



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0171807  
(43) 공개일자 2024년12월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 38/17 (2006.01) A61K 31/55 (2006.01)  
A61K 31/551 (2006.01) A61K 31/5513 (2006.01)  
A61K 45/06 (2006.01) A61K 9/00 (2006.01)  
A61P 25/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 38/1787 (2013.01)  
A61K 31/55 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2023-0070202

(22) 출원일자 2023년05월31일

심사청구일자 2023년05월31일

(71) 출원인

한국과학기술연구원

서울특별시 성북구 화랑로14길 5 (하월곡동)

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

남민호

서울특별시 동대문구 사가정로 65, 104동 404호  
(전농동, 래미안 크레시티)

이효원

서울특별시 성북구 월곡로18가길 30 (하월곡동)  
(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인 무한

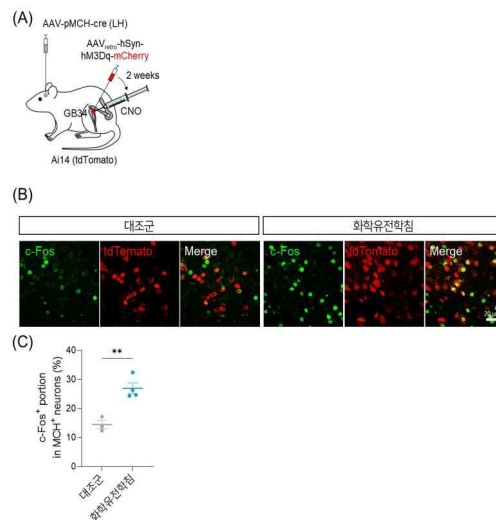
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 침 치료 모사용 조성물

(57) 요약

본 발명은 경혈에 투여되는 Gq-DREADD 발현용 벡터를 유효성분으로 포함하는 침 치료 모사용 조성물 등에 관한 것으로서, 본 발명은 경혈에 화학유전학을 적용한 침 치료 모사의 기술을 제공하여 비침습적 방법으로 개체의 신경세포에서 Gq-DREADD를 발현시키고 이를 활성화함으로써 개체의 인지 및/또는 운동 능력을 향상시키고, 신경병 증성 통증을 감소시키며 아토피 피부염 증상을 완화시킬 수 있는바, 시술자에 따라 동일한 결과를 담보할 수 없는 침 치료를 대체하는 수단으로 이용될 것으로 기대된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 31/551 (2013.01)  
A61K 31/5513 (2013.01)  
A61K 45/06 (2013.01)  
A61K 9/0014 (2013.01)  
A61P 25/00 (2018.01)  
A61K 2300/00 (2023.05)

(72) 발명자

**오수진**

서울특별시 서초구 잠원로 60, 106동 901호 (잠원동, 신반포자이)

**이승은**

서울특별시 강남구 자곡로3길 45, 408동 604호 (자곡동, 강남브리즈힐)

**박희준**

서울특별시 강동구 동남로71길 41 (명일동, 고덕현대아파트)

**오주영**

서울특별시 동대문구 회기로23나길 1 (회기동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

|             |                                               |
|-------------|-----------------------------------------------|
| 과제고유번호      | 1711188200                                    |
| 과제번호        | 2022R1C1C1006167                              |
| 부처명         | 과학기술정보통신부                                     |
| 과제관리(전문)기관명 | 한국연구재단                                        |
| 연구사업명       | 개인기초연구(과기정통부)                                 |
| 연구과제명       | 파킨슨병의 운동/인지 증상을 조절하는 신규 시상하부 신경회로 및 분자, 세포 수준 |
| 의 기전 규명     |                                               |
| 기 여 율       | 1/2                                           |
| 과제수행기관명     | 한국과학기술연구원                                     |
| 연구기간        | 2022.03.01 ~ 2026.02.28                       |

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

|             |                                      |
|-------------|--------------------------------------|
| 과제고유번호      | 1711180176                           |
| 과제번호        | 2021R1A2C2006818                     |
| 부처명         | 과학기술정보통신부                            |
| 과제관리(전문)기관명 | 한국연구재단                               |
| 연구사업명       | 개인기초연구(과기정통부)                        |
| 연구과제명       | 경혈-장-뇌 연계성 규명을 통한 파킨슨병 침치료 기전 가시화 연구 |
| 기 여 율       | 1/2                                  |
| 과제수행기관명     | 경희대학교 산학협력단                          |
| 연구기간        | 2021.03.01 ~ 2026.02.28              |

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

Gq-DREADD(hM3Dq)를 발현하는 박터를 유효성분으로 포함하는, 침 치료 모사용 조성물로서,  
상기 조성물은 경혈에 투여되는 것을 특징으로 하는, 조성물.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,  
상기 박터는 바이러스 박터인 것인, 조성물.

#### 청구항 3

제2항에 있어서,  
상기 바이러스 박터는 레트로 바이러스 박터인 것인, 조성물.

#### 청구항 4

제1항에 있어서,  
상기 조성물은 Gq-DREADD(hM3Dq)의 리간드(ligand)와 병용투여되는 것인, 조성물.

#### 청구항 5

제4항에 있어서,  
상기 조성물은 상기 리간드 투여 전에 미리 투여되는 것인, 조성물.

#### 청구항 6

제4항에 있어서,  
상기 리간드는 CNO(clozapine-N-oxide), 페르라핀(perlapine), 및 컴파운드 21(compound 21)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것인, 조성물.

#### 청구항 7

제1항의 조성물 및 Gq-DREADD(hM3Dq)의 리간드(ligand)를 유효성분으로 포함하는, 침 치료 모사용 키트.

#### 청구항 8

제7항에 있어서,  
상기 리간드는 CNO(clozapine-N-oxide), 페르라핀(perlapine), 및 컴파운드 21(compound 21)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것인, 키트.

#### 청구항 9

제7항에 있어서,  
상기 리간드는 경혈에 투여되는 것인, 키트.

#### 청구항 10

제1항의 조성물을 포함하는 신경계 질환 치료용 약학적 조성물로서,  
상기 조성물은 경혈에 투여되는 것을 특징으로 하며,

상기 경혈은 기해, 내관, 대추, 백회, 부류, 삼음교, 수삼리, 신문, 신정, 양릉천, 양보, 외관, 위중, 족삼리, 충양, 풍릉, 태계, 태충, 및 함곡으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 이상인 것인, 약학적 조성물.

#### 청구항 11

제1항의 조성물을 포함하는 신경병증성 통증 치료용 약학적 조성물로서,

상기 조성물은 경혈에 투여되는 것을 특징으로 하며,

상기 경혈은 간수, 격수, 견우, 곡지, 곤륜, 공손, 관원, 기해, 내관, 내정, 대추, 복토, 비관, 비수, 비양, 삼음교, 수삼리, 신도, 신맥, 신수, 신주, 양구, 양릉천, 열결, 외관, 조해, 족삼리, 족임읍, 족통곡, 지양, 천추, 풍릉, 태계, 태백, 태충, 폐수, 함곡, 함곡, 환도, 혈해, 및 후계으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 이상인 것인, 약학적 조성물.

#### 청구항 12

제1항의 조성물을 포함하는 아토피 피부염 치료용 약학적 조성물로서,

상기 조성물은 경혈에 투여되고,

상기 경혈은 간수, 격수, 곡지, 명문, 비수, 심수, 삼음교, 여구, 옥예, 음릉천, 족삼리, 지양, 지음, 천추, 폐수, 풍시, 함곡, 및 혈해로 이루어진 군으로부터 선택된 1 이상인 것인, 약학적 조성물.

#### 청구항 13

단계를 포함하는 화학유전학적 침 치료 방법:

- (1) 인간을 제외한 개체의 경혈에 Gq-DREADD 발현용 벡터를 투여하는 단계; 및
- (2) 상기 개체의 경혈에 Gq-DREADD의 리간드를 투여하는 단계.

### 발명의 설명

#### 기술 분야

[0001] 본 발명은 경혈에 투여되는 Gq-DREADD 발현용 벡터를 유효성분으로 포함하는 침 치료 모사용 조성물 등에 관한 것이다.

#### 배경 기술

[0002] 화학유전학이란 화학생물학 또는 화학유전체학으로도 불리며 알려지지 않은 저분자 합성물질에 반응하는 단백질을 적용해 세포의 활성을 조절하여 생리학적 기능의 이해를 돕는 응용기술이다. 인산화효소(kinase), 비인산화효소(non-kinase enzyme), GPCR (G protein-coupled receptors), 및 ligand-gated ion channel 등의 단백질들이 화학유전학적으로 만들어졌다. 화학유전학의 도구로 가장 많이 이용되는 DREADDs (designer receptors exclusively activated by designer drugs)은 야생형 무스카린 수용체(muscarinic receptor)를 일부 돌연변이시켜 아세틸콜린(acetylcholine, Ach)과의 반응성은 낮추고 새로운 합성물질(구체적으로, clozapine-N-oxide(CNO), perlapine, 및 compound 21 등)에 반응성을 높인 단백질이다.

[0003] DREADD의 일종인 Gq-DREADD는 hM3Dq로도 불리며 신경세포 활성을 촉진하기 위한 수용체로서 CNO, perlapine 및 compound 21의 자극에 반응할 수 있으며 G 단백질들과 상호작용할 수 있다. Gq-DREADDs는 낮은 CNO의 농도(nM)에서 활성화되어 세포 내 칼슘 분비를 증가시켜 신경세포 활성을 촉진하는 것이 알려졌다. 신경계 질환의 치료를 위한 DREADD의 연구가 활발하게 진행되고 있으며, Gq-DREADD 및 Gi-DREADD를 이용하여 파킨슨병과 같은 근위축증을 증상으로 하는 퇴행성 신경질환의 증상을 개선할 수 있음이 알려졌다(Van Den Herrewegen et al. Mol Brain (2021) 14:144), 현재까지 알려진 DREADD과 관련된 신경계 질환 치료 연구는 중추 신경계에 직접 자극을 유도하여 수행되었다. 그러나, 뇌내 DREADD 발현 벡터를 직접 주사하는 것은 수술이 필요하고 염증, 감염 등의 부작용 발생 가능성이 높은 문제가 있다.

[0004] 경혈은 전통의학에서 침을 놓거나 뜸을 뜨는 혈자리로 오장육부(五臟六腑)의 반응이 몸 거죽에 나타나는 경로(다른말로 '경락'이라 함)에 있는 수혈(穴)을 의미한다. 세계보건기구(WHO) 서태평양 지역 사무처(Western Pacific Regional Office; WPRO)에서는 전통의학의 표준화를 위해서 전통의학에서 경혈의 위치를 표준화하는

작업을 시행하였고, 한중일 3국의 합의를 통해 361개의 경혈 표준안을 제정하고 2008년 WHO/WPRO 표준경혈위치를 출간하였다.

- [0005] 본 발명자들은 시술자에 따른 결과 차이가 없는 침 치료 모사의 기술을 개발하기 위하여 예의연구한 결과, 화학유전학을 경혈에 적용함으로써 파킨슨병을 포함한 다양한 신경계 질환과 신경병증성 통증을 치료할 수 있으며, 나아가 아토피 증상의 개선 등 침 치료 모사의 효과를 얻을 수 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

## 선행기술문헌

### 비특허문헌

- [0007] (비특허문헌 0001) Van Den Herrewegen et al. Mol Brain (2021) 14:144

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

- [0008] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 화학유전학을 경혈에 적용하여 침 치료 모사의 기술을 제공하고, 상기 기술의 구현을 위한 침 치료 모사용 조성물 및 키트와 이의 용도를 제공하는 것이다.
- [0009] 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

- [0011] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 Gq-DREADD(hM3Dq)를 발현하는 벡터를 유효성분으로 포함하는, 침 치료 모사용 조성물을 제공한다.
- [0012] 본 발명의 침 치료 모사용 조성물은 경혈에 투여되는 것을 특징으로 한다.
- [0013] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 상기 약학적 조성물은 Gq-DREADD의 리간드(ligand)와 병용투여되는 것으로서, 상기 리간드의 투여에 선행되어 투여되는 것일 수 있다.
- [0014] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 벡터는 바이러스 벡터 또는 비바이러스 벡터일 수 있으나, 바람직하게는 바이러스 벡터일 수 있다.
- [0015] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 바이러스 벡터는 레트로바이러스 벡터, 아데노바이러스 벡터, 아데노 관련 바이러스 벡터일 수 있으나, 바람직하게는 레트로바이러스 벡터일 수 있다.
- [0016] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 경혈은 2008년 발간된 WHO/WPRO 표준경혈위치에서 제시하는 361개의 혈자리로 이루어진 군으로부터 선택된 1 이상의 경락에 위치한 수혈일 수 있다.
- [0017] 또한, 본 발명은 상기 침 치료 모사용 조성물 및 Gq-DREADD의 리간드를 포함하는, 침 치료 모사용 키트(환언하면, 화학유전학 침 키트)를 제공한다.
- [0018] 한편, 본 발명의 상기 침 치료 모사용 조성물은 신경계 질환, 신경병증성 통증, 및/또는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로 제공될 수 있다.
- [0019] 구체적으로, 본 발명은 상기 침 치료 모사용 조성물을 유효성분으로 포함하는 신경계 질환 치료용 약학적 조성물을 제공하고, 상기 신경계 질환 치료용 약학적 조성물은 기해, 내관, 대추, 백회, 부류, 삼음교, 수삼리, 신문, 신정, 양릉천, 양보, 외관, 위중, 족삼리, 충양, 풍릉, 태계, 태충, 및 함곡으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 이상의 경혈에 투여되는 것일 수 있다.
- [0020] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 신경계 질환은 스티프맨 증후군(Stiff-person syndrome), 영양결핍을 원인으로 하지 않는 근위축증(Dystrophy), 근관성 근육병증(Myotubular Myopathy), 길랑-바레 증후군(Guillain-Barre syndrom), 네말린 근병증(Nemaline Myopathy), 다발성 경화증(Multiple Sclerosis), 다발심병(Multiminicore

disease), 헌팅톤병(Huntington's disease), 할러보든 스파츠 병(Hallervorden-Spatz Syndrome), 파킨슨병(Parkinson's disease), 알츠하이머병(Alzheimer's disease), 치매(dementia), 및 루게릭병(Lou Gehrig's disease)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상일 수 있다.

[0021] 또한, 본 발명은 상기 침 치료 모사용 조성물을 유효성분으로 포함하는 신경병증성 통증 치료용 약학적 조성물을 제공하고, 상기 신경병증성 통증 치료용 약학적 조성물은 간수, 격수, 견우, 곡지, 곤륜, 공손, 관원, 기해, 내관, 내정, 대추, 복토, 비관, 비수, 비양, 삼음교, 수삼리, 신도, 신맥, 신수, 신주, 양구, 양릉천, 열결, 외관, 조해, 족삼리, 족임읍, 족통곡, 지양, 천추, 풍릉, 태계, 태백, 태충, 폐수, 함곡, 함곡, 환도, 혈해, 및 후계으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 이상의 경혈에 투여되는 것일 수 있다.

[0022] 또한, 본 발명은 상기 침 치료 모사용 조성물을 유효성분으로 포함하는 아토피 피부염 치료용 약학적 조성물을 제공하고, 상기 아토피 피부염 치료용 약학적 조성물은 간수, 격수, 곡지, 명문, 비수, 심수, 삼음교, 여구, 옥예, 음릉천, 족삼리, 지양, 지음, 천추, 폐수, 풍시, 함곡, 및 혈해로 이루어진 군으로부터 선택된 1 이상의 경혈에 투여되는 것일 수 있다.

[0023] 또한, 본 발명은 양릉천에 투여되는 것을 특징으로 하는 상기 침 치료 모사용 조성물을 뇌졸중(중풍), 파킨슨병, 안면마비, 관절염, 통증(신경병증성 통증 포함), 담낭염, 담석증, 지방간, 뇌성마비, 다계통위축증, 고혈압, 및 근위축으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 이상의 질환의 치료를 위한 약학적 조성물로 제공한다.

[0024] 또한, 본 발명은 족삼리에 투여되는 것을 특징으로 하는 상기 침 치료 모사용 조성물을 뇌졸중(중풍), 파킨슨병, 알츠하이머병 등 각종 치매, 안면마비, 관절염, 통증(신경병증성 통증 포함), 위염, 위궤양, 설사 등 각종 소화기계 질환, 고혈압, 폐혈증 (등 전신 염증질환), 무도병, 이상운동증, 헌팅턴병, 당뇨병, 지능장애, 각종 정서장애(우울증, 조현병 등), 난소 관련 질환, 부신 관련 질환, 각종 감염, 간염, 췌장염, 비만, 및 각종 종양 (유방암 등)으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 이상의 질환의 치료를 위한 약학적 조성물로 제공한다.

[0025] 또한, 본 발명은 환도에 투여되는 것을 특징으로 하는 상기 침 치료 모사용 조성물을 통증(신경병증성 통증 포함), 추간관탈출증, 뇌졸중(중풍), 겸형적혈구빈혈증, 근위축증, 및 신경중으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1 이상의 질환의 치료를 위한 약학적 조성물로 제공한다.

[0026] 또한, 본 발명은 곡지에 투여되는 것을 특징으로 하는 상기 침 치료 모사용 조성물을 각종 피부 질환 (습진, 풍진, 건선, 홍역, 아토피피부염), 뇌졸중(중풍), 고혈압, 이명, 통증, 루게릭병(근위축성축삭증), 폐혈증 (등 전신 염증질환), 및 변비로 이루어진 군으로부터 선택되는 1 이상의 질환의 치료를 위한 약학적 조성물로 제공한다.

[0027] 또한, 본 발명은 하기 단계를 포함하는 화학유전학적 침 치료 방법을 제공한다:

[0028] (1) 개체의 경혈에 Gq-DREADD 발현용 백터를 투여하는 단계; 및

[0029] (2) 상기 개체의 경혈에 Gq-DREADD의 리간드를 투여하는 단계.

[0030] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 개체는 인간을 포함한 포유류일 수 있다.

## 발명의 효과

[0032] 본 발명은 경혈에 화학유전학을 적용한 침 치료 모사의 기술을 제공하여 최소침습적 방법으로 개체의 경혈에 연결된 감각신경세포에 Gq-DREADD를 발현시키고 이를 활성화함으로써 개체의 인지 및/또는 운동 능력을 향상시키고, 신경병증성 통증을 감소시키며 아토피 피부염 증상을 완화시킬 수 있는바, 침 치료를 대체하는 더욱 재현성 높은 치료수단으로 이용될 것으로 기대된다.

## 도면의 간단한 설명

[0034] 도 1은 경혈(구체적으로, 양릉천)에 화학유전학적 자극을 가하고 뇌의 신경세포 활성화를 확인한 것으로서, (A)는 실험의 모식도이고, (B)는 마우스 뇌 조직의 공초점형광현미경 사진이고, (C)는 화학유전학적 침을 가한 마우스 뇌 조직과 대조군에서 c-Fos<sup>+</sup> 세포 수를 정량하여 비교한 그래프이다.

도 2는 파킨슨병 유도 동물 모델에 경혈(구체적으로, 양릉천)에 화학유전학적 자극을 가하고 실험동물의 운동행

동 및 인지행동검사를 수행한 결과이다. (A)는 실험의 모식도이고, (B)는 로타로드 트레이드밀 테스트에서 마우스가 막대에서 떨어지는 시간을 측정한 결과이고, (C)는 실린더 테스트에서 마우스가 벽에 앞발을 대고 서는 회수를 측정한 결과이고, (D)는 Y-maze 테스트에서 변경율을 측정한 결과이고, (E)는 NOR 테스트에서 마우스의 물체 탐식 시간을 측정한 결과이다.

도 3은 경혈(구체적으로, 양릉천)에 화학유전학적 자극을 가한 파킨슨병 유도 동물의 선조체 및 흑질에서 티로신수산화효소(tyrosine hydroxylase)를 발현하는 도파민 뉴런의 세포 수와 신경섬유 밀도가 증가함을 확인한 결과이다.

도 4는 경혈(구체적으로, 양측 족삼리, 양릉천, 및 환도)에 화학유전학적 자극을 가한 편측과골신경절차 동물에서 통증과 불안증상 감소를 확인한 Von Frey test (A) 및 Open field test (B) 결과이다.

도 5는 경혈(구체적으로, 양측 곡지)에 화학유전학적 자극을 가한 아토피 피부염 유도 동물에서 피부염의 개선을 확인한 것으로서, 도 5a는 각 실험동물의 피부염 유도 영역의 사진이고, 도 5b는 각 실험동물의 홍반, 건조증, 및 피부뜯기증의 정도와 피부염 심각도를 점수로 나타낸 그래프이다.

도 6은 아토피 피부염 유도 동물의 경혈에 화학유전학적 자극을 가함에 따라서 운동능력과 불안증상이 개선됨을 확인한 결과이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0035] 본 발명자들은 경혈에 화학유전학을 적용하는 경우 침 치료 모사의 효과를 얻을 수 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.
- [0036] 본 명세서에서 “경혈”은 경락에 위치한 수혈을 의미하고, 2008년 발간된 WHO/WPRO 표준경혈위치에 따라 표시한다.
- [0037] 본 발명에서 “침 치료 모사의 기술”이란 화학유전학을 경혈에 적용하는 것으로서, 구체적으로 경혈에 위치한 말초신경에 Gq-DREADD의 발현을 유도하고 경혈에 상기 Gq-DREADD를 활성화할 수 있는 화합물을 투여하는 것을 의미한다. 본 명세서에서 침 치료 모사의 기술은 “화학유전학적 자극” 및 “화학유전학적 침”의 용어와 혼용하여 사용한다.
- [0038] 이에, 본 발명에서 “침 치료 모사용 조성물”이란 상기 화학유전학적 침 자극을 위해 경혈에 투여되는 일 조성물을 의미한다.
- [0039] 전통적인 침 치료는 경혈에 침을 놓아 침에 의하여 물리적으로 피부와 근육에 기계적 자극을 가하는 방식이며, 경혈의 위치를 막론하고 특정한 감각(저릿함, 시큰함, 묵직함, 당김 등)을 유도하는 것을 목표로 한다. 즉, 감각신경의 자극을 유도하여 침의 치료 효과를 기대하는 방식이다. 본 발명의 화학유전학적 자극은 경혈부위의 말초 구심성섬유(감각신경)를 직접적으로 자극하는 방법으로, 종래 침을 이용한 경혈자극과 목적하는 바가 같다. 따라서 경혈의 위치에 무관하게 효과가 있을 것으로 기대한다.
- [0040] 구체적으로, 본 발명자들은 DREADD의 일종인 Gq-DREADD을 발현하는 벡터를 양릉천에 국소 주사하여 경혈 부위의 감각신경 말단에서 Gq-DREADD의 발현을 유도하고 CNO(clozapine-N-oxide)를 경혈에 주사하여 투여하는 경우에도 뇌내 시상하부의 신경세포가 활성화됨을 확인하였다. 이어서, 본 발명자들은 MPTP 유도 파킨슨병 동물 모델을 이용하여 양릉천에 Gq-DREADD을 발현 벡터와 CNO를 투여하여 질병의 증상이 현저하게 호전됨을 확인하였다.
- [0041] 전통적인 침 치료에서 “양릉천”은 뇌졸중(중풍), 파킨슨병, 안면마비, 관절염, 통증(신경병증성 통증 포함), 담낭염, 담석증, 지방간, 뇌성마비, 다계통위축증, 고혈압, 근위축 등의 치료를 위한 경혈로 알려져 있다.
- [0042] 이에, 본 발명자들은 파킨슨병 외에도 전통적인 침 치료에서 양릉천에 자극이 치료 효과를 가지는 상술한 질병에서 화학유전학적 침 치료가 치료 효과를 나타낼 수 있는지 확인하고자 하였다. 이에, 상기 질병 중에서 신경병증성 통증을 선택하여 화학유전학적 침을 양릉천에 가하는 경우 통증을 조절할 수 있는지 PSNL 유도 신경병증성 통증 동물 모델을 이용하여 확인하였다. 그 결과, 양릉천에 화학유전학적 침 치료를 수행하는 경우 통증의 감소를 확인할 수 있었다.
- [0043] 상기로부터, 전통적인 침 치료에서 특정 경혈이 치료 효과를 갖는 질병은 상기 경혈에 화학유전학적 침 치료를 수행하는 경우에도 동일한 치료 효과를 얻을 수 있음을 알 수 있다.
- [0044] 이어서, 본 발명자들은 전통적인 침 치료에서 특정 질병의 치료를 위해 이용되는 경혈에 화학유전학적 침 치료

를 수행하는 경우에도 동일한 치료 효과를 얻을 수 있는지 확인하고자 하였다. 파킨슨병 치료를 위한 침 치료에 이용되는 경혈은 양릉천 외에도 기해, 내관, 대추, 백회, 부류, 삼음교, 수삼리, 신문, 신정, 양보, 외관, 위중, 족삼리, 충양, 풍릉, 태계, 태충, 및 함곡이 있다 (PMID: 34221005). 또한, 신경병증성 통증의 치료를 위한 침 치료에 이용되는 경혈은 양릉천 외에도 간수, 격수, 견우, 곡지, 곤륜, 공손, 관원, 기해, 내관, 내정, 대추, 복토, 비관, 비수, 비양, 삼음교, 수삼리, 신도, 신맥, 신수, 신주, 양구, 열결, 외관, 조해, 족삼리, 족임읍, 족통곡, 지양, 천추, 풍릉, 태계, 태백, 태충, 폐수, 함곡, 함곡, 환도, 혈해, 및 후계가 있다 (PMID: 29197180).

[0045] 이에, 본 발명자들은 전통적인 침 치료에서 상술한 질환의 치료를 위해 이용되는 경혈이 모두 화학유전학적 침 치료에 이용될 수 있는지 확인하고자, 신경병증성 통증 치료에 이용되는 경혈 중에서 양릉천 이외에 환도 및 족삼리를 선택하여 PNL 유도 신경병증성 통증 동물 모델을 이용한 실험을 동일하게 수행하였다. 그 결과, 환도 및 족삼리에 화학유전학적 침 치료를 수행한 경우 양릉천에 화학유전학적 침 치료를 수행한 경우와 동일하게 실험 동물의 통증이 감소함을 확인할 수 있었다.

[0046] 상기로부터, 본 발명의 화학유전학적 침은 전통적인 침 치료와 동일한 효과를 가지며, 전통적인 침 치료에서 특정 질병의 치료를 위해 침 자극을 가하는 경혈을 자유롭게 이용하여 해당 질병의 치료 효과를 얻을 수 있으며, 특정 경혈이 전통적인 침 치료에서 치료 효과를 갖는 질환은 화학유전학적 침 치료를 상기 경혈에 적용하는 경우에도 동일한 효과를 가질 수 있음을 알 수 있었다.

[0047] 이를 다시한번 검증하기 위하여, 아토피 피부염의 치료를 위하여 화학유전학적 침 치료를 적용하였다. 아토피 피부염 치료를 위한 침 치료에 이용되는 경혈은 간수, 격수, 곡지, 명문, 비수, 심수, 삼음교, 여구, 옥예, 음릉천, 족삼리, 지양, 지음, 천추, 폐수, 풍시, 함곡, 및 혈해가 있다 (PMID: 31495184). 이에, 본 발명자들은 상기 아토피 피부염 치료를 위한 경혈에서 곡지를 선택하여 아토피 유도 동물모델의 양측 곡지에 화학유전학적 침 치료를 수행하고 피부염의 정도를 관찰한 결과, 화학유전학적 자극을 통해 피부염이 개선됨을 확인할 수 있었다.

[0048] 한편, “족삼리”는 뇌졸중(중풍), 파킨슨병, 알츠하이머병 등 각종 치매, 안면마비, 관절염, 통증(신경병증성 통증 포함), 위염, 위궤양, 설사 등 각종 소화기계 질환, 고혈압, 폐혈증 (등 전신 염증질환), 무도병, 이상운동증, 헌팅턴병, 당뇨병, 지능장애, 각종 정서장애(우울증, 조현병 등), 난소 관련 질환, 부신 관련 질환, 각종 감염, 간염, 체장염, 비만, 각종 종양 (유방암 등) 등의 치료를 위한 경혈로 알려져 있고 (PMID: 35095910; PMID: 28810910), “환도”는 통증(신경병증성 통증 포함), 추간판탈출증, 뇌졸중(중풍), 겸형적혈구빈혈증, 근위축증, 신경종 등을 치료하기 위한 경혈로 알려져 있다. 또한, “곡지”는 각종 피부 질환 (습진, 풍진, 건선, 홍역, 아토피피부염), 뇌졸중(중풍), 고혈압, 이명, 통증, 루게릭병(근위축성축삭증), 폐혈증 (등 전신 염증질환), 변비 등을 치료하기 위한 경혈로 알려져 있다.

[0049] 상기로부터, 본 발명자들은 중추신경계가 아닌 경혈에 위치한 말초신경에 Gq-DREADD 발현을 유도하고 이를 활성화시키는 경우 전통적인 침 치료와 동일한 효과를 얻을 수 있음을 확인하고, 전통적인 침 치료 모사의 기술에 적용을 위한 조성물을 제공하고자 한다.

[0050] 본 명세서에서 DREADD(designer receptors exclusively activated by designer drug)는 야생형 무스카린 수용체(muscarinic receptor)의 일부에 돌연변이가 발생한 수용체로서, 본 발명에서 화학유전학이란 DREADD 중에서도 신경세포의 활성을 촉진하는 Gq-DREADD(hM3Dq)을 이용한 기술을 의미한다.

[0051] 본 발명에서 화학유전학의 실험을 위해 이용하는 Gq-DREADD는 세포 내에서 단백질로 발현될 수 있는 유전체의 형태로 제공될 수 있으며, 상기 유전체는 Gq-DREADD를 암호화하는 DNA 및/또는 RNA로 이루어진 올리고뉴클레오타이드 또는 상기 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 벡터를 의미하고, 상기 유전체는 유전자 전달 시스템에 탑재되어 제공될 수 있다.

[0052] 본 발명에서 “벡터”는 적당한 숙주세포에서 목적 유전자를 발현할 수 있는 발현 벡터로서, 벡터 내에 포함된 유전자 삽입물이 발현되도록 작동 가능하게 연결된 조절 요소를 포함하는 유전자 구조물을 말한다.

[0053] 본 발명에서 “작동 가능하게 연결된(operably linked)”은 일반적 기능을 수행하는 핵산 발현 조절 서열과 목적하는 유전자를 코딩하는 핵산 서열이 기능적으로 연결(functional linkage)되어 있는 것을 말한다. 본 발명의 벡터에서 각 구성은 직접적 연결인 것으로 명시하지 않는한 서로 작동 가능하게 연결된 것으로 본다.

[0054] 예를 들어, Gq-DREADD 암호화 서열을 프로모터에 작동 가능하게 연결시키면 Gq-DREADD 암호화 서열의 발현은 프로모터의 영향 또는 조절 하에 있게 된다. 2개의 핵산 서열(Gq-DREADD 암호화 서열 및 이 서열의 5' 말단의 프

로모터 부위 서열)은 프로모터 작용이 유도되어 Gq-DREADD 암호화 서열이 전사되면 작동 가능하게 연결된 것이며, 상기 두 서열 사이의 연결 특성이 프레임 변경 돌연변이(frameshift mutation)를 유도하지 않고, 발현 조절 서열이 Gq-DREADD의 발현을 저해하지 않으면 작동 가능하게 연결된 것으로 볼 수 있다. 재조합 벡터와의 작동 가능한 연결은 당해 기술 분야에서 잘 알려진 유전자 재조합 기술을 이용하여 제조할 수 있으며, 부위-특이적 DNA 절단 및 연결은 당해 기술 분야에서 일반적으로 알려진 효소 등을 이용할 수 있다.

[0055] 본 발명에서 사용된 “프로모터”라는 용어는 DNA의 일부분으로 전사를 개시할 수 있도록 RNA 중합효소의 결합에 관여한다. 일반적으로 표적 유전자에 인접하여 이의 상류에 위치하며, RNA 중합효소 또는 RNA 중합효소를 유도하는 단백질인 전사 인자(transcription factor)가 결합하는 자리로서 상기 효소 또는 단백질이 올바른 전사 시작 부위에 위치하도록 유도할 수 있다. 즉, 센스 가닥(sense strand)에서 전사하고자 하는 유전자의 5' 부위에 위치하여 RNA 중합효소가 직접 또는 전사인자를 통해 해당 위치에 결합하여 표적 유전자에 대한 mRNA 합성을 개시하도록 유도하는 것으로 특정한 유전자 서열을 갖는다.

[0056] 본 발명에 따른 벡터는 프로모터, 오퍼레이터, 개시코돈, 종결코돈, 폴리아데닐화 시그널, 인핸서와 같은 발현 조절 요소 외에도 막 표적화를 위한 신호 서열을 포함하며 목적에 따라 다양하게 제조될 수 있다. 또한, 본 발명의 벡터는 세포 내에서 Gq-DREADD의 발현 수준을 증가시킬 수 있는 조절 인자를 추가로 포함할 수 있다. 벡터의 프로모터는 구성적 또는 유도성일 수 있다. 또한, 발현 벡터는 벡터를 함유하는 숙주 세포를 선택하기 위한 선택성 마커를 포함하고, 복제 가능한 발현 벡터인 경우 복제 기원을 포함할 수 있다. 벡터는 자가 복제하거나 숙주 DNA에 통합될 수 있다.

[0057] 본 발명에 따른 벡터는 플라스미드 벡터, 코즈미드 벡터 또는 바이러스 벡터 등일 수 있고, 바람직하게는 바이러스 벡터일 수 있다. 상기 바이러스 벡터는 레트로바이러스(Retrovirus), 예를 들어, 인간 면역결핍 바이러스(Human immunodeficiency virus, HIV), 마우스 백혈병 바이러스(Murine leukemia virus, MLV), 조류 육종/백혈병 바이러스(Avian sarcoma/leucosis virus, ASLV), 비장 괴사 바이러스(Spleen necrosis virus, SNV), 라우스 육종 바이러스(Rous sarcoma virus, RSV), 마우스 유방 종양 바이러스(Mouse mammary tumor virus, MMTV) 등, 아데노바이러스(Adenovirus), 아데노 관련 바이러스(Adeno-associated virus, AAV), 또는 헤르페스 심플렉스 바이러스(Herpes simplex virus, HSV) 등에서 유래한 벡터일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 본 발명에 따른 발현 벡터는 가장 바람직하게는 레트로바이러스 벡터일 수 있다.

[0058] 본 발명에서 “유전자 전달 시스템(gene delivery system)”은 목적하는 유전자 및/또는 핵산 서열의 세포 내부로의 전달 효율을 높여 발현 효율을 증가시킬 수 있는 시스템을 의미하며, 바이러스 매개 시스템 및 비바이러스 시스템으로 분류될 수 있다.

[0059] 바이러스 매개 시스템은 레트로바이러스 벡터, 아데노바이러스 벡터와 같은 바이러스성 벡터를 사용하며, 인간 세포에 감염을 일으키는 바이러스 고유의 세포 내 침투 기전을 이용하므로 비바이러스성 시스템보다 세포내 유전자 전달 효율이 비교적 높은 것으로 알려져 있다. 또한, 세포 내로 들어간 다음 비바이러스성 벡터는 엔도솜이 리소솜과 융합된 다음 엔도리소솜에서 유전자들이 분해되는 문제점이 있으나, 바이러스성 벡터는 리소솜을 통과하지 않고 핵 내로 유전자를 전달하는 기전에 의하여 유전자의 손실이 작아서 유전자 전달 효율이 높은 장점이 있다.

[0060] 본 발명에서 사용될 수 있는 바이러스성 벡터는 상기 벡터에서 설명한 바와 같이 레트로바이러스, 아데노바이러스, 아데노 관련 바이러스 등에서 유래한 벡터일 수 있다. 이러한 바이러스성 벡터는 바이러스 입자에 조립된 후 감염(infection)과 같은 형질도입(transduction) 방법으로 세포 내부로 도입될 수 있다.

[0061] 본 발명에서 “예방”이란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여 또는 상기 조성물을 포함하는 키트의 적용으로 대상 질병을 억제하거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

[0062] 본 발명에서 “치료”란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여 또는 상기 조성물을 포함하는 키트의 적용으로 대상 질병이 호전되거나 그 증상을 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.

[0063] 본 발명에서 “대상 질병”이란 신경계 질환, 신경병증성 통증 및/또는 아토피 피부염을 의미한다.

[0064] 본 발명에서 “신경계 질환”이란 중추신경계 질환과 말초신경계 질환을 포함하고, 개체의 운동능력 및/또는 인지능력 감소를 증상으로 하는 질환을 의미한다. 상기 신경계 질환의 비제한적인 예로는 스티프맨 증후군(Stiff-person syndrome), 영양결핍을 원인으로 하지 않는 근위축증(Dystrophy), 근관성 근육병증(Myotubular Myopathy), 길랑-바레 증후군(Guillain-Barre syndrom), 네말린 근병증(Nemaline Myopathy), 다발성 경화증(Multiple Sclerosis), 다발심병(Multiminicore disease), 헌팅톤병(Huntington's disease), 할러보든 스파츠

병(Hallervorden-Spatz Syndrome), 파킨슨병(Parkinson's disease), 알츠하이머병(Alzheimer's disease), 치매(dementia), 루게릭병(Lou Gehrig's disease) 등이 있다.

[0065] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물에 사용될 수 있는 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 및 희석제의 예로는, 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 칼슘 카보네이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시 벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 광물유 등을 들 수 있다.

[0066] 본 발명의 약학적 조성물은 목적하는 방법에 따라 비경구로 투여되어야 하며, 경혈에 주사제로 투여될 수 있다.

[0067] 본 발명의 약학적 조성물은 경혈에 주사제로 투여될 때 주사의 깊이에는 제한이 없으나, 시술자에 무관한 동일 결과 도출, 피시술자의 고통 경감, 및 피시술자에 부작용 발생 가능성 감소를 위하여 바람직하게는 경혈 부위의 말초신경에 상기 약학적 조성물이 도달할 수 있는 정도라면 충분하다.

[0068] 본 발명에 따른 주사제는 환자에게 투여 시 그대로 이용될 수 있도록 멸균 매질에 분산된 형태일 수 있으며, 투여 시 주사용 증류수를 가해 적절한 농도로 분산시킨 다음 투여하는 형태일 수도 있다. 또한, 주사제로 제조될 때 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장화제, 안정화제 등과 혼합될 수 있고, 단위 투약 앰플 또는 다중 투약 형태로 제조될 수 있다.

[0069] 본 발명의 약학적 조성물의 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물 형태, 투여 경로 및 시간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 한편, 본 발명에 따른 약학적 조성물은 단독으로 사용되지 아니하고, Gq-DREADD를 활성화할 수 있는 제제와 병용투여된다. 이때, 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여는 Gq-DREADD를 활성화할 수 있는 제제의 투여 전에 선행됨이 바람직하다.

[0070] 본 명세서에서 Gq-DREADD를 활성화할 수 있는 제제는 Gq-DREADD의 리간드(ligand)를 의미하며, Gq-DREADD에 결합하여 신호전달을 활성화하는 것이라면 제한되지 아니하나 CNO(clozapine-N-oxide), 페라라핀(perlapine), 및 컴파운드 21(compound 21)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종이상 일 수 있다.

[0072] 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.

## [0074] [실시예]

### [0075] 실시예 1. hM3Dq 발현용 레트로 아데노연관 바이러스 제작

[0076] 경혈로부터 뇌로 이어지는 신경회로를 화학유전학적으로 활성화하기 위해, 신경말단에서 축삭돌기 그리고 신경세포체를 감염하는 레트로 바이러스를 제작하였다. 레트로 아데노연관 바이러스(Retrograde Adeno-associated virus, AAVretro) 벡터 내에 CNO가 결합하여 활성화되는 수용체인 hM3Dq 유전자의 염기서열을 삽입하여 제작하였다.

### [0078] 실시예 2. 경혈에 화학유전학적 자극을 가함에 따른 뇌에서 신경세포 활성화 확인

[0079] 뇌 내 직접 주사가 아닌 말초 경혈에 hM3Dq 발현용 바이러스를 주사하고, 같은 경혈 부위에 CNO를 주입하여 경혈에 연결된 말초 신경세포를 화학유전학적으로 자극하였을 때 중추신경계 내 가측 시상하부의 멜라닌음집호르몬 분비 신경세포가 활성화되는지 확인하고자 하였다. 이를 위하여 Cre-의존적으로 tdTomato 형광단백을 발현하는 Ai14 유전자변형생쥐를 Stereotaxic apparatus에 머리가 고정된 상태로 2% isoflurane으로 호흡마취를 한 뒤, 가측 시상하부에 pMCH 프로모터 하에 Cre 단백질을 발현하도록 설계한 아데노연관 바이러스(AAV-pMCH-Cre,  $5.7 \times 10^{13}$  GC/mL)를 1.5  $\mu$ L 주입하였다. 2주 후, 같은 방법으로 stereotaxic apparatus를 이용하여 범신경세포

타겟 프로모터인 human synapsin 하에 hM3Dq를 발현하는 레트로 아데노연관 바이러스 (AAVretro-hSynapsin-hM3Dq-mCherry,  $3.53 \times 10^{13}$  GC/mL, 1.5  $\mu$ L)를 양릉천의 피하지방층 (1 mm), 근육표층 (1.5 mm) 그리고 근육층 (3 mm)에 주입하였다. 바이러스를 주입하고 2주 후, 바이러스를 주입한 동일 경혈에 CNO (1 mg/kg, 50  $\mu$ L)를 표면으로부터 1.5 mm에 주입하여 화학유전학적 자극을 가했다. CNO 주입 후 1시간 30분 경과한 시점에 동물을 saline과 paraformaldehyde 4% 용액으로 심장관류를 이용하여 고정한 후, 뇌조직을 얻어 30  $\mu$ m로 냉동절편하였다. 이 뇌조직 절편을 c-Fos 1차 항체 (sc-253, Santa Cruz Biotechnology, 1:500)와 이에 결합하는 형광 2차 항체를 반응하여 염색하였다. 이를 공초점형광현미경을 이용하여 tdTomato 형광을 발현하는 멜라닌응집호르몬 분비 신경세포에서 c-Fos 형광의 세기를 정량적으로 측정하였다. 그 결과, 대조군에 비하여 경혈에 가해진 화학유전학적 자극이 뇌의 가측 시상하부 신경세포의 활성을 증가시킴을 확인할 수 있었다(도 1).

### [0081] 실시예 3. 파킨슨병 유도 동물 실험

[0082] 경혈에 화학유전학적 자극을 가하여 파킨슨병의 치료가 가능한지 확인하고자 하였다. 이를위하여, 파킨슨병 유도 14일 전에 C57BL/6 마우스의 경혈(GB34)에 hM3Dq 발현용 바이러스를 주사하고, MPTP (1-methyl4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydro-pyridine, 30 mg/kg)을 1일 1회 5일 동안 복강투여 파킨슨병을 유도하고 7일 동안 방치하였다. 실험동물은 CNO 1 mg/kg을 파킨슨병 유도 1일차부터 실험 종료일까지 1일 1회, 양릉천(GB34)에 국소 주사한 CNO 투여군과 동량의 saline을 동일한 위치에 국소 주사한 saline 투여군으로 나누었다. 파킨슨병 유도 10일 차부터 3일 동안 Rotarod test, Cylinder test, Y-maze test, 및 NOR test의 운동행동 및 인지행동검사를 수행하고(도 2에 A), 실험 종료 후에 마우스를 희생하여 흑질(substantia nigra pars compacta; SNpc) 조직과 선조체(striatum) 조직을 획득하고 면역조직화학염색을 수행하여 도파민 신경세포를 확인하였다.

#### [0084] 3-1. 운동행동검사

##### [0085] (1) Rotarod test

[0086] 로타로드 트레드밀(rotarod treadmill)을 이용하여 12 rpm의 고정 속력에서 적응시킨 후 4 rpm에서 40 rpm까지 5분 동안 가속하여 마우스가 막대(rod)에서 떨어지는 시간을 측정하였다.

[0087] 그 결과, 정상 마우스(Na<sup>+</sup>ve)와 비교하여 파킨슨병 유도 마우스는 현저하게 빠르게 막대에서 떨어졌으나 경혈에 화학유전학적 자극이 가해진 파킨슨병 유도 마우스는 정상 마우스와 가깝게 막대 위에서 유지하는 시간이 증가됨을 확인할 수 있었다(도 2에 B).

##### [0088] (2) Cylinder test

[0089] 마우스를 실린더에 넣고 몸을 일으켜서 5분간 앞발을 벽에 대고 서는 횟수를 측정하였다.

[0090] 그 결과, 정상 마우스와 비교하여 파킨슨병 유도 마우스는 동작의 수행 횟수가 현저하게 감소하였으나, 경혈에 화학유전학적 자극이 가해진 파킨슨병 유도 마우스는 일어서는 행동이 증가됨을 확인할 수 있었다(도 2에 C).

#### [0092] 3-2. 인지행동검사

##### [0093] (1) Y-maze test

[0094] 세 가지가 120°의 일정한 각도로 배치된 Y자 모양의 사방이 막힌 미로의 중앙에 마우스를 넣고 자유롭게 움직이게 하였다. 미로의 천장에 설치된 카메라를 통해 마우스를 관찰하고 컴퓨터 프로그램으로 각 가지에 들어간 횟수 및 순서를 측정하여 자발적 변경율(spontaneous alteration(%))을 평가하였다. 미로의 3개 가지를 각각 A, B, C 지역으로 정하고, 변경(alteration)은 마우스가 3개의 다른 가지에 순차적으로 들어가는 경우(ABC, BCA, CAB의 순서로 들어가는 경우) 1점으로 인정하고, 그렇지 않은 경우 점수로 인정하지 않았다.

[0095] 그 결과, 정상 마우스에 비교하여 파킨슨병을 유도한 마우스는 변경율이 낮았으나, 경혈에 화학유전학적 자극이 가해진 파킨슨병 유도 마우스는 변경율이 정상에 가깝게 증가함을 확인하여 경혈에 가해진 자극이 파킨슨병 유도 동물의 단기 기억력을 향상시킴을 알 수 있었다(도 2에 D).

[0096] (2) NOR test (Novel Object Recognition Test)

[0097] 40×40×30 cm의 상자에서 실험을 수행하였다. 1일째에 마우스를 상자에서 5분동안 자유롭게 움직이도록 하였으며, 2일째에 상자에 동일한 물체 두 개를 벽으로부터 5 cm씩 떨어진 곳에 위치해 놓고 마우스를 상자 중앙에 놓고 물체를 탐색하도록 하였다. 3일째 물체 중 하나를 새로운 물체로 바꾸고 다시 마우스를 상자 중앙에 위치시킨 후 마우스가 기존에 있던 물체와 새로운 물체에 대해서 탐색 행동을 보이는 시간을 측정한 후, 새로운 물체에 대한 탐색 시간과 기존의 물체에 대한 탐색 시간의 비율을 계산하였다.

[0098] 그 결과, 파킨슨병 유도 마우스는 새로운 물체와 기존의 물체를 탐색하는 시간이 거의 동일하였으나, 경혈에 화학유전학적 자극이 가해진 파킨슨병 유도 마우스는 새로운 물체에 대한 탐색시간이 보다 길어졌는바, 경혈에 가해진 자극이 파킨슨병 유도 동물의 학습과 기억 능력을 향상시킴을 알 수 있었다(도 2에 E).

[0100] 3-3. 면역조직화학 분석

[0101] 실험 종료 후에 마우스를 희생하여 뇌 조직의 선조체 및 흑질 부분을 골라 PBS로 세척하고 Tyrosine Hydroxylase (TH)항체를 넣어 반응시킨 후, DAB을 이용하여 발색시켰다. 흑질 조직에서 TH 양성 세포를 계수하고, 선조체 조직에서 광학밀도(optical density)를 측정하였다.

[0102] 그 결과, 파킨슨병 유도 마우스는 흑질 및 선조체에서 각각 도파민 뉴런 수와 신경 섬유의 발현이 현저히 감소하였으나, 경혈에 화학유전학적 자극이 이를 회복시킴을 관찰하였다(도 3).

[0104] **실시예 4. 편측좌골신경결찰(partial sciatic nerve ligation, PSNL) 동물 실험**

[0105] 경혈에 화학유전학적 자극을 가하여 신경병증성 통증(Neuropathic pain)을 감소시킬 수 있는지 확인하고자 하였다. 이를 위하여, 넓적다리의 상부에서 좌골신경을 노출시킨 후 후이두반건형근신경이 좌골신경에서 분지되어 나오는 지점의 원위부에서 8-0 silk suture를 이용하여 좌골신경의 1/3 또는 1/2를 결찰하는 편측좌골신경결찰(PSNL) 신경병증성 통증 유도 모델을 제작하였다.

[0106] 실험동물은 CNO 1 mg/kg을 수술 후 7일차부터 실험 종료일까지 1일 1회, 양측 족삼리(ST36), 양릉천(GB34), 및 환도(GB30)에 국소 주사한 CNO 투여군과 동량의 saline을 동일한 위치에 국소 주사한 saline 투여군으로 나누었다. 수술 전 (Base), CNO 투여 0, 4, 9, 14, 21, 및 28 일 쯤 통증을 평가하기 위해 Von Frey test를 수행하였으며, 불안증상을 평가하기 위해 CNO 투여 27일 쯤 Open field test의 행동실험을 수행하였다.

[0107] 그 결과, 도 4에 나타내 바와 같이 신경병증성 통증 유도 마우스는 대조군에 비해 통증이 증가하였으나, 경혈에 화학유전학적 자극이 가해진 신경병증성 통증 유도 마우스는 통증이 감소함을 확인하였다(도 4에 A).

[0108] 또한 Open field test를 수행하여 불안증상을 평가한 결과 신경병증성 통증 유도 마우스는 불안증상이 증가하였으나, 경혈에 화학유전학적 자극이 가해진 신경병증성 통증 유도 마우스는 불안증상이 감소함을 알 수 있었다(도 4에 B).

[0110] **실시예 5. 아토피 유도 동물 실험**

[0111] 경혈에 화학유전학적 자극을 가하여 아토피 피부염을 치료할 수 있는지 확인하고자 하였다. 이를 위하여, 마우스 볼에 털을 제거한 후 MC903를 도포하여 아토피 피부염을 유도하였다.

[0112] 실험동물은 CNO 1 mg/kg을 아토피 피부염 유도 0일차부터 실험 종료일까지 1일 1회, 양측 곡지(LI11)에 국소 주사한 CNO 투여군과 동량의 saline를 동일한 위치에 국소 주사한 saline 투여군으로 나누었다. 마우스의 아토피 피부염 유도 부위에서 홍반(erythema), 건조증(xerosis) 및 피부뜯기증(excoriation)의 정도를 측정하여 피부염 심각도 점수를 매겼다.

[0113] 그 결과, 도 5a 및 도 5b에 나타낸 바와 같이 정상 마우스와 비교하여 아토피 피부염 유도마우스는 심각도 점수가 증가하였으나, 경혈에 화학유전학적 자극이 가해진 아토피 피부염 유도 마우스는 피부염 심각도 점수가 감소됨을 확인할 수 있었다 (도 5)

[0114] 이어서, 아토피 피부염 유도 마우스의 행동평가(Open field test)를 수행하여 마우스의 운동능력과 불안 회복

정도를 확인하였다. 그 결과, 도 6에 나타낸 바와 같이 정상 마우스와 비교하여 아토피 피부염 유도 마우스는 운동능력이 감소되며 불안증상이 증가하였으나, 경혈에 화학유전학적 자극이 가해진 아토피 피부염 유도 마우스는 운동능력과 불안증상이 개선되었다(도 6)

[0116]

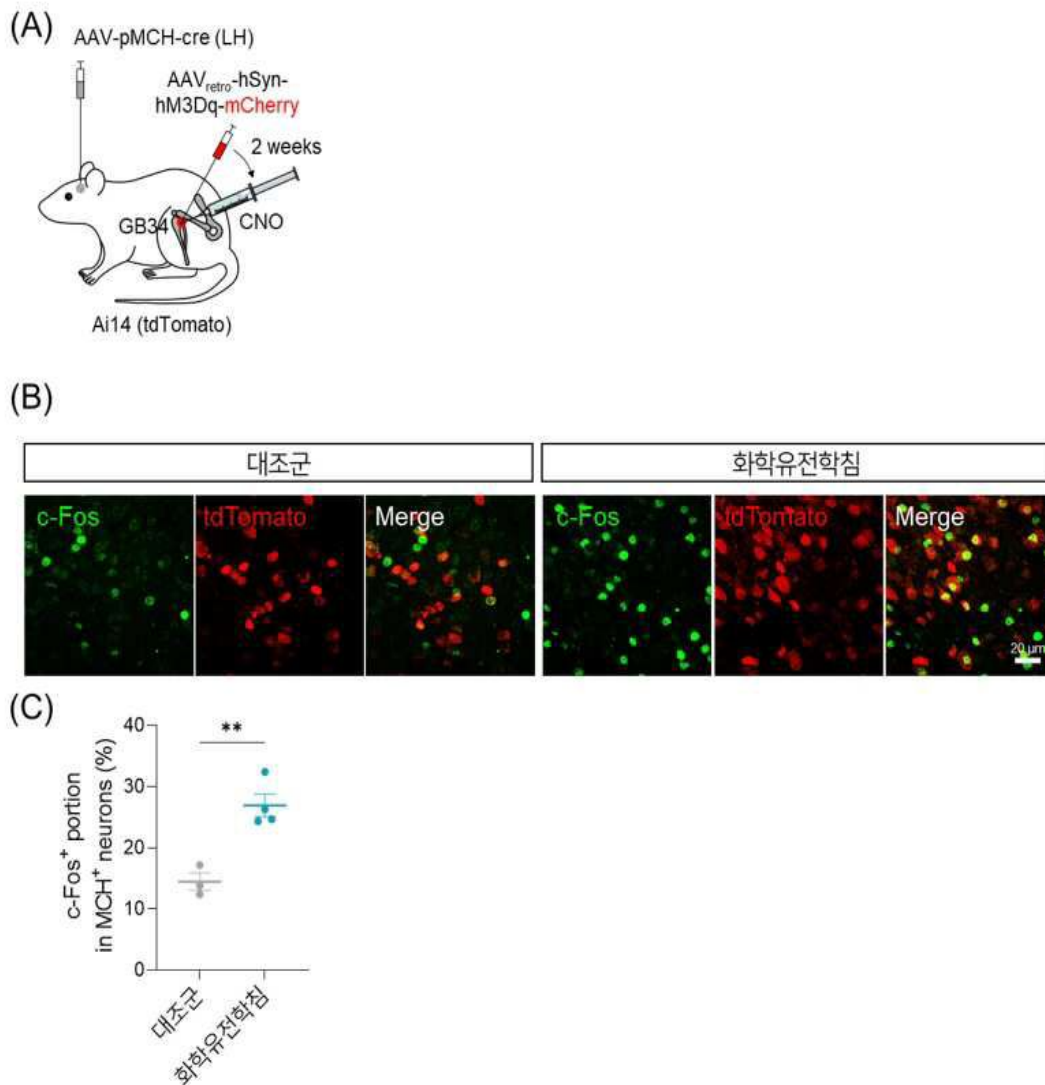
이상과 같이 실시예들이 비록 한정된 도면에 의해 설명되었으나, 해당 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 상기를 기초로 다양한 기술적 수정 및 변형을 적용할 수 있다. 예를 들어, 설명된 기술들이 설명된 방법과 다른 순서로 수행되거나, 및/또는 설명된 시스템, 구조, 장치, 회로 등의 구성요소들이 설명된 방법과 다른 형태로 결합 또는 조합되거나, 다른 구성요소 또는 균등물에 의하여 대치되거나 치환되더라도 적절한 결과가 달성될 수 있다.

[0117]

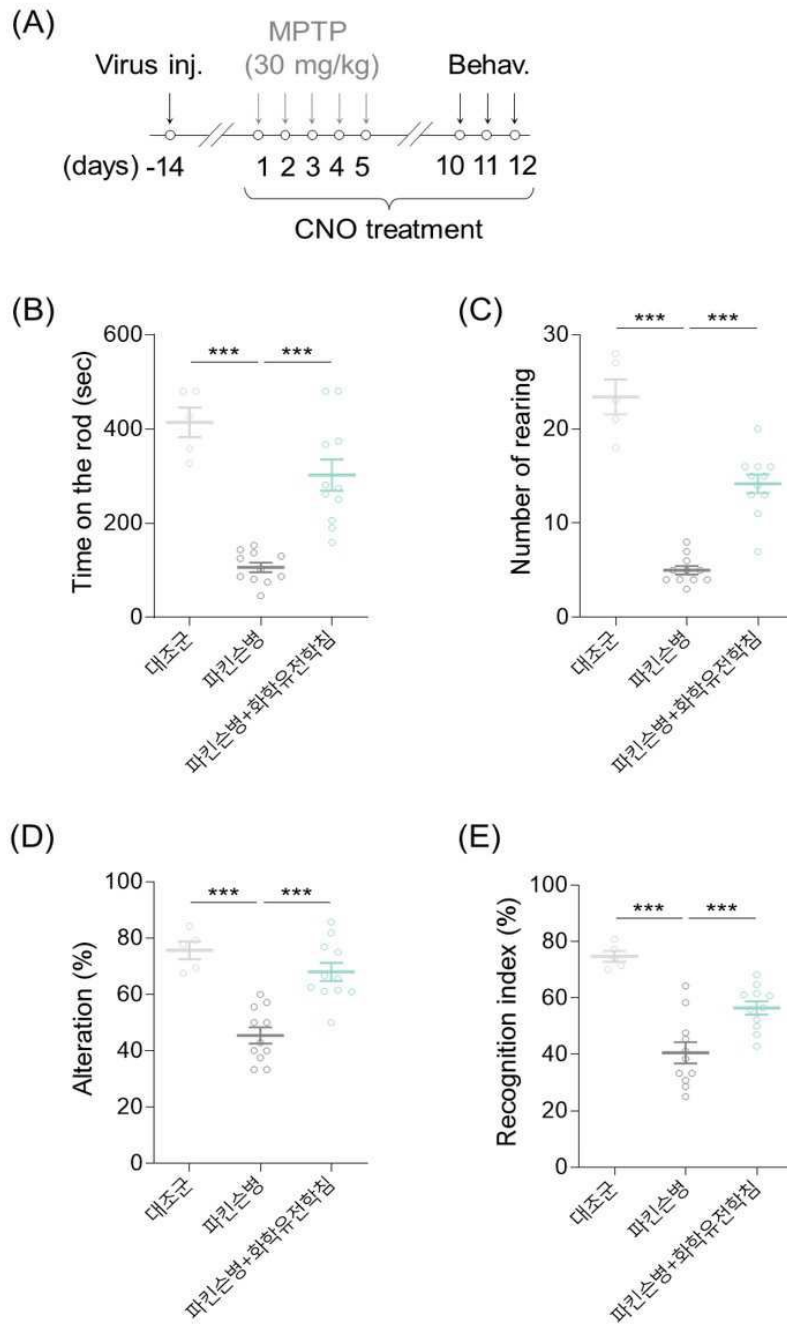
그러므로, 다른 구현들, 다른 실시예들 및 특허청구범위와 균등한 것들도 후술하는 청구범위의 범위에 속한다.

## 도면

### 도면1



도면2

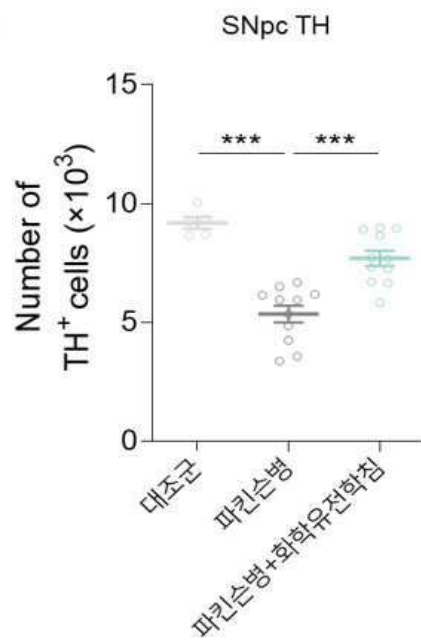


도면3

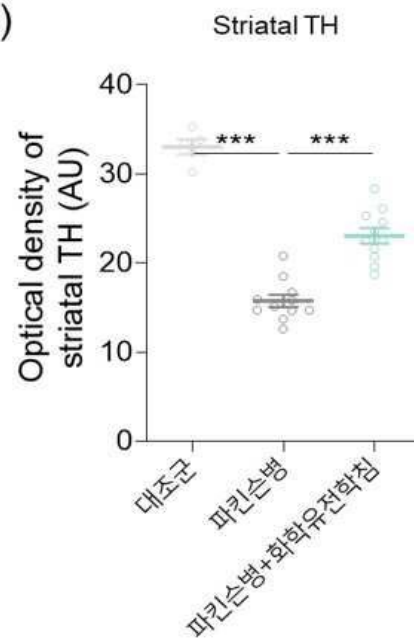
(A)



(B)

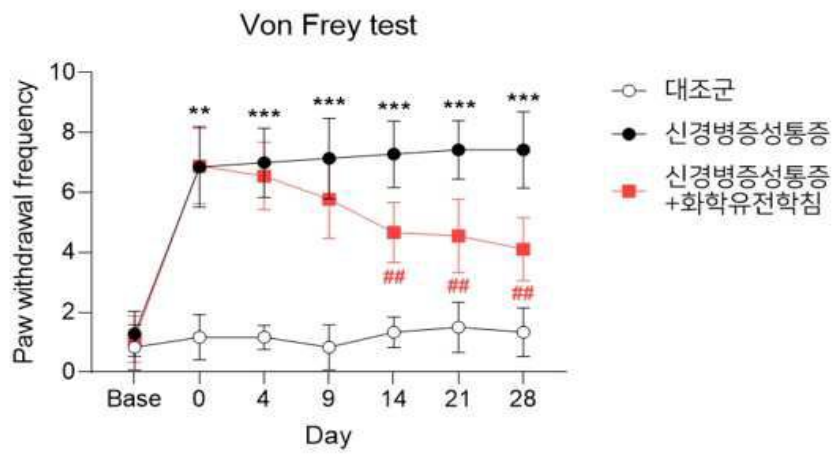


(C)

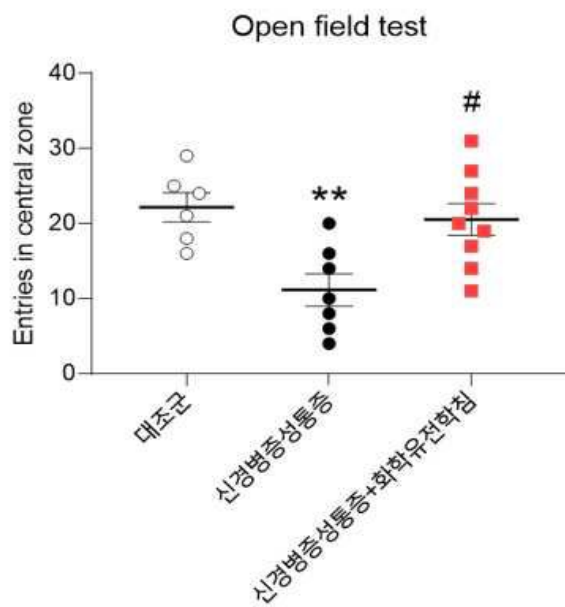


도면4

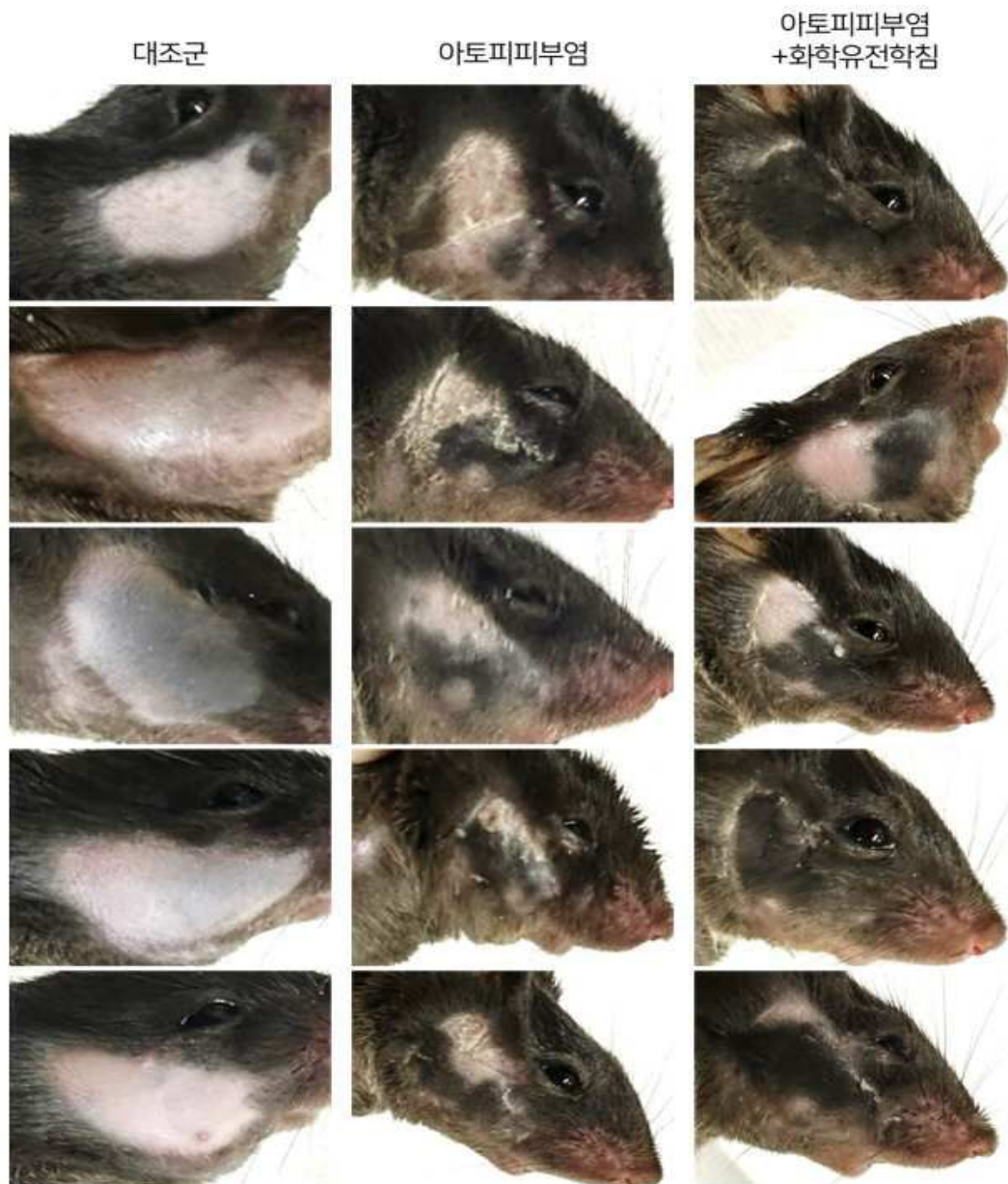
(A)



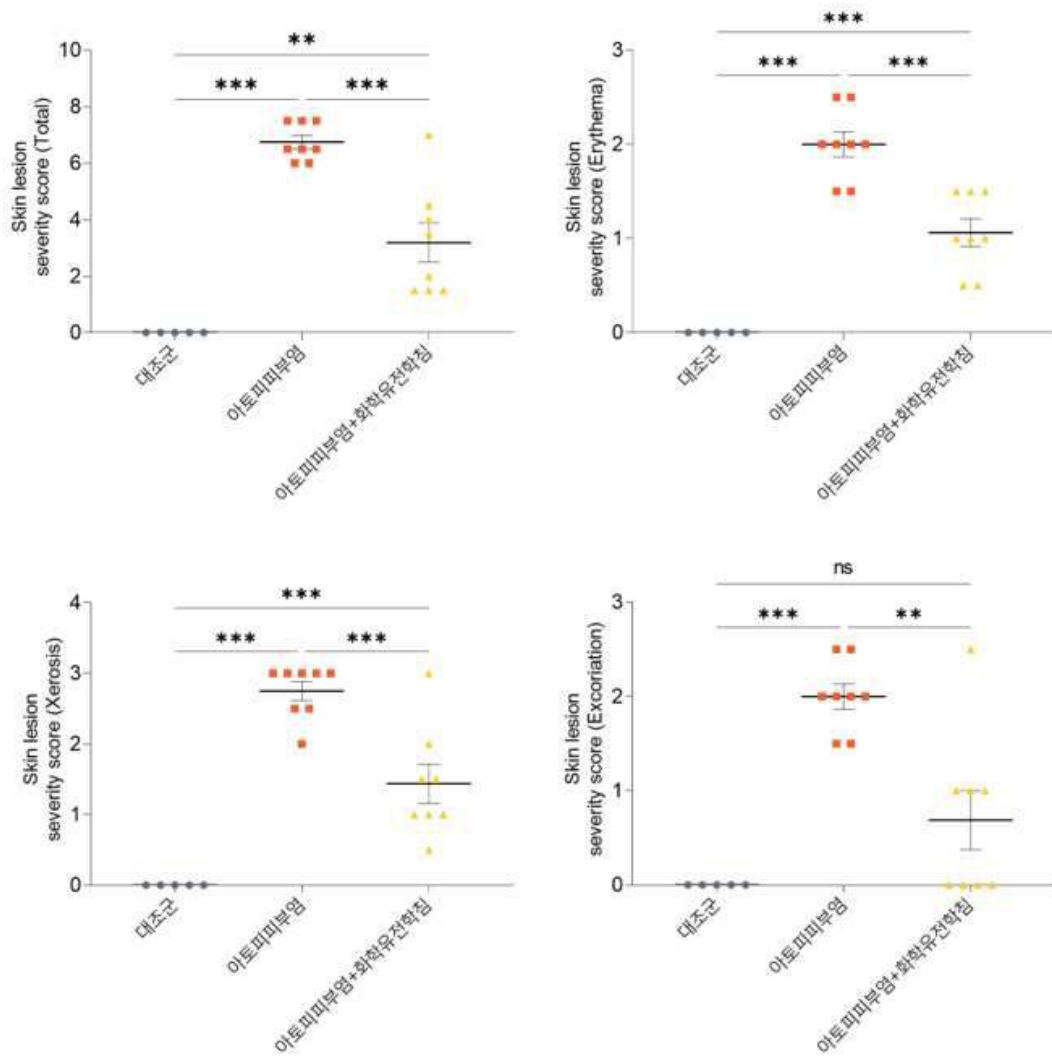
(B)



도면5a



도면5b



도면6

