



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년04월10일

(11) 등록번호 10-1510941

(24) 등록일자 2015년04월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 7/06 (2006.01) *A61K* 38/10 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01) *C07K* 7/08 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-0077792

(22) 출원일자 2013년07월03일

심사청구일자 2013년07월03일

(65) 공개번호 10-2014-0005110

(43) 공개일자 2014년01월14일

(30) 우선권주장

1020120072513 2012년07월03일 대한민국(KR)

(56) 선행기술조사문헌

US08563689 B1

US20060211752 A1

US20120157395 A1

KR1020080029963 A

(73) 특허권자

일양약품주식회사

경기도 용인시 기흥구 하갈로 110 (하갈동)

숙명여자대학교산학협력단

서울특별시 용산구 청파로47길 100 (청파동2가, 숙명여자대학교)

사회복지법인 삼성생명공익재단

서울특별시 용산구 이태원로55길 48 (한남동)

(72) 발명자

조대호

서울 용산구 청파로47길 100, 제2창학관 B186호 (청파동2가, 숙명여자대학교)

정민경

서울 마포구 월드컵북로47길 46, 206동 407호 (상암동, 상암월드컵파크2단지아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

손민

전체 청구항 수 : 총 13 항

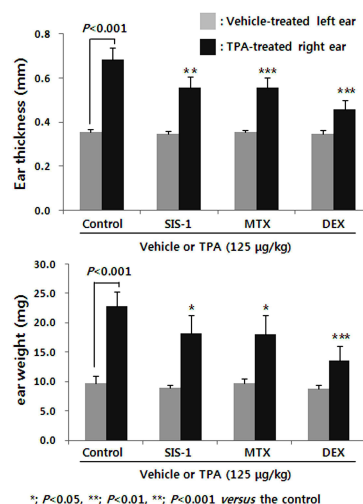
심사관 : 안규정

(54) 발명의 명칭 신규한 펩타이드 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 신규한 펩타이드 및 이의 용도에 관한 것으로, 보다 구체적으로 항염증 효과가 있는 펩타이드, 상기 펩타이드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드, 상기 펩타이드 또는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 항염증제, 상기 펩타이드를 포함하는 염증의 예방 또는 개선용 의약품 조성물, 염증의 완화 또는 개선용 건강기능식품 조성물, 염증의 예방 또는 개선용 화장품 조성물, 상기 약학적 조성물을 염증성 질환 의심 개체에 투여하는 단계를 포함하는 염증성 질환의 치료 방법, 상기 펩타이드 모방체 제조 방법 및 펩타이드 모방체 설계 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도3



(72) 발명자

하수경

서울 용산구 효창원로86길 72, 301호 (청파동2가)

박정민

경기 수원시 영통구 청명로 41, 401호 (영통동, 혜성빌라)

이진영

서울 강서구 허준로 139, 303동 905호 (가양동, 강변아파트)

김상윤

서울 서초구 사평대로55길 95, (반포동)

박승범

서울 중구 동호로8다길 7, 209호 (신당동)

김희중

충남 아산시 모종로 21, 104동 403호 (모종동, 모종1차한성필하우스아파트)

주현수

충북 청주시 상당구 수영로 327, 105동 1502호 (용담동, 세영첼시빌아파트)

이시내

경기 용인시 기흥구 한보라2로14번길 3-3, 201호 (보라동)

임혜경

경기 용인시 기흥구 하갈로136번길 37, (보라동)

방사익

서울 강남구 일원로 81, 별관 2층 성형외과 (일원동, 삼성의료원)

명세서

청구범위

청구항 1

서열번호 1 내지 서열번호 18 중 어느 하나의 아미노산 서열로 표시되는 분리된 펩타이드.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 펩타이드는 항염증 효과가 있는 것인, 분리된 펩타이드.

청구항 5

제1항의 펩타이드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드.

청구항 6

제1항 또는 제4항의 펩타이드, 또는 제5항의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 약학적으로 허용되는 담체를 추가로 포함하는 조성물.

청구항 8

제6항에 있어서, 상기 염증성 질환은 아토피, 건선, 피부염, 알레르기, 관절염, 비염, 중이염, 인후염, 편도염, 방광염, 신장염, 골반염, 크론병, 궤양성 대장염, 강직성 척추염, 전신 홍반성 낭창 (systemic lupus erythematoses, SLE), 죽상 동맥경화, 천식, 동맥경화, 부종, 류마티스 관절염, 지연성 알레르기 (IV형 알레르기), 이식거부, 이식편 대 숙주 질환, 자가면역 뇌척수염, 다발성 경화증, 염증성 장질환, 관절염, 낭포성 섬유증, 당뇨병 망막증, 비염, 허혈성-재관류 손상, 혈관 재협착, 사구체신염 및 위장관 알레르기로 이루어진 군에서 선택된 질환인 것인 조성물.

청구항 9

제1항 또는 제4항의 펩타이드, 또는 제5항의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 항염증제.

청구항 10

제1항 또는 제4항의 펩타이드를 포함하는, 염증의 예방 또는 개선용 의약품 조성물.

청구항 11

제1항 또는 제4항의 펩타이드를 포함하는, 염증의 완화 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 12

제1항 또는 제4항의 펩타이드를 포함하는, 염증의 예방 또는 개선용 화장품 조성물.

청구항 13

제6항의 조성물을 염증성 질환 의심 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 인간을 제외한 동물의 염증성 질환의 치료 방법.

청구항 14

제1항 또는 제4항의 펩타이드로부터 항염증 활성이 있는 펩타이드 모방체 (peptidomimetic)를 설계하는 단계; 및

상기 설계된 펩타이드 모방체를 합성하는 단계를 포함하는, 제1항 또는 제4항의 펩타이드 모방체의 제조 방법.

청구항 15

제1항 또는 제4항의 펩타이드로부터 항염증 활성이 있는 펩타이드 모방체를 설계하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 신규한 펩타이드 및 이의 용도에 관한 것으로, 보다 구체적으로 항염증 효과가 있는 펩타이드, 상기 펩타이드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드, 상기 펩타이드 또는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 항염증제, 상기 펩타이드를 포함하는 염증의 예방 또는 개선용 의약품 조성물, 염증의 완화 또는 개선용 건강기능식품 조성물, 염증의 예방 또는 개선용 화장품 조성물, 상기 약학적 조성물을 염증성 질환 의심 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 염증성 질환의 치료 방법, 상기 펩타이드 모방체 제조 방법 및 펩타이드 모방체 설계 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

염증은 세포나 조직이 어떠한 원인에 의해 손상을 받으면 그 반응을 최소화 하고 손상된 부위를 원상으로 회복 시키려는 일련의 방어 목적으로 나타나는 현상으로, 신경 및 혈관, 림프관, 체액 반응, 세포 반응을 일으켜 결과적으로 통증, 부종, 발적, 발열 등을 일으켜 기능장애를 유발한다. 염증을 유발하는 원인으로 외상, 동상, 화상, 방사능 등에 의한 물리적 요인과 산 (acid)과 같은 화학물질에 의한 화학적 요인 및 항체 반응에 의한 면역학적 요인들이 있으며, 그 외에 혈관이나 호르몬 불균형에 의해서도 발생된다. 외부 자극으로 손상된 세포들은 염증 유발 사이토카인 (pro-inflammatory cytokine) 류 및 케모카인 (chemokine), 인터루킨 (interleukine), 인터페론 (interferon) 등의 다양한 생물학적 매개 물질을 분비하여 혈관 확장이 일어나고 투과성이 높아짐에 따라 항체, 보체, 혈장(plasma), 식균 세포들이 염증부위로 몰려들게 된다. 이러한 현상이 흥반의 원인이 된다.

- [0003] 염증을 소실시키기 위해 염증원의 제거, 생체 반응 및 증상을 감소시키는 작용을 하는 약물을 항염증제라 한다. 현재까지 항염증의 목적으로 이용되고 있는 물질로는 비스테로이드계로 이부프로펜 (ibuprofen), 인도메타신 (indomethacin) 등이 있고 스테로이드 계통으로 덱사메타손 (dexamethasone) 등이 있으나, 안전성면에서 문제점을 안고 있어서 그 사용이 제한되고 있다. 이러한 측면에서 최대의 효과와 최소의 부작용을 가지는 안전한 항염증 제제의 개발이 요구된다.
- [0004] 염증 관련 질환인 염증성 질환은 아토피, 건선, 피부염, 알레르기, 관절염, 비염, 중이염, 인후염, 편도염, 방광염, 신장염, 골반염, 크론병, 궤양성 대장염, 강직성 척추염, 전신 홍반성 낭창 (systemic lupus erythematoses, SLE), 죽상 동맥경화, 천식, 동맥경화, 부종, 류마티스 관절염, 지연성 알레르기 (IV형 알레르기), 이식거부, 이식편 대 숙주 질환, 자가면역 뇌척수염, 다발성 경화증, 염증성 장질환, 관절염, 낭포성 섬유증, 당뇨병 망막증, 비염, 허혈성-재관류 손상, 혈관 재협착, 사구체신염, 위장관 알레르기 등이 있다.
- [0005] 상기 염증성 질환 등은 다양한 염증성 사이토카인에 의해 유발되는 것으로 알려져 있다.
- [0006] 구체적으로, IL-6 (Interleukin-6)은 전신 홍반성 낭창 [Lupus. 2004;13(5):339-343, Rationale for interleukin-6 blockade in systemic lupus erythematosus; J Rheumatol. 2010 Jan;37(1):60-70, Interleukin 6 (IL-6) deficiency delays lupus nephritis in MRL-FasLpr mice: the IL-6 pathway as a new therapeutic target in treatment of autoimmune kidney disease in systemic lupus erythematosus], IL-4 (Interleukin-4) 또는 IL-12 (Interleukin-12)는 죽상 동맥경화 [Am J Pathol. 2003 Sep;163(3):1117-1125, The role of interleukin-4 and interleukin-12 in the progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice], IL-10 (Interleukin-10), IFN- γ (Interferon-gamma), IL-2 (Interleukin-2), IL-1 β (Interleukin-1beta), IL-6, TNF- α (Tumor necrosis factor-alpha)는 골반염 [Clin Chem Lab Med. 2008;46(11):1609-1616, Significant elevation of a Th2 cytokine, interleukin-10, in pelvic inflammatory disease; Clin Chem Lab Med. 2008;46(7):997-1003, Plasma interleukin-1beta, -6, -8 and tumor necrosis factor-alpha as highly informative markers of pelvic inflammatory disease], IL-4 또는 IL-5 (Interleukin-5)는 천식 [J Allergy Clin Immunol. 2001 Jun;107(6):963-970, Efficacy of soluble IL-4 receptor for the treatment of adults with asthma; Respir Res. 2001;2(2):66-70. Epub 2001 Feb 19, Th2 cytokines and asthma Interleukin-4: its role in the pathogenesis of asthma, and targeting it for asthma treatment with interleukin-4 receptor antagonists (Review); Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2011 Dec;11(6):565-70, Anti-interleukin-5 antibody therapy in asthma and allergies. (Review)], IL-4, IL-5 또는 IL-12는 아토피 또는 피부염 [J Allergy Clin Immunol. 2001 Sep;108(3):417-23, Immunostimulatory DNA inhibits IL-4-dependent IgE synthesis by human B cells; J Invest Allergol Clin Immunol 2007; Vol. 17(1): 20-26, Inhibition of Cytokine-Induced Expression of T-Cell Cytokines by Antihistamines], IL-2 또는 IL-8 (Interleukin-8)은 건선 [Iranian J Publ Health, Vol. 36, No.2, 2007, pp.87-91, Th1/Th2 Cytokines in Psoriasis (REVIEW); Clin Exp Immunol. 1995 Feb;99(2):148-54, IL-8/IL-8 receptor expression in psoriasis and the response to systemic tacrolimus (FK506) therapy], IL-6, IL-12 또는 IL-17 (Interleukin-17)은 염증성 장질환 [World J Gastroenterol. 2008 Jul 21;14(27):4280-8, Role of cytokines in inflammatory bowel disease. (REVIEW); Gut. 2003 Jan;52(1):65-70, Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease], IL-1 β 는 강직성 척추염 [Formosan Journal of Rheumatology 2009;23:40-46, The expression of proinflammatory cytokines and intracellular minerals in patients with ankylosing spondylitis], IL-12는 다발성 경화증 (Multiple sclerosis) [Proc Natl Acad Sci U S A. 1997 Jan 21;94(2):599-603, Increased interleukin 12 production in progressive multiple sclerosis: Induction by activated CD4+T cells via CD40 ligand], IL-2 또는 IL-10은 이식편 대 숙주 질환 (Graft-Versus-Host Disease) [Curr Pharm Des. 2004;10(11):1195-205, Anti-cytokine therapy for the treatment of graft-versus-host disease. (REVIEW); Blood. 2002 Oct 1;100(7):2650-8, Cytokine and chemokine profiles in autologous graft-versus-host disease (GVHD): interleukin 10 and interferon gamma may be critical mediators for the development of autologous GVHD] 등 염증성 질환과 밀접한 관련이 있다. 이상의 결과로 볼 때 상기 염증성 사이토카인 등은 염증성 질환에 있어서 중요한 치료적 표적 분자임을 알 수 있으며, 이와 같은 염증성 사이토카인의 분비를 감소시킬 수 있으면 상기 염증성 질환을 치료할 수 있다.
- [0007] 한편, 이들 중 대표적인 것으로 류마티스 관절염 (Rheumatoid arthritis)이 있다. 류마티스 관절염은 여러 관절에 다발성으로 나타나는 염증성 자가면역 전신 질환이다. 단순 마찰에 의한 관절의 손상이 원인이 되는 퇴행성

관절염 (Osteoarthritis)과는 달리 류마티스 관절염은 질환의 발병 과정에서 염증 반응을 포함한 다양한 면역 반응이 수반되는 것이 큰 특징이다. 류마티스 관절염의 일차적인 발생 현상은 관절 내 활막 조직 세포의 활성화와 염증세포의 침윤 및 활성화이며, 이로 인해 관절 내 활막 조직과 연골 및 골조직에 복합적인 염증 반응이 수반되게 된다. 그로 인한 심각한 부종, 홍반 및 열감 등의 병증을 나타내며, 이러한 병증이 지속적으로 발생 될 경우 관절을 이루는 활막 조직, 인대, 연골, 뼈 등의 조직에서 심각한 손상이 발생하게 되고, 결국 관절의 변형 및 파괴와 기능 손실을 초래하게 된다. 본 질환은 주로 생산적인 나이인 25-55세에서 가장 많이 나타나므로 막대한 사회, 경제적 손실을 야기시키며, 환자들은 통증, 피로감, 우울증상으로 인해 삶의 질이 저하되게 된다.

[0008] 류마티스 관절염 등 여러 염증성 질환에 현재 사용되는 치료제로는 텍사메타손 (Dexamethasone)과 같은 스테로이드계와 아스피린 (aspirin), 인도메타신 (Indomethacin)과 같은 비스테로이드계 항염증제 그리고 메토틱렉세이트 (Methotrexate)와 같은 항류마티스제 등이 있다. 그러나, 이와 같은 치료제들은 근원적인 치료법이 아니며, 스테로이드 호르몬제가 관절염 치료제로 알려지면서 많이 사용되기도 했으나, 그의 부작용이 명백해짐에 따라 그 사용은 어렵게 되었다. 또한 류마티스 관절염은 환자에게 오랜 기간 동안 심한 통증을 유발하므로 반드시 항염증제 등을 복용하여야만 하지만 많은 항염증제들이 잠재적으로 심각한 부작용을 내재하고 있기에 항염증제의 선택과 처방에 있어서 사용 용량이나 기간에 있어 신중을 기해야 한다. 이처럼 기존의 이러한 화학요법적 약제는 약제의 장기간 사용을 방해하는 다양한 부작용, 항염증 효과의 결핍, 및 이미 발생한 관절염에 대한 효능의 부족과 같은 결점을 가지고 있다. 또한 근래에는 류마티스 질환의 병인이 세포나 분자 수준에서 밝혀지기 시작하면서 그에 대한 치료법도 경험적인 항류마티스 약물 보다는 염증 유발인자 (pro-inflammatory cytokine)에 대한 표적 치료로써 TNF- α , IL-1, IL-6 등의 수용성 수용체를 유전자 재조합 기술로 생산한 생물학적 제제의 사용이 증대되고 있다. 최근의 류마티스 관절염 치료는 기존의 항 류마티스 약제인 메토틱렉세이트로 대표되는 화학요법적 약제들과 생물학적 제제의 병합 요법이 주목받고 있으며, 이로 인해 관절염 치료제 시장에서 생물학적 제제의 중요성 매우 커지고 있는 실정이다.

[0009] 하지만 대표적인 생물학적 관절염 치료 제제인 TNF- α 제제는 감염의 위험을 증가시킨다고 알려져 있으며, 특히 결핵의 위험도를 증가시킨다고 알려져 있다. 또한 TNF- α 생물학적 제제는 고가약제로 환자들이 치료비에 대한 부담이 큰 것이 현실이며, 환자의 20~ 30%는 이들 제제에 내성을 가지고 있어 치료 반응이 없음이 보고되어 있다.

[0010] 따라서 이러한 문제에 대한 해결책과 급성 염증성 증상과 고통에 대해 증상적인 효과를 보여주는 류마티스 관절염을 비롯한 염증성 질환의 치료제의 개발의 필요성이 대두되고 있다. 현재 사용되고 있는 대부분의 염증성 질환의 치료제는 정도의 차이나 개인적인 차이가 있기는 하지만 모두 어느 정도의 부작용을 가지고 있고, 특히 류마티스 관절염의 치료를 위해서는 약제를 장기간 복용할 필요가 있기 때문에, 부작용이 적은 약제를 개발하는 것이 매우 중요하다.

[0011] 이러한 배경하에 본 발명자들은 부작용이 없으면서도 기존의 염증성 질환 치료제로 이용되어 온 텍사메타손과 메토틱렉세이트를 대체할 만한 염증성 질환의 치료용 제제를 개발하기 위해 예의 노력한 결과, 본 발명자들이 합성한 신규한 펩타이드들이 염증성 사이토카인의 분비를 감소시켜 항염증 효과가 뛰어나며, 동물 모델에서 부종 및 관절염을 치료할 수 있는 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 본 발명의 하나의 목적은 신규한 분리된 펩타이드를 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 또 하나의 목적은 상기 펩타이드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 제공하는 것이다.

[0014] 본 발명의 또 하나의 목적은 상기 펩타이드 또는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0015] 본 발명의 또 하나의 목적은 상기 펩타이드 또는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 항염증제를 제공하는 것이다.

[0016] 본 발명의 또 하나의 목적은 상기 펩타이드를 포함하는 염증의 예방 또는 개선용 의약품 조성물을 제공하는

것이다.

- [0017] 본 발명의 또 하나의 목적은 상기 펩타이드를 포함하는 염증의 완화 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0018] 본 발명의 또 하나의 목적은 상기 펩타이드를 포함하는 염증의 예방 또는 개선용 화장품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0019] 본 발명의 또 하나의 목적은 상기 펩타이드 모방체의 제조 방법을 제공하는 것이다.
- [0020] 본 발명의 또 하나의 목적은 상기 펩타이드 모방체를 설계하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0021] 상기 목적을 달성하기 위한 하나의 양태로서, 본 발명은 서열번호 1의 아미노산 서열로 표시되는 분리된 펩타이드 또는 이의 단편을 제공한다.
- [0022] 상기 단편은 서열번호 1의 아미노산 서열에서 염증을 치료 또는 예방할 수 있는 활성을 갖는 단편을 제한없이 포함하나, 그 예로 서열번호 1의 아미노산 서열중, i) 4번째 내지 6번째 아미노산(프롤린-세린-프롤린, PSP)을 포함하는 연속된 6개 내지 13개의 아미노산 서열; ii) 10번째 내지 13번째 아미노산(아르기닌-쓰레오닌-아스파르트산-글리신, RTDG)을 포함하는 연속된 4개 내지 10개의 아미노산 서열; iii) 14번째 내지 16번째 아미노산(아르기닌-쓰레오닌-아스파르트산, RTD)을 포함하는 연속된 6개 내지 10개의 아미노산 서열; iv) 12번째 및 13번째 아미노산(아스파르트산-글리신, DG)을 포함하는 연속된 2개 내지 6개의 아미노산 서열; 또는 v) 7번째 및 8번째 아미노산(아르기닌-아스파르트산, RD)을 포함하는 연속된 2개 내지 6개의 아미노산 서열일 수 있다. 또는, 상기 단편은 서열번호 2 내지 18로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 아미노산 서열인 것일 수 있다.
- [0023] 바람직하게, 상기 펩타이드는 항염증 효과가 있는 펩타이드로 상기 서열을 포함하는 펩타이드 또는 이의 단편은 제한 없이 포함된다.
- [0024] 본 발명의 신규한 펩타이드 또는 이의 단편은 다음과 같은 서열번호 1 내지 18 중에서 선택된 어느 하나의 서열을 포함할 수 있다.
- [0025] SIS-1 : MSLPSPRDGRDGRDCTR (서열번호 1)
- [0026] SIS-1#1 : MSLPSP (서열번호 2)
- [0027] SIS-1#2 : RDGRDGRD (서열번호 3)
- [0028] SIS-1#3 : RTDCTR (서열번호 4)
- [0029] SIS-1#4 : MSLPSPRDGRDGRD (서열번호 5)
- [0030] SIS-1#5 : PSRPRD (서열번호 6)
- [0031] SIS-1#6 : PSRPRDGRDGRD (서열번호 7)
- [0032] SIS-1#7 : RTDG (서열번호 8)
- [0033] SIS-1#8 : RDGRDGRD (서열번호 9)
- [0034] SIS-1#9 : DGRDGRD (서열번호 10)
- [0035] SIS-1#10 : GRDGRD (서열번호 11)
- [0036] SIS-1#11 : TDG (서열번호 12)
- [0037] SIS-1#12 : DG (서열번호 13)
- [0038] SIS-1#13 : RD (서열번호 14)
- [0039] SIS-1#14 : RDG (서열번호 15)
- [0040] SIS-1#15 : RDGR (서열번호 16)

- [0041] SIS-1#16 : RDGRT (서열번호 17)
- [0042] SIS-1#17 : RDGRTD (서열번호 18)
- [0043] 본 명세서에서 언급된 아미노산은 IUPAC-IUB 명명법에 따라 다음과 같이 약어로 기재하였다.
- [0044] 알라닌A 아르기닌R
- [0045] 아스파라긴N 아스파르트산D
- [0046] 시스테인C 글루타민산E
- [0047] 글루타민Q 글리신G
- [0048] 히스티딘H 아이소루이신I
- [0049] 루이신L 리신K
- [0050] 메티오닌M 페닐알라닌F
- [0051] 프롤린P 세린S
- [0052] 트레오닌T 트립토판W
- [0053] 타이로신Y 발린V
- [0054] 본 발명에서 용어, “펩타이드 (peptide) 또는 이의 단편”이란 아미드 결합 (또는 펩타이드 결합)으로 연결된 2개 이상의 아미노산으로 이루어진 폴리머를 의미한다. 본 발명의 목적상, 항염증 효과를 나타내는 펩타이드 또는 이의 단편을 의미한다.
- [0055] 본 발명의 펩타이드 또는 이의 단편은 표적화 서열, 태그 (tag), 표지된 잔기, 반감기 또는 펩타이드의 안정성을 증가시키기 위한 특정 목적으로 고안된 추가의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0056] 본 발명의 펩타이드 또는 이의 단편은 당 분야에 널리 공지된 다양한 방법으로 획득할 수 있다. 상세하게는 유전자 재조합과 단백질 발현 시스템을 이용하여 제조하거나 펩타이드 합성과 같은 화학적 합성을 통하여 시험관 내에서 합성하는 방법, 및 무세포 단백질 합성법 등으로 제조될 수 있다.
- [0057] 보다 구체적으로는 이 분야에서 잘 알려진 방법, 예를 들어 자동 펩타이드 합성기에 의해 합성할 수 있으며, 유전자 조작 기술에 의해 생산할 수도 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 예를 들어 유전자 조작을 통하여 융합 파트너와 본 발명의 펩타이드로 된 융합 단백질을 코딩하는 융합 유전자를 제조하고 그것으로 숙주 미생물을 형질전환시킨 후 숙주 미생물에서 융합 단백질 형태로 발현시킨 후 단백질 분해효소 또는 화합물을 이용하여 융합 단백질로부터 본 발명의 펩타이드를 절단, 분리하여 원하는 펩타이드를 생산할 수 있다. 이를 위하여 예를 들어 Factor Xa나 엔테로키나제와 같은 단백질 분해효소, CNBr 또는 하이드록실아민과 같은 화합물에 의해 절단될 수 있는 아미노산 잔기를 코딩하는 DNA 서열을 융합파트너와 본 발명의 펩타이드 유전자 사이에 삽입할 수 있다.
- [0058] 본 발명의 일 실시예에 따르면 본 발명자들은 상기 18종의 펩타이드들이 활성화된 B 세포에서 염증성 사이토카인인 IL-1A, IL-1B, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12A, IL-13, IL-17A, GM-CSF 또는 IL-34의 분비를 효과적으로 감소시키는 것을 확인하였고 (표 2), 이 중 대표적인 펩타이드인 서열번호 1의 SIS-1이 귀 부종 마우스 모델에서 부종을 완화시키고 (도 2 및 3), 콜라겐 유도 관절염 마우스 모델에서 관절염을 완화시키는 것을 확인하여 (도 5 내지 10), 상기 펩타이드들이 항염증 효과가 있는 것을 확인하였으며, 이와 같은 항염증 효과가 있는 펩타이드들은 본 발명자에 의해 최초로 분리 및 규명된 것이다.
- [0059] 또 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 펩타이드 또는 이의 단편을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 제공한다.
- [0060] 본 발명에서 폴리뉴클레오타이드에 대해 사용된 용어 "상동성"이란 야생형 (wild type) 아미노산 서열 및 야생형 핵산 서열과의 유사한 정도를 나타내기 위한 것으로서, 상기 펩타이드를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열과

75% 이상, 바람직하게는 85% 이상, 보다 바람직하게는 90% 이상, 더욱 바람직하게는 95% 이상 동일할 수 있는 유전자 서열을 포함한다. 이러한 상동성의 비교는 육안으로나 구입이 용이한 비교 프로그램을 이용하여 수행한다. 시판되는 컴퓨터 프로그램은 2개 이상의 서열간의 상동성을 백분율(%)로 계산할 수 있다. 상동성(%)은 인접한 서열에 대해 계산될 수 있다. 상기 펩타이드를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 벡터에 삽입하여 이를 발현시킴으로써 상기 펩타이드를 다량으로 확보할 수 있다.

[0061] 또 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 펩타이드 또는 이의 단편, 또는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0062] 본 발명의 조성물은 염증성 질환의 치료적 표적 인자로 알려진 염증성 사이토카인인 IL-1A, IL-1B, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12A, IL-13, IL-17A, GM-CSF 또는 IL-34의 분비 억제를 통하여 염증성 질환의 예방 또는 치료 효과를 나타낼 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서는 본 발명의 18종의 펩타이드가 IL-1A, IL-1B, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12A, IL-13, IL-17A, GM-CSF 또는 IL-34의 분비를 효과적으로 감소시킬 뿐만 아니라 (표 2), 대표적인 염증성 질환인 부종의 동물 모델에서 부종을 완화시키는 것을 확인하여 (도 2 및 3), 실제 동물 모델에서도 염증을 완화하여 염증성 질환을 치료할 수 있음을 확인하였다. 아울러, 콜라겐 유도 관절염 모델에 본 발명의 펩타이드를 처리하여 관절염 증상이 완화되는 것을 확인하고 (도 5 내지 8), 조직학적 분석에서도 정상 마우스와 유사하게 유지되는 것을 확인하였으며 (도 9), 혈청학적으로 자가항체의 역가가 감소하는 것을 확인하여 (도 10), 염증성 질환 중에서도 자가면역 질환을 효과적으로 치료할 수 있으므로 본 발명의 펩타이드가 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로 사용할 수 있음을 확인하였다.

[0063] 본 발명에서 용어, "염증성 질환"은 염증을 주병변으로 하는 질병을 총칭하는 의미로서, 이에 제한되지는 않으나 바람직하게는 아토피, 건선, 피부염, 알레르기, 관절염, 비염, 중이염, 인후염, 편도염, 방광염, 신장염, 골반염, 크론병, 궤양성 대장염, 강직성 척추염, 전신 홍반성 낭창 (systemic lupus erythematoses, SLE), 죽상동맥경화, 천식, 동맥경화, 부종, 류마티스 관절염, 지연성 알레르기 (IV형 알레르기), 이식거부, 이식편 대 숙주 질환, 자가면역 뇌척수염, 다발성 경화증, 염증성 장질환, 관절염, 낭포성 섬유증, 당뇨병 망막증, 비염, 허혈성-재관류 손상, 혈관 재협착, 사구체신염 또는 위장관 알레르기일 수 있으며, 보다 바람직하게는 부종, 류마티스 관절염, 전신 홍반성 낭창, 죽상 동맥경화, 골반염, 천식, 아토피, 피부염, 건선, 염증성 장질환, 강직성 척수염, 다발성 경화증, 이식편 대 숙주 질환일 수 있다.

[0064] 본 발명에서 용어, "예방"은 상기 조성물의 투여로 염증성 질환의 발병을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미하며, "치료"는 상기 조성물의 투여로 염증성 질환의 증세가 호전되거나 이롭게 되는 모든 행위를 의미한다.

[0065] 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 포함할 수 있다. 본 발명에서 용어, "약학적으로 허용"이란 치료효과를 나타낼 수 있을 정도의 충분한 양과 부작용을 일으키지 않는 것을 의미하며, 질환의 종류, 환자의 연령, 체중, 건강, 성별, 환자의 약물에 대한 민감도, 투여 경로, 투여 방법, 투여횟수, 치료 기간, 배합 또는 동시 사용되는 약물 등 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0066] 본 발명에서 사용가능한 담체로는 리포솜, 다당, 폴리락트산, 폴리글리콜산, 중합체성아미노산, 및 아미노산 공중합체와 같이 천천히 대사되는 거대분자를 들 수 있다. 예를 들면, 하이드로클로라이드, 하이드로브로마이드, 포스페이트 및 설페이트와 같이 무기산의 염; 아세테이트, 프로피오네이트, 말로네이트 및 벤조에이트와 같은 유기산의 염과 같은 약제학적으로 허용가능한 염; 물, 염수, 글리세롤 및 에탄올과 같은 액체, 및 수화제, 유화제 또는 pH 완충 물질과 같은 보조적 물질을 사용할 수 있다. 약학적으로 허용가능한 담체에 관해서는 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, 1991]에 기재되어 있다. 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 조성물은 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형일 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함될 수 있으며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스 (sucrose) 또는 락토오스 (lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구투여를 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. 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함될 수 있다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜 (propylene glycol), 폴리에

틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테로 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텡솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[0067] 또한, 본 발명의 약제학적 조성물은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제 및 좌제로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 제형을 가질 수 있다.

[0068] 또한, 상기 조성물은 약학적 분야에서 통상의 방법에 따라 환자의 신체 내 투여에 적합한 단위투여형의 제제, 바람직하게는 펩타이드 의약품의 투여에 유용한 제제 형태로 제형화시켜 당업계에서 통상적으로 사용하는 투여 방법을 이용하여 경구, 또는 피부, 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 수막강내, 심실내, 폐, 경피, 피하, 복내내, 비강내, 소화관내, 국소, 설하, 질내 또는 직장 경로를 포함하는 비경구투여 경로에 의하여 투여될 수 있으나, 이들에 한정되는 것은 아니다.

[0069] 또한, 상기 펩타이드는 생리식염수 또는 유기용매와 같이 약제로 허용된 여러 전달체(carrier)와 혼합하여 사용될 수 있고, 펩타이드의 안정성이나 흡수성을 증가시키기 위하여 글루코스, 수크로스 또는 텍스트란과 같은 카보하이드레이트, 아스코르브 산(ascorbic acid) 또는 글루타치온과 같은 항산화제(antioxidants), 킬레이팅 물질(chelating agents), 저분자 단백질 또는 다른 안정화제(stabilizers)들이 약제로 사용될 수 있다.

[0070] 본 발명의 조성물의 총 유효량은 단일 투여량(single dose)으로 환자에게 투여될 수 있으며, 다중 투여량(multiple dose)으로 장기간 투여되는 분할 치료 방법(fractionated treatment protocol)에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 질환의 정도에 따라 유효성분의 함량을 달리할 수 있다. 바람직하게 본 발명의 펩타이드의 바람직한 전체 용량은 1일당 환자 체중 1 kg 당 약 0.0001 μ g 내지 500 mg, 가장 바람직하게는 0.01 μ g 내지 100 mg일 수 있다. 그러나 상기 펩타이드의 용량은 약학적 조성물의 투여 경로 및 치료 횟수뿐만 아니라 환자의 연령, 체중, 건강 상태, 성별, 질환의 중증도, 식이 및 배설율등 다양한 요인들을 고려하여 환자에 대한 유효 투여량이 결정되는 것이므로, 이러한 점을 고려할 때 당 분야의 통상적인 지식을 가진 자라면 상기 본 발명의 조성물의 특정한 용도에 따른 적절한 유효 투여량을 결정할 수 있을 것이다. 본 발명에 따른 약학적 조성물은 본 발명의 효과를 보이는 한 그 제형, 투여 경로 및 투여 방법에 특별히 제한되지 아니한다.

[0071] 또 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 펩타이드 또는 이의 단편, 또는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 항염증제를 제공한다.

[0072] 또 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 펩타이드 또는 이의 단편을 포함하는 염증의 예방 또는 개선용 의약품 조성물을 제공한다.

[0073] 구체적으로, 본 발명의 조성물은 염증성 질환의 예방 또는 치료를 목적으로 의약품 조성물에 첨가할 수 있다.

[0074] 본 발명에서 용어, "의약품"은 사람이나 동물의 질병을 치료, 경감, 처치 또는 예방할 목적으로 사용되는 섬유, 고무제품 또는 이와 유사한 것, 인체에 대한 작용이 약하거나 인체에 직접 작용하지 아니하며, 기구 또는 기계가 아닌 것과 이와 유사한 것, 감염형 예방을 위하여 살균, 살충 및 이와 유사한 용도로 사용되는 제제 중 하나에 해당하는 물품으로서, 사람이나 동물의 질병을 진단, 치료, 경감, 처치 또는 예방할 목적으로 사용하는 물품 중 기구, 기계 또는 장치가 아닌 것 및 사람이나 동물의 구조와 기능에 약리학적 영향을 줄 목적으로 사용하는 물품 중 기구, 기계 또는 장치가 아닌 것을 의미한다.

[0075] 본 발명의 펩타이드를 의약품 첨가물로 사용할 경우, 상기 펩타이드를 그대로 첨가하거나 다른 의약품 또는 의약품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효성분의 혼합량은 사용 목적에 따라 적합하게 결정될 수 있다.

[0076] 본 발명의 의약품 조성물은 이에 제한되지는 않으나, 바람직하게는 소독청결제, 샤워폼, 가그린, 물티슈, 세제비누, 핸드워시, 가슴기 충전제, 마스크, 연고제 또는 필터충진제일 수 있다.

- [0077] 또 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 펩타이드 또는 이의 단편을 포함하는 염증의 완화 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.
- [0078] 보다 구체적으로, 본 발명의 펩타이드 또는 이의 단편은 염증성 질환의 예방 또는 개선을 목적으로 건강기능식품 조성물에 첨가할 수 있다.
- [0079] 본 발명의 펩타이드 또는 이의 단편을 건강기능식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 펩타이드 또는 이의 단편을 그대로 첨가하거나 다른 건강기능식품 또는 건강기능식품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효성분의 혼합량은 사용 목적에 따라 적합하게 결정될 수 있다.
- [0080] 본 발명의 건강기능식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 펩타이드를 첨가할 수 있는 건강기능식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료 및 비타민 복합제 등이 있고, 통상적인 의미에서의 건강기능식품을 모두 포함할 수 있으며, 동물을 위한 사료로 이용되는 식품을 포함할 수 있다.
- [0081] 상기 외에 본 발명의 건강기능식품 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, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.
- [0082] 또 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 펩타이드 또는 이의 단편을 포함하는 염증의 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공한다.
- [0083] 구체적으로, 본 발명의 펩타이드 또는 이의 단편은 염증의 예방 또는 개선을 목적으로 화장료 조성물에 첨가할 수 있다.
- [0084] 본 발명의 화장료 조성물은 일반적인 유화 제형 및 가용화 제형의 형태로 제조할 수 있다. 상기 유화 제형으로는 영양화장수, 크림, 에센스 등이 있으며, 상기 가용화 제형으로는 유연화장수 등이 있다. 적합한 제형은 이에 제한되지는 않으나, 예를 들어 용액, 겔, 고체 또는 반죽 무수 생성물, 수상에 유상을 분산시켜 얻은 에멀전, 현탁액, 마이크로에멀전, 마이크로캡슐, 미세과립구 또는 이온형 (리포솜), 바이온형의 소낭 분산제의 형태, 크림, 스킨, 로션, 파우더, 연고, 스프레이 또는 콘실 스틱의 형태일 수 있다. 또한, 폼 (foam)의 형태 또는 압축된 추진제를 더 함유한 에어로졸 조성물의 형태일 수 있다.
- [0085] 상기 화장료 조성물은 추가적으로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 향산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제, 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 또는 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온봉쇄제, 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 또는 친유성 활성제, 지질 소낭 또는 화장료 조성물에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다.
- [0086] 또 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 펩타이드 또는 이의 단편, 또는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 약학적 조성물을 염증성 질환 의심 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 염증성 질환의 치료 방법을 제공한다.
- [0087] 본 발명에서 상기 염증성 질환 의심 개체는 염증성 질환이 발병하였거나 발병할 수 있는 인간을 포함한 쥐, 가축 등을 포함하는 포유 동물을 의미하나, 본 발명의 펩타이드로 치료 가능한 개체는 제한 없이 포함된다. 본 발명의 펩타이드를 포함하는 약학적 조성물을 염증성 질환 의심 개체에 투여함으로써, 개체를 효율적으로 치료할 수 있다. 상기 염증성 질환에 대해서는 상기에서 설명한 바와 같다.
- [0088] 본 발명에서 용어, "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 염증성 질환 의심 개체에게 본 발명의 약학적 조성물을 도입하는 것을 의미하며, 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 경구 또는 비경구의 다양한 경로를 통하여 투여될 수 있다.
- [0089] 본 발명의 치료 방법은 펩타이드를 포함하는 약학적 조성물을 약학적 유효량으로 투여하는 것을 포함할 수 있다. 적합한 총 1일 사용량은 올바른 의학적 판단범위 내에서 처치의에 의해 결정될 수 있으며, 1회 또는 수회로 나누어 투여할 수 있다. 그러나 본 발명의 목적상, 특정 환자에 대한 구체적인 치료적 유효량은 달성하고자 하는 반응의 종류와 정도, 경우에 따라 다른 제제가 사용되는지의 여부를 비롯한 구체적 조성물, 환자의 연령,

체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료기간, 구체적 조성물과 함께 사용되거나 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자와 의약 분야에 잘 알려진 유사 인자에 따라 다르게 적용하는 것이 바람직하다.

- [0090] 또 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 펩타이드 모방체 (peptidomimetic)의 제조 방법을 제공하는 것이다.
- [0091] 구체적으로, 상기 펩타이드 또는 이의 단편으로부터 항염증 활성이 있는 펩타이드 모방체 (peptidomimetic)를 설계하는 단계; 및 상기 설계된 펩타이드 모방체를 합성하는 단계를 포함하는, 상기 펩타이드 모방체의 제조 방법일 수 있다.
- [0092] 본 발명에서 용어, "펩타이드 모방체"는 아미노산의 펩타이드 모방체에 의한 치환이 단백질의 활성에 유의성 있게 영향을 미치지 않는다는 점에서, 단백질에 있는 천연의 모 아미노산 (parent amino acid)을 모방할 수 있는 화합물로서, 아미노산의 잔기나 펩타이드 결합이 치환 또는 수식된 것을 의미할 수 있다. 펩타이드 모방체를 포함하는 단백질은 일반적으로 단백질 분해효소 (protease)의 열등한 기질이고 천연 단백질에 비해 보다 긴 시간 동안 인 비보에서 (in vivo) 활성을 가질 것이다.
- [0093] 펩타이드 모방체는 예를 들어, 컴퓨터화된 분자 모델링을 이용하여 설계될 수 있다. 펩타이드 모방체는 당분야에 공지된 방법을 통해서, $-\text{CH}_2\text{NH}-$, $-\text{CH}_2\text{S}-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-$ (시스 및 트랜스), $-\text{CH}-\text{CF}-$ (트랜스), CoCH_2- , $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$ 및 $-\text{CH}_2\text{SO}-$ 로 이루어진 군에서 선택된 결합부로 경우에 따라 치환된 1 이상의 펩타이드 결합을 갖는 구조를 포함하도록 설계될 수 있다. 바람직하게, 이러한 펩타이드 모방체는 보다 나은 화학적 안정성, 강화된 약리 특성 (반감기, 흡수성, 역가, 효능 등), 변경된 특이성 (예를 들어, 광범위한 생물학적 활성 스펙트럼), 감소된 항원성을 가지며, 보다 경제적으로 제조될 수 있다. 바람직하게, 펩타이드 모방체는 정량적 구조-활성 데이터 및/또는 분자 모델링을 통해 예상되는 유사체 상에 비간섭 위치(들)에, 직접 또는 스페이서 (예를 들어, 아미드 기)를 통해, 1 이상의 표지 또는 접합체와의 공유 부착을 포함할 수 있다. 이러한 비간섭 위치들은 대체로 치료 효과를 생성하도록 펩타이드 모방체가 특이적으로 결합하는 수용체(들)과 직접 접촉부를 형성하지 않는 위치이다. 또한, 동일 유형의 D-아미노산으로 공통 서열의 1 이상의 아미노산을 체계적으로 치환 (예를 들어, L-리신 대신 D-리신으로)시키는 것을 사용하여 목적하는 특성인 항염증 효과를 갖는 보다 안정한 펩타이드를 생성시킬 수 있다.
- [0094] 본 발명이 속하는 기술 분야의 당업자는 펩타이드 모방체를 포함하는 단백질의 설계 및 제조는 과도한 실험을 요구하지 않는다는 것을 이해할 것이다. 예를 들면, Ripka et al., Kieber-Emmons et al., 또는 Sanderson 문헌 [Curr. Opin. Chem. Biol. (1998) 2, 441-452; Curr. Opin. Biotechnol. (1997) 8, 435-441; Med. Res. Rev. (1999) 19, 179-197]을 참조할 수 있다.
- [0095] 또 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 펩타이드 모방체를 설계하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0096] 본 발명의 신규 펩타이드 또는 이의 단편은 항염증 효과가 우수하며, 크기가 작은 펩타이드체제로서, 부작용이 적으며 기존의 염증성 질환의 치료제인 데사메타손 및 메토타렉세이트를 대체할 것으로 기대된다. 이에 본 발명의 펩타이드는 자가면역질환을 포함하는 염증성 질환의 치료제로서 이용될 수 있을 것이다. 아울러, 의약품 조성물, 건강기능식품 조성물, 화장료 조성물 등 다양한 염증 완화와 관련된 제품에 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0097] 도 1은 본 발명의 펩타이드 SIS-1의 항염증 효과를 확인하고자 실시한 TPA 유도성 귀 부종 마우스 모델의 시험 과정 및 시험군을 나타낸 모식도이다.
- 도 2는 TPA 유도 귀 부종 마우스 모델에서 본 발명의 펩타이드 SIS-1의 투여로 인한 TPA 유도 마우스 귀 홍반 및 부종의 변화를 촬영한 사진이다.

도 3은 TPA 유도 귀 부종 마우스 모델에서 본 발명의 펩타이드 SIS-1의 투여로 인한 염증 완화 효과를 확인하고자, 마우스 귀 두께 및 일정면적당 무게를 측정한 그래프이다.

도 4는 본 발명의 펩타이드 SIS-1의 관절염 치료 효과를 확인하고자 실시한 콜라겐 유도 관절염 마우스 모델의 시험 과정 및 시험군을 나타낸 모식도이다.

도 5는 콜라겐 유도 관절염 마우스 모델에서 2차 면역화 이후 주기적으로 마우스 무게를 측정한 그래프이다.

도 6은 콜라겐 유도 관절염 마우스 모델에서 2차 면역화 이후 주기적으로 관절염의 발생 빈도를 측정한 그래프이다.

도 7은 콜라겐 유도 관절염 마우스 모델에서 펩타이드 SIS-1의 투여로 인한 류마티스 관절염 치료 효과를 확인하고자, 2차 면역화 이후 주기적으로 관절염 진행 지수와 족부 무게를 측정한 그래프이다.

도 8은 콜라겐 유도 관절염 마우스 모델 시험이 종료되기 직전, 펩타이드 SIS-1의 투여로 인한 족부 관절 부위의 상태를 촬영한 사진이다.

도 9는 콜라겐 유도 관절염 마우스 모델 시험이 종료된 후, 펩타이드 SIS-1의 투여로 인한 족부 관절과 연골 조직의 파괴 정도를 조직 염색을 통해 확인한 결과이다.

도 10은 콜라겐 유도 관절염 마우스 모델에서 펩타이드 SIS-1의 투여로 인한 혈청 내 소의 2형 콜라겐에 특이적인 항체 생산량을 측정한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하기로 한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는다.

실시예 1: 펩타이드 제작

자동 펩타이드 합성기(Milligen 9050, Millipore, 미국)를 이용하여 하기 표 1에 기재된 아미노산 서열을 갖는 펩타이드들을 합성하고, C18 역상 고성능액체크로마토그래피 (HPLC, Waters Associates, USA)를 이용하여 이들 합성된 펩타이드를 순수 분리하였다. 컬럼은 ACQUITY UPLC BEH300 C18 (2.1 x 100 mm, 1.7 μ m, Waters Co, USA)을 이용하였다.

표 1

서열번호	펩타이드 명칭	펩타이드 서열
1	SIS-1	MSLPSPRDGRTDGRDCTR
2	SIS-1#1	MSLPSP
3	SIS-1#2	RDGRTDG
4	SIS-1#3	RTDCTR
5	SIS-1#4	MSLPSPRDGRTDG
6	SIS-1#5	PSPRDG
7	SIS-1#6	PSPRDGRTDG
8	SIS-1#7	RTDG
9	SIS-1#8	RDGRTDGRD
10	SIS-1#9	DGRTDG
11	SIS-1#10	GRTDG
12	SIS-1#11	TDG
13	SIS-1#12	DG
14	SIS-1#13	RD
15	SIS-1#14	RDG
16	SIS-1#15	RDGR
17	SIS-1#16	RDGRT
18	SIS-1#17	RDGRTD

[0102] **실시예 2: 활성화된 B 세포에서의 염증성 사이토카인 분비 감소 분석**

[0103] 상기 실시예 1에서 제조한 신규 펩타이드들의 염증성 사이토카인의 분비 감소 활성을 확인하기 위하여, 활성화된 병증성 B 세포 (pathogenic B cell)에 제조된 18종의 신규 펩타이드 각각 처리하여 B 세포에서 분비되는 염증성 사이토카인 분비의 감소 여부를 확인하고자 하였다.

[0104] 구체적으로, 신규 펩타이드들이 병증의 발생에 관여하는 병증성 B 세포를 약화시킬 수 있는지 확인하기 위해 류마티스 관절염 관절 침윤 B 세포와 유사한 in vitro B 세포 모델을 이용하였다. EBV (Epstein barr virus) 감염 B 세포에 anti-CD150 항체로 자극하여 활성화시킨 병증성 B 세포를 생성하고, 신규 펩타이드 18종을 100 ng/ml로 각각 세포에 처리하였다.

[0105] 신규 펩타이드 18종의 염증성 사이토카인 감소 효능을 확인하기 위해 활성화된 B 세포에서 분비되는 다양한 사이토카인 (IL-1A, IL-1B, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12A, IL-13, IL-17A, GM-CSF, IL-34)의 분비량을 측정하였다. B 세포의 배양 상층액을 이용하여 효소결합 면역측정법 (ELISA)을 수행하였으며, 시험 결과는 발색 시약의 흡광도 (Absorbance, 450nm-570nm) 차이를 측정하였다. 측정된 발색 시약의 흡광도 차이를 토대로 anti-CD150 항체로 자극하여 활성화된 B 세포에서 분비되는 사이토카인에 해당하는 흡광도를 100%로 두고 18종의 신규 사이토카인을 처리하였을 때 분비되는 사이토카인의 흡광도를 퍼센트로 환산하였다. 이 때 감소되는 사이토카인의 퍼센트율을 표 2에 나타내었다.

표 2

[0106]

서열 번호	펩타이드 명칭	CD150 자극 EBV-t B 세포에 비교한 각 사이토 카인의 저해율(%)													
		IL-1A	IL-1B	IL-2	IL-4	IL-5	IL-6	IL-8	IL-10	IL-12A	IL-13	IL-17A	IL-34	GM-CSF	
1	SIS-1	22.7	25.4	19.7	59.9	30.3	42.9	53.8	47.6	43.5	37.6	63.6	43.4	60.5	
2	SIS-1#1	7.8	9.3	13.5	19.8	18.5	19.2	17.5	7.2	19.8	15.0	24.8	18.8	18.0	
3	SIS-1#2	23.8	18.2	15.1	23.8	25.4	29.8	25.2	19.8	30.1	23.8	39.8	25.4	19.0	
4	SIS-1#3	14.0	20.0	12.3	13.2	17.4	18.2	19.2	25.2	19.4	10.2	11.0	9.8	7.2	
5	SIS-1#4	18.1	16.5	18.8	20.8	20.4	32.3	32.0	18.0	33.9	23.1	43.0	16.8	18.5	
6	SIS-1#5	8.3	14.2	6.8	13.2	9.8	18.7	10.5	7.2	8.9	15.2	12.8	13.2	7.5	
7	SIS-1#6	12.0	15.2	23.1	20.5	15.6	33.9	28.0	4.5	30.8	29.4	42.2	31.0	21.2	
8	SIS-1#7	6.3	5.3	7.4	10.2	3.5	11.8	3.2	5.3	11.4	3.6	9.5	2.9	4.5	
9	SIS-1#8	30.2	25.9	33.0	18.9	12.0	23.8	29.2	10.0	19.2	33.5	30.1	19.8	19.8	
10	SIS-1#9	20.4	18.2	15.5	16.0	16.2	18.8	15.4	14.2	20.8	13.2	9.2	15.0	15.0	
11	SIS-1#10	7.8	4.2	11.4	19.5	24.2	25.0	17.9	7.5	29.8	25.7	25.0	27.0	13.0	
12	SIS-1#11	6.0	2.7	3.2	19.5	10.8	8.1	4.2	4.2	6.8	5.9	6.3	7.2	4.2	
13	SIS-1#12	0.3	1.3	1.2	1.3	0.9	3.1	0.1	0.3	2.9	0.9	0.3	0.3	1.0	
14	SIS-1#13	1.0	1.2	1.6	1.6	2.5	1.2	0.7	1.0	1.2	0.5	0.7	0.1	0.5	
15	SIS-1#14	7.2	5.3	10.2	3.0	11.0	1.5	5.7	10.4	2.9	4.4	7.7	4.2	0.3	
16	SIS-1#15	11.5	5.7	12.7	6.3	6.4	4.8	15.0	7.2	10.8	7.2	10.1	6.0	1.5	
17	SIS-1#16	16.2	17.0	15.4	23.9	20.3	22.8	33.0	31.2	29.8	24.5	32.8	23.1	6.2	
18	SIS-1#17	18.8	20.5	17.0	32.0	14.0	16.8	22.0	15.8	16.0	14.8	23.8	20.8	14.8	

[0107] 그 결과, anti-CD150 항체로 자극하여 활성화된 B 세포 (EBVt-B /anti-CD150)에서 증가된 다양한 염증성 사이토카인의 분비가 신규 펩타이드 18종을 함께 처리한 실험군 (EBVt-B /anti-CD150 /SIS-1 및 18종 펩타이드)에서는 효과적으로 감소됨을 관찰할 수 있었다 (표 2).

[0108]

[0109] 이와 같은 결과들은 본 발명의 신규 펩타이드들이 염증성 사이토카인의 분비를 효과적으로 감소시키고 이로 인하여 염증성 질환을 치료할 수 있음을 뒷받침하는 것이다.

[0110] **실시예 3: TPA 유도 귀 부종 마우스 모델을 이용한 염증 완화 효과 분석**

[0111] 본 발명자들은 상기 실시예 2에서 확인한 염증성 사이토카인 분비의 감소와 함께, in vivo상에서도 효과적으로 염증완화 효과가 있음을 확인하였다. 구체적으로, 상기 실시예 1에서 제조한 신규 펩타이드 18종 중에서 대표적인 펩타이드인 SIS-1의 항염증 효과를 확인하기 위하여, 하기 문헌의 TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate)로 급성염증을 유도하는 마우스 귀 부종 평가법을 이용하였다 (Eur J Pharmacol. 2011; 15;672(1-3):175-179.).

[0112] **3-1. TPA 유도 귀 부종 마우스 모델의 제조 및 투여**

[0113] TPA 유도 귀 부종 마우스 모델 (TPA-induced ear edema)은 급성 염증에 인한 홍반과 부종을 관찰할 수 있는 모델로, 하기와 같이 제조하였다. 자세한 시험법과 그룹은 도 1에서 보는 바와 같다. 5주령 ICR 마우스 (C57BL/6, mal, 중앙실험동물, Korea) 24마리를 각 그룹당 6마리씩, 양쪽 귀를 시료 적용 전 제모 하였다. 우측 귀에 acetone TPA 2.5 μ g를 도포하여 부종 (edema)을 유도하였고, 좌측 귀에는 Vehicle을 도포하여 염증 유발 정도를 알아보기 위한 대조군으로 이용하였다. 약물 투여는 TPA 도포 후, 0.5시간 내지 3시간째에 두 차례 각각 진행하였다. 신규 펩타이드 SIS-1과 대조 약물인 MTX (Methotrexate), DEX (Dexamethasone)를 복강 내 주입하였고, 대조군은 인산완충식염수 (phosphate buffered saline, PBS)를 처리하였다.

[0114] **3-2. 심화 정도 측정**

[0115] 펩타이드 SIS-1의 항염증 효과는 Vehicle을 주입한 대조군을 기준으로 부종 억제 정도로 판정하였다. TPA 도포 6시간 후, 귀의 부종의 정도를 파악하고자 양쪽 귀 사진 촬영하였고, 귀의 두께 및 일정 면적당 무게를 측정하여 염증 완화 정도를 확인하였다.

[0116] 그 결과, TPA에 의해 증가된 홍반이 펩타이드 SIS-1 처리군에서 감소됨을 확인하였고, 대조 약물인 MTX와 DEX 대비 유사한 수준으로 항염증 효과를 가지는 것으로 나타났다 (도 2). 또한, TPA에 의한 부종 발생은 귀 두께 및 무게를 증가시키는데, 신규 펩타이드 SIS-1은 TPA에 의한 이러한 염증 반응을 유의성 있게 억제함을 확인하였다 (도 3).

[0117] 이와 같은 결과는 본 발명의 신규 펩타이드가 실제 동물 모델에서도 염증을 완화하여 염증성 질환을 치료할 수 있음을 시사하는 것이다.

[0118] **실시예 4: 콜라겐 유도 관절염 마우스 모델을 이용한 류마티스 관절염 치료 효과 분석**

[0119] 상기 실시예 1에서 제조한 신규 펩타이드 18종 중에서 대표적인 펩타이드인 SIS-1의 대표적인 자가면역 질환인 관절염 치료 효과를 알아보기 위하여 하기 문헌의 콜라겐 유도 관절염 마우스 모델을 이용하여 시험하였다 (Nature, 283, pp666-668, 1980; Arthritis Rheum, 46, pp793-801, 2002).

[0120] **4-1. 콜라겐 유도 관절염 마우스 모델의 제조 및 투여**

[0121] 콜라겐 유도 관절염 (collagen-induced arthritis, CIA) 마우스 모델은 인간의 류마티스성 관절염과 유사한 특징을 지닌 자가면역질환 계열의 관절염 모델로서, 하기와 같이 제조하였다.

[0122] 자세한 시험법과 그룹은 도 4에서 보는 바와 같다. 소의 2형 콜라겐 (Chondrex사, 미국) 100 μ g를 프로인트 완전 보조제 (Freund's complete adjuvant, Chondrex사, 미국)에 혼합하여 에멀전화 (emulsification)한 후, 이 에멀전화된 콜라겐 용액을 7 주령의 DBA/1 마우스 (C57BL/6, mal, 중앙실험동물, Korea)의 꼬리 부위에 피내 주사하여 면역시켰다. 1차 면역 후 14일째에 소의 2형 콜라겐 50 μ g를 프로인트 불완전 보조제 (Freund's incomplete adjuvant, Chondrex사, 미국)에 혼합하여 에멀전화한 후, 꼬리 부위에 피내 주사하여 2차 면역

(boosting) 반응을 유도하였다.

[0123] 2차 면역 반응 유도 후, 그 다음날로부터 주 3회씩 신규 펩타이드 SIS-1을 비롯한 대조 약물, DEX (Dexamethasone)를 복강 투여하였고, 대조군 (CIA)에는 PBS를 처리하였다.

[0124] **4-2. 관절염 심화 정도 평가**

[0125] 관절염 진행 추이를 살피고자, 몸무게 변화 및 발병 정도를 관찰하며, loop handle thickness gauge (Mitutoyo)를 사용하여 족부 두께도 측정하였다. 또한, 실험의 내용을 알고 있지 않은 관찰자 두 명이 일주일에 세 번씩 관절 염증의 위증도를 평가하였다. 이때 관절염 평가는 Rossolignec 등에 의한 관절염 진행 지수에 기준하여 마리당 네 다리에서 아래의 척도에 따라 매긴 점수를 합하며, 각각 2명의 관찰자가 얻은 수치를 합산하여 나눈 평균치를 사용하였다. 관절염 평가에 따른 점수와 기준은 다음과 같다.

[0126] 0점 : 부종이나 종창이 없다.

[0127] 1점 : 발 또는 발목관절에 국한된 경한 부종과 발적

[0128] 2점 : 발목관절에서 족근골(metatarsal)에 걸친 경한 부종과 발적

[0129] 3점 : 발목관절에서 족근골에 걸친 중등도의 부종과 발적

[0130] 4점 : 발목에서 다리 전체에 걸쳐 부종과 발적이 있고 관절 경직이 나타남

[0131] 다리 하나당 최고의 관절염 지수는 4 점이므로, 마우스 1 마리당 최고의 질병 지수는 16이다.

[0132] 그 결과, 정상 마우스군 (Normal)과 비교하여 CIA 유도를 통해 관절염을 발생시킨 CIA군서 체중이 다소 감소함을 경향을 관찰하였다 (도 5). 이는 질환 생성에 따른 자연적인 체중 감소로 보인다. 하지만 신규 펩타이드 SIS-1 처리군에서는 Normal군과 유사한 수준의 체중이 유지되었는데, 이는 병증 완화에 따른 현상으로 확인하여 (도 5), 본 발명의 펩타이드가 효과적으로 체중 감소를 완화시켜 관절염을 치료할 수 있음을 확인하였다.

[0133] 또한, 2차 면역화 이후 관절염의 발생 빈도를 측정한 결과 (도 6)에서는 마우스의 족부 중 한 곳이라도 병증이 나타났을 때, 해당 마우스는 관절염의 발생에 있어서 긍정적이라 판단하였다. CIA군에서 면역화 이후 약 44 일째를 기점으로 100% 관절염이 유도됨을 확인할 수 있었다. 반면, 신규 펩타이드 SIS-1을 처리군은 시험 종료일까지 87.5%만 관절염이 유도, 병증을 지연됨을 알 수 있었다 (도 6). 또한, CIA군에 비해 신규펩타이드 SIS-1 처리가 관절염 진행 지수와 발목 관절부위의 붓기 정도가 유의적으로 감소시킴을 확인할 수 있었다 (도 7 내지 8).

[0134] **4-3. 조직학적 분석**

[0135] 관절부위의 연골 손상을 파악하고자 시험 종료 후 조직학적 검사를 실시하였다. 상기 동물 모델 시험 9주째, 시험 동물을 치사시킨 뒤 마우스의 뒷발을 10% 포르말린 (formalin)으로 고정하고 뼈에서 석회질을 제거한 후 파라핀을 문혔다. 관절 절편을 준비하고 헤마톡실린(hematoxylin)과 에오신(eosin)으로 염색하였다.

[0136] 그 결과, Normal군에 비해 CIA군의 관절은 많은 면역 세포들이 침식 (infiltration)되어 있었으며 판누스 (pannus) 형성, 연골파괴 및 뼈 침식 등이 관찰되었다. 반면, 신규 펩타이드 SIS-1을 처리한 마우스의 관절과 연골의 파괴 정도는 정상 마우스와 유사하게 유지되는 것을 확인하였다 (도 9).

[0137] **4-4. 혈청학적 분석 (콜라겐에 특이적인 항체 측정)**

[0138] 신규 펩타이드 SIS-1의 관절염의 치유효과를 확인하기 위해 혈청학적인 실험으로 소의 2형 콜라겐에 특이적인 항체를 측정하기 위해 효소결합 면역측정법 (ELISA)을 수행하였다. 하기 문헌에서 언급된바와 같이, 류마티스 인자 (Rheumatoid factor; RF)로 알려진 IgG 내지 IgG 항체의 아형 (IgG1 및 IgG2a) 및 IgM 자가항체는 면역복합체를 형성하여 염증 유발, 류마티스 관절염의 병변을 진행하는 것으로 알려져 있다 (Journal of

Ethnopharmacology 112 (2007) 408).

[0139] 각 시험군의 혈청을 1:25000 (IgG) 또는 1:10000 (IgG1, IgG2a, IgM)으로 희석한 후 의 2형 콜라겐에 특이적인 혈청 자가항체의 역가를 측정하였다.

[0140] 그 결과, CIA 유도를 통해 관절염을 발생시킨 CIA군의 혈청 내에는 모든 자가항체가 높은 수준으로 증가됨을 관찰되었다. 이에 반해, 신규 펩타이드 SIS-1 처리한 마우스에서는 이들의 생성이 40 내지 50% 가량 유의적으로 감소하였고, 대조 약물인 DEX을 처리한 군과 유사 또는 우수한 효과임을 확인하였다 (도 10).

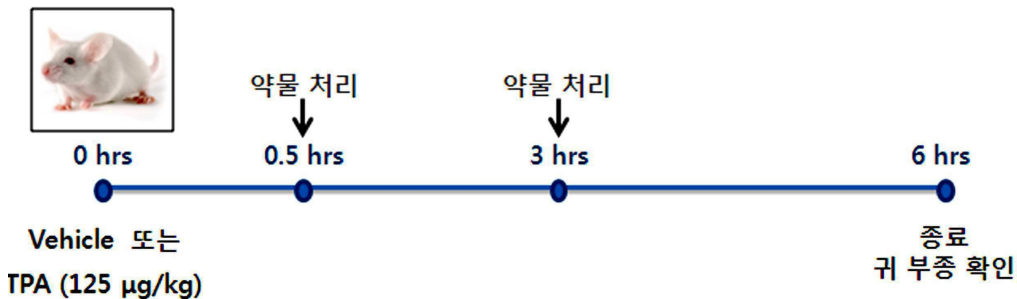
[0141] 상기와 같은 결과들은 본 발명의 펩타이드들이 자가면역 질환 동물 모델에서도 효과적으로 치료하여 염증성 질환, 그 중에서도 자가면역 질환을 효과적으로 치료 또는 예방할 수 있음을 뒷받침하는 결과이다.

[0142] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당 업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시 예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

도면1

ICR 수컷, 5주령



Group명	처리		개체수
Control	TPA 처리	PBS (i.p., 2회)	6
SIS-1		SIS-1 (i.p., 2회)	6
MTX		Methotrexate (i.p., 2회)	6
DEX		Dexamethasone (i.p., 2회)	6

도면2

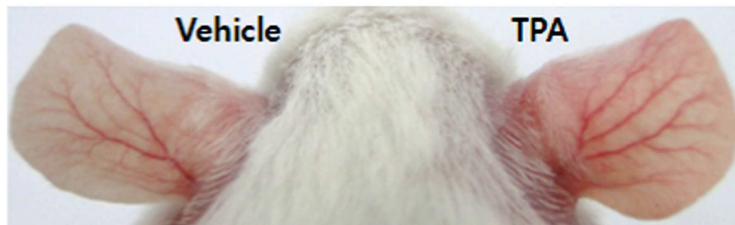
Control



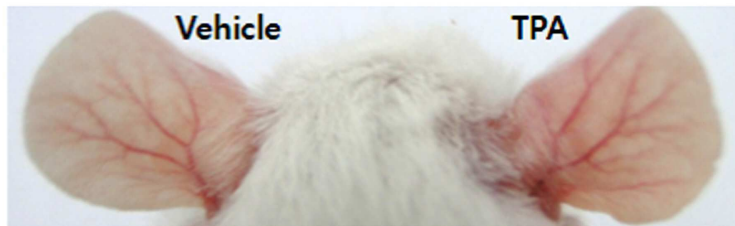
SIS-1



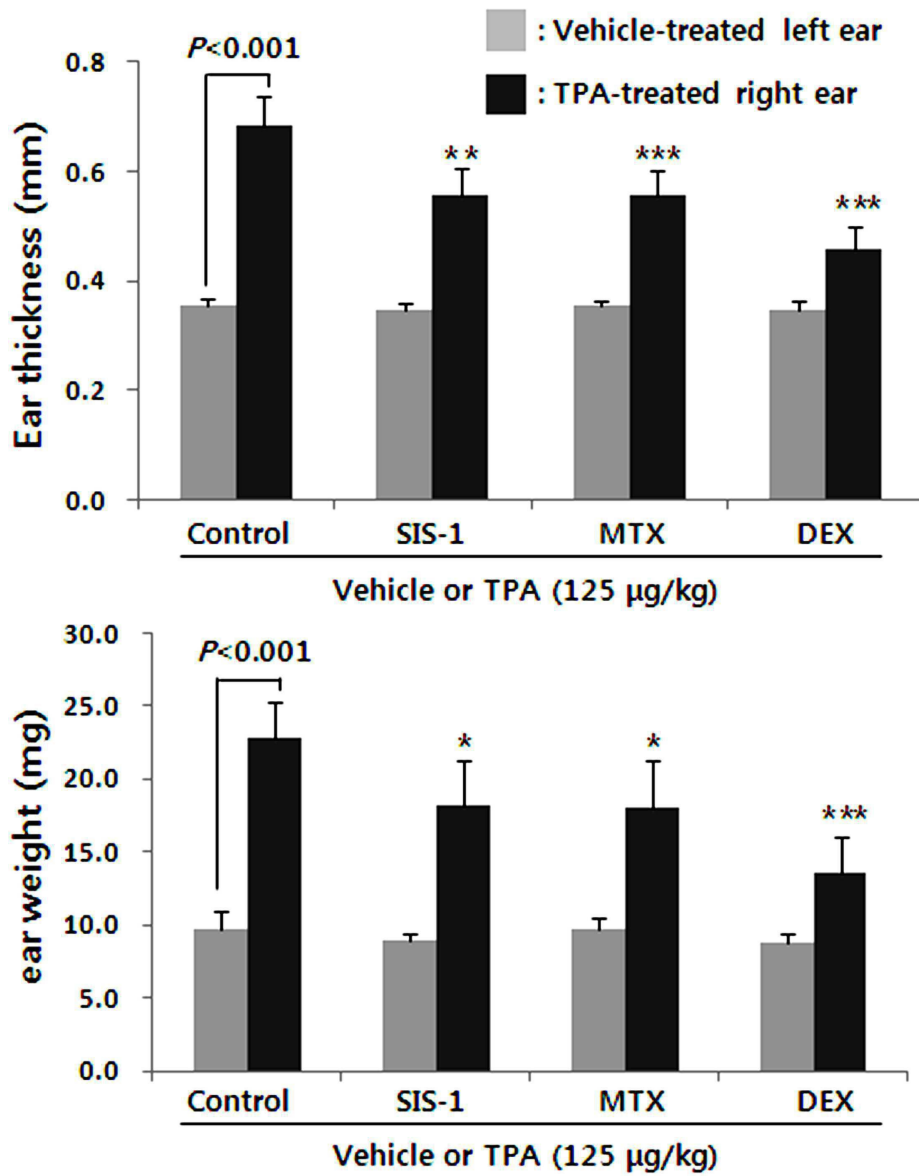
MTX



DEX



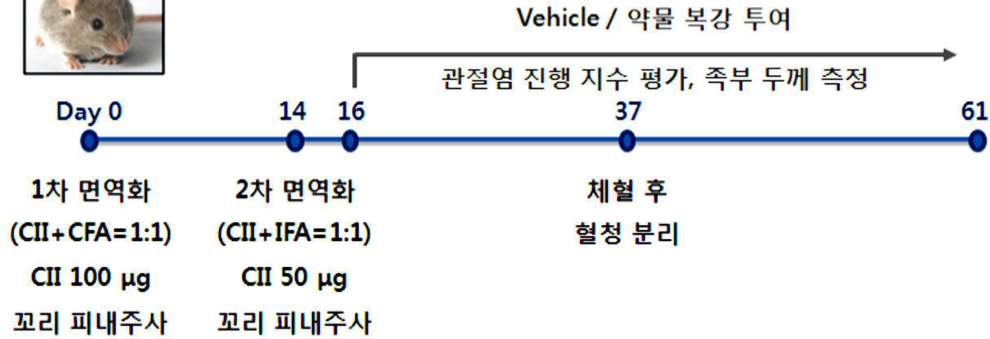
도면3



*; $P < 0.05$, **; $P < 0.01$, ***; $P < 0.001$ versus the control

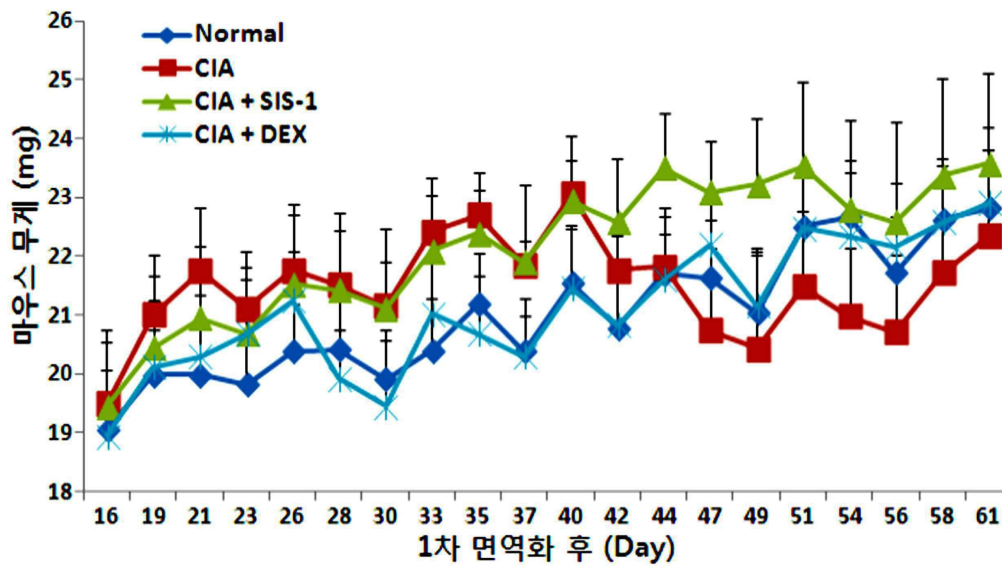
도면4

DBA/1J 수컷, 7주령

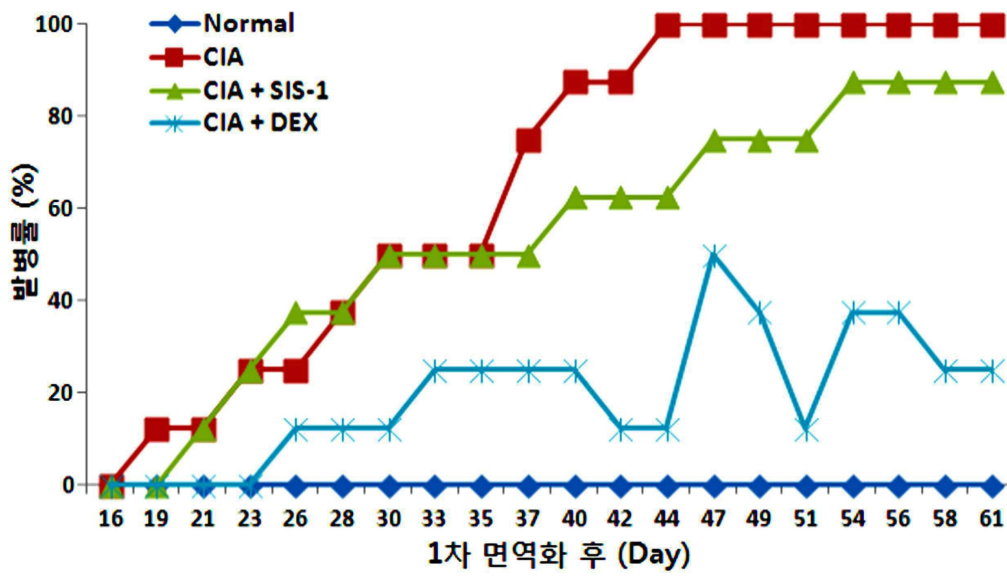


Group명	처리		개체수
Normal	-		5
CIA	CIA 유도	PBS (i.p., 주3회)	8
CIA + SIS-1		SIS-1 (i.p., 주3회)	8
CIA + DEX		Dexamethasone (i.p., 주3회)	8

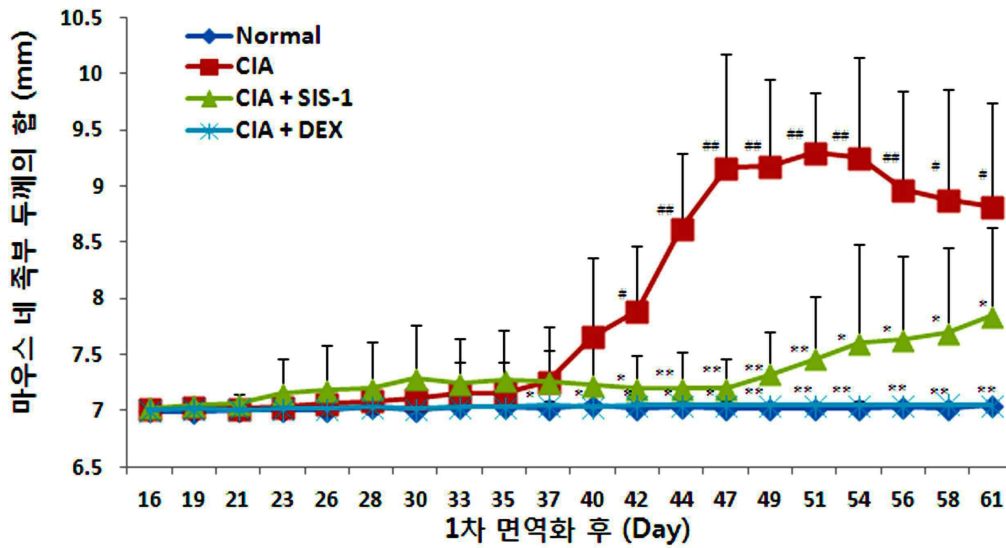
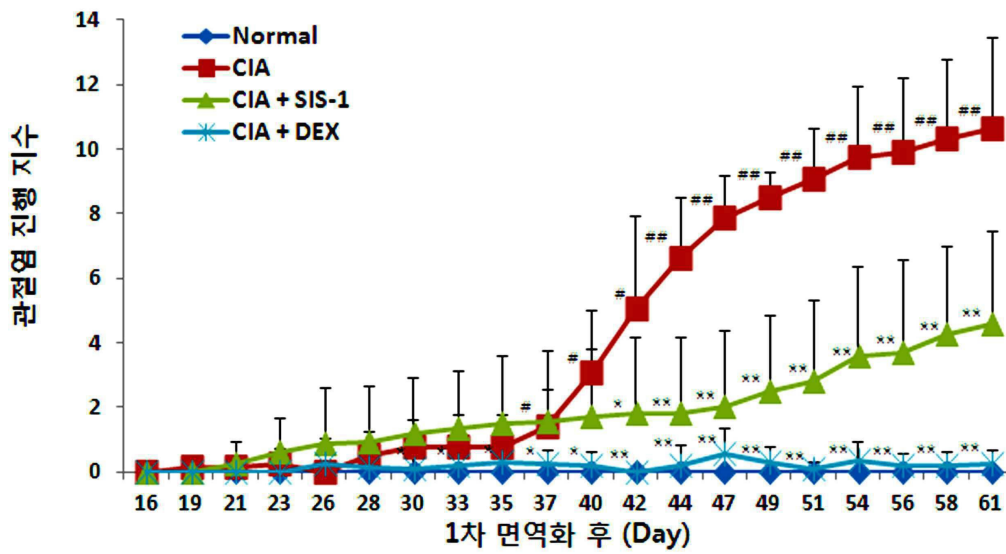
도면5



도면6



도면7



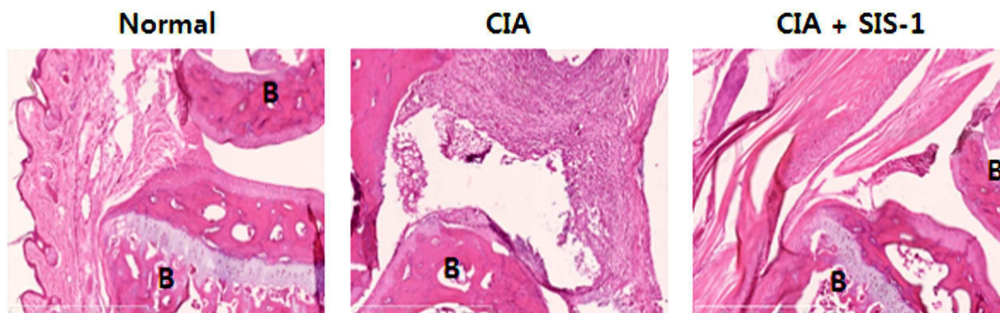
#; $P < 0.05$, ##; $P < 0.001$ versus the normal group

*; $P < 0.05$, **; $P < 0.001$ versus the CIA group

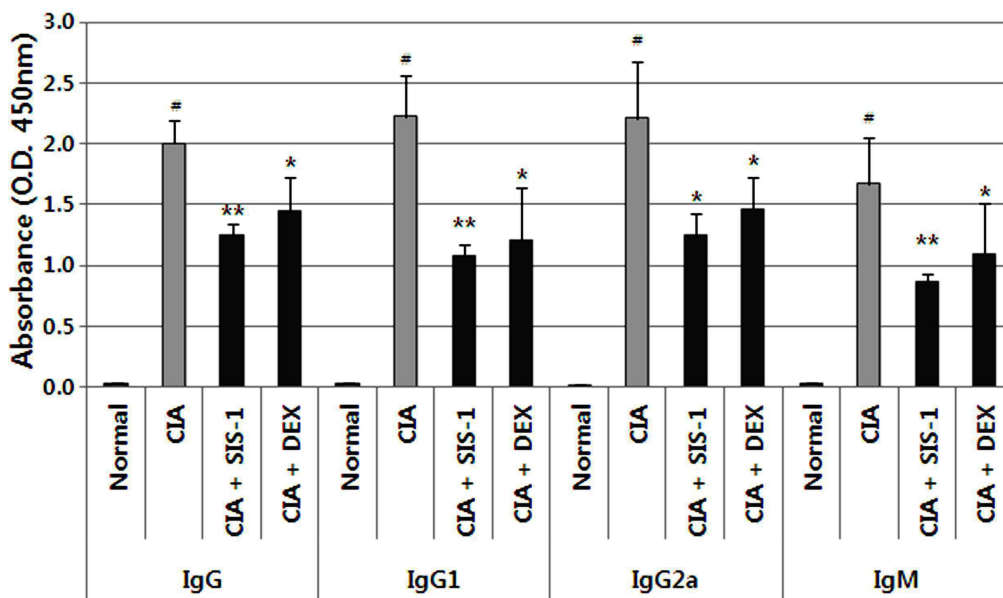
도면8



도면9



도면10



[#]; $P < 0.001$ versus the normal group
^{*}; $P < 0.05$, ^{**}; $P < 0.001$ versus the CIA group

서열 목록

<110> IL-YANG PHARM. CO.,LTD
INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION, SOOKMYUNG WOMEN'S UNIVERSITY
SAMSUNG LIFE PUBLIC WELFARE FOUNDATION

<120> Novel peptides and use thereof

<130> PA130575/KR

<150> 10-2012-0072513

<151> 2012-07-03

<160> 18

<170> Kopatent In 2.0

<210> 1

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SIS-1 peptide

<400> 1

Met Ser Leu Pro Ser Pro Arg Asp Gly Arg Thr Asp Gly Arg Thr Asp

1 5 10 15

Cys Thr Arg

<210> 2

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SIS-1#1 peptide

<400> 2

Met Ser Leu Pro Ser Pro

1 5

<210> 3

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SIS-1#2 peptide

<400> 3

Arg Asp Gly Arg Thr Asp Gly

1 5

<210> 4

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SIS-1#3 peptide

<400> 4

Arg Thr Asp Cys Thr Arg

1 5

<210> 5

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SIS-1#4 peptide

<400> 5

Met Ser Leu Pro Ser Pro Arg Asp Gly Arg Thr Asp Gly

1 5 10

<210> 6

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SIS-1#5 peptide

<400> 6

Pro Ser Pro Arg Asp Gly

1 5

<210> 7

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SIS-1#6 peptide

<400> 7

Pro Ser Pro Arg Asp Gly Arg Thr Asp Gly

1 5 10

<210> 8

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SIS-1#7 peptide

<400> 8

Arg Thr Asp Gly

1

<210> 9

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SIS-1#8 peptide

<400> 9

Arg Asp Gly Arg Thr Asp Gly Arg Thr Asp

1

5

10

<210> 10

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SIS-1#9 peptide

<400> 10

Asp Gly Arg Thr Asp Gly

1

5

<210> 11

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SIS-1#10 peptide

<400> 11

Gly Arg Thr Asp Gly

1

5

<210> 12

<211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> SIS-1#11 peptide
 <400> 12
 Thr Asp Gly
 1
 <210> 13
 <211> 2
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> SIS-1#12 peptide

 <400> 13
 Asp Gly
 1
 <210> 14
 <211> 2
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> SIS-1#13 peptide
 <400> 14
 Arg Asp
 1
 <210> 15
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> SIS-1#14 peptide
 <400> 15
 Arg Asp Gly
 1
 <210> 16
 <211> 4
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence
 <220><223> SIS-1#15 peptide
 <400> 16
 Arg Asp Gly Arg
 1
 <210> 17
 <211> 5
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence
 <220><223> SIS-1#16 peptide
 <400> 17
 Arg Asp Gly Arg Thr
 1 5
 <210> 18
 <211> 6
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence
 <220><223> SIS-1#17 peptide
 <400> 18
 Arg Asp Gly Arg Thr Asp
 1 5