

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구  
국제사무국

(43) 국제공개일  
2020년 6월 18일 (18.06.2020)

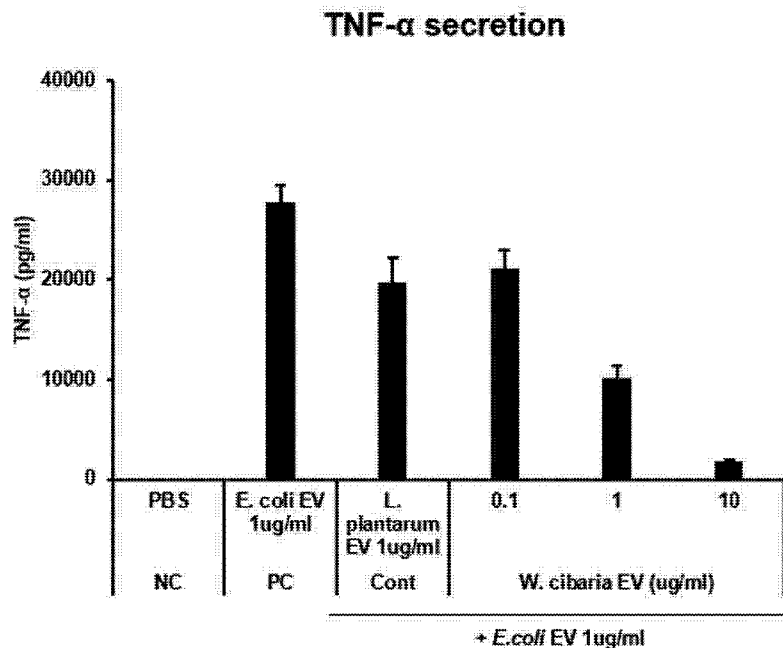


(10) 국제공개번호  
WO 2020/122448 A1

- (51) 국제특허분류: *A61K 35/74* (2006.01) *A23L 33/135* (2016.01)  
*A61K 9/00* (2006.01) *A61K 8/99* (2006.01)  
*A61P 29/00* (2006.01) *A61Q 19/00* (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2019/015876
- (22) 국제출원일: 2019년 11월 20일 (20.11.2019)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:  
10-2018-0158621 2018년 12월 10일 (10.12.2018)KR  
10-2019-0132136 2019년 10월 23일 (23.10.2019)KR
- (71) 출원인: 주식회사 엠디헬스케어 (MD HEALTHCARE INC.) [KR/KR]: 03923 서울시 마포구 월드컵북로56길 9, 1303호 (상암동, 우리기술빌딩), Seoul (KR).
- (72) 발명자: 김윤근 (KIM, Yoon-Keun); 10908 경기도 파주시 한빛로 70, 521동 203호, Gyeonggi-do (KR).
- (74) 대리인: 이명진 (LEE, Myoung-Jin); 06180 서울시 강남구 영동대로85길 28, 6층, 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, 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.

(54) Title: WEISSELLA BACTERIA-DERIVED NANOVESICLE AND USE THEREOF

(54) 발명의 명칭: 웨이셀라 속 세균 유래 나노소포 및 이의 용도



(57) Abstract: The present invention pertains to a Weissella bacteria-derived vesicle and a use thereof. The present inventors have experimentally confirmed that Weissella bacteria-derived vesicles efficiently inhibit inflammatory mediator secretion due to inflammation-inducing pathogenic vesicles, and it is thus expected that a Weissella bacteria-derived vesicle according to the present invention will be able to be usefully used for the purpose of developing a composition for preventing, alleviating, or treating inflammatory diseases.

(57) 요약서: 본 발명은 웨이셀라 속 세균 유래 소포 및 이의 용도에 관한 것으로, 본 발명자들은 웨이셀라 속 세균 유래 소포는 염증을 유도하는 병원성 소포에 의한 염증매개체 분비를 효율적으로 억제함을 실험적으로 확인하였는바, 본 발명에 따른 웨이셀라 속 세균 유래 소포는 염증질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 개발하기 위한 목적으로 유용하게 이용될 수 있을 것으로 기대된다.



WO 2020/122448 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 제21조(3))

## 명세서

### 발명의 명칭: 웨이셀라 속 세균 유래 나노소포 및 이의 용도

#### 기술분야

- [1] 본 발명은 웨이셀라 속 세균 유래 나노소포 및 이의 용도에 관한 것으로, 보다 구체적으로 웨이셀라 속 세균에서 유래하는 나노소포를 이용한 염증질환에 대한 예방, 개선, 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.
- [2] 본 출원은 2018년 12월 10일에 출원된 대한민국 특허출원 제10-2018-0158621호 및 2019년 10월 23일에 출원된 대한민국 특허출원 제10-2019-0132136호에 기초한 우선권을 주장하며, 해당 출원의 명세서 및 도면에 개시된 모든 내용은 본 출원에 원용된다.

[3]

#### 배경기술

- [4] 21세기에 들어서면서 과거 전염병으로 인식되던 급성 감염성질환의 중요성이 덜해지는 반면, 인간과 마이크로바이옴(microbiome)과의 부조화에 의해 발생하는 면역기능 이상을 동반한 만성 염증질환이 주요 질환으로 질병패턴이 바뀌었다. 특히, 식이습관의 서구화에 따른 구강내 염증질환, 만성위염 및 위암, 대장염 및 대장암 등의 소화기계 염증질환이 국민보건에 큰 문제가 되고 있다.
- [5] 상기 염증질환의 발생에는 외부 원인인자에 대한 면역기능에 이상을 동반하고 있다. 세균에서 유래하는 원인인자에 대한 면역반응은 인터루킨(Interleukin, 이하 IL)-17 사이토카인을 분비하는 Th17 면역반응이 중요하고, 세균성 원인인자에 노출 시 Th17 면역반응에 의한 호중구성 염증이 발생한다. 염증이 발생하는 과정에서 종양괴사인자-알파(Tumor Necrosis Factor-alpha, 이하 TNF- $\alpha$ )와 같은 염증성 매개체가 염증 및 암 발생에 중요한 역할을 담당한다. 또한, 세균성 원인인자에 의해 분비되는 IL-6는 Th17 세포로의 분화에 중요한 역할을 담당하고, Th17 면역반응에 의한 만성염증은 만성 염증질환뿐만 아니라 암 발생과도 밀접한 관련이 있다고 최근 보고되고 있다.
- [6] 인체에 공생하는 미생물의 개수는 100조 개에 이르러 인간 세포보다 약 10배가 많으며, 미생물의 유전자수는 인간 유전자수의 100배가 넘는 것으로 알려지고 있다. 미생물총(microbiota 혹은 microbiome)은 주어진 거주지에 존재하는 진정세균(bacteria), 고세균(archaea), 진핵생물(eukarya)을 포함한 미생물 군집(microbial community)을 말하고, 장내 미생물총은 사람의 생리현상에 중요한 역할을 하며, 인체 세포와 상호작용을 통해 인간의 건강과 질병에 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.
- [7] 우리 몸에 공생하는 진정세균 및 고세균은 다른 세포로의 유전자, 단백질 등의 정보를 교환하기 위하여 나노미터 크기의 소포(vesicle)를 분비한다. 점막은 200 나노미터(nm) 크기 이상의 입자는 통과할 수 없는 물리적인 방어막을 형성하여

점막에 공생하는 세균인 경우에는 점막을 통과하지 못하지만, 세균 유래 소포는 크기가 100 나노미터 크기 이하라서 비교적 자유롭게 점막을 통하여 상피세포를 통과하여 우리 몸에 흡수된다. 우리 몸에 흡수되는 병원성 세균 유래 소포는 최근 당뇨병, 비만 등이 대사질환의 병인에 중요한 역할을 담당함이 밝혀졌다.

- [8] 웨이셀라(*Weissella*) 속 세균은 유산을 분비하는 그람양성 구균으로서, 구강을 포함한 소화기계에 공생하는 세균으로 알려져 있다. 특히, 웨이셀라 시바리아(*Weissella cibaria*) 균은 공생과정에서 과산화수소를 분비하여 치주질환, 대장염, 대장암 등의 발병과 관련이 있는 푸조박테리아(*Fusobacterium nucleatum*) 세균의 증식을 억제한다고 알려져 있다. 그러나 아직까지 웨이셀라 속 세균이 세포밖으로 소포를 이용한 치료기술에 대한 보고는 전무한 상태이다.
- [9] 이에, 본 발명에서는 웨이셀라 속 세균으로부터 소포를 최초로 분리하고 그 특성을 확인함으로써 상기 소포를 염증질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물로 이용할 수 있음을 확인하였다.

[10]

## 발명의 상세한 설명

### 기술적 과제

- [11] 본 발명자들은 상기와 같은 종래의 문제점을 해결하기 위해 예의 연구한 결과, 웨이셀라속 세균 유래 소포가 병원성 소포에 의한 염증반응을 효율적으로 억제함을 확인한바, 이에 기초하여 본 발명을 완성하였다.
- [12] 이에, 본 발명은 웨이셀라 속 세균 유래 소포를 유효성분으로 포함하는 염증질환 예방, 개선, 또는 치료용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [13] 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.

[14]

### 과제 해결 수단

- [15] 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 웨이셀라 속 세균 유래 소포를 유효성분으로 포함하는, 염증질환 예방, 개선, 또는 치료용 조성물을 제공한다.
- [16] 상기 조성물은 약학적 조성물, 식품 조성물, 화장료 조성물, 및 흡입제 조성물을 포함할 수 있다.
- [17] 또한 본 발명은, 웨이셀라 속 세균 유래 소포를 유효성분으로 포함하는 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 염증질환의 예방 또는 치료방법을 제공한다.
- [18] 또한 본 발명은, 웨이셀라 속 세균 유래 소포의, 염증질환의 예방 또는 치료 용도를 제공한다.
- [19] 또한 본 발명은, 웨이셀라 속 세균 유래 소포를 유효성분으로 포함하는

- 조성물의 염증질환의 예방 또는 치료 용도를 제공한다.
- [20] 또한 본 발명은, 웨이셀라 속 세균 유래 소포의 염증질환에 이용되는 약제를 생산하기 위한 용도를 제공한다.
- [21] 본 발명의 일 구현예로, 상기 소포는 웨이셀라 시바리아에서 분비되는 것일 수 있다.
- [22] 본 발명의 다른 구현예로, 상기 소포는 평균 직경이 10 내지 200 nm인 것일 수 있다.
- [23] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 소포는 웨이셀라 속 세균에서 자연적 또는 인공적으로 분비되는 것일 수 있다.
- [24] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 인공 소포는 세균에 열처리, 가압처리 등의 방법으로 분비되는 것일 수 있다.
- [25] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 염증질환은 치은염, 치주염 및 구강암을 포함하는 구강 염증질환; 위염 및 위암을 포함하는 위 염증질환; 대장염, 대장용종 및 대장암을 포함하는 대장 염증질환; 아토피피부염 및 건선을 포함하는 피부 염증질환; 비염, 비용종, 천식, 만성폐쇄성폐질환 및 폐암을 포함하는 호흡기계 염증질환으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 질환일 수 있다.

[26]

### 발명의 효과

- [27] 본 발명자들은 장내 세균인 경우에는 체내에 흡수되지 않지만, 세균 유래 소포인 경우에는 점막의 방어막을 통과하여 점막 상피세포에 흡수되어, 전신적으로 분포하고, 신장, 간, 폐를 통해 체외로 배설됨을 확인하였다. 또한, 웨이셀라 속 세균의 한 종인 웨이셀라 시바리아를 체외에서 배양하여 소포를 분리하여 염증세포에 투여하였을 때, 병원성 소포에 의한 IL-6 및 TNF- $\alpha$  등의 염증매개체 분비를 유의하게 억제하였음을 확인한 바, 본 발명에 따른 웨이셀라 속 세균 유래 소포는 염증질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 유용하게 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

[28]

### 도면의 간단한 설명

- [29] 도 1a는 마우스에 세균과 세균 유래 소포(EV)를 구강으로 투여한 후, 시간별로 세균과 소포의 분포양상을 촬영한 사진이고, 도 1b는 구강으로 투여한 후 12시간째에, 혈액, 신장, 간, 및 여러 장기를 적출하여, 세균과 소포의 체내 분포양상을 평가한 그림이다.
- [30] 도 2는 마우스에 장내에 세균과 세균 유래 소포(EV)를 투여한 후, 장 점막 상피세포로 세균과 세균 유래 소포의 침윤 여부를 평가한 그림이다(Lu, gut lumen; LP, gut lamina propria).
- [31] 도 3은 웨이셀라 시바리아 유래 소포의 세포사멸 효과를 평가하기 위하여,

웨이셀라 시바리아 유래 소포를 대식세포(Raw264.7 cell)에 처리하여 세포사멸을 평가한 결과이다(EV, extracellular vesicle).

[32] 도 4a 및 도 4b는 웨이셀라 시바리아 유래 소포의 염증유발 효과를 평가하기 위하여, 웨이셀라균 유래 소포를 대식세포(Raw264.7 cell)에 처리하여 염증매개체의 분비 정도를 병원성 소포인 대장균 소포(*E. coli* EV)와 비교한 결과로서, 도 4a는 IL-6의 분비 정도를 비교한 것이고, 도 4b는 TNF- $\alpha$ 의 분비 정도를 비교한 것이다(EV, extracellular vesicle).

[33] 도 5a 및 도 5b는 웨이셀라 시바리아 유래 소포의 항염증 효과를 평가하기 위하여, 병원성 소포인 대장균 소포(*E. coli* EV) 처리 전에 웨이셀라균 유래 소포를 전처리하여, 대장균 소포에 의한 염증매개체 분비에 미치는 영향을 평가한 결과로서, 도 5a는 IL-6의 분비 정도를 비교한 것이고, 도 5b는 TNF- $\alpha$ 의 분비 정도를 비교한 것이다(EV, extracellular vesicle).

[34]

### 발명의 실시를 위한 형태

[35] 본 발명은 웨이셀라 속 세균 유래 소포 및 이의 용도에 관한 것이다.

[36] 본 발명자들은 웨이셀라 시바리아 균 유래 소포를 병원성 원인인자를 투여하기 전에 염증세포에 처리하여 병원성 원인인자에 의한 염증반응을 효율적으로 억제함을 확인하였는바, 이에 기초하여 본 발명을 완성하였다.

[37] 이에, 본 발명은 웨이셀라 속 세균 유래 소포를 유효성분으로 포함하는, 염증질환 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[38] 상기 조성물은 약학적 조성물, 식품 조성물, 화장품 조성물 및 흡입제 조성물을 포함한다.

[39] 본 발명의 다른 양태로서, 본 발명은 웨이셀라 속 세균 유래 소포를 유효성분으로 포함하는 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 염증질환의 예방 또는 치료방법을 제공한다.

[40] 본 발명의 또 다른 양태로서, 본 발명은 웨이셀라 속 세균 유래 소포의, 염증질환의 예방 또는 치료용도를 제공한다.

[41] 본 발명의 또 다른 양태로서, 본 발명은 웨이셀라 속 세균 유래 소포를 유효성분으로 포함하는 조성물의 염증질환의 예방 또는 치료 용도를 제공한다.

[42] 본 발명의 또 다른 양태로서, 본 발명은 웨이셀라 속 세균 유래 소포의 염증질환에 이용되는 약제를 생산하기 위한 용도를 제공한다.

[43] 본 발명에서 사용되는 용어 "나노소포(Nanovesicle)" 혹은 "소포(Vesicle)"란, 다양한 세균에서 분비되는 나노 크기의 막으로 된 구조물을 의미한다. 웨이셀라와 같은 그람양성균(gram-positive bacteria) 유래 소포는 단백질과 핵산 외에도 세균의 세포벽 구성성분인 펩티도글리칸(peptidoglycan)과 리포테이코산(lipoteichoic acid), 그리고 소포 내에 여러 가지 저분자화합물을 가지고 있다. 본 발명에 있어서, 나노소포 혹은 소포는 웨이셀라 속 세균에서

자연적으로 분비되거나 또는 세균에 열처리, 가압처리 등을 통해 인공적으로 생산하는 것으로, 10 내지 200 nm의 평균 직경을 가지고 있다.

- [44] 상기 소포는 웨이셀라 속 세균을 포함하는 배양액을 원심분리, 초고속 원심분리, 압출, 초음파분해, 세포 용해, 균질화, 냉동-해동, 전기천공, 기계적 분해, 화학물질 처리, 필터에 의한 여과, 겔 여과 크로마토그래피, 프리-플로우 전기영동, 및 모세관 전기영동으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 방법을 사용하여 분리할 수 있다. 또한, 불순물의 제거를 위한 세척, 수득된 소포의 농축 등의 과정을 추가로 포함할 수 있다.
- [45] 본 발명에서 사용되는 용어 염증질환(Inflammatory disease)이란, 염증을 유발하는 원인인자에 노출되어 피부 혹은 장 상피세포에 손상과 이의 결과로 염증이 발생하여 생기는 질환을 의미하고, 염증의 결과로 발생하는 암을 포함한다. 피부에 발생하는 아토피피부염, 건선 등의 피부 염증질환, 비염, 비염종, 천식, 만성폐쇄성폐질환(COPD), 폐암 등의 호흡기 염증질환, 치은염, 치주염, 구강암 등의 구강 염증질환, 위염, 위궤양, 위암 등의 위 염증질환, 대장염, 대장용종, 대장암 등의 대장 염증질환 등을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [46] 본 발명에서 사용되는 용어 "예방"이란, 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 염증질환을 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [47] 본 발명에서 사용되는 용어 "치료"란, 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 염증질환에 대한 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.
- [48] 본 발명에서 사용되는 용어 "개선"이란, 치료되는 상태와 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 적어도 감소시키는 모든 행위를 의미한다.
- [49] 본 발명의 일 실시예에서는, 세균 및 세균 유래 소포를 마우스 경구로 투여하여 세균 및 소포의 체내 흡수, 분포, 및 배설 양상을 평가하여, 세균인 경우에는 장점막을 통해 흡수되지 않는데 비해 소포는 투여 5분 이내에 흡수되어 전신적으로 분포하고, 신장, 간 등을 통해 배설됨을 확인하였다(실시예 1 참조).
- [50] 본 발명의 다른 실시예에서는, 세균과 세균 유래 소포를 장으로 직접 투여하여 장 점막의 방어막을 통과하는지를 평가하였는 바, 세균인 경우에는 장 점막의 방어막을 통과하지 못하였지만, 세균 유래 소포인 경우에는 점막 방어막을 통과함을 확인하였다(실시예 2 참조).
- [51] 본 발명의 또 다른 실시예에서는, 웨이셀라 속 세균에 속하는 웨이셀라 시바리아 균주를 배양하여 이로부터 분비된 소포의 염증유발 효과를 평가하였는데, 다양한 농도의 웨이셀라 시바리아 유래 소포를 대식세포에 처리한 후, 대표적 병원성 소포인 대장균 유래 소포를 처리하여 염증매개체 분비 정도를 비교한 결과, 대장균 유래 소포에 의한 IL-6 및 TNF- $\alpha$  분비와 비교해서 웨이셀라 시바리아 유래 소포에 의한 분비능이 현저히 감소되어 있었다(실시예 4 참조).
- [52] 본 발명의 또 다른 실시예에서는, 웨이셀라 시바리아 균주 유래 소포의 항염증

효과를 평가하였는데, 병원성 소포인 대장균 유래 소포를 처리하기 전에 다양한 농도의 웨이셀라 시바리아 유래 소포를 대식세포에 처리한 후, 염증매개체 분비를 평가한 결과, 염증유발 대장균 유래 소포에 의한 IL-6 및 TNF- $\alpha$  분비를 웨이셀라 시바리아 유래 소포가 효율적으로 억제함을 확인하였다(실시예 5 참조).

- [53] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 상기 약학적으로 허용 가능한 담체는 제제 시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 사이클로덱스트린, 텍스트로즈 용액, 말토덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올, 리포솜 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 문헌에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 제형에 특별한 제한은 없으나 주사제, 흡입제, 피부 외용제, 또는 경구 섭취제 등으로 제제화할 수 있다.
- [54] 본 발명의 약학적 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구투여(예를 들어, 정맥 내, 피하, 피부, 비강, 기도에 적용)할 수 있으며, 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 시간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다.
- [55] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서, 약학적으로 유효한 양은 의학 적 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 발명에 따른 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [56] 구체적으로, 본 발명에 따른 약학적 조성물의 유효량은 환자의 나이, 성별, 체중에 따라 달라질 수 있으며, 투여 경로, 비만의 중증도, 성별, 체중, 연령 등에 따라서 증감될 수 있다.
- [57] 본 발명의 흡입제 조성물에서 유효성분을 흡입제에 그대로 첨가하거나 다른 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방 또는 치료용)에 따라 적합하게

결정될 수 있다.

- [58] 본 발명의 식품 조성물은 건강기능식품 조성물을 포함한다. 본 발명에 따른 식품 조성물은 유효성분을 식품에 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방 또는 개선용)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조 시에 본 발명의 조성물은 원료에 대하여 15 중량% 이하, 바람직하게는 10 중량% 이하의 양으로 첨가된다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있다.
- [59] 본 발명의 식품 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 유효성분을 함유하는 것 외에 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물, 예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 당업자의 선택에 의해 적절하게 결정될 수 있다.
- [60] 상기 외에 본 발명의 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율 또한 당업자에 의해 적절히 선택될 수 있다.
- [61] 본 발명의 상기 화장료 조성물은 웨이셀라 속 세균 유래 소포뿐만 아니라, 화장료 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함할 수 있으며, 예컨대 향산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료, 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 그리고 담체를 포함할 수 있다.
- [62] 또한, 본 발명의 조성물은 웨이셀라 속 세균 유래 소포 이외에, 웨이셀라 속 세균 유래 소포와 반응하여 피부보호 효과를 손상시키지 않는 한도에서 종래부터 사용되어오던 유기 자외선 차단제를 혼합하여 사용할 수도 있다. 상기 유기 자외선 차단제로는 글리세릴파바, 드로메트리졸트리실록산, 드로메트리졸, 디갈로일트리올리에이트, 디소듐페닐디벤즈이미다졸테트라설포네이트, 디에틸헥실부타미도트리아존, 디에틸아미노하이드록시벤조일헥실벤조에이트, 디이에이-메톡시신나메이트, 로우손과 디하이드록시아세톤의 혼합물, 메틸렌비스-벤조트리아졸릴테트라메틸부틸페놀, 4-메틸벤질리덴캠퍼,

멘틸안트라닐레이트, 벤조페논-3(옥시벤존), 벤조페논-4, 벤조페논-8(디옥시페벤존), 부틸메톡시디벤조일메탄, 비스에틸헥실옥시페놀메톡시페닐트리아진, 시녹세이트, 에틸디하이드록시프로필파바, 옥토크릴렌, 에틸헥실디메틸파바, 에틸헥실메톡시신나메이트, 에틸헥실살리실레이트, 에틸헥실트리아존, 이소아밀-p-메톡시신나메이트, 폴리실리콘-15(디메치코디에틸벤잘말로네이트), 테레프탈릴리덴디캄퍼설포닉애씨드 및 그 염류, 티이에이-살리실레이트 및 아미노벤조산(파바)으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상을 사용할 수 있다.

- [63] 본 발명의 화장료 조성물을 첨가할 수 있는 제품으로는, 예를 들어, 수렴화장수, 유연화장수, 영양화장수, 각종 크림, 에센스, 팩, 파운데이션 등과 같은 화장품류와 클렌징, 세안제, 비누, 트리트먼트, 미용액 등이 있다. 본 발명의 화장료 조성물의 구체적인 제형으로서는 스킨로션, 스킨 소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양로션, 마사지크림, 영양크림, 모이스처 크림, 핸드크림, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 샴푸, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션, 바디클렌저, 유액, 립스틱, 메이크업 베이스, 파운데이션, 프레스파우더, 루스파우더, 아이섀도 등의 제형을 포함한다.
- [64] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[65]

[66] [실시예]

[67] 실시예 1. 세균 및 세균 유래 소포의 체내 흡수, 분포, 및 배설 양상 분석

[68] 세균과 세균 유래 소포가 위장관을 통해 전신적으로 흡수되는 지를 평가하기 위하여 다음과 같은 방법으로 실험을 수행하였다. 마우스의 위장에 형광으로 표지한 세균과 세균 유래 소포를 각각 50  $\mu\text{g}$ 의 용량으로 위장관으로 투여하고 0분, 5분, 3시간, 6시간, 12시간 후에 형광을 측정하였다. 마우스 전체 이미지를 관찰한 결과, 도 1a에 나타낸 바와 같이, 세균인 경우에는 전신적으로 흡수되지 않았지만, 세균 유래 소포인 경우에는, 투여 후 5분에 전신적으로 흡수되었고, 투여 3시간 후에는 방광에서 형광이 진하게 관찰되어, 소포가 비뇨기계로 배설됨을 알 수 있었으며 또한, 소포는 투여 12시간까지 체내에 존재함을 알 수 있었다(도 1a 참조).

[69] 세균과 세균 유래 소포가 전신적으로 흡수된 후, 여러 장기로 침윤된 양상을 평가하기 위하여, 형광으로 표지한 50  $\mu\text{g}$ 의 세균과 세균 유래 소포를 상기의 방법과 같이 투여한 후, 투여 12시간 후에 혈액, 심장, 폐, 간, 신장, 비장, 지방, 근육을 채취하였다. 채취한 조직에서 형광을 관찰한 결과, 도 1b에 나타낸 바와 같이, 세균 유래 소포가 혈액, 심장, 폐, 간, 신장, 비장, 지방, 근육, 신장에 분포하였으나, 세균은 흡수되지 않음을 알 수 있었다(도 1b 참조).

[70]

[71] 실시예 2. 세균 및 세균 유래 소포의 장 점막 방어막 침투 유무 평가

[72] 세균과 세균 유래 소포가 장 점막 방어막을 통과하여 장 조직으로 침윤되는지를 평가하기 위하여 세균과 세균 유래 소포를 장으로 직접 투여한 후, 면역조직화학(Immunohistochemistry) 방법으로 장 점막 방어막을 통과하여 장 조직으로의 침윤을 평가하였다. 장 점막에서 세균과 소포 존재를 평가하기 위하여 세균과 소포에 대한 항체를 제작하여 GFP(Green fluorescent protein)를 달아 사용하였고, DAPI(4, 6-diamidino 2-phenylindole) 염색을 한 후, 현미경으로 관찰하였다.

[73] 그 결과, 세균인 경우에는 장 점막 방어막을 통과하지 못한 반면, 세균 유래 소포는 장 점막으로 통과하여 장 조직으로 침윤됨을 확인하였다(도 2 참조).

[74]

[75] 실시예 3. 웨이셀라 시바리아 배양액에서 소포 분리

[76] 웨이셀라 시바리아(*Weissella cibaria*) 균주를 배양한 후 이의 소포를 분리하여 특성을 분석하였다. 우선 웨이셀라 시바리아(*Weissella cibaria*) 균주를 37 °C 배양기에서 흡광도(OD 600)가 1.0~1.5가 될 때까지 MRS(de Man-Rogosa and Sharpe) 배지에서 배양한 후 LB(Luria-Bertani) 배지에 서브-컬처(sub-culture) 하였다. 이후 균주가 포함되어 있는 배양액을 회수하여 10,000 x g, 4 °C에서 20분 동안 원심분리하여 균체를 제거하고, 0.22 μm 필터에 여과하였다. 여과한 상층액을 100 kDa Pellicon 2 Cassette 필터 멤브레인(Merck Millipore, US)으로 MasterFlex 펌프 시스템(Cole-Parmer, US)을 이용하여 미세여과(microfiltration)를 통해 50 ml 이하의 부피로 농축하였다. 농축시킨 상층액을 다시 한 번 0.22 μm 필터로 여과하였다. 이후 BCA(Bicinchoninic acid) assay를 이용해 단백질을 정량하였고, 얻어진 소포에 대하여 하기 실험들을 실시하였다.

[77]

[78] 실시예 4. 웨이셀라 시바리아 유래 소포의 염증유발 효과

[79] 염증세포에서 웨이셀라 시바리아 유래 소포(*Weissella cibaria* EV)의 염증매개체(IL-6, TNF-α) 분비에 대한 영향을 알아보기 위해, 마우스 대식세포주인 Raw 264.7 세포에 웨이셀라 시바리아 유래 소포를 다양한 농도(0.1, 1, 10 μg/ml)로 처리한 후, 세포사멸과 ELISA를 진행하였다.

[80] 보다 구체적으로, 48-well 세포 배양 플레이트 안에  $5 \times 10^4$  개씩 분주한 Raw 264.7 세포에 DMEM(Dulbecco's Minimum Essential Medium) 무혈청 배지로 희석한 다양한 농도의 웨이셀라 시바리아 유래 소포를 처리하여 12시간 동안 배양하였다. 이후 세포사멸은 EZ-CYTOX(Dogen, Korea)을 이용하여 측정하였고, 세포 배양액은 1.5 ml 튜브에 모아 3000 x g에서 5분간 원심분리하고, 상층액을 모아 -80 °C에 보관해두었다가 ELISA를 진행하였다.

[81] ELISA를 수행하기 위해, 캡처(Capture) 항체를 PBS(Phosphate buffered saline)에 희석시켜 96-well 폴리스티렌(polystyrene) 플레이트에 작용 농도에 맞게 50 μl씩

분주한 후, 4 °C에서 하룻밤 동안(overnight) 반응시켰다. 이후 PBST(0.05 % tween-20이 들어있는 PBS) 용액 100 µl로 세 번씩 씻어준 후, RD(1 % BSA 가 들어있는 PBS) 용액 100 µl을 분주하여 상온에서 1시간 동안 블로킹(blocking) 하였다. 샘플 및 스탠다드(standard)를 농도에 맞게 50 µl씩 분주하고 상온에서 2시간 동안 반응시켰다.

[82] 그 다음 PBST 100 µl로 세 번 씻어준 후, 디텍션(detection) 항체를 RD에 희석시켜 작용 농도에 맞게 50µl씩 분주하여 상온에서 2시간 동안 반응시켰다. 그리고 PBST 100 µl로 세 번 씻어준 후, Streptavidin-HRP(R&D system, USA)를 RD에 1/40으로 희석시켜 50 µl씩 분주하여 상온에서 20분간 반응시켰다.

[83] 마지막으로 PBST 100 µl로 세 번 씻어준 후, TMB(3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine) 기질 (SurModics, USA) 50 µl를 분주하고 5분에서 20분 후 발색이 진행되었을 때, 1 M 황산용액을 50 µl씩 분주해 반응을 멈추고 SpectraMax M3 microplate reader(Molecular Devices, USA)를 이용해 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[84] 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이 웨이셀라 시바리아 유래 소포( *Weissella cibaria* EV) 처리에 의한 세포사멸은 관찰되지 않았다(도 3 참조). 또한, 염증세포에서의 염증매개체 분비 양상을 평가한 결과, 양성대조군인 대장균 유래 소포( *E. coli* EV 1µg/ml) 처리 시에 비해 웨이셀라 시바리아 유래 소포의 처리 시 염증매개체의 분비가 훨씬 감소되어 있음을 확인하였다(도 4a 및 4b 참조).

[85]

[86] 실시예 5. 웨이셀라 시바리아 유래 소포의 항염증 효과

[87] 상기 실시예 4의 결과를 바탕으로, 웨이셀라 시바리아 유래 소포의 항염증 효과를 평가하기 위하여, 다양한 농도(0.1, 1, 10 µg/ml)의 웨이셀라 시바리아 유래 소포를 마우스 대식세포주에 12시간 전처리한 후, 병원성 원인인자인 대장균 유래 소포 1 µg/ml을 처리하고 12시간 후에 염증성 사이토카인의 분비를 ELISA로 측정하였다.

[88] 그 결과, 웨이셀라 시바리아 유래 소포를 전처리 시, 대장균 유래 소포 자극에 의한 염증세포에 분비되는 IL-6, TNF-α의 양이 현저히 억제됨을 확인하였다(도 5a 및 5b 참조). IL-6인 경우에는 유용미생물 대조군인 락토바실러스 플란타룸( *Lactobacillus plantarum*) 유래 소포를 전처리했을 때와 유사하게 항염증 효과를 나타냄을 확인했고(도 5a 참조), TNF-α의 경우에는 유용미생물 대조군인 락토바실러스 플란타룸 유래 소포를 전처리했을 때보다 항염증 효과가 현저히 높음과 동시에 억제효과가 웨이셀라 시바리아 유래 소포 처리 농도에 의존적임을 확인하였다(도 5b 참조). 이는 대장균 유래 소포와 같은 병원성 염증유발 인자에 의해 유도되는 염증반응을 웨이셀라 시바리아 유래 소포가 효율적으로 억제할 수 있음을 의미한다.

[89]

[90] 상기 진술한 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 실시 예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

[91]

### 산업상 이용가능성

[92]

본 발명에 따른 웨이셀라 속 세균 유래 소포는 점막의 방어막을 통과하여 점막 상피세포에 흡수되어 전신적으로 분포할 수 있고, 병원성 소포에 의한 IL-6 및 TNF- $\alpha$  등의 염증매개체 분비를 억제할 수 있는바, 염증질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 유용하게 이용될 수 있다는 점에서 산업적 이용 가치가 클 것으로 예상된다.

## 청구범위

- [청구항 1] 웨이셀라(*Weissella*) 속 세균 유래 소포를 유효성분으로 포함하는, 염증질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 웨이셀라 속 세균 유래 소포는 웨이셀라 시바리아(*Weissella cibaria*)에서 분비되는 것을 특징으로 하는, 염증질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 소포는 평균 직경이 10 내지 200 nm인 것을 특징으로 하는, 염증질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 소포는 웨이셀라 속 세균에서 자연적 또는 인공적으로 분비되는 것을 특징으로 하는, 염증질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 5] 제1항에 있어서, 상기 염증질환은 치은염, 치주염 및 구강암을 포함하는 구강 염증질환; 위염 및 위암을 포함하는 위 염증질환; 대장염, 대장용종 및 대장암을 포함하는 대장 염증질환; 아토피피부염 및 건선을 포함하는 피부 염증질환; 비염, 비용종, 천식, 만성폐쇄성폐질환 및 폐암을 포함하는 호흡기계 염증질환으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 질환인 것을 특징으로 하는, 염증질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 6] 웨이셀라(*Weissella*) 속 세균 유래 소포를 유효성분으로 포함하는, 염증질환 예방 또는 개선용 식품 조성물.
- [청구항 7] 제6항에 있어서, 상기 웨이셀라 속 세균 유래 소포는 웨이셀라 시바리아(*Weissella cibaria*)에서 분비되는 것을 특징으로 하는, 염증질환 예방 또는 개선용 식품 조성물.
- [청구항 8] 제6항에 있어서, 상기 소포는 평균 직경이 10 내지 200nm인 것을 특징으로 하는, 염증질환 예방 또는 개선용 식품 조성물.
- [청구항 9] 제6항에 있어서, 상기 소포는 웨이셀라 속 세균에서 자연적 또는 인공적으로 분비되는 것을 특징으로 하는, 염증질환 예방 또는 개선용 식품 조성물.
- [청구항 10] 제6항에 있어서, 상기 염증질환은 치은염, 치주염 및 구강암을 포함하는 구강 염증질환; 위염 및 위암을 포함하는 위 염증질환; 대장염, 대장용종 및 대장암을 포함하는 대장 염증질환; 아토피피부염 및 건선을 포함하는 피부 염증질환; 비염, 비용종, 천식, 만성폐쇄성폐질환 및 폐암을 포함하는

호흡기계 염증질환으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 질환인 것을 특징으로 하는, 염증질환 예방 또는 개선용 식품 조성물.

[청구항 11] 웨이셀라(*Weissella*) 속 세균 유래 소포를 유효성분으로 포함하는, 염증질환 예방 또는 개선용 화장료 조성물.

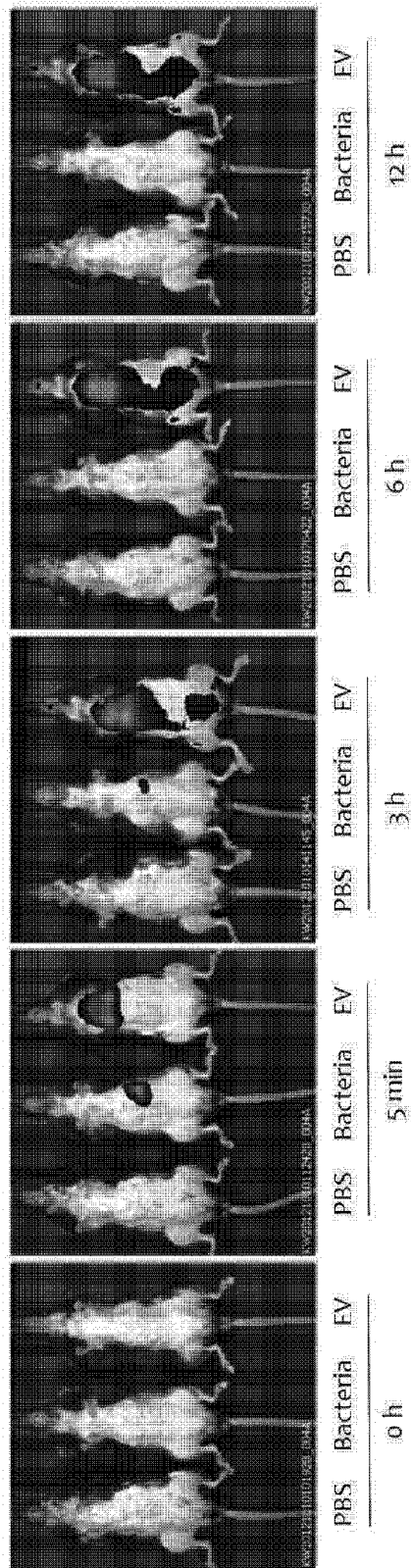
[청구항 12] 제11항에 있어서,  
상기 소포는 웨이셀라 속 세균에서 자연적 또는 인공적으로 분비되는 것을 특징으로 하는, 염증질환 예방 또는 개선용 화장료 조성물.

[청구항 13] 웨이셀라(*Weissella*) 속 세균 유래 소포를 유효성분으로 포함하는, 염증질환 예방 또는 치료용 흡입제 조성물.

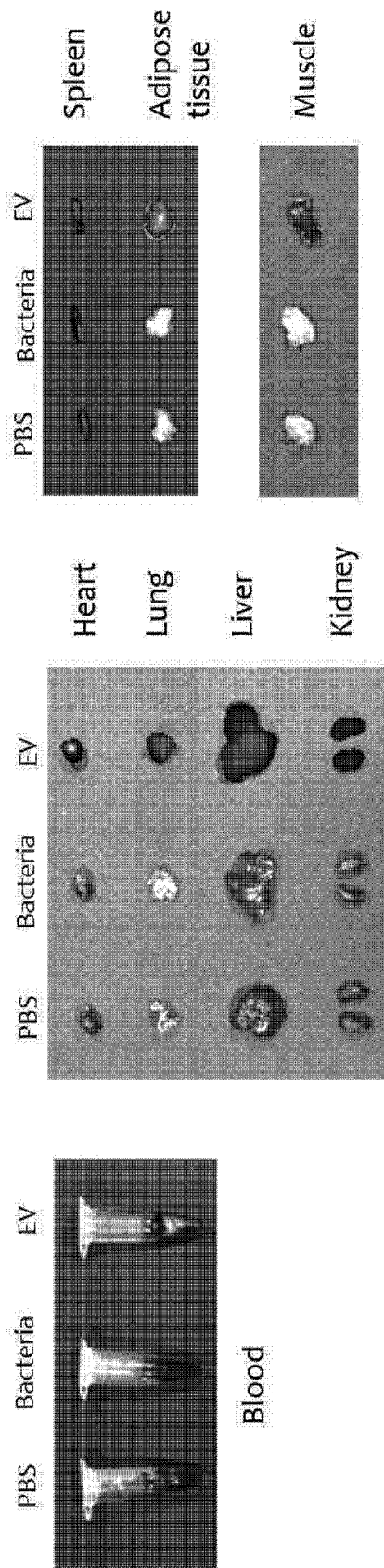
[청구항 14] 웨이셀라(*Weissella*) 속 세균 유래 소포를 유효성분으로 포함하는 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 염증질환의 예방 또는 치료방법.

[청구항 15] 웨이셀라(*Weissella*) 속 세균 유래 소포의 염증질환에 이용되는 약제를 생산하기 위한 용도.

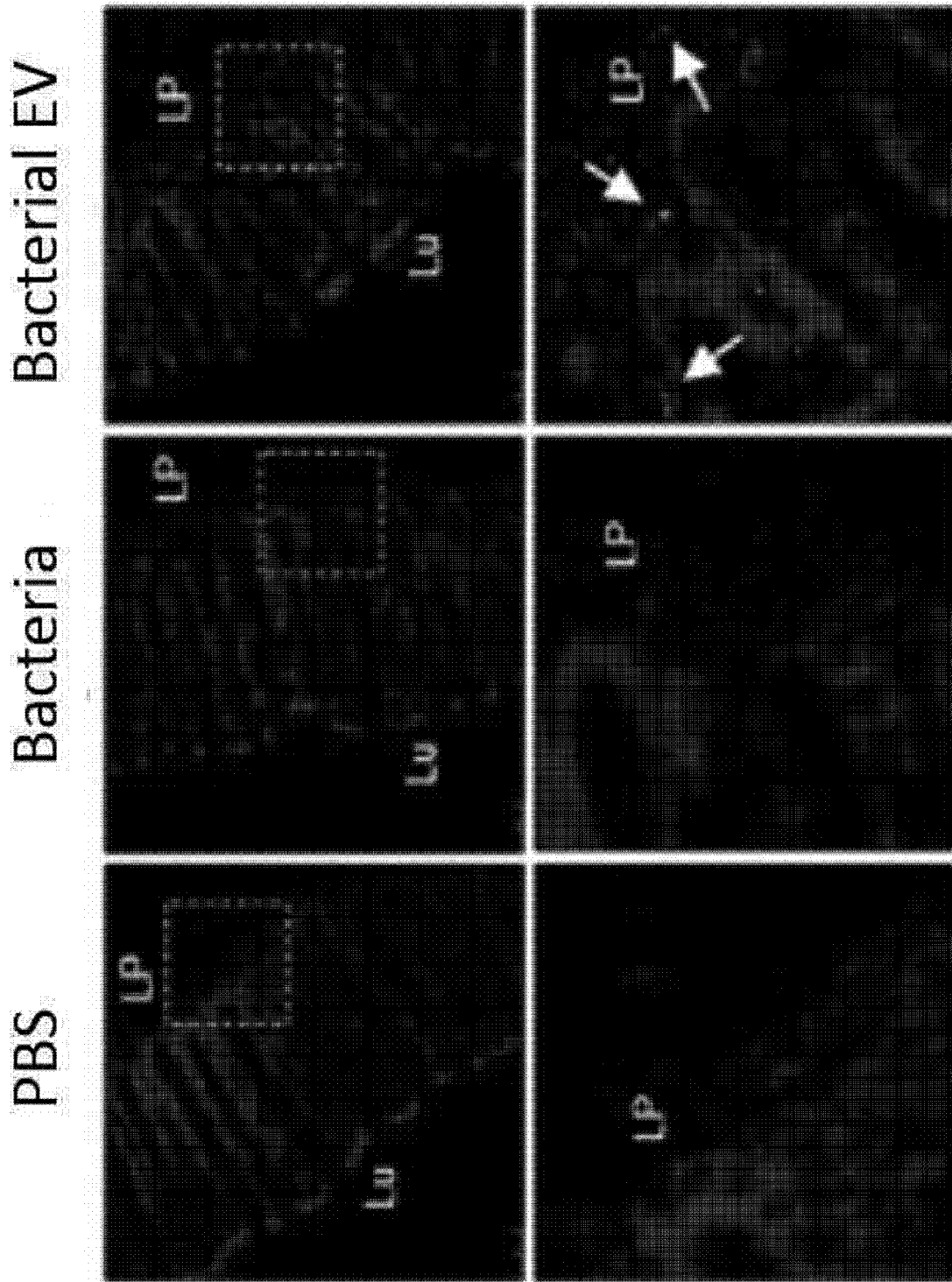
[도 1a]



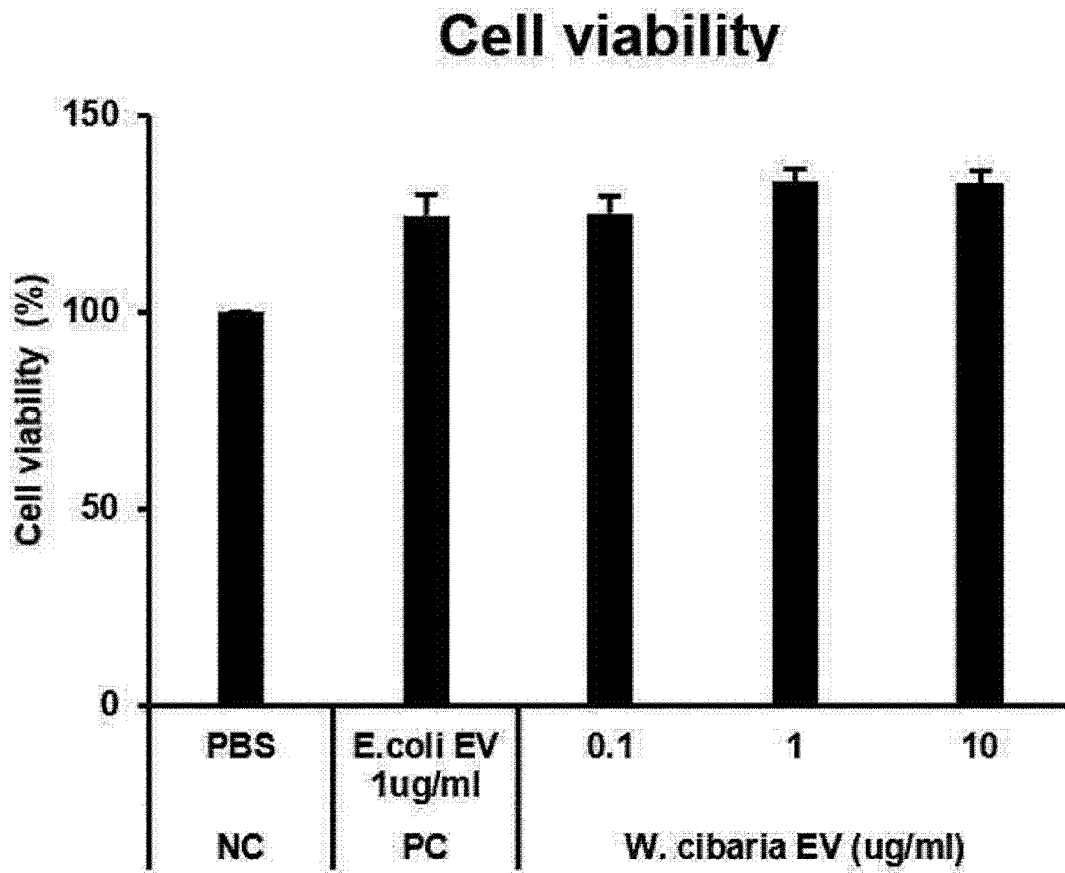
[도 1b]



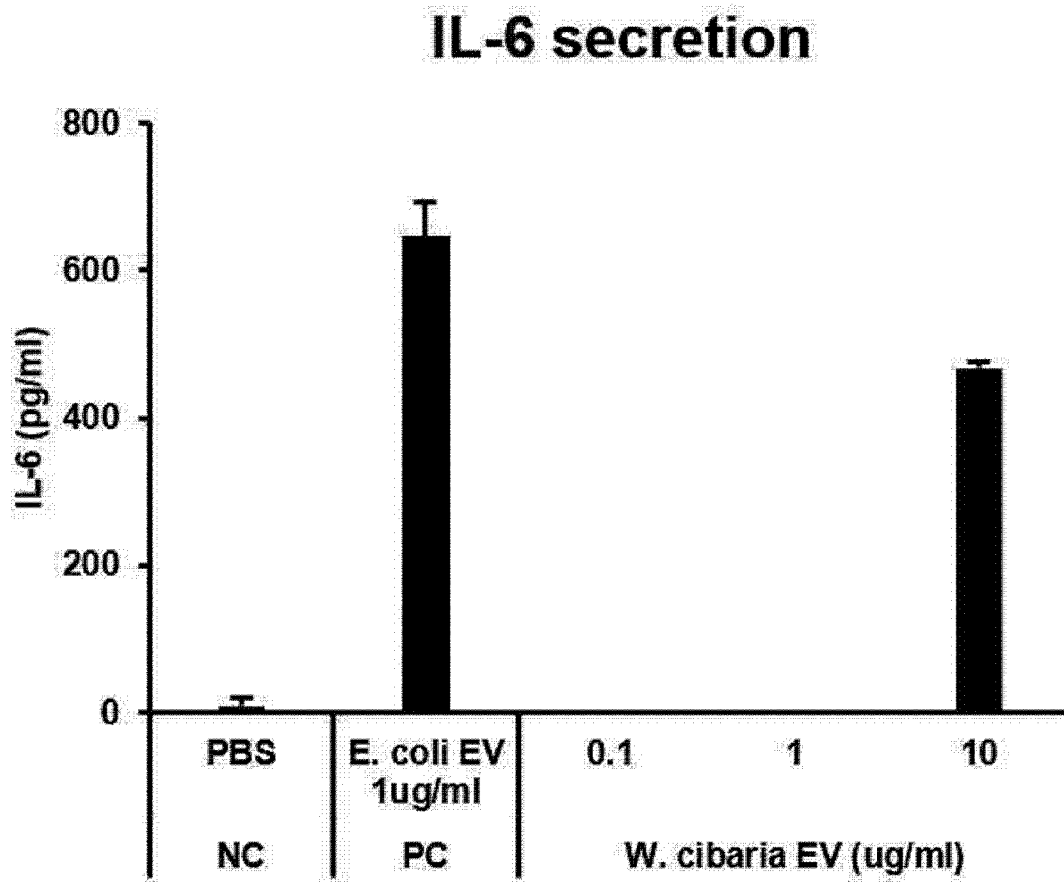
[도2]



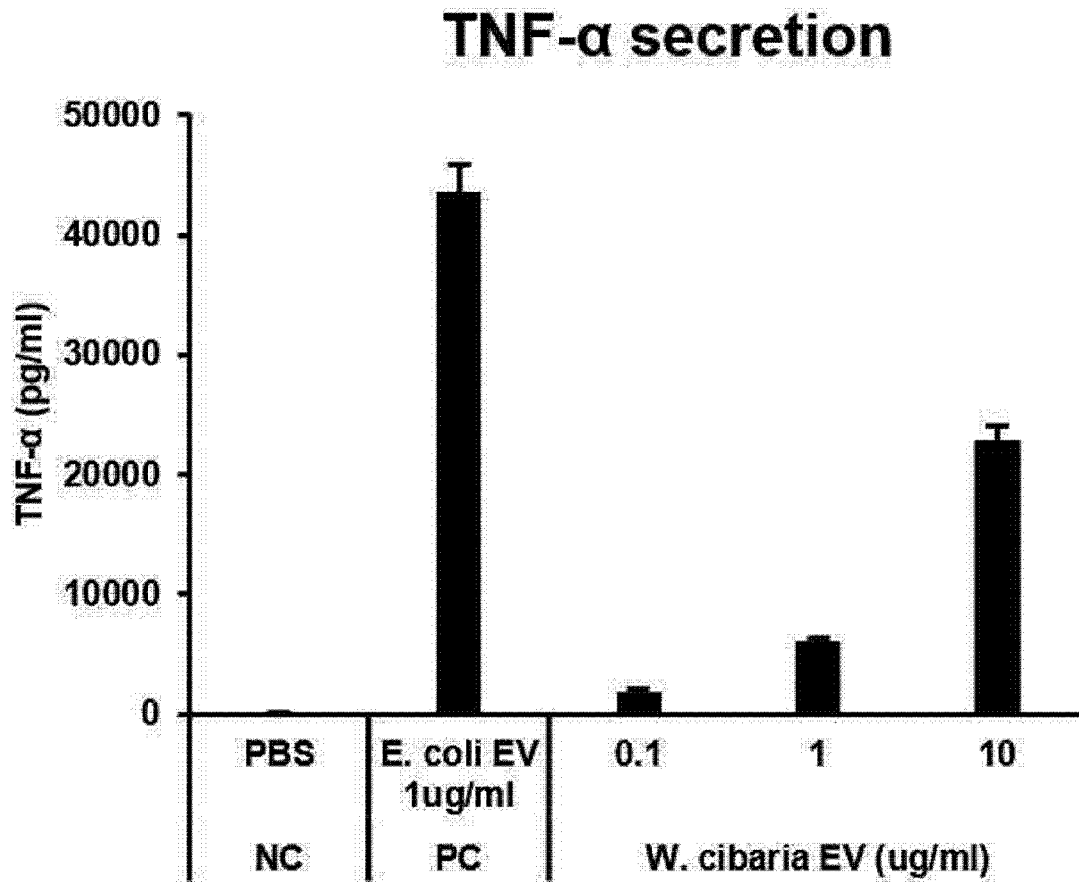
[도3]



[도4a]

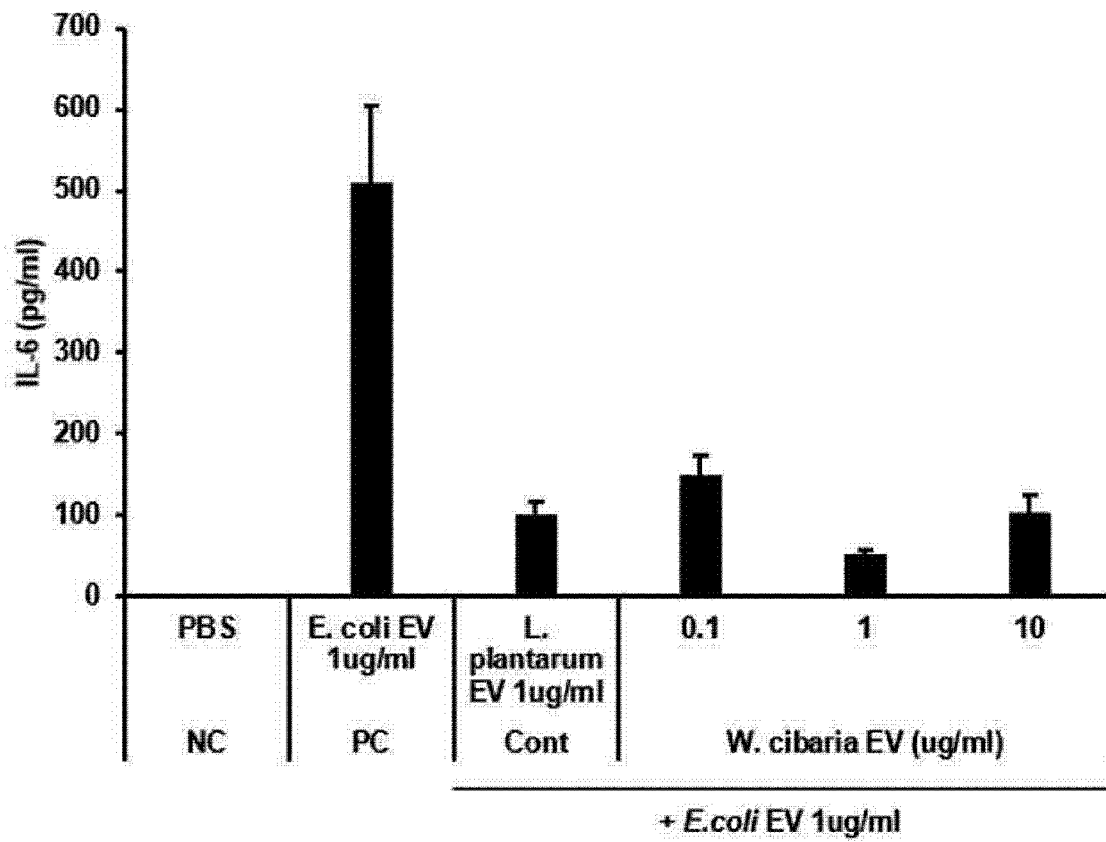


[도4b]

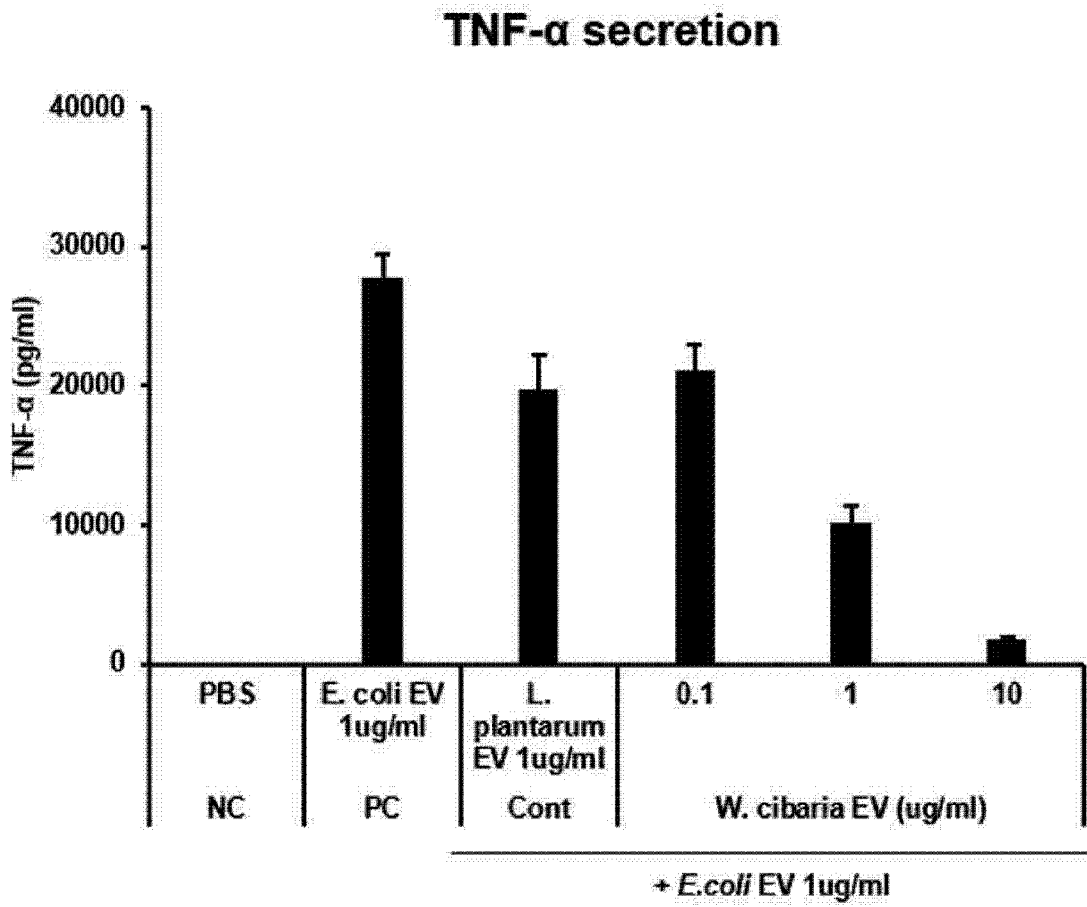


[도5a]

### IL-6 secretion



[도5b]



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2019/015876

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

*A61K 35/74(2006.01)i, A61K 9/00(2006.01)i, A61P 29/00(2006.01)i, A23L 33/135(2016.01)i, A61K 8/99(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)

A61K 35/74; A61K 35/66; A61K 35/744; A61K 35/747; A61K 8/99; C12N 1/00; C12N 1/20; A61K 9/00; A61P 29/00; A23L 33/135; 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: weissella cibaria, vesicle, inflammation

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	KR 10-1667496 B1 (KOREA FOOD RESEARCH INSTITUTE) 18 October 2016 See abstract; claims 1, 4-9, 12-13.	1-13,15
Y	KR 10-2011-0082481 A (POSTECH ACADEMY-INDUSTRY FOUNDATION) 19 July 2011 See claims 1-15; paragraphs [0024]-[0028]; examples 1-6.	1-13,15
Y	KR 10-2010-0074928 A (KOREA FOOD RESEARCH INSTITUTE) 02 July 2010 See abstract; claims 1-5; paragraphs [0006]-[0008].	1-13,15
A	KR 10-2016-0110232 A (MD HEALTHCARE INC.) 21 September 2016 See the entire document.	1-13,15
A	KR 10-2018-0018354 A (MD HEALTHCARE INC.) 21 February 2018 See the entire document.	1-13,15

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

24 FEBRUARY 2020 (24.02.2020)

Date of mailing of the international search report

**25 FEBRUARY 2020 (25.02.2020)**

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/KR2019/015876****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.: **14**  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Claim 14 pertains to a method for treatment of the human body by surgery or therapy, and thus pertains to 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/KR2019/015876**

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-1667496 B1	18/10/2016	None	
KR 10-2011-0082481 A	19/07/2011	KR 10-1629525 B1	13/06/2016
		KR 10-1730607 B1	02/05/2017
		KR 10-1826071 B1	07/02/2018
		KR 10-2011-0082480 A	19/07/2011
		KR 10-2016-0032722 A	24/03/2016
		KR 10-2016-0036016 A	01/04/2016
		KR 10-2016-0110336 A	21/09/2016
		KR 10-2016-0110911 A	22/09/2016
		WO 2012-093754 A1	12/07/2012
		WO 2012-093755 A1	12/07/2012
		KR 10-2010-0074928 A	02/07/2010
KR 10-2016-0110232 A	21/09/2016	CN 107750161 A	02/03/2018
		EP 3269378 A2	17/01/2018
		JP 2018-511583 A	26/04/2018
		KR 10-1862507 B1	29/05/2018
		KR 10-2017-0000369 A	02/01/2017
		KR 10-2017-0015958 A	10/02/2017
		US 10406184 B2	10/09/2019
		US 2018-0055894 A1	01/03/2018
		WO 2016-144139 A2	15/09/2016
		WO 2016-144139 A3	10/11/2016
KR 10-2018-0018354 A	21/02/2018	CN 109789173 A	21/05/2019
		EP 3498285 A1	19/06/2019
		JP 2019-528688 A	17/10/2019
		US 2019-0177783 A1	13/06/2019
		WO 2018-030732 A1	15/02/2018

<b>A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))</b>		
A61K 35/74(2006.01)i, A61K 9/00(2006.01)i, A61P 29/00(2006.01)i, A23L 33/135(2016.01)j, A61K 8/99(2006.01)i, A61Q 19/00(2006.01)i		
<b>B. 조사된 분야</b>		
조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) A61K 35/74; A61K 35/66; A61K 35/744; A61K 35/747; A61K 8/99; C12N 1/00; C12N 1/20; A61K 9/00; A61P 29/00; A23L 33/135; 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: 웨이셀라 시마리아(weissella cibaria), 소포(vesicle), 염증(inflammation)		
<b>C. 관련 문헌</b>		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y	KR 10-1667496 B1 (한국식품연구원) 2016.10.18 요약; 청구항 1, 4-9, 12-13	1-13, 15
Y	KR 10-2011-0082481 A (포항공과대학교 산학협력단) 2011.07.19 청구항 1-15; 단락 [0024]-[0028]; 실시예 1-6	1-13, 15
Y	KR 10-2010-0074928 A (한국식품연구원) 2010.07.02 요약; 청구항 1-5; 단락 [0006]-[0008]	1-13, 15
A	KR 10-2016-0110232 A (주식회사 엠디헬스케어) 2016.09.21 전체 문헌	1-13, 15
A	KR 10-2018-0018354 A (주식회사 엠디헬스케어) 2018.02.21 전체 문헌	1-13, 15
<input type="checkbox"/> 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. <input checked="" type="checkbox"/> 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” 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 “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2020년 02월 24일 (24.02.2020)	국제조사보고서 발송일 2020년 02월 25일 (25.02.2020)	
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: 14  
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉, 청구항 14는 수술 또는 치료에 의한 사람의 치료방법에 관한 것이므로 PCT 조약 제 17조(2)(a)(i) 및 조약규칙 39.1(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
KR 10-1667496 B1	2016/10/18	없음	
KR 10-2011-0082481 A	2011/07/19	KR 10-1629525 B1 KR 10-1730607 B1 KR 10-1826071 B1 KR 10-2011-0082480 A KR 10-2016-0032722 A KR 10-2016-0036016 A KR 10-2016-0110336 A KR 10-2016-0110911 A WO 2012-093754 A1 WO 2012-093755 A1	2016/06/13 2017/05/02 2018/02/07 2011/07/19 2016/03/24 2016/04/01 2016/09/21 2016/09/22 2012/07/12 2012/07/12
KR 10-2010-0074928 A	2010/07/02	KR 10-1014317 B1	2011/02/14
KR 10-2016-0110232 A	2016/09/21	CN 107750161 A EP 3269378 A2 JP 2018-511583 A KR 10-1862507 B1 KR 10-2017-0000369 A KR 10-2017-0015958 A US 10406184 B2 US 2018-0055894 A1 WO 2016-144139 A2 WO 2016-144139 A3	2018/03/02 2018/01/17 2018/04/26 2018/05/29 2017/01/02 2017/02/10 2019/09/10 2018/03/01 2016/09/15 2016/11/10
KR 10-2018-0018354 A	2018/02/21	CN 109789173 A EP 3498285 A1 JP 2019-528688 A US 2019-0177783 A1 WO 2018-030732 A1	2019/05/21 2019/06/19 2019/10/17 2019/06/13 2018/02/15