



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0041267
(43) 공개일자 2023년03월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G01N 33/50 (2017.01) A61K 31/4706 (2006.01)
A61K 31/4709 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) C12Q 1/6888 (2018.01)

(52) CPC특허분류

G01N 33/5011 (2013.01)
A61K 31/4706 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-0124670

(22) 출원일자 2021년09월17일

심사청구일자 2021년09월17일

(71) 출원인

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

정재호

서울특별시 서초구 효령로77길 20 현대ESA아파트 1302호

김재우

서울특별시 서초구 방배로 270 방배 신삼호아파트 마동 101호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

파도특허법인유한회사

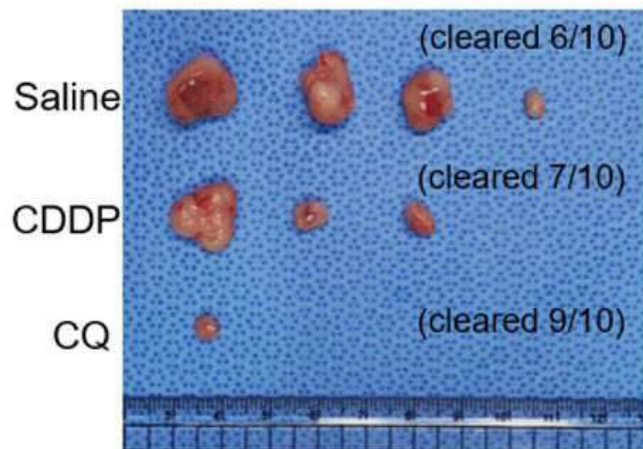
전체 청구항 수 : 총 27 항

(54) 발명의 명칭 위암의 예방, 개선 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명에 따른 조성물은 카베올린-1 매개 세포내 이입 작용을 억제할 수 있는 약물에 적합한 유전적 특성을 지닌 대상체를 선별하고, 선별된 대상체에게 상기 약물을 투여함으로써 위암, 특히는 난치성 위암을 매우 효과적으로 예방, 개선 또는 치료할 수 있다.

대표도 - 도9c



(52) CPC특허분류

A61K 31/4709 (2013.01)

A61K 45/06 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

C12Q 1/6888 (2018.05)

G01N 33/5023 (2013.01)

C12Q 2600/136 (2013.01)

C12Q 2600/158 (2013.01)

G01N 2500/00 (2013.01)

G01N 2800/52 (2021.08)

(72) 발명자

황성순

경기도 용인시 기흥구 보정로 30, 동아솔레시티
112동 303호

윤보경

서울특별시 성동구 매봉길 50 e편한세상옥수파크힐
스 101동 202호

황라희

서울특별시 서대문구 이화여대5길 35, 520호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711127658
과제번호	2018R1A5A2025079
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	집단연구지원(R&D)
연구과제명	만성난치질환 시스템의학 연구센터
기 여 율	1/3
과제수행기관명	연세대학교
연구기간	2021.03.01 ~ 2022.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711127663
과제번호	2021R1A2C2009749
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	중견연구자지원사업
연구과제명	담즙산 신호회로가 제어하는 암세포의 단일탄소대사 기전 연구
기 여 율	1/3
과제수행기관명	연세대학교
연구기간	2021.03.01 ~ 2022.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1465033140
과제번호	HR14C0005040021
부처명	보건복지부
과제관리(전문)기관명	한국보건산업진흥원
연구사업명	연구중심병원육성(R&D)
연구과제명	제1유닛(4세부) : 종양대사 조절 표적 항암 신약 개발
기 여 율	1/3
과제수행기관명	연세대학교 세브란스병원
연구기간	2021.01.01 ~ 2021.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

카베올린-1(Caveolin-1; Cav1)의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 암 치료제의 적합성 판별용 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 카베올린-1 단백질은 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 것인, 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 카베올린-1 유전자는 서열번호 2로 표시되는 핵산 서열로 이루어진 것인, 조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 단백질의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 올리고캡타이드, 리간드, PNA (peptide nucleic acid) 및 앵타머 (aptamer)로 이루어진 군에서 선택된 1 종 이상을 포함하는, 조성물.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머, 프로브 및 안티센스 뉴클레오티드로 이루어진 군에서 선택된 1 종 이상을 포함하는, 조성물.

청구항 6

제 1항에 있어서,

상기 암은 위암, 유방암, 대장암, 폐암, 간암, 식도암, 췌장암, 담낭암, 신장암, 방광암, 전립선암, 고환암, 결장암, 자궁경부암, 자궁내막암, 유모암, 피부암, 난소암, 갑상선암, 뇌암, 혈액암, 두경부암, 악성흑색종 및 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나인, 조성물.

청구항 7

제 6항에 있어서,

상기 위암은 위(gastric), 염증성(inflammatory), 장 분자(intestinal), 혼합(mixed) 및 줄기 유사(stem-like)로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나의 아형에 해당하는 것인, 조성물.

청구항 8

제 1항에 있어서,

상기 치료제는 클로로퀸(Chloroquine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; 하이드록시클로로퀸(Hydroxychloroquine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; 및 메플로퀸(Mefloquine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염;으로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나인, 조성물.

청구항 9

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는, 암 치료제의 적합성 판별용 키트.

청구항 10

제 9항에 있어서,

상기 키트는 RT-PCR 키트, DNA 칩 키트, ELISA 키트, 단백질 칩 키트, 래피드 (rapid) 키트 또는 MRM (Multiple reaction monitoring) 키트인, 키트.

청구항 11

목적하는 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서, 카베올린-1(Caveolin-1; Cav1)의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는 암 치료제 적합성에 관한 정보를 제공하는 방법.

청구항 12

제 11항에 있어서,

상기 생물학적 시료에서 측정된 카베올린-1 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준이 정상 대조군에 비하여 높을 경우, 상기 목적하는 개체에게 발생한 암을 치료하기 위한 치료제로서의 효과가 높을 것으로 예측하는 것인, 방법.

청구항 13

제 11항에 있어서,

상기 암은 위암, 유방암, 대장암, 폐암, 간암, 식도암, 췌장암, 담낭암, 신장암, 방광암, 전립선암, 고환암, 결장암, 자궁경부암, 자궁내막암, 유모암, 피부암, 난소암, 갑상선암, 뇌암, 혈액암, 두경부암, 악성흑색종 및 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나인, 방법.

청구항 14

제 13항에 있어서,

상기 위암은 위(gastric), 염증(inflammatory), 장(intestinal), 혼합(mixed) 및 줄기 유사(stem-like)로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나의 아형에 해당하는 것인, 방법.

청구항 15

제 11항에 있어서,

상기 치료제는 클로로퀸(Chloroquine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; 하이드록시클로로퀸(Hydroxychloroquine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; 및 메플로퀸(Mefloquine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염;으로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나인, 방법.

청구항 16

카베올린-1(Caveolin-1; Cav1)의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 위암 진단용 조성물.

청구항 17

제 16항에 있어서,

상기 위암은 줄기 유사(stem-like) 아형인, 조성물.

청구항 18

제 16항의 조성물을 포함하는, 위암 진단용 키트.

청구항 19

목적하는 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서, 카베올린-1(Caveolin-1; Cav1)의 단백질 또는 이를 암호화하는

유전자의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는 위암의 진단에 관한 정보를 제공하는 방법.

청구항 20

(a) 목적하는 개체로부터 얻어진 생물학적 시료에 대하여 카베올린-1(Caveolin-1; Cav1)의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 측정부; 및

(b) 상기 측정부에서 측정된 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준으로부터 상기 목적하는 개체의 위암의 아형을 출력하는 검출부;를 포함하는 위암의 진단 기기.

청구항 21

제 20항에 있어서,

상기 위암의 아형은 위(gastric), 염증(inflammatory), 장(intestinal), 혼합(mixed) 및 줄기 유사(stem-like)로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나인, 진단 기기.

청구항 22

클로로퀸(Chloroquine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; 하이드록시클로로퀸(Hydroxychloroquine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; 및 메플로퀸(Mefloquine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염;으로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나를 유효 성분으로 포함하는, 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 23

제 22항에 있어서,

상기 암은 위암, 유방암, 대장암, 폐암, 간암, 식도암, 췌장암, 담낭암, 신장암, 방광암, 전립선암, 고환암, 결장암, 자궁경부암, 자궁내막암, 유모암, 피부암, 난소암, 갑상선암, 뇌암, 혈액암, 두경부암, 악성흑색종 및 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나인 것인, 조성물.

청구항 24

제 23항에 있어서,

상기 위암은 위(gastric), 염증(inflammatory), 장(intestinal), 혼합(mixed) 및 줄기 유사(stem-like)로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나의 아형에 해당하는 것인, 조성물.

청구항 25

제 22항에 있어서,

상기 조성물은 나이트로젠 머스타드, 이마티닙, 옥살리플라틴, 리톡시맵, 엘로티닙, 네라티닙, 라파티닙, 제피티닙, 반데타닙, 니로티닙, 세마사닙, 보수티닙, 악시티닙, 세디라닙, 레스타우르티닙, 트라스투주맵, 게피티니브, 보르테조미, 수니티닙, 카보플라틴, 소라페닙, 베바시주맵, 시스플라틴, 세톡시맵, 비스큐알BUM, 아스파라기나제, 트레티노인, 하이드록시카바마이드, 다사티닙, 에스트라메르스틴, 겐투주맵오조가마이신, 이브리투모맵티세탄, 헵타플라틴, 메칠아미노레블린산, 암사크린, 알렘투주맵, 프로카르바진, 알프로스타딜, 질산홀륨, 키토산, 켐시타빈, 독시플루리딘, 페메트렉세드, 테가푸르, 카페시타빈, 기메라신, 오테라실, 아자시티딘, 메토티렉세이트, 우라실, 시타라빈, 플루오로우라실, 플루다가빈, 에노시타빈, 플루타미드, 카페시타빈, 데시타빈, 머캅토프린, 티오구아닌, 클라드리빈, 카르모퍼, 랄티트렉세드, 도세탁셀, 파클리탁셀, 이리노테칸, 벨로테칸, 토포테칸, 비노렐빈, 에토포시드, 빈블라스틴, 이다루비신, 미토마이신, 블레오마이신, 닥티노마이신, 피라루비신, 아클라루비신, 페프로마이신, 템시롤리무스, 테모졸로마이드, 부셀판, 이포스파미드, 사이클로포스파미드, 멜파란, 알트레티민, 다카바진, 치오테파, 니무스틴, 클로람부실, 미토라톨, 레우코보린, 트레토닌, 엑스메스탄, 아미노글루테시미드, 아나그렐리드, 올라파립, 나벨빈, 파드라졸, 타목시펜, 토레미펜, 테스토라톤, 아나스트로졸, 레트로졸, 보로졸, 비칼루타미드, 로무스틴, 5FU, 보리노스텐, 엔티노스텐 및 카르무스틴으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 26

a) 목적하는 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서 카베올린-1(Caveolin-1; Cav1)의 단백질 또는 이를 암호화하

는 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계; 및

b) 상기에서 측정된 발현 수준이 정상 대조군에 비하여 높은 개체를 선별하는 단계;를 포함하는 암 치료제 적용을 위한 대상체를 동반 진단하는 방법.

청구항 27

제 26항에 있어서,

상기 암 치료제는 제 16항 내지 제 19항 중 어느 하나의 조성물인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 위암의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 암 (Cancer)이란 조직을 이루고 있는 세포가 비 정상적으로 무제한 증식하여 종양이 형성되도록 하고, 그에 따라 장기가 정상적인 기능을 수행할 수 없도록 하여 개체의 생명을 위협할 수 있는 매우 치명적인 질환이다. 2017 년 한국인 사망 원인 1 위가 악성 신생물(암)이었으며, 전체 사망자 중에서 27.6 %가 암으로 인해 사망하였다. 특히 위암 (gastric cancer; GC)은 세계에서 세 번째로 흔한 치명적인 암으로 인종, 성별 및 지역에 따라 암의 발생 부위에 있어서 차이가 있지만, 최근 분자 유전체 기술을 통해 분자적 특성에 따라 위암의 유형을 분류할 수 있게 되었다.

[0003] 위암의 생물학적으로 관련된 하위 유형 중 특히 줄기 유사 특성을 가진 유형은 치료가 어려운 악성인 생물학적 특성을 가지며 표준 치료 화학 요법에 대한 무반응으로 인해 최악의 예후가 나타나며, 면역 체크 포인트 봉쇄 요법도 줄기 유사 암 아형에 대해 효과가 없는 것으로 확인되는 등의 문제점이 있다.

[0004] 이에 본 발명자들은 줄기 유사 아형 위암의 유전적, 대사적 특성에 따라 난치성 위암을 효과적으로 치료할 수 있는 암 치료용 약물을 발굴하기에 이르렀다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명의 일 목적은 암 치료제의 적합성 판별용 조성물을 제공하는 것이다.

[0006] 본 발명의 다른 목적은 암 치료제의 적합성 판별용 키트를 제공하는 것이다.

[0007] 본 발명의 또 다른 목적은 암 치료제 적합성에 관한 정보를 제공하는 방법을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 또 다른 목적은 위암의 진단용 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 또 다른 목적은 위암의 진단용 키트를 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 또 다른 목적은 위암의 진단에 관한 정보를 제공하는 방법을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 위암의 진단 기기를 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 암의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 또 다른 목적은 암 치료제 적용을 위한 대상체를 동반 진단하는 방법을 제공하는 것이다.

[0014] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당 업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0015] 이하, 본원에 기재된 다양한 구체예가 도면을 참조로 기재된다. 하기 설명에서, 본 발명의 완전한 이해를 위해서, 다양한 특이적 상세 사항, 예컨대, 특이적 형태, 조성물 및 공정 등이 기재되어 있다. 그러나, 특정의 구체예는 이들 특이적 상세 사항 중 하나 이상 없이, 또는 다른 공지된 방법 및 형태와 함께 실행될 수 있다. 다른

예에서, 공지된 공정 및 제조 기술은 본 발명을 불필요하게 모호하게 하지 않게 하기 위해서, 특정의 상세사항으로 기재되지 않는다. "한 가지 구체예" 또는 "구체예"에 대한 본 명세서 전체를 통한 참조는 구체예와 결부되어 기재된 특별한 특징, 형태, 조성 또는 특성이 본 발명의 하나 이상의 구체예에 포함됨을 의미한다. 따라서, 본 명세서 전체에 걸친 다양한 위치에서 표현된 "한 가지 구체예에서" 또는 "구체예"의 상황은 반드시 본 발명의 동일한 구체예를 나타내지는 않는다. 추가로, 특별한 특징, 형태, 조성, 또는 특성은 하나 이상의 구체예에서 어떠한 적합한 방법으로 조합될 수 있다.

- [0016] 명세서 내에 특별한 정의가 없으면 본 명세서에 사용된 모든 과학적 및 기술적인 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야에서 당업자에 의하여 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다.
- [0018] 본 발명의 일 구현 예에 따르면, 암 치료제의 적합성 판별용 조성물에 관한 것이다.
- [0019] 본 발명에서 상기 판별용 조성물은 카베올린-1(Caveolin-1; Cav1) 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함할 수 있다.
- [0020] 본 발명의 상기 카베올린-1 단백질은 인간 CAV1 유전자에 의해 코딩되는 단백질로서, 상기 유전자에 의해 암호화된 스캐폴딩 단백질은 대다수의 세포 유형에서 발견되는 카베올라 원형질막(caveolae plasma)의 주요 구성요소이다. 상기 단백질은 인테그린을 Ras-ERK 경로에 연결하고, 세포 주기의 진행을 촉진하는 시작 단계인 티로신 키나제 FYN에 인테그린 소단위를 연결한다. 이 유전자는 중앙 억제 유전자의 후보이며, Ras-p42/44 MAP 키나제 캐스케이드의 음성 조절자로도 알려져 있다. 상기 카베올린-1의 아미노산 서열 및 이를 암호화하는 핵산 염기 서열은 각각 서열번호 1과 서열번호 2로 표시될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0021] 본 발명의 상기 카베올린-1 단백질이 존재하는 수준을 측정하는 제제는 카베올린-1 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 올리고펩타이드, 리간드, PNA (peptide nucleic acid) 및 앵타머 (aptamer)로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0022] 본 발명의 상기 "항체"는 카베올린-1 단백질에 특이적으로 결합할 수 있는 단백질 분자를 의미하며, 상기 항체의 형태는 특별히 제한되지 않지만 폴리클로날 항체, 모노클로날 항체 또는 항원 결합성을 갖는 것이라면, 항체의 일부인 경우라도 포함될 수 있고, 모든 종류의 면역 글로불린 항체가 포함될 수 있다. 또한, 인간화 항체 등의 특수 항체가 포함될 수 있고, 상기 항체는 2 개의 전체 길이의 경쇄 및 2 개의 전체 길이의 중쇄를 가지는 완전한 형태 뿐 만 아니라 항체 분자의 기능적인 단편을 포함한다. 항체 분자의 기능적인 단편이란 적어도 항원 결합 기능을 보유하고 있는 단편을 의미하며 Fab, F(ab'), F(ab'')₂, Fv 등이 해당될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0023] 본 발명에서 상기 "올리고펩타이드"는 펩타이드로 2 내지 20 개의 아미노산으로 구성되며 디 펩티드, 트리 펩티드, 테트라 펩티드 및 펜타 펩티드를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0024] 본 발명에 상기 "PNA (Peptide Nucleic Acid)"는 인공적으로 합성된, DNA 또는 RNA와 비슷한 중합체를 가리키며, 1991 년 덴마크 코펜하겐 대학교의 Nielsen, Egholm, Berg와 Buchardt 교수에 의해 처음으로 소개되었다. DNA는 인산-리보스당 골격을 갖는데 반해, PNA는 펩타이드 결합에 의해 연결된 반복된 N-(2-아미노에틸)-글리신 골격을 가지며, 이로 인해 DNA 또는 RNA에 대한 결합력과 안정성이 크게 증가되어 분자 생물학, 진단 분석 및 안티센스 치료법에 사용되고 있다. PNA는 문헌[Nielsen PE, Egholm M, Berg RH, Buchardt O (December 1991). "Sequence-selective recognition of DNA by strand displacement with a thymine-substituted polyamide". Science 254 (5037): 1497-1500]에 상세하게 개시되어 있다.
- [0025] 본 발명의 상기 "앵타머"는 단일 가닥 올리고 뉴클레오티드를 의미하는 것으로, 카베올린-1 단백질에 대한 결합 활성을 갖는 핵산 분자를 말한다. 상기 앵타머는 그 염기 서열에 따라 다양한 3 차원 구조를 가질 수 있으며, 항원-항체 반응과 같이 특정 물질에 대하여 높은 친화력을 가질 수 있다. 앵타머는 소정의 표적 분자에 결합함으로써 소정의 표적 분자의 활성을 저해할 수 있다. 상기 앵타머는 RNA, DNA, 변형된 핵산 또는 이들의 혼합물일 수 있으며, 그 형태가 직쇄상 또는 환상일 수 있다.
- [0026] 본 발명의 상기 카베올린-1 단백질을 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 카베올린-1 단백질을 암호화하는 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머, 프로브 및 안티센스 뉴클레오티드로 이루어진 군에서 선택된 1 종 이상을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0027] 본 발명에서 상기 "프라이머"는 표적 유전자 서열을 인지하는 단편으로서, 정방향 및 역방향의 프라이머 쌍을

포함하나, 바람직하게는, 특이성 및 민감성을 가지는 분석 결과를 제공하는 프라이머 쌍이다. 프라이머의 핵산 서열이 시료 내 존재하는 비-표적 서열과 불일치하는 서열이어서, 상보적인 프라이머 결합 부위를 함유하는 표적 유전자 서열만 증폭하고 비특이적 증폭을 유발하지 않는 프라이머일 때, 높은 특이성이 부여될 수 있다.

[0028] 본 발명에서 상기 "프로브"란 시료 내의 검출하고자 하는 표적 물질과 특이적으로 결합할 수 있는 물질을 의미하며, 상기 결합을 통하여 특이적으로 시료 내의 표적 물질의 존재를 확인할 수 있는 물질을 의미한다. 프로브의 종류는 당 업계에서 통상적으로 사용되는 물질로서 제한은 없으나, 바람직하게는 PNA (peptide nucleic acid), LNA (locked nucleic acid), 펩타이드, 폴리펩타이드, 단백질, RNA 또는 DNA일 수 있으며, 가장 바람직하게는 PNA이다. 보다 구체적으로, 상기 프로브는 바이오 물질로서 생물에서 유래되거나 이와 유사한 것 또는 생체 외에서 제조된 것을 포함하는 것으로, 예를 들어, 효소, 단백질, 항체, 미생물, 동식물 세포 및 기관, 신경세포, DNA, 및 RNA일 수 있으며, DNA는 cDNA, 게놈 DNA, 올리고뉴클레오타이드를 포함하며, RNA는 게놈 RNA, mRNA, 올리고뉴클레오타이드를 포함하며, 단백질의 예로는 항체, 항원, 효소, 펩타이드 등을 포함할 수 있다.

[0029] 본 발명에서 상기 "LNA (Locked nucleic acids)"란, 2'-O, 4'-C 메틸렌 브릿지를 포함하는 핵산 아날로그를 의미한다 [J Weiler, J Hunziker and J Hall Gene Therapy (2006) 13, 496.502]. LNA 뉴클레오사이드는 DNA와 RNA의 일반적 핵산 염기를 포함하며, Watson-Crick 염기 쌍 규칙에 따라 염기 쌍을 형성할 수 있다. 하지만, 메틸렌 브릿지로 인한 분자의 'locking'으로 인해, LNA는 Watson-Crick 결합에서 이상적 형상을 형성하지 못하게 된다. LNA가 DNA 또는 RNA 올리고뉴클레오타이드에 포함되면, LNA는 보다 빠르게 상보적 뉴클레오타이드 사슬과 쌍을 이루어 이중 나선의 안정성을 높일 수 있다.

[0030] 본 발명에서 상기 "안티센스"는 안티센스 올리고머가 왓슨-크릭 염기쌍 형성에 의해 RNA 내의 표적 서열과 혼성화되어, 표적 서열 내에서 전형적으로 mRNA와 RNA 올리고머 헤테로이중체의 형성을 허용하는, 뉴클레오타이드 염기의 서열 및 서브유닛간 백본을 갖는 올리고머를 의미한다. 올리고머는 표적 서열에 대한 정확한 서열 상보성 또는 근사 상보성을 가질 수 있다.

[0031] 본 발명에 따른 카베올린-1 단백질이나, 이들을 암호화하는 유전자의 정보는 공지되어 있으므로, 당업자라면 이를 바탕으로 상기 단백질을 암호화하는 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머, 프로브 또는 안티센스 뉴클레오타이드를 용이하게 디자인할 수 있을 것이다.

[0032] 본 발명의 상기 관별용 조성물은, 목적하는 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서 측정된 카베올린-1 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 대조군과 비교하여 그 발현 수준의 증감 여부를 확인함으로써, 암 치료제의 적합성 여부를 진단할 수 있다.

[0033] 본 발명에서 상기 "관별"은 병리 상태의 존재 또는 특징을 확인하는 것을 의미하며, 보다 상세하게는 병리 상태의 존재 또는 특징을 확인함으로써 치료제 적합성을 판정하는 것으로서, 특히는 맞춤형 치료에 적용하기 위한 동반 진단(Companion Diagnostics) 목적으로 대상 환자를 사전에 선별하여 특정 치료제의 치료 효과가 좋게 나타날 가능성이 높은지 여부를 판정하는 것을 말한다.

[0034] 본 발명에서 상기 동반 진단(Companion Diagnostics)이란 표적 치료제의 대상체를 사전에 선별하는 검사로서, 대상체의 유전적 특성, 보다 구체적으로 유전자 또는 단백질의 발현 정도, 특정 유전자의 존부 등을 검사하는 방식으로 수행될 수 있다. 이는 표적 약물을 효과적으로 사용하기 위해 필수적인 정보를 제공할 수 있으며, 동반 진단을 통해 대상체의 약물 반응성, 약물 민감도, 약물 부작용 발생 가능성 등을 예측 또는 치료함으로써 향후 수행될 치료 시 반응의 모니터링을 수행할 수 있다. 최근 항암 신약 분야에서 개개인의 맞춤 치료를 위한 동반 진단이 각광 받고 있는 실정이다.

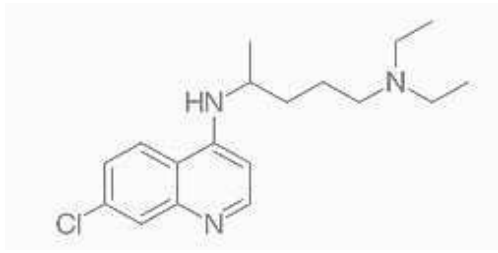
[0035] 본 발명의 조성물을 이용할 경우 암 치료제의 처방 전에 환자의 약물 반응성을 미리 선별함으로써, 암 치료의 효율성을 증대시키거나 치료제의 부작용을 감소시킬 수 있으며, 더 나아가 불필요한 의료비 지출을 막을 수 있는 경제적 효과 또한 기대할 수 있다.

[0036] 본 발명에서 상기 암 치료제는 암 세포의 증식 억제, 암 세포의 침윤 또는 전이 억제하는 후보 약물을 의미하며, 암 외의 다른 질환을 예방 또는 치료하기 위한 약물에 해당할지라도 암과 관련된 질환의 예방 또는 치료 효과가 예견되는 약물에 해당한다면 이에 포함될 수 있으며, 바람직하게는 클로로퀸(Chloroquine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; 하이드록시클로로퀸(Hydroxychloroquine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; 및 메플로퀸(Mefloquine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염;으로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나일 수 있으나, 암과 관련된 질환의 예방 또는 치료 효과가 예견되는 약물이라면 이에 제한되는 것은 아니다.

[0037] 본 발명에서 상기 암 치료제 후보 약물은 클로로퀸(Chloroquine)을 포함할 수 있고, 상기 클로로퀸은 하기 화학

식 1로 표시되는 4-N-[7-클로로퀴놀린-4-일]-1-N,1-N-디에틸펜탄-1,4-디아민(4-N-[7-chloroquinolin-4-yl]-1-N,1-N-diethylpentane-1,4-diamine)일 수 있다. 또한, 클로로퀸의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

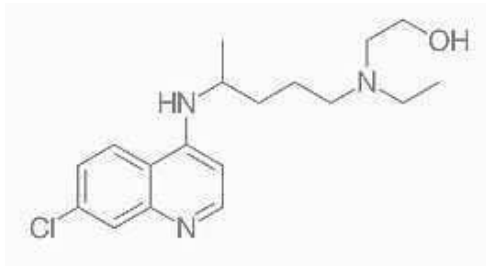
[0038] [화학식 1]



[0039]

[0040] 본 발명에서 상기 암 치료제 후보 약물은 하이드록시클로로퀸(Hydroxychloroquine)을 포함할 수 있고, 상기 하이드록시클로로퀸은 하기 화학식 2로 표시되는 2-[4-[(7-클로로퀴놀린-4-일)아미노]펜틸-에틸아미노]에탄올 (2-[4-[(7-chloroquinolin-4-yl)amino]pentyl-ethylamino]ethanol)일 수 있다. 또한 하이드록시클로로퀸의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함할 수 있으며, 바람직하게는 하이드록시클로로퀸 황산염(Chloroquine sulfate)을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0041] [화학식 2]



[0042]

[0043] 본 발명에서 상기 암 치료제 후보 약물은 메플로퀸(Mefloquine)을 포함할 수 있고, 상기 메플로퀸은 하기 화학식 3으로 표시되는 [2,8-비스(트리플루오로메틸)퀴놀린-4-일]-피페리딘-2-일 메탄올 ([2,8-bis(trifluoromethyl)quinolin-4-yl]-piperidin-2-yl methanol)일 수 있다. 또한 메플로퀸의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함할 수 있으며, 바람직하게는 메플로퀸 염화수소(Mefloquine hydrochloride)를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0044] [화학식 3]



[0045]

[0046] 본 발명에서 상기 약학적으로 허용 가능한 염은 산 또는 염기의 부가염, 및 이의 입체화학적 이성질체를 포함할 수 있다. 예를 들면, 화합물은 유기산 또는 무기산의 부가염의 형태로 있을 수 있다. 염은 환자에 투여되었을 때 환자에게서 바람직한 효과를 갖는 것으로, 그들의 모화합물의 활성을 유지하는 임의의 염들을 포함하지만, 이에 특별히 한정되는 것은 아닐 수 있다. 이러한 염들은 무기염 및 유기염, 예컨대 아세트산, 질산, 아스파르트산, 술폰산, 설푸릭산, 말레산, 글루탐산, 포름산, 숙신산, 인산, 프탈산, 탄닌산, 타르타르산, 히드로브롬산,

프로피온산, 벤젠술폰산, 벤조산, 스테아르산, 락트산, 비카르본산, 비설퍼릭산, 비타르타르산, 옥살산, 부틸산, 칼슘 이데트, 카르보닉산, 클로로벤조산, 시트르산, 이데트산, 톨루엔술폰산, 푸마르산, 글루젠포산, 에실린산, 파모익산, 글루코닉산, 메틸질산, 말론산, 염산, 히드로요도익산, 히드록시나프톨산, 이세티온산, 락토비오닉산, 만델산, 점액산, 나프실릭산, 뮤코닉산, p-니트로메탄술폰산, 헥사믹산, 판토테닉산, 모노히드로젠인산, 디히드로젠인산, 살리실산, 술파민산, 술파닐린산, 메탄술폰산의 염 등을 포함할 수 있다. 염기의 부가염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속의 염, 예컨대 암모늄, 리튬, 나트륨, 칼륨, 마그네슘, 칼슘 등의 염; 유기염기를 갖는 염, 예컨대 벤자틴, N-메틸-D-글루카민, 하이드라바민 등의 염; 및 아미노산을 갖는 염, 예컨대 아르기닌, 리신 등을 포함할 수 있다. 또한, 이들 염들은 적정 염기 또는 산으로 처리함으로써 유리된 형태로 전환될 수 있다.

[0047] 본 발명의 목적상 상기 암 치료제 적합성 판별용 조성물은 암, 특히는 위암으로 바람직하게는 줄기 유사 아형 위암과 관련한 새로운 타겟 마커로 카베올린-1을 이용함으로써 Cav1 매개 세포 내 이입을 억제하는 기전의 치료제 적합성을 판별할 수 있어 줄기 유사 아형 위암 환자의 선별을 통해 치료 효과를 극대화할 수 있는 대상체의 선별에 효과적이다.

[0048] 본 발명에서 상기 "대상체"는 인간을 포함하는 포유 동물로, 예를 들면, 인간, 래트, 마우스, 모르모트, 햄스터, 토끼, 원숭이, 개, 고양이, 소, 말, 돼지, 양 및 염소로 구성된 군으로부터 선택될 수 있고, 바람직하게는 인간일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0049] 본 발명에서 상기 암은 포유류에서 전형적으로 조절되지 않는 세포 성장으로 특징지어진 생리적 상태를 나타내거나 가리킨다. 본 발명에서 상기 암은 위암, 갑상선암, 부갑상선암, 난소암, 대장암, 췌장암, 간암, 유방암, 자궁경부암, 폐암, 비소세포성폐암, 전립선암, 담낭암, 담도암, 비호지킨 림프종, 호지킨 림프종, 혈액암, 방광암, 신장암, 흑색종, 결장암, 골암, 피부암, 두부암, 자궁암, 직장암, 뇌종양, 항문부근암, 나팔관암종, 자궁내막암종, 질암, 음문암종, 식도암, 소장암, 내분비선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암, 음경암, 수뇨관암, 신장세포암종, 신장골반암종, 중추신경계(CNS central nervous system) 종양, 1차 CNS 림프종, 척수 종양, 뇌간신경교종 및 뇌하수체 선종으로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나일 수 있으나, 바람직하게는 위암일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0051] 본 발명의 다른 구현 예에 따르면, 본 발명의 상기 암 치료제의 적합성 판별용 키트에 관한 것이다.

[0052] 본 발명의 상기 키트는 본 발명의 상기 조성물을 사용하여 목적하는 개체에서 대조군에 비하여 카베올린-1 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자가 높은 수준으로 존재하는 경우, 암 치료제 적합성이 있는 것으로 예측할 수 있다. 바람직하게는, 카베올린-1 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준이 대조군에 비하여 높은 수준으로 존재하는 경우에 클로로퀸(Chloroquine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; 하이드록시클로로퀸(Hydroxychloroquine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; 및 메플로퀸(Mefloquine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염;으로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나에 해당하는 후보 약물의 치료 적합성이 있는 것으로 예측할 수 있다.

[0053] 본 발명에서 상기 "대조군"은 정상 대조군에서의 해당 바이오 마커 단백질 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자의 발현 수준이거나, 위 관련 질환 환자 유래의 생물학적 시료에서 해당 마커 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준의 평균 값 또는 중앙 값이거나, 암 환자로 바람직하게는 위암 외의 타 암종 환자 유래의 생물학적 시료에서 해당 마커 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준의 평균 값 또는 중앙 값일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0054] 본 발명의 상기 키트는 본 발명의 상기 조성물을 사용하여 목적하는 개체에서 카베올린-1 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준이 정상 대조군보다 높은 경우, 상기 목적하는 개체가 암 치료제 적합성이 있는 것으로 예측할 수 있다.

[0055] 본 발명의 상기 판별용 키트에서, 카베올린-1 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자, 암, 암 치료제 등에 관한 기제는 판별용 조성물에서 기재한 바와 동일하여, 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 생략한다.

[0056] 본 발명의 상기 키트는 RT-PCR 키트, DNA 칩 키트, ELISA 키트, 단백질 칩 키트, 래피드(Rapid) 키트 또는 MRM(Multiple reaction monitoring) 키트 등 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0057] 본 발명의 상기 키트는 분석 방법에 적합한 한 종류 또는 그 이상의 다른 구성 성분 조성물, 용액 또는 장치를

더 포함할 수 있다. 예를 들면, 본 발명에서 상기 키트는 역전사 중합효소반응을 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 더 포함할 수 있다. 역전사 중합효소반응 키트는 마커 단백질을 코딩하는 유전자에 대해 특이적인 프라이머 쌍을 포함한다. 프라이머는 상기 유전자의 핵산 서열에 특이적인 서열을 가지는 뉴클레오티드로써, 약 7 bp 내지 50 bp의 길이, 보다 바람직하게는 약 10 bp 내지 30 bp의 길이를 가질 수 있다. 또한 대조군 유전자의 핵산 서열에 특이적인 프라이머를 포함할 수 있다. 그 외 역전사 중합효소반응 키트는 테스트 튜브 또는 다른 적절한 용기, 반응 완충액 (pH 및 마그네슘 농도는 다양), 데옥시뉴클레오타이드 (dNTPs), Taq-폴리머라아제 및 역전사효소와 같은 효소, DNase, RNase 억제제 DEPC-수 (DEPC-water), 멸균수 등을 포함할 수 있다.

[0058] 또한, 본 발명의 판별용 키트는 DNA 칩을 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 포함할 수 있다. DNA 칩 키트는 유전자 또는 그의 단편에 해당하는 cDNA 또는 올리고뉴클레오티드(oligonucleotide)가 부착되어 있는 기관, 및 형광표지 프로브를 제작하기 위한 시약, 제제, 효소 등을 포함할 수 있다. 또한 기관은 대조군 유전자 또는 그의 단편에 해당하는 cDNA 또는 올리고뉴클레오티드를 포함할 수 있다.

[0059] 또한, 본 발명의 판별용 키트는 ELISA를 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 포함할 수 있다. ELISA 키트는 상기 단백질에 대해 특이적인 항체를 포함한다. 항체는 마커 단백질에 대한 특이성 및 친화성이 높고 다른 단백질에 대한 교차 반응성이 거의 없는 항체로, 단클론 항체, 다클론 항체 또는 재조합 항체이다. 또한, ELISA 키트는 대조군 단백질에 특이적인 항체를 포함할 수 있다. 그 외 ELISA 키트는 결합된 항체를 검출할 수 있는 시약, 예를 들면, 표지된 2 차 항체, 발색단 (chromophores), 효소 (예: 항체와 컨주게이트됨) 및 그의 기질 또는 항체와 결합할 수 있는 다른 물질 등을 포함할 수 있다.

[0060] 본 발명의 판별용 키트에서 항원-항체 결합반응을 위한 고정체로는 니트로셀룰로오즈 막, PVDF 막, 폴리비닐 (polyvinyl) 수지 또는 폴리스티렌 (polystyrene) 수지로 합성된 웰 플레이트 (Well plate), 유리로 된 슬라이드 글래스 등이 사용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0061] 또한, 본 발명의 판별용 키트에서 2 차 항체의 표지체는 발색 반응을 하는 통상의 발색제가 바람직하며, HRP (horseradish peroxidase), 염기성 탈인산화효소 (alkaline phosphatase), 콜로이드 골드 (colloid gold), FITC (폴리 L-라이신-폴루오르세인 아이소티오시아네이트), RITC (로다민-B-아이소티오시아네이트) 등의 형광 물질 (fluorescein) 및 색소 (dye) 등의 표지체가 사용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0062] 또한, 본 발명의 판별용 키트에서 발색을 유도하기 위한 발색 기질은 발색 반응을 하는 표지체에 따라 사용하는 것이 바람직하며, TMB (3,3',5,5'-테트라메틸 베지딘), ABTS [2,2'-아지노-비스(3-에틸벤조티아졸린-6-설폰산)], OPD (o-페닐렌디아민) 등을 사용할 수 있다. 이때, 발색 기질은 완충 용액 (0.1 M NaAc, pH 5.5)에 용해된 상태로 제공되는 것이 더욱 바람직하다. TMB와 같은 발색 기질은 이차 항체 접합체의 표지체로 사용된 HRP에 의해 분해되어 발색 침적체를 생성하고, 이 발색 침적체의 침적 정도를 육안으로 확인함으로써 상기 마커 단백질들의 존재 유무를 검출한다.

[0063] 본 발명의 판별용 키트에서 세척액은 인산염 완충 용액, NaCl 및 트윈 20 (Tween 20)을 포함하는 것이 바람직하며, 0.02 M 인산염 완충 용액, 0.13 M NaCl, 및 0.05 % 트윈 20으로 구성된 완충 용액 (PBST)이 더욱 바람직하다. 세척액은 항원-항체 결합 반응 후 항원-항체 결합체에 2 차 항체를 반응시킨 다음 적당량을 고정체에 첨가하여 3 내지 6 회 세척한다. 반응 정지 용액은 황산 용액 (H₂SO₄)이 바람직하게 사용될 수 있다.

[0065] 본 발명의 또 다른 구현 예에 따르면, 암 치료제 적합성에 관한 정보를 제공하는 방법에 관한 것이다.

[0066] 본 발명의 상기 방법은 목적하는 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서, 카베올린-1(Caveolin-1; Cav1)의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함한다.

[0067] 본 발명의 상기 방법은 목적하는 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서, 암 치료제 적합 여부를 선별하기 위한 것일 수 있다.

[0068] 본 발명에서 상기 "목적하는 개체"란 인간을 포함하는 포유 동물로, 예를 들면, 인간, 래트, 마우스, 모르모트, 햄스터, 토끼, 원숭이, 개, 고양이, 소, 말, 돼지, 양 및 염소로 구성된 군으로부터 선택될 수 있고, 바람직하게는 인간일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0069] 본 발명에서 상기 "인간"은 암이 발병하였거나 발병 가능성이 높은 것으로 의심되는 자로, 암 질환의 적절한 치료가 필요하거나 예상되는 환자를 의미하는 것일 수 있고, 바람직하게는 위암의 적절한 치료가 필요하거나 예상

되는 환자일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0070] 본 발명의 상기 "생물학적 시료"는 암 질환이 발생한 환자이거나 암 질환의 발병이 의심되는 개체로부터 얻어지거나 개체로부터 유래된 임의의 물질, 생물학적 체액, 조직 또는 세포를 의미하는 것으로, 예를 들면, 전혈(whole blood), 백혈구(leukocytes), 말초혈액 단핵 세포(peripheral blood mononuclear cells), 백혈구 연층(buffy coat), 혈장(plasma) 및 혈청(serum)을 포함하는 혈액, 객담(sputum), 눈물(tears), 점액(mucus), 세비액(nasal washes), 비강 흡인물(nasal aspirate), 호흡(breath), 소변(urine), 정액(semen), 침(saliva), 복강 세척액(peritoneal washings), 골반 내 유체액(pelvic fluids), 낭종액(cystic fluid), 뇌척수막 액(meningeal fluid), 양수(amniotic fluid), 선액(glandular fluid), 췌장액(pancreatic fluid), 림프액(lymph fluid), 흉수(pleural fluid), 유두 흡인물(nipple aspirate), 기관지 흡인물(bronchial aspirate), 활액(synovial fluid), 관절 흡인물(joint aspirate), 기관 분비물(organ secretions), 세포(cell), 세포 추출물(cell extract) 또는 뇌척수액(cerebrospinal fluid)을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0071] 본 발명의 상기 단백질이 존재하는 수준을 측정하는 단계는 본 발명의 상기 조성물을 이용하여 단백질 칩 분석, 면역 측정법, 리간드 바인딩 어세이, MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry) 분석, SELDI-TOF (Surface Enhanced Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry) 분석, 방사선 면역 분석, 방사 면역 확산법, 오우크테로니 면역 확산법, 로케트 면역전기영동, 조직면역 염색, 보체 고정 분석법, 2차원 전기영동 분석, 액상 크로마토그래피-질량분석(liquid chromatography-Mass Spectrometry, LC-MS), LC-MS/MS (liquid chromatography-Mass Spectrometry/ Mass Spectrometry), 웨스턴 블랏팅 또는 ELISA (enzyme linked immunosorbent assay)에 의해 수행되는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0072] 본 발명의 상기 단백질을 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계는 본 발명의 상기 조성물을 이용하여 역전사 중합효소반응(RT-PCR), 경쟁적 역전사 중합효소반응(Competitive RT-PCR), 실시간 역전사 중합효소반응(Real-time RT-PCR), RNase 보호 분석법(RNase protection assay; RPA), 노던 블랏팅(Northern blotting) 또는 DNA 칩에 의해 수행되는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0073] 본 발명의 상기 방법은 상기 생물학적 시료에서 측정된 카베올린-1 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준이 정상 대조군에 비하여 높을 경우 상기 목적하는 개체에게 암 치료제 적합성이 있는 것으로 예측할 수 있다. 보다 바람직하게는, 카베올린-1 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준이 정상 대조군보다 높은 경우에 클로로퀸(Chloroquine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; 하이드록시클로로퀸(Hydroxychloroquine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; 및 메플로퀸(Mefloquine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염;으로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나의 암 치료제 적합성이 있는 것으로 예측할 수 있다.
- [0074] 본 발명에서 상기 암은 위암, 갑상선암, 부갑상선암, 난소암, 대장암, 췌장암, 간암, 유방암, 자궁경부암, 폐암, 비소세포성폐암, 전립선암, 담낭암, 담도암, 비호지킨 림프종, 호지킨 림프종, 혈액암, 방광암, 신장암, 흑색종, 결장암, 골암, 피부암, 두부암, 자궁암, 직장암, 뇌종양, 항문부근암, 나팔관암종, 자궁내막암종, 질암, 음문암종, 식도암, 소장암, 내분비선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암, 음경암, 수뇨관암, 신장세포암종, 신장골반 암종, 중추신경계(CNS central nervous system) 종양, 1차 CNS 림프종, 척수 종양, 뇌간 신경교종 및 뇌하수체 선종으로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나일 수 있으나, 바람직하게는 위암일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0075] 본 발명의 상기 암 치료제 적합성에 관한 정보를 제공하는 방법에서, 카베올린-1 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자, 발현 수준을 측정하는 제제, 암, 암 치료제, 대조군 등에 대한 기제는 판별용 조성물에서 기재한 바와 동일하여, 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 생략한다.
- [0077] 본 발명의 또 다른 구현 예에 따르면, 위암의 진단용 조성물에 관한 것이다.
- [0078] 본 발명에서 상기 진단용 조성물은 카베올린-1(Caveolin-1; Cav1) 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함할 수 있다.
- [0079] 본 발명의 상기 카베올린-1 단백질이 존재하는 수준을 측정하는 제제는 카베올린-1 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 올리고펩타이드, 리간드, PNA (peptide nucleic acid) 및 앵타머(aptamer)로 이루어진 군에서 선택

된 적어도 하나를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0080] 본 발명의 상기 카베올린-1 단백질을 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 카베올린-1 단백질을 암호화하는 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머, 프로브 및 안티센스 뉴클레오타이드로 이루어진 군에서 선택된 1 종 이상을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0081] 본 발명의 상기 진단용 조성물에서, 카베올린-1 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자, 발현 수준을 측정하는 제제 등에 관한 기재는 판별용 조성물에서 기재한 바와 동일하여, 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 생략한다.
- [0082] 본 발명의 상기 진단용 조성물은, 목적하는 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서 측정된 카베올린-1 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 대조군과 비교하여 그 발현 수준의 증감 여부를 확인함으로써, 위암, 특히는 위암의 아형을 진단할 수 있다.
- [0083] 본 발명에서 상기 "진단"은 병리 상태의 존재 또는 특징을 확인하는 것을 의미하며, 본 발명의 목적상, 상기 진단은 위암의 발병, 성장, 진행 또는 전이 등의 가능성을 예측하는 것일 수 있고, 혹은 위암의 세분화된 아형을 구별하는 것일 수 있다.
- [0084] 본 발명에서 상기 위암의 아형은 위(gastric), 염증(inflammatory), 장(intestinal), 혼합(mixed) 및 줄기 유사(stem-like)로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나의 아형에 해당하는 것일 수 있으며, 바람직하게는 줄기 유사 아형 위암일 수 있다.
- [0086] 본 발명의 또 다른 구현 예에 따르면, 본 발명의 상기 진단용 조성물을 포함하는 위암의 진단용 키트에 관한 것이다.
- [0087] 본 발명에서 상기 키트는 RT-PCR 키트, DNA 칩 키트, ELISA 키트, 단백질 칩 키트, 래피드(rapid) 키트 또는 MRM(Multiple reaction monitoring) 키트일 수 있다.
- [0088] 본 발명의 상기 진단용 키트에서, 키트 등에 관한 기재는 상기에서 기재한 바와 동일하여, 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 생략한다.
- [0090] 본 발명의 또 다른 구현 예에 따르면, 위암의 진단에 관한 정보를 제공하는 방법에 관한 것이다.
- [0091] 본 발명의 상기 방법은 목적하는 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서, 카베올린-1(Caveolin-1; Cav1)의 단백질을 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0092] 본 발명의 상기 정보를 제공하는 방법에서, 위암, 카베올린-1, 목적하는 개체, 생물학적 시료 등에 관한 기재는 상기에서 기재한 바와 동일하여, 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 생략한다.
- [0094] 본 발명의 또 다른 구현 예에 따르면, 위암의 진단 기기에 관한 것이다.
- [0095] 본 발명의 상기 진단 기기의 측정부는 목적하는 개체로부터 얻어진 생물학적 시료에 대하여 카베올린-1(Caveolin-1; Cav1)의 단백질을 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정할 수 있다.
- [0096] 본 발명에서 상기 목적하는 개체는, 인간, 래트, 마우스, 모르모트, 햄스터, 토끼, 원숭이, 개, 고양이, 소, 말, 돼지, 양 및 염소로 구성된 군으로부터 선택될 수 있고, 바람직하게는 인간일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0097] 본 발명에서 상기 생물학적 시료는 전혈 (whole blood), 백혈구 (leukocytes), 말초혈액 단핵 세포 (peripheral blood mononuclear cells), 백혈구 연층 (buffy coat), 혈장 (plasma), 혈청 (serum), 객담 (sputum), 눈물 (tears), 점액 (mucus), 세비액 (nasal washes), 비강 흡인물 (nasal aspirate), 호흡 (breath), 소변 (urine), 정액 (semen), 침 (saliva), 복강 세척액 (peritoneal washings), 복수 (ascites), 낭종액 (cystic fluid), 뇌척수막 액 (meningeal fluid), 양수 (amniotic fluid), 선액 (glandular fluid), 췌장액 (pancreatic fluid), 림프액 (lymph fluid), 흉수 (pleural fluid), 유두 흡인물 (nipple aspirate), 기관지 흡인물 (bronchial aspirate), 활액 (synovial fluid), 관절 흡인물 (joint aspirate), 기관 분비물

(organ secretions), 세포 (cell), 세포 추출물 (cell extract) 및 뇌척수액 (cerebrospinal fluid) 등으로 이루어진 군에서 선택된 1 종 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0098] 본 발명의 상기 진단 기기의 측정부에서 이용하는 제제는 카베올린-1 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제일 수 있다. 보다 구체적으로, 상기 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 올리고펩타이드, 리간드, PNA (peptide nucleic acid) 및 앵타머 (aptamer)로 이루어진 군에서 선택된 1 종 이상을 포함할 수 있으며, 상기 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머, 프로브 및 안티센스 뉴클레오타이드로 이루어진 군에서 선택된 1 종 이상을 포함할 수 있다.

[0099] 본 발명의 상기 측정부에서 상기 제제를 이용하여 상기 단백질 또는 유전자의 발현 정도를 확인함으로써 위암, 보다 바람직하게는 위암의 아형을 예측할 수 있다.

[0100] 본 발명의 상기 진단 기기는, 상기 측정부에서 얻어진 상기 단백질 또는 유전자의 발현 정도로부터 상기 목적하는 개체의 위암의 아형을 예측하여 출력하는 검출부를 추가로 더 포함할 수 있다.

[0101] 본 발명에서 상기 검출부는, 상기 측정부에서 얻어진 상기 단백질 또는 유전자의 발현 정도의 범주에 따라 위암에 관한 정보를 생성하여 분류함으로써 위암, 보다 바람직하게는 위암의 아형을 진단할 수 있다.

[0102] 본 발명의 일 예시에서, 상기 검출부는 상기 측정부에서 측정된 카베올린-1 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준이 정상 대조군에 비하여 높을 경우 상기 목적하는 개체에게 줄기 유사 아형의 위암의 발병 또는 발병 가능성이 높은 것으로 예측하여 출력할 수 있다.

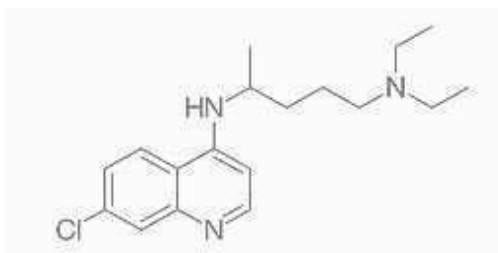
[0103] 본 발명의 상기 진단 기기에서, 카베올린-1, 위암 아형, 대조군 등에 관한 기제는 상기에서 기재한 바와 동일하여, 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 생략한다.

[0105] 본 발명의 또 다른 구현 예에 따르면, 암의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

[0106] 본 발명의 상기 조성물은 클로로퀸(Chloroquine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; 하이드록시클로로퀸(Hydroxychloroquine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; 및 메플로퀸(Mefloquine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염;으로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나를 유효 성분으로 포함할 수 있다.

[0107] 본 발명의 일 구체 예에서 상기 클로로퀸(Chloroquine)은 4-N-[7-클로로퀴놀린-4-일]-1-N,1-N-디에틸펜탄-1,4-디아민(4-N-[7-chloroquinolin-4-yl]-1-N,1-N-diethylpentane-1,4-diamine)으로 하기 화학식 1로 표시되는 화합물일 수 있다.

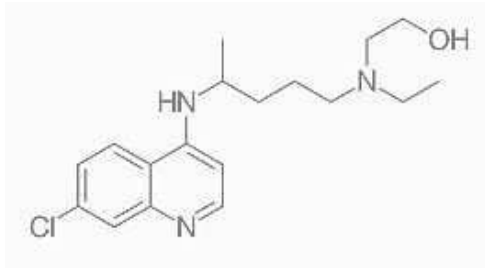
[0108] [화학식 1]



[0109]

[0110] 본 발명의 다른 구체 예에서 상기 하이드록시클로로퀸(Hydroxychloroquine)은 2-[4-[(7-클로로퀴놀린-4-일)아미노]펜틸-에틸아미노]에탄올 (2-[4-[(7-chloroquinolin-4-yl)amino]pentyl-ethylamino]ethanol)로 하기 화학식 2로 표시되는 화합물일 수 있다.

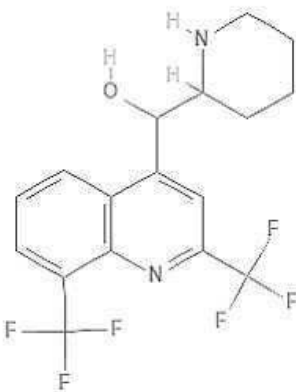
[0111] [화학식 2]



[0112]

[0113] 본 발명의 또 다른 구체 예에서 상기 메플로퀸(Mefloquine)은 [2,8-비스(트리플루오로메틸)퀴놀린-4-일]-피페리딘-2-일 메탄올 ([2,8-bis(trifluoromethyl)quinolin-4-yl]-piperidin-2-yl methanol)로 하기 화학식 3으로 표시되는 화합물일 수 있다.

[0114] [화학식 3]



[0115]

[0116] 본 발명의 상기 화학식 1 내지 3으로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 암 세포 및 암 줄기세포의 성장을 매우 효과적으로 억제할 수 있다. 본 발명의 상기 조성물은 제어되지 않은 세포의 자가세포 사멸 (apoptosis)을 유도하고, 세포 성장을 억제함으로써 암의 성장을 억제할 수 있어 암의 예방, 개선 또는 치료에 매우 효과적으로 사용될 수 있다.

[0117] 본 발명의 상기 약학적으로 허용 가능한 염은 산 또는 염기의 부가염, 및 이의 입체화학적 이성질체를 포함할 수 있다. 예를 들면, 화합물은 유기산 또는 무기산의 부가염의 형태로 있을 수 있다. 염은 환자에 투여되었을 때 환자에게 바람직한 효과를 갖는 것으로, 그들의 모화합물의 활성을 유지하는 임의의 염들을 포함하지만, 이에 특별히 한정되는 것은 아니다. 이러한 염들은 무기염 및 유기염, 예컨대 아세트산, 질산, 아스파르트산, 술폰산, 설푸릭산, 말레산, 글루탐산, 포름산, 숙신산, 인산, 프탈산, 탄닌산, 타르타르산, 히드로브롬산, 프로피온산, 벤젠술폰산, 벤조산, 스테아르산, 락트산, 비카르본산, 비설푸릭산, 비타르타르산, 옥살산, 부틸산, 칼슘 이데트, 카르보닉산, 클로로벤조산, 시트르산, 이데트산, 톨루엔술폰산, 푸마르산, 글루세프산, 에실린산, 파모익산, 글루코닉산, 메틸질산, 말론산, 염산, 히드로요도익산, 히드록시나프톨산, 이세티온산, 락토비오닉산, 만델산, 점액산, 나프실릭산, 뮤코닉산, p-니트로메탄술폰산, 헥사믹산, 판토테닉산, 모노히드로젠인산, 디히드로젠인산, 살리실산, 술파민산, 술파닐린산, 메탄술폰산의 염 등을 포함할 수 있다. 염기의 부가염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속의 염, 예컨대 암모늄, 리튬, 나트륨, 칼륨, 마그네슘, 칼슘 등의 염; 유기 염기를 갖는 염, 예컨대 벤자민, N-메틸-D-글루카민, 하이드라민 등의 염; 및 아미노산을 갖는 염, 예컨대 아르기닌, 리신 등을 포함할 수 있다. 또한, 이들 염들은 적정 염기 또는 산으로 처리함으로써 유리된 형태로 전환될 수 있다.

[0118] 본 발명의 조성물에서 예방, 개선 또는 치료의 대상이 되는 질환으로는 목적하는 개체에서 발병 되었거나 발병될 가능성이 있는 암일 수 있다.

[0119] 본 발명에서 상기 "목적하는 개체"란 인간을 포함하는 포유 동물로, 예를 들면, 인간, 래트, 마우스, 모르모트, 햄스터, 토끼, 원숭이, 개, 고양이, 소, 말, 돼지, 양 및 염소로 구성된 군으로부터 선택될 수 있고, 바람직하게는 인간일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0120] 본 발명에서 상기 "인간"은 암이 발생하였거나 그 발생이 의심되는 자로, 암의 적절한 치료가 필요하거나 예상

되는 환자를 의미하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0121] 본 발명에서 상기 예방 또는 치료의 대상이 되는 질환으로 상기 "암"은 위암, 갑상선암, 부갑상선암, 난소암, 대장암, 췌장암, 간암, 유방암, 자궁경부암, 폐암, 비소세포성폐암, 전립선암, 담낭암, 담도암, 비호지킨 림프종, 호지킨 림프종, 혈액암, 방광암, 신장암, 흑색종, 결장암, 골암, 피부암, 두부암, 자궁암, 직장암, 뇌종양, 향문부근암, 나팔관암종, 자궁내막암종, 질암, 음문암종, 식도암, 소장암, 내분비선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암, 음경암, 수뇨관암, 신장세포 암종, 신장골반 암종, 중추신경계(CNS central nervoussystem) 종양, 1차 CNS 림프종, 척수 종양, 뇌간 신경교종 또는 뇌하수체 선종일 수 있고, 바람직하게는 위암일 수 있으나, 종양의 분화 및/또는 증식 등 암의 진행이 본 발명에서 기술하는 암 세포 또는 암 줄기세포에 의존적인 암의 종류라면 이에 제한되지 않는다.
- [0122] 본 발명의 상기 위암은 위(gastric), 염증(inflammatory), 장(intestinal), 혼합(mixed) 및 줄기 유사(stem-like)로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나의 아형에 해당하는 것일 수 있으며, 바람직하게는 줄기 유사 아형 위암일 수 있다.
- [0123] 본 발명의 상기 "예방"이란, 본 발명의 상기 조성물을 이용하여 암 세포의 제어되지 않은 성장 등에 의해 발생하는 증상을 차단하거나, 그 증상을 억제 또는 지연시키는 행위라면 제한없이 포함될 수 있다.
- [0124] 본 발명의 상기 "개선"이란, 본 발명의 상기 조성물을 이용하여 암 세포의 제어되지 않은 성장 등에 의해 발생하는 증상이 호전되거나 이롭게 되는 모든 행위라면 제한없이 포함할 수 있다.
- [0125] 본 발명의 상기 "치료"란, 본 발명의 상기 조성물을 이용하여 암 세포의 제어되지 않은 성장 등에 의해 발생한 증상이 호전되거나 이롭게 되는 행위라면 제한없이 포함될 수 있다.
- [0126] 본 발명의 상기 암의 예방, 개선 또는 치료용 조성물은 약학적 조성물 또는 식품 조성물의 용도로 사용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0127] 본 발명에 있어서, 상기 약학적 조성물은 캡슐, 정제, 과립, 주사제, 연고제, 분말 또는 음료 형태임을 특징으로 할 수 있으며, 상기 약학적 조성물은 인간을 대상으로 하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0128] 본 발명의 약학적 조성물은 이들로 한정되는 것은 아니지만, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 캡슐, 정제, 수성 현탁액 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 약제적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 약제학적으로 허용되는 담체는 경구 투여 시에는 결합제, 활택제, 붕해제, 부형제, 가용화제, 분산제, 안정화제, 현탁화제, 색소, 향료 등을 사용할 수 있으며, 주사제의 경우에는 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장제, 안정화제 등을 혼합하여 사용할 수 있으며, 국소투여용의 경우에는 기제, 부형제, 윤활제, 보존제 등을 사용할 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물의 제형은 상술한 바와 같은 약제학적으로 허용되는 담체와 혼합하여 다양하게 제조될 수 있다. 예를 들어, 경구 투여시에는 정제, 트로키, 캡슐, 엘릭서 (elixir), 서스펜션, 시럽, 웨이퍼 등의 형태로 제조할 수 있으며, 주사제의 경우에는 단위 투약 앰플 또는 다수회 투약 형태로 제조할 수 있다. 기타, 용액, 현탁액, 정제, 캡슐, 서방형 제제 등으로 제형할 수 있다.
- [0129] 한편, 제제화에 적합한 담체, 부형제 및 희석제의 예로는, 락토즈, 텍스트로즈, 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 또는 광물유 등이 사용될 수 있다. 또한, 충전제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제, 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [0130] 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여 경로는 이들로 한정되는 것은 아니지만 구강, 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 경막내, 심장내, 경피, 피하, 복강내, 비강내, 장관, 국소, 설하 또는 직장이 포함된다. 경구 또는 비경구 투하가 바람직하다.
- [0131] 본 발명에서, "비경구"는 피하, 피내, 정맥내, 근육내, 관절내, 활액낭내, 흉골내, 경막내, 병소내 및 두개골내 주사 또는 주입기술을 포함한다. 본 발명의 약학적 조성물은 또한 직장 투여를 위한 좌제의 형태로 투여될 수 있다.
- [0132] 본 발명의 약학적 조성물은 사용된 특정 화합물의 활성, 연령, 체중, 일반적인 건강, 성별, 정식, 투여시간, 투여경로, 배출율, 약물 배합 및 예방 또는 치료될 특정 질환의 중증도를 포함한 여러 요인에 따라 다양하게 변할 수 있고, 상기 약학적 조성물의 투여량은 환자의 상태, 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라

다르지만 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있고, 1 일 0.0001 내지 50 mg/kg 또는 0.001 내지 50 mg/kg으로 투여할 수 있다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다. 본 발명에 따른 의약 조성물은 환제, 당의정, 캡슐, 액제, 겔, 시럽, 슬러리, 현탁제로 제형될 수 있다.

[0133] 또한, 본 발명에서 상기 암의 예방, 개선 또는 치료용 조성물은 추가로 다른 항암제와 병용하여 투여할 수 있다. 이와 같이, 다른 항암제와 병용하는 경우에는 암의 성장 또는 전이를 더욱 효과적으로 억제함으로써 암의 예방 또는 치료에 현저한 효과가 발휘되도록 할 수 있다.

[0134] 본 발명의 상기 항암제는 나이트로젠 머스타드, 이마티닙, 옥살리플라틴, 리톡시맙, 엘로티닙, 네라티닙, 라파티닙, 제피티닙, 반데타닙, 니로티닙, 세마사닙, 보수티닙, 악시티닙, 세디라닙, 레스타우르티닙, 트라스투주맙, 게피티니브, 보르테조미드, 수니티닙, 카보플라틴, 소라페닙, 베바시주맙, 시스플라틴, 세톡시맙, 비스큐알분, 아스파라기나제, 트레티노인, 하이드록시카바마이드, 다사티닙, 에스트라메스틴, 갬투주맙오조가마이신, 이브리투모맙티세탄, 헵타플라틴, 메칠아미노레볼린산, 암사크린, 알렘투주맙, 프로카르바진, 알프로스타딜, 질산홍분, 키토산, 젠시타빈, 독시플루리딘, 페메트렉세드, 테가푸르, 카페시타빈, 기메라신, 오테라실, 아자시티딘, 메토평렉세이트, 우라실, 시타라빈, 플루오로우라실, 플루다가빈, 에노시타빈, 플루타미드, 카페시타빈, 데시타빈, 머캅토프린, 티오구아닌, 클라드리빈, 카르모피, 말티트렉세드, 도세탁셀, 파클리탁셀, 이리노테칸, 벨로테칸, 토포테칸, 비노렐빈, 에토포시드, 빈블라스틴, 이다루비신, 미토마이신, 블레오마이신, 닥티노마이신, 피라루비신, 아클라루비신, 페프로마이신, 템시플리무스, 테모졸로마이드, 부셀판, 이포스파미드, 사이클로포스파미드, 멜파란, 알트레틴, 다카바진, 치오테파, 니무스틴, 클로람부실, 미토라톨, 레우코보린, 트레토닌, 엑스메스탄, 아미노글루테시미드, 아나그렐리드, 올라파립, 나벨빈, 파드라졸, 타목시펜, 토레미펜, 테스토라톤, 아나스트로졸, 레트로졸, 보로졸, 비칼루타미드, 로무스틴, 5FU, 보리노스텍, 엔티노스텍 및 카르무스틴으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0136] 본 발명의 또 다른 구현 예에 따르면, 암 치료제 적용을 위한 대상체를 동반 진단하는 방법에 관한 것이다.

[0137] 본 발명에서 상기 방법은 목적하는 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서 카베올린-1(Caveolin-1; Cav1)의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함할 수 있다.

[0138] 본 발명에서 상기 대상체는 목적하는 개체와 혼용하여 사용될 수 있으며, 상기 목적하는 개체는 인간을 포함하는 포유 동물로, 예를 들면, 인간, 래트, 마우스, 모르모트, 햄스터, 토끼, 원숭이, 개, 고양이, 소, 말, 돼지, 양 및 염소로 구성된 군으로부터 선택될 수 있고, 바람직하게는 인간일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0139] 본 발명에서 상기 "인간"은 암이 발병하였거나 발병 가능성이 높은 것으로 의심되는 자로, 암 질환의 적절한 치료가 필요하거나 예상되는 환자를 의미하는 것일 수 있고, 바람직하게는 위암의 적절한 치료가 필요하거나 예상되는 환자일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0140] 본 발명의 상기 "생물학적 시료"는 암 질환이 발생한 환자이거나 암 질환의 발병이 의심되는 개체로부터 얻어지거나 개체로부터 유래된 임의의 물질, 생물학적 체액, 조직 또는 세포를 의미하는 것으로, 예를 들면, 전혈(whole blood), 백혈구(leukocytes), 말초혈액 단핵 세포(peripheral blood mononuclear cells), 백혈구 연층(buffy coat), 혈장(plasma) 및 혈청(serum)을 포함하는 혈액, 객담(sputum), 눈물(tears), 점액(mucus), 세비액(nasal washes), 비강 흡인물(nasal aspirate), 호흡(breath), 소변(urine), 정액(semen), 침(saliva), 복강 세척액(peritoneal washings), 골반 내 유체액(pelvic fluids), 낭종액(cystic fluid), 뇌척수막액(meningeal fluid), 양수(amniotic fluid), 선액(glandular fluid), 췌장액(pancreatic fluid), 림프액(lymph fluid), 흉수(pleural fluid), 유두 흡인물(nipple aspirate), 기관지 흡인물(bronchial aspirate), 활액(synovial fluid), 관절 흡인물(joint aspirate), 기관 분비물(organ secretions), 세포(cell), 세포 추출물(cell extract) 또는 뇌척수액(cerebrospinal fluid)을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0141] 본 발명의 상기 암 치료제는 클로로퀸(Chloroquine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; 하이드록시클로로퀸(Hydroxychloroquine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; 및 메플로퀸(Mefloquine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염;으로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나일 수 있으나, 암과 관련된 질환의 예방 또는 치료 효과가 예견되는 약물이라면 이에 제한되는 것은 아니다.

[0142] 본 발명에서 카베올린-1의 바이오 마커를 이용한 사전 동반 진단(Companion Diagnostics)은 상기 암 치료제를

적용하였을 시 약물 반응성이 높아 암과 관련된 질환의 예방 또는 치료 효율성이 좋을 것으로 예견되는 대상체를 미리 선별할 수 있고, 대상체의 카베올린-1 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정함으로써 상기 치료제를 효과적으로 사용하기 위한 필수적인 정보를 제공할 수 있다.

[0143] 본 발명의 동반 진단하는 방법은 상기에서 측정된 카베올린-1 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준이 정상 대조군에 비하여 높은 개체를 선별하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0144] 본 발명에서 상기 카베올린-1 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준이 정상 대조군에 비하여 높은 개체는 카베올린-1 매개 세포내 이입 작용을 억제하는 효과가 있는 치료제 효율이 높을 것으로 예측되므로, 본 발명의 암의 예방 또는 치료용 조성물의 투여를 통해 암, 바람직하게는 위암, 가장 바람직하게는 줄기 유사 아형 위암을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다.

[0145] 본 발명의 상기 방법에서, 카베올린-1 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자, 암, 암 치료제 종류, 동반 진단 등에 관한 기재는 암 치료제의 적합성 판별용 조성물에서 기재한 바와 동일하여, 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 생략한다.

[0146] 본 발명의 동반 진단하는 방법을 이용할 경우 암 치료제의 처방 전에 환자의 약물 반응성을 미리 선별함으로써, 암 치료의 효율성을 증대시키거나 치료제의 부작용을 감소시킬 수 있으며, 더 나아가 불필요한 의료비 지출을 막을 수 있는 경제적 효과가 기대된다.

발명의 효과

[0147] 본 발명에 따른 조성물을 이용하는 경우 위암 환자의 유전적 특성으로부터 카베올린-1 매개 세포내 이입 작용을 억제할 수 있는 약물에 적합한 대상체를 선별할 수 있으며, 더 나아가 선별된 대상체에게 본 발명에 따른 조성물을 투여함으로써 위암, 특히는 난치성 위암을 매우 효과적으로 예방, 개선 또는 치료할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0148] 도 1a는 본 발명의 일 실시예에 따른 위암 환자의 전사체 분석을 통하여 위암 5가지 하위 아형에서 나타나는 Cav1 및 Cav2 발현 정도를 비교 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 1b는 본 발명의 일 실시예에 따른 위암 세포주에서의 Cav1 발현 정도를 확인하기 위하여 웨스턴 블랏을 수행한 결과를 나타낸 도이다.

도 1c는 본 발명의 일 실시예에 따른 마이크로 어레이 분석을 통하여 위암 하위 아형에서 나타나는 Cav1, Cav2 및 카베올라 복합체 구성 유전자들의 전사체 발현 정도를 비교 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 줄기 유사 아형의 위암 세포주에 테트라메틸로다민으로 표지된 고분자 텍스트린(TMR-DEX, Invitrogen)의 흡수 시험 후 Cav1 면역 형광 염색을 시행한 결과를 나타낸 도이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 난치성 위암 세포주인 HS746T와 장 분자 아형의 세포주인 NCIN87에서 테트라메틸로다민 표지 고분자 텍스트린 흡수 시험을 시행한 결과를 나타낸 도이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 난치성 위암 세포주인 HS746T에 대조군 및 카베올린-1 siRNA 처리 후 Zeiss LSM-780 microscope (Carl Zeiss)으로 세포 내로 이입된 텍스트린의 형광 신호를 탐지한 결과를 확인한 도이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 줄기 유사 아형의 위암 세포주인 HS746T, MKN1 및 SNU668에 대조군 및 카베올린-1 siRNA 처리 후 생존 세포의 수를 세포 생존 능력 측정 방법을 통해 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 난치성 위암 세포주인 HS746T에 클로로퀸(Chloroquine, Sigma)을 처리한 후 Zeiss LSM-780 microscope (Carl Zeiss)으로 세포 내로 이입된 텍스트린의 형광 신호를 탐지한 결과를 확인한 도이다.

도 7a 내지 도 7c는 본 발명의 일 실시예에 따른 장 분자 아형 위암 세포주인 NCIN87과 난치성 위암 세포주인 HS746T에 클로로퀸의 처리 시 세포 증식의 정도를 비교 분석한 결과를 나타낸 도이다.

도 8a 및 도 8b는 본 발명의 일 실시예에 따른 장 분자 아형 환자 유래 오가노이드인 GA326과 난치성 환자 유래 오가노이드인 GA077에 클로로퀸 처리 시 세포 증식 효과를 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 9a 내지 도 9d는 본 발명의 일 실시예에 따른 난치성 위암 세포주의 이종이식 마우스 모델에 클로로퀸 처리

시 종양의 생성 억제 효과를 확인한 도이다.

도 10a 내지 도 10d는 본 발명의 일 실시예에 따른 난치성 위암 세포주의 이중익식 마우스 모델에 클로로퀸 처리 시 종양의 성장 억제 효과를 확인한 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0149] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0151] 준비예 1: 위암 환자의 샘플 수집

[0152] 본 연구는 연세대학교 의과대학 평가위원회 (Institutional Review Board; IRB)의 승인을 얻어 모든 실험을 수행하였으며, 모든 샘플은 환자로 부터 서면 동의를 얻은 후 수집되었다. 위암 환자는 임상적으로 검증된 분류 체계에 따라 5가지 하위 아형인 위(gastric), 염증성(inflammatory), 장 분자(intestinal), 혼합(mixed) 및 줄기 유사(stem-like) 아형으로 나누어 이하의 실험을 수행하였다.

[0154] 준비예 2: 세포주의 배양

[0155] 본 발명에 따른 실시예에서 암 세포 또는 암 줄기세포의 성장 또는 전이 억제능을 확인하기 위해 본 발명자들은 한국 세포주 은행 (Korean Cell Line Bank; KCRB)으로부터 인간 유래 위암 줄기세포 특성을 갖는 세포주인 MKN1, HS746T 및 SNU668, 인간 유래 위암 세포주인 SNU601, YCC7 및 NCIN87 세포를 획득하였다. 상기 각 세포주는 한국 세포주 은행의 가이드에 따라 MKN1, SNU668, SNU601, NCIN87은 10 % 소 태아 혈청 (FBS), 2mM L- 글루타민, 100 U/ml 페니실린 및 100 µg/ml 스트렙토 마이신이 함유된 RPMI1640 배지에서 배양하였으며, HS746T, YCC7은 10 % FBS, 2mM L- 글루타민, 100 U/ml 페니실린 및 100 µg/ml 스트렙토 마이신을 포함하는 DMEM 배지에서 배양하였다. 모든 세포주는 37 °C, 5 % CO₂ 인큐베이터에서 배양되었으며 마이코플라스마 오염 테스트 후 실험에 이용하였다.

[0157] 실시예 1: 위암 아형에 따른 전사체 분석

[0158] 연세 암 센터에서 치료 목적의 위 절제술(curative intent gastrectomy)을 받은 위암 환자로 부터 신선한 냉동 종양 조직을 확보하고 임상 데이터를 일치시켰다. 위암 환자는 임상적으로 검증된 분류 체계에 따라 5 가지 하위 아형 (위, 염증, 장, 혼합, 줄기 유사(난치성))으로 나누었으며 Cav1, Cav2 유전자의 발현을 그래프로 나타내었다(도 1a 참조). 전사체 분석 데이터를 살펴보면 다른 위암 아형에 비해 줄기 유사 아형인 난치성 위암 (stem-like gastric cancer) 환자들에게서 Cav2와 비교하여 Cav1의 발현이 현저히 증가한 모습을 확인할 수 있다.

[0159] 각 세포주는 프로테아제 저해제 혼합액(genedepot)을 포함한 EBC200(200 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl(pH 8.0), 0.5 % NP-40) 세포 용해액으로 용해하였으며 BCA 어세이(pierce)를 통해 정량한 후 동량의 단백질을 SDS-PAGE 진행하여 PVDF 멤브레인(biorad)에 트랜스퍼하였다. 멤브레인은 5% 스킵 밀크(BD difco)로 상온에서 한 시간 블로킹시켜 각각 GLS 항체(abcam)는 1:2000, b-액틴 항체(Santa Cruz Biotechnology)는 1:5000로 5 % 스킵 밀크에 희석하여 4 °C에서 하룻밤 유지했다. 2 차 항체는 5 % 스킵 밀크에 희석하여 상온에서 한 시간 진행한 후 LAS 4000 mini (Fujifilm)을 통해 결과를 확인하여 도 1b에 나타내었다.

[0160] 위암 세포주에서 카베올린-1에 대해 웨스턴 블랏을 진행한 결과, 위암 아형 중 줄기 유사 아형(stem-like) 세포주인 HS747T, MKN1 및 SNU668에서 장 분자 아형(intestinal) 세포주인 SNU601, YCC7 및 NCIN87 보다 카베올린-1의 발현 정도가 특이적으로 높게 나타나는 것을 확인하였다.

[0161] 또한, mRNA 레벨에서 비교하고자 위암 세포주의 유전체 분석을 시행하였고, 임상적으로 검증된 분류 체계에 따라 나누어진 환자의 유전체 데이터를 기반으로 장 분자 아형과 난치성 아형으로 분류하였다. 유전체 분석 데이터는 TPM으로 정규화를 진행하였으며, 카베올린-1과 카베올라 복합체를 형성하는 유전자들의 전사체 발현을 TPM 값으로 히트맵에 나타내었다(도 1c 참조).

[0162] 위암 세포주의 마이크로 어레이 데이터를 분석한 결과, 줄기 유사 아형인 난치성 위암 세포주에서 카베올린-1과 카베올라 복합체 구성 유전자들의 전사체의 발현이 더 높은 것을 확인하였다.

[0164] 실시예 2: 카베올린-1(Cav1) 매개 세포내 이입 대사 기전 확인

[0165] 커버 슬라이드가 깔린 12 웰 플레이트에 한 웰당 15,000 개의 HS746T를 분주한 뒤 다음날 세럼(Serum) 결핍(starvation) 배지(gibco)에 2 시간 배양 후, 1 mg/ml의 테트라메틸로다민 표지 고분자 텍스트란(Tetramethylrhodamine-Dextran, Invitrogen)을 추가하였다. 30 분 후, 세포를 PBS으로 세척한 뒤 3.7 % PFA(paraformaldehyde)을 함유한 PBS로 10 분간 고정하였고, 0.2 % Triton-100을 함유한 PBS를 20 분 동안 처리하여 세포막을 투과 시켜주었다. 이후 1 % BSA (bovine serum albumin)를 함유한 PBS를 1 시간 처리해 주었고 Caveolin-1 항체와(Abcam, ab2910) 4 °C에서 24 시간 반응시킨 후 형광 2 차 항체와 1 시간 2 차 반응을 시켜 주었고 핵을 염색하기 위해 DAPI 시약을 사용하였다. Zeiss LSM-780 microscope (Carl Zeiss)으로 Cav1의 형광 신호와 세포 내로 이입된 텍스트란의 형광 신호를 탐지하였다. 이후 데이터는 Airyscan processing (ZEN2.3 software, Carl Zeiss)으로 분석하여 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[0166] 도 2를 참조하면, 난치성 위암 세포주인 HS746T에 테트라메틸로다민으로 표지된 고분자 텍스트린(TMR-DEX, Invitrogen)의 흡수 시험 후 Cav1 면역 형광 염색을 시행한 결과 TMR-DEX와 Cav1의 형광 신호가 겹치는 것을 확인하였다.

[0167] 또한, 위암 아형에 따른 작용을 비교하고자 난치성 위암 세포주인 HS746T와 장 분자 아형의 세포주인 NCIN87에서 상기와 같은 추가 실험을 시행한 결과 줄기 유사 아형의 위암 세포주에서 텍스트린의 세포내 이입이 더 높게 나타나는 것을 알 수 있었다. 이를 통하여 난치성 위암 세포주에서의 특이적으로 높은 Cav1 발현은 암 세포의 세포 내 이입 대사 기전과 관련이 있음을 확인할 수 있었다(도 3 참조).

[0169] 실시예 3: 카베올린-1 억제 시 효과 확인

[0170] 3.1 세포내 이입 기전 억제

[0171] 세포 형광 실험용 플레이트(Glass bottom plate)에 한 웰당 15,000 개의 HS746T를 분주한 뒤 다음 날 제조사의 권장 방법에 따라 Viomer BLUE 시약(VB-01LB-01, OriGene)을 이용해 세포내 대조군(control) siRNA (Santa Cruz, sc-37007) 또는 카베올린-1 siRNA(Santa Cruz, sc-29241)을 주입시켜 cav1의 발현을 억제시켰다. 48 시간 후 세럼 결핍 배지에 2 시간 배양하여, 1 mg/ml의 테트라메틸로다민 표지 고분자 텍스트란(Tetramethylrhodamine-Dextran, Invitrogen)을 추가하였다. 이후 30 분 뒤 배지를 교체해 주었고, Zeiss LSM-780 microscope (Carl Zeiss)으로 세포 내로 이입된 텍스트란의 형광 신호를 탐지하였다. 이후 데이터는 Airyscan processing (ZEN2.3 software, Carl Zeiss)으로 분석하였다.

[0172] 그 결과, 난치성 위암 세포주(줄기 유사 아형)의 Cav1 발현을 억제시킬 경우 세포내 이입 기전이 현저히 억제되는 것을 확인할 수 있었다(도 4 참조).

[0173] 3.2 줄기 유사 아형 위암 특이적 세포 사멸 효과

[0174] 12 웰 플레이트에 한 웰당 15,000개의 HS746T, MKN1, SNU668을 분주한 뒤 다음날 10 % 소 태아 혈청 (FBS), 100 U/ml 페니실린 및 100 µg/ml 스트렙토 마이신이 함유된 배지(gibco)에 다음날 제조사의 권장 방법에 따라 Viomer BLUE 시약(VB-01LB-01, OriGene)을 이용해 세포내 대조군 siRNA (Santa Cruz, sc-37007) 또는 카베올린-1 siRNA (Santa Cruz, sc-29241)을 각각 주입시켰다. 처리 직후부터 24 시간 간격으로 0 시간, 24 시간, 48 시간, 72 시간 마다 세포 배양 배지를 제거하고 인산완충생리식염수(Phosphate-buffered saline; PBS)로 세척하였고, 0.025 % 트립신 용액 (Trypsin/EDTA Solution, Thermo Fisher)으로 세포를 재 부양 시켰다. 이후 튜브에 옮겨 배지를 추가한 후 3,000 rpm으로 3 분 동안 원심 분리하여 세포만을 침전시켰다. 그 후 자동 세포 계수기 키트(AccuChip Kit, ADAM™)와 ADAM-MC cell counter를 제조사의 권장 방법에 따라 이용하여 살아있는 세포의 수를 측정하였다.

[0175] 도 5를 살펴보면, 난치성 위암 세포주인 MKN1, HS746T 및 SNU668 모두에서 대조군 대비 Cav1 억제를 시킨 경우 세포 내 이입을 억제되어 매우 효과적으로 세포 사멸이 유도된 것을 확인하였다.

[0177] **실시예 4: 클로로퀸 계열 약물의 Cav1 매개 세포내 이입 억제 기전 확인**

[0178] 세포 형광 실험용 플레이트(Glass bottom plate)에 한 웰당 15,000 개의 HS746T를 분주한 뒤 다음 날 10 % 소 태아 혈청 (FBS), 100 U/ml 페니실린 및 100 µg/ml 스트렙토 마이신이 함유된 배지(gibco)에 클로로퀸 (Chloroquine, Sigma)을 25 ug/ml의 농도로 처리하였다. 48 시간 후 세럼 결핍 배지에 2 시간 배양한 뒤 1 mg/ml의 테트라메틸로다민 표지 고분자 텍스트란(Tetramethylrhodamine-Dextran, Invitrogen)을 추가하였다. 30 분 뒤 배지를 교체해 주었고, Zeiss LSM-780 microscope (Carl Zeiss)으로 세포 내로 이입된 텍스트란의 형 광 신호를 탐지하였다. 이후 데이터는 Airyscan processing (ZEN2.3 software, Carl Zeiss)으로 분석되었다.

[0179] 카베올린-1이 높게 발현된 난치성 위암 세포주인 HS746T에 클로로퀸 약물 처리 전 후를 비교한 결과 클로로퀸이 Cav1 매개 세포내 이입이 억제된 것을 확인하였다(도 6 참조).

[0181] **실시예 5: 줄기 유사 아형 위암의 특이적 치료 효과 확인**

[0182] 5.1 세포주 실험

[0183] 12 웰 플레이트에 한 웰당 15,000 개의 HS746T, 15,000 개의 NCIN87을 분주한 뒤 다음날 10 % 소 태아 혈청 (FBS), 100 U/ml 페니실린 및 100 µg/ml 스트렙토 마이신이 함유된 배지(gibco)에 클로로퀸(Chloroquine, Sigma), 하이드록시클로로퀸(Hydroxychloroquine sulfate, Sigma), 메플로퀸(Mefloquine hydrochloride, R&D System)을 1, 2.5, 5, 10, 25, 50 또는 100 ug/ml의 농도로 각각 처리하였다. 처리 직후부터 48 시간 후, 세포 배양 배지를 제거한 뒤 인산완충생리식염수(PBS)로 세척하였고, 0.025 % 트립신 용액(Trypsin/EDTA Solution, Thermo Fisher)으로 세포를 재부양 시켰다, 이후 튜브로 옮겨 배지를 추가한 후 3,000 rpm에서 3 분 동안 원심 분리하여 세포만을 침전시켰다. 이후 자동 세포 계수기 키트(AccuChip Kit, ADAM™)와 ADAM-MC cell counter를 제조사의 권장 방법에 따라 이용해 살아있는 세포의 수를 측정하였다.

[0184] 장 분자 아형 위암 세포주인 NCIN87과 줄기 유사 아형 위암 세포주인 HS746T에서 클로로퀸의 농도 별 세포 증식 분석을 진행하였고, 클로로퀸 또는 클로로퀸과 같은 퀴놀론 계열의 약물인 하이드록시클로로퀸, 메플로퀸을 1, 2.5, 5, 10, 25, 50 또는 100 ug/ml의 농도로 각각 처리한 결과를 도 7a 내지 도 7c에 나타내었다. 이를 살펴 보면 장 분자 아형인 NCIN87과 비교하여 줄기 유사 아형인 HS746T에서 상대적으로 적은 농도로도 세포 증식을 효과적으로 억제시킬 수 있음을 확인하였다.

[0185] 5.2 오가노이드 실험

[0186] 연세대학교 의과대학 평가위원회 (Institutional Review Board; IRB)의 승인을 얻어 수득한 환자 유래 조직물로부터 임상적으로 검증된 분류 체계에 따라 장 분자 아형(intestinal, GA326)과 난치성 아형(stem like, GA077)으로 분류하여 실험에 이용하였다. 오가노이드는 40 % advanced DMEM/F12 (gibco), 50 % Wnt3A 세포배양액(conditioned media), 10 % R-spond1 세포배양액(conditioned media), 1 % HEPES(gibco), 1 % 글루타맥스(gibco), 0.2 % 프리모진(invivogen), 2 % B-27(Invitrogen), 10 mM 니코틴아마이드(sigma), 1 mM N-아세틸시스테인(sigma), 2 uM A8301, 50 ng/ml mEGF(invitrogen), 100 ng/ml m노킨(mNoggin, peprotech), 1 nM 가스트린(sigma), 200 ng/ml hFGF10(peprotech), 12.5 uM Y-27632(Enzo)로 배양하였으며 매트릭젤(corning)을 이용하여 3D 구조를 형성하였다. 상기 실험은 24 웰 플레이트에서 진행되었으며 5 uM CB839(cayman)를 포함한 오가노이드 미디어를 처리하였다. 처리 직후부터 매 24 시간 광학 현미경(Olympus)로 촬영하였고, Image J를 통해 중앙을 지나는 가장 긴 지름과 가장 짧은 지름을 측정한 뒤 두 값을 평균 내어 각 오가노이드의 지름을 측정하였다. 측정된 지름은 현미경 사이즈 바를 통해 um 단위로 변환하였으며 0 일차의 지름으로 평균화를 진행한 뒤 퍼센티지(%)로 나타내었다.

[0187] 난치성 위암 환자(줄기 유사 아형) 유래 오가노이드(patient derived organoid, PDO)인 GA077에 클로로퀸 50 ug/ml을 96 시간 동안 처리했을 때 장 분자 아형 환자 유래 오가노이드인 GA326에 비하여 증식이 현저히 효과적으로 감소한 것을 확인하였다(도 8b 참조). 이와 같은 결과는 같은 위암일지라도 아형의 유형에 따라 치료 효과가 달라지게 됨을 의미하는 것이며, 줄기 유사 아형 위암의 치료에 적합한 약물로 활용할 수 있음을 시사한다.

[0188] 5.3 이종이식 마우스 모델 실험 - 종양 생성(tumorigenesis) 억제 효과 비교

[0189] 생체 내 치료 이종 이식 모델에서 클로로퀸이 종양 생성에 미치는 영향을 평가하기 위해서 생후 6 주된 암컷

BALB/c 누드 마우스 (Central Lab Animal Inc)에 50,000 개의 HS746T를 희석한 배지(DMEM)와 BD 매트릭셀을 1:1 희석하여 총 100 μ l로 피하 주사하였다. 3 일 후 식염수, 시스플라틴(cisplatin; CDDP) 또는 클로로퀸 (SIGMA, C6628-25G)을 3 주 동안 매일 복강 내 주사하였고, 종양이 형성된 5 일 후부터는 캘리퍼로 종양의 크기를 측정하여 그 결과를 도 9b에 나타내었다. 그 후, 수술로 제거한 종양의 무게를 재서 추가 분석에 사용하였다 (도 9c 및 도 9d 참조).

[0190] 실험 결과를 살펴보면 줄기 유사 아형의 위암의 경우 위암 치료제로 통용되는 시스플라틴 처리 시에 비하여 클로로퀸 처리 시 종양의 크기가 감소된 상태를 유지하였으며, 제거된 종양의 크기를 보면 시각적으로도 현저한 차이를 확인할 수 있었으며, 제거된 종양의 무게를 측정한 결과 역시 마찬가지로 확인되었다. 상기 결과를 종합하면 난치성 위암 세포주의 이종이식 마우스 모델에 클로로퀸 처리 시 종양의 생성을 보다 효과적으로 감소시키는 것을 확인하였다.

[0191] 5.4 이종이식 마우스 모델 실험 - 종양 성장(tumor growth) 억제 효과 비교

[0192] 클로로퀸이 종양의 성장에 미치는 영향을 평가하기 위해서는 암컷 BALB/c 누드 마우스를 6 주차에 50,000 개의 HS746T를 희석한 배지와 BD 매트릭셀과 1:1 희석하여 총 100 μ l로 복강 내 주입한 뒤 일정 크기로 종양이 형성된 2 주부터 3 주 동안 매일 식염수, 시스플라틴(cisplatin; CDDP) 또는 클로로퀸(60 mg/kg)을 복강내 주사로 투여하였다. 종양의 크기를 캘리퍼로 매일 측정하여 도 10b에 나타내었다. 그 후, 수술로 제거한 종양의 무게를 재서 추가 분석에 사용하였다(도 10c 및 도 10d 참조).

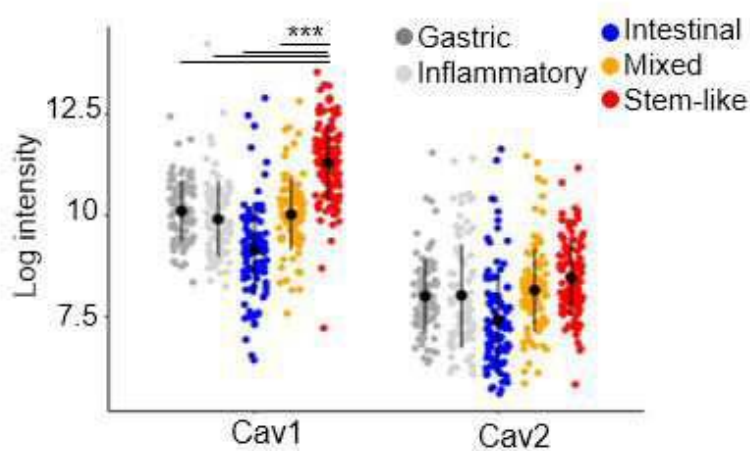
[0193] 실험 결과를 살펴보면 시간 경과에 따라 종양 크기 격차가 70 % 이상 나게 되며, 수술로 제거한 종양 무게를 측정한 결과 또한 50 % 이상 감소한 것을 통해 난치성 위암 세포주의 이종이식 마우스 모델에 클로로퀸 처리 시 종양 성장이 효과적으로 감소되는 것을 확인하였다.

[0194] 상기 결과를 종합하면, 본 발명에 따른 클로로퀸 계열의 화합물은 줄기 유사 아형 위암에 특이적으로 작용하여 Cav1 매개 세포내 이입 기전을 억제함으로써 종양의 형성 및 성장을 억제할 수 있을 뿐만 아니라, 난치성 위암, 특히는 카베올린-1 과발현 줄기 유사 아형 위암을 효과적으로 치료할 수 있을 것으로 기대된다.

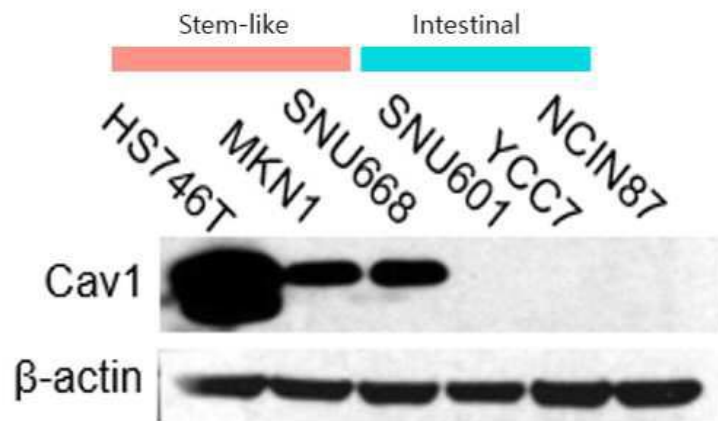
[0196] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

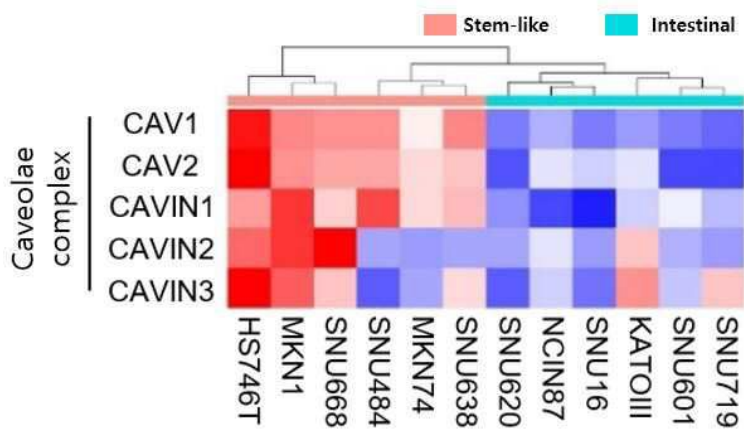
도면1a



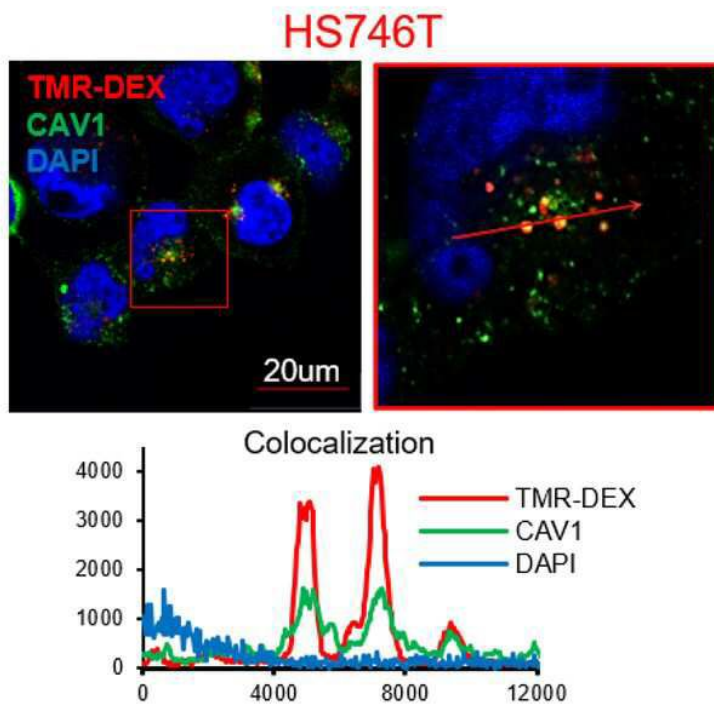
도면1b



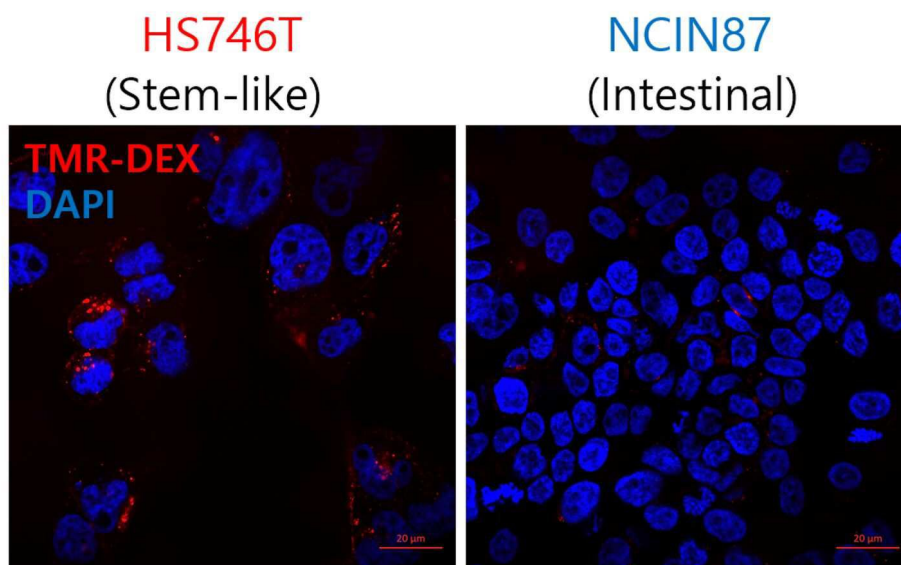
도면1c



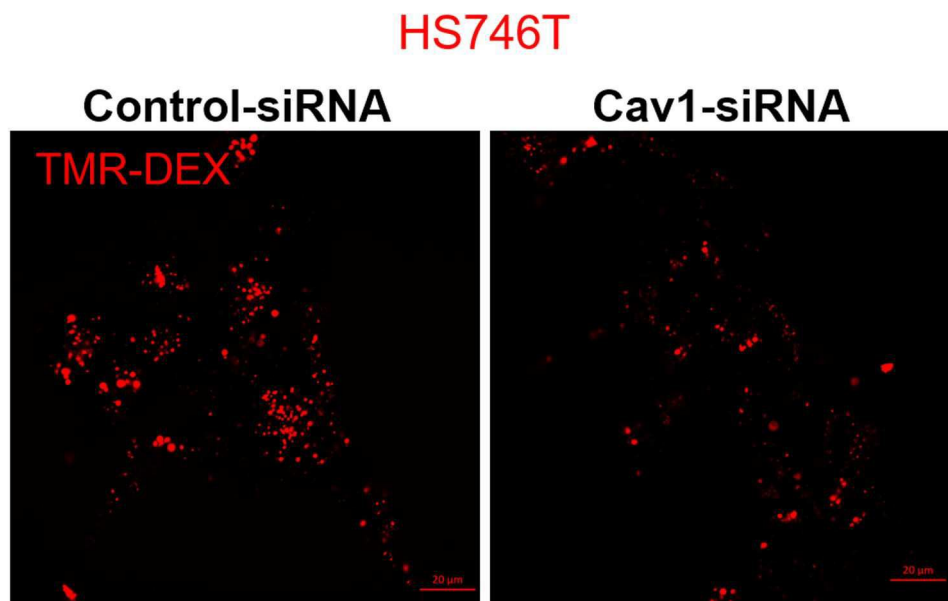
도면2



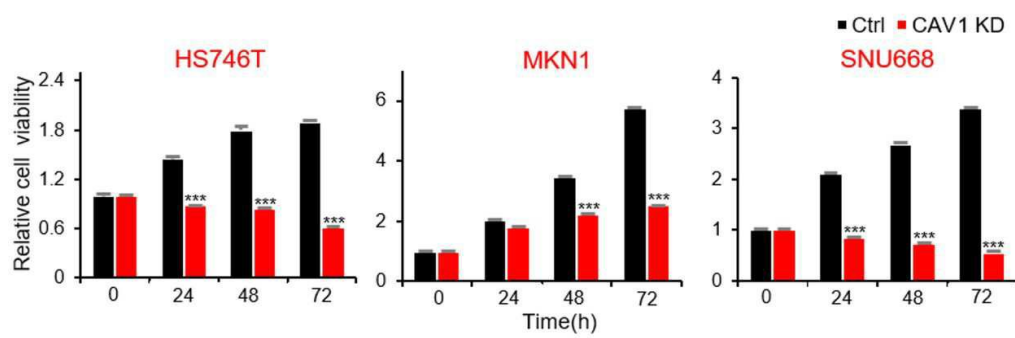
도면3



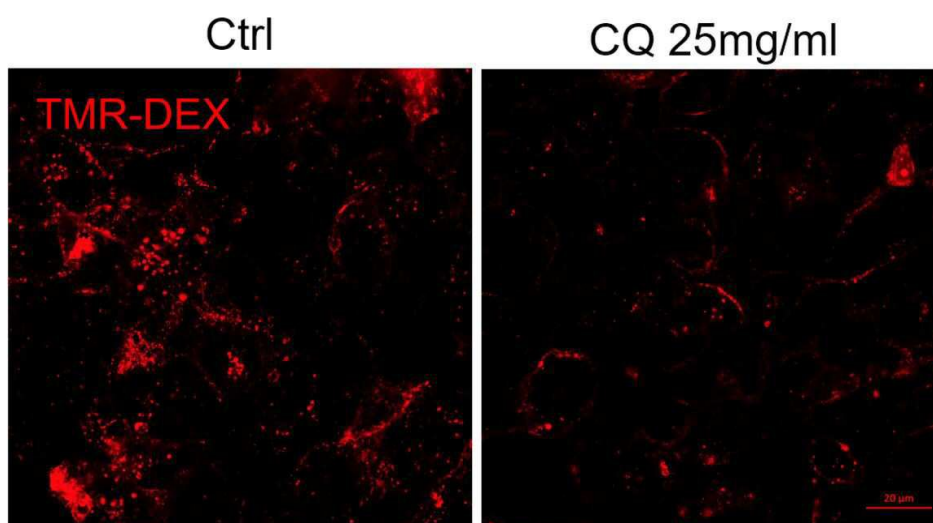
도면4



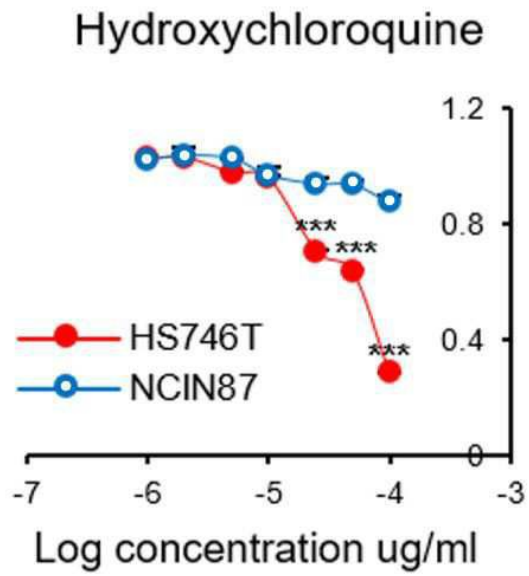
도면5



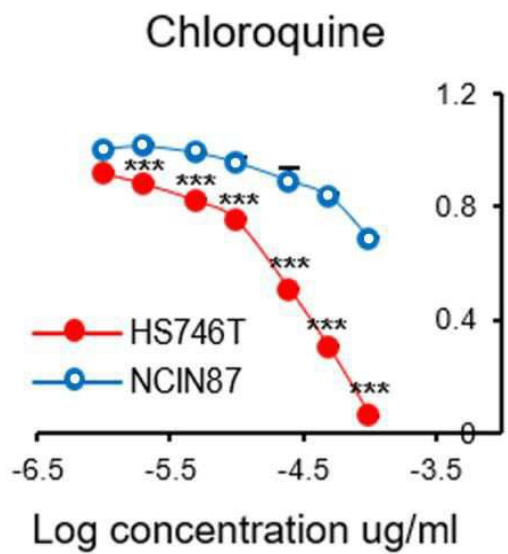
도면6



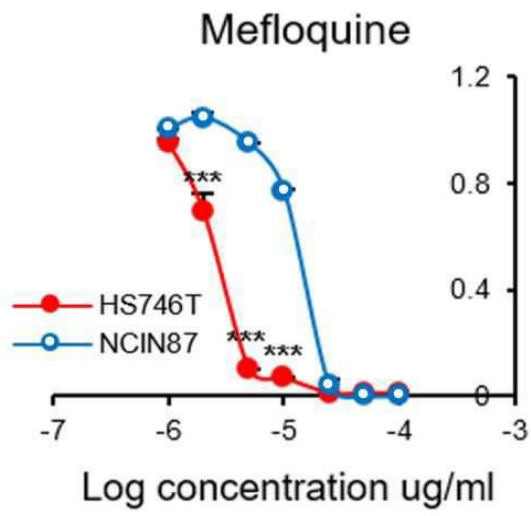
도면7a



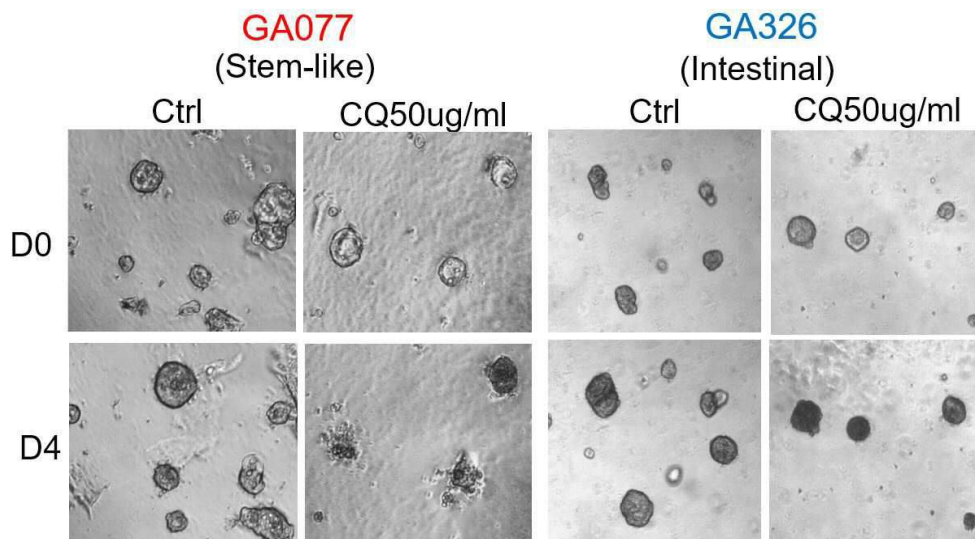
도면7b



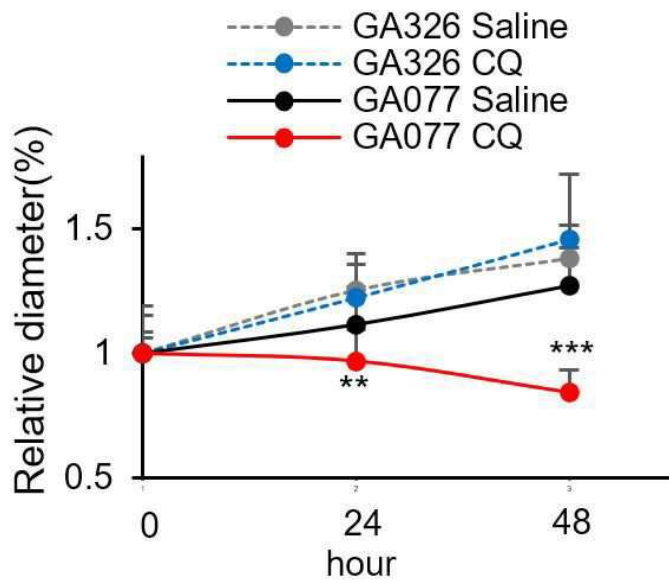
도면7c



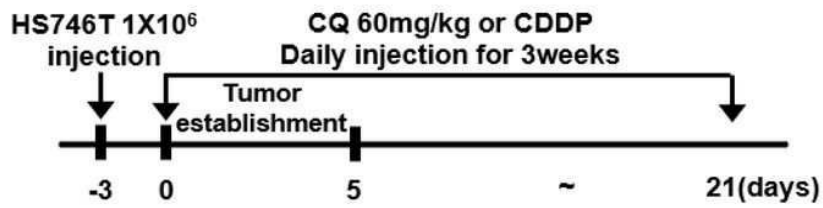
도면8a



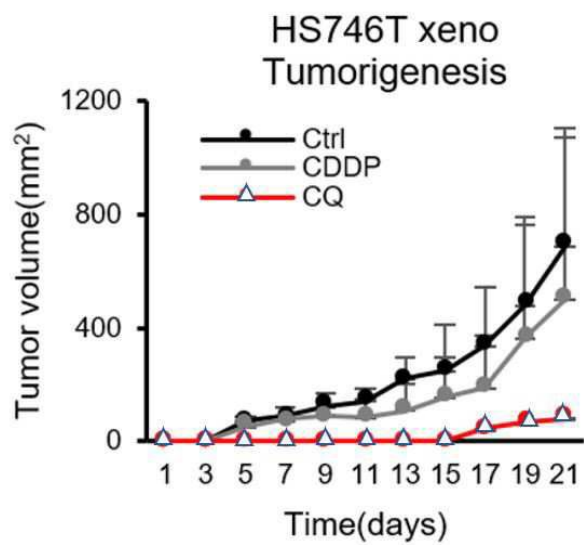
도면8b



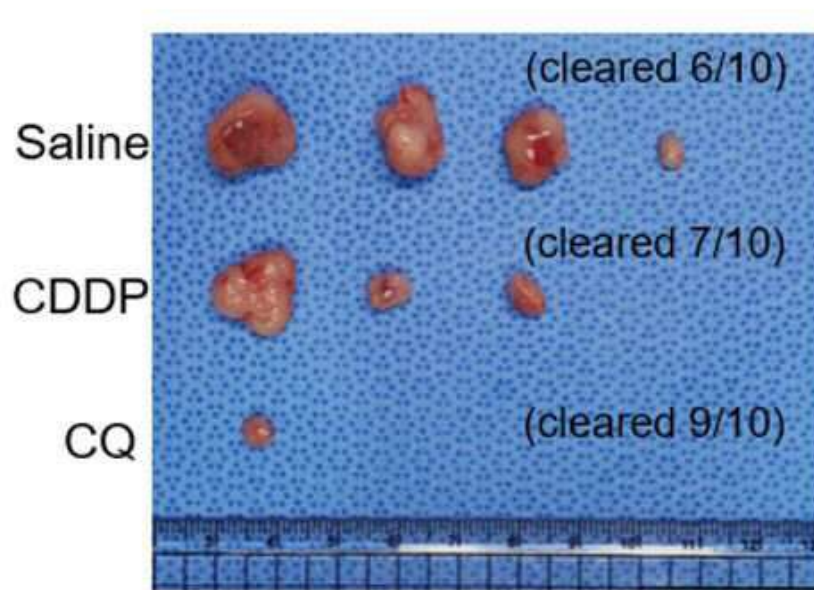
도면9a



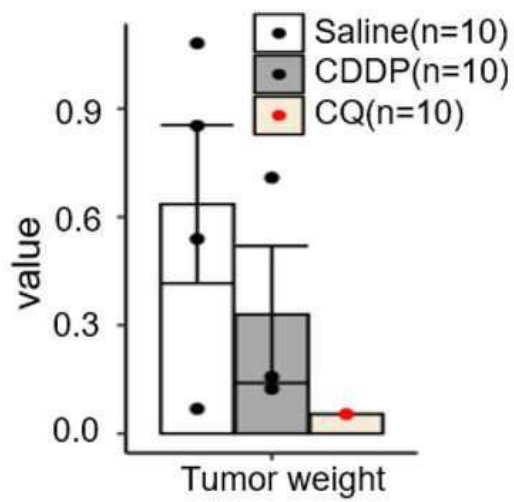
도면9b



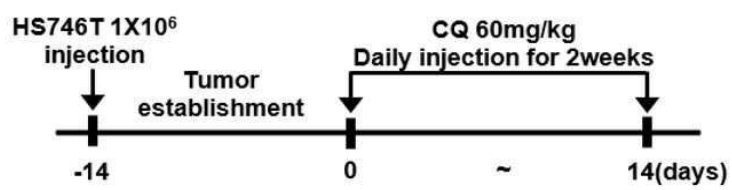
도면9c



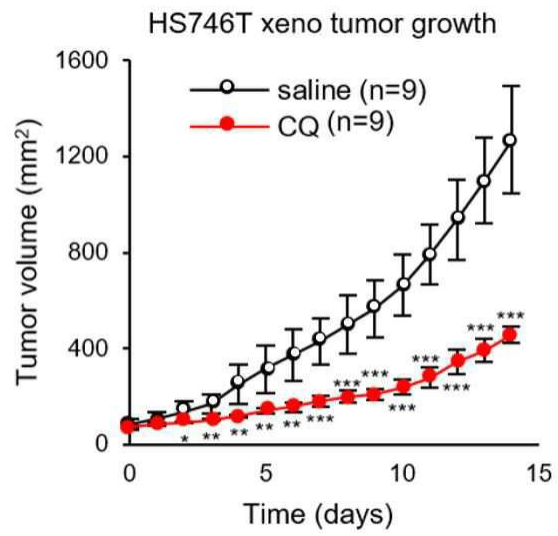
도면9d



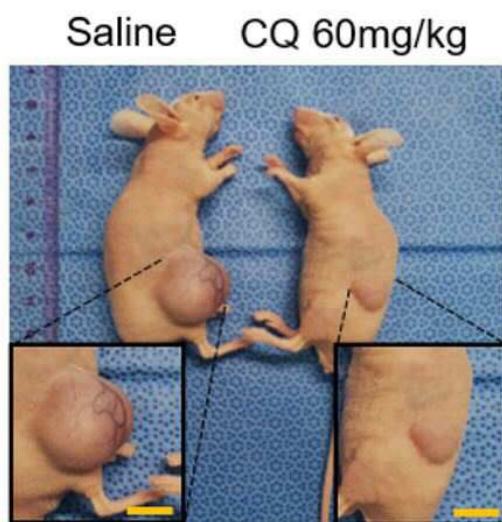
도면10a



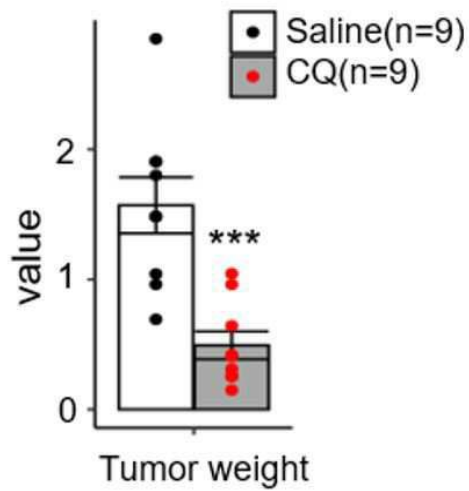
도면10b



도면10c



도면10d



서열 목록

- <110> Industry-Academic Cooperation Foundation, Yonsei University
- <120> A composition for preventing, alleviating or treating gastric cancer
- <130> PDPB214348
- <160> 2
- <170> KoPatent In 3.0
- <210> 1
- <211> 178
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <400> 1

Met Ser Gly Gly Lys Tyr Val Asp Ser Glu Gly His Leu Tyr Thr Val

1 5 10 15

Pro Ile Arg Glu Gln Gly Asn Ile Tyr Lys Pro Asn Asn Lys Ala Met

20 25 30

Ala Asp Glu Leu Ser Glu Lys Gln Val Tyr Asp Ala His Thr Lys Glu

35 40 45

Ile Asp Leu Val Asn Arg Asp Pro Lys His Leu Asn Asp Asp Val Val

50 55 60

Lys Ile Asp Phe Glu Asp Val Ile Ala Glu Pro Glu Gly Thr His Ser

65 70 75 80
Phe Asp Gly Ile Trp Lys Ala Ser Phe Thr Thr Phe Thr Val Thr Lys
 85 90 95
Tyr Trp Phe Tyr Arg Leu Leu Ser Ala Leu Phe Gly Ile Pro Met Ala

			100						105					110					
Leu	Ile	Trp	Gly	Ile	Tyr	Phe	Ala	Ile	Leu	Ser	Phe	Leu	His	Ile	Trp				
			115						120					125					
Ala	Val	Val	Pro	Cys	Ile	Lys	Ser	Phe	Leu	Ile	Glu	Ile	Gln	Cys	Ile				
			130						135					140					
Ser	Arg	Val	Tyr	Ser	Ile	Tyr	Val	His	Thr	Val	Cys	Asp	Pro	Leu	Phe				
145						150					155				160				
Glu	Ala	Val	Gly	Lys	Ile	Phe	Ser	Asn	Val	Arg	Ile	Asn	Leu	Gln	Lys				
						165					170				175				

Glu Ile

<210> 2

<211> 250

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400>	2
-------	---

atactggttt taccgcttgc tgtctgccct ctttggcacc ccgatggcac tcatctgggg	60
catttacttc gccattctct ctttctcgca catctgggca gttgtaccat gcattaagag	120
cttcttgatt gagattcagt gcatcagceg tgtctattcc atctacgtcc acaccgtctg	180
tgaccctactc ttggaagctg ttgggaaaat attcagcaat gtccgcacac acttgcagaa	240
agaaatataa	250