(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년11월28일
(11) 등록번호 10-2735818
(24) 등록일자 2024년11월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/19 (2006.01) *A61K 31/192* (2006.01)
A61K 31/197 (2024.01) *A61K 35/744* (2015.01)
A61K 45/06 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/19 (2013.01)
A61K 31/192 (2023.05)
(21) 출원번호 10-2017-7023391
(22) 출원일자(국제) 2016년01월21일
심사청구일자 2021년01월14일
(85) 번역문제출일자 2017년08월22일
(65) 공개번호 10-2017-0128247
(43) 공개일자 2017년11월22일
(86) 국제출원번호 PCT/US2016/014292
(87) 국제공개번호 WO 2016/118730
국제공개일자 2016년07월28일
(30) 우선권주장
62/106,778 2015년01월23일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
WO2007114697 A1*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
템플 유니버시티-오브 더 커먼웰쓰 시스템 오브 하이어 에듀케이션
미합중국 19122 펜실바니아, 필라델피아 브로드 스트리트 앤드 몽고메리 애비뉴
레이스, 헬레나, 엠.지.피.브이.
포르투칼, 리스본 1800-050, 6 - 8° Dto, 알. 캐피타오 테넨치 올리베리아 이 카르모
(72) 발명자
레이스, 헬레나, 엠.지.피.브이.
포르투칼, 리스본 1800-050, 6 - 8° Dto, 알. 캐피타오 테넨치 올리베리아 이 카르모
페이텔슨, 마크 에이.
미국, 펜실베니아 1454, 노스 월스, 1717 귀네드 뷰 로드
(74) 대리인
이명진

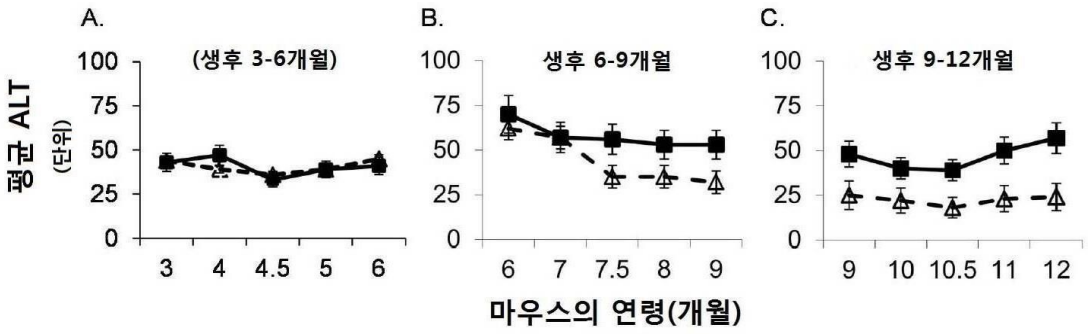
전체 청구항 수 : 총 15 항 심사관 : 이동욱

(54) 발명의 명칭 **암 예방에서 단쇄 지방산의 용도**

(57) 요 약

발명은 간세포 암의 개시를 예방 또는 지연시키기 위한 조성물에 관한 것이다. 발명의 조성물은 단쇄 지방산을 포함할 수 있다. 발명의 조성물은 또한 프로바이오틱 박테리아를 포함할 수 있다. 발명의 조성물은 간 염증, 간 질환 및 전암성 병변을 치료 또는 예방함으로써 간세포 암의 개시를 예방 또는 지연시키기 위한 조성물을 포함한다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61K 31/197 (2024.01)
A61K 35/744 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

간세포 암의 개시(onset)를 예방 또는 지연시키기 위한 약학적 조성물로서,

상기 약학적 조성물은 아세트산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 프로피온산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 및 부티르산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염으로 구성되는 군으로부터 선택되는 적어도 두개의 단쇄 지방산을 치료적 유효량으로 포함하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 단쇄 지방산은 아세트산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 프로피온산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 및 부티르산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 제약학적으로 허용되는 부형제를 더 포함하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 다른 치료제와 함께 투여되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 경구로 투여되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 식품 또는 음료와 함께 투여되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 7

아세트산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 프로피온산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 및 부티르산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염으로 구성되는 군으로부터 선택되는 적어도 두개의 단쇄 지방산을 치료적 유효량으로 포함하는 것인, 간 염증 치료용 약학적 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 단쇄 지방산은 아세트산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 프로피온산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 및 부티르산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 9

제7항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 제약학적으로 허용되는 부형제를 더 포함하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 10

제7항에 있어서, 상기 치료는 간의 염증을 감소시키는 것인, 약학적 조성물.

청구항 11

제7항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 다른 치료제와 함께 투여되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 12

제7항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 경구로 투여되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 식품 또는 음료와 함께 투여되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 14

간세포 암의 개시(onset)를 예방 또는 지연시키기 위한 키트로서, 상기 키트는 아세트산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 프로피온산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 및 부티르산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염으로 구성되는 군으로부터 선택되는 적어도 두개의 단쇄 지방산을 포함하는 조성물을 함유하는 것인 키트.

청구항 15

간 염증 치료용 키트로서, 상기 키트는 아세트산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 프로피온산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 및 부티르산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염으로 구성되는 군으로부터 선택되는 적어도 두개의 단쇄 지방산을 포함하는 조성물을 함유하는 것인 키트.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원에 대한 교차-참조

[0002] 본 출원은 2015년 1월 23일에 출원된 미국 임시출원 일련 번호 62/106,778에 대한 우선권을 주장하고, 상기의 내용은 전체 내용이 본원에 참조로 포함된다.

[0003] 기술분야

[0004] 본 발명은 암 예방에서 단쇄 지방산의 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0005] 간세포 암종 (HCC)은 다섯 번째로 가장 만연되어 있는 암이고 전세계적으로 암 사망의 두 번째 선도 요인이다 (Ding J et al., Cancer Lett, 2014; 346(1):17-23). 초기 HCC는 흔히 무증상이며, 치료적 접근법들이 적용될 수 있고, 시간이 지남에 따라 진행되는 질환이 검출되며 소수의 치료 선택사항이 활용 가능하다. 미처리된 HCC에 대한 생존율은 5년에 걸쳐 3% 미만이고, 다중-키나아제 억제제인 소라페닙 (sorafenib)을 적용할 때에도 기대 수명은 단지 평균 3개월 동안 연장되었다 (Peck-Radosavljevic M, Liver Cancer, 2014; 3(2):125-31). 소라페닙 플러스 세포독성 약물을 사용하는 조합 치료법은 수명을 진단 후 거의 일년 가까이 연장시켰다.

[0006] HCC는 지속적 염증 (간염)을 배경으로 가장 자주 발생하며, 흔히 만성 B형 및 C형 간염 바이러스 감염과 관련된다 (Flores et al., Clin Med Insights Oncol, 2014; 8:71-6). B형 간염 바이러스 (HBV)에 대해, HCC의 발병에 대한 만성 간 질환 (CLD)의 중심성은 관련된 우드척 (woodchuck) 간염 바이러스 (WHV) 모델에서 강조된다 (Menne S et al., World J Gastroenterol, 2007; 13(1):104-24). 이 경우에, 만성 WHV 감염 및 CLD는 거의 100%의 HCC 발생을 초래한 한편, 급성, 용해성 감염을 가진 단지 몇 %의 우드척만이 이 종양을 발달시켰다 (Menne S et al., World J Gastroenterol, 2007; 13(1):104-24). 마찬가지로, 진행성 만성 간질환 (간염, 섬유증, 및 다음에는 간경변)을 가진 바이러스 운반체인 환자들은 HCC에 대해 고위험군인 한편, 무증상 운반체들은 훨씬 더 낮은 위험군이다 (Beasley et al., Lancet, 1981; 2(8256):1129-33). HBV 및 관련된 포유류 헤파드나바이러스 (WHV 포함)는 X 항원으로서 언급된 작은 폴리펩티드를 코드화하며, 그것은 중요하게 HCC의 발병에 기여한다 (Feitelson MA et al., Amer J Pathol, 1997; 150:1141-1157). HBV 코드화된 X 항원 또는 HBx는 세포질에서 신호화 경로를 구성적으로 활성화시킴으로써 및 핵에서 유전자 전사를 조절하는 복합체에 결합함으로써 숙주 유전자 발현의 패턴을 변경시키는 트랜스-조절 단백질이다 (Tian Y et al., Mol Cell Biol, 2013; 33(15):2810-6; Feitelson MA et al., Amer J Pathol, 1997; 150:1141-1157). HBx 유전자의 통합은 대부분의 염색체에서 일어나고, 그런 통합 사건들은 간염 및 재발의 각각의 사건과 함께 축적되어 HBx의 증가된 세포내 축적을 초래한다 (Xu C et al., Cancer Lett, 2014; 345(2):216-22; Wang W et al., Hepatology, 1998; 14:29-37; Wang W et al., Cancer Res, 1991; 51:4971-4977). HBx는 바이러스 감염된 세포의 손상 및 사멸을 목표로 하는 세포 중재된 면역 반응에 직면하여 세포 생존 및 성장을 촉진한다. 그러므로, HBx와 CLD 사이에는 밀접한 관련이 있다 (Jin YM et al., J Viral Hepat, 2001; 8(5):322-30). 이런 맥락에서, HBx는 바이러스 감염된 간세포를 목표로 하는 면역 반응에 의해 생성된 유리 라디칼에 의해 활성화되는 것으로 나타나고 (Wang JH

et al., Biochem Biophys Res Commun, 2003; 310(1):32-9), 이것은 HCC의 면역 중재된 발병이 조절될 수 있다면 그래서 질환이 초래될 수 있음을 시사한다.

[0007] 프로바이오틱 박테리아 (probiotic bacteria)의 상이한 스트레인(strain)들은 소화관에서 면역 반응을 약하게 촉진 또는 억제하는 것으로 알려졌다. 실제로, 프로바이오틱 박테리아의 선택된 스트레인들은 복잡한 탄수화물을 단쇄 지방산 (SCFA)으로 대사하고, 그것은 소화관 벽을 통해 쉽게 흡수되고 조절 T 세포를 활성화시킨다. 최근의 연구는 SCFA가 대장염의 마우스 모델에서 염증을 완화시켰음을 나타냈다 (Smith PM et al., Science, 2013; 341(6145):569-73). 이것은 SCFA, 특히 부티레이트가 히스톤 탈아세틸효소 활성 (HDACi)을 억제함으로써 표적 세포에서 유전자 발현의 패턴을 변경시킬 수 있다는 사실로부터 유발될 수 있다 (Tan J et al., Adv Immunol, 2014; 121:91-119). HBx는 HDAC 활성을 활성화시키는 것으로 나타났고 (Yoo et al., Oncogene, 2008; 27:3405-13), 그것은 선택된 프로바이오틱 박테리아 또는 이들 박테리아에 의해 만들어진 SCFA를 HCC를 발달시키는 HBx 유전자 도입 마우스에 투여하는 것이 종양 발달을 촉진하는 HBx의 능력을 부분적으로 차단하는 단순하고 신규한 방법을 제공할 수 있음을 시사한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 기술분야에는 간 염증의 간세포 암으로의 진행을 예방 또는 지연시키기 위한 효과적인 치료법에 대한 요구가 존재한다. 본 발명은 이런 요구를 해결한다.

과제의 해결 수단

[0009] 발명은 대상체에서 간세포 암의 개시를 예방 또는 지연시키는 방법을 제공한다. 한 구체예에서, 그 방법은 대상체에게 적어도 하나의 단쇄 지방산 (short chain fatty acid)을 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함한다.

[0010] 한 구체예에서, 단쇄 지방산은 포름산, 아세트산, 프로피온산, 아이소부티르산, 부티르산, 아이소발레르산, 발레르산, 아이소카프로산, 카프로산, 락트산, 석신산 및 피루브산으로 구성되는 군으로부터 선택된다.

[0011] 한 구체예에서, 조성물은 제약학적으로 허용되는 부형제를 더 포함한다.

[0012] 한 구체예에서, 조성물은 다른 치료제와 조합되어 투여된다.

[0013] 한 구체예에서, 조성물은 경구로 투여된다.

[0014] 한 구체예에서, 조성물은 식품 또는 음료로 투여된다.

[0015] 발명은 또한 대상체에서 간세포 암의 개시를 예방 또는 지연시키는 방법을 제공한다. 한 구체예에서, 그 방법은 적어도 하나의 프로바이오틱 박테리아를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0016] 한 구체예에서, 프로바이오틱 박테리아는 락토바실러스 플란타룸 (*Lactobacillus plantarum*), 락토바실러스 아시도필러스 (*Lactobacillus acidophilus*), 락토바실러스 파라카세이 (*Lactobacillus paracasei*), 류코노스톡 메센테로이데스 (*Leuconostoc mesenteroides*), 락토바실러스 불가리쿠스 (*Lactobacillus bulgaricus*), 락토바실러스 사세이 (*Lactobacillus sasei*), 락토바실러스 살리바리우스 (*Lactobacillus salivarius*), 페디오코커스 펜토사세우스 (*Pediococcus pentosaceus*), 스트렙토코커스 써모필레스 (*Streptococcus thermophiles*), 바실러스 서브틸리스 (*Bacillus subtilis*), 바실러스 코아귤란스 (*Bacillus coagulans*), 엔테로코커스 파에시움 (*Enteroccous faecium*), 비피도박테리움 비피둠 (*Bifidobacterium bifidum*), 비피도박테리움 락티스 (*Bifidobacterium lactis*), 비피도박테리움 롱굼 (*Bifidobacterium longum*) 및 비피도박테리움 인판티스 (*Bifidobacterium infantis*)로 구성되는 군으로부터 선택된다.

[0017] 한 구체예에서, 조성물은 제약학적으로 허용되는 부형제를 더 포함한다.

[0018] 한 구체예에서, 부형제는 적어도 하나의 프리바이오틱 (prebiotic)을 포함한다.

[0019] 한 구체예에서, 조성물은 다른 치료제와 조합되어 투여된다.

[0020] 한 구체예에서, 조성물은 경구로 투여된다.

[0021] 한 구체예에서, 조성물은 식품 또는 음료와 함께 투여된다.

[0022] 발명은 또한 대상체에서 간세포 암의 개시를 예방 또는 지연시키기 위한 키트를 제공한다. 한 구체예에서, 키트는 적어도 하나의 단쇄 지방산을 포함하는 조성물을 포함한다.

[0023] 발명은 또한 대상체에서 간세포 암의 개시를 예방 또는 지연시키기 위한 키트를 제공한다. 한 구체예에서, 키트는 적어도 하나의 프로바이오틱 박테리아를 포함하는 조성물을 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0024] 발명의 바람직한 구체예들의 다음의 상세한 설명은 첨부된 도면과 함께 판독될 때 더 잘 이해될 것이다. 발명을 예시할 목적으로, 도면에는 현재 바람직한 구체예들이 도시된다. 그러나, 발명은 도면에 도시된 구체예들의 정확한 배열 및 수단에 제한되지 않는다.

도 1a 내지 1c는 표시된 연령에서 신바이오틱 (Synbiotic) 2000™ (Δ) 또는 PBS (■)로 처리된 마우스들로부터의 알라닌 아미노-트랜스페라제 (ALT) 값을 나타내는 그래프를 도시한다.

도 2a 내지 2c는 상이한 간 병리학의 발생의 빈도를 비교하는 그래프를 도시한다. 이것은 지방증 및 형성 이상의 증거에 대해 6개월 째에 평가된 생후 3개월의 마우스에 대해 (도 2a) 도시되고, 형성 이상 결절 및 초기 HCC의 증거에 대해 9개월 째에 평가된 생후 6개월의 마우스에 대해 (도 2b) 도시되며, 큰 HCC 결절의 증거에 대해 생후 12개월째에 평가된 생후 9개월의 마우스에 대해 (도 2c) 도시된다. 회색 막대는 표시된 연령에 시작하여 3개월 동안 신바이오틱 2000™이 공급된 시험 마우스이다. 흰색 막대는 PBS가 공급된 대조 마우스이다. HBx 유전자 도입 마우스들은 X 유전자의 바로 상류의 HBx 인핸서/프로모터 영역들을 사용하여 만들어졌다. 이 인핸서/프로모터는 성숙한 간세포들에서 활성이 됨으로써, HBx는 출생시에는 검출할 수 없지만 노쇠해질수록 간세포 내에서 축적된다 (Yu DY et al., J Hepatol, 1999; 31:123-132). 면역학적 관점으로부터, HBx는 외래의 것으로서 인지되는데, 그것은 생후 4 내지 5개월이 되었을 때 염증 반응 (간염) 및 지방증 (지방간)을 촉발시킨다. 이것은 생후 6 내지 7개월째에 형성 이상 (전암성 병변)으로 진행되고, 생후 9 내지 10개월째에 형성 이상 결절 및 미세한 HCC로 진행되며, 마지막으로 생후 10 내지 12개월째에 큰 HCC로 진행된다.

도 3a 내지 3d는 PBS로 (도 3a 및 도 3c) 또는 신바이오틱 2000™으로 (도 3b 및 3d) 치료 후 생후 6개월 (도 3a) 및 9개월 (도 3c) 마우스 간의 간에서의 HBx 염색을 도시한다. 두 가지 경우에 모두, HBx의 소엽 분포는 신바이오틱 2000™으로 치료한 후 더 산란된 분포를 야기하였고, 그것은 HBx 수준이 치료로 감소될 수 있음을 시사한다는 것이 주지된다.

도 4는 표시된 개월에 신바이오틱 2000™이 제공된 HBx 유전자 도입 마우스에서의 발암 (칼럼 1 내지 20) 및 면역 중재자 (칼럼 21 내지 27)의 선택된 마커들의 발현을 평행하게 플라세보 (placebo)가 제공된 HBx 유전자 도입 마우스에 비교하여 보여주는 제한된 미세배열 분석의 그래프를 도시한다. 차등 발현에 대한 값은 GAPDH로 표준화되었다. 다른 대조표준은 게놈 DNA 오염에 대한 것 (MGDC), RNA 질에 대한 다른 것 (RTC) 및 일반적인 PCR 성능에 대한 다른 것 (PPC)을 포함하였다.

도 5a 내지 5d는 생후 12개월째에 얻어진 4마리의 SCFA 공급된 마우스로부터의 간을 도시한다. 도 5a에서, 관찰 가능한 종양의 수 및 크기가 다음에 간 소엽의 표면상에서 산정되었다. 이들 종양의 실례는 PBS로 (도 5a 및 5b) 또는 SCFA로 (도 5c) 생후 9개월째부터 시작하여 3개월 동안 치료된 마우스들의 간에서 도시된다. 화살표는 종양 결절을 가리킨다. 결과는 각 그룹으로부터의 마우스를 대표한다. 도 5d는 두 그룹의 마우스로부터의 종양의 특징을 요약한 것이다.

도 6a 내지 6e는 SCFA 공급된 마우스에서 H&E 염색된 간 섹션 및 종양의 특징을 보여주는 막대 그래프를 도시한다. HBx 마우스들은 생후 9개월째부터 시작하여 3개월 동안 SCFA 또는 PBS로 치료되었다. 도 6a는 SCFA 치료된 마우스에서 작은 종양의 실례를 도시한다 (x40). 도 6b는 SCFA 치료된 마우스에서 중간 크기의 종양 결절의 실례를 도시한다 (x40). 도 6c는 PBS 치료된 마우스로부터의 큰 종양의 실례를 도시한다. 도 6d는 PBS 치료된 마우스로부터의 HCC 결절의 더 큰 배율을 도시한다 (x100). 종양 (T)는 좌측에 있고 비-종양 (NT)는 우측에 있다. 화살표는 종양 결절을 가리킨다. 도 6e는 SCFAs (+) 또는 PBS (-)로 3개월 동안 생후 9개월된 마우스를 치료한 결과를 도시한다. 포르말린 고정된 조직이 절단되고 H&E에 의해 염색된다. S = 작은 종양 (<0.5 cm 직경); M = 중간 크기 종양 (0.5 내지 1.0 cm 직경); L = 큰 종양 (>1 cm).

도 7은 3 내지 6개월부터 신바이오틱 2000™으로 치료된 HBx 마우스에서 간 병리학을 보여주는 표를 도시한다.

도 8은 6 내지 9개월부터 신바이오틱 2000™으로 치료된 HBx 마우스에서 간 병리학을 보여주는 표를 도시한다.

도 9는 9 내지 12개월부터 신바이오틱 2000™으로 치료된 HBx 마우스에서 간 병리학을 보여주는 표를 도시한다.

도 10은 신바이오틱 2000™으로 치료된 마우스 및 대조 마우스에서 간내 HBx 염색의 결과를 보여주는 표를 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0025] 본 발명은 부분적으로 단쇄 지방산이 간암 화학예방적 치료 접근법으로서 효과적이라는 발견을 기반으로 한다. 본원에 제공된 결과는 염증, 간염 및 전암 병변을 간에 가지고 있는 대상체에 대한 단쇄 지방산의 투여가 간 질환의 간세포 암으로의 진행을 예방 또는 지연시키는 데 효과적이라는 것을 증명한다.

[0026] 정의

[0027] 본 발명의 도면 및 설명은 본 발명의 명쾌한 이해를 위해 관련된 요소들을 예시하기 위해 단순화된 한편으로, 명료성의 목적으로 전형적인 현미경 장치에서 발견된 많은 다른 요소들은 제거되었음이 이해될 것이다. 기술분야의 숙련자들은 다른 요소들 및/또는 단계들이 본 발명을 실시하는 데 바람직하고 및/또는 필요하다는 것을 인지할 수 있다. 그러나, 그런 요소들 및 단계들은 기술분야에 잘 알려져 있기 때문에, 그리고 그것들은 본 발명의 더 나은 이해를 촉진하지 않기 때문에, 그런 요소들 및 단계들의 논의는 본원에 제공되지 않는다. 본원의 개시내용은 기술분야의 숙련자들에게 알려져 있는 그런 요소들 및 방법들에 대한 모든 그런 변화 및 변형에 대해 향해 있다.

[0028] 다른 곳에서 정의되지 않는 한, 본원에서 사용된 모든 기술적이고 과학적인 용어들은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 통상적으로 인지되는 것과 동일한 의미를 가진다. 비록 본원에 기술된 것들과 유사하거나 동등한 임의의 방법들 및 물질이 본 발명의 실시 또는 실험에 사용될 수 있지만, 바람직한 방법들 및 물질이 기술된다.

[0029] 본원에서 사용되는 다음 용어들은 각각 이 섹션에서 용어들과 관련된 의미를 가진다.

[0030] 본원에서 "하나의 물품"은 하나 또는 하나 이상의 (즉 적어도 하나의) 물품의 문법적 대상을 나타낸다. 실례를 들면, "요소"는 한 요소 또는 하나 이상의 요소를 의미한다.

[0031] 본원에서 양, 시간상의 기간 등과 같은 측정 가능한 값을 나타낼 때 사용된 "약"은 명시된 값으로부터 ±20%, ±10%, ±5%, ±1% 및 ±0.1%의 변량을 포함하는 것을 의미하는데, 그런 변량이 적절하기 때문이다.

[0032] 용어 "비정상"은 유기체, 조직, 세포 또는 그것들의 성분들의 맥락에서 사용될 때, "정상" (예상된) 각각의 특징을 나타내는 그런 유기체, 조직, 세포 또는 그것들의 성분들로부터의 적어도 하나의 관찰 가능한 또는 검출 가능한 특징 (예컨대 연령, 치료, 일 수 등)이 상이한 그런 유기체, 조직, 세포 또는 그것들의 성분들을 나타낸다. 한 세포 또는 조직 유형에 대해 정상인 또는 예상된 특징은 상이한 세포 또는 조직 유형에 대해 비정상일 것이다.

[0033] 질환 또는 장애는 만약 그 질환 또는 장애의 신호 또는 증상의 심각성, 환자가 경험하는 그런 신호 또는 증상의 빈도, 또는 둘 다가 감소된다면 "완화된다".

[0034] 본원에서 사용되는 용어 "항-종양 효과"는 종양 부피의 감소, 종양 세포의 수의 감소, 전이 횟수의 감소, 기대 수명의 증가 또는 암성 상태와 관련된 다양한 생리적 증상들의 완화에 의해 표시될 수 있는 생물학적 효과를 나타낸다. "항-종양 효과"는 또한 제1 장소에서의 종양의 발생의 예방에서 발명의 조성물의 능력에 의해 표시될 수 있다.

[0035] "질환"은 동물이 항상성을 유지할 수 없고, 만약 질환이 완화되지 않아서 동물의 건강이 계속해서 악화되는 동물의 건강 상태이다. 대조적으로, 동물의 "장애"는 동물이 항상성을 유지할 수는 있지만, 동물의 건강 상태가 장애가 없었을 때보다 덜 우호적인 동물의 건강 상태이다. 미처리된 채로 남겨지면, 장애는 반드시 동물의 건강 상태의 추가의 감소를 유발하지 않는다.

[0036] 본원에서 사용되는 용어 "억제하다(inhibit)"는 활성 또는 기능을 대조 값에 비교하여 적어도 약 10% 억제 또는

차단하는 것을 의미한다. 바람직하게, 활성은 대조 값에 비교하여 50%, 더 바람직하게는 75%, 더욱 더 바람직하게는 95% 억제되거나 차단된다.

[0037] 용어 "간 질환"은 간 간경변, 알코올성 및 비-알코올성 섬유증뿐 아니라 비만, 당뇨병 및 대사 증후군과 관련된 간 질환 또는 변화를 포함하는 간의 질환 및 상태를 포함한다. 간 질환의 다른 실례는 간염, 지방간, 독성 간 부전, 간의 간경변, 당뇨병-관련된 간 질환, 간 지방증, 간 섬유증, 간 간경변, 만성 간염 등을 포함한다.

[0038] 용어 "프로바이오틱 유기체"는 숙주의 건강에 유리하게 영향을 주는 살아있는 미생물을 포함한다. 숙주의 건강에 대한 유익은, 한정하는 것은 아니지만, 장의 미생물적 균형을 개선하는 것을 포함한다. 숙주에 대한 다른 유리한 효과는, 예를 들면 면역 체계의 증강, 식세포 활성의 자극, 인터페론의 자극, 고혈압의 감소, 암 위험의 감소, 항미생물 활성의 증가 및 면역-조절 효과, 고콜레스테롤혈증의 감소 및 암 치료를 포함한다.

[0039] 용어 "치료", "치료하는" 등은 본원에서 일반적으로 원하는 약리학적 및/또는 생리적 효과를 얻는 것을 의미하기 위해 사용된다. 효과는 완전하게 또는 부분적으로 질환 또는 그것의 증상을 예방하는 관점에서 예방적일 수 있거나 및/또는 부분적으로 또는 완전하게 질환에 기여하는 질환 및/또는 부작용을 치료하는 관점에서 치료적일 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "치료"는 대상체에서 질환의 임의의 치료를 커버하고 다음을 포함한다: (a) 질환의 성향이 있을 수 있는 대상체에서의 발생으로부터 원하지 않는 면역 반응과 관련된 질환을 예방하는 것; (b) 질환을 억제하는 것, 즉 그것의 발달을 저지하는 것; 또는 (c) 질환을 완화시키는 것, 즉 질환의 퇴행을 유발하는 것.

[0040] 용어 "유효량" 및 "제약학적으로 효과적인 양"은 원하는 생물학적 결과를 제공하기에 충분한 제제의 양을 나타낸다. 그 결과는 질환 또는 장애의 신호, 증상 또는 원인의 감소 및/또는 완화, 또는 생물학적 시스템의 임의의 다른 원하는 변경일 수 있다. 임의의 개별적인 경우에 적절한 유효량은 기본적인 실험을 사용하여 기술분야의 통상적인 지식을 가진 사람에 의해 결정될 수 있다.

[0041] "치료적 유효량"은 주어진 상태 및 투여 양생법에 대해 치료 효과를 제공하는 양을 나타낸다. 특히, "치료적 유효량"은 인간 또는 비-인간 동물일 수 있는, 치료되고 있는 대상체의 질환의 증상을 예방, 완화 또는 개선시키거나 생존을 연장시키는 데 효과적인 양을 의미한다. 치료적 유효량의 결정은 기술분야의 숙련된 지식을 가진 사람의 숙련도 내에 있다.

[0042] 본원에서 사용되는 용어 "제약학적 조성물"은 발명의 적어도 하나의 화합물과 다른 화학적 성분들 및 실체, 예컨대 담체, 안정화제, 희석제, 분산제, 현탁제, 증점제 및/또는 부형제와의 혼합물을 나타낸다. 제약학적 조성물은 화합물의 유기체에의 투여를 용이하게 한다. 한정하는 것은 아니지만, 정맥 내, 경구, 에어로솔, 비경구, 눈, 폐 및 국소 투여를 포함하여, 화합물을 투여하는 다수의 기법이 기술분야에 존재한다.

[0043] "제약학적으로 허용되는"은 약리학적/독물학적 관점으로부터 환자에게 및 조성물, 제형, 안정성, 환자 수락 및 생체 이용성에 관한 물리적/화학적 관점으로부터 제조하는 약사에게 허용되는 그런 특성 및/또는 물질을 나타낸다. "제약학적으로 허용되는 담체"는 활성 성분(들)의 생물학적 활성의 유효성을 간섭하지 않고 그것이 투여되는 숙주에게 독성이 되지 않는 매질을 나타낸다.

[0044] 본원에서 사용되는 용어 "제약학적으로 허용되는 담체"는 환자 내에서 또는 환자에게 발명 내에서 유용한 화합물을 그것이 의도된 기능을 수행할 수 있도록 운반 또는 수송하는 데 포함된, 제약학적으로 허용되는 물질, 조성물 또는 담체, 예컨대 액체 또는 고체 충전제, 안정화제, 분산제, 현탁제, 희석제, 부형제, 증점제, 용매 또는 캡슐화 물질을 의미한다. 전형적으로, 그런 구성물은 신체의 한 기관, 또는 부분으로부터 신체의 다른 기관 또는 부분으로 운반 또는 수송된다. 각 담체는 발명 내에서 유용하고, 환자에게 손상을 입히지 않는 화합물을 포함하여, 제형의 다른 성분들과 부합된다는 의미에서 "허용되는" 것이어야 한다. 제약학적으로 허용되는 담체로서 작용할 수 있는 물질의 일부 실례는 다음을 포함한다: 당, 예컨대 락토오스, 글루코오스 및 수크로오스; 전분, 예컨대 옥수수 전분 및 감자 전분; 셀룰로오스 및 그것의 유도체, 예컨대 나트륨 카르복시메틸 셀룰로오스, 에틸 셀룰로오스 및 셀룰로오스 아세테이트; 분말화된 트라가칸트; 맥아; 젤라틴; 탈크; 부형제, 예컨대 코코아 버터 및 좌제용 왁스; 오일, 예컨대 땅콩유, 면실유, 홍화유, 참기름, 올리브유, 옥수수유 및 대두유; 글리콜, 예컨대 프로필렌 글리콜; 폴리올, 예컨대 글리세린, 소르비톨, 만니톨 및 폴리에틸렌 글리콜; 에스테르, 예컨대 에틸 올레에이트 및 에틸 라우레이트; 아가; 완충제, 예컨대 마그네슘 하이드록사이드 및 알루미늄 하이드록사이드; 표면 활성제; 알긴산; 발열원-유리 물; 등장성 식염수; 링거액; 에틸 알코올; 포스페이트 완충액; 및 제약학적 제형에 사용된 다른 비-독성 부합성 물질. 본원에서 사용되는 "제약학적으로 허용되는 담체"는 또한 임의의 및 모든 코팅, 항균제 및 항진균제, 및 흡수 지연제, 및 발명 내에서 유용하고 환자에게 생리적으로

허용되는 화합물의 활성과 부합하는 것들을 포함한다. 보충적인 활성 화합물들이 또한 조성물에 포함될 수 있다. "제약학적으로 허용되는 담체"는 추가로 발명 내에서 유용한 화합물의 제약학적으로 허용되는 염을 포함할 수 있다. 발명의 실시에 사용된 제약학적 조성물에 포함될 수 있는 다른 추가의 성분들은 기술분야에 알려져 있고, 예를 들면 본원에 참조로 포함되는 Remington's Pharmaceutical Sciences (Genaro, Ed., Mack Publishing Co., 1985, Easton, PA)에 기술되어 있다.

[0045] 용어 "영양학적 조성물"은 인간 소비를 위해 의도된 식료품, 예를 들면 음료, 술, 영양바, 스낵, 아이스크림, 유제품, 예를 들면 냉각된 또는 저장-안정성 유제품, 발효된 유제품, 음료, 예를 들면 우유-기저 음료, 유아용 조유, 성장용 우유, 제과 용품, 초콜릿, 시리얼 제품, 예컨대 아침용 시리얼, 소스, 수프, 즉석 음료, 전자레인지 또는 오븐에서 가열 후 소비를 위해 의도된 냉동 제품, 즉석-섭취 제품, 패스트 푸드 또는 영양 첨가제일 수 있다.

[0046] 용어 "환자", "대상체", "개체" 등은 본원에서 상호교환적으로 사용되고, 시험관 내에서나 또는 인시튜에서 본원에 기술된 방법들을 잘 따를 수 있는 임의의 동물, 또는 그것의 세포를 나타낸다. 특정 비-제한 구체예에서, 환자, 대상체 또는 개체는 인간이다.

[0047] 구절 "생물학적 샘플"은 가장 광범위한 의미로 본원에서 사용된다. 샘플은 그것으로부터 본 발명의 생체마커가 검출되거나, 추출되거나, 분리되거나, 특성화되거나 측정될 수 있는 임의의 생물학적 조직 또는 유체의 샘플일 수 있다. 그런 샘플의 실례는 한정하는 것은 아니지만 혈액, 림프액, 뇨, 부인과학 유체, 생검, 양수 및 스미어(smears)를 포함한다. 성질상 액체인 샘플은 본원에서 "체액"으로서 언급된다. 생물학적 샘플은 환자로부터, 예를 들면 면적을 긁거나 닦음으로써 또는 바늘을 사용하여 체액을 흡인하는 것을 포함하여, 다양한 기법에 의해 얻어질 수 있다. 다양한 생물학적 샘플을 수집하는 방법은 기술분야에 잘 알려져 있다. 흔히, 샘플은 "임상 샘플", 즉 환자로부터 유도된 샘플일 것이다. 그런 샘플은, 한정하는 것은 아니지만, 세포를 함유하거나 함유하지 않을 수 있는 체액, 예컨대 혈액 (예컨대 전혈, 혈청 또는 혈장), 뇨, 타액, 조직 또는 미세한 바늘 생검 샘플, 및 공지된 진단, 치료 및/또는 결과 이력을 가지는 기록 샘플을 포함한다. 생물학적 샘플은 또한 조직, 예컨대 조직학적 목적으로 취한 냉동된 섹션을 포함한다. 샘플은 또한 생물학적 샘플을 프로세싱함으로써 유도된 임의의 물질을 포함한다. 유도된 물질은, 한정하는 것은 아니지만, 샘플로부터 분리된 세포 (또는 그것의 자손), 그 샘플로부터 추출된 단백질 또는 핵산 분자를 포함한다. 생물학적 샘플의 프로세싱은 여과, 증류, 추출, 농축, 간섭 성분들의 비활성화, 시약의 첨가 등 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0048] 본원에서 사용되는 용어 "콘테이너"는 제약학적 조성물을 보유하기 위한 임의의 용기를 포함한다. 예를 들어 한 구체예에서, 콘테이너는 제약학적 조성물을 함유하는 패키징이다. 다른 구체예에서, 콘테이너는 제약학적 조성물을 함유하는 패키징이 아니다, 즉 콘테이너는 패키징된 제약학적 조성물 또는 패키징되지 않은 제약학적 조성물 및 그 제약학적 조성물의 사용을 위한 지시를 함유하는 박스 또는 바이알과 같은 용기이다. 더욱이, 패키징 기법은 기술분야에 잘 알려져 있다. 제약학적 조성물의 사용을 위한 지시는 그 제약학적 조성물을 함유하는 패키징에 함유될 수 있고, 그로써 그 지시는 패키징된 제품에 대한 증가된 기능적 관계를 형성한다는 것이 인지되어야 한다. 그러나, 지시는 화합물이 그것의 의도된 기능, 예컨대 대상체에서 질환의 치료 또는 예방을 수행하는 능력에 속하는 정보를 함유할 수 있다.

[0049] 본원에서 사용되는 용어로서 "지시 물질"은 본원에서 인용된 다양한 질환 또는 장애를 확인 또는 완화 또는 치료하기 위한 키트에서 발명의 성분들의 유효성을 소통하는 데 사용될 수 있는 표현의 공개물, 기록물, 다이아그램 및 임의의 다른 매체를 포함한다. 선택적으로, 또는 다르게는, 지시 물질은 대상체의 세포 또는 조직에서 질환 또는 장애를 확인 또는 완화시키는 하나 이상의 방법을 기술할 수 있다. 키트의 지시 물질은, 예를 들면 발명의 조성물을 함유하는 콘테이너에 첨부되거나 또는 발명의 조성물을 함유하는 콘테이너와 함께 발송될 수 있다. 다르게는, 지시 물질은 수령체가 지시 물질과 화합물을 협력적으로 사용하는 의도로 콘테이너와 별도로 발송될 수 있다.

[0050] 본 개시를 통해서, 다양한 측면의 발명이 범위 포맷으로 제공될 수 있다. 범위 포맷의 기술은 단순히 편리함과 간단함을 위한 것으로, 발명의 범주에 대한 융통성 없는 제한으로서 해석되지 않아야 한다. 따라서, 범위의 기술은 그 범위 내의 개별적인 수치뿐 아니라 구체적으로 개시된 가능한 모든 하위범위를 가지는 것으로 간주되어야 한다. 예를 들어, 1 내지 6과 같은 범위의 기술은 1 내지 3, 1 내지 4, 1 내지 5, 2 내지 4, 2 내지 6, 3 내지 6 등등과 같은 구체적으로 개시된 하위범위뿐 아니라, 그 범위 내의 개별적인 숫자들, 예를 들면 1, 2, 2.7, 3, 4, 5, 5.3, 6 및 그 사이의 임의의 전체 및 부분적인 증분을 가지는 것으로 간주되어야 한다. 이것은 범위의 폭과 관계없이 적용된다.

[0051] 설명

[0052] 본 발명은 부분적으로 SCFA를 생성하는 프로바이오틱 박테리아의 도입 또는 SCFA 단독의 도입이 HCC의 발병을 둔화시킨다는 발견을 기반으로 한다. 본원에 제공된 결과는 SCFA를 생성하는 프로바이오틱 박테리아 및 프로바이오틱 처리가 없는 상응하는 SCFA 단독이 HBx 유전자 도입 마우스에서 형성 이상 결절 및 HCC의 발생을 억제하는 것을 입증한다. 그러므로, 발명은 SCFA를 생성하는 박테리아 또는 SCFA 단독의 도입을 암 화학적 예방을 위한 간단한 접근법으로서 사용하는 조성물 및 방법을 포함한다. 본 발명은 간암 및 대장으로부터 해부학적으로 멀리 위치한 다른 종양 유형을 향한 신규한 용도이다.

[0053] 조성물

[0054] 한 구체예에서, 발명은 단쇄 지방산 또는 단쇄 지방산의 조합을 제공한다. 한 구체예에서, 발명은 프로바이오틱 박테리아 또는 프로바이오틱 박테리아의 조합을 제공한다. 다양한 구체예에서, 본 발명은 그런 필요가 있는 대상체, 세포, 조직 또는 기관에서 간세포 암의 개시를 예방 또는 지연시키기 위한 조성물을 포함한다. 발명의 조성물은 간 염증, 간 질환, 전암성 병변 등을 치료 또는 예방적 치료 또는 예방하기 위한 조성물을 포함한다.

[0055] 단쇄 지방산

[0056] 다양한 구체예에서, 본 발명은 간세포 암의 개시를 예방 또는 지연시키는 조성물 및 방법을 포함한다. 다양한 구체예에서, 본 발명은 간 염증, 간 질환 및 전암성 병변을 치료 또는 예방적 치료 또는 예방함으로써 간세포 암의 개시를 예방 또는 지연시키는 조성물 및 방법을 포함한다. 한 구체예에서, 간세포 암의 개시를 예방 또는 지연시키기 위한 조성물은 단쇄 지방산 또는 단쇄 지방산들의 조합을 포함한다.

[0057] 한 구체예에서, 발명은 간세포 암의 개시를 예방 또는 지연시키기 위한 치료법으로서 단쇄 지방산을 투여한다는 일반적 개념을 제공한다. 한 구체예에서, 발명의 조성물은 단쇄 지방산을 포함한다. 한 구체예에서, 단쇄 지방산은 한정하는 것은 아니지만, 포름산, 아세트산, 프로피온산, 아이소부티르산, 부티르산, 아이소발레르산, 발레르산, 아이소카프로산, 카프로산, 락트산, 석신산, 피루브산, 옥탄산 및 도데칸산을 포함하는 군으로부터 선택된다. 한 구체예에서, 단쇄 지방산들의 조합은 나트륨 아세테이트, 나트륨 프로피오네이트 및 나트륨 부티레이트를 적어도 10 mM, 적어도 20 mM, 적어도 30 mM, 40 mM, 50 mM, 60 mM, 70 mM, 80 mM, 90mM, 100 mM 또는 그 이상의 동등한 양으로 포함한다.

[0058] 단쇄 지방산의 생물학적 활성 유도체, 예컨대 O, S, N, 메틸, 에틸, 할로겐 및 생물학적 활성을 간섭하지 않는 다른 기들과 같은 탄소 사슬 상의 치환기를 가지는 유도체가 또한 본 발명의 조성물을 형성하기 위해 사용될 수 있다.

[0059] 프로바이오틱 박테리아

[0060] 다양한 구체예에서, 본 발명은 간세포 암의 개시를 예방 또는 지연시키는 조성물 및 방법을 포함한다. 다양한 구체예에서, 본 발명은 간 염증, 간 질환 및 전암성 병변을 치료 또는 예방적 치료 또는 예방함으로써 간세포 암의 개시를 예방 또는 지연시키는 조성물 및 방법을 포함한다. 한 구체예에서, 간세포 암의 개시를 예방 또는 지연시키는 조성물은 프로바이오틱 박테리아 또는 프로바이오틱 박테리아의 조합을 포함한다.

[0061] 한 구체예에서, 발명은 간세포 암의 개시를 예방 또는 지연시키기 위한 치료법으로서 프로바이오틱 박테리아를 투여하는 일반적 개념을 제공한다. 한 구체예에서, 발명의 조성물은 프로바이오틱 박테리아를 포함한다. 한 구체예에서, 프로바이오틱 박테리아는 한정하는 것은 아니지만 다음을 포함하는 군으로부터 선택된다: 락토바실러스 플란타룸, 락토바실러스 아시도필러스, 락토바실러스 파라카세이, 류코노스톡 메센테로이데스, 락토바실러스 불가리쿠스, 락토바실러스 사세이, 락토바실러스 살리바리우스, 페디오코커스 펜토사세우스, 스트렙토코커스 써모필레스, 바실러스 서브틸리스, 바실러스 코아귤란스, 엔테로코커스 파에시움, 비피도박테리움 비피둠, 비피도박테리움 락티스, 비피도박테리움 롱굼 및 비피도박테리움 인판티스.

[0062] 본 발명의 프로바이오틱 박테리아는 또한 그것의 유전자 및/또는 표현형 특성이 원래의 스트레인과 비교하여 변경된 프로바이오틱 박테리아 스트레인들의 돌연변이, 변이체 및 유전자 변형된 돌연변이를 포함한다. 프로바이오틱 박테리아 스트레인의 자연 발생적인 변이체들은 선택적으로 분리된 표적화된 특성의 자발적인 변경을 포함하는 한편 원래의 스트레인 특성의 의도적인 변경은 종래의 유전자 조작 기술, 예컨대 유전자 파괴, 콘쥬게이트 전달 등에 의해 이루어진다.

[0063] 프로바이오틱 박테리아의 일반적 상태는 생존 가능 세포, 또는 냉동-건조된 세포의 형태 (본원에서 데이터를 생성하기 위해 사용됨)이다. 그러나, 그것은 또한 사멸된 배양물 또는 프로바이오틱 박테리아에 의해 발현된 유익

한 인자들을 함유하는 조성물과 같은 비-생존성 세포에도 확장될 수 있다. 이것은 열적으로 사멸된 미생물 또는 변경된 pH에 대한 노출 및 압력에 대한 종속에 의해 사멸된 미생물을 포함할 수 있을 것이다. 비-생존성 세포 제품 제제가 더 단순하여서, 세포는 쉽게 의약품에 통합될 수 있고 저장 요건은 생존 세포보다 훨씬 덜 제한된다.

[0064] 한 구체예에서, 박테리아의 다음의 조성물 및 단위용량이 본원에 제공된 예비 데이터를 생성하기 위해 사용되었다: 생체활성 식물섬유 타입 2.5 g 이눌린, 2.5 g 펙틴, 2.5 g 베타-글루칸 및 2.5 g 내성 전분 (신바이오틱 2000^{TM})의 혼합물과 함께 10^{10}의 락토바실러스 플란타룸 2362, 10^{10}의 락토바실러스 파라카세이 하위종 파라크세이 19, 10^{10}의 류코노스톡 메센테로이데스 32-77:1e 및 10^{10}의 페디오코커스 펜토사세우스 5-33:3. 조성물 및 단위용량은 3개월의 기간 동안 매일 투여되었다.

[0065] 치료 방법

[0066] 한 구체예에서, 본 발명은 프로바이오틱 또는 프로바이오틱들의 조합을 사용하여 간세포 암을 치료, 억제, 예방 또는 감소시키는 방법을 제공한다. 다른 구체예에서, 본 발명은 단쇄 지방산 또는 단쇄 지방산들의 조합을 사용하여 간세포 암을 치료, 억제, 예방 또는 감소시키는 방법을 제공한다.

[0067] 본 발명은 간세포 암의 개시를 예방 또는 억제하는 방법을 제공한다. 간의 염증, 예컨대 간염은 간세포 손상, 재생 및 전암성 및 간세포 암 결절로의 진행을 초래하는 초기 병변을 유발한다. 간 염증 및 다른 전암성 병변을 치료하는 것은 간세포 암의 개시를 예방 또는 지연시킬 수 있다. 간 질환 및 염증을 검출하는 방법들은 숙련자들에게 드러날 것이고 및/또는 본원에 기술된다.

[0068] 본 발명에 따라 간 염증을 감소시키기 위한 일반적인 접근법은 단쇄 지방산을 세포에 제공하는 것이다. 한 구체예에서, 단쇄 지방산은 직접 전달될 수 있다. 다른 구체예에서, 단쇄 지방산은 간접적으로 프로바이오틱 박테리아에 의한 복잡한 탄수화물 (프리바이오틱스)의 대사를 통해 전달될 수 있다.

[0069] 간 염증의 억제를 이루기 위해서, 단쇄 지방산이 세포에 전달되어야 한다. 한 가지 전달 메커니즘은 물리적으로 또는 화학적으로 세포막을 투과성으로 만드는 상기 언급된 방법들 중 어느 것에 의한 것이다. 단쇄 지방산을 세포에 전달하기 위한 발명의 다른 구체예는 입자 폭발을 포함할 수 있다. 이 방법은 세포를 사멸시키지 않으면서 세포막에 구멍을 뚫고 세포에 단쇄 지방산이 들어가는 것을 허용하는, 단쇄 지방산을 고속으로 운반하는 미세투사물 (microprojectiles)을 가속화시키는 능력에 좌우된다. 작은 입자를 가속화시키는 몇몇 장치가 개발되어 왔다. 그런 한 가지 장치는 계속해서 기전력 (motive force)을 제공하는, 전류를 생성하기 위한 고전압 방전에 의존한다. 사용된 미세투사물은 텅스텐 또는 금 비즈와 같은 생물학적으로 비활성인 물질로 구성되었다.

[0070] 발명의 추가의 구체예에서, 단쇄 지방산은 리포솜에 포획될 수 있다. 리포솜은 인지질 이중층 막과 내부의 수성 매질을 특징으로 하는 소포 구조체이다. 다-층 리포솜은 수성 매질에 의해 분리된 다중 지질층을 가진다. 그것들은 인지질이 과잉의 수용액에 현탁될 때 자발적으로 형성된다. 지질 성분은 폐쇄된 구조가 형성되어 지질 이중층 사이에 물과 용해된 용질을 포획하기 전에 자체-재배열을 진행한다.

[0071] 본 발명의 조성물 및 상기 화합물들을 함유하는 제약학적 조성물은 경구로 투여될 수 있고, 그로써 경구 투여에 적합한 형태로, 즉 고체 또는 액체 제제로서 제형될 수 있다. 적합한 고체 경구 제형은 정제, 캡슐, 환, 과립, 펠릿 등을 포함한다. 적합한 액체 경구 제형은 용액, 현탁액, 분산액, 에멀션, 오일 등을 포함한다. 만약 캡슐의 형태로 제형된다면, 본 발명의 조성물은, 활성 화합물 및 비활성 담체 또는 희석제에 더불어 경질 겔화 캡슐을 포함한다.

[0072] 본 발명의 조성물 및 상기 화합물들을 함유하는 제약학적 조성물은 추가로 비강 내로, 즉 흡입에 의해 투여될 수 있고 그로써 비강 내 투여제 적합한 형태로, 즉 에어로졸 또는 액체 제제로서 제형될 수 있다.

[0073] 본 발명의 조성물은 또한, 예를 들면 인간 또는 수의학에서 사용하기 위한 종래의 좌제 기제를 함유하는 좌제로서 또는 예를 들면 종래의 페서리 기제를 함유하는 페서리로서 제형될 수 있다.

[0074] 발명의 한 측면은 간 염증, 간 질환 및 전암성 병변을 발명의 조성물을 사용하여 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다. 한 구체예에서, 발명의 조성물은 간 염증, 간 질환 및 전암성 병변을 치료 또는 예방함으로써 간세포 암의 개시를 억제하기 위해 사용될 수 있다.

[0075] 다음은 개시된 방법 및 조성물에 의해 치료될 수 있는 간 질환의 비-제한적인 실례이다: 간 섬유증, 비만과 관련된 간 질환, 대사 증후군과 관련된 간 질환, 간 간경변, 알코올성 간경변, 비-알코올성 간경변, 지방간, 당뇨

와 관련된 간의 간경변, 유전적 간 질환, 간 지방증 또는 만성 간염. 이것은 다른 바이러스, 예컨대 HIV와 관련된 만성 간 질환을 포함하며, 장기간 항-레트로바이러스 요법을 받고 있는 개인들의 40%로 추정되는 사람들이 만성 간 질환을 나타낸다.

[0076] 간세포 암에 더불어, 발명의 조성물을 대상체에게 투여함으로써 치료되거나 면역화될 수 있는 (즉 예방적 치료) 암은 B 세포 림프종, T 세포 림프종, 골수종, 백혈병, 조혈 종양 형성, 흉선종, 림프종, 육종, 폐암, 비-호지킨 림프종, 호지킨 림프종, 자궁암, 선암종, 유방암, 췌장암, 폐암, 신장암, 방광암, 전립선암, 난소암, 일차 또는 전이성 흑색종, 편평세포 암종, 기저세포 암종, 뇌암, 맥관 육종, 혈관 육종, 두경부 암종, 갑상선 암종, 연조직 육종, 골육종, 고환암, 자궁암, 경부암, 위장암, 및 현재 알려져 있는 또는 후에 확인될 임의의 다른 암으로 구성되는 군으로부터 선택된 암일 수 있다 (예컨대 Rosenberg (1996) Ann. Rev. Med. 47:481-491, 전체 내용은 본원에 참조로 포함됨). 본 발명의 범주 내에 고려되는 추가의 면역원은, 한정하는 것은 아니지만, 미생물, 박테리아, 원생동물, 기생충, 진균 및 바이러스 질환을 포함하여, 감염성 질환에 대해 대상체를 보호하기에 적합한 임의의 면역원을 포함할 수 있는 감염성 제제 면역원이다. 암과 관련된 염증에 더불어, SCFA는 또한 자가면역 또는 자가공격성 질환 (예컨대 류머티스성 관절염)과 관련된 염증의 치료에 유용할 수 있다.

[0077] 필요로 하는 개인에서 암을 억제하는 방법의 일부 구체예에서, 제2 제제, 예컨대 신생물형성 억제제가 개체에게 투여된다. 일부 구체예에서, 제2 제제는 제2 전이-억제제, 예컨대 플라스미노겐 길항제 또는 아데노신 탈아민효소 길항제를 포함한다. 다른 구체예에서, 제2 제제는 혈관신생 억제제이다.

[0078] 발명의 조성물은 인간 및 동물에서 종양 전이를 예방, 약화, 최소화, 제어 및/또는 줄이기 위해 사용될 수 있다. 개시된 화합물들은 또한 일차 종양 성장의 속도를 둔화시키기 위해 사용될 수 있다. 개시된 화합물들은 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여될 때 암세포의 확산을 중지시키기 위해 사용될 수 있다. 그로써, 본원에 개시된 화합물들은 하나 이상의 약물 또는 다른 제약학적 제제와의 조합 치료법의 일부로서 투여될 수 있다. 조합 치료법의 일부로서 사용될 때, 개시된 화합물들에 의해 영향을 받는 전이의 감소 및 일차 종양 성장의 감소는 환자를 치료하기 위해 사용되고 있는 임의의 제약학적 또는 약물 치료법의 더 효과적이고 효율적인 사용을 허용한다. 또한, 개시된 화합물들에 의한 전이의 제어는 대상체에게 질환을 한 위치로 농축시키는 더 큰 능력을 제공한다.

[0079] 다음은 개시된 방법 및 조성물에 의해 치료될 수 있는 암의 비-제한적 실례이다: 급성 림프모세포성; 급성 골수성 백혈병; 부신 피질 암종; 부신 피질 암종, 아동기; 충수암; 기저세포 암종; 담관암, 간외부; 방광암; 골암; 골육종 및 악성 섬유성 조직구종; 뇌간 신경교종, 아동기; 뇌종양, 성인; 뇌종양, 뇌간 신경교종, 아동기; 뇌종양, 중추신경계 비전형 기형종/간상 종양, 아동기; 중추신경계 배아 종양; 소뇌 성상세포종; 소뇌 성상세포종/악성 신경교종; 두개 인두종; 뇌실상의모세포종; 뇌실막종; 수모세포종; 수질상피종; 중간 분화의 송과 실질 종양; 천막상 원시성 신경외배엽성 종양 및 송과체모세포종; 시교차 및 시상하부 신경교종; 뇌 및 척수 종양; 유방암; 기관지 종양; 버킷 림프종; 유암종; 유암종, 위장; 중추신경계 비전형 기형종/간상 종양; 중추신경계 배아 종양; 중추신경계 림프종; 소뇌 성상세포종 소뇌 성상세포종/악성 신경교종, 아동기; 자궁경부암; 척삭종, 아동기; 만성 림프구 백혈병; 만성 골수성 백혈병; 만성 골수증식성 장애; 대장암; 결장암; 두개 인두종; 피부의 T-세포 림프종; 식도암; 종양의 유잉 집단; 성선외 생식세포 종양; 간외 담관암; 눈암, 안내 흑색종; 눈암, 망막모세포종; 담낭암; 위 (복부) 암; 위장 유암종; 위장 간질 종양 (GIST); 생식 세포 종양, 두개 외; 생식 세포 종양, 고환 외; 생식 세포 종양, 난소; 임신성 영양모세포성 종양; 신경교종; 신경교종, 아동기 뇌간; 신경교종, 아동기 뇌 성상세포종; 신경교종, 아동기 시교차 및 시상하부; 겸상 세포 백혈병; 두경부암; 간세포 (간) 암; 조직구증, 랑게르한스 세포; 호지킨 림프종; 하인두암; 시상하부 및 시교차 신경교종; 안 내 (intraocular) 흑색종; 섬세포 종양; 신장 (신장세포) 암; 랑게르한스 세포 조직구증; 후두암; 백혈병, 급성 림프모세포성; 백혈병, 급성 골수성; 백혈병, 만성 림프구성; 백혈병, 만성 골수성; 백혈병, 겸상 세포; 입술 및 구강암; 간암; 폐암, 비-소세포성; 폐암, 소세포성; 림프종, AIDS-관련; 림프종, 버킷; 림프종, 피부 T-세포; 림프종, 호지킨성; 림프종, 비-호지킨성; 림프종, 원발성 중추신경계; 마크로글로불린혈증, 발덴스트롬; 뼈의 악성 섬유조직구종 및 골육종; 수모세포종; 흑색종; 흑색종, 안 내 (눈); 메르켈 세포 암종; 중피종; 잠복성 원발성 전이성 편평세포 경부암; 구강암; 다발성 내분비 신생물형성 증후군, (아동기); 다발성 골수종/원형질 세포 신생물형성; 사상균증; 진균증; 골수이형성 증후군; 골수이형성성/골수증식성 질환; 골수성 백혈병, 만성; 골수성 백혈병, 성인기 급성; 골수성 백혈병, 아동기 급성; 골수종, 다발성; 골수증식성 장애, 만성; 비강 및 부비동암; 비인두암; 신경모세포종; 비-소세포 폐암; 구강암; 구강암; 구인두암; 골육종 및 뼈의 악성 섬유조직구종; 난소암; 난소 상피암; 난소 생식세포 종양; 난소 저악성 잠재성 종양; 췌장암; 췌장암, 섬세포 종양; 유도종증; 부갑상선암; 음경암; 인두암; 크롬친화성세포종; 중등도 분화형의 송과체 실질 종양; 송과체모세포종 및 천막상 원시 신

경외배엽 종양; 뇌하수체 종양; 원형질 세포 신생물형성/다발성 골수종; 흉막과 폐의 모세포종; 원발성 중추신경계 림프종; 전립선암; 직장암; 신장 세포 (신장)암; 신우뇨관, 이행세포암; 염색체 15번상의 NUT 유전자를 포함하는 기도 암종; 망막모세포종; 횡문근육종; 침샘암; 육종, 종양의 유잉 집단; 육종, 카포시; 육종, 연조직; 육종, 자궁; 시자리 증후군; 피부암 (비흑색종); 피부암 (흑색종); 피부 암종, 메르켈 세포; 소세포 폐암; 소장암; 연조직 육종; 편평세포 암종, 잠복성 원발성 편평세포 경부암, 전이성; 복부 (위)암; 천막상 원시 신경외배엽 종양; T-세포 림프종, 피부; 고환암; 인후암; 흉선종 및 흉선 암종; 갑상선암; 신우뇨관의 이행세포암; 융모성 종양, 임신성; 요도암; 자궁암, 자궁내막; 자궁 육종; 질암; 외음부암; 발덴스트롬 마크로글로불린혈증; 및 빌름스 종양.

[0080] 한 구체예에서, 발명은 발명의 조성물로 치료하기 전에, 동시에 또는 후에, 암에 대한 보완 요법, 예컨대 수술, 화학요법, 화학요법제, 방사선 요법 또는 호르몬 요법 또는 그것들의 조합으로 대상체를 치료하는 단계를 포함하는 암 치료 방법을 제공한다.

[0081] 다른 구체예에서, 발명은 발명의 조성물로 치료하기 전에, 동시에 또는 후에, 암에 대한 보완 요법, 예컨대 수술, 화학요법, 화학요법제, 방사선 요법 또는 호르몬 요법 또는 그것들의 조합으로 대상체를 치료하는 단계를 포함하는 암 치료 방법을 제공한다.

[0082] 화학요법제는 세포독성제 (예컨대 5-플루오로우라실, 시스플라틴, 카르보플라틴, 메토트렉세이트, 다우노루비신, 독소루비신, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 옥소루비신, 카르무스틴 (BCNU), 로무스틴 (CCNU), 시타라빈 USP, 사이클로포스파미드, 에스트라뮤신 포스페이트 나트륨, 알트레타민, 하이드록시우레아, 이포스파미드, 프로카르바진, 미토마이신, 부술판, 사이클로포스파미드, 미토크산트론, 카르보플라틴, 시스플라틴, 인터페론 알파-2a 재조합체, 파클리탁셀, 테니포시드 및 스트렙토조신), 세포독성 알킬화제 (예컨대 부술판, 클로르암부실, 사이클로포스파미드, 멜팔란 또는 에틸설폰산), 알킬화제 (예컨대 아살레이, AZQ, BCNU, 부술판, 바이설판, 카르복시프탈라토플라티늄, CBDCA, CCNU, CHIP, 클로르암부실, 클로로조토신, 시스-플라티늄, 클로메손, 시아노모르폴리노독소루비신, 사이클로디손, 사이클로포스파미드, 다이안하이드로갈락티톨, 플루오로도판, 헵설팜, 하이칸톤, 이포스파미드, 멜팔란, 메틸 CCNU, 미토마이신 C, 미토졸라미드, 니트로겐 머스타드, PCNU, 피페라진, 피페라진다이온, 피포브로만, 포르피로마이신, 스피로히단토인 머스타드, 스트렙토조토신, 테록시론, 테트라플라틴, 티오테파, 트라이에틸렌멜라민, 우라신 니트로겐 머스타드 및 Yoshi-864), 세포분열 억제제 (예컨대 알로콜키신, 할리콘드린 M, 콜키신, 콜키신 유도체, 돌라스타틴 10, 마이탄신, 리족신, 파클리탁셀 유도체, 파클리탁셀, 티오콜키신, 트라이틸 시스테인, 빈블라스틴 설페이트 및 빈크리스틴 설페이트), 식물 알카로이드 (예컨대 악티노마이신 D, 블레오마이신, L-아스파라기나제, 이다루비신, 빈블라스틴 설페이트, 빈크리스틴 설페이트, 미트라마이신, 미토마이신, 다우노루비신, VP-16-213, VM-26, 나벨빈 및 탁소테어), 생물학적 제제 (예컨대 알파 인터페론, BCG, G-CSF, GM-CSF 및 인터류킨-2), 토포아이소메라제 I 억제제 (예컨대 캄프토테신, 캄프토테신 유도체 및 모르폴리노독소루비신), 토포아이소메라제 II 억제제 (예컨대 미토크산트론, 아모나피드, m-AMSA, 안트라피라졸 유도체, 피라졸로아크리딘, 비스안트렌 HCL, 다우노루비신, 데옥시독소루비신, 메노가릴, N,N-다이벤질 다우노마이신, 옥산트라졸, 루비다존, VM-26 및 VP-16) 및 합성물질 (예컨대 하이드록시우레아, 프로카르바진, o,p'-DDD, 다카르바진, CCNU, BCNU, 시스-다이아민다이클로로플라티늄, 미토크산트론, CBDCA, 레바미솔, 헥사메틸멜라민, 올-트랜스 레틴산, 글리아델 및 포르피머 나트륨)을 포함한다.

[0083] 증식억제제는 세포의 증식을 감소시키는 화합물이다. 증식억제제는 알킬화제, 대사길항물질, 효소, 생물학적 반응 변형제, 기타 제제, 호르몬 및 길항제, 안드로겐 억제제 (예컨대 플루타미드 및 류프롤리드 아세테이트), 항에스트로겐 (예컨대 타목시펜 시트레이트 및 그것의 유사체, 토레미펜, 드롤록시펜 및 롤록시펜)을 포함한다. 구체적인 증식억제제의 추가의 실례는, 한정하는 것은 아니지만, 레바미솔, 갈륨 니트레이트, 그라니세트론, 사르그라모스팀 스트론튬-89 클로라이드, 필그라스팀, 필로카르핀, 덱스라족산 및 온단세트론을 포함한다.

[0084] 발명의 조성물은 단독으로 또는 세포독성/신생물형성 억제제 및 혈관형성 억제제를 포함하여, 다른 항-종양제와 함께 투여될 수 있다. 세포독성/신생물형성 억제제는 암세포를 공격하여 사멸시키는 제제로서 정의된다. 일부 세포독성/신생물형성 억제제는 종양 세포에서 유전자 물질을 알킬화하는 알킬화제, 예컨대 시스-플라틴, 사이클로포스파미드, 니트로겐 머스타드, 트라이메틸렌 티오포스포라미드, 카르무스틴, 부술판, 클로르암부실, 벨루스틴, 우라실 머스타드, 클로마파진 및 다카바진이다. 다른 세포독성/신생물형성 억제제는 종양 세포에 대한 대사길항물질, 예컨대 시토신 아라비노시드, 플루오로우라실, 메토트렉세이트 메르캅토퓨린, 아자티오프림 및 프로카르바진이다. 다른 세포독성/신생물형성 억제제는 항생물질, 예컨대 독소루비신, 블레오마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 미트라마이신, 미토마이신, 마이토마이신 C 및 다우노마이신이다. 이들 화합물에 대해 상업적으로 이용 가능한 수많은 리포솜성 제형이 있다. 또 다른 세포독성/신생물형성 억제제는 유사분열 억제제 (빈카

알카로이드)이다. 이것들은 빈크리스틴, 빈블라스틴 및 에토포시드를 포함한다. 기타의 세포독성/신생물형성 억제제는 탁솔 및 그것의 유도체, L-아스파라기나제, 항-종양 항체, 다카르바진, 아자시티딘, 암사크린, 멜팔란, VM-26, 이포스파미드, 미토크산트론 및 빈데신을 포함한다.

[0085] 혈관형성 억제제는 기술분야의 숙련자들에게 잘 알려져 있다. 본 개시의 방법 및 조성물에 사용하기에 적합한 혈관형성 억제제는 항-VEGF 항체, 이를테면 인간화된 및 키메라 항체, 항-VEGF 압타머 및 안티센스 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 혈관형성의 다른 공지된 억제제는 안지오스타틴, 엔도스타틴, 인터페론, 인터류킨 1 (알파 및 베타를 포함함), 인터류킨 12, 레티노산 및 메탈로프로테이나제-1 및 -2의 조직 억제제 (TIMP-1 및 -2)를 포함한다. 작은 분자, 이를테면 혈관형성 억제 활성을 가지는 라족산, 토포아이소메라제 II 억제제와 같은 토포아이소메라제가 또한 사용될 수 있다.

[0086] 개시된 화합물들과 함께 사용될 수 있는 다른 항암제는, 한정하는 것은 아니지만 다음을 포함한다: 아시비신; 아클라루비신; 아코다졸 염산염; 아크로닌; 아도젤레신; 알데스류킨; 알트레타민; 암보마이신; 아메탄트론 아세테이트; 아미노글루테티미드; 암사크린; 아나스트로졸; 안트라마이신; 아스파라기나제; 아스페를린; 아자시티딘; 아제테파; 아조토마이신; 바티마스타트; 벤조데파; 바이칼루타미드; 바이산트렌 염산염; 비스나피드 다이메실레이트; 바이젤레신; 블레오마이신 설페이트; 브레퀴나르 나트륨; 브로피리민; 부술판; 칵티노마이신; 칼루스테론; 카라세미드; 카르베티머; 카르보플라틴; 카르무스틴; 카루비신 염산염; 카르젤레신; 세데핑골; 클로람부실; 시롤레마이신; 시스플라틴; 클라드리빈; 크리스나톨 메실레이트; 사이클로포스파미드; 시타라빈; 다카르바진; 닥티노마이신; 다우노루비신 염산염; 데시타빈; 덱소르마플라틴; 데자구아닌; 데자구아닌 메실레이트; 다이아지쿠온; 도세탁셀; 독소루비신; 독소루비신 염산염; 드롤록시펜; 드롤록시펜 시트레이트; 드로모스타놀론 프로피오네이트; 두아조마이신; 에다트렉세이트; 에플로르니틴 염산염; 엘사미트루신; 엔로플라틴; 엔프로메이트; 에피프로피딘; 에피루비신 염산염; 에르불로졸; 에소루비신 염산염; 에스트라무스틴; 에스트라무스틴 포스페이트 나트륨; 에타니다졸; 에토포시드; 에토포시드 포스페이트; 에토프린; 파드로졸 염산염; 파자라빈; 펜레티나이드; 플록스우리딘; 플루다라빈 포스페이트; 플루오로우라실; 플루오로시타빈; 포스퀴돈; 포스트리신 나트륨; 겜시타빈; 겜시타빈 염산염; 하이드록시우레아; 이다루비신 염산염; 이포스파미드; 일모포신; 인터류킨 II (재조합 인터류킨 II 또는 rII2를 포함함), 인터페론 알파-2a; 인터페론 알파-2b; 인터페론 알파-n1; 인터페론 알파-n3; 인터페론 베타-I a; 인터페론 감마-I b; 이프로플라틴; 이리노테칸 염산염; 란레오티드 아세테이트; 레트로졸; 류프롤리드 아세테이트; 리아로졸 염산염; 로메트렉솔 나트륨; 로무스틴; 로소크산트론 염산염; 마소프로콜; 마이탄신; 메클로레타민 염산염; 메게스트롤 아세테이트; 말렌게스트롤 아세테이트; 멜팔란; 메노가릴; 메르캅토퓨린; 메토트렉세이트; 메토트렉세이트 나트륨; 메토프린; 메투레데파; 미틴도미드; 미토카르신; 미토크로민; 미토길린; 미토말신; 미토마이신; 미토스퍼; 미토탄; 미토크산트론 염산염; 미코페놀산; 노코다졸; 노갈라마이신; 오르마플라틴; 옥시수란; 파클리탁셀; 페가스파르가제; 펠리오마이신; 펜타무스틴; 페플로마이신 설페이트; 퍼포스파미드; 피포브로만; 피포설판; 피로크산트론 염산염; 플라카마이신; 플로메스탄; 포르피머 나트륨; 포르피로마이신; 프레드니무스틴; 프로카르바진 염산염; 푸로마이신; 푸로마이신 염산염; 피라조퓨린; 리보프린; 로글레티미드; 사핑골; 사핑골 염산염; 세무스틴; 심트라젠; 스파르포세이트 나트륨; 스파르소마이신; 스피로게르마늄 염산염; 스피로무스틴; 스피로플라틴; 스트렙토니그린; 스트렙토조신; 술로페누르; 탈리소마이신; 테코갈란 나트륨; 테가푸어; 텔로크산트론 염산염; 테모포르핀; 테니포시드; 테록시론; 테스톨락톤; 티아미프린; 티오구아닌; 티오테파; 티아조푸린; 티라파자민; 토레미펜 시트레이트; 트레스톨론 아세테이트; 트라이시리빈 포스페이트; 트라이메트렉세이트; 트라이메트렉세이트 글루쿠로네이트; 트립토렐린; 투불로졸 염산염; 우라실 머스타드; 우레데파; 바프레오티드; 베르테포르핀; 빈블라스틴 설페이트; 빈크리스틴 설페이트; 빈데신; 빈데신 설페이트; 비네피딘 설페이트; 빈글리시네이트 설페이트; 빈류로신 설페이트; 비노렐빈 타르트레이트; 빈로시딘 설페이트; 빈졸리딘 설페이트; 보로졸; 제니플라틴; 지노스타틴; 조루비신 염산염. 다른 항암제로는 한정하는 것은 아니지만 다음을 포함한다: 20-에피-1,25-다이하이드록시비타민 D3; 5-에티닐우라실; 아비라테론; 아클라루비신; 아실폭벤; 아데시페놀; 아도젤레신; 알데스류킨; ALL-TK 길항제; 알트레타민; 암바무스틴; 아미독스; 아미포스틴; 아미노레불린산; 암루비신; 암사크린; 아나그렐리드; 아나스트로졸; 안드로그라폴리드; 혈관형성 억제제; 길항제 D; 길항제 G; 안타렐릭스; 등지느러미 형성 방지 형태발생 단백질-1; 항안드로겐, 전립선 암종; 항에스트로겐; 항네오플라스톤; 안티센스 올리고뉴클레오티드; 아피디콜린 글리시네이트; 아폽토시스 유전자 조절제; 아폽토시스 조절제; 아퓨린산; 아라-CDP-DL-PTBA; 아르기닌 탈아민효소; 아술라크린; 아타메스탄; 아트리무스틴; 악시나스타틴 1; 악시나스타틴 2; 악시나스타틴 3; 아자세트론; 아자톡신; 아자티로신; 바카틴 III 유도체; 발라놀; 바티마스타트; BCR/ABL 길항제; 벤조클로린스; 벤조일스타우로스포린; 베타 락탐 유도체; 베타-알레틴; 베타클라마이신 B; 베툴린산; bFGF 억제제; 바이칼루타미드; 비스안트렌; 비스아지리디닐스퍼민; 비스나피드; 비스트라텐 A; 바이젤레신; 브레플레이트; 브로피리민; 부도티탄; 부티오닌 설

폭스이민; 칼시포트라이올; 칼포스틴 C; 캄프토테신 유도체; 카나리폭스 IL-2; 카페시타빈; 카르복스아미드-아미노-트라이아졸; 카르복시아미도트라이아졸; CaRest M3; CARN 700; 연골 유도 억제제; 카르젤레신; 카제인 키나제 억제제 (ICOS); 카스타노스퍼민; 세크로핀 B; 세트로렐릭스; 클로린스; 클로로퀴녹살린 설폰아미드; 시카프로스트; 시스-포르피린; 클라드리빈; 클로미펜 유사체; 클로트리마졸; 콜리스마이신 A; 콜리스마이신 B; 콤브레타스타틴 A4; 콤브레타스타틴 유사체; 코나게닌; 크람베시딘 816; 크리스나톨; 크립토피신 8; 크립토피신 A 유도체; 쿠라신 A; 사이클로펜타아트라퀴논; 사이클로플라탐; 사이페마이신; 시타라빈 옥포스페이트; 세포용해 인자; 사이토스타틴; 다클릭시맙; 데시타빈; 데하이드로다이데민 B; 데스로렐린; 덱사메타손; 덱시포스파미드; 덱스라족산; 덱스베라파밀; 다이아지쿠온; 다이뎀닌 B; 다이독스; 다이에틸노르스퍼민; 다이하이드로-5-아자시티딘; 다이하이드로탁솔, 9-; 다이옥사마이신; 다이페닐 스피로무스틴; 도세탁셀; 도코산올; 돌라스테론; 독시플루리딘; 드롤록시펜; 드로나비놀; 두오카르마이신 SA; 엡셀렌; 에코무스틴; 에델포신; 에드레콜로맙; 에플로르니틴; 엘레멘; 에미테푸르; 에피루비신; 에프리스테리드; 에스타르무스틴 유사체; 에스트로겐 아고니스트; 에스트로겐 길항제; 에타니다졸; 에토포시드 포스페이트; 엑세메스탄; 파드로졸; 파자라빈; 펜레티니드; 필그라스팀; 피나스테리드; 플라보피리돌; 플레젤라스틴; 플루아스테론; 플루다라빈; 플루오로다우노루니신 염산염; 포르페니멕스; 포르메스탄; 포스트라이에신; 포테무스틴; 가돌리늄 텍사피린; 갈륨 니트레이트; 갈로시타빈; 가니렐릭스; 젤라티나제 억제제; 겜시타빈; 글루타티온 억제제; 헵설팜; 헤레굴린; 헥사메틸렌 비스아세타미드; 하이페리신; 이반드론산; 이다루비신; 이독시펜; 이드라만톤; 일모포신; 일롬스타트; 이미다조아크리돈; 이미퀴모드; 면역자극 펩티드; 인슐린-유사 성장 인자-1 수용체 억제제; 인터페론 아고니스트; 인터페론; 인터류킨; 이오벵구안; 요오도옥소루비신; 이포메안올, 4-; 이로플락트; 이르소글라딘; 아이소벵가졸; 아이소호모할리콘드린 B; 이타세트론; 자스플라키놀리드; 카할라라이드 F; 라멜라린-N 트라이아세테이트; 란레오티드; 레이나마이신; 레노그라스팀; 렌티난 설페이트; 렙톨스타틴; 레트로졸; 백혈병 억제 인자; 백혈구 알파 인터페론; 류프롤리드+에스트로겐+프로게스테론; 류프로렐린; 레바미솔; 리알로졸; 선형 폴리아민 유사체; 친유성 이당 펩티드; 친유성 백금 화합물; 리소클린아미드 7; 로바플라틴; 롬브리신; 로메트렉솔; 로니다민; 로소크산트론; 로바스타틴; 록소리빈; 루르토테칸; 류테튬 텍사피린; 리소필린; 용해성 펩티드; 마이탄신; 만노스타틴 A; 마리마스타트; 마소프로콜; 마스핀; 마트릴신 억제제; 매트릭스 메탈로프로테이나제 억제제; 메노가릴; 메르바론; 메테렐린; 메티오니나제; 메토클로프라미드; MIF 억제제; 미페프리스톤; 밀테포신; 미리모스팀; 미스매치된 이중 가닥 RNA; 미토구아존; 미토락톨; 미토마이신 유사체; 미토나피드; 미토톡신 섬유모세포 성장 인자-사포린; 미토크산트론; 모파로텐; 몰그라모스팀; 단클론성 항체, 인간 융모성 고나도트로핀; 모노포스포릴 지질 A+미오박테리움 세포벽 sk; 모피다몰; 다중 약물 내성 유전자 억제제; 다발성 종양 억제제 1-기저 요법; 머스타드 항암제; 미카퍼옥사이드 B; 미코박테리아 세포벽 추출물; 미리아포론; N-아세틸다이날린; N-치환된 벤즈아미드; 나파렐린; 나그레스팁; 날록손+펜타조신; 나파빈; 나프테르핀; 나르토그라스팀; 네다플라틴; 네모루비신; 네리드론산; 중성 엔도펩티다제; 닐루타미드; 니사마이신; 질소 산화물 조절제; 니트록시드 항산화제; 니트룰린; O6-벤질구아닌; 옥트레오티드; 오키세논; 올리고뉴클레오티드; 오나프리스톤; 온단세트론; 온단세트론; 오라신; 경구용 사이토카인 유도제; 오르마플라틴; 오사테론; 옥살리플라틴; 옥사우노마이신; 파클리탁셀; 파클리탁셀 유사체; 파클리탁셀 유도체; 팔라우아민; 팔미토일리족신; 파미드론산; 파낙시트라이올; 파노미펜; 파라박틴; 파젤립틴; 페가스파르가제; 펠데신; 펜토산 폴리설페이트 나트륨; 펜토스타틴; 펜트로졸; 퍼플루브론; 퍼포스파미드; 페릴릴 알코올; 페나지노마이신; 페닐아세테이트; 포스파타제 억제제; 피시반일; 필로카르핀 염산염; 피라루비신; 피리트렉심; 플라세틴 A; 플라세틴 B; 플라스미노겐 활성화제 억제제; 백금 복합체; 백금 화합물; 백금-트라이아민 복합체; 포르피머 나트륨; 포르피로마이신; 프레드니손; 프로필 비스-아크리돈; 프로스타글란딘 J2; 프로테아좀 억제제; 단백질 A-기저 면역 조절제; 단백질 키나아제 C 억제제; 단백질 키나아제 C 억제제; 마이크로알갈; 단백질 티로신 포스파타제 억제제; 퓨린 뉴클레오시드 포스포릴라제 억제제; 푸르푸린; 피라졸로아크리딘; 피리독실화된 헤모글로빈 폴리옥시에틸렌 콘쥬게이트; raf 길항제; 랄티트렉세드; 라모세트론; ras 파르네실 단백질 트랜스퍼라제 억제제; ras 억제제; ras-GAP 억제제; 탈메틸화된 레텔리프틴; 레늄 Re 186 에티드로네이트; 리족신; 리보자임; RII 레틴아미드; 로글레티미드; 로히투킨; 로무르티드; 로퀴니멕스; 루비기논 B1; 루복실; 사핑골; 사인토핀; SarCNU; 사르코피톨 A; 사르그라모스팀; Sdi 1 모방물; 세무스틴; 세네센 유도된 억제제 1; 센스 올리고뉴클레오티드; 신호 변환 억제제; 신호 변환 조절제; 단일 사슬 항원 결합 단백질; 시조푸란; 소부족산; 나트륨 보로캅테이트; 나트륨 페닐아세테이트; 솔베롤; 소마토메딘 결합 단백질; 소네르민; 스파르포스산; 스피카마이신 D; 스피로무스틴; 스플레노펜틴; 스폰지스타틴 1; 스쿠알라민; 줄기세포 억제제; 줄기세포 분할 억제제; 스티피아미드; 스트로멜리신 억제제; 설피노신; 과활성 혈관작용성 장 펩티드 길항제; 수라디스타; 수라민; 스와인소닌; 합성 글리코사미노글리칸; 탈리무스틴; 타목시펜 메티오다이드; 타우로무스틴; 타자로텐; 테코갈란 나트륨; 테가푸어; 텔루라피릴륨; 텔로메라제 억제제; 테모포르핀; 테모졸로미드; 테니포시드; 테트라클로로데카옥사이드; 테트라조민; 탈리블라스틴; 티오코랄린; 트롬보포이에틴; 트롬보포이에틴 모방물; 티말파신; 티모포

이에틴 수용체 아고니스트; 티모트리난; 갑상선 자극 호르몬; 주석 에틸 에티오푸르푸린; 티라파자민; 티타노센 바이클로라이드; 토프센틴; 토레미펜; 분화전능성 줄기세포 인자; 번역 억제제; 트레티노인; 트라이아세틸우리딘; 트라이시리빈; 트라이메트렉세이트; 트라이프토렐린; 트로피세트론; 투로스테리드; 티로신 키나제 억제제; 티르포스틴; UBC 억제제; 우베니멕스; 비뇨생식기 공동-유도된 성장 억제 인자; 유로키나제 수용체 길항제; 바프레오티드; 바리올린 B; 벡터 시스템, 적혈구 유전자요법; 벨라레솔; 베라민; 베르딘스; 베르테포르핀; 비노렐빈; 빈크살틴; 비탁신; 보로졸; 자노테론; 제니플라틴; 질라스코브; 및 지노스타틴 스티말라머. 한 구체예에서, 항암 약물은 5-플루오로우라실, 탁솔 또는 류코보린이다.

[0087] 제약학적 조성물

[0088] 본 발명은 본 발명의 하나 이상의 조성물을 포함하는 제약학적 조성물을 포함한다. 본원에 기술된 제약학적 조성물의 제형은 약물학 기술분야에서 지금까지 알려져 있거나 이후에 개발되는 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 일반적으로, 그런 제조 방법들은 활성 성분을 담체 또는 하나 이상의 다른 부속 성분들과 회합시키는 단계, 및 다음에 필요하다면 또는 바람직하다면 그 생성물을 원하는 단일- 또는 다중-용량 유닛으로 성형 또는 포장하는 단계를 포함한다.

[0089] 상기 조성물은 의도된 용도 및 적용에 따라 추가의 의학적 제제, 제약학적 제제, 담체, 완충제, 보조제, 분산제, 희석제 등을 포함할 수 있다.

[0090] 적합한 제약학적 담체, 부형제 및/또는 희석제의 실례는 기술분야에 잘 알려져 있고, 한정하는 것은 아니지만, 고무, 전분 (예컨대 옥수수 전분, 사전-젤라틴화된 전분), 당 (예컨대 락토오스, 만니톨, 수크로오스, 덱스트로오스), 셀룰로오스성 물질 (예컨대 미정질 셀룰로오스), 아크릴레이트 (예컨대 폴리메틸아크릴레이트), 칼슘 카보네이트, 마그네슘 옥사이드, 탈크 또는 그것들의 혼합물을 포함한다.

[0091] 액체 제형에 대해 제약학적으로 허용되는 담체는 수성 또는 비-수성 용액, 현탁액, 에멀션 또는 오일이다. 비-수성 용매의 실례는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 및 에틸 올레에이트와 같은 주사 가능한 유기 에스테르이다. 오일의 실례는 동물, 식물 또는 합성 기원의 오일, 예를 들면 땅콩 오일, 대두유, 올리브유, 해바라기유, 강황 오일, 어간유, 다른 수산 유지 또는 우유 또는 난 (egg)으로부터의 지질이 있다.

[0092] 수성 담체는 식염수 및 완충된 매질, 예컨대 포스페이트 완충된 식염수 용액, 물, 에멀션, 예컨대 오일/물 에멀션, 다양한 유형의 습윤제, 멸균 용액 등을 포함하여, 물, 알코올성/수성 용액, 에멀션 또는 현탁액을 포함한다. 그런 담체를 포함하는 조성물은 잘 알려져 있는 종래 방법에 의해 제형될 수 있다. 적합한 담체는 발명의 생물학적 활성 화합물과 조합될 때 생물학적 활성을 보유하는 임의의 물질을 포함할 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제는 멸균 수성 또는 비-수성 용액, 현탁액 및 에멀션을 포함할 수 있다. 비-수성 용매의 실례는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물성 오일, 예컨대 올리브유, 및 에틸 올레에이트와 같은 주사 가능한 유기 에스테르이다. 수성 담체는 식염수 및 완충된 매질을 포함하여, 물, 알코올성/수성 용액, 에멀션 또는 현탁액을 포함한다. 비경구 비히클은 염화나트륨 용액, 링거 덱스트로오스, 덱스트로오스 및 염화 나트륨, 락테이트화된 링커 또는 고정 오일을 포함할 수 있다. 정맥 내 비히클은 유체 및 영양분 보충물, 전해질 보충물 (예컨대 링거 덱스트로오스를 기반으로 한 것들) 등을 포함할 수 있다. 예를 들어 항미생물제, 항산화제, 킬레이트화제 및 비활성 가스 등을 포함하여, 보존제 및 다른 첨가제가 또한 존재할 수 있고, 또한 본 발명의 제약학적 조성물은 예컨대, 바람직하게는 인간 기원의 혈청 알부민 또는 면역글로불린과 같은 단백성 담체를 포함할 것이다.

[0093] 본원에 제공된 제약학적 조성물은 또한 제어된-방출 조성물, 즉 활성 성분이 투여 후 일정 기간에 걸쳐 방출되는 조성물로서 투여될 수 있다. 제어된- 또는 지속성-방출 조성물은 친유성 데포 (예컨대 지방산, 왁스, 오일) 중의 제형을 포함한다. 다른 구체예에서, 조성물은 즉시-방출 조성물, 즉 모든 활성 성분이 투여 직후에 방출되는 조성물이다.

[0094] 나아가, 다양한 구체예에서 발명에 따르는 및 본원에 기술된 것과 같은 제약학적 조성물은 식품, 기능성 식품, 음료, 의료용 식품에 첨가되거나 상기 화합물을 포함하는 조성물이 식품, 기능성 식품, 음료, 의료용 식품에 혼합되어 투여될 수 있다.

[0095] 비록 본원에 제공된 제약학적 조성물의 설명이 원리적으로는 인간에 대한 윤리적 투여에 적합한 제약학적 조성물에 대해 지시되지만, 숙련된 기술자는 그런 조성물이 일반적으로 모든 종류의 동물에 대한 투여에 적합한 것을 인지할 것이다. 조성물이 다양한 동물에 대한 투여를 위해 적합하게 만들기 위하여 인간에게 투여하기에 적합한 제약학적 조성물의 변형은 잘 인지되고, 통상적인 기술을 가진 수의학적 약물학자는 만약 있다면, 단순히 통상적인 실험을 사용하여 그런 변형을 디자인하고 수행할 수 있다. 발명의 제약학적 조성물의 투여가 고려되는

대상체는 한정하는 것은 아니지만, 비-인간 영장류, 소, 돼지, 말, 양, 고양이 및 개와 같은 상업적으로 관련된 포유류를 포함하여, 인간 및 다른 영장류, 포유류를 포함한다.

[0096] 발명의 방법에 유용한 제약학적 조성물은 눈, 구강, 직장, 질, 비경구, 국소적, 폐, 코 안, 볼, 종양 내, 경막외, 뇌 내, 뇌실 내 투여 또는 다른 투여 경로에 적합한 제형으로 제조되거나, 포장되거나, 시판될 수 있다. 고려되는 다른 제형은 사출된 나노입자, 리포솜성 제제, 활성 성분을 함유하는 재밀봉된 적혈구 및 면역학적-기반 제형을 포함한다.

[0097] 발명의 제약학적 조성물은 대량으로, 단일 유닛 용량으로서, 또는 복수의 단일 유닛 단위용량으로서 제조, 포장 또는 시판될 수 있다. 본원에서 사용되는, "유닛 용량"은 소정량의 활성 성분을 포함하는 제약학적 조성물의 별개의 양이다. 활성 성분의 양은 일반적으로 대상체에게 투여될 활성 성분의 단위용량 또는 예를 들면 그런 단위용량의 1/2 또는 1/3과 같은, 그런 단위용량의 편리한 분율과 같다.

[0098] 발명의 제약학적 조성물 중의 활성 성분, 제약학적으로 허용되는 담체 및 임의의 추가 성분의 상대적 양은 치료되는 대상체의 정체, 크기 및 상태에 따라 다를 것이고, 추가로 투여되는 조성물의 경로에 따라 다를 것이다. 예를 들면, 조성물은 0.1% 내지 100% (w/w)의 활성 성분을 포함할 수 있다.

[0099] 활성 성분에 더불어, 발명의 제약학적 조성물은 추가로 하나 이상의 추가의 제약학적 활성 제제를 포함할 수 있다.

[0100] 발명의 제약학적 조성물의 제어된- 또는 지속성-방출 제형은 종래의 기술을 사용하여 제조될 수 있다.

[0101] 본 발명의 조성물은 또한 프리바이오틱 성분을 포함할 수 있다. "프리바이오틱"은 애완동물의 장내 세균총에 의해 발효되고 따라서 병원성 박테리아의 희생으로 애완동물의 위장관에서의 락트산 박테리아의 성장 또는 발달을 촉진하는 물질 또는 화합물을 포함한다. 이 발효의 결과는 대장에서의 지방산, 특히 단쇄 지방산의 방출일 수 있다. 이 방출은 대장의 pH 값을 감소시키는 효과를 가질 수 있다. 적합한 프리바이오틱의 비-제한적 실례는 올리고당, 예컨대 이눌린 및 보통 프룩토올리고당, 갈락토-올리고당, 크실로-올리고당 또는 전분의 올리고 유도체 (예컨대 펙틴, 베타-글루칸 및 내성 전분)로서 알려져 있는 그것의 가수분해 생성물을 포함한다. 프리바이오틱은 임의의 적합한 형태로 제공될 수 있다. 예를 들어, 프리바이오틱은 섬유를 함유하는 식물 물질의 형태로 제공될 수 있다. 적합한 식물 물질은 아스파라거스, 아티초크, 양파, 밀 또는 치커리, 또는 이들 식물 물질의 잔류물을 포함한다. 다르게는, 프리바이오틱 섬유가 이눌린 추출물로서 제공될 수 있는데, 예를 들면 치커리로부터의 추출물이 적합하다. 적합한 이눌린 추출물은 상표명 "라프틸린 (Raftiline)" 하에 Tirlemont 3300 (Belgium)의 Orafti SA로부터 얻을 수 있다. 예를 들어, 이눌린은 미세한 백색 분말이고, 약 90 내지 약 94 중량%의 이눌린, 최대 약 4 중량%의 글루코오스 및 프룩토오스 및 약 4 내지 9 중량%의 수크로오스를 함유하는 라프틸린 (g) ST의 형태로 제공될 수 있다. 다르게는, 섬유는 상표명 "라프틸로오스 (Raftilose)" 하에 Tirlemont 3300 (Belgium)의 Orafti SA로부터 얻어진 것과 같은 프룩토올리고당의 형태일 수 있다. 예를 들어, 이눌린은 라프틸로오스 (g) P95의 형태로 제공될 수 있다. 그렇지 않으면, 프룩토올리고당은 이눌린을 가수분해함으로써, 효소적 방법에 의하여 또는 미생물을 사용하여 얻어질 수 있다.

[0102] 제약학적 조성물은 또한 영양학적 조성물, 예컨대 구강 소비를 위한 및 선택적으로 장 흡수를 위한 경구용 영양 조성물을 포함하고, 영양 조성물은 본 발명의 화합물들을 포함한다.

[0103] 만약 영양 조성물이 경구로 투여되도록 제형된다면, 조성물은 액체 경구용 영양 보충물 (예컨대 불완전 공급) 또는 완전한 공급일 수 있다. 이 방식으로, 영양 조성물은 예를 들면 편리한 단위용량 형태의 정제, 캡슐, 액체, 씹을 수 있는, 소프트 겔, 사세, 분말, 시럽, 액체 현탁액, 에멀션 및 용액을 포함하는 임의의 알려진 형태로 투여될 수 있다.

[0104] 영양 제형은 임의의 영양적으로 완전한 또는 보충적인 제형 (예를 들면 영양 보충물)을 포함한다. 본원에서 사용되는 바, "영양적으로 완전한"은 바람직하게 충분한 유형 및 수준의 다량영양분 (단백질, 지방 및 탄수화물) 및 그것이 투여되는 대상체에 대해 단독 공급원이 되기에 충분한 미량영양분의 유형 및 수준을 함유하는 영양적 생성물이다. 환자들은 그런 완전한 영양 조성물로부터 그들의 영양학적 요구의 100%를 받을 수 있다. 한 구체예에 따르면 영양 제형은 보충적 영양을 제공하는 보충 제형이다. "보충 제형"은 영양학적으로 완전하지 않지만, 바람직하게는 예를 들면 육체 운동, 추가로 발명의 유익한 효과들과 함께 지지하는, 및/또는 대상체의 구체적인 또는 부가적인 필요를 해결하는 특수한 영양분을 함유한다.

[0105] 영양 제형은 일반적으로 적용 가능한, 예를 들면 구체적 연령의 대상체들에 적응되는 영양 제형, 예를 들면 아동용 제형일 수 있지만, 또한 고령 환자를 위한, 집중 돌봄 환자를 위한, 또는 예를 들면 특수 질환으로 고생하

는 환자들을 위한 특수하게 적응된 제형일 수 있다. 임의의 영양 제형은 복원 가능할 수 있다, 즉 실질적으로 건조된, 예를 들면 분말 형태로, 또는 즉석 음료 형태로, 예를 들면 액체 제형의 형태로 존재할 수 있다.

[0106] 발명의 키트

[0107] 발명은 또한 발명의 방법 내에서 유용한 화합물 및, 예를 들면 본원의 다른 곳에서 기술된 단쇄 지방산을 투여하는 방법, 또는 본원의 다른 곳에서 기술된 프로바이오틱 박테리아를 투여하는 방법을 기술하는 설명서를 포함하는 키트를 포함한다. 비경구 투여에 적합한 제약학적 조성물의 제형은 제약학적으로 허용되는 담체, 예컨대 멸균수 또는 멸균된 등장성 식염수와 조합된 활성 성분을 포함한다. 그런 제형은 볼러스 투여를 위해 또는 연속적 투여를 위해 적합한 형태로 제조, 포장 또는 시판될 수 있다. 주사 가능한 제형은 유닛 단위용량 형태로, 예컨대 앰플로 또는 보존제를 함유하는 다중 용량 용기로 제조, 포장 또는 시판될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제형은, 한정하는 것은 아니지만, 현탁액, 용액, 유성 또는 수성 비히클 중의 에멀션, 페이스트, 및 이식 가능한 지속성-방출 또는 생분해성 제형을 포함한다. 이런 제형은 한정하는 것은 아니지만, 현탁제, 안정화제 또는 분산제를 포함하는 하나 이상의 추가 성분을 더 포함할 수 있다. 비경구 투여용 제형의 한 구체예에서, 활성 성분은 복원된 조성물의 비경구 투여 전에 적합한 비히클 (예컨대 발열원 없는 멸균수)로 복원시키기 위한 건조한 (즉 분말 또는 과립) 형태로 제공된다.

[0108] 제약학적 조성물은 멸균 주사 가능한 수성 또는 유성 현탁액 또는 용액의 형태로 제조, 포장 또는 시판될 수 있다. 이런 현탁액 또는 용액은 기술분야에 공지된 대로 제형될 수 있고, 활성 성분에 더불어, 부가적인 성분, 예컨대 본원에 기술된 분산제, 습윤제 또는 현탁제를 포함할 수 있다. 그런 멸균 주사 가능한 제형은 비-독성의 비경구적으로 허용되는 희석제 또는 용매, 예컨대 물 또는 예를 들어 1,3 부탄다이올을 사용하여 제조될 수 있다. 다른 허용되는 희석제 및 용매로는, 한정하는 것은 아니지만, 링거액, 등장성 염화나트륨 용액, 및 합성 모노 또는 다이-글리세리드와 같은 고정된 오일을 포함한다. 유용한 다른 비경구적으로 투여가능한 제형은 활성 성분을 미정질 형태로, 리포솜성 제제로, 또는 생분해성 중합체 시스템의 성분으로서 포함하는 제형들을 포함한다. 지속성 방출 또는 이식을 위한 조성물은 에멀션, 이온 교환 수지, 난용성 중합체 또는 난용성 염과 같은 제약학적으로 허용되는 중합체 또는 소수성 물질을 포함할 수 있다.

[0109] 실험 실시예

[0110] 발명을 다음의 실험 실시예를 참조하여 한층 더 상세하게 기술한다. 이들 실시예는 단지 예시의 목적으로 제공된 것이고, 다르게 명시되지 않는 한 한정하는 것으로 의도되지 않는다. 그러므로, 발명은 어떤 방식으로든 다음의 실시예로 한정되는 것으로 해석되어서는 안되고, 오히려 본원에서 제공된 교시의 결과로서 명백해지는 임의의 및 모든 변동을 포함하는 것으로 해석되어야 한다.

[0111] 추가의 설명이 없어도, 기술분야의 숙련자는 선행 설명 및 다음의 예시적인 실시예를 사용하여 본 발명의 화합물을 제조하고 이용할 수 있으며, 청구된 방법을 실시할 수 있을 것으로 여겨진다. 그러므로 다음의 작업 실시예는 본 발명의 바람직한 구체예들을 구체적으로 언급하고, 어떤 방식으로든 개시의 나머지를 제한하는 것으로 해석되지 않아야 한다.

[0112] 실시예 1: B형 간염 x 유전자 도입 마우스에서 공생하는 박테리아는 B형 간염 바이러스 중재된 간세포 암종에 대한 화학적 예방을 제공한다

[0113] B형 간염 바이러스 (HBV)로의 만성 감염은 만성 간 질환 (CLD)의 진행의 발달 및 간세포 암종 (HCC)의 출현과 관련된다. HCC는 치료적 선택이 별로 없는, 전세계적으로 우세한 암이다. HCC가 감염 후 수십년 동안 발달되고, 가장 자주 만성 염증을 바탕으로 나타났다면, 염증을 억제하는 것으로 알려져 있는 선택된 프로바이오틱 박테리아가 HCC의 출현을 예방하거나 지연시키기 위한 간단하고 저렴한 수단으로서 사용될 수 있을 것이라는 가설을 시험하기 위해 실험을 디자인하였다. 이것을 시험하기 위하여, 점진적인 간 병변을 나타내고 결국 HCC를 발달시킨 B형 간염 x (HBx) 유전자 도입 마우스를 프로바이오틱 박테리아 (신바이오틱 2000™)의 혼합물로 치료하였다. 그 결과는 대조 유전자 도입 마우스에 비교하여 형성 이상 및 HCC 결절의 수 및 크기의 유의미한 감소를 보였다. 선택된 면역 및 암 관련 마커의 미세배열 분석은 대조 마우스에 비교하여 신바이오틱 2000™으로 치료된 마우스의 간에서 강력하게 감소된 발현을 보였다. 사용된 박테리아가 복잡한 탄수화물을, 다른 시스템에서 항-염증 특성을 가지는 것으로 알려져 있는 단쇄 지방산 (SCFA)으로 대사하기 때문에, HBx 유전자 도입 마우스들에게는 신바이오틱 2000™(아세테이트, 프로프리오네이트, 부티레이트)에 의해 제조된 SCFA의 조합을 평행한 실험에서 박테리아 없이 공급하였다. 그 결과는 다시 형성 이상 및 HCC 결절의 수 및 크기에서 강력한 감소를 보였

다. 이들 결과는 SCFA 형태의 신바이오틱 2000™ 또는 그것들의 대사 부산물이 HCC의 발병을 약화시키고, 암 화학예방 접근법으로서 HCC에 대해서뿐 아니라, 아마도 자주 만성 염증을 바탕으로 발달하는 다른 암에 대해서도 유용할 수 있음을 보여준다.

[0114] 이들 실험에 사용된 물질 및 방법을 이제 기술한다.

[0115] 물질 및 방법

[0116] 마우스

[0117] HCC의 발병을 연구하기 위하여, 그리고 새로운 치료 접근법을 평가하기 위하여, HBx 유전자 도입 마우스 모델을 생성하였다 (Yu DY et al., J Hepatol, 1999; 31:123-132). 출생시, 이들 HBx 유전자 도입 마우스들은 한배 새끼이거나 HBx 발현이 없었으며 간에 병리는 없었다. 생후 3-4개월이 되었을 때 마우스들은 간염/지방증과 관련된 검출 가능한 HBx를 나타냈다. 생후 6-7개월이 되었을 때, 간 내 HBx의 존재, 빈도 및 분포는 훨씬 더 커졌고, 이것은 형성 이상 결절 및 미세한 HCC의 출현과 관련된다. 생후 9-10개월이 되었을 때, 광범위한 HBx 염색은 육안으로 보이는 HCC 결절의 출현과 관련된다. 사건들의 이런 순서는 만성 인간 감염에서의 그것과 유사한 것이어서, 이 동물 모델을 현재 작업에 사용하였다.

[0118] 신바이오틱 2000™ 또는 그것들의 SCFA 대사 산물이 HBV 관련된 HCC의 발병을 지연 또는 예방할 것이라는 가설을 시험하기 위하여, HBx 유전자 도입 마우스를 사용하였다 (Arzumanyan A et al., Cancer Res, 2012; 72(22):5912-5920). 유전자 도입 마우스를 HBx 유전자를 그것의 인핸서/프로모터 복합체와 함께 사용하여 C57B16을 바탕으로 제조하여 HBx가 분화된 간세포에서만 발현되도록 하였다. 이것은 간의 병변의 진행과 관련된 HBx 발현의 연령 의존성 증가를 초래하였다. 이들 마우스를 유대열 박사 (한국 생명공학 연구원, 대한민국 대전)에 의해 공급받았고, CBA 마우스와 교배시켰다. 다음에 C57B16/CBA 마우스의 콜로니를 형매 교배 (brother-sister mating)에 의해 생성하였다. 후자는 원래의 C57B16 유전자 도입 마우스 스트레인에 비교하여 병변이 진행된 동물들이 더 많이 발생하였다.

[0119] 프로바이오틱 박테리아 및 단쇄 지방산 (SCFA)

[0120] 신바이오틱 2000™을 메디팜 (Des Moines, Iowa)에 의해 제공받았다. 그것은 패킷당 네 개의 락트산 생성 바실리 (1010 락토바실러스 플란타룸 2362, 1010 락토바실러스 파라카세이 하위종 파라카세이 19, 1010 류코노스톡 메센테로이데스 32-77:1e, 및 1010 페디오코커스 펜토사세우스 5-33:3)의 혼합물 및 네 가지 생체 작용성 식물성 섬유 유형 (2.5 g 이눌린; 2.5 g 펙틴; 2.5 g 베타-글루칸 및 2.5 g 내성 전분)의 혼합물을 함유한다. 그것을 3개월의 기간 동안 0.05 g/용량 (2.5g/30ml 물, 0.6ml 용량/마우스)으로 위관영양법에 의해 매일 투여하였다.

[0121] 아세트산 나트륨, 프로피온산 나트륨, 및 부티레이트 나트륨으로 구성되는 단쇄 지방산을 Acros Organics (Geel, Belgium)로부터 Fisher Scientific (Fairlawn, NJ)을 통하여 구매하였다. 그것들을 30일 동안 하루에 150 mM의 SCFA (50 mM의 각 SCFA)를 함유하는 0.2 ml로 위관영양법에 의해 투여하였다.

[0122] 프로토콜

[0123] HBx 유전자 도입 마우스를 꼬리 자르기 분석 및 실시간 PCR 증폭에 의하여 HBx 유전자의 존재에 대해 시험하였다. HBx 단백질을 앞서 기술된 것과 같이 (Arzumanyan A et al., Cancer Res, 2012; 72(22):5912-5920), 포르말린-고정되고, 파라핀 삽입된 간 조직으로부터 절단된 섹션들의 면역조직학적 염색에 의해 평가하였다. 이 작업을 위해, 생후 3, 6 및 9개월째의 10마리씩의 HBx 유전자 도입 마우스들의 그룹을 3개월 동안 매일 새롭게 복원한 신바이오틱 2000™으로 위관영양시켰다. 대조 그룹은 연령과 성별을 매치시킨 HBx 유전자 도입 마우스들을 포함하였고 그것들은 신바이오틱 2000™ 대신 PBS로 위관영양을 하였다. 연령과 성별을 매치시킨 HBx 네거티브 한배새끼들의 그룹을 신바이오틱 2000™ 또는 PBS로 위관영양 하였다. 모든 마우스를 주기적으로 알라닌 아미노-트랜스페라제 (ALT) (ALT/GPT 50, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) 측정을 위해 안와-뒤쪽에서 출혈시켰고, 처리 후 3개월 후에 안락사시켰다. 마우스들을 각 출혈 직전에 체중을 측정하였고, 안락사 후에 간의 중량을 측정하였다. 각 간의 표면에서 볼 수 있는 종양 결절의 수를 세었다. 다음에 각 엽 (lobe)으로부터의 간의 샘플을 삽입시키고 H&E에 의해 섹션을 염색하였다. 각 간으로부터의 슬라이드를 두 명의 개인에 의해 독립적으로 코드하에 광현미경에 의해 조사하였고, 다양한 병변을 기록하였다. 모든 마우스로부터 남아 있는 간 조

직을 액체 질소 중에 순간-냉동시키고 -80℃에서 보관하였다. 이 작업에 대한 모든 동물 프로토콜은 템플 대학교 동물실험 윤리위원회 (Temple University Institutional Animal Care and Use Committee)에 의해 승인받았다.

[0124] RNA 분리 및 cDNA 합성

[0125] 모든 마우스로부터의 냉동된 간 조직 샘플을 오토클레이브된 비-일회용 프로브 (TissueRuptor, Qiagen)가 달린 소형 로터-고정자 균등화기를 사용하여 용해 완충액 (RTL) 중에서 균등화하였다. 다음에 각 샘플로부터의 총 RNA를 RNeasy 미니 키트 (Qiagen)를 제조자의 프로토콜을 따라 사용하여 추출하였다. 오염시키는 DNA를 RNase-유리 DNase 키트 (Qiagen)를 사용하여 제거하였다. RNA 농도를 나노드롭 UV-Vis 분광계 (Thermo Scientific)에서 260 및 280 nm에서의 1 μl의 각 샘플의 흡광도를 판독하여 측정하였다. 50 μl의 최종 부피의 용출 완충액 중의 50 내지 1800 ng/μl의 전형적 수율을 30 mg의 초기 조직 샘플로부터 얻었다. 샘플을 다음에 50 ηg/μl의 최종 농도로 분표본화하고 -80℃에서 보관하였다.

[0126] 역전사를 이들 샘플의 각각으로부터 500 ηg의 총 RNA를 사용하여 RT2 제1 가닥 키트 (Qiagen)를 제공된 제조자의 지시에 따라 사용하여 이루었다. 다음에 샘플을 qPCR 어레이에서 사용할 때까지 -20℃에서 보관하였다.

[0127] qPCR 어레이 분석

[0128] 마이크로웰로 포맷된 Custom RT2 프로파일러 PCR-어레이 (SA Biosciences, Qiagen, Izasa)는 이 연구의 특수한 관심의 연구에 맞춰진 유전자들의 패널을 함유하였다. cDNA의 증폭을 RT2 SYBR Green Rox qPCR 마스터믹스 (Qiagen)를 사용하여 수행하였다. 각각의 역전사된 샘플을 1:3으로 희석하고 그 중 51 μl를 550 μl의 마스터믹스에 첨가하였다. 이 반응 혼합물로부터, 10 μl의 각 믹스를 각 웰에 로딩하였다.

[0129] 통계학적 분석

[0130] 카이-제곱 시험을 사용하여 대조 마우스에 비교한 처리된 마우스의 상이한 간 병변 사이의 관계를 평가하였다. 유의미성을 $p<0.05$일 때 얻었다. 학생 t 검정을 사용하여 처리된 마우스와 대조 마우스 사이의 종양 크기의 차이를 평가하였다. 유의미성을 $P<0.05$일 때 얻었다.

[0131] 그 실험 결과를 이제 설명한다.

[0132] 만성 간 질환 및 HCC에 미치는 신바이오틱 2000™의 효과

[0133] HCC의 발병이 면역 중재된 것이고 (Feitelson MA et al., Cancer Lett, 2009; 286(1):69-79), 신바이오틱 2000™ 중의 프로바이오틱 박테리아가 항-염증 특성을 가질 수 있다면, 신바이오틱 2000™으로 공급되는 HBx 유전자 도입 마우스들이 CLD의 발달 및 그것의 HCC로의 진행을 지연시키거나 차단할 수 있다는 가설을 시험하기 위하여 실험을 디자인하였다. 따라서, 생후 3, 6 및 9개월째에 시작하여 그룹당 10마리의 마우스에게 3개월 동안 위관영양을 하였다. 마우스들을 치료을 시작하기 직전에 안와 뒤에서 출혈시켰고, 동물을 안락사시킬 때까지 1개월 간격으로 출혈시켰다. 다음에 간을 제거하고, 각 엽으로부터의 샘플을 포르말린으로 고정하고 파라핀을 삽입하는 한편, 나머지 간 샘플을 순간 냉동시켰다.

[0134] HBx 유전자 도입 마우스가 간염을 나타낸다면, 여러 혈청 샘플을 ALT 효소 활성에 대해 시험하였다. PBS로 처리한 대부분의 HBx 마우스로부터의 평균 ALT 값은 평행하게 신바이오틱 2000™으로 치료한 연령 및 성별 매치된 HBx 마우스들의 그것보다 상당히 더 컸다 (도 1). 생후 3-6개월의 마우스들 중에서, 평균 ALT 값의 차이는 없었지만 (도 1a), 생후 6-9개월의 마우스들 중에서, 7.5-9개월로부터의 평균 차이는 생후 9-12개월로부터의 치료된 마우스들 중에서의 평균 차이처럼 ($t = 6.78$, $P < 0.001$) (도 1c), 유의미하게 달랐다 ($t = 14.18$, $P < 0.001$) (도 1b). 이들 발견은 연령에 따라 간 질환이 더 심각하고 진행적일수록, 대조표준과 비교하여 신바이오틱 2000™ 치료된 마우스들 중에서 평균 ALT 값의 차이가 더 큰 것을 시사한다. 그러나, 비록 PBS 처리된 마우스와 비교하여 신바이오틱 2000™에 대한 평균 ALT 값이 많은 이들 경우에 통계학적으로 상이했을지라도, ALT 상승은 경미하고 차이중 많은 것이 60 단위 미만의 값들 사이에 있었음이 강조되어야 한다.

[0135] 만성 간 질환의 진행 및 HCC의 발달에 미치는 신바이오틱 2000™의 영향을 다음에 생후 3, 6 또는 9개월에 시작하여 3개월 동안 처리된 HBx 마우스에서 평가하였다. 생후 6개월에 안락사된 생후 3개월된 마우스들 중에서, 10마리의 PBS 처리된 마우스 중 5마리 (50%)가 문맥 주위의 간염을 나타낸 한편, 이것은 신바이오틱 2000™ 치료된

10마리의 마우스들 중 4마리에서 관찰되었다 (도 7). 비록 공생 치료된 마우스들이 PBS 처리된 마우스들에 비교하여 더 적고 대체로 더 경미한 병변을 나타내는 경향이 있긴 하지만, 이들 차이는 통계학적으로 유의미하지 않았다 (도 2a). 대조적으로, 생후 6개월된 마우스들 중에서는, 10마리의 모든 대조동물이 9개월째에 그것들의 간을 평가할 때까지 광범위한 형성 이상의 증거를 나타낸 한편, 신바이오틱 2000™ 치료된 마우스들 중에서는, 단지 40%만이 형성 이상의 증거를 나타냈다. 신바이오틱 2000™ 치료된 그룹에서는, 대조 마우스와 비교하여 대체로 더 적은 형성 이상 세포와 결절이 있었다. 중요한 것은, 신바이오틱 2000™으로 치료된 마우스들 중 절반이 조직학적으로 정상적인 간을 가졌다는 것이다 (도 2b, 도 8). 평행 실험을 생후 9개월된 마우스로 수행하였을 때, PBS 처리된 마우스들 중 90%가 HCC 결절을 가졌던 한편, 신바이오틱 2000™ 치료된 마우스들 중에서는 단지 40%만이 HCC를 가졌다 (도 2c). 이들 마우스 중 많은 것이 다중 병변 유형 (예컨대 간염, 형성 이상 및/또는 HCC)을 가졌고, 형성 이상 세포의 다중 결절 및 다중-결절성 HCC를 특징으로 하였다 (도 9). 예상했던 것과 같이, 평행하게 처리된 HBx 네거티브 마우스들은 모두 간에서 유의미한 병변을 나타내지 않았다 (데이터는 제시하지 않음). 그러므로, 공생 박테리아로의 치료는 상이한 연령의 마우스들 중에 존재하는 간 병변에 정성적이고 정량적인 변화를 유발하는 것으로 나타났다.

[0136] 신바이오틱 2000™을 사용한 상기 관찰결과가 독성과 관련되었는지를 측정하기 위하여, 모든 마우스를 실험이 끝날 때에 체중을 측정하였다. 간 또한 중량을 측정하였다. 마우스의 모든 그룹에서, 플라세보로 처리된 마우스들에 비교하여 신바이오틱 2000™으로 치료된 마우스들 사이에 체중 또는 간 중량 사이의 통계학적 차이는 없었다. 예를 들어, 3개월 동안 공급받은 생후 9개월 그룹 중에서, 플라세보 처리된 마우스들에 대한 평균 체중은 45.3 그램이었던 한편, 신바이오틱 2000™으로 치료된 마우스들의 평균 체중은 49.2 그램이었다 ($t = 0.879$; $P > 0.3$). 평균 간 중량은 각각 2.62 및 2.68 그램이었다 ($t = 0.102$; $P > 0.9$). 유사한 결과를 더 어린 마우스에서 관찰하였다 (데이터는 제시하지 않음). 이들 결과는 3개월의 기간에 걸쳐 신바이오틱 2000™ 치료와 관련된 공공연한 독성이 없음을 가리킨다.

[0137] 이 실험실 및 다른 실험실로부터의 이전 작업은 간내 HBx 발현과 만성 간 질환의 심각성 사이의 직접적인 상관을 보여주었다 (Jin YM et al., J Viral Hepat, 2001; 8(5):322-30; Feitelson MA et al., J Hepatol, 1993; 17(Suppl. 3):S24-S34; Wang W et al., Hepatology, 1998; 14:29-37; Wang W et al., Cancer Res, 1991; 51:4971-4977). 이것이 본원에서도 일어나는지, 신바이오틱 2000™ 치료에 역비례하는지를 시험하기 위하여, 처리된 마우스 및 대조 마우스의 각 그룹으로부터의 간 섹션들을 면역조직화학 염색에 의해 HBx 발현에 대해 평가하였다. 생후 3개월 마우스들 중에서, 원형질 HBx는 산재된 간세포 또는 간세포 그룹에서 약함 내지 중간 (+1 및 +2)이었다 (도 10). 간내 HBx의 존재, 빈도 및 분포는 더 오래된 동물의 간에서 증가되었다 (도 10). HBx 마우스가 신바이오틱 2000™으로 치료되었을때, HBx 염색은 대조 마우스와 비교하여 감소하였다 (도 10, 도 3).

[0138] 종양 형성 및 면역력과 관련된 선택된 마커의 부분 발현 프로파일

[0139] HCC가 만성 염증의 맥락에서 발생한다면, 그리고 HBx가 이 종양 유형의 발달을 촉진한다면, 제한된 PCR 어레이 분석을 수행하여 신바이오틱 2000™이 HCC의 발병에 기여할 수 있는 선택된 종양 관련 신호화 경로 및/또는 사이토카인의 발현시 영향을 미치는지를 측정하였다. 생후 3개월된 마우스를 3개월 동안 신바이오틱 2000™으로 치료하고 선택된 유전자의 발현 프로파일을 PBS 처리된 동물의 그것과 비교하였을 때, 종양 형성과 관련된 마커들은 1.5 내지 3배 상향-조절되었다 (도 4a). 신바이오틱 2000™ 치료를 생후 6개월된 마우스에게 3개월 동안 투여하였을 때, 대부분의 종양 발현과 관련된 마커들은 대조 마우스와 비교하여 시험에서 상향- 또는 하향-조절되지 않았다 (도 4b). 주지할만한 예외는 EGFR이었는데, 그것은 성장을 자극하고, 신바이오틱 2000™에 의해 8-배 이상 하향-조절되었다. 대조적으로, 신바이오틱 2000™을 3개월 동안 생후 9개월된 마우스에 투여했을 때, 종양 형성과 관련된 대부분의 마커들은 플라세보 처리된 동물들과 비교하여 시험에서 크게 하향-조절되었다 (도 4c). 이들 마커는 Gli1 및 2를 포함하였는데, 그것들은 헷지호그 (hedgehog) 경로의 신호화 분자, 여러 Notch 수용체, TGFβ-1 및 2 및 TGFβR1 (보통 세포 성장을 네거티브하게 조절함), Tcf3 (β-카테닌 신호화에 중요함), Akt1 (암종 발생에서 자주 본질적으로 활성화됨), 뿐만 아니라 MMP-9 및 -10 (전이를 촉진함)이다 (도 4c). 6개월째에 안락사된 생후 3개월된 마우스에서의 면역 중재된 마커들에 관해서는, 대부분의 면역 마커들은 플라세보 처리된 마우스들과 비교하여 시험에서 2-배 이내로 상승하거나 억제되지 않았다 (도 4a). 유사한 결과

를 9개월째에 안락사된 생후 6개월된 마우스들에서 얻었다 (도 4b). 그러나, 12개월째에 안락사된 생후 9개월된 마우스들 중에서, 면역 반응 관련 마커들은 모두 대조 마우스와 비교하여 시험에서 저하되었고 (도 4c), 이것은 HBx에 대한 면역 반응의 성질의 변동 및/또는 질환 진행에 수반하는 간에서의 HBx 유도된 변화를 시사한다. 이 분석을 연령 및 성별 매치된 도입 유전자 네거티브 한배새끼로부터의 간에 대해 수행하였을 때, 이들 마커의 수준에서 통계학적으로 유의미한 차이는 없었고, 이것은 그것들의 차이가 간에 대한 HBx의 증가하는 영향과 관련이 있고, 연령 관련 변화로 인한 것은 아니었음을 시사한다 (데이터는 제시하지 않음).

[0140] 단쇄 지방산 (SCFA)으로의 치료

[0141] 신바이오틱 2000™에서 락트산 생성 박테리아는 SCFA로 대사되는 프리바이오틱 영양분의 풍부한 공급원으로 공급된다. SCFA는 항-염증성인 것으로 알려져 있고, HCC가 염증성 성분을 가지는 만성 간 질환을 바탕으로 발생하기 때문에, SCFA가 신바이오틱 2000™처럼 HCC의 발병에 동일한 영향을 미칠 것인지를 측정하기 위해 실험을 디자인하였다. 신바이오틱 2000™의 가장 큰 영향이 HCC를 나타낸 생후 9 내지 12개월의 마우스들 중에서 관찰되었기 때문에, 생후 9개월된 마우스들에게 3개월 동안 SFCA를 위관영양법에 의해 공급한 후에 그것들의 간을 병변의 존재, 빈도 및 분포에 대해 조사하였다. 간을 SCFA 처리된 마우스로부터 생후 12개월째에 제거하였을 때, 간 표면 상의 종양은 SCAF 처리된 마우스에 비교하여 PBS로 처리된 마우스들 중에서 더 많았고 더 컸다 (도 5). 각 엽으로부터 미세한 섹션을 준비하여 다시 종양 크기를 평가하였을 때, 존재하는 종양의 52%가 작았던 (직경이 <0.5 cm) 한편 32%는 컸다 (직경이 >1 cm). 대조적으로, 플라세포 처리된 마우스들 중에서는 단지 29%만이 작았지만, 50%는 크게 여겨졌다 (도 6; $X2 = 4.59$, $P < 0.05$). 이것은 또한 두 그룹의 마우스에서 큰 종양:작은 종양의 비율에서도 반영된다. 플라세포 처리된 마우스들 중에서, 그 비율은 1.75였지만, SCFA 처리된 마우스들 중에서 비율은 0.62로 변동되었고, 그것은 SCFA가 부분적으로 큰 종양의 발달을 차단하였음을 시사한다. 모든 마우스에서, 종양 형태는 종양 크기와 무관하게, 미분화된 HCC의 특징이었다 (도 6d).

[0142] HCC는 특히 HBV가 유행하는 개발도상국에서 중요한 대중 건강 문제이다. 그것은 대부분의 경우에 후기에 진단되고, 그것은 이 종양 유형을 치료가 어렵게 만든다. 이것은 초기 단계 암 또는 전암성 병변을 가진 환자들을 치료하기 위해 사용될 수 있었을 개재 전략의 개발 및 적용에 대한 강력한 근거를 제공한다. 그 결과는 본원에서 선태된 락트산 박테리아 또는 그것들의 SCFA 대사 산물의 혼합물을 사용한 3개월의 치료로도 HBx 유전자 도입 마우스에서 나타나는 HCC 결절의 수 및 크기의 유의미한 감소가 있다는 것을 증명한다.

[0143] HBx 유전자 도입 마우스는 연령에 따라 간 병변의 진행성 발달을 진행하고, 결국에는 10개월째에 HCC가 출현한다 (Yu DY et al., J Hepatol, 1999; 31:123-132). 생후 6 내지 9개월부터 신바이오틱 2000™으로 마우스를 치료하는 것은 형성 이상의 발생을 크게 감소시켰던 (도 2b) 한편, 생후 9 내지 12개월부터 치료된 마우스들은 HCC의 발생을 유의미하게 감소시켰다 (도 2c). 형성 이상이 생후 6 내지 9개월의 기간 중에 발달하고 HCC가 9 내지 12개월에 발달한다면, 이들 발견은 신바이오틱 2000™이 만성 간 질환의 종양 전의 및 종양 결절로의 진행을 예방한다는 것을 시사한다. 이런 해석은 또한 생후 9개월째에 잘 수립되는 지방증 및 형성 이상이 그 시기에 시작된 신바이오틱 2000™ 치료에 의해 영향을 받지 않는다는 관찰과 일치한다 (도 2c).

[0144] HBx 유전자 도입 마우스에서, HBx의 간내 수준은 연령 및 간 병리학의 기저에 있는 심각성에 따라 증가한다 (도 3a 및 3c). 이것은 만성 간 질환을 가진 인간 및 우드척 보균자 둘 다에서 X 단백질의 발현과 진행성 만성 간 질환 사이의 강력한 관련과 일치한다 (Jin YM et al., J Viral Hepat, 2001; 8(5):322-30; Feitelson MA et al., J Hepatol, 1993; 17(Suppl. 3):S24-S34). HBx 활성은 간의 염증성 침윤물 내에서 세포 면역 반응에 의해 제공된 반응성 산소 종 (ROS)의 존재에 의해 강력해진다 (Wang JH et al., Biochem Biophys Res Commun, 2003; 310(1):32-9; Lim W et al., J Mol Med (Berl), 2010; 88(4):359-69). 이런 상황 하에서, HBx는 그 자체의 인핸서/프로모터 (이들 HBx 유전자 도입 마우스에서 도입 유전자의 일부이기도 함)를 전사-활성화시키고, 그 결과 HBx 발현의 증가된 수준을 초래한다. 소량의 HBx는 또한 전자 수송 사슬을 포함하고 있는 미토콘드리아와 관련된 것으로 알려져 있고, 그 결과 ROS의 추가의 축적을 초래한다 (Fatima G et al., J Gen Virol, 2012; 93(Pt 4):706-15). 이런 맥락에서, 락트산 생성 박테리아 및 그것들의 SCFA 대사 산물은 소화관 및 그 위의 T 조절 세포를 자극하고 (Smith PM et al., Science, 2013; 341(6145):569-73), 그것은 염증 반응과 ROS 생성을 제한할 수 있음으로써 HBx의 활성 및 간내 수준을 감소시킬 수 있는 것으로 알려져 있다 (도 3). 이것은 또한 많은 면역 기반 마커들이 신바이오틱 2000™으로 치료된 마우스에서 하향-조절된 제한된 미세배열 분석의 결과와 일치한다 (도 4). 이전의 작업은 간내 ROS가 진행성 만성 간 질환을 가진 HBV 보균자에서 및 HBx 유전자 도입 마우스

에서 증가하였음을 보였다 (Ha HL et al., World J Gastroentero, 2010; 16(39):4932-7). 면역 마커들의 샘플링을 점진적으로 더 오래된 마우스에서 평가하였을 때, 신바이오틱 2000™으로의 치료는 최고 수준의 간내 ROS를 가진 가장 오래된 마우스들 중에서 가장 큰 효과를 나타냈다 (즉 이들 면역 마커들의 하향-조절) (도 4). HBx의 수준 및 활성이 부분적으로는, ROS 의존적이고, HBx가 이들 동물에서 종양 발달을 구동시키기 때문에, 이것은 감소된 HBx 발현 (도 3, 도 10)과 신바이오틱 2000™으로 치료된 마우스들에서 형성 이상 및 HCC의 감소된 발생 사이의 상관관계를 설명해줄 수 있다 (도 8 및 9, 도 2).

[0145] HBx는 간발암에 중요하게 기여하는 다수의 경로로 유전자들의 발현을 활성화한다. 신바이오틱 2000™으로 치료된 생후 9개월된 마우스들 중에서의 그것들의 억제는 이런 개재가 HBx의 종양 발달을 촉진하는 능력을 부분적으로 차단한다는 가설을 지지한다 (도 4). 예를 들어, Gli 1 및 2의 상향-조절을 통한 헷지호그 신호화의 HBx 중재된 활성화 (Arzumanyan A et al., Cancer Res, 2012; 72(22):5912-5920)는 신바이오틱 2000™에 의해 각각 40-배 이상 및 7-배 강력하게 하향-조절되었다 (도 4c). 표준 헷지호그 억제제인 GDC-0449를 사용한 HBx 유전자 도입 마우스의 처리 또한 HBx 유전자 도입 마우스에서 나타난 종양의 수 및 크기를 감소시켰고 (Arzumanyan A et al., Cancer Res, 2012; 72(22):5912-5920), HCC로의 헷지호그 신호화의 중요성을 강조한다. 또한 HBx에 의해 상향-조절되는 Notch 신호화 (Wang F et al., Cancer Lett, 2010; 298(1):64-73) 또한 신바이오틱 2000™ 치료 후에 평균 10-배 이상 감소되었다 (도 4c). Notch가 배아발생 중에 세포 운명에 기여하기 때문에, 그것의 발암에서의 재활성화는 또한 정상 세포를 종양 세포들로 변환시키는 단계들을 중재할 수 있다. 평행한 논쟁이 신바이오틱 2000™으로 치료된 생후 9개월된 마우스에서 20배 이상 하향-조절된 Nodal에 대해 만들어질 수 있을 것이다. 간발암에 중요한 β-카테닌의 HBx 활성화는 HCC를 나타내는 신바이오틱 2000™ 치료된 마우스에서 활성화되지 않는다 (도 4c). β-카테닌이 "줄기성 (stemness)" 관련된 단백질이고, HBx가 HCC를 촉진한다면, 적어도 부분적으로는, "줄기성" 마커의 상향-조절된 발현을 통해, 신바이오틱 2000™에 의한 b-카테닌 활성화의 억제는 간세포 및/또는 간의 암 줄기세포의 팽창을 차단할 수 있다. HBx에 의해 상향-조절된 TGFβ 신호화는 본질적으로 생후 9개월된 마우스에서 개시된 신바이오틱 2000™ 치료에 의해 구별된다 (도 4c). HBx가 TGFβ 신호화를 간세포 성장의 네거티브 조절자로부터 포지티브 조절자로 이동시킨다면, 이 경로의 억제는 부분적으로 HBx가 종양 발달을 촉진하는 것을 예방하게 될 것이다. 또한, 신바이오틱 2000™ 치료는, 그렇지 않으면 HBx에 의해 상향-조절되고 (Liu LP et al., Cancer Invest, 2010; 28(5):443-51; Sze KM et al., Hepatology, 2013; 57(1):131-9) 전이에 의해 암 확산을 촉진하는 MMP-9 (15-배) 및 MMP-10 (65-배 이상) (Figure 4C)을 강력하게 억제하였다는 사실은, 그로써 이 치료 접근법이 간의 병변의 형성 이상 및 HCC로의 진행을 차단할 수 있을 추가의 경로를 시사한다.

[0146] ROS의 존재하에 HBx에 의해 활성화되는 NF-κB의 역할은 간 병리학 및 관련된 분자 변화에 대한 신바이오틱 2000™의 많은 관찰된 효과에 대한 공통 분모를 제공하는 것으로 보인다. 예를 들어, Notch 신호화의 하향-조절은 간발암에서 NF-κB 활성의 하향-조절이 수반된다 ((Luo J et al., Int J Oncol, 2013; 42(5):1636-43). Notch 억제는 또한 β-카테닌 활성의 억제를 초래하고 (Sun Q et al., Int J Oncol, 2014), 그것은 HCC의 발달에서 이들 경로들 사이의 혼선을 시사한다. NF-κB의 HBx 활성화는 또한 종양 전이를 촉진하는 MMP-9의 발현 및 활성을 상향-조절한다 (Liu LP et al., Cancer Invest, 2010; 28(5):443-51). MyD88 (및 NF-κB) 의존적 방식으로 IL-6의 HBx 상향-조절이 흥미롭다 (Xiang WQ et al., J Hepatol, 2011; 54(1):26-33). IL-6은 수용체에 대한 결합시에, STAT3의 활성화 (인산화)를 초래하고, 그것은 계속해서 STAT3 자체를 포함한 다양한 유전자를 활성화시킨다. 다음에 인산화되지 않은 STAT3은 NF-κB에 결합하여, HCC에 기여하는 추가의 선택된 세포 유전자들의 변경된 발현을 초래한다 Yang J et al., Genes Dev, 2007; 21(11):1396-408). 나아가, 염증의 조절제, 예컨대 TLR3, IL-18, TNFα, TGFβ, MyD88 및 IRF3은 또한 NF-κB를 통해 신호를 하류로 보내고, 그것은 신바이오틱 2000™ 치료에 의한 항-염증 환경 설정이 이들 분자를 통한 발현 및/또는 신호화를 감소시킬 것으로 기대될 것이고, 이것은 이들 마우스에서 일어나는 것으로 보인다는 것을 시사한다 (도 4c). TLR3 및 IL-18 수준은 6-배 감소하고, TNFα 및 MyD88은 3-배 감소하며, TGFβ는 5-배 이상 감소하고, IRF3은 거의 4-배 감소한다. 이런 발견은 ROS의 감소 및 계속해서 NF-κB의 비활성화가 암 화학예방에 중요한 전략일 수 있음을 시사한다.

[0147] SCFA는 면역력 또는 면역 내성을 촉진하기 위하여 T-세포의 이펙터 및 조절 T 세포 둘 다로의 분화를 촉진하는 락트산 생성 박테리아의 주요 대사 산물이다 (Park J et al., Mucosal Immunol, 2014). 이 연구에서, 내성이

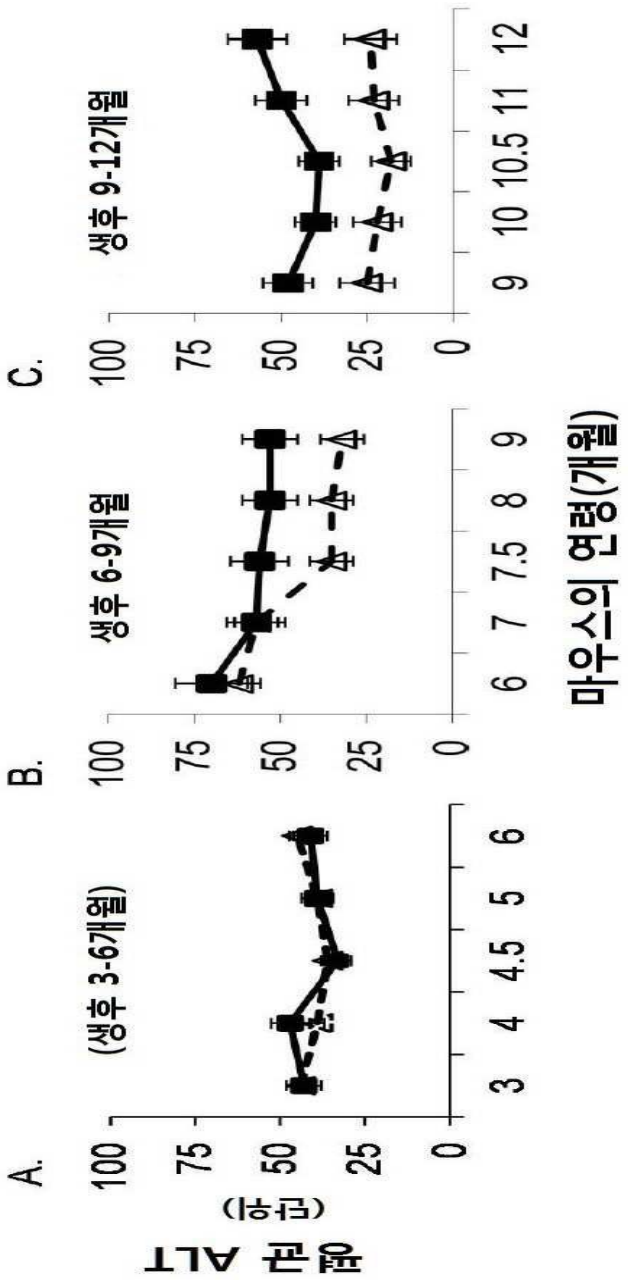
선호되는 것으로 나타난다. SCFA 치료는 HCC의 예방에서 신바이오틱 2000™ 치료의 결과인 것이 개괄되었다 (도 5 및 6). 부티레이트의 투여는 화학적으로 유도된 대장염을 해결하는 데 도움이 되었고 (Smith PM et al., Science, 2013; 341(6145):569-73; Celasco G et al., Biomed Rep, 2014; 2(4):559-563), DEN 유도된 HCC를 부분적으로 차단한 (Kuroiwa-Trzmielina J et al., Int J Cancer, 2009; 124(11):2520-7; de Conti A et al., J Nutr Biochem, 2012; 23(8):860-6) 한편, 프로프리오네이트는 마우스 모델에서 수립된 종양 (Bindels LB et al., Br J Cancer, 2012; 107(8):1337-44)의 성장을 감소시키는 것으로 밝혀졌다. 그러므로, SCFA는 종양 발달 및 진행을 차단하는데 가치가 있을 수 있다. SCFA의 항-염증 특성은 G-단백질 결합된 수용체 (GPCR)에 대한 결합에 의한 및 HDACi로서의 그것들의 기능을 반영하는 것일 수 있다 (Tan J et al., Adv Immunol, 2014; 121:91-119). 헷지호그 및 Wnt 신호화의 HBx 활성화가 GPCR 관련 경로 (매끄럽게 되고 프리즐화되는 것은 GCPR임)를 통해 일어난다면 (Dorsam RT et al., Trends Pharmacol Sci, 2013; 34(4):226-32), SCFA에 의한 GPCR 신호화의 변경이 HBx에 의해 활성화된 신호화를 변경시키거나 부분적으로 차단하는 것이, 다른 암에 대해 그런 것처럼, 가능하다. 또한, HBx가 HDAC 발현을 활성화하고 (Tian Y et al., Mol Cell Biol, 2013; 33(15):2810-6), SCFA가 HDACi로서 작용한다는 사실은 SCFA에 의해 차단될 수 있는 발암에 기여하는 핵심 경로를 시사한다. 최종적으로, 치료로의 HBx 발현의 감소 (도 3)가 또한 유전자 발현의 다른 후생적 변화, 예컨대 DNA 및 단백질 메틸화, 단백질 인산화, 유비퀴틴화, 수모화, 뿐만 아니라 발암에 기여하는 다른 후-번역 변형을 중재하는 HBx의 능력을 억제할 수 있기 때문에, 신바이오틱 2000™ 및 SCFA 치료의 영향이 상기에서 개관된 메커니즘을 뛰어넘을 수 있는 것을 고려하는 것이 중요하다 (Mann DA, Hepatology, 2014).

[0148] 본원에서 인용된 각 및 모든 특허, 특허 출원 및 공보의 개시는 전체로 본원에 참조로 통합된다.

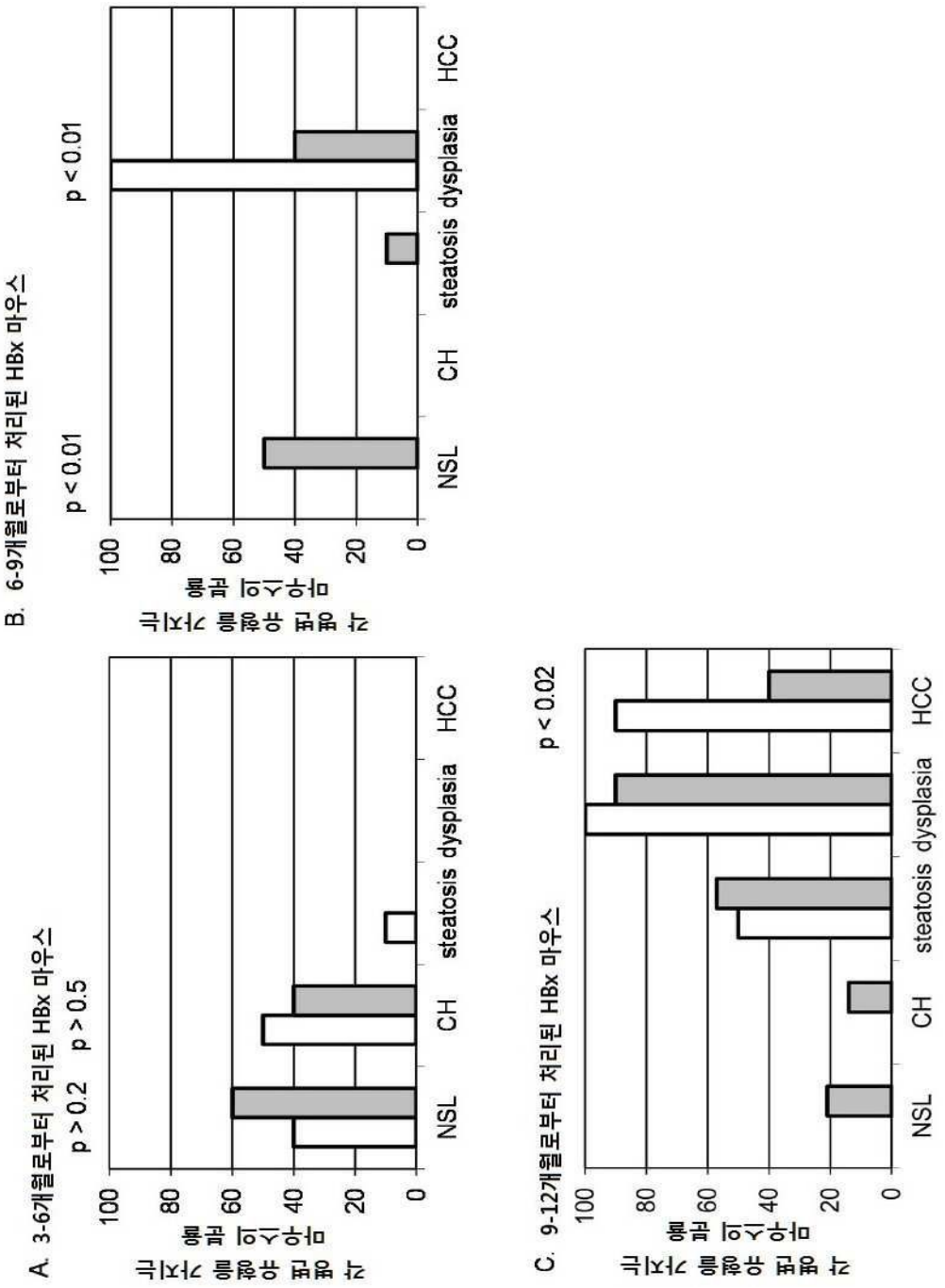
[0149] 본 발명이 특정 구체예들을 참조로 개시된 한편으로, 본 발명의 다른 구체예들 및 변화가 기술분야의 다른 숙련자들에 의해 발명의 진정한 사상 및 범주로부터 벗어나지 않으면서 고안될 수 있다는 것이 드러난다. 첨부된 청구범위는 그런 구체예들 및 동등한 변화를 모두 포함하는 것으로 해석되는 것으로 의도된다.

도면

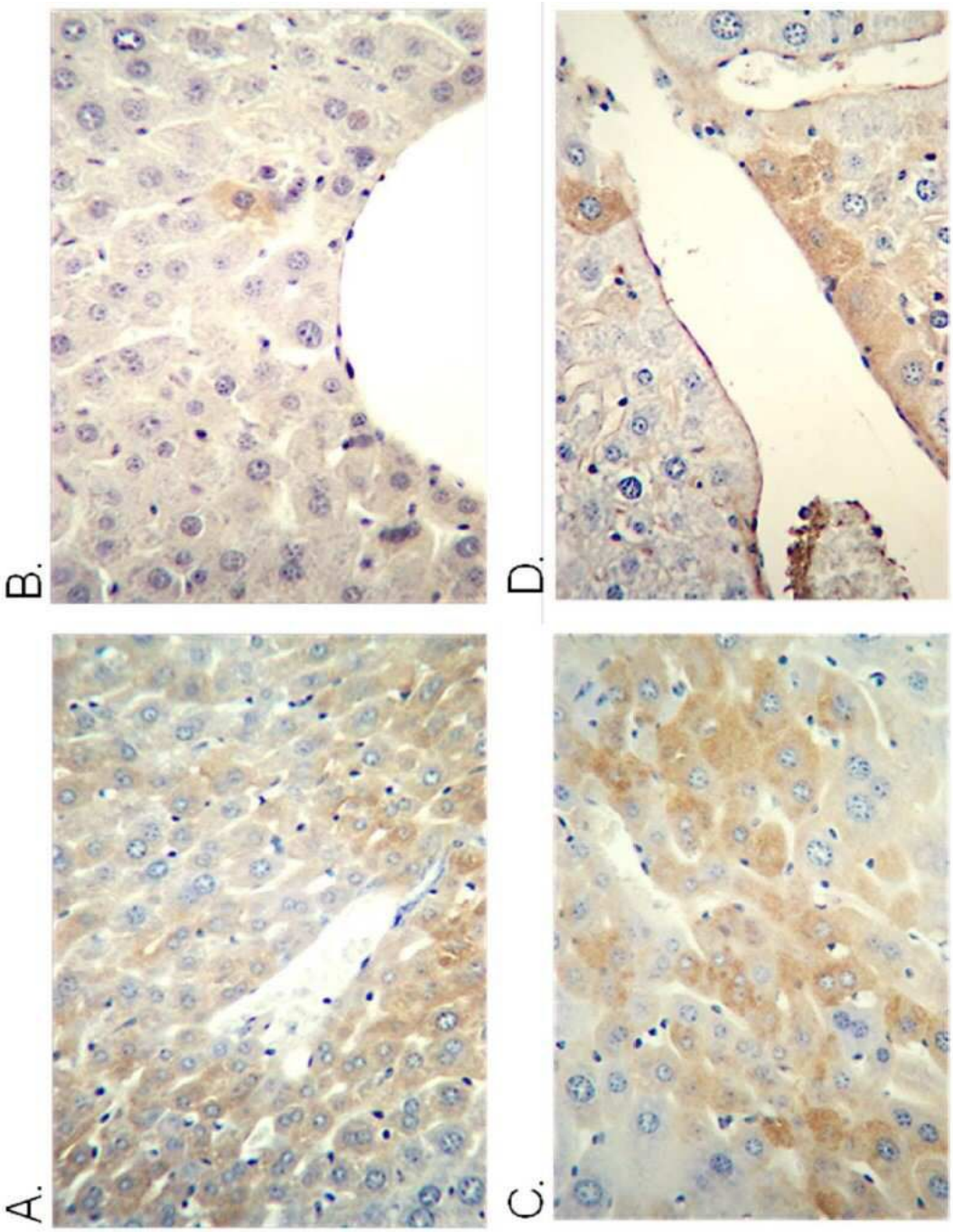
도면1


A.
(생후 3-6개월)
B.
생후 6-9개월
C.
생후 9-12개월
평균 ALT
(단위)
100
75
50
25
0
3
4
4.5
5
6
6
7
7.5
8
9
9
10
10.5
11
12
마우스의 연령(개월)

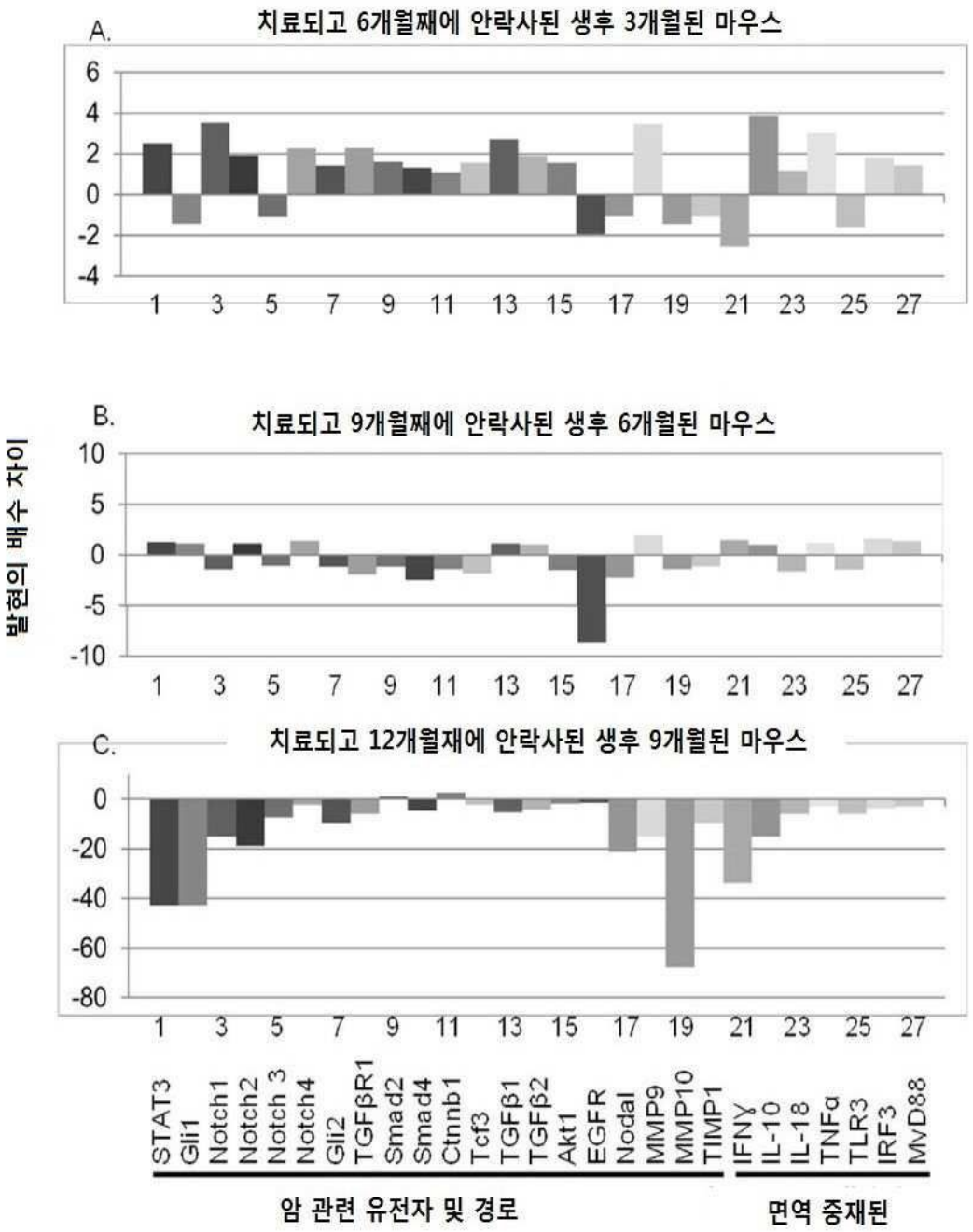
도면2


A. 3-6개월로부터 처리된 HBx 마우스
p > 0.2 p > 0.5
B. 6-9개월로부터 처리된 HBx 마우스
p < 0.01 p < 0.01
C. 9-12개월로부터 처리된 HBx 마우스
p < 0.02
각 병변 유형을 가지는 마우스의 분율
0
20
40
60
80
100
NSL
CH
steatosis
dysplasia
HCC

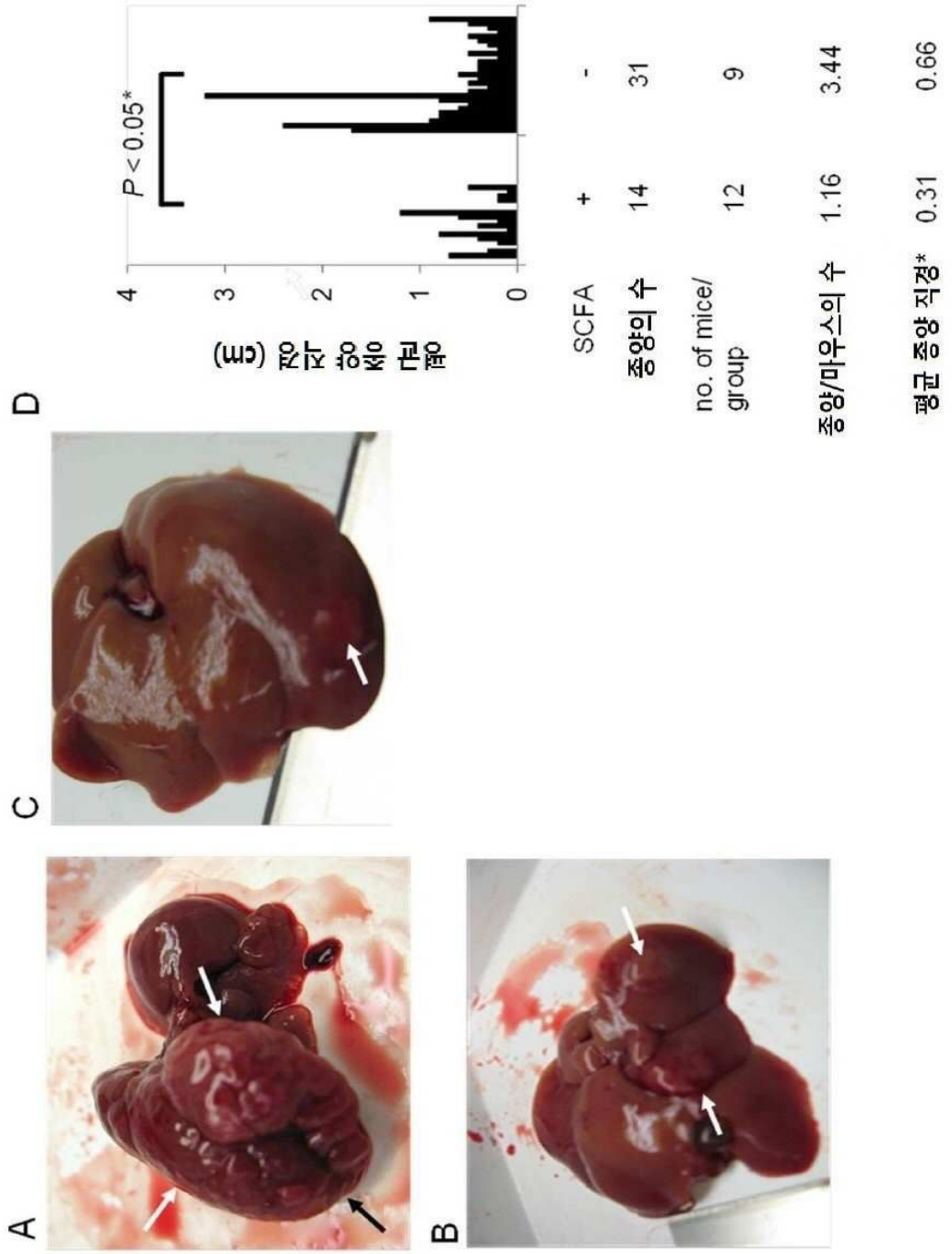
도면3



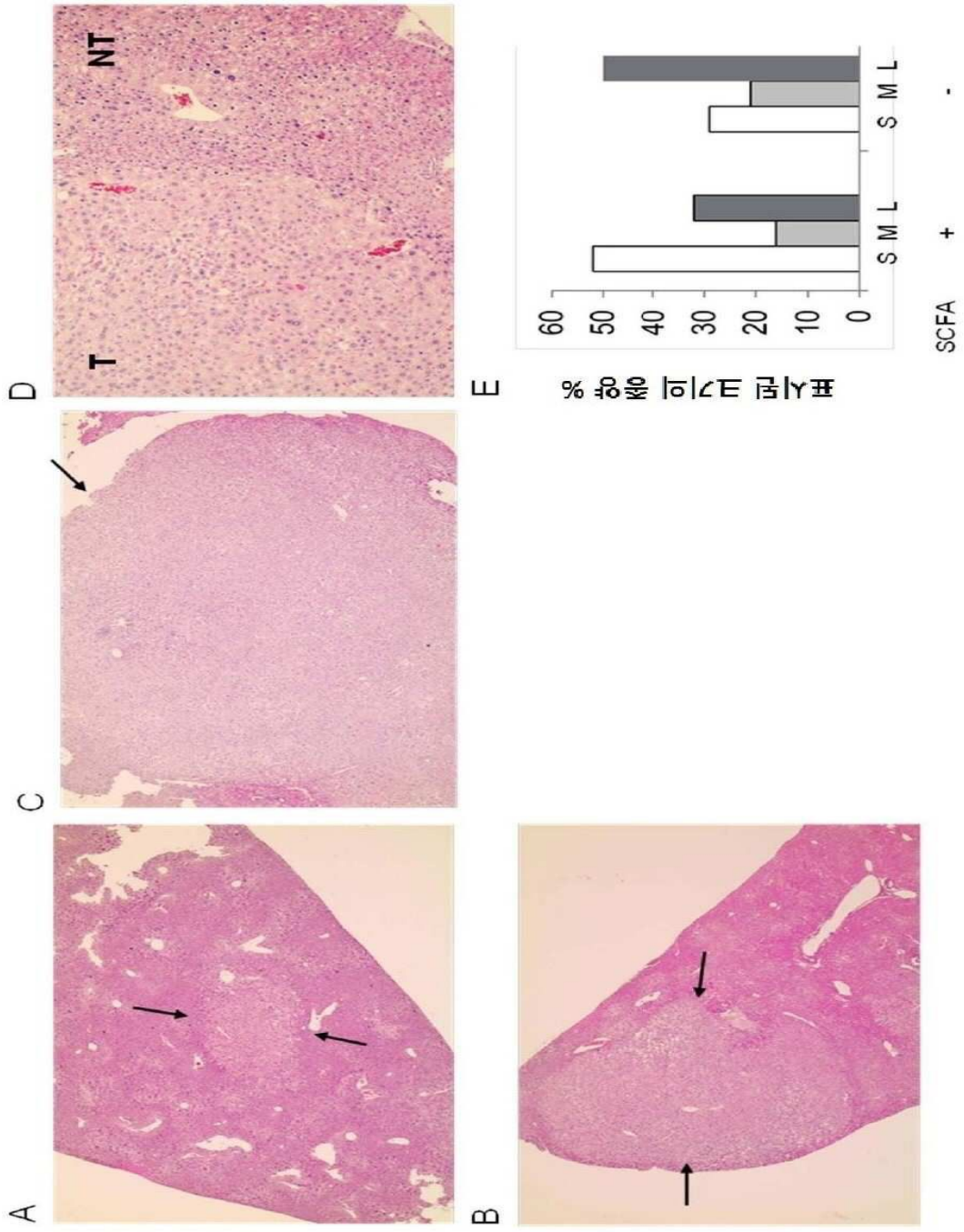
도면4


A.
치료되고 6개월째에 안락사된 생후 3개월된 마우스
B.
치료되고 9개월째에 안락사된 생후 6개월된 마우스
C.
치료되고 12개월재에 안락사된 생후 9개월된 마우스
발현의 배수 차이
STAT3
Gli1
Notch1
Notch2
Notch 3
Notch4
Gli2
TGFβR1
Smad2
Smad4
Ctnnb1
Tcf3
TGFβ1
TGFβ2
Akt1
EGFR
Nodal
MMP9
MMP10
TIMP1
IFNγ
IL-10
IL-18
TNFα
TLR3
IRF3
MyD88
암 관련 유전자 및 경로
면역 중재된

도면5


A
B
C
D
P < 0.05*
0
1
2
3
4
SCFA + -
종양의 수 14 31
no. of mice/ group 12 9
종양/마우스의 수 1.16 3.44
평균 종양 직경* 0.31 0.66

도면6



도면7

생후 3-6개월부터 신바이오틱 2000으로 치료된 HBx 마우스에서의 간 병리학

PBS						신바이오틱 2000					
마우스 번호	NSL	CH	지방증	형성 이상	HCC	마우스 번호	NSL	CH	지방증	형성 이상	HCC
668	+	-	-	-	-	687	+	-	-	-	-
673	+	-	-	-	-	689	+	-	-	-	-
669	-	+	-	-	-	657	+	-	-	-	-
671	-	+	-	-	-	659	+	-	-	-	-
675	-	+	-	-	-	672	+	-	-	-	-
708	-	+	-	-	-	676	-	+	-	-	-
712	-	+	-	-	-	684	+	-	-	-	-
713	+	-	-	-	-	693	-	+	-	-	-
714	-	-	+	-	-	701	-	+	-	-	-
715	+	-	-	-	-	704	-	+	-	-	-
총	4	5	1	0	0		6	4	0	0	0
%:	40	50	10	0	0		60	40	0	0	0

NSL = 유의미한 병변 없음, CH = 만성 감염, 지방증 = 지방간, 형성 이상 = 형성 이상 세포 샘 또는 결절 (큰 핵: 세포질 비율), HCC =간세포 암종.

도면8

생후 6-9개월부터 신바이오틱 200으로 치료된 HBx 마우스에서의 간 병리학

PBS						신바이오틱 2000					
마우스 번호	NSL	CH	지방증	형성 이삼	HCC	마우스 번호	NSL	CH	지방증	형성 이삼	HCC
475	-	-	-	+	-	617	-	-	-	+	-
476	-	-	-	+	-	627	+	-	-	-	-
477	-	-	-	+	-	637	-	-	-	+	-
479	-	-	-	+	-	652	-	-	-	+	-
480	-	-	-	+	-	653	+	-	-	-	-
481	-	-	-	+	-	621	+	-	-	-	-
482	-	-	-	+	-	629	+	-	-	-	-
483	-	-	-	+	-	630	-	-	+	-	-
484	-	-	-	+	-	631	+	-	-	-	-
485	-	-	-	+	-	647	-	-	-	+	-
총	0	0	0	10	0		5	0	1	4	0
%:	0	0	0	100	0		50	0	10	40	0

약어에 대해서는 도 7에 대한 핵심 참조 바람.

도면9

생후 9-12개월부터 신바이오틱 2000으로 치료된 HBx 마우스에서의 간 병리학

PBS						신바이오틱 2000					
마우스 번호	NSL	CH	지방증	형성 이상	HCC	마우스 번호	NSL	CH	지방증	형성 이상	HCC
304	-	-	+	+*	+*	414	-	-	+	+	-
319	-	-	-	+*	+*	360	-	-	+	+*	-
290	-	-	-	+	-	336	-	-	-	+*	-
326	-	-	-	+	+	287	-	+	+	+*	+*
374	-	-	-	+*	+*	364	-	-	+	+*	+*
344	-	-	+	+*	+*	325	-	-	+	+	+*
285	-	-	+	+*	+*	327	-	+	+	-	-
289	-	-	-	+*	+*	397	-	-	-	+	+*
308	-	-	+	+*	+*	331	-	-	-	+	-
363	-	-	+	+*	+*	371	-	-	+	+	-
총	0	0	5	10	9		0	2	8	9	4
%:	0	0	50	100	90		0	20	80	90	40

약어에 대해서는 도 7에 대한 핵심 참조 바람.

별표(*)는 형성 이상 또는 HCC의 다수의 및/또는 큰 결절을 가진 샘플을 나타낸다.

도면10

신바이오틱 2000치료된 및 대조 마우스에서 간내 HBx 염색

	% positive (mice)	염색의 세기	조직 분포
생후 3개월된 마이스			
+ 신바이오틱 2000	46	- → +	대부분 산재됨
- 신바이오틱 2000	60	+ → ++	산재됨/소엽
생후 6개월된 마이스			
+ 신바이오틱 2000	59	+ → ++	산재됨
- 신바이오틱 2000	82	++	소엽
생후 9개월된 마이스			
+ 신바이오틱 2000	66	+ → ++	소엽
- 신바이오틱 2000	100	++ → +++	소엽 → 확산

신바이오틱 2000이 공급된 (+신바이오틱 2000) 또는 PBS가 공급된 (-신바이오틱 2000) HBx 유전자 도입 마이스의 간에서 HBx의 존재, 빈도 및 분포