

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2012-0042570 (43) 공개일자 2012년05월03일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) A61K 36/06 (2006.01) A61K 35/74 (2006.01) A61P 17/00 (2006.01)		(71) 출원인 고려대학교 산학협력단 서울 성북구 안암동5가 1
(21) 출원번호	10-2010-0104298	(72) 발명자 박용근 서울특별시 도봉구 도봉동 656 양우@ 101-802
(22) 출원일자	2010년10월25일	윤원석 서울특별시 용산구 청파로 213, 이안프리미어 60 8호 (문배동)
심사청구일자	2010년10월25일	(74) 대리인 김선애

전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 **아토피성 피부염 치료용 활성화된 자연살해 세포 제조방법**

(57) 요약

본 발명은 열처리된 살모넬라 균주를 첨가한 후 배양하여 자연살해(NK) 세포의 활성화를 유도하여 아토피성 피부염을 치료할 수 있는 NK 세포의 제조방법 및 상기 방법에 의해 제조된 NK 세포를 함유하는 염증 치료용 조성물에 관한 것이다. 상기한 본 발명은, 부작용을 최소화하고 간편하고 효과적인 방법으로 항염증효과를 증진시킬 수 있는 이점이 있어, 아토피성 피부염과 같은 피부염질환에 있어서 항염증 치료 및 보조 예방제제와 관련한 의약산업에 있어서 매우 유용하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도5



특허청구의 범위

청구항 1

열처리된 살모넬라 균주(*Salmonella typhimurium*)를 자연살해(NK) 세포에 첨가한 후 배양하여 자연살해(NK) 세포를 활성화하는 단계를 포함하는 아토피성 피부염 치료용 자연살해 세포 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 살모넬라 균주는 NK세포가 있는 배지 1ml 당 10ul - 50ul 농도로 첨가하여 24 -48 시간 배양하는 것을 특징으로 하는 아토피성 피부염 치료용 자연살해 세포 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 살모넬라 균주는 살모넬라 티피뮤리움 BRD509인 것을 특징으로 하는 아토피성 피부염 치료용 자연살해 세포 제조방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 기재된 방법에 의해 활성화되어 항염증치료의 효능이 증대된 자연살해(NK) 세포.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 기재된 방법에 의해 활성화된 자연살해(NK) 세포를 함유하는 것을 특징으로 하는 항염증 치료용 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 항염증 치료용 조성물은 아토피성 피부염 치료 효과가 있는 것을 특징으로 하는 항염증 치료용 조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 아토피성 피부염 치료용 자연살해 세포 제조방법에 관한 것이다. 더욱 상세하게는 열처리된 살모넬라 균주를 처리하여 자연살해 세포(Natural Killer cell, 이하 NK 세포라고 함)의 활성화를 유도하여 항염증효과를 증진시킬 수 있는 아토피성 피부염 치료용 NK 세포 제조방법, 관련 살모넬라 균주의 용도 및 상기 NK 세포를 함유하는 항염증 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 아토피성 피부염은 현대인에게 빈번하게 발생되고 있는 의학적으로 원인이 불분명한 만성적 피부질환이다. 아토피성 피부염은 일반적으로 인간 면역체계의 불균형에 의해 초래된 질환으로 알려져 있다. 우리 몸의 면역은 B 림프구가 주관하는 체액성 면역과 T 림프구가 주관하는 세포성 면역으로 이루어져 있다. 세포성 면역을 주관하는 T 세포에는 Tc-세포와 Th-세포가 있으며, Th-세포는 Th-1과 Th-2로 구분된다. 상기 Th-1과 Th-2의 균형이 깨져 Th-2의 양이 갑자기 늘어나고 Th-1의 양이 줄어들면 알레르기 질환, 즉 아토피성 피부염, 알레르기성 비염, 알레르기성 천식 등의 질환이 발생하며, 반대로 Th-1의 양이 많이 늘어나게 되면 자가 면역 질환이 초래된다. 따라서 Th-2 면역반응의 과민은 아토피성 피부질환의 핵심요소이다. Th-2 면역반응은 즉시형 과민반응으로 IL-4, IL-5, IL-13 사이토카인의 분비를 매개로 이루어지며, IL-4와 IL-13은 B 세포의 isotype을 자극하고 Ig-E의 생성을 조절한다.

[0003] 최근 들어 국내외적으로 아토피성 피부염 발병이 소아에서 성인에 이르기까지 광범위하게 발생하고 있어 치료제의 개발이 시급하다. 현재 스테로이드 계열의 아토피성 피부염 억제제가 치료제로 사용되고 있으나 아토피성 피

부염의 원천적인 해결방법이 아닌 일시적인 경감효과를 보여주며 동시에 내성이 생기는 부작용이 알려진바, 안전하면서도 우수한 효능을 가진 광범위한 치료제 개발이 필요한 실정이다.

- [0004] 한편, 자연살해 세포(NK 세포)는 혈액 내 백혈구의 일종으로 인간 골수에서 생성되며 암세포를 직접 파괴하는 면역세포로서, 병원균, 암, allogeneic 세포 등을 제거하는 선천성 면역 (innate immunity)에 관여하며, TNF- α , IFN- γ , IL-12 등의 사이토카인을 분비하여 적응성면역 (adaptive immunity)을 매개함으로써 암에 특이적인 기억 형성을 조절하는 기능을 가지고 있으며 여러 암들에서 NK 세포의 기능 및 분화능력에 결함이 있는 것으로 보고되었다.
- [0005] NK 세포를 이용한 기존의 암 치료요법으로는 인터루킨-2로 NK 세포를 활성화시켜 암세포에 대한 면역반응을 증진시키는 방법(참고문헌 : Tumor specific boosting of IL-2 induced NK activation by paraformaldehyde fixed tumor cells Sohita Dhillon* and Rajiv K. Saxena Immunology Laboratory, School of Life Sciences, Jawaharlal Nehru University, New Delhi, 110067, India Immunology Letters Volume 63, Issue 3, October 1998, Pages 153-158)과 일본 등지에서 알파갈락토세라마이드(α -galactoceramide) 성분 배양액 등이 이용되어 왔는데(참고문헌 : Tumor cells loaded with alpha-galactosylceramide induce innate NKT and NK cell-dependent resistance to tumor implantation in mice. Shimizu K, Goto A, Fukui M, Taniguchi M, Fujii S. J Immunol. 2007 Mar 1;178(5):2853-61.), 이러한 방법은 고가의 비용이 소요되며 부작용과 함께 개인에 따른 치료효과의 지속성, 내성 및 치료효과의 차이 등 많은 문제점을 가지고 있다고 알려져 있다. 특히 인터루킨-2로 NK 세포를 활성화하는 방법은 고농도(약 150ng/ml)의 인터루킨-2가 사용되어 강한 독성, 발열과 폐부종 그리고 쇼크의 유발 등의 문제점이 있었다. 이런 문제점들을 해결하기 위해 적은 농도의 인터루킨-2 사용 등과 관련한 연구들이 수행 중에 있으나 아직 만족할 만한 결과가 보고되어진 바가 없다.
- [0006] 따라서 경제적이며 효과적으로 NK 세포를 활성화 시키는 방법 및 치료효과를 증진시킬 수 있는 다양한 항염증 세포 치료제 개발방법 및 이를 함유하는 항염증 세포 치료제 조성물 등에 대한 요구가 계속적으로 있어 왔다.
- [0007] 살모넬라는 병원성 미생물로 대개의 경우 식중독을 일으키는 병원균이다. 하지만, 미국 예일대학 연구팀은 유러 피언 암 잡지(European Journal of Cancer)에 발표한 논문에서 유전자를 조작한 살모넬라균과 방사선 요법을 병행하여 사용함으로써 흑색종을 치료하는데 매우 성공적인 결과를 거두었다고 보고하였다(Antitumour effects of genetically engineered Salmonella in combination with radiation. Journal of Cancer, 18, 2397-2402 J. Platt.). 이는 살모넬라의 세포내 기생성 번식특성에 기인한 세포면역증진이 영향을 끼쳤을 것이라 추정되고 있다.
- [0008] 본 발명자들은 아토피성 피부염에 치료효과를 갖는 약독화된 살모넬라 균주를 개발하여 대한민국 등록특허 제 10-0650451호로 특허를 받았다. 그러나, 살모넬라 균주를 이용하여 NK 세포를 활성화하고 이를 아토피성 피부염 치료에 이용한 것에 대해 보고된 바는 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 본 발명은 상기 종래기술의 문제점과 요구를 해결하기 위해 안출된 것으로, 본 발명의 목적은 부작용을 최소화 하며 경제적이며 효과적으로 항염증효과를 증진시킬 수 있는 활성화된 NK 세포를 제조하는 방법을 제공하는 것이다.
- [0010] 본 발명의 다른 목적은, 상기 방법에 의해 항염증치료의 효능이 증대된 NK 세포 및 이를 포함하는 항염증치료용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0011] 본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구범위 및 도면에 의해 더욱 명확하게 된다.

과제의 해결 수단

- [0012] 본 발명의 한 양태에 따르면, 본 발명은 열처리된 살모넬라 균주(*Salmonella typhimurium*)를 자연살해(NK) 세포에 첨가한 후 배양하여 자연살해(NK) 세포를 활성화하는 단계를 포함하는 아토피성 피부염 치료용 자연살해 세포 제조방법을 제공한다.

- [0013] 이에 한정되는 것은 아니나, 상기 살모넬라 균주는 NK세포가 있는 배지 1ml 당 10u1 - 50u1 농도로 첨가하여 24-48 시간 배양하는 것이 바람직하다.
- [0014] 상기 살모넬라 균주는 살모넬라 티피뮤리움 BRD509인 것을 특징으로 한다.
- [0015] 본 발명의 다른 양태는 상기 방법에 의해 활성화되어 항염증치료의 효능이 증대된 자연살해(NK) 세포를 제공한다.
- [0016] 본 발명의 또 다른 양태는 본 발명에 의한 방법에 의해 활성화된 자연살해(NK) 세포를 함유하는 것을 특징으로 하는 항염증 치료용 조성물을 제공한다.
- [0017] 이하, 본 발명을 더욱 상세하게 설명한다.
- [0018] 본 발명은 열처리된 살모넬라 균주(*Salmonella typhimurium*)를 자연살해(NK) 세포에 첨가한 배양하여 자연살해(NK) 세포를 활성화하는 단계를 포함하는 아토피성 피부염 치료용 자연살해 세포 제조방법을 제공한다.
- [0019] 이에 한정되는 것은 아니나, 상기 살모넬라 균주는 NK세포가 있는 배지 1ml 당 10u1 - 50u1 농도로 첨가하여 24-48 시간 배양하는 것이 바람직하다. 구체적으로 10^5 NK세포당 살모넬라 균주 $1 \times 10^{5-7}$ 마리의 비율로 활성화를 위해 함께 배양한다. 상기 범위를 벗어나면 NK 세포 활성화 효율이 낮아진다.
- [0020] 본 발명에서는 기존의 대부분의 연구들에서 이용한 성숙된 NK 세포와는 달리 살모넬라 균주를 처리한 NK 세포를 이용함으로써 항염증효과를 증진시키는 세포치료제 개발에 기여할 수 있다.
- [0021] 상기 살모넬라 균주는 병원성을 없애기 위해 열처리된 것으로, 열처리방법은 특별한 제한이 있는 것은 아니다. 다만 상기 살모넬라 균주는 PBS 현탁상태에서 60 - 110℃ 물중탕에서 5 - 20분간 가열하여 열처리되는 것이 바람직하다. 상기 열처리 온도가 60℃보다 낮거나 가열시간이 5분 미만이면 살모넬라 균주의 병원성이 남아 있을 수 있고, 열처리 온도가 110℃보다 높거나 가열시간이 20분을 초과하면 NK 세포 활성화 효과가 낮아지게 된다.
- [0022] 상기 살모넬라 타이피뮤리움(*Salmonella typhimurium*) 균주는 장티푸스를 유발하는 group D *Salmonella*에 속하는 병원균으로 세포면역을 유도한다.
- [0023] 본 발명에서는 상기 살모넬라 균주의 병원성을 보다 확실하게 없애기 위해 약독화된 살모넬라 타이피뮤리움을 사용할 수 있다. 본 발명에서 "약독화"란 살아있는 병원체의 독성을 인공적으로 약하게 한 것으로, 병원체의 필수 대사에 관여하는 유전자를 변이시켜 체내에서 질병을 일으키지 못하고, 정상인에 투여 시 일정 기간 후 쉽게 사라져 버리게 되는 것을 의미한다.
- [0024] 본 발명의 구체적인 실시예에 사용된 균주(숙주)는 살모넬라 타이피뮤리움 BRD 509 균주로, 병원성이 없는 약독화된 균주이다(J Infect Dis. 1994 Dec;170(6):1508-17, Medeva사, London 에서 구입가능). 상기 균주의 약독화 방법은 aro A, aro B의 유전자를 변형시켜서 균주의 대사에 비정상이 일어나게 만들 수 있다.
- [0025] 또한 본 발명은 상기 본 발명에 따른 NK 세포의 활성화 단계에 의해 항염증치료의 효능이 증대된 NK 세포 및 상기 NK 세포를 함유하는 것을 특징으로 하는 항염증 치료용 조성물을 제공한다.
- [0026] 본 발명에 있어서, 상기 열처리된 살모넬라 균주를 처리하게 되면 NK 세포의 IFN-감마의 분비량을 증가시켜 항염증 치료 효능이 증대된다(도 1 내지 도 3 참조). 보다 구체적으로 살펴보면 본 발명에 따라 NK 세포에 살모넬라 균주를 처리하면 IFN-감마의 분비량이 증가되어 항염증사이토카인인 인터페론을 통해 피부염증이 억제될 수 있으므로, 본 발명에 의해 살모넬라 균주를 이용하면 부작용을 최소화 하면서 NK 세포의 항염증 효과를 간편하고 경제적으로 증진시킬 수 있다.
- [0027] 본 발명에 따른 NK 세포를 함유하는 항염증 치료용 조성물은 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여도 인체에 투여될 수 있다. 비경구 투여, 예를 들어 복강내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피하 투여될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 또한 상기 조성물은 활성 물질이 표적 세포로 이동할 수 있는 임의의 장치에 의해 투여될 수 있다. 상기 조성물은 항염증 치료에 일반적으로 사용되는 약제학적 담체와 함께 투여될 수 있으며, 이런 담체로 생리학적 식염수를 예로 들 수 있다.
- [0028] 본 발명의 항염증 치료용 조성물은 치료학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에서 "치료학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효량은 질병의 중증도, 연령, 성별, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한

요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 예컨대, 성인 기준으로 1회 10^5 세포수 내지 10^9 세포수의 본 발명의 NK 세포를 투여할 수 있다.

[0029] 본 발명에 있어서, 상기 염증의 종류는 피부에 작용을 할 수 있는 어떤 종류의 염증도 될 수 있으나, 바람직하게는 상기 염증은 아토피성 피부염인 것을 특징으로 한다.

발명의 효과

[0030] 이상 설명한 바와 같이, 본 발명은 열처리된 살모넬라 균주를 처리하여 NK 세포를 간편하고 저렴하게 활성화 시킬 수 있고, NK 세포를 활성화하여 항염증 효과를 증대시킬 수 있다. 따라서 본 발명은 NK 세포 치료제의 배양법 및 개발에 있어서 살모넬라 균주의 이용가능성이 있음을 확인해 주고, 본 발명의 배양법 및 조성물은 아토피성 피부염과 같은 난치성 항염증치료제 또는 보조제로 산업적 이용가능성이 큰 발명이라고 할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0031] 도 1은 본 발명에 따른 살모넬라 균주에 의한 NK 세포의 활성화증가를 IFN- γ 발현양으로 측정 비교한 결과를 나타내는 도면이다.

도 2는 아토피성 피부염을 유도한 마우스에 있어서, 본 발명에 의해 피부염개선을 유도하는 사이토카인인 IFN- γ 의 발현을 나타내는 지표가 증가된 결과를 보여주는 도면이다. 음성대조군은 정상질환군이며, NK세포대조군은 정상NK 세포만 처리한 그룹이며, NK세포실험군은 살모넬라를 처리한 NK세포 그룹이며, 양성대조군은 스테로이드를 처리한 그룹을 나타낸다.

도 3은 아토피성 피부염을 유도한 마우스에 있어서, 본 발명에 의해 피부의 염증을 유발하는 IL-4가 저하된 결과를 나타내는 도면이다.

도 4는 아토피성 피부염을 유도한 마우스에 있어서, 본 발명에 의해 피부의 염증을 유발하는 IgE 항체가 저하된 결과를 나타내는 도면이다.

도 5는 아토피성 피부염의 동물모델에서 본 발명의 조성물에 의한 피부의 염증 완화 효과를 보여주는 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0032] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하기로 한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것이므로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는다.

[0033] <실시예 1: NK 세포의 추출 및 배양>

[0034] 6-7주령의 C57BL/6 마우스로부터 비장을 분리하여 NK 세포를 얻었다. 본 발명에서 세포를 추출하고 배양한 방법은 다음과 같다. 마우스의 비장을 꺼내어 셀 그라인더(cell grinder)로 파쇄하였다. 파쇄된 세포를 RPMI 배지 상태에서 1500rpm으로 원심분리한 후에 RBC lysing buffer(Sigma, USA) 10ml을 더하여 상온에서 10분간 반응시킨 후 1500rpm으로 원심분리한 후 3회 RPMI 배지 10ml로 교환하여 적혈구를 제거하였다. 이후 얻어진 단핵면역세포들에 대하여 anti-NK cell antibody를 사용하여 MACS System 하에서 NK 세포를 분리하였다.

[0035] 분리된 NK 세포는 10% FBS 를 포함하는 RPMI 배지에 넣어서 24시간 배양하며 이때 열처리한 살모넬라 타이피리움 균주를 첨가하였다. 구체적으로 10^9 세포수의 살모넬라 균주를 PBS 현탁상태에서 100℃ 물중탕하여 10분간 가열하고, 이후 현탁액을 NK세포가 있는 RPMI 배지 1ml 당 10ul 농도로 첨가하여 5% CO₂ 배양기에서 24시간 동안 배양하였다.

[0036] 배지로부터 NK 세포를 수득하여 이를 PBS에 현탁하여 10^5 Cell 을 마우스 항염증치료제로 사용하였다.

[0037] <실시예 2: 살모넬라 균주를 첨가한 NK 세포의 활성화시험>

[0038] NK 세포의 활성화를 측정하기 위해서 NK 세포를 분리한 후에 실시예 1과 같이 살모넬라 균주를 처리하였다.

[0039] 항염증활성을 평가하기 위해서는 위 세포의 배양액중의 인터페론감마(IFN-gamma)의 양을 측정하여 살모넬라 균에 의한 NK 세포의 활성화를 측정하였다. 그 결과 NK 세포로부터 IFN-감마의 분비량이 증가하였다(도 1 참조).

[0040] <실시예 3 : 아토피성 피부염 유발된 마우스 모델에서 세포치료제에 의한 효과분석>

[0041] 5-6주령이 된 Nc/Nga 마우스(SLC, Japan)의 등 부위를 제모한 후에 피부의 미세 상처가 치유되도록 24시간 방치하였다. 이후 아세톤과 올리브오일이 3:1로 혼합되어있는 용액에 1% DNCB(Sigma, USA)가 혼합된 반응액을 준비하여 혼합액 200ul를 등부위에 도포하였다. 4일후부터 1주일에 2-3번씩 0.2% DNCB용액 150ul 를 등 부위에 도포하였다.

[0042] 4-5주 처리 후에 피부염이 유발되었고 이 상태에서 10^5 의 NK 세포가 포함된 PBS용액 100ul를 피하주사하고 증상의 변화를 관찰하였다. 제제를 투여한 후 2주후 귀의 눈에서 혈액을 채취하여 IgE의 발현 양상을 측정하였고 혈중 사이토카인의 변화를 ELISA실험법을 통해서 확인하였다. 피부염의 양상은 Nc/Nga 마우스 피부염의 임상적인 육안 평가법을 이용하여 관등평가를 하였다.

[0043] 그 결과를 도 2 - 도 6 에 나타내었다. 도 2는 아토피성 피부염의 완화와 관련있다고 알려진 인터페론 감마의 발현이 살모넬라를 통해 활성화된 NK세포 실험군에서 증가된 결과를 보여주는 도면이다. 그리고 아토피성 피부염의 유발에 관여한다고 알려진 IL-4 및 IgE 항체에 대해서도 실험한 결과 NK세포 실험군에서 IL-4의 완화(도 3) 및 IgE의 증가(도 4)를 확인할 수 있었다.

[0044] 도 5에서는 살모넬라 균주를 처리한 쥐에서의 피부염 완화증상을 관찰한 도면을 비교하여 제시하였다. 그림과 같이 정상질환군인 음성대조군, 정상NK 세포만을 처리한 NK세포대조군에 비하여, 살모넬라를 처리한 NK 세포인 NK세포 실험군의 피부염의 정도가 외관상으로 구분되어 일반의약품인 스테로이드를 처리한 양성대조군과 유사한 피부염 증상의 완화를 살모넬라를 처리한 NK 세포를 투여한 질환마우스에서 확인할 수 있었다. 이는 환자에 있어 피부염 증상완화를 유도하는 지표로 이용될 수 있다.

산업상 이용가능성

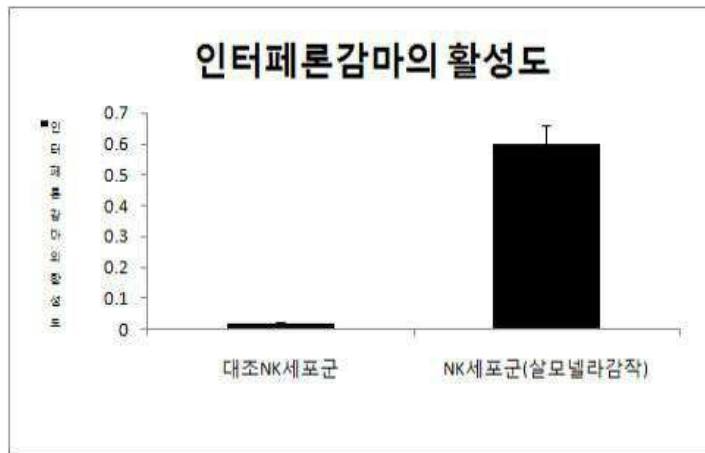
[0045] 이상 설명한 바와 같이, 본 발명에 따르면 아토피성피부염 치료용 NK세포를 제조할 수 있으며, 상기 박테리아 세포를 이용하여 아토피성 피부염의 유발을 억제시킬 수 있다. 본 발명은 열처리된 살모넬라 균주(*Salmonella typhimurium*)를 NK 세포에 처리하여 NK 세포를 간편하게 활성화시킬 수 있다. 따라서 기존의 IL-2 등의 사이토카인과 비교해 저렴한 비용으로 부작용을 최소화하면서 NK 세포 치료제를 만들 수 있는 방법을 제안한 발명이라 할 것이다.

[0046] 상기 실시예에서 살펴본 바와 같이, 살모넬라처리 NK세포를 피부염이 유발된 쥐에 투여한 경우, 아토피 피부염의 활성인자 중 하나인 IL-4의 발현을 억제시키고, 억제인자인 IFN- γ 의 발현을 증가시켰으며 동시에 아토피 질환의 지표인 Ig-E의 면역반응을 억제시키는 효과를 확인할 수 있었다. 또한 상기 면역반응의 결과로 아토피성 피부염의 증상인 가려움증 및 피부염의 증상완화 효과가 나타남을 확인하였다. 따라서, 아토피성 피부염에 치료효과를 갖는 살모넬라처리 NK세포를 이용한 치료제는 난치성 질환으로 적절한 치료제가 부재한 아토피성 피부질환의 치료 및 예방제로서 의약산업에 매우 유용하게 이용될 수 있다.

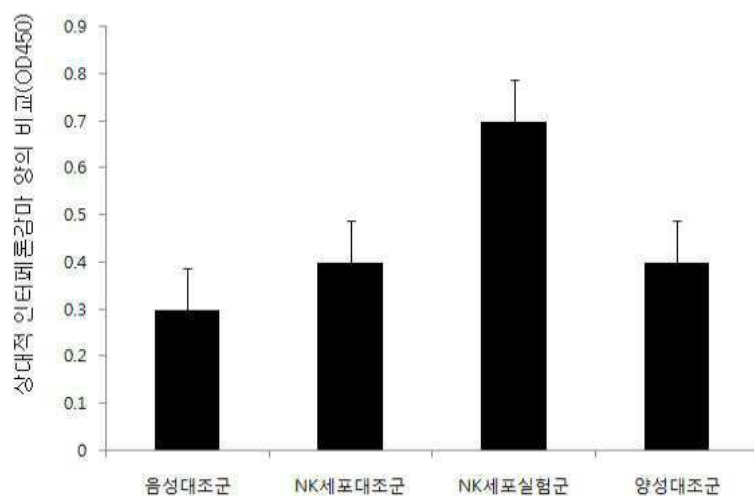
[0047] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였으나, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 균등물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

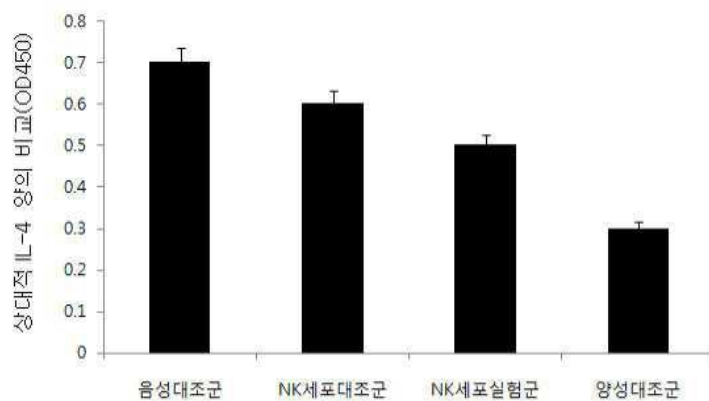
도면1



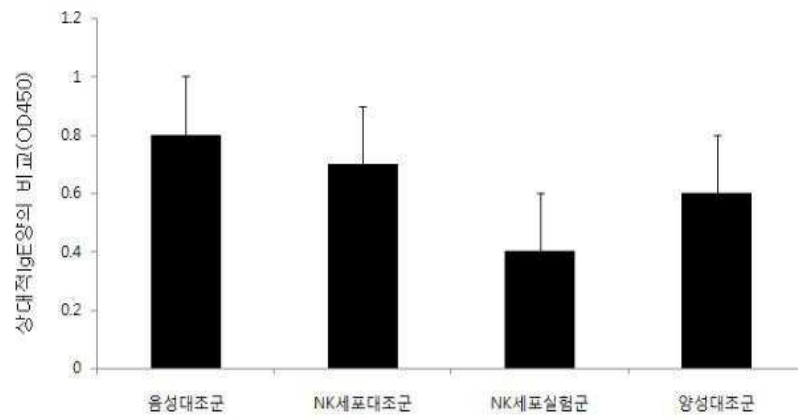
도면2



도면3



도면4



도면5

