

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2017년 10월 19일 (19.10.2017)



(10) 국제공개번호
WO 2017/179744 A1

(51) 국제특허분류:

C12Q 1/68 (2006.01) A61K 36/00 (2006.01)
G01N 33/68 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01)
A61K 31/00 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01)
A61K 31/7088 (2006.01) A61P 5/20 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2016/003833

(22) 국제출원일: 2016년 4월 12일 (12.04.2016)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(71) 출원인: 경북대학교 산학협력단 (KYUNGPOOK NATIONAL UNIVERSITY INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION) [KR/KR]; 41566 대구시 북구 대학로 80 (산격동, 경북대학교), Daegu (KR).

(72) 발명자: 이인규 (LEE, In-Kyu); 42107 대구시 수성구 청호로 365, 305-301(범어동, 가든하이츠 3 차아파트), Daegu (KR). 박근규 (PARK, Keun-Gyu); 42094 대구시 수성구 범어로 75, 101 동 1301호 (범어동, 범어에스케이뷰아파트 1단지), Daegu (KR). 배귀현 (BAE, Kwi-Hyun); 41849 대구시 서구 평리로 236, 102 동 201호 (내당동, 삼익 뉴타운아파트), Daegu (KR). 곽영훈 (GO,

Young Hoon); 41162 대구시 동구화랑로 75길 53-5 정현하우스 302호 (방촌동), Daegu (KR).

(74) 대리인: 이희숙 (LEE, Hee Sook); 06141 서울시 강남구 테헤란로 33길 11 9층 (역삼동, JS빌딩) 시원국제특허법률사무소, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

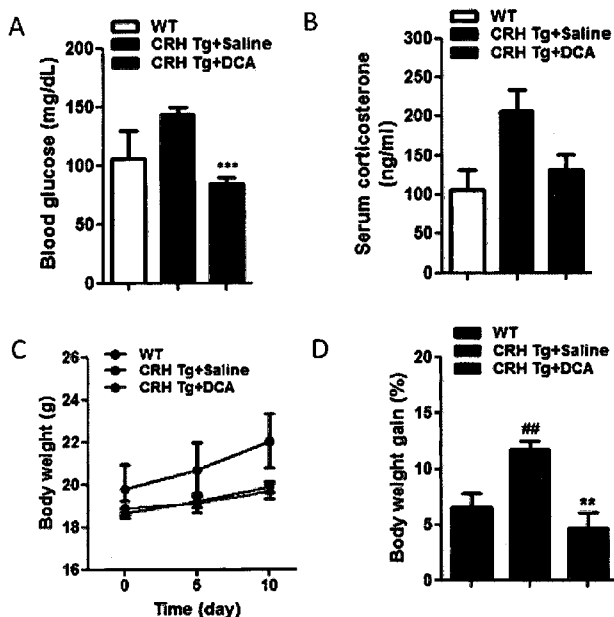
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR),

[다음 쪽 계속]

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR PREVENTING OR TREATING DISEASES CAUSED BY EXCESSIVE RELEASE OF STEROID HORMONES, CONTAINING PDK4 ACTIVITY INHIBITOR AS ACTIVE INGREDIENT, AND METHOD FOR SCREENING FOR SAME

(54) 발명의 명칭 : PDK4 활성 억제제를 유효성분으로 포함하는 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물 및 이를 스크리닝하는 방법

[도 1]



(57) Abstract: The present invention relates to: a pharmaceutical composition for preventing and treating diseases caused by the excessive release of steroid hormones, containing a pyruvate dehydrogenase kinase 4 (PDK4) activity inhibitor as an active ingredient; and a method for screening for the same and, more specifically, to: a pharmaceutical composition for preventing and treating diseases caused by the excessive release of steroid hormones, containing, as an active ingredient, a material inhibiting the expression of mRNA or a protein of PDK4; and a method for screening for the same. The present invention reveals that PDK4 can be used as a novel target for treating diseases caused by the excessive release of steroid hormones, and provides, on the basis thereof, a method for screening for a candidate material of an agent for preventing and treating diseases caused by the excessive release of steroid hormones. A novel candidate material capable of preventing and/or treating diseases caused by the excessive release of steroid hormones can be effectively selected by the screening method of the present invention, and there is an effect of enabling the provision of a pharmaceutical composition for preventing and treating diseases caused by the excessive release of steroid hormones by using a material selected by the screening method of the present invention.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]

WO 2017/179744 A1



OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, **공개:**
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

본 발명은 PDK4 활성 억제제를 유효성분으로 포함하는 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물 및 이를 스크리닝하는 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는, PDK4의 mRNA 또는 단백질의 발현을 억제하는 물질을 유효성분으로 포함하는 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물 및 이를 스크리닝하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환 치료의 새로운 타겟으로 PDK4 (pyruvate dehydrogenase kinase 4)가 이용될 수 있음을 밝히고, 이에 기초하여 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제 후보물질을 스크리닝 하는 방법을 제공한다. 본 발명의 스크리닝 방법에 의하면 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환을 예방 및 /또는 치료할 수 있는 새로운 후보물질을 효과적으로 선별할 수 있으며, 본 발명의 스크리닝 방법에 따라 선별된 물질을 이용하여 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공할 수 있는 효과가 있다.

【명세서】**【발명의 명칭】**

PDK4 활성 억제제를 유효성분으로 포함하는 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물 및 이를 스크리닝하는 방법

【기술분야】

본 발명은 PDK4 활성 억제제를 유효성분으로 포함하는 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물 및 이를 스크리닝하는 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는, PDK4의 mRNA 또는 단백질의 발현을 억제하는 물질을 유효성분으로 포함하는 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물 및 이를 스크리닝하는 방법에 관한 것이다.

【배경기술】

부신(adrenal gland)은 양측 신장 위에 각각 위치하며 우리 몸의 생명유지에 중요한 호르몬을 분비하는 내분비 기관이다. 부신은 좌우에 각각 길이 4~5cm, 높이 2~3cm, 무게 7~8g의 작은 기관이며 우측은 삼각형, 좌측은 반달형의 모양을 이루고 있다. 부신의 바깥쪽을 피질, 안쪽을 수질이라고 하며 각각 발생학적으로 다른 기원을 가지고 있으며, 호르몬도 각각 다른 호르몬을 분비하고 있다.

부신의 바깥쪽을 이루는 피질에서는 여러 가지 스테로이드 호르몬을 분비한다. 부신 피질의 대표적인 호르몬으로는 코르티솔, 알도스테론 및 부신 안드로젠 등을 들 수 있다. 반면 부신수질에서는 신경절 세포들이 분포하고 있으며 카테콜아민에 속하는 에피네프린과 노르에피네프린을 생산한다.

부신피질 호르몬 분비의 조절은 두뇌의 뇌하수체(pituitary gland)에서 분비되는 부신피질자극호르몬(adrenocorticotrophic hormone, ACTH)에 의해 조절된다. 또한 부신피질자극 호르몬은 두뇌의 시상하부(hypothalamus)에서 분비되는 부신피질자극호르몬유리호르몬(corticotrophin releasing hormone, CRH)에 의해 조절 받는다. 즉, 시상하부-뇌하수체-부신피질로 이어지는 신호전달에 의해 부신피질의 호르몬 분비가 조절된다.

시상하부와 뇌하수체에서 각각 분비되는 부신피질자극호르몬 유리호르몬과 부신피질자극호르몬은 박동성으로 분비되며 아침에 가장 높고 오후에 감소하는 일

중 변동을 보인다. 이 두 가지 호르몬은 통증, 외상, 저혈당 등의 물리적, 화학적 인 스트레스 이외에도 정신적인 스트레스에 의해 분비가 조절된다. 또한 코르티솔에 의해서도 위 두 가지 호르몬의 분비가 조절된다. 즉, 코르티솔의 분비가 많아지면 시상하부와 뇌하수체에서 코르티솔 농도를 감지해서 부신피질자극호르몬 유리호르몬과 부신피질자극호르몬의 분비가 억제되는 음성피먹이기 기전을 갖고 있다. 위와 같은 음성피먹이기를 통해서 정상적인 상태에서는 일정한 코르티솔 농도를 유지하여 부신피질에서의 스테로이드 호르몬 방출이 정상적으로 조절된다.

스테로이드 호르몬은 호르몬과 같은 기능을 담당하는 스테로이드를 의미하며, 스테로이드 호르몬은 작용하는 수용체의 종류에 따라 그 종류가 구분된다. 스테로이드 호르몬은 대사, 염증, 면역반응, 염 및 수분의 균형, 성적 특성들의 발현 뿐만 아니라 다양한 외부 환경의 스트레스로부터 신체를 보호하는 작용을 나타낸다.

그러나, 여러 가지 원인에 의해 부신피질에서 스테로이드 호르몬의 방출이 과다하게 되면 이로 인한 비정상적인 생리학적 작용이 나타나게 된다. 대표적인 스테로이드 호르몬의 과방출로 인한 질환은 쿠싱 증후군(Cushing's syndrome), 원발성 알도스테론증(Primary aldosteronism) 및 부신성기증후군(adrenogenital syndrome)이 알려져 있다.

이러한, 스테로이드 호르몬의 과방출로 인한 질환을 효과적으로 치료하기 위해서 스테로이드 호르몬의 방출을 억제할 수 있는 타겟을 발굴하는 것이 필요하다.

【발명의 상세한 설명】

【기술적 과제】

이에, 본 발명자들은 스테로이드 호르몬의 과다한 방출을 저해할 수 있는 치료 타겟을 발굴하기 위해 연구를 거듭하던 중, PDK4(pyruvate dehydrogenase kinase 4) 및/또는 PDK2의 mRNA 또는 단백질의 발현을 저해하면 스테로이드 호르몬의 방출이 저해됨을 발견하고 본 발명을 완성하게 되었다.

따라서, 본 발명의 목적은 하기 단계를 포함하는 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제의 스크리닝 방법을 제공하는 것이다:

(a) PDK4(pyruvate dehydrogenase kinase 4)의 mRNA 또는 단백질을 발현하는 세포에 시험물질을 처리하는 단계;

(b) 시험물질을 처리한 세포와 처리하지 않은 세포에서 상기 PDK4의 mRNA 또는 단백질의 발현량 또는 활성을 측정하는 단계; 및

(c) 시험물질을 처리하지 않은 세포와 비교해 상기 PDK4의 mRNA 또는 단백질의 발현량 또는 활성을 감소시킨 시험물질을 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제로 선별하는 단계.

본 발명의 다른 목적은 하기 단계를 포함하는 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제의 스크리닝 방법을 제공하는 것이다:

(a) PDK2 및 PDK4의 mRNA 또는 단백질을 발현하는 세포에 시험물질을 처리하는 단계;

(b) 시험물질을 처리한 세포와 처리하지 않은 세포에서 상기 PDK2 및 PDK4의 mRNA 또는 단백질의 발현량 또는 활성을 측정하는 단계; 및

(c) 시험물질을 처리하지 않은 세포와 비교해 상기 PDK2 및 PDK4의 mRNA 또는 단백질의 발현량 또는 활성을 감소시킨 시험물질을 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제로 선별하는 단계.

본 발명의 다른 목적은 PDK4(pyruvate dehydrogenase kinase 4)의 활성 억제제를 유효성분으로 포함하는 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

본 발명의 다른 목적은 PDK4(pyruvate dehydrogenase kinase 4) 활성 억제제의 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제 제조를 위한 용도를 제공하는 것이다.

본 발명의 다른 목적은 PDK4(pyruvate dehydrogenase kinase 4) 활성 억제제를 이를 필요로 하는 개체에 유효량으로 투여하는 것을 특징으로 하는 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료 방법을 제공하는 것이다.

【기술적 해결방법】

상기한 본 발명의 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 하기 단계를 포함하는 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제의 스크리닝 방법을 제공한다:

(a) PDK4(pyruvate dehydrogenase kinase 4)의 mRNA 또는 단백질을 발현하는 세포에 시험물질을 처리하는 단계;

(b) 시험물질을 처리한 세포와 처리하지 않은 세포에서 상기 PDK4의 mRNA 또는 단백질의 발현량 또는 활성을 측정하는 단계; 및

(c) 시험물질을 처리하지 않은 세포와 비교해 상기 PDK4의 mRNA 또는 단백질의 발현량 또는 활성을 감소시킨 시험물질을 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제로 선별하는 단계.

본 발명의 다른 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 하기 단계를 포함하는 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제의 스크리닝 방법을 제공한다:

(a) PDK2 및 PDK4의 mRNA 또는 단백질을 발현하는 세포에 시험물질을 처리하는 단계;

(b) 시험물질을 처리한 세포와 처리하지 않은 세포에서 상기 PDK2 및 PDK4의 mRNA 또는 단백질의 발현량 또는 활성을 측정하는 단계; 및

(c) 시험물질을 처리하지 않은 세포와 비교해 상기 PDK2 및 PDK4의 mRNA 또는 단백질의 발현량 또는 활성을 감소시킨 시험물질을 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제로 선별하는 단계.

본 발명의 다른 목적은 PDK4(pyruvate dehydrogenase kinase 4)의 활성 억제제를 유효성분으로 포함하는 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

본 발명의 다른 목적은 PDK4(pyruvate dehydrogenase kinase 4) 활성 억제제의 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제 제조를 위한 용도를 제공하는 것이다.

본 발명의 다른 목적은 PDK4(pyruvate dehydrogenase kinase 4) 활성 억제제를 이를 필요로 하는 개체에 유효량으로 투여하는 것을 특징으로 하는 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료 방법을 제공하는 것이다.

이하 본 발명에 대해 상세히 설명한다.

본 발명은 하기 단계를 포함하는 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제의 스크리닝 방법을 제공한다:

(a) PDK4(pyruvate dehydrogenase kinase 4)의 mRNA 또는 단백질을 발현하는 세포에 시험물질을 처리하는 단계;

(b) 시험물질을 처리한 세포와 처리하지 않은 세포에서 상기 PDK4의 mRNA 또는 단백질의 발현량 또는 활성을 측정하는 단계; 및

(c) 시험물질을 처리하지 않은 세포와 비교해 상기 PDK4의 mRNA 또는 단백질의 발현량 또는 활성을 감소시킨 시험물질을 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제로 선별하는 단계.

본 발명은 또한 (d) 상기 (c) 단계에서 선별된 물질을 PDK2를 발현하는 세포에 처리하는 단계;

(e) 시험물질을 처리한 세포와 처리하지 않은 세포에서 상기 PDK2의 mRNA 또는 단백질의 발현량 또는 활성을 측정하는 단계; 및

(f) 시험물질을 처리하지 않은 세포와 비교해 상기 PDK2의 mRNA 또는 단백질의 발현량 또는 활성을 감소시킨 시험물질을 선별하는 단계를 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 방법을 제공한다.

본 발명의 일실시예에 따르면, PDK4가 결손된 동물군에서 야생형 동물군과 비교해 혈중 스테로이드 호르몬의 수치가 유의적으로 낮아진 것을 확인하였으며, PDK2 및 PDK4가 모두 결손되어 있는 동물군에서는 혈중 스테로이드 호르몬 수치의 감소가 더 현저한 것을 확인하였다.

따라서, PDK4 또는 PDK2 및 PDK4의 mRNA 또는 단백질의 발현을 저해하는 물질은 부신피질에서 스테로이드 호르몬의 방출을 감소시킬 수 있기 때문에, 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제로 사용될 수 있는 것이다.

본 발명에서 상기 PDK4의 mRNA 또는 단백질을 발현하는 세포는 PDK4의 mRNA 또는 단백질이 내인적으로(endogenous) 발현 또는 일시적으로 과발현된 세포를 포함하며, 또는 PDK4를 암호화하는 핵산을 세포 내에 도입하여 형질전환시킴으로써 과발현 되도록 하여 사용할 수 있으나, 이에 특별히 제한되지 않는다.

본 발명에서 ‘단백질’은 ‘폴리펩타이드(polypeptide)’ 또는 ‘펩타이드(peptide)’와 호환성있게 사용되며, 예컨대, 자연 상태의 단백질에서 일반적으로 발견되는 바와 같이 아미노산 잔기의 중합체를 말한다. 상기 ‘폴리뉴클레오티드(polynucleotide)’ 또는 ‘핵산’은 단일-또는 이중-가닥의 형태로 된 데옥시리보뉴클레오티드(DNA) 또는 리보뉴클레오티드(RNA)를 말한다. 다른 제한이 없는 한, 자연적으로 생성되는 뉴클레오티드와 비슷한 방법으로 핵산에 혼성화되는 자연적 뉴클레오티드의 공지된 아날로그도 포함된다. ‘mRNA’는 단백질 합성 과정에서 특정 유전자의 염기서열의 유전 정보를 폴리펩티드를 형성하는 리보솜으로 전달하는 RNA이다.

본 발명 스크리닝 방법을 언급하면서 사용되는 용어 “시험물질”은 본 발명의 PDK2 및/또는 PDK4의 발현에 영향을 미치는지 여부를 검사하기 위하여 스크리닝에서 이용되는 미지의 물질을 의미한다. 상기 시험물질은 siRNA(small interference RNA), shRNA(short hairpin RNA), miRNA(microRNA), 리보자임(ribozyme), DNase, PNA(peptide nucleic acids), 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 항체, 앵타머, 천연추출물 또는 화학물질을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

또한, 상기 (a) 단계에서 사용되는 세포는 실험동물의 형태로 제공될 수 있으며, 이 경우 본 발명의 스크리닝 방법은 상기 실험동물에게 스테로이드 호르몬의 과방출을 유도하는 단계를 추가로 포함하며, 시험물질과의 접촉은 비경구 또는 경구투여, 정위주사를 포함하나, 이로 제한하는 것은 아니며, 당업자라면 시험물질을 동물에게 테스트하기 위해 적절한 방법을 선택할 수 있을 것이다.

시험물질을 처리하는 것은 시험물질을 세포 또는 조직 배양 배지에 추가한 후 세포를 일정 시간 배양하는 것을 의미한다. 상기 세포가 실험동물 형태로 제공될 때, 시험물질과의 접촉은 비경구 또는 경구 투여, 정위주사를 포함하는 이로 제한되는 것은 아니며, 당업자라면 시험물질을 동물에게 테스트하기 위해 적절한 방법을 선택할 수 있을 것이다.

본 발명에서 상기 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환은 쿠싱 증후군(Cushing's syndrome), 원발성 알도스테론증(Primary aldosteronism) 및 부신성기

증후군(adrenogenital syndrome)으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 할 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

본 발명의 상기 (b) 단계에서 PDK4의 mRNA 발현량 측정은 RT-PCR, 정량적 또는 반정량적 RT-PCR(Quantitative or semi-Quantitative RT-PCR), 정량적 또는 반정량적 리얼 타임 RT-PCR(Quantitative or semi-Quantitative real-time RT-PCR), 노던 블롯(northern blot) 및 DNA 또는 RNA 칩(chip)을 이용하여 측정될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

본 발명의 상기 (b) 단계에서 PDK4의 단백질 발현량 측정은 웨스턴 블롯, ELISA, 방사선면역분석법, 방사면역확산법, 오우크레로니(Ouchterlony) 면역확산법, 로케트 면역전기영동, 면역조직화학염색, 면역침전분석, 보체고정분석, FACS 및 단백질 칩으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 방법을 이용하여 측정될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

본 발명에서 상기 (c) 단계에서 선별된 물질은 PDK4의 활성을 저해하는 물질로 스테로이드 호르몬의 과다생성을 억제할 수 있는 효과가 있으나, 보다 우수한 효과를 나타내는 치료제 물질을 선별하기 위하여 상기 (c) 단계에서 선별된 물질을 대상으로 추가적으로 PDK2의 활성을 저해하는 물질을 선별하는 단계를 거칠 수 있다.

본 발명은 또한 하기 단계를 포함하는 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제의 스크리닝 방법을 제공한다:

(a) PDK2 및 PDK4의 mRNA 또는 단백질을 발현하는 세포에 시험물질을 처리하는 단계;

(b) 시험물질을 처리한 세포와 처리하지 않은 세포에서 상기 PDK2 및 PDK4의 mRNA 또는 단백질의 발현량 또는 활성을 측정하는 단계; 및

(c) 시험물질을 처리하지 않은 세포와 비교해 상기 PDK2 및 PDK4의 mRNA 또는 단백질의 발현량 또는 활성을 감소시킨 시험물질을 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제로 선별하는 단계.

본 발명의 일실시예에 따르면, PDK2 및 PDK4가 모두 결손되어 있는 마우스에

서 정상 야생형 마우스와 비교해 외부 자극 또는 ACTH의 자극에 의한 스테로이드 호르몬의 방출이 현저하게 감소되어 있는 것을 확인하였으며, 이러한 효과는 PDK4만을 결손한 마우스와 비교해도 더 우수한 것이었다.

따라서, PDK2 및 PDK4를 동시에 발현하는 세포에 시험물질을 처리하여, PDK2 및 PDK4의 mRNA 및/또는 단백질의 발현을 저해하는 물질은 스테로이드 호르몬의 과방출로 인한 질환에 보다 효과적으로 사용될 수 있다.

본 발명에서 상기 PDK2 및 PDK4의 mRNA 또는 단백질을 발현하는 세포는 PDK2 및 PDK4의 mRNA 또는 단백질이 내인적으로(endogenous) 발현 또는 일시적으로 과발현된 세포를 포함하며, 또는 PDK2 및 PDK4를 암호화하는 핵산을 각각 세포 내에 도입하여 형질전환시킴으로써 과발현 되도록 하여 사용할 수 있으나, 이에 특별히 제한되지 않는다.

상기 (a) 내지 (c)단계는 전술한 바와 같다.

본 발명은 또한 PDK4(pyruvate dehydrogenase kinase 4)의 활성 억제제를 유효성분으로 포함하는 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

본 발명에서 상기 약학적 조성물은 PDK2의 활성 억제제를 추가로 포함하는 것을 특징으로 할 수 있다.

본 발명의 일실시예에 따르면, PDK4 또는 PDK2 및 PDK4를 결손(knock-out)시킨 마우스에서 외부 스트레스에 의한 자극 또는 부신피질자극 호르몬의 자극에 의한 스테로이드 호르몬의 방출이 야생형 마우스와 비교해 현저하게 감소되는 것을 확인하였다(실시예 4). 특히 PDK4만을 결손시킨 동물군보다 PDK2 및 PDK4를 모두 결손시킨 동물군에서 스테로이드 호르몬의 방출 감소가 더 현저하게 나타났다. 이를 통해 PDK2 및 PDK4가 모두 부신피질에서 스테로이드 호르몬의 방출에 관여하고 있다는 것을 알 수 있었다.

또한, 본 발명의 다른 일실시예에 따르면 부신피질자극호르몬 처리에 의해 증가된 스테로이드 호르몬의 합성과 관련된 유전자의 발현증가가 PDK4 결손 마우스

에서 저해되어 있음을 확인하였다(실시예 4).

따라서, PDK4 또는 PDK2 및 PDK4의 활성을 억제할 수 있는 물질은 스테로이드 호르몬의 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제로 사용될 수 있다.

본 발명에서 상기 PDK4 또는 PDK2 및 PDK4의 활성 억제제는 PDK4 또는 PDK2 및 PDK4의 mRNA 또는 단백질의 발현을 억제하는 물질 및 PDK2 및/또는 PDK4 단백질의 활성을 억제하는 물질로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.

한편, 본 발명에서 상기 PDK4의 활성 억제제는 siRNA, shRNA, miRNA, 리보자임(ribozyme), DNzyme, PNA(peptide nucleic acids), 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 펩타이드, PDK4 단백질에 특이적인 항체, 앵타머, 천연추출물 및 화학물질로 이루어진 군에서 선택될 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

본 발명에서 상기 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환은 쿠싱 증후군(Cushing's syndrome), 원발성 알도스테론증(Primary aldosteronism) 또는 부신성 기증후군(adrenogenital syndrome)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환들은 각기 다른 스테로이드 호르몬들의 과다한 생성에 의해 유발이 되는 것으로, 각각 코티솔, 알도스테론 및 안드로젠이 이에 해당한다.

상기 쿠싱증후군의 가장 흔한 원인으로는 관절염 또는 자가면역질환 등의 치료를 위해 스테로이드 약을 장기간 복용한 경우 발생하는 외인성(外因性) 쿠싱증후군이며 약물에 의해 발생한다는 의미에서 의인성(醫因性) 쿠싱증후군이라고 부르기도 한다. 내인성(內因性) 쿠싱증후군으로는 코르티솔의 생성을 자극하는 부신피질 자극호르몬(ACTH)이 과도하게 분비되거나 혹은 부신피질자극호르몬의 농도와 관계없이 부신에서 코르티솔을 많이 생산하여 일어나는 내인성 쿠싱증후군으로 나눌 수 있다.

부신피질자극호르몬을 과다 분비하는 뇌하수체 종양으로 인한 쿠싱증후군을 쿠싱병이라고 한다. 이는 내인성 쿠싱증후군의 원인 중 가장 높은 빈도 (약 68~80%)를 차지한다.

뇌하수체 이외의 다른 부분, 예를 들면 폐암이나 유암종(carcinoid), 갈색세포종 등에서 부신피질자극호르몬이 과다하게 생산되어 유발되는 경우는 이소성(異

所性, 원래 있어야 할 부위가 아닌 곳에 있는 것) 쿠싱증후군이라고 한다.

부신 종양이나 증식증에서도 당질 코르티코이드를 과도하게 많이 생산할 수 있어 쿠싱증후군이 발생한다.

상기 원발성 알도스테론증은 부신 피질에서 스테로이드 호르몬의 한 종류인 알도스테론을 지나치게 많이 분비하여 고혈압과 체내 칼륨의 부족을 일으키는 질환으로, 이차성 고혈압의 중요한 원인 중 하나이다. 알도스테론은 인체의 체액량(수분량)과 전해질 농도를 조절하는 호르몬으로 염류코르티코이드라고도 하는데, 지나치게 많이 분비되면 고혈압과 전해질 농도의 이상을 가져오게 된다.

원발성 알도스테론증의 원인은 알도스테론분비선종이 있는 경우가 60%로 가장 흔하며, 나머지는 양측성 혹은 일측성 부신피질증식증 등이 있고, 드물게는 알도스테론 분비 암이 있을 수 있다.

상기 부신성기증후군은 부신포로이드 호르몬성 이상생식기증후군이라고도 불리는 질환으로, 부신피질에서 분비되는 남성 호르몬의 과잉분비로 여자에서는 성기, 2차 성징의 남성화 경향이 나타나며, 남성에서는 성조숙을 나타내는 증후군이다. 부신성기증후군이 나타나는 원인은 선천성 부신 과형성 또는 부신종양에 의한 남성호르몬의 생산 증가가 주요한 원인으로 알려져 있다.

즉, 본 발명에서 상기 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환은 부신피질에서 각각 코티솔, 알도스테론 및 안드로겐이 과다하게 형성되어 나타나는 질환인 쿠싱 증후군(Cushing's syndrome), 원발성 알도스테론증(Primary aldosteronism) 또는 부신성기증후군(adrenogenital syndrome)일 수 있으며, 이외에도 스테로이드 호르몬의 과방출로 인해 나타나는 모든 증후군 또는 질환을 포함하는 개념으로 이해할 수 있다.

본 발명에 따른 약학적 조성물은 본 발명의 치료제 후보물질을 단독으로 함유하거나 또는 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 함유할 수 있다.

약학적으로 허용되는 담체로는 예컨대, 경구 투여용 담체 또는 비경구 투여용 담체를 추가로 포함할 수 있다. 경구 투여용 담체는 락토스, 전분, 셀룰로스 유

도체, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 등을 포함할 수 있다. 또한, 비경구 투여용 담체는 물, 적합한 오일, 식염수, 수성 글루코스 및 글리콜 등을 포함할 수 있으며, 안정화제 및 보존제를 추가로 포함할 수 있다. 적합한 안정화제로는 아황산수소나트륨, 아황산나트륨 또는 아스코르브산과 같은 항산화제가 있다. 적합한 보존제로는 벤즈알코늄 클로라이드, 메틸- 또는 프로필-파라벤 및 클로로부탄올이 있다. 그 밖의 약학적으로 허용되는 담체로는 다음의 문헌에 기재되어 있는 것을 참고로 할 수 있다(Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1995).

본 발명의 약학적 조성물은 인간을 비롯한 포유동물에 어떠한 방법으로도 투여할 수 있다. 예를 들면, 경구 또는 비경구적으로 투여할 수 있다. 비경구적인 투여방법으로는 이에 한정되지는 않으나, 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 경막내, 심장내, 경피, 피하, 복강내, 비강내, 장관, 국소, 설하 또는 직장내 투여될 수 있다. 바람직하게는 본 발명의 약학적 조성물은 경구투여될 수 있다. 예컨대, 본 발명의 약학적 조성물을 주사형 제형으로 제조하여 이를 30 게이지의 가는 주사 바늘로 피부를 가볍게 단자(prick)하는 방법, 또는 피부에 직접적으로 도포하는 방법으로 투여될 수 있다.

본 발명의 약학적 조성물은 상술한 바와 같은 투여 경로에 따라 경구 투여용 또는 비경구 투여용 제제로 제형화 할 수 있다.

경구 투여용 제제의 경우에 본 발명의 조성물은 분말, 과립, 정제, 환제, 당의정제, 캡슐제, 액제, 젤제, 시럽제, 슬러리제, 현탁액 등으로 당업계에 공지된 방법을 이용하여 제형화될 수 있다. 예를 들어, 경구용 제제는 활성성분을 고체 부형제와 배합한 다음 이를 분쇄하고 적합한 보조제를 첨가한 후 과립 혼합물로 가공함으로써 정제 또는 당의정제를 수득할 수 있다. 적합한 부형제의 예로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨 및 말티톨 등을 포함하는 당류와 옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분 및 감자 전분 등을 포함하는 전분류, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스 및 하이드록시프로필메틸-셀룰로즈 등을 포함하는 셀룰로즈류, 젤라틴, 폴리비닐피롤리돈 등과 같은 충전제가 포함될 수 있다. 또한, 경우에 따라 가교결합 폴리비닐피롤리돈, 한천, 알긴산 또는 나트륨 알기네이트 등을 붕해제로 첨가할 수 있다. 나아가, 본 발명의

약학적 조성물은 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제 및 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.

비경구 투여용 제제의 경우에는 주사제, 크림제, 로션제, 외용연고제, 오일제, 보습제, 젤제, 에어로졸 및 비강 흡입제의 형태로 당업계에 공지된 방법으로 제형화할 수 있다. 이들 제형은 모든 제약 화학에 일반적으로 공지된 처방서인 문헌(Remington's Pharmaceutical Science, 15th Edition, 1975. Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania 18042, Chapter 87: Blaug, Seymour)에 기재되어 있다.

본 발명의 약학적 조성물의 총 유효량은 단일 투여량(single dose)으로 환자에게 투여될 수 있으며, 다중 투여량(multiple dose)으로 장기간 투여되는 분할 치료 방법(fractionated treatment protocol)에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 질환의 정도에 따라 유효성분의 함량을 달리할 수 있다. 바람직하게는 본 발명의 당단백 분획의 바람직한 전체 용량은 1일당 환자 체중 1 kg 당 약 0.01ug 내지 1,000 mg, 가장 바람직하게는 0.1 ug 내지 100 mg일 수 있다. 그러나 상기 본 발명의 치료제 후보물질의 용량은 약학적 조성물의 투여 경로 및 치료 횟수뿐만 아니라 환자의 연령, 체중, 건강 상태, 성별, 질환의 중증도, 식이 및 배설을 등 다양한 요인들을 고려하여 환자에 대한 유효 투여량이 결정되는 것이므로, 이러한 점을 고려할 때 당 분야의 통상적인 지식을 가진 자라면 상기 본 발명의 약학적 조성물을 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 치료제로서의 특정한 용도에 따른 적절한 유효 투여량을 결정할 수 있을 것이다. 본 발명에 따른 약학적 조성물은 본 발명의 효과를 보이는 한 그 제형, 투여 경로 및 투여 방법에 특별히 제한되지 아니한다.

나아가, 본 발명의 약학적 조성물은 스테로이드 호르몬의 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료 효과를 가지는 공지의 화합물과 병행하여 투여할 수 있다.

본 발명은 PDK4(pyruvate dehydrogenase kinase 4) 활성 억제제의 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제 제조를 위한 용도를 제공한다.

본 발명은 PDK4(pyruvate dehydrogenase kinase 4) 활성 억제제를 이를 필요로 하는 개체에 유효량으로 투여하는 것을 특징으로 하는 스테로이드 호르몬 과방

출로 인한 질환의 예방 및 치료 방법을 제공한다.

본 발명의 PDK4(pyruvate dehydrogenase kinase 4) 활성 억제제는 유효량으로 경구, 경피, 피하, 정맥 또는 근육을 포함한 여러 경로를 통해 투여될 수 있다. 상기에서 ‘유효량’이란 환자에게 투여하였을 때, 스테로이드 호르몬의 과방출로 인한 질환을 치료효과를 나타내는 양을 말하며, 상기 ‘개체(subject)’란 동물, 바람직하게는 포유동물, 특히 인간을 포함하는 동물일 수 있으며, 동물에서 유래한 세포, 조직, 기관 등일 수도 있다. 상기 개체는 치료가 필요한 환자(patient)일 수 있다.

상기 본 발명의 PDK4(pyruvate dehydrogenase kinase 4) 활성 억제제는 그 자체를 투여하거나 상술한 바와 같은 여러 제형으로 제조되어 투여될 수 있으며, 바람직하게는 원하는 효과 즉, 스테로이드 호르몬의 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료 효과가 도출될 때까지 투여될 수 있다. 본 발명의 화합물 및 이의 약학적으로 허용가능한 염은 당업계에 공지된 방법에 따라 다양한 경로로 투여될 수 있다. 즉, 경구 또는 비경구, 예컨대 구강, 근육내, 정맥내, 피내, 동맥내, 골수내, 경막내, 목강내, 비강내, 질내, 직장내, 설하 또는 피하 투여되거나, 위장관, 점막 또는 호흡기로 투여될 수 있다. 바람직하게는 피부에 직접 도포될 수 있다. 또한 본 발명의 화합물 및 이의 약학적으로 허용가능한 염은 표적 세포나 조직에 고친화성 결합을 유발하는 분자와 결합되거나 상기 분자 내에 캡슐화된 형태로 투여될 수 있다. 본 발명의 PDK4 활성 억제제는 당업계에 공지된 기술을 이용하여 스테롤(예: 콜레스테롤), 지질(예: 양이온 지질, 비로솜 또는 리포솜) 또는 표적 세포 특이적 결합체(예: 표적세포 특이적 수용체에 의해 인지되는 리간드)와 결합될 수 있다. 적합한 커플링제 또는 가교제로는 예컨대 단백질 A, 카보디이미드, N-숙신이미달-3-(2-피리딜디티오)프로피오테이트(SPDP) 등을 포함할 수 있다.

이들 제형은 제약 화학에 일반적으로 공지된 처방서인 문헌(Remington's Pharmaceutical Science, 15th Edition, 1975, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania)에 기술되어 있다.

【유리한 효과】

본 발명은 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환 치료의 새로운 타겟으로

PDK4(pyruvate dehydrogenase kinase 4)가 이용될 수 있음을 밝히고, 이에 기초하여 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제 후보물질을 스크리닝하는 방법을 제공한다. 본 발명의 스크리닝 방법에 의하면 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환을 예방 및/또는 치료할 수 있는 새로운 후보물질을 효과적으로 선별할 수 있으며, 본 발명의 스크리닝 방법에 따라 선별된 물질을 이용하여 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공할 수 있는 효과가 있다.

【도면의 간단한 설명】

도 1은 스테로이드 호르몬 과방출 동물모델에 PDK 저해제인 DCA를 투여한 후 혈당(A), 혈중 스테로이드 호르몬(B), 체중(C) 및 증체율의 변화(D)를 나타낸 도면이다.

도 2는 스테로이드 호르몬 과방출 동물모델에 PDK 저해제인 DCA를 투여한 후 임상증상의 개선효과를 확인한 도면이다(A: 체중, B: 체지방, C: 체중대비 체지방량, D: 체지방, E: 체중대비 체지방량)

도 3은 스테로이드 호르몬 과방출 동물모델에 PDK 저해제인 DCA를 투여한 후 지방의 증감여부를 CT 촬영을 통해 확인한 도면이다(A: 정상동물군, B: 스테로이드 호르몬 과방출 동물모델 saline 투여군, C: 스테로이드 호르몬 과방출 동물모델 DCA 투여군)

도 4는 랫드 부신을 떼어내어 ACTH로 스테로이드 호르몬 분비를 자극한 후, DCA를 처리하였을 때 호르몬 분비량 변화를 측정한 결과이다.

도 5는 PDK4 및/또는 PDK2 결손 마우스 동물모델의 뇨중 코르티코스테론의 농도(A)와 마우스에 스트레스를 주어 스트레스 호르몬 분비를 자극하였을 때 혈중 코르티코스테론 농도의 변화(B) 및 ACTH 자극을 통한 혈중 코르티코스테론의 농도 변화(C)를 관찰한 결과이다.

도 6은 야생형 마우스 및 PDK4 결손 마우스에 ACTH를 자극한 후, 스테로이드 호르몬 합성과 관련된 유전자들의 발현정도를 확인한 결과이다(A: 혈중 코르티코스

테론, B: 스테로이드 호르몬 합성조절 유전자들의 발현량 변화, WT: 야생형, PDK4KO: PDK4 결손동물).

【발명의 실시를 위한 형태】

이하 본 발명을 상세히 설명한다.

단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

<실시예 1>

스테로이드 호르몬 과방출 동물모델에서 PDK의 저해에 따른 효과

<1-1> 동물모델

쿠싱증후군 마우스 모델인 Corticotropin-releasing hormone transgenic (CRH Tg)마우스는 The Jackson Laboratory (USA)에서 구입하였으며 Specific Pathogen Free (SPF) 동물사육실에서 사육을 하였다. 이 마우스 모델의 경우 과도한 CRH의 지속적인 과발현으로 ACTH의 분비가 증가되어 부신에서 스테로이드 호르몬을 과방출하도록 함으로서 만성적인 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 양상들 - 고혈당, 인슐린 저항성, 중심성 비만(central obesity), 피부를 비롯한 결체조직의 약화, 근위축증 (muscular atrophy) 및 골다공증 등이 유발되는 것으로 잘 알려져 있다.

<1-2> PDK 저해제 투여에 따른 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 임상증상 개선효과 (1)

다양한 원인에 의해 스테로이드 호르몬의 한 종류인 코르티솔(cortisol)의 과다한 방출로 인해 나타나는 질환을 쿠싱증후군이라 한다.

쿠싱증후군에서 나타나는 코르티솔의 과잉은 우리 몸의 여러 시스템에 영향을 미치게 되는데 단백질의 분해가 증가하고 지방 이동이 촉진되므로 피부 및 모세혈관을 구성하는 콜라겐과 근육을 구성하는 단백질이 분해되고 체내 지방의 재분포가 일어나게 된다. 그 외에 인슐린 저항성을 증가시키므로 혈당이 상승하고 성호르몬 분비가 억제되며 칼슘 흡수가 억제 되고 뼈를 만드는 조골세포의 생존을 단축시키게 된다. 뿐만 아니라 면역 세포의 활성이 억제되어 감염에 취약한 상태가 되며 과도한 코르티솔은 혈압을 유지하는 염류 코르티코이드의 작용과 함께 혈관을 수축

시켜 혈압을 상승시키게 된다. 쿠싱증후군의 증상은 수주에서 수개월에 걸쳐 서서히 나타나는데 다음과 같은 임상 증상이 대표적으로 알려져 있다:

- 체중이 증가하는데, 주로 가슴과 배 주위에 살이 찌고 팔다리는 오히려 가늘어진다(가장 흔함).
- 얼굴이 붉어지고 둥그렇게 된다(月狀顔, moon face).
- 뒷목 바로 밑 견갑골 사이에 지방이 축적된다(물소 등, buffalo hump).
- 얼굴과 몸에 체모가 증가한다(특히 여성들에게 많이 관찰된다).
- 붉은 자색의 선조가 배, 허벅지, 팔에 나타난다.
- 다리 근육이 위축되고 약해지면서 계단을 오르기가 힘들어진다. 팔에서도 같은 증세가 나타날 수 있다.
- 사지에 멍이 잘 든다.
- 피부가 얇아지고 여드름이 생긴다.
- 피부와 점막의 진균(곰팡이) 감염 : 체부백선(어루러기), 손톱과 발톱의 무좀인 조갑진균증
- 여성의 경우, 월경 주기가 불규칙해지며 나중에는 무월경이 된다.
- 성욕이 감퇴한다(발기 부전).
- 우울증과 심한 감정 변화, 정신병
- 쿠싱증후군을 치료하지 않고 방치할 경우에는 고혈압, 골다공증, 당뇨병과 만성 심부전 등의 합병증이 일어날 수 있다.

이에, 본 발명자들은 스테로이드 호르몬 과방출 동물모델, 즉 쿠싱증후군 동물모델에서 PDK 저해제인 디클로로아세트아이드(dichloroacetate, DCA)를 투여하고, 쿠싱증후군의 대표적인 임상증상이라 할 수 있는 혈당, 혈중 스테로이드 호르몬의 농도, 체중 및 체중증가율을 평가하였다.

구체적으로, DCA를 300 mg/kg의 농도로 1일 1회, 총 10일간 복강투여한 뒤 동물의 혈액을 채취하여 혈당 및 코르티코스테론의 농도를 측정하였으며, 매일 체중을 측정하여 체중 변화 및 증체율(%)을 기록하였다.

이에 대한 결과를 도 1에 나타내었다.

도 1에 나타난 바와 같이, 스테로이드 호르몬 과방출 동물모델인 CRH Tg mice에 PDK 저해제인 DCA를 투여한 결과, 혈당, 혈중 스테로이드 호르몬, 체중 및 증체율이 미투여 대조군과 비교해 현저히 감소하는 것을 확인하였다.

<1-3> PDK 저해제 투여에 따른 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 임상증상 개선효과 (2)

상기 실시예 <1-2>에서 평가한 DCA의 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 임상 증상 개선효과 중 체중증가 및 체지방량 증가에 대한 개선효과를 동일한 동물모델에서 평가하였다.

구체적으로, 쿠싱증후군 동물모델에서 PDK 저해제인 디클로로아세트아이드(dichloroacetate, DCA)를 300 mg/kg의 농도로 1일 1회 복강 내 투여를 한 후 체중 및 혈당을 측정하였으며 소동물체성분 분석기 (Minispec LF50, Bruker, Germany)를 이용하여 체지방 및 근육량을 측정하였다. 또한 영상을 확인하기 위하여 Triumph LabPET/CT (TriFoil, USA)영상장비를 통하여 CT 촬영을 수행하였다.

이에 대한 결과를 도 2에 나타내었다.

도 2에 나타낸 바와 같이, CRH Tg mice에 saline을 투여한 동물군에서는 체중이 증가하였으나, DCA를 투여한 군에서 정상군과 동등한 수치까지 체중이 감소하는 것을 확인하였다. 또한, CRH Tg mice에 saline을 투여한 동물군에서는 대조군과 비교해 체지방(Fat)량이 현저히 증가하였으나, DCA를 투여한 군에서는 saline 투여 대조군과 비교해 약 50% 체지방량이 감소하는 것을 확인하였다. 체중대비 체지방량(Fat/BW)은 더욱 현저하게 감소하는 소견을 보였다. 체지방(lean body mass) 수치는 CRH Tg mice에서 감소하였다가 DCA투여한 군에서 유의하게 증가는 것을 확인하였고, 이를 중으로 나눈 체중대비 체지방량(Lean/BW)은 더욱더 현저하게 증가하는 것을 확인하였다.

한편, 도 3에 나타낸 바와 같이 CT촬영을 통해 지방의 증감을 영상으로 확인한 결과, CRH Tg mice에서 피하 및 내장지방의 현저한 증가소견을 보였고, CRH Tg mice에 DCA를 투여한 군에서는 야생형 mice와 비교하여 비슷한 소견을 보였다. 이를 통해 DCA에 의해 CRH Tg mice의 특징적인 체지방증가가 억제됨을 추정할 수 있었다.

<실시예 2>

부신피질자극호르몬(ACTH) 자극에 의한 부신피질에서의 호르몬 분비 변화 평가(Ex-vivo)

5 주령 랫드를 구입하여 1주일 간 안정화를 시킨 후 경추 탈골을 통하여 안락사를 시킨 후 부신을 적출하며 부신 주위의 지방조직을 제거 한 후 실험을 수행하였다. 약물 효과를 확인하기 위하여 DCA를 2시간 전에 미리 처리하였으며, 그 후 ACTH를 처리한 후 2시간 뒤에 부신에서 분비되는 코르티코스테론 배지에서 양을 측정하였다.

이에 대한 결과를 도 4에 나타내었다.

도 4에 나타낸 바와 같이, 랫드 부신피질을 떼어내어 ACTH로 스테로이드 호르몬 분비를 자극한 결과, 코르티코스테론의 분비량이 현저히 증가하였으며, ACTH 자극에 의한 코르티코스테론 분비량 증가는 DCA 처리에 의해 유의적으로 저해되는 것으로 확인되었다.

<실시에 3>

PDK4 및/또는 PDK2 유전자 발현 결손(Knock-out) 마우스 in vivo 실험

<3-1> 동물모델

엑손과 인트론 사이를 유전자 변형기법으로 통하여 PDK2 결손 및 PDK4 결손 마우스를 만들었으며 미국 인디애나 대학의 Robert A. Harris박사에게서 공여 받았다. PDK2 KO와 PDK4 KO의 교배를 통하여 PDK2/PDK4 결손 마우스를 만들었으며 모든 동물실험은 SPF 실험실에서 수행하였다.

<3-2> 혈중 코르티코스테론(corticosterone) 측정

상기 실시예 <1-1>에서 수득한 PDK4 및/또는 PDK2 결손(knock-out) 마우스 모델에서 24시간 동안 뇨중 코르티코스테론의 농도, 30분간 마우스에 스트레스를 주어 스테로이드 호르몬 분비를 자극하였을 때 혈중 코르티코스테론 농도 및 부신피질자극호르몬(ACTH) 자극을 통한 혈중 코르티코스테론의 농도 변화를 확인하였다.

구체적으로,

(i) 뇨중 코르티코스테론을 측정하기 위하여 모든 마우스를 24시간 전에 뇨를 수집할 수 있는 대사케이지에 넣어서 안정화를 시킨 후 그 후 24 시간 동안 뇨를 수집하여 측정하였다.

(ii) 마우스에게 스트레스를 주기 위하여 50ml cornical tube에 넣어서 30분 간 움직이지 못하게 한 후 꼬리에서 혈액을 채취한 후 코르티코스테론 양을 측정하였다.

(iii) ACTH 자극에 의한 코르티코스테론 분비를 in vivo에서 확인하기 위하여 각각의 마우스에 오전 8시에 ACTH를 1mg/kg의 농도로 복강 주사로 주입한 후 시간별로 혈액을 채취하여 측정하였다.

이에 대한 결과를 도 5에 나타내었다.

도 5A 에 나타낸 바와 같이, 24시간 동안 마우스 뇨중 코르티코스테론의 농도를 측정한 결과 PDK4 결손 마우스 및 PDK2/PDK4 결손 마우스에서 코르티코스테론의 양이 대조군 마우스와 비교해 통계학적으로 유의성 있게 감소되어 있는 것을 확인하였다.

도 5B 에 나타낸 바와 같이, 마우스에 30분간 스트레스를 가해 스테로이드 호르몬의 분비를 자극한 결과 모든 마우스군에서 스트레스를 가하기 전과 비교해 혈중 코르티코스테론의 양이 현저히 증가하였다. 스트레스에 대한 반응은 중추신경계에서 시작하여 시상하부의 부신피질 자극호르몬 유리 호르몬의 분비를 증가시켜 뇌하수체의 부신피질자극 호르몬 분비에 영향을 주게 되고, 결과적으로 부신피질에서 스테로이드 호르몬의 분비가 증가하게 되는 것이다. 한편, 스트레스의 자극에 의한 코르티코스테론의 분비 증가는 대조군과 비교해 PDK4 결손 또는 PDK2/PDK4 결손 마우스에서 통계학적으로 유의성 있게 감소하는 것으로 확인되었다.

도 5C 에 나타낸 바와 같이, 부신피질자극호르몬(ACTH)를 처리하여 직접적으로 스테로이드 호르몬의 방출을 자극한 후 1시간 동안 혈중 코르티코스테론의 농도를 측정한 결과, 모든 투여군에서 혈중 코르티코스테론의 양이 증가하였으나 정상 대조군과 비교해 PDK4 또는 PDK2/PDK4 결손 마우스에서 그 증가량이 현저히 적은 것으로 확인되었다.

상기한 결과를 통해, PDK4 또는 PDK2/PDK4를 저해하면 부신피질에서 스테로이드 호르몬의 방출이 감소되어 스테로이드 호르몬의 과방출로 인한 질환을 예방 또는 치료할 수 있다는 것을 알 수 있었다.

<3-3> 스테로이드 호르몬 합성관련 유전자의 발현 평가

본 발명자들은 상기 실시예 <4-2>의 결과를 토대로, PDK4의 발현 저해가 스

스테로이드 호르몬의 합성과 관련된 유전자인 StAR, pStAR, pCREB 및 pPKA의 발현에 어떤 영향을 미치는지 알아보기 위한 실험을 진행하였다.

StAR(steroidogenic acute regulatory protein)은 미토콘드리아 내에서 콜레스테롤의 수송을 조절하는 수송 단백질(transport protein)로, 이 단계는 스테로이드의 합성을 조절함에 있어서 가장 중요한 단계, 즉 속도-조절 단계(rate-limiting step)에 해당한다. 따라서, StAR는 스테로이드를 생산하는 세포에 주로 발현한다.

StAR의 전사조절 및 활성조절에 미치는 인자들에 대해서는 밝혀진 바가 많지 않아서 아직까지 많은 연구가 필요한 분야 중 하나이다. 가장 잘 알려져 있는 신호전달체계는 ACTH에 의해 자극을 받게됨으로써 활성화되는 세포내 pPKA 신호전달체계이다. 부신피질에 있는 수용체에 ACTH가 결합하여 세포내 cAMP의 양이 증가하고, 이에 따라 PKA가 인산화(활성화)됨으로써 CREB를 인산화시켜 핵 속으로 들어갈 수 있도록 한다. 핵속으로 들어간 pCREB는 StAR의 주요 전사인자(transcription factor)로써 StAR의 전사를 증가시키게 된다.

StAR는 인산화가 되면 활성화되므로, 스테로이드 합성에 있어서 mRNA의 양과 단백질의 양도 중요하지만, pStAR, 즉 StAR의 활성화도 중요한 인자로 작용하기 때문에 이를 측정하고, StAR를 인산화시키는 인자를 확인하는것도 중요하다. StAR의 인산화 인자를 조절하는 인자로 가장 잘 알려진것은 pPKA에 의하여 인산화되는 것이다. 따라서 현재까지 StAR의 전사 및 활성도를 조절하는 중요한 인자들은 ACTH에 의하여 활성화되는 pPKA신호전달체계라고 할 수 있다.

구체적으로, StAR의 전사를 조절하는 신호전달체계 구성요소들은(pPKA, pCREB) 인산화단백이며, 활성화된 StAR 역시 pStAR으로 인산화되어 있기 때문에 mRNA의 양을 측정하는 것보다 “인산화된 단백질”을 측정해야 의미가 있어 웨스턴 블롯으로 이를 측정하였다.

PDK4가 코르티코스테론 분비에 영향을 미치는지 확인하기 위하여 야생형 마우스와 PDK4 결손 마우스를 경추탈골을 통하여 안락사 시킨 후 부신을 분리하여 2시간 동안 750 nM ACTH를 처리하여 시간별로 분비되는 코르티코스테론 양을 배양배지를 수집하여 측정하였으며, 부신에서 단백질신호전달 변화를 확인하기 위하여 웨스턴 블롯을 통하여 단백질 발현을 확인하였다.

이에 대한 결과를 도 6에 나타내었다.

도 6에 나타낸 바와 같이, 야생형 마우스에서는 ACTH의 자극에 의해 PDK4, pStAR, StAR, pCREB 및 pPKA substrate의 단백질 발현량이 증가하였으나, PDK4 결손 마우스에서는 이러한 증가경향이 현저히 감소되는 것으로 확인하였다.

즉, PDK4의 발현 저하는 스테로이드 합성에 관여하는 주요 유전자들의 발현을 억제시키는 기전을 통해 스테로이드 호르몬의 합성을 저해한다는 것을 알 수 있었다.

【산업상 이용가능성】

본 발명은 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환 치료의 새로운 타겟으로 PDK4(pyruvate dehydrogenase kinase 4)가 이용될 수 있음을 밝히고, 이에 기초하여 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제 후보물질을 스크리닝하는 방법을 제공한다. 본 발명의 스크리닝 방법에 의하면 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환을 예방 및/또는 치료할 수 있는 새로운 후보물질을 효과적으로 선별할 수 있으며, 본 발명의 스크리닝 방법에 따라 선별된 물질을 이용하여 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공할 수 있는 효과가 있어 산업상 이용가능성이 매우 우수하다.

【청구의 범위】**【청구항 1】**

하기 단계를 포함하는 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제의 스크리닝 방법:

(a) PDK4(pyruvate dehydrogenase kinase 4)의 mRNA 또는 단백질을 발현하는 세포에 시험물질을 처리하는 단계;

(b) 시험물질을 처리한 세포와 처리하지 않은 세포에서 상기 PDK4의 mRNA 또는 단백질의 발현량 또는 활성을 측정하는 단계; 및

(c) 시험물질을 처리하지 않은 세포와 비교해 상기 PDK4의 mRNA 또는 단백질의 발현량 또는 활성을 감소시킨 시험물질을 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제로 선별하는 단계.

【청구항 2】

제1항에 있어서, (d) 상기 (c) 단계에서 선별된 물질을 PDK2를 발현하는 세포에 처리하는 단계;

(e) 시험물질을 처리한 세포와 처리하지 않은 세포에서 상기 PDK2의 mRNA 또는 단백질의 발현량 또는 활성을 측정하는 단계; 및

(f) 시험물질을 처리하지 않은 세포와 비교해 상기 PDK2의 mRNA 또는 단백질의 발현량 또는 활성을 감소시킨 시험물질을 선별하는 단계를 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

【청구항 3】

제1항에 있어서, 상기 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환은 쿠싱 증후군(Cushing's syndrome), 원발성 알도스테론증(Primary aldosteronism) 및 부신성기 증후군(adrenogenital syndrome)으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 방법.

【청구항 4】

제1항에 있어서, 상기 PDK4의 mRNA 발현량 측정은 RT-PCR, 정량적 또는 반정량적 RT-PCR(Quantitative or semi-Quantitative RT-PCR), 정량적 또는 반정량적 리얼 타임 RT-PCR(Quantitative or semi-Quantitative real-time RT-PCR), 노던 블롯(northern blot) 및 DNA 또는 RNA 칩(chip)으로 이루어지는 군에서 선택된 어느

하나의 방법을 이용하여 측정되는 것을 특징으로 하는 방법.

【청구항 5】

제1항에 있어서, 상기 PDK4의 단백질 발현량 측정은 웨스턴 블롯, ELISA, 방사선면역분석법, 방사면역확산법, 오우크레로니(Ouchterlony) 면역확산법, 로케트 면역전기영동, 면역조직화학염색, 면역침전분석, 보체고정분석, FACS 및 단백질 칩으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 방법을 이용하여 측정되는 것을 특징으로 하는 방법.

【청구항 6】

하기 단계를 포함하는 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제의 스크리닝 방법:

(a) PDK2 및 PDK4의 mRNA 또는 단백질을 발현하는 세포에 시험물질을 처리하는 단계;

(b) 시험물질을 처리한 세포와 처리하지 않은 세포에서 상기 PDK2 및 PDK4의 mRNA 또는 단백질의 발현량 또는 활성을 측정하는 단계; 및

(c) 시험물질을 처리하지 않은 세포와 비교해 상기 PDK2 및 PDK4의 mRNA 또는 단백질의 발현량 또는 활성을 감소시킨 시험물질을 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제로 선별하는 단계.

【청구항 7】

PDK4(pyruvate dehydrogenase kinase 4)의 활성 억제제를 유효성분으로 포함하는 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물.

【청구항 8】

제7항에 있어서, PDK2의 활성 억제제를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

【청구항 9】

제7항 또는 제8항에 있어서, 상기 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환은 쿠싱 증후군(Cushing's syndrome), 원발성 알도스테론증(Primary aldosteronism) 및 부신성기증후군(adrenogenital syndrome)으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하

나인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

【청구항 10】

제7항 또는 제8항에 있어서, 상기 PDK4의 활성 억제제는 PDK4의 mRNA 또는 단백질의 발현을 억제하는 물질 및 PDK4 단백질의 활성을 억제하는 물질로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

【청구항 11】

제7항 또는 제8항에 있어서, 상기 PDK4의 활성 억제제는 siRNA, shRNA, miRNA, 리보자임(ribozyme), DNAzyme, PNA(peptide nucleic acids), 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 펩타이드, PDK4 단백질에 특이적인 항체, 앵타머, 천연추출물 및 화학물질로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

【청구항 12】

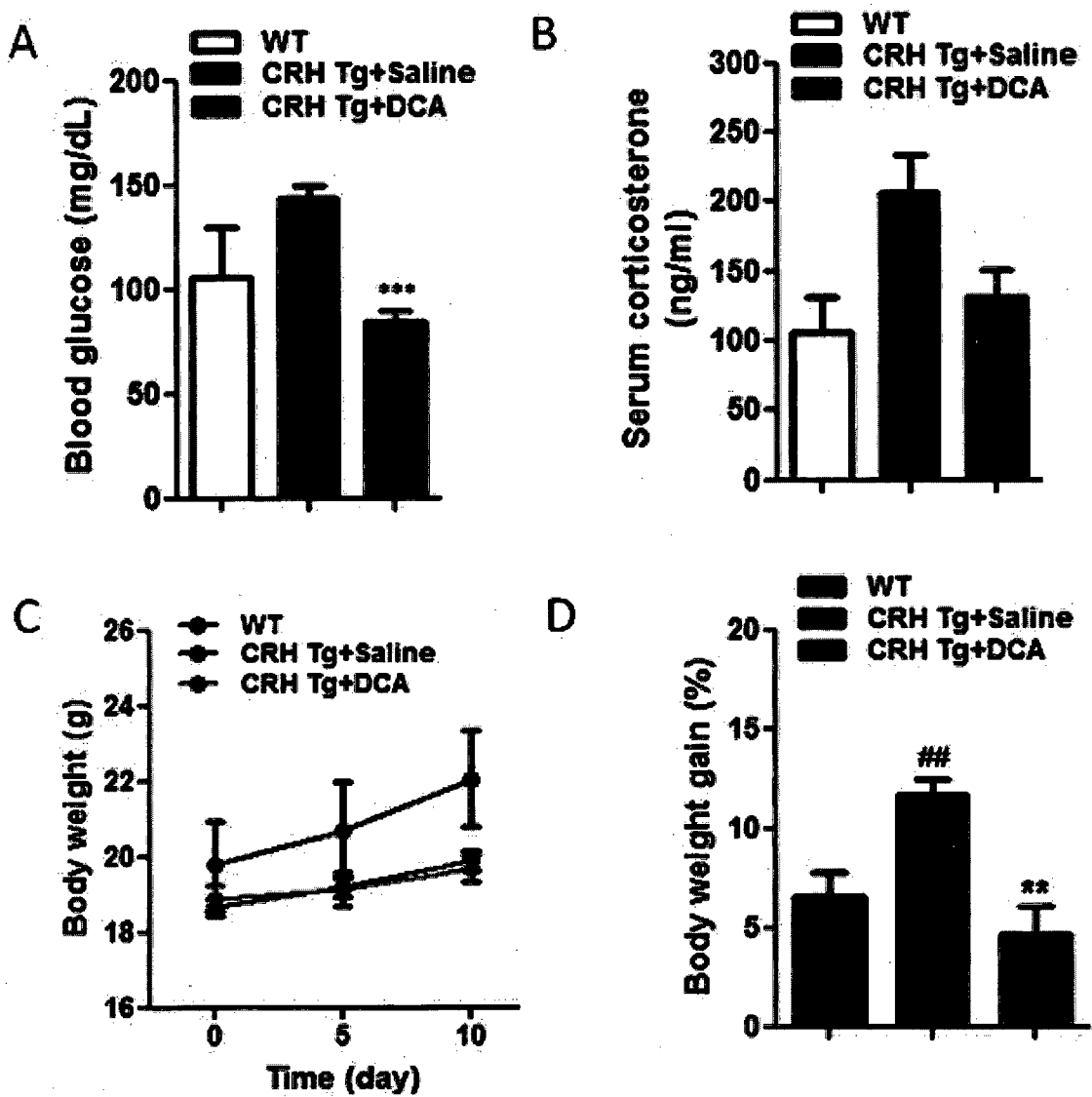
PDK4(pyruvate dehydrogenase kinase 4) 활성 억제제의 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료제 제조를 위한 용도.

【청구항 13】

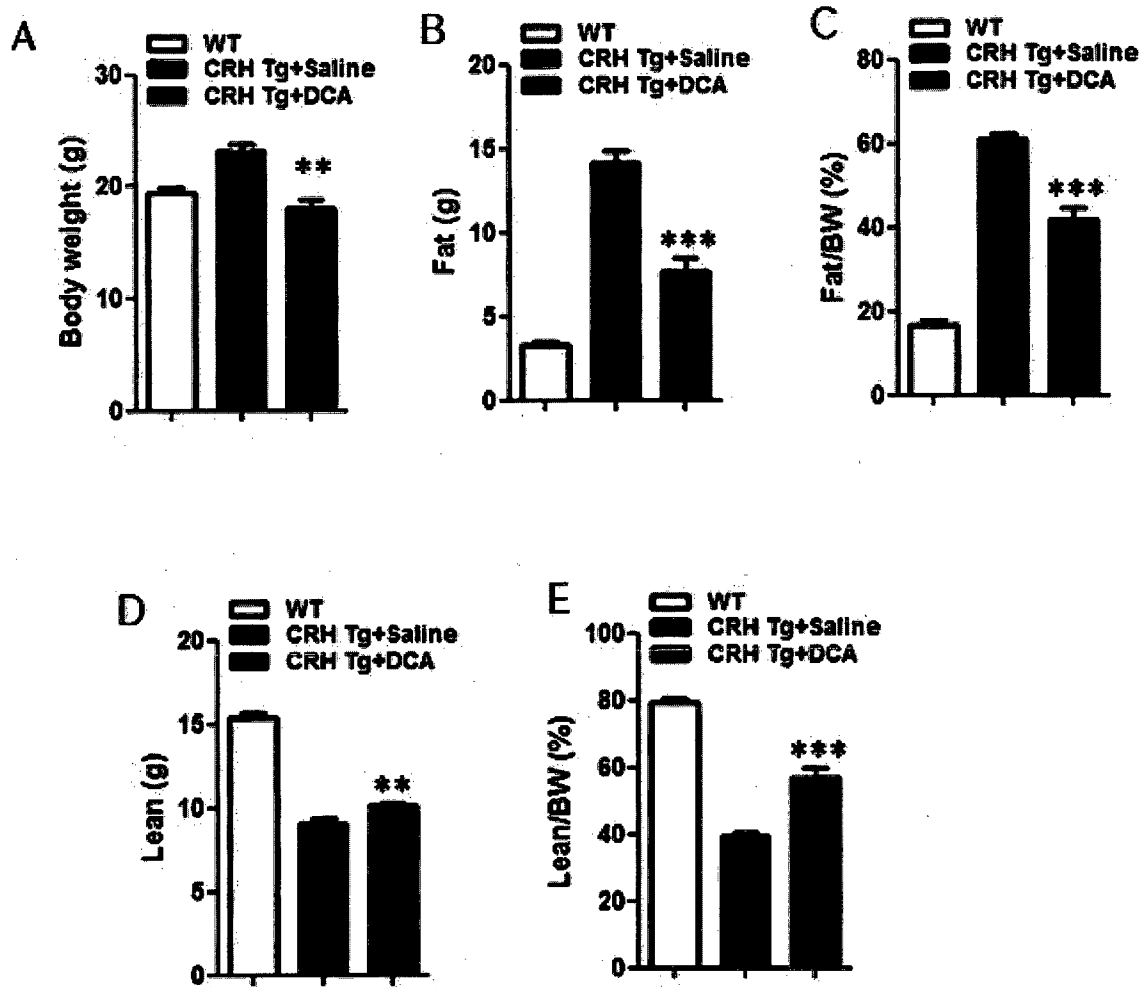
PDK4(pyruvate dehydrogenase kinase 4) 활성 억제제를 이를 필요로 하는 개체에 유효량으로 투여하는 것을 특징으로 하는 스테로이드 호르몬 과방출로 인한 질환의 예방 및 치료 방법.

【도면】

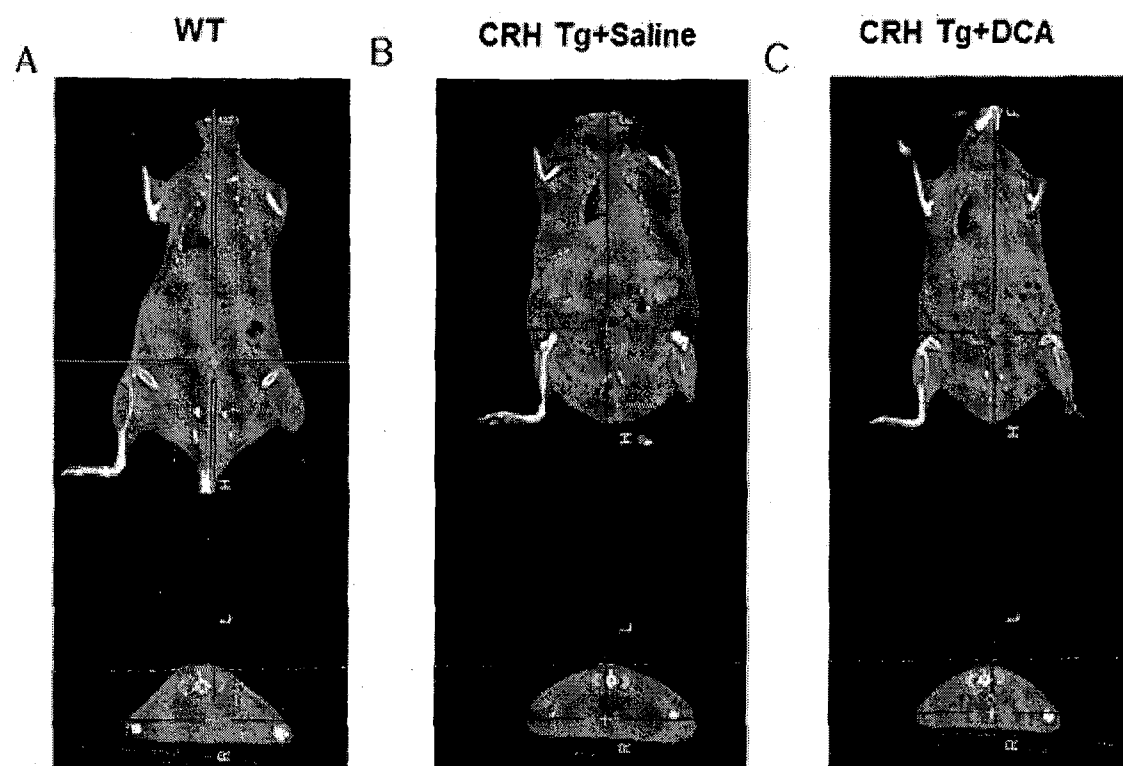
【도 1】



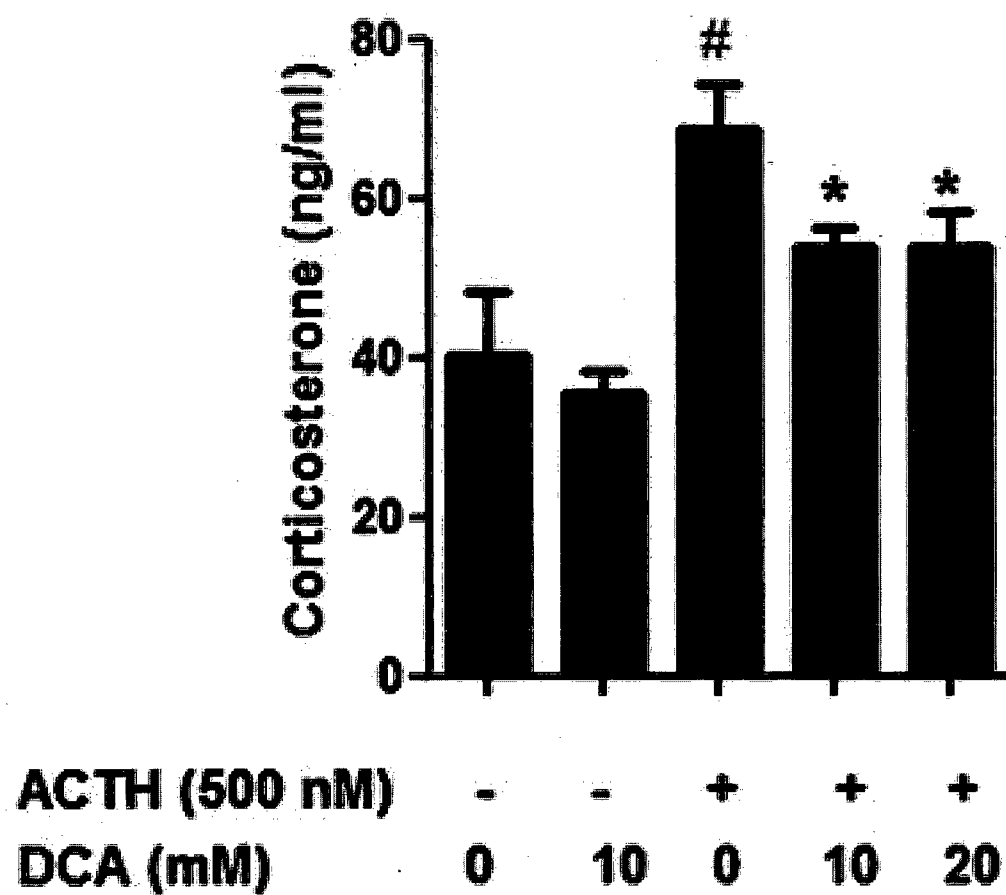
【도 2】



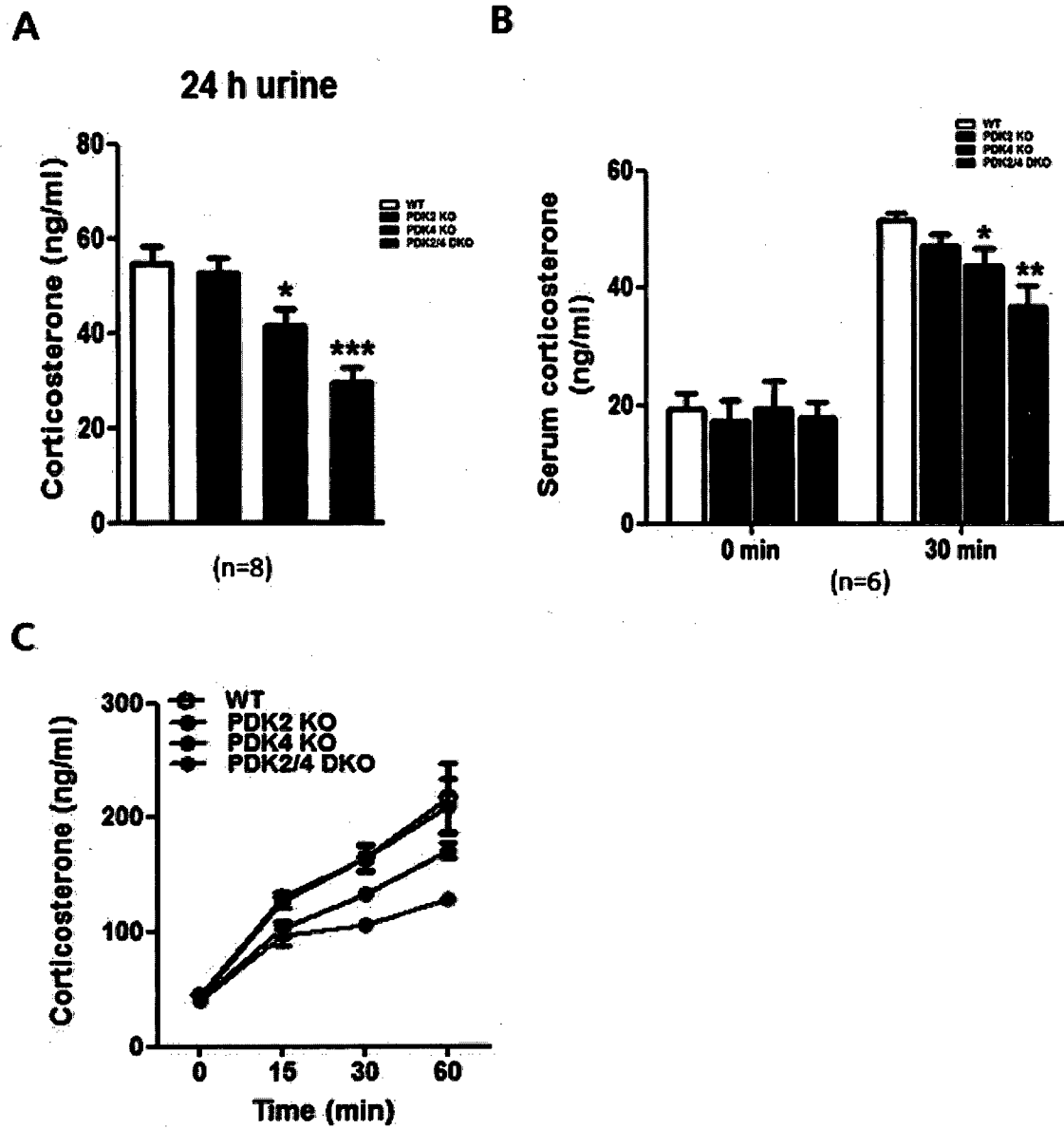
【도 3】



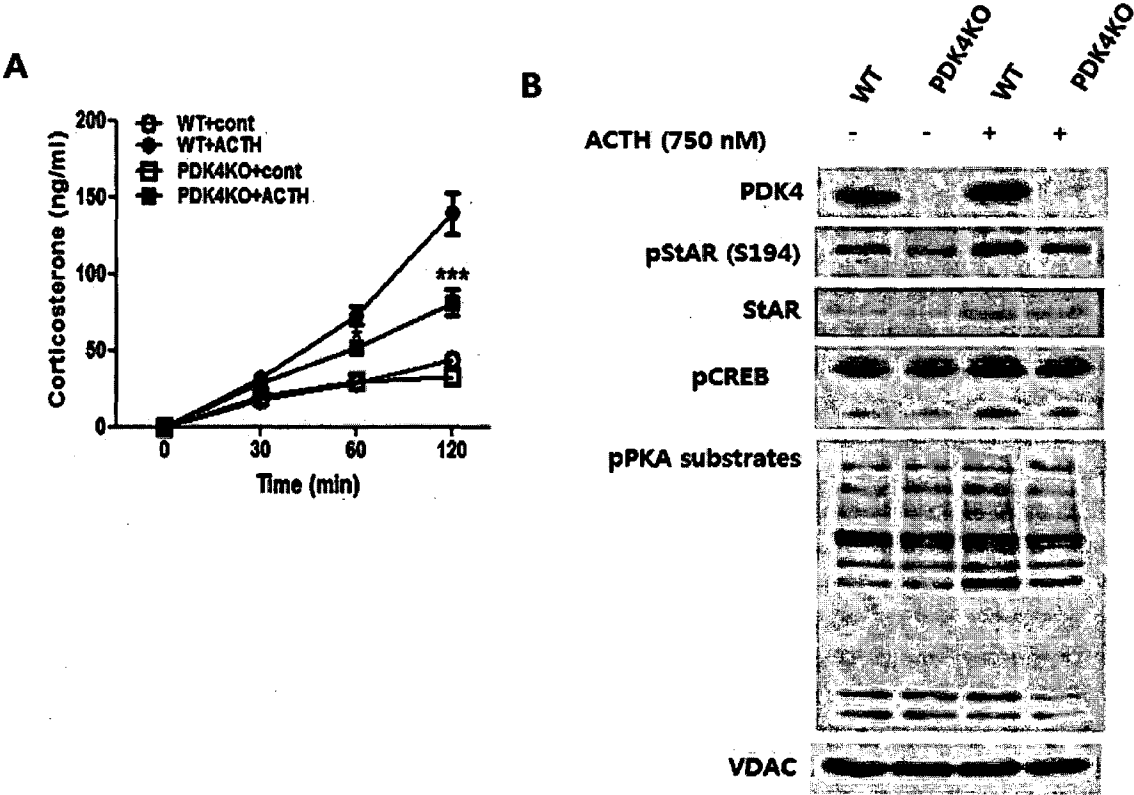
【도 4】



【도 5】



【도 6】



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2016/003833

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12Q 1/68(2006.01)i, G01N 33/68(2006.01)i, A61K 31/00(2006.01)i, A61K 31/7088(2006.01)i, A61K 36/00(2006.01)i, A61K 38/00(2006.01)i, A61K 39/395(2006.01)i, A61P 5/20(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12Q 1/68; A61K 39/395; A61P 27/02; A61K 45/00; A61K 31/075; A01K 67/027; A61K 48/00; G01N 33/68; A61K 31/00; A61K 31/7088; A61K 36/00; A61K 38/00; A61P 5/20

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: PDK4, activation, inhibitor, steroid hormone, over-release, screening, PDK2

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2013-006783 A (NAGASAKI UNIV.) 10 January 2013 See abstract; paragraph [0083]; claims 1-4.	1,4,5,7,10-13
A		2,3,6,8,9
A	HUANG et al., "Regulation of Pyruvate Dehydrogenase Kinase Expression by Peroxisome Proliferator-activated Receptor-alpha Ligands, Glucocorticoids, and Insulin", Diabetes, vol. 51, pages 276-283 (February 2002) See abstract; page 282, left column, paragraph [3].	1-13
A	KR 10-1040486 B1 (KYUNGPOOK NATIONAL UNIVERSITY INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION) 09 June 2011 See abstract; claims 2-6.	1-13
A	KR 10-2015-0143190 A (KYUNGPOOK NATIONAL UNIVERSITY INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION) 23 December 2015 See abstract; claims 1-6.	1-13
A	KR 10-2016-0032386 A (KYUNGPOOK NATIONAL UNIVERSITY INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION et al.) 24 March 2016 See abstract; claims 1-3.	1-13



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

05 JANUARY 2017 (05.01.2017)

Date of mailing of the international search report

05 JANUARY 2017 (05.01.2017)

Name and mailing address of the ISA/KR



Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2016/003833

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	BYUN et al., "Retinoic Acid-related Orphan Receptor Alpha Reprograms Glucose Metabolism in Glutamine-deficient Hepatoma Cells", Hepatology, vol. 61, no. 3, pages 953-964 (March 2015) See abstract.	1-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2016/003833

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
JP 2013-006783 A	10/01/2013	NONE	
KR 10-1040486 B1	09/06/2011	KR 10-2010-0024182 A	05/03/2010
KR 10-2015-0143190 A	23/12/2015	NONE	
KR 10-2016-0032386 A	24/03/2016	KR 10-2016-0107138 A	13/09/2016
		US 2016-0169909 A1	16/06/2016

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

C12Q 1/68(2006.01)i, G01N 33/68(2006.01)i, A61K 31/00(2006.01)i, A61K 31/7088(2006.01)i, A61K 36/00(2006.01)i, A61K 38/00(2006.01)i, A61K 39/395(2006.01)i, A61P 5/20(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

C12Q 1/68; A61K 39/395; A61P 27/02; A61K 45/00; A61K 31/075; A01K 67/027; A61K 48/00; G01N 33/68; A61K 31/00; A61K 31/7088; A61K 36/00; A61K 38/00; A61P 5/20

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: PDK4, 활성, 억제제, 스테로이드 호르몬, 과방출, 스크리닝, PDK2

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	JP 2013-006783 A (NAGASAKI UNIV) 2013.01.10 요약; 단락 [0083]; 청구항 1-4 참조.	1,4,5,7,10-13
A		2,3,6,8,9
A	HUANG 등, 'Regulation of pyruvate dehydrogenase kinase expression by peroxisome proliferator-activated receptor-alpha ligands, glucocorticoids, and insulin', Diabetes, 51권, 페이지 276-283 (2002.02) 초록; 페이지 282, 왼쪽 칼럼, 단락 3 참조.	1-13
A	KR 10-1040486 B1 (경북대학교 산학협력단) 2011.06.09 요약; 청구항 2-6 참조.	1-13
A	KR 10-2015-0143190 A (경북대학교 산학협력단) 2015.12.23 요약; 청구항 1-6 참조.	1-13
A	KR 10-2016-0032386 A (경북대학교 산학협력단 등) 2016.03.24 요약; 청구항 1-3 참조.	1-13

☒ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2017년 01월 05일 (05.01.2017)

국제조사보고서 발송일

2017년 01월 05일 (05.01.2017)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



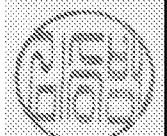
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

김승범

전화번호 +82-42-481-3371



C(계속). 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	BYUN 등, 'Retinoic acid-related orphan receptor alpha reprograms glucose metabolism in glutamine-deficient hepatoma cells' , Hepatology, 61권, 3호, 페이지 953-964 (2015.03) 초록 참조.	1-13

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
JP 2013-006783 A	2013/01/10	없음	
KR 10-1040486 B1	2011/06/09	KR 10-2010-0024182 A	2010/03/05
KR 10-2015-0143190 A	2015/12/23	없음	
KR 10-2016-0032386 A	2016/03/24	KR 10-2016-0107138 A	2016/09/13
		US 2016-0169909 A1	2016/06/16