(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년05월23일
(11) 등록번호 10-1860566
(24) 등록일자 2018년05월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/68 (2006.01) *A01K 67/027* (2006.01)
G01N 33/569 (2017.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/6896 (2013.01)
A01K 67/027 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-0165136
(22) 출원일자 2016년12월06일
심사청구일자 2016년12월06일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020160068964 A*
Cell, (2016.12.01.), Vol. 167, pp 1469-1480.*
JP05778678 B2
KR1020150145330 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
오명숙
서울특별시 강남구 삼성로 151, 1동 305호 (대치동, 선경아파트)
김동현
서울특별시 성북구 선잠로 92-24 (성북동)
최진규
서울특별시 광진구 뚝섬로36길 19, 804동 501호 (자양동, 자양8차현대홈타운)
(74) 대리인
안소영

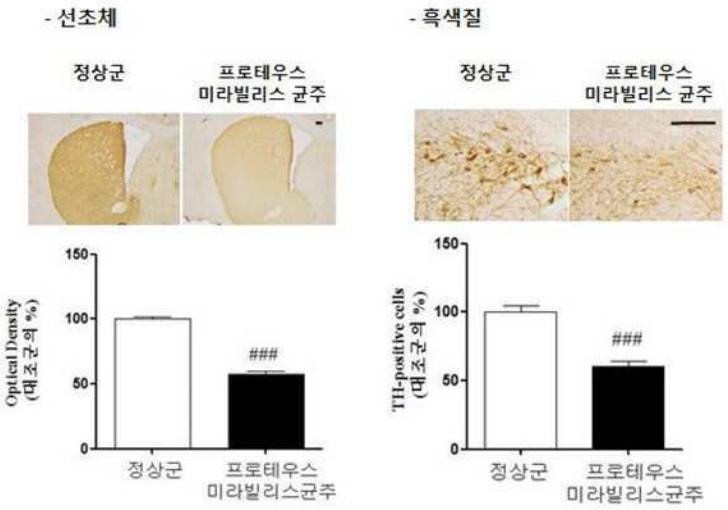
전체 청구항 수 : 총 17 항 심사관 : 차명훈

(54) 발명의 명칭 **파킨슨병을 진단하기 위한 정보제공방법**

(57) 요 약

본 발명은 피검체의 생물학적 시료로부터 프로테우스 미라빌리스(*Proteus mirabilis*) 균주, 프로테우스 미라빌리스 균주에 의해 생성된 대사산물 및 알파-시누클레인(α-synuclein)으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나의 대상의 양을 측정하여 파킨슨병을 진단하기 위한 정보제공방법, 프로테우스 미라빌리스 균주를 유효성분으로 포함하는 파킨슨병 동물모델 제조용 조성물, 인간을 제외한 동물에 프로테우스 미라빌리스 균주를 투여하는 단계를 포함하는 파킨슨병 동물모델 제조방법 및 상기 파킨슨병 동물모델에 파킨슨병 치료제 후보약물을 투여하는 단계 및 파킨슨병 증상의 완화 정도를 관찰하여 후보약물의 파킨슨병 치료효과를 판단하는 단계를 포함하는 파킨슨병 치료제의 스크리닝 방법에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
G01N 33/56916 (2013.01)
A01K 2207/20 (2013.01)
A01K 2207/25 (2013.01)
A01K 2267/0318 (2013.01)
G01N 2333/265 (2013.01)
G01N 2400/50 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2015R1A2A2A01004341
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 중견연구자지원사업
연구과제명 파킨슨병 조기 제어 기술 개발을 위한 Microbiota-gut-brain axis 네트워크 규명연구
기 여 율 1/1
주관기관 경희대학교 산학협력단
연구기간 2015.05.01 ~ 2018.04.30

명 세 서

청구범위

청구항 1

a) 피검체의 생물학적 시료로부터 프로테우스 미라빌리스 균주(*Proteus mirabilis*) 및 프로테우스 미라빌리스 균주에 의해 생성된 대사산물로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나의 대상의 양을 측정하는 단계; 및

b) 상기 a) 단계에서 측정된 대상의 양을 파킨슨병을 앓고 있지 않은 정상 대조군의 생물학적 시료로부터 측정된 그 대상의 양과 비교하는 단계;

를 포함하는, 파킨슨병을 진단하기 위한 정보제공방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

c) 상기 a) 단계에서 측정된 대상의 양이

i) 파킨슨병을 앓고 있지 않은 정상 대조군의 생물학적 시료로부터 측정된 그 대상의 양보다 많을 경우, 상기 피검체는 파킨슨병이 발병하거나 발병 가능성이 높은 것으로 분류되고,

ii) 파킨슨병을 앓고 있지 않은 정상 대조군의 생물학적 시료로부터 측정된 그 대상의 양과 유사하거나 동등한 경우, 상기 피검체는 파킨슨병이 발병하지 않은 것으로 분류되는 단계;

를 더 포함하는, 파킨슨병을 진단하기 위한 정보제공방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 생물학적 시료는 조직, 혈액, 전혈, 혈청, 혈장, 타액, 객담, 뇌척수액, 뇨, 대장 조직 또는 대변인, 파킨슨병을 진단하기 위한 정보제공방법.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 프로테우스 미라빌리스 균주에 의해 생성된 대사산물은 리포폴리사카라이드(LPS)인, 파킨슨병을 진단하기 위한 정보제공방법.

청구항 5

프로테우스 미라빌리스(*Proteus mirabilis*) 균주를 유효성분으로 포함하는 파킨슨병 동물모델 제조용 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 조성물은 프로테우스 미라빌리스 균주를 1 ~ 1 × 10^{20} CFU/ml(1마리당)의 농도로 포함하는, 파킨슨병 동물모델 제조용 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 조성물은 프로테우스 미라빌리스 균주를 2 × 10^{9} CFU/ml(1마리당)의 농도로 포함하는, 파킨슨병 동물모델 제조용 조성물.

청구항 8

제5항에 있어서,

상기 조성물은 1일 1회 3 ~ 7일간 경구 투여하는 것인, 파킨슨병 동물모델 제조용 조성물.

청구항 9

제5항에 있어서,

상기 조성물은 사료 조성물인, 파킨슨병 동물모델 제조용 조성물.

청구항 10

인간을 제외한 동물에 프로테우스 미라빌리스(*Proteus mirabilis*) 균주를 투여하는 단계를 포함하는, 파킨슨병 동물모델 제조방법.

청구항 11

제10항에 있어서,

6-OHDA(6-hydroxydopamine), MPTP(1-methyl-4-phenyl-1,2,4,6-tetrahydropyridine), MPTP/프로베네시드(probenecid), 로테논(rotenone) 및 파라콰트(paraquat)로 이루어진 군으로부터 선택된 파킨슨병을 유발하는 신경독소를 더 투여하는 단계를 포함하는, 파킨슨병 동물모델 제조방법.

청구항 12

제11항에 있어서,

프로테우스 미라빌리스 균주와 상기 파킨슨병을 유발하는 신경독소는 동물에 순차적으로, 동시에, 또는 간헐적으로 투여되는 것인, 파킨슨병 동물모델 제조방법.

청구항 13

제11항에 있어서,

상기 파킨슨병을 유발하는 신경독소는 MPTP인, 파킨슨병 동물모델 제조방법.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 MPTP는 1 ~ 1000 mg/kg으로 투여되는 것인, 파킨슨병 동물모델 제조방법.

청구항 15

제14항에 있어서,

상기 MPTP는 프로테우스 미라빌리스 균주와 순차적으로 투여시 15 mg/kg으로 투여되는 것인, 파킨슨병 동물모델 제조방법.

청구항 16

제10항 내지 제15항 중 어느 한 항의 제조방법에 의해 제조된 파킨슨병 동물모델.

청구항 17

제16항의 파킨슨병 동물모델에 파킨슨병 치료제 후보약물을 투여하는 단계; 및 파킨슨병 증상의 완화 정도를 관찰하여 후보약물의 파킨슨병 치료효과를 판단하는 단계를 포함하는, 파킨슨병 치료제의 스크리닝 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 피검체의 생물학적 시료로부터 프로테우스 미라빌리스(*Proteus mirabilis*) 균주, 프로테우스 미라빌리스 균주에 의해 생성된 대사산물 및 알파-시누클레인(α-synuclein)으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나의 대상의 양을 측정하여 파킨슨병을 진단하기 위한 정보제공방법, 프로테우스 미라빌리스 균주를 유효성분으로 포함하는 파킨슨병 동물모델 제조용 조성물, 인간을 제외한 동물에 프로테우스 미라빌리스 균주를 투여하는 단계를 포함하는 파킨슨병 동물모델 제조방법 및 상기 파킨슨병 동물모델에 파킨슨병 치료제 후보약물을 투여하는 단계 및 파킨슨병 증상의 완화 정도를 관찰하여 후보약물의 파킨슨병 치료효과를 판단하는 단계를 포함하는 파킨슨병 치료제의 스크리닝 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 파킨슨병(Parkinson's Disease; PD)은 떨림, 경직, 운동 완만 및 보행 이상증 등을 주된 증상으로 하는 질병으로, 뇌의 흑색질(substantia nigra)과 선조체(corpus striatum) 부위에서 도파민(dopamine)이라는 신경전달물질이 부족하게 되어 생기는 만성질환이다. 상기 도파민은 뇌의 흑색질이라는 부위에서 생성되며, 운동 기능을 조절하는 매우 중요한 부위인 기저핵(basal ganglia)의 기능을 조절하기 위하여 분비되는 물질이다.

[0003] 즉, 파킨슨병은 뇌의 흑색질이 파괴되어 기저핵의 기능을 조절하는 도파민이 부족하여 발병하게 되는데, 현재 파킨슨병의 치료를 위해 사용되고 있는 치료법으로는 약물치료법, 수술치료법 및 물리치료법 등이 있다.

[0004] 약물치료의 경우, 치료는 일반적으로 뇌에서 부족해진 도파민을 보충해주고, 도파민의 부족으로 인한 신경전달물질의 불균형을 맞춰주며, 신경세포의 파괴를 예방 또는 지연시키고자 하는 목적과 기타 우울증 등의 증상을 조절하기 위한 약물들을 투여하는 것으로 이루어지고 있다.

[0005] 그러나, 파킨슨병의 주요 증상이 처음 발현되어 진단받는 시기는 대개 흑색질 내 도파민성 신경세포가 이미 70% 이상 파괴된 상태로 이미 죽어버린 신경세포를 다시 살릴 수 없기 때문에, 상기 약물들은 완치를 목적으로 하는 것이 아니라 증상의 개선만을 목적으로 하므로 파킨슨병의 치료에 한계가 있다.

[0006] 한편, 위장관 배출시간의 연장이나 변비는 파킨슨병의 조기 단계에서 대부분의 환자가 경험하는 증상으로, 파킨슨병과 장 기능 간의 연구는 병인 규명 및 조기 진단 기술 개발에 유용한 정보를 제공할 수 있다.

[0007] 기존에 뇌와 장은 서로 긴밀하게 연결되어 상호작용을 하고 있으며, 장에 존재하는 장내 미생물은 장내 환경의 항상성을 유지하고 뇌의 신경전달물질의 생성에도 관여하는 것으로 알려져 있다. 특히 장내 미생물의 변화는 비만, 당뇨병 등의 대사성 질환뿐만 아니라 우울증, 자폐증 등의 정신질환 및 알츠하이머병, 파킨슨병 등의 퇴행성 뇌질환과도 연관성이 있음이 밝혀지고 있다.

[0008] 파킨슨 환자의 변에서 엔테로박테리아 계통(Enterobacteriaceae family) 균주의 증가와 파킨슨병의 연관성에 관한 임상 보고는 있으나, 아직까지 실험적인 규명 연구는 보고된 바 없다.

[0009] 이에, 본 발명자들은 장내 미생물과 파킨슨병 간의 연관성을 연구하던 중, 파킨슨병 동물모델에 프로테우스 미라빌리스 균주가 존재하며, 상기 프로테우스 미라빌리스 균주가 파킨슨병의 유발에 직접적으로 관여함을 최초로 발견하고 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명의 목적은 a) 피검체의 생물학적 시료로부터 프로테우스 미라빌리스 균주, 프로테우스 미라빌리스 균주에 의해 생성된 대사산물 및 알파-시누클레인으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나의 대상의 양을 측정하는 단계; 및 b) 상기 a) 단계에서 측정된 대상의 양을 파킨슨병을 앓고 있지 않은 정상 대조군의 생물학적 시료로부터 측정된 그 대상의 양과 비교하는 단계를 포함하는, 파킨슨병을 진단하기 위한 정보제공방법을 제공하는 것이다.

[0011] 또한, 본 발명의 다른 목적은 프로테우스 미라빌리스 균주를 유효성분으로 포함하는 파킨슨병 동물모델 제조용 조성물을 제공하는 것이다.

[0012] 또한, 본 발명의 다른 목적은 인간을 제외한 동물에 프로테우스 미라빌리스 균주를 투여하는 단계를 포함하는 파킨슨병 동물모델 제조방법을 제공하는 것이다.

[0013] 또한, 본 발명의 다른 목적은 제조된 파킨슨병 동물모델에 파킨슨병 치료제 후보약물을 투여하는 단계; 및 파킨

슨병 증상의 완화 정도를 관찰하여 후보약물의 파킨슨병 치료효과를 판단하는 단계를 포함하는, 파킨슨병 치료제의 스크리닝 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0015] 본 발명의 하나의 양태로서, 본 발명은

[0016] a) 피검체의 생물학적 시료로부터 프로테우스 미라빌리스 균주, 프로테우스 미라빌리스 균주에 의해 생성된 대사산물 및 알파-시누클레인으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나의 대상의 양을 측정하는 단계; 및

[0017] b) 상기 a) 단계에서 측정된 대상의 양을 파킨슨병을 앓고 있지 않은 정상 대조군의 생물학적 시료로부터 측정된 그 대상의 양과 비교하는 단계;를 포함하는, 파킨슨병을 진단하기 위한 정보제공방법을 제공한다.

[0018] 바람직하게, 상기 파킨슨병을 진단하기 위한 정보제공방법은

[0019] c) 상기 a) 단계에서 측정된 대상의 양이

[0020] i) 파킨슨병을 앓고 있지 않은 정상 대조군의 생물학적 시료로부터 측정된 그 대상의 양보다 많을 경우, 상기 피검체는 파킨슨병이 발병하거나 발병 가능성이 높은 것으로 분류되고,

[0021] ii) 파킨슨병을 앓고 있지 않은 정상 대조군의 생물학적 시료로부터 측정된 그 대상의 양과 유사하거나 동등한 경우, 상기 피검체는 파킨슨병이 발병하지 않은 것으로 분류되는 단계를 더 포함한다.

[0022] 본 발명의 상기 정보제공방법의 a) 단계는, 피검체의 생물학적 시료로부터 프로테우스 미라빌리스 균주, 프로테우스 미라빌리스 균주로부터 생성된 대사산물 및 알파-시누클레인으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나의 대상의 양을 측정하는 단계이다.

[0023] 본 발명에서 상기 피검체는 시험, 검사, 분석, 평가 등에 사용되는 생물을 의미하며, 바람직하게는 포유동물(예를 들면, 인간, 원숭이, 소, 말, 래트(rat), 마우스, 모르모트(guinea pig), 토끼, 개, 고양이, 양, 염소 등)일 수 있고, 더욱 바람직하게는 인간일 수 있다.

[0024] 본 발명에서 상기 생물학적 시료는 파킨슨병의 발생 또는 진행 정도에 따라 프로테우스 미라빌리스 균주, 프로테우스 미라빌리스 균주로부터 생성된 대사산물 및 알파-시누클레인으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나의 대상의 양이 정상 대조군과는 다른 피검체로부터 채취된 시료를 말한다.

[0025] 상기 시료는 피검체의 조직, 혈액, 전혈, 혈청, 혈장, 타액, 객담, 뇌척수액, 뇨, 대장 조직 또는 대변과 같은 시료 등을 포함하나 이에 제한되지 않으며, 바람직하게 상기 시료는 대장 조직 또는 대변일 수 있다. 상기 생물학적 시료는 피검체에게 위해를 끼치지 않는 방법으로 얻어질 수 있다.

[0026] 상기 피검체의 생물학적 시료는 생체로부터 분리된 것일 수 있다.

[0027] 상기 프로테우스 미라빌리스 균주는 그람 음성 막대균으로서 엔테로박테리아 계통(*Enterobacteriaceae* faimily)에 속하는 균주이며, 염증을 유발하는 리포폴리사카라이드(Lipopolysaccharide, LPS)를 생합성하는 균주로 알려져 있다.

[0028] 본 발명은 다양한 파킨슨병 동물모델의 대변으로부터 프로테우스 미라빌리스 균주를 분리, 동정함으로써, 파킨슨병 발병 여부의 바이오마커로서 프로테우스 미라빌리스 균주의 용도를 확인하였다.

[0029] 본 발명의 구체적인 실시예에서, MPTP/프로테우스 미라빌리스 균주 유도성 파킨슨병 동물모델에서 프로테우스 미라빌리스 균주가 속하는 엔테로박테리아 계통에 속하는 다른 균주들, 즉 에스케리키아 콜라이(*E.coli*) 및 클렙시엘라 속(*Klebsiella* sp.) 균주들과 프로테우스 미라빌리스 균주의 균수를 측정하여 정상대조군과 비교한 결과, 상기 두 균주들에 비해 프로테우스 미라빌리스 균주의 균수가 정상대조군에 비해 현저하게 많았다(도 7).

[0030] 본 발명에서 프로테우스 미라빌리스 균주의 양을 측정하는 것은 피검체의 생물학적 시료 중에서 프로테우스 미라빌리스 균주의 수를 측정하는 것이다. 상기 측정은 직접계수법, OD(Optical density)법 또는 CFU(Colony forming unit)로 표현되는 집락계수법(Colony count method) 등을 이용하여 수행될 수 있으나, 당업자에 의해 공지된 방법에 의해 제한 없이 측정될 수 있다. 본 발명에서 프로테우스 미라빌리스의 양을 측정하는 방법은 바람직하게는 집락계수법(Colony count method)이다.

[0031] 상기 프로테우스 미라빌리스 균주에 의해 생성된 대사산물은 프로테우스 미라빌리스 균주의 대사 과정에서 생기는 중간산물 또는 생성물을 말하는 것으로, 바람직하게는 상기 대사산물은 프로테우스 미라빌리스 균주에 의해 생성된 리포폴리사카라이드(LPS)일 수 있다.

[0032] 본 발명에서 리포폴리사카라이드의 양을 측정하는 것은 당업자에 공지된 방법에 의해 제한 없이 측정될 수 있으며, 바람직하게는 정량 키트를 사용하여 측정될 수 있다.

[0033] 상기 알파-시누클레인은 뇌세포 사이에 신경전달을 돕는 단백질로, 이 단백질의 과다발현이 파킨슨병을 일으키는 주요 원인이라는 것이 알려져 있다.

[0034] 본 발명에서 알파-시누클레인의 양을 측정하는 것은 피검체의 생물학적 시료 중에서 알파-시누클레인의 발현 수준을 측정하는 것이다. 상기 측정은 웨스턴 블랏(western blot), ELISA(enzyme linked immunosorbent assay), 면역조직화학적염색(immunohistochemisty), 면역침전 분석법(immunoprecipitation assay) 및 유세포분석(fluorescence activatred cell sorter, FACS) 등을 이용하여 수행될 수 있으나, 당업자에 공지된 방법에 의해 제한 없이 측정될 수 있다. 본 발명에서 알파-시누클레인의 양을 측정하는 방법은 바람직하게는 웨스턴 블랏이다.

[0035] 본 발명의 상기 정보제공방법의 b) 단계는, 상기 a) 단계에서 측정된 대상의 양을 파킨슨병을 앓고 있지 않은 정상 대조군의 생물학적 시료로부터 측정된 그 대상의 양과 비교하는 단계이다.

[0036] 상기 파킨슨병을 앓고 있지 않은 정상 대조군은 앞서 언급한 파킨슨병의 증상을 나타내는 비교의 대상인 피검체에 대응된다. 구체적으로, 상기 정상 대조군은 파킨슨병을 앓고 있지 않은 피검체로서, 시험, 검사, 분석, 평가 등에 사용되는 파킨슨병을 앓고 있지 않은 생물을 의미하며, 바람직하게는 파킨슨병을 앓고 있지 않은 포유동물(예를 들면, 인간, 원숭이, 소, 말, 래트(rat), 마우스, 모르모트(guinea pig), 토끼, 개, 고양이, 양, 염소 등)일 수 있고, 더욱 바람직하게는 인간일 수 있다.

[0037] 본 발명의 상기 정보제공방법의 c) 단계는, 상기 a) 단계에서 측정된 대상의 양이 i) 파킨슨병을 앓고 있지 않은 정상 대조군의 생물학적 시료로부터 측정된 그 대상의 양보다 많을 경우, 상기 피검체는 파킨슨병이 발병한 것으로 분류되고, ii) 파킨슨병을 앓고 있지 않은 정상 대조군의 생물학적 시료로부터 측정된 그 대상의 양과 유사하거나 동등한 경우, 상기 피검체는 파킨슨병이 발병하거나 발병 가능성이 높은 것으로 분류되는 단계이며, 이를 통하여 파킨슨병을 진단하기 위한 정보를 제공한다.

[0038] 본 발명에서 진단은 병리 상태의 존재 또는 특징을 확인하는 것으로서, 본 발명의 목적상, 진단은 파킨슨병의 발병 여부를 확인하는 것을 말한다.

[0039] 본 발명의 구체적인 실시예에서, MPTP-유도성 파킨슨병 동물모델에서의 프로테우스 미라빌리스 균주의 균수는 정상대조군과 비교하여 약 12배 더 많고(도 7), MPTP/프로테우스 미라빌리스 균주-유도성 파킨슨병 동물모델에서의 프로테우스 미라빌리스 균주의 균수 또한 정상대조군과 비교하여 약 15배 더 많음을 확인하였다(도 7).

[0040] 또한, 본 발명의 구체적인 실시예에서, 프로테우스 미라빌리스 균주에 의한 파킨슨병 동물모델에서 프로테우스 미라빌리스 균주 투여 후 시간에 따라 대장에서는 프로테우스 미라빌리스 균주 투여 후 16일에서, 뇌의 흑색질에서는 32일에서 알파-시누클레인이 정상대조군에 비해 통계적으로 유의하게 증가하는 것을 확인하였다(도 3).

[0041] 또한, 본 발명의 구체적인 실시예에서, 프로테우스 미라빌리스 균주-유도성 파킨슨병 동물모델에서 프로테우스 미라빌리스 균주 투여 후 시간에 따라 변에서는 프로테우스 미라빌리스 균주 투여 후 1, 8, 16일에서, 혈장에서는 16, 32일에서 LPS가 정상대조군에 비해 통계적으로 유의하게 증가하는 것을 확인하였다(도 4).

[0042] 본 발명의 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 프로테우스 미라빌리스 균주를 유효성분으로 포함하는 파킨슨병 동물모델 제조용 조성물을 제공한다.

[0043] 일반적으로, 파킨슨병 동물모델은 카테콜아민 신경독소로서 도파민성 신경세포에 선택적으로 신경독성을 나타내는 6-OHDA(6-hydroxydopamine), 도파민성 신경세포 특이적 독소인 MPTP(1-methyl-4-phenyl-1,2,4,6-tetrahydropyridine), 또는 도파민성 신경세포의 전자전달계에 영향을 끼치는 로테논(rotenone) 및 파라콰트(paraquat) 등을 실험동물에 투여함으로써 제작된다.

[0044] 본 발명의 파킨슨병 동물모델 제조용 조성물은 프로테우스 미라빌리스 균주를 $1 \sim 1 \times 10^{20}$ CFU/ml(1마리당)의 농도로 포함할 수 있으며, 바람직하게는 2×10^{9} CFU/ml(1마리당)의 농도로 포함할 수 있다. 본 발명의 파킨슨

병 동물모델 제조용 조성물은 경구투여할 수 있는 것이라면 어떠한 형태라도 가능하며, 바람직하게는 사료 조성물일 수 있다.

[0045] 본 발명의 또 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 인간을 제외한 동물에 프로테우스 미라빌리스 균주를 투여하는 단계를 포함하는 파킨슨병 동물모델 제조방법을 제공한다.

[0046] 본 발명은 상기 파킨슨병 동물모델 제조용 조성물을 1일 1회 3 ~ 7일간, 바람직하게는 5일간 경구 투여함으로써 파킨슨병 동물모델을 제작할 수 있다.

[0047] 본 발명의 구체적인 실시예에서, 프로테우스 미라빌리스 균주를 실험동물에 투여하여 파킨슨병 동물모델을 제작하였고, 상기 제작한 파킨슨병 동물모델에서 정상대조군에 비해 뇌의 선조체와 흑색질에서 도파민성 신경세포가 감소되었고(도 1), 뇌 신경 염증이 유발되고, 알파-시누클레인이 축적되고, 각 조직에서 LPS가 증가되고, 운동능력이 현저히 손상되어, 궁극적으로 파킨슨병이 유발되었음을 확인하였다(도 5).

[0048] 본 발명에서 상기 동물은 인간을 제외한 동물로서, 이에 제한되는 것은 아니나, 예컨대 원숭이, 개, 고양이, 토끼, 모르모트, 랫트, 마우스, 소, 양, 돼지, 염소 등을 포함한다. 본 발명의 구체적인 실시예에서는 마우스(C57BL/6)를 사용하였으나, 이에 제한되지 않는다.

[0049] 또한, 본 발명에서 상기 프로테우스 미라빌리스 균주의 동물에의 투여는 상기 조성물이 동물에 전달되어 효과를 나타낼 수 있는 한 제한 없이 통상적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 예를 들어, 주사제로 투여하거나, 제제화하여 경구투여 할 수 있으며, 바람직하게는 사료에 첨가하여 섭취시킬 수 있다.

[0050] 또한, 본 발명의 파킨슨병 동물모델 제조방법에 있어서, 상기 프로테우스 미라빌리스 균주 이외에 6-OHDA, MPTP, MPTP/프로베네시드(probenecid), 로테논(rotenone) 및 파라콰트(paraquat)로 이루어진 군으로부터 선택된 파킨슨병을 유발하는 신경독소를 더 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 여기에서, 상기 프로베네시드는 MPTP 배출 억제제의 역할을 한다.

[0051] 상기 프로테우스 미라빌리스 균주 및 6-OHDA, MPTP, MPTP/프로베네시드, 로테논 및 파라콰트로 이루어진 군으로부터 선택된 파킨슨병을 유발하는 신경독소는 동물에 순차적으로, 동시에, 또는 간헐적으로 투여될 수 있다.

[0052] 상기 MPTP는 1 ~ 1000 mg/kg의 양으로 투여될 수 있으며, 바람직하게는 프로테우스 미라빌리스 균주와 순차적으로 투여시 15 mg/kg 또는 단독투여시 30 mg/kg 으로 투여될 수 있다.

[0053] 상기 6-OHDA는 1 μg/μl ~ 100 μg/μl, MPTP/프로베네시드는 1 ~ 1000 mg/kg, 로테논은 1 ~ 500 mg/kg 및 파라콰트는 1 ~ 100 mg/kg의 양으로 함께 투여될 수 있다.

[0054] 본 발명의 구체적인 실시예에서, 프로테우스 미라빌리스 균주에 의한 MPTP의 독성 증가 효과를 확인하기 위해 프로테우스 미라빌리스 균주와 MPTP를 동시 투여하여 제작된 동물모델의 운동능력을 평가한 결과, MPTP 단독투여시보다 현저한 운동능력의 소실이 관찰되었다.

[0055] 본 발명의 또 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 제조된 파킨슨병 동물모델에 파킨슨병 치료제 후보약물을 투여하는 단계; 및 파킨슨병 증상의 완화 정도를 관찰하여 후보약물의 파킨슨병 치료효과를 판단하는 단계를 포함하는, 파킨슨병 치료제의 스크리닝 방법을 제공한다.

[0056] 상기 후보약물은 새롭게 합성된 또는 공지된 화합물로 파킨슨병의 예방 또는 치료에 효과를 나타낼 것으로 기대되는 물질을 제한 없이 포함한다.

[0057] 본 발명의 파킨슨병 동물모델에 파킨슨병 치료제 후보약물을 투여하여 프로테우스 미라빌리스 균주로 처리하여 유도된 파킨슨병 증상(예를 들어, 도파민 신경 감소, 뇌신경 염증, 각 조직의 증가된 LPS 수준, 알파-시누클레인의 축적(또는 증가) 또는 운동능력의 소실(또는 손상) 등)의 완화가 관찰되면, 해당 약물이 파킨슨병의 예방 또는 치료에 효과가 있는 물질로 판단한다.

발명의 효과

[0058] 본 발명의 정보제공방법은 피검체의 생물학적 시료 중 프로테우스 미라빌리스 균주, 프로테우스 미라빌리스 균주에 의해 생성된 대사산물 또는 알파-시누클레인으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나의 대상의 양을 측정하고 이를 정상 대조군에서 그 대상의 양과 비교함으로써, 파킨슨병을 조기에 간단한 방법으로 진단할 수 있다. 또한, 본 발명의 프로테우스 미라빌리스 균주를 포함하는 파킨슨병 동물모델 제조용 조성물을 투여하여 제작된 파킨슨병 동물모델은 파킨슨병에 관련된 다양한 증상들을 동반하므로, 이를 이용하여 파킨슨병 후보약물

치료제의 스크리닝 방법 등에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0059] 도 1은 정상대조군과 비교하여 프로테우스 미라빌리스 균주 투여군에서의 뇌의 선조체 및 흑색질에서의 도파민성 신경세포의 감소를 보여주는 면역조직염색 결과 및 그래프를 나타낸 것이다.

도 2는 MPTP 15 mg/kg 투여군, MPTP 30 mg/kg 투여군 및 프로테우스 미라빌리스 균주 투여군의 뇌의 선조체 및 흑색질에서의 도파민성 신경세포의 감소를 보여주는 면역조직염색 결과 및 그래프를 나타낸 것이다.

도 3은 프로테우스 미라빌리스 균주 투여군의 뇌의 선조체 및 흑색질에서 성상세포(GFAP-positive cells) 및 소교세포(CD11b-positive cells)가 활성화되어 뇌 신경염증이 일어났음을 나타내는 도면 및 그래프이다.

도 4는 프로테우스 미라빌리스 균주 투여 후, 시간에 따라 변과 혈장에서 LPS 증가가 일어났음을 나타내는 그래프이다.

도 5는 프로테우스 미라빌리스 균주 투여 후, 시간에 따라 대장과 뇌의 흑색질에서 알파-시누클레인의 증가가 일어났음을 나타내는 그래프이다.

도 6은 MPTP 15 mg/kg 투여군, MPTP 30 mg/kg 투여군 및 프로테우스 미라빌리스 균주 투여군에서 수행한 수직막대 실험 및 로타로드 실험 결과를 나타낸 그래프이다.

도 7은 MPTP/프로테우스 미라빌리스 균주 투여군, MPTP 투여군 또는 6-OHDA 투여군에서의 장내세균수 및 프로테우스 미라빌리스 균주의 균수 측정을 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0060] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0062] **실시예**

[0063] **실시예 1: 파킨슨병 동물모델의 제조**

[0064] **1-1. 실험동물의 준비**

[0065] 실험동물로 25-28 g 내외의 7주령의 C57블랙6 (C57BL/6 실험동물, 대한바이오링크, 대한민국) 수컷 실험동물을 구입하여 사료와 물을 충분히 공급하면서 실험환경에 적응하도록 하였다. 1주일 정도의 적응기간을 준 후, 동물실험을 수행하였다.

[0067] **1-2. 프로테우스 미라빌리스 균주의 분리**

[0068] 실험동물에 MPTP 염산염 30 mg/kg을 1일 1회 5일간 복강투여하여 제작한 파킨슨병 동물모델로부터 신선한 대변(약 0.3g)을 획득하고, 이를 희석하여 혐기성 조건하 37℃에서 BL 한천배지(3일간) 또는 DHL 한천배지(2일간)에서 배양하였다(Nissui Pharmaceutical Co., 일본).

[0069] 배양된 균주를 그람 염색(gram staining), 당 이용 검사(sugar utility) 및 16S rRNA 시퀀싱(16S rRNA sequencing)을 이용하여 동정하였으며, 그 결과 배양된 균주의 16S rRNA 유전자의 염기서열(서열번호 1)을 확인한 결과 프로테우스 미라빌리스(*Proteus mirabilis*)인 것을 확인할 수 있었다.

[0071] **1-3. 프로테우스 미라빌리스 균주 유도성 파킨슨 동물모델**

[0072] 실험동물에 상기 1-2에서 배양된 프로테우스 미라빌리스 균주를 2 × 10^9 CFU/ml(1마리당) 농도로 1일 1회 5일간 경구투여하여 파킨슨병 동물모델(이하, '프로테우스 미라빌리스 균주 투여군'이라 함)을 제작하였다.

[0074] **1-4. MPTP 유도성 파킨슨병 동물모델의 제조**

[0075] 실험동물에 MPTP 염산염 15 mg/kg(이하, 'MPTP 15 mg/kg 단독투여군' 이라 함) 또는 30 mg/kg(이하, 'MPTP 30 mg/kg 단독투여군' 이라 함)을 1일 1회 5일간 복강 투여하여 파킨슨병 동물모델을 제작하였으며, 대조군은 동일 용량의 멸균 생리식염수를 같은 방법으로 투여하였다.

[0077] **1-5. MPTP/프로테우스 미라빌리스 균주 유도성 파킨슨 동물모델의 제조**

[0078] 프로테우스 미라빌리스 균주의 MPTP 독성 강화 효과를 알아보기 위하여, 실험동물에 MPTP 염산염 15 mg/kg를 1일 1회 5일간 복강 투여함과 동시에 프로테우스 미라빌리스 균주를 2 × 10^9 CFU/ml(1마리당)의 농도로 경구투여하여 파킨슨병 동물모델(이하, 'MPTP/프로테우스 미라빌리스 균주 투여군'이라 함)을 제작하였다.

[0080] **1-6. MPTP/프로베네시스(probenecid) 유도성 파킨슨 동물모델의 제조**

[0081] 실험동물에 프로베네시드를 5% $NaHCO_3$에 녹여 100 mg/kg 용량으로 복강투여하고 30분 후, MPTP 염산염 25 mg/kg을 복강 투여하였다. 이를 3.5일 간격으로 총 10회 투여하여 파킨슨 동물모델 (이하, 'MPTP/p 투여군'이라 함)을 유도하였으며, 대조군은 동일 용량의 멸균 생리식염수를 같은 방법으로 투여하였다.

[0083] **1-7. 6-OHDA (6-hydroxydopamine) 유도성 파킨슨 동물모델의 제조**

[0084] 실험동물에 0.1% 아스코르브산(ascorbic acid) 2 μl에 6-OHDA 16 μg을 희석하여 정위적 주입법(stereotaxic injection)을 통해 선조체 부위 (AP +0.5, ML +2.0, DV -3.0 according to The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates second edition)에 0.5 μl/분의 속도로 1회 주입하여 파킨슨병 동물 모델 (이하, '6-OHDA 투여군'이라 함)을 제조하였으며, 대조군은 동일 용량의 멸균 생리식염수를 같은 방법으로 1회 주입하였다.

[0086] **1-8. 로테논 (rotenone) 유도성 파킨슨 동물모델의 제조**

[0087] 실험동물에 디메틸설폭사이드(dimethylsulfoxide; DMSO)와 폴리에틸렌글리콜 (polyethylene glycol; PEG)을 1:1로 희석한 용액에 로테논(rotenone) 2 mg/kg 용량으로 녹인 용액을 삼투압 소형펌프(osmotic mini pump)를 이용하여 1일 1회 35일간 정맥 투여하여 파킨슨병 동물 모델을 제조하였으며, 대조군은 동일 용량의 DMSO와 PEG의 1:1 희석액을 같은 방법으로 주입하였다 (Nat Neurosci. 2000 Dec;3(12):1301-6).

[0089] **1-9. 파라콰트 (paraquat) 유도성 파킨슨 동물모델의 제조**

[0090] 실험동물에 멸균 생리식염수에 파라콰트(paraquat)를 10 mg/kg 용량으로 녹인 용액을 1주일에 1회 간격으로 3주간 총 3회 복강 투여하여 파킨슨병 동물 모델을 제조하였으며, 대조군은 동일 용량의 멸균 생리식염수를 같은 방법으로 주입하였다 (Neurobiol Dis. 2002 Jul;10(2):119-27).

[0092] **실시예 2: 프로테우스 미라빌리스 균주에 의한 파킨슨병 유발 가능성의 확인**

[0093] 프로테우스 미라빌리스 균주에 의한 파킨슨병 유발 가능성을 확인하기 위하여, 상기 실시예 1-3 내지 1-5에서 제작한 파킨슨병 동물모델에서 도파민성 신경세포의 손상, 염증 발현 정도 및 알파-시누클레인의 발현 정도를 평가하기 위한 실험을 수행하였다.

[0095] **2-1. 도파민성 신경세포의 손상 확인**

[0096] 파킨슨병 동물모델에서의 도파민성 신경세포의 손상 정도를 평가하기 위하여 면역조직염색 평가를 수행하였다.

[0097] 상기 실시예 1-3 내지 1-5에 기재된 방법에 따라 제작된 파킨슨병 동물모델을 각각 마취하고 관류한 후 뇌를 적출하여 4% PFA로 뇌조직을 고정시켰다. 그 후, 후고정 과정을 거친 뇌조직을 동결박편기를 이용하여 30 μm 두께로 절편하여 슬라이드에 고정시켰다. 선조체와 흑색질 부분의 조직을 각각 TH(tyrosine hydroxylase) 항체를 이용하여 면역염색하고, 디아미노벤지딘(Diaminobenzieine)을 이용하여 발색하였다. 선조체에서 TH 양성세포의 광학밀도(OD) 및 흑색질에서 TH 양성세포의 수를 세어 도파민성 신경세포의 손상 정도를 정량하였다. 그 결과를 도 1 및 도 2에 나타내었다.

[0098] 도 1에 나타난 바와 같이, 프로테우스 미라빌리스 균주 투여군의 선조체 및 흑색질에서 정상대조군에 비해 도파민성 신경세포의 감소가 확인되었다. 또한, 도 2에 나타낸 바와 같이, MPTP/프로테우스 미라빌리스 균주 투여군은 MPTP 15 mg/kg 단독투여군과 비교하여 뇌의 선조체 및 흑색질에서 도파민성 신경세포의 손상 정도가 더 컸으며, 이는 MPTP 30 mg/kg 단독투여군과 유사한 수준임을 확인하였다.

[0100] **2-2. 뇌신경 염증 발현의 확인**

[0101] 프로테우스 미라빌리스 균주 투여군에서의 뇌신경 염증 발현을 확인하기 위하여 면역조직염색 평가를 수행하였다.

[0102] 프로테우스 미라빌리스 균주 투여군에서 얻어진 선조체와 흑색질 부분의 조직을 각각 GFAP(glial fibrillary acidic protein) 및 CD11b 항체를 이용하여 면역염색하고 디아미노벤지딘을 이용하여 발색하였으며, 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0103] 도 3에 나타낸 바와 같이, 프로테우스 미라빌리스 균주 투여군의 선조체 및 흑색질에서 성상세포(astrocyte)(GFAP-positive cell) 및 소교세포(microglia)(CD11b-positive cell)의 활성화를 통해 뇌신경에 염증이 일어났음을 확인하였다.

[0104] 또한, 프로테우스 미라빌리스 균주 투여군에서의 염증 발현 정도를 평가하기 위하여 LPS의 양을 측정하였다.

[0105] 실험동물에 프로테우스 미라빌리스 균주를 투여한 후 1, 8, 16 및 32일째에 각각 대변을 채취하였고, 운동능력 평가 완료 24시간 후 혈액을 채취하였다. 상기 대변 및 혈장으로부터 LAL 정량 키트(Cape Cod Inc., 팔모스, 미국)의 사용자 매뉴얼에 따라 LPS를 정량하였다. 그 결과를 도 4에 나타내었다.

[0106] 도 4에 나타난 바와 같이, 프로테우스 미라빌리스 균주 투여 후 1, 8, 16일째에, 프로테우스 미라빌리스 균주 투여 후 16, 32일째에 각각 변과 혈장에서 LPS의 양이 정상대조군 대비 통계적으로 유의하게 증가하는 것을 확인하였다.

[0108] **2-3. 알파-시누클레인의 발현 확인**

[0109] 프로테우스 미라빌리스 균주 투여군에서 뇌의 흑색질 및 장조직에서의 알파-시누클레인 발현 정도를 평가하기 위하여 웨스턴 블랏을 수행하였다.

[0110] 프로테우스 미라빌리스 균주 투여군으로부터 적출한 대장과 뇌의 흑색질의 조직을 알파-시누클레인 1차 항체(BD Biosciences, 미국) 1:1000)로 처리한 후 LAS-4000 미니 시스템(Fujifilm Corp., 일본)으로 확인하고, Image J software (National Institute of Health, 미국)를 이용하여 정량하였다. 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[0111] 도 5에 나타난 바와 같이, 정상군에 비하여 프로테우스 미라빌리스 균주군에서 프로테우스 미라빌리스 균주 투여 후 8, 16, 32일째에, 프로테우스 미라빌리스 균주 투여 후 1, 8, 16, 32일째에 각각 뇌의 흑색질과 대장에서 알파-시누클레인의 양이 정상대조군 대비 증가하는 경향을 확인하였고, 특히 프로테우스 미라빌리스 균주 투여 후 16일째에, 프로테우스 미라빌리스 균주 투여 후 32일째에 각각 뇌의 흑색질과 대장에서 정상대조군 대비 통계적으로 유의하게 증가하는 것을 확인하였다.

[0113] **2-4. 운동능력 행동평가**

[0114] 행동장애를 평가하기 위하여, 실시예 1-4 및 1-5에서 제조한 파킨슨병 동물모델을 대상으로 폴 검사(pole test) 및 로타로드 검사(Rotarod test)를 수행하였다.

[0115] 구체적으로, 폴 검사를 위하여 MPTP 15 mg/kg 단독투여, MPTP 15 mg/kg과 프로테우스 미라빌리스 균주 투여 및 MPTP 30 mg/kg 단독투여 후 16일째 되는 날에 55 cm 높이에서 0.8 cm의 폭을 가진 막대기 위에 하늘을 향하여 실험동물을 올려놓은 뒤 실험동물이 회전 후 바닥에 내려오는 총 소요시간(T-LA time)을 측정하였다.

[0116] 또한, 실험동물의 운동결손과 균형유지를 평가하기 위해 로타로드 검사(Rotarod test)를 수행하였다. 검사에 사용한 로타로드 장치는 직경이 7 ㎝이고 15 ㎝간격, 높이 60 ㎝의 칸막이가 5개로 구성되어 있는 회전이 가능한 원통형의 봉이다. 로타로드로 20 rpm 속도로 회전하는 봉 위에 실험동물을 올려놓고 낙하하기까지 걸린 머무름 시간(Latency time; sec)을 측정하였다. 모든 실험동물은 충분한 훈련을 하고 실험을 하여 평균값을 머무름 시간으로 정하였고 최대 측정시간은 300초로 제한하였다. 그 결과를 도 6에 나타내었다.

[0117] 도 6에 나타난 바와 같이, 신경독성 물질인 MPTP 15 mg/kg과 프로테우스 미라빌리스 균주를 같이 투여한 경우는 수직막대 실험 및 로타로드 실험에서 MPTP 15 mg/kg 단독투여군과 비교하여 통계적으로 유의하게 운동능력이 손상되었음을 확인하였으며, 운동능력의 손상 정도는 MPTP 30 mg/kg 단독투여군과 유사한 수준임을 확인하였다.

[0118] 상기와 같은 실험을 통하여, 프로테우스 미라빌리스 균주에 의해 파킨슨병 동물모델이 제조되었음을 확인할 수 있었다.

[0120] **실시예 3: 파킨슨병 동물모델에서의 균수 측정**

[0121] 각 실험동물에서 신선한 대변을 받아낸 후, 멸균된 PBS로 10배씩 희석하여 DHL 및 BL 한천 평판배지에 도말하였다. 엔테로박테리아(*Enterobacteriaceae*), 에스케리키아 콜라이(*E. coli*), 클렙시엘라 속(*Klebsiella sp.*), 및 프로테우스 속(*Proteus sp.*) 균주는 DHL 한천 평판배지에서 자라나오며, 호기적 배양 1일 후 콜로니의 색깔과 모양을 통해 균수를 확인하였다. 에스케리키아 콜라이 및 클렙시엘라 속 균주는 붉은색 콜로니를 나타내며, 프로테우스 미라빌리스 균주는 흑색 콜로니로 확인할 수 있다. 콜로니 가운데 흑색 반점이 있거나, 흑색을 띄는 콜로니를 선별하여 균수를 측정하였다.

[0123] **3-1. 장내 세균수 측정**

[0124] MPTP 15 mg/kg 단독투여군, MPTP/p 투여군 및 6-OHDA 투여군에서 각각 장내 세균수를 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 1 및 도 7에 나타내었다.

표 1

[0125]

정상 대조군	MPTP/프로테우스 미라빌리스 균주	정상 대조군	MPTP	정상 대조군	6-OHDA
1.95×10^5	7.4×10^5	2.18×10^3	26.28×10^3	1.6×10^3	7.56×10^3

[0127] 도 7에 나타난 바와 같이, MPTP/프로테우스 미라빌리스 균주 투여군, MPTP 30 mg/kg 단독투여 및 6-OHDA 투여군의 3종의 파킨슨병 동물모델에서의 엔테로박테리아 균주의 균수는 정상대조군과 비교하여 현저히 많음을 확인하였다.

[0129] **3-2. 프로테우스 미라빌리스 균주의 균수 측정**

[0130] MPTP/프로테우스 미라빌리스 균주 투여군에서 에스케리키아 콜라이, 클렙시엘라속 및 프로테우스 미라빌리스 균주의 균수를 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 2 및 도 7에 나타내었다.

표 2

[0131]

균주	균수 (CFU($\times 10^4$)	대조군 균수 (CFU($\times 10^4$)
E.coli	10	13.5
Klebsiella sp.	1.66	2
P. mirabilis	62.33	4

[0133] 또한, 정상대조군과 MPTP 30 mg/kg 투여군에서 프로테우스 미라빌리스 균주의 균수를 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 3 및 도 7에 나타내었다.

표 3

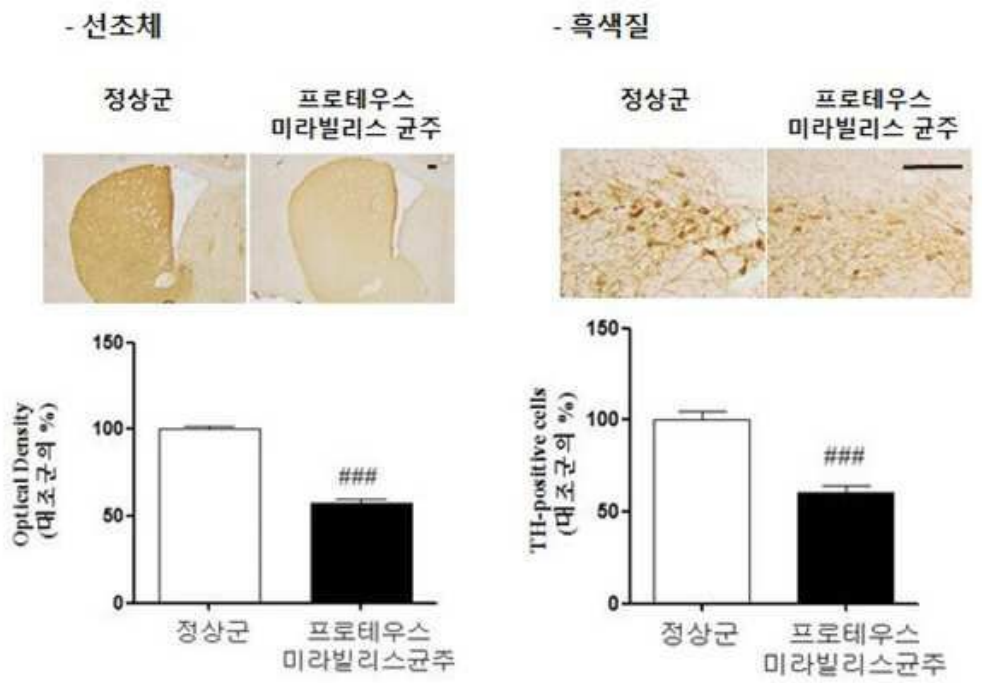
[0134]

균주	균수 (CFU($\times 10^2$)
정상대조군	7.3
P. mirabilis	49.8

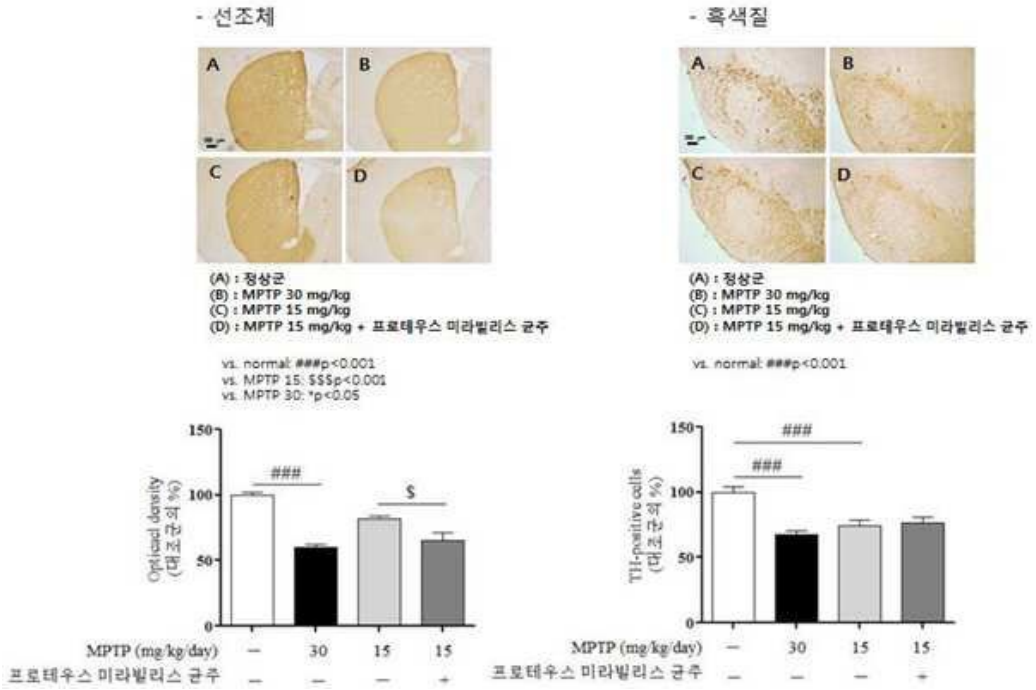
[0136] 도 7에 나타난 바와 같이, 파킨슨병 동물모델에서 프로테우스 미라빌리스 균주가 속하는 엔테로박테리아 계통(Enterobacteriaceae family)에 속하는 다른 균주들, 즉 에스케리키아 콜라이(*E.coli*) 및 클렙시엘라 속(*Klebsiella* sp.) 균주들과 프로테우스 미라빌리스 균주의 균수를 측정하여 정상대조군과 비교한 결과, 상기 두 균주들에 비해 프로테우스 미라빌리스 균주의 균수가 정상대조군에 비해 현저하게 많았다.

도면

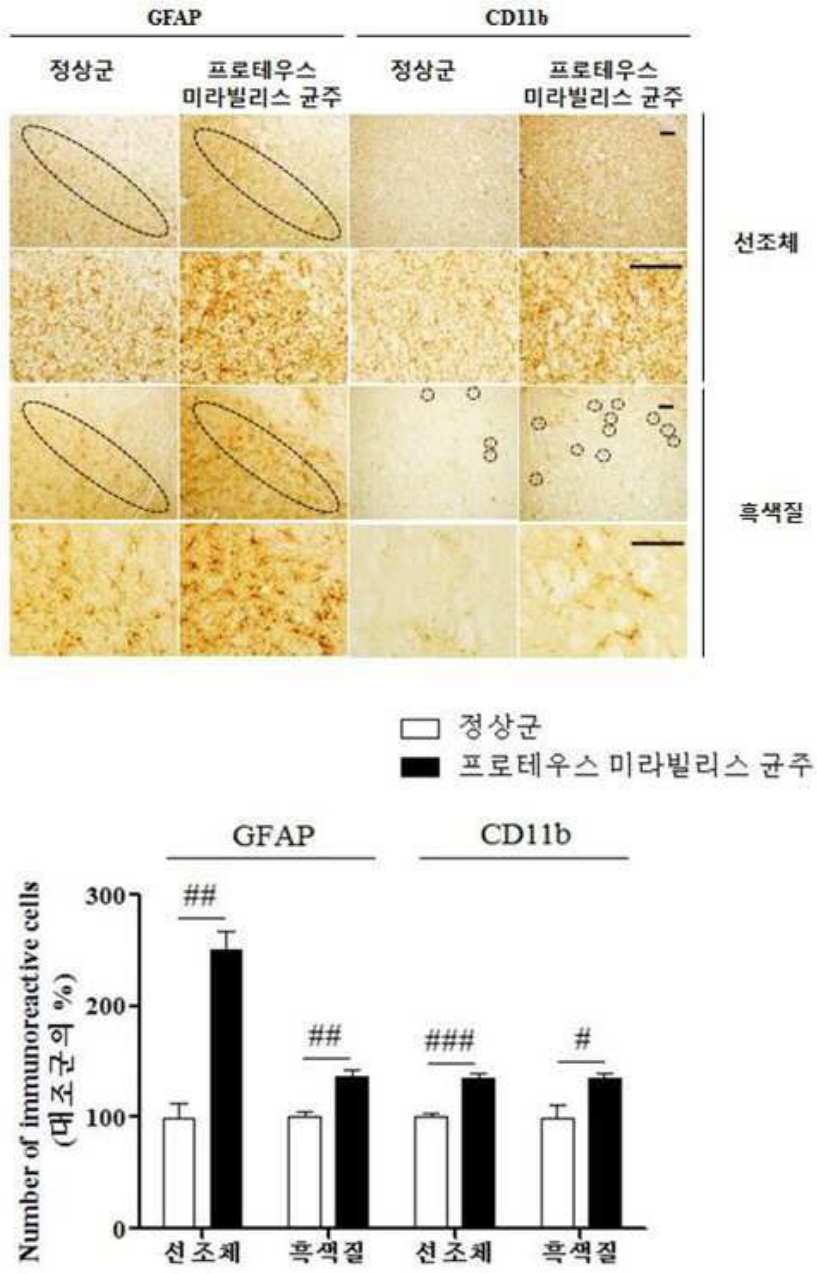
도면1


- 선조체
정상군
프로테우스 미라빌리스 균주
Optical Density (대조군의 %)
150
100
50
0
###
정상군
프로테우스 미라빌리스균주
- 흑색질
정상군
프로테우스 미라빌리스 균주
TH-positive cells (대조군의 %)
150
100
50
0
###
정상군
프로테우스 미라빌리스균주

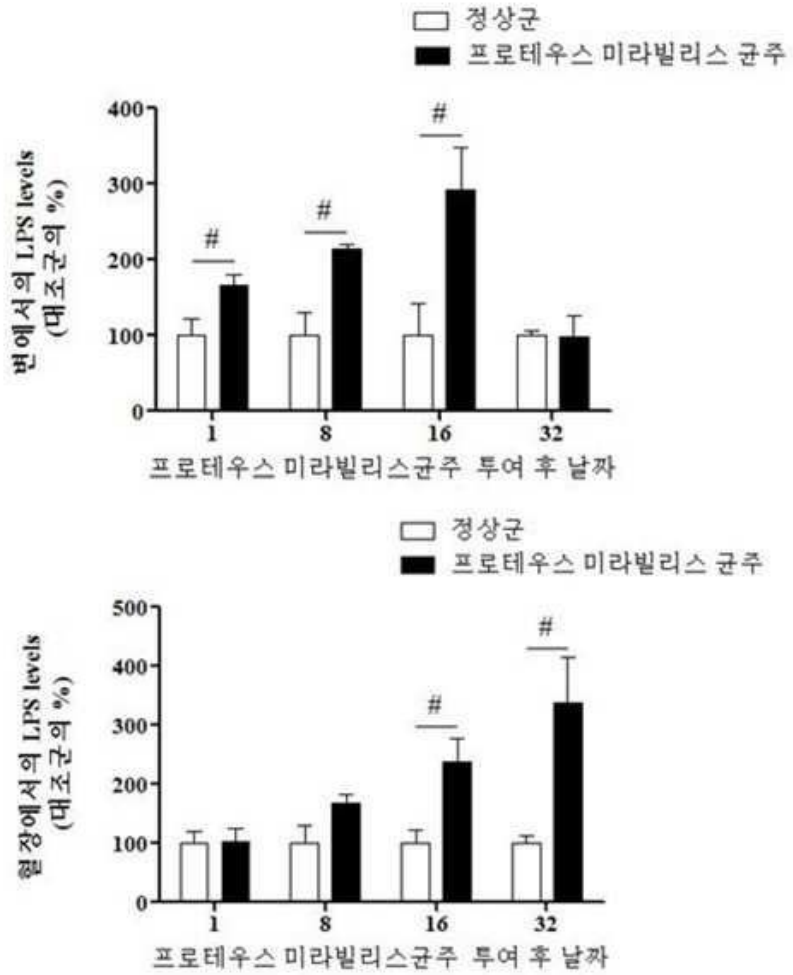
도면2


- 선조체
A
B
C
D
(A) : 정상군
(B) : MPTP 30 mg/kg
(C) : MPTP 15 mg/kg
(D) : MPTP 15 mg/kg + 프로테우스 미라빌리스 균주
vs. normal: ###p<0.001
vs. MPTP 15: $$$p<0.001
vs. MPTP 30: *p<0.05
Optical density (대조군의 %)
150
100
50
0
###
$
MPTP (mg/kg/day) – 30 15 15
프로테우스 미라빌리스 균주 – – – +
- 흑색질
A
B
C
D
(A) : 정상군
(B) : MPTP 30 mg/kg
(C) : MPTP 15 mg/kg
(D) : MPTP 15 mg/kg + 프로테우스 미라빌리스 균주
vs. normal: ###p<0.001
TH-positive cells (대조군의 %)
150
100
50
0
###
###
MPTP (mg/kg/day) – 30 15 15
프로테우스 미라빌리스 균주 – – – +

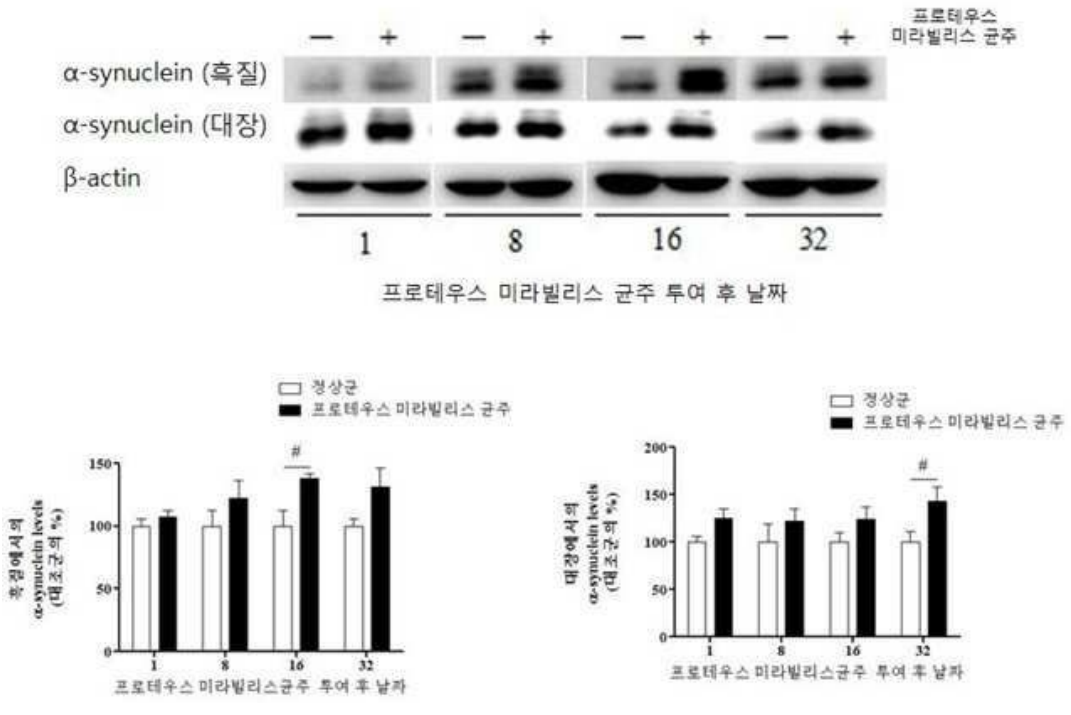
도면3


GFAP
CD11b
정상군
프로테우스 미라빌리스 균주
정상군
프로테우스 미라빌리스 균주
선조체
흑색질
정상군
프로테우스 미라빌리스 균주
GFAP
CD11b
Number of immunoreactive cells (대조군의 %)
300
200
100
0
##
##
###
#
선조체
흑색질
선조체
흑색질

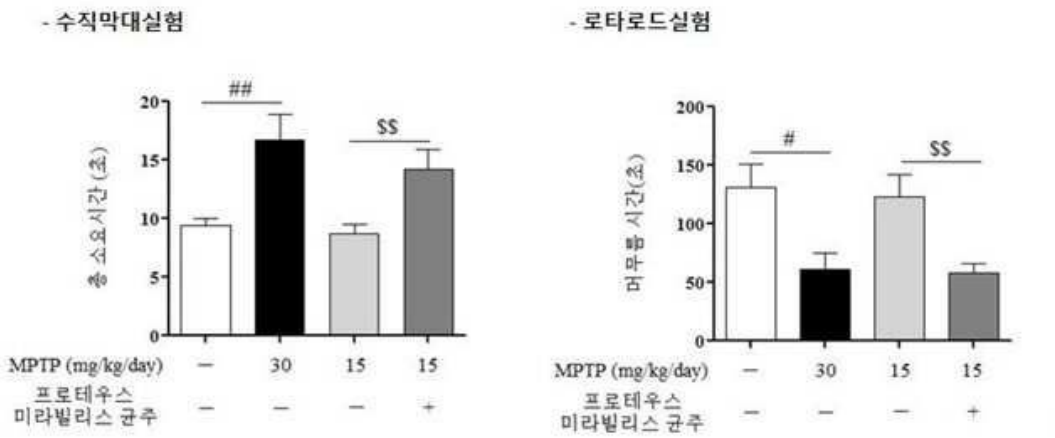
도면4


정상군
프로테우스 미라빌리스 균주
변에서의 LPS levels
(대조군의 %)
400
300
200
100
0
#
1
8
16
32
프로테우스 미라빌리스균주 투여 후 날짜
정상군
프로테우스 미라빌리스 균주
혈장에서의 LPS levels
(대조군의 %)
500
400
300
200
100
0
#
1
8
16
32
프로테우스 미라빌리스균주 투여 후 날짜

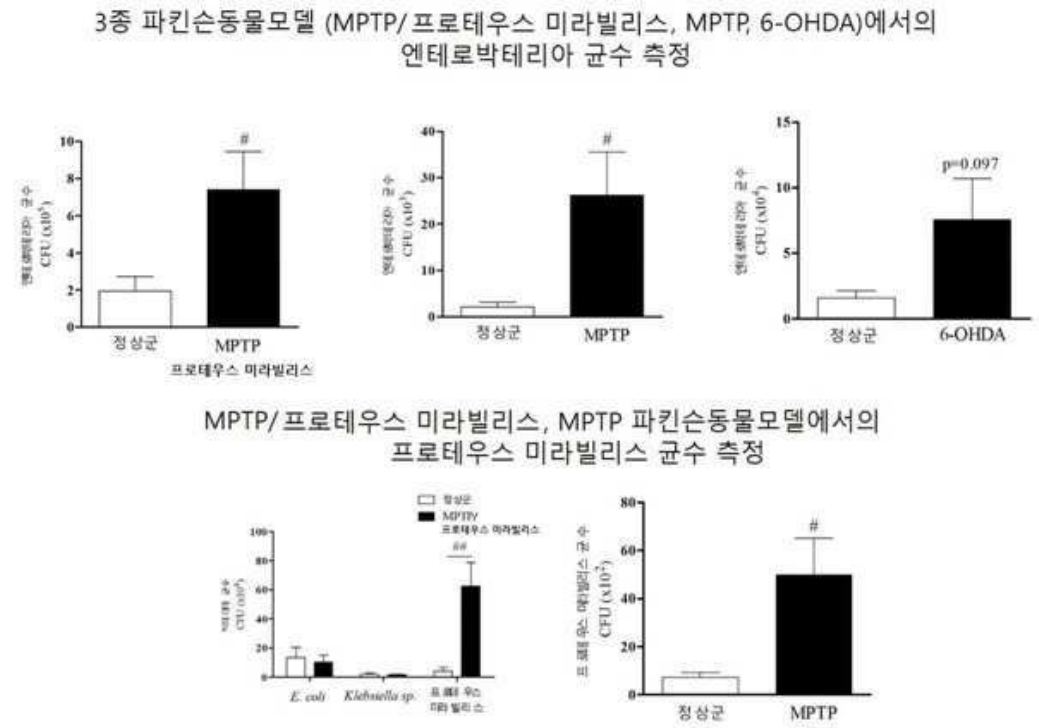
도면5


프로테우스
미라빌리스 균주
— + — + — + — +
α-synuclein (흑질)
α-synuclein (대장)
β-actin
1
8
16
32
프로테우스 미라빌리스 균주 투여 후 날짜
정상군
프로테우스 미라빌리스 균주
흑질에서의
α-synuclein levels
(대조군의 %)
150
100
50
0
#
1
8
16
32
프로테우스 미라빌리스균주 투여 후 날짜
정상군
프로테우스 미라빌리스 균주
대장에서의
α-synuclein levels
(대조군의 %)
200
150
100
50
0
#
1
8
16
32
프로테우스 미라빌리스균주 투여 후 날짜

도면6



도면7



서 열 목 록

<110> UNIVERSITY-INDUSTRY COOPERATION GROUP OF KYUNG HEE

<120> Method of providing information for diagnosis of parkinson's disease

<130> P16-033-KHU

<160> 1

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 1291

<212> DNA

<213> Proteus mirabilis

<400> 1

gaaacggtgg ctaataccgc ataatgtcta cggaccaaag caggggctct tcggaccttg 60

cactatcgga tgaacccata tgggattagc tagtaggtgg ggtaaaggct cacctaggcg 120

acgatctcta gctggtctga gaggatgatc agccacactg ggactgagac acggcccaga 180

ctcctacggg aggcagcagt ggggaatatt gcacaatggg cgcaagcctg atgcagccat 240

gccgcgtgta tgaagaaggc cttagggttg taaagtactt tcagcgggga ggaaggtgat 300

aaggttaata cccttgtcaa ttgacgttac ccgcagatga agcaccggct aactccgtgc 360

cagcagccgc ggtaatacgg agggtgcaag cgttaatcgg aattactggg cgtaaagcgc 420

acgcaggcgg tcaattaagt cagatgtgaa agccccgagc ttaacttggg aattgcatct 480

gaaactggtt ggctagagtc ttgtagaggg gggtagaatt ccatgtgtag cggtgaaatg 540

cgtagagatg tggaggaata ccggtggcga aggcggcccc ctggacaaag actgacgctc 600

aggtgcgaaa gcgtggggag caaacaggat tagataccct ggtagtccac gctgtaaacg 660

atgtcgattt agaggttgtg gtcttgaacc gtggcttctg gagctaacgc gttaaatcga 720

ccgcctgggg agtacggccg caaggttaaa actcaaatga attgacgggg gcccgcacaa 780

gcggtggagc atgtggttta attcgatgca acgcgaagaa ccttacctac tcttgacatc 840

cagcgaatcc tttagagata gaggagtgcc ttcgggaacg ctgagacagg tgctgcatgg 900

ctgtcgtcag ctcgtgttgt gaaatgttgg gttaagtccc gcaacgagcg caacccttat 960

cctttgttgc cagcacgtaa tggtgggaac tcaaaggaga ctgccggtga taaaccggag 1020

gaaggtgggg atgacgtcaa gtcatcatgg cccttacgag tagggctaca cacgtgctac 1080

aatggcagat acaaagagaa gcgacctcgc gagagcaagc ggaactcata aagtctgtcg 1140

tagtccggat tggagtctgc aactcgactc catgaagtcg gaatcgctag taatcgtaga 1200

tcagaatgct acggtgaata cgttcccggg ccttgtacac accgcccgtc acaccatggg 1260

agtgggttgc aaaagaagta ggtagcttaa c 1291