



- (51) 국제특허분류:
A61K 39/395 (2006.01) A61K 35/12 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01) A61P 15/10 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2012/001621
- (22) 국제출원일: 2012년 3월 5일 (05.03.2012)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2011-0019767 2011년 3월 7일 (07.03.2011) KR
- (71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): 서울대학교 산학협력단 (SNU R&DB FOUNDATION) [KR/KR]; 서울특별시 관악구 신림동 산 56-1, 151-742 Seoul (KR). 인하대학교 산학협력단 (INHA INDUSTRY PARTNERSHIP INSTITUTE) [KR/KR]; 인천광역시 남구 용현동 253, 402-751 Incheon (KR).
- (72) 발명자: 곽
- (75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): 김규원 (KIM, Kyu-Won) [KR/KR]; 서울특별시 송파구 잠실3동 트리지움 아파트 343동 202호, 138-891 Seoul (KR). 안범주 (AHN, Bum Ju) [KR/KR]; 서울특별시 관악구 봉천동 1678-6, 151-050 Seoul (KR). 서준규 (SUH, Jun-Kyu) [KR/KR]; 서울특별시 강남구 대치3동 63우성아파트 3동 803호, 135-280 Seoul (KR). 류지간 (RYU, Ji-Kan)

[KR/KR]; 인천광역시 연수구 연수 2동 우성 1차 아파트 107동 1802호, 406-112 Incheon (KR). 김우진 (KIM, Woo Jean) [KR/KR]; 서울특별시 성북구 길음 1동 래미안 3차 아파트 609동, 136-720 Seoul (KR). 윤국남 (YIN, Guo Nan) [KR/KR]; 인천시 남구 낙섬중로 91번길 16-10 104호(용현동 다사랑원룸), 402-818 Incheon (KR).

(74) 대리인: 특허법인 이룸 (ERUUM PATENT LAW FIRM); 서울특별시 강남구 대치동 1005-8 보성빌딩 5층, 135-851 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, 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, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, 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.

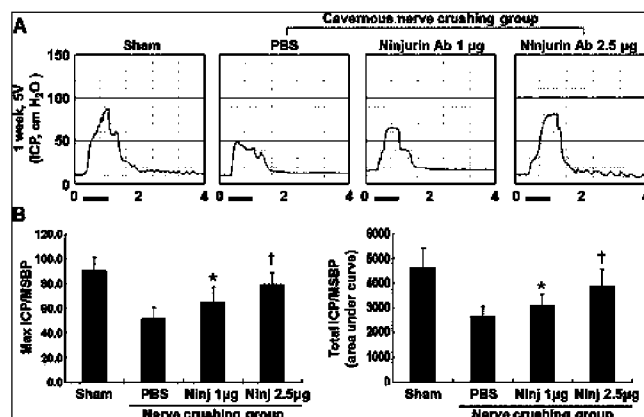
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,

[다음 쪽 계속]

(54) Title: COMPOSITION FOR NERVE-CELL OR ENDOTHELIAL-CELL REGENERATION COMPRISING A NINJURIN ACTION SUPPRESSING AGENT

(54) 발명의 명칭: N I N J U R I N 활성 억제제를 포함하는 신경세포 또는 내피세포 재생용 조성물

[Fig. 2]



(57) Abstract: The present invention relates to a composition for nerve-cell or endothelial-cell regeneration comprising a ninjurin action suppressing agent as an active ingredient. More specifically, provided is a pharmaceutical composition for preventing and/or treating erectile dysfunction comprising a ninjurin action suppressing agent. The ninjurin action suppressing agent of the present invention has a nerve-cell and/or endothelial-cell regeneration action and can be used to prevent and/or treat erectile dysfunction by inducing the growth of nerve-cells and/or endothelial-cells in the penis. Moreover, the present invention can be expected to have a relatively sustained therapeutic effect by fundamentally treating nerves and blood vessel structures which have become abnormal.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]



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, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

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

본 발명은 **ninjurin** 활성 억제제를 유효성분으로 포함하는 신경세포 및/또는 내피세포 재생용 조성물에 관한 것이다. 구체적으로 본 발명은 **ninjurin** 활성 억제제를 포함하는 발기부전 예방 및/또는 치료용 약학적 조성물 등을 제공한다. 본 발명의 **ninjurin** 활성 억제제는 신경세포 및/또는 내피세포재생 활성을 가지며 음경 내의 신경세포 및/또는 혈관내피세포의 성장을 유도함으로써 발기부전의 예방 및/또는 치료에 이용될 수 있다. 나아가, 본 발명은 비정상화된 신경 및 혈관구조를 근본적으로 치료함으로써 보다 더 지속적인 치료효과를 기대할 수 있다.

명세서

발명의 명칭: Ninjurin 활성 억제제를 포함하는 신경세포 또는 내피세포 재생용 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 ninjurin 활성 억제제를 이용한 신경세포 및/또는 내피세포 재생용 조성물에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 ninjurin 활성 억제제를 이용한 발기부전 예방 및/또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] Ninjurin은 1996년 Toshiyuki Araki 등에 의해 처음으로 보고된 것으로, 좌골 신경(sciatic nerve)의 원위부를 절단(transection)하거나 압착(crush)하여 손상을 일으킨 후 신경 섬유초 세포(Schwann cell)에서 발현이 증가하는 유전자(gene)를 찾는 과정에서 발견되었다.
- [3] 연구 결과에 따르면, ninjurin은 말초신경손상 후에 그 발현이 증가하는 것으로 알려져 있고, ninjurin은 신경세포의 증식에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되었다 (T. Araki et al., Neuron, 17:353, 1996; T. Araki et al., J Biol Chem, 272:21373, 1997). 또한 ninjurin을 차단하는 펩티드를 투여하였을 경우에는 ninjurin의 신경세포 증식효과가 없어져서, ninjurin이 신경세포 재생에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 여겨지고 있다 (Araki et al., J Biol Chem, 272:21373, 1997). 상기로부터 ninjurin이 신경세포 손상과 밀접한 관련이 있으며, 신경세포의 생존 또는 증식에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 여겨진다.
- [4] 한편, 발기부전은 남성 성기능 장애의 일종으로써, 남성의 성기가 발기되지 않거나 발기 상태가 지속되지 않아 성행위를 할 수 없는 현상이다. 발기부전의 원인은 크게 심인성 원인과 기질성 원인으로 구별된다. 심인성 발기부전은 심리적, 정신적 영향에 의한 교감신경의 과다한 작용으로 인한 noradrenaline의 과도한 분비, 음경해면체 평활근 긴장도 증가, 신경 전달물질의 분비 억제 등에 기인한다. 또한, 기질성 발기 부전은 그 원인에 따라, 신경인성, 혈관성, 내분비성 발기부전으로 분류된다.
- [5] 상기 신경인성 발기부전은 발기 신경이나 섬유가 손상되어 발기 신경의 말단에서 발기를 위한 아세틸콜린, 일산화질소(NO) 등의 이완성 신경전달물질 등의 분비가 원활하지 않아 생기는 장애로써, 척추손상, 다발경 경화증 등의 중추신경질환, 복부-골반부 등의 말초신경질환 등에 의해 유발될 수 있다.
- [6] 최근 연구는 기질성 원인에 더 비중을 두고 있고, 그 치료방법의 하나로 경구용 발기부전 치료제인 실데나필(sildenafil, 상품명: 비아그라)이 전세계적으로 사용되고 있다. 비아그라는 음경해면체에 특이적으로 분포하는 PDE-5(phosphodiesterase-5)의 저해에 의한 cGMP의 농도를 증가시킴으로써 음경해면체 내 혈류를 증대시켜 발기를 유도하여 발기부전의 치료효과가 있는

것으로 알려져 있다. 그러나 두통, 안면홍조, 소화불량, 및 심장마비 등 여러 가지 부작용이 보고되고 있을 뿐만 아니라, 비아그라와 같은 PDE-5 계열의 약물들은 분자적 수준에서 일시적인 단백질 발현 및 관련인자들을 조절하는 것으로 근본적인 치료라 할 수 없다. 더욱이 전립선암 수술 후 신경손상에 의한 발기부전의 경우 이와 같은 치료제의 효과가 잘 나타나지 않을 뿐만 아니라, 설령 효과가 있다해도 그 효능이 장기간 지속되지 못한다.

- [7] 따라서, 발기부전 음경내의 비정상화된 신경-혈관 구조를 근본적으로 치료하고, 그 효능도 장시간 지속되는 발기부전 치료제의 필요성이 요구되고 있는 실정이다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [8] 본 발명은 음경내의 비정상화된 신경-혈관구조를 근본적으로 치료하여 보다 더 지속적인 효과를 나타내는 발기부전 치료 또는 예방용 조성물, 및 이를 이용하여 발기부전을 치료하는 방법 등을 제공하고자 한다.
- [9] 구체적으로, 본 발명은 ninjurin 활성 억제제를 유효성분으로 포함하는 신경세포 및/또는 내피세포 재생용 약학적 조성물을 제공하고자 한다.
- [10] 또한 본 발명은 상기 ninjurin 활성 억제제를 포함하는 발기부전 예방 및/또는 치료용 약학적 조성물을 제공하고자 한다.
- [11] 또한 본 발명은 ninjurin 활성 억제제를 포함하는 조성물을 개체에 투여하여 신경세포 및/또는 내피세포의 손상으로 유발되는 질환을 예방 및/또는 치료하는 방법을 제공하고자 한다.
- [12] 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.

과제 해결 수단

- [13] 본 발명은 ninjurin 활성 억제제를 유효성분으로 포함하는 신경세포 및/또는 내피세포 재생용 약학적 조성물을 제공한다. 본 발명의 일 구현예로, 상기 ninjurin 활성 억제제는 ninjurin 차단 항체 및 펩티드를 포함한다. 본 발명의 다른 구현예로, 상기 신경세포는 음경신경세포를 포함한다. 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 내피세포는 음경혈관내피세포를 포함한다.
- [14] 또한 본 발명은 ninjurin 활성 억제제를 유효성분으로 포함하는 발기부전 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다. 본 발명의 일 구현예로, 상기 ninjurin 활성 억제제는 ninjurin 차단 항체 및 펩티드를 포함한다. 본 발명의 다른 구현예로 상기 조성물은 약제학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 조성물은 음경해면체 내압을 증가시키는 것을 특징으로 한다. 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 조성물은 신경세포 또는 혈관내피세포의 특이적 단백질을 증가시키는 것을 특징으로

한다.

- [15] 또한 본 발명은 ninjurin 활성 억제제를 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 신경세포 또는 내피세포 손상으로 유발되는 질환을 예방 및/또는 치료하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

- [16] 본 발명의 ninjurin 활성 억제제는 말기부전 치료에 효과적이다. 특히 음경의 신경병변과 내피세포 병변을 동시에 구조적으로 개선하는 효과를 나타냄으로써 다양한 원인의 말기부전을 효과적이고 근본적으로 치료할 수 있다.
- [17] 또한, 본 발명의 ninjurin 활성 억제제를 이용한 말기부전 치료제는 비아그라와 같은 종래의 PDE-5 계열의 약물들처럼 분자적 수준에서 일시적인 단백질 발현 및 관련인자들을 조절하는 것이 아니라, 음경내의 비정상화된 신경-혈관구조를 근본적으로 치료하기 때문에 효과도 훨씬 오래 지속된다는 장점을 가진다.

도면의 간단한 설명

- [18] 도 1은 마우스에서 음경신경손상 후 시기별로 ninjurin 단백질의 발현변화를 조사한 전기영동 결과이다.
- [19] 도 2는 ninjurin 차단 항체 투여군과 대조군간의 전기 자극에 따른 발기력을 측정한 것이다.
- [20] 도 3은 신경세포 특이적 단백질인 Neurofilament 발현 정도를 통하여 ninjurin 차단 항체 처리에 의한 발기력 증가를 나타낸 것이다.
- [21] 도 4는 혈관내피세포 특이적 단백질인 PECAM-1 발현 정도를 통하여 ninjurin 차단 항체 처리에 의한 발기력 증가를 나타낸 것이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [22] Ninjurin의 역할과 관련된 기존 연구결과에 따르면, ninjurin은 신경세포 손상과 밀접한 관련이 있고, 신경세포의 생존 또는 증식에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 하지만 본 발명자들은 기존 연구와는 반대로 음경신경손상 마우스의 음경에서 ninjurin의 차단이 신경세포뿐만 아니라 혈관내피세포 증식을 유발한다는 사실을 새로이 밝히고, 이에 기초하여 본 발명을 완성하게 되었다.
- [23] 이에, 본 발명은 ninjurin 활성 억제제를 유효성분으로 포함하는 신경세포 및/또는 내피세포 재생용 조성물을 제공한다.
- [24] 본 발명자들은 전립선암 수술 후 흔히 발생하는 음경신경손상에 기인한 말기부전을 치료하는 방법을 개발하고자 노력하였다. 그 결과, 본 발명자들은 ninjurin 활성 억제제를 음경신경손상 동물에 투여하였을 경우, 비정상화된 신경 및 혈관구조를 개선, 회복, 또는 치료하는 효과를 나타냄을 발견하였다. 즉, 음경신경 손상 후 ninjurin의 발현이 증가함을 발견하였고, ninjurin 활성 억제제가 음경의 비정상적인 신경, 혈관구조를 개선 또는 회복시키는 효과를 가진다는 사실을 최초로 발견하고, 이를 기반으로 음경신경손상 마우스에서 말기부전을 치료하는 효능을 검증하였다.

- [25] 이에, 본 발명은 ninjurin 활성 억제제를 유효성분으로 포함하는 발기부전 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [26] 상기 본 발명의 ninjurin 활성 억제제는 ninjurin 차단 항체 및 펩티드를 포함한다. 상기 본 발명의 조성물은 ninjurin 활성 억제제 외에도, 기존 치료 활성 성분, 기타 보조제, 약제학적으로 허용가능한 담체 등의 성분을 추가로 포함할 수 있다. 상기 약제학적으로 허용가능한 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로스 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 및 에탄올 등을 포함한다.
- [27] 본 발명의 조성물은 음경의 신경세포 및 내피세포재생을 촉진하여 부작용 없이 음경내의 비정상화된 신경 및 혈관구조를 근본적으로 치료하는 활성을 나타낸다. 본 발명의 조성물의 투여에 의하여 신경세포 및 내피세포의 재생이 촉진되면서, 다양한 질환을 효과적으로 지연, 호전, 예방할 수 있다. 특히, 본 발명의 조성물은 다양한 원인에 의한 발기부전, 특히 전립선암 수술과 같은 복부-골반부 암수술후 발생하는 발기신경손상에 기인하는 발기부전 환자에게 효과적이다.
- [28] 이에, 본 발명은 신경세포 또는 내피세포 손상으로 유발되는 질환을 예방 및/또는 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 약제학적 유효량의 ninjurin 활성 억제제를 포함하는 약학적 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함한다. 상기 조성물은 신경세포 또는 내피세포 손상에 의해 유발되는 다양한 질환의 예방 및 치료에 특별한 제한 없이 사용가능하다. 본 발명의 조성물로 예방 및 치료가 가능한 질환은 발기부전을 포함하며, 전립선암 수술 후 발생하는 발기 부전이 대표적인 예가 될 수 있다.
- [29] 본 발명에서 "개체"란 질병의 치료를 필요로 하는 대상을 의미하고, 보다 구체적으로는 인간 또는 비-인간인 영장류, 생쥐 (mouse), 쥐 (rat), 개, 고양이, 말 및 소 등의 포유류를 의미한다. 또한 본 발명에서 "약제학적 유효량"은 투여되는 질환 종류 및 중증도, 환자의 연령 및 성별, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정되며 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최대 효과를 얻을 수 있는 양으로, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [30] 본 발명의 조성물은 목적 조직에 도달할 수 있는 한 투여방법에는 제한이 없다. 예를 들면, 경구 투여, 동맥 주사, 정맥 주사, 경피 주사, 비강 내 투여, 경기관지 투여 또는 근육 내 투여 등이 포함된다. 일일 투여량은 약 0.0001 내지 100mg/kg이고, 바람직하게는 0.001 내지 10mg/kg이며, 하루 일회 내지 수회 나누어 투여하는 것이 바람직하다.
- [31] 본 발명의 일 실시예에서는 음경신경손상과 ninjurin 발현과의 관련성을 알아보기 위해, 생후 12주된 마우스의 손상된 음경조직에서 ninjurin 단백질 발현 정도를 확인하였다. 그 결과 음경신경손상 유발 후 음경 발기 조직에서 ninjurin 단백질 발현이 현저하게 증가됨을 확인하였다(도 1 참조).

[32] 또한 본 발명의 다른 실시예에서는 ninjurin 차단 항체가 발기부전에 미치는 영향을 알아보기 위해, 생후 12주된 마우스의 손상된 음경신경을 다양한 군으로 나누어 발기력을 측정하고, 신경세포 또는 혈관내피세포 특이적 단백질을 이용하여 신경세포 또는 혈관내피세포의 발현변화를 확인하였다. 그 결과, ninjurin 차단 항체를 투여한 군에서 발기력 개선효과를 보였으며(도 2 참조), ninjurin 차단 항체를 투여한 군에서 신경세포 특이적 단백질 및 혈관내피세포 특이적 단백질의 발현이 증가함을 관찰하였다(도 3 및 도 4 참조). 상기 결과는, ninjurin 차단 항체가 음경의 비정상적인 신경, 혈관구조를 개선 또는 회복시켜서, 이를 기반으로 음경신경손상에 인한 발기부전을 치료할 수 있음을 시사한다.

[33]

[34] 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.

[35]

[36] [실시예]

[37]

[38] 실시예 1. 음경신경손상 모델의 음경조직에서 ninjurin 단백질의 발현 변화

[39]

[40] 생후 12주된 마우스 (C57BL/6J)를 사용하였고, ketamine (100 mg/kg)과 xylazine (5 mg/kg) 근육 주사로 마취를 하였다. 하복부 정중절개 후 전립선에 접근하였고, 전립선을 조심스럽게 박리한 후 전립선의 양측 후외측에 위치하고 있는 음경신경에 도달하였다. 양측 음경신경을 1 mm 길이로 절제해서 신경손상을 가한 후에 피부절개 부위를 봉합하였다. 신경손상 후 각각 1일, 3일, 7일, 14일, 28일 째 음경조직을 채취하였다. 채취한 음경조직에서 단백질을 순수분리 후 전기영동을 하였고, ninjurin 차단 항체를 이용해서 각 군에서 ninjurin 단백질의 발현 정도를 평가하였으며, 그 결과를 도 1에 나타내었다.

[41] 도 1에 나타난 바와 같이, 음경신경손상 유발 후 1일, 3일, 7일째 음경 발기조직에서 ninjurin의 발현이 정상 대조군 또는 Sham 수술군에 비해서 현저하게 증가하였고, 음경신경 손상 후 14일, 28일째에는 정상 수준으로 회복되었다.

[42]

[43] 실시예 2. Ninjurin 차단 항체의 발기부전 치료 효과

[44]

[45] 생후 12주된 마우스 (C57BL/6J)를 사용하였고, ketamine (100 mg/kg)과 xylazine (5 mg/kg) 근육 주사로 마취를 하였다. 하복부 정중절개 후 전립선에 접근하였고, 전립선을 조심스럽게 박리한 후 전립선의 양측 후외측에 위치하고 있는 음경신경에 도달하였다. 양측 음경신경을 혈관검자 (Karl Stortz, 독일)로 약 1분간 압착 손상을 가한 후에 피부절개 부위를 봉합하였다. 총 4 개의 군으로

나누어 실험을 진행하였다 (N = 4/군, 1군 - Sham 수술군; 2군 - 음경신경손상 + PBS (Phosphated buffered saline) 투여군; 3군 - 음경신경손상 + ninjurin 차단 항체투여군[1 μ g/20 μ l]; 4군 - 음경신경손상 + ninjurin 차단 항체 투여군 [2.5 μ g/20 μ l]). PBS 및 ninjurin 차단 항체를 음경신경손상 직후 음경해면체 내에 투여하였고, 1주째에 음경해면체신경자극 후 발기력을 측정하였다. 음경해면체 조직에서 신경필라멘트(Neurofilament), 혈소판-내피세포 부착물질-1(platelet/endothelial cell adhesion molecule-1, PECAM-1)에 대한 면역조직화학염색을 시행하여 신경세포 및 혈관내피세포의 발현변화를 조사하였다.

- [46] 그 결과, ninjurin 차단 항체 투여군 중에서 2.5 μ g 농도에서 가장 높은 발기력 개선효과를 보였고, 정상 대조군의 약 80-85% 정도까지 발기력이 회복되었다. 음경신경손상 후 음경에서 신경세포 및 혈관내피세포의 발현이 Sham 수술군에 비해서 현저하게 감소되었고, ninjurin 차단 항체 투여 후 신경세포 및 혈관내피세포의 양이 거의 정상 수준으로 현저하게 회복되었다.

[47]

- [48] 이하에서 보다 자세하게 설명하고자 한다.

[49]

[50] (1) 전기 자극에 따른 발기력 분석

- [51] 발기력측정에 관한 실험방법은, 준비된 마우스의 하복부에서 좌측표피부분을 개복하고, 전립선의 후외측에 위치한 음경해면체신경 (음경신경)이 잘 보이도록 준비하였다. 음경신경의 전기자극을 위해서 백금전극을 음경신경에 위치시킨 후, 5볼트 12 헤르츠 강도로 약 1분 동안 전기자극을 가하였다. 전기자극을 가하게 되면, 음경은 발기를 하게 되고, 이 때 음경에 삽입된 카테터를 통해서 발기시 음경내부의 압력 (음경해면체 내압)을 압력측정장치를 통해서 측정하였고, 그 결과를 도 2에 나타내었다. 측정된 압력 수치는 음경 발기력을 반영하게 된다.

- [52] 도 2에서 ICP (Intracavernous Pressure) 는 발기시 음경내부의 압력 (음경해면체내압)을 말하며 일반적으로 발기력을 나타내는 지표이다. 또한, MSBP (Mean Systolic Blood Pressure) 는 평균수축기혈압을 나타낸다. 일반적으로 발기력을 표현할 때는 최고 음경해면체내압 (Maximal ICP) 또는 음경해면체내압 곡선의 면적 (Total ICP [area under the curve])을 평균수축기혈압 (MSBP)으로 나눈 값으로 나타내게 되는데 이는 혈압자체가 음경해면체내압에 영향을 줄 수 있기 때문이다.

- [53] 도 2에 나타난 바와 같이, ninjurin 차단 항체 1 μ g, 2.5 μ g 농도에서 PBS 주입군 보다 훨씬 높은 발기력을 보였고, 2.5 μ g 농도에서 1 μ g 에 비해서 더 나은 발기력 개선효과를 보였다. 음경발기에 대한 두 가지 변수, 즉 최고 음경해면체 내압과 음경압력곡선의 면적이 ninjurin 차단 항체 투여 후 현저한 상승을 보였다.

[54]

- [55] (2) 신경세포, 혈관내피세포 특이적 단백질인 **Neurofilament, PECAM-1** 발현 분석
- [56] 음경 발기는 일종의 신경-혈관반응이다. 따라서 정상적인 발기력을 위해서는 음경신경 및 혈관의 정상적인 활동이 필수적이다. 신경 및 혈관의 비정상적인 구조나 활동력은 발기력을 감소시키는 원인이 된다. 이에 본 발명자들은 음경신경손상 후 음경 발기조직 내 신경 및 혈관의 구조적 변화를 조사하고자 신경세포에 특이적 단백질인 신경필라멘트(Neurofilament)와 혈관내피세포에 특이적 단백질인 PECAM-1 (platelet/endothelial cell adhesion molecule-1)의 발현을 확인해 보았다.
- [57] 신경필라멘트, PECAM-1 발현 분석을 위해 준비된 슬라이드 상의 조직을 3.7% 파라포름알데하이드에서 약 5분간 고정시켰다. 고정된 음경조직절편들을 세척 버퍼 (2% FBS + 0.1% Sodium Azide in PBS)에 3회 세척한 후에 첫 번째 항체 (anti-Neurofilament, anti-PECAM-1)를 1:100 비율로 4°C에서 16시간 동안 반응시켰다. 그 후 남아 있는 항체를 제거하기 위해서 세척버퍼로 다시 3회 세척한 다음, 신경필라멘트, PECAM-1에 특이적으로 반응한 항체를 형광으로 확인할 수 있도록 제작된 두 번째 항체 (FITC-labeled anti-mouse or TRITC-labeled anti-hamster antibody)를 1:100 비율로 상온에서 1시간동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후, 남아있는 항체를 제거하기 위해 세척 버퍼로 다시 3회 세척한 후에 형광현미경이나 형광물질을 확인할 수 있는 컨포칼 현미경으로 발현 정도를 분석하였고, 그 결과를 도 3 및 도 4에 나타내었다. 이때 세포의 핵을 염색하기 위하여 DAPI(4',6-diamidino-2-phenylindole)를 사용하였으며, 이는 음경 신경세포 및 혈관내피세포의 재생을 좀 더 객관적으로 보여주기 위함이다.
- [58] 도 3에 나타난 바와 같이, 음경신경손상 마우스의 음경에서 Sham 수술 마우스에 비해 신경세포의 수가 현저하게 감소되어 있음을 알 수 있다. Ninjurin 차단 항체를 투여한 군에서 신경세포 특이적 단백질의 발현이 증가하였음을 알 수 있고, 이는 ninjurin 차단 항체가 음경신경세포재생을 유도함으로써 발기력을 회복시키는 것을 증명하는 결과이다.
- [59] 또한 도 4에 나타난 바와 같이, 음경신경손상 마우스의 음경에서 Sham 수술 마우스에 비해 혈관내피세포의 수가 현저하게 감소되어 있음을 알 수 있고, 이는 음경신경손상은 신경세포뿐만 아니라 음경혈관내피세포 손상도 유발한다는 것을 증명하는 결과이다. 즉, ninjurin 차단 항체를 투여한 군에서 혈관내피세포 특이적 단백질의 발현이 증가되며, 이는 혈관내피세포의 감소가 ninjurin 차단 항체의 주입으로 다시 정상 수준으로 회복하였음을 의미한다.
- [60] 상기 결과는 전립선암 수술 후 음경신경손상으로 인한 발기부전은 음경신경 및 혈관내피세포의 손상과 밀접한 관계가 있음을 시사한다.
- [61]
- [62] 전술한 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 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

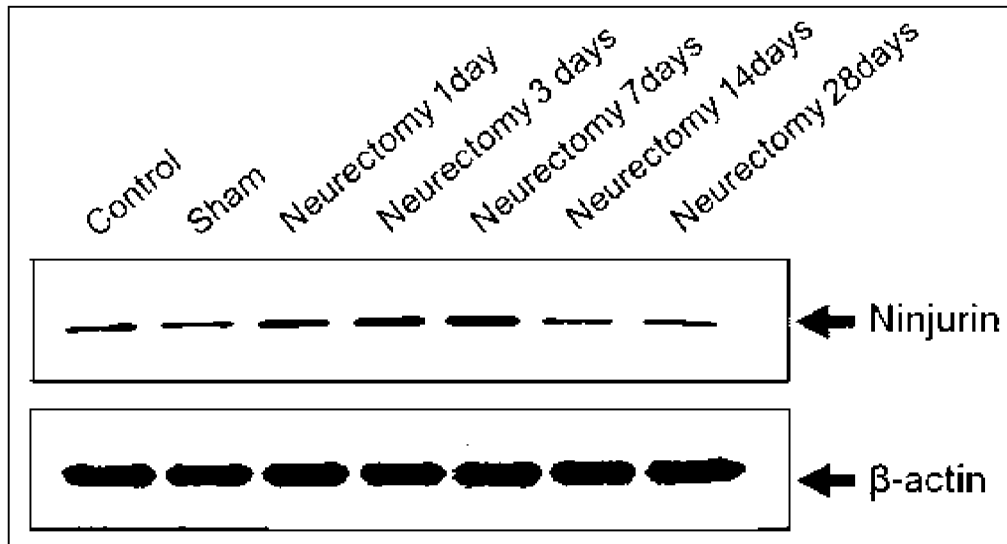
산업상 이용가능성

- [63] 본 발명은 음경내의 비정상화된 신경-혈관구조를 근본적으로 치료하여 보다 더 지속적인 효과를 나타내는 발기부전 치료 또는 예방용 조성물, 및 이를 이용하여 발기부전을 치료하는 방법의 가능성을 제시한다.

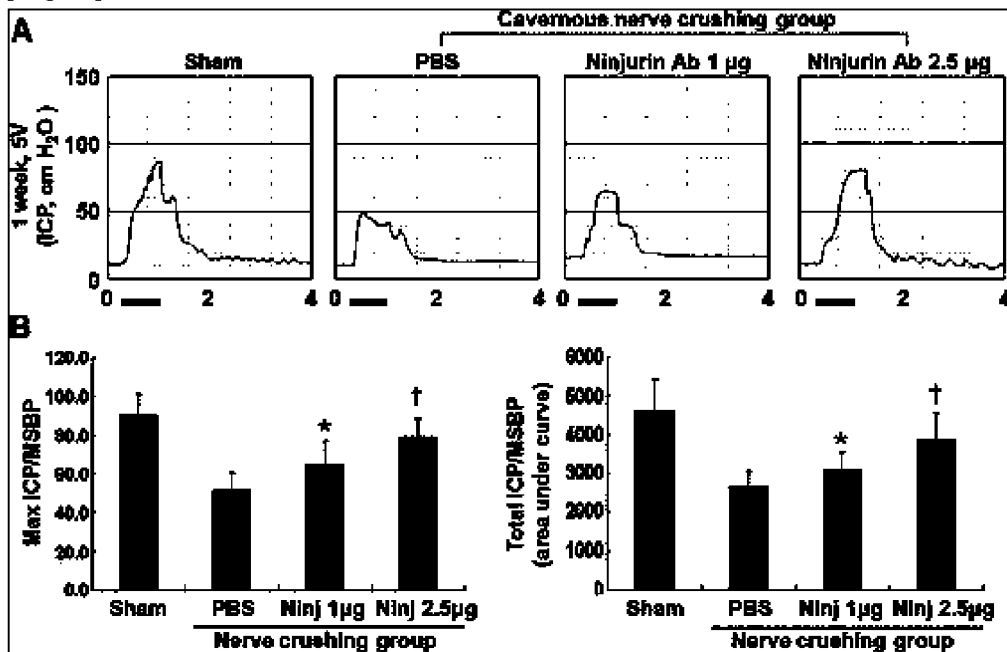
청구범위

- [청구항 1] Ninjurin 활성 억제제를 유효성분으로 포함하는 신경세포 또는 내피세포 재생용 약학적 조성물.
- [청구항 2] 제 1 항에 있어서,
상기 ninjurin 활성 억제제는 ninjurin 차단 항체인, 조성물.
- [청구항 3] 제 1 항에 있어서,
상기 신경세포는 음경신경세포인, 조성물.
- [청구항 4] 제 1 항에 있어서,
상기 내피세포는 음경혈관내피세포인, 조성물.
- [청구항 5] Ninjurin 활성 억제제를 유효성분으로 포함하는 발기부전 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 6] 제 5 항에 있어서,
상기 ninjurin 활성 억제제는 ninjurin 차단 항체인, 조성물.
- [청구항 7] 제 5 항에 있어서,
상기 조성물은 약제학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함하는, 조성물.
- [청구항 8] 제 5 항에 있어서,
상기 조성물은 음경해면체 내압을 증가시키는 것을 특징으로 하는, 조성물.
- [청구항 9] 제 5 항에 있어서,
상기 조성물은 신경세포 또는 혈관내피세포의 특이적 단백질을 증가시키는 것을 특징으로 하는, 조성물.
- [청구항 10] 제 9 항에 있어서,
상기 신경세포 특이적 단백질은 신경필라멘트 (Neurofilament)인, 조성물.
- [청구항 11] 제 9 항에 있어서,
상기 혈관내피세포의 특이적 단백질은 혈소판-내피세포 부착물질-1 (PECAM-1)인, 조성물.
- [청구항 12] 약제학적으로 유효한 양의 ninjurin 활성 억제제를 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 신경세포 또는 내피세포 손상으로 유발되는 질환을 예방 또는 치료하는 방법.
- [청구항 13] 제 12 항에 있어서,
상기 질환은 발기부전인, 방법.
- [청구항 14] 제 13 항에 있어서,
상기 발기부전은 전립선암 수술 후 발생하는 발기신경손상에 의한 것인, 방법.

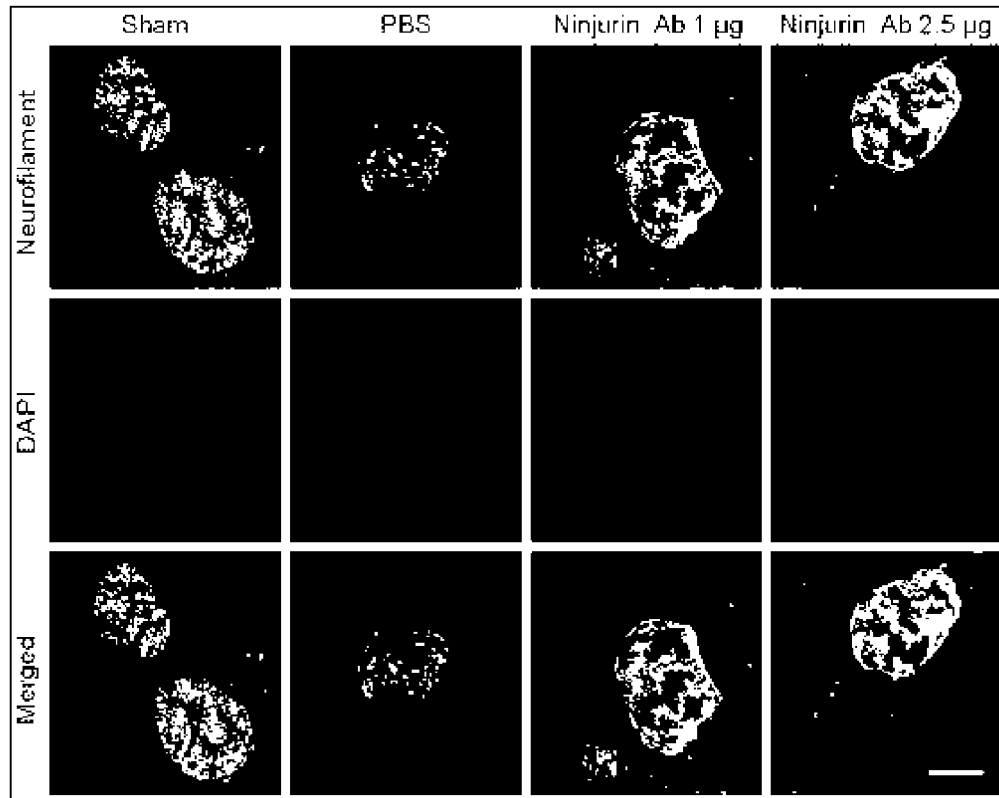
[Fig. 1]



[Fig. 2]



[Fig. 3]



[Fig. 4]

