

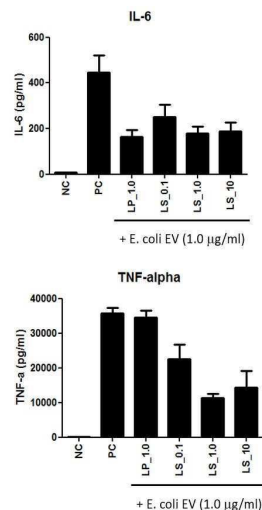
**(19) 대한민국특허청(KR)**
(12) 공개특허공보(A)**(11) 공개번호** 10-2020-0020775
(43) 공개일자 2020년02월26일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
<i>C12Q 1/689</i> (2018.01) <i>A23L 33/135</i> (2016.01)
<i>A61K 35/74</i> (2015.01) <i>A61P 35/00</i> (2006.01)
<i>A61P 37/00</i> (2006.01) <i>C12Q 1/6851</i> (2018.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
<i>C12Q 1/689</i> (2018.05)
<i>A23L 33/135</i> (2016.08)</p> <p>(21) 출원번호 10-2020-0021239(분할)</p> <p>(22) 출원일자 2020년02월20일
심사청구일자 2020년02월20일</p> <p>(62) 원출원 특허 10-2019-0024891
원출원일자 2019년03월04일
심사청구일자 2019년03월04일</p> <p>(30) 우선권주장
1020180026039 2018년03월05일 대한민국(KR)</p> | <p>(71) 출원인
주식회사 엠디헬스케어
서울특별시 마포구 월드컵북로56길 9, 1303호(상암동, 우리기술빌딩)</p> <p>(72) 발명자
김윤근
경기도 파주시 한빛로 70, 521동 203호 (야당동, 한빛마을5단지 캐슬엔칸타빌)</p> <p>(74) 대리인
이명진</p> |
|---|--|

전체 청구항 수 : 총 3 항

(54) 발명의 명칭 락토바실러스 속 세균 유래 나노소포 및 이의 용도**(57) 요약**

본 발명은 락토바실러스 속 세균 유래 소포 및 이의 용도에 관한 것으로, 본 발명자들은 정상인에 비하여 위암, 신부전, 치매, 및 뇌졸중 환자의 샘플에 상기 소포가 유의하게 감소되어 있고, 상기 소포는 병원성 소포에 의한 염증매개체 분비를 억제함을 실험적으로 확인하였는바, 본 발명에 따른 락토바실러스 속 세균 유래 소포는 위암, 신부전, 치매, 또는 뇌졸중의 진단방법, 및 상기 질환 등을 포함하는 면역기능 이상을 동반하는 염증질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 개발하기 위한 목적으로 유용하게 이용될 수 있을 것이다.

대표도 - 도9

(52) CPC특허분류

A61K 35/74 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

A61P 37/00 (2018.01)

C12Q 1/6851 (2018.05)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/308 (2013.01)

A23V 2200/324 (2013.01)

C12Q 2600/112 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

락토바실러스 사케이(*Lactobacillus sakei*) 유래 소포를 유효성분으로 포함하는 항염용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 소포는 평균 직경이 10 내지 200 nm인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 소포는 락토바실러스 사케이(*Lactobacillus sakei*)에서 자연적 또는 인공적으로 분비되는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 락토바실러스 속 세균 유래 나노소포 및 이의 용도에 관한 것으로, 보다 구체적으로 락토바실러스 속 세균에서 유래하는 나노소포를 이용한 위암, 신부전, 치매, 또는 뇌졸중 등의 진단방법 및 상기 소포를 포함하는 상기 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 21세기에 들어서면서 과거 전염병으로 인식되던 급성 감염성질환의 중요성이 덜해지는 반면, 인간과 마이크로바이옴과의 부조화에 의해 발생하는 면역기능 이상을 동반한 만성질환이 삶의 질과 인간 수명을 결정하는 주요 질환으로 질병패턴이 바뀌었다. 특히, 식이습관의 서구화에 따른 암, 당뇨병 등의 대사질환, 심근경색, 뇌졸중 등의 심혈관계질환, 파킨슨병, 치매, 우울증 등의 신경-정신질환이 국민보건에 큰 문제가 되고 있다.

[0003] 상기 질환은 만성염증을 특징으로 하고, 만성염증의 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- α)와 같은 염증성 매개체가 중요한 역할을 담당한다. 또한, 세균성 원인인자에 의해 분비되는 IL-6는 Th17 세포로의 분화에 중요한 역할을 담당하고, 심혈관질환, 뇌신경정신질환의 병인에도 관여하는 것으로 최근 보고되고 있다.

[0004] 인체에 공생하는 미생물은 100조에 이르러 인간 세포보다 10배 많으며, 미생물의 유전자수는 인간 유전자수의 100배가 넘는 것으로 알려지고 있다. 미생물총(microbiota 혹은 microbiome)은 주어진 거주지에 존재하는 진정 세균(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.

[0005] 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 밝혀졌

다.

[0006] 락토바실러스(*Lactobacillus*) 속 세균은 유산을 분비하는 그람양성균으로서, 락토바실러스 속에 속하는 여러 균이 프로바이오틱스 제품으로 사용되고 있다. 그러나, 아직까지 락토바실러스 속 세균에서 유래하는 소포를 이용하여 위암, 신부전, 치매, 및 뇌졸중 등의 질환에 대한 진단 및 치료기술에 대한 보고는 전무한 상태이다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0007] (비특허문헌 0001) Choi YW et al., Gut microbe-derived extracellular vesicles induce insulin resistance, thereby impairing glucose metabolism in skeletal muscle. Scientific Reports, 2015.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명자들은 상기와 같은 종래의 문제점을 해결하기 위해 예의 연구한 결과, 메타게놈 분석을 통해 정상인에 비하여 위암, 신부전, 치매, 및 뇌졸중 환자 유래 샘플에서 락토바실러스 속 세균 유래 소포의 함량이 현저히 감소되어 있음 확인하였고, 락토바실러스 속 세균 유래 소포를 체외에서 분리하여 치료효능을 평가한 결과, 면역조절 효과를 확인한 바, 이에 기초하여 본 발명을 완성하였다.

[0009] 이에, 본 발명은 위암, 신부전, 치매, 또는 뇌졸중의 진단을 위한 정보제공방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0010] 또한, 본 발명은 락토바실러스 유래 소포를 유효성분으로 포함하는 면역기능 이상을 동반한 염증질환 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공하는 것을 다른 목적으로 한다.

[0011] 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

[0012] 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기의 단계를 포함하는, 위암, 신부전, 치매, 또는 뇌졸중의 진단을 위한 정보제공 방법을 제공한다:

[0013] (a) 정상인 및 피검자 샘플에서 분리한 세포막 소포로부터 DNA를 추출하는 단계;

[0014] (b) 상기 추출한 DNA에 대하여 16S rDNA에 존재하는 유전자 서열에 기초하여 제작한 프라이머 쌍을 이용하여 PCR(Polymerase Chain Reaction)을 수행한 후, 각각의 PCR 산물을 수득하는 단계; 및

[0015] (c) 상기 PCR 산물의 정량분석을 통하여 정상인에 비하여 락토바실러스(*Lactobacillus*) 속 세균 유래 세포막 소포의 함량이 낮을 경우 위암, 신부전, 치매, 또는 뇌졸중으로 분류하는 단계.

[0016] 본 발명은 하기의 단계를 포함하는, 위암, 신부전, 치매, 또는 뇌졸중의 진단방법을 제공한다:

[0017] (a) 정상인 및 피검자 샘플에서 분리한 세포막 소포로부터 DNA를 추출하는 단계;

[0018] (b) 상기 추출한 DNA에 대하여 16S rDNA에 존재하는 유전자 서열에 기초하여 제작한 프라이머 쌍을 이용하여 PCR(Polymerase Chain Reaction)을 수행한 후, 각각의 PCR 산물을 수득하는 단계; 및

[0019] (c) 상기 PCR 산물의 정량분석을 통하여 정상인에 비하여 락토바실러스(*Lactobacillus*) 속 세균 유래 세포막 소포의 함량이 낮을 경우 위암, 신부전, 치매, 또는 뇌졸중으로 판정하는 단계.

[0020] 본 발명의 일 구현예로, 상기 (a) 단계에서의 샘플은 혈액일 수 있다.

[0021] 본 발명의 다른 구현예로, 상기 (b) 단계에서의 프라이머쌍은 서열번호 1 및 서열번호 2의 프라이머 일 수 있다.

[0022] 또한, 본 발명은 락토바실러스 속 세균 유래 소포를 유효성분으로 포함하는, 면역기능 이상을 동반한 염증질환

예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

- [0023] 또한, 본 발명은 락토바실러스 속 세균 유래 소포를 유효성분으로 포함하는, 면역기능 이상을 동반한 염증질환 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0024] 또한, 본 발명은 락토바실러스 속 세균 유래 소포를 유효성분으로 포함하는, 피부 염증질환 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공한다.
- [0025] 또한, 본 발명은 락토바실러스 속 세균 유래 소포의, 면역기능 이상을 동반한 염증질환 예방 또는 치료 용도를 제공한다.
- [0026] 또한, 본 발명은 락토바실러스 속 세균 유래 소포를 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 면역기능 이상을 동반한 염증질환 예방 또는 치료 방법을 제공한다.
- [0027] 본 발명의 일 구현예로, 상기 소포는 평균 직경이 10 내지 200 nm인 것일 수 있다.
- [0028] 본 발명의 다른 구현예로, 상기 소포는 락토바실러스 속 세균에서 자연적으로 또는 인공적으로 분비되는 것일 수 있다.
- [0029] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 락토바실러스(*Lacotobacillus*) 속 세균 유래 소포는 락토바실러스 브레비스(*Lacotobacillus brevis*) 유래 소포, 락토바실러스 카세이(*Lacotobacillus casei*) 유래 소포, 락토바실러스 람노수스(*Lacotobacillus rhamnosus*) 유래 소포 및 락토바실러스 사케이(*Lacotobacillus sakei*) 유래 소포로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 소포일 수 있다.
- [0030] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 염증질환은 위암, 신부전, 치매, 및 뇌졸중으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 질환일 수 있다.

발명의 효과

- [0031] 본 발명자들은 장내 세균인 경우에는 체내에 흡수되지 않지만, 세균 유래 소포인 경우에는 체내에 흡수되어, 진신적으로 분포하고, 신장, 간, 폐를 통해 체외로 배설됨을 확인하였고, 환자 혈액에 존재하는 세균 유래 소포 메타게놈 분석을 통해 위암, 신부전, 치매, 및 뇌졸중 환자 샘플에 존재하는 락토바실러스 속 세균 유래 소포가 정상인에 비하여 유의하게 감소되어 있음을 확인하였다. 또한, 락토바실러스 속 세균에 속하는 락토바실러스 브레비스, 락토바실러스 카세이, 락토바실러스 람노수스, 및 락토바실러스 카세이 균주를 분리한 후 체외에서 배양하여 소포를 분리하여 염증세포에 투여하였을 때, 병원성 소포에 의한 IL-6 및 TNF- α 등의 염증매개체 분비를 유의하게 억제하여 면역조절 기능이 있음을 확인한 바, 본 발명에 따른 락토바실러스 속 세균 유래 소포는 위암, 신부전, 치매, 또는 뇌졸중의 진단방법, 및 상기 질환에 대한 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 유용하게 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

- [0032] 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.
- 도 2는 위암 환자 및 정상인 혈액에 존재하는 세균 유래 소포 메타게놈 분석을 실시한 후, 락토바실러스 속 세균 유래 소포의 분포를 비교한 결과이다.
- 도 3은 신부전 환자 및 정상인 혈액에 존재하는 세균 유래 소포 메타게놈 분석을 실시한 후, 락토바실러스 속 세균 유래 소포의 분포를 비교한 결과이다.
- 도 4는 치매 환자 및 정상인 혈액에 존재하는 세균 유래 소포 메타게놈 분석을 실시한 후, 락토바실러스 속 세균 유래 소포의 분포를 비교한 결과이다.
- 도 5는 뇌졸중 환자 및 정상인 혈액에 존재하는 세균 유래 소포 메타게놈 분석을 실시한 후, 락토바실러스 속 세균 유래 소포의 분포를 비교한 결과이다.
- 도 6은 락토바실러스 브레비스 유래 소포의 면역조절 및 항염증 효과를 평가하기 위하여, 병원성 소포인 대장균 소포 (E. coli EV) 처리 전에 락토바실러스 플란타룸(L. plantarum) 또는 락토바실러스 브레비스(L. brevis) 유래 소포를 전처리하여, 대장균 소포에 의한 염증매개체인 IL-6 및 TNF- α 분비에 미치는 영향을 평가한 결과

이다(PC: positive control; LP: *Lactobacillus plantarum* EVs; LB: *Lactobacillus brevis* EVs).

도 7은 락토바실러스 카세이 유래 소포의 면역조절 및 항염증 효과를 평가하기 위하여, 병원성 소포인 대장균 소포 (*E. coli* EV) 처리 전에 락토바실러스 플란타룸(*L. plantarum*) 또는 락토바실러스 카세이(*L. casei*) 유래 소포를 전처리하여, 대장균 소포에 의한 염증매개체인 IL-6 및 TNF- α 분비에 미치는 영향을 평가한 결과이다(PC: positive control; LP: *Lactobacillus plantarum* EVs; LC: *Lactobacillus casei* EVs).

도 8은 락토바실러스 람노수스 유래 소포의 면역조절 및 항염증 효과를 평가하기 위하여, 병원성 소포인 대장균 소포 (*E. coli* EV) 처리 전에 락토바실러스 플란타룸(*L. plantarum*) 또는 락토바실러스 람노수스(*L. rhamnosus*) 유래 소포를 전처리하여, 대장균 소포에 의한 염증매개체인 IL-6 및 TNF- α 분비에 미치는 영향을 평가한 결과이다(PC: positive control; LP: *Lactobacillus plantarum* EVs; LR: *Lactobacillus rhamnosus* EVs).

도 9는 락토바실러스 사케이 유래 소포의 면역조절 및 항염증 효과를 평가하기 위하여, 병원성 소포인 대장균 소포 (*E. coli* EV) 처리 전에 락토바실러스 플란타룸(*L. plantarum*) 또는 락토바실러스 사케이(*L. sakei*) 유래 소포를 전처리하여, 대장균 소포에 의한 염증매개체인 IL-6 및 TNF- α 분비에 미치는 영향을 평가한 결과이다(PC: positive control; LP: *Lactobacillus plantarum* EVs; LS: *Lactobacillus sakei* EVs).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0033] 본 발명은 락토바실러스 속 세균 유래 소포 및 이의 용도에 관한 것이다.
- [0034] 본 발명자들은 메타게놈 분석을 통해 락토바실러스 속 세균 유래 소포가 정상인에 비하여 위암, 신부전, 치매, 및 뇌졸중 환자에서 유의하게 감소되어 있음을 확인하여, 이를 통해 상기 질환을 진단할 수 있음을 확인하였다. 또한, 락토바실러스 속 세균에 속하는 락토바실러스 브레비스, 카세이, 람노수스, 및 사케이 균주로부터 소포를 분리하고 그 특성을 확인함으로써 상기 소포를 상기 질환의 예방 또는 치료용 조성물로 이용할 수 있음을 확인하였다.
- [0035] 이에, 본 발명은 하기의 단계를 포함하는, 위암, 신부전, 치매, 또는 뇌졸중의 진단을 위한 정보제공 방법을 제공한다:
- [0036] (a) 정상인 및 피검자 샘플에서 분리한 세포막 소포로부터 DNA를 추출하는 단계;
- [0037] (b) 상기 추출한 DNA에 대하여 16S rDNA에 존재하는 유전자 서열에 기초하여 제작한 프라이머 쌍을 이용하여 PCR(Polymerase Chain Reaction)을 수행한 후, 각각의 PCR 산물을 수득하는 단계; 및
- [0038] (c) 상기 PCR 산물의 정량분석을 통하여 정상인에 비하여 락토바실러스(*Lactobacillus*) 속 세균 유래 세포막 소포의 함량이 낮은 경우 위암, 신부전, 치매, 또는 뇌졸중으로 분류하는 단계.
- [0039] 본 발명에서 사용되는 용어, “진단”이란 넓은 의미로는 환자의 병의 실태를 모든 면에 걸쳐서 판단하는 것을 의미한다. 판단의 내용은 병명, 병인, 병형, 경중, 병상의 상세한 양태, 합병증의 유무, 및 예후 등이다. 본 발명에서 진단은 위암, 신부전, 치매, 및 뇌졸중의 발병 여부 및 질환의 수준 등을 판단하는 것이다.
- [0040] 본 발명에서 사용되는 용어, “메타게놈”이란 “균유전체”라고도 하며, 흙, 동물의 장 등 고립된 지역 내의 모든 바이러스, 세균, 곰팡이 등을 포함하는 유전체의 총합을 의미하는 것으로, 주로 배양이 되지 않는 미생물을 분석하기 위해서 서열분석기를 사용하여 한꺼번에 많은 미생물을 동정하는 것을 설명하는 유전체의 개념으로 쓰인다. 특히, 메타게놈은 한 종의 게놈, 유전체를 말하는 것이 아니라, 한 환경단위의 모든 종의 유전체로서 일종의 혼합유전체를 말한다. 이는 오믹스적으로 생물학이 발전하는 과정에서 한 종을 정의할 때 기능적으로 기존의 한 종뿐만 아니라, 다양한 종이 서로 상호작용하여 완전한 종을 만든다는 관점에서 나온 용어이다. 기술적으로는 빠른 서열분석법을 이용해서, 종에 관계없이 모든 DNA, RNA를 분석하여, 한 환경 내에서의 모든 종을 동정하고, 상호작용, 대사작용을 규명하는 기법의 대상이다.
- [0041] 본 발명에 있어서, 상기 샘플은 혈액일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0042] 본 발명의 다른 양태로서, 본 발명은 락토바실러스 속 세균 유래 소포를 유효성분으로 포함하는, 위암, 신부전, 치매, 뇌졸중 또는 피부 염증질환 등을 포함한 염증질환의 예방, 치료 또는 개선용 조성물을 제공한다. 상기 조성물은 식품 조성물, 화장료 조성물 및 약학적 조성물을 포함하며, 본 발명에서 식품 조성물은 건강기능식품 조성물을 포함한다. 본 발명의 조성물은 구강분무제 또는 흡입제의 제형일 수 있다.

- [0043] 본 발명에서 사용되는 용어, “소포(Vesicle)”란, 다양한 세균에서 분비되는 나노크기의 막으로 된 구조물을 의미한다. 락토바실러스와 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 락토바실러스 속 세균에서 자연적으로 분비되거나 또는 인공적으로 생산하는 것으로, 10 내지 200 nm의 평균 직경을 가지고 있다.
- [0044] 상기 소포는 락토바실러스 속 세균을 포함하는 배양액을 원심분리, 초고속 원심분리, 고압처리, 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.
- [0045] 본 발명에서 사용되는 용어, “예방”이란 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 위암, 신부전, 치매, 뇌졸중, 및/또는 피부 염증질환 등을 포함하는 염증질환을 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0046] 본 발명에서 사용되는 용어, “치료”란 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 위암, 신부전, 치매, 뇌졸중, 및/또는 피부 염증질환 등을 포함하는 염증질환에 대한 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.
- [0047] 본 발명에서 사용되는 용어, “개선”이란 치료되는 상태와 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 적어도 감소시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0048] 본 발명에서 사용되는 용어, “염증질환”이란, 면역계를 이루는 체액성 매개체(humoral mediator)가 직접 반응하거나, 국부적 또는 전신적 작동 시스템(effector system)을 자극함으로써 일어나는 연쇄적인 생체반응에 의해 유발되는 질환으로, 본 발명에서 염증질환은 위암, 신부전, 치매, 뇌졸중 또는 피부 염증질환 일 수 있으며, 면역기능 이상을 동반한 것일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0049] 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.
- [0050] 본 발명의 약학적 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구투여(예를 들어, 정맥 내, 피하, 피부, 비강, 기도)에 적용)할 수 있으며, 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 시간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다.
- [0051] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서, 약학적으로 유효한 양은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수해/ 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.
- [0052] 구체적으로, 본 발명에 따른 약학적 조성물의 유효량은 환자의 나이, 성별, 체중에 따라 달라질 수 있으며, 일반적으로는 체중 1 kg 당 0.001 내지 150 mg, 바람직하게는 0.01 내지 100 mg을 매일 또는 격일 투여하거나 1일 1 내지 3회로 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.
- [0053] 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.

[0054] 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 텍스트린, 시클로텍스트린 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.

[0055] 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.

[0056] 본 발명의 상기 화장료 조성물은 락토바실러스 속 세균 유래 소포뿐만 아니라, 화장료 조성물에 통상적으로 사용되는 성분들을 포함할 수 있으며, 예컨대 항산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료, 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 그리고 담체를 포함할 수 있다.

[0057] 또한, 본 발명의 조성물은 락토바실러스 속 세균 유래 소포 이외에, 락토바실러스 속 세균 유래 소포와 반응하여 피부보호 효과를 손상시키지 않는 한도에서 종래부터 사용되어오던 유기 자외선 차단제를 혼합하여 사용할 수도 있다. 상기 유기 자외선 차단제로는 글리세릴과바, 드로메트리졸트리실록산, 드로메트리졸, 디갈로일트리올리에이트, 디소토펜디벤즈이미다졸테트라설포네이트, 디에틸헥실부타미도트리아존, 디에틸아미노하이드록시벤조일헥실벤조에이트, 디이에이-메톡시신나메이트, 로우손과 디하이드록시아세톤의 혼합물, 메틸렌비스-벤조트리아졸릴테트라메칠부틸페놀, 4-메틸벤질리덴캠퍼, 멘틸안트라닐레이트, 벤조페논-3(옥시벤존), 벤조페논-4, 벤조페논-8(디옥시페벤존), 부틸메톡시디벤조일메탄, 비스에틸헥실옥시페놀메톡시페닐트리아진, 시녹세이트, 에틸 디하이드록시프로필과바, 옥토크릴렌, 에틸헥실디메틸과바, 에틸헥실메톡시신나메이트, 에틸헥실살리실레이트, 에틸헥실트리아존, 이소아밀-p-메톡시신나메이트, 폴리실리콘-15(디메치코디에틸벤잘말로네이트), 테레프탈릴리덴디캡페일포닉에씨드 및 그 염류, 티이에이-살리실레이트 및 아미노벤조산(과바)으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상을 사용할 수 있다.

[0058] 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 제형으로는 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.

[0059] 본 발명의 일 실시예에서는 세균 및 세균 유래 소포를 마우스 경구로 투여하여 세균 및 소포의 체내 흡수, 분포, 및 배설 양상을 관찰한 바, 세균인 경우에는 장점막을 통해 흡수되지 않는데 비해 소포는 투여 5분 이내에 흡수되어 전신적으로 분포하고, 신장, 간 등을 통해 배설됨을 확인하였다(실시예 1 참조).

[0060] 본 발명의 다른 실시예에서는, 위암, 신부전, 치매, 및 뇌졸중 환자 및 정상인 혈액에서 메타게놈 분석을 실시하였다. 그 결과, 정상인 혈액에 비하여, 위암, 신부전, 치매, 및 뇌졸중 환자의 혈액에 락토바실러스 속 세균 유래 소포가 유의하게 감소되어 있음을 확인하였다(실시예 3 내지 6 참조).

[0061] 본 발명의 또 다른 실시예에서는, 락토바실러스 브레비스 균주 유래 소포의 면역조절 및 항염증 효과를 평가하였는데, 병원성 소포인 대장균 유래 소포를 처리하기 전에 락토바실러스 플란타룸 또는 다양한 농도의 락토바실러스 브레비스 유래 소포를 대식세포에 처리한 후, 염증매개체 분비를 평가한 결과, 대장균 유래 소포에 의한 TNF- α 분비를 락토바실러스 브레비스 유래 소포가 락토바실러스 플란타룸 유래 소포에 비하여 효율적으로 억제함을 확인하였다(실시예 7 및 8 참조).

[0062] 본 발명의 또 다른 실시예에서는, 락토바실러스 카세이 균주 유래 소포의 면역조절 및 항염증 효과를 평가하였

는데, 병원성 소포인 대장균 유래 소포를 처리하여 전에 락토바실러스 플란타룸 또는 다양한 농도의 락토바실러스 카세이 유래 소포를 대식세포에 처리한 후, 염증매개체 분비를 평가한 결과, 대장균 유래 소포에 의한 TNF- α 분비를 락토바실러스 카세이 유래 소포가 락토바실러스 플란타룸 유래 소포에 비하여 효율적으로 억제함을 확인하였다(실시예 7 및 9 참조).

[0063] 본 발명의 또 다른 실시예에서는, 락토바실러스 람노수스 균주 유래 소포의 면역조절 및 항염증 효과를 평가하였는데, 병원성 소포인 대장균 유래 소포를 처리하기 전에 락토바실러스 플란타룸 또는 다양한 농도의 락토바실러스 람노수스 유래 소포를 대식세포에 처리한 후, 염증매개체 분비를 평가한 결과, 대장균 유래 소포에 의한 TNF- α 분비를 락토바실러스 람노수스 유래 소포가 락토바실러스 플란타룸 유래 소포에 비하여 효율적으로 억제함을 확인하였다(실시예 7 및 10 참조).

[0064] 본 발명의 또 다른 실시예에서는, 락토바실러스 사케이 균주 유래 소포의 면역조절 및 항염증 효과를 평가하였는데, 병원성 소포인 대장균 유래 소포를 처리하기 전에 락토바실러스 플란타룸 또는 다양한 농도의 락토바실러스 사케이 유래 소포를 대식세포에 처리한 후, 염증매개체 분비를 평가한 결과, 대장균 유래 소포에 의한 TNF- α 분비를 락토바실러스 사케이 유래 소포가 락토바실러스 플란타룸 유래 소포에 비하여 효율적으로 억제함을 확인하였다(실시예 7 및 11 참조).

[0065] 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.

[0067] **[실시예]**

[0068] **실시예 1. 장내 세균 및 세균 유래 소포의 체내 흡수, 분포, 및 배설 양상 분석**

[0069] 장내 세균과 세균 유래 소포가 위장관을 통해 전신적으로 흡수되는 지를 평가하기 위하여 다음과 같은 방법으로 실험을 수행하였다. 마우스의 위장에 형광으로 표지한 장내세균과 장내 세균 유래 소포를 각각 50 μ g의 용량으로 위장관으로 투여하고 0분, 5분, 3시간, 6시간, 12시간 후에 형광을 측정하였다. 마우스 전체 이미지를 관찰한 결과, 도 1a에 나타난 바와 같이, 세균인 경우에는 전신적으로 흡수되지 않았지만, 세균 유래 소포인 경우에는, 투여 후 5분에 전신적으로 흡수되었고, 투여 3시간 후에는 방광에 형광이 진하게 관찰되어, 소포가 비뇨기계로 배설됨을 알 수 있었다. 또한, 소포는 투여 12시간까지 체내에 존재함을 알 수 있었다.

[0070] 또한, 장내세균과 장내 세균 유래 소포가 전신적으로 흡수된 후, 여러 장기로 침윤된 양상을 평가하기 위하여, 형광으로 표지한 50 μ g의 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 나타난 바와 같이, 세균 유래 소포가 혈액, 심장, 폐, 간, 비장, 지방, 근육, 신장에 분포하였으나, 세균은 흡수되지 않음을 알 수 있었다.

[0072] **실시예 2. 임상샘플에서 세균 유래 소포 메타게놈 분석**

[0073] 혈액을 먼저 10 ml 튜브에 넣고 원심분리법(3,500 x g, 10min, 4 $^{\circ}$ C)으로 부유물을 가라앉히고 상등액만을 새로운 10 ml 튜브에 옮겼다. 0.22 μ m 필터를 사용하여 세균 및 이물질을 제거한 후, 센트리프럽튜브 (centrifugal filters 50 kD)에 옮겨서 1500 x g, 4 $^{\circ}$ C에서 15분간 원심분리하여 50 kD 보다 작은 물질은 버리며 10 ml 까지 농축 시켰다. 다시 한 번 0.22 μ m 필터(filter)를 사용하여 박테리아 및 이물질을 제거한 후, Type 90ti 로터로 150,000 x g, 4 $^{\circ}$ C에서 3시간동안 초고속원심분리방법을 사용하여 상등액을 버리고 덩어리진 펠렛(pellet)을 생리식염수(PBS)로 녹였다.

[0074] 상기 방법으로 분리한 소포 100 μ l를 100 $^{\circ}$ C에서 끓여서 내부의 DNA를 지질 밖으로 나오게 하고 그 후 얼음에 5분 동안 식혔다. 그리고 남은 부유물을 제거하기 위하여 10,000 x g, 4 $^{\circ}$ C에서 30분간 원심분리하고 상등액만을 모았다. 그리고 Nanodrop을 이용하여 DNA 양을 정량하였다. 이후, 상기 추출된 DNA에 세균 유래 DNA가 존재하는지 확인하기 위하여 하기 표 1에 나타난 16s rDNA 프라이머(primer)로 PCR을 수행하여 상기 추출된 유전자에 세균 유래 유전자가 존재하는 것을 확인하였다.

표 1

[0075]	primer		서열	서열번호
	16S rDNA	16S_V3_F	5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG-3'	
	16S_V4_R	5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC-3		2

[0076] 상기 방법으로 추출한 DNA를 상기의 16S rDNA 프라이머를 사용하여 증폭을 한 다음 시퀀싱을 수행하고 (Illumina MiSeq sequencer), 결과를 Standard Flowgram Format (SFF) 파일로 출력하고 GS FLX software (v2.9)를 이용하여 SFF 파일을 sequence 파일 (.fasta)과 nucleotide quality score 파일로 변환한 다음 리드의 신용도 평가를 확인하고, window (20 bps) 평균 base call accuracy가 99% 미만 (Phred score <20)인 부분을 제거하였다. Operational Taxonomy Unit (OTU) 분석을 위해서는 UCLUST와 USEARCH를 이용하여 시퀀스 유사도에 따라 클러스터링을 수행하고, genus는 94%, family는 90%, order는 85%, class는 80%, phylum은 75% 시퀀스 유사도를 기준으로 클러스터링을 하고 각 OTU의 phylum, class, order, family, genus 레벨의 분류를 수행하고, BLASTN와 GreenGenes의 16S RNA 시퀀스 데이터베이스 (108,453 시퀀스)를 이용하여 속 수준에서 97% 이상의 시퀀스 유사도 갖는 세균을 프로파일링 하였다 (QIIME).

[0078] **실시예 3. 위암환자 및 정상인 혈액 세균 유래 소포 메타게놈 분석**

[0079] 실시예 2의 방법으로 위암환자 66명의 혈액과, 나이와 성별을 매칭한 정상인 198명의 혈액을 대상으로, 혈액 내에 존재하는 소포에서 유전자를 추출하여 메타게놈 분석을 수행한 후, 락토바실러스 속 세균 유래 소포의 분포를 평가하였다. 그 결과, 정상인 혈액에 비하여 위암환자의 혈액에 락토바실러스 속 세균 유래 소포가 유의하게 감소되어 있음을 확인하였다 (표 2 및 도 2 참조).

표 2

[0080]	혈액	대조군		위암		t-test	
	Taxon	Mean	SD	Mean	SD	p-value	Ratio
	<i>g_Lactobacillus</i>	0.0325	0.0246	0.0242	0.0150	0.0015	0.75

[0082] **실시예 4. 신부전환자 및 정상인 혈액 세균 유래 소포 메타게놈 분석**

[0083] 실시예 2의 방법으로 신부전환자 21명의 혈액과, 나이와 성별을 매칭한 정상인 19명의 혈액을 대상으로, 혈액 내에 존재하는 소포에서 유전자를 추출하여 메타게놈 분석을 수행한 후, 락토바실러스 속 세균 유래 소포의 분포를 평가하였다. 그 결과, 정상인 혈액에 비하여 신부전환자의 혈액에 락토바실러스 속 세균 유래 소포가 유의하게 감소되어 있음을 확인하였다 (표 3 및 도 3 참조).

표 3

[0084]	혈액	대조군		신부전		t-test	
	Taxon	Mean	SD	Mean	SD	p-value	Ratio
	<i>g_Lactobacillus</i>	0.0552	0.0268	0.0034	0.0133	<0.0001	0.06

[0086] **실시예 5. 치매환자 및 정상인 혈액 세균 유래 소포 메타게놈 분석**

[0087] 실시예 2의 방법으로 치매환자 45명의 혈액과, 나이와 성별을 매칭한 정상인 49명의 혈액을 대상으로, 혈액 내에 존재하는 소포에서 유전자를 추출하여 메타게놈 분석을 수행한 후, 락토바실러스 속 세균 유래 소포의 분포를 평가하였다. 그 결과, 정상인 혈액에 비하여 치매환자의 혈액에 락토바실러스 속 세균 유래 소포가 유의하게 감소되어 있음을 확인하였다 (표 4 및 도 4 참조).

표 4

[0088]

혈액	대조군		치매		t-test	
	Mean	SD	Mean	SD	p-value	Ratio
<i>g_Lactobacillus</i>	0.0557	0.0117	0.0313	0.0170	0.0051	0.56

[0090]

실시예 6. 뇌졸중환자 및 정상인 혈액 세균 유래 소포 메타게놈 분석

[0091]

실시예 2의 방법으로 뇌졸중환자 115명의 혈액과, 나이와 성별을 매칭한 정상인 109명의 혈액을 대상으로, 혈액 내에 존재하는 소포에서 유전자를 추출하여 메타게놈 분석을 수행한 후, 락토바실러스 속 세균 유래 소포의 분포를 평가하였다. 그 결과, 정상인 혈액에 비하여 뇌졸중환자의 혈액에 락토바실러스 속 세균 유래 소포가 유의하게 감소되어 있음을 확인하였다 (표 5 및 도 5 참조).

표 5

[0092]

혈액	대조군		뇌졸중		t-test	
	Mean	SD	Mean	SD	p-value	Ratio
<i>g_Lactobacillus</i>	0.0361	0.0354	0.0046	0.0225	<0.0001	0.13

[0094]

실시예 7. 락토바실러스 속 세균 배양액에서 소포 분리

[0095]

락토바실러스 브레비스(*Lactobacillus brevis*), 락토바실러스 카세이(*L. casei*), 락토바실러스 람노수스(*Lactobacillus rhamnosus*), 및 락토바실러스 사케이(*Lactobacillus sakei*) 균주를 환경 샘플에서 분리한 후 이를 배양한 후 이의 소포를 분리하여 특성을 분석하였다. 각각의 락토바실러스 균주를 37°C 호기성 조건에서 흡광도(OD₆₀₀)가 1.0 내지 1.5가 될 때까지 MRS(de Man-Rogosa and Sharpe) 배지에서 배양한 후, LB(Luria-Bertani) 배지에 sub-culture 하였다. 이후 균주가 포함되어 있는 배지를 회수하여 10,000 g, 4 °C에서 20분 동안 원심분리하여 균주를 제거하고, 0.22 μm 필터에 여과하였다. 여과한 상등액을 100 kDa Pellicon 2 Cassette 필터 멤브레인(Merck Millipore, US)으로 MasterFlex pump system(Cole-Parmer, US)를 이용하여 microfiltration을 통해 50 ml 부피로 농축하였다. 농축시킨 상등액을 다시 한 번 0.22 μm 필터로 여과하였다. 이후 BCA assay를 이용해 단백질을 정량하였고, 얻어진 소포에 대하여 하기 실험을 실시하였다.

[0097]

실시예 8. 락토바실러스 브레비스 유래 소포의 면역조절 및 항염증 효과

[0098]

락토바실러스 브레비스 유래 소포의 면역조절 및 항염증 효과를 평가하기 위하여, 다양한 농도(0.1, 1, 10 μg/ml)의 락토바실러스 브레비스 유래 소포를 대식세포주에 12시간 전처리한 후, 병원성 소포인 대장균 유래 소포 1μg/ml을 처리하고 12시간 뒤 염증성 사이토카인의 분비를 ELISA로 측정하였다. ELISA를 수행하기 위해, 캡처(Capture) 항체를 인산완충생리식염수(phosphate buffered saline, PBS)에 희석시켜 96 well 폴리스티렌(polystyrene) 플레이트에 작용 농도에 맞게 50 μl 씩 분주한 후 4 °C에서 밤새 반응시켰다.

[0099]

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) 하고 샘플 및 스탠다드(standard)를 농도에 맞게 50 μl 씩 분주하여 상온에서 2시간 동안 반응시켰다. PBST 100 μl로 세 번 씻어준 후, 검출(detection) 항체를 RD에 희석시켜 작용 농도에 맞게 50 μl 씩 분주하여 상온에서 2시간 동안 반응시키고, PBST 100 μl로 세 번 씻어준 후, Strpetavidin-HRP (R&D system, USA)를 RD에 1/40으로 희석시켜 50 μl 씩 분주하여 상온에서 20분간 반응시켰다. 마지막으로, PBST 100 μl로 세 번 씻어준 후, TMB 기질 (SurModics, USA) 50 μl를 분주하고 5분에서 20분 후 발색이 진행되었을 때, 1 M 황산용액을 50 μl 씩 분주해 반응을 멈추고 SpectraMax M3 microplate reader (Molecular Devices, USA)를 이용해 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0100]

그 결과, 도 6에 나타난 바와 같이 락토바실러스 브레비스 유래 소포를 전처리한 경우, 대장균 유래 소포에 의한 IL-6 및 TNF-α의 분비가 현저히 억제됨을 확인하였다. 특히 락토바실러스 브레비스 유래 소포를 전처리한

경우 TNF- α 분비를 억제하는 효과가 유용미생물 대조군인 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*)에 비하여 현저히 효과적임을 확인하였다.

[0102] **실시예 9. 락토바실러스 카세이 유래 세포의 면역조절 및 항염증 효과**

[0103] 락토바실러스 카세이 유래 세포의 면역조절 및 항염증 효과를 평가하기 위하여, 다양한 농도(0.1, 1, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)의 락토바실러스 카세이 유래 세포를 대식세포주에 12시간 전처리한 후, 병원성 세포인 대장균 유래 세포 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 을 처리하고 12시간 뒤 염증성 사이토카인의 분비를 ELISA로 측정하였다. 그 결과 락토바실러스 카세이 유래 세포를 전처리한 경우, 대장균 유래 세포에 의한 IL-6 및 TNF- α 의 분비가 현저히 억제됨을 확인하였다 (도 7 참조). 특히 락토바실러스 카세이 유래 세포를 전처리한 경우 TNF- α 분비를 억제하는 효과가 유용미생물 대조군인 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*)에 비하여 현저히 효과적임을 확인하였다 (도 7b 참조).

[0105] **실시예 10. 락토바실러스 람노수스 유래 세포의 면역조절 및 항염증 효과**

[0106] 락토바실러스 람노수스 유래 세포의 면역조절 및 항염증 효과를 평가하기 위하여, 다양한 농도(0.1, 1, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)의 락토바실러스 람노수스 유래 세포를 대식세포주에 12시간 전처리한 후, 병원성 세포인 대장균 유래 세포 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 을 처리하고 12시간 뒤 염증성 사이토카인의 분비를 ELISA로 측정하였다. 그 결과, 도 8에 나타난 바와 같이 락토바실러스 람노수스 유래 세포를 전처리한 경우, 대장균 유래 세포에 의한 IL-6 및 TNF- α 의 분비가 현저히 억제됨을 확인하였다. 특히 락토바실러스 람노수스 유래 세포를 전처리한 경우 TNF- α 분비를 억제하는 효과가 유용미생물 대조군인 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*)에 비하여 현저히 효과적임을 확인하였다.

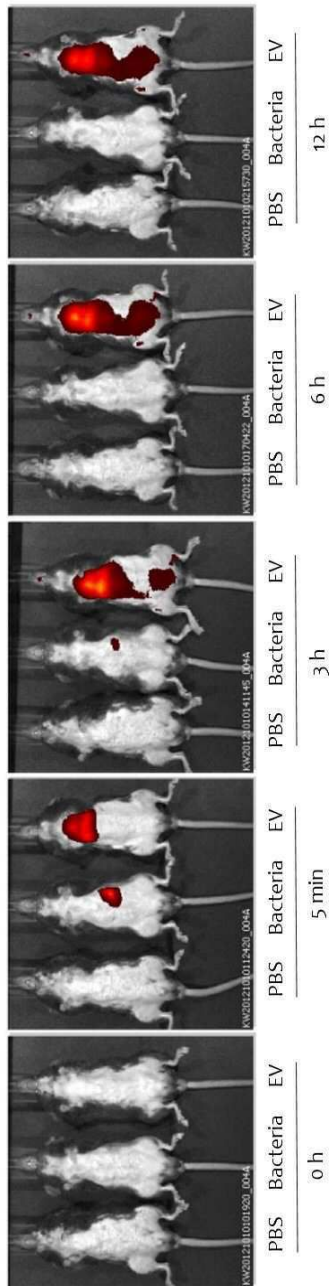
[0108] **실시예 11. 락토바실러스 사케이 유래 세포의 면역조절 및 항염증 효과**

[0109] 락토바실러스 사케이 유래 세포의 면역조절 및 항염증 효과를 평가하기 위하여, 다양한 농도(0.1, 1, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)의 락토바실러스 사케이 유래 세포를 대식세포주에 12시간 전처리한 후, 병원성 세포인 대장균 유래 세포 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 을 처리하고 12시간 뒤 염증성 사이토카인의 분비를 ELISA로 측정하였다. 그 결과, 도 9에 나타난 바와 같이 락토바실러스 사케이 유래 세포를 전처리한 경우, 대장균 유래 세포에 의한 IL-6 및 TNF- α 의 분비가 현저히 억제됨을 확인하였다. 특히 락토바실러스 사케이 유래 세포를 전처리한 경우 TNF- α 분비를 억제하는 효과가 유용미생물 대조군인 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*)에 비하여 현저히 효과적임을 확인하였다.

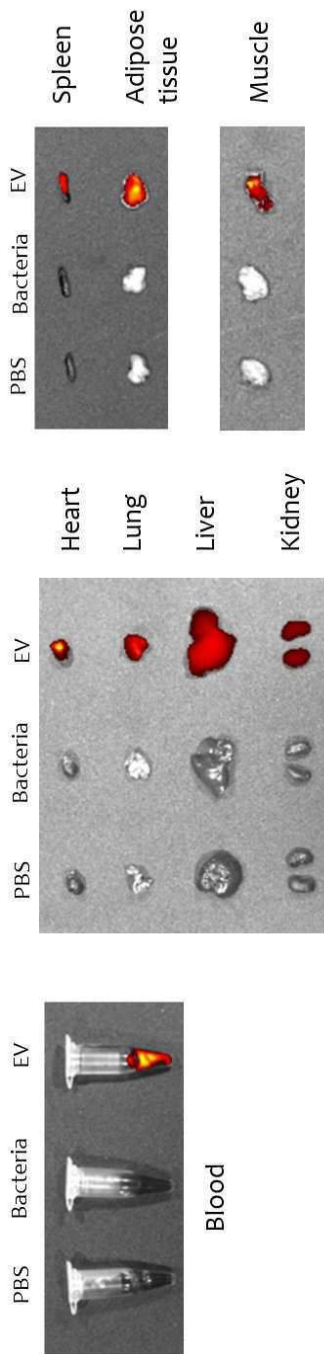
[0111] 진술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시 예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

도면

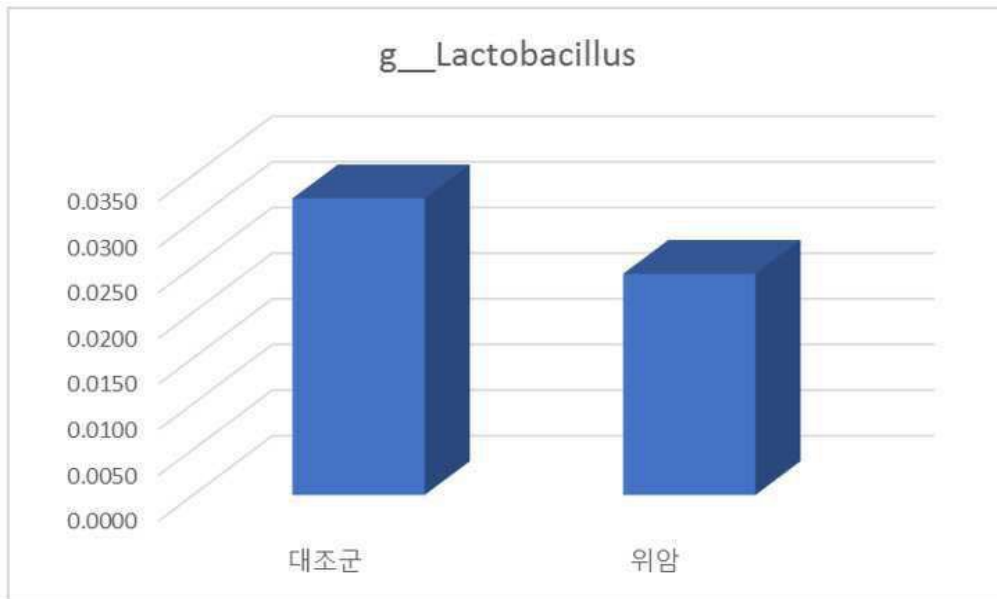
도면1a



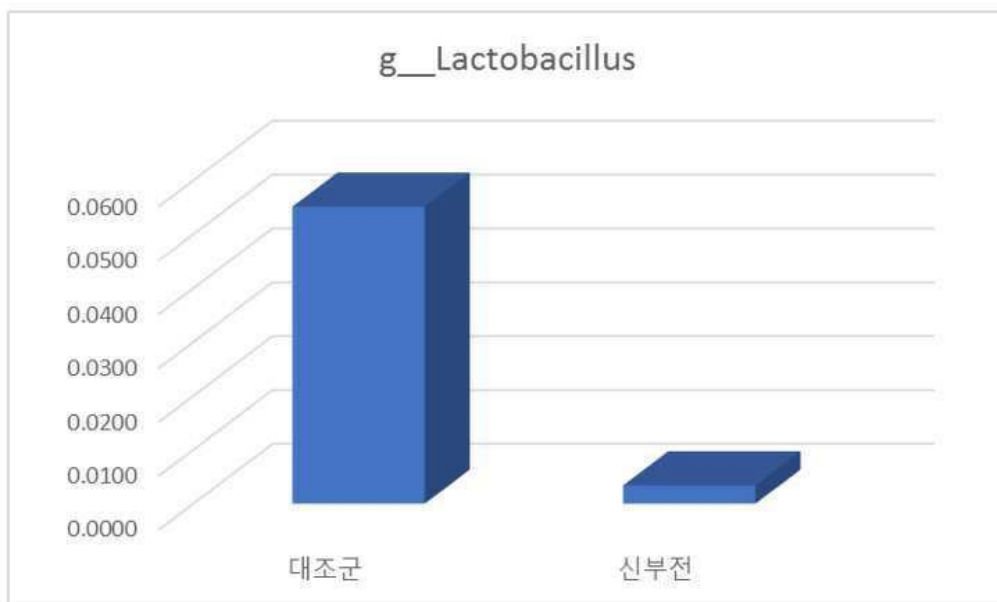
도면1b



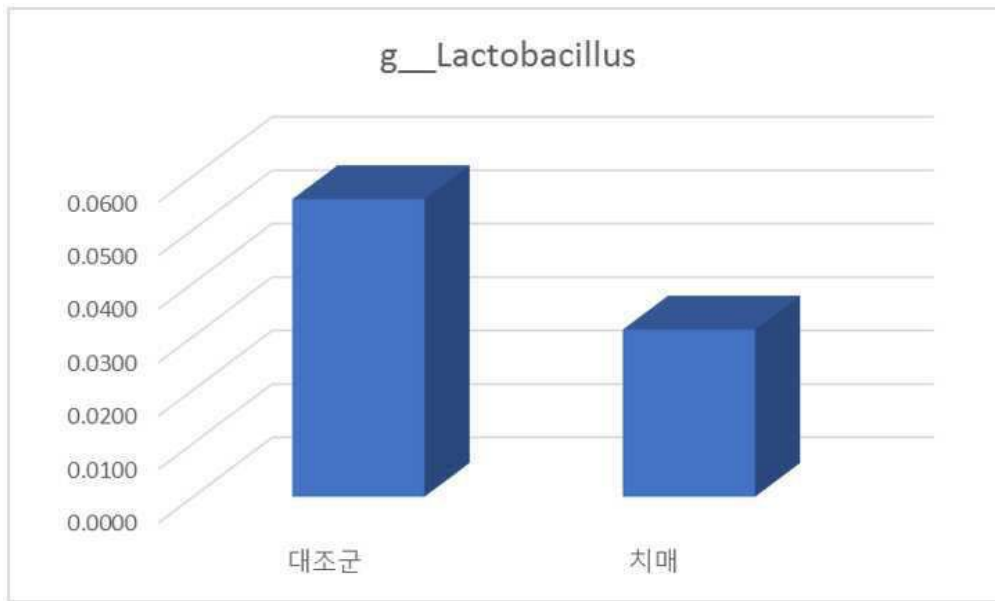
도면2



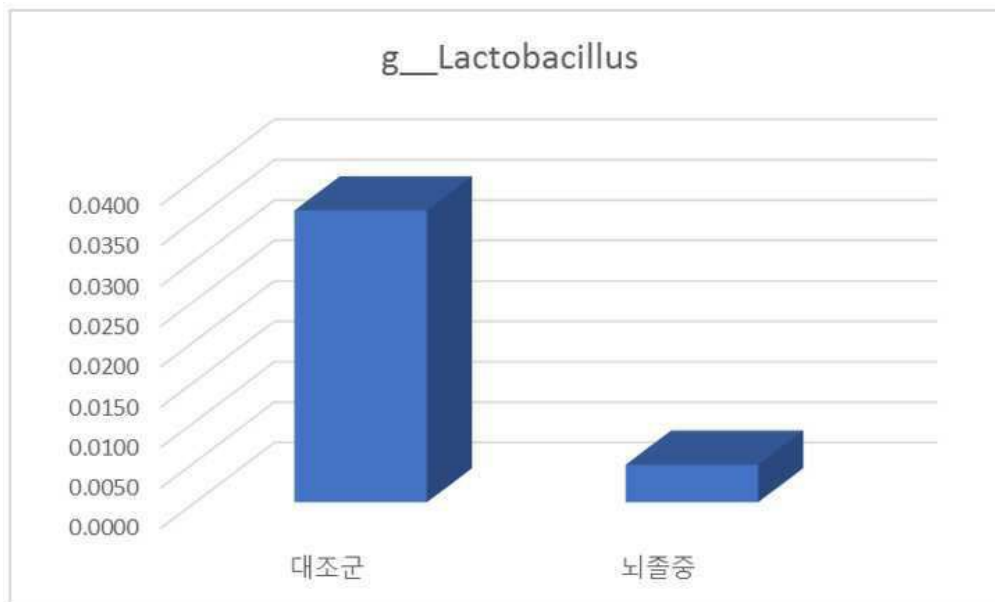
도면3



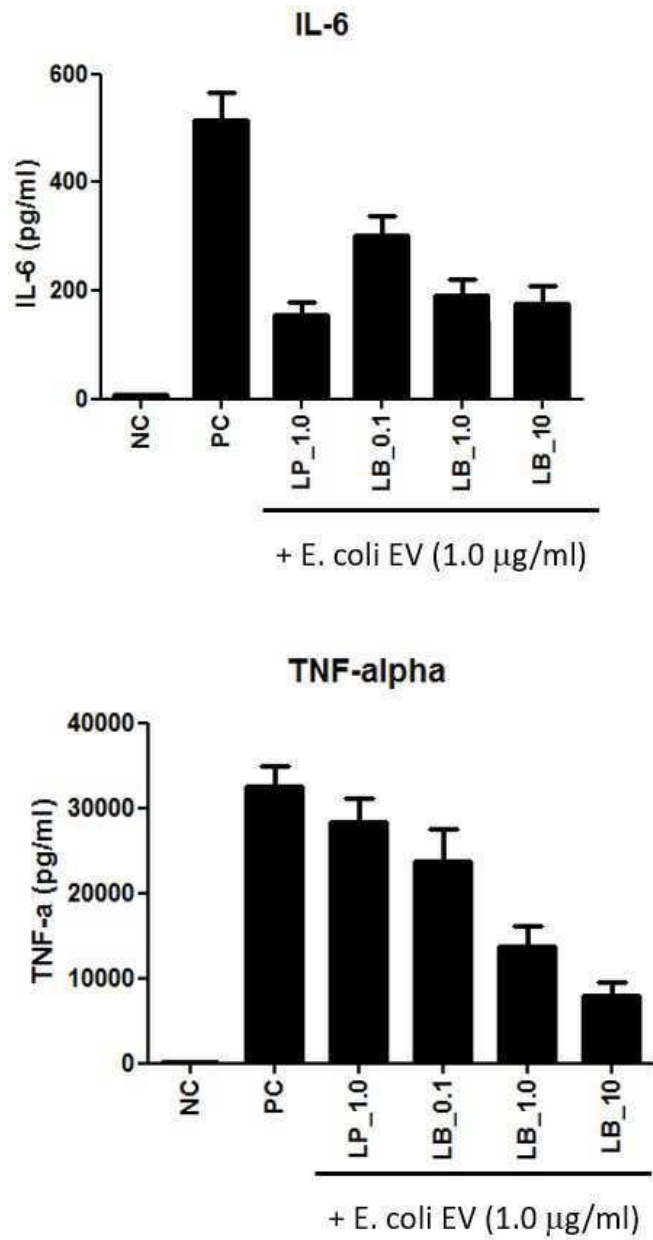
도면4



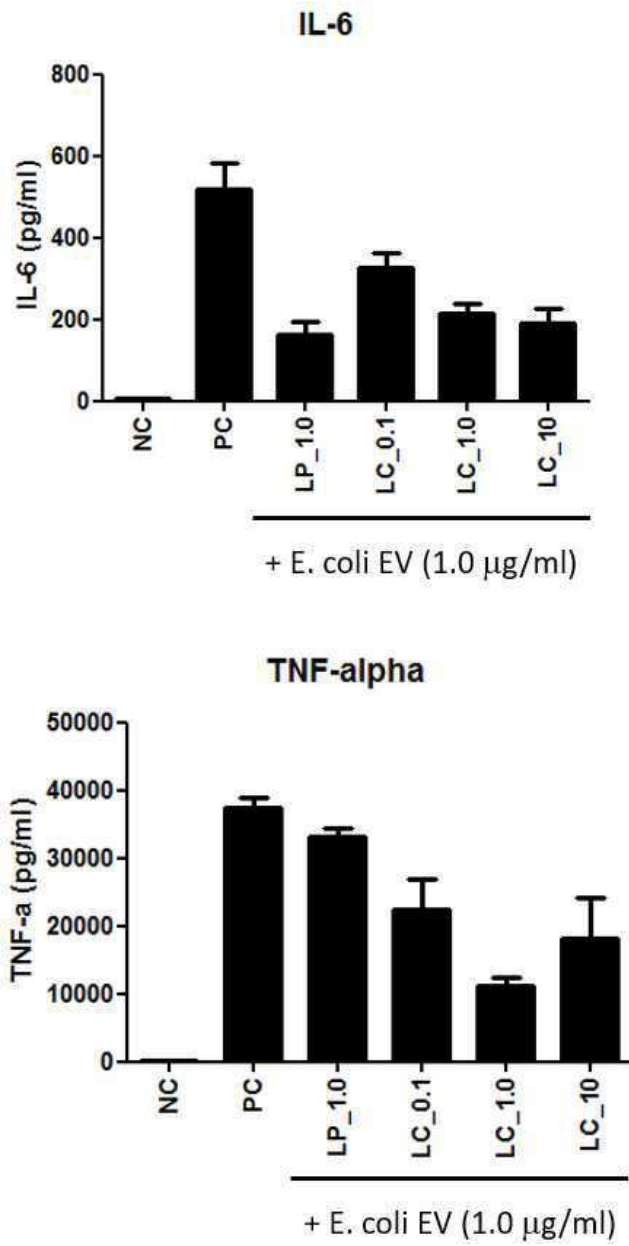
도면5



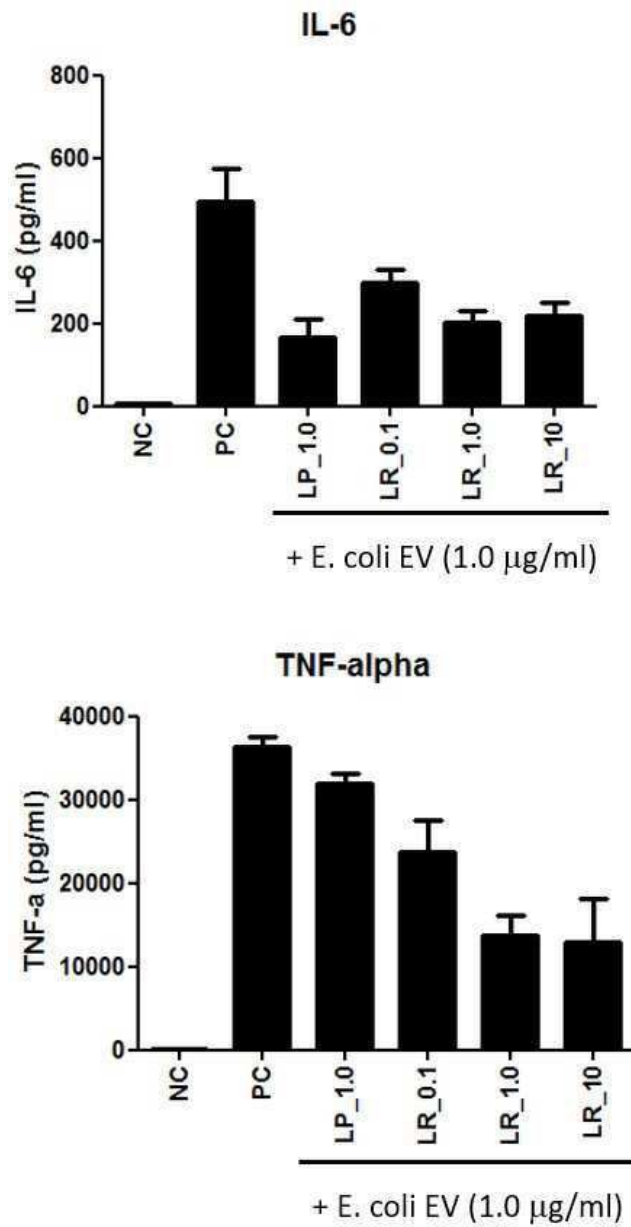
도면6



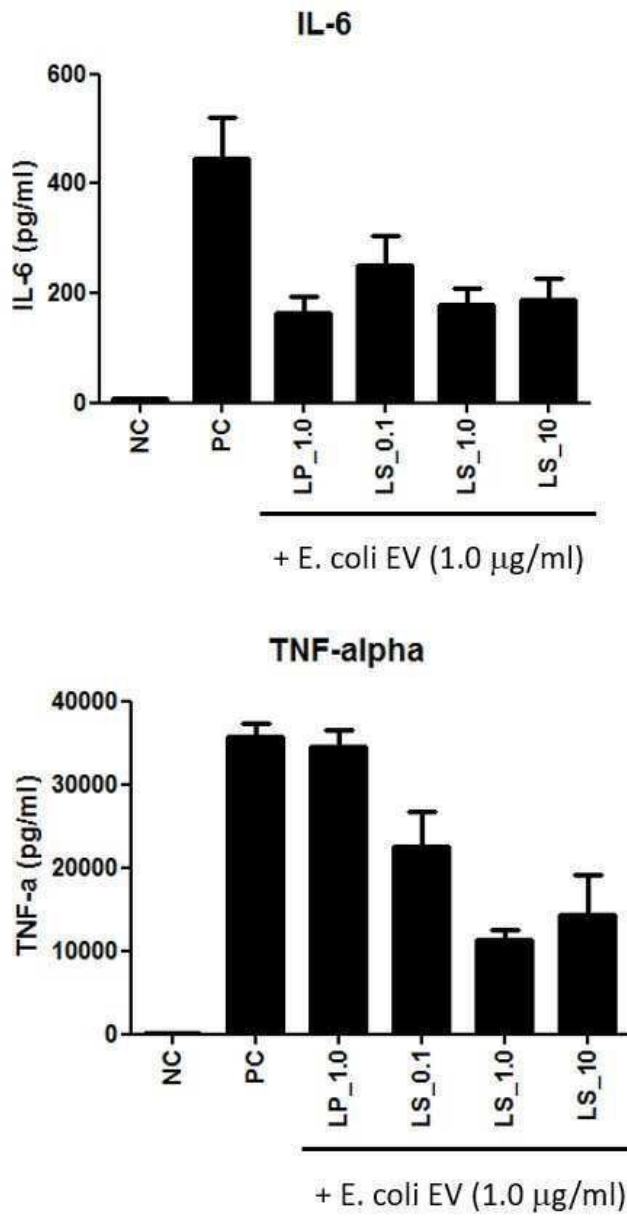
도면7



도면8



도면9



서열목록

- <110> MD Healthcare Inc.
- <120> Nanovesicles derived from Lactobacillus bacteria and Use thereof
- <130> MP19-063-2
- <150> KR 10-2018-0026039
- <151> 2018-03-05
- <160> 2
- <170> KoPatentIn 3.0
- <210> 1

<211> 50

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> 16S_V3_F

<400> 1

tcgtcggcag cgtcagatgt gtataagaga cagcctacgg gnggcwgcag 50

<210> 2

<211> 55

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> 16S_V4_R

<400> 2

gtctcgtggg ctcgagatg tgtataagag acaggactac hvgggtatct aatcc 55