



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년07월02일

(11) 등록번호 10-2680170

(24) 등록일자 2024년06월26일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 41/00 (2020.01) A61K 31/4035 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 41/0038 (2013.01)
A61K 31/4035 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2023-0091143(분할)
(22) 출원일자 2023년07월13일
심사청구일자 2023년07월13일
(65) 공개번호 10-2023-0113237
(43) 공개일자 2023년07월28일
(62) 원출원 특허 10-2020-0069881
원출원일자 2020년06월09일
심사청구일자 2020년06월09일
- (30) 우선권주장
1020190177117 2019년12월27일 대한민국(KR)
- (56) 선행기술조사문헌
EP00291151 A1*
Investigational New Drugs. 2015. Vol.33,
No.2, pp.290-299.*
Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry.
2015. Vol.15, pp.327-335.
Cell Death and Differentiation. 2002. Vol.9,
pp.598-608.
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌
- (73) 특허권자
연세대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)
- (72) 발명자
최정아
경기도 화성시 동탄숲속로 36, 883동 1803호(능동, 동탄숲속마을모아미래도2단지아파트)
김재훈
서울특별시 강남구 언주로 211 강남세브란스병원 산부인과
- (74) 대리인
특허법인인벤싱크

전체 청구항 수 : 총 8 항

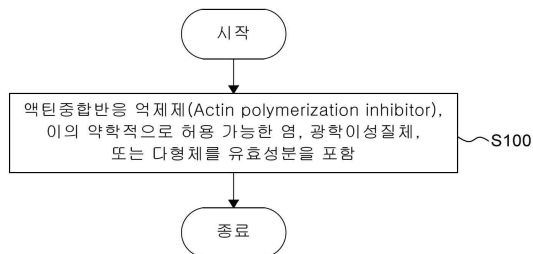
심사관 : 허명숙

(54) 발명의 명칭 방사선 치료 민감성 증진용 조성물

(57) 요약

본 명세서에서는 액틴 중합반응 억제제(Actin polymerization inhibitor), 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 광학이성질체, 또는 다형체를 유효성분으로 포함하는 방사선 치료 민감성 증진용 조성물 및 항암 치료 보조용 조성물이 제공된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345264222
과제번호	2017R1D1A1B03036265
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	이공학 개인기초연구지원사업
연구과제명	CKS1B 제어를 통한 방사선 저항성 제어 기술개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	연세대학교
연구기간	2017.06.01 ~ 2020.05.31

명세서

청구범위

청구항 1

F-액틴의 항상성 조절에 관여하는 액틴 중합반응 억제제(Actin polymerization inhibitor)로서 사이토칼라신 B를 유효성분으로 포함하는 암 전이 또는 암 침습 억제 및 방사선 치료 민감성 증진용 조성물로서,

상기 사이토칼라신 B는 0.5 μM 이상으로 포함되고,

상기 암 전이 또는 암 침습 억제 및 방사선 치료 민감성 증진용 조성물은, 액틴 기반 구조물인 암 침투족의 형성을 감소시켜 암 전이 또는 암 침습을 억제하는 것을 특징으로 하며,

상기 암은 전이성 대장암 또는 전이성 자궁경부암이고,

상기 암 전이 또는 암 침습 억제 및 방사선 치료 민감성 증진용 조성물은 상기 암 전이 또는 암 침습 억제 및 방사선 치료 민감성 증진용 조성물을 처리하지 않은 대조군에 비하여 액틴 기반 구조물인 암 침투족의 형성을 절반 이하로 감소시키며,

1일 치료 선량 4 Gy 이상의 고선량 방사선 치료 전처리에 사용되는,

암 전이 또는 암 침습 억제 및 방사선 치료 민감성 증진용 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서,

약학적으로 허용되는 담체, 부형제 및 희석제로 이루어진 그룹 중 적어도 하나를 더 포함하는, 암 전이 또는 암 침습 억제 및 방사선 치료 민감성 증진용 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 방사선 치료 민감성 증진용 조성물은,

경구 투여용 제형 또는 피하 주사제형으로 제제화된,

암 전이 또는 암 침습 억제 및 방사선 치료 민감성 증진용 조성물.

청구항 4

제 3항에 있어서,

상기 경구 투여용 제형은,

산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 환제, 현탁제, 내용액제, 유제 및 시럽제로 이루어진 그룹중 적어도 하나인,

암 전이 또는 암 침습 억제 및 방사선 치료 민감성 증진용 조성물.

청구항 5

삭제

청구항 6

F-액틴의 항상성 조절에 관여하는 액틴 중합반응 억제제로써 0.5 μM 이상의 사이토칼라신 B를 포함하는 암 전이 또는 암 침습 억제 및 방사선 치료 민감성 증진용 조성물을 이용한 방사선 치료 요법이 수행된 개체로부터 분리된 생물학적 시료를 4 Gy 이상의 고선량 방사선에 조사하는 단계;

방사선이 조사된 상기 시료를 형광 물질이 부착되어 있는 세포외 기질(extracellular matrix)을 포함하는 플레

이트에서 배양하는 단계;

배양된 상기 시료를 상기 플레이트에 고정하는 단계;

고정된 상기 시료를 형광 물질로 염색하는 단계;

상기 시료의 형광 이미지를 획득하는 단계;

상기 획득한 형광 이미지로부터 암 침투축에 의하여 분해된 상기 세포의 기질의 여부를 프로세서를 통해 확인하는 단계; 및

상기 분해된 세포의 기질 여부에 따라, 상기 개체의 방사선 치료에 대한 저항성 여부를 프로세서를 통해 결정하는 단계를 포함하고,

상기 방사선 치료 민감성 증진용 조성물은 상기 방사선 치료 민감성 증진용 조성물을 처리하지 않은 대조군에 비하여 액틴 기반 구조물인 암 침투축 형성을 절반 이하로 감소시켜 암 전이 또는 암 침습을 억제하며,

상기 암은 전이성 대장암 또는 전이성 자궁경부암인 것을 특징으로 하는,

암 전이 또는 암 침습 억제 및 방사선 치료의 저항성에 대한 정보 제공 방법.

청구항 7

제 6항에 있어서,

상기 세포의 기질은,

콜라겐 I, 콜라겐 II, 콜라겐 III, 콜라겐 IV, 콜라겐 V, 엘라스틴, 라미닌, 피브로넥틴, 히알루론산, 렉티칸 및 매트릭셀로 이루어진 그룹 중 적어도 하나를 포함하는,

암 전이 또는 암 침습 억제 및 방사선 치료의 저항성에 대한 정보 제공 방법.

청구항 8

제 6항에 있어서,

상기 배양하는 단계는,

35 내지 39도 인큐베이터에서 14 내지 16시간 동안 배양하는,

암 전이 또는 암 침습 억제 및 방사선 치료의 저항성에 대한 정보 제공 방법.

청구항 9

제 6항에 있어서,

상기 고정하는 단계는,

3 내지 5 % 포르말데히드로 1 내지 3시간 동안 고정하는,

암 전이 또는 암 침습 억제 및 방사선 치료의 저항성에 대한 정보 제공 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 방사선 치료 민감성 증진용 조성물에 관한 것으로, 보다 구체적으로 액틴 구조물인 암 침투축 형성에 의하여 방사선 및 항암 저항성을 갖는 암 세포의 액틴 구조물을 표적으로 억제하여 방사선 및 항암 치료에 대한 민감성을 증진시키는 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

방사선 치료는 암 치료에서 국소 요법으로 모든 암 환자의 부위와 병기에 상관없이 적용 가능하다. 또한, 종양의 크기나 재발율을 낮추기 위하여 수술 전 후, 임파절 전이가 있는 경우에는 방사선 요법이 시행되어진다. 그러나, 방사선 요법은 암세포의 방사선 내성 획득, 고선량 방사선 치료 시의 정상 조직 손상 등이 방사선 치료의

효율을 저하시키는 문제점으로 지적되고 있다.

- [0003] 이에, 같은 방사선 선량에서도 종양을 보다 효과적으로 사멸시킬 수 있는 방사선 치료 민감제(radiosensitizer)가 사용된다. 현재 사용되고 있는 방사선 치료 민감제는 주로 항암제들로서, 탁솔(taxol) 및 시스플라틴(cisplatin) 등이 사용되고 있다. 그러나, 이러한 민감제들은 그 자체가 항암제로서 높은 부작용을 가지므로 그 사용이 제한적이라는 문제점이 있다.
- [0004] 나아가, 암치료에서의 방사선 치료는 암환자의 40% 이상에서 사용되고 있음에도 불구하고 방사선 조사 후, 암재발 또는 암전이능의 증가로 암치료의 한계점을 보여주고 있다. 최근에는 다수의 연구에서 종양의 생존, 성장 전이를 억제시키기 위한 방사선 치료는 오히려 암세포의 악성화를 더 유도하여 암의 전이 과정 및 재발율을 증진시킨다는 결과들이 점진적으로 증명되고 있으나, 이와 관련된 기반연구는 거의 전무한 실정이다.
- [0005] 발명의 배경이 되는 기술은 본 발명에 대한 이해를 보다 용이하게 하기 위해 작성되었다. 발명의 배경이 되는 기술에 기재된 사항들이 선행기술로 존재한다고 인정하는 것으로 이해되어서는 안 된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0006] 본 발명의 발명자들은 방사선에 대한 저항성을 감소시키며, 같은 방사선 선량에서도 종양을 보다 효과적으로 사멸시키며 항암제와 같은 부작용이 최소화된 방사선 민감제가 필요하다는 것을 인지하였다
- [0007] 이에, 본 발명의 발명자들은 방사선에 노출된 암세포에서 전이성 암세포에서 관찰되어지는 액틴 구조물에 기반한 암 침투족(invadopodia)의 구조물이 현격히 증가되는 것을 발견하였고, 이에 방사선 저항성이 발생한다는 것을 인지하였다. 나아가, 이러한 암 침투족의 형성이 방사선 치료의 저항성에 대한 지표가 될 수 있다는 것을 인지하였다.
- [0008] 보다 구체적으로, 암 침투족은 침습성 암세포(invasive cancer cell) 및 전이성 암세포(metastatic cancer cell)에서 관찰되는 구조로서, 암세포가 다른 기관으로 전이할 때 기저막(Basement membrane)을 뚫을 수 있는 능력을 가지고 있는 액틴(actin) 돌기 구조를 의미할 수 있다. 이러한, 액틴이 풍부한 암 침투족은 cortactin, cofilin, N-WASP, Arp2/3, fascin, MT1-MMP, Twist, TKS5, BTG2, PI3K, AKT, RhoA, CDC42, DIAPH, Caveolin, FAK, Integrin, EGFR, Sorting nexin 9 등과 같은 다양한 신호기전에 의하여 조절될 수 있다. 한편, 본 발명의 발명자들은 액틴과 관련된 신호 기전을 억제 또는 조절함으로써, 방사선 저항성 표지 인자(marker) 암 침투족 형성 능력을 저하시키는데 기여할 수 있다는 것을 주목하였다.
- [0009] 그 결과, 본 발명의 발명자들은 액틴 중합반응 억제제(Actin polymerization inhibitor)를 암세포에 처리함으로써, 암 세포의 침습 능력이 저하된다는 것을 발견하였고, 암 침습 능력 저하로 인하여 방사선 치료 및 항암 치료 민감성이 증진된다는 것을 발견하기에 이르렀다.
- [0010] 이에, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 액틴 중합반응 억제제(Actin polymerization inhibitor), 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 광학이성질체, 또는 다형체를 유효성분으로 포함하는 방사선 치료 민감제 조성물을 제공하는 것이다.
- [0011] 나아가, 본 발명이 해결하고자 하는 다른 과제는 액틴 중합반응 억제제(Actin polymerization inhibitor), 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 광학이성질체, 또는 다형체를 유효성분으로 포함하는 항암 치료 보조용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0013] *더 나아가, 본 발명이 해결하고자 하는 다른 과제는 방사선 치료 요법이 수행된 개체로부터 분리된 생물학적 시료를 형광 물질이 부착되어 있는 세포의 기질(extracellular matrix)을 포함하는 플레이트에서 배양하는 단계, 배양된 시료를 상기 플레이트에 고정하는 단계, 고정된 시료를 형광 물질로 염색하는 단계, 시료의 형광 이미지를 획득하는 단계, 형광 이미지로부터 암 침투족에 의하여 분해된 상기 세포의 기질의 여부를 프로세서를 통해 확인하는 단계 및 분해된 세포의 기질 여부에 따라, 개체의 방사선 치료에 대한 저항성 여부를 프로세서를 통해 결정하는 단계를 포함하는, 방사선 치료의 저항성에 대한 정보 제공 방법을 제공하는 것이다.
- [0014] 본 발명의 과제들은 이상에서 언급한 과제들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0015] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 액틴 중합반응 억제제(Actin polymerization inhibitor), 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 광학이성질체, 또는 다형체를 유효성분으로 포함하는 방사선 치료 민감제 조성물이 제공된다.
- [0016] 본 발명의 특징에 따르면, 액틴 중합반응 반응 억제제는 사이토칼라신(Cytochalasin), 사이토칼라신 B, 사이토칼라신 D, 사이토칼라신 E, 세포골격 약물(Cytoskeletal drugs) 및 라트룬쿨린(Latrunculin)로 이루어진 그룹 중 적어도 하나를 포함할 수 있다. 이때, 세포골격 약물은, 콜키신(Colchicine), 데메콜신(Demecolcine), 자스플라키놀라이드(Jasplakinolide), 노코다졸(Nocodazole), 스윈홀라이드(Swinholide) 및 빈블라스틴(Vinblastine)으로 이루어진 그룹 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.
- [0017] 본 발명의 다른 특징에 따르면, 방사선 치료 민감제 조성물은 다사티닙(Dasatinib), 파클리탁셀(Paclitaxel), 라파티닙(Lapatinib), 말산수니티닙(Sunitinib malate), 포나티닙(Ponatinib), 데스메틸 에를로티닙(desmethyle Erlotinib), 아파티닙(Afatinib), 에를로티닙 HCL(Erlotinib HCL), 빈크리스틴(Vincristine), 비노렐빈타르타르산(Vinorelbine tartrate), 제피타닙(Gefitinib), 옥살리플라틴(Oxaliplatin), 졸레드론산(Zoledronic acid), 보수티닙(Bosutinib), 소라페닙(Sorafenib), 마시티닙(Masitinib), 토세탁셀(Docetaxel), 플루다라빈(Fludarabine), 룩소리티닙(Ruxolitinib) 및 이브루티닙(Ibrutinib)으로 이루어진 그룹 중 적어도 하나를 더 포함할 수 있으며, 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 및 희석제로 이루어진 그룹 중 적어도 하나를 더 포함할 수 있다.
- [0018] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 방사선 치료 민감제 조성물은 경구 투여용 제형 또는 피하 주사제형으로 제제화될 수 있으며, 이때, 경구 투여용 제형은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 환제, 현탁제, 내용액제, 유제 및 시럽제로 이루어진 그룹 중 적어도 하나일 수 있다.
- [0019] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 방사선 치료 민감제 조성물은 방사선 치료 민감성 증진용 조성물을 처리하지 않은 대조군에 비해 액틴 기반 구조물인 암 침투족의 형성을 절반 이하로 감소시킬 수 있다.
- [0020] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 액틴 중합반응 억제제(Actin polymerization inhibitor), 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 광학이성질체, 또는 다형체를 유효성분으로 포함하는 항암치료 보조용 조성물이 제공된다.
- [0021] 본 발명의 특징에 따르면, 항암치료 보조용 조성물은 경구 투여용 제형 또는 피하 주사제형으로 제제화될 수 있으며, 이때, 경구 투여용 제형은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 환제, 현탁제, 내용액제, 유제 및 시럽제로 이루어진 그룹 중 적어도 하나일 수 있다.
- [0022] 본 발명의 다른 특징에 따르면, 항암치료 보조용 조성물은 방사선 치료 민감성 증진용 조성물을 처리하지 않은 대조군에 비해 액틴 기반 구조물인 암 침투족의 형성을 절반 이하로 감소시킬 수 있다.
- [0023] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 항암은, 암 관련 세포의 증식 억제, 침윤 억제 및 사멸을 유도하는 것을 의미할 수 있으며, 이때, 암은 자궁경부암 및 대장암 중 적어도 하나일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며, 폐암, 피부 흑색종, 두경부암, 위암, 간암, 골암, 췌장암, 피부암, 자궁암, 난소암, 직장암, 대장암, 결장암, 유방암, 자궁 육종, 나팔관 암종, 자궁내막 암종, 자궁경부 암종, 질 암종, 외음부 암종, 식도암, 후두 암, 소장암, 갑상선암, 부갑상선암, 연조직의 육종, 요도암, 음경암, 전립선암, 만성 또는 급성 백혈병, 유년기의 고상 종양, 분화 림프종, 방광암, 신장암, 신장 세포 암종, 신장 골반 암종, 제 1 중추신경계 림프종, 척수축 종양, 뇌간 신경교종 또는 뇌하수체 선종 등 암 침투족이 형성될 수 있는 다양한 암종 및 세포를 포함할 수 있다.
- [0024] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 방사선 치료 요법이 수행된 개체로부터 분리된 생물학적 시료를 형광 물질이 부착되어 있는 세포외 기질(extracellular matrix)을 포함하는 플레이트에서 배양하는 단계, 배양된 시료를 상기 플레이트에 고정하는 단계, 고정된 시료를 형광 물질로 염색하는 단계, 시료의 형광 이미지를 획득하는 단계, 형광 이미지로부터 암 침투족에 의하여 분해된 상기 세포외 기질의 여부를 프로세서를 통해 확인하는 단계 및 분해된 세포외 기질 여부에 따라, 개체의 방사선 치료에 대한 저항성 여부를 프로세서를 통해 결정하는 단계를 포함하는, 방사선 치료의 저항성에 대한 정보 제공 방법을 제공하는 것이다.
- [0025] 본 발명의 특징에 따르면, 세포외 기질은, 콜라겐 I, 콜라겐 II, 콜라겐 III, 콜라겐 IV, 콜라겐 V, 엘라스틴, 라미닌, 피브로넥틴, 히알루론산, 렉티칸 및 마트리젤로 이루어진 그룹 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.
- [0026] 본 발명의 다른 특징에 따르면, 배양하는 단계는, 35 내지 39도 인큐베이터에서 14 내지 16시간 동안 배양하고, 고정하는 단계는, 3 내지 5 % 포르말데히드로 1 내지 3시간 동안 고정할 수 있다.
- [0027] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명한다. 다만, 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기

위한 것에 불과하므로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 한정되는 것으로 해석되어서는 아니된다.

발명의 효과

- [0028] 본 발명은 방사선 치료의 저항성이 증대되어 있는 개체에게 치료 시, 저선량으로도 방사선 치료 효율을 증진시킬 수 있고, 고선량 방사선 치료 시에 나타나는 부작용을 감소시킬 수 있다. 또한, 본 발명은 방사선 치료의 저항성의 여부를 판별하여, 보다 효과적인 치료 요법을 제시할 수 있다.
- [0029] 나아가, 본 발명은 항암 치료에 민감성을 증진시켜, 항암 치료의 효과를 보다 증진시킬 수 있다.
- [0030] 본 발명에 따른 효과는 이상에서 예시된 내용에 의해 제한되지 않으며, 더욱 다양한 효과들이 본 명세서 내에 포함되어 있다.

도면의 간단한 설명

- [0031] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 방사선 치료 민감성 증진용 조성물 및 항암치료 보조용 조성물의 제조 과정을 도시한 것이다.
- 도 2은 방사선 조사에 따른 자궁경부암 세포의 침습 능력 결과를 도시한 것이다.
- 도 3는 방사선 조사에 따른 액틴 기반 구조물인 암 침투족 형성 결과를 도시한 것이다.
- 도 4은 사이토칼라신 비 처리에 따른 방사선 조사에 의한 암 침투족 형성 결과를 도시한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0032] 이하에서는, 본 발명의 용어를 설명한다.
- [0033] 본 명세서에서 사용되는 용어 "암(cancer)"은, 비정상적이고 억제되지 않는 세포 분열에 의해 야기된 악성 암종(malignant growth) 또는 종양(tumor)를 의미할 수 있다.
- [0034] 본 명세서에서 사용되는 용어 "종양 전이(tumor metastasis)"는, 원발성 위치(primary location)에서 신체의 다른 부분으로 퍼지는 악성 종양을 의미할 수 있다.
- [0035] 본 명세서에서 사용되는 용어 "예방"은, 전이성(process), 진행(progression) 및 후속 전이(subsequent metastasis)를 정지(arresting), 중단(halting) 및 억제(inhibiting)시키는 것을 의미할 수 있다.
- [0036] 본 명세서에서 사용되는 용어 "치료"는, 질환의 진행을 차단(abrogating), 억제(inhibiting), 지연, 및 역전(reversing)시켜 임상적 또는 심리적 증상을 개선하는 것을 의미할 수 있다.
- [0037] 본 명세서에서 사용되는 용어 "방사선 저항성"은, 방사선을 이용한 질병 치료에 있어서, 방사선 조사에도 불구하고 비정상 세포를 사멸시키지 못하거나, 혹은 사멸시키는 정도가 미비한 것을 의미할 수 있다. 또한, 방사선 치료 시, 치료 초기부터 치료 효과가 없거나 초기에는 질병 치료 효과가 있으나 지속적인 치료 과정에서 치료 효과가 상실된 것을 의미할 수 있다.
- [0038] 본 명세서에서 사용되는 용어 "방사선 치료"는, 암세포에서 본 발명의 조성물을 투여한 뒤 방사선을 조사하는 것을 포함할 수 있다. 이때, 방사선 조사는 이온화 방사선, 특히, 통상적으로 사용되는 선형 가속기(linear accelerators) 또는 방사핵종(radionuclides)에 의해 방사되는 감마 방사선 및 엑스선을 의미할 수 있다. 방사핵종에 의한 방사선 조사는 외부적 또는 내부적으로 이루어질 수 있으며, 투여되는 siRNA 또는 항바이러스제의 양, 방사선 조사량, 종양의 종류, 위치, 화학 요법 또는 방사선 요법에 대한 환자의 반응과 같은 일련의 변수들에 의해 달라질 수 있다. 나아가, 방사선 치료는 근접치료, 방사선 핵종치료, 외부 빔 방사선 요법(external beam radiation therapy), 온열치료(냉동절제 치료 및 고열 치료를 포함), 방사선 수술, 하전입자 방사선 치료(charged-particle radiotherapy), 중성자 방사선 요법 및 광역동 치료 등을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0039] 본 발명에서 사용되는 용어, "투여"는 임의의 적절한 방법으로 개체에게 소정의 본 발명의 방사선 치료 민감성 증진용 조성물 및 항암치료 보조용 조성물을 제공하는 것을 의미할 수 있으며, 투여량은 개체의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 나아가, 본 발명의 방사선 치료 민감성 증진용 조성물 및 항암치료 보조용 조성물은 개체에게 다양한 경로로 투여될 수 있으며, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁 내 경막 또는 뇌혈관 내

(intracerebroventricular) 주사에 등에 의해 투여될 수 있다. 더 나아가, 본 발명의 방사선 치료 민감성 증진용 및 항암치료 보조용 조성물은 방사선 민감성 증진 또는 항암 치료 보조를 위하여 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

[0040] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 첨부되는 도면과 함께 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나, 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하며, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.

[0041] 먼저, 도 1을 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 방사선 치료 민감성 증진용 조성물 및 항암치료 보조용 조성물의 제조 과정이 도시된다.

[0042] 먼저, 본 발명의 일 실시예에 따른 방사선 치료 민감제 조성물 및 항암치료 보조용 조성물은, 액틴 중합반응 억제제, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 광학이성질체 또는 다형체를 유효성분으로 포함할 수 있다(S100).

[0043] 이때, 액틴 중합반응 억제제는 세포의 골격(actin cytoskeleton)을 이루는 액틴(Actin)의 생성을 억제하는 물질을 의미할 수 있다. 보다 구체적으로, 생체내에서 액틴은 단량체(monomer)인 G-액틴이 섬유 모양의 F-액틴으로 중합되어 세포의 골격을 형성하고, F-액틴의 중합은 다양한 신호기전에 의하여 항상성이 조절될 수 있다. F-액틴은 세포의 이주(migration), 유지, 재생(regeneration), 혈관형성(angiogenesis) 및 침습(invasion)시킬 수 있는 세포 골격 단백질이며, 암세포는 이러한 F-액틴을 지느러미 같은 돌출부인 암 침투족(invadopodia)으로 형성하여 기관(organ)으로 침습 및 전이할 수 있다.

[0044] 따라서, F-액틴의 항상성 조절에 관여하는 신호기전 인자 즉, 액틴 중합반응 억제제, 액틴 조절인자(modulator) 및 암 침투족 조절인자를 통하여 암세포의 침습 및 전이 능력을 저하시킬 수 있다. 나아가, 침습 및 전이 능력이 저하된 암세포는 방사선 치료의 민감성 및 항암 치료의 민감성이 증진될 수 있다. 이에, 액틴 중합반응 억제제, 액틴 조절인자 및 암 침투족 조절인자를 통하여 방사선 치료의 민감성 및 항암 치료의 민감성을 증진시킬 수 있는 조성물로 이용될 수 있다.

[0045] 이때, 액틴 중합반응 억제제는 사이토칼라신(Cytochalasin), 사이토칼라신 B, 사이토칼라신 D, 사이토칼라신 E, 세포골격 약물(Cytoskeletal drugs) 및 라트룬쿨린(Latrunculin)로 이루어진 그룹 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.

[0046] 또한, 세포골격 약물은 콜키신(Colchicine), 데메콜신(Demecolcine), 자스플라키놀라이드(Jasplakinolide), 노코다졸(Nocodazole), 스윈홀라이드(Swinholide) 및 빈블라스틴(Vinblastine)으로 이루어진 그룹 중 적어도 하나를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0047] 또한, 약학적으로 허용 가능한 염은, 화합물에 존재할 수 있는 산성 또는 염기성 염을 포함할 수 있다. 예를 들면, 약학적으로 허용 가능한 염으로는 히드로브로마이드(hydrobromide), 황산염(sulfate), 수소 황산염(hydrogen sulfate), 인산염(phosphate), 수소 인산염(hydrogen sulfate), 이수소 인산염(dihydrogen sulfate), 아세테이트(acetate), 숙시네이트(succinate), 시트레이트(citrate), 타르트레이트(tartrate), 락테이트(lactate), 메탄설포네이트(methane sulfonate), p-톨루엔설포네이트(p-toluen sulfonate)염 등이 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0048] 액틴 중합반응 억제제, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 광학이성질체 또는 다형체는 이를 유효성분으로 포함하는 조성물은 단독 또는 타 약학적 활성 화합물들과 적당한 집합으로 사용될 수 있으며, 이들의 함량은 조성물 총 중량에 대하여 0.01 내지 90 중량 %을 포함할 수 있다(S100). 그러나, 이에 제한되는 것은 아니며, 제제화의 종류에 따라 추가적으로 포함될 수 있는 성분들에 의하여 액틴 중합반응 억제제, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 광학이성질체 또는 다형체는 이를 유효성분으로 포함하는 조성물의 함량이 변화될 수 있다.

[0049] 이때, 타 약학적 활성 화합물로서 액틴 조절인자는 RhoA, CDC42, PAK, RAC, LIMK, ROCK, WAVE, MLCK, MLCP, WASP, PIP2, paxillin, talin, IRSp53, Rif로 이루어진 그룹 중 적어도 하나를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0050] 또한, 타 약학적 활성 화합물로서 암 침투족 조절인자는 ortactin, cofilin, N-WASP, Arp2/3, fascin, MT1-MMP, Twist, TKS5, BTG2, PI3K, AKT, RhoA, CDC42, DIAPH, Caveolin, FAK, Integrin, EGFR, Sorting nexin 9

로 이루어진 그룹 중 적어도 하나를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0051] 나아가, 본 발명의 일 실시예에 따른 방사선 치료 민감성 증진용 조성물 및 항암치료 보조용 조성물은, 타 약학적 활성 화합물로서 다사티닙(Dasatinib), 파클리탁셀(Paclitaxel), 라파티닙(Lapatinib), 말산수니티닙(Sunitinib malate), 포나티닙(Ponatinib), 데스메틸 에를로티닙(desmethyl erlotinib), 아파티닙(Afatinib), 에를로티닙 HCL(Erlotinib HCL), 빈크리스틴(Vincristine), 비노렐빈타르타르산(Vinorelbine tartrate), 제피타닙(Gefitinib), 옥살리플라틴(Oxaliplatin), 졸레드론산(Zoledronic acid), 보수티닙(Bosutinib), 소라페닙(Sorafenib), 마시티닙(Masitinib), 토세탁셀(Docetaxel), 플루다라빈(Fludarabine), 록소리티닙(Ruxolitinib) 및 이브루티닙(Ibrutinib)으로 이루어진 그룹 중 적어도 하나를 더 포함할 수 있다.

[0052] 또한, 본 발명의 일 실시예에 따른 방사선 치료 민감성 증진용 조성물 및 항암치료 보조용 조성물은, 추가적으로 포함될 수 있는 성분들로서 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 담체, 부형제 및 희석제로 이루어진 그룹 중 적어도 하나를 더 포함할 수 있다. 이때, 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, 메틸히드록시 벤조에이트, 프로필히드록시 벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유 등을 포함할 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

[0053] 또한, 본 발명의 일 실시예에 따른 방사선 치료 민감성 증진용 조성물 및 항암치료 보조용 조성물은, 통상의 방법에 따라 경구 투여용 제형 또는 피하 주사제형으로 제제화될 수 있다. 이때, 경구 투여용 제형은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 환제, 현탁제, 내용액제, 유제 및 시럽제로 이루어진 그룹 중 적어도 하나의 형태로 제제화하여 사용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0054] 또한, 주사제형은 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함될 수 있으며, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0055] 이상의 과정에 따라, 본 발명의 일 실시예에 따른 방사선 치료 민감성 증진용 조성물 및 항암치료 보조용 조성물은, 액틴 중합반응 억제제를 포함하는 조성물로서, 약학적으로 유효한 용량을 가지는 다양한 형태로 투여 및 제공될 수 있다.

[0056] 방사능 조사에 따른 암 침투속 형성

[0057] 이하에서는 도 2 내지 3를 참조하여, 방사선 조사에 따른 암 침투속 형성에 대하여 설명한다.

[0058] 도 2는 방사선 조사에 따른 자궁경부암 세포의 침습 능력 결과를 도시한 것이다. 이때, 자궁경부암세포주인 SiHa는 25T 플라스크에 배양된 후, 감마 방사선 조사장치(Gamma irradiator)를 이용하여 2, 4, 6 및 8 Gy의 감마 방사선이 조사되었다. 방사선 처리된 세포주는 세포의 기질 성분이 풍부한 매트릭젤(matrigel)이 코팅된 8.0mm 트랜스웰(Transwell)에 16시간 배양된 후, 100% 메탄올 용액으로 고정되고, H&E으로 염색되었다. 그 다음, 매트릭젤을 통과한 자궁경부암 세포를 광학현미경으로 이미지로 확보하였고, 이미지를 통하여 세포가 카운팅되어 도표화되었다.

[0059] 도 2의 (a)를 참조하면, 방사선 조사에 따른 자궁경부암 세포의 매트릭젤 침습 결과 이미지가 도시된다. 매트릭젤을 침습한 자궁경부암 세포는 방사선 조사 수치가 높아 질수록 많아지는 것으로 나타난다. 보다 구체적으로, 도 1의 (a)의 침습한 세포를 카운팅하여 도표로 나타낸 도 2의 (b)를 참조하면, 조사 수치가 높아질수록, 이에 비례하여 침습한 세포수가 많아지는 것으로 나타난다. 보다 구체적으로, 2Gy의 감마 방사선이 조사된 경우 침습한 자궁경부암 세포의 수는 약 80 (cell per field)이며, 4Gy의 감마 방사선이 조사된 경우 침습한 자궁경부암 세포의 수는 약 150 (cell per field)으로 2Gy의 감마 방사선이 조사된 경우보다 약 2배의 세포 수가 증가한 것으로 나타난다. 나아가, 4Gy의 감마 방사선이 조사된 경우와 6Gy의 감마 방사선이 조사된 경우는 비슷한 세포 수를 갖는 것으로 나타나며, 8Gy의 감마 방사선이 조사된 경우 침습한 자궁경부암 세포의 수는 약 200 (cell per field)으로 4 내지 6 Gy의 감마 방사선이 조사된 경우보다 약 1.3배의 세포 수가 증가한 것으로 나타난다.

[0060] 이에, 방사선 조사가 암세포의 침습 능력을 증가시키는 것으로 나타나며, 방사선 조사의 세기가 증가할수록 암세포의 침습 능력도 비례적으로 증가하는 것으로 나타난다.

[0061] 도 3은 방사선 조사에 따른 액틴 기반 구조물인 암 침투속 형성 결과를 도시한 것이다. 이때, 액틴 기반 구조

물인 암 침투족 (invadopodia) 형성에 방사선이 미치는 영향을 평가하기 위하여, 30mm 배양접시에 형광물질 (FITC)이 부착되어있는 젤라틴이 37도 인큐베이터에서 6시간동안 코팅되었다. 감마 방사선 조사장치를 이용하여 2, 4, 6, 8Gy의 방사선이 조사된 암세포는 형광물질이 부착된 30mm 배양접시에서 배양되고, 16시간후에 4% 포름알데히드로 2시간동안 고정되었다. 그 다음, 고정액을 제거한 뒤 F-액틴 구조를 확인하기 위하여 팔로이딘 시약으로 F-액틴을 염색하고, 컨포칼 현미경(Confocal Microscopy)을 이용하여 암 침투족 형성 능력을 확인하였다.

[0062] 도 3의 (a)를 참조하면, 자궁경부암 세포인 SiHa 세포에서의 암 침투족 형성 결과가 도시된다. 이때, 빨간색은 F-액틴을, 녹색은 젤라틴을, 검은점은 침습 구조가 형성된 부위 즉, 암 침투족이 형성되어 젤라틴이 분해된 부위를 의미할 수 있다. 2 Gy까지는 검은점이 나타나지 않았으며, 6 Gy부터는 방사선 조사량이 증가할수록 검은점이 증가하는 것으로 나타난다. 이는, 방사선 조사량이 증가함에 따라, 자궁경부암 암세포가 젤라틴을 분해하는 암 침습 능력이 증가하는 것을 의미할 수 있다.

[0063] 도 3의 (b)를 참조하면, 대장암 세포인 HCT15 세포에서의 암 침투족 형성 결과가 도시된다. 0 Gy에서는 검은점이 나타나지 않았으나, 4 Gy에서는 검은점이 나타난다. 이는, 도 3의 (a)에서 자궁경부암 세포와 마찬가지로, 방사선 조사량이 증가함에 따라, 대장암 암세포가 젤라틴을 분해하는 암 침습 능력이 증가하는 것을 의미할 수 있다.

[0064] 이상의 도 2 및 3의 결과에 따라, 방사선 치료의 저항성을 야기시킬 수 있는 암 침투족이 방사선 조사량에 따라, 비례적으로 증가하고, 이러한 암 침투족의 형성이 방사선 치료의 저항성에 대한 지표가 될 수 있다.

[0065] 방사선 치료 민감제 조성물에 의한 암 침습능력 억제

[0066] 이하에서는 4을 참조하여, 방사선 치료 민감제 조성물에 의한 암 침습능력 억제에 대하여 설명한다.

[0067] 도 4은 사이토칼라신 비 처리에 따른 방사선 조사에 의한 암 침투족 형성 결과를 도시한 것이다. 이하에서는, 액틴 중합반응 억제제인 사이토칼라신 B가 처리되지 않은 실험군을 비교예로 설정하였고, 사이토칼라신 B가 처리된 실험군을 실시예로 설정하였다. 이때, 비교예 1, 비교예 2, 실시예 1 및 실시예 2는 대장암 세포주인 HCT15를 이용하였고, 각각 25T 플라스크에서 배양되었다. 배양된 후, 실시예 1 및 실시예 2는 액틴 중합반응 억제제인 사이토칼라신 B가 0.5 μ M로 처리되었으며, 방사선 처리군인 비교예 2 및 실시예 2는 감마 방사선 조사장치를 이용하여 4 Gy의 방사선이 조사되었다. 그 다음, 비교예 및 실시예는 매트릭셀이 코팅된 8.0mm 트랜스웰에서 16시간 배양된 후, 100% 메탄올 용액으로 고정되고, H&E으로 염색되었다. 그 다음, 매트릭셀을 통과한 자궁경부암 세포를 광학 현미경으로 촬영하고, 촬영된 이미지의 세포를 카운팅하여 도표화하였다.

[0068] 도 4를 참조하면, 비교예 1에 비해 실시예 1은 매트릭셀을 통과한 세포수가 절반 이하로 감소된 것으로 나타난다. 이는, 액틴 중합반응 억제제인 사이토칼라신 B가 암 세포의 침습 및 전이 능력 즉, 암 침투족 형성을 저하시키며, 이를 통하여 항암치료의 민감성을 증진시킬 수 있다는 것을 의미할 수 있다.

[0069] 나아가, 방사선이 처리된 비교예 2 및 실시예 2에서도, 비교예 2가 실시예 2보다 매트릭셀을 통과한 세포수가 절반 이하로 감소된 것으로 나타난다. 이는, 액틴 중합반응 억제제인 사이토칼라신 B가 방사선 처리로 인하여 증가되는 암 침투족 형성을 저하시켜, 방사선 치료의 민감성을 증진시킬 수 있다는 것을 의미할 수 있다.

[0070] 더 나아가, 액틴 중합반응 억제제인 사이토칼라신 B가 처리된 실시예 1 및 실시예 2에서 방사선이 처리된 실시예 2가 실시예 1 보다 매트릭셀을 통과한 세포수가 2배 이상 많은 것으로 나타난다. 이는, 방사선 처리로 인하여 형성된 암 침투족이 약물 및 방사선 치료에 대한 저항성을 갖는 것을 의미할 수 있다. 이에, 암 침투족 형성 능력은 약물 및 방사선 치료에 대한 저항성을 평가할 수 있는 지표로 이용될 수 있어, 암 침투족의 형성 여부에 따라, 보다 효과적인 치료 약물을 선택하여 치료할 수 있다.

[0071] 이상의 결과에 따라, 액틴 중합반응 억제제인 사이토칼라신 B를 포함하는 조성물은 항암 치료 및 방사선 치료의 저항성을 야기시키는 암 침투족 형성을 감소시켜, 항암 치료 및 방사선 치료의 민감성을 증진시킬 수 있다.

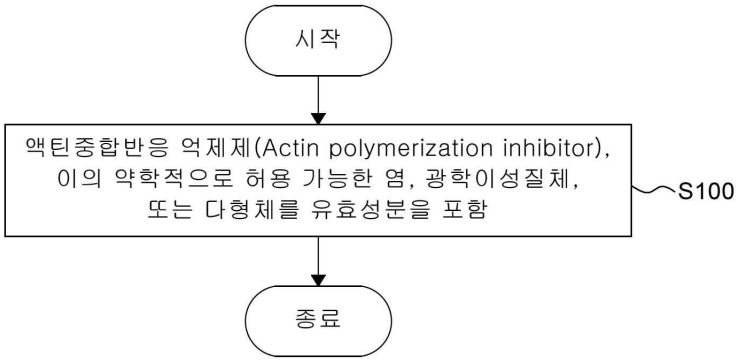
[0072] 본 발명의 여러 실시예들의 각각 특징들이 부분적으로 또는 전체적으로 서로 결합 또는 조합 가능하며, 당업자가 충분히 이해할 수 있듯이 기술적으로 다양한 연동 및 구동이 가능하며, 각 실시예들이 서로에 대하여 독립적으로 실시 가능할 수도 있고 연관 관계로 함께 실시 가능할 수도 있다.

[0073] 이상 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 실시예들을 더욱 상세하게 설명하였으나, 본 발명은 반드시 이러한 실시예로 국한되는 것은 아니고, 본 발명의 기술사상을 벗어나지 않는 범위 내에서 다양하게 변형 실시될 수 있다. 따라서, 본 발명에 개시된 실시예들은 본 발명의 기술 사상을 한정하기 위한 것이 아니라 설명하기 위한

것이고, 이러한 실시예에 의하여 본 발명의 기술 사상의 범 위가 한정되는 것은 아니다. 그러므로, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 본 발명의 보호 범위는 아래의 청구범위에 의하여 해석되어야 하며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 기술 사상은 본 발명의 권리 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

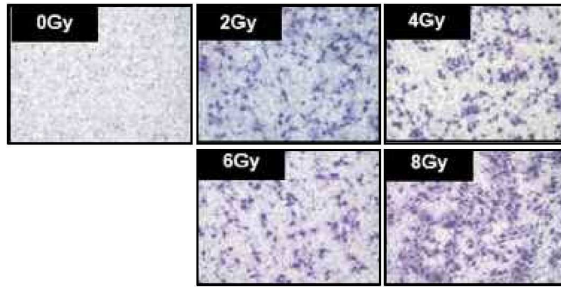
도면1



도면2

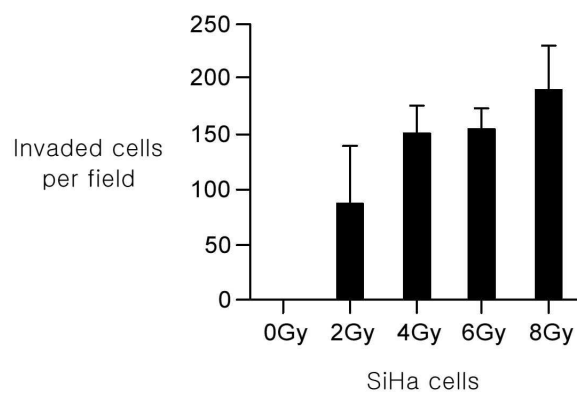
(a)

Matrigel-embedded invasion assay
(H&E staining)

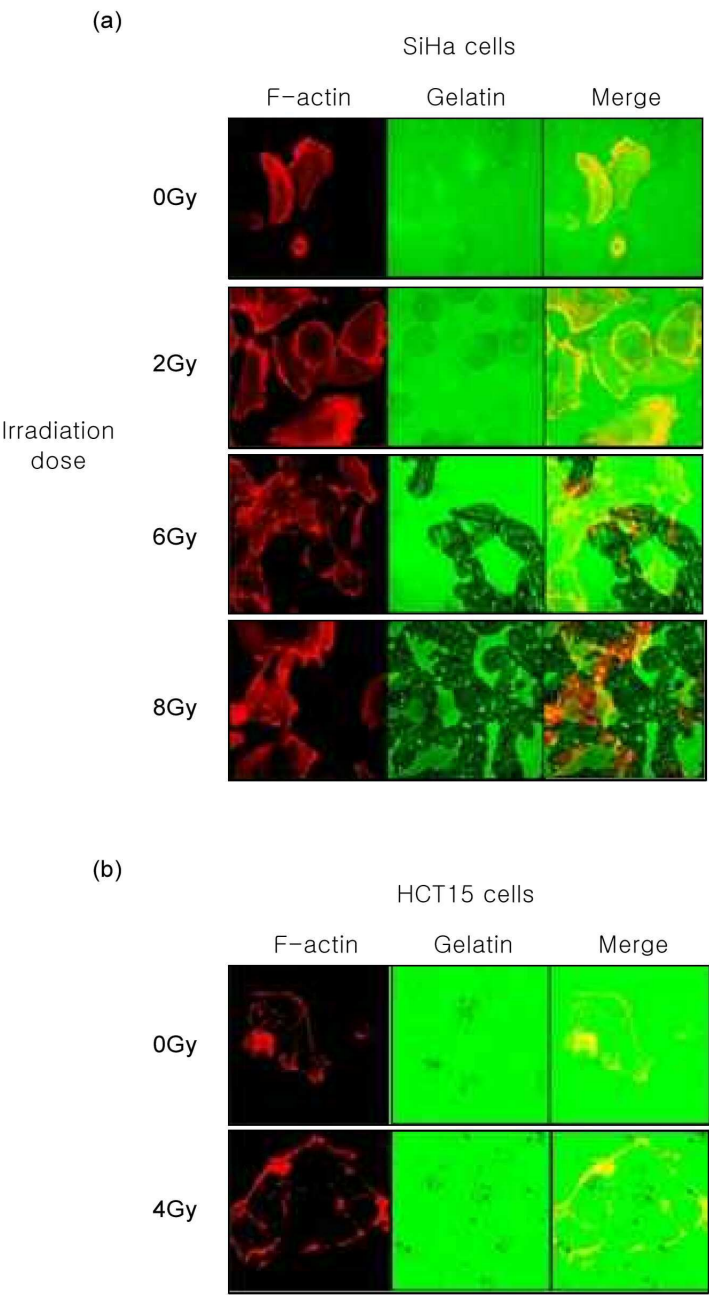


SiHa cells

(b)



도면3



도면4

