

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(10) 국제공개번호

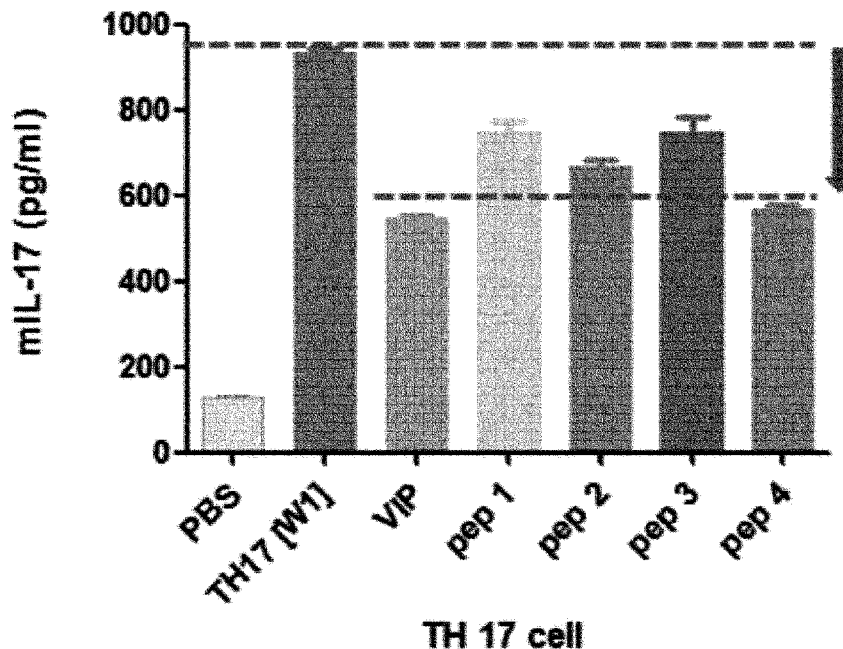
WO 2020/171274 A1

2020 년 8 월 27 일 (27.08.2020) WIPO | PCT

- (51) 국제특허분류: *C07K 14/52* (2006.01) *A61P 29/00* (2006.01)
C07K 7/08 (2006.01) *A61P 37/00* (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01) *A61K 38/00* (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2019/002415
- (22) 국제출원일: 2019 년 2 월 28 일 (28.02.2019)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2019-0019957 2019 년 2 월 20 일 (20.02.2019) KR
- (71) 출원인: 한국외국어대학교 연구산학협력단 (HAN-KUK UNIVERSITY OF FOREIGN STUDIES RESEARCH & BUSINESS FOUNDATION) [KR/KR]; 17035 경기도 용인시 처인구 모현면 외대로 81, Gyeonggi-do (KR).
- (72) 발명자: 김용애 (KIM, Yong Ae); 13588 경기도 성남시 분당구 중앙공원로 53, 126동 1303호 (서현동, 시범단지 삼성. 한신아파트), Gyeonggi-do (KR). 김지선 (KIM, Ji Sun); 07987 서울시 양천구 목동동로 350, 522동 308호 (목동, 목동신시가지아파트5단지), Seoul (KR). 정지호 (JEONG, Ji Ho); 12773 경기도 광주시 오포읍 능평로75 번길 11, 101호 (노블하임), Gyeonggi-do (KR).
- (74) 대리인: 특허법인 이룸리온 (ERUUM & LEEON INTELLECTUAL PROPERTY LAW FIRM); 06575 서울 시 서초구 사평대로 108, 3층 (반포동), 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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK,

(54) Title: PEPTIDE HAVING PROPHYLACTIC OR THERAPEUTIC ACTIVITY FOR INFLAMMATORY OR AUTOIMMUNE DISEASE AND USE THEREOF

(54) 발명의 명칭: 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 예방 또는 치료 활성을 갖는 펩타이드 및 이의 용도



(57) Abstract: The present invention relates to a peptide comprising at least one amino acid sequence selected from the group consisting of the amino acid sequence of SEQ ID NO: 1, the amino acid sequence of SEQ ID NO: 2, the amino acid sequence of SEQ ID NO: 3, and the amino acid sequence of SEQ ID NO: 4, and having prophylactic or therapeutic activity for an inflammatory or autoimmune disease. The present invention also relates to a pharmaceutical or anti-inflammatory composition comprising at least one of the peptides of SEQ ID NOS: 1 to 4 for prophylaxis or therapy of an inflammatory or autoimmune disease. Furthermore, the present invention relates to a use of at least one of the peptides of SEQ ID NOS: 1 to 4 in a therapeutic method for an inflammatory or autoimmune disease or in preparing a therapeutic drug for an inflammatory or autoimmune disease. The peptide comprising any one of the amino acid sequences of SEQ ID NOS: 1 to 4 can significantly inhibit the secretion or expression of inflammatory cytokines such as IL-17, etc. and as such,



WO 2020/171274 A1

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.

(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).

규칙 4.17에 의한 선언서:

— 발명자 선언 (규칙 4.17(iv))

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

— 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

has a prophylactic or therapeutic activity for an inflammatory or autoimmune disease. Therefore, a composition comprising at least one of the peptides is effective for use in a pharmaceutical composition for prophylaxis or therapy of an inflammatory or autoimmune disease, in a therapeutic method, and in preparing a therapeutic drug, or as an anti-inflammatory composition.

(57) 요약서: 본 발명은 서열번호 1의 아미노산 서열, 서열번호 2의 아미노산 서열, 서열번호 3의 아미노산 서열 및 서열번호 4의 아미노산 서열로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 아미노산 서열을 포함하는 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 예방 또는 치료 활성을 갖는 펩타이드에 대한 것이다. 본 발명은 또한, 서열번호 1 내지 4 중 어느 하나 이상의 펩타이드를 포함하는 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물 내지 항염증용 조성물에 대한 것이다. 본 발명은 또한, 서열번호 1 내지 4 중 어느 하나 이상의 펩타이드를 포함하는 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 치료방법 내지 치료 약물 제조시 사용하기 위한 용도에 대한 것이다. 본 발명의 서열번호 1 내지 4의 아미노산 서열 중 어느 하나의 서열을 포함하는 펩타이드는 IL-17 등 염증성 사이토카인의 분비 내지 발현을 유의적으로 억제할 수 있어 염증성 또는 자가면역성 질환의 예방 또는 치료 활성을 가질 수 있다. 따라서, 상기 펩타이드 중 어느 하나 이상을 포함하는 조성물은 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 치료방법, 치료 약물 제조시 사용하기 위한 용도 내지 항염증용 조성물로서 효과적이다.

명세서

발명의 명칭: 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 예방 또는 치료 활성을 갖는 펩타이드 및 이의 용도

기술분야

- [1] 본 출원은 2019년 02월 20일 출원된 대한민국 특허출원 제 10-2019-0019957 호를 우선권으로 주장하고, 상기 명세서 전체는 본 출원의 참고문헌이다.
- [2]
- [3] 본 발명은 서열번호 1의 아미노산 서열, 서열번호 2의 아미노산 서열, 서열번호 3의 아미노산 서열 및 서열번호 4의 아미노산 서열 로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 아미노산 서열을 포함하는 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 예방 또는 치료 활성을 갖는 펩타이드에 대한 것이다.
- [4] 본 발명은 또한, 서열번호 1 내지 4 중 어느 하나 이상의 펩타이드를 포함하는 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물 내지 항염증용 조성물에 대한 것이다.
- [5] 본 발명은 또한, 서열번호 1 내지 4 중 어느 하나 이상의 펩타이드를 포함하는 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 치료방법 내지 치료 약물 제조시 사용하기 위한 용도에 대한 것이다.
- [6]

배경기술

- [7] 면역 내성(immune tolerance)은 어느 특정한 항원에 면역 반응성이 없는 상태(unresponsiveness)를 말하며 면역 능력이 전체적으로 없는 면역 결핍과는 구분된다. 이는 면역 항상성 유지 및 체내 염증 억제에 중요하므로, 만일 결핍되는 경우 염증성 질환 내지 자가면역 질환 등의 질환을 유발할 수 있다.
- [8] 상기 질환 중 관절염은 크게 두 가지 범주로 분류되고 100 종 이상의 다양한 유형이 있다. 첫 번째 범주로서 ‘골관절염’은 관절을 보호하는 연골의 손상 또는 퇴행성 변화로 인해 뼈 내지 인대 등에서 염증과 통증이 생기는 질환으로 흔히 ‘퇴행성 관절염’이라 불린다. 두 번째 범주는 ‘염증성 관절염’으로 과도한 면역 체계가 관절의 내벽을 공격하여 발생하는 모든 유형을 포함한다. 상기 염증성 관절염에는 류마티스 관절염이 대표적인데, 이는 유전적 또는 환경적 요인에 의해 발생하는 것으로 알려져 있으며 대표적인 자가면역 질환이기도 하다. 류마티스 관절염은 전체 인구의 약 1%가 겪고 있으며, 여성 호르몬의 영향으로 여성에서 남성보다 더 잘 발생한다고 알려져 있다. 류마티스 관절염이 발병하는 원인 중 하나는 전염증 사이토카인과 항염증 사이토카인 사이의 불균형인데, 류마티스 관절염의 염증 부위에는 TNF- α , IL-1 또는 IL-6와 같은 염증을 유발하는 사이토카인(cytokine)과 림프구 그리고 대식세포와 같은 면역 세포들이 활성화되어 있다. 상기 염증 유발성 사이토카인들은 관절 내로 염증 유발성

사이토카인들을 모으고, 파골세포를 직접적으로 활성화 시킨다. 또한 T cell과 B cell을 활성화 시키고, 연골과 연골세포의 이화작용(분해하는 작용)을 촉진시킨다.

- [9] 의약품 산업은 크게 화학적 합성을 통해 생산되는 저분자 화학의약품 산업과 생물학적 방법을 통해 생산되어 단백질 및 백신 등이 중심이 되는 고분자의 바이오 의약품 산업으로 구분된다. 화학의약품은 분자량이 작아서 체내 흡수가 잘 되므로 알약 등 경구 투여제로 많이 개발되지만, 바이오 의약품은 분자량이 커서 흡수가 어려운 점, 단백질 등이 위에서 분해될 우려가 있는 점 내지 수용액에서 더 안정한 성질 등으로 인해 주로 주사제 형태로 개발되고 있다.
- [10] 최근에는 생물체의 기능 및 정보를 활용하여 만들어진 바이오 의약품 시장이 화학적 합성 의약품 시장보다 빠르게 성장하며 변화하고 있는데 바이오 의약품은 특이성이 높아 부작용이 적고, 이상 면역반응 확률도 적을 뿐만 아니라 체내 부족 단백질의 대체 의약품으로 사용이 가능한 장점이 있다. 또한 생물 유래물질을 이용하기 때문에 독성이 낮아 안전성이 크며, 난치성·만성질환에서도 뛰어난 치료효과를 가지고 있다. 그러나 합성의약품 대비 큰 분자량과 복잡한 분자구조를 갖고 있어 제조과정이 어렵다는 단점이 있다.
- [11] 따라서 크고 복잡한 분자 구조를 갖는 단백질과 같은 바이오 의약품에서 타겟 수용체에 특이적으로 결합하는 부분만을 선택적으로 찾아 저분자의 펩타이드로 개발하는 연구가 진행되고 있다. 펩타이드는 기계적인 합성에 의한 대량 생산이 가능하고, 길이가 짧아서 항원성이 낮으며, 생산 공정이 단순하여 생산 비용이 적은 이점이 있어서 기존의 단백질 치료제를 대체하는 제품으로 주목받고 있다.
- [12] 또한 분자량이 높은 물질이나 지용성이 높은 물질이 체내에 적용되었을 때 생체 내에서 간 등에서 축적되는 것과 달리 저분자량 펩타이드는 생체 내에서 작용 후 체외로 배출되어 생체 내 독성 위험이 없고, 단백질 의약품과 같이 체내 주사 시 면역반응에 의한 항체 발생 등 부작용 위험이 적고, 표적이 되는 물질과 특이적으로 결합하기 때문에 높은 활성을 나타낼 수 있다.
- [13] 최근 백혈병 세포주인 K562 세포 배양액에서 최초로 분리된 K562 단백질은 염증성 사이토카인 발현의 억제조절 인자로 전염증 인자와 항염증 인자 사이의 불균형을 맞출 수 있는 새로운 항염제 후보 물질로써 알려졌다. 또한 K562 단백질 전장(full-length)의 316번 메티오닌(methionine) 잔기에서부터 번역된 단백질은 truncated K562 단백질(tK562, 19kDa)라고 불리며, 이는 K562 단백질 전장과 비슷한 정도의 염증성 사이토카인 저해효과를 나타내는 것이 확인되었다.
- [14] 비특허문헌 1에서는 만성 림프모구 백혈병(B-cell chronic lymphocytic leukemia) 세포주에 IL-10 수용체가 발현하며, 상기 세포주에 IL-10을 처리하는 경우 증식이 억제됨을 개시하고 있다. 그러나, 염증성 질환, 특히 자가면역성 관절염의 발생 기작은 아직 명확하지 않으며, 치료법은 여전히 제한적이다.

또한, 만성 골수성 백혈병(chronic myelocytic leukemia) 세포주인 K562 세포주와 IL-10 와의 관련성 내지 K562 단백질의 항염증 효과를 일으키는 실질적인 부위에 대한 연구 내지 기재는 개시된 바 없다.

[15]

[16] [선행기술문헌]

[17] [비특허문헌]

[18] (비특허문헌 1)1. Jesper Jurlander et al., 'Characterization of Interleukin-10 Receptor Expression on B-cell Chronic Lymphocytic Leukemia cells'(Blood, Vol 89, No 11 (June 1), 1997: pp 4146-4152)

[19]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[20] 이에, 본 발명자들은 항염증 효과 내지 자가면역 질환 예방 또는 치료에 효과가 있으며 안전하면서도, 의약품 등으로 개발되기에 적합한 크기(분자량)의 펩타이드를 생물학적 제제로서 제공하기 위하여 예의 노력하였다. 그 결과, truncated K562 사이토카인(tK562) 중에서 실질적으로 항염증 효과를 일으키는데 반드시 필요한 펩타이드(에피토프)를 분리하였으며 이는 tK562 전장보다 크기보다 작으면서 더욱 효과적으로 염증성 사이토카인 분비를 억제하는 것을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

[21]

[22] 따라서, 본 발명의 목적은 서열번호 1의 아미노산 서열, 서열번호 2의 아미노산 서열, 서열번호 3의 아미노산 서열 및 서열번호 4의 아미노산 서열 로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 아미노산 서열을 포함하는 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 예방 또는 치료 활성을 갖는 펩타이드를 제공하는 것이다.

[23] 본 발명의 또 다른 목적은, 서열번호 1 내지 4 중 어느 하나 이상의 펩타이드를 포함하는 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물 내지 항염증용 조성물을 제공하는 것이다.

[24] 본 발명의 또 다른 목적은, 서열번호 1 내지 4 중 어느 하나 이상의 펩타이드를 포함하는 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 치료방법 내지 치료 약물 제조시 사용하기 위한 용도를 제공하는 것이다.

[25]

과제 해결 수단

[26] 상기 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 서열번호 1의 아미노산 서열, 서열번호 2의 아미노산 서열, 서열번호 3의 아미노산 서열 및 서열번호 4의 아미노산 서열 로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 아미노산 서열을 포함하는 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 예방 또는 치료 활성을 갖는 펩타이드를 제공한다.

- [27] 본 발명은 또한, 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드;
- [28] 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드;
- [29] 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드; 및
- [30] 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드;
- [31] 로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 펩타이드를 포함하는, 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물; 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 치료방법; 내지 염증성 질환 또는 자가면역성 질환 치료 약물 제조시 사용하기 위한 용도; 를 제공한다.
- [32] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 서열번호 1을 암호화하는 염기서열은 서열번호 7이고, 상기 서열번호 2를 암호화하는 염기서열은 서열번호 8이고, 상기 서열번호 3을 암호화하는 염기서열은 서열번호 9이고, 상기 서열번호 4를 암호화하는 염기서열은 서열번호 10인 것일 수 있다.
- [33] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 염증성 질환은 췌장염, 만성간염, 식도염, 위염, 대장염, 폐렴, 기관지염, 인후염, 심근경색, 심부전, 알츠하이머, 관절염, 신부전, 건선, 빈혈, 당뇨 및 섬유화증 으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것일 수 있다.
- [34] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 관절염은 골관절염, 퇴행성 관절염, 염증성 관절염, 류마티스 관절염, 박리성 골연골염, 관절 인대손상, 반월상 연골판 손상, 관절의 부정정렬, 무혈성 괴사증, 및 소아 특발성 관절염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것일 수 있다.
- [35] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 자가면역성 질환은 알로페시아 그레아타(alopecia greata), 강직성 척추염, 항인지질 증후군, 자가면역 아디슨 질환, 부신의 자가면역질환, 자가면역 용혈성 빈혈, 자가면역 간염, 자가면역 난소염 및 고환염, 자가면역 혈소판감소증, 베체트병, 수포성 유천포창, 심근병증, 복강 스프루우-피부염(celiac sprue-dermatitis), 만성 피로 면역이상 증후군, 만성염증성 탈수초 다발성 신경병증, Churg-Strauss 증후군, 반흔성유천포창, CREST 증후군, 한냉 응집소 질환, 크론씨병, 원판성 낭창, 복태성복합한냉글로불린혈증, 섬유근통-섬유근염, 사구체신염, 그레이브스 질환, 켈레인 바레 증후군, 하시모토 갑상선염, 특발성 폐섬유화증, 특발성 혈소판 감소성 자반증, IgA 신경염, 연소자성 관절염, 편평태선, 메니에르병, 혼합성 연결조직 질환, 다발성 경화증, 타입 I 또는 면역-매개 당뇨병, 중증근무력증, 심상성 천포창, 악성 빈혈, 결정성 다발동맥염, 다발연골염, 자가면역성 다선 증후군, 류마티스 다발성근통, 다발성 근염과 피부근염, 일차성 무감마글로불린혈증, 일차성 담증성 간경변, 건선, 건선성 관절염, 레이노 현상, 라이터 증후군, 류마티스 관절염, 사르코이드증, 공피증, 강직인간 증후군, 전신성 홍반성 루푸스, 홍반성 루푸스, 다가야스 동맥염, 일시적 동맥염, 거대세포 동맥염, 궤양성 대장염, 포도막염, 경피증, 베체트병, 원형탈모증, 천식, 알레르기, 백반증 및 베게너 육아종으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나

이상인 것일 수 있다.

- [36] 본 발명은 또한, 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드;
- [37] 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드;
- [38] 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드; 및
- [39] 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드;
- [40] 로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 펩타이드를 포함하는 항염증용 조성물을 제공한다.

[41]

- [42] 이하, 본 발명의 용어를 설명한다.

- [43] 본 발명의 'truncated K562 사이토카인' 내지 'tK562'는 K562

단백질(사이토카인)의 전체 서열 중 316번 메티오닌(methionine) 잔기에서부터 번역된 단백질(사이토카인)을 의미한다.

- [44] 본 발명의 '에피토프'는 단일 또는 복수의 펩타이드를 함유하는 펩타이드를 의미한다. 본 발명에서는 tK562 을 구성하는 펩타이드 중에서 tK562의 항염효과를 나타내는데 실질적으로 필요한 펩타이드 부분 및 이와 실질적으로 동일한 모든 유사체를 의미한다.

- [45] 본 발명의 '항염증'은 염증과 관련된 인자 내지 증상 등이 억제 내지 완화되어 염증이 심화되지 않도록 하는 것을 의미한다.

[46]

- [47] 이하, 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

- [48] 상술한 바와 같이, 종래 염증성 질환의 예방 또는 치료를 위해 사용되는 K562 사이토카인과 같은 펩타이드들은 그 크기 내지 분자량이 너무 커서 체내 흡수가 어렵다는 점 등 의약품으로 개발되는데에 문제점이 존재하였다. 이를 극복하기 위하여 크기 내지 분자량이 작으면서도 효과가 우수한 펩타이드에 대한 연구 내지 개발이 요구되고 있는 실정이다.

[49]

- [50] 본 발명에 따른 서열번호 1 내지 4 중 어느 하나의 아미노산 서열로 이루어진 펩타이드는 K562 사이토카인 내지 truncated K562 사이토카인에서 항염증 효과를 일으키는데에 실질적으로 필요한 에피토프로서, K562 사이토카인 내지 truncated K562 사이토카인 전장을 사용하는 경우에 비하여 염증성 사이토카인 분비 억제 효과가 뛰어나고 그 크기 내지 분자량도 작아 염증성 질환 내지 자가면역 질환의 예방 또는 치료 효과가 있는 조성물로 활용되기에 적합하다.

[51]

- [52] 본 발명은 truncated K562 사이토카인(tK562)의 3차원 구조를 독자적인 전산 시뮬레이션 기법을 사용한 상동성 모델링(homology modeling)을 통하여 최초로 생성하였다(도 1). 구체적으로, PSI-BLAST 검색을 통하여 tK562와 높은 상동성을 갖는 단백질을 찾아 이를 다중 서열 정렬(multiple sequence alignment; MSA)을 통하여 다양한 주형 단백질을 제작하였다. tK562 과 상기 다양한 주형

단백질의 상동성 모델링을 수행한 후 에너지 최소화과정을 통해 구조를 최적화하여 tK562의 3차원 구조를 확정하였다(도 3).

- [53] 상기 PSI-BLAST는 단백질-단백질 서열 유사성 검색 방법에 의해 임계값 이상의 점수를 갖는 서열의 다중 서열 정렬(MSA)로부터 PSSM(position-specific scoring matrix)을 생성한다(도 2). PSSM은 반복 검색을 통해 높은 점수(즉, 높은 유사성)를 갖는 서열을 발견하고 결과적으로 단백질 간의 먼 관계를 검출할 수 있다. 본 발명의 tK562의 경우 이의 전체서열에 대하여 높은 상동성을 갖는 단백질이 존재하지 않아 서열의 일부분과 높은 상동성을 갖는 단백질들을 선택하였다. 다중 서열 정렬은 서열 데이터의 간결하고 유익한 요약을 생성하고, 결과로부터 상동성을 추론하고, 서열 간의 진화 관계를 검증하기 위해 유사한 길이의 세 개 이상의 서열을 정렬한다.
- [54] IL-10은 류마티스 관절염 등 자가면역 질환에서 많이 생성되는 사이토카인인 IL-1, IL-6, TNF- α 및 IFN- γ 들의 억제 작용을 한다. IL-10와 IL-10 수용체(IL-10R- α)와의 결합은 면역 억제 신호를 조절하여 전염증성 사이토카인의 합성을 억제하고 T 세포 및 B 세포의 성장 및 분화를 조절하여 면역 자극 기능을 일으킨다. 구체적으로, IL-10은 이합체(dimer) 형태로 IL-10 수용체에 결합함으로써 단계적으로 타이로신 키나아제(TYK2)와 야누스 키나아제(JAK1)를 인산화시키고, STAT 3를 인산화시킴으로써 결과적으로 항염 작용의 신호를 전달한다. 이때, tK562에 의해 인산화되는 타이로신 496번이 바로 야누스 키나아제 자리이다(실시예 2).
- [55] 본 발명에서 독자적으로 구축된 상동성 모델링을 통하여 제작된 tK562 구조를 도킹 프로토콜을 사용하여 이합체로 제작한 후 IL-10와 비교한 결과, 양자 서열 내지 구조적으로 유사함을 확인하였으며(실시예 3), 특히 IL-10이 IL-10 수용체와 결합하는 부분(활성자리)이 유의적으로 유사함을 확인하였다(실시예 4).
- [56] 이에 본 발명자들은 상기 IL-10의 활성자리와 상동성이 높은 tK562 부분 중에서 염증성 질환 내지 자가면역 질환에 대하여 예방 또는 치료 활성을 가질 수 있는 짧은 에피토프들을 선별하여 본 발명의 서열번호 1 내지 4의 펩타이드(AIP-YK1 내지 4)로서 제안하였다(표 1). 서열번호 5는 tK562의 아미노산 서열을 나타내며 서열번호 6은 tK562의 염기서열을 나타낸다.
- [57] 본 발명의 AIP-YK1 내지 AIP-YK4 에피토프들이 실질적으로 항염증 활성을 갖는지 여부를 확인하기 위하여 Th17 세포 분화실험을 수행하였다. Th17 세포는 곰팡이나 박테리아의 면역 방어에 핵심적인 역할을 하지만, 염증성(inflammatory) 사이토카인인 IL-17 또는 IL-22 등을 생산하여 다양한 자가면역 질환을 유발하는 세포로 알려져 있다. 그 결과, 본 발명의 에피토프들은 모두 tK562(서열번호 5 또는 서열번호 6)와 동일하거나 우수한 수준의 항염증 활성을 나타냈으며, 그 중에서도 AIP-YK4가 VIP(neuropeptide vasoactive intestinal peptide)와 유사한 수준의 항염증 활성을 나타냈다(실시예 5).

즉, K562 중에서 실질적으로 항염증활성을 나타내는데 필요한 부위는 AIP-YK1 내지 AIP-YK4 인 것을 확인할 수 있었다.

[58] 상기 VIP(neuropeptide vasoactive intestinal peptide)는 28개의 아미노산 서열(His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Asn Ser Ile Leu Asn)을 갖는 뉴로(신경) 펩타이드로서, 류마티스 관절염의 염증 내지 자가 면역 성분을 감소시키는 효과가 있는 것으로 알려져 있다.

[59]

[60] 따라서, 본 발명은 서열번호 1의 아미노산 서열, 서열번호 2의 아미노산 서열, 서열번호 3의 아미노산 서열 및 서열번호 4의 아미노산 서열 로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 아미노산 서열을 포함하는 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 예방 또는 치료 활성을 갖는 펩타이드를 제공할 수 있다.

[61] 상기 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드는 이의 N 말단 및 C 말단에 아미노산이 추가된 형태로서도 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 예방 또는 치료 활성을 가질 수 있으며, 이는 서열번호 1의 아미노산 서열의 형태일 수 있다.

[62] 또한, 본 발명은 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 예방 또는 치료 활성을 갖는 펩타이드를 제공할 수 있다.

[63] 상기 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드는 이의 N 말단 및 C 말단에 아미노산이 추가된 형태로서도 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 예방 또는 치료 활성을 가질 수 있으며, 이는 서열번호 2의 아미노산 서열의 형태일 수 있다.

[64] 또한, 본 발명은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드;

[65] 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드;

[66] 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드; 및

[67] 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드;

[68] 로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 펩타이드를 포함하는, 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물; 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 치료방법; 내지 염증성 질환 또는 자가면역성 질환 치료 약물 제조시 사용하기 위한 용도; 를 제공할 수 있다.

[69] 본 발명의 상기 약학적 조성물은 서열번호 1 내지 4의 아미노산 서열을 각각 암호화 하는 염기서열이라면 제한없이 포함할 수 있으나; 상기 서열번호 1을 암호화하는 염기서열은 서열번호 7이고, 상기 서열번호 2를 암호화하는 염기서열은 서열번호 8이고, 상기 서열번호 3을 암호화하는 염기서열은 서열번호 9이고, 상기 서열번호 4를 암호화하는 염기서열은 서열번호 10인 것이 바람직하다.

[70] 본 발명의 상기 염증성 질환은 Th17 또는 IL-17이 관여하는 염증성 질환이면 제한 없이 해당할 수 있으나, 췌장염, 만성간염, 식도염, 위염, 대장염, 폐렴,

기관지염, 인후염, 심근경색, 심부전, 알츠하이머, 관절염, 신부전, 건선, 빈혈, 당뇨 및 섬유화증 으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것이 바람직하고, 더욱 바람직하게는 관절염인 것이 바람직하다.

[71] 본 발명의 상기 관절염은 골관절염, 퇴행성 관절염, 염증성 관절염, 류마티스 관절염, 박리성 골연골염, 관절 인대손상, 반월상 연골판 손상, 관절의 부정정렬, 무혈성 괴사증, 및 소아 특발성 관절염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

[72] 본 발명의 상기 자가면역성 질환은 Th17 또는 IL-17이 관여하는 자가면역성 질환이면 제한없이 해당할 수 있으나, 알로페시아 그레아타(alopecia greata), 강직성 척추염, 항인지질 증후군, 자가면역 아디슨 질환, 부신의 자가면역질환, 자가면역 용혈성 빈혈, 자가면역 간염, 자가면역 난소염 및 고환염, 자가면역 혈소판감소증, 베체트병, 수포성 유천포창, 심근병증, 복강 스프루우-피부염(celiac sprue-dermatitis), 만성 피로 면역이상 증후군, 만성염증성 탈수초 다발성 신경병증, Churg-Strauss 증후군, 반흔성유천포창, CREST 증후군, 한냉 응집소 질환, 크론씨병, 원판성 낭창, 복태성복합한냉글로불린혈증, 섬유근통-섬유근염, 사구체신염, 그레이브스 질환, 켈레인 바레 증후군, 하시모토 갑상선염, 특발성 폐섬유화증, 특발성 혈소판 감소성 자반증, IgA 신경염, 연소자성 관절염, 편평태선, 메니에르병, 혼합성 연결조직 질환, 다발성 경화증, 타입 I 또는 면역-매개 당뇨병, 중증근무력증, 심상성 천포창, 악성 빈혈, 결정성 다발동맥염, 다발연골염, 자가면역성 다선 증후군, 류마티스 다발성근통, 다발성 근염과 피부근염, 일차성 무감마글로불린혈증, 일차성 담증성 간경변, 건선, 건선성 관절염, 레이노 현상, 라이트 증후군, 류마티스 관절염, 사르코이드증, 공피증, 강직인간 증후군, 전신성 홍반성 루푸스, 홍반성 루푸스, 다가야스 동맥염, 일시적 동맥염, 거대세포 동맥염, 궤양성 대장염, 포도막염, 경피증, 베체트병, 원형탈모증, 천식, 알레르기, 백반증 및 베게너 육아종으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것이 바람직하고, 더욱 바람직하게는 류마티스 관절염인 것이 바람직하다.

[73] 본 발명의 조성물은 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형일 수 있다. 상기 조성물을 제형화할 경우에는 하나 이상의 완충제(예를 들어, 식염수 또는 PBS), 항산화제, 정균제, 킬레이트화제(예를 들어, EDTA 또는 글루타치온), 충전제, 증량제, 결합제, 아쥘반트(예를 들어, 알루미늄 하이드록사이드), 현탁제, 농후제 습윤제, 붕해제 또는 계면활성제, 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.

[74] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분(옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분, 감자 전분 등 포함), 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose), 락토오스(lactose), 덱스트로오스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨 말티톨, 셀룰로즈, 메틸

셀룰로즈, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스 및 하이드록시프로필메틸-셀룰로오스 또는 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 예컨대, 활성성분을 고체 부형제와 배합한 다음 이를 분쇄하고 적합한 보조제를 첨가한 후 과립 혼합물로 가공함으로써 정제 또는 당의정제를 수득할 수 있다.

[75] 또한, 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용된다. 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제 또는 보존제 등이 포함될 수 있다. 또한, 경우에 따라 가교결합 폴리비닐피롤리돈, 한천, 알긴산 또는 나트륨 알기네이트 등을 봉해제로 첨가할 수 있으며, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제 및 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[76] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁용제, 유제, 동결건조제 또는 좌제 등이 포함된다. 비수성용제 및 현탁용제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로콜, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤, 젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[77] 본 발명의 약학적 조성물은 경구 또는 비경구로 투여될 수 있으며, 비경구 투여시 피부외용; 복강내, 직장, 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내 주사하는 주사제; 경피 투여제; 또는 비강 흡입제의 형태로 당업계에 공지된 방법에 따라 제형화할 수 있다.

[78] 상기 주사제의 경우에는 반드시 멸균되어야 하며 박테리아 및 진균과 같은 미생물의 오염으로부터 보호되어야 한다. 주사제의 경우 적합한 담체의 예로는 이에 한정되지는 않으나, 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 이들의 혼합물 및/또는 식물유를 포함하는 용매 또는 분산매질일 수 있다. 보다 바람직하게는, 적합한 담체로는 헹크스 용액, 링거 용액, 트리에탄올 아민이 함유된 PBS (phosphate buffered saline) 또는 주사용 멸균수, 10% 에탄올, 40% 프로필렌 글리콜 및 5% 덱스트로스와 같은 등장 용액 등을 사용할 수 있다. 상기 주사제를 미생물 오염으로부터 보호하기 위해서는 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 소르빈산, 티메로살 등과 같은 다양한 항균제 및 항진균제를 추가로 포함할 수 있다. 또한, 상기 주사제는 대부분의 경우 당 또는 나트륨 클로라이드와 같은 등장화제를 추가로 포함할 수 있다.

[79] 경피 투여제의 경우 연고제, 크림제, 로션제, 겔제, 외용액제, 파스타제, 리니먼트제, 에어로졸제 등의 형태가 포함된다. 상기에서 경피 투여는 약학 조성물을 국소적으로 피부에 투여하여 약학 조성물에 함유된 유효한 양의 활성성분이 피부 내로 전달되는 것을 의미한다.

[80] 흡입 투여제의 경우, 본 발명에 따라 사용되는 화합물은 적합한 추진제, 예를

들면, 디클로로폴루오로메탄, 트리클로로폴루오로메탄, 디클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소 또는 다른 적합한 기체를 사용하여, 가압 팩 또는 연무기로부터 에어로졸 스프레이 형태로 편리하게 전달 할 수 있다. 가압 에어로졸의 경우, 투약 단위는 계량된 양을 전달하는 밸브를 제공하여 결정할 수 있다. 예를 들면, 흡입기 또는 취입기에 사용되는 젤라틴 캡슐 및 카트리지는 화합물, 및 락토즈 또는 전분과 같은 적합한 분말 기체의 분말 혼합물을 함유하도록 제형화할 수 있다. 비경구 투여용 제형은 모든 제약 화학에 일반적으로 공지된 처방서인 문헌(Remington's Pharmaceutical Science, 15th Edition, 1975. Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania 18042, Chapter 87: Blaug, Seymour)에 기재되어 있다.

- [81] 본 발명의 조성물은 약제학적으로 유효한 양으로 투여한다. 약제학적으로 유효한 양은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 즉, 본 발명의 조성물의 총 유효량은 단일 투여량(single dose)으로 환자에게 투여될 수 있으며, 다중 투여량(multiple dose)으로 장기간 투여되는 분할 치료 방법(fractionated treatment protocol)에 의해 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [82] 본 발명의 약학적 조성물의 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도에 따라 그 범위가 다양하다. 일일 투여량으로는, 비경구 투여 시 본 발명의 펩타이드들을 기준으로 하루에 체중 1 kg당 바람직하게 0.01 내지 50 mg, 더 바람직하게는 0.1 내지 30 mg의 양으로 투여되도록, 그리고 경구 투여 시는 본 발명의 펩타이드들을 기준으로 하루에 체중 1 kg당 바람직하게 0.01 내지 100 mg, 더 바람직하게는 0.01 내지 10 mg의 양으로 투여되도록 1 내지 수회에 나누어 투여할 수 있다. 그러나 투여 경로, 비만의 중증도, 성별, 체중, 연령 등에 따라서 증감될 수 있으므로 상기 투여량이 어떠한 방법으로도 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [83] 본 발명의 조성물은 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- [84] 본 발명의 약학 조성물은 또한 펩타이드들을 유효성분으로 포함하는 외용제의 제형으로 제공할 수 있다. 본 발명의 염증성 내지 자가면역 질환 예방 및 치료용 약학 조성물을 피부외용제로 사용하는 경우, 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 향산화제, 현탁화제, 안정화제,

발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 유화제, 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온붕쇄제, 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 활성제, 친유성 활성제 또는 지질 소낭 등 피부 외용제에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 피부 과학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다. 또한 상기 성분들은 피부 과학 분야에서 일반적으로 사용되는 양으로 도입될 수 있다.

[85] 본 발명의 염증성 내지 자가면역 질환 예방 및 치료용 약학 조성물이 피부 외용제로 제공될 경우, 이에 제한되는 것은 아니나, 연고, 패취, 겔, 크림 또는 분무제 등의 제형일 수 있다.

[86]

[87] 또한, 본 발명은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드;

[88] 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드;

[89] 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드; 및

[90] 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드;

[91] 로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 펩타이드를 포함하는 항염증용 조성물을 제공할 수 있다.

[92]

발명의 효과

[93] 본 발명의 서열번호 1 내지 4의 아미노산 서열 중 어느 하나의 서열을 포함하는 펩타이드는 IL-17 등 염증성 사이토카인의 분비 내지 발현을 유의적으로 억제할 수 있어 염증성 또는 자가면역성 질환의 예방 또는 치료 활성을 가질 수 있다. 따라서, 상기 펩타이드 중 어느 하나 이상을 포함하는 조성물은 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 치료방법, 치료 약물 제조시 사용하기 위한 용도 내지 항염증용 조성물로서 효과적이다.

[94]

도면의 간단한 설명

[95] 도 1은 truncated K562 사이토카인의 상동성모델링을 위하여 수행한 컴퓨터 모사 단계를 나타낸다.

[96] 도 2는 truncated K562 사이토카인의 PSI-BLAST 검색 결과를 나타낸다. BLOSUM45 scoring matrix 및 E-값 컷오프 값 30을 이용하여 높은 점수를 갖는 6개의 상동성 단백질을 확인하였다.

[97] 도 3은 본 발명의 상동성모델링을 통하여 확정된 truncated K562 사이토카인의 구조를 나타낸다.

[98] 도 4는 IL-10(상단) 및 truncated K562 사이토카인(하단)의 아미노산 서열의 비교 결과 및 그 구조를 나타낸다. 양 서열의 유사도가 높을수록 진한 파란색으로 표시되며 유사도가 낮을수록 색은 밝아져 결국 흰색으로 나타났다.

[99] 도 5는 truncated K562 사이토카인 이합체(dimer) 구조 및 서열번호 1(AIP-YK1),

2(AIP-YK2), 3(AIP-YK3) 및 4(AIP-YK4)의 아미노산 서열을 나타낸다.

- [100] 도 6은 Th17 세포 분화 실험 결과를 나타낸다. 본 발명의 서열번호 1(AIP-YK1, pep 1), 2(AIP-YK2, pep 2), 3(AIP-YK3, pep 3) 및 4(AIP-YK4, pep 4)의 펩타이드들은 IL-17 억제 효과를 가지며, 특히 pep 4는 양성대조군인 VIP(neuropeptide vasoactive intestinal peptide)와 유사한 정도의 항염증 효과를 나타냄을 확인하였다.

[101]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [102] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석하지 않는 것은 해당 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[103]

[104] [실시예 1]

[105] **truncated K562 사이토카인 3차 구조 확인**

- [106] truncated K562 사이토카인(tK562)의 3차 구조를 확인하기 위하여, 모든 모델링과 계산은 Discovery studio 4.5 (Biovia, San Diego, CA, USA)의 프로토콜을 사용하여 수행하였다.

- [107] 구체적으로, PSI blast search tool(position-specific iterated basic local alignment search tool)을 통해 tK562의 서열과 부분적으로 상동성이 높은 여러 단백질들을 확인하였는데, 상동성 단백질들은 E 값 컷오프 값 30을 갖는 BLOSUM45 스코어링 매트릭스를 사용하여 조사 하였다. 상기 상동성 높은 여러 단백질들을 다시 다중서열정렬(multiple sequence alignments; MSA)을 진행하여 다수의 주형 단백질들과 tK562 사이토카인의 상동성 모델링을 수행하였다(도 2). 그 후, 에너지 최소화과정을 통해 구조를 정확하게 최적화하였다.

- [108] 그 결과, [도 3]에 나타나는 바와 같이 tK562 사이토카인의 3차원적인 구조를 얻을 수 있었다.

[109]

[110] [실시예 2]

[111] **truncated K562 사이토카인의 인산화 패턴 분석**

- [112] K562 사이토카인 내지 truncated K562 사이토카인(tK562)의 항염증 효과 메커니즘을 확인하기 위하여 인산화 패턴을 분석하였다.

- [113] 구체적으로, K562 사이토카인 전장 내지 tK562를 발현하는 형질전환 마우스를 제작하고, 이의 세포 신호 전달 단백질의 인산화 패턴을 분석하였다.

- [114] 그 결과, 대식세포에서 인산화가 크게 변화된 수용체 또는 세포 내 단백질이 발견되었다. 그 중 IL-10이 결합하는 IL-10 수용체 서브유닛 알파(IL-10R- α)의 티로신 496이 인산화된 것을 확인하였다. 따라서, 본 발명자들은 K562

사이토카인 내지 tK562가 IL-10과 유사한 기작으로 IL-10 수용체에 작용할 것으로 판단하였다.

[115]

[116] [실시예 3]

[117] **truncated K562** 사이토카인 에피토프 선별

[118] 본 발명자들은 IL-10과 truncated K562 사이토카인(tK562)이 유사하게 IL-10 수용체에 작용하여 항염 효과를 나타낼 것이라 예상하고, tK562 와 IL-10을 비교하여 tK562에서 실제 항염효과를 나타내는데 꼭 필요한 부분(에피토프; epitope)이 존재할 수 있는 영역의 후보들을 확인하고자 하였다.

[119] 구체적으로, tK562 와 IL-10과의 서열 및 구조 유사성을 비교하고, tK562 와 IL-10R- α 사이의 도킹 시뮬레이션은 ZDOCK 알고리즘의 도킹프로토콜을 사용하여 수행하였다. 이를 통해 tK562 이합체를 만들어 탈용매(desolvation) 에너지, 정전기 및 구조 상보성을 기반으로 가능한 모든 결합모드를 찾아내고, IL-10의 활성자리와 상동성이 높은 tK562 에피토프를 선별하였다.

[120] [표1]

tK562 에피토프	아미노산 갯수	아미노산 서열	서열번 호
AIP-YK1	31	TKTPRDKERERYRERERDRERDRDRER DRER	1
AIP-YK2	31	GMSNSYAECYPATMDDMAVDSDEEV DYSKMD	2
AIP-YK3	26	PRDKERERYRERERDRERDRDRERDR	3
AIP-YK4	18	YPATMDDMAVDSDEEVDY	4

[121] 그 결과, [도 4]에 나타나는 바와 같이, 두 단백질들의 서열은 약 48%의 높은 상동성을 가지며, 특히 상기 상동성을 갖는 서열 부위는 IL-10과 IL-10 수용체(IL-10R- α)가 결합하는 부분, 즉 IL-10의 활성자리에 해당하는 것을 확인하였다. 또한, 상기 [표 1] 및 [도 5]에 나타나는 바와 같이 총 4종류의 짧은 펩타이드 서열을 갖는 tK562 에피토프들(AIP-YK1, AIP-YK2, AIP-YK3 및 AIP-YK4)을 최종적으로 선별하였다. 각 에피토프들의 분자량은 2 kDa 미만이었다.

[122]

[123] [실시예 4]

[124] **truncated K562** 사이토카인 에피토프의 Th 17 세포 분화실험

[125] 상기 <실시예 3>에서 제안한 4종의 truncated K562 사이토카인(tK562) 에피토프들의 항염효과를 확인하고자 Th 17 세포의 분화실험을 수행하였다.

[126] 구체적으로, 제작자 지침에 따라 자성 활성화 세포 선별(magnetic activated cell

sorting; MACS) CD4+ T 세포 분리 키트(Miltenyi Biotec, Cologne, Germany)를 사용하여 야생형 Balb/c 마우스의 비장으로부터 naive CD4 + T 세포를 분리하였다. 분리된 naive CD4+ T 세포는 인산 완충 식염수(PBS), VIP(neuropeptide vasoactive intestinal peptide) 또는 AIP-YK 1 내지 4를 처리한 후 RPMI 배지에서 3일 동안 배양하였다. 상기 RPMI 배지는 Th17 세포 분화를 자극하기 위하여 1 g/ml 항-CD3(eBioscience, San Diego, CA, USA), 1 g/ml 항-CD28(eBioscience), 2 ng/ml TGF- β (R&D 시스템, Minneapolis, MN, USA), 20 ng/ml IL-6 (BioLegend, San Diego, CA, USA), 5 μ g/ml 항-IFN- γ (BioLegend) 및 5 g/ml 항-IL-4(BioLegend)을 포함한다. 배양 후 항-CD3 및 항-CD28 항체로 24 시간 동안 자극하여 Th17 세포로부터 분비된 IL-17의 수준을 qPCR로 측정하였다.

- [127] 그 결과, [도 6]에 나타나는 바와 같이 본 발명의 AIP-YK 1 내지 4 펩타이드 모두 IL-17 억제활성을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 구체적으로, IL-17 사이토카인의 농도는, 염증 유발시(TH17[W1]) 935 pg/ml, 양성대조군인 VIP 처리시 547 pg/ml, AIP-YK1(pep 1), 2(pep 2), 3(pep 3) 또는 4(pep 4) 처리시 각각 748, 666, 750 또는 569 pg/ml 이었다. 즉, 본 발명에서 선별한 에피토프들은 IL-17을 효과적으로 억제할 수 있으며, 특히 AIP-YK4 는 VIP와 유사한 수준으로 가장 우수한 IL-17 억제 효과를 나타내는 것을 확인하였다.

[128]

산업상 이용가능성

- [129] 본 발명에서 제공하는 펩타이드는 truncated K562 사이토카인(tK562) 중에서 실질적으로 항염증 효과를 일으키는데 반드시 필요한 펩타이드(에피토프)를 분리하여 항염증 효과 내지 자가면역 질환 예방 또는 치료에 효과가 있으며 안전하면서도, 의약품 등으로 개발되기에 적합한 크기(분자량)의 펩타이드이므로, 산업상 이용가능성이 크다.

[130]

서열목록 Free Text

- [131] 서열번호 1은 본 발명에서 제공하는 항염증 효과 내지 자가면역 질환의 예방 또는 치료 효과가 있는 AIP-YK1 펩타이드(에피토프)의 서열로서, 31개의 아미노산 서열이다.
- [132] 서열번호 2는 본 발명에서 제공하는 항염증 효과 내지 자가면역 질환의 예방 또는 치료 효과가 있는 AIP-YK2 펩타이드(에피토프)의 서열로서, 31개의 아미노산 서열이다.
- [133] 서열번호 3는 본 발명에서 제공하는 항염증 효과 내지 자가면역 질환의 예방 또는 치료 효과가 있는 AIP-YK3 펩타이드(에피토프)의 서열로서, 26개의 아미노산 서열이다.
- [134] 서열번호 4는 본 발명에서 제공하는 항염증 효과 내지 자가면역 질환의 예방 또는 치료 효과가 있는 AIP-YK4 펩타이드(에피토프)의 서열로서, 18개의

아미노산 서열이다.

- [135] 서열번호 5는 truncated K562 사이토카인(tK562)의 아미노산서열이다.
- [136] 서열번호 6는 truncated K562 사이토카인(tK562)의 염기서열이다.
- [137] 서열번호 7는 AIP-YK1(서열번호 1)의 염기서열이다.
- [138] 서열번호 8는 AIP-YK2(서열번호 2)의 염기서열이다.
- [139] 서열번호 9는 AIP-YK3(서열번호 3)의 염기서열이다.
- [140] 서열번호 10는 AIP-YK4(서열번호 4)의 염기서열이다.

청구범위

- [청구항 1] 서열번호 1의 아미노산 서열, 서열번호 2의 아미노산 서열, 서열번호 3의 아미노산 서열 및 서열번호 4의 아미노산 서열 로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 아미노산 서열을 포함하는 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 예방 또는 치료 활성을 갖는 펩타이드.
- [청구항 2] 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드;
서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드;
서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드; 및
서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드;
로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 펩타이드를 포함하는 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 3] 제2항에 있어서, 상기 서열번호 1을 암호화하는 염기서열은 서열번호 7이고, 상기 서열번호 2를 암호화하는 염기서열은 서열번호 8이고, 상기 서열번호 3을 암호화하는 염기서열은 서열번호 9이고, 상기 서열번호 4를 암호화하는 염기서열은 서열번호 10인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.
- [청구항 4] 제2항에 있어서, 상기 염증성 질환은 췌장염, 만성간염, 식도염, 위염, 대장염, 폐렴, 기관지염, 인후염, 심근경색, 심부전, 알츠하이머, 관절염, 신부전, 건선, 빈혈, 당뇨 및 섬유화증 으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.
- [청구항 5] 제4항에 있어서, 상기 관절염은 골관절염, 퇴행성 관절염, 염증성 관절염, 류마티스 관절염, 박리성 골연골염, 관절 인대손상, 반월상 연골판 손상, 관절의 부정정렬, 무혈성 괴사증, 및 소아 특발성 관절염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.
- [청구항 6] 제2항에 있어서, 상기 자가면역성 질환은 알로페시아 그레아타(alopecia greata), 강직성 척추염, 항인지질 증후군, 자가면역 아디슨 질환, 부신의 자가면역질환, 자가면역 용혈성 빈혈, 자가면역 간염, 자가면역 난소염 및 고환염, 자가면역 혈소판감소증, 베체트병, 수포성 유천포창, 심근병증, 복강 스프루우-피부염(celiac sprue-dermatitis), 만성 피로 면역이상 증후군, 만성염증성 탈수초 다발성 신경병증, Churg-Strauss 증후군, 반흔성유천포창, CREST 증후군, 한냉 응집소 질환, 크론씨병, 원판성 낭창, 복태성복합한냉글로불린혈증, 섬유근통-섬유근염, 사구체신염, 그레이브스 질환, 켈레인 바레 증후군, 하시모토 갑상선염, 특발성 폐섬유화증, 특발성 혈소판 감소성 자반증, IgA 신경염, 연소자성 관절염, 편평태선, 메니에르병, 혼합성 연결조직 질환, 다발성 경화증, 타입 I 또는 면역-매개 당뇨병, 중증근무력증, 심상성 천포창, 악성 빈혈, 결정성

다발동맥염, 다발연골염, 자가면역성 다선 증후군, 류마티스 다발성근통, 다발성 근염과 피부근염, 일차성 무감마글로불린혈증, 일차성 담증성 간경변, 건선, 건선성 관절염, 레이노 현상, 라이터 증후군, 류마티스 관절염, 사르코이드증, 공피증, 강직인간 증후군, 전신성 홍반성 루푸스, 홍반성 루푸스, 다가야스 동맥염, 일시적 동맥염, 거대세포 동맥염, 폐양성 대장염, 포도막염, 경피증, 베체트병, 원형탈모증, 천식, 알레르기, 백반증 및 베게너 육아종으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

[청구항 7] 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드;
서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드;
서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드; 및
서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드;
로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 펩타이드를 포함하는 항염증용 조성물.

[청구항 8] 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드;
서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드;
서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드; 및
서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드;
로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 펩타이드를 염증성 질환 또는 자가면역성 질환 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 치료방법.

[청구항 9] 제8항에 있어서, 상기 서열번호 1을 암호화하는 염기서열은 서열번호 7이고, 상기 서열번호 2를 암호화하는 염기서열은 서열번호 8이고, 상기 서열번호 3을 암호화하는 염기서열은 서열번호 9이고, 상기 서열번호 4를 암호화하는 염기서열은 서열번호 10인 것을 특징으로 하는 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 치료방법.

[청구항 10] 제8항에 있어서, 상기 염증성 질환은 췌장염, 만성간염, 식도염, 위염, 대장염, 폐렴, 기관지염, 인후염, 심근경색, 심부전, 알츠하이머, 관절염, 신부전, 건선, 빈혈, 당뇨 및 섬유화증 으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 치료방법.

[청구항 11] 제10항에 있어서, 상기 관절염은 골관절염, 퇴행성 관절염, 염증성 관절염, 류마티스 관절염, 박리성 골연골염, 관절 인대손상, 반월상 연골판 손상, 관절의 부정정렬, 무혈성 괴사증, 및 소아 특발성 관절염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 치료방법.

[청구항 12] 제8항에 있어서, 상기 자가면역성 질환은 알로페시아 그레아타(alopecia greata), 강직성 척추염, 항인지질 증후군, 자가면역 아디슨 질환, 부신의

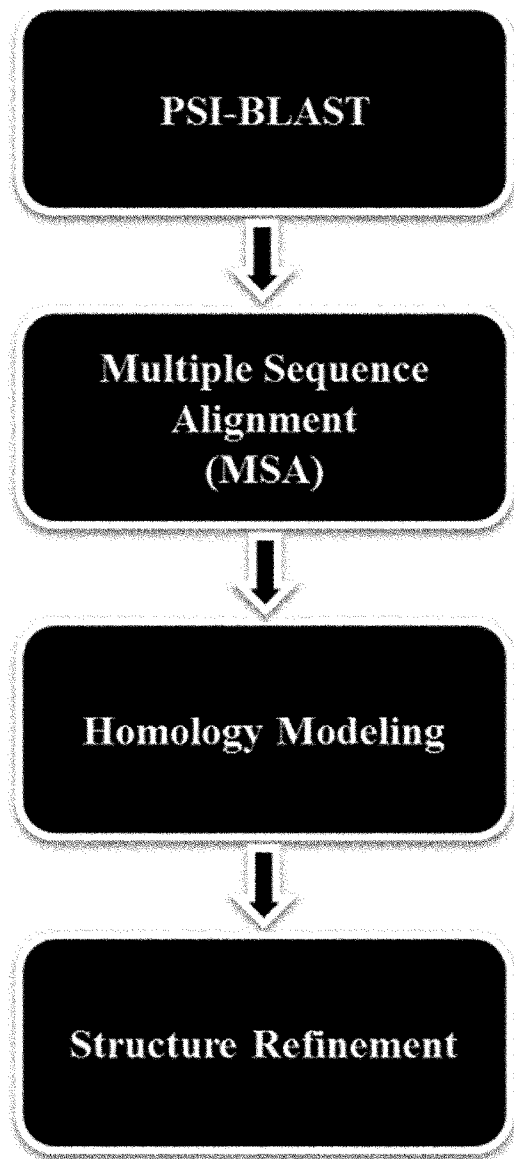
자가면역질환, 자가면역 용혈성 빈혈, 자가면역 간염, 자가면역 난소염 및 고환염, 자가면역 혈소판감소증, 베체트병, 수포성 유천포창, 심근병증, 복장 스프루우-피부염(celiac sprue-dermatitis), 만성 피로 면역이상 증후군, 만성염증성 탈수초 다발성 신경병증, Churg-Strauss 증후군, 반흔성유천포창, CREST 증후군, 한냉 응집소 질환, 크론씨병, 원판성 낭창, 복태성복합한냉글로불린혈증, 섬유근통-섬유근염, 사구체신염, 그레이브스 질환, 켈레인 바레 증후군, 하시모토 갑상선염, 특발성 폐섬유화증, 특발성 혈소판 감소성 자반증, IgA 신경염, 연소자성 관절염, 편평태선, 메니에르병, 혼합성 연결조직 질환, 다발성 경화증, 타입 I 또는 면역-매개 당뇨병, 중증근무력증, 심상성 천포창, 악성 빈혈, 결정성 다발동맥염, 다발연골염, 자가면역성 다선 증후군, 류마티스 다발성근통, 다발성 근염과 피부근염, 일차성 무감마글로불린혈증, 일차성 담증성 간경변, 건선, 건선성 관절염, 레이노 현상, 라이터 증후군, 류마티스 관절염, 사르코이드증, 공피증, 강직인간 증후군, 전신성 홍반성 루푸스, 홍반성 루푸스, 다가야스 동맥염, 일시적 동맥염, 거대세포 동맥염, 켈양성 대장염, 포도막염, 경피증, 베체트병, 원형탈모증, 천식, 알레르기, 백반증 및 베게너 육아종으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 염증성 질환 또는 자가면역성 질환의 치료방법.

- [청구항 13] 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드;
서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드;
서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드; 및
서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드;
로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 펩타이드를 포함하는 펩타이드의 염증성 질환 또는 자가면역성 질환 치료 약물 제조시 사용하기 위한 용도.
- [청구항 14] 제13항에 있어서, 상기 서열번호 1을 암호화하는 염기서열은 서열번호 7이고, 상기 서열번호 2를 암호화하는 염기서열은 서열번호 8이고, 상기 서열번호 3을 암호화하는 염기서열은 서열번호 9이고, 상기 서열번호 4를 암호화하는 염기서열은 서열번호 10인 것을 특징으로 하는 용도.
- [청구항 15] 제13항에 있어서, 상기 염증성 질환은 췌장염, 만성간염, 식도염, 위염, 대장염, 폐렴, 기관지염, 인후염, 심근경색, 심부전, 알츠하이머, 관절염, 신부전, 건선, 빈혈, 당뇨 및 섬유화증 으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 용도.
- [청구항 16] 제15항에 있어서, 상기 관절염은 골관절염, 퇴행성 관절염, 염증성 관절염, 류마티스 관절염, 박리성 골연골염, 관절 인대손상, 반월상 연골판 손상, 관절의 부정정렬, 무혈성 괴사증, 및 소아 특발성 관절염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것을

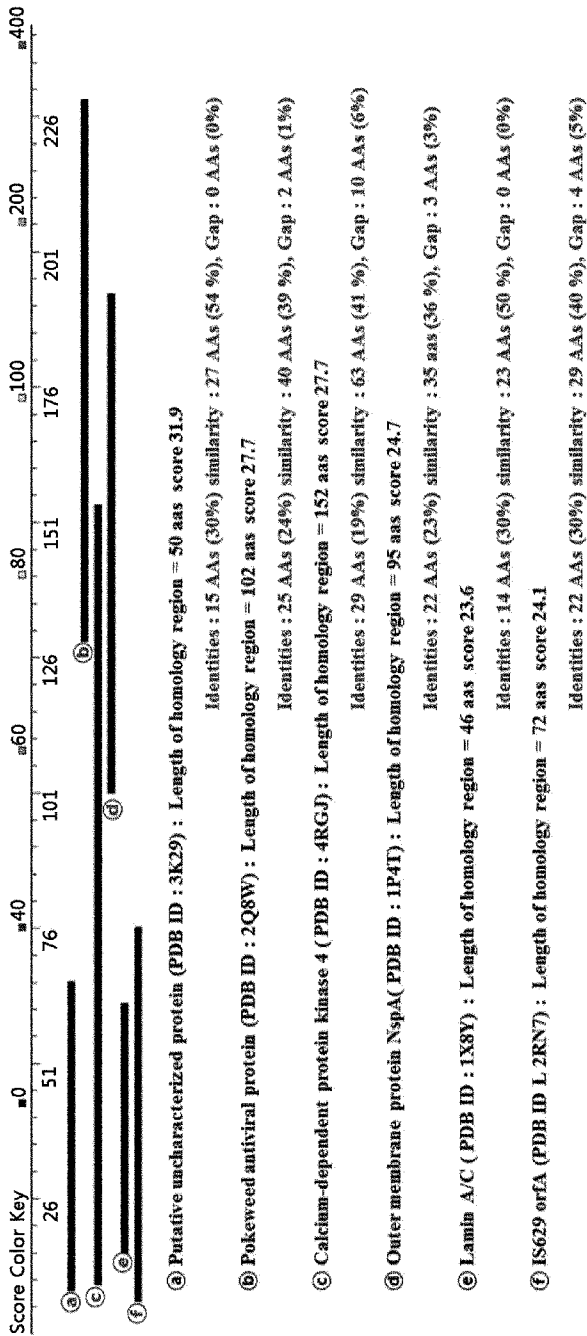
특징으로 하는 용도.

- [청구항 17] 제13항에 있어서, 상기 자가면역성 질환은 알로페시아 그레아타(alopecia greata), 강직성 척추염, 항인지질 증후군, 자가면역 아디슨 질환, 부신의 자가면역질환, 자가면역 용혈성 빈혈, 자가면역 간염, 자가면역 난소염 및 고환염, 자가면역 혈소판감소증, 베체트병, 수포성 유천포창, 심근병증, 복장 스프루우-피부염(celiac sprue-dermatitis), 만성 피로 면역이상 증후군, 만성염증성 탈수초 다발성 신경병증, Churg-Strauss 증후군, 반흔성유천포창, CREST 증후군, 한냉 응집소 질환, 크론씨병, 원판성 낭창, 복태성복합한냉글로불린혈증, 섬유근통-섬유근염, 사구체신염, 그레이브스 질환, 켈레인 바레 증후군, 하시모토 갑상선염, 특발성 폐섬유화증, 특발성 혈소판 감소성 자반증, IgA 신경염, 연소자성 관절염, 편평태선, 메니에르병, 혼합성 연결조직 질환, 다발성 경화증, 타입 I 또는 면역-매개 당뇨병, 중증근무력증, 심상성 천포창, 악성 빈혈, 결정성 다발동맥염, 다발연골염, 자가면역성 다선 증후군, 류마티스 다발성근통, 다발성 근염과 피부근염, 일차성 무감마글로불린혈증, 일차성 담증성 간경변, 건선, 건선성 관절염, 레이노 현상, 라이터 증후군, 류마티스 관절염, 사르코이드증, 공피증, 강직인간 증후군, 전신성 홍반성 루푸스, 홍반성 루푸스, 다가야스 동맥염, 일시적 동맥염, 거대세포 동맥염, 궤양성 대장염, 포도막염, 경피증, 베체트병, 원형탈모증, 천식, 알레르기, 백반증 및 베게너 육아종으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 용도.

[도 1]



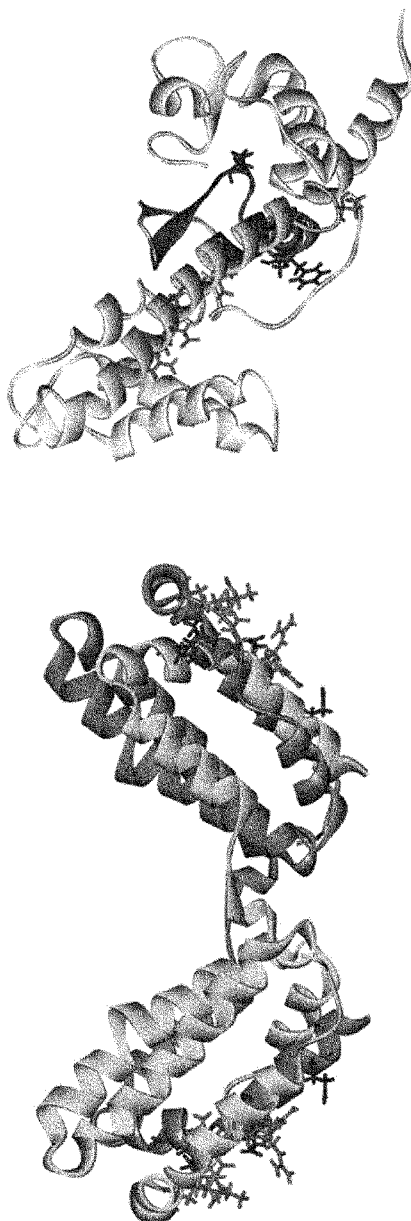
[Figure 2]



[도3]



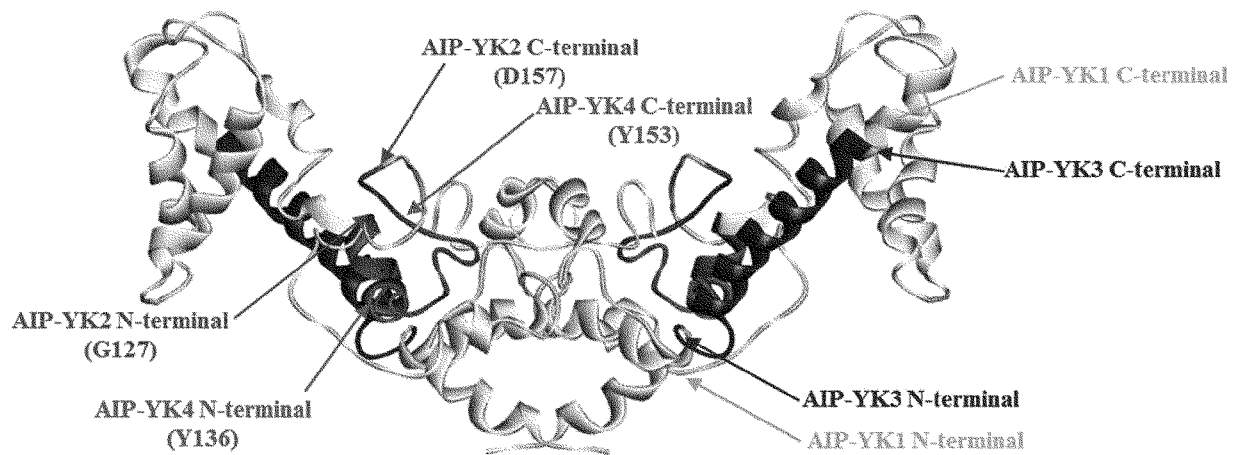
1	20	30	40	50	60	70	
-----	C I H F	G N L P N M L R D L	O A F S R V K T F F O M K D O U	M L L L K S L L	D F K G Y L G C O A L S E M I O F	L E Y M O A	
M N I F E D I G D N V	S T I K T P R D K E	C R V R E R E R D R D R D R D R	R E R E R E R E R E R E R E R E R E	R D R E R E R D R E R E E E K K R H S	F E K	V	
80	90	100	110	120	130	140	150
E N G D P L	K A H V M L G N L	T R L R R C H R T L P C W K S	-- A V O Y K N A N K L O E K G I Y K I A M E F	F O F I N V I	A Y M		
E D E P M	O K G P G I K L I	S I N E F A G S A G W E G I S L K	P E D K I G L G F G M S N S Y A E C Y P A M D	J A Y D S D	E Y D		
160	170	180	190	200	210	220	
T M	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
V S K M D O G N K K G P L G R W D F D T O E E Y	S E Y M N K E A L P K A A F O Y G I K M S E G R K T R R F K E T N D K A E L D R O W K K I S A I I E K						
230	240	250	260	270	280	290	300
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
K K K M E A D G V E V K R P K Y T							



[The structure of IL-10 Dimer]

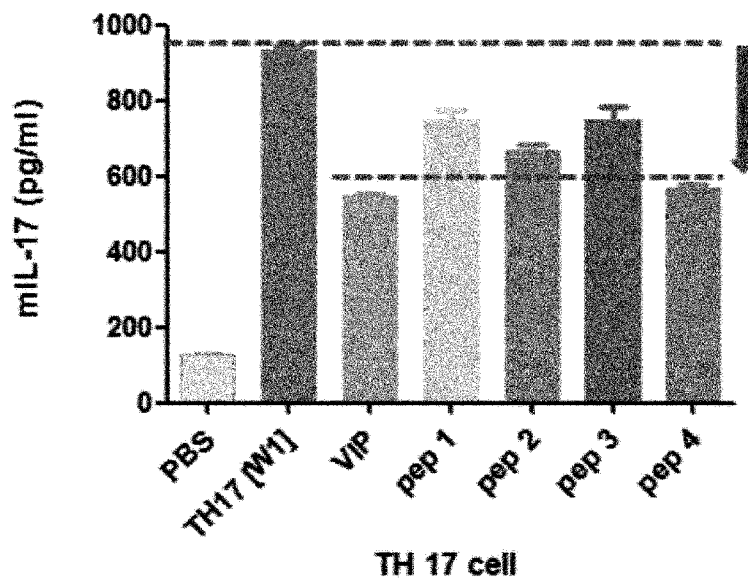
[The structure of modeled truncated K562]

[도5]



AIP-YK1: TKTPRDKERERYRERERDRDRDRDRERER
 AIP-YK2: GMSNSYAECYPATMDDMAVDSDEEVDYSKMD
 AIP-YK3: PRDKERERYRERERDRDRDRDRER
 AIP-YK4: YPATMDDMAVDSDEEVDY

[도6]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2019/002415

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K 14/52(2006.01)i, C07K 7/08(2006.01)i, A61P 19/02(2006.01)i, A61P 29/00(2006.01)i, A61P 37/00(2006.01)i, A61K 38/00(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)

C07K 14/52; A61K 38/16; A61K 38/19; A61K 48/00; A61P 1/00; C07H 21/04; C07K 16/28; C12N 15/19; G01N 33/53; C07K 7/08; A61P 19/02; A61P 29/00; A61P 37/00; A61K 38/00

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: inflammation, autoimmunity, arthritis

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 9737588 B2 (CATHOLIC UNIVERSITY INDUSTRY ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION et al.) 22 August 2017 See claims 1-3 and columns 39-48.	1-7,13-17
X	US 5612195 A (KRIEF, P. et al.) 18 March 1997 See claims 1-13.	1,2,7,13
A	US 6207812 B1 (TEREK, R. M.) 27 March 2001 See the entire document.	1-7,13-17
A	KR 10-2009-0037487 A (BIOMARCK PHARMACEUTICALS, LTD.) 15 April 2009 See the entire document.	1-7,13-17
A	KR 10-2012-0089800 A (TWO TO BIOTECH LTD.) 13 August 2012 See the entire document.	1-7,13-17



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

29 NOVEMBER 2019 (29.11.2019)

Date of mailing of the international search report

29 NOVEMBER 2019 (29.11.2019)

Name and mailing address of the ISA/KR



Korean Intellectual Property Office
Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsu-ro, Seo-gu,
Daejeon, 35208, Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2019/002415

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.: **8-12**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 8-12 pertain to a method for treatment of the human body, and thus pertain to a subject matter on which the International Searching Authority is not required to carry out an international search under the provisions of PCT Article 17 (2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).
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:

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/KR2019/002415

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
US 9737588 B2	22/08/2017	KR 10-1625112 B1	27/05/2016
		KR 10-2014-0125293 A	28/10/2014
		US 2016-0058836 A1	03/03/2016
		US 2017-0209541 A1	27/07/2017
		US 9943567 B2	17/04/2018
US 5612195 A	18/03/1997	EP 0618967 A1	12/10/1994
		JP 07-501695 A	23/02/1995
		WO 93-11232 A1	10/06/1993
US 6207812 B1	27/03/2001	EP 1062333 A1	27/12/2000
		EP 1062333 B1	17/09/2008
		JP 2002-506617 A	05/03/2002
		US 2001-0016649 A1	23/08/2001
		US 7211646 B2	01/05/2007
		WO 99-46382 A1	16/09/1999
KR 10-2009-0037487 A	15/04/2009	EP 2053915 B1	11/06/2014
		EP 2722052 A1	23/04/2014
		EP 2722052 B1	20/03/2019
		JP 2009-544737 A	17/12/2009
		JP 2013-241428 A	05/12/2013
		JP 5378998 B2	25/12/2013
		JP 5819889 B2	24/11/2015
		KR 10-1599894 B1	04/03/2016
		KR 10-2009-0037487 A	15/04/2009
		NO 20090304 A	21/04/2009
		RU 2009106673 A	10/09/2010
		SG 173411 A1	29/08/2011
		US 2009-0203620 A1	13/08/2009
		US 2016-0030509 A1	04/02/2016
		US 2018-0036367 A1	08/02/2018
		US 8999915 B2	07/04/2015
		US 9827287 B2	28/11/2017
		WO 2008-014414 A2	31/01/2008
		WO 2008-014414 A3	25/09/2008
KR 10-2012-0089800 A	13/08/2012	EP 2449126 A1	09/05/2012
		EP 2449126 B1	20/09/2017
		JP 2012-532122 A	13/12/2012
		US 2012-0100147 A1	26/04/2012
		US 9150642 B2	06/10/2015
		WO 2011-001432 A1	06/01/2011

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

C07K 14/52(2006.01)i, C07K 7/08(2006.01)i, A61P 19/02(2006.01)i, A61P 29/00(2006.01)i, A61P 37/00(2006.01)i, A61K 38/00(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

C07K 14/52; A61K 38/16; A61K 38/19; A61K 48/00; A61P 1/00; C07H 21/04; C07K 16/28; C12N 15/19; G01N 33/53; C07K 7/08; A61P 19/02; A61P 29/00; A61P 37/00; A61K 38/00

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: 염증(inflammation), 자가면역(autoimmunity), 관절염(arthritis)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	US 9737588 B2 (CATHOLIC UNIVERSITY INDUSTRY ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION 등) 2017.08.22 청구항 1-3 및 컬럼 39-48 참조.	1-7, 13-17
X	US 5612195 A (KRIEF, P. 등) 1997.03.18 청구항 1-13 참조.	1, 2, 7, 13
A	US 6207812 B1 (TEREK, R. M.) 2001.03.27 전문 참조.	1-7, 13-17
A	KR 10-2009-0037487 A (바이오마크 파마슈티칼스 리미티드) 2009.04.15 전문 참조.	1-7, 13-17
A	KR 10-2012-0089800 A (투 투 바이오테크 리미티드) 2012.08.13 전문 참조	1-7, 13-17

☐ 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

“D” 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후 “X”에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

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

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

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

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

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

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

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일

2019년 11월 29일 (29.11.2019)

국제조사보고서 발송일

2019년 11월 29일 (29.11.2019)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

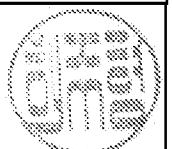
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

허주형

전화번호 +82-42-481-8150



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: 8-12
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
청구항 제8항 내지 제12항은 인체의 치료방법에 관한 것이므로 PCT 제17조(2)(a)(i) 및 PCT 규칙 제39.1조(iv)의 규정에 의하여 국제조사기관이 국제 조사할 의무가 없는 대상에 해당됩니다.
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.

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
US 9737588 B2	2017/08/22	KR 10-1625112 B1 KR 10-2014-0125293 A US 2016-0058836 A1 US 2017-0209541 A1 US 9943567 B2	2016/05/27 2014/10/28 2016/03/03 2017/07/27 2018/04/17
US 5612195 A	1997/03/18	EP 0618967 A1 JP 07-501695 A WO 93-11232 A1	1994/10/12 1995/02/23 1993/06/10
US 6207812 B1	2001/03/27	EP 1062333 A1 EP 1062333 B1 JP 2002-506617 A US 2001-0016649 A1 US 7211646 B2 WO 99-46382 A1	2000/12/27 2008/09/17 2002/03/05 2001/08/23 2007/05/01 1999/09/16
KR 10-2009-0037487 A	2009/04/15	EP 2053915 B1 EP 2722052 A1 EP 2722052 B1 JP 2009-544737 A JP 2013-241428 A JP 5378998 B2 JP 5819889 B2 KR 10-1599894 B1 KR 10-2009-0037487 A NO 20090304 A RU 2009106673 A SG 173411 A1 US 2009-0203620 A1 US 2016-0030509 A1 US 2018-0036367 A1 US 8999915 B2 US 9827287 B2 WO 2008-014414 A2 WO 2008-014414 A3	2014/06/11 2014/04/23 2019/03/20 2009/12/17 2013/12/05 2013/12/25 2015/11/24 2016/03/04 2009/04/15 2009/04/21 2010/09/10 2011/08/29 2009/08/13 2016/02/04 2018/02/08 2015/04/07 2017/11/28 2008/01/31 2008/09/25
KR 10-2012-0089800 A	2012/08/13	EP 2449126 A1 EP 2449126 B1 JP 2012-532122 A US 2012-0100147 A1 US 9150642 B2 WO 2011-001432 A1	2012/05/09 2017/09/20 2012/12/13 2012/04/26 2015/10/06 2011/01/06