



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0064341
(43) 공개일자 2022년05월18일

- | | |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>A61K 45/06</i> (2006.01) <i>A01K 67/027</i> (2006.01)
 <i>A61K 8/18</i> (2006.01) <i>A61P 17/06</i> (2006.01)
 <i>A61P 29/00</i> (2006.01) <i>A61Q 19/00</i> (2006.01)
 <i>G01N 33/68</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 <i>A61K 45/06</i> (2013.01)
 <i>A01K 67/0276</i> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2021-0154983
 (22) 출원일자 2021년11월11일
 심사청구일자 2021년11월11일</p> <p>(30) 우선권주장
 1020200150317 2020년11월11일 대한민국(KR)</p> | <p>(71) 출원인
 고려대학교 산학협력단
 서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)</p> <p>(72) 발명자
 이경미
 서울특별시 강남구 압구정로 151, 105동 505호 (압구정동, 현대아파트)
 김지영
 경상남도 창원시 마산합포구 월영마을로 52, 505동 1501호(월영동, 월영2차현대아파트)</p> <p>(74) 대리인
 특허법인 무한</p> |
|--|---|

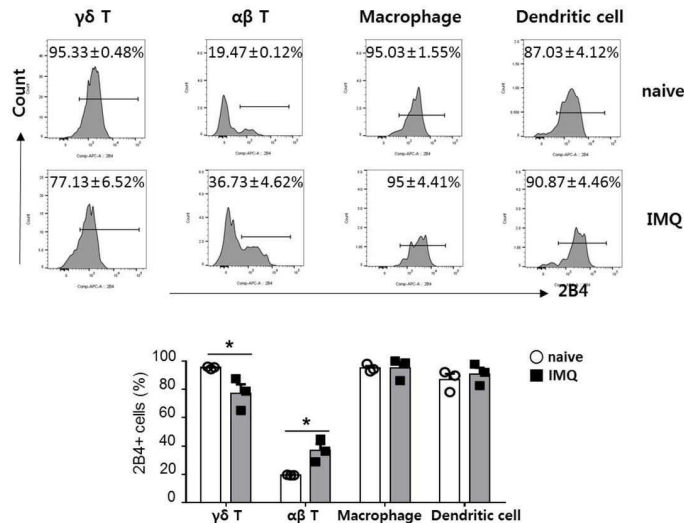
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 **2B4 효현제를 유효성분으로 포함하는 피부 염증 질환 예방, 치료, 또는 개선용 조성물**

(57) 요약

본 발명은 건선 피부 염증 모델에서 2B4 수용체가 결핍되어 있는 경우 건선 피부염증반응이 현저하게 증가됨을 밝히고, 피부 염증반응 유도 시 $\gamma\delta$ T 세포상의 2B4 수용체가 IL-17 사이토카인의 발현을 억제하여 건선의 염증 반응을 조절한다는 사실을 규명하여 완성된 것으로서, 건선 피부 염증의 치료 타겟으로서 2B4 수용체를 제공한다. 본 발명의 신규 2B4 기반 시그널 경로 규명으로 건선 조절 타겟 연구가 활발해질 것으로 기대된다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 8/18 (2013.01)
A61P 17/06 (2018.01)
A61P 29/00 (2018.01)
A61Q 19/00 (2013.01)
G01N 33/6863 (2013.01)
A01K 2217/075 (2013.01)
A01K 2267/0368 (2013.01)
G01N 2333/70596 (2013.01)
G01N 2500/04 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711121140
과제번호 2020R1A2C2103061
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 (이공)(유형1-2)중견연구(연평균연구비 1억원~2억원 이내)
연구과제명 CD244에 의한 건선질환 제어 기전 연구
기 여 율 1/3
과제수행기관명 고려대학교
연구기간 2020.09.01 ~ 2021.08.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711104444
과제번호 2018M3A9D3079288
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 (원천)바이오의료기술개발사업
연구과제명 Epigenome 조절을 통한 항암면역세포치료제 생산의 고도화
기 여 율 1/3
과제수행기관명 고려대학교
연구기간 2020.01.01 ~ 2020.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711105215
과제번호 2016M3A9B6948342
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 원천기술개발사업
연구과제명 안전성장치가 탑재된 난치성 암 항원 타겟 CAR-T 세포치료제 개발
기 여 율 1/3
과제수행기관명 고려대학교
연구기간 2020.03.01 ~ 2020.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

면역세포 수용체 2B4의 효현제(agonist)를 유효성분으로 포함하는 피부 염증 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 피부 염증 질환은 건선인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 조성물은 $\gamma \delta$ T 세포에서 염증성 사이토카인의 발현을 억제하는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 4

면역세포 수용체 2B4의 효현제(agonist)를 유효성분으로 포함하는 피부 염증 예방 또는 개선용 화장품 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 피부 염증은 건선인 것을 특징으로 하는, 화장품 조성물.

청구항 6

면역세포 수용체 2B4의 효현제(agonist)를 유효성분으로 포함하는 피부 염증 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 피부 염증은 건선인 것을 특징으로 하는, 식품 조성물.

청구항 8

2B4 수용체가 녹다운(knock-down) 또는 녹아웃(knock-out) 된 건선 동물모델.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 동물모델은 피부에 물리적 및/또는 화학적 자극에 의하여 항균펩타이드 및 염증성 사이토카인의 발현 수준이 정상 동물모델과 비교하여 현저하게 증가하는 것을 특징으로 하는, 동물모델.

청구항 10

제8항의 동물모델의 피부에 물리적 또는 화학적 자극을 가하여 건선 증상을 유도하는 단계;

후보 물질을 상기 동물모델에 투여하는 단계;

및 육안으로 건선의 증상이 완화되거나 피부조직을 분리하여 염증성 사이토카인의 발현이 감소된 경우 상기 후보 물질을 건선 치료제로 선정하는 단계;를 포함하는 건선 치료제 스크리닝 방법.

청구항 11

(1) 2B4 수용체가 킥다운(knock-down) 또는 킥아웃(knock-out)된 $\gamma \delta$ T 세포에 후보물질을 투여하는 단계;
(2) 상기 세포에 염증 유도 물질을 투여하는 단계; (3) 상기 세포의 염증성 사이토카인 발현 수준을 확인하는 단계; 및 (4) 염증성 사이토카인 발현이 감소된 경우 후보물질을 건선 치료제로 선정하는 단계;를 포함하는 건선 치료제 스크리닝 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 피부 염증 질환에 대한 면역세포 수용체 2B4 (CD244)의 역할 규명에 대한 결과로서, 면역세포 수용체 2B4의 효현제(agonist)를 유효성분으로 포함하는 피부 염증 질환의 예방, 치료, 또는 개선용 조성물 등에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 건선(psoriasis)은 피부 표피의 과도한 증식과 진피의 염증이 만성적으로 나타나는 난치성 피부 질환이다. 전 세계적으로 건선으로 고통받는 인구가 1억 명이 넘고, 국내 환자도 약 50만 명에 달한다. 10대 보다는 20대 30대에 많이 발생하며 계절적인 영향도 많이 받아 봄과 여름보다 가을과 겨울에 많이 발생된다.

[0004] 건선은 통상적으로 피부의 손상, 감염, 스트레스, 외상 등의 여러 요인들에 의한 면역학적 이상으로 발생하는 것으로 알려져 있는데, 특히, 염증 반응에 의해 면역세포의 피부 침투가 건선 발병의 중심적 역할을 한다는 사실이 보고된바 있으며, 면역세포의 침투에 DC 및 T 세포가 특히 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. T세포 외에도 NK 세포, neutrophil, mast cell 등의 면역세포와 케모카인 및 사이토카인이 복잡하게 상호작용하여 발생하는 것으로 알려져 있다. 구체적으로, 건선 반응은 항원을 인지한 수지상세포가 IL-23 또는 IL-12를 분비하며 시작된다. 이후 이러한 사이토카인들이 Th17, Th1, Th22 등의 세포를 자극하여 IL-17, IL-22, IFN- γ 등의 분비를 촉진하고, 결과적으로 염증 반응 및 각질형성세포의 활성화를 유도하여 건선 병변의 홍반 및 각질 형성, 태선 등의 증상을 일으킨다.

[0005] 건선 환자에서는 각질형성세포(keratinocyte)가 정상적인 각질화 과정을 거치지 아니하고 증식만을 반복하여 겹겹이 쌓이게 되고, 피부 표면에 은백색의 인설이 형성된다. 이러한 증상은 팔꿈치·무릎·두피 등에서 흔하게 나타난다. 이렇게 정상적인 분화과정 없이 증식만 하는 각질형성세포에 의해 각질층이 제대로 형성되지 않아 피부가 외부 환경으로부터의 보호 기능을 수행하지 못하게 되고, 따라서 여러 가지 감염에 의한 염증과 합병증을 유발하여 환자들의 일상 생활에 큰 영향을 미친다.

[0006] 건선 치료는 병변에 약제를 바르는 국소치료, 광선을 이용한 광치료, 경구 투여를 이용한 전신치료, 및 생물학적 제제를 활용한 치료 등으로 나눌 수 있다. 치료법은 건선의 정도와 활성도, 병변 형태, 발생 부위, 환자 나이, 동반 질환 등을 고려해 정한다. 가벼운 건선이면 주로 바르는 약을 쓰며, 중등도 이상이면 자외선 B를 쬔 수 있는 광선 치료를 하거나 과도한 면역반응을 억제하는 약제를 처방하는 것이 일반적이다.

[0007] 국소 치료제로는 타르제제, 스테로이드, 레티노이드, Vitamin D의 유도체등을 이용하지만 이러한 국소치료는 피부를 얇아지게 하거나 화상 및 자극을 주고 특히 스테로이드는 내성을 유발하여 이후 치료가 힘들어질 수도 있다. 또한, 광치료 같은 경우는 자외선 A를 광감작제를 투여한 후 조사하여 반응하게 하는 치료인데 자외선이 바탕이 되는 치료 방법이라 화상 혹은 피부암을 유발하는 단점이 있다.

[0008] 한편, 전신치료제로는 T 세포 등의 면역 세포의 활성을 억제하거나 염증을 완화시키는 cyclosporine 같은 면역조절제가 있다. 이 경우 장기 연용하는 경우 신장 독성 혹은 고혈압을 유발할 수도 있다. 또한, 세포의 과증식을 억제하기 위하여 Methotrexate 같은 항암제를 건선의 치료에 이용한다. 세포 분열을 억제하여 과증식을 억제하는 원리로 사용되지만 장기간 투여할 경우 간독성으로 간경화가 발생한다. 아울러, 많이 사용되는 치료제중 calcitriol이나 calcipotriol과 같은 활성화된 Vitamin D의 유도체가 있는데 효과가 어느 정도 좋으나, 과칼슘혈증, 피부 벗겨짐, 피부염 등 여러 가지 부작용을 나타낸다. 나아가, 이러한 전신치료제는 개인에 따라서 반응 차이가 크며, 일정 기간 투여 후에는 치료 효율이 급격하게 떨어지는 단점이 있다.

[0009] 기존 건선 치료제에 따른 부작용을 해소하고 그 한계를 극복하기 위해 새로운 건선 치료에 접근 방법이 부단히

시도되고 있으며, 독성이 없거나 적고 부작용을 줄이는 새로운 건선치료제 개발을 위해 지속적인 연구가 이루어지고 있다. 그러나 지금까지 나온 치료제들은 부작용이 크면서도 만족할 만한 증상의 호전을 나타내지 못하고 있다.

[0010] 한편, SLAM (signaling lymphocyte-activation molecule) family 중 2B4(CD244)는 T세포, macrophage, dendritic cell, neutrophil과 mast cell 등 다양한 면역세포에서 발현되는 수용체로, NK 세포 및 일부 CD8 T 세포의 활성을 조절하고 그 리간드인 CD48과 함께 면역세포의 보조 수용체로 작용하는 것이 알려져 있다. 본 발명자들은 2B4 수용체의 피부 염증 반응에서 역할을 확인하고, 2B4 수용체의 효현제(agonist)가 피부 염증 반응을 완화함을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0011] (비특허문헌 0001) 비특허문헌 1: Augustin et al., 2010; Miller et al., 2013; Paller et al., 2013; Veale and FitzGerald, 2002

(비특허문헌 0002) 비특허문헌 2: Ganguly et al., 2009; Lande et al., 2007; Lowes et al., 2014; van der Fits et al., 2009

(비특허문헌 0003) 비특허문헌 3: Garni-Wagner et al., 1993; Georgoudaki et al., 2015; Nakajima et al., 1999; Schuhmachers et al., 1995; Straub et al., 2014; Valiante and Trinchieri, 1993

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 면역세포 수용체 2B4의 효현제(agonist)를 유효성분으로 포함하는 피부 염증 질환의 예방, 치료, 또는 개선용 조성물과, 상기 2B4 수용체가 녹다운(knock-down)된 건선 동물모델 및 상기 동물모델 등을 이용한 건선 치료제 스크리닝 방법을 제공하는 것이다.

[0013] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당해 기술분야의 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0015] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 면역세포 수용체 2B4의 효현제(agonist)를 유효성분으로 포함하는 피부 염증 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다. 본 발명에서 피부 염증 질환은 건선을 포함하는 염증성 질환을 의미한다.

[0016] 또한, 본 발명은 면역세포 수용체 2B4의 효현제(agonist)를 유효성분으로 포함하는 피부 염증 예방 또는 개선용 조성물을 제공한다.

[0017] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 조성물은 화장료 조성물 또는 식품 조성물로 제공될 수 있다.

[0018] 또한, 본 발명은 2B4 수용체가 녹다운(knock-down) 또는 녹아웃(knock-out)된 건선 동물모델을 제공한다.

[0019] 또한, 본 발명은 상기 동물모델에 후보 물질을 투여하는 단계; 및 육안으로 건선의 증상이 완화되거나 피부조직을 분리하여 염증성 사이토카인의 발현이 감소된 경우 상기 후보 물질을 건선 치료제로 선정하는 단계;를 포함하는 건선 치료제 스크리닝 방법을 제공한다.

[0020] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 후보물질 투여 전의 동물모델은 물리적 또는 화학적 자극을 피부에 가하여 염증 반응을 유도한 것일 수 있다.

[0021] 또한, 본 발명은 (1) 2B4 수용체가 녹다운(knock-down) 또는 녹아웃(knock-out)된 $\gamma\delta$ T 세포에 후보물질을 투여하는 단계; (2) 상기 세포에 염증 유도 물질을 투여하는 단계; (3) 상기 세포의 염증성 사이토카인 발현 수준을 확인하는 단계; 및 (4) 염증성 사이토카인 발현이 감소된 경우 후보물질을 건선 치료제로 선정하는 단계;를

포함하는 건선 치료제 스크리닝 방법을 제공한다. 본 발명에서 상기 (1) 단계와 (2) 단계의 시계열적 순서는 바뀌어도 무방하다.

발명의 효과

[0023] 본 발명자들은 건선 피부 염증 모델에서 2B4 수용체가 결핍되어 있는 경우 건선 피부염증반응이 현저하게 증가됨을 밝히고, 피부 염증반응 유도 시 $\gamma \delta T$ 세포상의 2B4 수용체가 IL-17 사이토카인의 발현을 억제하여 건선의 염증반응을 조절한다는 사실을 규명하였다. 이에, 본 발명은 건선 피부 염증의 치료 타겟으로서 2B4 수용체를 제공하며, 본 발명은 신규 2B4 기반 시그널 경로 및 건선 조절 타겟 연구에 활발하게 이용될 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0025] 도 1은 건선 피부염증반응 유도 시 피부 내 2B4 수용체의 발현 정도를 보여주는 그림으로, 정상 마우스에 Imiquimod (IMQ)를 처리하여 건선 유도 시 2B4의 발현이 T 세포에서 변화하며, $\gamma \delta T$ 세포의 경우 그 발현이 감소함을 보여준다.

도 2a는 대조군과 2B4가 결핍된 마우스에 IMQ 로 피부염증 반응을 유발한 후 피부의 건선 염증 유발 정도를 확인한 결과, 2B4 결핍 마우스에서 현저히 피부염증반응이 증가되었음을 보여주는 그림이다.

도 2b는 건선 피부 염증을 유발시킨 2B4 결핍 마우스의 염증반응 시 홍반, 각질의 clinical score를 측정하여 2B4가 결핍된 경우 score가 현저히 증가되었음을 보여주는 그림이다.

도 2c는 대조군과 2B4 결핍마우스의 back skin에 염증반응을 유발시킨 후 조직염색을 통해 피부조직의 염증반응 정도를 확인한 결과, 2B4가 결핍된 마우스의 경우 표피가 두꺼워지고 면역세포의 유입이 증가하며 피부 두께가 두꺼워지는 등 건선의 중증도가 현저히 증가함을 나타내는 그림이다.

도 3은 건선 피부염증 반응 유발 시 건선양 피부 내 항균펩타이드 S100A7a, S100A8 및 염증성 사이토카인 IL-17, IL-23의 발현 정도를 RNA 수준에서 보여주는 그림으로, 2B4 수용체의 결핍 시 이들 항균펩타이드 및 사이토카인의 발현이 유의하게 증가하였음을 나타낸다.

도 4는 건선 피부 염증을 유발시킨 2B4 결핍 마우스의 back skin 내 면역세포 분석 시 $\gamma \delta T$ 세포의 IL-17 사이토카인 발현이 대조군에 비하여 현저히 증가함을 나타내는 그림이다.

도 5는 $\gamma \delta T$ 세포상의 2B4의 IL-17 사이토카인 조절이 T cell 자체의 작용인지 외부 세포의 영향에 의한 조절인지 알아보기 위한 그림이다. Mixed bone marrow transfer 실험을 수행하였을 때 2B4 수용체가 결핍된 $\gamma \delta T$ 세포에서 IL-17 발현이 유의하게 증가하는 것으로 보아 2B4의 조절 작용이 T cell 자체의 intrinsic effect 임을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0026] 이하에서, 첨부된 도면을 참조하여 실시예들을 상세하게 설명한다. 그러나, 실시예들에는 다양한 변경이 가해질 수 있어서 특허출원의 권리 범위가 이러한 실시예들에 의해 제한되거나 한정되는 것은 아니다. 실시예들에 대한 모든 변경, 균등물 내지 대체물이 권리 범위에 포함되는 것으로 이해되어야 한다.

[0028] 실시예에서 사용한 용어는 단지 설명을 목적으로 사용된 것으로, 한정하려는 의도로 해석되어서는 안된다. 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.

[0030] 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.

- [0032] 또한, 첨부 도면을 참조하여 설명함에 있어, 도면 부호에 관계없이 동일한 구성 요소는 동일한 참조부호를 부여하고 이에 대한 중복되는 설명은 생략하기로 한다. 실시예를 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 실시예의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.
- [0034] 현재까지 2B4가 건선 염증 반응을 조절한다는 보고는 없으나, 루프스 및 건선 환자의 T 세포에서 2B4 수용체의 발현이 변화되었다는 사실이 보고된 바 있다.
- [0035] 본 발명은 구체적인 실험을 통해 건선 피부 염증 모델에서 2B4 수용체가 결핍되어 있는 경우 건선 피부염증반응이 현저하게 증가됨을 확인하였다. 또한, 피부 염증반응 유도 시 $\gamma \delta$ T 세포상의 2B4 수용체가 IL-17 사이토카인의 발현을 억제하여 건선의 염증반응을 조절한다는 사실을 규명하였다.
- [0036] 상기로부터, 본 발명자들은 면역세포 수용체인 2B4가 건선 피부 염증 질환을 조절할 수 있는 주요인자임을 알 수 있었으며, $\gamma \delta$ T 세포상의 2B4가 건선 염증성 사이토카인 발현을 조절한다는 사실을 규명하여 이를 바탕으로 2B4 수용체를 건선 피부 질환의 타겟으로 제공하고 상기 수용체의 효현제를 건선 피부 질환의 치료제로 제공하고자 한다.
- [0037] 본 발명에서 건선(psoriasis)이란 표피의 과도한 증식과 진피의 염증이 만성적으로 나타나는 난치성 피부 질환으로서, 그 원인은 아직 명확하게 밝혀져 있지 않으나, 각질형성세포의 비정상적인 증식(keratinocyte hyperproliferation)과 피부 염증 반응을 특징으로 한다.
- [0038] 본 발명에서 “2B4(CD244)”란 natural killer cell 및 CD8+ T 세포에 발현하는 non-MHC binding receptor로 건선에서 염증 반응 조절 기능에 대해서는 밝혀진 바가 없다.
- [0039] 본 발명에서 “2B4 효현제(agonist)”란 2B4 수용체의 리간드와 동일 또는 유사하게 작용하여 2B4 자극 이하의 신호전달 경로를 활성화시키는 것이라면 제한되지 아니한다.
- [0040] 본 발명은 2B4 효현제를 개체에 투여하는 단계를 포함하는 피부 염증 질환 예방 또는 치료 방법을 제공하며, 본 발명에서 '개체'란 각질형성세포를 포함하는 표피를 갖는 포유류라면 제한되지 아니하나, 바람직하게는 인간일 수 있고, 더욱 바람직하게는 건선 환자일 수 있다.
- [0041] 본 발명에서 “예방”이란 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 염증성 피부질환을 지연시키는 모든 행위를 의미하고, “치료”란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 염증성 피부질환 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미하며, “개선”이란 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 염증성 피부질환과 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 감소시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0042] 본 발명에서 약학적 조성물 (pharmaceutical composition)은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제, 및 희석제를 더 포함할 수 있다.
- [0043] 본 발명에서 "담체 (carrier)"란 비이클 (vehicle)이라고도 불리우며, 세포 또는 조직 내로의 단백질 또는 펩타이드의 부가를 용이하게 하는 화합물을 의미하는 것으로서, 예를 들어, 디메틸설폭사이드 (DMSO)는 생물체의 세포 또는 조직 내로의 많은 유기물의 투입을 용이하게 하는 통상 사용되는 담체이다.
- [0044] 본 발명에서 "희석제 (diluent)"란 대상 단백질 또는 펩타이드의 생물학적 활성 형태를 안정화시킬 뿐만 아니라, 단백질 또는 펩타이드를 용해시키게 되는 물에서 희석되는 화합물로 정의된다. 버퍼 용액에 용해되어 있는 염은 당해 분야에서 희석제로 사용된다. 통상 사용되는 버퍼 용액은 포스페이트 버퍼 식염수이며, 이는 인간 용액의 염 상태를 모방하고 있기 때문이다. 버퍼 염은 낮은 농도에서 용액의 pH를 제어할 수 있기 때문에, 버퍼 희석제가 화합물의 생물학적 활성을 변형하는 일은 드물다. 여기에 사용된 아젤라산을 함유하는 화합물들은 인간 환자에게 그 자체로서, 또는 결합 요법에서와 같이 다른 성분들과 함께 또는 적당한 담체나 부형제와 함께 혼합된 약제학적 조성물로서, 투여될 수 있다.

- [0045] 또한, 본 발명에 따른 2B4의 효현제를 유효성분으로 포함하는 건선의 예방 또는 치료용 약학적 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 외용제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 상기 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 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상제제에는 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. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0046] 상기 2B4의 효현제는 화장료 조성물의 형태로 제공될 수 있다. 본 발명에 따른 화장료 조성물의 제형은 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양로션, 맛사지크림, 영양크림, 모이스처 크림, 핸드크림, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션 또는 바디클렌저의 형태일 수 있다.
- [0047] 본 발명의 화장료 조성물은 수용성 비타민, 유용성 비타민, 고분자 펩티드, 고분자 다당, 및 스펅고 지질로 이루어진 군에서 선택된 조성물을 더 포함할 수 있다.
- [0048] 수용성 비타민으로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 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 수득할 수 있다.
- [0049] 유용성 비타민으로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 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-판토텐닐알코올, D-판토텐닐알코올, 판토텐닐에틸에테르 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.
- [0050] 고분자 펩티드로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 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.
- [0051] 고분자 다당으로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 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.
- [0052] 스펅고 지질로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 세라미드, 피토스핑고신, 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.
- [0053] 본 발명의 화장료 조성물에는 상기 필수 성분과 더불어 필요에 따라 통상 화장품에 배합되는 다른 성분을 배합해도 된다.

- [0054] 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.
- [0055] 유지 성분으로서는 에스테르계 유지, 탄화수소계 유지, 실리콘계 유지, 불소계 유지, 동물 유지, 식물 유지 등을 들 수 있다.
- [0056] 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, 시트르산트리이소세틸, 시트르산트리이소알킬, 시트르산트리이소옥틸, 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.
- [0057] 탄화 수소계 유지로서는 스쿠알렌, 유동 파라핀, 알파-올레핀올리고머, 이소파라핀, 세레신, 파라핀, 유동 이소파라핀, 폴리부텐, 마이크로크리스탈린왁스, 와셀린 등의 탄화 수소계 유지 등을 들 수 있다.
- [0058] 실리콘계 유지로서는 폴리메틸실리콘, 메틸페닐실리콘, 메틸시클로폴리실록산, 옥타메틸폴리실록산, 데카메틸폴리실록산, 도데카메틸시클로실록산, 디메틸실록산·메틸세틸옥시실록산 공중합체, 디메틸실록산·메틸스테알록시실록산 공중합체, 알킬 변성 실리콘유, 아미노 변성 실리콘유 등을 들 수 있다.
- [0059] 불소계 유지로서는 퍼플루오로폴리에테르 등을 들 수 있다.
- [0060] 동물 또는 식물 유지로서는 아보카도유, 아르몬드유, 올리브유, 참깨유, 쌀겨유, 새플라워유, 대두유, 옥수수유, 유채유, 행인(杏仁)유, 팜핵유, 팜유, 피마자유, 해바라기유, 포도종자유, 면실유, 야자유, 쿠키이너트유, 소맥배아유, 쌀 배아유, 시아버터, 월견초유, 마커데이미아너트유, 메도흙유, 난황유, 우지(牛脂), 마유, 밍크유, 오렌지라피유, 호호바유, 캔데리러왁스, 카르나바왁스, 액상 라놀린, 경화피마자유 등의 동물 또는 식물 유지를 들 수 있다.
- [0061] 보습제로서는 수용성 저분자 보습제, 지용성 분자 보습제, 수용성 고분자, 지용성 고분자 등을 들 수 있다.
- [0062] 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.
- [0063] 지용성 저분자 보습제로서는 콜레스테롤, 콜레스테롤에스테르 등을 들 수 있다.
- [0064] 수용성 고분자로서는 카르복시비닐폴리머, 폴리아스파라긴산염, 트라가칸트, 크산탄검, 메틸셀룰로오스, 히드록시메틸셀룰로오스, 히드록시에틸셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스, 수용성 키티, 키토산, 텍스트린 등을 들 수 있다.
- [0065] 지용성 고분자로서는 폴리비닐피롤리돈·에이코센 공중합체, 폴리비닐피롤리돈·헥사데센 공중합체, 니트로셀룰

로오스, 텍스트린지방산에스테르, 고분자 실리콘 등을 들 수 있다.

- [0066] 에폴리엔트제로서는 장쇄아실글루타민산콜레스테릴에스테르, 히드록시스테아르산콜레스테릴, 12-히드록시스테아르산, 스테아르산, 로진산, 라놀린지방산콜레스테릴에스테르 등을 들 수 있다.
- [0067] 계면 활성제로서는 비이온성 계면 활성제, 음이온성 계면 활성제, 양이온성 계면 활성제, 양성 계면 활성제 등을 들 수 있다.
- [0068] 비이온성 계면 활성제로서는 자기 유화형 모노스테아르산글리세린, 프로필렌글리콜지방산에스테르, 글리세린지방산에스테르, 폴리글리세린지방산에스테르, 솔비탄지방산에스테르, POE (폴리옥시에틸렌)솔비탄지방산에스테르, POE 솔비탄지방산에스테르, 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.
- [0069] 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.
- [0070] 양이온성 계면 활성제로서는 염화알킬트리메틸암모늄, 염화스테아릴트리메틸암모늄, 브롬화스테아릴트리메틸암모늄, 염화세토스테아릴트리메틸암모늄, 염화디스테아릴디메틸암모늄, 염화스테아릴디메틸벤질암모늄, 브롬화베헤닐트리메틸암모늄, 염화벤잘코늄, 스테아르산디에틸아미노에틸아미드, 스테아르산디메틸아미노프로필아미드, 라놀린 유도체 제 4급 암모늄염 등을 들 수 있다.
- [0071] 양성 계면 활성제로서는 카르복시베타인형, 아미드베타인형, 술포베타인형, 히드록시술포베타인형, 아미드술포베타인형, 포스포베타인형, 아미노카르복실산염형, 이미다졸린 유도체형, 아미드아민형 등의 양성 계면 활성제 등을 들 수 있다.
- [0072] 유기 및 무기 안료로서는 규산, 무수규산, 규산마그네슘, 텔크, 세리사이트, 마이카, 카올린, 벵갈라, 클레이, 벤토나이트, 티탄피막온도, 옥시염화비스무트, 산화지르코늄, 산화마그네슘, 산화아연, 산화티탄, 산화알루미늄, 황산칼슘, 황산바륨, 황산마그네슘, 탄산칼슘, 탄산마그네슘, 산화철, 군청, 산화크롬, 수산화크롬, 갈라민 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.
- [0073] 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-파리토일올리틴, 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.
- [0074] 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.
- [0075] 살균제로서는 히노키티올, 트리클로산, 트리클로로히드록시디페닐에테르, 크로르헥시딘글루콘산염, 페녹시에탄올, 레조르신, 이소프로필메틸페놀, 아줄렌, 살리칠산, 진크필리티온, 염화벤잘코늄, 감광소 301 호, 모노니트

로파이어콜나트륨, 운데시렌산 등을 들 수 있다.

- [0076] 산화 방지제로서는 부틸히드록시아니솔, 갈릭산프로필, 엘리스르빈산 등을 들 수 있다.
- [0077] pH 조정제로서는 시트르산, 시트르산나트륨, 말산, 말산나트륨, 프말산, 프말산나트륨, 숙신산, 숙신산나트륨, 수산화나트륨, 인산일수소나트륨 등을 들 수 있다.
- [0078] 알코올로서는 세틸알코올 등의 고급 알코올을 들 수 있다.
- [0079] 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 바람직하게는 0.01-5% 중량 백분율, 보다 바람직하게는 0.01-3% 중량 백분율로 배합된다.
- [0080] 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.
- [0081] 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.
- [0082] 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.
- [0083] 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.
- [0084] 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.
- [0085] 아울러, 본 발명은 2B4의 효현제를 유효성분으로 포함하는 식품 조성물을 제공한다. 또한, 2B4의 효현제는 피부염증 질환, 특히 건선 개선을 목적으로 식품에 첨가될 수 있다. 본 발명에 있어서 식품은 기능성 식품 및 건강 기능성 식품을 포함한다. 본 발명의 2B4의 효현제를 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 2B4의 효현제를 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 2B4의 효현제는 원료에 대하여 15 중량% 이하, 바람직하게는 10 중량% 이하의 양으로 첨가된다. 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.
- [0086] 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.
- [0087] 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 에리트릴 등 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, 바람직하게는 약 0.04-0.10g 이다.

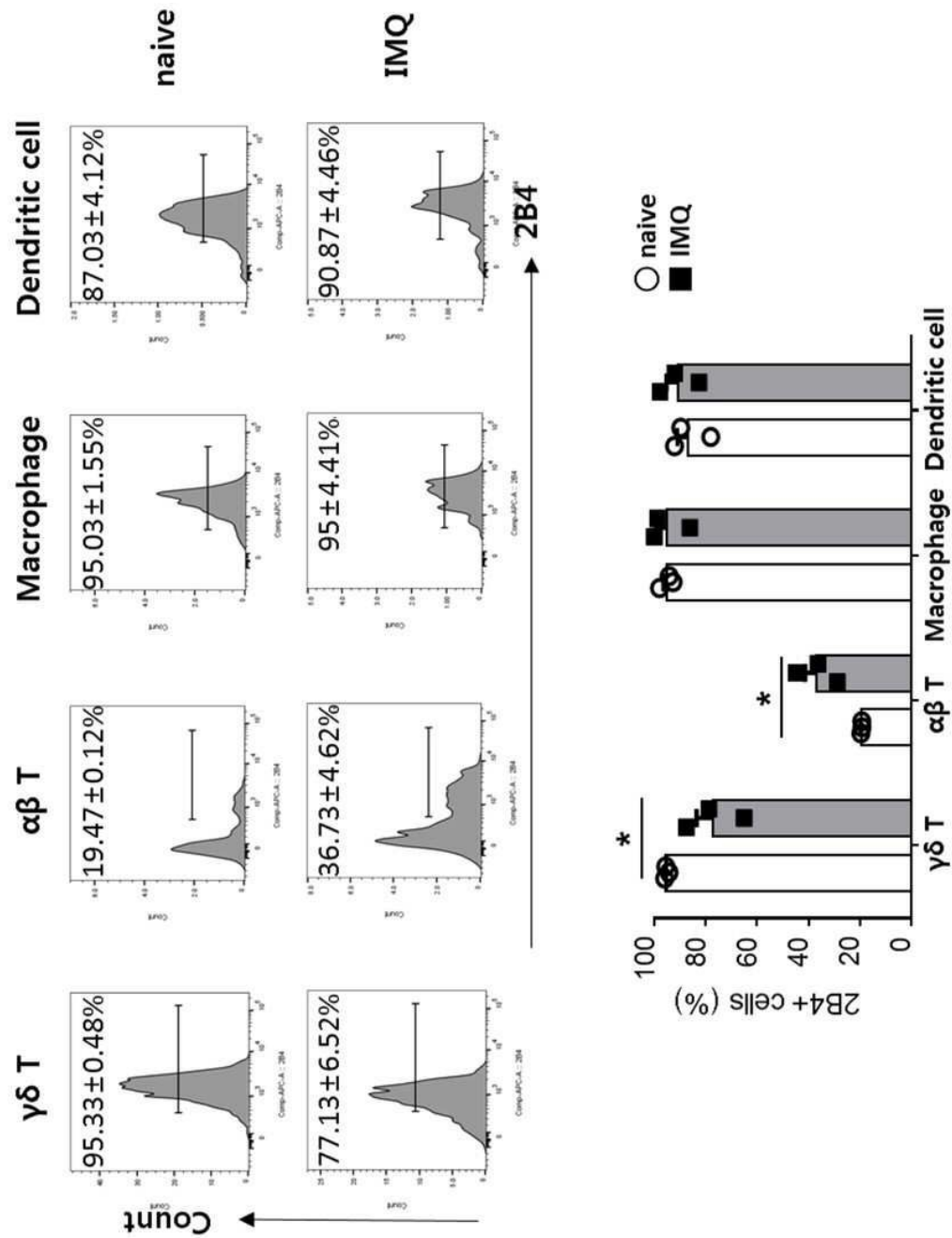
- [0088] 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0.01-0.20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- [0090] 본 발명은 다양한 변환을 가할 수 있고 여러 가지 실시예를 가질 수 있는 바, 이하 특정 실시예들을 도면에 예시하고 상세한 설명에 상세하게 설명하고자 한다. 그러나, 이는 본 발명을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변환, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본 발명을 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.
- [0092] [실시예]
- [0093] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0094] 실시예 1. 피부 염증 반응 유도시 T 세포에서 2B4 발현 수준 변화 확인
- [0095] 마우스의 등 부분을 제모하고 imiquimod 5% cream (Aldara) 을 매일 80mg 씩 마우스의 등 피부에 4-6 일간 도포하여 염증을 유도하였다. 염증 반응을 유도한 마우스에서 병변부 피부 조직을 채취하여 collagenase IV, hyaluronidase 및 DNaseI을 포함한 HBSS media에 suspension 후 30분간 37℃에서 incubation 하였다. 이어서, 면역세포를 분리하여 APCCy7 이 부착된 CD45 항체 및 APC가 부착된 2B4 항체로 염색 후 유세포 분석기를 이용하여 2B4를 발현하는 $\gamma \delta$ T 세포, $\alpha \beta$ T 세포, 대식세포, 및 DC 세포의 수를 계수하였다(도 1).
- [0096] 그 결과, 염증반응 유도는 대식세포 및 DC 세포에서 2B4 발현의 정도에 유의한 영향을 미치지 않았으나, 염증반응이 유도됨에 따라 $\alpha \beta$ T 세포에서 2B4 수용체의 발현이 증가하였으며, $\gamma \delta$ T 세포에서 2B4 수용체의 발현은 감소함을 확인할 수 있었다.
- [0098] 실시예 2. 2B4 결핍 마우스에서 피부 염증 유도
- [0099] 마우스 피부 염증모델 구축을 위하여 대조군 및 2B4 결핍 마우스의 등 부분을 제모하고 imiquimod 5% cream (Aldara) 을 매일 80mg 씩 마우스의 등 피부에 4-6 일간 도포 후 건선양 피부를 분석하였다.
- [0100] 피부 염증 반응을 유도한 대조군 및 2B4 결핍 마우스의 등 피부 염증 정도를 측정하기 위하여, 임상 Psoriasis Area and Severity Index (PASI)를 기반으로 마우스의 임상적 변화(홍반, 각질)를 관찰 후 각 점수를 비교하였으며, 마우스 등 피부 두께의 두꺼워짐 정도는 thickness gage를 사용하여 측정하였다. 또한 마우스 건선양 피부 paraffin tissue block을 section 하여 H&E stain 후 현미경으로 조직 내 세포 수를 분석하였다.
- [0101] 그 결과, 대조군과 비교하여 동량의 자극에도 불구하고 2B4 결핍 마우스에서 현저하게 두드러진 건선양을 확인할 수 있었으며(도 2a), 홍반 및 각질의 clinical score 측정 결과 2B4 결핍에 따라 그 score가 현저히 증가됨을 확인할 수 있었다(도 2b). 이러한, 2B4 결핍에 따른 건선 증상의 악화는 조직염색을 통한 염증반응 확인을 통해 재확인할 수 있었다. 2B4 결핍 마우스는 대조군과 비교하여 동일 자극에 대하여 보다 표피가 두꺼워지고 면역세포의 유입이 증가하는 등 건선의 중증도가 현저히 증가하였다(도 2c).
- [0103] 실시예 3. 피부 염증 반응에서 2B4의 작용 확인
- [0104] 피부 염증 반응 유도 후 건선양 병변이 생긴 마우스 등 피부를 채취한 후, TRIzol Reagent, chloroform, isopropanol을 이용하여 total RNA를 분리하였다. RNA 1ug을 사용하여 TOPscript™ cDNA synthesis Kit (enzymomics)로 cDNA를 합성하였고, SYBR green 을 사용하여 real-time PCR을 수행하였다. GAPDH mRNA level을 이용하여 gene의 발현을 normalize 하였고, relative expression level은 $\Delta\Delta CT$ method를 사용하여 분석하였

다.

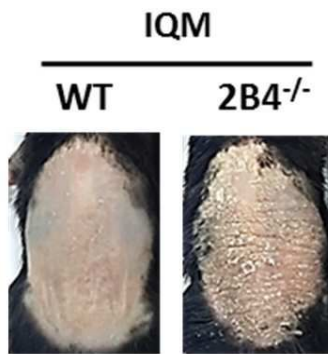
- [0105] 피부 내 $\gamma \delta$ T 세포의 IL-17 사이토카인 등의 분비를 단백질 수준에서 분석하기 위하여, 대조군 및 2B4 결핍 마우스의 건선양 피부에서 분리된 세포에 golgistop (BD PharMingen) 및 Brefeldin A (Biolegend)을 4시간 동안 처리 후 Cytofix/Cytoperm kit (BD PharMingen) 로 intracellular staining 하여 각 사이토카인의 발현을 측정하였다.
- [0106] 건선양 피부 내 2B4 수용체가 $\gamma \delta$ T 세포를 직접적으로 조절하는지 알아보기 위하여 mixed bone marrow transfer를 수행하였다. host 마우스에 9Gy 로 방사선 조사 후 대조군 CD45.2 마우스 및 CD45.1 2B4 결핍 마우스에서 bone marrow 세포를 채취하여 1:1의 비율로 섞은 후 host 마우스에 주입하였다. 2주간 neomycin 및 polymyxin B sulfate 항생제가 포함된 멸균수를 자유롭게 투여하고, 세포 주입 5주 후 IMQ를 이용하여 건선 피부염증 반응을 유도하였다.
- [0107] 그 결과, 2B4 결핍은 염증 유도에 따른 항균 펩타이드(S100A7a, S100A8) 및 염증성 사이토카인(IL-17, IL-23)의 발현 수준을 증가시킴을 알 수 있었으며(도 3), 특히, 2B4 결핍 $\gamma \delta$ T 세포에서 IL-17의 발현이 현저하게 증가함을 확인할 수 있었다(도 4). 한편, mixed bone marrow transfer 실험 결과 2B4 수용체가 결핍된 $\gamma \delta$ T 세포에서 IL-17 발현이 유의하게 증가하는 것으로 보아 2B4의 염증성 사이토카인 발현 조절 작용은 T 세포 자체의 intrinsic effect임을 알 수 있었다(도 5).
- [0109] 이상과 같이 실시예들이 비록 한정된 도면에 의해 설명되었으나, 해당 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 상기를 기초로 다양한 기술적 수정 및 변형을 적용할 수 있다. 예를 들어, 설명된 기술들이 설명된 방법과 다른 순서로 수행되거나, 및/또는 설명된 시스템, 구조, 장치, 회로 등의 구성요소들이 설명된 방법과 다른 형태로 결합 또는 조합되거나, 다른 구성요소 또는 균등물에 의하여 대치되거나 치환되더라도 적절한 결과가 달성될 수 있다.
- [0110] 그러므로, 다른 구현들, 다른 실시예들 및 특허청구범위와 균등한 것들도 후술하는 청구범위의 범위에 속한다.

도면

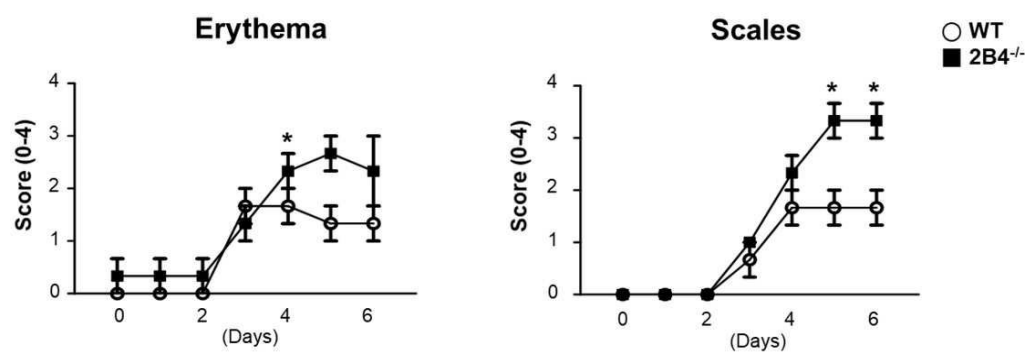
도면1



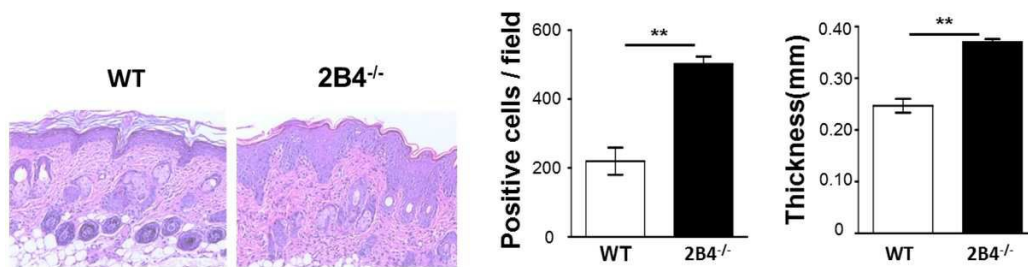
도면2a



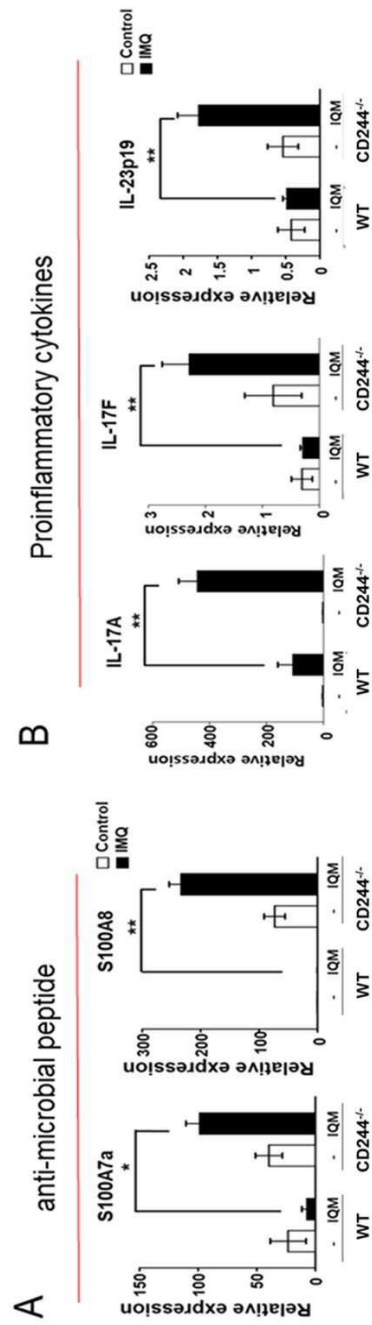
도면2b



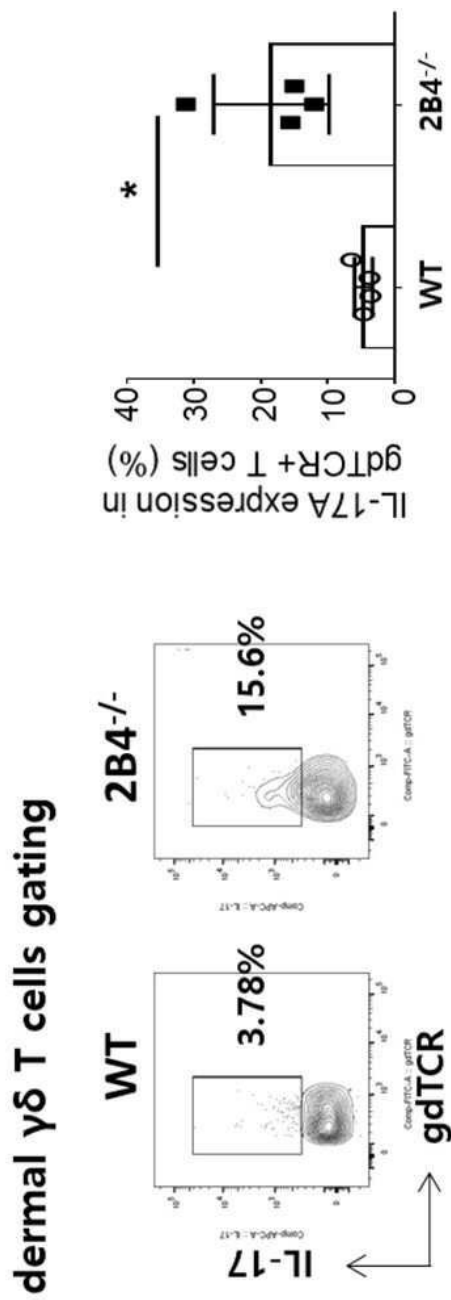
도면2c



도면3



도면4



도면5

