



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0001604
(43) 공개일자 2024년01월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/50 (2017.01) G01N 33/68 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/5061 (2013.01)
G01N 33/6893 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-0078461
(22) 출원일자 2022년06월27일
심사청구일자 2022년06월27일

(71) 출원인
계명대학교 산학협력단
대구광역시 달서구 달구벌대로 1095, 계명대학교
산학협력관 201호(신당동)
(72) 발명자
김지인
대구광역시 수성구 달구벌대로 2260, 101동 1405
호(수성동1가, 태왕아너스클럽)
윤가은
대구광역시 달서구 달구벌대로203길 52, 208호(호
산동, 첼로)
(74) 대리인
특허법인태백

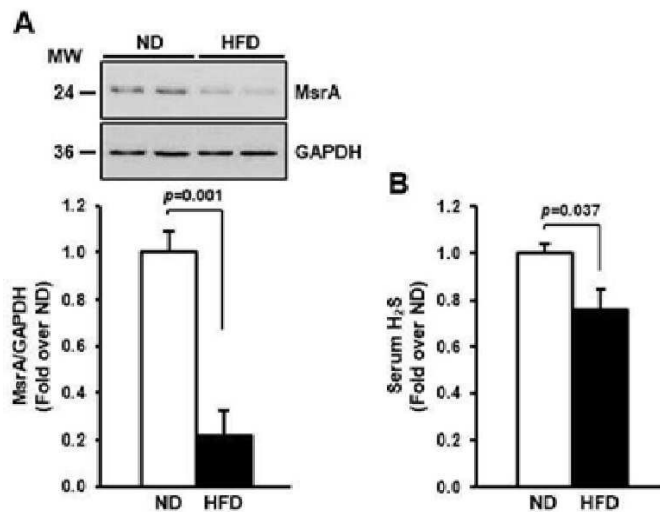
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 MsrA 발현 및 황화수소 생성 조절을 이용한 고혈압 치료제 스크리닝 방법

(57) 요약

본 발명은 MsrA 발현 및 황화수소 생성 조절을 이용한 고혈압 치료제 스크리닝 방법에 관한 것으로, 본 발명에서는 고지방식이에 의해 MsrA의 발현이 감소하고, 이로 인해 MsrA로부터 생성되는 H₂S 수준이 감소되어 혈관 평활근 수축으로 고혈압이 유도되는 것을 확인하였다. 이에, MsrA 발현 및 H₂S 생성 회복은 고지방식으로 유발된 고혈압을 개선함으로써 고혈압에 대한 새로운 표적으로 유용하게 활용될 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

G01N 2333/90212 (2013.01)

G01N 2500/00 (2013.01)

G01N 2800/321 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711110413
과제번호	2020R1A2C2008039
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명	Myeloid 계통 면역세포의 exocyst component Sec10 결손이 조직으로의 면역세포 침윤과 염증에 의한 고혈압 발생에 미치는 영향과 치료 전략 연구
기 여 율	1/1
과제수행기관명	계명대학교
연구기간	2020.03.01 ~ 2021.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

고혈압이 의심되는 개체로부터 분리된 시료에 시험물질을 접촉시키는 단계;

상기 시험물질이 접촉된 시료에서 메티오닌 설펍사이드 환원효소 A(methionine sulfoxide reductase A; MsrA) 발현 및 황화수소(H_2S) 수준을 측정하는 단계; 및

정상 대조군과 비교하여 상기 MsrA 발현 및 H_2S 수준을 증가시키는 시험물질을 선별하는 단계를 포함하는 고혈압 치료제 스크리닝 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 고혈압은 고지방 식이에 의해 유도되는 것을 특징으로 하는 고혈압 치료제 스크리닝 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 고지방 식이에 의해 유도된 고혈압이 의심되는 개체는 정상 대조군에 비해 MsrA의 발현이 10 내지 30% 또는 H_2S 의 수준이 70 내지 90%인 것을 특징으로 하는 고혈압 치료제 스크리닝 방법.

청구항 4

청구항 1의 MsrA 발현 및 H_2S 수준을 증가시키는 시험물질을 유효성분으로 포함하는 고혈압 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 고혈압은 고지방 식이에 의해 유도되는 것을 특징으로 하는 고혈압 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 6

청구항 4의 시험물질을 유효성분으로 포함하는 시험관 내(in vitro) MsrA 발현 및 H_2S 생성 촉진용 시약 조성물.

청구항 7

시험관 내(in vitro)에서 청구항 4의 시험물질을 혈관 평활근세포에 처리하는 단계를 포함하는 MsrA 발현 및 H_2S 생성 촉진방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 MsrA 발현 및 황화수소 생성 조절을 이용한 고혈압 치료제 스크리닝 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 고혈압은 성인에서 수축기 혈압이 140 mmHg 이상이거나 확장기 혈압이 90 mmHg 이상으로 정상 범위보다 높은 만성질환을 말한다. 고혈압은 크게 본태성 고혈압과 이차성 고혈압으로 구분되는데, 약 90~95%를 차지하며 명확한 의학적 원인이 없는 경우를 본태성 고혈압이라고 하고, 나머지 5~10%를 차지하며 신장, 동맥, 심장 또는 내분비계에 영향을 주는 다른 건강 상태에 기인하는 경우를 이차성 고혈압이라고 한다.

[0003] 고혈압은 심혈관계 질환의 위험요소로 전 세계적으로 성인의 15-20%가 앓고 있으나 고혈압의 정확한 발생원인은 현재까지 명확히 밝혀지지 않았다. 가족력, 인종, 염분의 섭취량, 인슐린 저항성, 과도한 음주, 고지방식이 및 노화 등의 복합적인 요인에 의해 영향을 받는 것으로 알려져있다. 특히, 과도한 지방 축적 및 혈중 지질농도의 증가는 고혈압 등의 심혈관계 질환의 발병률과 사망률을 증가시키는 것으로 보고되고 있다. 고지혈증은 동맥경화의 중요한 인자 중 하나로 동맥혈관 벽에 콜레스테롤 등의 지질이 침착되어 혈관을 협착 시키거나 경화시켜 혈액의 흐름을 악화시킨다.

[0004] 이러한 고혈압은 뇌졸중, 심근경색(심장마비), 심부전, 혈관 동맥류(예컨대 대동맥류), 하지동맥류 등의 주요 위험 인자이며, 만성 신부전증의 원인이 되기도 한다. 동맥 혈압이 약간만 높더라도 기대 수명을 단축시킬 수 있다. 식이요법과 생활 방식의 변화로 혈압 조절을 향상시켜 위험을 줄일 수 있으나 이러한 방식이 효과적이지 않거나 충분하지 않은 사람들의 경우 종종 약물치료를 필요로 한다.

[0005] 고혈압을 치료하기 위한 약으로 칼슘 채널 차단제(Calcium Channel Blocker; CCB), 안지오텐신 전환 효소 억제제(Angiotensin Converting Enzyme inhibitor), 안지오텐신 II 수용체 차단제(Angiotensin II receptor blocker; ARB), 베타차단제, 이뇨제 등의 다양한 약물이 사용되고 있다. 그러나 상기 합성 약물은 부작용 또는 합병증의 우려가 있어 주의가 필요하여 연구가 계속 필요한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제10-2019-0108660호 (19.09.25. 공개)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 고혈압 치료제 스크리닝 방법을 제공하는 데에 있다.

[0008] 본 발명의 다른 목적은 고혈압 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 데에 있다.

[0009] 본 발명의 또 다른 목적은 시험관 내(in vitro) 메티오닌 설푍사이드 환원효소 A(methionine sulfoxide reductase A; MsrA) 발현 및 황화수소(H_2S) 생성 촉진용 시약 조성물을 제공하는 데에 있다.

[0010] 본 발명의 또 다른 목적은 MsrA 발현 및 H_2S 생성 촉진방법을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

[0011] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 고혈압이 의심되는 개체로부터 분리된 시료에 시험물질을 접촉시키는 단계; 상기 시험물질이 접촉된 시료에서 메티오닌 설푍사이드 환원효소 A(methionine sulfoxide reductase A; MsrA) 발현 및 황화수소(H_2S) 수준을 측정하는 단계; 및 정상 대조군과 비교하여 상기 MsrA 및 H_2S 수준을 증가시키는 시험물질을 선별하는 단계를 포함하는 고혈압 치료제 스크리닝 방법을 제공한다.

[0012] 또한, 본 발명은 MsrA 발현 및 H_2S 수준을 증가시키는 시험물질을 유효성분으로 포함하는 고혈압 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0013] 또한, 본 발명은 상기 시험물질을 유효성분으로 포함하는 시험관 내(in vitro) MsrA 발현 및 H_2S 생성 촉진용 시약 조성물을 제공한다.

[0014] 또한, 본 발명은 시험관 내(in vitro)에서 상기 시험물질을 혈관 평활근세포에 처리하는 단계를 포함하는 MsrA 발현 및 H_2S 생성 촉진방법을 제공한다.

발명의 효과

[0015] 본 발명에서는 고지방식이에 의해 MsrA의 발현이 감소하고, 이로 인해 MsrA로부터 생성되는 H_2S 수준이 감소되

어 혈관 평활근 수축으로 고혈압이 유도되는 것을 확인하였다. 이에, MsrA 발현 및 H₂S 생성 회복은 고지방식으로 유발된 고혈압을 개선함으로써 고혈압에 대한 새로운 표적으로 유용하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 정상식이(ND) 및 고지방식이(HFD)에 따른 마우스의 체중, 수축기 혈압 및 이완기 혈압 변화를 확인한 결과이다.

도 2는 고지방식이에 의한 장간막 동맥의 MsrA 발현 및 혈청 H₂S 수준의 감소를 확인한 결과이다.

도 3은 혈관 평활근세포에서 MsrA의 knocked-down 및 이로 인한 H₂S 생성 감소를 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 이하, 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

[0019] 본 발명은 고혈압이 의심되는 개체로부터 분리된 시료에 시험물질을 접촉시키는 단계; 상기 시험물질이 접촉된 시료에서 메티오닌 설폭사이드 환원효소 A(methionine sulfoxide reductase A; MsrA) 발현 및 황화수소(H₂S) 수준을 측정하는 단계; 및 정상 대조군과 비교하여 상기 MsrA 발현 및 H₂S 수준을 증가시키는 시험물질을 선별하는 단계를 포함하는 고혈압 치료제 스크리닝 방법을 제공한다.

[0020] 상기 고혈압은 고지방 식이에 의해 유도될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아님을 명시한다.

[0021] 상기 고지방 식이에 의해 유도된 고혈압이 의심되는 개체는 정상 대조군에 비해 MsrA의 발현이 10 내지 30% 또는 H₂S의 수준이 70 내지 90%일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아님을 명시한다.

[0022] MsrA는 메티오닌 설폭사이드를 메티오닌으로 환원시켜 호모시스테인의 대사를 가능하게 하며, 황성산소종을 제거하고 H₂S를 생성하는 중요한 역할을 한다. H₂S는 호모시스테인 대사 동안 생성되는 내인성 기체의 항산화제 및 항고혈압 분자로서 작용한다.

[0023] 고지방식이는 MsrA 발현과 H₂S 생성을 감소시켜 결과적으로 혈관 산화 스트레스, 염증, 과수축성 및 고혈압을 유발하고, MsrA 발현 및 H₂S 생성 증가는 혈관을 이완시킴으로써 혈압을 낮추는 효과를 나타내는 바, MsrA 발현 및 H₂S 생성 회복은 고혈압 치료의 새로운 표적으로 활용될 수 있다.

[0025] 또한, 본 발명은 상기 MsrA 발현 및 황화수소 수준을 증가시키는 시험물질을 유효성분으로 포함하는 고혈압 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0026] 상기 고혈압은 고지방 식이에 의해 유도될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아님을 명시한다.

[0028] 본 발명의 조성물이 약학 조성물인 경우, 투여를 위하여, 상기 기재한 유효성분 이외에 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 포함할 수 있다. 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 텍스트로오스, 수크로오스, 소르비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.

[0029] 본 발명의 약학 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액의 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 고형 제제로는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 이러한 고형 제제는 상기 유효성분 외에 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 여

러 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, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 오일, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위캡슐, 마크로슬, 트윈 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로 젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[0030] 본 발명의 약학 조성물의 적합한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 시간에 따라 다르지만, 당 업자에 의해 적절하게 선택될 수 있는 바, 상기 조성물의 일일 투여량은 바람직하게는 0.001 mg/kg 내지 50 mg/kg이며, 필요에 따라 일일 1회 내지 수회로 나누어 투여할 수 있다.

[0032] 또한, 본 발명은 MsrA 발현 및 H₂S 수준을 증가시키는 시험물질을 유효성분으로 포함하는 시험관 내(in vitro) MsrA 발현 및 H₂S 생성 촉진용 시약 조성물을 제공한다.

[0034] 또한, 본 발명은 시험관 내(in vitro)에서 MsrA 발현 및 H₂S 수준을 증가시키는 시험물질을 혈관 평활근세포에 처리하는 단계를 포함하는 MsrA 발현 및 H₂S 생성 촉진방법을 제공한다.

[0036] 이하에서는 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0038] 실시예 1: 동물실험

[0039] 모든 동물실험은 실험동물 윤리위원회 규정에 따라 수행되었다. 실험동물은 생후 8주령 수컷 C57BL/6 마우스(Koatech, Inc., 경기도, 한국)를 사용하였다.

[0040] 마우스는 무작위로 두 군으로 나눈 후 각각 지방이 10% 또는 60% Kcal을 포함하는 정상식이(Normal diet; ND) 또는 고지방식이(High-fat diet; HFD)를 제공하였다(Harlan Laboratories, Inc., Madison, WI, USA). 고지방식이군이 고혈압 단계인 수축기 혈압 140 mmHg 이상에 도달시켰다.

[0041] 이후 펜토바르비탈 나트륨(50mg/kg BW, i.p.)으로 전신 마취하고, 개복술하여 심장에서 혈액을 채취하였다. 혈액 샘플을 2500rpm에서 10분 동안 원심분리한 후 분석 전까지 -80℃에서 보관하였다. 장간막 동맥(Mesenteric arteries; MAs)을 채취하고 즉시 액체 질소에서 동결시킨 후 분석 전까지 -80℃에서 보관하였다.

[0043] 1) 체중 측정

[0044] 정상식이군 또는 고지방식이군의 각 마우스 체중은 저울(AND KOREA, 서울, 한국)을 사용하여 측정하였다.

[0046] 2) 혈압 측정

[0047] 혈압은 제조업체의 지침에 따라 비침습적 tail-cuff 시스템(CODA, Kent Scientific Corporation, Torrington, CT, USA)을 사용하여 측정하였다.

[0048] 간략하게, 각 마우스를 35℃에서 10분 동안 핫 플레이트에서 예열한 다음 고정기(restrainer)에 두었다. pneumatic pulse 센서가 있는 cuff를 꼬리에 부착하고, 마우스를 35℃ 가열 패드에 놓고 CODA 고정리량 비침습 혈압 시스템에서 혈압 값을 기록하였다. 마우스 당 10회 연속 판독값으로 평균을 계산하였다.

[0050] 실시예 2: 웨스턴 블롯

[0051] 장간막 동맥 또는 혈관 평활근세포(Vascular smooth muscle cell; VSMC)에 용해 완충액[5mM HEPES(pH 7.4), 5mM EGTA, 1mM Na₃VO₄, 1% Triton X-100, 10% 글리세롤, 1mM DTT, 5mM NaF, 1mM PMSF, 5 μg/ml 류페틴, 2 μg/ml 아프로티닌, 1% 데옥시콜산나트륨]을 처리한 후 4℃에서 13,000rpm으로 20분 동안 원심분리하였다. 이후 상층액을 취하고, BCA 키트(Pierce, Thermo Fisher Scientific, Rockford, IL, USA)를 사용하여 총 단백질 농도를 측정하였다. 각 용해물을 5X SDS-PAGE 로딩 버퍼[60mM Tris-HCl(pH 6.8), 50% 글리세롤, 2% SDS, 0.1% BPB, 5% 2-머캅토에탄올]로 희석하고 98℃에서 5분 동안 가열한 후 분석 전까지 -20℃에서 보관하였다.

[0052] 샘플을 0.1% SDS가 포함된 4~20% 폴리아크릴아미드 겔에서 전기영동하고, 폴리비닐리덴 플루오라이드 또는 니트로셀룰로스 막으로 이동시킨 다음 항체로 면역블롯팅하였다. 1차 항체로 다클론 토끼 항-마우스 메티오닌 선펙 사이드 환원효소 A(MsrA) 항체를 사용하였고, GAPDH(Novus Biologicals LLC), β-액틴(Santa Cruz Biotechnology, Inc.)을 로딩 대조군으로 사용하였다. 마우스 또는 토끼 IgG(Bethyl Laboratories Inc., Montgomery, TX, USA)에 대한 HRP가 접합된 항체를 2차 항체로 사용하였다. 면역 반응성 밴드는 화학발광시약(Pierce, Thermo Fisher Scientific, Rockford, IL, USA 또는 PerkinElmer Inc., Waltham, MA, USA)을 사용하여 시각화하였다. 신호 강도는 이미지 분석 소프트웨어 ImageJ(National Institutes of Health, Bethesda, ML, USA)를 사용하여 정량화하였다.

[0054] 실시예 3: 황화수소(H₂S)에 대한 효소면역분석

[0055] 혈청 및 세포 배양 상층액의 H₂S 농도는 제조업체의 지침에 따라 H₂S 효소면역분석키트(KAMIYA BIOMEDICAL COMPANY, Seattle, WA, USA)를 사용하여 측정하였다.

[0056] 간략하게, 100 μL의 세포 배양 상층액 또는 마우스 혈청을 H₂S-HRP 접합체로 코팅된 면역 플레이트에 첨가하였다. 플레이트를 37℃에서 1시간 동안 반응시킨 다음 1X 세척 용액으로 세척하였다. 이어서, 100 μL의 HRP 기질-용액을 첨가하고, 플레이트를 37℃에서 15분 동안 반응시켰다. 반응을 종결시키기 위해 50 μL의 정지 용액을 첨가하고 마이크로플레이트 리더기(Infinite M Nano, TECAN Group Ltd., Mannedorf, Switzerland)를 사용하여 450nm에서 광학 밀도를 측정하였다. 해당 H₂S 농도는 SigmaPlot(Systat Software, Inc., San Jose, CA, USA)을 사용하여 결정되었다.

[0058] 실시예 4: VSMC의 일차 배양

[0059] 랫드 대동맥 평활근 세포(VSMCs)는 외식편 방법으로 제작된 4주령 근교계 Sprague-Dawley 랫드(Koatech, Inc., 경기도, 한국)에서 획득하였다.

[0060] 간략하게, 대동맥을 빠르게 절제하여 DMEM 배지(WELGENE Inc., 대구, 한국)에 담그고 결합 조직과 부착 지방을 조심스럽게 제거하였다. 분리된 대동맥을 세로로 절개하고 면봉으로 내피 표면을 부드럽게 문질러 내피를 제거하였다. 박리된 대동맥을 여러 조각으로 절단하고 내측면이 아래로 향하도록 접시에 배치하였다. 이후 VSMC는 10% 우태아혈청(Gibco, Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA) 및 100U/mL 스트렙토마이신/페니실린(S/P)(WELGENE Inc., 대구, 한국)이 포함된 DMEM 배지 하에 37℃, 5% CO₂ 인큐베이터에서 배양하였다.

[0061] MsrA 침묵(silence)을 위해, 플레이트에서 50~60% 밀도로 자란 VSMC를 10% 우태아혈청(S/P 미첨가)을 포함하는 DMEM 배지에서 2시간 동안 배양한 다음, 제조업체의 지침에 따라 리포펙타민 3000(Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA)을 사용하여 25 MsrA small interfering RNA(siRNA)(5'-AAACAUCAGUCAUUGGCAACAGAA-3', Bioneer, 대전, 한국) 또는 scrambled siRNA로 48시간 동안 트랜스펙션을 수행하였다.

[0063] 실험예 1: 고지방식이에 의한 체중 증가 및 고혈압 유발

[0064] 9주령 수컷 C57BL/6 마우스를 무작위로 두 군으로 나눈 후 15주 동안 정상식이 또는 고지방식이를 제공하였다. 식이요법을 시작하기 전, 두 군에서 체중 또는 혈압 간에 차이는 관찰되지 않았다.

[0065] 식이요법 15주 후 두 군의 체중이 증가했으나 고지방식이군이 정상식이군보다 유의하게 더 많은 체중 증가를 나

타내었다(정상식이군: $23.5 \pm 0.36\text{g}$ 에서 $32.6 \pm 0.72\text{g}$, 고지방식이군: $23.9 \pm 0.17\text{g}$ 에서 $49.6 \pm 0.99\text{g}$, $P < 0.001$) (도 1A).

[0066] 또한, 정상식이군의 수축기 혈압은 유의한 변화가 관찰되지 않았으나($121.8 \pm 3.28 \text{ mmHg}$ 에서 $120.7 \pm 3.68 \text{ mmHg}$), 고지방식이군의 수축기 혈압은 유의하게 증가하였다($118.0 \pm 0.95 \text{ mmHg}$ 에서 $146.8 \pm 6.65 \text{ mmHg}$, $P < 0.001$)(도 1B). 또한, 식이요법이 종료될 때까지 정상식이군의 이완기 혈압은 유의한 변화가 관찰되지 않았으나($94.5 \pm 3.87 \text{ mmHg}$ 에서 $93.8 \pm 4.32 \text{ mmHg}$), 고지방식군의 이완기 혈압은 유의하게 증가하였다($91.6 \pm 1.29\text{mmHg}$ 에서 $117.6 \pm 4.82\text{mmHg}$, $P < 0.001$)(도 1C).

[0068] 실험예 2: 고지방식이에 의한 MsrA 발현 및 혈청 H_2S 감소

[0069] MsrA 환원효소에 의한 호모시스테인 대사는 H_2S 생성을 유도한다. H_2S 는 혈관을 이완시킴으로써 혈압을 낮추는 효과를 가진다. 이에 MsrA의 발현이 고지방식이에 의해 감소되는지 여부를 확인하기 위해, 장간막 동맥에서 MsrA의 단백질 수준을 측정하였다.

[0070] 그 결과, 고지방식이군에서 MsrA의 발현이 정상식이군의 $21 \pm 11\%$ 에 불과하게 감소된 것을 확인할 수 있었다($P = 0.001$) (도 2A). 또한, 혈청 H_2S 수준도 고지방식이군에서 감소된 것을 확인할 수 있었다($P = 0.037$) (도 2B).

[0072] 실험예 3: 혈관 평활근세포에서 MsrA 유전자 억제에 의한 H_2S 생성 감소

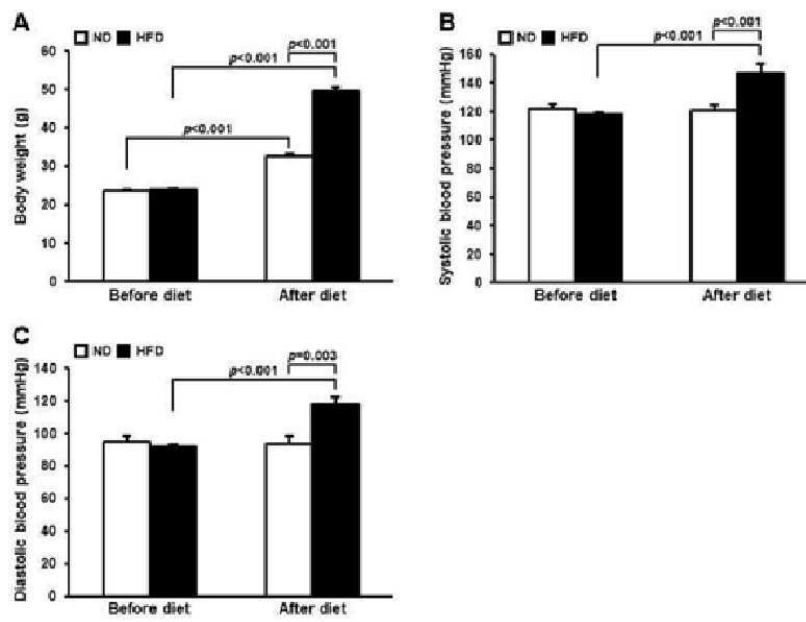
[0073] H_2S 생성에서 MsrA의 역할을 확인하기 위해, 혈관 평활근세포에서 MsrA 발현을 knocked-down 시켰다. 먼저, 유전자 침묵으로 MsrA 단백질 수준이 감소된 것을 확인하였고(대조군의 $36.7 \pm 5.8\%$, $P = 0.004$) (도 3A), H_2S 수준도 하향 조절된 것을 확인하였다(대조군의 $71.1 \pm 1.9\%$, $P = 0.003$) (도 3B).

[0075] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술한 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

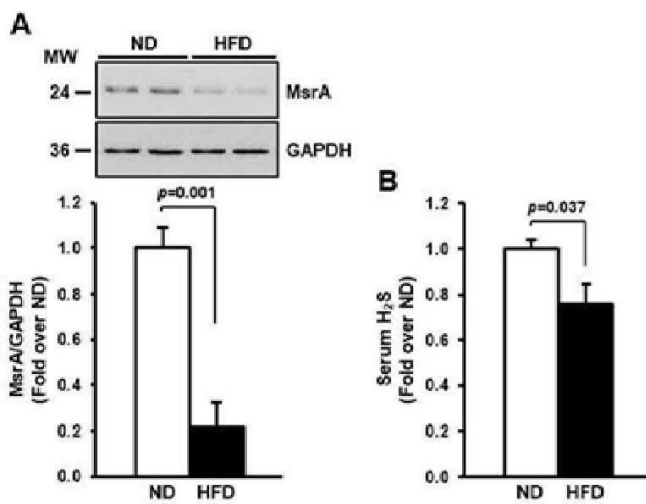
[0076] 본 발명의 범위는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

도면1



도면2



도면3

