(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년09월05일
(11) 등록번호 10-2856149
(24) 등록일자 2025년09월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/685 (2006.01) *A23L 33/10* (2022.01)
A61P 3/04 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/685 (2013.01)
A23L 33/10 (2022.01)
(21) 출원번호 10-2024-0146413(분할)
(22) 출원일자 2024년10월24일
심사청구일자 2024년10월24일
(65) 공개번호 10-2024-0160535
(43) 공개일자 2024년11월11일
(62) 원출원 특허 10-2021-0138372
원출원일자 2021년10월18일
심사청구일자 2021년10월18일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020080019050 A*
Biochem. Biophys. Res. Commun., 2005, Vol.326, pp.744-751*
British Journal of Pharmacology, 2008, Vol. 153, pp. S76-S81*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
서울대학교산학협력단
서울특별시 관악구 관악로 1 (신림동)
(72) 발명자
이윤희
서울특별시 관악구 관악로 1, 20동 약학관 3 428 (신림동)
조윤근
서울특별시 관악구 관악로 1, 20동 약학관 3 416 호 (신림동)
임현영
서울특별시 관악구 관악로 1, 20동 약학관 3 416 호 (신림동)
(74) 대리인
특허법인리채

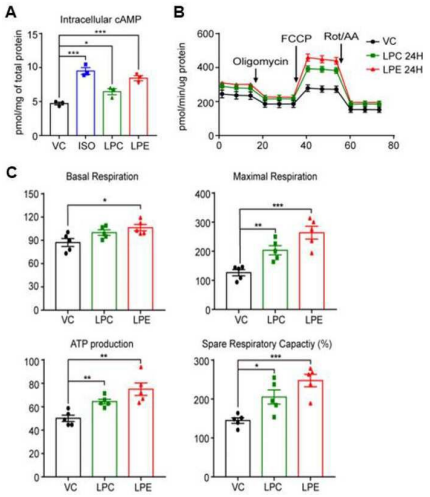
전체 청구항 수 : 총 2 항 심사관 : 김종호

(54) 발명의 명칭 **리소인지질을 포함하는 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 리소인지질을 포함하는 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 약학 조성물은 PKA 신호전달 경로를 촉진하고 지방 분해 및 미토콘드리아 산화 대사를 상향 조절하여 비만 또는 당뇨병과 같은 대사성 질환을 예방 또는 치료할 수 있다.

대 표 도 - 도2



(52) CPC특허분류
A61P 3/04 (2018.01)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2200/332 (2013.01)
A23V 2250/30 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711129223
과제번호 2019R1C1C1002014
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 이공분야기초연구사업
연구과제명 지방조직 유래 엑소좀 마이크로RNA의 에너지 대사 조절 기전 연구
과제수행기관명 서울대학교 산학협력단
연구기간 2021.03.01 ~ 2022.02.28
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711127590
과제번호 2018R1A5A2024425
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 기초연구사업
연구과제명 생체지질 인터액토믹스 연구센터
과제수행기관명 서울대학교 산학협력단
연구기간 2021.03.01 ~ 2022.02.28
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2710001387
과제번호 00213572
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 기초연구사업
연구과제명 지방조직 지질대사 조절 기전 연구
과제수행기관명 서울대학교 산학협력단
연구기간 2024.03.01 ~ 2025.02.28

명 세 서

청구범위

청구항 1

리소플라스말로겐인 리소포스파티딜콜린 18:0(LPC P-18:0) 또는 리소포스파티딜에탄올아민 18:0(LPE P-18:0)을 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 2

리소플라스말로겐인 리소포스파티딜콜린 18:0(LPC P-18:0) 또는 리소포스파티딜에탄올아민 18:0(LPE P-18:0)을 포함하는 비만의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 리소인지질을 포함하는 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 대사성 질환(Metabolic disease, 대사증후군)이란 비만이나 운동 부족, 과잉 영양 등의 생활 습관이 원인이 되어 나타나는 질병을 통칭하는 것으로, 여러가지 신진 대사와 관련된 질환을 말한다. 구체적으로는 비만, 당뇨, 인슐린 저항성, 지방간, 고지혈증, 동맥경화 또는 이들의 합병증이 여기에 속하는 것으로, 이러한 질환은 최근 우리나라에서도 발병률이 급증하고 있으며, 미국, 서유럽 국가 수준 또는 그 이상으로 발병률이 크게 증가한 것으로 알려지고 있다.

[0004] 경제 성장과 생활 방식의 변화에 따라 식습관에도 최근 많은 변화가 있어 왔다. 특히, 바쁜 현대인들은 패스트푸드 등의 고열량 식이와 적은 운동량으로 인하여 과체중 및 비만이 증가하고 있는 실정이다. 세계보건기구(WHO)에 따르면, 전 세계적으로 10억 명 이상의 성인이 과체중이고, 그 중 적어도 300만 명 이상이 임상적으로 비만이며, 특히, 유럽에서는 매년 25만 명, 전 세계에서 250만 명 이상이 과체중과 관련되어 사망한 것으로 보고된 바 있다.

[0005] 과체중 및 비만은 혈압과 콜레스테롤 수치를 증가시켜 심장 질환, 당뇨병, 관절염, 지방간, 고지혈증, 암 등 다양한 만성 합병증 질환을 유발시키거나 악화시킬 수 있다. 또한, 과체중 및 비만은 성인뿐만 아니라, 어린이나 청소년에서도 동맥경화, 고혈압, 고지혈증 또는 심장질환 등의 발병률을 증가시키는 주요한 요인으로 알려져 있다. 따라서, 비만을 하나의 질환으로 인식하고 적극적으로 치료하고자 하는 필요성이 증대되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 한국 등록특허 제 10-2239066호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 리소인지질을 포함하는 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0010] 1. 리소인지질(Lysophospholipid, LPL)을 포함하는 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[0011] 2. 위 1에 있어서, 상기 대사성 질환은 비만, 당뇨병, 고지혈증, 고혈압, 고콜레스테롤증, 고인슐린혈증, 동맥경화증 및 지방간으로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나인, 조성물.

[0012] 3. 위 1에 있어서, 리소인지질은 리소포스파티딜콜린(Lysophosphatidyl cholines, LPC) 또는 리소포스파티딜에탄올아민(Lysophosphatidyl ethanolamine, LPE)인, 조성물.

[0013] 4. 위 3에 있어서, 상기 리소포스파티딜콜린 또는 리소포스파티딜에탄올아민은 p-14:1, 16:0, 18:0, 18:1, 20:0, 20:2, 20:4, 22:5 및 22:6으로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나인, 조성물.

[0014] 5. 리소인지질을 포함하는 대사성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

[0015] 6. 위 5에 있어서, 상기 대사성 질환은 비만, 당뇨병, 고지혈증, 고혈압, 고콜레스테롤증, 고인슐린혈증, 동맥경화증 및 지방간으로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나인, 건강기능식품.

[0016] 7. 위 5에 있어서, 리소인지질은 리소포스파티딜콜린(Lysophosphatidyl cholines, LPC) 또는 리소포스파티딜에탄올아민(Lysophosphatidyl ethanolamine, LPE)인, 건강기능식품.

[0017] 8. 위 7에 있어서, 상기 리소포스파티딜콜린 또는 리소포스파티딜에탄올아민은 p-14:1, 16:0, 18:0, 18:1, 20:0, 20:2, 20:4, 22:5 및 22:6으로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나인, 건강기능식품.

발명의 효과

[0019] 본 발명의 리소인지질을 포함하는 약학 조성물은 PKA 신호전달 경로를 촉진하고 지방 분해 및 미토콘드리아 산화 대사를 상향 조절하여 비만 또는 당뇨병과 같은 대사성 질환을 예방 또는 치료할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0021] 도 1은 LPC/LPE P-18:0 를 처리한 C3H10T1/2 지방세포의 면역블랏 분석 결과이다.

도 2는 LPC/LPE P-18:0 를 처리한 C3H10T1/2 지방세포의 세포내 cAMP 수준 및 산소 소비율을 측정한 결과이다.

도 3은 HFD를 먹인 마우스에 VC 또는 LPE를 처리한 BAT, iWAT 및 gWAT의 면역블랏 분석 결과이다.

도 4는 HFD를 먹인 마우스에 VC 또는 LPE를 복강 내 투여한 후의 포도당 내성을 테스트한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0022] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0024] 본 발명은 리소인지질(Lysophospholipid, LPL)을 포함하는 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공할 수 있다.

[0025] 상기 리소인지질은 인지질(phospholipid) 중 lyso 형태를 가지고 있는 물질을 말하는 것으로, 최근에는 생리활성을 나타내는 호르몬과 같은 물질로 인식되고 있으며, 주로 세포막에 있는 G단백질 커플형 수용체(GPCR)을 통해서 작용하는 것으로 알려져 있다.

[0026] 본 발명의 리소인지질은 대사성 질환에 대해 약효를 가질 수 있는 것이라면 그 종류는 제한되지 않는 것으로, 예를 들면 리소포스파티딘산(radyl-lyso-glycerophosphate, LPA), 2,3-사이클릭 포스파티드산, 1-알킬-2-아세틸-글리세로-3-포스페이트, 스핑고신-1-포스페이트(S1P), 디하이드로 -스핑고신-1-포스페이트, 스핑고실 포스포릴콜린 (lysosphingomyelin, SPC) 및 리소포스파티딜콜린 (LPC), PSY(Psychosine) 또는 LPS (Lysophosphatidylserine)일 수 있고, PKA 신호전달 경로를 촉진하고 지방 분해 및 미토콘드리아 산화 대사를 상향 조절할 수 있다는 측면에서는 바람직하게는 리소포스파티딜콜린(LPC) 또는 리소포스파티딜에탄올아민(LPE)일 수 있다.

[0027] 상기 리소포스파티딜콜린은 글리세롤의 sn-C1에 하나의 긴 지방산, 그리고 sn-C3에 포스포콜린이 결합된 분자로서, 생체 내에서는 포스포리파제(PLA_2)에 의해 포스파티딜콜린에서 하나의 아실기가 가수분해되어 만들어 지는 것으로, 그 종류는 예를 들면 p-14:1, 16:0, 18:0, 18:1, 18:2, 20:0, 20:1, 20:2, 20:4, 22:0 또는 22:1일 수

있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0028] 상기 리소포스파티딜에탄올아민은 인지질 중 하나인 포스파티딜에탄올아민에서 두 번째 아실 체인(acyl chain)이 PLA_2 효소활성에 의하여 분해되어 생성되는 물질로서, 그 종류는 예를 들면 p-14:1, 16:0, 18:0, 18:1, 18:2, 20:0, 20:1, 20:2, 20:4, 22:0 또는 22:1일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0029] 상기 대사성 질환은 생체 내 신진대사 장애에 의해서 발생하는 질환을 총칭하는 것으로, 구체적으로는 예를 들면 비만, 당뇨병, 고지혈증, 고혈압, 고콜레스테롤증, 고인슐린혈증, 동맥경화증 또는 지방간일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0030] 용어 '예방'은 상기 대사성 질환을 억제시키거나 또는 지연시키는 모든 행위를 말하는 것이며, 용어 '치료'는 대사성 질환이 의심되거나 발병된 개체의 증상이 호전 되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 말한다.

[0031] 본 발명의 약학 조성물은 캡슐, 정제, 과립, 주사제, 연고제, 분말 또는 음료 형태일 수 있고, 산제, 과립제, 캡슐, 정제, 수성 현탁액 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 주사제의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.

[0032] 본 발명 약학 조성물은 유효성분을 단독으로 포함하거나, 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수 있다.

[0033] 본 발명 약학 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 담체는 경구 투여 시에는 결합제, 활탁제, 붕해제, 부형제, 가용화제, 분산제, 안정화제, 현탁화제, 색소, 향료 등일 수 있으며, 주사제의 경우에는 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장제, 안정화제 등을 혼합하여 사용할 수 있으며, 국소투여용의 경우는 기제, 부형제, 윤활제, 보존제 등을 사용할 수 있다.

[0034] 본 발명 약학 조성물의 제형은 약학적으로 허용되는 담체와 혼합하여 다양하게 제조될 수 있으며, 예를 들어, 경구 투여시에는 정제, 트로키, 캡슐, 엘릭서(elixir), 서스펜션, 시럽, 웨이퍼 등의 형태로 제조될 수 있으며, 주사제의 경우에는 단위 투약 앰플 또는 다수회 투약 형태로 제조될 수 있다. 또한, 본 발명 약학 조성물의 제형은 용액, 현탁액, 정제, 캡슐, 서방형 제제 등으로 제조될 수 있다.

[0035] 제제화를 위한 담체, 부형제 및 희석제는 락토즈, 덱스트로즈, 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, 광물유, 충진제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제 또는 방부제 등일 수 있다.

[0036] 본 발명 약학 조성물의 투여 경로는 구강, 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 경막내, 심장내, 경피, 피하, 복강내, 비강내, 장관, 국소, 설하 또는 직장일 수 있으며, 이에 제한되지 않는다.

[0037] 본 발명 약학 조성물은 경구 또는 비경구로 투여될 수 있으며, 비경구 투여 시 피부 외용 또는 복강내주사, 직장내주사, 피하주사, 정맥주사, 근육내 주사 또는 흉부내 주사 주입방식이 선택될 수 있다.

[0038] 본 발명의 약학 조성물의 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있는 것으로, 투여량은 예를 들면 1일 0.0001 mg 내지 1000mg/kg 또는 0.001mg 내지 500mg/kg으로 투여될 수 있고, 투여 주기는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있는 것으로, 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0040] 또한, 본 발명은 리소인지질을 포함하는 대사성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공할 수 있다.

[0041] 상기 리소인지질, 대사성 질환은 상기 전술한 바와 같다.

[0042] 상기 건강기능식품은 담체, 희석제, 부형제 및 첨가제 중 하나 이상을 더 포함하여 정제, 환제, 산제, 과립제, 분말제, 캡슐제 및 액제 제형으로 이루어진 군에서 선택된 하나로 제형될 수 있다.

[0043] 건강기능식품은 예컨대, 각종 식품류, 분말, 과립, 정제, 캡슐, 시럽제, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 또는 건강기능성 식품류일 수 있다.

[0044] 건강기능식품에 포함될 수 있는 첨가제는 천연 탄수화물, 향미제, 영양제, 비타민, 광물(전해질), 풍미제(합성 풍미제, 천연 풍미제 등), 착색제, 충진제(치즈, 초콜렛 등), 팩트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH조절제, 안정화제, 방부제, 산화 방지제, 글리세린, 알콜, 탄산화제 및 과육으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0045] 천연 탄수화물은 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상기 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다.

[0046] 건강기능식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제, 천연 과일 쥬스 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 등을 더 포함할 수 있다.

[0047] 담체, 부형제, 희석제 및 첨가제는 이에 한정되는 것은 아니나, 락토즈, 덱스트로즈, 슈크로즈, 솔비톨, 만니톨, 에리스리톨, 전분, 아카시아 고무, 인산칼슘, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 미세결정성 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 메틸셀룰로즈, 물, 설탕시럽, 메틸셀룰로즈, 메틸 하이드록시 벤조에이트, 프로필하이드록시 벤조에이트, 활석, 스테아트산 마그네슘 및 미네랄 오일로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.

[0048] 본 발명 건강기능식품을 제제화할 경우에는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.

[0049] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것으로, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0051] **실시예**

[0052] **1. 실험 방법**

[0053] **(1) 세포 배양**

[0054] C3H10T1/2 세포는 ATCC(American Type Culture Collection)에서 구매하였고, 이 세포를 사용하여 시험관내 지방세포 실험을 수행하고 5% CO_2의 가습 상태 내 37 ℃에서 10% FBS(Gibco) 및 1% P/S가 보충된 DMEM(Welgene)에서 배양하였다. 완전히 분화된 C3H10T1/2 지방세포를 제조하기 위해, 밀집한(confluent) C3H10T1/2 세포를 BMP4 (R&D system, 20ng/mL)에 2일간 노출시키고 IBMX(이소부틸메틸크산틴, Cayman, 0.5mM), 덱사메타손(Cayman, 1μM), 인슐린(Sigma, 10μg/mL), 인도메타신(Cayman, 0.125mM) 및 트리요오드티로닌(T3, Cayman, 1nM)를 포함하는 분화 배지에 3일간 유도한 후, 인슐린 (1μg/mL) 및 T3 (1nM)을 포함하는 유지 배지에 3일간 노출시켰다. 리소플라스말로겐의 시험관 내 효과를 평가하기 위해, 완전히 분화된 C3H10T1/2 세포를 비히클 대조군, LPE P-18:0 (1μM) 또는 LPC P-18:0 (1μM), 또는 이소프로테레놀(10μM)로 표시된 시간 동안 처리하였다.

[0055] **(2) 산소 소비율**

[0056] 산소 소비율(OCRs)는 Seahorse XF Analyzer(Agilent)로 측정되었다. LPC P-18:0(1μM), LPE P-18:0 또는 비히클로 처리된 분화된 C3H10T1/2 지방세포 (1μM)는 워싱되고, 37 ℃에서 D-(+)-글루코스(25mM) 및 L-글루타민(4mM)이 보충된 분석 배지(XF DMEM 기본 배지, pH 7.4(Agilent)) 내 유지되었다. XFp 세포 미토 스트레스 테스트 키트(Agilent)는 2.5μM의 올리고마이신, 0.5μM의 카르보닐 시안화물-4-(트리플루오로메톡시) 페닐히드라존(FCCP) 및 0.5μM 로테논/안티마이신 A의 농도로 사용되었다. 기초 및 최대 OCR은 비-미토콘드리아 호흡을 빼고 계산되었다. ATP 생산율은 기초 OCR에서 올리고마이신 A에 의해 유도된 OCR을 빼서 계산하였다. 예비 호흡 능력은 최대 OCR에서 기저 OCR을 빼서 계산하였다. OCR은 단백질 농도로 정규화되었다. Agilent Wave 소프트웨어(버전 2.6.0.31)를 사용하여 데이터를 분석했다.

[0057] **(3) 세포내 cAMP 수준의 정량화**

[0058] LPC P-18:0(1μM), LPE P-18:0(1μM) 또는 이소프로테레놀(10μM)로 처리된 분화된 C3H10T1/2 지방세포에서 세포 내 cAMP 수준을 측정하기 위해, 직접 cAMP ELISA 키트(Enzo)는 제조업체의 지침에 따라 사용되었다. C3H10T1/2 지방세포는 0.1M HCl과 함께 10분 동안 배양한 후 긁어내어 원심분리하였다. 아세틸화되고 염소-토끼 IgG 항체로 코팅된 웰에 첨가된 수집된 샘플 및 표준물을 플레이트 쉐이커에서 실온에서 2시간 동안 알칼리성 포스파타제에 접합된 cAMP 및 cAMP에 대한 토끼 다클론 항체와 함께 배양하였다. 3회 워싱한 후, p-니트로페닐 포스페이트 용액을 첨가하고 실온에서 1시간 동안 배양한 다음 인산삼나트륨 수용액을 첨가하였다. 플레이트는

405 nm에서 측정되고, 계산된 흡광도는 AssayFitPro(v1.31)를 사용하여 pmol/ml의 cAMP로 변환되고, Pierce BCA 단백질 분석 키트(Thermo Fisher Scientific)로 측정한 단백질 농도로 정규화되었다.

[0059] **(4) 정량적 PCR 및 웨스턴 블롯 분석**

[0060] HFD를 먹이고 비히클 대조군 또는 LPE P-18:0를 복강 내 투여한 마우스의 BAT, iWAT 및 gWAT를 tacoPrep Bead Beater 균질화(homogenization) 시스템을 사용하여 SIGMAFAST Protease Inhibitor Cocktail(Sigma) 및 PhoSTOP 포스파타제 억제제(Roche)가 포함된 PROPREP 단백질 추출 용액(iNtRON Biotechnology)에서 균질화했다. 비히클 대조군, LPE P-18:0 (1μM) 또는 LPC P-18:0 (1μM), 또는 이소프로테레놀(10μM)로 처리한 C3H10T1/2 지방세포는 SIGMAFAST 프로테아제 억제제 칵테일(Sigma) 및 PhoSTOP 포스파타제 억제제(Roche)를 함유하는 RIPA 용해 및 추출 버퍼(Thermo Fisher Scientific)에서 용해되었다. 추출된 단백질 농도는 BCA 분석으로 정량화되었으며 562 nm에서 분광광도법(MultiSkan GO, Thermo Fisher Scientific)으로 측정하였다. 단백질을 95 ℃에서 5분간 SDS 샘플 버퍼에서 변성시키고 SDS-PAGE 젤에서 분리한 다음 PVDF 멤브레인(Bio-Rad)으로 트랜스퍼하였다. 멤브레인을 5% 무지방 분유 또는 TBST(0.1% Tween 20이 포함된 Tris-완충 식염수) 내 BSA로 블로킹하고 1차 항체와 함께 4 ℃에서 밤새 배양한 후 HRP(Horseradish peroxidase)-접합 2차 항체를 실온에서 1시간 동안 배양하였다. 웨스턴 블롯 분석에 사용되는 1차 항체는 시약 또는 리소스에 나열되어 있다. 단백질 발현은 Fusion Solo 화학 발광 이미징 시스템(Vilber Lourmat)으로 검출하였고, EvolutionCapt 소프트웨어(버전 17.03)로 분석했다. 면역블롯은 National Institutes of Health ImageJ 소프트웨어(버전 1.52a)로 정량화되었다.

[0061] **(5) 통계 분석**

[0062] 통계 분석에는 GraphPad Prism 7 소프트웨어(GraphPad Software, USA)를 사용하였으며, 두 그룹 간의 통계적 유의성은 쌍을 이루지 않은 t-검정에 의해 결정되었다. 데이터는 평균 ± 평균의 표준 오차(SEM)로 표시된다. 여러 그룹 간의 비교는 P 값을 결정하기 위한 Bonferroni 사후 검정과 함께 양방향 분산 분석(ANOVA)을 사용하여 수행되었다.

[0063] **2. 실험 결과**

[0064] **LPE P-18:0 처리는 미토콘드리아 산화 대사를 촉진하고 식이-유발 비만으로부터 보호한다.**

[0065] 완전히 분화된 C3H10T1/2 지방세포를 1μM LPC P-18:0 또는 LPE P-18:0으로 24 또는 48시간 동안 처리하였다. 인산화된 HSL, CREB 및 PKA 기질 수준의 상당한 증가가 LPC P-18:0 및 LPE P-18:0 처리군에서 관찰되었다 (도 1A). 장기간 처리(48시간)는 MCAD, ATP5A, UQCRC2, SDHB, NDUFB8 및 COXIV를 포함한 미토콘드리아 효소의 상당한 상향 조절을 유도하였다 (도 1B). 24시간 동안 LPC P-18:0 또는 LPE P-18:0으로 처리된 C3H10T1/2 지방세포는 세포내 cAMP 수준의 증가를 보였다 (도 2A). 또한, LPC P-18:0 또는 LPE P-18:0 처리는 C3H10T1/2 지방세포의 최대 호흡 속도, ATP 생산 속도 및 예비 호흡 용량의 상승을 나타냈다 (도 2B 및 2C).

[0066] 다음으로 LPE P-18:0 처리의 생체 내 효과를 조사하였다. 면역블롯 분석은 LPE P-18:0이 지방 조직에서 PKA 신호 전달 및 미토콘드리아 활성을 상향 조절하고 포도당 내성을 개선함을 입증하였다 (도 3 및 4).

[0068] [이 발명을 지원한 연구과제 정보]

[0069] 1. (과제고유번호) 1711129223

[0070] (부처명) 과학기술정보통신부

[0071] (연구관리 전문기관) 한국연구재단

[0072] (연구 사업명) 이공분야기초연구사업

[0073] (연구과제명) 지방조직 유래 엑소좀 마이크로RNA의 에너지 대사 조절 기전 연구

[0074] (기여율) 50%

[0075] (주관기관) 서울대학교 산학협력단

[0076] (연구기간) 2021.03.01 ~ 2022.02.28

[0078] 2. (부처명) 기초연구사업

[0079] (연구관리 전문기관) 서울대학교

[0080] (연구 사업명) 선도연구센터

[0081] (연구과제명) 생체지질인터액토믹스 연구센터

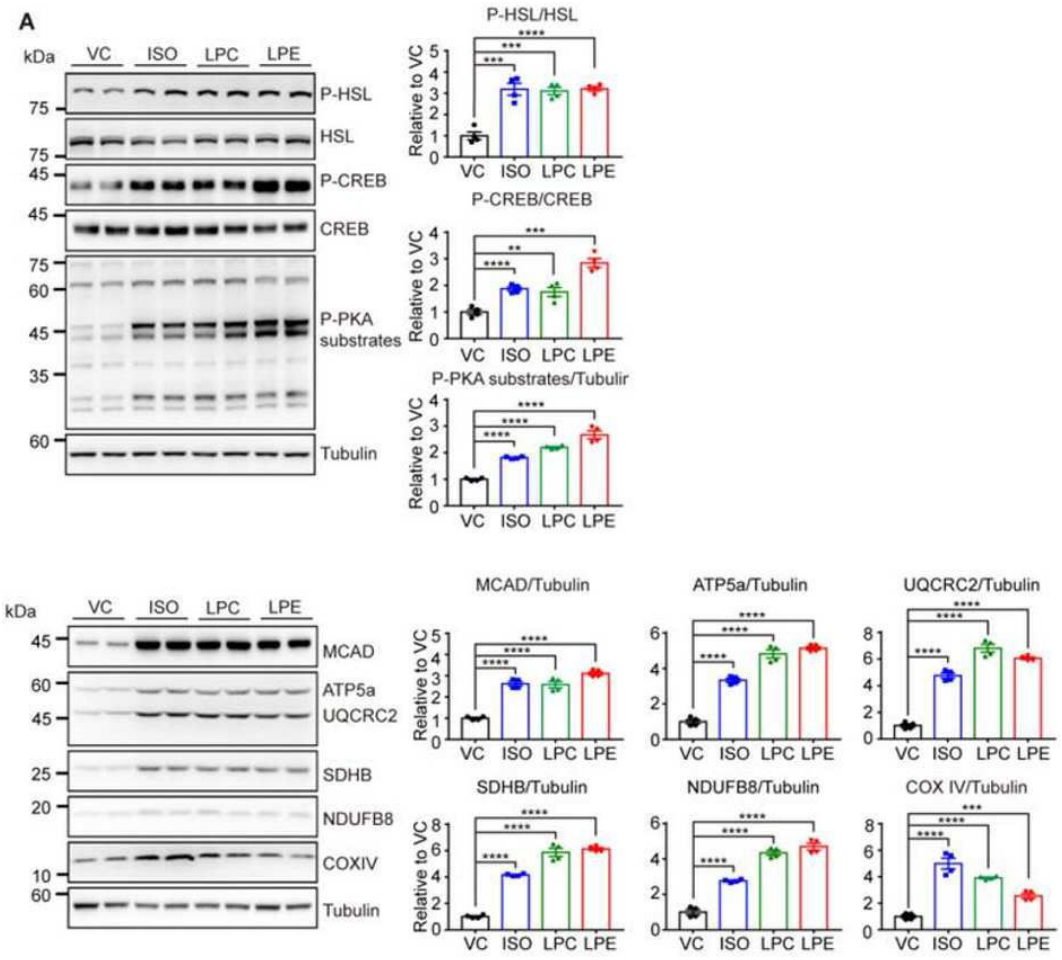
[0082] (기여율) 50%

[0083] (주관기관) 서울대학교 산학협력단

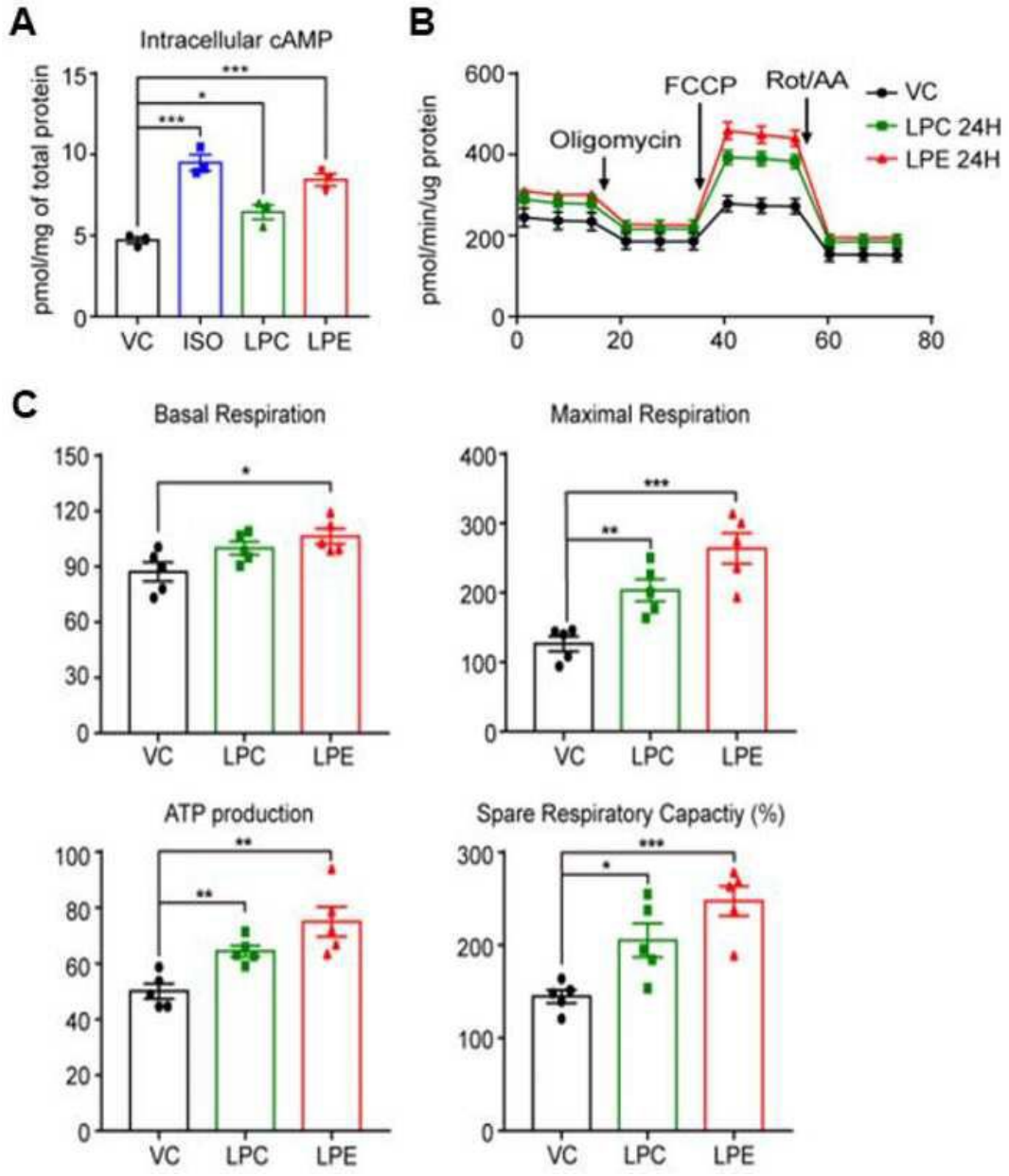
[0084] (연구기간) 2021.03.01 ~ 2022.02.28

도면

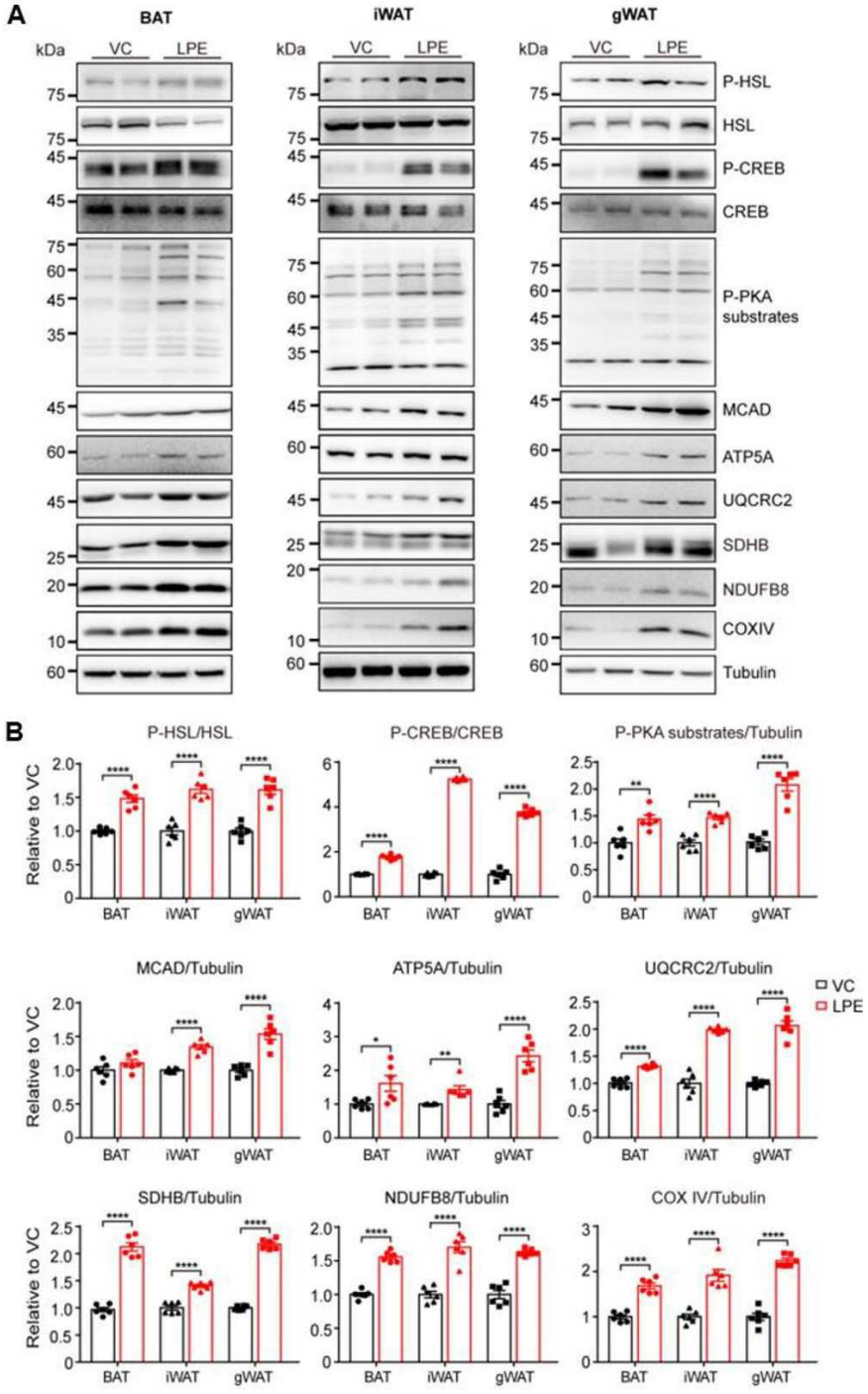
도면1



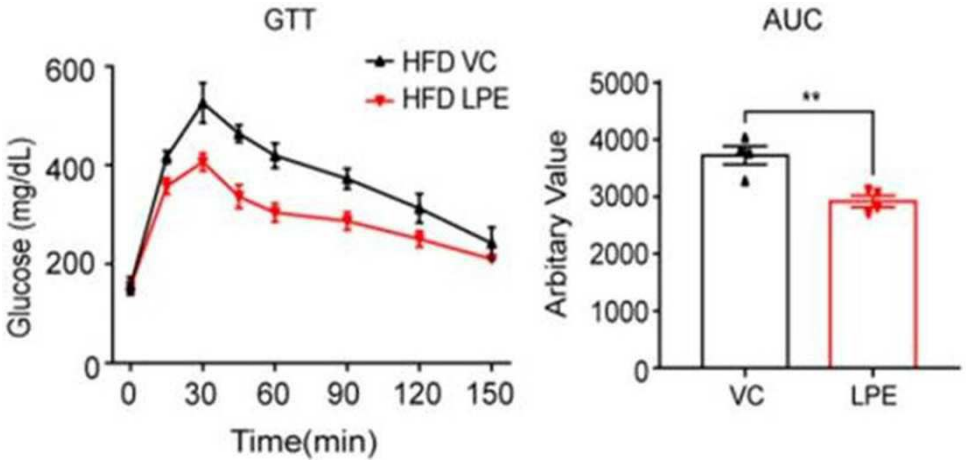
도면2


A
Intracellular cAMP
pmol/mg of total protein
VC
ISO
LPC
LPE
B
pmol/min/ug protein
Oligomycin
FCCP
Rot/AA
VC
LPC 24H
LPE 24H
C
Basal Respiration
Maximal Respiration
ATP production
Spare Respiratory Capactiy (%)

도면3


A
BAT
iWAT
gWAT
kDa
VC
LPE
P-HSL
HSL
P-CREB
CREB
P-PKA substrates
MCAD
ATP5A
UQCRC2
SDHB
NDUFB8
COXIV
Tubulin
B
P-HSL/HSL
P-CREB/CREB
P-PKA substrates/Tubulin
MCAD/Tubulin
ATP5A/Tubulin
UQCRC2/Tubulin
SDHB/Tubulin
NDUFB8/Tubulin
COX IV/Tubulin
Relative to VC
BAT
iWAT
gWAT
VC
LPE

도면4


GTT
HFD VC
HFD LPE
Glucose (mg/dL)
600
400
200
0
0
30
60
90
120
150
Time(min)
AUC
Arbitary Value
5000
4000
3000
2000
1000
0
**
VC
LPE