

특 허 법 원

제 4 부

판 결

사 건 2019허5157 거절결정(특)

원 고 1. A

2. B

원고들 소송대리인 특허법인 스마트
담당변리사 이승한

피 고 특허청장

소송수행자 김종호

변 론 종 결 2020. 3. 25.

판 결 선 고 2020. 4. 24.

주 문

1. 원고들의 청구를 기각한다.
2. 소송비용은 원고들이 부담한다.

청 구 취 지

특허심판원이 2019. 5. 17. 2017원5060호 사건에 관하여 한 심결을 취소한다.

이 유

1. 기초적 사실관계

가. 출원발명

1) 발명의 명칭: 프리모 줄기세포를 유효성분으로 함유하는 손상 신경 조직의 치료용 조성물

2) 출원일/ 출원번호: 2015. 8. 17./ 10-2015-0115263

3) 청구범위(2017. 8. 28.자 보정에 의한 것)

【청구항 1】 (a) 프리모 줄기세포 또는 (b) 상기 프리모 줄기세포에 줄기세포 및 약침 중 1개 이상을 추가한 균을 유효성분으로 함유하는 신경 손상 조직의 치료용 조성물로서, 상기 프리모 줄기세포는 프리모 관 또는 프리모 노드로부터 분리된 것이고, 상기 줄기세포는 제대혈 줄기세포, 지방유래 성체줄기세포, 골수유래 성체줄기세포, 피부유래 성체줄기세포, 신경줄기세포 또는 근육줄기세포이며, 상기 약침은 태반약침, 녹용약침, 오공약침, 산삼약침, 봉약침, 유향약침, 복합한약재 약침 또는 자가혈 혈장 약침이고, 상기 조성물은 프리모 관 또는 프리모 노드에 주입됨으로써 혈액뇌장벽(blood brain barrier, BBB)을 통과하여 이동하며, 상기 신경 손상 조직은 근위축성 측삭경화증(루게릭병), 파킨슨병, 알츠하이머병, 근디스트로피, 운동신경원질환, 진행성근위축증(progressive muscular dystrophy, PMD), 근이영양증, 근육영양장애, 샤르코마리투스(Charcot-Marie-Tooth Disease, CMT), 인간광우병(크로이츠펠트 야콥병), 다계통위축증(Multiple System Atrophy, MSA), 소뇌위축증, 헌팅턴증후군, 척수성근위축증(spinal

muscular atrophy, SMA), 척수신경손상, 뇌졸중, 다발성경화증, 다발성신경염 또는 길랑바레증후군으로 인한 신경 손상 조직인 것을 특징으로 하는 신경 손상 조직의 치료용 조성물.

【청구항 2 내지 7】 각 삭제

4) 발명의 설명 중 주요 내용

별지 기재와 같다.

나. 거절결정 및 심결의 경위

1) 원고들이 2015. 8. 17. 출원발명에 대한 특허출원을 하였다. 특허청 심사관은 2016 9. 28. 원고들에게, 출원발명의 명세서 중 발명의 설명은 '그 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 사람(이하 '통상의 기술자'라 한다)이 그 발명을 쉽게 실시할 수 있을 정도로 명확하고 상세하게 적을 것'이라는 요건(특허법 제42조 제3항 제1호)을 충족하지 못하므로 특허를 받을 수 없다는 등의 거절이유를 통지하고 의견서 제출의 기회를 부여하였다.

2) 원고들이 2017. 1. 31. 보정서 및 의견서를 제출하였으나, 특허청 심사관은 2017. 6. 26. 위 보정서 및 의견서에 의하더라도 위 2016 9. 28.자 거절이유를 해소하지 못한다며 특허거절결정을 하였다.

원고들이 2017. 8. 28. 보정서 및 의견서를 제출하여 재심사를 청구하였으나, 특허청 심사관은 2017. 9. 19. 위 각 보정서 및 의견서에 의하더라도 위 2016 9. 28.자 거절이유를 해소하지 못한다며 특허거절결정(이하 '이 사건 거절결정'이라 한다)을 하였다.

3) 원고들이 2017. 10. 19. 이 사건 거절결정에 대한 불복심판(2017원5060호)을 청구하였다. 특허심판원은 2019. 5. 17. '출원발명은 특허법 제42조 제3항 제1호의 기재요

건을 충족하지 못하여 특허를 받을 수 없으므로, 나머지 거절이유에 관하여 더 살펴볼 필요 없이 이 사건 거절결정은 적법하다.'는 이유로 원고들의 위 심판청구를 받아들이지 아니하는 심결(이하 '이 사건 심결'이라 한다)을 하였다.

【인정근거】 각 다툼 없는 사실, 갑 제1 내지 5호증, 을 제1호증, 제2호증의 1, 2의 각 기재, 변론 전체의 취지

2. 이 사건 심결의 위법 여부에 관한 판단

가. 관련 법리

약리효과의 기재가 요구되는 의약의 용도발명에서는 그 출원 전에 명세서 기재의 약리효과를 나타내는 약리기전이 명확히 밝혀진 경우와 같은 특별한 사정이 없다면 특정 물질에 그와 같은 약리효과가 있다는 것을 약리데이터 등이 나타난 시험례로 기재하거나 또는 이에 대신할 수 있을 정도로 구체적으로 기재하여야만 명세서의 기재요건을 충족하였다고 볼 수 있다(대법원 2001. 11. 30. 선고 2001후65 판결, 대법원 2007. 7. 26. 선고 2006후2523 판결, 대법원 2015. 4. 23. 선고 2013후730, 2015후727 판결 등 참조).

나. 사건의 쟁점

1) 출원발명은, 프리모 줄기세포 또는 프리모 줄기세포에 줄기세포 및 약침 중 1개 이상을 추가한 군을 유효성분으로 함유하는 신경 손상 조직의 치료용 조성물에 관한 것으로서, 의약의 용도발명에 해당한다.

2) 그런데 출원발명의 약리효과 즉 '프리모 줄기세포를 유효성분으로 함유하는 조성물이 프리모 관 또는 프리모 모드에 주입됨으로써 근위축성 측삭경화증(루게릭병), 파킨슨병 등으로 인한 신경 손상 조직을 치료할 수 있다.'라는 약리효과를 나타내는 약리

기전이 출원발명의 출원 전에 명확히 밝혀졌다고 볼 만한 자료가 없다(이러한 점에 관하여 당사자 사이에도 별다른 다툼도 없다¹⁾).

3) 따라서 출원발명 명세서 중 발명의 설명에 출원발명의 약리효과가 있다는 것을 ① 약리데이터 등이 나타난 시험례로 기재하거나 ② 이에 대신할 수 있을 정도로 구체적으로 기재하였는지가 이 사건의 쟁점이다. 이하 차례로 살펴본다.

다. 약리데이터 등이 나타난 시험례로 기재하였는지 여부

1) 출원발명의 청구범위에는 앞서 본 출원발명의 약리효과, 즉 프리모 줄기세포를 포함하는 조성물을 프리모 관 또는 프리모 노드에 주입할 경우, 그 조성물이 혈액뇌장벽(BBB)을 통과하여 손상된 신경 조직을 치료한다는 내용이 기재되어 있고, 이는 발명의 설명에서도 마찬가지이다.

2) 그런데 출원발명의 명세서 중 발명의 설명에는 다음의 실험례가 기재되어 있다.

[0109] 실험예 1. 동물모델에서 프리모 기관 내 줄기세포의 이동 관찰

[0110] 1-1. 실험 과정

[0111] 줄기세포를 실험동물의 족삼리혈에 위치한 프리모 기관에 주입하여 줄기세포의 이동을 관찰하였다.

[0112] 이때 실험동물로는 ICR 마우스와 누드 마우스를 사용하였으며, 실험에 사용한 줄기세포는 제대혈 유래의 줄기세포로, GFP 형광을 띄도록 하였다.

[0113] 족삼리혈에 줄기세포를 주입한 후 시간이 경과함에 따라 형광현미경으로 관찰하여 줄기세포의 이동경로를 파악하였다.

[0114] 1-2. 실험 결과

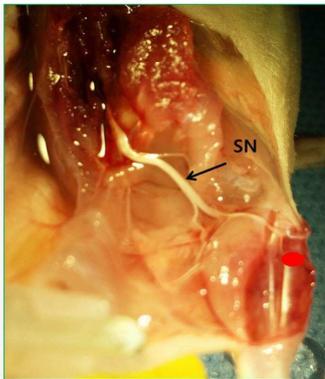
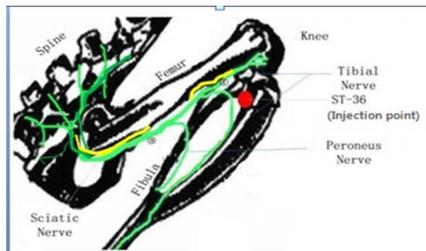
[0115] 도 2는 마우스의 좌골신경 해부도 및 실제 현미경 사진을 나타낸 것이다.

[0116] 녹색 선이 좌골신경을 나타내며, 빨간 점이 줄기세포 주입점인

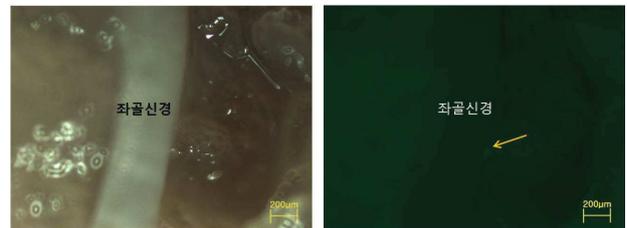
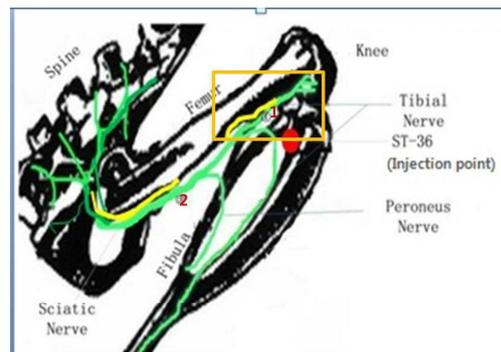
1) 제1차 변론기일조서 참조

족삼리혈(ST-36)에 해당한다. 노란 선은 GFP 형광 줄기세포가 이동하는 것이 관찰된 곳으로, 좌골신경을 따라 분포하는 프리모 관에 해당한다.

[0118] 실험결과, ICR 마우스의 면역 반응으로 인해 줄기세포의 형광신호가 나타나지 않는 것을 확인하였다.



도 2



도 4

[0119] 도 4는 누드마우스에서 해부도의 박스친 부분에 해당하는 좌골신경의 모습과 형광사진을 나타낸 것이다.

[0120] 족삼리혈에 줄기세포를 주입한 결과, 족삼리혈의 위쪽에 위치한 좌골신경의 외막에서 형광 줄기세포(화살표)가 관찰되었다.

[0122] 실험 결과, 줄기세포가 족삼리혈보다 훨씬 위쪽의 엉덩이 부위에서 좌골신경위의 프리모관을 따라 줄줄이 이동하는 모습을 관찰하였다.

[0123] 따라서 족삼리혈에 주입한 줄기세포는 신경에 위치한 프리모 관을 따라 이동하는 것을 알 수 있으며, 이를 이용하여 프리모 관에 줄기세포를 주입하면 척추 및 뇌에 직접 전달되어 조직을 재생시킴으로써 퇴행성 뇌신경계질환을 치료할 것으로 기대할 수 있다.

[0124] 이상의 실험 결과를 통해 프리모 관 또는 프리모 노드에 주입된 줄기세포가

프리모 관을 따라 이동하며 조직에 도달하여 이를 재생시킴으로써, 표적하는 조직에 정확하게 도달시킬 수 있는 손상 조직의 치료용 조성물로 사용될 수 있음을 예측할 수 있다.

3) 이와 같이 출원발명의 명세서 중 발명의 설명에는, 제대혈에서 유래한 줄기세포를 족삼리혈(足三里穴)에 주입하면, 주입된 줄기세포가 족삼리혈의 위쪽에 위치한 좌골신경의 외막에서 관찰됨에 따라, 줄기세포가 프리모 관을 따라 이동한다는 내용이 실험례로 기재되어 있다. 그런데 출원발명의 명세서 중 발명의 설명에 '본 발명에서 프리모 줄기세포는 프리모 순환 시스템 내의 산알을 포함하는 줄기세포를 이르는 것'이라는 기재가 있고(식별번호 [0049]), 원고도 출원발명의 청구범위 기재 '프리모 줄기세포'는 프리모 순환 시스템에서 분리한 산알을 포함하는 줄기세포를 의미하고, 출원발명의 청구범위 기재 '줄기세포'는 프리모 순환 시스템 외에서 분리한 줄기세포를 각각 의미한다고 주장한다.²⁾ 이처럼 출원발명의 프리모 줄기세포는 프리모 순환 시스템 내에서 분리한 산알을 포함하는 줄기세포이므로, 제대혈 유래의 줄기세포와는 구별되는 것이다.

사정이 이러하다면 '실험에 사용한 줄기세포는 제대혈 유래의 줄기세포'라는 기재(식별번호 [0112])³⁾ 등을 비롯한 전체 기재를 접하는 통상의 기술자로서는, 프리모 줄기세포가 아닌 제대혈 줄기세포를 족삼리혈에 주입할 경우, 줄기세포가 좌골신경 외막의 프리모 관을 따라 이동한다는 내용으로 위 실험례를 이해할 것이다. 이처럼 출원발명

2) 제1차 변론기일조서 참조

3) 출원발명의 명세서 식별번호 [0112]의 줄기세포가 출원발명의 청구범위 기재 '프리모 줄기세포'에 해당하지 않는다는 점에 관하여 당사자들 사이에 다툼도 없다(제1차 변론기일조서 참조).

의 실험례에는 프리모 줄기세포가 아닌 제대혈 유래의 줄기세포를 사용한 경우에 관해서만 기재되어 있을 뿐이고, 정작 출원발명의 조성물에 유효성분으로 함유되는 프리모 줄기세포를 주입할 경우에 관하여는 발명의 설명에 그 기재가 발견되지 아니한다.

4) 한편 출원발명의 명세서 중 발명의 설명에는 '프리모 순환 시스템에 흐르는 액체의 주요한 성분으로는 산알이 있는데, 이 산알은 살아있는 알, 또는 생명의 알이란 뜻으로 프리모 순환 시스템을 주장한 봉한학설에서 제안한 용어이다.'라는 기재(식별번호 [0010]) 및 '산알(작은 세포 혹은 DNA 소립자)은 매우 작은 크기(1~2 μ m)이며, 줄기세포의 바이오마커인 Oct4, Nanog, CD133에 양성반응을 하여, 산알이 줄기세포의 일종임을 알 수 있다.'라는 기재(식별번호 [0019])와 함께, 앞서 본 것처럼 '본 발명에서 프리모 줄기세포는 프리모 순환 시스템 내의 산알을 포함하는 줄기세포를 이르는 것'이라는 기재(식별번호 [0049]) 등이 있기는 하다.

그러나 산알을 포함하는 프리모 줄기세포가 줄기세포의 바이오마커에 양성반응을 보인다는 취지의 위 기재들로부터 통상의 기술자가 할 수 있는 것은, 프리모 줄기세포를 주입하였을 때에도 다른 줄기세포와 동일한 결과가 나타날 수도 있다고 추측해 볼 수 있는 정도에 그친다. 출원발명의 명세서에도 '산알과 배아 같은 작은 줄기세포의 유사성을 보아 이들이 동일하거나 변형의 형태일 가능성에 대한 기대가 높다.'라고 기재되어 있을 뿐이다(식별번호 [0021] 참조). 위와 같이 추측할 수 있는 정도를 넘어서, 구체적으로 프리모 줄기세포가 신경세포로 분화할 수 있는지 등에 관하여는, 출원발명의 명세서 중 발명의 설명에 약리데이터 등이 나타난 시험례로 기재되어 있지 않다. 더욱이 앞서 본 실험례(즉 실험예 1)에는 프리모 줄기세포가 척수에 도달할 수 있는지, 척수에 도달하였더라도 혈액뇌장벽(BBB)을 통과하여 직접 뇌신경조직에 도달할 수 있는

지 등에 관하여 어떠한 데이터도 기재되어 있지 않아, 프리모 줄기세포가 주입되었을 때 과연 척수를 지나서 뇌신경조직에 도달할 수 있는지에 대해서도 알 수가 없다.

5) 더욱이 위 실험예에는 족삼리혈이 혈관 또는 림프관과 구별되는 프리모 관 또는 프리모 노드에 해당하는지에 관한 시험예도 전혀 기재되어 있지 않다.

원고들은, 프리모 순환 시스템이 전신에 걸쳐 경락과 동일 또는 유사하게 위치하고 있다는 점이 실험적으로 증명되었다고 주장하나, 이러한 주장사실을 그대로 인정할 만한 증거가 없다. 달리 경락 중 족삼리혈에 프리모 관 또는 프리모 노드가 존재한다고 추단할만한 자료가 발견되지 아니한다.

6) 이상을 종합하면, 출원발명 명세서 중 발명의 설명에는 출원발명의 약리효과가 있다는 것이 약리데이터 등이 나타난 시험례로 기재되어 있다고 볼 수 없다.

라. 약리데이터 등이 나타난 시험례에 대신할 수 있을 정도로 구체적으로 기재하였는지 여부

1) 출원발명의 명세서 중 발명의 설명에는 앞서 본 기재들과 함께 다음의 기재들이 있다. 즉 '조혈 전구세포 집락 형성법 실험을 통해 프리모 노드 내 조혈 줄기세포가 존재함이 밝혀졌으며, 산알은 배아줄기세포의 바이오마커에 반응하는 것으로 밝혀졌다.'라는 기재(식별번호 [0048]), '본 발명에서 프리모 줄기세포는 프리모 순환 시스템 내의 산알을 포함하는 줄기세포를 이르는 것으로, 손상된 조직을 재생하는 역할을 수행한다.'라는 기재(식별번호 [0049]), '프리모 관은 자가 운동을 한다고 알려져 있는데, 세 가지 운동형식이 있다. 그 하나는 주기적으로 나타나는 종적 운동이며, 두 번째는 빠른 속도로 일어나는 횡적 진동 운동이다. 또 하나의 운동은 앞의 두 가지를 혼합한 형태로 일어나는 파상 운동이다. 이와 같은 프리모 관의 운동은 초속 0.1~0.6mm의 속

도로 일정 방향으로 전파된다. 이러한 프리모 관의 운동으로 프리모 관 내부의 프리모 액이 순환하게 되는데, 한 방향으로 프리모 액이 이동하므로, 프리모 기관에 치료용 조성물을 주입함으로써, 원하는 방향으로 이동시킬 수 있고 손상된 조직을 치료하는 방법으로 제공될 수 있다.'라는 기재(식별번호 [0093], [0094]) 및 '족삼리혈(足三里穴)이나 수삼리혈(手三里穴)은 실험을 통해 좌골신경, 척수를 통해 뇌로 이어지는 프리모 관이 발견된바, 족삼리혈 또는 수삼리혈에 주입하면 프리모 줄기세포가 뇌와 척수로 이동하여 손상된 조직을 치료하고, 이로써 신경근육질환을 치료하는 방법으로 사용될 수 있다. 또한 주입된 치료용 조성물은 혈액뇌장벽(BBB)을 통과하여 손상된 신경 조직을 치료하는 조성물로 사용될 수 있다.'라는 기재(식별번호 [0105], [0106]) 등이 그것이다.

위와 같이 출원발명의 명세서 중 발명의 설명에, 프리모 줄기세포가 손상된 조직을 재생하는 역할을 수행한다는 점, 족삼리혈 등에 발견되는 프리모 관에 주입된 치료용 조성물이 혈액뇌장벽을 통과하여 손상된 신경 조직을 치료하는 조성물로 사용될 수 있다는 점 등이 기재되어 있기는 하다.

2) 그러나 통상의 기술자로서는 프리모 줄기세포가 줄기세포의 바이오마커에 반응한다는 점만으로는 프리모 줄기세포가 신경세포로 분화할 수 있는지를 파악하기 어렵고, 설사 프리모 관의 운동으로 프리모 관 내부의 프리모 액이 순환하고, 족삼리혈, 척수, 뇌 등에 프리모 관이 발견된다 하더라도, 프리모 줄기세포가 프리모 관에 주입되었을 경우 특정한 신경조직에 도달할 수 있는지, 그리고 손상된 신경조직을 복구할 수 있는지 등을 알 수 없다. 그럼에도 출원발명의 명세서 중 발명의 설명에는 이러한 점들에 관하여 구체적인 기재가 없다.

3) 원고들은, 통상의 기술자가 갑 제7~10호증의 각 논문과 갑 제11호증의 등록특허 공보의 기재내용까지 보태어 본다면 위 2)항의 점들까지도 충분히 파악할 수 있으므로, 결국 출원발명의 명세서 중 발명의 설명에는 통상의 기술자가 출원발명을 쉽게 실시할 수 있을 정도로 명확하고 상세하게 적혀있는 것으로 보아야 한다는 취지로 주장한다.

그러나 출원발명의 명세서 중 발명의 설명에서 위 각 논문이나 공보를 인용하는 등의 특별한 사정이 없는 한, 단지 위 각 논문 및 공보가 선행문헌으로 존재한다는 사정만으로는 통상의 기술자가 과도한 실험이나 특별한 지식을 부가하지 아니하고 그 기재내용을 이해할 수 있다고 볼 수 없다. 이와 다른 전제에 선 원고들의 위 주장은 받아들일 수 없다[원고들은 또, 프리모 순환 시스템의 순환 기능⁴⁾ 등에 관한 위 각 논문 및 공보의 기재내용들이 출원발명의 출원 당시 기술상식에 해당한다는 취지로도 주장하나, 위 각 증거만으로는 위 기술상식의 점을 추단하기 어렵고 달리 이를 인정할 증거가 없다].

4) 이상을 종합하면, 출원발명 명세서 중 발명의 설명에 출원발명의 약리효과가 있다는 것이 약리데이터 등이 나타난 시험례에 대신할 수 있을 정도로 구체적으로 기재되어 있다고 보기도 어렵다.

마. 소결

1) 이상과 같이, 출원발명의 약리효과 즉 '프리모 줄기세포를 유효성분으로 함유하는

4) 원고들은, 갑 제9호증의 논문에 '프리모 순환 시스템(봉한 시스템)이 HAR-NDS(Hyaluronic acid-rich node and duct system)라는 속성을 가지고, 이 HAR-NDS에 흐르는 NDSC가 신경세포로 분화가 되며, 이 HAR-NDS가 프리모 줄기세포인 NDSC의 이동경로가 될 수 있음이 제시되어 있는데, 이는 프리모 순환 시스템이 전신에 걸쳐 분포되어 있는 순환 시스템이고, 프리모 노드에 프리모 줄기세포를 직접 주입하면 그 프리모 줄기세포가 이동 순환된다는 것이 입증된 것과 다름없다는 취지로 주장한다.

조성물이 프리모 관 또는 프리모 모드에 주입됨으로써 근위축성 측삭경화증(루게릭병), 파킨슨병 등으로 인한 신경 손상 조직을 치료할 수 있다.'라는 약리효과를 나타내는 약리기전이 출원발명의 출원 전에 명확히 밝혀졌다고 볼 수 없고, 출원발명 명세서 중 발명의 설명에 출원발명의 위 약리효과가 있다는 것이 약리데이터 등이 나타난 시험례로 기재되거나 이에 대신할 수 있을 정도로 구체적으로 기재되어 있다고 볼 수 없다.

2) 따라서 출원발명의 명세서 중 발명의 설명은 '통상의 기술자가 그 발명을 쉽게 실시할 수 있을 정도로 명확하고 상세하게 적을 것'이라는 특허법 제42조 제3항 제1호의 기재요건을 충족하지 못한다고 할 것이므로, 출원발명은 특허를 받을 수 없다. 이와 결론을 같이하여 이 사건 거절결정을 그대로 유지한 이 사건 심결은 정당하고, 취소되어야 할 원고들 주장의 위법사유가 없다.

3. 결론

이 사건 심결의 취소를 구하는 원고들의 청구는 모두 이유 없으므로 이를 받아들이지 아니하기로 하여 주문과 같이 판결한다.

재판장 판사 윤성식

 판사 권순민

 판사 정택수

발명의 설명 중 주요 내용

[1] 배경 기술

[0005] 프리모 순환 시스템(primo vascular system, PVS)이란 혈관계, 림프계와 더불어 제3의 순환계라 불리는 기관으로, 경락의 해부학적 실체를 탐구하던 김봉한 박사에 의해 최초로 제안되었으며, 최근에는 서울대학교 연구팀에 의하여 동물의 조직에서 실제로 프리모 순환 시스템이 존재한다는 것이 확인되었다.

[0009] 프리모 순환 시스템은 몸속의 혈관, 각종 장기, 뇌와 신경 속까지 퍼져있는 조밀한 망이며, 당시 김봉한 박사는 프리모 순환 시스템의 주요 기능으로 조직의 재생을 주장하였다.

[0010] 프리모 순환 시스템에 흐르는 액체의 주요한 성분으로는 산알이 있는데, 이 산알은 '살아있는 알, 또는 생명의 알'이란 뜻으로 프리모 순환 시스템(봉한관)을 주장한 봉한학설에서 제안한 용어이다.

[0011] 배아 같은 작은 줄기세포(VSEL stem cells)는 미국 루이빌 대학 (University of Louisville)의 석좌교수(Henry H. & Stella M. Hoenig Endowed Chair professor)이자, 저명한 줄기세포 연구자인 Mariusz Z. Ratajczak가 2005년 발견한 것으로, 이는 배아줄기세포처럼 높은 분화능이 있는 성체줄기세포이며, 크기가 매우 작기 때문에 '배아 같은 작은 줄기세포(very small embryonic-like stem cells)'라 명명하였다.

[0012] 배아 같은 작은 줄기세포는 배아줄기세포와 비견할 분화능이 있는 성체줄기세포이기 때문에 세포치료와 재생의학에서 윤리적 문제가 없이 연구를 할 수 있는 이상적인 줄기세포라고 소개되고 있다.

[0019] 산알(작은 세포 혹은 DNA 소립자)은 매우 작은 크기(1~2 μ m)이며, 줄기세포의 바이오마커(biomarker)인 Oct4, Nanog, CD133에 양성반응을 하여, 산알이 줄기세포의 일종임을 알 수 있다.

[0020] 산알과 줄기세포와의 구조적/기능적 유사성은 산알이 원천 줄기세포로서 존재할 수 있다는 가능성을 시사하며, 이로써 의학 연구의 패러다임 전환이 예고되고

있다(Lee BC., et al., Development of a fluorescence streomicroscope and observation of Bong-Han corpuscles inside blood vessels, Indian J Exp Biol. 2008; 46(5):330-335).

[0021] 배아 같은 작은 줄기세포 역시 줄기세포의 바이오마커에 양성반응을 일으킨다. 따라서 산알과 배아 같은 작은 줄기세포의 유사성을 보아 이들이 동일하거나 변형의 형태일 가능성에 대한 기대가 높다.

② 발명의 효과

[0037] 본 발명에 따른 신경 손상 조직의 치료용 조성물은 프리모 관 또는 프리모 노드에 주입되어 손상된 신경조직을 치료하는 효능을 보유하고 있다.

[0038] 본 발명에 따른 신경 손상 조직의 치료용 조성물은 원하는 조직과 연관된 프리모 기관에 치료용 조성물을 주입함으로써, 상기 조직에 치료용 조성물을 도달하게 하고 세포를 재생시켜, 기존의 줄기세포치료의 불확실성을 해소하는 효과가 있다.

[0039] 본 발명에 따른 신경 손상 조직의 치료용 조성물은 근위축성 측삭경화증(루게릭병), 파킨슨병, 알츠하이머병, 근디스트로피, 운동신경원질환, 진행성근위축증(progressive muscular dystrophy, PMD), 근이영양증, 근육영양장애, 샤르코마리투스(Charcot-Marie-Tooth Disease, CMT), 인간광우병(크로이츠펠트 야콥병), 다계통위축증(Multiple System Atrophy, MSA), 소뇌위축증, 헌팅턴증후군, 척수성근위축증(spinal muscular atrophy, SMA), 척수신경손상, 뇌졸중, 다발성경화증, 다발성신경염 또는 길랑바레증후군 등 퇴행성 신경계질환 및 희귀 난치성 근육질환으로 인한 신경 손상 조직을 치료하는 효능을 보유하고 있다.

[0040] 본 발명에 따른 신경 손상 조직의 치료용 조성물은 혈액뇌장벽(blood brain barrier, BBB)을 통과하여 손상된 신경 조직을 치료하는 효능을 보유하고 있다.

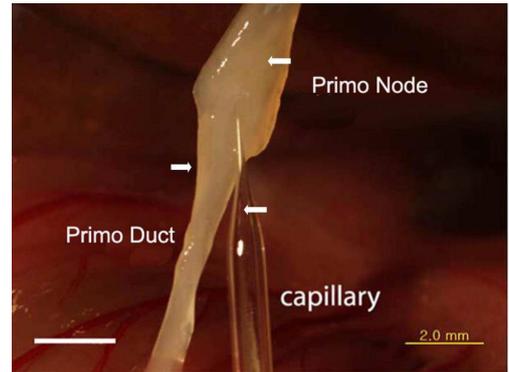
③ 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0044] 참조예 1. 프리모 순환 시스템 내의 프리모 줄기세포

[0045] 프리모 순환 시스템에는 프리모 관(primo duct)과 프리모 노드(primo node)로 구성되며(도 1 참조), 프리모 노드 내의 체액을 분리하여 분석한 결과, 많은 수의 면역세포(mast cell), 조혈 줄기세포(hematopoietic stem cell), 배아 같은 작은

줄기세포(very small embryonic-like stem cells, VSEL stem cells) 및 산알 등이 존재하는 것으로 알려졌다.

[0046] 즉 프리모 순환 시스템 내에는 기존의 줄기세포 외에 더 작은 마이크로셀(microcell)이 관찰되었다.



[0047] 프리모 노드 내의 면역세포는 도 1 비만세포(mast cell), 호산구(Eosinophil), 호중구(neutrophil), 조직구(Histiocyte), 림프구(lymphocyte), 아세포(Immature cell) 및 크롬친화세포(Chromaffin cell)가 분포하는 것으로 알려져 있다.

[0048] 또한 조혈 전구세포 집락 형성법(hematopoietic progenitor cell colony assay) 실험을 통해 프리모 노드 내 조혈 줄기세포가 존재함이 밝혀졌으며, 산알은 Oct4, Nanog, CD34 등 배아줄기세포의 바이오마커에 반응하는 것으로 밝혀졌다.

[0049] 본 발명에서 프리모 줄기세포는 프리모 순환 시스템 내의 산알을 포함하는 줄기세포를 이르는 것으로, 손상된 조직을 재생하는 역할을 수행한다.

[0050] 원자힘현미경(Atomic Force Microscopy, AFM)을 이용하여 산알을 확인한 결과, 산알이 출아(budding)하는 모습이 관찰되었으며 이를 통해 산알이 프리모 순환 시스템 내 줄기세포의 모체로서 존재함을 추정할 수 있다.

[0051] 또한 본 발명의 신경 손상 조직의 치료용 조성물로 프리모 순환 시스템 내의 조혈 줄기세포 및 배아 같은 작은 줄기세포가 유효성분으로 포함될 수 있다.

[0060] 참조예 2. 프리모 줄기세포의 분리방법

[0061] 현재 밝혀진 프리모 순환 시스템은 혈관과 임파관 내부, 심장이나 간장과 같은 장기의 내부에 존재하는 내프리모 체계, 내장의 표면에 분포하고 있는 내외프리모 체계, 혈관이나 신경의 외벽을 따라 달리고 있는 외프리모 체계 및 신경조직에 분포하고 있는 신경프리모 체계의 4가지로 구성되어 있다.

[0062] 프리모 줄기세포의 분리는 위 4가지 체계의 프리모 순환 시스템에서 분리할

수 있으며, 바람직하게는 가장 관찰이 용이하며 많은 프리모 줄기세포를 포함하고 있는 내외프리모 체계에서 분리할 수 있다.

[0063] 성체줄기세포는 골수, 혈액, 각막, 망막, 뇌, 골격근, 간, 피부, 위장관 상피세포, 췌장 등 각종 장기 내에 희소하게 존재하여 분리가 어렵고, 배아줄기세포는 착상 전 배아, 발생중인 태아 성선조직 등에서만 유래하는 문제점이 있었으나, 프리모 줄기세포는 프리모 노드를 통해 얻을 수 있어, 접근이 더 용이한 효과가 있다.

[0064] 실시예로, 토끼(rabbit)를 이용한 프리모 줄기세포의 분리방법에 대해 서술하면 다음과 같다.

[0065] 1) 우레탄 1.5 g/kg을 토끼의 복막에 주사하여 마취하였다. 마취상태에서 토끼의 복부를 절개 열고, 복부 피부 표면에서의 혈관과 흉부를 기관의 표면 위로 피의 흐름을 최소화하기 위해 크램프로 조였다. 해부 수술 중 건조함을 방지하기 위해 수시로 PBS (Phosphate Buffered Saline, pH 7.4, Introgen, USA)를 사용하여 토끼의 장기에 뿌렸다.

[0066] 2) 토끼의 대장(large intestine) 표면에 붙어서 흰색 줄기를 이루는 프리모 관(Primo vessel)을 핀셋으로 들어올려 확인한다. 관의 굵기가 큰 것이 바로 프리모 줄기세포가 다량으로 몰려있는 프리모 노드(Primo node) 부분이라 볼 수 있다. 장기로부터 길게 퍼진 프리모 관을 미세가위를 이용하여 노드만 선택하여 분리시켰다.

[0067] 3) 잘려진 프리모 노드의 표면을 조심스럽게 터트려 프리모 줄기세포를 얻는다. 이때 분리된 프리모 줄기세포는 1 μ m~2 μ m 크기의 원형 형태이며, 때로는 타원형도 몇몇이 관찰되었다.

[0093] 프리모 관은 자가 운동을 한다고 알려져 있는데, 세 가지 운동형식이 있다. 그 하나는 주기적으로 나타나는 종적 운동이며, 두 번째는 빠른 속도로 일어나는 횡적 진동 운동이다. 또 하나의 운동은 앞의 두 가지를 혼합한 형태로 일어나는 파상 운동이다. 이와 같은 프리모 관의 운동은 초속 0.1~0.6mm의 속도로 일정 방향으로 전파된다.

[0094] 이러한 프리모 관의 운동으로 프리모 관 내부의 프리모 액이 순환하게 되는데, 한 방향으로 프리모 액이 이동하므로, 프리모 기관에 치료용 조성물을 주입함으로써, 원하는 방향으로 이동시킬 수 있고 손상된 조직을 치료하는 방법으로 제공될 수 있다.

[0105] 족삼리혈(足三里穴)이나 수삼리혈(手三里穴)은 실험을 통해 좌골신경, 척수를 통해 뇌로 이어지는 프리모 관이 발견된바, 족삼리혈 또는 수삼리혈에 주입하면 프리모 줄기세포가 뇌와 척수로 이동하여 손상된 조직을 치료하고, 이로써 신경근육질환을 치료하는 방법으로 사용될 수 있다.

[0106] 또한 주입된 치료용 조성물은 혈액뇌장벽(brain blood barrier, BBB)을 통과하여 손상된 신경 조직을 치료하는 조성물로 사용될 수 있다.

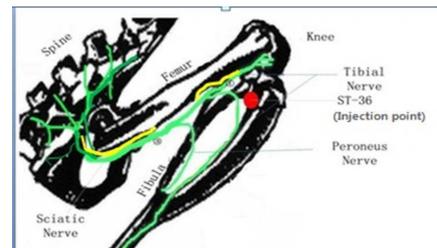
[0109] 실험에 1. 동물모델에서 프리모 기관 내 줄기세포의 이동 관찰

[0110] 1-1. 실험 과정

[0111] 줄기세포를 실험동물의 족삼리혈에 위치한 프리모 기관에 주입하여 줄기세포의 이동을 관찰하였다.

[0112] 이때 실험동물로는 ICR 마우스와 누드 마우스를 사용하였으며, 실험에 사용한 줄기세포는 제대혈 유래의 줄기세포로, GFP 형광을 띄도록 하였다.

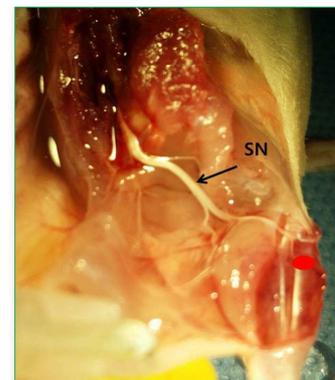
[0113] 족삼리혈에 줄기세포를 주입한 후 시간이 경과함에 따라 형광현미경으로 관찰하여 줄기세포의 이동경로를 파악하였다.



[0114] 1-2. 실험 결과

[0115] 도 2는 마우스의 좌골신경 해부도 및 실체 현미경 사진을 나타낸 것이다.

[0116] 녹색 선이 좌골신경을 나타내며, 빨간 점이 줄기세포 주입점인 족삼리혈(ST-36)에 해당한다. 노란 선은 GFP 형광 줄기세포가 이동하는 것이 관찰된 곳으로, 좌골신경을 따라 분포하는 프리모 관에 해당한다.



도 2

[0117] 도 3은 ICR 마우스에서 족삼리혈에 줄기세포를 주입한 후, 형광현미경에서 관찰한 사진이다.

[0118] 실험결과, ICR 마우스의 면역 반응으로 인해 줄기세포의 형광신호가 나타나지 않는 것을 확인하였다.

[0119] 도 4는 누드마우스에서 해부도의 박스친 부분에 해당하는 좌골신경의 모습과 형광사진을 나타낸 것이다.

[0120] 족삼리혈에 줄기세포를 주입한 결과, 족삼리혈의 위쪽에 위치한 좌골신경의 외막에서 형광 줄기세포(화살표)가 관찰되었다.

[0122] 실험 결과, 줄기세포가 족삼리혈보다 훨씬 위쪽의 엉덩이 부위에서 좌골신경위의 프리모관을 따라 줄줄이 이동하는 모습을 관찰하였다.

[0123] 따라서 족삼리혈에 주입한 줄기세포는 신경에 위치한 프리모관을 따라 이동하는 것을 알 수 있으며, 이를 이용하여 프리모관에 줄기세포를 주입하면 척추 및 뇌에 직접 전달되어 조직을 재생시킴으로써 퇴행성 뇌신경계질환을 치료할 것으로 기대할 수 있다.

[0124] 이상의 실험 결과를 통해 프리모관 또는 프리모 노드에 주입된 줄기세포가 프리모관을 따라 이동하며 조직에 도달하여 이를 재생시킴으로써, 표적하는 조직에 정확하게 도달시킬 수 있는 손상 조직의 치료용 조성물로 사용될 수 있음을 예측할 수 있다.

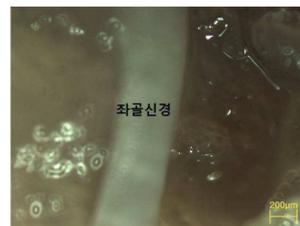
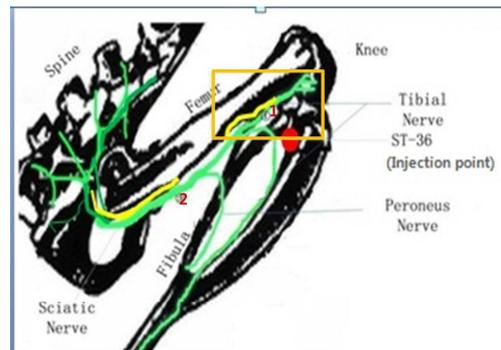


도 5

줄줄이 이동하는 모습을

관찰하였다.

[0123] 따라서 족삼리혈에 주입한 줄기세포는 신경에 위치한 프리모관을 따라 이동하는 것을 알 수 있으며, 이를 이용하여 프리모관에 줄기세포를 주입하면 척추 및 뇌에 직접 전달되어 조직을 재생시킴으로써 퇴행성 뇌신경계질환을 치료할 것으로 기대할 수 있다.



도 4