

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2023년 6월 22일 (22.06.2023) WIPO | PCT



(10) 국제공개번호
WO 2023/113429 A1

(51) 국제특허분류:

A61K 48/00 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)
A61K 31/7105 (2006.01) A61P 25/04 (2006.01)
A61K 31/517 (2006.01) G01N 33/50 (2006.01)
A61K 31/42 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2022/020234

(22) 국제출원일: 2022년 12월 13일 (13.12.2022)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2021-0180671 2021년 12월 16일 (16.12.2021) KR

(71) 출원인: 서울대학교산학협력단 (SEOUL NATIONAL UNIVERSITY R&DB FOUNDATION) [KR/KR]; 08826 서울특별시 관악구 관악로 1, Seoul (KR). 경희대학교 산학협력단 (UNIVERSITY-INDUSTRY COOPERATION GROUP OF KYUNG HEE UNIVERSITY)

[KR/KR]; 17104 경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, Gyeonggi-do (KR).

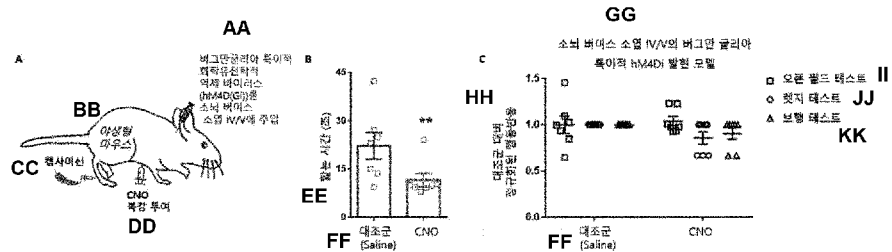
(72) 발명자: 김상정 (KIM, Sang Jeong); 04426 서울특별시 용산구 이촌로88길 30, 102동 702호, Seoul (KR). 김선광 (KIM, Sun Kwang); 06990 서울특별시 동작구 동작대로29길 119, 108동 1506호, Seoul (KR). 김승하 (KIM, Seung Ha); 02726 서울특별시 성북구 송인로2길 61, 117동 1503호, Seoul (KR).

(74) 대리인: 특허법인 이룸리온 (ERUUM & LEEON INTELLECTUAL PROPERTY LAW FIRM); 06575 서울특별시 서초구 사평대로 108, 3층 (반포동), Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR RELIEVING OR TREATING PAIN BY REGULATING CEREBELLAR GLIAL CELLS AND METHOD FOR RELIEVING OR TREATING PAIN

(54) 발명의 명칭: 소뇌 교세포 조절을 통한 통증의 완화 또는 치료용 약학 조성물 및 통증의 완화 또는 치료 방법



AA ... Injection of Bergmann glia-specific chemogenetic inhibitory virus (hM4D(Gi)) into cerebellar vermis lobules IV/V
BB ... Wild-type mouse
CC ... Capsaicin
DD ... Intraperitoneal administration of CNO
EE ... Licking time (sec)
FF ... Control (Saline)
GG ... Bergmann glia-specific hM4Di expression model in cerebellar vermis lobules IV/V
HH ... Normalized behavioral responses compared to control
II ... Open field test
JJ ... Ledge test
KK ... Walking test

(57) Abstract: The present invention relates to a composition for relieving or treating pain, a method for relieving or treating pain by using same, and a method for screening for a pain-relieving substance. It has been confirmed that pain can be relieved by regulating the cerebellum, whose role in pain has not been known so far, by using the pharmaceutical composition and the method for relieving pain, according to the present invention. Therefore, the cerebellum can be used as a new treatment target for pain relief through the pharmaceutical composition and the method for relieving pain, according to the present invention. It has also been confirmed that, even when the cerebellum is used as a target for pain according to the present invention, there is no impact on motor function. Thus, the pharmaceutical composition and the method can be effectively used in practice in relieving or treating pain.

OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))
- 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

(57) 요약서: 본 발명은 통증의 완화 또는 치료용 조성물, 이를 이용한 통증의 완화 또는 치료 방법 및 통증 완화 물질 스크리닝 방법에 관한 것이다. 본 발명에 따른 약학적 조성물 및 통증을 완화하는 방법을 이용하여 그동안 통증에 관하여 역할이 알려지지 않았던 소뇌를 조절하여 통증을 경감시킬 수 있음을 확인하였다. 따라서, 본 발명의 약학 조성물 및 통증을 완화하는 방법을 통해 소뇌를 통증의 완화를 위한 새로운 치료 타겟으로 이용이 가능하다. 또한, 본 발명에 따라 소뇌를 통증의 타겟으로 이용한 경우에도 운동기능에는 영향이 없음을 확인하였으므로, 실제 통증의 완화 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

명세서

발명의 명칭: 소뇌 교세포 조절을 통한 통증의 완화 또는 치료용 약학 조성물 및 통증의 완화 또는 치료 방법

기술분야

- [1] 본 발명은 통증의 완화 또는 치료용 조성물, 이를 이용한 통증의 완화 또는 치료 방법 및 통증 완화 물질 스크리닝 방법에 관한 것이다.
- [2] 한편, 본 출원은 하기 국가연구개발사업에 의해 지원받았다.
- [3] [이 발명을 지원한 국가연구개발사업]
- [4] [과제고유번호] 1711158196
- [5] [과제번호] 2018R1A5A2025964
- [6] [부처명] 과학기술정보통신부
- [7] [과제관리(전문)기관명] 한국연구재단
- [8] [연구사업명] 집단연구지원
- [9] [연구과제명] 기억 네트워크 연구센터
- [10] [기여율] 80/100
- [11] [과제수행기관명] 서울대학교
- [12] [연구기간] 2022-03-01~2023-02-28
- [13]
- [14] [과제고유번호]1345252914
- [15] [과제번호]NRF-2016R1D1A1A02937329
- [16] [부처명]교육부
- [17] [과제관리(전문)기관명]한국연구재단
- [18] [연구사업명]이공학개인기초연구지원
- [19] [연구과제명]소뇌 통증 정보 처리에 대한 버그만 글리아의 역할
- [20] [기여율]10/100
- [21] [과제수행기관명]경희대학교
- [22] [연구기간]2016.11.01 ~ 2019.10.31
- [23]
- [24] [과제고유번호]1711052808
- [25] [과제번호]NRF-2017M3C7A1025604
- [26] [부처명]과학기술정보통신부
- [27] [과제관리(전문)기관명]한국연구재단
- [28] [연구사업명]뇌과학원천기술개발
- [29] [연구과제명]대뇌피질 신경망 작동기전·가소성 기반 통증판정 및 통증조절 원천기술 개발
- [30] [기여율]10/100

- [31] [과제수행기관명]경희대학교
 [32] [연구기간]2017.05.01 ~ 2021.12.31
 [33]

배경기술

- [34] 통증은 실제적이거나 잠재적인 조직 손상으로 인해 유발되는 통각으로, 이는 신체의 예방적인 반응 및 많은 질환의 통상의 임상적 증상을 모두 의미한다. 통증은 전형적으로 동물 또는 인간의 회피 또는 보호 행동을 불러 일으켜, 위험에 대한 추가의 노출로부터 그 자신을 제거하거나 보호한다. 대부분의 통증은 통증의 자극이 제거되고, 신체가 치유되면 해결되나, 때때로 자극의 제거 및 명확한 신체의 치유에도 불구하고 지속된다.
- [35] 한편, 소뇌는 척추동물 대부분의 후뇌에서 도드라지게 관찰되는 뇌의 일부분으로, 지금까지 밝혀진 주기능은 감각 인지의 통합과 운동근육의 조정과 제어에서 중요한 역할을 담당하는 것이다.
- [36] 또한, 각성, 집중, 감정, 통증 등에 관여한다고 알려져 있는 청반(LC; locus coeruleus)은 노르아드레날린(NA; noradrenaline)을 뇌의 모든 영역에 분비하여 조절한다(LC-NA system). 이때 NA는 각 세포마다 발현하고 있는 NA 수용체에 의존적으로 활성을 나타나게 되며 대표적으로 알파-1 아드레날린 수용체를 통해서 세포가 활성화된다.
- [37] 대한민국 공개특허공보 제10-1912460은 신경성 통증 치료에서 $\alpha 2$ -아드레날린 수용체 작용제의 진통작용을 회복하는 방법에 있어서, $\alpha 2$ -아드레날린수용체 작용제; G-단백질 신호 조절자(regulator of G-protein signaling; RGS) 저해제 또는 엔도시토시스 저해제를 이용하여 통증을 완화시키는 방법에 관한 것이나, 소뇌가 통증의 타겟으로 이용될 수 있다는 점에 대해서는 개시된 바 없다.

[38]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [39] 이에 본 발명자들은, 소뇌를 통증의 완화 및 치료의 새로운 타겟으로서 이용하고자 노력한 결과, 청반핵의 신경세포 축삭말단 억제제, 청반핵의 신경세포 축삭말단에서 분비되는 노르아드레날린 수용체 억제제, 소뇌 교세포 특이적 알파-1 아드레날린 수용체(alpha-1 adrenergic receptor)의 발현을 억제하는 억제제, 소뇌 교세포의 칼슘 활성화 억제제 및 GABAA 수용체 효능제를 처리하는 경우, 통증이 현저하게 완화 또는 치료될 수 있음을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.
- [40] 따라서, 본 발명의 목적은 청반핵의 신경세포 축삭말단 억제제, 청반핵의 신경세포 축삭말단에서 분비되는 노르아드레날린 수용체 억제제, 소뇌 교세포 특이적 알파-1 아드레날린 수용체(alpha-1 adrenergic receptor)의 발현을 억제하는 억제제, 소뇌 교세포의 칼슘 활성화 억제제 및 GABAA 수용체 효능제로

이루어진 군에서 1종 이상을 포함하는 통증의 완화 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

[41] 본 발명의 또다른 목적은 상기 약학 조성물을 인간을 제외한 개체에게

투여하는 단계를 포함하는 통증의 완화 또는 치료 방법을 제공하는 것이다.

[42] 본 발명의 또다른 목적은 통증이 완화된 동물모델을 제조하는 방법을 제공하는 것이다.

[43] 본 발명의 또다른 목적은 통증 완화물질을 스크리닝하는 방법을 제공하는 것이다.

[44] 본 발명의 또다른 목적은 통증 완화를 위한 전자약을 제공하는 것이다.

[45] 본 발명의 또다른 목적은 청반핵의 신경세포 축삭말단 억제제, 청반핵의 신경세포 축삭말단에서 분비되는 노르아드레날린 수용체 억제제, 소뇌 교세포 특이적 알파-1 아드레날린 수용체(alpha-1 adrenergic receptor)의 발현을 억제하는 억제제, 소뇌 교세포의 칼슘 활성화 억제제 및 GABAA 수용체 효능제로 이루어진 군에서 1종 이상의 조성물을 이를 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 통증의 완화 또는 치료 방법을 제공하는 것이다.

[46] 본 발명의 또다른 목적은 통증의 완화 또는 치료를 위한 약제의 제조시 청반핵의 신경세포 축삭말단 억제제, 청반핵의 신경세포 축삭말단에서 분비되는 노르아드레날린 수용체 억제제, 소뇌 교세포 특이적 알파-1 아드레날린 수용체(alpha-1 adrenergic receptor)의 발현을 억제하는 억제제, 소뇌 교세포의 칼슘 활성화 억제제 및 GABAA 수용체 효능제로 이루어진 군에서 1종 이상의 용도를 제공하는 것이다.

[47] 본 발명의 또다른 목적은 소뇌 교세포, 청반핵, 소뇌 교세포 노르아드레날린 수용체 또는 소뇌 핵을 억제하여, 통증의 완화 또는 치료하기 위한 방법을 제공하는 것이다.

[48]

과제 해결 수단

[49] 본 명세서에서 사용한 용어는 단지 설명을 목적으로 사용된 것으로, 한정하려는 의도로 해석되어서는 안 된다. 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, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다. 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 실시예가 속 하는 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.

- [50] 상기 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 청반핵의 신경세포 축삭말단 억제제, 청반핵의 신경세포 축삭말단에서 분비되는 노르아드레날린 수용체 억제제, 소뇌 교세포 특이적 알파-1 아드레날린 수용체(alpha-1 adrenergic receptor)의 발현을 억제하는 억제제, 소뇌 교세포의 칼슘 활성화 억제제 및 GABAA 수용체 효능제로 이루어진 군에서 1종 이상을 포함하는 통증의 완화 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [51] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 약학 조성물은 다음의 (i) 내지 (iv)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 활성을 나타내는 것인, 통증의 완화 또는 치료용 약학 조성물일 수 있다:
- [52] (i) 청반핵의 신경세포 축삭말단 억제;
- [53] (ii) 청반핵의 신경세포 축삭말단에서 분비되는 노르아드레날린의 소뇌 교세포작용을 방해하기 위해 아드레날린 수용체를 억제;
- [54] (iii) 소뇌 교세포의 칼슘 활성화를 억제; 및
- [55] (iv) 소뇌 교세포의 활성화 하위 경로인 소뇌핵을 억제.
- [56] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 통증은 신경병증성 통증, 급성통증, 신경성 통증 또는 이들의 조합일 수 있다.
- [57] 본 발명의 바람직한 일실시예에 있어서, 상기 노르아드레날린 수용체 억제제는 알파-1 아드레날린 수용체 억제제(alpha-adrenergic blocking agents)일 수 있다.
- [58] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 알파-1 아드레날린 수용체 억제제(alpha-adrenergic blocking agents)는 소뇌 교세포 특이적 알파-1아드레날린 수용체의 발현 또는 이의 활성을 억제하는 물질이고, 상기 억제제는 siRNA(small interference RNA), shRNA(short hairpin RNA), miRNA(microRNA), 리보자임(ribozyme), DNase, PNA(peptide nucleic acids), 안티센스 올리고뉴클레오타이드(antisense oligonucleotide) 및 항체로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상일 수 있다.
- [59] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 알파-1 아드레날린 수용체 억제제(alpha-adrenergic blocking agents)는 서열번호 1로 이루어진 shRNA를 포함할 수 있다.
- [60] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 노르아드레날린 수용체 억제제는 프라조신(Prazosin)일 수 있고, 상기 GABAA 수용체 효능제는 무시몰(Muscimol)일 수 있다.
- [61] 본 발명의 바람직한 일실시예에 있어서, 상기 약학 조성물은 생리적으로 허용되는 담체를 추가로 포함할 수 있다.
- [62] 또한, 본 발명에 따른 약학 조성물을 인간을 제외한 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 통증의 완화 또는 치료 방법을 제공한다.
- [63] 본 발명은 노르아드레날린 수용체에 후보물질을 처리하여 노르아드레날린

수용체의 억제 여부를 확인하여 통증 완화 물질을 스크리닝 하는 방법을 제공한다.

- [64] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 후보물질을 처리하여 노르아드레날린 수용체가 억제되는 경우, 상기 후보물질을 통증 완화 물질로 판단하는 단계를 포함할 수 있다.
- [65] 본 발명은 GABAA 수용체에 후보물질을 처리하여 GABAA 수용체의 활성 여부를 확인하여 통증 완화 물질을 스크리닝 하는 방법을 제공한다.
- [66] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 후보물질을 처리하여 GABAA 수용체가 활성화되는 경우, 상기 후보물질을 통증 완화 물질로 판단하는 단계를 포함할 수 있다.
- [67] 본 발명은 통증 완화를 위한 전기신호를 발생시키는 전기신호 발생부를 포함하는 전자약으로서, 상기 전기신호는 (i) 청반핵의 신경세포 축삭말단, (ii) 청반핵의 신경세포 축삭말단에서 분비되는 노르아드레날린 수용체, (iii) 소뇌 교세포 특이적 알파-1 아드레날린 수용체(alpha-1 adrenergic receptor) 및 (iv) 소뇌 교세포를 억제하는 전기신호인 것을 특징으로 하는 전자약을 제공한다.
- [68] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 신호는 전기자극, 자기장, 초음파, 빛 및 레이저로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상일 수 있다.
- [69] 본 발명은 또한, 청반핵의 신경세포 축삭말단 억제제, 청반핵의 신경세포 축삭말단에서 분비되는 노르아드레날린 수용체 억제제, 소뇌 교세포 특이적 알파-1 아드레날린 수용체(alpha-1 adrenergic receptor)의 발현을 억제하는 억제제, 소뇌 교세포의 칼슘 활성화 억제제 및 GABAA 수용체 효능제로 이루어진 군에서 1종 이상의 조성물을 이를 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 통증의 완화 또는 치료 방법을 제공한다.
- [70] 본 발명은 또한, 통증의 완화 또는 치료를 위한 약제의 제조시 청반핵의 신경세포 축삭말단 억제제, 청반핵의 신경세포 축삭말단에서 분비되는 노르아드레날린 수용체 억제제, 소뇌 교세포 특이적 알파-1 아드레날린 수용체(alpha-1 adrenergic receptor)의 발현을 억제하는 억제제, 소뇌 교세포의 칼슘 활성화 억제제 및 GABAA 수용체 효능제로 이루어진 군에서 1종 이상의 용도를 제공한다.
- [71] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 억제하는 방법은 화학유전학적 억제 바이러스를 주입하는 방법, 국소적 길항제를 투여하는 방법, ShRNA를 이용하는 방법 또는 소뇌 핵을 억제하는 GABAA 수용체 효능제를 투여하는 방법을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [72] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 노르아드레날린 수용체 억제는 프라조신(Prazosin)을 투여하는 것이고, 상기 소뇌 핵의 억제는 GABAA 수용체 효능제를 투여하는 것이며, 상기 GABAA 수용체 효능제는 무시몰(Muscimol)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [73]

발명의 효과

- [74] 본 발명에 따른 약학적 조성물 및 통증을 완화하는 방법을 이용하여 그동안 통증에 관하여 역할이 알려지지 않았던 소뇌를 조절하여 통증을 경감시킬 수 있음을 확인하였다. 따라서, 본 발명의 약학 조성물 및 통증을 완화하는 방법을 통해 소뇌를 통증의 완화를 위한 새로운 치료 타겟으로 이용이 가능하다. 또한, 본 발명에 따라 소뇌를 통증의 타겟으로 이용한 경우에도 운동기능에는 영향이 없음을 확인하였으므로, 실제 통증의 완화 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

[75]

도면의 간단한 설명

- [76] 도 1은 캡사이신 유발 급성 통증 행동 실험에 대한 개략도이다. 도 1A는 캡사이신을 주입했을 시 핏는 시간을 측정한 것을 의미하며, 도 1B는 캡사이신에 의한 통증 양상을 확인하기 위해 실시한 기록 양상이다. 도 1C는 캡사이신을 주입한 경우 핏는 시간이 증가함을 나타낸다. 도 1D는 소뇌 교세포 활성을 조절한 뒤 기본적인 움직임을 측정하기 위한 챔버이며, 도 1E는 운동 협응을 측정하기 위한 Ledge test와 Gait test를 나타낸다.
- [77] 도 2는 소뇌 교세포에 직접 화학유전학적 hM4Di를 발현시키고 소뇌 교세포를 억제하는 방법과 통증 감소 여부 및 행동실험 결과를 나타낸다.
- [78] 도 3은 소뇌 교세포를 활성화시키는 청반핵 세포에 화학유전학적 hM4D(Gi)를 발현시키고 소뇌에 국소적으로 청반핵의 축삭말단만 억제하는 방법과 통증 감소 여부 및 행동실험 결과를 나타낸다.
- [79] 도 4는 소뇌 교세포에 주로 발현하는 알파-1 아드레날린 수용체를 억제하기 위해 소뇌에 국소적으로 길항제인 프라조신을 주입하는 방법과 통증 감소 여부 및 행동실험 결과를 나타낸다.
- [80] 도 5는 소뇌 교세포 특이적으로 ShRNA를 이용하여 알파-1 아드레날린 수용체의 발현을 줄여 소뇌 교세포를 억제하는 방법과 통증 감소 여부를 나타낸다.
- [81] 도 6은 소뇌 출력의 타겟인 소뇌 핵을 억제하는 GABAA 수용체 효능제인 무시물(muscimol)을 직접 소뇌 핵에 주입하는 방법과 통증 감소 여부 및 행동실험 결과를 나타낸다.

[82]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [83] 이하, 본 발명을 보다 상세히 설명한다.
- [84] 본 발명에서 사용되는 모든 기술용어는, 달리 정의되지 않는 이상, 본 발명의 관련 분야에서 통상의 당업자가 일반적으로 이해하는 바와 같은 의미로 사용된다. 또한, 본 명세서에는 바람직한 방법이나 시료가 기재되나, 이와 유사하거나 동등한 것들도 본 발명의 범주에 포함된다.

[85]

[86] 상술한 바와 같이, 통증을 조절하기 위한 새로운 타겟 영역의 발굴이 요구되고 있다. 이에, 본 발명에서는 청반핵의 신경세포 축삭말단 억제제, 청반핵의 신경세포 축삭말단에서 분비되는 노르아드레날린 수용체 억제제, 소뇌 교세포의 칼슘 활성화 억제제 및 GABA 수용체 효능제로 이루어진 군에서 1종 이상을 포함하는 통증의 완화 또는 치료용 약학 조성물을 제공함으로써, 상술한 문제의 해결방안을 모색하였다. 본 발명의 약학 조성물은 그동안 통증에 관하여 역할이 알려지지 않았던 소뇌를 조절하여 통증을 경감시킬 수 있음을 확인하여, 소뇌를 통증의 완화를 위한 새로운 치료 타겟하여 실제 통증의 완화 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

[87]

[88] 본 발명은 청반핵의 신경세포 축삭말단 억제제, 청반핵의 신경세포 축삭말단에서 분비되는 노르아드레날린 수용체 억제제, 소뇌 교세포 특이적 α -1 아드레날린 수용체(α -1 adrenergic receptor)의 발현을 억제하는 억제제, 소뇌 교세포의 칼슘 활성화 억제제 및 GABAA 수용체 효능제로 이루어진 군에서 1종 이상을 포함하는 통증의 완화 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[89] 본 발명에서 사용되는 용어는 다음과 같이 정의된다.

[90] “치료”는 이롭거나 바람직한 임상적 결과를 수득하기 위한 접근을 의미한다. 본 발명의 목적을 위해서, 이롭거나 바람직한 임상적 결과는 비제한적으로, 증상의 완화, 질병 범위의 감소, 질병 상태의 안정화(즉, 악화되지 않음), 질병 진행의 지연 또는 속도의 감소, 질병 상태의 개선 또는 일시적 완화 및 경감(부분적이거나 전체적으로), 검출 가능하거나 또는 검출되지 않거나 여부를 포함한다. 또한, “치료”는 치료를 받지 않았을 때 예상되는 생존율과 비교하여 생존율을 늘이는 것을 의미할 수도 있다. “치료”는 치료학적 치료 및 예방적 또는 예방조치 방법 모두를 가리킨다. 상기 치료들은 예방되는 장애뿐만 아니라 이미 발생한 장애에 있어서 요구되는 치료를 포함한다. 질병을 “완화(alleviating)”하는 것은 치료를 하지 않은 경우와 비교하여, 질병상태의 범위 및/또는 바람직하지 않은 임상적 징후가 감소되거나 및/또는 진행의 시간적 추이(time course)가 늦춰지거나 길어지는 것을 의미한다. 또한, “치료”는 치료를 받지 않았을 때 예상되는 생존율과 비교하여 생존율을 늘이는 것을 의미할 수도 있다. “치료”는 치료학적 치료 및 예방적 또는 예방조치 방법 모두를 가리킨다. 상기 치료들은 예방되는 장애뿐만 아니라 이미 발생한 장애에 있어서 요구되는 치료를 포함한다.

[91] 소뇌 교세포는 소뇌에 있는 신경 아교세포 또는 신경 교세포를 의미한다.

[92] 청반핵과 노르에피네프린의 영향을 받는 부위를 합쳐 LC-NA 시스템이라고 한다(Locus Coeruleus-Noradrenergic system). LC-NA 시스템은 수면-각성 사이클, 집중, 기억, 자세와 균형, 인지적 조절, 감정, 생리적 스트레스 등을 조절하는

기능을 한다.

- [93] 일 실시예에 있어서, 상기 약학 조성물은 다음의 (i) 내지 (iv)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 활성을 나타내는 것인, 통증의 완화 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다:
- [94] (i) 청반핵의 신경세포 축삭말단 억제;
- [95] (ii) 청반핵의 신경세포 축삭말단에서 분비되는 노르아드레날린의 소뇌 교세포작용을 방해하기 위해 아드레날린 수용체를 억제;
- [96] (iii) 소뇌 교세포의 칼슘 활성화를 억제; 및
- [97] (iv) 소뇌 교세포의 활성화 하위 경로인 소뇌핵을 억제.
- [98] 구체적으로, 본 발명의 실시예에서는 소뇌 교세포의 활성을 억제하는 방법으로 실시예 2 내지 6에 나타난 바와 같이, (i) 소뇌 교세포에 직접 화학유전학적 hM4Di를 발현시키고 소뇌 교세포를 억제하는 방법, (ii) 소뇌 교세포를 활성화시키는 청반핵 세포에 화학유전학적 hM4D(Gi)를 발현시키고 소뇌에 국소적으로 청반핵의 축삭말단만 억제하는 방법, (iii) 소뇌 교세포에 주로 발현하는 알파-1 아드레날린 수용체를 억제하기 위해 소뇌에 국소적으로 길항제인 프라조신(Prazosin, PRZ)을 주입하는 방법, (iv) 소뇌 교세포 특이적으로 ShRNA를 이용하여 알파-1 아드레날린 수용체의 발현을 줄여 소뇌 교세포를 억제하는 방법, (v) 소뇌 출력의 타겟인 소뇌 핵을 억제하는 GABAA 수용체 효능제인 무시몰(muscimol)을 직접 소뇌 핵에 주입하는 방법을 이용하였다.
- [99] 그 결과, 도 2 내지 도 6에 나타난 바와 같이, 각각을 처리한 경우 대조군에 비해 통증이 유의하게 감소한 것을 확인하였다.
- [100] 또한, 소뇌는 운동기능의 주축을 담당하는 부분이므로, 각각의 처리의 경우에도 기초 운동 기능에 영향을 미치지 않는 것이 중요하다. 그에 따라 실시예 1-3에서 나타난 바와 같이 ledge test와 gait test를 진행하였으며(도 1D, E의 개략도 참고), 도 2 내지 도 4 및 도 6에 나타난 바와 같이 대조군과 비교하였을 때에도 기초 운동 기능에는 영향을 미치지 않는 것을 확인하였다.
- [101] 따라서, 상기 약학 조성물을 소뇌를 표적으로 한 경우에도 통증의 완화 및 치료에 이용될 수 있으며, 기초 운동 기능에는 영향을 미치지 않는 것을 확인하였으므로, 통증 완화 및 치료의 새로운 타겟으로서 소뇌가 작용할 수 있음을 밝혔다.
- [102] 일 실시예에 있어서, 상기 통증은 신경병증성 통증, 급성통증, 신경성 통증 또는 이들의 조합일 수 있다.
- [103] 상기 용어 "신경병증성 통증(neuropathic pain)"은 본 명세서에서 말초 또는 중추신경계의 장애의 결과로 생기는 말초 또는 중추신경계에 의한 비정상적 과정(abnormal processing)의 감각 입력에서 비롯된 통증을 나타내는데 사용된다. 통각수용성 통증과 대조적으로, 신경병증성 통증은 실제 "타는 듯한(burning)," "감전된 듯한(electric)," "얼얼하거나 저린(tingling)," 또는 "쿵쿵 쏘시는(shooting)" 것으로 묘사된다. 신경병증성 통증은 종종 만성 이질통(chronic allodynia)(가벼운

터치와 같은, 보통 통증반응을 유발하지 않는 자극으로 인한 통증으로 정의된다) 및 감각과민(hyperalgesia)(정상적인 통증자극에 대한 높은 감수성으로 정의된다)에 의해 설명되며, 어떤 손상된 조직의 외관상 치료(apparent healing) 후 수개월 또는 수년 동안 지속될 수 있다.

[104] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 노르아드레날린 수용체 억제제는 알파-1 아드레날린 수용체 억제제(alpha-1 adrenergic blocking agents)일 수 있다.

[105] 일 실시예에 있어서, 상기 알파-1 아드레날린 수용체 억제제(alpha-adrenergic blocking agents)는 수용체의 발현 또는 이의 활성을 억제하는 물질을 제한없이 포함한다. 상기 알파-1 아드레날린 수용체 억제제(alpha-adrenergic blocking agents)는 소뇌 교세포 특이적 알파-1 아드레날린 수용체의 발현을 억제하는 것이고, 상기 억제제는 알파-1 아드레날린 수용체에 특이적인 siRNA(small interference RNA), shRNA(short hairpin RNA), miRNA(microRNA), 리보자임(ribozyme), DNAzyme, PNA(peptide nucleic acids) 및 안티센스 올리고뉴클레오타이드(antisense oligonucleotide)로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상이 포함될 수 있다. 또한, 상기 알파-1 아드레날린 수용체 억제제(alpha-adrenergic blocking agents)는 알파-1 아드레날린 수용체의 활성을 억제하는 물질이고, 알파-1 아드레날린 수용체에 특이적으로 결합하는 항체, 펩타이드, 앵타머 및 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상이 포함될 수 있으며, 이에 제한되지 않는다. 바람직하게는 상기 유전자의 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 앵타머, siRNA(small interference RNA), shRNA(short hairpin RNA), miRNA(microRNA) 또는 화합물이며, 가장 바람직하게는 shRNA(short hairpin RNA) 또는 화합물이다.

[106] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 상기 shRNA 서열 번호는 서열번호 1를 포함할 수 있다.

[107] [표1]

	서열정보(Sequence)	서열번호
ShRNA	GAGCCACACTTAGCTAACCATTTC	1

[108] 일 실시예에 있어서, 상기 노르아드레날린 수용체 억제제는 알파-1 아드레날린 수용체 억제제(alpha-adrenergic blocking agents)를 의미하며, 이에 제한되는 것은 아니나, 알푸조신(alfuzosin), 독사조신(doxazosin), 테라조신(terazosin), 탐스로신(tamsulosin), 프라조신(prazosin) 등이 포함된다. 바람직하게는 프라조신(prazosin)일 수 있다.

[109]

[110] 일 실시예에 있어서, 상기 GABAA 수용체 효능제는 이에 제한되는 것은 아니나, 효능제로써 GABA 자체, 무시몰(muscimol) 등과 GABAA 수용체 양성 알로스테릭 조절제로써 바르비트루산(barbiturates), 벤조다이아제핀(benzodiazepine)계열이 포함되지만 바람직하게는 무시몰 일 수

있다.

- [111] 본 발명에서 "효능제"는 다른 설명이 없는 경우 GABAA 수용체와 상호작용하여, GABAA 수용체를 활성화시키고, 상기 GABAA 수용체의 생리학 또는 약리학적 반응 특성을 개시하는 물질이고, "길항제"는 효능제와 동일한 부위에서 수용체에 경쟁적으로 결합하되, 수용체의 활성 형태에 의해 개시되는 세포내 반응을 활성화시키 않으며, 이에 의해 효능제에 의한 세포내 반응을 억제할 수 있는 물질을 의미한다.
- [112]
- [113] 일 실시예에 있어서, 상기 약학 조성물은 생리적으로 허용되는 담체를 추가로 포함할 수 있다.
- [114] 본 발명에서, 용어 "약학 조성물(pharmaceutical composition)"은 본 발명의 화합물에 희석제 또는 담체와 같은 제약상 허용되는 부형제를 포함하는 혼합물을 의미한다. 약학적 조성물은 치료 용도를 위한 조성물뿐만 아니라 화장품 조성물을 포함한다. 일부 실시예에 따르면, 본 발명의 조성물을 포함하는 약학적 조성물을 그 필요에 따라 대상체에게 투여하는 방법이 제공되어 있다. 일부 실시예에서, 본 발명의 조성물은 인간에게 투여할 수 있다.
- [115] 본원에 제공된 약학적 조성물의 설명은 원칙적으로 인간에게 투여하기 위한 약학적 조성물에 관한 것이지만, 통상의 기술자는 이러한 조성물이 일반적으로 모든 종류의 동물에게 투여하기 적합함을 이해하게 될 것이다. 다양한 동물에게 투여하기 위한 약학적 조성물의 변형을 잘 이해하고, 숙련된 수의학 약리학자는 필요하다면 단순히 통상적인 실험으로 이러한 변형을 설계 및/또는 수행할 수 있다.
- [116] 본원에서 기술한 약학적 조성물은 약리학 분야에 알려져 있거나 이후 내용에서 전개되는 임의의 방법에 의해 제조될 수도 있다. 일반적으로, 이러한 정제용 방법은 활성 성분을 부형제 및/또는 하나 이상의 다른 보조 성분과 연관시키는 단계를 포함하고, 이어서 필요하거나 원하는 경우 생성물을 원하는 단일- 또는 다중-용량 단위로 성형 및/또는 포장하는 단계를 포함한다.
- [117] 본 발명의 약학적 조성물은 단일 단위 용량 및/또는 복수의 단일 단위 용량으로서 제조, 포장, 및/또는 포장하지 않은 채로 판매될 수도 있다. 본원에서 사용하는 바와 같이, "단위 용량"은 사전 설정된 양의 활성 성분을 포함하는 약학적 조성물의 개별적인 양이다. 활성 성분의 양은 대상체에게 투여되는 활성 성분의 투여량 및/또는 그러한 투여량의 편리한 분획 예컨대 예를 들어 투여량의 1/2 또는 1/3과 일반적으로 동일하다.
- [118] 발명의 약학적 조성물 내 활성 성분, 제약상 허용되는 부형제, 및/또는 임의의 추가 성분의 상대량은 치료 대상체의 동일성, 크기, 및/또는 장애에 따라 그리고 조성물이 투여되는 경로에 따라 변할 것이다. 예로서, 조성물은 0.1% 내지 100% (w/w) 활성 성분을 포함할 수도 있다.
- [119] 본원에서 사용하는 바와 같이, 제약상 허용되는 부형제는 특정한 투여 형태

목적에 적합한 임의의 모든 용매, 분산 매질, 희석제, 또는 다른 액체 비히클, 분산액 또는 현탁 보조제, 표면 활성제, 등장화제, 증점제 또는 유화제, 보존제, 고체 결합제, 윤활제 등을 포함한다. 레밍턴(Remington)의 문헌[The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, A. R. Gennaro, (Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2006)]은 약학적 조성물 조제에 사용된 다양한 부형제 및 이의 제조를 위한 공지된 기술을 개시한다. 임의의 통상적인 담체 배지가 예컨대 임의의 원하지 않는 생물학적 효과를 제공하거나 다르게는 약학적 조성물의 임의의 다른 성분과 유해한 방식으로 상호작용함으로써 물질 또는 그 유도체와 공존할 수 없는 것을 제외하고, 그 용도는 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 고려한다. 제약상 허용되는 부형제는 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 순수하다.

- [120] 약학적 조성물의 제조에 사용된 제약상 허용되는 부형제는 불활성 희석제, 분산제 및/또는 과립화제, 표면 활성제 및/또는 유화제, 붕해제, 결합제, 보존제, 완충제, 윤활제, 및/또는 오일을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [121] 본 발명의 화합물의 국소 및/또는 경피 투여를 위한 투여 형태는 연고, 페이스트, 크림, 로션, 젤, 분말, 용액, 스프레이, 흡입제 및/또는 패치를 포함할 수도 있다. 일반적으로, 활성 성분은 멸균 장애하에서 제약상 허용되는 담체 및/또는 임의의 필요한 보존제 및/또는 요구될 수도 있는 완충제와 혼합되어 있다. 추가로, 본 발명은 흔히 활성 성분의 몸체로의 제어된 전달을 제공하는 추가 장점을 갖는 경피 패치의 사용을 고려한다. 이러한 투여 형태는 예를 들어 활성 성분을 적당한 배지에 용해 및/또는 분산시킴으로써 제조될 수 있다. 대안으로 또는 추가로, 비율 제어 막을 제공하고/거나 활성 성분을 중합체 매트릭스 및/또는 겔에 분산시킴으로써 비율이 제어될 수도 있다.
- [122] 국소 투여를 위한 제제는 액체 및/또는 세미 액체 제제 예컨대 도찰제, 로션, 수중유 및/또는 유중수 에멀전 예컨대 크림, 연고/또는 페이스트, 및/또는 용액 및/또는 현탁액을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 활성 성분의 농축이 용매 내 활성 성분의 용해도 한계만큼 높을 수도 있지만, 국소-투여가능한 제제는 예를 들어 약 1% 내지 약 10% (w/w) 활성 성분을 포함할 수도 있다. 국소 투여를 위한 제제는 본원에서 기술한 하나 이상의 추가 성분을 추가로 포함할 수도 있다.
- [123]
- [124] 본 발명은 상기 약학 조성물을 인간을 제외한 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 통증의 완화 또는 치료 방법을 제공한다.
- [125] 본 발명은 청반핵의 신경세포 축삭말단 억제제, 청반핵의 신경세포 축삭말단에서 분비되는 노르아드레날린 수용체 억제제, 소뇌 교세포 특이적 알파-1 아드레날린 수용체(alpha-1 adrenergic receptor)의 발현을 억제하는 억제제, 소뇌 교세포의 칼슘 활성화 억제제 및 GABAA 수용체 효능제로 이루어진 군에서 1종 이상의 조성물을 이를 필요로 하는 개체에게 투여하는

단계를 포함하는, 통증의 완화 또는 치료 방법을 제공한다.

[126] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 조성물은 다음의 (i) 내지 (iv)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 활성을 나타내는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다:

[127] (i) 청반핵의 신경세포 축삭말단 억제;

[128] (ii) 청반핵의 신경세포 축삭말단에서 분비되는 노르아드레날린의 소뇌 교세포작용을 방해하기 위해 아드레날린 수용체를 억제;

[129] (iii) 소뇌 교세포의 칼슘 활성화를 억제; 및

[130] (iv) 소뇌 교세포의 활성화 하위 경로인 소뇌핵을 억제.

[131] 본 발명의 통증의 완화 또는 치료 방법에 있어서, 통증의 종류 및 노르아드레날린 수용체 억제제 및 GABAA 수용체 효능제는 전술한 기재와 동일한 바, 중복을 피하기 위해 그 기재를 생략한다.

[132]

[133] 상기 투여는, 정맥내 주여, 경구 또는 피하 내 투여, 뇌내 직접 주입하는 방법을 포함하며, 그 방법에 제한되는 것은 아니나, 바람직하게는 뇌의 소뇌에 직접 주입하는 것을 의미한다. 또한, 뇌내 직접 주입을 위하여 특화된 약물 주입기구를 사용할 수 있으며, 구체적으로, 약물주입기구(Ommaya reservoir) 및 약물주입 카테터를 포함한다.

[134] 또한 상기 본 발명의 치료 방법에 있어서, 상기 약물의 적합한 투여량은 약제학적 조성물의 투여방법을 적용할 수 있으며, 이에 따라 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하며, 보통으로 숙련된 의사는 소망하는 치료 또는 예방에 효과적인 투여량을 용이하게 결정 및 처방할 수 있다. 이에 제한되는 것은 아니나, 본 발명의 GABA 또는 GABA 작용제는 0.1 내지 1.0 mmol/ μ l의 농도로, 1회 투여량은 1 μ l 내지 5 μ l 이다. 상기 범위의 농도 및 주입량보다 적게 주입될 경우, 통증 치료에 대한 효과가 미미하며, 상기 범위를 초과하여 주입될 경우, GABA성 반응이 과도하게 유발되어 부작용이 발생할 수 있다.

[135]

[136] 본 발명은 노르아드레날린 수용체에 후보물질을 처리하여 노르아드레날린 수용체의 억제 여부를 확인하여 통증 완화 물질을 스크리닝 하는 방법을 제공한다.

[137] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 후보물질을 처리하여 노르아드레날린 수용체가 억제되는 경우, 상기 후보물질을 통증 완화 물질로 판단하는 단계를 포함하는 통증 완화 물질을 스크리닝 하는 방법일 수 있다.

[138] 본 발명은 GABAA 수용체에 후보물질을 처리하여 GABAA 수용체의 활성 여부를 확인하여 통증 완화 물질을 스크리닝 하는 방법을 제공한다.

[139] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 후보물질을 처리하여 GABAA 수용체가

활성화되는 경우, 상기 후보물질을 통증 완화 물질로 판단하는 단계를 포함하는, 통증 완화 물질을 스크리닝 하는 방법일 수 있다.

[140]

[141] 본 발명은 통증 완화를 위한 신호를 발생시키는 신호 발생부를 포함하는 전자약으로서, 상기 전기신호는 (i) 청반핵의 신경세포 축삭말단, (ii) 청반핵의 신경세포 축삭말단에서 분비되는 노르아드레날린 수용체, (iii) 소뇌 교세포 특이적 알파-1 아드레날린 수용체(alpha-1 adrenergic receptor) 및 (iv) 소뇌 교세포를 억제하는 신호인 것을 특징으로 하는 전자약을 제공한다.

[142] 본 발명에 있어서 '전자약'은 전자(electronics)와 약품(pharmaceutical)의 합성어로 뇌와 신경세포에서 발생하는 신호를 조절하여 질병을 치료하는 전자장치를 의미한다. 본 발명에 있어 '전자약'은 신체의 생물학적 기능 또는 병리학적 과정에서 영향과 변형을 주기 위한 부작용이 최소화된 물리자극을 활용하여 난치성 질환을 포함한 다양한 질병에 약과 같은 치료효과를 목적으로 하는 의료기기일 수 있다.

[143] 전자약은 피하에 매립되어, 치료가 필요한 특정한 부분만을 골라서 자극하므로 부작용을 최소화 할 수 있고, 만일의 경우 약효를 즉시 중단할 수 있는 장점을 가지고 있다. 상기 자극을 주는 부위는 신체의 국소 부위, 특정 세포, 중추 또는 말초 신경계일 수 있으며, 바람직하게는, 상기 나열한 뇌의 특정 영역을 억제시킴으로써, 통증을 완화할 수 있다.

[144] 신호 발생부는 신호를 발생시킬 수 있는 어떠한 형태이든 적용 가능하며 화학적 부작용이 없는 물리적 자극일 수 있다. 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 신호는 특정 형태로 제한되지 않으나, 생물학적, 화학적 활성성분을 사용하지 않아 부작용의 우려가 낮으며, 상기 나열한 뇌의 특정 영역을 자극할 수 있는 어떤 형태이든 적용이 가능하다. 바람직하게는, 상기 신호는 전기자극, 자기장, 초음파, 빛 및 레이저로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상일 수 있다.

[145]

[146] 본 발명은 또한, 통증의 완화 또는 치료를 위한 약제의 제조시 청반핵의 신경세포 축삭말단 억제제, 청반핵의 신경세포 축삭말단에서 분비되는 노르아드레날린 수용체 억제제, 소뇌 교세포 특이적 알파-1 아드레날린 수용체(alpha-1 adrenergic receptor)의 발현을 억제하는 억제제, 소뇌 교세포의 칼슘 활성화 억제제 및 GABAA 수용체 효능제로 이루어진 군에서 1종 이상의 용도를 제공한다.

[147] 본 발명의 용도에 있어서, 약제의 활성 기전, 통증의 종류, 노르아드레날린 수용체 억제제 및 GABAA 수용체 효능제는 전술한 기제와 동일한 바, 중복을 피하기 위해 그 기제를 생략한다.

[148]

[149] 본 발명은 또한, 소뇌 교세포, 청반핵, 소뇌 교세포 노르아드레날린 수용체 또는

소뇌 핵을 억제하여, 통증의 완화 또는 치료하기 위한 방법을 제공한다.

- [150] 본 발명에서는 통증을 조절하기 위한 새로운 타겟 영역을 발굴하였으며, 이를 확인하기 위하여 종래에 통증에 관하여 역할이 알려지지 않았던 소뇌를 조절하여 통증을 경감시킬 수 있음을 확인하였다.
- [151] 이를 확인하기 위해 구체적으로, 소뇌 교세포 및 소뇌 교세포를 활성화 시키는 청반핵 세포, 그리고 소뇌 출력의 타겟인 소뇌 핵을 억제하는 방법을 고안하였다.
- [152] 따라서, 통증의 완화 또는 치료하기 위한 방법에서, 상기 억제하는 방법은 화학유전학적 억제 바이러스를 주입하는 방법, 국소적 길항제를 투여하는 방법, ShRNA를 이용하는 방법 또는 소뇌 핵을 억제하는 GABAA 수용체 효능제를 투여하는 방법을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [153] 구체적인 일실시예에서, 화학유전학적 방법으로는 hM4D(Gi)를 소뇌교세포(Vermis Lobule IV/V) 및 청반핵 세포에 발현시켰으며, 해당 바이러스를 활성화시킬 수 있는 효능제인 CNO 또는 C21에 의해 활성화시켜, 해당 부위를 억제시켰다. 국소적 길항제를 투여하는 방법은 소뇌 교세포에 주로 발현하는 노르아드레날린 수용체인 알파-1 아드레날린 수용체를 억제하기 위해 알파-1 아드레날린 수용체 길항제인 프라조신(100uM 0.5ul)을 이용하였으며, ShRNA를 이용하는 방법으로, 소뇌 교세포 특이적 ShRNA를 이용하여 노르아드레날린 수용체인 알파-1 아드레날린 수용체를 억제시켰다. 아울러, 소뇌 출력의 타겟인 소뇌 핵을 억제하기 위하여, 소뇌 핵을 억제하는 GABAA 수용체 효능제를 투여하였다.
- [154] 본 발명의 방법에 있어서, 상기 노르아드레날린 수용체 억제는 프라조신(Prazosin)을 투여하는 것이고, 상기 소뇌 핵의 억제는 GABAA 수용체 효능제를 투여하는 것이며, 상기 GABAA 수용체 효능제는 무시몰(Muscimol)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [155] 본 발명의, 통증의 완화 또는 치료하기 위한 방법에서, 통증의 종류 및 노르아드레날린 수용체 억제는 전술한 기재와 동일한 바, 중복을 피하기 위해 그 기재를 생략한다.

[156]

발명의 실시를 위한 형태

- [157] 이하, 본 발명을 실시예에 의하여 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 구체적으로 예시하는 것이며, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 의해 한정되지 아니한다.
- [158]
- [159] [실시예 1]
- [160] 1-1. 동물 모델 준비
- [161] 모든 동물은 12시간의 명암 주기로 유지되었고 물과 음식도 자유롭게

허용되었다. 연구는 서울대학교 동물 관리 및 사용위원회(IACUC)의 지침에 따라 동물 관리 및 실험을 수행했다. 모든 동물 실험은 IACUC 승인을 받은 SNU-140513-3-11과 SNU-161226-5-4의 프로토콜을 따른다.

- [162] 유전자 변형이 없는 wild-type 마우스를 이용하여 소뇌 교세포와 청반 세포를 타겟하는 특이적 화학유전학적 억제 바이러스를 주입한다. 알파 1 아드레너직 수용체를 소뇌 교세포 특이적으로 제거하기 위해 소뇌 교세포에만 특이적으로 타목시펜에 의해 cre가 발현하는 유전자 변형마우스인 Glax-cre(Tg(Slc1a3-cre/ERT)1Nat/J)을 이용하여 타목시펜을 주입해 cre를 발현시킨 뒤 cre 의존적으로 알파 1 아드레너직 수용체를 제거하는 바이러스를 주입한다.
- [163] 본 발명의 실시예에서 사용된 시약의 종류 및 동물 모델, 바이러스의 종류 및 시약의 구입처는 다음과 같다.

[164] [표 2]

Reagent type(species) or resource	Designation	Source or reference	Identifiers	Additional information
Strain, Strain background <i>Mus Musculus</i>	Tg(Slc1a3-cre/ERT)1Nat/J	Jackson Laboratory	RRID: IMSR_JAX:012586	Stock no: 012586
Other	AAV9.rTH.PI.Cre.SV40	Addgene	RRID: Addgene_107788	Plasmid #107788
Other	AAV5.GFAP.hM4D(Gi).mCherry	Addgene	RRID: Addgene_50479	Plasmid #50479
Other	AAV9.hSyn.DIO.hM4D(Gi).mCherry	Addgene	RRID: Addgene_44362	Plasmid #44362
Other	AAV5.pSico.a1AR.shRNA.mCherry	KIST virus facility		
Chemical compound, drug	DREADD agonist 21(Compound 21)	Hellobio	CAS no: 2250025-92-2	Cat no: HB6124
Chemical compound, drug	Clozapine N-oxide (CNO) dihydrochloride	Hellobio	CAS no: 2250025-93-3	Cat no: HB6149
Chemical compound, drug	Capsaicin	Sigma Aldrich	CAS no: 404-86-4	Cat no: HB1179
Chemical compound, drug	Prazosin hydrochloride	Sigma Aldrich	CAS no: 19237-84-4	Cat no: P7791
Chemical compound, drug	Muscimol	Sigma Aldrich	CAS no: 2763-96-4	Cat no: M1523

Chemical compound, drug	Tamoxifen	Sigma Aldrich	CAS no: 10540-29-1	Cat no: T5648
Chemical compound, drug	Sunflower seed oil	Santa Cruz Biotechnology	CAS no: 8001-21-6	Cat no: sc-215936

- [165] 1-2. 약물주입소뇌 교세포의 화학유전학적 억제를 위해 복강으로 5-10mg/kg의 용량의 CNO를 주입했다. 청반 세포의 화학유전학적 억제를 위해 소뇌 버미스 소엽 4/5번에 설치한 캐뉼라를 통해 1mM C21을 0.5ul를 소뇌 피질에 직접 주입했다. 알파 1 아드레너직 수용체 억제제 혹은 GABAA 효능제인 Prazosin(100uM 0.5ul), Muscimol(100uM 0.5ul)의 경우 각각 소뇌 피질과 소뇌핵부위에 타겟한 캐뉼라를 통해 주입했다.
- [166]
- [167] 1-3. 캡사이신 투여로 인한 급성 통증
- [168] 통증 조절에 있어 통각 정도를 객관적으로 측정하기 위해 급성통증을 유발하는 캡사이신을 이용하여 발바닥을 찌는 시간을 측정하였다. 동물 모델에서 급성통증에 의한 양상을 확인하는 방법이다. 이후 소뇌 교세포를 조절할 수 있는 다양한 방법을 통해 캡사이신에 의한 발바닥을 찌는 시간이 변화되는지 확인하면 통증이 조절될 수 있음을 확인 할 수 있다.
- [169] 도 1A에 나타난 바와 같이 원기둥 모양 챔버에 마우스를 넣어 발바닥에 캡사이신을 주입했을시 찌는 시간을 측정하였다(도 1A). 캡사이신에 의한 통증 양상을 확인하기 위해 총 30분간 기록하며 캡사이신 주입 전 10분 주입 후 20분을 기록하였다(도 1B).
- [170] 캡사이신에 의한 행동으로 발바닥 찌는 시간을 측정하여 통증 정도를 측정하였다. 그 결과, 도 1C에 나타난 바와 같이 캡사이신을 주입했을 때 대조군인 vehicle에 비해서 유의하게 찌는 시간이 늘어난다는 것을 확인했다.
- [171]
- [172] 1-4. 행동 실험 설계
- [173] 소뇌 교세포 활성을 조절했을 때 기본적인 행동 양상에 영향이 있는지 확인하기 위해 가로 세로 각 40cm 챔버에 넣어 기본적인 움직임을 측정하였다(도 1D).
- [174] 운동 협응을 측정하기 위해 첫번째로 ledge test를 진행하였다. 케이지 모서리에 올려 마우스가 움직임을 측정하여 균형을 잃지 않고 모서리를 따라 걷고 케이지 안으로 조심스럽게 들어가면 3점, 마우스가 모서리를 따라 걷는 동안 발이 일부 미끄러지지만 그렇지 않을 땐 이상이 없어 보이면 2점, 뒷다리를 효과적으로 사용하지 못하거나 케이지로 들어갈 때 다리보다 머리가 먼저 들어가게 되면 1점, 모서리에서 자꾸 떨어지며 도움을 줘도 흔들리거나 움직임을 전혀 없으면

0점을 주어 3점에 가까우면 정상 0점에 가까우면 비정상적 운동협응으로 판단하였다. (도 1E, ledge test).

- [175] 운동 협응을 측정하기 위해 두번째로 Gait test를 진행하였다. 실험자가 보이지 않게 하여 걷는 양상을 측정하여 마우스가 모든 다리에 체중을 지지하고 복부가 바닥에 닿지 않고 양쪽 뒷다리에 문제가 없게 움직이면 3점, 떨림을 보이거나 걸을 때 절뚝거리면 2점, 심한 떨림이나 절뚝거림, 골반이 내려가 있거나 발이 몸에서 멀어지는 양상을 보이면 1점, 마우스가 앞으로 좀처럼 나아가지 않고 바닥에 복부를 끌고다니는 양상이면 0점을 주어 점에 가까우면 정상 0점에 가까우면 비정상적 운동협응으로 판단하였다(도 1E, Gait test).

[176]

[177] [실시예 2]

- [178] 소뇌 교세포에 직접 화학유전학적 hM4Di를 발현시키고 소뇌 교세포를 억제하는 방법

- [179] 유전자 변형이 없는 wild-type 마우스를 이용하여 소뇌 교세포를 타겟하는 특이적 화학유전학적 억제 바이러스를 주입한다. 마우스 소뇌 교세포를 특이적으로 억제하기 위하여, 화학유전학적(chemogenetic)방법으로 hM4D(Gi)를 소뇌교세포(Vermis Lobule IV/V)에 발현시켰다. DREADD는 GPCR에 선택적으로 결합하는 리간드에 의해 활성화되는 조작된 G-단백질-결합 수용체 (GPCR)를 사용한다. 예를 들어, 조작된 사람의 무스카린계 3형 GPCR hM3D(Gq)와 hM4D(Gi)은 내인성 리간드에 반응하지 않지만 대신에 약리학적으로 불활성인 클로자핀-N-산화물 (CNO)에 의해 활성화된다. 따라서, 해당 바이러스를 활성화시킬 수 있는 효능제인 CNO를 복강으로 5-10mg/kg의 용량으로 주입했다. 교세포가 억제가 되는 약 한시간 뒤에 행동 실험을 진행하였다(도 2A).

- [180] 그 결과, 실시예 1-2에서 전술한 캡사이신에 의해 유도된 통증은 CNO 복강 투여에 의한 소뇌 교세포 특이적 화학유전학적 억제시에 대조군에 비해 짧은 시간이 유의하게 감소했다(도 2B). 또한, 이 경우, 소뇌 교세포 억제가 통증 양상에만 영향을 줬음을 확인하기 위해 실시예 1-3에서 전술한 ledge test 및 Gait test로 기초 운동 기능을 측정하였다. 기초 운동 관련 행동실험을 수행하여 대조군 행동 양상을 기반으로 표준화하였다. 도 2C에 나타난 바와 같이, 소뇌 교세포 억제로 대조군과 비교하여 기초 운동수행의 유의성이 확인되지 않았다. 이를 통해 소뇌 교세포 억제로 통증이 감소할 수 있으며, 기초 운동수행에는 영향이 없음을 확인하였다.

[181]

[182] [실시예 3]

- [183] 소뇌 교세포를 활성화시키는 청반핵 세포에 화학유전학적(chemogenetic) hM4D(Gi)를 발현시키고 소뇌에 국소적으로 청반핵의 축삭말단만 억제

- [184] 유전자 변형이 없는 wild-type 마우스를 이용하여 청반 세포를 타겟하는 특이적

화학유전학적 억제 바이러스를 주입하였다. 마우스 소뇌 교세포를 활성화시킬 수 있는 노르에프네프린을 분비하는 청반(LC)영역을 특이적으로 억제하기 위하여, 화학유전학적 억제 방법으로 hM4D(Gi)를 청반(LC)에 발현시켰다. 그 후, 청반 세포의 화학유전학적 억제를 위해 소뇌 버미스 소엽 4/5번에 설치한 캐놀라를 통해 1mM C21을 0.5ul를 소뇌 피질에 직접 주입했다.

노르에프네프린이 분비되는 말단이 억제가 되는 약 10분 후에 행동 실험을 진행하였다(도 3A). 그 결과, 캡사이신에 의해 유도된 통증은 C21 캐놀라를 통한 소뇌 국소 주입으로 인해 청반세포 축삭말단 화학유전학적 억제시에도 대조군에 비해 앓는 시간이 유의하게 감소했다(도 3B). 또한, 이 경우, 청반핵의 축삭말단 억제가 통증 양상에만 영향을 줬음을 확인하기 위해 실시예 1-3에서 전술한 ledge test 및 Gait test로 기초 운동 기능을 측정하였다. 기초 운동 관련 행동실험을 수행하여 대조군 행동 양상을 기반으로 표준화하였다. 도 3C에 나타난 바와 같이, 소뇌 청반핵 축삭말단 억제로 대조군과 비교하여 기초 운동수행의 유의성이 확인되지 않았다. 이를 통해 청반핵 억제로 통증이 감소할 수 있으며, 기초 운동수행에는 영향이 없음을 확인하였다.

[185]

[186] [실시예 4]

[187] 소뇌 교세포에 주로 발현하는 알파-1 아드레날린 수용체를 억제하기 위해 소뇌에 국소적으로 길항제인 프라조신을 주입

[188] 노르에프네프린은 소뇌 교세포의 알파-1 아드레날린 수용체에 의해 활성화된다. 이를 억제하기 위해 알파-1 아드레날린 수용체 길항제인 프라조신(100uM 0.5ul)을 캐놀라를 통해 소뇌(Vermis Lobule IV/V)에만 국소적으로 주입하였다. 그 후 알파-1 아드레날린 수용체가 억제가 되는 약 10분 후에 행동 실험을 진행하였다(도 4A).

[189] 그 결과, 캡사이신에 의해 유도된 통증은 알파-1 아드레날린 수용체 길항제인 프라조신을 캐놀라를 통해 소뇌 국소 주입시에도 대조군에 비해 앓는 시간이 유의하게 감소했다(도 4B). 또한, 이 경우, 알파-1 아드레날린 수용체의 억제가 통증 양상에만 영향을 줬음을 확인하기 위해 실시예 1-3에서 전술한 ledge test 및 Gait test로 기초 운동 기능을 측정하였다. 도 4C에 나타난 바와 같이, 소뇌의 알파-1 아드레날린 수용체가 억제되더라도 대조군과 비교하여 기초 운동수행의 유의성이 확인되지 않았다. 이를 통해 소뇌 교세포에 주로 발현하는 알파-1 아드레날린 수용체 억제로 통증이 감소할 수 있으며, 기초 운동수행에는 영향이 없음을 확인하였다.

[190]

[191] [실시예 5]

[192] 소뇌 교세포 특이적으로 ShRNA를 이용하여 알파-1 아드레날린 수용체의 발현을 줄여 소뇌 교세포를 억제

[193] 소뇌 교세포 활성을 막는 또 다른 방식으로, 소뇌 교세포 특이적 ShRNA를

이용하여 알파-1 아드레날린 수용체를 억제시켰다. 알파 1 아드레너직 수용체를 소뇌 교세포 특이적으로 제거하기 위해 소뇌 교세포에만 특이적으로 타목시펜에 의해 cre가 발현하는 유전자 변형마우스인

Glast-cre(Tg(Slc1a3-cre/ERT)1Nat/J)을 이용하여 타목시펜을 주입해 cre를 발현시킨 뒤 cre 의존적으로 알파 1 아드레너직 수용체를 제거하는 바이러스를 주입하였다. Glast-cre(Tg(Slc1a3-cre/ERT)1Nat/J) 마우스는 미국 잭슨랩에서 구입하였다.

- [194] 구체적으로, 소뇌 교세포 특이적인 Cre를 발현하는 마우스(Glast-Cre/ERT mouse)는 에스트로젠 유도체를 통해 Cre가 활성화되므로, 타목시펜(tamoxifen)이라는 약물로 cre를 활성화시키고 cre-dependent한 ShRNA(534-558)를 이용하여 알파-1 아드레날린 수용체를 교세포 특이적으로 녹다운(knockdown) 시켰다. 본 발명에서 사용한 ShRNA서열은 다음과 같다.

[195] [표3]

	서열정보(Sequence)	서열번호
ShRNA	GAGCCACACTTAGCTAACCATTTC	1

- [196] 그 결과, 캡사이신에 의해 유도된 통증은 소뇌 교세포 특이적 알파-1 아드레날린 수용체의 ShRNA 주입시에도 대조군에 비해 앓는 시간이 유의하게 감소했다(도 5B).

[197] [실시예 6]

- [198] 소뇌 출력의 타겟인 소뇌 핵을 억제하는 GABAA 수용체 효능제인 무시몰(muscimol)을 직접 소뇌 핵에 주입

- [199] 소뇌 피질에서 처리된 정보는 소뇌핵으로 수렴하게 된다. 소뇌 출력의 타겟인 소뇌 핵을 억제한 경우, 캡사이신에 의한 통증 양상을 알아보기 위하여 DCN(Deep Cerebellar Nuclei) 영역에 캐뉼라를 통해 억제성 신경전달 물질 GABAA 수용체 효능제인 무시몰(100uM 0.5ul)을 국소 처리하였다. 무시몰의 효과가 나타나는 인젝션 이후 10분 뒤에 앓는 시간을 측정하였다(도 6A).

[200]

- [201] 그 결과, 캡사이신에 의해 유도된 통증은 DCN의 GABAA 수용체 효능제인 무시몰의 국소 주입으로 대조군에 비해 앓는 시간이 유의하게 감소했다(도 6B). 또한, 이 경우, 억제성 신경물질 GABA 수용체의 효능제가 통증 양상에만 영향을 줬음을 확인하기 위해 실시예 1-3에서 전술한 ledge test 및 Gait test로 기초 운동 기능을 측정하였다. 도 6C에 나타난 바와 같이, 소뇌핵의 활성 억제로 대조군과 비교하여 기초 운동수행의 유의성이 확인되지 않았다. 이를 통해 소뇌핵 활성 억제로 통증이 감소할 수 있으며, 기초 운동수행에는 영향이 없음을 확인하였다.

- [202] 이를 통해, 통증에 있어서 역할을 알 수 없던 소뇌를 조절하여 통증을 경감시키는 동시에 기초 운동수행능력에는 영향이 없음을 확인하여, 새로운 통증 치료 타겟으로 이용할 수 있음을 나타낸다.

청구범위

- [청구항 1] 청반핵의 신경세포 축삭말단 억제제, 청반핵의 신경세포 축삭말단에서 분비되는 노르아드레날린 수용체 억제제, 소뇌 교세포 특이적 알파-1 아드레날린 수용체(alpha-1 adrenergic receptor)의 발현을 억제하는 억제제, 소뇌 교세포의 칼슘 활성화 억제제 및 GABAA 수용체 효능제로 이루어진 군에서 1종 이상을 포함하는 통증의 완화 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 약학 조성물은 다음의 (i) 내지 (iv)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 활성을 나타내는 것인, 통증의 완화 또는 치료용 약학 조성물:
(i) 청반핵의 신경세포 축삭말단 억제;
(ii) 청반핵의 신경세포 축삭말단에서 분비되는 노르아드레날린의 소뇌 교세포작용을 방해하기 위해 아드레날린 수용체를 억제;
(iii) 소뇌 교세포의 칼슘 활성화를 억제; 및
(iv) 소뇌 교세포의 활성화 하위 경로인 소뇌핵을 억제.
- [청구항 3] 제1항에 있어서,
상기 통증은 신경병증성 통증, 급성통증, 신경성 통증 또는 이들의 조합인, 통증의 완화 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서,
상기 노르아드레날린 수용체 억제제는 알파-1 아드레날린 수용체 억제제(alpha-1 adrenergic blocking agents)인 것을 특징으로 하는 통증의 완화 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 5] 제4항에 있어서,
상기 알파-1 아드레날린 수용체 억제제(alpha-1 adrenergic blocking agents)는 소뇌 교세포 특이적 알파-1아드레날린 수용체의 발현 또는 이의 활성을 억제하는 물질이고, 상기 억제제는 siRNA(small interference RNA), shRNA(short hairpin RNA), miRNA(microRNA), 리보자임(ribozyme), DNAzyme, PNA(peptide nucleic acids), 안티센스 올리고뉴클레오타이드(antisense oligonucleotide) 및 항체로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 통증의 완화 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 6] 제5항에 있어서,
상기 알파-1 아드레날린 수용체 억제제는 서열번호 1로 이루어진 shRNA를 포함하는 것을 특징으로 하는, 통증의 완화 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 7] 제1항에 있어서,
상기 노르아드레날린 수용체 억제제는 프라조신(Prazosin)이고,

- 상기 GABAA 수용체 효능제는 무시몰(Muscimol)인 것을 특징으로 하는 통증의 완화 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 8] 제1항에 있어서,
상기 약학 조성물은 생리적으로 허용되는 담체를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는, 통증의 완화 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 9] 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 통증의 완화 또는 치료 방법.
- [청구항 10] 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 약학 조성물을 투여하여 통증이 완화된 동물모델의 제조 방법.
- [청구항 11] 노르아드레날린 수용체에 후보물질을 처리하여 노르아드레날린 수용체의 억제 여부를 확인하여 통증 완화 물질을 스크리닝 하는 방법.
- [청구항 12] 제11항에 있어서,
상기 후보물질을 처리하여 노르아드레날린 수용체가 억제되는 경우,
상기 후보물질을 통증 완화 물질로 판단하는 단계를 포함하는, 통증 완화 물질을 스크리닝 하는 방법.
- [청구항 13] GABAA 수용체에 후보물질을 처리하여 GABAA 수용체의 활성 여부를 확인하여 통증 완화 물질을 스크리닝 하는 방법.
- [청구항 14] 제13항에 있어서,
상기 후보물질을 처리하여 GABAA 수용체가 활성화되는 경우, 상기 후보물질을 통증 완화 물질로 판단하는 단계를 포함하는, 통증 완화 물질을 스크리닝 하는 방법.
- [청구항 15] 통증 완화를 위한 신호를 발생시키는 신호 발생부를 포함하는 전자약으로서,
상기 신호는 (i) 청반핵의 신경세포 축삭말단, (ii) 청반핵의 신경세포 축삭말단에서 분비되는 노르아드레날린 수용체, (iii) 소뇌 교세포 특이적 알파-1 아드레날린 수용체(alpha-1 adrenergic receptor) 및 (iv) 소뇌 교세포를 억제하는 신호인 것을 특징으로 하는 전자약.
- [청구항 16] 제15항에 있어서, 상기 신호는 전기자극, 자기장, 초음파, 빛 및 레이저로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 전자약.
- [청구항 17] 청반핵의 신경세포 축삭말단 억제제, 청반핵의 신경세포 축삭말단에서 분비되는 노르아드레날린 수용체 억제제, 소뇌 교세포 특이적 알파-1 아드레날린 수용체(alpha-1 adrenergic receptor)의 발현을 억제하는 억제제, 소뇌 교세포의 칼슘 활성화 억제제 및 GABAA 수용체 효능제로 이루어진 군에서 1종 이상의 조성물을 이를 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 통증의 완화 또는 치료 방법.
- [청구항 18] 제17항에 있어서,
상기 조성물은 다음의 (i) 내지 (iv)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 활성을 나타내는 것인, 통증의 완화 또는 치료방법:

- (i) 청반핵의 신경세포 축삭말단 억제;
- (ii) 청반핵의 신경세포 축삭말단에서 분비되는 노르아드레날린의 소뇌 교세포작용을 방해하기 위해 아드레날린 수용체를 억제;
- (iii) 소뇌 교세포의 칼슘 활성화를 억제; 및
- (iv) 소뇌 교세포의 활성화 하위 경로인 소뇌핵을 억제.

- [청구항 19] 제17항에 있어서,
상기 통증은 신경병증성 통증, 급성통증, 신경성 통증 또는 이들의 조합인, 통증의 완화 또는 치료 방법.
- [청구항 20] 제17항에 있어서,
상기 노르아드레날린 수용체 억제제는 알파-1 아드레날린 수용체 억제제(alpha-1 adrenergic blocking agents)인 것을 특징으로 하는 통증의 완화 또는 치료 방법.
- [청구항 21] 제20항에 있어서,
상기 알파-1 아드레날린 수용체 억제제(alpha-1 adrenergic blocking agents)는 소뇌 교세포 특이적 알파-1아드레날린 수용체의 발현 또는 이의 활성을 억제하는 물질이고, 상기 억제제는 siRNA(small interference RNA), shRNA(short hairpin RNA), miRNA(microRNA), 리보자임(ribozyme), DNAzyme, PNA(peptide nucleic acids), 안티센스 올리고뉴클레오타이드(antisense oligonucleotide) 및 항체로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 통증의 완화 또는 치료 방법.
- [청구항 22] 제21항에 있어서,
상기 알파-1 아드레날린 수용체 억제제는 서열번호 1로 이루어진 shRNA를 포함하는 것을 특징으로 하는, 통증의 완화 또는 치료 방법.
- [청구항 23] 제17항에 있어서,
상기 노르아드레날린 수용체 억제제는 프라조신(Prazosin)이고, 상기 GABAA 수용체 효능제는 무시몰(Muscimol)인 것인 특징으로 하는, 통증의 완화 또는 치료 방법.
- [청구항 24] 통증의 완화 또는 치료를 위한 약제의 제조시 청반핵의 신경세포 축삭말단 억제제, 청반핵의 신경세포 축삭말단에서 분비되는 노르아드레날린 수용체 억제제, 소뇌 교세포 특이적 알파-1 아드레날린 수용체(alpha-1 adrenergic receptor)의 발현을 억제하는 억제제, 소뇌 교세포의 칼슘 활성화 억제제 및 GABAA 수용체 효능제로 이루어진 군에서 1종 이상의 용도.
- [청구항 25] 제24항에 있어서,
상기 약제는 다음의 (i) 내지 (iv)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 활성을 나타내는 것인, 용도:
(i) 청반핵의 신경세포 축삭말단 억제;

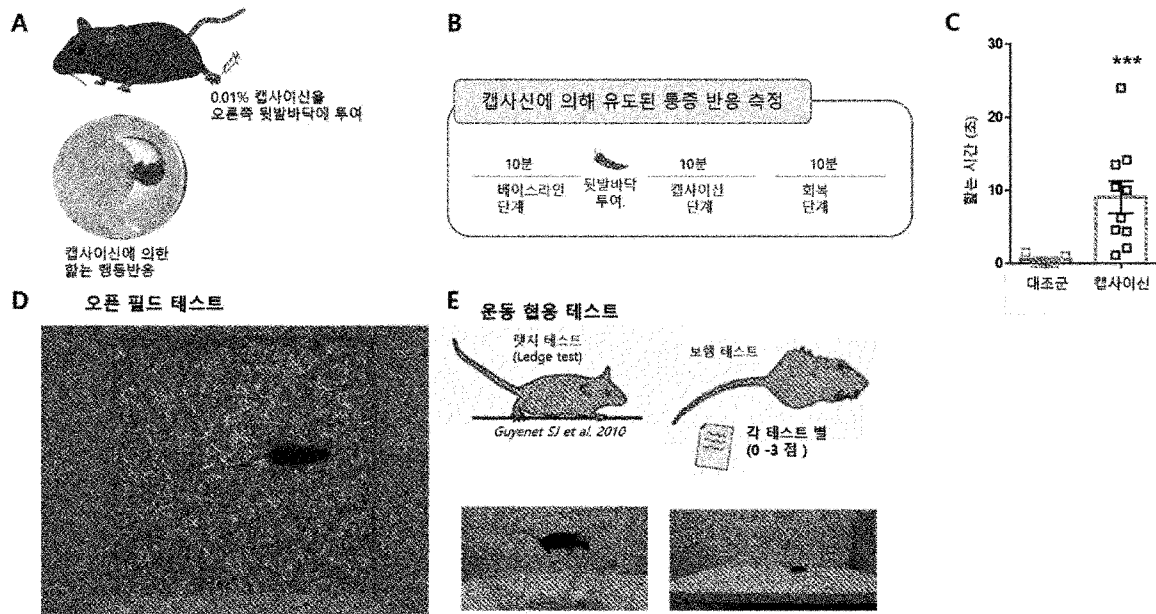
- (ii) 청반핵의 신경세포 축삭말단에서 분비되는 노르아드레날린의 소뇌 교세포작용을 방해하기 위해 아드레날린 수용체를 억제;
- (iii) 소뇌 교세포의 칼슘 활성화를 억제; 및
- (iv) 소뇌 교세포의 활성화 하위 경로인 소뇌핵을 억제.

- [청구항 26] 제24항에 있어서,
상기 통증은 신경병증성 통증, 급성통증, 신경성 통증 또는 이들의 조합인, 용도.
- [청구항 27] 제24항에 있어서,
상기 노르아드레날린 수용체 억제제는 알파-1 아드레날린 수용체 억제제(alpha-1 adrenergic blocking agents)인 것을 특징으로 하는, 용도.
- [청구항 28] 제27항에 있어서,
상기 알파-1 아드레날린 수용체 억제제(alpha-1 adrenergic blocking agents)는 소뇌 교세포 특이적 알파-1아드레날린 수용체의 발현 또는 이의 활성을 억제하는 물질이고, 상기 억제제는 siRNA(small interference RNA), shRNA(short hairpin RNA), miRNA(microRNA), 리보자임(ribozyme), DNAzyme, PNA(peptide nucleic acids), 안티센스 올리고뉴클레오타이드(antisense oligonucleotide) 및 항체로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는, 용도.
- [청구항 29] 제28항에 있어서,
상기 알파-1 아드레날린 수용체 억제제는 서열번호 1로 이루어진 shRNA를 포함하는 것을 특징으로 하는, 용도.
- [청구항 30] 제24항에 있어서,
상기 노르아드레날린 수용체 억제제는 프라조신(Prazosin)이고,
상기 GABAA 수용체 효능제는 무시몰(Muscimol)인 것을 특징으로 하는, 용도.
- [청구항 31] 소뇌 교세포, 청반핵, 소뇌 교세포 노르아드레날린 수용체 또는 소뇌 핵을 억제하여, 통증의 완화 또는 치료하기 위한 방법.
- [청구항 32] 제31항에 있어서,
상기 억제하는 방법은 화학유전학적 억제 바이러스를 주입하는 방법, 국소적 길항제를 투여하는 방법, ShRNA를 이용하는 방법 또는 소뇌 핵을 억제하는 GABAA 수용체 효능제를 투여하는 방법을 포함하는, 통증의 완화 또는 치료하기 위한 방법.
- [청구항 33] 제31항에 있어서,
상기 통증은 신경병증성 통증, 급성통증, 신경성 통증 또는 이들의 조합인, 통증의 완화 또는 치료하기 위한 방법.
- [청구항 34] 제31항에 있어서,
상기 노르아드레날린 수용체 억제는 알파-1 아드레날린 수용체 억제제(alpha-1 adrenergic blocking agents)를 투여하는 것을 특징으로

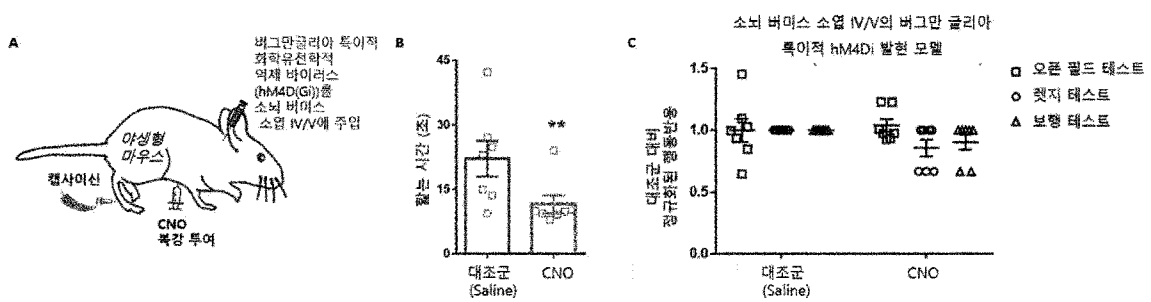
하는, 통증의 완화 또는 치료하기 위한 방법.

- [청구항 35] 제34항에 있어서,
상기 알파-1 아드레날린 수용체 억제제(alpha-1 adrenergic blocking agents)는 소뇌 교세포 특이적 알파-1아드레날린 수용체의 발현 또는 이의 활성을 억제하는 물질이고,
상기 억제제는 siRNA(small interference RNA), shRNA(short hairpin RNA), miRNA(microRNA), 리보자임(ribozyme), DNAzyme, PNA(peptide nucleic acids), 안티센스 올리고뉴클레오타이드(antisense oligonucleotide) 및 항체로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는, 통증의 완화 또는 치료하기 위한 방법.
- [청구항 36] 제35항에 있어서,
상기 알파-1 아드레날린 수용체 억제제는 서열번호 1로 이루어진 shRNA를 포함하는 것을 특징으로 하는, 통증의 완화 또는 치료하기 위한 방법.
- [청구항 37] 제31항에 있어서,
상기 노르아드레날린 수용체 억제는 프라조신(Prazosin)을 투여하는 것이고,
상기 소뇌 핵의 억제는 GABAA 수용체 효능제를 투여하는 것이며,
상기 GABAA 수용체 효능제는 무시몰(Muscimol)인 것을 특징으로 하는 통증의 완화 또는 치료하기 위한 방법.

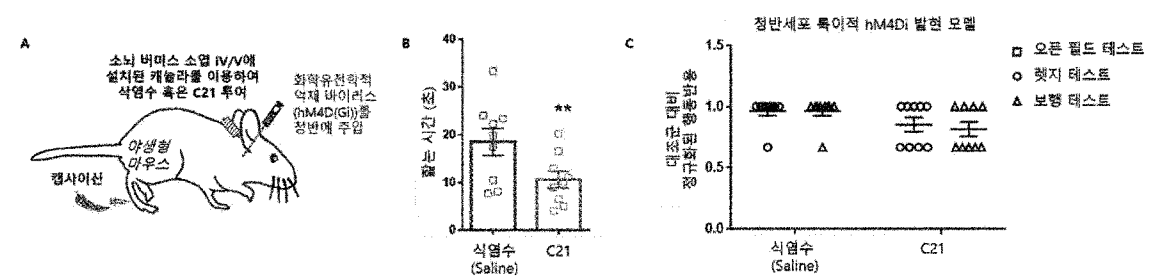
[도1]



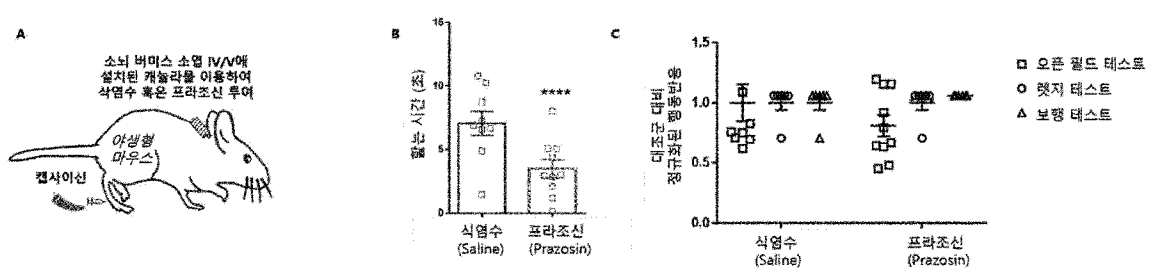
[도2]



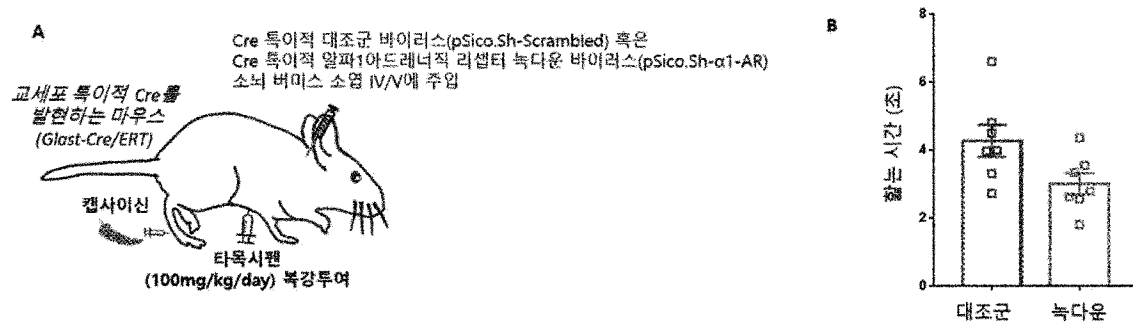
[도3]



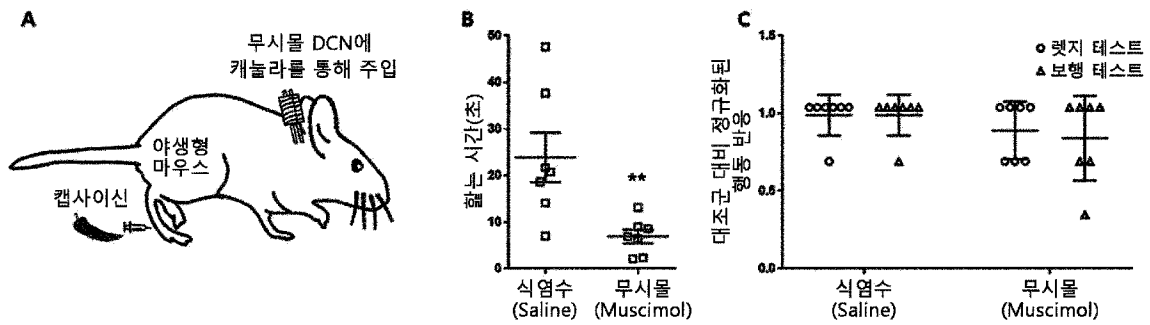
[도4]



[도5]



[도6]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2022/020234

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K 48/00(2006.01)i; A61K 31/7105(2006.01)i; A61K 31/517(2006.01)i; A61K 31/42(2006.01)i; A61P 29/00(2006.01)i; A61P 25/04(2006.01)i; G01N 33/50(2006.01)i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K 48/00(2006.01); A61B 19/00(2006.01); A61N 1/36(2006.01); C12N 5/079(2010.01) Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models: IPC as above Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS (KIPO internal) & keywords: 소뇌교세포(vermis lobule IV/V), 알파-1 아드레날린 수용체(alpha-1 adrenergic receptor), GABAA, 프라조신(prazosin), 무시몰(muscimol), 통증(pain)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	HOSSEINI, M. et al. The effect of intrathecal administration of muscimol on modulation of neuropathic pain symptoms resulting from spinal cord injury; an experimental study. Emergency. 2014, vol. 2, no. 4, pp. 151-157. See abstract; and pages 153 and 155.	1-3,8,24-26 7,13-16,30 4-6,11-12,27-29
X Y	US 6009875 A (HUBBARD, D. R., Jr.) 04 January 2000 (2000-01-04) See abstract; and claims 11, 21-22 and 50.	1-2,4-5,8,24-25,27-28 6-7,11-12,15-16,29-30
Y	NCBI, GenBank Accession No. XM_017315802.2. PREDICTED: Mus musculus adrenergic receptor, alpha 1a (Adra1a), transcript variant X12, mRNA. 21 September 2020. See entire document.	6,29
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 22 March 2023		Date of mailing of the international search report 22 March 2023
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsaro, Seo-gu, Daejeon 35208 Facsimile No. +82-42-481-8578		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2022/020234**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	KR 10-2011-0125424 A (KOREA INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 21 November 2011 (2011-11-21) See abstract; and claim 1.	11-14
Y	KR 10-2016-0087170 A (KOREA INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 21 July 2016 (2016-07-21) See abstract; and claim 1.	15-16
PX	KIM, S. H. et al. Glia-mediated cerebellar pain modulation. bioRxiv. 19 May 2022, pp. 1-13. See abstract; and pages 6-7.	1-8,11-16,24-30

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2022/020234

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. ☒ forming part of the international application as filed.
 - b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),
☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2022/020234

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **9-10,17-23,31-37**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 9-10, 17-23 and 31-37 pertain to a method for treatment of the human body, and thus pertain to a subject matter on which the International Searching Authority is not required to carry out an international search under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2022/020234

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
US	6009875	A	04 January 2000	CA	2174133	A1	20 April 1995
				CA	2174133	C	18 September 2007
				EP	0723443	A1	31 July 1996
				EP	0723443	B1	14 July 2004
				US	5513661	A	07 May 1996
				WO	95-10275	A1	20 April 1995
KR	10-2011-0125424	A	21 November 2011	KR	10-1202451	B1	16 November 2012
KR	10-2016-0087170	A	21 July 2016	KR	10-1653225	B1	01 September 2016

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) A61K 48/00(2006.01)i; A61K 31/7105(2006.01)i; A61K 31/517(2006.01)i; A61K 31/42(2006.01)i; A61P 29/00(2006.01)i; A61P 25/04(2006.01)i; G01N 33/50(2006.01)i																	
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) A61K 48/00(2006.01); A61B 19/00(2006.01); A61N 1/36(2006.01); C12N 5/079(2010.01) 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 소뇌교세포(vermis lobule IV/V), 알파-1 아드레날린 수용체(alpha-1 adrenergic receptor), GABAA, 프라조신(prazosin), 무시몰(muscimol), 통증(pain)																	
C. 관련 문헌 <table border="1"> <thead> <tr> <th>카테고리*</th> <th>인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재</th> <th>관련 청구항</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X Y A</td> <td>HOSSEINI, M. 등, 'The effect of intrathecal administration of muscimol on modulation of neuropathic pain symptoms resulting from spinal cord injury: an experimental study', Emergency, 2014, 2권, 4호 페이지 151-157 초록; 페이지 153, 155</td> <td>1-3,8,24-26 7,13-16,30 4-6,11-12,27-29</td> </tr> <tr> <td>X Y</td> <td>US 6009875 A (HUBBARD, JR., D. R.) 2000.01.04 요약; 청구항 11, 21-22, 50</td> <td>1-2,4-5,8,24-25,27-28 6-7,11-12,15-16,29-30</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>NCBI, GenBank Accession No. XM_017315802.2, 'PREDICTED: Mus musculus adrenergic receptor, alpha 1a (Adra1a), transcript variant X12, mRNA', 2020.09.21 전체 문헌</td> <td>6,29</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>KR 10-2011-0125424 A (한국과학기술연구원) 2011.11.21 요약; 청구항 1</td> <td>11-14</td> </tr> </tbody> </table>			카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항	X Y A	HOSSEINI, M. 등, 'The effect of intrathecal administration of muscimol on modulation of neuropathic pain symptoms resulting from spinal cord injury: an experimental study', Emergency, 2014, 2권, 4호 페이지 151-157 초록; 페이지 153, 155	1-3,8,24-26 7,13-16,30 4-6,11-12,27-29	X Y	US 6009875 A (HUBBARD, JR., D. R.) 2000.01.04 요약; 청구항 11, 21-22, 50	1-2,4-5,8,24-25,27-28 6-7,11-12,15-16,29-30	Y	NCBI, GenBank Accession No. XM_017315802.2, 'PREDICTED: Mus musculus adrenergic receptor, alpha 1a (Adra1a), transcript variant X12, mRNA', 2020.09.21 전체 문헌	6,29	Y	KR 10-2011-0125424 A (한국과학기술연구원) 2011.11.21 요약; 청구항 1	11-14
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항															
X Y A	HOSSEINI, M. 등, 'The effect of intrathecal administration of muscimol on modulation of neuropathic pain symptoms resulting from spinal cord injury: an experimental study', Emergency, 2014, 2권, 4호 페이지 151-157 초록; 페이지 153, 155	1-3,8,24-26 7,13-16,30 4-6,11-12,27-29															
X Y	US 6009875 A (HUBBARD, JR., D. R.) 2000.01.04 요약; 청구항 11, 21-22, 50	1-2,4-5,8,24-25,27-28 6-7,11-12,15-16,29-30															
Y	NCBI, GenBank Accession No. XM_017315802.2, 'PREDICTED: Mus musculus adrenergic receptor, alpha 1a (Adra1a), transcript variant X12, mRNA', 2020.09.21 전체 문헌	6,29															
Y	KR 10-2011-0125424 A (한국과학기술연구원) 2011.11.21 요약; 청구항 1	11-14															
☒ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.																	
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: "A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 "D" 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 "T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 "X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. "Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. "&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌																	
국제조사의 실제 완료일 2023년03월22일 (22.03.2023)		국제조사보고서 발송일 2023년03월22일 (22.03.2023)															
ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578		심사관 허주형 전화번호 +82-42-481-5373															

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y	KR 10-2016-0087170 A (한국과학기술연구원) 2016.07.21 요약; 청구항 1	15-16
PX	KIM, S. H. 등, 'Glia-mediated cerebellar pain modulation', bioRxiv, 2022.05.19, 페이지 1-13 초록; 페이지 6-7	1-8,11-16,24-30

제1기제란 핵산염기 및/또는 아미노산 서열(첫 번째 용지의 1.c의 계속)

1. 국제출원에 개시된 핵산염기 및/또는 아미노산 서열과 관련하여, 국제조사는 다음에 기초하여 수행되었습니다.
 - a. ☒ 출원시 국제출원의 일부를 구성하는 서열목록
 - b. ☐ 국제조사를 목적으로 국제출원일 이후에 제출된 서열목록(규칙 13의3.1(a))

☐ 서열목록이 출원시 국제출원의 개시 범위를 넘지 않는다는 취지의 진술서를 첨부
2. ☐ 국제출원에 개시된 핵산염기 및/또는 아미노산 서열에 대해, 본 보고서는 WIPO 표준 ST.26을 준수하는 서열목록이 없이 유효한 조사를 할 수 있는 범위에서 작성되었습니다
3. 추가 의견:

제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☒ 청구항: **9-10,17-23,31-37**
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
청구항 9-10, 17-23, 31-37은 인체의 치료방법에 관한 것이므로 PCT 조약 제 17조(2)(a)(i) 및 조약규칙 39.1(iv)의 규정에 의하여 국제조사기관이 국제 조사할 의무가 없는 대상에 해당됩니다.
2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,
3. ☐ 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
US 6009875 A	2000/01/04	CA 2174133 A1	1995/04/20
		CA 2174133 C	2007/09/18
		EP 0723443 A1	1996/07/31
		EP 0723443 B1	2004/07/14
		US 5513661 A	1996/05/07
		WO 95-10275 A1	1995/04/20
KR 10-2011-0125424 A	2011/11/21	KR 10-1202451 B1	2012/11/16
KR 10-2016-0087170 A	2016/07/21	KR 10-1653225 B1	2016/09/01