(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0093575
(43) 공개일자 2024년06월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/167 (2006.01) *A61K 31/137* (2006.01)
A61K 31/18 (2006.01) *A61K 31/40* (2006.01)
A61K 31/4045 (2006.01) *A61P 3/10* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/167 (2013.01)
A61K 31/137 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7015966
(22) 출원일자(국제) 2022년10월27일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년05월14일
(86) 국제출원번호 PCT/JP2022/040140
(87) 국제공개번호 WO 2023/074794
국제공개일자 2023년05월04일
(30) 우선권주장
JP-P-2021-177845 2021년10월29일 일본(JP)

(71) 출원인
가부시키가이샤 바이오지프코드
일본국 시가켄 오오츠시 세타츠키노와초 내셔널 유니버시티 코포레이션 시가 유니버시티 오브 메디컬 사이언스 바이오메디컬 이노베이션 센터 (우편번호: 5202192)
(72) 발명자
코지마 히데토
일본, 시가 5202192, 오츠시, 세타 츠키노와쵸, 씨/오 내셔널 유니버시티 코포레이션 시가 유니버시티 오브 메디컬 사이언스
카타기 미와코
일본, 시가 5202192, 오츠시, 세타 츠키노와쵸, 씨/오 내셔널 유니버시티 코포레이션 시가 유니버시티 오브 메디컬 사이언스
(74) 대리인
특허법인한얼

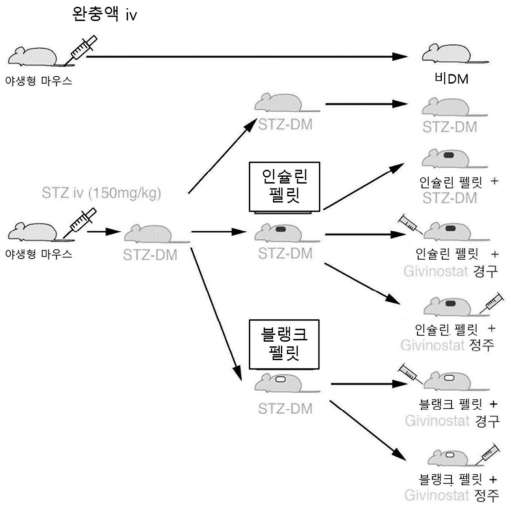
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 **HDAC 조절제에 의한 당뇨병 및 합병증의 치료 방법 또는 치료제**

(57) 요 약

본 개시는, 신규 당뇨병 치료를 제공한다. 본 개시는, 혈당의 제어 및 HDAC 조절을 조합한 당뇨병 치료를 제공한다. 하나의 실시 형태에서는, 본 개시는, 혈당의 제어 및 HDAC 조절을 조합한 당뇨병 및/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상의 치료를 제공한다. 하나의 실시 형태에서는, 혈당의 제어 및 HDAC 조절의 조합에 의해 이상 줄기 세포를 표적으로 함으로써 당뇨병 및/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상이 치료된다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61K 31/18 (2013.01)
A61K 31/40 (2013.01)
A61K 31/4045 (2013.01)
A61P 3/10 (2018.01)
A61K 2300/00 (2023.05)

명 세 서

청구범위

청구항 1

대상에서 당뇨병 및/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한, 히스톤 탈아세틸화 효소(HDAC) 조절제를 포함하는 조성물로서, 해당 대상의 혈당이 제어된 상태에서 해당 조성물이 투여되는 것을 특징으로 하는, 조성물.

청구항 2

대상에서 당뇨병 및/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한, 히스톤 탈아세틸화 효소(HDAC) 조절제를 포함하는 조성물로서, 혈당 제어 처치와 조합하여 투여되는 것을 특징으로 하는, 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 HDAC 조절제가, 클래스 I, 클래스 II 및 클래스 IV의 HDAC 중 적어도 하나를 저해하는, 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 HDAC 조절제가, 핑골리모드, 기비노스탓, 보리노스탓(SAHA, 수베로일아닐리드히드록삼산), 벨리노스탓, 파노비노스탓, 레스미노스탓, 아벡시노스탓, 모세티노스탓, 트리코스타틴 A(TSA), 로미뎁신, 아피시딘, 치다미드, 엔티노스탓, 타세디날린, 투시디노스탓, 프라시노스탓(SB939), 키시노스탓, 테피노스탓, 로실리노스탓, 피메피노스탓, 나나티노스탓, 도마티노스탓, 트라폭신(TPX), 환식 히드록삼산 함유 펩티드 1(CHAP1), 발프로산(VPA), 부티르산 나트륨(NaBu), 4-페닐부티르산, OBP-801, ME-344, CG200745, MPT0E014, RGFP966(MCE, HY-13909), SK-7041, 스크립트에이드(Scriptaid), MC1568, MHY2256, 리콜리노스탓(ACY-1215), 튜바신(Tubacin(S2239)), 튜바티안 A(Tubathian A), 튜바스타틴 A(Tubastatin A), 포자마이드(Pojamide), AN7, CUDC-101, KD5170, R36465, SOU-HDAC42, LBH589, SFN, 페닐헥실이소티오시아네이트, 다시노스탓(LAQ824), CBHA(m-카르복시신남산 bis-히드록사미드), 아제라로일 bis-히드록삼산(ABHA)(N,N'-디히드록시노난디아미드), AR-42, 수베로일 bis-히드록삼산(SBHA), 피발산 부티릴옥시메틸(pivanex, AN-9), 디알릴트리술피드(DATS), PCI-24781, 니코틴아미드, 테노빈-1, 테노빈-6, 시르티놀(Sirtinol), EX-527, HBI-8000, 케베트린, CHR-3996, 4SC202, WW437, α-케토아미드류, 복소환식 케톤류, 캄비놀, I-7ab, C149, 데푸데신, SEN 196, 컴파운드6J(COMPOUND6J), JGB1741, JQ1, I-BET151, BY27, CUDC907, DWP0016, MC1568, W2, RGFP109, 티노스타무스틴(EDO-S101), J22352, M344, ITF-3056, TMP195(TFMO 2), MI192, 산타크루자메이트A(CAY10683), ACY-738, BML-281(CAY10603), LTB2, CKD-506, WK2-16, PCI-3 4051, ESM-HDAC528, 머크60(Merck60), HNHA((N-히드록시-7-2-나프틸티오)헵타노미드), KBH-A42, AGK2, 술포라판, MS-275, 레스베라트롤, APHA, 커큐민, 레메티노스탓, 시타리노스탓, 다시노스탓, 드록시노스탓, BRD3308, 님볼리드, 베타인, 및 크리소파놀로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 HDAC 조절제가, 핑골리모드, 기비노스탓, 트리코스타틴 A, 보리노스탓, 벨리노스탓, 파노비노스탓, 레스미노스탓, 아벡시노스탓, 키시노스탓, 프라시노스탓, 로실리노스탓, 나나티노스탓, 다시노스탓, (N-히드록시-7-2-나프틸티오)헵타노미드, 발프로산, CG200745, 스크립트에이드, KBH-A42, 로미뎁신, 부티르산 나트륨, 4-페닐부티르산, SK-7041, WW437, 엔티노스탓, 타세디날린, 모세티노스탓, 피발산 부티릴옥시메틸, 트라폭신, α-케토아미드류, 복소환식 케톤류, 디알릴트리술피드, 리콜리노스탓, 튜바신(Tubacin), 아제라로일 bis-히드록삼산, 및 m-카르복시신남산 bis-히드록사미드로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 혈당의 제어는, 혈당 강하제의 투여, 식사 제한 및 영양 주입

제어로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나에 의해 이루어지는, 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 혈당 강하제는, 인슐린, 인슐린 아날로그, 비구아니드약, 인슐린 분비 촉진약, 속효형 인슐린 분비 촉진약, 인크레틴 관련약, 당흡수 조절약, 인슐린 저항성 개선약, 뇨당 배설약, 및 이것들의 2 이상의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 혈당의 제어는, 공복 시 혈당을 126mg/dL 미만으로 제어하는 것, 경구 포도당 부하 시험의 2시간에서의 혈당값을 200mg/dL 미만으로 제어하는 것, 또는 수시 혈당값을 200mg/dL 미만으로 제어하는 것을 포함하는, 조성물.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 당뇨병 및/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/또는 증상을 치료하기 위한, 조성물.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 질환, 장애 및/또는 증상은, 당뇨병 합병증을 포함하는, 조성물.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 질환, 장애 및/또는 증상은, 신경 장애, 신증, 간장 장애, 망막증, 지방간, 위장 장애, 골절 치유 지연, 섭식 장애, 및 피부 장애로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상은 이상 조혈 줄기 세포(HSC) 또는 거기에서 유도된 세포를 갖는 것으로 진단되어 있는, 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 이상 조혈 줄기 세포는, HDAC의 어느 레벨의 변동 및 CD106 레벨의 향상 중 적어도 하나를 특징으로 하는, 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 개시는, 히스톤 탈아세틸화 효소(HDAC) 조절과 혈당 제어를 조합한 당뇨병 및/또는 그 관련 질환의 치료 및 예방에 관한 것이다. 보다 특정하면, 본 개시는, 혈당이 제어된 대상에 있어서 HDAC를 조절하는 것 및/또는 혈당 제어 처치와 조합하여 HDAC를 조절하는 것에 의한 당뇨병 및/또는 그 관련 질환의 치료 및 예방에 관한 것이다.

배 경 기 술

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

선행기술문헌

비특허문헌

[0003] (비특허문헌 0001) 당뇨병 진료 가이드 라인 2016, 일본 당뇨병 학회, 난코도

발명의 내용

과제의 해결 수단

[0004] 본 발명자들은, 혈당 제어와 조합한 HDAC 조절에 기초하는 당뇨병 및/또는 그 관련 질환의 치료 전략이, 매우 효과적이라는 것을 발견하였다. 이 새로운 지견에 기초하여, 본 개시는, 당뇨병 및/또는 그 관련 질환의 치료를 위한 수단을 제공한다.

[0005] 따라서, 본 개시는 이하를 제공한다.

[0006] (항목 1)

[0007] 대상에 있어서의, 당뇨병 그리고/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한, 히스톤 탈아세틸화 효소(HDAC) 조절제를 포함하는 조성물이며, 해당 대상의 혈당이 제어된 상태에서 해당 조성물이 투여되는 것을 특징으로 하는, 조성물.

[0008] (항목 2)

[0009] 대상에 있어서의, 당뇨병 그리고/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한, 히스톤 탈아세틸화 효소(HDAC) 조절제를 포함하는 조성물이며, 혈당 제어 처치와 조합하여 투여되는 것을 특징으로 하는, 조성물.

[0010] (항목 3)

[0011] 상기 HDAC 조절제가, 클래스 I, 클래스 II 및 클래스 IV의 HDAC 중 적어도 하나를 저해하는, 상기 항목 중 어느 것의 조성물.

[0012] (항목 4)

[0013] 상기 HDAC 조절제가, 핑골리모드(FTY720), 기비노스탓, 보리노스탓(SAHA, 수베로일아닐리드히드록삼산), 벨리노스탓, 파노비노스탓, 레스미노스탓, 아벡시노스탓, 모세티노스탓, 트리코스타틴 A(TSA), 로미뎁신, 아피시딘, 치다미드, 엔티노스탓, 타세디날린, 투시디노스탓, 프라시노스탓(SB939), 키시노스탓, 테피노스탓, 로실리노스탓, 피메피노스탓, 나나티노스탓, 도마티노스탓, 트라폭신(TPX), 환식 히드록삼산 함유 펩티드 1(CHAP1), 발프로산(VPA), 부티르산 나트륨(NaBu), 4-페닐부티르산, OBP-801, ME-344, CG200745, MPT0E014, RGFP966(MCE, HY-13909), SK-7041, 스크립트 에이드, MC1568, MHY2256, 리콜리노스탓(ACY-1215), Tubacin(S2239), Tubathian A, Tubastatin A, Pojamide, AN7, CUDC-101, KD5170, R36465, SOU-HDAC42, LBH589, SFN, 페닐헥실이소티오시아네이트, 다시노스탓(LAQ824), CBHA(m-카르복시신남산 bis-히드록사미드), 아제라로일 bis-히드록삼산(ABHA)(N,N'-디히드록시노난디아미드), AR-42, 수베로일 bis-히드록삼산(SBHA), 피발산 부티릴옥시메틸(pivanex, AN-9), 디알릴트리술피드(DATS), PCI-24781, 니코틴아미드, 테노빈-1, 테노빈-6, 시르티놀, EX-527, HBI-8000, 케베트린, CHR-3996, 4SC202, WW437, α-케토아미드류, 복소환식 케톤류, 캄비놀, I-7ab, C149, 데푸데신, SEN 196, COMPOUND6J, JGB1741, JQ1, I-BET151, BY27, CUDC907, DWP0016, MC1568, W2, RGFP109, 티노스타무스틴(EDO-S101), J22352, M344, ITF-3056, TMP195(TFMO 2), MI192, 산타크루자메이트A(CAY10683), ACY-738, BML-281(CAY10603), LTB2, CKD-506, WK2 -16, PCI-34051, ESM-HDAC528, Merck60, HNHA((N-히드록시-7-2-나프틸티오)헵타노미드), KBH-A42, AGK2, 술포라판, MS-275, 레스베라트롤, APHA, 커큐민, 레메티노스탓, 시타리노스탓, 다시노스탓, 드록시노스탓, BRD3308, 님볼리드, 베타인, 및 크리소파놀로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 것의 조성물.

[0014] (항목 5)

[0015] 상기 HDAC 조절제가, 핑골리모드(FTY720), 기비노스탓, 트리코스타틴 A, 보리노스탓, 벨리노스탓, 파노비노스탓, 레스미노스탓, 아벡시노스탓, 키시노스탓, 프라시노스탓, 로실리노스탓, 나나티노스탓, 다시노스탓, (N-히드록시-7-2-나프틸티오)헵타노미드, 발프로산, CG200745, 스크립트 에이드, KBH-A42, 로미뎁신, 부티르산 나트륨, 4-페닐부티르산, SK-7041, WW437, 엔티노스탓, 타세디날린, 모세티노스탓, 피발산

부티릴옥시메틸, 트라폭신, α-케토아미드류, 복소환식 케톤류, 디알릴트리술피드, 리콜리노스탓, Tubacin, 아제라로일 bis-히드록삼산, 및 m-카르복시신남산 bis-히드록사미드로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 것의 조성물.

[0016] (항목 6)

[0017] 상기 혈당의 제어는, 혈당 강하제의 투여, 식사 제한 및 영양 주입 제어로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나에 의해 이루어지는, 상기 항목 중 어느 것의 조성물.

[0018] (항목 7)

[0019] 상기 혈당 강하제는, 인슐린, 인슐린 아날로그, 비구아니드약, 인슐린 분비 촉진약(술포닐우레아약(SU약) 등), 속효형 인슐린 분비 촉진약(글리니드약 등), 인크레틴 관련약(DPP-4 저해약, GLP-1 수용체 작동약, 등), 당흡수 조절약(α-글루코시다아제 저해약(α-GI)), 인슐린 저항성 개선약(티아졸리딘약), 뇨당 배설약(SGLT2 저해약), 및 이것들의 2 이상의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 상기 항목 중 어느 것의 조성물.

[0020] (항목 8)

[0021] 상기 혈당의 제어는, 공복 시 혈당을 126mg/dL 미만으로 제어하는 것, 경구 포도당 부하 시험의 2시간에서의 혈당값을 200mg/dL 미만으로 제어하는 것, 또는 수시 혈당값을 200mg/dL 미만으로 제어하는 것을 포함하는, 상기 항목 중 어느 것의 조성물.

[0022] (항목 9)

[0023] 당뇨병 그리고/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상을 치료하기 위한, 상기 항목 중 어느 것의 조성물.

[0024] (항목 10)

[0025] 상기 질환, 장애 및/혹은 증상은, 당뇨병 합병증을 포함하는, 상기 항목 중 어느 것의 조성물.

[0026] (항목 11)

[0027] 상기 질환, 장애 및/혹은 증상은, 신경 장애, 신증, 간장 장애, 망막증, 지방간, 위장 장애, 골절 치유 지연, 섭식 장애, 및 피부 장애로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 상기 항목 중 어느 것의 조성물.

[0028] (항목 12)

[0029] 상기 대상은 이상 조혈 줄기 세포(HSC) 또는 거기에서 유도된 세포를 갖는 것으로 진단되어 있는, 상기 항목 중 어느 것의 조성물.

[0030] (항목 13)

[0031] 상기 이상 조혈 줄기 세포는, 어느 HDAC의 레벨 변동 및 CD106 레벨의 향상 중 적어도 하나를 특징으로 하는, 상기 항목 중 어느 것의 조성물.

[0032] (항목 14)

[0033] 상기 조성물은, 약학적 조성물인, 상기 항목 중 어느 것의 조성물.

[0034] (항목 15)

[0035] 약학적으로 허용 가능은 부형제를 추가로 포함하는, 상기 항목 중 어느 것의 조성물.

[0036] (항목 16)

[0037] 대상에 있어서의, 당뇨병 그리고/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한 방법이며, 유효량의 히스톤 탈아세틸화 효소(HDAC) 조절제를 혈당이 제어된 상태의 해당 대상에 투여하는 공정을 포함하는, 방법.

[0038] (항목 17)

[0039] 대상에 있어서의, 당뇨병 그리고/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한 방법이며, 유효량의 히스톤 탈아세틸화 효소(HDAC) 조절제를 투여하는 공정, 및 혈당 제어 처치로 해당 대상

을 처치하는 공정을 포함하는, 방법.

[0040] (항목 18)

[0041] 상기 HDAC 조절제가, 클래스 I, 클래스 II 및 클래스 IV의 HDAC 중 적어도 하나를 저해하는, 상기 항목 중 어느 것의 방법.

[0042] (항목 19)

[0043] 상기 HDAC 조절제가, 핑골리모드(FTY720), 기비노스탓, 보리노스탓(SAHA, 수베로일아닐리드히드록삼산), 벨리노스탓, 파노비노스탓, 레스미노스탓, 아벡시노스탓, 모세티노스탓, 트리코스타틴 A(TSA), 로미뎁신, 아피시딘, 치다미드, 엔티노스탓, 타세디날린, 투시디노스탓, 프라시노스탓(SB939), 키시노스탓, 테피노스탓, 로실리노스탓, 피메피노스탓, 나나티노스탓, 도마티노스탓, 트라폭신(TPX), 환식 히드록삼산 함유 펩티드 1(CHAP1), 발프로산(VPA), 부티르산 나트륨(NaBu), 4-페닐부티르산, OBP-801, ME-344, CG200745, MPT0E014, RGFP966(MCE, HY-13909), SK-7041, 스크립트 에이드, MC1568, MHY2256, 리콜리노스탓(ACY-1215), Tubacin(S2239), Tubathian A, Tubastatin A, Pojamide, AN7, CUDC-101, KD5170, R36465, SOU-HDAC42, LBH589, SFN, 페닐헥실이소티오시아네이트, 다시노스탓(LAQ824), CBHA(m-카르복시신남산 bis-히드록사미드), 아제라로일 bis-히드록삼산(ABHA)(N,N'-디히드록시노난디아미드), AR-42, 수베로일 bis-히드록삼산(SBHA), 피발산 부티릴옥시메틸(pivanex, AN-9), 디알릴트리술피드(DATS), PCI-24781, 니코틴아미드, 테노빈-1, 테노빈-6, 시르티놀, EX-527, HBI-8000, 케베트린, CHR-3996, 4SC202, WW437, α-케토아미드류, 복소환식 케톤류, 캄비놀, I-7ab, C149, 데푸데신, SEN 196, COMPOUND6J, JGB1741, JQ1, I-BET151, BY27, CUDC907, DWP0016, MC1568, W2, RGFP109, 티노스타무스틴(EDO-S101), J22352, M344, ITF-3056, TMP195(TFMO 2), MI192, 산타크루자메이트A(CAY10683), ACY-738, BML-281(CAY10603), LTB2, CKD-506, WK2-16, PCI-34051, ESM-HDAC528, Merck60, HNHA((N-히드록시-7-2-나프틸티오)헵타노미드), KBH-A42, AGK2, 술포라판, MS-275, 레스베라트롤, APHA, 커큐민, 레메티노스탓, 시타리노스탓, 다시노스탓, 드록시노스탓, BRD3308, 님볼리드, 베타인, 및 크리소파놀로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 것의 방법.

[0044] (항목 20)

[0045] 상기 HDAC 조절제가, 핑골리모드(FTY720), 기비노스탓, 트리코스타틴 A, 보리노스탓, 벨리노스탓, 파노비노스탓, 레스미노스탓, 아벡시노스탓, 키시노스탓, 프라시노스탓, 로실리노스탓, 나나티노스탓, 다시노스탓, (N-히드록시-7-2-나프틸티오)헵타노미드, 발프로산, CG200745, 스크립트 에이드, KBH-A42, 로미뎁신, 부티르산 나트륨, 4-페닐부티르산, SK-7041, WW437, 엔티노스탓, 타세디날린, 모세티노스탓, 피발산 부티릴옥시메틸, 트라폭신, α-케토아미드류, 복소환식 케톤류, 디알릴트리술피드, 리콜리노스탓, Tubacin, 아제라로일 bis-히드록삼산, 및 m-카르복시신남산 bis-히드록사미드로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 것의 방법.

[0046] (항목 21)

[0047] 상기 혈당의 제어는, 혈당 강하제의 투여, 식사 제한 및 영양 주입 제어로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나에 의해 이루어지는, 상기 항목 중 어느 것의 방법.

[0048] (항목 22)

[0049] 상기 혈당 강하제는, 인슐린, 인슐린 아날로그, 비구아니드약, 인슐린 분비 촉진약(술포닐우레아약(SU약) 등), 속효형 인슐린 분비 촉진약(글리니드약 등), 인크레틴 관련약(DPP-4 저해약, GLP-1 수용체 작동약, 등), 당흡수 조절약(α-글루코시다아제 저해약(α-GI)), 인슐린 저항성 개선약(티아졸리딘약), 뇨당 배설약(SGLT2 저해약), 및 이것들의 2 이상의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 상기 항목 중 어느 것의 방법.

[0050] (항목 23)

[0051] 상기 혈당의 제어는, 공복 시 혈당을 126mg/dL 미만으로 제어하는 것, 경구 포도당 부하 시험의 2시간에서의 혈당값을 200mg/dL 미만으로 제어하는 것, 또는 수시 혈당값을 200mg/dL 미만으로 제어하는 것을 포함하는, 상기 항목 중 어느 것의 방법.

[0052] (항목 24)

[0053] 당뇨병 그리고/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상을 치료하기 위한, 상기 항목 중 어느 것의 방법.

[0054] (항목 25)

[0055] 상기 질환, 장애 및/혹은 증상은, 당뇨병 합병증을 포함하는, 상기 항목 중 어느 것의 방법.

[0056] (항목 26)

[0057] 상기 질환, 장애 및/혹은 증상은, 신경 장애, 신증, 간장 장애, 망막증, 지방간, 위장 장애, 골절 치유 지연, 섭식 장애, 및 피부 장애로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 상기 항목 중 어느 것의 방법.

[0058] (항목 27)

[0059] 상기 대상을 이상 조혈 줄기 세포(HSC) 또는 거기에서 유도된 세포를 갖는 것으로 진단하는 공정을 포함하는, 상기 항목 중 어느 것의 방법.

[0060] (항목 28)

[0061] 상기 이상 조혈 줄기 세포는, 어느 HDAC의 레벨 변동 및 CD106 레벨의 향상 중 적어도 하나를 특징으로 하는, 상기 항목 중 어느 것의 방법.

[0062] (항목 29)

[0063] 대상에 있어서의, 당뇨병 그리고/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한 의약 제조에 있어서의, 히스톤 탈아세틸화 효소(HDAC) 조절제의 사용이며, 해당 대상의 혈당이 제어된 상태에서 해당 의약이 투여되는 것을 특징으로 하는, 사용.

[0064] (항목 30)

[0065] 대상에 있어서의, 당뇨병 그리고/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한 의약 제조에 있어서의, 히스톤 탈아세틸화 효소(HDAC) 조절제의 사용이며, 해당 의약은 혈당 제어 처치와 조합하여 투여되는 것을 특징으로 하는, 사용.

[0066] (항목 31)

[0067] 상기 HDAC 조절제가, 클래스 I, 클래스 II 및 클래스 IV의 HDAC 중 적어도 하나를 저해하는, 상기 항목 중 어느 것의 사용.

[0068] (항목 32)

[0069] 상기 HDAC 조절제가, 핑골리모드(FTY720), 기비노스탓, 보리노스탓(SAHA, 수베로일아닐리드히드록삼산), 벨리노스탓, 파노비노스탓, 레스미노스탓, 아벡시노스탓, 모세티노스탓, 트리코스타틴 A(TSA), 로미뎁신, 아피시딘, 치다미드, 엔티노스탓, 타세디날린, 투시디노스탓, 프라시노스탓(SB939), 키시노스탓, 테피노스탓, 로실리노스탓, 피메피노스탓, 나나티노스탓, 도마티노스탓, 트라폭신(TPX), 환식 히드록삼산 함유 펩티드 1(CHAP1), 발프로산(VPA), 부티르산 나트륨(NaBu), 4-페닐부티르산, OBP-801, ME-344, CG200745, MPT0E014, RGFP966(MCE, HY-13909), SK-7041, 스크립트 에이드, MC1568, MHY2256, 리콜리노스탓(ACY-1215), Tubacin(S2239), Tubathian A, Tubastatin A, Pojamide, AN7, CUDC-101, KD5170, R36465, SOU-HDAC42, LBH589, SFN, 페닐헥실이소티오시아네이트, 다시노스탓(LAQ824), CBHA(m-카르복시신남산 bis-히드록사미드), 아제라로일 bis-히드록삼산(ABHA)(N,N'-디히드록시노난디아미드), AR-42, 수베로일 bis-히드록삼산(SBHA), 피발산 부티릴옥시메틸(pivanex, AN-9), 디알릴트리술피드(DATS), PCI-24781, 니코틴아미드, 테노빈-1, 테노빈-6, 시르티놀, EX-527, HBI-8000, 케베트린, CHR-3996, 4SC202, WW437, α-케토아미드류, 복소환식 케톤류, 캄비놀, I-7ab, C149, 데푸데신, SEN 196, COMPOUND6J, JGB1741, JQ1, I-BET151, BY27, CUDC907, DWP0016, MC1568, W2, RGFP109, 티노스타무스틴(EDO-S101), J22352, M344, ITF-3056, TMP195(TFMO 2), MI192, 산타크루자메이트A(CAY10683), ACY-738, BML-281(CAY10603), LTB2, CKD-506, WK2-16, PCI-34051, ESM-HDAC528, Merck60, HNHA((N-히드록시-7-2-나프틸티오)헵타노미드), KBH-A42, AGK2, 술포라판, MS-275, 레스베라트롤, APHA, 커큐민, 레메티노스탓, 시타리노스탓, 다시노스탓, 드록시노스탓, BRD3308, 님볼리드, 베타인, 및 크리소파놀로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 것의 사용.

[0070] (항목 33)

[0071] 상기 HDAC 조절제가, 핑골리모드(FTY720), 기비노스탓, 트리코스타틴 A, 보리노스탓, 벨리노스탓, 파노비노스탓, 레스미노스탓, 아벡시노스탓, 키시노스탓, 프라시노스탓, 로실리노스탓, 나나티노스탓, 다시노스

탓, (N-히드록시-7-2-나프틸티오)헵타노미드, 발프로산, CG200745, 스크립트 에이드, KBH-A42, 로미뎁신, 부티르산 나트륨, 4-페닐부티르산, SK-7041, WW437, 엔티노스탓, 타세디날린, 모세티노스탓, 피발산 부티릴옥시메틸, 트라폭신, α-케토아미드류, 복소환식 케톤류, 디알릴트리술피드, 리콜리노스탓, Tubacin, 아제라로일 bis-히드록삼산, 및 m-카르복시신남산 bis-히드록사미드로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 것의 사용.

[0072] (항목 34)

[0073] 상기 혈당의 제어는, 혈당 강하제의 투여, 식사 제한 및 영양 주입 제어로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나에 의해 이루어지는, 상기 항목 중 어느 것의 사용.

[0074] (항목 35)

[0075] 상기 혈당 강하제는, 인슐린, 인슐린 아날로그, 비구아니드약, 인슐린 분비 촉진약(술포닐우레아약(SU약) 등), 속효형 인슐린 분비 촉진약(글리니드약 등), 인크레틴 관련약(DPP-4 저해약, GLP-1 수용체 작동약, 등), 당흡수 조절약(α-글루코시다아제 저해약(α-GI)), 인슐린 저항성 개선약(티아졸리딘약), 뇨당 배설약(SGLT2 저해약), 및 이것들의 2 이상의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 상기 항목 중 어느 것의 사용.

[0076] (항목 36)

[0077] 상기 혈당의 제어는, 공복 시 혈당을 126mg/dL 미만으로 제어하는 것, 경구 포도당 부하 시험의 2시간에서의 혈당값을 200mg/dL 미만으로 제어하는 것, 또는 수시 혈당값을 200mg/dL 미만으로 제어하는 것을 포함하는, 상기 항목 중 어느 것의 사용.

[0078] (항목 37)

[0079] 당뇨병 그리고/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상을 치료하기 위한, 상기 항목 중 어느 것의 사용.

[0080] (항목 38)

[0081] 상기 질환, 장애 및/혹은 증상은, 당뇨병 합병증을 포함하는, 상기 항목 중 어느 것의 사용.

[0082] (항목 39)

[0083] 상기 질환, 장애 및/혹은 증상은, 신경 장애, 신증, 간장 장애, 망막증, 지방간, 위장 장애, 골절 치유 지연, 섭식 장애, 및 피부 장애로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 상기 항목 중 어느 것의 사용.

[0084] (항목 40)

[0085] 상기 대상은 이상 조혈 줄기 세포(HSC) 또는 거기에서 유도된 세포를 갖는 것으로 진단되어 있는, 상기 항목 중 어느 것의 사용.

[0086] (항목 41)

[0087] 상기 이상 조혈 줄기 세포는, 어느 HDAC의 레벨 변동 및 CD106 레벨의 향상 중 적어도 하나를 특징으로 하는, 상기 항목 중 어느 것의 사용.

[0088] (항목 42)

[0089] 대상에 있어서의, 당뇨병 그리고/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한, 히스톤 탈아세틸화 효소(HDAC) 조절제이며, 해당 대상의 혈당이 제어된 상태에서 투여되는 것을 특징으로 하는, HDAC 조절제.

[0090] (항목 43)

[0091] 대상에 있어서의, 당뇨병 그리고/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상을 치료 및/또는 예방하기 위한, 히스톤 탈아세틸화 효소(HDAC) 조절제이며, 혈당 제어 처치와 조합하여 투여되는 것을 특징으로 하는, HDAC 조절제.

[0092] (항목 44)

[0093] 상기 HDAC 조절제가, 클래스 I, 클래스 II 및 클래스 IV의 HDAC 중 적어도 하나를 저해하는, 상기 항목 중 어느

것의 HDAC 조절제.

[0094] (항목 45)

[0095] 상기 HDAC 조절제가, 핑골리모드(FTY720), 기비노스탓, 보리노스탓(SAHA, 수베로일아닐리드히드록삼산), 벨리노스탓, 파노비노스탓, 레스미노스탓, 아벡시노스탓, 모세티노스탓, 트리코스타틴 A(TSA), 로미뎁신, 아피시딘, 치다미드, 엔티노스탓, 타세디날린, 투시디노스탓, 프라시노스탓(SB939), 키시노스탓, 테피노스탓, 로실리노스탓, 피메피노스탓, 나나티노스탓, 도마티노스탓, 트라폭신(TPX), 환식 히드록삼산 함유 펩티드 1(CHAP1), 발프로산(VPA), 부티르산 나트륨(NaBu), 4-페닐부티르산, OBP-801, ME-344, CG200745, MPT0E014, RGFP966(MCE, HY-13909), SK-7041, 스크립트 에이드, MC1568, MHY2256, 리콜리노스탓(ACY-1215), Tubacin(S2239), Tubathian A, Tubastatin A, Pojamide, AN7, CUDC-101, KD5170, R36465, SOU-HDAC42, LBH589, SFN, 페닐헥실이소티오시아네이트, 다시노스탓(LAQ824), CBHA(m-카르복시신남산 bis-히드록사미드), 아제라로일 bis-히드록삼산(ABHA)(N,N'-디히드록시노난디아미드), AR-42, 수베로일 bis-히드록삼산(SBHA), 피발산 부티릴옥시메틸(pivanex, AN-9), 디알릴트리술피드(DATS), PCI-24781, 니코틴아미드, 테노빈-1, 테노빈-6, 시르티놀, EX-527, HBI-8000, 케베트린, CHR-3996, 4SC202, WW437, α-케토아미드류, 복소환식 케톤류, 캄비놀, I-7ab, C149, 데푸데신, SEN 196, COMPOUND6J, JGB1741, JQ1, I-BET151, BY27, CUDC907, DWP0016, MC1568, W2, RGFP109, 티노스타무스틴(EDO-S101), J22352, M344, ITF-3056, TMP195(TFMO 2), MI192, 산타크루자메이트A(CAY10683), ACY-738, BML-281(CAY10603), LTB2, CKD-506, WK2 -16, PCI-34051, ESM-HDAC528, Merck60, HNHA((N-히드록시-7-2-나프틸티오)헵타노미드), KBH-A42, AGK2, 술포라판, MS-275, 레스베라트롤, APHA, 커큐민, 레메티노스탓, 시타리노스탓, 다시노스탓, 드록시노스탓, BRD3308, 님볼리드, 베타인, 및 크리소파놀로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 것의 HDAC 조절제.

[0096] (항목 46)

[0097] 상기 HDAC 조절제가, 핑골리모드(FTY720), 기비노스탓, 트리코스타틴 A, 보리노스탓, 벨리노스탓, 파노비노스탓, 레스미노스탓, 아벡시노스탓, 키시노스탓, 프라시노스탓, 로실리노스탓, 나나티노스탓, 다시노스탓, (N-히드록시-7-2-나프틸티오)헵타노미드, 발프로산, CG200745, 스크립트 에이드, KBH-A42, 로미뎁신, 부티르산 나트륨, 4-페닐부티르산, SK-7041, WW437, 엔티노스탓, 타세디날린, 모세티노스탓, 피발산 부티릴옥시메틸, 트라폭신, α-케토아미드류, 복소환식 케톤류, 디알릴트리술피드, 리콜리노스탓, Tubacin, 아제라로일 bis-히드록삼산, 및 m-카르복시신남산 bis-히드록사미드로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 상기 항목 중 어느 것의 HDAC 조절제.

[0098] (항목 47)

[0099] 상기 혈당의 제어는, 혈당 강하제의 투여, 식사 제한 및 영양 주입 제어로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나에 의해 이루어지는, 상기 항목 중 어느 것의 HDAC 조절제.

[0100] (항목 48)

[0101] 상기 혈당 강하제는, 인슐린, 인슐린 아날로그, 비구아니드약, 인슐린 분비 촉진약(술포닐우레아약(SU약) 등), 속효형 인슐린 분비 촉진약(글리니드약 등), 인크레틴 관련약(DPP-4 저해약, GLP-1 수용체 작동약, 등), 당흡수 조절약(α-글루코시다아제 저해약(α-GI)), 인슐린 저항성 개선약(티아졸리딘약), 뇨당 배설약(SGLT2 저해약), 및 이것들의 2 이상의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 상기 항목 중 어느 것의 HDAC 조절제.

[0102] (항목 49)

[0103] 상기 혈당의 제어는, 공복 시 혈당을 126mg/dL 미만으로 제어하는 것, 경구 포도당 부하 시험의 2시간에서의 혈당값을 200mg/dL 미만으로 제어하는 것, 또는 수시 혈당값을 200mg/dL 미만으로 제어하는 것을 포함하는, 상기 항목 중 어느 것의 HDAC 조절제.

[0104] (항목 50)

[0105] 당뇨병 그리고/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상을 치료하기 위한, 상기 항목 중 어느 것의 HDAC 조절제.

[0106] (항목 51)

[0107] 상기 질환, 장애 및/혹은 증상은, 당뇨병 합병증을 포함하는, 상기 항목 중 어느 것의 조성물.

[0108] (항목 52)

[0109] 상기 질환, 장애 및/혹은 증상은, 신경 장애, 신증, 간장 장애, 망막증, 지방간, 위장 장애, 골절 치유 지연, 섭식 장애, 및 피부 장애로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 상기 항목 중 어느 것의 HDAC 조절제.

[0110] (항목 53)

[0111] 상기 대상은 이상 조혈 줄기 세포(HSC) 또는 거기에서 유도된 세포를 갖는 것으로 진단되어 있는, 상기 항목 중 어느 것의 HDAC 조절제.

[0112] (항목 54)

[0113] 상기 이상 조혈 줄기 세포는, 어느 HDAC의 레벨 변동 및 CD106 레벨의 향상 중 적어도 하나를 특징으로 하는, 상기 항목 중 어느 것의 HDAC 조절제.

[0114] 본 개시에 있어서, 상기의 하나 또는 복수의 특징은, 명시된 조합에 더하여, 추가로 조합하여 제공될 수 있다는 것이 의도된다. 본 개시의 추가의 실시 형태 및 이점은, 필요에 따라 이하의 상세한 설명을 읽고 이해하면, 당업자에게 인식된다.

발명의 효과

[0115] 본 개시는, 당뇨병 및/또는 그 관련 질환의 새로운 치료를 제공한다. 종래, 당뇨병 환자에 있어서 인슐린 분비를 회복시키는 방법인 췌장 이식이나 췌도 이식 등에서 필요로 했던 장기 기증자를 필요로 하지 않게 되어, 장기 수용자의 수에 대한 공급 능력의 제한을 극복할 수 있다. 또한, 장기 수용자가 받았던 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

[0116] 도 1은 당뇨병에 관여하는 골수 세포의 모식도를 당뇨병과 정상을 비교하여 나타낸다.

도 2는 2형 당뇨병에서 골수 유래 세포가 이상을 야기하는 메커니즘을 나타내는 모식도이다.

도 3은 1형 당뇨병에서 골수 유래 세포가 이상을 야기하는 메커니즘을 나타내는 모식도이다.

도 4는 STZ 당뇨병 마우스의 골수 이식 치료 개요를 나타내는 모식도이다. 인슐린 펠릿 또는 블랭크 펠릿 처치하에서 비당뇨병 또는 당뇨병 유래의 골수를 STZ 당뇨병 마우스에 이식하는 개요를 나타낸다.

도 5는 비DM 및 STZ-DM 마우스의 KSL 세포에 있어서의 각 히스톤 탈아세틸화 효소 유전자군(HDACs)의 mRNA 발현 비교를 나타낸다. 가로 축은, 비DM 마우스에 대한 STZ-DM 마우스에 있어서의 mRNA 발현 배율(Log2 변화)을 나타내고, 오른쪽이 발현 증대를, 왼쪽이 발현 저하를 나타낸다.

도 6은 도 4에 나타내는 치료를 했을 경우의 혈당값 변화를 나타낸다. 세로 축은, 각 시점에 있어서의 혈당값(mg/dL)의 평균을 표준 오차와 함께 나타낸다. 가로 축은, 골수 이식한 시점을 0주째로 설정한 처치의 시간 경과를 나타낸다. 인슐린 펠릿의 유효 기간도 도시하고 있다. *P<0.05, **P<0.01을 나타낸다. 8주째 시점에서의 혈당값이 높은 순으로, 블랭크 펠릿 및 당뇨병 골수 이식에서 처치한 STZ 당뇨병 마우스, 블랭크 펠릿 및 비당뇨병 골수 이식에서 처치한 STZ 당뇨병 마우스, 인슐린 펠릿 및 당뇨병 골수 이식에서 처치한 STZ 당뇨병 마우스, 및 인슐린 펠릿 및 비당뇨병 골수 이식에서 처치한 STZ 당뇨병 마우스의 결과이다.

도 7은 도 4에 나타내는 치료를 했을 경우의 췌장 동결 절편의 결과이다. (위쪽 패널) 동결 절편의 인슐린 및 핵의 염색상이다. 각 절편을 취득한 마우스의 조건을 각각의 화상 위에 표시한다. 스케일 바는 20㎛을 나타낸다. (아래쪽 패널) 각 마우스에 있어서 췌도를 랜덤하게 선택하고, 췌도의 크기에 대한 인슐린 양성 세포의 비율(%)을 Image J 소프트웨어로 산출한 결과이다. 왼쪽에서부터, 비당뇨병 마우스, STZ 당뇨병 마우스, 블랭크 펠릿 및 당뇨병 골수 이식에서 처치한 STZ 당뇨병 마우스, 블랭크 펠릿 및 비당뇨병 골수 이식에서 처치한 STZ 당뇨병 마우스, 인슐린 펠릿 및 당뇨병 골수 이식에서 처치한 STZ 당뇨병 마우스, 및 인슐린 펠릿 및 비당뇨병 골수 이식에서 처치한 STZ 당뇨병 마우스의 결과를 나타낸다. **P<0.01을 나타낸다.

도 8은 도 4에 나타내는 치료를 했을 경우의 췌장 동결 절편의 결과이다. (위쪽 패널) 동결 절편의 글루카곤 및 핵의 염색상이다. 각 절편을 취득한 마우스의 조건을 각각의 화상 위에 표시한다. 스케일 바는 20㎛을 나타낸다. (아래쪽 패널) 각 마우스에 있어서 췌도를 랜덤하게 선택하고, 췌도의 크기에 대한 글루카곤 양성 세

포의 비율(%)을 Image J 소프트웨어로 산출한 결과이다. 왼쪽에서부터, 비당뇨병 마우스, STZ 당뇨병 마우스, 블랭크 펠릿 및 당뇨병 골수 이식에서 처치한 STZ 당뇨병 마우스, 블랭크 펠릿 및 비당뇨병 골수 이식에서 처치한 STZ 당뇨병 마우스, 인슐린 펠릿 및 당뇨병 골수 이식에서 처치한 STZ 당뇨병 마우스, 및 인슐린 펠릿 및 비당뇨병 골수 이식에서 처치한 STZ 당뇨병 마우스의 결과를 나타낸다. **P<0.01을 나타낸다.

도 9는 도 4에 나타내는 치료를 했을 경우의 대표적인 적출 흉선의 크기 비교를 나타낸다. 왼쪽에서부터, 비당뇨병 마우스, STZ 당뇨병 마우스, 블랭크 펠릿 및 당뇨병 골수 이식에서 처치한 STZ 당뇨병 마우스, 인슐린 펠릿 및 당뇨병 골수 이식에서 처치한 STZ 당뇨병 마우스, 블랭크 펠릿 및 비당뇨병 골수 이식에서 처치한 STZ 당뇨병 마우스, 및 인슐린 펠릿 및 비당뇨병 골수 이식에서 처치한 STZ 당뇨병 마우스로부터 적출한 흉선을 나타낸다.

도 10은 녹색 형광 단백질을 유전자 도입한 트랜스제닉 마우스(GFP 마우스) 유래의 골수 세포를 사용한 골수 이식과, 인슐린 펠릿의 조합 처치, 및 STZ에 의한 당뇨병 유도의 마우스 실험의 개요를 나타내는 모식도이다.

도 11은 GFP 마우스의 골수를 이식한 마우스에 있어서의 췌도의 레이저 형광 현미경상을 나타낸다. 조직 절편에 있어서 Vcam 및 핵을 염색하고, GFP와 함께 형광을 관찰하였다. 각 절편을 취득한 마우스의 조건을 각각의 화상 위에 표시한다. 스케일 바는 50㎛을 나타낸다. 청색으로 핵(DAPI), 녹색으로 골수 유래 세포(GFP), 적색으로 Vcam1(Tomato)을 나타낸다. 백색의 파선은 췌도외 경계를 나타낸다.

도 12는 GFP 마우스의 골수를 이식한 마우스에 있어서의 흉선의 레이저 형광 현미경상을 나타낸다. 조직 절편에 있어서 Vcam 및 핵을 염색하고, GFP와 함께 형광을 관찰하였다. 각 절편을 취득한 마우스의 조건을 각각의 화상 위에 표시한다. 스케일 바는 50㎛을 나타낸다. 청색으로 핵(DAPI), 녹색으로 골수 유래 세포(GFP), 적색으로 Vcam1(Tomato)을 나타낸다.

도 13은 스트렙토조토신 유도 당뇨병 마우스를 인슐린 펠릿 또는 블랭크 펠릿 처치 하에서 기비노스탓에 의해 처치했거나 또는 처치하지 않았을 경우를 비교하는 실시예 3의 실험 개략을 나타낸다. 스트렙토조토신에 의한 당뇨병 유도 없음의 마우스(nonDM, 대조), 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 없음(STZDM), 인슐린 펠릿+기비노스탓 처치 없음, 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 있음(경구 또는 정맥 내), 및 인슐린 펠릿+기비노스탓 처치 있음(경구 또는 정맥 내)의 각 스트렙토조토신 유도 당뇨병 마우스를 사용하여 시험을 행하였다.

도 14는 실시예 3의 실험에 있어서의 각 마우스의 혈당값 변화를 나타낸다. 세로 축은, 각 시점에 있어서의 혈당값(mg/dL)의 평균을 표준 오차와 함께 나타낸다. 가로 축은, 기비노스탓 처치를 개시한 시점을 0주째라고 설정하여 처치의 시간 경과(주)를 나타낸다. 각각의 마크는, 꺾은 선과 마우스의 종류의 대응을 나타낸다.

도 15는 실시예 3의 실험에 있어서의 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 있음 및 인슐린 펠릿+기비노스탓 처치 있음의 각 스트렙토조토신 유도 당뇨병 마우스의 복강 내 글루코오스 부하 시험(IPGTT) 후의 혈당값을 나타낸다. 세로 축은 각 시점에 있어서의 혈당값(mg/dL)의 평균을 나타내고, 가로 축은 글루코오스 주사 후의 시간 경과를 나타낸다.

도 16은 실시예 3의 실험에 있어서의 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 있음 및 인슐린 펠릿+기비노스탓 처치 있음의 각 스트렙토조토신 유도 당뇨병 마우스의 복강 내 글루코오스 부하 시험(IPGTT) 후의 혈중 인슐린을 나타낸다. 세로 축은 각 시점에 있어서의 혈중 인슐린(ng/mL)의 평균을 나타내고, 가로 축은 글루코오스 주사 후의 시간 경과를 나타낸다.

도 17은 실시예 3의 실험 치료를 했을 경우의 췌장 동결 절편의 인슐린 면역 조직 염색의 관찰 결과를 나타낸다. (위쪽 패널) 동결 절편의 인슐린 및 핵의 염색상이다. 스케일 바는 20㎛을 나타낸다. (아래쪽 패널) 각 마우스에 있어서 췌도를 랜덤하게 선택하고, 췌도의 크기에 대한 인슐린 양성 세포의 비율(%)을 Image J 소프트웨어로 산출한 결과이다. 왼쪽에서부터, 스트렙토조토신에 의한 당뇨병 유도 없음의 마우스(대조), 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 없음, 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 없음, 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 있음(경구), 인슐린 펠릿+기비노스탓 처치 있음(정맥 내), 인슐린 펠릿+기비노스탓 처치 있음(경구), 및 인슐린 펠릿+기비노스탓 처치 있음(정맥 내)의 각 스트렙토조토신 유도 당뇨병 마우스를 나타낸다. **P<0.01을 나타낸다.

도 18은 실시예 3의 실험 치료를 했을 경우의 췌장 동결 절편의 글루카곤 면역 조직 염색의 관찰 결과를 나타낸다. (위쪽 패널) 동결 절편의 글루카곤 및 핵의 염색상이다. 스케일 바는 20㎛을 나타낸다. (아래쪽 패널) 각 마우스에 있어서 췌도를 랜덤하게 선택하고, 췌도의 크기에 대한 글루카곤 양성 세포의 비율(%)을 Image J 소프트웨어로 산출한 결과이다. 왼쪽에서부터, 스트렙토조토신에 의한 당뇨병 유도 없음의 마우스(대조), 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 없음, 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 없음, 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 있음(경구),

인슐린 펠릿+기비노스탓 처치 있음(정맥 내), 인슐린 펠릿+기비노스탓 처치 있음(경구), 및 인슐린 펠릿+기비노스탓 처치 있음(정맥 내)의 각 스트렙토조토신 유도 당뇨병 마우스를 나타낸다. **P<0.01을 나타낸다.

도 19는 실시예 3의 실험 시험 기간 종료 시에 있어서의 각 마우스의 적출 흉선의 크기(위쪽 사진) 및 중량(아래쪽 그래프)을 나타낸다. 그래프의 세로 축은, 흉선 중량(mg)의 평균을 표준 오차(n=2의 경우)와 함께 나타낸다. 사진 및 그래프의 양쪽에 대해서, 왼쪽에서부터, 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 없음, 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 있음(경구), 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 있음(정맥 내), 인슐린 펠릿+기비노스탓 처치 있음(경구), 및 인슐린 펠릿+기비노스탓 처치 있음(정맥 내)의 각 스트렙토조토신 유도 당뇨병 마우스, 및 스트렙토조토신에 의한 당뇨병 유도 없음의 마우스(대조)을 나타낸다. *P<0.05를 나타낸다.

도 20은 실시예 3의 실험 치료를 했을 경우의 골 조직 탈회 절편의 TNF-α 면역 조직 염색의 관찰 결과를 나타낸다. (위쪽 패널) 골 조직 탈회 절편의 TNF-α(Ni-DAB 염색, 갈색) 및 핵(헤마톡실린 염색, 자색)의 염색상이다. 스케일 바는 20㎛을 나타낸다. (아래쪽 패널) 각 마우스에 있어서 골수를 랜덤하게 선택하고, 핵이 물들어 있는 세포(자색) 중의 TNF-α 양성 세포의 비율(%)을 Image J 소프트웨어로 산출한 결과이다. 왼쪽에서부터, 당뇨병 유도 없음의 마우스(대조), 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 없음, 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 있음(경구), 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 있음(정맥 내), 인슐린 펠릿+기비노스탓 처치 있음(경구), 인슐린 펠릿+기비노스탓 처치 있음(정맥 내)의 각 스트렙토조토신 유도 당뇨병 마우스를 나타낸다.

도 21은 실시예 3의 실험 치료를 했을 경우의 흉선 TNF-α 면역 조직 염색의 관찰 결과를 나타낸다. (위쪽 패널) 흉선의 TNF-α(Ni-DAB 염색, 갈색, 흑색 화살표로 나타냄) 및 핵(헤마톡실린 염색, 자색)의 염색상이다. 스케일 바는 20㎛을 나타낸다. (아래쪽 패널) 각 마우스에 있어서 흉선 조직을 랜덤하게 선택하고, 핵이 물들어 있는 세포(자색) 중의 TNF-α 양성 세포의 비율(%)을 Image J 소프트웨어로 산출한 결과이다. 왼쪽에서부터, 당뇨병 유도 없음의 마우스(대조), 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 없음, 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 있음(경구), 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 있음(정맥 내), 인슐린 펠릿+기비노스탓 처치 있음(경구), 인슐린 펠릿+기비노스탓 처치 있음(정맥 내)의 각 스트렙토조토신 유도 당뇨병 마우스를 나타낸다.

도 22는 실시예 3의 실험 치료를 했을 경우의 췌장 절편의 TNF-α 면역 조직 염색의 관찰 결과를 나타낸다. (위쪽 패널) 췌장 절편의 TNF-α(Ni-DAB 염색, 갈색) 및 핵(헤마톡실린 염색, 자색)의 염색상이다. 스케일 바는 20㎛을 나타낸다. (아래쪽 패널) 각 마우스에 있어서 절편 중의 췌도를 랜덤하게 선택하고, 핵이 물들어 있는 세포(자색) 중의 TNF-α 양성 세포의 비율(%)을 Image J 소프트웨어로 산출한 결과이다. 왼쪽에서부터, 당뇨병 유도 없음의 마우스(대조), 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 없음, 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 있음(경구), 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 있음(정맥 내), 인슐린 펠릿+기비노스탓 처치 있음(경구), 인슐린 펠릿+기비노스탓 처치 있음(정맥 내)의 각 스트렙토조토신 유도 당뇨병 마우스를 나타낸다.

도 23은 실시예 8의 흉선 적출한 STZ 당뇨병 마우스의 치료 개요를 나타내는 모식도이다.

도 24는 도 23에 나타내는 처치를 했을 경우의 혈당값 변화를 나타낸다. 세로 축은, 각 시점에 있어서의 혈당값(mg/dL)의 평균을 표준 오차와 함께 나타낸다. 가로 축은, 흉선 적출 처치를 행한 시점을 0주째로 설정한 처치의 시간 경과를 나타낸다. 인슐린 펠릿의 유효 기간도 도시하고 있다. *P<0.05, **P<0.01을 나타낸다. 8주째 시점에서의 혈당값이 높은 쪽이 흉선 적출군의 결과이다.

도 25는 도 23에 나타내는 처치를 한 흉선 적출군(왼쪽) 및 대조군(오른쪽)의 마우스의 8주째의 흉선 주변의 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0117] 이하, 본 개시를 최선의 형태를 나타내면서 설명한다. 본 명세서의 전체에 걸쳐, 단수형의 표현은, 특별히 언급하지 않는 한, 그 복수형의 개념도 포함하는 것이 이해되어야 한다. 따라서, 단수형의 관사(예를 들어 영어의 경우에는 "a", "an", "the" 등)은 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, 달리 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.

[0118] 이하에 본 명세서에서 특별히 사용되는 용어의 정의 및/또는 기본적 기술 내용을 적절히 설명한다.

[0119] (정의)

[0120] 본 명세서에 있어서, "당뇨병"은 당해 분야에서 사용되는 통상의 의미로 사용되고, 임신에 수반하는 것이나 특이한 유전자 이상에 의한 것을 제외하고, 통상적으로는, 췌장의 β세포의 파괴에 의해 인슐린이 고갈해서 생기는 1형 당뇨병, 및 비만 등을 원인으로 하여, 췌장의 랑게르한스섬(췌도)의 β세포로부터의 인슐린 분비량이 감소되고, 근육, 지방 조직으로의 글루코오스의 흡수능이 저하되어 생기는 2형 당뇨병으로 분류된다. 또한, 본 개시의 결과에 따르면, 1형 당뇨병 및 2형 당뇨병의 양자는 지금까지 성인이라고 생각되고 있던 것과는 완전히 다른, 지속성 고혈당에 의해 골수의 조혈 줄기 세포에 생긴 비정상 및 그것에서 유래하는 면역 이상을 통한 공통의 세포 성인에 의해 일어난다고 추측된다. 당뇨병은, 예를 들어 2회 이상의 검사로, 공복 시 혈당≥126mg/dL, HbA1c≥6.5%, 경구 포도당 부하 시험(75gOGTT)으로 2시간값이 200mg/dL 이상, 혹은 수시 혈당값 200mg/dL 이상 등에 의해 진단될 수 있다. 본 명세서에 있어서의 "당뇨병"에는 청년 발증 성인형 당뇨병, 경계형 당뇨병도 포함된다.

[0121] 본 명세서에 있어서 "당뇨병의 관련 질환" 또는 "당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상"은, 당뇨병과 관련되는 임의의 질환, 장애 및 증상이 포함될 수 있고, 그것들의 예로서, 당뇨병성 신경 장애, 당뇨병성 망막증, 당뇨병성 신증, 속발성 당뇨병, 당뇨병성 혼수, 의식 장애, 복통, 다리 경련, 신경 장애, 고삼투압 고혈당 증후군, 알부민뇨, 부종, 신부전, 실명, 알츠하이머형 인지증, 심근경색, 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, 현기증(기립성 저혈압), 발기 부전, 심근경색, 흉통, 중증 충수염, 복막 자극 증상, 저온 화상, 임신 당뇨병, 구갈, 다음, 다뇨 등을 들 수 있다. 본 개시의 당뇨병 치료는, 당뇨병의 관련 질환으로서 나타나는 증상의 대증 요법이 아니라, 근본적인 치료를 가능하게 하는 것이며, 종래부터 알려지는 당뇨병의 관련 질환과는 다르다는 것이 이해된다.

[0122] 특별히 언급하지 않는 한, 본 명세서에 있어서 "비당뇨병 피험체"란, 당뇨병도 그 관련 질환도 갖지 않는 피험체를 의미한다.

[0123] 본 명세서에 있어서 "혈당의 제어" 또는 "혈당 제어"란, 혈당(혈중 글루코오스 농도:공복 시 혈당, 포도당 부하 시험 시의 혈당, 수시 혈당 등을 포함한다)을 저하시키는 처치를 행하는 것, 및 혈당이 본 명세서에 기재되는 치료 범위로 유지된 상태의 양쪽을 가리킨다. 혈당을 저하시키는 처치로서, 혈당 강하제의 투여, 식사 제한, 영양 주입의 제어 등을 들 수 있다.

[0124] 따라서, 본 명세서에 있어서 "혈당이 제어된 상태"란, 적극적으로 혈당을 일정 범위로 제한하는 것과 같은 처치에 의해 달성되어도 되고, 아무 것도 하지 않고, 혈당이 당해 일정 범위로 제한되어 있는 경우이어도 된다. 혹은, 의도한 처치가 아니어도, 혈당이 당해 일정 범위로 제한되는 경우도 또한, "혈당이 제어된 상태"에 해당한다.

[0125] 본 명세서에 있어서 "치료"란, 어느 질환 또는 장애에 대하여, 그러한 상태가 되었을 경우에, 그러한 질환 또는 장애의 악화를 방지, 바람직하게는, 현상 유지, 보다 바람직하게는, 경감, 더욱 바람직하게는 치유되는 것을 말하고, 환자의 질환, 혹은 질환에 수반하는 한 가지 이상의 증상의, 증상 개선 효과 혹은 예방 효과를 발휘할 수 있는 것을 포함한다. 본 명세서에 있어서 "경감"이란, 어느 질환 또는 장애에 대하여, 그러한 상태가 되었을 경우에, 그러한 질환 또는 장애의 중증도를 저감시키는 것을 말하고, "치유"란, 이제는 그러한 질환 또는 장애를 갖는다고 진단되지 않게 되는 것을 말한다. 사전에 진단을 행하여 적절한 치료를 행하는 것은 "컴패니언 치료"라고 하고, 그것을 위한 진단약을 "컴패니언 진단약"이라고 하는 경우가 있다.

[0126] 본 명세서에 있어서 "예방"이란, 어느 질환 또는 장애에 대해서, 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, 혹은 예방을 위한 대책을 강구할 수 있다.

[0127] 본 명세서에 있어서 "진단"이란, 피험체에 있어서의 상태(예를 들어 질환, 장애) 등과 관련되는 여러 가지 파라미터를 동정하고, 그러한 상태의 현상 또는 미래를 판정하는 것을 말한다. 본 개시의 방법, 조성물, 시스템을 사용함으로써, 체내의 상태를 조사할 수 있고, 그러한 정보를 사용하여, 피험체에 있어서의 상태, 투여해야 할 처치 또는 예방을 위한 처방물 또는 방법 등의 여러 가지 파라미터를 선정할 수 있다. 본 명세서에 있어서, 협의로는, "진단"은, 현상을 진단하는 것을 말하지만, 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 벗어나 실시할 수 있으므로 산업상 유용하다. 본 명세서에 있어서, 의사 등의 의료 종사자의 손을 벗어나서 실시할 수 있다는 것을 명확히 하기 위하여, 특히 "예측 진단, 사전 진단 혹은 진단"을 "지원"한다고 하는

경우가 있다.

[0128] 본 명세서에 있어서 "히스톤 탈아세틸화 효소(HDAC)"란, 히스톤 등의 단백질 상의 리진아세틸화 수식을 해제하는 효소 활성을 갖는 것으로 여겨지는 단백질의 패밀리이며, 그 멤버로서 HDAC1 내지 11, SIRT1 내지 7 등이 알려진다. HDAC1 내지 11의 효소 활성은 아연 이온 의존성이라고 생각되고 있고, HDAC1, 2, 3, 8은 클래스 I로, HDAC4, 5, 7, 9는 클래스 IIa로, HDAC6, 10은 클래스 IIb로, HDAC11은 클래스 IV로 분류된다. SIRT1 내지 7의 효소 활성은 NAD+의존성이라고 생각되고 있고, 클래스 III의 HDAC로 분류된다. 이하에 각각의 HDAC과, 그리고 대표적인 핵산 서열 및 아미노산 서열을 나타낸다.

표 1

[0129]

분류	명칭	대표적인 핵산 배열	대표적인 아미노산 배열
클래스 I	HDAC1	NM_004964.2	NP_004955.2
	HDAC2	NM_001527.3	NP_001518.3
	HDAC3	NM_003883.3	NP_003874.2
	HDAC8	NM_001166418.1	NP_001159890.1
클래스 IIa	HDAC4	NM_006037.3	NP_006028.2
	HDAC5	NM_005474.4	NP_005465.2
	HDAC7	NM_015401.4	NP_056216.2
	HDAC9	NM_001204144.2	NP_001191073.1
클래스 IIb	HDAC6	NM_001321226.1	NP_001308155.1
	HDAC10	NM_032019.5	NP_114408.3
클래스 IV	HDAC11	NM_024827.3	NP_079103.2
클래스 III	SIRT1	NM_012238.4	NP_036370.2
	SIRT2	NM_012237.3	NP_036369.2
	SIRT3	NM_012239.5	NP_036371.1
	SIRT4	NM_012240.2	NP_036372
	SIRT5	NM_012241.4	NP_036373.1
	SIRT6	NM_016539.3	NP_057623.2
	SIRT7	NM_016538.2	NP_057622.1

[0130] 본 명세서에 있어서 HDAC 등의 "조절"이란, 임의의 수단으로 HDAC 등의 기능을 증대, 저하 또는 소실시키는 것을 의미한다. "조절"은, "저해" 및 "활성화"를 포함한다. 본 명세서에 있어서 HDAC 등의 "저해"란, 임의의 수단으로 HDAC 등의 기능을 저하 또는 소실시키는 것을 의미한다. 예를 들어 HDAC의 저해는, HDAC의 효소 활성의 저하 또는 소실, HDAC 유전자의 전사의 저감 또는 소실, HDAC 단백질의 번역의 저감 또는 소실, HDAC 단백질의 분해 촉진 등을 초래하는 것일 수 있다. 본 명세서에 있어서 HDAC 등의 "활성화"란, 임의의 수단으로 HDAC 등의 기능을 증대시키는 것을 의미하고, 예를 들어 HDAC의 효소 활성의 증대, HDAC 유전자의 전사의 증대, HDAC 단백질의 번역의 증대, HDAC 단백질의 분해 억제 등을 초래하는 것일 수 있다. 본 명세서에 있어서 "HDAC 조절제"란, 임의의 수단으로 HDAC를 조절하는 약제를 의미하고, "HDAC 저해제" 및 "HDAC 활성화제"를 포함한다. 본 명세서에 있어서 "HDAC 저해제"란, 임의의 수단으로 HDAC를 저해하는 약제를 의미하고, "HDAC 활성화제"란, 임의의 수단으로 HDAC를 활성화하는 약제를 의미한다.

[0131] 본 명세서에 있어서 "조혈 줄기 세포" 또는 "HSC"란, 혈구계 세포로 분화 가능한 줄기 세포를 가리킨다. 인간 성체에서는 주로 골수에 존재하고, 백혈구(호중구, 호산구, 호염기구, 림프구, 단핵구, 마크로파지), 적혈구, 혈소판, 비만 세포, 수지상 세포를 만들어 낸다. 인간 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, Hoechest 33342 색소로 염색한 골수 세포를, 자외광(350nm)으로 여기하고, Hoechst blue 및 Hoechst red의 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 세분류될 수 있다. 예를 들어 조혈 줄기 세포의 특징은, Cytometry Research 19(2):25-32, 2009를 참조할 수 있다.

[0132] 본 명세서에 있어서 "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(혹은, Lineage $^{-}$c-Kit^{+}Sca-1^{+}CD34$^{-/low}$CD150^{+} 세포)라고 표현될 수 있다. 또한, LT-HSC는, (예를 들어 인간에 있어서는) CD34 음성, CD38 음성(혹은, CD34^{-}CD38^{-} 세포)으로 표현될 수 있다(예를 들어 Nat Immunol. 2010 Jul;11(7):585-93;Blood 108, 2446-2454, 2006).

[0133] 본 명세서에 있어서 "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(혹은, CD34^{+}CD38^{-} 세포)으로 표현될 수 있다(예를 들어 Nat Immunol. 2010 Jul;11(7):585-93;Blood 108, 2446-2454, 2006).

[0134] 본 명세서에 있어서 "이상 조혈 줄기 세포" 또는 "이상 HSC"란, 비정상적인 기능을 발현하고 있거나, 및/또는 정상적인 기능이 적어도 일부 결여되어 있는 조혈 줄기 세포를 말한다. 대표적으로는, 이상 HSC는, HDAC, TNF-α, CD106 또는 그 기능적 등가물의 유전자 또는 단백질이 통상 레벨과는 다른 레벨(저하, 상승 또는 소실)에서 발현되거나 및/또는 기능하는 세포를 말한다.

[0135] 본 명세서에 있어서, 유전자 또는 단백질이 "통상의 레벨에서 발현되어 있지 않은"이란, 정상적인 기능을 갖는 세포에서 보여지는 발현량이 아닌 양이나 레벨에서 당해 유전자 또는 단백질이 발현되어 있는 것을 말한다. 예를 들어 CD106에 대해서 말하자면, CD106이 통상 발현되어 있는(정상 세포에서 보여지는 통상의 값)에서 벗어나는 경우에 이상하다고 판단할 수 있으며, 바람직하게는, CD106이 통상보다도 많이 발현되어 있는 경우에 이상하다고 판정할 수 있다. 예를 들어 비당뇨병 및 당뇨병의 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 실시하여, 이상한 조혈 줄기 세포의 표면 항원을 검출하여, 당뇨병 피험체와 비당뇨병 피험체를 비교함으로써 단백질의 통상 레벨이 아닌 발현을 시험할 수 있다.

[0136] 본 명세서에 있어서, 유전자 또는 단백질이 "통상의 레벨에서 기능하고 있지 않은"이란, 정상적인 기능을 갖는 세포에서 보여지는 레벨의 기능이 당해 유전자 또는 단백질에 대해서 보여지지 않는 것을 말한다. 예를 들어 CD106에 대하여 말하자면, CD106이 통상 기능하는 레벨(정상 세포에서 보여지는 통상의 레벨 또는 값)로부터 벗어나는 경우에 이상하다고 판단할 수 있으며, 바람직하게는, CD106이 통상보다도 많은 레벨에서 기능이 관찰되는 경우에 이상하다고 판정할 수 있다. 예를 들어 FACS 해석을 실시하여, 이상한 조혈 줄기 세포의 표면 항원을 검출하고, 당뇨병 피험체와 비당뇨병 피험체를 비교하여 단백질의 활성화를 관찰함으로써 단백질이 통상의 레벨에서 기능하고 있지 않은 것을 시험할 수 있다.

[0137] 본 명세서에 있어서 "CD106"이란, 표면 항원의 1종이며, 접착 분자 VCAM-1(Vascular cell adhesion molecule-1) 또는 INCAM-100으로서도 알려지는, Ig 슈퍼패밀리의 멤버의 I형 막단백질이며, 사이토카인 활성화 내피에 의해 발현되는 세포 표면 시알로 당단백질이며, 백혈구-내피 세포 접착 및 시그널 전달을 매개하는 것이 알려진다. 인간에서는, VCAM-1 아이소폼 a프리커서(핵산 서열:NM_001078.4, 아미노산 서열:NP_001069.1), VCAM-1 아이소폼 b프리커서(핵산 서열:NM_080682.2, 아미노산 서열:NP_542413.1), VCAM-1 아이소폼 c프리커서(핵산 서열:NM_001199834.1, 아미노산 서열:NP_001186763.1)가 대표적이다.

[0138] 본 명세서에 있어서 "CD34"란, 줄기 세포의 골수 세포 외 매트릭스 또는 간질 세포로의 부착에 관여한다고 생각되고 있는 표면 단백질이며, 고도로 글리코실화되고, 프로테인 키나아제 C에 의해 인산화되는 것이 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.

[0139] 본 명세서에 있어서 "종양 괴사 인자 알파" 또는 그 생략형인 "TNF-α"란, TNF, DIF, TNFA, TNFSF2, TNLG1F로서도 알려지는 종양 괴사 인자(TNF) 슈퍼패밀리에 속하는 다기능 염증 유발성 사이토카인이며, 주로 마크로파지에 의해 분비되는 단백질을 가리킨다. TNF-α는, 수용체 TNFRSF1A/TNFR1 및 TNFRSF1B/TNFBR를 통하여 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.

[0140] 본 명세서에 있어서 "프로인슐린"이란, 인슐린의 전구체 단백질을 가리킨다. 프로인슐린은, 췌장 β세포의 소포체에 있어서 프로세싱되고, 미성숙의 분비 과립 내에서 C펩티드 영역이 제거됨으로써 A쇄 및 B쇄로 구성되는 인슐린이 생성된다. 인간에서는, 프로인슐린 전사 배리언트 1(핵산 서열:NM_000207.3, 아미노산 서

열: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.

[0141] 본 명세서에 있어서 "c-Kit"란, PBT, SCFR, KIT, CD117 또는 MASTC으로서도 알려지는 MGF(비만 세포 증식 인자, 줄기 세포 인자로서도 알려진다)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.

[0142] 본 명세서에 있어서 "CD20"이란, MS4A1, B1, S7, Bp35, CD20, CVID5, MS4A2 또는 LEU-16으로서도 알려지는 막관통형 4A 유전자 패밀리의 멤버이며, B 세포의 형질 세포로의 발달 및 분화에 있어서 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.

[0143] 특별히 언급하지 않는 한, 본 명세서에 있어서, 각 단백질에 관한 언급은, 특정한 액세션 번호에 기재되는 아미노산 서열을 갖는 단백질(혹은 그것을 코드하는 핵산)뿐만 아니라, 그 기능적 등가물도 또한 고려되는 것이 이해된다.

[0144] 본 명세서에 있어서, 어떤 분자의 "기능적 등가물"에는, 그 분자의 변이체 또는 개변체(예를 들어 아미노산 서열 개변체 등)이며, 본 명세서에 기재되는 특징(예를 들어 마커)으로서의 기능을 갖는 것, 그 분자의 생물학적 기능과 마찬가지의 기능(동일한 정도가 아니어도 된다)을 발휘하는 것, 그리고, 작용하는 시점에 있어서, 그 분자 자체로 변화할 수 있는 것이 포함되는 것이 이해된다.

[0145] 본 명세서에 있어서, 어떤 분자의 "기능적 개변체"에는, 그 분자의 기능을 유지한(정도는 변경되어도 됨)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 사용되는 경우, 기능적 개변체는, 개변 전의 기본이 되는 기능을 유지하는 것이다.

[0146] 본 개시의 기능적 등가물로서는, 아미노산 서열에 있어서, 1 혹은 복수개의 아미노산 삽입, 치환 혹은 결실, 또는 그 한쪽 혹은 양쪽 말단으로의 부가된 것을 사용할 수 있다. 본 명세서에 있어서, "아미노산 서열에 있어서, 1 혹은 복수개의 아미노산의 삽입, 치환 혹은 결실, 또는 그 한쪽 혹은 양쪽 말단으로의 부가"란, 부위 특이적 돌연 변이 유발법 등의 주지의 기술적 방법에 의해, 혹은 천연의 변이에 의해, 천연적으로 생길 수 있을 정도의 복수개의 아미노산 치환 등에 의해 개변이 이루어지고 있는 것을 의미한다.

[0147] 본 명세서에 있어서 "생물학적 기능"이란, 어느 유전자 또는 그것에 관한 핵산 분자 혹은 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 중에서 언급되는 액세션 번호, Entrez 번호 등에 있어서 인용되는 문헌 등을 참조할 수 있고, 본 명세서에 있어서 그러한 문헌 등도 또한 참고로서 원용한다. 본 명세서에 있어서, 생물학적 기능은, "생물학적 활성"에 의해 발휘될 수 있다. 본 명세서에 있어서 "생물학적 활성"이란, 어느 인자(예를 들어 폴리뉴클레오티드, 단백질 등)가 생체 내에서 가질 수 있는 활성을 말하고, 여러 가지 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 작용할 경우, 그 생물학적 활성은, 그 2분자 사이의 결합 및 그것에 의해서 생기는 생물학적 변화, 예를 들어 하나의 분자를 항체를 사용하여 침강시켰을 때에 다른 분자도 공침할 때, 2분자는 결합되어 있다고 생각된다. 따라서, 그러한 공침을 보는 것이 하나의 판단 수법으로서 들 수 있다. 예를 들어 어느 인자가 효소일 경우, 그 생물학적 활성은, 그 효소 활성을 포함한다. 다른 예에서는, 어느 인자가 리간드인 경우, 그 리간드가 대응되는 리셉터로의 결합을 포함한다. 그러한 생물학적 활성은, 당해 분야에 있어서 주지의 기술에 의해 측정할 수 있다.

[0148] 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, 여러 가지 실시 형태에 있어서, 동일 사이즈의 아미노산 서열 또는 핵산 서열에 걸치거나, 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, 혹은 이러한 핵산의 "유도체" 또는 "유사체" 또는 "변이

체"는, 엄격한 조건, 중간 정도로 엄격한 조건, 또는 엄격하지 않은 조건 하에서, 원래의 핵산에 하이브리다이즈 가능하다. 대표적으로는, 단백질의 "유도체" 또는 "유사체" 또는 "변이체"는, 천연 존재 단백질에 아미노산 치환, 결실 및 부가 등의 수식이 생긴 산물이며, 또한, 천연 존재 단백질의 생물학적 기능을, 반드시 동일한 정도가 아니어도 되지만 나타내는 단백질을 의미한다. 예를 들어 본 명세서에서 기재되거나 혹은 당해 분야에서 공지된 적절하고 이용 가능한 in vitro 어세이에 의해, 이러한 단백질의 생물학적 기능을 조사하는 것도 가능하다. 본 개시에서는, 인간에 대하여 주로 논해지지만, 다른 종 예를 들어 영장류 내의 다른 종 혹은 이 외의 속의 동물의 종의 것에도 해당하는 것이 이해되고, 이러한 포유 동물에 대해서도, 본 개시의 범위 내에 들어가는 것이 이해된다.

[0149] 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 다른 분자의 기능을 활성화하거나, 촉진하거나, 안정화되거나, 저해하거나, 억제하거나, 또는 불안정화되는 능력, 안정성, 특정의 세포 내 위치에 국재하는 능력을 포함한다. 적용 가능할 경우, 이 용어는 또한, 가장 넓은 의미에서의 단백질 복합체의 기능에도 관한 것이다.

[0150] 본 명세서에서 사용되는 "기능적으로 활성인" 단백질, 폴리펩티드, 프래그먼트 또는 유도체는, 생물학적 활성 등의, 단백질의 구조적 기능, 제어 기능, 또는 생화학적 기능을 갖는다. 본 명세서에서는, "기능적으로 활성인" 단백질, 폴리펩티드, 프래그먼트 또는 유도체는, 본 개시의 목적에 부합하는 한, 의도되는 생물학적 활성 등 중 적어도 하나를 가지면 되는 것으로 이해된다.

[0151] 본 명세서에 있어서 "유전자"란, 유전 형질을 규정하는 인자를 말한다. 통상 염색체 상에 일정한 순서로 배열되어 있다. 단백질의 일차 구조를 규정하는 유전자를 구조 유전자라고 하고, 그 발현을 좌우하는 유전자를 조절 유전자라고 한다. 본 명세서에서는, "유전자"는, "폴리뉴클레오티드", "올리고뉴클레오티드" 및 "핵산"(여기서는, DNA, RNA 등 포함)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 하는 경우에는, mRNA 등의 전사 레벨을 가리키는 경우가 많다.

[0152] 본 명세서에 있어서 "단백질", "폴리펩티드", "올리고 펩티드" 및 "펩티드"는, 본 명세서에서 동일한 의미로 사용되고, 임의의 길이의 아미노산 폴리머를 말한다. 이 폴리머는, 직쇄이어도 분지되어 있어도 되고, 환상이어도 된다. 아미노산은, 천연적인 것이어도 비천연적인 것이어도 되고, 개변된 아미노산이어도 된다. 이 용어는 또한, 복수의 폴리펩티드쇄의 복합체로 어셈블된 것을 포함할 수 있다. 이 용어는 또한, 천연 또는 인공적으로 개변된 아미노산 폴리머도 포함한다. 그러한 개변으로서는, 예를 들어 디술피드 결합 형성, 글리코실화, 지질화, 아세틸화, 인산화 또는 임의의 다른 조작 혹은 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 등 포함), 펩티드양 화합물(예를 들어 펩토이드) 및 당해 분야에서 공지된 다른 개변이 포함된다.

[0153] 본 명세서에 있어서 "폴리뉴클레오티드", "올리고뉴클레오티드" 및 "핵산"은, 본 명세서에서 동일한 의미로 사용되고, 임의의 길이의 뉴클레오티드 폴리머를 말한다. 이 용어는 또한, 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 유도체를 포함한다. 본 명세서에 있어서 "핵산"은 또한, 유전자, cDNA, mRNA, 올리고뉴클레오티드, 및 폴리뉴클레오티드와 호환 가능하게 사용된다. 본 명세서에 있어서 "뉴클레오티드"는, 천연의 것이어도 비천연의 것이어도 된다.

[0154] 본 명세서에 있어서 유전자의 "상동성"이란, 2 이상의 유전자 서열의, 서로에 대한 동일성의 정도를 말하고, 일반적으로 "상동성"을 갖는다는 것은, 동일성 또는 유사성의 정도가 높다는 것을 말한다. 따라서, 어느 2개의 유전자의 상동성이 높을수록, 그것들의 서열의 동일성 또는 유사성은 높다. 2종류의 유전자가 상동성을 갖는지 여부는, 서열의 직접적인 비교, 또는 핵산의 경우 엄격한 조건 하에서의 하이브리다이제이션법에 의해 조사할 수 있다. 2개의 유전자 서열을 직접 비교하는 경우, 그 유전자 서열간에서 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 명세서에 있어서 "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 하는 경우도 있다.

[0155] 아미노산은, 그 일반적으로 공지된 3문자 기호나, 또는 IUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commission에 의

해 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 명세서에 있어서의 동일성의 값은 통상적으로는 상기 BLAST를 사용하고, 디폴트의 조건에서 얼라인했을 때의 값을 말한다. 단, 파라미터의 변경에 의해, 보다 높은 값이 나오는 경우에는, 가장 높은 값을 동일성의 값으로 한다. 복수의 영역에서 동일성이 평가되는 경우에는 그 중의 가장 높은 값을 동일성의 값으로 한다. 유사성은, 동일성에 더하여, 유사한 아미노산에 대해서도 계산에 넣은 수치이다.

[0156] 본 명세서에 있어서 "정제된" 물질 또는 생물학적 인자(예를 들어 핵산 또는 단백질 등)란, 그 생물학적 인자에 천연적으로 수반하는 인자의 적어도 일부가 제거된 것을 말하다. 따라서, 통상 정제된 생물학적 인자에 있어서의 그 생물학적 인자의 순도는, 그 생물학적 인자가 통상 존재하는 상태보다도 높다(즉 농축되어 있다). 본 명세서 중에서 사용되는 용어 "정제된"은, 바람직하게는 적어도 75중량%, 보다 바람직하게는 적어도 85중량%, 보다 더욱 바람직하게는 적어도 95중량%, 그리고 가장 바람직하게는 적어도 98중량%의, 동일한 형태의 생물학적 인자가 존재하는 것을 의미한다. 본 개시에서 사용되는 물질은, 바람직하게는 "정제된" 물질이다.

[0157] 본 명세서에 있어서 "대응하는" 아미노산 또는 핵산이란, 어느 폴리펩티드 분자 또는 폴리뉴클레오티드 분자에 있어서, 비교의 기준이 되는 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드에 있어서의 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 안티 센스 분자라면, 그 안티 센스 분자의 특정 부분에 대응하는 오르토로그에 있어서의 동일한 부분일 수 있다. 대응하는 아미노산은, 예를 들어 시스테인화, 글루타치온화, S-S 결합 형성, 산화(예를 들어 메티오닌 측쇄의 산화), 포르밀화, 아세틸화, 인산화, 당쇄 부가, 미리스틸화 등이 되는 특정 아미노산일 수 있다. 혹은, 대응하는 아미노산은, 이량체화를 담당하는 아미노산일 수 있다. 이러한 "대응하는" 아미노산 또는 핵산은, 일정 범위에 걸치는 영역 또는 도메인이어도 된다. 따라서, 그러한 경우, 본 명세서에 있어서 "대응하는" 영역 또는 도메인이라고 한다.

[0158] 본 명세서에 있어서 "대응하는" 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 복수개 존재하는 경우, 진화학적으로 동일한 기원을 갖는 것을 말하다. 따라서, 어느 유전자에 대응하는 유전자는, 그 유전자의 오르토로그일 수 있다. 그러한 대응하는 유전자는, 당해 분야에 있어서 주지의 기술을 사용하여 동정할 수 있다. 따라서, 예를 들어 어느 동물(예를 들어 마우스, 래트)에 있어서의 대응되는 유전자는, 대응되는 유전자(예를 들어 인간의 것)의 기준이 되는 유전자의 서열을 쿼리 서열로서 사용하여 그 동물의 서열 데이터 베이스를 검색함으로써 발견할 수 있다.

[0159] 본 명세서에 있어서 "프래그먼트(단편)"이란, 전체 길이의 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드(길이가 n)에 대하여 1 내지 n-1까지의 서열 길이를 갖는 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드를 말한다. 프래그먼트의 길이는, 그 목적에 따라, 적절히 변경할 수 있으며, 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 있으며, 여기의 구체적으로 열거하고 있지 않은 정수로 나타내는 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 있으며, 여기의 구체적으로 열거하고 있지 않은 정수로 나타내는 길이(예를 들어 11 등)도 또한, 하한으로서 적절할 수 있다. 본 명세서에 있어서, 이러한 프래그먼트는, 예를 들어 전체 길이의 것이 마커로서 기능할 경우, 그 프래그먼트 자체도 또한 마커로서의 기능을 갖는 한, 본 개시의 범위 내에 들어가는 것으로 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 분자의 생물학적 기능을 갖고 있지 않아도 된다.

[0160] 본 명세서에 있어서 유전자, 폴리뉴클레오티드, 폴리펩티드 등의 "발현"이란, 그 유전자 등이 생체 내에서 일정한 작용을 받아, 다른 형태가 되는 것을 말한다. 바람직하게는, 유전자, 폴리뉴클레오티드 등이, 전사 및 번역되어, 폴리펩티드의 형태가 되는 것을 말하는데, 전사되어 mRNA가 제작되는 것도 또한 발현의 일 양태일 수 있다. 보다 바람직하게는, 그러한 폴리펩티드의 형태는, 번역 후 프로세싱을 받은 것(본 명세서에서 말하는 유도체)일 수 있다. 예를 들어 분자의 발현 레벨은, 임의의 방법에 의해 결정할 수 있다. 구체적으로는, 이 분자

의 mRNA의 양, 단백질의 양, 또는 단백질의 생물학적인 활성을 평가함으로써 발현 레벨을 알 수가 있다.

[0161] 본 명세서에 있어서 "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 혹은 감소되는 것을 의미한다. 어느 마커의 발현량을 측정함으로써, 마커에 기초하는 여러 가지 검출 또는 진단을 행할 수 있다.

[0162] 본 명세서에 있어서 "마커(물질, 단백질 또는 유전자(핵산))"란, 어느 상태(예를 들어 세포의 종류, 정상 세포 상태, 질환 상태, 장애 상태, 혹은 증식 능력, 분화 상태의 레벨 등)에 있거나 또는 그 위험성이 있는지 여부를 추적하는 시표가 되는 물질을 말한다. 이러한 마커로서는, 혈당값, 유전자(핵산=DNA 레벨), 유전자 산물(mRNA, 단백질 등), 대사 물질, 효소 등을 들 수 있다. 본 개시에 있어서, 어느 상태(당뇨병 등)에 관한 검출, 진단, 예비적 검출, 예측 또는 사전 진단은, 그 상태와 관련되는 마커에 특이적인 약제, 제, 인자 또는 수단, 혹은 그것들을 포함하는 조성물, 키트 또는 시스템 등을 사용하여 실현할 수 있다.

[0163] 본 명세서에 있어서 "수단"이란, 어느 목적(예를 들어 검출, 진단, 치료, 예방)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.

[0164] 본 명세서에 있어서 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 발현의 "검출" 또는 "정량"은, 예를 들어 마커 검출제에 대한 결합 또는 상호 작용을 포함하는, mRNA의 측정 및 면역학적 측정 방법을 포함하는 적절한 방법을 사용하여 달성될 수 있다. 분자 생물학적 측정 방법으로서는, 예를 들어 노던 블롯법, 도트 블롯법 또는 PCR법 등이 예시된다. 면역학적 측정 방법으로서는, 예를 들어 방법으로서는, 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 방법으로서는, ELISA법 또는 RIA법 등이 예시된다. 어레이(예를 들어 DNA 어레이, 프로테인 어레이)를 사용한 유전자 해석 방법에 의해서도 행해질 수 있다. DNA 어레이에 대해서는, (슈쥰사 편, 세포 공학 별책 "DNA 마이크로어레이와 최신 PCR법")에 널리 개설되어 있다. 프로테인 어레이에 대해서는, Nat Genet.2002 Dec;32 Suppl:526-32에 상세히 기술되어 있다. 유전자 발현의 분석법으로서는, 상술한 것에 더하여, RT-PCR, RACE법, SSCP법, 면역 침강법, two-hybrid 시스템, in vitro 번역 등을 들 수 있지만 그것들로 한정되지 않는다. 그러한 추가의 분석 방법은, 예를 들어 게놈 해석 실험법·나카무라 유우스케 라보 매뉴얼, 편집·나카무라 유우스케 요도샤(2002) 등에 기재되어 있고, 본 명세서에서 그러한 기재는 모두 참고로서 원용된다.

[0165] 본 명세서에 있어서 "프로브"란, 시험관 내 및/또는 생체 내 등의 스크리닝 등의 생물학적 실험에서 사용되는, 검색의 수단이 되는 물질을 말하고, 예를 들어 특정의 염기 서열을 포함하는 핵산 분자 또는 특정의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드, 특이적 항체 또는 그 프래그먼트 등을 들 수 있지만 그것으로 한정되지 않는다. 본 명세서에 있어서 프로브는, 마커 검출 수단으로서 사용된다.

[0166] 본 명세서에 있어서 "표지"란, 목적이 되는 분자 또는 물질을 기타로부터 식별하기 위한 존재(예를 들어 물질, 에너지, 전자파 등)를 말한다. 그러한 표지 방법으로서는, RI(라디오아이소토프)법, 형광법, 바이오틴법, 화학 발광법 등을 들 수 있다. 본 개시의 마커 또는 그것을 포착하는 인자 또는 수단을 복수, 형광법에 의해 표지할 경우에는, 형광 발광 극대 파장이 서로 다른 형광 물질에 의해 표지를 행한다.

[0167] 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 바이오틴-아비딘, 바이오틴-스트렙트아비딘과 같은 관계를 갖는다)을 말하고, "표지"의 범주에 포함될 수 있다. 따라서, 예를 들어 태그가 결합한 특정의 물질은, 태그 서열의 결합 파트너를 결합시킨 기재를 접촉시킴으로써, 이 특정의 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, 이것들로 한정되지 않는다. 본 개시의 마커 또는 마커 검출제에는 이러한 태그를 결합시켜도 된다.

[0168] 본 명세서에 있어서 "약제", "제" 또는 "인자"(모두 영어에서는 agent에 대응한다)는 광의로는, 교환 가능하게 사용되고, 의도하는 목적을 달성할 수 있는 한 어떤 물질 또는 다른 요소(예를 들어 광, 방사능, 열, 전기 등의 에너지)이어도 된다. 그러한 물질로서는, 예를 들어 세포(예를 들어 T 세포), 단백질, 폴리펩티드, 올리고 펩티드, 펩티드, 폴리뉴클레오티드, 올리고뉴클레오티드, 뉴클레오티드, 핵산(예를 들어 cDNA, 게놈 DNA와 같은 DNA, mRNA와 같은 RNA를 포함한다), 폴리사카리드, 올리고사카리드, 지질, 유기 저분자(예를 들어 호르몬, 리간드, 정보 전달 물질, 유기 저분자, 콤비나토리얼 케미스트리에서 합성된 분자, 의약품으로서 이용될 수 있는 저분자(예를 들어 저분자 리간드 등) 등), 이러한 복합 분자를 들 수 있지만 그것들로 한정되지 않는다.

[0169] 본 명세서에 있어서 "키트"란, 통상 2개 이상의 구획으로 나누어, 제공되어야 할 부분(예를 들어 검사약, 진단약, 치료약, 설명서 등)이 제공되는 유닛을 말한다. 안정성 등을 위하여, 혼합되어 제공되어야 하는 것은 아니고, 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 사용하는지, 혹은, 시약을 어떻게 처리해야 하는지를 기재하는 지시서 또는 설명서를 구비하고 있는 것이 유리하다. 본 명세서에 있어서 키트가 시약 키트로서 사용되는 경우, 키트에는, 통상 검사약, 진단약, 치료약 등의 사용법 등을 기재한 지시서 등이 포함된다.

[0170] 본 명세서에 있어서 "지시서"는, 본 개시를 사용하는 방법을 의사 또는 다른 사용자에 대한 설명을 기재한 것이다. 이 지시서는, 본 개시의 검출 방법, 진단약의 사용법, 또는 의약 등을 투여하는 것을 지시하는 문언이 기재되어 있다. 또한, 지시서에는, 투여 부위로서, 경구, 식도로의 투여(예를 들어 주사 등에 의한)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, 통상적으로는 종이 매체로 제공되지만, 그것으로 한정되지 않고, 예를 들어 전자 매체(예를 들어 인터넷으로 제공되는 홈페이지, 전자 메일)와 같은 형태로도 제공될 수 있다.

[0171] 본 명세서에서 사용될 때, 시료 중의 분석물 등의 "양"은, 일반적으로는, 시료의 체적 중에서 검출할 수 있는 분석물의 질량을 반영하는 절댓값을 가리킨다. 그러나, 양은, 다른 분석 물량과 비교한 상대량도 고려한다. 예를 들어 시료 중의 분석물의 양은, 시료 중에 통상 존재하는 분석물의 대조값 또는 정상값보다 큰 양이어도 된다.

[0172] 본 명세서에서 사용될 때, 시료 중의 분석물 등의 "레벨"은, 일반적으로는, 분석물이 효소 등의 기능을 발휘하는 대상인 경우에, 그 분석물의 활성 등의 값을 반영하는 절댓값을 가리킨다. 그러나, 레벨은, 다른 분석물 레벨과 비교한 상대 레벨도 고려한다. 예를 들어 시료 중의 분석물의 레벨은, 시료 중에 통상 존재하는 분석물의 대조값 또는 정상값보다 큰 레벨이어도 된다.

[0173] 용어 "약"은, 본 명세서에서 사용될 때, 표시된 값 플러스 또는 마이너스 10%를 가리킨다. 또한, "약"이라고 명시적으로 표시되지 않을 경우에도 "약"이 있으면 동일 의미로 해석될 수 있다.

[0174] (본 개시의 개요)

[0175] 본 발명자들은, HDAC 조절(예를 들어 HDAC의 저해 또는 활성화) 및 혈당의 제어를 조합함으로써 우수한 당뇨병의 치료 효과가 얻어진다는 새로운 국면을 발견하였다. 본 개시는, 이 새로운 당뇨병 치료 전략에 기초하여 당뇨병 및/또는 그 관련 질환에 대하여 새로운 치료 전략을 제공하는 것이다.

[0176] (바람직한 실시 형태)

[0177] 이하에 본 개시의 바람직한 실시 형태를 설명한다. 이하에 제공되는 실시 형태는, 본 개시의 보다 좋은 이해를 위해서 제공되는 것이며, 본 개시의 범위는 이하의 기재로 한정되어야 하는 것은 아니라는 것으로 이해된다. 따라서, 당업자는, 본 명세서 중의 기재를 참작하여, 본 개시의 범위 내에서 적절히 개변을 행할 수 있다는 것은 명확하다. 또한, 본 개시의 이하의 실시 형태는 단독으로도 사용되거나 혹은 그것들을 조합하여 사용할 수 있는 것으로 이해된다.

[0178] (HDAC 조절 및 혈당의 제어 조합에 의한 당뇨병 및/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상의 치료 및/또는 예방)

[0179] 하나의 국면에 있어서, 본 개시는, 히스톤 탈아세틸화 효소(HDAC)의 조절(예를 들어 HDAC의 저해 또는 활성화) 및 혈당의 제어를 조합하는 것에 의한 당뇨병 및/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 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. 하나의 실시 형태에 있어서, 혈당이 제어된 상태의 대상에 HDAC 조절제를 투여함으로써 당뇨병 그리고/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상을 치료 및/또는 예방한다. 하나의 실시 형태에 있어서, 대상에 혈당 제어 처치와 조합하여 HDAC 조절제를 투여함으로써 당뇨병 그리고/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상을 치료 및/또는 예방한다. 본 개시에 있어서, HDAC의 조절은, 본 개시에 있어서의 기재를 바탕으로, 개개의 HDAC를 적절하게, 활성화, 저해 혹은 다른 양식에서의 조절을 행함으로써 달성할 수 있다.

[0180] 하나의 실시 형태에 있어서, 혈당이 제어된 상태는, 공복 시 혈당, 경구 포도당 부하 시험의 2시간에서의 혈당값, 및/또는 수시 혈당값에 의해 판단될 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 공복 시 혈당이 150mg/dL 미만, 145mg/dL 미만, 140mg/dL 미만, 135mg/dL 미만, 130mg/dL 미만, 126mg/dL 미만, 120mg/dL 미만, 115mg/dL 미만 또는 110mg/dL 미만의 상태는, 혈당이 제어된 상태일 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 경구 포도당 부하 시험(예를 들어 75gOGTT)의 2시간에서의 혈당값이 250mg/dL 미만, 240mg/dL 미만, 230mg/dL 미만, 220mg/dL 미만, 210mg/dL 미만, 200mg/dL 미만, 190mg/dL 미만, 180mg/dL 미만, 170mg/dL 미만, 160mg/dL 미만 또는 150mg/dL 미만의 상태는, 혈당이 제어된 상태일 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 수시 혈당값(식사 시간과는 관계없이 측정한 혈당값, 예를 들어 식후 1시간 이내에 측정한 혈당값)이 250mg/dL 미만, 240mg/dL 미만, 230mg/dL 미만, 220mg/dL 미만, 210mg/dL 미만, 200mg/dL 미만, 190mg/dL 미만, 180mg/dL 미만, 170mg/dL 미만, 160mg/dL 미만 또는 150mg/dL 미만의 상태는, 혈당이 제어된 상태일 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 혈당이 제어된 상태는, 한 번의 측정 결과에 의해 판단해도 되고 복수회의 측정 결과에 의해 판단해도 되고, 일정 기간(예를 들어 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 2주일, 3주일, 4주일 등)의 측정 결과에 의해 판단해도 된다.

[0181] 하나의 실시 형태에 있어서, HDAC의 조절 및 혈당의 제어를 조합하는 것에 의한 당뇨병 및/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상의 치료 및/또는 예방에 있어서, 대상의 혈당값을 측정해도 된다. 예를 들어 혈당값의 측정은, HDAC의 조절 및/또는 혈당의 제어 전, 후 및/또는 처치 기간 내에 실시될 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 처치 기간 외에서는, 혈당값의 측정은, 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 2주일, 3주일, 또는 4주일에 1회 실시될 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 처치 기간 내에서는, 혈당값의 측정은, 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일 또는 7일에 1회, 혹은 1일에 1 내지 3회 실시될 수 있다. 구체적인 실시 형태에 있어서, 처치 기간 외에서는, 혈당값의 측정은, 1주일에 1회 실시하고, 처치 기간 내에서는, 혈당값의 측정은, 처치와 동일한 빈도로(예를 들어 3일에 1회 HDAC 조절제를 투여할 경우, 3일에 1회) 실시한다.

[0182] 하나의 실시 형태에 있어서, 본 개시의 치료 및/또는 예방에 있어서의 HDAC 조절은, HDAC 조절제를 사용하여 실시될 수 있다. 조절되는 HDAC는, 클래스 I, 클래스 IIa, 클래스 IIb, 클래스 III, 클래스 IV, HDAC1 내지 11 및 SIRT1 내지 7 중 어느 것이어도 된다. 하나의 실시 형태에 있어서, HDAC 조절에 의해, 클래스 I, 클래스 II 및/또는 클래스 IV의 HDAC가 저해된다. 하나의 실시 형태에 있어서, HDAC 조절에 의해, HDAC1, HDAC2, HDAC3, HDAC4, HDAC5, HDAC6, HDAC7, HDAC8, HDAC9 및 HDAC10 중 1개 또는 복수가 저해된다. 하나의 실시 형태에 있어서, HDAC 조절에 의해, SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT4, SIRT5, SIRT6 및 SIRT7 중 1개 또는 복수가 활성화된다. 하나의 실시 형태에서는, 이것들의 저해 및 활성화가 임의의 조합도 고려되고, 그것들도 본 개시의 범위 내에 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, HDAC 조절에 의해, SIRT1 및/또는 SIRT6이 활성화된다. 조절 표적의 HDAC는, 선택적으로 조절해도 되고, 기타의 HDAC과 함께 조절해도 된다. SIRT는 골수 이외의 장기에서는 활성이 상승되어 있던 쪽이 바람직할 가능성이 있고, 본 개시에 있어서, 클래스 III의 HDAC는, 저해되지 않거나 및/또는 활성화시키는 것이 적합할 수 있다. 예를 들어 SIRT1 및 SIRT6의 활성화는 당뇨병에 있어서 염증을 억제함으로써 산화 스트레스를 줄일 수 있다. 기비노스탓과 같이 클래스 III의 HDAC를 저해시키지 않고, 클래스 I, II 및 IV의 HDAC를 브로드하게 저해하는 약제가 특히 적합할 수 있다. 특정한 이론에 속박되는 것을 기대하는 것은 아니지만, 각 HDAC는, 당뇨병에 있어서 이하의 표에 나타내는 것과 같은 기능이 있을 것으로 예상되므로, 이러한 기능을 제어하도록 HDAC의 조절을 선택해도 된다.

표 2

[0183]

유전자	이상 조혈 줄기 세포에서 관찰된 변화	상승에 의해 예상되는 당뇨병에 대한 영향
Hdac1	변화 없음	당흡수 저하
Hdac2	저하	당흡수 저하
Hdac3	상승	당방출 증대
Hdac4	상승	당흡수 저하/당방출 증대
Hdac5	변화 없음	당흡수 저하/당방출 증대
Hdac6	변화 없음	내당능 악화
Hdac7	변화 없음	인슐린 분비 저하
Hdac8	상승	내당능 악화
Hdac9	저하	내당능 악화
Hdac10	변화 없음	보고 없음
Hdac11	저하	내당능 악화
Sirt1	상승	합병증 방지
Sirt2	변화 없음	산화 스트레스 저하
Sirt3	변화 없음	미토콘드리아 기능 증대
Sirt4	변화 없음	미토콘드리아 기능 증대
Sirt5	변화 없음	미토콘드리아 기능 증대
Sirt6	상승	DNA 수복 증대
Sirt7	변화 없음	ER 스트레스 저하

[0184] 상기 표의 변화 없음, 상승, 저하에 대해서는, 1 또는 복수개가 다를 가능성이 있고, 그 패턴은, 표에 기재된 것과 완전히 동일한 변동을 나타내어도 되고, 1 또는 복수개가 다른 양식으로 변동되어도 된다. 이상 조혈 줄기 세포에 있어서의 다른 양식으로서는 상승이 변화 없음 또는 저하가 되는 경우나 상승이 변화 없음 또는 저하가 되는 경우나, 저하가 변화 없음 또는 상승이 되는 것을 생각할 수 있고, 그것들을 전제로 한 실시 형태도 본 개시의 범위 내에 있는 것으로 의도된다.

[0185] HDAC 조절제는, 저분자 화합물, 저해성 핵산(유전자 치료를 목적으로 하는 것 포함), 항체 등 임의의 물질일 수 있다. 예시적인 HDAC 조절제로서, 핑골리모드(FTY720), 기비노스탓, 보리노스탓(SAHA, 수베로일아닐리드히드록삼산), 벨리노스탓, 파노비노스탓, 레스미노스탓, 아벡시노스탓, 모세티노스탓, 트리코스타틴 A(TSA), 로미뎁신, 아피시딘, 치다미드, 엔티노스탓, 타세디날린, 투시디노스탓, 프라시노스탓(SB939), 키시노스탓, 테피노스탓, 로실리노스탓, 피메피노스탓, 나나티노스탓, 도마티노스탓, 트라폭신(TPX), 환식 히드록삼산 함유 퀩티드 1(CHAP1), 발프로산(VPA), 부티르산 나트륨(NaBu), 4-페닐부티르산, OBP-801, ME-344, CG200745, MPT0E014, RGFP966(MCE, HY-13909), SK-7041, 스크립트 에이드, MC1568, MHY2256, 리콜리노스탓(ACY-1215), Tubacin(S2239), Tubathian A, Tubastatin A, Pojamide, AN7, CUDC-101, KD5170, R36465, SOU-HDAC42, LBH589, SFN, 페닐헥실이소티오시아네이트, 다시노스탓(LAQ824), CBHA(m-카르복시신남산 bis-히드록사미드), 아제라로일 bis-히드록삼산(ABHA)(N,N'-디히드록시노난디아미드), AR-42, 수베로일 bis-히드록삼산(SBHA), 피발산 부티릴옥시메틸(pivanex, AN-9), 디알릴트리술피드(DATS), PCI-24781, 니코틴아미드, 테노빈-1, 테노빈-6, 시르티놀, EX-527, HBI-8000, 케베트린, CHR-3996, 4SC202, WW437, α-케토아미드류, 복소환식 케톤류, 캄비놀, I-7ab, C149, 데푸데신, SEN 196, COMPOUND6J, JGB1741, JQ1, I-BET151, BY27, CUDC907, DWP0016, MC1568, W2, RGFP109, 티노스타무스틴(EDO-S101), J22352, M344, ITF-3056, TMP195(TFMO 2), MI192, 산타크루자메이트 A(CAY10683), ACY-738, BML-281(CAY10603), LTB2, CKD-506, WK2-16, PCI-34051, ESM-HDAC528, Merck60, HNHA((N-히드록시-7-2-나프틸티오)헵타노미드), KBH-A42, AGK2, 술포라판, MS-275, 레스베라트롤, APHA, 커큐민, 레메티노스탓, 시타리노스탓, 다시노스탓, 드록시노스탓, BRD3308, 님볼리드, 베타인, 및 크리소파놀을 들 수 있지만, 이것들로 한정되지 않는다. 바람직한 실시 형태에 있어서, HDAC 조절제는, 핑골리모드(FTY720), 기비노스탓, 트리코스타틴 A, 보리노스탓, 벨리노스탓, 파노비노스탓, 레스미노스탓, 아벡시노스탓, 키시노스탓, 프라시노스탓, 로실리노스탓, 나나티노스탓, 다시노스탓, (N-히드록시-7-2-나프틸티오)헵타노미드, 발프로산,

CG200745, 스크립트 에이드, KBH-A42, 로미뎁신, 부티르산 나트륨, 4-페닐부티르산, SK-7041, WW437, 엔티노스탓, 타세디날린, 모세티노스탓, 피발산 부티릴옥시메틸, 트라폭신, α-케토아미드류, 복소환식 케톤류, 디알릴 트리술피드, 리콜리노스탓, Tubacin, 아제라로일 bis-히드록삼산, m-카르복시신남산 bis-히드록사미드로부터 선택된다. 특히, 기비노스탓 등 골수에 도달할 수 있는 HDAC 조절제는, 골수 중에 존재하는 당뇨병의 원인이 되는 이상 줄기 세포에도 작용할 수 있으므로, 본 개시에 있어서 적합하게 사용될 수 있다.

[0186] 이상 줄기 세포는 골수 내의 니치에 접착되어 존재하고 있고, 세포 증식을 할 때만 니치로부터 유리되고, 증식을 끝내면 또 니치에 접착되어, 숨겨진다고 생각된다. 따라서, 효율적으로 HDAC 조절제를 작용시키기 위해서는, 골수 중에 존재하는 이상 줄기 세포를 니치로부터 유리시키기 위해서, 조혈 줄기 세포의 유주제, 예를 들어 CXCR4 저해제(예를 들어 플레릭사포(AMD3100)), 상피 성장 인자 수용체(EGFR) 저해제(예를 들어 게피티닙, 에를로티닙, 아파티닙, 오시머티닙 등), 과립구 콜로니 자극 인자(G-CSF) 자극제(예를 들어 필그라스팀, 나르토그라스팀, 레노그라스팀, 페그필그라스팀 등), 및 CXCR2 자극제(예를 들어 GROβ(MIP2)) 등을 추가로 사용해도 된다.

[0187] 본 개시의 치료 및/또는 예방에 있어서의 혈당의 제어는, 혈당의 제어가 달성되어 있는 상태 및 혈당을 제어하는 처치를 모두 가리킬 수 있는데, 혈당을 제어하는 처치로서는, 혈당 강하제의 투여, 식사 제한 및 영양 주입의 제어를 들 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 혈당 강하제는, 인슐린, 인슐린 아날로그, 비구아니드약, 인슐린 분비 촉진약(술포닐우레아약(SU약) 등), 속효형 인슐린 분비 촉진약(글리니드약 등), 인크레틴 관련약(DPP-4 저해약, GLP-1 수용체 작동약, 등), 당흡수 조절약(α-글루코시다아제 저해약(α-GI)), 인슐린 저항성 개선약(티아졸리딘약), 뇨당 배설약(SGLT2 저해약), 및 이것들의 2 이상의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택될 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 혈당 강하제는, 인슐린, 데굴데크, 글라르긴, 리스프로, 데테미르, 아스파르트, 메트포르민, 펜포르민, 부포르민, 톨부타미드, 글리벤클라미드, 글리클라지드, 클로르프로파미드, 톨라자미드, 아세토헥사미드, 글리클로피라미드, 글리메피리드, 글리부졸, 글리피지드, 사로글리타자르, 알레글리타자르, 무라글리타자르, 테사글리타자르, 라가글리타자르, 메타글리다센, 나베글리타자르, 레글리타자르, 페르글리타자르, 페리글리타자르, 소델글리타자르, 인데글리타자르, 나테글리니드, 레파글리니드, 미티글리니드, 글립틴, 시타글립틴, 빌다글립틴, 삭사글립틴, 리나글립틴, 제미글립틴, 아나글립틴, 테넬리글립틴, 알로글립틴, 트렐라글립틴, 듀토글립틴, 오마리글립틴, 베르베린, 루페올, 리라글루티드, 엑세나티드, 릭시세나티드, 알비글루티드, 보글리보스, 아카르보스, 미글리톨, 에미글리테이트, 피오글리타존, 로지글리타존, 에다글리타존, 발라글리타존, 로베글리타존, 시글리타존, 다르글리타존, 엔글리타존, 네토글리타존, 리보글리타존, 트로글리타존, 레글리타존, 엠파글리플로진, 카나글리플로진, 다파글리플로진, 이프라글리플로진, 토포글리플로진, 에타본산 세르글리플로진, 에타본산 레모글리플로진, 에르투글리플로진, 둘라글루티드, 테두글루티드, 타스포글루티드, 루세오글리플로진, 세마글루티드, 이상성 프로타민 결정성 인슐린 아날로그 수성 현탁 주사액, 무정성 인슐린 아연 수성 현탁 주사액, 렌테 인슐린(인슐린 아연 수성 현탁 주사액), 이소페인 인슐린 수성 현탁 주사액, 생합성 인간 이상성 이소페인 인슐린 수성 현탁 주사액, 울트라렌테 인슐린(결정성 인슐린 아연 수성 현탁 주사액), GLP-1, GLP-1아날로그, GIP 및 이것들의 2 이상의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택될 수 있다.

[0188] 하나의 실시 형태에 있어서, 혈당을 제어하는 처치는, 본 명세서에 기재되는 혈당이 제어된 상태를 달성하도록 실시될 수 있다. 혈당을 제어하는 처치로서의 식사 제한은, 당업자에게 통상 이해되지만, 예를 들어 섭취하는 총 칼로리를 저하시키는 것, 섭취하는 탄수화물을 저하시키는 것, 섭취하는 탄수화물로서 난흡수성의 것을 채용하는 것 등을, 필요에 따라 식사 타이밍의 조정과 조합하여 실시할 수 있다. 혈당을 제어하는 처치로서의 영양 주입의 제어는, 당업자에게 통상 이해되지만, 예를 들어 점적에 있어서의 탄수화물을 저하시키는 것 등일 수 있다.

[0189] 본 명세서에 기재되는 HDAC 조절은 이상 조혈 줄기 세포를 제거할 수 있지만, 이상 조혈 줄기 세포의 제거 직후는, 췌장의 β세포(또는 추가로 β세포의 상해를 막는 흉선)가 아직 회복하고 있지 않을 경우가 있기 때문에, 혈당 제어가 불충분해져, 고혈당이 생길 수 있다. 본 명세서에 기재되는 바와 같이, 고혈당은 다시 이상 조혈 줄기 세포의 출현을 촉진할 수 있으므로, 췌장의 β세포(또는 추가로 β세포의 상해를 막는 흉선)가 회복될 때까지 고혈당을 억제하는 것이 유리할 수 있다. HDAC의 조절 및 혈당의 제어는 동일한 기간에 걸쳐 실시해도 되고, HDAC의 조절 및 혈당 제어의 일부의 기간이 겹치도록 실시해도 되고, HDAC의 조절 후에 혈당을 제어해도 되고, 혈당의 제어 후에 HDAC를 조절해도 된다. 혈당의 자기 제어가 가능할 정도로 췌장의 β세포(또는 추가로 β세포의 상해를 막는 흉선)가 회복될 때까지 혈당의 제어를 지속해도 된다. 약제에 의해 HDAC의 조절 및 혈당의 제어를 행하는 경우, 약제는 따로따로 투여되어도 되고, 함께 투여되어도 되고, 하나의 조성물에 있어서 제

공되어도 좋고, 따로따로 다른 조성물에 있어서 제공되어도 된다.

[0190] 하나의 실시 형태에 있어서, 본 개시의 치료 및/또는 예방은, 이상 조혈 줄기 세포(HSC)를 갖는다고 진단되고 있는 대상에 대하여 이루어진다. 하나의 실시 형태에 있어서, 본 개시의 치료 및/또는 예방의 처치 기간 동안 및/또는 처치 기간 후에, 대상이 이상 조혈 줄기 세포(HSC)를 갖는지 여부가 진단된다. 이상 조혈 줄기 세포(HSC)의 특징은 본 명세서의 다른 개소에 상세하게 기재된다.

[0191] 하나의 실시 형태에 있어서, 본 개시의 치료 및/또는 예방은, 당뇨병의 치료 및/또는 예방일 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 본 개시의 치료 및/또는 예방은, 당뇨병의 합병증, 예를 들어 신경 장애, 신증, 간장 장애, 망막증, 지방간, 위장 장애, 골절 치유 지연, 섭식 장애 또는 피부 장애의 치료 및/또는 예방일 수 있다.

[0192] 본 개시의 치료 및/또는 예방은, 임의의 공지된 치료 및/또는 예방 처치 또는 수단(예를 들어 당뇨병 및/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상의 치료 및/또는 예방 처치 또는 수단)과 조합되어도 된다.

[0193] 하나의 실시 형태에 있어서, 본 개시는, 당뇨병 그리고/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상의 치유를 제공한다. 본 명세서에 기재되는 치료 방법은, 당뇨병의 지연뿐만 아니라, 치유도 가능하게 할 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 당뇨병 그리고/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상의 치유는, 당해 질환, 장애 및/혹은 증상이 처치 종료 후 적어도 1개월, 3개월, 6개월, 1년, 2년, 또는 5년간 진단되지 않는 상태를 초래한다. 당뇨병 그리고/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상의 치유는, 당뇨병의 진단 기준을 제공하고 있는 당 부하 시험에 의한 혈당값의 반응, 및 보조적 진단 가치를 갖는 인슐린 분비능, 글루카곤 부하 시험에 의한 C-펩티드 분비 반응에 있어서 정상화가 초래되는 것에 기초하여 판단되어도 된다.

[0194] (치료 및/또는 예방의 기구)

[0195] 발명자들이 당뇨병 발증에 관계된다고 동정한 골수 세포의 종류와, 그 대표적인 특징 및 당뇨병과의 관여를 모식적으로 도 1에 나타낸다. 일반적으로, TNF-α를 산생하는 세포는 혈액 유래의 세포이며, 장기의 주세포가 직접 산생하는 것은 생각하기 어렵다. TNF-α를 생산하는 이상 세포의 기원을 조사해 나가면, 조혈 줄기 세포(HSC)가 TNF-α를 발현하고 있고, TNF-α는, 가장 미분화된 long term(LT)-HSC에서는 발현되지 않고, short term(ST)-HSC에서 발현되어 있고, ST-HSC의 CD106 양성 분획에 있어서 발현이 국한되어 있었다. 이 CD106 및 TNF-α를 발현하는 ST-HSC는, HDAC(HDAC2, 3, 4, 8, 9, 11, SIRT1, 6 등)의 발현도 변동되어 있었다. CD106 및 TNF-α는 중요한 기능을 갖는 정상 세포에서도 발현될 수 얻고, CD106은 정상 줄기 세포에도 발현될 수 있기 때문에, HDAC의 조절이 유리할 수 있다.

[0196] 어느 이론에 속박되기를 바라는 것도 아니지만, 이상 세포가 2형 당뇨병을 발증시키는 메커니즘을 도 2에 모식적으로 나타낸다. STZ 마우스에서 보여진 CD106/TNF-α 양성이 이상한 조혈 줄기 세포는, 종류가 다른 2형 당뇨병 모델인 고지방식 마우스에서도 보여졌다. STZ 마우스이든 고지방식 마우스이든, 인슐린 감수성의 저하에 의해 인슐린 분비 장애가 생기고(1), 이것에 의해 고혈당이 생겨, 골수 내에서의 CD106/TNF-α 양성의 이상 줄기 세포의 생산을 촉진한다. 이상 줄기 세포에서는 히스톤 탈아세틸화 효소군의 발현 이상이 생기고, 이에 따라, 여러 가지 유전자 발현 이상이 생긴다고 생각된다. 그 하나로서, 프로인슐린(호르몬으로서의 작용을 갖지 않는 인슐린의 전구체)과 TNF-α를 동시에 발현하는 이상한 줄기 세포가 출현한다(2). 이 세포는, 흉선에도 유주하고, 거기에서 프로인슐린과 TNF-α를 동시에 항원 제시하는 이상한 자기 항원 제시 세포가 된다(3). 이에 따라, 흉선에 있어서의 TNF-α의 발현이 흉선의 위축을 초래하고, CD106/TNF-α/프로인슐린을 동시 발현하는 이상한 세포를 살상해야 할 T 세포는 네가티브 셀렉션에서 소거되고(4), 면역 관용을 받은 CD106/TNF-α/프로인슐린 양성의 이상 조혈 줄기 세포는 골수 내에서 증가하고, 전신으로 유주한다. 골수 내에서 일단 줄기 세포로서 정착한 이 비정상은 반영구적으로 사라지지 않는다. 결과, 이 이상 줄기 세포가, 골수로부터 췌도로 유주하고, 세포 융합을 개재시켜 CD106/TNF-α/프로인슐린 양성의 혈관 내피 세포를 췌도의 모세 혈관 내에 발생시키고(5), 거기에서 TNF-α가 발현됨으로써, β세포의 전구 세포가 상해되고, 추가의 인슐린 분비 세포의 감소를 초래한다(6). 또한, 이상 줄기 세포가 여러 가지 장기로 유주하는 결과, 여러 가지 장기 내에서 내피 세포의 기능 이상 및 TNF-α 생산을 일으키고(7), 합병증의 발증과 진행으로 이어진다(8). 그리고, 골수 내의 이상 줄기 세포는, 2형 당뇨병의 기억을 유지하는 메모리로서 니치(줄기 세포가 생체 내에서 그 성질을 유지할 수 있는 환경이며, 통상 줄기 세포를 유지하기 위해서 접착되어 있는 간엽계 세포를 가리킨다)에 자리잡아, 난치성의 병태를 만들어 내고 있다고 생각된다(2). 이러한 일련의 비정상은, (A)골수 내의 이상 줄기 세포를 제거하는 것과, (B)새로운 이상 줄기 세포의 출현을 방지하기 위해서, 혈당값을 정상화할 수 있을 때까지 인슐린 분비 기능이 회복될 때까지의 일정 기간, 외부로부터 인슐린을 투여하여 혈당값을 정상화함으로써 억제할 수 있어, 2형 당뇨병을 치유하는 것이 가능하다고 생각된다.

[0197] 마찬가지로, 이상 세포가 1형 당뇨병을 발증시키는 메커니즘을 도 3에 모식적으로 나타낸다. 1형 당뇨병 마우스 모델(NOD 마우스)에서는 2형에서도 출현한 CD106/TNF-α 양성의 세포가 출현하였다. 또한, B 세포 계열의 전구 세포로부터는 β세포를 상해하는 자기 항체를 산생하는 세포가 출현한다(1). 이 세포로부터 방출되는 자기 항체에 의해, β세포는 점차로 감소한다(2). 또한 이 이상 B 세포의 일부가 흉선으로 유주하고, 거기에서도 자기 항체를 산생하여, 프로인슐린이나 GAD 등 췌도 자기 항원 제시 세포를 공격하여 소실시킨다(3). 이에 따라, 흉선은 췌도 공격형 T 세포의 네가티브 셀렉션의 능력을 잃고, 이 T 세포의 말초로의 유주를 허용하게 된다(4). 췌도 내로 유주한 자기 공격형 T 세포는 β세포를 상해하고, 일거에 인슐린 분비를 고갈시켜 1형 당뇨병이 발증한다(5). 동시에, 이 T 세포에 의해 골수 내에 존재하는 인슐린 mRNA를 발현시키는 자기 항원 제시 세포의 전구 세포도 공격을 받아 완전히 소실되고(6), 프로인슐린이나 GAD를 제시하는 세포는 흉선으로 공급되지 않게 된다(7). 지속성 고혈당은 골수 내에서 ST-HSP 분획에 CD106/TNF-α 양성 세포를 폭발적으로 증가시키고(8), 흉선(9)이나 췌도(10)에 있어서는, 이 세포 유래의 비정상적인 혈관 내피의 증생과 β세포 전구 세포의 괴멸적인 조직 파괴(11)를 유도한다. 또한, 그 밖의 말초 장기 내에서도 2형과 마찬가지로 내피의 기능 부전(12)을 초래하고, 세포 융합(13) 등에 의해 당뇨병에 특이적인 여러 가지 합병증이 진행된다고 생각된다. 이 1형 당뇨병과 2형 당뇨병의 결정적인 차이는 흉선 내와 췌도 내로부터 인슐린 혹은 프로인슐린의 단백질을 발현시키는 세포가 철저하게 부수어지는 것이다. 이러한 일련의 비정상은, (A)골수 내의 이상 줄기 세포를 제거하는 것과, (B)새로운 이상 줄기 세포의 출현을 방지하기 위해서, 혈당값을 정상화할 수 있을 때까지 인슐린 분비 기능이 회복될 때까지의 일정 기간, 외부로부터 인슐린을 투여하여 혈당값을 정상화함으로써 억제할 수 있어, 1형 당뇨병을 치유하는 것이 가능하다고 생각된다. 여기에서, (A)의 이상 줄기 세포의 제거는, (C)출현하고 있는 유전자적으로 자기 항체를 발현시키는 세포의 원인인 이상 조혈 줄기 세포의 제거도 초래하기 때문에, 2형 당뇨병과 동일한 치료로 1형 당뇨병의 관해를 유도할 수 있다고 생각된다.

[0198] 특정한 이론에 속박되는 것을 기대하는 것은 아니지만, HDAC의 조절을 중심으로 본 개시의 당뇨병 치료를 설명하면 이하와 같이 된다고 생각된다.

[0199] 1) 고혈당 상태에서는, 골수 내의 혈당값도 상승하고, 프로인슐린 및 TNF-α를 발현시키는 비정상적인 혈관 내피 전구 세포가 출현한다. HDAC 조절은, 골수 내에서의 이 줄기 세포의 형성을 억제함과 동시에, 형성된 이상 세포의 아포토시스도 유도한다. 다른 한편, 혈당값이 높은 채로이면, 이상 줄기 세포가 다시 출현하기 때문에, 목적으로 하는 치료 효과가 손상된다.

[0200] 2) HDAC 조절은 단독으로 인슐린 분비 세포의 수를 증가시키는 효과는 없다.

[0201] 3) HDAC 조절은, 단독으로 이상 세포를 아포토시스 유도 등에 의해 억제하며, 또한 이상 세포가 방출하는 TNF-α 등의 염증성 사이토카인을 저하시킨다. 이에 따라 인슐린 저항성이 낮아져, 간접적으로 혈당값을 저하시키는 작용도 가질 수 있다. 이것은, 도 6 등에 나타내는 바와 같이, 인슐린으로 치료하지 않고 HDAC 조절제만으로 치료한 케이스에 있어서, 시간 경과에 따라, 혈당값이 미치료 STZ 당뇨병과 비교하여 저하되어 있는 것으로도 뒷받침할 수 있다. 그러나, 인슐린 분비 세포의 수를 직접 증가시키지 않기 때문에, 인슐린 분비가 저하되어 있는 1형 당뇨병이나 진행되어 인슐린이 분비되지 않게 된 2형 당뇨병에서는 혈당값은 그다지 낮아지지 않는다고 생각된다.

[0202] 4) 2형 당뇨병의 공복 시 혈당값이 그다지 높지 않은 케이스에서는, HDAC 조절만으로 상기의 작용에 의해, 혈당값이 개선되고, 그 결과 새로운 이상 줄기 세포가 형성되지 않게 되어, 치유하는 것이 가능할 수 있다.

[0203] 그 때문에, 하나의 실시 형태에 있어서, 본 개시의 당뇨병 그리고/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상을 치료 및/또는 예방에 있어서의 혈당의 제어는, HDAC 조절에 기인하는 것일 수 있어, HDAC 조절에 의해 혈당이 저하되는 것이 기대되는 대상(혈당값이 그다지 높지 않은 2형 당뇨병의 대상 등)이 적절하게 처치될 수 있다.

[0204] HDAC 조절은, 이상 줄기 세포의 제거 이외에, 이상 줄기 세포로부터 유도된 여러 가지 세포(혈관 내피 세포나 비정상적인 세포 융합 능력을 갖는 세포) 등도 억제할 수 있다. 특히 진행된 당뇨병의 처치 등에 있어서, 줄기 세포뿐만 아니라 거기에서 유도된 세포에 대해서도 작용하는 HDAC 조절제를 사용하는 것, 및/또는 유도 세포를 억제하는 다른 약제를 추가로 사용하는 것이 유리할 수 있다.

[0205] (이상 줄기 세포의 특징)

[0206] 당뇨병과 관련될 수 있는 이상 줄기 세포가 발견되어 있고, 이 이상 줄기 세포의 특징을 이하에 기재한다. 하나의 실시 형태에 있어서, 이상 줄기 세포는, 조혈 줄기 세포일 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 이상 줄

기 세포는, CD106, 히스톤 탈아세틸화 효소(HDACs), CD34, TNF-α, 및 프로인슐린 중 적어도 하나를 통상의 레벨에서 발현되지 않거나 및/또는 기능하고 있지 않은 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, 단기 조혈 줄기 세포의 특징(CD38 음성 등))을 가짐으로써 추가로 특징지어질 수 있다.

[0207] 하나의 실시 형태에 있어서, 이상 줄기 세포는, 비당뇨병 피험체 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 실시 형태에 있어서, 이상 줄기 세포는, 비당뇨병 피험체 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.

[0208] 하나의 실시 형태에 있어서, 이상 줄기 세포는, 히스톤 탈아세틸화 효소 유전자군(HDACs)의 발현에 의해 특징지어질 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 이상 줄기 세포는, 비당뇨병 피험체 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 또는 낮은 히스톤 탈아세틸화 효소 유전자군(HDACs)(예를 들어 HDAC2, 3, 4, 8, 9, 11, SIRT1, 6)의 1개 또는 복수개의 발현량에 의해 특징지어질 수 있다.

[0209] 하나의 실시 형태에 있어서, 이상 줄기 세포는, TNF-α의 발현에 의해 특징지어질 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 이상 줄기 세포는, TNF-α의 발현에 대해서 양성인 것에 의해 특징지어질 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 이상 줄기 세포는, 비당뇨병 피험체 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-α의 mRNA 발현량에 의해 특징지어질 수 있다.

[0210] 하나의 실시 형태에 있어서, 이상 줄기 세포는, 프로인슐린이 이상한 발현에 의해 특징지어질 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 이상 줄기 세포는, 프로인슐린의 발현에 대해서 양성인 것에 의해 특징지어질 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 이상 줄기 세포는, 비당뇨병 피험체 집단 유래의 조혈 줄기 세포(예를 들어 CD34 양성 세포)보다도 높은 인슐린(또는 프로인슐린)의 mRNA 발현량에 의해 특징지어질 수 있다.

[0211] 하나의 실시 형태에 있어서, 이상 줄기 세포는, c-Kit, Sca-1, 조혈 줄기 세포의 계통 마커 중 1개 또는 복수개의 발현에 의해 특징지어질 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 이상 줄기 세포는, c-Kit 및 Sca-1 이것들 중 1개 또는 복수개의 발현에 대해서 양성인 것에 의해 특징지어질 수 있다. 조혈 줄기 세포의 계통 마커로서는, CD3(T 세포), CD19(B 세포), NK1.1(NK 세포), CD11c(수지상 세포), CD11b(단핵구), FcεRI(마스트 세포), Gr-1(과립구) 등을 들 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 이상 줄기 세포는, 조혈 줄기 세포의 계통 마커 중 1개 또는 복수개(예를 들어 모두)의 발현에 대해서 음성인 것에 의해 특징지어질 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 이상 줄기 세포는, 비당뇨병 피험체 집단 유래의 조혈 줄기 세포보다도 높은 CD34의 mRNA 발현량에 의해 특징지어질 수 있다.

[0212] 하나의 실시 형태에 있어서, 이상 줄기 세포는, 조혈 줄기 세포인 것에 의해 특징지어질 수 있다. 하나의 실시 형태에 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 실시 형태에 있어서, 이상 줄기 세포는, 조혈 줄기 세포의 세포 단계에 의해 특징지어질 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 이상 줄기 세포는, 단기 조혈 줄기 세포일 수 있다.

[0213] 하나의 실시 형태에 있어서, 피험체가 이상 줄기 세포를 갖는다는 판정은, 본 명세서에 기재된 이상 줄기 세포의 임의의 특징을 검출함으로써 실시할 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 이상 줄기 세포의 적어도 하나의 특징의 정량적 지표(예를 들어 세포 표면 단백질 발현량, mRNA 발현량)에 기초하여 대상이 이상 줄기 세포를 갖는지 여부가 진단될 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 피험체 유래의 시료(예를 들어 혈액 시료, 골수 시료) 또는 거기에 포함되는 조혈 줄기 세포(예를 들어 CD34 양성 세포)가 비당뇨병 피험체 집단의 대응되는 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 이상 줄기 세포 마커(CD106, HDAC, TNF-α 등)의 mRNA 발현량을 나타내는 경우에, 피험체는 본 개시의 당뇨병 및/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상의 치료 및/또는 예방에 적합하다고 판단될 수 있다.

[0214] 하나의 실시 형태에 있어서, 피험체가 이상 줄기 세포를 갖는다는 판정은, 본 명세서에 기재된 이상 줄기 세포의 적어도 하나의 특징(정량적 지표 포함)을 나타내는 세포의 비율에 기초하여 실시될 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 본 개시의 진단은, 피험체의 조혈 줄기 세포 중 정상이 아닌 레벨의 이상 줄기 세포 마커(CD106, HDAC, TNF-α 등) 발현을 나타내는 세포의 비율에 기초하여 실시할 수 있으며, 필요에 따라 비당뇨병 피험체 집단 또는 당뇨병 피험체 집단의 조혈 줄기 세포 중 정상이 아닌 레벨의 CD106 발현을 나타내는 세포의 비율과 비교함으로써 실시될 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 특정 부위(예를 들어 골수)에 있어서, 피험체의 조혈 줄기 세포 중 정상이 아닌 레벨의 이상 줄기 세포 마커(CD106, HDAC, TNF-α 등) 발현을 나타내는 세포의 비율이, 비당뇨병 피험체 집단의 조혈 줄기 세포 중 정상이 아닌 레벨의 이상 줄기 세포 마커(CD106, HDAC, TNF-α 등) 발현을 나타내는 세포의 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, 피험체는, 본 개시의 당뇨병 및/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상의 치료 및/또는 예방에 적합하다고 판단될 수 있다.

[0215] 하나의 실시 형태에 있어서, 본 개시의 치료 및/또는 예방을 적용하는 대상은, 당뇨병을 갖는다고 진단되어 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 본 개시의 치료 및/또는 예방을 적용하는 대상은, 당뇨병의 합병증, 예를 들어 신경 장애, 신증, 간장 장애, 망막증, 지방간, 위장 장애, 골절 치유 지연, 섭식 장애 또는 피부 장애, 혹은 그 리스크를 갖는다고 진단되어 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 본 개시의 치료 및/또는 예방을 적용하는 대상은, 흉선을 갖는다(예를 들어 흉선 적출 수술을 받지 않음). 하나의 실시 형태에 있어서, 본 개시의 치료 및/또는 예방을 적용하는 대상은, 흉선 기능이 저하되어 있지 않다. 하나의 실시 형태에 있어서, 본 개시의 치료 및/또는 예방은, 흉선 기능을 향상시키는 약제의 투여를 포함한다.

[0216] 본 명세서에 기재되는 바와 같이, 본 발명자들은, 이상 조혈 줄기 세포가 당뇨병 및/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상의 원인이 될 수 있다는 것을 발견했기 때문에, 이상 조혈 줄기 세포의 검출에 기초하여 당뇨병 및/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상을 치료하는 컴패니언 치료는, 본 개시에 있어서 고려되는 적합한 실시 형태의 하나이다. 마찬가지로, 본 개시는, 당뇨병 및/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상의 치료 또는 예방으로 연결시키기 위한, 이상 조혈 줄기 세포를 검출하는 약제를 포함하는 컴패니언 진단약이 사용되어도 된다. 이상 조혈 줄기 세포를 검출하기 위한 방법 및 약제의 상세에 대해서는 본 명세서의 다른 개소에 상세히 기술되지만, 그렇게 해서 이상 조혈 줄기 세포가 검출된 피험체는, 본 명세서에 기재되는 당뇨병 및/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상의 임의의 치료 또는 예방이 적합하게 실시되는 피험체일 수 있다. 치료 또는 예방의 상세한 것은, 이상 조혈 줄기 세포의 검출 레벨, 검출 부위, 그 밖의 피험체의 상태(당뇨병의 진행 레벨, 연령, 성별 등)에 따라 적절히 조정될 수 있다. 이와 같이, 이상 조혈 줄기 세포의 검출은, 당뇨병 및/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상의 치료 또는 예방의 방침을 좌우하는 중요한 요인일 수 있다.

[0217] 본 개시의 치료, 예방 및/또는 진단은, 임의의 피험체에 있어서 실시할 수 있다. 하나의 실시 형태에 있어서, 피험체는, 포유 동물, 예를 들어 인간, 마우스, 기니피그, 햄스터, 래트, 쥐, 토끼, 돼지, 양, 염소, 소, 말, 고양이, 개, 마모셋, 원숭이, 또는 침팬지 등이다. 구체적인 실시 형태에 있어서, 피험체는, 인간이다.

[0218] (의약품, 제형 등)

[0219] 본 명세서에 기재되는 HDAC 조절제 및 혈당 강하제는, 여러 가지 형태의 조성물 또는 의약으로서 제공될 수 있다.

[0220] 본 명세서에 기재되는 HDAC 조절제 및 혈당 강하제의 투여 경로는, 당뇨병 및/또는 당뇨병과 관련되는 질환, 장애 및/혹은 증상의 치료, 예방 또는 검출 시에 효과적인 것을 사용하는 것이 바람직하고, 예를 들어 정맥 내, 피하, 근육 내, 복강 내, 또는 경구 투여 등이어도 된다. 투여 형태로서는, 예를 들어 주사제, 캡슐제, 정제, 과립제 등이어도 된다. 주사용의 수용액은, 예를 들어 바이알, 또는 스테인리스 용기에서 보존해도 된다. 또한 주사용의 수용액은, 예를 들어 생리 식염수, 당(예를 들어 트레할로오스), NaCl, 또는 NaOH 등을 배합해도 된다. 또한 치료약은, 예를 들어 완충제(예를 들어 인산염 완충액), 안정제 등을 배합해도 된다.

[0221] 일반적으로, 본 개시의 조성물, 의약, 억제제, 유주제, 검출제 등은, 치료 유효량의 유효 성분 또는 검출 가능량의 검출 수단, 및 약학적으로 허용할 수 있는 캐리어 혹은 부형제를 포함한다. 본 명세서에 있어서 "약학적으로 허용할 수 있는"은, 동물, 그리고 보다 상세하게는 인간에게 있어서의 사용을 위하여, 정부의 감독 관청에 인가되었거나, 혹은 약전 또는 다른 일반적으로 인정되는 약전에 열거되어 있는 것을 의미한다. 본 명세서에서

사용되는 "캐리어"는, 치료제 또는 검출제를 함께 투여하는, 희석제, 아쥬반트, 부형제, 또는 비히클을 가리킨다. 이러한 캐리어는, 무균 액체, 예를 들어 물 및 기름인 것도 가능하고, 석유, 동물, 식물 또는 합성 기원의 것이 포함되며, 한정되는 것은 아니지만, 피넛 오일, 대두유, 미네랄 오일, 참깨유 등이 포함된다. 의약을 경구 투여하는 경우에는, 물이 바람직한 캐리어이다. 의약 조성물을 정맥 내 투여하는 경우에는, 생리 식염수 및 수성 덱스트로오스가 바람직한 캐리어이다. 바람직하게는, 생리 식염수 용액, 그리고 수성 덱스트로오스 및 글리세롤 용액이, 주사 가능 용액의 액체 캐리어로서 사용된다. 적절한 부형제에는, 경질 무수 규산, 결정 셀룰로오스, 만니톨, 전분, 글루코오스, 락토오스, 수크로오스, 젤라틴, 몰트, 쌀, 밀가루, 초크, 실리카겔, 스테아르산 나트륨, 모노스테아르산 글리세롤, 탈크, 염화 나트륨, 탈지 분유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올, 카르멜로오스칼슘, 카르멜로오스나트륨, 히드록시프로필셀룰로오스, 히드록시프로필메틸셀룰로오스, 폴리비닐아세탈디에틸아미노아세테이트, 폴리비닐피롤리돈, 젤라틴, 중쇄 지방산 트리글리세라이드, 폴리옥시에틸렌 경화 피마자유 60, 백당, 카르복시메틸셀룰로오스, 콘스타치, 무기염 등이 포함된다. 조성물은, 바람직한 경우, 소량의 습윤제 또는 유화제, 혹은 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 트리글리세리드를 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 것들 이외에, 예를 들어 계면 활성제, 부형제, 착색료, 착향료, 보존료, 안정제, 완충제, 현탁제, 등장화제, 결합제, 붕괴제, 활택제, 유동성 촉진제, 교미제 등을 포함하고 있어도 된다.

[0222] 본 개시의 일 실시 형태에 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 염기와의 염, 무기산과의 염, 유기산과의 염 등을 들 수 있다. 본 개시의 일 실시 형태에 있어서 "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.

[0223] 본 개시에 있어서, 의약을 투여하는 경우, 여러 가지 송달(딜리버리)계를 함께 사용할 수 있으며, 그리고 이러한 계를 사용하여, 본 개시의 억제제 및/또는 유주제를 적절한 부위에 투여하는 것도 가능하다. 이러한 계에는, 예를 들어 리포솜, 미소 입자, 및 미소 캡슐 중의 피포: 수용체가 중개하는 엔도사이토시스의 사용; 레트로바이러스 벡터 또는 다른 벡터의 일부로서의 요법 핵산의 구축 등이 있다. 도입법에는, 한정되는 것은 아니지만, 피 내, 근육 내, 복강 내, 정맥 내, 피하, 비 내, 경막외, 및 경구 경로가 포함된다. 적합한 경로 중 어느 것에 의해, 예를 들어 주입에 의해, 볼러스(bolus) 주사에 의해, 상피 또는 피부 점막 라이닝(예를 들어 구강, 직장 및 장 점막 등)을 통한 흡수에 의해, 의약을 투여하는 것도 가능하고, 필요에 따라 에어로졸화제를 사용하여 흡입기 또는 분무기를 사용할 수 있으며, 그리고 다른 생물학적 활성제와 함께 투여하는 것도 가능하다. 투여는 전신성 또는 국소인 것도 가능하다.

[0224] 바람직한 실시 형태에 있어서, 공지된 방법에 따라, 인간에게의 투여에 적응시킨 의약 조성물로서, 조성물을 배합할 수 있다. 이러한 조성물은 주사에 의해 투여할 수 있다. 대표적으로는, 주사 투여를 위한 조성물은, 무균 등장 수성 완충제 중의 용액이다. 필요할 경우, 조성물은 또한, 가용화제 및 주사 부위에서의 동통을 완화시키는 리도카인 등의 국소 마취제도 포함하는 것도 가능하다. 일반적으로, 성분을 개별적으로 공급하거나, 또는 단위 투약형 중에서 함께 혼합하여 공급하고, 예를 들어 활성제의 양을 나타내는 앰플 또는 사셰 등의 밀봉 용기 중, 동결 건조 분말 또는 무수 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 무균화 또는 생리 식염수의 앰플을 제공하는 것도 가능하다.

[0225] 본 개시의 HDAC 조절제 및 혈당 강하제를 중성형 또는 염형 혹은 다른 프로드러그(예를 들어 에스테르 등)로 배합하는 것도 가능하다. 약학적으로 허용할 수 있는 염에는, 염산, 인산, 아세트산, 옥살산, 타르타르산 등에서

유래하는 유리형의 카르복실기와 함께 형성되는 것, 이소프로필아민, 트리에틸아민, 2-에틸아미노에탄올, 히스티딘, 프로카인 등에서 유래하는 것 등의 유리형의 아민기와 함께 형성되는 것, 그리고 나트륨, 칼륨, 암모늄, 칼슘, 및 수산화 제2철 등에서 유래하는 것이 포함된다.

[0226] 본 개시의 HDAC 조절제 및 혈당 강하제의 양은, 장애 또는 상태의 성질에 의해 변동될 수 있는데, 당업자는 본 명세서의 기재에 기초하여 표준적 임상 기술에 의해 결정 가능하다. 또한, 경우에 따라, in vitro 어세이를 사용하여, 최적 투약량 범위를 동정하는 것을 보조하는 것도 가능하다. 배합물에 사용하고자 하는 정확한 용량은 또한, 투여 경로, 및 질환 또는 장애의 중대성에 의해서도 변동될 수 있기 때문에, 담당 의사의 판단 및 각 환자의 상황에 따라 결정해야 할 것이다. 그러나, 투여량은 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어 1회당 0.001, 1, 5, 10, 15, 100, 또는 1000mg/kg 체중이어도 되고, 그것들 중 어느 2개의 값의 범위 내이어도 된다. 투여 간격은 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어 1, 7, 14, 21, 또는 28일당에 1 또는 2회 투여해도 되고, 그것들 중 어느 2개의 값의 범위당에 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 목적으로 하는 작용을 발휘하는 유효량의 유효 성분을 포함하는 것이 바람직하다. 유효 용량은, in vitro 또는 동물 모델 시험계로부터 얻어지는 용량-반응 곡선으로부터 추정 가능하다.

[0227] 본 개시의 의약 조성물 또는 치료제 혹은 예방제는 키트로서 제공할 수 있다.

[0228] 특정한 실시 형태에서는, 본 개시는, 본 개시의 조성물 또는 의약의 1 이상의 성분이 충진된, 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.

[0229] 본 개시의 치료약, 예방약 등의 의약 등으로서의 제제화 순서는, 당해 분야에서 공지되어 있으며, 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 실시 형태를 결정할 수 있다.

[0230] 본 명세서에 있어서 "또는"은, 문장 중에 열거되어 있는 사항의 "적어도 하나 이상"을 채용할 수 있을 때에 사용된다. "혹은"도 마찬가지이다. 본 명세서에 있어서 "2개의 값"의 "범위 내"라고 명기했을 경우, 그 범위에는 2개의 값 자체도 포함한다.

[0231] 본 명세서에서 인용된, 과학 문헌, 특허, 특허 출원 등의 참고 문헌은, 그 전체가, 각각 구체적으로 기재된 것과 동일한 정도로 본 명세서에서 참고로서 원용된다.

[0232] 이상, 본 개시를, 이해의 용이를 위해서 바람직한 실시 형태를 나타내어 설명해 왔다. 이하에, 실시예에 기초하여 본 개시를 설명하지만, 상술한 설명 및 이하의 실시예는, 예시의 목적만으로 제공되고, 본 개시를 한정하는 목적으로 제공한 것은 아니다. 따라서, 본 개시의 범위는, 본 명세서에 구체적으로 기재된 실시 형태로도 실시예로도 한정되지 않고, 특허청구의 범위에 의해서만 한정된다.

[0233] **실시예**

[0234] 필요한 경우, 이하의 실시예에서 사용하는 동물의 취급은, 시가 의과 대학의 동물 실험 가이드 라인에 따라 실시하였다. 시약류는 구체적으로는 실시예 중에 기재한 제품을 사용했지만, 타메이커(Sigma-Aldrich, 와코준야쿠, 나카라이, R&D Systems, USCN Life Science INC 등)의 동등품으로도 대용 가능하다.

[0235] 이하의 실시예에 있어서, 각각의 약어는 이하의 의미를 나타낸다.

[0236] DM 당뇨병

[0237] nonDM 비당뇨병

[0238] STZ-DM 스트렙토조토신 유도성 당뇨병

[0239] (실시예 1: STZ-DM 마우스의 골수 이식 치료 및 HDAC 발현)

[0240] 골수 이식에 의해 STZ-DM 마우스(2형 당뇨병 모델)에 있어서의 당뇨병을 치료하였다. 또한, 비당뇨병과 당뇨병 사이에서 HDAC 발현을 비교하였다. STZ-DM 마우스에서는, 비DM 마우스와 달리, c-kit 양성 Sca-1 양성 계통 마커 음성(KSL) 세포에 있어서, TNF-α 양성 세포 및 프로인슐린 양성 세포가 존재하여, CD106 발현 세포가 증대되어 있는 것이 발견되었다. 또한, 1형 당뇨병 마우스(NOD 마우스)의 KSL 세포에 있어서도, TNF-α 양성 세포,

및 CD106 발현 세포가 증대되어 있는 것이 발견되어 있고, 이러한 특징을 갖는 조혈 줄기 세포가, 당뇨병의 만성 질환으로서의 특징을 출현시키는 원인이 되어 있다고 생각된다.

[0241] 또한, Hoechest 33342 색소로 염색한 골수 세포를, 자외광(350nm)으로 여기하고, Hoechst blue 및 Hoechst red의 2종류의 광학 필터로 전개했을 경우, 조혈 줄기 세포 분획이, 염색되어 있지 않은 사이드 포퓰레이션(SP 세포)에 포함되는 것이 보고되어 있다(J Exp Med. 1996 Apr 1;183(4):1797-806;Nat Med. 1997 Dec;3(12):1337-45를 참조). 이 염색에 기초하여 비DM 마우스 및 STZ-DM 마우스를 사용하여 시험을 행했더니, 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 있었지만, 보다 조기의 분화 단계에 있는 KSL 세포 중의 SP 세포(장기 조혈 줄기 세포:LT-HSC)에는 포함되어 있지 않다는 것이 발견되어 있고, 당뇨병에서 발견되는 이상 줄기 세포는 ST-HSC에 존재할 수 있다는 것을 알 수 있었다. 이와 같이 당뇨병에 관여한다는 것이 발견되어 있는 이상 줄기 세포에 있어서, 히스톤 탈아세틸화 효소(HDAC) 유전자의 발현을 조사하였다.

[0242] 처치의 개요를 도 4에 나타낸다. C57BL/6J 마우스(야생형, 니혼 클레아, 오사카)에 대하여 스트렙토조토신(150mg/kg)을 미정맥 주사함으로써 당뇨병을 유도하고, 투여 1주일째의 혈당값이 250mg/dl 이상인 마우스를 당뇨병 마우스(STZ-DM 마우스)로서 사용하였다. 당뇨병 발증 후 4주째의 마우스에 인슐린 펠릿(인슐린 0.1U/일 방출, 약 30일 지속, LINSHIN CANADA, INC., CatNo:Pr-1-B) 혹은 블랭크 펠릿(인슐린 비함유)을 경부 등측 피하에 삽입하였다. 다음날에 치사량의 방사선(9Gy)을 조사하고, 양쪽 군 각각에, 당뇨병 12주째, 혹은 동일 주령의 비당뇨병으로부터 얻은 총 골수 세포(4×10^6)를 이식하고, 8주일 경과를 관찰하였다. 그동안, 혈당값을 매주 측정하고, 치료 효과를 관찰하였다. 치료 기간의 종료 후 마우스를 안락사시키고, 조직학적인 해석을 행하였다. 또한, 골수 이식에 사용한 골수 세포에 대해서는, 조혈 줄기 세포 분획(KSL)을 채취하고, 발현 유전자에 대하여 마이크로어레이 해석을 행하였다.

[0243] 조직학적인 해석을 위한 절편 제작은 이하와 같이 행하였다. 마우스를 0.1M PB 중 4% PFA의 액으로 관류 고정하고, 채취한 췌장 조직을 0.1M PB중 15% 수크로오스의 액에 밤새 침지한 후, 크라이오스탓으로 8um의 동결 절편을 제작하였다. 동결 절편을 PBS(-)로 10분간 3회 세정한 후, 절편의 내인성 페록시다아제를 불활성화하기 위해서 0.3% 과산화 수소액(PBS(-) 중 0.3% H_2O_2) 중에서 30분간 실온에서 반응시키고, PBS(-)로 5분간 3회 세정하였다. 그 후, 비특이 반응을 방지하기 위하여, 절편을 0.3% Triton X를 보충한 PBS(-) 중 5% 정상 염소 혈청과 반응시키고, 1시간 실온에서 블로킹하였다. 블로킹 후, 1차 항체(항인슐린 항체: CST사 또는 항글루카곤 항체: CST사))와 4℃에서 밤새 반응시켰다. 그 후, PBS(-)로 5분간 3회 세정하고, ImmPRESS reagent(Vector laboratory) 중에서 실온에서 30분간 반응시키고, 추가로 세정하였다. 그 후, DAB 발색을 행하고, 대비 염색으로서, 헤마톡실린으로 핵 염색을 행한 후, 탈수·봉입을 행하였다. 제작한 절편을 현미경 하에서 관찰하고, 췌도를 랜덤하게 5 내지 8개 정도 선정하여, 췌도의 크기에 대한 인슐린 양성 세포의 비율을 Image J 소프트웨어로 산출하였다. 또한, 각 실험군의 마우스를 관류 고정 후, 해부하고, 흉선을 채취하였다. 실체 현미경 하에 흉선(좌엽·우엽 중 어느 한쪽)의 화상을 취득하였다.

[0244] 마이크로어레이 해석은 이하와 같이 행하였다. Ficoll-Paque Plus(GE Healthcare Bio-Sciences AB, Uppsala, Sweden)를 사용하여 전골수로부터 FACS에 의해 단핵 세포를 단리하였다. 단핵 세포를, PE-Cy7 콘주게이트화 스트렙트아비딘 항체, APC 콘주게이트화 항c-kit 항체, APC-Cy7 콘주게이트화 항Ly6A/E 항체(Sca-1), 및 바이오틴 마우스 계통 패널과 반응시킨 후, BD Cytofix/CytoPerm(BD Biosciences)으로 고정하였다. 이어서, 토끼 항인슐린 모노클로날 항체(Cell signaling technology) 및 PE 콘주게이트화 항토끼 IgG 항체(Cell signaling technology)를 단핵 세포에 적용하였다. 이 염색 전에, 사세포를 고갈시키기 위해서, LIVE/DEAD 고정 가능 사세포 블루 염색 키트(ThermoFisher Scientific Inc., 미국 매사추세츠주 월섬)를 사용하였다. FACS에 의해 얻어진 단핵 세포에 있어서의 c-kit 양성 Sca-1 양성 계통 마커 음성(KSL) 세포로부터 RNA를 추출하고, 마이크로어레이 해석에 의해 히스톤 탈아세틸화 효소 유전자군(Hdacs)의 유전자 발현을 해석하였다. 마이크로어레이 해석에 있어서, RNA는, RNeasy Plus Micro kit(Qiagen, Tokyo, Japan)을 사용하여 LSK 세포로부터 단리하였다. RNA 샘플은 Nanodrop 및 Agilent 2100 BioAnalyser를 사용하여 TaKaRa bio(일본, 시가)에서 분석하였다. RNA 샘플은, Ovation Pico WTA 시스템으로 증폭하고, 마이크로어레이 해석에 사용하였다. HDAC9 등에는 다수의 아이소자임이 존재하는데, 마이크로어레이에서는, 전체의 양을 반영하는 개소를 표적으로 하는 어레이를 사용하였다.

[0245] 결과

[0246] 당뇨병 및 비당뇨병의 골수 조혈 줄기 세포 분획에 있어서의 히스톤 탈아세틸화 효소(Hdac1 내지 11 및

Sirtuin1 내지 7)의 발현 비교의 결과를 도 5에 나타낸다. 당뇨병에서는 Hdac3, Hdac4, Hdac8, Sirt1, Sirt6이 상승되어 있었다. 또한, Hdac2, Hdac9, Hdac11은 저하되어 있었다. 당뇨병 전체에 대한 효과와의 밸런스도 고려하여, 이상 조혈 줄기 세포를 억제하도록 HDAC를 조절하는 것이 바람직하다고 생각되며, 예를 들어 클래스 III의 HDAC에는 영향을 미치지 않고, 클래스 I, II, IV의 HDAC를 브로드하게 저해하는 전략 등이 상정된다.

[0247] 당뇨병의 KSL 세포에서는, 히스톤 수식 등에 의해 유전자 발현을 조절하는데 중요한 에피게놈 관련 유전자(Hdacs)의 발현이 증가되어 있었으므로, 고혈당은 줄기 세포에 대하여 유전자 레벨에서 이상한 성질을 부여하고 있는 것으로 생각되었다. 일과성의 고혈당에 폭로된 세포는 정상 혈당값의 환경 하에 복귀시켜도, 고혈당으로 생긴 세포의 이상이 유지된다는 것이 보고되어 있는데(El-Osta et.al. J Exp Med. 2008 Sep 29;205(10):2409-17), 이것으로부터도, KSL 세포에서 생긴 히스톤 탈아세틸화 효소 유전자의 발현 증가가, 이상 줄기 세포의 출현 및 당뇨병에 관여할 수 있다고 생각된다.

[0248] 경시적인 혈당값의 추이를 도 6에 나타낸다. 인슐린 치료를 행하지 않은 마우스에서는, 당뇨병의 골수를 골수 이식에 의해 정상화해도 고혈당이 지속되었다. 이것으로부터, 혈당을 정상화하지 않은 상태에서는 아무리 골수를 정상화해도, 고혈당에 의해 새롭게 비정상적인 조혈 줄기 세포가 만들어지는 것으로 추정된다. 한편, 인슐린 펠릿에 의해 4주일의 혈당 컨트롤과 동시에 골수 줄기 세포를 정상화한 것에서는, 고혈당이 시정되었다. 그러나, 당뇨병 마우스로부터 얻은 골수를 이식한 마우스에서는, 인슐린 작용이 없어지면 급속하게 혈당값이 상승하였다. 이것으로부터, 당뇨병 피험체의 골수 내에는 비저앙적인 병적인 줄기 세포가 존재한다는 것을 알 수 있다.

[0249] 췌장의 인슐린 DAB 염색(도 7) 결과, 인슐린 펠릿 투여한 비당뇨병 골수 이식군에서는, STZ 당뇨병군에 비하여 인슐린 양성 세포의 비율이 증가하여, 인슐린 산생이 개선되었다는 것이 시사되었다. 블랭크 펠릿 투여한 비당뇨병 골수 이식군, 인슐린 펠릿 투여한 당뇨병 골수 이식군, 블랭크 펠릿 투여한 당뇨병 골수 이식군은 모두 인슐린 산생의 개선을 나타내지 않았다.

[0250] 설치류에서는, 글루카곤은 췌도의 주위에 10% 정도 보여지지만, 당뇨병 상태에서는 췌도의 중심부까지 약 70%를 차지할 때까지 현저한 증가한다. 췌장의 글루카곤 DAB 염색(도 8) 결과, 인슐린 펠릿 투여한 비당뇨병 골수 이식군에서는, STZ 당뇨병군에 비하여 글루카곤 양성 세포의 비율이 감소하여, 글루카곤 산생이 유의미하게 감소하였다. 블랭크 펠릿 투여한 비당뇨병 골수 이식군, 인슐린 펠릿 투여한 당뇨병 골수 이식군, 블랭크 펠릿 투여한 당뇨병 골수 이식군에서는, 모두 STZ 당뇨병의 글루카곤 양성 세포의 비율과 동등하여, 글루카곤 산생의 감소는 보여지지 않았다. 채취한 흉선의 크기를 비교했더니(도 9), 당뇨병 마우스에서는 비당뇨병과 비교하여 흉선이 현저하게 위축되어 있었다. 한편, 인슐린 펠릿을 투여하여 비당뇨병 마우스의 골수를 이식한 것은 비당뇨병 마우스와 동등하게 흉선의 크기가 회복되고, 그 이외의 마우스에서는 개선이 보여지지 않았다.

[0251] (실시예 2: GFP 트랜스제닉(GFP-TG) 마우스를 사용한 조직 해석)

[0252] 도 10과 같이 GFP-TG 마우스의 골수 세포를 사용하여 당뇨병에 대해서 조직학적 해석을 행하였다.

[0253] 구체적으로는, 정상 마우스에, 비당뇨병의 GFP-TG 마우스로부터 얻은 총 골수 세포(4×10^6)를 이식하여, 4주일 경과를 관찰하고, 이식 골수가 정착된 후, STZ를 투여하여 당뇨병을 발증시켰다. 비당뇨병군에는 버퍼를 투여하였다. 당뇨병이 안정된 12주 후에 양쪽 군을 안락사시키고, 조직학적 해석을 행하였다.

[0254] GFP-TG 마우스로부터 얻은 골수 이식을 사용한 치료 연구의 조직 해석은 이하와 같이 행하였다. 정상 마우스에 STZ를 투여하여, 당뇨병을 발증시키고, 4주일 경과 관찰하였다. 그 후, 마우스를 2군으로 분할하고, 한 쪽에 인슐린 펠릿, 또 한 쪽에 블랭크 펠릿을 메워넣었다. 다음 날, 치사량의 방사선(9Gy)을 조사하고, 양쪽 군 각각, GFP-TG 정상 마우스로부터 얻은 총 골수 세포(4×10^6)를 이식하고, 8주일 경과를 관찰하였다. 그동안, 혈당값을 매주 측정하고, 치료 효과를 관찰하였다. 치료 기간의 종료 후 안락사시키고, 췌도 및 흉선의 조직학적인 해석을 행하였다. 면역 조직학적 해석에는 TNF-α, Vcam의 특이적 항체를 사용하여 형광 현미경으로 관찰하였다.

[0255] 결과

[0256] 도 11에 췌도에 관한 해석 결과를 나타낸다. 비당뇨병 마우스에서는 골수 유래 세포는 췌도 속에 약간 보여지지만, Vcam1 양성의 세포는 췌도 외막의 일부에 보여질뿐이고 췌도 내에는 거의 보여지지 않는다. 한편, 당뇨병의 췌도에서는 골수 유래 세포의 수가 증가하고, 동시에 다수의 Vcam1 양성 세포가 보여진다. 또한, 일부의 세포에서는 Vcam1 양성 세포(적색)와 골수 유래 세포(녹색)가 겹쳐, 황색의 세포가 보여졌다. 이것은 골수 유

래 세포의 일부에 Vcam1을 발현시키는 세포가 췌도 내에 존재하는 것을 시사한다. 이에 비하여, 당뇨병 마우스를 인슐린 펠릿에 의해 혈당 정상화시켜, 비당뇨병의 골수를 이식했을 경우에는, 췌도에 있어서 비당뇨병 마우스와 거의 동일한 소견이 얻어진 것에 비해, 혈당을 정상화시키지 않았을 경우에는, 미치료 당뇨병 마우스와 동일한 소견을 나타냈다. 이것은, 당뇨병 마우스는, 고혈당 상태인채로는, 비당뇨병 마우스의 골수를 이식하여 골수를 치환했다고 해도, 고혈당에 의해 다시 Vcam1 양성의 비정상적인 세포가 만들어지고, 그것이 췌도 내에 침입하게 되었다고 생각된다.

[0257] 도 12에 흉선의 소견을 나타낸다. 비당뇨병 마우스와 비교하여, 9Gy의 방사선을 조사한 후, 비당뇨병의 GFP 마우스로부터 얻어진 골수를 이식한 마우스(GFP BMT nonDM)에서는, 흉선 조직에 있어서 녹색의 세포가 분명하게 출현한다. 이것은, 방사선 조사에 의해 상해된 흉선 세포가 골수 유래 세포에 의해 재생되었기 때문에 생겼다고 생각된다. 그러나, 이 마우스에 STZ를 투여하여 당뇨병을 발증시키면, 고혈당에 의해 골수 유래의 흉선 세포 대부분이 상해되어 소실되어, 다시금 분명한 위축을 나타낸다(GFP BMT STZDM). 한편, 당뇨병 마우스에 방사선을 조사하고, 여기에 비당뇨병 마우스의 골수를 이식해도 위축된 흉선 세포는 재생되지 않는다(블랭크 펠릿+nonDM GFP BMT). 그러나, 혈당 컨트롤을 잘하면, 골수 유래 세포에 의해 흉선이 재생된다(인슐린 펠릿+nonDM GFP BMT).

[0258] (실시예 3: STZ-DM 마우스의 약물 치료)

[0259] HDAC 조절제 및 혈당 제어를 조합하여 STZ-DM 마우스에 있어서의 당뇨병을 치료하였다.

[0260] 처치의 개요를 도 13에 나타낸다. C57BL/6J 마우스(야생형, 니혼 클레아, 오사카)(nonDM)에 대하여 스트렙토조토신(150mg/kg)을 미정맥 투여하여 당뇨병을 발증시켰다. 이 STZ-DM 마우스에 대하여 인슐린 펠릿 투여에 의해 혈당값을 정상화시키고, 대조군에는 블랭크 펠릿을 투여하였다. 치료군·대조군 모두 2.5mg/kg의 기비노스탓(Cayman chemical, USA)을 미정맥 혹은 경구 투여하였다. 인슐린 펠릿 또는 블랭크 펠릿은 기비노스탓 치료 개시 3일전까지 투여하여, 치료군의 혈당값이 정상 범위 내가 된 것을 확인한 날을 0일로 하여, 기비노스탓 투여를 개시하였다. 또한, 기비노스탓은 8주째까지 3일에 1회 투여하였다. 또한, 치료군과 동시에 STZ를 투여하지 않고 버퍼만을 투여한 비당뇨병군(nonDM), 및 혈당 컨트롤도 기비노스탓에 의한 치료도 행하지 않은 비치료 당뇨병군(STZ-DM)도 동시에 관찰하였다.

[0261] 12주일 혈당값을 매주 측정하였다. 또한, 치료 개시 후 12주째의 일부의 마우스에 대하여 복강 내 포도당 부하시험(IPGTT)을 행하였다. 16시간의 절식 후, 0분 시에 혈당값 측정 및 채혈을 행하고, 1.5g/kg 포도당 용액을 100μl 복강 내에 투여하여, 30분, 60분, 120분 시에 각각 혈당값 측정 및 채혈을 행하였다. 채취한 혈액으로부터 혈청을 회수하여, 초고감도 마우스 인슐린 측정 키트(가부시키가이샤 모리나가 생화학 연구소, 일본)를 사용하여, 혈청 인슐린 농도를 측정하였다. 도 15에 혈당의 추이를, 도 16에 인슐린 농도의 추이를 나타낸다.

[0262] 치료 개시 12주일 후의 마우스의 일부를 0.1M PB 중 4% PFA의 액으로 관류 고정하고, 채취한 췌장 조직을 0.1M PB 중 15% 수크로오스의 액에 밤새 침지한 후, 크라이오스탓으로 8um의 동결 절편을 제작하였다. 동결 절편을 PBS(-)로 10분간 3회 세정한 후, 절편의 내인성 페록시다아제를 불활성화하기 위하여 0.3% 과산화 수소액(PBS(-) 중 0.3% H_2O_2) 중에서 30분간 실온에서 반응시키고, PBS(-)로 5분간 3회 세정하였다. 그 후, 비특이 반응을 방지하기 위하여, 절편을 0.3% Triton X를 보충한 PBS(-) 중 5% 정상 염소 혈청과 반응시키고, 1시간 실온에서 블로킹하였다. 블로킹 후, 1차 항체(항인슐린 항체: CST사 또는 항글루카곤 항체: CST사))와 4℃에서 밤새 반응시켰다. 그 후, PBS(-)로 5분간 3회 세정하고, ImmPRESS reagent(Vector laboratory) 중에서 실온에서 30분간 반응시키고, 추가로 세정하였다. 그 후, DAB 발색을 행하고, 대비 염색으로서, 헤마톡실린으로 핵 염색을 행한 후, 탈수·봉입을 행하였다. 제작한 절편을 현미경 하에서 관찰하고, 췌도를 랜덤하게 5 내지 8개 정도 선정하여, 췌도의 크기에 대한 인슐린 또는 글루카곤 양성 세포의 비율을 Image J 소프트웨어로 산출하였다.

[0263] 또한, 각 실험군의 마우스를 관류 고정 후, 해부하여, 대퇴골, 흉선, 췌장을 채취하였다. 대퇴골은, 중성 탈회액(10% EDTA액)을 사용하여 골 조직의 탈회를 행하고, 파라핀 블록을 제작하였다. 파라핀 블록으로부터 마이크로톰을 사용하여 3㎛ 두께의 파라핀 절편을 제작하여, DAB 염색하였다. DAB 염색을 행하는 전처리로서, 파라핀 절편을 크실렌에 의해 탈파라핀화하고, 에탄올에 의해 친수 처리를 행하고, HistoVT one(나카라이테스크)을 사용하여 항원을 부활화하였다. 그 후, TNF-α(abcam사)를 사용하여 DAB 염색을 하였다.

[0264] 결과

[0265] 도 14에 각 군의 혈당값의 변화를 나타낸다. nonDM과 비교하여, STZ-DM에서는 고혈당이 지속되었다. 한편, 인슐린 펠릿으로 약 4주일의 혈당 컨트롤을 행한 당뇨병군, 및 인슐린 펠릿과 동시에 기비노스탓(8주일 경구 혹은

정주)을 투여한 치료군에서는 곧 혈당값이 저하되었다. 그러나, 인슐린 펠릿에 의한 치료를 행하지 않은 군에서는 8주일 기비노스탓을 투여해도 혈당값은 저하되지 않고, 기비노스탓 중지 후 12주째까지의 모든 기간에서 혈당 상승은 억제할 수 없었다. 또한, 인슐린 펠릿만으로, 기비노스탓을 투여하지 않은 군에서는, 인슐린 펠릿 개시 후 2주째보다 점차로 혈당값이 상승하기 시작하고, 5주째 이후는 혈당 컨트롤을 하지 않은 군과 마찬가지로 고혈당이 되었다. 또한, 이 군에서는 치료 개시 후 몇마리의 마우스의 전신 상태가 좋지 않았으므로, 9주째에 안락사시켰다. 이러한 군과 대조적으로, 혈당 컨트롤과 동시에 기비노스탓을 투여한 군(경구 투여 및 정맥내 투여 의 모두)에서는, 9주째 이후 기비노스탓을 중지한 후에도 혈당값의 저하가 지속하였다.

[0266] 인슐린 펠릿+기비노스탓으로 치료한 마우스와, 블랭크 펠릿+기비노스탓으로 치료한 마우스 사이에서 복강 내 글루코오스 부하 시험(IPGTT)에 있어서의 응답성을 조사했더니(도 15 및 도 16), 인슐린 펠릿으로부터의 인슐린의 방출은 이미 종료되어 있지만, 인슐린 펠릿+기비노스탓으로 치료한 마우스에 있어서 조기의 혈당값 정상화 및 높은 혈중 인슐린 상승이 관찰되었다. 이것으로부터, 인슐린 펠릿+기비노스탓으로 치료한 마우스에서는, 당뇨병이 치유되어, 췌장 기능이 회복되었다고 생각된다.

[0267] 췌장의 인슐린 DAB 염색(도 17) 결과, STZ-DM에 비하여, 혈당 컨트롤과 동시에 기비노스탓을 투여한 군에서는, 유의미하게 인슐린 양성 세포의 영역이 증가하여, nonDM의 약 1/2까지 회복되었다. 그러나, 혈당이 정상화되지 않은 모든 군에 있어서, 인슐린 영역은 STZ-DM과 차이가 보여지지 않는다. 흥미 깊게도 혈당 컨트롤이 불량한 군에서는 인슐린 양성 세포는 전체적으로 감소되어 있었지만, 혈당 컨트롤 양호군에서는 인슐린 양성 세포는 췌도의 중앙부를 중심으로 회복되었다.

[0268] 췌장의 글루카곤 DAB 염색(도 18) 결과, NonDM에서는 글루카곤 양성 세포는 췌도의 외막 바로 아래에 원을 그리듯이 존재하고, 췌도 전체의 약 10% 정도가 양성이었다. 이것에 비하여 STZ-DM에서는 췌도 전체에 글루카곤 양성 세포가 현저히 증가하여, 췌도 전체의 75%의 영역을 차지하였다. 이것에 비하여, 혈당 컨트롤과 동시에 기비노스탓을 투여한 군에서는 글루카곤 양성 세포의 영역이 중심부보다 감소하여, 췌도 전체의 40% 정도가 되었다. 이에 비하여, 고혈당을 나타낸 군에서는 글루카곤 양성 영역은 높은 값 그대로였다.

[0269] 채취한 흉선의 중량을 비교했더니(도 19), 비당뇨병군에서는 흉선 중량이 37mg였던 것이 당뇨병군에서는 13mg으로 약 1/3로 위축되었다. 혈당 컨트롤과 동시에 기비노스탓으로 치료한 군에서는, 경구이든 정주이든 정상의 2/3 정도까지 회복되었다.

[0270] 골수, 흉선을 TNF-α 면역 염색(DAB 염색)했더니(도 20, 도 21), 당뇨병군에서는 TNF-α 양성 세포가 증대되어 있었지만, 혈당 컨트롤과 동시에 기비노스탓으로 치료한 군에서는, TNF-α 양성 세포가 비당뇨병군과 동일한 정도까지 감소되어 있었다. 흉선에 있어서, 당뇨병 미치료군 및 당뇨병이 개선되지 않은 군에서는, 거의 100%의 세포에 있어서 TNF-α 염색이 세포 전체에 걸쳐 관찰되었다. TNF-α 양성 세포가 몸 전체에 존재하는 경우, 그것을 공격하는 킬러 T 세포는 자기 항원 반응성 T 세포로서 음의 선택에 의해 제거되어 버리므로, TNF-α 및 프로인슐린을 발현시키는 비정상 세포가 몸 속에 출현해도, 그것을 제거할 수 없게 되어 있다고 생각된다. 췌도를 TNF-α 면역 염색(DAB 염색)했더니(도 22), 비당뇨병 마우스, 인슐린 펠릿+기비노스탓 처치 있음(경구), 및 인슐린 펠릿+기비노스탓 처치 있음(정맥 내)의 각 스트렙토조토신 유도 당뇨병 마우스의 치료 성공군에서는 TNF-α 양성 세포는 대부분 발견되지 않았다. 다른 한편, 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 있음(경구), 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 있음(정맥 내)에서는 TNF-α 양성 세포가 췌도의 중심 부분에 많이 유주하고 있는 것이 관찰되었다. 이것은, 고혈당을 시정하지 않은 채로는, 기비노스탓의 직접 작용에 의한 췌도에서의 당흡수의 개선 및 인슐린 촉진에 의해, β세포가 재생을 개시할 때에, 많은 골수 유래의 TNF-α 양성 세포가 유주에 의해 집합함으로써 재생 부위가 파괴되어, 염증이 계속되는 것을 나타내고 있다고 생각된다. 또한, STZ만의 군(블랭크 펠릿+기비노스탓 처치 없음)에서는, 블랭크 펠릿+기비노스탓 처치에 비해서 TNF-α 양성 세포가 약간 발견될 뿐이었다. 이 군에서는, 인슐린 산생 세포가 STZ에서 대부분 파괴되어 버렸고, 재생을 개시하는 니치가 형성되지 않으므로, 골수 유래의 TNF-α 양성 세포의 유주가 없었던 것으로 생각된다.

[0271] 당뇨병에서는 골수 내의 Vcam1 양성 단기 조혈 줄기 세포 내에 TNF-α 양성/프로인슐린 양성을 나타내는 비정상인 줄기 세포가 존재한다. 정상인 단기 조혈 줄기 세포는 여러 가지 장기의 모세혈관 전구 세포, 혈관성 니치 세포, 추가로 장기의 줄기 세포를 포함한다. 흉선에 있어서는, 이 세포는, 흉선의 장기 그 자체의 기원을 구성하는 세포로 되어 있을 가능성이 있으므로, 당뇨병에서는 고혈당 하에서 이러한 세포가 흉선 내로 유주할 수 없다고 생각된다. 따라서, 당뇨병에서 출현한 골수 내의 TNF-α 양성/프로인슐린 양성을 나타내는 비정상인 줄기 세포를 공격하기 위한 킬러 T 세포를 흉선에서 만들 수 없어졌다고 생각된다. 당뇨병에서는 그 세포가 "당뇨병 줄기 세포"로서 계속 생존함으로써 혈당 컨트롤것만으로는 치유되지 않는다고 생각된다.

[0272] (실시예 4)

[0273] HDAC 조절제 및 혈당 제어를 조합하여 NOD 마우스에 있어서의 당뇨병을 치료한다.

[0274] 고혈당의 발증을 확인하고 나서 1주일 경과한 NOD 마우스에 대하여 치료를 개시한다. 인슐린 글라진은, 치료 개시 후 3일째까지는 10IU, 그 후 3일간은 5IU, 그 후 6일간은 2.5IU, 그 후 12일간은 0.75IU로 투여량을 단계적으로 줄이면서, 매일 피하 투여한다. 인슐린 글라진 투여 2시간 후, 혈당값을 측정하여 혈당 강하를 확인한 마우스에 대하여 매일 2.5mg/kg의 기비노스탓을 경구 투여한다. 치료 개시 후 8주째를 초과한 시점에서 인슐린 글라진 투여 전의 혈당값이 200mg/dl을 하회할 경우, 그 날의 인슐린 글라진 및 기비노스탓의 투여는 중지한다. 그다음 날의 혈당값도 200mg/dl을 하회할 경우, 인슐린 글라진 및 기비노스탓을 중지하고, 그 후 4주째까지 매주 1회 혈당값을 측정하여, 당뇨병 상태를 판정한다. 치료 개시 후 8주 지나도 혈당값이 200mg/dl을 하회하지 않을 경우, 12주까지 치료를 매일 실시하고, 12주 지난 시점에서 종료로 한다. 저혈당이 출현했을 경우, 25% 글루코오스액을 복강 내(300μL) 투여하여 1시간 후에 혈당값을 측정하고, 여전히 저혈당이 지속할 경우, 이 조작을 반복한다. 혈당값이 충분히 상승한(150mg/dl 이상) 것을 확인한 후에는, 그 이상의 글루코오스액의 투여는 하지 않는다. 저혈당이 확인되었을 경우, 그 이후의 인슐린은 필요에 따라 그때까지의 투여량의 1/2로 한다.

[0275] NOD 마우스에 있어서의 당뇨병도 치유된다.

[0276] (실시예 5)

[0277] 당뇨병을 발증시킨 db/db 마우스에게 HDAC 조절제 및 혈당 제어제를 조합해서 투여하여 당뇨병을 치료한다.

[0278] Db/db 마우스는 6주째부터 관찰하여, 혈당값이 300mg/dl을 초과한 시점을 당뇨병의 발증으로 한다. db/db 마우스에 있어서, 인슐린 글라진을, 치료 개시 후 3일째까지는 10IU, 그 후 3일간은 5IU, 그 후 6일간은 2.5IU, 그 후 12일간은 0.75IU로 투여량을 단계적으로 줄이면서, 매일 피하 투여한다. 인슐린 글라진 투여 2시간 후, 혈당값을 측정하여 혈당 강하를 확인한 마우스에 대하여 매일 2.5mg/kg의 기비노스탓을 경구 투여한다. 치료 개시 후 8주째를 초과한 시점에서 인슐린 글라진 투여 전의 혈당값이 200mg/dl을 하회할 경우, 그 날의 인슐린 글라진 및 기비노스탓의 투여는 중지한다. 그다음 날의 혈당값도 200mg/dl을 하회할 경우, 인슐린 글라진 및 기비노스탓을 중지하고, 그 후 4주째까지 매주 1회 혈당값을 측정하여, 당뇨병 상태를 판정한다. 치료 개시 후 8주가 지나도 혈당값이 200mg/dl을 하회하지 않을 경우, 12주까지 치료를 매일 실시하고, 12주가 지난 시점에서 종료로 한다. 저혈당이 출현했을 경우, 25% 글루코오스액을 복강 내(300μL) 투여하여 1시간 후에 혈당값을 측정하고, 여전히 저혈당이 지속할 경우, 이 조작을 반복한다. 혈당값이 충분히 상승한(150mg/dl 이상) 것을 확인한 후에는, 그 이상의 글루코오스액의 투여는 하지 않는다. 저혈당이 확인된 경우, 그 이후의 인슐린은 필요에 따라 그때까지의 투여량의 1/2로 한다.

[0279] 비만 마우스 모델에 있어서의 당뇨병도 치유된다.

[0280] (실시예 6)

[0281] 당뇨병을 발증시킨 db/db 마우스에게 HDAC 조절제 및 다른 종류의 혈당 제어제를 조합해서 투여하여 당뇨병을 치료한다.

[0282] Db/db 마우스는 6주째부터 관찰하고, 혈당값이 300mg/dl을 초과한 시점을 당뇨병의 발증으로 한다. 렙틴 수용체 결손증인 db/db 마우스에 있어서, SGLT 저해제인 다파글리플로진 1.0mg/kg 및 HDAC 조절제인 기비노스탓 2.5mg/kg을 8주일 매일 경구 투여하고, 그 후 4주일 치료를 중지하고, 종료로 한다.

[0283] 다른 종류의 혈당 제어제를 사용했을 경우도 당뇨병이 치유된다.

[0284] (실시예 7)

[0285] 기비노스탓 대신에 핑골리모드(FTY720), 트리코스타틴 A, 보리노스탓, 벨리노스탓, 파노비노스탓, 레스미노스탓, 아벡시노스탓, 키시노스탓, 프라시노스탓, 로실리노스탓, 나나티노스탓, 다시노스탓, (N-히드록시-7-2-나프틸티오)헵타노미드, 발프로산, CG200745, 스크립트 에이드, KBH-A42, 로미뎁신, 부티르산 나트륨, 4-페닐부티르산, SK-7041, WW437, 엔티노스탓, 타세디날린, 모세티노스탓, 피발산 부티릴옥시메틸, 트라폭신, α-케토아미드류, 복소환식 케톤류, 디알릴트리술피드, 리콜리노스탓, Tubacin, 아제라로일 bis-히드록삼산, m-카르복시신남산 bis-히드록사미드를 사용하여, 마찬가지로 당뇨병이 치유된다.

[0286] (실시예 8: 흉선 적출의 영향)

[0287] STZ-DM 마우스를 HDAC 조절제 및 혈당 제어의 조합으로 치료하는 경우의 흉선 영향을 조사하였다. 실험의 개요를 도 23에 나타낸다.

[0288] C57BL/6J 마우스(야생형, 니혼 클레아, 오사카)에 대하여 스트렙토조토신(150mg/kg)을 미정맥 투여하여 당뇨병을 발증시켰다. 1개월간 자유 섭식시킨 후, 이 STZ-DM 마우스에 대하여 인슐린 펠릿을 피하 투여하여 혈당값을 정상화시켰다. 마우스를 2군으로 나누고, 한 쪽 군의 마우스에 대해서 흉골 상와로부터 흉선을 적출하고(흉선 적출군), 다른 쪽 군의 마우스는 흉골 상와에 절개를 넣고, 바로 닫았다(대조군). 흉선 적출군·대조군 모두 2.5mg/kg의 기비노스탓(Cayman chemical, USA)을 경구 투여하였다. 기비노스탓은 3일에 1회 투여하였다.

[0289] 두 군의 마우스 혈당값을 매주 측정하였다(도 24). 8주일의 치료를 종료한 후, 두 군의 마우스에 대하여 관류 고정을 행하고, 흉선의 유무를 확인하였다(도 25).

[0290] 결과

[0291] 도 24에 나타내는 바와 같이, 흉선 적출군에서는, 인슐린 펠릿의 효과가 감약하기 시작하는 4주 이후부터, 대조군과 비교하여 혈당값이 유의미하게 높아지고, 치료 종료 시점에서, 400mg/dL 정도까지 상승하였다. 다른 한편, 흉선을 적출하지 않고 치료한 대조군에서는 혈당값의 상승은 보여지지 않았다. 도 25에 나타내는 바와 같이, 대조군의 마우스에서는, 당뇨병으로 위축된 흉선이 정상 정도까지 회복되어 있었지만, 흉선 적출군에서는, 치료를 했다고 해도 흉선이 회복되지 않았다. 이것으로부터, 당뇨병의 완치에는 흉선의 기능이 불가결하다고 생각된다. 또한, 비정상적인 자기 면역에서 발증하는 1형 당뇨병의 모델인 NOD 마우스에 있어서도 흉선 적출에 의해 동일한 영향이 보여졌다.

[0292] (주기)

[0293] 이상과 같이, 본 개시의 바람직한 실시 형태를 사용하여 본 개시를 예시해 왔지만, 본 개시는, 특허청구의 범위에 의해서만 그 범위가 해석되어야 하는 것으로 이해된다. 본 명세서에 있어서 인용한 특허, 특허 출원 및 다른 문헌은, 그 내용 자체가 구체적으로 본 명세서에 기재되어 있는 것과 마찬가지로 그 내용이 본 명세서에 대한 참고로서 원용되어야 하는 것으로 이해된다.

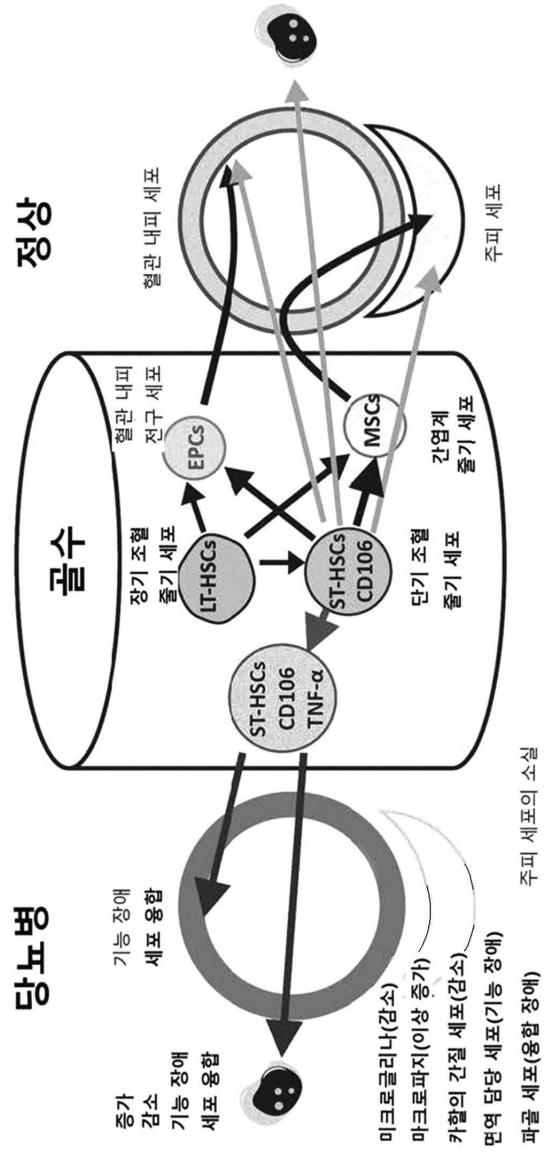
[0294] 본 출원은, 2021년 10월 29일에 일본 특허청에 출원된 일본 특허 출원 2021-177845호에 대한 우선권의 이익을 주장하고, 그 내용 전체가 본 명세서에 원용된다.

[0295] <산업상의 이용 가능성>

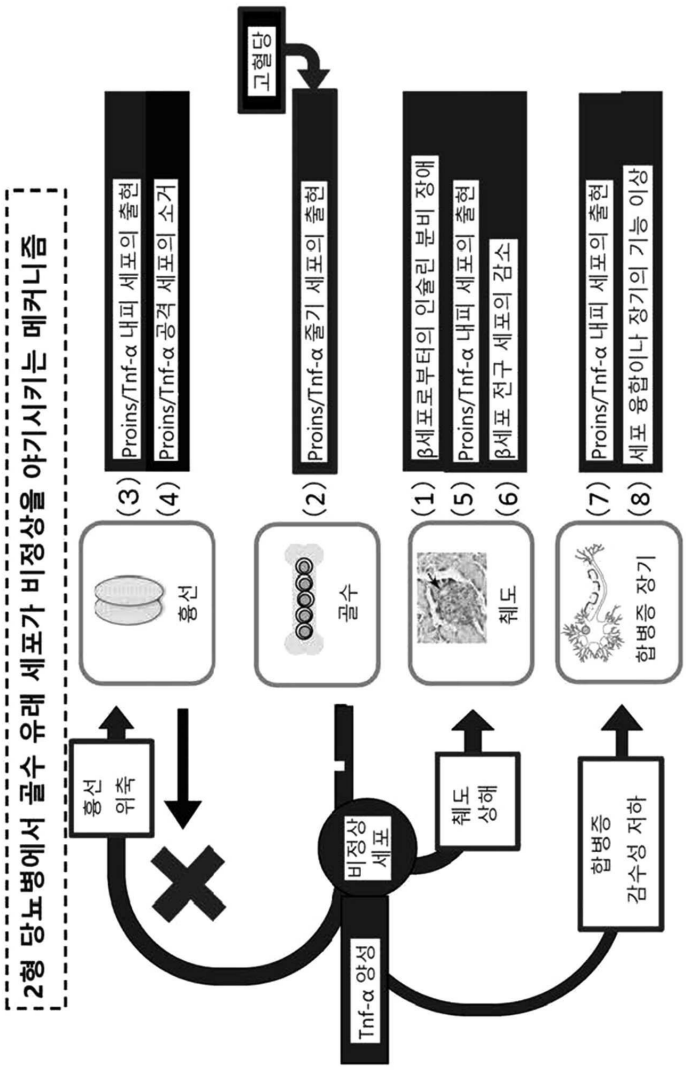
[0296] 본 개시는, 혈당의 제어 및 HDAC 조절을 조합한 당뇨병 치료를 제공하고, 이것은, 당뇨병 치료를 위한 새로운 수법이 제공된다.

도면

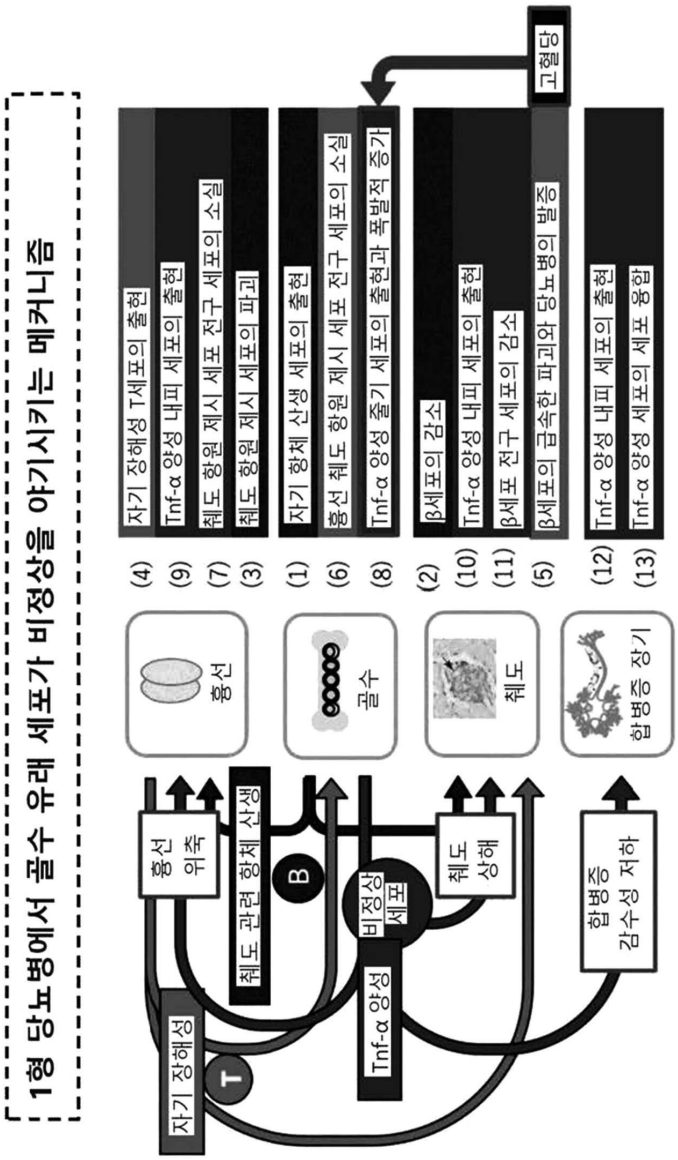
도면1


정상
혈관 내피 세포
주피 세포
골수
혈관 내피
전구 세포
EPCs
장기 조혈
줄기 세포
LT-HSCs
ST-HSCs
CD106
MSCs
간엽계
줄기 세포
단기 조혈
줄기 세포
ST-HSCs
CD106
TNF-α
당뇨병
기능 장애
세포 융합
증가
감소
기능 장애
세포 융합
주피 세포의 소실
미크로글리나(감소)
마크로파지(이상 증가)
카할의 간질 세포(감소)
면역 담당 세포(기능 장애)
파골 세포(융합 장애)

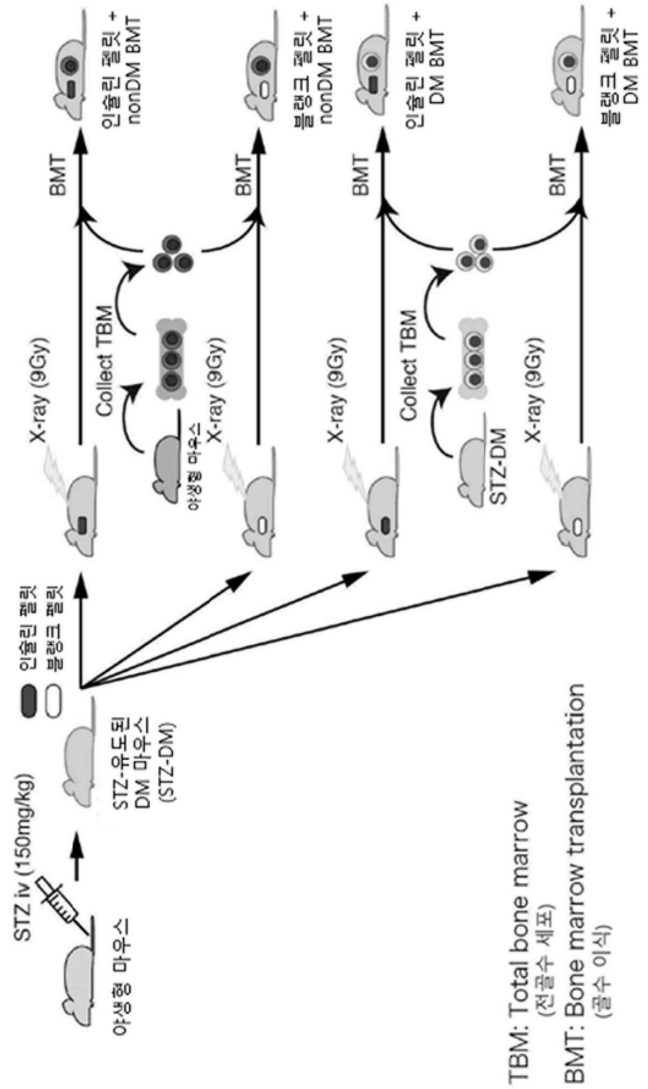
도면2


2형 당뇨병에서 골수 유래 세포가 비정상을 야기시키는 메커니즘
흉선
위축
Tnf-α 양성
비정상 세포
췌도 상해
합병증 감수성 저하
흉선
골수
췌도
합병증 장기
(3) Proins/Tnf-α 내피 세포의 출현
(4) Proins/Tnf-α 공격 세포의 소거
고혈당
(2) Proins/Tnf-α 줄기 세포의 출현
(1) β세포로부터의 인슐린 분비 장애
(5) Proins/Tnf-α 내피 세포의 출현
(6) β세포 전구 세포의 감소
(7) Proins/Tnf-α 내피 세포의 출현
(8) 세포 융합이나 장기의 기능 이상

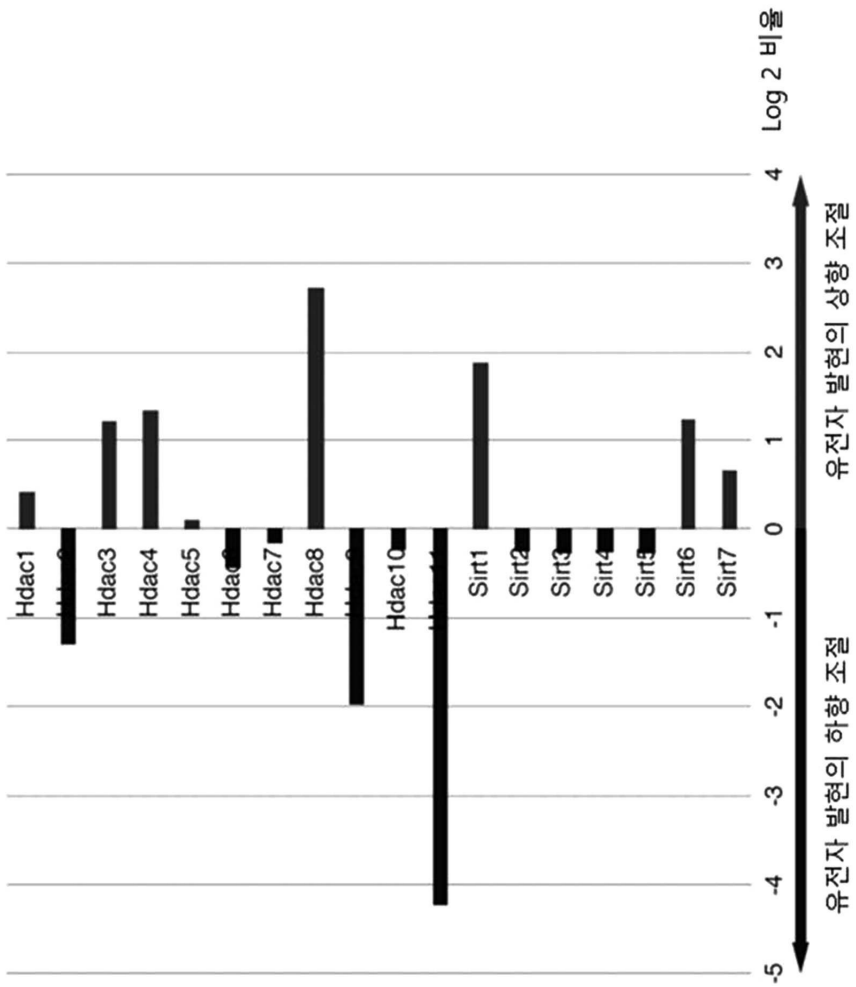
도면3


1형 당뇨병에서 골수 유래 세포가 비정상을 야기시키는 메커니즘
자기 장해성 T세포의 출현
Tnf-α 양성 내피 세포의 출현
췌도 항원 제시 세포 전구 세포의 소실
췌도 항원 제시 세포의 파괴
자기 항체 산생 세포의 출현
흉선 췌도 항원 제시 세포 전구 세포의 소실
Tnf-α 양성 줄기 세포의 출현과 폭발적 증가
βSE포의 감소
Tnf-α 양성 내피 세포의 출현
βSE포 전구 세포의 감소
βSE포의 급속한 파괴와 당뇨병의 발증
고혈당
Tnf-α 양성 내피 세포의 출현
Tnf-α 양성 세포의 세포 융합
(4)
(9)
(7)
(3)
(1)
(6)
(8)
(2)
(10)
(11)
(5)
(12)
(13)
흉선
골수
췌도
합병증 장기
자기 장해성
T
흉선 위축
췌도 관련 항체 산생
B
Tnf-α 양성
비정상 세포
췌도 상해
합병증 감수성 저하

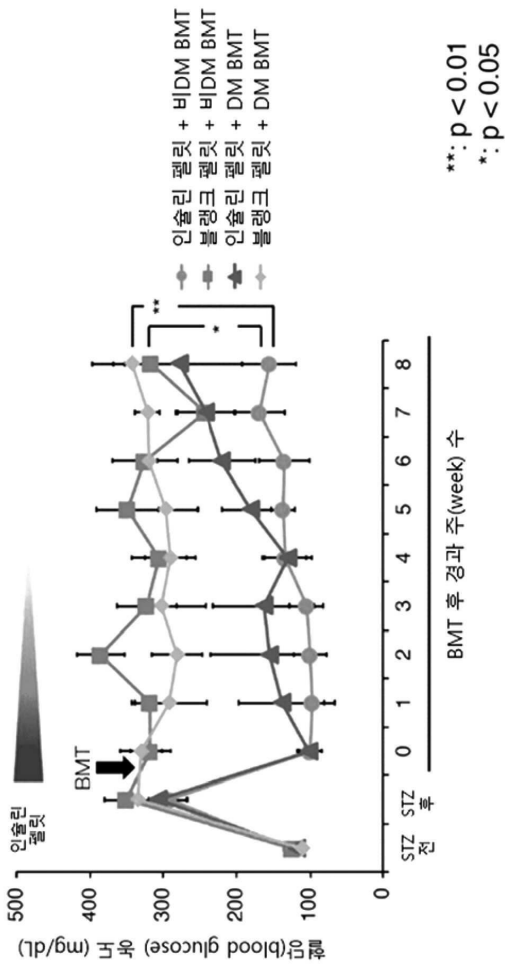
도면4


야생형 마우스
STZ iv (150mg/kg)
STZ-유도된
DM 마우스
(STZ-DM)
인슐린 콜릿
블랭크 콜릿
X-ray (9Gy)
Collect TBM
야생형 마우스
X-ray (9Gy)
BMT
인슐린 콜릿 +
nonDM BMT
BMT
블랭크 콜릿 +
nonDM BMT
X-ray (9Gy)
Collect TBM
STZ-DM
X-ray (9Gy)
BMT
인슐린 콜릿 +
DM BMT
BMT
블랭크 콜릿 +
DM BMT
TBM: Total bone marrow
(전골수 세포)
BMT: Bone marrow transplantation
(골수 이식)

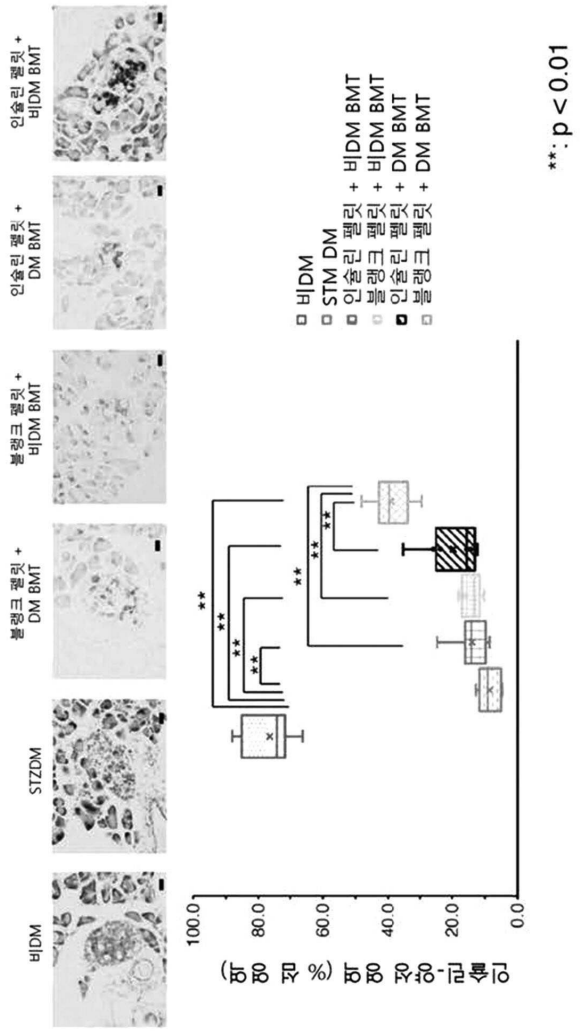
도면5


Log 2 비율
4
3
2
1
0
-1
-2
-3
-4
-5
유전자 발현의 상향 조절
유전자 발현의 하향 조절
Hdac1
Hdac3
Hdac4
Hdac5
Hdac7
Hdac8
Hdac10
Sirt1
Sirt2
Sirt3
Sirt4
Sirt6
Sirt7

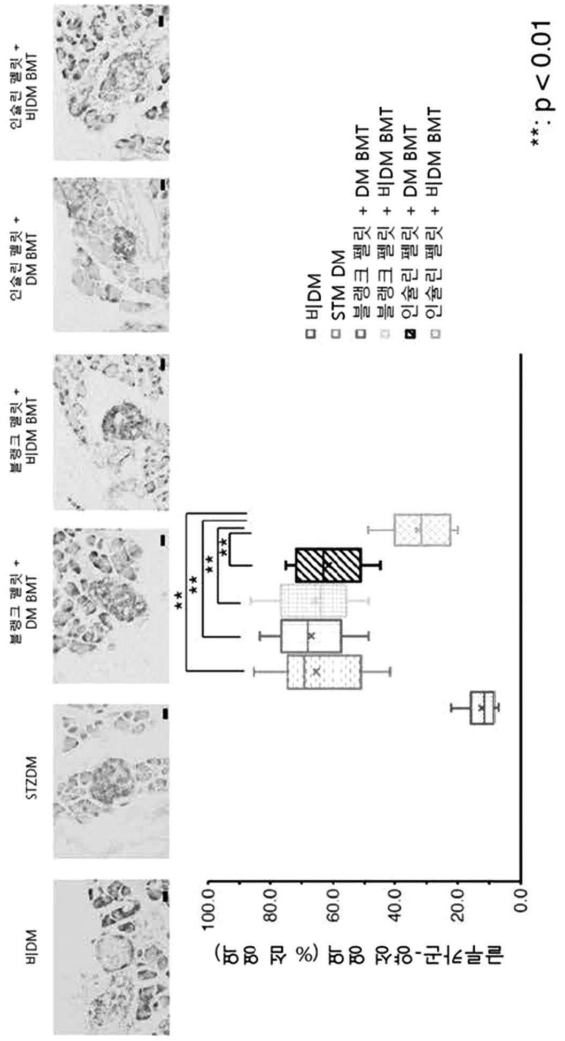
도면6


혈당(blood glucose) 농도 (mg/dL)
500
400
300
200
100
0
인슐린 펠릿
BMT
STZ 전
STZ 후
0 1 2 3 4 5 6 7 8
BMT 후 경과 주(week) 수
인슐린 펠릿 + 비DM BMT
블랭크 펠릿 + 비DM BMT
인슐린 펠릿 + DM BMT
블랭크 펠릿 + DM BMT
**
*
**: p < 0.01
*: p < 0.05

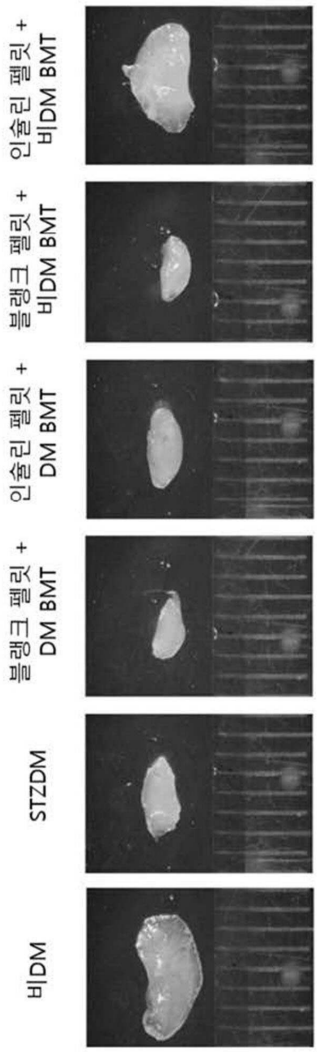
도면7


비DM
STZDM
블랭크 펠릿 + DM BMT
블랭크 펠릿 + 비DM BMT
인슐린 펠릿 + DM BMT
인슐린 펠릿 + 비DM BMT
인슐린-양성 영역 (% 전 영역)
100.0
80.0
60.0
40.0
20.0
0.0
**
비DM
STM DM
인슐린 펠릿 + 비DM BMT
블랭크 펠릿 + 비DM BMT
인슐린 펠릿 + DM BMT
블랭크 펠릿 + DM BMT
**: p < 0.01

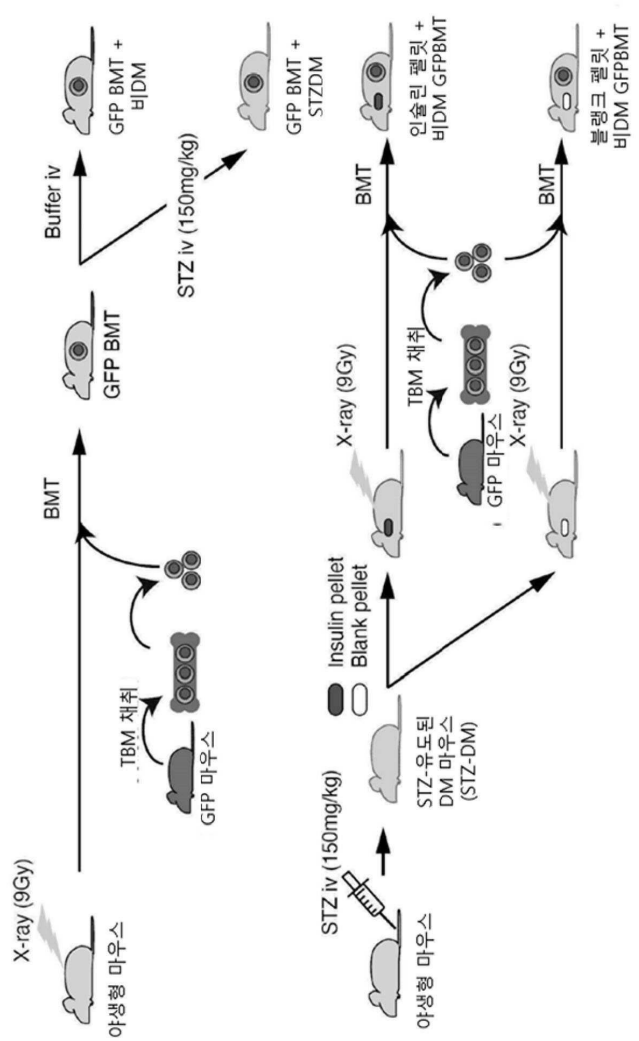
도면8


비DM
STZDM
블랭크 팰릿 + DM BMT
블랭크 팰릿 + 비DM BMT
인슐린 팰릿 + DM BMT
인슐린 팰릿 + 비DM BMT
글루카곤-양성 영역 (% 전 영역)
100.0
80.0
60.0
40.0
20.0
0.0
**
**
**
**
비DM
STM DM
블랭크 팰릿 + DM BMT
블랭크 팰릿 + 비DM BMT
인슐린 팰릿 + DM BMT
인슐린 팰릿 + 비DM BMT
**: p < 0.01

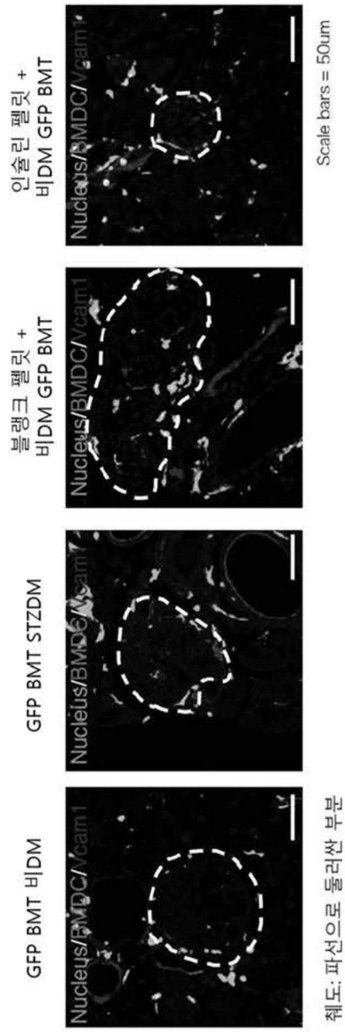
도면9


비DM
STZDM
블랭크 펠릿 + DM BMT
인슐린 펠릿 + DM BMT
블랭크 펠릿 + 비DM BMT
인슐린 펠릿 + 비DM BMT

도면10

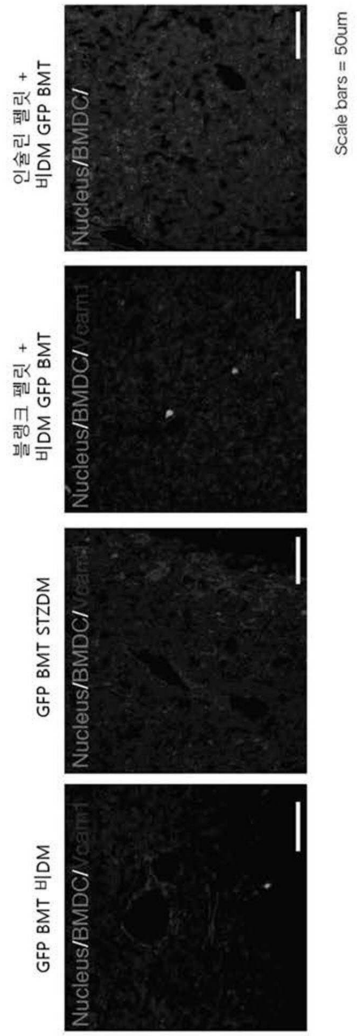

X-ray (9Gy)
야생형 마우스
BMT
GFP BMT
Buffer iv
GFP BMT + 비DM
TBM 채취
GFP 마우스
STZ iv (150mg/kg)
GFP BMT + STZDM
STZ iv (150mg/kg)
야생형 마우스
STZ-유도된 DM 마우스 (STZ-DM)
Insulin pellet
Blank pellet
X-ray (9Gy)
BMT
인슐린 펠릿 + 비DM GFPBMT
TBM 채취
GFP 마우스
X-ray (9Gy)
BMT
블랭크 펠릿 + 비DM GFPBMT

도면11

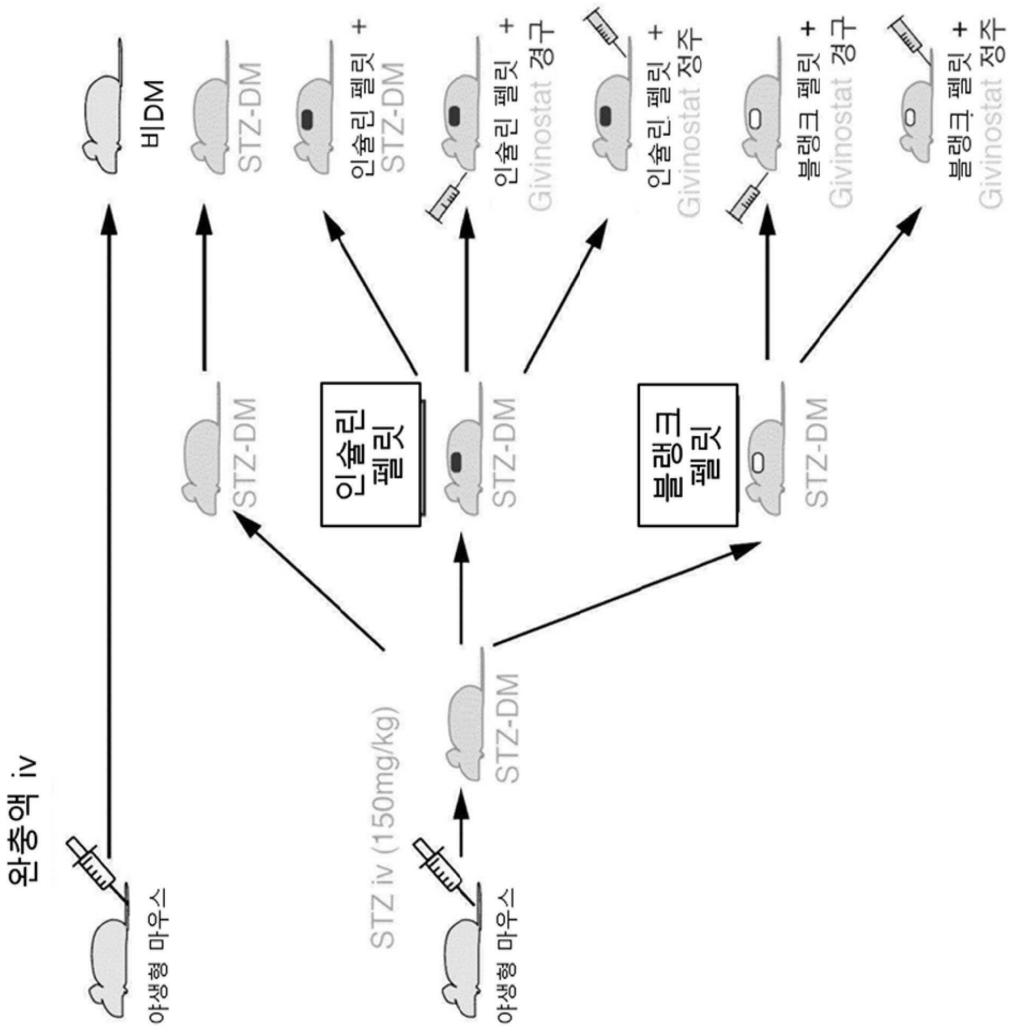


채도: 파선으로 둘러싼 부분

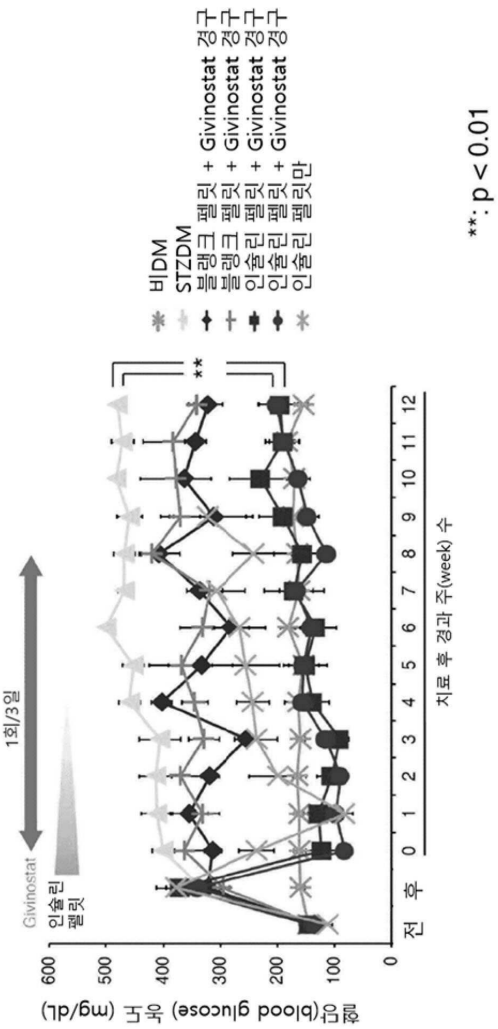
도면12


GFP BMT 비DM
Nucleus/BMDC/Vcam1
GFP BMT STZDM
Nucleus/BMDC/Vcam1
블랭크 팰릿 +
비DM GFP BMT
Nucleus/BMDC/Vcam1
인슐린 팰릿 +
비DM GFP BMT
Nucleus/BMDC/
Scale bars = 50um

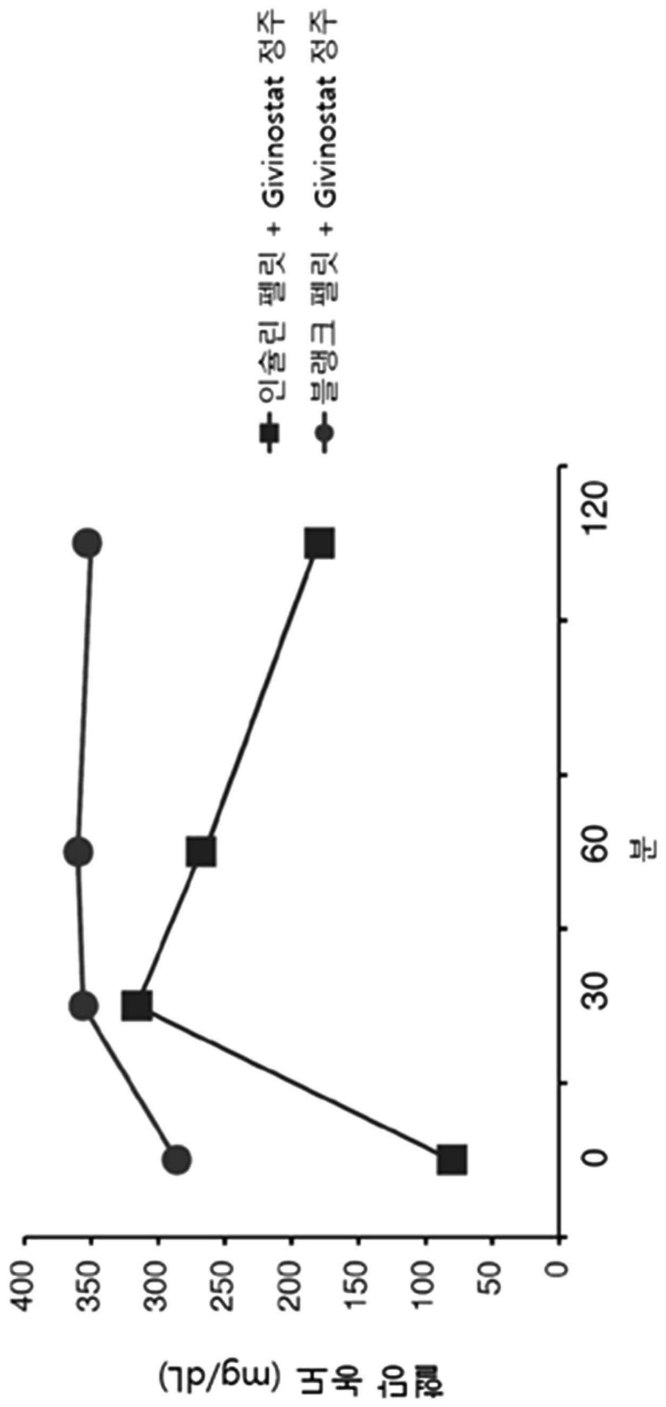
도면13


완충액 iv
야생형 마우스
비DM
STZ iv (150mg/kg)
야생형 마우스
STZ-DM
STZ-DM
STZ-DM
STZ-DM
STZ-DM
인슐린 펠릿
블랭크 펠릿
STZ-DM
STZ-DM
인슐린 펠릿 +
인슐린 펠릿 +
Givinostat 경구
인슐린 펠릿 +
Givinostat 정주
블랭크 펠릿 +
Givinostat 경구
블랭크 펠릿 +
Givinostat 정주

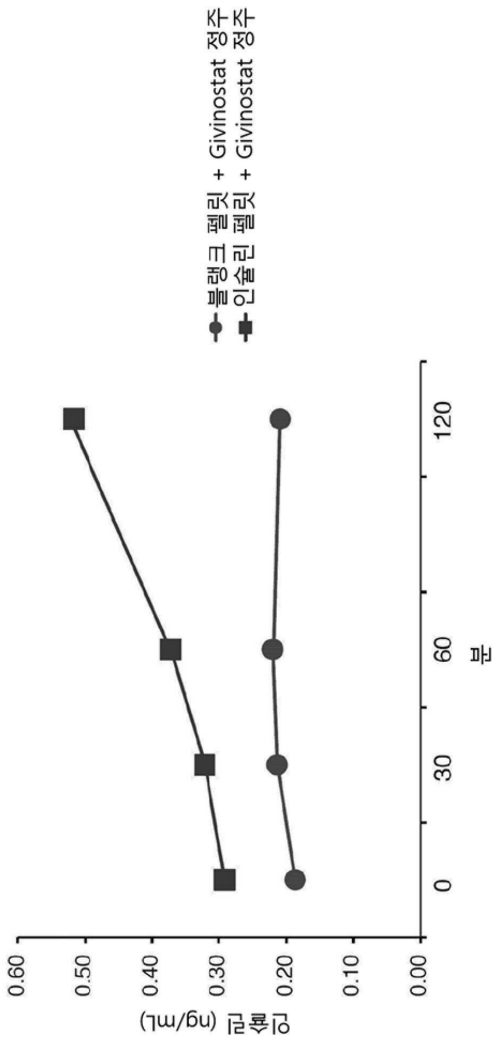
도면14


혈당(blood glucose) 농도 (mg/dL)
600
500
400
300
200
100
0
전 후 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
치료 후 경과 주(week) 수
Givinostat
인슐린
펠릿
1회/3일
**
**: p < 0.01
비DM
STZDM
블랭크 펠릿 + Givinostat 경구
블랭크 펠릿 + Givinostat 경구
인슐린 펠릿 + Givinostat 경구
인슐린 펠릿 + Givinostat 경구
인슐린 펠릿만

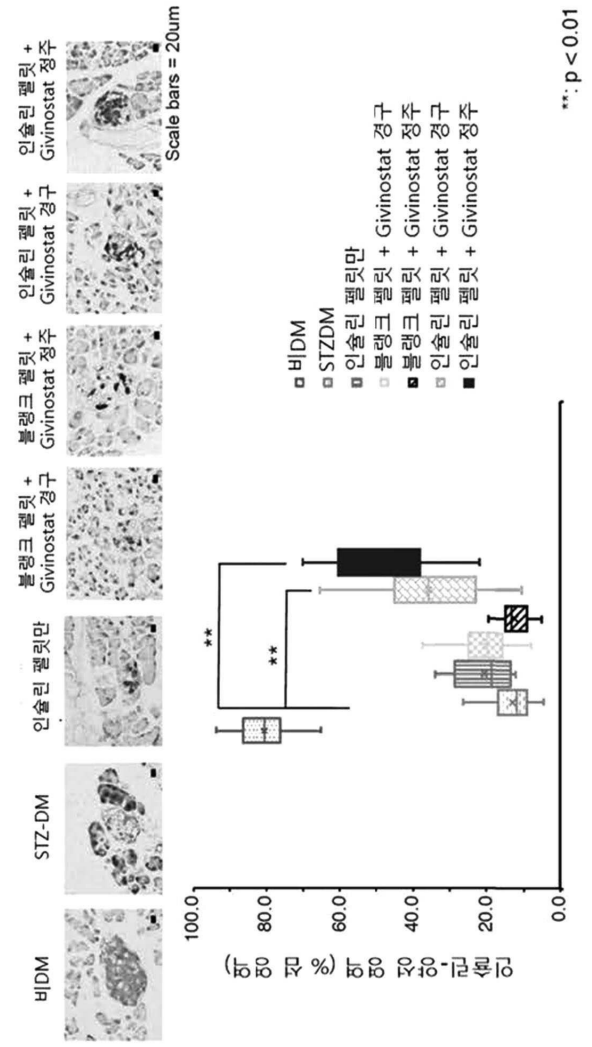
도면15


인슐린 펠릿 + Givinostat 정주
블랭크 펠릿 + Givinostat 정주
혈당 농도 (mg/dL)
400
350
300
250
200
150
100
50
0
0
30
60
120
분

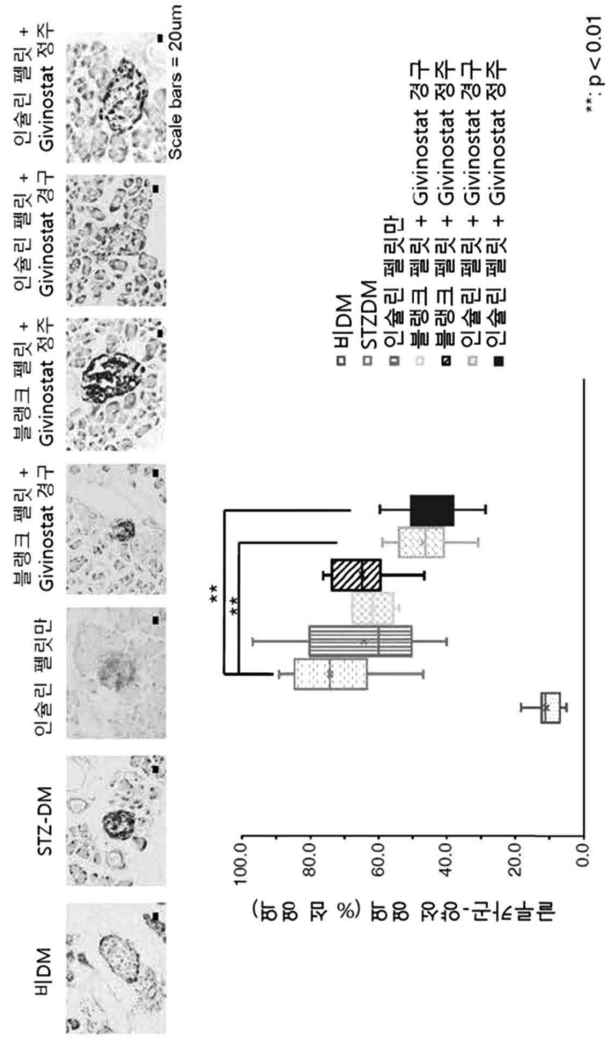
도면16


블랭크 펠릿 + Givinostat 정주
인슐린 펠릿 + Givinostat 정주
인슐린 (ng/mL)
0.60
0.50
0.40
0.30
0.20
0.10
0.00
0
30
60
120
분

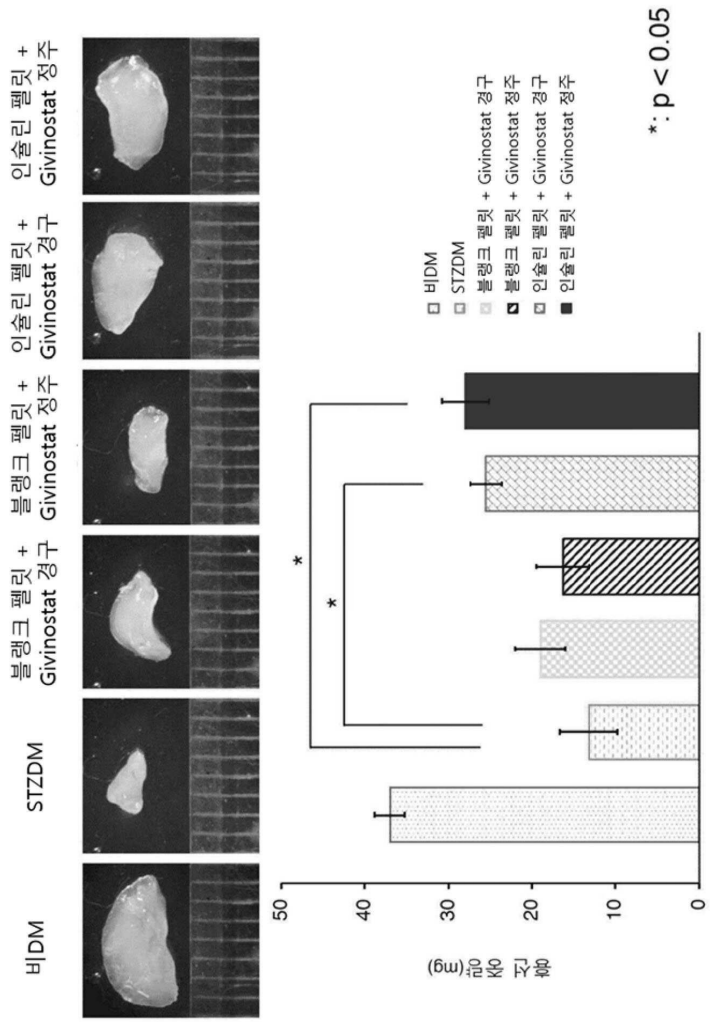
도면17


비DM
STZ-DM
인슐린 팰릿만
블랭크 팰릿 + Givinostat 경구
블랭크 팰릿 + Givinostat 정주
인슐린 팰릿 + Givinostat 경구
인슐린 팰릿 + Givinostat 정주
Scale bars = 20um
비DM
STZDM
인슐린 팰릿만
블랭크 팰릿 + Givinostat 경구
블랭크 팰릿 + Givinostat 정주
인슐린 팰릿 + Givinostat 경구
인슐린 팰릿 + Givinostat 정주
**
**
100.0
80.0
60.0
40.0
20.0
0.0
**: p < 0.01

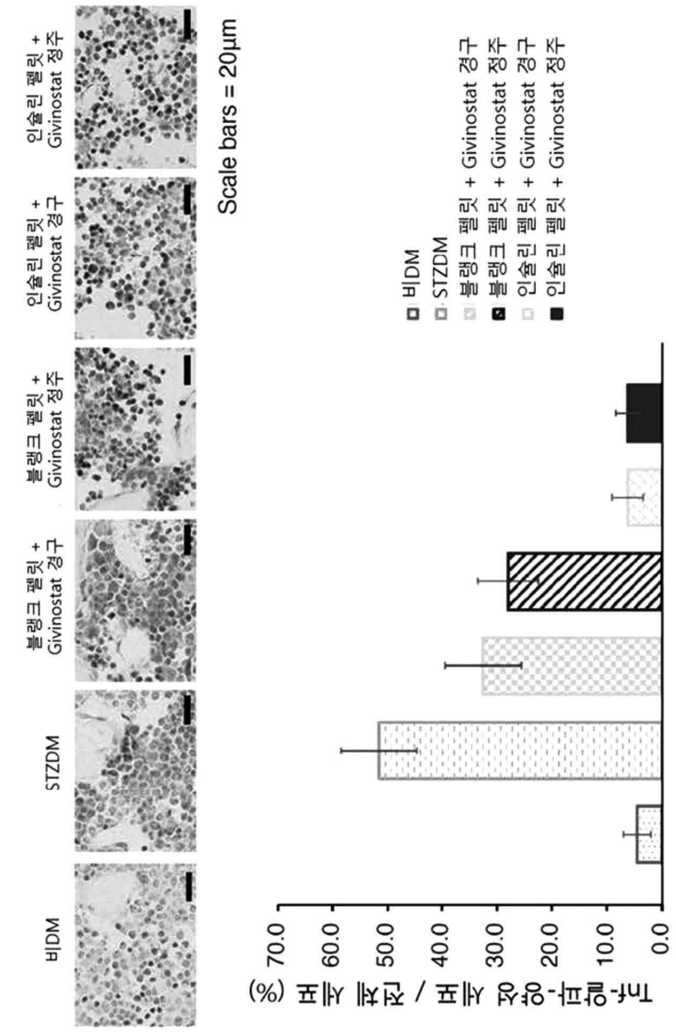
도면18


비DM
STZ-DM
인슐린 팰릿만
블랭크 팰릿 + Givinostat 경구
블랭크 팰릿 + Givinostat 정주
인슐린 팰릿 + Givinostat 경구
인슐린 팰릿 + Givinostat 정주
Scale bars = 20um
글루카곤-양성 영역 (% 섬 영역)
100.0
80.0
60.0
40.0
20.0
0.0
**
**
비DM
STZDM
인슐린 팰릿만
블랭크 팰릿 + Givinostat 경구
블랭크 팰릿 + Givinostat 정주
인슐린 팰릿 + Givinostat 경구
인슐린 팰릿 + Givinostat 정주
**: p < 0.01

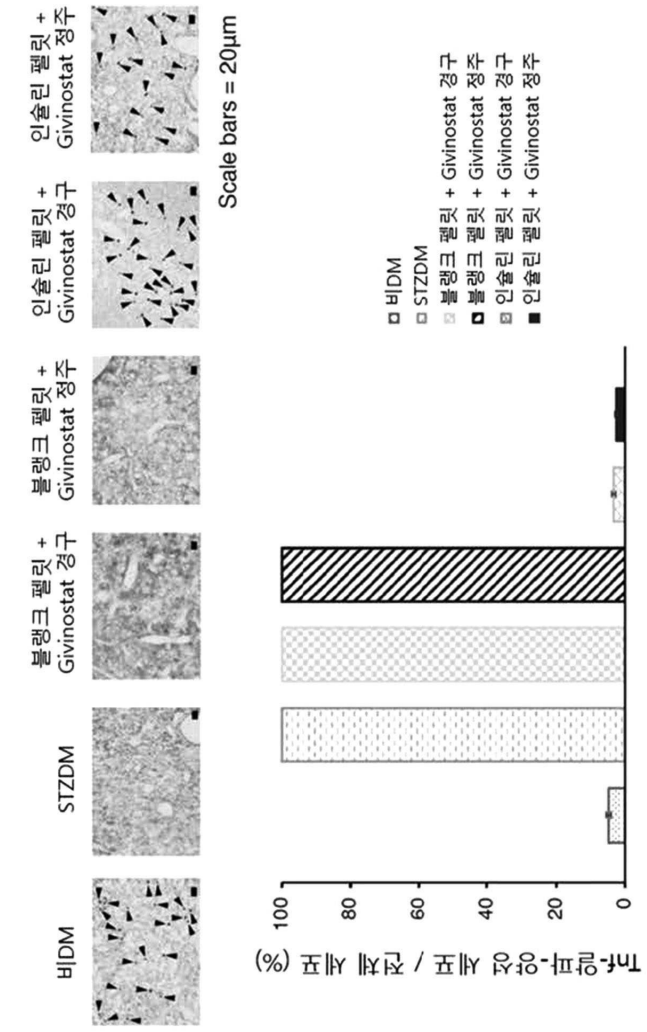
도면19


비DM
STZDM
블랭크 펠릿 + Givinostat 경구
블랭크 펠릿 + Givinostat 정주
인슐린 펠릿 + Givinostat 경구
인슐린 펠릿 + Givinostat 정주
췌장 무게(mg)
0
10
20
30
40
50
*
*
*: p < 0.05
비DM
STZDM
블랭크 펠릿 + Givinostat 경구
블랭크 펠릿 + Givinostat 정주
인슐린 펠릿 + Givinostat 경구
인슐린 펠릿 + Givinostat 정주

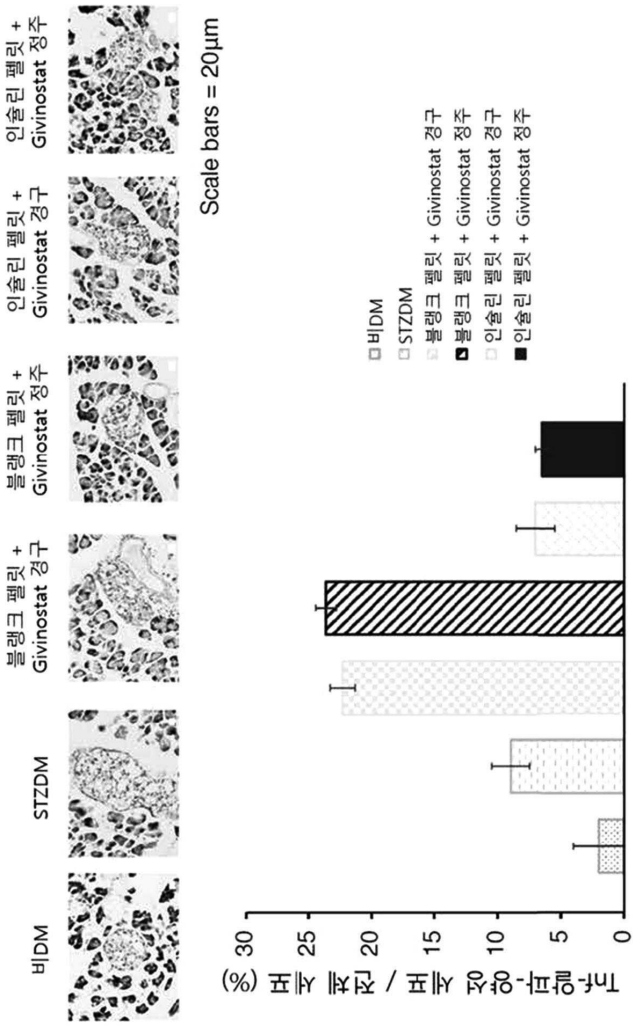
도면20


비DM
STZDM
블랭크 펠릿 + Givinostat 경구
블랭크 펠릿 + Givinostat 정주
인슐린 펠릿 + Givinostat 경구
인슐린 펠릿 + Givinostat 정주
Scale bars = 20μm
비DM
STZDM
블랭크 펠릿 + Givinostat 경구
블랭크 펠릿 + Givinostat 정주
인슐린 펠릿 + Givinostat 경구
인슐린 펠릿 + Givinostat 정주
Tnf-알파-양성 세포 / 전체 세포 (%)
70.0
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0

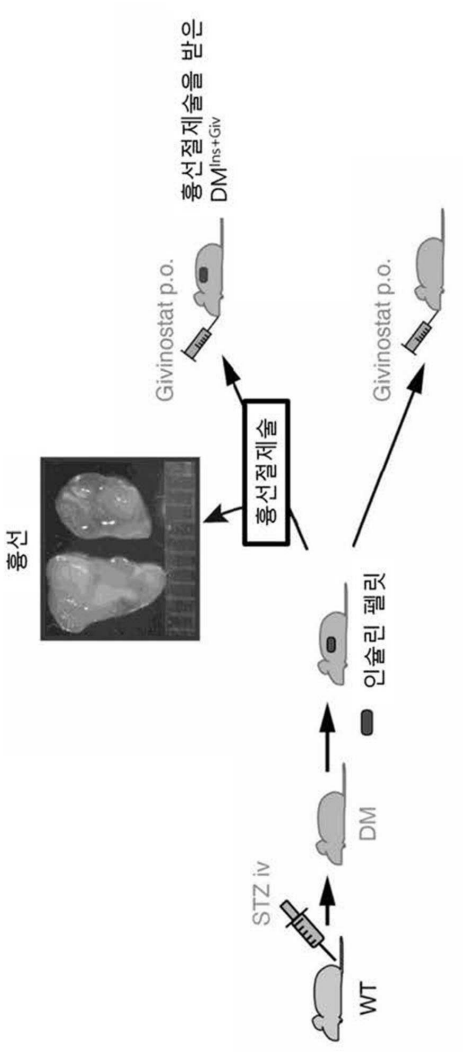
도면21


비DM
STZDM
블랭크 펠릿 + Givinostat 경구
블랭크 펠릿 + Givinostat 정주
인슐린 펠릿 + Givinostat 경구
인슐린 펠릿 + Givinostat 정주
Scale bars = 20μm
TnF-알파-양성 세포 / 전체 세포 (%)
0
20
40
60
80
100
비DM
STZDM
블랭크 펠릿 + Givinostat 경구
블랭크 펠릿 + Givinostat 정주
인슐린 펠릿 + Givinostat 경구
인슐린 펠릿 + Givinostat 정주

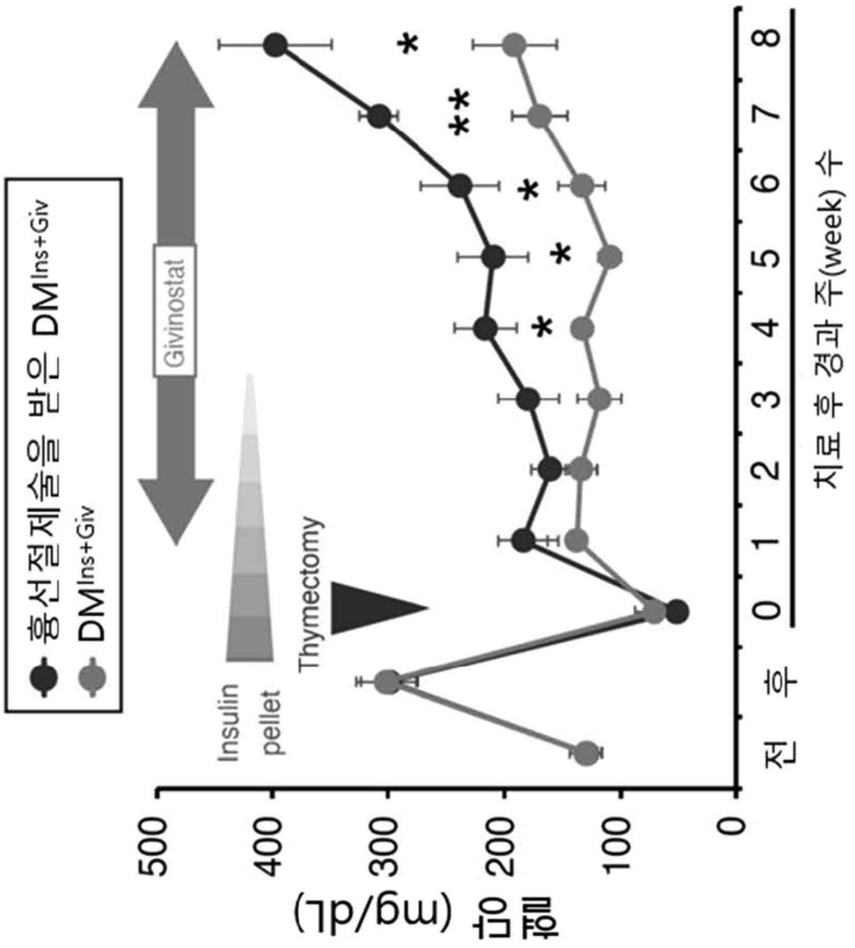
도면22


비DM
STZDM
블랭크 펠릿 + Givinostat 경구
블랭크 펠릿 + Givinostat 정주
인슐린 펠릿 + Givinostat 경구
인슐린 펠릿 + Givinostat 정주
Scale bars = 20μm
Tnf-알파-양성 세포 / 전체 세포 (%)
0
5
10
15
20
25
30
비DM
STZDM
블랭크 펠릿 + Givinostat 경구
블랭크 펠릿 + Givinostat 정주
인슐린 펠릿 + Givinostat 경구
인슐린 펠릿 + Givinostat 정주

도면23


WT
STZ iv
DM
인슐린 펠릿
흉선절제술
흉선
Givinostat p.o.
흉선절제술을 받은
DMIns+Giv
Givinostat p.o.

도면24


흉선절제술을 받은 DM Ins+Giv
DM Ins+Giv
Givinostat
Insulin pellet
Thymectomy
혈당 (mg/dL)
500
400
300
200
100
0
전
후
0 1 2 3 4 5 6 7 8
치료 후 경과 주(week) 수
*
**
*
*
*

도면25

