



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호

10-2017-0099171

(43) 공개일자

2017년08월31일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23L 1/30 (2006.01) A23C 9/13 (2006.01)

A23C 9/152 (2006.01) A23L 19/00 (2016.01)

A61K 31/702 (2006.01) A61K 36/752 (2006.01)

C08B 37/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A23L 33/105 (2016.08)

A23C 9/13 (2013.01)

(21) 출원번호

10-2016-0021198

(22) 출원일자

2016년02월23일

심사청구일자

2016년02월23일

(71) 출원인

학교법인연세대학교

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동)

(72) 발명자

장동훈

충청남도 아산시 배방읍 북수로 116, 108동 1402호 (배방자이2차아파트)

유원규

충청남도 천안시 서북구 공원로 195, 101동 704호 (불당동, 펜타포트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인 하나

전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 **한라봉 과피 유래의 람노갈락투로난을 유효성분으로 포함하는 면역 증진용 조성물**

(57) 요약

본 발명은 면역 증진용 조성물에 관한 것으로, 한라봉(*C.hybrid Shiranuhi*) 과피에서 유래한 람노갈락투로난(Rhamnogalacturonan)을 유효성분으로 포함하는 면역 증진용 조성물에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

A23C 9/152 (2013.01)

A23L 19/07 (2016.08)

A61K 31/702 (2013.01)

A61K 36/752 (2013.01)

C08B 37/0045 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/324 (2013.01)

(72) 발명자

유혜지

서울특별시 은평구 갈현로29길 61, 103호 (갈현동,
라이프시티아파트)

이중호

서울특별시 용산구 대사관로11길 8-7 (한남동)

명세서

청구범위

청구항 1

한라봉(*C.hybrid Shiranuhi*) 과피에서 유래한 람노갈락투로난(Rhamnogalacturonan)을 유효성분으로 포함하는 면역 증진용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

IL-12, 및 IFN- γ 의 분비를 증가시키는 면역 증진용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

자연살해세포(NK cell)의 활성을 증가시키는 면역 증진용 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 면역 증진용 조성물을 포함하는 건강기능식품.

청구항 5

제4항에 있어서,

우유, 전유(whole milk), 탈지유(skim milk), 저지방 우유, 탈지 액상 우유, 및 요거트로 이루어진 군에서 선택된 건강기능식품.

청구항 6

제4항에 있어서,

정제, 과립, 분말, 캡셀, 액상의 용액 및 환으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조된 건강기능식품.

청구항 7

제4항에 있어서,

상기 면역 증진용 조성물은 식품 전체 중량 대비 1.0 내지 10.0 중량% 포함된 건강기능식품.

청구항 8

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 면역 증진용 조성물을 포함하는 면역계 질환 치료용 약학적 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 면역계 질환이 다발경화증(multiple sclerosis), 중증근무력증(myasthenia gravis), 길랭바레증후군(Guillain-Barre), 자가면역 포도막염(autoimmune uveitis), 자가면역 용혈빈혈(autoimmune hemolytic anemia), 악성빈혈(pernicious anemia), 자가면역 저혈소판증(autoimmune thrombocytopenia), 측두동맥염(temporal arteritis), 항인지질증후군(anti-phospholipid syndrome), 베게너육아종증(Wegener's granulomatosis)과 같은 혈관염(vasculitides), 베체트병(Behcet's disease), 건선(psoriasis), 포진성 피부염(dermatitis herpetiformis), 심상성 천포창(pemphigus vulgaris), 백반증(vitiligo), 크론병(Crohn's disease), 궤양성 대장염(ulcerative colitis), 원발성 담즙성 경화(primary biliary cirrhosis), 자가면역 간염(autoimmune hepatitis), 제1형 또는 면역매개 당뇨병(Type 1 or immune-mediated diabetes mellitus), 그레이브스병(Grave's disease), 하시모토 갑상선염(Hashimoto's thyroiditis), 자가면역성 난소염 및 고환염(autoimmune oophoritis and orchitis), 부신의 자가면역 질환(autoimmune disorder of the adrenal gland), 류마티스관절염(rheumatoid arthritis), 전신홍반루푸스(systemic lupus erythematosus), 경피증(scleroderma), 다발성근염(polymyositis), 피부근육염(dermatomyositis), 강직 척추염(ankylosing spondylitis), 및 쇼그렌증후군(Sjogren's syndrome)으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 면역계 질환 치료용 약학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 한라봉 과피 유래의 람노갈락투로난을 유효성분으로 포함하는 면역 증진용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 최근 생활수준이 높아지고 식생활이 서구화되면서 영양과잉, 운동부족 등으로 인한 비만, 당뇨, 고혈압 및 심장병 등과 같은 성인병 발병률이 증가하고 있다. 또한 평균수명 연장으로 인하여 인구가 점차 노령화되면서 건강에 대한 관심이 점차 높아지고 있다.

[0003] 건강증진(health promotion)은 질병, 특히 만성 퇴행성질환이나 감염증, 계속되는 스트레스에 대한 저항력의 증가, 일상의 활동력의 증대를 피하는 것으로 이를 위해서는 영양의 개선, 면역기능 강화, 적절한 운동 과 휴식, 정신적 활동의 지속 등 생활양식 전반에 미치는 관리가 요구된다. 특히, 높은 면역력은 질병을 억제하고, 질병에 의한 회복을 촉진할 수 있다.

[0004] 즉, 면역력은 인간의 건강 및 수명과 직접적으로 관련되어 있으므로 건강을 유지하고 수명을 연장하기 위해 면역력의 관리가 필수적으로 요구된다.

[0005] 면역(Immune)은 인간 및 동물의 체내에서 외래성 및 내인성 이물질을 생리적으로 인식하여 배제하고, 항상성을 유지하기 위한 일련의 기작을 일컫는다. 여기서 이물질은 항원(antigen)으로 작용하며 이를 제거하는 과정에서 수많은 종류의 백혈구 세포와 단백질이 관여할 수 있다. 면역은 크게 태어날 때부터 지니고 있는 선천면역과 후천적으로 생활 등에 적응되어 얻어지는 획득면역으로 구분된다.

[0006] 선천면역(innate immunity)은 자연면역, 자연저항이라고도 한다. 항원에 대해 비특이적으로 반응하며 특별한 기억작용은 없다. 선천적인 면역체계로는 항원의 침입을 차단하는 피부·점액조직, 상산성의 위산, 혈액에 존재하는 보체(complement) 등이 있다. 세포로는 식균작용을 담당하는 대식세포(macrophage)와 다형핵 백혈구(polymorphonuclear leukocyte), 감염세포를 죽일 수 있는 자연살해세포 등이 있다. 또한 대식세포에 의해 생산되는 사이토카인(cytokine)이 있다. 실제로 대부분의 감염은 이 선천면역에 의해 방어된다.

[0007] 획득면역(acquired immunity)은 선천면역을 보강하는 역할을 하며 후천면역, 적응면역(adaptive immunity)으로도 호칭된다. 항원이 체내에 침입하면 림프구에 의한 면역반응이 일어나 항원에 대한 강한 저항성이 기억되어 다시 항원이 침입할 때 특이적으로 반응하여 효과적으로 항원을 제거할 수 있다. 상기 림프구(lymphocytes)는 척추동물 및 포유류에서 면역 반응을 맡고 있는 백혈구 가운데 하나로 전체 백혈구 중 약 25% 정도를 차지하고 있으며, 흉선(thymus)에서 성숙되고 변형되어 면역항체를 보유하고 있어서 항원이 체내에 침입하면 그 항원 이

몸 안에서 해로운 반응을 하지 못하도록 인체의 면역반응에 일차적으로 반응하는 세포이다.

- [0008] 상기 획득면역에는 세포성 면역(cellular immunity)을 담당하는 T세포와 체액성 면역(humoral immunity)을 담당하는 B세포가 관여할 수 있다. T세포는 가슴샘의 상피세포에서 특수한 내부 환경과 흉선의 액성인자에 의해 림프구로 분화하는 세포로서, B세포의 항체생산을 자극하고 종양 세포 등의 항원을 직접 공격할 수 있다. B세포는 가슴샘과는 독립되어 골수에서 림프구로 분화하는 세포로, 항원자극 및 T세포를 매개로 한 자극에 따라 항체 생산세포로 성숙하여 IgM, IgG, IgA, IgE의 항체를 생산하고 분비할 수 있다.
- [0009] 한편, 감귤의 과피는 항산화, 소염, 항암활성 등의 생리활성이 뛰어난 플라보노이드의 일종인 플라바논(flavanone) 화합물인 나린진 및 헤스페리딘을 함유하는 것으로 알려져 있다. 상기 플라보노이드 화합물은 대부분 나린진 및 헤스페리딘 등의 배당체의 형태로 존재하며, 상기 배당체는 글루코오스(glucose), 아라비노오스(arabinose), 갈락토오스(galactose), 람노오스(rhamnose), 자일로오스(xylose) 등으로 구성되고, 플라보노이드와 α -1,4 또는 β -1,4 결합할 수 있다.
- [0010] 상기 배당체 형태의 플라보노이드는 소장 또는 대장에 존재하는 미생물이 분비하는 효소에 의해 분해되어 체내에 흡수될 수 있으며, 주로 배당체에 비해 비배당체가 혈액 내로의 흡수 생리활성 면에서 보다 효과적인 것으로 보고 되었다.
- [0011] 따라서, 최근 효소 처리를 통해 활성형의 비배당체 형태의 플라보노이드 화합물을 생산하려는 시도가 이루어지고 있으며, 예컨대 당 분해 효소를 생산하는 장내 미생물을 이용하여 푸에라린(puerarin)을 다이드제인(daidzein)으로, 폰시린(poncirin)을 폰시레틴(ponciretin)으로, 진세노사이드(ginsenoside) Rb1 및 Rb2를 compound K 등의 보다 생리활성이 증강된 유효성분으로 전환하고자 하였다.
- [0012] 이와 같이 최근 감귤류가 보유한 생리활성, 특히 우수한 면역 증진 효과에 대한 관심이 증대하고 있으며, 본 발명자들은 종래에 알려지지 않은 한라봉 과피에서 분리한 람노갈락투로난의 뛰어난 생리활성을 규명하고 이를 식품 또는 의약품 개발에 적용하고자 하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0013] 본 발명은 한라봉 과피에서 유래한 람노갈락투로난의 식품학적 또는 의학적인 용도를 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0014] 본 발명의 일 측면은 한라봉(*C.hybrid Shiranuhi*) 과피에서 유래한 람노갈락투로난(Rhamnogalacturonan)을 유효성분으로 포함하는 면역 증진용 조성물을 제공한다.
- [0015] 일 실시예에 있어서, 상기 면역 증진용 조성물은 IL-12, 및 IFN- γ 의 분비를 증가시킬 수 있다.
- [0016] 일 실시예에 있어서, 상기 면역 증진용 조성물은 자연살해세포(NK cell)의 활성을 증가시킬 수 있다.
- [0017] 본 발명의 다른 측면은 상기 면역 증진용 조성물을 포함하는 건강기능식품을 제공한다.
- [0018] 일 실시예에 있어서, 상기 건강기능식품은 우유, 전유(whole milk), 탈지유(skim milk), 저지방 우유, 탈지 액상 우유, 및 요거트로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.
- [0019] 일 실시예에 있어서, 상기 건강기능식품은 정제, 과립, 분말, 캡슐, 액상의 용액 및 환으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 제형일 수 있다.
- [0020] 일 실시예에 있어서, 상기 면역 증진용 조성물은 식품 전체 중량 대비 1.0 내지 10.0 중량%가 포함될 수 있다.
- [0021] 본 발명의 다른 측면은 상기 면역 증진용 조성물을 포함하는 면역계 질환 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0022] 일 실시예에 있어서, 상기 면역계 질환이 다발경화증(multiple sclerosis), 중증근무력증(myasthenia gravis), 길랭바레증후군(Guillain-Barre), 자가면역 포도막염(autoimmune uveitis), 자가면역 용혈빈혈(autoimmune hemolytic anemia), 악성빈혈(pernicious anemia), 자가면역 저혈소판증(autoimmune thrombocytopenia), 측두동맥염(temporal arteritis), 항인지질증후군(anti-phospholipid syndrome), 베게너육아종증(Wegener's granulomatosis)과 같은 혈관염(vasculitides), 베체트병(Behcet's disease), 건선(psoriasis), 포진성 피부염

(dermatitis herpetiformis), 심상성 천포창(pemphigus vulgaris), 백반증(vitiligo), 크론병(Crohn's disease), 궤양성 대장염(ulcerative colitis), 원발성 담즙성 경화(primary biliary cirrhosis), 자가면역 간염(autoimmune hepatitis), 제1형 또는 면역매개 당뇨병(Type 1 or immune-mediated diabetes mellitus), 그레이브스병(Grave's disease), 하시모토 갑상선염(Hashimoto's thyroiditis), 자가면역성 난소염 및 고환염(autoimmune oophoritis and orchitis), 부신의 자가면역 질환(autoimmune disorder of the adrenal gland), 류마티스관절염(rheumatoid arthritis), 전신홍반루푸스(systemic lupus erythematosus), 경피증(scleroderma), 다발성근염(polymyositis), 피부근육염(dermatomyositis), 강직 척추염(ankylosing spondylitis), 및 쇼그렌증후군(Sjogren's syndrome)으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있다.

발명의 효과

- [0023] 본 발명에 따르면, 상기 면역 증진용 조성물은 한라봉 과피 유래의 람노갈락투로난을 유효성분으로 포함하므로 면역 증진 및 항염 활성이 우수하며, 식품 또는 의약품 개발에 유용하게 활용할 수 있다.
- [0024] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 상세한 설명 또는 특허청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0025] 본 명세서에서 사용되는 용어는 본 발명에서의 기능을 고려하면서 가능한 현재 널리 사용되는 일반적인 용어들을 선택하였으나, 이는 당 분야에 종사하는 기술자의 의도 또는 관례, 새로운 기술의 출현 등에 따라 달라질 수 있다. 또한, 특정한 경우는 출원인이 임의로 선정한 용어도 있으며, 이 경우 해당되는 발명의 설명 부분에서 상세히 그 의미를 기재할 것이다. 따라서 본 발명에서 사용되는 용어는 단순한 용어의 명칭이 아닌, 그 용어가 가지는 의미와 본 발명의 전반에 걸친 내용을 토대로 정의되어야 한다.
- [0026] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.
- [0027] 수치 범위는 상기 범위에 정의된 수치를 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최대의 수치 제한은 낮은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼 모든 더 낮은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최소의 수치 제한은 더 높은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼 모든 더 높은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 수치 제한은 더 좁은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼, 더 넓은 수치 범위 내의 더 좋은 모든 수치 범위를 포함할 것이다.
- [0028] 이하, 본 발명의 실시예를 상세히 기술하나, 하기 실시예에 의해 본 발명이 한정되지 아니함은 자명하다.
- [0030] 본 발명의 일 측면은 한라봉(*C.hybrid Shiranuhi*) 과피에서 유래한 람노갈락투로난(Rhamnogalacturonan)을 유효성분으로 포함하는 면역 증진용 조성물을 제공한다.
- [0031] 상기 한라봉(*C.hybrid Shiranuhi*)은 쌍떡잎식물 무환자나무목 운향과 만다린게의 감귤로서, 일본 농림수산성 과수시험장에서 청견(citrus kiyomi)과 ponkan(*C. reticulata*)의 교잡종으로 1990년에 국내에 처음 도입되었으며 1998년에 한라봉으로 명명되었다. 상기 한라봉은 과경부에 흑이 있고 과피는 손으로 쉽게 벗길 수 있으며 속은 과육이 풍부하여 인체에 유용한 유효성분을 다량 포함한다. 특히, 상기 한라봉은 베타카로틴, 카로티노이드를 함유하고 있어 항암, 항산화 및 항고혈압작용에 효능이 있을 뿐만 아니라, 그 외의 다양한 효능에 대한 연구가 진행되고 있다.
- [0032] 상기 감귤류의 이미 알려진 기능성 성분은 저분자의 플라보노이드(flavonoid)류가 있으며, 주로 나린진(naringin), 헤스페리딘(Hesperidin) 및 이들의 비배당체(aglycone)인 나린제닌(naringenin)과 헤스페레틴(hesperetin)의 함량이 높을 뿐만 아니라, 루틴(rutin), 디오스민(diosmine), 노빌레틴(nobiletin), 탄제레틴(tangeretin) 등이 존재한다. 상기 기능성 성분은 항산화 작용, 순환기계 질환의 예방, 항염증, 항알레르기, 항균, 항바이러스, 지질저하 작용, 면역증강 작용, 모세혈관 강화작용 등을 촉진하는 것으로 알려진 바 있다.
- [0033] 또한, 감귤은 저분자의 생리활성 물질로 알려진 플라보노이드 화합물 이외에도 세포벽 구성성분으로 펙틴

(pectin)을 다량 함유하고 있다. 상기 펙틴은 갈락투론산(GalA)이 α -1,4 결합을 통해 중합체를 형성한 호모갈락투로난(HG)의 구조로 알려진 바 있으나, 최근 펙틴류가 상기 호모갈락투로난 구조 이외에도 람노갈락투로난 I(RG I) 및 람노갈락투로난 II(RG II)로 명칭된 새로운 구조의 다당체가 호모갈락투로난과 공유적으로 결합하고 있음이 보고되었다. 상기 람노갈락투로난은 사이토카인 생산자극, 대식세포(macrophage) 활성화, 자연살해세포(NK cell) 자극활성 등과 같은 다양한 생리활성을 보유하는 것으로 알려져 있어 이에 대한 관심이 증대하고 있다.

- [0034] 본 발명자들은 감귤류에 존재하는 람노갈락투로난에 관한 다양한 연구를 수행하였으며, 특히 한라봉 과피에서 분리한 람노갈락투로난의 뛰어난 생리활성을 규명하고 이를 식품 또는 의약품 개발에 적용하고자 하였다. 즉, 상기 면역 증진용 조성물은 한라봉 과피에서 유래한 람노갈락투로난의 우수한 생리활성으로 인해 면역 증진 및 항염 활성이 우수하다.
- [0035] 상기 면역은 생물체 내에서 병원체와 종양 세포 등을 탐지한 후 무력화하여 질병으로부터 생명체를 보호하는 기작을 의미하는 것으로, 상기 면역증진(Immunostimulation)은 암 및 염증 등과 같은 다양한 질환에 대한 신체 방어 기전을 보강하는 일련의 치료학적 또는 예방학적 전략을 모두 포함할 수 있다.
- [0036] 대식세포는 면역반응에서 주요한 역할을 수행할 수 있으며, 대식세포에서의 주요한 역할인 식세포 작용은 미생물 및 기타 발열성 입자들을 흡수하고 또한 종양괴사인자(tumor necrosis factor; TNF)- α , 인터루킨(interleukin; IL)-1 β , IL-12과 같은 다수의 사이토카인, 일산화질소(nitric oxide; NO) 및 반응성 산소종(reactive oxygen species; ROS)과 같은 세포독성 및 염증성 물질을 분비함으로써 면역 반응을 자극할 수 있다(Wolf et al., 1994; Lee and Hong, 2011; Murray and Wynn, 2011).
- [0037] 이 때, 상기 유효 함량은 투여되는 조성물의 종류, 제품의 종류 및 특성, 수요자의 연령 및 성별, 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 투여 기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 식품 또는 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 즉, 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여할 수 있으며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0038] 일 실시예에 있어서, 상기 면역 증진용 조성물은 IL-12, 및 IFN- γ 의 분비를 증가시킬 수 있으며, 자연살해세포(NK cell)의 활성을 증가시킬 수 있다.
- [0039] 상기 IL-12는 자연살해세포 및 Th1 세포에 작용하여 INF- γ 의 생산을 유도하고 세포성 면역의 유도에서 선천적인 자연살해세포 및 T 세포를 항원에 대항해 하는 효과기형(effector form)으로 분화시키는 작용을 하므로 주로 Th1 성향의 세포성 면역계를 활성화할 수 있다. 따라서 대식세포로부터 생산되는 IL-12은 항원에 대항하는 자연 및 획득 면역계의 활성화에 중요한 요소로 작용되는 사이토카인으로 널리 알려져 있다(Dredge K. et al., Cancer Immunol. Immunother. 2002, 51, 521-531, 2002).
- [0040] 상기 인터페론-감마(IFN- γ)는 병원체에 대한 방어기전으로 Th1 세포에서 분비되는 물질로서(Fong et al., J. Immunol., 143: 2887-93, 1989), Th2에 의한 사이토카인의 생산을 저해하는 것으로 알려져 왔다(Mosmann et al., J. Immunol., 136: 2348-57, 1986). 상기 IFN- γ 는 면역시스템의 활성화된 T 세포 및 자연살해세포가 바이러스, 기생충 및 종양세포와 같은 외부물질의 침입에 대응하여 생성하는 천연 단백질이다. IFN- γ 는 바이러스 감염의 중요 지시자인 이중나선 RNA의 존재에 대응하여 Th1 세포, 세포독성 T 세포, 수지상세포 또는 자연살해세포 등에 의해 분비되는 이량체 사이토카인으로서, 타입 II(type II) 인터페론에 속한다.
- [0041] IFN- γ 는 대식세포(macrophage) 활성화로 불릴 만큼 식세포 활성화작용이 강하며, 현재 연구된 바에 의하면 약 30개 정도의 유전자의 전사 변화를 유도하여 다양한 면역 및 세포 반응(대식세포의 항원제시 증가, 대식세포에서 리소좀 활성 증가 및 활성화, Th2 세포 활성 억제, 정상세포에서 클래스 I MHC 분자의 발현증가, 백혈구세포의 이동성 증가 및 자연살해세포 활성의 증가)을 생성하는 것으로 알려져 있다. IFN- γ 는 숙주세포내의 바이러스 복제를 억제하고, 자연살해세포를 활성화시키며, 림프세포에 대한 항원제시를 증가시키고, 숙주세포의 바이러스 감염에 대한 내성을 증가시킴으로써 면역 반응을 돕는다. 항원이 매칭되는 T 세포 및 B 세포에 제시되면 이들 세포들이 증식하여 외부물질을 전략적이고 특이적인 방법으로 제거할 수 있다.
- [0042] 또한, 상기 자연살해세포(NK cell)는 다양한 기전을 통해 암 세포나 바이러스에 감염된 세포를 직접적으로 공격하여 사멸시키는 작용을 하며, 전체 림프구에서 5 내지 10% 비율로 소량 존재하지만 정상 세포에서 돌연변이와 같은 이상이 감지되었을 때 최초로 방어하여 이를 제거하는 중요한 역할을 수행할 수 있다. 또한 상기 자연살해세포는 다른 면역 세포의 기능 조절에도 매우 중요한 역할을 담당하여 선천면역 세포이면서도 획득면역 세포를 자극하여 더 강력한 방어 작용을 할 수 있다. 또한, 자연살해세포는 IFN- γ 와 같은 사이토카인 분비를 통해 획득

득 면역 반응의 발달을 돕는데 중요한 역할을 하며(Stetson, D. B. et al., J Exp Med, 198: 1069-1076, 2003), IFN- γ 가 쥐 사이 토메갈로바이러스(murine cytomegalovirus) 감염에서 항바이러스 활성을 갖는다는 것이 보고된 바 있다. 상기 자연살해세포는 직접적인 선천 방어 및 획득 면역 반응의 형성에 모두 관여하고 있으며, 특히, 마우스 사이토메갈로바이러스(mouse cytomegalovirus, MCMV) 감염의 초기 단계에서 직접 바이러스 감염된 세포를 사멸시키고 IFN- γ 를 생성시킴으로써 조절자 역할을 할 수 있다.

[0044] 한편, 본 발명의 다른 측면은 상기 면역 증진용 조성물을 포함하는 건강기능식품을 제공한다. 상기 건강기능식품은 상기 한라봉 과피에서 유래한 람노갈락투로난을 유효성분으로 포함하므로 면역 증진 효과 및 항염 활성이 우수하다.

[0045] 상기 건강기능식품은 건강기능식품에 관한 법률 제672호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, 상기 기능성은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미할 수 있다.

[0046] 일 실시예에 있어서, 상기 건강기능식품은 우유, 전유(whole milk), 탈지유(skim milk), 저지방 우유, 탈지 액상 우유, 및 요거트로 이루어진 군에서 선택될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 건강기능식품이 유산균과 같이 인체에 이로온 활성균(probiotics)을 함유하는 경우 상기 한라봉 과피에서 유래한 람노갈락투로난과의 상승 작용에 의해 더욱 우수한 면역 증진 및 항염증 효과가 구현될 수 있다.

[0047] 상기 활성균의 가장 흔한 형태는 발효된 유제품 및 프로바이오틱스가 강화된 식품이며, 면역기능 개선, 감염예방, 무기물의 흡수개량, 스트레스로 인한 유해한 세균의 성장 방지, 과민성대장증후군과 결장염 개선 등의 역할을 할 수 있다.

[0048] 또한, 상기 건강기능식품은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 상기 식품 첨가물은 다른 규정이 없는 한 식품의약품 안정청에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 적합성 여부를 판단할 수 있다. 상기 식품 첨가물 공전에 기재된 품목은 예컨대 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류를 들 수 있다.

[0049] 상기 건강기능식품은 면역결핍질환, 세균성 및 바이러스성 감염 질환, 종양 등을 포함하는 면역 관련 질환 예방 또는 개선을 위한 식품 및 음료 등에 다양하게 이용될 수 있으며, 예컨대, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능성 보조 식품, 식품 첨가제 등에 사용될 수 있다.

[0050] 상기 건강기능식품은 면역결핍질환, 세균성 및 바이러스성 감염 질환, 종양 등을 포함하는 면역 관련 질환 예방 또는 개선을 목적으로, 전체 중량 대비 1.0 내지 10.0 중량%의 상기 면역 증진용 조성물을 포함할 수 있다. 이때, 상기 면역 증진용 조성물이 1.0 중량% 미만이면 면역 증진 효과가 충분히 구현되지 않을 수 있고 10.0 중량% 초과이면 제품 본연의 품질이 구현되지 않거나 비용 효율이 저하될 수 있다.

[0051] 또한, 상기 건강기능식품은 면역결핍질환, 세균성 및 바이러스성 감염 질환, 종양 등을 포함하는 면역 관련 질환 예방 또는 개선을 목적으로 정제, 과립, 분말, 캡셀, 액상의 용액 및 환으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조 및 가공될 수 있다.

[0052] 구체적으로 상기 정제 형태의 건강기능식품은 한라봉 과피 유래의 람노갈락투로난, 부형제, 결합제, 붕해제, 및 다른 첨가제와의 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축 성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형하여 제조할 수 있다. 또한, 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수 있으며, 필요에 따라 적당한 제피제로 제피할 수도 있다.

[0053] 상기 캡셀 형태의 건강기능식품 중 경질캡셀제는 통상의 경질캡셀에 한라봉 과피 유래의 람노갈락투로난, 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물 또는 그의 입상물 또는 제피한 입상물을 충전하여 제조할 수 있으며, 연질캡셀제는 한라봉 과피 유래의 람노갈락투로난, 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물을 젤라틴 등 캡셀기체에 충전하여 제조할 수 있다. 상기 연질캡셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 솔비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.

[0054] 상기 환 형태의 건강기능식품은 한라봉 과피 유래의 람노갈락투로난, 부형제, 결합제, 붕해제 등의 혼합물을 적당한 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 적당한 제피제로 제피를, 또는 전분, 탈

크 또는 적당한 물질로 환의를 입힐 수도 있다.

- [0055] 상기 과립형태의 건강기능식품은 한라봉 과피 유래의 람노갈락투로난, 부형제, 결합제, 봉해제 등의 혼합물을 적당한 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.
- [0056] 또한, 상기 부형제, 결합제, 봉해제, 활택제, 교미제, 착향제 등에 대한 용어 정의는 당업계에 공지된 문헌에 기재된 것으로 그 기능 등이 동일 내지 유사한 것들을 포함할 수 있다.
- [0058] 한편, 본 발명의 다른 측면은 상기 면역 증진용 조성물을 포함하는 면역계 질환 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0059] 상기 면역계 질환은 감기 등의 감염성 질환 및 염증성 질환, 아토피 등의 알러지 질환, 만성피로, 및 암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있으며, 당업자에 알려진 면역기능 저하로 기인되는 질환이라면 특별히 제한되지 않는다.
- [0060] 일 실시예에 있어서, 상기 면역계 질환이 다발경화증(multiple sclerosis), 중증근무력증(myasthenia gravis), 길랭바레증후군(Guillain-Barre), 자가면역 포도막염(autoimmune uveitis), 자가면역 용혈빈혈(autoimmune hemolytic anemia), 악성빈혈(pernicious anemia), 자가면역 저혈소판증(autoimmune thrombocytopenia), 측두동맥염(temporal arteritis), 항인지질증후군(anti-phospholipid syndrome), 베게너육아종증(Wegener's granulomatosis)과 같은 혈관염(vasculitides), 베체트병(Behcet's disease), 건선(psoriasis), 포진성 피부염(dermatitis herpetiformis), 심상성 천포창(pemphigus vulgaris), 백반증(vitiligo), 크론병(Crohn's disease), 궤양성 대장염(ulcerative colitis), 원발성 담즙성 경화(primary biliary cirrhosis), 자가면역 간염(autoimmune hepatitis), 제1형 또는 면역매개 당뇨병(Type 1 or immune-mediated diabetes mellitus), 그레이브스병(Grave's disease), 하시모토 갑상선염(Hashimoto's thyroiditis), 자가면역성 난소염 및 고환염(autoimmune oophoritis and orchitis), 부신의 자가면역 질환(autoimmune disorder of the adrenal gland), 류마티스관절염(rheumatoid arthritis), 전신홍반루푸스(systemic lupus erythematosus), 경피증(scleroderma), 다발성근염(polymyositis), 피부근육염(dermatomyositis), 강직 척추염(ankylosing spondylitis), 및 쇼그렌증후군(Sjogren's syndrome)으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있다.
- [0061] 일 실시예에 따르면, 상기 면역 증진용 조성물은 경구적 전달, 비경구적 전달의 형태로 투여될 수 있다. 상기 한라봉 과피에서 유래한 람노갈락투로난은 전신 또는 국소 투여될 수 있으며, 상기 투여는 경구 투여 및 비경구 투여를 포함할 수 있다. 상기 한라봉 과피에서 유래한 람노갈락투로난이 조성물로서 투여되는 경우, 적절한 투여 형태를 제공하도록 적합한 양의 약학적으로 허용되는 비히클 또는 담체와 함께 제형화될 수 있다.
- [0062] 한편, 상기 한라봉 과피에서 유래한 람노갈락투로난을 포함하는 조성물은 약학 조성물의 제조에 사용되는 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.
- [0063] 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 텍스트로오스, 수크로오스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유를 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0064] 또한, 상기 조성물은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제제화 하여 사용할 수 있다.
- [0065] 상기 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 적소두 추출물과 이의 분획물들에 적어도 하나 이상의 부형제, 예컨대, 전분, 칼슘카보네이트, 수크로오스, 락토오스, 또는 젤라틴 등을 혼합하여 조제할 수 있다. 상기 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제가 사용될 수도 있다.
- [0066] 상기 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 사용될 수 있으며, 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0067] 상기 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 사용될 수 있다. 상기 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르가 사용될 수 있다. 상기 좌제의 기제로는 위캡슐

(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴이 사용될 수 있다.

[0068] 이하 실시예를 통해, 본 발명을 더욱 상술하나 하기 실시예에 의해 본 발명이 제한되지 아니함은 자명하다.

[0070] 실험재료 및 실험방법

[0071] 실험대상

[0072] 본 발명자들은 2014년 7월 내지 8월의 기간 내에 대한민국 고양시 국립건강보험공단 일산 병원(National Health Insurance Corporation Ilsan Hospital)의 건강증진센터에서 건강 검진을 받는 사람들 가운데 120명의 건강한 참가자[비당뇨(당 투여 2시간 후 혈당 < 200 mg/dL), 비-비만인(BMI:18.5 내지 29.9 kg/m²), 30세-69세]를 대상으로 본 연구를 수행하였다. 참가자 선정에 있어서 한달 이내에 활생균에 대한 지속적 섭취 여부, 몸무게의 불안정성, 당뇨, 심각한 대사성 질환의 이력, 임신 또는 수유 여부 등을 고려하여 이에 해당하는 경우 실험대상에서 제외하였다.

[0073] 실험에 착수하기 전에 모든 참가자들 에게 본 연구의 목적에 대하여 상세히 설명한 뒤 동의를 얻었다. 수행된 연구의 프로토콜은 국립건강보험공단 -지원 일산 병원의 임상시험심사위원회의 승인을 받았으며, 헬싱키 선언(Helsinki Declaration)에 따라 수행하였다.

[0075] 인체측정학적(anthropometric) 파라미터, 혈압 및 혈액채취

[0076] 체질량 지수 측정을 위하여, 아침에 의복 및 신발을 미착용한 채로 참가자들의 신장 및 체중을 측정하였다(BMI, kg/m²). 혈압(blood pressure, BP)은 20분의 휴식 후 자동혈압 모니터(TM-2654, A&D, Tokyo, Japan)를 이용하여 앉은 채로 환자의 왼팔에서 측정하였다. 야간에 공복(12시간)을 유지한 후, 정맥혈 표본을 EDTA-처리 튜브 및 일반 튜브에 수집하였다.

[0077] EDTA-처리 튜브의 혈액 표본은 말초혈액 단핵세포(PBMCs) 분리에 사용되었으며, 일반 튜브의 혈액 표본은 사이토카인 측정을 위해 분리되었다. 각 튜브는 분석 전까지 -70℃에 냉동 보관되었다.

[0079] PBMC의 분리

[0080] 혈액은 동일한 부피의 RPMI 1640(Gibco, Invitrogen Co, Waltham, MA, USA)와 혼합된 후, histopaque-1077(Sigma-aldrich, St. Louis, MO)에 서서히 첨가된 후, 10℃에서 20분 동안 2000rpm의 회전속도로 원심 분리되었다.

[0081] 원심 분리 후 형성된 PBMC 막은 분리되었으며, 2회 세척된 후 RPMI 1640에 재차 현탁되었다. PBMC는 자연살해세포의 세포 독성 분석을 위해 스트렙토마이신과 함께 배양되었다.

[0083] 자연살해세포의 세포독성 활성

[0084] 자연살해세포의 세포용해 활성은 CytoTox96[®] Non-radioactive Cytotoxicity Assay Kit(Promega Co., Fitchburg, WI)를 이용하여 측정하였다.

[0085] 본 실험을 위해 각 대상체(참가자)에서 분리된 PBMC는 K562과 함께 배양되었다. PBMC(효과기 세포, E)는 웰 당 10:1, 5:1, 2.5:1, 1.25:1의 비율로 2×10⁴ K562 세포(표적 세포, T)와 배합되었다.

[0086] 각 플레이트는 상이한 E:T 비(효과기세포 대 표적세포)로 처리되었으며, 제조자의 매뉴얼에 따라 5%의 이산화탄소 농도, 37℃에서 밤새 배양되었다.

[0087] 최종적으로 자연살해세포의 활성은 2030 multilable reader((Victor[™]×5, PerkinElmer, Hopkinton, MA)를 이용하여 490nm에서 측정하였으며, 하기 식에 따라 결정되었다.

- [0089] [식 1]
- [0090] $\text{Cytotoxicity(\%)} = (\text{Experimental} - \text{Effector Spontaneous} - \text{Target Spontaneous}) / (\text{Target Maximum} - \text{Target Spontaneous}) \times 100$
- [0092] 혈청 내 IL-1 β , IL-6, IL-12, TNF- α , IFN- γ 에 대한 사이토카인 분석(Cytokine assay)
- [0093] IL-1 β , IL-6, and TNF- α 의 혈청 내의 농도는 Bio-PlexTM 시약 키트(Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA)를 이용하여 제조자의 매뉴얼에 따라 분석되었다.
- [0094] IFN- γ 의 혈청 내의 농도는 IFN gamma High Sensitivity Human ELISA Kit(Abcam plc-Cambridge Science Park, Cambridgeshire, UK)를 이용하여 제조자의 매뉴얼에 따라 분석되었다.
- [0095] IL-12의 혈청 내의 농도는 High Sensitivity Human IL-12(P70) ELISA kit(Genway Biotech Inc., San Diego, CA)를 이용하여 제조자의 매뉴얼에 따라 분석되었다.
- [0096] 색 반응은 2030 multilable reader(VictorTM×5, PerkinElmer, Hopkinton, MA)를 이용하여 450nm에서 판별되었다.
- [0098] 혈중 지질 프로파일 및 공복 혈당 수준
- [0099] 총 콜레스테롤 및 중성지방의 공복 수치는 상업적으로 구득 가능한 ADVIA 2400 자동분석기(Siemens Healthcare Diagnostics Ltd., Tarrytown, NY)를 사용하여 측정하였다.
- [0100] 혈청 압축미립(chylomicron), LDL(low density lipoprotein) 및 VLDL(very low density lipoprotein)을 텍스트 란 황산 마그네슘을 이용하여 침전시킨 후, 상층액에 남아있는 HDL-C(high density lipoprotein cholesterol)을 효소적 방법으로 측정하였다. LDL 콜레스테롤은 혈청 중성지방 농도가 400 mg/dL(4.52 mol/L) 미만인 대상자에 대하여 Friedewald 공식을 이용하여 간접적으로 계산하였다. 혈청 중성지방 농도가 4.52 mol/L(400mg/mL)이 상인 대상자에서 LDL 콜레스테롤을 ADVIA 2400 자동분석기를 이용하여 효소적 방법으로 측정하였다.
- [0101] 공복시 혈당은 ADVIA 2400 자동분석기를 이용하여 글루코오스 산화제 방법을 통해 측정하였다.
- [0103] 혈청 백혈구 카운팅, hs-CRP, 알부민 및 전알부민 수준
- [0104] 백혈구 세포 카운팅은 HORIBA ABX diagnostic(HORIBA ABX SAS, ParcEuromedecine, France)을 이용하여 수행되었다.
- [0105] 혈청 고민감성 C-반응 단백질(hs-CRP)의 혈청 농도는 high-sensitivity CRPLatex(II) X2 kit(Seiken Laboratories Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 ADVIA 2400에 의해 측정되었다.
- [0106] 혈청 알부민은 ADVIA 2400을 사용하여 브롬크레졸그린(BCG) 방법에 의해 측정되었다. 혈청 전알부민은 COBAS INTEGRA(Roche-BM, Basel, Switzerland)를 사용하여 면역비탁분석법(immunoturbidimetric assay)에 의해 측정되었다.
- [0108] 일일 에너지 섭취 및 신체 활동 측정
- [0109] 조사 대상자들의 일반적인 식이정보는 24시간 회상방법 및 반정량적 음식빈도 설문(semi-quantitative food frequency questionnaire, SQFFQ)에 의해 획득되었다.
- [0110] 본 발명자들은 분석을 먼저 수행한 후 24 시간 회상방법으로 수집한 데이터가 일반적인 식이 패턴을 반영하는지를 조사하였다. 모든 대상자들은 3일간(주중 2일 및 주말 1일) 식이 기록을 하는 동안 공인된 영양사의 구두 또는 서면 지시를 받았다. 3일간의 기록에서 식이의 에너지 값 및 영양소 함량은 Computer Aided Nutritional 분석 프로그램(CAN-pro 2.0, Korean Nutrition Society, Seoul, Korea)을 이용하여 계산하였다.
- [0111] 총 에너지 소모(TEE)(kcal/day)를 24시간 동안의 기초대사율 및 신체활동을 포함하는 활동 패턴과, 음식의 특이

동적 대사량을 이용하여 계산하였다. 각각의 대상자들에 대한 기초 대사율은 Harris-Benedict 공식에 의해 계산되었다.

[0113] 통계적 분석

[0114] 통계적 분석은 SPSS v. 21.0(IBM SPSS statistics 21, 미국)을 이용하여 수행하였다. 왜곡된 변수들은 통계적 분석을 위하여 대수적으로(logarithmically) 변형하였다. 실험군 및 대조군 간의 임상적 가변성에 의한 차이를 대응표본 독립 t-테스트를 이용하여 측정하였다. 일반적인 선형 모델(General linear model, GLM)을 이용하여 기준값이 보정되었다. 변수 간의 상관 관계를 평가하기 위하여 피어슨 상관 계수(Pearson's correlation coefficient)가 이용되었다.

[0115] 결과값은 평균±표준오차(S.E.)로 표현하였으며, 양측 P-검정값(two-tailed P-value) <0.05을 통계적 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

[0117] 실험결과

[0118] 실험예 1: 임상적 특성 분석

[0119] 120명의 참가자를 실험군 및 대조군으로 분류한 후, 실험군(60명)은 한라봉 과피 유래의 람노갈락투로난을 함유하는 요거트 150mL를 매일 섭취하게 하였으며, 대조군(60명)은 람노갈락투로난을 함유하지 않는 요거트 150mL를 매일 섭취하게 한 후 임상적 특성의 변화를 관찰하였다. 다만, 실험과정에서 참가자 중 2명은 항생제 처방으로 인하여 제외되었으며, 5명의 참가자는 자의적으로 실험의 참가를 중단하였다. 실험군 및 대조군의 임상적 특성의 변화는 하기 표 1과 같다.

표 1

구분	실험군(n=58)		대조군(n=55)		P-값	
	기준시점	Follow-up	기준시점	Follow-up	P ^a	P ^b
나이(year)	53.6±1.15				0.610	-
남/녀 숫자,(%)	6(10.3) / 52(89.7)		1.20±3.25		0.824	-
음주자 숫자,(%)	28(48.3)				0.852	-
BMI(kg/m ²)	23.5±0.30	23.6±0.26	23.5±0.33	23.6±0.33	0.957	0.949
수축기혈압(mmHg)	119.0±1.62	117.0±1.43	120.0±1.54	118.8±1.71	0.647	0.424
이완기혈압(mmHg)	77.2±1.00	75.2±1.01	77.1±0.96	75.2±1.12	0.893	0.949
혈당(mg/dL) f	89.5±1.33	91.4±1.45	91.0±1.68	92.5±1.21	0.554	0.457
중성지방(mg/dL) f	122.7±9.68	126.7±8.84	129.4±11.3	125.2±10.8	0.782	0.535
총 콜레스테롤(mg/dL) f	205.6±5.18	211.7±5.50	211.2±5.43	213.8±5.21	0.450	0.717
HDL-콜레스테롤(mg/dL) f	62.0±1.82	59.8±1.79	58.3±2.01	58.9±1.71	0.194	0.808
LDL-콜레스테롤(mg/dL) f	119.2±4.78	122.9±4.80	127.1±4.83	130.1±4.84	0.229	0.308
혈청 알부민(mg/dL) f	4.78±0.04	4.74±0.04	4.84±0.06	4.79±0.04	0.465	0.349
전알부민(mg/dL) f	24.8±0.69	25.7±0.80	25.0±0.60	25.2±0.60	0.694	0.848
백혈구(x10 ³ /μL) f	5.45±0.15	5.63±0.17	5.53±0.14	5.44±0.17	0.658	0.465
hs-CRP(mg/L) f	1.05±0.20	1.07±0.17	1.23±0.28	0.89±0.14	0.729	0.538

[0123] [각 값들은 평균±표준오차로 나타내었다; f 로그 변환 수치.

[0124] P^a: 기준(baseline)에서 독립 t-검정에 따른 수치; P^b: Follow up에서 독립 t-검정에 따른 수치;]

[0126] 상기 표 1과 같이, 실험군 및 대조군은 나이, 성비, 흡연, 음주, 체질량지수, 혈압, 혈당, 지질 프로파일, 알부

민, 전알부민, hs-CRP 등 임상적 특성이 유사하고 실험기간 중 임상적 특성의 현저한 변화가 나타나지 않았다.

[0127] 또한, 실험군 및 대조군은 실험기간 중 칼로리, 탄수화물, 단백질, 지방 등 영양 성분의 섭취량 역시 현저하게 차이가 나지 않았으므로 기타 영양성분의 섭취에 따른 임상적 특성 또는 면역학적 특성의 변화는 최소화되었다.

[0129] 실험예 2: 사이토카인의 농도 분석

[0130] 무작위로 선정된 건강한 120명의 참가자를 대상으로 실험군 및 대조군의 요거트 150mL를 매일 섭취하게 한 후 혈청 내 사이토카인 농도 변화를 관찰하였다. 상기 대상자를 60명씩 실험군 및 대조군으로 분류하고 8주간 섭취 하도록 하였으며, 관찰된 생리 활성의 변화는 하기 표 1과 같다.

표 2

[0132]

구분	실험군(n=58)		대조군(n=55)		P-값			
	기준시점	Follow-up	기준시점	Follow-up	P ^a	P ^b	P ^c	P ^d
IL-12(pg/mL)	45.6±5.59	53.9±5.62*	43.6±5.70	42.4±5.53	0.797	0.144	-	-
변화량	8.33±3.27		1.20±3.25		-	-	0.041	0.027
IFN- γ (pg/mL)	7.73±1.35	13.3±2.24*	9.48±1.83	10.2±1.86	0.444	0.286	-	-
변화량	5.57±2.14		0.70±0.54		-	-	0.029	0.037
TNF- α (pg/mL) \oint	10.1±0.76	8.95±0.59	8.42±0.76	7.81±0.73	0.085	0.153	-	-
IL-6(pg/mL) \oint	2.81±0.28	2.23±0.22	2.92±0.33	2.43±0.34**	0.633	0.503	-	-
IL-1 β (pg/mL) \oint	0.55±0.03	0.46±0.03*	0.55±0.07	0.51±0.09*	0.631	0.455	-	-

[0134] [각 값들은 평균±표준오차로 나타내었다; \oint 로그 변환 수치.

[0135] Pa: 기준(baseline)에서 독립 t-검정에 따른 수치; P^b: Follow up에서 독립 t-검정에 따른 수치; P^c: 변화된 수치에서 독립 t-검정에 따른 수치; P^d: 기준시점(baseline) 보정 후 변화된 수치에서 독립 t-검정에 따른 수치.

[0136] * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001은 대응표본 t-검정(paired t-test)에 따른 수치.]

[0138] 표 2와 같이 혈청 내 사이토카인의 농도 변화를 살핀 결과, 실험군은 대조군과 비교하여 IL-12 및 IFN- γ 가 현저히 증가하였다.

[0139] 다만, 실험군 및 대조군은 IL-6, IL-1 β 이 모두 감소한 것으로 나타났다. 대조군은 람노갈락투로난을 함유하지 않는 요거트를 섭취하였음에도 불구하고 IL-6 및 IL-1 β 이 감소한 것은 요거트에 함유된 활성균의 항염 활성에 의한 것으로 분석된다.

[0140] 즉, 한라봉 과피 유래의 람노갈락투로난을 함유하는 요거트(실험군)의 섭취에 따라 염증에 대한 생체 표지(biomarker)로 알려진 IL-6 및 IL-1 β 가 감소한 반면, 면역 활성의 생체 표지인 IL-12 및 IFN- γ 은 현저히 증대되었다.

[0142] 실험예 3: 자연살해세포 활성 분석

[0143] 2군으로 분류된 실험군 및 대조군을 대상으로 자연살해세포 활성 변화를 살피고자, 효과기세포 대 표적세포비(E:T ratios)를 10:1, 5:1, 2.5:1, 또는 1.25:1로 달리하고 자연살해세포 활성의 변화를 관찰하였으며, 그 결과는 하기 표 3과 같다.

표 3

구분	실험군(n=58)		대조군(n=55)		P-값			
	기준시점	Follow-up	기준시점	Follow-up	P ^a	P ^b	P ^c	P ^d
NK cell activity E:T=10:1(%) \bar{x}	21.3±1.78	31.6 ±2.32***	27.5±2.05	29.6±2.11	0.053	0.456	-	-
변화량	10.3±1.50		2.14±1.36		-	-	<0.001	<0.001
NK cell activity E:T=5:1(%) \bar{x}	15.1±1.14	22.8 ±2.00***	19.4±1.56	20.6±1.93	0.075	0.130	-	-
변화량	7.71±1.55		1.77±1.77		-	-	0.013	0.016
NK cell activity E:T=2.5:1(%) \bar{x}	14.1±1.41	20.8 ±1.89***	16.9±1.80	17.9±1.81	0.551	0.105	-	-
변화량	6.72±1.70		1.15±1.49		-	-	0.015	0.018
NK cell activity E:T=1.25:1(%) \bar{x}	16.1±1.86	26.8 ±5.96***	17.6±1.85	21.6±2.91*	0.950	0.530	-	-

[각 값들은 평균±표준오차로 나타내었다; \bar{x} 로그 변환 수치.]

Pa: 기준(baseline)에서 독립 t-검정에 따른 수치; P^b: Follow up에서 독립 t-검정에 따른 수치; P^c: 변화된 수치에서 독립 t-검정에 따른 수치; P^d: 기준시점(baseline) 보정 후 변화된 수치에서 독립 t-검정에 따른 수치.

* P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001은 대응표본 t-검정(paired t-test)에 따른 수치.]

상기 요거트를 8주간 섭취한 후 자연살해세포 활성의 변화를 살핀 결과, 실험군은 모든 E:T 비율에서 자연살해세포의 활성이 현저히 증대되었으나 대조군은 E:T 비율이 2.5:1일 때에 자연살해세포의 활성이 다소 증대되었으며 증가폭 역시 상대적으로 크지 않았다.

결과분석

8주간의 실험에 있어서, 한라봉 과피의 다당류에 함유된 60mg의 람노갈락투로난을 함유하는 요거트(150mL)는 강한 대상체에 대한 면역자극활성 및 항염 효과에 유익한 결과를 제공하였다.

실험군은 대조군과 비교하여 E:T=10:1, E:T=5:1, 및 E:T=2.5:1에서 기준시점과 대비하였을 때 현저한 효과를 혈청 내 자연살해세포의 현저한 활성의 증가가 나타났다.

상기 결과는 자연살해세포가 선천성면역반응(innate immune response)에 있어서 중요한 역할을 수행하는 점에서 매우 중요하다.

즉, 인간의 종양세포에 대한 세포독성시험(cytotoxicity assay)에서 람노갈락투로난은 인간 PBMC의 세포용해 활성을 현저히 증대시키는 것으로 알려진 바 있으며(Mueller & Anderer, 1990), 동물 실험에서 자연살해세포는 잠재적 면역자극 사이토카인인 IFN- γ 의 주요 공급원으로 밝혀진 바 있다(Heremans et al., 1994). 따라서, 상기 나타난 바와 같이 한라봉 과피에서 유래한 람노갈락투로난을 함유한 요거트 섭취에 따라 증가된 자연살해세포의 활성에 수반하는 혈청 IFN- γ 의 증가는 면역 증진 활성에 지대한 영향을 미치는 것으로 확인된다.

IFN- γ 는 자연살해세포뿐만 아니라, T 세포 및 B세포에 의해서도 생산될 수 있다(Harris et al., 2000). 도움 T 세포는 기능적으로 두 분류(Th1, Th2)로 나뉠 수 있다. Th1 세포는 IL-2, IFN- γ , TNF- α , 및 IL-12를 생산할 수 있으며, 세포매개의 면역을 증대시킬 수 있다. 반면, Th2 세포는 IL-4, IL-5, IL-6, 및 IL-10을 생산할 수 있으며, 체액성 면역을 증대시킬 수 있다.

생쥐에 람노갈락투로난을 투여했을 때, Th1/Th2의 면역 반응은 IL-4의 감소(Th2) 및 INF- γ (Th1)의 증가에 의해 조절되었다(Jung et al., 2012). 더욱이, 람노갈락투로난은 수지상 세포(dendritic cell)의 성숙 과정에서 IL-12 및 IFN- γ 을 유도하는 것으로 보고된 바 있다(Park et al., 2013). 환자의 IL-12 증가는 세포성 면역 및 식세포 기능(phagocytic function)과 연관된 보호 효과를 나타내며(Ertel et al., 1997), IL-12는 직접적으로

CD56+ 자연살해세포 매개의 세포독성을 촉진할 수 있다(Klein-Franke & Anderer, 1995).

[0160] 상기 결과와 같이 한라봉 과피 유래의 람노갈락투로난은 IL-12, IFN- γ , 및 자연살해세포의 활성을 현저히 증가시키며 이는 한라봉 과피에서 유래한 람노갈락투로난의 우수한 면역 증진 효과를 시사한다.

[0161] 즉, 한라봉 과피 유래의 람노갈락투로난은 면역 기능을 증진시키고 만성 염증을 감소시킬 수 있는 바 건강기능식품 및 의약 산업상 활용 가능성이 매우 높은 것으로 판단된다.

[0163] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수 있다.

[0164] 본 발명의 범위는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.