

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2024-0109355
(43) 공개일자 2024년07월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/79 (2006.01) A23K 20/10 (2016.01)

A61K 9/00 (2006.01) A61P 11/00 (2006.01)

A61P 29/00 (2023.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/79 (2013.01)

A23K 20/10 (2016.05)

(21) 출원번호 10-2023-0000994

(22) 출원일자 2023년01월04일

심사청구일자 2023년01월04일

(71) 출원인

충남대학교산학협력단

대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)

(72) 발명자

김용민

대전광역시 유성구 대덕대로556번길 19, 203호(도룡동, 삼정빌리지)

최미라

대전광역시 중구 산성로 108-23, 301동 803호(문화동, 주공3차아파트)

강재윤

대전광역시 중구 계룡로920번안길 70, 401호(대사동)

(74) 대리인

최규환

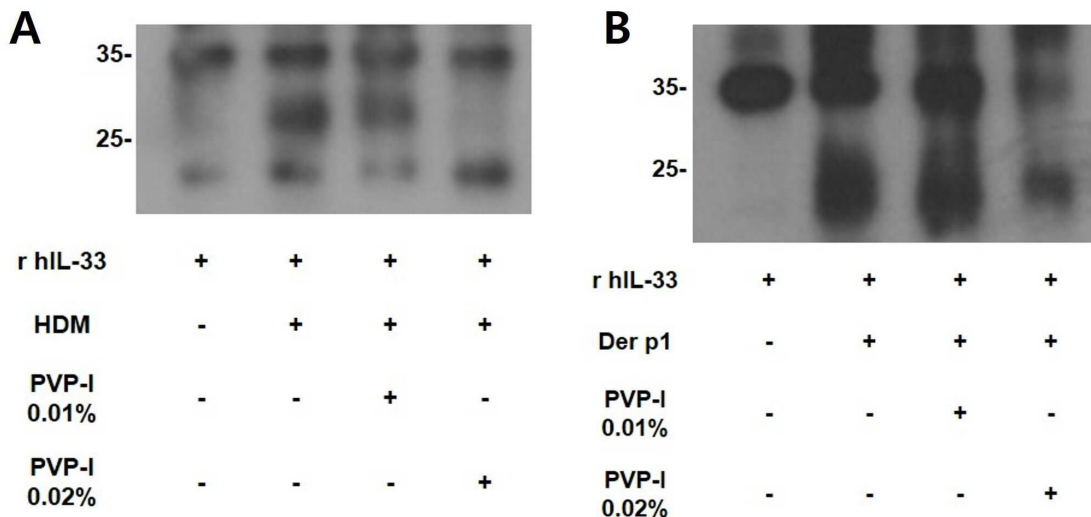
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 포비돈-요오드를 유효성분으로 함유하는 상기도 염증성 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 포비돈-요오드를 유효성분으로 함유하는 상기도 염증성 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 상세하게는 본 발명의 포비돈-요오드가 알레르겐 내에 포함된 단백질분해효소 활성을 억제시키며, 집먼지 진드기로 유도된 알레르기 비염 동물모델에서 비점막층 아래 고유층 호산구의 침윤 및 배상세포 수를 감소시키는 것을 확인하였고, LPS로 유도된 만성 비부비동염 마우스 모델에서 포비돈-요오드 비강점적을 통해 비강점막의 두께 및 배상세포 수가 감소되고, NLRP3 인플라썬 관련 인자들의 발현이 억제되는 효과가 있다. 따라서 본 발명의 포비돈-요오드는 상기도 염증성 질환의 예방 및 치료를 위한 의약품, 의약외품 등에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A61K 9/0043 (2013.01)

A61P 11/00 (2018.01)

A61P 29/00 (2023.02)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345347778
과제번호	2019R1I1A3A01061632
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	이공학학술연구기반구축
연구과제명	포비돈요오드 조성물을 이용한 알레르기비염 유발 알레르겐 표적치료
기 여 율	1/1
과제수행기관명	충남대학교
연구기간	2022.03.01 ~ 2022.05.31

명세서

청구범위

청구항 1

포비돈-요오드를 유효성분으로 함유하는 상기도 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 상기도 염증성 질환은 (비)부비동염, 축농증, 상악동염, 비염 및 후비루증후군 중에서 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 상기도 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 유효성분 이외에 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 상기도 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 조성물은 비강 투여용인 것을 특징으로 하는 상기도 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 5

포비돈-요오드를 유효성분으로 함유하는 상기도 염증성 질환의 예방 또는 개선용 의약외품.

청구항 6

포비돈-요오드를 유효성분으로 포함하는 상기도 염증성 질환의 예방 또는 개선용 사료 첨가제.

청구항 7

포비돈-요오드를 유효성분으로 포함하는 상기도 염증성 질환의 예방 또는 치료용 수의학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 포비돈-요오드를 유효성분으로 함유하는 상기도 염증성 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 알레르기 비염은 가장 흔한 알레르기 질환으로 천식 및 부비동염과 연관이 있다. 알레르기 비염은 점차 증가하고 있으며 생활의 질에 영향을 주고 생산능력의 감소와 치료비 부담의 증가로 인해 사회 경제적으로 문제가 되고 있으나 뚜렷한 치료법은 아직 없다.

[0003] 알레르기 비염의 치료방법으로는 원인이 되는 물질인 알레르겐(항원)을 피하

[0004] 는 환경요법(회피요법)과 약물요법, 면역요법이 있다. 알레르겐을 피하는 것이 가장 중요하지만 근본적으로 피하는 것은 현실적으로 어렵기 때문에 회피요법 단일 치료만으로는 충분한 치료 효과를 얻기 어려우며 적절한 약물치료로 증상을 조절하는 것이 필요하다. 약물요법은 알레르기 비염의 기본적인 치료방법으로, 항히스타민제, 스테로이드, 비만세포 안정제, 경구용/국소용 점막 수축제, 국소용 항콜린제, 류코트리엔 조절제, 항염증제, 호르몬제 등의 약품이 주로 사용되고 있다. 그러나 이러한 약물요법은 약제 복용 중단 시 재발이 흔하고, 약제의 독성으로 말미암아 소화장애, 어지러움증 및 속쓰림 등의 부작용이 나타나고, 장기 복용 시 알레르기 항원에 대한 내성을 가짐으로써 알레르기 증상이 만성화될 수 있는 문제점이 있다.

[0005] 또한, 면역요법은 원인 알레르겐을 환자에게 소량부터 차츰 농도를 높여 투여하여 환자의 면역반응을 조절함으

로써 증상을 경감 혹은 없애고자 하는 치료방법이다. 면역요법은 유일하게 변형된 면역체계를 원상회복시키는 근본 치료가 될 수 있다. 알레르기 원인이 확실한데 환경관리만으로는 효과적인 치료가 어렵고 통상적인 약물치료로 증상조절이 충분하지 않은 경우, 혹은 환자가 장기적인 약물치료를 원하지 않는 경우에 시행할 수 있는 치료법으로, 특정 알레르겐의 경우에만 효과가 있다. 통상적으로 면역요법은 주사제 투여, 경구 투여의 방법이 주로 사용되는데, 주사제 투여의 경우 1년 이상 지속해야 효과가 나타나고 보통 3년에서 5년간 치료하지만 더 장기기간 치료해야 하는 경우도 있으며, 주사제에 대한 과민반응 등의 부작용과 비용이 문제가 될 수 있다. 따라서 알레르기 비염을 근본적으로 치료하고, 부작용이 없고 저렴하면서도 우수한 치료 효과를 나타낼 수 있는 대체적인 면역요법을 이용한 새로운 알레르기 질환의 치료제 및 치료방법의 개발이 필요한 실정이다.

[0006] 한편, 비부비동염(rhinosinusitis)은 전세계적으로 가장 흔한 질환 중 하나이지만, 아직까지 명확한 정의나 분류 기준이 정해져 있지 않다. 만성 비부비동염 환자는 삶의 질의 저하로 고통받고, 이러한 증후군은 천식, 습진 및 중이염 같은 다른 심각한 질병과 관련되어 있다. 만성 비부비동염은 형태에 따라 비용종(nasal polyp)이 동반된 만성 비부비동염과 비용종(nasal polyp)이 동반되지 않은 만성 비부비동염으로 나뉜다. 비용종은 많은 경우 비부비동염 및 만성 비부비동염의 원인이며, 알러지성 비염, 급성 및 만성 비염 또는 바이러스성 또는 세균성 감염에 의해 야기될 수 있다. 코내시경의 도입으로 비부비동염의 안전한 수술적 접근이 가능해짐에 따라, 비부비동염의 치료에서 내시경하 부비동 수술이 기준으로 자리잡는 듯 하였으나, 다양한 병인으로 인한 작은 재발로 인해 많은 환자들이 고통받고 있다. 만성 부비동염의 재발 방지 및 억제에 위해, 경구 스테로이드 요법이나 저용량 마이크로이드계 항생제 장기요법 등이 시행되고 있으나, 스테로이드 부작용 및 항생제 오남용의 문제 때문에 적극적인 사용이 어려운 실정이다. 따라서 보다 안전하고 효과가 우수한 난치성 만성 비부비동염의 치료제의 개발이 필요하다.

[0007] 염증성 질환 관련 선행기술로는 한국등록특허 제1099826호에 '항알러지성 약물을 활성성분으로 함유하는 비강투여용 액상제제'가 개시되어 있으며, 한국등록특허 제2378975호에 'NRP-1의 발현 또는 활성 억제제를 유효 성분으로 포함하는 만성 비부비동염 예방 또는 치료용 약학 조성물'이 개시되어 있다. 하지만, 본 발명의 '포비돈-요오드를 유효성분으로 함유하는 상기도 염증성 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물'에 대해서는 아직까지 개시된 바가 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명은 포비돈-요오드를 유효성분으로 함유하는 상기도 염증성 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공하고, 본 발명의 포비돈-요오드가 알레르겐 내에 포함된 단백질분해효소 활성을 억제시키며, 집먼지 진드기로 유도된 알레르기 비염 동물모델에서 비점막층 아래 고유층 호산구의 침윤 및 배상세포 수를 감소시키는 것을 확인하였고, LPS로 유도된 만성 비부비동염 마우스 모델에서 포비돈-요오드 비강점적을 통해 비강점막의 두께 및 배상세포 수가 감소되고, NLRP3 인플라존 관련 인자들의 발현이 억제되는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 포비돈-요오드를 유효성분으로 함유하는 상기도 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명은 포비돈-요오드를 유효성분으로 함유하는 상기도 염증성 질환의 예방 또는 개선용 의약품을 제공한다.

[0011] 또한, 본 발명은 포비돈-요오드를 유효성분으로 포함하는 상기도 염증성 질환의 예방 또는 개선용 사료 첨가제를 제공한다.

[0012] 또한, 본 발명은 포비돈-요오드를 유효성분으로 포함하는 상기도 염증성 질환의 예방 또는 치료용 수의학적 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0013] 본 발명은 포비돈-요오드를 유효성분으로 함유하는 상기도 염증성 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 상세하게는 본 발명의 포비돈-요오드가 알레르겐 내에 포함된 단백질분해효소 활성을 억제시키며,

집먼지 진드기로 유도된 알레르기 비염 동물모델에서 비강점막 아래 고유층 호산구의 침윤 및 배상세포 수를 감소시키는 것을 확인하였고, LPS로 유도된 만성 비부비동염 마우스 모델에서 포비돈-요오드 비강점적을 통해 비강점막의 두께 및 배상세포 수가 감소되고, NLRP3 인플라존 관련 인자들의 발현이 억제되는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0014]

도 1은 본 발명의 포비돈-요오드(PVP-I)를 농도별로 비강점 상피세포(RPMI2650) 및 폐점막 세포(A549)에 각각 처리하였을 때, 세포 생존율(Cell viability)을 측정한 결과이다.

도 2는 본 발명의 포비돈-요오드(PVP-I)를 처리하였을 때, 집먼지 진드기(HDM; house dust mite)(A) 또는 Der p1(B) 항원에 의한 전장 형태(full length form)의 재조합 IL-33(rhIL-33) 분해에 대한 억제 효과를 나타낸 결과이다.

도 3은 집먼지진드기 주요 성분인 Der p1 항원으로 유도된 알러지성 비염 마우스 모델에서 본 발명의 포비돈-요오드(PVP-I) 처리에 따른 알러지성 비염의 개선 효과를 확인한 동물실험 방법 모식도이다.

도 4는 알러지성 비염 유도 마우스 모델에서 본 발명의 포비돈-요오드(PVP) 처리에 따른 알레르기 비염 증상(재치기 및 코 긁기 횟수) 점수를 측정한 결과이다. CON은 정상군이고, AR은 Der p1 항원을 처리한 알러지성 비염 유도군이며, AR+PVP는 포비돈-요오드 처리군이고, AR+E64는 프로테아제 억제제인 E64[(N-(N-(L-3-trans-Carboxirane-2-carbonyl)-L-leucyl)-agmatine)] 처리군이며, AR+Dexa는 양성 대조군인 덱사메타손(Dexamethasone) 처리군이다. ###은 정상군(CON) 대비 알러지성 비염 유도군(AR)의 알레르기 비염 증상 점수가 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, $p<0.001$ 이다. ****은 알러지성 비염 유도군(AR) 대비 포비돈-요오드 처리군(AR+PVP), E64 처리군(AR+E64) 및 덱사메타손 처리군(AR+Dexa)의 알레르기 비염 증상 점수가 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, $p<0.0001$ 이다.

도 5는 알러지성 비염 유도 동물모델에서 본 발명의 포비돈-요오드(PVP) 처리에 따른 혈청 내 총 IgE 및 Der p1 특이적 IgE의 수치가 감소된 효과를 확인한 결과이다. #, ####은 정상군(CON) 대비 알러지성 비염 유도군(AR)의 혈청 내 총 IgE 또는 Der p1 특이적 IgE의 수치가 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, #은 $p<0.05$ 이고, ####은 $p<0.0001$ 이다. *, **, ***은 알러지성 비염 유도군(AR) 대비 포비돈-요오드 처리군(AR+PVP), E64 처리군(AR+E64) 및 덱사메타손 처리군(AR+Dexa)의 혈청 내 총 IgE 또는 Der p1 특이적 IgE의 수치가 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, *은 $p<0.05$ 이고, **은 $p<0.01$ 이며, ***은 $p<0.001$ 이다.

도 6은 알러지성 비염 유도 동물모델에서 본 발명의 포비돈-요오드(PVP) 처리에 따른 비강세척액 내 IL-33, IL-5 및 IL-13 함량이 감소된 효과를 확인한 결과이다. ##은 정상군(CON) 대비 알러지성 비염 유도군(AR)의 혈청 내 IL-33 함량이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, $p<0.01$ 이다. *, **, ***은 알러지성 비염 유도군(AR) 대비 포비돈-요오드 처리군(AR+PVP), E64 처리군(AR+E64) 및 덱사메타손 처리군(AR+Dexa)의 비강세척액 내 IL-33, IL-5 또는 IL-13 함량이 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, *은 $p<0.05$ 이고, **은 $p<0.01$ 이며, ***은 $p<0.001$ 이다.

도 7은 알러지성 비염 유도 동물모델에서 본 발명의 포비돈-요오드(PVP) 처리에 따른 비강점막 내 IL-33, IL-10, IL-25, IL-13, IFN- γ 및 IL-17A의 유전자 발현량이 감소된 효과를 확인한 결과이다. #, ##, ###은 정상군(CON) 대비 알러지성 비염 유도군(AR)의 비강점막 내 IL-33, IL-10, IL-25, IL-13, IFN- γ , IL-17A의 유전자 발현량이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, #은 $p<0.05$ 이고, ##은 $p<0.01$ 이며, ###은 $p<0.001$ 이다. *, **, ***, ****은 알러지성 비염 유도군(AR) 대비 포비돈-요오드 처리군(AR+PVP), E64 처리군(AR+E64) 및 덱사메타손 처리군(AR+Dexa)의 비강점막 내 IL-33, IL-10, IL-25, IL-13, IFN- γ 및 IL-17A의 유전자 발현량이 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, *은 $p<0.05$ 이고, **은 $p<0.01$ 이며, ***은 $p<0.001$ 이고, ****은 $p<0.0001$ 이다.

도 8은 알러지성 비염 유도 동물모델에서 본 발명의 포비돈-요오드(PVP) 처리에 따른 비강점막 내 호산구 침윤 정도가 감소된 효과를 확인한 결과이다. A는 H&E 염색 및 PAS(Periodic acid-Schiff) 염색을 통해 비강점막에서 호산구의 침윤 정도를 촬영한 사진이고, B는 호산구 수를 계수하여 나타낸 그래프이다. ***, ****은 알러지성 비염 유도군(AR) 대비 포비돈-요오드 처리군(AR+PVP), E64 처리군(AR+E64) 또는 덱사메타손 처리군(AR+Dexa)의 비강점막 내 호산구 수가 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, ***은 $p<0.001$ 이고, ****은 $p<0.0001$ 이다.

도 9는 알러지성 비염 유도 동물모델에서 본 발명의 포비돈-요오드(PVP) 처리에 따른 비강점막 내 배상세포 수

가 감소된 효과를 확인한 결과이다. A는 H&E 염색 및 PAS(Periodic acid-Schiff) 염색을 통해 비강점막에서 배상세포 상태를 촬영한 사진이고, B는 배상세포 수를 계수하여 나타낸 그래프이다. ###은 정상군(CON) 대비 알리지성 비염 유도군(AR)의 비강점막 내 배상세포 수가 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, $p<0.001$ 이다. ***, ****은 알리지성 비염 유도군(AR) 대비 포비돈-요오드 처리군(AR+PVP), E64 처리군(AR+E64) 또는 텍사메타손 처리군(AR+Dexa)의 비강점막 내 배상세포 수가 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, ***은 $p<0.001$ 이고, ****은 $p<0.0001$ 이다.

도 10은 알리지성 비염 유도 동물모델에서 본 발명의 포비돈-요오드(PVP) 처리에 따른 폐 조직 내 염증세포의 침윤 정도가 감소된 효과를 촬영한 사진이다.

도 11은 알리지성 비염 유도 동물모델에서 본 발명의 포비돈-요오드(PVP) 처리에 따른 ILC2(Innate lymphoid cell 2) 세포 수가 감소된 효과를 확인한 결과이다. A는 ILC2 마커인 GATA3 및 CD86을 이용하여 면역형광염색을 수행하여 ILC2 세포 상태를 촬영한 사진이고, B는 ILC2 세포 수를 계수하여 나타낸 그래프이다.

도 12는 본 발명의 포비돈-요오드(PVP-I), LPS(Lipopolysaccharide) 및 ATP(Adenosine triphosphate)를 농도별로 폐점막 세포(A549) 및 비강점 상피세포(RPMI2650)에 각각 처리하였을 때, 세포 생존율(Cell viability)을 측정한 결과이다.

도 13은 폐점막 세포(A549)(A) 및 비강점 상피세포(RPMI2650)(B)에서 본 발명의 포비돈-요오드(PVP) 처리에 따른 LPS+ATP 처리로 유도된 NLRP3 인플라존 생성이 억제된 효과를 확인한 결과이다. * 및 **은 아무것도 처리하지 않은 군(-) 대비 LPS/ATP 단독 처리군의 NLRP3 인플라존의 발현이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, *은 $p<0.05$ 이고, **은 $p<0.01$ 이다. # 및 ##은 LPS/ATP 단독 처리군 대비 LPS/ATP 및 포비돈-요오드 처리군의 NLRP3 인플라존의 발현이 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, #은 $p<0.05$ 이고, ##은 $p<0.01$ 이다.

도 14는 LPS로 유도된 만성 비부비동염 마우스 모델에서 본 발명의 포비돈-요오드(PVP-I) 처리에 따른 만성 비부비동염의 개선 효과를 확인한 동물실험 방법 모식도이다.

도 15는 LPS로 유도된 만성 비부비동염 마우스 모델의 비강점막에서 본 발명의 포비돈-요오드(PVP-I) 처리에 따른 배상세포 수가 감소된 효과를 확인한 결과이다. A는 H&E 염색을 통해 배상세포 상태를 촬영한 사진이고, B는 배상세포 수를 계수하여 나타낸 그래프이다. CON은 정상군이고, LPS+PBS는 LPS로 만성비부비동염 유도 후 PBS 처리군이며, LPS+PVP-I는 LPS로 만성비부비동염 유도 후 포비돈-요오드 처리군이고, LPS+DEX는 LPS로 만성비부비동염 유도 후 텍사메타손(Dexamethasone) 처리군이다. **은 정상군(CON) 대비 PBS 처리군(LPS+PBS)의 비강점막 내 배상세포 수가 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, $p<0.01$ 이다. # 및 §은 PBS 처리군(LPS+PBS) 대비 텍사메타손 처리군(LPS+DEX) 및 포비돈-요오드 처리군(LPS+PVP-I)의 비강점막 내 배상세포 수가 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, $p<0.05$ 이다.

도 16는 LPS로 유도된 만성 비부비동염 마우스 모델의 비강점막에서 본 발명의 포비돈-요오드(PVP-I) 처리에 따른 비강점막 두께가 감소된 효과를 확인한 결과이다. A는 H&E 염색을 통해 비강점막 조직을 촬영한 사진이고, B는 비강점막 두께를 측정하여 나타낸 그래프이다. *은 정상군(CON) 대비 PBS 처리군(LPS+PBS)의 비강점막 두께가 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, $p<0.05$ 이다. # 및 §은 PBS 처리군(LPS+PBS) 대비 텍사메타손 처리군(LPS+DEX) 및 포비돈-요오드 처리군(LPS+PVP-I)의 비강점막 두께가 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, $p<0.05$ 이다.

도 17는 LPS로 유도된 만성 비부비동염 마우스 모델의 비강점막에서 본 발명의 포비돈-요오드(PVP-I) 처리에 따른 TLR4(Toll like receptor 4)의 발현이 감소된 효과를 확인한 결과이다. A는 면역조직화학 염색을 통해 비강점막 상피층을 촬영한 사진이고, B는 TLR4의 발현 수준을 측정하여 나타낸 그래프이다. *은 정상군(CON) 대비 PBS 처리군(LPS+PBS)의 TLR4의 발현 수준이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, $p<0.05$ 이다. §은 PBS 처리군(LPS+PBS) 대비 포비돈-요오드 처리군(LPS+PVP-I)의 TLR4의 발현 수준이 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, $p<0.05$ 이다.

도 18는 LPS로 유도된 만성 비부비동염 마우스 모델의 비강점막에서 본 발명의 포비돈-요오드(PVP-I) 처리에 따른 TLR4 및 MyD88의 면역침강 정도가 억제된 효과를 확인한 결과이다. Actin은 로딩 컨트롤이다.

도 19는 LPS로 유도된 만성 비부비동염 마우스 모델의 비강점막에서 본 발명의 포비돈-요오드(PVP-I) 처리에 따른 NLRP3, NF- κ B-p65, caspase-1 및 IL-1 β 의 유전자 발현 수준이 감소된 효과를 확인한 결과이다. *, **, ***은 정상군(CON) 대비 PBS 처리군(LPS+PBS)의 NLRP3, NF- κ B-p65, caspase-1 또는 IL-1 β 의 유전자 발현 수준이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, *은 $p<0.05$ 이고, **은 $p<0.01$ 이며, ***은 $p<0.001$ 이다. #, ##,

###은 PBS 처리군(LPS+PBS) 대비 텍사메타손 처리군(LPS+DEX)의 NLRP3, NF- κ B-p65, caspase-1 또는 IL-1 β 의 유전자 발현 수준이 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, #은 $p<0.05$ 이고, ##은 $p<0.01$ 이며, ###은 $p<0.001$ 이다. \$, \$\$, \$\$\$은 PBS 처리군(LPS+PBS) 대비 포비돈-요오드 처리군(LPS+PVP-I)의 NF- κ B-p65, caspase-1 또는 IL-1 β 의 유전자 발현 수준이 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, \$은 $p<0.05$ 이고, \$\$은 $p<0.01$ 이며, \$\$\$은 $p<0.001$ 이다.

도 20은 LPS로 유도된 만성 비부비동염 마우스 모델의 비강점막에서 본 발명의 포비돈-요오드(PVP-I) 처리에 따른 NLRP3, NF- κ B-p65, caspase-1 및 IL-1 β 의 단백질 발현량이 감소된 효과를 웨스턴 블롯을 통해 나타낸 밴드 사진이다. Actin은 로딩 컨트롤이다.

도 21은 LPS로 유도된 만성 비부비동염 마우스 모델의 비강점막에서 본 발명의 포비돈-요오드(PVP-I) 처리에 따른 염증성 사이토카인의 유전자 발현 수준이 감소된 효과를 확인한 결과이다. *, **은 정상군(CON) 대비 PBS 처리군(LPS+PBS)의 TNF- α , IFN- γ , IL-4 또는 IL-17의 유전자 발현 수준이 통계적으로 유의미하게 증가하였다는 것으로, *은 $p<0.05$ 이고, **은 $p<0.01$ 이다. #, ##은 PBS 처리군(LPS+PBS) 대비 텍사메타손 처리군(LPS+DEX)의 TNF- α , IFN- γ , IL-4 또는 IL-17의 유전자 발현 수준이 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, #은 $p<0.05$ 이고, ##은 $p<0.01$ 이다. \$, \$\$은 PBS 처리군(LPS+PBS) 대비 포비돈-요오드 처리군(LPS+PVP-I)의 TNF- α , IFN- γ , IL-4 또는 IL-17의 유전자 발현 수준이 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, \$은 $p<0.05$ 이고, \$\$은 $p<0.01$ 이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0015] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 포비돈-요오드를 유효성분으로 함유하는 상기도 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0016] 상기 상기도 염증성 질환은 (비)부비동염, 축농증, 상악동염, 비염 및 후비루증후군 중에서 선택된 어느 하나일 수 있으며, 바람직하게는 (비)부비동염 및 비염일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0017] 상기 비염은 알러지성 비염이고, (비)부비동염은 만성 비부비동염인 것이 바람직하며, 더 바람직하게는 (비)부비동염은 비호산구성 만성 비부비동염일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0018] 상기 포비돈-요오드는 알레르겐에 포함된 단백질 분해효소 활성을 억제시킬 수 있다.
- [0019] 본 발명의 조성물은 상기 유효성분 이외에 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수 있으며, 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형일 수 있다. 제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형 제제에는 캡슐제, 산제, 과립제, 정제, 환제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용된다. 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성 용제 및 현탁 용제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로 젤라틴 등이 사용될 수 있다. 비경구 투여 시 피부 외용 또는 직장 내, 직장, 정맥, 근육, 피하, 자궁 내 경막 또는 뇌혈관 내 주사 방식을 선택하는 것이 바람직하다.
- [0020] 상기 조성물은 비강 투여용인 것이 바람직하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0021] 본 발명에 따른 약학 조성물은 약제학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서, "약제학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효량의 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

- [0022] 본 발명의 조성물의 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설률 및 질환의 중증도에 따라 그 범위가 다양하다. 본 발명의 조성물은 단독으로 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- [0023] 또한, 본 발명은 포비돈-요오드를 유효성분으로 함유하는 상기도 염증성 질환의 예방 또는 개선용 의약외품을 제공한다.
- [0024] 본 발명에서 사용되는 용어 "의약외품"은 사람이나 동물의 질병을 진단, 치료, 개선, 경감, 처치 또는 예방할 목적으로 사용되는 물품들 중 의약품보다 작용이 경미한 물품들을 의미하는 것으로, 예를 들어 약사법에 따르면 의약외품이란 의약품의 용도로 사용되는 물품을 제외한 것으로, 사람·동물의 질병 치료나 예방에 쓰이는 제품 또는 인체에 대한 작용이 경미하거나 직접 작용하지 않는 제품 등이 포함된다.
- [0025] 본 발명의 의약외품은 상기도 염증성 질환의 개선을 목적으로 사용되는 것으로, 그 제형에 있어서 특별히 한정되는 바가 없고, 각 제형에 있어서 의약외품은 다른 성분들을 기타 의약외품의 제형 또는 사용목적 등에 따라 임의로 선정하여 배합할 수 있다. 유효성분의 혼합 양은 사용 목적(억제 또는 완화)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 예를 들어, 점증제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 및 담체 등을 포함할 수 있다.
- [0026] 또한, 본 발명은 포비돈-요오드를 유효성분으로 포함하는 상기도 염증성 질환의 예방 또는 개선용 사료 첨가제를 제공한다.
- [0027] 본 발명의 사료 첨가제는 사료관리법상의 보조사료에 해당한다. 본 발명에서 용어 '사료'는 동물이 먹고, 섭취하며, 소화시키기 위한 또는 이에 적당한 임의의 천연 또는 인공 규정식, 한끼식 등 또는 상기 한끼식의 성분을 의미할 수 있다. 상기 사료의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 사료를 사용할 수 있다. 상기 사료의 비제한적인 예로는, 곡물류, 근과류, 식품 가공 부산물류, 조류, 섬유질류, 제약 부산물류, 유지류, 전분류, 박류 또는 곡물 부산물류 등과 같은 식물성 사료; 단백질류, 무기물류, 유지류, 광물성류, 유지류, 단세포 단백질류, 동물성 플랑크톤류 또는 음식물 등과 같은 동물성 사료를 들 수 있다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상을 혼합하여 사용될 수 있다.
- [0028] 또한, 본 발명은 포비돈-요오드를 유효성분으로 포함하는 상기도 염증성 질환의 예방 또는 치료용 수의학적 조성물을 제공한다.
- [0029] 본 발명의 포비돈-요오드를 포함하는 수의학적 조성물은 통상의 방법에 따른 적절한 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 본 발명의 포비돈-요오드를 포함하는 수의학적 조성물에 포함될 수 있는 부형제 및 희석제로는, 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 세탄올, 스테아릴알콜, 유동파라핀, 솔비탄노스테아레이트, 폴리소르베이트 60, 메틸파라벤, 프로필파라벤 및 광물유를 들 수 있다.
- [0030] 본 발명에 따른 포비돈-요오드를 포함하는 수의학적 조성물은 충전제, 향응집제, 윤활제, 습윤제, 향신료, 유화제, 방부제 등을 추가로 포함할 수 있는데, 본 발명에 의한 수의학적 조성물은 동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 당업계에 잘 알려진 방법을 사용하여 제형화될 수 있고, 제형은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 용액, 시럽, 에어로졸, 연질 또는 경질 젤라틴 캡셀, 좌제, 멸균 주사용액, 멸균 외용제 등의 형태일 수 있다.
- [0031] 본 발명에 의한 수의학적 조성물은 동물의 나이, 성별, 체중에 따라 달라질 수 있으나, 1일 1회 내지 수회 투여할 수 있고, 투여량은 투여경로, 질병의 정도, 성별, 체중, 나이 등에 따라서 증감될 수 있다. 따라서, 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0032] 이하, 본 발명의 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [0033] **[알레르기 비염에 대한 효능]**
- [0034] **실시예 1. 포비돈-요오드의 세포 독성**
- [0035] MTT 분석을 이용하여 24시간 후에 비강점막상피세포(RPMI2650) 및 폐세포(A549)에서 포비돈-요오드

(Poly(vinylpyrrolidone)-iodine complex, CAS NO. 25655-41-8, Sigma)의 독성을 확인하였다. 그 결과, 도 1에 개시한 바와 같이 0.1%의 포비돈-요오드 수용액에서 세포 독성이 나타나지 않았으며, 0.2% 이상 농도에서부터 독성을 보였다. 따라서 0.1%(w/v) 포비돈-요오드 수용액을 사용하여 하기 실시예 2 및 3을 진행하였다.

[0036] 실시예 2. 포비돈-요오드 처리에 따른 IL-33의 분해 및 활성 억제

[0037] 비점막상피세포 등에서 발현되는 IL-33은 조직의 손상과 같은 기계적 손상이나 바이러스, 기생충, 세균 등에 의해 세포 외 공간에 수동적으로 배출되며 조직의 손상을 경고하는 의미로 알라민(알람+민, alarmin)이라고도 불리우며, 방출된 IL-33은 전장 형태(full length form)이며 시스테인 잔기의 산화로 인하여 일시적으로 불활성화되어 있다. 이후 알레르기 항원(allergen), 병원체, 또는 내재형 단백분해효소(protease)에 의하여 전장 형태의 IL-33이 분해되어 활성화된다. 이러한 분해된 IL-33의 쪼개진 산물은 전장 형태보다 활성이 더 높고, 알레르기 염증반응을 일으키는데 중요한 역할을 한다.

[0038] 따라서 재조합 IL-33(full length form, 50ng/ml)을 마이크로 튜브에 넣은 후, 집먼지진드기(HDM; house dust mite 5.25 μ g/ml) 및 집먼지진드기 주요 성분인 Der p1(170ng/ml) 항원을 첨가하여 IL-33의 전장 형태가 분해되는지와 본 발명의 포비돈-요오드를 첨가하였을 때, 전장 형태의 IL-33을 분해하는 것을 억제하는지 웨스턴 블롯 분석을 통해 확인하였다.

[0039] 그 결과, 도 2에 개시한 바와 같이 아무것도 처리하지 않은 군 대비 HMD 및 Der p1 항원을 단독 처리한 군에서 재조합 IL-33의 전장 형태가 분해되는 현상이 증가된 반면, 본 발명의 포비돈-요오드 처리군에서 HMD 및 Der p1 항원에 의한 재조합 IL-33의 분해되는 현상을 감소되는 것을 확인하였다.

[0040] 실시예 3. 알레르기 비염 마우스 모델을 이용한 포비돈-요오드의 치료 효과

[0041] (1) Der p1을 이용한 알레르기 비염 마우스 모델 제작

[0042] 1주, 2주간 Der P1 항원을 비강내 점적한 후, 3주째는 주 3회, 4주째는 주 5회 비강내 점적하여 Der P1로 유도된 알레르기비염 마우스 모델을 제작하였다(도 3). 정상군(CON)은 Der P1 항원을 처리하지 않고, PBS를 3주부터 비강점적을 하였고, 알레르기 비염 유도군(AR)은 PBS를 3주부터 Der P1과 같이 비강점적을 하였고, 포비돈-요오드 처리군(AR+PVP-I)은 0.1% 포비돈-요오드를 3주부터 Der P1과 같이 비강점적을 하였으며, E64(proteinase inhibitor) 처리군(AR+E64)은 1 μ M의 E64[(N-(N-(L-3-trans-Carboxirane-2-carbonyl)-L-leucyl)-agmatine)]를 3주부터 Der P1과 같이 비강점적을 하였고, 텍사메타손 처리군(AR+Dexa)은 텍사메타손(Dexamethasone)을 Der P1과 같이 비강내 약물을 주입하였다.

[0043] (2) 알레르기 비염 증상점수 측정

[0044] 알레르기 비염 마우스 모델을 제작한 후 각각의 처리군에서 마지막 비강내 항원 투여 후 20분간 관찰하여 알레르기 비염 증상(재채기 횟수 및 코를 문지르는 횟수)을 측정하여 점수화 하였다.

[0045] 그 결과, 도 4에 개시한 바와 같이 알레르기 비염 유도군(AR)의 알레르기 비염 증상 점수가 현저하게 증가된 반면, 본 발명의 포비돈-요오드 처리군(AR+PVP)에서 알레르기 비염 유도군에 비해 알레르기 비염 증상 점수가 통계적으로 유의미하게 감소한 것을 확인하였다.

[0046] (3) 혈청 내 알레르기 항체 측정

[0047] 알레르기 비염 마우스 모델에서 마지막으로 비강내 항원을 투여하고, 24시간 후에 복강 대정맥에서 혈액을 채취하여 ELISA 기법으로 혈청 내 총 IgE 및 Der p1 특이적 IgE 항체를 ELISA 기법으로 측정하였다.

[0048] 그 결과, 도 5에 개시한 바와 같이 알레르기 비염 유도군(AR)의 혈청 내 총 IgE 및 Der p1 특이적 IgE의 농도가 현저하게 증가된 반면, 본 발명의 포비돈-요오드 처리군(AR+PVP)에서 알레르기 비염 유도군에 비해 혈청 내 총 IgE 및 Der p1 특이적 IgE의 농도가 통계적으로 유의미하게 감소한 것을 확인하였다.

[0049] (4) 비강세척액에서 사이토카인 측정

[0050] 알레르기 비염 마우스 모델에서 마지막으로 비강내 항원을 투여하고, 24시간 후에 마우스를 희생하여 후비공에 카테터를 삽입하여 2ml의 PBS 용액을 주입하여 앞 비공에서 세척액을 채취하여 ELISA 기법으로 IL-33, IL-5 및 IL-13의 농도를 각각의 처리군에서 측정하였다.

[0051] 그 결과, 도 6에 개시한 바와 같이 알레르기 비염 유도군(AR)의 비강세척액 내에서 IL-33, IL-5 및 IL-13의 농도가 현저하게 증가된 반면, 본 발명의 포비돈-요오드 처리군(AR+PVP)에서 IL-33, IL-5 및 IL-13의 농도가 통계

적으로 유의미하게 감소한 것을 확인하였다.

[0052] (5) 비강점막에서 사이토카인 측정

[0053] 알레르기 비염 마우스 모델에서 마지막으로 비강내 항원을 투여하고, 24시간 후에 마우스를 희생하여 비강을 개방한 후 비강점막을 긁어서 채취하였다. 비강점막에서 RT-PCR 기법을 이용하여 비점막 내 다양한 사이토카인(IL-33, IL-10, IL-25, IL-13, IFN- γ , IL-17A)의 발현을 mRNA 수준에서 측정하였다.

[0054] 그 결과, 도 7에 개시한 바와 같이 비강점막에서 Der p1 항원 점적으로 인해 증가된 IL-33, IL-10, IL-13 및 IFN- γ 의 발현이 본 발명의 포비돈-요오드 처리로 인해 통계적으로 유의미하게 감소하였으며, E64 처리군 및 텍사메타손 처리군 보다 발현 수준을 저해시키는 효과가 우수하였다.

[0055] 또한, 알레르기 비염 유도군(AR)의 비강점막에서 IL-25 발현이 현저하게 증가된 반면, 본 발명의 포비돈-요오드 처리군(AR+PVP)에서 알레르기 비염 유도군에 비해 IL-25 발현이 통계적으로 유의미하게 감소한 것을 확인하였다.

[0056] (6) 비강점막에서 호산구 침윤 및 배상세포 수 측정

[0057] 알레르기 비염 마우스 모델에서 마지막으로 비강내 항원을 투여하고, 24시간 후에 마우스를 희생하여 비강 및 부비동을 포함한 두개부를 절단하여 과라핀 블록을 만들고 과라핀 절편을 만들어서 H&E 염색 및 PAS(Periodic acid-Schiff) 염색을 수행하여 비점막에서 호산구의 침윤 및 배상세포 수를 관찰하였다.

[0058] 그 결과, 도 8에 개시한 바와 같이 알레르기 비염 유도군(AR)에서 호산구의 침윤 정도가 현저하게 증가된 반면, 본 발명의 포비돈-요오드 처리군(AR+PVP)에서 알레르기 비염 유도군에 비해 호산구의 침윤 정도가 통계적으로 유의미하게 감소한 것을 확인하였다.

[0059] 또한, 알레르기 비염 마우스 모델의 비강점막에서 배상세포의 수를 측정한 결과, 비강점막에서 Der p1 항원 점적으로 인해 증가된 배상세포의 수가 본 발명의 포비돈-요오드 처리로 인해 통계적으로 유의미하게 감소하였다(도 9).

[0060] (7) 폐 조직에서 ILC2 세포수 측정

[0061] 알레르기 비염 마우스 모델에서 마지막으로 비강내 항원을 투여하고, 24시간 후에 마우스를 희생하여 각 처리군의 마우스의 폐를 채취하여 H&E 염색을 수행하고, ILC2(Innate lymphoid cell 2) 마커인 GATA3 및 CD86을 이용하여 면역형광염색을 수행하여 ILC2 세포의 수를 비교하였다.

[0062] 그 결과, 도 10에 개시한 바와 같이 알레르기 비염 마우스 모델의 폐 조직에서 염증세포의 침윤 정도가 현저하게 증가한 반면, 본 발명의 포비돈-요오드 처리군에서 알레르기 비염 유도군에 비해 염증세포의 침윤 정도가 감소한 것을 확인하였다.

[0063] 또한, 알레르기 비염 마우스 모델의 폐 조직에서 ILC2 세포수를 측정한 결과, Der p1 항원 점적으로 인해 증가된 ILC2 세포수가 본 발명의 포비돈-요오드 처리로 인해 감소하였다(도 11).

[0064] [만성 비부비동염]

[0065] 실시예 1. 포비돈-요오드의 세포 독성

[0066] MTT 분석을 이용하여 24시간 후에 비강점막상피세포(RPMI2650), 폐세포(A549) 및 비강점막상피 일차배양 세포(pHNECs)에서 인플라좀(inflammasome)을 유도한다고 알려진 LPS(Lipopolysaccharide) 및 ATP(Adenosine triphosphate)와 함께 본 발명의 포비돈-요오드 수용액의 세포 독성을 확인하였다.

[0067] 그 결과, 도 12에 개시한 바와 같이, LPS는 1000ng/ml까지는 세포 독성을 보이지 않았고, ATP는 5mM까지 세포 독성을 보이지 않았으며, 0.1%(w/v)의 포비돈-요오드 수용액에서 세포 독성이 나타나지 않았다.

[0068] 실시예 2. 포비돈-요오드의 LPS+ATP에 의한 NLRP3 인플라좀 생성 억제 효과

[0069] 비강점막상피세포(RPMI2650), 폐세포(A549) 및 비강점막상피 일차배양 세포(pHNECs)에서 LPS+ATP에 의해 유도된 NLRP3 인플라좀(inflammasome) 생성을 본 발명의 0.1% 포비돈-요오드 수용액 처리시 억제되는지 확인하기 위해 웨스턴 블롯(Western blot) 분석을 통해 확인하였다.

[0070] 그 결과, 도 13에 개시한 바와 같이 포비돈-요오드 수용액 처리시 A549 및 RPMI2650 세포에서 모두 NLRP3 인플라좀 생성이 억제됨을 확인하였다.

[0071] 실시예 3. 마우스 만성 비부비동염 모델을 이용한 포비돈-요오드의 치료 효과

[0072] (1) LPS를 이용한 마우스 만성 비부비동염 모델 제작

[0073] 그람 음성 세균이 방출하는 LPS와 같은 내독소 감염과 밀접한 관련이 있는 비호산구성 만성 비부비동염에 대한 포비돈 요오드의 치료 효과를 확인하기 위해, LPS를 이용한 만성 비부비동염 마우스 모델을 제작하였다. 구체적으로, 매주 3차례 12주 동안 LPS(10 μ g/kg)를 20 μ l씩 비강점적을 시행하였고, 마지막 1주 동안 매일 PBS 비강점적(LPS+PBS), 덱사메타손(dexamethasone, 1mg/kg) 복강내 주사(LPS+DEX), 포비돈-요오드 수용액(0.1%) 비강점적(LPS+PVP-I)을 각각 시행하였다(도 14).

[0074] (2) 배상세포 수 및 비강점막의 두께 감소 효과

[0075] 마우스 비강점막에서 배상세포의 발현, 점막의 비후 및 염증세포 침윤에 의한 비강점막 두께를 H&E 염색으로 관찰하였다.

[0076] 그 결과, 도 15에 개시한 바와 같이 정상군(con) 대비 PBS 처리군(LPS+PBS)에서 배상세포의 수가 현저하게 증가되었고, 본 발명의 포비돈-요오드 처리군(LPS+PVP-I)에서 배상세포의 수가 통계적으로 유의미하게 감소되었다.

[0077] 또한, 비강점막 두께도 마찬가지로, 정상군(con) 대비 PBS 처리군(LPS+PBS)에서 현저하게 증가되었고, 본 발명의 포비돈-요오드 처리로 인해 비강점막 두께가 통계적으로 유의미하게 감소되었다(도 16).

[0078] (3) 비강점막에서 TLR4 발현 및 신호전달 분자의 발현 감소

[0079] 마우스 비강점막에서 TLR4(Toll like receptor 4)의 발현을 관찰하기 위해 면역조직화학염색을 시행하였고, TLR4 및 MyD88(Myeloid differentiation primary response 88)의 공동-위치화(co-localization)를 관찰하기 위해 면역침강법(immunoprecipitation)을 수행하였다.

[0080] 그 결과, 도 17에 개시한 바와 같이 정상군(con) 대비 PBS 처리군(LPS+PBS)에서 TLR4의 발현이 현저하게 증가되었고, 본 발명의 포비돈-요오드 처리군(LPS+PVP-I)에서 TLR4의 발현이 통계적으로 유의미하게 감소되었다.

[0081] 또한, PBS 처리군(LPS+PBS)에서 LPS 처리로 인해 TLR4 및 MyD88 복합체가 형성되어 면역침강이 일어난 반면, 본 발명의 포비돈-요오드 처리군(LPS+PVP-I)에서 TLR4 및 MyD88 복합체 형성이 억제되어 면역침강이 사라진 것을 통해 포비돈-요오드가 TLR4의 발현뿐만 아니라, MyD88과의 신호전달 경로를 차단하여 비점막 염증반응을 감소시킨다는 것을 확인하였다(도 18).

[0082] (4) 비강점막에서 NLRP3, NF- κ B-p65, caspase-1, IL-1 β 의 발현 감소

[0083] 세포실험과 마찬가지로 마우스 비강점막에서 NLRP3 인플라좀과 연관된 다양한 신호전달물질의 발현을 RT-PCR 및 웨스턴 블롯(western blot)을 이용하여 분석하였다.

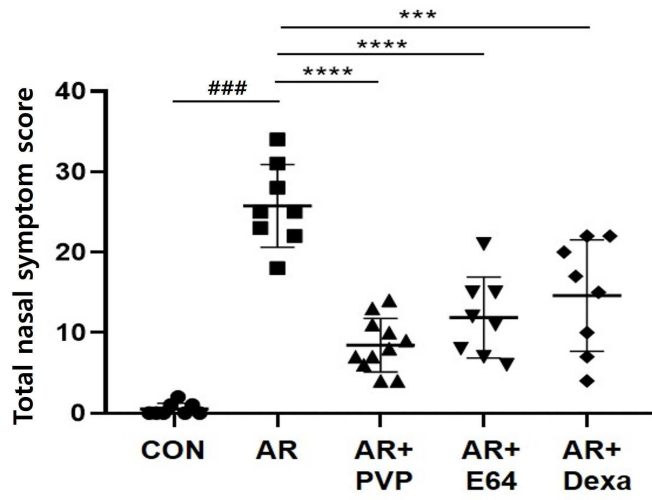
[0084] 그 결과, 도 19 및 도 20에 개시한 바와 같이 정상군(con) 대비 PBS 처리군(LPS+PBS)에서 NLRP3, NF- κ B-p65, caspase-1 및 IL-1 β 의 발현이 현저하게 증가되었고, 본 발명의 포비돈-요오드 처리군(LPS+PVP-I)에서 NLRP3, NF- κ B-p65, caspase-1 및 IL-1 β 의 발현이 통계적으로 유의미하게 감소되었다.

[0085] (5) 비강점막에서 염증성 사이토카인의 발현 감소

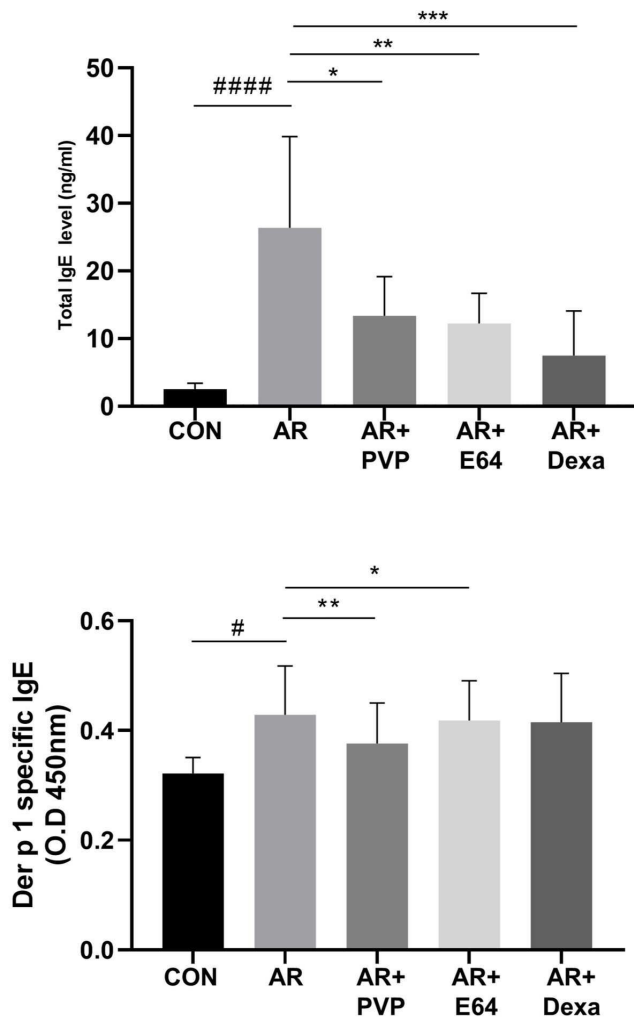
[0086] 마우스 비강점막에서 만성염증과 연관된 다양한 사이토카인의 발현을 RT-PCR 분석을 통해 확인하였다.

[0087] 그 결과, 정상군(con) 대비 PBS 처리군(LPS+PBS)에서 TNF- α , IFN- γ , IL-4 및 IL-17의 발현이 현저하게 증가되었고, 본 발명의 포비돈-요오드 처리군(LPS+PVP-I)에서 TNF- α , IFN- γ , IL-4 및 IL-17의 발현이 통계적으로 유의미하게 감소되었다(도 21).

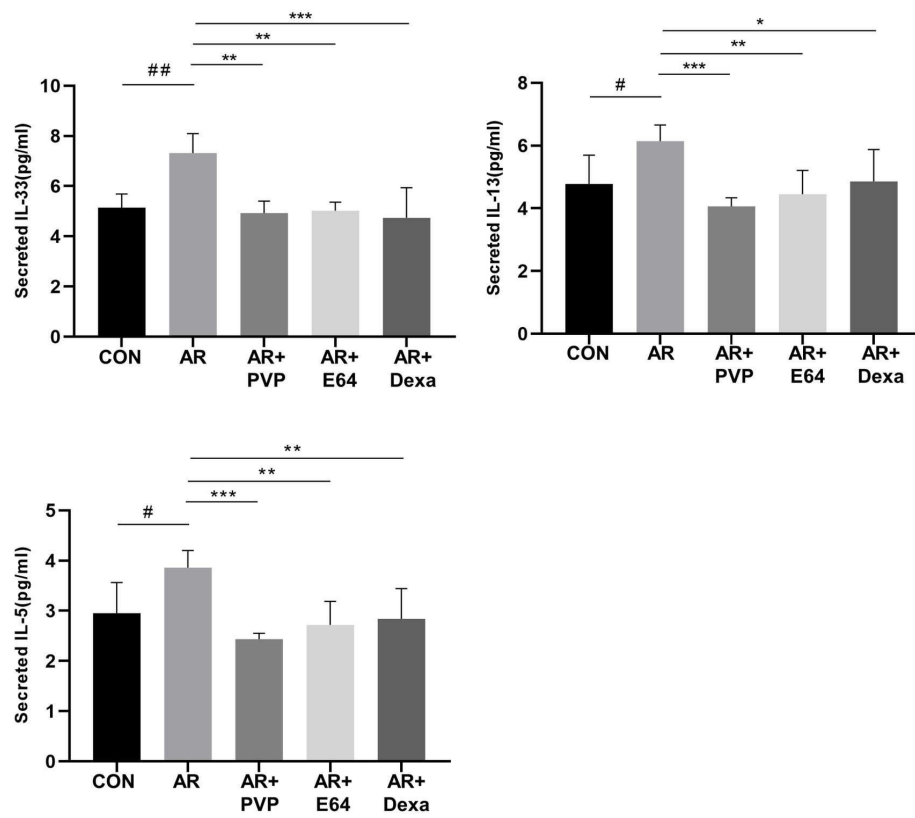
도면4



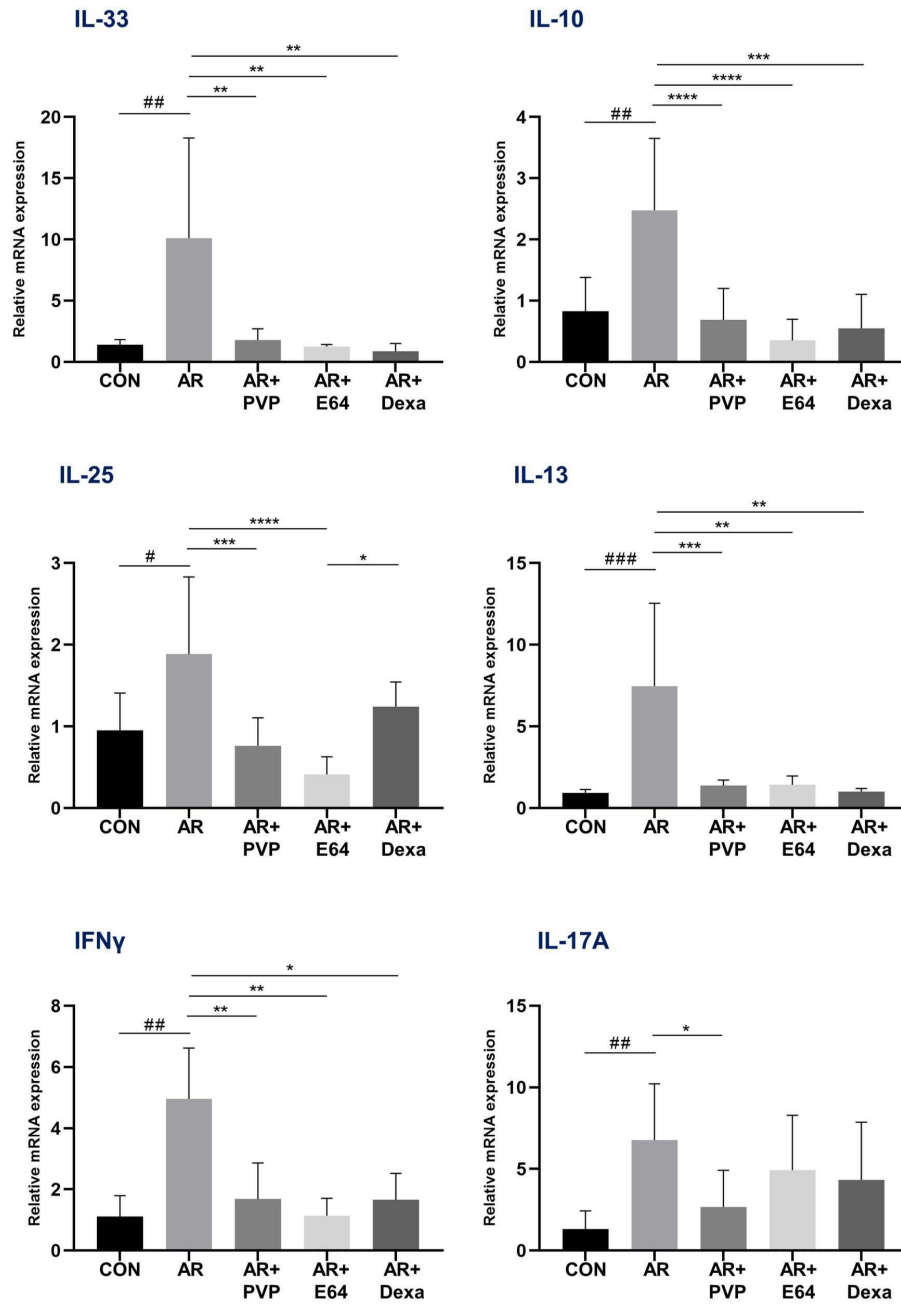
도면5



도면6

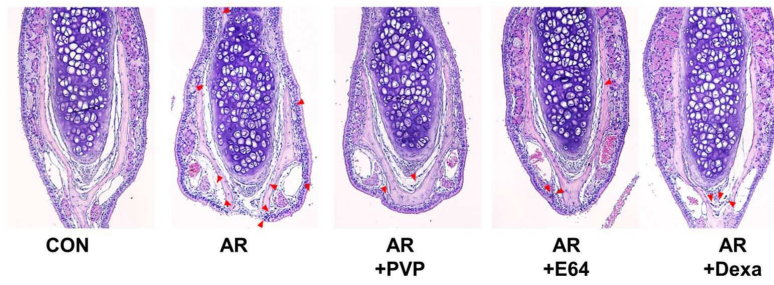


도면7

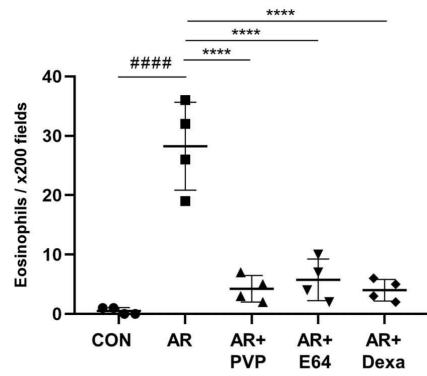


도면8

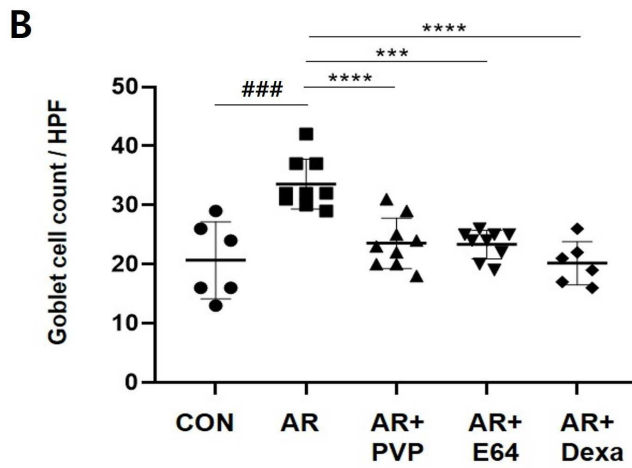
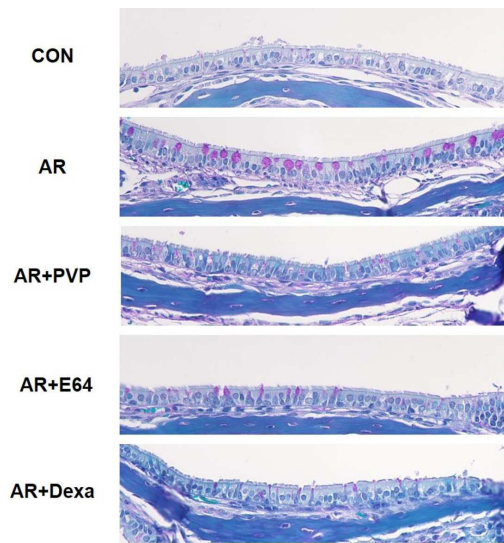
A



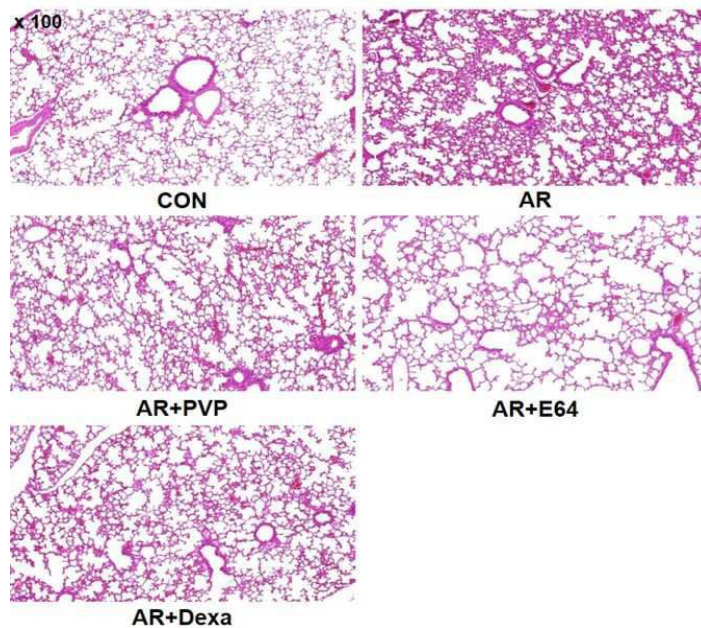
B



도면9

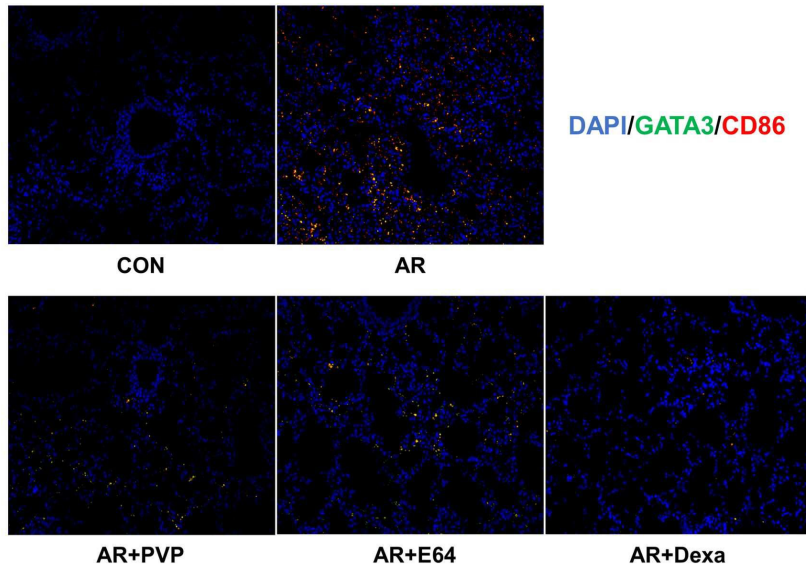


도면10

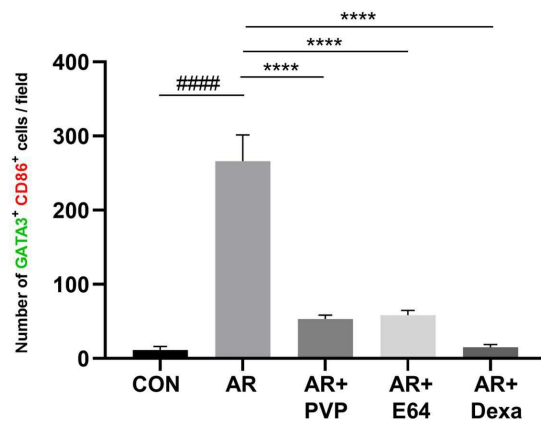


도면11

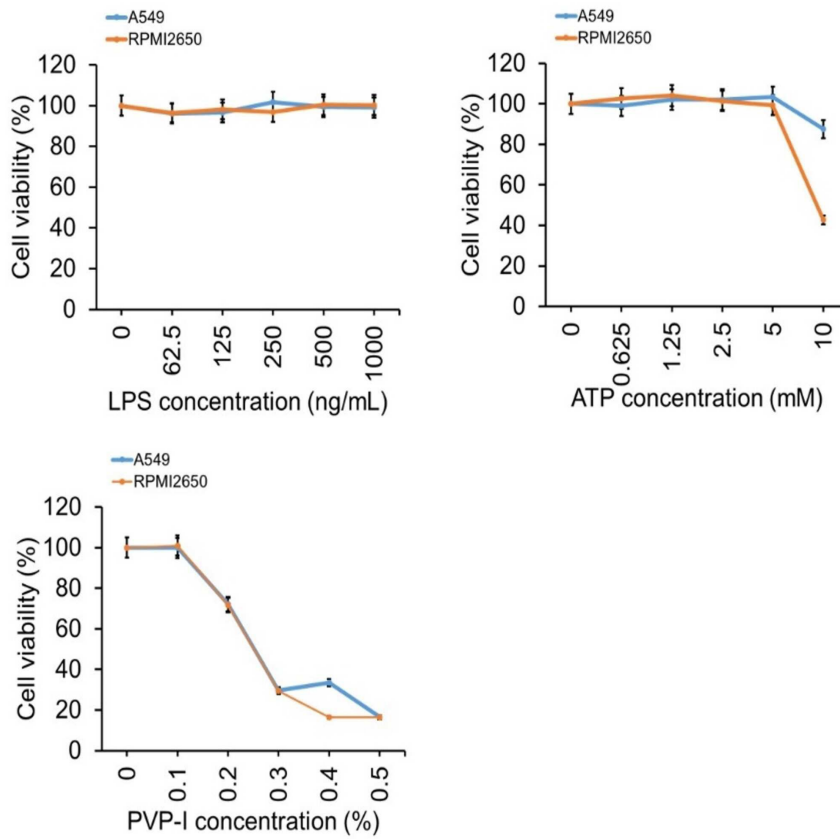
A



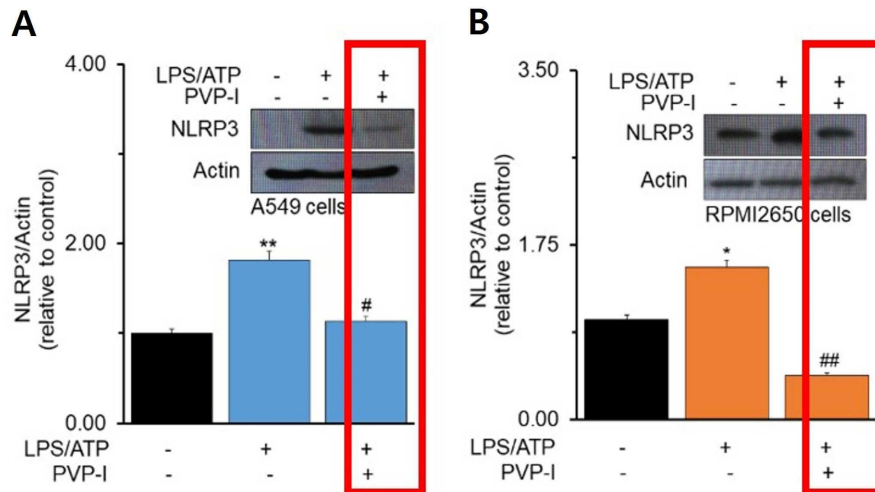
B



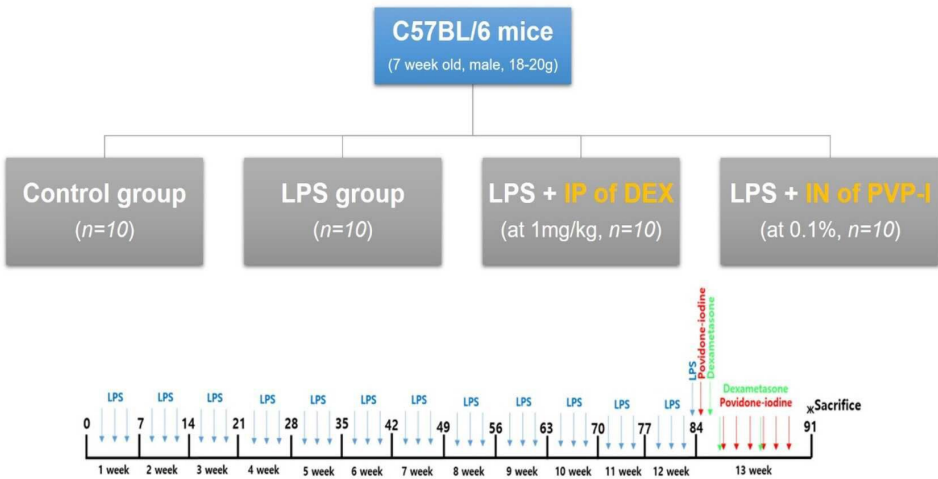
도면12



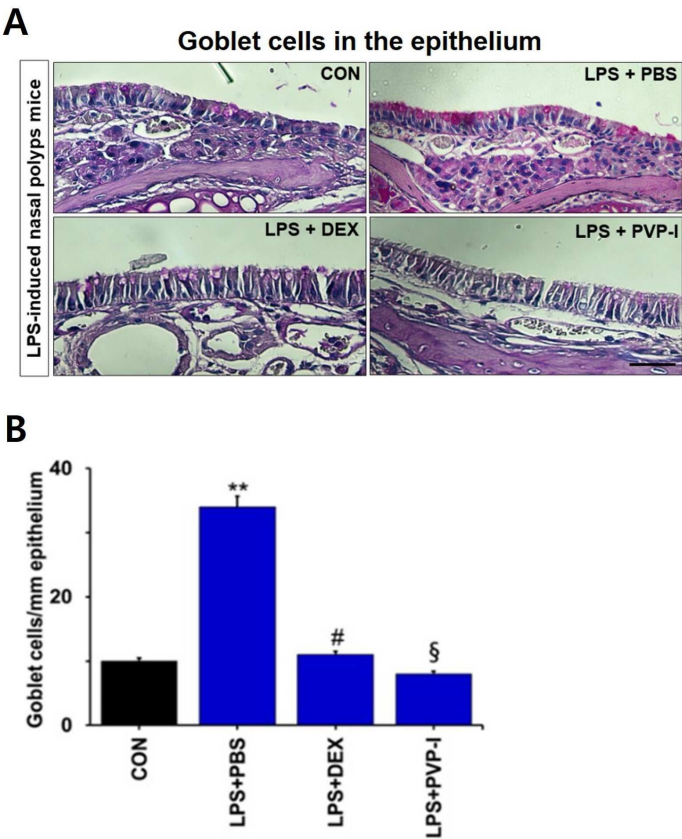
도면13



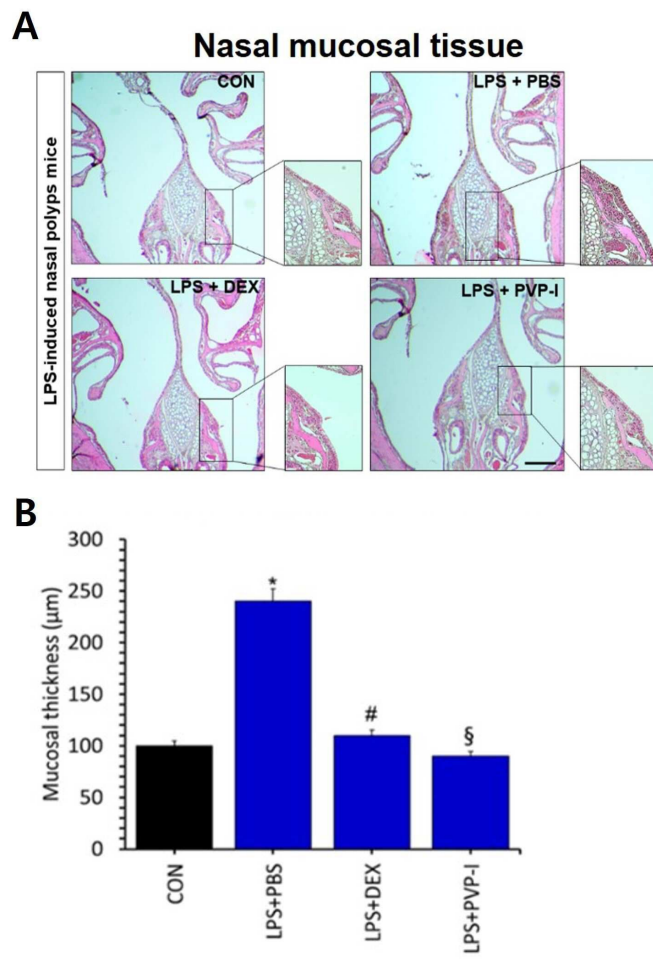
도면14



도면15

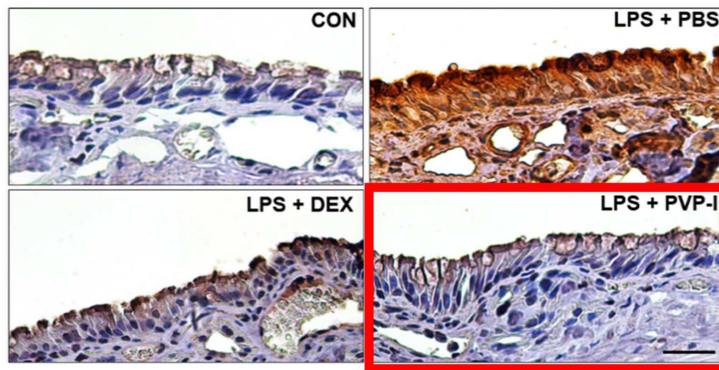


도면16

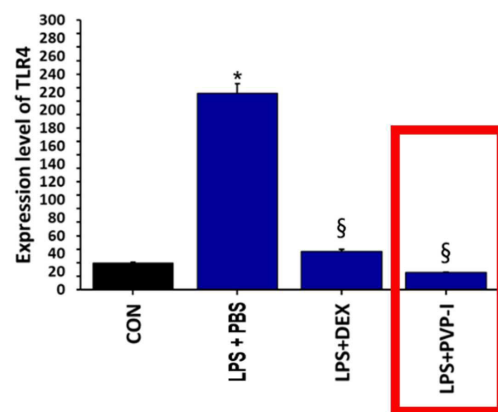


도면17

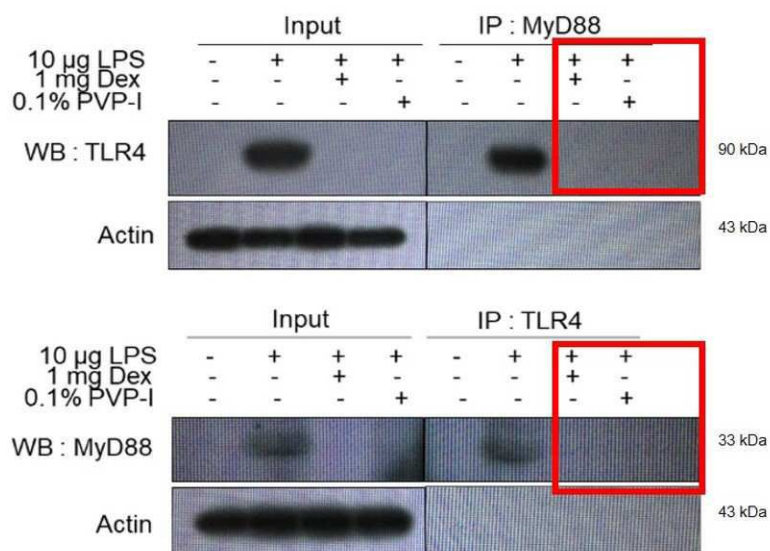
A



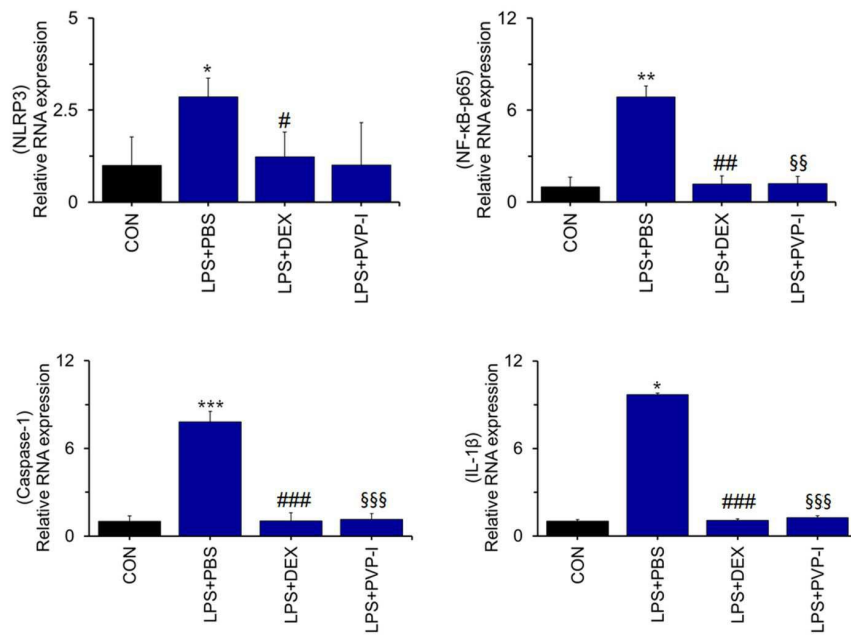
B



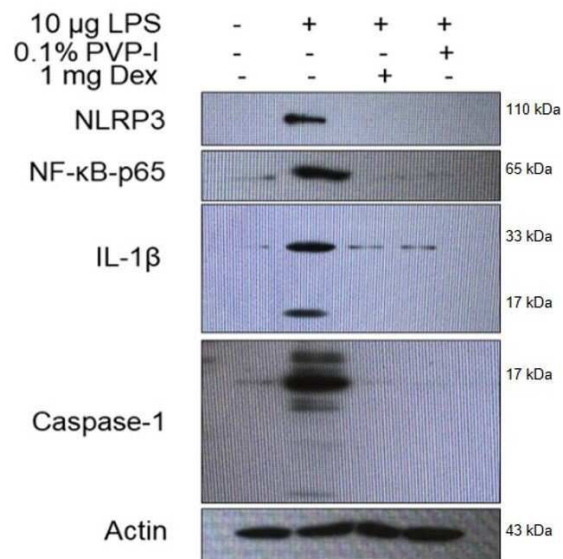
도면18



도면19



도면20



도면21

