



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0125808
(43) 공개일자 2021년10월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G01N 33/68 (2006.01) A61K 31/713 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
C12Q 1/6886 (2018.01) G01N 33/574 (2006.01)

(52) CPC특허분류

G01N 33/6893 (2013.01)
A61K 31/713 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2020-0043476

(22) 출원일자 2020년04월09일

심사청구일자 2020년04월09일

(71) 출원인

인하대학교 산학협력단

인천광역시 미추홀구 인하로 100(용현동, 인하대학교)

(72) 발명자

이재선

서울특별시 서초구 서초중앙로 200, 22동 106호
(서초동, 삼풍아파트)

황현정

경기도 부천시 부광로41번길 64, 101동 209호 (괴안동, 태송팰리채아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인태백

전체 청구항 수 : 총 10 항

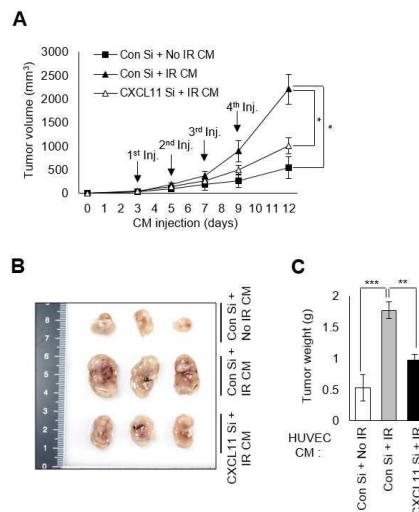
(54) 발명의 명칭 혈관내피세포 유래 CXCL11을 유효성분으로 포함하는 삼중음성유방암 치료 예후 예측용 바이오마커 조성물

(57) 요약

본 발명은 혈관내피세포 유래 CXCL11을 유효성분으로 포함하는 삼중음성유방암 치료 예후 예측용 바이오마커 조성물, 상기 유전자 또는 이의 단백질의 발현 억제제 또는 활성 억제제를 유효성분으로 포함하는 삼중음성유방암의 화학 항암제 요법 또는 방사선 요법 치료 부작용 경감용 약학 조성물, 상기 치료 증진용 약학 조성물 등을 제공한다.

암 악성화 지표인 혈관내피세포 유래 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성 변화를 통해 삼중음성유방암의 효과적인 치료에 도움을 줄 수 있다.

대표도 - 도5



(52) CPC특허분류

A61K 39/3955 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
C12Q 1/6886 (2018.05)
G01N 33/57415 (2019.01)
C12Q 2600/118 (2013.01)
C12Q 2600/136 (2013.01)
C12Q 2600/158 (2013.01)
G01N 2500/04 (2013.01)
G01N 2800/52 (2021.08)

(72) 발명자

강동희

대전광역시 유성구 도안대로 560, 110동 504호 (봉명동, 도안마을1단지)

박헌주

서울특별시 서초구 서초대로74길 30, 502동 902호 (서초동, 우성아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711092346
과제번호	2017M2A2A7A01070591
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	방사선기술개발사업(R&D)
연구과제명	방사선유도 암혈관노화의 암증식 및 암전이 영향 연구
기 여 율	30/100
과제수행기관명	인하대학교
연구기간	2019.03.01 ~ 2020.02.29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711091931
과제번호	2014R1A5A2009392
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	집단연구지원(R&D)
연구과제명	저산소 표적 질환 연구센터
기 여 율	70/100
과제수행기관명	인하대학교
연구기간	2019.03.01 ~ 2020.02.29

명세서

청구범위

청구항 1

혈관내피세포 유래 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질을 유효성분으로 포함하는, 삼중음성유방암 치료 예후 예측용 바이오마커 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 삼중음성유방암 치료는,

화학 항암제 요법 또는 방사선 요법인 것을 특징으로 하는, 삼중음성유방암 치료 예후 예측용 바이오마커 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성이 증가하면,

상기 삼중음성유방암의 악성화가 증진되는 것을 특징으로 하는, 삼중음성유방암 치료 예후 예측용 바이오마커 조성물.

청구항 4

혈관내피세포 유래 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성 수준을 측정하는 제제를 유효성분으로 포함하는, 삼중음성유방암 치료 예후 예측용 조성물.

청구항 5

제 4 항에 있어서,

상기 제제는,

상기 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브, 상기 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 펩타이드, 펩타이드 미메틱스, 앵타머 또는 화합물인 것을 특징으로 하는, 삼중음성유방암 치료 예후 예측용 조성물.

청구항 6

제 4 항 또는 제 5 항의 조성물을 포함하는 삼중음성유방암 치료 예후 예측용 키트.

청구항 7

삼중음성유방암의 악성화가 의심되는 환자의 혈관내피세포에서 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성 수준을 측정하는 단계; 및

상기 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성 수준을 정상 대조군의 해당 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성 수준과 비교하는 단계;를 포함하는, 삼중음성유방암 치료 예후 예측을 위한 정보 제공 방법.

청구항 8

인체에서 분리된 혈관내피세포 시료에 시험물질을 처리하는 단계;

상기 시험물질을 처리한 시료에서 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성 수준을 측정하는 단계; 및

상기 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성 수준을 시험물질을 처리하지 않은 대조군과 비교하여 상기 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성 수준이 감소된 시험물질을 선별하는 단계;를 포함하는, 삼중음성유방암 악성화 억제제의 스크리닝 방법.

청구항 9

혈관내피세포 유래 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 억제제 또는 활성 억제제를 유효성분으로 포함하는, 삼중음성유방암의 화학 항암제 요법 또는 방사선 요법 치료 부작용 경감용 약학 조성물.

청구항 10

혈관내피세포 유래 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 억제제 또는 활성 억제제를 포함하며, 상기 억제제와 화학 항암제 요법 또는 방사선 요법을 병용하는 것을 특징으로 하는 삼중음성유방암 치료 효과 증진용 약학 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 혈관내피세포 유래 CXCL11을 유효성분으로 포함하는 삼중음성유방암 치료 예후 예측용 바이오마커 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 세포 노화란 세포 분열의 영구적인 중단을 의미하며, 항암제, 방사선, UV, 산화적 스트레스, 종양 유전자(oncogene) 도입 등에 의해 유도된다. 노화된 세포는 크기가 커지고 평평해지고 대사 과정과 유전자 발현이 달라지며, 베타-갈락토시다아제(beta-galactosidase)의 활성이 증가한다.

[0003] 노화된 세포는 다양한 단백질을 분비하는 표현형 즉, 세포 노화 관련 분비 표현형(senescence associated secretory phenotype; SASP)을 특징으로 갖고, 높은 수준의 염증성 사이토카인(inflammatory cytokines), 면역조절제(immune modulators), 성장인자(growth factors) 및 프로테아제(proteases)를 분비한다. SASP는 만성 염증, 섬유화 유도 및 줄기 세포 억제에 의해 정상적인 조직 기능을 방해한다. 노화된 암세포의 SASP는 암세포의 증식, 이동성, 침윤성뿐만 아니라 종양 미세환경(tumor microenvironment)에 영향을 미친다는 여러 보고가 있다.

[0004] 유방암(breast cancer)은 임상적으로나 병리학적으로 매우 복잡하고 다양한 양상을 나타내는 암으로 알려져 있다. 그 중 삼중음성유방암(triple-negative breast cancer)은 전체 유방암 중에 약 15% 정도를 차지하며, 일반적으로 다른 유방암보다 더 빨리 재발하며, 생존율이 상대적으로 낮은 유방암으로 알려져 있다. 삼중음성유방암은 에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체, 사람 표피성장인자 수용체2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)의 세 가지 호르몬 수용체의 발현이 없어 항호르몬제나 표적 치료제에 잘 반응하지 않고, 예후가 좋지 않은 유형이다.

[0005] 이에, 삼중음성유방암의 예후 예측 또는 치료에 영향을 주는 요소를 찾아 그를 이용한 적절한 대응이 필요하나, 암 치료 유도 노화된 혈관내피세포 SASP가 삼중음성유방암 악성화에 미치는 영향에 대해서는 아직 완전히 밝혀지지 않았다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제10-2009-0053222호 (2009.05.27. 공개)

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 본 발명의 목적은 노화된 혈관내피세포의 SASP 조절을 이용한 삼중음성유방암 치료 예후 예측을 위한 바이오마커 조성물을 제공하는 데에 있다.
- [0008] 본 발명의 다른 목적은 삼중음성유방암 치료 예후 예측을 위한 조성물, 상기 조성물을 포함하는 키트 및 삼중음성유방암 치료 예후 예측을 위한 정보 제공 방법을 제공하는 데에 있다.
- [0009] 본 발명의 또 다른 목적은 삼중음성유방암 악성화 억제제의 스크리닝 방법을 제공하는 데에 있다.
- [0010] 본 발명의 또 다른 목적은 삼중음성유방암 치료 부작용 경감용 약학 조성물 및 삼중음성유방암 치료 효과 증진용 약학 조성물을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

- [0011] 상기의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 혈관내피세포 유래 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질을 유효성분으로 포함하는, 삼중음성유방암 치료 예후 예측용 바이오마커 조성물을 제공한다.
- [0012] 본 발명은 혈관내피세포 유래 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성 수준을 측정하는 제제를 유효성분으로 포함하는, 삼중음성유방암 치료 예후 예측용 조성물 및 상기 조성물을 포함하는 삼중음성유방암 치료 예후 예측용 키트를 제공한다.
- [0013] 본 발명은 삼중음성유방암의 악성화가 의심되는 환자의 혈관내피세포에서 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성 수준을 측정하는 단계; 및 상기 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성 수준을 정상 대조군의 해당 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성 수준과 비교하는 단계;를 포함하는, 삼중음성유방암 치료 예후 예측을 위한 정보 제공 방법을 제공한다.
- [0014] 본 발명은 인체에서 분리된 혈관내피세포 시료에 시험물질을 처리하는 단계; 상기 시험물질을 처리한 시료에서 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성 수준을 측정하는 단계; 및 상기 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성 수준을 시험물질을 처리하지 않은 대조군과 비교하여 상기 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성 수준이 감소된 시험물질을 선별하는 단계;를 포함하는, 삼중음성유방암 악성화 억제제의 스크리닝 방법을 제공한다.
- [0015] 본 발명은 혈관내피세포 유래 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 억제제 또는 활성 억제제를 유효성분으로 포함하는, 삼중음성유방암의 화학 항암제 요법 또는 방사선 요법 치료 부작용 경감용 약학 조성물을 제공한다.
- [0016] 또한, 본 발명은 혈관내피세포 유래 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 억제제 또는 활성 억제제를 포함하고, 상기 억제제와 화학 항암제 요법 또는 방사선 요법을 병용하는 것을 특징으로 하는 삼중음성유방암 치료 효과 증진용 약학 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [0017] 본 발명은 암 악성화 지표인 혈관내피세포 유래 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성 변화를 통해 삼중음성유방암 치료에 대한 예후 예측을 할 수 있고, 그에 대한 정보를 제공할 수 있다.
- [0018] 상기 혈관내피세포 유래 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성을 억제함으로써, 삼중음성유방암 치료에 의한 부작용을 경감시킬 수 있으며, 이와 화학 항암제 요법 또는 방사선 요법 등을 병용함으로써 삼중음성유방암 치료 효과를 증진시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0019] 도 1은 본 발명의 실험예 1에 따른 방사선 또는 항암제에 의해 혈관내피세포 노화 유도 및 SASP 신규 타겟 분자 발굴 결과를 나타낸 것이다.
- 도 2 및 도 3은 본 발명의 실험예 2에 따른 CXCL11의 제어에 의한 노화된 혈관내피세포의 SASP 영향을 확인한 결과이다.
- 도 4는 본 발명의 실험예 3에 따른 삼중음성유방암 세포에서 CXCL11의 제어에 의한 노화된 혈관내피세포의 SASP 영향을 확인한 결과이다.
- 도 5는 본 발명의 실험예 4에 따른 종양이식생쥐모델에서 CXCL11의 제어에 의한 노화된 혈관내피세포의 SASP 영

향을 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0020] 이하, 본 발명을 상세하게 설명하기로 한다.
- [0022] 본 발명자는 방사선 유도 노화된 혈관내피세포의 SASP가 유방암 또는 삼중음성유방암 세포주 (MDA-MB-231, MDA-MB-453, HCC70)의 증식, 이동성 및 침윤성에 미치는 효과를 연구하여 암 악성화를 증진시킨다는 것을 확인하였다. NGS (Next generation sequencing)를 통하여 방사선 유도 노화된 혈관내피세포에서 CXCL11의 발현이 증가한 것을 확인하였고, CXCL11 siRNA 또는 중화항체를 이용해 암 치료 유도 노화된 혈관내피세포 SASP 중 CXCL11이 암 악성화에 중요한 역할을 한다는 것을 *in vitro*와 *in vivo*에서 검증하였다.
- [0023] 즉, 암 치료 유도 노화된 혈관내피세포의 SASP가 암 악성화를 촉진시키며, CXCL11은 방사선 유도 노화된 혈관내피세포에 의한 암 치료 부작용을 억제하는 중요한 타겟이 될 수 있음을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.
- [0025] 본 발명은 혈관내피세포 유래 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질을 유효성분으로 포함하는 삼중음성유방암 치료 예후 예측용 바이오마커 조성물을 제공한다.
- [0026] 본 명세서에서, "CXCL11(C-X-C motif chemokine 11)"은 인터페론-γ 유도성 T 세포 알파 화학유인물질 (chemoattractant)(I-TAC) 및 인터페론-γ-유도성 단백질 9(IP-9)로도 불리는 CXC 케모카인 패밀리에 속하는 작은 사이토카인으로, 상기 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성이 증가하면 상기 삼중음성유방암의 악성화가 증진되는 것일 수 있고, 부정적인 예후로 판단될 수 있다.
- [0027] 상기 삼중음성유방암 치료는 화학 항암제 요법 또는 방사선 요법일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0028] 본 명세서에서, "예후"란, 질병을 진단하여 판단된 장래의 증세 또는 경과에 대한 전망으로, 질병이 없는 상태 등의 긍정적 예후와 질병의 악화, 전이, 재발 등의 부정적 예후를 모두 포함할 수 있다. 예후의 예측은 삼중음성유방암 환자의 치료 여부를 비롯하여 향후 치료의 방향에 대한 단서를 제시하므로, 매우 중요한 임상적 과제이다.
- [0029] 본 명세서에서, "바이오마커"란, 몸 안의 변화를 알아낼 수 있는 지표로서, 생명체의 정상 또는 병리적인 상태, 이의 변화 여부 등을 확인할 수 있는 물질로, 폴리펩타이드, 핵산, 지질, 당지질, 당단백질, 당(단당류, 이당류, 올리고당류 등) 등과 같은 유기 생체 분자 등을 포함할 수 있고, 이를 이용하여 본 발명과 같이 삼중음성유방암에 대한 치료 예후, 악성화 등을 확인할 수 있다.
- [0030] 본 발명에 따른 바이오마커는 반복된 실험에도 동일한 결과를 나타내고, 이의 발현량의 변화가 유의성 있는 결과를 보이므로 신뢰도가 높은 마커로 볼 수 있으며, 이에 따라 예측된 결과는 타당하게 신뢰될 수 있다.
- [0032] 본 발명은 혈관내피세포 유래 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성 수준을 측정하는 제제를 유효성분으로 포함하는 삼중음성유방암 치료 예후 예측용 조성물을 제공한다.
- [0033] 상기 발현 또는 활성 수준을 측정하는 제제는 상기 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브, 상기 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 펩타이드, 펩타이드 미메틱스, 앵타머 또는 화합물일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0034] 본 명세서에서, "프라이머(primer)"는 짧은 자유 3' 말단 수산화기(free 3' hydroxyl group)를 가지는 핵산 서열로, 상보적인 주형과 염기쌍을 형성할 수 있고 주형 가닥 복사를 위한 시작 시점으로 기능을 하는 짧은 핵산 서열을 의미한다. 프라이머는 적절한 완충용액 및 온도에서 중합반응(즉, DNA polymerase 또는 역전사효소)을 위한 시약 및 상이한 4가지 뉴클레오타이드 트리포스페이트(nucleotide triphosphate)의 존재 하에서 DNA 합성을 개시할 수 있다.
- [0035] 상기 프라이머는 상기 유전자에 특이적인 프라이머로 7개 내지 50개의 뉴클레오타이드 서열을 가진 센스 및 안티센스 핵산일 수 있고, DNA 합성의 개시점으로 작용하는 프라이머의 기본 성질을 변화시키지 않는 한, 추가의 특징을 혼입할 수 있다. PCR 조건, 센스 및 안티센스 프라이머의 길이는 당해 기술 분야에 공지된 기술에 따라

적절히 선택될 수 있다.

- [0036] 본 명세서에서, "프로브(probe)"는 mRNA와 특이적으로 결합을 이룰 수 있는, 짧게는 수 염기 내지 길게는 수백 염기에 해당하는 RNA 또는 DNA 등의 핵산 단편을 의미하며, 라벨링 되어있어서 특정 mRNA의 존재 유무, 발현량을 확인할 수 있다. 프로브는 올리고뉴클레오타이드(oligonucleotide) 프로브, 단쇄 DNA(single strand DNA) 프로브, 이중쇄 DNA(double strand DNA) 프로브, RNA 프로브 등의 형태로 형성될 수 있다. 적절한 프로브 및 혼성화 조건은 당해 기술 분야에 공지된 기술에 따라 적절히 선택될 수 있다.
- [0037] 본 명세서에서, "항체(antibody)"는 당해 기술 분야에 공지된 용어로서, 항원성 부위에 대하여 지시되는 특이적인 면역글로불린을 의미한다. 본 발명에서의 항체는 상기 유전자에 의해 인코딩되는 단백질에 대해 특이적으로 결합하는 항체를 의미하며, 당해 기술분야의 통상적인 방법에 따라 항체를 제조할 수 있다. 상기 항체의 형태는 폴리클로날(polyclonal) 항체 또는 모노클로날(monoclonal) 항체를 포함하며, 모든 면역글로불린 항체가 포함될 수 있다. 상기 항체는 2개의 전체 길이의 경쇄 및 2개의 전체 길이의 중쇄를 갖는 완전한 형태를 의미한다. 또한, 상기 항체는 인간화 항체 등의 특수 항체도 포함될 수 있다.
- [0038] 본 명세서에서, "펩타이드(peptide)"는 표적 물질에 대한 결합력이 높은 장점이 있고, 열/화학 처리 시에도 변성이 일어나지 않는다. 또한 분자 크기가 작기 때문에 다른 단백질에 붙어서 융합 단백질로의 이용이 가능하다. 구체적으로 고분자 단백질 체인에 붙어서 이용이 가능하므로 진단 키트 및 약물 전달 물질로 이용될 수 있다.
- [0039] 본 명세서에서, "애포타머(aptamer)"는 그 자체로 안정된 삼차 구조를 가지면서 표적 분자에 높은 친화성과 특이성으로 결합할 수 있는 특징을 가진 특별한 종류의 단일가닥 핵산 (DNA, RNA, 또는 변형 핵산)으로 구성된 폴리뉴클레오타이드(polynucleotide)의 일종을 의미한다. 상술한 바와 같이, 애포타머는 항체와 동일하게 항원성 물질에 특이적으로 결합할 수 있으면서도, 단백질보다 안정성이 높고, 구조가 간단하며, 합성이 용이한 폴리뉴클레오타이드로 구성되어 있어, 항체를 대체하여 사용될 수 있다.
- [0041] 본 발명은 상기 삼중음성유방암 치료 예후 예측용 조성물을 포함하는 삼중음성유방암 치료 예후 예측용 키트를 제공한다.
- [0042] 상기 치료 예후 예측용 키트는 분석 방법에 적합한 한 종류 또는 그 이상의 다른 구성 성분 조성물, 용액 또는 장치 등을 더 포함할 수 있으며, 상기 키트는 프라이머 키트, DNA 칩 키트, 단백질 칩 키트 등일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0043] 상기 키트는 기질, 완충용액, 발색 효소 또는 형광물질로 표지된 2차 항체, 발색 기질 등을 더 포함할 수 있다. 상기 기질은 니트로셀룰로오스 막, 폴리비닐 수지로 합성된 96웰 플레이트, 폴리스티렌 수지로 합성된 96웰 플레이트 및 유리로 된 슬라이드 글라스 등을 포함할 수 있다. 상기 발색 효소는 퍼옥시다아제(oxidase), 알칼라인 포스파타아제(alkaline phosphatase) 등을 포함할 수 있으며, 상기 형광물질은 FITC(Fluorescein isothiocyanate), RITC(rhodamine B isothiocyanate) 등이 사용될 수 있다. 또한, 상기 발색 기질액은 ABTS(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)), OPD(O-phenylene diamine), 또는 TMB(tetramethylbenzidine)가 사용될 수 있다.
- [0045] 본 발명은 삼중음성유방암의 악성화가 의심되는 환자의 혈관내피세포에서 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성 수준을 측정하는 단계; 및 상기 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성 수준을 정상 대조군의 해당 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성 수준과 비교하는 단계;를 포함하는 삼중음성유방암 치료 예후 예측을 위한 정보 제공 방법을 제공한다.
- [0046] 상기 삼중음성유방암의 악성화가 의심되는 환자의 혈관내피세포에서 측정된 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성 수준이 정상 대조군의 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성 수준보다 높게 나타나는 경우, 상기 환자는 삼중음성유방암의 악성화를 예측할 수 있고, 그러한 정보를 제공함으로써 미리 악성화의 위험성으로부터 대비하여 이후 항암 치료 방향을 설정할 수 있다.
- [0048] 본 발명은 인체에서 분리된 혈관내피세포 시료에 시험물질을 처리하는 단계; 상기 시험물질을 처리한 시료에서 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성 수준을 측정하는 단계; 및 상기 유전자 또는 이의 단백질

의 발현 또는 활성 수준을 시험물질을 처리하지 않은 대조군과 비교하여 상기 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성 수준이 감소된 시험물질을 선별하는 단계;를 포함하는 삼중음성유방암 악성화 억제제의 스크리닝 방법을 제공한다.

- [0049] 상기 스크리닝 방법은 삼중음성유방암 악성화 억제제 후보 물질의 존재 및 부재 하에서 상기 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성의 증가 또는 감소를 비교하는 방법으로, 삼중음성유방암 악성화를 억제하는 후보 물질, 삼중음성유방암 악성화 치료제 등을 스크리닝하는데 유용하게 사용될 수 있다.
- [0051] 본 발명에 있어서, 상기 유전자의 발현 수준은 중합효소반응(PCR), 역전사 중합효소반응(RT-PCR), 경쟁적 역전사 중합효소반응(Competitive RT-PCR), 실시간 역전사 중합효소반응(Real-time RT-PCR), RNase 보호 분석법(RPA: RNase protection assay), 노던 블랏팅(Northern blotting) 및 DNA 마이크로 어레이 칩으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 방법으로 측정될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0052] 본 발명에 있어서, 상기 단백질 발현 또는 활성 수준은 웨스턴 블랏, 효소면역분석법(Enzymelinked immunosorbent assay; ELISA), 방사선면역분석(Radioimmunoassay; RIA), 방사면역 확산법(Radioimmunoassay), 오우크테로니(Ouchterlony) 면역 확산법, 로케트(rocket) 면역 전기영동, 조직면역염색, 면역침전 분석법(Immunoprecipitation assay), 보체고정분석법(Complement Fixation Assay), 유세포분석법(Fluorescence Activated Cell Sorter, FACS) 및 단백질 칩(protein chip)으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 방법으로 측정될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0054] 본 발명은 혈관내피세포 유래 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 억제제 또는 활성 억제제를 유효성분으로 포함하는 삼중음성유방암의 화학 항암제 요법 또는 방사선 요법 치료 부작용 경감용 약학 조성물을 제공한다.
- [0055] 상기 화학 항암제 요법 또는 방사선 요법을 이용하여 삼중음성유방암을 치료하는 경우, CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성이 증가하면, 삼중음성유방암의 악성화가 진행되고, 상기 치료에 따른 부작용이 발생하게 되므로, 상기 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 또는 활성을 억제함으로써, 삼중음성유방암의 악성화, 그에 따른 부작용 등을 감소시킬 수 있다.
- [0056] 상기 유전자 또는 이의 단백질의 발현 억제제 또는 활성 억제제는 안티센스 뉴클레오타이드, siRNA, shRNA, 화합물, 천연물 추출물 등일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0058] 또한, 본 발명은 혈관내피세포 유래 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 억제제 또는 활성 억제제를 포함하고, 상기 억제제와 화학 항암제 요법 또는 방사선 요법을 병용하여 삼중음성유방암 치료 효과를 증진시키는 약학 조성물을 제공한다.
- [0059] 상기 삼중음성유방암 치료 효과는 화학 항암제 요법 또는 방사선 요법에 의한 치료 효과일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0060] 이에 상응하는 특징들은 상술된 부분에서 대신할 수 있다.
- [0062] 본 발명에 따른 약학 조성물은 약학적 분야의 통상적인 방법에 따라 제조될 수 있다. 상기 약학 조성물은 제형에 따라 약학적으로 허용가능한 적절한 담체와 배합될 수 있고, 필요에 따라, 부형제, 희석제, 분산제, 유화제, 완충제, 안정제, 결합제, 봉해제, 용제 등을 더 포함하여 제조될 수 있다.
- [0063] 본 명세서에서, "약학적으로 허용가능한"이란, 상기 조성물에 노출되는 세포나 인간에게 독성이 없는 것을 의미한다. 상기 적절한 담체 등은 본 발명에 따른 CXCL11의 유전자 또는 이의 단백질의 발현 억제제 또는 활성 억제제의 활성 및 특성을 저해하지 않는 것으로, 투여 형태 및 제형에 따라 달리 선택될 수 있다.
- [0064] 본 발명에 따른 약학 조성물은 어떠한 제형으로든 적용될 수 있고, 보다 상세하게는 통상의 방법에 따라 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 비경구형 제형으로 제형화하여 사용될 수 있다.
- [0065] 상기 경구형 제형 중 고형 제형은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등의 형태로, 적어도 하나 이상의 부형제,

예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트, 수크로스, 락토오스, 솔비톨, 만니톨, 셀룰로오스, 젤라틴 등을 섞어 조제할 수 있고, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 포함될 수 있다. 또한, 캡슐제형의 경우 상기 언급한 물질 외에도 지방유와 같은 액체 담체를 더 포함할 수 있다.

[0066] 상기 경구형 제형 중 액상 제형은 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0067] 상기 비경구 제형은 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함될 수 있다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다. 이에 제한되지 않고, 당해 기술 분야에 알려진 적합한 제제를 모두 사용 가능하다.

[0068] 또한, 본 발명에 따른 약학 조성물은 치료 효능의 증진을 위해 칼슘이나 비타민 등을 더 첨가할 수 있다.

[0070] 본 발명에 따른 약학 조성물에 있어서, 상기 약학 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여될 수 있다. 본 명세서에서, "약학적으로 유효한 양"이란, 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미한다.

[0071] 상기 약학 조성물의 유효 용량 수준은 사용 목적, 환자의 연령, 성별, 체중 및 건강 상태, 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 배합 또는 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 달리 결정될 수 있다. 예를 들어, 일정하지는 않지만 일반적으로 0.001 내지 100mg/kg으로, 바람직하게는 0.01 내지 10mg/kg을 일일 1회 내지 수회 투여될 수 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0072] 본 발명에 따른 약학 조성물은 삼중음성유방암이 발생할 수 있는 임의의 동물에 투여할 수 있고, 상기 동물은 예를 들어, 인간 및 영장류뿐만 아니라 소, 돼지, 말, 개 등의 가축 등을 포함할 수 있다.

[0073] 본 발명에 따른 약학 조성물은 제제 형태에 따른 적당한 투여 경로로 투여될 수 있고, 목적 조직에 도달할 수 있는 한 경구 또는 비경구의 다양한 경로를 통하여 투여될 수 있다. 투여 방법은 특히 한정할 필요 없이, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피부 도포, 호흡기내 흡입, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내(intracerebroventricular) 주사 등의 통상적인 방법으로 투여될 수 있다.

[0074] 본 발명에 따른 약학 조성물은 삼중음성유방암의 화학 항암제 요법 또는 방사선 요법 치료 부작용 경감, 치료 효능 증진, 예방 또는 치료를 위하여 단독으로 사용될 수 있고, 수술 또는 다른 약물 치료 등과 병용하여 사용될 수 있다.

[0076] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

[0078] <실험예 1> 방사선 또는 항암제에 의한 혈관내피세포(HUVEC) 노화 유도 및 노화관련 분비 표현형(SASP) 신규 타겟 발굴

[0079] 1. 실험방법

[0080] 1) 노화연관 베타-갈락토시다아제 염색법(SA- β -Gal assay)

[0081] 인간 혈관내피세포(HUVEC)에 방사선 6 Gy 조사 후 노화 유무를 베타-갈락토시다아제 염색법을 이용하여 확인하였다. 60mm 배양 접시에 배양된 세포를 PBS로 세척하고 3.7% 포름알데히드로 5분 동안 세포를 고정하였다. 세포 고정액을 1mg/ml X-Gal(5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactoside), 40mM 구연산(citric acid)/인산나트륨(sodium phosphate) (pH 5.7), 5mM 페로시아화칼륨(potassium ferrocyanide), 5mM 페리시아화칼륨(potassium ferricyanide), 150mM NaCl, 2mM MgCl₂가 포함된 용액으로 대치한 후 37℃에서 12-16시간 배양하고 염색정도는

광학현미경으로 관찰하였다.

[0083] 2) 차세대시퀀싱(Next Generation Sequencing, NGS) 분석

[0084] 배양한 HUVEC에 방사선 6 Gy 조사하고 1일 또는 3일 후에 세포를 수확하고 mRNA를 추출한 후 (주) LAS (김포, 대한민국)에 의뢰하여 차세대 시퀀싱 분석법으로 mRNA 발현 변화를 분석하였다.

[0086] 3) 역전사-정량중합효소연쇄반응(Reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction)

[0087] TRIzol reagent을 사용하여 총 RNA를 추출한 후, cDNA 합성 키트(Bio-Medical Science Co. Ltd, Daejeon, Korea)를 사용하여 역전사 시킨 후에 CXCL11 프라이머로 PCR을 수행하였다. RT-quantitative polymerase chain reaction (PCR)은 iQTM SYBR® Green Supermix (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)를 사용하여 CFX Connect™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories) 장치로 수행하였다. 각 반응마다 SYBR® Green Super Mix와 cDNA template, primer의 총 볼륨은 16 µl이고, 프라이머는 바이오니아 (Daejeon, Korea)에서 구입하였다.

[0089] 2. 실험결과

[0090] 도 1은 본 발명의 실험에 1에 따른 방사선 또는 항암제에 의해 혈관내피세포 노화 유도 및 SASP 신규 타겟 분자 발굴 결과를 나타낸 것이다.

[0091] 도 1A를 참조하면, 방사선 6 Gy를 조사한 혈관내피세포와 항암제 독소루비신(doxorubicin) 50ng/ml을 처리한 혈관내피세포에서 3일 뒤 세포 노화와 관련된 베타-갈락토시다아제(β -galactosidase)의 활성을 측정한 결과, 대조군보다 현저히 증가한 것을 확인할 수 있었다.

[0092] 이를 통해, 혈관내피세포의 노화가 유도되었음을 확인할 수 있었다.

[0093] 도 1B를 참조하면, 혈관내피세포에 방사선 6 Gy를 조사한 후 3일 뒤 NGS(Next generation sequencing)을 통하여 확인한 결과, CXCL11 mRNA의 발현이 증가됨을 확인할 수 있었다.

[0095] <실험예 2> 발굴 타겟 제어에 의한 노화된 혈관내피세포 SASP 영향 확인

[0096] 1. 실험방법

[0097] 1) 웨스턴 블로팅

[0098] Con 또는 CXCL11 siRNA를 주입한 뒤 방사선 6 Gy 조사하고 혈관내피세포의 조건배양액을 수확하였다. 수확한 조건배양액을 세포 수로 보정한 후 SDS-PAGE gel로 분리한다. 분리된 단백질을 니트로셀룰로오스 막에 이동시키고, 각 단백질에 특이적인 1차 항체와 2차 항체를 순서대로 붙였다. TBST로 세척 후, ECL reagents (Thermo Scientific) 으로 단백질의 발현을 확인하였다.

[0100] 2) 세포 수 측정

[0101] Con 또는 CXCL11 siRNA를 주입한 뒤 방사선 6 Gy 조사하고 혈관내피세포를 PBS로 세척한다. PBS를 제거한 후 1 × Trypsin-EDTA를 처리하여 세포를 떼어내었다. 세포 부유액을 1.5ml 튜브에 옮겨 원심분리기로 세포를 모았다. 모아진 세포에 100 µl PBS를 넣고 재부유시킨 후 세포 부유액(10 µl)과 Trypan-blue(10 µl)를 섞어주었다. 그 중 10 µl의 혼합액을 혈구계(hemocytometer)를 이용하여 현미경으로 세포수를 개수하였다.

[0103] 3) 3차원 스페로이드(spheroid) 침윤 분석(invasion assay)

[0104] 세포를 5×10^3 cells/well씩 96-well round-bottom ultra-low attachment microplate에 시딩(seeding)하고 37

℃, 5% CO₂ 인큐베이터에 배양했다. 세포주가 혼합된 스펜로이드를 형성시키기 위해 유방암 세포와 혈관내피세포를 1:1 비율로 섞어서 시딩하였다. 3일 뒤 7.5 mg/ml Matrigel basement membrane matrix (Corning, Life Sciences, Amsterdam, Netherlands) 100 μl를 형성된 스펜로이드 주변에 넣고 96시간 뒤 사진 촬영하여 암세포의 침윤성을 ImageJ software (version 10.2; NIH, Bethesda, MD, USA)로 분석하였다.

[0105]

[0106]

4) 상처 치유 분석(Wound-healing assay)

[0107]

유방암 세포를 24-well 플레이트에 단일층(monolayer)이 되도록 배양한 뒤 200 μL 파이펫 팁(pipette tip)으로 스크래치를 내었다. PBS로 2번 세척한 뒤 조건배양액과 CXCL11 중화항체를 넣어 37℃, 5% CO₂ 인큐베이터에서 16시간 배양하였다. 3.7% 포르말데히드 용액으로 10분 고정시키고, 0.1% 크리스탈 바이올렛 용액(crystal violet solution)으로 10분 염색한 뒤, 현미경으로 사진 촬영 후 복구 된 간격을 분석하였다.

[0109]

5) 트랜스웰 이동 분석(Transwell migration assay)

[0110]

Transwell upper chamber (8-μm pore filter, Costar) 안쪽에 세포 1×10⁵개를 시딩하고 CXCL11 중화항체를 넣었으며, chamber 아래쪽에는 600 μl의 조건배양액을 넣었다. 37℃, 5% CO₂ 인큐베이터에서 16시간 배양한 뒤 3.7% 포르말데히드 용액으로 10분 고정시키고, 0.1% 크리스탈 바이올렛 용액으로 10분 염색하였다. 이동하지 않은 세포를 제거하기 위해 upper chamber 안쪽을 면봉으로 닦아주고, 이동한 세포는 현미경으로 사진 촬영 및 세포 수를 세었다.

[0112]

2. 실험결과

[0113]

도 2 및 도 3은 본 발명의 실험에 2에 따른 CXCL11의 제어에 의한 노화된 혈관내피세포의 SASP 영향을 확인한 결과이다.

[0114]

도 2를 참조하면, 먼저, 도 2A에서 혈관내피세포에 CXCL11 siRNA 주입 후 방사선 6 Gy 조사한 뒤, 조건배양액(conditioned media, CM)을 수확하여 웨스턴 블롯한 결과, CXCL11 siRNA에 의해 CXCL11의 분비가 감소되었음을 확인할 수 있었다.

[0115]

도 2B는 CXCL11의 제어에 따른 유방암 세포(MDA-MB-231 cell)의 변화를 나타낸 그래프로, 방사선 유도 노화된 혈관내피세포 SASP (Con Si+IR CM)를 처리한 경우, MDA-MB-231 세포의 세포 분열이 증가하였으나, CXCL11 siRNA를 주입한 방사선 유도 노화된 혈관내피세포의 SASP (CXCL11 siRNA+IR CM)를 MDA-MB-231 세포에 처리한 경우, 상기 암세포의 증식이 억제됨을 확인할 수 있었다.

[0116]

도 2C는 방사선 또는 독소루비신 유도 노화된 혈관내피세포와 MDA-MB-231 세포를 공배양한 결과를 나타낸 것으로, 공배양 시 상기 MDA-MB-231 세포의 침윤성(invasiveness)이 촉진되는 것으로 나타났으나, CXCL11 siRNA 주입한 방사선 또는 독소루비신 유도 노화된 혈관내피세포와 MDA-MB-231 세포와 공배양 시에는 침윤성이 억제됨을 확인할 수 있었다.

[0117]

도 3을 참조하면, 방사선 또는 독소루비신 유도 노화된 혈관내피세포 SASP (Con Si+IR CM) 처리에 의해 MDA-MB-231 세포의 이동성(migration activity)이 촉진되는 것으로 나타났으나, CXCL11 중화항체가 포함된 노화된 혈관내피세포 SASP를 MDA-MB-231 세포에 처리한 결과 이동성이 억제됨을 확인할 수 있었다.

[0119]

<실험예 3> 삼중음성유방암 세포에서의 CXCL11 제어에 의한 노화된 혈관내피세포 SASP 영향 확인

[0120]

MDA-MB-231 세포처럼 다른 삼중음성유방암 세포에서도 방사선 유도 혈관내피세포 SASP 및 SASP에 존재하는 CXCL11의 효과를 알아보기로 MDA-MB-453 세포주와 HCC70 세포주로 실험을 수행하였다.

[0121]

1. 실험방법

[0122]

1) 웨스턴 블로팅

[0123]

MDA-MB-453 세포와 HCC70 세포를 혈관내피세포 조건배양액으로 처리한 뒤 PBS로 세척하고 스크래퍼로 세포를 수

확하였다. 수확된 세포에 RIPA buffer (5M NaCl, 10% NP-40, Deoxycholic Acid, 10% SDS, 1.5M Tris-HCl pH 8.0, 0.5M EDTA, H₂O)를 넣고 세포를 깨어 단백질을 추출하였다. 추출된 단백질은 BCA Protein Assay Kit (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)으로 정량한 후 SDS-PAGE gel로 분리하였다. 분리된 단백질을 니트로셀룰로오스 막에 이동시키고, 각 단백질에 특이적인 1차 항체와 2차 항체를 순서대로 붙였다. TBST로 세척 후, ECL reagents (Thermo Scientific)으로 단백질의 발현을 확인하였다.

[0125] 2) 세포 수 측정

[0126] MDA-MB-453 세포와 HCC70 세포를 혈관내피세포 조건배양액으로 처리한 뒤 PBS로 세척하였다. PBS를 제거한 후 1 × Trypsin-EDTA를 처리하여 세포를 떼어내었다. 세포 부유액을 1.5ml 튜브에 옮겨 원심분리기로 세포를 모았다. 모아진 세포에 100 μl PBS를 넣고 재부유시킨 후 세포 부유액(10 μl)과 Trypan-blue(10 μl)를 섞어주었다. 그 중 10 μl의 혼합액을 혈구계(hemocytometer)를 이용하여 현미경으로 세포수를 개수하였다.

[0128] 3) 트랜스웰 이동 분석(Transwell migration assay)

[0129] Transwell upper chamber (8-μm pore filter, Costar) 안쪽에 MDA-MB-453 세포 또는 HCC70 세포 1×10⁵개를 시딩하고, chamber 아래쪽에는 600 μl의 조건배양액을 넣었다. 37℃, 5% CO₂ 인큐베이터에서 16시간 배양한 뒤 3.7% 포름알데히드 용액으로 10분 고정시키고, 0.1% 크리스탈 바이올렛 용액으로 10분 염색하였다. 이동하지 않은 세포를 제거하기 위해 upper chamber 안쪽을 면봉으로 닦아주고, 이동한 세포는 현미경으로 사진 촬영 및 세포 수를 세었다.

[0131] 2. 실험결과

[0132] 도 4는 본 발명의 실험예 3에 따른 삼중음성유방암 세포에서 CXCL11의 제어에 의한 노화된 혈관내피세포의 SASP 영향을 확인한 결과이다.

[0133] 도 4를 참조하면, 먼저 도 4A에서 MDA-MB-453 세포와 HCC70 세포에 방사선 유도 노화된 혈관내피세포 SASP (Con Si+IR CM)를 처리하였을 때는 AKT 및 ERK 활성화가 증가되는 것으로 나타났으나, CXCL11 siRNA를 주입한 방사선 유도 노화된 혈관내피세포의 SASP (CXCL11 siRNA+IR CM)를 처리하였을 때는 MDA-MB-453 세포에서는 AKT 활성이 억제되었으며, HCC70 세포에서는 AKT 및 ERK 활성이 모두 억제됨을 확인할 수 있었다.

[0134] 도 4B는 CXCL11의 제어에 따른 삼중음성유방암 세포 MDA-MB-453 세포와 HCC70 세포의 변화를 나타낸 그래프로, 상기 세포에 방사선 유도 노화된 혈관내피세포 SASP (Con Si+IR CM)를 처리하였을 때, 두 삼중음성유방암 세포의 세포 분열이 증가하였으나, CXCL11 siRNA를 주입한 방사선 유도 노화된 혈관내피세포의 SASP (CXCL11 siRNA+IR CM)를 처리하였을 때는 상기 암세포의 증식이 억제되는 것으로 나타났다.

[0135] 또한, 도 4C에서 방사선 유도 노화된 혈관내피세포 SASP (Con Si+IR CM) 처리에 의해 두 삼중음성유방암 세포 이동성(migration activity)이 촉진되는 것을 확인하였으나, CXCL11 중화항체가 포함된 노화된 혈관내피세포 SASP를 처리한 경우, 상기 세포의 이동성이 억제됨을 확인할 수 있었다.

[0137] <실험예 4> 종양이식생쥐모델 활용한 타겟 제어에 의한 노화된 혈관내피세포의 SASP 영향 증감 효과 확인

[0138] 1. 실험방법 - 이종이식 종양 성장 분석(Xenograft tumor growth assay)

[0139] MDA-MB-231 세포(2×10⁶)를 5주령 누드마우스 오른쪽 옆구리 피하에 주입한 뒤, 종양 조직이 50mm³이 되었을 때 2일마다 종양 내에 20배 농축한 혈관내피세포 조건배양액을 주입하였다. 캘리퍼(caliper)를 사용하여 종양 조직 크기를 측정하였으며 종양 부피는 (length×width²)/2의 공식을 사용하여 측정하였다. 떼어낸 종양은 사진촬영 및 무게를 재었다.

[0141] 2. 실험결과

[0142] 도 5는 본 발명의 실험예 4에 따른 종양이식생쥐모델에서 CXCL11의 제어에 의한 노화된 혈관내피세포의 SASP 영향을 확인한 결과이다.

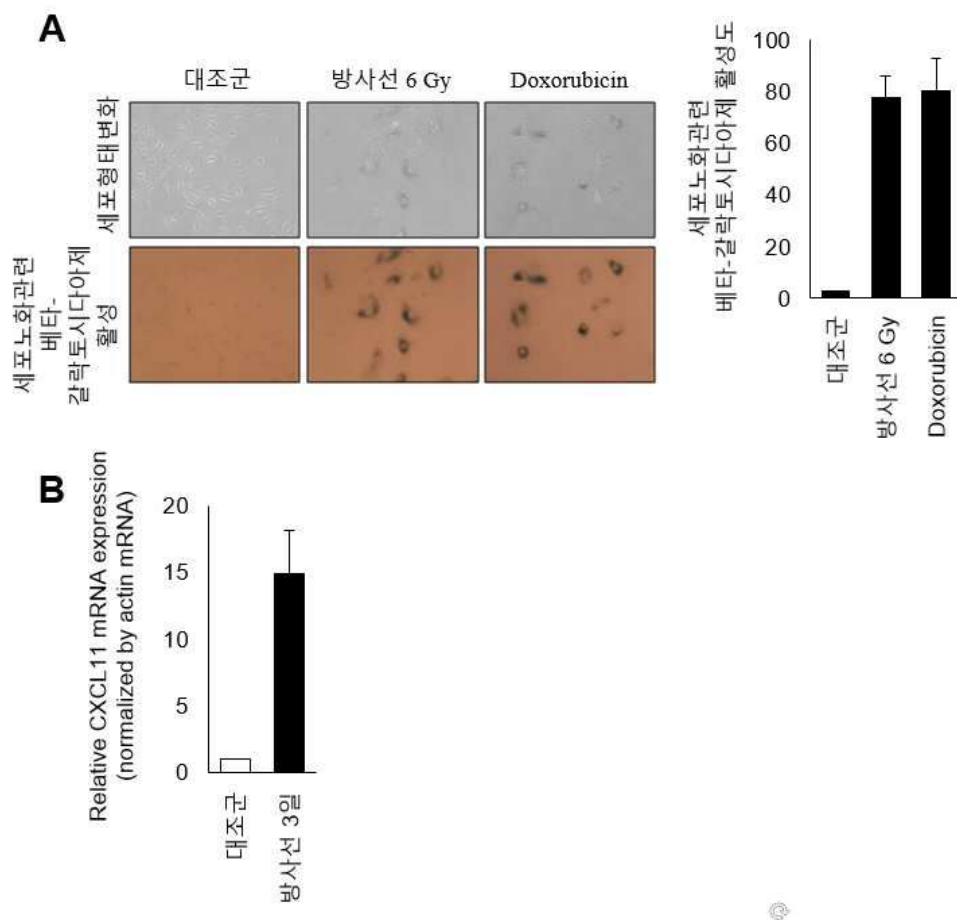
[0143] 도 5를 참조하면, 먼저 도 5A 및 도B에서 방사선 유도 노화된 혈관내피세포 SASP (Con Si+IR CM)를 MDA-MB-231 세포 이종이식으로 유발된 종양에 주입한 뒤 시간에 따른 종양 크기를 측정한 결과, SASP 주입한 경우의 종양 조직의 크기가 대조군보다 증가하는 것으로 나타났으나, CXCL11 siRNA를 주입한 방사선 유도 노화된 혈관내피세포의 SASP (CXCL11 siRNA+IR CM)를 주입한 경우에는 종양 조직의 크기가 억제되는 것을 확인할 수 있었다.

[0144] 도 5C는 종양 조직의 무게를 측정한 것으로, 방사선 유도 노화된 혈관내피세포 SASP (Con Si+IR CM)를 MDA-MB-231 세포 이종이식으로 유발된 종양에 주입한 뒤 종양 조직의 무게를 측정한 결과, 종양 조직의 크기가 대조군보다 증가하는 것으로 나타났으나, CXCL11 siRNA를 주입한 방사선 유도 노화된 혈관내피세포의 SASP (CXCL11 siRNA+IR CM)를 주입한 경우에는 종양 조직의 무게가 감소되는 것을 확인할 수 있었다.

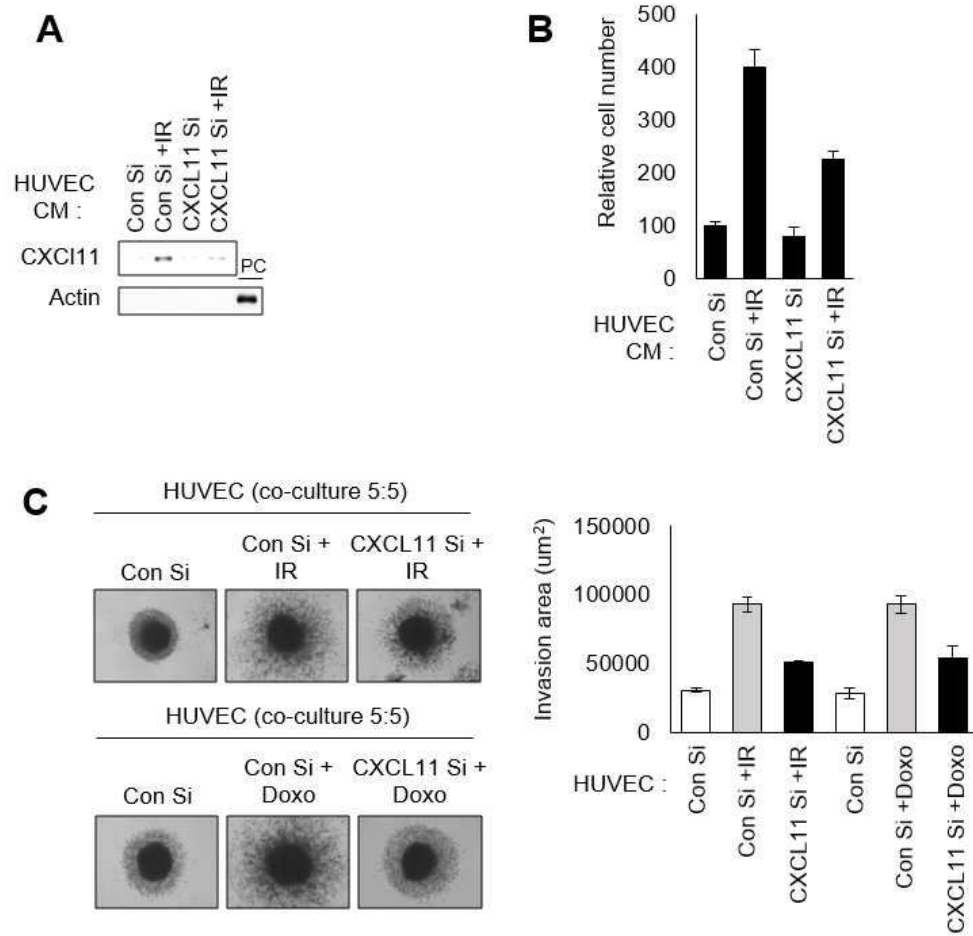
[0146] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 즉, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다.

도면

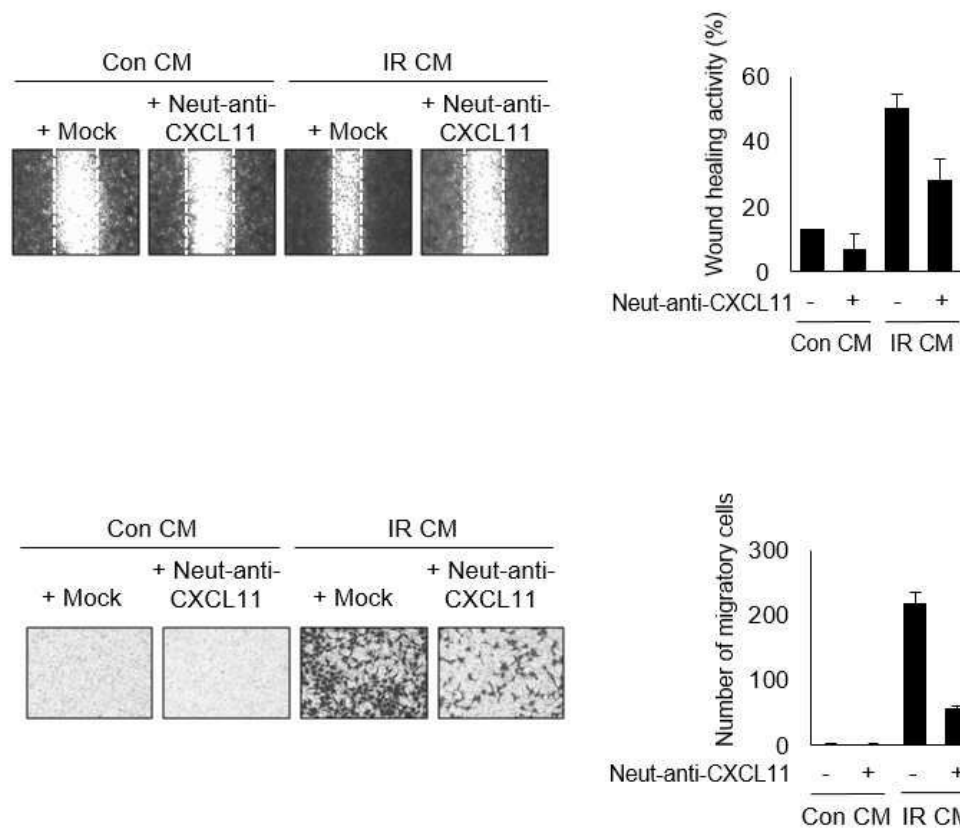
도면1



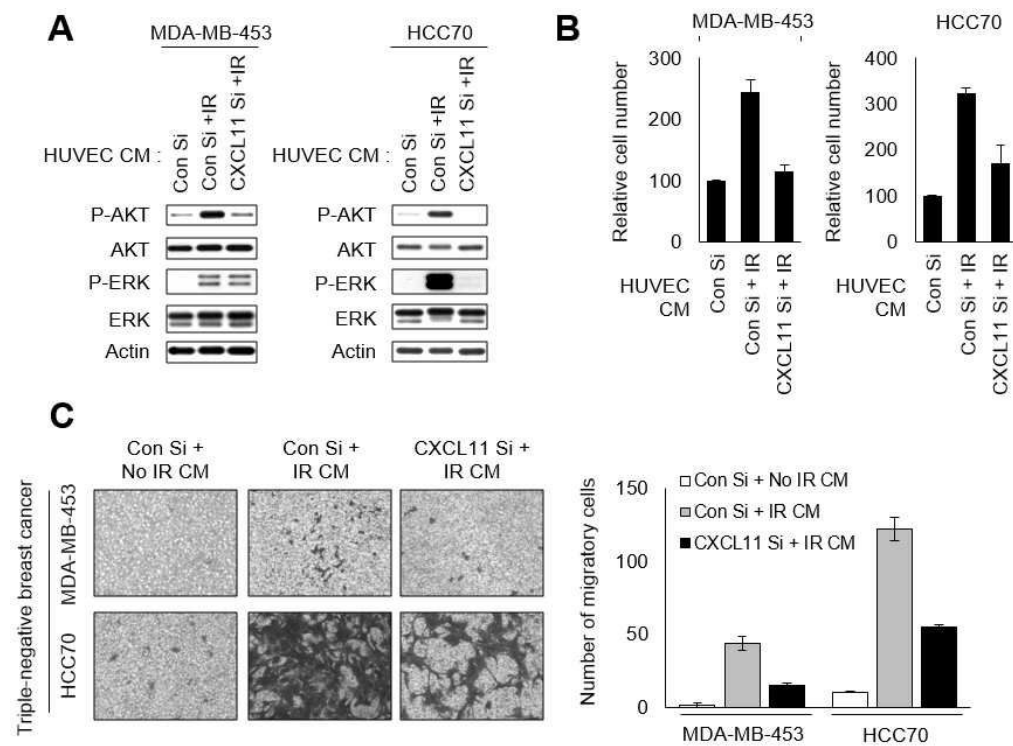
도면2



도면3

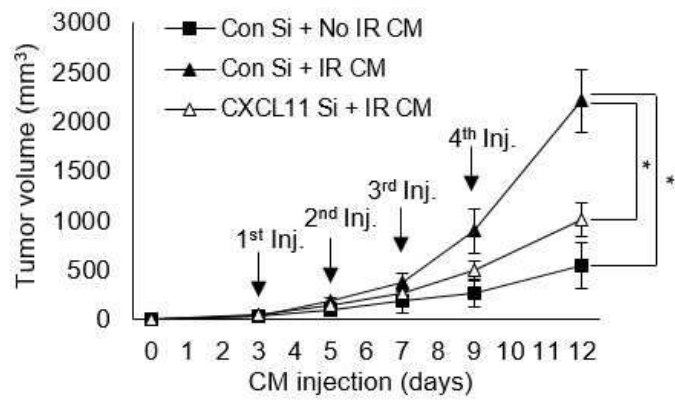


도면4



도면5

A



B



C

