



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년01월06일

(11) 등록번호 10-1477130

(24) 등록일자 2014년12월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 38/16 (2006.01) A61K 31/7105 (2006.01)

A61K 48/00 (2006.01) A61P 9/04 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-0003340

(22) 출원일자 2013년01월11일

심사청구일자 2013년01월11일

(65) 공개번호 10-2013-0082472

(43) 공개일자 2013년07월19일

(30) 우선권주장

1020120003246 2012년01월11일 대한민국(KR)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020110016959 A

US20070286858 A1

전체 청구항 수 : 총 3 항

(73) 특허권자

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

박성하

서울 강남구 압구정로29길 69, 202동 1208호 (압구정동, 현대아파트)

양우인

서울 서대문구 증가로 21, (연희동)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

양부현

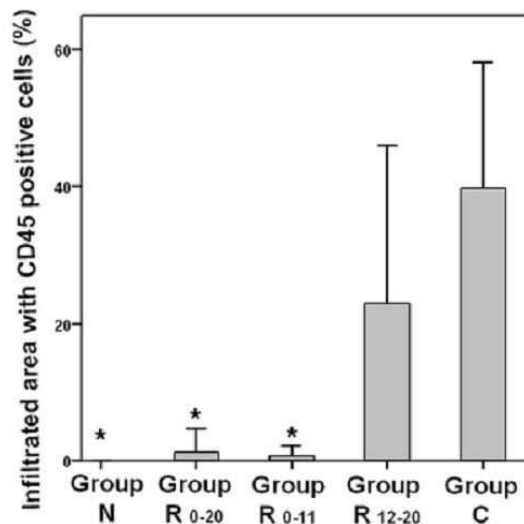
심사관 : 노은주

(54) 발명의 명칭 용해성 RAGE를 유효성분으로 포함하는 심근염의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물

(57) 요약

본 발명은 sRAGE를 유효성분으로 포함하는 심근염(Myocarditis)의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공한다. 본 발명의 sRAGE는 면역글로블린 G의 중쇄(Heavy chain) 및 항체의 Fc 부위와 결합되어 있는 융합단백질로 제공되며, RAGE의 리간드와 RAGE 사이의 결합을 방해한다. 본 발명의 조성물은 심근의 염증반응을 억제 시킴으로써 심근염에서 우수한 치료효과를 나타낸다.

대표도 - 도7



(72) 발명자

**최동훈**

서울 서초구 나루터로4길 28, 305동 1201호 (잠원동, 신반포아파트)

**김세훈**

경기 고양시 덕양구 화신로 311, 922동 1102호 (화정동, 별빛마을9단지아파트)

**홍성유**

서울 동대문구 제기로 131, 106동 1504호 (청량리동, 한신아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2011-0020950

부처명 교육과학기술부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 공공복지안전연구사업

연구과제명 혈관경직 및 조혈모세포 기능 조절을 통한 노인성질환 제어 및 면역증강기술 개발

기 여 율 1/1

주관기관 연세대학교 산학협력단

연구기간 2011.08.01 ~ 2012.07.31

---

**특허청구의 범위**

**청구항 1**

최종당화산물 수용체(receptor for advanced glycation end products: RAGE)의 리간드에 결합하여 RAGE의 리간드와 RAGE 사이의 결합을 방해하는 서열목록 제 1 서열의 아미노산 서열의 23 내지 341 번째 아미노산 서열을 갖는 용해성(soluble) RAGE를 유효성분으로 포함하는 심근염(Myocarditis)의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물로서, 상기 조성물은 HMGB1(high mobility group box 1) 및 ICAM-1(Intercellular Adhesion Molecule 1)의 발현 억제에 의하여 심근 염증반응을 억제시키는 조성물.

**청구항 2**

삭제

**청구항 3**

제 1 항에 있어서, 상기 용해성(soluble) RAGE는 면역글로블린 G의 중쇄(Heavy chain) 및 항체의 Fc 부위와 결합되어 있는 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 4**

제 3 항에 있어서, 상기 항체의 Fc 부위는 인간 면역글로블린 G1의 Fc 부위인 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 5**

삭제

**청구항 6**

삭제

**청구항 7**

삭제

**청구항 8**

삭제

**명세서**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 용해성 RAGE를 유효성분으로 포함하는 심근염의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물에 관한 것이다.

**배경기술**

[0002] 심근염은 주로 바이러스에 의한 감염이나 자가 면역 반응 등의 원인으로 심근에 염증이 일어나는 것으로, 쇼크, 부정맥의 발생과 연관되어 갑작스런 사망에 이를 수 있는 질병이다. 심근염은 40세 이하의 성인에서 급사의 주요한 원인을 차지하고 있으며, 급성 심근염 환자의 5-10%에서는 만성 확장성 심근병증으로 이행되어 관상동맥 질환 다음으로 심부전증의 주요 발병 원인이 되고 있다. 하지만 아직까지 이런 심근염에 대한 효과적인 치료 약제는 없는 실정이고, 심근 기능 저하에 대한 보존적인 치료만을 시행하고 있는 실정이다.

- [0003] 심근염의 발생 기전에 대해서는 아직까지 명확하게 정립된 바는 없지만 동물실험의 결과들을 바탕으로 바이러스성 또는 자가면역 심근염의 병태 생리를 밝히고자 많은 연구들이 진행되어 왔다. 동물 모델을 근간으로 한 실험 결과들을 보면, 바이러스가 특정 수용체를 통해 심장 근육이나 대식세포 내부로 침투하게 되고, 바이러스 침투에 반응하여 TLR(toll-like receptor)을 통한 면역 반응이 활성화 되어 항원 제시 세포의 분화 및 전염증성 사이토카인 분비가 증가하게 되고 조절 T 세포의 기능이 저하된다고 알려져 있다. 이에 타입 1 헬퍼 T 세포와 타입 2 헬퍼 T 세포가 증가되면서 자가 면역반응이 활발하게 이루어지게 되고, 이것이 심근의 염증을 유발하여 심근염의 발생과 관계됨이 알려져 있다.
- [0004] CD 4+ T 림프구는 자가면역 심근증 발생이 주요인으로 정상적으로는 본인의 항원에 대해서는 잘 반응하지 않지만 다량의 자가 항원에 의해 활성화되면 자가면역 작용을 통하여 심근의 염증을 유발할 수 있다. T 림프구의 활성화는 Th1과 Th2 사이토카인을 분비를 증가시키며, 이것은 바이러스성 심근염의 발생과 연관되어 있다고도 알려졌다. 콕사키바이러스 B에 의한 심근염 쥐과(murine) 모델을 바탕으로 한 연구들을 보면 CD4+ 와 CD 8+ T 세포 모두 심근염의 발생에 중요한 역할을 하고 있어, 이 T 림프구를 타겟으로 하는 치료에 대한 연구들이 많이 진행되고 있다.
- [0005] 림프구성 심근염이나 확장성 심근증에서 다양한 심근 항원에 대한 항체가 발견되고 있어 항원반응 역시 심근증의 발생에 중요한 역할을 할 것으로 여겨지고 있다. 연쇄상구균 M 단백질과 콕사키바이러스 B는 심장의 미오신과 동일한 항원결정부위를 지니고 있어, 이에 대한 항체들이 심근을 공격하여 염증을 유발하고, 감염이 호전된 이후에도 심근의 미오신이 내부적으로 지속적인 항체발생을 유도하여 자가면역 기전에 의한 만성 염증을 유발시키게 된다.
- [0006] RAGE는 다양한 내재성 리간드의 수용체로서, RAGE의 활성화는 활성산소의 생성과 NF-κB의 활성화 및 전염증성 세포의 침착 등과 연관되어 있음이 알려져 있다. 또한 RAGE는 염증성 세포의 부착과 침착에 직접적으로 연관되어 있음이 알려져 있다. TLR과 같은 패턴 인식 수용체들이 외인성 병원체(exogenic pathogen)를 리간드로 인식하여 면역반응을 매개하는 것과는 달리 RAGE는 여러 내인성 리간드들과 상호작용을 하면서 만성 염증성 반응을 유발하여 여러 다양한 만성염증성질환의 병태생리에 관여하는 것으로 여겨지고 있다. RAGE의 일부는 트랜스-멤브레인 도메인 및 세포질 도메인이 없는 혈장용해성 RAGE(soluble RAGE, sRAGE)로 존재하는데, sRAGE는 디코이 수용체로 작용하여 혈중에 존재하는 RAGE 리간드들과 결합하여 세포막 RAGE 수용체와 결합하는 작용을 길항하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다.
- [0007] RAGE는 다양한 면역관련 질병-류마티스성 관절염, 염증성 질환 및 폐혈성 쇼크에서 중요한 역할을 한다고 여겨지고 있으며, 심혈관계에서는 동맥 경화와 심근경색에서의 재관류 손상, 고혈압, 대동맥 질환에서의 RAGE의 역할에 대한 다양한 연구가 진행되고 있다.
- [0008]
- [0009] 본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 논문 및 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 논문 및 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

- [0010] 본 발명자들은 심근염의 신규한 치료제를 발굴하고자 예의 연구 노력하였다. 그 결과, 본 발명자들은 sRAGE가 심근염 치료에 효과가 있음을 규명하였다.
- [0011] 따라서, 본 발명의 목적은 심근염의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공하는데 있다.
- [0012] 본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명 및 청구범위에 의해 보다 명확하게 된다.

**과제의 해결 수단**

- [0013] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 최종당화산물 수용체(receptor for advanced glycation end products: RAGE)의 리간드에 결합할 수 있는 서열목록 제 1 서열의 sRAGE를 유효성분으로 포함하는 심근염(Myocarditis)의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0014] 본 발명자들은 심근염의 신규한 치료제를 발굴하고자 예의 연구 노력하였으며 그 결과, sRAGE가 심근염 치료에 효과가 있음을 규명하였다.
- [0015] 본 발명의 sRAGE는 리간드에 결합할 수 있는 서열목록 제 1 서열의 아미노산 서열을 포함한다. 바람직하게는 본 발명의 sRAGE는 서열목록 제 1 서열의 아미노산 서열로 필수적으로 구성되어 있다.
- [0016] 본 발명에서 이용되는 sRAGE는 서열목록 제 1 서열의 아미노산 서열을 포함하지만, sRAGE가 RAGE 리간드에 결합할 수 있는 범위에서, 서열목록 제 1 서열의 아미노산 서열의 변이체(즉, 생물학적 기능 균등물)를 포함할 수 있다는 것은 당업자에게 명확하다.
- [0017] 본 발명에서, sRAGE 범위에 포함될 수 있는 생물학적 기능 균등물은 본 발명의 sRAGE와 균등한 생물학적 활성을 발휘하는 아미노산 서열의 변이에 한정될 것이라는 것은 당업자에게 명확하다.
- [0018] 이러한 아미노산 변이는 아미노산 결사슬 치환체의 상대적 유사성, 예컨대, 소수성, 친수성, 전하, 크기 등에 기초하여 이루어진다. 아미노산 결사슬 치환체의 크기, 모양 및 종류에 대한 분석에 의하여, 아르기닌, 라이신과 히스티딘은 모두 양전하를 띤 잔기이고; 알라닌, 글라이신과 세린은 유사한 크기를 갖으며; 페닐알라닌, 트립토판과 타이로신은 유사한 모양을 갖는다는 것을 알 수 있다. 따라서, 이러한 고려 사항에 기초하여, 아르기닌, 라이신과 히스티딘; 알라닌, 글라이신과 세린; 그리고 페닐알라닌, 트립토판과 타이로신은 생물학적으로 기능 균등물이라 할 수 있다.
- [0019] 변이를 도입하는 데 있어서, 아미노산의 소수성 인덱스(hydrophobic index)가 고려될 수 있다. 각각의 아미노산은 소수성과 전하에 따라 소수성 인덱스가 부여되어 있다: 아이소루이신(+4.5); 발린(+4.2); 루이신(+3.8); 페닐알라닌(+2.8); 시스테인/시스테인(+2.5); 메티오닌(+1.9); 알라닌(+1.8); 글라이신(-0.4); 쓰레오닌(-0.7); 세린(-0.8); 트립토판(-0.9); 타이로신(-1.3); 프롤린(-1.6); 히스티딘(-3.2); 글루타메이트(-3.5); 글루타민(-3.5); 아스파르트레이트(-3.5); 아스파라긴 (-3.5); 라이신(-3.9); 및 아르기닌(-4.5). 단백질의 상호적인 생물학적 기능(interactive biological function)을 부여하는 데 있어서 소수성 아미노산 인덱스는 매우 중요하다. 유사한 소수성 인덱스를 가지는 아미노산으로 치환하여야 유사한 생물학적 활성을 보유할 수 있다는 것은 공지된 사실이다. 소수성 인덱스를 참조하여 변이를 도입시키는 경우, 바람직하게는  $\pm 2$  이내, 보다 바람직하게는  $\pm 1$  이내, 보다 더 바람직하게는  $\pm 0.5$  이내의 소수성 인덱스 차이를 나타내는 아미노산 사이에 치환을 한다.
- [0020] 한편, 유사한 친수성 값(hydrophilicity value)을 가지는 아미노산 사이의 치환이 균등한 생물학적 활성을 갖는 단백질을 초래한다는 것도 잘 알려져 있다. 미국 특허 제4,554,101호에 개시된 바와 같이, 다음의 친수성 값이 각각의 아미노산 잔기에 부여되어 있다: 아르기닌(+3.0); 라이신(+3.0); 아스파르트레이트(+3.0  $\pm 1$ ); 글루타메이트(+3.0  $\pm 1$ ); 세린(+0.3); 아스파라긴(+0.2); 글루타민(+0.2); 글라이신(0); 쓰레오닌(-0.4); 프롤린(-0.5  $\pm 1$ ); 알라닌(-0.5); 히스티딘(-0.5); 시스테인(-1.0); 메티오닌(-1.3); 발린(-1.5); 루이신(-1.8); 아이소루이신(-1.8); 타이로신(-2.3); 페닐알라닌(-2.5); 트립토판(-3.4). 친수성 값을 참조하여 변이를 도입시키는 경우, 바람직하게는  $\pm 2$  이내, 보다 바람직하게는  $\pm 1$  이내, 보다 더 바람직하게는  $\pm 0.5$  이내의 친수성 값 차이를 나타내는 아미노산 사이에 치환을 한다.
- [0021] 분자의 활성을 전체적으로 변경시키지 않는 단백질에서의 아미노산 교환은 당해 분야에 공지되어 있다(H. Neurath, R.L.Hill, The Proteins, Academic Press, New York, 1979). 가장 통상적으로 일어나는 교환은 아미노산 잔기 Ala/Ser, Val/Ile, Asp/Glu, Thr/Ser, Ala/Gly, Ala/Thr, Ser/Asn, Ala/Val, Ser/Gly, Thr/Phe, Ala/Pro, Lys/Arg, Asp/Asn, Leu/Ile, Leu/Val, Ala/Glu, Asp/Gly 간의 교환이다.
- [0022] 상술한 생물학적 균등 활성을 갖는 변이를 고려한다면, 본 발명의 sRAGE는 서열목록에 기재된 서열과 실질적인 동일성(substantial identity)을 나타내는 서열도 포함하는 것으로 해석된다. 상기의 실질적인 동일성은, 상기한 본 발명의 서열과 임의의 다른 서열을 최대한 대응되도록 얼라인하고, 당업계에서 통상적으로 이용되는 알고리즘을 이용하여 얼라인된 서열을 분석한 경우에, 최소 80%의 상동성, 보다 바람직하게는 90%의 상동성, 가장 바람직하게는 98%의 상동성을 나타내는 서열을 의미한다. 서열비교를 위한 얼라인먼트 방법은 당업계에 공지

되어 있다. 일라인먼트에 대한 다양한 방법 및 알고리즘은 Smith and Waterman, *Adv. Appl. Math.* 2:482(1981); Needleman and Wunsch, *J. Mol. Bio.* 48:443(1970); Pearson and Lipman, *Methods in Mol. Biol.* 24: 307-31(1988); Higgins and Sharp, *Gene* 73:237-44(1988); Higgins and Sharp, *CABIOS* 5:151-3(1989); Corpet et al., *Nuc. Acids Res.* 16:10881-90(1988); Huang et al., *Comp. Appl. BioSci.* 8:155-65(1992) and Pearson et al., *Meth. Mol. Biol.* 24:307-31(1994)에 개시되어 있다. NCBI Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (Altschul et al., *J. Mol. Biol.* 215:403-10(1990))은 NCBI(National Center for Biological Information) 등에서 접근 가능하며, 인터넷 상에서 blastp, blastm, blastx, tblastn and tblastx와 같은 서열 분석 프로그램과 연동되어 이용할 수 있다. BLSAT는 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>에서 접속 가능하다. 이 프로그램을 이용한 서열 상동성 비교 방법은 [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/blast\\_help.html](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/blast_help.html)에서 확인할 수 있다.

[0023] 본 발명에서 사용되는 sRAGE는 막관통 영역 또는 세포질 꼬리 부분을 포함하지 않는 RAGE 단백질이다(Park et al., *Nature Med.*, 4:1025-1031(1998). 예를 들어, 본 발명에서 사용되는 sRAGE는 인간 sRAGE 또는 그의 단편을 포함할 수 있는데, 제1잔기로서 메티오닌이 아닌 글리신을 수반한다(예를 들어, Neeper et al., (1992). 또한, 본 발명에서 사용되는 sRAGE는 신호 서열이 제거된 인간 sRAGE 또는 이러한 아미노산 서열의 일부를 포함할 수 있다.

[0024] 본 발명의 sRAGE는 RAGE 리간드와 RAGE 사이의 결합을 방해한다. sRAGE는 디코이 수용체(decoy receptor)로 작용하여 혈중에 존재하는 RAGE 리간드들과 결합하여 세포막 RAGE 수용체와 결합하는 작용을 길항하는 역할을 한다. sRAGE는 RAGE mRNA의 선택적 스플라이싱(alternative splicing) 또는 멤브레인 부분의 삭제(excision)로 인해 형성되며 전체 RAGE의 1-2%를 차지한다.

[0025] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물에서 sRAGE는 면역글로블린의 Fc 부위로부터 유래된 폴리펩티드와 융합된 융합 단백질 형태로 제공된다. 융합 단백질에는 RAGE 또는 그의 단편으로부터 유래되지 않은 몇 가지 유형의 펩티드가 포함될 수 있다. 융합 단백질은 면역글로블린으로부터 유래된 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 면역글로블린 폴리펩티드가 면역글로블린 중쇄 또는 그의 일부(즉, 단편)를 포함할 수 있다. 예를 들어, 중쇄 단편은 면역글로블린의 Fc 부위로부터 유래된 폴리펩티드를 포함할 수 있는데, 이러한 Fc 부위는 중쇄 힌지 폴리펩티드 및 단량체로서의 면역글로블린 중쇄의 CH<sub>2</sub> 및 CH<sub>3</sub> 도메인을 포함한다.

중쇄(또는 그의 일부)는 다음 공지된 중쇄 이소형 중의 어느 한 가지로부터 유래될 수 있다: IgG( $\gamma$ ), IgM( $\mu$ ), IgD( $\delta$ ), IgE( $\epsilon$ ), 또는 IgA( $\alpha$ ). 또한, 중쇄(또는 그의 일부)는 다음 공지된 중쇄 아유형 중의 어느 한 가지로부터 유래될 수 있다: IgG1( $\gamma$ 1), IgG2( $\gamma$ 2), IgG3( $\gamma$ 3), IgG4( $\gamma$ 4), IgA1( $\alpha$ 1), IgA2( $\alpha$ 2), 또는 생물학적 활성을 변경시키는 이들 이소형 또는 아유형의 돌연변이물.

[0026] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 본 발명의 sRAGE는 면역글로블린 중쇄-sRAGE-인간 면역글로블린 G1(IgG1)의 형태를 갖는다. 본 발명의 sRAGE는 Fc 부위가 융합된 융합 단백질 형태로 천연 sRAGE보다 우수한 안정성을 나타낸다.

[0027] 본 명세서의 용어 “심근염”은 심장근육에 발생하는 염증을 말하며 대부분은 증상이나 큰 후유증 없이 회복이 되나 일부는 심각한 증상을 동반하여 심부전증과 같은 여러 합병증을 일으키게 된다. 심근염을 일으키는 원인은 여러 가지가 있는데 세균이나 바이러스 감염, 심근대사 장애, 고혈압, 음주 및 류마티스 등의 전신성 질환이 있다.

[0028] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 본 발명의 sRAGE를 포함하는 조성물은 심근의 염증반응을 억제시킨다.

[0029] 심장 미오신을 투여하여 심근염을 유도한 루이스 랫트 심근염 모델에서 sRAGE를 심근염 초기에 투여하는 경우 심장의 염증정도가 확연히 감소하고 심장기능 역시 보존됨을 확인하였다(도 6, 7). 루이스 랫트 심근염 모델에서 sRAGE를 초기에 투여하는 경우 RAGE 발현이 억제되고 이것이 염증진행의 억제와 연관된다고 판단된다(도 8A).

[0030] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 본 발명의 sRAGE를 포함하는 조성물은HMGB1(high mobility group box 1) 발현 및 ICAM-1(Intercellular Adhesion Molecule 1)의 발현 억제를 유도한다.

[0031] HMGB1은 염증반응의 후기에 분비되는 중요한 염증유발물질 중 하나로 전 염증 사이토카인(예를 들어, TNF 및 IL-1 등)이 초기 염증 반응을 매개한 다음, 고 이동성 제1 단백질 군(high mobility group protein 1; HMG1)이 혈청에 축적되며 지체성 치사(delayed lethality)와 초기 전 염증 사이토카인의 추가 유도를 매개한다.



- [0032] ICAM-1은 백혈구, 섬유아세포, 상피세포, 내피세포를 포함한 여러 종류의 세포에 의해 발현되는 Ig 유사 세포 접착 분자로 면역 매개 염증 반응에서 중요한 역할을 하고 백혈구 활성화 및 림프구 증식에서 자극 신호를 제공한다. 공개된 바에 의하면 ICAM-1의 분자량은 76-114 kD으로 다양하고 이의 발현양은 염증, 감염 및 암 조건 하에서 증가되는 것으로 보고되어 있다. ICAM-1은 혈관의 내피세포를 통한 백혈구의 이동과 그의 세포외기질에 대한 단단한 결합을 통해 염증 조직에 잔류하는데 특히 중요한 역할을 한다.
- [0033] 본 발명의 sRAGE는 RAGE 신호전달을 차단함으로써 염증 진행과 관련된 리간드인 HMGB1 및 염증세포의 침윤에 중요한 역할을 하는 ICAM-1의 발현을 감소시키는 작용을 한다(도 8B, 8C). 이런 결과들을 볼 때 본 발명의 조성물은 심근염의 치료에 뛰어난 효과를 보여주어, 심근염에 대한 새로운 치료제로서 역할을 할 수 있다는 것을 의미한다.
- [0034] 본 발명의 조성물이 약제학적 조성물로 제조되는 경우, 본 발명의 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 본 발명의 약제학적 조성물에 포함되는 약제학 적으로 허용되는 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸 히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 약제학적 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다. 적합한 약제학적으로 허용되는 담체 및 제제는 Remington's Pharmaceutical Sciences(19 th ed., 1995)에 상세히 기재되어 있다.
- [0035] 본 발명의 약제학적 조성물은 경구 또는 비경구 투여할 수 있으며, 바람직하게는 비경구 투여 방식으로 적용되며, 가장 바람직하게는 정맥 투여할 수 있다.
- [0036] 본 발명의 약제학적 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방될 수 있다. 본 발명의 약제학적 조성물의 바람직한 투여량은 성인 기준으로 0.001-100 mg/kg 범위 내이다.
- [0037] 본 발명의 약제학적 조성물은 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성매질중의 용액, 현탁액, 시럽제 또는 유화액 형태이거나 엑스 제, 산제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캡슐제 형태일 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.

**발명의 효과**

- [0038] 본 발명의 특징 및 이점(advantages)을 요약하면 다음과 같다:
- [0039] (a) 본 발명은 용해성(soluble) RAGE를 유효성분으로 포함하는 심근염(Myocarditis)의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0040] (b) 본 발명에 따르면, 본 발명의 조성물은 심근의 염증을 효과적으로 감소시킴으로써 심근염에서 우수한 치료 효과를 나타낸다.

**도면의 간단한 설명**

- [0041] 도 1은 실험쥐(Lewis rat)에 심장 미오신을 주사한 후 0일째(좌측), 21일째(우측)에 심장을 적출하여 RAGE 항체를 이용한 면역조직화학 염색을 수행한 결과를 나타낸 사진이다.
- 도 2는 실험쥐(Lewis rat)에 심장 미오신을 주사한 후 0일째(좌측), 21일째(우측)에 심장을 적출하고 RAGE 항체를 이용한 면역조직화학 염색을 수행한 결과를 나타낸 사진이다.
- 도 3은 실험쥐(Lewis rat)에 심장 미오신을 주사한 후 0일째, 11일째, 14일째, 21일째, 28일째, 35일째 및 42일째에 심장조음파검사를 시행하여 측정된 좌심실구혈률(%)을 보여주는 그래프이다. 별표(\*)는 심장 미오신을 주사한 후 0일째에 측정된 좌심실구혈률(%)과 비교하여 측정값이 현저한 차이를 갖는다는 것을 나타냄( $P < 0.05$ ).

도 4은 실험쥐(Lewis rat)에 심장 미오신을 주사한 후 0일째, 11일째, 14일째, 21일째, 28일째, 35일째 및 42일째에 심장을 적출하고 CD 45 항체를 이용하여 면역조직화학 염색을 수행하여 각각의 발현을 확인한 그래프이다.

별표(\*)는 심장 미오신을 주사한 후 0일째에 측정된 면역조직화학 염색 정도와 비교하여 측정값이 현저한 차이를 갖는다는 것을 나타냄( $P<0.05$ ).

도 5는 실험쥐(Lewis rat)에 심장 미오신을 주사한 후 0일째, 11일째, 14일째, 21일째, 28일째, 35일째 및 42일째에 심장을 적출하고 RAGE, HMGB1 및 ICAM-1 항체를 이용하여 면역조직화학 염색을 수행하여 각각의 발현을 확인한 그래프이다. 별표(\*)는 심장 미오신을 주사한 후 0일째에 측정된 면역조직화학 염색 정도와 비교하여 측정값이 현저한 차이를 갖는다는 것을 나타냄( $P<0.05$ ).

도 6은 실험쥐(Lewis rat)에 심장 미오신을 주사하여 심근염을 유발시킨 후, sRAGE 투여 시기를 달리 한 그룹들(Group N: 심장 미오신 대신 수액을 주입한 대조군, Group R 0-11: 심장 미오신을 주입하고 0일째부터 11일째까지 sRAGE 투여, G R 0-20: 심장 미오신을 주입하고 0일째부터 20일째까지 sRAGE 투여, Group R 12-20: 심장 미오신을 주입하고 12일째부터 20일째까지 sRAGE 투여, Group R 21-35: 심장 미오신을 주입하고 21일째부터 35일째까지 sRAGE 투여, Group C:심장 미오신을 주입하고 sRAGE 투여하지 않음)에서 21일째와 42일째 심장초음파검사로 측정된 좌심실구혈률(%)을 보여주는 그림이다. 도 6A는 각 그룹별 대표적 심장초음파 M-모드 사진이다. 도 6B는 각 그룹별 21일째 심장초음파를 이용하여 측정된 좌심실구혈률(%)이다. 도 6C는 각 그룹별 42일째 심장초음파를 이용하여 측정된 좌심실구혈률(%)이다. 별표(\*)는 심장 미오신을 주사하여 심근염을 유발시켰으나 sRAGE를 투여하지 않은 그룹과 비교하여 측정값이 현저한 차이를 갖는다는 것을 나타냄( $P<0.05$ ).

도 7은 실험쥐(Lewis rat)에 심장 미오신을 주사하여 심근염을 유발시킨 후, sRAGE 투여시기를 달리 한 그룹들에서 21일째 심장을 적출하고, CD 45 항체를 이용하여 면역조직화학 염색을 수행하여 염증세포의 침윤을 확인한 그래프이다. 별표(\*)는 심장 미오신을 주사하여 심근염을 유발시켰으나 sRAGE를 투여하지 않은 그룹과 비교하여 측정값이 현저한 차이를 갖는다는 것을 나타냄( $P<0.05$ ).

도 8은 실험쥐(Lewis rat)에 심장 미오신을 주사하여 심근염을 유발시킨 후, sRAGE 투여시기를 달리 한 그룹들에서 21일째 심장을 적출하고 RAGE(도 8A), HMGB1(도 8B) 및 ICAM-1(도 8C) 항체를 이용하여 면역조직화학 염색을 수행하여 각각의 발현을 확인한 그래프이다. 별표(\*)는 심장 미오신을 주사하여 심근염을 유발시켰으나 sRAGE를 투여하지 않은 그룹과 비교하여 측정값이 현저한 차이를 갖는다는 것을 나타냄( $P<0.05$ ).

도 9는 실험쥐(Lewis rat)에 심장 미오신을 주사하여 심근염을 유발시킨 후, sRAGE 투여시기를 달리 한 그룹들에서 21일째 심장을 적출하고 CD 45, RAGE, HMGB1 및 ICAM-1 항체를 이용하여 면역조직화학 염색을 수행하고, 42일째 Masson's trichrome 염색을 시행한 결과를 보여주는 대표적인 사진이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0042] 이하, 실시 예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시 예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시 예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0043] 실시예

[0044] 실시예 1: 심근염 동물 모델을 확립 및 심근염에서 RAGE의 활성화 여부 규명

[0045] sRAGE 용합 단백질의 발현 및 정제

[0046] sRAGE-Fc를 구축하기 위해 리더 시퀀스(유전자 ID: K02149; 단백질: AAA51633), 마우스 IgG H 체인(프라이머 세트: 5' -ATAGGCTAGCGCCACCATGGGATGG-3' , 5' -TGTGTGAGTTTTGTCCGAGTGGACA TCTGT-3' ), 마우스 sRAGE의 23-341 아미노산(프라이머 세트: 5' -GGTCAGAACATCACAGCCCGG ATTG-3' , 5' -TGTGTGAGTTTTGTCCCCATGGTGAAGA-3' ) 및 인간 IgG1 Fc 부위(프라이머 세트: 5' -GGCTAGCGTACCCAGCCAGACTC-3' , 5' -CCAGTCTGAGCTATTACCCGGAGACAG-3' )를 증폭시킨 다음, 오버랩 익스텐션 PCR을 수행하였다. PCR 산물은 *sfiI*로 절단한 후, pYK602 벡터에 삽입하였다. 마우스 sRAGE-Fc를 HEK293E 세포에서 발현시킨 다음, 단백질 A-세파로오스 컬럼(Amersham Biosciences)을 이용하여 제조사의 지시에 따라 정제하였다. 정제된 제조합 sRAGE를 PBS로 투석하고 SDS-PAGE에 전기영동한 후, 생물학적 내독소시험 키트(Cape Cod)를 이용하여 내독소 농도를 분석하였다.



- [0047] *심근염 유발*
- [0048] 심근염 유발과정은 Kodama가 제안한 방법으로 진행하였다(Clinical immunology and immunopathology 57, 250-262, 1990). 42마리의 실험군에 돼지 심장 미오신(Sigma Chemical Co., 미국) 및 CFA(Difco, Sparks, 미국)를 동일한 용량으로 실험쥐(7주령 루이스 랫트; 일본)의 발바닥에 주입하여 7일 동안 면역성을 생기게 하고, 7일 후 다시 돼지 심장 미오신을 주입하여 심근염 랫트 모델을 제작하였다. 정제된 돼지 심장 미오신은 10 mg/ml의 농도로 0.01 M(PBS)에 용해시키고, 10 mg/ml 농도의 마이코박테리움 결핵 H37RA(Difco, Sparks, 미국)을 포함한 프로인트 보강제(Difco, Sparks, 미국)와 1:1 비율로 유화시켜 랫트의 발바닥에 0.2 ml 주입하였다.
- [0049] *심근염 유발 확인*
- [0050] 미오신을 주입 후 0, 11, 14, 18, 21, 28, 35, 42일째 심근염 유발에 따른 심장 기능의 변화를 심장초음파를 통해 확인한 이후, 심장조직을 적출한 후 HE 염색과 면역조직화학 염색을 시행하여 심장근육의 염증 정도를 확인하였다.
- [0051] *경흉부 심장초음파 검사*
- [0052] 경흉부 심장초음파 검사는 조레틸 30 mg/kg, 롬폰 10 mg/kg를 복강 투여하여 마취시킨 상태에서 미오신 투여 후 0, 11, 14, 18, 21, 28, 35, 42일째 시행하였다. 유두근 레벨에서 흉골 옆 가로 비측(parasternal short axis)의 M-모드와 B-모드 영상을 얻었다. 흉골 옆 가로 비측 레벨의 M-모드 영상에서 좌심실구출률(EF) 및 좌심실 수축기 말기 직경(LVEDD)과 좌심실 수축기 말기 직경(LVESD)를 측정하였다. 심첨 4방 단면도(Apical 4 chamber view)와 심첨 2방 단면도(Apical 2 chamber view)를 획득하여 Biplane 방법을 이용한 EF를 측정하였다.
- [0053] *조직검사*
- [0054] 조직검사는 미오신 투여 0, 11, 14, 18, 21, 28, 35, 42일째 6마리씩 선정하여 진행하였다. 먼저 CO<sub>2</sub>로 안락사 시킨 후 심장을 적출하였다. 적출한 심장에서는 총 5개의 단축단면의 절편을 확보하였다. 이중 심첨부, 중간, 베이스 레벨의 절편을 이용하여 HE 염색을 수행하였다. 심장 조직을 10% 포르말린 용액에 고정하였다가 파라핀 포매하였다. 파라핀 포매 조직은 4 μm의 박편으로 만들어 HE 염색을 시행하였다. 심근의 염증 정도는 컴퓨터 프로그램(Image J: NIH, Bethesda, 미국)을 이용하여 분석하였다.
- [0055] *면역조직검사*
- [0056] 면역조직검사는 미오신 투여 후 0, 11, 14, 18, 21, 28, 35, 42일째 CD45, ICAM, RAGE 및 HMGB1에 대해 실시하였다. 면역조직검사를 위해 심첨부, 중간, 베이스 레벨의 심장 조직을 10% 포르말린 용액에 고정하였다가 파라핀 포매하였다. 파라핀 포매 조직은 4 μm의 박편으로 만들어 면역조직염색을 시행하였다. 면역조직검사는 항-CD45RC(1:500, ab33945, Abcam, 영국), RAGE(1:50, ab3611, Abcam, 영국), HMGB1(1:100, ab18256, Abcam, 영국), ICAM-1(1:50, ab33894, Abcam, 영국) 항체를 이용하여 시행하였다. 면역조직검사의 염색 정도는 컴퓨터 프로그램(Image J: NIH, Bethesda, 미국)을 이용하여 분석하였다. 염색정도(염색면적/ 전체 심근면적) 평가는 실험과정이나 결과를 알지 못하는 두 명의 해부병리학자에 의해 시행되었다.
- [0057] *통계학적 분석*
- [0058] 모든 통계학적 분석은 SPSS 패키지(Windows, version 15, SPSS Inc., 미국)를 이용하여 수행하였다. 각 그룹간 좌심실구출률이나 면역조직염색 정도에 대한 통계학적 비교는 맨-휘트니 U 테스트에 의해 평가되었다. 통계학적 유의성(P 값 < 0.05)을 갖는 각 처리 그룹의 평균값은 별표(\*)로 표시하였다.

[0059] **실시예 2: 심근염 모델의 적합성 확인 및 심근염에서 RAGE의 활성화 여부 규명**

[0060] 심장 미오신을 주입하여 자가면역 심근염을 유발시켰을 때 심장기능이 감소함을 확인하였다. 심장초음파검사 결과 심장 미오신을 주입한 후 14일째부터 확연하게 좌심실구출물이 감소하기 시작하여 35일째까지 좌심실구출물은 지속적으로 감소하다가 42일째 심장기능이 다시 회복되기 시작함을 확인하였다(도 3). 심장 미오신 주입하여 자가면역 심근염을 유발시켰을 때 심근내 염증세포가 증가함을 CD45에 대한 면역조직검사를 통해 확인하였다. CD45에 대한 면역조직검사 결과, 14일째부터 심근내 염증세포 침윤이 증가하기 시작하고, 21일째 심근내 염증세포 침윤이 확연하게 증가했다가 42일째까지 염증세포 침윤정도가 서서히 감소함을 확인하였다(도 4).

[0061] 또한 RAGE에 대한 면역조직검사결과 심장 미오신을 주입하여 심근염을 유발시키면 11일째부터 RAGE 발현이 증가하기 시작하고, 21일째 확연히 RAGE 활성화가 증가되었다가 이후 감소함을 확인하여, RAGE가 심근염 진행에 중요한 기전이 될 수 있음을 최초로 증명하였다(도 5A). 이러한 RAGE 발현은 RAGE에 대한 리간드로 여겨지는 HMGB1의 증가와 연관되어 있음을 HMGB1에 대한 면역조직검사를 통해 확인하였다. HMGB1에 대한 면역조직검사 결과, RAGE와 비슷하게 심장 미오신을 투여하여 심근염을 유발시키고 21일째부터 확연하게 HMGB1 발현이 증가되었다가 이후 감소함을 확인하였다(도 5B). 또한 염증의 진행에 중요한 역할을 하는 ICAM-1에 대한 면역조직검사를 시행한 결과, 이도 마찬가지로 21일째부터 확연하게 발현이 증가되었다가 이후 감소함을 확인하였다(도 5C). 따라서, 심근염의 진행에 RAGE가 중요한 역할을 하고 있음을 알 수 있다.

[0062] **실시예 3: 루이스 랫트 심근염 모델에서 sRAGE의 치료 효과 규명**

[0063] *심근염 유발*

[0064] 60 마리의 실험군에 돼지 심장 미오신(Sigma Chemical Co., 미국)과 CFA(Difco, Sparks, 미국)를 동일한 용량으로 실험쥐(7주령 루이스 랫트(Lewis rat); 일본)의 발바닥에 주입하여 7일 동안 면역성을 생기게 하고, 7일 후 다시 돼지 심장 미오신을 주입하여 심근염 랫트 모델을 제조하였다. 정제된 돼지 심장 미오신은 10 mg/ml의 농도로 0.01 M(PBS)에 용해시키고, 10 mg/ml 농도의 마이코박테리움 결핵 H37RA(Difco, Sparks, 미국)를 포함한 프로인트 보강제(Difco, Sparks, 미국)와 1:1 비율로 유화시켜 랫트의 발바닥에 0.2 ml 주입하였다. 6 마리의 대조군에는 실험군과 동일용량의 0.2 ml 0.9% 생리식염액(normal saline)을 발바닥에 주입하였다.

[0065] *sRAGE 투여*

[0066] 심근염 모델은 미오신 투여 후 12일경부터 염증 반응이 나타나기 시작하는 것으로 알려져 있어 각 질병 상태에 따라 sRAGE의 투여시기를 달리하기 위하여 6개의 실험군으로 나누어 랫트를 각각 12 마리씩 배정하였다. 그룹 R 0-11은 심장 미오신을 주입하고 0일째부터 11일째까지 재조합 sRAGE를 5 µg/일로 12일간 복강 주사하였다. 그룹 R 0-20은 심장 미오신을 주입하고 0일째부터 20일째까지 재조합 sRAGE를 5 µg/일로 12일간 복강 주사하였다. 그룹 R 12-20은 심장 미오신을 주입하고 12일째부터 20일째까지 재조합 sRAGE를 5 µg/일로 12일간 복강 주사하였다. 그룹 R 21-35은 심장 미오신을 주입하고 21일째부터 35일째까지 재조합 sRAGE를 5 µg/일로 12일간 복강 주사하였다. 그룹 C는 심장 미오신을 주입하고 재조합 sRAGE를 투여하지 않았다. 그리고 그룹 N은 심장 미오신 대신 동일 용량의 0.9% 생리식염액을 투여하여 심근염이 발생하지 않은 건강한 랫트도 같이 비교 분석하였다.

[0067] *심근염 진행 및 sRAGE 투여 효과 확인*

[0068] 6개의 그룹에서 미오신 투여 21일째와 42일째 경흉부 심초음파 검사 및 조직검사, 면역조직검사를 수행하였다. 수행방법은 실시예 1과 동일하다.

[0069] *심근염이 발생한 루이스 랫트 모델에서 sRAGE의 치료 효과 규명*

[0070] 실시예 1을 통해 RAGE가 심근염 진행에 중요한 기전임을 확인하였고, 따라서 sRAGE를 통해 RAGE의 작용을 억제했을 때 심근염이 약화될 것이라는 가설을 세우고 심근염 루이스 랫트 모델에 sRAGE를 투여한 결과 염증 반응이 약화됨을 확인하였다. sRAGE 투여시기에 따라 염증에 대한 효과가 다를 것임을 가정하여 총 6 그룹으로 나누

어 실험을 진행한 결과 sRAGE를 초기단계부터 투여했던 그룹에서 확연하게 심근염의 진행이 억제됨을 확인하였다.

[0071] 심장 미오신 투여한 후 21일째와 42일째 심장초음파 검사를 시행한 결과 sRAGE를 미오신 투여 0일째부터 11일째까지 투여한 그룹 R 0-11과 0일째부터 21일째까지 투여한 그룹 R 0-20의 경우 sRAGE 투여를 하지 않은 그룹 C에 비해 좌심실구혈률이 확연히 높게 측정되었다(도 6). 즉, sRAGE를 초기에 투여한 경우 심근염에 의한 심장기능 저하를 예방할 수 있음을 확인하였다.

[0072] 조직검사를 시행하여 심장 미오신을 투여하여 심근염을 유발한 후 sRAGE를 초기에 투여한 경우 염증세포의 침윤이 감소하고 심근염증의 진행이 억제됨을 CD45에 대한 면역조직검사를 통해 확인하였다. 심장 미오신을 투여한 후 21일째 CD45에 대한 면역조직검사를 시행하고 각 그룹별 염색범위를 비교한 결과 sRAGE를 미오신 투여 0일째부터 11일째까지 투여한 그룹 R 0-11과 0일째부터 21일째까지 투여한 그룹 R 0-20의 경우 sRAGE 투여를 하지 않은 그룹 C에 비해 CD45에 대한 염색정도가 확연히 적음을 확인하였다(도 7).

[0073] 심근염이 유발된 루이스 랫트 모델에서 sRAGE의 치료효과가 RAGE 발현 억제와 연관되어 있음을 RAGE에 대한 면역조직검사를 통해 확인하였다. 심장 미오신을 투여한 후 21일째 RAGE에 대한 면역조직검사를 시행하고 각 그룹별 염색범위를 비교한 결과 sRAGE를 미오신 투여 0일째부터 11일째까지 투여한 그룹 R 0-11과 0일째부터 21일째까지 투여한 그룹 R 0-20의 경우 sRAGE 투여를 하지 않은 그룹 C에 비해 RAGE에 대한 염색정도가 확연히 적음을 확인하였다(도 8A).

[0074] 심근염이 유발된 루이스 랫트 모델에 sRAGE를 투여하는 경우, RAGE 활성화와 연관되는 RAGE 리간드 중 하나인 HMGB1의 발현 및 염증진행과 연관되어 있는 ICAM-1의 발현 감소와도 연관되어 있음을 확인하였다. 심장 미오신을 투여한 후 21일째 HMGB1과 ICAM-1에 대한 면역조직검사를 시행하고 각 그룹별 염색범위를 비교한 결과 sRAGE를 미오신 투여 0일째부터 11일째까지 투여한 그룹 R 0-11과 0일째부터 21일째까지 투여한 그룹 R 0-20의 경우 sRAGE 투여를 하지 않은 그룹 C에 비해 HMGB1 및 ICAM-1에 대한 염색정도가 확연히 적음을 확인하였다(도 8B, 8C). 반면, 심장 미오신 투여한 후 후기에 sRAGE를 투여했던 그룹 R 12-21의 경우 면역조직검사에서 sRAGE를 투여하지 않은 그룹 C와 비슷한 결과를 보여주고 있어 후기에 sRAGE를 투여하는 경우 심근염의 치료효과가 미약함을 확인하였다.

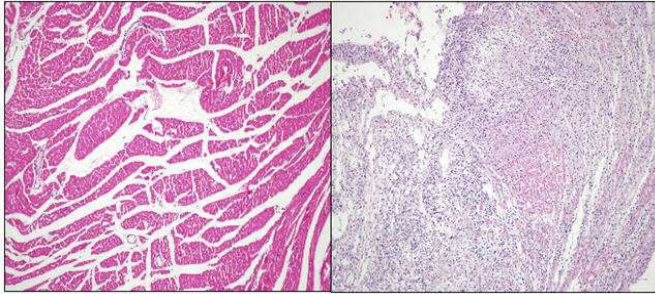
[0075] **논의 및 결론**

[0076] 본 발명자들은 sRAGE가 루이스 랫트 심근염 모델에서 심각한 심근염의 진행을 억제한다는 것을 본 발명에서 최초로 규명하였다. 본 발명자들은 심근염이 진행된 심장에서 RAGE 발현이 확연히 증가됨을 확인하였고, sRAGE를 심근염 초기에 투여하는 경우 심장의 염증정도가 확연히 감소하고 심장기능 역시 보존됨을 확인하였다. 루이스 랫트 심근염 모델에서 sRAGE의 치료 효과는 심근에서 RAGE 발현 억제와 연관되어 있다고 판단된다. 또한 sRAGE는 RAGE 신호전달을 차단함으로써 염증 진행과 관련된 리간드인 HMGB1과 염증세포의 침윤에 중요한 역할을 하는 ICAM-1의 발현을 감소시키는 작용을 함을 역시 확인하였다. 이런 결과들은 sRAGE가 심근염의 진행을 억제시키는 역할을 하여, 심근염에 대한 새로운 치료제로서 역할을 할 수 있다는 것을 의미한다.

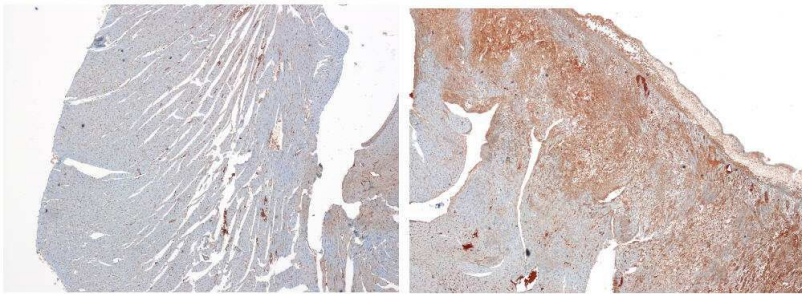
[0077] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

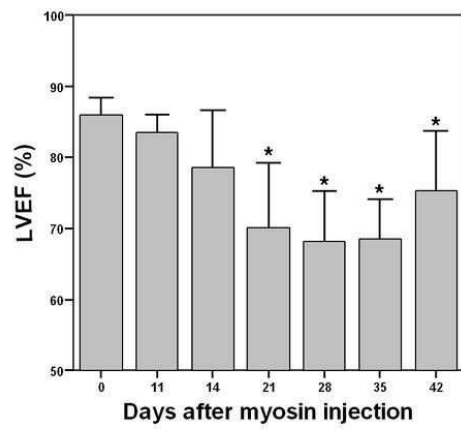
도면1



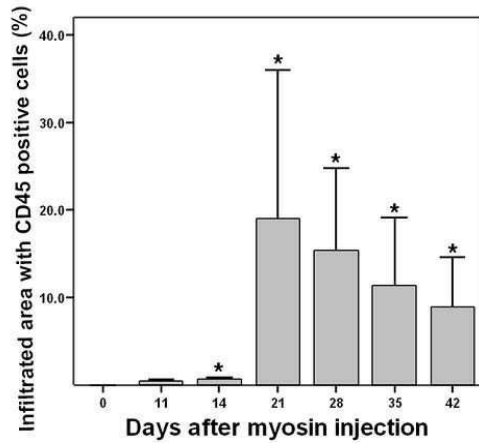
도면2



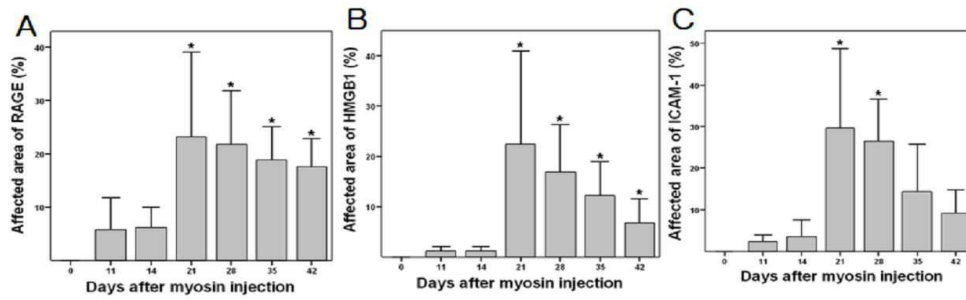
도면3



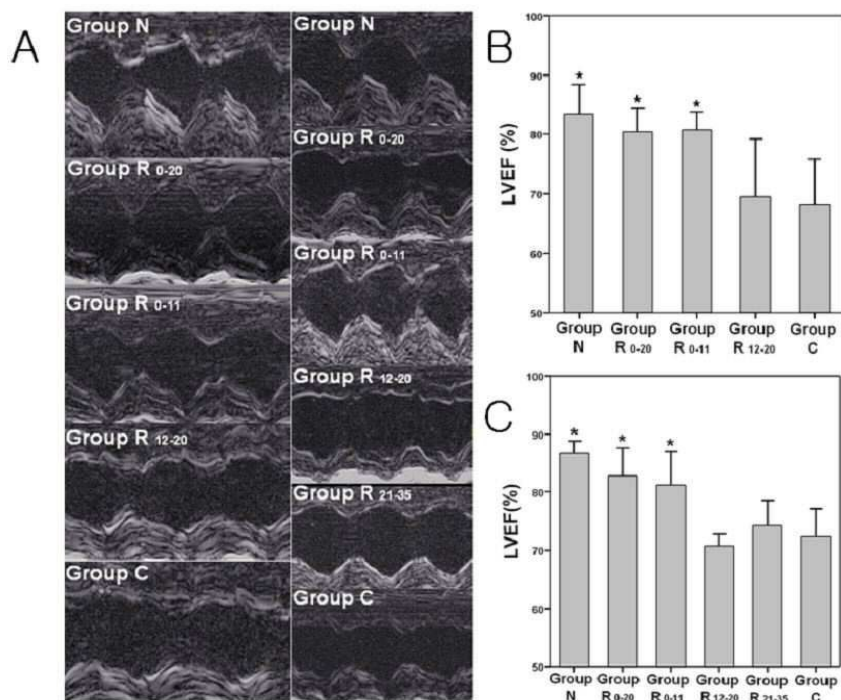
도면4



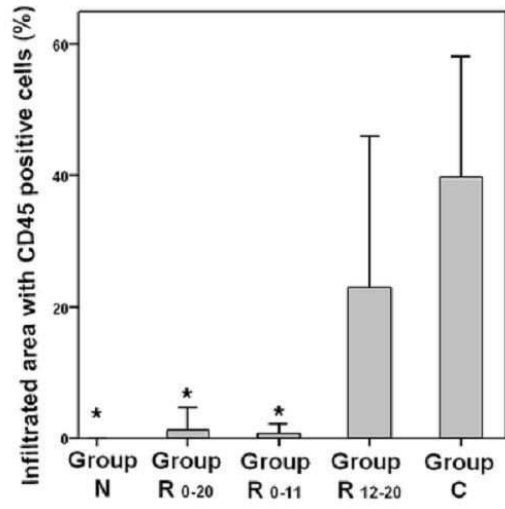
도면5



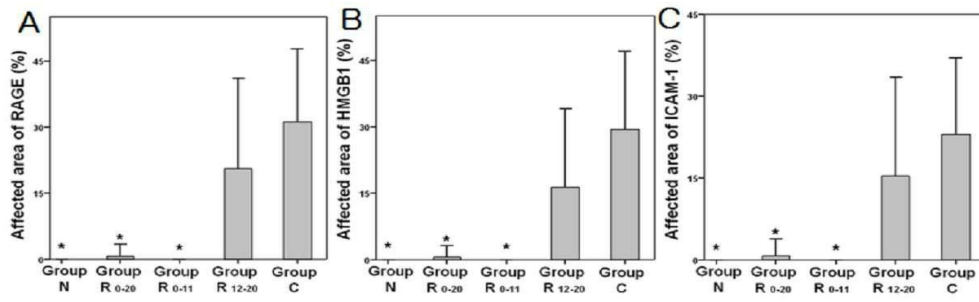
도면6



도면7

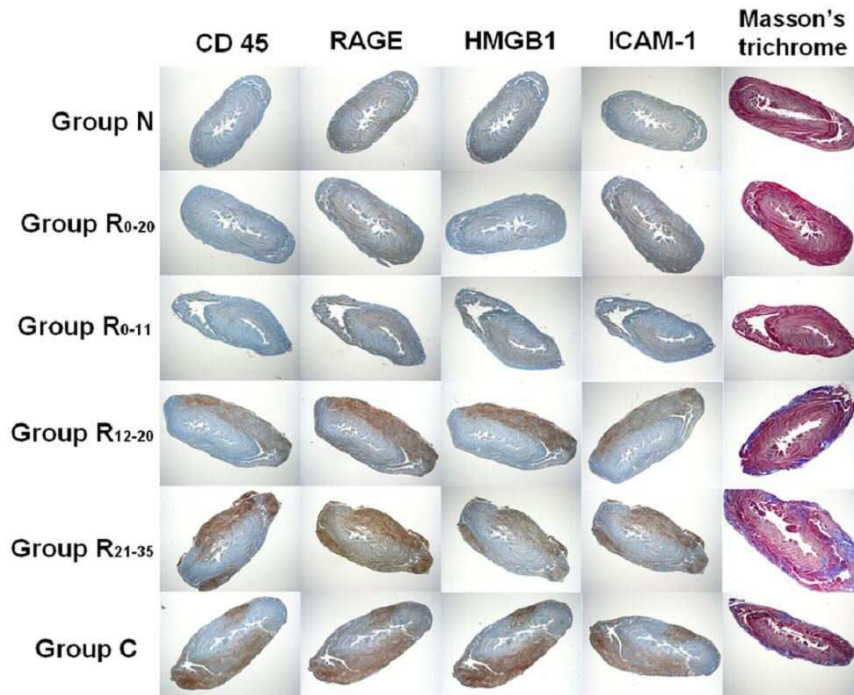


도면8





도면9



서열 목록

- <110> INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION, Yonsei University
- <120> Pharmaceutical Compositions for Preventing and Treating Myocarditis Comprising Soluble RAGE as Active Ingredient
- <130> PN110621P
- <150> KR KR10-2012-0003246
- <151> 2012-01-11
- <160> 1
- <170> KopatentIn 2.0
- <210> 1
- <211> 347
- <212> PRT
- <213> soluble RAGE Homo sapiens
- <400> 1

Met Ala Ala Gly Thr Ala Val Gly Ala Trp Val Leu Val Leu Ser Leu

1 5 10 15

Trp Gly Ala Val Val Gly Ala Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu

20 25 30

Pro Leu Val Leu Lys Cys Lys Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg



