



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0094532
(43) 공개일자 2021년07월29일

- | | |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>A61K 31/4523</i> (2006.01) <i>A61K 31/407</i> (2006.01)
 <i>A61K 31/4545</i> (2006.01) <i>A61K 31/506</i> (2006.01)
 <i>A61P 9/14</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 <i>A61K 31/4523</i> (2013.01)
 <i>A61K 31/407</i> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2021-7014599
 (22) 출원일자(국제) 2019년10월16일
 심사청구일자 없음
 (85) 번역문제출일자 2021년05월14일
 (86) 국제출원번호 PCT/US2019/056616
 (87) 국제공개번호 WO 2020/081741
 국제공개일자 2020년04월23일
 (30) 우선권주장
 62/746,524 2018년10월16일 미국(US)
 (뒷면에 계속)</p> | <p>(71) 출원인
 더 존스 홉킨스 유니버시티
 미국 메릴랜드주 21218 볼티모어 찰스 스트리트
 3400 엔.</p> <p>(72) 발명자
 다에즈, 해리 씨.
 미국 21286 메릴랜드주 토슨 라이게이트 로드
 1104
 보웬, 케이틀린 제이.
 미국 21231 메릴랜드주 볼티모어 뱅크 스트리트
 2054
 칼데론 히아드로식, 후안 프란시스코
 칠레 7770174 산티아고 뉴노아 리카르도 리온
 3055-아</p> <p>(74) 대리인
 양영준, 이상남</p> |
|--|--|

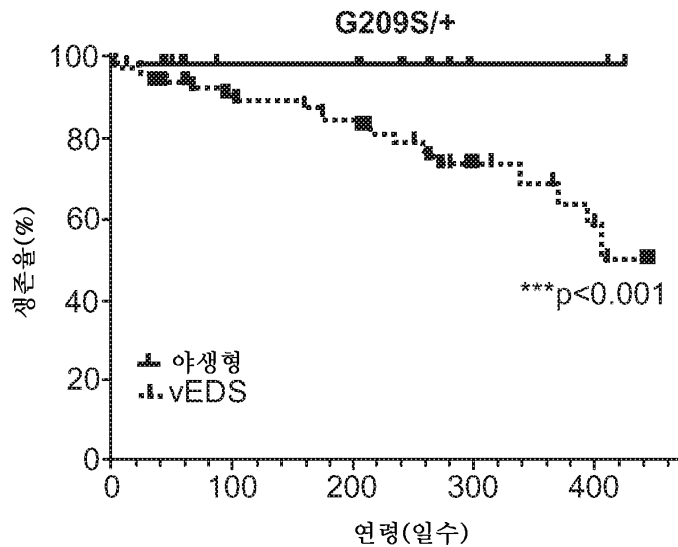
전체 청구항 수 : 총 36 항

(54) 발명의 명칭 혈관형 엘러스 단로스 증후군 및 연관 장애를 치료하기 위한 조성물 및 방법

(57) 요약

본 발명은 혈관형 엘러스 단로스 증후군 및 연관 결합 조직 장애를 치료하기 위한 조성물 및 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

A61K 31/4545 (2013.01)

A61K 31/506 (2013.01)

A61P 19/04 (2018.01)

A61P 9/14 (2018.01)

(30) 우선권주장

62/747,587 2018년10월18일 미국(US)

62/838,049 2019년04월24일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

유효량의 작용제를 투여하여 혈관병증을 치료하는 것을 포함하며, 여기서 작용제는 세포의 신호-조절된 키나제 (ERK) 또는 단백질 키나제 C (PKC)의 활성 또는 발현을 감소시키는 것인, 대상체에서 혈관병증을 치료하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 혈관병증이 혈관형 엘리스-단로스 증후군 (vEDS)을 포함하는 것인 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 작용제가 항체 또는 그의 단편, 폴리펩티드, 소분자, 핵산 분자, 또는 그의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 작용제가 소분자를 포함하는 것인 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 작용제가 코비메티닙, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는 것인 방법.

청구항 6

제3항에 있어서, 작용제가 루복시스타우린, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는 것인 방법.

청구항 7

제3항에 있어서, 작용제가 엔자스타우린, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는 것인 방법.

청구항 8

제3항에 있어서, 작용제가 소트라스타우린, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는 것인 방법.

청구항 9

제1항에 있어서, 포스포리파제 C (PLC) 또는 이노시톨 트리포스페이트 (IP3)의 활성 또는 발현을 감소시키는 작용제를 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 10

제1항에 있어서, 작용제의 유효량이 약 0.001 mg/kg 내지 250 mg/kg 체중인 방법.

청구항 11

제1항에 있어서, 대상체가 정상 대조군과 상이한, ERK 또는 PKC 단백질 또는 mRNA의 수준을 포함하는 것인 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 대상체가 정상 대조군과 비교하여 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 90%, 95%, 99%, 100%, 5-50%, 50-75%, 75-100%, 1배, 2배, 3배, 4배, 또는 5배 더 높은 ERK 또는 PKC 단백질 또는 mRNA의 수준을 포함하는 것인 방법.

청구항 13

제11항에 있어서, 대상체가 정상 대조군과 비교하여 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 90%, 95%, 99%, 100%, 5-50%, 50-75%, 75-100%, 1배, 2배, 3배, 4배, 또는 5배 더 높은 ERK 또는 PKC 활성의 수준을 포함하는 것인 방법.

청구항 14

제11항에 있어서, 수준이 대상체로부터 수득된 시험 샘플에서의 것인 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 시험 샘플이 혈액, 혈청, 혈장, 타액, 눈물, 유리체, 뇌척수액, 땀, 뇌척수액, 또는 소변을 포함하는 것인 방법.

청구항 16

유효량의 작용제를 투여하여 결합 조직 장애를 치료하는 것을 포함하며, 여기서 작용제는 세포의 신호-조절된 키나제 (ERK) 또는 단백질 키나제 C (PKC)의 활성 또는 발현을 감소시키는 것인, 대상체에서 결합 조직 장애를 치료하는 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, 결합 조직 장애가 혈관병증, 마르판 증후군(Marfan Syndrome), 로이 디에츠 증후군(Loeys Dietz Syndrome), 및 가족성 흉부 대동맥 동맥류로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 18

제16항에 있어서, 혈관병증이 혈관형 엘리스-단로스 증후군 (vEDS)을 포함하는 것인 방법.

청구항 19

제16항에 있어서, 작용제가 항체 또는 그의 단편, 폴리펩티드, 소분자, 핵산 분자, 또는 그의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.

청구항 20

제19항에 있어서, 작용제가 소분자를 포함하는 것인 방법.

청구항 21

제19항에 있어서, 작용제가 코비메티닙, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는 것인 방법.

청구항 22

제19항에 있어서, 작용제가 엔자스타우린, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는 것인 방법.

청구항 23

제19항에 있어서, 작용제가 소트라스타우린, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는 것인 방법.

청구항 24

제19항에 있어서, 작용제가 루복시스타우린, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는 것인 방법.

청구항 25

제16항에 있어서, 포스포리파제 C (PLC) 또는 이노시톨 트리포스페이트 (IP3)의 활성 또는 발현을 감소시키는 작용제를 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 26

유효량의 작용제를 포함하여 혈관병증을 치료하는, 혈관병증을 치료하기 위한 제약 조성물이며, 여기서 작용제는 세포의 신호-조절된 키나제 (ERK) 또는 단백질 키나제 C (PKC)의 활성 또는 발현을 감소시키는 것인 제약 조

성물.

청구항 27

제26항에 있어서, 작용제가 항체 또는 그의 단편, 폴리펩티드, 소분자, 핵산 분자, 또는 그의 임의의 조합을 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 28

1) 제26항 또는 제27항의 제약 조성물, 및 2) 혈관병증의 치료를 위한 서면 지침을 포함하는 키트.

청구항 29

유효량의 작용제를 투여하여 결합 조직 장애를 치료하는 것을 포함하며, 여기서 작용제는 항체 또는 그의 단편, 폴리펩티드, 소분자, 핵산 분자, 또는 그의 임의의 조합을 포함하는 것인, 결합 조직 장애를 치료하는 방법.

청구항 30

제29항에 있어서, 결합 조직 장애가 마르판 증후군을 포함하는 것인 방법.

청구항 31

제29항에 있어서, 작용제가 단백질 키나제 C (PKC)의 활성 또는 발현을 감소시키는 것인 방법.

청구항 32

제31항에 있어서, 작용제가 PKC 단백질 또는 mRNA의 수준을 정상 대조군과 비교하여 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 90%, 95%, 99%, 100%, 5-50%, 50-75%, 75-100%, 1배, 2배, 3배, 4배, 또는 5배만큼 감소시키는 것인 방법.

청구항 33

제31항에 있어서, 작용제가 PKC 활성의 수준을 정상 대조군과 비교하여 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 90%, 95%, 99%, 100%, 5-50%, 5배만큼 감소시키는 것인 방법.

청구항 34

제29항에 있어서, 작용제가 엔자스타우린, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는 것인 방법.

청구항 35

제29항에 있어서, 작용제가 소트라스타우린, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는 것인 방법.

청구항 36

제29항에 있어서, 작용제가 루복시스타우린, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는 것인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2019년 4월 24일에 출원된 미국 가출원 62/838,049, 및 2018년 10월 18일에 출원된 미국 가출원 62/747,587, 및 2018년 10월 16일에 출원된 미국 가출원 62/746,524의 이익을 주장한다. 상기 출원들의 전체 내용은 그 전문이 본원에서 참조로 포함된다.

[0003] 연방정부의 지원을 받은 연구에 관한 언급

[0004] 본 발명은 미국 국립 보건원(National Institutes of Health)에 의해 수여된 승인 번호 5T32GM007309-44 하에 정부 지원으로 이루어졌다. 정부는 본 발명에서 특정 권리를 갖는다.

[0005] 기술분야

[0006] 본 발명은 결합 조직 장애에 관한 것이다.

배경 기술

[0007] 혈관형 엘리스-단로스 증후군(vascular Ehlers-Danlos Syndrome: vEDS)은 *COL3A1* 유전자의 이형접합 돌연변이에 의해 유발되는 유전성 결합 조직 장애이다. 혈관형 EDS 환자는 피부가 얇고, 반투명하고, 쉽게 멍이 들고, 특징적인 안면 외양을 갖고, 중간 내지 큰 혈관 및 기관 (자궁, 결장) 파열에서 자발적 박리가 발생하고, 그 결과, 조기 사망에 이르게 되고, 중앙 생존기간은 약 45세이다¹.

[0008] vEDS의 많은 특징들은 다른 유전성 혈관병증, 예컨대, 과도한 TGF- β 활성화와 연관이 있는 것인 마르판 증후군(Marfan syndrome: MFS) 및 로이-디에츠 증후군(Loeys-Dietz Syndrome: LDS)과는 뚜렷한 차이를 보인다. 이러한 특징으로는 중간 또는 큰 크기의 혈관 뿐만 아니라, 중공 기관에서 사전 동맥류 없이 일어나는 대동맥 박리 및 파열을 포함한다. 이러한 특증으로 인해 질환 예측 및 모니터링은 어렵거나, 불가능해지고, vEDS 진단을 받은 성인 대다수에서 나타나는 징후는 혈관 박리 또는 기관 파열이며, 여기서 환자 중 25%는 20세까지 주요 합병증을 경험한다^{1,2}. 따라서, vEDS 및 관련 결합 조직 장애 치료를 위한 요구가 충족되지 않은 상태이다.

발명의 내용

[0009] 본원에서는 그 중에서도 특히 결합 조직 장애, 예컨대, 혈관병증의 중증도 증상을 억제, 치료, 예방 및/또는 감소시키기 위해 조성물, 제제 및 방법을 제공한다. 본 발명의 대상의 측면은 다양한 결합 조직 장애 치료용 작용제의 용도에 관한 것이다. 특정 실시양태에서, 결합 조직 장애는 혈관병증을 포함하고, 특정 실시양태에서, 혈관병증은 혈관형 엘리스-단로스 증후군 (vEDS)을 포함한다.

[0010] 본원에서는 대상체에서 혈관병증 (예컨대, vEDS)을 치료하는 방법을 포함한다. 본 방법은 대상체에게 유효량의 작용제를 투여하는 것을 포함하고, 이에 의해 작용제는 세포의 신호-조절된 키나제 (ERK) 또는 단백질 키나제 C (PKC)의 활성화 또는 발현을 감소시킨다.

[0011] 특정 실시양태에서, 작용제는 미토겐 활성화 단백질 키나제/세포의 신호-조절된 키나제 (MEK), 세포의 신호-조절된 키나제 (ERK), 포스포리파제 C (PLC), 이노시톨 트리포스페이트 (IP3) 또는 단백질 키나제 C (pKC)의 발현을 억제시켜 ERK, PLC, IP3, 또는 PKC의 활성을 억제시킨다.

[0012] 특정 실시양태에서, 작용제는 미토겐 활성화 단백질 키나제 (MAPK) 경로, 예를 들어 RAS-RAF/MEK/세포의 신호-조절 키나제 (ERK) 단백질 키나제와 연관된 하나 이상의 분자의 활성화 또는 발현을 억제시킨다.

[0013] 실시양태에서, 작용제는 항체 또는 그의 단편, 폴리펩티드, 소분자, 핵산 분자, 또는 그의 임의의 조합을 포함한다. 특정 실시양태에서, 작용제는 소분자를 포함한다.

[0014] 일부 경우에, 작용제는 소분자를 포함한다. 소분자는 질량이 2,000 달톤 미만인 화합물이다. 소분자의 분자 질량은 바람직하게, 1,000 달톤 미만, 더욱 바람직하게, 600 달톤 미만이고, 예컨대, 화합물은 500 달톤 미만, 400 달톤 미만, 300 달톤 미만, 200 달톤 미만, 또는 100 달톤 미만이다.

[0015] 소분자는 유기 또는 무기 소분자이다. 예시적인 유기 소분자는 지방족 탄화수소, 알콜, 알데히드, 케톤, 유기산, 에스테르, 당당류 및 이당류, 방향족 탄화수소, 아미노산, 및 지질을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 예시적인 무기 소분자는 미량 미네랄, 이온, 자유 라디칼, 및 대사산물을 포함한다. 대안적으로, 소분자는 효소의 결합 부위를 충전하도록 단편, 또는 작은 일부분, 또는 더 긴 아미노산 쇄로 이루어지게 합성적으로 조작될 수 있다. 전형적으로, 소분자는 1 킬로달톤 미만이다.

[0016] 일부 경우에, 작용제는 핵산 분자를 포함한다. 예를 들어, 리보핵산 (RNA) 또는 데옥시리보핵산 (DNA)은 미토겐 활성화 단백질 키나제/세포의 신호-조절된 키나제 (MEK), 세포의 신호-조절된 키나제 (ERK), 포스포리파제 C (PLC), 이노시톨 트리포스페이트 (IP3) 또는 단백질 키나제 C (pKC)의 발현을 억제시켜 ERK, PLC, IP3, 또는 PKC의 활성을 억제시킨다. 일부 경우에, 핵산은 소형 간섭 RNA (siRNA), RNA 간섭 (RNAi), 메신저 RNA (mRNA), 소형 헤어핀 RNA 또는 짧은 헤어핀 RNA (shRNA), 이중 가닥 리보핵산 (dsRNA), 안티센스 RNA 또는 마이크로RNA, 또는 그의 임의의 일부를 포함한다. 그러나, 통상의 기술자는 ERK 또는 PKC, 또는 IP3 또는 PLC를 억제/길항시키거나, 또는 활성화/효능작용하는 추가 핵산을 쉽게 확인할 수 있다.

- [0017] 본원에서 사용된 바와 같이, 폴리뉴클레오티드, 폴리펩티드, 또는 다른 작용제는 정제되고거나, 단리된다. 구체적으로, 본원에서 사용된 바와 같이, "단리된" 또는 "정제된" 핵산 분자, 폴리뉴클레오티드, 폴리펩티드, 또는 단백질은 제조할 기술에 의해 제조되었을 때에는 다른 세포 물질, 또는 배양 배지를, 또는 화학적으로 합성되었을 때에는 화학 전구체 또는 다른 화합물질을 실질적으로 함유하지 않는다. 정제된 화합물은 관심 화합물의 적어도 60중량% (건조 중량)이다. 바람직하게, 제제는 관심 화합물의 적어도 75중량%, 더욱 바람직하게, 적어도 90중량%, 및 가장 바람직하게, 적어도 99중량%이다. 예를 들어, 정제된 화합물은 원하는 화합물의 적어도 90중량%, 91중량%, 92중량%, 93중량%, 94중량%, 95중량%, 98중량%, 99중량%, 또는 100중량% (w/w)인 것이다. 순도는 임의의 적절한 표준 방법에 의해, 예를 들어, 칼럼 크로마토그래피, 박층 크로마토그래피, 또는 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC) 분석에 의해 측정된다. 정제된 또는 단리된 폴리뉴클레오티드 (리보핵산 (RNA) 또는 데옥시리보핵산 (DNA))는 그의 자연적으로 발생된 상태에서 그에 플랭킹된 유전자 또는 서열을 함유하지 않는다. 정제된 또는 단리된 폴리펩티드는 그의 자연적으로 발생된 상태에서 그에 플랭킹된 아미노산 또는 서열을 함유하지 않는다. 정제된이란, 예컨대, 감염체 또는 독성 작용제가 없는, 인간 대상체에게 투여하는 데 안전한 멸균성 정도 또한 정의한다.
- [0018] 실시양태에서, 작용제는 코비메티닙, 또는 그의 제약상 허용되는 염. 다른 실시양태에서, 작용제는 루복시스타우린, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함한다. 다른 실시양태에서, 작용제는 엔자스타우린, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함한다. 다른 고려되는 실시양태에서, 작용제는 소트라스타우린, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함한다.
- [0019] 대안적 실시양태에서, 본 방법은 포스포리파제 C (PLC) 또는 이노시톨 트리포스페이트 (IP3)의 활성 또는 발현을 감소시키는 작용제를 투여하는 것을 추가로 포함한다.
- [0020] 실시양태에서, 본 방법은 유효량의 작용제를 투여하는 것을 포함한다. 작용제의 유효량은 약 0.001 mg/kg 내지 약 250 mg/kg 체중, 예컨대, 약 0.001 mg/kg, 약 0.05 mg/kg, 약 0.1 mg/kg, 약 0.5mg/kg, 약 1 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 10 mg/kg, 약 25 mg/kg, 약 50 mg/kg, 약 75 mg/kg, 약 100 mg/kg, 약 125 mg/kg, 약 150 mg/kg, 약 175 mg/kg, 약 200 mg/kg, 약 225 mg/kg, 또는 약 250 mg/kg 체중이다. 궁극적으로, 주치의 또는 수의사는 적절한 양 및 투여량 요법을 결정한다.
- [0021] 일부 경우에, 작용제는 적어도 1일 1회, 적어도 주당 1회, 또는 적어도 월 1회 투여된다. 작용제는 적합하게 1일, 1주, 1개월, 2개월, 3개월, 6개월, 9개월, 또는 1년인 지속 기간 동안 투여될 수 있다. 일부 경우에, 작용제는 매일, 예컨대, 매 24시간마다 투여된다. 또는, 작용제는 연속적으로, 또는 1일당 수회에 걸쳐, 예컨대, 매 1시간마다, 매 2시간마다, 매 3시간마다, 매 4시간마다, 매 5시간마다, 매 6시간마다, 매 7시간마다, 매 8시간마다, 매 9시간마다, 매 10시간마다, 매 11시간마다, 또는 매 12시간마다 투여된다.
- [0022] 추가로, 본원에 기술된 방법은 적어도 약 1%, 예컨대, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 99%만큼 혈관병증 (vEDS)을 예방 또는 그의 중증도를 감소시킨다.
- [0023] 다양한 투여 경로가 이용가능하다. 예를 들어, 작용제는 국소적으로, 경구적으로, 흡입을 통해, 또는 주사를 통해 투여된다.
- [0024] 대상체는 바람직하게, 상기 치료 또는 예방을 필요로 하는 포유동물, 예컨대, 혈관병증 또는 그에 대한 소인 진단을 받은 대상체이다. 포유동물은 임의의 포유동물, 예컨대, 인간, 영장류, 마우스, 래트, 개, 고양이, 말 뿐만 아니라, 가축 또는 식용으로 키운 동물, 예컨대, 소, 양, 돼지, 닭, 염소이다. 바람직한 실시양태에서, 포유동물은 인간이다.
- [0025] 측면들에서, 결합 조직 장애, 예컨대, 혈관병증 (및 특정 실시양태에서, vEDS)을 앓거나, 또는 앓을 위험이 있는 대상체는 정상 대조군과 상이한 ERK 또는 PKC 단백질 또는 mRNA의 수준을 갖는다. 일부 실시양태에서, 대상체로부터 취득된 시험 샘플은 정상 대조군과 상이한 ERK 또는 PKC 단백질 또는 mRNA의 수준을 포함한다. 예를 들어, 시험 샘플은 정상 대조군과 비교하여 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 90%, 95%, 99%, 100%, 5-50%, 50-75%, 75-100%, 1배, 2배, 3배, 4배, 또는 5배 더 높은 ERK 또는 PKC 단백질 또는 mRNA의 수준을 포함할 수 있다.
- [0026] 특정 실시양태에서, 시험 샘플은 정상 대조군과 비교하여 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 90%, 95%, 99%, 100%, 약 5 내지 약 50%, 약 50 내지 약 75%, 약 75 내지

약 100%, 1배, 2배, 3배, 4배, 또는 5배 더 높은 ERK 또는 PKC 활성의 수준을 포함할 수 있다.

- [0027] "대조군" 샘플 또는 값은 시험 샘플과의 비교를 위한 참조로서, 일반적으로, 공지된 참조로서 작용하는 샘플을 지칭한다. 예를 들어, 시험 샘플은 시험 대상체, 예컨대, 결합 조직 장애 예컨대, 혈관병증 (예컨대, vEDS)을 앓거나, 또는 진단을 필요로 하는 대상체로부터 채취될 수 있고, 공지된 병태로부터의 샘플, 예컨대, 질환을 앓지 않는 대상체 (또는 대상체들) (음성 또는 정상 대조군), 또는 질환을 앓는 대상체 (또는 대상체들) (양성 대조군)로부터의 샘플과 비교될 수 있다. 대조군 또한 다수의 시험 또는 결과로부터 수집된 평균 값을 나타낼 수 있다. 대조군은 임의의 여러 파라미터의 평가를 위해 디자인될 수 있다는 것을 통상의 기술자는 인지할 것이다. 어떤 대조군이 주어진 상황하에서 가치가 있고, 대조군 값과의 비교에 기초하여 데이터를 분석할 수 있는지에 대해 통상의 기술자는 이해할 것이다. 대조군은 또한 데이터의 유의도를 결정하는 데에도 가치가 있다. 예를 들어, 주어진 파라미터에 대한 값이 대조군에서 가치가 있다면, 시험 샘플에서의 변동은 유의적인 것으로 간주되지 않을 것이다.
- [0028] 화합물 (예컨대, 단백질 또는 mRNA)과 관련하여 "정상적인 양"이라는 용어는 결합 조직 장애, 예컨대, 혈관병증 (예컨대, vEDS)을 앓지 않는 개체에서, 또는 건강한 또는 일반 집단에서의 화합물의 정상적인 양을 지칭한다. 화합물의 양은 시험 샘플에서 측정될 수 있고, (예컨대, 특정 vEDS 또는 그의 증상에 대해) 참조 한계, 판별 한계, 또는 컷오프 점과 비정상적인 값을 정의하는 위험 정의 임계치를 이용하여 "정상 대조군" 수준과 비교될 수 있다. 정상 대조군 수준은 전형적으로 vEDS를 앓지 않는 것으로 공지된 대상체에서 발견되는 하나 이상의 화합물 또는 조합된 화합물의 수준을 의미한다. 상기 정상 대조군 수준 및 컷오프 점은 화합물이 인덱스로서, 단독으로, 또는 다른 화합물과 함께 조합하는 제법으로 사용되었는지 여부에 따라 상이할 수 있다. 대안적으로, 정상 대조군 수준은 임상적으로 관련된 시간선상에서 vEDS 또는 (예컨대, vEDS가 발생하거나, 또는 이미 vEDS를 앓는 대상체를 시험하는 경우) 그의 특정 증상이 발생한 바 없는, 이전에 시험된 대상체로부터의 화합물의 패턴에 대한 데이터베이스일 수 있다.
- [0029] 결정된 수준은 대조군 수준 또는 컷오프 수준 또는 임계치 수준과 동일할 수 있거나, 대조군 수준 또는 컷오프 수준 또는 임계치 수준 대비 증가 또는 감소된 수준일 수 있다. 일부 측면에서, 대조군 대상체는 동일 종, 성별, 인종, 연령군, 흡연 상태, 신체 질량 지수 (BMI), 현재 치료 요법 상태, 병력, 또는 그의 조합이 매칭되는 대조군이지만, 대조군이 상기 해당 질환 (또는 그의 증상)을 앓지 않았거나, 상기 질환에 대한 위험이 없다는 점에 진단받은 대상체와는 상이하다.
- [0030] 대조군 수준 대비, 결정된 수준은 증가된 수준일 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, 수준 (예컨대, 단백질 또는 mRNA의 수준)과 관련하여 "증가된"이라는 용어는 대조군 수준보다 임의 비율(%)의 증가를 지칭한다. 다양한 실시양태에서, 증가된 수준은 대조군 수준 대비 적어도 또는 약 5% 증가, 적어도 또는 약 10% 증가, 적어도 또는 약 15% 증가, 적어도 또는 약 20% 증가, 적어도 또는 약 25% 증가, 적어도 또는 약 30% 증가, 적어도 또는 약 35% 증가, 적어도 또는 약 40% 증가, 적어도 또는 약 45% 증가, 적어도 또는 약 50% 증가, 적어도 또는 약 55% 증가, 적어도 또는 약 60% 증가, 적어도 또는 약 65% 증가, 적어도 또는 약 70% 증가, 적어도 또는 약 75% 증가, 적어도 또는 약 80% 증가, 적어도 또는 약 85% 증가, 적어도 또는 약 90% 증가, 적어도 또는 약 95% 증가일 수 있다.
- [0031] 대조군 수준 대비, 결정된 수준은 감소된 수준일 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, 수준 (예컨대, 단백질 또는 mRNA의 수준)과 관련하여 "감소된"이라는 용어는 대조군 수준보다 임의 비율(%)의 감소를 지칭한다. 다양한 실시양태에서, 감소된 수준은 대조군 수준 대비 적어도 또는 약 5% 감소, 적어도 또는 약 10% 감소, 적어도 또는 약 15% 감소, 적어도 또는 약 20% 감소, 적어도 또는 약 25% 감소, 적어도 또는 약 30% 감소, 적어도 또는 약 35% 감소, 적어도 또는 약 40% 감소, 적어도 또는 약 45% 감소, 적어도 또는 약 50% 감소, 적어도 또는 약 55% 감소, 적어도 또는 약 60% 감소, 적어도 또는 약 65% 감소, 적어도 또는 약 70% 감소, 적어도 또는 약 75% 감소, 적어도 또는 약 80% 감소, 적어도 또는 약 85% 감소, 적어도 또는 약 90% 감소, 적어도 또는 약 95% 감소일 수 있다.
- [0032] 측면들에서, 대상체로부터 수득된 시험 샘플은 혈액, 혈청, 혈장, 타액, 눈물, 유리체, 뇌척수액, 땀, 뇌척수액, 또는 소변을 포함한다.
- [0033] 본원에서는 또한 대상체에서 결합 조직 장애를 치료하는 방법도 제공한다. 본 방법은 유효량의 작용제를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 작용제는 세포의 신호-조절된 키나제 (ERK) 또는 단백질 키나제 C (PKC)의 활성 또는 발현을 감소시킨다. 실시양태에서, 결합 조직 장애는 혈관병증 (예컨대, vEDS), 마르판 증후군, 로이-디에즈 증후군, 및 가족성 흉부 대동맥 동맥류로 이루어진 군으로부터 선택된다. 다른 예로는 제한 없이, 근병증성

피부근염; 기괴 방골성 골연골성 증식증; 고전형 엘러스-단로스 증후군; 피부파열증 엘러스-단로스 증후군; 엘러스-단로스 증후군; 호산구성 근막염; 수포성 표피박리증 (EB) 레그-칼베-페르테스 병(Legg-Calve-Perthes disease) 마르판 증후군; 유선상과골증; 골 반문증을 동반하는 유선상과골증; 혼합 결합 조직 질환; 음성 류마티스 인자 다발성관절염; 어린선 및 조기 난소 부전증을 동반하는 골경화증; 팩맨 이형성증; 골 파제트병; 가족성 골 파제트병; 다발근육염; 등골 고착을 동반한 진행성 난청; 리빙 질환(ribbing disease); 피부경화증; 측두하악관절 강직; 20조갑 이영양증; 혈관형 엘러스-단로스 증후군; 웨일-마르체사니 증후군(Weill-Marchesani syndrome); 위스 타입 상염색체 우성 골경화증(Worth type autosomal dominant osteosclerosis)을 포함한다. 특정 실시양태에서, 결합 조직 장애는 혈관병증을 포함한다.

[0034] 마르판 증후군 그 자체의 치료 이외에도, 본 발명은 또한 다양한 마르판 관련 장애를 치료하는 방법 또한 제공한다. 일부 실시양태에서, 마르판 관련 장애는 로이-디에즈 증후군, 가족성 대동맥 동맥류, 대동맥 확장증을 동반한 이엽성 대동맥 판막(Bicuspid Aortic Valve with Aortic Dilation), 가족성 수정체 전위(Familial Ectopia Lentis) (수정체 탈구), 승모판 일탈 증후군(Mitral Valve Prolapse Syndrome), 마르판 체질(Marfan Habitus), 선천성 구축성 거미손가락증(Congenital Contractural Arachnodactyly) (빌즈 증후군(Beals Syndrome)), 스틱클러 증후군(Stickler syndrome), 쉬프린첸-골드베르그 증후군(Shprintzen-Goldberg syndrome), 웨일-마르체사니 증후군, 및 엘러스-단로스 증후군으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0035] 실시양태에서, 결합 조직 장애를 치료하는 방법은 작용제를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 작용제는 항체 또는 그의 단편, 폴리펩티드, 소분자, 핵산 분자, 또는 그의 임의의 조합을 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 소분자를 포함한다.

[0036] 실시양태에서, 작용제는 코비메티닙, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함한다. 다른 실시양태에서, 작용제는 루복시스타우린 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함한다. 다른 실시양태에서, 작용제는 엔자스타우린 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함한다. 다른 고려되는 실시양태에서, 작용제는 소트라스타우린, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함한다.

[0037] 대안적 실시양태에서, 본 방법은 포스포리파제 C (PLC) 또는 이노시톨 트리포스페이트 (IP3)의 활성 또는 발현을 감소시키는 작용제를 투여하는 것을 추가로 포함한다.

[0038] 본원에서는 또한 혈관병증을 치료하기 위한 제약 조성물도 제공한다. 실시양태에서, 조성물은 유효량의, 세포외 신호-조절된 키나제 (ERK) 또는 단백질 키나제 C (PKC)의 활성 또는 발현을 감소시키는 작용제를 포함한다. 제약 조성물은 작용제를 포함하고, 여기서 작용제는 항체 또는 그의 단편, 폴리펩티드, 소분자, 핵산 분자, 또는 그의 임의의 조합을 포함한다.

[0039] 본원에 기술된 조성물은 경구 투여, 정맥내 투여, 국소 투여, 비경구 투여, 복강내 투여, 근육내 투여, 경막내 투여, 병변내 투여, 두개내 투여, 비내 투여, 안내 투여, 심장내 투여, 유리체내 투여, 골내 투여, 대뇌내 투여, 동맥내 투여, 관절내 투여, 진피내 투여, 경피 투여, 경점막 투여, 설하 투여, 장 투여, 구순하 투여, 취입 투여, 좌제 투여, 흡입식 투여, 또는 피하 투여를 통해 투여된다.

[0040] 본원에서는 혈관병증을 치료하기 위한 키트 또한 제공한다. 실시양태에서, 키트는 본원에 기술된 조성물 중의 임의의 것의 1) 제약 조성물, 및 2) 혈관병증의 치료를 위한 서면 지침을 포함한다.

[0041] 다른 측면에서, 결합 조직 장애 (예컨대, 마르판 증후군)를 치료하는 방법이 고려된다. 실시양태에서, 본 방법은 유효량의 작용제를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 작용제는 항체 또는 그의 단편, 폴리펩티드, 소분자, 핵산 분자, 또는 그의 임의의 조합을 포함한다. 특정 실시양태에서, 치료 유효량의 하나 이상의 작용제가 대상체에게 공동 투여된다.

[0042] 특정 실시양태에서, 결합 조직 장애 (예컨대, 마르판 증후군)를 치료하는 방법은 단백질 키나제 C (PKC)의 활성 또는 발현을 감소시키는 작용제를 투여하는 것을 포함한다. 특정 실시양태에서, 결합 조직 장애 (예컨대, 마르판 증후군)를 치료하는 방법은 세포외 신호-조절된 키나제 (ERK)의 활성 또는 발현을 감소시키는 작용제를 투여하는 것을 포함한다. 특정 실시양태에서, 결합 조직 장애 (예컨대, 마르판 증후군)를 치료하는 방법은 단백질 키나제 C (PKC), 세포외 신호-조절된 키나제 (ERK) 또는 그의 조합의 활성 또는 발현을 감소시키는 작용제를 투여하는 것을 포함한다.

[0043] 특정 실시양태에서, 결합 조직 장애 (예컨대, 마르판 증후군)를 치료하는 방법은 미토젠 활성화 단백질 키나제/세포외 신호-조절된 키나제 (MEK), 세포외 신호-조절된 키나제 (ERK), 포스포리파제 C (PLC), 이노시톨 트리포스페이트 (IP3) 또는 단백질 키나제 C (pKC)의 발현을 감소 또는 억제시키는 작용제를 투여하여 ERK, PLC, IP3,

또는 PKC의 활성을 억제시키는 것을 포함한다.

- [0044] 특정 실시양태에서, 결합 조직 장애 (예컨대, 마르판 증후군)를 치료하는 방법은 미토겐 활성화 단백질 키나제 (MAPK) 경로와 연관된 하나 이상의 분자, 예컨대, RAS-RAF/MEK/세포의 신호-조절된 키나제 (ERK) 단백질 키나제의 활성 또는 발현을 감소 또는 억제시키는 작용제를 투여하는 것을 포함한다.
- [0045] 일부 실시양태에서, 환자는 인간 환자이다. 일부 실시양태에서, 환자는 15세 이상이다. 일부 실시양태에서, 환자는 성인 환자이다. 일부 실시양태에서, 환자는 소아 환자이다.
- [0046] 일부 실시양태에서, 본 방법은 vEDS 진단을 받자마자 (또는 받은 후 곧) 개시된다. 일부 실시양태에서, 본 방법은 환자가 15세가 되었을 때, 1차 진단시에 개시된다.
- [0047] 일부 실시양태에서, 환자는 vEDS 표현형에 기초하여, 또는 분자 시험에 기초하여 vEDS 진단을 받은 환자이다 (예컨대, 환자는 하나 이상의 유전자 검사, 예컨대, 환자가 삼중 나선 또는 스플라이스 부위 변이체 내에 글리신 치환을 갖는지 결정하는 검사에 기초하여 vEDS를 앓는지 여부가 결정된다).
- [0048] 일부 실시양태에서, 환자는 COL3A1 돌연변이를 갖는다. 일부 실시양태에서, 환자는 삼중 나선 또는 스플라이스 부위 변이체 내에 글리신 치환을 갖는다. 일부 실시양태에서, 환자는 콜라겐 삼중 나선의 반복 (Gly-X-Y)_n 서열, 및 상내 엑손-스킵핑을 유도하는 스플라이스 부위 변이체에 글리신에 대한 미스센스 치환을 갖는다. 일부 실시양태에서, 환자는 삼중 나선내에 글리신 치환을 갖는다 (그룹 I). 일부 실시양태에서, 환자는 스플라이스 부위 변이체, 프레임내 삽입-결실 또는 중복을 갖는다 (그룹 II). 일부 실시양태에서, 환자는 반가불충분성서 유도하는 변이체를 갖는다 (그룹 III).
- [0049] 일부 실시양태에서, 환자는 이전에 본원에서 구현된 하나 이상의 작용제, 또는 그의 제약상 허용되는 염의 초기 투약 전에 급성 vEDS 관련 이벤트 (예컨대, 동맥 이벤트 예컨대, 파열 또는 박리, 장 또는 자궁 파열)를 앓았던 환자이다.
- [0050] 특정 실시양태에서, 작용제는 PKC 단백질 또는 mRNA의 수준을 정상 대조군과 비교하여 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 90%, 95%, 99%, 100%, 5-50%, 50-75%, 75-100%, 1배, 2배, 3배, 4배, 또는 5배만큼 감소시킨다. 다른 실시양태에서, 작용제는 PKC 활성의 수준 정상 대조군과 비교하여 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 90%, 95%, 99%, 100%, 5-50%, 5배만큼 감소시킨다.
- [0051] 일부 실시양태에서, 작용제는 세포의 신호-조절된 키나제 (ERK) 단백질 또는 mRNA의 수준을 정상 대조군과 비교하여 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 90%, 95%, 99%, 100%, 5-50%, 50-75%, 75-100%, 1배, 2배, 3배, 4배, 또는 5배만큼 감소시킨다. 다른 실시양태에서, 작용제는 ERK 활성 수준을 정상 대조군과 비교하여 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 90%, 95%, 99%, 100%, 5-50%, 5배만큼 감소시킨다.
- [0052] 실시양태에서, 결합 조직 장애 (예컨대, 마르판 증후군) 치료용 작용제로는 엔자스타우린, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함한다. 다른 실시양태에서, 결합 조직 장애 (예컨대, 마르판 증후군) 치료용 작용제로는 소트라스타우린, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함한다. 다른 고려되는 예에서, 결합 조직 장애 (예컨대, 마르판 증후군) 치료용 작용제로는 루복시스타우린, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함한다.
- [0053] 정의
- [0054] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용된 모든 기술 용어 및 과학 용어는 본 개시내용이 속하는 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 하기 참고문헌은 본 개시내용에서 사용된 다수의 용어에 관한 일반적인 정의를 통상의 기술자에게 제공한다: 문헌 [The Cambridge Dictionary of Science and Technology (Walker ed., 1988)]; [The Glossary of Genetics, 5th Ed., R. Rieger et al. (eds.), Springer Verlag (1991)]; 및 [Hale & Marham, The Harper Collins Dictionary of Biology (1991)]. 본원에서 사용된 바와 같이, 하기 용어들은 달리 언급되지 않는 한, 아래에서 해당 용어에 부여된 의미를 갖는다.
- [0055] "제약 조성물"이라는 용어는 적어도 하나의 치료상 또는 생물학상 활성제를 함유하고, 환자에게 투여하는 데 적합한 임의의 조성물을 의미한다. 이들 제제 중 임의의 것은 관련 기술분야에 널리 공지되고, 허용되는 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th edition,

(ed. A. R. Gennaro), Mack Publishing Co., Easton, Pa., 2000]을 참조한다.

- [0056] "G 단백질-커플링된 수용체 (GPCR)"란, 세포 밖의 분자를 감지하고, 세포 내부에서 신호 전달 경로를 활성화시켜 궁극적으로는 세포 반응을 활성화시키는 단백질 수용체를 의미한다. GPCR은 세포막을 7회 통과하기 때문에 7-막통과 수용체로 불린다.
- [0057] "효능제"란, 수용체에 결합하고, 수용체를 활성화시켜 생물학적 반응을 일으키는 화합물질을 의미한다. 효능제는 작용을 일으키는 반면, "길항제"는 효능제의 작용을 차단하고, 역 효능제는 효능제의 것과 반대되는 작용을 일으킨다. 본원에서 사용된 바와 같이, "길항제" 및 "억제제"라는 용어는 상호교환적으로 사용되며, 그의 표적 분자의 생물학적 활성을 중화시키거나, 또는 저해, 감소, 억제시키는 임의의 분자를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 효능제는 그가 그의 표적 분자의 생물학적 활성을 유도하거나, 또는 증가시킬 때, "슈퍼효능제"이다. 일부 실시양태에서, 길항제는 그가 그의 표적 분자의 생물학적 활성을 중화시키거나, 또는 저해, 감소, 억제시킬 때, "슈퍼길항제"이다. 적합한 억제제, 길항제, 효능제로는 가용성 수용체, 펩티드 억제제, 소분자 억제제, 리간드 융합체, 및 항체를 포함한다.
- [0058] 본원에서 사용된 바와 같이, "염"이라는 용어는 본원에서 사용되는 작용제의 산 또는 염기 염을 지칭한다. 허용되는 염의 예시적인, 그러나, 비제한적인 예로는 무기산 (염산, 브로민화수소산, 인산, 황산 등) 염, 유기산 (아세트산, 프로피온산, 글루탐산, 시트르산 등) 염, 및 4급 암모늄 (메틸 아이오다이드, 에틸 아이오다이드 등) 염이 있다.
- [0059] 본원에서 사용된 바와 같이, "길항제"란, 예를 들어 효능제의 하나 이상의 결합 부위에 대해 경쟁함으로써 또 다른 것의 활성 또는 결합을 방해하지만, 활성 반응을 유도하지는 않는 항체 또는 그의 단편, 펩티드, 폴리펩티드 또는 그의 단편, 소분자, 및 억제성 핵산 또는 그의 단편을 지칭할 수 있다.
- [0060] "야생형" 또는 "WT"란, 자연상에 존재하는 것과 같은 전형적인 형태의 종의 표현형을 의미한다. 대안적으로, 비-표준 "돌연변이체" 대립유전자에 의해 생성된 것과의 대조로, 야생형은 유전자좌의 표준의 "정상적인" 대립유전자의 생성물로서 개념화된다.
- [0061] 본원에서 사용된 바와 같이, "투여하는"이라는 용어는 예를 들어, 질환 또는 병태에 대한 치료를 필요로 하는 대상체에게 작용제를 전달(transferring), 전달(delivering), 도입, 수송하는 임의의 방식을 지칭한다. 상기 방식으로는 경구, 국소, 정맥내, 복강내, 근육내, 진피내, 비내, 및 피하 투여를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0062] "공동 투여하다"란, 본원에 기술된 조성물을 추가 요법 투여와 동시에, 그 직전에, 또는 그 직후에 투여하는 것을 의미한다. 본 개시내용의 작용제 또는 조성물은 환자에게 단독으로 투여될 수 있거나, 또는 공동 투여될 수 있다. 공동 투여란, 화합물을 개별적으로 또는 조합하여 (하나 초과와 화합물 또는 작용제) 동시에 또는 순차적으로 투여하는 것을 포함하는 것을 의미한다. 원하는 경우, 제제는 또한 다른 활성 물질과 함께 조합될 수 있다.
- [0063] 본원에서 사용된 바와 같이, "순차적 투여"는 2개의 작용제 (예컨대, 본원에 기술된 작용제 또는 조성물) 투여가 같은 날에 별개로 이루어지거나, 또는 같은 날에 이루어지지 않는 것 (예컨대, 연일 계속해서 이루어지는 것)을 포함한다.
- [0064] 본원에서 사용된 바와 같이, "동시 투여"는 적어도 부분적으로 지속 기간이 중복되는 것을 포함한다. 예를 들어, 2개의 작용제 (예컨대, 생체활성을 갖는, 본원에 기술된 작용제 중 임의의 것)를 동시에 투여할 때, 그의 투여는 특정의 원하는 시간 이내에 이루어진다. 작용제의 투여는 같은 날 시작하여 종료될 수 있다. 두 작용제가 모두 같은 날 적어도 1회 복용되는 한, 한 작용제의 투여는 또한 제2 작용제의 투여보다 하루(수일)만큼 선행하여 이루어질 수 있다. 유사하게, 두 작용제가 모두 같은 날 적어도 1회 복용되는 한, 한 작용제의 투여는 제2 작용제의 투여 너머로 연장될 수 있다. 생체활성제/작용제는 동시 투여를 포함하기 위해 매일 같은 시간에 복용될 필요는 없다.
- [0065] 본원에서 사용된 바와 같이, "간헐적 투여"는 일정 기간 동안 작용제를 투여한 후 (이는 "제1 투여 기간"으로 간주될 수 있다), 작용제를 복용하지 않거나, 또는 더 낮은 유지 용량으로 복용되는 기간 (이는 "휴약 기간"으로 간주될 수 있다)에 이어서, 작용제가 다시 투여되는 기간 (이는 "제2 투여 기간"으로 간주될 수 있다)을 포함한다. 일반적으로, 제2 투여 기간 동안 작용제의 투여량 수준은 제1 투여 기간 동안 투여된 것과 매칭되었지만, 의학적으로 필요에 따라 증가 또는 감소될 수 있다.

- [0066] 본원에서 사용된 바와 같이, "변경"은 또한 유전자 또는 폴리펩티드의 발현 수준 또는 활성이 2배 이상 변화, 예를 들어, 5배, 10배, 20배, 30배, 40배, 50배, 100배, 500배, 1,000배 또는 그 초과로 변화하는 것을 포함한다.
- [0067] 본원에서 정의되는 바와 같이, 단백질-억제제 (예컨대, ERK 또는 PKC 억제제, 또는 PLC 또는 IP3 억제제) 상호작용과 관련하여 "억제," "억제시키다," "억제시키는"이라는 용어 등은 억제제 부재하에서의 단백질의 활성 또는 기능과 비교하여 단백질의 활성 또는 기능에 음성적으로 영향을 주는 것 (예컨대, 그를 감소시키는 것) (예컨대, ERK 또는 PKC, 또는 PLC 또는 IP3의 활성 또는 양을 감소시키거나, ERK 또는 PKC, 또는 PLC 또는 IP3이 수용체에 결합할 수 있는 능력을 감소시키거나, 수용체가 ERK 또는 PKC에 결합할 수 있는 능력을 감소시키거나, 또는 ERK 또는 PKC, 또는 PLC 또는 IP3의 수용체와의 결합시 ERK 또는 PKC 신호전달을 감소시키는 것)을 의미한다. 실시양태에서, 억제는 질환 또는 질환의 증상 (예컨대, 결합 조직 장애)을 감소시키는 것을 지칭한다. 유사하게, "억제제"는 결합하거나, 활성을 부분적으로 또는 전체적으로 차단하거나, 감소시키거나, 방해하거나, 지연시키거나, 불활성화시키거나, 탈감작시키거나, 또는 하향 조절시킴으로써 표적을 억제시키는 화합물 또는 단백질이다.
- [0068] "호전시키다"란, 예컨대, 예를 들어, 위알레르기 유형의 반응과 같은 질환을 감소, 억제, 약화, 저하, 정지, 또는 그의 발생 또는 진행을 안정화시키는 것을 의미한다.
- [0069] "증폭시키다"란, 분자의 카피수를 증가시키는 것을 의미한다. 한 예에서, 증합효소 연쇄 반응 (PCR)이 핵산을 증폭시키는 데 사용된다.
- [0070] "결합"이란, 분자에 대하여 물리화학적 친화성을 갖는 것을 의미한다. 결합은 본 개시내용의 방법들 중 임의의 것, 예컨대, 세포 상에 발현된 수용체와의 약물/화합물에 의해 측정된다.
- [0071] 본 개시내용에서, "포함하다(comprises)," "포함하는(comprising)," "함유하는," "갖는" 등은 미국 특허법에서 그에 부여된 의미를 가질 수 있고, "포함하다(includes)," "포함하는(including)" 등을 의미할 수 있고; "본질적으로 ~으로 이루어진" 또는 "~으로 이루어진"이라는 용어는 또한 미국 특허법에서 부여된 의미를 갖고, 이들 용어는 개방형이며, 언급된 것의 기초 또는 신규 특징이 언급된 것보다 더 많이 존재함에 따라 변경되지 않는 한, 언급된 것보다 더 많이 존재할 수는 있지만, 선행 기술의 실시양태는 배제한다.
- [0072] "유효량"이란, 비치료 환자 대비 질환의 증상을 호전시키는 데 필요한 양을 의미한다. 질환의 치료적 처치를 위하여 본 발명을 실시하는 데 사용되는 활성 화합물(들)의 유효량은 투여 방식, 대상체의 연령, 체중, 및 일반적인 건강 상태에 의존하여 달라진다. 궁극적으로, 주치의 또는 수의사가 적절한 양 및 투여량 요법을 결정하게 될 것이다. 상기 양은 "유효"량으로 지칭된다.
- [0073] 포유동물에게 투여되는 투여량 및 빈도 (단일 또는 다회 투약)는 예를 들어, 포유동물이 다른 질환을 앓고 있는지 여부, 및 그의 투여 경로; 수여자의 크기, 연령, 성별, 건강, 체중, 신체 질량 지수, 및 섭식; 치료되는 질환의 증상의 성질 및 정도, 현 치료 종류, 치료되는 질환으로부터의 합병증 또는 다른 건강과 관련된 문제와 같은 다양한 인자에 의존하여 달라질 수 있다. 다른 치료 요법 또는 치료제가 본 개시내용의 방법 및 작용제와 함께 사용될 수 있다. 확립된 투여 (예컨대, 빈도 및 지속 기간)의 조정 및 조작은 관련 기술분야의 통상의 기술자의 능력 범위 내에 충분히 포함되어 있다.
- [0074] 본원에 기술된 임의의 작용제의 경우, 치료 유효량 (예컨대, 유효 용량 또는 유효량)은 처음에 세포 배양물 검증법으로부터 결정될 수 있다. 표적 농도는 본원에 기술된 방법 또는 관련 기술분야에 공지된 방법을 사용하여 측정되며, 본원에 기술된 방법을 달성할 수 있는 치료 약물(들)의 농도가 될 것이다.
- [0075] 관련 기술분야에 널리 공지된 바와 같이, 인간에서의 사용을 위한 치료 유효량 또한 동물 모델로부터 결정될 수 있다. 예를 들어, 인간을 위한 용량은 동물에서 효과적인 것으로 밝혀진 농도를 달성하도록 제제화될 수 있다. 인간에서의 투여량은 상기 기술된 바와 같이, 작용제의 효과를 모니터링하고, 투여량으로 상향 또는 하향 조정함으로써 조정될 수 있다. 상기 기술된 방법 및 다른 방법에 기초하여 인간에서 최대 효능을 달성하도록 용량을 조정하는 것은 관련 기술분야의 통상의 기술자의 능력 범위 내에 충분히 포함되어 있다.
- [0076] 투여량은 환자의 요구 사항 및 사용되는 치료 약물에 의존하여 달라질 수 있다. 환자에게 투여되는 용량은 시간이 경과함에 따라 유익한 치료 반응을 발휘하는 데 충분하여야 한다. 용량 크기 또한 임의의 유해 부작용의 존재, 성질, 및 정도에 의해 결정될 것이다. 특정 상황에 적절한 투여량 결정은 의사의 기술 범위 내에 있다. 일반적으로, 치료는 작용제의 최적 용량보다 적은, 더 작은 투여량으로 개시된다. 이후, 환경하에서 최적의 효

과에 도달할 때까지, 투여량은 작은 증분량만큼 증가된다. 투여량 및 투여 간격은 투여되는 작용제를 치료되는 특정 임상 적응증에 대해 효과적인 수준으로 제공하기 위해 개별적으로 조정될 수 있다. 이는 개체의 질환 상태의 중증도와 상쇄되는 치료 요법을 제공하게 될 것이다.

[0077] vEDS를 치료하고/거나, 마르판 증후군을 치료하고/거나, PLC/IP3/PKC/ERK 신호전달 경로의 발현 또는 활성을 변경시키기 위한 본 개시내용의 작용제 (예컨대, 약리학적 억제제)의 유효 용량은 약 0.001 mg/kg 내지 약 0.01 mg/kg의 작용제, 약 0.01 mg/kg 내지 약 0.1 mg/kg의 작용제, 약 0.1 mg/kg 내지 약 1.0 mg/kg의 작용제, 약 1.0 mg/kg 내지 약 5.0 mg/kg의 작용제, 약 5.0 mg/kg 내지 약 10 mg/kg의 작용제, 약 10 mg/kg 내지 약 15 mg/kg의 작용제, 약 15 mg/kg 내지 약 20 mg/kg의 작용제, 약 20 mg/kg 내지 약 25 mg/kg의 작용제, 약 25 mg/kg 내지 약 30 mg/kg의 작용제, 약 30 mg/kg 내지 약 35 mg/kg의 작용제, 약 35 mg/kg 내지 약 40 mg/kg의 작용제, 약 40 mg/kg 내지 약 45 mg/kg의 작용제, 약 45 mg/kg 내지 약 50 mg/kg의 작용제, 약 50 mg/kg 내지 약 55 mg/kg의 작용제, 약 55 mg/kg 내지 약 60 mg/kg의 작용제, 약 60 mg/kg 내지 약 65 mg/kg의 작용제, 약 65 mg/kg 내지 약 70 mg/kg의 작용제, 약 70 mg/kg 내지 약 75 mg/kg의 작용제, 약 75 mg/kg 내지 약 80 mg/kg의 작용제, 약 80 mg/kg 내지 약 85 mg/kg의 작용제, 약 85 mg/kg 내지 약 90 mg/kg의 작용제, 약 90 mg/kg 내지 약 95 mg/kg의 작용제, 또는 약 95 mg/kg 내지 약 100 mg/kg의 작용제일 수 있다.

[0078] 일부 측면에서, 본 개시내용은 작용제가 조성물의 약 0.1% w/v 내지 약 20% w/v일 수 있는, 유효 용량의, 본 개시내용의 작용제(들)를 포함하는 조성물을 포함한다. 성분의 중량%는 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 성분 이 포함되어 있는 제제 또는 조성물의 총 중량을 기준으로 한다.

[0079] 예를 들어, 본원에 개시된 작용제의 유효 용량은 조성물의 약 0.001% w/v - 약 0.01% w/v, 약 0.01% w/v - 약 0.1% w/v, 약 0.1% w/v - 약 1.0% w/v, 약 1.0% w/v - 약 2.0% w/v, 약 2.0% w/v - 약 3.0% w/v, 약 3.0% w/v - 약 4.0% w/v, 약 4.0% w/v - 약 5.0% w/v, 약 5.0% w/v - 약 6.0% w/v, 약 6.0% w/v - 약 7.0% w/v, 약 7.0% w/v - 약 8.0% w/v, 약 8.0% w/v - 약 9.0% w/v, 약 9.0% w/v - 약 10% w/v, 약 10% w/v - 약 11% w/v, 약 11% w/v - 약 12% w/v, 약 12% w/v - 약 13% w/v, 약 13% w/v - 약 14% w/v, 약 14% w/v - 약 15% w/v, 약 15% w/v - 약 16% w/v, 약 16% w/v - 약 17% w/v, 약 17% w/v - 약 18% w/v, 약 18% w/v - 약 19% w/v, 또는 약 19% w/v - 약 20% w/v일 수 있다.

[0080] 본원에서 사용된 바와 같이, "치료하는" 및 "치료"라는 용어는 증상의 중증도 및/또는 빈도를 감소시키기 위해, 증상 및/또는 그의 근본적 원인을 제거하기 위해 및/또는 손상 개선 또는 복원을 촉진시키기 위해 유해한 병태, 장애, 또는 질환을 앓는 임상적으로 증상을 보이는 개체에게 작용제 또는 제제를 투여하는 것을 지칭한다.

[0081] 본원에서 사용된 바와 같이, "대상체," "환자," "개체"라는 용어 등은 제한하는 것으로 의도되지 않고, 일반적으로 상호교환적일 수 있다. "대상체," "환자," "개체" 등으로 기술된 개체는 반드시 주어진 질환을 앓아야 할 필요는 없고, 단순히 진찰을 받을 수도 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, "대상체," "환자," "개체"라는 용어 등은 명시된 장애를 앓을 수 있는, 동물계의 모든 구성원을 포함한다. 일부 측면에서, 대상체는 포유동물이고, 일부 측면에서, 대상체는 인간이다.

[0082] 본원에서 사용된 바와 같이, "샘플"이라는 용어는 시험관내에서 평가하기 위한 목적으로 수득된 생물학적 샘플을 지칭한다. 실시양태에서, 샘플은 체액을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 체액은 대상체로부터 수득되는 전혈, 혈장, 혈청, 림프, 모유, 타액, 점액, 정액, 세포 추출물, 염증성 체액, 뇌척수액, 유리체액, 눈물, 유리체, 수양액, 또는 소변을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 일부 측면에서, 샘플은 2개 이상의 체액으로 이루어진 복합 패넬이다. 예시적인 측면에서, 샘플은 혈액 또는 그의 분획 (예컨대, 백혈구성분채집술을 통해 수득된 혈장, 혈청, 또는 분획)을 포함한다.

[0083] 본원에서 제공되는 범위는 상기 범위 내의 모든 값에 대한 속기인 것으로 이해된다. 예를 들어, 범위 1 내지 50은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 50으로 이루어진 군으로부터의 임의의 수, 수의 조합, 또는 하위 범위 뿐만 아니라, 상기 언급된 정수 사이의 모든 개입 소수 값, 예컨대, 예를 들어, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 및 1.9를 포함하는 것으로 이해된다. 하위 범위와 관련하여, 상기 범위의 종점으로부터 확장된 "내포된 하위 범위"가 구체적으로 고려된다. 예를 들어, 1 내지 50의 예시적인 범위의 내포된 하위 범위는 한 방향으로 1 내지 10, 1 내지 20, 1 내지 30, 및 1 내지 40, 또는 나머지 다른 한 방향으로 50 내지 40, 50 내지 30, 50 내지 20, 및 50 내지 10을 포함할 수 있다.

- [0084] "재조합체"란, 유전자를 재조합하는 실험실 방법 (예컨대, 분자 클로닝)에 의해 다중 공급원으로부터의 유전 물질을 함께 화합시켜 다르게는 생물학적 유기체에서는 발견되지 않는 서열을 형성하도록 형성된 핵산 분자를 의미한다.
- [0085] DNA 핵산 서열 (예컨대, 유전자)과 관련하여 본원에서 사용되는 "발현" 또는 "발현된"이라는 단어는 상기 서열의 전사 및/또는 번역 생성물을 의미한다. 세포에서 DNA 분자의 발현 수준은 세포 내에 존재하는 상응하는 mRNA의 양 또는 상기 세포에 의해 생산된, 상기 DNA에 의해 코딩된 단백질의 양에 기초하여 결정될 수 있다 (Sambrook *et al.*, 1989 *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 18.7-18.88). 폴리펩티드와 관련하여 사용될 때, 발현은 전사, 전사 후 변형, 번역, 번역 후 변형, 및 분비를 포함하나, 이에 제한되지 않는, 폴리펩티드 생산에 관여하는 임의의 단계를 포함한다. 발현은 단백질을 검출하기 위한 종래 기술 (예컨대, ELISA, 웨스턴 블롯팅, 유세포 분석법, 면역형광, 면역조직화학법 등)을 이용하여 검출될 수 있다.
- [0086] "감소시키다"란, 적어도 10%, 25%, 50%, 75%, 또는 100%의 음의 변경을 의미한다.
- [0087] "참조"란, 표준 또는 대조군 조건을 의미한다.
- [0088] 구체적으로 언급되지 않는 한, 또는 문맥상 명백하지 않는 한, 본원에서 사용된 바와 같이, "하나"라는 용어는 단수 또는 복수를 의미하는 것으로 이해된다. 구체적으로 언급되지 않는 한, 또는 문맥상 명백하지 않는 한, 본원에서 사용된 바와 같이, "또는"이라는 용어는 포괄적인 것으로 이해된다.
- [0089] 구체적으로 언급되지 않는 한, 또는 문맥상 명백하지 않는 한, 본원에서 사용된 바와 같이, "약"이라는 용어는 관련 기술분야에서 정규 허용 오차 범위 내에, 예를 들어, 평균의 표준 편차가 2 범위 내인 것으로 이해된다. 약은 언급된 값의 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0.5%, 0.1%, 0.05%, 또는 0.01% 범위 내인 것으로 이해될 수 있다. 문맥상 달리 명백하지 않는 한, 본원에서 제공하는 모든 수치 값은 "약"이라는 용어로 수식된다.
- [0090] 본원에서 사용된 바와 같이, "유도체"라는 용어는 모체 화합물 (예컨대, 본원에 개시된 화합물)의 구조로부터 유도되는 구조를 갖고, 그의 구조는 본원에 개시된 것과 충분히 유사하며, 유사성에 기초하면, 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 청구된 화합물과 동일하거나, 또는 유사한 활성 및 유용성을 보이거나, 또는 전구체로서, 청구된 화합물과 동일하거나, 또는 유사한 활성 및 유용성을 유도할 것으로 예상되는 화합물을 지칭한다. 예시적인 유도체는 모체 화합물의 염, 에스테르, 아마이드, 에스테르 또는 아마이드의 염, 및 N-옥시드를 포함한다.
- [0091] 본원에 개시된 각 실시양태는 각각의 다른 개시된 실시양태에 적용될 수 있는 것으로 고려된다. 따라서, 본원에 기술된 다양한 요소의 모든 조합이 본 발명의 범주 내에 포함된다.
- [0092] 본 발명의 다른 특징 및 장점은 그의 바람직한 실시양태에 관한 하기의 설명으로부터, 및 청구범위로부터 자명해질 것이다. 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용된 모든 기술 용어 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 비록 본원에 기술된 것과 유사하거나, 또는 등가인 방법 및 물질이 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 적합한 방법 및 물질은 하기에 기술된다. 본원에서 인용된 모든 공개된 외국 특허 및 특허 출원은 본원에서 참조로 포함된다. 본원에서 인용된 모든 다른 공개된 참고문헌, 서류, 원고 및 과학 문헌은 본원에서 참조로 포함된다. 상충하는 경우, 정의를 포함하는 본 명세서가 우선하게 될 것이다. 추가로, 물질, 방법, 및 예는 단지 예시적인 것이며, 제한하는 것으로 의도되지 않는다.

도면의 간단한 설명

- [0093] 도 1a는 G209S/+ 마우스 모델이 혈관형 엘리스-단로스 증후군 (vEDS) 표현형을 재현하였다는 것을 입증하는 그래프이다. 생존율(%) 대 연령이 제시되어 있다. 중앙 생존기간은 400일이었다 ($p < 0.0001$).
- 도 1b는 G938D/+ 마우스 모델이 vEDS 표현형을 재현하였다는 것을 입증하는 그래프이다. 생존율(%) 대 연령이 제시되어 있다. 중앙 생존기간은 45일이었다 ($p < 0.0001$).
- 도 1c는 vEDS 마우스의 심장 및 대동맥을 도시한 영상이다. 화살촉 (좌측)은 상행 대동맥을 나타내고, 적색 화살표 (우측)는 하행 대동맥 중의 대동맥 박리 부위를 나타낸다.
- 도 1d는 vEDS 샘플이 대조군과 별개로 클러스터링되었다는 것을 입증하는 그래프로서, 이는 vEDS 대동맥의 트랜스크립토믹스의 유의적인 차이를 시사하는 것이다.

도 1e는 vEDS 대동맥이 미토겐 활성화 단백질 키나제 (MAPK) 활성화 상승에 대한 유전자 발현 시그니처 (P38, JNK, AKT, ERK, ERK1/2)를 보였다는 것을 나타낸 네트워크 분석을 입증하는 도해이다.

도 1f는 상류 분석을 통해 vEDS 대동맥에서의 전사 차이는, 관련 PLC/IP3/PKC/ERK 축을 통해 신호를 전달한 G 단백질 커플링된 수용체 (GPCR) 활성화에 의해 유도되었음을 예측하였다는 것을 도시한 표이다.

도 1g는 본 경로를 통한 활성화 신호전달의 마커에 대한 면역블롯팅에 의해 GPCR 및 MAPK 신호전달 상승에 대한 시그니처를 입증한 면역블롯 및 그래프이다. ERK1/2 인산화 및 PKC 인산화가 vEDS 대동맥에서 유의적으로 더 높은 것으로 나타났다.

도 2a는 FDA 승인을 받은, MEK의 억제제인 코비메티닙으로 처리된 마우스의 생존을 도시한 그래프이다. 비처리 시 생존율이 단지 55%인 것과 비교하여, 처리 45일 후 생존율은 94%인 것으로 관찰되었다.

도 2b는 특이적으로 PKC 베타를 억제시키는, 내약성이 우수한 경구적으로 투여되는 약리학적 작용제인 루복시스 타우린으로 처리된 마우스의 생존을 도시한 그래프이다. 비처리 시 생존율이 단지 55%인 것과 비교하여, 처리 39일 후 생존율은 100%인 것으로 관찰되었다.

도 2c는 PLC/IP3/PKC/ERK 축을 차단하는, 히드랄라진으로 처리된 마우스의 생존을 도시한 그래프이다. 비처리된 vEDS 마우스의 중앙 생존기간인 생후 45일째 98%의 생존율을 보이는 보호가 관찰되었다.

도 3a는 본원에 기술된 vEDS 마우스 모델에서 임신 및 수유는 vEDS 마우스에서 산후 처음 30일 동안 동맥 박리에 기인하는 60%의 치사율과 연관이 있다는 것을 도시한 그래프이다.

도 3b는 출산 후 새끼 제거를 통한 수유 방해가 vEDS 마우스에서 박리 및 사망을 예방할 수 있었고, 생존율은 100%인 것으로 관찰되었다는 것을 도시한 그래프이다.

도 3c는 옥시토신에 의해 활성화되는 PLC/IP3/PKC/ERK 축을 차단하는, 히드랄라진 (16 mg/kg/일) 처리 시 거의 완전한 생존 (95%)을 달성하였음을 도시한 그래프이다.

도 3d는 ERK를 활성화시키는 키나제인 MEK의 FDA 승인을 받은 억제제인 트라메티닙 (GSK-1120212)을 1 mg/kg/일로 처리하였을 때, 보호 (95% 생존)가 관찰되었다는 것을 도시한 그래프이다.

도 3e는 면역블롯팅에 의해 측정된 바와 같이, 사망 위험 증가는 ERK 활성화 증가와 상관관계가 있는 반면, 대동맥 박리로부터의 보호는 ERK 활성화 감소와 상관관계가 있었다는 것을 도시한 막대 그래프이다.

도 3f는 ERK 표적 유전자 발현에 의해 측정된 바와 같이, 사망 위험 증가는 ERK 활성화 증가와 상관관계가 있는 반면, 대동맥 박리로부터의 보호는 ERK 활성화 감소와 상관관계가 있었다는 것을 도시한 막대 그래프이다.

도 4a는 대동맥 용해물의 면역블롯에 의해 평가한 바와 같이, PKC β 의 약리학적 억제가 대동맥 벽에서 PKC의 자기인산화 뿐만 아니라, ERK의 인산화를 방해하였다는 것을 도시하고, MEK의 약리학적 억제는 MEK의 하류 기질인 ERK의 인산화의 예상되는 감소 뿐만 아니라, 신기하게도 PKC 인산화 감소와도 상관관계가 있었다는 것을 도시한 면역블롯의 영상으로서, 이는 양의 피드백 루프가 존재함을 시사한다.

도 4b 및 4c는 PKC β 의 약리학적 억제가 대동맥 벽에서 PKC의 자기인산화 뿐만 아니라, ERK의 인산화를 방해하였고, MEK의 약리학적 억제가 MEK의 하류 기질인 ERK의 인산화의 예상되는 감소 뿐만 아니라, 신기하게도 PKC 인산화 감소와도 상관관계가 있었다는 것을 도시한 면역블롯 영상의 정량화를 나타낸 그래프로서, 이는 양의 피드백 루프가 존재함을 시사한다 (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001). 코비메티닙도 루복시스 타우린도 혈압에는 어떤 영향도 주지 않았다.

도 5a 및 5b는 PLC/IP3/PKC/ERK 축을 차단하는 히드랄라진 (32 mg/kg/d)을 받은 마우스는 놀랄 만한 보호를 제공하였고: 비처리된 vEDS 마우스의 중앙 생존기간인 생후 45일째 생존율이 98%였고, 생존은 사춘기 때 영향을 받았고, 위험은 거의 전적으로 수컷 마우스에서 관찰되었음을 도시한 그래프이다 (도 5a 수컷 마우스 및 도 5b 암컷 마우스).

도 6은 히드랄라진으로만 처리된 수컷 마우스에서 생존율이 24%인 것과 비교하여, 비칼루타미드 (50 mg/kg/d)와 히드랄라진 (32mg/kg/d)의 조합은 수컷 마우스에서 90%의 생존율을 유도하였음을 도시한 그래프이다. 수컷 마우스는 사춘기 후 비칼루타미드 제거 이후에도 계속 생존하였고, 이는 상기 마우스 모델에 안드로겐 감수성에 대한 시간 의존성이 존재하였음을 시사하는 것이다.

도 7은 비칼루타미드 단독으로 처리된 수컷 마우스는 ~80%의 중간 생존율을 유도하였고, 수컷은 사춘기 후 비칼

루타미드 제거 이후 계속 생존하지 못했다는 것으로 도시한 그래프로서, 이는 단독으로 안드로겐 신호전달만을 억제하는 것은 본 발명자들의 vEDS 마우스 모델에서 대동맥 질환을 예방하는 데 충분하지 못했다는 것을 시사하는 것이다.

도 8a 및 8b는 스피로놀락톤 (100 mg/kg/d) 단독으로 처리된 마우스는 비칼루타미드 단독인 것과 유사하게, ~80%의 중간 생존율을 보였지만, 스피로놀락톤 (100 mg/kg/d)과 히드랄라진 (32mg/kg/d)의 조합은 히드랄라진과 비칼루타미드의 조합과 유사하게, 처리 50일 후에도 100%의 생존율을 유도하였음을 도시한 그래프이다.

도 9는 더 높은 용량의 히드랄라진으로 처리된 마우스는 증가된 용량의 히드랄라진 (50 mg/kg/d)을 가졌고, 그의 생존율은 32 mg/kg/d 용량에서의 생존율보다 크게 개선되지는 않았음을 도시한 그래프이다.

도 10a는 특이적인 옥시토신 수용체 길항제 2를 마우스 처리에 추가하는 것이 계속 수유 중인 vEDS 마우스에서 산후 처음 30일 동안 95%의 생존율을 유도하였음을 도시한 그래프로서, 이는 임신 중 대동맥 박리에 기인하는 사망 위험의 유의적인 상승은 구체적으로 모유수유 동안 옥시토신 수용체의 활성화에 의해 유도되었음을 입증하였다.

도 10b는 vEDS 마우스에서 혈압을 저하시키는 비특이적 β 길항제인 프로프라놀롤은 계속 수유 중인 vEDS 마우스에서 산후 처음 30일 동안 생존율을 개선시키지 못한다는 것을 도시한 그래프로서, 이는 임신 중 대동맥 박리에 기인하는 사망 위험의 유의적인 상승은 혈압을 낮춤으로써 호전되지는 않는다는 것을 입증하였다.

도 11a는 안지오텐신 수용체 길항제인 로사르탄 (60 mg/kg/d)으로 마우스를 처리함으로써 안지오텐신-II 신호전달을 억제시키는 것은 생존에는 어떤 영향도 미치지 않았음을 도시한 그래프이다 (도 11a). 트롬빈 수용체 길항제인 보라파사르 (1 mg/kg/d)로 마우스를 처리하였을 때에도 생존에는 어떤 영향도 미치지 않은 것으로 나타났다 (도 11b).

도 12는 비특이적인 티로신 키나제 수용체 길항제인 닌테다닙 (50 mg/kg/d)으로 마우스를 처리하였을 때, 생존에는 어떤 영향도 미치지 않았음을 도시한 그래프로서, 이는 티로신 키나제 수용체 활성화가 vEDS 마우스에서 PLC/IP3/PKC/ERK 신호전달 경로의 활성화를 유도시키지 않았음을 시사하는 것이다.

도 13a-13c는 비특이적인 β 길항제인 프로프라놀롤 (80 mg/kg/d) (도 13a), 특이적인 β_1 길항제인 아테놀롤 (120 mg/kg/d) (도 13b), 및 β_1 길항제/ β_2 효능제인 셀리프롤롤 (200 mg/kg/d) (도 13c)로 마우스를 처리하였을 때, 혈압 저하에도 불구하고, 이들 조작들 중 어느 것도 본 발명자들의 vEDS 마우스 모델에서 생존을 개선시키지 못한 것으로 나타났다는 것을 도시한 그래프이다.

도 14는 마우스 모델에서 대동맥 박리의 위험을 가속화시키는 셀리프롤롤, 및 Col3a1^{G209S/+} 돌연변이를 포함하는 vEDS 돌연변이 또한 셀리프롤롤하의 대동맥 박리 위험 증가를 입증하였다는 것을 도시한 그래프이다.

도 15는 암로디핀 (12 mg/kg/d) 또한 마우스 모델에서 대동맥 박리의 위험을 증가시켰고, 이는 MFS 마우스에서 도 또한 일관되게 나타났다는 것을 도시한 그래프이다.

도 16a는 제2 특이적인 PKC β 억제제인 엔자스타우린을 이용한 PKC β 의 약리학적 억제를 입증하는 그래프이다.

도 16a: 엔자스타우린 (60 mg/kg/d)은 또한 대동맥 박리로부터의 사망 위험을 구조하였고, 비처리된 vEDS 마우스는 단 50%인 것과 비교하여 처리 40일 후 엔자스타우린 처리된 vEDS 마우스 중 80%가 생존하였다 ($p=0.0305$).

도 16b는 엔도텔린-수용체 길항제인 보센탄을 이용하여 마우스를 처리하는 것이 생존을 개선시켰다는 것을 도시한 그래프이다. 도 16b: 보센탄을 이용하여 처리하였을 때, 비처리된 vEDS 마우스에서는 생존율이 단 50%인 것과 비교하여 처리 40일 후 생존율은 80%였다 ($p=0.0298$).

도 17은 신호전달 경로가 vEDS를 앓는 인간 환자로부터의 혈관 조직 샘플 중 상승되어 있음을 입증하는 면역형광성 염색이다. 도 17은 vEDS를 앓는 환자로부터의 두 조직 샘플 (장골 동맥 및 하행 흉부 대동맥)에서의 PKC 인산화를 입증하였다.

도 18은 신호전달 경로가 vEDS를 앓는 인간 환자로부터의 혈관 조직 샘플 중 상승되어 있음을 입증하는 면역형광성 염색이다. 도 18은 vEDS를 앓는 환자로부터의 두 조직 샘플 (장골 동맥 및 하행 흉부 대동맥)에서의 ERK1/2 인산화를 입증하는 것이다.

도 19는 루복시스타우린 처리가 129 MFS 마우스에서 대동맥근 성장을 감소시켰다는 것을 입증한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0094] 본 발명은 적어도 부분적으로는 vEDS의 발병기전의 원인이 되는 신규의 표적가능한 신호전달 이상 확인에 기초한다. 특히, ERK1/2 활성화 또는 PKC 활성화를 억제시키는 약리학적 작용제가 대동맥 박리에 기인하는 사망을 성공적으로 방지할 수 있는 것으로 관찰되었다. 추가로, PLC/IP3/PKC/ERK 신호전달 경로의 활성화를 억제시키는 작용제 또한 대동맥 박리에 기인하는 사망을 방지한다. 종합해 보면, 이러한 신규의 관찰결과는 vEDS 및 잠재적인 다른 혈관병증 뿐만 아니라, 다른 결합 조직 장애의 발병기전의 원인이 되는 표적가능한 신호전달 이상에 대한 첫 번째 증거를 제공한다.
- [0095] 혈관병증
- [0096] 혈관병증은 혈관을 이환시키는 질환을 기술하는 데 사용된 용어이다. 이는 대개 퇴행성, 대사 및 염증성 병태, 색전 질환, 응고성 장애, 및 기능성 장애, 예컨대, 후두부 또는 가역적 뇌병증 증후군에 의해 유발된 혈관 이상을 포함한다. 혈관병증의 병인은 일반적으로 알려져 있지 않으며, 병태는 빈번하게 병리적으로 입증되지 못한 상태이다. 한편, 혈관염은 더욱 구체적인 용어이고, 이는 혈관벽의 염증인 것으로 정의된다.
- [0097] 본원에서 사용된 바와 같이, "혈관염 (맥관염(angiitis) 또는 맥관염(angitis))"은 혈관 염증, 예컨대, 동맥염, 정맥염, 또는 림프관 염증, 예컨대, 림프관염을 지칭한다. 혈관염은 예컨대, 피부 혈관염, 두드러기성 혈관염, 백혈구과괴성 혈관염, 울혈반 혈관염 및 결절성 혈관염과 같이 다양한 형태를 취할 수 있다. 소혈관 혈관염은 예컨대, 모세혈관, 세정맥, 세동맥 및 동맥과 같은 작은 또는 중간 크기의 혈액 또는 림프관의 염증을 지칭할 수 있다.
- [0098] 혈관형 엘러스-단로스 증후군 (vEDS)
- [0099] 혈관형 엘러스-단로스 증후군 (vEDS)은 콜라겐 III형 알파 1쇄 (COL3A1) 유전자의 이형접합 돌연변이에 의해 유발되는 유전성 결합 조직 장애이다. vEDS에서 사망의 주요 원인은 동맥 박리 및/또는 파열이지만, 상기 질환의 발병기전에 대해서는 알려진 바가 거의 없다. 이 치명적인 병태에 대한 효과적인 치료 전략법은 존재하지 않는다. 현재는 콜라겐 III 양의 감소가 조직의 구조적 완전성의 내재적 손실에 기인하여 vEDS의 징후 및 증상으로 직접 이어진다고 믿고 있다. 그러나, 마르판 증후군 (MFS)의 조기 병원성 모델 또한 아주 특이하게 탄성섬유형성(elastogenesis) 실패로 인해 부과되는 조직 약화를 일으켰지만, 후속 연구에서는 MFS에서의 결핍 유전자 생성물인 피브릴린-1이 결핍된 마우스 모델에서 형질전환 성장 인자 베타 (TGF-β) 신호전달이 증진된 것이 명백하게 입증되었다^{3,4}. 후속 연구를 계속 수행한 결과, TGF-β 및 하류 세포 신호전달 분자가 질환 병리의 주요 매개인자인 것으로 밝혀졌다. 추가로, TGF-β 신호전달 및 관련 경로를 약화시키는 요법, 예컨대, TGF-β 중화 항체 (Nab), 안지오텐신-II (Ang-II) 1형 수용체 차단제 (ARB) 로사르탄, 또는 ERK1/2 활성화의 억제제 RDEA119/트라메티닙은 MFS 마우스에서 대동맥 질환을 억제시킬 수 있다³⁻⁶.
- [0100] 그러나, 예컨대, 마르판 증후군 및 로이-디에즈 증후군과 같은 다른 유전성 혈관병증과 유사하게, 본원에서는 vEDS에서 질환 병리의 주요 매개인자인 신호전달 이상을 제공한다. 환자 유래 Col3a1 돌연변이를 가진 마우스의 대동맥에 관한 RNA-seq 프로파일링 결과, 야생형 대동맥과 비교하였을 때, PLC/IP3/PKC/ERK 신호전달 상승이 입증되었다. 근위 하행 흉부 대동맥에 대한 면역블롯팅 결과, PKC 및 ERK1/2 활성화 상승이 확인되었다.
- [0101] 특정 실시양태에서, COL3A1은 하기 아미노산 서열 (NCBI 수탁 번호: AAH28178.1 (서열식별번호(SEQ ID NO: 1), 그 전문이 본원에서 참조로 포함)을 포함한다:

```
1 mmsfvqkgsw lllallhpti ilaqeaveg gcshlgqsy ddrvwkpepc qicvcdsgsv
61 lcddiicddq eldcpnpeip fgeccavcpq pptaptrppn gqgpggpkgd pgppgipgrn
121 gdpqipgpg spgspgppgi cescptgpqn yspqydsydv ksgvavggla gypgpagppg
```

[0102]

```

181 pppppgtsgh pgspspspyq gppgepgqag psgppppppga igpsgpagkd gesgrpgrpg
241 erglpgppgi kgpagipgfp gmkghrgfdg rngekgetga pglkgenglp gengapppmg
301 prgapgergr pglpgaagar gndgargsdg qpppppppgt agfpagspgak gevgpagspg
361 sngapqqrge ppgqghagaq gppgppping spggkgemgp agipgapglm gargppgpag
421 angapglrgg agepgkngak gepgrgerg eagipgvpga kgedgkdgsd gepganglpg
481 aagergapgf rgpagpnpip gekgpagerg apgpagprga agepgrdgvv ggpgrmpmpg
541 spggpgsdgk ppppgsqges grpgpppspg prgpgvpmgf pgpkngndgap gkngrggpg
601 gpgpqqppgk ngetgpqgpp gptgpggdkg dtgppppqgl qglpgtgppp gengkpgepg
661 pkgdagapga pggkgdagap gergppglag apglrggagp ppgggkgaa gppppppgag
721 tpqlqgmpge rgglgspgpk gdkgepggpg adgvpkgdgp rgptgpihpp gpagqpgdkg
781 eggapglpgi agprgspger getgpppag fpgapggngp pgkggergap gekgeggppg
841 vagppgkdgt shhpgpihpp gprgnrgerg segspghpgq pppppppgap gpccggvgaa
901 aiagiggeka gpfapygde pmdfkintde imtslksvng qieslispdg srknparncr
961 dlkfchpelk sgeywdpnq gckldaikvf cnmetgetci sanplnvprk hwwtdssaek
1021 khvwfgesmd gqfqsypgn elpedvldvq laflrlssr asqnityhck nsaiymdpgs
1081 gnvkkalklm gsnegefkak gnskftytlv edgctkhtge wsktvfeyrt rkavrlpivd
1141 iapydigppd qefgvdvppv cfl

```

[0103]

[0104]

특정 실시양태에서, COL3A1은 하기 핵산 서열을 포함하고, 출발 및 정지 코돈은 굵은체 및 밑줄체로 표시되어 있다 (NCBI 수탁 번호: NM_000090.3 (서열식별번호 2), 그 전문이 본원에서 참조로 포함):

```

1 ggctgagttt tatgacgggc ccggtgctga agggcaggga acaacttgat ggtgctactt
61 tgaactgctt ttcttttctc ctttttgac aaagagtctc atgtctgata tttagacatg
121 atgagctttg tgcaaaaggg gagctggcta cttctcgctc tgcttcaccc cactattatt
181 ttggcacaac aggaagctgt tgaaggagga tgttccatc ttggtcagtc ctatgcggat
241 agagatgtct ggaagccaga accatgccaa atatgtgtct gtgactcagg atccgttctc
301 tgcgatgaca taatatgtga cgatcaagaa ttagactgcc ccaaccaga aattccattt
361 ggagaatggt gtgcagtttg cccacagcct ccaactgctc ctactcgccc tcctaattgtt
421 caaggacctc aaggcccaaa gggagatcca ggcctcctg gtattcctgg gagaattgtt
481 gacctgggta ttccaggaca accagggtcc cctgggttctc ctggccccc tggaattctgt
541 gaatcatgcc ctactggtcc tcagaactat tctcccagc atgattcata tgatgtcaag
601 tctggagtag cagtaggagg actcgcaggc tatcctggac cagctggccc cccaggccct
661 cccggtcccc ctggtacatc tggatcatct ggttcccctg gatctccagg ataccaagga
721 cccctgggtg aacctgggca agctgggtct tcaggccctc caggacctcc tgggtgtata
781 ggtccatctg gtctctgctg aaaagatgga gaatcaggtg gaccggagc acctggagag
841 cgaggattgc ctggacctcc aggtatcaaa ggtccagctg ggataacctg attccttggt
901 atgaaaaggc acagaggctt cgatggacga aatggagaaa aggggtgaac aggtgctcct
961 ggattaaagg gtgaaaatgg tcttccaggc gaaaatggag ctccctggac catgggtcca
1021 agaggggctc ctggtgagcg aggacggcca ggacttcctg gggtgcagg tgctcggggt
1081 aatgacgggtg ctgagggcag tgatggtcaa ccaggccctc ctgggtcctc tggaactgcc
1141 ggattccctg gatccctggt tgctaagggt gaagtggac ctgcagggtc tctggttca
1201 aatggtgccc ctggacaaaag aggagaacct ggacctcagg gacacgctgg tgctcaagg
1261 cctcctggcc ctccctgggt taatggtagt cctggtggtg aaggcgaaat ggggtccgct
1321 ggcattcctg gagctcctgg actgatggga gcccggggtc ctccaggacc agccggtgct
1381 aatggtgctc ctggactgag aggtggtgca ggtgagcctg gtaagaatgg tgccaaagga
1441 gagccgggac cagtggtgga acgcggtgag gctggtattc cagggtgtcc aggagctaaa
1501 ggcgaagatg gcaaggatgg atcacctgga gaacctggtg caaatgggtc tccaggagct
1561 gcaggagaaa ggggtgcccc tgggttccga ggacctgctg gaccaaattg catcccagga
1621 gaaaagggtc ctgctggaga gcgtggtgct ccaggccctg caggggccag aggagctgct
1681 ggagaacctg gcagagatgg cgtccctgga ggtccaggaa tgaggggcat gcccggaagt
1741 ccaggaggac caggaaatga tgggaaacca ggcctcccga gaagtcaagg agaaagtgg
1801 cgaccagggtc ctccctgggc atctggtccc cgaggtcagc ctggtgtcat gggcttcccc
1861 ggtcctaaaag gaaatgatgg tgctcctggt aagaatggag aacgaggtgg cctggagga
1921 cctggccctc agggctcctc tggaagaagt ggtgaaactg gacctcaggg acccccaggg
1981 cctactgggc ctggtggtga caaaggagac acaggacccc ctggtccaca aggattacaa
2041 ggcttgctct gtacagggtg tcctccagga gaaaatggaa aacctgggga accaggtcca
2101 aagggtgatg ccggtgcacc tggagctcca ggaggcaagg gtgatgctgg tgccctggt

```

[0105]

2161 gaacgtggac ctcctggatt ggcagggggc ccaggactta gaggtggagc tggccccct
 2221 ggtcccgaaag gaggaagggg tgctgctggg cctcctgggc cacctgggtg tgctgggtact
 2281 cctgggtctgc aaggaatgcc tggagaaaga ggaggtcttg gaagtcctgg tccaaagggt
 2341 gacaagggtg aaccaggcgg tccaggtgct gatggtgtcc cagggaaga tggcccaagg
 2401 ggtcctactg gtcctattgg tcctcctggc ccagctggcc agcctggaga taagggtgaa
 2461 ggtggtgccc ccggacttcc aggtatagct ggacctcgtg gtacccctgg tgagagaggt
 2521 gaaactggcc ctccaggacc tgctggtttc cctggtgctc ctggacagaa tggatgaacct
 2581 ggtggtaaaag gagaaaggag ggctccgggt gagaaagggt aaggaggccc tcctggagtt
 2641 gcaggacccc ctggagggtt tggaacctgct ggtcctcctg gtcccaagg tgtaaaagg
 2701 gaacgtggca gtcctggtgg acctggtgct gctggcttcc ctggtgctcg tggctctcct
 2761 ggtcctcctg gtagtaatgg taaccaggga ccccagggtc ccaggcgttc tccaggcaag
 2821 gatgggcccc cagggtcctgc gggtaacact ggtgctcctg gcagccctgg agtgtctgga
 2881 ccaaaagggtg atgctggcca accaggagag aagggtatgc ctggtgccc gggccacca
 2941 ggagctccag gccacttgg gattgctggg atcactggag cagggggtct tgcaaggacca
 3001 ccaggcatgc cagggtcctag gggaagccct ggccctcagg gtgtcaagg tgaaagtggg
 3061 aaaccaggag ctaacggtct cagtggagaa cgtggtcccc ctggaccca ggggtctcct
 3121 ggtctggtcg gtacagctgg tgaacctgga agagatgga accctggatc agatggtctt
 3181 ccaggccgca gtcctggtcc tggtggcaag ggtgatcgtg gtgaaaatgg ctctcctggg
 3241 gccctggcg ctcctggtca tccaggccca cctggtcctg tcggtccagc tggaaagagt
 3301 ggtgacagag gagaaagtgg ccctgctggc cctgctggtg ctcccggtcc tgctggttcc
 3361 cgagggtgct cctggtcctc agggccacgt ggtgacaaag gtgaaacagg tgaacgtgga
 3421 gctgctggca tcaaaaggaca tcgaggattc cctggtaatc cagggtcccc aggttctcca
 3481 ggccctgctg gtcagcaggg tgcaatcggc agtccaggac ctgcaggccc cagaggacct
 3541 gttggaccca gtggacctcc tggcaagat ggaaccagt gacatccagg tcccataggga
 3601 ccaccagggc cctcgaggtga cagaggtgaa agaggatctg agggctcccc agggccacca
 3661 ccagcaaccag gccctcctgg acctcctggt gccctggtc ctgctgtggg tgggttggga
 3721 gccgctgcca ttgctgggat tggaggtgaa aaagctggcg gttttgcccc gtattatgga
 3781 gatgaaccaa tggatttcaa aatcaacacc gatgagatta tgacttctact caagtctgtt
 3841 aatggacaaa tagaaagcct cattagtcct gatggttctc gtaaaaacc cgctagaaac
 3901 tgcagagacc tgaatttctg ccatcctgaa ctcaagagt gagaatactg ggttgacct
 3961 aaccaaggat gcaaattgga tgctatcaag gtattctgta atatggaaac tggggaaaca
 4021 tgcataaagt ccaatccttt gaatgttcca cggaaacact ggtggacaga ttctagtgtc
 4081 gagaagaaac acgtttggtt tggagagtcc atggatggtg gttttcagtt tagctacggc
 4141 aatcctgaac ttcctgaaga tgccttgat gtgcagctg cattccttcg acttctctcc
 4201 agccgagctt cccagaacat cacatatcac tgcaaaaata gcattgcata catggatcag
 4261 gccagtgga atgtaagaa ggccctgaag ctgatgggtg caaatgaagg tgaattcaag
 4321 gctgaaggaa atagcaaat caccacacac gttctggagg atggttgac gaaacacact
 4381 gggaagtgga gcaaaacagt ctttgaatat cgaacacgca aggtgtgag actacctatt
 4441 gtagatattg caccctatga cattggtggt cctgatcaag aatttgggtg ggacgttggc
 4501 cctgtttgct tttttataaac caaactctat ctgaaatccc acaaaaaaaa atttaactcc
 4561 atattgtgtc ctcttgttca aatcttgtca accagtgcaa gtgaccgaca aaattccagt
 4621 tattattttc caaatgtttt ggaacacagta taatttgaca aagaaaaatg atacttctct
 4681 ttttttgctg ttccaccaaa tacaattcaa atgctttttg ttttattttt ttaccaattc
 4741 caatttcaaa atgtctcaat ggtgtataaa taaataaaat tcaacactct ttatgataac
 4801 aacactgtgt tatattcttt gaatcctagc ccatctgcag agcaatgact gtgctcacca
 4861 gtgaaagata acctttcttt ctgaaatagt caaatacga attagaaaag cctcctctat
 4921 ttttaactacc tcaactggtc agaaacacag attgtattct atgagtccca gaagatgaaa
 4981 aaaattttat acgttgataa aacttataaa tttcattgat taatctcctg gaagattggg
 5041 ttaaaaagaa aagtgtaatg caagaattta aagaatatt tttaaagcca caattatttt
 5101 aatattggat atcaactgct tgtaaagggtg ctccctcttt ttctgtcat tgctggcaca
 5161 gattactaat atttgggaag gctttaaaga cgcattgtat ggtgctaatt tactttcact
 5221 tttaaactct agatcagaat tgttgacttg cattcagaac ataatgcac aaaatctgta
 5281 catgtctccc atcagaagaa ttcatgggca tgccacagg gattctcctc ctctcatcctg
 5341 taaaggtcaa caataaaaac caaattatgg ggctgctttt gtcacactag catagagaat
 5401 gtgttgaaat ttaactttgt aagcttgtat gtggttgtg atcttttttt tccttacaga
 5461 caccataaat aaaatatcat attaaaattc

[0106]

[0107] MAP/ERK 경로

[0108] MAPK/ERK 경로 (Ras-Raf-MEK-ERK 경로로도 공지)는 세포 표면 상의 수용체로부터 세포 핵 내의 DNA로 신호를 전달하는 세포내 일련의 단백질이다.

[0109] 신호는 신호전달 분자가 세포 표면 상의 수용체에 결합하였을 때 시작되고, 핵 내의 DNA가 단백질을 발현하고, 세포에서 예컨대, 세포 분열과 같은 일부 변화를 일으켰을 때 종료된다. 경로는 "온" 또는 "오프" 스위치로서 작용하는, 포스페이트 기의 이웃 단백질에의 첨가에 의해 소통하는 MAPK (미토겐 활성화 단백질 키나제, 원래는 ERK, 세포의 신호-조절된 키나제로 불림)를 비롯한 다수의 단백질을 포함한다.

[0110] "ERK"라는 용어는 임의의 인간 ERK1 또는 ERK2 유전자 또는 단백질을 지칭한다. ERK1은 예를 들어, 미토겐 활성화 단백질 키나제 3, 세포의 신호-조절된 키나제 1, 인슐린 자극 MAP2 키나제, MAP 키나제 1, MAPK 1, p44-ERK1, ERT2, p44-MAPK 또는 미세소관 연관 단백질 2 키나제를 비롯한 여러 명칭으로 알려져 있다.

[0111] ERK2는 예를 들어, 미토겐 활성화 단백질 키나제 1, 세포의 신호-조절된 키나제 2, 미토겐 활성화 단백질 키나제 2, MAP 키나제 2, MAPK 2, p42-MAPK, 또는 ERT1을 비롯한 여러 명칭으로 알려져 있다.

[0112] 특정 실시양태에서, ERK1은 하기 아미노산 서열 (NCBI 수탁 번호: P27361.4 (서열식별번호 3), 그 전문이 본원에서 참조로 포함)을 포함한다:

```

1  MAAAAAQGGG GGEPRRTEGV GPGVPGEVEM VKGQPFDVGP RYTQLQYIGE GAYGMVSSAY
61  DHVRKTRVAI KKISPFHQY YCQRTLREIQ ILLRFRHENV IGIRDILRAS TLEAMRDVYI
121 VQDLMETDLY KLLKSQQLSN DHICYFLYQI LRGLKYIHS NVLHRDLKPS NLLINTTCDL
181 KICDFGLARI ADPEHDHTGF LTEYVATRWY RAPEIMLSNK GYTKSIDIWS VGCILAEMLS
241 NRPIFPKHY LDQLNHILGI LGSPSQEDLN CIINMKARNY LQSLPSKTKV AWAKLFPKSD
301 SKALDLLDRM LTFNPNKRIT VEEALAHPLY EQYYDPTDEP VAEFPFTFAM ELDDLPERK
361 KELIFQETAR FQPGVLEAP

```

[0113]

[0114] 특정 실시양태에서, ERK1은 하기 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 코딩 영역은 굵은체 및 밑줄체로 표시되어 있다 (NCBI 수탁 번호: X60188.1 (서열식별번호 4), 그 전문이 본원에서 참조로 포함):

```

1  cgttcctcgg cgccgccggg gccccagagg gcagcggcag caacagcagc agcagcagca
61  gcgggagtg agatggcgccg gcggcgcgct caggggggcg ggggcgggga gccccgtaga
121 accgaggggg tcggcccggg ggtcccgggg gaggtggaga tggggaagg gcagccgttc
181 gacgtggggc cgcgctacac gcagttgcag tacatcgcg agggcgcgta cggcatggtc
241 agctcggcct atgaccacgt gcgcaagact cgcgtggcca tcaagaagat cagccccctt
301 gaacatcaga cctactgcca gcgcacgctc cgggagatcc agatcctgct gcgcttcgcg
361 catgagaatg tcatcgccat ccgagacatt ctgcgggctg ccacctgga agccatgaga
421 gatgtctaca ttgtgcagac cctgatggag actgacctgt acaagttgct gaaaagccag
481 cagctgagca atgaccatat ctgctacttc ctctaccaga tcctgcgggg cctcaagtac
541 atccactccg ccaacgtgct ccaccgagat ctaaagccct ccaacctgct cagcaacacc
601 acctgcgacc ttaagatttg tgatttcggc ctggcccgga ttgccgatcc tgagcatgac
661 cacaccggct tctgcagcga gtatgtggct acgcgctggg accgggcccc agagatcatg

```

[0115]

```

721 ctgaactcca agggctatac caagtccatc gacatctggt ctgtgggctg cattctggct
781 gagatgctct ctaaccggcc catcttcctt ggcaagcact acctggatca gctcaaccac
841 attctgggca tcctgggctc cccatcccag gaggacctga attgtatcat caacatgaag
901 gcccgaaact acctacagtc tctgccctcc aagaccaagg tggcttgggc caagcttttc
961 cccaagtcag actccaagc ccttgacctg ctggaccgga tgttaacctt taacccaat
1021 aaacggatca cagtggagga agcgcctggc caccctacc tggagcagta ctatgacctg
1081 acggatgagc cagtggccga ggagcccttc acctcgcca tggagctgga tgacctacct
1141 aaggagcggc tgaaggagct catcttcag gagacagcac gcttcagcc cggagtgtgtg
1201 gaggccccct agcccgagca gacatctctg caccctgggg cctggacctg cctcctgctc
1261 gccctctctc cgccagactg ttagaaaatg gacactgtgc ccagcccgga ccttggcagc
1321 ccagccgggg gtggagcatg ggccctggca cctctctcct ttgctgaggc ctccagcttc
1381 aggcaggcca aggccttctc ctccccacc gccctcccca cggggcctcg ggagctcagg
1441 tggcccccag tcaatctccc gctgctgctg ctgctgcgcc cttaaccttc ccagcgtccc
1501 agtctctggc agttctggaa tggaaagggt ctggctgccc caacctgctg aagggcagag
1561 gtggagggtg gggggcgctg agtagggact caggggccat cctgcccccc tcatctcatt
1621 caaacccccc cctagtttcc ctgaaggaa atctccttag ctcaagggct agcatccctg
1681 aggagccagg ccgggccgaa tccccctcct gtcaaaagct tcacttcgcg tgccctcgct
1741 gcttctgtgt gtggtgagca gaagtggagc tggggggcgt ggagagcccc gcgccccctgc
1801 cactcctctg acccgtctaa tatataata tagagatgtg tctatggctg aaaaaaaaaa
1861 aaaaaa

```

[0116]

[0117] 특정 실시양태에서, ERK2는 하기 아미노산 서열 (NCBI 수탁 번호: P28482.3 (서열식별번호 5), 그 전문이 본원에서 참조로 포함)을 포함한다:

```

1  MAAAAAAGAG PEMVRQVFD VGPRTYNLSY IGEGAYGMVC SAYDNVNKVR VAIKKISPFE
61  HQTQCRTLRL EIKILLRFRH ENIIGINDII RAPTIEQMKD VYIVQDLMET DLYKLLKTQH
121 LSNDHICYFL YQILRGLKYI HSNVLRDL KPSNLLNLT CDLKICDFGL ARVADPDHDH
181 TGFLTEYVAT RWYRAPEIML NSKGYSID IWSVGCILAE MLSNRPIFP KHYLDQLNHI
241 LGILGSPSQE DLNCIINLKA RNYLLSLPHK NKVPWNRLFP NADSKALDLL DKMLTFNPHK
301 RIEVEQALAH PYLEQYYDPS DEPIAEAPFK FDMELDDLPL EKLKELIFEE TARFQPGYRS

```

[0118]

[0119] 특정 실시양태에서, ERK2는 하기 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 코딩 영역은 굵은체 및 밑줄체로 표시되어 있다 (NCBI 수탁 번호: NM_138957.3 (서열식별번호 6), 그 전문이 본원에서 참조로 포함):

1 gccctccct cgcggccgc gccggccgc ccgtcagtc ggcaggcagg caggcaatcg
61 gtccgagtggt ctgtcggtc ttcagctctc ccgtcggtc tcttccttcc tcttcccggt
121 cagcgctggc ggctgcaccg gcggcggtgc agtccctgcg ggaggggcca caagagctga
181 gcggcggtgc ccgagcgctc agctcagcgc ggcgaggcgc gcggcggtcc ggagccaac
241 **atggcggtgc** cggcggtgc ggcggtgc ccggagatgg tccggtgga ggtgttcgac
301 gtgggggcgc gctacaccaa cctctcgtac atcggtcagg gcggtcagg catggtgtgc
361 tctgcttatg ataagtcaa caaagtcca gtagctatca agaaatcag cccctttgag
421 caccagacct actgccagag aaccctgagg gagataaaaa tcttactgcg cttcagacat
481 gagaacatca ttggaatcaa tgacattatt cgagcaccaa ccatcgagca aatgaaagat
541 gtatatatag tacaggacct catggaaaca gatctttaca agctcttgaa gacacaacac
601 ctgagcaatg accatatctg ctattttctc taccagatcc tcagagggtt aaaatatatc
661 cattcagcta acgtttctga ccgtgacctc aagccttcca acctgctgct caacaccacc
721 ttgtgattca agatctgtga ctttggcctg gccgtgttg cagatocaga ccatgatcac
781 acagggttcc tgacagaata tgtggccaca cgttggtaca ggggtccaga aattatgttg
841 aattccaagg gctacaccaa gtccattgat atttggctg taggctgcat tctggcagaa
901 atgctttcta acaggcccat ctttccaggg aagcattatc ttgaccagct gaaccacatt
961 ttgggtattc ttgggtattc atcacaaaga gacctgaatt gtataataaa tttaaaagct
1021 aggaactatt tgctttctct tccacacaaa aataagggtc catggaacag gctgttcca
1081 aatgctgact ccaaagctct ggacttattg gacaaaatgt tgacattcaa cccacacaag
1141 aggattgaag tagaacaggc tctggcccac ccatatctg agcagtatta cgaccgagt
1201 gacgagccca tcgcccgaag accattcaag ttcgacatgg aattggatga cttgcctaag

[0120]

1261 gaaaagctca aagaactaat ttttgaagag actgctagat tccagccagg atacagatct
1321 **taa**attttgtc aggtacctgg agtttaatac agtgagctat agcaagggag gcgctgcctt
1381 ttgtttctag aatattatgt tcttcaaggc ccattatttt gtattctttt ccaagctcct
1441 tattggaagg tattttttta aatttagaat taaaaattat ttagaaagtt acatataaaa
1501 aaaaaaaaaa aaaa

[0121]

[0122]

특정 실시양태에서, 본 개시내용은 혈관병증 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의, ERK의 활성 또는 발현을 감소시키는 작용제를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 혈관병증 치료를 필요로 하는 대상체에서 혈관병증 (예컨대, vEDS)을 치료하는 방법을 제공한다. ERK 억제제의 예로는 ASN007 (아사나 바이오 사이언시스(Asana BioSciences: 미국 뉴저지주 브리지워터)), 울리세르티닙(Ulixertinib) (BVD523) (바이오메 드 밸리 디스커버리즈(BioMed Valley Discoveries: 미국 미주리주 캔자스시티)), CC90003 (셀진 코포레이션 (Celgene Corporation: 미국 뉴저지주 서밋)), GDC0994 (어레이 바이오팜(Array BioPharma: 미국 콜로라도주 볼더)), K0947 (쿠라 온콜로지(Kura Oncology: 미국 캘리포니아주 샌디에고)), LTT462 (노파르티스(Novartis: 스위스 바젤)), LY3214996 (엘리 릴리 앤 컴퍼니(Eli Lilly and Company: 미국 인디애나주 인디애나폴리스)), MK8353 (머크 샤프 앤드 돔 코포레이션(Merck Sharp and Dohme Corp: 미국 뉴저지주 케넬위스))을 포함한다.

[0123]

MEK 억제제

[0124]

실시양태에서, 본 개시내용은 혈관병증 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의, ERK 또는 PKC의 활성 또는 발현을 감소시키는 작용제, 예를 들어, Ras/Raf/MEK/ERK 경로 억제제를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 혈관병증 치료를 필요로 하는 대상체에서 혈관병증 (예컨대, vEDS)을 치료하는 방법을 제공한다. 실시양태에서, Ras 경로 억제제는 Raf 억제제, 예컨대, 베무라페닙, 소라페닙, 또는 다브라페닙, MEK 억제제, 예컨대, AZD6244 (셀루메티닙(Selumetinib)), PD0325901, GSK1120212 (트라메티닙), U0126-EtOH, PD184352, RDEA119 (라파메티닙(Rafametinib)), PD98059, BIX 02189, MEK162 (비니메티닙), AS-703026 (피마서팁 (Pimasertib)), SL-327, BIX02188, AZD8330, TAK-733, 코비메티닙 또는 PD318088, 및 ERK 억제제, 예컨대, LY3214996, BVD-523 또는 GDC-0994로부터 선택된다.

[0125]

실시양태에서, MEK 억제제는 트라메티닙, 라파메티닙(Refametinib), 코비메티닙, TAK-733, PD0325901, PD184352 (CI-10-40), R05126766, R0-4987655; E6201; GDC-0623; CH5126766; G-573; WX-554; 셀루메티닙, 비 니메티닙 및 피마서팁로 이루어진 군으로부터 선택된다. 실시양태에서, MEK 억제제는 코비메티닙을 포함한다. 실시양태에서, MEK 억제제는 트라메티닙을 포함한다. 실시양태에서, MEK 억제제는 트라메티닙 및 코비메티닙을 포함한다. 실시양태에서, MEK 억제제, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또한 본원에서 고려된다.

[0126]

특정 실시양태에서, MEK 억제제는 약 0.001 mg/kg 내지 약 250 mg/kg 체중, 예컨대, 0.001 mg/kg, 0.05 mg/kg, 0.01 mg/kg, 0.05mg/kg, 1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 25 mg/kg, 50 mg/kg, 75 mg/kg, 100 mg/kg, 125 mg/kg, 150 mg/kg, 175 mg/kg, 200 mg/kg, 225 mg/kg, 또는 250 mg/kg 체중의 농도로 투여될 수 있다.

[0127]

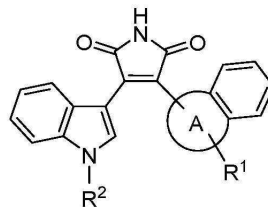
단백질 키나제 C (PKC) 억제제

[0128]

일반적으로 PKC로 약칭하여 사용되는 단백질 키나제 C는 이들 단백질 상의 세린 및 트레오닌 아미노산 잔기의 히드록실 기의 인산화를 통해 다른 단백질의 기능을 제어하는 데 관여하는 단백질 키나제 효소 패밀리, 또는 상

기 패밀리의 멤버이다. PKC 효소는 차례로 디아실글리세롤 (DAG) 또는 칼슘 이온 (Ca^{2+})의 농도 증가와 같은 신호에 의해 활성화된다. 따라서, PKC 효소는 여러 신호 전달 캐스케이드에서 중요한 역할을 한다. PKC 패밀리는 인간의 15개의 이소자임으로 이루어지고, 이는 그의 2차 메신저 요건에 기초하여 종래 (또는 고전형), 신규, 및 비정형인 3가지 서브패밀리로 분류된다. 종래 PKC는 이소폼 α , β_1 , β_{11} , 및 γ 를 함유한다. 이는 활성화를 위해 Ca^{2+} , DAG, 및 인지질, 예컨대, 포스파티딜세린을 필요로 한다. 신규 (n) PKC는 δ , ϵ , η 및 θ 이소폼을 포함하고, 활성화를 위해 DAG를 필요로 하지만, Ca^{2+} 는 필요로 하지 않는다. 따라서, 종래 및 신규 PKC는 포스포리파제 C와 동일한 신호 전달 경로를 통해 활성화된다. 한편, 비정형 (a) PKC (단백질 키나제 M ζ 및 ι / λ 이소폼 포함)는 활성화를 위해 Ca^{2+} 도 디아실글리세롤도 필요로 하지 않는다. 본원에서 사용된 바와 같이, "단백질 키나제 C"라는 용어는 일반적으로 전체 이소폼 패밀리를 지칭한다.

[0129] 예시적인 PKC 작용제로는 루복시스타우린, 셀러리트린, 미야베놀 C, 미리시트린, 고시폴, 베르바스코시드, BIM-1, 또는 브리오스타틴 1(Bryostatins 1)을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 실시양태에서, PKC 억제제는 엔자스타우린을 포함한다. 실시양태에서, PKC 억제제는 루복시스타우린을 포함한다. 실시양태에서, PKC 작용제, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또한 본원에서 고려된다.



[0130] 일부 실시양태에서, PKC 억제제, 또는 그의 염은 (I)의 구조를 가질 수 있다:

[0131] 상기 식에서,

[0132] 고리 A는 치환 또는 비치환된 C₅-C₆ 시클로알킬, 하나 이상의 N, O 또는 S 고리 구성원을 갖는, 치환 또는 비치환된 5 내지 6원 헤테로시클로알킬, 치환 또는 비치환된 페닐, 또는 하나 이상의 N, O 또는 S 고리 구성원을 갖는 치환 또는 비치환된 5 내지 6원 헤테로아릴이고;

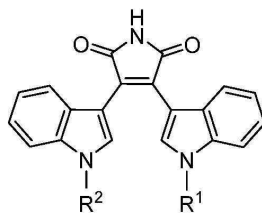
[0133] R¹ 및 R²는 각각 독립적으로 수소, 할로젠, -N₃, -CN, -NO₂, -NR^AR^B, -C(O)R^C, -C(O)-OR^C, -C(O)NR^AR^B, -OR^D, -NR^AC(O)R^C, -NR^AC(O)OR^C, 치환 또는 비치환된 알킬 (예컨대, C₁-C₂, C₁-C₄, C₁-C₈, 또는 C₁-C₁₀) 치환 또는 비치환된 헤테로알킬 (예컨대, 하나 이상의 N, O 또는 S 고리 구성원을 갖는, 2 내지 8원, 2 내지 6원, 4 내지 6원, 2 내지 3원, 또는 4 내지 5원), 치환 또는 비치환된 시클로알킬 (예컨대, C₃-C₈, C₃-C₆, C₄-C₆, 또는 C₅-C₆), 치환 또는 비치환된 헤테로시클로알킬 (예컨대, 하나 이상의 N, O 또는 S 고리 구성원을 갖는 3 내지 8원, 3 내지 6원, 4 내지 6원, 4 내지 5원, 또는 5 내지 6원), 치환 또는 비치환된 아릴 (예컨대, C₆-C₁₀ 또는 페닐), 또는 치환 또는 비치환된 헤테로아릴 (예컨대, 하나 이상의 N, O 또는 S 고리 구성원을 갖는 5 내지 10원, 5 내지 9원, 또는 5 내지 6원)이거나; 또는

[0134] R¹ 및 R²는 함께 연결되어 치환 또는 비치환된 알킬렌 (예컨대, C₁-C₂, C₁-C₄, C₁-C₈, C₁-C₁₀), 또는 치환 또는 비치환된 헤테로알킬렌 (예컨대, 헤테로알킬렌 쇠 중 하나 이상의 N, O 또는 S를 갖는 2 내지 8원, 2 내지 6원, 4 내지 6원, 2 내지 3원, 또는 4 내지 5원), 치환 또는 비치환된 시클로알킬렌 (예컨대, C₃-C₈, C₃-C₆, C₄-C₆, 또는 C₅-C₆), 치환 또는 비치환된 헤테로시클로알킬렌 (예컨대, 하나 이상의 N, O 또는 S 고리 구성원을 갖는 3 내지 8원, 3 내지 6원, 4 내지 6원, 4 내지 5원, 또는 5 내지 6원), 치환 또는 비치환된 아릴렌 (예컨대, C₆-C₁₀ 또는 페닐렌), 또는 치환 또는 비치환된 헤테로아릴렌 (예컨대, 하나 이상의 N, O 또는 S 고리 구성원을 갖는 5 내지 10원, 5 내지 9원, 또는 5 내지 6원) 링커를 형성하고;

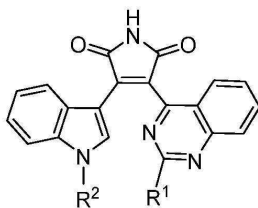
[0135] 여기서, 각 R^A, R^B, R^C, 및 R^D는 각 경우에 독립적으로 수소, 치환 또는 비치환된 알킬, 치환 또는 비치환된 헤테로알킬 (예컨대, 하나 이상의 N, O 또는 S 원자를 갖는 2 내지 8원), 치환 또는 비치환된 시클로알킬 (예컨대, 2 내지 3원), 치환 또는 비치환된 헤테로시클로알킬 (예컨대, 하나 이상의 N, O 또는 S 고리 구성원을 갖는 3 내지 8원), 치환 또는 비치환된 아릴, 예컨대, 페닐; 또는 치환 또는 비치환된 헤테로아릴 (예컨대, 예

컨대, 하나 이상의 N, O 또는 S 고리 구성원을 갖는, 5 내지 10원)이다.

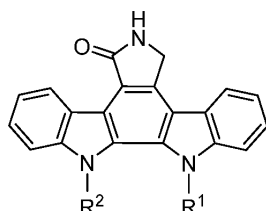
[0136] 일부 실시양태에서, 고리 A는 고리 구성원으로서 하나 이상의 질소를 포함할 수 있는 5-6원 헤테로아릴이다.



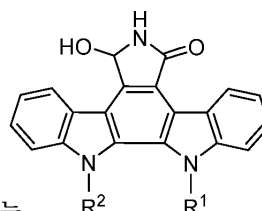
[0137] 일부 실시양태에서, PKC 억제제는 (II)의 구조를 가질 수 있다. R^1 및 R^2 는 상기 기술된 바와 같다.



[0138] 일부 실시양태에서, PKC 억제제는 (III)의 구조를 가질 수 있다. R^1 및 R^2 는 상기 기술된 바와 같다.



(IV-A) 또는

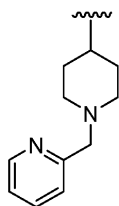


(IV-B)

[0139] 일부 실시양태에서, PKC 억제제는 (IV-A) 또는 (IV-B)의 구조를 가질 수 있다. R^1 및 R^2 는 상기 기술된 바와 같다.

[0140] 일부 실시양태에서, 화학식 (I), (II), (III), (IV-A) 또는 (IV-B)의 PKC 억제제의 경우, R^1 및 R^2 는 각각 수소, 치환 또는 비치환된 C_1-C_4 알킬, 치환 또는 비치환된 2 내지 6원 헤테로알킬 (예컨대, 하나 이상의 N, O 또는 S 구성원을 갖는 것), 치환 또는 비치환된 C_3-C_6 시클로알킬, 치환 또는 비치환된 5 내지 10원 헤테로시클로알킬 (예컨대, 하나 이상의 N, O 또는 S 고리 구성원을 갖는 것), 치환 또는 비치환된 페닐, 또는 치환 또는 비치환된 5 내지 10원 헤테로아릴 (예컨대, 하나 이상의 N, O 또는 S 고리 구성원을 갖는 것)이다. 일부 실시양태에서, R^1 및 R^2 는 각각 독립적으로 수소, 치환 또는 비치환된 C_1-C_4 알킬, 또는 하나 이상의 N, O 또는 S 고리 구성원을 갖는 치환된 헤테로시클로알킬이다. 일부 실시양태에서, R^1 및 R^2 는 각각 독립적으로 수소, 또는 비치환된 C_1-C_4 알킬이다.

[0141] 일부 실시양태에서, 화학식 (II)의 PKC 억제제의 경우, R^1 은 치환 또는 비치환된 피페리딘, 피페라지닐, 피리



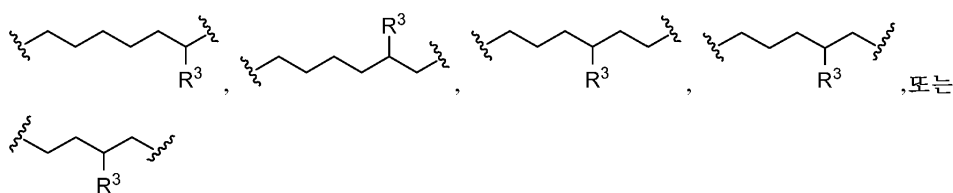
딜, 또는 피리미딜이다. 예를 들어, R^1 은 이다.

[0142] 일부 실시양태에서, R^2 는 수소 또는 비치환된 C_1-C_4 알킬이다. 일부 실시양태에서, R^2 는 수소이다. 일부 실시양태에서, R^2 는 메틸이다. 일부 실시양태에서, R^2 는 에틸이다. 일부 실시양태에서, R^2 는 프로필이다. 실시양

태에서, R^2 는 부틸이다. 일부 실시양태에서, R^2 는 t-부틸이다.

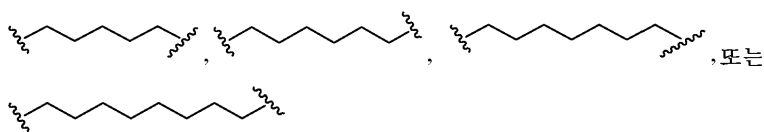
[0143] 일부 실시양태에서, 화학식 (I), (II), (III), (IV-A) 또는 (IV-B)의 PKC 억제제의 경우, R^1 및 R^2 는 서로 연결되어 치환 또는 비치환된 C_1-C_8 알킬렌, 또는 헤테로알킬렌쇄 중 하나 이상의 N, O 또는 S 원자를 갖는, 치환 또는 비치환된 2 내지 8원 헤테로알킬렌 링커를 형성한다. 일부 실시양태에서, R^1 및 R^2 는 서로 연결되어 치환 또는 비치환된 C_1-C_8 알킬렌 링커를 형성한다. 일부 실시양태에서, R^1 및 R^2 는 서로 연결되어 비치환된 C_1-C_8 알킬렌 링커를 형성한다. 일부 실시양태에서, R^1 및 R^2 는 서로 연결되어 헤테로알킬렌쇄 중 하나 이상의 N, O 또는 S 원자를 갖는, 치환 또는 비치환된 2 내지 8원 헤테로알킬렌 링커를 형성한다. 일부 실시양태에서, R^1 및 R^2 는 서로 연결되어 헤테로알킬렌쇄 중 하나 이상의 N, O 또는 S 원자를 갖는, 비치환된 2 내지 8원 헤테로알킬렌 링커를 형성한다.

[0144] 일부 실시양태에서, R^1 및 R^2 는 서로 연결되어



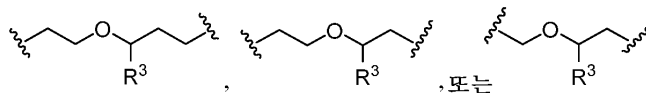
을 형성하고, 여기서 R^3 은 수소, 할로젠, $-N_3$, $-CN$, $-NO_2$, $-NR^A R^B$, $-C(O)R^C$, $-C(O)-OR^C$, $-C(O)NR^A R^B$, $-OR^D$, $-NR^A C(O)R^C$, $-NR^A C(O)OR^C$, 치환 또는 비치환된 알킬 (예컨대, C_1-C_2 , C_1-C_4 , C_1-C_8 , 또는 C_1-C_{10}), 치환 또는 비치환된 헤테로알킬 (예컨대, 하나 이상의 N, O 또는 S 구성원을 갖는 2 내지 8원, 2 내지 6원, 4 내지 6원, 2 내지 3원, 또는 4 내지 5원), 치환 또는 비치환된 시클로알킬 (예컨대, C_3-C_8 , C_3-C_6 , C_4-C_6 , 또는 C_5-C_6), 치환 또는 비치환된 헤테로시클로알킬 (예컨대, 3 내지 8원, 3 내지 6원, 4 내지 6원, 4 내지 5원, 또는 5 내지 6원이고, 하나 이상의 N, O 또는 S 고리 구성원을 갖는 것), 치환 또는 비치환된 아릴 (예컨대, C_6-C_{10} 또는 페닐), 또는 치환 또는 비치환된 헤테로아릴 (예컨대, 5 내지 10원, 5 내지 9원, 또는 5 내지 6원이고, 하나 이상의 N, O 또는 S 고리 구성원을 갖는 것)이다. R^A , R^B , R^C , 및 R^D 는 상기 기술된 바와 같다.

[0145] 일부 실시양태에서, R^1 및 R^2 는 서로 연결되어

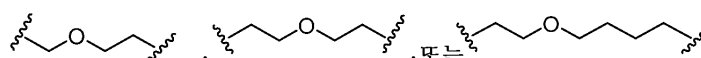


를 형성하고, 이는 상기 기술된 R^3 중 하나 이상의 것으로 치환될 수 있다.

[0146] 일부 실시양태에서, R^1 및 R^2 는 서로 연결되어 을 형성하고, R^3 은 상기 기술된 바와 같다.



[0147] 일부 실시양태에서, R^1 및 R^2 는 서로 연결되어 을 형성하고, 이는 상기 기술된 R^3 중 하나 이상의 것으로 치환될 수 있다.

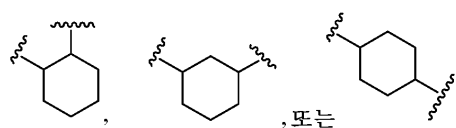


[0148] 일부 실시양태에서, 화학식 (IV-A) 또는 (IV-B)의 PKC 억제제의 경우, R^1 및 R^2 는 서로 연결되어 치환 또는 비치

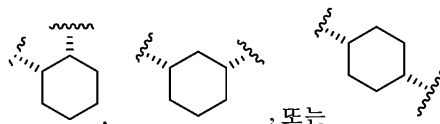
환된 C₅-C₆ 시클로알킬렌 링커를 형성한다. 일부 실시양태에서, R¹ 및 R²는 서로 연결되어, 예를 들어, 상기 기술된 하나 이상의 R³으로 치환될 수 있는, 치환된 C₅-C₆ 시클로알킬렌 링커를 형성한다. 일부 실시양태에서, R¹ 및 R²는 서로 연결되어 비치환된 C₅-C₆ 시클로알킬렌 링커를 형성한다.

[0149] 일부 실시양태에서, R¹ 및 R²는 서로 연결되어 치환 또는 비치환된 5 내지 6원 헤테로시클로알킬렌 링커 (예컨대, 링커 세트 중 하나 이상의 N, O 또는 S 원자를 갖는 것)를 형성한다. 일부 실시양태에서, R¹ 및 R²는 서로 연결되어, 예를 들어, 상기 기술된 R³으로 치환될 수 있는, 링커 세트 중 하나 이상의 N, O 또는 S 원자를 갖는, 치환된 5 내지 6원 헤테로시클로알킬렌 링커를 형성한다. 일부 실시양태에서, R¹ 및 R²는 서로 연결되어 링커 세트 중 하나 이상의 N, O 또는 S 원자를 갖는, 비치환된 5 내지 6원 헤테로시클로알킬렌 링커를 형성한다.

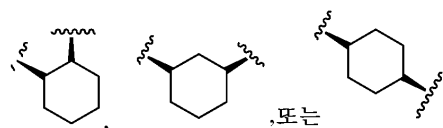
[0150] 일부 실시양태에서, R¹ 및 R²는 서로 연결되어 상기 기술된 R³ 중 하나 이상의 것으로 치환될 수 있는,



을 형성한다. 일부 실시양태에서, R¹ 및 R²는 서로 연결되어 상기 기술

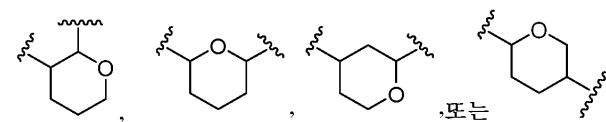


된 R³ 중 하나 이상의 것으로 치환될 수 있는, 을 형성한다. 일부 실시양태에서, R¹ 및 R²는 서로 연결되어 상기 기술된 R³ 중 하나 이상의 것으로 치환될 수 있는,



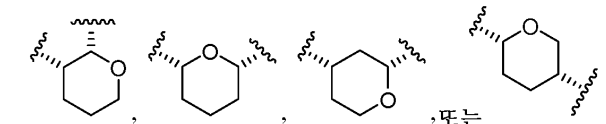
를 형성한다.

[0151] 일부 실시양태에서, R¹ 및 R²는 서로 연결되어 상기 기술된 R³ 중 하나 이상의 것으로 치환될 수 있는,



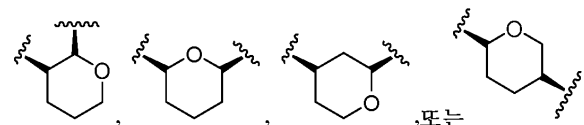
을 형성한다. 일부 실시양태에서, R¹ 및 R²는 서로 연결

되어 상기 기술된 R³ 중 하나 이상의 것으로 치환될 수 있는,



을 형성한다. 일부 실시양태에서, R¹ 및 R²는 서로 연결되

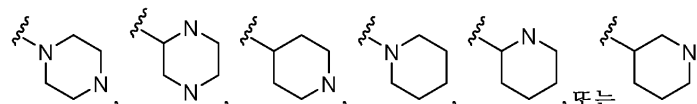
어 상기 기술된 R³ 중 하나 이상의 것으로 치환될 수 있는,



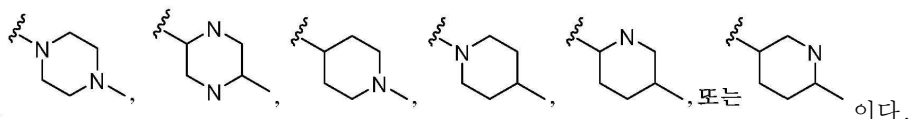
을 형성한다.

[0152] 일부 실시양태에서, 화학식 (III)의 PKC 억제제의 경우, R¹ 및 R²는 각각 독립적으로 수소, 치환 또는 비치환된 C₁-C₄ 알킬, 또는 하나 이상의 N, O 또는 S 고리 구성원을 갖는, 치환 또는 비치환된 5 내지 6원 헤테로시클로알킬이다. 일부 실시양태에서, R¹은 비치환된 C₁-C₄ 알킬이다. 일부 실시양태에서, R¹은 상기 기술된 R³ 중 하나 이상의 것으로 치환될 수 있는, 하나 이상의 N, O 또는 S 고리 구성원을 갖는, 치환된 5 내지 6원 헤테로시클로

알킬이다. 일부 실시양태에서, R^1 은 상기 기술된 R^3 중 하나 이상의 것으로 치환될 수 있는, 하나 이상의 N, O 또는 S 고리 구성원을 갖는, 치환된 5 내지 6원 헤테로시클로알킬이다. 일부 실시양태에서, R^1 은 치환 또는 비치환된 피페리디닐 또는 피페라지닐이다. 일부 실시양태에서, R^1 은 상기 기술된 R^3 중 하나 이상의 것으로 치환될 수 있는, 치환된 피페리디닐 또는 피페라지닐이다. 일부 실시양태에서, R^1 은 비치환된 피페리디닐 또는 피페라지닐이다. 일부 실시양태에서, R^1 은 상기 기술된 R^3 중 하나 이상의 것으로 치환될 수 있는,



이다. 일부 실시양태에서, R^1 은

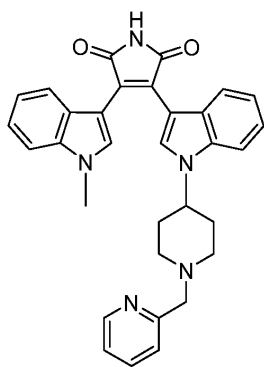


일부 실시양태에서, R^2 는 수소이다. 실시양태에서, R^2 는 메틸이다.

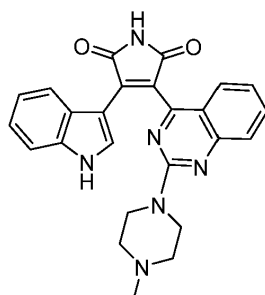
상기 논의된 바와 같이, "치환된" 기는 하나 이상의 이용가능한 위치에서, 전형적으로, 1, 2, 3, 4 또는 5개의 위치에서 수소 이외의 다른 것에 의해 (동일하거나, 또는 상이할 수 있는) 하나 이상의 적합한 기, 예를 들어, 할로젠, 시아노, 아미노, 히드록시, 니트로, 아지도, 카르복스아미도, $-COOH$, SO_2NH_2 , 알킬 (예컨대, C_1-C_8 알킬), 알케닐 (예컨대, C_2-C_8 알케닐), 알키닐 (예컨대, C_2-C_8 알키닐), 알콕시 (예컨대, C_1-C_8 알콕시), 알킬 에테르 (예컨대, C_2-C_8 알킬 에테르), 알킬티오 (예컨대, C_1-C_8 알킬티오), 모노- 또는 디-(C_1-C_8 알킬)아미노, 할로알킬 (예컨대, C_1-C_6 할로알킬), 히드록시알킬 (예컨대, C_1-C_6 히드록시알킬), 아미노알킬 (예컨대, C_1-C_6 아미노알킬), 할로알콕시 (예컨대, C_1-C_6 할로알콕시), 알카노일 (예컨대, C_1-C_8 알카노일), 알카논 (예컨대, C_1-C_8 알카논), 알카노일옥시 (예컨대, C_1-C_8 알카노일옥시), 알콕시카르보닐 (예컨대, C_1-C_8 알콕시카르보닐), 모노- 및 디-(C_1-C_8 알킬)아미노, 모노- 및 디-(C_1-C_8 알킬)아미노 C_1-C_8 알킬, 모노- 및 디-(C_1-C_8 알킬)카르복스아미도, 모노- 및 디-(C_1-C_8 알킬)술폰아미도, 알킬알피닐 (예컨대, C_1-C_8 알킬알피닐), 알킬술폰 (예컨대, C_1-C_8 알킬술폰), 아릴 (예컨대, 페닐), 아릴알킬 (예컨대, (C_6-C_{18} 아릴) C_1-C_8 알킬, 예컨대, 벤질 및 페네틸), 아릴옥시 (예컨대, C_6-C_{18} 아릴옥시 예컨대, 페녹시), 아릴알콕시 (예컨대, (C_6-C_{18} 아릴) C_1-C_8 알콕시) 및/또는 하나 이상의 N, O 또는 S 고리 구성원을 갖는, 3 내지 8원 헤테로시클릭 기에 의해 치환된 것이다.

본원에서 언급되는 바와 같이, 특정 개수의 "구성원 또는 ~원"을 갖는 기는 기를 구성하는 특정 개수의 원자를 지칭한다.

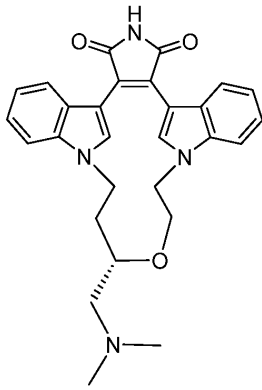
예시적인 PKC 억제제는



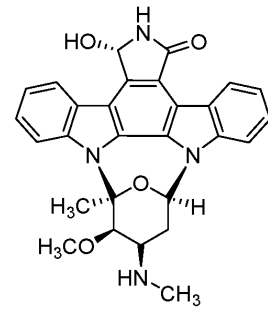
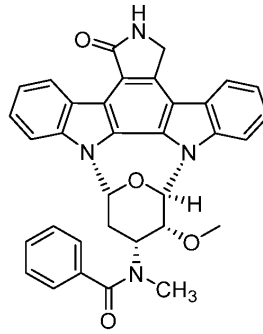
(엔자스타우린),



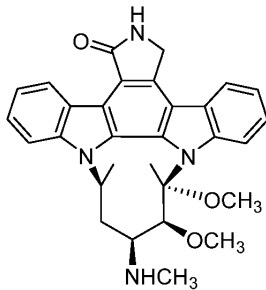
(소트라스타우린),



(루복시스타우린),



또는



을 포함할 수 있다.

특정 실시양태에서, 단백질 키나제 또는 성장 인자 신호전달 경로에 관여하는 수용체를 억제시키는 단백질 키나제 억제제 또는 모노클로날 항체, 예컨대, EGFR, VEGFR, AKT, Erb1, Erb2, ErbB, Syk, Bcr-Abl, JAK, Src, GSK-3, PI3K, Ras, Raf, MAPK, MAPKK, mTOR, c-Kit, eph 수용체 또는 BRAF 억제제가 대상체에게 투여된다. 단백질 키나제 또는 성장 인자 신호전달 경로 억제제의 비제한적인 예로 아파티닙(Afatinib), 악시티닙(Axitinib), 베바시주맙(Bevacizumab), 보수티닙(Bosutinib), 세록시맙(Cetuximab), 크리조티닙(Crizotinib), 다사티닙(Dasatinib), 에를로티닙(Erlotinib), 포스타마티닙(Fostatinib), 제피티닙(Gefitinib), 이마티닙(Imatinib), 라파티닙(Lapatinib), 렌바티닙(Lenvatinib), 무브리티닙(Mubritinib), 닐로티닙(Nilotinib), 파니투무맙(Panitumumab), 파조파닙(Pazopanib), 페갑타닙(Pegaptanib), 라니비주맙(Ranibizumab), 룩솔리티닙(Ruxolitinib), 사라카티닙(Saracatinib), 소라페닙, 수니티닙(Sunitinib), 트라 스투주맙(Trastuzumab), 반데타닙(Vandetanib), AP23451, 베무라페닙, MK-2206, GSK690693, A-443654, VQD-002, 밀테포신(Miltefosine), 페리포신(Perifosine), CAL101, PX-866, LY294002, 라파마이신, 템시플리무스, 에베로리무스, 리다포롤리 무스, 알보시딕(Alvocidib), 제니스테인(Genistein), 셀루메티닙, AZD-6244, 바탈라닙(Vatalanib), P1446A-05, AG-024322, ZD1839, P276-00, GW572016 또는 그의 혼합물을 포함한다.

특정 실시양태에서, PKC의 활성 또는 발현을 감소시키는 작용제는 약 0.001 mg/kg 내지 약 250 mg/kg 체중, 예컨대, 0.001 mg/kg, 0.05 mg/kg, 0.01 mg/kg, 0.05 mg/kg, 1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 25 mg/kg, 50 mg/kg, 75 mg/kg, 100 mg/kg, 125 mg/kg, 150 mg/kg, 175 mg/kg, 200 mg/kg, 225 mg/kg, 또는 250 mg/kg 체중의 농도로 투여될 수 있다.

특정 실시양태에서, PKC는 하기 아미노산 서열 (NCBI 수탁 번호: NP_002728.1 (서열식별번호 7), 그 전문이 본원에서 참조로 포함)을 포함한다:

```

1  MADVFPGNDS  TASQDVANRF  ARKGALRQKN  VHEVKDHKFI  ARFFKQPTFC  SHCTDFIWGF
61  GKQGFQCQVC  CFVVKHRCHE  FVTFSCPGAD  KGPDTDDPRS  KHKFKIHTYG  SPTFCDHCGS
121 LLYGLIHQGM  KCDTCDMNH  KQCVINVPSL  CGMDHTEKRG  RIYLKAEVAD  EKLHVTVRDA
181 KNLIPMDPNG  LSDPYVKLKL  IPDPKNESKQ  KTKTIRSTLN  PQWNESFTFK  LKPSDKDRRL
241 SVEIWDWDR  TRNDFMGSLS  FGVSELMKMP  ASGWYKLLNQ  EGEYYNVPI  PEGDEEGNME
301 LRQKFEEKAKL  GPAGNKVISP  SEDRKQPSNN  LDRVKLTFDN  FLMVLGKGSF  GKVMLADRK
361 TEELYAIKIL  KKDVIQDDD  VECTMVEKRV  LALLDKPPFL  TQLHSCFQTV  DRLYFVMEYV
421 NGGDLMYHIQ  QVGKFKEPQA  VFYAAEISIG  LFFLHKRGII  YRDLKLDNVM  LDSEGHKIA
481 DFGMCKEHMM  DGVTTTRTF  TPDYIAPEII  AYQPYGKSVD  WWAYGVLLYE  MLAGQPPFDG
541 EDEDELFSI  MEHNVSPKS  LSKEAVSICK  GLMTKHPAKR  LGCGPEGERD  VREHAFFRRI
601 DWEKLENREI  QPPFKPKVCG  KGAENFDKFF  TRGQPVLTTP  DQLVIANIDQ  SDFEGFSYVN
661 PQFVHPILQS  AV
    
```

[0163] 특정 실시양태에서, PKC는 하기 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 코딩 영역은 굵은체 및 밑줄체로 표시되어 있다 (NCBI 수탁 번호: NM_002737.2 (서열식별번호 8), 그 전문이 본원에서 참조로 포함):

```

1  ggccgcagct ccccgccgga ggcaagaggt ggttgggggg gaccatgggct gacgttttcc
61  cgggcaacga ctccacggcg tctcaggacg tggccaaccg cttcgcccg aaaggggcgc
121 tgaggcagaa gaacgtgcac gaggtgaagg accacaaatt catcgcgcg tcttccaagc
181 agccacacct ctgcagccac tgcaccgact tcatctgggg gtttgggaaa caaggcttcc
241 agtgccaagt ttgctgtttt gtggtccaca agaggtgcc aagaatttgt actttttctt
301 gtccgggtgc ggataaggga cccgacactg atgaccccg gagcaagcac aagttcaaaa
361 tccacactta cggaagcccc accttctgcg atcactgtgg gtactgtct tatggactta
421 tccatcaagg gatgaaatgt gacacctgcg atatgaacgt tcacaagcaa tgcgtcatca

```

[0164]

```

481 atgtccccag cctctgcgga atggatcaca ctgagaagag ggggcggatt tacctaagg
541 ctgaggttgc tgatgaaaag ctccatgtca cagtacgaga tgcaaaaaat ctaatcccta
601 tggatccaaa cgggctttca gatccttatg tgaagctgaa acttatctct gatcccaaga
661 atgaaagcaa gcaaaaaacc aaaacccatc gctccacact aaatcccgag tggaatgagt
721 cctttacatt caaattgaaa ccttcagaca aagaccgacg actgtctgta gaaatctggg
781 actgggatcg aacaacaagg aatgacttca tgggatccct ttcctttgga gtttcggagc
841 tgatgaagat gccggccagt ggtggtaca agttgcttaa ccaagaagaa ggtgagtact
901 acaacgtacc cattccggaa ggggacgagg aaggaaacat ggaactcagg cagaaattcg
961 agaaagccaa acttggccct gctggcaaca aagtcacag tccctctgaa gacaggaaac
1021 aaccttccaa caaccttgac cgagtgaaac tcacggactt caatttctct atggtgttgg
1081 gaaaggggag ttttgaaaag gtgatgcttg ccgacaggaa gggcacagaa gaactgtatg
1141 caatcaaaat cctgaagaag gatgtggtga ttccaggatg tgacgtggag tgccaccatg
1201 tagaaaagcg agtcttggcc ctgcttgaca aacccccgtt ctgacgcag ctgcactcct
1261 gcttccagac agtggatcgg ctgtacttcg tcatggaata tgtcaacggg ggggacctca
1321 tgtaccacat tcagcaagta ggaatttata aggaaccaca agcagtattc tatcggcag
1381 agatttccat cggattgttc tttcttcata aaagaggaat catttatagg gatctgaagt
1441 tagataaacg catgttggtg tcagaaggac atatacaaat tgctgacttt gggatgtgca
1501 aggaacacat gatggatgga gtcacgacca ggacctctgt tgggactcca gattatctg
1561 cccagagat aatgccttat cagccgtatg gaaaatctgt ggactggtgg gcctatggcg
1621 tctctgtgta tgaatgctt gccgggcagc ctccatttga tggtagaat gaagcagagc
1681 tatttcagtc tatcatggag cacaacgttt cctatccaaa atccttgtcc aaggaggctg
1741 tttctatctg caaaggactg atgacaaaac acccagccaa gcggctgggc tgtgggcctg
1801 aggggggagag ggacgtgaga gagcatgcct tcttccggag gatcgactgg gaaaaactgg
1861 agaacaggga gatccagcca ccattcaagc ccaagtggtg tggcaaaagg gcagagaact
1921 ttgacaagtt cttcacacga ggacagcccg tcttaacacc acctgatcag ctggttatgt
1981 ctaacataga ccagctctgat tttgaagggt tctcgtatgt caacccccag tttgtgacc
2041 ccatcttaca gagtgcagta tgaaaactcac cagcgagaac aaacacctcc ccagcccca
2101 gcctcccccg cagtgggaag tgaatcctta accctaaaa tttaaaggcca cgccttggtg
2161 tctgattcca tatggaggcc tgaaaattgt agggttatta gtccaaatgt gatcaactgt
2221 tcagggtctc tctcttaca ccaagaacat tatcttagtg gaagatggta cgtcatgctc
2281 agtgtccagt ttaattctgt agaagttaag tctggctcta ggttaacct cctagaaaag
2341 caagcagact gttgccccat tttgggtaca atttgatata ctttccatac cctccatctg
2401 tggatttttc agcattgga tcccccaacc agagatgtta aagttagcct gtcccaggaa
2461 acatctccac ccaagacgtc tttggaatcc aagaacagga agccaagaga gtgagcaggg
2521 agggattggg ggtgggggag gcctcaaaat accgactgcg tccattctct gcctccatgg
2581 aaacagcccc tagaatctga aaggccggga taaacctaat cactgttccc aaacattgac
2641 aaatcctaac ccaaccatgg tccagcagtt accagtttaa acaaaaaaac ctcagatgag
2701 tgttgggtga atctgtcatc ctgggttgat aactgtcttg atacttttca atacttttca
2761 tctttgtaa gaggccaaat cgtctaagga cgttgctgaa caagcgtgtg aaatcatttc
2821 agatcaagga taagccagtg tgtacatatg ttcattttaa tctctgggag attattttcc
2881 catccagggt gccatcagta atcatgccac tactaccag tgttgttcgc caacaccacc
2941 cccacacac accaacattt tgctgcctac cttgttatcc tctcaagaa gctgaagtgt
3001 acgcccctct cccttttgtg ctattttatt taataggctg cagtgtcgct tatgaaagta
3061 cgatgtacag taacttaagt gaagtgtcga ctctagcatc agcctctacc gattgatttt
3121 cctcccttct ctagccctgg atgtccactt agggataaaa agaatatggt tttggttccc
3181 atttctagtt caggttgaat gacaggcctg gagctgtaga atcaggaaac ccggatgcct
3241 aacagctcaa agatgttttg ttaatagaag gattttaata cgttttgcaa atgcatcatg
3301 caatgaattt tgcattgta taataaacct taataacaag tgaatctata ttattgatat
3361 aatcgtatca agtataaaga gattattata ataattttat aagacacaat tgtgctctat
3421 ttgtgcaggt tcttgtttct aatcctcttt tctaattaag ttttagctga atcccttgct
3481 tctgtgcttt ccctccctgc acatgggcac tgtatcagat agattacttt ttaaattgtag
3541 ataaaaattc aaaaatgaat ggctagttta cgtgatagat taggctctta ctacatatgt
3601 gtgtgtatat atatgtattt gattctacct gcaaaaaat ttttattggg gaggactatt
3661 tttgagctga cactccctct tagtttcttc atgtcacctt tctcctggg tctcccgcca
3721 ctcttctctc tggggacaac aggaagtgtc tgattccagt ctgcctagta cgttgggtaca
3781 cagtggtgat tgccgcagca cctgggctga cctttgtgtg tgcgtgtgtg tgtgtttcct
3841 tcttcccttc agcctgtgac tgttgctgac tccagggggt ggagggatgg ggagactccc
3901 ctcttctgtg gtgtactgga cagcagggaa gcatgctgtc ttgctgcctc tgcaacgacc
3961 tgtcgtttgc tccagcatgc acaaaactcg tgagaccaac acagccgtgc cctgcaggca
4021 ccagcacgtg cttttcagag gctgcggact tcttccagc cattgtggca ttggccttcc
4081 cagtcttggg agggagcgcg tgccttgggt agacacccc atgcaaggct ctcagagtag

```

[0165]

4141 ccgggtttcta ccacaaacag aaacagaatg aaagtagctg tcagtccttg tagagagccg
4201 ctctgtttcc tcccagaagc atctcccagc taagctcgca ttattttttct cctctggctg
4261 tttgcctgaa gttcacagaa cacacaacca tgaagggtt tttgaggtga gaggccagg
4321 tggctcctggc aaccctgagt agaaggagag acggggtagg gaacggggcc gccagaaaa
4381 gaaccatttc ttctggccatc ttttatgcac catagacatc gagactccag ggggtcctgg
4441 ctccctgtc cctgcagccc tgcaggtcag tgcattgatc gggttcgtgt cctgaccagg
4501 tgctcctcct ttgatccgag gggaaagga ctggtttata gaaagagcct aggagacaaa
4561 agggccagtc cccctgcca gaatggagca gcagcaggac agacccccc gaggccccc
4621 agagaggagg aagatccac ggaggaaacac atgaggttag ggaccttgt tcagacccc
4681 aaacagcctg cctgttttaa gcaggcagca ggcctaggcc ttccctgcaa ccccaacacc
4741 cacaagtttg tttctctagg aaacacattc actgtctcag ctggctgtta ctctctcaga
4801 ccatatggca aagttttcca agaaaatgcc ccgacagggg tgcccagcac actgcctgag
4861 ggacaacaga catcagaaca aaccccaga gaaaaacagt caaatcagg gcccggtgca
4921 gtgttgtcat gtggaacctg ctttatccat tgctgagtg tgaatgtggg taatggttag
4981 ggctttccag atctcagcag ccaaagacag ttattgttg aagactgtca tgtagataac
5041 catgagcaat ggctgcctc agaatcagtt cataaaattc tatggtactg gccctctcgt
5101 ggggtattgt tgaaatgaga ttggtggcag ggtgctgctg tggaaactgc gcagccacgc
5161 aggaagtccc tgggggatgc tttgggaagt ccttgccctc gagcactgcc tgattgccag
5221 ggctgtgga ggtctaggcc gcctggcaga atctagcacc gtccgaatcc ccgcaggacc
5281 catggagcta tgaccacacc aggcattca aatggctctg cattatcttc ccttggaagg
5341 tggccactcc tcggtggcag ggcctttccc tgaggctgca ggcctgggc tggcagccc
5401 tctcttgcca ttcaattga aggtcaccag gtgctgggt tgaaaggaa tcaactggag
5461 gctgccaggg gccgcccctc aaggttaatg agaggccac atccaggcaa gaactaattc
5521 aaaaggcaga tcagaaacca caggagtcaa aattattgct ccggcagtg tcctcttctc
5581 ttcatcact ggctcctgt ggtccatgca gggccactgt ctgccccttc tgatgccacg
5641 tattaggctt tcttactcag aattttgata gaaaaccatg gggccaagag ctctggaagc
5701 ctggccggaa agaccaaggt tcactgcagc caacaaatga ttgttgagca cctctcgag
5761 ccaaagtccg taggcagtg ttggtgactc ctggaaggag gatgcagact tccagagagc
5821 ccccccacg gacgtgctga gaaggagag ggaggcggg gctgtagtca ggaaggagcc
5881 agagaagaac aggggtttggg tgcattccga aatatgcctg cagtaggagg gagaggagg
5941 ggtgcccacc tcaacggctt cccatcgag gtggttggtg cagatggaag tttctgtctg
6001 ctggcccctc agagagtgtt ttgccaggga cacagtctgt tcctcctcag aaaacacccc
6061 ccaaatgcta acaacatccc caccagctgc tagaagcccc ttcccctcc ccacctgaa
6121 gtactcata gttctctggg cagagccaga ccatccagtg taccacagag gccagtaggt
6181 tctgtcccac ttctctctct ggctcctgc caagaattat ggcaactgag gatgaatgga
6241 gaagtaaaaa caactaacac cgcacaacta acaactaaca ccgcagttcc cactcggtt
6301 ccacttagca ggagacattt cggagggttt tttttgttt ttgtctctgt ttttttttt
6361 ttgctggaat ttgtttttct agtactgaaa agagaaaaag tgacaatott gtatttttaa
6421 aagcctcgga aaggtgatac catctgacag tcattttctc acgttggtct tctaaagtca
6481 cctatttctt gtgtgtgcac atcacaccat ttctgtttc ttataaccc gacaagggtg
6541 ggagtgctg tttcccctgc tgggcacacc agacaatcgt aatcacaaaa cagacactga
6601 gccaggggcc caaagggtgt gatcatgaga gttaccggga cagcagtagg catgacagtc
6661 accagggaag acaagggtgc tctgttggtg gtggccacac accaatttga caaggagtg
6721 tgcgaaattt ttattttatt atttatttat tttagatgg agtttctc tttgtgccc
6781 ggctggagtg cgggtgtaca atctcggtc actgcacact ccacctccca ggttcaagcg
6841 attctcctgc ctacgcctcc caagtacctg ggactacagg tgcgtgccac cacaccagc
6901 taaattttgt gtttttagta gagatgggtt ttcaccatgt tggccaggat ggtcttgaac
6961 cctgacctc atgatctgcc tgccctcgcc tcccaagtg ctgggattac aggcagagc
7021 caccacgccc agccaaaata tttttttaa gtcattttcc ttaagctgct tgggtacat
7081 gtgaaataca ctggacggtc aacattcctg tctcctccca ttgggctga tgcagcagat
7141 ccagggaagt ttacctgttt ctgctgctag aagatccagg aaattgggaa ggttacctga
7201 cgcacacatg gatgaaggcc atcatctaga aatggggtca accacaattg tgttaattcc
7261 gtatgttcag ggattcttcg ggaagggtca cagtatgaag gattctgacc cctgtgctc
7321 ccatttatgt gatcaggtga cagttaataa ccgtggaggt cacactcag catccaacag
7381 ccttacagt accctacaca aaagccccc aattccaaag actttttctt aacctaaagg
7441 aagaaattat ttgttaattc cagtagagca actgaatata ctgggctatt tgtactttt
7501 tatagagaac ttttaataata atctttttaa aatgagtttt tagaacaag caactgacga
7561 tttctaaaga ttccaatgcc ctggagcttg taggaggact tagcctgggt cagctggagc
7621 acccccagcc tgatctccca ctgccagatt ttccatgct ctaggggtat ggagtccacg
7681 tgggaatgac tgcaagtcca ggtggaactt ggccgactga tgctctgcga gtttttaata
7741 gacactgggg acaactgctt aaggtttaga aacttccaaa ccacaggaaa gacattttta

[0166]

7801 gtgtccccc tccagaggca gccctggaat aggattccca ggggtttctg ggacctttt
7861 cctgtctccg tgaggctctg tggccatctt ttggcaggag gaggatgctt ccttggtctc
7921 gtgcccagac ccgctctgtc ccaggtctc tcaccttggg tgaagattca gagatgccct
7981 gtaaggattt tgcccactgg gcaactcaga aatacttcca tctcccaaga tataaggagc
8041 agcagcaaac gtgcctattg acgtctgttt catagttaac acttacgcga gtagacagaa
8101 ctcggtcttt cagaaaaatg gtgtcaagtc cactttataa gaacctttt ttctaaaaa
8161 agataaaagg tggctttgca tttctgtatt aaacgactgt gtctttgtca cctctgctta
8221 actttaggag tatccattcc tgtgattgta gacttttgtt gatattcttc ctggaagaat
8281 atcattcttt tcttgaagg ttggtttact agaattattc aaatcaatca tgaaggcagt
8341 tactattttg agtctaagg ttttctaaaa attaacctca catccctctg tttagggtct
8401 ttcagaatat cttttataaa cagaagcatt tgaagtcatt gcttttgcta catgatttgt
8461 gtgtgtgaag gacataccac gtttaaatca ttaattgaaa aacatcatat aagcccaac
8521 tttgtttgga ggaagagac gaggttgagg ttttcttc tgtataagca cctactgaca
8581 aaatgtagag gccattcaac cgtcaaacac catttggtta tatcgagag gagacggatg
8641 tgtaaatatc tgcatctcct tttttttcag ttgtataaac ctctaactc cgtttgcatg
8701 atacgctttg ttgaaaacat taattgtagt ttggaagcaa gtgtgtatga ataaagataa
8761 tgatcatctc aaaaaaaaa aaaaaaa

[0167]

[0168] 포스포리파제 C (PLC) 또는 이노시톨 트리포스페이트 (IP3)의 발현 또는 활성을 감소시키는 작용제

- [0169] 일부 예에서, 혈관확장제로 작용하는 특정 작용제는 PLC 또는 IP3의 활성 또는 발현을 차단하는 것으로 사용된다. 실시양태에서, PLC 억제제는 U-73122, U73343, 및 ET-18-OCH₃을 포함한다. 실시양태에서, IP3 억제제는 2-APB 및 제스토스폰진(Xestospongin) C를 포함한다. 실시양태에서, 작용제는 히드랄라진을 포함한다. 억제제는 단독으로 또는 조합하여 사용될 수 있다는 것이 고려된다. 실시양태에서, PLC 또는 IP3 억제제, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또한 본원에서 고려된다.
- [0170] 특정 실시양태에서, PLC 또는 IP3의 활성 또는 발현을 감소시키는 작용제는 약 0.001 mg/kg 내지 약 250 mg/kg 체중, 예컨대, 0.001 mg/kg, 0.05 mg/kg, 0.01 mg/kg, 0.05 mg/kg, 1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 25 mg/kg, 50 mg/kg, 75 mg/kg, 100 mg/kg, 125 mg/kg, 150 mg/kg, 175 mg/kg, 200 mg/kg, 225 mg/kg, 또는 250 mg/kg 체중의 농도로 투여될 수 있다. 다른 실시양태에서, 작용제는 더 높은 농도로, 예컨대, 최대 1,000 mg/kg의 농도로 투여될 수 있다는 것이 고려된다.
- [0171] 일부 실시양태에서, 안드로겐 길항제와 함께하는 조합 요법이 고려된다(예컨대, 항안드로겐제). 항안드로겐제는 안드로겐, 예컨대, 테스토스테론 및 디히드로테스토스테론 (DHT)이 체내에서 그의 생물학적 효과를 매개하지 못하도록 막는 약물 부류이다. 이는 안드로겐 수용체 (AR)를 차단하고/거나, 안드로겐 생산을 억제시킴으로써 작용한다. 예시적인 항안드로겐제로는 하기의 것을 포함한다:
- [0172] **안드로겐 수용체 길항제:** AR에 직접 결합하고, 그를 차단하는 약물. 이들 약물로는 스테로이드성 항안드로겐제 시프로테론 아세테이트, 메게스트롤 아세테이트, 클로르마디논 아세테이트, 스피로놀락톤, 옥센돌론, 및 오사테론 아세테이트 (수의학) 및 비스테로이드성 항안드로겐제 플루타미드, 비칼루타미드, 닐루타미드, 토필루타미드, 엔잘루타미드, 및 아팔루타미드를 포함한다. 시프로테론 아세테이트 및 클로르마디논 아세테이트 외에도, 디에노게스트, 드로스피레논, 메드로게스톤, 노메게스트롤 아세테이트, 프로메게스톤, 및 트리메게스톤을 비롯한, 경구 피임제 및/또는 폐경 HRT에서 사용되는 수개의 다른 프로게스틴 또한 다양한 정도의 AR 길항성 활성을 갖는다;
- [0173] **안드로겐 합성 억제제:** 테스토스테론 및/또는 DHT와 같은 안드로겐의 효소적 생합성을 직접 억제시키는 약물. 예로는 CYP17A1 억제제, 케토코나졸, 아비라테론 아세테이트, 및 세비테로넬, CYP11A1 (P450_{scc}) 억제제, 아미노글루테티미드, 및 5 α -리덕타제 억제제, 피나스테리드, 두타스테리드, 에프리스테리드, 알파트라디올, 및 톱야자(saw palmetto) 추출물 (세레노아 레펜스(Serenoa repens))을 포함한다. 시프로테론 아세테이트, 스피로놀락톤, 메드로게스톤, 플루타미드, 닐루타미드, 및 비플루타놀을 비롯한 다수의 다른 항안드로겐제 또한 안드로겐 합성을 약하게 억제시키는 것으로 알려져 있다.
- [0174] **항고나도트로핀제:** 고나도트로핀의 고나도트로핀-방출 호르몬 (GnRH)-유도 방출, 및 그 결과로 일어나는 생식선 안드로겐 생산의 활성화를 억제시키는 약물. 예로는 GnRH 조정제, 예컨대, 류프로렐린 (GnRH 효능제) 및 세트로렉스 (GnRH 길항제), 프로게스토젠제, 예컨대, 알릴레스트레놀, 클로르마디논 아세테이트, 시프로테론 아세테이트, 게스토노론 카프로에이트, 히드록시프로게스테론 카프로에이트, 메드록시프로게스테론 아세테이트, 메게스트롤 아세테이트, 오사테론 아세테이트 (수의학), 및 옥센돌론, 및 에스트로겐, 예컨대, 에스트라디올, 에스트라디올 에스테르, 에티닐에스트라디올, 접합된 에스트로겐, 및 디에틸스틸베스트롤을 포함한다.
- [0175] **추가 예:** 상기 이외의 수단에 의해 안드로겐의 효과를 방해하는 약물. 예로는 간에서의 성 호르몬-결합 글로불린 (SHBG) 생산을 자극하여 테스토스테론 및 DHT의 유리 수준, 및 이에 의해 생체활성 수준을 감소시키는 에스트로겐, 특히, 경구 및 합성(예컨대, 에티닐에스트라디올, 디에틸스틸베스트롤) 에스트로겐; 부신피질자극 호르몬 (ACTH) 유도성 부신 안드로겐 생산을 억제시키는 항코르티코트로핀제, 예컨대, 글루코코르티코이드; 및 (오직 수의학에서만 사용되는) 안드로겐 및 안드로겐 전구체 안드로스테네디온에 대한 항체 생성을 통해 안드로겐의 수준을 감소시키는, 안드로스테네디온, 예컨대, 오반드로톤 알부민 및 안드로스테네디온 알부민에 대한 이뮤노젠 및 백신을 포함한다.
- [0176] 결합 조직 장애
- [0177] 결합 조직 질환은 기관 및 신체의 다른 부분을 지지하는 단백질이 풍부한 조직이 관여하는 장애 군을 지칭한다. 결합 조직의 예로는 지방, 뼈 및 연골이 있다. 이러한 장애는 종종 관절, 근육 및 피부를 포함하지만, 눈, 심장, 폐, 신장, 위장관 및 혈관을 비롯한 다른 기관 및 기관계 또한 포함할 수 있다. 결합 조직에 영향을 미치는 장애로는 200가지가 넘는다. 원인과 특정 증상은 상이한 유형에 따라 달라진다.
- [0178] 본 조성물 및 방법으로 잠재적으로 치료가능한 조직 질환 (예컨대, 상피, 결합, 근육 및 신경 조직)의 예로는 하기: 자가면역, 퇴행성, 염증성, 감염성, 암성, 바이러스성, 진균, 부상 또는 외상 유래 질환을 포함하나, 이

에 제한되지 않는다. 이들 조직 및/또는 기관 질환은 원발성 질환일 수 있거나, 또는 기존 질환 및/또는 질병에 의해 유발될 수 있다. 예로는 아밀로이드증, 심방 세동, 경련, 경련, 피부근염, 연골증, 섬유증, 요통, 유전성 결합 조직 장애 (예컨대, 마르판 증후군, 페이로니 질환(Peyronie's disease), 엘러스-단로스 증후군, 골형성부전증, 스틱클러 증후군(Stickler syndrome), 알포트 증후군(Alport syndrome), 선천성 구축성 거미손가락증), 자가면역 결합 조직 장애 (예컨대, 전신 홍반성 루푸스 (SLE), 류마티스 관절염, 피부경화증, 쇼그렌 증후군, 혼합 결합 조직 질환, 건선성 관절염), 괴혈병, 근육 질환 (예컨대, 근육 종양, 근이영양증, 불용성 위축, 탈신경 위축, 듀시엔형 근이영양증(Duchenne muscular dystrophy), 안면건감상완형 근이영양증), 간 질환 중증 근무력증, 근병증, 근염, 골수 근염, 암, 섬유근통, 근육 피로, 경련, 근긴장, 염좌, 긴장, 뇌 손상, 척수 손상, 신경교종, 신경표피종, 고혈압, 심혈관 질환, 당뇨병, 알츠하이머병, 방광염, AIDS, 구루병 및 신경초 종양을 포함한다. 질환에 의해 영향을 받고, 본원에 기술된 조성물 및 방법으로 치료될 수 있는 조직, 기관 및/또는 신체 체계의 예로는 하기: 면역계, 감각 기관 (예컨대, 미각, 후각, 시각, 청각), 소화계 (예컨대, 입, 구, 혀, 인두, 식도, 복부, 위, 소장, 대장, 간, 췌장), 비뇨 생식기, 내분비계, 신진대사, 심혈관계 (예컨대, 심장, 혈압, 동맥), 혈액학 (예컨대, 혈액 화학), 비뇨기 기관 (예컨대, 신장, 요관, 방광, 남성 요도, 여성 요도, 남성 생식기 (예컨대, 고환 및 그외의 막, 정관, 정낭, 사정관, 페니스, 전립선, 요도구선), 여성 생식기 (예컨대, 난소, 자궁관, 자궁, 질, 클리토리스, 바르톨린선(Bartholin's gland), 외부 기관, 유륜(mammae)), 내분비선 (예컨대, 갑상선, 부갑상선, 흉선, 뇌하수체, 송과체, 크로마필(chromophil) 및 피질 시스템, 비장), 생식계, 호흡계 (예컨대, 후두, 기관, 기관지, 흉막, 종격, 폐), 중추 신경계 (예컨대, 신경, 신경 섬유), 피부, 상피 (예컨대, 단층, 중층, 거짓중층 원주, 샘), 결합 (예컨대, 성긴 결합 (예컨대, 유륜, 지방, 세막), 및 치밀 결합 (예컨대, 치밀 규칙, 치밀 불규칙)), 연골 (예컨대, 히알린, 탄력, 섬유), 근육 (예컨대, 골격근 (예컨대, 타입 I, II, IIa, IIx, IIb), 심근, 평활근), 신경 (예컨대, 뉴런 (예컨대, 운동 뉴런, 인터뉴런, 감각 뉴런), 신경교, 척수, 신경, 뇌)가 있지만, 이에 제한되지 않는다.

[0179] 실시양태에서, 결합 조직 장애는 혈관병증 (예컨대, 혈관형 엘러스-단로스 증후군), 마르판 증후군, 로이-디에즈 증후군, 또는 가족성 흉부 대동맥 동맥류를 포함한다.

[0180] 엘러스-단로스 증후군 (EDS)

[0181] 엘러스-단로스 증후군 (EDS)은 유전적 결합 조직 장애 군이다. 증상으로는 느슨한 관절, 신축성이 있는 피부 및 비정상적인 흉터 형성이 포함될 수 있다. 이들은 출생시 또는 유아기에 관찰될 수 있다. 합병증은 대동맥 박리, 관절 탈구, 척추 측만증, 만성 통증, 또는 조기 골관절염을 포함 할 수 있다.

[0182] EDS는 12개 초과와 다른 유전자 중 하나에서의 돌연변이에 기인하는 것이다. 영향을 받는 특정 유전자가 특정 EDS를 결정한다. 일부 경우는 초기 발생 동안 발생하는 새로운 돌연변이로부터 초래되는 반면, 다른 경우는 상염색체 우성 또는 열성 방식으로 유전된 것이다. 이는 콜라겐의 구조 또는 프로세싱에 결함을 초래한다. 진단은 유전자 검사 또는 피부 생검으로 확인될 수 있다. 사람들은 건강염려증, 우울증 또는 만성 피로 증후군으로 진단받을 수도 있다.

[0183] 현재까지 치유법은 알려지지 않았지만, 물리적 요법 및 브레이싱은 근육 강화 및 관절 지지에 도움을 줄 수 있다. 일부 장애는 정상적인 기대 수명을 초래하지만, 혈관에 영향을 미치는 장애는 일반적으로 기대 수명을 단축시킨다. EDS는 전 세계적으로 5,000명의 사람들 중 약 1명이 앓고 있고, 예후는 특정 장애에 의존한다.

[0184] EDS 분류

[0185] **과운동형 EDS (3형 hEDS)**는 주로 크고 작은 관절에 영향을 미치는 관절 과운동성을 특징으로 하는데, 이는 관절 탈구 및 아탈구 (부분 탈구)를 유발할 수 있다. 일반적으로, 이러한 유형을 앓는 사람은 근육 및/또는 뼈에 힘이 쉽게 들고, 만성 통증이 있으며, 연하고, 부드럽고 벨벳 같은 피부를 갖는다. 이러한 유형의 EDS를 유발하는 돌연변이는 알려져 있지 않다. 다른 유형보다 더 적은 양의 피부에서 병발하는 것으로 관찰된다. 이 유형에 대해 이용가능한 유전자 검사는 없다.

[0186] **고전형 EDS (1형 cEDS)**는 연약하고, 쉽게 힘이 드는, 매우 탄력적이고 (신축성이 있고), 부드러운 피부; 넓은, 위축성 흉터 (편평 또는 함몰 흉터); 및 관절 과운동성과 연관이 있다. 몰루스코이드 가성종양(molluscoid pseudotumor) (예컨대, 팔꿈치와 같은 압력점에 석회화 한 혈종) 및 스페로이드(spheroid) (팔뚝 및 정강이 상의 지방 함유 낭종) 또한 빈번하게 관찰된다. 긴장저하 및 운동 발달 지연이 발생할 수 있다. 이러한 유형의 EDS를 유발하는 돌연변이는 유전자 COL5A1, COL5A2, 및 COL1A1에 있다. 이는 hEDS보다 더 많은 피부에서 병발한다.

- [0187] **혈관형 EDS (4형 vEDS)**는 매우 연약하고, 쉽게 멍이 드는, 얇고, 반투명한 피부를 특징으로 한다. 동맥 및 특정 기관, 예컨대, 장 및 자궁 또한 연약하고, 파열되기 쉽다. 이러한 유형을 앓는 사람은 전형적으로 키가 작고, 두피가 얇다. 또한 큰 눈, 보통보다 작은 턱, 홀쭉한 볼, 얇은 코와 입술, 킷볼이 없는 귀를 비롯한 특징적인 얼굴 특징을 갖는다. 관절 과운동성이 존재하지만, 일반적으로는 작은 관절 (손가락, 발가락)에 국한되어 있다. 다른 공통된 특징으로는 만곡족, 힘줄 및/또는 근육 파열, 선단노변 (손과 발 피부의 조기 노화), 조기 발병 정맥류성 정맥, 기흉 (폐의 붕괴), 잇몸 퇴축, 및 피부 아래 지방량 감소를 포함한다. 이는 *COL3A1* 유전자 중의 돌연변이에 의해 유발될 수 있다.
- [0188] **후측만증형 EDS (6형 kEDS)**는 출생시 심한 저혈압, 운동 발달 지연, 진행성 척추 측만증 (출생시부터 존재), 공막 연약성과 연관이 있다. 이환된 사람들은 또한 파열되기 쉬운, 쉽게 멍이 들고, 연약한 동맥, 비정상적으로 작은 각막, 및 골감소증 (낮은 골 밀도)을 가질 수 있다. 다른 공통된 특징으로는 길고, 가느다란 손가락 (거미손가락증), 비정상적으로 긴 팔다리, 오목 가슴 (함몰흉) 또는 돌출 가슴 (돌출흉)을 특징으로 하는 "마르파노이드 습관증(marfanoid habitus)"을 포함한다. 이는 유전자 *PLD1* 중의 돌연변이에 의해 유발될 수 있다.
- [0189] **관절이완증형 EDS (7A형 & B형 aEDS)**는 심한 관절 과운동성 및 선천성 고관절 탈구를 특징으로 한다. 다른 공통된 특징으로는 쉽게 멍이 드는, 연약하고, 탄력적인 피부, 저혈압, 후측만증 (후만증 및 척추 측만증), 및 경증 골감소증을 포함한다. I형 콜라겐이 일반적으로 영향을 받는다. 이는 매우 희귀하며, 약 30건의 사례가 보고되어 있다. 과운동성 유형보다 더욱 중증이다. 유전자 *COL1A1* 및 *COL1A2* 중의 돌연변이가 이를 유발한다.
- [0190] **피부아포축형 EDS (7C형 dEDS)**는 심함 멍 및 흉터로 이어지는, 매우 연약한 피부; 특히 얼굴의 축 처진 여분의 피부; 및 헤르니아와 연관이 있다. 이는 매우 희귀하며, 약 10건의 사례가 보고되어 있다.
- [0191] 취성 각막 증후군은 얇은 각막, 조기 발생 진행성 구상각막 또는 원추각막, 및 청색 공막을 특징으로 한다. 고전형 증상, 예컨대, 과운동성 관절 및 탄력파다 피부 또한 자주 관찰된다.
- [0192] **유사 고전형 EDS (1형 cEDS)**는 피부 질감이 벨벳 같고, 위축성 흉터가 없는 피부 신장과다, 재발성 탈구 (대개는 어깨 및 발목)를 동반 또는 동반하지 않는 전신 관절 과운동성, 및 쉽게 멍이 드는 피부 또는 자발적 출혈 (아래에서의 출혈로 인한 피부 변색)을 특징으로 한다.
- [0193] **척추이형성형 EDS (spEDS)**는 작은 키 (아동기때 진행성), 근긴장저하 (범위가 중증의 선천성에서부터 경증의 후기 발병까지), 및 사지 만곡을 특징으로 한다.
- [0194] **근구축형 EDS (mcEDS)**는 선천성 다발 구축, 특징적으로 내전-굴곡 구축 및/또는 내번침족 (만곡족), 출생시 또는 조기 유아시에 뚜렷한, 특징적인 두개안면 특징, 및 예컨대, 피부 신장과다, 멍이 드는 타박상, 위축성 흉터가 있는 피부 연약성, 및 손바닥 주름 증가와 같은 피부 특징을 특징으로 한다.
- [0195] **근병증형 EDS (mEDS)**는 노화됨에 따라 개선되는 선천성 근긴장저하 및/또는 근육 위축, 근위 관절 구축 (무릎, 고관절 및 팔꿈치 관절), 및 원위 관절 (발목, 손목, 발 및 손 관절)의 과운동성을 특징으로 한다.
- [0196] **치주증형 EDS (pEDS)**는 조기 발병의 중증의 난치성 치주염 (아동기 또는 청소년기), 부착된 잇몸 결핍, 전경골 플라크, 및 임상 기준을 충족하는 1급 친척의 가족력을 특징으로 한다.
- [0197] **심장-관막형 EDS (cvEDS)**는 중증 진행성 심장-관막 문제 (대동맥 판막, 승모판), 피부 문제 (신장과다, 위축성 흉터, 얇은 피부, 쉽게 멍이 드는 타박상), 및 관절 과운동성 (전신 또는 작은 관절로 국한)을 특징으로 한다.
- [0198] 치료 방법
- [0199] 본 개시내용은 혈관병증(vasopathy) 또는 결합 조직 장애 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 작용제를 투여함으로써 혈관병증 또는 결합 조직 장애 치료를 필요로 하는 대상체에서 혈관병증 (예컨대, vEDS) 또는 결합 조직 장애를 치료하는 방법이며, 여기서 작용제는 세포의 신호-조절된 키나제 (ERK) 또는 단백질 키나제 C (PKC)의 활성 또는 발현을 감소시키는 것인 방법을 제공한다. 본 방법은 추가로 포스포리파제 C (PLC) 또는 이노시톨 트리포스페이트 (IP3)의 활성 또는 발현을 감소시키는 작용제를 투여하는 것을 포함한다. 실시양태에서, 작용제는 혈관병증 (예컨대, vEDS) 또는 결합 조직 장애 치료에 유용한 의약 제조를 위한, 항체 또는 그의 단편, 폴리펩티드, 소분자, 핵산 분자, 또는 임의의 조합을 포함한다.
- [0200] 본 개시내용은 또한 조합 요법을 포함하는 방법을 제공한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "조합 요법" 또는 "공동 요법"은 작용제 (예컨대, 효능제, 길항제 또는 억제제) 및 추가 활성제의 공동 작용으로부터 유익한 효과를 제공하고자 하는 것으로 의도되는 치료 요법의 일부로서, 치료 유효량의 작용제 (예컨대, ERK, PKC 및/또는

PLC 또는 IP3의 활성화 또는 발현을 감소시키는 작용제), 또는 그의 제약상 허용되는 염을 본원에서 "활성 제약 성분" ("API")으로도 또한 지칭되는 적어도 하나의 추가 활성제와 함께 투여하는 것을 포함한다.

[0201] 하기 기술되는 실시양태에 따라, "추가 API"는 작용제 (예컨대, ERK, PKC 및/또는 PLC 또는 IP3의 활성화 또는 발현을 감소시키는 작용제)와 함께 조합 요법 양생법에서 투여되는 적어도 하나의 추가 API를 지칭하는 것을 이해한다. 추가로, 하기 기술되는 추가의 API들 중 하나 초과인 것이 요법에서 사용될 수 있다는 것을 이해한다. "조합 요법" 또는 "조합 요법 양생법"이라는 용어는 의도 또는 예측되지 않은 유익한 효과를 우연히 및 임의로 초래하는 별개의 단일요법 양생법의 일부로서 2개 이상의 치료 화합물의 투여를 포함하는 것으로 의도되지 않는다.

[0202] 바람직하게, 본원에서 논의되는 바와 같이 하나 이상의 추가 API와 함께 조합하여 작용제 (예컨대, 예컨대, ERK, PKC 및/또는 PLC 또는 IP3의 활성화 또는 발현을 감소시키는 작용제)를 포함하는 조성물을 투여하는 것은 치료받는 대상체에서 시너지 반응을 제공한다. 이와 관련하여, "시너지"라는 용어는 조합의 효능이 어느 단일 요법이든 그 단독의 상가 효과보다 효과가 더 크다는 것을 지칭한다.

[0203] 본 개시내용은 또한 혈관병증 (예컨대, vEDS) 또는 결합 조직 장애 치료를 위한 조합 요법을 포함하는 방법을 제공한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "조합 요법" 또는 "공동 요법"은 본원에 개시된 것과 같이, 적어도 하나의 추가의 작용제와 함께 본원에 기술된 화합물을, 상기 치료 화합물들의 공동 작용으로부터 유익한 효과를 제공하고자 하는 것으로 의도되는 특정 치료 요법의 일부로서 투여하는 것을 포함한다. 적어도 하나의 추가의 작용제는 치료제 또는 비-치료제일 수 있다. 조합의 유익한 효과는 치료 화합물들의 조합으로부터 초래되는 약동학적 또는 약력학적 공동 작용을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 조합의 유익한 효과는 또한 조합에서 또 다른 작용제와 연관된 독성, 부작용, 또는 유해 사례 완화에 관한 것일 수 있다. "조합 요법"은 우연히 및 임의로 본 개시내용의 조합을 초래하는 별개의 단일요법 양생법의 일부로서 상기 치료 화합물들 중 2개 이상의 것을 투여하는 것을 포함하는 것으로 의도될 수 있지만, 일반적으로는 그러한 것으로 의도되지 않는다.

[0204] 따라서, 특정 실시양태에서, 그를 필요로 하는 대상체는 미토겐 활성화 단백질 키나제/세포외 신호-조절된 키나제 (MEK), 세포외 신호-조절된 키나제 (ERK), 포스포리파제 C (PLC), 이노시톨 트리포스페이트 (IP3) 또는 단백질 키나제 C (pKC)의 발현 또는 활성을 억제시키는 하나 이상의 작용제를 투여받고, 이에 의해 ERK, PLC, IP3, 또는 PKC의 활성화는 억제된다.

[0205] 특정 실시양태에서, 그를 필요로 하는 대상체는 미토겐 활성화 단백질 키나제 (MAPK) 경로, 예컨대, RAS-RAF/MEK/세포외 신호-조절된 키나제 (ERK) 단백질 키나제와 연관된 하나 이상의 분자의 활성화 또는 발현을 억제시키는 하나 이상의 작용제를 투여받는다.

[0206] 조합 요법과 관련하여, 길항제 투여는 하나 이상의 추가의 작용제의 투여와 함께 동시에 또는 그에 순차적으로 이루어질 수 있다. 또 다른 측면에서, 조합 요법의 상이한 성분의 투여는 상이한 빈도로 이루어질 수 있다. 하나 이상의 추가의 작용제는 본 개시내용의 화합물 투여 이전 (예컨대, 5분, 15분, 30분, 45분, 1시간, 2시간, 4시간, 6시간, 12시간, 24시간, 48시간, 72시간, 96시간, 1주, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 8주, 또는 12주 전에), 상기 투여와 동시에, 또는 상기 투여 이후에 (예컨대, 5분, 15분, 30분, 45분, 1시간, 2시간, 4시간, 6시간, 12시간, 24시간, 48시간, 72시간, 96시간, 1주, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 8주, 또는 12주 후에) 투여될 수 있다.

[0207] 하나 이상의 추가의 작용제는 본원에서 더욱 상세하게 기술되는 바와 같이, 단일 투여 형태로 본 개시내용의 작용제와 함께 공동 투여용으로 제제화될 수 있다. 하나 이상의 추가의 작용제는 본 개시내용의 화합물을 포함하는 투여 형태와 별개로 투여될 수 있다. 추가의 작용제가 본 개시내용의 화합물과 별개로 투여될 때, 이는 본 개시내용의 화합물과 동일하거나, 또는 상이한 투여 경로에 의한 것일 수 있다.

[0208] 바람직하게, 하나 이상의 추가의 작용제와 함께 조합하여 본 개시내용의 작용제를 포함하는 조성물의 투여는 본 개시내용의 장애, 질환 또는 병태를 앓는 대상체에서 시너지 반응을 제공한다. 이와 관련하여, "시너지"라는 용어는 조합의 효능이 어느 단일 요법이든 그 단독의 상가 효과보다 효과가 더 크다는 것을 지칭한다. 본 개시내용에 따른 조합 요법의 시너지 효과는 조합물이 아닌 경우의 그의 용량 및/또는 빈도와 비교하여 조합 중 적어도 하나의 작용제를 더 낮은 투여량으로 및/또는 덜 빈번하게 투여하는 것을 사용할 수 있도록 허용할 수 있다. 시너지 효과는 조합 중 어느 한 요법을 단독으로 사용하는 것과 연관된 유해한 또는 원치않는 부작용의 회피 또는 감소로 나타날 수 있다.

[0209] "조합 요법"은 또한 비-약물 요법 (예컨대, 수술 또는 방사선 치료)과의 추가 조합으로 본 개시내용의 화합물을

투여하는 것을 포함한다. 조합 요법이 추가로 비-약물 치료를 포함하는 경우, 비-약물 치료는, 치료 화합물과 비-약물 치료의 조합의 공동 작용으로부터 유의한 효과가 달성되는 한, 임의의 적절한 시간에 수행될 수 있다. 예를 들어, 적절한 경우, 비-약물 치료가 치료 화합물의 투여에서 일시적으로 제거될 때, 유의한 효과는 아마도 수일 또는 심지어 수주까지 계속해서 달성된다.

[0210] 본원에 기술된 방법의 실시양태에서, 작용제 (예컨대, ERK, PKC 및/또는 PLC 또는 IP3의 활성화 또는 발현을 감소시키는 작용제)는 혈관병증 (예컨대, vEDS) 또는 결합 조직 장애를 치료하는 방법에서 단독으로, 또는 적어도 하나의 추가의 작용제와 함께 조합하여 투여될 수 있다. 실시양태에서, 작용제, 및 적어도 하나의 추가의 작용제는 단일 투여 형태로 투여된다. 또 다른 측면에서, 작용제 및 적어도 하나의 추가의 작용제는 별개의 투여 형태로 투여된다. 실시양태에서, 적어도 하나의 추가의 작용제는 치료제이다. 실시양태에서, 치료제는 혈관병증 (예컨대, vEDS) 또는 결합 조직 장애 치료를 위해 지시된 것이다. 또 다른 측면에서, 작용제는 혈관병증 (예컨대, vEDS) 또는 결합 조직 장애 치료용이 아닌 적어도 하나의 추가의 작용제, 예컨대, 조합 요법으로 투여되는 또 다른 활성화제와 연관된 독성 또는 유해 사례를 경감시키는 역할을 하는 제2 작용제와 함께 조합하여 투여된다.

[0211] 실시양태에서, 적어도 하나의 추가의 작용제는 표적화된 요법에 대한 것이고, 여기서 치료는 혈관병증 (예컨대, vEDS) 또는 결합 조직 장애, 혈관병증 (예컨대, vEDS) 또는 결합 조직 장애 진행에 기여하는 단백질, 또는 조직 환경을 표적화한다.

[0212] 일부 실시양태에서, 안드로겐 길항제 (예컨대, 항안드로겐제)와의 조합 요법이 고려된다. 항안드로겐제는 안드로겐, 예컨대, 테스토스테론 및 디히드로테스토스테론 (DHT)이 체내에서 그의 생물학적 효과를 매개하지 못하도록 막는 약물 부류이다. 이는 안드로겐 수용체 (AR)를 차단하고/거나, 안드로겐 생산을 저해 또는 억제시킴으로써 작용한다.

[0213] 실시양태에서, 예시적인 조합은 안드로겐 길항제 + PLC, IP3, PKC, 또는 ERK 억제제를 포함한다.

[0214] "치료 유효량"이라는 용어는 질환, 장애 또는 병태를 치료하거나, 그의 증상을 호전시키거나, 그의 중증도를 감소시키거나, 또는 그의 지속 기간을 감소시키거나, 또는 또 다른 요법의 치료 효과를 증진 또는 개선시키거나, 또는 확인된 질환, 장애 또는 병태를 예방하거나, 또는 검출가능한 치료 또는 억제 효과를 나타내는 데 충분한 양을 지칭한다. 효과는 관련 기술분야에 공지된 임의의 검정 방법에 의해 검출될 수 있다. 대상체에 대한 정확한 유효량은 대상체의 체중, 크기, 및 건강; 병태의 성질 및 정도; 및 투여를 위해 선택된 치료제 또는 치료제들의 조합에 의존할 것이다.

[0215] 유효량의 작용제는 1일 1회, 1일 2 내지 5회, 1일 최대 2회 또는 최대 3회, 또는 1일 최대 8회 투여될 수 있다. 실시양태에서, 작용제는 1일 3회, 1일 2회, 1일 1회, 3주 사이클로 14일 계속 투약 (1일 4회, 1일 3회 또는 1일 2회, 또는 1일 1회) 및 7일 휴약, 3주 사이클로 최대 5 또는 7일 계속 투약 (1일 4회, 1일 3회 또는 1일 2회, 또는 1일 1회) 및 14-16일 휴약, 또는 2일마다 1회, 또는 매주 1회, 또는 매 2주마다 1회, 또는 매 3주마다 1회 투여된다.

[0216] 작용제 (예컨대, ERK, PKC 및/또는 PLC 또는 IP3의 활성화 또는 발현을 감소시키는 작용제)의 유효량은 약 0.001 mg/kg 내지 약 1,000 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 100 mg/kg, 약 0.1 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 범위; 또는 상기 범위의 하단은 0.001 mg/kg 내지 900 mg/kg인 임의의 양이고, 상기 범위의 상단은 0.1 mg/kg 내지 1,000 mg/kg인 임의의 양인 임의의 범위 (예컨대, 0.005 mg/kg 내지 200 mg/kg, 0.5 mg/kg 내지 20 mg/kg)일 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 인정되는 바와 같이, 유효 용량은 또한 치료되는 질환, 투여 경로, 부형제 사용, 및 다른 치료적 처치와의 공동 사용, 예컨대, 다른 작용제 사용 가능성에 따라 달라질 것이다.

[0217] 더욱 구체적인 측면에서, 본 개시내용의 작용제 (예컨대, ERK, PKC 및/또는 PLC 또는 IP3의 활성화 또는 발현을 감소시키는 작용제)는 적어도 1주 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 36, 48주, 또는 그 초과) 동안 30-300 mg/일 (예컨대, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 또는 300 mg/일)인 투여량 요법으로 투여된다. 특정 실시양태에서, 본원에서 구현된 화합물(들)은 4 또는 16주 동안 100-300 mg/일인 투여량 요법으로 투여된다. 교대로 또는 후속하여, 본원에서 구현된 작용제는 8주 동안, 또는 임의적으로, 52주 동안 1일 2회에 걸쳐 100 mg인 투여량 요법으로 투여된다.

[0218] 본원에서 사용된 바와 같이, "그를 필요로 하는 대상체"는 질환, 장애 또는 병태를 앓는 대상체, 또는 전체 인구 대비 질환, 장애 또는 병태가 발생할 위험이 증가되어 있는 대상체이다. 바람직한 측면에서, 그를 필요로 하는 대상체는 혈관병증 (예컨대, vEDS) 또는 결합 조직 장애를 앓는 대상체, 또는 전체 인구 대비 혈관병증

(예컨대, vEDS) 또는 결합 조직 장애가 발생할 위험이 증가되어 있는 대상체이다. 그를 필요로 하는 대상체는 질환 또는 장애에 대해 현재 이용가능한 요법에 대해 "비-반응성"이거나, 또는 "난치성"인 대상체일 수 있다. 이와 관련하여, "비-반응성" 및 "난치성"이라는 용어는 요법에 대한 대상체의 반응이 질환 또는 장애와 연관된 하나 이상의 증상을 완화시키는 데 임상적으로 적절하지 않은 것을 지칭한다.

[0219] "대상체"는 포유동물을 포함한다. 포유동물은 예컨대, 임의의 포유동물, 예컨대, 인간, 영장류, 척추동물, 조류, 마우스, 래트, 가금류, 개, 고양이, 소, 말, 염소, 낙타, 양 또는 돼지일 수 있다. 바람직하게, 포유동물은 인간이다. "대상체" 및 "환자"라는 용어는 본원에서 상호교환적으로 사용된다.

[0220] 본 개시내용은 본원에 기술된 바와 같은 질환, 장애 또는 병태를 치료하기 단일요법을 제공한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "단일요법"은 그를 필요로 하는 대상체에게 단일 활성 또는 치료 화합물을 투여하는 것을 지칭한다. 바람직하게, 단일요법은 치료 유효량의 활성 화합물을 투여하는 것을 포함할 것이다. 예를 들어, 본 개시내용의 작용제를 이용하는 단일요법은 그를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량으로 투여될 수 있다. 단일요법은, 다중 활성 화합물의 조합이 투여되고, 바람직하게, 조합의 각 성분은 치료 유효량으로 존재하는 것인 조합 요법과 대조를 이룰 수 있다. 한 측면에서, 본 개시내용의 작용제를 이용하는 단일요법은 원하는 생물학적 효과를 유도하는 데 있어 조합 요법보다 효과가 더 크다.

[0221] 본원에서 사용된 바와 같이, "치료," "치료하는" 또는 "치료하다"는 질환, 병태, 또는 장애를 퇴치하기 위한 목적으로 환자를 관리 및 케어하는 것을 기술하고, 본 개시내용의 작용제를 투여하여 질환, 병태 또는 장애의 증상 또는 합병증을 완화시키거나, 또는 질환, 병태 또는 장애를 제거하는 것을 포함한다.

[0222] 본원에서 사용된 바와 같이, "예방," "예방하는" 또는 "예방하다"는 질환, 병태 또는 장애의 증상 또는 합병증 발병을 감소시키거나, 또는 제거하는 것을 지칭하고, 본 개시내용의 작용제를 투여하여 질환, 병태 또는 장애의 증상의 발병, 발생 또는 재발을 감소시키는 것을 포함한다.

[0223] 본원에서 사용된 바와 같이, "완화"라는 용어는 장애의 징후 또는 증상의 중증도를 감소시키는 프로세스를 기술하는 것으로 의도된다. 중요하게, 징후 또는 증상은 제거되지 않고 완화될 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 본 개시내용의 작용제의 투여가 징후 또는 증상을 제거하지만, 제거가 요구되지는 않는다. 유효 투여량은 징후 또는 증상의 중증도를 감소시킬 것으로 기대된다.

[0224] 본원에서 사용된 바와 같이, "증상"이라는 용어는 질환, 질병, 손상, 또는 몸 상태가 건강하지 못한 것의 징후로서 정의된다. 증상은 증상을 경험한 개체가 느끼거나, 또는 그에 의해 감지되지만, 타인에 의해서는 쉽게 감지되지 않을 수 있다. 타인은 비-건강 관리 전문가로서 정의된다.

[0225] 본원에 기술된 방법에 따라 장애, 질환 또는 병태를 치료함으로써 혈관병증(예컨대, vEDS) 또는 결합 조직 장애 진행률을 감소시킬 수 있다. 바람직하게, 치료 후, 혈관병증(예컨대, vEDS) 또는 결합 조직 장애 진행률은 치료 이전 수치 대비 적어도 5%만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 혈관병증(예컨대, vEDS) 또는 결합 조직 장애 진행률은 적어도 10%만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 적어도 20%만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 적어도 30%만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 적어도 40%만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 적어도 50%만큼 감소되고; 더욱 더 바람직하게, 적어도 50%만큼 감소되고; 가장 바람직하게, 적어도 75%만큼 감소된다. 혈관병증(예컨대, vEDS) 또는 결합 조직 장애 진행률은 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다.

[0226] 본원에서 사용된 바와 같이, "선택적으로"라는 용어는 한 집단에서 다른 집단에서보다 더 높은 빈도로 발생하는 경향이 있음을 의미한다. 비교되는 집단을 세포 집단일 수 있다. 바람직하게, 본 개시내용의 작용제는 선택적으로 정상 세포가 아닌, 과증식 세포에서 작용한다. 본 개시내용의 작용제는 선택적으로 한 분자 표적을 조정하는 작용을 하지만, 또 다른 분자 표적을 유의적으로 조정하지는 못한다.

[0227] 조합 요법

[0228] 실시양태에서, 본 개시내용은 또한 히드랄라진 및 적어도 하나의 추가 활성제의 조합 요법을 포함하는 방법을 제공한다. 실시양태에서, 적어도 하나의 추가 활성제는 치료제, 예컨대, 항안드로겐제 화합물, 예컨대, 비칼루타미드 또는 스피로놀락톤이다.

[0229] 본원에서 사용된 바와 같이, "조합 요법" 또는 "공동 요법"은 적어도 하나의 추가 활성제와 함께 치료 유효량의 본원에 기술된 작용제를, 작용제 및 추가 활성제의 공동 작용으로부터 유익한 효과를 제공하고자 하는 것으로 의도되는 특정 치료 요법의 일부로서 투여하는 것을 포함한다. 조합의 유익한 효과는 치료 활성 화합물들의 조합으로부터 초래되는 약동학적 또는 약력학적 공동 작용을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. "조합 요법"은 의

도 또는 예측되지 않은 유익한 효과를 우연히 및 임의로 초래하는 별개의 단일요법 양생법의 일부로서 2개 이상의 치료 화합물의 투여를 포함하는 것으로 의도되지 않는다.

[0230] 바람직하게, 조합 요법은 치료받는 대상체에서 시너지 반응을 제공한다. 이와 관련하여, "시너지"라는 용어는 조합의 효능이 어느 단일 요법이든 그 단독의 상가 효과보다 효과가 더 크다는 것을 지칭한다. 본 발명에 따른 조합 요법의 시너지 효과는 조합물이 아닌 경우의 그의 용량 및/또는 빈도와 비교하여 조합 중 적어도 하나의 작용제를 더 낮은 투여량으로 및/또는 덜 빈번하게 투여하는 것을 사용할 수 있도록 허용할 수 있다. 조합의 추가의 유익한 효과는 조합 중 어느 한 요법을 단독으로 사용하는 것 (이는 또한 단일요법으로 지칭)과 연관된 유해한 또는 원치않는 부작용의 회피 또는 감소로 나타날 수 있다.

[0231] "조합 요법"은 또한 비-약물 요법 (예컨대, 수술 또는 방사선 치료)과의 추가 조합으로 본 발명의 신호전달 경로 (예컨대, PLC/IP3/PKC/ERK)의 생물학적 활성 및/또는 발현을 억제 또는 감소시키는 작용제를 투여하는 것을 포함한다. 조합 요법이 추가로 비-약물 치료를 포함하는 경우, 비-약물 치료는, 치료 화합물과 비-약물 치료의 조합의 공동 작용으로부터 유익한 효과가 달성되는 한, 임의의 적합한 시간에 수행될 수 있다. 예를 들어, 적절한 경우, 비-약물 치료가 치료 화합물의 투여에서 일시적으로 제거될 때, 유익한 효과는 아마도 수일 또는 심지어 수주까지 계속해서 달성된다. 비-약물 치료는 화학요법, 방사선 요법, 호르몬 요법, 항-에스트로겐 요법, 유전자 요법, 및 수술로부터 선택될 수 있다.

[0232] 본원에 기술된 방법과 관련하여, 대상체에게 투여되는 작용제의 양이 치료 유효량이다. "치료 유효량"이라는 용어는 치료되는 질환 (예컨대, vEDS)을 치료하거나, 그의 증상을 호전시키거나, 그의 중증도를 감소시키거나, 또는 그의 지속 기간을 감소시키거나, 또는 또 다른 요법의 치료 효과를 증진 또는 개선시키는 데 충분하거나, 또는 대상체에서 검출가능한 치료 효과를 나타내는 데 충분한 양을 지칭한다. 한 실시양태에서, 작용제의 치료 유효량은 신호전달 경로 (예컨대, PLC/IP3/PKC/ERK)를 감소시키는 데 효과적인 양이다.

[0233] 실시양태에서, 본원에 기술된 방법에 따라 히드랄라진 및 항안드로겐 작용제의 투여가 치료되는 질환 (예컨대, vEDS)의 증상 또는 합병증을 제거하지만; 제거가 요구되지는 않는다. 한 실시양태에서, 증상 또는 합병증의 중증도는 감소된다.

[0234] 제약 조성물

[0235] 특정 실시양태에서, 본 발명은 본 발명에서 사용되는 작용제 (예컨대, ERK, PKC 및/또는 PLC 또는 IP3의 활성 또는 발현을 감소시키는 작용제)를 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 작용제는 적합하게 제제화되고, 전달을 위해 인정받은 임의의 수단에 의해 대상체 또는 세포 환경 내로 도입될 수 있다.

[0236] "제약 조성물"은 대상체에게로의 투여에 적합한 제약상 허용되는 형태로 본원에 기술된 작용제를 함유하는 제제이다. 본원에서 사용된 바와 같이, "제약상 허용되는"이라는 어구는 타당한 의학적 판단의 범주에서, 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응, 또는 다른 문제 또는 합병증 없이, 합리적인 이익/위험 비에 알맞게 인간 및 동물의 조직과의 접촉 사용에 적합한, 상기 화합물, 물질, 조성물, 담체, 및/또는 투여 형태를 지칭한다.

[0237] 상기 조성물은 전형적으로 작용제 및 제약상 허용되는 담체를 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "제약상 허용되는 담체"라는 용어는 제약 투여와 화합성을 띠는, 염수, 용매, 분산 매질, 코팅제, 항박테리아제 및 항진균제, 등장화제 및 흡수 지연제 등을 포함한다. 보충 활성 화합물 또한 조성물 내로 도입될 수 있다.

[0238] 본원에서 사용된 바와 같이, "제약상 허용되는 염"이라는 용어는 예를 들어, 본원에 기술된 작용제의 산 및 염 기성 기로부터 형성된 염이다. 예시적인 염으로는 술페이트, 시트레이트, 아세테이트, 옥살레이트, 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 니트레이트, 비술페이트, 포스페이트, 산 포스페이트, 이소니코티네이트, 락테이트, 살리실레이트, 산 시트레이트, 타르트레이트, 올레이트, 탄네이트, 판토테네이트, 비타르트레이트, 아스코르베이트, 숙시네이트, 말레이트, 베실레이트, 겐티시네이트, 푸마레이트, 글루코네이트, 글루카로네이트, 사카레이트, 포르메이트, 벤조에이트, 글루타메이트, 메탄술포네이트, 에탄술포네이트, 벤젠술포네이트, p-톨루엔술포네이트, 및 파모에이트 (예컨대, 1,1'-메틸렌-비스-(2-히드록시-3-나프토에이트)) 염을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0239] 제약 조성물은 그의 의도된 투여 경로와 화합성을 띠도록 제제화된다. 투여 경로의 예로는 비경구, 예컨대, 정맥내, 진피내, 피하, 경구 (예컨대, 흡입), 경피 (국소), 경점막, 및 직장 투여를 포함한다. 비경구, 진피내, 또는 피하 적용을 위해 사용되는 액제 또는 현탁제는 하기 성분: 멸균 희석제, 예컨대, 주사용수, 염수 용액, 고정유, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 다른 합성 용매; 항박테리아제, 예컨대, 벤질 알콜 또는 메틸 파라벤; 항산화제, 예컨대, 아스코르브산 또는 아황산수소나트륨; 킬레이팅제, 예컨대, 에틸렌디

아민테트라아세트산; 완충제, 예컨대, 아세테이트, 시트레이트 또는 포스페이트 및 양성 조정제, 예컨대, 염화나트륨 또는 텍스트로스를 포함할 수 있다. pH는 산 또는 염기, 예컨대, 염산 또는 수산화나트륨으로 조정될 수 있다. 비경구용 제제는 유리 또는 플라스틱으로 제조된 앰플, 1회용 시린지 또는 다회용 투약 바이알에 클로징될 수 있다.

[0240] 주사용으로 적합한 제약 조성물은 멸균 수성 액체 (수 가용성인 경우) 또는 분산제 및 멸균 주사용 액체 또는 분산제의 즉석 제조를 위한 멸균 산제를 포함한다. 정맥내 투여를 위해, 적합한 담체는 생리 식염수, 정균수, 크레모포르 EL(Cremophor EL)TM (BASF: 미국 뉴저지주 파르시파니) 또는 포스페이트 완충처리된 염수 (PBS)를 포함한다. 모든 경우에, 조성물은 멸균성이어야 하고, 용이한 주사능이 존재하는 정도로 유동성이어야 한다. 제조 및 보관 조건하에서 안정적이어야 하고, 미생물, 예컨대, 박테리아 및 진균의 오염 작용으로부터 보존되어야 한다. 담체는 예를 들어, 물, 에탄올, 폴리에틸렌 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 및 적합한 그의 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 예를 들어, 코팅제, 예컨대, 레시틴의 사용에 의해, 분산제인 경우, 필요한 입자 크기 유지에 의해, 및 계면활성제 사용에 의해 적절한 유동성이 유지될 수 있다. 미생물 작용 방지는 각종의 항박테리아제 및 항진균제, 예를 들어, 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 아스코르브산, 티메로살 등에 의해 달성될 수 있다. 많은 경우에, 조성물 중에 등장화제, 예를 들어, 당, 폴리알콜, 예컨대, 만니톨, 소르비톨, 염화나트륨을 포함하는 것이 바람직할 것이다. 조성물 중에 흡수 지연제, 예를 들어, 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴을 포함시킴으로써 주사용 조성물은 장기간 동안 흡수될 수 있다.

[0241] 멸균 주사용 액체는 필요에 따라 상기 열거된 성분들 중 하나 또는 그의 조합과 함께 선택된 용매 중에 활성 화합물을 필요한 양으로 도입한 후, 여과 멸균하여 제조될 수 있다. 일반적으로, 분산제는 기본 분산 매질 및 상기 열거된 것으로부터 필요한 다른 성분을 함유하는 멸균 비히클 내로 활성 화합물을 도입함으로써 제조된다. 멸균 주사용 액체의 제조를 위한 멸균 산제의 경우, 바람직한 제조 방법은 그의 앞서 멸균 여과된 액체로부터의 임의의 추가의 바람직한 성분과 활성 성분으로 이루어진 산제를 생성하는 냉동 건조 및 진공 건조이다.

[0242] 경구용 조성물은 일반적으로 불활성 희석제 또는 식용 담체를 포함한다. 경구적 치료제 투여 목적으로, 활성 화합물은 부형제와 함께 도입되고, 정제, 트로키, 또는 캡슐, 예컨대, 젤라틴 캡슐 형태로 사용될 수 있다. 경구용 조성물은 또한 구강세정제로서 사용하기 위한 유체 담체를 사용하여 제조될 수 있다. 제약상 화합성인 결합제 및/또는 애주버트 물질은 조성물의 부분으로서 포함될 수 있다. 정제, 환제, 캡슐, 트로키 등은 하기 성분들 중 임의의 것, 또는 유사한 성질의 화합물: 결합제, 예컨대, 미정질 셀룰로스, 트라가칸트 검 또는 젤라틴; 부형제, 예컨대, 전분 또는 락토스, 붕해제, 예컨대, 알긴산, 프리모겔(Primogel), 또는 옥수수 전분; 활택제, 예컨대, 마그네슘 스테아레이트; 유동화제, 예컨대, 콜로이드성 이산화규소; 감미제, 예컨대, 수크로스 또는 사카린; 또는 향미제, 예컨대, 페퍼민트, 메틸 살리실레이트, 또는 오렌지형 향미제를 함유할 수 있다.

[0243] 본 발명의 조성물은 또한 나노입제 제제로 제제화될 수 있다. 본 발명의 화합물은 즉시 방출, 방출, 지연 방출, 변형 방출, 지속 방출, 펄스식 방출 및/또는 조절식 방출 적용을 위해 투여될 수 있다. 본 발명의 제약 조성물은 0.01 내지 99% 중량/부피의 활성 물질을 함유할 수 있다. 흡입에 의한 투여를 위해, 화합물은 적합한 추진제, 예컨대, 이산화탄소와 같은 가스를 함유하는 가압식 용기 또는 디스펜서로부터의 에어로졸 스프레이, 또는 네블라이저 형태로 전달된다. 상기 방법은 미국 특허 번호 6,468,798에 기술된 것을 포함한다.

[0244] 전신 투여 또한 경점막 또는 경피 수단에 의해 이루어질 수 있다. 경점막 또는 경피 투여를 위해, 침투되는 장벽에 적절한 침투제가 제제에 사용된다. 상기 침투제는 일반적으로 관련 기술분야에 공지되어 있고, 이는 예를 들어, 경점막 투여를 위해, 계면활성제, 담즙 염, 푸시딘산 유도체를 포함한다. 경점막 투여는 비강용 스프레이 또는 좌제 사용을 통해 달성될 수 있다. 경피 투여를 위해, 활성 화합물은 일반적으로 관련 기술분야에 공지되어 있는 바와 같은 연고, 고약, 겔, 또는 크림으로 제제화된다. 화합물은 또한 직장 전달을 위해 좌제 (예컨대, 종래 좌제 베이스, 예컨대, 코코아 버터 및 다른 글리세리드 포함) 또는 정제 관장 형태로 제조될 수 있다.

[0245] 한 실시양태에서, 활성 화합물은 예컨대, 임플란트 및 마이크로캡슐화된 전달 시스템을 비롯한, 방출 조절형 제제와 같이, 화합물을 신체로부터의 빠른 제거로부터 보호하는 담체와 함께 제조된다. 생체분해성, 생체화합성 중합체, 예컨대, 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리안히드라이드, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르, 및 폴리락트산이 사용될 수 있다. 상기 제제는 표준 기술을 사용하여 제조될 수 있다. 물질 또한 알자 코퍼레이션(Alza Corporation) 및 노바 파마슈티칼즈, 인크.(Nova Pharmaceuticals, Inc.)로부터 상업적으로 입수할 수 있다. 리포솜 현탁액 (바이러스 항원에 대한 모노클로날 항체를 포함하는 감염된 세포로 표적화되는 리포솜 포

함) 또한 제약상 허용되는 담체로서 사용될 수 있다. 이들은 예를 들어, 미국 특허 번호 4,522,811에 기술된 바와 같이, 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 방법에 따라 제조될 수 있다.

[0246] 상기 화합물의 독성 및 치료 효능은 세포 배양물 또는 실험 동물에서 예를 들어 LD₅₀ (집단 중 50%에 치명적인 용량) 및 ED₅₀ (집단 중 50%에 치료상 효과적인 용량)을 결정하기 위한 표준 약학적 절차에 의해 결정될 수 있다. 독성 효과와 치료 효과 사이의 용량비가 치료 지수이며, 이는 비 LD₅₀/ED₅₀로 표시될 수 있다. 높은 치료 지수를 보이는 화합물이 바람직하다. 독성 부작용을 보이는 화합물이 사용될 수 있지만, 비감염 세포에의 잠재적 손상을 최소화하여 부작용을 감소시키기 위해 상기 화합물을 이화된 조직 부위로 표적화하는 전달 시스템을 디자인하는 데 주의하여야 한다.

[0247] 세포 배양물 검정법 및 동물 연구로부터 수득된 데이터는 인간에서의 사용을 위한 투여량 범위로 제제화하는 데 사용될 수 있다. 상기 화합물의 투여량은 바람직하게 독성이 거의 없거나, 또는 전혀 없는 ED₅₀을 포함하는 순화 농도 범위 내에 포함되어 있다. 투여량은 사용되는 투여 형태 및 사용되는 투여 경로에 의존하여 상기 범위 내에서 달라질 수 있다. 본 발명의 방법에서 사용되는 화합물의 경우, 치료 유효 용량은 처음에 세포 배양물 검정법으로부터 추정될 수 있다. 용량은 세포 배양물에서 결정된 바와 같은 IC₅₀ (즉, 증상의 반수 최대 억제를 달성하는 시험 화합물의 농도)을 포함하는 순환 혈장 농도 범위를 달성하도록 동물 모델에서 제제화될 수 있다. 상기 정보는 인간에서 유용한 용량을 더 정확하게 결정하는 데 사용될 수 있다. 혈장 중 수준은 예를 들어, 고성능 액체 크로마토그래피에 의해 측정될 수 있다.

[0248] 본원에서 정의되는 바와 같이, 작용제의 치료 유효량 (즉, 유효 투여량)은 선택된 작용제에 의존한다. 예를 들어, 대략 1 pg 내지 1,000 mg 범위의 단일 용량인 양으로 작용제가 투여될 수 있고; 일부 실시양태에서, 10, 30, 100, 또는 1,000 pg, 또는 10, 30, 100, 또는 1,000 ng, 또는 10, 30, 100, 또는 1000 µg, 또는 10, 30, 100, 또는 1,000 mg이 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 1-5 g의 조성물이 투여될 수 있다.

[0249] 본 발명의 화합물의 치료 유효량은 관련 기술분야에 공지된 방법에 의해 결정될 수 있다. 선택된 작용제/사용되는 제약 제제에 의존하는 것 이외에도, 본 발명의 제약 조성물의 치료 유효량은 환자의 연령에 및 일반적인 생리학적 상태 및 투여 경로에 의존할 것이다. 특정 실시양태에서, 치료 용량은 일반적으로 약 10 내지 2,000 mg/일 및 바람직하게, 약 30 및 1,500 mg/일일 것이다. 예를 들어, 50-500 mg/일, 50-300 mg/일, 100-200 mg/일을 비롯한, 다른 범위가 사용될 수 있다.

[0250] 투여는 1일 1회, 1일 2회, 또는 더 자주 이루어질 수 있고, 예컨대, 매일 또는 1일 2회 대신 매 2일 또는 매 3일마다와 같이, 질환 또는 장애의 유지 단계 동안 감소될 수 있다. 용량 및 투여 빈도는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 급성 단계의 적어도 하나 이상, 바람직하게, 하나 초과 의 임상 징후의 감소 또는 부재를 이용하여 관해 단계의 유지를 확인시켜 주는 임상 징후에 의존할 것이다. 통상의 기술자는, 질환 또는 장애의 중증도, 이전 치료, 대상체의 일반적인 건강 상태 및/또는 연령, 및 존재하는 다른 질환을 포함하나, 이에 제한되지 않는, 특정 인자가 대상체를 효과적으로 치료하는 데 필요한 투여량 및 타이밍에 영향을 줄 수 있다는 것을 이해할 것이다. 더욱이, 치료 유효량의 작용제를 이용하여 대상체를 치료하는 것은 단일 치료를 포함할 수 있거나, 또는 임의적으로 연속 치료를 포함할 수 있다.

[0251] 작용제를 세포 환경으로 도입하는 방법은 세포 유형 및 그의 환경을 이루는 구성에 의존한다는 것을 이해할 수 있다. 적합한 양의 작용제가 도입되어야 하고, 이들 양은 표준 방법을 이용하여 실험적으로 결정될 수 있다. 세포 환경에서 개별 작용제의 효과적인 농도의 예는 500 밀리몰 이하, 50 밀리몰 이하, 10 밀리몰 이하, 1 밀리몰 이하, 500 나노몰 이하, 50 나노몰 이하, 10 나노몰 이하일 수 있거나, 또는 심지어 1 나노몰 이하 농도의 조성물도 사용될 수 있다.

[0252] 제약 조성물은 투여 설명서와 함께 키트, 용기, 팩, 또는 디스펜서에 포함될 수 있다.

[0253] 실시예

[0254] 하기 실시예는 본 발명의 검정, 스크리닝 및 치료 방법을 만들고 사용하는 방법에 대한 완전한 개시 및 설명을 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 제공하기 위해 제시되며, 본 발명자들이 본 발명으로서 간주되는 것의 범주를 제한하는 것으로 의도되지 않는다.

[0255] 실시예 1: 넥-인 글리신 치환 vEDS 마우스 생성

[0256] CRISPR/Cas9를 이용하여 신규 넥-인 글리신 치환 (*Col3a1* G209S/+ 및 *Col3a1* G938D/+) vEDS 마우스를 생성하였

다. 마우스 모델은 인간 혈관 표현형을 재현하였고, 혈관벽의 궁극적 장애에 대한 분자 기반은 질환 표현형에 미치는 환경 효과를 이용함으로써 밝혀졌다.

[0257] 각 돌연변이를 도입하기 위해, 의도된 돌연변이 부위를 플랭킹하는 DNA 영역을 표적화하도록 3개의 가이드 RNA (tracrRNA + crRNA)를 디자인하였다. 표적 영역의 상류 및 하류의 상동성 서열 뿐만 아니라, 의도된 돌연변이를 포함하는 DNA 올리고 수복 주형 (ssDNA 올리고) 또한 디자인하였다. RNase 무함유 주사 완충제 중에 희석된 Cas9 단백질, tracrRNA, crRNA, 및 ssDNA 올리고의 믹스를 이용하여 표준 미세주사 기술을 사용함으로써 JHU 트랜스제닉 코어(JHU Transgenic Core)에 의해 단세포 C57BL/6J 배아의 전핵 주사를 수행하였다. 주사된 배아를 확립된 기술을 이용하여 가임성 ICR 암컷의 난관으로 전달하였다. 상기 부위에 대한 생어(Sanger) 서열분석을 이용하여 돌연변이의 도입을 확인하고, 오프-타겟 효과를 제거하기 위해 마우스를 적어도 4 세대 동안 역교배시켰다. G209S 마우스의 경우, 도입된 돌연변이는, 인간에서 p.Gly210Ser에 상응하는 c.625_626GG>TC였다. G938D 마우스의 경우, 도입된 돌연변이는, 인간에서 p.Gly939Ser에 상응하는 c.2813G>A였다. 야생형 인간 Col3a1 mRNA NCBI 수탁 번호: NM_000090.3; 야생형 마우스 Col3a1 mRNA NCBI 수탁 번호: NM_009930.2.

[0258] 실시예 2: Col3a1 G209S/+ 및 Col3a1 G938D/+ 마우스 모델이 vEDS 표현형을 재현하였다.

[0259] Col3a1 G209S/+ 및 Col3a1 G938D/+ 마우스 모델, 둘 모두 vEDS 표현형을 재현하였다. vEDS를 앓는 마우스는, 부검시 대개는 혈흉 또는 복강내출혈과 함께 나타내는 대동맥 파열, 대동맥 박리 또는 기관 파열에 기인하여 급사하였다. Col3a1 G938D/+ 돌연변이를 갖는 마우스는 더욱 중증의 표현형을 나타낸다 (중앙 생존기간 = 45일 대 Col3a1 G209S/+ 모델의 경우, 400일, $p < 0.0001$, 도 1a - 1c). 도 1a는 G209S/+ 마우스 모델이 vEDS 표현형을 재현하였다는 것을 입증하는 그래프이고, 중앙 생존기간은 400일이었다 ($p < 0.0001$). 도 1b에는 G938D/+ 마우스 모델의 생존율(%)이 감소되어 있고, 이는 vEDS를 재현하였고, 중앙 생존기간은 45일이었다 ($p < 0.0001$).

[0260] 어느 마우스 모델에서도 심장초음파검사를 통한 대동맥근 동맥류의 증거는 관찰되지 않았다.

[0261] 실시예 3: 신호전달 이상은 vEDS에서 질환 병리의 매개인자였다.

[0262] 신호전달 이상이 vEDS에서 질환 병리의 주요 매개인자일 수 있다는 가설을 세웠다. 상기 가설을 시험하기 위해, 근위 하행 대동맥이 본 모델에서 대동맥 박리의 가장 일반적인 위치라는 점을 고려하여, 3마리의 Col3a1 G209S/+ 마우스, 3마리의 Col3a1 G938D/+ 마우스, 및 3마리의 Col3a1 +/+ (야생형) 마우스의 근위 하행 흉부 대동맥에서 RNA-seq를 수행하였다. 가장 차별적으로 발현된 유전자를 이용하여 비지도 계층적 클러스터링을 수행하였다 (FDR < 0.10). vEDS 샘플은 대조군과 별개로 클러스터링되었고 (도 1d), 이는 vEDS 대동맥의 트랜스크립토믹의 유의적인 차이를 시사하는 것이다.

[0263] 네트워크 분석 결과, vEDS 대동맥이 미토겐 활성화 단백질 키나제 (MAPK) 활성화 상승에 대한 유전자 발현 시그니처 [P38, JNK, AKT, ERK, ERK1/2]를 보인 것으로 나타났다 (도 1e).

[0264] 추가로, 상류 분석을 통해 vEDS 대동맥에서의 전사 차이는, 관련 PLC/IP3/PKC/ERK 축을 통해 신호를 전달하는 G 단백질 커플링된 수용체 (GPCR) 활성화에 의해 유도되었다는 것을 예측하였다 (도 1f).

[0265] 본 경로를 통한 활성화 신호전달의 마커에 대한 면역블롯팅에 의해 GPCR 및 MAPK 신호전달 상승에 대한 시그니처를 확인하였고, ERK1/2 인산화 및 PKC 인산화가 vEDS 대동맥에서 유의적으로 더 높은 것으로 나타났다 (도 1g).

[0266] 마르판 증후군 (MFS) 또는 로이-디에즈 증후군 (LDS)과 달리, vEDS 대동맥의 발현 프로파일링은 높은 TGF β 신호전달에 전형적인 합성 레퍼토리를 보이지 않지만, (MFS 및 LDS와 유사하게) ERK 활성화 증가의 증거는 관찰되었다. 소규모 인간 연구를 통해 베타-차단제인 셀리프롤롤은 vEDS 환자에서 유해 사례를 지연시키는 잠재능이 있는 반면, 안지오텐신 수용체 차단제, 예컨대, 로사르탄은 MFS 또는 LDS 마우스 모델에서 극적 보호를 제공한다는 것이 제안되었다.

[0267] 추가로, 로사르탄으로 처리된 vEDS 마우스에서는 박리 또는 사망으로부터의 보호에 대한 증거는 없는 반면, 셀리프롤롤은 두 vEDS 모델 모두에서 박리 및 사망의 유의적인 가속화와 연관이 있고; 두 약물 모두 혈류역학적 스트레스의 예측된 저하를 달성하였다. 초기 데이터에서는 PLC/IP3/PKC/ERK 축을 억제하는 히드랄라진이 vEDS 마우스에서 일부 보호를 제공한다고 제시함과 동시에, 이들 데이터는 예상 밖의 치료 전략법을 밝히는 발견에 기반한 방법에 대한 필요성을 강조한다.

[0268] 표현형 중증도 조정에 대해 평가하기 위해 vEDS 돌연변이를 순수한 129 및 BL6 배경에 도입하였다. 두 돌연변이 모두 BL6 배경에서의 대동맥 박리에 기인하는 조기 사망과 연관이 있다. 매우 놀랍게도, 129 배경은 두 vEDS 유전자형 모두에 대해 완전히 정상적인 수명과 함께, 박리로부터의 완전한 보호를 유도한다. 구조는 대동

맥 벽에 대한 유전자 발현 프로파일의 정규화와 연관이 있다. 이들 데이터는 약리학적 작용제를 이용하여 자연의 성공적인 전략법을 모방하고자 하는 희망과 의도하여 vEDS 마우스에서 변형의 근원 및 기전을 확인하는 유전자 연구를 수행하기 위한 근거와 동기를 부여한다.

[0269] 실시예 4: PLC/IP3/PKC/ERK 축의 약리학적 억제가 vEDS 마우스에서 대동맥 파열의 위험을 감소시켰다.

[0270] PLC/IP3/PKC/ERK 축의 활성화가 MFS에서 병원성인 것으로 밝혀졌는 바⁷, 상기 축의 약리학적 억제가 vEDS 마우스에서 대동맥 파열의 위험을 감소시킬 것이라는 가설을 세웠다.

[0271] 약리학적 ERK 길항제 생존을 증가시켰다.

[0272] 약리학적 ERK 길항제를 vEDS의 발병기전에서 ERK 활성화의 역할을 뒷받침하기 위해 시험하고, vEDS에 대한 치료 전략법을 확인하기 위한 방법으로서 시험하였다. ERK를 활성화시키는 키나제인 MEK의 FDA 승인을 받은 억제제인 코비메티닙 [GDC-0973, R05514041] (2 mg/kg/일)으로 마우스를 처리하였다⁸. ERK 활성화가 실제로 질환 위험을 유도한다면, ERK 억제는 대동맥 박리로부터의 사망 위험을 구조할 것이라는 가설을 세웠다.

[0273] 본 가설과 일치하게, 비처리시 생존율이 단지 55%인 것과 비교하여, 처리 45일 후 생존율은 94%인 것으로 관찰되었다 (도 2a).

[0274] 약리학적 PKC 억제가 생존을 증가시켰다.

[0275] 이어서, PKC 활성화를 억제시키는 작용제를 시험하는 추가 연구를 수행하였다. 특이적으로 PKC 베타를 억제시키는, 내약성이 우수한 경구적으로 투여되는 약리학적 작용제인 루복시스타우린 [LY 333531] (10 mg/kg/일)으로 마우스를 처리하였다⁹. ERK 활성화, 및 이에 의해 질환 위험이 PLC/IP3/PKC 활성화에 의해 유도되었다면, 약리학적 PKC 억제제 또한 대동맥 박리로부터의 사망 위험을 구조할 것이라는 가설을 세웠다.

[0276] 본 가설과 일치하게, 비처리시 생존율이 단지 55%인 것과 비교하여, 처리 39일 후 생존율은 100%인 것으로 관찰되었다 (도 2b).

[0277] PLC/IP3/PKC/ERK 신호전달 캐스케이드를 억제시키는 작용제가 생존을 증가시켰다.

[0278] 상기 신호전달 캐스케이드를 억제시키는 다른 약물을 시험하는 추가 연구를 수행하였다. PLC/IP3/PKC/ERK 축을 차단하는 히드랄라진 (32 mg/kg/d)을 투여함으로써 마우스를 처리하였는데, 이는 상기 약물이 동일한 경로를 표적할 것이며, 이에 의해 유사한 보호를 제공할 것이라는 가설하에서 진행되었다¹⁰. 비처리된 vEDS 마우스의 중앙 생존기간인 생후 45일째 98%의 생존율을 보이는 놀라운 만한 보호가 관찰되었다 (도 2c).

[0279] 생존은 사춘기때 영향을 받았지만, 이러한 위험은 거의 전적으로 수컷 마우스에서만 관찰되었고, 따라서, 안드로젠 길항제를 이용한 처리가 이들 마우스에게 유익할 수 있다. 추가로, 상기 용량의 히드랄라진은 본 마우스 모델에서 상기 경로를 완전히 억제시키는 데에는 불충분할 수 있고, 더 높은 용량의 히드랄라진이 유익하다고 입증될 수 있다.

[0280] 마우스를 히드랄라진과 안드로젠 길항제의 조합 요법으로 처리한다.

[0281] 추가로, 마우스를 더 높은 용량의 히드랄라진으로 처리한다.

[0282] 이들 결과는 대동맥에서 과도한 PLC/IP3/PKC/ERK 신호전달 억제가 vEDS 마우스 모델에서 대동맥 박리에 기인하는 사망 위험을 구조한다는 것을 제안한다.

[0283] 실시예 5: 옥시토신 유도 ERK 신호전달이 PLC/IP3/PKC/ERK 축을 활성화시키고, 대동맥 박리의 위험을 악화시켰다.

[0284] 혈관형 엘러스 단로스 증후군 (vEDS) 환자는 중간 내지 큰 동맥의 박리를 경험한다. vEDS의 많은 특징들은 다른 유전성 혈관병증, 예컨대, 과도한 TGF β 활성화와 연관이 있는 것인 마르판 증후군 (MFS) 및 로이-디에즈 증후군 (LDS)과는 뚜렷한 차이를 보인다. 이는 사전 혈관 확장 없이 대동맥근 및 박리의 병발에 관한 특정 소인을 포함하지 않는다. vEDS 환자에서 혈관 파열은 예측 또는 예방이 어렵다. 임신은 구체적으로 박리 위험을 증가시키며, 합병증은 임신 중 50% 초과에서 발생하고, 사망은 임신의 약 12-25%에서 발생한다. 지배적인 출산 후 혈관 박리는 아주 특이하게 혈류역학적 스트레스를 일으키는 기전과는 일치하지 않는다. 대신, 자궁 수축을 개시하고, 출산 후 수유 동안 지속되는 호르몬인 옥시토신이 임신 연관 위험의 원인이 될 수 있다는 가설을 세웠다. 옥시토신 수용체의 발현이 임신 동안 대동맥에서 유도되고, 호르몬이, 이전에 MFS 및 LDS의 발병기전에 연

루되었던 신호전달 캐스케이드인 ERK의 활성화를 통해 말초 조직을 자극한다.

- [0285] 앞서, 임신 연관 대동맥 박리는 대개 MFS 마우스 대동맥에서의 수유 연관 옥시토신 방출 및 옥시토신 유도 ERK 신호전달에 의해 유도되는 것으로 밝혀졌다¹¹. 따라서, 옥시토신 유도 ERK 신호전달은 PLC/IP3/PKC/ERK 축의 활성화가 대동맥 박리의 위험을 악화시킬 수 있는지 여부를 시험하기 방법으로 사용되었다.
- [0286] vEDS 마우스 모델에서 임신 및 수유는 vEDS 마우스에서 산후 처음 30일 동안 동맥 박리에 기인하는 60%의 치사율과 연관이 있었다 (도 3a). 또한, 출산 후 새끼 제거를 통한 수유 방해가 vEDS 마우스에서 박리 및 사망을 예방할 수 있었었다 (생존율 100%, 도 3b). 추가로, 옥시토신에 의해 활성화되는 PLC/IP3/PKC/ERK 축을 차단하는, 히드랄라진 (16 mg/kg/일) 처리시 거의 완전한 생존 (95%)을 달성하였다 (도 3c). ERK를 활성화시키는 키나제인 MEK의 FDA 승인을 받은 억제제인 트라메티닙 [GSK-1120212] (1 mg/kg/일)으로 처리하였을 때, 유사한 정도의 보호 (95% 생존)가 관찰되었다 (도 3d).
- [0287] 면역블롯팅에 의해 및 ERK 표적 유전자 발현에 의해 측정된 바와 같이, 이러한 사망 위험 증가는 ERK 활성화 증가와 상관관계가 있는 반면, 대동맥 박리로부터의 보호는 ERK 활성화 감소와 상관관계가 있었다 (도 3e 및 도 3f). 본 데이터는 추가로 PLC/IP3/PKC/ERK 신호전달 경로의 활성화를 증가시키는 것은 vEDS 마우스 모델에서 대동맥 박리에 기인하는 사망 위험의 유의적인 상승을 유도하고, 추가로, PLC/IP3/PKC/ERK 신호전달 경로를 억제시키는 것은 이러한 위험을 호전시켰다는 것을 뒷받침한다.
- [0288] 실시예 6: 혈관형 엘리스 단로스 증후군 및 연관 장애를 치료하기 위한 조성물 및 방법
- [0289] 약리학적 MEK/ERK 길항제 및 PKC 길항제, 둘 모두, 그의 사용하는 대동맥 박리로부터의 사망 위험을 구조하고, 이는 PKC 의존성 ERK 활성화가 vEDS에서 대동맥 질환의 중요한 구성요소이고, 이러한 신호전달 경로를 표적화하는 것이 vEDS 마우스 모델에서 대동맥 질환을 감소시키는 데 유익하다는 것을 입증한다.
- [0290] 여기서, 제2 특이적 PKC β 억제제인 엔자스타우린 (60 mg/kg/d)을 이용한 PKC β 의 약리학적 억제 또한 대동맥 박리로부터의 사망 위험을 구조하였고, 비처리된 vEDS 마우스는 단 50%인 것과 비교하여 처리 40일 후 엔자스타우린 처리된 vEDS 마우스 중 80%가 생존하였다 ($p=0.0305$, 도 16a). 이는 PKC β 인산화가 vEDS 마우스에서 대동맥 질환의 중요한 구성요소라는 추가 증거를 제공한다.
- [0291] PLC/IP3/PKC/ERK 신호전달 경로의 활성화가 vEDS에서 병원성이라는 것이 본원에서 확인되었으며, 이러한 비정상적인 신호전달 경로를 활성화시킬 수 있는 수용체의 아이덴티티를 조사하였다. 상기 경로를 통한 GPCR (Gq) 신호 - 대동맥에서의 일반 Gq 수용체로는 안지오텐신 II 수용체, 트롬빈 수용체, 엔도텔린-1 수용체, 바소프레신 수용체 1, 스펅고신-1-포스페이트 수용체, 알파-1 아드레날린 수용체, 및 세로토닌 수용체를 포함한다. 그러나, 이 역시 대동맥에서 발현되고, 콜라겐 3와 상호작용하는 것으로 밝혀진 GPR56과 같은 오픈 GPCR 또한 존재한다^{3,4}.
- [0292] 이론에 의해 제한하고자 하지 않으면서, 비정상적으로 활성화된 수용체가 억제된다면, 신호전달 경로가 어떻게 활성화되는지를 정확하게 확인할 수 있을 것이라는 가설을 세우게 되었다. 추가로, 마우스를 경구적으로 생체 이용가능한 비특이적인 엔도텔린 수용체 길항제인 보센탄 (100 mg/kg/d)으로 마우스를 처리하였다.
- [0293] 보센탄을 이용하여 처리하였을 때, 비처리된 vEDS 마우스에서는 생존율이 단 50%인 것과 비교하여 처리 40일 후 생존율은 80%였다 ($p=0.0298$, 도 16b). 이는 엔도텔린 수용체 신호전달이 vEDS 발병기전의 원인이 된다는 것을 제안한다.
- [0294] 약리학적 MEK/ERK 길항제 및 PKC 길항제, 둘 모두, 그의 사용하는 대동맥 박리로부터의 사망 위험을 구조하고, 이는 PKC 의존성 ERK 활성화가 vEDS에서 대동맥 질환의 중요한 구성요소이고, 이러한 신호전달 경로를 표적화하는 것이 vEDS 마우스 모델에서 대동맥 질환을 감소시키는 데 유익하다는 것을 입증한다. 이어서, 상기 신호전달 경로는 vEDS 인간 환자로부터의 혈관 조직 샘플 중에 상승되어 있다는 증거를 확인하고자 하였다. PKC 인산화 (도 17) 뿐만 아니라 ERK1/2 인산화 (도 18)가 vEDS를 앓는 환자로부터의 두 조직 샘플 (장골 동맥 및 하행 흉부 대동맥)에서 확인되었다. vEDS를 앓지 않는 대상의 상행 대동맥으로부터 채취된 조직 샘플 중에서도 상기 인산화된 단백질 중 어느 것도 관찰되지 않았다.
- [0295] 결론
- [0296] 종합해 보면, 본 결과는 vEDS의 발병기전의 원인이 되는 표적가능한 신호전달 이상에 대한 첫 번째 증거를 제공한다. 이들 데이터는 PLC/IP3/PKC 신호전달 증가가 MAPK/ERK 활성화 증가를 유도하고, 이는 결국 vEDS 마우스

모델에서 대동맥 박리로부터의 사망 위험을 증가시킨다는 가설을 뒷받침한다.

[0297] ERK의 활성화자인 MEK의 약리학적 억제, 또는 PKC의 약리학적 억제, 또는 PLC/IP3/PKC/ERK 축의 약리학적 억제를 통한 ERK 활성화의 억제가 대동맥 박리로부터의 사망을 구조하는 데 충분한 것으로 밝혀졌다. 상기 경로를 억제시키는 작용제가 혈관형 엘리스 단로스 증후군 및 잠재적으로 다른 결합 조직 장애에 대해 치료적 이익을 제공할 것이다.

[0298] 추가로, PLC/IP3/PKC/ERK 활성화자는 vEDS 대동맥에서 조정된 상향조절을 보일 수 있으며, 이는 RNA-Seq 프로파일로부터 나타난 후보물질의 분석을 통해 시험된다.

[0299] 참고문헌

1. Pepin M, Schwarze U, Superti-Furga A, Byers PH. Clinical and Genetic Features of Ehlers-Danlos Syndrome Type IV, the Vascular Type. *N Engl J Med*. 2000;342(10):673-680. doi:10.1056/NEJM200003093421001.
2. Pepin MG, Schwarze U, Rice KM, Liu M, Leistriz Dru, Byers PH. Survival is affected by mutation type and molecular mechanism in vascular Ehlers-Danlos syndrome (EDS type IV). *Genet Med*. 2014;16(12):881-888. doi:10.1038/gim.2014.72.
3. Habashi JP, Judge DP, Holm TM, *et al*. Losartan, an AT1 Antagonist, Prevents Aortic Aneurysm in a Mouse Model of Marfan Syndrome. *Science* (80-). 2006;312(5770):117-121. doi:10.1126/science.1124287.
4. Holm TM, Habashi JP, Doyle JJ, *et al*. Noncanonical TGFβ signaling contributes to aortic aneurysm progression in Marfan syndrome mice. *Science*. 2011;332(6027):358-361. doi:10.1126/science.1192149.
5. Habashi JP, Doyle JJ, Holm TM, *et al*. Angiotensin II Type 2 Receptor Signaling Attenuates Aortic Aneurysm in Mice Through ERK Antagonism. *Science* (80-). 2011;332(6027):361-365. doi:10.1126/science.1192152.
6. Judge DP, Biery NJ, Keene DR, *et al*. Evidence for a critical contribution of haploinsufficiency in the complex pathogenesis of Marfan syndrome. *J Clin Invest*. 2004;114(2). doi:10.1172/JCI200420641.
7. Doyle JJ, Doyle AJ, Wilson NK, *et al*. A deleterious gene-by-environment interaction imposed by calcium channel blockers in Marfan syndrome. *Elife*. 2015;4. doi:10.7554/eLife.08648.
8. Larkin J, Ascierto PA, Dréno B, *et al*. Combined Vemurafenib and Cobimetinib in BRAF-Mutated Melanoma. *N Engl J Med*. 2014;371(20):1867-1876. doi:10.1056/NEJMoa1408868.
9. PKC-DRS2 Group L, Aiello LP, Davis MD, *et al*. Effect of ruboxistaurin on visual loss in patients with diabetic retinopathy. *Ophthalmology*. 2006;113(12):2221-2230. doi:10.1016/j.ophtha.2006.07.032.
10. Gurney AM, Allam M. Inhibition of calcium release from the sarcoplasmic reticulum of rabbit aorta by hydralazine. *Br J Pharmacol*. 1995;114(1):238-244. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7712024>. Accessed September 24, 2018.
11. Habashi JP, Gallo EM, Bagirzadeh R, *et al*. Oxytocin Antagonism Prevents Pregnancy-Associated Aortic Dissection in a Mouse Model of Marfan Syndrome.; 2018.

[0300]

[0301] 실시예 7: 안드로겐은 대동맥 박리 위험 및 히드랄라진과의 조합 요법에서 중요한 역할을 함

[0302] 대동맥 용해물의 면역블롯에 의해 평가된 바와 같이, PKCβ의 약리학적 억제가 대동맥 벽에서 PKC의 자기인산화 뿐만 아니라, ERK의 인산화를 방해하였다 (도 4a-4c). MEK의 약리학적 억제는 MEK의 하류 기질인 ERK의 인산화의 예상되는 감소 뿐만 아니라, 신기하게도 PKC 인산화 감소와도 상관관계가 있었고, 이는 양의 피드백 루프가 존재함을 시사한다 (도 1, *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001). 코비메티닙도 루복시스타우린도 혈압에는 어떤 영향도 주지 않았다.

[0303] vEDS 치료를 위한 히드랄라진 및 비칼루타미드의 조합 요법

[0304] PLC/IP3/PKC/ERK 축을 차단하는 히드랄라진 (32 mg/kg/d)으로 마우스를 처리하는 것은 놀랄 만한 보호를 제공하였고: 비처리된 vEDS 마우스의 중앙 생존기간인 생후 45일째 생존율이 98%였다. 생존은 사춘기때 영향을 받았고, 상기 위험은 거의 전적으로 수컷 마우스에서 관찰되었고 (도 2a 및 2b), 따라서, 안드로겐 길항제를 이용한 처리가 이들 마우스에 유익할 수 있다는 가설을 세웠다. 실제로, 히드랄라진으로만 처리된 수컷 마우스에서 생존율이 24%인 것과 비교하여, 비칼루타미드 (50 mg/kg/d)와 히드랄라진 (32 mg/kg/d)의 조합은 수컷 마우스에서 90%의 생존율을 유도하였다 (도 6).

[0305] 신기하게도, 비칼루타미드가 사춘기 (생후 90일째) 이후에 제거되었다면, 수컷 마우스는 히드랄라진이 남아있는 동안의 비율과 동일한 비율로 계속해서 생존하였고 (도 6), 이는 상기 마우스 모델에 안드로겐 감수성에 대한 시간 의존성이 존재하였음을 시사하는 것이다. 정보상 유익하게, 비칼루타미드 단독으로 처리된 수컷 마우스는 ~80%의 중간 생존율을 유도하였고, 수컷은 사춘기 후 비칼루타미드 제거 이후 계속 생존하지 못했으며 (도 7), 이는 단독으로 안드로겐 신호전달만을 억제하는 것은 vEDS 마우스 모델에서 대동맥 질환을 예방하는 데 충분하지 못했다는 것을 시사하는 것이다.

[0306] vEDS 치료를 위한 히드랄라진 및 스피로놀락톤의 조합 요법

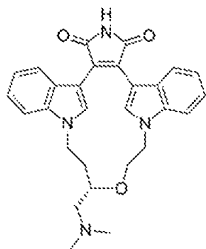
[0307] 안드로겐이 본 발명자들의 vEDS 마우스 모델에서의 대동맥 박리 위험에서 중요한 역할을 한다는 상기의 새로운 관찰결과와 이해를 통해 또 다른 FDA 승인 약물을 히드랄라진과 조합하여 시험하게 되었다. 스피로놀락톤은 부작용으로서 직접적인 안드로겐 길항작용을 갖는 FDA 승인을 받은 이뇨제 약물이다. 스피로놀락톤은 구체적으로 여드름, 다모증, 및 다른 안드로겐 의존성 장애를 치료하는 데 오프 라벨로 사용된다¹. 스피로놀락톤 또한 상기 장애에서 직접적인 안드로겐 길항제로서 사용될 수 있다는 가설을 세웠다.

[0308] 마우스를 스피로놀락톤 (100 mg/kg/d) 단독으로 처리하였고 (도 8a), 비칼루타미드 단독인 것과 유사하게, ~80%의 중간 생존율이 관찰되었다. 그러나, 스피로놀락톤 (100 mg/kg/d)과 히드랄라진 (32mg/kg/d)의 조합은 히드랄라진과 비칼루타미드의 조합과 유사하게, 처리 50일 후에도 100%의 생존율을 유도하였다 (도 8b).

[0309] vEDS 치료를 위한 히드랄라진 및 루복시스타우린의 조합 요법

[0310] 실시예에서, 히드랄라진 및 루복시스타우린의 투여를 포함하는 조합 요법이 고려된다. 루복시스타우린은 단백질 키나제 C-베타 (PKC-β) 억제제이고, 당뇨병성 황반 부종 및 당뇨병성 망막증, 당뇨병성 말초 신경병증 및 당뇨병성 신병증을 비롯한 다른 당뇨병성 혈관병증을 위한 요법으로서 잠재능을 갖는, 엘리 릴리(Eli Lilly)에 의해 개발 중에 있는 마크로시클릭 비스인돌릴말레이미드 화합물이다. 추가의 루복시스타우린 명명법으로는 아크산트(Arxxant) (제안된 브랜드명), IUPAC: (9S)-9-[(디메틸아미노)메틸]-6,7,10,11-테트라히드로-9H,18H-5,21:12,17-디(메테노)디벤조[e,k]피롤로[3,4-h][1,4,13]옥사디아자시클로헥사데신-18,20-디온, 및 CAS 번호: 169939-94-0을 포함한다.

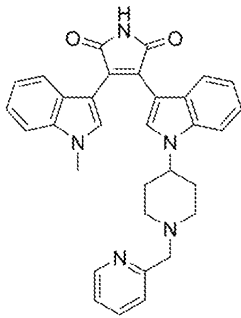
[0311] 루복시스타우린의 구조는 하기에 제공되어 있다:



[0312] vEDS 치료를 위한 히드랄라진 및 엔자스타우린의 조합 요법

[0314] 실시예에서, 히드랄라진 및 엔자스타우린의 투여를 포함하는 조합 요법이 고려된다. 엔자스타우린은 잠재적인 항신생물성 활성을 갖는 합성 비스인돌릴말레이미드이다. 엔자스타우린은 ATP 결합 부위에 결합하여, 혈관 내피 성장 인자 (VEGF) 자극 신생혈관형성의 유도에 관여하는 효소인 단백질 키나제 C 베타 (PKC-β)를 선택적으로 억제시킨다. 상기 작용제는 중앙 혈액 공급을 감소시켜, 성장을 방해할 수 있다. 추가의 엔자스타우린 명명법으로는 LY-317615, IUPAC: 3-(1-메틸인돌-3-일)-4-[1-[1-(피리딘-2-일메틸)피페리딘-4-일]인돌-3-일]피롤-2,5-디온, 및 CAS 번호: 170364-57을 포함한다.

[0315] 엔자스타우린의 구조는 하기에 제공되어 있다:

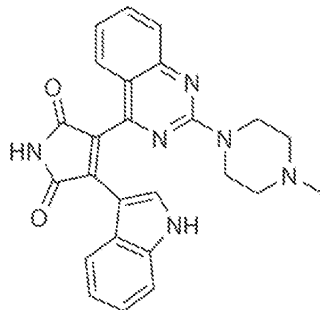


[0316]

[0317] vEDS 치료를 위한 히드랄라진 및 소트라스타우린의 조합 요법

[0318] 실시예에서, 히드랄라진 및 소트라스타우린의 투여를 포함하는 조합 요법이 고려된다. 소트라스타우린 (EAB071)은 단백질 키나제 C 억제제를 통해 T-림프구 활성화를 차단하는 연구용 면역억제제이다.

[0319] 소트라스타우린의 구조는 하기에 제공되어 있다:



[0320]

[0321] vEDS 치료를 위한 히드랄라진 및 항안드로겐제의 조합 요법

[0322] 히드랄라진 및 상이한 항안드로겐제의 추가 조합을 시험한다. 예를 들어, 히드랄라진과, 스테로이드성 항안드로겐제 (시프로테론 아세테이트, 메게스트롤 아세테이트, 클로르마디논 아세테이트, 옥센돌론 및 오사테론 아세테이트)를 비롯한 안드로겐 수용체 길항제가 고려된다. 추가로, 비스테로이드성 항안드로겐제, 예컨대, 플루타미드, 닐루타미드, 토필루타미드, 엔잘루타미드, 드로스피레논 또는 메드로게스톤과 조합된 히드랄라진이 고려된다.

[0323] 다른 실시예에서, 히드랄라진 및 안드로겐 합성 억제제 또는 항고나도트로핀제를 포함하는 조합 요법이 고려된다. 예시적인 안드로겐 합성 억제제로는 케토코나졸, 아비라테론 아세테이트, 세비테로닐, 아미노글루테티미드, 피나스테리드, 두타스테리드, 에프리스테리드, 및 알파트라디올을 포함한다. 예시적인 항고나도트로핀제로는 류프로렐린 및 세트로렉릭스를 포함한다. 고려되는 다른 항안드로겐제로는 에티닐에스트라디올 및 디에틸stilbestrol을 포함한다.

[0324] 히드랄라진 용량 증가

[0325] 더욱이, 히드랄라진의 용량이 상기 마우스 모델에서 상기 경로를 완전히 억제시키는 데에는 불충분할 수 있고, 더 높은 용량의 히드랄라진이 유익한 것으로 입증될 수 있다. 따라서, 상기 마우스를 더 높은 용량의 히드랄라진으로 처리하였고, 히드랄라진의 용량 증가 (50 mg/kg/d)는 32 mg/kg/d 용량이 생존율을 개선시킨 것보다 더 크게 개선시키지는 못한 것을 나타냈다 (도 9).

[0326] 실시예 8: 옥시토신 유도 신호전달

[0327] 옥시토신 유도 ERK 신호전달은 PLC/IP3/PKC/ERK 축의 활성화가 대동맥 박리의 위험을 악화시킬 수 있다는 가설을 시험하는 방법으로서 사용된다. 본원에 기술된 vEDS 마우스 모델에서, 임신 및 수유는 vEDS 마우스에서 산 후 처음 30일 동안 동맥 박리에 기인한 60%의 치사율과 연관이 있는 것으로 나타났고, 출산 후 새끼 제거를 통한 수유 방해, 히드랄라진 (16 mg/kg/d)으로 처리, 또는 트라메티닙으로 처리가 vEDS 마우스에서 박리 및 사망을 예방할 수 있었다. 면역블롯팅에 의해 및 ERK 표적 유전자 발현에 의해 측정된 바와 같이, 이러한 사망 위

험 증가는 ERK 활성화 증가와 상관관계가 있는 반면, 대동맥 박리로부터의 보호는 ERK 활성화 감소와 상관관계가 있었다

[0328] 특이적인 옥시토신 수용체 길항제²를 이용한 마우스 처리를 추가하였고 (사용된 선택적 옥시토신 수용체 길항제는 데스 Gly-NH₂,d(CH₂)₅[D-Tyr₂,Thr₄]OVT였다), 이는 계속 수유 중인 vEDS 마우스에서 산후 처음 30일 동안 95%의 생존율을 유도하였고, 이는 임신 중 대동맥 박리에 기인하는 사망 위험의 유의적인 상승은 구체적으로 모유 수유 동안 옥시토신 수용체의 활성화에 의해 유도되었음을 입증하는 것이다 (도 10a 및 10b).

[0329] 추가로, 상기 집단에서 표준 치료이고, PLC/IP3/PKC/ERK 신호전달에는 영향을 주지 않으면서 혈압을 저하시키는 프로프라놀롤로 처리하는 것은 (도 10b) 상기 임신/모유수유 모델에서 생존에는 어떤 영향도 미치지 않았다 (46% 생존 대 산후 30일 경과시 50% 생존). 본 데이터는 추가로 PLC/IP3/PKC/ERK 신호전달 경로 활성화가 증가가 본 발명자들의 vEDS 마우스 모델에서의 대동맥 박리에 기인하는 사망 위험의 유의적인 상승을 유도하고, PLC/IP3/PKC/ERK 신호전달 경로를 억제시키는 것이 이러한 위험을 호전시킨다는 것을 뒷받침한다.

[0330] GPCR이 PLC/IP3/PKC/ERK 신호전달 경로를 활성화시켰다.

[0331] PLC/IP3/PKC/ERK 신호전달 경로의 활성화가 vEDS에서 병원성이라는 것이 본원에서 확인되었으며, 이러한 비정상적인 신호전달 경로를 활성화시킬 수 있는 수용체의 경로를 확인하였다. 상기 경로를 통한 GPCR (Gq) 신호 - 대동맥에서의 일반 Gq 수용체로는 안지오텐신 II 수용체, 트롬빈 수용체, 엔도텔린-1 수용체, 바소프레신 수용체 1, 스펅고신-1-포스페이트 수용체, 알파-1 아드레날린 수용체, 및 세로토닌 수용체를 포함한다. 그러나, 이 역시 대동맥에서 발견되고, 콜라겐 3과 상호작용하는 것으로 밝혀진 GPR56과 같은 오픈 GPCR 또한 존재한다^{3,4}.

[0332] 수용체의 활성이 억제된다면, 신호전달 경로가 어떻게 활성화되는지를 정확하게 확인할 수 있을 것이라는 가설을 세우게 되었다. 먼저 마우스를 안지오텐신 수용체 길항제인 로사르탄 (60 mg/kg/d)으로 처리하여 안지오텐신-II 신호전달을 억제시켰지만 (도 11a), 생존에는 어떤 영향도 미치지 않는 것으로 나타났다. 이어서, 마우스를 트롬빈 수용체 길항제인 보라팍사르 (1 mg/kg/d)로 마우스를 처리하였지만, 이 역시 생존에는 어떤 영향도 미치지 않는 것으로 나타났다 (도 11b).

[0333] 추가의 특이적인 Gq 수용체 억제제를 시험한다. 시험되는 예시적인 Gq 수용체 억제제로는 엔도텔린-1 수용체, 바소프레신 수용체 1, 스펅고신-1-포스페이트 수용체, 알파-1 아드레날린 수용체, 세로토닌 수용체, 및 오픈 GPCR, 예컨대, GPR56을 포함한다.

[0334] 티로신 키나제 수용체 및 PLC/IP3/PKC/ERK 신호전달 경로

[0335] PLC/IP3/PKC/ERK 신호전달 경로는 또한 대동맥에서 발견되는 티로신 키나제 수용체에 의해 전사활성화될 수 있다. 이들은 EGFR, VEGFR, FGFR, 및 PDGFR을 포함한다. 티로신 키나제 수용체가 비정상적으로 활성화되면, 이는 PLC/IP3/PKC/ERK 신호전달 경로의 상승을 유도한다는 가설을 시험하기 위해, 비특이적인 티로신 키나제 수용체 길항제인 닌테다닙 (50 mg/kg/d)으로 처리하는 처리를 수행하였지만, 이 역시 생존에는 어떤 영향도 미치지 않는 것으로 나타났다 (도 12). 이는 티로신 키나제 수용체 활성화가 vEDS 마우스에서 PLC/IP3/PKC/ERK 신호전달 경로의 활성화를 유도하지 않았다는 것을 시사하는 것이었다.

[0336] 베타-아드레날린 수용체 차단제 및 대동맥 파열의 위험

[0337] 다른 발명자들은 vEDS 표현형은 만성적으로 "약한" 조직의 결과라고 제안하였으며⁵⁻⁸, 그러므로, 베타-아드레날린 수용체 차단제를 이용하여 혈압을 저하시키는 것은 상기 환자에서 대동맥 파열의 위험을 감소시켜야 한다고 제안한다. 이러한 가설을 다루기 위해, 비특이적인 β 길항제인 프로프라놀롤 (80 mg/kg/d), 특이적인 β1 길항제인 아테놀롤 (120 mg/kg/d), 및 β1 길항제/β2 효능제인 셀리프롤롤 (200 mg/kg/d)를 마우스에 이용하였지만, 혈압 저하에도 불구하고, 이들 조작용들 중 어느 것도 본 발명자들의 vEDS 마우스 모델에서 생존을 개선시키지 못한 것으로 나타났다 (도 13a-13c). 셀리프롤롤은 심지어 마우스 모델에서 대동맥 박리의 위험을 가속화시켰고, 및 Col13a1^{G209S/+} 돌연변이를 포함하는 vEDS 돌연변이 또한 셀리프롤롤하의 대동맥 박리 위험 증가를 입증하였다 (도 14). 이러한 결과는 모든 β 길항제에 대해 공통된 것은 아니었기 때문에, 상기 관찰결과는 셀리프롤롤의 β2 효능작용 활성화에 의해 유도될 수 있다.

[0338] 또 다른 기전에 의해 혈압을 저하시키는 칼슘 채널 차단제 또한 시험하였다. 암로디핀 (12 mg/kg/d) 또한 마우스 모델에서 대동맥 박리의 위험을 증가시켰고, 이는 MFS (마르판 증후군) 마우스에서도 또한 일관되게 나타난

것으로 밝혀졌다⁹ (도 15).

[0339] 실시예 9: 단백질 키나제 C-베타 (PKC-β) 억제제를 이용한 마르판 증후군 치료

[0340] 실시예에서, 마르판 증후군 치료를 위해 상이한 PKC-β 억제제를 이용한다. 예를 들어, 마르판 증후군 치료는 루복시스타우린 투여를 포함할 수 있다. 여기서, 루복시스타우린 (10 mg/kg/d)을 이용한 PKCβ의 약리학적 억제제가 마르판 증후군 마우스에서 대동맥근 성장을 구조하였다는 것이 입증된다 (p=2E-4, 도 19). 다른 실시예에서, 마르판 증후군 치료는 엔자스타우린 또는 소트라스타우린 투여를 포함한다.

[0341] vEDS 치료를 위한 히드랄라진 및 항안드로겐제의 조합 요법

[0342] 히드랄라진 및 상이한 항안드로겐제의 추가 조합을 시험한다. 예를 들어, 히드랄라진, 및 스테로이드성 항안드로겐제 (시프로테론 아세테이트, 메게스트롤 아세테이트, 클로르마디논 아세테이트, 옥셀돌론 및 오사테론 아세테이트)를 비롯한 안드로겐 수용체 길항제가 고려된다. 추가로, 비스테로이드성 항안드로겐제, 예컨대, 플루타미드, 닐루타미드, 토플루타미드, 엔잘루타미드, 드로스피레논 또는 메드로게스톤과 조합된 히드랄라진이 고려된다.

[0343] 다른 실시예에서, 히드랄라진 및 안드로겐 합성 억제제 또는 항고나도트로핀제를 포함하는 조합 요법이 고려된다. 예시적인 안드로겐 합성 억제제로는 케토코나졸, 아비라테론 아세테이트, 세비테로넬, 아미노글루테티미드, 피나스테리드, 두타스테리드, 에프리스테리드, 및 알파트라디올을 포함한다. 예시적인 항고나도트로핀제로는 류프로렐린 및 세트로레릭스를 포함한다. 고려되는 다른 항안드로겐제로는 에티닐에스트라디올 및 디에틸stil베스트롤을 포함한다.

[0344] 실시예 10: vEDS 마우스에서 약리학적 억제가 생존을 증가시킨다.

[0345] vEDS 마우스에서 엔자스타우린을 이용한 약리학적 PKC 억제가 생존을 증가시킨다.

[0346] *Col3a1* G209S/+ 및 *Col3a1* G938D/+ 마우스 모델, 둘 모두 vEDS 표현형을 재현하였고, 이는 vEDS 치료용 작용제를 시험하는 데 사용된다. 마우스를 내약성이 우수한 경구적으로 투여되는 작용제인 엔자스타우린을 약 30 mg/kg/일로 이용하여 처리한다. 엔자스타우린은 ATP 결합 부위에 결합하여 단백질 키나제 C 베타 (PKC-β)를 선택적으로 억제시키며, 이에, 약리학적 PKC 억제제가 대동맥 박리로부터의 사망 위험을 구조할 것이라는 가설을 세운다. 비처리 마우스에서 생존율이 유의적으로 감소된 것과 비교하여, 처리 약 30일 (1개월) 후 생존율은 약 100%인 것으로 관찰된다 (예컨대, 대조군 마우스와 비교하여 통계학상 유의적인 차이).

[0347] 마우스를 또한 적어도 약 45일 동안 처리하고, 엔자스타우린으로 처리된 마우스의 생존율을 대조군 마우스와 비교하여 평가한다.

[0348] 마우스를 또한 더 높은 용량의 엔자스타우린, 예컨대, 약 40 mg/kg/일, 50 mg/kg/일, 또는 100 mg/kg/일로 처리한다. 다른 실시예에서, 마우스를 엔자스타우린을 이용하여 1일 1회 또는 1일 2회로 처리한다.

[0349] 상기 결과는 대동맥에서 엔자스타우린을 이용한 과도한 PLC/IP3/PKC/ERK 신호전달 억제는 vEDS 마우스 모델에서 대동맥 박리에 기인하는 사망 위험을 구조한다는 것을 시사한다.

[0350] vEDS 마우스에서 소트라스타우린을 이용한 약리학적 PKC 억제가 생존을 증가시킨다.

[0351] 본원에 기술된 마우스 모델 (예컨대, *Col3a1* G209S/+ 및 *Col3a1* G938D/+ 마우스 모델)을 사용하는 추가 연구를 이용하여 vEDS 치료를 위한 추가의 작용제에 대해 시험한다. 마우스를 내약성이 우수한 경구적으로 투여되는 작용제인 소트라스타우린을 약 30 mg/kg/일로 이용하여 처리된 마우스를 평가한다. 소트라스타우린 (AEB071)은 단백질 키나제 C 억제를 통해 T-림프구 활성화를 차단하는 면역억제제이다. 엔자스타우린과 유사하게, PKC 억제제 (예컨대, 소트라스타우린) 또한 대동맥 박리로부터의 사망 위험을 구조할 것이라는 가설을 세운다. 비처리 마우스에서 생존율이 유의적으로 감소된 것과 비교하여, 처리 약 30일 (1개월) 후 생존율은 약 100%인 것으로 관찰된다 (예컨대, 대조군 마우스와 비교하여 통계학상 유의적인 차이). 마우스를 또한 적어도 약 45일 동안 처리하고, 소트라스타우린으로 처리된 마우스의 생존율을 대조군 마우스와 비교하여 평가한다.

[0352] 마우스를 또한 더 높은 용량의 소트라스타우린, 예컨대, 약 40 mg/kg/일, 50 mg/kg/일, 또는 100 mg/kg/일로 처리한다. 다른 실시예에서, 마우스를 소트라스타우린을 이용하여 1일 1회 또는 1일 2회로 처리한다.

[0353] 상기 결과는 대동맥에서 소트라스타우린을 이용한 과도한 PLC/IP3/PKC/ERK 신호전달 억제가 vEDS 마우스 모델에서 대동맥 박리에 기인하는 사망 위험을 구조한다는 증거를 제공한다.

[0354] 참고문헌

1. Zaenglein AL. Acne Vulgaris. Solomon CG, ed. *N Engl J Med*. 2018;379(14):1343-1352.
2. Manning M, Misicka A, Olma A, et al. Oxytocin and Vasopressin Agonists and Antagonists as Research Tools and Potential Therapeutics. *J Neuroendocrinol*. 2012;24(4):609-628.
3. Luo R, Jin Z, Deng Y, Strokes N, Piao X. Disease-Associated Mutations Prevent GPR56-Collagen III Interaction. Mei L, ed. *PLoS One*. 2012;7(1):e29818.
4. Luo R, Jeong S-J, Yang A, et al. Mechanism for Adhesion G Protein-Coupled Receptor GPR56-Mediated RhoA Activation Induced By Collagen III Stimulation. 2014.
5. Ong KT, Perdu J, De Backer J, et al. Effect of celiprolol on prevention of cardiovascular events in vascular Ehlers-Danlos syndrome: A prospective randomised, open, blinded-endpoints trial. *Lancet*. 2010;376(9751):1476-1484.
6. D'hondt S, Guillemin B, Syx D, et al. Type III collagen affects dermal and vascular collagen fibrillogenesis and tissue integrity in a mutant Col3a1 transgenic mouse model. *Matrix Biol*. 2018;70:72-83.
7. Briest W, Cooper TK, Tae H-J, Krawczyk M, McDonnell NB, Talan MI. Doxycycline ameliorates the susceptibility to aortic lesions in a mouse model for the vascular type of Ehlers-Danlos syndrome. *J Pharmacol Exp Ther*. 2011;337(3).
8. Shalhub S, Black JH, Cecchi AC, et al. Molecular diagnosis in vascular Ehlers-Danlos syndrome predicts pattern of arterial involvement and outcomes. *J Vasc Surg*.
9. Doyle JJ, Doyle AJ, Wilson NK, et al. A deleterious gene-by-environment interaction imposed by calcium channel blockers in Marfan syndrome. *Elife*. 2015;4.

[0355]

[0356] **다른 실시양태**

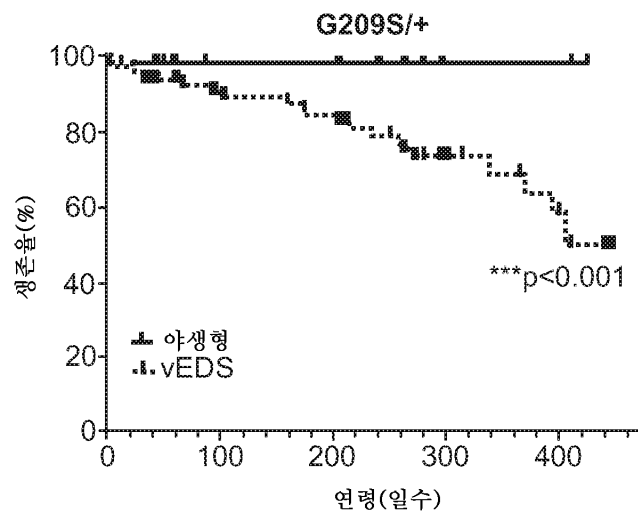
[0357] 본 발명은 그의 상세한 설명과 함께 기술되었지만, 상기 설명은 첨부된 청구범위의 범주에 의해 정의되는 본 발명의 범주를 제한하는 것이 아니라, 설명하는 것으로 의도된다. 다른 측면, 이점, 및 변형도 하기 청구범위의 범주 내에 포함된다.

[0358] 본원에서 언급된 특허 및 과학 문헌은 관련 기술분야의 통상의 기술자가 이용가능한 지식을 확립한다. 본원에서 인용된 모든 미국 특허 및 공개된 또는 비공개된 미국 특허 출원은 본원에서 참조로 포함된다. 본원에서 인용된 모든 공개된 외국 특허 및 특허 출원은 본원에서 참조로 포함된다. 본원에서 인용된, 수탁 번호로 표시된 진뱅크 및 NCBI 제출은 본원에서 참조로 포함된다. 본원에서 인용된 모든 다른 공개된 참고문헌, 서류, 원고 및 과학 문헌은 본원에서 참조로 포함된다.

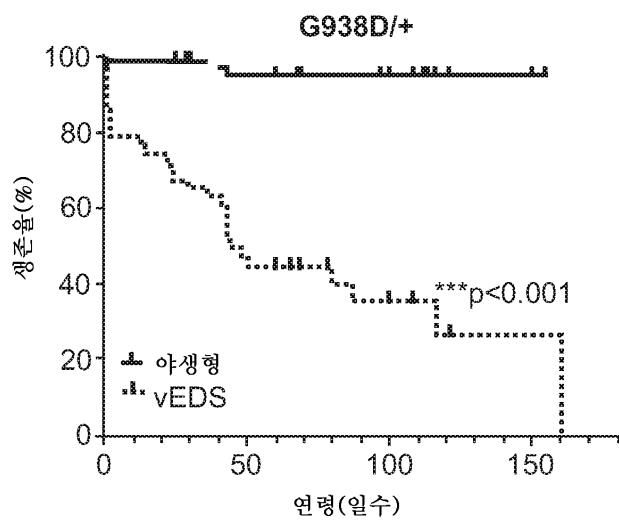
[0359] 본 발명은 특히 그의 바람직한 실시양태를 참조로 하여 제시되고, 기술되었지만, 첨부된 청구범위에 의해 포괄되는 본 발명의 범주로부터 벗어남 없이 형태 및 세부 사항에서 다양하게 변형될 수 있다는 것을 관련 기술분야의 통상의 기술자는 이해할 것이다.

도면

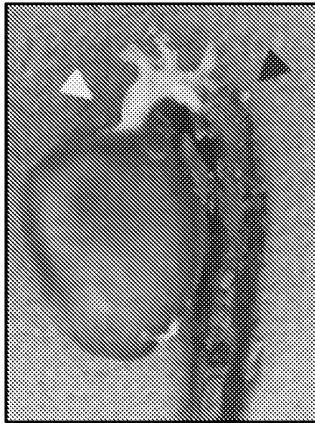
도면1a



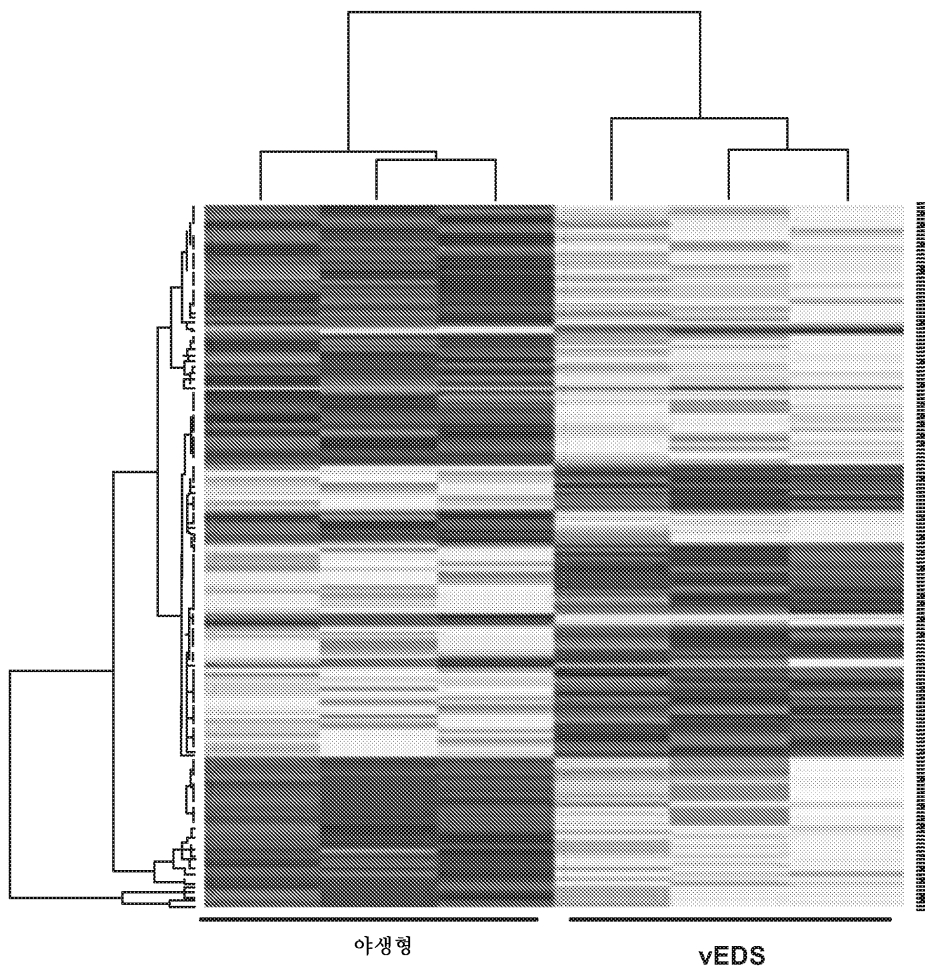
도면1b



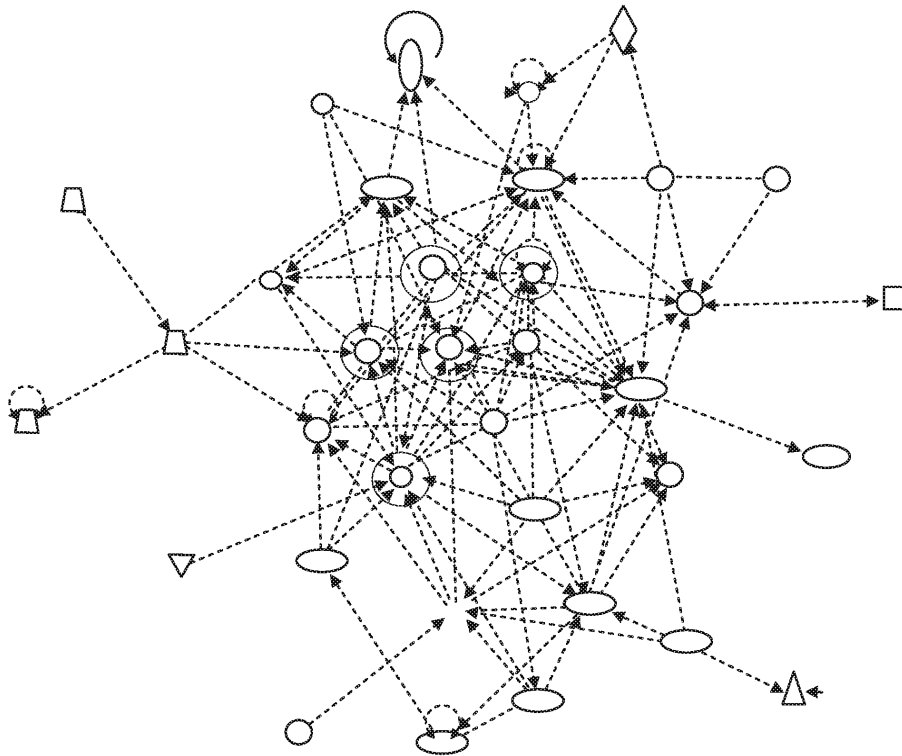
도면1c



도면1d



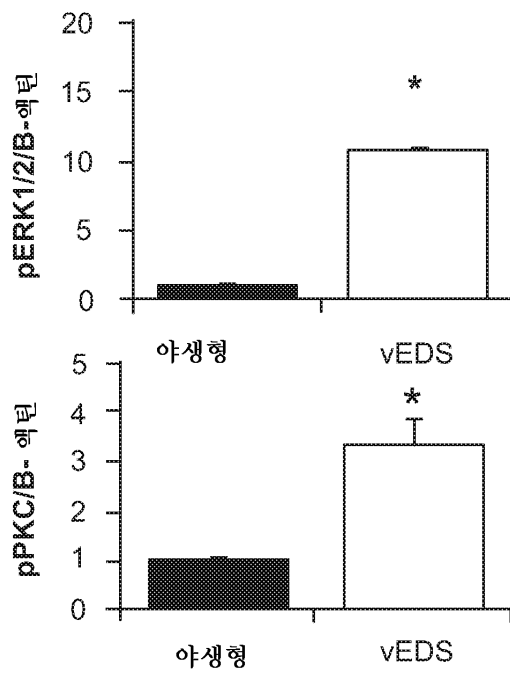
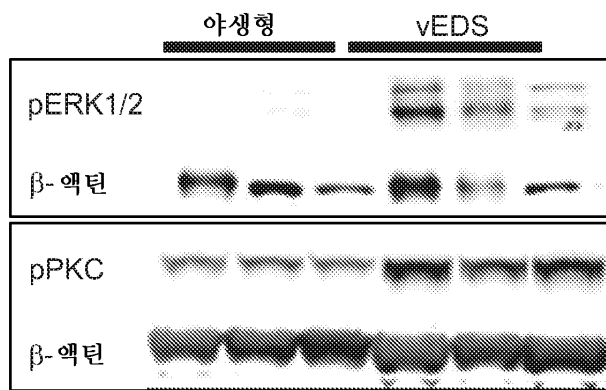
도면1e



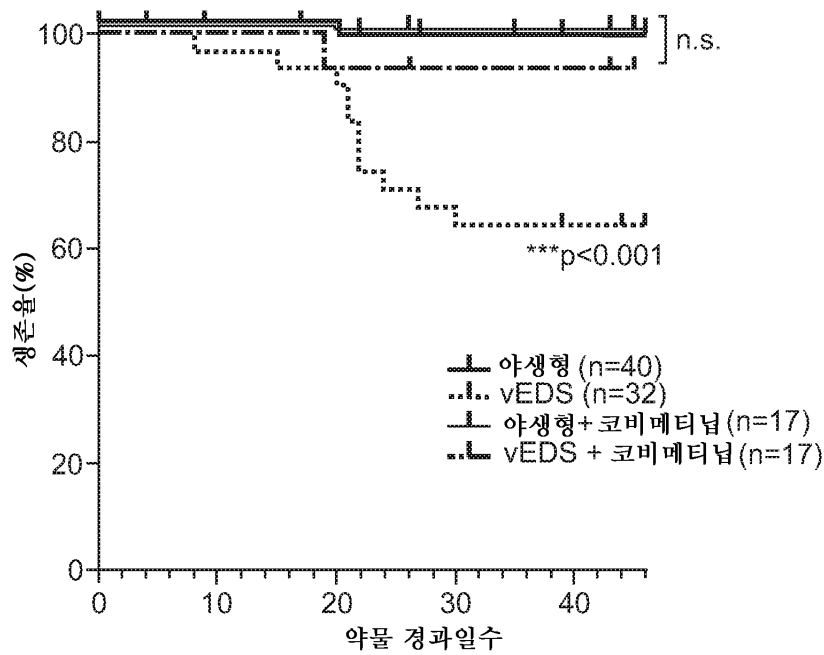
도면1f

상류 조절인자	설명	중복 p 값
APOE	수송체	3.47E-12
NFATC3	Ca ²⁺ 에 의해 활성화되는 전사 조절인자	8.70E-11
F2R	GPCR	8.70E-08
ELK3	ERK에 의해 활성화되는 전사 조절인자	5.41E-08
Mt2	GPCR	1.45E-07
Mt1	GPCR	1.79E-07
LIPE	효소	3.09E-07
ELK4	ERK에 의해 활성화되는 전사 조절인자	4.71E-07
AFP	수송체	4.71E-07
ERK1/2	그룹	5.92E-07

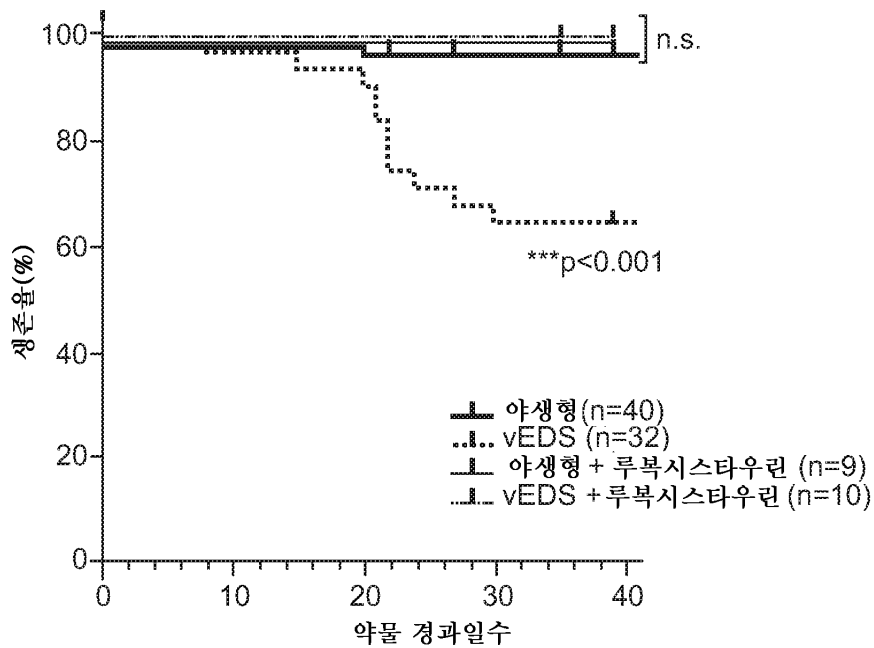
도면1g



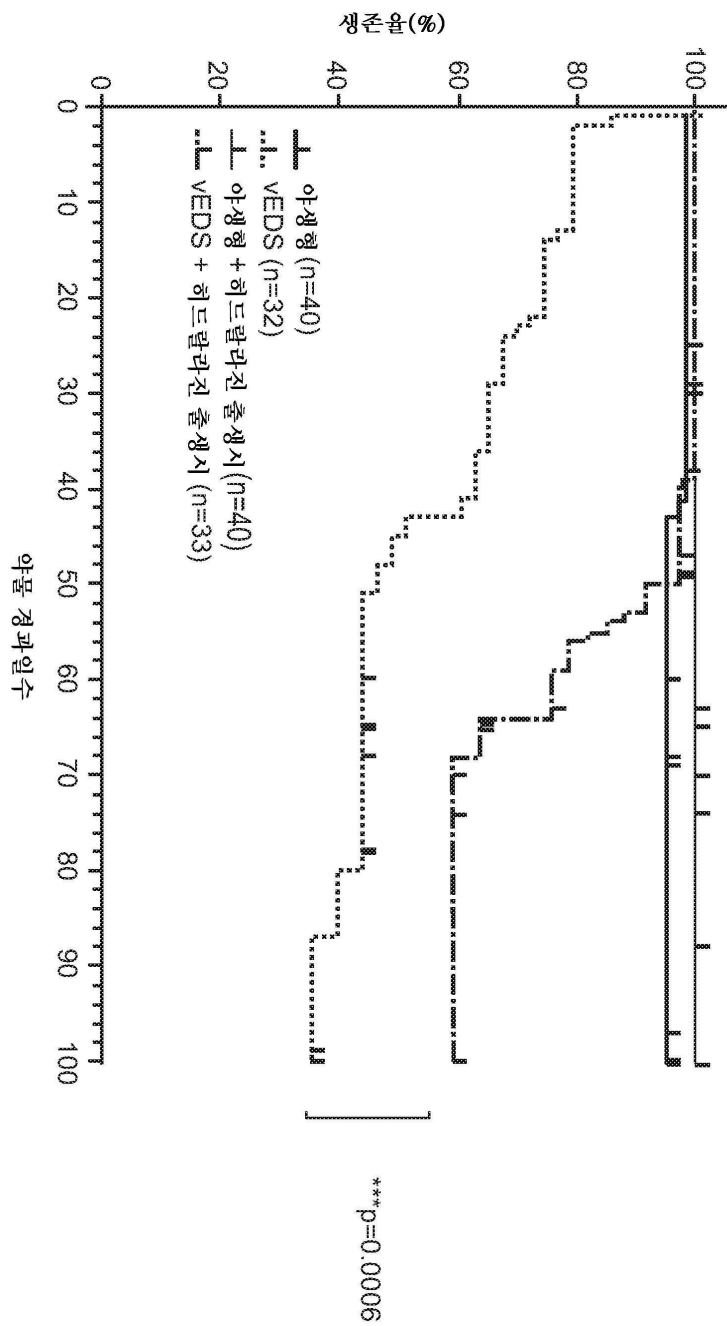
도면2a



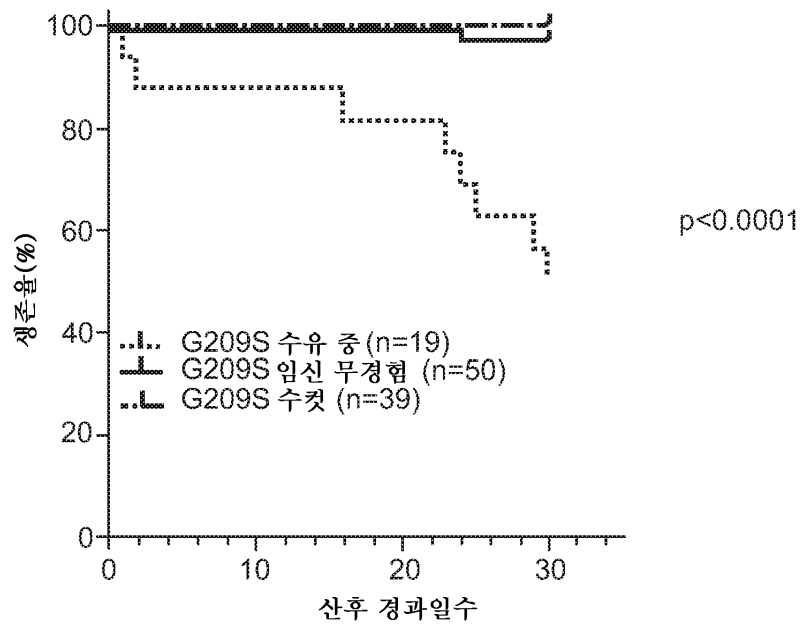
도면2b



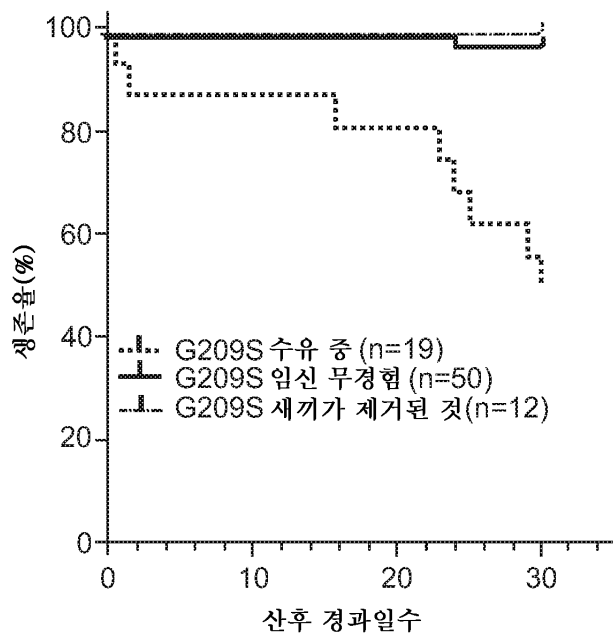
도면2c



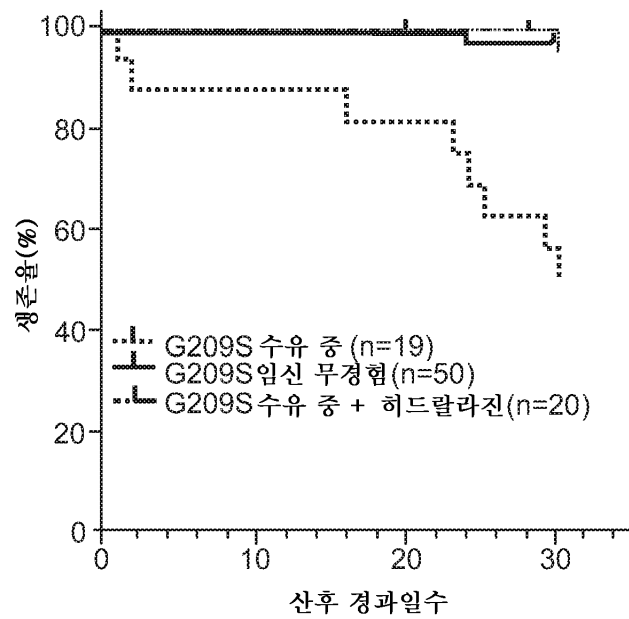
도면3a



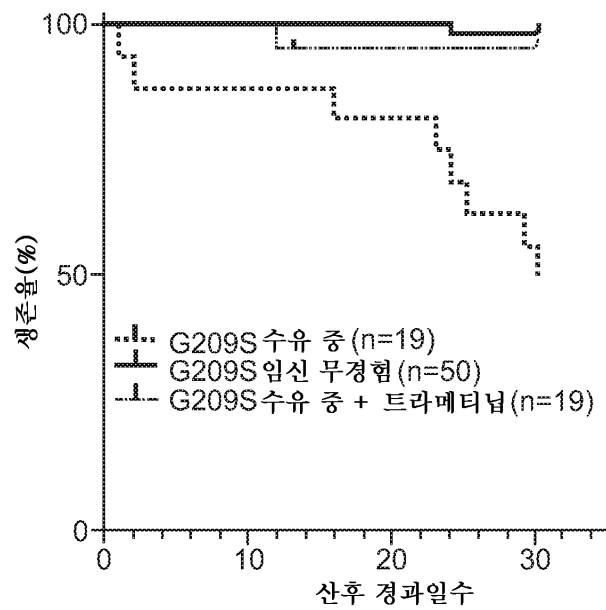
도면3b



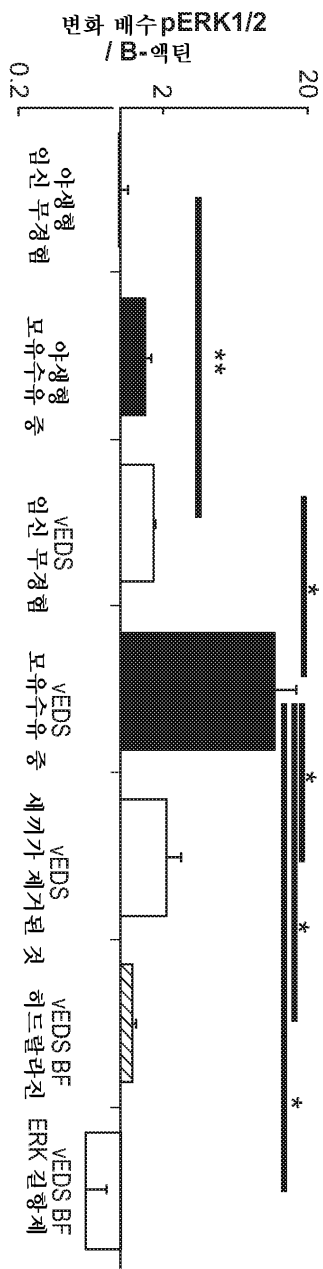
도면3c



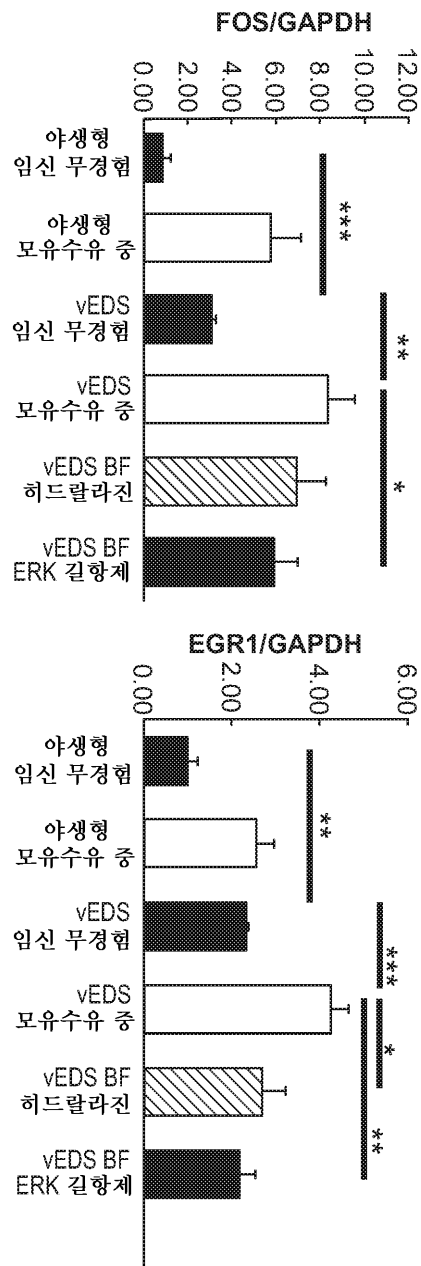
도면3d



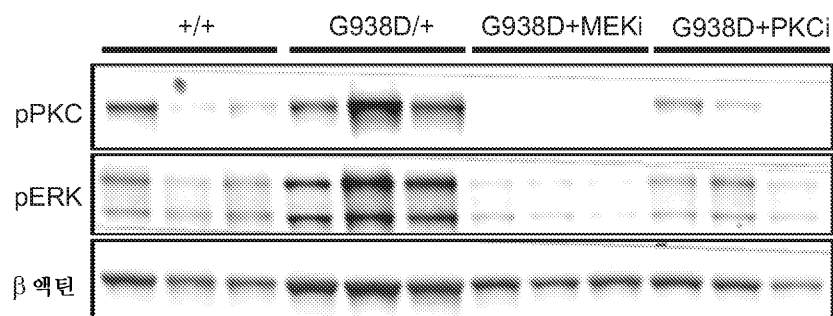
도면3e



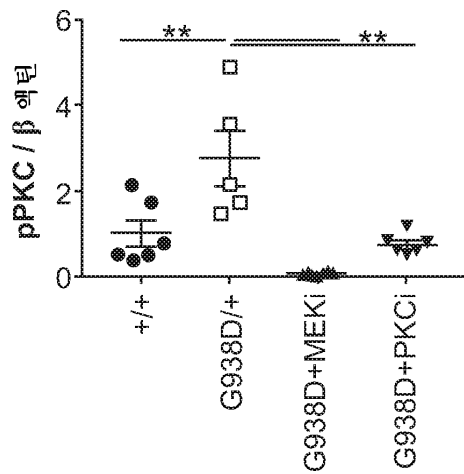
도면3f



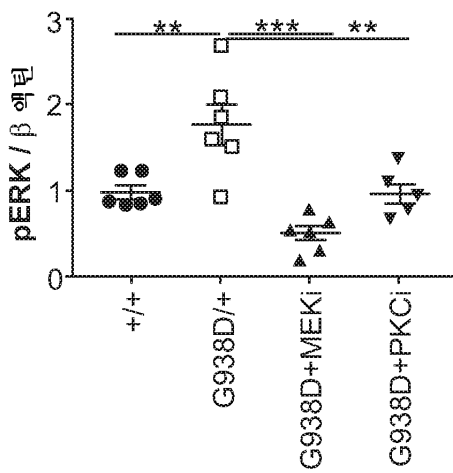
도면4a



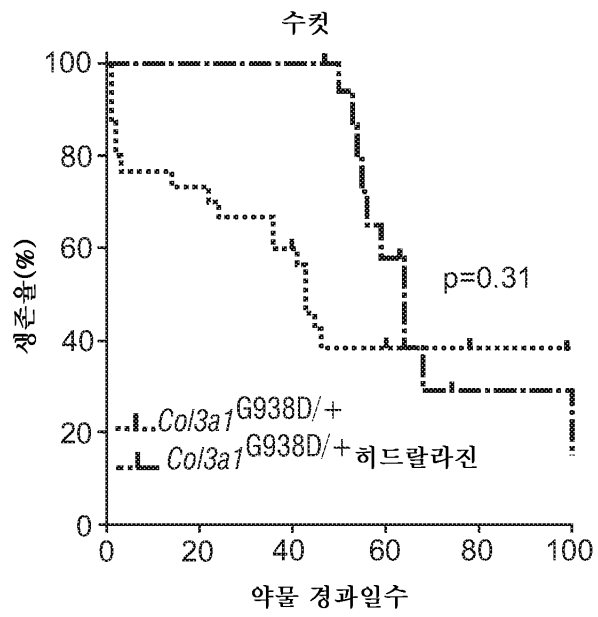
도면4b



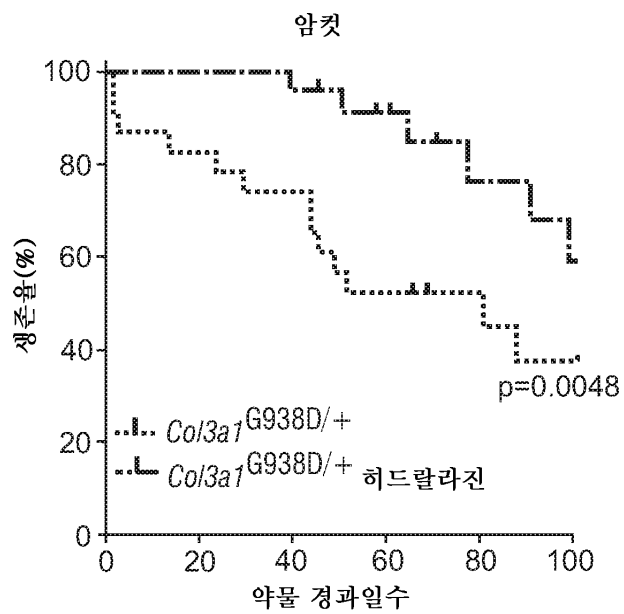
도면4c



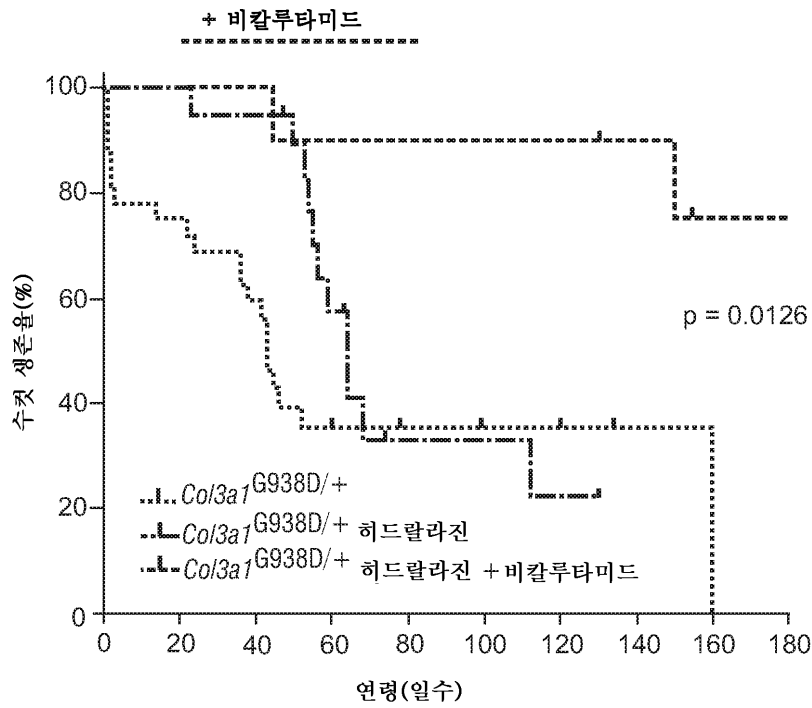
도면5a



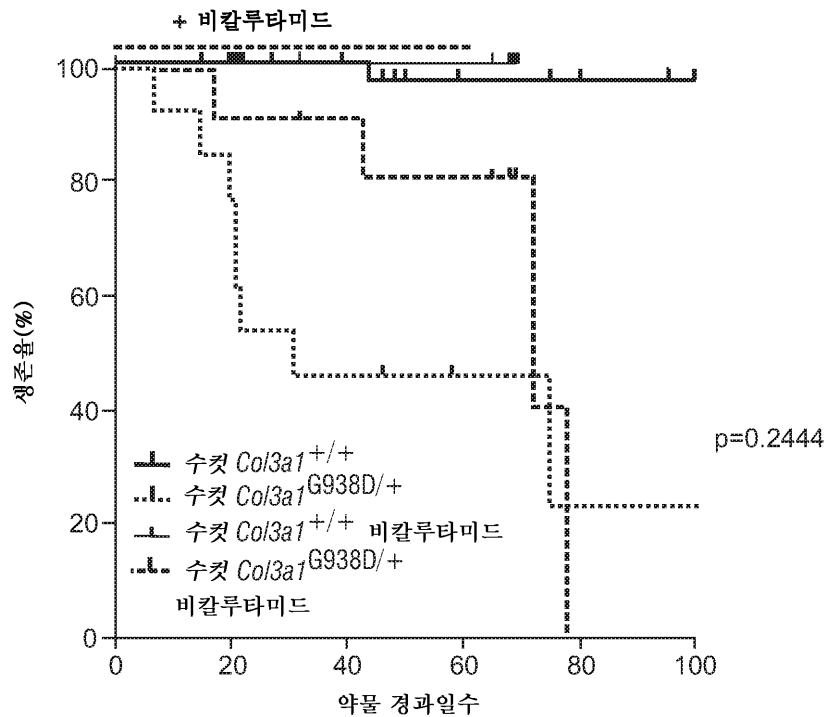
도면5b



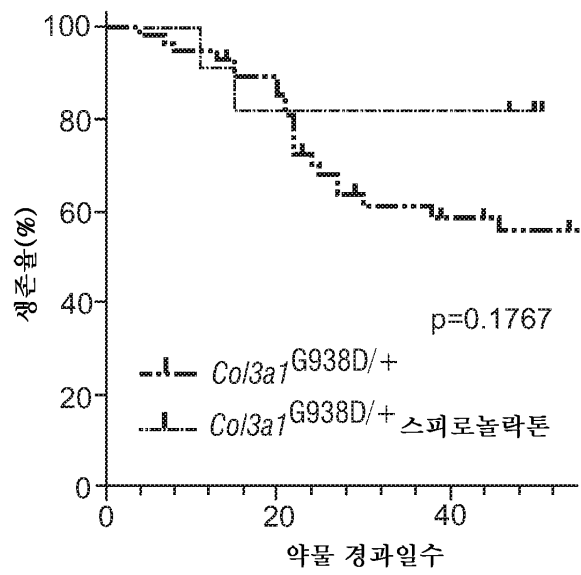
도면6



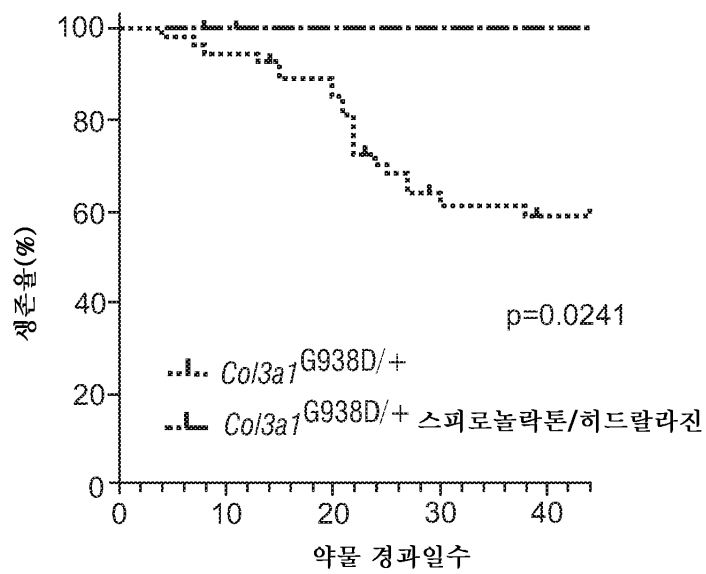
도면7



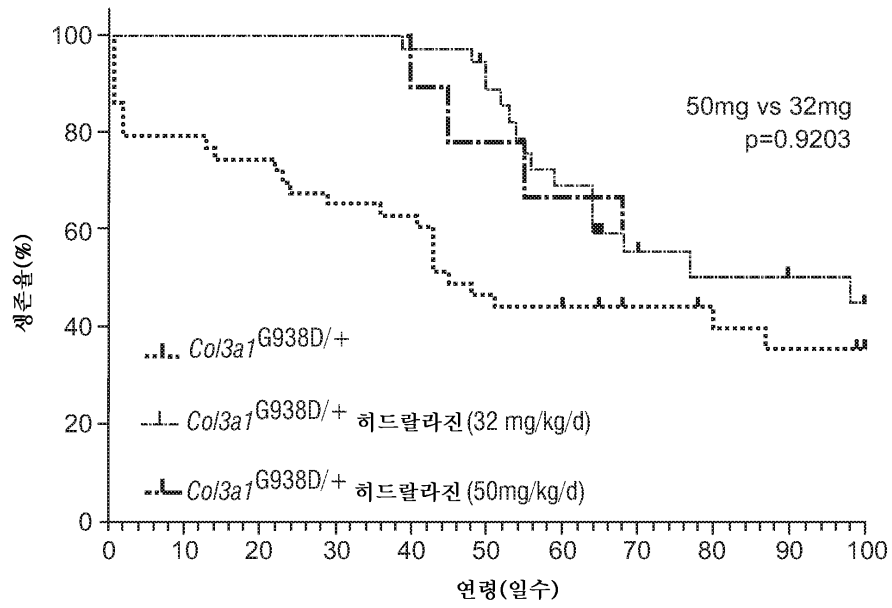
도면8a



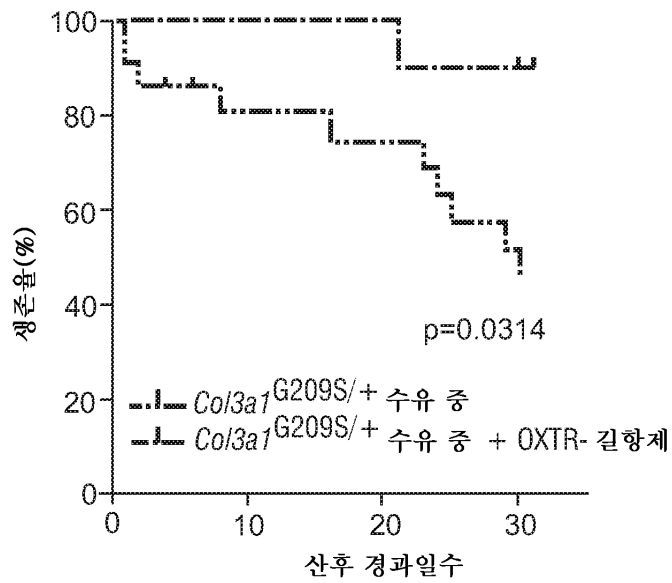
도면8b



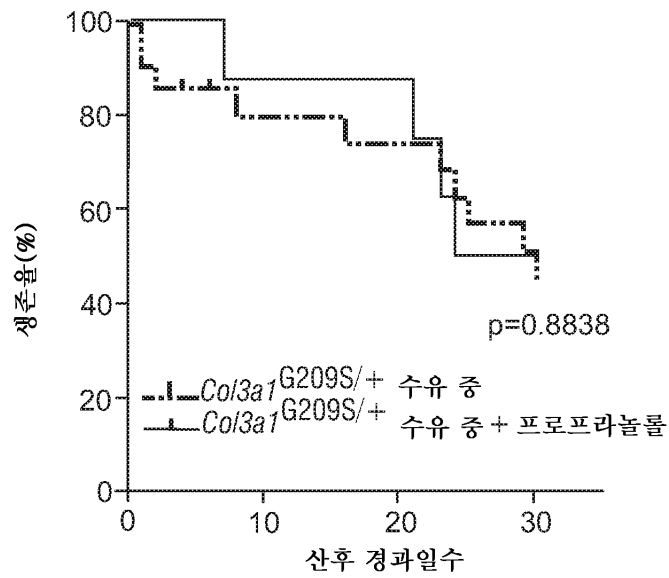
도면9



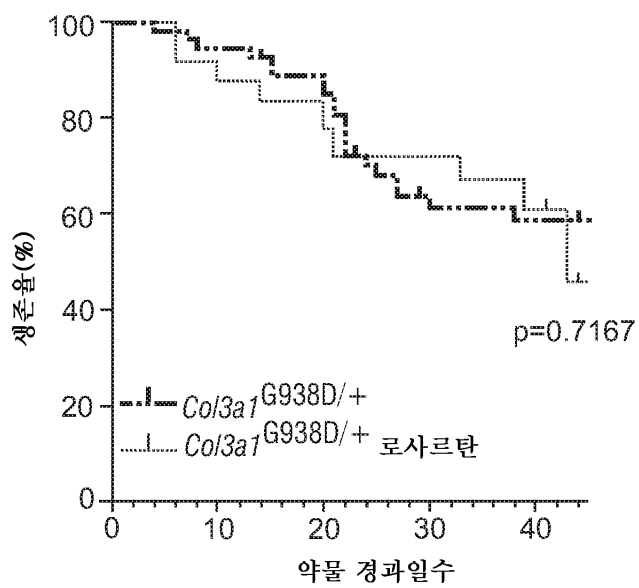
도면10a



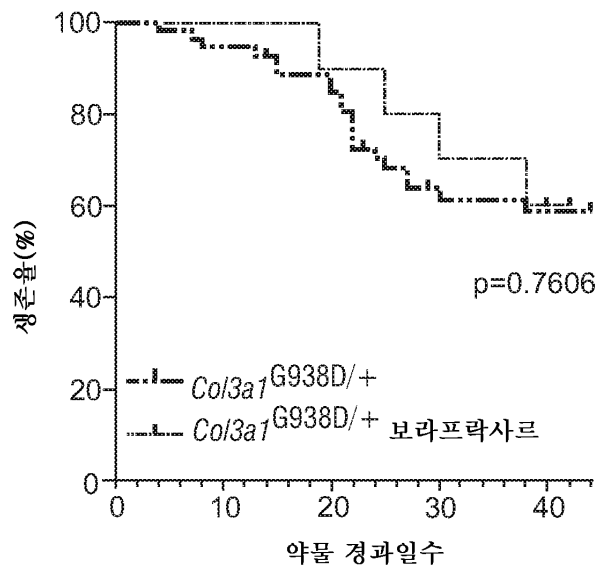
도면10b



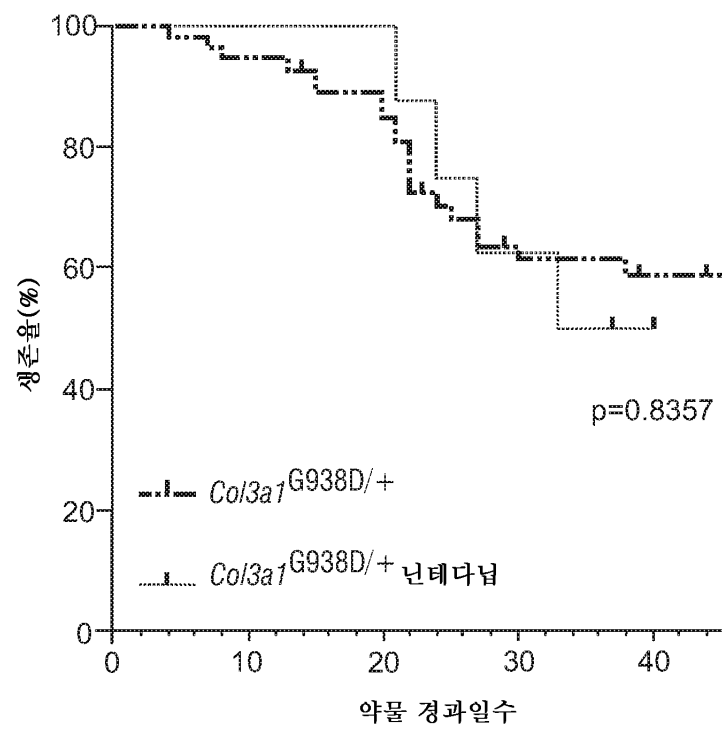
도면11a



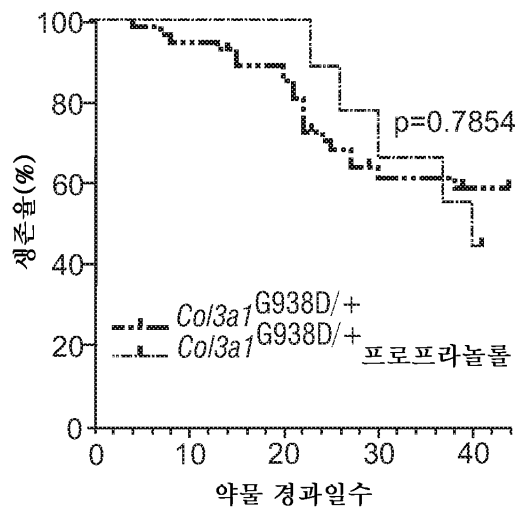
도면11b



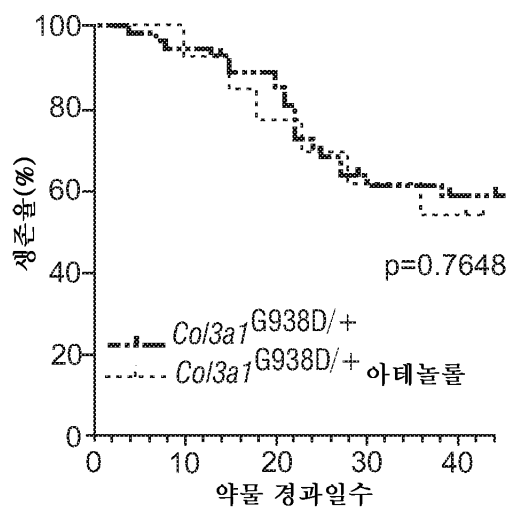
도면12



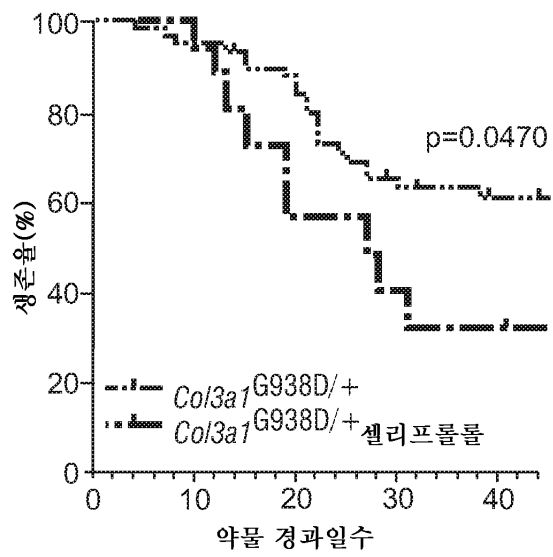
도면13a



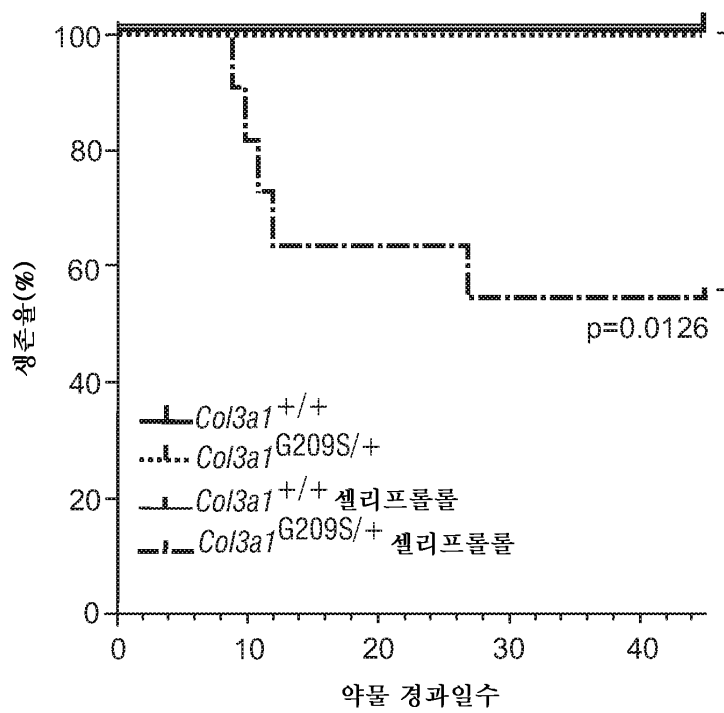
도면13b



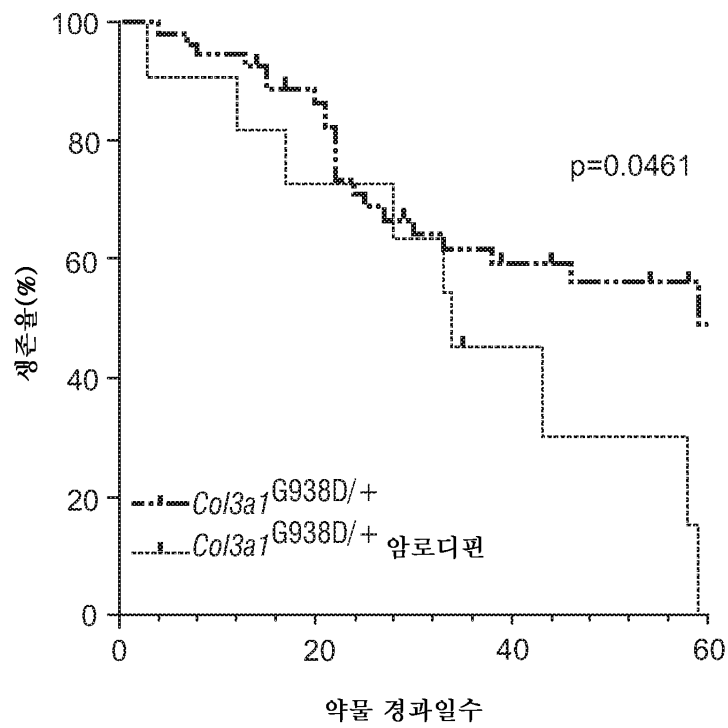
도면13c



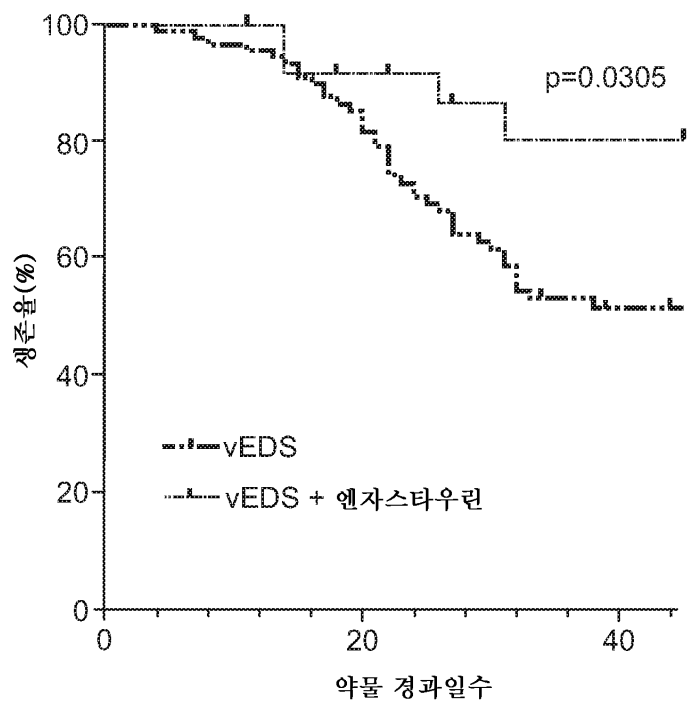
도면14



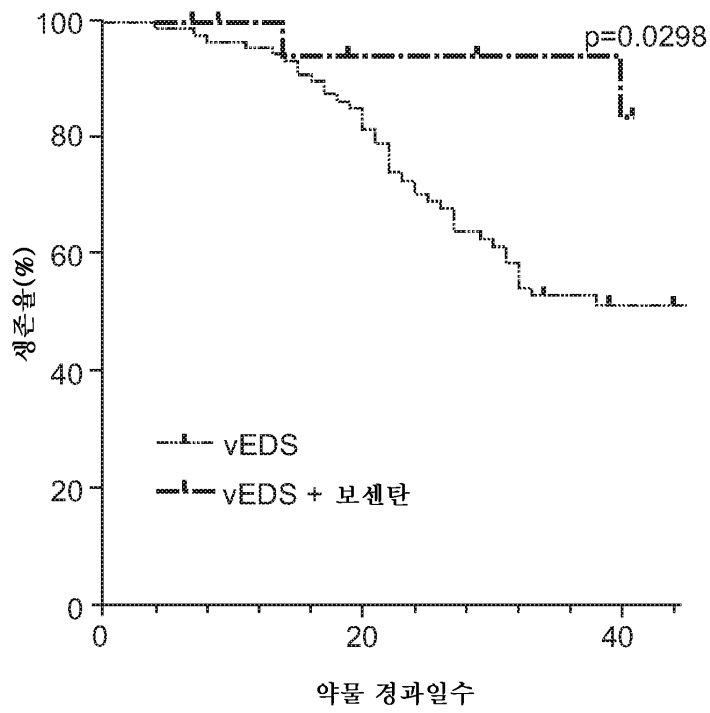
도면15



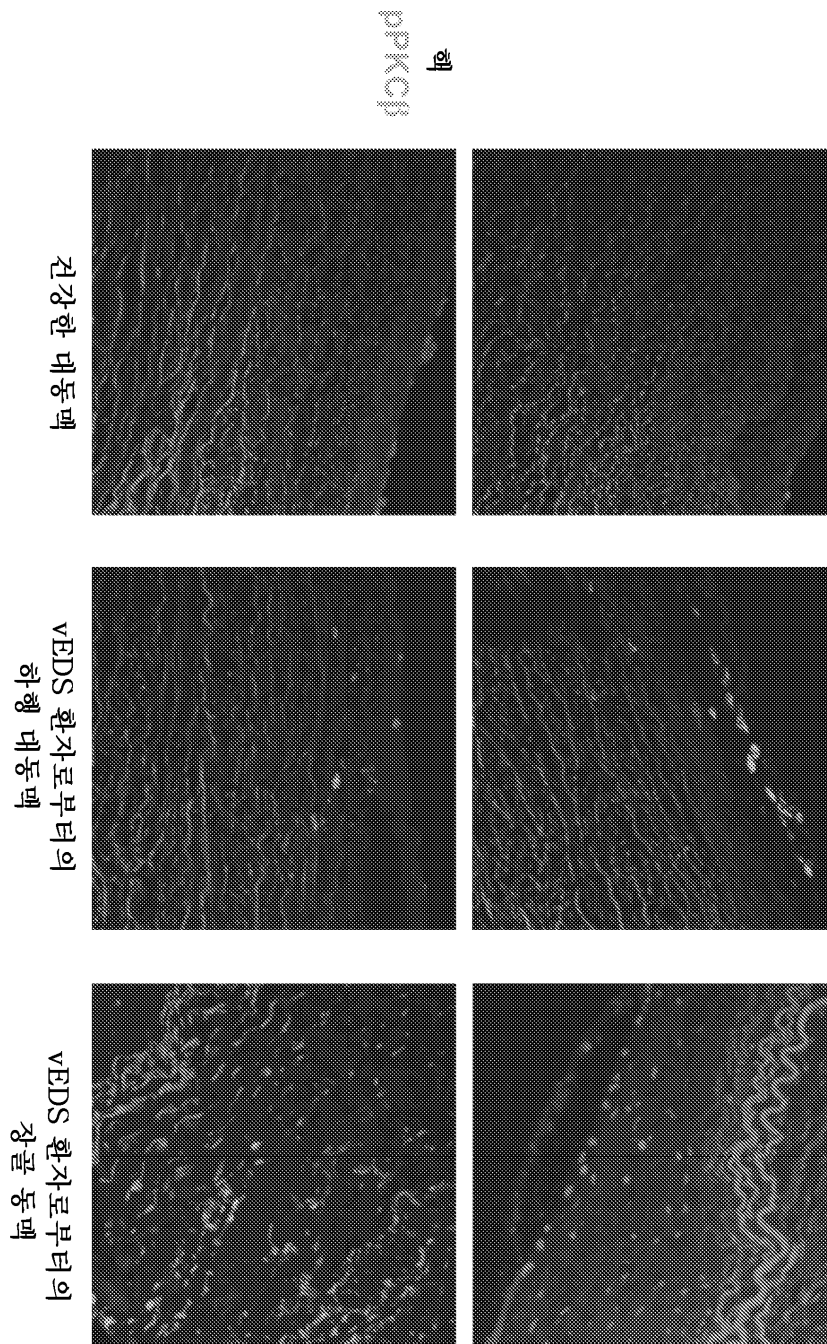
도면16a



도면16b

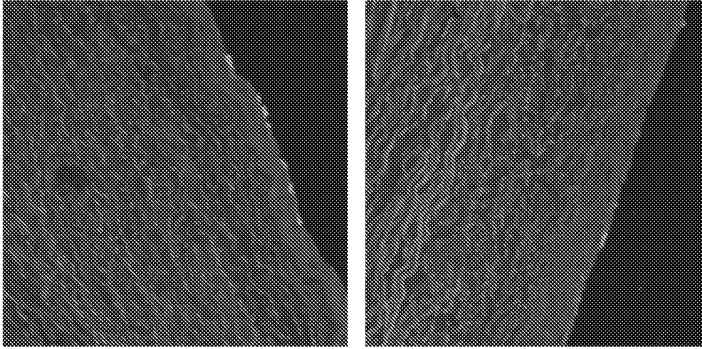


도면17

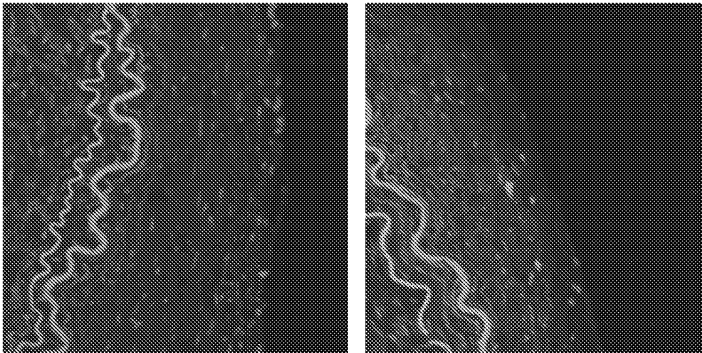


도면18

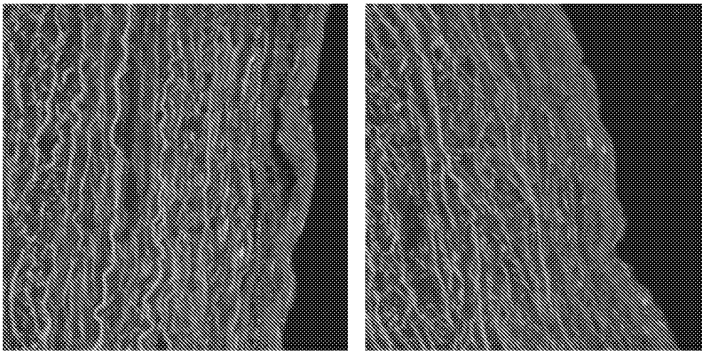
건강한 대동맥



VEDS 환자로부터의
장골 동맥



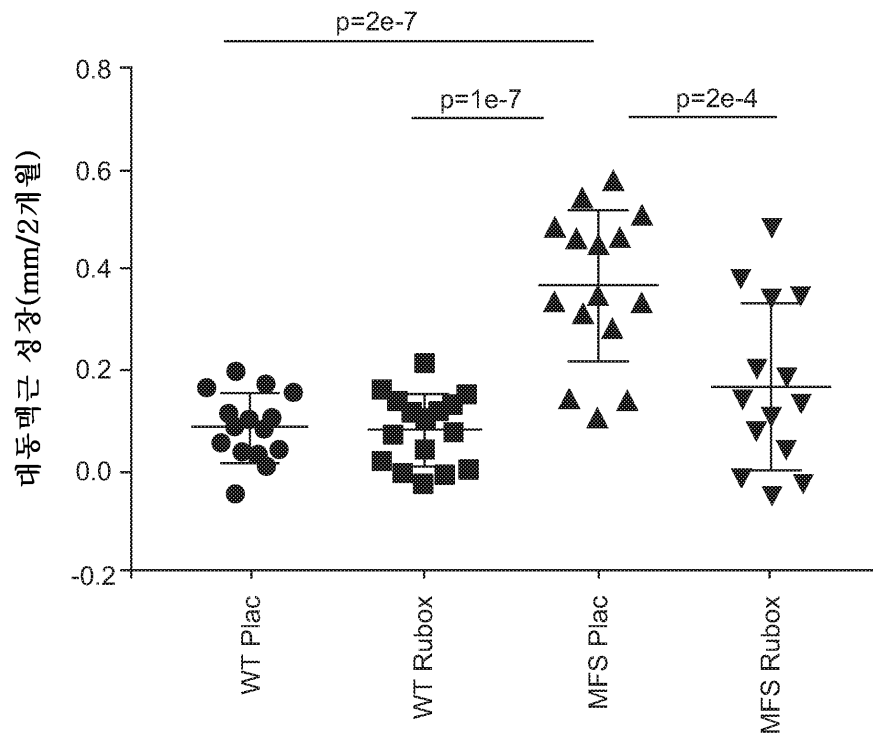
VEDS 환자로부터의
하행 대동맥



PERK1/2
형

도면19

루복시스타우린 처리가 129 MFS 마우스에서
대동맥근 성장을 감소시킨다



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> THE JOHNS HOPKINS UNIVERSITY

<120> COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING VASCULAR EHLERS DANLOS
SYNDROME AND ASSOCIATED DISORDERS

<130> 048317-559001W0

<140> PCT/US2019/056616

<141> 2019-10-16

<150> 62/838,049

<151> 2019-04-24

<150> 62/747,587

<151> 2018-10-18

<150> 62/746,524

<151> 2018-10-16

<160> 8

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1163

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Met Ser Phe Val Gln Lys Gly Ser Trp Leu Leu Leu Ala Leu Leu

1 5 10 15
His Pro Thr Ile Ile Leu Ala Gln Gln Glu Ala Val Glu Gly Gly Cys
20 25 30
Ser His Leu Gly Gln Ser Tyr Ala Asp Arg Asp Val Trp Lys Pro Glu
35 40 45
Pro Cys Gln Ile Cys Val Cys Asp Ser Gly Ser Val Leu Cys Asp Asp
50 55 60
Ile Ile Cys Asp Asp Gln Glu Leu Asp Cys Pro Asn Pro Glu Ile Pro

65 70 75 80
Phe Gly Glu Cys Cys Ala Val Cys Pro Gln Pro Pro Thr Ala Pro Thr
85 90 95
Arg Pro Pro Asn Gly Gln Gly Pro Gln Gly Pro Lys Gly Asp Pro Gly
100 105 110
Pro Pro Gly Ile Pro Gly Arg Asn Gly Asp Pro Gly Ile Pro Gly Gln
115 120 125
Pro Gly Ser Pro Gly Ser Pro Gly Pro Pro Gly Ile Cys Glu Ser Cys

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

195 200 205
 Ala Gly Pro Ser Gly Pro Pro Gly Pro Pro Gly Ala Ile Gly Pro Ser
 210 215 220
 Gly Pro Ala Gly Lys Asp Gly Glu Ser Gly Arg Pro Gly Arg Pro Gly
 225 230 235 240
 Glu Arg Gly Leu Pro Gly Pro Pro Gly Ile Lys Gly Pro Ala Gly Ile
 245 250 255
 Pro Gly Phe Pro Gly Met Lys Gly His Arg Gly Phe Asp Gly Arg Asn

 260 265 270
 Gly Glu Lys Gly Glu Thr Gly Ala Pro Gly Leu Lys Gly Glu Asn Gly
 275 280 285
 Leu Pro Gly Glu Asn Gly Ala Pro Gly Pro Met Gly Pro Arg Gly Ala
 290 295 300
 Pro Gly Glu Arg Gly Arg Pro Gly Leu Pro Gly Ala Ala Gly Ala Arg
 305 310 315 320
 Gly Asn Asp Gly Ala Arg Gly Ser Asp Gly Gln Pro Gly Pro Pro Gly

 325 330 335
 Pro Pro Gly Thr Ala Gly Phe Pro Gly Ser Pro Gly Ala Lys Gly Glu
 340 345 350
 Val Gly Pro Ala Gly Ser Pro Gly Ser Asn Gly Ala Pro Gly Gln Arg
 355 360 365
 Gly Glu Pro Gly Pro Gln Gly His Ala Gly Ala Gln Gly Pro Pro Gly
 370 375 380
 Pro Pro Gly Ile Asn Gly Ser Pro Gly Gly Lys Gly Glu Met Gly Pro

 385 390 395 400
 Ala Gly Ile Pro Gly Ala Pro Gly Leu Met Gly Ala Arg Gly Pro Pro
 405 410 415
 Gly Pro Ala Gly Ala Asn Gly Ala Pro Gly Leu Arg Gly Gly Ala Gly
 420 425 430
 Glu Pro Gly Lys Asn Gly Ala Lys Gly Glu Pro Gly Pro Arg Gly Glu
 435 440 445

Arg Gly Glu Ala Gly Ile Pro Gly Val Pro Gly Ala Lys Gly Glu Asp

450 455 460

Gly Lys Asp Gly Ser Pro Gly Glu Pro Gly Ala Asn Gly Leu Pro Gly

465 470 475 480

Ala Ala Gly Glu Arg Gly Ala Pro Gly Phe Arg Gly Pro Ala Gly Pro

485 490 495

Asn Gly Ile Pro Gly Glu Lys Gly Pro Ala Gly Glu Arg Gly Ala Pro

500 505 510

Gly Pro Ala Gly Pro Arg Gly Ala Ala Gly Glu Pro Gly Arg Asp Gly

515 520 525

Val Pro Gly Gly Pro Gly Met Arg Gly Met Pro Gly Ser Pro Gly Gly

530 535 540

Pro Gly Ser Asp Gly Lys Pro Gly Pro Pro Gly Ser Gln Gly Glu Ser

545 550 555 560

Gly Arg Pro Gly Pro Pro Gly Pro Ser Gly Pro Arg Gly Gln Pro Gly

565 570 575

Val Met Gly Phe Pro Gly Pro Lys Gly Asn Asp Gly Ala Pro Gly Lys

580 585 590

Asn Gly Glu Arg Gly Gly Pro Gly Gly Pro Gly Pro Gln Gly Pro Pro

595 600 605

Gly Lys Asn Gly Glu Thr Gly Pro Gln Gly Pro Pro Gly Pro Thr Gly

610 615 620

Pro Gly Gly Asp Lys Gly Asp Thr Gly Pro Pro Gly Pro Gln Gly Leu

625 630 635 640

Gln Gly Leu Pro Gly Thr Gly Gly Pro Pro Gly Glu Asn Gly Lys Pro

645 650 655

Gly Glu Pro Gly Pro Lys Gly Asp Ala Gly Ala Pro Gly Ala Pro Gly

660 665 670

Gly Lys Gly Asp Ala Gly Ala Pro Gly Glu Arg Gly Pro Pro Gly Leu

675 680 685

Ala Gly Ala Pro Gly Leu Arg Gly Gly Ala Gly Pro Pro Gly Pro Glu

690 695 700
 Gly Gly Lys Gly Ala Ala Gly Pro Pro Gly Pro Pro Gly Ala Ala Gly

705 710 715 720
 Thr Pro Gly Leu Gln Gly Met Pro Gly Glu Arg Gly Gly Leu Gly Ser

725 730 735
 Pro Gly Pro Lys Gly Asp Lys Gly Glu Pro Gly Gly Pro Gly Ala Asp

740 745 750
 Gly Val Pro Gly Lys Asp Gly Pro Arg Gly Pro Thr Gly Pro Ile Gly

755 760 765
 Pro Pro Gly Pro Ala Gly Gln Pro Gly Asp Lys Gly Glu Gly Gly Ala

770 775 780
 Pro Gly Leu Pro Gly Ile Ala Gly Pro Arg Gly Ser Pro Gly Glu Arg

785 790 795 800
 Gly Glu Thr Gly Pro Pro Gly Pro Ala Gly Phe Pro Gly Ala Pro Gly

805 810 815
 Gln Asn Gly Glu Pro Gly Gly Lys Gly Glu Arg Gly Ala Pro Gly Glu

820 825 830
 Lys Gly Glu Gly Gly Pro Pro Gly Val Ala Gly Pro Pro Gly Lys Asp

835 840 845
 Gly Thr Ser Gly His Pro Gly Pro Ile Gly Pro Pro Gly Pro Arg Gly

850 855 860
 Asn Arg Gly Glu Arg Gly Ser Glu Gly Ser Pro Gly His Pro Gly Gln

865 870 875 880
 Pro Gly Pro Pro Gly Pro Pro Gly Ala Pro Gly Pro Cys Cys Gly Gly

885 890 895
 Val Gly Ala Ala Ala Ile Ala Gly Ile Gly Gly Glu Lys Ala Gly Gly

900 905 910
 Phe Ala Pro Tyr Tyr Gly Asp Glu Pro Met Asp Phe Lys Ile Asn Thr

915 920 925
 Asp Glu Ile Met Thr Ser Leu Lys Ser Val Asn Gly Gln Ile Glu Ser

930 935 940

Leu Ile Ser Pro Asp Gly Ser Arg Lys Asn Pro Ala Arg Asn Cys Arg
 945 950 955 960
 Asp Leu Lys Phe Cys His Pro Glu Leu Lys Ser Gly Glu Tyr Trp Val

 965 970 975
 Asp Pro Asn Gln Gly Cys Lys Leu Asp Ala Ile Lys Val Phe Cys Asn
 980 985 990
 Met Glu Thr Gly Glu Thr Cys Ile Ser Ala Asn Pro Leu Asn Val Pro
 995 1000 1005
 Arg Lys His Trp Trp Thr Asp Ser Ser Ala Glu Lys Lys His Val
 1010 1015 1020
 Trp Phe Gly Glu Ser Met Asp Gly Gly Phe Gln Phe Ser Tyr Gly

 1025 1030 1035
 Asn Pro Glu Leu Pro Glu Asp Val Leu Asp Val Gln Leu Ala Phe
 1040 1045 1050
 Leu Arg Leu Leu Ser Ser Arg Ala Ser Gln Asn Ile Thr Tyr His
 1055 1060 1065
 Cys Lys Asn Ser Ile Ala Tyr Met Asp Gln Ala Ser Gly Asn Val
 1070 1075 1080
 Lys Lys Ala Leu Lys Leu Met Gly Ser Asn Glu Gly Glu Phe Lys

 1085 1090 1095
 Ala Glu Gly Asn Ser Lys Phe Thr Tyr Thr Val Leu Glu Asp Gly
 1100 1105 1110
 Cys Thr Lys His Thr Gly Glu Trp Ser Lys Thr Val Phe Glu Tyr
 1115 1120 1125
 Arg Thr Arg Lys Ala Val Arg Leu Pro Ile Val Asp Ile Ala Pro
 1130 1135 1140
 Tyr Asp Ile Gly Gly Pro Asp Gln Glu Phe Gly Val Asp Val Gly

 1145 1150 1155
 Pro Val Cys Phe Leu
 1160
 <210> 2

<211> 5490

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 2

ggctgagttt tatgacgggc ccggtgctga agggcaggga acaacttgat ggtgctactt	60
tgaactgctt ttcttttctc ctttttgac aaagagtctc atgtctgata tttagacatg	120
atgagctttg tgcaaaaggg gagctggcta cttctcgctc tgcttcatcc cactattatt	180
ttggcacaac aggaagctgt tgaaggagga tgttcccatc ttggtcagtc ctatgcggat	240
agagatgtct ggaagccaga accatgccaa atatgtgtct gtgactcagg atccgttctc	300
tgcatgaca taatatgtga cgatcaagaa ttagactgcc ccaaccaga aattccattt	360
ggagaatgtt gtgcagtttg ccacagcct ccaactgctc ctactgccc tcctaattgt	420
caaggacctc aaggcccaa gggagatcca ggcctcctg gtattcctgg gagaaatgt	480
gaccttggtt ttccaggaca accagggtcc cctggttctc ctggccccc tggaaatctgt	540
gaatcatgcc ctactggtc tcagaactat tctcccagt atgattcata tgatgtcaag	600
tctggagtag cagtaggagg actcgcaggc taccctggac cagctggccc ccaggccct	660
cccgtcccc ctggtacatc tggtcacct ggttccctg gatctccagg ataccaagga	720
ccccctggtg aacctgggca agctggctct tcaggccctc caggacctcc tgggtctata	780
ggtccatctg gtctgtctgg aaaagatgga gaatcaggta gaccggacg acctggagag	840
cgaggattgc ctggacctcc aggtatcaaa ggtccagctg ggatacctgg attccctggt	900
atgaaaggac acagaggctt cgatggacga aatggagaaa agggtgaaac aggtgctcct	960
ggattaaagg gtgaaaatgg tcttccaggc gaaaatggag ctcttgacc catgggtcca	1020
agaggggctc ctggtgagcg aggacggcca ggacttctg gggctgcagg tgctcggggt	1080
aatgacggtg ctgaggcag tgatggtcaa ccaggccctc ctggtcctcc tggaaactgcc	1140
ggattcctg gatccccctg tgctaagggt gaagttggac ctgcagggtc tcttggttca	1200
aatggtgccc ctggacaaa aggagaacct ggacctcagg gacacgtgg tgctcaaggt	1260
cctcctggcc ctctgggat taatggtagt cctggtggtt aaggcgaaat ggggtcccgt	1320
ggcattcctg gagtctctgg actgatggga gcccggggtc ctccaggacc agccggtgct	1380
aatggtgctc ctggactcg aggtggtgca ggtgagcctg gtaagaatgg tgccaaagga	1440
gagcccgac cactgggtga acgcggtgag gctggtattc caggtgttcc aggagctaaa	1500
ggcgaagatg gcaagatgg atcacctgga gaacctggtg caaatgggt tccaggagct	1560
gcaggagaaa ggggtgcccc tgggttccga ggacctgctg gaccaaagg catcccagga	1620

gaaaagggtc ctgctggaga gcgtgggtgct ccaggccctg cagggccag aggagctgct	1680
ggagaacctg gcagagatgg cgtccctgga ggtccaggaa tgaggggcat gcccgaagt	1740
ccaggaggac caggaagtga tgggaaacca gggcctcccg gaagtcaagg agaaagtgtt	1800
cgaccaggtc ctctggggc atctgggtccc cgaggtcagc ctgggtgcat gggttcccc	1860
ggtcctaag gaaatgatgg tgctcctggt aagaatggag aacgaggtgg ccctggagga	1920
cctggccctc agggctctcc tggaaagaat ggtgaaactg gacctcagg acccccagg	1980
cctactgggc ctgggtgtga caaaggagac acaggacccc ctgggtccaca aggtattaca	2040
ggcttgctg gtacaggtgg tctccagga gaaaatggaa aacctgggga accaggtcca	2100
aagggtgatg ccggtgcacc tggagctcca ggaggcaagg gtgatgctgg tgccctgtt	2160
gaacgtggac ctctggatt ggcagggggc ccaggactta gaggtggagc tgggtcccc	2220
ggtccgaag gaggaagggt tgctgctggt cctcctgggc cacctggtgc tgctgtact	2280
cctggtctgc aaggaatgcc tggagaaaga ggaggtcttg gaagtcctgg tccaaagggt	2340
gacaagggtg aaccaggcgg tccaggtgct gatggtgtcc cagggaaga tggccaagg	2400
ggtcctactg gtcctattgg tctcctggc ccagctggcc agcctggaga taagggtgaa	2460
ggtggtgccc ccgacttcc aggtatagct ggacctcgtg gtagccctgg tgagagaggt	2520
gaaactggcc ctccaggacc tgctggtttc cctggtgctc ctggacagaa tggatgaact	2580
ggtggtaaag gagaaagggt ggctccgggt gagaaagggt aaggaggccc tctggagtt	2640
gcaggacccc ctggagggtc tggacctgct ggtcctcctg gtcccaagg tgtcaaagg	2700
gaacgtggca gtctgtgtgg acctggtgct gctggcttcc ctggtgctcg tgggttctc	2760
ggtcctcctg gtagtaatgg taaccaggga ccccagggtc ccagcggttc tccaggcaag	2820
gatgggccc caggtcctgc gggtaacact ggtgctcctg gcagccctgg agtgtctgga	2880
ccaaaagggt atgctggcca accaggagag aagggtatgc ctggtgcca gggcccacca	2940
ggagctccag gccacttgg gattgtctgg atcactggag cacgggtctc tgcaggacca	3000
ccaggcatgc caggtcctag gggaagccct ggccctcagg gtgtcaagg tgaagtggg	3060
aaaccaggag ctaacggtct cagtggagaa cgtggtcccc ctggaccca gggttctct	3120
ggtctggctg gtacagctgg tgaacctgga agagatggaa accctggatc agatggtctt	3180
ccaggccgag atggatctcc tgggtggcaag ggtgatcgtg gtgaaatgg ctctcctggt	3240
gcccctggcg ctctgtgtca tccaggccca cctggtcctg tcggtccagc tggaaagagt	3300
ggtgacagag gagaaagggt ccctgctggc cctgctgggt cctccggtcc tgctgttcc	3360
cgagggtgct ctggtctca agggccacgt ggtgacaaag gtgaaacagg tgaactgga	3420
gctgtggca tcaaaggaca tcgaggattc cctggtaac caggtgcccc aggttctcca	3480

ggccctgctg gtcagcaggg tgcaatcggc agtccaggac ctgcaggccc cagaggacct	3540
gttggaccca gtggacctcc tggcaaagat ggaaccagtg gacatccagg tccatttga	3600
ccaccagggc ctcgaggtaa cagaggtgaa agaggatctg agggctcccc aggccaccca	3660
gggcaaccag gccctcctgg acctcctggi gccctggtc cttgctgtgg tgggtgttga	3720
gccgtgccca ttgctgggat tggaggtgaa aaagctggcg gttttgcccc gtattatga	3780
gatgaaccaa tggatttcaa aatcaacacc gatgagatta tgacttact caagtctgtt	3840
aatggacaaa tagaaagcct cattagtcct gatggttctc gtaaaaacc cgctagaaac	3900
tgagagacc tgaattctg ccactctgaa ctcaagagtg gagaatactg ggttgacct	3960
aaccaaggat gcaaattgga tgctatcaag gtattctgta atatggaaac tggggaaca	4020
tgcataagt ccaatccttt gaatgttcca cggaacact ggtggacaga ttctagtgt	4080
gagaagaaac acgtttggtt tggagagtcc atggatggtg gttttcagtt tagctacggc	4140
aatcctgaac ttctgaaga tgccttgat gtgcagctgg cattccttcg acttctctcc	4200
agccgagctt ccagaacat cacatatcac tgcaaaaata gcattgcata catggatcag	4260
gccagtggaa atgtaaagaa ggccctgaag ctgatgggt caaatgaagg tgaattcaag	4320
gctgaaggaa atagcaaatt cacctacaca gtcttgagg atggttcac gaaacacact	4380
ggggaatgga gcaaacagt ctttgaatat cgaacacgca aggcgtgag actacctatt	4440
gtagatattg caccctatga cattggtgtt cctgatcaag aatttggtgt ggacgttggc	4500
ctgtttgtt tttataaac caaactctat ctgaaatccc aacaaaaaa atttaactcc	4560
atatgtgtt ctctgttct aatcttgtca accagtcaa gtgaccgaca aaattccagt	4620
tatttattt caaatgttt ggaaacagta taatttgaca aagaaaaatg atacttctt	4680
ttttttgtg ttccacaaa tacaattcaa atgctttttg ttttatttt ttaccaattc	4740
caatttcaa atgtctcaat ggtgtataa taaataaact tcaacactct ttatgataac	4800
aacactgtgt tatattcttt gaatcctagc ccactctcag agcaatgact gtgtcacca	4860
gtaaaagata acctttctt ctgaaatagt caaatagaa attagaaaag ccttcctat	4920
tttaactacc tcaactggtc agaaacacag attgtattct atgagtcca gaagatgaaa	4980
aaaattttat acgttgataa aacttataa ttctattgat taatctctg gaagattggt	5040
ttaaaaagaa aagtgtaatg caagaattta aagaaatatt tttaaagcca caattattt	5100
aatattggat atcaactgct tgtaaagggt ctctctttt ttcttgcat tgctggtcaa	5160
gattactaat atttgggaag gctttaaaga cgcatgttat ggtgctaatg tactttcact	5220
tttaactct agatcagaat tgttgacttg cattcagaac ataaatgcac aaaatctgta	5280

catgtctccc atcagaaaaga ttcatgtggca tgccacaggg gattctcctc cttcatcctg 5340

taaaggtcaa caataaaaac caaattatgg ggctgctttt gtcacactag catagagaat 5400

gtgttgaaat ttaactttgt aagcttgtat gtggttggtg atcttttttt tccttacaga 5460

caccataat aaaatatcat attaaaattc 5490

<210> 3

<211> 379

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Met Ala Ala Ala Ala Ala Gln Gly Gly Gly Gly Gly Glu Pro Arg Arg

1 5 10 15

Thr Glu Gly Val Gly Pro Gly Val Pro Gly Glu Val Glu Met Val Lys

20 25 30

Gly Gln Pro Phe Asp Val Gly Pro Arg Tyr Thr Gln Leu Gln Tyr Ile

35 40 45

Gly Glu Gly Ala Tyr Gly Met Val Ser Ser Ala Tyr Asp His Val Arg

50 55 60

Lys Thr Arg Val Ala Ile Lys Lys Ile Ser Pro Phe Glu His Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Cys Gln Arg Thr Leu Arg Glu Ile Gln Ile Leu Leu Arg Phe Arg

85 90 95

His Glu Asn Val Ile Gly Ile Arg Asp Ile Leu Arg Ala Ser Thr Leu

100 105 110

Glu Ala Met Arg Asp Val Tyr Ile Val Gln Asp Leu Met Glu Thr Asp

115 120 125

Leu Tyr Lys Leu Leu Lys Ser Gln Gln Leu Ser Asn Asp His Ile Cys

130 135 140

Tyr Phe Leu Tyr Gln Ile Leu Arg Gly Leu Lys Tyr Ile His Ser Ala

145 150 155 160

Asn Val Leu His Arg Asp Leu Lys Pro Ser Asn Leu Leu Ile Asn Thr

165 170 175

Thr Cys Asp Leu Lys Ile Cys Asp Phe Gly Leu Ala Arg Ile Ala Asp
 180 185 190
 Pro Glu His Asp His Thr Gly Phe Leu Thr Glu Tyr Val Ala Thr Arg
 195 200 205
 Trp Tyr Arg Ala Pro Glu Ile Met Leu Asn Ser Lys Gly Tyr Thr Lys
 210 215 220

Ser Ile Asp Ile Trp Ser Val Gly Cys Ile Leu Ala Glu Met Leu Ser
 225 230 235 240
 Asn Arg Pro Ile Phe Pro Gly Lys His Tyr Leu Asp Gln Leu Asn His
 245 250 255
 Ile Leu Gly Ile Leu Gly Ser Pro Ser Gln Glu Asp Leu Asn Cys Ile
 260 265 270
 Ile Asn Met Lys Ala Arg Asn Tyr Leu Gln Ser Leu Pro Ser Lys Thr
 275 280 285

Lys Val Ala Trp Ala Lys Leu Phe Pro Lys Ser Asp Ser Lys Ala Leu
 290 295 300
 Asp Leu Leu Asp Arg Met Leu Thr Phe Asn Pro Asn Lys Arg Ile Thr
 305 310 315 320
 Val Glu Glu Ala Leu Ala His Pro Tyr Leu Glu Gln Tyr Tyr Asp Pro
 325 330 335
 Thr Asp Glu Pro Val Ala Glu Glu Pro Phe Thr Phe Ala Met Glu Leu
 340 345 350

Asp Asp Leu Pro Lys Glu Arg Leu Lys Glu Leu Ile Phe Gln Glu Thr
 355 360 365
 Ala Arg Phe Gln Pro Gly Val Leu Glu Ala Pro
 370 375

<210> 4

<211> 1866

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 4

cgttcctcgg cgccgccggg gcccagagg gcagcggcag caacagcagc agcagcagca

60

gctgggagtg agatggcggc ggcggcggct caggggggcg ggggcgggga gccccgtaga 120
accgaggggg tcggcccggg ggtcccgggg gaggtggaga tggtagagg gcagccgttc 180

gacgtgggcc cgcgctacac gcagttgcag tacatcggcg agggcgcgta cggcatggtc 240
agctcggcct atgaccacgt gcgcaagact cgcgtggcca tcaagaagat cagccccctc 300
gaacatcaga cctactgcca gcgcacgctc cgggagatcc agatcctgct gcgcttcgcg 360
catgagaatg tcacggcat ccgagacatt ctgcgggcgt ccaccctgga agccatgaga 420
gatgtctaca ttgtgcagga cctgatggag actgacctgt acaagttgct gaaaagccag 480
cagctgagca atgaccatat ctgctacttc ctctaccaga tctgcgggg cctcaagtac 540
atccactccg ccaacgtgct ccaccgagat ctaaagccct ccaacctgct cagcaacacc 600

acctgcgacc ttaagatttg tgatttcggc ctggcccga ttgccgatcc tgagcatgac 660
cacaccggct tctgacgga gtatgtggct acgcgtgggt accgggcccc agagatcatg 720
ctgaactcca agggctatac caagtcctc gacatctggt ctgtgggctg cattctggct 780
gagatgctct ctaaccggcc catcttcct ggcaagcact acctggatca gctcaaccac 840
attctgggca tctgggctc cccatcccag gaggacctga attgtatcat caacatgaag 900
gccccaaact acctacgtc tctgcctcc aagaccaagg tggcttgggc caagcttttc 960
cccaagttag actccaaagc ccttgacctg ctggaccgga tgttaacctt taacccaat 1020

aaacggatca cagtggagga agcgtggct caccctacc tggagcagta ctatgacccg 1080
acgatgagc cagtggcga ggagccctc acctcgcca tggagctgga tgacctacct 1140
aaggagcggc tgaaggagct catcttcag gagacagcac gcttcagcc cggagtgtg 1200
gaggccccc agcccagaca gacatctctg caccctgggg cctggacctg cctcctgcct 1260
gccccctcc cgccagactg ttagaaaatg gacactgtgc ccagcccga ccttggcagc 1320
ccaggccggg gtggagcatg ggcctggcca cctctctct ttgctgaggc ctccagcttc 1380
aggcaggcca aggccttctc ctccccacc gcctcccca cggggcctcg ggagctcagg 1440

tggccccagt tcaatctccc gctgtgtgtg ctgtgtgcgc ttaccttcc ccagcgtccc 1500
agtctctggc agttctggaa tggaagggtt ctggctgccc caacctgtg aagggcagag 1560
gtggagggtg gggggcgctg agtagggact cagggccatg cctgcccccc tcattctatt 1620
caaacccac ctagtttcc ctgaaggaac attccttagt ctcaagggt agcatccctg 1680
aggagccagg ccgggccgaa tcccctccct gtcaaagctg tcaacttcgcg tgccctcgct 1740
gcttctgtgt gtggtgagca gaagtggagc tggggggcgt ggagagccc gcgccccctgc 1800

cacctccctg acccgctctaa tatataaata tagagatgtg tctatggctg aaaaaaaaaa 1860

aaaaaa 1866

<210> 5

<211> 360

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Met Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Ala Gly Pro Glu Met Val Arg Gly

1 5 10 15

Gln Val Phe Asp Val Gly Pro Arg Tyr Thr Asn Leu Ser Tyr Ile Gly

20 25 30

Glu Gly Ala Tyr Gly Met Val Cys Ser Ala Tyr Asp Asn Val Asn Lys

35 40 45

Val Arg Val Ala Ile Lys Lys Ile Ser Pro Phe Glu His Gln Thr Tyr

50 55 60

Cys Gln Arg Thr Leu Arg Glu Ile Lys Ile Leu Leu Arg Phe Arg His

65 70 75 80

Glu Asn Ile Ile Gly Ile Asn Asp Ile Ile Arg Ala Pro Thr Ile Glu

85 90 95

Gln Met Lys Asp Val Tyr Ile Val Gln Asp Leu Met Glu Thr Asp Leu

100 105 110

Tyr Lys Leu Leu Lys Thr Gln His Leu Ser Asn Asp His Ile Cys Tyr

115 120 125

Phe Leu Tyr Gln Ile Leu Arg Gly Leu Lys Tyr Ile His Ser Ala Asn

130 135 140

Val Leu His Arg Asp Leu Lys Pro Ser Asn Leu Leu Leu Asn Thr Thr

145 150 155 160

Cys Asp Leu Lys Ile Cys Asp Phe Gly Leu Ala Arg Val Ala Asp Pro

165 170 175

Asp His Asp His Thr Gly Phe Leu Thr Glu Tyr Val Ala Thr Arg Trp

180 185 190

Tyr Arg Ala Pro Glu Ile Met Leu Asn Ser Lys Gly Tyr Thr Lys Ser
 195 200 205
 Ile Asp Ile Trp Ser Val Gly Cys Ile Leu Ala Glu Met Leu Ser Asn
 210 215 220
 Arg Pro Ile Phe Pro Gly Lys His Tyr Leu Asp Gln Leu Asn His Ile
 225 230 235 240

Leu Gly Ile Leu Gly Ser Pro Ser Gln Glu Asp Leu Asn Cys Ile Ile
 245 250 255
 Asn Leu Lys Ala Arg Asn Tyr Leu Leu Ser Leu Pro His Lys Asn Lys
 260 265 270
 Val Pro Trp Asn Arg Leu Phe Pro Asn Ala Asp Ser Lys Ala Leu Asp
 275 280 285
 Leu Leu Asp Lys Met Leu Thr Phe Asn Pro His Lys Arg Ile Glu Val
 290 295 300

Glu Gln Ala Leu Ala His Pro Tyr Leu Glu Gln Tyr Tyr Asp Pro Ser
 305 310 315 320
 Asp Glu Pro Ile Ala Glu Ala Pro Phe Lys Phe Asp Met Glu Leu Asp
 325 330 335
 Asp Leu Pro Lys Glu Lys Leu Lys Glu Leu Ile Phe Glu Glu Thr Ala
 340 345 350
 Arg Phe Gln Pro Gly Tyr Arg Ser
 355 360

<210> 6

<211> 1514

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 6

gccccctccct ccgccccgcc gccggccccgc ccgtcagtct ggcaggcagg caggcaatcg 60
 gtccgagtgg ctgtcggctc ttcagctctc ccgtcggcg tcttccttcc tcttcccgg 120
 cagcgtcggc ggctgcaccg gcggcggcgc agtccttgcg ggaggggcga caagagctga 180
 gcggcggccg ccgagcgtcg agctcagcgc ggcggaggcg gcggcggccc ggcagccaac 240
 atggcggcgg cggcggcggc gggcgcgggc ccggagatgg tccgcgggca ggtgttcgac 300

gtggggccgc gctacaccaa cctctcgtac atcggcgagg gcgcctacgg catgggtgtc 360
tctgcttatg ataattgtcaa caaagttcga gtagctatca agaaaatcag cccctttgag 420

caccagacct actgccagag aacctgagg gagataaaaa tcttactgcg cttcagacat 480
gagaacatca ttggaatcaa tgacattatt cgagcaccaa ccatcgagca aatgaaagat 540
gtatatatag tacaggacct catggaaaca gatctttaca agctcttgaa gacacaacac 600
ctcagcaatg accatatctg ctattttctc taccagatcc tcagagggtt aaaatatatc 660
cattcagcta acgttctgca ccgtgacctc aagccttcca acctgctgct caacaccacc 720
tgtgatctca agatctgtga ctttggcctg gcccggtttg cagatccaga ccatgatcac 780
acagggttcc tgacagaata tgtggccaca cgttgggtaca gggctccaga aattatgttg 840

aattccaagg gctacaccaa gtccattgat atttgggtctg taggctgcat tctggcagaa 900
atgcttttcta acaggeccat ctttccaggg aagcattatc ttgaccagct gaaccacatt 960
ttgggtattc ttggatcccc atcacaagaa gacctgaatt gtataataaa tttaaaagct 1020
aggaactatt tgctttctct tccacacaaa aataaggtgc catggaacag gctgttccca 1080
aatgctgact ccaaagctct ggacttattg gacaaaatgt tgacattcaa cccacacaag 1140
aggattgaag tagaacaggc tctggccccc ccatatctgg agcagtatta cgacccgagt 1200
gacgagccca tcgccgaagc accattcaag ttcgacatgg aattggatga cttgcctaag 1260

gaaaagctca aagaactaat ttttgaagag actgctagat tccagccagg atacagatct 1320
taaatttgtc aggtacctgg agtttaatac agtgagctct agcaaggag gcgctgcctt 1380
ttgtttctag aatattatgt tcctcaaggt ccattatttt gtattctttt ccaagctcct 1440
tattggaagg tattttttta aatttgaat taaaaattat ttagaaagtt acatataaaa 1500
aaaaaaaaaa aaaa 1514

<210> 7

<211> 672

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Met Ala Asp Val Phe Pro Gly Asn Asp Ser Thr Ala Ser Gln Asp Val

1	5	10	15
Ala	Asn	Arg	Phe
Ala	Arg	Lys	Gly
Ala	Leu	Arg	Gln
Lys	Asn	Val	His
20	25	30	
Glu	Val	Lys	Asp
His	Lys	Phe	Ile
Ala	Arg	Phe	Phe
Lys	Gln	Pro	Thr

35 40 45
 Phe Cys Ser His Cys Thr Asp Phe Ile Trp Gly Phe Gly Lys Gln Gly
 50 55 60
 Phe Gln Cys Gln Val Cys Cys Phe Val Val His Lys Arg Cys His Glu

 65 70 75 80
 Phe Val Thr Phe Ser Cys Pro Gly Ala Asp Lys Gly Pro Asp Thr Asp
 85 90 95
 Asp Pro Arg Ser Lys His Lys Phe Lys Ile His Thr Tyr Gly Ser Pro
 100 105 110
 Thr Phe Cys Asp His Cys Gly Ser Leu Leu Tyr Gly Leu Ile His Gln
 115 120 125
 Gly Met Lys Cys Asp Thr Cys Asp Met Asn Val His Lys Gln Cys Val

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

 195 200 205
 Lys Gln Lys Thr Lys Thr Ile Arg Ser Thr Leu Asn Pro Gln Trp Asn
 210 215 220
 Glu Ser Phe Thr Phe Lys Leu Lys Pro Ser Asp Lys Asp Arg Arg Leu
 225 230 235 240
 Ser Val Glu Ile Trp Asp Trp Asp Arg Thr Thr Arg Asn Asp Phe Met
 245 250 255
 Gly Ser Leu Ser Phe Gly Val Ser Glu Leu Met Lys Met Pro Ala Ser

 260 265 270
 Gly Trp Tyr Lys Leu Leu Asn Gln Glu Glu Gly Glu Tyr Tyr Asn Val
 275 280 285

Pro Ile Pro Glu Gly Asp Glu Glu Gly Asn Met Glu Leu Arg Gln Lys
290 295 300

Phe Glu Lys Ala Lys Leu Gly Pro Ala Gly Asn Lys Val Ile Ser Pro
305 310 315 320

Ser Glu Asp Arg Lys Gln Pro Ser Asn Asn Leu Asp Arg Val Lys Leu
325 330 335

Thr Asp Phe Asn Phe Leu Met Val Leu Gly Lys Gly Ser Phe Gly Lys
340 345 350

Val Met Leu Ala Asp Arg Lys Gly Thr Glu Glu Leu Tyr Ala Ile Lys
355 360 365

Ile Leu Lys Lys Asp Val Val Ile Gln Asp Asp Asp Val Glu Cys Thr
370 375 380

Met Val Glu Lys Arg Val Leu Ala Leu Leu Asp Lys Pro Pro Phe Leu
385 390 395 400

Thr Gln Leu His Ser Cys Phe Gln Thr Val Asp Arg Leu Tyr Phe Val
405 410 415

Met Glu Tyr Val Asn Gly Gly Asp Leu Met Tyr His Ile Gln Gln Val
420 425 430

Gly Lys Phe Lys Glu Pro Gln Ala Val Phe Tyr Ala Ala Glu Ile Ser
435 440 445

Ile Gly Leu Phe Phe Leu His Lys Arg Gly Ile Ile Tyr Arg Asp Leu
450 455 460

Lys Leu Asp Asn Val Met Leu Asp Ser Glu Gly His Ile Lys Ile Ala
465 470 475 480

Asp Phe Gly Met Cys Lys Glu His Met Met Asp Gly Val Thr Thr Arg
485 490 495

Thr Phe Cys Gly Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Pro Glu Ile Ile Ala Tyr
500 505 510

Gln Pro Tyr Gly Lys Ser Val Asp Trp Trp Ala Tyr Gly Val Leu Leu
515 520 525

Tyr Glu Met Leu Ala Gly Gln Pro Pro Phe Asp Gly Glu Asp Glu Asp

530 535 540
 Glu Leu Phe Gln Ser Ile Met Glu His Asn Val Ser Tyr Pro Lys Ser
 545 550 555 560
 Leu Ser Lys Glu Ala Val Ser Ile Cys Lys Gly Leu Met Thr Lys His
 565 570 575
 Pro Ala Lys Arg Leu Gly Cys Gly Pro Glu Gly Glu Arg Asp Val Arg

580 585 590
 Glu His Ala Phe Phe Arg Arg Ile Asp Trp Glu Lys Leu Glu Asn Arg
 595 600 605
 Glu Ile Gln Pro Pro Phe Lys Pro Lys Val Cys Gly Lys Gly Ala Glu
 610 615 620
 Asn Phe Asp Lys Phe Phe Thr Arg Gly Gln Pro Val Leu Thr Pro Pro
 625 630 635 640
 Asp Gln Leu Val Ile Ala Asn Ile Asp Gln Ser Asp Phe Glu Gly Phe

645 650 655
 Ser Tyr Val Asn Pro Gln Phe Val His Pro Ile Leu Gln Ser Ala Val
 660 665 670

<210> 8

<211> 8787

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 8

ggccgcagct ccccggcgga ggcaagaggt ggttgggggg gaccatggct gacgttttcc	60
cgggcaacga ctccacggcg tctcaggacg tggccaaccg cttcgcccgc aaaggggcgc	120
tgaggcagaa gaacgtgcac gaggtgaagg accacaaatt catcgcgcg cttttcaagc	180
agcccacctt ctgcagccac tgcaccgact tcatctgggg gtttgggaaa caaggcttcc	240
agtgccaagt ttctgtttt gtggccaca agaggtgcca tgaatttgtt actttttctt	300
gtccgggtgc ggataaggga cccgacactg atgaccccag gagcaagcac aagttcaaaa	360
tccacactta cggaagcccc accttctgcg atcactgtgg gtcactgctc tatggactta	420
tccatcaagg gatgaaatgt gacacctgcg atatgaacgt tcacaagcaa tgcgtcatca	480
atgtccccag cctctgcgga atggatcaca ctgagaagag ggggcggatt tacctaagg	540
ctgaggttgc tgatgaaaag ctccatgtca cagtacgaga tgcaaaaaat ctaatcccta	600

tggatccaaa cgggctttca gatccttatg tgaagctgaa acttattcct gatcccaaga	660
atgaaagcaa gcaaaaaacc aaaaccatcc gctccacact aaatccgcag tggaatgagt	720
cctttacatt caaattgaaa ccttcagaca aagaccgacg actgtctgta gaaatctggg	780
actgggatcg aacaacaagg aatgacttca tgggatccct ttcctttgga gtttcggagc	840
tgatgaagat gccggccagt ggatggtaca agttgcttaa ccaagaagaa ggtgagtact	900
acaacgtacc cattccggaa ggggacgagg aaggaaacat ggaactcagg cagaaattcg	960
agaaagccaa acttggccct gctggcaaca aagtcacag tccctctgaa gacaggaaac	1020
aaccttccaa caaccttgac cgagtgaac tcacggactt caatttctc atggtgttgg	1080
gaaaggggag ttttggaaag gtgatgcttg ccgacaggaa gggcacagaa gaactgtatg	1140
caatcaaaat cctgaagaag gatgtggtga ttcaggatga tgacgtggag tgcacatgg	1200
tagaaaagcg agtcttggcc ctgcttgaca aacccccgtt cttgacgcag ctgcactcct	1260
gcttccagac agtggatcgg ctgtacttcg tcatggaata tgtcaacggt ggggacctca	1320
tgtaccacat tcagcaagta ggaaaaatta aggaaccaca agcagtattc tatgcggcag	1380
agatttccat cggattgttc tttcttcata aaagaggaat catttatagg gatctgaagt	1440
tagataacgt catgttggat tcagaaggac atatcaaaat tgctgacttt gggatgtgca	1500
aggaacacat gatggatgga gtcacacca ggaccttctg tgggactcca gattatatcg	1560
ccccagagat aatcgcttat cagccgtatg gaaaatctgt ggactggtgg gcctatggcg	1620
tcctgttgta tgaatgctt gccgggcagc ctccatttga tggatgaagat gaagacgagc	1680
tatttcagtc tatcatggag cacaacgttt cctatccaaa atccttgtcc aaggaggctg	1740
tttctatctg caaaggactg atgaccaaac acccagccaa gcggctgggc tgtgggcctg	1800
agggggagag ggacgtgaga gagcatgcct tcttccggag gatcgactgg gaaaaactgg	1860
agaacaggga gatccagcca ccattcaagc ccaaagtgtg tggcaaagga gcagagaact	1920
ttgacaagtt cttcacacga ggacagcccg tcttaacacc acctgatcag ctggttattg	1980
ctaacataga ccagtctgat tttgaagggt tctctatgt caacccccag tttgtgcacc	2040
ccatcttaca gagtgcagta tgaaactcac cagcgagaac aaacacctcc ccagcccca	2100
gccctccccg cagtgggaag tgaatcctta accctaaaat ttttaaggcca cggccttgtg	2160
tctgattcca tatggaggcc tgaaaattgt agggttatta gtccaaatgt gatcaactgt	2220
tcagggtctc tctcttaca ccaagaacat tatcttagtg gaagatggta cgtcatgctc	2280
agtgtccagt ttaattctgt agaagttacg tctggctcta ggttaaccct tcctagaaag	2340

caagcagact gttgcccatt tttgggtaca atttgatata cttccatac cctccatctg	2400
tggatttttc agcattggaa tcccccaacc agagatgtta aagtgagcct gtcccaggaa	2460
acatctccac ccaagacgtc tttggaatcc aagaacagga agccaagaga gtgagcaggg	2520
agggatitggg ggigggggag gcctcaaaat accgactgcg tccatttctt gcctccatgg	2580
aaacagcccc tagaatctga aaggccggga taaacctaat cactgttccc aaacattgac	2640
aaatcctaac ccaacctagg tccagcagtt accagtttaa acaaaaaaac ctcagatgag	2700
tgttgggtga atctgtcatc tggtagccctc ctgtgttgat aactgtcttg atacttttca	2760
ttctttgtaa gaggccaaat cgtctaagga cgttgctgaa caagcgtgtg aaatcatttc	2820
agatcaagga taagccagtg tgtacataatg ttcattttta tctctgggag attatttttc	2880
catccagggt gccatcagta atcatgccac tactcaccag tgttgttcgc caacaccac	2940
ccccacacac accaacaattt tgcctgcctac ctgtttatcc ttctcaagaa gctgaagtgt	3000
acgcctcttc cctttttgtg cttattttatt taataggctg cagtgtcgtt tatgaaagta	3060
cgatgtacag taacttaatg gaagtgtga ctctagcatc agcctctacc gattgatttt	3120
cctcccttct ctagccctgg atgtccactt agggataaaa agaatatggt tttgggtccc	3180
atttctagtt cacgttgaat gacaggccctg gagctgtaga atcaggaaac ccgcatgcct	3240
aacagctcaa agatgttttg ttaatagaag gattttaata cgttttgcaa atgcatcatg	3300
caatgaattt tgcattgtta taataaacct taataacaag tgaatctata ttattgatat	3360
aatcgtatca agtataaaga gagtattata ataattttat aagacacaat tgtgctctat	3420
ttgtgcaggt tcttgtttct aatcctcttt tctaattaag ttttagctga atcccttgct	3480
tctgtgcttt cctccctgc acatgggcac tgtatcagat agattacttt ttaaattgag	3540
ataaaatttc aaaaatgaat ggctagttaa cgtgatagat taggctctta ctacatatgt	3600
gtgtgtatat atatgtattt gattctacct gcaaacaat ttttattggt gaggactatt	3660
tttgagctga cactccctct tagtttcttc atgtcacctt tcgtcctggt tcctccgcca	3720
ctcttctctt tggggacaac aggaagtgtc tgattccagt ctgcctagta cgttgggtaca	3780
cacgtggcat tgccgcagca cctgggctga cctttgtgtg tgcgtgtgtg tgtgtttcct	3840
tcttcccttc agcctgtgac tgttctgac tccaggggtg ggagggatgg ggagactccc	3900
ctcttctgtg gtgtactgga cagcaggaa gcatgtgttc ttgtgcctc tgcaacgacc	3960
tgtcgtttgc tccagcatgc acaaaattcg tgagaccaac acagccgtgc cctgcaggca	4020
ccagcacgtg cttttcagag gctgcggact ttcttcagc cattgtggca ttggcctttc	4080
cagtcttggg aggagcgcgc tgctttgggtg agacaccccc atgcaaggtc ctcagagtag	4140
ccgggttcta ccacaaacag aaacagaatg aaagtagctg tcagtccttg tagagagccg	4200

ctctgtttcc tcccagaagc atctcccagc taagctcgca ttatTTTTct cctctggctg	4260
tttgctgaa gttcacagaa cacacaacca tgaaaggctt tttaggtga gaggcccagg	4320
tggctctggc aacctgagt agaaggagag acggggtagg gaacgggccc ggccagaaaa	4380
gaaccatttc ttctgccatc ttttatgcac catagacatc gagactccag ggggtcctgg	4440
ctccccgtc cctgcagccc tgcaggtcag tgcattatct gggttcgtgt cctgaccagg	4500
tgctctctct ttgateccag gggaaaggga ctggtttata gaaagagcct aggagacaaa	4560
agggccagtc cccctgccca gaatggagca gcagcaggac agacccccac gaggcccccc	4620
agagaggagg aagatccac ggaggaacac atgaggttag ggaccttgt tcagcacccc	4680
aaacagcctg cctgtttaaa gcaggcagca ggcttaggcc ttccctgcaa cccaacacc	4740
cacaagtttg tttctctagg aaacacattc actgtctcag ctggctgtta ctctctcaga	4800
ccatatggca aagttttcca agaaaatgcc ccgacagggg tgcccagcac actgcctgag	4860
ggacaacaga catcagaaca aacccccaga gagaaacagt caaaatcagg gcccgtgca	4920
gtgttgtcat gtggaacctg ctttatccat tgctgagtgt tgaatgtggg taatggttag	4980
ggctttccag atctcagcag ccaaagacag ttattgttgg aagactgtca ttagataac	5040
catgagcaat ggctcgctc agaatcagtt cataaaattc tatgtactg gcccctcgt	5100
gggtattgtg tgaatgaga tgggtggcag ggggtgcctg tggaactgcc gcagccacgc	5160
aggaggtccc tgggggatgc tttgggaagt ccttgcccct gagcactgcc tgattgccag	5220
ggcctgtgga ggtctaggcc gcctggcaga atctagcacc gtccgaatcc ccgaggacc	5280
catggagcta tgaccacacc aggccattca aatggctctg cattatcttc ccttggaagg	5340
tggccactcc tcggtggcag ggcctttccc tgaggctgca ggccgtgggc tggcagcccg	5400
tctcttggca tttcaattga aggtcaccag gtgctgggtt tgaaaggaag tctactggagt	5460
gtgcccaggg gccgcccctc aaggttaatg agaggccac atccaggcaa gaactaatc	5520
aaaaggcaga tcagaaacca caggagtcaa aattattgct ccggcagtgc ttcccttcct	5580
ttcatccact ggcctcgtgt ggtccatgca gggccactgt ctgcccttc tgatgccacg	5640
tattaggctt tcttactcag aattttgata gaaaaccatg gggccaagag ctctggaagc	5700
ctggccggaa agaccaaggt tcatgcagcc caacaaatga ttgttagca cctctcgag	5760
ccaaagtctt taggcgagtg tggtgacttc ctggaaggag gatgcagact tccagagagc	5820
cccccaacg gacgtgctga gaaggagag ggaggcgggg gctgtagtca ggaaggagcc	5880
agagaagaac agggtttggg tgcattcaga aatatgcctg cagtaggagg gagaggaagg	5940
ggtgccaccg tcaacggctt cccatcgag gtggttgggtg cagatggaag tttctgtctg	6000
ctggccctca agagagtgtt ttgccaggga cacagtctgt tcctcctcag aaaacacccc	6060

ccaaatgcta acaacatccc caccagctgc tagaagcccc tttccctcc ccaccttgaa 6120

gtagctcata gttctctggg cagagccaga ccatccagtg taccacagag gccagtaggt 6180

tcctgcccatt tttcctctct ggcttcctgc caagaattat ggacagctgag gatgaatgga 6240

gaagtaaaaa caactaacac cgcacaacta acaactaaca ccgcagttcc cacctgggtt 6300

ccacttagca ggagacattt cggagggttt tttttgtttt tgttcctgtt tttttttttt 6360

ttgctggaat ttgttttctc agtactgaaa agagaaaaag tgacaatctt gtatttttaa 6420

aagcctcgga aaggtgatac catctgacag tcattttctc acgttggctt tctaaagtca 6480

cctattttctt gtgtgtgcac atcacacat ttcctgtttc tttataaccc gacaagggtta 6540

ggagtgcctg tttccctgc tgggcacacc agacaatcgt aatcacaaaa cagacactga 6600

gccaggggcc caaagggtgt gatcatgaga gttaccggga cagcagtagg catgacagtc 6660

accaggaagg acaagggtgc tctgttgta gtggccacac accaatttga caaggagtgt 6720

tgcaaatatt ttattttatt tttttttat ttgagatgg agtttcactc ttgttgccca 6780

ggctggagtg cgggtgtaca atctcggtc actgcaacct ccacctcca ggttcaagcg 6840

atttctctgc ctgacctcc caagtacctg ggactacagg tgcgtgccac cacaccagc 6900

taaatattgt gtttttagta gagatgggtt ttcacatgt tggccaggat ggtcttgaac 6960

ccctgacctc atgatctgcc tgctcggcc tcccaaagtg ctgggattac aggcatgagc 7020

caccagccc agccaaaata tttttttaa gtcatcttcc ttaagctgct tgggctacat 7080

gtgaaataca ctggacgtc aacattctg tctctccca tttgggtga tgcagcagat 7140

ccaggaatg ttacctgtt ctgctgctag aagatccagg aaattggga ggttacctga 7200

cgcacacatg gatgaaggcc atcatctaga aatgggtca accacaattg tgtaattcc 7260

gtagtgtcag ggattcttc ggaaggtcaa cagtatgaag gattctgacc cctgtgcctc 7320

ccatttatgt gatcaggtga cagtttaataa ccgtggaggt cactcagc catccaacag 7380

ccttacagt accctacaca aaagcccca aattccaaag acttttctt aacctaaagg 7440

aagaaattat ttgttaattc cagtagagca actgaatata ctgggctatt tgtactttt 7500

tatagagaac tttaataata attctttaaa aatgagttt tagaacaag caactgacga 7560

tttctaaga ttccaatgcc ctggagcttg taggaggact tagcctgggt cagctggagc 7620

accccgacc tgatctccca ctgccagatt ttcctatgct cctagggtat ggagtccacg 7680

tgggaatgac tgcaagtca ggtggaactt ggccgactga tgctctgca gtttttaata 7740

gacactgggg acaactgctt aaggtttaga aacttccaaa ccacaggaaa gacattttta 7800

gtgtcccca tccagaggca gccctggaat aggattccca ggggtttctg ggaccccttt	7860
ccttgctcgg tgaggctctg tggccatctt ttggcaggag gaggatgctt ccttggtctt	7920
gtgccagac ccgcctggtc cccaggtctc tcacctggg tgaagattca gagatgccct	7980
gtaaggattt tgcccactgg gcaactcaga aatacttca tctccaaga tataagaggc	8040
agcagcaaac gtgcctattg acgtctgttt catagttacc acttacgcga gtagacagaa	8100
ctcggtttt cagaaaatag gtgtcaagtc cactttataa gaacctttt ttctaaaata	8160
agataaaagg tggctttgca tttctgatt aaacgactgt gtctttgtca cctctgctta	8220
actttaggag tatccattcc tgtgattgta gacttttgtt gatattcttc ctggaagaat	8280
atcattcttt tcttgaaggg ttggtttact agaatatca aaatcaatca tgaaggcagt	8340
tactattttg agtctaaagg ttttctaaaa attaacctca catcccttct gttaggtctt	8400
ttcagaatat cttttataaa cagaagcatt tgaagtcatt gcttttgcta catgatttgt	8460
gtgtgtgaag gacataccac gtttaaatca ttaattgaaa aacatcatat aagccccaac	8520
tttgtttgga ggaagagacg gaggttgagg ttttcccttc tgtataagca cctactgaca	8580
aaatgtagag gccattcaac cgtcaaacac catttggtta tatcgagag gagacggatg	8640
tgtaaattac tgcattgctt ttttttccag ttgtataac ctctaattctc cgtttgcattg	8700
atacgctttg ttagaaacat taattgtagt ttggaagcaa gtgtgtatga ataaagataa	8760
tgatcattcc aaaaaaaaaa aaaaaaa	8787