



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0098482
(43) 공개일자 2025년07월01일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/18 (2006.01) A23L 33/17 (2016.01)
A61P 25/02 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 38/1808 (2013.01)
A23L 33/17 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2023-0189836
(22) 출원일자 2023년12월22일
심사청구일자 2023년12월22일

(71) 출원인
인하대학교 산학협력단
인천광역시 미추홀구 인하로 100(용현동, 인하대학교)
(72) 발명자
류지간
인천광역시 연수구 컨벤시아대로252번길 30, 150
3동 1603호 (송도동, 송도 더샵 퍼스트파크 F15BL)
윤국남
인천광역시 중구 서해대로 366, B동 307-2호 중개
연구센터 연구원실 (신흥동3가, 정석빌딩)
육지연
인천광역시 중구 인항로 30, 102동 1704호 (신흥
동3가, 신흥아이파크)
(74) 대리인
특허법인태백

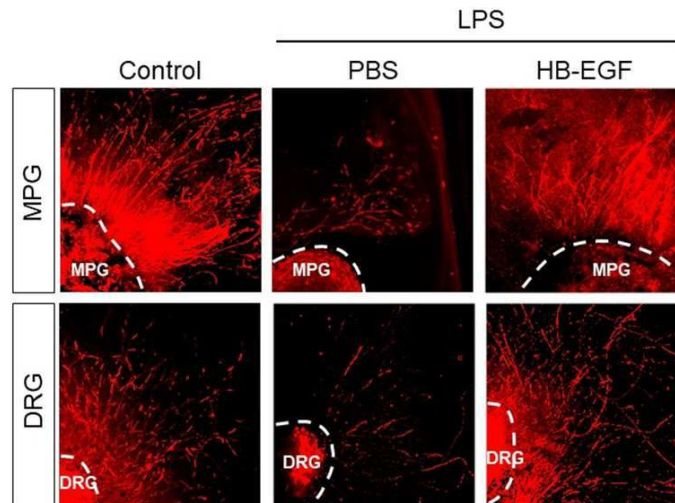
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 HB-EGF 단백질 또는 이를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 유효성분으로 포함하는 말초신경병
증 예방 또는 치료용 약학 조성물

(57) 요약

본 발명은 HB-EGF(Heparin-binding EGF-like growth factor) 단백질 또는 이를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 유효성분으로 포함하는 말초신경병증(peripheral neuropathy) 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것으로, 상기 단백질이 발기부전 및 말초신경병증 개선 효과를 나타내는 것을 확인함으로써, 말초신경병증 예방, 치료 또는 개선용 조성물로서 유용하게 활용될 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A61P 25/02 (2018.01)

A23V 2002/00 (2023.08)

A23V 2200/322 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711192310
과제번호	2021R1A2C4002133
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)
연구과제명	혈관주위세포 유래 세포외소포를 이용한 당뇨병 음경 신경-혈관병증 치료 전략 도출
기 여 율	40/100
과제수행기관명	인하대학교
연구기간	2023.03.01 ~ 2024.02.29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711180890
과제번호	2022R1A2B5B02001671
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)
연구과제명	단일세포전사체분석 기반 음경 혈관주위세포 신규 마커 발굴 및 기능 검증을 통한

발기부전 치료기술 개발

기 여 율	30/100
과제수행기관명	인하대학교
연구기간	2023.03.01 ~ 2024.02.29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711183279
과제번호	2021R1A5A2031612
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	집단연구지원
연구과제명	세포교신 제어 연구센터
기 여 율	30/100
과제수행기관명	인하대학교
연구기간	2023.03.01 ~ 2024.02.29

명세서

청구범위

청구항 1

HB-EGF(Heparin-binding EGF-like growth factor) 단백질 또는 이를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 유효성분으로 포함하는 말초신경병증(peripheral neuropathy) 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 말초신경병증은 발기부전, 소아마비, 진행성 근위축증, 수근관증후군, 나병, 근이양증, 다발성근염 및 중증근무력증으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 단백질 또는 이를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 음경해면체 내압 또는 음경압력을 증가시키는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 4

HB-EGF(Heparin-binding EGF-like growth factor) 단백질 또는 이를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 유효성분으로 포함하는 말초신경병증(peripheral neuropathy) 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 5

HB-EGF(Heparin-binding EGF-like growth factor) 단백질 또는 이를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 유효성분으로 포함하는 말초신경병증(peripheral neuropathy) 예방 또는 개선용 의약품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 HB-EGF(Heparin-binding EGF-like growth factor) 단백질 또는 이를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 유효성분으로 포함하는 말초신경병증(peripheral neuropathy) 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 신경병증이란 신경계의 구조적 혹은 기능적 이상으로 발생하는 질환이다. 신경계는 뇌, 척수에 분포하여 그 기능의 조절에 관여하는 중추신경계와 뇌, 척수를 제외한 체내의 거의 모든 기관에 분포하여 그 기능의 조절에 관여하는 말초신경계로 나뉜다. 말초신경계는 다시 운동신경계, 감각신경계 및 자율신경계로 분류된다. 뇌와 척수에서 신경돌기(neurite)들이 뻗어 나와 몸통, 팔 및 다리로 가게 되는데 이를 말초신경이라고 한다. 말초신경은 손, 발, 청각기관에서 느낀 감각을 중추신경(뇌와 척수)에 전하고, 중추신경의 명령을 근육에 전달하는 역할을 한다.

[0003] 말초신경은 여러 가지 원인에 의해서 손상을 받게 되는데 이러한 경우를 통칭하여 말초신경병증(peripheral neuropathy)이라고 한다. 하나의 말초신경만 손상을 받는 경우를 단신경병증(mono neuropathy)이라고 하고, 여러 말초신경이 비슷한 정도로 손상되는 경우를 다발성 신경병증(multiple neuropathy)이라고 한다. 신경병증의 원인은 여러 가지가 있는데 크게 나누어 보면 대사성 질환(신부전증, 갑상선 기능저하증), 약물(항암제, 결핵약)이나 독성물질중독(납, 유기용매), 영양결핍(비타민 부족, 알코올중독), 결체조직질환(류마티스성 관절염, 전신성 홍반성 낭창 등), 염증성 질환(길랑-바레 증후군), 유전성 신경병 등이 있다. 그 외에 암과도 연관되어 나타나기도 한다.

[0004] 한편, 발기부전은 남성 성기능 장애의 일종으로서, 남성의 성기가 발기되지 않거나 발기 상태가 지속되지 않아 성행위를 할 수 없는 현상이다. 발기부전의 원인은 크게 심인성 원인과 기질성 원인으로 구별된다. 심인성 발기부전은 심리적 및 정신적 영향에 의한 교감신경의 과도한 작용으로 인한 노르아드레날린 (noradrenaline)의 과

도한 분비, 음경해면체 평활근 긴장도 증가, 신경 전달물질의 분비 억제 등에 기인한다.

[0005] 기질성 발기 부전은 그 원인에 따라, 신경인성, 혈관성 및 내분비성 발기부전으로 분류된다. 상기 혈관성 및 신경인성 발기부전은 고지질혈증, 고혈압, 흡연, 전신 심혈관질환, 척수손상, 음경신경손상 등으로 인해서 음경해면체, 혈관내피세포 및 음경 신경세포가 손상되어 이들 세포에서 산화질소(nitric oxide: NO) 등의 이완성 물질의 분비가 원활하지 않아 생기는 장애이다.

[0006] 최근 발기부전에 관한 연구는 기질성 원인에 더 비중을 두고 있고, 그의 치료로서 주로 비아그라(viagra, 성분명: 실데나필)를 포함한 경구용 PDE-5(phosphodiesterase-5) 저해제가 전 세계적으로 사용되고 있다. 이러한 경구용 약물은 음경해면체에 특이적으로 분포하는 PDE-5의 저해에 의한 cGMP의 농도를 증가시킴으로써 음경해면체 내 혈류를 증대시켜 발기를 유도하여 발기부전의 치료효과가 있는 것으로 알려져 있다. 그러나 비아그라와 같은 PDE-5 저해제 계열의 약물들은 두통, 안면홍조, 소화불량, 및 심장마비 등 여러 가지 부작용을 가지고 있다고 보고되고 있을 뿐만 아니라, 분자적 수준에서 일리적인 단백질 발현 및 관련 인자들을 조절하는 것으로 근본적인 치료라 할 수 없다. 더욱이 음경신경손상에 의한 발기부전의 경우, 이와 같은 치료 효과가 잘 나타나지 않을 뿐만 아니라, 설령 효과가 있다 해도 그 효능이 장기간 지속되지 못한다는 단점이 있다. 따라서 발기부전 음경내의 비정상화된 해면체 구조를 근본적으로 치료하고, 그 효능도 장시간 지속되는 발기부전 치료제의 필요성이 요구되고 있는 실정이다.

[0007] 한편, HB-EGF(Heparin-binding EGF-like growth factor)는 EGF 수용체 및 HER4에 결합하여 이들을 활성화시키는 EGF family 단백질 중 하나로 세포증식, 세포이동, 혈관형성, 염증 등과 같은 수많은 병리학적 및 생리학적 기능에 관여함이 알려져 있다. 또한, HB-EGF의 비정상적 발현이 종양의 형성과 간, 췌장, 유방, 결장암 등과 같은 여러 암에서 중요한 역할을 함이 입증되었다. 이에 HB-EGF의 생리 활성화에 대한 연구가 활발히 진행 중인 상황이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 1. 대한민국 등록특허 KR 10-2124272(2020.06.11. 등록)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 말초신경병증(peripheral neuropathy) 예방, 치료 또는 개선용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 HB-EGF(Heparin-binding EGF-like growth factor) 단백질 또는 이를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 유효성분으로 포함하는 말초신경병증(peripheral neuropathy) 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0011] 또한, 본 발명은 상기 단백질 또는 이를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 유효성분으로 포함하는 말초신경병증(peripheral neuropathy) 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0012] 또한, 본 발명은 상기 단백질 또는 이를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 유효성분으로 포함하는 말초신경병증(peripheral neuropathy) 예방 또는 개선용 의약품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0013] 본 발명에 따르면, HB-EGF(Heparin-binding EGF-like growth factor) 단백질이 발기부전 및 말초신경병증(peripheral neuropathy) 개선 효과를 나타내는 것을 확인함으로써, 발기부전 또는 말초신경병증 예방, 치료 또는 개선용 조성물로서 유용하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0014] 도 1은 HB-EGF(Heparin-binding EGF-like growth factor) 단백질이 발기부전에 미치는 영향을 분석한

결과이다. * $p < 0.05$.

도 2는 HB-EGF 단백질이 신경 재생에 미치는 영향을 분석한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.

[0015]

본 발명은 HB-EGF(Heparin-binding EGF-like growth factor) 단백질 또는 이를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 유효성분으로 포함하는 말초신경병증(peripheral neuropathy) 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0017]

상기 HB-EGF(Heparin-binding EGF-like growth factor) 단백질은 인간 HB-EGF 단백질[NCBI Reference Sequence: NP_001936.1] 또는 생쥐(Mus) HB-EGF 단백질[NCBI Reference Sequence: NP_034545.1]일 수 있고, 상기 HB-EGF 단백질의 유전자는 인간 HB-EGF 유전자[NCBI gene ID: 1839] 또는 생쥐(Mus) HB-EGF 유전자[NCBI gene: 15200]일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0018]

상기 말초신경병증은 발기부전, 소아마비, 진행성 근위축증, 수근관증후군, 나병, 근이양증, 다발성근염 및 중근무력증으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0019]

상기 단백질 또는 이를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 음경해면체 내압 또는 음경압력을 증가시킬 수 있다.

[0020]

본 발명에서 용어, "발기부전"은 성생활에 충분한 발기가 되지 않거나 유지되지 않은 상태를 의미하며, 일반적으로 이러한 상태가 3개월 이상 지속되었을 경우 발기부전으로 정의한다. 상기 발기부전은 심리적인 요인에 기인하는 심인성 발기부전과 육체적인 장애에 기인하는 기질성 발기부전으로 크게 나눌 수 있으며, 본 발명의 HB-EGF 단백질은 궁극적으로 음경의 기능을 개선시켜 심인성 및 기질성 발기부전을 모두 치료할 수 있다. 상기 기질성 발기부전은 음경조직손상, 관상동맥질환, 신장병증, 신경병증, 고혈압, 동맥경화 또는 고지혈증 등의 질병에 의한 것일 수 있으나, 상기 예시에 한정되는 것이 아니며 발기에 영향을 줄 수 있는 질병이라면 제한 없이 포함된다.

[0021]

본 발명에서 용어, "해면체"는 포유류의 음경이나 음핵의 주체를 이루는 발기조직으로, 주위가 탄성섬유를 함유하는 두껍고 튼튼한 결합조직의 막으로 싸여있으며, 이 막이 내부로 들어가 있어 해면상의 작은 방을 이루고 있다. 남성의 음경 내부에는 좌우에 2개의 음경 해면체와 그 아래쪽에 1개의 요도 해면체가 있고, 여성에게는 음경 해면체와 비슷한 구조를 가진 음핵 해면체와 요도 해면체가 있다. 해면체에 정맥혈이 가득 차게 되면 음경이 발기하게 된다. 음경해면체 평활근과 음경 혈관은 평상시 아드레날린성 교감 신경에 의해 수축 상태에 있으며, 이완에 의한 발기 반응 후, 아드레날린성 교감 신경계의 자극에 의해 다시 수축 상태로 되돌아온다. 이렇듯 발기조직은 평상시 수축 상태를 유지하지만, 성적 각성 시 뇌 중추에서 보내는 신호와 신경계의 자극, 체 내 및 발기조직 내의 여러 신경 전달 물질 및 호르몬 등에 의해 발기조직이 이완되고, 발기가 시작되며, 발기가 유지된다. 이러한 발기반응이 끝난 후, 다시 발기조직은 수축 상태를 유지하게 된다.

[0022]

본 발명에서 용어, "말초신경병증(peripheral neuropathy)"은 말초신경의 손상 또는 사멸에 의해 발생하는 질환을 의미한다.

[0023]

본 발명의 조성물이 발기부전 또는 말초신경병증의 예방 또는 치료를 목적으로 약학적 조성물로 제형화 될 경우, 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 또한, 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 상기 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 텍스트로오스, 수크로오스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시 벤조에이트, 프로필히드록시 벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유 등이 있다. 상기 조성물을 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구 투여를 위한 고형제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제에는 상기 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로오스, 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이

[0024]

외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

- [0025] 본 발명에서 용어, "투여"는 임의의 적절한 방법으로 개체에게 소정의 본 발명의 조성물을 제공하는 것을 의미한다.
- [0026] 본 발명의 약학적 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 상기 조성물의 투여는 하루에 한 번 투여할 수도 있고, 수 회 나누어 투여할 수도 있다.
- [0027] 본 발명의 약학적 조성물은 개체에게 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장, 정맥, 근육, 피하, 또는 뇌혈관 내 주사에 의해 투여될 수 있다. 그러나 경구 투여 시, 단백질은 소화가 되기 때문에 경구용 조성물은 활성 약제를 코팅하거나 위에서의 분해로부터 보호되도록 제형화하는 것이 바람직하다. 본 발명의 조성물은 바람직하게는 주사제 형태로 투여될 수 있다.
- [0028] 본 발명의 조성물은 HB-EGF 단백질과 함께 말초신경병증의 예방 또는 치료 효과를 갖는 공지의 유효성분을 1종 이상 더 함유할 수 있다.
- [0029] 본 발명의 조성물은 말초신경병증의 예방 및 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- [0031] 또한, 본 발명은 HB-EGF(Heparin-binding EGF-like growth factor) 단백질 또는 이를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 유효성분으로 포함하는 말초신경병증 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.
- [0032] 본 발명에서 용어, '건강기능식품'이란 질병의 예방 및 개선, 생체방어, 면역, 병후의 회복, 노화 억제 등 생체조절기능을 가지는 식품을 말하는 것으로, 장기적으로 복용하였을 때 인체에 무해하여야 한다.
- [0033] 상기 건강기능식품에는 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 포함할 수 있으며, 건강기능식품의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.
- [0034] 본 발명의 조성물을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 유효성분을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조 시에 본 발명의 조성물은 원료에 대하여 15 중량% 이하, 바람직하게는 10 중량% 이하의 양으로 첨가된다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.
- [0035] 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 포함할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0.01 내지 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- [0037] 본 발명은 HB-EGF(Heparin-binding EGF-like growth factor) 단백질 또는 이를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 유효성분으로 포함하는 말초신경병증 예방 또는 개선용 의약품 조성물을 제공한다.
- [0038] 본 발명의 조성물을 의약품 조성물로 사용할 경우, 상기 유효성분을 그대로 첨가하거나 다른 의약품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다.
- [0040] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만, 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업

계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

[실험예 1] 실험 준비

HB-EGF(Heparin-binding EGF-like growth factor) 단백질은 PROSPEC(미국, Cat# CYT-068)에서 구입하였다. 수컷 C57BL/6 마우스는 (주)오리엔트 바이오(대한민국)에서 구입하였다.

[실시에 1] HB-EGF 단백질의 발기부전 치료 효과 검증

1-1. 음경 신경손상 발기부전 동물모델 디자인

생후 3개월 된 수컷 C57BL/6 마우스에 검자로 양측 음경 신경에 약 2분간 압착 손상을 가해서 음경신경손상에 의한 발기부전을 유도하였고, 실험군은 하기와 같이 설정하였다(N = 9/군). 구체적으로, 음경신경 손상 후, 마우스의 음경해면체에 PBS(phosphate-buffered saline, 20 μ L)를 주사 투여하거나(대조군), PBS(20 μ L)에 HB-EGF(1, 5 또는 10 μ g)를 용해시켜 3일 간격으로 2회에 걸쳐 주사 투여하였다(샘플 처리군).

1) 정상군 : sham 수술(sham operation) 마우스

2) 대조군 : 음경신경 손상 + PBS 투여

4) 샘플 처리군 1 : 음경신경 손상 + HB-EGF[day -3, 0; 1 μ g/20 μ L] 투여

5) 샘플 처리군 2 : 음경신경 손상 + HB-EGF[day -3, 0; 5 μ g/20 μ L] 투여

6) 샘플 처리군 3 : 음경신경 손상 + HB-EGF[day -3, 0; 10 μ g/20 μ L] 투여

1-2. 전기 자극에 따른 발기력 측정

HB-EGF 단백질이 발기력에 미치는 영향을 확인하기 위해, 상기 발기부전 동물모델의 음경해면체에 HB-EGF 단백질을 주사 투여한지 1주 후에 음경해면체의 신경을 자극하고 발기력을 측정하였다. 마우스의 하복부에서 좌측 표피 부분을 개복하고, 전립선의 후외측에 위치한 음경해면체신경(음경신경)이 잘 보이도록 준비하였다. 음경신경의 전기 자극을 위해 백금 전극을 음경신경에 위치시킨 후, 5볼트 및 12헤르츠의 강도로 약 1분 동안 전기 자극을 가하여 발기를 유도하였다. 이때 발기 시 음경내부의 압력(음경해면체 내압)을 음경해면체에 삽입된 카테터를 통해 컴퓨터와 연결되어 있는 압력 전달기(바이오스팩 시스템, 미국)를 이용하여 측정하였다.

그 결과, 도 1과 같이, 정상군(sham) 대비 대조군(pbs)에서 최고 음경해면체 내압(Max intracavernous pressure; MAX ICP) 및 음경압력곡선 면적(Tatal ICP)이 감소하는 등 발기부전이 유의하게 나타난 반면, 대조군 대비 샘플 처리군(HB-EGF)에서 최고 음경해면체 내압 및 음경압력곡선 면적이 샘플의 농도 의존적으로 증가하는 등 발기부전 개선 효과가 나타나는 것을 확인하였다. 상기 결과로부터, HB-EGF 단백질은 음경 신경손상에 의한 발기부전을 개선하는 것을 확인하였다.

[실시에 2] HB-EGF 단백질의 말초신경병증 치료 효과 검증

2-1. 신경 재생 분석

HB-EGF 단백질이 신경 재생에 미치는 영향을 확인하기 위해, 동물모델의 주골반신경절(major pelvic ganglion; MPG) 및 후근신경절(dorsal root ganglion; DRG)을 이용해서 신경돌기 재생 효과를 분석하였다. 생후 3개월 된 수컷 C57BL/6 마우스에서 주골반신경절 및 후근신경절을 적출하고, 상기 주골반신경절 및 후근신경절을 배양접시에 놓고 매트릭젤(Matrigel)을 덮어 37% CO₂ 조건의 배양기에서 15분간 배양하여 매트릭젤을 굳혔다. 매트릭젤이 굳으면 2% B-27 혈청-프리 보충제(Supplement) 및 0.5mM GlutaMAX-I 보충제가 포함된 neurobasal 배지를 첨가한 후 7일 동안 배양하였다. 상기 neurobasal 배지는 정상 배지(정상군); LPS(Lipopolysaccharide, 2.5 μ g/ml)가 포함된 배지(대조군); 또는 LPS(2.5 μ g/ml) 및 제조합 HB-EGF 단백질(0.1 μ g/ml)이 포함된 배지를 사용하였고, 제조합 HB-EGF 단백질은 PBS에 용해시켜 배지에 처리하였다. 구체적으로, 상기 단백질을 0.1mg/ml 농도가 되도록 PBS에 용해시키고, 제조합 HB-EGF 단백질의 처리 용량이 0.1 μ g/ml가 되도록 제조합 HB-EGF 단백질

을 용해시킨 PBS를 샘플 처리군에 처리하고, 대조군에는 상기 샘플 처리군에 처리한 PBS와 동일한 양의 일반 PBS를 처리하였다. LPS는 신경염증에 의한 신경세포손상을 유도하기 위해 사용하였다. 구체적으로 실험군은 하기와 같이 설정하였다.

[0061] 1) 정상군(Control) : LPS, PBS 및 재조합 HB-EGF 단백질 무처리

[0062] 2) 대조군(LPS+PBS) : LPS(2.5 µg/ml) + PBS

[0063] 3) 샘플 처리군(LPS+HB-EGF) : LPS(2.5 µg/ml) 및 재조합 HB-EGF 단백질(0.1 µg/ml)

[0064] 각각의 조건에서 7일간 배양한 주골반신경절 및 후근신경절에서 신경세포 특이적 단백질인 미세신경섬유(Neurofilament)의 발현 분석을 위해, 4% 파라포름알데히드(Paraformaldehyde)에서 약 15분간 고정하였다. 그 후, 비특이적 단백질 차단 버퍼[5% BSA(Bovine Serum Albumin) in PBS]로 1시간 동안 블로킹(blocking)하였다. 그 후, 1차 항체(항-Neurofilament 마우스 항체, 1:100)와 함께 4℃에서 16시간 동안 반응시키고, 남아있는 항체를 제거하기 위해, 세척 버퍼로 3회 세척한 후, 2차 항체(TRITC-표지된 항-마우스, 1:200)와 함께 상온에서 2시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후, 남아있는 항체를 제거하기 위해, 세척 버퍼로 다시 2회 세척하고, 공초점 현미경을 이용하여 분석하였다.

[0065] 그 결과, 도 2와 같이, 주골반신경절(MPG) 및 후근신경절(DRG) 모두 정상군(Control) 대비 대조군(LPS+PBS)에서 신경돌기의 길이 및 수가 유의하게 감소한 반면, 대조군 대비 샘플 처리군(LPS+HB-EGF)에서 신경돌기의 길이 및 수가 유의하게 증가하였다. 상기 결과로부터, HB-EGF 단백질은 신경 재생 효과를 나타내는 것을 확인하였다.

[0067] 상기 실시예를 종합했을 때, 본 발명에 따른 HB-EGF 단백질은 음경신경손상으로 인한 발기부전을 개선하고, 신경 재생 효과를 가지고 있다. 따라서 본 발명에 따른 HB-EGF 단백질은 발기부전 및 말초신경병증의 예방 또는 치료에 사용될 수 있다.

[0069] 이하 본 발명에 따른 약학적 조성물 및 식품 조성물의 제제예를 설명하나, 이는 본 발명을 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

[0071] [제제예 1] 약학적 조성물 제조

[0072] 1-1. 캡슐제 제조

표 1

구성성분	함량
HB-EGF 단백질	10mg
결정성 셀룰로오스	3mg
락토오스(lactose)	14.8mg
마그네슘 스테아레이트(magnesium stearate)	0.2mg

[0074] 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[0076] 1-2. 주사제 제조

표 2

구성성분	함량
HB-EGF 단백질	10mg
만니톨	180mg
주사용 멸균 증류수	2974mg
Na ₂ HPO ₄ · 2H ₂ O	26mg

[0078] 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당(2ml) 상기의 성분 함량으로 제조하였다.

[0080] 1-3. 액제 제조

표 3

구성성분	함량
HB-EGF 단백질	20mg
이성화당	10g
만니톨	5g
정제수	적량

[0082] 통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100ml로 조절한 후 갈색병에 충전하여 멸균시켜 액제를 제조하였다.

[0084] [제제예 2] 건강기능식품 조성물 제조

[0085] 2-1. 건강기능식품 제조

표 4

구성성분	함량
HB-EGF 단백질	100mg
비타민 혼합물	적량
비타민 A 아세테이트	70 μ g
비타민 E	1.0mg
비타민 B1	0.13mg
비타민 B2	0.15mg
비타민 B6	0.5mg
비타민 B12	0.2 μ g
비타민 C	10mg
비오틴	10 μ g
니코틴산아미드	1.7mg
엽산	50 μ g
판토텐산 칼슘	0.5 mg
무기질 혼합물	적량
황산제1철	1.75mg
산화아연	0.82mg
탄산마그네슘	25.3mg
제1인산칼륨	15mg
제2인산칼슘	55mg
구연산칼륨	90mg
탄산칼슘	100mg
염화마그네슘	24.8mg

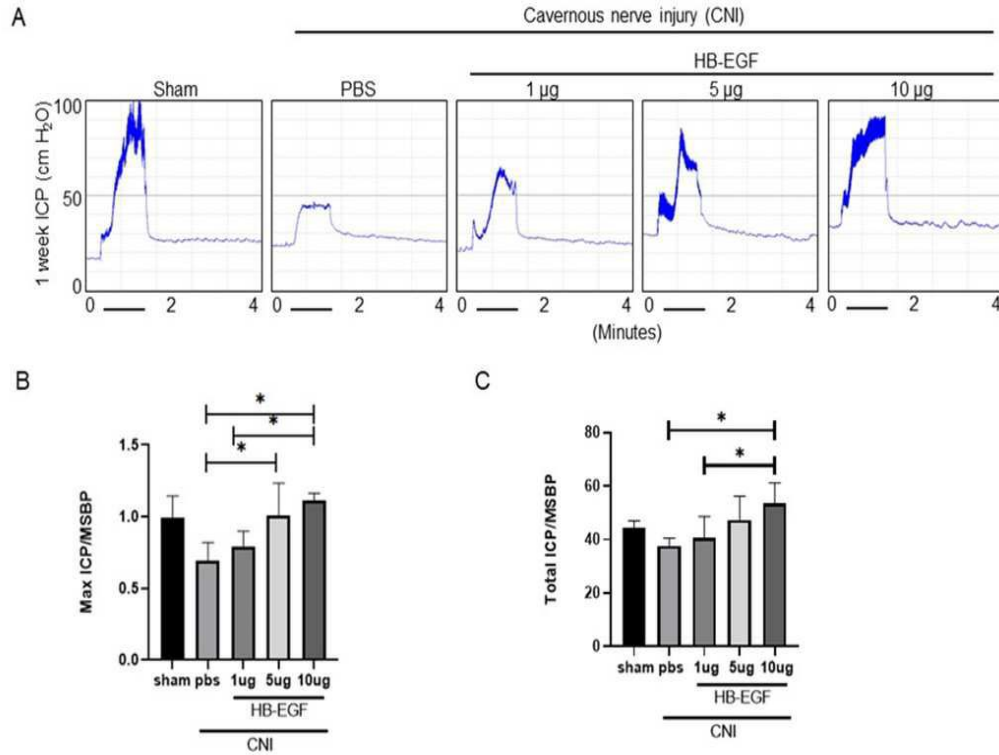
[0087] 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였으나, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

[0089] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은

명백하다. 즉, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다.

도면

도면1



도면2

