(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0039523
(43) 공개일자 2025년03월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/17 (2006.01) *A61K 31/138* (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 38/1709 (2020.05)
A61K 31/138 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-0121448
(22) 출원일자 2023년09월13일
심사청구일자 2023년09월13일

(71) 출원인
경상국립대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
(72) 발명자
박희성
경상남도 진주시 진주대로 859, 1동 1106호 (주약동, 한주럭키아파트)
홍종찬
경상남도 진주시 집현면 신당길50번길 40-3
권혁권
경상남도 진주시 진주대로 501, 27동 524호 (가좌동)
(74) 대리인
최규환

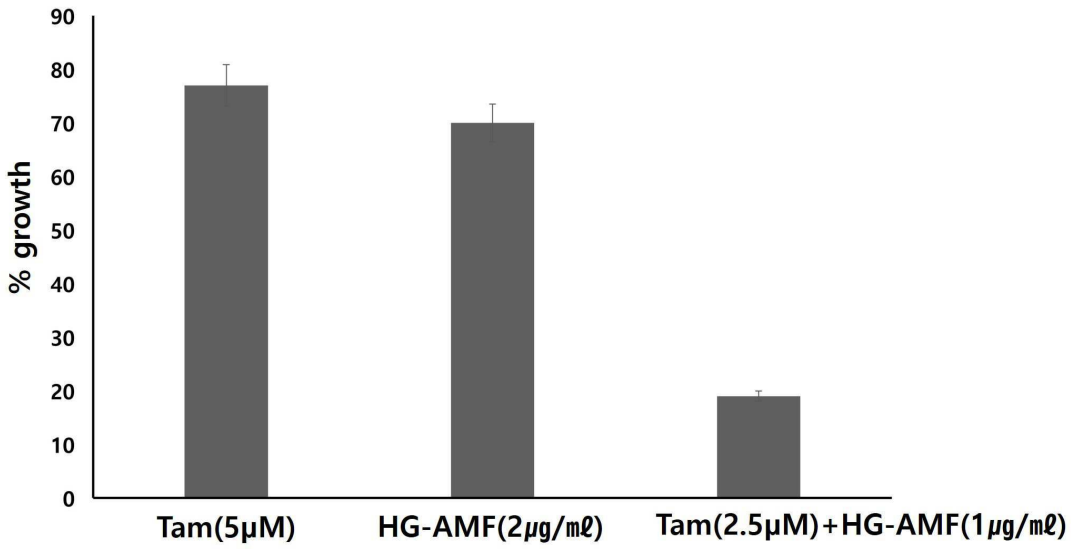
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 **AMF 및 타목시펜을 유효성분으로 포함하는 백혈병의 예방, 개선 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 AMF(autocrine motility factor) 및 타목시펜(tamoxifen)을 유효성분으로 포함하는 백혈병의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 상세하게는 급성 전골수성 백혈병 세포(HL-60)에 본 발명의 간암 세포주 유래 AMF 및 타목시펜을 복합 처리하였을 때, 간암 세포주 유래 AMF 및 타목시펜의 단독 처리에 비해 백혈병 세포의 성장을 억제하는 효과가 현저하므로, 백혈병의 예방, 개선 또는 치료용 의약품의 소재로 더 유용하게 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61P 35/02 (2018.01)
A61K 2300/00 (2023.05)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345331349
과제번호	2020R1A6A1A03044344
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	이공학학술연구기반구축
연구과제명	식물생명공학연구소
기 여 율	1/1
과제수행기관명	경상국립대학교
연구기간	2021.03.01 ~ 2022.02.28

명 세 서

청구범위

청구항 1

AMF(autocrine motility factor) 및 타목시펜(tamoxifen)을 유효성분으로 포함하는 백혈병의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 AMF는 간암 세포주 유래인 것을 특징으로 하는 포함하는 백혈병의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 AMF는 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 것을 특징으로 하는 포함하는 백혈병의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 백혈병은 급성 전골수성 백혈병(acute promyelocytic leukemia)인 것을 특징으로 하는 포함하는 백혈병의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 조성물은 유효성분 이외에 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 백혈병의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 조성물은 캡슐제, 산제, 과립제, 정제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 중에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조되는 것을 특징으로 하는 백혈병의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 7

AMF(autocrine motility factor) 및 타목시펜(tamoxifen)을 유효성분으로 포함하는 백혈병의 예방 또는 치료용 수의학적 조성물.

청구항 8

AMF(autocrine motility factor) 및 타목시펜(tamoxifen)을 인간을 제외한 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 백혈병의 예방 또는 치료방법.

청구항 9

AMF(autocrine motility factor)를 유효성분으로 포함하는 항암보조제.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 항암보조제는 항암제의 백혈병에 대한 항암 효과를 증진시키는 것을 특징으로 하는 항암보조제.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 항암제는 타목시펜(tamoxifen)인 것을 특징으로 하는 항암보조제.

청구항 12

제9항에 있어서, 상기 AMF는 항암제와 동시에, 별도로 또는 순차적으로 병용 투여되는 것을 특징으로 하는 항암

보조제.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 AMF(autocrine motility factor) 및 타목시펜(tamoxifen)을 유효성분으로 포함하는 백혈병의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 백혈병은 세포의 분화 정도, 즉 악화 속도에 따라 급성(Acute)과 만성(Chronic)으로 나뉘고, 세포의 기원에 따라 골수성(myeloid)과 림프구성(lymphocytic)으로 나뉜다. 또한, 급성 골수성 백혈병 중 전골수성(promyelocytic)은 일부 형태학적 차이를 가진다.

[0003] 급성 백혈병(acute leukemia)은 골수 이상으로 비정상적인 백혈구 전구세포 또는 혈소판 전구세포를 과다하게 생산하는 질병으로, 림프계의 세포가 증식하면 급성 림프성 백혈병(ALL, acute lymphocytic leukemia), 골수계의 세포가 증식하면 급성 골수성 백혈병(AML, acute myeloid leukemia)이라고 한다. 이상 백혈구가 증가하여 조혈하는 장소를 점거하기 때문에, 정상 백혈구, 적혈구, 혈소판 등이 형성되지 못하여 감염증이나 출혈 등이 쉽게 일어나며, 치료하지 않는 경우에는 수개월 이내에 사망하게 된다. 최근 화학요법의 발달로 유아의 급성 백혈병 생존율은 현저하게 향상되었지만, 성인의 경우에는 여전히 생존율이 낮다.

[0004] 급성 골수성 백혈병은 비림프구성 또는 골수에서 만들어지는 골수성 백혈구의 줄기세포에서 발생한 악성 종양으로, 조혈모세포에 유전자 변이가 생겨 골수계 전구세포가 여러가지 단계에서 분화를 정지하여 미성숙한 골수모구(myeloblast)가 단세포군(monoclonal)으로 증식하는 조혈기종양이다. 빈혈, 발열, 감염성 증가, 출혈경향 등의 골수 기능장애 증상을 나타내며, 지라비대, 림프절 종창 등 종양세포의 장기침윤 증상이 나타나는 경우도 있다. 급성 골수성 백혈병 중 M3형의 전골수성 백혈병(acute promyelocytic leukemia)은 출혈성 경향이 심하고, 범발성 혈관응고 장애 증후군(응고인자를 계속 사용, 응고인자가 고갈되면서 출혈을 하는 병)을 잘 일으키는 것이 특징이다.

[0005] 백혈병을 치료하는 표준방법으로서, 화학요법, 조혈모세포이식, 방사선요법 등이 포함되며, 화학요법의 경우, 통상적으로 둘 이상의 항암제를 병용하는 방법이 포함된다. 이상적인 화학요법은 항백혈병제가 정상 조혈을 억제하지 않고, 부작용을 일으키지도 않으면서 백혈병 세포에서만 선택적인 효과를 보여야 한다는 것이다. 그러나 대부분의 항백혈병제는 이상적인 상태에 어느 정도 근접하여 백혈병 세포를 죽일 수는 있으나, 정상 조혈도 억제하고 부작용도 일으키므로, 백혈병 치료에 한계가 있다. 또한, 약제 내성이 있는 백혈병 세포에서는 항종양 효과가 약하고, 부작용 문제가 발생할 수 있어 충분한 화학요법을 실시할 수 없는 경우도 있다.

[0006] 백혈병 관련 선행기술로는 한국등록특허 제2273445호에 '셀레질린을 유효성분으로 포함하는 급성 골수성 백혈병의 예방 또는 치료용 약학 조성물'이 개시되어 있으며, 한국등록특허 제2569443호에 '비구아나이드계 화합물을 유효성분으로 포함하는 혈액암의 예방 및 치료용 약학조성물'이 개시되어 있다. 하지만, 본 발명의 'AMF 및 타목시펜을 유효성분으로 포함하는 백혈병의 예방, 개선 또는 치료용 조성물'에 대해서는 아직까지 개시된 바가 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명은 AMF(autocrine motility factor) 및 타목시펜(tamoxifen)을 유효성분으로 포함하는 백혈병의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공하고, 상세하게는 급성 전골수성 백혈병 세포(HL-60)에 본 발명의 간암 세포주 유래 AMF 및 타목시펜을 복합 처리하였을 때, 간암 세포주 유래 AMF 및 타목시펜의 단독 처리에 비해 백혈병 세포의 성장을 억제하는 효과가 현저하다는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 AMF(autocrine motility factor) 및 타목시펜(tamoxifen)을 유효성분

으로 포함하는 백혈병의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0009] 또한, 본 발명은 AMF(autocrine motility factor) 및 타목시펜(tamoxifen)을 유효성분으로 포함하는 백혈병의 예방 또는 치료용 수의학적 조성물을 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명은 AMF(autocrine motility factor) 및 타목시펜(tamoxifen)을 인간을 제외한 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 백혈병의 예방 또는 치료방법을 제공한다.

[0011] 또한, 본 발명은 AMF(autocrine motility factor)를 유효성분으로 포함하는 항암보조제를 제공한다.

발명의 효과

[0012] 본 발명은 AMF(autocrine motility factor) 및 타목시펜(tamoxifen)을 유효성분으로 포함하는 백혈병의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 상세하게는 급성 전골수성 백혈병 세포(HL-60)에 본 발명의 간암 세포주 유래 AMF 및 타목시펜을 복합 처리하였을 때, 간암 세포주 유래 AMF 및 타목시펜의 단독 처리에 비해 백혈병 세포의 성장을 억제하는 효과가 현저하다.

도면의 간단한 설명

[0013] 도 1은 급성 전골수성 백혈병 세포(HL-60)에 간암 세포주 유래 AMF(HG-AMF) 및 타목시펜(Tam)을 함께 처리하였을 때, 급성 전골수성 백혈병 세포의 성장 억제 효과를 확인한 결과이다.

도 2는 급성 전골수성 백혈병 세포(HL-60)에 간암 세포주 유래 AMF(HG-AMF) 및 타목시펜(Tam)을 함께 처리하였을 때, MTT 염색을 통해 급성 전골수성 백혈병 세포의 형태학적 변화를 확인한 결과이다. Con은 아무것도 처리하지 않은 대조군이다.

도 3은 급성 전골수성 백혈병 세포(HL-60)에 간암 세포주 유래 AMF(HG-AMF) 및 타목시펜(Tam)을 함께 처리하였을 때, 급성 전골수성 백혈병 세포의 ROS 생성 증가 효과를 확인한 결과이다. Con은 아무것도 처리하지 않은 대조군이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0014] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 AMF(autocrine motility factor) 및 타목시펜(tamoxifen)을 유효성분으로 포함하는 백혈병의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0015] 본 발명의 백혈병의 예방 또는 치료용 약학 조성물에서, 상기 AMF는 간암 세포주 유래일 수 있으며, 바람직하게는 HepG2 유래일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0016] 상기 간암 세포주 유래 AMF는 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진다. 본 발명의 간암 세포주 유래 AMF의 범위는 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열을 갖는 단백질의 기능적 동등물을 포함한다. "기능적 동등물"이란 아미노산의 부가, 치환 또는 결실의 결과, 상기 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열과 적어도 70% 이상, 바람직하게는 80% 이상, 더 바람직하게는 90% 이상, 더욱 바람직하게는 95% 이상의 서열 상동성을 갖는 것으로, 서열번호 1로 표시되는 단백질과 실질적으로 동질의 생리활성을 나타내는 단백질을 말한다. 또한, 간암 세포주 유래 AMF와 실질적으로 동질의 생리활성을 나타내는 펩타이드를 포함한다. "실질적으로 동질의 생리활성"이란 암 예방 또는 치료에 대한 활성을 의미한다.

[0017] 상기 백혈병은 급성 전골수성 백혈병(acute promyelocytic leukemia)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0018] 본 발명의 조성물은 상기 유효성분 이외에 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수 있으며, 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형일 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형 제제에는 캡슐제, 산제, 과립제, 정제, 환제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용된다. 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성 용제 및 현탁 용제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에

틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로 젤라틴 등이 사용될 수 있다. 비경구 투여 시 피부 외용 또는 복강 내, 직장, 정맥, 근육, 피하, 자궁 내 경막 또는 뇌혈관 내 주사 방식을 선택하는 것이 바람직하다.

[0019] 본 발명에 따른 약학 조성물은 약제학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서, "약제학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효량의 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0020] 본 발명의 조성물의 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설률 및 질환의 중증도에 따라 그 범위가 다양하다. 본 발명의 조성물은 단독으로 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

[0021] 또한, 본 발명은 AMF(autocrine motility factor) 및 타목시펜(tamoxifen)을 유효성분으로 포함하는 백혈병의 예방 또는 치료용 수의학적 조성물을 제공한다.

[0022] 본 발명의 AMF 및 타목시펜을 포함하는 수의학적 조성물은 통상의 방법에 따른 적절한 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 본 발명의 AMF 및 타목시펜을 포함하는 수의학적 조성물에 포함될 수 있는 부형제 및 희석제로는, 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 세탄올, 스테아릴알콜, 유동파라핀, 솔비탄모노스테아레이트, 폴리소르베이트 60, 메칠파라벤, 프로필파라벤 및 광물유를 들 수 있다.

[0023] 본 발명에 따른 AMF 및 타목시펜을 포함하는 수의학적 조성물은 충진제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향신료, 유화제, 방부제 등을 추가로 포함할 수 있는데, 본 발명에 의한 수의학적 조성물은 동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 당업계에 잘 알려진 방법을 사용하여 제형화될 수 있고, 제형은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 용액, 시럽, 에어로졸, 연질 또는 경질 젤라틴 캅셀, 좌제, 멸균 주사용액, 멸균 외용제 등의 형태일 수 있다.

[0024] 본 발명에 의한 수의학적 조성물은 동물의 나이, 성별, 체중에 따라 달라질 수 있으나, 1일 1회 내지 수회 투여할 수 있고, 투여량은 투여경로, 질병의 정도, 성별, 체중, 나이 등에 따라서 증감될 수 있다. 따라서, 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0025] 또한, 본 발명은 AMF(autocrine motility factor) 및 타목시펜(tamoxifen)을 인간을 제외한 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 백혈병의 예방 또는 치료방법을 제공한다.

[0026] 또한, 본 발명은 AMF(autocrine motility factor)를 유효성분으로 포함하는 항암보조제를 제공한다.

[0027] 상기 항암보조제는 항암제의 백혈병에 대한 항암 효과를 증진시킬 수 있다.

[0028] 상기 항암제는 타목시펜인 것이 바람직하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0029] 상기 AMF는 항암제와 동시에, 별도로 또는 순차적으로 병용 투여될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0030] 본 발명의 AMF를 타목시펜과 함께 처리하였을 때, AMF를 단독 처리한 경우에 비해 백혈병세포의 성장 저해 효과가 증진되는 효과가 있다.

[0031] 이하, 본 발명의 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0032] **[재료 및 방법]**

[0033] **1. 세포 배양**

[0034] 본 발명에 사용된 인간 급성 전골수성 백혈병 세포주(HL-60)는 한국세포주은행(Seoul, Korea)에서

구입하였으며, Gibco GluTamAX™, 10%(v/v) FBS(fetal bovine serum), 100U/mℓ의 페니실린 및 100㎍/mℓ의 스트렙토마이신이 포함된 RPMI 배지에서 37℃, 5% CO_2 조건하에 배양하였다.

[0035] **2. 성장 분석**

[0036] 96-웰 플레이트에 1.2×10^4 세포를 접종하고 48시간 동안 간암 세포주 유래 AMF(HG-AMF; 2㎍/mℓ), 타목시펜(CAS Number: 10540-29-1; 5μM)을 단독처리하거나 타목시펜(2.5μM)+HG-AMF(1㎍/mℓ)을 복합 처리하였다. 세포 성장은 MTT(3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide; thiazolyl blue) 분석을 통해 570nm의 파장에서 관찰하였다.

[0037] **3. DNA 클로닝 및 재조합 단백질 발현**

[0038] HepG2 세포로부터 RNA를 추출하여 역전사한 후 이를 PCR(95℃에서 30초, 58℃에서 30초 및 72℃에서 100초를 30회 반복)에 의해 AMF cDNA를 증폭시키기 위한 주형으로 사용하였다. PCR에 사용한 Nde I 제한효소 사이트가 포함된 정방향 프라이머와 Xho I 제한효소 사이트가 포함된 역방향 프라이머는 GPI(genbank accession number: MW664918)를 암호화하는 DNA 서열을 기초로 제작되었다.

[0039] 정방향 프라이머(5'-TACATATGGCCGCTCTCACCCGGGACCCCCAGTTCCAGAA-3', 서열번호 2)

[0040] 역방향 프라이머(5'-ATCTCGAGTTATTGGACTCTGGCCTCGCGCTGCT-3', 서열번호 3)

[0041] PCR 산물을 pCold I DNA 벡터(Takara, Korea)에 클로닝하여 HG-AMF cDNA를 구축하였다. HG-AMF cDNA를 함유한 대장균 BL21을 암피실린(100㎍/mℓ)이 포함된 LB 배지에서 밤새 배양한 후, 0.5mM의 IPTG를 처리하였다. 배양 후 수확된 세포를 완충용액(20mM Tris-HCl pH 8.0, 200mM NaCl, 1mM DTT 및 0.5mM PMSF)에 재현탁시키고, 그 후 French pressure cell press(Model FA-078A, Thermo IEC, Milford, MA, USA)를 사용하여 세포를 파쇄하고, 4℃에서 12000rpm으로 20분 동안 원심분리하여 용해된 분획물을 획득하였다. 획득한 분획물은 His60 Ni 수지 친화성 크로마토그래피(Promega, Madison, WI, USA)로 정제하였으며, 정제된 단백질의 함량은 Bio-Rad 단백질 분석 시약을 사용하여 정량하였다.

[0042] **4. ROS(Reactive oxygen species) 생성 분석**

[0043] ROS의 생성을 평가하기 위해 세포에 간암 세포주 유래 AMF(HG-AMF; 2㎍/mℓ), 타목시펜(CAS Number: 10540-29-1; 5μM)을 단독처리하거나 타목시펜(2.5μM)+HG-AMF(1㎍/mℓ)을 복합 처리하였다. 4시간 후에, DCFDA(2',7'-dichlorofluorescin diacetate) 분석을 수행하였다. 이후, BioTek Cytation 7 Cell Imaging Multi-Mode Reader(Agilent technologies, USA)를 사용하여 시간별로 ROS 생성량을 측정하였다.

[0044] **5. 통계처리**

[0045] 데이터는 평균 ± 표준 편차로 표시하였고, 그룹 간 비교는 Student's t-test를 이용하여 통계적 유의성을 분석하였다. 다중 비교를 위해 ANOVA(one-way analysis of variance) F-test를 사용하였고, $p < 0.05$는 통계적 유의성을 나타내는 것으로 간주하였다

[0046] **실시예 1. 간암 세포주 유래 AMF 및 타목시펜의 복합 처리에 따른 급성 전골수성 백혈병 세포의 성장 억제 효과**

[0047] 본 발명의 간암 세포주 유래 AMF 및 타목시펜을 급성 전골수성 백혈병 세포(HL60)에 복합 처리하였을 때, 세포 성장 억제 효과를 확인하였다.

[0048] 그 결과, 도 1에 개시한 바와 같이, HL60 세포에 간암 세포주 유래 AMF(HG-AMF) 및 타목시펜(Tam)을 복합 처리하였을 때, 간암 세포주 유래 AMF(HG-AMF) 및 타목시펜(Tam) 각각의 단독 처리군에 대비하여 급성 전골수성 백혈병 세포의 성장 저해 효과가 현저하게 증가되었다.

[0049] 또한, MTT 염색을 통해 HL60 세포의 형태학적 변화를 관찰한 결과, 각각의 단독 처리보다 본 발명의 간암 세포주 유래 AMF(HG-AMF) 및 타목시펜(Tam)을 복합 처리한 군에서 세포 구(sphere) 사이즈가 더 감소된 것을 알 수 있었다(도 2).

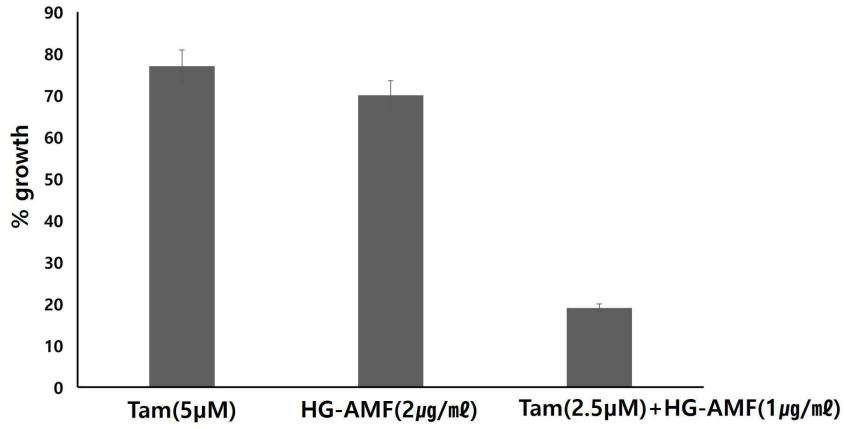
[0050] **실시예 2. 간암 세포주 유래 AMF 및 타목시펜의 복합 처리에 따른 ROS 생성 증가 효과**

[0051] ROS(reactive oxygen species)는 세포에서 증식과 분화와 관련이 있으며 과도한 ROS는 세포사멸을 유도한다. 따라서 본 발명의 간암 세포주 유래 AMF 및 타목시펜을 복합 처리하였을 때, 급성 전골수성 백혈병 세포의 ROS 생성량을 측정하였다.

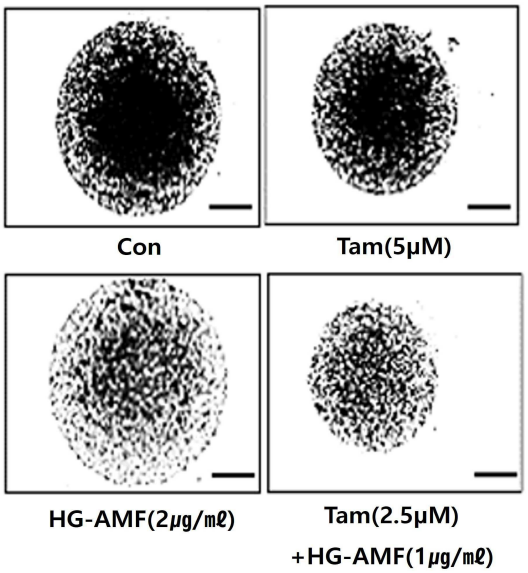
[0052] 그 결과, 도 3에 개시한 바와 같이, 각각의 단독 처리보다 본 발명의 간암 세포주 유래 AMF(HG-AMF) 및 타목시펜(Tam)을 복합 처리한 군의 ROS 생성이 더 증가된 것을 알 수 있었다.

도면

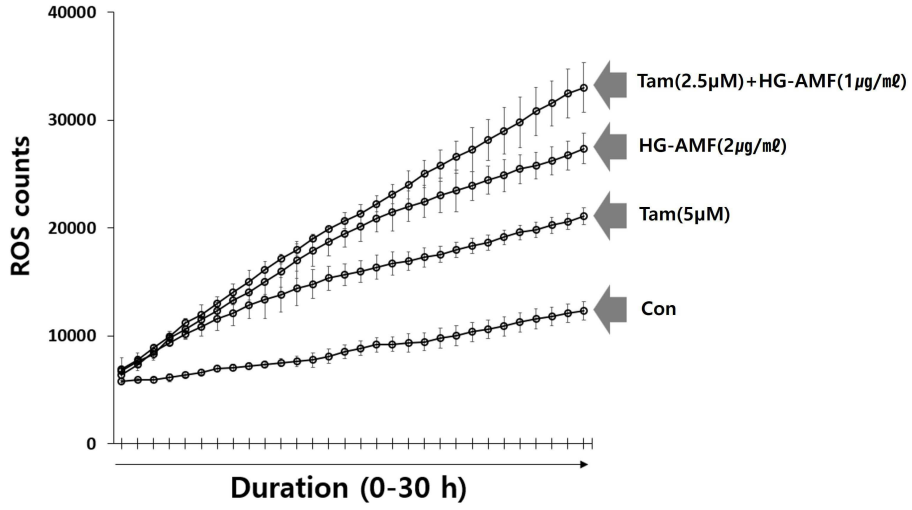
도면1



도면2



도면3


40000
30000
20000
10000
0
ROS counts
Duration (0-30 h)
Tam(2.5μM)+HG-AMF(1μg/mℓ)
HG-AMF(2μg/mℓ)
Tam(5μM)
Con

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.