



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0009196
(43) 공개일자 2014년01월22일

- | | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/22 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)
A61P 35/04 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2013-7013005</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2011년11월16일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2013년05월21일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2011/061040</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2012/068282
국제공개일자 2012년05월24일</p> <p>(30) 우선권주장
12/948,329 2010년11월17일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
은코릭스, 아이엔씨.
미국 텍사스 77014, 휴스턴, 스위트 780, 14405
월터스 로드</p> <p>(72) 발명자
첸, 원, 와이.
미국, 사우스캐롤라이나주 29650-3641, 그리어,
304 배링턴 파크 드라이브</p> <p>(74) 대리인
신관호</p> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

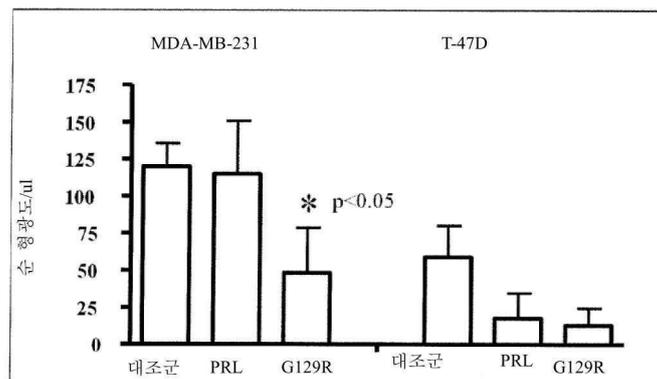
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 **난소암을 치료하기 위한 프로락틴 수용체 길항제 및 화학치료 약물의 이용**

(57) 요약

본 발명은 일반적으로 암 진단 및 치료 분야에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는, 줄기세포 유사 특성을 갖는 암 세포를 제거하는 데 유용할 수 있는 조성물 및 방법에 관한 것이다. 개시한 조성물 및 방법은 또한 전이된 유방암, 난소암, 자궁경부암 또는 자궁내막 (자궁)암을 관리하고; 환자의 체내 암 세포들을 가시화하는 데 유용할 수 있다. 본 발명의 조성물은 인간 프로락틴 수용체 길항제 G129R을 포함한다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

환자에게 유효량의 인간 프로락틴 수용체 길항제와 화학치료 약물을 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 난소 암 세포의 성장을 억제하기 위한 방법.

청구항 2

환자에게 유효량의 인간 프로락틴 수용체 길항제와 화학치료 약물을 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 난소 암 전이의 발달을 억제하기 위한 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 프로락틴 수용체 길항제는 129번째 위치에서의 글리신 잔기가 다른 아미노산으로 치환된 인간 프로락틴인, 방법.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 아미노산은 발린, 류신, 이소류신, 세린, 트레오닌, 프롤린, 티로신, 시스테인, 메티오닌, 아르기닌, 히스티딘, 트립토판, 페닐알라닌, 리신, 아스파라긴, 글루타민, 아스파라트산 및 글루타민산으로 이루어지는 그룹에서 선택되는, 방법.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 프로락틴 수용체 길항제는 G129R인, 방법.

청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 화학치료 약물은 올-트랜스(all-trans) 레티노산; 아자시티딘; 아자티오프린; 블레오미신; 카르보플라틴; 카페시타빈; 시스플라틴; 클로람부실; 시클로포스파미드; 시타라빈; 다우노루비신; 도세탁셀; 독시플루리딘; 독소루비신; 에피루비신; 에포틸론; 에토포시드; 플루오로우라실; 잼시타빈; 히드록시우레아; 이다루비신; 이마티니브; 메클로레타민; 메르캅토프린; 메토트렉세이트; 미톡산트론; 옥살리플라틴; 파클리탁셀; 페펙트렉시드; 테니포시드; 티오구아닌; 발루비신; 빈블라스틴; 빈크리스틴; 빈데신 및 비노렐빈을 포함하는 그룹으로부터 선택된 것인, 방법.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 화학치료 약물은 도세탁셀인, 방법.

청구항 8

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 프로락틴 수용체 길항제는 화학치료제와 동시에 또는 순차적으로 투여되는 것인, 방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 출원은 2010년 11월 17일자로 출원된 미국 특허출원 제12/948,329호의 이점을 주장하며, 그 내용은 본 명세서에 참고로 인용한다.

[0002] 본 발명은 일반적으로 암 진단 및 치료 분야에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는, HER2⁺ 유방암 세포, 에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체 또는 HER2/neu를 발현하지 않는 삼중 음성 유방암 세포(triple-negative breast cancer cell), 및 줄기세포 유사 특성을 갖는 암 세포를 제거하는 데 유용한 조성물 및 방법에 관한 것이다. 본 발명의 조성물 및 방법은 또한 전이성 유방암을 관리하고 환자의 체내 유방암 세포를 가시화하는 데 유용할 수 있다. 본 발명의 조성물 및 방법은 또한 난소암을 치료하고 전이성 난소암을 관리하는 데 유용할 수 있다. 본 발명의 조성물 및 방법은 또한 프로락틴에 의해서 증식이 증가하는 기타 암을 치료하고 관리하는 데 유용할 수 있다. 본 발명의 조성물 및 방법은 또한 프로락틴 수용체를 발현하는 임의의 암을 치료하고 관리하는 데 유용할 수 있다.

배경기술

[0003] 유방암은 에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체 및 HER2/neu를 발현하는지 여부에 기초하여 아형들로 분류된다. 암 치료를 개시하기 전에, 일부 약은 에스트로겐 수용체를 발현하는 암 세포를 표적으로 하는 한편 다른 약은 다른 수용체를 발현하는 암 세포를 표적으로 하기 때문에, 환자의 암 아형을 식별하는 것이 중요하다. HER2/neu 유전자는 포유동물의 종양형성, 종양 성장 및 전이에 관련되어 왔다. HER2/neu는 인간 유방암의 20 내지 30%에서 증폭되며, 유방암의 HER2-양성 아형은 공격적 전이 질병에 연관이 있다(Korkaya 등, 2008. *Oncogene*). 본 발명은 HER2-양성 유방암 세포를 제거하도록 사용될 수 있는 새로운 조성물 및 방법을 제공함으로써 HER2-양성 유방암을 치료하는 데 유용할 수 있다.

[0004] 최근에, 유방암 세포의 새로운 아형을 식별하였다. 이러한 암 세포는, 에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체 또는 HER2/neu를 발현하지 않으므로, 삼중 음성 유방암 세포라 칭한다(Dent 등, 2007. *Clinical Cancer Research*13:4429-4434). *Cancer Research UK* (2007)에 따르면, 삼중 음성 유방암 환자들은 전체 유방암 환자들 중 약 15%를 차지한다. 알려져 있는 다른 유방암 아형과 비교할 때, 삼중 음성 아형은 더욱 공격적이며, 표준 치료에 덜 반응하며, 더욱 불량한 전체적 환자 예후에 연관된다(Dent 등, 2007. *Clinical Cancer Research*13:4429-4434). 따라서, 삼중 음성 유방암 환자를 진단하고 치료하기 위한 조성물 및 방법에 대한 요구가 존재한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 최근의 연구에 따르면, 유방암을 비롯한 다양한 암들이 자가재생 경로의 조절 이상(deregulation)을 통해 암 줄기 세포들(CSCs)의 작은 서브세트로부터 발생한다는 점을 시사하고 있다. 줄기 세포 유사 특성을 갖는 유방암 세포의 하위 개체는 CD44- 및 CD133-양성 및 CD24-음성이며, 알데히드 탈수소효소 1(ALDH1)을 발현한다고 보고되어 왔다(Crocker 등, 2008. *J Cell MoI Med*). 줄기 세포 유사 특성을 갖는 유방암 세포들의 하위 개체를 식별하고 박멸하기 위한 조성물 및 방법에 대한 요구가 존재한다.

[0006] 난소암은 난소의 다양한 부위에서 발생하는 암의 성장이다. (Auersperg N 등, 2001. *Endocr. Rev.*22(2):255-88). 이러한 암 유형은 일반적으로 예후가 적다. 난소암의 전체 단계에서 5년 생존율은 45.5%이다. 이 질환에 있어서 조기에 진단이 이루어지는 경우에, 암이 여전히 일차 지점에 국한되어 있을 때에, 상기 5년 생존율은 92.7% 이다 (국립 암 학회의 SEER 통계 자료 시트-난소암 에서 언급한 것처럼, SEER 발생률 및 NCHS 사망률 통계 기반 생존율).

[0007] 또한 최근의 연구에 따르면, 백혈병 같은 전신성 악성 종양에 대한 위험을 프로락틴이 증가시킨다고 시사하고 있다. (Kapoor 등, 2008. *Familial Cancer* (7): 265-266). 그리고 적어도 하나의 보고서에 따르면, T 세포 림프종에서 증식을 프로락틴이 증가시킨다고 보여주고 있다. (Singh 등, (2006) *Cancer Invest* (24): 601-610).

[0008] 프로락틴(“PRL”)은 성장 호르몬에 구조적으로 관련되고 인터루킨 패밀리(interleukin family)의 구성원들에는 덜 관련된 23-kDa 신경내분비암종 호르몬이다(Reynolds 등, 1997, *Endocrinol.* 138:5555-5560, Cunningham 등, 1990, *Science* 247:1461-1465; Wells 등, 1993, *Recent Prog. Horm. Res.* 48:253-275). 프로락틴 수용체는

유선, 난소, 뇌하수체, 심장, 폐, 흉선, 비장, 간, 췌장, 신장, 부신, 자궁, 골격근, 피부 및 중추 신경계의 영역에 존재한다(Mancini T. (2008), "Hyperprolactinemia and Prolactinomas," *Endocrinology & Metabolism Clinics of NorthAmerica* **37**:67). 프로락틴은, 자신의 수용체에 결합되면, 다른 프로락틴 수용체와 이량화되어, 야누스 키나아제 2, JAK-STAT 경로를 개시하는 티로신 키나아제가 활성화된다. 또한, 프로락틴 수용체의 활성화에 따라, 미토겐-활성 단백질 키나아제 및 Src 키나아제 미토겐이 활성화된다(Mancini, T. (2008) "Hyperprolactinemia and Prolactinomas," *Endocrinology & Metabolism Clinics of NorthAmerica* **37**:67). "프로락틴 수용체 길항제"는 프로락틴 신호 전달 경로에 간섭하는 프로락틴의 형태를 가리킨다. 이러한 프로락틴 수용체 길항제는 발명자 W. Chen 및 T. Wagner의 미국 특허출원 제2007/0060520호에 이미 개시되어 있다.

과제의 해결 수단

- [0009] 본 발명은, 환자에서 에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체 또는 HER2/neu를 발현하지 않는 유방 암중 삼중 음성 세포들의 성장을 억제하기 위한 방법을 제공하는데, 상기 방법은 상기 환자에게 인간 프로락틴 수용체 길항제를 투여하는 단계를 포함한다. 또한 본 발명은 환자에서 난소암을 치료하기 위한 방법을 제공하는데, 상기 방법은 상기 환자에게 인간 프로락틴 수용체 길항제를 투여하는 단계를 포함한다. 또한 본 발명은 환자에서 전신성 악성 종양을 치료하기 위한 방법을 제공하는데, 상기 방법은 상기 환자에게 인간 프로락틴 수용체 길항제를 투여하는 단계를 포함한다. 상기 전신성 악성 종양에는 급성 골수성 백혈병 등의 백혈병 및 T 세포 림프종이 해당되나, 이들에만 제한되는 것은 아니다.
- [0010] 또한 본 발명은 편평세포암종, 간세포암종, 결장직장암, 선암종, 이행세포암종 및 프로락틴 수용체를 발현하는 임의의 다른 종양을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0011] 상기 방법들에서 유용한 인간 프로락틴 수용체 길항제는 129번째 위치에서의 글리신이, 예를 들어 아르기닌 등 다른 아미노산으로 치환된 길항제를 포함한다.
- [0012] 상기 방법에서 유용한 다른 인간 프로락틴 수용체 길항제는, 129번째 위치에서의 글리신이 발린, 류신, 이소류신, 세린, 쓰레오닌, 프롤린, 티로신, 시스테인, 메티오닌, 아르기닌, 히스티딘, 트립토판, 페닐알라닌, 리신, 아스파라긴, 글루타민, 아스파르트산 또는 글루탐산과 같은 임의의 아미노산으로 치환된 길항제를 포함한다. 본 발명에 따르면, 인간 프로락틴 수용체 길항제를 화학치료 약물, 예컨대 도세탁셀과 함께 투여할 수 있다.
- [0013] 또 다른 실시예들에서, 본 발명은 유방암 또는 난소암 환자에게서 전이 발달을 억제하기 위한 방법을 제공하는데, 상기 방법은 상기 환자에게 인간 프로락틴 수용체 길항제를 투여하는 단계를 포함한다. 이러한 방법들에서, 인간 프로락틴 수용체 길항제를 화학치료 약물, 예컨대 도세탁셀과 함께 투여할 수 있다.
- [0014] 또 다른 실시예들에서, 본 발명은 백혈병, 림프종, 편평세포암종, 선암종 및 이행세포암종, 간세포암종, 결장직장암 및 환자에서 프로락틴 수용체를 발현하는 모든 다른 종양과 같은 암 세포들의 아폽토시스를 유발하는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 상기 환자에게 인간 프로락틴 수용체 길항제를 투여하는 단계를 포함한다. 이러한 방법들에서 인간 프로락틴 수용체 길항제를 화학치료 약물과 함께 투여할 수 있다. 이러한 화학치료제로는, 올-트랜스(all-trans) 레티노산; 아자시티딘; 아자티오프린; 블레오미신; 카르보플라틴; 카페시타빈; 시스플라틴; 클로람부실; 시클로포스파미드; 시타라빈; 다우노루비신; 도세탁셀; 독시플루리딘; 독소루비신; 에피루비신; 에포틸론; 에토포시드; 플루오로우라실; 잰시타빈; 히드록시우레아; 이다루비신; 이마티니브; 메클로레타민; 메르캅토프린; 메토티렉세이트; 미톡산트론; 옥살리플라틴; 파클리탁셀; 페맥트렉시드; 테니포시드; 티오구아닌; 발루비신; 빈블라스틴; 빈크리스틴; 빈데신 및 비노렐빈을 포함하는 임의의 화합물 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.
- [0015] 또 다른 실시예들에서, 본 발명은 백혈병, 림프종, 편평세포암종, 선암종 및 이행세포암종을 가진 환자의 전이 발달을 억제하기 위한 방법을 제공하는데, 상기 방법은 상기 환자에게 인간 프로락틴 수용체 길항제를 투여하는 단계를 포함한다. 이러한 방법들에서, 인간 프로락틴 수용체 길항제를 화학치료 약물, 예컨대 도세탁셀과 함께 투여할 수 있다.
- [0016] 상기 방법들에서 유용한 인간 프로락틴 수용체 길항제는 129번째 위치에서의 글리신이, 예를 들어 아르기닌 등 다른 아미노산으로 치환된 길항제를 포함한다. 상기 방법들에서 유용한 다른 인간 프로락틴 수용체 길항제는, 129번째 위치에서의 글리신이 발린, 류신, 이소류신, 세린, 쓰레오닌, 프롤린, 티로신, 시스테인, 메티오닌, 아르기닌, 히스티딘, 트립토판, 페닐알라닌, 리신, 아스파라긴, 글루타민, 아스파르트산 또는 글루탐산과 같은 임의의 아미노산으로 치환된 길항제를 포함한다.

[0017] 또한, 본 발명은 유방암 환자에서 알데히드 탈수소효소 1(ALDH1)의 활성을 감소시키기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 환자에게 인간 프로락틴 수용체 길항제를 투여하는 단계를 포함한다. 상기 방법에서 유용한 인간 프로락틴 수용체 길항제는 129번째 위치에서의 글리신이, 예를 들어 아르기닌 등 다른 아미노산으로 치환된 길항제를 포함한다. 상기 방법에서 유용한 다른 인간 프로락틴 수용체 길항제는, 129번째 위치에서의 글리신이 발린, 류신, 이소류신, 세린, 쓰레오닌, 프롤린, 티로신, 시스테인, 메티오닌, 아르기닌, 히스티딘, 트립토판, 페닐알라닌, 리신, 아스파라긴, 글루타민, 아스파르트산 또는 글루탐산과 같은 임의의 아미노산으로 치환된 길항제를 포함한다.

[0018] 또한, 본 발명은 유방암 환자에서 암 줄기 세포들의 수를 감소시키기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 환자에게 인간 프로락틴 수용체 길항제를 투여하는 단계를 포함한다. 본 발명의 방법에서 유용한 인간 프로락틴 수용체 길항제는 129번째 위치에서의 글리신이, 예를 들어 아르기닌 등의 다른 아미노산으로 치환된 길항제를 포함한다. 본 발명의 방법에서 유용한 다른 인간 프로락틴 수용체 길항제는, 129번째 위치에서의 글리신이 발린, 류신, 이소류신, 세린, 트레오닌, 프롤린, 티로신, 시스테인, 메티오닌, 아르기닌, 히스티딘, 트립토판, 페닐알라닌, 리신, 아스파라긴, 글루타민, 아스파르트산 또는 글루타민산과 같은 임의의 아미노산으로 치환된 길항제를 포함한다. 본 발명의 전술한 방법들 중 임의의 방법은, 독소, 방사성 동위원소, 형광 염료 및 단백질로 이루어지는 그룹에서 선택되는 약제에 접합된 프로락틴 수용체 길항제를 사용하여 실시할 수 있다. 다른 실시형태들에서, 본 발명의 방법들은 프로락틴 수용체 길항제를 화학치료제와 동시에 또는 순차적으로 투여함으로써 실시할 수 있다. 이러한 화학치료제로는, 올-트랜스(all-trans) 레티노산; 아자시티딘; 아자티오프린; 블레오미신; 카르보플라틴; 카페시타빈; 시스플라틴; 클로람부실; 시클로포스파미드; 시타라빈; 다우노루비신; 도세탁셀; 독시플루리딘; 독소루비신; 에피루비신; 에포틸론; 에토포시드; 플루오로우라실; 겐시타빈; 히드록시우레아; 이다루비신; 이마티니브; 메클로레타민; 메르캅토프린; 메토티렉세이트; 미톡산트론; 옥살리플라틴; 파클리탁셀; 페펙트렉시드; 테니포시드; 티오구아닌; 발루비신; 빈블라스틴; 빈크리스틴; 빈데신 및 비노렐빈을 포함하는 임의의 화합물 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.

[0019] 실시예들 중 일부에서, 본 발명은 또한 난소암 세포의 성장을 억제하고, 난소암 전이 발달을 억제하기 위한 방법을 제공한다. 이러한 방법들에서, 인간 프로락틴 수용체 길항제를 단독으로든지 화학치료 약물과 함께 난소암 환자에게 투여한다.

[0020] 난소암 치료와 난소암 전이 발달 억제에 유용한 인간 프로락틴 수용체 길항제는 129번째 위치에서의 글리신이, 예를 들어 아르기닌 등 다른 아미노산으로 치환된 길항제를 포함한다. 상기 방법에서 유용한 다른 인간 프로락틴 수용체 길항제는, 129번째 위치에서의 글리신이 발린, 류신, 이소류신, 세린, 쓰레오닌, 프롤린, 티로신, 시스테인, 메티오닌, 아르기닌, 히스티딘, 트립토판, 페닐알라닌, 리신, 아스파라긴, 글루타민, 아스파르트산 또는 글루탐산과 같은 임의의 아미노산으로 치환된 길항제를 포함한다.

[0021] 본 발명의 인간 프로락틴 수용체 길항제는 난소암 치료 방법에 유용한 화학치료제와 함께 사용 가능한데, 화학치료제로는 올-트랜스(all-trans) 레티노산; 아자시티딘; 아자티오프린; 블레오미신; 카르보플라틴; 카페시타빈; 시스플라틴; 클로람부실; 시클로포스파미드; 시타라빈; 다우노루비신; 도세탁셀; 독시플루리딘; 독소루비신; 에피루비신; 에포틸론; 에토포시드; 플루오로우라실; 겐시타빈; 히드록시우레아; 이다루비신; 이마티니브; 메클로레타민; 메르캅토프린; 메토티렉세이트; 미톡산트론; 옥살리플라틴; 파클리탁셀; 페펙트렉시드; 테니포시드; 티오구아닌; 발루비신; 빈블라스틴; 빈크리스틴; 빈데신 및 비노렐빈을 포함하지만, 이들에만 한정되지 않는 임의의 화합물 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.

발명의 효과

[0022] 프로락틴 수용체 길항제는, 비경구 투여, 피하 투여, 복막내 투여, 정맥내 투여, 림프관내 투여, 척추강내 투여, 심실내 투여 또는 폐내 투여를 포함하는 투여의 다양한 경로에 의해 환자에게 전달될 수 있지만, 이러한 예에 한정되지는 않는다. 본 발명의 방법들에서, 프로락틴 수용체 길항제는 유방 암종의 절제 전 및/또는 이후에 투여될 수 있다.

[0023] 또한, 본 발명은 환자의 체내 암 세포들을 위치 결정하고 전이를 식별하기 위한 방법을 제공한다. 이를 달성하기 위해, 방사성 동위원소, 형광 색소 또는 다른 라벨링된 약제에 접합된 프로락틴 수용체 길항제는 환자에게 투여되며, 이에 따라 환자는 길항제가 위치하는 구역들을 식별하는 검사를 받는다. 접합된 프로락틴 수용체를 위치 결정하는 데 사용될 수 있는 검사로는, 컴퓨터 토모그래피 스캐닝 검사, 컴퓨터 토모그래피 스캐닝 검사, 자기 공명 이미징 및 핵 자기 공명 이미징이 있다.

도면의 간단한 설명

- [0024] 도 1은 삼중 음성 유방암 세포를 프로락틴 수용체 길항제 G129R로 치료하여 ALDH1 활성이 감소함을 도시한 도면이다.
- 도 2는 HER2 Vneu 유방 종양을 갖는 쥐를 프로락틴 수용체 길항제 G129R로 치료하여 종양 세포의 ALDH1 활성이 저감되는 것을 도시한 도면이다.
- 도 3은 HER2 Vneu 유방암 세포를 프로락틴 수용체 길항제 G129R로 치료하여 ALDH1 활성이 감소하였음을 도시한 도면이다.
- 도 4는 프로락틴 수용체 길항제 G129R이 HER2 Vneu 유방 종양이 있는 포유동물의 전이 발달을 억제하는 것을 도시한 도면이다.
- 도 5는 프로락틴 수용체 길항제 G129R이 포유동물의 HER2 Vneu 종양의 성장을 억제하는 것을 도시한 도면이다.
- 도 6은 프로락틴 수용체 길항제 G129R을 이용한 치료에 의해 포유동물의 일차 및 이차 종양의 HER2 Vneu 단백질의 인산화가 억제되는 것을 도시한 도면이다.
- 도 7은 프로락틴 수용체 길항제 G129R을 이용한 치료에 대한 생체내 HER2 종양의 투여량 의존형 반응을 도시한 도면이다.
- 도 8은 프로락틴 수용체 길항제 G129R을 이용한 치료에 대한 생체내 HER2종양의 시간 의존형 반응을 도시한 도면이다.
- 도 9는 인간 프로락틴의 아미노산 서열을 도시한 도면이다.
- 도 10은 인간 난소암 세포 성장 억제에 있어서의 프로락틴 길항제 G129R와 도세탁셀 (G129R+도세탁셀)의 시너지 효과. A. 독성 데이터. B. 종양 성장에 대한 (G129R+ 도세탁셀) 조합의 영향. C. 종양 전이에 대한 (G129R+ 도세탁셀) 조합의 영향을 도시한 도면이다.
- 도 11은 쥐 난소암 세포 성장 억제에 있어서의 프로락틴 길항제 G129R와 도세탁셀 (G129R+도세탁셀)의 시너지 효과. A. 독성 데이터. B. 종양 성장에 대한 (G129R+ 도세탁셀) 조합의 영향. C. 종양 전이에 대한 (G129R+ 도세탁셀) 조합의 영향을 도시한 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0025] 인간 프로락틴에 대한 아미노산 서열은 도 9에 도시되어 있다. 본 명세서에서 “프로락틴(prolactin, PRL)” 이라는 용어는 프로락틴 호르몬의 인간 형태 및 비인간 형태를 가리킨다 (이하의 문헌들을 참조: Cooke 등, *J.Biol.Chem.*, 256:4007(1981);Cooke 등, *J.Biol.Chem.*, 225:6502(1980);Kohmoto 등, *Eur.J.Biochem.*, 138:227(1984);Tsubokawa 등, *Int.J.Peptide Protein Res.*, 25:442(1985);Bondar 등, GenBank Accession No. #X63235 (1991); Sasavage 등, *J.Biol.Chem.* 257:678(1982);Miller 등, *Endocrinol.* 107:851(1980);Li 등, *Arch.Biochem.Biophys.* 141:705(1970);Li, *Int.J.Peptide Protein Res.*, 8:205(1976);Martinant 등, *Biochim.Biophys.Acta*, 1077:339(1991);Lehrman 등, *Int.J.Peptide Protein Res.*, 31:544(1988);Li 등, *Int.J.Peptide Protein Res.*, 33:67(1989);Hanks 등, *J.Mol.Endocrinol.*, 2:21(1989);Watahiki 등, *J.Biol.Chem.*, 264:5535(1989);Karatzas 등, *Nucl.Acids Res.*, 18:3071(1990);Yasuda 등, *Gen.Comp.Endocrinol.*, 80:363(1990);Noso 등, *Int.J.Peptide Protein Res.*, 39:250;Buckbinder 등, *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, 90:3820(1993);Takahashi 등, *JMol.Endocrinol.*, 5:281;Yamaguchi 등, *J.Biol.Chem.*, 263:9113(1988);Rentler-Delrue 등, *DNA*, 8:261;Yasuda 등, *Gen.Comp.Endocrinol.*, 66:280(1987);Chang 등, GenBank Ace. No. #X61049 (1991); Chang 등, GenBank Acc. No. #X61052 (1991); Yasuda 등, *Arch.Biochem.Biophys.*, 244:528(1986);Kuwana 등, *Agric.Biol.Chem.*, 52:1033(1988);Song 등, *Eur.J.Biochem.*, 172:279(1988);Mercier 등, *DNA* 8:119(1989)).
- [0026] “프로락틴 수용체 길항제” 라는 용어는 프로락틴 신호 전달 경로에 간섭하는 프로락틴의 형태를 가리킨다. 바람직한 프로락틴 수용체 길항제는 적어도 하나의 아미노산이 삽입, 결실, 및/또는 치환에 의해 자신의 자연 발생 서열로부터 변경되는 프로락틴을 포함한다. G129R이라는 용어는, 예를 들어 도 9에 도시되어 있듯이, 129번째 위치에서의 글리신이 아르기닌으로 치환되는 프로락틴 수용체 길항제를 가리킨다.
- [0027] 프로락틴 수용체 길항제가 자신의 수용체에서 PRL의 작용에 길항하는 능력은, PRL에 의해 매개되는 영향을 억제

하는 변이체의 능력으로서 정의한다. 프로락틴 수용체 길항제는, 그 전체 내용이 본 명세서에 참고로 인용되는 미국 특허출원 제2005-0271626호에 개시된 길항제를 포함한다.

- [0028] 프로락틴 수용체 길항제는 PRL과 PRL 변이체 모두가 존재하는 경우 PRL이 자신의 수용체를 통해 작용하는 능력을 차단하는 프로락틴 변이체(“PRL 변이체”)의 능력을 결정함으로써 식별될 수 있다. 자신의 수용체를 통해 작용하는 PRL의 능력은 세포 증식의 변화를 모니터링하거나, MAP-키나아제 및 HER2/neu 신호 전달 경로에서 하향 표적들을 인산화/활성화함으로써 측정될 수 있다.
- [0029] 본 발명의 방법들에서는, 129번째 위치에서의 글리신 잔기가 다른 아미노산으로 치환된 프로락틴 변이체를 사용할 수 있다. G129* - 여기서 *는 글리신이 아닌 자연 발생하는 아미노산 또는 합성 아미노산임 - 로 간단히 표현되는 치환은, 자연 발생 서열의 유일한 변이 또는 여러 개의 변경들(다른 아미노산들의 삽입, 결실, 및/또는 치환을 포함함) 중 하나일 수 있다. 치환된 아미노산은, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 페닐알라닌, 프롤린, 메티오닌 등의 중성 극성 아미노산; 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인, 트립토판, 아스파라긴, 글루타민 등의 중성 비극성 아미노산; 아스파르트산 또는 글루타민산과 같은 산성 아미노산 등의 아스파라긴산; 및 아르기닌, 히스티딘 또는 리신 등의 염기성 아미노산일 수 있다. 본 발명의 바람직한 실시형태들에서, hPRL의 129번째 위치에서의 글리신은 발린, 류신, 이소류신, 세린, 트레오닌, 프롤린, 티로신, 시스테인, 메티오닌, 아르기닌, 히스티딘, 트립토판, 페닐알라닌, 리신, 아스파라긴, 글루타민, 아스파르트산 또는 글루타민산으로 치환될 수 있다. 본 발명의 일 실시형태에서, 상기 치환은 129번째 위치에서의 글리신을 아르기닌으로 치환하는 것(G129R)이다. 다른 일 실시형태에서, 본 발명은 129번째 위치에서의 글리신이 결실된 프로락틴 변이체를 제공한다.
- [0030] 프로락틴 수용체 길항제는 다른 단백질에 융합 단백질의 일부로서 결합될 수 있다. 예를 들어, 프로락틴 수용체 길항제는, 예를 들어 미국 특허 제7,425,535호에 개시되어 있는 것들 중에서 선택되는 인터류킨 2, 녹색 형광 단백질, 베타-갈라토시다제 또는 포어 형성 단백질에 결합될 수 있다. 다른 일 실시형태에서, 프로락틴 수용체 길항제는 화합물에 접합된다. 이러한 화합물로는, 형광 염료, 방사성 동위원소 또는 세포 자연사(apoptosis)를 야기할 수 있는 소분자 등의 세포 독소가 있지만, 이러한 예에 한정되지는 않는다.
- [0031] 본 발명의 프로락틴 수용체 길항제는 화학적 합성 또는 DNA 재조합 기술에 의해 제조될 수 있다. 일반적으로, PRL의 cDNA는 표준 PCR 증폭 기술, 주형으로서 PRL(예를 들어, 뇌하수체 세포)을 생성하는 세포로부터 제조된 RNA 또는 cDNA, 및 알려져 있는 PRL 핵산 또는 아미노산 서열에 기초하여 설계된 올리고뉴클레오타이드 프라이머를 사용하여 제조될 수 있다. hPRL을 인코딩하는 cDNA를 준비하는 비제한적 예는 미국 특허 제7,115,556호(Wagner 등)에 개시되어 있다. 이어서, 변경을 PRL cDNA에 랜덤하게 또는 유도 돌연변이에 의해 도입할 수 있다.
- [0032] 프로락틴 수용체 길항제를 재조합 기술에 의해 생성하는 경우, PRL 변이체를 인코딩하는 핵산을 적절한 프로모터/인핸서 서열에 작동가능하게 연결된 발현 벡터 내에 도입할 수 있다. 발현 벡터는 전사 종결 부위, 폴리아데닐화 부위, 리보솜 결합 부위, 신호 서열 등을 포함하는 PRL 변이체의 발현을 보조하는 하나 이상의 요소를 더 포함해도 된다. 적절한 발현 시스템은 포유류 세포, 곤충 세포, 식물 세포, 효모 세포, 점균류, 및 형질전환 식물과 형질전환 동물을 비롯한 유기체를 포함한다. 적절한 발현 벡터로는, pHSV1 등의 헤르페스 단순 포진 바이러스성 벡터(Geller 등, *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 87:8950-8954(1990)), MFG 등의 레트로바이러스 벡터(Jaffee 등, *CancerRes.* 53:2221-2226(1993))와 특히 LN, LNSX, LNCX, LXSX 등의 몰로니(Moloney) 레트로바이러스 벡터(Miller and Rosman, *Biotechniques*, 7:980-989(1989)), MVA 등의 우두 바이러스 벡터(Sutter and Moss, *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 89:10847-10851(1992)), pJM17 등의 아데노바이러스 벡터(Ali 등, *GeneTherapy* 1:367-384(1994); Berker, *Biotechniques* 6:616-624(1988); Wandand Finer, *Nature Medicine* 2:714-716(1996)), AAV/neo 등의 아데노-관련 바이러스 벡터(Mura-Cacho 등, *J.Immunother.*, 11:231-237(1992)), 렌티바이러스 벡터(Zufferey 등, *Nature Biotechnology* 15:871-875(1997)), pCDNA3, pCDNA1(InVitrogen), pET11a, pET3a, pET11d, pET3d, pET22d, and pET12a(Novagen) 등의 플라스미드 벡터, pCDNA3, pCDNA1(InVitrogen) 등의 플라스미드 벡터, 플라스미드 AH5(SV40 기원과 아데노바이러스 메이저 레이트 프로모터(MLP)를 함유함), pRC/CMV(InVitrogen), pCMU II(Paabo 등, *EMBOJ.*, 5:1921-1927(1986)), pZipNeoSV(Cepko 등, *Cell*, 37:1053-1062(1984)), pSR.alpha.(DNAX, PaloAlto, Calif.), pBK-CMV, 및 p2Bac(InVitrogen) 등의 바큘로바이러스 발현 벡터(O'Reilly 등, *BACULOVIRUS EXPRESSION VECTORS*, OxfordUniversityPress(1995))가 있다.
- [0033] 이어서, 재조합 발현 시스템에서 생성되는 프로락틴 수용체 길항제는, 전기영동, 크로마토그래피(친화도 크로마토그래피를 포함함), 초미세여과(ultrafiltration)를 포함한 표준 기술들에 의해 정제될 수 있다. 프로락틴 수

용체 길항제는 방사성 동위원소 또는 형광 염료에 접합된 펩타이드로서 생성될 수 있다. 비오틴화된 또는 방사성으로 라벨링된 프로락틴 수용체 길항제는, 비오틴 또는 방사성 라벨의 존재 하에 SP6 전사 효소 및 토끼 망상 적혈구를 이용함으로써 SP6 프로모터의 조절을 받는 벡터 내에 변이체를 위한 유전자가 클로닝된 후 단백질이 생성되는 시험관내 전사/번역 시스템에서 합성될 수 있다. 시험관내 전사/번역을 위한 시스템은 QIAGEN에 의해 상업적으로 이용 가능하다. 대안으로, 방사성 라벨링된 아미노산, 형광 라벨링된 아미노산 또는 비오틴화된 아미노산의 존재 하에 성장하는 박테리아 세포 또는 포유류 세포에서 접합된 프로락틴 수용체 길항제를 생성할 수 있다. 당업자에게 널리 알려져 있는 라벨링된 단백질을 합성하기 위한 다른 방법들을 사용하여 방사성 동위원소, 형광 염료, 상자성 라벨 또는 비오틴에 접합된 프로락틴 수용체 길항제를 생성할 수도 있다.

- [0034] 본 발명은 프로락틴 수용체 길항제를 사용하여 삼중 음성 유방암 세포들 또는 HER2⁺ 유방암 세포들의 증식을 억제할 수 있는 방법 및 조성물을 제공한다. 일부 실시형태들에서, 생체 검사를 행하고 획득한 유방암 세포들을 암 세포들이 에스트로겐 수용체인 HER2⁺ 및/또는 프로게스테론 수용체를 발현하는지를 가시화하는 마커들로 염색함으로써, 유방암 환자를 진단하여 상기 환자의 유방암이 삼중 음성 유방암 아형 또는 HER2-양성 아형인지를 결정한다. 환자가 삼중 음성 유방암 세포들 또는 HER2⁺ 유방암 세포들을 갖고 있다고 결정되면, 프로락틴 수용체 길항제를 사용하여 환자를 치료한다.
- [0035] 치료를 위해 프로락틴 수용체 길항제의 유효량을 결정하기 위해, 투여량 반응 테스트 등의 표준 방법들을 사용할 수 있다. 이어서, 프로락틴 수용체 길항제로 환자를 매일 치료한다. 치료에 대한 환자의 반응을 모니터링할 수 있으며, 삼중 음성 유방암 세포들 또는 HER2-양성 세포들의 수의 감소는 치료에 있어서 양성 반응이다. 환자는 각 치료 후의 전반적인 개선 및 필요에 따라 후속 치료를 받아도 된다.
- [0036] 본 발명은 또한 환자 내 난소암 세포의 성장 억제 및/또는 환자 내 난소암 전이 발달 예방과 관리를 위해서 프로락틴 수용체 길항제를 사용할 수 있는 방법 및 조성물을 제공한다. 몇몇 본 난소암 치료 방법들에서는, 프로락틴 수용체 길항제를 예컨대, 도세탁셀 같은 화학치료제와 함께 사용할 수 있다.
- [0037] 상기 난소암 치료를 위해 프로락틴 수용체 길항제의 유효량을 결정하기 위해, 투여량 반응 테스트 등의 표준 방법들을 사용할 수 있다. 이어서, 상기 프로락틴 수용체 길항제로 난소암 환자를 매일 치료한다. 환자는 각 치료 후의 전반적인 개선 및 필요에 따라 후속 치료에 추가 투입될 수도 있다.
- [0038] 본 발명은 또한 환자 내 전신성 또는 상피성 암 세포 성장 억제 및/또는 환자 내 암 전이 발달 예방과 관리를 위해 프로락틴 수용체 길항제를 사용할 수 있는 방법 및 조성물을 제공한다. 이들 전신성 및 상피성 암은 백혈병, 림프종, 편평세포암종, 선암종 및 이행세포암종으로 이루어진 그룹으로부터 선택 가능하다. 몇몇 본 암 치료 방법들에서는, 프로락틴 수용체 길항제를 예컨대, 도세탁셀 같은 화학치료제와 함께 사용할 수 있다. 상기 암 치료를 위한 프로락틴 수용체 길항제의 유효량을 결정하기 위해, 투여량 반응 테스트 등의 표준 방법들을 사용할 수 있다. 이어서, 상기 프로락틴 수용체 길항제로 난소암 환자를 매일 치료한다. 환자는 각 치료 후의 전반적인 개선 및 필요에 따라 후속 치료에 추가 투입될 수도 있다.
- [0039] 본 발명은 또한 난소, 자궁 (자궁내막), 자궁경부 암들의 치료를 위해 프로락틴 수용체 길항제를 이용할 수 있는 방법 및 조성물을 제공한다. 치료를 위한 프로락틴 수용체 길항제의 유효량을 결정하려면, 투여량 반응 테스트 등의 표준 방법들을 사용할 수 있다. 환자는 또한 각 치료 후의 전반적인 개선 및 필요에 따라 후속 치료를 받아도 된다.
- [0040] 본 발명은 또한 전이 환자의 이차 종양 세포들을 박멸하기 위해 프로락틴 수용체 길항제를 사용하는 방법 및 조성물을 제공한다. 이러한 방법들에서, 유방암 수술 동안 환자의 종양으로부터 생체 검사를 행한다. 이어서, 생체 검사를 분석하여 환자의 암 아형이 삼중 음성인지 HER2-양성인지를 결정한다. 이어서, 환자는 수술로부터 회복될 수 있으며, 예를 들어 2주 동안 G129R 등의 프로락틴 수용체 길항제를 이용한 치료를 받을 수 있다. 1주 내지 2주 후에 환자는 추가로 수회의 치료를 받는다. 프로락틴 수용체 길항제를 이용한 치료는, 예를 들어 화학치료 및/또는 방사선 등의 다른 치료 방법과 함께 행할 수 있다.
- [0041] 본 발명은 또한 줄기 세포 유사 특성을 갖는 유방암 세포들을 박멸하는 데 프로락틴 수용체 길항제를 이용할 수 있는 방법 및 조성물을 제공한다. 일부 실시형태들에서, 환자는 전술한 바와 같이 프로락틴 수용체 길항제로 치료된다.
- [0042] 본 발명은 또한 환자의 줄기 세포 유사 특성을 갖는 유방암 세포들을 가시화하기 위해 프로락틴 수용체 길항제를 사용할 수 있는 방법 및 조성물을 제공한다. 일부 실시형태들에서는, 우선 프로락틴 수용체 길항제를 형광

염료 또는 방사성 동위원소 등의 검출가능 라벨과 접합한 후 환자에게 투여한다. 이어서, 당업계에 알려져 있는 임의의 검사들에 의해 환자 내의 길항제의 부위를 가지화한다. 이러한 검사로는, 예를 들어 컴퓨터 토모그래피 스캐닝 검사, 자기 공명 이미징 및 핵 자기 공명 이미징이 있다.

- [0043] 본 발명의 방법들에서, 프로락틴 수용체 길항제를 유방암의 치료에 적합한 다른 약제와 함께 순차적 또는 조합형 치료 요법으로 투여할 수 있다. 비제한적 예로서, 조합 요법에서 사용되는 추가 약제로는, 예를 들어 화학치료제, 헤르셉틴, 항안드로겐 및/또는 항에스트로겐, 타목시펜 등의 HER2/neu 신호 전달 경로를 비활성화하는 약제가 있다.
- [0044] 치료 적용을 위해, 본 발명의 조성물을 포유류, 바람직하게는 인간에게, 근육내 경로, 복강내 경로, 뇌척수내 경로, 피하 경로, 동맥내 경로, 활액내 경로, 척추강내 경로, 구강 경로, 국소 경로, 또는 흡입 경로에 의해 볼루스(bolus)로서 정맥내로 투여되거나 소정의 기간에 걸쳐 연속 주입에 의해 투여될 수 있는 투여 형태를 포함하여 약학적으로 허용 가능한 투여 형태로 투여한다. 또한, 본 발명의 조성물은 전신성 효과뿐만 아니라 국소적 효과를 나타내도록 중앙내 경로, 중앙주위 경로, 병변내 경로 또는 병변 주위 경로에 의해 적절히 투여된다. 복강내 경로는 다양한 암과 전이 병변의 치료에 특히 유용할 것으로 예상된다.
- [0045] 본 발명의 조성물은 약학적으로 유용한 조성물들을 제조하는 알려져 있는 방법들에 따라 제조될 수 있으며, 이에 따라 조성물의 약제들은 약학적으로 허용 가능한 운반 비히클(carrier vehicle)과 함께 혼합물에서 조합된다. 예를 들어, 인간 혈청 알부민 등의 다른 인간 단백질을 포함하는 적절한 비히클 및 이들의 제조는, 예를 들어 REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES(16th ed., Osol, A. 등, Mack, Easton Pa. (1980))에 개시되어 있다. 효과적인 투여에 적합한 약학적으로 허용가능한 조성물을 형성하기 위해, 이러한 조성물들은 본 발명의 단백질들 중 하나 이상의 유효량을 운반 비히클의 적정량과 함께 함유한다. 더욱 구체적으로, 유효 투여량(양)은 HER2⁺ 유방암 세포들 또는 삼중 음성 유방암 세포들의 증식을 억제하는 데 요구되는 프로락틴 수용체 길항제의 양을 가리킨다. 유효량은 실시예 8에서 설명한 투여량-반응 및 시간-반응 측정에 의해 결정될 수 있다. 치료학적으로 유효한 양을 구체적으로 결정하는 것은 약의 효능과 독성 등의 이러한 인자들에 의존할 것이다. 독성은 당업계에 널리 알려져 있는 방법들을 사용하여 결정될 수 있으며 전술한 문헌들에 개시되어 있다. 효능은 후술하는 실시예들에서의 방법들과 함께 동일한 지침을 이용하여 결정될 수 있다. 따라서, 약학적으로 유효한 양은 임상시에 의해 독물학상으로 허용 가능하지만 여전히 효능있는 것으로 여겨지는 양이다. 효능은, 예를 들어 표적 중앙 질량의 감소에 의해 측정될 수 있다.
- [0046] 유방암, 난소암, 자궁 (자궁내막)암 또는 자궁경부암이 있는 환자는 프로락틴 수용체 길항제 조성물로 치료될 수 있다. 이어서, 환자에서 암 세포들의 ALDH1 활성의 감소를 모니터링함으로써 줄기세포 유사 특성을 갖는 암 세포수의 감소에 대하여 환자를 모니터링할 수 있다. 이어서, 줄기세포 유사 특성을 갖는 암 세포들의 추가 박멸을 위해 프로락틴 수용체 길항제를 이용한 치료 주기를 반복할 수 있다. 본 발명의 일 실시형태에서, 환자는 1회 내지 6회 치료를 받도록 처방받을 수 있으며, 각 치료는 1 내지 10일 걸린다.
- [0047] 프로락틴 수용체 길항제는 줄기세포 유사 특성을 갖는 유방암 세포들, 난소암 세포들, 자궁 (자궁내막)암 세포들 또는 자궁경부암 세포들을 가지화하기 위해 사용될 수 있다. 일 실시형태에서, 프로락틴 수용체 길항제는 녹색 형광 단백질과 융합되어 투여될 수 있다. 다른 실시형태들에서, 프로락틴 수용체 길항제는 형광 염료 또는 방사성 동위원소와 접합되며, 환자에게 투여된다. 이어서, 환자의 체내에서의 프로락틴 수용체 길항제의 위치 결정을 모니터링한다.
- [0048] 본 발명에 따른 사용을 위한 조성물은 생리학적으로 허용가능한 운반체 또는 부형제를 사용하는 하나 이상의 종래의 방식으로 제형화될 수 있다. 따라서, 조성물은 흡입(inhalation) 또는 (입 또는 코를 통한) 흡입(insufflation) 또는 입, 구강, 비경구 또는 직장 투여에 의해 투여를 위해 제형화될 수 있다.
- [0049] 구강 투여를 위한 제제를 적절히 제형화하여 활성 화합물을 서방형으로 투여할 수 있다. 구강 투여를 위해 조성물은 종래의 방식으로 제형화된 정제 또는 로젠지(lozenge)의 형태를 취할 수 있다. 흡입에 의한 투여를 위해 본 발명에 따른 조성물은, 예를 들어 디클로로디플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소 또는 기타 적절한 가스 등의 적합한 분사제를 이용하여 가압 팩 또는 분무기로부터의 에어로졸 스프레이 분사 형태로 편리하게 전달된다. 가압 에어로졸의 경우에, 투여량 단위는 밸브를 설치하여 계측량을 전달함으로써 결정될 수 있다. 예를 들어, 흡입기 또는 취입기에서 사용하기 위한 젤라틴의 캡슐 및 카트리지는 혼합물 및 락토스 또는 전분 등의 적합한 분말 베이스의 분말 혼합물을 함유하여 제형화될 수 있다.
- [0050] 본 발명의 조성물은, 예를 들어 볼루스 주입 또는 연속 투입 등의 주입에 의한 비경구 투여용으로 제형화될 수

있다. 주입을 위한 제제는, 예를 들어 방부제를 첨가하여 앰플 또는 멀티-도즈 컨테이너에서의 단위 투여량 형태로 제시될 수 있다. 조성물들은 오일성 또는 수성 비히클 중의 현탁액, 용액 또는 유제의 형태를 취할 수 있으며, 현탁제, 안정화제, 및/또는 분산제 등의 제형제를 함유할 수 있다. 대안으로, 활성 성분은, 사용 전에, 예를 들어 발열물질이 존재하지 않은 멸균수 등의 적합한 비히클과 함께 구성되도록 분말 형태로 되어도 된다. 또한 조성물은, 예를 들어 코코아 버터 또는 기타 글리세리드 등의 중래의 좌약 베이스를 함유하는 좌약, 또는 정체관장 등의 직장 투여용 조성물들 내에 제형화되어도 된다. 이전에 설명한 제제들에 더하여, 본 발명의 조성물들도 데포 조성물로서 제형화될 수 있다. 이러한 장시간 지속되는 제제들은 주입 (예를 들어, 피하 또는 근육내 주입)에 의해, 또는 근육내 주사에 의해 투여될 수 있다. 따라서, 예를 들어 프로락틴 변이체 및/또는 HER2/neu 신호 전달 경로를 비활성화하는 약제는, (예를 들어, 허용가능한 오일 내의 유제로서의) 적절한 고분자 또는 소수성 물질 또는 이온 교환 수지와 함께, 또는 예를 들어 난용성 염 등의 난용성 유도체로서 제형화될 수 있다.

[0051] 조성물은, 필요하다면, 활성 성분을 함유하는 하나 이상의 단위 투여 형태를 함유할 수 있는 팩이나 디스펜서 장치에 제공될 수 있다. 팩은, 예를 들어 블리스터 팩 등의 금속 또는 플라스틱 포일을 포함할 수 있다. 팩 또는 디스펜서 장치에는 투여 지침서가 동반될 수도 있다.

[0052] 또한, 본 발명의 조성물들은 실험 대상에 의해 제공되는 면역 반응 및 기타 제거 기작으로부터 조성물을 보호함으로써 긴 제거율(clearance rate)을 갖고 이에 따라 생체이용률을 높이도록 개질될 수 있다. 예를 들어, PEG화된 화합물들은 감소된 면역원성 및 항원성을 나타내며, 미접합 단백질보다 상당히 오랫동안 혈류에서 순환한다. PEG(폴리에틸렌 글리콜) 고분자 사슬은, Roberts 등, *Adv. Drug Del. Rev.*, 54(4):459-76(2002)에서 설명한 PEG화 검사 등의 당업계에 알려져 있는 방법들에 의해 프로락틴 변이체/프로락틴 수용체 길항제에 부착될 수 있다. 그러나, 본 발명의 치료용 조성물의 반감기를 연장할 수 있는 기타 약제들은 당업자에게 알려져 있으며 본 명세서에서 고려하는 것이다.

[0053] 실제로, 본 명세서에서 설명하는 조성물들은 히드록시에틸스타치(hydroxyethylstarch, HES)로 개질될 수도 있다. HES는 자연 발생 아밀로펙틴의 유도체이며 체내 알파-아말라아제에 의해 열화된다. HES-단백질 접합체들을 생성하기 위한 방법들은 당업계에 알려져 있다. 예를 들어, EP 1398322, DE 2616086 및 DE 2646854를 참조한다.

[0054] 본 발명에서는, 제거 시간을 연장하고 본 발명의 조성물의 반감기를 증가시키도록 프로락틴 길항제를 혈청 알부민에 결합하는 약제들도 고려한다. 이러한 약제들은 본 명세서에 참고로 인용되는 미국 특허 공개공보 제2007-0160534호에 개시되어 있는 한편, 본 발명의 프로락틴 수용체 길항제에 접합될 수 있는 혈청 알부민에 대한 친화도를 갖는 다른 펩타이드 리간드도 본 명세서에서 사용하기에 적합한 것으로 고려된다.

[0055] 단지 예시를 위해 제공되는 이하의 실시예들을 참조하여 본 발명을 추가로 설명한다. 본 발명은 이러한 실시예들에 한정되지 않으며 오히려 본 명세서에서 제시되는 교시로부터 자명하게 되는 모든 변형예를 포함한다.

[0056] **실시예 1**

[0057] **인간 프로락틴 길항제 G129R의 제조**

[0058] 역전사(RT)에 이어 폴리머라아제 연쇄 반응(PCR)을 이용하여 인간 PRL을 성공적으로 클로닝하였다. 간략하게, 인간 뇌하수체 폴리A RNA(CloneTech, Inc. Palo Alto, Calif.)를 주형으로서 사용하였다. hPRL cDNA의 정지 코돈(TAA)으로부터의 2개의 염기로 시작하여 hPRL 안티센스 프라이머를 설계하였으며(5'-GCTTAGCAGTTGTTGTGTG-3; 서열번호 1), ATG로부터 센스 프라이머를 설계하였다(5'-ATGAACATCAAAGGAT-3; 서열번호 2). Perkin-Elmer Cetus, Inc. (Norwalk, Conn.)의 키트를 사용하여 RT/PCR을 실시하였다. 그 결과, 변형된 T7 DNA 폴리머라아제(Sequenase, United States Biochemical)를 사용하는 디데옥시 연쇄-종결법에 의해 hPRL의 뉴클레오티드 서열을 결정하였으며, 21번째 코돈에서의 침묵 돌연변이(CTG -> CTC)를 야기하는 하나의 염기 차이를 제외하고는 GenBank에 보고된 것과 동일하다는 것으로 나타났다. pUCIG- Met 발현 벡터의 준비를 비롯한 클로닝 공정의 개략적인 설명은, 전체 내용이 본 명세서에 참고로 인용되는 미국 특허출원 공개공보 제2003-0022833호(Wagner 등)에 요약되어 있다.

[0059] 복제 기원인 M13 F1 및 hPRL cDNA를 함유하는 모체 플라스미드를 대장균(CJ236)으로 형질전환하였다. 헬퍼 박테리오페이지 M13k07을 사용하여, 우리딘을 함유하는 단일 가닥 플라스미드 DNA를 형질전환된 CJ236 박테리아로부터 분리하였다. G129R 돌연변이를 유도하는 서열을 함유하는 6 pmol의 올리고뉴클레오티드를 5분 동안 70°C

까지 가열한 후, 서서히 냉각함으로써 어닐링 완충제(200 mM Tris-HCl, 20 mM MgCl.sub.2, 100 mM NaCl)에서 0.2 pmol의 단일 가닥 DNA로 어닐링하였다. T4 DNA 폴리머라아제에 의해 촉매되는 단일 가닥 DNA를 주형으로서 사용하여, DNA의 상보 가닥의 합성에 G129R 돌연변이를 인코딩하는 올리고뉴클레오티드(5'-CGGCTCTAGAGAGGATGGAGCT-3; 서열번호 3)를 사용하였다. 합성 후에, 이중 가닥 DNA를 사용하여 대장균(DH5a)을 형질전환하였다. DNA 뉴클레오티드 서열분석에 의한 hPRL-G129R에 대하여 개별적인 클론들을 분리하고 검사하였다.

[0060] hPRL과 G129R 인코딩 핵산들을 각각 cDNA들의 전사가 쥐 메탈로티오닌 인헨서/프로모터 서열 및 bGH 폴리A 첨가 신호에 의해 제어되는 포유류 세포 발현 벡터 내에 삽입하였다(Chen 등, *J.Biol.Chem.*, 266:2252-2258(1991); Chen 등, *Endocrinol.*, 129:1402-1408(1991); Chen 등, *Mol.Endocrinol.*, 5:1845-1852(1991); Chen 등, *J.Biol.Chem.*, 269:15892-15897(1994)). hPRL과 hPRLA를 생성하는 안정적인 쥐 L 세포 라인들을 확립하기 위해, 쥐 L 세포들(티미딘 키나아제-음성(TK) 및 아테닌 포스포리보실 전이효소-음성(APRT) 세포)을 시험관내 발현 시스템으로서 선택하였다. hPRL을 발현하는 안정적인 세포 라인들(양성 대조군으로서 사용될 것임) 및 인간 프로락틴 길항제(약 5 내지 10 mg/1/24 h/수백만 세포)를 제조하였다.

[0061] Chen 등, *J. Biol. Chem.* 269:15892-15897 (1994)에 개시되어 있는 기술들을 이용하여 조건부 세포 배양 배지로부터 hPRL 및 인간 프로락틴 길항제를 농축할 뿐만 아니라 막 초미세여과를 이용하여 부분적 정제도 행하였다. 분리는 막의 포어 크기 및 상대적 분자 크기에 기초한다. Amicon, Inc.(Northborough, Mass.)로부터 초미세여과 막들을 구입하였다. YM10 및 YM100인 2가지 유형의 막을 사용하였다. 먼저, 배양 배지로부터 많은 불순물을 제거하기 위해 20 psia의 막 전위 압력 하에서 Amicon YM100으로 여과된 200 ml의 교반 세포를 사용하였다. YM10 막을 사용하여 용액의 부피를 줄이고 이에 따라 단백질을 농축시키는 제2 여과 프로토콜에 따라 투과물(hPRL의 회수율: >90%)을 적용하였다. Diagnostic Products Corp.(로스앤젤레스, 캘리포니아)로부터의 면역방사 측정(IRMA) 키트를 이용하여 hPRL 또는 인간 프로락틴 길항제의 농도를 결정하였다.

[0062]

[0063] 실시예 2

[0064] 프로락틴 수용체 길항제 G129R을 이용하여 삼중 음성 유방암 세포를 치료함으로써 세포들의 ALDH1 활성이 감소한다.

[0065] 인간 삼중 음성 유방암 세포들 MDA-MB-231 및 대조 유방암 세포 T-47D를 1×10^5 세포수/ml로 6-웰 플레이트에 배치하였으며, 24 시간 동안 성장 배지에서 부착된 후 2 시간 동안 무혈청 배지 고갈 과정을 겪게 하였다. 이어서, 3일 동안 프로락틴(100ng/ml) 또는 G129R(10ug/ml)의 존재 또는 부재(대조군) 하에 세포들을 배양하였다. 이어서, 세포들을 수집하고, ALDEFUOR^R 형광 분석(StemCell Technologies)에 의해 ALDH-1의 활성(이 효소는 암 줄기 세포를 위한 마커이다. Ginestier 등, *Cell Stem Cell* 2007(1):555-567참조)를 측정하였다. 도 1에 도시한 바와 같이, 프로락틴 길항제 G129R을 이용한 치료에 의해 삼중 음성 유방암 세포들의 ALDH1 활성을 상당히 줄였다.

[0066] 실시예 3

[0067] 프로락틴 수용체 길항제를 이용한 치료에 의해 종양 세포들의 ALDH1 활성이 감소한다.

[0068] MMTV/neu 유전자 변형 쥐는 쥐 포유류 종양 바이러스(MMTV) 프로모터에 의해 야기되는 활성화된 c-neu 종양 유전자를 갖고 있으며, 포유류 HER2⁺ 선암을 발달시킨다(Muller 등, 1988. *Cell*. 54(1):105-15). 5일 (n=2) 또는 10일 (n=3) 동안 G129R 또는 PBS (n=4)를 이용하여 포유류 종양을 갖고 있는 MMTV/neu 유전자 변형 쥐를 치료하였다(10mg/kg의 복막내 투여). 치료 말기에 종양들을 분리하고, 단일 세포 현탁액으로 분해하고, ALDH1 활성을 비교하였다. 도 2에서 알 수 있듯이, G129R로 치료한 동물들로부터 분리한 암 세포들에서 ALDH1 활성이 상당히 줄어들었다. 실제로, 10일 동안 G129R에 의해 치료된 암 세포들에서는 어떠한 ALDH1 활성도 검출되지 않았다.

[0069] 실시예 4

[0070] 프로락틴 수용체 길항제를 이용한 암 세포 치료에 의해 ALDH1 활성이 감소한다.

[0071] MMTV/neu 유전자 변형 쥐로부터 일차 포유류 종양 세포들을 분리하여 24, 48, 72, 또는 96 시간 동안 G129R

(10ug/ml) 또는 PRL (100ng/ml)의 존재 하에 배양하였다. 구체적으로, MMTV/neu 유전자 변형 쥐로부터 추출한 종양을 단일 세포 현탁액으로 분해하여 12-웰 배양 플레이트에 1×10^5 세포수/ml로 배치하였다. 세포들을 성장 배지에서 24 시간 동안 부착할 수 있게 하였으며 이어서 2 시간 동안 무혈청 배지 고갈을 겪게 하였다. 이어서, 세포들을 프로락틴(100 ng/ml) 또는 G129R(10 ug/ml)의 부재(대조군) 또는 존재 하에 치료하였다. 24, 48, 72, 또는 96 시간의 치료 이후에 세포들을 수집하고, ALDH-1 활성을 측정하였다. 도 3에서 알 수 있듯이, G129R에 노출된 일차 MMTV/neu 종양 세포들의 시간 경과에 따른 연구에 의하면, 최종 활성도가 대조 레벨보다 상당히 낮으면서 ALDH1 활성이 꾸준히 감소하였다(96 시간 시점에 92.3%의 감소).

[0072]

실시예 5

[0073]

프로락틴 길항제가 포유동물의 전이 발달을 억제한다.

[0074]

[0075]

MMTV/neu 유전자 변형 쥐로부터 일차 유방 종양들을 추출하였다. 이어서, 40 일 이상 동안 PBS 또는 G129R (200ug/day의 복막내 투여)로 쥐를 치료하였다. 이차 종양(재발)이 소정의 크기까지 성장한 경우, 쥐를 희생시키고 폐를 적출하여 보우인(Bouin) 고정제에 고정시켜 변이를 관찰하였다. 도 4는 G129R 치료군 및 대조군에서 폐 전이가 있는 동물들의 비율(%)을 도시한다(카이제곱 테스트(Chi-squared test)를 이용하여 유의성을 결정하였다). 도 4에서 알 수 있듯이, G129R 치료군에서의 폐 전이가 있는 동물들의 비율(%)은 미치료 대조군에 비해 상당히 감소하였다 ** (P<0.05).

[0076]

실시예 6

[0077]

프로락틴 길항제가 포유류의 종양 성장을 억제한다.

[0078]

[0079]

[0080]

2회의 개별적인 실험에 있어서, 암컷 유전자 변형 쥐로부터 종양들을 분리하고, 균등한 크기의 조각들로 잘라 동일한 연령의 암컷 유전자 변형 이식 쥐에 이식하였다. 이식 후 10일 후에, 쥐들을 대조군 (n=3-4) 또는 G129R 치료군 (n=4, 10mg/kg의 매일 복막내 투여)으로 랜덤하게 분류하였다. 이어서, 쥐들을 50 일 동안 매일 치료하였으며, 대조군과 치료군에 대한 종양 부피들을 모니터링하였다. 도 5에 도시한 바와 같이, 최종 종양 부피는 대조군에 비해 2개의 G129R 치료군에서 67.1% (± 9.18 SEM) 또는 71.5% (± 14.9 SEM)만큼 작았다. 도 5에 도시한 바와 같이, 최종 종양 무게는 대조군에 비해 G129R 치료군에서 61.3% (± 18.4 SEM) 또는 62.5% (± 7.07 SEM)만큼 감소하였다.

[0081]

실시예 7

[0082]

프로락틴 길항제를 이용한 치료에 의해 포유류에서 일차 종양 및 이차 종양에서의 HER2⁺/neu단백질의 인산화가 억제된다.

[0083]

[0084]

[0085]

5일 동안 매일 MMTV/neu 쥐(일차 종양과 이차 종양을 앓고 있음)를 PBS(대조군) 또는 G129R을 200 ug 양으로 치료하였다. 5번째 치료 24 시간 후에 일차 종양 및 이차 종양을 추출하고 웨스턴 블롯팅(western blotting)을 위해 처리하였다. 도 6에 도시한 바와 같이, G129R로 치료한 동물들로부터 분리한 일차 종양에서는 인산화된 Neu 단백질이 상당히 감소하였다. G129R로 치료한 동물들로부터의 이차 종양에서도 neu 단백질의 인산화가 상당히 감소하였다. 그러나, G129R로 치료한 쥐의 이차 종양에서는 일부 인산화된 neu 단백질이 여전히 검출되었으며(도 6 참조), 이는 프로락틴 길항제 G129R을 이용한 치료가 일차 종양 및 이차 종양에 상당한 영향을 끼칠 수 있음을 시사한다.

[0086]

실시예 8

[0087]

[0088] **프로락틴 길항제 G129R을 이용한 치료에 대한 생체내 HER+ 종양의 투여량 의존 반응 및 프로락틴 길항제 G129R을 이용한 치료에 대한 생체내 HER+ 종양의 시간 의존형 반응**

[0089]

[0090] 생체내 HER⁺/neu인산화를 감소시키는 데 필요한 G129R의 최소 투여량을 결정하기 위해, MMTV/neu 유전자 변형 쥐의 종양으로부터 생체 검사물을 분리하여 자가 제어 기준선으로서 사용하였다. 이어서, 매일 50, 100, 200 또는 400 ug의 농도(2.5 mg/kg/day, 5 mg/kg/day; 10 mg/kg/day; 또는 20 mg/kg/day의 G129R)로 PBS 또는 G129R로 10일 동안 쥐를 치료하였다. 이어서, 종양들을 수집하고 웨스턴 블롯팅을 위해 처리하였다. 이어서, 인산화된 HER2/neu 단백질을 검출하는 항체 및 겔 로딩 및 웨스턴 블롯팅 전달을 위한 대조군으로서 베타-투블린에 대한 항체를 이용하여 웨스턴 블롯들을 탐침하였다. 도 7로부터 알 수 있듯이, 5 mg/kg/day만큼 적은 G129R 투여량에서 HER Vneu의 인산화에 대한 G129R의 억제 효과를 관찰하였다.

[0091] G129R 치료의 최적의 기간을 결정하기 위해, MMTV 종양이 있는 쥐를 5일 또는 10일 동안 200 ug의 G129R로 치료하였다. 최종 치료 24시간 후에 종양들을 추출하였으며 웨스턴 블롯팅을 위해 처리하였다. 도 8에서 알 수 있듯이, G129R로 5 일간 치료(10mg/kg/day의 복막내 투여)를 받는 14 마리의 쥐 중 5 마리 쥐로부터의 종양들은 인산화된 HER2/neu 단백질이 대조군의 쥐 (n=8)에 비해 급격히 감소하였음을 보여주었으며, 4 마리의 쥐는 인산화된 HER2/neu 단백질의 상당한 감소로 적절히 반응하였으며, 5 마리의 쥐는 반응하지 않았다. 도 8에서 또한 알 수 있듯이, G129R로 10 일간 치료(10mg/kg/day의 복막내 투여)를 받는 10 마리의 쥐 중 3 마리 쥐로부터의 종양들이 상당한 반응을 보였으며, 이러한 종양들에서는 인산화된 HER2/neu가 검출되지 않았고, 5 마리의 쥐는 적절히 반응하였으며 2 마리의 쥐는 반응하지 않았다.

[0092]

[0093] **실시예 9**

[0094] **생체내 인간 난소암 세포 성장 억제에 있어서의 프로락틴 길항제 G129R와 도세탁셀의 시너지 효과.**

[0095] 1일차에 SCID 쥐 (T 및 B 림프구가 모두 없는 실험실 실험용 동물)에 백만개 인간 난소암 세포 SKOV3를 복막내 주입했다.

[0096] 8일차에 시작해서 도 10에서 보여지듯이, 이후 쥐에 G129R 100ug을 매일, 도세탁셀 (DCT) 25ug을 매주, 또는 둘 다 (G129R 100ug 매일, 그리고 DCT 25ug 매주) 처치한 반면, 대조군에는 만니톨 100ug/일을 주었다. 모든 쥐를 38일 동안 처치하고 나서 희생시켰으며, 모든 실험군으로부터 종양 무게를 재었다.

[0097] 도 10(B)에서 보이는 것처럼, G129R 치료로 인해 대조군에 비해서 종양 크기가 줄어들었다. 또한, 도세탁셀 처치 또한 종양 성장을 억제시켰다. 중요하게도, G129R를 도세탁셀과 조합시켰을 때, 시너지 효과가 관찰되었고, G129R + DCT 조합은 인간 난소 종양의 성장을 억제하는 데 매우 효과적이었다 (p = < 0.05).

[0098] 인간 난소암 세포의 전이 능력에 대한 G129R 및 G129R + DCT 조합의 영향 또한 연구되었다. 도 10(C)에서 보이는 것처럼, G129R 치료로 인해 미치료 대조군에 비해서 이차 결절 수가 줄어들었다. 또한, 도세탁셀 단독 처치 또한 이차 결절 수를 억제시켰다. 중요하게도, G129R를 도세탁셀과 조합시켰을 때, 시너지 효과가 관찰되었고, G129R + DCT 조합은 인간 난소 전이성 종양의 발달을 억제하는 데 매우 효과적이었다 (p = < 0.05).

[0099] 상기 G129R + DCT 조합이 실험용 동물에게 유독할 수 있는지 결정하기 위해, 희생시키기 전에 모든 쥐의 무게를 재었다. 도 10(A)에서 보이는 것처럼, 상기 G129R + DCT 조합을 처치한 쥐들과 상기 미치료 대조군 간에 중대한 차이가 없었다.

[0100]

[0101] **실시예 10**

[0102] **생체내 쥐 난소암 세포 성장 억제에 있어서의 프로락틴 길항제 G129R와 도세탁셀의 시너지 효과.**

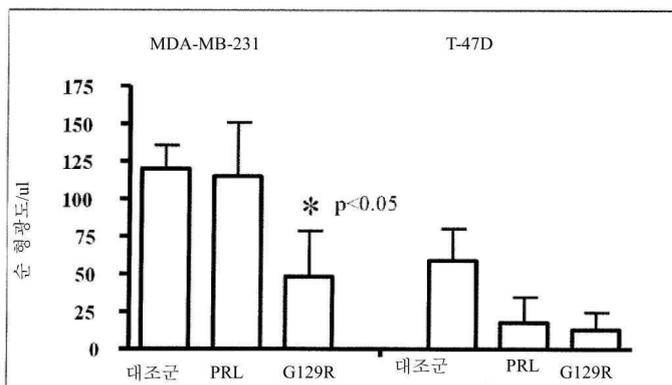
[0103] 1일차에 SCID 쥐에 백만개 쥐 난소암 세포 ID8를 복막내 주입했다.

[0104] 8일차에 시작해서 도 11에서 보여지듯이, 쥐에 G129R 100ug을 매일, 도세탁셀 (DCT) 25ug을 매주, 또는 둘 다 (G129R 100ug 매일, 그리고 DCT 25ug 매주) 처치한 반면, 대조군에는 만니톨 100ug/일을 주었다. 모든 쥐를 52 일 동안 처치하고 나서 희생시켰으며, 모든 실험군으로부터 종양 무게를 재었다.

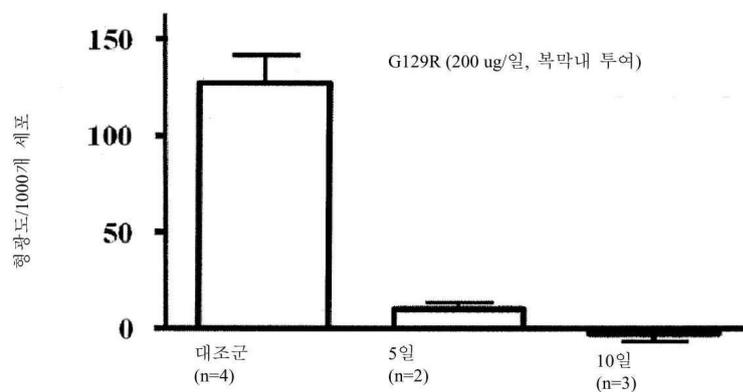
- [0105] 도 11(B)에서 보이는 것처럼, G129R 치료로 인해 대조군에 비해서 종양 크기가 줄어들었다. 또한, 도세탁셀 처치 또한 종양 성장을 억제시켰다. 중요하게도, G129R를 도세탁셀과 조합시켰을 때, 시너지 효과가 관찰되었고, G129R + DCT 조합은 쥐 난소 종양의 성장을 억제하는 데 매우 효과적이었다 ($p = < 0.05$).
- [0106] 쥐 난소암 세포의 전이 능력에 대한 G129R 및 G129R + DCT 조합의 영향 또한 연구되었다. 도 11(C)에서 보이는 것처럼, G129R 치료로 인해 미치료 대조군에 비해서 이차 결절 수가 줄어들었다. 또한, 도세탁셀 단독 처치 또한 이차 결절 수를 억제시켰다. 중요하게도, G129R를 도세탁셀과 조합시켰을 때, 시너지 효과가 관찰되었고, G129R + DCT 조합은 쥐 난소 전이성 종양의 발달을 억제하는 데 매우 효과적이었다 ($p = < 0.05$).
- [0107] 상기 G129R + DCT 조합이 실험용 동물에게 유독할 수 있는지 결정하기 위해, 희생시키기 전에 모든 쥐의 무게를 재었다. 도 11(A)에서 보이는 것처럼, 상기 G129R + DCT 조합을 처치한 쥐들과 상기 미치료 대조군 간에 중대한 차이가 없었다.

도면

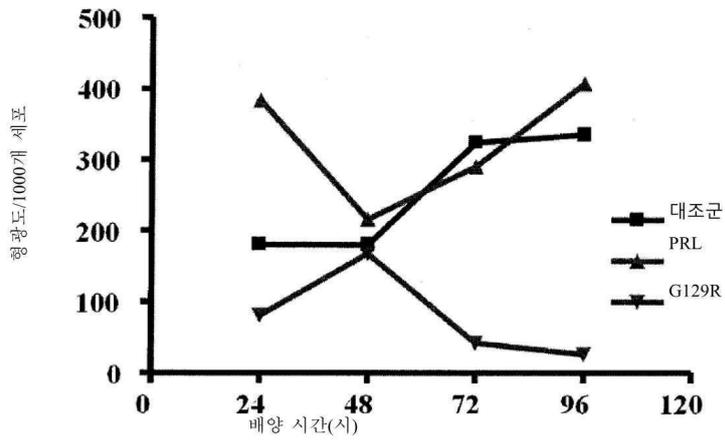
도면1



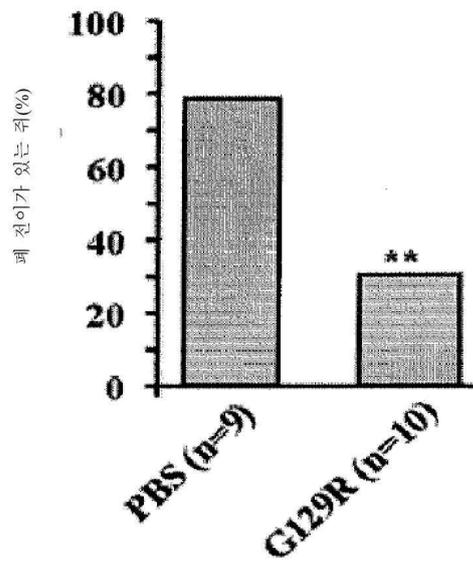
도면2



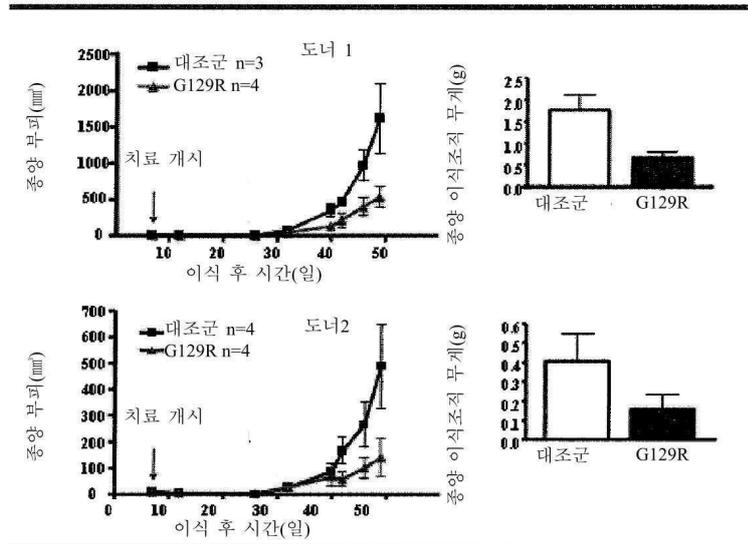
도면3



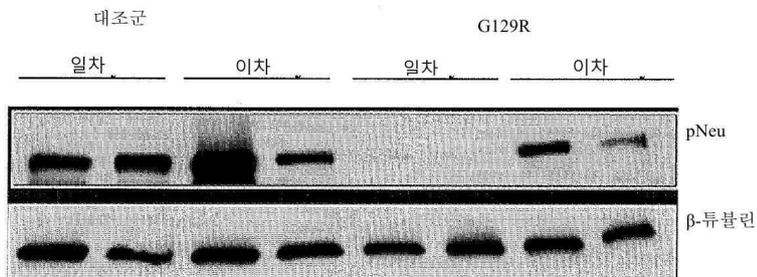
도면4



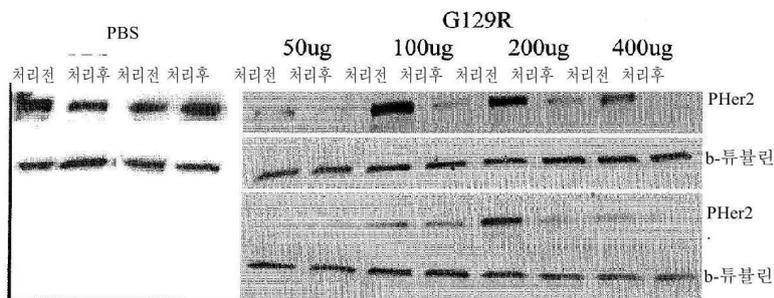
도면5



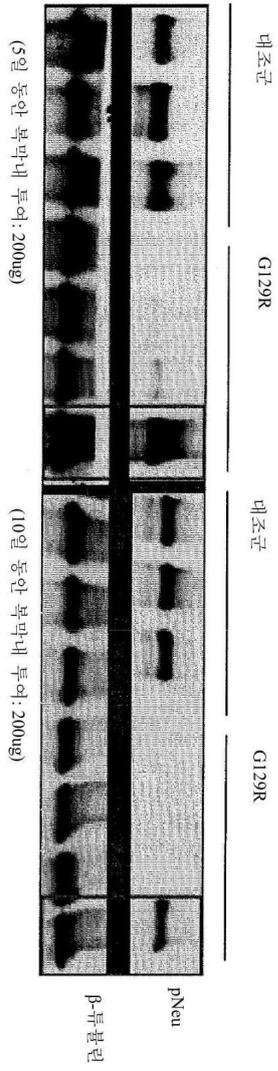
도면6



도면7



도면8



도면9

<160>서열번호 개수: 39
 <210>서열번호 1
 <211>길이: 199
 <212>종류: 단백질
 <213>생물체: 호모 사피엔스

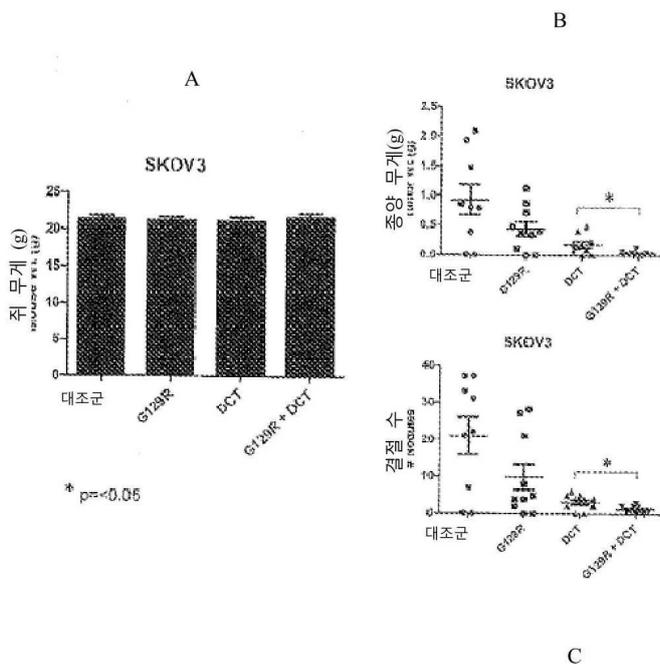
<400>서열: 1

```

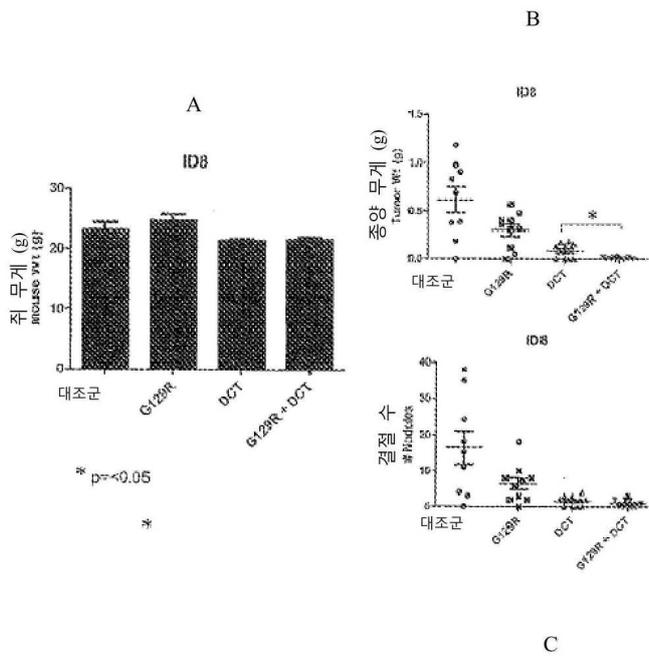
Leu Pro Ile Cys Pro Gly Gly Ala Ala Arg Cys Gln Val Thr Leu Arg
 1           5           10           15
Asp Leu Phe Asp Arg Ala Val Val Leu Ser His Tyr Ile His Asn Leu
 20           25           30
Ser Ser Glu Met Phe Ser Glu Phe Asp Lys Arg Tyr Thr His Gly Arg
 35           40           45
Gly Phe Ile Thr Lys Ala Ile Asn Ser Cys His Thr Ser Ser Leu Ala
 50           55           60
Thr Pro Glu Asp Lys Glu Gln Ala Gln Gln Met Asn Gln Lys Asp Phe
 65           70           75           80
Leu Ser Leu Ile Val Ser Ile Leu Arg Ser Trp Asn Glu Pro Leu Tyr
 85           90           95
His Leu Val Thr Glu Val Arg Gly Met Gln Glu Ala Pro Glu Ala Leu
 100          105          110
Leu Ser Lys Ala Val Glu Ile Glu Glu Gln Thr Lys Arg Leu Leu Arg
 115          120          125
Gly Met Glu Leu Ile Val Ser Gln Val His Pro Glu Thr Lys Glu Asn
 130          135          140
Glu Ile Tyr Pro Val Trp Ser Gly Leu Pro Ser Leu Gln Met Ala Asp
 145          150          155
Glu Glu Ser Arg Leu Ser Ala Tyr Tyr Asn Leu Leu His Cys Leu Arg
 165          170          175
Arg Asp Ser His Lys Ile Asp Asn Tyr Leu Lys Leu Leu Lys Cys Arg
 180          185          190
Ile Ile His Asn Asn Asn Cys
 195
    
```

서열번호 4

도면10



도면11



서열 목록

<110> Oncolix, Inc.

<120> Compositions and Methods for Visualizing and Eliminating Cancer Stem Cells

<130> 010464-5015 WO 01

<150> 12/948,329

<151> 2010-11-17

<160> 4

<170> PatentIn version 3.4

<210> 1

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 1

gcttagcagt tgtgtttgtg

20

<210> 2

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 2

atgaacatca aaggat 16

<210> 3

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 3

cggctcctag agaggatgga gct 23

<210> 4

<211> 199

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Leu Pro Ile Cys Pro Gly Gly Ala Ala Arg Cys Gln Val Thr Leu Arg

1 5 10 15

Asp Leu Phe Asp Arg Ala Val Val Leu Ser His Tyr Ile His Asn Leu

20 25 30

Ser Ser Glu Met Phe Ser Glu Phe Asp Lys Arg Tyr Thr His Gly Arg

35 40 45

Gly Phe Ile Thr Lys Ala Ile Asn Ser Cys His Thr Ser Ser Leu Ala

50 55 60

Thr Pro Glu Asp Lys Glu Gln Ala Gln Gln Met Asn Gln Lys Asp Phe

65 70 75 80

Leu Ser Leu Ile Val Ser Ile Leu Arg Ser Trp Asn Glu Pro Leu Tyr

85 90 95

His Leu Val Thr Glu Val Arg Gly Met Gln Glu Ala Pro Glu Ala Leu

100 105 110

Leu Ser Lys Ala Val Glu Ile Glu Glu Gln Thr Lys Arg Leu Leu Arg

115 120 125

Gly Met Glu Leu Ile Val Ser Gln Val His Pro Glu Thr Lys Glu Asn
130 135 140
Glu Ile Tyr Pro Val Trp Ser Gly Leu Pro Ser Leu Gln Met Ala Asp
145 150 155 160
Glu Glu Ser Arg Leu Ser Ala Tyr Tyr Asn Leu Leu His Cys Leu Arg
165 170 175
Arg Asp Ser His Lys Ile Asp Asn Tyr Leu Lys Leu Leu Lys Cys Arg
180 185 190
Ile Ile His Asn Asn Asn Cys
195