

[0058] 마우스 대식세포 (RAW264.7)에 일본 간장에서 분리한 세포밖 소포체 (0.1, 1, 10 μg/ml)를 단독으로 처리하거나, LPS(10 ng/ml), 대장균 유래 세포밖 소포체(10 ng/ml), 혹은 포도상구균 유래 세포밖 소포체(1 μg/ml)와 함께 처리하고 15시간 동안 배양한 뒤 세포 배양액에서 염증성 매개체 IL-6의 발현 정도를 확인 하였다. 이 결과, 일본 간장에서 분리한 세포밖 소포체 만을 투여한 경우에는 IL-6 분비가 증가하지 않았으나, LPS 혹은 대장균 유래 세포밖 소포체 또는 포도상구균 유래 세포밖 소포체와 함께 일본 간장 유래 세포밖 소포체를 10 μg/ml 농도로 처리한 실험군에서는 대조군 (LPS, 대장균 유래 세포밖 소포체 또는 포도상구균 유래 세포밖 소포체 만을 처리한 실험군)에 비교하여 IL-6가 현저히 감소한 것을 확인 하였다 (도 7 및 도 8 참조).

[0059] 상기 결과는, 일본 간장 유래 세포밖 소포체는 염증 반응을 유도하는 LPS, 대장균 유래 세포밖 소포체 또는 포도상구균 유래 세포밖 소포체에 의한 염증성 매개체의 발현을 길항 할 수 있음을 의미한다.

[0060] **실시예 5. Lactobacillus acidophilus 유산균 음료에서 세포밖 소포체 분리 및특성**

[0061] Lactobacillus acidophilus에 의한 유산균 음료에서 세포밖 소포체를 분리하기 위하여 상기 유산균 음료 1L를 거즈로 걸러내었다. 거즈로 걸러낸 유산균 발효에서 유산균 및 기타 부유물을 제외한 상층액을 얻어내기 위하여 12,000 x g의 속도로 30분간 원심 분리를 수행하였다. 원심 분리 수행 후 얻어낸 상층액은 0.22㎛의 필터를 이용하여 0.22㎛초과 물질을 제거하였다. 얻어낸 0.22㎛미만의 용액에서 세포밖 소포체를 얻어내기 위해서 150,000 x g의 속도로 2시간 동안 초고속 원심 분리를 수행하였다. 초고속 원심 분리 수행 후 가라 앉은 세포밖 소포체를 200μl의 생리 식염수로 풀어내어 Bradford assay로 정량을 수행 하였으며, 분리해낸 세포밖 소포체의 크기를 측정하기 위하여 동적 빛 산란법을 이용하였다. 그결과 얻어낸 세포밖 소포체는 평균 29.34nm 이 크기를 가지고 있다는 것을 확인하였다 (도 9 참조).

[0062] **실시예 6. Lactobacillus acidophilus 유산균 음료에서 분리한 세포밖 소포체의 항암효과**

[0063] 실시예 5의 방법에 의해서 분리된 Lactobacillus acidophilus 유산균 음료 유래 세포밖 소포체가 항암효과를 가지고 있는지 확인하기 위하여 colon 26 종양 세포를 이용한 in vivo 종양 모델에서 활성을 확인하였다.

[0064] 도 10에 나타낸 프로토콜에 따라, Colon 26 종양 세포를 이용한 in vivo 종양 모델을 만들기 위해서 5주령의 Balb/c(male) 마우스에 1 x 10^6 개의 colon 26 세포를 피하 주사로 주입하였다. 이후 유산균 음료 유래 세포밖 소포체의 항암효과를 확인하기 위하여 종양 주입 후 7일 후부터 3일 간격으로 유산균 음료 유래 세포밖 소포체

10㎍을 꼬리 정맥을 통해서 주사 하였다. 마지막 주사 후 3일 뒤, 마우스를 해부하여 종양을 절제 하고 종양의 부피를 측정하여 유산균 음료 유래 세포밖 소포체의 항암 효과를 평가 하였다.

[0065] 그 결과, 유산균 음료 유래 세포밖 소포체를 주사한 그룹에서 주사 하지 않은 그룹에 비교하여 종양의 크기가 현저히 감소 하였음을 확인하였다 (도 11 참조).

[0066] 상기 실시예 등을 통하여, 본 발명자들은 대표적인 발효식품인 일본간장에서 분리한 세포밖 소포체가 염증성 질환 및 암을 일으키는데 중요한 바이오마커인 IL-6 분비를 억제함을 최초로 규명하였으며, 이에 더하여, Lactobacillus acidophilus 유산균음료에서 분리한 세포밖 소포체가 대장암 발생을 효율적으로 억제함을 최초로 규명하였다.

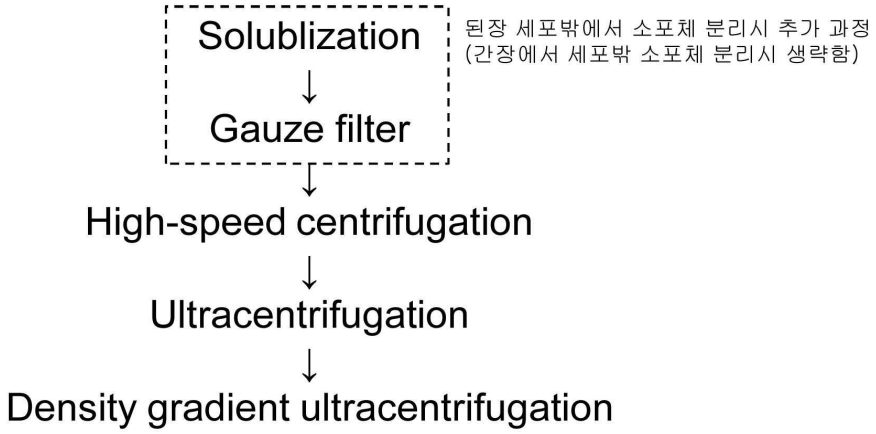
[0067] 또한, 본 발명자들은 간장 등의 발효식품에서 발효를 일으키는 세균 등이 콩과 같은 기질을 이용하여 발효하는 과정에서 세포밖 소포체를 분비하고, 이는 IL-6 등에 의해 매개되는 염증성 질환 및 암 등의 발생 및 진행을 막을 수 있다는 것을 확인하였다.

[0068] 본 발명의 세포밖 소포체는 된장 및 간장에서 분리했으나, 이에 제한하는 것은 아니다. 또한, 한국간장 (혹은 조선간장)에서 분리한 세포밖 소포체 자체가 염증세포에서 염증성 매개체 분비를 유도하는 정도가 LPS나 대장균 유래 세포밖 소포체에 의한 정도와 비슷함은 발효식품 내에 존재하는 세포밖 소포체 자체가 염증성 질환을 유도함을 의미하며, 이는 발효식품 내 세포밖 소포체에 의한 염증세포에서 IL-6 등의 분비를 측정함으로서 발효식품의 안전성을 진단할 수 있다는 것을 의미한다. 이는 간장 등의 발효식품에 초점을 맞추었으나, 이에 제한하는 것은 아니다.

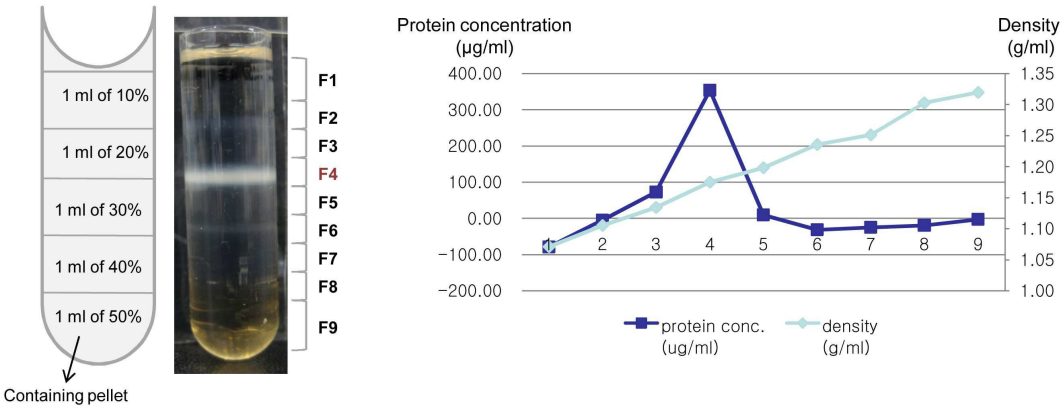
[0069] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

도면

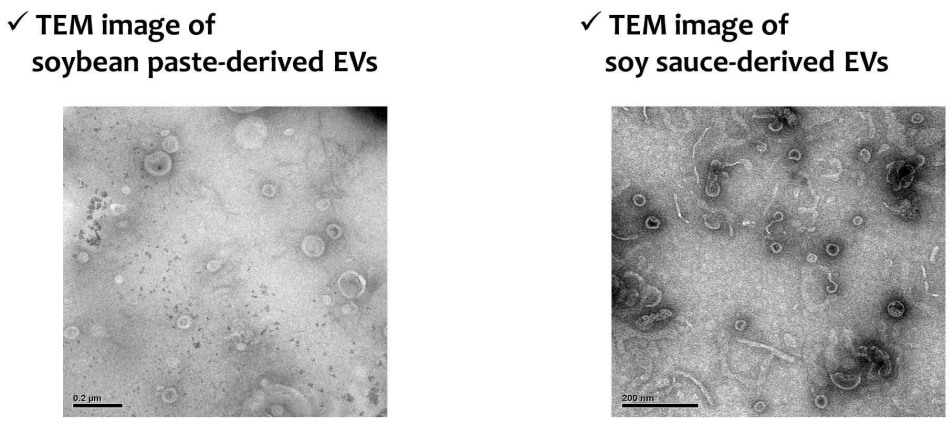
도면1



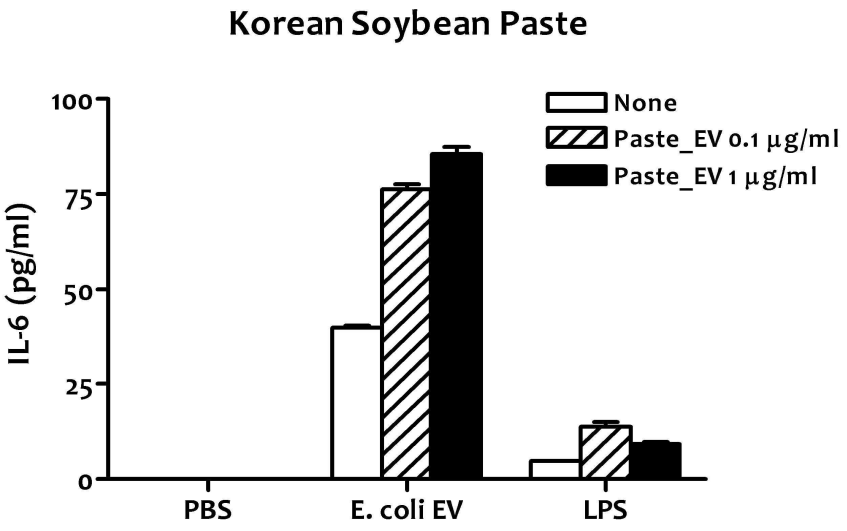
도면2


1 ml of 10%
1 ml of 20%
1 ml of 30%
1 ml of 40%
1 ml of 50%
Containing pellet
F1
F2
F3
F4
F5
F6
F7
F8
F9
Protein concentration (μg/ml)
Density (g/ml)
400.00
300.00
200.00
100.00
0.00
-100.00
-200.00
1.35
1.30
1.25
1.20
1.15
1.10
1.05
1.00
1 2 3 4 5 6 7 8 9
protein conc. (ug/ml)
density (g/ml)

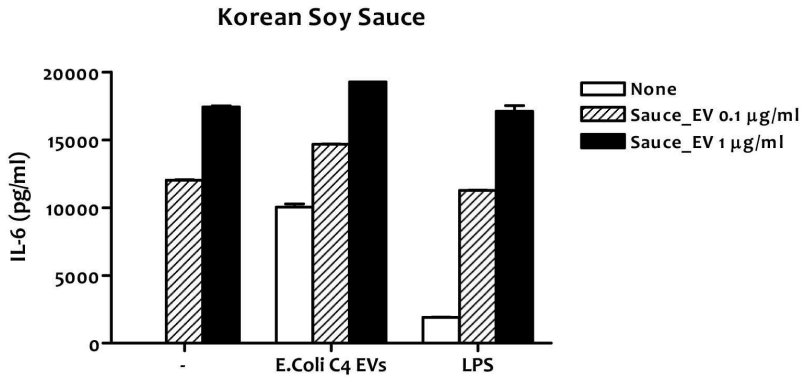
도면3


✓ TEM image of soybean paste-derived EVs
✓ TEM image of soy sauce-derived EVs
0.2 μm
200 nm

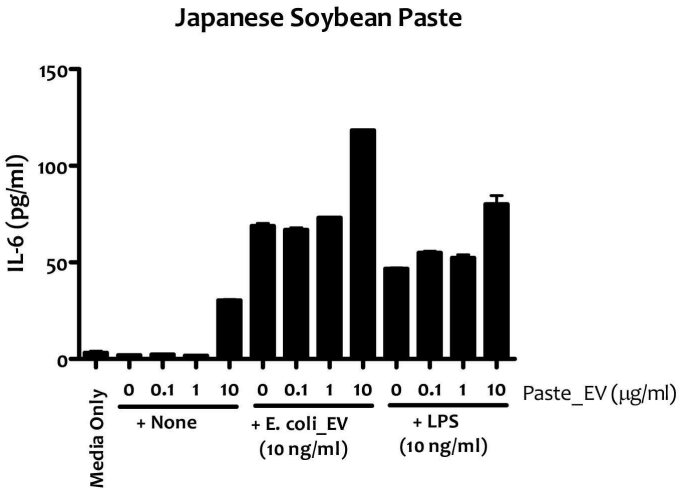
도면4


Korean Soybean Paste
IL-6 (pg/ml)
100
75
50
25
0
None
Paste_EV 0.1 μg/ml
Paste_EV 1 μg/ml
PBS
E. coli EV
LPS

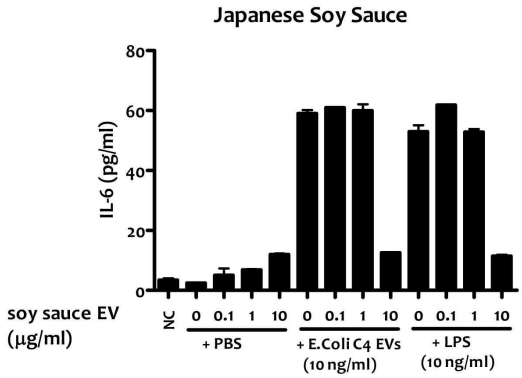
도면5


Korean Soy Sauce
IL-6 (pg/ml)
20000
15000
10000
5000
0
-
E.Coli C4 EVs
LPS
None
Sauce_EV 0.1 μg/ml
Sauce_EV 1 μg/ml

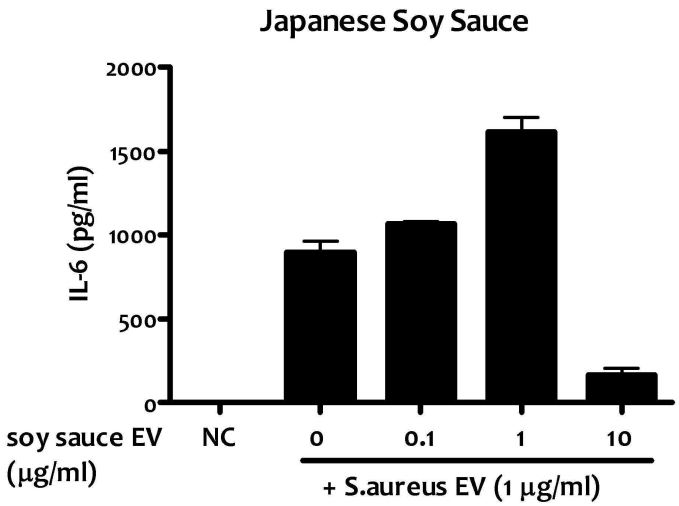
도면6


Japanese Soybean Paste
IL-6 (pg/ml)
150
100
50
0
Media Only
0 0.1 1 10 0 0.1 1 10 0 0.1 1 10
Paste_EV (μg/ml)
+ None
+ E. coli_EV
(10 ng/ml)
+ LPS
(10 ng/ml)

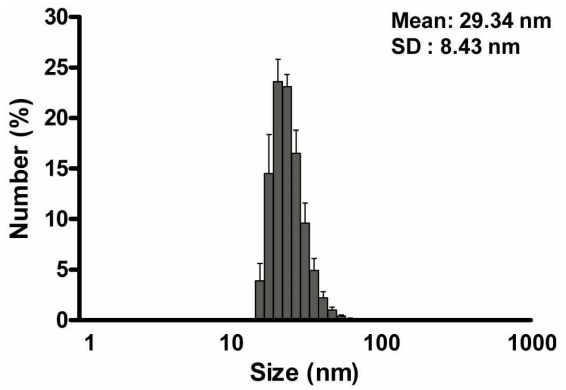
도면7


Japanese Soy Sauce
IL-6 (pg/ml)
80
60
40
20
0
soy sauce EV
(μg/ml)
NC 0 0.1 1 10 0 0.1 1 10 0 0.1 1 10
+ PBS
+ E.Coli C4 EVs
(10 ng/ml)
+ LPS
(10 ng/ml)

도면8



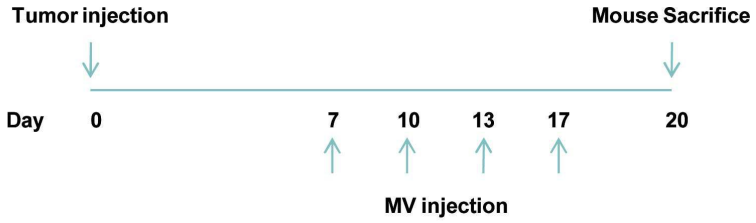
도면9



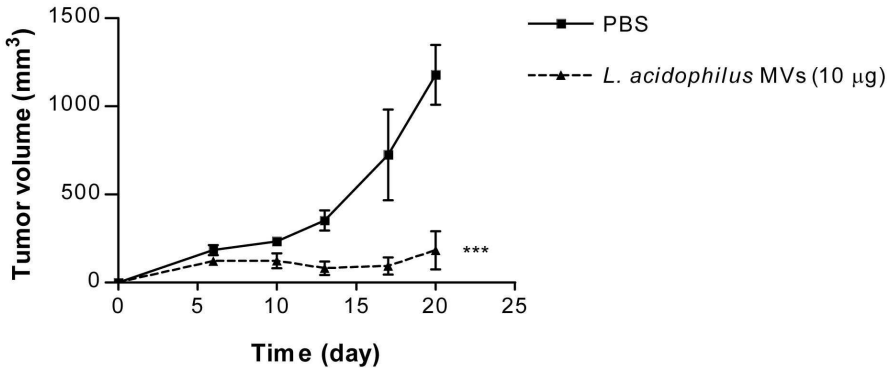
도면10

Procedure

1) Mouse – Balb/c, male, 5-week-old (N=4 per group)
2) Tumor cells – Colon 26, 1 x 10^6 cells (SC injected)
3) MV injection dose – 10 μg/0.1 ml PBS
4) MV injection route – tail vein
5) MV injection time – twice/week



도면11


1500
1000
500
0
Tumor volume (mm3)
0
5
10
15
20
25
Time (day)
***
PBS
L. acidophilus MVs (10 μg)