

**(19) 대한민국특허청(KR)**
(12) 공개특허공보(A)**(11) 공개번호** 10-2020-0024716
(43) 공개일자 2020년03월09일

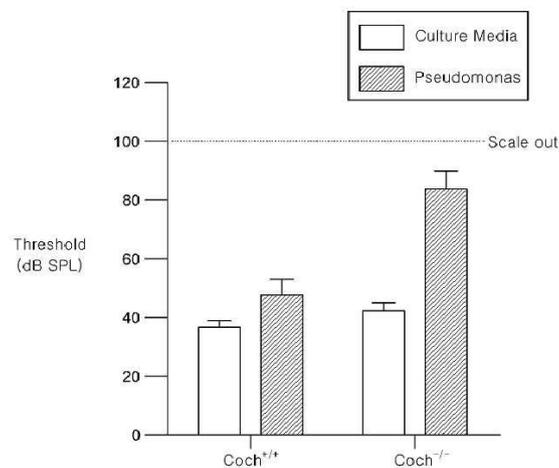
- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/17 (2006.01) *A61K 9/00* (2006.01)
A61P 27/16 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 38/1709 (2013.01)
A61K 9/0019 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2019-0097557
(22) 출원일자 2019년08월09일
심사청구일자 2019년08월09일
- (30) 우선권주장
1020180101149 2018년08월28일 대한민국(KR)

- (71) 출원인
연세대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)
- (72) 발명자
정진세
서울특별시 성북구 길음로 16 삼성래미안3차아파트 609동 704호
- 최재영**
서울특별시 용산구 서빙고로 35, 103동 3201호 (한강로3가, 용산시티파크1단지)
- 현영민**
경기도 성남시 분당구 불정로 195, 615동 602호 (정자동, 정든마을우성6단지아파트)
- (74) 대리인
특허법인인벤싱크

전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물**(57) 요약**

본 명세서에서는 YxxxSxxCxAAVHxGVI의 모티프 (motif) 를 포함하는 폴리펩타이드를 유효성분으로 포함하고, 여기서 x는 임의의 아미노산 잔기인, 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물과 이를 이용한 감각신경성 난청의 치료 또는 예방 방법이 제공된다.

대표도 - 도1b

(52) CPC특허분류

A61K 9/0046 (2013.01)

A61P 27/16 (2018.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2017R1D1A1B03030046
 부처명 교육부
 연구관리전문기관 한국연구재단
 연구사업명 이공학개인기초연구지원사업
 연구과제명 달팽이관 내 LCCL 펩타이드의 난청 예방 효과 규명
 기여율 7/10
 주관기관 연세대학교 산학협력단
 연구기간 2018.03.01 ~ 2019.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2017M3A9E8029714
 부처명 과학기술정보통신부
 연구관리전문기관 한국연구재단
 연구사업명 바이오의료기술개발사업 임상과학자 연구역량강화 사업
 연구과제명 한국인 유전체 특이 유도만능줄기세포 기반의 약물 스크리닝을 통한 노화성 난청 치료제 개발
 기여율 3/10
 주관기관 연세대학교 산학협력단
 연구기간 2017.04.01 ~ 2021.03.31

명세서

청구범위

청구항 1

YxxxSxxCxAAVHxGVI의 모티프 (motif) 를 포함하는 폴리펩타이드를 유효성분으로 포함하고, 여기서 상기 x는 임의의 아미노산 잔기인, 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 폴리펩타이드는,

코클린 (Cochlin) 단백질의 LCCL 도메인, CRISLD1 (Cysteine-rich secretory protein LCCL domain-containing 1) 의 LCCL 도메인, CRISLD2 (Cysteine-rich secretory protein LCCL domain-containing 2) 의 LCCL 도메인, 비트린 (Vitrin) 단백질의 LCCL 도메인, DCBLD1 (Discoidin, CUB and LCCL domain-containing protein 1) 의 LCCL 도메인, 및 DCBLD2 (Discoidin, CUB and LCCL domain-containing protein 2) 의 LCCL 도메인 각각으로 구성된 폴리펩타이드로 이루어진 그룹 중 적어도 하나인, 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 폴리펩타이드는,

상기 코클린 단백질의 LCCL 도메인으로 구성된, 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 폴리펩타이드는,

서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 9 및 서열번호 10으로 이루어진 그룹 중 적어도 하나의 아미노산 서열을 갖는 펩타이드인, 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 폴리펩타이드는,

상기 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 펩타이드인, 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 약학 조성물은,

기관 내 미세 주입 또는 국소 도포의 투여 형태인, 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 감각신경성 난청은,

바이러스 감염에 의한 코르티 기관 (Organ of Corti) 손상-유도성 난청, 만성 중이염-유도성 난청, 노인성

난청, 소음성 난청, 돌발성 난청, 자가면역성 난청, 혈관 허혈성 난청, 두부손상성 난청, 이독성약물성 난청, 및 유전성 난청으로 이루어진 그룹 중 적어도 하나인, 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 감각신경성 난청은,

바이러스 감염에 의한 코르티 기관 손상-유도성 난청, 만성 중이염-유도성 난청 및 소음성 난청 중 적어도 하나인, 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 감각신경성 난청은,

코클린 단백질의 돌연변이-유도성 난청과는 상이한, 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서,

상기 폴리펩타이드는,

그람 음성 박테리아의 응집을 유도하고, 상기 그람 음성 박테리아의 제거를 위한 면역 세포를 자극하는, 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물.

청구항 11

제1항에 있어서,

칼슘 (calcium) 이온 또는 칼슘 방출 물질을 더 포함하는, 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물.

청구항 12

제1항에 있어서,

상기 폴리펩타이드의 농도는

상기 약학 조성물에 대하여 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 내지 100 $\mu\text{g/ml}$ 인, 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한항에 기재된 약학 조성물을, 인간을 제외한 감각신경성 난청 의심 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 감각신경성 난청의 예방 또는 치료 방법.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 투여하는 단계는,

상기 약학 조성물을 상기 감각신경성 난청 의심 개체의 내이 또는 중이에 미세 주입하거나 국소 도포하는 단계를 포함하는, 감각신경성 난청의 예방 또는 치료 방법.

청구항 15

제13항에 있어서,

상기 약학 조성물이 투여된 상기 감각신경성 난청 의심 개체의 내이 또는 중이에서의 그람 음성 박테리아의 밀도는,

상기 약학 조성물이 투여된 않은 감각신경성 난청 의심 개체의 내이 또는 중이에 대하여 2 배 내지 3 배 낮은,

감각신경성 난청의 예방 또는 치료 방법.

청구항 16

YxxxSxxCxAAVHxGVI의 모티프를 포함하는 폴리펩타이드를 유효성분으로 포함하고,
여기서 상기 x는 임의의 아미노산 잔기인, 박테리아의 감염에 의한 난청의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 17

YxxxSxxCxAAVHxGVI의 모티프를 포함하는 폴리펩타이드를 유효성분으로 포함하고,
여기서 상기 x는 임의의 아미노산 잔기인, 만성 중이염 치료용 또는 예방용 약학 조성물.

청구항 18

제17항에 있어서,

상기 폴리펩타이드는,

그람 음성 박테리아의 응집을 유도하고, 상기 그람 음성 박테리아의 제거를 위한 면역 세포를 자극하는, 만성 중이염 치료용 또는 예방용 약학 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 약학 조성물에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 감각신경성 난청 및 만성 중이염의 치료 및 예방에 효과적인 모티프로 구성된 폴리펩타이드를 유효성분으로 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 난청은 전음성 난청 (conductive hearing loss) 과 감각신경성 난청 (sensorineural hearing loss) 으로 구분될 수 있다.

[0003] 보다 구체적으로, 전음성 난청은 외이, 고막, 중이 등 소리를 전달해주는 기관의 장애로 인하여 발생하는 난청일 수 있다. 감각신경성 난청은 달팽이관 (cochlea) 에서 발생하는 염증 반응에 의해 유발되는 유모세포의 사멸에 의해 소리를 감지하는 기능에 이상이 생기거나, 소리에 의한 자극을 뇌로 전달하는 청신경 또는 중추신경계의 이상으로 발생하는 난청일 수 있다.

[0004] 한편, 전음성 난청은 수술적으로 교정이 가능할 수 있어, 감각신경성 난청에 비하여 비교적 치료가 용이할 수 있다. 그러나, 감각신경성 난청은 보청기 등의 보조 수단을 이용하거나 인공와우 이식 수술 등이 적용될 수 있음에도, 난청의 정도가 심할수록 그 효과가 떨어질 수 있다. 나아가, 정상적인 청취 능력의 회복이 어려워 일상 생활에 많은 불편이 존재한다.

[0005] 이에, 연구진들은, 감각신경성 난청에 대한 효과적인 치료법의 개발을 위해, 핵심적인 병인 중 하나인 사립체의 과도한 산화적 인산화 (oxidative phosphorylation) 와 이에 따른 활성 산소종 (reactive oxygen species, ROS) 및 활성 질소종 (reactive nitrogen species, RNS) 의 발생에 대하여 주목하였다. 그 결과, N-acetylcysteine, Ebselen, MnTBAP, Tiron과 같은 활성 산소종 소거제를 이용하여 비특이적으로 활성 산소종을 제거하는 치료법, 나아가 활성 산소종의 발생원을 직접 표적화하여 발생 단계 혹은 그 이전의 과정을 차단하는 치료법이 감각신경성 난청에 대한 새로운 치료법으로 등장하였다.

[0006] 그러나, 활성 산소종 및 활성 질소종의 제거에 기초한 감각신경성 난청에 대한 치료 효과는 여전히 미미한 실정으로 남아있다. 이에, 염증에 의해 야기되는 달팽이관의 손상을 방지하여 실질적으로 감각신경성 난청을 치료하고 예방할 수 있는, 새로운 약학 조성물에 대한 개발이 지속적으로 요구되고 있는 실정이다.

[0007] 발명의 배경이 되는 기술은 본 발명에 대한 이해를 보다 용이하게 하기 위해 작성되었다. 발명의 배경이 되는 기술에 기재된 사항들이 선행기술로 존재한다고 인정하는 것으로 이해되어서는 안 된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0008] 본 발명의 발명자들은, 달팽이관 내에서 염증을 유발하는 병원균을 제거하거나, 면역 반응을 조절함으로써, 감각신경성 난청의 치료 또는 예방 효과를 기대할 수 있음을 인지하였다.
- [0009] 특히, 본 발명의 발명자들은 달팽이관에서의 면역 반응 유도가 병원성의 박테리아 또는 바이러스의 침입뿐만 아니라 필수 감각 기관인 코르티 기관을 보호할 수 있음을 주목하였다. 보다 구체적으로, 본 발명의 발명자들은, 달팽이관에서 면역 반응이 진행되는 동안 대식세포 및 호중구와 같은 식세포의 활성이 침입한 병원균의 즉각적인 제거뿐만 아니라, 코르티 기관의 손상을 일으키는 염증성 변화를 유도할 수 있음을 인지할 수 있었다.
- [0010] 한편, *COCH* 유전자에서 코딩되는 코클린 (cochlin) 단백질은, 내이, 눈 및 비장에서 발현되는 단백질로, LCCL (Limulus factor C, Cochlin and Lgl1) 도메인 및 vWFA (von Willebrand factor A-like) 도메인으로 이루어져 있다. 이러한 코클린 단백질의 풍부함은, 청각 기능 유지와 같은 귀의 필수적 기능에 중요한 역할을 할 수 있다.
- [0011] 이때, 본 발명의 발명자들은, LCCL 도메인의 기능에 대하여 주목하였다. 그 결과 LCCL 도메인이 면역 반응과 연관성이 있음을 발견할 수 있었다. 보다 구체적으로, 본 발명의 발명자들은, LCCL 도메인이 병원균의 감염 동안 내이에서 병원균의 응집을 유도하고, 면역 세포들의 활성을 유도하는 것을 확인하였다.
- [0012] 특히, LCCL 도메인을 함유하는 펩타이드가 중이 또는 내이에 미세 주입되거나, 국소 도포될 경우, 그람 양성 박테리아의 응집이 유도되고, 이들 병원균을 제거하기 위한 면역 세포들이 자극되는 것이 확인되었다.
- [0013] 이에, 본 발명의 발명자들은 LCCL 도메인이 감각 기관의 구조 및 청각 기능을 보존함에 따라, 감각신경성 난청, 특히 병원균의 감염에 의해 유도되거나, 만성 중이염에 의해 유도되는 감각신경성 난청의 치료 및 예방에 이용될 수 있음을 발견할 수 있었다.
- [0014] 나아가, 본 발명의 발명자들은 전술한 LCCL 도메인의 특징에 따라 이들 도메인을 포함하는 펩타이드가 병원성 박테리아의 감염에 의해 유도되는 만성 중이염의 치료 및 예방에 이용될 수 있음을 인지할 수 있었다.
- [0015] 한편, 본 발명의 발명자들은 LCCL 도메인이 코클린 단백질뿐만 아니라, CRISLD1 (Cysteine-rich secretory protein LCCL domain-containing 1), CRISLD2 (Cysteine-rich secretory protein LCCL domain-containing 2), 비트린 (Vitrin), DCBLD1 (Discoidin, CUB and LCCL domain-containing protein 1) 및 DCBLD2 (Discoidin, CUB and LCCL domain-containing protein 2) 과 같은 단백질들에 존재하는 것을 발견하였다.
- [0016] 이때, 본 발명의 발명자들은 전술한 단백질들로부터 유래한 LCCL 도메인에 대하여 YxxxSxxCxAxVHxGVI의 보존 모티프 (motif) 가 공통적으로 존재함을 발견할 수 있었고, 상기 모티프가 감각신경성 난청 및 만성 중이염의 치료 및 예방에 이용될 수 있음을 인지할 수 있었다.
- [0017] 그 결과, 본 발명의 발명자들은, 감각신경성 난청 및 만성 중이염의 치료 및 예방에 효과적인, YxxxSxxCxAxVHxGVI의 보존 모티프로 구성된 펩타이드를 포함한 약학 조성물을 개발하기에 이르렀다.
- [0018] 이에, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는, YxxxSxxCxAxVHxGVI의 모티프를 포함하는 폴리펩타이드를 유효성분으로 포함하는 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물을 제공하는 것이다.
- [0019] 본 발명이 해결하고자 하는 다른 과제는, 기관 내 미세 주입 또는, 국소 도포 투여 형태를 갖는 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물을 제공하는 것이다.
- [0020] 본 발명이 해결하고자 하는 또 다른 과제는, 코클린 단백질의 돌연변이-유도성 난청과 상이한 감각신경성 난청에 대한 치료 및 예방에 효과적인, 약학 조성물을 제공하는 것이다.
- [0021] 본 발명이 해결하고자 하는 또 다른 과제는, 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물을 인간을 제외한 감각신경성 난청의 의심 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 감각신경성 난청의 예방 또는 치료 방법을 제공하는 것이다.
- [0022] 본 발명이 해결하고자 하는 또 다른 과제는, YxxxSxxCxAxVHxGVI의 모티프를 포함하는 폴리펩타이드를 유효성분으로 포함하는 만성 중이염의 치료용 또는 예방용 약학 조성물을 제공하는 것이다.
- [0023] 본 발명의 과제들은 이상에서 언급한 과제들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0024] 전술한 바와 같은 과제를 해결하기 위해, 본 발명의 일 실시예에 따른, YxxxSxxCxAxAVHxGVI의 모티프 (motif) 를 포함하는 폴리펩타이드를 유효성분으로 포함하는, 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물이 제공된다.
- [0025] 본 명세서에서 사용되는 용어, "감각신경성 난청"은 달팽이관에서 발생하는 염증 반응에 의해 유발되는 유모세포의 사멸에 의해 소리를 감지하는 기능에 이상이 생기거나 소리에 의한 자극을 뇌로 전달하는 청신경 또는 중추신경계의 이상으로 발생하는 난청을 의미할 수 있다.
- [0026] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 감각신경성 난청은, 바이러스 감염에 의한 코르티 기관 (Organ of Corti) 손상-유도성 난청, 중이염-유도성 난청, 노인성 난청, 소음성 난청, 돌발성 난청, 자가면역성 난청, 혈관 허혈성 난청, 두부손상성 난청, 이독성약물성 난청, 및 유전성 난청으로 이루어진 그룹 중 적어도 하나일 수 있다. 바람직하게, 본 명세서에서 개시된 감각신경성 난청은, 바이러스 감염에 의한 코르티 기관 손상-유도성 난청 또는 만성 중이염-유도성 난청, 또는 소음성 난청일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 예를 들어, 감각신경성 난청은, 코클린 단백질의 돌연변이에 의해 유도되는 난청과 상이한 모든 난청을 아우를 수도 있다.
- [0027] 본 명세서에서 사용되는 용어, "YxxxSxxCxAxAVHxGVI의 모티프"는 17 개의 아미노산들의 펩타이드 결합에 의해 형성된 펩타이드 모티프 (peptide motif) 를 의미할 수 있다. 이때, x는 임의의 아미노산 잔기일 수 있다.
- [0028] 한편, 본 명세서에서 사용되는 용어, "YxxxSxxCxAxAVHxGVI의 모티프를 포함하는 폴리펩타이드"는, YxxxSxxCxAxAVHxGVI의 펩타이드 모티프 그 자체, 또는 전체 서열에 대하여 YxxxSxxCxAxAVHxGVI의 펩타이드 모티프의 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 의미할 수 있다.
- [0029] 이러한 YxxxSxxCxAxAVHxGVI의 모티프를 포함하는 폴리펩타이드는, 달팽이관에서 면역 반응을 유도할 수 있어, 병원성의 박테리아 또는 바이러스의 침입뿐만 아니라 필수 감각 기관인 코르티 기관을 보호할 수 있다. 이에, YxxxSxxCxAxAVHxGVI의 모티프를 포함하는 폴리펩타이드는, 감각신경성 난청의 치료 및 예방을 위한 약학 조성물로 이용될 수 있다.
- [0030] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 폴리펩타이드는, 코클린 (Cochlin) 단백질의 LCCL 도메인, CRISLD1 (Cysteine-rich secretory protein LCCL domain-containing 1) 의 LCCL 도메인, CRISLD2 (Cysteine-rich secretory protein LCCL domain-containing 2) 의 LCCL 도메인, 비트린 (Vitrin) 단백질의 LCCL 도메인, DCBLD1 (Discoidin, CUB and LCCL domain-containing protein 1) 의 LCCL 도메인, 및 DCBLD2 (Discoidin, CUB and LCCL domain-containing protein 2) 의 LCCL 도메인을 각각 포함하는 펩타이드로 구성된 그룹 중 적어도 하나일 수 있다. 보다 구체적으로, 상기 폴리펩타이드는, UniProtKB (UniProt Knowledgebase) 에 따라, COCH_HUMAN, CRLD1_HUMAN / B7Z929_HUMAN, CRLD2_HUMAN, B5MD45_HUMAN, Q6UXI7, Q8N8Z6, Q96PD2, Q14089_HUMAN로 명명된 단백질 유래 LCCL 도메인을 포함하는 폴리펩타이드일 수 있다.
- [0031] 바람직하게, 상기 폴리펩타이드는, 인간 코클린 단백질의 LCCL 도메인을 포함하는 폴리펩타이드일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 나아가, LCCL 도메인을 함유하고 있는 코클린 단백질 자체가 본 발명의 약학 조성물로서 이용될 수도 있다. 나아가 상기 폴리펩타이드는, 본원 명세서 내에서 "LCCL 절편", "LCCL 도메인으로 구성된 펩타이드", "LCCL 도메인을 포함하는 폴리펩타이드"와 동일한 의미로 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0032] 본 발명의 다른 실시예에 따르면, 상기 폴리펩타이드는, 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 9 및 서열번호 10으로 이루어진 그룹 중 적어도 하나의 아미노산 서열을 가질 수 있다.
- [0033] 바람직하게, 상기 폴리펩타이드는, 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 펩타이드일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0034] 한편, 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 폴리펩타이드는, 그람 음성 박테리아의 응집을 유도하고, 그람 음성 박테리아의 제거를 위한 면역 세포를 자극할 수 있다.
- [0035] 본 발명의 다른 실시예에 따르면, 상기 폴리펩타이드의 농도는, 약학 조성물에 대하여 0.1 µg/ml 내지 100 µg/ml일 수 있다. 그러나 이에 제한되는 것은 아니다. 예를 들어, 폴리펩타이드의 농도는, 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물의 투여로 달성하고자 하는 반응의 종류와 정도, 투여 대상이 되는 개체의

종류, 교정 여부, 치아 상태, 연령, 체중, 일반적인 건강 상태, 질병의 증세나 정도, 성별, 식이, 배설, 해당 개체에 동시 또는 다른 시기에 함께 사용되는 약물 기타 조성물의 성분 등을 비롯한 여러 인자 및 의학 분야에서 잘 알려진 유사 인자에 따라 다양해질 수 있다. 나아가, 당해 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 목적하는 치료에 효과적인 YxxxSxxCxAAVHxGVI의 모티프를 포함하는 폴리펩타이드의 함량을 용이하게 결정하고 처방할 수 있다.

- [0036] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물은, 기관 내 미세 주입 또는 국소 도포의 투여 형태를 가질 수 있다.
- [0037] 예를 들어, 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물이 중이 또는 내이에 미세 주입되거나 국소 도포될 경우, 병원균 침입에 따라 달팽이관에서 면역 반응이 진행되는 동안 대식세포 및 호중구와 같은 식세포의 활성을 유도하여 침입한 병원균이 즉각적으로 제거될 수 있다. 나아가, 본 발명의 약학 조성물이 처리될 경우, 코르티 기관의 손상을 일으키는 염증성 변화가 유도될 수 있다.
- [0038] 예를 들어, 본 발명의 약학 조성물이 투여된 감각신경성 난청 의심 개체의 내이 또는 중이에서의 그람 음성 박테리아의 밀도는, 본 발명의 약학 조성물이 투여된 얇은 감각신경성 난청 의심 개체의 내이 또는 중이에 대하여 2 배 내지 3 배 낮을 수 있다.
- [0039] 또한, 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물이 중이 또는 내이에 미세 주입되거나 국소 도포될 경우, 소음에 의한 청각 세포의 손상이 예방될 수도 있다.
- [0040] 한편, 본 발명의 약학 조성물의 투여 형태는 이에 제한되는 것은 아니다. 예를 들어, 본 발명의 약학 조성물은 기관 내 미세 주입 형태뿐만 아니라, 정맥 주사, 근육내 주사, 피하 주사 또는 피내 주사를 위한 멸균 주사 용액의 형태로 제형화될 수 있고, 기관 내 및 피부 국소 도포를 위한 외용제 형태로 제형화될 수 있다. 나아가, 본 발명의 약학 조성물은 목적하는 해당 부위에 YxxxSxxCxAAVHxGVI의 모티프로 구성된 폴리펩타이드가 도달할 수 있는 한 임의의 투여 경로 및 투여 방식에 따라 다양한 형태로 제형화될 수 있다.
- [0041] 본 발명의 약학 조성물이 표적 기관 내 미세 주입을 위한 멸균 주사 용액의 형태로 제형화되는 경우, 현탁제, 용해보조제, 안정화제, 등장화제, 보존제, 흡착방지제, 계면활성제, 희석제, pH 조정제, 무통화제, 완충제, 함황환원제, 산화방지제를 더 포함할 수 있다.
- [0042] 또한, 본 발명의 약학 조성물이 표적 기관에 대한 국소 도포를 위한 외용제 형태로 제형화되는 경우, 약학 조성물은 개별 치료제로서 기관 내 또는 피부에 도포되거나 다른 치료제와 병용하여 도포될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있다.
- [0043] 본 발명의 다양한 실시예에 따른 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물의 투여에 있어서, 이상의 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요할 수 있다. 나아가, 상기 약학 조성물의 투여량 및 도포량은 전술한 바와 같이 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0044] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 본 발명의 약학 조성물은 칼슘 이온, 또는 칼슘 방출 물질을 더 포함할 수도 있다.
- [0045] 예를 들어, 본 발명의 약학 조성물 내의 YxxxSxxCxAAVHxGVI의 모티프로 구성된 폴리펩타이드는, 칼슘 농도 의존적으로 병원성 박테리아의 응집을 유도할 수 있다. 이에, 칼슘 이온, 또는 칼슘 방출 물질을 더 포함하는 약학 조성물은, 병원성 박테리아의 응집을 효과적으로 유도할 수 있다.
- [0046] 한편, 감각신경성 난청에 대하여 치료 또는 예방 효과를 제공하는 YxxxSxxCxAAVHxGVI의 모티프를 포함하는 폴리펩타이드는, 박테리아의 감염에 의한 난청의 예방 또는 개선용 식품 조성물로서 제공될 수도 있다.
- [0047] 이에, 전술한 바와 같은 과제를 해결하기 위해, 본 발명의 다른 실시예에 따른, YxxxSxxCxAAVHxGVI의 모티프를 포함하는 폴리펩타이드를 유효성분으로 포함하고, x는 임의의 아미노산 잔기인, 박테리아의 감염에 의한 난청의 예방 또는 개선용 식품 조성물이 제공된다.
- [0048] 한편, 전술한 바와 같은 과제를 해결하기 위해, 본 발명의 일 실시예에 따른, 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물을 인간을 제외한 감각신경성 난청 의심 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 감각신경성 난청의 치료 또는 예방 방법이 제공된다.
- [0049] 본 명세서에서 사용되는 용어, "감각신경성 난청 의심 개체"는, 달팽이관 에서 발생하는 염증 반응에 의해 유발

되는 유모세포의 사멸에 의해 소리를 감지하는 기능에 이상 증상을 보이거나, 소리에 의한 자극을 뇌로 전달하는 청신경 또는 중추신경계의 이상 증상을 보이는 개체를 의미할 수 있다. 이때, 감각신경성 난청 의심 개체는, 인간을 제외한 모든 포유 동물일 수 있다.

- [0050] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 투여하는 단계는, 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물을 감각신경성 난청 의심 개체의 내이 또는 중이에 미세 주입하거나 국소 도포하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0051] 본 발명의 다른 실시예에 따르면, 본 발명의 약학 조성물이 투여된 감각신경성 난청 의심 개체의 내이 또는 중이에서의 그람 음성 박테리아의 밀도는, 본 발명의 약학 조성물이 투여된 않은 감각신경성 난청 의심 개체의 내이 또는 중이에 대하여 2 배 내지 3 배 낮을 수 있다.
- [0052] 한편, YxxxSxxCxAAVHxGVI의 모티프를 포함하는 폴리펩타이드는, 전술한 바와 같이 달팽이관에서 면역 반응을 유도할 수 있어, 병원성의 박테리아 또는 바이러스의 침입뿐만 아니라 필수 감각 기관인 코르티 기관을 보호할 수 있음에 따라, 만성 중이염의 치료와 예방에 이용될 수 있다.
- [0053] 이에, 전술한 바와 같은 과제를 해결하기 위해, 본 발명의 다른 실시예에 따른, YxxxSxxCxAAVHxGVI의 모티프를 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는, 만성 중이염의 치료용 또는 예방용 약학 조성물이 제공된다.
- [0054] 이때, 본 명세서에서 사용되는 용어, "만성 중이염"은 중이강 내에 일어나는 모든 염증성 변화를 총칭할 수 있다. 이때, 만성 중이염은, 고막에서 천공 징후를 보이는 천공성 만성 중이염 또는, 고막의 천공 유무와 관계 없이 진주종 형성이 나타나는 진주종성 만성 중이염일 수 있다. 그러나 이에 제한되지 않고, 본원 명세서 내 개시된 만성 중이염은, 중이에서 병원성의 박테리아 또는 바이러스의 침입에 의해 유도되는 모든 염증 반응을 총칭할 수 있다.
- [0055] 전술한 바와 같이 YxxxSxxCxAAVHxGVI의 모티프를 포함하는 폴리펩타이드가 중이 또는 내이에 투여될 경우, 그람 음성 박테리아와 같은 병원균의 응집을 유도하고 실질적으로 이들 병원균의 밀도를 낮출 수 있음에 따라, 만성 중이염의 치료 및 예방에 효과적일 수 있다.
- [0056] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명한다. 다만, 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것에 불과하므로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 한정되는 것으로 해석되어서는 아니된다.

발명의 효과

- [0057] 본 발명은 YxxxSxxCxAAVHxGVI의 모티프로 구성된 폴리펩타이드를 유효성분으로 하는 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물을 제공함으로써, 달팽이관에서의 면역 반응을 유도하여 병원성 박테리아 또는 바이러스의 침입 및 코르티 기관을 보호할 수 있는 효과가 있다.
- [0058] 보다 구체적으로 본 발명은, 달팽이관에서 면역 반응이 진행되는 동안 대식세포 및 호중구와 같은 식세포의 활성을 유도하여, 침입한 병원균을 즉각적으로 제거할 수 있다. 나아가, 본 발명은, 코르티 기관의 손상을 일으키는 염증성 변화를 유도할 수 있음에 따라, 바이러스 감염에 의해 유도되는 난청에 대하여 치료 및 예방 효과를 제공할 수 있다.
- [0059] 나아가, 본 발명은 바이러스 감염에 의해 중이에 유도되는 염증 반응에 효과적일 수 있음에 따라, 만성 중이염의 치료 및 예방에 이용될 수 있다.
- [0060] 또한, 본 발명은, 코르티 기관을 보호할 수 있는 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물을 제공함으로써, 소음에 따라 야기되는 소음성 난청을 예방하거나 치료하는 것에 기여할 수 있다.
- [0061] 본 발명은, 상기 약학 조성물을 제공함으로써, 감염 부위, 예를 들어 달팽이관 내에서 그람 음성 박테리아에 대한 응집을 유도하고, 이들 병원균의 밀도를 2 배 내지 3 배 낮출 수 있는 효과가 있다.
- [0062] 이에, 본 발명은, 특히 코클린 단백질의 돌연변이-유도성 난청과는 상이한, 바이러스 감염에 의해 유도되는 코르티 기관 손상-유도성 난청, 또는 중이염-유도성 난청에 대한 치료 또는 예방 효과가 있을 수 있다.
- [0063] 본 발명은, 감각신경성 난청 및 만성 중이염의 치료 또는 예방에 효과적인, YxxxSxxCxAAVHxGVI의 모티프로 구성된 폴리펩타이드의 유효 함량 및 투여 형태를 제공할 수 있는 효과가 있다.
- [0064] 본 발명은, YxxxSxxCxAAVHxGVI의 모티프로 구성된 폴리펩타이드, 예를 들어 코클린 단백질의 LCCL 도메인을 포함하는 폴리펩타이드에 대한 활성을 조절하는 칼슘을 더 포함하는 약학 조성물을 제공함에 따라, 염증을 유발하

는 병원균의 응집에 보다 효과적일 수 있다.

[0065] 본 발명은, 에 따른 효과는 이상에서 예시된 내용에 의해 제한되지 않으며, 더욱 다양한 효과들이 본 명세서 내에 포함되어 있다.

도면의 간단한 설명

[0066] 도 1a 내지 1c는 본 발명의 다양한 실시예의 약학 조성물 내의 폴리펩타이드를 제공하는 코클린 단백질의 코딩 유전자의 녹아웃 (knock out) 여부, 및 병원성 박테리아의 감염 여부에 따른 청각 변화를 도시한 것이다.

도 1d는 본 발명의 다양한 실시예의 약학 조성물 내의 폴리펩타이드를 제공하는 코클린 단백질의 코딩 유전자의 녹아웃 여부, 및 병원성 박테리아 감염에 따른 달팽이관 절편체 (cochlear explant) 의 CFU를 나타내는 결과이다.

도 1e는 본 발명의 다양한 실시예의 약학 조성물 내의 폴리펩타이드를 제공하는 코클린 단백질의 코딩 유전자의 녹아웃 여부, 및 병원성 박테리아 감염 여부에 따른 염증성 사이토카인들의 수준을 나타내는 결과이다.

도 1f는 본 발명의 다양한 실시예의 약학 조성물 내의 폴리펩타이드를 제공하는 코클린 단백질의 코딩 유전자가 녹아웃되지 않은 와일드 타입의 마우스 모델 (*Coch^{+/+}*) 에 대한 병원성 박테리아 감염 여부, 및 MMP 저해제 (matrix metalloproteinase III inhibitor, MMP_{inh}) 처리 여부에 따른 염증성 사이토카인의 수준을 나타내는 결과이다.

도 2a는 병원성 박테리아 감염 여부에 따른, 다양한 실시예의 약학 조성물 내의 폴리펩타이드로 이용되는 코클린 단백질 유래 LCCL 도메인 함유 절편의 검출 결과를 나타내는 결과이다.

도 2b는 본 발명의 다양한 실시예의 약학 조성물 내의 폴리펩타이드로 이용되는 코클린 단백질 유래 LCCL 절편의 처리에 따른, 청력 변화를 나타내는 결과이다.

도 2c는 본 발명의 다양한 실시예의 약학 조성물 내의 폴리펩타이드로 이용되는 코클린 단백질 유래 LCCL 절편의 처리에 따른, 병원성 박테리아의 성장 곡선을 나타내는 결과이다.

도 2d 내지 2f는 본 발명의 다양한 실시예의 약학 조성물 내의 폴리펩타이드로 이용되는 코클린 단백질 유래 LCCL 절편의 처리에 따른, 병원성 박테리아의 클러스터 변화를 나타내는 결과이다.

도 2g는 본 발명의 다양한 실시예의 약학 조성물 내의 폴리펩타이드로 이용되는 코클린 단백질 유래 LCCL 절편의 처리에 따른, 플레이트 상에서의 병원성 박테리아의 수준을 나타내는 결과이다.

도 2h 및 2i는 본 발명의 다양한 실시예의 약학 조성물 내의 폴리펩타이드로 이용되는 코클린 단백질 유래 LCCL 절편의 처리에 따른, 병원성 박테리아의 응집을 나타내는 결과이다.

도 3a 및 3b는 본 발명의 다양한 실시예의 약학 조성물 내의 폴리펩타이드로 이용되는 코클린 단백질 유래 LCCL 절편의 처리 농도에 따른, 병원성 박테리아의 응집 및 단위 면적 당 병원성 박테리아의 밀도를 나타내는 결과이다.

도 4는 소음 노출에 따른, 본 발명의 일 실시예에 따른 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물 내의 폴리펩타이드로 이용되는 코클린 단백질 유래 LCCL 도메인 함유 절편의 검출 결과를 나타내는 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0067] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 첨부되는 도면과 함께 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나, 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하며, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.

[0068] 이하에서는 실시예 1 내지 실시예 3을 참조하여, 본 발명의 다양한 실시예에 따른 감각신경성 난청 및 만성 중이염의 치료용 또는 예방용 약학 조성물의 효과에 대하여 설명한다. 이때, YxxxSxxCxAAVHxGVI의 모티프를 포함하는 폴리펩타이드로서, 코클린 단백질 유래 LCCL 도메인으로 구성된 펩타이드 절편이 이용되었으나 본 발명의 효과는 이에 제한되는 것은 아니다. 예를 들어, CRISLD1의 LCCL 도메인, CRISLD2의 LCCL 도메인, 비트린 단백질

질의 LCCL 도메인, DCBLD1의 LCCL 도메인, 및 DCBLD2의 LCCL 도메인을 포함하는 폴리펩타이드들은, 후술할 본 발명의 약학 조성물 처리에 따른 효과를 제공할 수 있다.

[0069] **실시예 1: 코클린 단백질의 청각 기능 유지 및 항 박테리아 효과**

[0070] 이하의 실험에서는, 코클린 유전자 결실여부에 따른 청력 변화를 관찰하기 위해, 코클린 유전자 녹아웃 마우스 모델 (*Coch*^{-/-}) 및 대조군의 와일드 타입 (wild type) 의 마우스 모델 (*Coch*^{+/+}) 를 준비한다. 그 다음, 각 마우스 모델에 대하여, *Pseudomonas aeruginosa*의 PA01 균주를 중이 접종을 통해 내이에 감염시킨 후, 코클린 결실 여부에 따른 청력 변화를 평가한다. 이때, 대조군으로 배양 배지 (culture media) 를 접종한 마우스 모델들을 준비한다.

[0071] 도 1a 내지 1c는 본 발명의 일 실시예에 따른 감각신경성 난청 및 만성 중이염의 치료용 또는 예방용 약학 조성물 내의 폴리펩타이드를 제공하는 코클린 단백질의 코딩 유전자의 녹아웃 (knock out) 여부, 및 병원성 박테리아의 감염 여부에 따른 청각 변화를 도시한 것이다.

[0072] 도 1a의 (a), (b), (c) 및 (d) 를 참조하면, 청성 뇌관 반응 검사 (Auditory brainstem response test) 에서, PA01 균주 (*Pseudomonas*) 의 병원성 박테리아가 접종된 와일드 타입의 마우스 모델 (*Coch*^{+/+}) 및 코클린 유전자 녹아웃 마우스 모델 (*Coch*^{-/-}) 은, 대조군의 모델들과 상이하게 청력 역치가 높아진 것으로 나타난다. 즉, PA01 균주에 의한 감염에 의해 두 모델 모두 청력 손실이 일어난 것으로 나타난다. 특히, 코클린 유전자 녹아웃 마우스 모델 (*Coch*^{-/-}) 은, 와일드 타입의 마우스 모델 (*Coch*^{+/+}) 보다 청력 역치가 높은 것으로 나타난다. 이러한 결과는, 코클린 유전자 녹아웃 마우스 모델 (*Coch*^{-/-}) 에서 병원성 박테리아의 감염에 따른 청력 손실이 큰 것을 의미할 수 있으며, 코클린 단백질이 청력 기능 보호에 기여한다는 것을 의미할 수 있다.

[0073] 도 1b를 참조하면, 전술한 도 1a의 결과와 마찬가지로, PA01 균주 (*Pseudomonas*) 의 병원성 박테리아가 접종되었을 때, 코클린 유전자 녹아웃 마우스 모델 (*Coch*^{-/-}) 은, 와일드 타입의 마우스 모델 (*Coch*^{+/+}) 보다 청력 역치가 높아진 것으로 나타난다. 이러한 결과는, 코클린 유전자 녹아웃 마우스 모델 (*Coch*^{-/-}) 에서 코클린의 결실에 따라 병원성 박테리아의 감염에 따른 청력 손실이 큰 것을 의미할 수 있다. 나아가, 코클린이 청력 기능 보호에 기여한다는 것을 의미할 수 있다.

[0074] 도 1c를 참조하면, 4000, 8000, 16,000, 및 32,000 Hz에서 ABR 평가가 수행된 결과가 도시된다. 보다 구체적으로, 코클린 유전자 녹아웃 마우스 모델 (*Coch*^{-/-}) 은, 와일드 타입의 마우스 모델 (*Coch*^{+/+}) 과 대조적으로, PA01 균주 (*Pseudomonas*) 의 병원성 박테리아의 감염에 따라, 약 100db의 높은 수준의 청력 역치를 갖는 것으로 나타난다. 반면, 코클린 유전자가 결실되지 않은 와일드 타입의 마우스 모델 (*Coch*^{+/+}) 은 병원성 박테리아가 감염되었음에도, 대조군의 마우스 모델들과 유사한 수준의 청력 역치를 갖는 것으로 나타난다. 즉, 이러한 결과는, 코클린 유전자 녹아웃 마우스 모델 (*Coch*^{-/-}) 에서 코클린의 결실에 따라 병원성 박테리아의 감염에 따른 청력 손실이 큰 것을 의미할 수 있다. 나아가, 코클린이 청력 기능 보호에 기여한다는 것을 의미할 수 있다.

[0075] 이하의 실험에서는, *ex vivo* 수준의 달팽이관 절편체에서 코클린 단백질의 기능을 평가하기 위해, 전술한 코클린 유전자 녹아웃 마우스 모델 (*Coch*^{-/-}) 및 와일드 타입의 마우스 모델 (*Coch*^{+/+}) 각각에 대하여 내이를 통해 PA01 균주를 접종한 후, 해부학적 절차를 통해 내이의 달팽이관 절편체를 각각 획득한다. 이때, 코클린 유전자 녹아웃 마우스 모델 (*Coch*^{-/-}) 및 와일드 타입의 마우스 모델 (*Coch*^{+/+}) 에 대하여 배양 배지를 접종한 후, 두 모델로부터 획득한 달팽이관 절편체는 대조군으로 설정한다.

[0076] 1d는 본 발명의 일 실시예에 따른 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물 및 만성 중이염의 치료용 또는 예방용 약학 조성물 내의 폴리펩타이드를 제공하는 코클린 단백질의 코딩 유전자의 녹아웃 여부, 및 병원성 박테리아 감염에 따른 달팽이관 절편체 (cochlear explant) 의 CFU를 나타내는 결과이다. 도 1e는 본 발명의 일 실시예에 따른 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물 내의 폴리펩타이드를 제공하는 코클린 단백질의 코딩 유전자의 녹아웃 여부, 및 병원성 박테리아 감염 여부에 따른 염증성 싸이토카인들의 수준을 나타내는 결과이다.

[0077] 도 1d를 참조하면, PA01 균주가 접종된 코클린 유전자 녹아웃 마우스 모델 (*Coch*^{-/-}) 및 와일드 타입의 마우스

모델 (*Coch*^{+/-}) 각각으로부터 분리한 달팽이관 절편체를 DMEM 배지에서 배양한 결과가 도시된다. 보다 구체적으로, 와일드 타입의 마우스 모델 (*Coch*^{+/-}) 유래 달팽이관 절편체에서의 박테리아의 수는 코클린 유전자 녹아웃 마우스 모델 (*Coch*^{-/-}) 유래 달팽이관 절편체보다 약 1.5 배 낮은 수준으로 나타난다. 즉, 코클린 유전자 녹아웃 마우스 모델 (*Coch*^{-/-})의 내이에서의 박테리아는, 와일드 타입의 마우스 모델 (*Coch*^{+/-})의 내이에서보다 현저하게 높은 성장률을 보이는 것으로 나타난다. 이러한 결과는, 내이의 코클린 단백질이 박테리아의 성장을 저해하는 것에 관여한다는 것을 의미할 수 있다.

[0078] 도 1e의 (a), (b), (c) 및 (d)를 참조하면, PA01 균주 또는 배양 배지가 접종된 코클린 유전자 녹아웃 마우스 모델 (*Coch*^{-/-}) 및 와일드 타입의 마우스 모델 (*Coch*^{+/-}) 각각으로부터 분리한 달팽이관 절편체의 배양 배지에서 측정된 염증성 사이토카인의 발현 수준이 도시된다. 보다 구체적으로, 병원성 박테리아 (*Pseudomonas*)의 감염 시 사이토카인들 중 IL-1β 및 IL-6의 수준은, 코클린 유전자 녹아웃 마우스 모델 (*Coch*^{-/-}) 유래 달팽이관 절편체와 대조적으로, 와일드 타입의 마우스 모델 (*Coch*^{+/-}) 유래 달팽이관 절편체에서 현저하게 높은 것으로 나타난다. 이러한 결과는, 병원성 박테리아 감염 시 내이에서 증가되는 코클린의 발현은 염증성 사이토카인, 특히 IL-1β 및 IL-6의 분비를 증가시키는 것을 의미할 수 있다. 이에, 코클린에 의해 면역 반응이 증가될 수 있다. 나아가, 상기 결과는 코클린 단백질이 내이에서 병원성 박테리아의 감염에 따른 면역 반응에 관여할 수 있음을 의미할 수도 있다.

[0079] 도 1f는 본 발명의 일 실시예에 따른 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물 내의 폴리펩타이드를 제공하는 코클린 단백질의 코딩 유전자가 녹아웃되지 않은 마우스 (*Coch*^{+/-})에 대한 병원성 박테리아 감염 여부, 및 MMP 저해제 (matrix metalloproteinase III inhibitor, MMP_{inh}) 처리 여부에 따른 염증성 사이토카인의 수준을 나타내는 결과이다.

[0080] 도 1f의 (a) 및 (b)를 참조하면, 유전자가 녹아웃되지 않은 마우스 (*Coch*^{+/-})의 달팽이관에 대한 MMP 저해제 처리 및 병원성 박테리아 감염 여부에 따른 IL-1β 및 IL-6의 발현 수준이 도시된다. 이때, MMP 저해제는, 단백질 분해 효소의 기능을 차단하는 역할을 할 수 있다. 즉, MMP 저해제는, 코클린 단백질에 대하여 LCCL 도메인의 절편을 절단하는 기능을 갖는 MMP의 단백질 분해 효소를 저해할 수 있다. 보다 구체적으로, 병원성 박테리아 감염 여부에 따라, 유전자가 녹아웃되지 않은 마우스 (*Coch*^{+/-})의 달팽이관에서의 IL-1β 및 IL-6의 발현 수준은 코클린의 발현에 의해 증가되는 것으로 나타난다. 그러나 이와 대조적으로, MMP 저해제가 처리될 경우, IL-1β 및 IL-6의 발현 수준이 대조군과 유사한 수준으로 낮아지는 것으로 나타난다. 이러한 결과는, 코클린이 발현되었음에도 불구하고, MMP 저해제 처리에 따라 코클린 단백질로부터 LCCL 도메인의 절편의 절단이 감소되었음에 따라 병원성 박테리아의 감염에 따른 면역 반응 증가가 일어나지 않음을 의미할 수 있다. 결과적으로, 내이에서 IL-1β 및 IL-6와 같은 염증성 사이토카인의 발현 수준의 증가, 즉, 면역 반응의 증가는 코클린 단백질 중에서도 LCCL 도메인과 깊게 연관되어 있을 수 있다. 따라서, 코클린 단백질 중 LCCL 도메인은 병원성 박테리아의 침입에 따른 면역 반응을 증가시키고, 청력 기능을 보호하는 것에 기여할 수 있다. 이에, LCCL 도메인은 감각신경성 난청, 특히 박테리아의 감염 또는 중이염에 의해 유도되는 난청의 치료 및 예방에 이용될 수 있다.

[0081] 이상의 실시예 1의 결과로, 코클린 단백질, 특히 코클린 단백질 중, 본 발명의 다양한 실시예에서 이용되는 LCCL 도메인이, 박테리아 감염 시 나타나는 청력 손실을 보호하고, 병원성 박테리아에 대하여 항균 효과를 가지며, 면역 반응을 증진시킬 수 있음이 확인되었다. 이에, 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는 "YxxxSxxCxAAVHxGVI의 모티프 (motif)를 포함하는 폴리펩타이드"는, LCCL 도메인을 포함하는 폴리펩타이드일 수 있다. 나아가, LCCL 도메인으로 구성된 폴리펩타이드는 감각신경성 난청, 특히 박테리아의 감염 또는 중이염에 의해 유도되는 난청의 치료용 또는 예방용 조성물의 유효 성분으로서 이용될 수 있다.

[0082] **실시예 2: LCCL 도메인을 포함하는 폴리펩타이드의 청각 기능 유지 및 항 박테리아 효과**

[0083] 이하의 실험에서는, *ex vivo* 수준의 달팽이관 절편체에서 병원성 박테리아 감염 여부에 따른 LCCL 도메인 함유 절편의 검출 여부를 평가하기 위해, 전술한 코클린 유전자 녹아웃 마우스 모델 (*Coch*^{-/-}) 및 와일드 타입의 마우스 모델 (*Coch*^{+/-}) 각각에 대하여 내이를 통해 PA01 균주를 접종한 후, 해부학적 절차를 통해 내이의 달팽이관 절편체를 각각 획득한다. 이때, 코클린 유전자 녹아웃 마우스 모델 (*Coch*^{-/-}) 및 와일드 타입의 마우스 모델

(*Coch*^{+/-})에 대하여 배양 배지를 집종한 후, 두 모델로부터 획득한 달팽이관 절편체는 대조군으로 설정한다.

- [0084] 도 2a는 병원성 박테리아 감염 여부에 따른, 본 발명의 일 실시예에 따른 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물 내의 폴리펩타이드로 이용되는 코클린 단백질 유래 LCCL 도메인 함유 절편의 검출 결과를 나타내는 결과이다.
- [0085] 도 2a의 (a)를 참조하면, 코클린 단백질은, LCCL 도메인과 vWFA 도메인으로 구성된다. 이때, 코클린 단백질의 절단에 따른 LCCL 도메인 함유 절편은 N-터미널 항체 (N-terminal Ab)에 의해 검출될 수 있고, vWFA 도메인 함유 절편은 C-터미널 항체 (C-terminal Ab)에 의해 검출될 수 있다.
- [0086] 도 2a의 (b)를 참조하면, PA01 균주 (*Pseudomonas*)의 병원성 박테리아의 감염 전 조건 (basal condition) 하, 달팽이관 조직 (cochlea tissue)의 경우, 약 60 kDa의 크기를 갖는 코클린 단백질이 검출된 것으로 나타난다. 한편, 병원성 박테리아의 감염 후 와일드 타입의 마우스 모델 (*Coch*^{+/-}) 유래 달팽이관 조직에서는 코클린 단백질의 절단에 따라 8 및 18 kDa의 LCCL 도메인 함유 절편 및 vWFA 도메인 함유 절편이 검출된 것으로 나타난다. 이와 대조적으로 병원성 박테리아의 감염 후 코클린 유전자 녹아웃 마우스 모델 (*Coch*^{-/-}) 유래 달팽이관 조직에서는 코클린 단백질, LCCL 도메인 절편, vWFA 도메인 절편이 모두 검출되지 않는 것으로 나타난다. 이러한 결과는, 달팽이관 조직 내 병원성 박테리아의 감염에 따라 코클린 단백질의 절단이 일어나, LCCL 도메인 함유 절편이 검출된 것을 의미할 수 있다.
- [0087] 도 2a의 (c)를 참조하면, PA01 균주 (*Pseudomonas*)의 병원성 박테리아의 감염 전 및 감염 후, 달팽이관 외림프 (cochlea perilymph)에서는 코클린 단백질이 검출되지 않은 것으로 나타난다. 한편, 병원성 박테리아의 감염 후 와일드 타입의 마우스 모델 (*Coch*^{+/-}) 유래 달팽이관에서 LCCL 도메인 함유 절편이 관찰된다. 이러한 결과는, 병원성 박테리아의 감염에 따라 달팽이관 조직 내에서 분비된 LCCL 도메인 함유 절편이 달팽이관 외림프로 이동한 것을 의미할 수 있다.
- [0088] 이하의 실험에서는, 코클린 유전자 녹아웃 마우스 모델 (*Coch*^{-/-})의 내이에 병원성 박테리아의 감염을 유도하고, LCCL 도메인의 서열을 갖는 펩타이드의 첨가 여부에 따른 청력 변화를 평가한다. 이때, 상기 펩타이드는 코클린 유전자 녹아웃 마우스 모델 (*Coch*^{-/-})의 내이에 국소 도포되거나 미세 주입될 수 있다. 한편, 본 실험에서는, 비 감염 코클린 유전자 녹아웃 마우스 모델 (*Coch*^{-/-})이 대조군으로 설정된다.
- [0089] 도 2b는 본 발명의 일 실시예에 따른 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물 내의 폴리펩타이드로 이용되는 코클린 단백질 유래 LCCL 절편의 처리에 따른, 청력 변화를 나타내는 결과이다.
- [0090] 도 2b를 참조하면, 코클린 유전자 녹아웃 마우스 모델 (*Coch*^{-/-})은 병원성 박테리아의 감염에 따라 청력 역치가 약 80 dB의 높은 수준을 보이는 것으로 나타난다. 이와 대조적으로, LCCL 도메인의 서열을 갖는 펩타이드가 처리된 마우스 모델은, 청력 역치가 약 60 dB로 대조군과 유사한 수준으로 나타난다. 이러한 결과는, 상기 펩타이드의 처리에 따라 코클린 유전자 녹아웃 마우스 모델 (*Coch*^{-/-})의 청력이 회복되었음을 의미할 수 있다.
- [0091] 이하의 실험에서는, LCCL 도메인의 서열을 갖는 펩타이드 처리에 따른 병원성 박테리아의 변화를 평가하기 위해, GFP (green fluorescent protein) 표지된 PA01 (GFP-PA01)의 병원성 박테리아를 준비한다. 이때, 병원성 박테리아는 GFP에 의해 특정 파장, 예를 들어 655nm 파장에서 녹색 형광색을 띌 수 있다.
- [0092] 도 2c는 본 발명의 일 실시예에 따른 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물 내의 폴리펩타이드로 이용되는 코클린 단백질 유래 LCCL 절편의 처리에 따른, 병원성 박테리아의 성장 곡선을 나타내는 결과이다. 도 2d 내지 2f는 본 발명의 일 실시예에 따른 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물 내의 폴리펩타이드로 이용되는 코클린 단백질 유래 LCCL 절편의 처리에 따른, 병원성 박테리아의 클러스터 변화를 나타내는 결과이다.
- [0093] 도 2c를 참조하면, LCCL 도메인으로 구성된 펩타이드의 처리 여부에 따라 박테리아의 성장은 유의한 차이가 없는 것으로 나타난다.
- [0094] 한편, 도 2d를 참조하면, GFP-PA01는 LCCL 절편의 처리에 따라 콜로니 형성 형태가 상이한 것으로 나타난다. 보다 구체적으로, LCCL 도메인의 펩타이드가 처리되기 전 단독의 GFP-PA01는 단일 콜로니를 형성하는 것으로 나타난다. 이와 대조적으로, LCCL 도메인이 처리될 경우 병원성 박테리아인 PA01의 응집이 일어난 것으로 나타난다.

다. 이러한 결과는, LCCL 도메인이 병원성 박테리아의 응집을 유도하는 것을 의미할 수 있다.

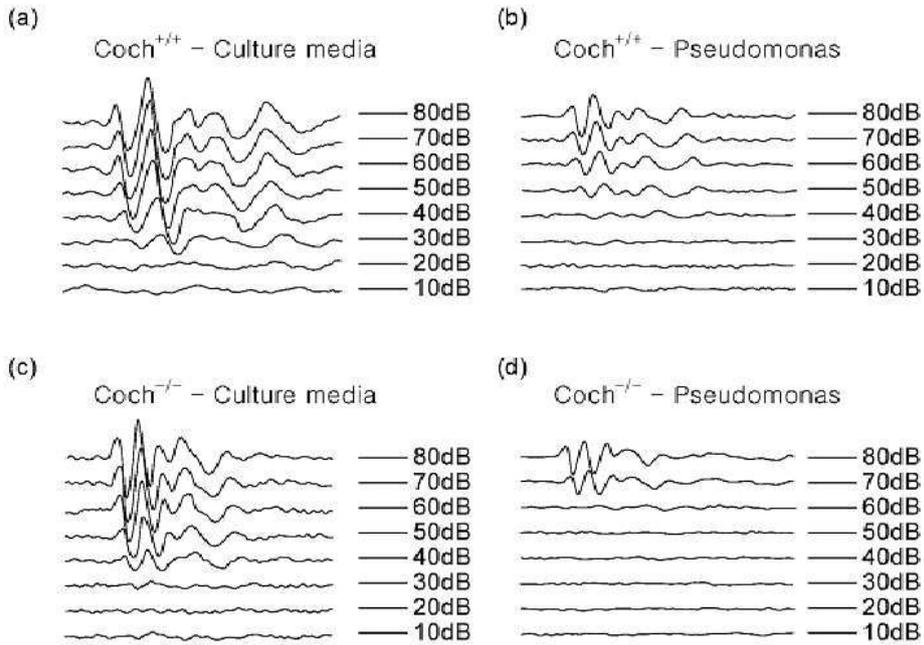
- [0095] 도 2e를 참조하면, LCCL 도메인으로 구성된 펩타이드는 붉은 색으로 나타난다. 이때, GFP-PA01의 응집은 LCCL 도메인으로 구성된 펩타이드에 의해 일어나는 것으로 나타난다. 즉, LCCL 도메인은 PA01의 병원성 박테리아와 직접적인 상호작용을 통해 응집을 유도할 수 있다.
- [0096] 도 2f의 (a) 및 (b)를 참조하면, LCCL을 첨가했을 때, GFP-PA01의 밀도가 낮아진 것으로 나타난다. 나아가, GFP-PA01만 존재하는 대조군과 상이하게 LCCL 첨가에 따라 20 μm 이상의 직경을 갖는 GFP-PA01가 증가한 것으로 나타난다. 이는, LCCL에 의한 PA01의 병원성 박테리아의 응집에 따른 응집된 클러스터의 형성에 의한 결과일 수 있다.
- [0097] 도 2g의 (a) 및 (b)를 참조하면, LB 배지에서 배양된 GFP-PA01의 콜로니 및 LCCL이 첨가된 LB 배지에서 배양된 GFP-PA01의 콜로니가 도시된다. 보다 구체적으로, LCCL이 첨가된 LB 배지에서 배양된 GFP-PA01의 단일 콜로니의 수는, LCCL이 첨가되지 않았을 때 보다 적어진 것으로 나타난다.
- [0098] 도 2h를 참조하면, 전자 현미경에 의해 획득된, LCCL 절편 처리에 따른 GFP-PA01의 성장 패턴을 도시하는 이미지가 나타난다. 보다 구체적으로, LCCL은 병원성 박테리아의 응집 (흰색 화살표 참조) 을 유도하는데, 덧 형태로 박테리아를 감싸거나 (노란색 화살표 참조) 복잡한 비드 및 스트링을 형성하여 박테리아를 응집하는 것으로 나타난다 (빨간색 화살표 참조).
- [0099] 도 2i를 참조하면, GFP-PA01의 배양 배지에서 대하여 LCCL을 처리한 후, EDTA 추가 처리한 결과가 도시된다. 보다 구체적으로, LCCL에 의해 형성된 GFP-PA01의 응집은, EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) 처리에 따라 해리된 것으로 나타난다. 이때, EDTA는 칼슘 소모 (depletion) 를 유발할 수 있다. 즉, LCCL의 병원성 박테리아의 응집은 칼슘 농도 의존적일 수 있다. 예를 들어, 칼슘 농도가 증가할 경우, LCCL에 의한 병원성 박테리아의 응집력이 보다 향상될 수도 있다. 이에, 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는 약학 조성물은 칼슘을 더 포함할 수 있다.
- [0100] 이상의 실시예 2의 결과로, 본 발명의 다양한 실시예에서 이용되는 LCCL 도메인을 포함하는 폴리펩타이드는 내이 또는 중이에 미세 주입되거나 국소 도포될 경우, 호중구 / 단핵구를 자극하여 염증성 사이토카인의 분비에 의한 면역 반응을 유도하며, 병원성 박테리아, 특히 그람 음성 박테리아의 응집을 유도하는 것을 확인할 수 있었다. 즉, LCCL 도메인을 포함하는 폴리펩타이드는, 달팽이관에 박테리아 감염 시 면역 반응 유도하고, 박테리아의 응집을 유도하여 청력 기능을 보호할 수 있다.
- [0101] 이에, 본 발명의 다양한 실시예에 따른 약학 조성물, 특히 이용되는 LCCL 도메인을 포함하는 폴리펩타이드를 유효 성분으로 포함하는 약학 조성물은, 특히 코클린 단백질의 돌연변이-유도성 난청과는 상이한, 바이러스 감염에 의해 유도되는 코르티 기관 손상-유도성 난청, 또는 중이염-유도성 난청에 대한 치료 또는 예방 효과가 있을 수 있다.
- [0102] 나아가, 본 발명은, LCCL 도메인을 포함하는 폴리펩타이드에 대한 박테리아 응집 활성을 조절하는 칼슘을 더 포함하는 약학 조성물을 제공함에 따라, 염증을 유발하는 병원균의 응집에 보다 효과적일 수 있다.
- [0103] 한편, 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는, YxxxSxxxCAAHVhGVI의 모티프를 포함하는 폴리펩타이드, 특히 LCCL 도메인을 포함하는 폴리펩타이드의 효과 및 용도는 이에 제한되는 것이 아니다. 예를 들어, LCCL 도메인을 포함하는 폴리펩타이드는 박테리아의 감염에 의한 난청의 예방 또는 개선용 식품 조성물로서 제공될 수 있다.
- [0104] **실시예 3: LCCL 도메인을 포함하는 폴리펩타이드의 농도에 따른 항 박테리아 효과**
- [0105] 이하의 실험에서는, LCCL 도메인을 포함하는 펩타이드의 처리 농도에 따른 병원성 박테리아의 성장 변화를 평가하기 위해, GFP 표지된 PA01 (PA01-GFP) 의 병원성 박테리아를 준비한다. 이때, LCCL 도메인을 포함하는 펩타이드의 처리 농도는 0.06 μM (LCCL 10), 0.18 μM (LCCL 30), 0.6 μM (LCCL 100) 이다. 나아가, 본 실험에서는, 상기 펩타이드가 처리되지 않은 PA01-GFP가 대조군으로 설정된다.
- [0106] 도 3a 및 3b는 본 발명의 일 실시예에 따른 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물 내의 폴리펩타이드로 이용되는 코클린 단백질 유래 LCCL 절편의 처리 농도에 따른, 병원성 박테리아의 응집 및 단위 면적 당 병원성 박테리아의 밀도를 나타내는 결과이다.
- [0107] 도 3a를 참조하면, LCCL 도메인 함유 펩타이드가 처리되지 않은 대조군 (PA01-GFP) 과 상이하게 LCCL 도메인 함유 펩타이드를 처리한 3 가지 실험군에서 녹색의 형광 빛의 수준이 감소되는 것으로 나타난다. 특히, 0.6 μM

의 LCCL 도메인 함유 펩타이드를 처리한 실험군 (PA01-GFP + LCCL 100) 은 나머지 두 개의 실험군 (PA01-GFP + LCCL 10 및 PA01-GFP + LCCL 30) 보다 녹색의 형광 빛의 수준이 낮은 것으로 나타난다. 이러한 결과는, LCCL 농도의 증가에 따른 PA01의 성장 저하를 의미할 수 있다.

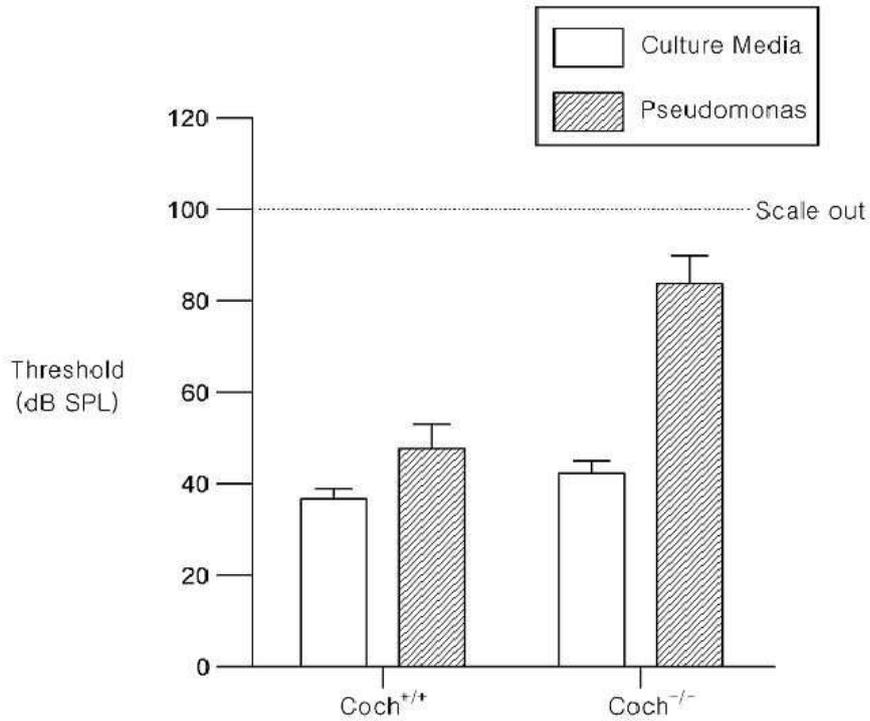
- [0108] 도 3b를 참조하면, LCCL 도메인 함유 펩타이드가 처리되지 않은 대조군 (PA01-GFP) 과 상이하게 LCCL 도메인 함유 펩타이드를 처리한 3 가지 실험군에서 단위 면적 당 PA01의 밀도가 감소되는 것으로 나타난다. 특히, 0.6 μ M의 LCCL 도메인 함유 펩타이드를 처리한 실험군 (PA01-GFP + LCCL 100) 은 나머지 두 개의 실험군 (PA01-GFP + LCCL 10 및 PA01-GFP + LCCL 30) 보다 단위 면적 당 PA01의 밀도가 가장 낮은 것으로 나타난다. 이러한 결과는, LCCL 농도의 증가에 따른 PA01의 성장 저하를 의미할 수 있다.
- [0109] 이상의 실시예 3의 결과로, 본 발명의 다양한 실시예에서 이용되는 LCCL 도메인을 포함하는 폴리펩타이드의 농도는, 전체 약학 조성물에 대하여 0.1 μ M 내지 1 μ M일 수 있다. 바람직하게, 이용되는 LCCL 도메인을 포함하는 폴리펩타이드의 농도는, 전체 약학 조성물에 대하여 0.06 μ M 내지 0.6 μ M일 수 있다. 그러나, LCCL 도메인을 포함하는 폴리펩타이드의 농도는 이에 제한되는 것은 아니며, 본 발명의 다양한 실시예에 따른 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물에 대하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 한 다양하게 설정될 수 있다.
- [0110] **실시예 4: 소음 노출에 따른 LCCL 도메인의 분비**
- [0111] 이하에서는, 도 4를 참조하여, 소음 노출에 따른 LCCL 도메인의 분비 결과를 설명한다. 본 평가에서는, 마우스 모델을 115dB에서 3시간 동안 노출시킨 후, 3시간, 1일 및 3일 후 오른쪽 (Rt), 왼쪽 (Lt) 내이의 LCCL 도메인의 수준을 평가하였다. 이때, LCCL 도메인은 N-터미널 항체 (N-terminal Ab) 에 의해 검출될 수 있다.
- [0112] 도 4는 소음 노출에 따른, 본 발명의 일 실시예에 따른 감각신경성 난청의 치료용 또는 예방용 약학 조성물 내의 폴리펩타이드로 이용되는 코클린 단백질 유래 LCCL 도메인 함유 절편의 검출 결과를 나타내는 결과이다.
- [0113] 도 4를 참조하면, 소음에 노출된지 1일이 경과한 후, 코클린 단백질의 절단에 따라 8 및 18 kDa의 LCCL 도메인 함유 절편이 검출된 것으로 나타난다. 이러한 결과는, 소음에 따른 내이의 자극, 특히 달팽이관의 자극에 의해 코클린 단백질의 절단이 일어나, LCCL 도메인 함유 절편이 검출된 것을 의미할 수 있다. 나아가 상기와 같은 결과는, LCCL 도메인 함유 절편이 소음성 난청의 병인 기전과 밀접한 연관성이 있으며, 이의 분비 조절을 통해 소음성 난청의 치료 및 예방의 가능성을 의미할 수 있다.
- [0114] 이에, 본 발명의 다양한 실시예에 따른 약학 조성물, 특히 이용되는 LCCL 도메인을 포함하는 폴리펩타이드를 유효 성분으로 포함하는 약학 조성물은, 소음에 의해 야기되는 소음성 난청에 대한 치료 또는 예방 효과가 있을 수 있다.
- [0115] 한편, 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는, YxxxSxxCxAxVHxGVI의 모티프를 포함하는 폴리펩타이드, 특히 LCCL 도메인을 포함하는 폴리펩타이드의 효과 및 용도는 이에 제한되는 것이 아니다.
- [0116] 이상 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 실시 예들을 더욱 상세하게 설명하였으나, 본 발명은 반드시 이러한 실시 예로 국한되는 것은 아니고, 본 발명의 기술사상을 벗어나지 않는 범위 내에서 다양하게 변형 실시될 수 있다. 따라서, 본 발명에 개시된 실시 예들은 본 발명의 기술 사상을 한정하기 위한 것이 아니라 설명하기 위한 것이고, 이러한 실시 예에 의하여 본 발명의 기술 사상의 범위가 한정되는 것은 아니다. 그러므로, 이상에서 기술한 실시 예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 본 발명의 보호 범위는 아래의 청구범위에 의하여 해석되어야 하며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 기술 사상은 본 발명의 권리범위에 포함되는 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

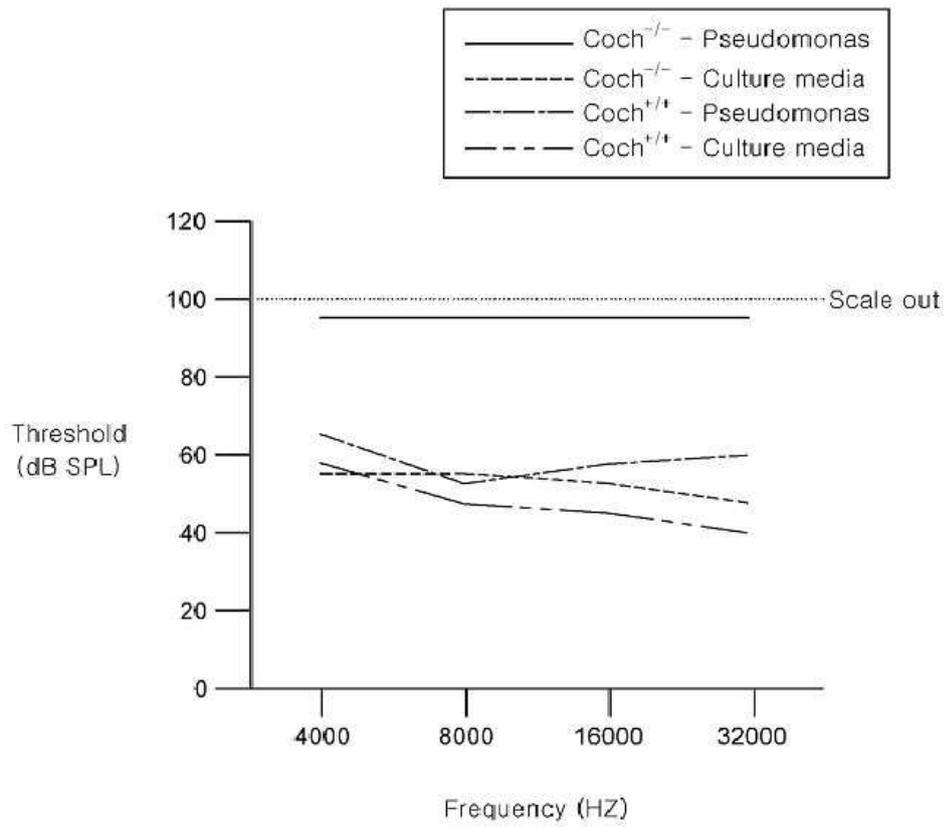
도면1a



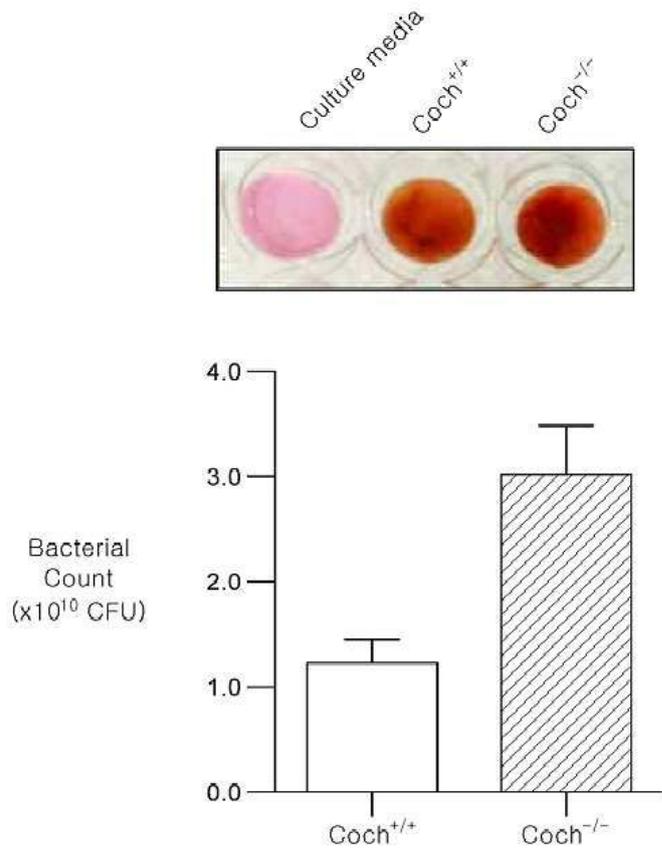
도면1b



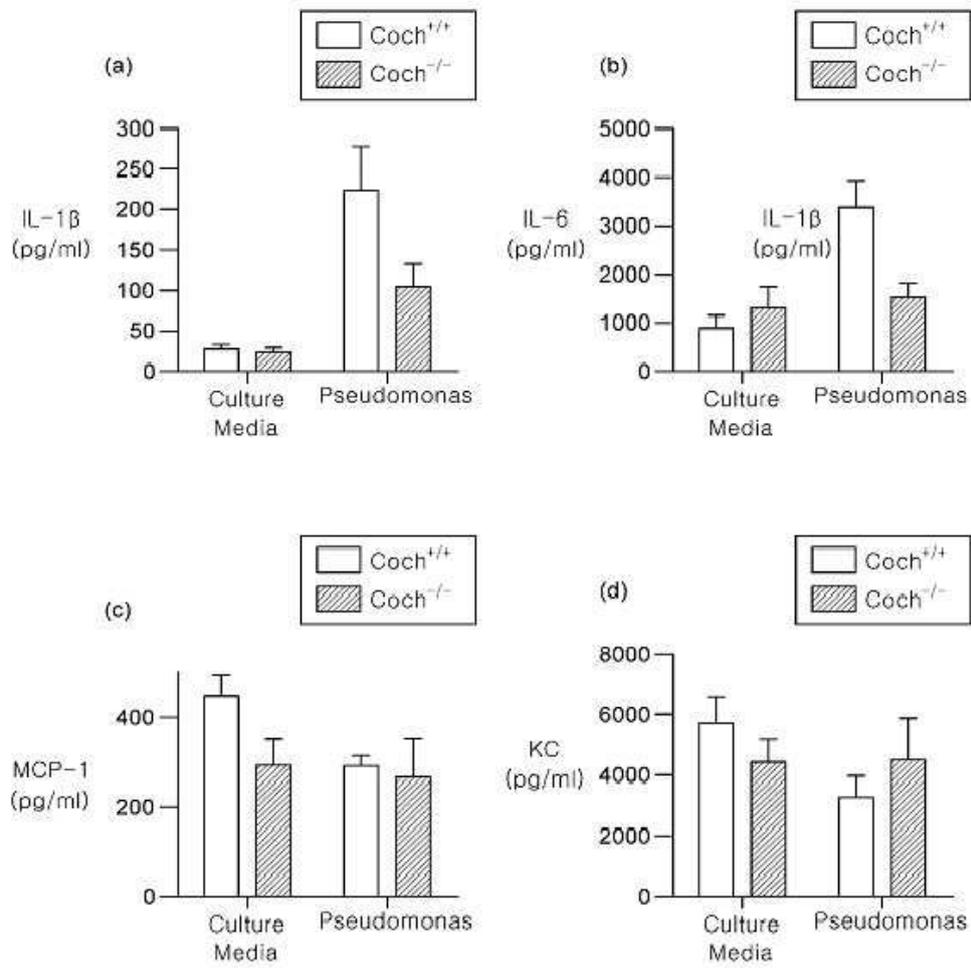
도면1c



도면1d

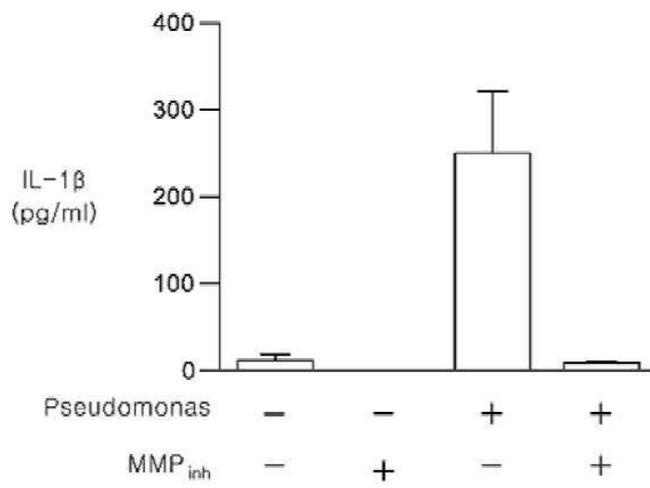


도면1e

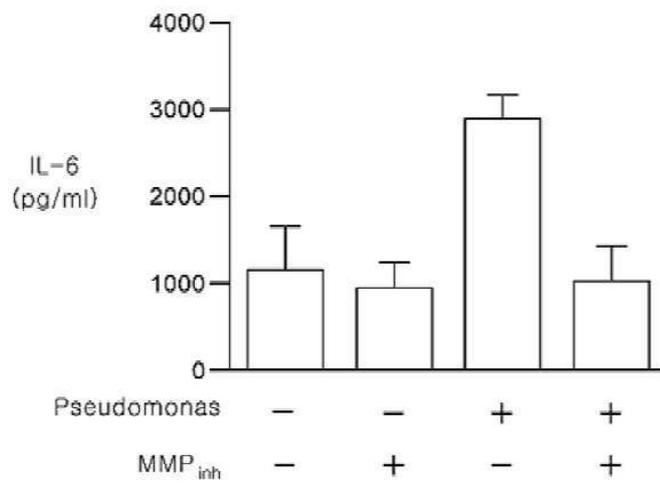


도면1f

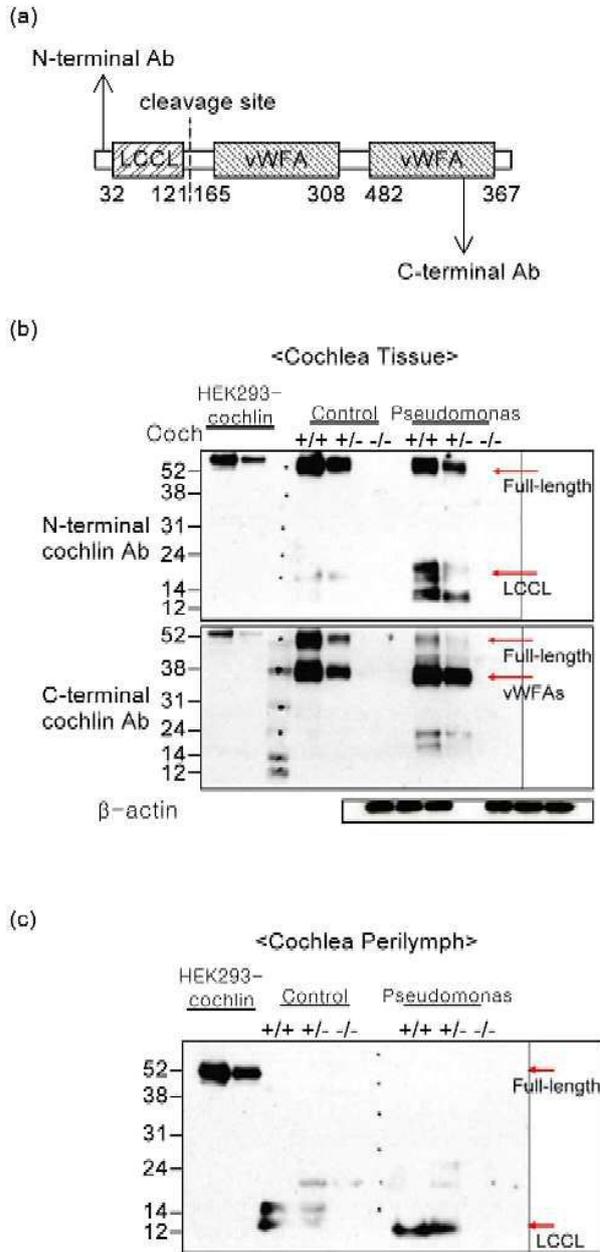
(a)



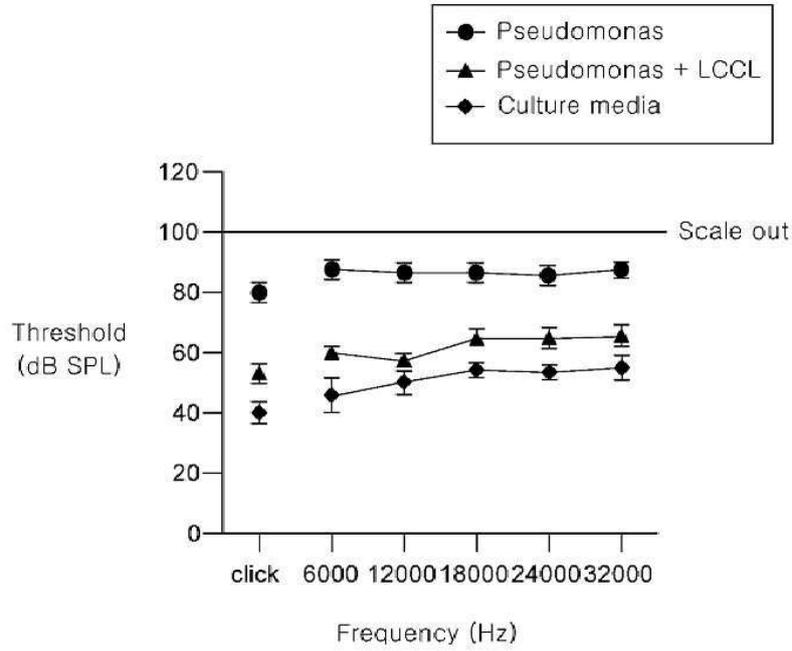
(b)



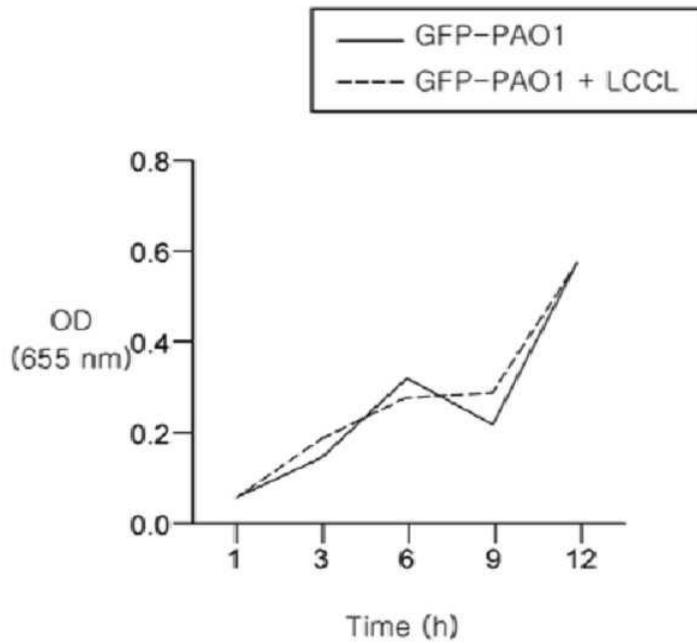
도면2a



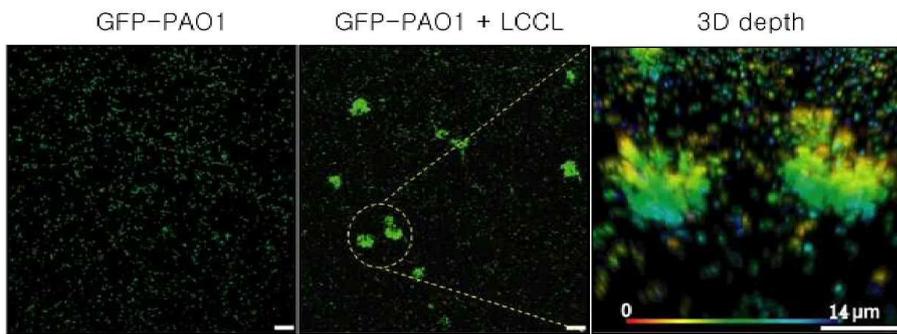
도면2b



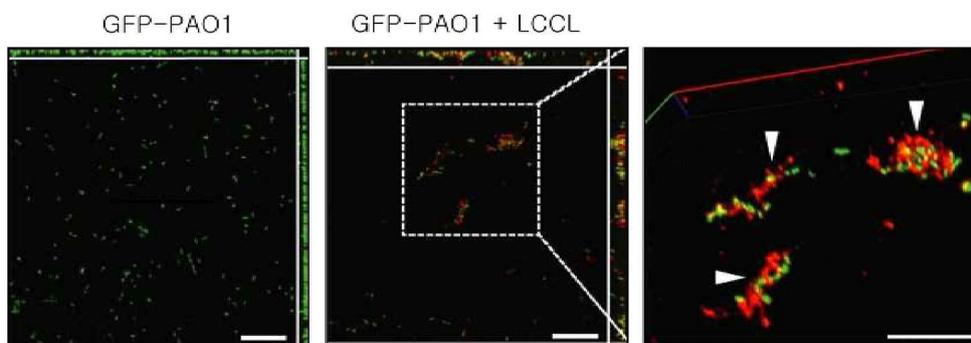
도면2c



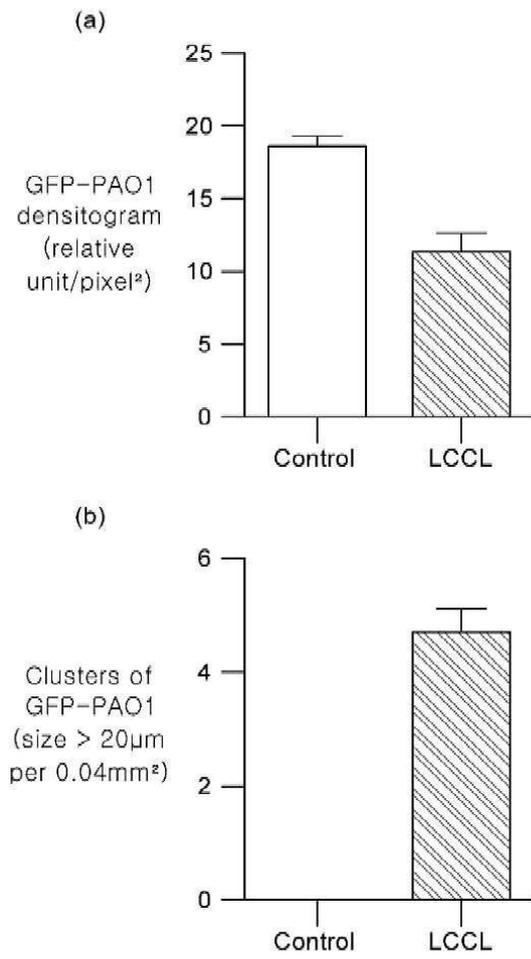
도면2d



도면2e

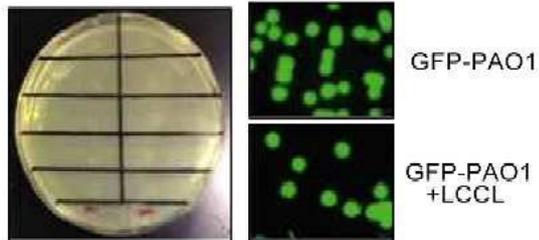


도면2f

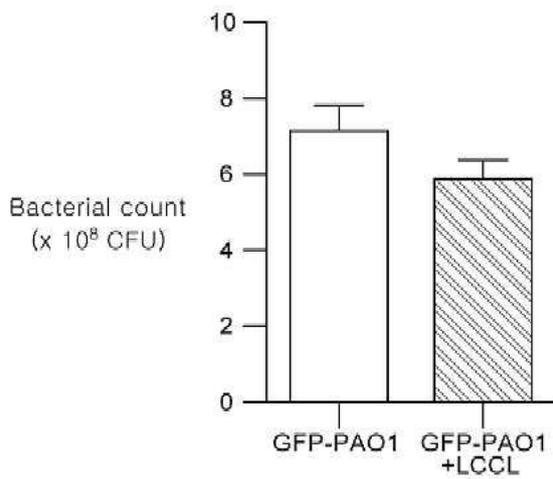


도면2g

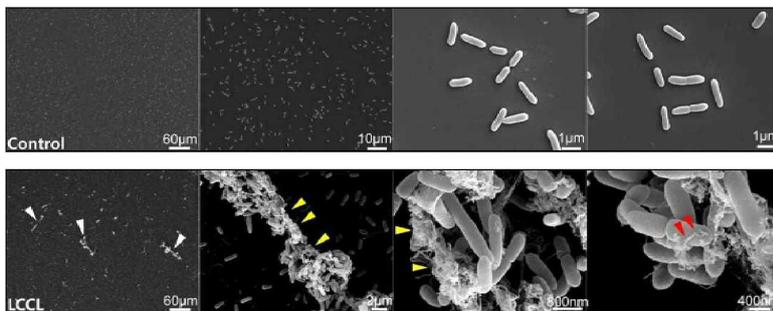
(a)



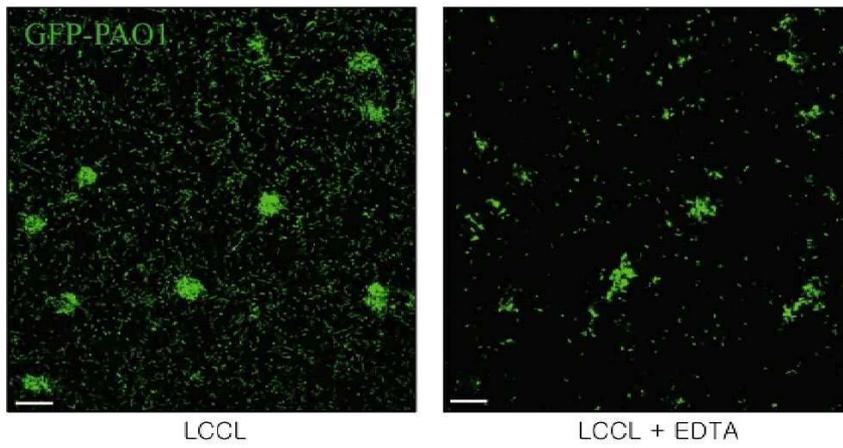
(b)



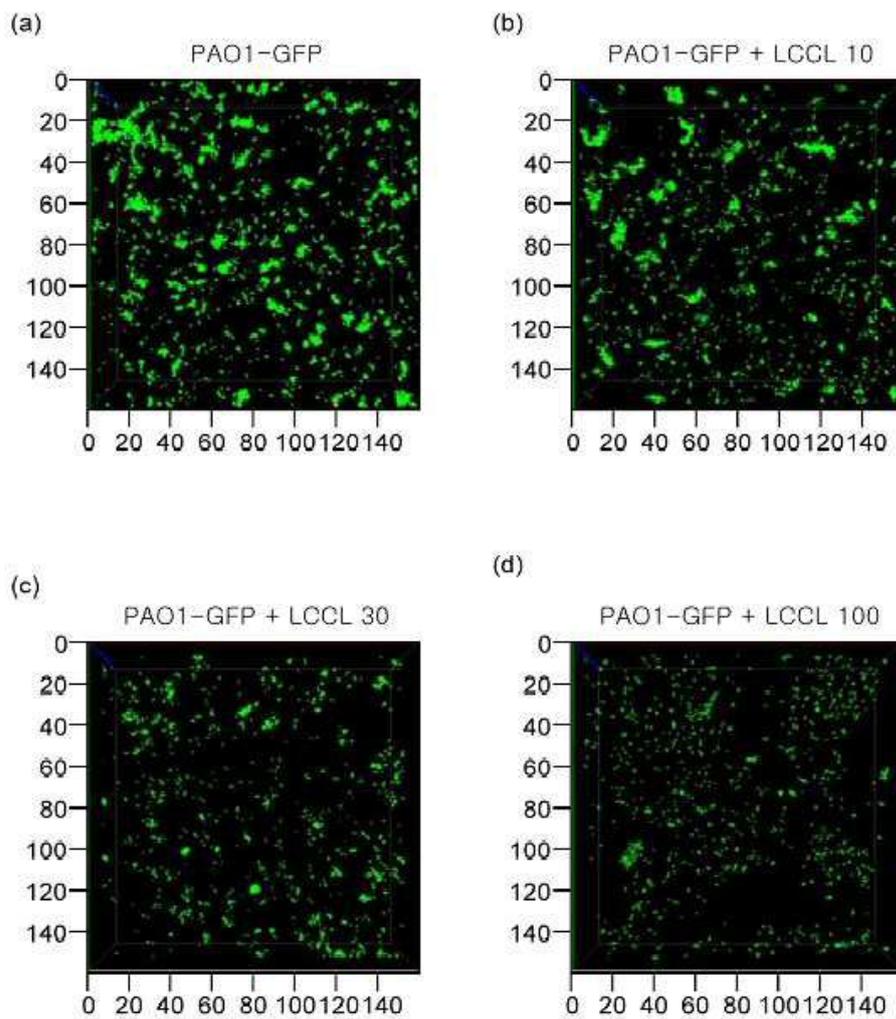
도면2h



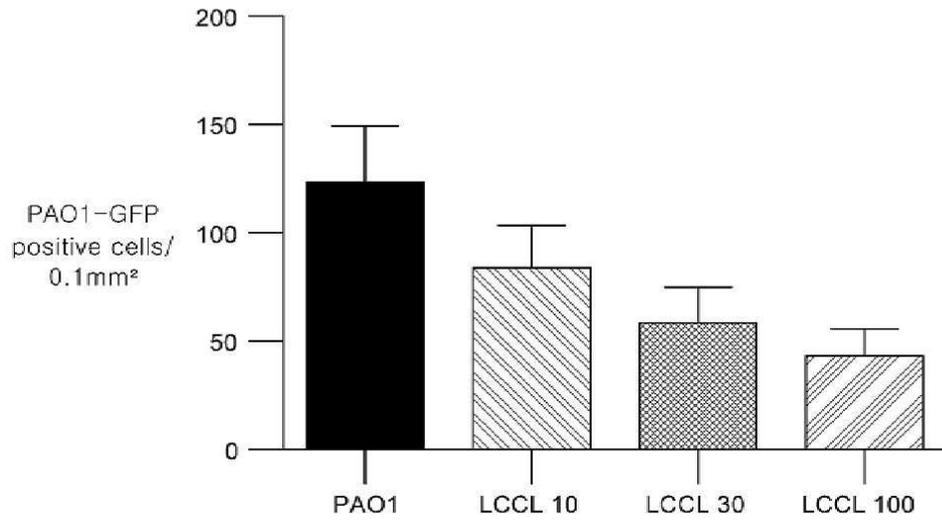
도면2i



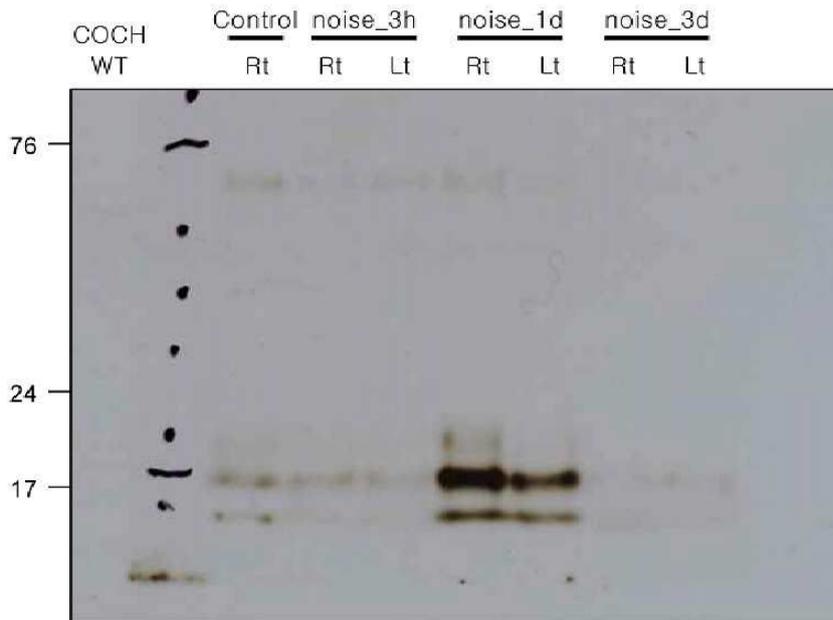
도면3a



도면3b



도면4



서열 목록

- <110> INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION, YONSEI UNIVERSITY
- <120> PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR TREATING OR PREVENTING
SENSORINEURAL HEARING LOSS AND CHRONIC OTITIS MEDIA
- <130> 19PD5341KR
- <150> KR 10-2018-0101149
- <151> 2018-08-28
- <160> 10

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 94

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Ala Pro Ile Ala Ile Thr Cys Phe Thr Arg Gly Leu Asp Ile Arg Lys
 1 5 10 15

Glu Lys Ala Asp Val Leu Cys Pro Gly Gly Cys Pro Leu Glu Glu Phe
 20 25 30

Ser Val Tyr Gly Asn Ile Val Tyr Ala Ser Val Ser Ser Ile Cys Gly
 35 40 45

Ala Ala Val His Arg Gly Val Ile Ser Asn Ser Gly Gly Pro Val Arg
 50 55 60

Val Tyr Ser Leu Pro Gly Arg Glu Asn Tyr Ser Ser Val Asp Ala Asn
 65 70 75 80

Gly Ile Gln Ser Gln Met Leu Ser Arg Trp Ser Ala Ser Phe
 85 90

<210> 2

<211> 96

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Ser Gln Ile Val Ser Cys Glu Val Arg Leu Arg Asp Gln Cys Lys
 1 5 10 15

Gly Thr Thr Cys Asn Arg Tyr Glu Cys Pro Ala Gly Cys Leu Asp Ser
 20 25 30

Lys Ala Lys Val Ile Gly Ser Val His Tyr Glu Met Gln Ser Ser Ile
 35 40 45

Cys Arg Ala Ala Ile His Tyr Gly Ile Ile Asp Asn Asp Gly Gly Trp
 50 55 60

Val Asp Ile Thr Arg Gln Gly Arg Lys His Tyr Phe Ile Lys Ser Asn

Cys Lys Ala Ala Ile His Ala Gly Ile Ile Ala Asp Glu Leu Gly Gly

50 55 60

Gln Ile Ser Val Leu Gln Arg Lys Gly Ile Ser Arg Tyr Glu Gly Ile

65 70 75 80

Leu Ala Asn Gly Val Leu Ser Arg Asp Gly Ser Leu Ser Asp Lys Arg

85 90 95

Phe

<210> 7

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Ile Asp Lys Gln Asp Leu Ile Thr Cys Leu Asp Thr Ala Ser Asn Phe

1 5 10 15

Leu Glu Pro Glu Phe Ser Lys Tyr Cys Pro Ala Gly Cys Leu Leu Pro

20 25 30

Phe Ala Glu Ile Ser Gly Thr Ile Pro His Gly Tyr Arg Asp Ser Ser

35 40 45

Pro Leu Cys Met Ala Gly Val His Ala Gly Val Val Ser Asn Thr Leu

50 55 60

Gly Gly Gln Ile Ser Val Val Ile Ser Lys Gly Ile Pro Tyr Tyr Glu

65 70 75 80

Ser Ser Leu Ala Asn Asn Val Thr Ser Val Val Gly His Leu Ser Thr

85 90 95

Ser Leu Phe

<210> 8

<211> 105

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Ala Ser Tyr Ser Val Ile Asp Lys Gln Arg Ser Asn Tyr Leu Phe Gly
 1 5 10 15
 His Cys Ile Gln Phe Phe Trp Asn Leu Ser Ser Val Ser Thr Ala Pro
 20 25 30
 Ala Gly Cys Leu Leu Pro Phe Ala Glu Ile Ser Gly Thr Ile Pro His
 35 40 45

Gly Tyr Arg Asp Ser Ser Pro Leu Cys Met Ala Gly Val His Ala Gly
 50 55 60
 Val Val Ser Asn Thr Leu Gly Gly Gln Ile Ser Val Val Ile Ser Lys
 65 70 75 80
 Gly Ile Pro Tyr Tyr Glu Ser Ser Leu Ala Asn Asn Val Thr Ser Val
 85 90 95
 Val Gly His Leu Ile Leu Gln Val Phe
 100 105

<210> 9
 <211> 103
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 9
 Thr Val Gln Ala Val Thr Cys Glu Thr Thr Val Glu Gln Leu Cys Pro
 1 5 10 15
 Phe His Lys Pro Ala Ser His Cys Pro Arg Val Tyr Cys Pro Arg Asn
 20 25 30
 Cys Met Gln Ala Asn Pro His Tyr Ala Arg Val Ile Gly Thr Arg Val
 35 40 45
 Tyr Ser Asp Leu Ser Ser Ile Cys Arg Ala Ala Val His Ala Gly Val
 50 55 60
 Val Arg Asn His Gly Gly Tyr Val Asp Val Met Pro Val Asp Lys Arg
 65 70 75 80
 Lys Thr Tyr Ile Ala Ser Phe Gln Asn Gly Ile Phe Ser Glu Ser Leu
 85 90 95
 Gln Asn Pro Pro Gly Gly Lys

100

<210> 10

<211> 104

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Lys Val Gln Asp Leu Asp Cys Tyr Thr Thr Val Ala Gln Leu Cys Pro

1 5 10 15

Phe Glu Lys Pro Ala Thr His Cys Pro Arg Ile His Cys Pro Ala His

20 25 30

Cys Lys Asp Glu Pro Ser Tyr Trp Ala Pro Val Phe Gly Thr Asn Ile

35 40 45

Tyr Ala Asp Thr Ser Ser Ile Cys Lys Thr Ala Val His Ala Gly Val

50 55 60

Ile Ser Asn Glu Ser Gly Gly Asp Val Asp Val Met Pro Val Asp Lys

65 70 75 80

Lys Lys Thr Tyr Val Gly Ser Leu Arg Asn Gly Val Gln Ser Glu Ser

85 90 95

Leu Gly Thr Pro Arg Asp Gly Lys

100