



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2013년01월22일
(11) 등록번호 10-1225378
(24) 등록일자 2013년01월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61N 5/10 (2006.01) A61N 5/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-0112926
(22) 출원일자 2010년11월12일
심사청구일자 2010년11월12일
(65) 공개번호 10-2012-0051478
(43) 공개일자 2012년05월22일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020060033911 A
Effects of multiple doses of ionizing radiation on cytokine expression in rat and human cells

(73) 특허권자
한국수력원자력 주식회사
경상북도 경주시 화랑로 125 (성동동)
(72) 발명자
김희선
서울특별시 도봉구 시루봉로 58, 한양아파트 603동 1302호 (쌍문동)
양광희
서울특별시 도봉구 해등로 242-12, 105동 303호 (쌍문동, 현대아파트)
강유미
충청북도 청주시 흥덕구 월평로 23, 주공1단지 111동 1003호 (분평동)
(74) 대리인
남진우, 배철우

전체 청구항 수 : 총 4 항

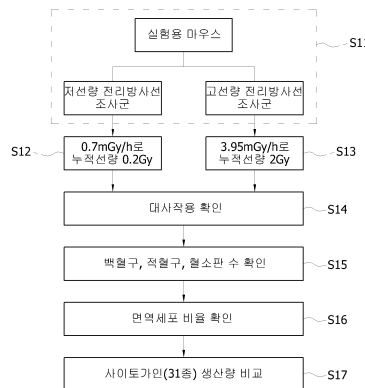
심사관 : 노영철

(54) 발명의 명칭 전리방사선을 이용한 마우스의 사이토카인 조절방법

(57) 요약

본 발명은 전리방사선을 이용한 마우스의 사이토카인 조절방법에 관한 것으로, a) 실험용 마우스를 저선량 전리방사선 조사군과 고선량 전리방사선 조사군으로 분류하는 단계와, b) 상기 저선량 전리방사선 조사군으로 분류된 마우스에 저선량의 전리방사선을 누적선량이 0.2Gy가 되도록 조사하는 단계와, c) 상기 고선량 전리방사선 조사군으로 분류된 마우스에 고선량의 전리방사선을 누적선량이 2Gy가 되도록 조사하는 단계와, d) 상기 각각의 누적선량으로 전리방사선이 조사된 두 군의 마우스의 체중변화 등 대사작용을 확인하여, 전리방사선의 조사에 따른 대사작용의 변화를 확인하는 단계와, e) 상기 두 군의 마우스 각각의 백혈구, 적혈구, 혈소판의 수를 확인하여 전리방사선의 조사에 따른 면역세포의 변화를 확인하는 단계와, f) 상기 두 군의 마우스 각각의 비장세포를 적출하여 면역세포의 비율을 확인하는 단계와, g) 다수 종류의 사이토카인의 생산량을 확인하는 단계를 포함한다. 이와 같은 본 발명은 저선량의 전리방사선을 조사하여 사이토카인의 방출을 조절할 수 있게 되어, 마우스의 면역력을 증강시켜 종양 및 자가면역질환 등의 질병을 다른 부작용 없이 치료할 수 있는 효과가 있다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

- a) 실험용 마우스를 저선량 전리방사선 조사군과 고선량 전리방사선 조사군으로 분류하는 단계;
- b) 상기 저선량 전리방사선 조사군으로 분류된 마우스에 저선량의 전리방사선을 누적선량이 0.2Gy가 되도록 조사하는 단계;
- c) 상기 고선량 전리방사선 조사군으로 분류된 마우스에 고선량의 전리방사선을 누적선량이 2Gy가 되도록 조사하는 단계;
- d) 상기 각각의 누적선량으로 전리방사선이 조사된 두 군의 마우스의 체중변화 등 대사작용을 확인하여, 전리방사선의 조사에 따른 대사작용의 변화를 확인하는 단계;
- e) 상기 두 군의 마우스 각각의 백혈구, 적혈구, 혈소판의 수를 확인하여 전리방사선의 조사에 따른 면역세포의 변화를 확인하는 단계;
- f) 상기 두 군의 마우스 각각의 비장세포를 적출하여 면역세포의 비율을 확인하는 단계; 및
- g) 다수 종류의 사이토카인의 생산량을 확인하는 단계를 포함하는 전리방사선을 이용한 마우스의 사이토카인 조절방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 b) 단계의 저선량의 전리방사선은 0.7mGy/h 이하인 것을 특징으로 하는 전리방사선을 이용한 마우스의 사이토카인 조절방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 g) 단계에서 사이토카인은 IL-3, IL-4, leptin, MCP-1, MCP-5, MIP-1 α , thrombopietin 및 VEGF의 방출이 증가하는 것을 특징으로 하는 전리방사선을 이용한 마우스의 사이토카인 조절방법.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 f) 단계는 CD4-T세포와 CD8-T세포가 증가되는 것을 특징으로 하는 전리방사선을 이용한 마우스의 사이토카인 조절방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 전리방사선을 이용한 마우스의 사이토카인 조절방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 저선량의 전리방사선을 조사하여 사이토카인의 분비를 조절하여, 면역기능을 조절할 수 있는 전리방사선을 이용한 마우스의 사이토카인 조절방법에 관한 것이다.

배경기술

- [0002] 현재까지 실시되고 있는 암치료의 3대요법은 수술, 항암치료, 방사선 치료이며, 이는 암을 물리적으로 축소시키기 위한 노력이다.
- [0003] 그러나 이러한 치료과정에서 암환자는 면역 기능이 억제되어, 스스로 면역 기능에 의해 암을 이겨낼 수 있는 능력은 감소하는 문제점이 있었다.
- [0004] 이러한 암 뿐만 아니라 질병에 대한 인체의 면역력의 증가에 미치는 요인으로 사이토카인(Cytokine)이 알려져 있다. 사이토카인은 신체의 방어체계를 제어하고 자극하는 신호물질인 당단백질이며, 펩타이드 중 하나이다.
- [0005] 상기 사이토카인은 물에 녹는 물질이며, 화학적 신호는 신경전달물질 및 호르몬과 유사한 것으로 알려져 있다. 또한 많은 종류의 세포에서 방출되며 선천성 면역반응 및 적응성 면역반응 모두에서 매우 중요한 역할을 하는 면역체계의 중심역할을 한다.
- [0006] 특히 사이토카인의 중요한 면역기능으로는 인터루킨(Interleukin-1, -6, -12), 인터페론감마(Interferon gamma), 종양괴사인자(tumor necrosis fact)로 알려진 사이토카인 집단에 의해 수행된다.
- [0007] 암의 치료과정에서 중요한 요인으로서 백혈구, 적혈구, 혈소판의 개수 및 비율이 있으며, 이러한 요인들에 영향을 주지않고 면역기능을 활성화하는 것이 암의 치료에 큰 도움이 될 것으로 예상된다.
- [0008] 종래에는 이러한 암 치료의 요인들에 영향을 주지 않으면서, 면역력을 향상시키는 방법에 대해서는 그 기제가 명확하게 밝혀진 것이 없으며, 단지 여러 연구를 통해 저선량 전리방사선의 조사가 암의 치료 및 면역력 향상에 도움이 된다는 연구는 있었으나, 이러한 효과가 발생하는 근원에 대해서는 확실한 연구결과가 없는 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 상기와 같은 문제점을 감안한 본 발명이 해결하고자 하는 과제는, 암의 치료과정에서 백혈구, 적혈구, 혈소판의 개수 및 비율을 변화시키지 않으면서, 사이토카인의 방출을 조절할 수 있는 전리방사선을 이용한 마우스의 사이토카인 조절방법을 제공함에 있다.

과제의 해결 수단

- [0010] 상기와 같은 과제를 해결하기 위한 본 발명 전리방사선을 이용한 마우스의 사이토카인 조절방법은, a) 실험용 마우스를 저선량 전리방사선 조사군과 고선량 전리방사선 조사군으로 분류하는 단계와, b) 상기 저선량 전리방사선 조사군으로 분류된 마우스에 저선량의 전리방사선을 누적선량이 0.2Gy가 되도록 조사하는 단계와, c) 상기 고선량 전리방사선 조사군으로 분류된 마우스에 고선량의 전리방사선을 누적선량이 2Gy가 되도록 조사하는 단계와, d) 상기 각각의 누적선량으로 전리방사선이 조사된 두 군의 마우스의 체중변화 등 대사작용을 확인하여, 전리방사선의 조사에 따른 대사작용의 변화를 확인하는 단계와, e) 상기 두 군의 마우스 각각의 백혈구, 적혈구, 혈소판의 수를 확인하여 전리방사선의 조사에 따른 면역세포의 변화를 확인하는 단계와, f) 상기 두 군의 마우스 각각의 비장세포를 적출하여 면역세포의 비율을 확인하는 단계와, g) 다수 종류의 사이토카인의 생산량을 확인하는 단계를 포함한다.

발명의 효과

- [0011] 본 발명 전리방사선을 이용한 마우스의 사이토카인 조절방법은, 저선량의 전리방사선을 조사하여 사이토카인의 방출을 조절할 수 있게 되어, 면역력을 증강시켜 종양 및 자가면역질환 등의 질병을 다른 부작용 없이 치료할

수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

- [0012] 도 1은 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 전리방사선에 의한 면역 기능의 조절을 평가하는 방법의 순서도이다.
- 도 2는 전리방사선의 조사전과 각각 저선량과 고선량의 전리방사선을 조사한 후 7일 후의 체중 변화를 전리방사선이 조사되지 않은 마우스들의 평균 체중과 비교한 그래프 및 표이다.
- 도 3은 전리방사선이 조사되지 않은 마우스들과, 저선량과 고선량의 전리방사선이 각각 조사된 마우스의 7일 후의 백혈구, 적혈구, 혈소판의 변화를 보인 그래프이다.
- 도 4 내지 도 7은 저선량과 고선량의 전리방사선이 각각 조사된 마우스들과 전리방사선이 조사되지 않은 마우스들의 면역세포비율을 확인한 그래프이다.
- 도 8은 저선량과 고선량의 전리방사선이 각각 조사된 마우스들과 전리방사선이 조사되지 않은 마우스들의 면역세포비율을 확인한결과표이다.
- 도 9는 저선량 전리방사선이 조사된 마우스의 혈장에서 사이토카인의 변화를 측정한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

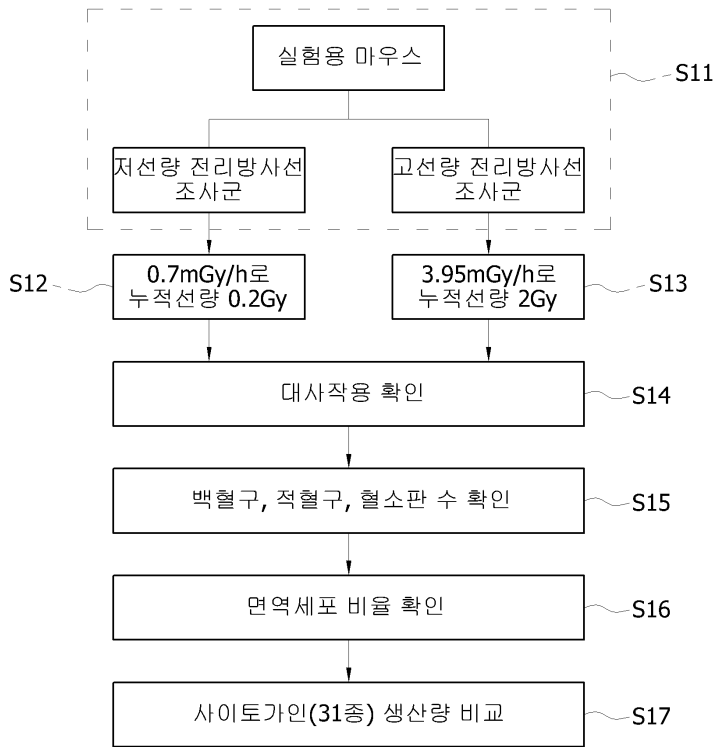
- [0013] 이하, 본 발명 전리방사선을 이용한 마우스의 사이토카인 조절방법의 바람직한 실시예들을 첨부한 도면을 참조하여 상세히 설명한다.
- [0014] 도 1은 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 전리방사선을 이용한 마우스의 사이토카인 조절방법을 평가하는 방법의 순서도이다.
- [0015] 도 1을 참조하면 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 전리방사선을 이용한 마우스의 사이토카인 조절방법의 평가는, 실험용 마우스를 저선량 전리방사선 조사군과 고선량 전리방사선 조사군으로 분류하는 단계(S11)와, 상기 저선량 전리방사선 조사군으로 분류된 마우스에 저선량의 전리방사선을 누적선량이 0.2Gy가 되도록 조사하는 단계(S12)와, 상기 고선량 전리방사선 조사군으로 분류된 마우스에 고선량의 전리방사선을 누적선량이 2Gy가 되도록 조사하는 단계(S13)와, 상기 각각의 누적선량으로 전리방사선이 조사된 두 군의 마우스의 체중변화 등 대사작용을 확인하여, 전리방사선의 조사에 따른 대사작용의 변화를 확인하는 단계(S14)와, 상기 두 군의 마우스 각각의 백혈구, 적혈구, 혈소판의 수를 확인하여 전리방사선의 조사에 따른 면역세포의 변화를 확인하는 단계(S15)와, 상기 두 군의 마우스 각각의 비장세포를 적출하여 면역세포의 비율을 확인하는 단계(S16)와, 다수 종류의 사이토카인의 생산량을 확인하는 단계(S17)를 포함한다.
- [0016] 이하, 상기와 같이 구성되는 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 전리방사선을 이용한 면역 기능 조절방법의 구성과 작용을 보다 상세히 설명한다.
- [0017] 먼저 S11단계와 같이 다수의 실험용 마우스를 저선량 전리방사선 조사군과 고선량 전리방사선 조사군으로 분리한다.
- [0018] 그 다음, S12단계와 S13단계 각각에서는 상기 저선량 전리방사선 조사군과 고선량 전리방사선 조사군으로 나뉜 마우스 각각에 저선량 전리방사선과 고선량 전리방사선을 조사한다.
- [0019] 그 구체적인 방법으로 S12단계에서는 저선량 전리방사선 조사군에 0.7mGy/h로 누적선량이 0.2Gy가 되도록 조사한다. 위의 조건으로 정해진 누적선량을 맞추기 위하여 저선량 전리방사선 조사군에 0.7mGy의 방사선을 11.9일 동안 조사한다.

- [0020] 그리고 S13단계에서는 고선량 전리방사선 조사군으로 분류된 마우스에 3.95mGy로 21일 동안 방사선을 조사하여, 그 고선량 전리방사선 조사군의 누적선량이 2Gy로 상기 저선량 전리방사선 조사군의 마우스에 비하여 10배의 누적선량이 조사되도록 한다.
- [0021] 그 다음, S14단계에서는 상기 0.2Gy의 저선량 전리방사선의 조사된 저선량 전리방사선 조사군의 마우스들과 2Gy의 고선량 전리방사선이 조사된 고선량 전리방사선 조사군의 마우스들의 체중 변화를 조사한다.
- [0022] 도 2는 전리방사선의 조사전과 각각 저선량과 고선량의 전리방사선을 조사한 후 7일 후의 체중 변화를 전리방사선이 조사되지 않은 마우스들의 평균 체중과 비교한 그래프 및 표이다.
- [0023] 도 2를 참조하면 저선량 방사선이 조사되지 않은 마우스들의 평균체중과 저선량과 고선량의 전리방사선이 각각 조사된 마우스들의 평균체중 변화는 오차 범위 내에 있는 것으로, 체중의 변화가 없거나 극히 적은 것을 알 수 있다.
- [0024] 이는 저선량 또는 고선량 전리방사선이 마우스의 신체 대사 작용에 영향을 미치지 않음을 확인할 수 있었다.
- [0025] 그 다음, S15단계에서는 상기 저선량 전리방사선이 조사된 마우스와 전리방사선이 조사되지 않은 마우스의 백혈구, 적혈구, 혈소판의 수를 비교하여 확인하고, 상기 고선량 전리방사선이 조사된 마우스와 전리방사선이 조사되지 않은 마우스의 백혈구, 적혈구, 혈소판의 수를 비교하여 확인한다.
- [0026] 상기 백혈구, 적혈구, 혈소판의 수는 저선량과 고선량의 전리방사선 조사가 마우스의 면역세포 구성을 변화 시키는지의 여부를 알 수 있다.
- [0027] 도 3은 전리방사선이 조사되지 않은 마우스들과, 저선량과 고선량의 전리방사선이 각각 조사된 마우스의 7일 후의 백혈구, 적혈구, 혈소판의 변화를 보인 그래프이다.
- [0028] 백혈구와 혈소판의 경우 전리방사선이 조사된 마우스군의 평균 값이 약간 감소함을 알 수 있다. 이러한 변화역시 정상 범위에 속할 정도로 적은 값에서의 변화이며 전리방사선을 저선량 또는 고선량으로 조사한 경우 백혈구, 적혈구, 혈소판 모두에서 큰 변화는 없는 것으로 확인되었다.
- [0029] 그 다음, S16단계에서는 저선량과 고선량의 전리방사선이 각각 조사된 마우스들과 전리방사선이 조사되지 않은 마우스의 비장 세포를 추출하여 면역세포의 비율을 확인한다.
- [0030] 도 4는 저선량과 고선량의 전리방사선이 각각 조사된 마우스들과 전리방사선이 조사되지 않은 마우스들의 CD4+T 세포비율을 그래프이고, 도 5는 CD8+T세포, 도 6은 B세포, 도 7은 NK세포의 그래프이며, 도 8은 면역세포들의 비율변화를 나타낸 표이다.
- [0031] 도 4 내지 도 8을 참조하면 면역세포 중 저선량 전리방사선이 조사된 마우스에 CD4+T세포와 CD8+T세포의 비율이 증가됨을 알 수 있으며, 고선량 전리방사선이 조사된 마우스들은 전체적인 면역세포의 비가 감소됨을 알 수 있다.
- [0032] 이처럼 저선량의 전리방사선을 조사한 마우스는 면역세포의 비율 증가에 의해 면역력이 향상됨을 알 수 있다. 이러한 면역세포의 비율 증가의 원인은 다음의 말초혈액 내에서 사이토카인의 변화에서 찾을 수 있다.

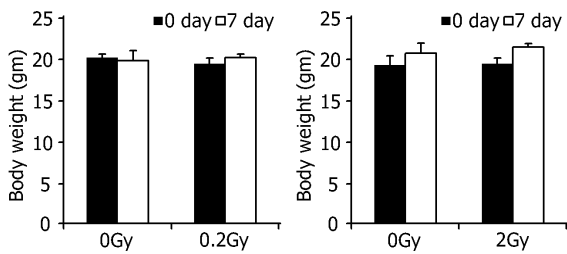
- [0033] S17단계에서는 0.7mGy/h의 저선량의 전리방사선을 11.9일 동안 조사하여, 누적선량이 0.2Gy가 된 마우스들의 혈장을 이용하여 다양한 종류의 사이토카인의 변화를 측정한다. 저선량의 전리방사선은 0.7mGy/h 이하의 선량을 뜻하며 필요에 따라 선택된 선량을 선택하여 누적선량이 0.2Gy가 되도록 조사할 수 있다.
- [0034] 상기 사이토카인의 변화는 면역력에 직접적인 영향을 주는 것이며, 그 변화가 앞서 설명한 CD4+T세포와 CD8+T세포의 증가의 결정적인 요인이 될 수 있다.
- [0035] 도 9는 저선량 전리방사선이 조사된 마우스의 혈장에서 사이토카인의 변화를 측정한 그래프이다.
- [0036] 도 9를 참조하면 조사된 31가지 사이토카인 중에서 IL-3, IL-4, leptin, MCP-1, MCP-5, MIP-1 α , thrombopietin 및 VEGF가 증가되었으며, IL-12p70, IL-13, IL-17 및 INF- γ 가 감소됨을 알 수 있다.
- [0037] 인터루킨3(IL-3)은 T세포와 NK세포에서 분비되며, 혈구의 생성에 작용을 하는 사이토카인이며, 인터루킨4(IL-4)는 Th2, Tc2, NK, NK-T, γ δ -T 및 MC 세포에서 분비되어 Th2세포의 분화를 촉진시키는 역할을 한다.
- [0038] 또한 MCP-1은 염증세포의 침윤에 관계하며, MCP-5는 항체의 생성에 관여하는 것으로 알려져 있다.
- [0039] 이와 함께 염증반응에 관여하는 IL-12p70와 전염증성 사이토카인인 IL-13을 줄여 면역 기능을 향상시킬 수 있게 된다.
- [0040] 이처럼 본 발명은 저선량의 전리방사선을 조사하여 사이토카인을 변화시켜, 면역력을 조절할 수 있게 된다.
- [0041] 이와 같은 면역력의 조절은 암의 치료과정에서 발생하는 면역력의 저하를 방지하여, 암 치료 효과를 높일 수 있게 된다.

도면

도면1

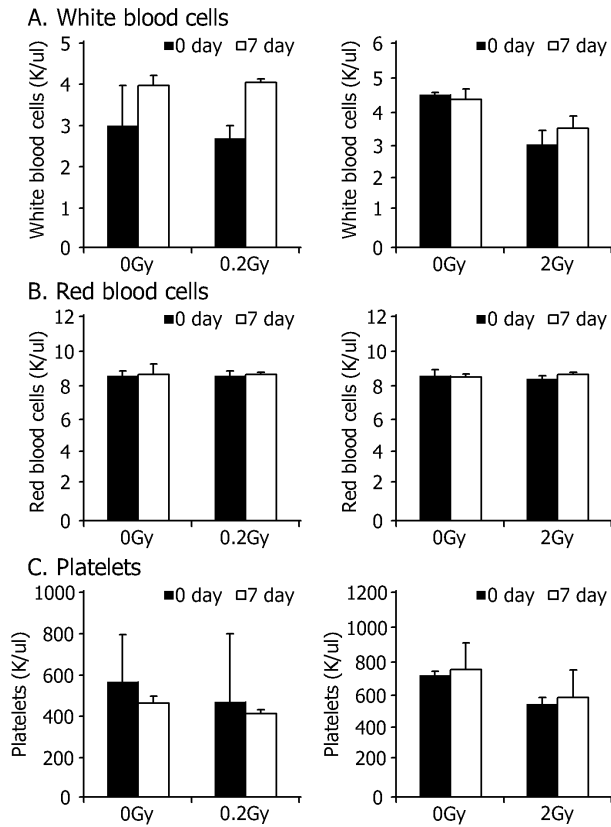


도면2

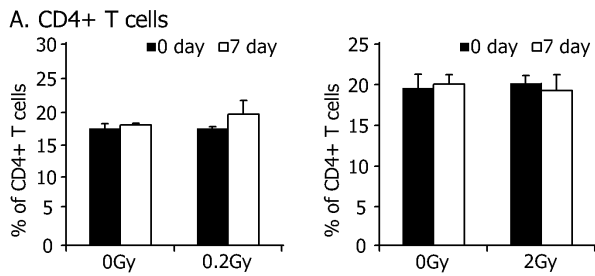


Dose(Gy)	Dose rate (mGy/h)	Days	Body weight(gm)
0.2	0	0	20.0±1.0
	0	7	20.0±1.0
	0.7	0	19.5±0.6
	0.7	7	20.1±0.5
2	0	0	20.6±1.4
	0	7	20.6±1.1
	3.95	0	21.5±0.6
	3.95	7	22.0±0.6

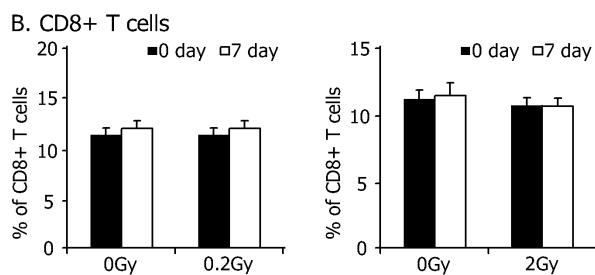
도면3



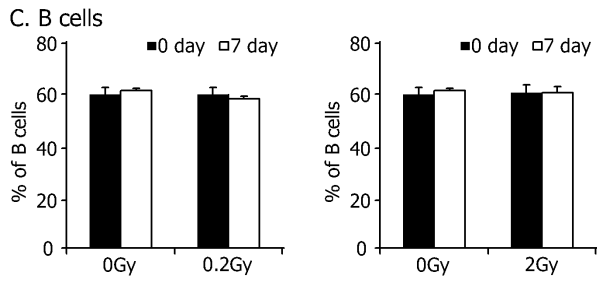
도면4



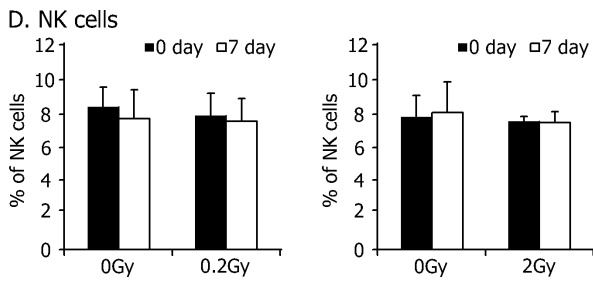
도면5



도면6



도면7



도면8

Dose(Gy)	Dose rate (mGy/h)	Days	CD4+ T cells (%)	CD8+ T cells (%)	B cells (%)	NK cells (%)
0.2	0	0	18.2±1.5	12.0±1.1	61.8±1.9	8.5±0.9
	0	7	18.8±0.7	13.0±1.2	63.2±0.8	7.6±1.6
	0.7	0	18.1±0.4	12.1±0.6	62.1±1.1	7.8±1.4
	0.7	7	20.8±2.4	13.9±1.2	60.2±0.5	7.4±1.3
2	0	0	19.4±2.0	12.1±0.6	60.5±1.1	7.9±0.9
	0	7	19.6±1.9	12.2±1.2	62.4±3.5	8.1±1.5
	3.95	0	20.1±1.2	11.2±0.8	61.4±3.0	7.3±0.4
	3.95	7	19.1±2.8	11.0±0.8**	61.6±2.7	7.4±0.9

도면9

