



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0039379
(43) 공개일자 2020년04월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/715 (2006.01) A23L 33/125 (2016.01)

A61P 1/02 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/715 (2013.01)

A23L 33/125 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2018-0119244

(22) 출원일자 2018년10월05일

심사청구일자 2018년10월05일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

허정선

서울특별시 성동구 마장로 137, 201동 501호(상왕십리동, 텐즈힐)

심나영

서울특별시 강동구 상일로17길 10, 1층(고덕동)

(74) 대리인

특허법인 하나

전체 청구항 수 : 총 13 항

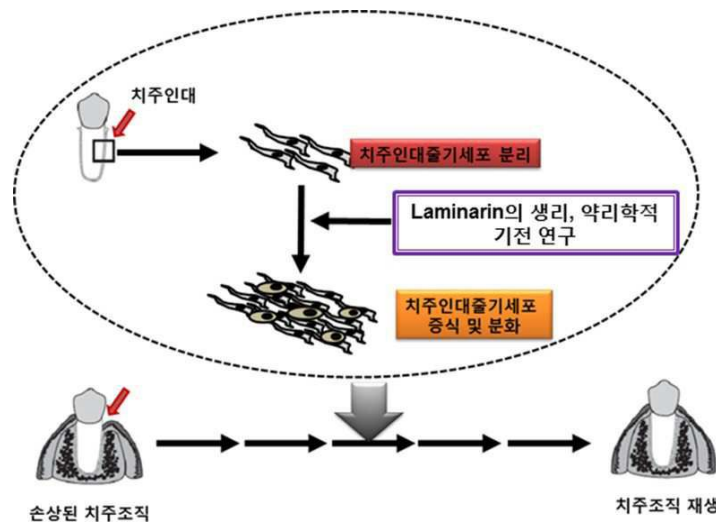
(54) 발명의 명칭 라미나린을 포함하는 치주조직 기능 회복 및 치주조직 재생을 위한 조성물

(57) 요약

본 발명은 치주조직 기능 회복 및 치주조직 재생, 치주 질환을 예방 및 치료하기 위한 라미나린을 유효성분으로 함유하는 조성물에 관한 것이다.

본 발명의 라미나린을 포함하는 조성물은 치주인대 줄기세포의 증식이 증가하고, 치조골세포로의 분화를 유도하여 치주조직 재생이 현저히 우수하기 때문에 치주조직 기능 회복 및 치주조직 재생, 치주 질환의 예방, 치료 및 개선에 우수한 효과를 가진다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61P 1/02 (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/312 (2013.01)

A23V 2250/51 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2015R1A2A2A01006490

부처명 과학기술정보통신부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 이공분야기초연구사업/중견연구자지원사업

연구과제명 Nitric oxide 형성형 미네랄화 나노입자를 이용한 마우스 배아줄기세포의 골분화 제어 in vitro/in vivo 분석 연구

기 여 율 1/1

주관기관 경희대학교 산학협력단

연구기간 2015.05.01 ~ 2018.04.30

명세서

청구범위

청구항 1

라미나린을 유효성분으로 포함하는 치주조직 기능 회복 및 치주조직 재생을 위한 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 조성물을 포함하는 치주질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 라미나린의 농도는 1 $\mu\text{g/ml}$ 내지 20 $\mu\text{g/ml}$ 인 조성물.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 치주질환은 치은염(gingivitis), 치주염(periodontal inflammation), 치주인대 및 치조골 파괴(periodontal ligament and alveolar bone breakage) 또는 치조골 형성 장애(alveolar bone osteodystrophy) 중 선택되는 어느 하나인 치주질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 치조골형성장애는 치조골다공증(alveolar bone osteoporosis), 치조골연화증(alveolar bone osteomalacia), 또는 치조골감소증(alveolar bone osteopenia)인 치주질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 조성물은 치주인대 줄기세포를 증식하는 것인 조성물.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 조성물은 치주인대 줄기세포를 치조골세포로 분화하는 것인 조성물.

청구항 8

라미나린을 유효성분으로 포함하는 치주조직 기능 회복, 치주조직 재생, 치주질환 예방 또는 개선을 위한 식품 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 라미나린의 농도는 1 $\mu\text{g/ml}$ 내지 20 $\mu\text{g/ml}$ 인 식품 조성물.

청구항 10

제8항에 있어서,

상기 치주질환은 치은염(gingivitis), 치주염(periodontal inflammation), 치주인대 및 치조골 파괴(periodontal ligament and alveolar bone breakage) 또는 치조골 형성 장애(alveolar bone osteodystrophy)

중 선택되는 어느 하나인 치주질환 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 치조골형성장애는 치조골다공증(alveolar bone osteoporosis), 치조골연화증(alveolar bone osteomalacia), 또는 치조골감소증(alveolar bone osteopenia)인 식품 조성물.

청구항 12

제8항에 있어서,

상기 조성물은 치주인대 줄기세포를 증식하는 것인 식품 조성물.

청구항 13

제8항에 있어서,

상기 조성물은 치주인대 줄기세포를 치조골세포로 분화하는 것인 식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 라미나린을 유효성분으로 함유하는 조성물에 관한 것으로, 치주질환으로 손상되거나 약화된 치주조직의 기능을 회복하고, 치주조직을 재생하는 조성물에 관한 것입니다.

배경 기술

[0002] 치주조직은 치은(잇몸), 백악질, 치주인대 및 치조골로 구성된 연조직과 경조직을 모두 포함하는 복잡한 기관이다. 치은은 치아의 지지와 저작과정에 관여하는 단순 결합조직인 반면에, 치주인대는 치아와 치조골 사이에 위치하여 치아를 악골에 부착 지지하며, 저작력과 같은 다양한 방향의 기계적 스트레스에 저항하고, 또한 감각기능을 하는 고도로 분화된 세포성 결합조직이다. 이러한 치주인대는 치조골측에 골모세포(osteoblast)와 파골세포(osteoclast), 치주인대의 중심측에 섬유모세포(fibroblast), Malassez 상피세포(epithelial rests of Malassez), 대식세포, 미분화 간엽세포, 신경 요소 그리고 혈관내피세포; 치근측에 위치하고 있는 백악모세포(cementoblasts) 등의 다양한 세포들로 구성되어 치조골, 치근 및 백악질의 수복과 재생에 관여하는 것으로 알려져 있다.

[0003] 잇몸은 우리가 입 안에서 볼 수 있는 치아 지지조직의 일부분으로 여기서 질환(치은염)이 시작되는데, 질환이 심화되어 지지조직으로 점점 깊게 퍼지면 치아 뿌리면과 치아를 둘러싸고 있는 뼈 조직에 결합 되어 있는 치주인대가 파괴되고 치아를 싸고 있는 치조골도 파괴되면서 치주 질환이 발생하게 된다.

[0004] 치주질환은 연령이 증가할수록 발병이 증가한다. 잇몸에만 치주질환이 국한된 경우 치은염이라고 하며, 이러한 염증이 잇몸과 잇몸뼈 주변까지 진행된 경우 치주염이라고 한다. 치주염이 진행되면 치주인대, 더 나아가 치조골까지 손상시킨다. 치조골 손상의 한 예로 치조골형성장애(alveolar bone osteodystrophy)가 있는데, 더욱 세분화하면 치조골다공증(alveolar bone osteoporosis), 치조골연화증(alveolar bone osteomalacia), 치조골감소증(alveolar bone osteopenia) 등을 포함한다. 치조골이 손상되면 결국 치아가 손실된다.

[0005] 현재 치주질환은 비외과적 혹은 외과적인 치석제거술, 치근활택술, 치은소파술, 치주조직 재생술들 등의 외과적인 방법으로 주로 치료되고 있다. 그러나 이런 외과적인 치료 방법은 환자에게 고통을 주고 번거로울 뿐 아니라 질환을 예방하기보다는 질환이 어느 정도 진행된 경우에만 적용되는 것이다. 외과적인 치료 방법에 더하여 약물 치료로서 전신적으로 작용하거나 또는 국소 부위에서 서방출되는 항생제가 사용되고 있으나, 이 경우 불필요한 부위에도 약물이 너무 많이 전달되어 부작용이 발생할 수 있고 항생제 내성 박테리아에는 효과가 없다는 문제점이 있다.

[0006] 치주질환을 효과적으로 치료하기 위해서는 감염, 염증, 치주인대 및 치조골 손상이 복합적으로 치료되어야 하나, 현재까지 이러한 치료를 위한 약물이나 치료 방법에 개발되어 있지 않은 실정이다. 기존의 치주 질환 치료제는 잇몸과 치주인대의 결합조직을 파괴하는 MMP(matrix metalloproteinase) 효소의 활성을 방해하여 치주조

직 파괴를 억제하는 간접적으로 치주 질환을 치료한다. 그러나 최근에는 보다 직접적인 치료 기전인 치주인대 및 치조골 재생 촉진작용을 나타내는 천연물 소재가 향후 경제적 및 의학적 가치와 활용성면에서 우수할 것으로 전망되고 있다.

[0007] 이러한 배경 하에, 치주질환을 근본적으로 치료할 수 있는 약물 내지 치료제에 대한 개발이 필요한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 라미나린을 유효성분으로 포함하는 치주조직 기능 회복 및 치주조직 재생을 위한 조성물을 제공하는 것입니다.

[0009] 또한, 본 발명은 라미나린을 유효성분으로 포함하는 치주질환 예방 및 치료용 약학 조성물을 제공하는 것입니다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명자들은 치주인대로부터 분리된 치주인대 줄기세포에 라미나린을 처리한 결과, 치주인대 줄기세포의 증식이 향상되고, 알칼리성 포스파타아제(Alkaline phosphatase) 활성 및 석회화 결절 생성능이 증가하는 것을 발견하고, 본 발명을 완성하였다.

[0011] 본 발명의 조성물은 치주인대 줄기세포의 증식 및 분화를 증진하기 때문에, 손상된 치주조직을 재생할 수 있다(도 1). 치주 질환을 예방하고 치료하기 위해서는 치주조직의 재생 및 치조골세포의 형성이 중요하기 때문에, 치주인대 줄기세포의 증식능 및 분화능이 우수할수록 치주 질환 예방, 치료 및 개선 효과가 우수하다.

[0012] 본 발명의 조성물은 라미나린을 포함하는 치주조직 기능 회복 및 치주조직 재생을 위한 조성물이다.

[0013] 또한, 본 발명의 조성물은 라미나린을 포함하는 치주질환의 예방, 개선 또는 치료제이다.

[0014] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 라미나린을 유효 성분으로 포함하는 치주 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0015] 본 발명에 있어서, 상기 “라미나린”은 갈조류의 세포벽 속에 들어있는 탄수화물로, 고등식물의 녹말에 해당하는 저장성 다당류이다. 다시마속(Laminaria)에서 처음 발견되었다고 해서 이 이름이 붙었다. 가용성 라미나린과 불용성 라미나린이 있는데, 이들은 β -1, 3-글루칸으로 구성되어 있으나, 전자에는 소수의 β -1, 6-글리코시드 결합도 형성하고 있다.

[0016] 상기 라미나린의 농도는 1 μ g/ml 내지 20 μ g/ml 일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0017] 상기 “치주인대(periodontal ligament)”는 평균 0.2mm 정도 두께의 층이며, 치아에 부착되어 치아를 치조골에 부착하고 지지하는 역할을 한다. 또한 치주인대는 치아가 음식을 씹을 때 치조골에 힘을 분산시켜 완충 작용을 하고, 치아의 감각을 치조골에 전달한다. 치주인대에는 미분화 간엽세포가 존재하고 있기 때문에 전체적인 구조와 기능이 변화되지 않으면서 지속적으로 골개조를 계속할 수 있다. 치주인대 내의 미분화 간엽세포는 치조골쪽으로 이동하여 치조골을 개조시키거나, 치아쪽으로 이동하여 교원섬유를 생산하여 치아를 더욱 단단히 지지하기도 한다.

[0018] 상기 조성물은 라미나린을 유효성분으로 포함하기 때문에, 치주인대 줄기세포의 증식 효과 및 치조골세포로 분화하는 효과가 우수하다.

[0019] 상기 “알카리포스파타제”는 조골형성의 지표가 되는 효소로써, 골 기질에 조골 세포가 축적될 때 많은 양의 알카리포스파타제가 분비된다. 때문에, 치주인대 줄기세포가 조골세포로의 분화능을 평가할 때 측정되는 효소로, 알카리포스파타제 활성이 증가할수록 줄기세포의 조골세포 분화능이 우수함을 의미한다.

[0020] 상기 “조골세포”는 골기질을 합성, 분비하고, 기질에 Ca, Mg 이온 등의 무기염을 침착시킴으로써 골조직을 석회화시키는 능력을 갖고 있는 세포이다. 골화 등에 의해 뼈의 신생이 이루어지는 부위에서 볼 수 있으며, 골기질 중에서 유골에 인접하는 세포와 밀접하여 1층으로 배열한다. 골 형성이 진행된 상태에서는 스스로 형성한 골조직 속에 묻혀 골세포가 된다.

[0021] 본 발명의 약학적 조성물 또는 식품 조성물은 손상된 치주조직의 기능 회복 및 재생과 치주질환을 예방 또는 치

료하는 데 사용할 수 있다. 치주질환(periodontal disease)은 잇몸뼈 및 인접 조직의 질환을 말한다. 치주질환은 세균 감염으로부터 시작되어 세균의 독소에 의해 염증반응이 진행된다면 잇몸과 치아 사이에 치주낭(periodontal pocket)이 형성되고, 질환이 심해질수록 치주낭의 깊이가 깊어져서 치주인대로 염증이 파급되며 골소실이 일어나게 된다. 또는 치조골에서 골형성과 골흡수의 균형이 깨어져 골흡수가 골형성을 초과하여 골량이 한계 이하로 감소하면 치주질환의 일종인 치조골형성장애가 발생한다.

[0022] 본 발명의 약학적 조성물 또는 식품 조성물이 예방, 치료 또는 개선할 수 있는 치주질환은 치은염(gingivitis), 치주염(periodontal inflammation), 치주인대 및 치조골 파괴 (periodontal ligament and alveolar bone breakage), 또는 치조골형성장애(alveolar bone osteodystrophy)일 수 있다. 치조골형성장애는 치조골다공증(alveolar bone osteoporosis), 치조골연화증(alveolar bone osteomalacia), 치조골감소증(alveolar bone osteopenia) 등을 포함한다.

[0023] 본 발명에 용어 “예방”이란 본 발명에 따른 라미나린의 투여로 치주 질환의 발병을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 말한다. 본 발명에서 용어 “치료”는 본 발명에 따른 라미나린의 투여로 치주 질환의 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 말한다. 본 발명에서 “개선”이란 본 발명의 조성물을 개체에 투여하거나 섭취시켜 치주 질환의 나쁜 상태를 좋게 하는 모든 행위를 의미한다.

[0024] 상기 약학적 조성물은 라미나린을 유효성분으로 포함하고, 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함할 수 있으며, 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 및 멸균 주사용액의 형태로 제제화될 수 있다. 상기 약제학적으로 허용 가능한 담체는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유 등을 포함한다.

[0025] 또한, 본 발명의 조성물은 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 포함한다. 경구용 고형 제제는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등을 포함하며, 이러한 고형제제는 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 포함할 수 있으며, 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제 등을 포함할 수 있다. 경구용 액상 제제는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등을 포함하며, 물, 리퀴드 파라핀 등의 희석제, 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등을 포함할 수 있다. 비경구용 제제는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결 건조 제제를 포함하며, 비수성 용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르류 등을 포함한다.

[0026] 본 발명의 조성물은 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 복강내, 흉골내, 경피, 비측내, 흡입, 국소, 직장, 경구, 안구내 또는 피내 경로를 통해 통상적인 방식으로 투여할 수 있다. 바람직하게는 본 발명의 조성물은 경구 또는 피하로 투여할 수 있다. 그러나 투여 경로는 이에 제한되지 않는다.

[0027] 본 발명의 조성물 및 방법에 있어서, 유효성분의 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여 경로 및 기간에 따라 다르지만, 경우에 따라 적절하게 선택될 수 있다. 예를 들면, 상기 라미나린은 1일 0.0001 내지 500 mg/kg으로, 바람직하게는 0.01 내지 300 mg/kg의 용량으로 투여할 수 있으며, 상기 투여는 하루에 한번 또는 수회 나누어 투여할 수도 있다.

[0028] 그러나, 유효성분의 실제 투여량은 치료하고자 하는 질환, 질환의 중증도, 투여경로, 환자의 체중, 연령 및 성별 등의 여러 관련 인자에 비추어 결정되어야 하는 것으로 이해되어야 하며, 따라서, 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0029] 또한, 본 발명은 라미나린을 포함하는 치주조직 기능 회복 및 치주조직 재생을 위한 식품 조성물 또는 라미나린을 포함하는 치주질환 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0030] 본 발명의 식품 조성물의 제형은 통상의 방법에 따라 제조하며, 담체와 함께 건조한 후 캡슐화하거나 기타 정제, 과립, 분말, 음료, 죽 등의 형태로 제형화할 수 있으며, 상기 기재한 것 외에도 모든 식품 형태로 제조 가능하다.

[0031] 본 발명의 식품 조성물은 건강기능식품으로서 사용될 수 있다. "건강기능식품"이라 함은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, "기능성"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에

유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.

- [0032] 본 발명의 식품 조성물은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, "식품 첨가물"로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전청에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.
- [0033] 상기 "식품 첨가물 공전"에 기재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류들을 들 수 있다.
- [0034] 본 발명의 건강 기능성 식품 조성물은 식품 및 음료 등에 다양하게 이용될 수 있으며, 예컨대, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능성 보조 식품, 식품 첨가제 등에 사용될 수 있고, 분말, 과립, 정제, 캡슐, 환 또는 음료인 형태로 사용할 수 있다. 상기 기재한 것 외에도 모든 식품 형태일 수 있다.
- [0035] 본 발명의 식품 조성물의 제형은 통상의 방법에 따라 제조하며, 담체와 함께 건조한 후 캡슐화하거나 기타 정제, 과립, 분말, 음료, 죽 등의 형태로 제형화할 수 있으며, 상기 기재한 것 외에도 모든 식품 형태로 제조 가능하다.
- [0036] 본 발명은 라미나린을 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 치주 질환의 치료방법을 제공한다.
- [0037] 본 발명에 "라미나린", "치주 질환", "투여" 등의 용어는 상기에서 설명한 바와 동일하다.
- [0038] 상기 대상체는 동물을 말하며, 전형적으로 본 발명의 라미나린을 이용한 치료로 유의한 효과를 나타낼 수 있는 포유동물일 수 있다. 이러한 대상체의 바람직한 예로 인간과 같은 영장류가 포함될 수 있다. 또한 이와 같은 대상체들에는 치주 질환의 증상을 갖거나 이와 같은 증상을 가질 위험이 있는 대상체들이 모두 포함될 수 있다.
- [0039] 본 발명은 또한 치주 질환의 치료를 위한 약제의 제조에서 라미나린의 용도를 제공한다.
- [0040] 본 발명은 또한 치주 질환의 치료를 위한 라미나린의 용도를 제공한다.

발명의 효과

- [0041] 본 발명의 라미나린을 포함하는 조성물은 치주인대 줄기세포의 증식이 증가하고, 치조골세포로의 분화를 유도하여 치주조직 재생이 현저히 우수하기 때문에 치주 질환의 예방, 치료 및 개선에 우수한 효과를 가진다.

도면의 간단한 설명

- [0042] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른, 라미나린의 치주인대줄기세포 증식 및 분화로 인한 치주조직 재생 효과를 도식화한 그림이다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른, 라미나린에 의한 치주인대 줄기세포의 증식능을 평가한 그래프이다.
- 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른, 라미나린에 의한 치주인대 줄기세포의 골세포 분화능을 평가한 그래프이다.
- 도 4 및 5는 본 발명의 일 실시예에 따른, 라미나린에 의한 치주인대 줄기세포의 석회화 결절 생성능을 평가한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0043] 본 명세서에서 사용되는 용어는 본 발명에서의 기능을 고려하면서 가능한 현재 널리 사용되는 일반적인 용어들을 선택하였으나, 이는 당 분야에 종사하는 기술자의 의도 또는 관례, 새로운 기술의 출현 등에 따라 달라질 수 있다. 또한, 특정한 경우는 출원인이 임의로 선정한 용어도 있으며, 이 경우 해당되는 발명의 설명 부분에서 상세히 그 의미를 기재할 것이다. 따라서 본 발명에서 사용되는 용어는 단순한 용어의 명칭이 아닌, 그 용어가 가지는 의미와 본 발명의 전반에 걸친 내용을 토대로 정의되어야 한다.
- [0044] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인

의미로 해석되지 않는다.

[0045] 수치 범위는 상기 범위에 정의된 수치를 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최대의 수치 제한은 낮은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼 모든 더 낮은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최소의 수치 제한은 더 높은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼 모든 더 높은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 수치 제한은 더 좁은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼, 더 넓은 수치 범위 내의 더 좋은 모든 수치 범위를 포함할 것이다.

[0046] 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예, 제조예를 제시한다. 하기의 실시예, 제조예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예, 제조예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0048] 실시예 1: 라미나린 처리에 따른 치주인대 줄기세포의 증식

[0049] 치주조직으로부터 유래한 치주인대 줄기세포를 DMEM에 10% heat-inactivated fetal bovine serum이 첨가된 배양배지를 이용하여 배양하였다. 배양된 치주인대 줄기세포에 라미나린을 1 $\mu\text{g/ml}$, 5 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$ 또는 20 $\mu\text{g/ml}$ 처리하거나 혹은 미처리한 후, 배양 24 시간 또는 48 시간 후에 MMT assay를 이용하여 세포 증식을 확인하였다(도 2).

[0050] 도 1을 참고하면, 라미나린을 처리한 경우 농도 의존적으로 치주인대 줄기세포 증식이 향상되는 것을 확인할 수 있다. 따라서 상기 라미나린은 치주인대 줄기세포의 증식을 증가시킴으로서 치주조직 재생을 촉진시킬 수 있다는 것을 알 수 있다.

[0052] 실시예 2: 라미나린 처리에 따른 치주인대 줄기세포의 분화

[0054] 2-1. 치주인대 줄기세포의 알칼리성 포스파타아제 활성

[0055] 치주인대 줄기세포 분화와 관련된 라미나린의 효과를 평가하기 위해, 알칼리성 포스파타아제(Alkaline phosphatase, ALP) 활성도를 측정하였다. 알칼리성 포스파타아제는 치주인대세포 분화의 초기 지표로 알려져있다.

[0056] 실시예 1에서 배양된 치주인대 줄기세포를 10% 우태아 혈청 (fetal bovine serum; FBS), 100 IU/ml 페니실린 및 100 $\mu\text{g/ml}$ 스트렙토마이신이 첨가된 DMEM 배지에 넣고 5% CO_2 , 37 $^\circ\text{C}$ 로 유지되는 세포 배양기에서 배양하였다. 배양된 세포를 24 웰 플레이트에 분주하고 다시 상기 세포 배양기에서 24시간 동안 배양하였다.

[0057] 배양된 세포에 라미나린을 1 $\mu\text{g/ml}$, 5 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$ 또는 20 $\mu\text{g/ml}$ 처리하거나 혹은 미처리한 후, 4일 또는 7일 더 배양하였다. 플레이트에서 배지를 제거하고 PBS로 3회 세척한 후, 플레이트에 0.15% Triton X-100을 50 μl 씩 넣은 다음 37 $^\circ\text{C}$ 배양기에서 30 분간 배양하여 세포를 용해(lysis)시켰다. 그 후, 3,000 rpm에서 5 분간 원심분리한 다음 40 μl 의 상등액과 0.1 N glycine 40 μl , 100 mM p-nitrophenylphosphate(p-NPP) 20 μl 를 첨가한 뒤 37 $^\circ\text{C}$ 배양기에서 30분간 반응시켰다. 반응 후 0.1 N NaOH 50 μl 를 넣어 반응을 정지시킨 다음 405 nm에서 흡광도를 측정하여 ALP 효소에 의해 p-NPP 가 p-nitrophenol(p-NP) 로 전환된 양을 산출함으로써 ALP 활성을 측정하였다(도 3).

[0058] 도 3을 참고하면, 라미나린을 처리한 경우 농도 의존적으로 치주인대 줄기세포 분화가 향상되는 것을 확인할 수 있다. 따라서 상기 라미나린은 치주인대 줄기세포를 치조골세포로 분화시킴으로서 치주조직 재생을 촉진시킬 수 있다는 것을 알 수 있다.

[0060] 2-2. 치주인대 줄기세포의 석회화 결절 수 평가

[0061] 치주인대 줄기세포 분화와 관련된 라미나린의 효과를 평가하기 위해, 치주인대 줄기세포의 석회화 결절 수를 평가하였다.

[0062] 실시예 1에서 배양된 치주인대 줄기세포를 10% 우태아 혈청 (fetal bovine serum; FBS), 100 IU/ml 페니실린 및 100 $\mu\text{g/ml}$ 스트렙토마이신이 첨가된 DMEM 배지에 넣고 5% CO_2 , 37 $^\circ\text{C}$ 로 유지되는 세포 배양기에서 배양하였

다. 배양된 세포를 24 웰 플레이트에 분주하고 다시 상기 세포 배양기에서 24시간 동안 배양하였다.

[0063] 배양된 세포에 라미나린을 1 $\mu\text{g/ml}$, 5 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$ 또는 20 $\mu\text{g/ml}$ 처리하거나 혹은 미처리한 후, 배지에는 석회화 결절을 유도하기 위해 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 ascorbic acid, 10 mM의 β -glycerophosphate(Sigma, USA), 10⁻⁷ M의 dexamethasone (Sigma, USA)을 첨가하였다. 배지를 3일 마다 교환하면서 14일 간 배양하였다.

[0064] 배지를 제거한 후 PBS로 세척한 다음 3% formalin - PBS solution 500 μl 를 첨가하여 10분 동안 실온에서 고정시켰다. PBS로 2회 세척하고 건조시킨 후 Ca^{2+} 에 대한 염색을 위하여 2% alizarin red 용액(pH 4.1-4.3, Sigma, USA)에 15분 간 실온에서 담근 다음, 증류수로 3회 세척하여 100mg 단백질 단위 Ca^{2+} 의 생성량을 정량하였다(도4). 또한, 도립 위상차 현미경 하에서 염색된 석회화 결절 수를 세었다(도5).

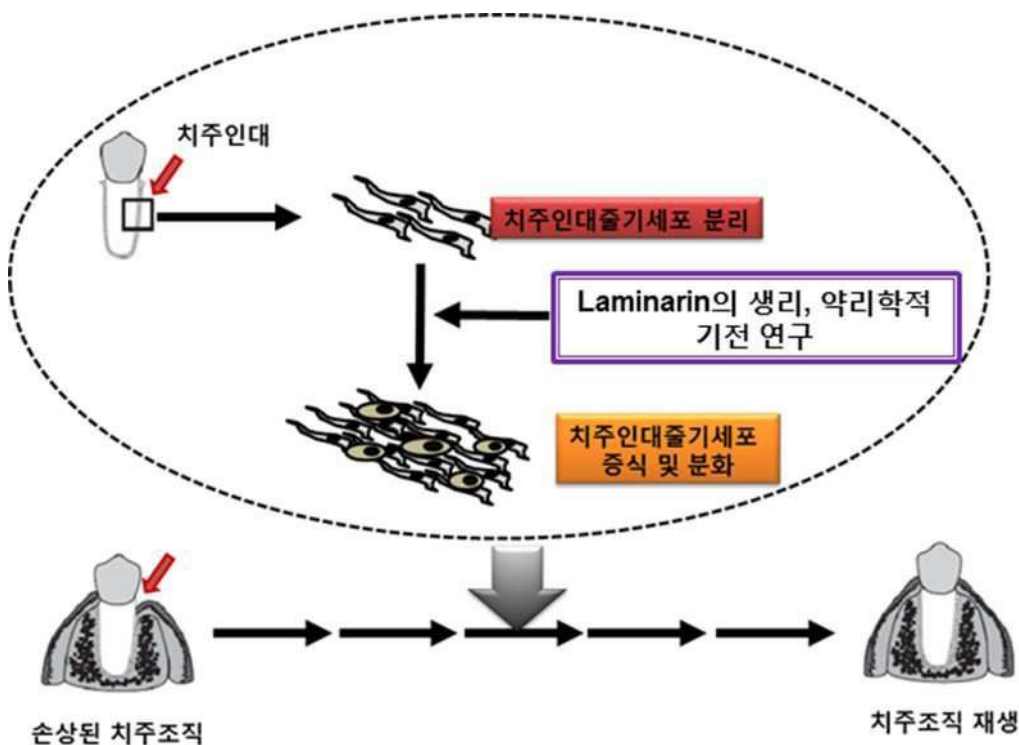
[0065] 도 4 및 5를 참고하면, 라미나린을 처리한 경우 농도 의존적으로 치주인대 줄기세포 분화가 향상되는 것을 확인할 수 있다. 따라서 상기 라미나린은 치주인대 줄기세포를 치조골세포로 분화시킴으로서 치주조직 재생을 촉진시킬 수 있다는 것을 알 수 있다.

[0066] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수 있다.

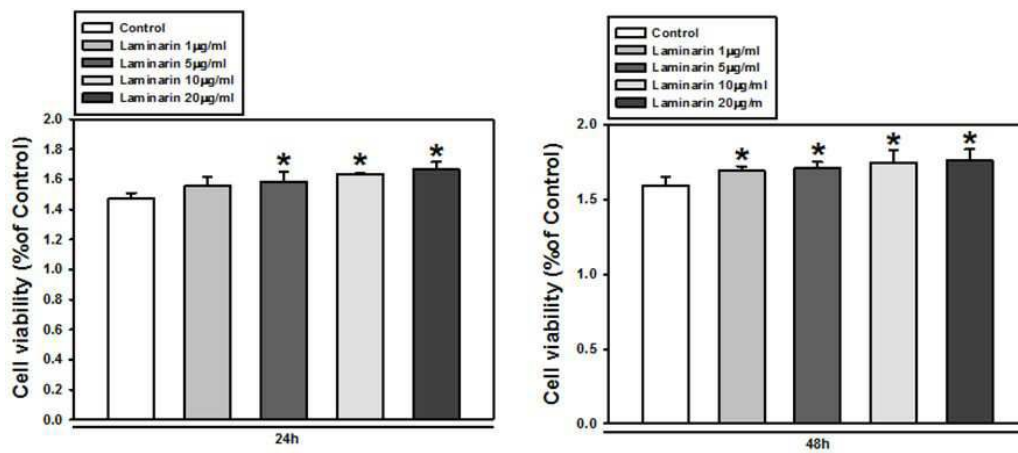
[0067] 본 발명의 범위는 후술하는 청구범위에 의하여 나타내어지며, 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

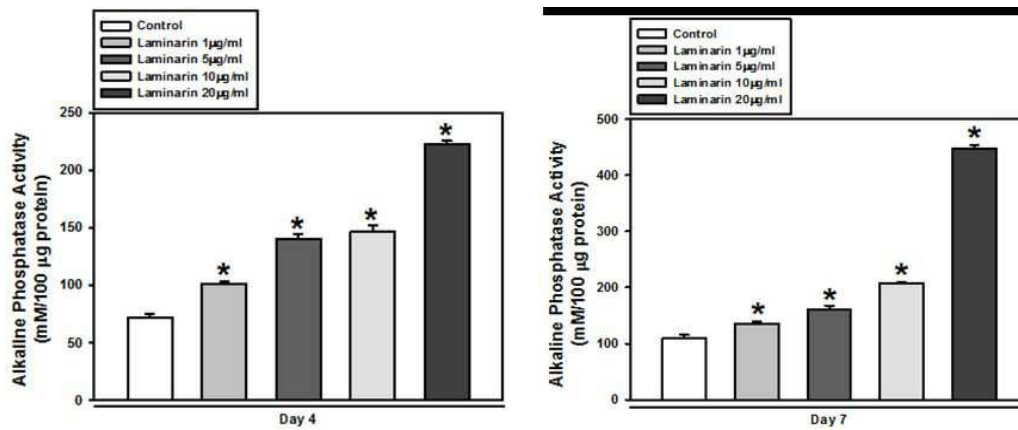
도면1



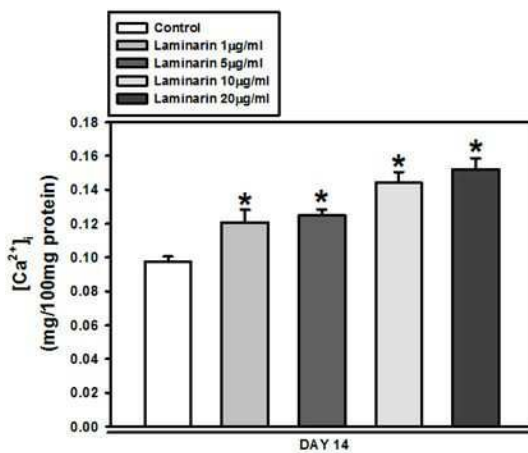
도면2



도면3



도면4



도면5

