



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0145097
(43) 공개일자 2024년10월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12N 1/20 (2006.01) A23L 33/135 (2016.01)
A61K 35/74 (2015.01) A61K 8/99 (2017.01)
A61P 17/00 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)
C12R 1/46 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C12N 1/205 (2021.05)
A23L 33/135 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2023-0038200

(22) 출원일자 2023년03월23일

심사청구일자 2023년03월23일

(71) 출원인

재단법인 아산사회복지재단

서울특별시 송파구 올림픽로43길 88 (풍납동)

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

울산대학교 산학협력단

울산광역시 남구 대학로 93(무거동)

(72) 발명자

홍수중

서울특별시 강남구 압구정로 201, 24동 902호

이동우

서울특별시 서대문구 연세로 50, 제 2공학관 510호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이명진

전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 신규한 엔테로코커스 페칼리스 HL1 균주 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 신규한 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 및 이의 용도에 관한 것으로, 소아 분변에서 분리 및 동정한 신규한 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액은 아토피피부염 동물모델에서 혈청 내 IgE 농도 및 IL-4(interleukin-4) 발현을 감소시켜 면역반응을 완화하고, 아토피피부염 증상을 완화하였다. 따라서, 신규한 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액은 아토피피부염을 조절함으로써 알레르기행진 발생 예방에 도움이 될 것으로 기대된다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 35/74 (2013.01)
A61K 8/99 (2013.01)
A61P 17/00 (2018.01)
A61Q 19/00 (2013.01)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2200/318 (2013.01)
C12R 2001/46 (2021.05)

김경수

서울특별시 서대문구 연세로 50, 제 2공학관 510호

(72) 발명자

이승화

서울특별시 송파구 강동대로 13, 교육연구원 2관
 4층 감염질환연구단

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711132878
과제번호	2017M3A9F3043834
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	바이오·의료기술개발(R&D)
연구과제명	아토피피부염 질환군의 면역기전연구를 통한 장내 마이크로바이옴 기반 파마바이오틱스 발굴
기 여 율	70/100
과제수행기관명	울산대학교
연구기간	2017.08.08 ~ 2022.05.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711158815
과제번호	2021M3A9I4021431
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	바이오의료기술개발
연구과제명	컬처로믹스 기반 마이크로바이옴 생태 시스템 분석 및 활용 플랫폼 기술 개발
기 여 율	30/100
과제수행기관명	연세대학교
연구기간	2021.04.01 ~ 2023.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

기탁번호 KCTC 15339BP로 수탁된 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 균주는 서열번호 1의 16S rRNA 서열을 암호화하는 DNA 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는, 균주.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 균주는 아토피피부염 예방, 치료, 또는 개선 효과를 가지는 것을 특징으로 하는, 균주.

청구항 4

제1항의 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 아토피피부염 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액은 하기 특징 중 하나 이상을 만족하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물:

- (a) IL-4(interleukin-4) 발현을 억제시킴;
- (b) 혈청 내 IgE의 양을 감소시킴;
- (c) 피부의 경피수분 손실량을 감소시킴;
- (d) 피부조직 내 표피 두께를 감소시킴; 및
- (e) 피부조직 내 염증세포 침윤을 감소시킴.

청구항 6

제4항에 있어서,

상기 약학적 조성물은 경구 투여용인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 7

제1항의 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 아토피피부염 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 8

제1항의 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 아토피피부염 예방 또는 개선용 화장품 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 화장품 조성물은 세럼, 화장수, 페이스트, 패치, 젤, 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양로션, 크림, 맛사지크림, 영양크림, 미스트, 모이스처 크림, 핸드크림, 핸드로션, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 오일, 파운데이션, 메이크업 베이스, 왁스, 스프레이, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 클렌징오일, 클렌징밤, 바디로션 또는 바디클렌저 제형인 것을 특징으로 하는, 화장품 조성물.

청구항 10

제1항의 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 아토피피부염 예방 또는 개선용 피부 외용제.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 신규한 엔테로코커스 페칼리스 HL1 균주 및 이의 용도 등에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 아토피피부염(atopic dermatitis, AD)이란 소양증, 피부 건조증, 습진 등을 동반하는 염증성 질환으로, 아직까지도 정확한 원인을 규명하지 못하고 있다. 현재까지 알려진 아토피피부염의 원인은 크게 부모로부터 물려받는 유전학적 원인, 도시화와 산업화로 인한 환경학적 원인 이외에 면역학적 원인이 관여하고 있는 것으로 알려져 있다. 기존에 통상 태열이라 불리며 유아기, 소아기에 잘 발생했던 아토피피부염은 최근에는 성인 이후에도 치유가 되지 않아 많은 사람들이 정신적, 신체적으로 많은 고통을 받고 있다.

[0004] 아토피피부염 환자의 대부분은 혈액 내 IgE 수치가 상승되는 것이 특징이며, 이러한 염증반응에서 활성화된 대식세포는 산화질소(nitric oxide, NO), TNF- α (tumor necrosis factor- α), IL-1(interleukin-1), IL-6 등을 방출하는 것이 특징이다.

[0005] 현재 사용되고 있는 일반적인 아토피피부염 증상 완화제로는 보습제, 소양증(가려움증)을 감소시켜주는 항히스타민제, 항염증, 혈관 수축, 면역 억제 작용을 통해 치료 효과를 보는 국소 스테로이드제 등이 있지만 증상이 심각한 경우 사용되는 스테로이드 계열의 글루코코르티코이드(Glucocorticoid), 사이클로스포린(Cyclosporine) 등의 약물은 당뇨병, 고혈압을 유발시킬 수 있으며 쿠싱 증후군, 안과질환(백내장, 녹내장), 신장, 간 독성이 생기는 등 심각한 부작용을 초래함으로 인하여 부작용이 없는 새로운 치료제의 필요성이 대두되고 있다.

[0006] 한편, 유산균은 인간이나 포유동물의 소화관, 구강, 분변, 각종 발효식품과 토양에 널리 분포되어 있으며 인간의 생활에 밀접한 관련을 맺고 있다. 프로바이오틱스로 대변되는 유산균으로는 *Lactobacillus*나 *Bifidobacterium*이 대표적이며 이러한 프로바이오틱스는 장내균총 개선, 유당불내증의 개선, 혈중 지질 및 심장병 예방, 항암 효과 및 고혈압 예방 등 다양한 기능성 효과를 나타내는바, 기존 화합물에 기초한 치료제를 대체할 수 있는 치료 물질로 각광받고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제10-2510158호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 본 발명자들은 장내 마이크로바이옴에 변화를 줄 수 있는 프로바이오틱스를 찾고, 이를 아토피피부염 치료에 적용하고자 예의 연구 노력한 결과, 소아 분변에서 분리 및 동정한 엔테로코커스 속 신종 균주 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1이 정상균과 비슷한 수준으로 아토피피부염 증상 및 면역반응을 완화시킬 수 있음 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.
- [0010] 이에, 본 발명의 목적은 기탁번호 KCTC 15339BP로 수탁된 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주를 제공하는 것이다.
- [0011] 본 발명의 다른 목적은 본 발명에 따른 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 아토피피부염 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [0012] 본 발명의 또 다른 목적은 본 발명에 따른 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 아토피피부염 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0013] 본 발명의 또 다른 목적은 본 발명에 따른 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 아토피피부염 예방 또는 개선용 화장품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0014] 본 발명의 또 다른 목적은 본 발명에 따른 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 아토피피부염 예방 또는 개선용 피부 외용제를 제공하는 것이다.
- [0016] 그러나, 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 본 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0018] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 기탁번호 KCTC 15339BP로 수탁된 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주를 제공한다.
- [0019] 본 발명의 일 구현예로 상기 균주는 서열번호 1의 16S rRNA 서열을 암호화하는 DNA 서열을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0020] 본 발명의 다른 구현예로 상기 균주는 아토피피부염 예방, 치료, 또는 개선 효과를 가질 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0021] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 아토피피부염 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0022] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 아토피피부염 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0023] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 아토피피부염 예방 또는 개선용 화장품 조성물을 제공한다.
- [0024] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액을

유효성분으로 포함하는 아토피피부염 예방 또는 개선용 피부 외용제를 제공한다.

- [0025] 본 발명의 일 구현예로, 상기 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액은 하기 특징 중 하나 이상을 만족할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다:
- [0026] (a) IL-4(interleukin-4) 발현을 억제시킴;
- [0027] (b) 혈청 내 IgE의 양을 감소시킴;
- [0028] (c) 피부의 경피수분 손실량을 감소시킴;
- [0029] (d) 피부조직 내 표피 두께를 감소시킴; 및
- [0030] (e) 피부조직 내 염증세포 침윤을 감소시킴.
- [0031] 본 발명의 다른 구현예로, 상기 약학적 조성물은 경구 투여용일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0032] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 식품 조성물은 건강기능성 식품 조성물일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0033] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 화장료 조성물은 세럼, 화장수, 페이스트, 패치, 젤, 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양로션, 크림, 맛사지크림, 영양크림, 미스트, 모이스처 크림, 핸드크림, 핸드로션, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 오일, 파운데이션, 메이크업 베이스, 왁스, 스프레이, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 클렌징오일, 클렌징밤, 바디로션 또는 바디클렌저 제형일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0034] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액을 포함하는 조성물을 이를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는 아토피피부염 예방 또는 치료 방법을 제공한다.
- [0035] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액을 포함하는 조성물의 아토피피부염 예방 또는 치료 용도를 제공한다.
- [0036] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액의 아토피피부염 치료제 제조를 위한 용도를 제공한다.

발명의 효과

- [0038] 본 발명은 신규한 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 및 이의 용도에 관한 것으로, 소아 분변에서 분리 및 동정한 신규한 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액은 아토피피부염 동물모델에서 혈청 내 IgE 농도 및 IL-4(interleukin-4) 발현을 감소시켜 면역반응을 완화하고, 아토피피부염 증상을 완화하였다. 따라서, 신규한 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액은 아토피피부염을 조절함으로써 알레르기행진 발생 예방에 도움이 될 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

- [0040] 도 1은 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*)의 계통수(phylogenetic tree)를 나타낸 도면이다.
- 도 2는 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주의 아토피피부염에 대한 효과를 확인하기 위한 실험 프로토콜을 나타낸 도면이다.
- 도 3은 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 투여에 의한 아토피피부염 동물모델에서 피부 병변 변화를 확인한 결과를 나타낸 도면이다. 스케일 바=200 μ m.
- 도 4는 아토피피부염 동물모델에서 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 투여에 의한 피부 조직 내 표피 두께 및 염증세포 침윤을 헤마톡실린 및 에오신(H&E) 염색을 통해 확인한 결과를 나타낸 도면이다.
- 도 5는 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주를 투여한 아토피피부염 동물모델에서 경피수분 손실도(A) 및 아토피피부염 임상점수(B)를 확인한 결과를 나타낸 도면이다.

도 6은 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주를 투여한 아토피피부염 동물모델의 혈청 내 IgE 농도(A) 및 피부조직 내 IL-4의 발현(B)을 확인한 결과를 나타낸 도면이다. Abx: Antibiotics, con: 대조군(control), AD: 아토피피부염(Atopic Dermatitis).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0041] 본 발명자들은 장내 마이크로바이옴에 변화를 줄 수 있는 프로바이오틱스를 찾고, 이를 아토피피부염 치료에 적용하고자 예의 연구 노력한 결과, 소아 분변에서 분리 및 동정한 엔테로코커스 속 신종 균주 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1이 정상균과 비슷한 수준으로 아토피피부염 증상 및 면역반응을 완화시킬 수 있음 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.
- [0043] 이하, 본 발명에 대해 상세히 설명한다.
- [0045] 본 발명은 기탁번호 KCTC 15339BP로 수탁된 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주를 제공한다.
- [0046] 본 발명자들은 소아 분변에서 분리한 균주의 16S rRNA 서열들을 비교 분석한 결과, 상기 균주의 16S rRNA가 서열번호 1의 염기서열로 암호화된 것을 확인하였으며, 기존 균주 ATCC 19433과 유사성 99.56%로 신규한 균주임을 확인하고, 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1로 명명하였으며, 한국생명공학연구원에 2023년 3월 7일자로 기탁하였다 (수탁번호 : KCTC 15339BP).
- [0047] 본 발명의 일 실시예에서, 소아 분변에서 분리 및 동정한 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주가 기존의 ATCC 19433과 유사성 99.56%로 신규한 균주인 것을 확인하였다 (실시예 1 참조).
- [0048] 본 발명의 다른 실시예에서, 아토피피부염 동물모델에 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주를 투여한 결과, 피부 병변이 완화되고, 피부조직 표피 두께와 진피층까지의 염증세포 침윤 정도가 감소하며, 아토피피부염의 임상 지표인 경피수분 손실도 및 아토피피부염 임상점수가 감소한 것을 확인하였다 (실시예 2 참조).
- [0049] 본 발명의 또 다른 실시예에서, 아토피피부염 동물모델에 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주를 투여한 결과, 혈청 내 IgE 수준이 감소하고, Th2 관련 사이토카인인 IL-4의 발현이 억제되는 것을 확인하였다 (실시예 3 참조).
- [0050] 본 발명에 있어서, 상기 균주는 서열번호 1의 16S rRNA 서열을 암호화하는 DNA 서열을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0051] 본 발명에 있어서, 상기 균주는 아토피피부염 예방, 치료, 또는 개선 효과를 가질 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0052] 본 발명에서 “아토피피부염” 또는 “아토피성 피부염”은 심한 가려움증을 가지는 만성적 염증성 피부상태를 나타내는 피부 질환으로 대개 영·유아기간에 나타나 어른이 되어서도 지속되거나 일생 동안 지속되기도 한다. 어린이의 10-20%, 어른에게서는 1-3%의 유병률을 보이고, 최근에는 성인에서도 유병률이 증가하는 추세이다.
- [0053] 상기 아토피피부염의 70-80%를 차지하는 외인성 피부염은 IgE 관련 면역 기전에 의해 발생되는데, 이 경우 T 세포 이상에 의한 지연성 면역 반응이 관여한다는 보고들이 많다. 아토피피부염이 발생한 부위에는 대식세포, Th 림프구, 비만세포 등 면역관련 세포의 침윤이 크게 증가한다. 아토피피부염 환자의 경우 혈중 IgE의 농도가 높는데 이는 Th2 세포의 수가 증가하며 이 세포가 분비한 IL-4, IL-13 등 Th2 사이토카인의 B 림프구 자극을 통해 IgE 분비를 촉진하기 때문이다. 특히 초기 아토피피부염의 경우 IL-4, IL-13이 중요하게 작용한다(Donald Y.M. Leung et al., J Clin Invest. 2004, 113, 651-657).
- [0054] 본 발명에서 “알레르기 행진(allergic march)”이란 아토피 소인을 갖고 태어난 신생아가 성장해서 알레르기성 천식이나 비염 환자가 되는 경우가 많은데, 이는 면역체계의 변화로 인해 알레르기 질환들이 동시에 또는 시간차를 두고 나타나는 현상으로서, 아토피피부염, 천식, 비염 등이 차례로 나타나는 것을 말한다.

- [0056] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 아토피피부염 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0057] 본 발명에 있어서, 상기 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액은 하기 특징 중 하나 이상을 만족할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다:
- [0058] (a) IL-4(interleukin-4) 발현을 억제시킴;
- [0059] (b) 혈청 내 IgE의 양을 감소시킴;
- [0060] (c) 피부의 경피수분 손실량을 감소시킴;
- [0061] (d) 피부조직 내 표피 두께를 감소시킴; 및
- [0062] (e) 피부조직 내 염증세포 침윤을 감소시킴.
- [0063] 본 명세서에서, "IgE (immunoglobulin E)"란, 면역글로불린 E로, 비만세포나 혈중의 호염기구의 표면 수용체에 결합하여 IgE 매개 알레르기 반응을 개시하여 알레르기성 천식, 두드러기, 아토피성 피부염 등의 알레르기 질환을 일으킬 수 있다.
- [0064] 본 명세서에서, "IL-4 (interleukin 4)"란, 활성화된 비만세포에서 분비되는 Th2 사이토카인으로, 전염증성 신호분자(pro-inflammatory signal molecule)의 발현을 촉진시켜 알레르기 반응을 일으킬 수 있다.
- [0065] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액은 혈청 내 IgE 또는 피부 병변의 IL-4의 수준을 유의하게 감소시킴으로써, 알레르기 반응 또는 염증반응을 감소시켜 아토피피부염의 증상을 예방, 개선, 또는 치료시킬 수 있다.
- [0066] 일반적으로 아토피피부염은 피부 장벽이 무너져 보습이 잘 되지 않고, 수분이 손실되는 특징을 가지는데, 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액은 피부의 경피수분 손실량을 감소시켜 아토피피부염의 증상을 예방, 개선, 또는 치료할 수 있다.
- [0067] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액의 처리로 피부조직 내 표피 두께가 감소하고, 피부조직 내 염증세포의 침윤이 감소되었는데, 상기 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액은 아토피피부염에서 일반적으로 나타나는 피부 증상인 표피의 과증식을 억제하거나 개선시키고, 염증 상태를 억제하거나 개선시킴으로써 아토피피부염의 증상을 예방, 개선 또는 치료할 수 있다.
- [0068] 본 명세서에서 용어, "배양액"은 "배양 상층액", "조건 배양액" 또는 "조정 배지"와 호환적으로 사용될 수 있고, 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주가 시험관 내에서 성장 및 생존할 수 있도록 영양분을 공급할 수 있는 배지에 상기 균주를 일정기간 배양하여 얻은 상기 균주, 이의 대사물, 여분의 영양분 등을 포함하는 전체 배지를 의미할 수 있다. 또한, 상기 배양액은 균주를 배양하여 얻은 균체 배양액에서 균체를 제거한 배양액을 의미할 수 있다. 한편, 상기 배양액 중 균체를 제거한 액체를 "상등액"이라고도 하며, 배양액을 일정시간 가만히 두어 하층에 가라앉은 부분을 제외한 상층의 액체만을 취하거나, 여과를 통해 균체를 제거하거나, 배양액을 원심분리하여 하부의 침전을 제거하고 상부의 액체만을 취하여 획득할 수 있다. 상기 "균체"는 본 발명의 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 자체를 의미하는 것으로 소아 분변 등으로부터 분리하여 선별한 균주 자체 또는 상기 균주를 배양하여 배양액으로부터 분리한 균주를 포함한다. 상기 균체는 배양액을 원심분리하여 하층에 가라앉은 부분을 취하여 획득할 수 있고, 또는 중력에 의해 배양액의 하층으로 가라앉으므로 일정 시간 동안 가만히 두었다가 상부의 액체를 제거함으로써 획득할 수 있다. 상기 배양액은 균주를 배양하여 수득된 배양액 자체, 그의 농축물, 또는 동결건조물 또는 배양액로부터 균주를 제거하여 수득된 배양 상층액, 그의 농축물 또는 동결건조물을 포함할 수 있다.
- [0069] 본 발명에서 "약학적 조성물"은 질병의 예방 또는 치료를 목적으로 제조된 것을 의미하며, 각각 통상의 방법에 따라 다양한 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 예컨대, 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽 등의 경구형 제형으로 제형화할 수 있고, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용할 수 있다.
- [0070] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 상기 부형제는 예를 들어, 희석제, 결합제, 붕해제, 활택제, 흡착제, 보습제, 필름-코팅

물질, 및 제어방출첨가제로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다.

- [0071] 본 발명에 따른 약학적 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 서방형 과립제, 장용과립제, 액제, 점안제, 엘실릭제, 유제, 현탁액제, 주정제, 트로키제, 방향수제, 리모나아데제, 정제, 서방형정제, 장용정제, 설하정, 경질캡셀제, 연질캡셀제, 서방캡셀제, 장용캡셀제, 환제, 틱크제, 연조엑스제, 건조엑스제, 유동엑스제, 주사제, 캡슐제, 관류액, 경고제, 로션제, 파스타제, 분무제, 흡입제, 패취제, 멸균주사용액, 또는 에어로졸 등의 외용제 등의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 상기 외용제는 크림, 젤, 패치, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니먼트제, 파스타제 또는 카타플라스마제 등의 제형을 가질 수 있다.
- [0072] 본 발명에 따른 약학적 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 올리고당, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.
- [0073] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다.
- [0074] 본 발명에 따른 정제, 산제, 과립제, 캡슐제, 환제, 트로키제의 첨가제로 옥수수전분, 감자전분, 밀전분, 유당, 백당, 포도당, 과당, 디-만니톨, 침강탄산칼슘, 합성규산알루미늄, 인산일수소칼슘, 황산칼슘, 염화나트륨, 탄산수소나트륨, 정제 라놀린, 미결정셀룰로오스, 텍스트린, 알긴산나트륨, 메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 카올린, 요소, 콜로이드성실리카겔, 히드록시프로필스타치, 히드록시프로필메칠셀룰로오스(HPMC) 1928, HPMC 2208, HPMC 2906, HPMC 2910, 프로필렌글리콜, 카제인, 젯산칼슘, 프리모겔 등 부형제; 젤라틴, 아라비아고무, 에탄올, 한천가루, 초산프탈산셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스칼슘, 포도당, 정제수, 카제인나트륨, 글리세린, 스테아린산, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 메칠셀룰로오스나트륨, 메칠셀룰로오스, 미결정셀룰로오스, 텍스트린, 히드록시셀룰로오스, 히드록시프로필스타치, 히드록시메칠셀룰로오스, 정제셀라, 전분호, 히드록시프로필셀룰로오스, 히드록시프로필메칠셀룰로오스, 폴리비닐알코올, 폴리비닐피롤리돈 등의 결합제가 사용될 수 있으며, 히드록시프로필메칠셀룰로오스, 옥수수전분, 한천가루, 메칠셀룰로오스, 벤토나이트, 히드록시프로필스타치, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 알긴산나트륨, 카르복시메칠셀룰로오스칼슘, 구연산칼슘, 라우릴황산나트륨, 무수규산, 1-히드록시프로필셀룰로오스, 텍스트란, 이온교환수지, 초산폴리비닐, 포름알데히드처리 카제인 및 젤라틴, 알긴산, 아밀로오스, 구아르고무(Guar gum), 중조, 폴리비닐피롤리돈, 인산칼슘, 겔화전분, 아라비아고무, 아밀로펙틴, 펙틴, 폴리인산나트륨, 에칠셀룰로오스, 백당, 규산마그네슘알루미늄, 디-소르비톨액, 경질무수규산 등 붕해제; 스테아린산칼슘, 스테아린산마그네슘, 스테아린산, 수소화식물유(Hydrogenated vegetable oil), 탈크, 석송자, 카올린, 바셀린, 스테아린산나트륨, 카카오지, 살리실산나트륨, 살리실산마그네슘, 폴리에틸렌글리콜(PEG) 4000, PEG 6000, 유동파라핀, 수소첨가대두유(Lubri wax), 스테아린산알루미늄, 스테아린산아연, 라우릴황산나트륨, 산화마그네슘, 마크로골(Macrogol), 합성규산알루미늄, 무수규산, 고급지방산, 고급알코올, 실리코유, 파라핀유, 폴리에틸렌글리콜 지방산에테르, 전분, 염화나트륨, 초산나트륨, 올레인산나트륨, dl-로이신, 경질무수규산 등의 활택제;가 사용될 수 있다.
- [0075] 본 발명에 따른 액제의 첨가제로는 물, 묽은 염산, 묽은 황산, 구연산나트륨, 모노스테아린산슈크로스류, 폴리옥시에틸렌소르비톨지방산에스테르류(트윈에스테르), 폴리옥시에틸렌모노알킬에테르류, 라놀린에테르류, 라놀린에스테르류, 초산, 염산, 암모니아수, 탄산암모늄, 수산화칼륨, 수산화나트륨, 프롤아민, 폴리비닐피롤리돈, 에칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨 등이 사용될 수 있다.
- [0076] 본 발명에 따른 시럽제에는 백당의 용액, 다른 당류 혹은 감미제 등이 사용될 수 있으며, 필요에 따라 방향제, 착색제, 보존제, 안정제, 현탁화제, 유화제, 점조제 등이 사용될 수 있다.
- [0077] 본 발명에 따른 유제에는 정제수가 사용될 수 있으며, 필요에 따라 유화제, 보존제, 안정제, 방향제 등이 사용될 수 있다.
- [0078] 본 발명에 따른 현탁제에는 아카시아, 트라가칸타, 메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 미결정셀룰로오스, 알긴산나트륨, 히드록시프로필메칠셀룰로오스(HPMC), HPMC 1828, HPMC 2906, HPMC 2910 등 현탁화제가 사용될 수 있으며, 필요에 따라 계면활성제, 보존제, 안정제, 착색제, 방향제가 사용될 수 있다.
- [0079] 본 발명에 따른 주사제에는 주사용 증류수, 0.9%염화나트륨주사액, 링겔주사액, 텍스트로스주사액, 텍스트로스+

염화나트륨주사액, 피이지(PEG), 락테이트 링겔주사액, 에탄올, 프로필렌글리콜, 비휘발성유-참기름, 면실유, 낙화생유, 콩기름, 옥수수기름, 올레인산에칠, 미리스탄 이소프로필, 안식향산벤젠과 같은 용제; 안식향산나트륨, 살리실산나트륨, 초산나트륨, 요소, 우레탄, 모노에칠아세트아마이드, 부타졸리딘, 프로필렌글리콜, 트윈류, 니정틴산아미드, 핵사민, 디메틸아세트아마이드와 같은 용해보조제; 약산 및 그 염(초산과 초산나트륨), 약염기 및 그 염(암모니아 및 초산암모늄), 유기화합물, 단백질, 알부민, 펩톤, 검류와 같은 완충제; 염화나트륨과 같은 등장화제; 아황산수소나트륨(NaHSO_3) 이산화탄소가스, 메타중아황산나트륨($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$), 아황산나트륨(Na_2SO_3), 질소가스(N_2), 에칠렌디아민테트라초산과 같은 안정제; 소디움비설파이드 0.1%, 소디움포름알데히드 설폭실레이트, 치오우레아, 에칠렌디아민테트라초산디나트륨, 아세톤소디움비설파이트와 같은 황산화제; 벤질알코올, 클로로부탄올, 염산프로카인, 포도당, 글루콘산칼슘과 같은 무통화제; 시엠시나트륨, 알긴산나트륨, 트윈 80, 모노스테아린산알루미늄과 같은 현탁화제를 포함할 수 있다.

[0080] 본 발명에 따른 좌제에는 카카오지, 라놀린, 위텟솔, 폴리에틸렌글리콜, 글리세로젤라틴, 메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스, 스테아린산과 올레인산의 혼합물, 수바날(Subanal), 면실유, 낙화생유, 야자유, 카카오버터+콜레스테롤, 레시틴, 라네트왁스, 모노스테아린산글리세롤, 트윈 또는 스펀, 임하우젠(Imhausen), 모놀렌(모노스테아린산프로필렌글리콜), 글리세린, 아덱스솔리두스(Adeps solidus), 부티룸 테고-G(Buytyrum Tego-G), 세베스파마 16 (Cebes Pharma 16), 핵사라이드베이스 95, 코토마(Cotomar), 히드록코테 SP, S-70-XXA, S-70-XX75(S-70-XX95), 히드록코테(Hydrokote) 25, 히드록코테 711, 이드로포스탈 (Idropostal), 마사에스트라리움(Massa estrarium, A, AS, B, C, D, E, I, T), 마사-MF, 마수폴, 마수폴-15, 네오수포스탈-엔, 파라마운드-B, 수포시로(OSI, OSIX, A, B, C, D, H, L), 좌제기체 IV 타입 (AB, B, A, BC, BBG, E, BGF, C, D, 299), 수포스탈 (N, Es), 웨코비 (W, R, S, M, Fs), 테제스터 트리글리세라이드 기체 (TG-95, MA, 57)와 같은 기체가 사용될 수 있다.

[0081] 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다.

[0082] 경구 투여를 위한 액상제제로는 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, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜 (propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.

[0083] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서, "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출비용, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.

[0084] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 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 본 발명이 속하는 기술분야에 통상의 기술자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0085] 본 발명의 약학적 조성물은 개체에게 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구 복용, 피하 주사, 복강 투여, 정맥 주사, 근육 주사, 척수 주위 공간(경막내) 주사, 설하 투여, 볼점막 투여, 직장 내 삽입, 질 내 삽입, 안구 투여, 귀 투여, 비강 투여, 흡입, 입 또는 코를 통한 분무, 피부 투여, 경피 투여 등에 따라 투여될 수 있다. 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액을 포함하는 약학적 조성물은 경구 투여될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0086] 본 발명의 약학적 조성물은 치료할 질환, 투여 경로, 환자의 연령, 성별, 체중 및 질환의 중증도 등의 여러 관련 인자와 함께 활성성분인 약물의 종류에 따라 결정된다.

[0087] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액을 포함하는 조성물을 이를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는 아토피피부염 예방 또는 치료 방법을 제

공한다.

- [0088] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액을 포함하는 조성물의 아토피피부염 예방 또는 치료 용도를 제공한다.
- [0089] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액의 아토피피부염 치료제 제조를 위한 용도를 제공한다.
- [0090] 본 발명에서 “개체”란 질병의 치료를 필요로 하는 대상을 의미하고, 보다 구체적으로는 인간 또는 비-인간인 영장류, 생쥐 (mouse), 쥐 (rat), 개, 고양이, 말, 및 소 등의 포유류를 의미한다.
- [0091] 본 발명에서 “투여”란 임의의 적절한 방법으로 개체에게 소정의 본 발명의 조성물을 제공하는 것을 의미한다.
- [0092] 본 발명에서 “예방”이란 목적하는 질환의 발병을 억제하거나 지연시키는 모든 행위를 의미하고, “치료”란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 목적하는 질환과 그에 따른 대사 이상 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미하며, “개선”이란 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 목적하는 질환과 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 감소시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0094] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 아토피피부염 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0095] 본 발명에 있어서, 상기 식품 조성물은 건강기능식품 조성물일 수 있으나, 이에 제한되지 않으며, 상기 건강기능식품 조성물은 아토피피부염 예방 또는 개선을 위하여 해당 질환의 발병 단계 이전 또는 발병 후, 치료를 위한 약제와 동시에 또는 별개로서 사용될 수 있다.
- [0096] 본 발명의 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효성분의 혼합량은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시 본 발명의 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액은 원료에 대하여 15 중량% 이하, 또는 10 중량% 이하의 양으로 첨가될 수 있다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.
- [0097] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품을 모두 포함한다.
- [0098] 본 발명에 따른 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당 및 과당과 같은 모노사카라이드, 말토오스 및 수크로오스와 같은 디사카라이드, 텍스트린 및 시클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드, 및 자일리톨, 소르비톨 및 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 mL당 일반적으로 약 0.01-0.20g, 또는 약 0.04-0.10g 이다.
- [0099] 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0.01-0.20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- [0100] 본 명세서에 있어서, “건강기능식품”이란 특정보건용 식품(food for special health use, FoSHU)와 동일한 용어로, 영양 공급 외에도 생체조절기능이 효율적으로 나타나도록 가공된 의학, 의료효과가 높은 식품을 의미하는데, 상기 식품은 아토피피부염의 예방 또는 개선에 유용한 효과를 얻기 위하여 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상,

환 등의 다양한 형태로 제조될 수 있다.

- [0101] 본 발명의 건강기능식품은 당업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조가능하며, 상기 제조 시에는 당업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있고, 휴대성이 뛰어나다.
- [0103] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 아토피피부염 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공한다.
- [0104] 본 발명에 따른 화장료 조성물의 제형은 세럼, 화장수, 페이스트, 패치, 젤, 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양로션, 크림, 맛사지크림, 영양크림, 미스트, 모이스처 크림, 핸드크림, 핸드로션, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 오일, 파운데이션, 메이크업 베이스, 왁스, 스프레이, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 클렌징오일, 클렌징밤, 바디로션 또는 바디클렌저 제형일 수 있다.
- [0105] 본 발명의 화장료 조성물은 수용성 비타민, 유용성 비타민, 고분자 펩티드, 고분자 다당, 및 스펅고 지질로 이루어진 군에서 선택된 조성물을 더 포함할 수 있다.
- [0106] 수용성 비타민으로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 예를 들어 비타민 B1, 비타민 B2, 비타민 B6, 피리독신, 엽산피리독신, 비타민 B12, 판토텐산, 니코틴산, 니코틴산아미드, 엽산, 비타민 C, 비타민 H 등을 들 수 있으며, 그들의 염 (티아민염산염, 아스코르빈산나트륨염 등)이나 유도체 (아스코르빈산-2-인산나트륨염, 아스코르빈산-2-인산마그네슘염 등)도 본 발명에서 사용할 수 있는 수용성 비타민에 포함된다. 수용성 비타민은 미생물 변환법, 미생물의 배양물로부터의 정제법, 효소법 또는 화학 합성법 등의 통상의 방법에 의해 취득할 수 있다.
- [0107] 유용성 비타민으로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 예를 들어 비타민 A, 카로틴, 비타민 D2, 비타민 D3, 비타민 E (d1-알과 토코페롤, d-알과 토코페롤, d-알과 토코페롤) 등을 들 수 있으며, 그들의 유도체 (팔미틴산아스코르빈, 스테아르산아스코르빈, 디팔미틴산아스코르빈, 아세트산d1-알과 토코페롤, 니코틴산d1-알과 토코페롤비타민 E, DL-판토텐일알코올, D-판토텐일알코올, 판토텐일에틸에테르 등) 등도 본 발명에서 사용되는 유용성 비타민에 포함된다. 유용성 비타민은 미생물 변환법, 미생물의 배양물로부터의 정제법, 효소 또는 화학 합성법 등의 통상의 방법에 의해 취득할 수 있다.
- [0108] 고분자 펩티드로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 예를 들어 콜라겐, 가수 분해 콜라겐, 젤라틴, 엘라스틴, 가수 분해 엘라스틴, 케라틴 등을 들 수 있다. 고분자 펩티드는 미생물의 배양액으로부터의 정제법, 효소법 또는 화학 합성법 등의 통상의 방법에 의해 정제 취득할 수 있으며, 또는 통상 돼지나 소 등의 진피, 누에의 견섬유 등의 천연물로부터 정제하여 사용할 수 있다.
- [0109] 고분자 다당으로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 예를 들어 히드록시에틸셀룰로오스, 크산탄검, 히알루론산나트륨, 콘드로이틴 황산 또는 그 염 (나트륨염 등) 등을 들 수 있다. 예를 들어, 콘드로이틴 황산 또는 그 염 등은 통상 포유 동물이나 어류로부터 정제하여 사용할 수 있다.
- [0110] 스펅고 지질로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 예를 들어 세라미드, 피토스펙고신, 스펅고당지질 등을 들 수 있다. 스펅고 지질은 통상 포유류, 어류, 패류, 효모 또는 식물 등으로부터 통상의 방법에 의해 정제하거나 화학 합성법에 의해 취득할 수 있다.
- [0111] 본 발명의 화장료 조성물에는 상기 필수 성분과 더불어 필요에 따라 통상 화장품에 배합되는 다른 성분을 배합해도 된다.
- [0112] 이외에 첨가해도 되는 배합 성분으로서는 유지 성분, 보습제, 에몰리엔트제, 계면 활성제, 유기 및 무기 안료, 유기 분체, 자외선 흡수제, 방부제, 살균제, 산화 방지제, 식물 추출물, pH 조정제, 알콜, 색소, 향료, 혈행 촉진제, 냉감제, 제한(制汗)제, 정제수 등을 들 수 있다.
- [0113] 유지 성분으로서는 에스테르계 유지, 탄화수소계 유지, 실리콘계 유지, 불소계 유지, 동물 유지, 식물 유지 등을 들 수 있다.
- [0114] 에스테르계 유지로서는 트리2-에틸헥산산글리세릴, 2-에틸헥산산세틸, 미리스틴산이소프로필, 미리스틴산부틸, 팔미틴산이소프로필, 스테아르산에틸, 팔미틴산옥틸, 이소스테아르산이소세틸, 스테아르산부틸, 리놀레산에틸,

리놀레산이소프로필, 올레인산에틸, 미리스틴산이소세틸, 미리스틴산이소스테아릴, 팔미틴산이소스테아릴, 미리스틴산옥틸도데실, 이소스테아르산이소세틸, 세바신산디에틸, 아디핀산디이소프로필, 네오펜탄산이소알킬, 트리(카프릴, 카프린산)글리세릴, 트리2-에틸헥산산트리메틸올프로판, 트라이소스테아르산트리메틸올프로판, 테트라2-에틸헥산산펜타엘리슬리톨, 카프릴산세틸, 라우린산데실, 라우린산헥실, 미리스틴산데실, 미리스틴산미리스틸, 미리스틴산세틸, 스테아르산스테아릴, 올레인산데실, 리시노올레인산세틸, 라우린산이소스테아릴, 미리스틴산이소트리데실, 팔미틴산이소세틸, 스테아르산옥틸, 스테아르산이소세틸, 올레인산이소데실, 올레인산옥틸도데실, 리놀레산옥틸도데실, 이소스테아르산이소프로필, 2-에틸헥산산세토스테아릴, 2-에틸헥산산스테아릴, 이소스테아르산헥실, 디옥탄산에틸렌글리콜, 디올레인산에틸렌글리콜, 디카프린산프로필렌글리콜, 디(카프릴, 카프린산)프로필렌글리콜, 디카프릴산프로필렌글리콜, 디카프린산네오펜틸글리콜, 디옥탄산네오펜틸글리콜, 트리카프릴산글리세릴, 트리온데실산글리세릴, 트라이소팔미틴산글리세릴, 트라이소스테아르산글리세릴, 네오펜탄산옥틸도데실, 옥탄산이소스테아릴, 이소노난산옥틸, 네오펜탄산헥실데실, 네오펜탄산옥틸도데실, 이소스테아르산이소세틸, 이소스테아르산이소스테아릴, 이소스테아르산옥틸데실, 폴리글리세린올레인산에스테르, 폴리글리세린이소스테아르산에스테르, 시트르산트라이소세틸, 시트르산트라이소알킬, 시트르산트라이소옥틸, 락트산라우릴, 락트산미리스틸, 락트산세틸, 락트산옥틸데실, 시트르산트리에틸, 시트르산아세틸트리에틸, 시트르산아세틸트리부틸, 시트르산트리옥틸, 말산디이소스테아릴, 히드록시스테아르산 2-에틸헥실, 숙신산디2-에틸헥실, 아디핀산디이소부틸, 세바신산디이소프로필, 세바신산디옥틸, 스테아르산콜레스테릴, 이소스테아르산콜레스테릴, 히드록시스테아르산콜레스테릴, 올레인산콜레스테릴, 올레인산디히드록콜레스테릴, 이소스테아르산피트스테릴, 올레인산피트스테릴, 12-스테알로일히드록시스테아르산이소세틸, 12-스테알로일히드록시스테아르산스테아릴, 12-스테알로일히드록시스테아르산이소스테아릴 등의 에스테르계 등을 들 수 있다.

- [0115] 탄화 수소계 유지로서는 스쿠알렌, 유동 파라핀, 알파-올레핀올리고머, 이소파라핀, 세레신, 파라핀, 유동 이소파라핀, 폴리부텐, 마이크로크리스탈린왁스, 와셀린 등의 탄화 수소계 유지 등을 들 수 있다.
- [0116] 실리콘계 유지로서는 폴리메틸실리콘, 메틸페닐실리콘, 메틸시클로폴리실록산, 옥타메틸폴리실록산, 데카메틸폴리실록산, 도데카메틸시클로실록산, 디메틸실록산·메틸세틸옥시실록산 공중합체, 디메틸실록산·메틸스테알록시실록산 공중합체, 알킬 변성 실리콘유, 아미노 변성 실리콘유 등을 들 수 있다.
- [0117] 불소계 유지로서는 퍼플루오로폴리에테르 등을 들 수 있다.
- [0118] 동물 또는 식물 유지로서는 아보카도유, 아르몬드유, 올리브유, 참깨유, 쌀겨유, 새플라워유, 대두유, 옥수수유, 유채유, 행인(杏仁)유, 팜핵유, 팜유, 피마자유, 해바라기유, 포도종자유, 면실유, 야자유, 쿠쿠이너트유, 소맥배아유, 쌀 배아유, 시아버터, 월견초유, 마케데이미아너트유, 메도흙유, 난황유, 우지(牛脂), 마유, 밍크유, 오렌지라피유, 호호바유, 캔데리러왁스, 카르나바왁스, 액상 라놀린, 경화피마자유 등의 동물 또는 식물 유지를 들 수 있다.
- [0119] 보습제로서는 수용성 저분자 보습제, 지용성 분자 보습제, 수용성 고분자, 지용성 고분자 등을 들 수 있다.
- [0120] 수용성 저분자 보습제로서는 세린, 글루타민, 솔비톨, 만니톨, 피롤리돈-카르복실산나트륨, 글리세린, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸렌글리콜, 에틸렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜B(중합도 $n = 2$ 이상), 폴리프로필렌글리콜(중합도 $n = 2$ 이상), 폴리글리세린B(중합도 $n = 2$ 이상), 락트산, 락트산염 등을 들 수 있다.
- [0121] 지용성 저분자 보습제로서는 콜레스테롤, 콜레스테롤에스테르 등을 들 수 있다.
- [0122] 수용성 고분자로서는 카르복시비닐폴리머, 폴리아사파라긴산염, 트라카간트, 크산탄검, 메틸셀룰로오스, 히드록시메틸셀룰로오스, 히드록시에틸셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스, 수용성 키틴, 키토산, 텍스트린 등을 들 수 있다.
- [0123] 지용성 고분자로서는 폴리비닐피롤리돈·에이코센 공중합체, 폴리비닐피롤리돈·헥사데센 공중합체, 니트로셀룰로오스, 텍스트린지방산에스테르, 고분자 실리콘 등을 들 수 있다.
- [0124] 에멀리엔트제로서는 장쇄아실글루타민산콜레스테릴에스테르, 히드록시스테아르산콜레스테릴, 12-히드록시스테아르산, 스테아르산, 로진산, 라놀린지방산콜레스테릴에스테르 등을 들 수 있다.
- [0125] 계면 활성제로서는 비이온성 계면 활성제, 음이온성 계면 활성제, 양이온성 계면 활성제, 양성 계면 활성제 등을 들 수 있다.
- [0126] 비이온성 계면 활성제로서는 자기 유화형 모노스테아르산글리세린, 프로필렌글리콜지방산에스테르, 글리세린지방산에스테르, 폴리글리세린지방산에스테르, 솔비탄지방산에스테르, POE

(폴리옥시에틸렌)솔비탄지방산에스테르, POE 솔비트지방산에스테르, POE 글리세린지방산에스테르, POE 알킬에테르, POE 지방산에스테르, POE 경화피마자유, POE 피마자유, POE · POP (폴리옥시에틸렌 · 폴리옥시프로필렌) 공중합체, POE · POP 알킬에테르, 폴리에테르변성실리콘, 라우린산알카놀아미드, 알킬아민옥시드, 수소첨가대두인지질 등을 들 수 있다.

[0127] 음이온성 계면 활성제로서는 지방산비누, 알파-아실술폰산염, 알킬술폰산염, 알킬알릴술폰산염, 알킬나프탈렌술폰산염, 알킬황산염, POE 알킬에테르황산염, 알킬아미드황산염, 알킬인산염, POE 알킬인산염, 알킬아미드인산염, 알킬로일알킬타우린염, N-아실아미노산염, POE 알킬에테르카르복실산염, 알킬술포숙신산염, 알킬술포아세트산나트륨, 아실화 가수분해 콜라겐펩티드염, 퍼플루오로알킬인산에스테르 등을 들 수 있다.

[0128] 양이온성 계면 활성제로서는 염화알킬트리메틸암모늄, 염화스테아릴트리메틸암모늄, 브롬화스테아릴트리메틸암모늄, 염화세토스테아릴트리메틸암모늄, 염화디스테아릴디메틸암모늄, 염화스테아릴디메틸벤질암모늄, 브롬화베헤닐트리메틸암모늄, 염화벤잘코늄, 스테아르산디에틸아미노에틸아미드, 스테아르산디메틸아미노프로필아미드, 라놀린 유도체 제 4급 암모늄염 등을 들 수 있다.

[0129] 양성 계면 활성제로서는 카르복시베타인형, 아미드베타인형, 술포베타인형, 히드록시술포베타인형, 아미드술포베타인형, 포스포베타인형, 아미노카르복실산염형, 이미다졸린 유도체형, 아미드아민형 등의 양성 계면 활성제를 들 수 있다.

[0130] 유기 및 무기 안료로서는 규산, 무수규산, 규산마그네슘, 탭크, 세리사이트, 마이카, 카올린, 벵갈라, 클레이, 벤토나이트, 티탄피막운모, 옥시염화비스무트, 산화지르코늄, 산화마그네슘, 산화아연, 산화티탄, 산화알루미늄, 황산칼슘, 황산바륨, 황산마그네슘, 탄산칼슘, 탄산마그네슘, 산화철, 군청, 산화크롬, 수산화크롬, 칼라민 및 이들의 복합체등의 무기 안료; 폴리아미드, 폴리에스테르, 폴리프로필렌, 폴리스티렌, 폴리우레탄, 비닐수지, 요소수지, 페놀수지, 불소수지, 규소수지, 아크릴수지, 멜라민수지, 에폭시수지, 폴리카보네이트수지, 디비닐벤젠 · 스티렌 공중합체, 실크파우더, 셀룰로오스, CI 피그먼트옐로우, CI 피그먼트오렌지 등의 유기 안료 및 이들의 무기 안료와 유기 안료의 복합 안료 등을 들 수 있다.

[0131] 유기 분체로서는 스테아르산칼슘 등의 금속비누; 세틸린산아연나트륨, 라우릴린산아연, 라우릴린산칼슘 등의 알킬인산금속염 ; N-라우로일-베타-알라닌칼슘, N-라우로일-베타-알라닌아연, N-라우로일글리신칼슘 등의 아실아미노산 다가금속염 ; N-라우로일-타우린칼슘, N-팔미토일-타우린칼슘 등의 아미드술폰산 다가금속염 ; N-엡실론-라우로일-L-리진, N-엡실론-팔미토일리진, N-알파-파리토일올니틴, N-알파-라우로일아르기닌, N-알파-경화우지지방산아실아르기닌 등의 N-아실염기성아미노산 ; N-라우로일글리실글리신 등의 N-아실폴리펩티드 ; 알파-아미노카프릴산, 알파-아미노라우린산 등의 알파-아미노지방산 ; 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 나일론, 폴리메틸메타크릴레이트, 폴리스티렌, 디비닐벤젠 · 스티렌 공중합체, 사불화에틸렌 등을 들 수 있다.

[0132] 자외선 흡수제로서는 파라아미노벤조산, 파라아미노벤조산에틸, 파라아미노벤조산아밀, 파라아미노벤조산옥틸, 살리실산에틸렌글리콜, 살리신산페닐, 살리신산옥틸, 살리신산벤질, 살리신산부틸페닐, 살리신산호모멘틸, 계피산벤질, 파라메톡시계피산-2-에톡시에틸, 파라메톡시계피산옥틸, 디파라메톡시계피산모노-2-에틸헥산글리세릴, 파라메톡시계피산이소프로필, 디이소프로필 · 디이소프로필계피산에스테르 혼합물, 우로카닌산, 우로카닌산에틸, 히드록시메톡시벤조페논, 히드록시메톡시벤조페논술폰산 및 그 염, 디히드록시메톡시벤조페논, 디히드록시메톡시벤조페논디술폰산나트륨, 디히드록시벤조페논, 테트라히드록시벤조페논, 4-tert-부틸-4'-메톡시디벤조일메탄, 2,4,6-트리아닐리노-p-(카르보-2'-에틸헥실-1'-옥시)-1,3,5-트리아진, 2-(2-히드록시-5-메틸페닐)벤조트리아졸 등을 들 수 있다.

[0133] 살균제로서는 히노키틀, 트리클로산, 트리클로로히드록시디페닐에테르, 크로르헥시딘글루콘산염, 페녹시에탄올, 레조르신, 이소프로필메틸페놀, 아줄렌, 살리칠산, 진크필리티온, 염화벤잘코늄, 감광소 301 호, 모노니트로파이어콜나트륨, 운데시렌산 등을 들 수 있다.

[0134] 산화 방지제로서는 부틸히드록시아니솔, 갈릭산프로필, 엘리스르빈산 등을 들 수 있다.

[0135] pH 조정제로서는 시트르산, 시트르산나트륨, 말산, 말산나트륨, 프말산, 프말산나트륨, 숙신산, 숙신산나트륨, 수산화나트륨, 인산일수소나트륨 등을 들 수 있다.

[0136] 알코올로서는 세틸알코올 등의 고급 알코올을 들 수 있다.

[0137] 또한, 이외에 첨가해도 되는 배합 성분은 이에 한정되는 것은 아니며, 또, 상기 어느 성분도 본 발명의 목적 및 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 배합 가능하지만, 총중량에 대하여 0.01-5% 중량 백분율 또는 0.01-3% 중

량 백분율로 배합될 수 있다.

- [0138] 본 발명의 제형이 로션, 페이스트, 크림 또는 젤인 경우에는 담체 성분으로서 동물섬유, 식물섬유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.
- [0139] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.
- [0140] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액의 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용매화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.
- [0141] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.
- [0142] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클렌징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 리놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.
- [0144] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 아토피피부염 예방 또는 개선용 피부 외용제를 제공한다.
- [0145] 상기 피부 외용제는 연고제, 크림제, 로션제, 액제, 드레싱제, 패취제, 수포제, 테이프제, 연무제, 외용산제 및 스프레이제로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0147] 본 명세서에서 “유효성분”은 단독으로 목적으로 하는 활성을 나타내거나 또는 그 자체는 활성이 없는 담체 등과 함께 목적으로 하는 활성을 나타낼 수 있는 성분을 의미한다.
- [0149] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[실험방법]

1. 균주 분리 및 시퀀싱

소아 분변으로부터 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*; E.faecalis) HL1 균주를 MRS 배지 (BD-Difco)에서 분리 및 동정하였으며, Wizard[®] Genomic DNA Purification Kit (Promega, USA)를 이용하여 균주의 genomic DNA를 추출하였다. Genomic DNA 4 µg을 라이브러리 제작에 사용하였으며, PacBio Sequel IIe (Pacific Biosciences) 시퀀싱 플랫폼을 이용하여 전장 유전체 시퀀싱을 진행하였다. 16S rRNA 서열은 9F(서열번호 2): 5'-GAGTTTGATCCTGGCTCAG-3', 1542R(서열번호 3): 5'-AGAAAGGAGGTGATCCAGCC-3' 프라이머를 사용하여 V1-V9 지역을 타겟으로 하였으며 EzBioCloud Database를 활용하여 균주 동정을 진행하였다.

2. 동물모델

마우스 동물실험에 대한 모든 절차는 서울아산병원 동물실험윤리위원회(IACUC)의 검토 및 승인을 받았으며 대한

민국 식품의약품안전처 (MFDS) 지침 및 규정에 따라 수행하였다. 아토피피부염에서 엔테로코커스 페칼리스 (*Enterococcus faecalis*) HL1의 효과를 확인하기 위해, 도 2에 나타난 바와 같이, 항원 유도 아토피피부염 동물 모델을 제작하였다. 구체적으로, 암컷 BALB/c 마우스(4주령, n = 5/그룹)는 Orient Bio(한국 성남)에서 구입하였다. 장내 세균총의 불균형을 유도하기 위해 마우스에게 항생제 (1g/L 암피실린 (Sigma Aldrich, St Louis, MO), 500mg/L 반코마이신 염산염 (Sigma Aldrich, St Louis, MO), 1g/L 네오마이신 (Sigma Aldrich, St Louis, MO), 및 1g/L 메트로니다졸 (Fresenius, Germany))을 1주 동안 음수 처리하였다. 항생제 투여 종료 1주일 후, 항원 유도를 통한 아토피피부염 마우스 모델을 제작하였다. 아토피피부염은 난알부민(OVA; Ovalbumin; grade V; Sigma, St Louis, MO)의 피부 감작을 통해 유발하였다. 1주일의 피부 감작기와 2주간의 휴지기를 가졌으며, 총 2번의 감작기를 거쳤다.

[0158] 3. 박테리아 균주 투여

[0159] MRS배지 (BD-Difco)에서 배양된 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1을 37℃에서 혐기성 조건 하에 밤새 배양하였다. 그런 다음, 광학 밀도(optical density; OD)600=1배양의 박테리아를 멸균 인산염 완충 식염수(phosphate-buffered saline; PBS, pH 7.4)로 1회 세척하고 200 µl 멸균 PBS에 재현탁시켰다. 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1 또는 PBS는 1주일의 항생제 처리 이후부터 아토피피부염 실험 종료 때까지 매일 경구 투여하였다.

[0161] 4. 경피 수분 손실 평가, 피부 병변의 임상점수, 및 조직병리학적 분석

[0162] 경피수분 손실도 (TEWL)는 실험 시작 전과 각 감작 후 vapometer(SWL-3; Delfin Technologies Ltd., Kuopio, Finland)를 사용하여 측정하였다.

[0163] 마우스의 피부 병변에 대한 임상 점수는 홍반, 각질, 부종에 대한 점수를 0-3 점수 시스템을 사용하여 다음과 같이 점수화 하였다: 0(무증상), 1(경증), 2(중등도), 3(중증)으로 평가하였다.

[0164] 표피 두께 변화 및 경피층 내 염증세포 침윤 정도는 헤마톡실린 및 에오신(H&E) 염색을 통한 조직병리학적 분석을 통해 확인하였다.

[0166] 5. 혈청 IgE 및 피부조직 내 사이토카인 수치 확인

[0167] 혈청 내 총 IgE 농도는 마우스 Immunoglobulin E(IgE) enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) kit(eBioscience, San Diego, CA, USA)를 사용하여 측정하였다. 마우스에서 Th2 관련 사이토카인 interleukin(IL)-4의 발현을 특정하기 위해, 마우스 피부조직에서 RNA를 추출하고 WizScript cDNA synthesis Kit (Wizbiosolutions, Korea)를 이용하여 cDNA를 합성하였다. ABI 7900 시스템(Applied Biosystems, Piscataway, NJ)에서 TaqMan 방법을 사용하여 qPCR을 측정하였다. 각 신호는 동일한 샘플에서 GAPDH 수준에서 표준화하였다.

[0169] [실시예]

[0170] 실시예 1. 신규한 균주 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1의 확인

[0171] 프로바이오틱스 중 하나인 *Enterococcus faecalis*를 소아 분변에서 분리하였으며, 분리한 균주는 서열번호 1의 16S rRNA 서열을 암호화하는 DNA 서열을 포함하는 것을 확인하였다. 또한, 분리한 균주를 EzBioCloud Database의 16S rRNA 서열들과 비교 분석한 결과, 도 1에 나타난 바와 같이 기존의 ATCC 19433 균주와 유사성 99.56%로 신규한 균주임을 확인하였다.

표 1

	서열 (5' → 3')
16S rRNA (서열번호 1)	GGCGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTACCCATCAGAGGGGGATAAC ACTTGGAACAGGTGCTAATACCGCATAACAGTTTATGCCGCATGGCATAA GAGTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTCGCTGATGGATGGACCCGCGGTGCATTAG CTAGTTGGTGAAGTAACGGCTCACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCTGA GAGGGGAACCGGCTCAACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGA GGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGC CGCGTGAGTGAAGAAGTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGTTAGAGAAGA ACAAGGACGTTAGTAAGTGAACGTCCCTGACGGTATCTAACCAGAAAGCC ACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTG TCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGT GAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGAAACTGGGAGACTTGAG TGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATAT ATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTG AGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACG CCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCA GCAAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACT CAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTC GAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGACCACTCTAG AGATAGAGCTTTCCTTCGGGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGT CAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTTA TTGTTAGTTGCCATCATTTAGTTGGGCACTCTAGCGAGACTGCCGGTGACAA ACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGG GCTACACACGTGCTACAATGGGAAGTACAACGAGTCGCTAGACCGCGAGGT CATGCAAATCTCTTAAAGCTTCTCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGC CTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAA TACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAAAC ACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCTTTTGTG

[0172]

[0174] 실시예 2. 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) HL1에 의한 아토피피부염 동물모델의 피부변화 확인

[0175] 아토피피부염에 대한 엔테로코커스 페칼리스 HL1의 효과를 확인하기 위해, 아토피피부염 유발 동물모델에서 엔테로코커스 페칼리스 HL1에 의한 피부 병변 변화, 경피수분손실도 (TEWL), 아토피피부염 임상점수 그리고 피부 조직 변화 (H&E)를 확인하였다.

[0176] 피부 병변 변화를 관찰한 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, 아토피피부염군에 비해 엔테로코커스 페칼리스 HL1 투여군에서 피부 병변이 완화된 것을 확인할 수 있었다.

[0177] 또한, H&E 염색을 통해 피부조직 변화를 확인한 결과, 도 4에 나타난 바와 같이, 아토피피부염군에 비해 엔테로코커스 페칼리스 HL1 투여군에서 피부 조직 표피 두께와 진피층까지의 염증세포 침윤 정도가 감소한 것을 확인할 수 있었다.

[0178] 또한, 경피수분손실도 및 아토피피부염 임상점수를 확인한 결과, 도 5에 나타난 바와 같이, 아토피피부염군에 비해 엔테로코커스 페칼리스 HL1 투여군에서 TEWL 및 임상점수가 저하되는 경향을 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

[0179] 상기 결과로부터, 신규한 균주인 엔테로코커스 페칼리스 HL1이 아토피피부염 증상을 효과적으로 완화할 수 있음을 알 수 있었다.

[0181] 실시예 3. 전신 면역 알레르기 반응 및 사이토카인 발현에 대한 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*)

HL1의 효과 확인

- [0182] 혈청 IgE 수준과 피부에서 Th2 관련 사이토카인의 발현에 대한 엔테로코커스 페칼리스 HL1의 개선 효과를 확인하기 위해, 아토피피부염 유발 동물모델에 엔테로코커스 페칼리스 HL1을 경구 투여한 뒤, 아토피피부염군과 비교하였다.
- [0183] 그 결과, 도 6에 나타낸 바와 같이, 엔테로코커스 페칼리스 HL1 투여군에서 아토피피부염군에 비해 상대적으로 총 혈청 IgE 수준이 감소한 것을 확인할 수 있었다.
- [0184] 또한, 피부에서 Th2 관련 사이토카인인 IL-4의 발현을 측정된 결과, 엔테로코커스 페칼리스 HL1 투여군에서 아토피피부염군에 비해 IL-4 발현이 억제되는 것을 확인하였다.
- [0185] 상기 결과로부터, 엔테로코커스 페칼리스 HL1 투여가 전신 알레르기 및 Th2 관련 면역 반응을 억제하는 것을 확인할 수 있었다.
- [0187] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

수탁번호

[0189]

기탁기관명 : 한국생명공학연구원

수탁번호 : KCTC15339BP

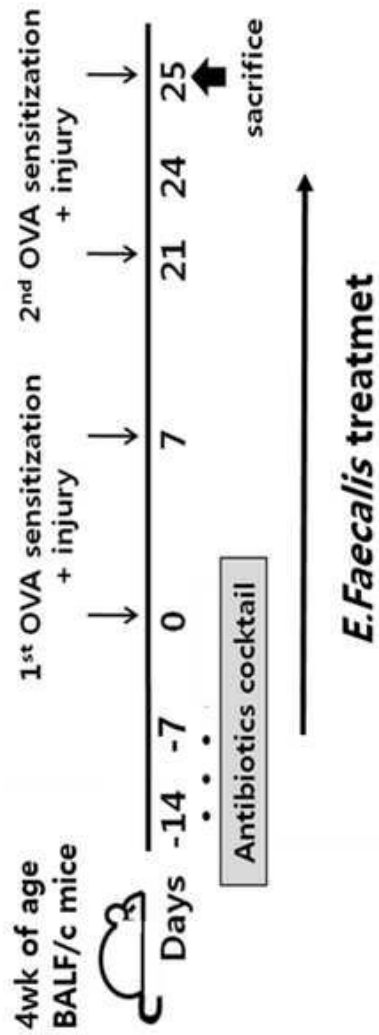
수탁일자 : 20230307

도면

도면1



도면2



도면3

E.faecalis 투여군



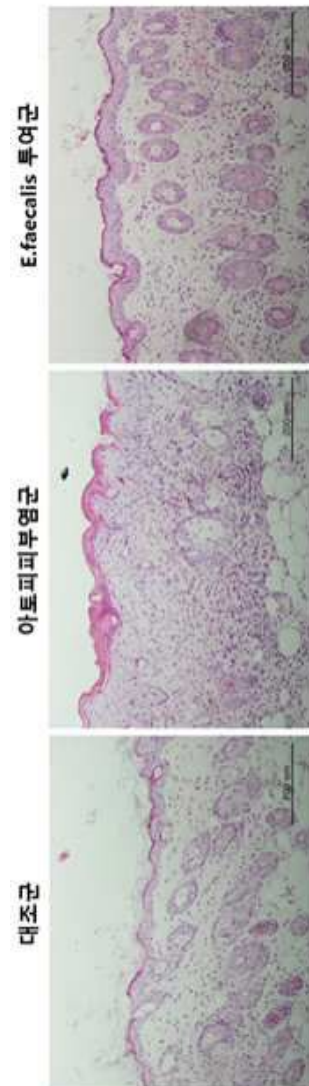
아토피피부염군



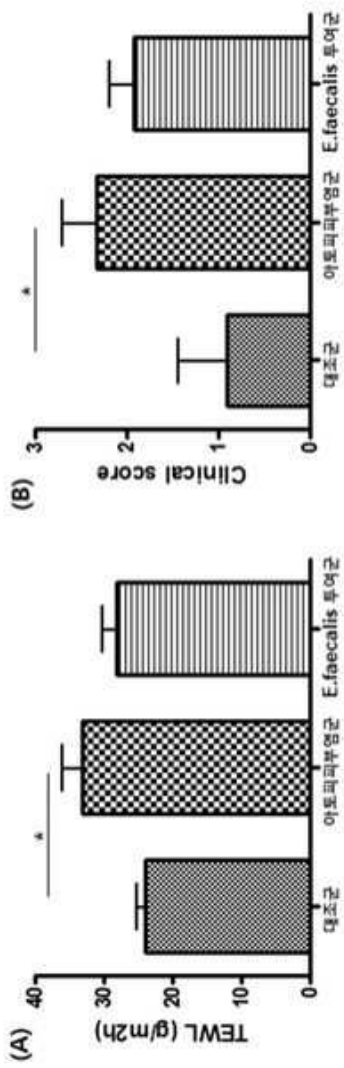
대조군



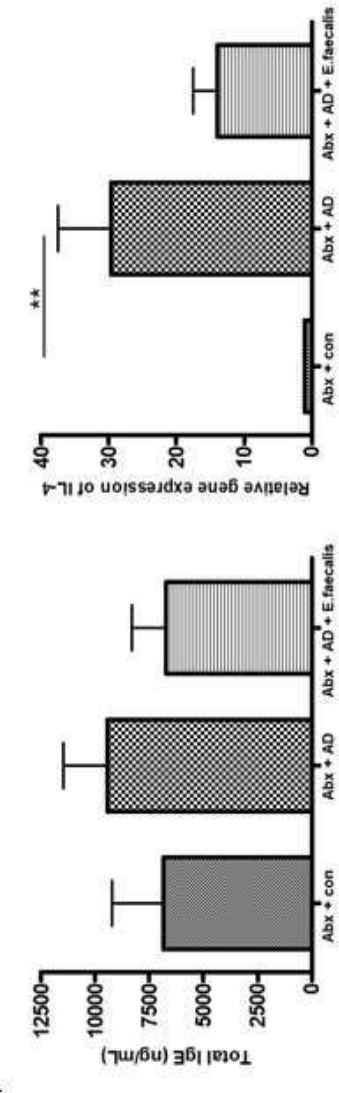
도면4



도면5



도면6



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.