(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0060234
(43) 공개일자 2021년05월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 35/64 (2015.01) *A23L 33/10* (2016.01)
A61P 1/00 (2006.01) *A61P 43/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 35/64 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2019-0148051
(22) 출원일자 2019년11월18일
심사청구일자 2019년11월18일

(71) 출원인
세종대학교산학협력단
서울특별시 광진구 능동로 209 (군자동, 세종대학교)
(72) 발명자
윤은영
경기도 성남시 분당구 수내로 148, 108동 1201호 (수내동, 파크타운서안아파트)
이승훈
서울특별시 광진구 동일로30길 38, 703호 (화양동)
(74) 대리인
특허법인리체

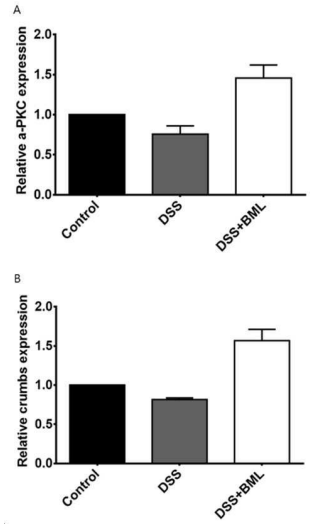
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 **장 누수 증후군 예방 또는 치료용 약학적 조성물**

(57) 요 약

본 발명의 약학적 조성물 및 건강기능식품은 백강잠 추출물을 포함하고 있어, 장 누수 증후군에 대한 우수한 예방, 치료 또는 개선 효과를 갖는다.

대 표 도 - 도6



(52) CPC특허분류
A61P 1/00 (2018.01)
A61P 43/00 (2018.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/32 (2013.01)
A23V 2250/204 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711086087
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명 장손상시 성체 장줄기세포 분화에 효능을 가지는 곤충 추출물 스크리닝 및 기전 연구
기 여 율 1/1
과제수행기관명 세종대학교 산학협력단
연구기간 2019.03.01 ~ 2020.02.29

명 세 서

청구범위

청구항 1

백강잠 추출물을 포함하는 장 누수 증후군 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 추출물은 에탄올 추출물인, 조성물.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 백강잠 추출물은 백강균에 감염된 누에(*Bombyx mori*) 유충(larva)의 추출물인, 조성물.

청구항 4

백강잠 추출물을 포함하는 장 누수 증후군 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 5

청구항 4에 있어서, 상기 추출물은 에탄올 추출물인, 건강기능식품.

청구항 6

청구항 4에 있어서, 상기 백강잠 추출물은 백강균에 감염된 누에(*Bombyx mori*) 유충(larva)의 추출물인, 건강기능식품.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 장 누수 증후군 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 최근 신약 개발과 관련하여 천연자원의 기능에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있으며, 지구상에 다수 종을 차지하고 있는 곤충에 대한 연구가 활성화되고 있다. 예로부터 곤충은 한약재로 자주 이용되어 왔으며 약 30여 종이 유용한 곤충자원으로 이용되고 있다. 그러나 곤충을 식약용으로 이용하기 위해서는 혐오식품으로 분류되어 있기 때문에 효능에 대한 명확한 자료가 뒷받침되어야 한다.

[0004] 백강잠은 누에가 백강균에 감염되어 죽은 충체로 누에에 비해 쉽게 부스러져 가루화가 용이하며, 중국, 한국, 일본 등에서 생산이 된다. 백강잠은 예로부터 중풍, 두통, 간질 및 결핵 등 아주 다양하게 사용되어 왔으며, 실험적 연구로는 항당뇨, 항산화, 뇌신경보호, 항암 효과 등이 보고되고 있으나, 현재 백강잠을 이용한 장 누수 증후군 치료효능에 대한 보고는 전무한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제10-1000153호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 장 누수 증후군에 대한 예방, 치료 또는 개선 효과를 갖는 백강잠 추출물을 포함하는 약학적 조성물 및 건강기능식품을 제공함에 그 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0009] 1. 백강잠 추출물을 포함하는 장 누수 증후군 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

[0010] 2. 위 1에 있어서, 상기 추출물은 에탄올 추출물인, 조성물.

[0011] 3. 위 1에 있어서, 상기 백강잠 추출물은 백강균에 감염된 누에(*Bombyx mmori*) 유충(larva)의 추출물인, 조성물.

[0012] 4. 백강잠 추출물을 포함하는 장 누수 증후군 예방 또는 개선용 건강기능식품.

[0013] 5. 위 4에 있어서, 상기 추출물은 에탄올 추출물인, 건강기능식품.

[0014] 6. 위 4에 있어서, 상기 백강잠 추출물은 백강균에 감염된 누에(*Bombyx mmori*) 유충(larva)의 추출물인, 건강기능식품.

발명의 효과

[0016] 본 발명의 약학적 조성물 및 건강기능식품은 백강잠 추출물을 포함하고 있어, 장 누수 증후군에 대한 우수한 예방, 치료 또는 개선 효과를 갖는다.

도면의 간단한 설명

[0018] 도 1은 장 누수 증후군 모델 제작을 위한 DSS 처리농도 선정 실험에 관련된 것이다.

도 2는 백강잠 추출물의 독성 검정 실험에 관련된 것이다.

도 3 내지 8은 백강잠 추출물의 효능 검정 실험에 관련된 것으로서, 초파리의 생존율 분석, 장의 형태학적 분석, 장 장벽 기능 확인을 위한 Smurf assay, 장 줄기세포 분화 촉진 분석, 장 내 세포사멸 양상 분석 및 apical region 유전자 발현량 분석에 관한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0021] 본 발명은 백강잠 추출물을 포함하는 장 누수 증후군(leaky gut syndrome) 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0022] 장 누수 증후군은 장 내벽을 덮는 막에 있는 세포 사이에 공간이 생길 때 발생하는 질환으로서, 장의 기능이 저

하되고, 장의 투과성이 증가되어 물과 양분의 흡수와 면역 체계에 장애를 유발하는 질환이다.

[0023] 본 발명은 백강잠 추출물 내 포함된 유효성분이 장 내벽을 덮는 막에 있는 세포 간 결합력 내지 응집력을 강화시키는 효능을 발휘함에 따라 효과적으로 장 누수를 막을 수 있음을 확인하였음에 기반한 것으로서, 하기 실시예에서 제시된 apical region 유전자인 aPKC 및 crumbs의 높은 발현량을 확인한 결과 등으로부터 그 효능을 구체적으로 입증하였다.

[0024] 상기 백강잠은 백강균에 감염되어 죽은 누에의 충체로 상기 누에는 다양한 성장단계의 것을 사용할 수 있고, 식용으로의 적합성 측면에서는 바람직하게는 유충단계의 누에일 수 있다.

[0025] 상기 추출물은 열수 추출물, 냉침 추출물, 환류 추출물, 용매 추출물, 수증기 증류 추출물, 초음파 추출물, 용출물 또는 압착 추출물일 수 있으나, 백강잠 내 유효성분을 적정량 포함하여 장 누수 증후군 예방 또는 치료 효능을 발휘하도록 하는 측면에서 바람직하게는 용매 추출물로서 에탄올 추출물일 수 있다.

[0026] 상기 에탄올은 60 내지 80%의 에탄올일 수 있고, 바람직하게는 65 내지 75%일 수 있다.

[0027] 추출 방식은 특별히 한정되지 않으며, 본 발명의 일 실시예에 따라 동애등에 분말에 에탄올을 넣어 현탁한 후 초음파 추출을 통해 추출물을 제조할 수 있다.

[0028] 필요에 따라 상기 추출물은 초음파 추출 후 원심분리한 상층액을 여과하고 감압농축을 추가로 수행하여 제조될 수 있다.

[0029] 상기 추출물을 포함하는 약학적 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0030] 상기 추출물을 함유하는 조성물에 함유될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오즈, 덱스트로즈, 수크로스, 덱스트린, 말토덱스트린, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면 활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제되나, 이에 제한되지 않는다.

[0031] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며 이에 제한되지는 않으나, 이러한 고형제제는 상기 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다.

[0032] 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0033] 본 발명의 약학적 조성물은 약제학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에서, "약제학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고, 종래의 치료제와 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 통상의 기술자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0034] 본 발명의 약학적 조성물에서 유효량은 환자의 나이, 성별, 체중에 따라 달라질 수 있으며, 일반적으로는 체중 kg당 1 내지 6000 mg, 바람직하게는 60 내지 600 mg을 1회 또는 3회로 나누어 투여할 수 있다. 그러나, 투여 경로, 질병의 중증도, 성별, 체중, 연령 등에 따라서 증감될 수 있으므로 상기 투여량이 어떠한 방법으로도 본 발

명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0036] 본 발명은 백강잠 추출물을 포함하는 장 누수 증후군 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0037] 본 발명의 건강기능식품은 장 누수 증후군 예방 또는 개선을 목적으로, 정제, 캅셀, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공할 수 있다.

[0038] 본 발명의 건강기능식품이라 함은, 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 말하며, 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.

[0039] 본 발명의 건강기능식품은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 식품 첨가물로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전청에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.

[0040] 상기 식품 첨가물 공전에 수재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼슘, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물; 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물; L-글루타민산나트륨제제, 면류 첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류 등을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0041] 예를 들어, 정제 형태의 건강기능식품은 상기 추출물을 부형제, 결합제, 붕해제 및 다른 첨가제와 혼합한 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형할 수 있다. 또한 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수도 있다.

[0042] 캅셀 형태의 건강기능식품 중 경질 캅셀제는 통상의 경질 캅셀에 상기 추출물을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 충진하여 제조할 수 있으며, 연질 캅셀제는 상기 추출물을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 젤라틴과 같은 캅셀기제에 충진하여 제조할 수 있다. 상기 연질 캅셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.

[0043] 환 형태의 건강기능식품은 상기 추출물과 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 제피제로 제피할 수 있으며, 또는 전분, 탈크와 같은 물질로 표면을 코팅할 수도 있다.

[0044] 과립 형태의 건강기능식품은 상기 추출물과 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.

[0045] 상기 건강기능식품은 음료류, 육류, 초코렛, 식품류, 과자류. 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 사탕류, 아이스크림류, 알코올 음료류, 비타민 복함제 및 건강보조식품류 등일 수 있다.

[0046] 상기 건강기능식품은 영양제의 용도로 경구 적용될 수 있으며, 적용 형태는 특별히 제한되지 않는다. 예를 들면 경구 투여되는 경우, 하루 섭취량은 5000mg 이하인 것이 바람직하고, 하루 섭취량이 2000mg 이하인 것이 보다 바람직하며, 하루 섭취량이 500 내지 1500mg, 또는 650mg인 것이 가장 바람직하다. 캡슐제 또는 정제로 제제화하는 경우, 1일 1회 1정을 물과 함께 투여할 수 있다.

[0047] 상기 백강잠, 이의 추출물 및 장 누수 증후군 등에 관련된 구체적인 설명은 상술한 바와 같다.

[0049] 이하, 본 발명을 구체적으로 설명하기 위해 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다.

[0051] **실험방법**

[0052] **1. 백강잠 추출물의 제조**

[0053] 건조 후 분쇄한 백강잠 분말 1g 당 10mL의 70% 에탄올을 넣어 현탁한 후, 초음파 파쇄기를 이용하여 추출(80J, 10초 간격 6회)하였다. 그 후, 상온에서 30분 동안 정치시킨 다음, 원심분리(3,000rpm, 5분)한 상층액을 0.45㎛ 주사기 필터를 이용하여 여과하고, 스피드백(speed vacuum)을 이용하여 감압농축 및 건조한 다음 20% DMSO(dimethylsulfoxide)에 녹여 실험에 사용하였다.

[0055] **2. 초파리의 사육**

[0056] 실험에 사용한 초파리는 야생형인 w^{1118} 품종으로, 표준 배지인 효모 옥수수가루한천 수크로오즈 배지에 사육하면서 실험에 사용하였다. 초파리의 스톡(stock)은 19℃에서 유지하였으며, 모든 실험에 사용된 초파리는 3~5일된 성충으로 29℃에서 사육하면서 실험을 수행하였다.

[0058] **3. 초파리의 생존율 평가 및 시료의 경구투여**

[0059] 초파리의 생존율은 암수 각각 25마리(총 50마리)의 초파리를 이용하여 5일간 평가하였다. 장 손상 유도 물질로는 DSS(dextran sodium sulfate, MP biomedicals, Solon, OH, USA)를 사용하였다. DSS와 백강잠 추출물(2 mg/mL)은 최소배지(5% 수크로오즈)에 희석한 후, 2.5 x 3.75 cm 크기의 크로마토그래피 종이에 0.5mL씩 로딩하여 초파리에 공급하면서, 24시간 간격으로 생존율을 평가하였다. 시료를 로딩한 종이와 시험관은 5일 동안 매일 교체하였다. DSS 투여 초파리의 경우 각 DSS 및 백강잠 추출물을 포함하지 않는 최소배지를 대조군(control)으로 사용하였다.

[0061] **4. 장 해부**

[0062] 장의 형태학적 분석, 면역형광염색을 위해 정밀 핀셋을 이용하여 초파리의 후장부분부터 당겨서 분리하였으며, 분리한 즉시 4% 파라포름알데하이드(paraformaldehyde; PFA, Biosesang, Korea)/1x PBS(pH 7.4, Biosesang, Korea)용액으로 고정하였다. 암컷의 장이 수컷의 장보다 크기 때문에, 실험의 용이함을 위해 암컷의 장을 형태학적 관찰 및 면역형광염색에 사용하였다.

[0064] **5. 면역형광염색 및 현미경 관찰**

[0065] 초파리의 장은 해부한 즉시 4% PFA/1x PBS 용액으로 30분(delta 항체) 또는 3시간(pH3, notch 항체) 동안 고정된 장은 1x PBS로 15분 동안 3회 세척한 다음 0.1% Triton X-100/0.5% BSA(bovine serum albumin, Sigma, St. Louis, MO, USA)/1x PBS로 1:50의 비율로 희석한 말 혈청(serum) 용액으로 2시간 블로킹하였다. 블로킹이 끝난 장은 1차 항체인 anti-delta(DHSB, 단클론, 1:20 dilution), anti-pH3(Cell Signaling Technology, Cell Signaling, Beverly, MA, USA, monoclonal, 1:100 희석), 또는 anti-notch(DHSB, 단일클론, 1:20 dilution)로 4℃에서 밤새 배양하였다. 그 다음 0.1% Triton X-100/0.5% BSA/1x PBS으로 15분간 3회 세척하고 2차 항체로 배양한 후, 0.1% Triton X-100/0.5% BSA/1x PBS으로 3회 세척하였다. 슬라이드 글래스 위에 세척이 끝난 장을 올리고, DAPI를 함유하는 antifade(Vectorshield, Vector Lab, Burlingame, CA, USA)로 마운팅(mounting)한 후 형광현미경으로 각 인자의 발현정도를 관찰 평가하였다.

[0067] **6. Smurf Assay**

[0068] 장벽의 손상 정도를 평가하기 위해, 장손상 물질 및 백강잠 추출물 경구투여 후 4일 경과시 1% FCF brilliant 파란색 염료(Sigma, St. Louis, MO, USA) 용액을 포함시켜 공급한 후, 5일째에 초파리의 몸 전체가 파란색으로 염색된 초파리를 smurf+로 정의하고 염색된 초파리의 수를 세었다.

[0070] **7. 장누수증후군 모델 제작을 위한 DSS 처리농도 설정**

[0071] 초파리의 장손상을 유도하기 위한 DSS의 적절한 농도를 선정하기 위해 3, 5, 7, 9%의 DSS를 5일 동안 공급한 결과, 4일째부터 7%와 9%의 DSS 투여군의 생존율이 80% 이하로 감소하였고, 5일째는 40% 이하의 낮은 생존율을 확인할 수 있었다. 하지만 7%와 9%의 농도차이에 의한 초파리의 생존율 차이는 나타나지 않았고, 5% 이하의 DSS는 투여 5일에 생존율이 60% 이상인 것으로 확인되었다(도 1). 이러한 결과를 바탕으로 곤충 추출물의 장손상 회복 효능을 평가하기 위한 DSS의 농도는 투여 5일째에 초파리의 생존율이 약 50% 이하인 7%로 선정하여 진행하였다.

[0073] **실험결과**

[0074] **1. 백강잠 추출물의 독성 검정**

[0075] 5일 동안 초파리에 2 mg/mL 농도의 백강잠 추출물을 단독 투여한 후 생존율을 확인한 결과, 시료 경구투여 후 5일 경과시 91% 이상의 생존율을 보이는 것으로 나타났다(도 2). 따라서 본 연구에 사용된 백강잠 추출물(BML) 자체는 초파리에 독성이 없음을 알 수 있었다.

[0077] **2. 백강잠 추출물의 효능 검정**

[0078] (1) 초파리의 생존율 분석

[0079] 백강잠(BML) 추출물이 7% DSS 경구 투여에 의해 장이 손상된 초파리의 생존율을 향상시키는 효과가 있는지 확인한 결과, 백강잠 추출물은 7% DSS가 경구투여된 초파리의 생존율을 약 28% 이상 증가시켰다(도 3).

[0081] (2) 장 장벽 기능의 확인을 위한 Smurf Assay

[0082] DSS의 장조직 손상을 일으키는 정확한 기전이 정확히 밝혀져 있지는 않지만, DSS는 장조직의 기저막 조직(basement membrane organization)을 파괴함으로써 장조직의 손상을 유도한다고 보고되었다. 따라서 백강잠 추출물의 초파리 생존율 증진 효과의 장벽 조직 파괴 유무와의 관련성 여부를 확인하기 위하여 Smurf assay를 실시하였다. 도 5A에 나타낸 바와 같이 온몸이 파란색으로 염색된 초파리를 Smurf+로 간주하고 그 수를 세었다. 그 결과 무처리군(1%)에 비하여 7% DSS 단독 경구투여 군에서 온몸이 염색된 초파리(Smurf+) 수의 비율이 31% 두드러지게 증가하였다. DSS와 백강잠 추출물을 동시 투여할 경우 Smurf+ 초파리 수의 비율이 약 5% 감소됨을 확인하였다 (도 4B). 따라서 백강잠 추출물이 DSS에 의한 기저막 조직의 파괴를 억제함으로써 초파리의 생존율을 증가시킨 것으로 추정된다.

[0084] (3) 장 줄기세포 분화 촉진 분석

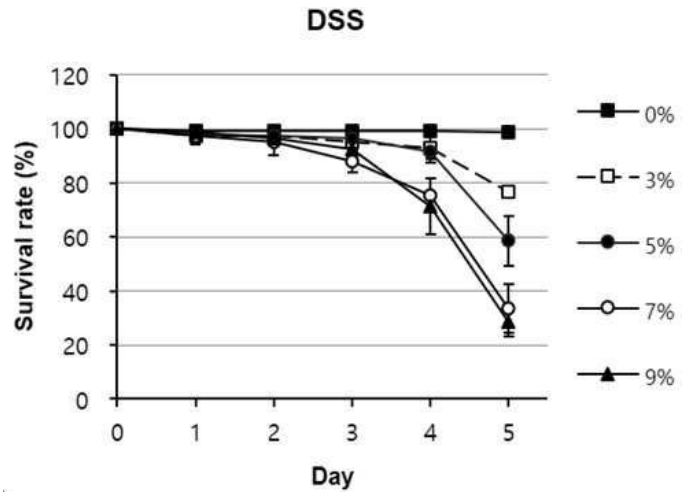
[0085] DSS를 경구투여한 초파리의 생존율을 향상시키는 백강잠 추출물이 장 줄기세포의 분화능을 향상시키는지 여부를 확인하기 위하여 초파리의 장을 해부한 후, 장 줄기 세포 마커인 Delta와 세포증식 마커인 인산화된 히스톤 3(phosphorylated Histone3; pH3)에 대한 면역염색 분석을 실시하였다. 그 결과, Delta와 pH3에 염색되는 세포는 DSS에 의해 증가하였고 백강잠 추출물 경구투여에 의해 각각 Delta는 약 124개 감소하였고, pH3는 약 18개 감소하였다(도 5). 기존의 연구결과에 따르면 DSS에 의해서 장손상이 유도될 경우 손상된 장을 회복하기 위해 장 줄기세포의 증식 및 분화가 증가하는 것으로 알려져 있다. 하지만 본 연구 결과를 바탕으로 DSS와 백강잠 추출물을 동시에 경구투여 할 경우 백강잠 추출물이 장 줄기세포의 분화를 촉진하여 장손상이 회복되는 것이 아니고, 백강잠 추출물이 DSS의 장손상 작용을 직접적으로 저해하는 것으로 추정된다.

[0087] (4) apical region 유전자 발현량 분석

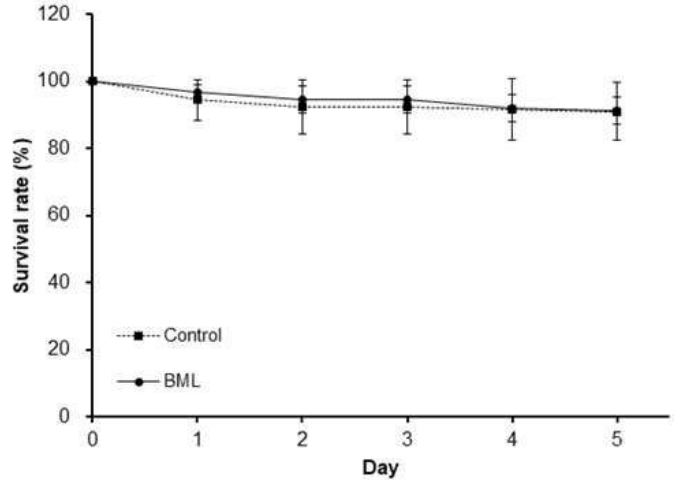
[0088] 장 누수 증후군에서 장에 누수가 일어나는 것은 세포간의 결합력과 큰 연관성이 있다. 이러한 세포간의 결합력에 apical region complex 유전자인 aPKC와 crumbs가 관여한다는 것이 밝혀져 있다(Colosimo et al., 2010). 따라서 본 연구에서도 장 세포간 결합력에 핵심적인 역할을 하는 aPKC와 crumbs 유전자의 발현을 확인하였다. 그 결과, DSS에 의해 장 손상이 유도된 초파리에서 두 유전자의 발현은 감소되었으나, 백강잠 추출물을 DSS와 동시에 투여하였을 때 aPKC의 발현양은 1.52배 이상 증가하였고, crumbs의 발현량은 1.56배 이상 발현하는 것을 알 수 있었다 (도 6).

도면

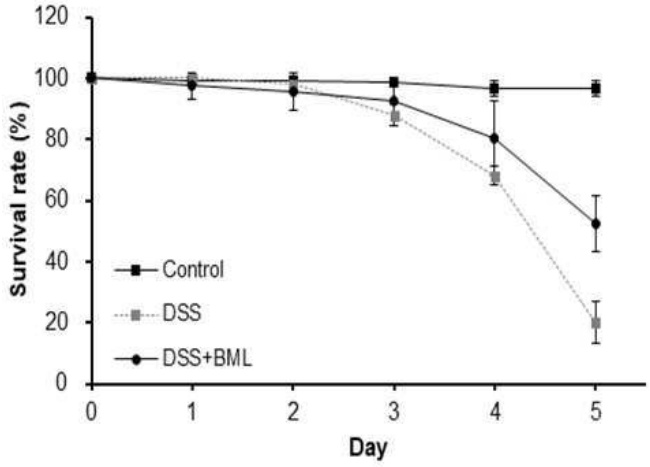
도면1



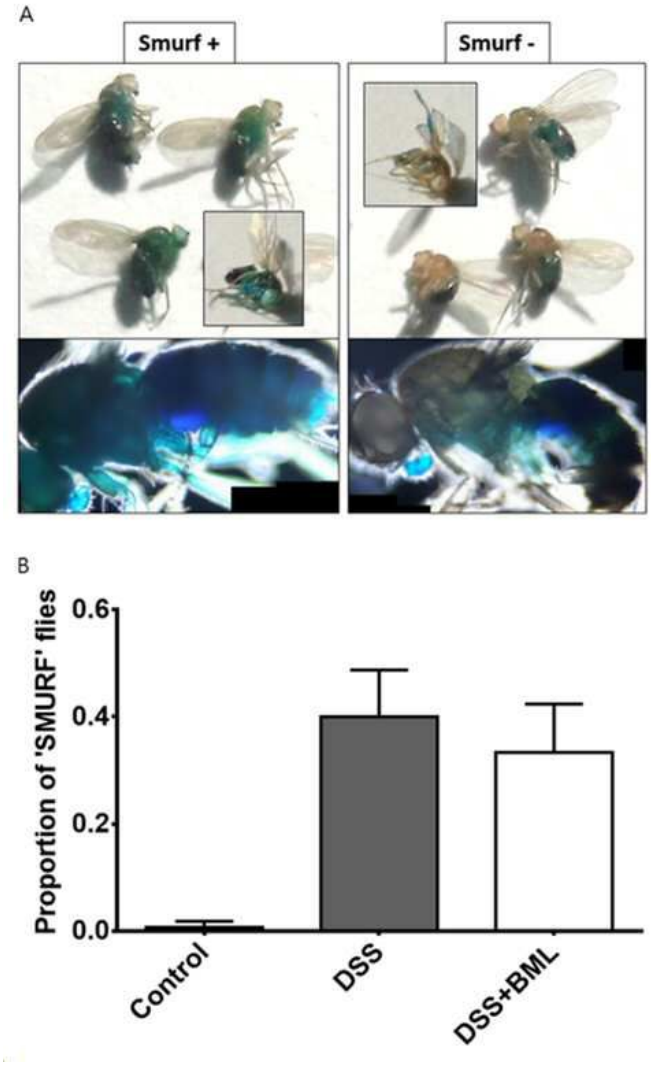
도면2



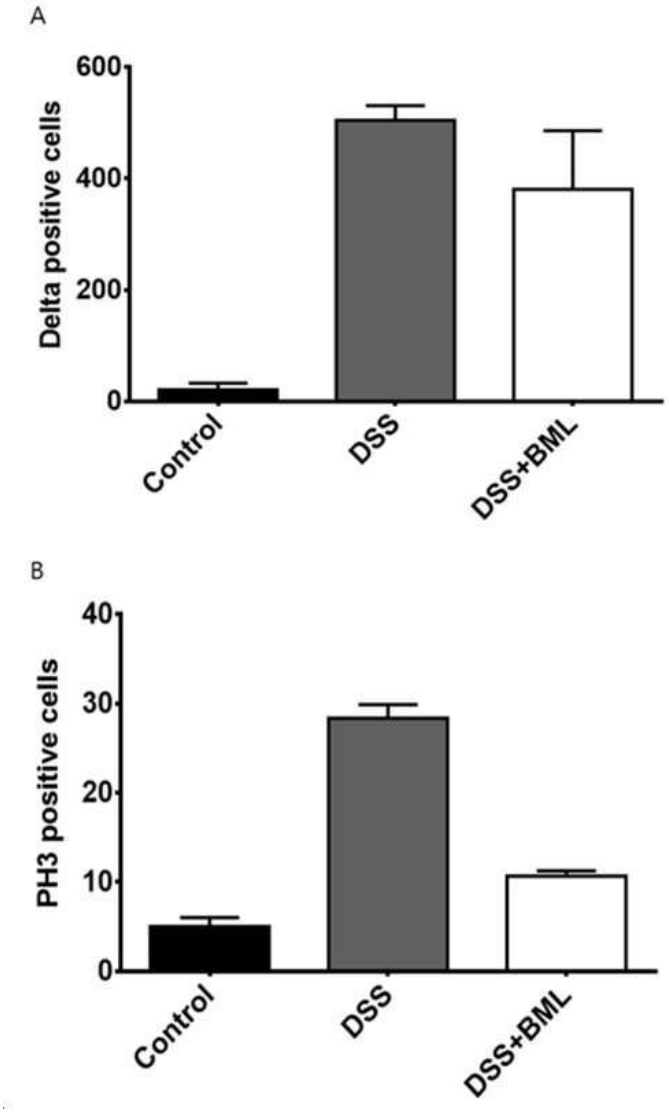
도면3



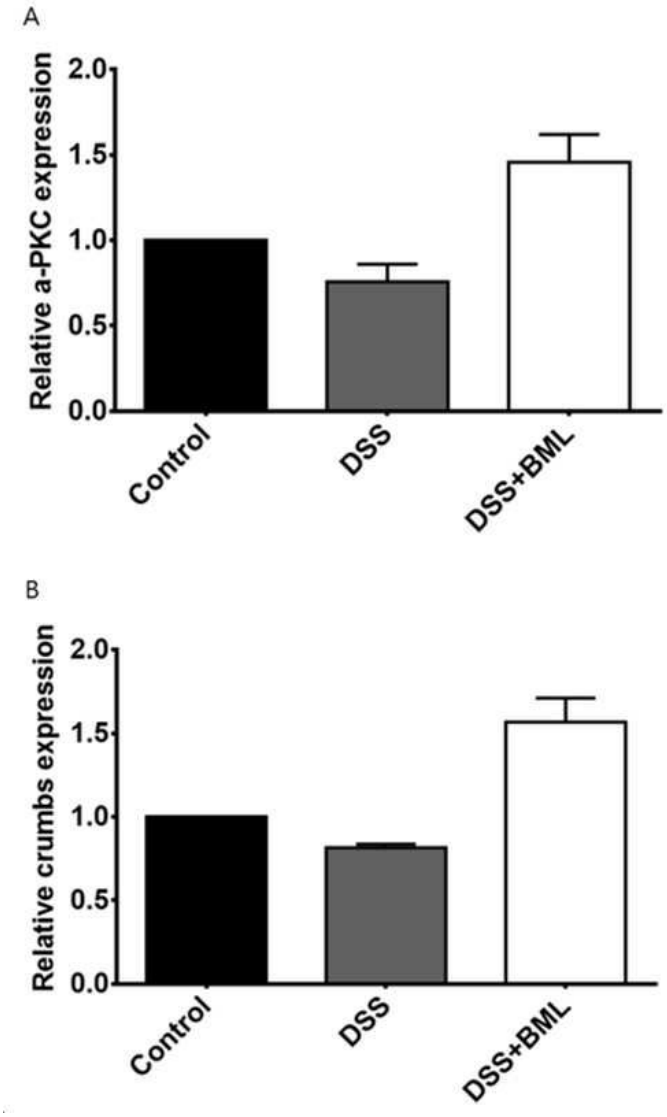
도면4


A
Smurf +
Smurf -
B
Proportion of 'SMURF' flies
0.6
0.4
0.2
0.0
Control
DSS
DSS+BML

도면5


A
600
400
200
0
Delta positive cells
Control
DSS
DSS+BML
B
40
30
20
10
0
PH3 positive cells
Control
DSS
DSS+BML

도면6


A
Relative a-PKC expression
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
Control
DSS
DSS+BML
B
Relative crumbs expression
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
Control
DSS
DSS+BML