

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구  
국제사무국

(43) 국제공개일  
2014년 11월 27일 (27.11.2014)



(10) 국제공개번호  
WO 2014/189201 A1

- (51) 국제특허분류:  
A61K 38/16 (2006.01) A61K 38/17 (2006.01)  
A61K 48/00 (2006.01) A61P 37/00 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2014/002457
- (22) 국제출원일: 2014년 3월 24일 (24.03.2014)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:  
10-2013-0057659 2013년 5월 22일 (22.05.2013) KR
- (71) 출원인: 가톨릭대학교 산학협력단 (CATHOLIC UNIVERSITY INDUSTRY ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION) [KR/KR]; 137-701 서울시 서초구 반포대로 222, 가톨릭대학교 성의교정내, Seoul (KR).
- (72) 발명자: 조미라 (CHO, Mi-La); 140-854 서울시 용산구 이촌로 156, 1103 호, Seoul (KR). 임향숙 (RHIM, Hyang-Shuk); 137-798 서울시 서초구 잠원로 217, 1 동 702 호, Seoul (KR). 이선영 (LEE, Seon-Yeong); 443-800 경기도 수원시 영통구 권광로 290 번길 34-18, 1016 호,

Gyeonggi-do (KR). 문영미 (MUN, Yeong-Mi); 157-765 서울시 강서구 공항대로 39길 74, 504 동 805 호, Seoul (KR). 손혜진 (SON, Hye-Jin); 150-833 서울시 영등포구 도신로 15 나길 10, B 동 301, Seoul (KR). 양은지 (YANG, Eun-Ji); 150-849 서울시 영등포구 도신로 68, 101 동 101 호, Seoul (KR). 김은경 (KIM, Eun-Kyung); 139-937 서울시 노원구 공릉로 351, 7 동 509 호, Seoul (KR).

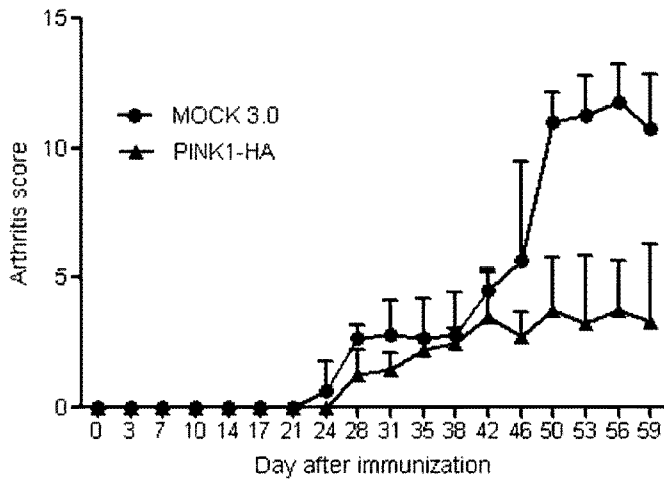
(74) 대리인: 특허법인 태평양 (BAE, KIM & LEE IP GROUP); 137-858 서울시 서초구 강남대로 343, 11 층, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD,

[다음 쪽 계속]

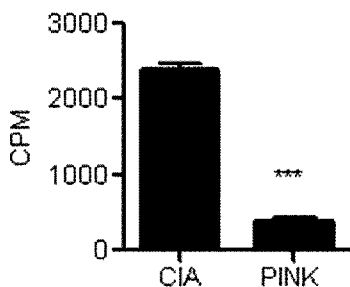
(54) Title: COMPOSITION FOR PREVENTING OR TREATING AUTOIMMUNE DISEASE, COMPRISING, AS ACTIVE INGREDIENT, PINK1 PROTEIN OR POLYNUCLEOTIDE ENCODING SAME

(54) 발명의 명칭: PINK1 단백질 또는 이를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 유효성분으로 포함하는 자가면역질환의 예방 또는 치료용 조성물



(57) Abstract: The present invention relates to a composition for preventing or treating autoimmune disease, comprising, as an active ingredient, PINK1 protein or polynucleotide encoding same. The PINK1 protein according to the present invention inhibits the activity of Th17, promotes the activity of a regulatory T cell (Treg), and increases autophagy in Treg cells, thereby controlling excessive immune responses. Therefore, the PINK1 protein can be effectively used as a pharmaceutical composition or an immunosuppressant, which is capable of preventing or treating autoimmune disease, such as arthritis, etc., caused by dysregulation of various kinds of immune responses.

(57) 요약서: 본 발명은 PINK1 단백질 또는 이를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 유효성분으로 포함하는 자가면역질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 PINK1 단백질은 Th17의 활성을 억제시키거나, 조절 T 세포(Regulatory T cell: Treg)의 활성을 촉진시키며, Treg 세포에서 자가소화작용을 증가시켜 과도한 면역반응을 조절하는 기작을 통해 이루어지므로 관절염 등 각종 면역반응의 조절 이상으로 유발되는 자가면역질환을 예방 또는 치료할 수 있는 약학적 조성물 또는 면역억제제로 유용하게 사용할 수 있다.



WO 2014/189201 A1



SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,

**공개:**

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))
- 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

## 명세서

# 발명의 명칭: PINK1 단백질 또는 이를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 유효성분으로 포함하는 자가면역질환의 예방 또는 치료용 조성물

### 기술분야

[1] 본 발명은 PINK1(PTEN-induced kinase 1) 단백질 또는 이를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 유효성분으로 포함하는 자가면역질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

[2]

### 배경기술

- [3] 면역은 생체 조직으로 침입하거나 주입되는 모든 외부 고분자물질(항원)에 대한 생체의 자기보호 체계의 하나이다. 면역체계의 주요한 구성성분으로 림프구가 있는데, 이는 골수에서 만들어져서 혈액을 따라 림프 조직이나 기관, 주로 림프절비장편도 등으로 순환하는 백혈구다. 면역반응에 관여하는 세포로서, B세포는 적절한 항원에 의해 자극되면 빠르게 증식하여, 그 항원을 중화시킬 특별한 항체(면역글로불린)를 만들어내는 클론을 형성하며, B세포가 생성하는 항체는 체액에서 순환하면서 체액성면역을 수행한다. 또한, T 세포는 흉선에서 생성되어 림프 조직으로 이동하는데, 항원을 직접 공격하는 세포매개성면역을 담당한다.
- [4] 한편, 모든 정상 개체에 있어서 가장 중요한 특성 중의 하나는 자기(self)를 구성하고 있는 항원물질에 대해서는 해롭게 반응하지 않는 반면, 많은 비자기(non-self) 항원에 대해서는 이를 인식하고 반응하여 제거할 수 있는 능력을 가지고 있다는 것이다. 이처럼 자기항원에 대한 생체의 무반응을 면역학적 무반응성(immunologic unresponsiveness) 또는 관용(tolerance)이라 한다.
- [5] 이러한 자기관용을 유도하거나 계속 유지하는데 있어서 문제가 생기게 되면 자기항원에 대하여 면역반응이 일어나게 되고, 이로 인하여 자신의 조직을 공격하는 현상이 발생하면서 다발성 경화증(multiple sclerosis), 1형 당뇨병, 류마티스 관절염, 하시모토 갑상선염 등의 자가면역질환이 발생하게 되며, 뿐만아니라 이식과 같은 시술 이후 면역거부 반응이 발생하게 된다.
- [6] 구체적으로 자가면역질환은 자기 세포에 대한 이상 반응으로 나타나는 질병이므로 치료는 주로 자기면역 기능을 억제하는 약물이 사용되고 있다. 그러나 부작용이 많아 지속적으로 사용하기 곤란하고 재발을 충분히 막지 못하여 완치를 위한 치료에는 한계가 있다. 다발성경화증의 경우 베타인터페론이 사용되고 있으나 부작용이 덜한 대신 치료비가 비싸고 평생동안 주사를 맞아야 하는 불편함이 있고 재발을 막는 효과가 미미 하다. 또한 CD40 리간드에 항체 투여 등으로 세포간의 상호작용을 억제하는 방법이

사용되었으나 그다지 성공적이지 않다. 기타 여러 가지 면역요법들이 있으나 아직 확실한 치료효능을 보이는 방법으로 인정된 사례는 없다.

[7] 따라서 자가면역질환을 효과적으로 치료할 수 있으며 인체에 무해하고 부작용이 없는 치료제에 대한 연구가 필요한 실정이다.

[8]

## 발명의 상세한 설명

### 기술적 과제

[9] 이에 본 발명자들은 자가면역질환을 효과적으로 예방 및 치료할 수 있는 새로운 치료방법을 연구하던 중, PINK1 단백질이 Th17의 활성을 억제시키고, 조절 T 세포(Regulatory T cell: Treg)의 활성을 촉진시키며, Treg 세포에서 자가소화작용(autophagy)을 증가시켜 Treg 기능을 조절할 수 있어 자가면역질환을 효과적으로 치료할 수 있다는 사실을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

[10] 따라서 본 발명의 목적은 PINK1 단백질을 유효성분으로 포함하는 자가면역질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

[11] 또한, 본 발명의 목적은 PINK1 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드 및 상기 폴리뉴클레오티드가 작동 가능하도록 연결된 재조합 벡터를 유효성분으로 포함하는 자가면역질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

[12]

### 과제 해결 수단

[13] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 PINK1 단백질을 유효성분으로 포함하는 자가면역질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[14] 본 발명의 한 구현예에 있어서, 상기 PINK1 단백질은 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열을 갖는 것일 수 있다.

[15] 본 발명의 일 실시예에 있어서 상기 PINK1 단백질은 Th17의 활성을 억제 또는 감소시키거나, 조절 T 세포의 활성을 촉진 또는 증가시키는 것일 수 있다.

[16] 본 발명의 한 구현예에 있어서, 상기 PINK1 단백질은 과골세포 분화를 감소시키거나, 염증성세포의 침윤을 억제하는 것일 수 있다.

[17] 또한, 본 발명은 PINK1 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 유효성분으로 포함하는 자가면역질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[18] 본 발명의 한 구현예에 있어서, 상기 폴리뉴클레오티드는 서열번호 2로 표시되는 염기서열을 갖는 것일 수 있다.

[19] 또한, 본 발명은 본 발명의 PINK1 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드가 작동 가능하도록 연결된 재조합 벡터를 유효성분으로 포함하는 자가면역질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[20] 본 발명의 한 구현예에 있어서, 상기 자가면역질환은 류마티스 관절염, 전신 홍반성 낭창, 소화기 당뇨병, 아토피 피부염, 자가면역성 뇌척수염, 천식 및

크론씨병으로 이루어진 군 중에서 선택되는 것일 수 있다.

[21]

[22] 본 발명은 PINK1 단백질을 유효성분으로 포함하는 자가면역질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공함을 그 특징으로 한다.

[23]

PINK1 단백질은 autosomal recessive familial PD의 유전자로써 신경세포와 신경교세포 모두에서 발현하며, 암, 1형 당뇨병 등의 질병을 예방해 주는 효과가 있다고 알려져 있으나, 아직까지 자가면역질환의 치료에 사용된다는 문헌은 전혀 알려진 바가 없다.

[24]

이에 본 발명자들은 PINK1 단백질이 Treg 세포에서 자가소화작용을 증가시켜 Treg 기능을 조절할 수 있는 효과가 있음을 최초로 규명하였다.

[25]

이러한 결과는 본 발명의 한 구현예에 의해 확인할 수 있는데, PINK1 단백질에 관절염의 예방 및 치료 효과가 있는지를 알아보기 위하여 관절염 모델에서 관절염 지수와 발병 지수를 측정된 결과, PINK1 단백질을 처리하지 않은 대조군에 비하여 본 발명의 PINK1 단백질을 투여한 실험동물군에서 관절염 지수 및 발병 지수가 현저히 억제되고, 또한 PINK1 주입군의 림프절 세포에서 T 세포의 증식 활성이 억제되어 있음을 알 수 있었다(도 1a 및 도 1b 참조).

[26]

본 발명의 다른 구현예에 따르면, PINK1 단백질 처리에 따른 관절염 개선 정도를 분석하기 위하여 헤마톡실린(Hematoxylin)과 에오신(Eosin) 염색, 톨루이딘 블루(Toluidin blue)와 사프라닌 O(Safranin O) 염색으로 조직학적 검사를 실시한 결과, PINK1 단백질을 처리하지 않은 대조군의 관절은 파괴되어 있고 염증성 세포들이 침윤되어 있으나, 본 발명의 PINK1 단백질을 주입한 실험동물군은 대조군 대비 파골세포의 분화가 감소되어 있고, 또한 염증성 세포의 침윤도 억제되어 있음을 확인할 수 있었다(도 2a 및 도 2b 참조).

[27]

본 발명의 다른 구현예에 따르면, PINK1 단백질의 처리에 따른 관절 조직 내 염증성 사이토카인 발현을 분석한 결과, 본 발명의 PINK1 주입군의 관절 조직에서는 IL-17, IL-6, IL-1b 및 TNF-와 같은 염증성 사이토카인의 발현이 대조군에 비해 현저히 억제되어 있었는데, 이는 PINK1 단백질이 자가면역 관절염 질환에 있어서 염증성 사이토카인의 활성을 조절할 수 있음을 시사한다(도 3 참조).

[28]

본 발명의 다른 구현예에 따르면, PINK1 단백질의 처리에 따른 Th17 및 Treg 세포의 동시 조절 효과를 확인하기 위해 관절염 마우스 동물모델의 비장세포에 유세포분석(FACS, fluorescence-activated cell sorter)을 실시한 결과, PINK1 단백질이 주입된 군에서는 Th17 세포가 절반이상 감소하고 Treg 세포는 2배 가까이 증가한 것으로 나타났으며(도 4a 및 도 4b 참조), 이로부터 PINK1 단백질이 Th17/Treg 세포의 활성을 동시에 조절할 수 있음을 알 수 있다.

[29]

본 발명의 다른 구현예에 따르면, 관절염 동물모델에서 PINK1 단백질 처리에 의한 Th17 세포 억제 효과를 확인한 결과, 대조군인 관절염 실험동물에 비해 PINK1 단백질을 처리한 마우스의 비장에서 병인세포인 Th17 세포는 현저히

억제되고, Th17 세포의 전사인자인 ROR $\gamma$ T 유전자의 발현이 억제되며, 또한 Th17 세포의 전사인자인 인산화된 STAT3의 발현은 PINK1 주입군에서 현저하게 억제되었는데(도 5a 내지 도 5c 참조), 이는 PINK1 단백질이 Th17 세포의 활성 억제 조절시 ROR $\gamma$ T와 STAT3의 활성을 조절할 수 있음을 나타낸다.

[30] 본 발명의 다른 구현예에 따르면, 관절염 동물모델에서 PINK1 단백질 처리에 의한 Treg 세포 증가 효과를 확인한 결과, 대조군인 관절염 실험동물에 비해 PINK1 단백질을 처리한 마우스의 비장에서 Treg 세포의 발현은 현저히 증가되고, Treg 세포의 대표 전사인자인 Foxp3, SOCS3 유전자의 발현도 증가되며, 또한 Treg 세포의 전사인자인 인산화된 STAT5의 발현은 PINK1 주입군에서 현저하게 증가되었다(도 6a 내지 도 6c 참조).

[31] 본 발명의 다른 구현예에 따르면, PINK1 유전자의 시험관내 전달감염(transfection)에 의한 염증성 사이토카인의 억제 조절 효과를 확인한 결과, PINK1 유전자가 주입된 세포에서는 conA 반응에 따른 TNF-의 발현을 현저히 억제시켰는데(도 7 참조), 이로부터 시험관내 효능 평가에서도 PINK1 단백질이 염증성 사이토카인의 발현을 직접적으로 조절할 수 있음을 알 수 있다.

[32] 아울러, 본 발명의 다른 구현예에 따르면, 마우스의 비장세포에 PINK1 단백질을 주입한 군과 PINK1 단백질을 주입하지 않은 대조군에서 Th17와 Treg 세포에서 발현되는 자가소화작용을 공초점 현미경으로 관찰한 결과, Th17 세포와 비교하여 PINK1 단백질을 주입한 마우스의 비장 Treg 세포에서 LC3 및 coxIV의 발현이 증가되었고, 또한 Treg 세포의 이러한 마커들이 활성화됨을 알 수 있었다(도 8 참조).

[33] 따라서 이와 같은 공지의 사실과 함께 본 발명의 한 구현예를 통해 확인된 사실에 기초하여, 본 발명의 PINK1 단백질이 Treg 세포에서 자가소화작용을 증가시켜 Treg 기능을 조절하여 자가면역질환을 예방 또는 치료하는데 사용할 수 있음을 알 수 있었다.

[34] 그러므로 본 발명의 PINK1 단백질 또는 상기 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 Treg 세포에서 자가소화작용을 증가시키는 활성을 가지고 있어 조절 T 세포(Treg)의 활성 또는 증폭을 촉진 또는 증가시키는 작용을 통해 자가면역질환을 예방 또는 치료하는 특징이 있다.

[35] 본 발명에 있어서, "활성"이란 용어는 생체 내에서 조절 T 세포, 즉 자연성(natural) Treg 와 적응성(adaptive) Treg 세포를 모두 포함하는 Treg 세포가 가지는 모든 기작이 촉진 또는 증진되는 것을 말하며, 생체 내의 면역반응이 정상상태를 유지하도록 면역조절작용, 예컨대 면역억제반응이 촉진 또는 증진되는 것을 말한다.

[36] 또한, 본 발명에 있어서, "증폭(expansion)"이란 표현은 미분화 T 세포가 조절 T 세포로 분화 및 증식되는 것을 말하는 것으로서, '분화(differentiation)'는 세포가 분열 증식하여 성장하는 동안에 서로 구조나 기능이 특수화하는 현상, 즉 생물의 세포, 조직 등이 각각에게 주어진 일을 수행하기 위하여 형태나 기능이 변해가는

것을 말하며, '증식(proliferation)'은 세포가 분열되어 동질의 것이 불어나는 것으로서 보통 다세포생물의 체내에서 세포수가 증가되어 가는 것을 말한다.

- [37] 본 발명에 따른 상기 PINK1 단백질은 바람직하게는 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열을 갖는 단백질일 수 있다. 또한, 상기 본 발명의 PINK1 단백질은 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드에 대해 기능적 동등물일 수 있다. 본 발명에 있어서, "기능적 동등물"이란 용어는 아미노산의 부가, 치환 또는 결실의 결과, 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열과 적어도 60%, 바람직하게는 70%, 보다 바람직하게는 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 폴리펩티드 또는 단백질을 말하는 것으로서, 본 발명의 PINK1 단백질과 실질적으로 동질의 활성을 나타내는 폴리펩티드를 말한다. 여기서, "실질적으로 동질의 활성"이란 상기에서 기재한 PINK1 단백질의 활성을 의미한다. 상기 기능적 동등물에는, 예를 들어, 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열의 아미노산 중 일부가 치환되거나, 결실 또는 부가된 아미노산 서열 변형체가 포함될 수 있다. 아미노산의 치환은 바람직하게는 보존적 치환일 수 있으며, 천연에 존재하는 아미노산의 보존적 치환의 예는 다음과 같다; 지방족 아미노산(Gly, Ala, Pro), 소수성 아미노산(Ile, Leu, Val), 방향족 아미노산(Phe, Tyr, Trp), 산성 아미노산(Asp, Glu), 염기성 아미노산(His, Lys, Arg, Gln, Asn) 및 황함유 아미노산(Cys, Met). 아미노산의 결실은 바람직하게는 본 발명의 PINK1 단백질의 활성에 직접 관여하지 않는 부분에 위치할 수 있다. 또한 상기 기능적 동등물의 범위에는 PINK1 단백질의 기본 골격 및 이의 생리 활성을 유지하면서 폴리펩티드의 일부 화학 구조가 변형된 폴리펩티드 유도체도 포함될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 폴리펩티드의 안정성, 저장성, 휘발성 또는 용해도 등을 변경시키기 위한 구조변경 및 생리활성을 유지하면서 다른 단백질과 융합으로 만들어진 융합단백질등이 이에 포함될 수 있다.

- [38] 본 발명에 따른 상기 PINK1 단백질 또는 상기 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 병적세포인 Th17 세포를 감소 또는 억제시킬 수 있고, 반면 조절 T 세포의 활성 또는 증폭을 촉진 또는 증진시키는 작용을 통해 자가면역질환을 예방 또는 치료할 수 있다.

- [39] 본 발명에서 상기 "자가면역질환"은 자기관용을 유도하거나 계속 유지하는데 있어서 문제가 생기게 되면 자기항원에 대하여 면역반응이 일어나게 되고, 이로 인하여 자신의 조직을 공격하는 현상이 발생하는데 이러한 과정에 의해 발생하는 질환을 의미한다. 또한, 본 발명에서 상기 자가면역질환의 종류로는 이에 제한되지는 않으나 류마티스 관절염, 전신 홍반성 낭창, 소화기 당뇨병, 아토피 피부염, 자가면역성 뇌척수염, 천식 및 크론씨병으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

- [40] 본 발명에 있어서, '치료'란 용어는, 달리 언급되지 않는 한, 상기 용어가 적용되는 질환 또는 질병, 또는 상기 질환 또는 질병의 하나 이상의 증상을 역전시키거나, 완화시키거나, 그 진행을 억제하거나, 또는 예방하는 것을

의미하며, 본원에서 사용된 상기 '치료'란 용어는 '치료하는'이 상기와 같이 정의될 때 치료하는 행위를 말한다.

- [41] 본 발명에 따른 자가면역질환의 예방 또는 치료용 약학적조성물은 약학적으로 유효한 양의 PINK1 단백질을 단독으로 포함하거나 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제를 포함할 수 있다. 상기에서 약학적으로 유효한 양이란 자가면역질환의 증상을 예방, 개선 및 치료하기에 충분한 양을 말한다. 본 발명에 따른 PINK1 단백질의 약학적으로 유효한 양은 0.5100/day/체중kg, 바람직하게는 0.55/day/체중kg이다. 그러나 상기 약학적으로 유효한 양은 자가면역질환 증상의 정도, 환자의 연령, 체중, 건강상태, 성별, 투여 경로 및 치료기간 등에 따라 적절히 변화될 수 있다.
- [42] 또한, 상기에서 "약학적으로 허용되는" 이란 표현은 생리학적으로 허용되고 인간에게 투여될 때, 통상적으로 위장 장애, 현기증과 같은 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않는 조성물을 말한다. 상기 담체, 부형제 및 희석제의 예로는, 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 또한, 충전제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제 및 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [43] 또한, 본 발명의 조성물은 포유동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 당업계에 공지된 방법을 사용하여 제형화될 수 있다. 제형은 분말, 과립, 정제, 에멀전, 시럽, 에어로졸, 연질 또는 경질 젤라틴 캡셀, 멸균 주사용액, 멸균 분말의 형태일 수 있다.
- [44] 또한, 본 발명에 따른 자가면역질환의 예방 또는 치료용 조성물은 경구, 경피, 피하, 정맥 또는 근육을 포함한 여러 경로를 통해 투여될 수 있으며, 활성 성분의 투여량은 투여 경로, 환자의 연령, 성별, 체중 및 환자의 중증도 등의 여러 인자에 따라 적절히 선택될 수 있고, 본 발명에 따른 자가면역질환의 예방 또는 치료용 조성물은 자가면역질환의 증상을 예방, 개선 또는 치료하는 효과를 가지는 공지의 화합물과 병행하여 투여할 수 있다.
- [45] 또한, 본 발명은 PINK1 단백질을 유효성분으로 포함하는 자가면역질환의 예방 또는 치료용 약학적조성물을 제공할 수 있으며, 나아가 본 발명은 PINK1 단백질을 유효성분으로 포함하는 면역억제제를 제공할 수 있다.

[46]

### 발명의 효과

- [47] 본 발명에 따른 PINK1 단백질은 Th17의 활성을 억제시키거나, 조절 T 세포(Regulatory T cell: Treg)의 활성을 촉진시키며, Treg 세포에서 자가소화작용을 증가시켜 과도한 면역반응을 조절하는 기작을 통해

이루어지므로 관절염 등 각종 면역반응의 조절 이상으로 유발되는 자가면역질환을 예방 또는 치료할 수 있는 약학적 조성물 또는 면역 억제제로 유용하게 사용할 수 있다.

[48]

### 도면의 간단한 설명

[49] 도 1a 및 도 1b는 본 발명의 한 구현예에 따라 관절염 유도 동물모델에 PINK1 단백질을 주입한 뒤 관절염 지수 및 림프절에서 분리된 세포에서 T 세포의 활성을 확인한 결과를 보여주는 그래프이다.

[50] 도 2a 및 도 2b는 본 발명의 한 구현예에 따라 관절염 유도 동물모델에 PINK1 단백질을 처리한 군과 대조군으로 처리하지 않은 군의 연골 파괴 및 염증세포의 침윤을 헤마톡실린과 에오신 염색 및 톨루이딘 블루와 사프라닌 O 염색으로 확인한 결과이다.

[51] 도 3은 본 발명의 한 구현예에 따라 관절염 유도 동물모델에서 PINK1 단백질에 의한 관절 조직 내 염증성 사이토카인 발현의 억제를 보여주는 면역화학 염색 사진이다.

[52] 도 4a 및 도 4b는 본 발명의 한 구현예에 따라 관절염 유도 동물모델에서 PINK1 단백질 처리에 의한 Th17 및 Treg 세포의 동시 조절 효과를 보여주는 유세포분석 결과 및 그래프이다.

[53] 도 5a 내지 도 5c는 본 발명의 한 구현예에 따라 관절염 유도 동물모델에 PINK1 단백질을 처리하였을 때와 대조군으로 처리하지 않은 군의 비장세포에서 IL-17 및 STAT3 유전자를 발현하는 세포를 공초점 현미경으로 확인한 사진과 Th17 세포의 전사인자인 ROR $\gamma$ T 유전자의 발현을 보여주는 그래프이다.

[54] 도 6a 내지 도 6c는 본 발명의 한 구현예에 따라 관절염 유도 동물모델에 PINK1 단백질을 처리하였을 때와 대조군으로 처리하지 않은 군의 비장세포에서 CD25 및 STAT5 유전자를 발현하는 세포를 공초점 현미경으로 확인한 사진과 Treg 세포의 전사인자인 STAT5 유전자의 발현을 보여주는 그래프이다.

[55] 도 7은 본 발명의 한 구현예에 따라 NIH T 세포에서 PINK1 유전자의 시험관내 전달감염에 의한 염증성 사이토카인의 억제 조절 효과를 보여주는 그래프이다.

[56] 도 8a 및 도 8b는 본 발명의 한 구현예에 따라 관절염 유도 동물모델에 PINK1 단백질을 처리한 군과 대조군으로 처리하지 않은 군을 대상으로 Th17과 Treg 세포에서 발현되는 자가소화작용을 공초점 현미경으로 확인한 결과를 보여주는 사진 및 그래프이다.

[57]

### 발명의 실시를 위한 최선의 형태

[58] 이하 본 발명을 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 국한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게

있어서 자명할 것이다.

[59]

[60] 실시에 1. PINK1 단백질 처리에 따른 관절염 개선 정도 측정 및 T 세포 활성화 정도 분석

[61] 본 발명자들은 PINK1 단백질이 관절염의 예방 및 치료 효과가 있는지를 알아보기 위하여 먼저 DBA1/J 정상 마우스에 Type 콜라겐을 주입하여 관절염 모델을 제작하였으며, 상기 동물모델에 PINK1 DNA 벡터를 주입한 뒤 관절염 지수를 측정하였다.

[62] 이를 위하여, 본 발명자들은 Type 콜라겐 100과 CFA(Complete Freund's Adjuvant)를 섞어서 마우스의 꼬리 피하에 주입하여 1차 면역시켰고, 1차 면역 2주 후 Type 콜라겐 100과 IFA(incomplete Freund's Adjuvant)를 섞어서 꼬리 피하에 재주입하여 부스터(booster) 면역시켰다. 100의 PINK DNA 벡터는 Type 콜라겐 주입 후 일주일 후 정맥을 통해 주입하였고, 정맥 주입 후 1주일 간격으로 100의 PINK DNA 벡터를 마우스의 뒷 오른쪽 및 왼쪽 다리 근육에 주입하였다. PINK1은 human cDNA로부터 증폭시켰고 이는 pcDNA3.1(Invitrogen)에 Hind와 EcoR1으로 잘라서 삽입하였으며, 삽입된 PINK1의 발현은 COS 세포에 형질도입하여 얻은 단백질 용해물을 이용해 웨스턴 블롯팅(western blot)으로 과발현 여부를 확인하였다. PINK 벡터 대신에 mock 벡터를 사용한 것을 대조군으로 하였다.

[63] 또한, 본 발명자들은 PINK1 단백질이 T 세포 활성화에 미치는 영향을 분석하기 위하여, 관절염 모델 마우스의 비장세포로부터 T 세포를 분리하였고, 분리된 T 세포를 3일 동안 항-CD3 자극하여 T 세포를 활성화시켰으며, 또한 활성화된 T 세포에 3H 동위원소를 처리하여 세포 증식 활성 정도를 평가하였다.

[64] 아울러, 각 마우스 군의 혈청에서 샌드위치 ELISA를 이용하여 IgG 및 IgG1의 발현 정도를 조사하였다. 이를 위하여, 96-웰 플레이트에 단클론성 항-마우스 IgG로 상온에서 1시간 동안 반응시킨 후, 차단용액(1% BSA/PBST)을 처리하여 비특이적 결합을 차단하였다. 마우스 대조군 혈청을 1/2씩 연속적으로 희석하여 표준물(standard)로 사용하였으며, 세포배양 상층액을 넣고 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. 이후, 항-마우스 IgG-HRP를 실온에서 1시간 동안 반응시켰고, 반응 후 4회 세척한 후, TMB 시스템으로 발색시켜 450 파장에서 흡광도를 측정하였다.

[65] 그 결과, PINK1 단백질을 처리하지 않은 대조군에 비하여 본 발명의 PINK1 단백질을 투여한 실험군에서는 관절염 지수가 70% 가까이 감소되었고, 또한 PINK1 주입군에서는 T 세포에서 증식반응 지수인 CPM이 낮아져서 PINK1 단백질을 투여 시 T 세포 증식 활성이 현저히 억제됨을 확인할 수 있었다(도 1a). 아울러, PINK1 단백질을 처리하지 않은 대조군에 비하여 본 발명의 PINK1 단백질을 투여한 실험군에서는 발병 지수가 현저히 감소되었고, 관절염 질환 활성의 지표인 혈청내 IgG의 발현양이 현저히 억제되었다(도 1b).

[66]

[67] 실시에 2. PINK1 단백질이 관절 조직의 관절 파괴 정도에 미치는 영향 분석

[68] 본 발명자들은 PINK1 단백질 처리에 따른 관절염 개선 정도를 분석하기 위하여 관절염 마우스 동물모델의 관절 조직에 대한 조직학적 검사를 실시하였다.

[69] 이를 위하여, PINK1 단백질이 투여된 동물과 대조군을 관절염 유도 후 56일에 각 마우스 군의 뒷발을 10% 포르말린으로 고정시키고 뼈에서 석회질을 제거한 후 파라핀으로 블록을 제조하였다. 이로부터 관절 절편(7)을 준비하여 슬라이드에 부착하였고, 자일렌을 이용하여 탈 파라핀 과정을 거친 후, 고농도 및 저농도 에탄올을 이용하여 함수시켰으며, 헤마톡실린과 에오신으로 관절 절편을 염색하였다. 또한, 연골파괴 정도를 확인하기 위하여 톨루이딘 블루와 사프라닌 O 염색하였다.

[70] 상기와 같은 실험 후 실험동물군의 관절 내 연골 및 염증도를 관찰한 결과, PINK1 단백질을 처리하지 않은 대조군의 관절은 파괴되어 있고 염증성 세포들이 침윤되어 있었으나 본 발명의 PINK1 단백질을 주입한 실험동물군은 대조군 대비 파골세포 분화가 감소되어 있었으며, 염증성 세포의 침윤도 억제되었음을 확인하였다(도 2a 및 도 2b).

[71]

[72] 실시에 3. 관절염 동물모델에서 PINK1 단백질 처리에 의한 관절 조직 내 염증성 사이토카인 발현의 억제 효과

[73] 본 발명자들은 PINK1 단백질 처리에 따른 관절 조직 내 염증성 사이토카인 발현을 분석하기 위하여 관절염 마우스 동물모델의 관절 조직에 대한 조직학적 검사를 추가로 실시하였다.

[74] 이를 위하여, 본 발명자들은 상기 실시예 2와 동일한 방식으로 관절 절편(7)을 준비하여 슬라이드에 부착한 후, 자가면역 관절염과 관련된 대표적인 염증성 사이토카인인 IL-17, IL-6, IL-1b 및 TNF-를 면역화학염색법을 이용하여 염색하였고, 이를 광학현미경으로 분석하였다.

[75] 그 결과, 본 발명의 PINK1 단백질 주입군의 관절 조직에서 IL-17, IL-6, IL-1b 및 TNF-의 발현이 대조군에 비해 현저히 억제되어 있었으며, 상기 결과로부터 PINK1 단백질이 자가면역 관절염 질환에 있어서 염증성 사이토카인의 활성을 조절할 수 있음을 확인하였다(도 3).

[76]

[77] 실시에 4. 관절염 동물모델에서 PINK1 단백질 처리에 의한 Th17 및 Treg 세포의 동시 조절 효과

[78] 본 발명자들은 PINK1 단백질 처리에 따른 Th17 및 Treg 세포의 동시 조절 효과를 확인하기 위하여 관절염 마우스 동물모델의 비장세포에 유세포분석을 실시하였다.

[79] 이를 위하여, 본 발명자들은 각 마우스의 비장세포에 항-CD4-PerCP 및

항-CD25-APC를 4에서 30분 동안 반응시켰고, 반응 후 세포를 permeabilization 한 후, 항-IL-17-PE, 항-IFN $\gamma$ -FITC 혹은 항-Foxp3-PE 형광 항체로 반응시켰다. 상기 반응 후 FACS caliber를 이용하여 각 세포를 분석하였다.

- [80] 그 결과, PINK1 단백질이 주입된 군에서는 Th17 세포가 절반이상 감소하였고(도 4a), Treg 세포는 2배 가까이 증가한 것으로 나타났으며(도 4b), 상기 결과로부터 PINK1 단백질은 Th17/Treg 세포의 활성을 동시에 조절할 수 있음을 확인하였다.
- [81]
- [82] 실시에 5. 관절염 동물모델에서 PINK1 단백질 처리에 의한 Th17 세포 억제 효과
- [83] 본 발명자들은 본 발명의 PINK1 단백질 처리가 Th17 세포에 어떠한 영향을 미치는지 조사하기 위하여 마우스의 비장에서 분리된 세포(110<sup>6</sup>)에 항-CD4-pe, 항-IL-17-FITC를 염색하거나, 항-CD4-pe, 항-pSTAT3 705-FITC를 염색한 후, Th17 세포의 발현양을 공초점 현미경을 이용하여 확인하였다. 또한, 각 마우스의 비장 세포에 RNA zoIB를 처리하여 RNA를 단리한 후, 단리된 RNA로부터 cDNA를 합성하여 ROR $\gamma$ T 유전자의 발현을 실시간(realtime) PCR로 분석하였다.
- [84] 그 결과, 대조군인 관절염 실험동물에 비해 PINK1 단백질을 처리한 마우스의 비장에서 병인세포인 Th17 세포는 현저히 억제되었고(도 5a), Th17 세포의 전사인자인 ROR $\gamma$ T 유전자의 발현이 억제되었다(도 5c). 또한, Th17 세포의 전사인자인 STAT3의 활성을 비장 조직에서 확인한 결과, 인산화된 STAT3의 발현은 PINK1 주입군에서 현저하게 억제되었다(도 5b). 상기 결과로부터, PINK1는 Th17 세포의 활성 억제 조절시 ROR $\gamma$ T와 STAT3의 활성을 조절할 수 있음을 확인하였다.
- [85]
- [86] 실시에 6. 관절염 동물모델에서 PINK1 단백질 처리에 의한 Treg 세포 증가 효과
- [87] 본 발명자들은 본 발명의 PINK1 단백질 처리가 Treg 세포에 어떠한 영향을 미치는지 조사하기 위하여 마우스의 비장에서 분리된 세포(110<sup>6</sup>)에 항-CD4-pe, 항-CD25-APC, 항-Foxp3-FITC를 염색하거나, 항-CD4-pe, 항-pSTAT3 705-FITC를 염색한 후, Treg 세포의 발현양을 공초점 현미경을 이용하여 확인하였다. 또한, 각 마우스의 비장 세포에 RNA zoIB를 처리하여 RNA를 단리한 후, 단리된 RNA로부터 cDNA를 합성하여 Foxp3 및 SOCS3 유전자의 발현을 실시간PCR로 분석하였다.
- [88] 그 결과, 대조군인 관절염 실험동물에 비해 PINK1 단백질을 처리한 마우스의 비장에서 Treg 세포의 발현은 현저히 증가되었고(도 6a), Treg 세포의 전사인자인 STAT5의 활성을 비장 조직에서 확인한 결과, 인산화된 STAT5의 발현은 PINK1 주입군에서 현저하게 증가되었다(도 6b). 또한, Treg 세포의 대표 전사인자인 Foxp3, SOCS3 유전자의 발현이 증가되었다(도 6c).
- [89]

- [90] 실시에 7. PINK1 유전자의 시험관내 전달감염(transfection)에 의한 염증성 사이토카인의 억제 조절 효과
- [91] 본 발명자들은 NIH T 세포에 각 벡터를 주입한 후 conA로 세포를 활성화시켰다. 각 벡터 주입 3일 후 배양된 상층액을 모아 샌드위치 ELISA를 이용하여 TNF-의 발현 정도를 조사하였다. 이를 위하여, 96-웰 플레이트에 2/의 단클론성 항-TNF- 항체를 4에서 밤새 반응시켰고, 반응 후 차단 용액(1% BSA/PBST)으로 비특이적 결합을 차단하였다. TNF- 재조합체를 1/2 농도씩 연속 희석하여 표준물로 사용하였으며, 세포배양 상층액을 넣고 실온에서 2시간 동안 반응시켰다. 이후, 바이오틴화 항-TNF- 항체를 2시간 동안 실온에서 반응시켰고, 반응 후 4회 세척하였으며, 엑스트라아비딘-알칼린 포스파타아제 접합체(ExtraAvidin-Alkaline phosphatase conjugate)를 희석하여 넣은 후, 실온에서 2시간 동안 반응시켰다. 반응 후 PNPP/DEA 용액을 넣고 발색하였으며, 발색 후 405 파장에서 흡광도를 측정하였다.
- [92] 그 결과, PINK1 유전자가 주입된 세포에서는 conA 반응에 따른 TNF-의 발현을 현저히 억제시켰다(도 7). 상기 결과로부터, 시험관내 효능 평가에서도 PINK1 단백질은 염증성 사이토카인의 발현을 직접적으로 조절할 수 있음을 확인하였다.
- [93]
- [94] 실시에 8. 관절염 동물모델에서 PINK1 단백질 처리에 의한 자가소화작용의 활성 분석
- [95] 본 발명자들은 상기 실시예 5 및 실시예 6에서 관찰된 Th17 세포의 감소 및 Treg 세포의 증가와 관련된 기작을 좀 더 명확히 이해하고자 PINK1 단백질이 자가소화작용을 활성화시키는지 여부와 그러한 기작으로 실제로 Th17 세포가 감소되고 Treg 세포가 증가하는지 확인하였다. 이를 위하여 본 발명자들은 마우스의 비장세포를 항-CD4-percp, 항-CD25-APC, 항-Foxp3-PE 및 항-LC3-FITC 또는 항-CD4-percp, 항-CD25-APC, 항-Foxp3-PE 및 항-coxiV-FITC 항체로 염색한 후 공초점 현미경 분석을 수행하였다.
- [96] PINK1 단백질을 주입한 군과 PINK1 단백질을 주입하지 않은 대조군에서 Treg 세포에서 발현되는 자가소화작용을 공초점 현미경으로 관찰한 결과, PINK1 단백질을 주입한 마우스의 비장 조직에서 LC3 및 coxIV를 발현하는 Treg 세포가 증가되었고, 또한 Treg 세포의 이러한 마커들이 활성화되었다(도 8). 상기 결과로부터, PINK1 단백질은 Treg 세포의 자가소화작용의 활성화를 유도하여 Treg 세포의 기능이 강화되고, 이로 인해 자가면역 관절염에서 Th17 세포 및 병인 사이토카인들이 조절될 수 있음을 확인하였다.
- [97]
- [98] 상기와 같은 실시예 1 내지 실시예 8에 따르면, PINK1 단백질은 Treg 세포의 활성을 증진시키고 Th17의 활성을 억제시킴으로써 관절조직의 관절 파괴를 완화시키고, 관절염을 억제하는 효과가 탁월한 바, 본 발명의 PINK1은 관절염을

비롯한 자가면역질환의 예방 또는 치료에 효과적으로 활용 가능하다는 것을 알 수 있다.

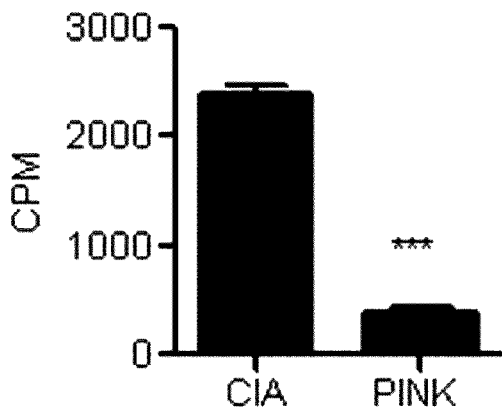
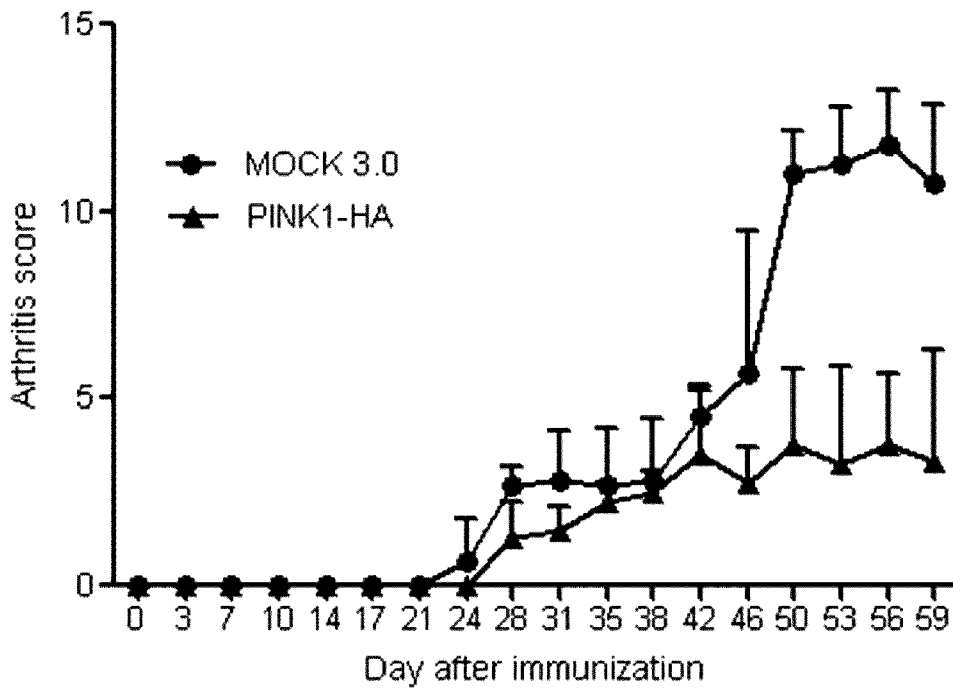
[99]

[100] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

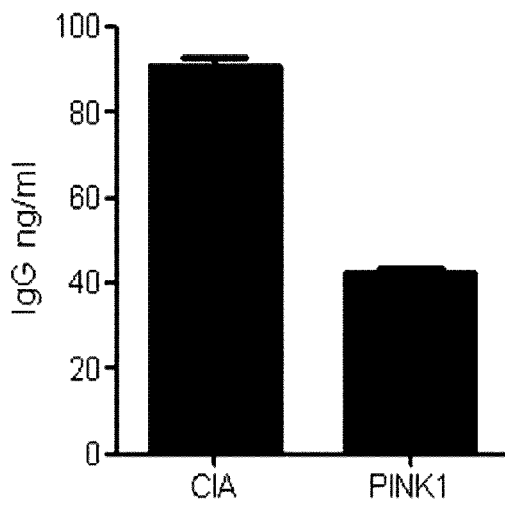
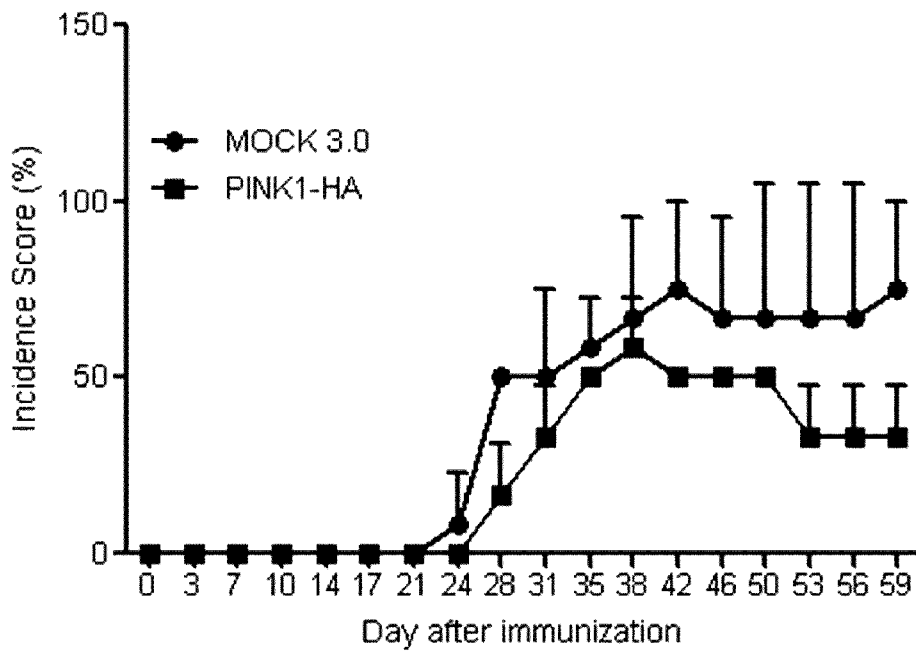
## 청구범위

- [청구항 1] PINK1(PTEN-induced kinase 1) 단백질을 유효성분으로 포함하는 자가면역질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 2] 청구항 1에 있어서, 상기 PINK1 단백질은 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열을 갖는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.
- [청구항 3] 청구항 1에 있어서, 상기 PINK1 단백질은 Th17의 활성을 억제 또는 감소시키거나, 조절 T 세포의 활성을 촉진 또는 증가시키는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.
- [청구항 4] 청구항 1에 있어서, 상기 PINK1 단백질은 파골세포 분화를 감소시키거나, 염증성세포의 침윤을 억제하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.
- [청구항 5] 청구항 1에 있어서, 상기 자가면역질환은 류마티스 관절염, 전신 홍반성 낭창, 소화기 당뇨병, 아토피 피부염, 자가면역성 뇌척수염, 천식 및 크론씨병으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.
- [청구항 6] PINK1 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 유효성분으로 포함하는 자가면역질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 7] 청구항 6에 있어서, 상기 폴리뉴클레오티드는 서열번호 2로 표시되는 염기서열을 갖는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.
- [청구항 8] 청구항 6에 있어서, 상기 자가면역질환은 류마티스 관절염, 전신 홍반성 낭창, 소화기 당뇨병, 아토피 피부염, 자가면역성 뇌척수염, 천식 및 크론씨병으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.
- [청구항 9] PINK1 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드가 작동 가능하도록 연결된 재조합 벡터를 유효성분으로 포함하는 자가면역질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 10] 청구항 9에 있어서, 상기 자가면역질환은 류마티스 관절염, 전신 홍반성 낭창, 소화기 당뇨병, 아토피 피부염, 자가면역성 뇌척수염, 천식 및 크론씨병으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

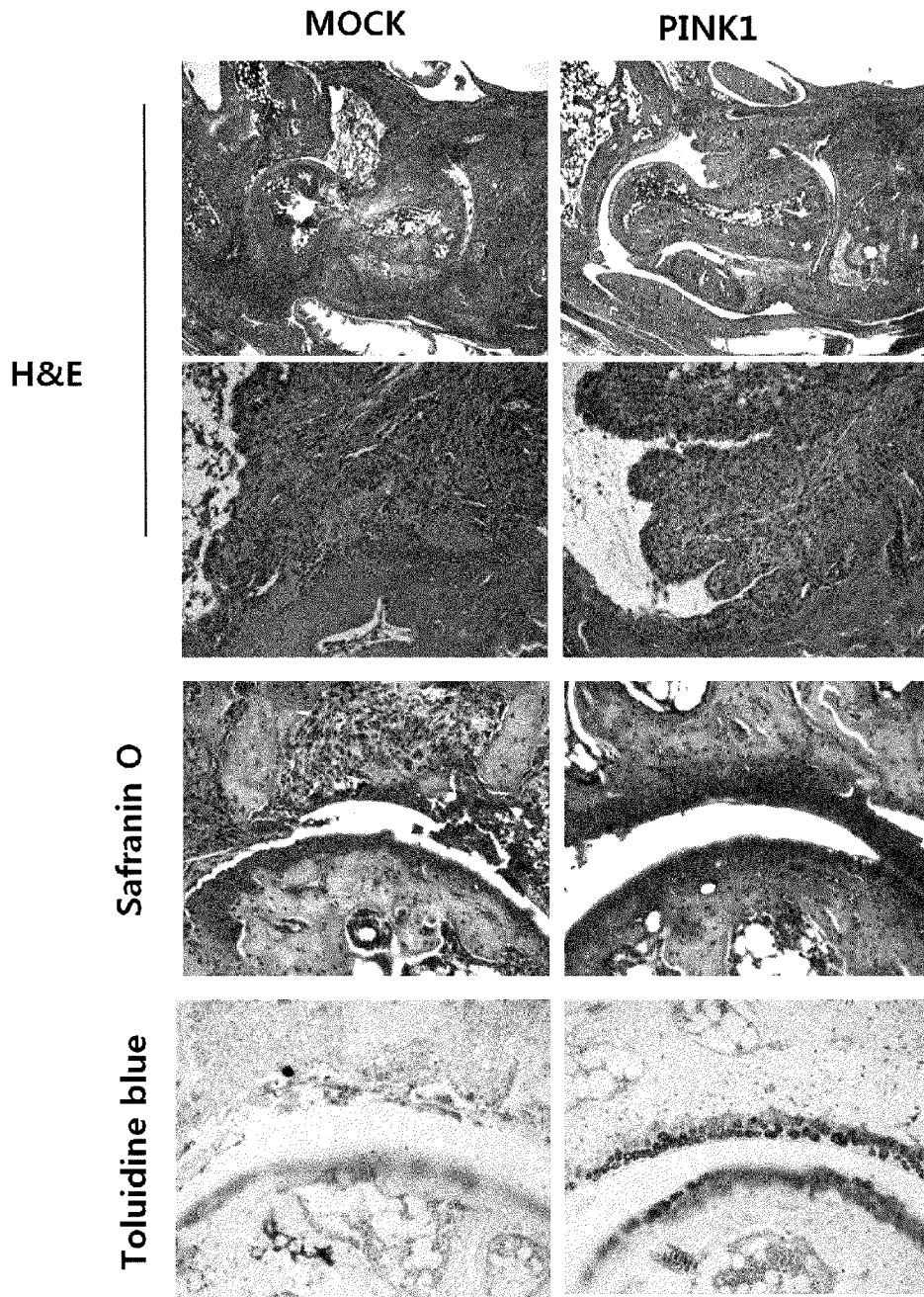
[Fig. 1a]



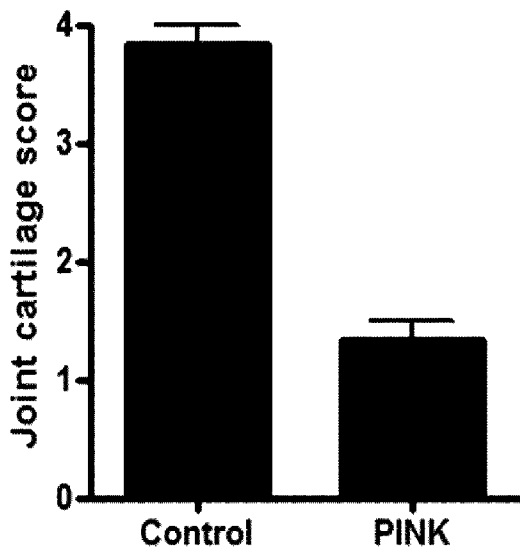
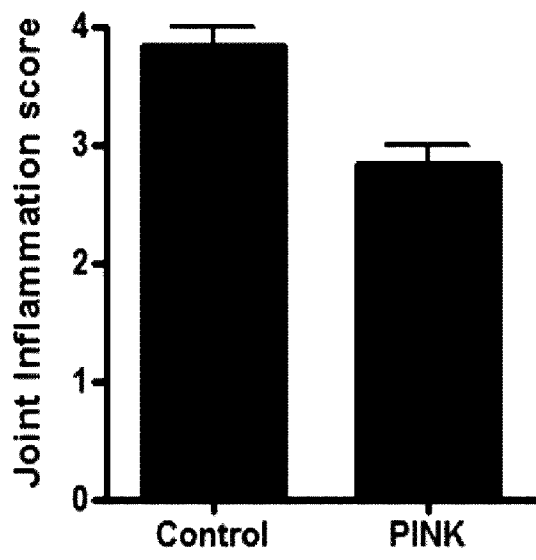
[Fig. 1b]



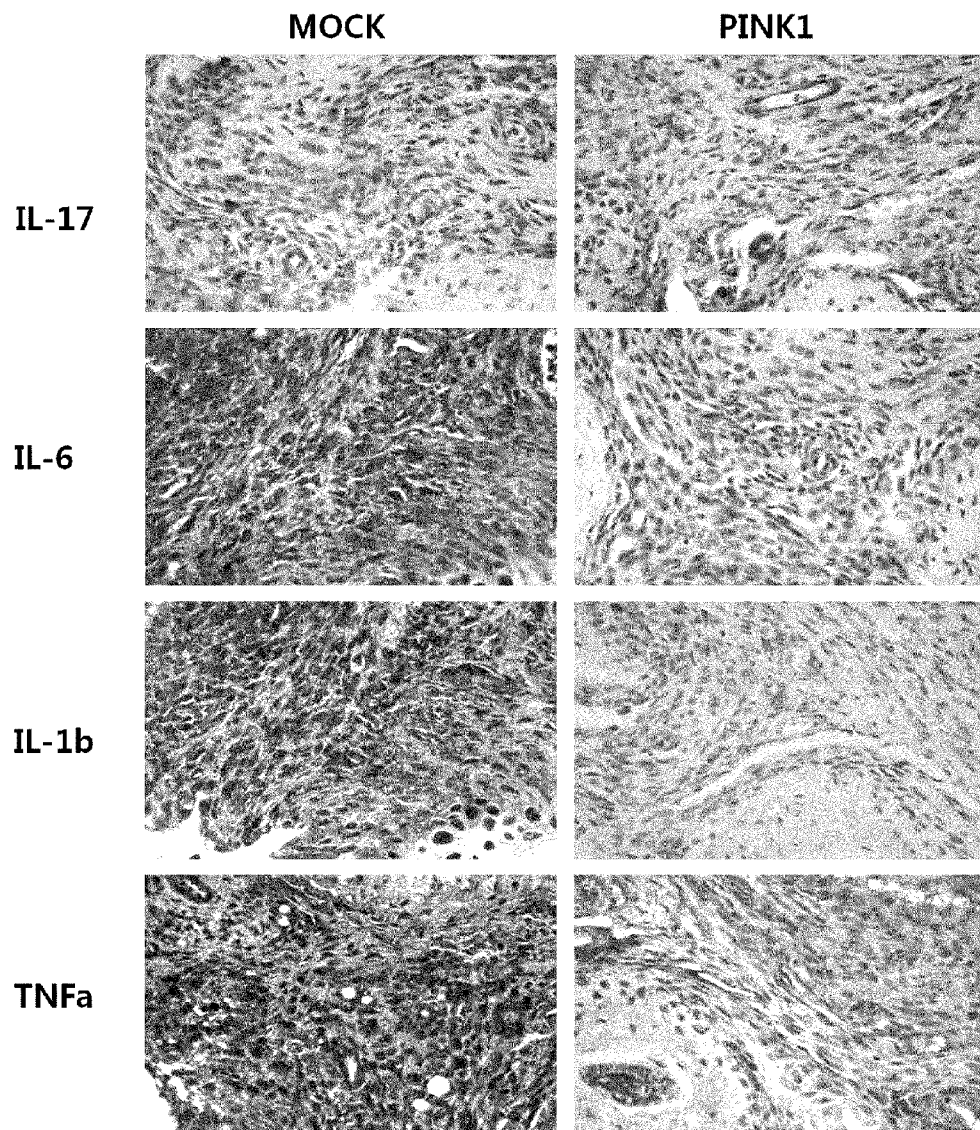
[Fig. 2a]



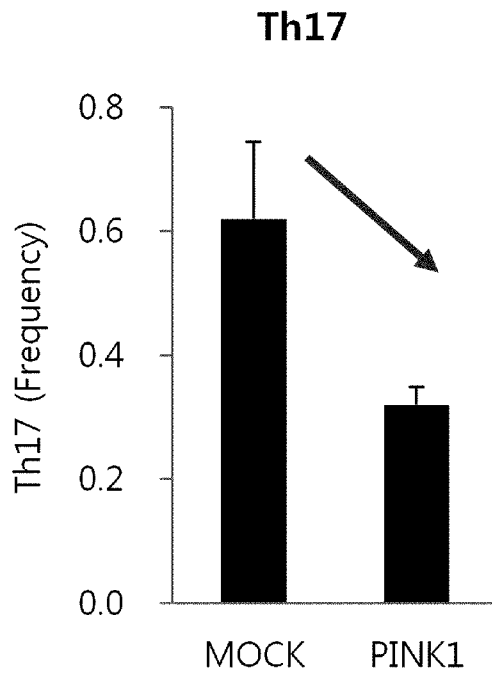
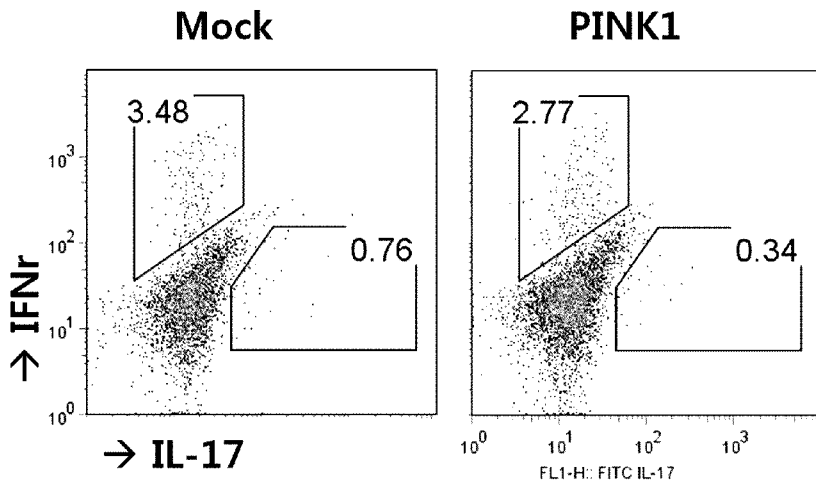
[Fig. 2b]



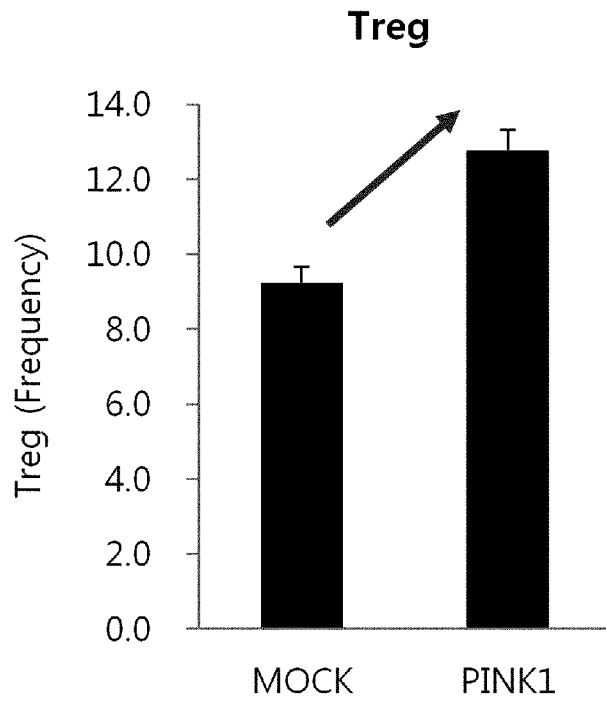
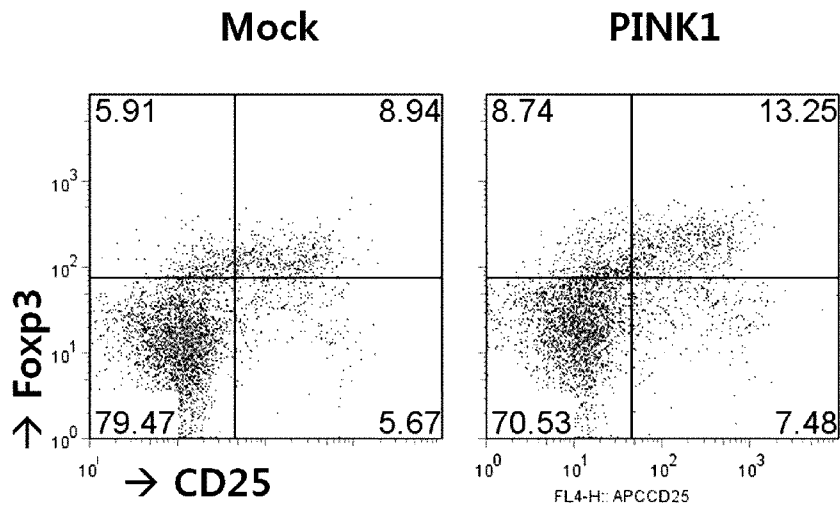
[Fig. 3]



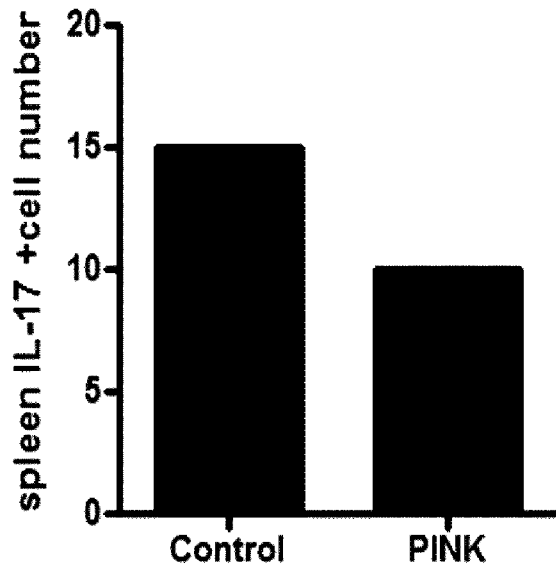
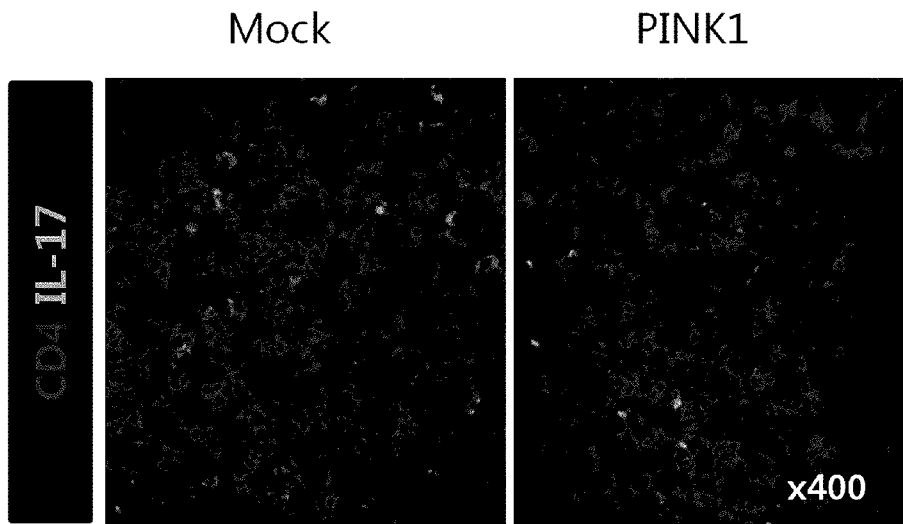
[Fig. 4a]



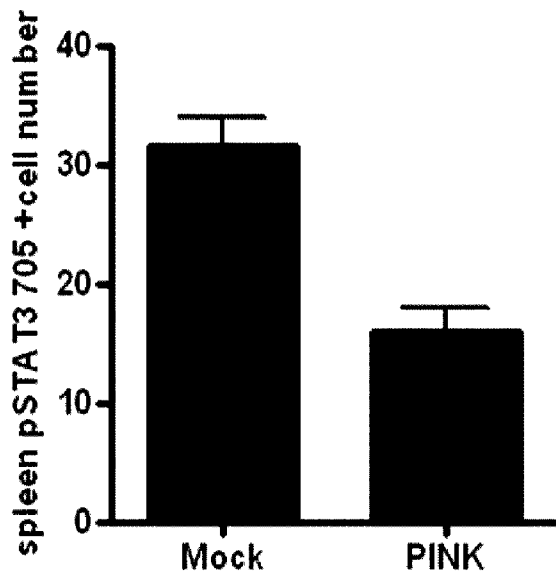
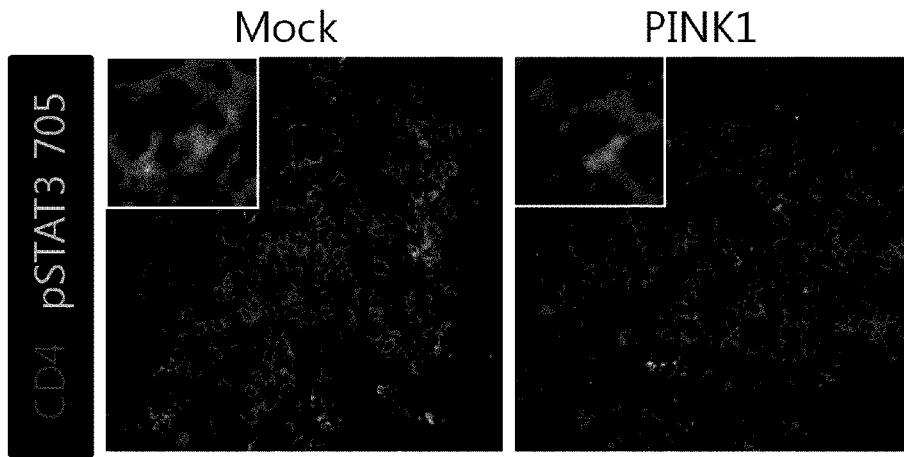
[Fig. 4b]



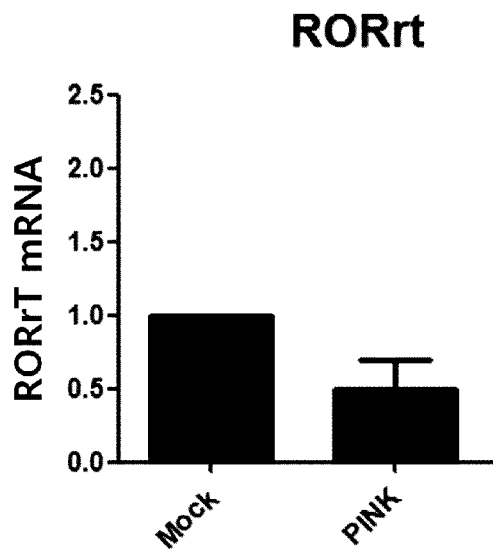
[Fig. 5a]



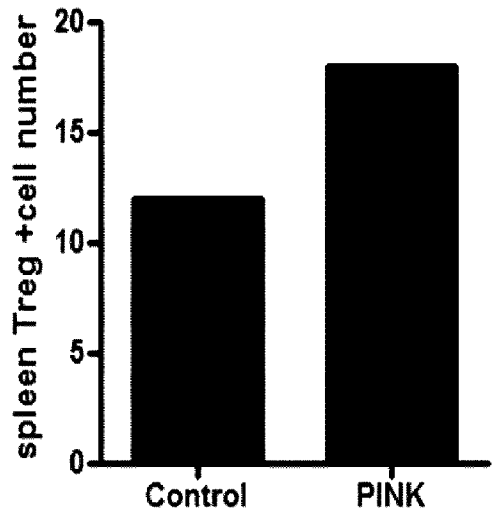
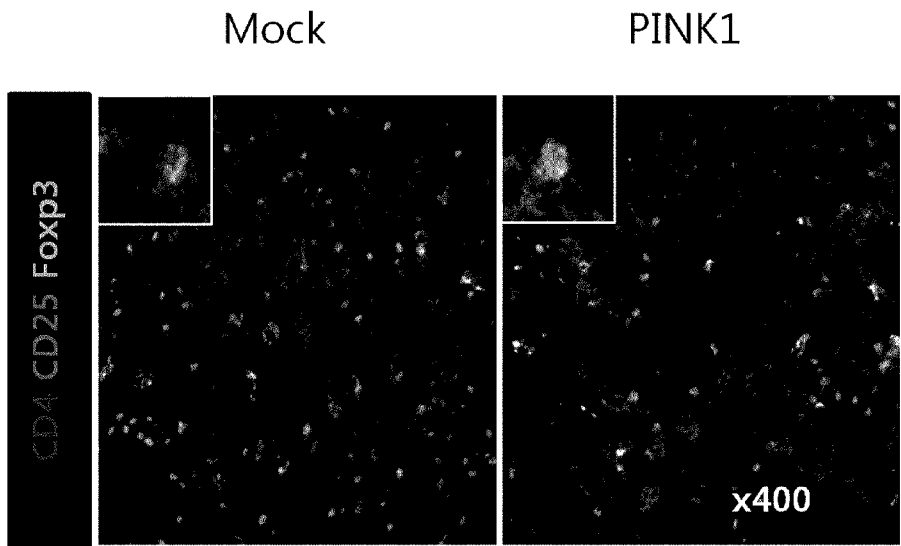
[Fig. 5b]



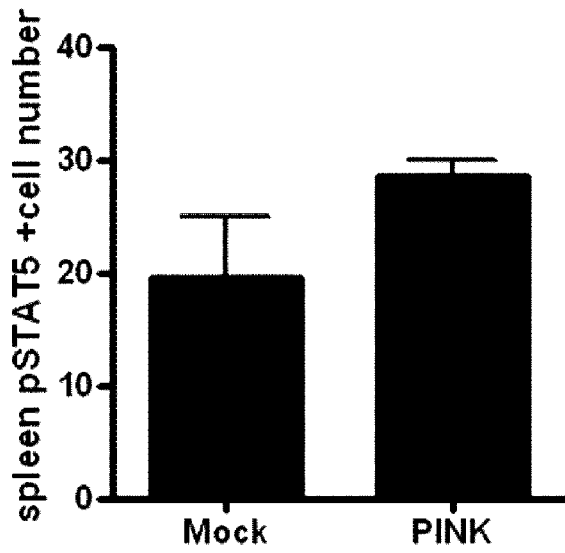
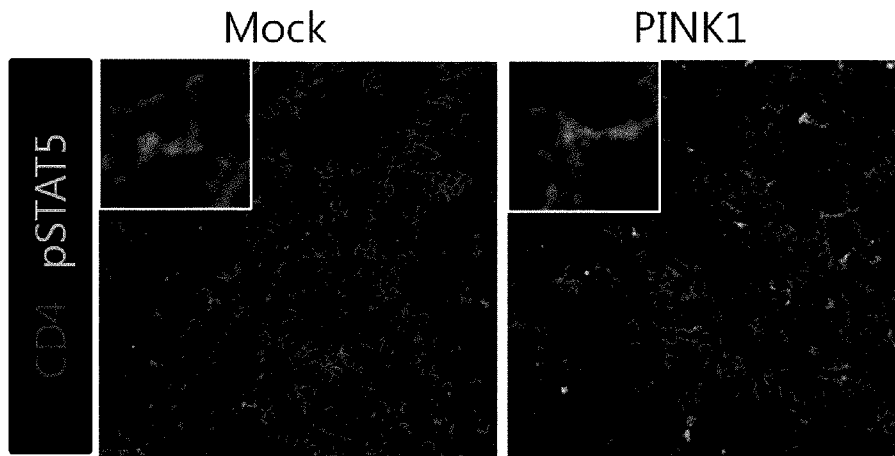
[Fig. 5c]



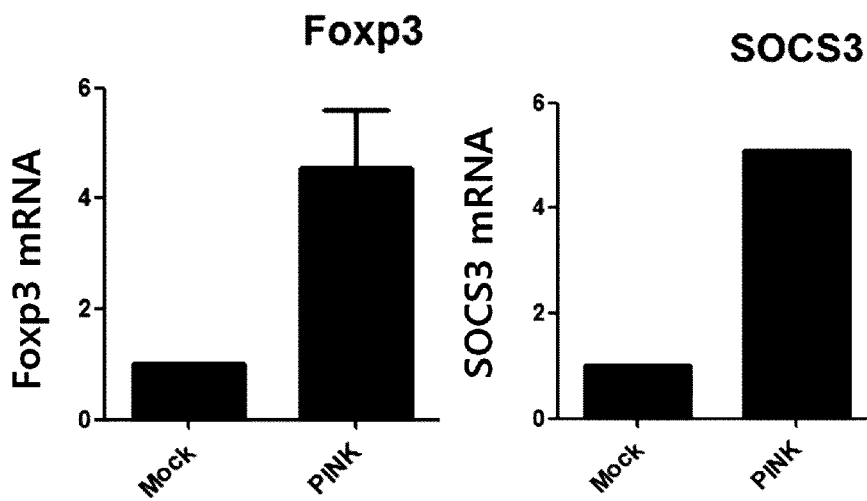
[Fig. 6a]



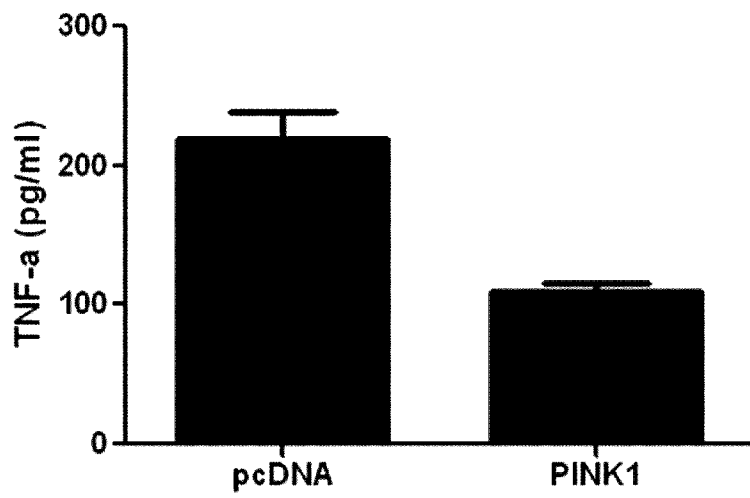
[Fig. 6b]



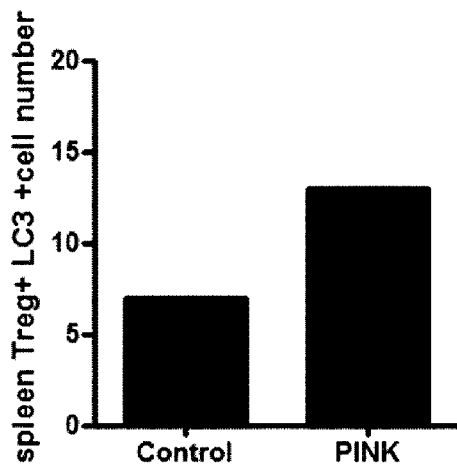
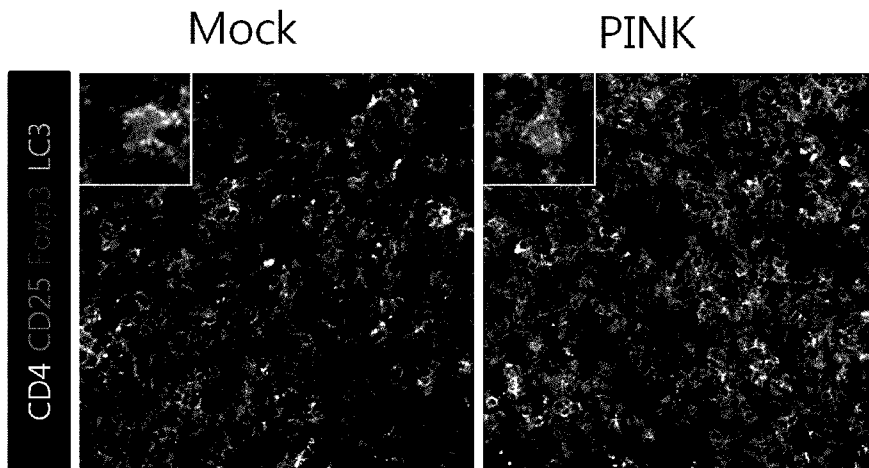
[Fig. 6c]



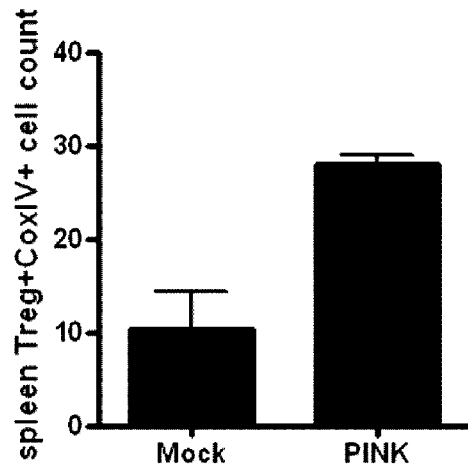
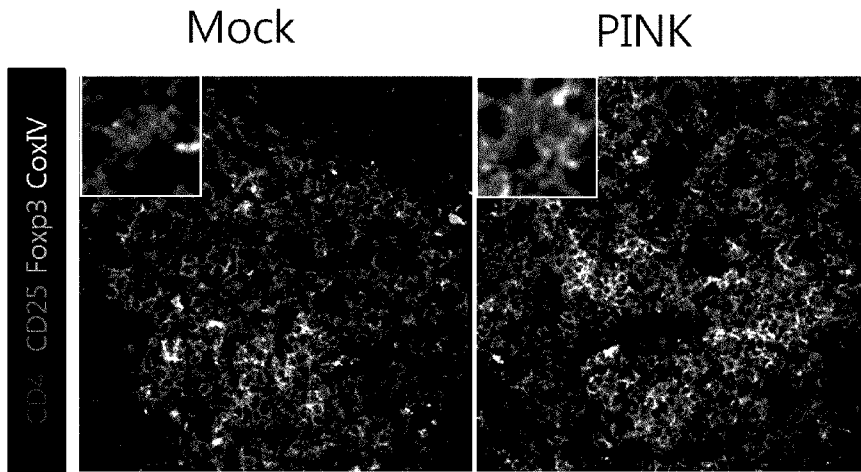
[Fig. 7]



[Fig. 8a]



[Fig. 8b]



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2014/002457

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

*A61K 38/16(2006.01)i, A61K 48/00(2006.01)i, A61K 38/17(2006.01)i, A61P 37/00(2006.01)i*

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 38/16; A61K 31/7105; A61K 48/00; A61K 38/17; A61P 37/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  
 Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above  
 Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
 eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: PINK1, PTEN-induced kinase 1, autoimmune disease, prevention, treatment

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	UNOKI et al., "Growth-suppressive effects of BPOZ and EGR2, two genes involved in the PTEN signaling pathway." Oncogene, vol. 20, no. 33, pp. 4457-4465 (2001). See the entire document especially, page 4457, right column, page 4458, left column, page 4463, left column.	1-10
A	NCBI, GenBank accession no. BAB55651.1 (11 February 2003) See the entire document.	1-10
A	NCBI, GenBank accession no. AB053476.1 (11 February 2003) See the entire document.	1-10
A	VURAL, B., et al., "Seroreactivity against PTEN-induced putative kinase 1 (PINK1) in Turkish patients with Behçet's disease" Clinical and experimental rheumatology, vol. 27, no. 2 (supplement 53), pp. S67-S72 (2009). See the entire document especially, page S-67, middle column-right column, page S-70, middle column, page S-71, left column-middle column.	1-10
A	KR 10-2011-0125495 A (THE CATHOLIC UNIVERSITY OF KOREA INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION) 21 November 2011 See the entire document especially, claims 1-2.	1-10

Further documents are listed in the continuation of Box C.  See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search

24 JUNE 2014 (24.06.2014)

Date of mailing of the international search report

25 JUNE 2014 (25.06.2014)

Name and mailing address of the ISA/KR



Korean Intellectual Property Office  
 Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,  
 Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.

**PCT/KR2014/002457**

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2011-0125495 A	21/11/2011	WO 2011-142514 A1	17/11/2011

<b>A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))</b> A61K 38/16(2006.01)i, A61K 48/00(2006.01)i, A61K 38/17(2006.01)i, A61P 37/00(2006.01)i		
<b>B. 조사된 분야</b> 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) A61K 38/16; A61K 31/7105; A61K 48/00; A61K 38/17; A61P 37/00 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: PINK1, PTEN-induced kinase 1, 자가면역질환, 예방, 치료		
<b>C. 관련 문헌</b>		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	UNOKI 외 1명, `Growth-suppressive effects of BPOZ and EGR2, two genes involved in the PTEN signaling pathway.` Oncogene, Vol. 20, No. 33, pp. 4457-4465 (2001). 전체 문헌 특히, 페이지 4457, 오른쪽 컬럼, 페이지 4458, 왼쪽 컬럼, 페이지 4463, 왼쪽컬럼 참조.	1-10
A	NCBI, GenBank accession no. BAB55651.1 (2003.02.11.) 문헌 전체 참조.	1-10
A	NCBI, GenBank accession no. AB053476.1 (2003.02.11.) 문헌 전체 참조.	1-10
A	VURAL, B., 외 7명, `Seroreactivity against PTEN-induced putative kinase 1 (PINK1) in Turkish patients with Behcet`s disease` Clinical and experimental rheumatology, Vol. 27, No. 2 (supplement 53), pp. S67-S72 (2009). 전체 문헌 특히, 페이지 S-67, 가운데 컬럼-오른쪽 컬럼, 페이지 S-70, 가운데 컬럼, 페이지 S-71, 왼쪽 컬럼-가운데 컬럼 참조.	1-10
A	KR 10-2011-0125495 A (가톨릭대학교 산학협력단) 2011.11.21 전체 문헌 특히, 청구항 1-2 참조.	1-10
<input type="checkbox"/> 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. <input checked="" type="checkbox"/> 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: “A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 “L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 “O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 “T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 “X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. “Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2014년 06월 24일 (24.06.2014)	국제조사보고서 발송일 2014년 06월 25일 (25.06.2014)	
ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (302-701) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-472-7140	심사관 안규정 전화번호 +82-42-481-5975	

## 제1기제란 핵산염기 및/또는 아미노산 서열(첫 번째 용지의 1.c의 계속)

1. 국제출원에 개시된 핵산염기 및/또는 아미노산 서열과 관련하여, 국제조사는 다음에 기초하여 수행되었습니다.

a. 출원시 또는 추후 제출된 서열목록

서면

전자적 형태

b. 제출시기

출원시 국제출원에 포함

전자적 형태로 국제출원과 함께 제출

조사를 위해 본 기관에 추후 제출

2.  추가로 서열목록에 대하여 하나 이상의 버전이나 사본이 제출된 경우, 후속 버전 또는 추가된 사본에 기재되어 있는 정보가 출원시의 정보와 동일하거나 또는 출원시의 개시범위를 벗어나지 않는다는 진술서가 제출되었습니다.

3. 추가 의견:

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2011-0125495 A	2011/11/21	WO 2011-142514 A1	2011/11/17