



- (51) 국제특허분류:
A61K 31/7012 (2006.01) A61K 31/7016 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2016/004260
- (22) 국제출원일: 2016년 4월 22일 (22.04.2016)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2015-0056700 2015년 4월 22일 (22.04.2015) KR
- (71) 출원인: 부산대학교 산학협력단 (PUSAN NATIONAL UNIVERSITY INDUSTRY-UNIVERSITY COOPERATION FOUNDATION) [KR/KR]; 46241 부산시 금정구 부산대학로 63 번길 2 (부산대학교), Busan (KR).
- (72) 발명자: 하기태 (HA, Ki Tae); 50609 경상남도 양산시 물금읍 범어로 33, 104 동 1102 호, Gyeongsangnam-do (KR). 최희정 (CHOI, Hee Jung); 50610 경상남도 양산시 물금읍 화합 2 길 9, 301 호, Gyeongsangnam-do (KR). 정태욱 (CHUNG, Tae Wook); 50610 경상남도 양산시 물금읍 화합 2 길 9, 301 호, Gyeongsangnam-do (KR).
- (74) 대리인: 김순웅 (KIM, Soon Woong); 08380 서울시 구로구 디지털로 31 길 20 (구로동) 601 호, Seoul (KR).

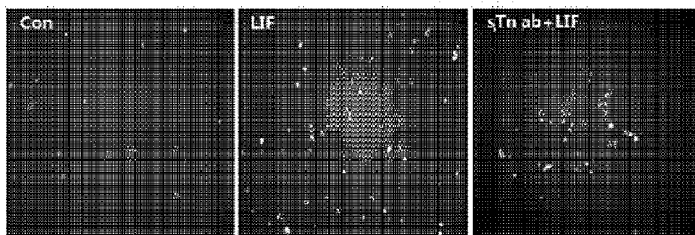
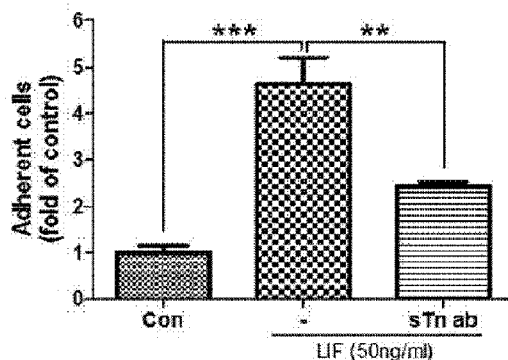
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY,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

— 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를 별도 공개함 (규칙 48.2(g))

(54) Title: USE OF SIALYLATED TN ANTIGEN RELATED TO PREGNANCY

(54) 발명의 명칭 : 임신과 관련된 시알화 TN 항원의 용도



(57) Abstract: The present invention relates to a composition for preventing or treating infertility or subfertility, the composition comprising, as an effective ingredient, a sialylated Tn sugar-chain antigen or an activating agent for the antigen. In addition, the present invention relates to a pharmaceutical composition for contraception, the composition comprising an inhibitor for a sialylated Tn sugar-chain antigen or an expression or activation inhibitor for an enzyme synthesizing the antigen. Furthermore, the present invention relates to a marker composition for measuring pregnancy possibility or pregnancy efficiency, the composition comprising a sialylated Tn sugar-chain antigen. In addition, the present invention relates to a screening method of an infertility or subfertility treating agent or a contraceptive agent using a sialylated Tn sugar-chain.

(57) 요약서: 본 발명은 시알화 Tn 당쇄 항원 또는 상기 항원을 활성화제를 유효성분으로 포함하는, 불임 또는 난임의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 시알화 Tn 당쇄 항원의 억제제 또는 상기 항원을 합성하는 효소의 발현 또는 활성 억제제를 포함하는, 피임용 약학 조성물에 관한 것이다.

이다. 또한, 본 발명은 시알화 Tn 당쇄 항원을 포함하는 임신 가능성 또는 임신 효율 측정용 마커 조성물에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 시알화 Tn 당쇄를 이용하여 불임 또는 난임 치료제, 또는 피임제의 스크리닝 방법에 관한 것이다.

명세서

발명의 명칭: 임신과 관련된 시알화 TN 항원의 용도

기술분야

- [1] 본 발명은 임신과 관련된 시알화 Tn 항원의 용도에 관한 것이다.
- [2] 구체적으로, 본 발명은 시알화 Tn 당쇄 항원 또는 상기 항원을 활성화제를 유효성분으로 포함하는, 불임 또는 난임의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.
- [3] 또한, 본 발명은 시알화 Tn 당쇄 항원의 억제제 또는 상기 항원을 합성하는 효소의 발현 또는 활성 억제제를 포함하는, 피임용 약학 조성물에 관한 것이다.
- [4] 또한, 본 발명은 시알화 Tn 당쇄 항원을 포함하는 임신 가능성 또는 임신 효율 측정용 마커 조성물에 관한 것이다.
- [5] 또한, 본 발명은 시알화 Tn 당쇄를 이용하여 불임 또는 난임 치료제, 또는 피임제의 스크리닝 방법에 관한 것이다.

[6]

배경기술

- [7] 여성 불임의 원인은 배란장애, 수정란의 이송장애, 착상장애 등으로 분류되며 시험관아기시술법(IVF)으로 배란장애와 수정란의 이송장애는 많은 경우 해결되고 있으나, 착상장애는 아직까지 불임시술의 큰 난관이 되고 있다.
- [8] 수정란의 착상은 수정란의 투명대가 제거되고(hatching), 수정란과 자궁내피의 느슨한 상호작용(apposition), 수정란과 자궁내피의 강한 결합(adhesion), 결합한 수정란이 자궁내막으로 침투하는(invasion) 등의 과정을 통하여 이루어진다.
- [9] 이러한 착상과정에서 인터루킨-6(IL-6) 종류의 하나인 백혈병억제인자(LIF; leukemia inhibitory factor; 백혈병억제인자)의 발현이 중요한데, 백혈병억제인자 결손 생쥐의 경우 착상과정에 결합이 발생하여 착상과 임신이 되지 않으며, 백혈병억제인자 수용체(LIF-R)에 대한 길항제(antagonist)를 이용하여 백혈병억제인자의 기능을 억제하면 착상이 일어나지 않는다는 보고가 있는 등 착상과정에 가장 핵심적인자로 알려져있다.
- [10] 착상 과정에서 사이토카인의 작용은 다양한 접착인자의 발현을 조절하는 것으로 알려져 있으나, 실제 어떠한 접착인자가 핵심적인 역할을 하는지에 대해서는 명확하게 밝혀진 바가 없다.
- [11] 착상에 관련되는 것으로 알려진 인자로는 뮤신(mucin), L-셀렉틴(selectin), 트로포닌(trophonin), E-카드헤린(cadherin), 인테그린(integrin), 갈렉틴(galectin) 등이 대표적이다.
- [12] 특히 착상에 관련된 L-셀렉틴과 갈렉틴은 모두 특정 당쇄 구조를 인식하는 수용체로서 당쇄의 역할이 중요할 것으로 사료되며, 이와 연관하여 세포표면의 N-형 또는 O-형 당쇄의 발현을 전체적으로 억제한 생쥐의 경우 착상 효율이

현저히 감소하는 것이 보고된 바 있다.

- [13] 그러나 특정 당쇄항원이 실제로 착상에 중요한 인자로 알려진 것은 시알화 루이스 항원(Sialyl Lewis antigen) 정도에 불과하며, 시알화 Tn 항원에 대한 보고는 전무한 상황이다.

[14]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

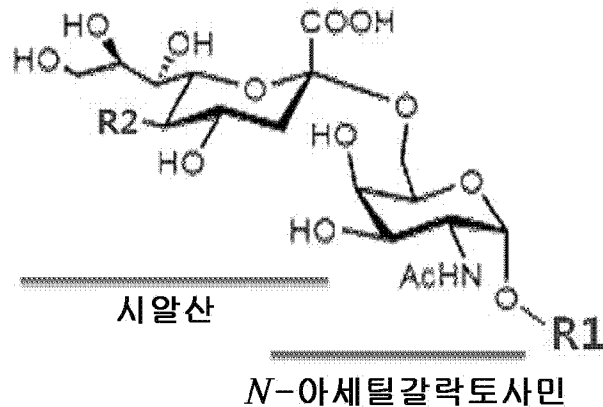
- [15] 이에 본 발명자들은 세포표면의 O-형 당쇄의 일종인 시알화 Tn 항원이 착상과정에 핵심적인 사이토카인인 백혈병억제인자에 의하여 발현이 증가하는 것을 확인하고, 시알화 Tn 항원의 발현을 억제하거나 항체를 이용하여 중화시키거나 외래의 시알화 Tn 항원을 투여하여 경쟁시킨 경우에 모두 착상 효율이 감소하는 것을 확인하였으며, 이에 상기 시알화 Tn 항원의 착상에의 기능을 명확히 규명하여 본 발명을 완성하기에 이르렀다.
- [16] 따라서, 본 발명의 일 양상은 상기 시알화 Tn 항원을 이용한 불임 또는 난임의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.
- [17] 또한, 본 발명의 다른 양상은 시알화 Tn 당쇄 항원의 억제제를 이용한, 피임용 약학 조성물을 제공하는 것이다.
- [18] 또한, 본 발명의 다른 양상은 상기 시알화 Tn 당쇄 항원을 이용한 임신 효율 측정용 마커 조성을 제공하는 것이다.
- [19] 또한, 본 발명의 다른 양상은 상기 시알화 Tn 당쇄 항원을 이용한 불임 또는 난임 치료제, 또는 피임제의 스크리닝 방법을 제공하는 것이다.

[20]

과제 해결 수단

- [21] 본 발명의 일 양상은 시알화 Tn 당쇄 항원 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 불임 또는 난임의 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.
- [22] 상기 조성물은 약학 또는 식품 조성물일 수 있다.
- [23] 이하 본 발명에 대하여 상세히 설명한다.
- [24]
- [25] 본 발명에서 사용된 용어, 시알화 Tn 당쇄 항원은 단당류 구조의 세린 또는 스레오닌에 글리코시드 결합한 N-아세틸갈락토사민을 의미한다. 상기 본 발명의 Tn 당쇄 항원은 시알화된 형태를 지니며, 하기의 화학식 1로 이루어진다.
- [26]
- [27] [화학식 1]

[28]



[29] 여기서, 상기 R1은 세린 또는 쓰레오닌이며,

[30] 상기 시알산의 종류는 R2에 따라서, 상기 R2가 CH_3COHN 인 경우 N-아세틸뉴라민산 (N-acetyl neuraminic acid, NeuAc)이며, 상기 R2가 OHCH_2COHN 인 경우 N-글리콜릴뉴라민산 (N-glycolyl neuraminic acid, NeuGC), 이며, R2가 OH인 경우, 2-케토-3-데옥시노닉산 (2-keto-3-deoxynonic acid, Kdn) 이다. 다만 기존 연구에서 인체에는 N-아세틸뉴라민산을 포함하는 시알화 Tn 당쇄 항원만이 발현되며, 인간을 제외한 다른 포유류의 경우에는 N-아세틸뉴라민산과 N-글리콜릴뉴라민산의 두 가지 시알산을 다 포함하는 시알화 Tn 당쇄 항원을 가진 것으로 알려져 있다.

[31] 본 발명에 있어서, 상기 유효성분은 시알화 Tn 당쇄 항원의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 개념이다. 본 발명에서 "약학적으로 허용가능한 염"은 개체에게 비교적 비독성이고 무해한 유효작용을 갖는 농도로서 이염에 기인한 부작용이 화학식 1로 표시되는 화합물의 이로운 효능을 저하시키지 않는 상기 화합물의 임의의 모든 유기 또는 무기 부가염을 의미한다. 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 약학적으로 허용가능한 염은, 달리 지시되지 않는 한, 화학식 1로 표시되는 화합물에 존재할 수 있는 산성 또는 염기성 기의 염을 모두 포함한다. 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 약학적으로 허용되는 염의 형태로 사용될 수 있으며, 이러한 염으로는 약학적으로 허용되는 유리산(free acid)에 의해 형성되는 산부가염 또는 염기에 의해 형성되는 금속염이 있다. 상기 유리산으로는 무기산과 유기산이 사용될 수 있으며 무기산으로는 염산, 황산, 브롬산, 아황산 또는 인산 등이 사용될 수 있고 유기산으로는 구연산, 초산, 말레인산, 후마산, 글루콘산, 메탄술폰산 등이 사용될 수 있다. 상기 금속염으로는 알칼리 금속염 또는 알칼리 토금속염이 있으며, 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염이 유용하다.

[32]

[33] 상기 불임은 피임을 시행하지 않은 경우, 정상적인 성생활의 경우에도 1년 이내에 임신에 도달하지 않는 경우를 의미하며, 난임을 포함하는 개념이다.

[34] 상기 불임은 일차성 불임, 또는 2차성불임을 모두 포함한다.

- [35] 특히, 본 발명의 상기 약학 조성물은 여성의 불임 또는 난임일 수 있다. 상기 불임 또는 난임 원인의 예로는 난소 기능 저하, 배란 장애, 수정란 이송 장애, 착상 장애, 난관 손상, 난관 결착, 난관주위 유착, 면역학적 이상, 감염, 전신적 질환, 또는 자궁내막증일 수 있으며, 그 원인을 제한하지 않는다.
- [36] 본 발명의 가장 바람직한 구체예로는 본 발명의 상기 불임 또는 난임은 모체에서의 착상 장애에 의한 것일 수 있다.
- [37] 상기 "난자의 착상장애(Nonimplantation of ovum)"는 여성 불임증의 대표적인 원인으로, 착상 시 수정란이 세포분열을 하면서 이동하여 자궁 속에 들어와 배반포 단계에 이르면 자궁내막에 파묻혀 자리를 잡게 되는데, 배아가 착상할 자궁내막의 두께가 충분치 않거나 손상으로 인해 경직될 경우 착상이 되기가 어려우며 자궁벽의 유착 등으로 공간이 부족할 경우 유산되는 경우가 많다. 자연유산, 계류유산, 임신중절수술, 자궁내막염, 골반결핵 및 자궁 내 장치 등으로 유발된 자궁 내 염증에 의해 자궁내막이 유착되거나, 자궁근종 폴립 등으로 자궁형태변형이 나 자궁내막에 면역학적 과민반응이 생기거나, 선천적 자궁기형 호르몬 분비이상으로 자궁내막형성이 불완전할 경우 착상에 장애가 발생한다.
- [38] 본 발명의 실시예에서는 본 발명자는 세포표면의 O-형 당쇄의 일종인 시알화 Tn 항원이 착상과정에 핵심적인 사이토카인인 백혈병억제인자에 의하여 발현이 증가하는 것을 확인하였다. 또한, 상기 시알화 Tn 항원의 기능을 확인하기 위하여 시알화 Tn 항원의 발현을 억제하거나 항체를 이용하여 중화시키거나 외래의 시알화 Tn 항원을 투여하여 경쟁시킨 경우에 착상 효율이 감소하는 것을 확인하였다.
- [39]
- [40] 또한, 본 발명의 일 양상은 시알화 Tn 당쇄 항원의 활성화제를 포함하는, 불임 또는 난임의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [41] 상기 상기 활성화제는 시알화 Tn 당쇄 항원을 합성하는 효소, 또는 상기 효소를 코딩하는 뉴클레오티드인 것인, 약학 조성물을 제공한다.
- [42] 상기 시알화 Tn 당쇄 항원을 합성하는 효소는 ST6GalNAc1일 수 있다.
- [43] 본 발명에서 사용되는 용어 '예방'은, 상기 화합물을 함유하는 조성물의 투여로 질환을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미한다. 또한, 본 발명에서 사용되는 용어 '치료'는, 상기 화합물을 함유하는 조성물의 투여로 질환의 증세가 호전되거나 완치되는 모든 행위를 의미한다.
- [44]
- [45] 또한, 본 발명의 일 양상은 시알화 Tn 당쇄 항원의 억제제를 포함하는, 피임용 약학 조성물을 제공한다.
- [46] 본 발명에서 피임이란 당사자가 의도하지 않은 임신을 예방하는 것을 의미하며, 상기 피임은 여성 피임일 수 있다. 또한, 상기 피임은 경구 피임 또는 사후 피임, 응급 피임일 수 있다.

- [47] 상기 시알화 Tn 당쇄 항원의 억제제는 시알화 Tn 당쇄 항원에 특이적인 항체, 앵타머 또는 화합물일 수 있으며, 그 종류를 제한하지 않는다.
- [48]
- [49] 또한, 본 발명의 일 양상은 시알화 Tn 당쇄 항원을 합성하는 효소의 발현 또는 활성 억제제를 포함하는, 피임용 약학 조성물을 제공한다.
- [50] 또한, 본 발명의 일 양상은 유리 (free) 시알화 Tn 당쇄 항원을 유효성분으로 포함하는, 피임용 조성물을 제공한다.
- [51] 상기 시알화 Tn 당쇄 항원을 합성하는 효소의 발현 억제제는 시알화 Tn 당쇄 항원을 합성하는 효소의 mRNA에 상보적으로 결합하는 안티센스 뉴클레오티드, 짧은 헤어핀 RNA(small hairpin RNA, shRNA), 작은 간섭 RNA(small interfering RNA, siRNA) 또는 리보자임(ribozyme)으로부터 선택될 수 있다.
- [52] 또한, 상기 시알화 Tn 당쇄 항원을 합성하는 효소의 활성 억제제는 상기 효소에 특이적으로 결합하는 화합물, 펩티드, 펩티드모방체, 기질 유사체, 앵타머, 또는 항체으로부터 선택될 수 있다.
- [53]
- [54] 상기 안티센스 뉴클레오티드는 왓슨-크릭(Watson-Crick) 염기쌍에 정의된 바에 따라, DNA, 미성숙-mRNA 또는 성숙된 mRNA의 상보적 염기서열에 결합(혼성화)하여 DNA에서 단백질로서 유전정보의 흐름을 방해하는 것이다.
- [55] 상기 siRNA는 상기 효소를 암호화하는 유전자의 mRNA의 염기서열 내에서 선택되는 15 내지 30머(mer)의 센스 서열 및 상기 센스 서열에 상보적으로 결합하는 안티센스 서열로 구성된다.
- [56] 상기 펩티드 모방체(Peptide mimetics)는 시알화 Tn 당쇄 항원을 합성하는 효소를 억제하여 시알화 Tn 당쇄의 발현을 억제하는 것이다. 펩티드 모방체는 펩티드 또는 비펩티드일 수 있고, psi 결합과 같은, 비펩티드 결합에 의해 결합된 아미노산으로 구성될 수 있다. 또한, "구조적으로 강제된(conformationally constrained)" 펩티드, 사이클릭 모방체(cyclic mimetics), 적어도 하나의 엑소사이클릭 도메인(exocyclic domain), 결합 부분(결합 아미노산) 및 활성 부위를 포함하는 사이클릭 모방체일 수 있다.
- [57] 상기 앵타머(aptamer)는 단일 사슬 DNA 또는 RNA 분자로서, SELEX(systematic evolution of ligands by exponential enrichment)라 불리는 올리고 뉴클레오티드 (oligonucleotide) 라이브러리를 이용한 진화적인 방법에 의해 특정 화학 분자나 생물학적 분자에 높은 친화력과 선별력을 갖고 결합하는 올리고머를 분리하여 수득할 수 있다. 앵타머는 표적에 특이적으로 결합하고 표적의 활성을 조정할 수 있는데, 예컨대, 결합을 통하여 표적의 기능을 차단할 수 있다.
- [58] 상기 항체는 시알화 Tn 당쇄 항원 또는 이를 발현하는 효소에 특이적이고 직접적으로 결합하여 시알화 Tn 당쇄 항원의 활성 또는 효소의 활성을 효과적으로 억제할 수 있다. 상기 항체는 폴리클로날(polyclonal) 항체 또는 모노클로날(monoclonal) 항체를 사용하는 것이 바람직하다. 상기 항원 또는 이를

발현하는 효소에 특이적으로 결합하는 항체는 당업자에게 알려진 공지의 방법으로 제작하여도 무방하며, 상업적으로 알려진 항체를 구입하여 사용할 수 있다. 상기 항체는 당업자에게 알려진 종래 방법에 따라 면역원인 시알화 Tn 당쇄 항원 또는 이를 발현하는 효소를 외부 숙주에 주사함으로써 제조될 수 있다. 외부 숙주는 마우스, 랫트, 양, 토끼와 같은 포유동물을 포함한다. 면역원은 근육 내, 복강 내 또는 피하 주사방법으로 주사되며, 일반적으로 항원성을 증가시키기 위한 보조제(adjuvant)와 함께 투여할 수 있다. 외부 숙주로부터 정기적으로 혈액을 채취하여 형성된 역가 및 항원에 대한 특이성을 보이는 혈청을 수거하여 항체를 분리할 수 있다.

[59]

[60] 또한, 본 발명은 시알화 Tn 당쇄 항원 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 상기 시알화 Tn 당쇄 항원의 활성화제를 유효성분으로 포함하는, 임신촉진용 약학적 조성물 및 임신 촉진용 식품 조성물을 제공한다.

[61]

[62] 본 발명의 조성물은 투여를 위하여, 상기 기재한 유효성분 이외에 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 포함할 수 있다. 상기 담체, 보형제 및 희석제로는 락토오스, 덱스트로오스, 수크로오스, 소르비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.

[63]

본 발명의 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사 용액의 형태로 제형화하여 사용할 수 있다. 상세하게는, 제형화할 경우 통상 사용하는 충전제, 중량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 경구투여를 위한 고형제제로는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 이러한 고형제제는 상기 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘 카보네이트, 수크로오스, 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구를 위한 액상물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등을 첨가하여 조제될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제는 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제 및 과제를 포함한다. 비수성 용제 및 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 오일, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔, 마크로솔, 트윈 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[64]

본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구투여(예를

들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)할 수 있으며, 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여 경로 및 시간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 상기 화합물의 일일 투여량은 바람직하게는 0.001 $\mu\text{g/kg}$ 내지 1000 mg/kg 이며, 필요에 따라 일일 1회 내지 수회로 나누어 투여할 수 있다.

[65]

[66] 본 발명의 식품 조성물은 식품학적으로 허용된 담체와 혼합하여 식품 조성물로서 제공될 수 있다. 유효성분은 전체 식품 조성물에 대해 0.01 내지 99.99% 중량비로 포함되는 것이 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.

[67] 본 발명의 유효성분을 식품 또는 음료 첨가물로 사용할 경우, 상기 유효성분을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 상기 유효성분의 혼합량은 그의 사용목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적절하게 조절하여 결정될 수 있다.

[68] 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취인 경우, 본 발명의 식품 조성물은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에, 장기간 복용이 가능하다.

[69] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소시지, 빵, 초콜릿류, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료 및 비타민 복합제 등이 있다. 음료수로 제형화할 경우에 상기 식품 조성물 이외에 첨가되는 액체 성분은 한정되지 않으나, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.

[70] 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드(예를 들면, 포도당, 과당 등), 디사카라이드(예를 들면, 말토오스, 수크로오스 등) 및 폴리사카라이드(예를 들면, 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당), 및 자일리톨, 소르비톨, 에리스리톨 등의 당 알코올이다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ml 당 일반적으로 약 1 내지 20 g, 바람직하게는 약 5 내지 12 g이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마린, 스테비아 추출물) 및 합성 향미제(예를 들면, 사카린, 아스파르탐 등)를 사용할 수 있다.

[71] 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, 유기산, 보호성 콜로이드 중점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 또한 본 발명의 식품 조성물은 과일 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 단독으로 또는 조합으로 사용될 수 있으며, 이러한 첨가제의 비율은 조성물 전체 중량당 0.001 내지 50 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[72]

[73] 또한, 본 발명의 다른 양상은 시알화 Tn 당쇄 항원을 포함하는 임신 여부, 임신 가능성 또는 임신 효율 측정용 마커 조성물을 제공한다. 또한 또한 본 발명의 다른 양상은 시알화 Tn 당쇄 항원을 측정할 수 있는 제제를 포함하는, 임신 여부, 임신 가능성 또는 임신 효율 측정용 조성물을 제공한다. 상기 시알화 Tn 당쇄 항원을 측정할 수 있는 제제는 항원 자체, 및 상기 항원을 합성하는 효소를 측정할 수 있는 제제를 모두 포함하는 개념이다.

[74] 상기 제제는 항원 자체 발현 수준, 상기 항원을 합성하는 효소의 mRNA 발현 수준 및 효소의 발현 수준을 측정할 수 있다.

[75] mRNA 발현 수준 측정이란 시알화 Tn 당쇄 항원을 합성하는 효소의 mRNA 존재 여부와 발현 정도를 확인하는 과정으로, mRNA의 양을 측정하여 이루어진다. 이를 위한 분석 방법으로는 예를 들어, 역전사 중합효소반응(RT-PCR), 경쟁적 역전사 중합효소반응(Competitive RT-PCR), 실시간 역전사 중합효소반응(Realtime RT-PCR), RNase 보호 분석법(RPA; RNase protection assay), 노던 블랏팅(Northern blotting), DNA 칩 등이 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 본 발명에서 유전자의 mRNA 수준을 측정하는 제제는 바람직하게는 안티센스 올리고뉴클레오티드, 프라이머 쌍 또는 프로브이다.

[76] 본 발명에서 "프라이머"는 짧은 자유 3말단 수산화기를 가지는 핵산 서열로 상보적인 템플레이트(template)와 염기쌍을 형성할 수 있고 템플레이트 가닥 복사를 위한 시작 지점으로 기능을 하는 짧은 핵산 서열을 의미한다. 프라이머는 적절한 완충용액 및 온도에서 중합반응(즉, DNA 중합효소 또는 역전사효소)을 위한 시약 및 상이한 4가지 뉴클레오사이드 트리포스페이트의 존재하에서 DNA 합성이 개시할 수 있다.

[77] 본 발명에서 "프로브"란 mRNA와 특이적 결합을 이룰 수 있는 짧게는 수 염기 내지 길게는 수백 염기에 해당하는 RNA 또는 DNA 등의 핵산 단편을 의미하며 표지(Labelling)되어 있어서 특정 mRNA의 존재 유무를 확인 할 수 있다. 프로브는 올리고 뉴클레오티드 프로브, 단쇄 DNA(single stranded DNA) 프로브, 이중쇄 DNA(double stranded DNA) 프로브, RNA 프로브 등의 형태로 제작될 수 있다. 적당한 프로브의 선택 및 혼성화 조건은 당업계에 공지된 것을 기초로 변형할 수 있다.

[78] 본 발명의 안티센스 올리고뉴클레오티드, 프라이머 또는 프로브는 포스포르 아미다이트 고체 지지체 방법, 또는 기타 널리 공지된 방법을 사용하여 화학적으로 합성할 수 있다. 이러한 핵산 서열은 또한 당해 분야에 공지된 많은 수단을 이용하여 변형시킬 수 있다. 이러한 변형의 비-제한적인 예로는 메틸화, 캡화, 천연 뉴클레오티드 하나 이상의 동족체로의 치환, 및 뉴클레오티드 간의 변형, 예를 들면, 하전되지 않은 연결체(예: 메틸 포스포네이트, 포스포트리아에스테르, 포스포로아미 데이트, 카바메이트 등) 또는 하전된 연결체(예: 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트 등)로의 변형이 있다.

[79]

[80] 본 발명에서 시알화 Tn 당쇄 항원 또는 시알화 Tn 당쇄 항원을 합성하는 효소의 존재 여부와 발현 정도를 확인할 수 있다. 이는 상기 항원 또는 효소의 양을 측정하여 이루어진다. 이를 위한 분석 방법으로는 웨스턴 블랏, ELISA (enzyme linked immunosorbent assay), 방사선면역분석(RIA: Radioimmunoassay), 방사 면역 확산법 (radioimmunodiffusion), 오우크테로니(Ouchterlony) 면역확산법, 로켓트(rocket) 면역전기영동, 조직면역 염색, 면역침전 분석법(Immunoprecipitation Assay), 보체 고정 분석법(Complement Fixation Assay), 유세포분석 (Fluorescence Activated Cell Sorter, FACS), 단백질 칩(protein chip) 등이 있으나 이로 제한되는 것은 아니다. 본 발명에서 단백질 발현 수준을 측정하는 제제는 바람직하게는 항체이다.

[81]

[82] 또한, 본 발명은 상기 측정용 조성물을 포함하는 임신 여부, 임신 가능성 또는 임신 효율 측정 또는 진단용 키트를 제공할 수 있다. 본 발명의 키트는 상기 효소의 mRNA, 및 항원 및 효소의 발현 여부 및 수준을 확인함으로써 임신 가능성 및 임신 효율을 진단을 할 수 있다. 본 발명의 키트에는 분석 방법에 적합한 한 종류 또는 그 이상의 다른 구성 성분 조성물, 용액, 또는 장치가 더 포함될 수 있으며, 바람직하게는 RT-PCR 키트, 마이크로어레이 칩 키트, DNA 칩 키트, 단백질 칩 키트의 형태일 수 있으나 이에 제한되지 않는다.

[83]

구체적인 일례로서, 본 발명에서 mRNA 발현 수준을 측정하기 위한 키트는 RT-PCR을 수행 하기 위해 필요한 필수 요소를 포함하는 키트일 수 있다. RT-PCR 키트는 마커 유전자에 대한 특이적인 각각의 프라이머 쌍 외에도 테스트 튜브 또는 다른 적절한 컨테이너, 반응 완충액, 데옥시뉴클레오티드(dNTPs), Taq-중합효소 및 역전사효소와 같은 효소, DNase, RNase 억제제, DEPC-물(DEPC-water), 멸균수 등을 포함할 수 있다.

[84]

또한, 본 발명의 키트는 마이크로어레이를 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 포함하는 키트일 수 있다. 마이크로어레이 키트는, 유전자 또는 그의 단편에 해당하는 cDNA가 프로브로 부착되어 있는 기판을 포함하고 기판은 정량 대조구 유전자 또는 그의 단편에 해당하는 cDNA를 포함할 수 있으며, 본 발명의 마커를 이용하여 당업계에서 통상적으로 사용되는 제조 방법에 의하여 용이하게 제조될 수 있다. 마이크로어레이를 제작하기 위해서, 상기 탐색된 마커를 탐침 DNA 분자로 이용하여 DNA 칩의 기판상에 고정화시키기 위해 파이조일렉트릭 (piezoelectric) 방식을 이용한 마이크로피펫팅(micropipetting)법 또는 핀(pin) 형태의 스폿터(spotter)를 이용한 방법 등을 사용하는 것이 바람직하나 이에 제한되지 않는다. 상기 마이크로어레이 칩의 기판은 아미노-실란(amino-silane), 폴리-L-라이신(poly-Llysine) 및 알데히드(aldehyde)로 이루어진 군에서 선택되는 활성기가 코팅된 것이 바람직하나, 이에 제한되지 않는다. 또한, 상기 기판은 슬라이드 글래스, 플라스틱, 금속, 실리콘, 나일론 막 및 니트로셀룰로스

막(nitrocellulose membrane)으로 이루어진 군에서 선택되는 것이 바람직하나 이에 제한되지 않는다.

- [85] 또한, 본 발명의 키트는 DNA 칩을 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 포함하는 키트일 수 있다. DNA 칩 키트는 유전자 또는 그의 단편에 해당하는 cDNA 또는 올리고뉴클레오티드(oligonucleotide)가 부착되어 있는 기판, 및 형광표식 프로브를 제작하기 위한 시약, 제제, 효소 등을 포함할 수 있다. 또한 기판은 대조군 유전자 또는 그의 단편에 해당하는 cDNA 또는 올리고뉴클레오티드를 포함할 수 있다.

[86]

- [87] 또한, 본 발명의 일 양상은 임의의 물질인 후보물질을 세포에 처리하는 단계;

- [88] 상기 세포에서 시알화 Tn 당쇄 항원의 발현을 측정하는 단계를 포함하는, 불임 또는 난임 치료제, 또는 피임제 후보물질의 스크리닝 방법을 제공한다.

- [89] 상기 시알화 Tn 당쇄 항원의 발현 측정은 시알화 Tn 당쇄 항원 자체의 발현, 또는 시알화 Tn 당쇄 항원을 합성하는 효소의 발현, 또는 상기 효소의 mRNA 발현 수준을 측정함으로써 수행할 수 있다.

- [90] 본 발명에서 mRNA 발현 수준을 측정하는 방법은 역전사 중합효소반응(RT-PCR), 경쟁적 역전사 중합효소반응 (Competitive RT-PCR), 실시간 역전사 중합효소반응(Realtime RT-PCR), RNase 보호 분석법(RPA; RNase protection assay), 노던 블랏팅(Northern blotting), DNA 칩 등이 있으나 이에 제한되지 않는다.

- [91] 본 발명에서 항원 또는 이를 합성하는 효소의 발현 수준을 측정하기 위한 방법은 웨스턴 블랏, ELISA (enzyme linked immunosorbent assay), 방사선면역분석(RIA: Radioimmunoassay), 방사 면역 확산법(radioimmunodiffusion), 오우크테로니 (Ouchterlony) 면역확산법, 로켓트(rocket) 면역전기영동, 조직면역 염색, 면역침전 분석법

- [92] (Immunoprecipitation Assay), 보체 고정 분석법(Complement Fixation Assay), 유세포분석(Fluorescence Activated Cell Sorter, FACS), 단백질 칩(protein chip) 등이 있으나 이에 제한되지 않는다.

- [93] 상기 시알화 Tn 당쇄 항원의 발현이 정상세포보다 증가한 경우, 상기 후보물질은 불임 또는 난임 치료제의 후보물질일 수 있으며, 상기 시알화 Tn 당쇄 항원의 발현이 정상세포보다 감소한 경우, 상기 후보물질은 피임제의 후보물질일 수 있다.

[94]

발명의 효과

- [95] 본 발명에 따른 시알화 Tn 항원은 임신의 착상과 깊은 관련성이 있는 바, 불임치료제 또는 피임제로 사용될 수 있으며, 이를 이용하여 임신 가능성 또는 임신 효율을 측정할 수 있고, 더욱이 불임치료제 또는 피임제의 스크리닝

방법으로 이용가능하다.

[96]

도면의 간단한 설명

[97] 도 1은 시알화 Tn 당쇄 항원의 화학적 구조를 나타낸 것이다.

[98] 도 2는 백혈병억제인자에 의한 ST6GalNAc1 유전자의 및 시알화 Tn 당쇄항원의 발현 증가를 나타낸 것이다.

[99] 도 3은 백혈병억제인자에 의하여 증가된 자궁내막세포와 영양막세포(trophoblast)의 결합을 시알화 Tn 항원에 대한 항체의 처리에 의하여 감소됨을 나타낸 것이다.

[100] 도 4는 백혈병억제인자에 의하여 증가된 자궁내막세포와 영양막세포의 결합이 시알화 Tn 당쇄항원의 처리에 의하여 감소됨을 나타낸 것이다.

[101] 도 5는 시알화 Tn 당쇄항원을 합성하는 유전자인 ST6GalNAc1 유전자의 발현을 억제한 자궁내막세포주는 영양막세포주와의 결합능력이 저해됨을 나타낸 것이다.

[102] 도 6은 백혈병억제인자 수용체의 길항제(antagonist)의 처리에 의하여 자궁내막세포주에서 ST6GalNAc1 유전자의 발현과 STAT3의 인산화가 억제되고 시알화 Tn 당쇄항원의 발현이 줄어들며, 결과적으로 자궁내막세포와 영양막세포의 결합이 저해됨을 나타낸 것이다.

[103] 도 7은 영양막세포에서 Siglec-6의 발현에 따른 자궁내막세포와 영양막세포의 결합 변화를 확인한 결과를 나타낸 것이다.

[104] 도 8은 영양막세포에서 항-Siglec-6 항체 처리에 의한 자궁내막세포와 영양막세포의 결합 변화를 확인한 결과를 나타낸 것이다.

[105]

발명의 실시를 위한 형태

[106] 이하 본 발명은 실시 예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시 예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시 예에 한정되는 것은 아니다.

[107]

[108] **실시예 1: 백혈병억제인자에 의한 ST6GalNAc1 유전자 및 시알화 Tn 당쇄항원의 발현 증가 확인**

[109]

[110] 자궁내막세포에서의 ST6GalNAc1 유전자 및 시알화 Tn 당쇄항원의 발현 양상을 확인하기 위하여, 인간 자궁내막세포주인 ECC-1 세포에 백혈병억제인자를 25, 50 ng/ml의 농도로 처리하였다. 그 결과를 도 2에 나타내었다. 또한, ST6GalNAc1 유전자의 발현을 RT-PCR로 분석하였으며, 시알화 Tn 항원의 발현 여부를 유세포분석(FACS) 방법으로 확인하였다.

[111] 상기 PCR에 사용된 프라이머의 염기서열은 하기와 같다.

[112]

ST6GalNAc1	forward	5' -GTCCAGTGGTCCCTTGCTTCTGGCTG-3'
	reverse	5' -ATTTCCTTGGGTCGTCCTTTGTTGTC-3'
beta-actin	forward	5' -CAAGAGATGGCCACGGCTGCT-3'
	reverse	5' -TCCTTCTGCATCCTGTCCGCA-3'

[113]

[114] 도 2에 나타난 바와 같이, 백혈병억제인자의 처리는 시알화 Tn 당쇄항원을 합성하는 효소인 ST6GalNAc1 유전자의 발현이 증가하는 것을 RT-PCR 방법으로 확인하였다 (A). 또한, 시알화 Tn 항원이 발현되는 것을 FITC 형광이 표지된 시알화 Tn 항원에 특이적인 항체(Abcam사의 ab76756, Clone no. STn219-FITC)를 이용하여 유세포분석(FACS) 방법으로 확인하였다 (B).

[115]

[116] 실시예 2: 자궁내막세포와 영양막세포(trophoblast)의 결합에 있어서, 시알화 Tn 항원의 역할 확인

[117] 자궁내막세포와 영양막세포의 결합에서 시알화 Tn 항원의 역할을 확인하기 위하여, 시알화 Tn 항원에 대한 항체(Abcam사의 ab76754, Clone no. STn219)를 처리하였다. 구체적으로, 자궁내막세포주인 ECC-1 세포를 단일층으로 배양한 후 백혈병억제인자를 48시간 처리하고, 한 군에는 시알화 Tn 항원에 대한 항체를 백혈병억제인자와 함께 처리하였다. ECC-1 세포와 영양막 세포인 JAR 세포와의 결합을 측정하기 위하여, 형광물질로 표지된 JAR 세포를 ECC-1 단일층 위에 추가한 후 30분간 40 rpm의 속도로 교반하여 배양하였다. ECC-1과 결합하지 않은 JAR 세포를 제거하기 위하여 인산염완충용액(PBS)으로 세척한 후 형광을 나타내는 JAR 세포의 수를 형광현미경으로 확인하였다. 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[118] 도 3에 나타난 바와 같이, 백혈병억제인자에 의하여 증가된 자궁내막세포와 영양막세포(trophoblast)의 결합은 시알화 Tn 항원에 대한 항체의 처리에 의하여 감소되는 것을 확인할 수 있었다.

[119]

[120] 실시예 3: 백혈병저해인자에 의하여 증가된 자궁내막세포와 영양막세포의 결합이 시알화 Tn 당쇄항원의 처리에 의한 감소

[121]

[122] 자궁내막세포주인 ECC-1 세포를 단일층으로 배양한 후 백혈병억제인자를 24시간 처리하고, 동시에 시알화 Tn 당쇄항원을 JAR 세포에 처리하여 ECC-1의 시알화 Tn 당쇄와 결합할 것으로 예상되는 불특정의 시알화 Tn 당쇄항원에 대한 세포표면 수용체를 차단시켰다. 그 후에 ECC-1세포와 JAR 세포와의 결합을 측정하기 위하여 형광물질로 표지된 JAR 세포를 ECC-1 단일층 위에 추가한 후 30분간 40 rpm의 속도로 교반하여 배양하였다. ECC-1과 결합하지 않은 JAR 세포를 제거하기 위하여 인산염완충용액(PBS)으로 세척한 후 형광을 나타내는

- JAR 세포의 수를 형광현미경으로 확인하였다. 그 결과를 도 4에 나타내었다.
- [123] 도 4에 나타난 바와 같이, 백혈병억제인자에 의하여 증가된 자궁내막세포와 영양막세포의 결합은 시알화 Tn 당쇄항원의 처리에 의하여 감소함을 확인하였다.
- [124]
- [125] 실시예 4: ST6GalNAc1 유전자의 발현을 억제한 자궁내막세포주의 영양막 세포주와의 결합력 확인
- [126]
- [127] 시알화 Tn 당쇄항원은 ST6GalNAc1 효소에 의하여 합성되기 때문에, 해당 효소의 유전자를 shRNA 기법으로 발현을 억제한 세포주 (shST6GalNAc1)를 확립하였다.
- [128] 상기 세포주 및 벡터만 주입한 대조군 세포주(pLKO.1)와 영양막세포주와의 결합능력을 확인하였다. 그 결과를 도 5에 나타내었다.
- [129] 도 5에 나타난 바와 같이, shRNA 기법으로 발현을 억제한 세포주 (shST6GalNAc1)와 벡터만 주입한 대조군 세포주(pLKO.1)의 영양막세포주와의 결합능을 비교할 때, 시알화 Tn 당쇄항원을 합성하는 유전자인 ST6GalNAc1 유전자의 발현을 억제한 자궁내막세포주는 영양막세포주와의 결합능력이 저해됨을 확인하였다. 이에 따라서, ST6GalNAc1 유전자의 발현이 억제된 세포주의 경우에는 LIF에 의한 착상증진 효과가 사라진 것이다. 따라서 ST6GalNAc1 유전자의 발현 및 그 효소에 의하여 발현되는 시알화 Tn 당쇄항원이 착상에 중요한 인자임을 알 수 있었다.
- [130]
- [131] 실시예 5: 백혈병억제인자 수용체의 길항제(antagonist)의 처리에 의한 자궁내막세포와 영양막세포의 결합의 영향 확인
- [132]
- [133] Hudson 등(J Biol Chem. 271:11971-11978)의 방법에 의해서 백혈병억제유전자 수용체(LIF-R)의 길항제인 LIF-05를 박테리아에서 발현시켜 정제한 후, ECC-1 세포주에 처리하여 백혈병억제인자의 효과를 억제시킨 후 ST6GalNAc1 유전자의 발현을 RT-PCR을 이용하여 확인하였다. 또한, 백혈병억제인자에 의한 대표적인 하류 신호전달 과정인 STAT3의 인산화를 특이적인 항체를 이용하여 western blot 방법으로 확인하였다.
- [134] 그 결과를 도 6에 나타내었다.
- [135] 도 6의 (A)에 나타난 바와 같이, 백혈병억제인자 수용체의 길항제(antagonist)를 처리하는 경우, 자궁내막 세포주에서 ST6GalNAc1 유전자의 발현이 감소하였다. 또한, (B)에 나타난 바와 같이, 백혈병억제인자 수용체의 길항제(antagonist)의 처리에 의하여 STAT3의 인산화가 억제됨을 확인하였다.
- [136]
- [137] 또한 ECC-1 세포주에 백혈병억제인자와 그 수용체의 길항제를 처리한 후 세포

표면에 발현하는 시알화 Tn 당쇄항원의 발현을 FITC가 표지된 시알화 Tn 항원에 특이적인 항체를 이용하여 유세포분석 방법으로 확인하였다.

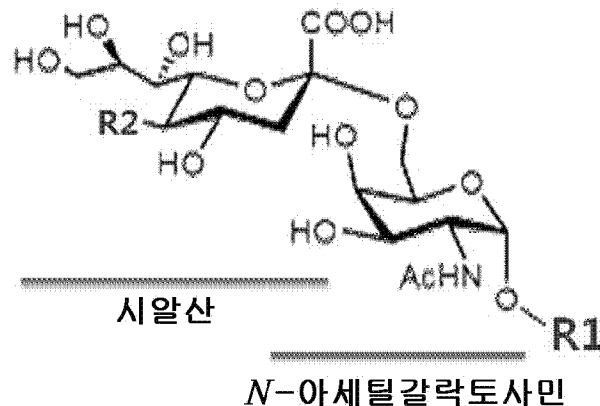
- [138] 또한 자궁내막세포와 영양막세포의 결합이 저해되었는지를 확인하기 위하여, 백혈병억제인자와 그 수용체의 길항제를 ECC-1 세포에 처리하고 48시간 후에, 형광물질로 표지된 JAR 세포를 ECC-1 세포 단일층에 추가한 후 30분간 40 rpm으로 교반하였다. 그 후 접착되지 않은 세포를 인산염완충용액으로 세척하여 제거한 후 접착이 일어난 세포만을 형광현미경으로 관찰하였다.
- [139] 그 결과를 도 6에 나타내었다. 도 6의 (C)에 나타난 바와 같이, 백혈병억제인자 수용체의 길항제(antagonist)의 처리에 의하여 시알화 Tn 당쇄항원의 발현이 줄어들며, 결과적으로 자궁내막세포와 영양막세포의 결합이 저해됨을 확인하였다.
- [140]
- [141] 실시예 6: 영양막세포에서 Siglec-6(sialic acid binding lectin)의 기능 확인
- [142] 영양막세포에 존재하는 Siglec-6(sialic acid binding lectin)의 기능을 확인하기 위해서, 영양막세포에서 Siglec-6의 발현에 의한 자궁내막세포와 영양막세포의 결합 변화를 확인하였다. 그 결과를 도 7에 나타내었다.
- [143] 도 7에 나타난 바와 같이, Siglec-6의 발현이 높게 나타나는 JAR 세포에서 LIF에 의한 결합 증가가 나타남을 확인하였다. 또한 Siglec-6의 발현이 약한 것으로 확인된 세포들에서는 LIF에 의한 결합의 증가를 확인할 수 없었다.
- [144] 추가적으로, 영양막세포에서 항-Siglec-6 항체를 사용하여 Siglec-6의 발현을 감소시킴으로써 Siglec-6의 기능을 확인하였다. 그 결과를 도 8에 나타내었다.
- [145] 도 8에 나타난 바와 같이, 영양막세포에 항-Siglec-6 항체를 처리한 결과, LIF에 의한 결합의 증가가 감소함을 확인하였다.
- [146] 따라서, 시알화 Tn 항원과 Siglec-6의 결합에 의하여 자궁내막세포와 영양막세포의 결합이 매개됨을 확인하였다.

청구범위

[청구항 1] 시알화 Tn 당쇄 항원 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 상기 시알화 Tn 당쇄 항원의 활성화제를 유효성분으로 포함하는, 불임 또는 난임의 예방 또는 치료용 조성물.

[청구항 2] 청구항 1에 있어서, 상기 시알화 Tn 당쇄 항원은 하기의 화학식 1로 이루어진 것인, 조성물.

[화학식 1]



여기서, 상기 R1은 세린 또는 쓰레오닌이며,
상기 R2는 CH₃COHN, OHCH₂COHN, 또는 OH이다.

[청구항 3] 청구항 1에 있어서, 상기 불임 또는 난임은 여성의 불임 또는 난임인 것인, 조성물.

[청구항 4] 청구항 3에 있어서, 상기 불임 또는 난임은 난소 기능 저하, 배란 장애, 수정란 이송 장애, 착상 장애, 난관 손상, 난관 결착, 난관주위 유착, 면역학적 이상, 감염, 전신적 질환, 및 자궁내막증으로 이루어진 군으로부터 선택된 원인에 의한 것인, 조성물.

[청구항 5] 청구항 3에 있어서, 상기 불임 또는 난임은 착상 장애에 의한 것인, 조성물.

[청구항 6] 청구항 1에 있어서, 상기 활성화제는 시알화 Tn 당쇄 항원을 합성하는 효소, 또는 상기 효소를 코딩하는 뉴클레오티드인 것인, 조성물.

[청구항 7] 청구항 6에 있어서, 상기 효소는 ST6GalNAc1인 것인, 조성물.

[청구항 8] 시알화 Tn 당쇄 항원 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 상기 시알화 Tn 당쇄 항원의 활성화제를 유효성분으로 포함하는, 불임 또는 난임의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

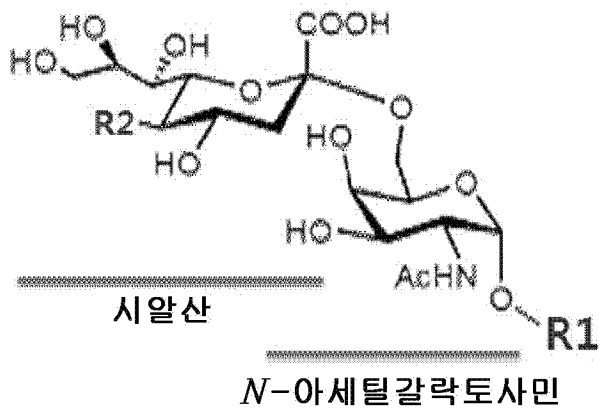
[청구항 9] 시알화 Tn 당쇄 항원의 억제제를 포함하는, 피임용 조성물.

[청구항 10] 청구항 9에 있어서, 상기 억제제는 시알화 Tn 당쇄 항원에 특이적인 항체, 앵타머 또는 화합물인 것인, 피임용 조성물.

[청구항 11] 시알화 Tn 당쇄 항원을 합성하는 효소의 발현 또는 활성 억제제를

- 포함하는, 피임용 조성물.
- [청구항 12] 청구항 11에 있어서, 상기 시알화 Tn 당쇄 항원을 합성하는 효소의 발현 억제제는 시알화 Tn 당쇄 항원을 합성하는 효소의 mRNA에 상보적으로 결합하는 안티센스 뉴클레오티드, 짧은 헤어핀 RNA(small hairpin RNA, shRNA), 작은 간섭 RNA(small interfering RNA, siRNA) 및 리보자임(ribozyme)으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상인 것인, 피임용 조성물.
- [청구항 13] 청구항 11에 있어서, 상기 시알화 Tn 당쇄 항원을 합성하는 효소의 활성 억제제는 상기 효소에 특이적으로 결합하는 화합물, 펩티드, 펩티드모방체, 기질 유사체, 앵타머, 및 항체로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상인 것인, 피임용 조성물.
- [청구항 14] 유리 시알화 Tn 당쇄 항원을 포함하는, 피임용 조성물.
- [청구항 15] 시알화 Tn 당쇄 항원 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 상기 시알화 Tn 당쇄 항원의 활성화제를 유효성분으로 포함하는, 임신 촉진용 약학적 조성물.
- [청구항 16] 시알화 Tn 당쇄 항원 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 상기 시알화 Tn 당쇄 항원의 활성화제를 유효성분으로 포함하는, 임신 촉진용 식품 조성물.
- [청구항 17] 시알화 Tn 당쇄 항원을 포함하는 임신 여부, 임신 가능성 또는 임신 효율 측정용 마커 조성물.
- [청구항 18] 시알화 Tn 당쇄 항원을 측정할 수 있는 제제를 포함하는, 임신 여부, 임신 가능성 또는 임신 효율 측정용 조성물.
- [청구항 19] 후보물질을 세포에 처리하는 단계;
상기 세포에서 시알화 Tn 당쇄 항원의 발현을 측정하는 단계를 포함하는, 불임 또는 난임 치료제 또는 피임제의 후보물질의 스크리닝 방법.
- [청구항 20] 청구항 19에 있어서, 상기 시알화 Tn 당쇄 항원의 발현이 정상세포보다 증가한 경우, 상기 후보물질은 불임 또는 난임 치료제의 후보물질인 것인, 스크리닝 방법.
- [청구항 21] 청구항 19에 있어서, 상기 시알화 Tn 당쇄 항원의 발현이 정상세포보다 감소한 경우, 상기 후보물질은 피임제의 후보물질인 것인, 스크리닝 방법.

[도1]



R1=단백질의 세린(Serine) 또는 쓰레오닌(Threonine) 잔기

R2=시알산의 종류에 따라서

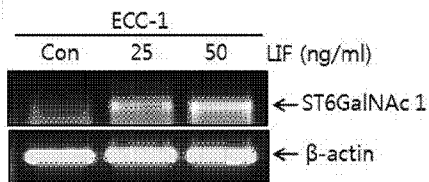
CH₃COHN: N-아세틸뉴라민산 (NeuAc)

OHCH₂COHN: N-글리콜뉴라민산 (NeuGC)

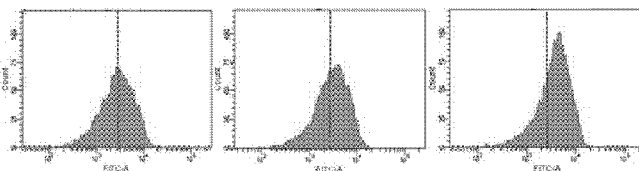
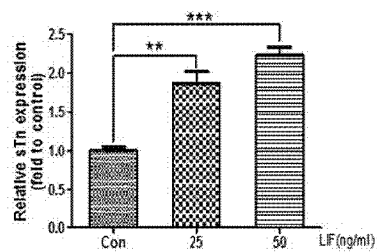
OH: 2-케토-3-데옥시노닉산 (Kdn)

[도2]

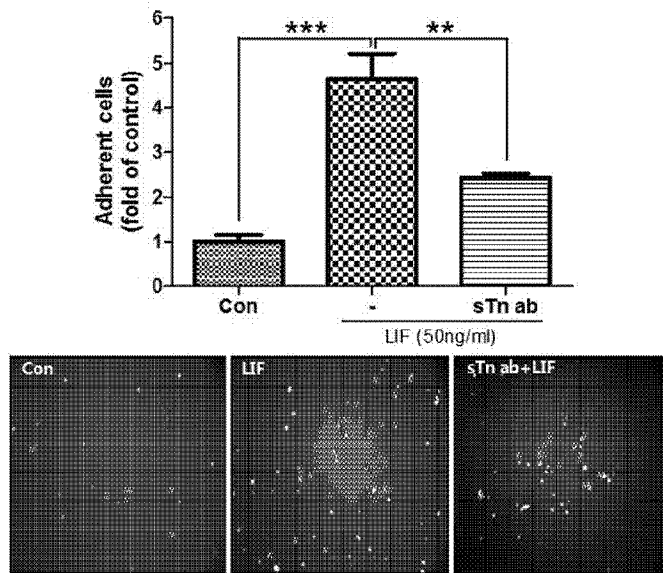
A)



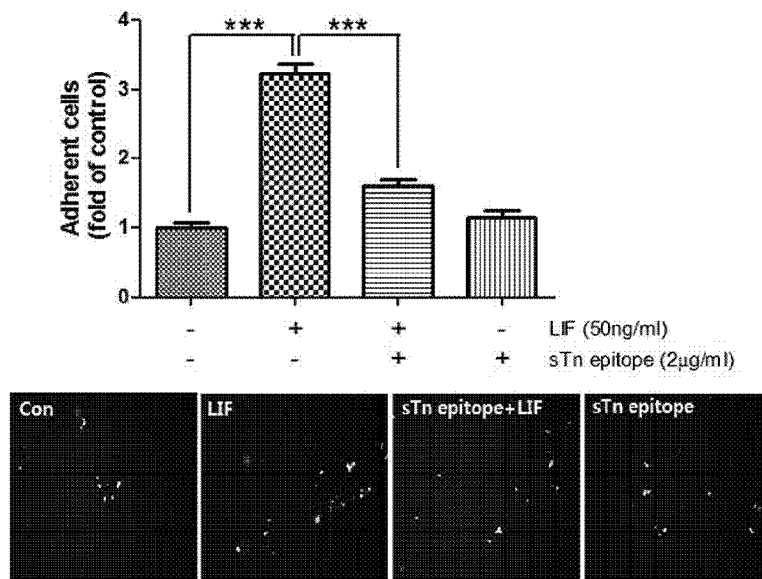
B)



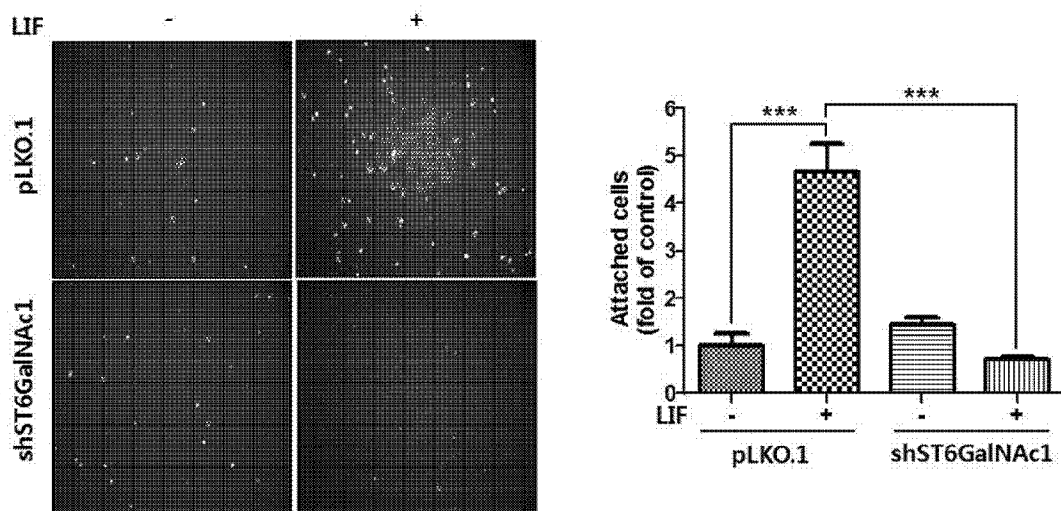
[도3]



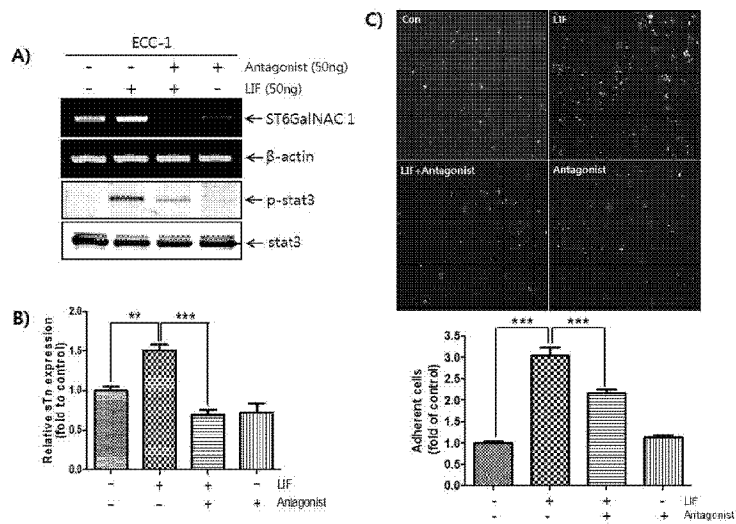
[도4]



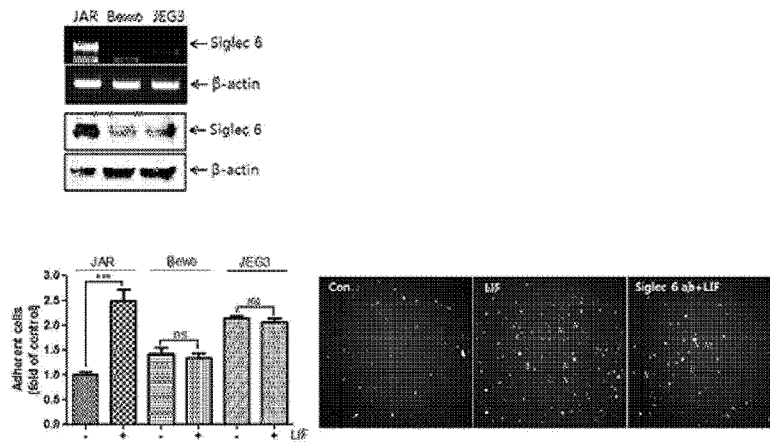
[도5]



[도6]



[도7]



[도8]

