



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0086155
 (43) 공개일자 2013년07월31일

- | | |
|---|--|
| (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
<i>C12N 1/20</i> (2006.01) <i>C12N 1/06</i> (2006.01)
<i>A61K 35/74</i> (2006.01) <i>A61P 9/00</i> (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-7033179
(22) 출원일자(국제) 2011년06월01일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2012년12월20일
(86) 국제출원번호 PCT/US2011/038742
(87) 국제공개번호 WO 2011/153226
국제공개일자 2011년12월08일
(30) 우선권주장
61/350,193 2010년06월01일 미국(US) | (71) 출원인
무어 리서치 엔터프라이즈 엘엘씨
미국 오하이오 45502 스프링필드 페트레 로드 3807
(72) 발명자
무어, 브렌다, 이.
미국 오하이오 45502 스프링필드 페트레 로드 3807
(74) 대리인
김해중, 홍순우 |
|---|--|

전체 청구항 수 : 총 22 항

(54) 발명의 명칭 **박테로이데스로부터의 세포 성분, 그의 조성물, 및 박테로이데스 또는 그의 세포 성분을 이용하는 치료 방법**

(57) 요약

세포 성분은 박테로이데스 속의 하나 이상의 세균으로부터 용해되거나, 생산되거나 및/또는 단리되며, 상기 세포 성분, 그의 유도체 및/또는 상기 박테로이데스 속의 하나 이상의 세균, 또는 그의 변형된 형태는 염증 반응을 조절하기 위한 조성물 및 방법에 이용된다. 이러한 방법은 신체 또는 위장관 염증, 예를 들어, 과민증대장 증후군, 크론씨 병, 또는 대장염, 및/또는 관련 질환, 예컨대 당뇨병, 천식, 다발성 경화증, 암, 류마티스성 관절염, 치은염, 아토피병, 예를 들어, 고초열, 식품 알레르기, 습진, 비염, 피부염, 결막염, 아토피 증후군과 각화증, 안 염증 질환, 중풍, 심혈관 질환, 우울증, 죽상동맥경화 및 고혈압을 비롯한 하나 이상의 염증성 상태/질환 증상의 치료, 증상 개시의 지연 또는 증상 감소를 위한 방법을 포함하며, 또 박테로이데스 속의 하나 이상의 천연 및/또는 변형된 세균, 및/또는 박테로이데스 속의 하나 이상의 천연 및/또는 변형된 세균으로부터 용해되거나, 생산되거나 또는 단리된 세포 성분, 또는 그의 유도체를 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함한다.

특허청구의 범위

청구항 1

박테로이데스 속(genus *Bacteroides*)의 세균에 의해 용해되거나, 생산되거나, 또는 그로부터 단리된 세포 성분, 또는 상기 세포 성분의 유도체.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 세포 성분이 박테로이데스 테타이오타오미크론(*Bacteroides thetaiotamicron*), B. 프라질리스(*B. fragilis*), B. 불가티스(*B. vulgatis*), B. 디스타소니스(*B. distasonis*), B. 오바투스(*B. ovatus*), B. 스테르코리스(*B. stercoris*), B. 메르다에(*B. merdae*), B. 유니포르미스(*B. uniformis*), B. 에거리티(*B. eggerithii*), 및 B. 카카에(*B. caccae*)로 이루어진 균으로부터 선택되는 세균으로부터 얻은 세포 성분 또는 그의 유도체.

청구항 3

제1항에 있어서, DNA 또는 RNA를 포함하는 세포 성분 또는 그의 유도체.

청구항 4

제1항에 있어서, 지다당류, 지질, 탄수화물, 단백질, 지단백질, 당단백질, 및 이들의 조합으로 이루어진 균으로부터 선택되는 세포벽 성분을 포함하는 세포 성분 또는 그의 유도체.

청구항 5

제1항에 있어서, 세균의 생성물을 포함하며 또 지질, 탄수화물, 단백질 및 유전자 물질로 이루어진 균으로부터 선택되는 세포 성분 또는 그의 유도체.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 따른 세포 성분 또는 그의 유도체가 보충된 식품 또는 음료.

청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 따른 세포 성분 또는 그의 유도체, 및 생리학적으로 허용되는 담체를 포함하는, 경구 투여용 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 담체가 캡슐 피막(capsule shell), 정제화제 및 중합체 매트릭스로 이루어진 균으로부터 선택되는 경구 투여용 조성물.

청구항 9

제7항에 있어서, 상기 담체가 캡슐 피막, 정제화제, 중합체 매트릭스 및 상기 세포 성분 또는 그의 유도체를 연장 방출, 지연 방출 또는 서방 방출하기 위한 성분으로 이루어지는 균으로부터 선택되는 조성물.

청구항 10

박테로이데스 속의 세균, 또는 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 따른 세포 성분 또는 그의 유도체를 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 신체 또는 위장관 염증 증상의 치료, 증상 개시의 지연 또는 증상 감소하기 위한 방법.

청구항 11

박테로이데스 속의 세균, 또는 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 따른 세포 성분 또는 그의 유도체를 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 심혈관 증상의 치료, 증상 개시의 지연 또는 증상 감소하기 위한 방법.

청구항 12

박테로이데스 속의 세균, 또는 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 따른 세포 성분 또는 그의 유도체를 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 당뇨병 증상의 치료, 증상 개시의 지연 또는 증상 감소하기 위한 방법.

청구항 13

박테로이데스 속의 세균, 또는 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 따른 세포 성분 또는 그의 유도체를 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 대장암 증상의 치료, 증상 개시의 지연 또는 증상 감소하기 위한 방법.

청구항 14

박테로이데스 속의 세균, 또는 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 따른 세포 성분 또는 그의 유도체를 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 위장관 염증 증상의 치료, 증상 개시의 지연 또는 증상 감소하기 위한 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 위장관 염증이 과민성 대장 증후군, 크론씨병 및 대장염으로 이루어진 군으로부터 선택된 질병과 관련이 있는 방법.

청구항 16

박테로이데스 속의 세균, 또는 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 따른 세포 성분 또는 그의 유도체를 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 류마티스 관절염 증상의 치료, 증상 개시의 지연 또는 증상 감소하기 위한 방법.

청구항 17

박테로이데스 속의 세균, 또는 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 따른 세포 성분 또는 그의 유도체를 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 천식 증상의 치료, 증상 개시의 지연 또는 증상 감소하기 위한 방법.

청구항 18

박테로이데스 속의 세균, 또는 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 따른 세포 성분 또는 그의 유도체를 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 다발성 경화증 증상의 치료, 증상 개시의 지연 또는 증상 감소하기 위한 방법.

청구항 19

제10항 내지 제 18항 중 어느 한 항에 따른 방법에 있어서, 상기 조성물이 식품 또는 음료로 투여되는 방법.

청구항 20

박테로이데스 속으로부터의 유전자 변형된 세균.

청구항 21

제20항에 따른 유전자 변형된 세균, 및 생리학적으로 허용되는 담체를 포함하는 경구 투여용 조성물.

청구항 22

박테로이데스 속의 종으로부터 얻은 분자/분자 패턴을 기초로 한 합성적으로 유도된 분자.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 박테로이데스 속(*genus Bacteroides*)의 세균으로부터 얻은 세포 성분, 및 그의 유도체, 이러한 세포 성분 또는 그의 유도체를 포함하는 조성물, 및 그러한 세포 성분 또는 그의 유도체를 이용하는 방법, 또는 박테로이데스 속의 세균, 또는 그의 유전자적으로 변형된 형태, 당뇨병, 천식, 다발성 경화증, 암, 류마티스성 관절염, 치은염, 아토피병, 안 염증 질환, 중풍, 심혈관 질환, 우울증, 죽상동맥경화, 및 고혈압과 같은 신체 또는 위장관 염증, 및/또는 관련 질환을 비롯한 하나 이상의 염증성 상태 및/또는 질환의 증상의 치료, 증상의 개시 지연 또는 증상의 감소를 위한 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 인간 숙주의 건강은 무수한 외래 및 자가 분자를 인식하고, 적응하며, 적절한 방식으로 반응하는 면역계 능력에 의존하며, 그에 의해 숙주 항상성 유지가 확보된다. 몇 개의 최근의 연구는 위장관 미소생물학이 면역계의 적절한 작용에서 뿐만 아니라 염증성 반응의 개시 방식에서 중요한 역할을 하며, 후속적으로 염증성 장 질환, 2형 당뇨병(TD2) 및 심혈관 질환(CVD)과 같은 질병 상태에 대하여 음성적 효과를 미친다는 것을 나타낸다. 내장 지방세포 내에서 지방 침적의 증가로 인한 복부 비만은 염증 과정뿐만 아니라 다수의 질병의 발병의 위험 증가와 관련되어 있다. 내장(omentum)은 인간 숙주 내에서 가장 운택한 내분비 기관인 것으로 보통 이해된다. 지방세포 질량이 증가함에 따라서, 사이토카인, 예를 들어 인터루킨 1과 6, 및 종양 괴사 인자 알파(TNF-alpha)와 같은 분비성 생성물도 증가하는 반면, 아디포넥틴(분자 인슐린 감감제)은 감소한다(Kojima, S., et al., 2005. Levels of the adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, have a close relationship with atheroma. *Thromb. Res.* 115:483; Ryo, M. et al., 2004. Adiponectin as a biomarker of the metabolic syndrome. *Circ. J.* 68:975). 이것은, 다시, 간 대사를 왜곡시켜, 혈액 지질의 급증을 초래하고, 또 동맥 내의 작은 맥관 혈관(vasa vasorum)의 증식, 대식세포의 이동 및 이어 염증 과정을 통한 순환 계에 대한 손상을 증가시켜 동맥 손상을 초래한다(Corti, R., et al., 2004. Evolving concepts in the triad of atherosclerosis, inflammation and thrombosis. *J. Thromb. Thrombolysis.* 17:35). 증거는 장내 미소생물학이 면역계의 사이토카인/케모카인의 이용을 통하여 염증 과정에서 중요한 역할을 하며 또 질병의 발병에 관련된 많은 생리학적 과정의 개시 및 증진에 현저한 영향을 줄 수 있다는 것을 제시한다. 세균계의 조절은 CVD, 당뇨병, 염증성 장 질환, 고혈압, 천식, 다발성 경화증 및 암 등을 비롯한 염증 관련 질환 과정의 증상/심각도를 완화시키거나 또는 감소시키는데 도움을 줄 수 있다(Skurk, T. and H. Hauner. 2004. Obesity and impaired fibrinolysis: role of adipose production of plasminogen activator- 1. *Int. J. Relat. Metab. Disord.* 28: 1357; Corti, R., et al., 2004. Evolving concepts in the triad of atherosclerosis, inflammation and thrombosis. *J. Thromb. Thrombolysis.* 17:35). 또한, 미생물 집단의 게놈이 전체 숙주 건강의 유지에 중요하고 또 전체 숙주 게놈은 숙주 항상성을 지지하는데 필요한 모든 작용을 지지하기 위하여 그 자체로는 불충분하다는 것이 최근 제시되었다(Zaneveld, J., et al., 2008. Host-bacterial co-evolution and the search for new drug targets. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 12: 109).

[0003] 2형 당뇨병(T2D)은 흔히 비만 및 대사 증후군과 관련되어 있다(Hu, F.B., et al., 2001. Diet, Lifestyle and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *New Engl. J. Med.* 345:790; Alberti, K.G. and P.Z. Zimmei. 1998. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications, part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus, provisional report of a WHO consultation. *Diab. Med.* 15:539). 정확한 메카니즘은 완전히 밝혀져 있지 않지만, 만성, 저급 비만 유도된 염증성 반응, 예를 들어 Ikb 키나제(IKK) 및 Jun 키나제(JNKs)와 같은 단백질 키나제의 활성화를 통한 염증성 반응이 중요한 인자라는 것은 일반적 지식이다(Hotamisligil, G.S. 2006. Inflammation and metabolic disorders. *Nature.* 444:860; Shoelson, S.E., et al., 2006. Inflammation and insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 116: 1793; White, C.R. 2003. Insulin signaling in health and disease. *Science.* 302: 1710; Solinas, G. C, et al., 2007. JNK1 in hematopoietically derived cells contributes to diet-induced inflammation and insulin resistance without affecting obesity. *Cell Metabol.* 6:386). 세균의 다양한 속 및 종으로부터 얻은 병원체 관련된 분자 패턴(PAMP)은 IKK 염증 반응을 밝히는 것으로 알려져 있다(Doyle, S. L. and L.A. O'Neill. 2006. Toll-like receptors: from the discovery of NF-kB to new insights into transcriptional regulations in innate immunity. *Biochem. Pharmacol.* 72(9): 1102).

[0004] 과민증대장 증후군(IBD)은 조절된 장내 면역계로부터 조절되지 않는 면역학적 세포 활성화 및 친-염증성 사이토카인 생산으로 특징되는 면역계의 이동과 관련되어 있다(De Winter, H., et al., 1999. Mucosal immunity and inflammation. II. The yin and yang of T cells in intestinal inflammation: pathogenic and protective roles in a mouse colitis model. *Am. J. Physiol.* 276:G1317; Simpson, S.J., et al., 2000. Pathways of T

cell pathology in models of chronic intestinal inflammation. *Int. Rev. Immunol.* 19: 1; Elson, C. O., et al., 2007. Monoclonal anti-interleukin 23 reverses active colitis in a T cell-mediated model in mice. *Gastroenterology* 132:2359). IBD는 크론씨 병 및 궤양성 대장염을 포함하며, 이들은 모두 GI 미소생물학과 관련이 있다(Podolsky, D. K., 2002. The current future understanding of inflammatory bowel disease. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 16:933; Shanahan, F. 2002. Crohn's Disease. *Lancet.* 359:62-69; Targan, S.R. and L.C. Karp. 2005. Defects in mucosal immunity leading to ulcerative colitis. *Immunol. Rev.* 206:296). 실험적 증거는 또한 대장염을 초래하는 미생물의 집단을 야생형 마우스로 전달하면 실험적 궤양성 대장염을 유도하기에 충분함을 나타내며(Garrett, W.S., et al., 2007. Communicable ulcerative colitis induced by T-bet deficiency in innate immune system. *Cell.* 131:33), 이는 상기 질병 과정에서 세균의 역할을 나타낸다. 인간에서, GI 세균 집단의 이동은 또한 IBD와 관련이 있다(Lepage, P. et al., 2005. Biodiversity of the mucosa-associated microbiota is stable along the distal digestive tract in healthy individuals and patients with IBD. *Inflamm. Bowel Dis.* 11:473; Scanlan, et al., 2006. Culture-independent analyses of temporal variation of the dominant fecal microbiota and targeted bacterial subgroups in Crohn's disease. *J. Clin. Microbiol.* 40:3980; Frank, D.N. et al., 2007. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 104: 13780).

[0005] 천식과 같은 질병에 대한 연구는 이러한 질병에 걸리기 쉬운 사람들이 정상적인, 비천식 집단의 사람에 비하여 GI 박테로이데스 군집이 더 낮다는 것을 나타낸다(Bjorksten, B. 1999. The environmental influence on childhood asthma. *Allergy.* 54:517). 유행병학적 연구로부터 부가적 증거는 변형된 GI 미소생물학 및 아토피성 습진 및 류마티스성 관절염 사이의 연결이 있음을 나타내었다(Penders, J. et al., 2007. Gut microbiota composition and development of atopic manifestations in infancy: the KOALA Birth Cohort Study. *Gut.* 56:661; Kalliomaki, M. and E. Isolauri. 2002. Pandemic of atopic diseases- a lack of microbial exposure in early infancy? *Curr. Drug Targets Infect. Disord.* 2: 193; Kalliomaki, M. and E. Isolauri. 2003. Role of the intestinal flora in the development of allergy. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 3: 15). 또한, 몇 개의 유행병학적 연구 및 임상 보고는 IBD, 천식, 당뇨병, 류마티스성 관절염, 다발성 경화증, 및 암과 같은 면역 관련 질병의 발병 증가를 개시하였고(Luptin, J.R., 2004. Microbial degradation products influence colon cancer risk: the butyrate controversy. *J. Nutr.*134:479; Bjorksten, B. 1999. The environmental influence on childhood asthma. *Allergy.* 54:517; Frank, D. N., et. al., 2007. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 104: 13780), 이러한 급속성은 유전자 소인에서 증가에 기인한다고 말할 수 없다(Noverr, M. C. and G. B. Huffnagle. 2004. Does the microbiota regulate immune responses outside the gut? *Trends Microbiol.* 12:562).

발명의 내용

[0006] **발명의 요약**

[0007] 본 발명은 세포 성분, 이러한 성분 또는 그의 유도체를 함유하는 조성물, 및 염증성 반응을 조절하기 위한 방법에 관한 것이다.

[0008] 더욱 특히, 일 실시양태에서, 본 발명은 박테로이데스 속의 하나 이상의 세균 종으로부터 용해되거나, 생산되거나, 또는 단리된 세포 성분, 또는 그의 유도체에 관한 것이다. 다른 실시양태에서, 본 발명은 그러한 세포 성분 또는 그의 유도체를 포함하는 조성물에 관한 것이다.

[0009] 다른 실시양태에서, 본 발명은 박테로이데스 속의 세균으로부터 유전자적으로 변형된 형태에 관한 것이다. 다른 실시양태에서, 본 발명은 박테로이데스 속의 세균으로부터 유전자적으로 변형된 형태를 포함하는 조성물에 관한 것이다.

[0010] 다른 실시양태에서, 본 발명은 개인에서 신체 또는 위장관 염증 증상을 치료, 그의 개시의 지연(발병 위험 감소를 비롯), 또는 그를 감소시키기 위한 방법, 더욱 특히, 신체 또는 위장관 염증을 비롯한 하나 이상의 염증성 상태/질환, 예를 들어, 과민증대장 증후군, 크론씨 병, 또는 대장염, 및/또는 관련 질환, 예컨대 당뇨병, 천식, 다발성 경화증, 암, 류마티스성 관절염, 치은염, 아토피병, 예를 들어, 고초열, 식품 알레르기, 습진, 비염, 피부염, 결막염, 아토피 증후군 및 각화증(keratosis pilaris), 안염증 질환, 중풍, 심혈관 질환, 우울증, 죽상동맥경화 및 고혈압의 증상을 치료하거나, 그의 개시의 지연 또는 그를 감소시키는 방법에 관한 것이다. 이 방법

은 박테로이데스 속의 하나 이상의 종, 박테로이데스 속 세균의 유전자적으로 변형된 형태, 또는 박테로이데스 속의 세균으로부터 용해되거나, 생산되거나, 또는 단리된 세포 성분, 또는 그의 유도체를 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함한다.

[0011] 본 발명의 부가적 실시양태는 다음의 상세한 설명으로부터 분명할 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0012] **상세한 설명**

[0013] 인간의 위장관에서 발견되는 세균의 2개의 주요 종류는 그램 양성 세균 및 그램 음성 세균이며, 이들은 세균 세포벽 성분 내에서 차이에 의해 주로 정의된다. LPS(Lipopolysaccharide)는 그램 음성 세균의 통합 성분인 반면에, 테코익산(TA), 리포테코익산(LA) 및 펩티도글리칸(PD)은 그램 양성 세균의 세포벽과 연관되어 있다. 이들 다양한 성분은 인간 상피세포에 의해 인식되며, 세균 세포는 어드헤신(adhesin) 또는 리간드에 의해 그에 부착될 수 있고 또 세포 반응을 유발할 수 있다. 무손상(intact) 세균 세포 이외에, 병원체-관련 분자 패턴(PAMP), 흔히 미생물-관련 분자 패턴(MAMP)라고도 불리는 상기 다양한 세포벽 성분(LPS, TA, LA 및 PD)은 숙주 세포와 상호작용할 수 있다. 이들 성분은 성장하는 동안 방출되거나 또는 세균이 숙주 방어 세포에 의해 삼켜지거나 또는 항생물질에 의해 용해될 때 방출된다. TLR(Toll-like receptors)는 패턴 인식 수용체(PRR)이며, 이들은 NF- κ B를 통하여 천연 면역 반응에 연계된다. 전체 무손상 세균 세포 또는 MAMP는 단독으로 숙주 상피세포 상의 TLR과 같은 PRR에 결합하여 특이적 세포 반응을 유발할 수 있다(Muta, T and K. Takeshige. 2001. Essential roles of CD 14 and lipopolysaccharide-binding protein for activation by distinguished ligands in LPS preparations. Eur. J. Biochem. 268(16):4580). 전체 세균은 GI 수상세포(dendritic cell)에 의해 삼켜진 다음 장간막 림프절로 이동하며, 여기서 이들은 천연 B 세포가 IgA를 생성하도록 유도할 수 있다(Macpherson, A.J. and T. Uhr. 2004. Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. Science: 303: 1662). GI 세포에 의한 IgA의 분비는 GI 미생물이 숙주 면역계에 영향을 주는 수단일 수 있음을 제시하였다(Cerutti, A. 2008. The regulation of IgA production class switching. Nature Rev. Immunol. 8:421; Tezuka, et al., 2007. Regulation of IgA production by naturally occurring TNF/iNOS-producing dendritic cells. Nature 448:929). 다르게는, 항원(Ag)능에서 작용하는 MAMP 분자는 위장관(GI)의 상피세포를 통하여 수송될 수 있고, 이들은 결합 단백질에 의해 선택되어 혈청으로 운반된다. 이들은 다시 예를 들어 PAMP에 대하여 PRR 특이적인 것으로 확인된 TLR을 갖는 면역 세포에 전달(Doyale, S.L. and L.A. O'Neill. 2006. Toll-like receptors; from the discovery of NF- κ B to new insights into transcriptional regulations in innate immunity. Biochem. Pharmacol. 72(9): 1102)되며, 이들은 결합하여 억제성 카파 B 키나제 2(IKK)의 인산화를 개시한다. 일단 결합되면, 핵 인자-카파 베타(NF- κ B)가 활성화된다.

[0014] 핵 인자-카파 베타는 신속하게 작용하는 전사 인자의 패밀리, 즉 불활성화 상태의 세포에 존재하는 전사 인자이며 또 활성화를 위해 새로운 단백질 합성을 필요로 하지 않는다. 따라서, TLR 수용체의 활성화는 유전자 발현에서 꽤 신속한 변화를 초래한다. 불활성화 형태에서, NF- κ B는 세포질에서 발견되며 또 억제성 단백질 I κ Ba에 결합되어 있다. TLR 수용체가 PAMP에 의해 활성화되면, 효소 I κ B 키나제(IKK)가 활성화되어, 억제성 단백질을 인산화하고 또 활성화된 상태의 NF- κ B를 방출한다. 이것은 핵으로 전위(translocated)되며, 그곳에서 반응 요소(RE: response element)에 결합하여서, 다른 단백질을 이용하고 또 궁극적으로 RNA 폴리머라제를 활성화한다. 이것은 DNA를 mRNA로 전사시키며, 세포질에서 단백질로 번역되며, 또 이어 세포 작용을 변형시킨다(Brasier, A.R. 2006. The NF- κ B regulatory network. Cardiovasc. Toxicol. 6(2): 111; Gilmore, T.D. 1999. The Rel/NF- κ B signal transduction pathway: introduction. Oncogene 18(49):6842). 전체적으로, NF- κ Bdp 의한 특정 유전자의 활성화는 특이적 세포/생리학적 반응을 초래하며, 예를 들어 염증 반응 또는 면역 반응을 초래한다(Nelson, D. E. et al, 2004. Oscillations in NF- κ B signaling control the dynamics of gene expression. Science: Q6{5696}:1Q). 장내 세균 집단을 변경하거나 또는 상이한 분자 성분(MAMP)을 GI 상피세포로 제공하는 것은 유전자 발현을 긍정적으로 변경시킬 수 있고 또 이어 면역반응에 유해할 수 있으므로, 염증 상태 및 그의 관련 질병을 조절하거나 또는 예방할 수 있다. 예를 들어, TLR 수용체 반응을 차단하거나 및/또는 변경하는 것에 의한 염증 개시의 방지(이어 사이토카인의 방출) 및 그에 따라 NF- κ B 염증성 캐스케이드 방지는 세포 증식 방지 및 세포사멸(apoptosis)을 지지(Lin, W-W and M. Karin, 2007. A Cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and Cancer. J. Clin. Invest. 117(5): 1175-1183)하고, 또 숙주에서 염증-관련 질병 과정을 제거하거나 및/또는 최소화하는데 유익하다.

[0015] 일반적으로, 면역계는 2개의 상이한 성분, 선천성 면역 및 적응 면역으로 이루어진다. 이들 2개 계는 상호협동

하여 숙주세포를 침습적 병원체로부터 보호한다. 선천성 면역계는 일반화되어 있고 또 MAMP와 같은 분자 패턴을 인식하고 또 TLR, 모노사이트 및 뉴트로필과 같은 일반적 세포 성분 및 세포 메카니즘을 포함한다. 감염을 방지하기 위하여, 피부/상피세포 및 무쿠스(mucus) 분비를 포함하며, 이는 병원체성 생물에 의한 접착과 침습을 방지하기 위한 제1 장벽을 제공한다. 신속하게 작용하는, 선천성 계는 신속하게 유발되며 또 노출 시간 이내에 숙주에 대한 위협을 제거하여 염증 반응을 방지할 수 있다. 이 계가 실패하면, 이어 적응 면역이 침습적 생물을 제거하려 대응한다.

[0016] 인간 숙주 방어 계의 구조는 미생물 병원체 침습자로부터 보호하기 위해 설계된다. 이들 메카니즘은 물리적 장벽(피부 중의 상피, 호흡기, 비노생식 및 위장관 층) 및 병원체 대 "자신"을 인식하며, 또 인식할 때 특이적 세포/유전자 반응을 유발하는 세포 표면 수용체(CSR)를 포함한다. 일반적으로, 숙주 세포 표면에 대한 세균 세포의 접착은 감염을 유발하는데 필요할 뿐만 아니라 정상적 위장관 균총(flora)을 확립하는데 필요하다. 어드헤신(adhesin)은 접착을 매개하는 분자로서 세균 세포 표면 상에서 또는 세균 섬모항원 또는 선모(pili)의 선단에서 전형적으로 발견된다(Hultgren, S.J., et. al., 1993. Pilus and nonpilus bacterial adhesins: assembly and function in cell adhesion. Cell. 73:887).

[0017] 전체 세균 세포는 숙주 면역학적 방어 계를 개시하거나 또는 개시 방지하는데 필요하지 않을 수 있다. 특정 세균으로부터 유도된 분자는 숙주 내에서 면역학적 작용을 증진하는 것으로 밝혀져 있다. 박테로이데스 프라질리스(*Bacteroides fragilis*)로부터 유도된 단일 분자 다당류 A(PSA)는 무균(germ-free) 마우스에서 면역계의 발달을 지시하는 능력을 나타낸다(Mazmanian, S.K., et al., 2005. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. Cell. 122: 107). 무균 마우스에 박테로이데스 프라질리스(*B. fragilis*)를 식균시키거나 또는 정제된 PSA에 의한 처리는 실험적 IBD의 유도로부터 보호할 수 있고 또 이들 모델에서 질병과 관련된 TNF, IL-17 및 IL-23과 같은 친-염증성 사이토카인의 분비를 감소시킬 수 있다(Mazmanian, S.K., et al., 2008. A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease. Nature. 453:620). 또한, 무균 마우스에 박테로이데스 테타이오토미크론(*Bacteroides thetaiotomicron*)을 식균하는 것은 이 세균이 염증 반응을 생성하지 않음을 제시(Hooper, L.V., et al., 2001. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. Science 291:881)하며, 이는 만성 염증과 관련되거나 또는 만성 염증에 의해 악화되는 질병 과정을 감소시키거나 또는 예방할 수 있다.

[0018] 매트릭스 메탈로프로테이나제(MMP)는 배아 발생, 조직 리모델링, 세포사멸, 관절염, 및 숙주 면역을 비롯한 몇 개의 상이한 생리학적 과정에 관여된 효소의 패밀리이다. 매트릴리신(MMP-7)은 조직 수선 및 점막 방어에 작용하는 것으로 알려져 있다(Bals, R., et al., 1998. Mouse beta-defensin 1 is a salt-sensitive antimicrobial peptide present in epithelia of the lung and urogenital tract. Infect. Immun. 66: 1225). 몇 개의 연구는 이 효소가 또한 엘라스틴, 프로테오글리칸, 코어 단백질 및 세르핀을 비롯한 몇 개의 다른 매트릭스 단백질의 분해 및 가공에서 작용하는 것임을 나타낸다(Murphy, G., et al., 1991. Matrix metalloproteinase degradation of elastin, type IV collagen and proteoglycan. A quantitative comparison of the activities of 95 kDa and 78 kDa gelatinases., stromelysins-1 and -2 and punctuated metalloproteinases (PUMP). Biochem. J. 277:277; Sires, L., G., et al., 1993. Degradation of entactin by matrix metalloproteinases. Susceptibility to Matrilysin and identification of cleavage sites. J. Biol. Chem. 268:2069; Halpert, L., et al., 1996. Matrilysin is expressed by lipid-laden macrophages at sites of potential rupture in atherosclerotic lesions and localizes to areas of versican deposition, a proteolytic substrate for the enzyme. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 93:9748).

[0019] MMP 패밀리 내의 다수의 효소와 달리, 매트릴리신은 손상되지 않은 외분비 및 점막 세포, 특히 무거운 세균 로딩을 갖는 것에 의해 발현된다(Wilson, C.L., et al., 1999. Regulation of intestinal alpha-defensin activation by the metalloproteinase matrilysin in innate host defense. Science 286: 113; Saarialho-Kere, U.K., et al., 1993. Divergent mechanisms regulate interstitial collagenase and 92 kDa gelatinase expression in human monocyte-like cells exposed to bacterial endotoxin. J. Biol. Chem. 268: 17354). 매트릴리신은 살세균 효과를 갖지 않지만, 넓은 항균 활성을 갖는 크립틴(장내 알파-데펜신)의 활성화에 필요한 것으로 보이며(Ouellette, A.J., et al., 1994. Mouse Paneth cell defensin: primary structures and antibacterial activities of numerous cryptdin isoforms. Infect. Immun. 62:5040; Ouellette, A.J. and S.E. Selsted. 1996. Paneth cell defensins: endogenous peptide components of intestinal cell defense. FASEB (Fed. Am. Soc. Exp. Biol. J.). 10: 1280), 또 따라서 점막 표면에서 선천성 숙주 방어에서 중요한 역할을 한다. 무균 마우스에 박테로이데스 테타이오토미크론의 배양액을 식균하면 파네스 세포(Paneth cell)에

의한 매트릭신 발현을 유도하였고, 이는 GI 세포벽에서 병원체에 대한 숙주 면역학적 방어가 상기 세균에 대한 노출에 의해 향상되는 것을 나타낸다. 증거는 또한 무손상 세균이 긍정적 숙주 면역학적 반응을 유발하는데 필요하지 않음을 제시한다. 인간 장내 세균 배양물(HT29)이 세균 육즙 여액에 노출될 때, 육즙이 시클로렉시미드 및/또는 항생물질로 처리되었을 때에도 매트릭신 발현이 생겼다(Lopez-Baodo, Y. S., et al., 2000. Bacterial exposure induces and activates matrilysin in mucosal epithelial cells. J .Cell Biol. 148: 1305). 초기 증거는 또한 용해성 세균 인자 또는 모듈린(modulin)이 면역학적/사이토카인 반응을 자극하는 것을 나타내었다(Henderson, B., et. al., 1998. Bacterial modulins: a novel class of virulence factors which cause host tissue pathology by inducing cytokine synthesis. Microbiol. Rev. 60:316; Wilson, M. R. Seymour and B. Henderson. 1998. Bacterial perturbation of cytokine networks. Infect. Immun. 66:2401). 이들 데이터는 세균 용해성 인자가 존재하는 것을 제시한다. 박테로이데스 종으로부터 얻은 이러한 분자는 숙주 염증/질병 반응을 조절하기 위해 장래 적용에서 이용될 수 있다. 박테로이데스 속 내의 임의 종으로부터 단리되거나 또는 합성된 세포 성분은 단리될 수 있고 또 이용되어 염증 반응을 조절함으로써 염증 및 관련 질환을 감소시키거나, 영향을 주거나 또는 그의 개시를 방지할 수 있다.

[0020] 숙주 면역계의 발달시 미생물의 역할을 밝히기 위해 설계된 연구에서 무균 (gnotobiotic) 동물의 이용은 몇 개의 통찰력을 제시하였다. 예를 들어, 무균 마우스는 숙주의 GIT에서 보통 발견되는 장내 세균의 도입시 보정되는 단리된 림프성 여포의 발달과 성숙에서 손상을 나타내었다(Hultgren, S.J, et al., 1993. Pilus and nonpilus bacterial adhesins: assembly and function in cell adhesion. Cell 73:887). 또한, 무균 마우스는 장내에서 분비성 면역글로불린 A(IgA)의 감소를 나타내며(Peterson, D. A., et al., 2007. IgA response to symbiotic bacteria as a mediator of gut homeostasis. Cell Host Microbe 2:328), 그 작용은 숙주 GI 상피 세포에 대한 접촉 및/또는 항원성 세균의 결합을 방지하여 제거를 용이하게 함으로써, 병원성 생물의 침습 및 그에 따른 감염을 방지하므로, 염증 반응의 개시를 못하게 한다. 특정 역할에 대한 불명확함이 존재하긴 하지만, 공생 세균이 IgA의 보호성 분비에 활발하게 관여한다는 아이디어를 지지하는 증거가 생기고 있다. IgA 생산은 공생 세균 또는 MAMP를 갖는 수상세포가 천연 B 세포가 위치하는 장간막 림프절로 이동할 때 천연 B 세포로부터 유도(Suzuki, K. et al., 2004. Aberrant expansion of segmented filamentous bacteria in IgA-deficient gut. Proc. Natl. Acad. Sci. 101: 1981)되며, 이는 숙주 면역계가 장내 미소생물학에 의해 영향을 받는 1개 수단을 나타낸다. 최근의 발견은 공생 세균이 특수화된 점막 수상세포 및 IgA 분비 작용에 영향을 주고, 이어 숙주 장내 면역 반응에 영향을 준다는 부가적 증거를 제공하였다(Tezuka, H., et al., 2007. Regulation of IgA production by naturally occurring TNF/iNOS -producing dendritic cell. Nature 448:929). 이전의 증거는 또한 장내 상피 세포의 관강세포 표면 수용체 글리코실화를 지시하는 것이 숙주 GIT 중의 세균 집단이며, 이는 또한 병원체 접촉에도 영향을 준다는 것을 제시한다(Bry, L., et al., 1996. A model of host-microbial interactions in an open mammalian ecosystem. Science 273: 1380). 또한, 미생물 발효의 몇 개의 다른 생성물은 아데노신 트리포스페이트(ATP) 생산을 비롯한 효과를 갖는 것으로 밝혀졌다(Atarashi, K. et al., 2008. ATP drives lamina propria Tg17 cell differentiation. Nature 455:808). 미생물 발효의 몇 개의 다른 생성물은 또한 면역조절 효과를 갖는 것으로 밝혀졌다. 항생물질로 처리된 다음 기생충 엔세팔리티조안 쿠니쿨리(*Encephalitizoan cuniculi*)에 노출시킨 다음 정상 장내 세균으로부터 단리된 DNA에 의해 처리된 마우스는 기생 부담 감소를 초래하였다(Hall, J., et al., 2008. Commensal DNA limits regulatory T cell conversion and is a natural adjuvant of intestinal immune responses. 2008. Immunity. 29:637). 이들 연구는 세포 성분/본 발명의 조성물 단독이 숙주 면역 반응에 긍정적으로 영향을 줄 수 있어, 세포 성분이 숙주에 대하여 유익할 수 있는 다른 증거를 제공한다. 더욱 특히, 무균 마우스에 박테로이데스 종을 함유하지 않는 세균 집단으로 재구성시키는 것은 숙주에서 적절한 면역 균형을 회복하는 것에 실패(Ivonav, II., et al., 2008. Specific microbiota direct differentiation of IL- 17 -producing T-helper cells in the mucosa of the small intestine. Cell Host Microbe 4:337)하며, 박테로이데스 속 내의 종 및/또는 이들 세균으로부터 단리된 세포 성분/본 발명의 조성물이 숙주 세포를 지지하고 또 염증 반응 및 관련 질환을 조절하는데 유익하게 하는 부가적 증거를 제공해 준다.

[0021] 위장관 미소생물학은 숙주 및 GI 건강을 유지하고 질병을 예방하는데 중요 역할을 한다. 숙주 세포 표면 수용체에 대한 세균 부착 이외에, 미소생물학이 질병에 대한 숙주 내성을 부여할 수 있는 숙주 면역 수용체와의 결합에서 세균 세포에 의해 생성된 분자 및/또는 그의 성분 사이의 분자 다이얼로그이다. 따라서, 박테로이데스 속 으로부터 얻은 하나 이상의 종, 또는 그의 변형된 형태, 세포 성분, 또는 세포 성분의 유도체, 예를 들어 그의 단편, 분자 착물/그의 네트워크, 분자, 및/또는 그의 합성 또는 반합성 유사체, 및/또는 이들의 혼합물로 이루어진 조성물은 관련된 질병 상태를 조절하거나, 숙주의 효능을 제공하도록 이용될 수 있다.

- [0022] 따라서, 다양한 실시양태에서, 본 발명은 세포 성분, 변형된 세균, 조성물, 및 염증 반응 및/또는 그와 관련된 질병 상태를 조절하는 방법을 제공하는 것에 관한 것이다. 더욱 특히, 일 실시양태에서, 본 발명은 박테로이데스 속의 생물로부터 용해되거나, 생성되거나 또는 단리된 세포 성분 또는 그의 유도체, 예를 들어, 박테로이데스 속 내의 종으로부터 얻은 분자/분자 패턴을 기본으로 하는 합성적으로 유도된 분자에 관한 것이다. 다른 실시양태에서, 본 발명은 박테로이데스 속 세균으로부터 유전자적으로 변형된 형태에 관한 것이다. 다른 실시양태에서, 본 발명은 박테로이데스 속의 하나 이상의 세균으로부터 얻은 세포 성분, 또는 그의 유도체를 포함하는 조성물, 또는 박테로이데스 속의 하나 이상의 세균의 유전자적으로 또는 화학적으로 변형된 형태에 관한 것이다.
- [0023] 박테로이데스 속으로부터 세균을 포함하는 프로바이오틱(Probiotic) 조성물은 2008년 10월 21일 출원된 미국 특허출원 번호 12/255,152호, US 2009/0110664호, 각각 그 내용 전체가 참조에 의해 본 명세서에 포함된다.
- [0024] 메카니즘이 완전히 밝혀져 있지 않지만, 미소생물학과 다양한 질병 상태 사이의 상관관계에 대한 증가를 입증할 수 있다. 따라서, 박테로이데스 속으로부터 얻은 하나 이상의 종, 또는 그의 유전자 또는 화학적 변형, 또는 그의 세포 성분, 또는 분자 착물/그의 네트워크, 그로부터 분자, 및/또는 그의 혼합물을 비롯한 그의 합성 또는 반합성 유사체와 같은 그러한 세포 성분의 유도체를 포함하는 본 발명에 따른 조성물은 개인에서 염증, 즉, 신체 또는 위장관 염증을 조절하기 위해 이용될 수 있고, 더욱 특히 예컨대 신체 또는 위장관 염증, 및/또는 관련 질환, 예컨대 당뇨병, 과민증대장 증후군, 크론씨 병, 대장염, 천식, 다발성 경화증, 암, 예컨대 대장, 직장, 전립선, 방광, 림프종, 간세포 암종, 복강, 폐, 뇌, 골 육종, 연골, 근육, 지방 또는 혈관 조직, 기관지, 식도, 갑상선, 난소, 유방, 췌장, 간 및 위의 암, 류마티스성 관절염, 치은염, 아토피병, 비제한적으로 고초열, 식품 알레르기, 습진, 비염, 피부염, 결막염, 아토피 증후군 및 각화증, 안염증 질환, 중풍, 고혈압, 심혈관 질환, 우울증, 및 죽상동맥경화증을 비롯한 하나 이상의 염증성 상태/질환의 증상을 치료하거나, 그 개시를 지연시키거나, 또는 증상을 감소시키는 방법 및/또는 관련된 질병 상태를 치료하기 위해 이용될 수 있다. 본 발명의 내용에서, 질병 또는 상태의 개시를 지연하는 것은 질병이나 상태의 발병 위험을 감소시키는 것을 포함한다. 이 방법은 본 발명에 따른 조성물을 이러한 질병을 갖거나 또는 가질 우려가 있는 개인에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0025] 박테로이데스 속으로부터 단리되거나 또는 합성된 세포 성분은 단리되어 염증 반응을 조절하기 위하여 이용될 수 있으므로 앞에서 언급된 질환 및/또는 상태의 개시 또는 개시 예방을 감소시킬 수 있다. 세포 성분 및 그의 유도체는 박테로이데스 속의 세균종으로부터 얻은 임의 분자 또는 분자들, 공생 인자, 세포벽 구성분, 세포 세포에 의해 생성된 분자, 세포 성분/그의 세포단편, 분자 착물/그의 네트워크, 그의 분자, 및/또는 합성 또는 이들의 반합성 유사체를 포함하며, 극한 생물학적 합성 수법에 따라 제조된 것, 및/또는 본 명세서에 기재된 바와 같은 염증 및/또는 관련 질병 상태를 조절하기 위해 이용될 수 있는 이들의 혼합물을 포함한다.
- [0026] 일 실시양태에서, 본 발명은 박테로이데스 속의 임의 종으로부터 용해되거나, 생산되거나 또는 단리된 세포 성분, 또는 그의 유도체에 관한 것이다. 다른 실시양태에서, 본 발명은 이러한 세균의 유전자적으로 변형되거나 또는 극한 생물학적으로 합성된 형태 또는 이들의 세포 성분에 관한 것이다.
- [0027] 기재된 세포 성분 제제의 제조에 유용한 세균은, 비제한적으로, 박테로이데스 테타이오타오미크론(*Bacteroides thetaiotamicron*) (ATCC29148), *B. 프라질리스*(*B. fragilis*)(NCTC9343), *B. 불가투스*(*B. vulgatus*) (ATCC8482), *B. 디스타소니스*(*B. distasonis*) (ATCC8503), *B. 오바투스*(*B. ovatus*), *B. 스테르코리스*(*B. stercoris*), *B. 메르다에*(*B. merdae*), *B. 유니포르미스*(*B. uniformis*), *B. 에거리티*(*B. eggerithii*), 및 *B. 카카에*(*B. caccae*)와 같은 박테로이데스 속의 임의 종을 포함하며, *B. 프라질리스*(*B. fragilis*)를 기준주(type strain)로 포함한다. 특정 실시양태에서, 상기 세균은 박테로이데스 테타이오타오미크론(*Bacteroides thetaiotamicron*), *B. 프라질리스*(*B. fragilis*), *B. 불가투스*(*B. vulgatus*), *B. 디스타소니스*(*B. distasonis*), *B. 오바투스*(*B. ovatus*), *B. 메르다에*(*B. merdae*), *B. 유니포르미스*(*B. uniformis*), *B. 에거리티*(*B. eggerithii*), 및 *B. 카카에*(*B. caccae*)로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0028] 특정 실시양태에서, 본 발명에 따른 하나 이상의 세포 성분은 적절한 장내 상피세포 표면 수용체에 특이적이어서 병원성 세균 또는 병원성 세균 세포 성분의 결합을 감소시킬 수 있다.
- [0029] 다른 실시양태에서, 상기 세포 성분은 지다당류, 단백질, 탄수화물, 지질, 지단백질, 당단백질, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 세포벽 성분을 포함한다. 다른 실시양태에서, 상기 세포 물질은 DNA 또는 RNA, 예를 들어 16S RNA, 메신저 RNA, 리보소말 RNA, 등을 포함한다.

- [0030] 다른 실시양태에서, 상기 세포 성분은 박테로이데스 속 내의 종에 의해 생성된 분자 또는 분자들을 포함한다.
- [0031] 다른 실시양태에서, 상기 세포 성분은 박테로이데스 속의 세균종을 패터닝한 후 세포 성분의 신규(de novo) 생물학적 합성에 의해 생성된다.
- [0032] 상기 세포 성분 조성물은 세균 세포로부터 용해되거나 또는 박테로이데스 속의 세균종으로부터 얻어진 분자로부터 합성적으로 유도되거나 또는 이들의 조합으로부터 얻은 단일 분자 또는 분자의 조합으로서 제공될 수 있다. 당업자들은 박테로이데스 세균 분자가 세균으로부터 직접적으로 용해될 수 있거나 또는 박테로이데스 종의 임의 분자 성분을 기초로 하여 합성적으로 제조될 수 있다는 것을 잘 알고 있을 것이다.
- [0033] 상기 세포 성분의 예는, 비제한적으로, 박테로이데스 속 내의 임의 종 또는 비제한적으로 임의 공급원(바이러스, 세균, 인간 등)의 유전자 물질의 부위 돌연변이, 삽입, 결실 또는 변형을 포함할 수 있는 유전자적으로 변형된 종(신규 합성 포함)에 의한 세포 단편, 분자 착물 또는 네트워크, 세포벽 성분 및/또는 독특한 생성물/분자, 상기 박테로이데스 세포 및/또는 유전자적으로 변형된 세균 세포에 의해 생성된 임의 분자 및/또는 임의 생성물/분자의 합성 또는 반합성 유사체, 뿐만 아니라 상기 속 내의 임의 종으로부터 얻은 이들 분자의 합성 또는 반합성 유사체를 포함하며, 이는 당업자들이 잘 알고 있을 것이다. 이러한 세포 성분 및 변형된 세균이 얻어질 수 있는 공정의 예가 제공된다. 부가적 공정은 본 발명의 내용을 참조하면 당업자에게 분명할 것이다.
- [0034] 일 실시양태에서, 본 발명에 따른 세포 성분의 제조 방법은 세포 막의 파괴와 뒤이은 세포 내용물(분자, 소기관 등)의 방출을 초래하는 세균 세포의 용해에 의해 개시된다. 세포 용해 방법은, 비제한적으로, 기계적(예를 들어, 블렌딩), 광학적(예를 들어, 레이저), 화학적(예를 들어, 소듐 도데실 설페이트와 같은 계면활성제 사용), 초음파(예를 들어, 초음파처리), 전기적(예를 들어, 전압), 삼투(예를 들어, 저장액(hypotonic solutions)), 또는 효소적(예를 들어, 라이소자임) 공정을 포함한다. 일반적 과정은 세포를 적합한 용액과 함께 Waring® 블렌더에 넣어 기계적으로 막을 파쇄한다. 다르게는, 세포는 저장액에 두어 막이 터지게 할 수도 있다. 세포 현탁액은 작은 공간(액체 균질화)를 통하여 처리되어 세포 막의 파쇄를 초래할 수 있다. 일단 용해되면, 분리는 구배 원심분리 과정에 이어 과정에 따라서 분리 수법에 의해 개시된다. 이들 과정은 비제한적으로, 예를 들어, 다양한 용액, 예를 들어 포스페이트 완충용액, 염 용액 또는 황산 암모늄을 이용하는 구배 원심분리에 의한 추출, 및/또는 단백질을 분리하기 위한 속슬렛 공정, 핵산을 분리하기 위한 에탄올, 및 지질 용해성 성분에 대한 페놀을 포함한다. 더 정제하기 위한 부가적 과정은, 비제한적으로, 투석 및/또는 여과/겔 여과 및/또는 적합한 컬럼을 이용하는 고성능/압력 액체 크로마토그래피(HPLC)의 다양한 형태를 포함한다. 다른 방법은 비제한적으로, 소듐 도데실 설페이트 폴리아크릴아미드 겔 전기영동(SDS-PAGE)과 같은 다양한 형태의 전기영동, 분광광도계, 효소결합된 면역흡착 에세이(ELISA), 형광 블러, 및 추가의 분리, 정제 및 동정/증폭을 위한, 및/또는 생물학적 활성 에세이를 위한 중합효소 연쇄반응을 포함한다. 적용될 수 있는 다른 방법은 클로닝 DNA 벡터 및 증폭(재조합 DNA 수법 또는 유전자 엔지니어링이라 흔히 지칭됨)을 이용하는 것에 의한 핵산 증폭을 포함한다. 당업자들은 용해 및 뒤이은 분리, 확인 및 증폭 그리고 제조 및 생물학적 에세이 목적을 위한 본 발명의 조성물/세포 성분의 생산을 위해 다양한 수법이 이용될 수 있음을 잘 알고 있을 것이다.
- [0035] 이들의 다양한 결합을 비롯한 상기 세포 성분은 비제한적으로, 예를 들어, 단백질(내독소, 막횡단(transmembrane) 단백질, 인테그랄(integral) 단백질 및 효소), 당단백질, 주변세포질(periplasm)의 성분, 당지질, 지다당류(LPS), MAMP/PAMP, 세포 표면 분자(항원, 어드헤신 등), 세포질 분자 또는 생성물, 지단백질, 포린(porins), 펩티도글리칸, 탄수화물, 펩티드, 지질 A, O 다당류, 인지질, 지질, 또는 유전자 성분 예컨대 DNA, RNA 및 핵산을 포함한다. 일개의 특정 실시양태에서, 상기 세포 성분은 LPS(지다당류), DNA/RNA/핵산, O 다당류, 지질 A, 내독소, 및/또는 MAMP를 포함한다. 다른 실시양태에서, 상기 세포 성분은 O 다당류 및/또는 지질 A를 포함한다.
- [0036] 또한, 세포 성분은 비제한적으로 비제한적으로 ABC-트랜스포터(비제한적으로 타입 I-VI을 포함한 ATP-결합 카세트 트랜스포터 포함), 대사물질 산물, 및 비제한적으로, 예를 들어, 주변세포질 또는 세포질 물질을 함유하는 외부 막 분자의 방출을 포함하는 임의 계를 통하여 단백질, 탄수화물, 지질, 및 이들의 조합 또는 이들의 유도체, 플라스미드, 핵산, 항생물질 및 박테리옌(bacteriocins)과 같은 박테로이데스 속의 세균에 의해 생성되고 분비된 독특한 분자를 포함한다.
- [0037] 상기 세포 성분은 비제한적으로 약물단(수용체와 상호작용하여 소망하는 결과를 내는 분자 구조인 화합물의 활성 부위를 지칭하기 위하여 흔히 이용됨) 또는 보조단(auxophore)(변형되면 생물학적 활성의 변화를 초래하는 활성 부위의 일부가 아닌 분자 성분)을 비롯한 이전에 기재된 상기 세포 성분의 합성 또는 반합성 유사체를 포

함한다.

[0038] 상술한 세포 성분의 유도체는 또한 본 발명에 포함된다. 이들 유도체는 비제한적으로 분자 내의 원자의 부가, 제거 또는 변경 및/또는 분자 네트워크/복합체 내의 하나 이상의 분자의 부가, 제거 또는 변경 또는 원자/분자 또는 분자의 기의 부가 또는 절제를 포함하는 변형을 포함할 수 있다. 예를 들어, 에틸기 또는 히드록실의 부가, 아민에 의한 히드록실 기의 치환, 예를 들어 메틸기에 의한 티올의 치환에 의한 작용기의 변형, 예를 들어 황을 사용한 산소 원자의 치환, 또는 입체 중심의 분자 치환 또는 변경에 의한 새로운 입체이성질체의 형성, 주쇄 구조의 변경으로 새로운 이성질체 형성, 또는 특이적 구조 또는 화학적 변경이 활성 또는 효능의 조절을 초래하는 다른 변경이 포함된다. 세포 성분 구조에 대한 부가는 예를 들어 포화 탄소 사슬을 1에서 5개 원자(메틸에서 펜틸)로 또는 그 이상으로 연장하거나, 또는 메틸아미노기의 부가, 사슬 분기(branching), 고리 변형 또는 예를 들어 아미노 또는 설폰닐 기의 위치를 오르토에서 파라로 변경하는 것을 포함하며, 이들은 개선된 생물학적 활성/숙주 반응을 초래할 수 있다. 합성 유사체는 분자 구조의 승인, 예를 들어 1개의 일정 단위, 예를 들어 CH_2 -의 차이를 보이는 분자 기 및 직쇄에서 시클릭 또는 시클릭에서 직쇄로(예를 들어 고리상 아미노산 또는 핵산의 고리 구조의 변형)의 주쇄 또는 치환기의 전환을 포함한다. 세포 성분의 합성 또는 유도체는 등전자 기를 갖는 기를 변형시켜 생등입체성 물질(bioisostere)을 형성하는 것을 포함하며(다른 화학 기에 의해 치환된 화학적 작용기는 유사한 생물활성을 초래함), 이는 화학적 또는 물리적 유사성 뿐만 아니라 생물학적 활성을 갖는다. 예를 들어, 이것은, 비제한적으로, 유사한 수의 전자가 갖는 분자 또는 동일한 수의 원자를 갖지 않지만 유사한 전자 주변층을 갖는 것을 포함한다. 이들은 비제한적으로 염소, 플루오르 또는 히드록실 기와 같은 일가 원자, 산소 및 셀레늄과 같은 2가 원자, 및 벤젠 또는 티오펜과 같은 고리 등가물을 포함한다. 유사한 수의 원자 또는 전자가 갖지 않지만 유사한 생물학적 활성을 갖는 비전통적인 생등입체성 물질은 비제한적으로, 카보닐 기 또는 카복실 기 또는 헤테로시클릭 방향족 기 예컨대 옥사졸, 티오펜, 이미다졸 등과 같은 카보닐 기 또는 카복실 기 또는 헤테로시클릭 방향족 기에 대한 변형을 포함한다. 당업자들은 이 작은 목록이 본 발명 내에 포함되는 다양한 특정 실시양태의 몇 개의 예시일 뿐이라는 것을 잘 알고 있을 것이다.

[0039] 적절한 박테로이데스 세균의 양은 발효 공정을 이용하여 생성될 수 있다. 예를 들어, 멸균의 혐기성 발효기에 글루코오스, 다당류, 올리고당류, 단당류 및 이당류, 효모 추출물, 단백질/질소 공급원, 다량영양소 및 미량영양소(비타민 및 무기질)과 같은 매질을 장입하고 또 소망하는 박테로이데스 세균의 배양액을 매질에 부가할 수 있다. 발효하는 동안, 농도(그램당 콜로니 형성 단위), 순도, 안전성 및 오염원의 부재를 모니터링하여 최종 생성물의 품질 결과를 확실히 한다. 발효 후, 박테로이데스 세균 세포는 잘 공지된 다양한 수법, 예컨대 여과, 원심분리 등과 같은 수법으로 분리할 수 있고 또 상기 세포 성분은 다른 세포 성분으로부터 용해되거나 및/또는 분리된다. 분리된 세포 성분은 예를 들어, 동결건조, 분무 건조, 가열 건조 또는 이들의 조합에 의해 건조될 수 있고, 필요에 따라 보호 용액/매질을 부가할 수 있다.

[0040] 다른 실시양태에서, 상기 세포 성분은 박테로이데스 속의 세균종을 패터화한 후 세포 성분의 신규(de novo) 생물학적 합성에 의해 생성된다.

[0041] 본 발명에 사용하기에 적합한 박테로이데스 속으로부터의 유전자적으로 변형된 세균은 비제한적으로 유전자에서 특이적 변화(부위 특이적 돌연변이), 특정 유전자의 삽입 또는 결실에 의한 유전자 변형(제한 효소 사용) 및/또는 플라스미드(예를 들어 R 인자 플라스미드) 또는 바이러스(예를 들어 서플 바이러스), 임의의 공급원(예를 들어 바이러스, 동물, 식물, 효모 등)으로부터 임의의 유전자 물질의 부가, 및 뉴클레오티드/유전자/계놈의 공유 변형을 포함한 임의의 유전자 변형으로 이루어지며, 세포 자체 내의 변화 또는 세균 세포의 분자/생성물의 변화를 초래한다.

[0042] 본 발명은 또한 상기 개시된 세포 성분, 또는 그의 유도체, 박테로이데스 세균, 또는 유전자적으로 변형된 그의 형태를 함유하는 조성물(이러한 조성물을 이후 본 발명의 조성물이라 칭함), 및 본 명세서에 기재된 이러한 조성물을 이용하는 방법에 관한 것이다.

[0043] 본 명세서에 기재된 바와 같은 세포 성분 또는 그의 유도체, 세균 또는 유전자적으로 변형된 그의 형태의 조성물은 적절한 배지에서 시작될 수 있고, 여기에 분자 보호를 위해 적절한 보호제를 부가할 수 있다. 적절한 보호제의 예는 비제한적으로 증류수, 폴리에틸렌 글리콜, 수크로오스, 트레할로오스, 탈지유, 자일로오스, 헤미셀룰로오스, 펙틴, 아밀로오스, 아밀로펙틴, 자일란, 아라비노갈락탄, 녹말(예컨대, 감자 녹말 또는 쌀 녹말) 및 폴리비닐피롤리돈을 포함한다.

[0044] 다른 실시양태에서, 상기 개시된 세포 성분 조성물은 소정 양의 세균 세포 성분 및 경우에 따라 하나 이상의 생리학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 상기 담체는 약학적으로 허용되는 담체이며

또 상기 조성물은 인간 또는 다른 동물에 투여하기 위해 적응된다. 상기 담체는 필요로 하는 검체 동물에 대한 전달을 용이하게 하기 위하여 제공될 수 있다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "담체"는 소비하는 동물에 대한 전달을 위한 매질을 제공하는 것에 의해 박테로이데스 조성물의 투여를 용이하게 하는 물질(예컨대 정제화제(tableting agent) 또는 액체) 또는 물품(예컨대, 캡슐 피막(shell) 또는 중합체 매트릭스)를 광범위하게 지칭한다. 당업자들은 상기 담체는 검체에 대하여 목적하는 세포 성분 값을 현저하게 억제하지 않아야 함을 알고 있을 것이다. 이하에 더욱 자세하게 기재되는 바와 같이, 투여는 경구, 주사, 흡입, 국소적 또는 기타 공지된 투여 경로를 비롯한 소망하는 경로에 의해 실시될 수 있다.

[0045] 박테로이데스 세균 및/또는 박테로이데스 세균 세포 성분을 포함하는 본 발명의 조성물은 캡슐, 좌약, 정제, 식품/음료, 흡입제, 설하액(sublingual fluid), 로션, 점안제 또는 귀 물약(ear drops) 등과 같은 다양한 투여 형태로 제조될 수 있다. 다른 관점에서, 본 발명의 조성물은 반고체 또는 케이크 또는 분말 형태로 제공될 수 있다. 일 실시양태에서, 경우에 따라서, 본 발명의 조성물은 미세결정성 셀룰로오스, 만니톨, 글루코오스, 탈지유 분말, 폴리비닐피롤리돈, 녹말 또는 이들의 조합과 같은 다양한 약학적으로 허용되는 부형제, 및/또는 본 명세서에 언급된 임의의 부형제를 포함할 수 있다.

[0046] 본 발명은 박테로이데스 속으로부터의 적합한 세균 종으로부터 세포 성분 조성물뿐만 아니라 신체 또는 위장관 염증, 및/또는 관련 질환, 예컨대 당뇨병, 과민증대장 증후군, 크론씨 병, 대장염, 천식, 다발성 경화증, 암, 예컨대 장, 직장, 전립선, 방광, 림프종, 간세포 암종, 복강, 폐, 뇌, 골 육종, 연골, 근육, 지방 또는 혈관 조직, 기관지, 식도, 갑상선, 난소, 유방, 췌장, 간 및 위의 암, 류마티스성 관절염, 치은염, 비제한적으로 고초열, 식품 알레르기, 습진, 비염, 피부염, 결막염, 아토피 증후군 및 각화증(keratosis pilaris)을 비롯한 아토피 병, 안 염증 질환, 중풍, 고혈압, 심혈관 질환, 우울증, 죽상동맥경화, 또는 류마티스성 관절염, 및/또는 인간, 말, 래트, 마우스, 반추동물, 영장류, 원숭이, 햄스터, 토끼, 개, 고양이 및 다양한 종류 및 어류 종과 같은 동물에서 임의의 관련 질병 상태를 비롯한 하나 이상의 위장관 또는 전신적 염증 상태 또는 하나 이상의 염증성 상태/질환의 증상을 치료, 발병 우려의 감소를 비롯한 증상 개시의 지연 및/또는 증상의 감소를 위하여 상기 개시된 세포성분 조성물을 사용하는 계 및 방법을 제공한다. 본 명세서에 기재된 바와 같은 상기 개시된 세포 조성물, 즉 "본 발명의 조성물"은 전술한 상태의 위장관 또는 전신적 염증의 증상을 감소, 지연 또는 줄이기 위하여 숙주에 전달될 수 있다. 특정 실시양태에서, 상기 방법은 인간에서 실시될 수 있다.

[0047] 일 실시양태에서, 상기 세포 성분 및/또는 본 발명의 조성물은 통상의 수법에 따라서 동결건조되어 제공될 수 있다. 적절한 동결건조 방법의 예는 비제한적으로, 하나 이상의 보호제, 완충제, 안정화제, 및, 더욱 특히, 하나 이상의 증류수, 폴리에틸렌 글리콜, 수크로오스, 트레할로오스, 탈지유, 자일로오스, 헤미셀룰로오스, 펙틴, 아밀로오스, 아밀로펙틴, 자일란, 아라비노갈락탄, 녹말(예컨대, 감자 녹말 또는 쌀 녹말), 폴리비닐피롤리돈, 산화철, 폴리텍스트로오스, 폴리비닐 아세테이트 프탈레이트, 프로필렌 글리콜, 셀락 왁스, 소듐 알지네이트, 중탄산 나트륨, 트리에틸 시트레이트, 락토오스, 만니톨, 소르비탄, 인산 나트륨, 소르비톨, 디메티콘, 소듐 라우릴 설페이트, 크로스카르멜로오스 소듐, 레시틴, 및 크산탄 검을 비롯한 적절한 담체를 갖는 매질에 의해 개시될 수 있다.

[0048] 일 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 서방성(SR), 연장방출성(ER, XR, 또는 XL), 시간 방출 제어 방출(CR) 또는 연속 방출(CR 또는 콘틴) 형태로 제공될 수 있고, 장시간에 걸쳐 분자를 방출할 수 있도록 예를 들어 정제, 연질 겔, 좌약 또는 캡슐 형태로 제공될 수 있다. 이들 성분은 불용성 물질의 매트릭스 및/또는 비제한적으로, 아크릴, 키틴, 중합체, 팽윤되어 겔 또는 매트릭스를 형성하는 용해성 섬유, 불용성 섬유, 미세결정성 셀룰로오스, 프로필 갈레이트, 착색제 및/또는 하이프로멜로오스를 포함할 수 있는 통상의 첨가제에 매립될 수 있다. 특정 실시양태에서, 지연방출, 연장방출, 시간 방출 제어방출 또는 연속 방출 형태는 경구 투여를 위한 것이다.

[0049] 특정 실시양태에서, 상기 세포 성분(들) 또는 세균은 시간 방출, 연장 방출 또는 지연 방출 형태로 전달된다. 적절한 제형 성분의 예는 비제한적으로, 하나 이상의 하이프로셀룰로오스, 미세결정성 셀룰로오스, 스테아르산 마그네슘, 유단백, 이산화탄, 시트르산 나트륨, 프로필 갈레이트, 리보플라빈, 이눌린, 산화철, 실리카, 이산화규소, 규산 마그네슘, 말토덱스트린, 클로로필, 감자 녹말, 인산칼슘, 소듐 녹말 글리콜레이트, 강황, 카보네이트, 카르누바 왁스, 트리아세틴, 폴리소르베이트 80, 메틸아크릴산 공중합체, 키틴, 아크릴, 프로프-2-에노일, 아크릴릴, 아크릴, 포비돈, 및 스테아르산을 포함한다.

[0050] 제1 관점에서, 개시된 세포 성분 조성물/본 발명의 조성물은 캡슐/연질 겔로서 제조될 수 있다. 캡슐(즉, 상기 담체)은 증공될 수 있고, 일반적으로 젤라틴, 셀룰로오스, 탄수화물, 하이프로멜로오스 등과 같은 다양한 물질로부터 형성된 원통형 캡슐일 수 있다. 상기 캡슐은 속에 박테로이데스 세균 또는 세포 성분/본 발명의 조성물

을 수용할 수 있다. 경우에 따라, 및 적절한 박테로이데스 세균 또는 세포 성분/본 발명의 조성물 이외에, 캡슐은 비제한적으로 착색제, 향미제, 쌀 또는 기타 녹말, 글레시린 및/또는 이산화티탄을 포함할 수 있다.

[0051] 제2 관점에서, 본 발명의 조성물은 좌약으로서 제조될 수 있다. 좌약은 비제한적으로 적절한 박테로이데스 세균 또는 세포 성분 및 하나 이상의 담체, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜, 아카시아, 아세틸화 모노글리세리드, 카르누바 왁스, 셀룰로오스 아세테이트 프탈레이트, 옥수수 녹말, 디부틸 프탈레이트, 도쿠세이트 나트륨(docusate sodium), 젤라틴, 글리세린, 산화철, 카올린, 락토오스, 스테아르산 마그네슘, 메틸 파라벤, 약제학적 광택제, 포비돈, 프로필 파라벤, 나트륨 벤조에이트, 소르비탄 모노올레에이트, 수크로오스 탈크, 이산화티탄, 화이트 왁스 및 착색제를 포함할 수 있다.

[0052] 제3 관점에서, 본 발명의 조성물은 정제로서 제조될 수 있다. 상기 정제는 적절한 박테로이데스 세균 또는 세포 성분/본 발명의 조성물 및 이염기성 인산칼슘, 스테아르산, 크로스카르멜로오스, 실리카, 셀룰로오스 및 셀룰로오스 코팅과 같은 하나 이상의 정제화제(즉 담체)를 포함할 수 있다. 상기 정제는 직접적인 압축 공정을 이용하여 형성될 수 있지만, 다양한 수법을 이용하여 상기 정제를 형성하는 것을 당업자들이 잘 알고 있다.

[0053] 제4 관점에서, 본 발명의 조성물은 식품 또는 음료로서 형성될 수 있거나, 또는 다르게는, 식품 또는 음료의 첨가제로서 형성될 수 있으며, 여기서 적당량의 박테로이데스 세균 또는 세포 성분(들)은 식품 또는 음료에 부가되어 식품 또는 음료가 담체를 갖도록 한다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 추잉검, 로젠지, 경질 또는 연질 캔디 등에 대한 첨가제이다.

[0054] 제5 관점에서, 본 발명의 조성물은 비제한적으로 물, 소르비톨, 글리세린, 시트르산, 포타슘 소르베이트 및 향미제로부터 선택된 하나 이상의 성분을 함유할 수 있는 설하액(sublingual fluid)으로서 제공될 수 있다.

[0055] 제6 관점에서, 본 발명의 조성물은 비제한적으로 물, 에탄올, 소르비톨, poloxamer 407, 벤조산, 향미제, 나트륨 사카린, 시트르산 나트륨, 시트르산, 및 식품 안전 염료로부터 선택된 하나 이상의 성분을 포함하는 구강세척제로서 제공될 수 있다.

[0056] 제7 관점에서, 본 발명의 조성물은 가압식 측량 투여되는 흡입기로서 제공될 수 있다. 이러한 흡입기는 가압 캐리어, 예를 들어 비제한적으로 1,1,1,2-테트라플루오로에탄(HFA-134A) 등을 포함할 수 있다.

[0057] 제8 관점에서, 본 발명의 조성물은 비제한적으로 염화 벤질알코늄, 디소듐 에데테이트, 염화칼륨, 물, 중탄산 나트륨, 시트르산 나트륨, 염화나트륨, 인산나트륨(일염기성 및 이염기성), 폴리비닐 알코올, 포비돈, 노나노일 EDTA, 폴리쿼터늄-1, 및 미리스트아미도프로필 디메틸아민으로부터 선택된 하나 이상의 성분을 포함할 수 있는 점안제(eye drops)로서 제공될 수 있다.

[0058] 제9 관점에서, 본 발명의 조성물은 비제한적으로 염화 벤질알코늄, 글리세린 및 물로부터 선택되는 하나 이상의 성분을 포함할 수 있는 귀의 물약(ear drops)으로서 제공될 수 있다.

[0059] 제10 관점에서, 본 발명의 조성물은 비제한적으로 물, 글리세린, 석유, 세테아릴 알코올, 디메티콘, 향료, cetareth-20, 수산화나트륨, 메틸파라벤, 프로필렌 글리콜, 디아졸리노딜 우레아, 디소듐 EDTA, 프로필파라벤, 디스테아릴디모늄 클로라이드, 글리세릴 라우레이트, 수산화칼륨, 베헨트리모늄 메토설페이트, 코카미오프로필 PG-디모늄 클로라이드 포스페이트, 옥틸도데칸올, 및 PEG-100 스테아레이트로부터 선택되는 하나 이상의 성분을 포함할 수 있는 로션으로 제공될 수 있다.

[0060] 본 발명의 조성물에서 박테로이데스 세균 또는 세포 성분의 농도는 소망하는 결과, 사용된 세균 또는 세포 성분의 유형과 형태, 투여형태 및 목적하는 투여 방법에 따라서 달라질 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 조성물은 제제 중에 세균 또는 세포 성분을 약 1 mg 이상 내지 약 1g 중량을 갖도록 제조될 수 있거나, 또는 제제의 총 중량을 기준으로 1-30X HPUS (Homeopathic Pharmacopia of the US)로 제조될 수 있다. 일 실시양태에서, 상기 조성물은 하루에 1회, 2회, 3회 또는 그 이상 투여될 수 있다. 다른 실시양태에서, 상기 조성물은 매 4-6시간 마다 투여된다. 다른 실시양태에서, 상기 조성물은 일 주에 1회, 2회, 3회 또는 그 이상 투여된다.

[0061] 본 발명에 사용하는 것이 고려되는 적합한 조성물의 특정 예는 다음과 같이 제공된다.

[0062] **실시예 1**

[0063] 이 실시예는 치료성 조성물에 사용될 세포 성분의 제조를 나타낸다.

[0064] 세균 세포 배양액은 긴밀하게 제어되는 상태하의 대형 통에서 성장시켰다. 세포 성분, 예를 들어 단백질은 세포 용해, 추출 및 정제에 의해 세균 세포 자체로부터, 다르게는 예를 들어, pH, 온도, 산소, 영양분 또는 기타 변

수와 같은 상태를 달리하는 것에 의해 단백질을 생성하는 세균을 자극하는 것에 의해 얻은 세균 세포 분비물로부터 얻었다. 멸균 유리 배양액/튜브에 용해된 세포 및/또는 단백질을 함유하는 매질 및 비제한적으로 예를 들어 10% 이하의 탈지유, 5% 소듐 글루코네이트를 사용하거나 사용하지 않는 현탁 매질을 접종시켰다. 상기 물질을 예를 들어 원심분리시키고 또 적절한 멸균 매질(예를 들어, 현탁 매질 또는 완충 용액)에 의해 세척하였다. 보호제, 안정화제, 완충제 등을 비롯한 동결 건조를 위한 통상의 첨가제를 부가할 수 있다. 예를 들어, 약 -20℃ 내지 대략 -200℃, 더욱 특히, -50℃ 내지 -80℃ 범위의 온도, 또는 낮은, 전형적으로 진공하에서 수 시간 동안 실시될 수 있는 냉동 건조(동결건조) 하기 전에 유체를 전형적으로 제거하였다. 건조가 완료되면, 비제한적으로 건조 분말 제형을 제공하기 위한 쌀가루, 스테아르산 마그네슘, 이인산칼슘, 셀룰로오스, 스테아르산, 탄산 칼슘 및/또는 이산화규소를 비롯한 비활성 또는 불활성 성분들을 부가하였다.

[0065] **실시예 2**

[0066] 이 실시예는 적합한 캡슐 생성물을 나타낸다.

[0067] 동결건조 공정을 이용하여, B. 테타이오타오미크론 세포로부터 얻은 분량의 세포 성분을 실시예 1에 기재된 과정을 이용하여 분말 형태로 제조하였다("활성 성분 1").

표 1

번호	성분	mg/캡슐
1	활성 성분 1	200
2	락토오스 USP	180
3	옥수수 녹말, 식품 등급	60
4	스테아르산 마그네슘 NF	10

[0068]

[0069] 표 1의 성분 1-4를 적합한 혼합기 내에서 10분간 혼합하였다. 혼합한 후, 450 밀리그램의 혼합물을 2-조각(two-piece) 젤라틴 또는 하이프로멜로오스 캡슐에 장입하고 또 캡슐을 밀봉하였다.

[0070] **실시예 3**

[0071] 이 실시예는 적합한 정제 생성물을 나타낸다.

[0072] 실시예 1에 기재된 바와 같은 동결건조 공정을 이용하여, B. 유니포르미스(*B. uniformis*) 세포로부터 얻은 일정량의 세포 성분을 분말 형태로 제조하였다 ("활성 성분 2").

표 2

번호	성분	mg/정제
1	활성 성분 2	65
2	미세결정성 셀룰로오스	135
3	글루코오스	250

[0073]

[0074] 표 2의 성분 1-3을 적합한 혼합기 내에서 10분간 혼합하였다. 이 혼합물을 타정기(tableting press)를 이용하여 압축하여 450 밀리그램의 정제를 제조하였다.

[0075] **실시예 4**

[0076] 이 실시예는 적합한 좌약 생성물을 나타낸다.

[0077] 실시예 1에 기재된 바와 같은 동결건조 공정을 이용하여, B. 불가투스(*B. vulgatus*) 세포로부터 얻은 일정량의

세포 성분을 분말 형태로 제조하였다("활성 성분 3").

표 3

번호	성분	g/투여량
1	활성 성분 3	15
2	카카오 버터	30
3	황색 왁스	5
4	석유 젤리	5
5	스테아르산 나트륨	3

[0078]

[0079] 표 3의 성분 2-4를 60℃ 온도로 가열된 적합한 혼합기 내에 장입하고, 일정하게 교반하여 제1 혼합물을 형성하였다. 별도로, 표 3의 성분 1 및 5를 혼합기에 장입하고 또 10분간 혼합하여 제2 혼합물을 형성하였다. 느리게, 그리고 교반하면서, 상기 제2 혼합물을 제1 혼합물에 부가하고 생성한 혼합물을 연속적으로 10분간 교반한 다음 미리형성된 좌약 피막(shell)에 부었다. 충전된 좌약 피막은 좌약이 경화되도록 냉각시켰다.

[0080] 개시된 본 발명의 조성물은 염증 및 관련 질환 증상을 처리하고, 증상 개시를 지연하거나, 및/또는 증상을 감소시키기 위해 검체에 투여될 수 있다. 또한, 개시된 세포 성분 조성물은 적절한 유지 수법에 따라서 유리한 효과를 유지하도록 사용될 수 있다.

[0081] 또한, 다른 실시양태에서, 본 발명의 방법은 본 발명의 조성물을 투여하기 전에 세정 단계를 이용할 수 있다. 다르게는, 투여하기 전에 장 세척을 이용할 수 있다. 당업자들은 설사를 유도하는 의약적으로 승인된 화학물질/용액을 이러한 단계를 위한 세정 화학제/용액으로서 사용될 수 있다. 적절한 세정 화학제/용액의 예는 비제한적으로 시트르산 마그네슘, 인산 나트륨, 이염기성 (임의 형태), 인산 나트륨, 시트르산 마그네슘, 인산 나트륨, 이염기성, 임의 형태, 인산 나트륨, 일염기성, 임의 형태, 인산 칼륨, 일염기성, 임의 형태, 및 인산 칼륨, 이염기성, 임의 형태를 포함할 수 있다. 위장관이 세정된 후, 개시된 본 발명의 조성물을 투여할 수 있다. 적절한 본 발명의 조성물 투여 스케줄, 예를 들어, 특정 기간의 일수(예컨대 3일 동안) 동안 각 끼니 마다 특정 수의 세포 성분 조성물(예컨대 3개 캡슐)을 투여하는 것을 포함한다. 그러나, 당업자들은 개시된 본 발명의 조성물의 투여량 및 투여 빈도는 투여할 세균 또는 세균 세포 성분의 유형, 조성물 중의 세균 또는 세포 성분의 농도, 및 검체의 체중, 키 및/또는 나이에 따라서 달라질 수 있음을 잘 알고 있을 것이다.

[0082] 개시된 본 발명의 조성물(예컨대 하루당 1개 캡슐 또는 각 끼니 당 1개 캡슐)을 계속 투여하는 것과 함께 적합한 유지 프로그램에 의해 유효한 효과가 지속될 수 있다. 예를 들어, 검체는 당이나 지방이 높은 식품을 피하고 또 특정 양의 과일 및 채소(예컨대 매일 2개의 신선한 과일과 2개의 채소)를 소비하도록 권고받을 수 있다. 또한, 검체는 최소 3회의 30분간의 적당한 운동을 하도록, 예컨대 매주 빠르게 걷기를 하도록 권고받을 수 있다. 더욱 신선한 과일과 채소 그리고 더 많은 운동이 권고되어야 한다.

[0083] 개시된 본 발명의 조성물의 적합한 용도를 제공하도록, 본 발명의 조성물은 사용 지시내용, 및/또는 제시된 세정/접종 및 접종/유지 수순 및/또는 사용자들이 트랙 프로그램을 맞추어 사용하도록 규약서(covenant)와 함께 제공될 수 있다. 상기 지시내용 및/또는 규약서는 키트 또는 번들에서 본 발명의 조성물과 함께 제공될 수 있다.

[0084] 따라서, 당업자들은 개시된 세포 성분, 본 발명의 조성물, 및 관련된 방법이 침습적 수술방법이나 기타 과격한 수법의 필요없이, 위장관 및 외부 환경에 노출되는 다른 계에서 유익한 세균종 또는 세포 성분의 집단을 증가시키는 것에 의해 항염증 계를 돕도록 사용될 수 있음을 잘 알고 있을 것이다. 유익한 세균종 또는 세포 성분은 본 발명의 조성물의 지속적인 투여에 의해 유지될 수 있고, 또 경우에 따라, 적절한 규정식 및 운동을 비롯한 유지 처방에 의해 유지될 수 있다.

[0085] 본 명세서에 기재된 특정 실시양태 및 실시예는 예시적으로 제공되는 것이며 본 발명의 청구범위에 의해 규정되는 본 발명의 범위를 한정하지 않는 것이다. 개시된 세포 성분, 본 발명의 조성 및 방법의 다양한 관점은 본 명세서를 읽는 당업자에게 명백할 것이지만, 본 발명은 이러한 변형을 포함하고 본 발명의 특허청구범위에 의해서

만 제한된다.

- [0086] 하기 참고문헌은 본 명세서에 인용되거나 및/또는 본 명세서에 개시된 하나 이상의 관점에 관련될 수 있다:
- [0087] Alberti, K. G. and P. Z. Zimmet. 1998. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications, part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus, provisional report of a WHO consultation. *Diab. Med.* 15:539-553.
- [0088] Atarashi, K., J. Nishimura, T. Shima, Y. Umesaki, M. Yamamoto, M. Onoue, H. Yagita, N. Ishii, R. Evens, K. Honda and K. Takeda. 2008. ATP drives lamina propria T_H17 cell differentiation. *Nature* 455:808-814.
- [0089] Bals, R., M. J. Goldman and J. M. Wilson. 1998. Mouse beta-defensin 1 is a salt-sensitive antimicrobial peptide present in epithelia of the lung and urogenital tract. *Infect. and Immun.* 66 (3): 1225-1232.
- [0090] Bjorksten, B. 1999. The environmental influence on childhood asthma. *Allergy*. 54: 17-23.
- [0091] Brasier, A. R. 2006. The NF- κ B regulatory network. *Cardiovasc. Toxicol.* 6(2): 111-130.
- [0092] Bry, L., P. G. Falk, T. Midvedt and J. L. Gordon. 1996. A model of host-microbial interactions in an open mammalian ecosystem. *Science* 273: 1380-1383.
- [0093] Cerutti, A. 2008. The regulation of IgA class switching. *Nature Rev. Immunol.* 8:421-434.
- [0094] Corti, R., R. Hutter, J. J. Badimon, J. J. Badimon and V. Fuster. 2004. Evolving concepts in the triad of atherosclerosis, inflammation and thrombosis. *J. Thromb. Thrombolysis.* 17:35-44.
- [0095] De Winter, PL, H. Cheroutre and M. Kronenberg. 1999. Mucosal immunity and inflammation. II. The yin and yang of T cells in intestinal inflammation: pathogenic and protective roles in a mouse colitis model. *Am. J. Physiol.* 276:G1317-G1321.
- [0096] Doyle, S. L. and L. A. O'Neill. 2006. Toll-like receptors; from the discovery of NF- κ B to new insights into transcriptional regulations in innate immunity. *Biochem. Pharmacol.* 72(9): 1102-1113.
- [0097] Elson, C. O., Y. Cong, C. T. Weaver, T. R. Schoeb, T. K. McClanahan, R. B. Fick and R. A. Kastelein. 2007. Monoclonal anti-interleukin 23 reverses active colitis in a T cell-mediated model in mice. *Gastroenterology* 132:2359-2370.
- [0098] Frank, D., N. A. L. Amand, R. A. Feldman, E. C. Boedeker and N. R. Pace. 2007. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 104(34): 13780-13785.
- [0099] Garrett, W. S., G. M. Lord, S. Punit, G. Lugo-Villarino, S. K. Mazmanian, I. Susumu, J. N. Glickman and L. H. Glimscher. 2007. Communicable ulcerative colitis induced by T-bet deficiency in the innate immune system. *Cell.* 131:33-45.
- [0100] Gilmore, T. D. 1999. The Rel/NF- κ B signal transduction pathway: introduction. *Oncogene*: 18(49):6842-6844.
- [0101] Gilmore, T. D. 2006. Introduction to NF- κ B: players, pathways, perspectives. *Oncogene*: 25(51):6680-6684.
- [0102] Hall, J., N. Bouladoux, C. M. Sun, W. A. Wohlfert, R. B. Blank, Q. Zhu, M. E. Grigg, J. A. Berofsky and Y. Belkaid. 2008. Commensal DNA limits regulatory T cell conversion and is a natural adjuvant of intestinal immune responses. 2008. *Immunity.* 29:637-649.
- [0103] Halpert, I., U. I. Sirest, J. D. Roby, U. I. Sires, S. Potter-Perigo, T. N. Wight, S. D. Shapiro, H. G. Welgus, S. A. Wickliff and W. C. Parks. 1996. Matrilysin is expressed by lipid-laden macrophages at sites of potential rupture in atherosclerotic lesions and localizes to areas of versican deposition, a proteolytic substrate for the enzyme. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 93:9748-9753.
- [0104] He, B., W. Xu, P.A. Santini, A. D. Polydorides, A. Chiu, J. Estrella, M. Shan, A. Chadburn, M. Shan,

A. Chadburn, V. Villanacci, A. Plebani, D. M. Knowles, M. Rescigo and A. Cerutti. 2007. Intestinal bacteria trigger T cell independent immunoglobulin A2 class switching by inducing epithelial-cell secretion of the cytokine APRIL. *Immunity* 26:812-826.

- [0105] Henderson, B., S. Poole and M. Wilson. 1996. Bacterial modulins: a novel class of virulence factors which cause host tissue pathology by inducing cytokine synthesis. *Microbiol. Rev.* 60(2):316-341.
- [0106] Hooper, L.V., M.H. Wong, A. Thelin, L. Hansson, P.G. Falk and J.I. Gordon. 2001. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science* 291:881-884.
- [0107] Hotamisligil, G.S. 2006. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. 444:860-867.
- [0108] Hu, F.B., J. E. Manson, M. J. Stampfer, G. Colditz, S. Liu, C.G. Solomon and W.C. Willett. 2001. Diet, Lifestyle and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *New Engl. J. Med.* 345(11):790-797.
- [0109] Hultgren, S.J., S. Abraham, M. Caparon, P. Faulk, J. W. St. Geme III and S. Numark. 1993. Pilus and nonpilus bacterial adhesins: assembly and function in cell adhesion. *Cell*. 73:887-901.
- [0110] Ivonav, I.I., R. deLlanos Frutos, N. Manel, K. Yoshinaga, D. B. Rifkin, B. Brett Finlay and D. R. Littman. 2008. Specific microbiota direct differentiation of IL-17-producing T-helper cells in the mucosa of the small intestine. *Cell Host Microbe* 4:337-349.
- [0111] Kalliomaki, M. and E. Isolauri. 2002. Pandemic of atopic diseases- a lack of microbial exposure in early infancy? *Curr. Drug Targets Infect. Disord.* 2: 193-199.
- [0112] Kalliomaki, M. and E. Isolauri. 2003. Role of the intestinal flora in the development of allergy. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 3: 15-20.
- [0113] Kojima, S., T. Funshashi, H. Maryoshi, O. Honda, S. Sugiyama, H. Kawano, H. Soejima, S. Miyamoto, J. Hokamaki, T. Sakamoto, M. Yoshimura, A. Kitagawa, Y. Matsuzawa and H. Ogawa. 2005. Levels of the adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, have a close relationship with atheroma. *Thromb. Res.* 115:483-490.
- [0114] Lepage, P., P. Seksik, M. Sutren, M.-F. de la Cochetiere, R. Jian, P. Mateua and J. Dore. 2005. Biodiversity of the mucosa-associated microbiota is stable along the distal digestive tract in healthy individuals and patients with IBD. *Inflamm. Bowel Dis.* 11:473-480.
- [0115] Lin, W-W. and M. Karin. 2007. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation and cancer. *J. Clin. Invest.* 117(5): 1175-1183.
- [0116] Lopez-Baodo, Y. S., C.L. Wilson, L. V. Hooper, J. I Gordon, S.J. Hultgren and W.C. Parks. 2000. Bacterial Exposure induces and activates matrilysin in mucosal epithelial cells. *J. Cell Biol.* 148(6): 1305-1315.
- [0117] Lupton, J. R. 2004. Microbial degradation products influence colon cancer risk: the butyrate controversy. *J. Nutr.* 134:479-482.
- [0118] Macpherson, A.J. and T. Uhr. 2004. Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. *Science*: 303: 1662-1665.
- [0119] Mazmanian, S.K., C.H. Liu, A. O. Tzianabos and D. Kasper. 2005. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell*. 122: 107-118.
- [0120] Mazmanian, S.K., J. L. Round and D. Kasper. 2008. A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease. *Nature*. 453:620-625.
- [0121] Murphy, G., M.I. Cockett, R.V. Ward and A.J.P. Docherty. 1991. Matrix metalloproteinase degradation of elastin, type IV collagen and proteoglycan. A quantitative comparison of the activities of 95 kDa and 78 kDa gelatinases., stromelysins-1 and -2 and punctuated metalloproteinases (PUMP). *Biochem. J.* 277:277-279.

- [0122] Muta, T and K. Takeshige. 2001. Essential roles of CD 14 and lipopolysaccharide-binding protein for activation of toll-like receptor (TLR)2 as well as TLR4: Reconstitution of TLR2- and TLR4- activation by distinguished ligands in LPS preparations. *Eur. J. Biochem.* 268(16):4580-4589.
- [0123] Nelson, D. E, A. E. Ihekweba, E. M. Johnson, C. A. Gibney, B. E. Foreman, G. Nelson, S Vee, C. A. Horton, D. G. Spiller, S. W. Edwards, H. P. McDowell, J. F., J. F. Unitt, S. E. Sullivan, R. Grimley, N. Benson, D. Broomhead, D. B. Kell and M. R. White. 2004. Oscillations in NF- κ B signaling control the dynamics of gene expression. *Science.* 306(5696):704-708.
- [0124] Noverr, M. C. and G. B. Huffnagle. 2004. Does the microbiota regulate immune responses outside the gut? *Trends Microbiol.* 12:562-568.
- [0125] Ouetlette, A. J., M. M. Hsieh, M. T. Nosek, D. F. Cano-Gauci, K. M. Huttner, R.N. Buick, and S.E. Selsted. 1994. Mouse Paneth cell defensins: primary structures and antibacterial activities of numerous cryptdin isoforms. *Infect. Immun.* 62:5040-5047.
- [0126] Ouellette, A.J. and S.E. Selsted. 1996. Paneth cell defensins: endogenous peptide components of intestinal cell defense. *FASEB J. (Fed. Am. Soc. Exp. Biol. J.).* 10: 1280-1289.
- [0127] Penders, J., C. Thijs, P. A. van den Brandt, I. Kummeling, B. Snijders, F. Stelma, H. Adams, R. von Ree and E. E. Stobberingh. 2007. Gut microbiota composition and development of atopic manifestations in infancy: the KOALA Birth Cohort Study. *Gut.* 56:661-667.
- [0128] Peterson, D. A., N. P. McNutty, J.L. Guruge and J. I. Gordon. 2007. IgA response to symbiotic bacteria as a mediator of gut homeostasis. *Cell Host Microbe* 2:328-339.
- [0129] Podolsky, D. K. 2002. The current future understanding of inflammatory bowel disease. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 16:933-943.
- [0130] Rakoff-Nahoum, S., J. Paglino, F. Eslami-Varzaneh, S. Edberg and R. Medzhitov. 2004. Recognition of commensal bacteria by Toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell* 118:229-241.
- [0131] Ryo, M., T. Nakamura, S. Kihara, M. Kumada, S. Shibazaki, M. Takhashi, M. Nagai, Y. Matzuzawa and T. Funahashi. 2004. Adiponectin as a biomarker of the metabolic syndrome. *Circ.* 7.68:975-981.
- [0132] Saarialho-Kere, U.K., H.G. Welgus and W.C. Parks. 1993. Divergent mechanisms regulate interstitial collagenase and 92 kDa gelatinase expression in human monocyte-like cells exposed to bacterial endotoxin. *J. Biol. Chem.*(268): 17354-17361.
- [0133] Scanlan, P.D., F. Shanahan, C. O Mahony and J. R. Marchesi. 2006. Culture-independent analyses of temporal variation of the dominant fecal microbiota and targeted bacterial subgroups in Crohn's disease. *J. Clin. Microbiol.* 44:3980-3088.
- [0134] Shanahan, F. 2002. Crohn's Disease. *Lancet.* 359:62-69.
- [0135] Shoelson, S.E., J. Lee and A.B. Goldfine. 2006. Inflammation and insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 116:1793-1801.
- [0136] Simpson, S.J., Y. P. de Jong, M. Comiskey, C. Terhorst. 2000. Pathways of T cell pathology in models of chronic intestinal inflammation. *Int. Rev. Immunol.* 19:1-37.
- [0137] Sires, U.I., G.L. Griffin, T. Broekelman, R.P. Mecham, G. Murphy, A.E. Chung, H.G. Welgus and R.M. Senior. 1993. Degradation of entactin by matrix metalloproteinases. Susceptibility to matrylisin and identification of cleavage sites. *J. Biol. C/iem.*268:2069-2074.
- [0138] Skurk, T. and H. Hauner. 2004. Obesity and impaired fibrinolysis: role of adipose production of plasminogen activator- 1. *Int. J. Obes.* 28: 1357-1364.
- [0139] Solinas, G, C. Vilcu, J.G. Neels, G.K. Banyopadhiyay, J-L Luo, W. Naugler, S. Grivennikov, A. Wynshaw-boris, M. Scadeng, J.M. Olefsky and M. Karin. 2007. JNK1 in hematopoetically derived cells contributes

to diet-induced inflammation and insulin resistance without affecting obesity. *Cell Metabol.* 6:386-397.

- [0140] Suzuki, K., B. Meek, Y. Doi, M. Muramatsu, T. Chiba, T. Honjo and S. Fagarasan. 2004. Aberrant expansion of segmented filamentous bacteria in IgA-deficient gut. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101:1981-1986.
- [0141] Targan, S.R. and L.C. Karp. 2005. Defects in mucosal immunity leading to ulcerative colitis. *Immunol. Rev.* 206:296-305.
- [0142] Tezuka, H., Y. Abe, M. Iwata, H. Takeuchi, H. Ishikawa, M. Matsushita, T. Shiohara, S. Akira and T. Ohteki. 2007 Regulation of IgA production by naturally occurring TNF/iNOS γ -producing dendritic cells. *Nature* 448:929-933.
- [0143] White, C.R. 2003. Insulin signaling in health and disease. *Science*.302: 1710-1711.
- [0144] Wilson, C.L., A.J. Ouellette, D.P. Satchell, T. Ayube, Y.S. Lopez-Boada, J.L. Stratman, S.J. Hultgren, L.M. Matrisian and W.C. Parks. 1999. Regulation of intestinal alpha-defensin activation by the metalloproteinase matrilysin in innate host defense. *Science*. 286:(113-123).
- [0145] Wilson, M. R. Seymour and B. Henderson. 1998. Bacterial perturbation of cytokine networks. *Infect. Immun.* 66:2401-2409.
- [0146] Zaneveld, J., P. J. Turnbaugh, C. Laozupone, R. E. Ley, M. Hamady, J. I. Gordon and R. Knight. 2008. Host-bacterial coevolution and the search for new drug targets. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 12: 109-114.