(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0029957
(43) 공개일자 2016년03월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 35/48 (2015.01) *A61K 35/28* (2015.01)
A61K 35/50 (2015.01) *A61P 19/02* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-0119077
(22) 출원일자 2014년09월05일
심사청구일자 2015년08월04일

(71) 출원인
울산대학교 산학협력단
울산광역시 남구 대학로 93
(72) 발명자
이부규
서울 강남구 선릉로 120, 11동 805호 (대치동, 개포2차우성아파트)
(74) 대리인
김순웅

전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 **줄기세포를 포함하는 턱관절 장애 예방 또는 치료용 약학적 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 줄기세포를 포함하는 턱관절 장애 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 상기 조성물을 포함하는 턱관절 장애 치료용 키트에 관한 것이다. 본 발명에 따른 줄기세포는 염증을 효과적으로 완화하고, 턱관절 장애의 복합적인 증상을 포괄적으로 치료할 수 있는 바, 근본적인 치료방법이 없어 난치병으로 분리되는 턱관절 장애에 새로운 예방 또는 치료제로서 이용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 HI10C2020
부처명 보건복지부
연구관리전문기관 근거창출임상국가사업단
연구사업명 근거창출선진의료기술개발
연구과제명 난치성 퇴행성 턱관절염 치료에서 자가 지방유래 줄기세포 분획 시술의 유효성 및 안전성 연구
기 여 율 1/1
주관기관 서울아산병원
연구기간 2013.09.01 ~ 2015.03.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

줄기세포를 포함하는 턱관절 장애 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 줄기세포는 지방, 자궁, 골수, 근육, 태반, 제대혈, 모낭 및 피부로 구성된 군에서 선택된 조직 유래인 것을 특징으로 하는, 턱관절 장애 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

청구항 2에 있어서,

상기 지방유래 줄기세포는 자가, 또는 타가 유래인 것을 특징으로 하는, 턱관절 장애 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

청구항 2에 있어서, 상기 지방 유래 줄기세포는 피하, 고환, 장간막, 복막, 안면, 허벅지, 또는 종아리로부터 분리한 지방 조직으로부터 유래한 것을 특징으로 하는, 턱관절 장애 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

청구항 1에 있어서,

상기 줄기세포는 자가 지방 유래 줄기세포인 것을 특징으로 하는, 턱관절 장애 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 6

청구항 1에 있어서,

상기 줄기세포는 세정술의 전 또는 후로 처리될 수 있는 것인, 턱관절 장애 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 7

청구항 1에 있어서, 상기 줄기세포는 지방세포, 지방전구세포 (preadipocyte), 중간엽 줄기세포 (mesenchymal stem cells, MSC), 내피 전구세포 (endothelial progenitor cell), T 세포, B 세포, 비만세포, 대식세포, 및 세포성장인자로 이루어진 군으로부터 선택된 세포를 포함하는 것인, 턱관절 장애 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 8

청구항 7에 있어서, 상기 중간엽 줄기세포는 1×10^{2}~1×10^{10} 세포/mL로 포함되는 것을 특징으로 하는 것인, 턱관절 장애 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 9

청구항 1에 있어서, 상기 턱관절 장애는 턱관절 염증, 턱관절 통증, 두경부 통증, 개구제한, 저작곤란 및 안면기형으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인, 턱관절 장애 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 10

청구항 1 내지 9의 조성물을 포함하는, 턱관절 장애 치료용 키트.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 줄기세포를 포함하는 턱관절 장애 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

[0002] 또한, 본 발명은 상기 조성물을 포함하는 턱관절 장애 치료용 키트에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 턱관절은 양쪽 귀 바로 앞에 있으며 턱뼈와 머리뼈를 연결하는 관절로, 음식을 씹거나 말하는 것과 같은 턱의 기능을 수행하는데 있어서 매우 중요한 역할을 한다. 턱관절은 모든 턱 운동의 중심축으로 작용하며 턱 근육과 인대에 의해지지 되는데, 이때 턱관절 사이에 있는 디스크는 뼈와 뼈 사이의 쿠션 역할을 하게 된다. 이러한 근육과 인대, 디스크, 턱뼈가 함께 어우러져 복합적인 활동을 담당하는데, 여러 요인에 의해 이러한 턱관절 기능에 이상이 생긴 것을 턱관절 장애 (Temporomandibular Joint Disorders, TMJ)란 또는 악관절 장애라고 한다.

[0004] 턱관절에 발생하는 턱관절 장애는 초기에 단순한 관절염으로부터 시작되어 적절한 치료를 하지 않는 경우 만성 염증으로 인해 점진적으로 관절 구조를 파괴시키게 된다. 이러한 증상의 완화와 악화를 반복하면서 턱 고유기능인 연하, 저작, 발성기능에 장애를 초래하게 되고, 안면 골격의 부조화를 가져와 환자의 삶의 질을 저하시킨다.

[0005] 특히 중증의 턱관절 장애환자의 경우 심각한 턱관절 및 두경부 통증 및 개구제한, 저작곤란, 안면기형의 양상까지 보이며 반드시 수술을 통한 재건 수술을 받아야 하나 기술적·경제적 이유로 많은 환자가 적절한 치료를 받지 못하는 실정이다.

[0006] 턱관절 장애의 증상(관절통, 관절잡음, 개구장애) 중 한 가지라도 가지고 있는 환자의 수는 전인구의 40-50%로 추정된다. 특히, 전문 치료기관에서 치료가 반드시 필요한 환자의 수는 전체 인구의 5%에 달하여 당뇨병 유병인구 숫자를 넘는 많은 수의 환자가 국내에 존재한다. 그 중 수술이 필요한 중증 턱관절 장애 환자는 5%에 달하며, 더구나 스트레스와 관련된 선진국 질환으로 나날이 숫자가 증가하고 있는 추세이다.

[0007] 최근 재생의학, 조직공학 기술의 발전으로 줄기세포를 이용한 염증개선, 조직재생의 연구가 활발하며, 다양한 임상에의 적용을 시도하고 있으며, 그동안 많은 연구로 턱관절 장애의 진행을 막기 위한 치료법이 개발되었으나, 아직까지 대증적인 요법 외에는 발생한 염증을 기질적인 변화로부터 치료하고 예방하는 방법은 없는 실정으로 대표적인 난치병으로 여겨지고 있다.

[0008] 이에 따라, 본 발명자들은 난치병으로 분류되는 턱관절 장애에 대한 치료제를 개발하려고 예의 노력한 결과, 줄기세포가 턱관절 장애에 매우 효과적임을 확인하고 본 발명을 완성하기에 이르렀다.

선행기술문헌

특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) 출원번호 : 1020097018749

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명의 일 양상은 줄기세포를 포함하는 턱관절 장애 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0011] 또한, 본 발명의 일 양상은 상기 조성물을 포함하는 턱관절 장애 치료용 키트를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 본 발명의 일 양상은 줄기세포를 포함하는 턱관절 장애 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0013] 이하 본 발명에 대하여 상세히 설명한다.

[0014] 본 발명에 있어서 턱관절은 아래턱뼈, 머리뼈, 그 사이의 관절원판(디스크), 인대, 주위 근육 등의 근골격계로 이루어져 있는데, 턱관절장애란 귀 앞 부위의 턱관절에 장애가 생긴 것을 말한다. 턱관절장애는 흔히 “악관절장애”라고도 하며, 두통을 포함한 두경부 통증장애를 포함하는 경우가 대부분이어서 “측두하악장애” 또는 “두개하악장애”라고도 부릅니다.

[0015] 턱관절 장애 (Temporomandibular Joint Disorders, TMJ)는 저작근 및 측두학관절 부위의 여러 임상적인 문제를 포함하는 용어이다.

[0016] 턱관절장애의 가장 흔한 증상은 통증인데, 이러한 통증은 저작근이나 전위부(前耳部; 귀의 앞쪽에 해당하는 부위) 또는 턱관절에 주로 나타난다. 이는 음식을 씹는 저작활동이나 다른 턱기능에 의해 심해지는 특징이 있다. 일반적인 턱관절장애 환자들은 턱이나 귀, 머리나 얼굴 부위의 통증을 호소하며, 턱 운동의 제한이나 비대칭적인 턱의 모양, 턱관절에서 발생하는 다양한 잡음(관절음(clicking), 거대 관절음(popping), 마찰음(grating), 염발음(crepitus) 등)들이 발생할 수 있다. 또한 이갈이와 같은 나쁜 구강습관, 비통증성 저작근 비대와 비정상적 교모(치아가 닳는 것)도 나타날 수 있다. 즉, 턱관절장애는 주로 턱관절 자체의 장애와 두경부 근육장애(긴장성 두통 포함)로 구성되어 있다.

[0017] 턱관절장애의 증상은 매우 다양하며, 복합적인 원인에 의하여 발생한다. 즉, 유전적 소인, 과거 외상, 골결 부조화, 영양 부족, 내분비 변화 등의 생물학적 요인, 이갈이, 이악물기, 깨물기, 턱내밀기등의 무의식적인 습관, 자세, 수면습관, 직업습관 분량, 식의, 운동수준, 흡연, 음주, 약물과용 및 부장용등의 행동적 요인뿐만 아니라, 자정, 직업, 재정, 친구 등의 사회적인 요인에 의할 수 있으며, 특히 우울, 걱정, 불안, 분노, 증오 등의 감정, 정서장애에 크게 영향을 받는 질병에 해당한다.

[0018] 따라서, 본 발명의 턱관절 장애는 턱관절 염증, 턱관절 통증, 두경부 통증, 개구제한, 저작곤란 및 안면기형을 모두 포함하는 개념이다.

[0019] 본 발명에 있어서, 줄기세포(stem cell)는 적절한 신호에 의한 자기 복제 및 다양한 조직으로 분화할 수 있는 능력을 가진 전구세포로서 발생 단계에서부터 인체의 장기를 형성하고 성장 후에는 장기 및 조직의 기능을 복원하는 데 중요한 역할을 한다. 줄기세포는 발생초기 배반포(blastocyst) 에서 얻어지는 배아줄기세포(embryonic stem cell)와 발생과 정이 끝난 성체 또는 태반에서 얻어지는 성체줄기세포(adult stem cell)가 있다

[0020] 성체줄기세포는 생체 내 에 이식된 후 장기 특성에 맞게 분화하는 특이성 및 본래의 세포 특성과는 다른 종류의 세포로 교차 분화할 수 있는 유연성을 가지고있고, 다양한 세포로 분화될 수 있는 다잠재성이 있다.

[0021] 상기는 바람직하게는 줄기세포분획일 수 있다. 줄기세포 분획은 (Stromal Vascular Fraction, SVF)은 조직 내 세포들의 간극을 연결해주는 혈관 기질로서 세포와 세포사이의 신호전달과 영양분 공급 역할을 수행하고 있는 결합 조직 내의 세포 집단을 의미한다.

[0022] 상기 줄기세포는 자가 또는 타가 유래일 수 있다.

[0023] 상기 줄기세포는 유래하는 조직에 대한 제한이 없으며, 예를 들면 지방, 자궁, 골수, 근육, 태반, 제대혈, 모낭 또는 피부 등의 조직으로부터 유래한 것일 수 있으며, 바람직하게는 지방조직 유래 줄기세포일 수 있다.

[0024] 지방조직 유래 줄기세포는 피하, 고환, 장간막, 복막, 안면, 허벅지, 또는 종아리로부터 분리한 지방 조직으로부터 유래할 수 있으며, 그에 대한 제한은 없다.

[0025] 특히, 본 발명의 최선의 구체예에서 상기 줄기세포는 자가 지방 유래 줄기세포일 수 있다.

[0026] 또한, 상기 상기 줄기세포 분획은 생체로부터 분리된 지방조직에 대하여 콜라게나아제 처리 및 원심분리를 통하여 수득될 수 있다.

[0027] 상기 줄기세포는 지방세포뿐만 아니라 지방전구세포 (preadipocyte), 중간엽 줄기세포 (mesenchymal stem cells, MSC), 내피 전구세포 (endothelial progenitor cell), T 세포, B 세포, 비만세포, 대식세포, 및 세포성장과 관련한 사이토카인 등을 포함할 수 있다.

[0028] 상기 줄기세포는 중간엽 줄기세포를 1×10^{2}~1×10^{10} 세포/mL로 포함할 수 있다.

[0029] 본 발명에 따른 줄기세포는 염증을 효과적으로 완화하고, 턱관절 장애의 복합적인 증상을 포괄적으로 치료할 수 있는 바, 근본적인 치료방법이 없어 난치병으로 분리되는 턱관절 장애에 새로운 예방 또는 치료제로서 이용될 수 있다.

[0030] 본 발명의 용어 "예방"이란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 턱관절 장애를 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미하고, "치료"란 상기 약학적 조성물의 투여에 의해 턱관절 장애에 의한 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.

[0031] 본 발명의 용어 "약학적 조성물"은 "세포치료 조성물"과 혼용될 수 있으며, 이는 사람으로부터 분리, 배양 및 특수한 조작을 통해 제조된 세포 및 조직으로 치료, 진단 및 예방의 목적으로 사용되는 의약품(미국 FDA규정)으로서, 세포 혹은 조직의 기능을 복원시키기 위하여 살아있는 자가, 동종, 또는 이종세포를 체외에서 증식 선별하거나 다른 방법으로 세포의 생물학적 특성을 변화시키는 등의 일련의 행위를 통하여 치료, 진단 및 예방의 목적으로 사용되는 의약품을 의미한다.

[0032] 상기 본 발명의 세포치료 조성물은 약학적으로 허용되는 담체를 추가로 포함할 수도 있다. 상기 "약학적으로 허용되는" 이란 상기 조성물에 노출되는 세포나 인간에게 독성이 없는 것을 말한다. 상기 담체는 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장제, 안정화제, 기제, 부형제, 윤활제, 보존제 등 당업계에 공지된 것이라면 제한없이 사용할 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 각종 제형의 형태로 통용되는 기법에 따라 제조될 수 있다. 본 발명의 조성물인 세포치료제는 질병부위로 이동을 유도할 수 있다면 어떠한 경로를 통해서든지 투여 가능하다. 경우에 따라서는 줄기세포를 병변으로 향하게 하는 수단을 구비한 비히클에 로딩하는 방안을 고려할 수도 있다.

[0033] 따라서 본 발명의 조성물은 국소 (협측, 설하, 피부 및 안내 투여를 포함), 비경구 (피하, 피내, 근육내, 점적, 정맥 내, 동맥 내, 관절 내 및 뇌척수액 내를 포함) 또는 경피성 투여를 포함한 여러 경로를 통해 투여할 수 있으며, 바람직하게는 비경구로, 가장 바람직하게는 발병부위에 직접 투여한다. 일 양태로서 줄기세포는 적합한 희석제에 약 1×10^{2} 내지 1×10^{10} 세포/ml의 농도로 현탁시켜 개체에 투여할 수 있는데, 이 희석제는 세포를 보호 및 유지하고, 목적하는 조직에 주입시 사용에 용이하도록 하는 용도로 사용된다. 상기 희석제로는 생리식염수, 인산완충용액, HBSS 등의 완충용액, 혈장, 뇌척수액, 또는 혈액성분 등이 있을 수 있다. 또한, 제약 조성물은 활성 물질이 표적 세포로 이동할 수 있도록 임의의 장치에 의해 투여될 수 있다. 바람직한 투여방식 및 제제는 주사제이다. 주사제는 생리식염액, 링겔액, Hank 용액 또는 멸균된 수용액 등의 수성용제, 올리브 오일 등의 식물유, 에틸올레인산 등의 고급 지방산 에스테르 및 에탄올, 벤질알코올, 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜 또는 글리세린 등의 비수성용제 등을 이용하여 제조할 수 있고, 점막 투과를 위해, 통과할 배리어에 적합한 당업계에 공지된 비침투성제가 사용될 수 있으며, 변질방지를 위한 안정화제로 아스코르빈산, 아황산수소나트륨, BHA, 토코페롤, EDTA 등과, 유화제, pH 조절을 위한 완충제, 질산페닐수은, 치메로살, 염화벤잘코늄, 페놀, 크레솔, 벤질알코올 등의 미생물 발육을 저지하기 위한 보존제 등의 약학적 담체를 추가적으로 포함할 수 있다.

[0034] 또 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 턱관절 장애의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 동물에게 투여하여 턱관절 장애를 예방 또는 치료하는 방법을 제공할 수 있다.

[0035] 상기 줄기세포는 세정술의 전 또는 후로 처리될 수 있다.

[0036] 본 발명의 용어 "개체"란 위와 같은 턱관절 장애가 발병하였거나 발병할 수 있는 인간을 포함한 모든 동물을 의미하고, 본 발명의 약학적 조성물을 개체에게 투여함으로써 상기 질환들을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 기존의 치료제와 병행하여 투여될 수 있다.

[0037] 본 발명의 용어 "투여"란, 적절한 방법으로 환자에게 소정의 물질을 도입하는 것을 의미하며 상기 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 복강내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 경구 투여, 국소 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 직장내 투여될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0038] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 활성 물질이 표적 세포로 이동할 수 있는 임의의 장치에 의해 투여될 수도 있다. 바람직한 투여방식 및 제제는 정맥 주사제, 피하 주사제, 피내 주사제, 근육 주사제, 점적 주사제 등이다. 주사제는 생리식염액, 링겔액 등의 수성 용제, 식물유, 고급 지방산 에스테르(예, 올레인산에칠 등), 알코올 류(예, 에탄올, 벤질알코올, 프로필렌글리콜, 글리세린 등) 등의 비수성 용제 등을 이용하여 제조할 수 있고, 변질 방지를 위한 안정화제(예, 아스코르빈산, 아황산수소나트륨, 피로아황산나트륨, BHA, 토코페롤, EDTA 등), 유화제, pH 조절을 위한 완충제, 미생물 발육을 저지하기 위한 보존제(예, 질산페닐수은, 치메로살, 염화벤잘코늄, 페놀, 크레솔, 벤질알코올 등) 등의 약학적 담체를 포함할 수 있다.

[0039] 또한, 본 발명은 상기 조성물을 포함하는 턱관절 장애 치료용 키트를 제공한다.

[0040] 상기 키트는 병, 통 (tub), 작은 봉지 (sachet), 봉투 (envelope), 튜브, 앰플 (ampoule) 등과 같은 형태를 취할 수 있으며, 이들은 부분적으로 또는 전체적으로 플라스틱, 유리, 종이, 호일, 왁스 등으로부터 형성될 수 있다. 용기는, 처음에는 용기의 일부이거나 또는 기계적, 접착성, 또는 기타 수단에 의해 용기에 부착될 수 있는, 완전히 또는 부분적으로 분리가 가능한 마개를 장착할 수 있다. 용기는 또한 주사바늘에 의해 내용물에 접근할 수 있는, 스토퍼가 장착될 수 있다. 상기 키트는 외부 패키지를 포함할 수 있으며, 외부 패키지는 구성 요소들의 사용에 관한 사용설명서를 포함할 수 있다.

발명의 효과

[0041] 본 발명에 따른 줄기세포는 염증을 효과적으로 완화하고, 턱관절 장애의 복합적인 증상을 포괄적으로 치료할 수 있는 바, 근본적인 치료방법이 없어 난치병으로 분리되는 턱관절 장애에 새로운 예방 또는 치료제로서 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0042] 도 1은 턱관절염 염증 모델 마우스에 수득한 줄기세포를 주입하는 것을 사진으로 나타낸 도이다.

도 2의 좌측 사진은 줄기세포 시술전 손상된 디스크를 나타내며, 도 2의 우측 사진은 줄기세포 분획 처리 후 회복된 디스크를 나타낸다.

도 3에서 좌측사진은 줄기세포 시술전 염증세포 침윤을 확인한 도이며, 도 3의 우측 사진은 줄기세포 분획 처리 후 염증세포 침윤이 회복된 상태를 나타낸다.

도 4는 삼출액이 소실된 환자의 경우는 염증성 삼출액의 소실(Grade 3 → Grade 0)뿐 아니라 과두 재생도 관찰됨을 확인한 도이다.

도 5는 임상실험 설계의 모식도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0043] 이하 본 발명을 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0044] **<실시예 1> 턱관절 염증 모델에서의 치료 효과 확인**

[0045] **1-1. 줄기세포의 수득 및 투여**

[0046] 본 발명의 실험에 사용할 줄기세포는 하기와 같은 방법으로 수득하였다.

표 1

[0047]

공정번호	공정명	내용
1	지방수득	Rat의 복부를 개복하여 지방조직을 획득한다.
2	지방조직 전달	공정 1에서 획득한 지방조직은 멸균된 syringe 또는 멸균된 bottle에 옮겨 밀봉한 후 지방세포분획분리실로 옮긴다.
3	조직세척	전달된 지방조직을 50ml tube에 옮긴 후 1:1 비율의 인산화완충용액을 첨가하여 혈액 및 다른 buffer를 원심분리를 통하여 씻어낸다.
4	효소처리	공정 3의 세척된 지방조직 무게의 0.075% 콜라게나아제를 첨가하여 37도에서 45분간 반응시킨다.
5	세척	인산화완충용액을 사용하여 3회 wash-out 한다.
6	SVF획득	공정 5의 세척된 조직은 2,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 SVF 펠렛을 획득한다.
7	여과	공정 6의 펠렛은 70 um mesh 필터로 불순물과RBC를 제거한다.
8	SVF세척	공정 7에서 획득된 SVF를 최종 주사용수로 3회 세척한다.
9	세포정량	공정 8의 SVF는 inverted microscope로 morphological analysis를 실시하고 자동화 세포측정 장치를 통하여 Cell viability와 줄기세포의 수율을 확인한다.
10	충전 라벨	공정 9의 Rat에게 투여될 수 있도록 주사용수에 $1x10^7$cells/cc되도록 하여 1cc syringe에 담는다.
11	SVF전달	공정 10의 최종 SVF 시술관리자에게 전달하고 수령을 확인한다.

[0048] 또한, 상기와 같은 방법에 의하여 수득한 줄기세포를 턱관절 염증 모델 마우스에 투여하였다. 도 1은 턱관절염 염증 모델 마우스에 수득한 줄기세포를 주입하는 것을 사진으로 나타낸 도이다.

[0049] 상기와 방법으로 수득한 줄기세포는 Rat의 양측 상관절강 내에 1cc syringe를 이용하여 0.2cc씩 주입한다.

[0050] **1-3. 턱관절 염증 모델에 대한 외과적 소견**

[0051] 턱관절 염증 모델을 희생시키고 턱관절염의 완화여부를 확인하기 위하여 조직을 분리하여 절개하였다.

[0052] 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[0053] 도 2에서 좌측 사진은 줄기세포 시술전 손상된 디스크를 나타내며, 도 2의 우측 사진은 줄기세포 분획 처리 후 회복된 디스크를 나타낸다.

[0054] 시술전 좌측 디스크는 염증에 의하여 두꺼우며, 혼탁하고 변형된 모습을 보이지만, 시술 후 우측의 디스크는 얇고 투명한 모습을 보인다.

[0055] **1-4. 염증세포 침윤 회복 효과 확인**

[0056] 또한, 턱관절 염증 모델에서 염증세포 침윤이 줄기세포 시술 후 회복되었는 지 여부를 확인하였다.

[0057] Rat의 악관절 디스크와 하악과두를 제거한 후 4% paraformaldehyde로 고정한 후 15% EDTA를 이용하여 탈회한다. 파라핀에 검체를 고정한 후 5 μm 간격으로 시상면으로 자른다음 H-E 염색 시행한 후 전자현미경으로 관찰하였다.

[0058] 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0059] 도 3에서 좌측사진은 줄기세포 시술전 염증세포 침윤을 확인한 도이며, 도 3의 우측 사진은 줄기세포 분획 처리 후 염증세포 침윤이 회복된 상태를 나타낸다.

[0060] 시술전 좌측 상단의 사진을 보면 synovial lining cell의 현저한 증식을 보이며, mononucleated cell의 침습을 보이지만, 시술후 우측 상단의 사진을 보면 상기 소견이 감소한 것을 관찰할 수 있다. 또한 시술전 좌측 하단의 사진을 보면 염증으로 인하여 혈관이 확장되고 발달된 소견이 보이며 sub-synovial lipid droplets이 활막 하방에 관찰되지만, 시술후 우측 하단의 사진을 보면 상기 소견이 사라진 것을 관찰할 수 있다.

[0061] **<실시예 3> 턱관절염 환자에 대한 임상 예비실험**

[0062] 이어 난치성 퇴행성 턱관절염 질환을 가지고 있는 환자 중 일반 보존적 치료에 반응하지 않은 환자 3명을을 대상으로 예비 임상연구를 수행하였다.

[0063] 그 결과, 예비 임상연구에서 3명 모두 현저한 개구장애 개선 효과 (32.6 ± 2.5mm → 44.6 ±2.3mm)와 만성 통증 완화 현상을 나타냄을 확인하였다(VAS 6.7 → VAS 1.3).

[0064] 또한, 추적 MRI 소견 상 1명의 환자에게서 관절강내 염증성 삼출액의 완전 소실(grade 3 → grade 0), 2명의 환자에게서 염증성 삼출액의 상당한 감소(grade 3 → grade 1), 1명의 환자에게서 약간의 감소를 확인하였다(grade3 → grade2).

[0065] 특히, 도 4에 나타난 바와 같이, 삼출액이 소실된 환자의 경우는 염증성 삼출액의 소실(Grade 3 → Grade 0)뿐 아니라 과두 재생도 관찰되었다.

[0066] 이러한 삼출액의 소실이나 과두재생은 기존의 치료법인 일반 턱관절 세정술 후 주입하는 덱사메타존 혹은 히알우론산의 술 후 MRI 결과에서는 확인되지 않는, 턱관절염의 치료에 있어서 매우 고무적인 현상에 해당한다.

[0067] **<실시예 2> 턱관절염 환자에서의 치료효과 확인**

[0068] **2-1. 임상시험 환자의 정보**

[0069] 여성환자의 발병빈도가 압도적으로 높고 악성 턱관절 골관절염으로 진행하는 빈도가 높으므로 여성 환자를 우선 선택하였으며, 임상연구의 특성상 의사와의 의사소통과 연구의 과정에 잘 따를 수 있는 성인 연령대를 선택하여, 19세 이상 여성 환자를 그 대상으로 선별하였다. 또한, 정상 이하의 개구 제한(40 mm 미만), 만성 관절통을 보이는 환자 및 MRI 소견상 1) 관절강 내 염증성 삼출액의 소견을 보이는 환자, 2) 관절 원판의 변위를 보이는 환자, 3) 과두 및 관절와의 표면에 퇴행성 변화를 보이는 환자 의 3가지 소견을 모두 나타내느 환자를 그 대상으로 하였다.

[0070] 또한, 턱관절 세정술을 제외한 통상의 표준 치료 방법(물리 치료, 장치 치료, 약물 치료)에 현저한 증상 개선을 보이는 환자, 임신 및 수유 중인 여성, 최근 1개월 이내에 경구용 스테로이드를 적어도 2주 이상 복용한 경험이 있는 환자, 기타 금지된 치료를 받고 있는 환자, 턱관절 강직, 해부학적 구조물의 이상 등의 이유로 개구 제한을 보이는 환자, 턱관절 세정술 시행 이후 계획된 경과 관찰에 1회 이상 참여하지 아니한 환자, 임상시험담당자의 소견으로 볼 때 시험의 준수사항을 따를 수 없다고 판단되는 환자, 임상시험에 적합하지 않다고 판단되는 환자등을 제외하고, 총 60명을 대상으로 임상 시험을 실시하였다. 30명을 시험군, 30명을 대조군으로 무작위적으로 분류하였다.

[0071] **2-2. 임상시험의 설계**

[0072] 임상시험은 도 5와 같이 설계하였다.

[0073] 구체적으로, 턱관절 장애 환자 중 턱관절 세정술을 제외한 통상의 표준 치료 방법(물리 치료, 장치 치료, 약물 치료)에 현저한 증상의 개선을 보이지 않는 환자를 대상으로, 대조군은 일반세정술을 실시하였으며, 실험군의 경우 자가 지방유래 줄기세포 시술에 동의하고 피험자가 임상시험에 참여할 것을 서면으로 동의하면 자가 지방유래 줄기세포 주입 시술을 수행하였다.

[0074] 실험군의 경우, 1일 1회 시술, 시술 후 24주 관찰하였으며, 관절당2 cc (줄기세포수 1x107/cc)의 양으로, 관절강 내 주사 (Intracapsular injection)을 통하여 주입하였다.

[0075] **2-3. 환자로부터의 지방유래 줄기세포 분획의 획득 공정**

[0076] 환자로부터 분리한 지방유래줄기세포는 하기의 표 2과 같은 방법으로 획득 및 처리하였다.

표 2

[0077]

공정번호	공정명	내용
1	지방수득	피험자의 복부, 허벅지, 구강조직에서 지방흡입술을 통해 지방조직을 획득한다. 흡입부위를 1.5~2.0mm 절개하고 국소마취제 리도카인과 혈관수축제인 에프네프린 혼합약물을 투여한 후, 캐눌라를 이용하여 지방을 흡입한다. :튜메슨트(tumescent)법
2	지방조직 전달	공정 1에서 획득한 지방조직은 멸균된 syringe 또는 멸균된 bottle에 옮겨 밀봉한 후 지방세포분획분리실로 옮긴다.
3	조직세척	전달된 지방조직을 50ml tube에 옮긴 후 1:1 비율의 인산화완충용액을 첨가하여 혈액 및 다른 buffer를 원심분리를 통하여 씻어낸다.
4	효소처리	공정 3의 세척된 지방조직 무게의 0.075% 콜라게나아제를 첨가하여 37도에서 45분간 반응시킨다.
5	세척	인산화완충용액을 사용하여 3회 wash-out 한다.
6	SVF획득	공정 5의 세척된 조직은 2,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 SVF 펠렛을 획득한다.
7	여과	공정 6의 펠렛은 70 um mesh 필터로 불순물과RBC를 제거한다.
8	SVF세척	공정 7에서 획득된 SVF를 최종 주사용수로 3회 세척한다.
9	세포정량	공정 8의 SVF는 inverted microscope로 morphological analysis를 실시하고 자동화 세포측정 장치를 통하여 Cell viability와 줄기세포의 수율을 확인한다.
10	충전 라벨	공정 9의 환자에게 투여될 수 있도록 주사용수에 $1x10^7$cells/cc되도록 하여 2cc syringe에 담는다.
11	SVF전달	공정 10의 최종 SVF 시술관리자에게 전달하고 수령을 확인한다.

[0078] **<실시예 3> 줄기세포의 조성 분석**

[0079] 줄기세포 분획의 조성을 확인하였으며, 개인별 조성의 평균치는 하기와 같았다.

[0080] Adipose derived stem cell : 약 20 %

[0081] Adipocyte : 약 20 %

[0082] Endothelial progenitor cell : 약 20 %

[0083] Growth factor : 약 20 %

[0084] Red blood cell : 약 20 %

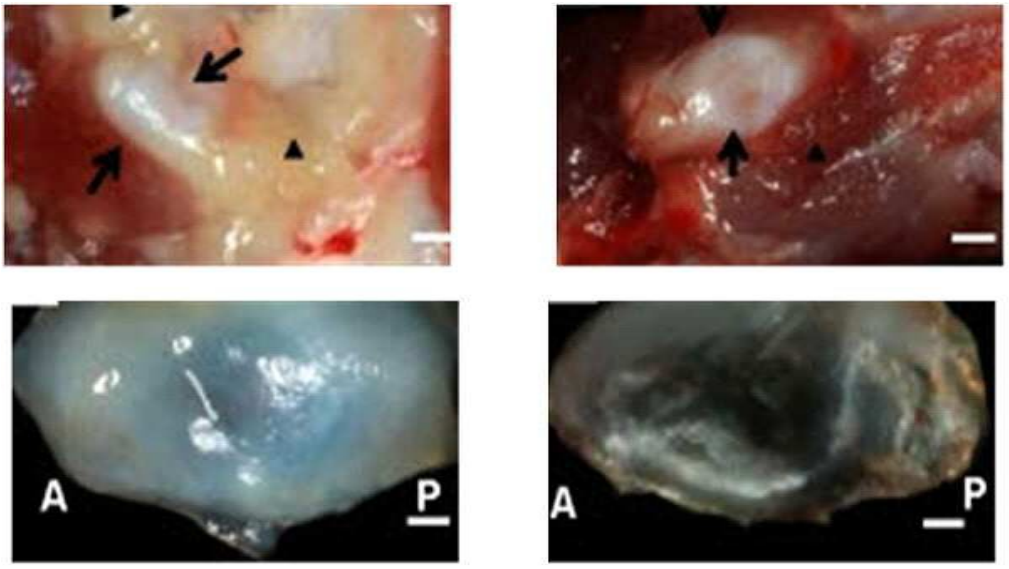
[0085] Normal saline : 2,000 ul

도면

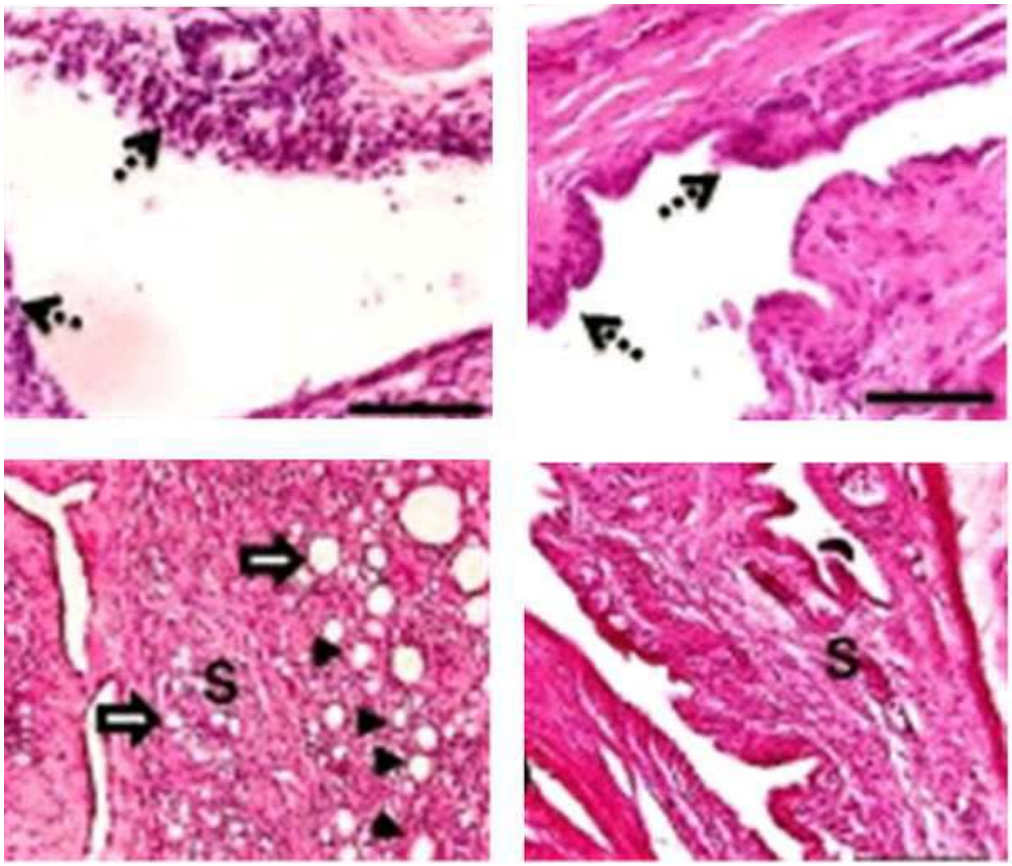
도면1



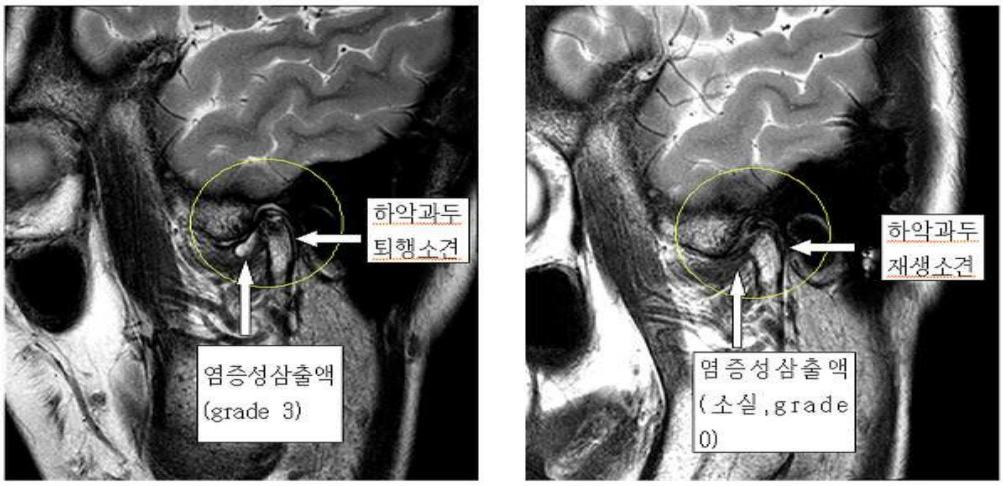
도면2



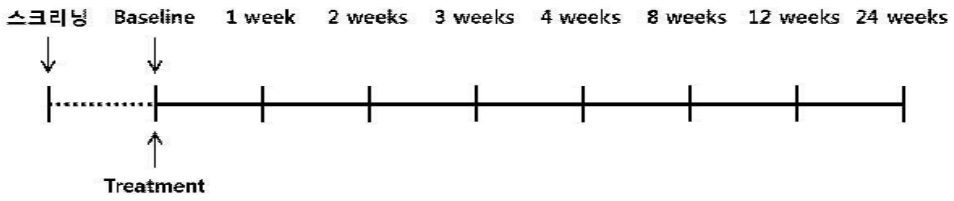
도면3



도면4


하악과두
퇴행소견
염증성삼출액
(grade 3)
하악과두
재생소견
염증성삼출액
(소실,grade
0)

도면5


스크리닝
Baseline
1 week
2 weeks
3 weeks
4 weeks
8 weeks
12 weeks
24 weeks
Treatment