



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0103718
(43) 공개일자 2022년07월22일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) *A61K 31/395* (2020.01)
A61K 31/444 (2006.01) *A61K 31/506* (2006.01)
A61K 31/517 (2006.01) *A61K 31/5377* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) *A61P 3/10* (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 39/395 (2013.01)
A61K 31/395 (2022.01)
- (21) 출원번호 10-2022-7016610
- (22) 출원일자(국제) 2022년10월16일
 심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2022년05월17일
- (86) 국제출원번호 PCT/JP2020/039045
- (87) 국제공개번호 WO 2021/075536
 국제공개일자 2021년04월22일
- (30) 우선권주장
 JP-P-2019-191369 2019년10월18일 일본(JP)

- (71) 출원인
가부시키가이사 바이오지프코드
 일본국 시가켄 오오츠시 세타츠키노와초 내셔널
 유니버시티 코포레이션 시가 유니버시티 오브 메
 디컬 사이언스 바이오메디컬 이노베이션 센터 (우
 편번호: 5202192)
- (72) 발명자
코지마 히데토
 일본국, 시가켄 520219, 오츠-시, 세타 츠키노와
 -초, 씨/오 내셔널 유니버시티 코포레이션 시가
 유니버시티 오브 메디컬 사이언스
테라시마 토모야
 일본국, 시가켄 520219, 오츠-시, 세타 츠키노와
 -초, 씨/오 내셔널 유니버시티 코포레이션 시가
 유니버시티 오브 메디컬 사이언스
카타기 미와코
 일본국, 시가켄 520219, 오츠-시, 세타 츠키노와
 -초, 씨/오 내셔널 유니버시티 코포레이션 시가
 유니버시티 오브 메디컬 사이언스
- (74) 대리인
특허법인한얼

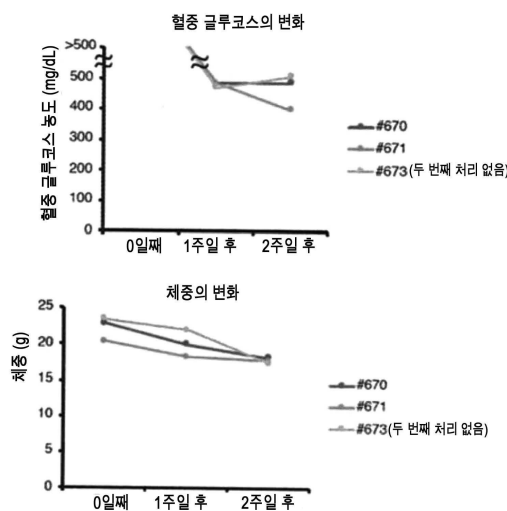
전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 **줄기 세포 이동제를 사용한 당뇨병 치료**

(57) 요약

본 개시는, 줄기 세포의 이동과 조합한 이상 줄기 세포를 표적으로 하는 당뇨병 치료를 제공한다. 하나의 실시형태에서는, 본 개시는, 줄기 세포의 이동과 조합한 이상 줄기 세포를 표적으로 하는 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상의 치료를 제공한다. 하나의 실시형태에서는, 본 개시는, 이상 줄기 세포의 이동 및/또는 잔류를 지표로 하는 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상, 또는 그의 리스크의 진단을 제공한다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 31/444 (2013.01)

A61K 31/506 (2013.01)

A61K 31/517 (2013.01)

A61K 31/5377 (2013.01)

A61K 45/06 (2013.01)

A61P 3/10 (2018.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 억제제를 포함하는 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련된 질환, 장애 및/또는 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한 조성물로서, 상기 억제제는 줄기 세포 이동제와 조합하여 투여되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 이상 HCS는 CD106 및 그의 기능적 등가물로 이루어지는 군으로부터 선택되는 유전자 또는 단백질이 통상의 레벨로 발현하고 있지 않거나 및/또는 기능하고 있지 않은 것인 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 통상의 레벨이 아닌 발현은 과잉 발현인 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 억제제는 항CD106 항체 또는 그의 기능적 개변체로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는 조성물.

청구항 5

제2항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이상 HCS는 추가로 중앙 피사 인자 알파(TNF- α), 히스톤 탈아세틸화 효소(HDAC) 및 프로인솔린으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 유전자 또는 단백질이 통상의 레벨로 발현하고 있지 않은 것인 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 억제제는 항TNF- α 항체 또는 그의 기능적 개변체 및 HDAC 저해제로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 질환, 장애 및/또는 증상은 당뇨병 합병증을 포함하는 조성물.

청구항 8

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 질환, 장애 및/또는 증상은 신경 장애, 신증, 간 장애, 망막증, 지방간, 위장 장애, 골절 치유 지연, 섭식 장애 및 피부 장애로 이루어지는 군에서 선택되는 조성물.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 줄기 세포 이동제는 상기 이상 HSC를 니치(niche)로부터 이동시키는 능력을 보유하는 조성물.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 줄기 세포 이동제는 CXCR4 길항제, CXCR2 자극제, 상피 성장 인자 수용체(EGFR) 저해제, 과립구 콜로니 자극 인자(G-CSF)제로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 약제를 포함하는 조성물.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 줄기 세포 이동제는 플렉사포르, GRO β 2(MIP2), 게피티닙, 에를로티닙, 아파티닙, 오시머티닙, 필그라스티م, 나르토그라스티م, 레노그라스티م, 펙필그라스티므로 이루어지는

군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는 조성물.

청구항 12

이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 억제제와 줄기 세포 이동제의 조합을 포함하는 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한 의약.

청구항 13

줄기 세포 이동제를 포함하는 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한 조성물로서, 상기 줄기 세포 이동제는 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 억제제와 조합하여 투여되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 14

이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 이동 및/또는 잔류를 검출하는 약제를 포함하는 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상의 치료 및/또는 예방을 위한 처치의 선택을 위한 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 이동 및/또는 잔류는 골수의 니치로부터의 이동 및/또는 골수의 니치에서의 잔류인 조성물.

청구항 16

제14항 또는 제15항에 있어서, 상기 이동 검출제는 CD106 또는 기능적 등가물의 검출제를 포함하는 조성물.

청구항 17

피검체에서 당뇨병 또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상을 치료 및/또는 예방하는 방법으로서, 상기 피검체에 대하여 이상 조혈 줄기 세포(HSC)를 저감 또는 소실시키는 약제 및 줄기 세포 이동제를 유효량 투여하는 공정을 포함하는 방법.

청구항 18

이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 이동 및/또는 잔류를, 피검체에서 당뇨병 또는 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상의 치료 및/또는 예방을 위한 처치 지표로 하는 방법으로서, 상기 피검체에서의 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 이동 및/또는 잔류를 검출하는 공정을 포함하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 개시는, 줄기 세포의 이동과 이상 줄기 세포의 억제를 조합한 당뇨병 및/또는 그 관련 질환의 치료, 그리고 줄기 세포의 이동 및/또는 잔류를 지표로 하는 당뇨병 및/또는 그 관련 질환의 진단에 관한 것이다. 보다 특정하면, 본 개시는, 이상 조혈 줄기 세포를 이동시켜 억제하는 것에 의한 당뇨병 및/또는 그 관련 질환의 치료, 그리고 이상 조혈 줄기 세포의 특정 니치(niche)로부터의 이동 및/또는 특정 니치에서의 잔류를 검출하는 것에 의한 당뇨병 및/또는 그 관련 질환의 진단에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 당뇨병은, 일반적으로 1형과 2형으로 분류된다(비특허문헌 1). 그러나, 양자 모두 발증의 상세가 불분명하기 때문에, 1형 및 2형의 분류 그 자체가, 병의 원인에 기초하는 것으로서의 타당성을 결여하고 있다고 하지 않을 수 없다. 또한, 현재, 당뇨병 치료를 위해서 여러가지 약물이 개발되고 있지만, 대부분은 혈당 컨트롤을 목적으로 한 것으로, 당뇨병의 진행 방지에는 유효할 수 있지만, 당뇨병의 치유에는 불충분할 수 있다. 또한, 신경 장애, 신증, 간 장애, 망막증, 지방간, 위장 장애, 골절 치유 지연, 섭식 장애 및 피부 장애 등의 당뇨병 합병증도 1형 및 2형으로 분류되는 당뇨병에 공통적으로 발증하는데, 일단 발증하면 치유는 곤란할 수 있다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0003] (비특허문헌 0001) 비특허문헌 1: 당뇨병 진료 가이드라인 2016, 일본 당뇨병 학회, 난코도

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

[0004] 본 발명자들은, 이상 줄기 세포의 억제에 의한 당뇨병 및/또는 그 관련 질환의 치료 전략이, 줄기 세포의 이동과 조합했을 경우에, 보다 효과적이라는 것을 발견하였다. 이 새로운 발견에 기초하여 본 개시는, 당뇨병 및/또는 그 관련 질환의 치료 및 진단을 위한 수단을 제공한다.

[0005] 따라서, 본 개시는 이하를 제공한다.

[0006] (항목 1)

[0007] 이상 조절 줄기 세포(HSC)의 억제제를 포함하는 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련된 질환, 장애 및/또는 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한 조성물이며, 해당 억제제는, 줄기 세포 이동제와 조합하여 투여되는 것을 특징으로 하는, 조성물.

[0008] (항목 2)

[0009] 상기 이상 HCS는, CD106 및 그의 기능적 등가물로 이루어지는 군으로부터 선택되는 유전자 또는 단백질이 통상의 레벨로 발현하고 있지 않거나 및/또는 기능하고 있지 않는 것인, 상기 항목 중 어느 조성물.

[0010] (항목 3)

[0011] 상기 통상의 레벨이 아닌 발현은 과잉 발현인, 상기 항목 중 어느 조성물,

[0012] (항목 4)

[0013] 상기 억제제는, 항CD106 항체 또는 그의 기능적 개변체로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 조성물.

[0014] (항목 5)

[0015] 상기 이상 HCS는 추가로 종양 괴사 인자 알파(TNF- α) 및 프로인슐린으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 유전자 또는 단백질이 통상의 레벨로 발현하고 있지 않은 것인, 상기 항목 중 어느 조성물.

[0016] (항목 6)

[0017] 상기 억제제는, 항TNF- α 항체 또는 그의 기능적 개변체로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 조성물.

[0018] (항목 7)

[0019] 상기 질환, 장애 및/또는 증상은, 당뇨병 합병증을 포함하는, 항목 1 내지 6 중 어느 조성물.

[0020] (항목 8)

[0021] 상기 질환, 장애 및/또는 증상은, 신경 장애, 신증, 간 장애, 망막증, 지방간, 위장 장애, 골절 치유 지연, 식욕 장애 및 피부 장애로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 상기 항목 중 어느 조성물.

[0022] (항목 9)

[0023] 상기 줄기 세포 이동제는, 상기 이상 HSC를 니치로부터 이동시키는 능력을 보유하는 상기 항목 중 어느 조성물.

- [0024] (항목 10)
- [0025] 상기 줄기 세포 이동제는, CXCR4 길항제, CXCR2 자극제, 상피 성장 인자 수용체(EGFR) 저해제, 과립구 콜로니 자극 인자(G-CSF)제로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 약제를 포함하는, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0026] (항목 11)
- [0027] 상기 줄기 세포 이동제는, 플렉사포르, GROβ2(MIP2), 게피티닙, 에를로티닙, 아파티닙, 오시머티닙, 필그라스탐, 나르토그라스탐, 레노그라스탐, 펙필그라스탐으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0028] (항목 12)
- [0029] 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 억제제와, 줄기 세포 이동제와의 조합을 포함하는 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한 의약.
- [0030] (항목 13)
- [0031] 줄기 세포 이동제를 포함하는 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한 조성물이며, 해당 줄기 세포 이동제는, 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 억제제와 조합하여 투여되는 것을 특징으로 하는, 조성물.
- [0032] (항목 14)
- [0033] 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 이동 및/또는 잔류를 검출하는 약제를 포함하는 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상의 치료 및/또는 예방을 위한 처치의 선택을 위한 조성물.
- [0034] (항목 15)
- [0035] 상기 이동 및/또는 잔류가, 골수의 니치로부터의 이동 및/또는 골수의 니치에서의 잔류인, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0036] (항목 16)
- [0037] 상기 이동 검출제는, CD106 또는 기능적 등가물의 검출제를 포함하는, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0038] (항목 17)
- [0039] 피검체에서 당뇨병 또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상을 치료 및/또는 예방하는 방법이며, 상기 피검체에 대하여 이상 조혈 줄기 세포(HSC)를 저감 또는 소실시키는 약제 및 줄기 세포 이동제를 유효량 투여하는 공정을 포함하는, 방법.
- [0040] (항목 18)
- [0041] 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 이동 및/또는 잔류를, 피검체에서 당뇨병 또는 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상의 치료 및/또는 예방을 위한 처치 지표로 하는 방법이며, 상기 피검체에서의 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 이동 및/또는 잔류를 검출하는 공정을 포함하는, 방법..
- [0042] (항목 19)
- [0043] 상기 조성물은, 약학적 조성물인, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0044] (항목 20)
- [0045] 약학적으로 허용 가능한 부형제를 더 포함하는, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0046] (항목 A1)
- [0047] 피검체에서의 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상을 치료 및/또는 예방하는 방법이며, 유효량의 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 억제제 및 줄기 세포 이동제를 해당 피검체에 투여하는 공정을 포함하는 방법.
- [0048] (항목 A2)

- [0049] 상기 이상 HCS는, CD106 및 그의 기능적 등가물로 이루어지는 군으로부터 선택되는 유전자 또는 단백질이 통상의 레벨로 발현하고 있지 않거나 및/또는 기능하고 있지 않는 것인, 상기 항목 중 어느 방법.
- [0050] (항목 A3)
- [0051] 상기 통상의 레벨이 아닌 발현은 과잉 발현인, 항목 A2에 기재된 방법.
- [0052] (항목 A4)
- [0053] 상기 억제제는, 항CD106 항체 또는 그의 기능적 개변체로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 방법.
- [0054] (항목 A5)
- [0055] 상기 이상 HCS는 또한 종양 괴사 인자 알파(TNF- α) 및 프로인슐린으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 유전자 또는 단백질이 통상의 레벨로 발현하고 있지 않은 것인, 상기 항목 중 어느 방법.
- [0056] (항목 A6)
- [0057] 상기 억제제는, 항TNF- α 항체 또는 그의 기능적 개변체로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 방법.
- [0058] (항목 A7)
- [0059] 상기 질환, 장애 및/또는 증상은, 당뇨병 합병증을 포함하는, 상기 항목 중 어느 방법.
- [0060] (항목 A8)
- [0061] 상기 질환, 장애 및/또는 증상은, 신경 장애, 신증, 간 장애, 망막증, 지방간, 위장 장애, 골절 치유 지연, 섬식 장애 및 피부 장애로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 상기 항목 중 어느 방법.
- [0062] (항목 A9)
- [0063] 상기 줄기 세포 이동제는, 상기 이상 HSC를 니치로부터 이동시키는 능력을 보유하는 상기 항목 중 어느 방법.
- [0064] (항목 A10)
- [0065] 상기 줄기 세포 이동제는, CXCR4 길항제, CXCR2 자극제, 상피 성장 인자 수용체(EGFR) 저해제, 과립구 콜로니 자극 인자(G-CSF)제로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 약제를 포함하는, 상기 항목 중 어느 방법.
- [0066] (항목 A11)
- [0067] 상기 줄기 세포 이동제는, 플렉사포르, GRO β 2(MIP2), 게피티닙, 에로티닙, 아파티닙, 오시머티닙, 필그라스티프, 나르토그라스티프, 레노그라스티프, 퀘필그라스티프로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 방법.
- [0068] (항목 A12)
- [0069] 피검체에서의 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상의 치료 및/또는 예방을 위한 처치를 선택하는 방법이며, 유효량의 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 이동 및/또는 잔류를 검출하는 약제를 상기 피검체에 투여하는 공정을 포함하는 방법.
- [0070] (항목 A13)
- [0071] 상기 이동 및/또는 잔류가, 골수의 니치로부터의 이동 및/또는 골수의 니치에서의 잔류인, 상기 항목 중 어느 방법.
- [0072] (항목 A14)
- [0073] 상기 이동 검출제는, CD106 또는 기능적 등가물의 검출제를 포함하는, 상기 항목 중 어느 방법.
- [0074] (항목 A15)
- [0075] 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 이동 및/또는 잔류를, 피검체에서 당뇨병 또는 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상을 진단하는 방법이며, 상기 피검체에서의 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 이동 및/또는

잔류를 검출하는 공정을 포함하는, 방법.

- [0076] (항목 B1)
- [0077] 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한, 줄기 세포 이동제와 조합하여 사용하기 위한, 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 억제제를 위한 조성물.
- [0078] (항목 B2)
- [0079] 상기 이상 HCS는, CD106 및 그의 기능적 등가물로 이루어지는 군으로부터 선택되는 유전자 또는 단백질이 통상의 레벨로 발현하고 있지 않거나 및/또는 기능하고 있지 않는 것인, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0080] (항목 B3)
- [0081] 상기 통상의 레벨이 아닌 발현은 과잉 발현인, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0082] (항목 B4)
- [0083] 항CD106 항체 또는 그의 기능적 개변체로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 억제제.
- [0084] (항목 B5)
- [0085] 상기 이상 HCS는 또한 중앙 피사 인자 알파(TNF- α) 및 프로인슐린으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 유전자 또는 단백질이 통상의 레벨로 발현하고 있지 않은 것인, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0086] (항목 B6)
- [0087] 항TNF- α 항체 또는 그의 기능적 개변체로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0088] (항목 B7)
- [0089] 상기 질환, 장애 및/또는 증상은, 당뇨병 합병증을 포함하는, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0090] (항목 B8)
- [0091] 상기 질환, 장애 및/또는 증상은, 신경 장애, 신증, 간 장애, 망막증, 지방간, 위장 장애, 골절 치유 지연, 섭식 장애 및 피부 장애로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0092] (항목 B9)
- [0093] 상기 줄기 세포 이동제는, 상기 이상 HSC를 니치로부터 이동시키는 능력을 보유하는 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0094] (항목 B10)
- [0095] 상기 줄기 세포 이동제는, CXCR4 길항제, CXCR2 자극제, 상피 성장 인자 수용체(EGFR) 저해제, 과립구 콜로니 자극 인자(G-CSF)제로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 약제를 포함하는, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0096] (항목 B11)
- [0097] 상기 줄기 세포 이동제는, 플렉티사포르, GRO β 2(MIP2), 게피티닙, 예블로티닙, 아파티닙, 오시머티닙, 필그라스티م, 나르토그라스티م, 레노그라스티م, 펙필그라스티프로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0098] (항목 B13)
- [0099] 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한, 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 억제제와 조합하여 사용하기 위한, 줄기 세포 이동을 위한 조성물.
- [0100] (항목 B14)
- [0101] 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상의 치료 및/또는 예방을 위한 처치 선택을 위한, 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 이동 및/또는 잔류를 검출하기 위한 조성물.

- [0102] (항목 B15)
- [0103] 상기 이동 및/또는 잔류가, 골수의 니치로부터의 이동 및/또는 골수의 니치에서의 잔류인, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0104] (항목 B16)
- [0105] CD106 또는 기능적 등가물의 검출제를 포함하는, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0106] (항목 B17)
- [0107] 상기 조성물은, 약학적 조성물인, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0108] (항목 B18)
- [0109] 약학적으로 허용 가능한 부형제를 더 포함하는, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0110] (항목 C1)
- [0111] 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한 의약 제조에서의, 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 억제제 및 줄기 세포 이동제의 사용.
- [0112] (항목 C2)
- [0113] 상기 이상 HCS는, CD106 및 그의 기능적 등가물로 이루어지는 군으로부터 선택되는 유전자 또는 단백질이 통상의 레벨로 발현하고 있지 않거나 및/또는 기능하고 있지 않는 것인, 상기 항목 중 어느 사용.
- [0114] (항목 C3)
- [0115] 상기 통상의 레벨이 아닌 발현은 과잉 발현인, 상기 항목 중 어느 사용.
- [0116] (항목 C4)
- [0117] 상기 억제제는, 항CD106 항체 또는 그의 기능적 개변체로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 사용.
- [0118] (항목 C5)
- [0119] 상기 이상 HCS는 추가로 종양 괴사 인자 알파(TNF- α) 및 프로인슐린으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 유전자 또는 단백질이 통상의 레벨로 발현하고 있지 않은 것인, 상기 항목 중 어느 사용.
- [0120] (항목 C6)
- [0121] 상기 억제제는, 항TNF- α 항체 또는 그의 기능적 개변체로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 사용.
- [0122] (항목 C7)
- [0123] 상기 질환, 장애 및/또는 증상은, 당뇨병 합병증을 포함하는, 상기 항목 중 어느 사용.
- [0124] (항목 C8)
- [0125] 상기 질환, 장애 및/또는 증상은, 신경 장애, 신증, 간 장애, 망막증, 지방간, 위장 장애, 골절 치유 지연, 섭식 장애 및 피부 장애로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 상기 항목 중 어느 사용.
- [0126] (항목 C9)
- [0127] 상기 줄기 세포 이동제는, 상기 이상 HSC를 니치로부터 이동시키는 능력을 보유하는 상기 항목 중 어느 사용.
- [0128] (항목 C10)
- [0129] 상기 줄기 세포 이동제는, CXCR4 길항제, CXCR2 자극제, 상피 성장 인자 수용체(EGFR) 저해제, 과립구 콜로니 자극 인자(G-CSF)제로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 약제를 포함하는, 상기 항목 중 어느 사용.
- [0130] (항목 C11)

- [0131] 상기 줄기 세포 이동제는, 플렉사포르, G α 2(MIP2), 게피티닙, 에클로티닙, 아파티닙, 오시머티닙, 필그라스티프, 나르토크라스티프, 레노그라스티프, 펙필그라스티프로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 사용.
- [0132] (항목 C14)
- [0133] 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상의 치료 및/또는 예방을 위한 처치 선택을 위한 의학 제조에서의, 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 이동 및/또는 잔류를 검출하는 약제의 사용.
- [0134] (항목 C15)
- [0135] 상기 이동 및/또는 잔류가, 골수의 니치로부터의 이동 및/또는 골수의 니치에서의 잔류인, 상기 항목 중 어느 사용.
- [0136] (항목 C16)
- [0137] 상기 이동 검출제는, CD106 또는 기능적 등가물의 검출제를 포함하는, 상기 항목 중 어느 사용.
- [0138] (항목 D1)
- [0139] 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 억제제를 포함하는 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한 조성물이며, 상기 억제제는, 줄기 세포 이동제와 조합하여 투여되는 것을 특징으로 하는, 조성물.
- [0140] (항목 D2)
- [0141] 상기 이상 HCS는, CD106 기능적 등가물로 이루어지는 군으로부터 선택되는 유전자 또는 단백질이 통상의 레벨로 발현하고 있지 않거나 및/또는 기능하고 있지 않는 것인, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0142] (항목 D3)
- [0143] 상기 통상의 레벨이 아닌 발현은 과잉 발현인, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0144] (항목 D4)
- [0145] 상기 억제제는, 항CD106 항체 또는 그의 기능적 개변체로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0146] (항목 D5)
- [0147] 상기 이상 HCS는 추가로 종양 괴사 인자 알파(TNF- α), 히스톤 탈아세틸화 효소(HDAC) 및 프로인슐린으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 유전자 또는 단백질이 통상의 레벨로 발현하고 있지 않은 것인, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0148] (항목 D6)
- [0149] 상기 억제제는, 항TNF- α 항체 또는 그의 기능적 개변체 및 HDAC 저해제(예를 들어 트리코 스타틴 A)로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0150] (항목 D7)
- [0151] 상기 질환, 장애 및/또는 증상은, 당뇨병 합병증을 포함하는, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0152] (항목 D8)
- [0153] 상기 질환, 장애 및/또는 증상은, 신경 장애, 신증, 간 장애, 망막증, 지방간, 위장 장애, 골절 치유 지연, 섬식 장애 및 피부 장애로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0154] (항목 D9)
- [0155] 상기 줄기 세포 이동제는, 상기 이상 HSC를 니치로부터 이동시키는 능력을 보유하는 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0156] (항목 D10)
- [0157] 상기 줄기 세포 이동제는, CXCR4 길항제, CXCR2 자극제, 상피 성장 인자 수용체(EGFR) 저해제, 과립구 콜로니 자극 인자(G-CSF)제로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 약제를 포함하는, 상기 항목 중 어느 조

성물.

- [0158] (항목 D11)
- [0159] 상기 줄기 세포 이동제는, 플렉사포르, GRO β 2(MIP2), 케피티닙, 에를로티닙, 아파티닙, 오시머티닙, 필그라스티م, 나르토크라스티م, 레노그라스티م, 팩필그라스티프로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0160] (항목 D12)
- [0161] 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 억제제와, 줄기 세포 이동제와의 조합을 포함하는 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한 의약.
- [0162] (항목 D13)
- [0163] 줄기 세포 이동제를 포함하는 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한 조성물이며, 상기 줄기 세포 이동제는, 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 억제제와 조합하여 투여되는 것을 특징으로 하는, 조성물.
- [0164] (항목 D14)
- [0165] 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 이동 및/또는 잔류를 검출하는 약제를 포함하는 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상의 치료 및/또는 예방을 위한 처치의 선택을 위한 조성물.
- [0166] (항목 D15)
- [0167] 상기 이동 및/또는 잔류가, 골수의 니치로부터의 이동 및/또는 골수의 니치에서의 잔류인, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0168] (항목 D16)
- [0169] 상기 이동 검출제는, CD106 또는 기능적 등가물의 검출제를 포함하는, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0170] (항목 D17)
- [0171] 피검체에 있어서 당뇨병 또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상을 치료 및/또는 예방하는 방법이며, 상기 피검체에 대하여 이상 조혈 줄기 세포(HSC)를 저감 또는 소실시키는 약제 및 줄기 세포 이동제를 유효량 투여하는 공정을 포함하는, 방법.
- [0172] (항목 D18)
- [0173] 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 이동 및/또는 잔류를, 피검체에서 당뇨병 또는 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상의 치료 및/또는 예방을 위한 처치 지표로 하는 방법이며, 상기 피검체에서의 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 이동 및/또는 잔류를 검출하는 공정을 포함하는, 방법.
- [0174] (항목 D19)
- [0175] 상기 조성물은, 약학적 조성물인, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0176] (항목 D20)
- [0177] 약학적으로 허용 가능한 부형제를 더 포함하는, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0178] (항목 E1)
- [0179] 피검체에서의 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상을 치료 및/또는 예방하는 방법이며, 유효량의 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 억제제 및 줄기 세포 이동제를 상기 피검체에 투여하는 공정을 포함하는, 방법.
- [0180] (항목 E2)
- [0181] 상기 이상 HCS는, CD106 및 그의 기능적 등가물로 이루어지는 군으로부터 선택되는 유전자 또는 단백질이 통상의 레벨로 발현하고 있지 않거나 및/또는 기능하고 있지 않는 것인, 상기 항목 중 어느 방법.
- [0182] (항목 E3)

- [0183] 상기 통상의 레벨이 아닌 발현은 과잉 발현인, 상기 항목 중 어느 방법.
- [0184] (항목 E4)
- [0185] 상기 억제제는, 항CD106 항체 또는 그의 기능적 개변체로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 방법.
- [0186] (항목 E5)
- [0187] 상기 이상 HCS는 추가로 종양 괴사 인자 알파(TNF- α), 히스톤 탈아세틸화 효소(HDAC) 및 프로인슐린으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 유전자 또는 단백질이 통상의 레벨로 발현하고 있지 않은 것인, 상기 항목 중 어느 방법.
- [0188] (항목 E6)
- [0189] 상기 억제제는, 항TNF- α 항체 또는 그의 기능적 개변체 및 HDAC 저해제(예를 들어 트리코 스타틴 A)로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 방법.
- [0190] (항목 E7)
- [0191] 상기 질환, 장애 및/또는 증상은, 당뇨병 합병증을 포함하는, 상기 항목 중 어느 조성물.
- [0192] (항목 E8)
- [0193] 상기 질환, 장애 및/또는 증상은, 신경 장애, 신증, 간 장애, 망막증, 지방간, 위장 장애, 골절 치유 지연, 섭식 장애 및 피부 장애로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 상기 항목 중 어느 방법.
- [0194] (항목 E9)
- [0195] 상기 줄기 세포 이동제는, 상기 이상 HSC를 니치로부터 이동시키는 능력을 보유하는 상기 항목 중 어느 방법.
- [0196] (항목 E10)
- [0197] 상기 줄기 세포 이동제는, CXCR4 길항제, CXCR2 자극제, 상피 성장 인자 수용체(EGFR) 저해제, 과립구 콜로니 자극 인자(G-CSF)제로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 약제를 포함하는, 상기 항목 중 어느 방법.
- [0198] (항목 E11)
- [0199] 상기 줄기 세포 이동제는, 플렉릭사포르, GRO β 2(MIP2), 게피티닙, 에로티닙, 아파티닙, 오시머티닙, 필그라스티م, 나르토그라스티م, 레노그라스티م, 펙필그라스티프로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 방법.
- [0200] (항목 E12)
- [0201] 피검체에서의 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상의 치료 및/또는 예방을 위한 처치를 선택하는 방법이며, 유효량의 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 이동 및/또는 잔류를 검출하는 약제를 상기 피검체에 투여하는 공정을 포함하는, 방법.
- [0202] (항목 E13)
- [0203] 상기 이동 및/또는 잔류가, 골수의 니치로부터의 이동 및/또는 골수의 니치에서의 잔류인, 상기 항목 중 어느 방법.
- [0204] (항목 E14)
- [0205] 상기 이동 검출제는, CD106 또는 기능적 등가물의 검출제를 포함하는, 상기 항목 중 어느 방법.
- [0206] (항목 E15)
- [0207] 상기 이상 HCS는, CD106 및 그의 기능적 등가물로 이루어지는 군으로부터 선택되는 유전자 또는 단백질이 통상의 레벨로 발현하고 있지 않거나 및/또는 기능하고 있지 않은 것인, 상기 항목 중 어느 방법.
- [0208] (항목 F1)
- [0209] 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한, 줄기 세포 이동제

와 이상 조혈 줄기 세포(HSC) 억제제와의 조합에서 사용하기 위한, 줄기 세포 이동제 또는 이상 HSC 억제제.

- [0210] (항목 F2)
- [0211] 상기 이상 HCS는, CD106 및 그의 기능적 등가물로 이루어지는 군으로부터 선택되는 유전자 또는 단백질이 통상의 레벨로 발현하고 있지 않거나 및/또는 기능하고 있지 않는 것인, 상기 항목 중 어느 줄기 세포 이동제 또는 이상 HSC 억제제.
- [0212] (항목 F3)
- [0213] 상기 통상의 레벨이 아닌 발현은 과잉 발현인, 상기 항목 중 어느 줄기 세포 이동제 또는 이상 HSC 억제제.
- [0214] (항목 F4)
- [0215] 항CD106 항체 또는 그의 기능적 개변체로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 억제제.
- [0216] (항목 F5)
- [0217] 상기 이상 HCS는 추가로 종양 괴사 인자 알파(TNF- α), 히스톤 탈아세틸화 효소(HDAC) 및 프로인슐린으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 유전자 또는 단백질이 통상의 레벨로 발현하고 있지 않은 것인, 상기 항목 중 어느 줄기 세포 이동제 또는 이상 HSC 억제제.
- [0218] (항목 F6)
- [0219] 항TNF- α 항체 또는 그의 기능적 개변체 및 HDAC 저해제(예를 들어 트리코 스타틴 A)로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 줄기 세포 이동제 또는 이상 HSC 억제제.
- [0220] (항목 F7)
- [0221] 상기 질환, 장애 및/또는 증상은, 당뇨병 합병증을 포함하는, 상기 항목 중 어느 줄기 세포 이동제 또는 이상 HSC 억제제.
- [0222] (항목 F8)
- [0223] 상기 질환, 장애 및/또는 증상은, 신경 장애, 신증, 간 장애, 망막증, 지방간, 위장 장애, 골절 치유 지연, 섭식 장애 및 피부 장애로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 상기 항목 중 어느 줄기 세포 이동제 또는 이상 HSC 억제제.
- [0224] (항목 F9)
- [0225] 상기 줄기 세포 이동제는, 상기 이상 HSC를 nich로부터 이동시키는 능력을 보유하는 상기 항목 중 어느 줄기 세포 이동제 또는 이상 HSC 억제제.
- [0226] (항목 F10)
- [0227] 상기 줄기 세포 이동제는, CXCR4 길항제, CXCR2 자극제, 상피 성장 인자 수용체(EGFR) 저해제, 과립구 콜로니 자극 인자(G-CSF)제로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 약제를 포함하는, 상기 항목 중 어느 줄기 세포 이동제 또는 이상 HSC 억제제.
- [0228] (항목 F11)
- [0229] 상기 줄기 세포 이동제는, 플렉사사포르, GRO β 2(MIP2), 게피티닙, 에를로티닙, 아파티닙, 오시머티닙, 필그라스티프, 나르토프라스티프, 레노그라스티프, 펙필그라스티프로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 줄기 세포 이동제 또는 이상 HSC 억제제.
- [0230] (항목 F13)
- [0231] 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한, 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 억제제와 조합하여 사용하기 위한, 줄기 세포 이동을 위한 줄기 세포 이동제 또는 이상 HSC 억제제.
- [0232] (항목 F14)
- [0233] 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상의 치료 및/또는 예방을 위한 처치 선택을 위한, 이

상 조혈 줄기 세포(HSC)의 이동 및/또는 잔류를 검출하는 약제.

- [0234] (항목 F15)
- [0235] 상기 이동 및/또는 잔류가, 골수의 니치로부터의 이동 및/또는 골수의 니치에서의 잔류인, 상기 항목 중 어느 약제.
- [0236] (항목 F16)
- [0237] CD106 또는 기능적 등가물의 검출제를 포함하는, 상기 항목 중 어느 약제.
- [0238] (항목 G1)
- [0239] 이상 조혈 줄기 세포(HSC) 억제제 및 줄기 세포 이동제의 조합에서 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한 의약 제조에서의, 이상 HSC 억제제 또는 줄기 세포 이동제 중 적어도 한쪽의 사용.
- [0240] (항목 G2)
- [0241] 상기 이상 HCS는, CD106 및 그의 기능적 등가물로 이루어지는 군으로부터 선택되는 유전자 또는 단백질이 통상의 레벨로 발현하고 있지 않거나 및/또는 기능하고 있지 않는 것인, 상기 항목 중 어느 사용.
- [0242] (항목 G3)
- [0243] 상기 통상의 레벨이 아닌 발현은 과잉 발현인, 상기 항목 중 어느 사용.
- [0244] (항목 G4)
- [0245] 상기 억제제는, 항CD106 항체 또는 그의 기능적 개변체로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 사용.
- [0246] (항목 G5)
- [0247] 상기 이상 HCS는 추가로 종양 괴사 인자 알파(TNF- α), 히스톤 탈아세틸화 효소(HDAC) 및 프로인솔린으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 유전자 또는 단백질이 통상의 레벨로 발현하고 있지 않은 것인, 상기 항목 중 어느 사용.
- [0248] (항목 G6)
- [0249] 상기 억제제는, 항TNF- α 항체 또는 그의 기능적 개변체 및 HDAC 저해제(예를 들어 트리코 스타틴 A)로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 사용.
- [0250] (항목 G7)
- [0251] 상기 질환, 장애 및/또는 증상은, 당뇨병 합병증을 포함하는, 상기 항목 중 어느 사용.
- [0252] (항목 G8)
- [0253] 상기 질환, 장애 및/또는 증상은, 신경 장애, 신증, 간 장애, 망막증, 지방간, 위장 장애, 골절 치유 지연, 섭식 장애 및 피부 장애로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 상기 항목 중 어느 사용.
- [0254] (항목 G9)
- [0255] 상기 줄기 세포 이동제는, 상기 이상 HSC를 니치로부터 이동시키는 능력을 보유하는 상기 항목 중 어느 사용.
- [0256] (항목 G10)
- [0257] 상기 줄기 세포 이동제는, CXCR4 길항제, CXCR2 자극제, 상피 성장 인자 수용체(EGFR) 저해제, 과립구 콜로니 자극 인자(G-CSF)제로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 약제를 포함하는, 상기 항목 중 어느 사용.
- [0258] (항목 G11)
- [0259] 상기 줄기 세포 이동제는, 플렉사포르, GRO β 2(MIP2), 게피티닙, 에를로티닙, 아파티닙, 오시머티닙, 필그라스탐, 나르토그라스탐, 레노그라스탐, 펙필그라스탐으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 사용.

- [0260] (항목 G14)
- [0261] 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상의 치료 및/또는 예방을 위한 처치 선택을 위한 의약 제조에서의, 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 이동 및/또는 잔류를 검출하는 약제의 사용.
- [0262] (항목 G15)
- [0263] 상기 이동 및/또는 잔류가, 골수의 니치로부터의 이동 및/또는 골수의 니치에서의 잔류인, 상기 항목 중 어느 사용.
- [0264] (항목 G16)
- [0265] 상기 이동 검출제는, CD106 또는 기능적 등가물의 검출제를 포함하는, 상기 항목 중 어느 사용.
- [0266] 본 개시에 있어서, 상기의 1개 또는 복수의 특징은, 명시된 조합에 더하여 추가로 조합하여 제공될 수 있는 것이 의도된다. 본 개시의 또한 더 한층의 실시형태 및 이점은, 필요에 따라 이하의 상세한 설명을 읽고 이해하면, 당업자에게 인식된다.

발명의 효과

- [0267] 본 개시는, 당뇨병 및/또는 그 관련 질환의 새로운 치료 및 진단을 제공한다. 종래, 당뇨병 환자에 있어서 인슐린 분비를 회복시키는 방법인 췌장 이식이나 췌도 이식 등에서 필요했던 도너가 불필요하여 레시피언트의 수에 대한 공급 능력의 제한을 극복할 수 있다. 또한, 레시피언트가 받고 있던 수술 등의 환자 부하도 회피할 수 있다. 이와 같이, 본 개시의 치료는, 약제 투여에 의해 달성될 수 있기 때문에, 훨씬 간편하고 저부하일 수 있다. 또한, 근본 치료가 가능하기 때문에, 예후도 좋을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

- [0268] 도 1은 비당뇨병(비DM) 및 스트렙토조신 유도 당뇨병(STZ-DM)의 단핵 세포에 있어서의 c-kit 양성 Sca-1 양성 계통 마커 음성 세포(KSL) 분획 중의 프로인슐린 양성 세포의 형광 활성화 셀 소팅(FACS) 분석이다. 좌측 상단의 2개의 패널(좌: 비DM, 우: STZ-DM)은 계통 음성 세포 중 KSL 세포(사각으로 둘러싸임)를 나타내고, 종축은 c-kit의 형광 강도, 횡축은 Sca-1의 형광 강도를 나타낸다. 좌측 하단의 2개의 패널(좌: 비DM, 우: STZ-DM)은 프로인슐린 양성 세포(사각으로 둘러싸임)의 분포를 나타내고, 종축은 KSL 세포 수, 횡축은 프로인슐린의 형광 강도를 나타낸다. 우측의 그래프(좌: 비DM, 우: STZ-DM)는 KSL 세포 중의 프로인슐린 양성 세포의 비율을 나타낸다(1군당 n=3). **: P<0.01.

도 2는 비DM 및 STZ-DM의 단핵 세포에 있어서의 KSL 세포 중의 종양 괴사 인자 알파(TNF-α) 양성 세포의 FACS 분석이다. 좌측 상단의 2개의 패널(좌: 비DM, 우: STZ-DM)은 계통 음성 세포 중 KSL 세포(사각으로 둘러싸임)를 나타내고, 종축은 c-kit의 형광 강도, 횡축은 Sca-1의 형광 강도를 나타낸다. 좌측 하단의 2개의 패널(좌: 비DM, 우: STZ-DM)은 TNF-α 양성 세포(사각으로 둘러싸임)의 분포를 나타내고, 종축은 KSL 세포 수, 횡축은 TNF-α의 형광 강도를 나타낸다. 우측의 그래프는, KSL 세포 중의 TNF-α 양성 세포의 비율을 나타낸다(1군당 n=5), 테이터는 평균±표준 오차로서 나타낸다. **: P<0.01.

도 3은 비DM 및 STZ-DM의 단핵 세포에 있어서의 KSL 세포의 CD106 발현에 대한 FACS 분석이다. 좌측의 2개의 패널(위: 비DM, 아래: STZ-DM)은 계통 음성 세포 중 KSL 세포(사각으로 둘러싸임)를 나타내고, 종축은 c-kit의 형광 강도, 횡축은 Sca-1의 형광 강도를 나타낸다. 우측의 2개의 패널(위: 비DM, 아래: STZ-DM)은 CD106 양성 세포(사각으로 둘러싸임)의 분포를 나타내고, 종축은 측방 산란광(SSC)의 강도, 횡축은 CD106의 형광 강도를 나타낸다. 우측의 그래프(좌: 비DM, 우: STZ-DM)는 KSL 세포 중의 CD106 양성 세포의 비율(1눈금은 1%임)을 나타낸다(1군당 n=4). **: P<0.01.

도 4는 ICR 마우스 및 NOD 마우스의 단핵 세포의 FACS 분석이다. 2개의 패널(좌: ICR, 우: NOD)은 계통 음성 세포 중 KSL 세포(사각으로 둘러싸임)를 나타내고, 종축은 c-kit의 형광 강도, 횡축은 Sca-1의 형광 강도를 나타낸다.

도 5는 ICR 마우스 및 NOD 마우스의 단핵 세포에 있어서의 KSL 세포 중의 종양 괴사 인자 알파(TNF-α) 양성 세포 및 CD106 양성 세포의 FACS 분석이다. 위의 2개의 패널(좌: ICR, 우: NOD)은 TNF-α 양성 세포(사각으로 둘러싸임)의 분포를 나타내고, 종축은 전방 산란광(FSC)의 강도, 횡축은 TNF-α의 형광 강도를 나타낸다. 아래의 2개의 패널(좌: ICR, 우: NOD)은 CD106 양성 세포(사각으로 둘러싸임)의 분포를 나타내고, 종축은 전방 산란광

(FSC)의 강도, 횡축은 CD106의 형광 강도를 나타낸다.

도 6은 비DM 및 STZ-DM의 KSL 세포 중의 사이드 퍼플레이션(SP) 분획 및 비SP 분획의 FACS 분석이다. 좌측의 2개의 패널(위: 비DM, 아래: STZ-DM)은 KSL 세포 중 SP 분획(좌측 하단의 둥근 테두리) 및 비SP 분획(우측 상단의 둥근 테두리)을 나타내고, 종축은 웨스트 블루의 형광 강도, 횡축은 웨스트 레드의 형광 강도를 나타낸다. 우측의 그래프(좌: SP, 우: 비SP)는 비DM(왼쪽의 바) 및 STZ-DM(우측의 바)의 KSL 세포 중의 SP 분획 및 비SP 분획의 비율을 나타낸다(n=3). 데이터는 평균값±표준 오차로서 나타낸다. **: P<0.01.

도 7은 a) 비DM 및 STZ-DM의 KSL-비SP 세포에 있어서의 CD106 양성 세포의 FACS 분석이다. 2개의 패널(위: 비DM, 아래: STZ-DM)은 CD106 양성 세포(사각으로 둘러싸임)의 분포를 나타내고, 종축은 측방 산란광(SSC)의 강도, 횡축은 CD106의 형광 강도를 나타낸다. 그래프(좌: 비DM, 우: STZ-DM)는 KSL-비SP 세포 중의 CD106 양성 세포의 비율을 나타낸다(1군당 n=3). b) 비DM 및 STZ-DM의 KSL-SP 세포에 있어서의 CD106 양성 세포의 FACS 분석이다. 2개의 패널(위: 비DM, 아래: STZ-DM)은 CD106 양성 세포(사각으로 둘러싸임, 0%임)의 분포를 나타내고, 종축은 측방 산란광(SSC)의 강도, 횡축은 CD106의 형광 강도를 나타낸다. 그래프(좌: 비DM, 우: STZ-DM)는 KSL-SP 세포 중의 CD106 양성 세포의 비율을 나타낸다(1군당 n=3). c) 비DM 및 STZ-DM의 KSL-비SP 세포에 있어서의 TNF- α 양성 세포의 FACS 분석이다. 2개의 패널(위: 비DM, 아래: STZ-DM)은 TNF- α 양성 세포(사각으로 둘러싸임)의 분포를 나타내고, 종축은 측방 산란광(SSC)의 강도, 횡축은 TNF- α 의 형광 강도를 나타낸다. 그래프(좌: 비DM, 우: STZ-DM)는 KSL-비SP 세포 중의 TNF- α 양성 세포의 비율을 나타낸다(1군당 n=3). d) 비DM 및 STZ-DM의 KSL-SP 세포에 있어서의 TNF- α 양성 세포의 FACS 분석이다. 2개의 패널(위: 비DM, 아래: STZ-DM)은 TNF- α 양성 세포(사각으로 둘러싸임, 0%이었다)의 분포를 나타내고, 종축은 측방 산란광(SSC)의 강도, 횡축은 TNF- α 의 형광 강도를 나타낸다. 그래프(좌: 비DM, 우: STZ-DM)는 KSL-SP 세포 중의 TNF- α 양성 세포의 비율을 나타낸다(1군당 n=3). 데이터는 평균값±표준오차로서 나타낸다. *: P<0.05.

도 8은 비DM 및 STZ-DM 마우스의 KSL 세포에 있어서의 히스톤 탈아세틸화 효소 유전자군(HDACs)의 유전자 발현 비교를 나타낸다. 좌측으로부터, Hdac3, Hdac4, Hdac8 및 Hdac9의 발현량을 나타내고, 각 막대 그래프에서, 좌측은 비DM 마우스의 결과이며, 우측은 STZ-DM 마우스의 결과이다. 종축은, 비DM 마우스에서의 mRNA 발현량을 1로 했을 경우의 두 마우스에 있어서의 mRNA 발현량의 상대량을 나타낸다. *: P<0.05.

도 9는 정상 혈당 마우스에의 비DM 또는 STZ-DM 마우스 유래 KSL 세포의 이식을 위한 실험 개략을 나타낸다. 녹색 형광 단백질을 유전자 도입한 트랜스제닉 마우스(GFP-Tg 마우스)를 STZ로 처리하여 당뇨병을 유발한 마우스(STZ-DM GFP) 및 정맥 내 시트르산 완충액 주사의 대조 처리를 실시한 비DM 마우스를 준비하였다(비DM GFP). 3개월 후, 비DM 마우스 및 STZ-DM 마우스 각각으로부터 얻은 KSL 세포를, 9Gy의 치사량 조사 정상 혈당 야생형 마우스에 이식하였다(비DM 유래 KSL-T, STZ-DM 유래 KSL-T).

도 10은 비DM 유래 KSL-T(n=9) 및 STZ-DM 유래 KSL-T(n=10)에 있어서의 혈당 농도(mg/gL)(좌측) 및 비DM 유래의 KSL-T에 있어서의 측정값을 1로 했을 경우의 좌골 신경에 있어서의 지각 신경 전달 속도(SNCV)의 상대비(우측)를 나타낸다. N. S는 유의차가 없는 것을 나타내고, **은 P<0.01을 나타낸다.

도 11은 후근 신경절(DRG)에 있어서의 MAP2, 프로인슐린 및 TNF- α 의 면역 형광 염색상이다. 좌측으로부터 4열은 STZ-DM 유래 KSL-T의 결과이며, 좌측으로부터, 핵(청색), GFP(녹색), 표적 분자(상단: MAP2, 중단: 프로인슐린, 하단: TNF- α)(적색), 병합의 화상이다. 우측 열은 비DM 유래 KSL-T의 결과이며, 핵(청색), GFP(녹색) 및 표적 분자(상단: MAP2, 중단: 프로인슐린, 하단: TNF- α)(적색)의 병합 화상이다. 화살 헤드는 융합 세포를 나타낸다. 스케일 바=10 μ m.

도 12는 비DM 유래 KSL-T 및 STZ-DM 유래 KSL-T의 단핵 세포에 있어서의 KSL 분획 중의 프로인슐린 양성 세포의 FACS 분석이다. 좌측 상단의 2개의 패널(좌: 비DM 유래 KSL-T, 우: STZ-DM 유래 KSL-T)은 계통 음성 세포 중 KSL 세포(사각으로 둘러싸임)를 나타내고, 종축은 c-kit의 형광 강도, 횡축은 Sca-1의 형광 강도를 나타낸다. 좌측 하단의 2개의 패널(좌: 비DM 유래 KSL-T, 우: STZ-DM 유래 KSL-T)은 프로인슐린 양성 세포(사각으로 둘러싸임)의 분포를 나타내고, 종축은 KSL 세포 수, 횡축은 프로인슐린의 형광 강도를 나타낸다. 우측의 그래프(좌: 비DM 유래 KSL-T, 우: STZ-DM 유래 KSL-T)는 KSL 세포 중의 프로인슐린 양성 세포의 비율을 나타낸다(1군당 n=3). *: P<0.05.

도 13은 비DM 유래 KSL-T 및 STZ-DM 유래 KSL-T의 단핵 세포에 있어서의 KSL 분획 중의 TNF- α 양성 세포의 FACS 분석이다. 좌측 상단의 2개의 패널(좌: 비DM 유래 KSL-T, 우: STZ-DM 유래 KSL-T)은 계통 음성 세포 중 KSL 세포(사각으로 둘러싸임)를 나타내고, 종축은 c-kit의 형광 강도, 횡축은 Sca-1의 형광 강도를 나타낸다.

좌측 하단의 2개의 패널 (좌: 비DM 유래 KSL-T, 우: STZ-DM 유래 KSL-T)은 TNF- α 양성 세포(사각으로 둘러싸임)의 분포를 나타내고, 중측은 KSL 세포 수, 횡측은 TNF- α 의 형광 강도를 나타낸다. 우측의 그래프(좌: 비DM 유래 KSL-T, 우: STZ-DM 유래 KSL-T)는 KSL 세포 중의 TNF- α 양성 세포의 비율을 나타낸다(1군당 n=3), **: P<0.01.

도 14는 인간 당뇨병 환자(DM) 및 건강한 인간 피험자(비DM)의 혈액 시료에서의 각 유전자의 발현량의 비교. 패널은, 각각, 인슐린(좌측 상단), CD34(우측 상단), TNF- α (좌측 하단), CD106(우측 하단)을 나타낸다. 각 패널에 있어서, 좌측의 바는 건강한 인간 피험자의 결과를, 우측의 바는 인간 당뇨병 환자의 결과를 나타낸다. 중측은, 건강한 인간 피험자의 평균 결과를 1로 했을 경우의, 상대적인 mRNA 발현량을 나타낸다.

도 15는 스트렙토조토신 유도 당뇨병 마우스를 줄기 세포 이동제 및 항CD106 항체로 처리했을 경우(250 μ g/마우스의 용량, 일주일 마다의 미정맥 투여)의 혈당값 및 체중의 변화를 나타낸다. 위의 그래프는, 0일째 및 18일째의 혈당값(중측, mg/dL)을 나타낸다. 아래의 그래프는, 0일째 및 18일째의 체중(중측, g)을 나타낸다. 청색 선은, 대조 처리의 결과를 나타내고, 주황색 선은, 줄기 세포 이동제 및 항CD106 항체의 결과를 나타내고, 회색 선은, 항CD106 항체 처리의 결과를 나타낸다.

도 16은 마우스 동결 절편의 인슐린 및 핵의 염색상이다. 좌측 상단은 비DM 마우스, 우측 상단은 STZ-DM 마우스, 아래의 2개는 줄기 세포 이동제 및 항CD106 항체로 처리한 2마리의 STZ-DM 마우스의 결과를 나타낸다.

도 17은 각 마우스에서 췌도를 랜덤하게 8 내지 10개 정도 골라 췌도의 크기에 대한 인슐린 양성 면적의 비율을 Image J 소프트웨어로 산출한 결과이다. 좌측으로부터, 비DM 마우스, STZ-DM 마우스, 줄기 세포 이동제 및 항CD106 항체로 처리한 2마리의 STZ-DM 마우스(#1 및 #2)의 결과를 나타낸다. **: P<0.01을 나타낸다.

도 18은 NOD 마우스를 줄기 세포 이동제 및 항CD106 항체로 처리했을 경우(250 μ g/마우스의 용량, 일주일 마다의 미정맥 투여)의 혈당값 및 체중의 변화를 나타낸다. 위의 그래프는, 7일째 및 14일째의 혈당값(중측, mg/dL)을 나타낸다. 아래의 그래프는, 7일째 및 14일째의 체중(중측, g)을 나타낸다. 청색 선(#670) 및 주황색 선(#671)은 이동제 및 항CD106 항체 처리를 일주일마다 2회 실시한 2개체의 결과를 각각 나타내고, 회색 선(#673)은 이동제 및 항CD106 항체 처리를 1회만 실시한 개체의 결과를 나타낸다.

도 19는 마우스 동결 절편의 인슐린 및 핵의 염색상이다. 좌측으로부터, 비DM 마우스, 당뇨병 발증 전의 NOD 마우스, 당뇨병 발증 후의 NOD 마우스의 결과를 나타낸다. 상단은 20배 확대상, 하단은 40 배 확대상이다. 화살 헤드는, 췌도를 나타낸다.

도 20은 DM 없음의 환자(DM(-))와 DM 있음의 환자(DM(+))의 골수의 프로인슐린 염색. 프로인슐린 항체로 염색된 골수 세포(화살표)는 DM(+) 예에서는 관찰되지만, DM(-) 예에서는 관찰되지 않는다. 스케일 바는 50 μ m를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0269] 이하, 본 개시를 최선의 형태를 나타내면서 설명한다. 본 명세서의 전체에 걸쳐, 단수형의 표현은, 특별히 언급하지 않는 한, 그 복수형의 개념까지도 포함하는 것이 이해되어야 한다. 따라서, 단수형의 관사(예를 들어 영어의 경우에는 "a", "an", "the" 등)는 특별히 언급하지 않는 한, 그 복수형의 개념도 포함하는 것이 이해되어야 한다. 또한, 본 명세서에서 사용되는 용어는, 특별히 언급하지 않는 한, 당해 분야에서 통상 사용되는 의미로 사용되는 것이 이해되어야 한다. 따라서, 그 밖에 정의되지 않는 한, 본 명세서 중에서 사용되는 모든 전문 용어 및 과학 기술 용어는, 본 개시가 속하는 분야의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 모순될 경우, 본 명세서(정의를 포함하여)가 우선한다.

[0270] 이하에 본 명세서에서 특별히 사용되는 용어의 정의 및/또는 기본적 기술 내용을 적절히 설명한다.

[0271] (정의)

[0272] 본 명세서에서, "당뇨병"은 당해 분야에서 사용되는 통상의 의미로 사용되고, 임신에 수반하는 것이나 특이한 유전자 이상에 의한 것을 제외하고, 통상은, 췌장의 β 세포의 파괴에 의해 인슐린이 고갈되어 발생하는 1형 당뇨병 및 비만 등을 원인으로 하여, 췌장의 랑게르한스섬(췌도)의 β 세포로부터의 인슐린 분비량이 감소하고, 근육, 지방 조직으로의 글루코오스의 도입능이 저하되어 발생하는 2형 당뇨병으로 분류된다. 또한, 본 연구의 결과에 의하면, 1형 당뇨병 및 2형 당뇨병의 양자는 지금까지 기원이라고 생각되었던 것과는 전혀 다른, 면역 이상을 통한 공통의 세포 기원에 의해 일어난다고 추정된다. 당뇨병은, 예를 들어 2회 이상의 검사에서, 공복 시

혈당 \geq 126mg/dL, HbA1c \geq 6.5%, 경구 포도당 부하 시험(75gOGTT)에서 2시간 값이 200mg/dL 이상 등에 의해 진단될 수 있다. 본 명세서에서의 "당뇨병"에는 청년 발증 성인형 당뇨병, 경계형 당뇨병도 포함된다.

[0273] 본 명세서에서 "당뇨병의 관련 질환" 또는 "당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상"은, 당뇨병에 관련되는 임의의 질환, 장애 및 증상이 포함될 수 있고, 그러한 것의 예로서, 당뇨병성 신경 장애, 당뇨병성 망막증, 당뇨병성 신증, 속발성 당뇨병, 당뇨병성 혼수, 의식 장애, 복통, 장딴지에서 나는 쥐, 신경 장애, 고침투압 고혈당 증후군, 알부민뇨, 부종, 신부전, 실명, 알츠하이머형 인지증, 심근 경색, 폐색성 동맥 경화증, 뇌경색, 지방간, 피부 증상(당뇨병성 리포이드류 괴사 등), 창상 치유 능력의 저하, 이감염성(패혈증 등), 암(간암, 신장암, 췌장암, 결장암, 위암, 간암, 난소암, 대장암, 결장암 등), 당뇨병성 케토애시도시스, 심장병, 뇌혈관 장애, 스테로이드 당뇨병, 변비, 일어섰을 때 느끼는 현기증(기립성 저혈압), 발기 부전, 심근 경색, 흉통, 중증 맹장염, 복막 자극 증상, 저온 화상, 임신 당뇨병, 구갈, 다음, 다뇨 등을 들 수 있다.

[0274] 특별히 언급하지 않는 한, 본 명세서에서 "비당뇨병 피검체"란, 당뇨병도 그 관련 질환도 가지지 않는 피검체를 의미한다.

[0275] 본 명세서에서 "치료"란, 어느 질환 또는 장애에 대해서, 그러한 상태가 되었을 경우에, 그러한 질환 또는 장애의 악화를 방지, 바람직하게는 현 상황 유지, 보다 바람직하게는 경감, 더욱 바람직하게는 소실 또는 퇴치시키는 것을 말하고, 환자의 질환, 또는 질환에 수반하는 1개 이상의 증상의, 증상 개선 효과 또는 예방 효과를 발휘할 수 있는 것을 포함한다. 사전에 진단을 하여 적절한 치료를 행하는 것은 "컴패니언 치료"라고 하고, 그것을 위한 진단약을 "컴패니언 진단약"이라고 하는 경우가 있다.

[0276] 본 명세서에서 "예방"이란, 어느 질환 또는 장애에 대하여, 그러한 상태가 되기 전에, 그러한 상태가 되지 않도록 하는 것을 말한다. 본 개시의 약제를 사용하여 진단을 행하고, 필요에 따라 본 개시의 약제를 사용하여 예를 들어 당뇨병 등의 예방을 하거나, 또는 예방을 위한 대책을 강구할 수 있다.

[0277] 본 명세서에서 "진단"이란, 피검체에서의 상태(예를 들어 질환, 장애) 등에 관련하는 여러가지 파라미터를 동정하고, 그러한 상태의 현 상황 또는 미래를 판정하는 것을 말한다. 본 개시의 방법, 조성물, 시스템을 사용함으로써 체내의 상태를 조사할 수 있고, 그러한 정보를 사용하여 피검체에서의 상태, 투여해야 할 처치 또는 예방을 위한 처방물 또는 방법 등의 다양한 파라미터를 선정할 수 있다. 본 명세서에서, 협의로는, "진단"은, 현 상황을 진단하는 것을 말하는데, 광의로는 "조기 진단", "예측 진단", "사전 진단" 등을 포함한다. 본 개시의 진단 방법은, 원칙적으로 신체로부터 나온 것을 이용할 수 있고, 의사 등의 의료 종사자의 손을 벗어나서 실시할 수 있기 때문에 산업상 유용하다. 본 명세서에서, 의사 등의 의료 종사자의 손을 벗어나서 실시할 수 있는 것을 명확히 하기 위해서, 특히 "예측 진단, 사전 진단 또는 진단"을 "지원"한다고 하는 경우가 있다. 본 개시의 기술은, 이러한 진단 기술에 응용 가능하다.

[0278] 본 명세서에서 표적 세포의 "억제"는, 표적 세포의 증식 속도의 저하, 표적 세포의 상해, 표적 세포의 감소 및/또는 표적 세포의 사멸을 초래하는 것을 의미한다. 표적 세포의 억제는 직접적 작용 및/또는 간접적 작용에 의해 달성될 수 있다. 예를 들어 표적 세포를 억제하는 직접적 작용은, 이 세포가 갖는 임의의 특징(예를 들어 발현 분자)을 표적화하여 표적 세포의 상해, 표적 세포의 감소 및/또는 표적 세포의 사멸을 초래함으로써 달성되고, 예를 들어 방사선 조사, 아포토시스의 유도, 면역 세포에 의한 공격의 유도 등의 기구를 들 수 있지만, 이것으로 한정되지 않는다. 표적 세포를 억제하는 간접적 작용은, 이 표적 세포를 인식하여 억제하도록 면역계에 학습시키는 방법 등을 들 수 있지만, 이것으로 한정되지 않는다.

[0279] 본 명세서에서 표적 세포의 "억제제"는, 임의의 수단으로 표적 세포를 억제하는 약제를 의미한다. 본 명세서에 기재되는 억제제에서, 표적 세포를 억제하는 수단은 임의일 수 있고, 예를 들어 표적 세포와 표적화 분자(예를 들어 항체)와의 결합에 의해 야기되는 면역 세포에 의한 공격, 방사선 발생 분자의 사용 등을 들 수 있지만, 이것으로 한정되지 않는다.

[0280] 본 명세서에 있어서 세포의 "이동(migration)"이란, 세포가 말초 혈액 및/또는 순환 혈액 중으로 이동하는 것을 의미한다. 전형적으로는, 이동은, 세포가 골수(또는 그 중의 특정한 부위)로부터 말초 혈액 및/또는 순환 혈액 중으로 이동하는 것을 의미한다. 이러한 골수 중의 특정한 부위는, 니치(niche) 또는 특정 니치라고 하는 경우가 있고, 특정 니치란, 생체 내에서 줄기 세포가 그 성질을 유지하기 위해서 필요한 미소 환경을 말한다. 따라서, 본 명세서에서는, 특정한 실시형태에서는, 니치로부터 줄기 세포를 이동시키는 것을 의미하는데, 이것으로 한정되지 않는다.

[0281] 본 명세서에서 세포의 "이동제"는, 임의의 수단으로 표적 세포를 이동시키는 약제를 의미한다.

- [0282] 본 명세서에서 "조혈 줄기 세포" 또는 "HSC"란, 혈구계 세포로 분화 가능한 줄기 세포를 가리킨다. 인간 성체에서는 주로 골수에 존재하고, 백혈구(호중구, 호산구, 호염기구, 림프구, 단구, 마크로파지), 적혈구, 혈소판, 비만 세포, 수지상 세포를 만들어 낸다. 조혈 줄기 세포는, 예를 들어 CD34 양성 Thy-1 양성에 의해 특징지어질 수 있고, 또한 Lineage 음성 CD34 양성 CD38 음성 CD90 양성 CD45RA 음성(즉, $Lin^-CD34^+CD38^-CD90^+CD45RA^-$)에 의해서도 특징지어질 수 있다(예를 들어 Proc Natl Acad Sci USA. 2011 Dec 13;108(50): 20012-20017 참조). 마우스 조혈 줄기 세포는, c-kit 양성 Sca-1 양성 계통 마커 음성(KSL) 세포로서 특징지어질 수 있다. 또한, 조혈 줄기 세포는, 웨스트 33342 색소로 염색한 골수 세포를, 자외광(350nm)으로 여기하고, 웨스트 블루 및 웨스트 레드의 2종류의 광학 필터로 전개했을 경우에 양쪽 모두 음성인 것에 의해서도 특징지어질 수 있다. 조혈 줄기 세포는, 장기 조혈 줄기 세포(LT-HSC), 단기 조혈 줄기 세포(ST-HSC) 등으로 세분될 수 있다. 예를 들어 조혈 줄기 세포의 특징은, Cytometry Research 19 (2) : 25-32, 2009를 참조할 수 있다.
- [0283] 본 명세서에서 "장기 조혈 줄기 세포(LT-HSC)"란 장기 골수 세포 재건능을 갖는 조혈 줄기 세포를 말한다. LT-HSC는, 통상 표면 항원 마커에 의해 특정되고, (예를 들어 마우스에 있어서는) CD34 음성, CD150 양성, CD48 음성, Lin 음성, sca1 양성, c-kit 양성(또는, $Lineage^-c-Kit^+Sca-1^+CD34^{-/low}CD150^+$ 세포)으로 표현될 수 있다. 또한, LT-HSC는, (예를 들어 인간에 있어서는) CD34 음성, CD38 음성(또는 $CD34^-CD38^-$ 세포)으로 표현될 수 있다(예를 들어 Nat Immunol. 2010 Jul;11(7): 585-93; Blood 108, 2446-2454, 2006).
- [0284] 본 명세서에서 "단기 조혈 줄기 세포(ST-HSC)"란, 단기 골수 재건능을 갖는 조혈 줄기 세포를 말한다. ST-HSC는, 통상, 표면 항원 마커에 의해 특정되고, (예를 들어 마우스에 있어서는) CD34 양성, CD150 양성, CD48 음성, Lin 음성, sca-1 양성, c-kit 양성으로 표현될 수 있다. 또한, ST-HSC는, (예를 들어 인간에 있어서는) CD34 양성, CD38 음성(또는, $CD34^+CD38^-$ 세포)으로 표현될 수 있다(예를 들어 Nat Immunol. 2010 Jul;11(7): 585-93; Blood 108, 2446-2454, 2006).
- [0285] 본 명세서에서 "이상 조혈 줄기 세포" 또는 "이상 HSC"이란, 이상한 기능을 발현하고 있거나 및/또는 정상적인 기능이 적어도 일부 결여되어 있는 조혈 줄기 세포를 말한다. 대표적으로는, 이상 HSC는, CD106 또는 그의 기능적 등가물의 유전자 또는 단백질이 통상 레벨로 발현하고 있지 않거나 및/또는 기능하고 있지 않는 세포를 말한다.
- [0286] 본 명세서에서, 유전자 또는 단백질이 "통상의 레벨로 발현하고 있지 않는"이란, 정상적인 기능을 갖는 세포에서 보이는 발현량이 아닌 양이나 레벨에서 당해 유전자 또는 단백질이 발현하고 있는 것을 말한다. 예를 들어 CD106에 대해서 말하자면, CD106이 통상 발현하고 있는(정상 세포에서 보이는 통상의 값)으로부터 벗어날 경우에 이상이 있다고 판단할 수 있고, 바람직하게는 CD106이 통상보다도 많이 발현하고 있을 경우에 이상이라고 판정할 수 있다. 예를 들어 비당뇨병 및 당뇨병 마우스로부터 KSL 세포를 FACS로 분취하여 RNA를 추출한 후, QT-PCR을 사용하여 유전자 발현량의 비교 해석을 행함으로써 유전자의 통상 레벨이 아닌 발현(예를 들어 과잉 발현)을 시험할 수 있다. 예를 들어 FACS 해석을 실시하고, 이상이 있는 조혈 줄기 세포의 표면 항원을 검출하여 당뇨병 피검체와 비당뇨병 피검체를 비교함으로써 단백질의 통상 레벨이 아닌 발현을 시험할 수 있다.
- [0287] 본 명세서에서, 유전자 또는 단백질이 "통상의 레벨에서 기능하고 있지 않는"이란, 정상적인 기능을 갖는 세포에서 보이는 레벨의 기능이 당해 유전자 또는 단백질에 대해서 보여지지 않는 것을 말한다. 예를 들어 CD106에 대해서 말하자면, CD106이 통상 기능하는 레벨(정상 세포에서 보이는 통상의 레벨 또는 값)에서 벗어날 경우에 이상이 있다고 판단할 수 있고, 바람직하게는 CD106이 통상보다도 많은 레벨에서 기능이 관찰되는 경우에 이상이라고 판정할 수 있다. 예를 들어 FACS 해석을 실시하여 이상한 조혈 줄기 세포의 표면 항원을 검출하고, 당뇨병 피검체와 비당뇨병 피검체를 비교하여 단백질의 활성화를 관찰함으로써 단백질이 통상의 레벨에서 기능하고 있지 않는 것을 시험할 수 있다.
- [0288] 본 명세서에 있어서 "CXCR4"란, CD184 또는 푸신(Fusin)으로서도 알려지는 7회 막 관통형의 G단백 공액 수용체(GPCR)이다. CXCR4의 생리적 리간드는, CXC 케모카인의 하나로, 단구 및 림프구의 이동을 강하게 유도하는 stromal cell-derived factor-1(SDF-1)이다. CXCR4의 저해에 의해 조혈 줄기 세포의 이동이 발생할 수 있다(Future Oncol. 2007 Feb;3(1): 19-27).
- [0289] 본 명세서에서 "CD106"이란, 표면 항원의 1종이며, 접착 분자 VCAM-1(Vascular cell adhesion molecule-1) 또는 INCAM-100으로서도 알려지는, Ig 슈퍼 패밀리 멤버의 I형 막단백질이며, 사이토카인 활성화 내피에 의해 발현되는 세포 표면 시알로 당단백질이며, 백혈구-내피 세포 접착 및 시그널 전달을 매개하는 것으로 알려진다.

인간에서는, VCAM-1 아이소폼 a 프리커서(핵산 서열: NM_001078.4, 아미노산 서열: NP_001069.1), VCAM-1 아이소폼 b 프리커서(핵산 서열: NM_080682.2, 아미노산 서열: NP_542413.1), VCAM-1 아이소폼 c 프리커서(핵산 서열: NM_001199834.1, 아미노산 서열: NP_001186763.1)가 대표적이다.

- [0290] 본 명세서에서 "CD34"란, 줄기 세포의 골수 세포의 매트릭스 또는 간질 세포로의 부착에 관여한다고 생각되고 있는 표면 단백질이며, 고도로 글리코실화되어, 프로테inkin나제 C에 의해 인산화되는 것으로 알려진다. 인간에서는, CD34 전사 배리언트 1(핵산 서열: NM_001025109.2, 아미노산 서열: NP_001020280.1), CD34 전사 배리언트 2(핵산 서열: NM_001773.3, 아미노산 서열: NP_001764.1)가 대표적이다.
- [0291] 본 명세서에서 "종양 괴사 인자 알파" 또는 그 생략형인 "TNF- α "란, TNF, DIF, TNFA, TNFSF2, TNLG1F로서도 알려지는 종양 괴사 인자(TNF) 슈퍼 패밀리에 속하는 다기능 염증 유발성 사이토카인이며, 주로 마크로파지에 의해 분비되는 단백질을 가리킨다. TNF- α 는, 수용체 TNFRSF1A/TNFR1 및 TNFRSF1B/TNFR2를 개재하여 기능할 수 있고, 세포 증식, 분화, 아포토시스, 지질 대사 및 응혈 등 광범위한 생물학적 프로세스의 조절에 관여한다. 인간에서는, 핵산 서열: NM_000594.4, 아미노산 서열: NP_000585.2가 대표적이다.
- [0292] 본 명세서에서 "프로인슐린"이란, 인슐린의 전구체 단백질을 가리킨다. 프로인슐린은, 췌장 β 세포의 소포체에서 프로세싱되고, 미성숙된 분비 과립 내에서 C 펩티드 영역이 제거됨으로써 A쇄 및 B쇄로 구성되는 인슐린이 생성된다. 인간에서는, 프로인슐린 전사 배리언트 1(핵산 서열: NM_000207.3, 아미노산 서열: NP_000198.1), 프로인슐린 전사 배리언트 2(핵산 서열: NM_001185097.2, 아미노산 서열: NP_001172026.1), 프로인슐린 전사 배리언트 3(핵산 서열: NM_001185098.1, 아미노산 서열: NP_001172027.1), 프로인슐린 전사 배리언트 4(핵산 서열: NM_001291897.2, 아미노산 서열: NP_001278826.1)가 대표적이다.
- [0293] 본 명세서에서 "c-Kit"란, PBT, SCFR, KIT, CD117 또는 MASTC로서도 알려지는 MGF(비만 세포 증식 인자, 줄기 세포 인자로서도 알려짐)의 3형 막관통 수용체를 가리킨다. 인간에서는, Kit 아이소폼 1 프리커서(핵산 서열: NM_000222.2, 아미노산 서열: NP_000213.1), Kit 아이소폼 2 프리커서(핵산 서열: NM_001093772.1, 아미노산 서열: NP_001087241.1)가 대표적이다.
- [0294] 본 명세서에 있어서 "CD20"이란, MS4A1, B1, S7, Bp35, CD20, CVID5, MS4A 2 또는 LEU-16로서도 알려지는 막 관통형 4A 유전자 패밀리의 멤버이며, B 세포의 형질 세포로의 발달 및 분화에서 역할을 하는 B림프구 표면 분자를 가리킨다. 인간에서는, CD20 전사 배리언트 1(핵산 서열: NM_152866.2, 아미노산 서열: NP_690605.1), CD20 전사 배리언트 3(핵산 서열: NM_021950.3, 아미노산 서열: NP_068769.2)이 대표적이다.
- [0295] 특별히 언급하지 않는 한, 본 명세서에서, 각 단백질에 관한 언급은, 특정한 액세스 번호에 기재되는 아미노산 서열을 갖는 단백질(또는 그것을 코드하는 핵산) 뿐만 아니라, 그의 기능적 등가물도 또한 기도되는 것이 이해된다.
- [0296] 본 명세서에서, 어떤 분자의 "기능적 등가물"에는, 그 분자의 변이체 또는 개변체(예를 들어 아미노산 서열 개변체 등)이며, 본 명세서에 기재되는 특징(예를 들어 마커)로서의 기능을 갖는 것, 그 분자의 생물학적 기능과 동일한 기능(동일한 정도가 아니어도 좋음)을 발휘하는 것, 그리고, 작용하는 시점에서, 그 분자 자체로 변화할 수 있는 것이 포함되는 것이 이해된다.
- [0297] 본 명세서에서, 어떤 분자의 "기능적 개변체"에는, 그 분자의 기능을 유지한(정도는 변경되어도 좋음)채 그 분자를 개변한 물질이 포함된다. 예를 들어 항체 등의 결합 분자의 기능적 개변체에는, 표적 분자와의 결합 기능을 유지하도록, 다른 부분(표지, 다른 기능성 분자(단백질 등) 등)과 콘주게이트화한 것, 프래그먼트화한 것 등이 포함된다. 이와 같이, 본 명세서에서 사용될 경우, 기능적 개변체는, 개변 전의 기본이 되는 기능을 유지하는 것이다.
- [0298] 본 개시의 기능적 등가물로서는, 아미노산 서열에 있어서, 1 또는 복수개의 아미노산의 삽입, 치환 또는 결실 또는 그 한쪽 또는 양쪽 말단으로의 부가된 것을 사용할 수 있다. 본 명세서에서, "아미노산 서열에서, 1 또는 복수개의 아미노산의 삽입, 치환 또는 결실 또는 그 한쪽 또는 양쪽 말단으로의 부가"란, 부위 특이적 돌연변이 유발법 등의 주지의 기술적 방법에 의해, 또는 천연의 변이에 의해, 천연에 발생할 수 있는 정도의 복수개의 아미노산 치환 등에 의해 개변이 이루어져 있는 것을 의미한다.
- [0299] 본 명세서에서 "생물학적 기능"이란, 어느 유전자 또는 그것에 관한 핵산 분자 또는 폴리펩티드에 대해서 언급할 때, 그 유전자, 핵산 분자 또는 폴리펩티드가 생체 내에서 가질 수 있는 특정한 기능을 말하고, 여기에는, 예를 들어 특이적인 항체의 생성, 효소 활성, 저항성의 부여 등을 들 수 있지만 그것들로 한정되지 않는다. 이러한 생물학적 활성은, 상술한 표 안에서 언급되는 액세스 번호, Entrez 번호 등에서 인용되는 문헌 등을 참조

할 수 있고, 본 명세서에서 그러한 문헌 등도 또한 참고로서 인용한다. 본 명세서에서, 생물학적 기능은, "생물학적 활성"에 의해 발휘될 수 있다. 본 명세서에서 "생물학적 활성"이란, 어느 인자(예를 들어 폴리뉴클레오티드, 단백질 등)가 생체 내에서 가질 수 있는 활성을 말하고, 여러가지 기능(예를 들어 전사 촉진 활성)을 발휘하는 활성이 포함되고, 예를 들어 어느 분자와의 상호 작용에 의해 다른 분자가 활성화 또는 불활성화되는 활성도 포함된다. 2개의 인자가 상호 작용하는 경우, 그 생물학적 활성은, 그 2분자와의 사이의 결합 및 그것에 의해 발생하는 생물학적 변화, 예를 들어 하나의 분자를 항체를 사용하여 침강시켰을 때에 다른 분자도 공침할 때, 2분자는 결합하고 있다고 생각된다. 따라서, 그러한 공침을 보는 것을 하나의 판단 방법으로서 들 수 있다. 예를 들어 어떤 인자가 효소일 경우, 그 생물학적 활성은 그 효소 활성을 포함한다. 다른 예에서는, 어떤 인자가 리간드일 경우, 그 리간드가 상응하는 리셉터로의 결합을 포함한다. 그러한 생물학적 활성은, 당해 분야에서 주지의 기술에 의해 측정할 수 있다.

[0300] 본 명세서에서 사용되는 단백질 또는 핵산의 "유도체" 또는 "유사체" 또는 "변이체"는, 한정을 의도하는 것은 아니지만, 단백질 또는 핵산에 실질적으로 상동인 영역을 포함하는 분자를 포함하고, 이러한 분자는, 여러가지 실시형태에서, 동일 사이즈의 아미노산 서열 또는 핵산 서열에 걸쳐 또는 당해 분야에서 공지된 컴퓨터 상동성 프로그램에 의해 얼라인먼트를 행하여 얼라인되는 서열과 비교했을 때, 적어도 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일하거나, 또는 이러한 핵산의 "유도체" 또는 "유사체" 또는 "변이체"는, 엄격한 조건, 중간 정도로 엄격한 조건, 또는 엄격하지 않은 조건 하에서, 원래의 핵산으로 하이브리다이징 가능하다. 대표적으로는, 단백질의 "유도체" 또는 "유사체" 또는 "변이체"는, 천연 존재 단백질에 아미노산 치환, 결실 및 부가 등의 수식이 발생한 산물이며, 또한 천연 존재 단백질의 생물학적 기능을, 반드시 동일한 정도가 아니어도 좋지만 나타내는 단백질을 의미한다. 예를 들어 본 명세서에서 기재되거나 또는 당해 분야에서 공지된 적절하게 이용 가능한 시편관내(in vitro) 어세이에 의해, 이러한 단백질의 생물학적 기능을 조사하는 것도 가능하다. 본 개시에서는, 인간에 대해서 주로 논의되지만, 다른 종 예를 들어 영장류 내의 다른 종 또는 그 밖의 속의 동물 종인 것에도 해당되는 것이 이해되고, 이러한 포유 동물에 대해서도, 본 개시의 범위 내에 들어가는 것이 이해된다.

[0301] 본 명세서에서 사용되는 용어 "활성"은, 가장 넓은 의미에서의 분자의 기능을 가리킨다. 활성은, 한정을 의도하는 것은 아니지만, 대체로, 분자의 생물학적 기능, 생화학적 기능, 물리적 기능 또는 화학적 기능을 포함한다. 활성은, 예를 들어 효소 활성, 다른 분자와 상호 작용하는 능력 및 그 밖의 분자 기능을 활성화하거나, 촉진하거나, 안정화하거나, 저해하거나, 억제하거나 또는 불안정화하는 능력, 안정성, 특정한 세포 내 위치에 국재하는 능력을 포함한다. 적용 가능할 경우, 이 용어는 또한, 가장 넓은 의미에서의 단백질 복합체의 기능에도 관계한다.

[0302] 본 명세서에서 사용되는 "기능적으로 활성인" 단백질, 폴리펩티드, 프래그먼트 또는 유도체는, 생물학적 활성 등의, 단백질의 구조적 기능, 제어 기능 또는 생화학적 기능을 갖는다.

[0303] 본 명세서에서 "유전자"란, 유전 형질을 규정하는 인자를 말한다. 통상, 염색체 상에 일정한 순서로 서열하고 있다. 단백질의 1차 구조를 규정하는 유전자를 구조 유전자라고 하고, 그 발현을 좌우하는 유전자를 조절 유전자라고 한다. 본 명세서에서는, "유전자"는, "폴리뉴클레오티드", "올리고뉴클레오티드" 및 "핵산"(여기서는, DNA, RNA 등을 포함함)을 가리키는 경우가 있다."유전자 산물"이란, 유전자에 기초하여 산생된 물질이며 단백질, mRNA 등을 가리킨다. 따라서, mRNA는 유전자의 개념에도 들어갈 수 있고, 유전자 산물에도 해당할 수 있다. 또한 "유전자의 발현"이라고 할 경우에는, mRNA 등의 전사 레벨을 가리키는 경우가 많다.

[0304] 본 명세서에서 "단백질", "폴리펩티드", "올리고펩티드" 및 "펩티드"는, 본 명세서에서 동일한 의미로 사용되고, 임의의 길이의 아미노산 폴리머를 말한다. 이 폴리머는, 직쇄이어도 분지되어 있어도 좋고, 환상이어도 좋다. 아미노산은, 천연의 것이어도 비천연의 것이어도 좋고, 개변된 아미노산이어도 좋다. 이 용어는 또한, 복수의 폴리펩티드쇄의 복합체와 어셈블된 것을 포함할 수 있다. 이 용어는 또한, 천연 또는 인공적으로 개변된 아미노산 폴리머도 포함한다. 그러한 개변으로서, 예를 들어 디설피드 결합 형성, 글리코실화, 지질화, 아세틸화, 인산화 또는 임의인 다른 조작 또는 개변(예를 들어 표지 성분과의 결합체화)이 포함된다. 이 정의에는 또한, 예를 들어 아미노산의 1 또는 2 이상의 아날로그를 포함하는 폴리펩티드(예를 들어 비천연 아미노산 등을 포함), 펩티드양 화합물(예를 들어 펩토이드) 및 당해 분야에서 공지된 다른 개변이 포함된다.

[0305] 본 명세서에서 "폴리뉴클레오티드", "올리고뉴클레오티드" 및 "핵산"은, 본 명세서에서 동일한 의미로 사용되고, 임의의 길이의 뉴클레오티드 폴리머를 말한다. 이 용어는 또한, "올리고뉴클레오티드 유도체" 또는 "폴리뉴클레오티드 유도체"를 포함한다. "올리고뉴클레오티드유도체" 또는 "폴리뉴클레오티드 유도체"란, 뉴클

레오티드의 유도체를 포함하거나 또는 뉴클레오티드간의 결합이 통상과는 다른 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드를 말하고, 호환적으로 사용된다. 그러한 올리고뉴클레오티드로서 구체적으로는, 예를 들어 2'-O-메틸-리보뉴클레오티드, 올리고뉴클레오티드 중의 인산 디에스테르 결합이 포스포로티오에이트 결합으로 변환된 올리고뉴클레오티드 유도체, 올리고뉴클레오티드 중의 인산 디에스테르 결합이 N3'-P5' 포스포로아미데이트 결합으로 변환된 올리고뉴클레오티드 유도체, 올리고뉴클레오티드 중의 리보오스와 인산 디에스테르 결합이 펩티드 핵산 결합으로 변환된 올리고뉴클레오티드 유도체, 올리고뉴클레오티드 중의 우라실이 C-5 프로피닐우라실로 치환된 올리고뉴클레오티드 유도체, 올리고뉴클레오티드 중의 우라실이 C-5 티아졸우라실로 치환된 올리고뉴클레오티드 유도체, 올리고뉴클레오티드 중의 시토신이 C-5 프로피닐시토신으로 치환된 올리고뉴클레오티드 유도체, 올리고뉴클레오티드 중의 시토신이 페녹사진 수식 시토신(phenoxazine-modified cytosine)으로 치환된 올리고뉴클레오티드 유도체, DNA 중의 리보오스가 2'-O-프로필리보오스로 치환된 올리고뉴클레오티드 유도체 및 올리고뉴클레오티드 중의 리보오스가 2'-메톡시메톡시리보오스로 치환된 올리고뉴클레오티드 유도체 등이 예시된다. 달리 그렇지 않다고 나타내지 않으면, 특정한 핵산 서열은 또한, 명시적으로 나타난 서열과 마찬가지로, 그 보존적으로 개변된 개변체(예를 들어 축중 코돈 치환체) 및 상보 서열을 포함하는 것이 기도된다. 구체적으로는, 축중 코돈 치환체는, 1 또는 그 이상의 선택된(또는, 모든) 코돈의 3번째의 위치가 혼합 염기 및/또는 테옥시이노신 잔기로 치환된 서열을 제작함으로써 달성될 수 있다(Batzer et al., *Nucleic Acid Res.*19: 5081(1991); Ohtsuka et al., *J.Biol.Chem.*260: 2605-2608(1985); Rossolini et al., *Mol. Cell. Probes* 8: 91-98(1994)). 본 명세서에서 "핵산"은 또한, 유전자, cDNA, mRNA, 올리고뉴클레오티드 및 폴리뉴클레오티드와 호환 가능하게 사용된다. 본 명세서에서 "뉴클레오티드"는, 천연의 것이어도 비천연의 것이어도 좋다.

[0306] 본 명세서에서 유전자의 "상동성"이란, 2 이상의 유전자 서열의, 서로에 대한 동일성의 정도를 말하고, 일반적으로 "상동성"을 갖는다면, 동일성 또는 유사성의 정도가 높은 것을 말한다. 따라서, 어느 2개의 유전자의 상동성이 높을수록, 그것들의 서열의 동일성 또는 유사성은 높다. 2종류의 유전자가 상동성을 갖는지의 여부는, 서열의 직접 비교 또는 핵산의 경우 엄격한 조건 하에서의 하이브리다이제이션법에 의해 조사될 수 있다. 2개의 유전자 서열을 직접 비교하는 경우, 그 유전자 서열 사이에서 DNA 서열이, 대표적으로는 적어도 50% 동일한 경우, 바람직하게는 적어도 70% 동일한 경우, 보다 바람직하게는 적어도 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 경우, 그것들의 유전자는 상동성을 갖는다. 따라서 본 명세서에서 "상동체" 또는 "상동 유전자 산물"은, 본 명세서에 추가로 기재하는 복합체의 단백질 구성 요소와 동일한 생물학적 기능을 발휘하는, 다른 종, 바람직하게는 포유 동물에 있어서의 단백질을 의미한다. 이러한 상동체는 또한, "오르토로그 유전자 산물"이라고도 한다.

[0307] 아미노산은, 그 일반적으로 공지된 3문자 기호나 또는 IUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commission에 의해 권장되는 1문자 기호 중 어느 것에 의해, 본 명세서 중에서 언급될 수 있다. 뉴클레오티드도 마찬가지로, 일반적으로 인지된 1문자 코드에 의해 언급될 수 있다. 본 명세서에서는, 아미노산 서열 및 염기 서열의 유사성, 동일성 및 상동성의 비교는, 서열 분석용 툴인 BLAST를 사용하여 디폴트 파라미터를 사용하여 산출된다. 동일성의 검색은 예를 들어 NCBI의 BLAST 2.2.9(2004.5.12 발행)를 사용하여 행할 수 있다. 본 명세서에서의 동일성의 값은 통상적으로는 상기 BLAST를 사용하여 디폴트의 조건에서 열라인했을 때의 값을 말한다. 단, 파라미터의 변경에 의해, 보다 높은 값이 나올 경우에는, 가장 높은 값을 동일성의 값으로 한다. 복수의 영역에서 동일성이 평가되는 경우에는 그 중 가장 높은 값을 동일성의 값으로 한다. 유사성은, 동일성에 더하여 유사한 아미노산에 대해서도 계산에 넣은 수치이다.

[0308] 본 명세서에서 "엄격(한) 조건에서 하이브리다이징하는 폴리뉴클레오티드"란, 당해 분야에서 관용되는 주지의 조건을 말한다. 본 개시의 폴리뉴클레오티드 중에서 선택된 폴리뉴클레오티드를 프로브로 하여, 콜로니·하이브리다이제이션법, 플라크·하이브리다이제이션법 또는 서던 블롯 하이브리다이제이션법 등을 사용함으로써, 그러한 폴리뉴클레오티드를 얻을 수 있다. 구체적으로는, 콜로니 또는 플라크 유래의 DNA를 고정화한 필터를 사용하고, 0.7 내지 1.0M의 NaCl 존재 하, 65°C에서 하이브리다이제이션을 행한 후, 0.1 내지 2배 농도의 SSC(saline-sodium citrate) 용액(1 배 농도의 SSC 용액의 조성은, 150mM 염화나트륨, 15mM 시트르산 나트륨염)을 사용하고, 65°C 조건 하에서 필터를 세정함으로써 동정할 수 있는 폴리뉴클레오티드를 의미한다. 하이브리다이제이션은, *Molecular Cloning 2nd ed., Current Protocols in Molecular Biology, Supplement 1~38*、*DNA Cloning 1: Core Techniques, A Practical Approach, Second Edition, Oxford University Press(1995)* 등의 실험서에 기재되어 있는 방법에 준하여 행할 수 있다. 저엄격함 조건은, 35% 포름아미드, 5xSSC, 50mM Tris-HCl(pH7.5), 5mM EDTA, 0.02% 폴리비닐피롤리돈(PVP), 0.02% BSA, 100 μg/ml 변성 연어 정자 DNA 및 10% (중량/체적) 텍스트란 황산을 포함하는 완충액 중, 40°C에서 18 내지 20 시간 하이브리다이제이션하고, 2xSSC, 25mM Tris-HCl(pH7.4), 5mM EDTA 및 0.1% SDS로 이루어지는 완충액 중, 55°C에서 1 내지 5시간 세정하고, 그리

고 2xSSC, 25mM Tris-HCl(pH7.4), 5mM EDTA 및 0.1% SDS로 이루어지는 완충액 중, 60°C에서 1.5 시간 세정하는 것을 포함한다.

[0309] 본 명세서에서 "정제된" 물질 또는 생물학적 인자(예를 들어 핵산 또는 단백질 등)란, 그 생물학적 인자에 천연적으로 수반하는 인자의 적어도 일부가 제거된 것을 말한다. 따라서, 통상적으로, 정제된 생물학적 인자에서의 그 생물학적 인자의 순도는, 그 생물학적 인자가 통상 존재하는 상태보다도 높다(즉 농축되어 있다). 본 명세서 중에서 사용되는 용어 "정제된"은, 바람직하게는 적어도 75 중량%, 보다 바람직하게는 적어도 85 중량%, 보다 더욱 바람직하게는 적어도 95 중량%, 그리고 가장 바람직하게는 적어도 98 중량%의, 동형의 생물학적 인자가 존재하는 것을 의미한다. 본 개시에서 사용되는 물질은, 바람직하게는 정제된 물질이다.

[0310] 본 명세서에서 "상응하는" 아미노산 또는 핵산이란, 어느 폴리펩티드 분자 또는 폴리뉴클레오티드 분자에 있어서, 비교의 기준이 되는 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드에서의 소정의 아미노산 또는 뉴클레오티드와 동일한 작용을 갖거나 또는 갖는 것이 예측되는 아미노산 또는 뉴클레오티드를 말하고, 특히 효소 분자에 있어서는, 활성 부위 중의 동일한 위치에 존재하여 촉매 활성에 동일한 기여를 하는 아미노산을 말한다. 예를 들어 안티센스 분자라면, 그 안티센스 분자가 특정한 부분에 상응하는 오르토로그에 있어서의 동일한 부분일 수 있다. 상응하는 아미노산은, 예를 들어 시스테인화, 글루타치온화, S-S 결합 형성, 산화(예를 들어 메티오닌 측쇄의 산화), 포르밀화, 아세틸화, 인산화, 당쇄 부가, 미리스틸화 등이 되는 특정한 아미노산일 수 있다. 또는, 상응하는 아미노산은, 2량체화를 담당하는 아미노산일 수 있다. 이러한 "상응하는" 아미노산 또는 핵산은, 일정 범위에 걸치는 영역 또는 도메인이어도 좋다. 따라서, 그러한 경우, 본 명세서에서 "상응하는" 영역 또는 도메인이라고 한다.

[0311] 본 명세서에서 "상응하는" 유전자(예를 들어 폴리뉴클레오티드 서열 또는 분자)란, 어느 종에 있어서, 비교의 기준이 되는 종에 있어서의 소정의 유전자와 동일한 작용을 갖거나, 또는 갖는 것이 예측되는 유전자(예를 들어 폴리뉴클레오티드 서열 또는 분자)를 말하고, 그러한 작용을 갖는 유전자가 복수 존재하는 경우, 진화학적으로 동일한 기원을 갖는 것을 말한다. 따라서, 어느 유전자에 상응하는 유전자는, 그 유전자의 오르토로그일 수 있다. 그러한 상응하는 유전자는, 당해 분야에서 주지의 기술을 사용하여 동정할 수 있다. 따라서, 예를 들어 어느 동물(예를 들어 마우스, 래트)에 있어서의 상응하는 유전자는, 상응하는 유전자(예를 들어 인간의 것)의 기준이 되는 유전자의 서열을 쿼리 서열로서 사용하여 그 동물의 서열 데이터 베이스를 검색함으로써 알아낼 수 있다.

[0312] 본 명세서에서 "프래그먼트(단편)"란, 전체 길이의 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드(길이가 n)에 대하여 1 내지 n-1 까지의 서열 길이를 갖는 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드를 말한다. 프래그먼트의 길이는, 그 목적에 따라, 적절히 변경할 수 있고, 예를 들어 그 길이의 하한으로서는 폴리펩티드의 경우, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 및 그 이상의 아미노산을 들 수 있고, 여기의 구체적으로 열거하고 있지 않은 정수로 표현되는 길이(예를 들어 11 등)도 또한, 하한으로서 적절할 수 있다. 또한, 폴리뉴클레오티드의 경우, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 75, 100 및 그 이상의 뉴클레오티드를 들 수 있고, 여기의 구체적으로 열거하고 있지 않은 정수로 표현되는 길이(예를 들어 11 등)도 또한, 하한으로서 적절할 수 있다. 본 명세서에서, 이러한 프래그먼트는, 예를 들어 전체 길이의 것이 마커로서 기능하는 경우, 그 프래그먼트 자체도 또한 마커로서의 기능을 갖는 한, 본 개시의 범위 내에 들어가는 것이 이해된다. 본 개시에 있어서, 분자의 프래그먼트란, 이 분자의 임의의 영역을 포함하는 물질(대표적으로는 폴리펩티드)이며, 본 개시의 목적(예를 들어 치료, 검출, 진단 등)에 사용할 수 있는 한, 천연의 분자 생물학적 기능을 가지고 있지 않아도 좋다.

[0313] 본 명세서에서 유전자, 폴리뉴클레오티드, 폴리펩티드 등의 "발현"이란, 그 유전자 등이 인비보에서 일정한 작용을 받아, 다른 형태가 되는 것을 말한다. 바람직하게는 유전자, 폴리뉴클레오티드 등이, 전사 및 번역되어 폴리펩티드의 형태가 되는 것을 말하는데, 전사되어서 mRNA가 제작되는 것도 또한 발현의 한 양태일 수 있다. 보다 바람직하게는 그러한 폴리펩티드의 형태는, 번역 후 프로세싱을 받은 것(본 명세서에 말하는 유도체)일 수 있다. 예를 들어 분자의 발현 레벨은, 임의의 방법에 의해 결정할 수 있다. 구체적으로는, 이 분자의 mRNA의 양, 단백질의 양 또는 단백질의 생물학적인 활성을 평가함으로써 발현 레벨을 알 수 있다.

[0314] 본 명세서에서 "발현량"이란, 목적으로 하는 세포, 조직 등에 있어서, 폴리펩티드 또는 mRNA 등이 발현되는 양을 말한다. 그러한 발현량으로서는, 본 개시의 항체를 사용하여 ELISA법, RIA법, 형광 항체법, 웨스턴 블롯법, 면역 조직 염색법 등의 면역학적 측정 방법을 포함하는 임의의 적절한 방법에 의해 평가되는 본 개시 폴리펩티드의 단백질 레벨에서의 발현량 또는 노던 블롯법, 도트 블롯법, PCR법 등의 분자 생물학적 측정 방법을 포함하는 임의의 적절한 방법에 의해 평가되는 본 개시에서 사용되는 폴리펩티드의 mRNA 레벨에서의 발현량을 들 수

있다. "발현량의 변화"란, 상기 면역학적 측정 방법 또는 분자 생물학적 측정 방법을 포함하는 임의의 적절한 방법에 의해 평가되는 본 개시에서 사용되는 폴리펩티드의 단백질 레벨 또는 mRNA 레벨에서의 발현량이 증가 또는 감소하는 것을 의미한다. 어떤 마커의 발현량을 측정함으로써, 마커에 기초하는 여러가지 검출 또는 진단을 행할 수 있다.

[0315] 본 명세서에서 "마커(물질, 단백질 또는 유전자(핵산))"란, 어느 상태(예를 들어 세포의 종류, 정상 세포 상태, 질환 상태, 장애 상태, 또는 증식능, 분화 상태의 레벨 등)에 있거나 또는 그 위험성이 있는지 여부를 추적하는 기준이 되는 물질을 말한다. 이러한 마커로서는, 유전자(핵산=DNA 레벨), 유전자 산물(mRNA, 단백질 등), 대사 물질, 효소 등을 들 수 있다. 본 개시에 있어서, 어떤 상태(당뇨병 등)에 관한 검출, 진단, 예비적 검출, 예측 또는 사전 진단은, 그 상태에 관련하는 마커에 특이적인 약제, 제, 인자 또는 수단, 또는 그것들을 포함하는 조성물, 키트 또는 시스템 등을 사용하여 실현할 수 있다.

[0316] 본 명세서에서 "항체"는, 광의로는 폴리클로날 항체, 모노클로날 항체, 다중 특이성 항체, 키메라 항체 및 항이 디오 타입 항체, 그리고 그것들의 프래그먼트, 예를 들어 Fv 프래그먼트, Fab' 프래그먼트, F(ab')₂ 및 Fab 프래그먼트, 그리고 그 밖의 재조합에 의해 생산된 결합체 또는 기능적 등가물(예를 들어 키메라 항체, 인간화 항체, 다기능 항체, 이중 특이성 또는 올리고 특이성(oligospecific) 항체, 단쇄 항체, scFv, 디아바디, sc(Fv)₂ (단일 사슬 (Fv)₂), scFv-Fc)을 포함한다. 또한 이러한 항체를, 효소, 예를 들어 알칼리포스파타아제, 서양 고추냉이 퍼옥시다아제, α 갈락토시다아제 등,에 공유 결합시키거나 또는 재조합에 의해 융합시켜도 좋다. 본 개시에서 사용되는 항체는, 그 유래, 종류, 형상 등은 문제되지 않는다. 구체적으로는, 비인간 동물의 항체(예를 들어 마우스 항체, 래트 항체, 낙타 항체), 인간 항체, 키메라 항체, 인간화 항체 등의 공지된 항체를 사용할 수 있다. 본 개시에 있어서는, 모노클로날, 또는 폴리클로날을 항체로서 이용할 수 있지만, 바람직하게는 모노클로날 항체이다. 항체의 표적 단백질에의 결합은 특이적인 결합인 것이 바람직하다.

[0317] 본 명세서에서 "수단"이란, 어느 목적(예를 들어 검출, 진단, 치료, 예방, 이동)을 달성하는 임의의 도구가 될 수 있는 것을 말하고, 특히 본 명세서에서는, "선택적으로 인식(검출)하는 수단"이란, 어느 대상을 다른 것과는 다르게 인식(검출)할 수 있는 수단을 말한다.

[0318] 본 명세서에서 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 발현의 "검출" 또는 "정량"은, 예를 들어 마커 검출제로의 결합 또는 상호 작용을 포함하는 mRNA의 측정 및 면역학적 측정 방법을 포함하는 적절한 방법을 사용하여 달성될 수 있다. 분자 생물학적 측정 방법으로서, 예를 들어 노던 블롯법, 도트 블롯법 또는 PCR법 등이 예시된다. 면역학적 측정 방법으로서, 예를 들어 방법으로서, 마이크로타이터 플레이트를 사용하는 ELISA법, RIA법, 형광 항체법, 발광 면역 검정(LIA), 면역 침강법(IP), 면역 확산법(SRID), 면역 비탁법(TIA), 웨스턴 블롯법, 면역 조직 염색법 등이 예시된다. 또한, 정량 방법으로서, ELISA법 또는 RIA법 등이 예시된다. 어레이(예를 들어 DNA 어레이, 단백질 어레이)를 사용한 유전자 해석 방법에 의해서도 이루어질 수 있다. DNA 어레이에 대해서는, (슈준샤 편, 세포 공학 별책 "DNA 마이크로 어레이와 최신 PCR법"에 넓게 개략적으로 설명되어 있다. 단백질 어레이에 대해서는, Nat Genet. 2002 Dec;32 Suppl: 526-32에 상세하게 설명되어 있다. 유전자 발현의 분석법으로서, 상술한 것에 더하여, RT-PCR, RACE법, SSCP 법, 면역 침강법, 투-하이브리드(two-hybrid) 시스템, 시퀀스내 번역 등을 들 수 있지만 그것들로 한정되지 않는다. 그러한 더 한층의 분석 방법은, 예를 들어 게놈 해석 실험법·나카무라 유우스케 연구소·매뉴얼, 편집·나카무라 유우스케요도샤(2002) 등에 기재되어 있고, 본 명세서에서 그러한 기재는 모두 참고로서 인용된다.

[0319] 본 개시의 검출제 또는 검출 수단은, 검출 가능하게 하는 부분(예를 들어 항체 등)에 다른 물질(예를 들어 표지 등)을 결합시킨 복합체 또는 복합 분자이어도 좋다. 본 명세서에서 사용될 경우, "복합체" 또는 "복합 분자"란, 2 이상의 부분을 포함하는 임의의 구성체를 의미한다. 예를 들어 한쪽 부분이 폴리펩티드인 경우에는, 다른 쪽 부분은, 폴리펩티드이어도 좋고, 그 이외의 물질(예를 들어 기재, 당, 지질, 핵산, 다른 탄화 수소 등)이어도 좋다. 본 명세서에서 복합체를 구성하는 2 이상의 부분은, 공유 결합으로 결합되어 있어도 좋고, 그 이외의 결합(예를 들어 수소 결합, 이온 결합, 소수성 상호 작용, 반데르발스 힘 등)으로 결합되어 있어도 좋다. 2 이상의 부분이 폴리펩티드인 경우에는, 키메라폴리펩티드라고도 할 수 있다. 따라서, 본 명세서에서 "복합체"는, 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 지질, 당, 저분자 등의 분자가 복수중 연결하여 생긴 분자를 포함한다.

[0320] 본 개시의 검출제 또는 기타 의약은, 프로브 및 프라이머의 형태를 채용할 수 있다. 본 개시의 프로브 및 프라이머는, 표적의 핵산 분자와 특이적으로 하이브리다이징할 수 있다. 본 개시의 프로브 및 프라이머는, 표적 핵산 분자의 발현을 검출할 수 있으면 되고, 복수의 테옥시리보핵산(DNA) 또는 리보핵산(RNA) 등의 염기 또는 염

기쌍으로 이루어지는 중합체일 수 있다. 이중쇄 cDNA도 조직 인 시츄 하이브리다이제이션에서 이용 가능하다는 것이 알려져 있고, 본 개시의 프로브 및 프라이머에는 그러한 이중쇄 cDNA도 포함된다. 조직 중의 RNA의 검출에서 특히 바람직한 프로브 및 프라이머로서는, RNA 프로브(리보 프로브)를 들 수 있다.

[0321] 본 개시에 의한 프라이머 및 프라이머 세트는, PCR법, RT-PCR법, 리얼타임 PCR법, 인 시츄 PCR법, LAMP법 등의 핵산 증폭법을 이용하여 목적 유전자를 검출하는 공지된 방법에 있어서, 통상법에 따라 프라이머 및 프라이머 세트로서 이용할 수 있다.

[0322] 본 명세서에서 "프로브"란, 시험관내 및/또는 생체내 등의 스크리닝 등의 생물학적 실험에서 사용되는, 검색의 수단이 되는 물질을 말하고, 예를 들어 특정한 염기 서열을 포함하는 핵산 분자 또는 특정한 아미노산 서열을 포함하는 펩티드, 특이적 항체 또는 그 프래그먼트 등을 들 수 있지만 그것으로 한정되지 않는다. 본 명세서에서 프로브는, 마커 검출 수단으로서 사용된다.

[0323] 통상 프로브로서 사용되는 핵산 분자로서는, 목적으로 하는 유전자의 핵산 서열과 상동인 또는 상보적인, 적어도 8개의 연속하는 뉴클레오티드 길이의 핵산 서열을 갖는 것을 들 수 있다. 그러한 핵산 서열은, 바람직하게는 적어도 9개의 연속하는 뉴클레오티드 길이의, 보다 바람직하게는 적어도 10개의 연속하는 뉴클레오티드 길이의, 더욱 바람직하게는 적어도 11개의 연속하는 뉴클레오티드 길이의, 적어도 12개의 연속하는 뉴클레오티드 길이의, 적어도 13개의 연속하는 뉴클레오티드 길이의, 적어도 14개의 연속하는 뉴클레오티드 길이의, 적어도 15개의 연속하는 뉴클레오티드 길이의, 적어도 20개의 연속하는 뉴클레오티드 길이의, 적어도 25개의 연속하는 뉴클레오티드 길이의, 적어도 30개의 연속하는 뉴클레오티드 길이의, 적어도 40개의 연속하는 뉴클레오티드 길이의, 적어도 50개의 연속하는 뉴클레오티드 길이의, 적어도 핵산 서열일 수 있다. 프로브로서 사용되는 핵산 서열에는, 상술한 서열에 대하여 적어도 약 70% 상동인, 보다 바람직하게는 적어도 약 80% 상동인, 더욱 바람직하게는 적어도 약 90% 상동인, 적어도 약 95% 상동인 핵산 서열이 포함된다.

[0324] 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 검출제는, 표지된 것일 수 있다. 또는, 본 개시의 검출제는, 태그를 결합시킨 것이어도 좋다.

[0325] 본 명세서에서 "표지"란, 목적이 되는 분자 또는 물질을 다른 것으로부터 식별하기 위한 존재(예를 들어 물질, 에너지, 전자파 등)를 말한다. 그러한 표지 방법으로서, RI(방사성 동위 원소)법, 형광법, 비오틴법, 화학 발광법 등을 들 수 있다. 본 개시의 마커 또는 그것을 포착하는 인자 또는 수단을 복수개, 형광법에 의해 표지할 경우에는, 형광 발광 극대 파장이 서로 다른 형광 물질에 의해 표지를 행한다. 형광 발광 극대 파장의 차이는, 10nm 이상인 것이 바람직하다. 리간드를 표지할 경우, 기능에 영향을 주지 않는 것이라면 모두 사용할 수 있지만, 형광 물질로서는, AlexaTM Fluor가 바람직하다. AlexaTM Fluor는, 쿠마린, 로다민, 플루오레세인, 시아닌 등을 수식하여 얻어진 수용성의 형광 색소이며, 광범위한 형광 파장에 대응한 시리즈이며, 다른 해당 파장의 형광 색소에 비해, 매우 안정되고, 밝고, 또한 pH 감수성이 낮다. 형광 극대 파장이 10nm 이상인 형광 색소의 조합으로서, AlexaTM 555와 AlexaTM 633의 조합, AlexaTM 488과 AlexaTM 555와의 조합 등을 들 수 있다. 핵산을 표지할 경우에는, 그 염기 부분과 결합할 수 있는 것이라면 모두 사용할 수 있지만, 시아닌 색소(예를 들어 CyDyeTM 시리즈의 Cy3, Cy5 등), 로다민 6G 시약, N-아세톡시-N2-아세틸아미노플루오렌(AAF), AAIF(AAF의 요오드 유도체) 등을 사용하는 것이 바람직하다. 형광 발광 극대 파장의 차이가 10nm 이상인 형광 물질로서는, 예를 들어 Cy5와 로다민 6G 시약과의 조합, Cy3과 플루오레세인과의 조합, 로다민 6G 시약과 플루오레세인과의 조합 등을 들 수 있다. 본 개시에서는, 이러한 표지를 이용하여, 사용되는 검출 수단으로 검출될 수 있도록 목적으로 하는 대상을 개변할 수 있다. 그러한 개변은, 당해 분야에서 공지이며, 당업자는 표지에 및 목적으로 하는 대상에 따라서 적절히 그러한 방법을 실시할 수 있다.

[0326] 본 명세서에서 사용되는 경우, "태그"란, 수용체-리간드와 같은 특이적 인식 기구에 의해 분자를 선별하기 위한 물질, 보다 구체적으로는, 특정한 물질을 결합하기 위한 결합 파트너의 역할을 하는 물질(예를 들어 비오틴-아비딘, 비오틴- 스트렙트아비딘과 같은 관계를 갖는다)을 말하며, "표지"의 범주에 포함될 수 있다. 따라서, 예를 들어 태그가 결합한 특정한 물질은, 태그 서열의 결합 파트너를 결합시킨 기재를 접촉시킴으로써, 이 특정한 물질을 선별할 수 있다. 이러한 태그 또는 표지는, 당해 분야에서 주지이다. 대표적인 태그 서열로서는, myc 태그, His 태그, HA, Avi 태그 등을 들 수 있지만, 이것으로 한정되지 않는다. 본 개시의 마커 또는 마커 검출제에는 이러한 태그를 결합시켜도 좋다.

[0327] 본 명세서에서 "약제", "제" 또는 "인자"(모두 영어로는 agent에 상당함)는 광의로는 교환 가능하게 사용되고, 의도하는 목적을 달성할 수 있는 한, 어떠한 물질 또는 다른 요소(예를 들어 광, 방사능, 열, 전기 등의

에너지)이어도 좋다. 그러한 물질로서는, 예를 들어 세포(예를 들어 T 세포), 단백질, 폴리펩티드, 올리고펩티드, 펩티드, 폴리뉴클레오티드, 올리고뉴클레오티드, 뉴클레오티드, 핵산(예를 들어 cDNA, 게놈 DNA와 같은 DNA, mRNA와 같은 RNA를 포함), 폴리스카라이드, 올리고사카라이드, 지질, 유기 저분자(예를 들어 호르몬, 리간드, 정보 전달 물질, 유기 저분자, 콤비너토리얼 케미스트리로 합성된 분자, 의약품으로서 이용될 수 있는 저분자(예를 들어 저분자 리간드 등) 등), 이러한 복합 분자를 들 수 있지만 그것들로 한정되지 않는다.

[0328] 본 명세서에서 "키트"란, 통상 2개 이상의 구획으로 나누고, 제공되어야 할 부분(예를 들어 검사약, 진단약, 치료약, 항체, 표지, 설명서 등)이 제공되는 유닛을 말한다. 안정성 등을 위하여 혼합되어 제공되어야 하지 않고, 사용 직전에 혼합하여 사용하는 것이 바람직한 것과 같은 조성물의 제공을 목적으로 할 때에, 이 키트의 형태는 바람직하다. 그러한 키트는, 바람직하게는 제공되는 부분(예를 들어 검사약, 진단약, 치료약을 어떻게 사용할 것인가, 또는, 시약을 어떻게 처리할 것인가를 기재하는 지시서 또는 설명서를 구비하고 있는 것이 유리하다. 본 명세서에서 키트가 시약 키트로서 사용되는 경우, 키트에는, 통상 검사약, 진단약, 치료약, 항체 등의 사용 방법 등을 기재한 지시서 등이 포함된다.

[0329] 본 명세서에서 "지시서"는, 본 개시를 사용하는 방법을 의사 또는 다른 사용자에게 대한 설명을 기재한 것이다. 이 지시서는, 본 개시의 검출 방법, 진단약의 사용 방법 또는 의약 등을 투여하는 것을 지시하는 문언이 기재되어 있다. 또한, 지시서에는, 투여 부위로서, 경구, 식도로의 투여(예를 들어 주사 등에 의함)하는 것을 지시하는 문언이 기재되어 있어도 된다. 이 지시서는, 본 개시가 실시되는 국가의 감독 관청(예를 들어 일본이라면 후생 노동성, 미국이라면 식품 의약품국(FDA) 등)이 규정한 양식에 따라 작성되고, 그 감독 관청에 의해 승인을 받았다는 것이 명기된다. 지시서는, 소위 첨부 문서(package insert)이며, 통상은 종이 매체로 제공되지만, 그것으로 한정되지 않고, 예를 들어 전자 매체(예를 들어 인터넷으로 제공되는 홈페이지, 전자 메일)와 같은 형태로도 제공될 수 있다.

[0330] 본 명세서에서 사용될 때, 시료 중의 분석물 등의 "양"은, 일반적으로는, 시료의 체적 중에서 검출할 수 있는 분석물의 질량을 반영하는 절대값을 가리킨다. 그러나, 양은, 다른 분석 물량과 비교한 상대량도 기도한다. 예를 들어 시료 중의 분석물의 양은, 시료 중에 통상 존재하는 분석물의 대조의 값 또는 정상적인 값보다 큰 양이어도 좋다.

[0331] 본 명세서에서 사용될 때, 시료 중의 분석물 등의 "레벨"은, 일반적으로는, 분석물이 효소 등의 기능을 발휘하는 대상인 경우에, 그 분석물의 활성 등의 값을 반영하는 절대값을 가리킨다. 그러나, 레벨은, 다른 분석물 레벨과 비교한 상대 레벨도 기도한다. 예를 들어 시료 중의 분석물의 레벨은, 시료 중에 통상 존재하는 분석물의 대조의 값 또는 정상적인 값보다 큰 레벨이어도 좋다.

[0332] 용어 "약"은, 본 명세서에서 사용될 때, 개시된 값 플러스 또는 마이너스 10%를 가리킨다. 또한, "약"이라고 명시적으로 개시되지 않은 경우에도 "약"이 있으면 동의로 해석될 수 있다.

[0333] (본 개시의 개요)

[0334] 본 발명자들은, CD106 등의 이상 발현에 의해 특징지어지는 이상 줄기 세포를 표적으로 하는 당뇨병 치료의 효과가, 줄기 세포의 이동과 조합함으로써 개선될 수 있다는 새로운 국면을 발견하였다. 본 개시는, 이 새로운 당뇨병 치료 전략에 기초하여 당뇨병 및/또는 그 관련 질환에 대하여 새로운 치료 전략 및 진단을 제공하는 것이다.

[0335] (바람직한 실시형태)

[0336] 이하에 본 개시의 바람직한 실시형태를 설명한다. 이하에 제공되는 실시형태는, 본 개시가 보다 좋은 이해를 위해서 제공되는 것이며, 본 개시의 범위는 이하의 기재로 한정되어야 하지 않는 것이 이해된다. 따라서, 당업자는, 본 명세서 중의 기재를 참작하여 본 개시의 범위 내에서 적절히 개변을 행할 수 있는 것은 명확하다. 또한, 본 개시의 이하의 실시형태는 단독으로도 사용되거나, 또는 그것들을 조합하여 사용할 수 있는 것이 이해된다.

[0337] (당뇨병 및/또는 그 관련 질환에 관한 이상 줄기 세포의 특징)

[0338] 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시가 대상으로 하는 이상 줄기 세포는, 조혈 줄기 세포일 수 있다. 하나의 실시형태에서, 본 개시의 이상 줄기 세포는, CD106, CD34, TNF- α , 프로인슐린 및 히스톤 탈아세틸화 효소(HDACs) 중 적어도 하나를 통상의 레벨로 발현하고 있지 않거나 및/또는 기능하고 있지 않는 것에 의해 특징지어지고, 필요에 따라, 본 명세서에 기재된 이상 줄기 세포의 다른 특징(예를 들어 c-Kit 양성, Sca-1 양성, 조혈 줄기 세포의 계통 마커 음성, 상기 단기 조혈 줄기 세포의 특징(CD38 음성 등))을 가짐으로써 더욱 특징지어질 수 있

다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 이상 줄기 세포는, CD106을 통상의 레벨로 발현하고 있지 않음으로써 특징지어질 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 이상 줄기 세포는, (a) CD106을 통상의 레벨로 발현하고 있지 않고, (b) CD34 이상 발현, TNF- α 이상 발현, 프로인슐린 이상 발현 및 히스톤 탈아세틸화 효소(HDACs) 이상 발현 중 적어도 하나를 통상의 레벨로 발현하고 있지 않음으로써 특징지어지고, 필요에 따라, 본 명세서에 기재된 이상 줄기 세포의 다른 특징(예를 들어 c-Kit 양성, Sca-1 양성, 조혈 줄기 세포의 계통 마커 음성, 상기 단기 조혈 줄기 세포의 특징(CD38 음성 등))을 가짐으로써 더욱 특징지어질 수 있다.

[0339] 하나의 대표적인 실시형태에 있어서, 본 개시가 대상으로 하는 이상 줄기 세포(예를 들어 조혈 줄기 세포)는 CD106의 이상 발현에 의해 특징지어질 수 있다. 하나의 실시형태에서, 본 개시의 이상 줄기 세포는, 비당뇨병 피검체 집단의 전골수 세포 또는 조혈 줄기 세포(예를 들어 CD34 양성 Thy-1 양성 세포)에 있어서의 CD106 발현량보다 높은 CD106 발현량에 의해 특징지어질 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 이상 줄기 세포는, 세포 1개당 1×10^2 이상, 2×10^2 이상, 5×10^2 이상, 1×10^3 이상, 2×10^3 이상, 5×10^3 이상, 1×10^4 이상, 2×10^4 이상, 5×10^4 이상, 1×10^5 이상, 2×10^5 이상, 5×10^5 이상, 1×10^6 이상, 2×10^6 이상, 5×10^6 이상 또는 1×10^7 이상의 CD106 분자를 세포 표면에 발현함으로써 특징지어질 수 있다. 구체적인 실시형태에 있어서, 본 개시의 이상 줄기 세포는, 세포 1개당 약 1×10^4 이상의 CD106 분자를 세포 표면에 발현함으로써 특징지어질 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 이상 줄기 세포는, 정상적인 피검체(예를 들어 인간)의 전골수 세포 또는 조혈 줄기 세포(예를 들어 CD34 양성 Thy-1 양성 세포)를 CD106에 대한 형광 색소 콘주게이트화 항체로 표지하여 FACS로 분석했을 경우에, 전골수 세포 또는 조혈 줄기 세포에 대하여 관찰되는 이 형광 색소 유래의 형광 강도 중앙값의 1배 이상, 2배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 50배 이상, 100배 이상, 200배 이상, 500배 이상 또는 1000배 이상의 형광 강도를 나타내는 발현량에 의해 나타내어질 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 이상 줄기 세포는, 비당뇨병 피검체 집단 유래의 조혈 줄기 세포(예를 들어 CD34 양성 세포)보다도 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 100% 이상, 150% 이상 또는 200% 이상 높은 CD106의 mRNA 발현량에 의해 특징지어질 수 있다.

[0340] 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시가 대상으로 하는 이상 줄기 세포는, TNF- α 의 발현에 의해 특징지어질 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 이상 줄기 세포는, TNF- α 의 발현에 대해서 양성인 것에 의해 특징지어질 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, TNF- α 의 발현에 대해서 양성인 것은, 정상적인 피검체(예를 들어 인간)의 전골수 세포 또는 조혈 줄기 세포(예를 들어 CD34 양성 Thy-1 양성 세포)를 TNF- α 에 대한 형광 색소 콘주게이트화 항체로 표지하여 FACS로 분석했을 경우에, 전골수 세포 또는 조혈 줄기 세포에 대하여 관찰되는 이 형광 색소 유래의 형광 강도 중앙값의 1배 이상, 2배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 50배 이상, 100배 이상, 200배 이상, 500배 이상 또는 1000배 이상의 형광 강도를 나타내는 발현량에 의해 나타내어질 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 이상 줄기 세포는, 비당뇨병 피검체 집단 유래의 조혈 줄기 세포(예를 들어 CD34 양성 세포)보다도 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 100% 이상, 150% 이상 또는 200% 이상 높은 TNF- α 의 mRNA 발현량에 의해 특징지어질 수 있다.

[0341] 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시가 대상으로 하는 이상 줄기 세포는, 프로인슐린의 이상한 발현에 의해 특징지어질 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 이상 줄기 세포는, 프로인슐린의 발현에 대해서 양성인 것에 의해 특징지어질 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 프로인슐린의 발현에 대해서 양성인 것은, 비당뇨병 피검체(예를 들어 인간)의 전골수 세포 또는 조혈 줄기 세포(예를 들어 CD34 양성 Thy-1 양성 세포)를 프로인슐린에 대한 형광 색소 콘주게이트화 항체로 표지하여 FACS로 분석했을 경우에, 전골수 세포 또는 조혈 줄기 세포에 대하여 관찰되는 이 형광 색소 유래의 형광 강도 중앙값의 1배 이상, 2배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 50배 이상, 100배 이상, 200배 이상, 500배 이상 또는 1000배 이상의 형광 강도를 나타내는 발현량에 의해 나타내어질 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 이상 줄기 세포는, 비당뇨병 피검체 집단 유래의 조혈 줄기 세포(예를 들어 CD34 양성 세포)보다도 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 100% 이상, 150% 이상, 200% 이상, 300% 이상, 400% 이상, 500% 이상, 700% 이상 또는 1000% 이상 높은 인슐린(또는 프로인슐린)의 mRNA 발현량에 의해 특징지어질 수 있다.

[0342] 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시가 대상으로 하는 이상 줄기 세포는, c-Kit의 발현에 의해 특징지어질 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 이상 줄기 세포는, c-Kit의 발현에 대해서 양성인 것에 의해 특징지어질 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, c-Kit의 발현에 대해서 양성인 것은, 비당뇨병 피검체(예를 들어 인간)의 전골수 세포 또는 조혈 줄기 세포(예를 들어 CD34 양성 Thy-1 양성 세포)를 c-Kit에 대한 형광 색소 콘주

게이트화 항체로 표지하여 FACS로 분석했을 경우에, 전골수 세포 또는 조혈 줄기 세포에 대하여 관찰되는 이 형광 색소 유래의 형광 강도 중앙값의 0.1배 이상, 0.2배 이상, 0.5배 이상, 1배 이상, 2배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 50배 이상, 100배 이상, 200배 이상, 500배 이상 또는 1000배 이상의 형광 강도를 나타내는, 또한/또는 이 형광 색소 유래의 형광 강도가 큰 순으로 세포를 배열했을 경우에 상위 70% 이내, 60% 이내, 50% 이내, 40% 이내, 30% 이내, 20% 이내 또는 10% 이내에 속하는 형광 강도를 나타내는 발현량에 의해 나타내어질 수 있다.

[0343] 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시가 대상으로 하는 이상 줄기 세포는, Sca-1의 발현에 의해 특징지어질 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 이상 줄기 세포는, Sca-1의 발현에 대해서 양성인 것에 의해 특징지어질 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, Sca-1의 발현에 대해서 양성인 것은, 비당뇨병 피검체(예를 들어 인간)의 전골수 세포를 Sca-1에 대한 형광 색소 콘주게이트화 항체로 표지하여 FACS로 분석했을 경우에, 전골수 세포에 대하여 관찰되는 이 형광 색소 유래의 형광 강도 중앙값의 0.1배 이상, 0.2배 이상, 0.5배 이상, 1배 이상, 2배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 50배 이상, 100배 이상, 200배 이상, 500배 이상 또는 1000배 이상의 형광 강도를 나타내는, 또한/또는 이 형광 색소 유래의 형광 강도가 큰 순으로 전골수 세포를 배열했을 경우에 상위 70% 이내, 60% 이내, 50% 이내, 40% 이내, 30% 이내, 20% 이내 또는 10% 이내에 속하는 형광 강도를 나타내는 발현량에 의해 나타내어질 수 있다.

[0344] 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시가 대상으로 하는 이상 줄기 세포는, 조혈 줄기 세포의 계통 마커의 발현에 의해 특징지어질 수 있다. 조혈 줄기 세포의 계통 마커로서는, CD3(T세포), CD19(B세포), NK1.1(NK세포), CD11c(수지상 세포), CD11b(단구), FcεRI(마스트 세포), Gr-1(과립구) 등을 들 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 이상 줄기 세포는, CD3, CD19, NK1.1, CD11c, CD11b, FcεRI 및 Gr-1 중 1개 또는 복수(예를 들어 모두)의 발현에 대해서 음성인 것에 의해 특징지어질 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, CD3, CD19, NK1.1, CD11c, CD11b, FcεRI 및 Gr-1의 각각의 발현에 대해서 음성인 것은, 비당뇨병 피검체(예를 들어 인간)의 전골수 세포를 CD3, CD19, NK1.1, CD11c, CD11b, FcεRI 또는 Gr-1에 대한 형광 색소 콘주게이트화 항체로 표지하여 FACS로 분석했을 경우에, 전골수 세포에 대하여 관찰되는 이 형광 색소 유래의 형광 강도 중앙값의 1000% 이하, 500% 이하, 200% 이하, 100% 이하, 50% 이하, 20% 이하, 10% 이하, 5% 이하, 2% 이하 또는 1% 이하의 형광 강도를 나타내는, 또한/또는 이 형광 색소 유래의 형광 강도가 큰 순으로 전골수 세포를 배열했을 경우에 하위 50% 이내, 20% 이내, 10% 이내, 5% 이내, 2% 이내, 또는 1% 이내에 속하는 형광 강도를 나타내는 발현량에 의해 나타내어질 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 이상 줄기 세포는, 비당뇨병 피검체 집단 유래의 조혈 줄기 세포보다도 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 100% 이상, 150% 이상 또는 200% 이상 높은 CD34의 mRNA 발현량에 의해 특징지어질 수 있다.

[0345] 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시가 대상으로 하는 이상 줄기 세포는, 조혈 줄기 세포인 것에 의해 특징지어질 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 인간 조혈 줄기 세포인 것은, CD34 양성 Thy-1 양성이거나 또는 Lineage 음성 CD34 양성 CD38 음성 CD90 양성 CD45RA 음성인 것에 의해서도 특징지어질 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 마우스 조혈 줄기 세포는, c-kit 양성 Sca-1 양성 계통 마커 음성(KSL)인 것에 의해 특징지어질 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 조혈 줄기 세포인 것은, 핵스트 33342 색소로 염색한 골수 세포를, 자외광(350nm)으로 여기하고, 핵스트 블루 및 핵스트 레드 2종류의 광학 필터로 전개했을 경우에 양쪽 모두 음성인 것에 의해서도 특징지어질 수 있다.

[0346] 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시가 대상으로 하는 이상 줄기 세포는, 조혈 줄기 세포의 세포 단계에 의해 특징지어질 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 이상 줄기 세포는, 단기 조혈 줄기 세포일 수 있다.

[0347] 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시가 대상으로 하는 이상 줄기 세포는, 히스톤 탈아세틸화 효소 유전자군(HDACs)의 발현에 의해 특징지어질 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 이상 줄기 세포는, 비당뇨병 피검체 집단 유래의 조혈 줄기 세포(예를 들어 c-Kit 양성 계통 마커 음성 세포)보다도 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 100% 이상, 150% 이상, 200% 이상, 300% 이상, 400% 이상 또는 500% 이상 높은 히스톤 탈아세틸화 효소 유전자 군(HDACs) (예를 들어 Hdac3, Hdac4, Hdac8, Hdac9)의 1개 또는 복수의 발현량에 의해 특징지어질 수 있다.

[0348] 하나의 실시형태에서, 프로인솔린 및/또는 TNF-α는, 본 개시가 대상으로 하는 이상 줄기 세포가 골수에 국재하는 것을 나타내는 마커가 될 수 있다.

[0349] (줄기 세포의 이동과 조합한 이상 줄기 세포를 표적으로 한 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련된 질환, 장애 및/또는 증상의 치료 및/또는 예방)

- [0350] 하나의 국면에 있어서, 본 개시는, 본 명세서에 기재된 특징을 갖는 이상 줄기 세포를 이동시켜 억제하는 것에 의한 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상의 치료 및/또는 예방을 제공한다. 이 치료 및/또는 예방은, 방법의 실시, 이 목적을 위한 조성물, 조합물, 키트 또는 시스템의 제공 등, 임의의 수단에 의해 달성될 수 있다. 예를 들어 항체 등의 억제제를 사용하는 경우, 골수 중에 존재하는 세포에 대한 억제 효과는 한정적일 수 있다(예를 들어 실시예를 참조할 것). 그 때문에, 본 개시와 같이, 이상 줄기 세포를 억제 하기 전에, 이상 줄기 세포를 이동시킴으로써 이상 줄기세포의 억제 효과를 향상시킬 수 있다.
- [0351] 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 치료 및/또는 예방은, 본 명세서에 기재된 이상 줄기 세포의 적어도 하나의 특징을 갖는 전세포를 이동시켜 억제함으로써 실시될 수 있다. 즉, 이 실시형태에서, 이동하여 억제되는 세포는, 본 명세서에 기재된 이상 줄기 세포로 한정되지 않는다. 본 명세서에 기재된 이상 줄기 세포만을 이동·억제하는 것은 기술적으로 곤란할 수 있고, 이상 줄기 세포의 이동·억제에 의해 얻어지는 이익과, 그 밖의 세포의 이동·억제에 의한 영향을 고려하여 치료 및/또는 예방이 선택될 수 있다. 한편, 본 명세서에 기재된 이상 줄기 세포 중 일부 세포의 이동·억제에서는, 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상의 치료 및/또는 예방이 불충분해질 수 있기 때문에 본 명세서에 기재된 이상 줄기 세포는 모두 이동·억제하는 것이 바람직할 수 있다. 본 개시의 치료 및/또는 예방에 있어서, 이동을 위해서 이용하는 이상 줄기 세포의 특징과, 억제를 위해서 이용하는 이상 줄기 세포의 특징은 동일해도 좋고, 상이해도 좋다. 예를 들어 하나의 실시형태에서, 본 개시의 치료 및/또는 예방은, 이상 줄기 세포가 조혈 줄기 세포라는 특징을 이동을 위하여 이용하여(예를 들어 CXCR4 길항약 및/또는 CXCR2 자극약을 사용하여), 이상 줄기 세포가 특정한 세포 표면 단백질(CD106 등)을 비정상적으로 발현한다고 하는 특징을 억제하기 위해서 이용해도(예를 들어 항CD106 항체를 사용해도) 좋다.
- [0352] 하나의 실시형태에서, 본 개시의 치료 및/또는 예방에서의 이동은, 본 명세서에 기재된 임의의 특징을 갖는 이상 줄기 세포를 이동시킴으로써 실시할 수 있다. 하나의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 이상 줄기 세포의 이동은, 조혈 줄기 세포를 이동시키는 처치에 의해 실시할 수 있다. 하나의 실시형태에서, 조혈 줄기 세포를 이동시키는 처치에는, CXCR4의 저해(Future Oncol. 2007 Feb;3(1): 19-27), 상피 성장 인자 수용체(EGFR)의 저해(Nature Medicine volume 16, pages 1141-1146(2010)), 과립구 콜로니 자극 인자(G-CSF) 자극의 야기(Blood. 1995 Dec 15;86(12): 4437-45) 및 CXCR2 자극의 야기(Cell. 2018 Jan 11;172(1-2): 191-204.e10) 등을 들 수 있지만, 이것들로 한정되지 않는다.
- [0353] 하나의 실시형태에서, 본 개시의 치료 및/또는 예방에서의 이동은, 본 명세서에 기재된 임의의 특징을 갖는 이상 줄기 세포의 이동제를 사용하여 실시될 수 있다. 당업자는, 본 개시의 치료 및/또는 예방에서의 이동에서 사용할 수 있는 이동제를 적절히 선택할 수 있고, 예를 들어 이동제의 투여 전후에서, 실제로 골수 내 및/또는 혈액 중에서의 줄기 세포(예를 들어 본 명세서에 기재된 특징을 갖는 이상 줄기 세포)의 비율을 측정하고, 이동 효과를 조사함으로써, 본 개시의 치료 및/또는 예방에 이용 가능한 이동제를 선택할 수 있다. 하나의 실시형태에서, 본 개시의 치료 및/또는 예방에서의 이동은, 조혈 줄기 세포의 이동제를 사용하여 실시될 수 있다. 하나의 실시형태에서, 조혈 줄기 세포의 이동제는, CXCR4의 저해(예를 들어 플레릭사포르(AMD3100)), 상피 성장 인자 수용체(EGFR)의 저해(예를 들어 게피티닙, 에를로티닙, 아파티닙, 오시머티닙 등), 과립구 콜로니 자극 인자(G-CSF) 자극의 야기(예를 들어 필그라스티프, 나르토그라스티프, 레노그라스티프, 펙필그라스티프 등) 및 CXCR2 자극의 야기(예를 들어 GRO β (MIP2)) 등의 기능을 갖는 것일 수 있지만, 이것들로 한정되지 않는다. 하나의 실시형태에서, 조혈 줄기 세포의 이동제는, 임의의 조합으로 사용할 수 있고, 예를 들어 CXCR4의 저해제(예를 들어 플레릭사포르(AMD3100)) 및 CXCR2 자극 야기제(예를 들어 GRO β (MIP2))의 조합일 수 있다.
- [0354] 하나의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 이상 줄기 세포의 억제는, 본 명세서에 기재된 이상 줄기 세포 이 임의의 특징을 표적으로 하고, 표적이 된 세포를 이동시켜 억제함으로써 실시할 수 있다. 예를 들어 본 명세서에 기재된 이상 줄기 세포가 세포 표면에 발현하는 분자(CD106, CD34, TNF- α , 프로인슐린, c-Kit, Sca-1 등)를 표적으로 할 경우, 세포 표면 발현 분자에 특이적으로 결합하는 분자(항체, T세포 수용체, 저분자 화합물 등)를 사용할 수 있다. 또한, 복수 종류의 분자를 동시 발현하는 세포를 표적으로 하는 경우, 예를 들어 다특이적 항체 등 복수 종류의 분자에 결합하는 분자를 사용하여 목적으로 하는 세포를 표적화할 수 있다.
- [0355] 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 치료 및/또는 예방에서의 억제는, CD106 이상 발현, CD34 이상 발현, TNF- α 이상 발현, 프로인슐린 이상 발현 및 히스톤 탈아세틸화 효소(HDACs) 이상 발현 중 적어도 하나를 특징으로 하는 이상 줄기 세포를 이동시켜 억제함으로써 실시될 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 치료 및/또는 예방에서의 억제는, CD106 이상 발현을 특징으로 하는 이상 줄기 세포를 이동시켜 억제함으로써 실시될 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 치료 및/또는 예방에서의 억제는, (a) CD106 이상 발현과,

(b) CD34 이상 발현, TNF- α 이상 발현, 프로인슐린 이상 발현 및 히스톤 탈아세틸화 효소(HDACs) 이상 발현 중 적어도 하나를 특징으로 하는 이상 줄기 세포를 이동시켜 억제함으로써 실시될 수 있다.

- [0356] 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 치료 및/또는 예방에서의 억제제, CD106, CD34, TNF- α , 프로인슐린 및 히스톤 탈아세틸화 효소(HDACs)의 적어도 하나를 표적으로 하는 1개 또는 복수의 억제제를 사용하여 실시될 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 치료 및/또는 예방에서의 억제제, CD106을 표적으로 하는 억제제를 사용하여 실시될 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 치료 및/또는 예방은, (a) CD106과, (b) CD34, TNF- α , 프로인슐린 및 히스톤 탈아세틸화 효소(HDACs) 중 적어도 하나를 표적으로 하는 1개 또는 복수의 억제제를 사용하여 실시될 수 있다. 억제제는 본 명세서에 기재된 임의의 억제제를 사용할 수 있고, 예를 들어 상기 분자와 결합하는 항체이다. 하나의 실시형태에 있어서, 히스톤 탈아세틸화 효소(HDACs)를 표적으로 하는 억제제는, HDAC 저해제일 수 있고, 예를 들어 TSA(트리코 스타틴 A), VPA(발프로산), 부티르산 나트륨(NaBu), SAHA(수베로일아닐리드히드록삼산 또는 보리노스탁), 나트륨페닐부티레이트, 템시캡티드(FR901228, FK228), 트라포xin (TPX), 환식 히드록삼산 함유 펩티드 1(CHAP1), MS-275, LBH589 및 PXD101 등을 들 수 있지만, 이것들로 한정되지 않는다.
- [0357] 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 치료 및/또는 예방은, 당뇨병의 치료 및/또는 예방일 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 치료 및/또는 예방은, 신경 장애, 신증, 간 장애, 망막증, 지방간, 위장 장애, 골절 치유 지연, 섭식 장애 또는 피부 장애의 치료 및/또는 예방일 수 있다.
- [0358] 본 개시의 치료 및/또는 예방은, 임의의 공지된 치료 및/또는 예방 처치 또는 수단(예를 들어 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상의 치료 및/또는 예방 처치 또는 수단)과 조합되어도 좋다.
- [0359] (이상 줄기 세포의 이동 및/또는 잔류에 기초하는 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상, 또는 그의 리스크의 진단)
- [0360] 하나의 국면에 있어서, 본 개시는, 본 명세서에 기재된 이상 줄기 세포의 이동 및/또는 잔류에 기초하는 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상, 또는 그의 리스크의 진단을 제공한다. 이 진단은, 방법의 실시, 이 목적을 위한 조성물, 조합물, 키트 또는 시스템의 제공 등, 임의의 수단에 의해 달성될 수 있다.
- [0361] 하나의 실시형태에서, 본 개시의 진단은, 본 명세서에 기재된 이상 줄기 세포의 적어도 하나의 특징을 갖는 적어도 일부 세포의 특정한 부위에서의 존재 및/또는 존재량을 검출함으로써 실시될 수 있다. 본 명세서에서, 특별히 언급하지 않는 한, 세포의 "존재량"이란, 세포의 수(또는 세포의 수를 나타내는 임의의 지표)뿐만 아니라, 세포 집단 중의 특정한 세포의 비율(또는 특정한 세포의 비율을 나타내는 임의의 지표)도 의미한다. 하나의 실시형태에서, 본 개시의 진단은, 본명세서에 기재된 이상 줄기 세포의 골수 및/또는 골수의 nich에 있어서의 존재 및/또는 존재량을 검출함으로써 실시될 수 있다. 하나의 실시형태에서, 본 개시의 진단은, 본 명세서에 기재된 이상 줄기 세포의 순환혈에서의 존재 및/또는 존재량을 검출함으로써 실시될 수 있다. 하나의 실시형태에서, 본 개시의 진단은, 본 명세서에 기재된 이동제를 투여한 피검체에서의 이상 줄기 세포의 특정한 부위에서의 존재 및/또는 존재량을 검출함으로써 실시할 수 있고, 예를 들어 이동제의 투여 전후에서의 이상 줄기 세포의 특정한 부위(예를 들어 골수)에서의 존재 및/또는 존재량의 변화에 기초하여 실시될 수 있다. 이 실시형태에서, 예를 들어 이동제의 투여 후에 피검체의 골수에서 이상 줄기 세포의 존재량이 저하했을 경우, 피검체가, 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상, 또는 그의 리스크를 갖는다고 진단해도 되고, 하나의 실시형태에서, 이 피검체는, 이 이동제를 사용한 본 개시의 치료 및/또는 예방 처치에 제공될 수 있다.
- [0362] 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 진단은, 본 명세서에 기재된 이상 줄기 세포의 적어도 하나의 특징을 갖는 적어도 일부의 세포를 검출함으로써 실시될 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 진단은, 본 명세서에 기재된 이상 줄기 세포의 적어도 하나의 특징의 정량적 지표(예를 들어 세포 표면 단백질 발현량, mRNA 발현량)에 기초하여 실시될 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 피검체 유래의 시료(예를 들어 혈액 시료, 골수 시료) 또는 거기에 포함되는 조혈 줄기 세포(예를 들어 CD34 양성 세포)가 비당뇨병 피검체 집단의 상응하는 시료 또는 거기에 포함되는 조혈 줄기 세포(예를 들어 CD34 양성 세포)보다도 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 100% 이상, 150% 이상 또는 200% 이상 높은 CD106의 mRNA 발현량을 나타내는 경우에, 피검체는, 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상, 또는 그의 리스크를 갖거나 또는 본 개시의 이상 세포 이동 처치에 적합하다고 판단될 수 있다.
- [0363] 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 진단은, 본 명세서에 기재된 이상 줄기 세포의 적어도 하나의 특징(정량적 지표 포함)을 나타내는 세포의 비율에 기초하여 실시될 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 진단

은, 피검체의 조혈 줄기 세포 중 정상적이지 않은 레벨의 CD106 발현을 나타내는 세포의 비율에 기초하여 실시할 수 있고, 필요에 따라 비당뇨병 피검체 집단 또는 당뇨병피검체 집단의 조혈 줄기 세포 중 정상적이지 않은 레벨의 CD106 발현을 나타내는 세포의 비율과 비교함으로써 실시될 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 특정한 부위(예를 들어 골수)에서, 피검체의 조혈 줄기 세포 중 정상적이지 않은 레벨의 CD106 발현을 나타내는 세포의 비율이, 비당뇨병 피검체 집단의 조혈 줄기 세포 중 정상적이지 않은 레벨의 CD106 발현을 나타내는 세포 비율의 1.1배 이상, 1.2배 이상, 1.3배 이상, 1.4배 이상, 1.5배 이상, 1.6배 이상, 1.7배 이상, 1.8배 이상, 1.9배 이상, 2배 이상, 2.1배 이상, 2.2배 이상, 2.3배 이상, 2.4배 이상, 2.5배 이상, 2.6배 이상, 2.7배 이상, 2.8배 이상, 2.9배 이상, 3배 이상, 3.5배 이상, 4배 이상, 4.5배 이상 또는 5배 이상인 경우에 피검체는, 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상, 또는 그의 리스크를 갖거나 또는 본 개시의 이상 세포 이동 처치에 적합하다고 판단될 수 있다.

[0364] 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 진단은, 본 명세서에 기재된 이상 줄기 세포의 임의의 특징을 검출함으로써 실시될 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 진단은, CD106 이상 발현, CD34 이상 발현, TNF- α 이상 발현, 프로인슐린 이상 발현 및 히스톤 탈아세틸화 효소(HDACs) 이상 발현 중 적어도 하나의 특징을 가지고, 필요에 따라, 본 명세서에 기재된 이상 줄기 세포의 다른 특징(예를 들어 c-Kit 양성, Sca-1 양성, 조혈 줄기 세포의 계통 마커 음성, 상기 단기 조혈 줄기 세포의 특징(CD38 음성 등))을 더 갖는 세포를 검출함으로써 실시될 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 진단은, CD106 이상 발현을 특징으로 하는 세포를 검출함으로써 실시될 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 진단은, (a) CD106 이상 발현과, (b) CD34 이상 발현, TNF- α 이상 발현, 프로인슐린 이상 발현 및 히스톤 탈아세틸화 효소(HDACs) 이상 발현 중 적어도 하나를 특징으로 하고, 필요에 따라, 본 명세서에 기재된 이상 줄기 세포의 다른 특징(예를 들어 c-Kit 양성, Sca-1 양성, 조혈 줄기 세포의 계통 마커 음성, 상기 단기 조혈 줄기 세포의 특징(CD38 음성 등))을 더 갖는 세포를 검출함으로써 실시될 수 있다.

[0365] 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 진단은, CD106, CD34, TNF- α , 프로인슐린 및 히스톤 탈아세틸화 효소(HDACs)의 적어도 하나를 표적으로 하는 1개 또는 복수개의 검출제를 사용하여 실시될 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 진단은, CD106을 표적으로 하는 검출제를 사용하여 실시될 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 진단은, (a) CD106과, (b) CD34, TNF- α , 프로인슐린 및 히스톤 탈아세틸화 효소(HDACs) 중 적어도 하나를 표적으로 하는 1개 또는 복수개의 검출제를 사용하여 실시될 수 있다. 검출제는 본 명세서에 기재된 임의의 검출제를 사용할 수 있고, 예를 들어 상기 분자와 결합하는 항체를 포함한다.

[0366] 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 진단은, 피검체에 대한 검출제의 투여에 의해 실시해도 되고, 피검체 유래의 시료를 시험함으로써 실시해도 된다. 예를 들어 본 개시의 진단은, 피검체에 본 개시의 검출제를 투여하여 골수(또는 그 특정한 니치)에서의 본 개시의 이상 줄기 세포의 존재 및/또는 존재량을 검출함으로써 실시될 수 있다. 예를 들어 본 개시의 진단은, 피검체의 세포를 포함하는 시료(예를 들어 혈액 시료, 골수 시료)를 취득하고, 본 개시의 이상 줄기 세포의 적어도 하나의 특징 및/또는 골수(또는 그 특정한 니치)에서의 존재를 나타내는 마커를 갖는 세포가 존재하는지의 여부를 확인함으로써 실시될 수 있다.

[0367] 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 진단은, 당뇨병의 진단일 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 진단은, 신경 장애, 신증, 간 장애, 망막증, 지방간, 위장 장애, 골절 치유 지연, 섭식 장애 또는 피부 장애, 또는 그의 리스크의 진단일 수 있다.

[0368] 본 개시의 진단은, 임의의 공지된 진단(예를 들어 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련한 질환, 장애 및/또는 증상의 진단)과 조합되어도 좋다.

[0369] 하나의 실시형태에 있어서, 본 개시의 치료 및/또는 예방은, 본 개시의 진단에 기초하여(예를 들어 본 개시의 진단 결과, 이상 줄기 세포가 골수에 존재하는 것이 예측된 피검체에 대하여) 실시될 수 있다.

[0370] 본 개시의 치료, 예방 및/또는 진단은, 임의의 피검체에서 실시될 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 피검체는, 포유 동물, 예를 들어 인간, 마우스, 모르모트, 햄스터, 래트, 쥐, 토끼, 돼지, 양, 염소, 소, 말, 고양이, 개, 마모셋, 원숭이 또는 침팬지 등이다. 구체적인 실시형태에서 피검체는 인간이다.

[0371] (의약품, 제형 등)

[0372] 본 명세서에 기재되는 이상 줄기 세포의 억제제, 이동제 및 이상 줄기 세포의 검출제는, 여러가지 형태의 조성물 또는 약으로서 제공될 수 있다.

[0373] 본 명세서에 기재되는 이상 줄기 세포의 억제제, 이동제 및 이상 줄기 세포의 검출제의 투여 경로는, 당뇨병 및

/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상의 치료, 예방 또는 검출 시에 효과적인 것을 사용하는 것이 바람직하고, 예를 들어 정맥 내, 피하, 근육 내, 복강 내 또는 경구 투여 등이어도 좋다. 투여 형태로서는, 예를 들어 주사제, 캡슐제, 정제, 과립제 등이어도 좋다. 주사용의 수용액은, 예를 들어 바이알 또는 스테인리스 용기에서 보존해도 좋다. 또한 주사용의 수용액은, 예를 들어 생리 식염수, 당(예를 들어 트레할로오스), NaCl 또는 NaOH 등을 배합해도 좋다. 또한 치료약은, 예를 들어 완충제(예를 들어 인산염 완충액), 안정제 등을 배합해도 좋다.

[0374] 일반적으로, 본 개시의 조성물, 의약, 억제제, 이동제, 검출제 등은, 치료 유효량의 유효 성분 또는 검출 가능량의 검출 수단 및 약학적으로 허용할 수 있는 캐리어 또는 부형제를 포함한다. 본 명세서에서 "약학적으로 허용할 수 있는"은, 동물, 그리고 보다 상세하게는 인간에 있어서의 사용을 위해, 정부의 감독 관청에 인가되었거나, 또는 약전 또는 다른 일반적으로 인정되는 약국방에 열거되어 있는 것을 의미한다. 본 명세서에서 사용되는 "캐리어"는, 치료제 또는 검출제를 함께 투여하는, 희석제, 아쥘반트, 부형제 또는 비히클을 가리킨다. 이러한 캐리어는, 무균 액체, 예를 들어 물 및 기름인 것도 가능하고, 석유, 동물, 식물 또는 합성 기원인 것이 포함되고, 한정되는 것은 아니지만, 피넛유, 대두유, 미네랄 오일, 참깨유 등이 포함된다. 의약을 경구 투여할 경우에는, 물이 바람직한 캐리어이다. 의약 조성물을 정맥 내 투여할 경우에는, 생리 식염수 및 수성 텍스트로오스가 바람직한 캐리어이다. 바람직하게는 생리 식염수 용액, 그리고 수성 텍스트로오스 및 글리세롤 용액이, 주사 가능 용액의 액체 캐리어로서 사용된다. 적절한 부형제에는, 경질 무수 규산, 결정 셀룰로오스, 만니톨, 전분, 글루코오스, 락토오스, 수크로오스, 젤라틴, 몰트, 쌀, 소맥분, 초크, 실리카겔, 스테아르산 나트륨, 모노스테아르산 글리세롤, 탈크, 염화나트륨, 탈지 분유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올, 카르멜로오스칼슘, 카르멜로오스나트륨, 히드록시프로필셀룰로오스, 히드록시프로필메틸셀룰로오스, 폴리비닐알세탈디에틸아미노아세테이트, 폴리비닐피롤리돈, 젤라틴, 중쇄 지방산 트리글리세라이드, 폴리옥시에틸렌 경화 피마자유 60, 백당, 카르복시메틸셀룰로오스, 옥수수 전분, 무기염 등이 포함된다. 조성물은, 바람직한 경우, 소량의 습윤제 또는 유효제, 또는 pH 완충제도 또한 함유하는 것도 가능하다. 이러한 조성물은, 용액, 현탁물, 에멀션, 정제, 필, 캡슐, 분말, 지속 방출 배합물 등의 형태를 취하는 것도 가능하다. 전통적인 결합제 및 캐리어, 예를 들어 트리글리세라이드를 사용하고, 조성물을 좌약으로서 배합하는 것도 가능하다. 경구 배합물은, 의약 등급의 만니톨, 락토오스, 전분, 스테아르산 마그네슘, 사카린 나트륨, 셀룰로오스, 탄산 마그네슘 등의 표준적 캐리어를 포함하는 것도 가능하다. 적절한 캐리어의 예는, E. W. Martin, Remington's Pharmaceutical Sciences(Mark Publishing Company, Easton, U.S.A)에 기재된다. 이러한 조성물은, 환자에게 적절하게 투여하는 형태를 제공하도록, 적절한 양의 캐리어와 함께, 치료 유효량의 요법제, 바람직하게는 정제형의 것을 함유한다. 배합물은 투여 양식에 적합해야 한다. 이러한 것 이외에, 예를 들어 계면 활성제, 부형제, 착색료, 착향료, 보존료, 안정제, 완충제, 현탁제, 등장화제, 결합제, 붕괴제, 활택제, 유동성 촉진제, 교미제 등을 포함하고 있어도 좋다.

[0375] 본 개시의 일 실시형태에 있어서 "염"은, 예를 들어 임의의 산성(예를 들어 카르복실)기로 형성되는 음이온염 또는 임의의 염기성(예를 들어 아미노)기로 형성되는 양이온염을 포함한다. 염류에는 무기염 또는 유기염을 포함하고, 예를 들어 Berge et al., J. Pharm. Sci., 1977, 66, 1-19에 기재되어 있는 염이 포함된다. 또한 예를 들어 금속염, 암모늄염, 유기 염기와 염, 무기산과의 염, 유기산과의 염 등을 들 수 있다. 본 개시의 일 실시형태에서 "용매화물"은, 용질 및 용매에 의해 형성되는 화합물이다. 용매화물에 대해서는 예를 들어 J. Honig et al., The Van Nostrand Chemist's Dictionary P650(1953)을 참조할 수 있다. 용매가 물이라면 형성되는 용매화물은 수화물이다. 이 용매는, 용질의 생물 활성을 방해하지 않는 것이 바람직하다. 그러한 바람직한 용매의 예로서, 특별히 한정하는 것은 아니지만, 물 또는 각종 버퍼를 들 수 있다.

[0376] 본 개시에 있어서, 의약을 투여할 경우, 여러가지 송달(딜리버리)계를 모두 사용할 수 있고, 그리고 이러한 계를 사용하여, 본 개시의 억제제 및/또는 이동제를 적절한 부위에 투여하는 것도 가능하다. 이러한 계에는, 예를 들어 리포솜, 미소 입자 및 미소 캡슐 중의 피포: 수용체가 중개하는 엔드사이토시스의 사용;레트로바이러스 벡터 또는 다른 벡터의 일부로서의 요법 핵산의 구축 등이 있다. 도입법에는, 한정되는 것은 아니지만, 피내, 근육 내, 복강 내, 정맥 내, 피하, 비내, 경막외 및 경구 경로가 포함된다. 적합한 경로 어느 것에 의해, 예를 들어 주입에 의해, 볼러스(bolus) 주사에 의해, 상피 또는 피부 점막층(예를 들어 구강, 직장 및 장점막 등)을 통한 흡수에 의해, 의약을 투여하는 것도 가능하고, 필요에 따라 에어로졸화제를 사용하여 흡입기 또는 분무기를 사용할 수 있고, 그리고 다른 생물학적활성제와 함께 투여하는 것도 가능하다. 투여는 전신성 또는 국소인 것도 가능하다.

[0377] 바람직한 실시형태에 있어서, 공지된 방법에 따라, 인간에게의 투여에 적응시킨 의약 조성물로서 조성물을 배합

할 수 있다. 이러한 조성물은 주사에 의해 투여할 수 있다. 대표적으로는, 주사 투여를 위한 조성물은, 무균 등장 수성 완충제 중의 용액이다. 필요한 경우, 조성물은 또한, 가용화제 및 주사부위에서의 동통을 부드럽게 하는 리도카인 등의 국소 마취제도 포함하는 것도 가능하다. 일반적으로, 성분을 별개로 공급하거나 또는 단위 투약형 중에서 함께 혼합하여 공급하고, 예를 들어 활성제의 양을 나타내는 앰플 또는 사세 등의 밀봉 용기 중, 동결 건조 분말 또는 수분 미함유 농축물로서 공급할 수 있다. 조성물을 주입에 의해 투여하고자 하는 경우, 무균 약제 등급의 물 또는 생리 식염수를 함유하는 주입병을 사용하여 분배하는 것도 가능하다. 조성물을 주사에 의해 투여하고자 하는 경우, 투여 전에, 성분을 혼합 가능하도록, 주사용의 무균수 또는 생리 식염수의 앰플을 제공하는 것도 가능하다.

[0378] 본 개시의 조성물, 의약, 이동제, 억제제를 중성형 또는 염형 또는 다른 프로드러그(예를 들어 에스테르 등)로 배합하는 것도 가능하다. 약학적으로 허용할 수 있는 염에는 염산, 인산, 아세트산, 옥살산, 타르타르산 등에서 유래되는 유리형의 카르복실기와 함께 형성되는 것, 이소프로필아민, 트리에틸아민, 2-에틸아미노에탄올, 히스티딘, 프로카인 등에서 유래되는 것 등의 유리형 아민기와 함께 형성되는 것, 그리고 나트륨, 칼륨, 암모늄, 칼슘 및 수산화 제2철 등에서 유래되는 것이 포함된다.

[0379] 본 개시의 억제제 및/또는 이동제의 양은, 장애 또는 상태의 성질에 따라 변동할 수 있지만, 당업자는 본 명세서의 기재에 기초하여 표준적 임상기 술에 의해 결정 가능하다. 또한, 경우에 따라, 시험관내 어세이를 사용하고, 최적 투약량 범위를 동정하는 것을 보조하는 것도 가능하다. 배합물에 사용하고자 하는 정확한 용량은 또한, 투여 경로 및 질환 또는 장애의 중대성에 따라서도 변동할 수 있기 때문에, 담당 의사의 판단 및 각 환자의 상황에 따라, 결정해야 한다. 그러나, 투여량은 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어 1회당 0.001, 1, 5, 10, 15, 100 또는 1000mg/kg 체중이어도 좋고, 그것들 어느 2개의 값의 범위 내이어도 좋다. 투여 간격은 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어 1, 7, 14, 21 또는 28일당 1 또는 2회 투여해도 되고, 그것들 어느 2개의 값의 범위 당 1 또는 2회 투여해도 된다. 투여량, 투여 간격, 투여 방법은, 환자의 연령이나 체중, 증상, 대상 장기 등에 따라 적절히 선택해도 된다. 또한 치료약은, 치료 유효량 또는 원하는 작용을 발휘하는 유효량의 유효 성분을 포함하는 것이 바람직하다. 유효 용량은, 시험관내 또는 동물 모델 시험계로부터 얻어지는 용량-반응 곡선으로부터 추정 가능하다.

[0380] 본 개시의 의약 조성물 또는 치료제 또는 예방제는 키트로서 제공할 수 있다.

[0381] 특정한 실시형태에서는, 본 개시는, 본 개시의 조성물 또는 의약의 1 이상의 성분이 충전된, 1 이상의 용기를 포함하는, 약제 팩 또는 키트를 제공한다. 경우에 따라, 이러한 용기에 부수하여 의약 또는 생물학적 제품의 제조, 사용 또는 판매를 규제하는 정부 기관에 의해 규정된 형태로, 정부 기관에 의한, 인간 투여를 위한 제조, 사용 또는 판매의 인가를 나타내는 정보를 나타내는 것도 가능하다.

[0382] 본 개시의 치료약, 예방약 등의 의약 등으로서의 체제화 수준은, 당해 분야에서 공지이며, 예를 들어 일본 약전, 미국 약전, 다른 나라의 약전 등에 기재되어 있다. 따라서, 당업자는, 본 명세서의 기재가 있으면, 과도한 실험을 행하지 않고, 사용해야 할 양 등의 실시형태를 결정할 수 있다.

[0383] 본 명세서에서 "또는"은, 문장 중에 열거되어 있는 사항의 "적어도 하나 이상"을 채용할 수 있을 때에 사용된다. "또는"도 마찬가지로이다. 본 명세서에서 "2개의 값"의 "범위 내"라고 명기했을 경우, 그 범위에는 2개의 값 자체도 포함한다.

[0384] 본 명세서에서 인용된, 과학 문헌, 특허, 특허 출원 등의 참고 문헌은, 그 전체가, 각각 구체적으로 기재된 것과 동일한 정도로 본 명세서에서 참고로서 인용된다.

[0385] 이상, 본 개시를, 이해의 용이를 위해서 바람직한 실시형태를 나타내 설명해 왔다. 이하에, 실시예에 기초하여 본 개시를 설명하지만, 상술한 설명 및 이하의 실시예는, 예시의 목적으로만 제공되고, 본 개시를 한정하는 목적으로 제공한 것은 아니다. 따라서, 본 개시의 범위는, 본 명세서에 구체적으로 기재된 실시형태로도 실시예로도 한정되지 않고, 특허 청구 범위에 의해서만 한정된다.

[0386] **실시예**

[0387] 필요한 경우, 이하의 실시예에서 사용하는 동물의 취급은, 시가 의과 대학의 동물 실험 가이드라인에 따라 실시하였다. 시약류는 구체적으로는 실시예 중에 기재한 제품을 사용했지만, 타 메이커(Sigma-Aldrich, 와코 준야쿠, 나카라이, R&D Systems, USCN Life Science INC 등)의 동등품이라도 대응 가능하다.

[0388] 이하의 실시예에서, 각각의 약어는 이하의 의미를 나타낸다.

- [0389] DM 당뇨병
- [0390] STZ-DM 스트렙토조토신 유도성 당뇨병
- [0391] KSL 세포 c-Kit 양성 Sca-1 양성 Lineage(계통 마커) 음성 세포
- [0392] SNCV 지각 신경 전달 속도
- [0393] (실시예 1: 당뇨병에 관여하는 이상 줄기 세포의 특징)
- [0394] 당뇨병에 관여하는 이상 세포를 특정하기 위해서, 당뇨병 모델 마우스로부터 취득한 줄기 세포를 분석하였다.
- [0395] 방법
- [0396] 마우스 및 골수 세포의 취득
- [0397] 시험에는, C57BL/6J 마우스(야생형, 니혼 클레아, 오사카)를 사용하였다. 스트렙토조토신(STZ)(150mg/kg) (나카 라이테스크, 교토)의 정맥 내 주사에 의해 당뇨병을 유도하여 2형 당뇨병 모델(STZ 마우스)을 제작하였다. 8주령의 마우스로부터 골수 세포를 단리하였다.
- [0398] FACS
- [0399] Ficoll-Paque Plus(GE Healthcare Bio-Sciences AB, Uppsala, Sweden)를 사용하여 전골수로부터 단핵 세포를 단리하였다.
- [0400] TNF- α 및 CD106의 발현을 평가하기 위해서, 단핵 세포를, PE-Cy7 콘주게이트화 스트렙트아비딘 항체(BD Biosciences, San Jose, CA), 비오틴 마우스 계통 패널 염색(BD Biosciences), APC 콘주게이트화 항 c-kit 항체(BD Biosciences), APC-Cy7 콘주게이트화 항 Ly6A/E 항체(Sca-1) (BD Biosciences), 플루오레세인이소티오시아네이트(FITC) 콘주게이트화 항CD106 항체(BD Biosciences) 및 피코에리트린(PE) 콘주게이트화 항TNF- α 항체(eBiosciences)와 면역 반응시켰다.
- [0401] 프로인슐린 발현을 평가하기 위해서, 단핵 세포를, PE-Cy7 콘주게이트화 스트렙트아비딘 항체, APC 콘주게이트화 항 c-kit 항체, APC-Cy7 콘주게이트화 항 Ly6A/E 항체(Sca-1) 및 비오틴 마우스 계통 패널과 반응시킨 후, BD Cytotfix/CytoPerm(BD Biosciences)로 고정하였다. 이어서, 토끼 항 인슐린 모노클로날 항체(Cell signaling technology) 및 PE 콘주게이트화 항 토끼 IgG 항체(Cell signaling technology)를 단핵 세포에 적용하였다. 이 염색 전에, 사세포를 고정시키기 위해서, LIVE/DEAD 고정 가능 사세포 블루 염색 키트(ThermoFisher Scientific Inc., 미국 매사추세츠주 월섬)을 사용하였다.
- [0402] 염색 4시간 후, FACS DIVA 소프트웨어(BD Biosciences)에서 FACS Canto II를 사용하여 세포를 분석하였다.
- [0403] 결과
- [0404] 프로인슐린 양성 세포는 STZ-DM 마우스 유래의 단핵 세포의 KSL 분획에서 발견되었지만, 비DM 마우스의 KSL 분획에서는 관찰되지 않았다(도 1). 마찬가지로, TNF- α 양성 세포도, STZ-DM 마우스 유래의 단핵 세포의 KSL 분획에서 발견되었지만, 비DM 마우스의 KSL 분획에서는 관찰되지 않았다(도 2). CD106 양성 세포는 STZ-DM 마우스 및 비DM 마우스 양쪽 단핵 세포의 KSL 분획에서 발견되었지만, STZ-DM 마우스에서 보다 많이 발현되어 있었다(도 3).
- [0405] 당뇨병 마우스에서는, KSL 세포에서, TNF- α 양성 세포 및 프로인슐린 양성 세포가 존재하고, CD106 발현 세포가 증대하고 있어, 이들의 특징을 갖는 조혈 줄기 세포가, 당뇨병의 만성 질환으로서의 특징을 출현시키는 원인이 되고 있다고 생각된다.
- [0406] (실시예 2: 1형 당뇨병에 관여하는 이상 줄기 세포의 특징)
- [0407] 실시예 1과 마찬가지로, 1형 당뇨병 모델 마우스로부터 취득한 줄기 세포에 대해서도 당뇨병에 관여하는 이상 세포를 특징지었다.
- [0408] 방법
- [0409] 마우스 및 골수 세포의 취득
- [0410] 시험에는, ICR 마우스(니혼 클레아, 오사카) 및 NOD 마우스(니혼 클레아, 오사카)를 사용하였다. 실시예 1과 동일하게 단핵 세포를 단리하였다.

- [0411] 실시예 1과 마찬가지로, 단핵 세포를, TNF- α , CD106, c-kit, Sca-1 및 마우스 계통(Lineage)에 대해서 검색하고, FACS 분석을 하였다.
- [0412] 결과
- [0413] ICR 마우스와 비교하여, NOD 마우스에서는, KSL 세포의 비율이 약 25%로 감소되어 있었다(도 4). KSL 세포 집단에 포함되는 TNF- α 양성 세포 및 CD106 발현 세포의 비율은, ICR 마우스와 비교하여 NOD 마우스에서 현저하게 증대되어 있었다(도 5).
- [0414] 1형 당뇨병 마우스의 KSL 세포에서도, TNF- α 양성 세포 및 CD106 발현 세포가 증대되어 있고, 이러한 특징을 갖는 조혈 줄기 세포가, 당뇨병의 만성 질환으로서의 특징을 출현시키는 원인이 되고 있다고 생각된다.
- [0415] (실시예 3: 당뇨병에 관여하는 이상 줄기 세포의 세포 단계)
- [0416] 이상 줄기 세포가, 조혈 줄기 세포의 어느 단계의 세포인지를 시험하였다.
- [0417] 방법
- [0418] KSL 세포의 사이드 파플레이션(SP)을 Goode11에 의해 보고된 방법에 따라 FACS에 의해 분석했다(J Exp Med. 1996 Apr 1;183(4): 1797-806;Nat Med. 1997 Dec;3(12): 1337-45 참조). 웨스트 33342 색소는 세포 투과성이 있어 DNA와 결합하는데, 조혈 줄기 세포에서는 이 색소가 효율적으로 세포 밖으로 배출될 수 있다. 이 성질을 사용하여, 이 색소로 검색한 골수 세포를, 자외광(350nm)으로 여기하고, 웨스트 블루 및 웨스트 레드의 2종류의 광학 필터로 전개했을 경우, 조혈 줄기 세포 분획이, 검색되어 있지 않은 세포 집단(SP 세포)에 포함되는 것이 보고되어 있다. 전골수 세포를, 색소로서 웨스트 33342(Sigma-Aldrich Japan K.K., 도쿄, 일본)를 사용하여 37℃에서 정확하게 90분간 검색하였다. 게이트 설정을 위해서 웨스트 33342 양성 세포를 염산 베라파밀(Tocris bioscience, Bristol, UK)과 함께 인큐베이트하고, 단핵 세포를 Ficoll-Paque Plus에 의해 분리하였다. 이어서, 비오틴 마우스 계통 패널 검색한 후, 이러한 세포를, PE-Cy7 콘주게이트화 스트렙트아비딘, APC 콘주게이트화 항 c-kit, APC-Cy7 콘주게이트화 항 Ly6A/E(Sca-1) 및 PE 콘주게이트화 항TNF- α 또는 FITC 콘주게이트화 항CD106과 인큐베이트하였다. 사세포 고갈을 위해서, 요오드화 프로피디움(Sigma-Aldrich)을 시료에 첨가하여 사세포를 제거하고, FACS DIVA 소프트웨어(BD Biosciences)를 사용한 FACS Aria Fusion을 사용한 분석을 하였다. 웨스트 33342로 검색한 세포를 350nm의 자외광으로 여기하고, 450BP20(450/20nm 대역 통과 필터) (웨스트 블루) 및 675EFLP(675nm 롱패스 에지 필터) (웨스트 레드)의 2종류의 광학 필터를 사용하였다.
- [0419] 결과
- [0420] 비DM 마우스와 비교하여 STZ-DM 마우스에서 KSL 세포 중의 SP 세포의 비율이 증대하여 비SP 세포의 비율이 감소되어 있었다(도 6). 비DM 및 STZ-DM의 어느 마우스의 SP 세포에 있어서도 CD106 양성 세포도 TNF- α 양성 세포도 검출되지 않았다(도 7b, d). 다른 한편, 비SP 세포에서는, 비DM 유래의 TNF- α 양성 세포는 검출되지 않았지만, STZ-DM 유래의 TNF- α 양성 세포가 검출되어, 비DM 마우스와 비교하여 STZ-DM 마우스에서 보다 많은 CD106 양성 세포가 관찰되었다(도 7a, c). 그 때문에, CD106 양성 세포 및 TNF- α 양성 세포는, STZ-DM 중의 KSL 세포의 비SP 분획에 존재한다.
- [0421] 조혈 줄기 세포의 이상을 특징짓는 CD106 양성 세포 및 TNF- α 양성 세포는, KSL 세포 중의 비SP 세포(단기 조혈 줄기 세포: ST-HSC)에 포함되어 있었으나, 보다 조기의 분화 단계에 있는 KSL 세포 중의 SP 세포(장기 조혈 줄기 세포: LT-HSC)에는 포함되어 있지 않았다. 이것은, 당뇨병에 있어서의 HSC의 이상은 줄기 세포 중에서도 전구 세포의 단계에 머물고, 소위 "줄기 세포 중의 줄기 세포"에는 이상이 발생하지 않고, 전구 세포를 제거함으로써 당뇨병 및 그 관련 질환의 치료가 가능한 것을 시사할 수 있다. "줄기 세포 중의 줄기 세포"가 치료 대상이 되면, 골수 이식이 필요할 수 있지만, 전구 세포의 제거로 치료가 가능하게 되면, 약물 치료가 가능하다고 생각된다.
- [0422] 이와 같이, 당뇨병에서 발견되는 이상 줄기 세포는 ST-HSC에 존재할 수 있는 것이 밝혀졌다.
- [0423] (실시예 3: 이상 줄기 세포의 새로운 특징화)
- [0424] 당뇨병에 관여하는 이상 줄기 세포의 새로운 특징화를 행하였다.
- [0425] 방법
- [0426] 실시예 1과 동일한 비DM 및 STZ-DM 마우스의 FACS sort에 의해 얻어진 KSL 세포로부터 RNA를 추출하고, QT-PCR

법을 사용하여 히스톤 탈아세틸화 효소 유전자 군(Hdacs)의 유전자 발현을 해석하였다.

- [0427] 결과
- [0428] 결과를 도 8에 도시한다. 비DM 마우스와 비교하여, STZ-DM 마우스에서는, Hdac3, Hdac4, Hdac8 및 Hdac9의 mRNA 발현이 유의미하게 증가하고 있는 것이 밝혀졌다.
- [0429] 당뇨병의 KSL 세포에서는, 히스톤 수식 등에 의해 유전자 발현을 조절하는데 중요한 에피게놈 관련 유전자(Hdacs)의 발현이 증가하고 있었으므로, 고혈당은 줄기 세포에 대하여 유전자 레벨에서 이상한 성질을 부여하고 있는 것으로 생각되었다. 일과성의 고혈당에 폭로된 세포는 정상 혈당값의 환경 하로 되돌려도, 고혈당에서 발생한 세포의 이상이 유지되는 것으로 보고되었지만(E1-Osta et.al.J Exp Med. 2008 Sep 29;205(10): 2409-17), 이것으로부터도, KSL 세포에서 발생한 히스톤 탈아세틸화 효소 유전자의 발현 증가가, CD106이나 TNF- α , 프로인슐린 양성 세포의 출현에 관여할 수 있다고 생각된다. 이것을 밝히기 위해서, Hdac 저해제(예를 들어 트리코스타틴 A)에 의해 치료가 가능한지 여부를 검토하는 것을 생각할 수 있다.
- [0430] (실시예 5: 이상 줄기 세포에 의한 당뇨병 발증)
- [0431] 상기에서 발견된 이상 줄기 세포가, 당뇨병을 야기하는 원인이 되는지를 시험하였다.
- [0432] 방법
- [0433] 비DM 또는 STZ-DM KSL 세포를 정상 혈당 마우스에 이식하는 시험의 개략을 도 9에 도시한다. GFP-Tg 마우스(The Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)에 대하여 실시예 1과 동일하게 STZ 처리(STZ-DM GFP) 또는 정맥 내 시트르산 완충액 주사의 대조 처리(비DM GFP)를 실시하였다. 3개월 후, 비DM 마우스 또는 STZ-DM 마우스 각각으로부터 얻어진 KSL 세포를, 9Gy의 치사량의 방사선을 조사한 정상 혈당 야생형 C57BL/6J 마우스(클레어, 오사카)에 이식하였다(각각, 비DM 유래 KSL-T 또는 STZ-DM 유래 KSL-T) (도 10, 좌측). 이식으로부터 3개월 후의 혈당값을 관찰하였다(비DM 유래 KSL-T(n=9), STZ-DM 유래 KSL-T(n=10)), 이식으로부터 3개월 후에 좌골 신경에서의 SNCV를 측정하였다((비DM 유래 KSL-T(n=5), STZ-DM 유래 KSL-T(n=6)) (도 10, 우측). 이식으로부터 3개월 후에 각각의 마우스로부터 후근 신경절(DRG)을 취득하고, 핵, GFP, MAP2, 프로인슐린 및 TNF- α (PE 콘주게이트화)에 대해서 면역 형광 염색을 행하였다(도 11, 도 12, 도 13).
- [0434] 상기의 SNCV 측정은 이하의 순서로 행하였다. 30℃ 내지 32℃에서 마취 하(펜토바르비탈나트륨, 5mg/kg i.p.)에 Medelec Sapphire EMG(Medelec, Woking, UK)를 사용하여 마우스의 감각 신경 전도 시험을 행하였다. 대퇴부의 좌측 배면 표면으로부터 피부를 잘라내 좌골 신경을 노출시켰다. 감각 신경 활동 전위(SNAP)를 기록하고, 감각 신경 전도 속도(SNCV)를 자극 부위로부터 기록 부위까지의 거리를 SNAP의 초기 잠복기로 나눔으로써 산출하였다.
- [0435] 결과
- [0436] STZ-DM 유래 KSL-T 마우스의 KSL 세포 분획 중에는 TNF- α 나 프로인슐린 등 이상 줄기 세포의 특징이 발견되었지만, 비DM 유래 KSL-T 마우스의 KSL 세포 분획은 이상 줄기 세포의 특징은 발견되지 않았다.
- [0437] 당뇨병 마우스에서 발견된 이상한 KSL 세포를 정상 마우스에 이식한 결과, 혈당값이 정상임에도 불구하고 당뇨병성 신경 장애 유사 증상을 나타냈다. 이것으로부터 당뇨병 마우스의 혈당값은 정상화된 경우에도, 이상 줄기 세포는 소실되지 않는 것이 명확해졌다. 이것은 이상 세포가 이상한 채 골수 내에 정착한, 즉 병적 줄기 세포로서 정착한 것을 나타낸다. 또한, 그 이상 줄기 세포로부터 파생한 세포가 신경 조직으로 이동하여, 신경 장애를 발증시켰다고 이해되므로, 이 줄기 세포가 남아있는 한, 당뇨병은 혈당 컨트롤을 행해도 낫지 않는 것이 밝혀졌다. 또한, 이 당뇨병 마우스의 이상 줄기 세포를 포함하는 골수를 정상 마우스에게 이식했더니, 내당능 장애가 관찰되고, 골수 이식에 의해 당뇨병의 본체인 당대사 이상도 재현되었다.
- [0438] 이것은, 고혈당을 개선해도 당뇨병 및 당뇨병 합병증이 낫지 않는다는 임상 증상과 합치하는 것이며, 당뇨병의 궁극의 치료 표적은 이상한 조혈 줄기 세포인 것을 시사한다. 이와 같이, 당뇨병의 조혈 줄기 세포를 정상 마우스에게 이식함으로써, 당대사 이상 그리고 당뇨병 신경 장애를 정상 마우스에게 재현할 수 있었다.
- [0439] (실시예 6: 인간 당뇨병 환자에서의 이상 줄기 세포의 특징)
- [0440] 시가 의과 대학 부속 병원 집중 치료실에 입실한 환자를 조사하였다. 시료를 취득한 피험자는, 당뇨병이라고 진단된 환자(3명)(남성 3/여성 0, 평균 연령 72.0±14.2) 및 건강한 피험자(4명)(남성 3/여성 1, 평균 연령 76.5 ± 8.5)였다.

- [0441] 이들 피험자로부터 혈액 시료를 취득하고, 혈액 시료로부터 RNA를 추출하였다. 구체적으로는, 혈액을 1.5ml 채취하고, DNase(Qiagen, Hilden, 도이치)로 DNA를 분해한 후, QIAamp RNA blood mini kit(Qiagen, Hilden, 도이치)를 사용하여 RNA를 추출하였다. 얻어진 RNA로부터 SuperScript(등록 상표) III First-Strand Synthesis System(Invitrogen/ThermoFisher scientific, MA, 미국)을 사용하여 cDNA를 제작하였다. Power SYBR Green PCR Master Mix in a real-time PCR system(Applied Biosystems/ThermoFisher scientific, MA, 미국)을 사용하여 정량적 PCR을 행하고, 발현하고 있는 mRNA를 정량화하였다. 2군간의 비교는 t검정으로 행하였다. 결과를 도 14에 도시한다.
- [0442] 마우스의 결과와 마찬가지로, 인간에 있어서도, 당뇨병 환자에 있어서 인슐린, TNF- α 및 CD106의 발현 상승 경향이 확인되었다. 또한, 당뇨병 환자에 있어서 CD34의 발현 상승 경향이 확인되었지만, 인간에 있어서 CD34는 줄기 세포의 특징을 나타내기 위해서, 마우스의 결과와 마찬가지로, 인간에게 있어서도, 당뇨병 환자에서 이상 줄기 세포가 존재하는 것이 시사되었다.
- [0443] (실시예 7: 이상 줄기 세포를 표적으로 하는 1형 당뇨병 치료)
- [0444] 혈당값의 상승을 확인한 NOD 마우스에 대하여 인슐린 펠릿을 등부 피하에 매립하여 혈당값을 정상화시킨 후, 250 μ g/마우스 용량의 항CD106 항체를 일주일 마다 미정맥 투여했을 경우에, 인슐린 펠릿에 의존하지 않고 정상 혈당값이 지속되는지 여부를 검토한다.
- [0445] 인슐린 펠릿을 매립하여 혈당값을 거의 정상으로 만든 당뇨병 마우스에 대하여 방사선을 조사하여 골수 줄기 세포(LT-HSC 그리고 ST-HSC의 양자)를 사멸시키고, 그 대신에 정상 마우스로부터 채취한 LT-HSC만을 골수 이식한다. 이 조작에 의해, 이식된 마우스의 골수 내에서 LT-HSC로부터 ST-HSC가 새롭게 만들어지게 된다. 여기서, 당뇨병 마우스에 원래 존재한 이상 ST-HSC, 거기에서 분화된 T 세포계 전구 세포(STZ 마우스 및 당뇨병 발증 NOD 마우스에서 이상이 관찰됨) 및 B 세포계 전구 세포(당뇨병 발증 전의 NOD 마우스에서 이상이 관찰됨)는 사멸되었으므로, 이러한 세포에 의해 장기가 상해되는 일은 없다고 생각된다. 또한, 동일한 당뇨병 마우스를 준비하고, 인슐린 펠릿을 매립하지 않고, 혈당값을 높게 유지한 채, 동일한 LT-HSC 골수 이식을 행한다. 이 마우스에서는, 고혈당이 존재한 채이기 때문에, LT-HSC로부터 이상한 ST-HSC가 발생하고, 이것이 여러가지 장기를 상해한다고 예측되므로, 당뇨병 및 그 합병증이 치유되지 않는다고 예측된다.
- [0446] 인슐린 펠릿+LT-HSC의 처리에 의해 이상 ST-HSC가 제거되고, 손상된 췌도가 정상화되어 합병증이 소실될 수 있다.
- [0447] (실시예 8: 스트렙토조토신 유도성 당뇨병 마우스에 있어서의 줄기 세포의 억제제 및 이동제의 조합 처리)
- [0448] 스트렙토조토신 유도성 당뇨병 마우스에서, 이상 줄기 세포의 억제제와 이동제를 조합하는 것에 의한 치료 효과를 시험하였다.
- [0449] 방법
- [0450] 상기와 동일하게 제작한 스트렙토조토신 유도 당뇨병 마우스(당뇨병 발증후 3개월)에 대하여 AMD3100(5mg/kg: Abcam)+ GRO β (0.1mg/kg: Peprotech)를 생리 식염수와 함께 피하 주사하고, 15분 경과 후, 항CD106 항체(250 μ g/마우스)를 미정맥 주사하였다(GA-CD106군). 이 처리를 일주일마다 행하였다. 마찬가지로, AMD3100 및 GRO β 를 투여하지 않고 항CD106 항체를 투여한 군(CD106 군), AMD3100, GRO β 및 항CD106 항체의 어느 것도 투여하지 않은 군(비처리군)에 대해서도 시험하였다. 매일 혈당값과 체중을 측정하고(도 15), 치료 개시 20일 경과 후에 마우스의 관류 고정을 실시하였다.
- [0451] 고정 24시간 후에 고정된 마우스를 15% 수크로오스, 0.1M PB액으로 바꾸어 옮기고, 그 후, 마우스로부터 췌장을 채취하여 췌장의 동결 블록 제작 후, 8 μ m의 동결 절편을 크라이오스탯으로 제작하였다.
- [0452] 그 후, 제작한 동결 절편에 대하여 이하의 순서로 면역 염색하였다(도 16).
- [0453] · 3회 PBS(-)로 10분간 세정한다.
- [0454] · 0.3% H₂O₂의 PBS(-)액에 실온에서 30분간 침지하여 내인성 퍼옥시다아제를 불활성화한다.
- [0455] · 3회 PBS(-)로 5분간 세정한다.
- [0456] · 차단 버퍼(PBS 중 5% 정상 염소 혈청 + 0.3% 트리트론-X100)와 함께 실온에서 1시간 인큐베이트한다.

- [0457] · 1차 항체(항 인슐린 항체: CST사)를 첨가하고, 4℃에서 하룻밤 인큐베이트한다.
- [0458] · 3회 PBS(-)로 5분간 세정한다.
- [0459] · ImmPRESS Reagent(항 토끼: VECTOR Laboratories)을 첨가하여 실온에서 30분간 인큐베이트한다.
- [0460] · 3회 PBS(-)로 5분간 세정한다.
- [0461] · ImmPACT DAB 기질(VECTOR Laboratories)을 첨가하여 실온에서 30초간 반응시킨다.
- [0462] · dH₂O를 첨가하여 DAB 반응을 정지시킨다.
- [0463] · 30초간 헤마톡실린으로 대비 염색한다.
- [0464] · 수돗물로 세정한다.
- [0465] · 탈수하고, 침투시킨다.
- [0466] 제작한 절편 시료를 현미경 하에서 관찰하고, 웨도를 랜덤하게 8 내지 10개 정도 골라 웨도의 크기에 대한 인슐린 양성의 비율을 Image J 소프트웨어로 산출하였다(도 17).
- [0467] 결과
- [0468] 줄기 세포를 이동시켜 항CD106 항체로 치료한 군에서는, 혈당값의 감소를 인정하고(도 15), 면역 염색에서는, 비치료군과 비교하여 인슐린 양성에 에리어가 증가되어 있었다(도 17).
- [0469] 줄기 세포 이동 후, 이상 줄기 세포 억제 처리를 실시함으로써, STZ 투여에 의해 1할 정도 밖에 남아 있지 않았던 췌장의 웨도 인슐린 양성 에리어가, 3 내지 4할 정도까지 회복하였다. 이것은, 줄기 세포 이동제의 투여에 의해 골수의 니치로부터 말초로 방출된 이상 줄기 세포가 항CD106 항체에 의해 상해되고, 다른 한편, 정상적으로 기능하는 줄기 세포가 웨도를 재생될 가능성을 나타낸다.
- [0470] (실시예 9: NOD 마우스에서의 줄기 세포의 억제제 및 이동제의 조합 처리)
- [0471] 자연 발증 1형 당뇨병 모델 마우스(NOD 마우스)에서, 이상 줄기 세포의 억제제와 이동제를 조합하는 것에 의한 치료 효과를 시험하였다.
- [0472] 방법
- [0473] 자연 발증 1형 당뇨병 모델인 NOD 마우스를 니혼 클레아(오사카후)로부터 구입하고, 2주일 마다 혈당값과 체중을 측정하였다. 혈당값의 상승이 인정된 동물에 대하여 AMD3100(5mg/kg: Abcam)+ GROβ(0.1mg/kg: Peprotech)을 생리 식염수로 조제한 뒤 피하 주사하고, 15분 경과 후, 항CD106 항체(250 μg/마우스)를 미정맥 경유로 투여(투여 간격은 일주일마다)하였다. 치료 개시 후, 매일 혈당값 및 체중을 측정하였다(도 18).
- [0474] 또한, 치료 개시 전에, ICR 마우스와, NOD이지만 당뇨병 미발증의 마우스와, 당뇨병이 발증한 NOD 마우스(모든 마우스는 동일 주령을 사용하였다)의 웨도의 상태를 확인하기 위하여 관류 고정을 실시하고, 하기의 요령으로 면역 염색을 실시하였다(도 19).
- [0475] · 3회 PBS(-)로 10 분간 세정한다.
- [0476] · 0.3% H₂O₂의 PBS(-)액에 실온에서 30분간 침지하여 내인성 퍼옥시다아제를 불활성화한다.
- [0477] · 3회 PBS(-)로 5분간 세정한다.
- [0478] · 차단 버퍼(PBS 중 5% 정상 염소 혈청+0.3% 트리톤-X100)과 함께 실온에서 1시간 인큐베이트한다.
- [0479] · 1차 항체(항 인슐린 항체: CST사)를 첨가하고, 4℃에서 하룻밤 인큐베이트한다. · 3회 PBS(-)로 5분간 세정한다.
- [0480] · ImmPRESS Reagent(항 토끼: VECTOR Laboratories)를 첨가하여 실온에서 30분간 인큐베이트한다.
- [0481] · 3회 PBS(-)로 5분간 세정한다.
- [0482] · ImmPACT DAB 기질(VECTOR Laboratories)을 첨가하여 실온에서 30초간 반응시킨다.
- [0483] · dH₂O를 첨가하여 DAB 반응을 정지시킨다.

- [0484] · 30초간 헤마톡실린으로 대비 염색한다.
- [0485] · 수돗물로 세정한다.
- [0486] · 탈수하고, 칩투시킨다.
- [0487] 제작한 각 슬라이드로부터 화상을 취득하였다.
- [0488] 결과
- [0489] NOD 마우스에서, 췌도의 염증 반응은 당뇨병 발증 전부터 매우 강하고, 인슐린의 염색이 매우 낮은 정도였다(도 19). 또한, 상기 처리에 의한 당뇨병 마우스의 혈당값의 저하가 확인되었다(도 18).
- [0490] 이동제와 항체와의 병용 요법은, 명확한 혈당 저하 작용을 나타냈다. 이 효과는 항체에 의한 췌도 기능의 회복에 의한 효과라고 생각된다.
- [0491] 1형 당뇨병에서도, 이상이 있는 조혈 줄기 세포의 제거가 유용한 치료법이라고 시사되었다.
- [0492] (실시에 10: 인간 당뇨병 환자 골수에 있어서의 이상 세포)
- [0493] 인간 당뇨병 환자에 있어서도 골수에 이상 세포가 존재하는 것을 확인하였다.
- [0494] 시가 의과 대학에 입원한 2형 당뇨병(DM) 환자에 있어서, 2000년 1월 1일 내지 2010년 12월 31일 사이에 병리 해부한 예에 대해서, 골수에 있어서의 프로인슐린 양성 세포의 출현 유무를 검토하였다. 조직은, 시가 의과 대학 해부학 센터에서 파라핀에 포매하였다. 파라핀 포매 시료의 5 μm 두께의 절편을 아비딘-비오틴퍼옥시다아제 복합체(ABC)법 및 디아미노벤지딘(DAB)-니켈 반응을 사용하여 면역 조직 화학을 위해서 처리하였다. 크실렌 및 알코올 중에서 탈파라핀화한 후, 절편을 마이크로파(10mmol/L 시트르산 완충액 중, pH 6.0, 0.5kW로 10분간)로 처리한 후, 프로인슐린에 대한 항체(마우스 모노클로날, Abcam, UK)를 0.3% Triton X-100(PBST)을 포함하는 0.1% PBS 중에서 1:1,000 희석한 것으로 밤새 인큐베이트한 후, 4℃에서 면역 조직 화학을 위한 처리를 행하였다. DAB-니켈 반응 후, 절편을 핵 패스트 레드 용액으로 카운터 염색하였다.
- [0495] 결과를 도 20에 도시한다. DM 없음의 환자 유래의 골수 세포에서는 프로인슐린 발현은 관찰되지 않았지만, DM 있음의 환자 유래의 골수 세포에서는 프로인슐린 발현이 관찰되었다. 마우스에서 관찰된 이상 줄기 세포의 발견은 인간에 있어서도 적용 가능하다고 생각된다.
- [0496] (실시에 11: 인간에게의 적용)
- [0497] 인간 당뇨병 환자에 있어서 골수 유래 이상 조혈 줄기 세포를 동정하고, 그것을 표적으로 하여 당뇨병을 치료한다.
- [0498] 연구 계획 1. 당뇨병 환자에 있어서의 골수 유래 이상 조혈 줄기 세포의 동정
- [0499] (대상)
- [0500] 비당뇨병군에 대해서는, 시가 의과 대학 및 부속 병원 직원에 있어서, 내당능 장애의 기왕이 없고, 현재도 당뇨병 치료를 받지 않은 지원자를 모아 수시로 혈당값 및 HbA1c를 측정하고, 수시 혈당값 <140mg/dl 그리고 HbA1c<6.0%를 충족한 사람을 비당뇨병이라고 정의하고, 컨트롤군으로서 20명 등록한다. 당뇨병군에 대해서는, HbA1c가 6.5% 이상 또는 당뇨병 치료중이라고 정의하고, 시가 의과 대학 부속 병원 당뇨병 내분비내과 외래 통원 환자 중에서 전자 카르테로부터 비당뇨병군과 성·연령을 매치시킨 리스트를 작성하고, 무작위로 80명(1형 당뇨병 40명, 2형 당뇨병 40명)을 등록한다.
- [0501] (연구 방법)
- [0502] 피험자의 문진을 행하고, 신장, 체중을 측정하고, 혈액 검사, 뇨 검사를 행하여 당뇨병의 유무를 판정한다. 채취한 혈액으로부터 단핵 세포를 추출하고, CD34 표지 골수 전구 세포를 채취하여 고정하고, 면역 염색에 의해 형태나 발현 단백질을 동정한다. 또한, mRNA를 추출한 후, cDNA를 조제하고, 정량적 PCR에 의해 mRNA의 발현량을 정량한다. 구체적으로는, 말초혈 중의 CD34 양성 그리고 CD106 양성(CD34/CD106) 골수 전구 세포에 있어서, TNF-α mRNA 및 인슐린 mRNA의 발현량 등을 측정한다. 이러한 세포에서의 단백질의 발현 유무도 측정한다. 또한, 당뇨병 환자에서의 당뇨병 합병증의 유무와 혈당 컨트롤과의 관련성을 분석한다. 대표적인 합병증인 당뇨병성 신경 장애, 망막증, 신증, 지방간, 지질 이상증의 유무 그리고 대혈관 장애를 알기 위하여, 신경 전도 속도 검사, 심전도 R-R 간격 검사, 안저 망막 검사, 뇨중 알부민 배출율, 복부 CT를 사용한 복강 내 지방량의 정

량, 혈액 지질 검사, 심전도, 경동맥 에코 검사, 하지 동맥 에코 검사를 행한다.

[0503] (결과의 예측)

[0504] (1) 비당뇨병군 그리고 2형 당뇨병군에서는 말초혈 중의 CD34/CD106 골수 전구 세포에서, TNF- α mRNA 및 인슐린 mRNA의 발현이 보여지지만, 2형 당뇨병군에서의 발현량이 증가한다. 한편, 1형 당뇨병군에서는 CD34/CD106 골수 전구 세포에서, TNF- α mRNA의 발현은 비당뇨병에 비교하여 증가하지만, 인슐린 mRNA는 전혀 발현하지 않는다.

[0505] (2) 비당뇨병군에서는 말초혈 중의 CD34/CD106 골수 전구 세포에 있어서, TNF- α 및 프로인슐린의 단백질을 발현하고 있는 세포는 거의 없다. 이것에 비하여, 2형 당뇨병에서는 모두 발현하고 있는 세포가 증가한다. 한편, 1형 당뇨병에서는 TNF- α 단백질을 발현하는 세포는 증가하지만, 프로인슐린을 발현하고 있는 세포는 전무하다.

[0506] (3) 1형 당뇨병 환자에 있어서, 대표적인 합병증인 당뇨병성 신경 장애, 망막증, 신증, 지방간, 지질 이상증의 발증은 말초혈 중의 CD34/CD106 골수 전구 세포에서의 TNF- α 단백질 양성 세포의 증가에 관련한다. 한편, 2형 당뇨병 환자에서는 당뇨병성 신경 장애, 망막증, 신증, 지방간, 지질 이상증의 발증은 말초혈 중의 CD3/CD106 골수 전구 세포에서의 TNF- α 단백질 양성 세포의 증가 그리고 프로인슐린 양성 세포의 증가에 관련한다.

[0507] (고찰과 결론의 예상)

[0508] 1) 비당뇨병에서는 약간이기는 하지만 혈중에 인슐린 mRNA 및 TNF- α mRNA를 발현하는 CD34/CD106 골수 전구 세포가 존재한다. 이 세포는 체도에 귀소(homing)했을 때에 자기 항원을 제시하는 내피 세포로서 기능하고 있는 것이 아닐까라고 상정된다.

[0509] 2) 2형 당뇨병에서는 고혈당에 의해 이 세포(인슐린 mRNA 및 TNF- α mRNA를 발현하는 CD34/CD106 골수 전구 세포)가 골수 내 및 혈중에 있는 상태에서, 이미 프로인슐린 그리고 TNF- α 단백질을 발현함과 동시에, 이상한 기능을 가진 혈관 내피로서 분화되거나, 이상한 세포 융합능을 가짐으로써 인슐린 저항성이나 여러가지 합병증의 원인이 되는 것이 아닐까라고 상정된다.

[0510] 연구 계획 2. 골수 유래 이상 조혈 줄기 세포를 표적으로 한 당뇨병의 치료

[0511] (대상)

[0512] 연구 계획 1에 따라, 시가 의과 대학 그리고 공동 연구 시설에서, 당뇨병 환자 280명(1형 당뇨병 140명, 2형 당뇨병 140명)을 등록한다. 1형, 2형 모두 당뇨병은 일단 발증하면 치유할 수는 없다고 여겨지고 있다. 그러나, 1형 당뇨병에 있어서는 인슐린을 사용한 엄중한 혈당 관리에 의해 일시적인 관해를 나타내는 허니문기가 출현하는 것이 알려져 있다. 그 기간은 보고에 따라 각각각색인데, 일반적으로는 1개월에서 13년(Wallenstein M, Dahlquist G, Persson B, Landin-Olsson M, Lernmark A, Sundkvist G, Thalme B (1988) Factors influencing the magnitude, duration, and rate off all of β -cell function in type 1 (insulin-dependent) diabetic children followed for two years from their clinical diagnosis. *Diabetologia* 31: 664-669)이라는 보고가 있다. 따라서, 본 치료 계획을 시행함으로써, 허니문기가 온 것인지, 질환 자체가 치유된 것인지의 구별이 곤란해지는 것으로 생각된다. 또한, 2형 당뇨병에 있어서도, 엄격한 컨트롤에 의해 인슐린 저항성은 경도해지는 것이 보고되어 있다(H.E. Lebovitz (2001) Insulin resistance: definition and consequences. *Clin Endocrinol Diabetes* 109 Suppl 2: S135-S148). 이에 따라, 인슐린이나 경구제 등의 치료약의 양, 그리고 내인성의 인슐린 분비능의 개선이 보여질 가능성이 있다. 따라서, 1형 및 2형의 모두 급회의 치료 연구에서는, 인슐린 단독에 의해 치료하는 군과 신규 치료법을 하는 군을 제작하여 비교 검토할 필요가 있다.

[0513] (연구 방법)

[0514] 피험자의 문진을 행하고, 신장, 체중을 측정하고, 혈액 검사, 뇨 검사를 행하여 당뇨병 유무를 판정한다. 채취한 혈액으로부터 단핵 세포를 추출하고, CD34 표지 골수 전구 세포를 채취하여 고정하고, 면역 염색에 의해 형태나 발현 단백질을 동정한다. 또한, mRNA를 추출한 후, cDNA를 조제하고, 정량적 PCR에 의해 mRNA의 발현량을 정량한다. 구체적으로는, 말초혈 중의 CD34 양성 그리고 CD106 양성 골수 전구 세포에 있어서, TNF- α mRNA 및 인슐린 mRNA의 발현량 등을 측정한다. 이러한 세포에 있어서의 단백질의 발현 유무도 측정한다. 또한, 당뇨병 환자에 있어서의 당뇨병 합병증의 유무와 혈당 컨트롤과의 관련성을 분석한다. 대표적인 합병증인 당뇨병성 신경 장애, 망막증, 신증, 지방간, 지질 이상증의 유무 그리고 대혈관 장애를 알기 위하여, 신경 전도 속도 검사, 심전도 R-R 간격 검사, 안저 망막 검사, 뇨중 알부민 배출율, 복부 CT를 사용한 복강 내 지방량의 정량, 혈액

지질 검사, 경동맥 에코 검사, 하지 동맥 에코 검사를 행한다.

- [0515] 1형 예를 무작위로 20예씩의 7군, 2형 예를 20예씩의 7군으로 각각 분류한다. 1형 및 2형에서, 각각 20예는 인슐린 치료만으로 3개월간 컨트롤하고(컨트롤군), 나머지 120예 중 60예는 인슐린 치료를 개시함과 동시에 이하의 3종류의 치료를 각각 20예에 대해서 개시한다(이동제 없음의 치료군), 1) 항TNF- α 항체(아달리무맙 40mg 또는 인플릭시맙 3mg/kg, 2) 항CD106 항체(0.8mg/kg), 3) 트리코 스타틴(0.5mg/kg)을 1주일에 1회 정맥 내 투여하고, 이것들을 12주간 계속한다. 나머지 60예는 인슐린 치료를 개시함과 동시에 이하의 3종류의 치료를 각각 20예에 대해서 개시한다(이동제 있음의 치료군). 세포 이동제인 GroB (100ug/kg)+플렉시사포르(0.24mg/kg)와 함께, 1) 항TNF- α 항체(아달리무맙 40mg 또는 인플릭시맙 3mg/kg), 2) 항CD106 항체(0.8mg/kg), 3) 트리코 스타틴(0.5mg/kg)을 1주일에 1회 정맥 내 투여하고, 이것들을 12주간 계속한다.
- [0516] (치료 효과의 판정 방법)
- [0517] 환자는 1일 6회의 자기 혈당 측정을 행한다. 혈당 컨트롤의 목표는 인슐린 치료에 의해 식전 혈당값 140mg/dl 이하, 식후 2시간 혈당값 200mg/dl 이하로 한다. 컨트롤 기준을 충족하도록 적극적으로 인슐린량의 증감을 도모하고, 최종적으로 12주일째에서의 혈당 컨트롤을 위한 인슐린 필요량을 가지고, 치료 연구 기간을 종료한다.
- [0518] 치료 효과의 판정은, 치료 전, 치료 종료 시, 치료 종료 후 3, 6, 9, 12개월째에서, 하기의 판정 항목을 치료 효과로서 추적 판정한다.
- [0519] (판정 항목)
- [0520] (A) 이상 조혈 줄기 세포를 소실시키는 효과
- [0521] 말초 혈액 중에 있는 CD34/CD10 골수 전구 세포 중에 있어서의 발현 단백질(CD34, 프로인슐린, TNF- α , CD106 등) 및 발현 유전자(CD34 mRNA, 인슐린 mRNA, TNF- α mRNA, CD106 mRNA 등)를 정량한다.
- [0522] (B) 당뇨병을 치유시키는 효과
- [0523] 혈당값, HbA1c, 뇨중 CPR, 지질, 글루카곤 부하 시험을 사용한 인슐린 분비 능을 치료 전후에 행한다. 체도 관련 항체의 측정 그리고 그 소실 유무를 밝힌다.
- [0524] (C) 합병증에 대한 치료 효과
- [0525] 대표적인 합병증으로서 당뇨병성 신경 장애, 망막증, 신증, 지방간, 지질 이상증, 대혈관 장애의 유무 그리고 변화를 치료 전후에서 비교 검토한다.
- [0526] (결과의 예측)
- [0527] 1) 인슐린 단독으로의 치료에 의해 이하가 명확해진다.
- [0528] (A) 1형 당뇨병, 2형 당뇨병 모두, 이상 조혈 줄기 세포는 소실되지 않는다.
- [0529] (B) 당뇨병을 치유시키는 효과는 보이지 않는다.
- [0530] (C) 합병증에 대한 치료 효과는 다소 보이지만, 치유되지는 않는다.
- [0531] 2) 세포 이동제의 유무에 관계 없이 신규 치료에 의해 이하가 명확해진다.
- [0532] (A) 1형 당뇨병, 2형 당뇨병 모두 이상 조혈 줄기 세포가 소실된다.
- [0533] (B) 1형 당뇨병, 2형 당뇨병 모두 일단 치유한다.
- [0534] (C) 1형 당뇨병, 2형 당뇨병 모두 합병증의 진행이 정지되고, 명확한 치료 효과가 보여진다.
- [0535] 3) 세포 이동제를 첨가한 신규 치료에 의해 이하가 명확해진다.
- [0536] (A) 이동제 없음과 비교하여 이동제를 첨가한 신규 치료에 의해, 1형 당뇨병, 2형 당뇨병 모두 이상 조혈 줄기 세포가 보다 조기에 소실된다.
- [0537] (B) 이동제 없음과 비교하여 이동제를 첨가한 신규 치료에 의해, 1형 당뇨병, 2형 당뇨병 모두 치유율의 향상이 보여진다.
- [0538] (C) 이동제 없음과 비교하여 이동제를 첨가한 신규 치료에 의해, 1형 당뇨병, 2형 당뇨병 모두 합병증의 치유율

의 향상이 보여진다.

[0539] (고찰과 결론의 예상)

[0540] 1) 1형에서는 인슐린 단독 치료이어도, 혈당 컨트롤 효과에 의해 허니문기가 도래할 가능성이 있다. 그러나, 이 경우, 머지않아 다시 관해가 종료되고, 인슐린 분비능은 다시 결핍되게 된다.

[0541] 2) 2형 당뇨병에서는 인슐린 단독 치료에 의해, 혈당 컨트롤이 좋아져, 인슐린 치료가 필요 없어질 가능성이 있지만, 이상 조혈 줄기 세포가 소실되는 일은 없으므로, 당뇨병이 치유되지 않는다.

[0542] 3) 세포 이동제를 첨가한 신규 치료에 의해, 1형 당뇨병이 치유되어도, 자기 항체를 산생하는 원인이 된 자기 면역이 재연하면 가능성은 남아 있다. 그러나, 다시 세포 이동제를 첨가한 신규 치료를 행하면 된다.

[0543] 4) 2형 당뇨병이 세포 이동제를 첨가한 신규 치료에 의해 완전히 치유되어도, 에너지의 과잉 섭취나 운동 부족에 의해 다시 고혈당이 일어나게 되면 이상 조혈 줄기 세포가 출현하게 될 가능성이 있다. 이 경우도 세포 이동제를 첨가한 신규 치료를 다시 행하면 치료 가능하다.

[0544] (주기)

[0545] 이상과 같이, 본 개시의 바람직한 실시형태를 사용하여 본 개시를 예시해 왔지만, 본 개시는, 특허청구 범위에 의해서만 그 범위가 해석되어야 하는 것이라고 이해된다. 본 명세서에서 인용한 특허, 특허 출원 및 다른 문헌은, 그 내용 자체가 구체적으로 본 명세서에 기재되어 있는 것과 마찬가지로 그 내용이 본 명세서에 대한 참고로서 인용되어야 하는 것이 이해된다.

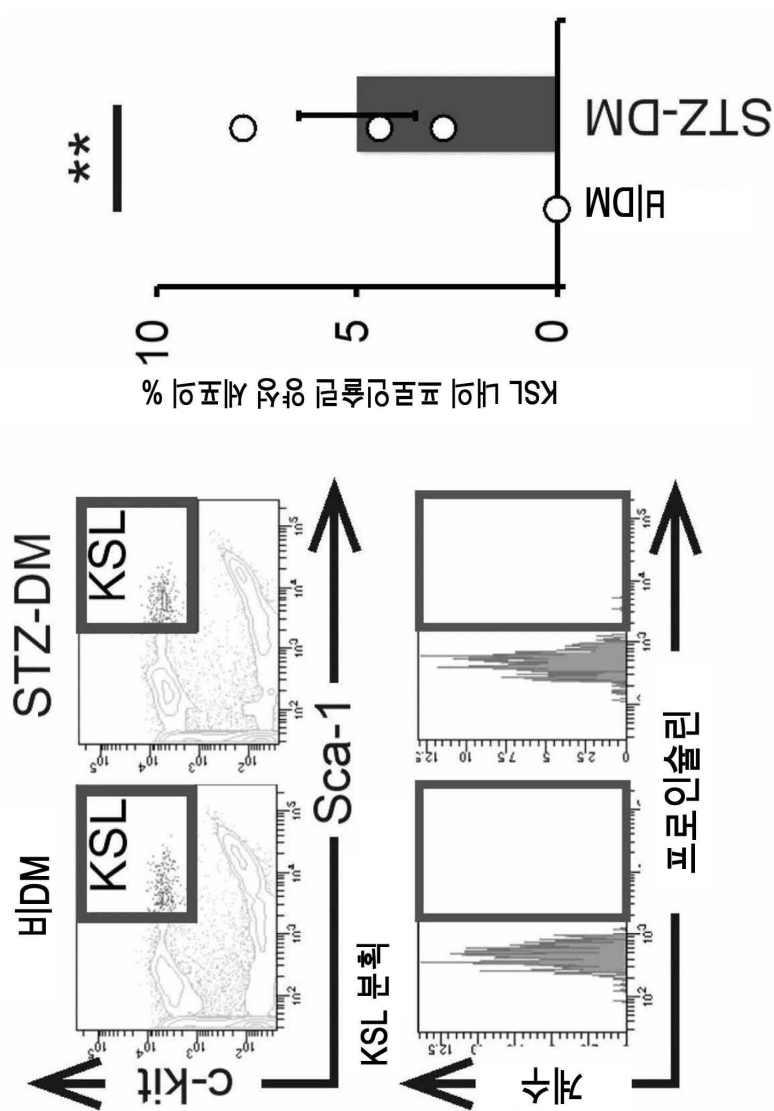
[0546] 본 출원은, 2019년 10월 18일에 일본 특허청에 출원된 일본 특허 출원 제2019-191369호에 대한 우선권의 이익을 주장하고, 그 내용 전체가 본 명세서에 인용된다.

산업상 이용가능성

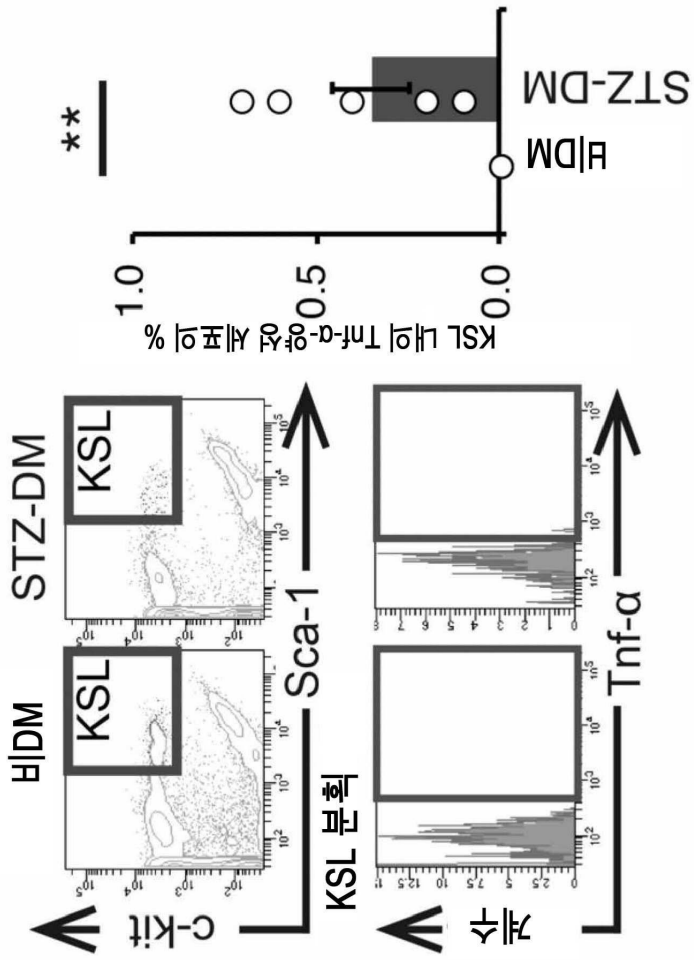
[0547] 본 개시는, 줄기 세포를 표적으로 하는 당뇨병 치료의 개선을 제공하고, 이 발견에 기초하여, 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상의 치료나 예방, 그리고 당뇨병 및/또는 당뇨병에 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상, 또는 그의 리스크의 진단을 행하기 위한 새로운 방법이 제공된다.

도면

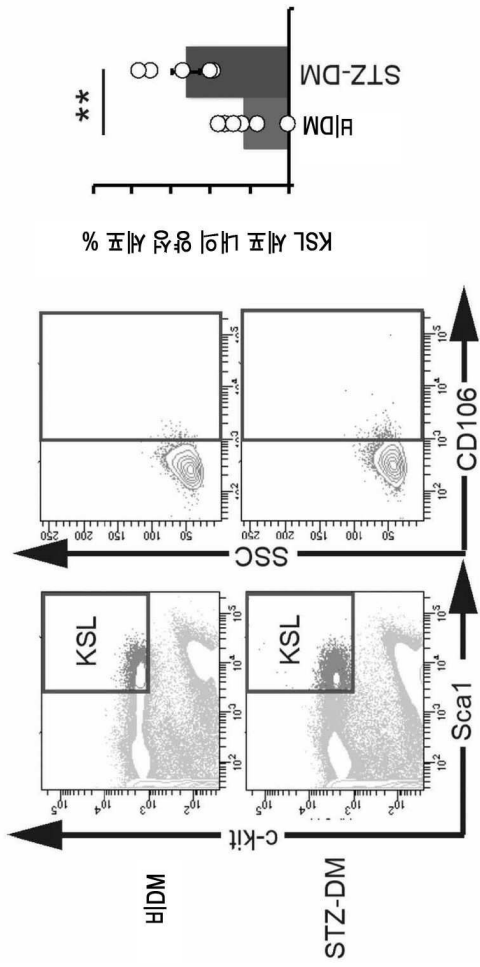
도면1



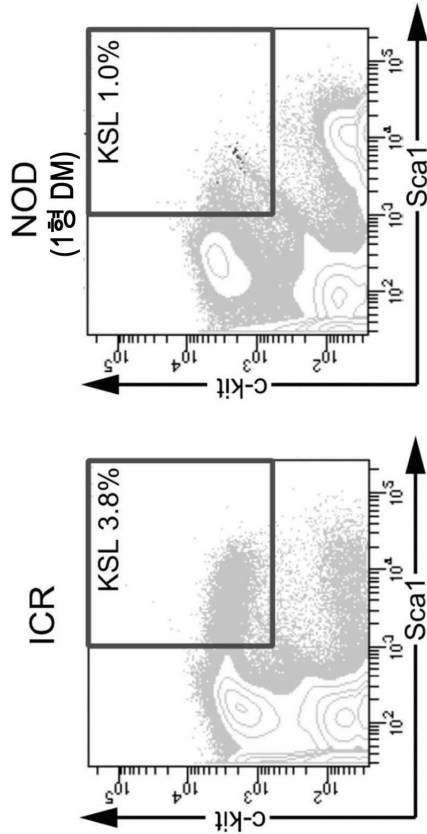
도면2



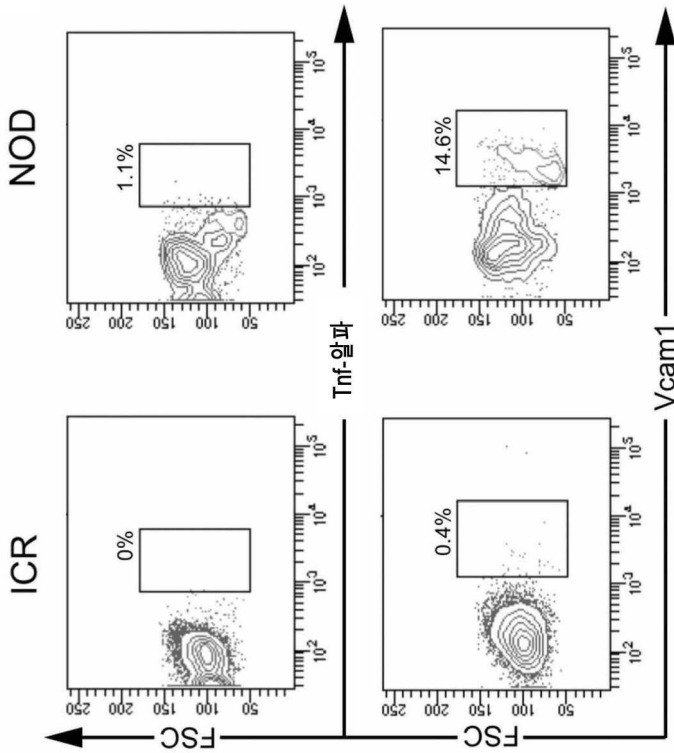
도면3



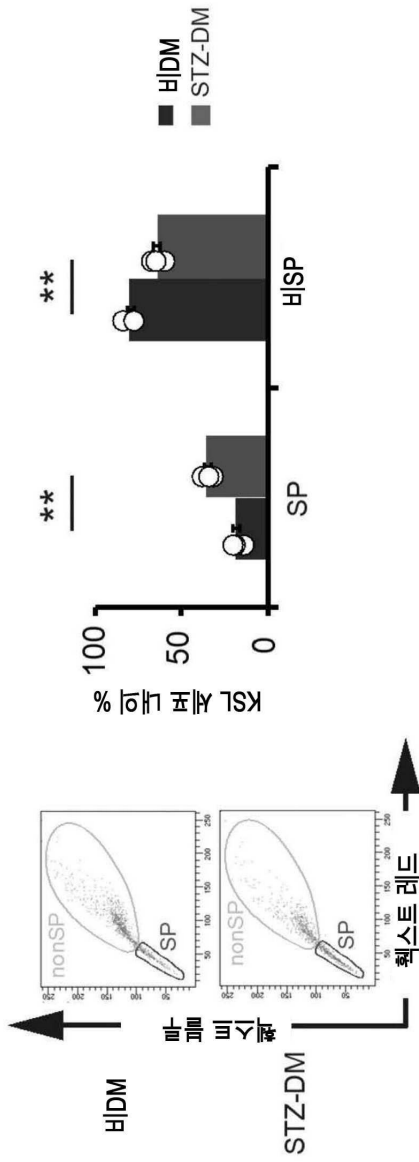
도면4



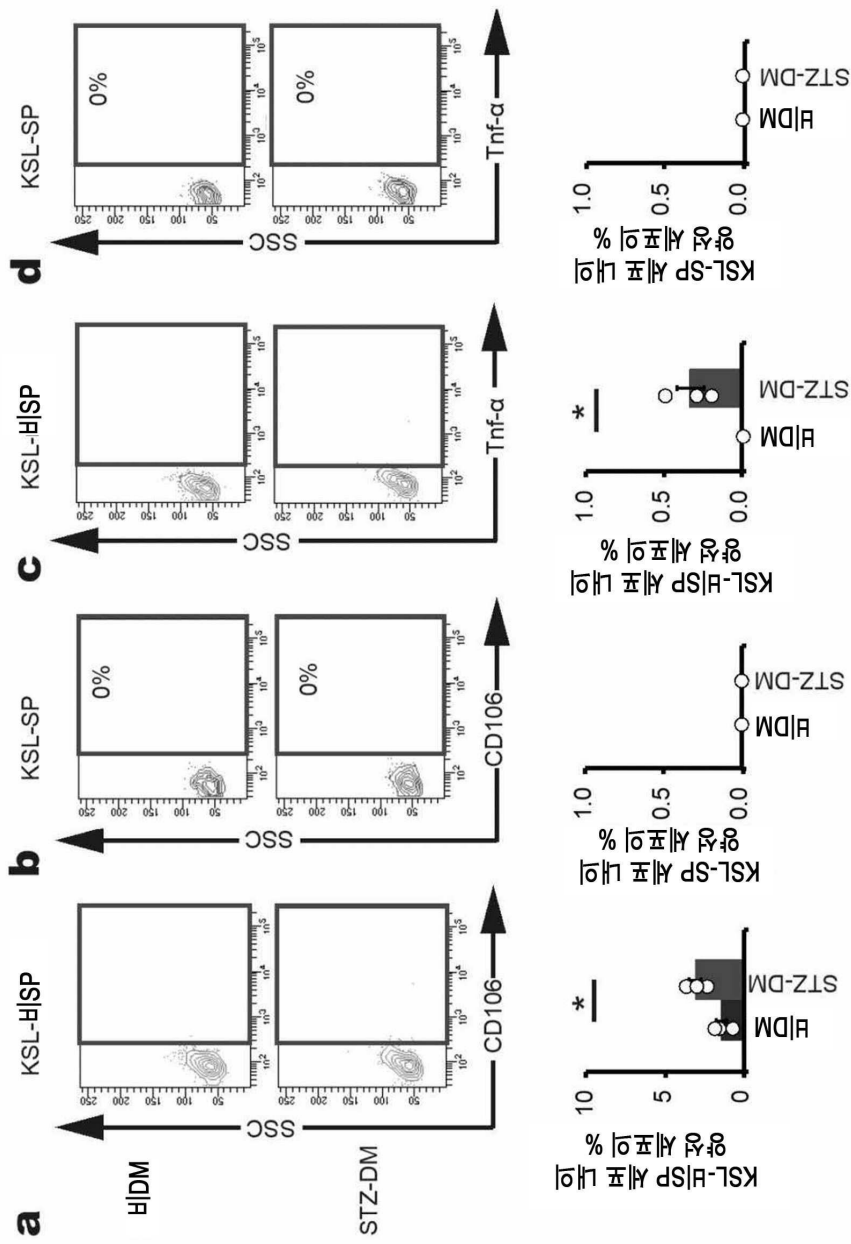
도면5



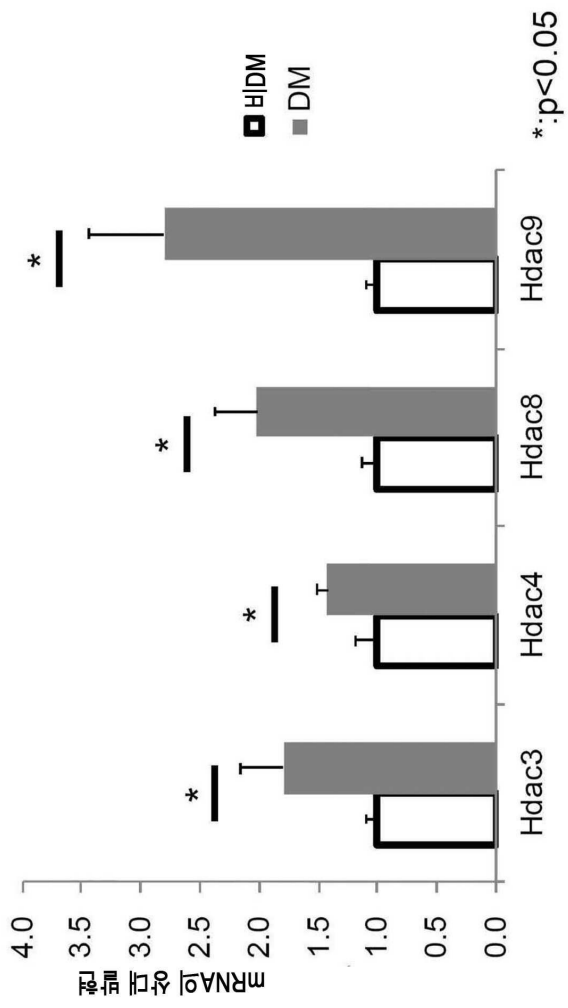
도면6



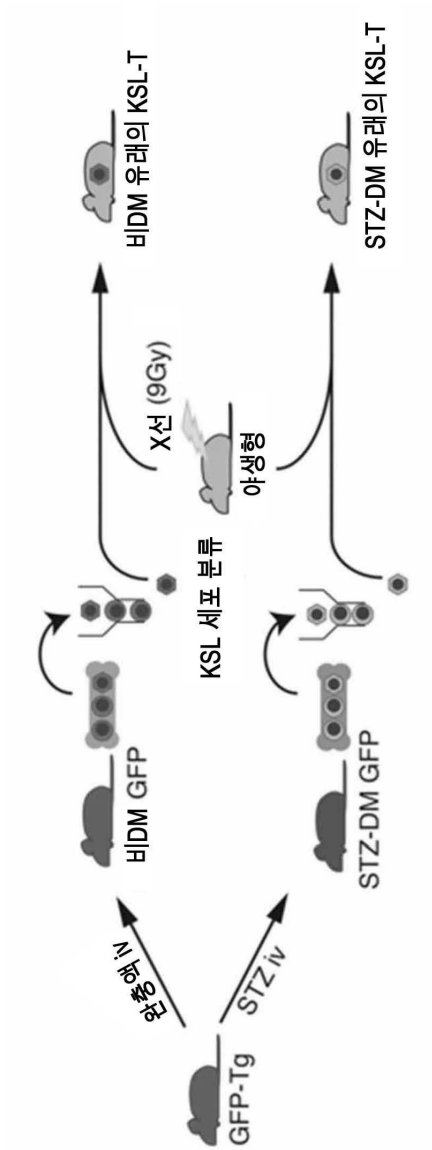
도면7



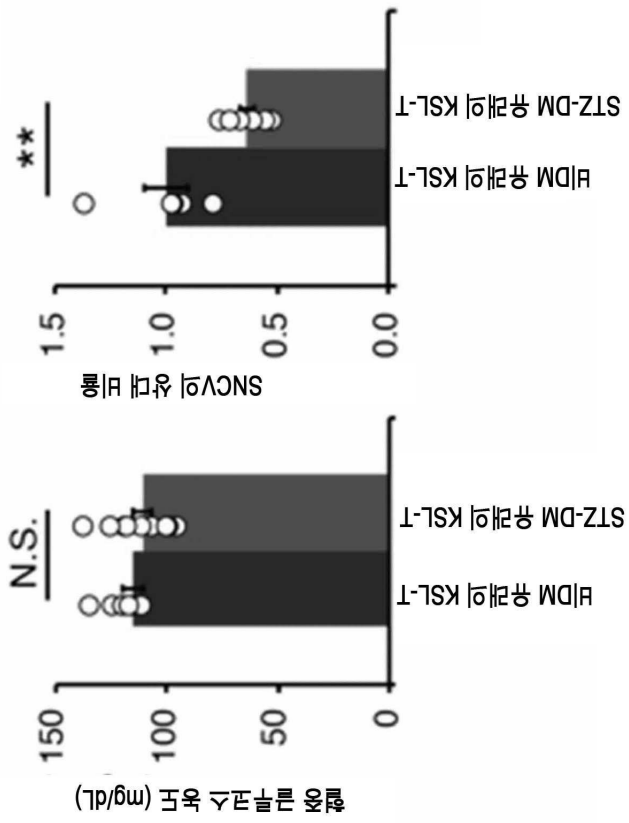
도면8



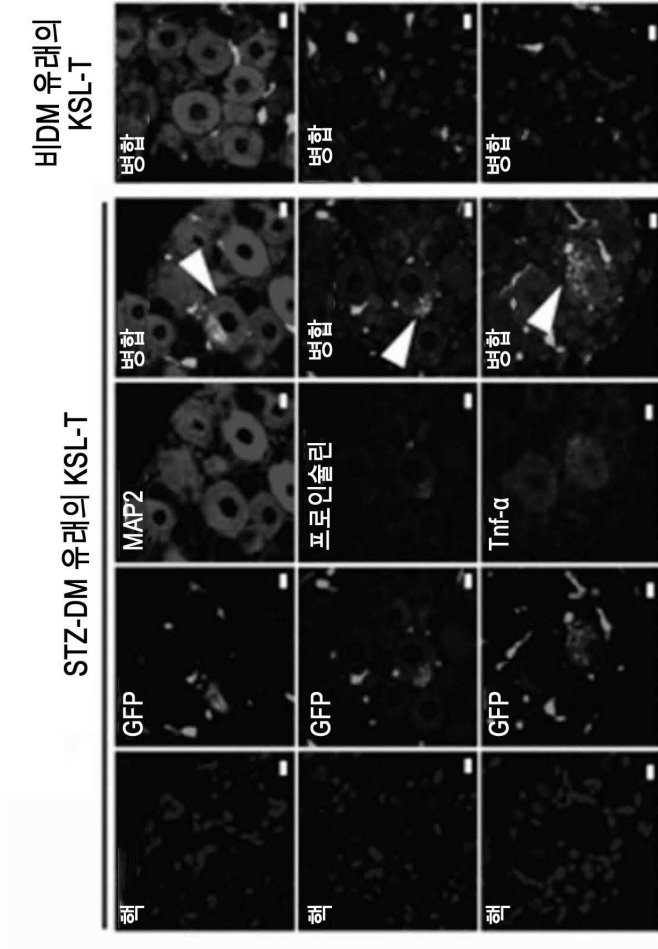
도면9



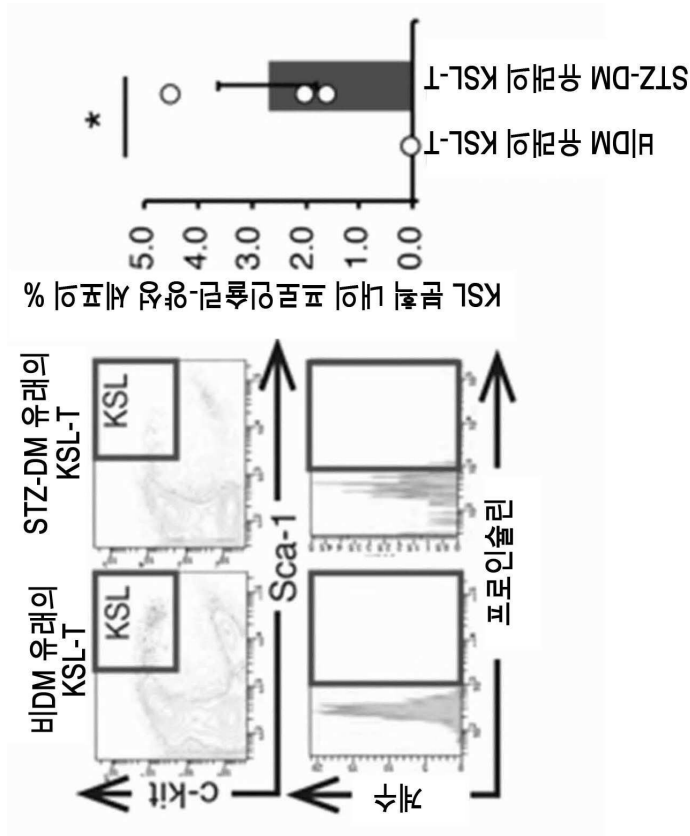
도면10



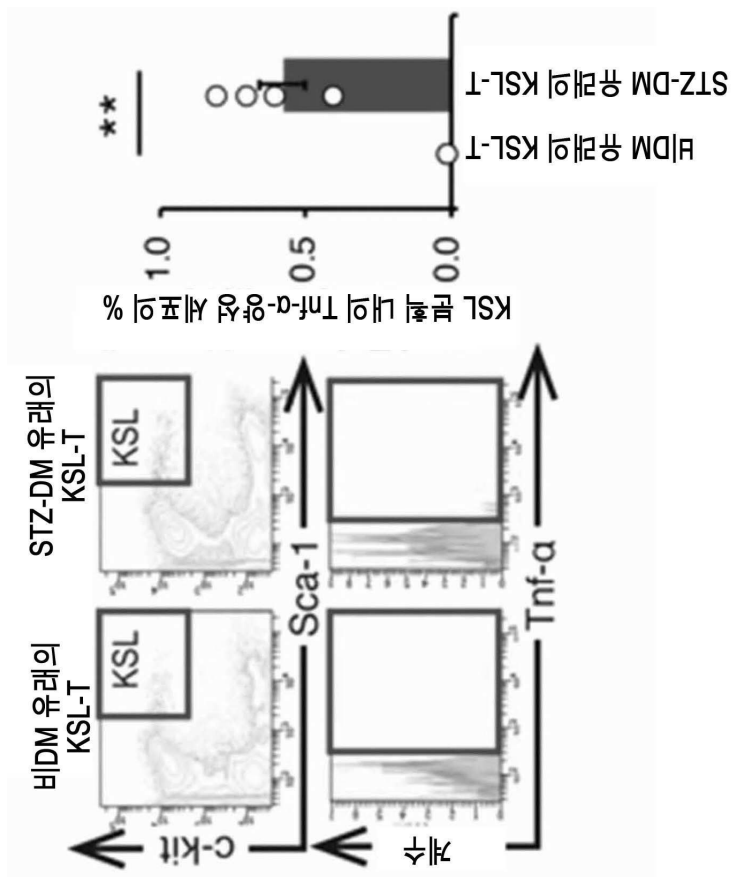
도면11



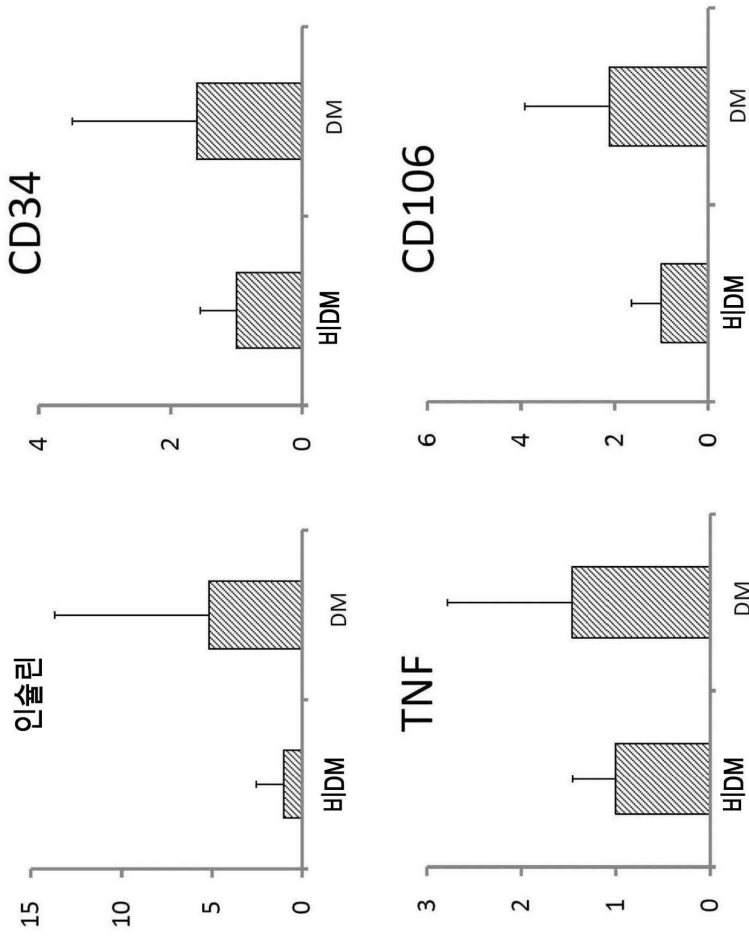
도면12



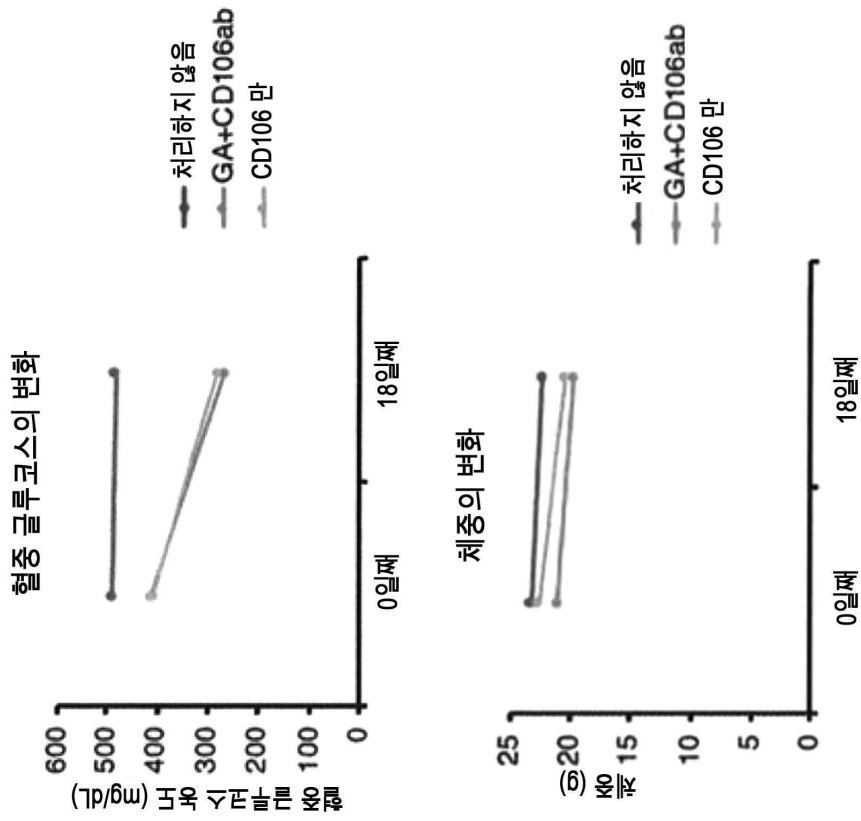
도면13



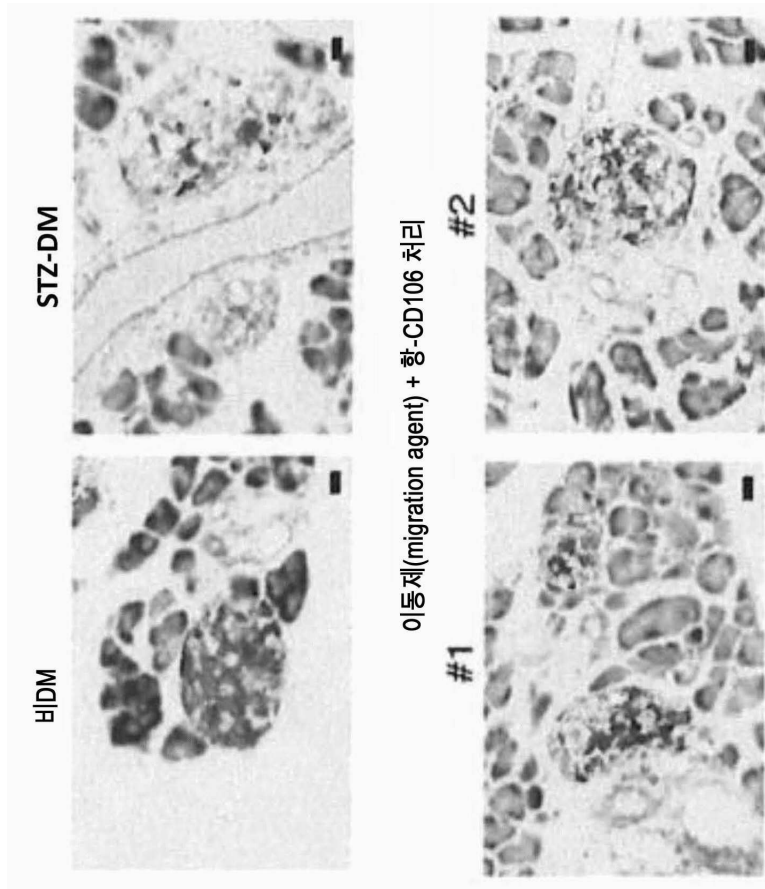
도면14



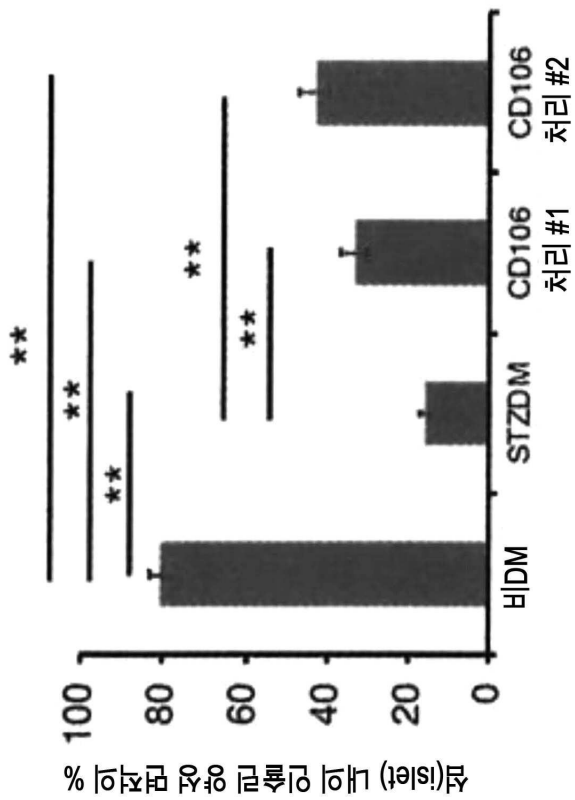
도면15



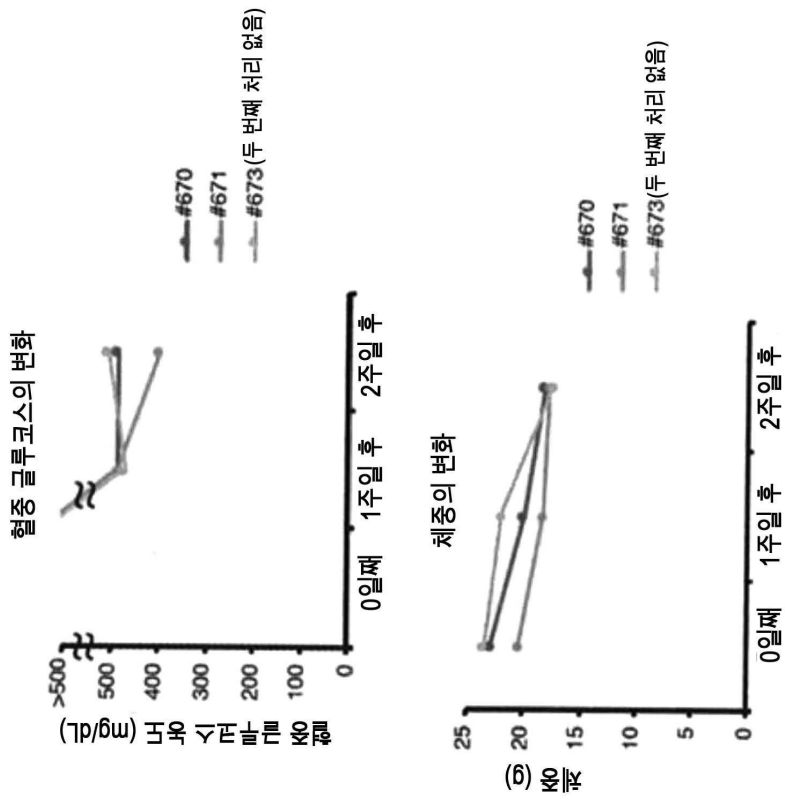
도면16



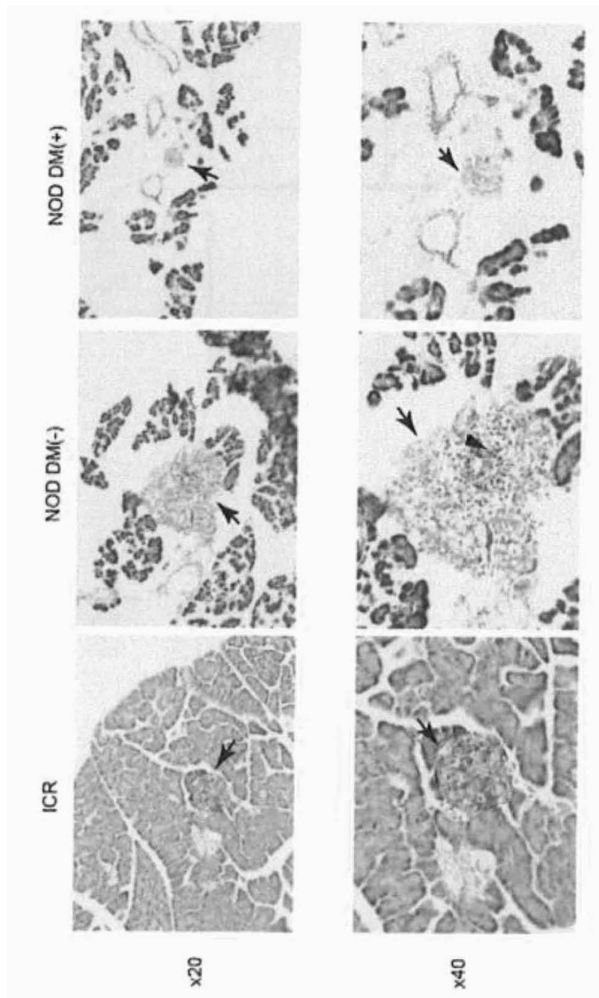
도면17



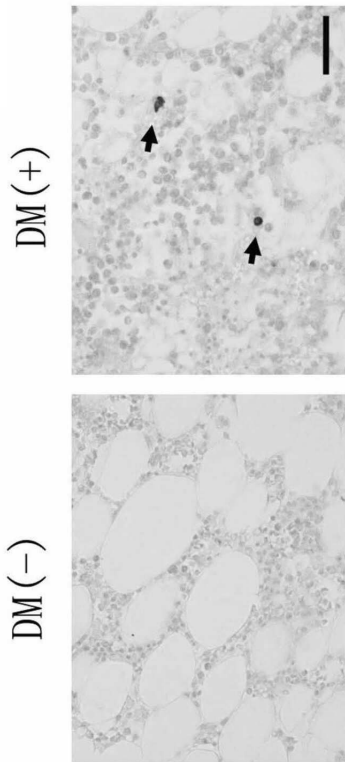
도면18



도면19



도면20



수준