



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0029567
(43) 공개일자 2018년03월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 33/00 (2006.01) A23L 29/00 (2016.01)
A23L 33/10 (2016.01) A61K 33/24 (2006.01)
A61K 33/44 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 33/00 (2013.01)
A23L 29/015 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2016-0117787

(22) 출원일자 2016년09월13일

심사청구일자 2017년08월31일

(71) 출원인

울산대학교 산학협력단

울산광역시 남구 대학로 93(무거동)

(72) 발명자

정현택

울산광역시 울주군 범서읍 장검길 88, 109동 180
1호 (울산 문수산 더샵)

조연수

울산광역시 울주군 언양읍 북문11길 9, 107동
1301호 (신울산 경남아너스빌)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인태백

전체 청구항 수 : 총 6 항

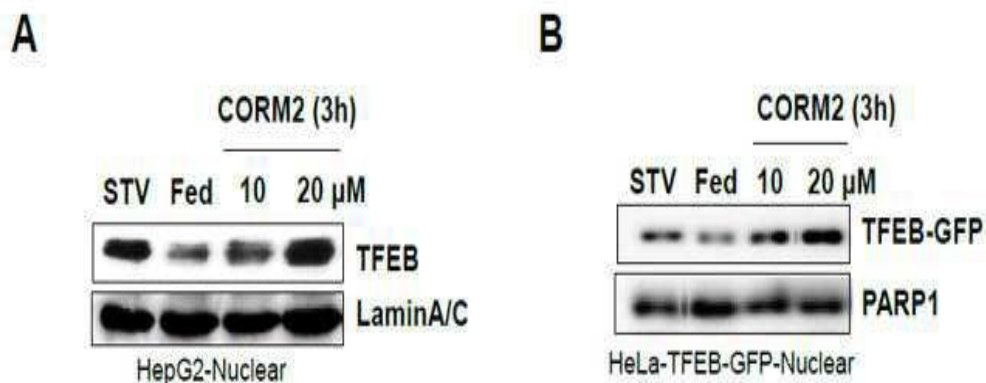
(54) 발명의 명칭 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 미토콘드리아 기능 개선용 조성물

(57) 요약

본 발명의 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체는 PERK 신호전달을 활성화 시켜 칼슘(Ca^{2+}) 분비를 증가시킴으로써 전사조절 인자인 TFEB(transcription factor EB)를 활성화 시킬 수 있다. 이는 TFEB의 핵 내 이동(translocation)을 가능하게 함으로써 미토콘드리아 생성의 주요 조절인자인 PGC1- α 의 발현 증가시키고 리소좀 또는 미토콘드리아의 기능을 향상시킬 수 있다. 또한, 미토콘드리아 막 구성요소인 TOM20을 감소시키고, 손상된 미토콘드리아 제거에 필수적인 마이토파지 과정에 관여하는 PINK1, parkin 및 LC3의 발현을 증가시킬 수 있다.

따라서, 상기와 같은 효과를 갖는 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 본 발명의 조성물은 미토콘드리아 기능 개선용 약학 조성물 또는 미토콘드리아 기능 개선용 건강식품 조성물로 활용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23L 33/10 (2016.08)

A61K 33/24 (2013.01)

A61K 33/44 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/322 (2013.01)

(72) 발명자

김효정

울산광역시 울주군 범서읍 대리로 15-12, 107동
303호 (호반베르디움)

김슬기

울산광역시 중구 반구정15길 8, 102동 501호 (반구
동, 울산신동아파밀리에)

박세웅

울산광역시 중구 내항15길 5, 302호 (반구동, 대산
빌라)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2016-0657

부처명 미래부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 바이오의료기술개발사업

연구과제명 바이오활성가스를 이용한 염증성 대사질환제어 원천기술 개발(3)

기 여 율 1/1

주관기관 울산대학교

연구기간 2016.09.01 ~ 2017.08.31

명세서

청구범위

청구항 1

일산화탄소 또는 RuCO(Ruthenium Carbon Monoxide), CORM-1($\text{Mn}_2\text{CO}_{10}$; manganese decacarbonyl), CORM-2($\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}_2$; tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer), CORM-3($\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}(\text{glycinate})$; tricarbonylchloro(glycinate)ruthenium(II)) 및 CORM-A1($\text{Na}_2(\text{H}_3\text{BCO}_2)$; sodium boranocarbonate)으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 미토콘드리아 기능 개선용 약학 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 일산화탄소는 헴 옥시게나제-1(heme oxygenase-1, HO-1)에 의해 발생하는 것을 특징으로 하는 미토콘드리아 기능 개선용 약학 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체는 PERK 신호전달 경로를 통해 칼슘(Ca^{2+}) 분비를 증가시키고, 전사조절 인자인 TFEB(transcription factor EB)를 활성화 시키는 것을 특징으로 하는 미토콘드리아 기능 개선용 약학 조성물.

청구항 4

제 3항에 있어서, 상기 TFEB의 활성화는 TFEB를 핵 내로 이동(translocation) 시켜 미토콘드리아 생성의 주요 조절인자인 PGC1- α 의 발현을 증가시키는 것을 특징으로 하는 미토콘드리아 기능 개선용 약학 조성물.

청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체는 미토콘드리아 막 구성요소인 TOM20 (translocase of outer mitochondrial membranes 20)을 감소시키고, 마이토파지 과정에 관여하는 PINK1(PTEN-induced putative kinase 1), parkin 및 LC3의 발현을 증가시키는 것을 특징으로 하는 미토콘드리아 기능 개선용 약학 조성물.

청구항 6

일산화탄소 또는 RuCO(Ruthenium Carbon Monoxide), CORM-1($\text{Mn}_2\text{CO}_{10}$; manganese decacarbonyl), CORM-2($\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}_2$; tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer), CORM-3($\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}(\text{glycinate})$; tricarbonylchloro(glycinate)ruthenium(II)) 및 CORM-A1($\text{Na}_2(\text{H}_3\text{BCO}_2)$; sodium boranocarbonate)으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 미토콘드리아 기능 개선용 건강식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 미토콘드리아 기능 개선용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 세포 내에는 다양한 소기관이 존재한다. 소포체(ER), 골지체(Golgi body), 미토콘드리아, 리소좀(lysosome) 등의 소기관은 서로의 신호 전달을 통하여 세포의 기능을 유지한다. 이런 소기관들 사이의 신호전달을 세포 내 소

기관 통신(inter organelle communication, IOC)이라고 부른다.

- [0003] 세포 소기관 중 하나로 ‘세포의 발전소’로 알려져 있는 미토콘드리아는 세포에서 ATP를 생성할 뿐만 아니라 세포사멸(apoptosis), 이온 항상성(ion homeostasis), 당 및 지방 대사(intermediary metabolism) 등 세포 호흡 및 세포 내 에너지 생산, 생명 유지에 필수적인 기능을 수행한다. 하지만 노화가 진행될수록 미토콘드리아의 기능이 떨어지게 되므로, 손상된 미토콘드리아 또는 수명이 다한 미토콘드리아의 제거는 세포의 효율적인 기능을 위해 필요한 과정이다.
- [0004] 마이토파지(mitophagy)는 세포 내 에너지를 생산하는 소기관인 미토콘드리아가 손상되었거나 수명이 다한 경우, 이를 선택적으로 제거하는 세포 자가 포식 작용을 일컫는다. 마이토파지 과정에서 미토콘드리아가 세포 내 기관인 리소좀과 융합되면서 강한 산성 환경에 노출되면 미토콘드리아가 제거되는데 이러한 과정은 건강한 미토콘드리아를 생성하고 유지하는데 중요한 역할을 한다. 손상된 미토콘드리아와 건강한 미토콘드리아를 구분하는데 있어서 중요한 분자는 PINK1 단백질이다. PINK1(PTEN-induced putative kinase 1) 단백질은 탈분극(depolarization) 미토콘드리아를 인식하고 Parkin 단백질을 불러 모아 관련된 단백질들을 유비퀴틴화(ubiquitination) 시킴으로써 어댑터 단백질과 LC3 단백질과의 결합을 유도하고 마이토파지 과정을 일으킨다.
- [0005] 마이토파지 기능 결핍 및 미토콘드리아의 기능 부전은 다양한 질환과 연관이 있다. 현재까지, 미토콘드리아의 결함 및 기능 부전은 신경 퇴행성 질환, 파킨슨 질환, 알츠하이머 질환, 헌팅톤(Huntington) 질환 등과 관련되어 있는 것으로 알려져 있다.
- [0006] 인간 적혈구의 수명은 약 120일(생쥐 60일)로 전 적혈구의 약 0.8%가 매일 사라진다. 노후된 적혈구는 비장, 간장 및 골수의 세망내피계세포나 마크로파지에 의해서 제거되는데, 이때 헤모글로빈은 글로빈과 색소 부분인 헴으로 나누어지고 헴은 헴 옥시게나제-1(heme oxygenase-1, HO-1)에 의해 분해된다. 헴 옥시게나제-1은 산화에 의하여 b-형 헴 분자의 α-메소 탄소 가교를 절단하여 동일 물량의 빌리베르딘 IXa, 일산화탄소(CO) 및 유리 철을 생성시킨다. 이후, 빌리베르딘은 빌리베르딘 리덕타제에 의해 빌리루빈(bilirubin)으로 전환되어 담즙으로 배설되고, 유리 철은 페리틴(ferritin) 내로 격리된다는 이론이 1940년에 확립되었다.
- [0007] 헴은 붉은 색, 빌리베르딘은 녹색, 빌리루빈은 노란색을 띠고 있어 타박상으로부터 생기는 멍이 처음에는 붉은 색을 띠다가 점점 푸른색, 담황색으로 변하는 것을 관찰할 수 있다. 이는 헴의 분해로 인해 색이 변화됨으로써 나타나는 현상이다.
- [0008] 헴 옥시게나제-1에 의해 발생하는 일산화탄소는 생체 내에서 중요한 신호 분자로서 밝혀진 바 있으며, 특히, 일산화탄소는 뇌 뉴런의 메신저 분자로서, 시상하부 내의 신경-내분비 조절인자로서 작용한다는 내용이 보고된 바 있다. 또한, 일산화탄소는 평활근 이완제로 작용하고, 혈소판 응집을 억제하는 활성이 있으며, 저농도의 일산화탄소 흡입은 항산화 및 항염증에 효과가 있는 것이 보고된 바 있다. 또한, 최근에는 당 혹은 지방대사에 중요한 역할을 한다고 알려져 있으나, 아직까지 정확한 기전은 밝혀진 바 없다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0009] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제 10-0758712호 (2007. 09. 07 등록)

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0010] 본 발명의 목적은 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 미토콘드리아 기능 개선용 약학 조성물을 제공하는 데에 있다.
- [0011] 본 발명의 또 다른 목적은 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 미토콘드리아 기능 개선용 건강식품 조성물을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

- [0012] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 일산화탄소 또는 RuCO(Ruthenium Carbon Monoxide), CORM-1(Mn₂CO₁₀;

manganese decacarbonyl), CORM-2($\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}_2$; tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer), CORM-3($\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}(\text{glycinate})$; tricarbonylchloro(glycinate)ruthenium(II)) 및 CORM-A1($\text{Na}_2(\text{H}_3\text{BCO}_2)$; sodium boranocarbonate)으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 미토콘드리아 기능 개선용 약학 조성물을 제공한다.

[0013] 또한, 본 발명은 일산화탄소 또는 $\text{RuCO}(\text{Ruthenium Carbon Monoxide})$, CORM-1($\text{Mn}_2\text{CO}_{10}$; manganese decacarbonyl), CORM-2($\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}_2$; tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer), CORM-3($\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}(\text{glycinate})$; tricarbonylchloro(glycinate)ruthenium(II)) 및 CORM-A1($\text{Na}_2(\text{H}_3\text{BCO}_2)$; sodium boranocarbonate)으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 미토콘드리아 기능 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0014] 본 발명의 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체는 PERK 신호전달을 활성화 시켜 칼슘(Ca^{2+}) 분비를 증가시킴으로써 전사조절 인자인 TFEB(transcription factor EB)를 활성화 시킬 수 있다. 이는 TFEB의 핵 내 이동(translocation)을 가능하게 함으로써 미토콘드리아 생성의 주요 조절인자인 PGC1- α 의 발현 증가시키고 리소좀 또는 미토콘드리아의 기능을 향상시킬 수 있다. 또한, 미토콘드리아 막 구성요소인 TOM20을 감소시키고, 손상된 미토콘드리아 제거에 필수적인 마이토파지 과정에 관여하는 PINK1, parkin 및 LC3의 발현을 증가시킬 수 있다.

[0015] 따라서, 상기와 같은 효과를 갖는 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 본 발명의 조성물은 미토콘드리아 기능 개선용 약학 조성물 또는 미토콘드리아 기능 개선용 건강식품 조성물로 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 HepG2 세포 또는 HeLa 세포에서 CORM-2에 의한 TFEB의 핵 내 이동을 전기영동법으로 확인한 것이다.

도 2A는 HepG2 세포에서 CORM-2에 의한 TOM20의 발현을 웨스턴 블랏으로 확인한 것이며, 도 2B는 미토콘드리아에서 CORM-2에 의한 PINK1 및 parkin의 발현을 웨스턴 블랏으로 확인한 것이며, 도 2C는 TFEB siRNA를 이용하여 벡터를 제조하고 형질전환 시켜 TFEB 발현을 인위적으로 억제시킨 HepG2 세포에서 CORM-2에 의한 TOM20의 발현을 웨스턴 블랏으로 확인한 것이며, 도 2D 및 도 2E는 TFEB 발현을 인위적으로 억제시킨 HepG2 세포에서 CORM-2에 의한 LC3의 발현을 웨스턴 블랏으로 확인한 것이다.

도 3은 TFEB 발현을 인위적으로 억제시킨 HepG2 세포에서 CORM-2에 의한 PGC1- α 의 발현을 중합효소 연쇄 반응으로 확인한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 본 발명에서 발명자들은 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체가 PERK 신호전달을 활성화 시켜 칼슘(Ca^{2+}) 분비를 증가시킴으로써 TFEB를 활성화 시키고, 핵 내 이동을 가능하게 함으로써 PGC1- α 의 발현 증가를 통한 리소좀 또는 미토콘드리아의 기능을 향상시키는 것을 확인하였으며, 또한, 미토콘드리아 막 구성요소인 TOM20 감소시키고, 마이토파지 과정에 관여하는 PINK1, parkin 및 LC3 발현의 증가를 확인하면서 본 발명을 완성하였다.

[0019] 본 발명에서 사용된 용어 “일산화탄소(CO)”는 액체 형태로 압출된 또는 수용액에 용해된 기체상인 분자 일산화탄소로 정의할 수 있으며, “일산화탄소를 포함하는 조성물”은 이를 필요로 하는 개체에 처리 또는 투여될 수 있는 일산화탄소를 함유하는 기체 또는 액체 조성물을 의미한다.

[0020] 본 발명에서 사용된 용어 “형질전환”은 어떤 생물이 원래는 지니고 있지 않은 외부 유전자를 염색체상에 인위적으로 삽입하거나, 원래 지니고 있는 유전자를 제거하여 그 생물의 유전적 형질 일부를 변화시키는 것이다. 형질전환의 방법은 여러 가지가 있으나 가장 많이 사용되는 방법으로는 지질 매개 유전자 도입(lipid mediated gene transfer), 정자 매개 유전자 도입(sperm mediated gene transfer), 전기천공법(electroporation), 상동성 재조합(homologous recombination), 미세주입법 등이 대표적이다.

- [0021] 본 발명에서 사용된 용어 “벡터(vector)”는 외래 유전자를 숙주세포 내로 안정적으로 운반할 수 있는 운반체로서의 DNA 분자를 말한다. 유용한 벡터가 되기 위해서는 복제될 수 있어야 하며, 숙주세포 내로 유입될 수 있어야 하고, 자신의 존재를 검출할 수 있는 수단을 구비하여야 한다. 상기 벡터에 의하여 특정 유전자에 외래 유전자를 삽입시키거나 특정 유전자 형질발현을 붕괴(knock-out)시킬 수 있다.
- [0023] 본 발명은 일산화탄소 또는 RuCO(Ruthenium Carbon Monoxide), CORM-1(Mn₂CO₁₀; manganese decacarbonyl), CORM-2(Ru(CO)₃Cl₂; tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer), CORM-3(Ru(CO)₃Cl(glycinate); tricarbonylchloro(glycinate)ruthenium(II)) 및 CORM-A1(Na₂(H₃BCO₂); sodium boranocarbonate)으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 미토콘드리아 기능 개선용 약학 조성물을 제공한다.
- [0024] 바람직하게는, 상기 일산화탄소는 헴 옥시게나제-1(heme oxygenase-1, HO-1)에 의해 발생하는 것일 수 있다.
- [0025] 바람직하게는, 상기 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체는 PERK 신호전달 경로를 통해 칼슘(Ca²⁺) 분비를 증가시키고, 전사조절 인자인 TFEB(transcription factor EB)를 활성화시킬 수 있다.
- [0026] 바람직하게는, 상기 TFEB의 활성화는 TFEB를 핵 내로 이동(translocation)시켜 미토콘드리아 생성의 주요 조절 인자인 PGC1-α의 발현을 증가시킬 수 있다.
- [0027] 바람직하게는, 상기 일산화탄소 또는 일산화탄소 공급체는 미토콘드리아 막 구성요소인 TOM20을 감소시키고, 마이토파지 과정에 관여하는 PINK1, parkin 및 LC3의 발현을 증가시킬 수 있다.
- [0029] 본 발명의 조성물이 약학 조성물인 경우, 상기 유효성분 이외에 약제학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있는데, 이러한 약제학적으로 허용되는 담체는 약품 제제 시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘, 미네랄 오일 등을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 상기 약학 조성물은 첨가제 및 보조제로서 충전제, 중량제, 결합제, 윤활제, 습윤제, 붕해제, 감미제, 향미제, 유효제, 현탁제, 방향제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [0030] 상기 약학 조성물은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수용액, 유제, 동결건조제, 좌제 및 멸균 주사용액으로 제형화할 수 있다.
- [0031] 상기 약학 조성물은 증상 정도에 따라 투여 방법이 결정되는데, 정맥내 투여, 동맥내 투여, 복강내 투여, 근육내 투여, 흉골내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 안구내 투여, 직장 내 투여, 국소 투여, 경구 투여 및 흡입을 통해 통상적인 방식으로 투여할 수 있다.
- [0032] 상기 약학 조성물의 유효성분의 유효량은 질환의 예방 또는 치료 요구되는 양을 의미한다. 따라서, 질환의 종류, 질환의 중증도, 조성물에 함유된 유효 성분 및 다른 성분의 종류 및 함량, 제형의 종류 및 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자에 따라 조절될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아님을 명시한다.
- [0034] 본 발명은 일산화탄소 또는 RuCO(Ruthenium Carbon Monoxide), CORM-1(Mn₂CO₁₀; manganese decacarbonyl), CORM-2(Ru(CO)₃Cl₂; tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer), CORM-3(Ru(CO)₃Cl(glycinate); tricarbonylchloro(glycinate)ruthenium(II)) 및 CORM-A1(Na₂(H₃BCO₂); sodium boranocarbonate)으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 일산화탄소 공급체를 유효성분으로 함유하는 미토콘드리아 기능 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.
- [0036] 상기 건강식품 조성물은 분말, 과립, 정제, 캡슐, 시럽 또는 음료의 형태로 제공될 수 있으며, 상기 건강식품

조성물은 상기 유효성분 이외에 다른 식품 또는 식품 첨가물과 함께 사용되고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 그의 사용 목적 예를 들어 예방, 건강 또는 치료적 처치에 따라 적절하게 결정될 수 있다.

[0037] 상기 건강식품 조성물에 함유된 상기 유효성분의 유효용량은 상기 약학 조성물의 유효용량에 준해서 사용할 수 있으나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있으며, 유효성분은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있음은 확실하다.

[0038] 상기 건강식품의 종류에는 특별한 제한이 없고, 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등을 들 수 있다.

[0040] 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.

[0042] **실시예 1 : 일산화탄소 방출분자-2(CO releasing molecule-2, CORM-2)에 의한 전사조절인자 TFEB(transcription factor EB)의 핵 내 이동(nuclear translocation) 촉진**

[0043] 일산화탄소 공급체(CORM-2)에 의한 TFEB의 핵 내 이동을 확인하기 위해, HepG2 세포 또는 HeLa 세포에 CORM-2를 농도 별로 처리하고 배양한 후, 핵을 추출하고 전기영동법을 수행하여 TFEB의 발현을 측정하였다.

[0044] 그 결과, 도 1을 참조하여 보면, 마이토파지 유도에 관여하는 전사조절인자인 TFEB가 CORM-2에 의해 핵 내로의 이동이 증가하는 것을 확인하였다.

[0046] **실시예 2 : CORM-2에 의한 TFEB 활성화 및 마이토파지의 유도**

[0047] HepG2 세포에 CORM-2를 처리하고 시간 별로 배양한 후, 미토콘드리아의 막 구성요소인 TOM20의 발현을 웨스턴 블랏으로 측정하였다. 그 결과, 도 2A를 참조하여 보면, CORM-2에 의해 TOM20의 발현이 감소하는 것을 확인하였다.

[0048] 다음으로, 미토콘드리아에 CORM-2를 처리하고 시간 별로 배양한 후, 마이토파지 과정에 관여하는 PINK1과 parkin 단백질의 발현을 웨스턴 블랏으로 측정하였다. 그 결과, 도 2B를 참조하여 보면, CORM-2에 의해 PINK1 및 parkin의 발현이 증가하는 것을 확인하였다.

[0049] 또한, TFEB siRNA(small interfering RNA)를 이용하여 벡터를 제조하고 형질전환(transfection) 시켜 TFEB 발현을 인위적으로 억제시킨 세포에 CORM-2를 처리하고 배양한 후, TOM20의 발현을 웨스턴 블랏으로 측정하였다. 그 결과, 도 2C를 참조하여 보면, TFEB 발현을 인위적으로 억제시킨 세포에 TOM20의 발현이 감소되지 않는 것을 관찰하였다.

[0050] 뿐만 아니라, 도 2D 및 도 2E를 참조하여 보면, 마이토파지 과정에 관여하는 LC3 단백질이 CORM-2에 증가하는 것을 확인하였고, TFEB 발현을 인위적으로 억제시킨 세포에서는 LC3의 발현 증가가 관찰되지 않았다.

[0051] 따라서, 일산화탄소 공급체에 의한 TFEB 활성화를 통해 마이토파지가 유도되는 것을 확인하였다.

[0053] **실시예 3 : 일산화탄소 공급체에 의한 미토콘드리아 생성의 유도**

[0054] 일산화탄소 공급체가 미토콘드리아 생성의 주요 조절인자인 PGC1- α 의 발현에 영향을 주는지를 확인하기 위해, TFEB siRNA를 이용하여 벡터를 제조하고 형질전환 시켜 TFEB 발현을 인위적으로 억제시킨 HepG2 세포에 CORM-2를 처리하고 배양한 후, 중합효소 연쇄 반응(polymerase Chain Reaction, PCR)을 이용하여 PGC1- α 의 mRNA 발현을 측정하였다.

[0055] 그 결과, 도 3A 및 도 3B를 참조하여 보면, CORM-2에 의해 PGC1- α mRNA 및 mtDNA의 발현이 증가하는 것을 확인

하였고, TFEB 발현을 인위적으로 억제시킨 세포에서는 PGC1- α mRNA 및 mtDNA의 발현 증가가 관찰되지 않았다.

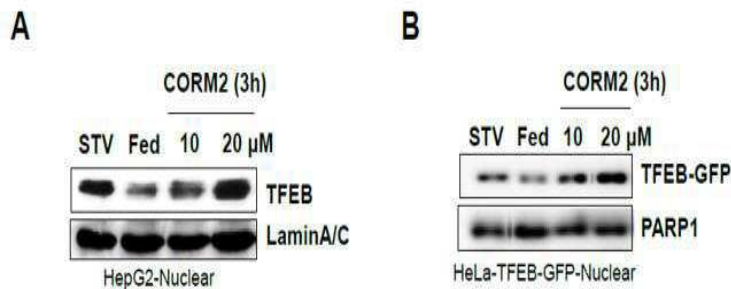
[0057] 따라서, 일산화탄소가 TFEB 신호전달 경로를 통해 미토파지 기능을 향상시키고, PGC1- α 의 발현 증가를 통해 미토콘드리아 생성을 유도하는 것을 확인함으로써, 노화가 진행됨에 따라 저하되는 미토콘드리아의 기능을 향상시키거나 미토콘드리아 기능을 조절하지 못함으로써 생기는 다양한 질병에 있어서 일산화탄소가 중요한 치료적 물질이 될 수 있을 것으로 사료된다.

[0059] 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.

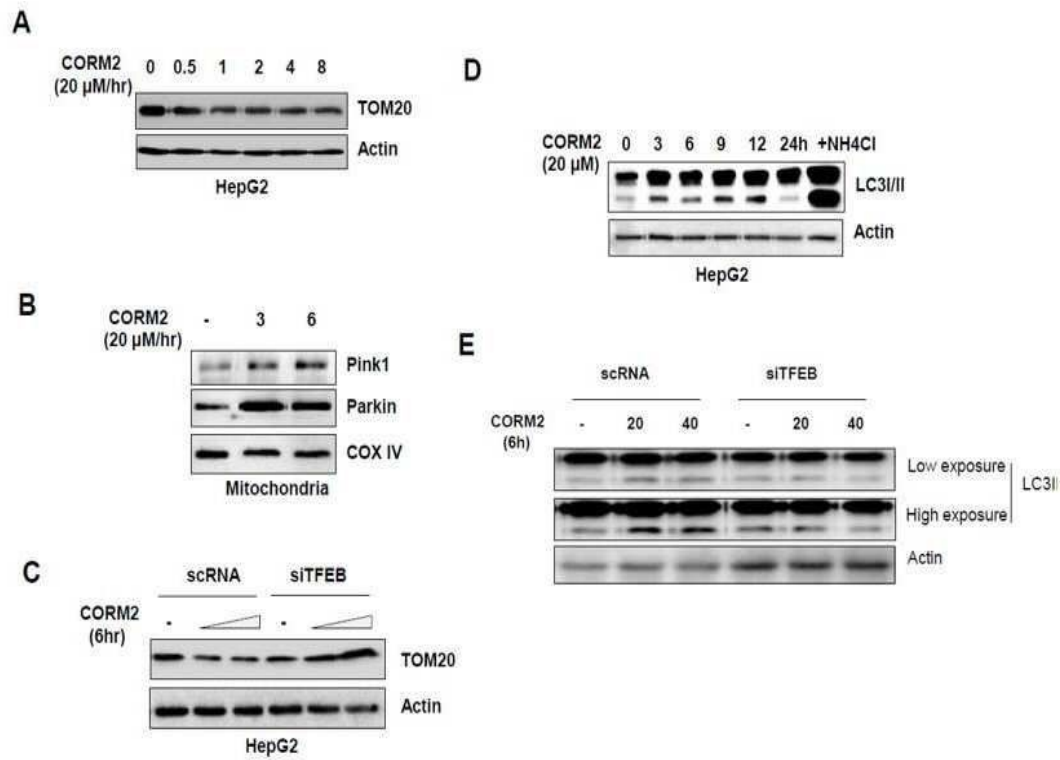
[0060] 본 발명의 범위는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

도면1



도면2



도면3

