



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0101660
(43) 공개일자 2020년08월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) A23L 33/13 (2016.01)
A61P 37/08 (2006.01) G01N 33/68 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 39/395 (2013.01)
A23L 33/13 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2019-0019793
(22) 출원일자 2019년02월20일
심사청구일자 2019년02월20일

(71) 출원인
연세대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)
(72) 발명자
유지환
서울특별시 서대문구 연희로32길 48, 연희성원아파트 102-104
윤주현
서울특별시 강남구 삼성로 150, 209동 1302호
(74) 대리인
이재영

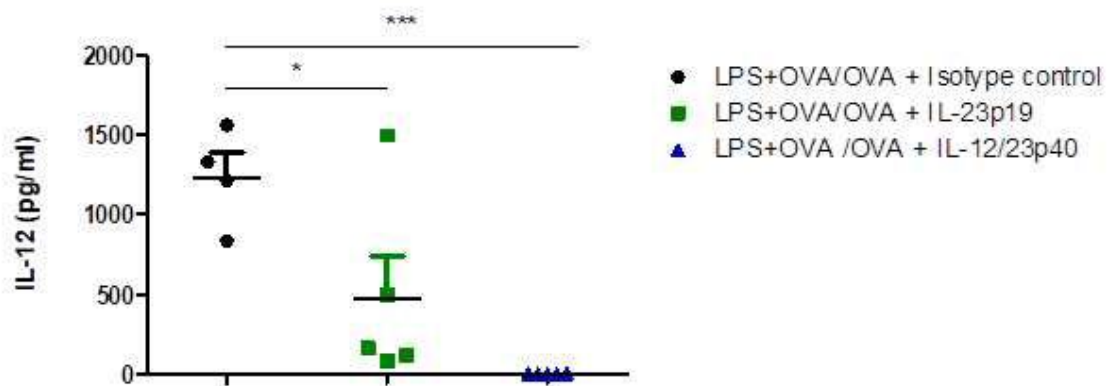
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 알레르기성 호흡기 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물

(57) 요약

본 발명은 알레르기성 호흡기 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것으로서, 알레르기성 호흡기 질환, 특히 호중구가 우세한 주로 존재하는 급성 알레르기성 천식에 작용하여 IL-12 및 IL-23 단백질; 또는 이를 암호화하는 유전자가 존재하는 수준을 현저하게 감소시키고, 폐 조직의 섬유화와 면역 세포의 침윤을 억제함으로써 일반적인 치료제의 효과가 발휘되지 않는 질환에도 매우 유용하게 사용할 수 있다.

대표도 - 도4



(52) CPC특허분류

A61P 11/06 (2018.01)
A61P 37/08 (2018.01)
G01N 33/6869 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/314 (2013.01)
G01N 2333/5434 (2013.01)
G01N 2500/00 (2013.01)

김보민

서울특별시 동대문구 한천로58길 47, 110-2302(이문동, 쌍용아파트)

(72) 발명자

정연욱

서울특별시 동대문구 장안벚꽃로 107, 119-1501(장안동, 장안현대홈타운)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2016K1A1A2910779
 부처명 과학기술정보통신부
 연구관리전문기관 한국연구재단
 연구사업명 글로벌연구실사업
 연구과제명 난치성 알레르기 호흡기질환의 바이오마커 개발
 기 여 율 1/2
 주관기관 연세대학교
 연구기간 2016.09.01 ~ 2022.06.30

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2016M3A9D5A01952415
 부처명 과학기술정보통신부
 연구관리전문기관 한국연구재단
 연구사업명 국가마우스표현형분석사업
 연구과제명 호흡기 질환 마우스 표현형 분석 기반 구축 및 병인 유전자 기능 규명
 기 여 율 1/2
 주관기관 연세대학교
 연구기간 2016.11.20 ~ 2023.11.19

명세서

청구범위

청구항 1

IL(Interleukin)-12 또는 IL-23 단백질에 특이적으로 결합하는 결합 분자; 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자의 발현 억제제를 유효성분으로 포함하는, 알레르기성 호흡기 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 IL-12 또는 IL-23 단백질은 IL-12 또는 IL-23의 p40 서브유닛인 것인, 약학 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 IL-23 단백질은 IL-23의 p19 서브유닛인 것인, 약학 조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 결합 분자는 단백질에 상보적으로 결합하는 화합물, 펩타이드, 펩타이드 미메틱스, 앵타머, 및 항체 또는 이의 단편으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나인 것인, 약학 조성물.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 유전자의 발현 억제제는 안티센스뉴클레오타이드(antisense nucleotide), 작은 헤어핀 RNA(small hairpin RNA) 및 작은 간섭 RNA(small interfering RNA)로 이루어진 것으로부터 선택되는 적어도 하나인 것인, 약학 조성물.

청구항 6

제 1항에 있어서,

상기 알레르기성 호흡기 질환은 알레르기성 천식, 기관지염, 알레르기성 비염, 부비강염, 하기도 감염증 및 상기도 감염증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나인 것인, 약학 조성물.

청구항 7

제 6항에 있어서,

상기 알레르기성 호흡기 질환은 중증 알레르기성 호흡기 질환인 것인, 약학 조성물.

청구항 8

IL-12 또는 IL-23 단백질에 특이적으로 결합하는 결합 분자; 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 억제제에 특이적으로 결합하는 결합 분자를 유효성분으로 포함하는, 알레르기성 호흡기 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 9

제 8항에 있어서,

상기 IL-12 또는 IL-23 단백질은 IL-12 또는 IL-23의 p40 서브유닛인 것인, 식품 조성물.

청구항 10

제 8항에 있어서,

상기 IL-23 단백질은 IL-23의 p19 서브유닛인 것인, 식품 조성물.

청구항 11

알레르기 호흡기 질환 환자로부터 분리된 생물학적 시료에 목적하는 후보물질을 처리하는 단계; 및

상기 생물학적 시료에서 IL-12 또는 IL-23 단백질, 또는 이를 암호화하는 유전자가 존재하는 수준을 확인하는 단계를 포함하는, 알레르기성 호흡기 질환 치료제의 스크리닝 방법.

청구항 12

제 11항에 있어서,

상기 후보물질의 처리 후 상기 생물학적 시료에서 측정된 IL-12 또는 IL-23 단백질, 또는 이를 암호화하는 유전자가 존재하는 수준이 감소하거나, 정상 대조군에서 분리된 생물학적 시료에서 측정된 IL-12 또는 IL-23 단백질, 또는 이를 암호화하는 유전자가 존재하는 수준에 비하여 감소되는 경우, 상기 후보물질을 알레르기성 호흡기 질환 치료제로 선별하는 단계를 더 포함하는 것인, 알레르기성 호흡기 질환의 스크리닝 방법.

청구항 13

제 11항에 있어서,

상기 IL-12 또는 IL-23 단백질은 IL-12 또는 IL-23의 p40 서브유닛인 것인, 알레르기성 호흡기 질환의 스크리닝 방법.

청구항 14

제 11항에 있어서,

상기 IL-23 단백질은 IL-23의 p19 서브유닛인 것인, 알레르기성 호흡기 질환의 스크리닝 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 알레르기성 호흡기 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 서구식 생활을 하는 다양한 국가에서 알레르기(Allergy)는 중요한 건강 문제로서 대두되고 있다. 일반적으로 알레르기 그 자체는 생명을 위협하는 질병으로 다뤄지지 않지만, 이로 인해 유발되는 호흡기 질환에 따른 연간 사망자 수가 해마다 증가되고 있는 추세이다. 특히, 십대의 경우에는 약 30% 정도 알레르기에 의한 질환을 겪고 있으며, 이때문에 삶의 질, 근무일수 및 경제적인 면에서 큰 손실을 일으켜 사회적으로 심각한 문제로서 인식되고 있다.

[0003] 임상적으로 확인되는 알레르기의 발현 및 증상은 감작화된 개체와 그 원인이 되는 알러젠(Allergen)의 종류에 따라 다양하게 나타난다. 공통적으로 부종, 가려움, 발작 및 눈물 등의 증상과 재채기, 가쁜 호흡, 두드러기와 같은 증상이 나타날 수 있다. 일반적으로 이와 같은 증상을 완화시키기 위해서는 항히스타민제인 H1 및 H2 수용체 길항제, 비내 및 전신용 코르티코스테로이드(Corticosteroid), 비스테로이드(Nonsteroid)계 등의 작용제가 일반적으로 사용되고 있다.

[0004] 한편, 천식은 외인성 천식(알레르기성 천식), 내인성 천식, 혼합형 천식, 직업성 천식 및 소아 천식으로 구분될 수 있다. 그 중에서 외인성 천식, 즉 알레르기성 천식은 주거 식생활 형태의 변화, 공해, 집먼지 진드기나 꽃가루, 애완동물의 털, 곰팡이, 곤충 부스러기 등과 같이 호흡기를 통해 흡입되는 종류의 알러젠 등에 의해 유발되는 것으로 유전적 경향을 나타낼 수 있다. 이와 같은 알레르기성 천식의 유병률과 중증도는 최근 수십년 동안 크게 증가되었으며, 미국에서는 현재 천오백만명의 사람들이 알레르기성 천식을 앓고 있는 것으로 보고되어 있다.

[0005] 이와 같은 천식은 대부분 흡입스테로이드(Inhaled corticosteroid; ICS)를 기반으로 하는 단계적인 약물치료를 통해 치료될 수 있으나, 일부 환자에서는 높은 용량의 흡입스테로이드와 다른 조절제를 병용하여 투여하는 경우에도 증상의 호전이 어려울 뿐만 아니라, 오히려 증상이 악화되는 등의 현상이 나타난다. 이렇게, 일반적인 치료제로 치료되지 않는 환자의 경우 약물 사용과 의료기관 방문이 잦아 의료비의 지출이 부담되고, 약물 사용으로 인한 부작용이 문제될 수 있으며, 나아가 천식의 증상으로 인한 사망의 위험이 매우 높다. 이럼에도 불구하고, 일반적인 치료 방법에 의해 증상이 완화되지 않는 중증 호흡기 질환을 겪는 환자에 치료에 효과적으로 사용될 수 있는 치료제에 대한 개발은 미흡한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명의 일 목적은 IL(Interleukin)-12 또는 IL-23 단백질에 특이적으로 결합하는 결합 분자; 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자의 발현 억제제를 유효성분으로 포함하는 알레르기성 호흡기 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물; 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0007] 본 발명의 다른 목적은 IL-12 또는 IL-23의 유전자 또는 이에 의해 암호화되는 단백질이 존재하는 수준을 확인하는 단계를 포함하는 알레르기성 호흡기 질환의 치료제를 스크리닝하는 방법을 제공하는 것이다.

[0008] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당 업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명의 일 구현 예에서는 알레르기성 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[0010] 본 발명의 상기 조성물은 IL(Interleukin)-12 또는 IL-23 단백질에 특이적으로 결합하는 결합 분자; 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자(바람직하게는 mRNA)의 발현 억제제를 유효성분으로 포함한다.

[0011] 본 발명의 상기 IL-12 단백질은 IL-12p35(IL-12A) 및 IL-12p40(IL-12B)이 알파 나선으로 구성된 75kDa의 이중 이량체 사이토카인(Cytokine)으로서, IL-12p40 서브유닛은 성장 호르몬 수용체(Growth hormone receptor; GHR)와 같은 다른 클래스 I 수용체의 세포 외 도메인과 함께 접힌다. 상기 IL-12는 활성화된 염증 세포 (단핵 세포, 대식세포, 호중구, 미 글로리아, 수지상 세포)에 의해 분비된다. 본 발명의 목적상 상기 IL-12 단백질은 IL-12p40 서브유닛일 수 있고, 바람직하게는 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열을 갖는 IL-12p40일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0012] 본 발명의 상기 IL-23 단백질은 IL-6 사이토카인 계열로서, IL-23p19 서브유닛과, IL-12p40 서브유닛으로 구성된 이중 이량체의 사이토카인에 해당한다. 상기 IL-23은 활성화된 대식세포뿐만 아니라 수지상 세포에 의해서도 분비될 수 있다. 본 발명의 목적상 상기 IL-23 단백질은 IL-23p19일 수 있고, 바람직하게는 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열을 갖는 IL-23p19일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0013] 본 발명의 상기 결합 분자는 IL-12 또는 IL-23 단백질에 상보적으로 결합되어 상기 사이토카인을 중화(Neutralizing)할 수 있는 것이라면 모두 포함될 수 있고, 예를 들면 화합물, 펩타이드, 펩타이드 미메틱스, 앵타머, 및 항체 또는 이의 단편으로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나일 수 있고, 바람직하게는 항체일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0014] 본 발명의 상기 결합 분자는 서열번호 1 및 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열을 암호화하는 유전자를 통상적인 방법에 따라 단백질 재조합 발현 벡터에 클로닝하여 상기 서열번호 1 또는 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열로 구성된 펩타이드를 얻은 뒤에 결합 분자, 예를 들면 펩타이드 미메틱, 앵타머(Aptamer) 및 항체 등을 제작하는 통상적인 방법을 참조하여 당업자에 의해 쉽게 제조될 수 있다.

[0015] 본 발명의 상기 항체는 단백질 또는 펩타이드 분자의 항원성 부위에 특이적으로 결합할 수 있는 단백질 분자를 의미한다. 상기 항체의 형태는 특별히 제한되지 않으며 폴리클로날 항체, 모노클로날 항체 또는 항원 결합성을 갖는 것이라면, 항체의 일부인 경우라도 포함될 수 있고, 모든 종류의 면역 글로불린 항체가 포함될 수 있다. 또한, 키메릭 항체 및 인간화 항체 등의 특수 항체가 포함될 수 있고, 상기 항체는 2개의 전체 길이의 경쇄 및 2개의 전체 길이의 중쇄를 가지는 완전한 형태뿐만 아니라 항체 분자의 기능적인 단편을 포함한다. 상기 항체 분자의 기능적인 단편이란 적어도 항원 결합 기능을 보유하고 있는 단편을 의미하며 Fab, F(ab'), F(ab')₂, Fv

등이 될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0016] 본 발명의 상기 항체는 기능적 변이체를 포함한다. 상기 항체의 기능적 변이체는 1차적 구조적 서열이 실질적으로 유사한 유도체, 예를 들면 생체 외(*In vitro*) 또는 생체 내(*In vivo*) 변형, 화학약품 및/또는 생화학 약품 등을 이용한 변형 등이 모두 포함될 수 있다. 구체적으로, 상기 변형은 아세틸화, 아실화, 뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드 유도체의 공유 결합, 지질 또는 지질 유도체의 공유 결합, 가교, 이황화 결합 형성, 글리코실화, 수산화, 메틸화, 산화, 폐길화, 단백질 분해 및 인산화 등이 포함될 수 있고, 부모 항체의 아미노산 서열과 비교하여 하나 이상의 아미노산의 치환, 삽입, 결실 또는 그들의 조합을 함유하는 아미노산 서열을 포함하는 항체일 수 있다. 더욱이 기능적 변이체는 아미노 말단 또는 카르복시 말단 중 하나 또는 모두에서 아미노산 서열의 절단체(Truncated form)가 포함되는 것일 수 있다.
- [0017] 본 발명의 상기 앵타머는 소정의 표적 분자에 대한 결합 활성을 갖는 단일 가닥 올리고 뉴클레오티드로서, 표적 분자에 결합함으로써 표적 분자의 활성을 저해할 수 있다. 상기 앵타머는 그 염기 서열에 따라 다양한 3차원 구조를 가질 수 있으며, 항원-항체 반응과 같이 특정 물질에 대하여 높은 친화력을 가질 수 있다. 상기 앵타머는 RNA, DNA, 변형된(Modified) 핵산 또는 이들의 혼합물일 수 있으며, 그 형태가 직쇄상 또는 환상(環狀)일 수 있다.
- [0018] 본 발명의 상기 유전자의 발현 억제제는 상기 IL-12 또는 IL-23 단백질을 암호화하는 유전자(바람직하게는 mRNA)와 상보적으로 결합함으로써 그 발현 자체를 억제할 수 있는 것으로서, 예를 들면, 안티센스뉴클레오티드(Antisense nucleotide), 작은 헤어핀 RNA(Small hairpin RNA) 및 작은 간섭 RNA(Small interfering RNA)로 이루어진 것으로부터 선택되는 적어도 하나일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0019] 본 발명의 상기 유전자의 발현 억제제는 서열번호 1 및 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열을 암호화하는 유전자의 염기 서열을 기반으로 하여 통상적인 방법을 참조하여 당업자에 의해 쉽게 제조될 수 있다.
- [0020] 본 발명의 상기 알레르기성 질환은 호흡기를 통해 알러젠이 유입되어 개체 내에 유발될 수 있는 염증 반응으로서, 알레르기성 천식, 기관지염, 알레르기성 비염, 부비강염, 하기도 감염증 및 상기도 감염증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나인 것일 수 있고, 바람직하게는 알레르기성 천식일 수 있고, 더욱 바람직하게는 중증 알레르기성 천식일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0021] 본 발명의 상기 중증 알레르기성 천식은, 난치성 알레르기성 천식, 스테로이드 의존성 알레르기성 천식, 치료 불응성 알레르기성 천식(Refractory allergic asthma) 등의 다양한 용어로 불리워질 수 있다. 일반적인 알레르기성 천식과 달리, 2014년 ATS/ERS 국제 진료지침에 따른 중증 알레르기성 천식은, 천식의 증상 조절을 위하여 GINA 단계 4-5 단계의 약물치료가 필요하거나 이에 의해 천식이 조절되지 않는 경우로서, 천식이 조절되지 않는 경우는 ① 낮은 증상 조절, ② 잦은 중증 악화, ③ 심각한 악화 및 ④ 기류제한으로 구성된 군에서 선택되는 적어도 하나의 항목이 해당되는 경우로 정의될 수 있다. 본 발명의 목적상 상기 중증 알레르기 천식은, 일반적인 치료 방법에 의해 증상이 완화될 수 있는 경증 알레르기 천식과 비교하여 폐 조직에 호중구(Neutrophil)의 수가 호산구(Eosinophil)에 비하여 현저하게 증가되어 있는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0022] 본 발명의 상기 예방은 본 발명의 조성물을 이용하여 알레르기성 질환으로 인해 발생된 증상을 차단하거나, 그 증상을 억제 또는 지연시킬 수 있는 모든 행위라면 제한없이 포함될 수 있다.
- [0023] 본 발명의 상기 치료는 본 발명의 조성물을 이용하여 알레르기성 질환으로 인해 발생된 증상이 호전되거나, 이롭게 되는 모든 행위라면 제한없이 포함될 수 있다.
- [0024] 본 발명의 상기 개선은 본 발명의 조성물을 이용하여 알레르기성 질환의 증상이 호전 또는 이롭게 변경되는 행위라면 제한없이 포함될 수 있다.
- [0026] 본 발명의 조성물은 약학 조성물 또는 식품 조성물의 용도로 사용될 수 있으나, 그 용도가 특별히 제한되는 것은 아니다.
- [0027] 본 발명의 상기 약학 조성물은 캡슐, 정제, 과립, 주사제, 연고제, 분말 또는 음료 형태임을 특징으로 할 수 있으며, 상기 약학 조성물은 인간을 대상으로 하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0028] 본 발명의 상기 약학 조성물은 이들로 한정되는 것은 아니지만, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 캡슐, 정제, 수성 현탁액 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사 용액의 형태로 제형화되어 사용될 수 있다.

본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 약학적으로 허용되는 담체는 경구 투여 시에는 결합제, 활택제, 붕해제, 부형제, 가용화제, 분산제, 안정화제, 현탁화제, 색소, 향료 등이 사용될 수 있으며, 주사제의 경우에는 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장제, 안정화제 등이 혼합되어 사용될 수 있으며, 국소투여용의 경우에는 기제, 부형제, 윤활제, 보존제 등이 사용될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물의 제형은 상술한 바와 같은 약제학적으로 허용되는 담체와 혼합하여 다양하게 제조될 수 있다. 예를 들어, 경구 투여시에는 정제, 트로키, 캡슐, 엘릭서(Elixir), 서스펜션, 시럽, 웨이퍼 등의 형태로 제조할 수 있으며, 주사제의 경우에는 단위 투약 앰플 또는 다수회 투약 형태로 제조할 수 있다. 기타, 용액, 현탁액, 정제, 캡슐, 서방형 제제 등으로 제형화될 수 있다.

[0029] 본 발명의 상기 제제화에 적합한 담체, 부형제 및 희석제의 예로는, 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말디톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유 등이 사용될 수 있다. 또한, 충전제, 향 응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제, 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0030] 본 발명의 상기 약학 조성물의 투여 경로는 이들로 한정되는 것은 아니지만 구강, 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 경막내, 심장내, 경피, 피하, 복강내, 비강내, 장관, 국소, 설하 또는 직장이 포함된다. 경구 또는 비경구 투하가 바람직하다.

[0031] 본 발명의 상기 "비경구"란, 피하, 피내, 정맥내, 근육내, 관절내, 활액낭내, 흉골내, 경막내, 병소내 및 두개골내 주사 또는 주입기술을 포함한다. 본 발명의 약학 조성물은 또한 직장 투여를 위한 좌제의 형태로 투여될 수 있다.

[0032] 본 발명의 상기 약학 조성물은 사용된 특정 화합물의 활성, 연령, 체중, 일반적인 건강, 성별, 정직, 투여 시간, 투여 경로, 배출율, 약물 배합 및 예방 또는 치료될 특정 질환의 증증을 포함한 여러 요인에 따라 다양하게 변할 수 있고, 상기 약학 조성물의 투여량은 환자의 상태, 체중, 질병의 정도, 약물 형태, 투여 경로 및 기간에 따라 다르지만 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있고, 1일 0.0001 내지 50mg/kg 또는 0.001 내지 50mg/kg으로 투여할 수 있다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다. 본 발명에 따른 의약 조성물은 환제, 당의정, 캡슐, 액제, 젤, 시럽, 슬러리, 현탁제로 제형화될 수 있다.

[0033] 본 발명의 상기 식품 조성물은 각종 식품류, 예를 들어, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 분말, 과립, 정제, 캡슐, 과자, 떡, 빵 등의 형태로 제조될 수 있다.

[0034] 본 발명의 상기 유효성분이 식품 조성물에 포함될 때 그 양은 전체 중량의 0.1 내지 50%의 비율로 첨가할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0035] 본 발명의 상기 식품 조성물이 음료 형태로 제조되는 경우 지시된 비율로 상기 식품 조성물을 포함하는 것 외에 특별한 제한점은 없으며, 통상의 음료와 같이 다양한 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 구체적으로, 천연 탄수화물로서 포도당 등의 모노사카라이드, 과당 등의 디사카라이드, 슈크로스 등의 및 폴리사카라이드, 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜 등을 포함할 수 있다. 상기 향미제로서는 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등) 등일 수 있다.

[0036] 본 발명의 상기 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등이 더 포함될 수 있다.

[0037] 본 발명의 상기 식품 조성물에 포함되는 성분들은 독립적으로 또는 조합하여 사용될 수 있다. 상기 첨가제의 비율은 본 발명의 핵심적인 요소에 해당하지 아니하지만, 본 발명의 식품 조성물 100 중량부 당 0.1 내지 약 50 중량부의 범위에서 선택될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0039] 본 발명의 다른 구현 예에서는 알레르기성 호흡기 질환 치료제의 스크리닝 방법을 제공한다.

[0040] 본 발명의 상기 정보를 제공하는 방법은 알레르기 호흡기 질환 환자로부터 분리된 생물학적 시료에 목적하는 후보물질을 처리하는 단계; 및 상기 생물학적 시료에서 IL-12 또는 IL-23 단백질, 또는 이를 암호화하는 유전자

(바람직하게는 mRNA)가 존재하는 수준을 확인하는 단계를 포함한다.

- [0041] 본 발명의 상기 스크리닝 방법은 상기 후보물질의 처리 후 상기 생물학적 시료에서 측정된 IL-12 또는 IL-23 단백질, 또는 이를 암호화하는 유전자가 존재하는 수준이 감소하거나, 정상 대조군에서 분리된 생물학적 시료에서 측정된 IL-12 또는 IL-23 단백질, 또는 이를 암호화하는 유전자가 존재하는 수준에 비하여 감소되는 경우, 상기 후보물질을 알레르기성 호흡기 질환 치료제로 선별하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0042] 본 발명의 상기 정상 대조군이란 알레르기성 호흡기 질환 및 이와 관련성이 있는 호흡기 질환이 존재하지 않는 사람을 총칭한다.
- [0043] 본 발명의 상기 생물학적 시료는 알레르기성 호흡기 질환, 바람직하게는 중증 알레르기성 호흡기 질환 개체로부터 얻어지거나 개체로부터 유래된 임의의 물질, 생물학적 체액, 조직 또는 세포를 의미하는 것으로, 예를 들면, 전혈(whole blood), 백혈구(leukocytes), 말초혈액 단핵 세포(peripheral blood mononuclear cells), 백혈구 연층(buffy coat), 혈장(plasma) 및 혈청(serum)을 포함하는 혈액, 객담(sputum), 눈물(tears), 점액(mucus), 세비액(nasal washes), 비강 흡인물(nasal aspirate), 호흡(breath), 소변(urine), 정액(semen), 침(saliva), 복강 세척액(peritoneal washings), 골반 내 유체액(pelvic fluids), 낭종액(cystic fluid), 뇌척수막 액(meningeal fluid), 양수(amniotic fluid), 선액(glandular fluid), 췌장액(pancreatic fluid), 림프액(lymph fluid), 흉수(pleural fluid), 유두 흡인물(nipple aspirate), 기관지 흡인물(bronchial aspirate), 활액(synovial fluid), 관절 흡인물(joint aspirate), 기관 분비물(organ secretions), 세포(cell), 세포 추출물(cell extract) 또는 뇌척수액(cerebrospinal fluid)을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0044] 본 발명의 상기 IL-12 또는 IL-23 단백질; 또는 이를 암호화하는 유전자(바람직하게는 mRNA)가 존재하는 수준은 이를 측정할 수 있는 다양한 제제를 이용하여 측정할 수 있다.
- [0045] 본 발명의 상기 유전자(바람직하게는 mRNA)의 존재하는 수준을 측정할 수 있는 제제는 시료에 포함된 측정 대상이 되는 유전자의 존재하는 수준을 확인하기 위하여, 상기 측정 대상이 되는 유전자 또는 그로부터 전사된 mRNA의 수준을 측정하는 방법에 사용될 수 있는 제제로서, 예를 들면, 측정 대상이 되는 유전자 또는 그로부터 전사된 mRNA에 특이적으로 결합될 수 있는 프라이머 쌍, 안티센스 뉴클레오티드 및 프로브로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0046] 본 발명의 상기 단백질의 존재하는 수준을 측정할 수 있는 제제는 항체 또는 이의 단편, 올리고펩타이드, 리간드, PNA(Peptide nucleic acid) 및 앵타머로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0047] 본 발명의 상기 단백질의 존재하는 수준을 측정할 수 있는 제제를 이용하여, 웨스턴 블롯 분석(Western blot assay), ELISA(Enzyme linked immunosorbent assay), 방사선면역분석(RIA: Radioimmunoassay), 방사 면역 확산법(Radioimmunodiffusion), 오우크테로니(Uchterlony) 면역 확산법, 로켓 면역전기영동(Rocket immunoelectrophoresis), 면역조직화학염색법(Immunohistochemical staining), 면역침전 분석법(Immunoprecipitation Assay), 보체 고정 분석법(Complement Fixation Assay), 면역형광법(Immunofluorescence), 면역크로마토그래피법(Immunochromatography), FACS(Fluorescenceactivated cell sorter analysis) 및 단백질 칩 분석법(Protein chip technology assay) 등의 방법을 통해 알레르기성 호흡기 질환 치료제를 선별하는 데에 사용되는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0048] 본 발명의 상기 PNA(Peptide Nucleic Acid)는 인공적으로 합성된, DNA 또는 RNA와 비슷한 중합체를 가리키며, 1991년 덴마크 코펜하겐 대학교의 Nielsen, Egholm, Berg와 Buchardt 교수에 의해 처음으로 소개되었다. DNA는 인산-리보스당 골격을 갖는데 반해, 상기 PNA는 펩타이드 결합에 의해 연결된 반복된 N-(2-아미노에틸)-글리신 골격을 가지며, 이로 인하여 DNA 또는 RNA에 대한 결합력과 안정성이 크게 증가됨으로써 분자 생물학, 진단 분석 및 안티센스 치료법에 적합하게 사용될 수 있다. PNA는 문헌[Nielsen PE, Egholm M, Berg RH, Buchardt O (December 1991). "Sequence-selective recognition of DNA by strand displacement with a thymine-substituted polyamide". Science 254 (5037): 1497-1500]에 상세하게 개시되어 있다.
- [0049] 본 발명의 상기 유전자(바람직하게는 mRNA) 존재하는 수준을 측정할 수 있는 제제를 이용하여, RT-PCR, 정량 실시간 PCR(quantified real time PCR), 경쟁적 RT-PCR(Competitive RT-PCR), 실시간 RT-PCR(real time quantitative RT-PCR), RNase 보호 분석법(RPA; RNase protection assay), 노던 블롯 분석(Northern blot assay), DNA 칩 분석법 등의 방법을 통해 알레르기성 호흡기 질환 치료제를 선별하는 데에 사용되는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0050] 본 발명의 상기 프라이머는 짧은 자유 3'말단 수산화기(free 3'hydroxyl group)를 가지는 염기 서열로 상보적인 주형 가닥(template)와 염기쌍(base pair)을 형성할 수 있고, 주형 가닥 복사를 위한 시작 지점으로서 기능을 하는 짧은 염기 서열을 의미한다. 상기 프라이머는 적절한 완충 용액 및 온도에서 중합반응(즉, DNA 폴리머레이즈 또는 역전사효소)을 위한 시약 및 상이한 4가지 뉴클레오타이드 트리포스페이트의 존재 하에서 DNA 합성이 개시될 수 있다.
- [0051] 본 발명의 상기 프로브는 상기 유전자와 특이적으로 결합을 이룰 수 있는 염기에 해당하는 RNA 또는 DNA 등의 핵산 단편을 의미하고, 이와 같은 프로브는 특정 유전자와 그로부터 전사되는 mRNA의 존재 유무, 유전자로부터 전사되는 mRNA의 발현 수준(발현량)을 확인할 수 있도록 라벨링되어 있을 수 있다. 상기 프로브는 올리고뉴클레오타이드(Oligonucleotide) 프로브, 단쇄 DNA(Single strand DNA) 프로브, 이중쇄 DNA(Double strand DNA)프로브, RNA 프로브 등의 형태로 제작될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0052] 본 발명의 상기 프라이머 또는 프로브는 서열번호 1 및 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열을 암호화하는 유전자의 염기 서열을 기반으로 하여 통상적인 방법을 참조하여 당업자에 의해 쉽게 제조될 수 있다.
- [0053] 본 발명의 상기 스크리닝 방법에서, IL-12, IL-23, IL-12p35, IL-23p19, 결합 분자, 알레르기성 질환 및 중증 알레르기성 천식 등과 관련된 내용은 상기 조성물에서 기재한 바와 동일하여, 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위해 생략한다.
- [0054] 본 발명의 상기 후보물질은 알레르기성 호흡기 질환을 치료하기 위한 활성, 즉 IL-12 또는 IL-23 단백질에 특이적으로 결합하여 활성을 저해할 수 있거나, 이를 암호화하는 유전자의 발현을 억제할 수 있는 활성이 존재하는지 여부에 대해 테스트하기 위한 약제를 의미하며, 단백질, 올리고 펩타이드, 유기 분자, 다당류, 폴리뉴클레오타이드 및 광범위한 화합물 등의 임의의 분자를 포함한다. 이러한 후보물질은 천연물질뿐만 아니라, 합성 물질도 모두 포함하는 것일 수 있다.
- [0056] [서열목록]
- [0057] 서열번호 1:
- [0058] 10 20 30 40 50
- [0059] MCPARSLLLV ATLVLDDHLS LARNLPVATP DPGMFCLHH SQNLLRAVSN
- [0060] 60 70 80 90 100
- [0061] MLQKARQTL FYPCTSEEID HEDITKDKTS TVEACLPLEL TKNESCLNSR
- [0062] 110 120 130 140 150
- [0063] ETSFITNGSC LASRKTSFMM ALCLSSIYED LKMYQVEFKT MNAKLLMDPK
- [0064] 160 170 180 190 200
- [0065] RQIFLDQNM L AVIDELMQAL NFNSETVPQK SSLEEPDFYK TKIKLCILH
- [0066] 210
- [0067] AFRIRAVTID RVMSYLNAS
- [0069] 서열번호 2:
- [0070] 10 20 30 40 50
- [0071] MLGSRAVMLL LLLPWTAGR AVPGGSSPAW TQCQLSQKL CTLAWSAHPL
- [0072] 60 70 80 90 100
- [0073] VGHMDLREEG DEETTNDVPH IQCGDGC DPQ GLRDNSQFCL QRIHQGLIFY
- [0074] 110 120 130 140 150

[0075] EKLGSDFIT GEPSLLPDSP VGQLHASLLG LSQLLQPEGH HWETQQIPSL

[0076] 160 170 180

[0077] SPSQPWQRL LRFKILRSLQ AFVAVAAARVF AHGAATLSP

발명의 효과

[0078] 본 발명에 따른 약학 조성물은 알레르기성 호흡기 질환, 특히 호중구가 우세한 수로 존재하는 급성 알레르기성 천식에 작용하여 IL-12 및 IL-23이 존재하는 수준을 현저하게 감소시키고, 폐 조직의 섬유화와 면역 세포의 침윤을 억제함으로써 일반적인 치료제의 효과가 발휘되지 않는 질환에도 매우 유용하게 사용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0079] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 호중구(Neutrophil) 우세 중증 알레르기 천식 동물 모델의 제작을 위한 과정을 모식도로 나타낸 것이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 호산구(Eosinophil) 우세 알레르기 천식 동물 모델의 제작을 위한 과정을 모식도로 나타낸 것이다.

도 3의 A 및 B는 본 발명의 일 실시예에 따른 호중구 모델 및 호산구 모델에 덱사메타손(Dexametasone; Dex)을 투여하고, 호중구 및 호산구의 수를 유세포분석기를 통해 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 4 및 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 호중구 모델에 항-IL-23p19 및 항-IL-12/23p40을 투여하고, IL-12 및 IL-23의 존재하는 수준을 확인한 결과를 나타낸 것이다

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 호산구 모델에 항-IL-23p19 및 항-IL-12/23p40을 투여하고, IL-23의 존재하는 수준을 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 7 및 도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 호중구 모델 및 호산구 모델에 항-IL-23p19 및 항-IL-12/23p40을 투여하고, 호중구 및 호산구의 수를 유세포분석기를 통해 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 9 내지 도 11은 본 발명의 일 실시예에 따른 호중구 모델 및 호산구 모델에 항-IL-23p19 및 항-IL-12/23p40을 투여하고, 사이토카인(IL-5, IL-4 및 IL-17)의 존재 수준 변화를 유세포분석기를 통해 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 12 및 도 13은 본 발명의 일 실시예에 따른 사이토카인 중화 항체에 의한 사이토카인 발현 면역 세포의 분포 변화를 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 14는 본 발명의 일 실시예에 따른 사이토카인 중화 항체에 의한 폐 조직의 변화를 헤미톡실린(Hematoxylin)/에오신(Eosin) 염색을 통해 확인한 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0080] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0082] 실시예

[0084] [준비예 1] 알레르기 천식 동물 모델 제작

[0085] 마우스를 이용하여, 호중구(Neutrophil) 우세 중증 알레르기 천식 동물 모델(이하, '호중구 모델'이라 함)과 호산구(Eosinophil) 우세 경증 알레르기 천식 동물 모델(이하, '호산구 모델'이라 함)을 제작하였다.

[0086] 구체적으로, 호중구 모델의 경우 알려진 주입을 마우스를 마취시킨 뒤, 코를 통해 알러젠을 주입함으로써 폐에 알러젠이 도달할 수 있도록 하는 비강(Intranasal; i.n.)을 통한 감작(Sensitization) 및 유발(Challenge) 단계를 수행하였다. 시작일을 포함하여 0, 1, 2 및 7일차에, 100 μ g의 LPS와 75 μ g의 오브알부민(Ovalbumin; OV

A)을 혼합하여 20 μ l의 볼륨으로 알러젠을 주입하는 과정을 통해 감작을 수행하였다. 그 뒤, 14, 15, 21 및 22일 차에, 50 μ g의 오브알부민을 PBS(Potassium phosphate buffer)와 혼합하여 20 μ l의 볼륨으로 알러젠을 주입하는 과정을 통해 유발을 수행하였다(도 1 참고).

[0087] 한편, 호산구 모델의 경우 복강(Intraperitoneal; i.p.)을 통해 시작일을 포함하는 0 및 11일차에 100 μ g의 알룸(Alum)과 75 μ g의 오브알부민을 혼합하여 20 μ l의 볼륨으로 알러젠을 주입하여 감작을 수행하였고, 21, 22, 23일 차에 50 μ g의 오브알부민을 PBS와 혼합하여 20 μ l의 볼륨으로 알러젠을 주입하고, 25일 차에는 100 μ g의 오브알부민을 PBS와 혼합하여 20 μ l의 볼륨으로 알러젠을 주입하는 과정을 통해 유발을 수행하였다(도 2 참고).

[0088] 여기서, 대조군으로 각각 감작 또는 유발 과정에서 알러젠을 대신하여 PBS를 동일한 볼륨으로 주입하였다.

[실시예 1] 동물 모델 검증

[0091] 유발단계에서 알러젠 주입 1시간 전에, 상기 준비예 1에서 제작된 호중구 모델과 호산구 모델에 일반적으로 천식 치료에 사용되는 덱사메타손(Dexametasone; Dex)을 복강 내 투여하였다. 그런 다음, 마지막 유발일로부터 2일간 추가로 사육한 뒤, 기관지폐포세척액(BAL Fluid)을 수득하였다. 상기 기관지폐포세척액을 PBS를 1회 세척한 뒤, 형광물질이 결합된 CD3, CD4 및 CCR3 항체와 혼합하고, 4℃에서 1시간 동안 반응시킨 뒤에 유세포분석기를 사용하여 폐 세포에 존재하는 면역 세포의 종류에 따른 개수를 분석하고, 그 결과를 도 3의 A 및 B에 나타내었다. 여기서, 대조군으로 덱사메타손을 대신하여 동일한 방법으로 PBS를 복강 내 투여하였다.

[0092] 도 3의 A 및 B에서 보는 바와 같이, 호중구의 수가 호산구 모델에서 증가되지 않는 반면(도 3의 A의 EDA-Alum+OVA/OVA), 호중구 모델에서는 약 30,000 수만큼 존재하는 것을 확인하였다(도 3의 A의 NDA-LPS+OVA/OVA). 나아가, 덱사메타손을 처리하였을 때, 호중구 모델에서는 증가된 호중구의 수가 감소되지 않는 반면(도 3의 A의 NDA-LPS+OVA/OVA+Dex), 호산구 모델에서는 증가된 호산구의 수가 감소되는 것을 확인하였다(도 3의 B의 EDA-Alum+OVA/OVA+Dex).

[0093] 상기 결과를 통해, 일반적으로 사용되는 천식 치료제로 호산구의 양이 현저하게 감소될 수 있는 호산구 모델과 달리, 본 발명에 따른 호중구 모델의 경우 호중구가 증가되어 있으며, 일반적인 천식 치료제를 이용하여 치료될 수 없는 중증 알레르기 천식을 표방할 수 있음을 알 수 있다.

[실시예 2] 사이토카인(Cytokine) 중화 항체를 이용한 호중구 및 호산구 수치 감소 확인

[0096] 14, 15, 21 및 22일 차에 유발 단계의 알러젠 주입 1시간 전에 400 μ g의 사이토카인 중화 항체인 항-IL-23p19 및 항-IL-12/23p40을 상기 준비예 1에서 제작한 호중구 모델에 복강 내 주사를 통해 주입하였다. 그런 다음, 마지막 유발일로부터 2일간 추가로 사육한 뒤, 기관지폐포세척액을 수득하여, 폐로 침윤되는 호중구 및 호산구의 수와, IL-12 및 IL-23이 존재하는 수준을 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 측정하여, 그 결과를 도 4 내지 도 8에 나타내었다. 여기서, 대조군으로 중화 항체를 대신하여 IgG 항체를 동일한 방법으로 주입하였다.

[0097] 도 4 및 도 5에서 보는 바와 같이, 호중구 모델에 항-IL-23p19(LPS+OVA/OVA+IL-23p19) 또는 항-IL-12/23p40(LPS+OVA/OVA+IL-12/23p40)이 주입되었을 때, 대조군(LPS+OVA/OVA+Isotype control)에 비하여 IL-12 및 IL-23이 마우스의 혈액 내에 존재하는 수준이 감소된 것을 확인하였다. 또한, 도 6에서 보는 바와 같이, 호산구 모델에 항-IL-23p19(Alum+OVA/OVA+IL-23p19) 또는 항-IL-12/23p40(Alum+OVA/OVA+IL-12/23p40)이 주입되었을 때, 대조군에 비하여 IL-23이 마우스의 혈액 내에 존재하는 수준이 감소된 것을 확인하였다.

[0098] 도 7 및 도 8에서 보는 바와 같이, 대조군(LPS+OVA/OVA+Isotype control)과 비교하여 호중구 모델에 항-IL-23p19 및 항-IL-12/23p40이 주입되었을 때, 기관지폐포세척액에 존재하는 호중구의 수가 현저하게 감소되었고(도 7의 LPS+OVA/OVA+IL-23p19 및 LPS+OVA/OVA+IL-12/23p40), 나아가 대조군에 비하여, 호산구의 수도 일부 감소된 것을 확인하였다(도 8의 LPS+OVA/OVA+IL-23p19 및 LPS+OVA/OVA+IL-12/23p40).

[0099] 상기 결과를 통해, 본 발명에 따른 항-IL-23p19 및 항-IL-12/23p40은 덱사메타손 등과 같은 기존의 천식 치료제에 의해 치료가 가능한 경증 알레르기성 천식에도 효과적으로 치료가 가능할 뿐만 아니라, 나아가 기존의 천식 치료제를 이용하여 치료가 불가능한 중증 알레르기 천식의 경우에도 IL-12 및 IL-23이 혈액 내 존재하는 수준을 낮추고 호중구의 개수를 현저하게 감소시켜 치료 효과가 발휘되도록 할 수 있음을 알 수 있다.

[0101] **[실시예 3] 사이토카인 중화 항체에 의한 다양한 사이토카인의 존재 수준 변화 확인**

[0102] 상기 실시예 2와 동일한 방법으로 호중구 모델에 사이토카인 중화 항체를 투입하고, 중증 알레르기 천식을 일으키는 사이토카인의 존재하는 수준을 확인하여, 그 결과를 도 9 내지 도 11에 나타내었다.

[0103] 도 9 내지 도 11에서 보는 바와 같이, 대조군(LPS+OVA/OVA+Isotype control)과 비교하여 제2형 도움 T 세포(Type 2 helper T cell)로부터 유래된 IL-4 및 IL-5의 존재하는 수준과, 제17형 도움 T 세포(Type 17 helper T cell)로부터 유래된 IL-17의 존재하는 수준이 항-IL-23p19 및 항-IL-12/23p40이 투여되었을 때, 현저하게 감소되는 것을 확인하였다(도 8 내지 도 10의 LPS+OVA/OVA+IL-23p19 및 LPS+OVA/OVA+IL-12/23p40).

[0104] 상기 결과를 통해, 본 발명에 따른 항-IL-23p19 및 항-IL-12/23p40은 IL-4, IL-5 및 IL-17 등의 사이토카인의 존재하는 수준을 현저하게 감소시킴으로써, 알레르기성 천식을 치료할 수 있고, 특히 기존의 치료제로서 치료가 불가능한 중증 알레르기 천식을 예방 또는 치료할 수 있음을 알 수 있다.

[0106] **[실시예 4] 사이토카인 중화 항체에 의한 사이토카인 발현 면역 세포 분포 변화 확인**

[0107] 상기 실시예 2와 동일한 방법으로 호중구 모델에 사이토카인 중화항체를 투입하고, 마지막 유발일로부터 2일간 추가로 사육한 뒤 상기 호중구 모델로부터 폐 조직을 적출하였다. 상기 적출된 폐 조직으로부터 단일세포를 분리한 뒤에 상기 실시예 2와 동일한 방법으로 유세포 분석을 통해 $CD4^+IL-17A^+$ 세포와 $CD4^+IFN-\gamma^+$ 세포의 수를 측정하여, 그 결과를 도 12 및 도 13에 나타내었다.

[0108] 도 12 및 도 13에서 보는 바와 같이, 대조군(LPS+OVA/OVA+Isotype control)과 비교하여 항-IL-23p19 및 항-IL-12/23p40이 투여되었을 때, $CD4^+IL-17A^+$ 세포 및 $CD4^+IFN-\gamma^+$ 세포의 수 모두 감소되는 것을 확인하였다(도 12 및 도 13의 LPS+OVA/OVA+IL-23p19 및 LPS+OVA/OVA+IL-12/23p40).

[0109] 상기 결과를 통해, 본 발명에 따른 항-IL-23p19 및 항-IL-12/23p40은 중증 알레르기 천식을 유도하는 사이토카인을 발현하는 면역 세포 분포를 현저하게 감소시킴으로써, 알레르기성 천식을 치료할 수 있고, 특히 기존의 치료제로서 치료가 불가능한 중증 알레르기 천식을 치료할 수 있음을 알 수 있다.

[0111] **[실시예 5] 사이토카인 중화 항체에 의한 폐 조직 변화 확인**

[0112] 상기 실시예 4에서와 같이 호중구 모델로부터 적출된 폐 조직에 폐 섬유화 및 면역 세포의 침윤(Infiltration)이 일어나는지 확인하였다. 상기 적출된 폐 조직을 에탄올과 드라이아이스를 이용하여 동결포매시키고 -20°C 에서, 크라이오스탯을 이용하여 $4\mu\text{m}$ 의 두께로 커팅한 뒤, 4% 파라포름알데히드로 고정시켜 동결절편 조직을 얻었다. 동결절편 조직의 세포 핵을 헤미록실린(Hematoxylin, Sigma 사; 미국)을 이용하여 염색하고, 세포질을 에오신(Eosin, Sigam 사; 미국)을 이용하여 염색한 후, 현미경을 이용하여 조직을 관찰하고, 그 결과를 도 14에 나타내었다.

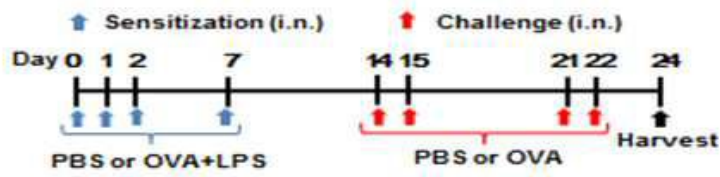
[0113] 도 14에서 보는 바와 같이, 대조군(LPS+OVA/OVA+Isotype control)에서는 폐 조직의 전반적 부분에서 섬유화(Fibrosis)가 유도되어 있었고, 세기관지(Bronchiole) 및 세기관지 관(Bronchiole duct)에 면역 세포가 과도하게 침윤되어 있는 것을 확인하였다. 그러나, 대조군과 비교하여 항-IL-23p19 및 항-IL-12/23p40이 투여된 경우, 폐 조직의 섬유화, 면역 세포의 침윤 및 이상 증식(Hyperplasia)이 현저하게 감소된 것을 확인하였다(도 13의 LPS+OVA/OVA+IL-23p19 및 LPS+OVA/OVA+IL-12/23p40).

[0114] 상기 결과를 통해, 본 발명에 따른 항-IL-23p19 및 항-IL-12/23p40은 중증 알레르기 천식에서 발견되는 폐 조직의 섬유화, 면역 세포가 세기관지로 침윤되는 현상 및 이상 증식 등의 현상이 완화될 수 있도록 함으로써, 알레르기성 천식을 치료할 수 있고, 특히 기존의 치료제로서 치료가 불가능한 중증 알레르기 천식을 치료할 수 있음을 알 수 있다.

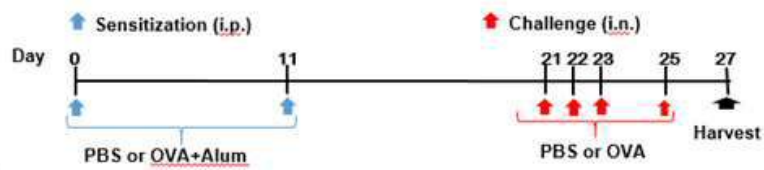
[0116] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

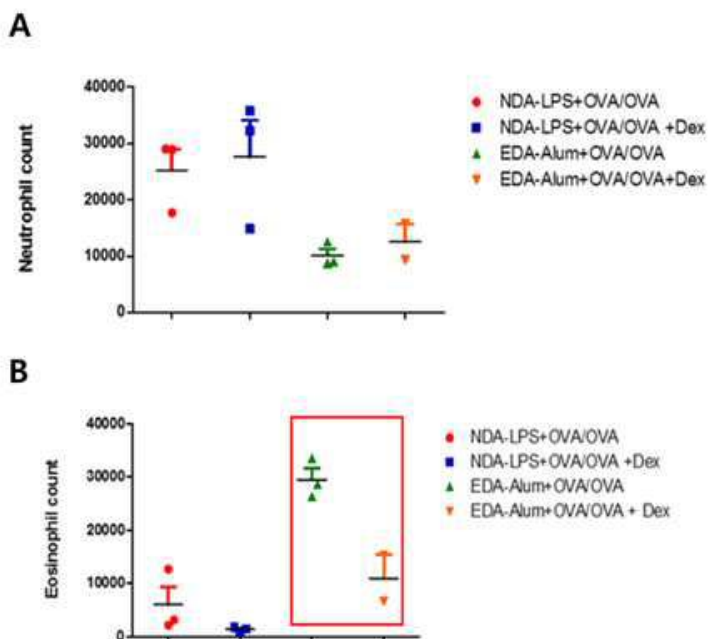
도면1



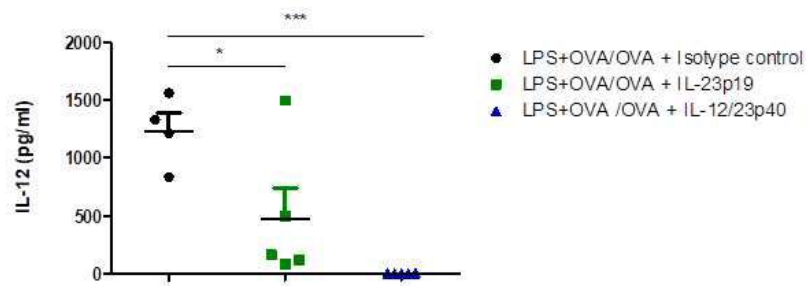
도면2



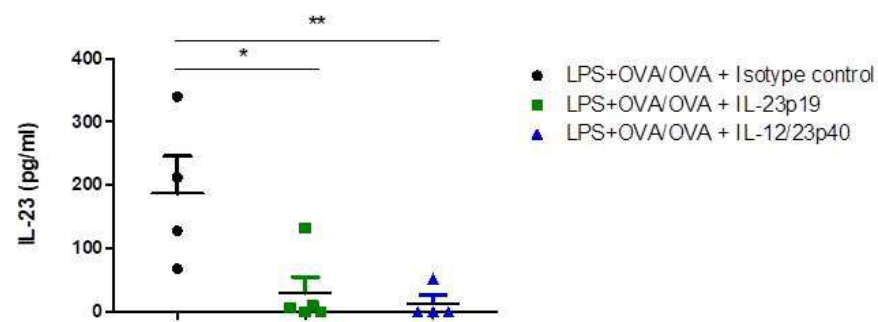
도면3



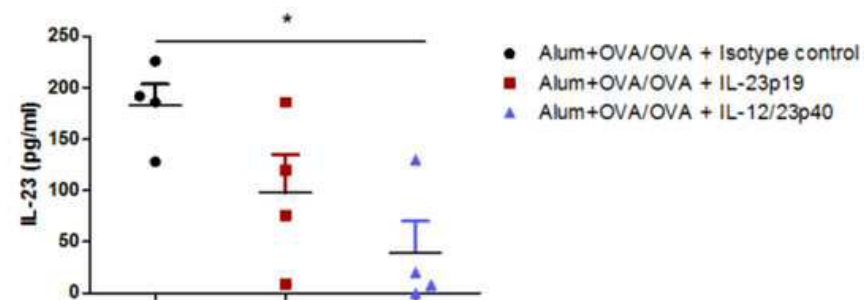
도면4



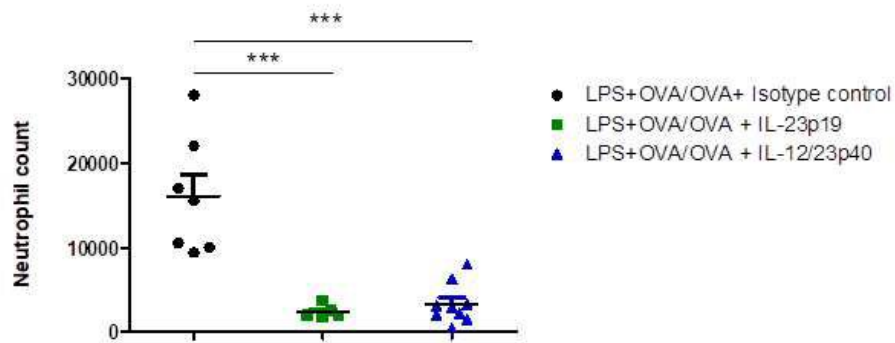
도면5



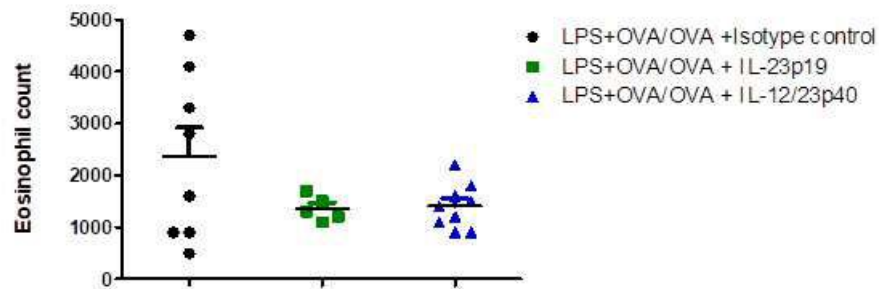
도면6



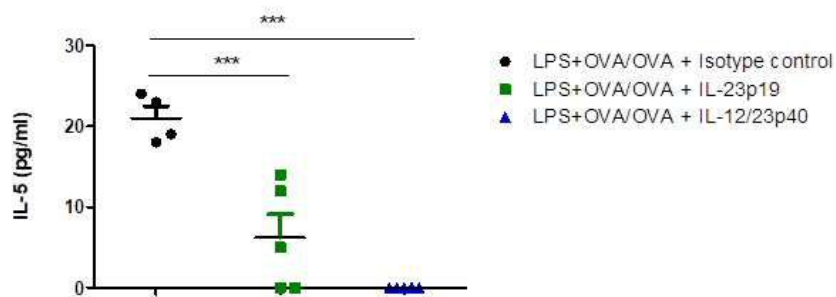
도면7



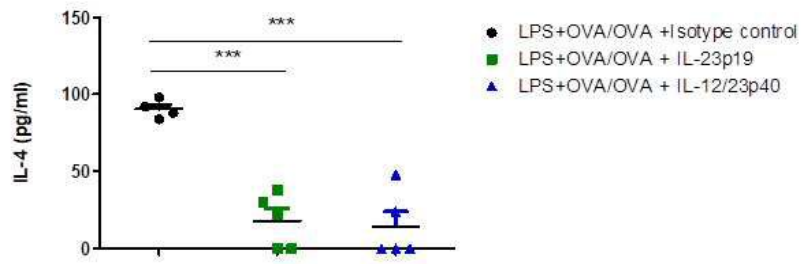
도면8



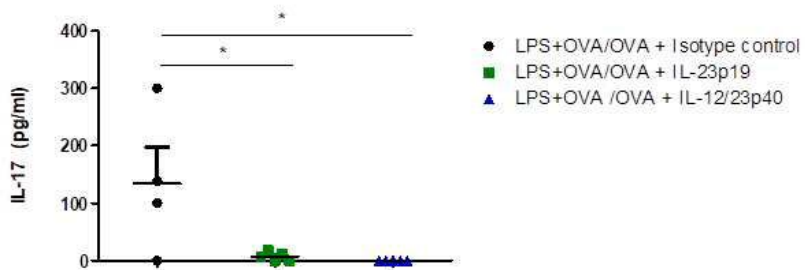
도면9



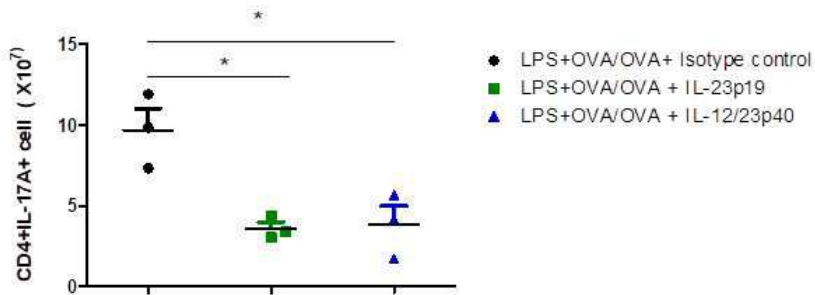
도면10



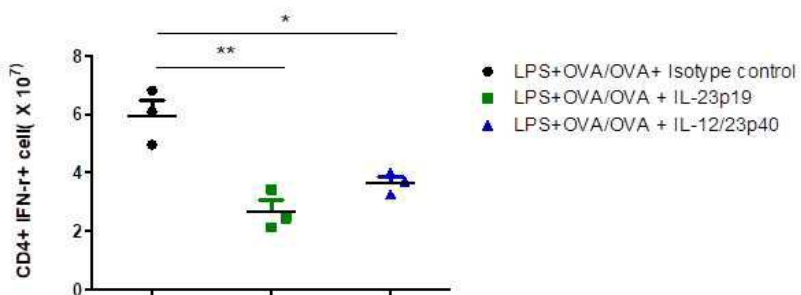
도면11



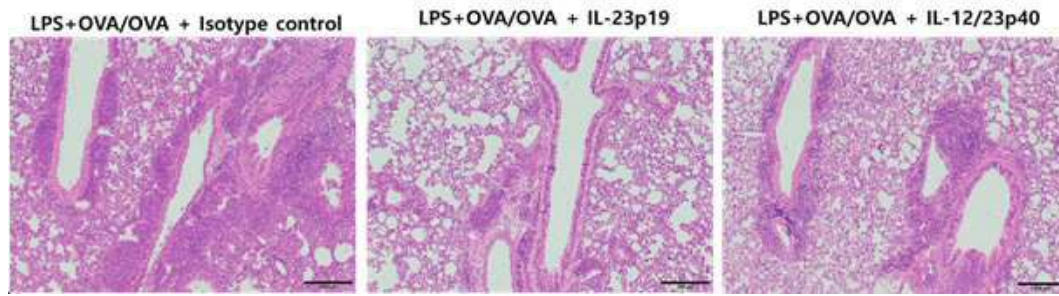
도면12



도면13



도면14



서열 목록

- <110> Industry-Academic Cooperation Foundation, Yonsei University
- <120> An pharmaceutical composition of preventing or treating for respiratory disease
- <130> PDPB192022
- <160> 2
- <170> KoPatent In 3.0
- <210> 1
- <211> 219
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <400> 1

Met Cys Pro Ala Arg Ser Leu Leu Leu Val Ala Thr Leu Val Leu Leu

1 5 10 15

Asp His Leu Ser Leu Ala Arg Asn Leu Pro Val Ala Thr Pro Asp Pro

20 25 30

Gly Met Phe Pro Cys Leu His His Ser Gln Asn Leu Leu Arg Ala Val

35 40 45

Ser Asn Met Leu Gln Lys Ala Arg Gln Thr Leu Glu Phe Tyr Pro Cys

50 55 60

Thr Ser Glu Glu Ile Asp His Glu Asp Ile Thr Lys Asp Lys Thr Ser

65 70 75 80

Thr Val Glu Ala Cys Leu Pro Leu Glu Leu Thr Lys Asn Glu Ser Cys

85 90 95

Leu Asn Ser Arg Glu Thr Ser Phe Ile Thr Asn Gly Ser Cys Leu Ala

100 105 110

Ser Arg Lys Thr Ser Phe Met Met Ala Leu Cys Leu Ser Ser Ile Tyr
115 120 125

Glu Asp Leu Lys Met Tyr Gln Val Glu Phe Lys Thr Met Asn Ala Lys
130 135 140

Leu Leu Met Asp Pro Lys Arg Gln Ile Phe Leu Asp Gln Asn Met Leu
145 150 155 160

Ala Val Ile Asp Glu Leu Met Gln Ala Leu Asn Phe Asn Ser Glu Thr
165 170 175

Val Pro Gln Lys Ser Ser Leu Glu Glu Pro Asp Phe Tyr Lys Thr Lys
180 185 190

Ile Lys Leu Cys Ile Leu Leu His Ala Phe Arg Ile Arg Ala Val Thr
195 200 205

Ile Asp Arg Val Met Ser Tyr Leu Asn Ala Ser
210 215

<210> 2

<211> 189

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Leu Gly Ser Arg Ala Val Met Leu Leu Leu Leu Leu Pro Trp Thr
1 5 10 15

Ala Gln Gly Arg Ala Val Pro Gly Gly Ser Ser Pro Ala Trp Thr Gln
20 25 30

Cys Gln Gln Leu Ser Gln Lys Leu Cys Thr Leu Ala Trp Ser Ala His
35 40 45

Pro Leu Val Gly His Met Asp Leu Arg Glu Glu Gly Asp Glu Glu Thr
50 55 60

Thr Asn Asp Val Pro His Ile Gln Cys Gly Asp Gly Cys Asp Pro Gln
65 70 75 80

Gly Leu Arg Asp Asn Ser Gln Phe Cys Leu Gln Arg Ile His Gln Gly
85 90 95

Leu Ile Phe Tyr Glu Lys Leu Leu Gly Ser Asp Ile Phe Thr Gly Glu

100	105	110	
Pro Ser Leu Leu Pro Asp Ser Pro Val Gly Gln Leu His Ala Ser Leu			
115	120	125	
Leu Gly Leu Ser Gln Leu Leu Gln Pro Glu Gly His His Trp Glu Thr			
130	135	140	
Gln Gln Ile Pro Ser Leu Ser Pro Ser Gln Pro Trp Gln Arg Leu Leu			
145	150	155	160
Leu Arg Phe Lys Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Val Ala Val Ala			
165	170	175	
Ala Arg Val Phe Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Ser Pro			
180	185		