(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0005126
(43) 공개일자 2019년01월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 48/00 (2006.01) *A61K 31/713* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 48/00 (2013.01)
A61K 31/713 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-0077248
(22) 출원일자 2018년07월03일
심사청구일자 2018년07월03일
(30) 우선권주장
1020170085594 2017년07월05일 대한민국(KR)

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
유영
서울특별시 성북구 인촌로 73 (안암동5가)
윤원석
서울특별시 성북구 인촌로 73 (안암동5가)
강대중
광주광역시 광산구 하남산단3번로 90 (장덕동)
(74) 대리인
특허법인 무한

전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 **miR-4507 microRNA 유효 성분으로 함유하는 피부염의 예방 또는 치료용 약학 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 피부염의 예방, 치료 및 개선효과를 갖는 microRNA에 관한 것으로, 보다 구체적으로 miR-4507 microRNA를 유효성분으로 함유하는, 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



대조군 miR 4507처리군

(52) CPC특허분류
Y10S 514/857 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1425103703
부처명 중소기업청
연구관리전문기관 중소기업기술정보진흥원
연구사업명 산학연협력기술개발
연구과제명 인체유래 마이크로알엔에이(microRNA- K4507)를 이용한 피부염증개선용 소재기술 개발
기 여 율 1/2
주관기관 고려대학교 산학협력단
연구기간 2016.07.01 ~ 2017.06.30
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711044155
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 개인연구지원
연구과제명 microRNA를 이용한 영유아의 아토피피부염 조기진단 및 염증조절연구
기 여 율 1/2
주관기관 고려대학교
연구기간 2016.11.01 ~ 2017.10.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

서열번호 1의 염기서열로 표시되는 miR-4507 microRNA를 유효성분으로 함유하는, 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

서열번호 2의 염기서열로 표시되는 hsa-mir-4507 microRNA를 유효성분으로 함유하는, 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 조성물은 MDC(macrophage-derived chemokine)의 생성을 억제하는, 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 조성물은 IgE의 발현을 억제하는, 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 조성물은 IL-4의 발현을 억제하는, 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 조성물은 IFN-γ의 발현을 유도하는, 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 7

서열번호 1의 염기서열로 표시되는 miR-4507 microRNA를 유효성분으로 함유하는, 피부염의 개선용 화장료 조성물.

청구항 8

서열번호 2의 염기서열로 표시되는 hsa-mir-4507 microRNA를 유효성분으로 함유하는, 피부염의 개선용 화장료 조성물.

청구항 9

제7항 또는 제8항에 있어서,

상기 조성물은 MDC(macrophage-derived chemokine)의 생성을 억제하는, 피부염의 개선용 화장료 조성물.

청구항 10

제7항 또는 제8항에 있어서,

상기 조성물은 IgE의 발현을 억제하는, 피부염의 개선용 화장료 조성물.

청구항 11

제7항 또는 제8항에 있어서,

상기 조성물은 IL-4의 발현을 억제하는, 피부염의 개선용 화장료 조성물.

청구항 12

제7항 또는 제8항에 있어서,

상기 조성물은 IFN-γ의 발현을 유도하는, 피부염의 개선용 화장료 조성물.

청구항 13

제7항 또는 제8항의 조성물을 포함하는, 피부염 개선용 피부 외용제.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 피부 외용제는, 겔, 크림, 유액, 화장수, 팩, 로션, 에센스, 파우더, 비누, 입욕제 및 스프레이로 이루어진 군에서 선택되는 제형을 가지는, 피부염 개선용 피부 외용제.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 피부염의 개선에 효과를 갖는 작은 간섭 RNA에 관한 것으로, 더욱 구체적으로 miR-4507 microRNA를 유효성분으로 함유하는 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 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 IgE의 생성을 조절한다.

[0004] 최근들어 국내외적으로 아토피성 피부염 발병이 소아에서 성인에 이르기까지 광범위하게 발생하고 있어 치료제의 개발이 시급하다. 현재 스테로이드 계열의 아토피성 피부염 억제제가 치료제로 사용되고 있으나 아토피성 피부염의 원천적인 해결방법이 아닌 일시적인 경감효과를 보여주며 동시에 내성이 생기는 부작용이 알려진바 적절하고 광범위한 치료제 개발이 필요한 실정이다.

[0005] 한편, CCL22는 T 세포에서 Th-2 phenotype의 CD+ T 세포들을 선택적으로 발현하는 CCR4의 리간드로써, 정상 환자군에 비해 아토피성 피부염 환자군에서 CCL22의 혈중 농도가 급격히 증가되어 있다.

[0006] MDC는 아토피성 피부염 환자에서 그 혈청 농도가 현저히 증가한다고 보고된 케모카인으로서(Hijnen et. al., J. Allergy Clin. Immunol. 113(2) 334-340), 아토피성 피부염의 치료 물질로 사용되는 사이크로스포린 A나 코르티코스테로이드를 아토피성 피부염 환자에게 투여하였을 때는 MDC의 혈청 농도가 감소한다는 보고가 있으며(Y. Shimada et al., J. Dermatol. Sci., 34, 201-208, 2004), 또 사람 각질형성세포주인 HaCaT 세포에 hIFN-γ, TNF-α를 처리하였을 때 MDC가 다량 발현되는데 이러한 발현을 억제할 수 있는 물질은 아토피성 피부염 치료제로 사용될 수 있음이 제시된 바 있다 (Horikawa et. al., Int. Immunol., 14(7) 767-773, 2002).

[0007] miRNA는 세포 내에 존재하는 20-25핵산(nucleotide) 길이의 작은 RNA (endogenous small RNA)의 일종으로 단백질을 합성하지 않는 DNA에서 유래되어 헤어핀-구조 전사체(hairpin-shaped transcript) 로 부터 생성이 된다. miRNA는 일반적으로 표적 mRNA의 3'-UTR의 상보적 서열에 결합하여 그 mRNA의 번역 억제 또는 불안정화를 유도하여, 궁극적으로 그 표적 mRNA의 단백질 합성을 억제하는 리프레서(repressor) 역할을 하게 된다. 하나의 miRNA는 여러 개의 mRNA를 타겟팅하며, mRNA 역시 여러 개의 miRNA에 의해 조절될 수 있다고 알려져 있다.

[0008] 현재 miRNA는 발달 시기, 세포사멸사, 지방 신진대사 및 조혈 세포 분화의 조절을 포함하는 여러 생물학적 과정에서 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려짐에 따라 생명과학분야에서 매우 큰 관심을 받고 있다. 하지만 암 등의 질병이나 발생 과정에서의 miRNA의 기능연구는 상당히 진행된 것에 비해 상대적으로 피부과학에서의 miRNA 역할에 대한 연구는 비교적 적은 상태이다.

[0009] 이에, 본 발명자들은 상기 종래기술들의 문제점들을 극복하기 위하여 예의 연구 노력한 결과, 21 ~ 25개 정도의 뉴클레오티드로 구성된 단일 염기 가닥인 microRNA를 피부염이 유발된 실험군에 피하 주사하는 경우, Th-2 면역반응의 지표인 IL-4의 발현을 감소시키고, Th-1 면역반응의 지표인 IFN-γ의 발현을 증가시키며, 또한 아토피 질환의 지표인 MDC의 생성을 억제하고, IgE의 면역반응을 급격히 감소시킬 수 있음을 확인하여 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 본 발명의 주된 목적은 miR-4507 microRNA를 유효성분으로 함유하는 피부염 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는데 있다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 miR-4507 microRNA를 유효성분으로 함유하는 피부염 개선용 화장료 조성물을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0014] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 서열번호 1의 염기서열로 표시되는 miR-4507 microRNA를 유효성분으로 함유하는, 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물이 제공된다.

[0015] 본 발명의 다른 일 실시예에 따르면, 서열번호 2의 염기서열로 표시되는 hsa-mir-4507 microRNA를 유효성분으로 함유하는, 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물이 제공된다.

[0016] 일 측에 따르면, 상기 조성물은 MDC(macrophage-derived chemokine)의 생성을 억제할 수 있다.

[0017] 일 측에 따르면, 상기 조성물은 IgE의 발현을 억제할 수 있다.

[0018] 일 측에 따르면, 상기 조성물은 IL-4의 발현을 억제할 수 있다.

[0019] 일 측에 따르면, 상기 조성물은 IFN- γ의 발현을 유도할 수 있다.

[0020] 본 발명의 또 다른 일 실시예에 따르면, 서열번호 1의 염기서열로 표시되는 miR-4507 microRNA를 유효성분으로 함유하는, 피부염의 개선용 화장료 조성물이 제공된다.

[0021] 본 발명의 또 다른 일 실시예에 따르면, 서열번호 2의 염기서열로 표시되는 hsa-mir-4507 microRNA를 유효성분으로 함유하는, 피부염의 개선용 화장료 조성물이 제공된다.

[0022] 일 측에 따르면, 상기 조성물은 IgE의 발현을 억제할 수 있다.

[0023] 일 측에 따르면, 상기 조성물은 IL-4의 발현을 억제할 수 있다.

[0024] 일 측에 따르면, 상기 조성물은 IFN- γ의 발현을 유도할 수 있다.

[0025] 본 발명의 또 다른 일 실시예에 따르면, 본 발명의 일 실시예에 따른 조성물을 포함하는, 피부염 개선용 피부 외용제가 제공된다.

[0026] 일 측에 따르면, 상기 피부 외용제는, 겔, 크림, 유액, 화장수, 팩, 로션, 에센스, 파우더, 비누, 입욕제 및 스프레이로 이루어진 군에서 선택되는 제형을 가질 수 있다.

발명의 효과

[0028] 본 발명의 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및 피부염의 개선용 화장료 조성물은 Th-2 면역반응의 지표인 IL-4의 발현을 감소시키고, Th-1 면역반응의 지표인 IFN-γ의 발현을 증가시키며, 아토피 질환의 지표인 MDC의 생성을 억제하고 IgE의 면역반응을 급격히 감소시킬 수 있다. 또한, 피부염의 대표적인 증상 중 하나인 가려움증을 완화시킬 수 있다.

[0029] 또한, miR-4507 microRNA는 인간유래의 RNA로, 부작용에 대한 위험성이 낮고 안전한 물질이므로 이를 유효성분으로 함유하는 본 발명의 조성물은 피부 외용제나 화장품으로 유용하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0031] 도 1은 miR-4507 microRNA를 함유하는 조성물이 피부염을 유도한 마우스에서 피부의 염증 완화 효과를 가지는 것을 보여주는 도면이다.

도 2는 miR-4507 microRNA를 함유하는 조성물이 피부염을 유도시킨 마우스에서 Th2 cell을 유도하는 케모카인인 MDC를 억제하는 결과를 보여주는 도면이다.

도 3은 miR-4507 microRNA를 함유하는 조성물이 피부염증 마우스의 가려움증을 억제한 효과를 보여주는 도면이다.

도 4는 miR-4507 microRNA를 함유하는 조성물이 피부염의 유발 항체인 IgE의 발현을 억제한 결과를 나타낸 도면이다.

도 5는 miR-4507 microRNA를 함유하는 조성물이 피부염의 유발 사이토카인인 IL-4의 발현을 억제한 결과를 나타낸 도면이다.

도6은 miR-4507 microRNA를 함유하는 조성물이 피부염의 관련 IFN-gamma 발현을 유도한 결과를 나타낸 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0032] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체

적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0033] 실시예에서 사용한 용어는 단지 특정한 실시예를 설명하기 위해 사용된 것으로, 실시예를 한정하려는 의도가 아니다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 명세서에서, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서 상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성 요소, 부품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성 요소, 부품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[0034] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 실시예가 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥 상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.

[0035] 또한, 첨부 도면을 참조하여 설명함에 있어, 도면 부호에 관계없이 동일한 구성 요소는 동일한 참조 부호를 부여하고 이에 대한 중복되는 설명은 생략하기로 한다. 실시예를 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 실시예의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.

[0036] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 서열번호 1의 염기서열로 표시되는 miR-4507 microRNA를 유효성분으로 함유하는, 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물이 제공된다.

[0037] 또한, 본 발명의 다른 일 실시예에 따르면, 서열번호 2의 염기서열로 표시되는 hsa-mir-4507 microRNA를 유효성분으로 함유하는, 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물이 제공된다.

[0038] 본 발명의 조성물에 함유되는 상기 microRNA는 21 뉴클레오티드의 miR-4507 microRNA의 염기서열로써, 바람직하게는 하기 표 1에 나타낸 서열번호 1 또는 서열번호 2의 microRNA일 수 있다.

[0039] 상기 조성물은 MDC(macrophage-derived chemokine)의 생성을 억제하고, IgE와 IL-4의 발현을 억제할 수 있으며, IFN- γ의 발현을 유도할 수 있다.

표 1

[0041]

서열번호 1. Homo sapiens microRNA 4507 (MIR4507)/ NCBI Reference Sequence: NR_039730.1	5`-tctgggctga gccgagctgg gttaagccga gctgggttgg gctgggctgg gt-3`,
서열번호 2.hsa-miR-4507	5'-cuggguugggcugggcuggg-3'

[0042] 본 발명에 따른 microRNA 폴리뉴클레오티드 서열은 발현 조절 서열에 작동 가능하게 연결될 수 있으며, 작동 가능하게 연결된 유전자 서열과 발현 조절 서열은 선택 마커 및 복제 개시점(replication origin)을 같이 포함하고 있는 하나의 발현벡터 내에 포함될 수 있다.

[0043] "작동 가능하게 연결(operably linked)" 된다는 것은 적절한 분자가 발현 조절 서열에 결합될 때 유전자 발현을 가능하게 하는 방식으로 연결된 유전자 및 발현 조절 서열일 수 있다.

[0044] "발현 조절 서열(expression control sequence)"이란 특정한 숙주 세포에서 작동 가능하게 연결된 폴리뉴클레오티드 서열의 발현을 조절하는 DNA 서열을 의미한다. 그러한 조절 서열은 전사를 실시하기위한 프로모터, 전사를 조절하기 위한 임의의 오퍼레이터 서열, 적합한 mRNA 리보좀 결합 부위를 코딩하는 서열, 전사 및 해독의 종결을 조절하는 서열을 포함한다.

[0045] 본 발명의 피부염 예방, 치료 효과를 유도하는 miR-4507 microRNA는 통상 사용되는 유전자합성에 의해 제조될 수 있으며, 제조된 microRNA를 체내에 도입시킬 때, 상기 microRNA는 바이러스벡터나 플라스미드 벡터 등에 의해서도 발현될 수 있다.

[0046] 본 발명의 약학적 조성물은 약제로 이용되기 위해서 약제학적 분야에서 공지된 방법에 의해 제조될 수 있으며, 약학적으로 허용되는 담체, 부형제, 희석제, 안정화제, 방부제 등과 혼합하여 분말, 과립, 정제, 캡슐제, 또는

주사제 등의 제형으로 제조되어 사용될 수 있다.

[0047] 상기 희석제로는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브유, 땅콩유와 같은 식물성유 등의 비수성 용매나 염수(바람직하게는 0.8%의 염수), 완충 매질을 포함한 물(바람직하게는 0.05M의 인산염 완충액) 등의 수성 용매 등을 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0048] 상기 부형제로는 전분, 글루코스, 락토스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 백악, 실리카 겔, 나트륨 스테아레이트, 글리세롤 모노스테아레이트, 활석, 나트륨 클로라이드, 무수 탈지유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등을 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0049] 상기 안정화제로는 소르비톨, 만니톨, 전분, 수크로스, 덱스트란, 글루타메이트, 글루코스 등의 탄수화물이나 분유, 혈청 알부민, 카제인 등의 동물성, 식물성 또는 미생물성 단백질 등의 단백질을 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0050] 상기 방부제로는 티메로살, 메르티올레이트, 젠타마이신, 네오마이신, 니스타틴, 암포테리신 B, 테트라사이클린, 페니실린, 스트렙토마이신, 폴리믹신 B 등을 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0051] 상기 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여되거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와 순차로 또는 동시에 투여될 수 있다. 그리고 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0052] 또한, 이들은 비경구 투여(예컨대, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)하거나 경구 투여될 수 있다. 비경구 투여는 정맥내, 근육내, 복강내, 흉골내, 경피 및 동맥내 주사 및 주입을 포함하는 투여 방식을 의미한다. 상기 조성물의 비경구 투여는 바람직한 순도 하에 약제학적으로 허용 가능한 담체, 즉 사용되는 농도와 투여량에서 수용체에 비독성이고 다른 제제 성분과 혼화 될 수 있는 것을 혼합하여 단위 투여량의 제형으로 조제하는 것이 바람직할 수 있다.

[0053] 본 발명의 치료제는 치료학적으로 유효한 양으로 투여한다. 상기 치료학적으로 유효한 양(therapeutically effective amount)은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 환자의 연령, 성별, 체중, 건강상태, 질병의 증상, 투여시간, 투여방법에 따라 적적히 선택될 수 있으며, 바람직하게는 성인기준 1일 0.001 ~ 100 mg이 투여될 수 있다.

[0054] 본 발명의 또 다른 일 실시예에 따르면, 서열번호 1의 염기서열로 표시되는 miR-4507 microRNA를 유효성분으로 함유하는, 피부염의 개선용 화장료 조성물이 제공된다.

[0055] 또한, 본 발명의 또 다른 일 실시예에 따르면, 서열번호 2의 염기서열로 표시되는 hsa-mir-4507 microRNA를 유효성분으로 함유하는, 피부염의 개선용 화장료 조성물이 제공된다.

[0056] 본 발명의 화장료 조성물은 전술한 바와 같이 MDC(macrophage-derived chemokine)의 생성을 억제하고, IgE와 IL-4의 발현을 억제할 수 있으며, IFN- γ의 발현을 유도할 수 있다.

[0057] 본 발명의 또 다른 일 실시예에 따르면, 본 발명의 일 실시예에 따른 조성물을 포함하는, 피부염 개선용 피부 외용제가 제공된다.

[0058] 또한, 본 발명의 피부 외용제는, 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어 겔, 크림, 유액, 화장수, 팩, 로션, 에센스, 파우더, 비누, 입욕제 및 스프레이로 이루어진 군에서 선택되는 제형을 가질 수 있다.

[0060] 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.

[0062] **<실시예 1.** miR-4507 microRNA의 선별 및 제작>

[0063] 인체 비만세포주(hmc-1)와 PMA/IONOMYCIN을 처리하여 염증 유사 활성이 유도된 인체 비만세포주(hmc-1)를 배양한다. 배양된 세포주 10^7 세포를 수득하고, 세포내 microRNA를 microRNA Isolation kit(quiagen, germany)를

이용하여 수집하였다.

[0064] 수집된 세포내 microRNA들을 human microRNA array 분석을 통해서 염증에 관련된 microRNA를 선별하였다. 선별된 microRNA는 miRBASE 를 활용하여 서열을 확인 분석하여, 서열번호 1로 표시되는 miR-4507 microRNA를 바이오니어(한국 대전)바이오텍 회사로부터 합성하여 시험에 준비하였다.

[0066] **<실시예 2.** 피부염 모델의 제조 및 치료 효과 평가>

[0067] 5주령된 ICR mouse를 5 마리씩 대조군과 실험군의 두 그룹으로 나눈 후, 각각의 쥐에 피부병 유발 물질인 DNCB를 1%의 농도로 1주일간 100 μl씩 도포하여 아토피와 유사한 피부병을 유발시켰다. 이후, 실험군 쥐에 miR-4507 microRNA를 (1-10ug/mouse)의 농도로 PBS에 혼합하여 피하 주사 하고, 대조군 쥐에는 PBS만을 주사하였다. 그 결과, 도 1에 나타낸 바와 같이, 대조군 시약을 투여한 쥐에서는 피부염 증상이 악화되었고, miR-4507 microRNA를 투여한 실험군에서는 피부염의 치료 효과가 나타남을 확인할 수 있다.

[0069] **<실시예 3.** 아토피성 피부염 모델 제조 및 아토피성 피부염 지표의 측정>

[0070] 5주령된 ICR mouse를 5 마리씩 대조군과 실험군의 두 그룹으로 나눈 후, 각각의 쥐에 피부병 유발 물질인 DNCB를 1%의 농도로 1주일간 100 μl씩 도포하여 아토피와 유사한 피부병을 유발시켰다. 이후, 실험군 쥐에 각각의 microRNA를 (1-10ug/mouse)의 농도로 PBS에 혼합하여 피하 주사 하였다.

[0071] 투여한지 일주일이 되는 시점에 안와 채취법을 이용하여 각각의 쥐의 혈청을 뽑아 아토피성 피부염의 지표인 IL-4, IFN-γ, MDC, IgE의 혈청내 농도를 구하기 위해 ELISA 실험을 수행하였다.

[0072] 실험 결과, miR-4507 microRNA를 피부염이 유발된 쥐에 투여한 경우, MDC 생성과 IL-4의 발현이 억제되고(도 2 및 도 5 참조), 아토피 질환의 지표인 IgE 면역반응이 급격히 감소하였으며(도 4 참조), IFN-γ의 발현이 유도되는 것(도 6 참조)을 확인할 수 있었다.

[0073] 또한, 도 3에 나타낸 바와 같이, miR-4507 microRNA를 투여한 실험군의 경우 피부염 증상 중 하나인 가려움증이 눈에 띄게 감소함을 확인할 수 있었다.

도면

도면1

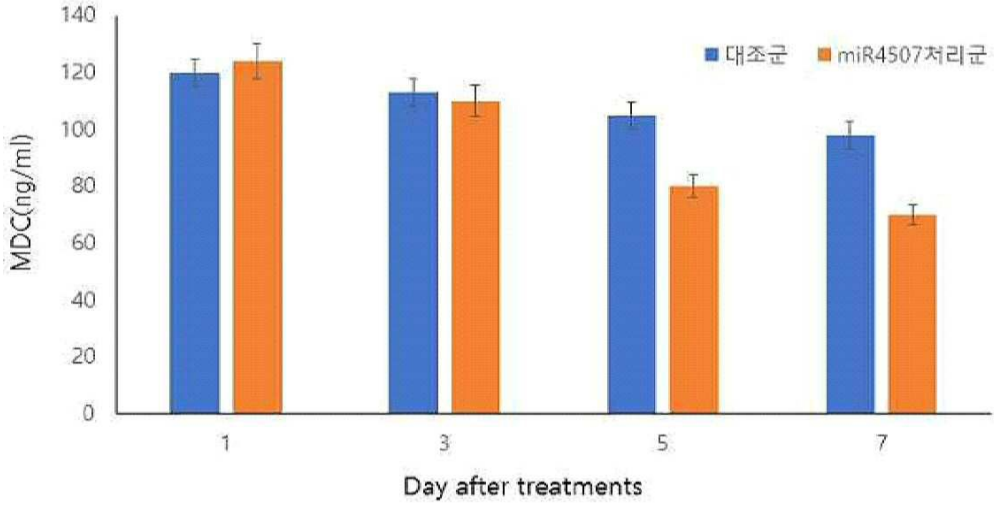


대조군

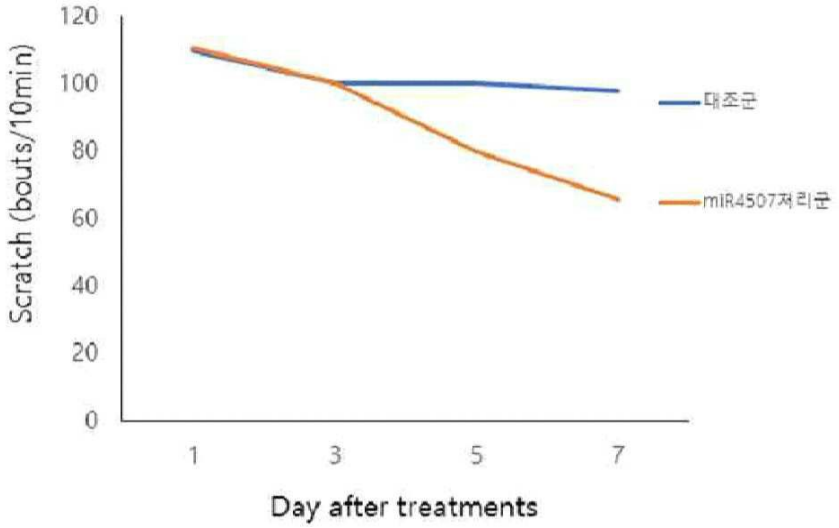


miR 4507처리군

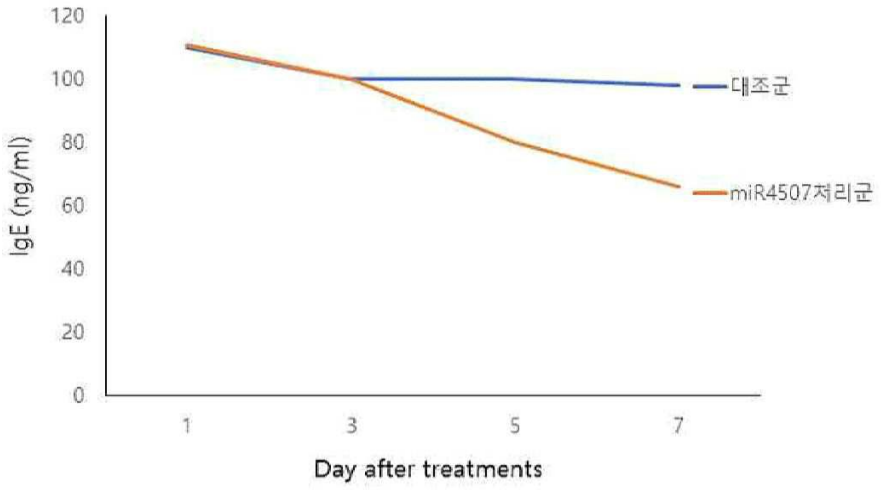
도면2


140
120
100
80
60
40
20
0
MDC(ng/ml)
대조군
miR4507처리군
1
3
5
7
Day after treatments

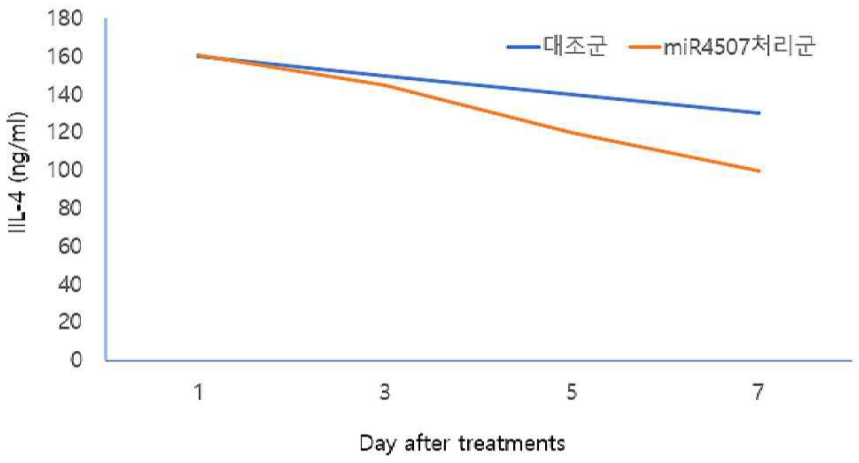
도면3


120
100
80
60
40
20
0
Scratch (bouts/10min)
대조군
miR4507처리군
1
3
5
7
Day after treatments

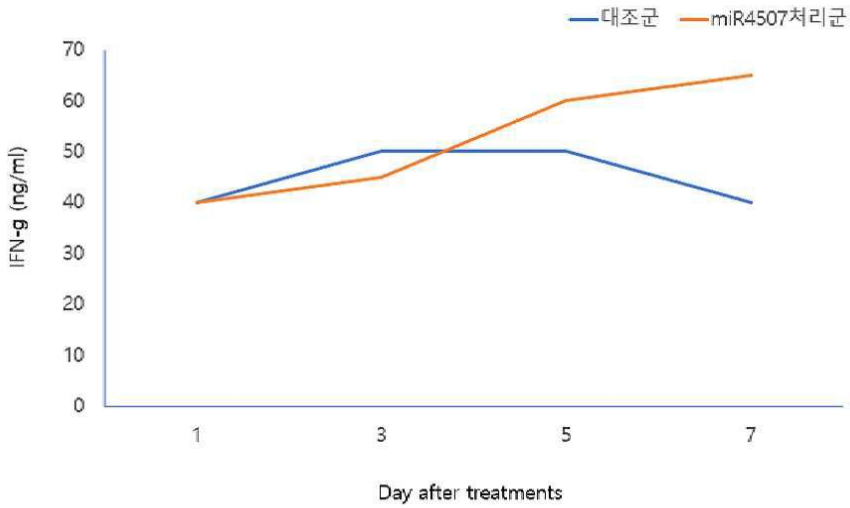
도면4


120
100
80
60
40
20
0
IgE (ng/ml)
대조군
miR4507처리군
1
3
5
7
Day after treatments

도면5



도면6



서 열 목 록

<110> KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION

<120> Pharmaceutical composition for preventing or treating skin inflammation comprising miR-4507 microRNA

<130> APC-2017-0583

<150> KR 10-2017-0085594

<151> 2017-07-05

<160> 2

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 52

<212> RNA

<213> Homo Sapiens

<400> 1

tctgggctga gccgagctgg gttaagccga gctgggttgg gctgggctgg gt 52

<210> 2

<211> 20

<212> RNA

<213> Homo Sapiens

<400> 2

cuggguuggg cugggcuggg 20