(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년04월29일
(11) 등록번호 10-1390625
(24) 등록일자 2014년04월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/09 (2006.01) *G01N 33/53* (2006.01)
C12P 13/22 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2008-7023650
(22) 출원일자(국제) 2007년02월27일
심사청구일자 2012년02월10일
(85) 번역문제출일자 2008년09월26일
(65) 공개번호 10-2009-0008194
(43) 공개일자 2009년01월21일
(86) 국제출원번호 PCT/US2007/062871
(87) 국제공개번호 WO 2007/101191
국제공개일자 2007년09월07일
(30) 우선권주장
60/777,096 2006년02월27일 미국(US)
(뒷면에 계속)
(56) 선행기술조사문헌
Semin Oncol., vol.29, no.3(Suppl 11), pp.22-8(2002.06)

(73) 특허권자
타게티드 몰레큘라 다이아그노스틱스, 엘엘씨
미국 60559 일리노이주 웨스트몬트 오크몬트 래인 610
(72) 발명자
바커스, 사라, 에스
미국 60559 일리노이주 웨스트몬트 오크몬트 래인 610
(74) 대리인
양영준, 양영환

전체 청구항 수 : 총 17 항 심사관 : 문동현

(54) 발명의 명칭 **티로신 키나제 억제제로의 처리시 세포 지방의 감소 및 심장 독성의 예측을 위한 조성물 및 방법**

(57) 요 약

다양한 키나제 억제제, 예를 들어 티로신 키나제 억제제, 더욱 특히 헤르셉틴과 같은 erbB 억제제로 치료하기 위해 선택된 환자에서 장기 독성, 특히 심장독성이 발생할 지의 여부를 결정하기 위한 방법이 개시된다. 또한, 잠재적 약물이 심장독성 효과를 발생시킬 가능성이 있는지의 여부를 결정하기 위한 방법이 개시된다. 상기 방법은 지방산 산화 장애가 존재하는 지의 여부를 결정하기 위하여 지질 수준 또는 발현 지방산 산화 효소, pAMP 활성화된 단백질 키나제, 글루코스 업테이크를 분석하는 것을 포함한다. 지방산 산화 장애의 확인은, 독성, 특히 심장독성의 예측인자로서, 그리고 티로신 키나제 억제제와 같은 약물을 투여하는 경우 장기 기능이 주의 깊게 모니터링되어야 하는 지표로서 이용될 수 있다. 또한, 장기를 대사성 스트레스로부터 보호하는 방법 및 지질 함량을 감소시키기 위하여 지방세포와 같은 세포를 처리하는 방법이 개시된다.

(30) 우선권주장
60/821,230 2006년08월02일 미국(US)
60/827,372 2006년09월28일 미국(US)
60/828,345 2006년10월05일 미국(US)
60/867,736 2006년11월29일 미국(US)

특허청구의 범위

청구항 1

약물이 하나 이상의 심근세포에 독성인지 여부를 예측하는 시험관내(*in vitro*) 방법으로서,

a) 시험관내(*in vitro*) 하나 이상의 심근세포를 상기 약물로 처리하는 단계, 및

b) 지방산 산화 장애가 하나 이상의 처리된 심근세포에 존재하는지 여부를 확인하는 단계를 포함하며, 이에 의해 하나 이상의 처리된 심근세포에 지방산 산화 장애가 존재한다고 확인되는 경우 상기 약물이 하나 이상의 심근세포에 독성이라고 예측되는 것인 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 약물이 티로신 키나제 억제제인 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 티로신 키나제 억제제가 erbB 억제제인 방법.

청구항 4

제2항에 있어서, 티로신 키나제 억제제가 항체인 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 항체가 헤르셉틴(Herceptin)인 방법.

청구항 6

제2항에 있어서, 티로신 키나제 억제제가 소분자 억제제인 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 소분자 억제제가 GW572016 또는 GW2974인 방법.

청구항 8

제1항에 있어서, 지방산 산화 장애가, 지방산 산화 장애가 없는 정상 세포에서의 약물 처리시 글루코스 흡수와 비교하여, 상기 심근세포에서의 약물 처리시 글루코스 흡수의 양전자 방출 단층촬영에 의해 확인되는 것인 방법.

청구항 9

제1항에 있어서, 지방산 산화 장애가, 지방산 산화 장애가 없는 정상 세포에서의 약물 처리시 하나 이상의 지질의 감소와 비교하여, 상기 심근세포에서의 약물로의 처리시 하나 이상의 지질의 감소를 측정함으로써 확인되는 것인 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 지질이 트리글리세리드 및 콜레스테롤로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 11

제1항에 있어서, 지방산 산화 장애가, 지방산 산화 장애가 없는 정상 세포와 비교하여, 상기 심근세포 내의 지방산 산화 대사 경로 중의 하나 이상의 효소의 활성의 감소량을 측정함으로써 확인되는 것인 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 효소가 MCAD인 방법.

청구항 13

제1항에 있어서, 지방산 산화 장애가, 지방산 산화 장애가 없는 정상 세포와 비교하여, 상기 심근세포 내의 지방산 산화 대사 경로 중의 하나 이상의 효소를 코딩하는 mRNA의 감소량을 측정함으로써 확인되는 것인 방법.

청구항 14

제1항에 있어서, 지방산 산화 장애가, 지방산 산화 장애가 없는 정상 세포와 비교하여, 상기 심근세포 내의 지방산 산화 대사 경로 중의 하나 이상의 효소의 양을 측정함으로써 확인되는 것인 방법.

청구항 15

제1항에 있어서, 지방산 산화 장애가, 지방산 산화 장애가 없는 정상 세포의 약물로의 처리시와 비교하여, 약물로의 처리시 상기 심근세포에서의 ATP의 감소량을 측정함으로써 확인되는 것인 방법.

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

제1항에 있어서, 지방산 산화 장애가 아실-CoA 데히드로게나제 결핍증; 2-에노일-CoA 히드라타제 결핍증; L-3-히드록시아실-CoA 데히드로게나제 결핍증; 중쇄 (MCKAT) 3-케토아실-CoA 티올라제 결핍증; α-메틸아실-CoA 라세마제 (AMACR) 결핍증; 카르니틴-아실카르니틴 전위효소 결핍증; 2,4-디에노일-CoA 환원효소 결핍증; 전자 이송 플라보단백질 (ETF) 결핍증; 삼중관능성 단백질 결핍증: 서브유닛 A 및 B; 티로신혈증; 1° 카르니틴 대사 장애; 지질 장애 및 퍼옥시좀 장애로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

제9항에 있어서, 처리된 심근세포가 약물로의 처리에 반응하여 지방산을 산화시킨다고 확인되는 경우 독성이 없을 것으로 예측되거나, 처리된 심근세포가 약물로의 처리에 반응하여 지방산을 산화시키지 않는다고 확인되는 경우 독성이 있다고 예측되는 것인 방법.

명 세 서

배 경 기 술

[0001] 심장은 ATP 발생을 위한 대단한 능력을 가지며, 이는 심장이 유기체의 삶 전반에 걸쳐 효율적인 펌프로서 기능하게 한다. 성인의 심근은 주요 에너지 공급원으로서 지방산 (FA) 및/또는 글루코스 산화를 이용한다. 정상 상태에서, 성인의 심장은 미토콘드리아에서의 지방산 산화를 통해 그의 에너지의 대부분을 끌어낸다.

[0002] 심근 세포는 ATP 생산이 다양한 생리학적 및 식이 조건하에서 일정한 속도로 유지되도록, 탄수화물 해당과정과 크렙스(Krebs) 주기 사이를 지방 연료 공급원으로 전환시키는 능력을 갖는다. 상기 대사 및 연료 선택 융통성은 정상적인 심장 기능에 중요하다. 심장 에너지 전환 능력 및 대사적 흐름이 다수의 단계에서 조절됨에도 불구하고, 하나의 중요한 조절 메카니즘은 유전자 발현 단계에서 발생한다. 다중 에너지 변환 경로에 연관된 유전자의 발현은 발생학적, 생리학적 및 병리생리학적 신호에 반응하여 동적으로 조절된다.

[0003] 상기 중요 에너지 대사 경로에 연관된 유전자는 핵 수용체 거대족의 구성원, 구체적으로는 지방산-활성화 퍼옥시좀 증식제-활성화 수용체 (PPAR) 및 핵 수용체 공활성화제(coactivator), PPARγ 공활성화제-1α (PGC-1α) 뿐만 아니라 에스트로겐 수용체 관련 단백질 ERRα, ERRβ 및 ERRγ 및 그의 활성화제 PGR-1 및 PERC에 의해 전사단계에서 조절된다. 생리학적 및 병리생리학적 상태에 따른 심장 PPAR/PGC-1 복합체의 동적 조절을 하기 더욱 상세하게 기재한다.

[0004] PGC-1α는 갈색 지방에서의 적응성 열발생과 관련된 PPARγ 공활성화제이다. 2개의 구조적으로 관련된 단백질, PGC-1β 및 PARC가 클로닝되었고, 이들은 에너지 대사 경로를 조절하는 데에 관련된 것으로 여겨진다. PGC-1α 발현의 조직-특이적 및 유도적 특성은 그것이 미토콘드리아 생물발생 및 산화, 간 글루코스신합성, 및 골격근 글루코스 업테이크를 비롯하여 대사 과정을 이끄는 세포 에너지의 동적 조절에 관련되어 있음을 시사한다. PGC-1α는 심장, 골격근, 갈색 지방, 및 간과 같은 고도로 산화성인 조직에서 선택적으로 발현된다. 심장에서, PGC-1α 발현은 출생시 급격히 증가한다. 이는 글루코스 대사에서 지방 산화로의 출생전후기(perinatal) 이동과 일치한다. 또한, PGC-1α 활성 및 발현 수준은 찬 곳에의 노출, 단식 및 운동에 의해 유도된다고 알려져 있고, 자극이 산화적 대사를 촉진한다고 알려져 있다. 배양시 심장 근세포에서의 PGC-1의 발현 강화는 다중 미토콘드리아 에너지-변환/에너지-생산 경로에 연관된 핵 및 미토콘드리아 유전자의 발현을 유도하고, 세포 미토콘드리아 수를 증가시키며, 이와 연결된 호흡을 자극한다. p38 MAP 키나제, β-아드레날린성/cAMP, 산화질소, AMP 키나제, 및 Ca^{2}-칼모듈린 키나제를 비롯하여 상기 자극과 관련된 신호전달 경로는 PGC-1α 발현 또는 그의 전이활성 기능을 증가시킴으로써 PGC-1α 및 그의 하류 표적 유전자를 활성화시킨다.

[0005] 상기 대사적 및 구조적 변화는 심장에서 확장형 심근병증 및 확장기 기능장애를 유발할 수 있다. 흥미롭게도, 미토콘드리아 증식은 가역적이며, 심근병증은 트랜스진 발현 감소시 나아질 수 있다. 이는 PGC-1α가 PPAR을 통한 세포 지방산 대사의 활성화제로서 기능하는 것 외에도, 미토콘드리아 생물발생에 연관되어 있음을 시사한다. 그러므로, PGC-1α는 산화적 에너지 대사의 주요한 조절자로서 작용하며 세포 에너지 상태에서의 변화에 반응하는 것으로 여겨진다.

[0006] 고아(orphan) 핵 수용체의 에스트로겐-관련 수용체 (ERR) 족이 심장 및 골격근 에너지 대사의 PGC-1-활성화된 조절제로서 기능한다는 증거가 드러나고 있다. ERR 족의 세 구성원, 즉 ERRα, ERRβ, 및 ERRγ가 존재한다. ERRα 및 ERRγ 발현은 ATP 생산을 위해 미토콘드리아 산화적 대사에 주로 의존하는 성인 조직, 예를 들어 심장 및 느린 연축 골격근에서 상승된다. ERRα 발현은 세포 지방산 업테이크 및 미토콘드리아 산화에 연관된 효소의 전체적인 상향조절과 함께, 출생 후 심장에서 극적으로 증가한다. 최근, ERRα 및 ERRγ는 공활성화제의

PGC-1 족에 대한 신규 파트너로서 확인되었다. ERR 이소형과 PGC-1α 사이의 이러한 기능적 관계는 에너지 대사에서의 ERR의 역할에 대한 관심을 자극하였다.

[0007] ERRα 유전자의 결실은 지질 대사의 구조적 조절에 있어 ERRα에 대한 조직-특이적 역할을 드러낸다. 백색 지방 덩어리가 ERRα-/- 마우스에서 감소되며, 이는 지방세포 크기 및 지질 합성률의 감소에 해당한다. 반대로, ERRα는 심장에서의 지질 이화작용에서 역할을 할 가능성이 있으며, 이는 PGC-1α와의 기능적 상호작용에 해당한다. 외적인 심장 표현형을 나타내지 않는 ERRα-/- 마우스는 심장 PGC-1α 및 ERRγ 발현에서 보상적인 증가를 나타낸다. 이러한 결과는 ERR 이소형이 심장에서 지방산 대사 유전자의 구조적 발현에 기여함을 시사한다. 그러나, 유전자 발현에서의 변화에 따른 대사적 효과는 미지로 남아있다.

[0008] ERRα를 과발현하는 심장 근세포에서의 유전자 발현 프로파일링은 심장 ERRα 표적 유전자를 확인하기 위해 사용되고 있다. ERRα는 세포 지방산 업테이크 (LPL, CD36/FAT, H-FABP, FACS-1), β-산화 (MCAD, VLCAD, LCHAD), 및 미토콘드리아 전자 수송/산화적 인산화 (사이토크롬 c, COXIV, COXVIII, NADH 유비퀴논 데히드로게나제, 플라보단백질-유비퀴논 옥시도리덕타제, ATP 신타제 β)를 비롯하여 에너지 생산 경로에 연관된 유전자를 활성화시킨다. ERRα는 또한 심장 근세포에서 팔미테이트 산화율을 증가시킨다. ERRα에 의한 β-산화 효소 유전자의 활성화는 PPARα 신호전달 경로와 연관되어 있다. ERRα는 PPARα 유전자 발현을 직접적으로 활성화시키며, MCAD 및 M-CPT I의 ERRα-매개 조절은 PPARα-/- 마우스로부터 유도된 세포에서는 소멸된다. 또한, ERRα는 현재 미토콘드리아 생물발생의 PGC-1α 조절에 연관되어 있다고도 알려져 있다. NRF-2 복합체의 서브유닛을 코딩하고 전사 단계에서 미토콘드리아의 산화적 대사에 연관된 유전자를 직접적으로 활성화시키는 *Gapba* 유전자의 조절을 통해 NRF 경로의 PGC-1α 활성화를 매개하는 것이 알려져 있다. ERRα 및 그의 공활성화제 PGC-1α는 MCAD, 사이토크롬 c, 및 ATP 신타제 β 유전자 촉진자를 활성화시킨다. 집합적으로, 이들 결과는 PGC-1 조절 회로에서의 관련성을 통해 심장의 산화적 에너지 대사의 조절제로서의 ERRα를 확인시킨다. 그러나, 심장에서의 ERR의 정확한 생물학적 역할은 확인되지 않았다.

[0009] 핵 수용체 ERRγ (에스트로겐 관련 수용체 감마)는 심장, 골격근, 신장 및 뇌 뿐만 아니라 발생중인 신경계에서 고도로 발현된다. 포유동물 세포에서 공활성화제 PGC-1α 및 PGC-1β의 발현은 ERRγ에 의한 전사적 활성화를 강력히 증가시켰다. 고아 수용체의 구조적 활성화 기능 2 (AF-2)은 상기 상승적 증가에 중요하다. 기능적 수용체 절단 분석은 ERRγ2 이소형 및 PGC-1α에 대해 특이적인 추가의 아미노-말단 활성화 기능을 확인하기 위해 사용되어 왔다. 시험관내 실험은 ERRγ와 상기 두 공활성화제와의 직접적인 상호작용을 나타내었다. 상기 발견은 ERRγ를 위한 조직-특이적 공활성화제로서의 PGC-1α 및 PGC-1β의 명백한 조절 기능에 대한 가설과 합치된다. 그럼에도 불구하고, 상기 기능을 추가로 정의하기 위해서는 더 많은 연구들이 요구된다.

[0010] 트랜스제닉 마우스에서 PGC-1의 심장-특이적 과발현은 심장 근세포에서 제어되지 않은 미토콘드리아 증식을 야기하여, 근섬유분절 구조의 손실 및 확장형 심근병증을 초래한다. 따라서, PGC-1은 에너지 수요에 반응하는 심장 미토콘드리아 수 및 기능의 제어에 중요한 조절 분자이다.

[0011] 이들 조절 경로의 전부는 아니더라도 대부분은 신호전달 경로에서의 중간체의 인산화에 관련된다. 예컨대 다양한 키나제 억제제의 작용에 의한 인산화의 억제는 신호전달 경로에 영향을 주어, 지방산 대사에서의 변화를 발생시켜 심장독성을 비롯한 장기 독성을 야기할 수 있다. 많은 신규 항암 약물들은 키나제 억제제이며, 이들은 독성을 수반한다. 따라서, 약물이 독성 효과를 수반할 수 있는지의 여부 및 독성 효과가 환자에서 발생할 가능성이 있는 지의 여부를 확인하기 위한 방법이 요구된다. 또한, 인산화된 수용체 표적에 대한 효능을 유지하면서 상기 억제제의 독성 효과를 피하기 위한 방법이 요구된다.

[0012] **<u>발명의 요약</u>**

[0013] 다양한 약물, 예컨대 티로신 키나제 억제제 또는 erbB 억제제에 의한 치료를 위해 선택된 환자에게서 독성, 특히 심장독성이 일어날 가능성이 있는 지의 여부를 진단하기 위한 방법을 개시한다. 또한, 후보 약물이 독성 또는 심장독성 효과를 가질 가능성이 있는 지의 여부를 평가하기 위한 방법을 개시한다. 한 방법에서는, 지방산 산화 장애가 있는 지의 여부를 결정하기 위해 트리글리세리드 및 콜레스테롤과 같은 지질을 분석할 수 있다. 또다른 방법에서는, 관찰된 지방산 산화를 초래하는 효소, 예컨대 MCAD를 결정할 수 있다. 지질 수준에 있어서, 정상 세포에서의 AMP-활성화된 단백질 키나제 활성화는 지질 수준의 특징적인 감소 및 이에 상응하여 해당과정의 보다 짧은 탄소쇄 중간체, 예를 들면 C_2 내지 C_6 탄소 중간체의 증가를 야기할 수 있을 것으로 여겨진다. 본 개시의 목적인 지방산 산화 장애에 대해, 정상 세포에서 특징적인 지질 감소로부터의 임의의 통계적으로 유의한 편차를 고려할 수 있다. 유사하게, 본 개시의 목적인 지방산 산화 장애에 대해, 이들 대사 경로에 관여하는 효소에 대하여 웨스턴, 노던, PCR 또는 그 밖의 기술로 측정했을 때의 이들 효소의 활성화 또는 수준

의 양에 있어서의 정상 세포에 비한 임의의 통계적으로 유의한 변화를 고려할 수 있다. 지방산 산화 장애의 진단은 약물 사용에 대한 독성의 증가된 위험을 예측하는데 사용할 수 있고, 반대-지표로서 사용할 수 있을 것이다. 이와 달리, 약물이 지방산 산화 장애를 가진 환자에게 사용된 경우, 상기 환자에게서 심장 기능을 면밀히 주시할 필요를 나타내기 위해 상기 방법들을 사용할 수 있다. 이와 달리, 공지된 방법, 예컨대 양전자 방출 단층촬영으로 글루코스 업테이크를 측정할 수 있다. 티로신 키나제 억제제 약물을 투여했을때 글루코스 업테이크가 감소되지 않거나, 또는 정상 비암성(noncancerous) 세포에서와 같은 정도로 감소되지 않는 경우, 약물 치료는 비암성 세포에 대해 독성일 가능성이 있다. 이와 달리, 티로신 키나제 억제제에 노출시켰을때 ATP 수준이 정상 비암성 세포에 비해 더 많이 감소되면, 티로신 키나제 억제제는 독성이 있는 것으로 예측된다.

[0014] 약물, 예컨대 티로신 키나제 억제제, 특히 erbB 억제제에 의한 치료를 위해 선택된 환자에 있어서의 심장독성 여부를 예측하기 위한 또다른 방법은 환자의 종양 또는 혈액 또는 둘 다에서 TNFα 수준을 평가하는 것이다. TNFα의 수준은 약물, 특히 헤르셉틴 요법으로 인해 환자에게서 심장독성과 관련한 부작용이 있을 가능성이 있는 지의 여부를 예측하는데 사용할 수 있다.

[0015] 또한, 미용상의 이유 또는 체중 감량을 위해 AMP 활성화된 단백질 키나제 (AMPK), 예컨대 특정 티로신 키나제 억제제를 활성화하여 환자에게서 지질 및 지방을 감소시키는 약물을 투여하기 위한 방법을 개시한다. 그러한 방법은 AMP 활성화된 단백질 키나제의 활성화제가 세포 대사를 변화시켜 지질이 보다 작은 탄소 중간체로 산화되도록 한다는 놀라운 발견에 기초한 것이다. 대사의 변화는 처리한 세포의 지질 함량에 있어서 놀라운 감소를 유발한다. AMP 활성화된 단백질 키나제를 활성화하는데 충분한 양의 AMP 활성화된 단백질 키나제 활성화제를 투여함으로써, 세포의 지질 함량 비율을 약화시킬 수 있다. 상기 화합물을 세포에 투여하기 위한 많은 방법들이 공지되어 있고, 사용할 수 있다. 국소 또는 전신 투여를 사용할 수 있다. 국소 투여는 주사, 피부 패치 또는 고약 또는 로션에 의할 수 있다.

[0016] 또한, 환자에게 AMP 활성화된 단백질 키나제 활성화제를 투여하기 위한 방법, 또는 그것을 장기와 함께 인큐베이션하기 위해, 외상, 예컨대 허혈, 사이토킨 방출, 글루코스 부족, 및 이러한 상태가 진단된 세포 및 장기에서 대사성 스트레스를 유발하는 유사한 사건들에 의해 일반적으로 야기될 수 있는 급성 곤란 상태(distress)로부터 장기, 예컨대 심장 근육 및/또는 뇌 세포를 보호하는데 충분한 양으로 매질 중에 포함시키기 위한 방법을 개시한다. 2중 키나제 억제제, 특히 AMP 활성화된 단백질 키나제 활성을 증가시키는 티로신 키나제 억제제를 또한 사용할 수 있다. 바람직하게는, 그러한 키나제 억제제는 본 상세한 설명에서 추가로 기재하는 바와 같이 그들의 표적에 특이적일 것이다. 많은 투여 방법이 공지되어 있고, 사용할 수 있다. 예를 들면, 장기에의 살포를 위해 약물을 용액 중에 포함시킬 수 있거나, 전신 투여할 수 있다.

[0017] 또한, 이식을 위해 장기를 보존하기 위한 방법을 개시한다. 그러한 방법에는 AMPK 활성화제를 포함하는 보존액을 제조하고, 장기와 상기 보존액을 접촉시키는 것이 포함된다. 상기 보존액은 AMPK 활성화제가 장기에 대해 개선된 보호를 제공하는데 충분한 양으로 첨가된, 임의의 공지된 보존액일 수 있다.

[0018] 부가적인 특징 및 이점들을 본원에서 기재하고, 이는 하기의 상세한 설명 및 도면으로부터 분명해질 것이다.

발명의 상세한 설명

[0030] 일 측면에서, 본 개시는 약물, 예컨대 헤르셉틴 및 라파티니브 (티커브, Tykerb)와 같은 티로신 키나제 억제제가 지질 대사 경로에 관련된 유전자의 발현에 영향을 미치고, 세포 내부 지질의 양에 극적인 영향을 미친다는 발견에 기초한다. 다른 정상 세포 또는 정상 단백질 티로신 키나제 조절을 갖는 세포를 본 발명의 키나제 억제제로 처리하는 것은 상기 세포가 지방산을 산화시키는 능력을 증가 또는 감소시킴으로써 지방산 대사에 영향을 미친다. 배양 중에 성장한 정상 지방 세포를 GW2974, GW572016와 같은 키나제 억제제에 노출시키면, 상기 세포 내부에 저장된 지질이 급속히 소실된다. 이는 또한 심장 세포에서도 관찰되어 왔다. 그러한 연구는 지질에 대한 오일 레드 O 염색을 이용하여 수행할 수 있다. 즉, 라파티니브 (티커브) 및 기타 Her1/Her2 티로신 키나제 억제제에 의한 처리는 상기 세포로부터 지방 손실을 유발하며, 이는 지질 합성 속도 감소 및/또는 지질 산화 속도 증가와 합치된다. 헤르셉틴과 같은 다른 약물에 의해 NDF 지질 함량이 증가되는 것으로 나타난다.

[0031] 많은 키나제 억제제가 화학요법제로서 유용한 것으로 또한 공지되어 있다. 일부 환자에게서, 이들 약물은 심장독성을 야기한다. 본 개시는 심장독성이 지방산 대사의 결함과 관련이 있을 수 있다는 놀라운 발견에 기초한 것이다. 즉, 지방산 대사에 특정 기능장애가 있거나 혈중 TNFα 수준이 높은 환자, 및 키나제 억제제로 치료를 받고 있는 환자는 erbB 티로신 키나제 억제제와 같은 키나제 억제제에 의한 치료시에 심근증와 같은 심장 기능 부전을 겪을 가능성이 더 많다. 또한, 종양 조직 또는 혈청 내 TNFα, 또는 그의 하류 생존 인자 NF-κB 수준

이 높은 환자가 일반적으로 헤르셉틴에 대해 더 나은 반응성을 가짐이 발견되었다. 이러한 발견은 키나제 억제제 단독, 또는 특정 세포성 단백질의 인산화 상태에 영향을 미치는 다른 활성제와의 조합을 비롯한 약물 치료시에 환자가 심장독성을 겪을 것인지의 여부를 예측하는 신규한 방법의 개발을 이끈다.

[0032] 트리글리세리드 및 콜레스테롤을 비롯한 환자의 지질 및/또는 지질 대사 효소, 예컨대 그 중에서도 MCAD를 분석하기 위한 방법을 개시한다. 이러한 분석으로부터의 결과는 키나제 억제제 치료로부터 심장독성이 언제 야기될 수 있는지를 예측하고, 약물, 예컨대 헤르셉틴, GW572016 또는 그 밖의 erbB 억제제를 비롯한 키나제 억제제로 치료를 받고 있는 환자에게서 심장 기능을 면밀히 모니터링해야 하는 초기 지표를 제공하는데 사용할 수 있다.

[0033] 다른 조직에서 아세틸-CoA 카르복실라제를 인산화 및 불활성화하는 것으로 보이는 5'-AMP-활성화된 단백질 키나제의 활성은 허혈의 말미에 현저하게 증가되는 것이 관찰되었고, 재관류 동안 상승된 상태로 있다. 허혈 동안의 5'-AMP의 축적은 AMP-활성화된 단백질 키나제의 활성화를 야기하고, 이것은 재관류 동안 아세틸-CoA 카르복실라제를 인산화 및 불활성화한다. 이어지는 말로닐-CoA 수준의 감소는 허혈성 심장의 재관류 동안 지방산 산화 속도를 가속화시킬 수 있다.

[0034] 심장독성과 관련하여 다양한 지방산 산화 장애가 공지되어 있고, 아래 표 1에 열거한다. 그러한 장애가 환자에게서 검출되면, 키나제 억제제가 심장에 독성일 수 있다는 지표를 제공할 수 있다.

표 1

[0035]

아실-CoA 데히드로게나제 결핍증
아실-CoA 데히드로게나제, 단쇄 (SCAD)
아실-CoA 데히드로게나제, 중쇄 (MCAD)
아실-CoA 데히드로게나제, 장쇄 (LCAD)
아실-CoA 데히드로게나제, 초장쇄 (VLCAD)
2-에노일-CoA 히드라타제 결핍증
L-3-히드록시아실-CoA 데히드로게나제 결핍증
L-3-히드록시아실-CoA 데히드로게나제, 단쇄 (SCHAD)
삼중관능성 단백질: 장쇄 FA (LCHAD)
알파 서브유닛 (HADHA)
베타 서브유닛 (HADHB)
3-케토아실-CoA 티올라제 결핍증
3-케토아실-CoA 티올라제, 중쇄 (MCKAT)
삼중관능성 단백질
α-메틸아실-CoA 라세마제 (AMACR) 결핍증
카르니틴-아실카르니틴 전위효소 결핍증: 3p21
2,4-디에노일-CoA 환원효소 결핍증: 8q21
전자 이송 플라보단백질 (ETF) 결핍증: 15q23
어린선양 홍피증 (NCIE2): CGI58 유전자; 3p21
삼중관능성 단백질 결핍증: 서브유닛 A & B
티로신혈증
1° 카르니틴 대사 장애
지방산 & 카르니틴 수송 경로
지방산 산화 경로
지질 장애
미토콘드리아: 생화학적 이상
퍼옥시좀 장애

[0036] 상기 장애는 임의의 적합한 방법으로 검출할 수 있다. 예를 들면, 특정 장애에서, 지방산이 개인에게 공급되고, 그의 대사가 후속될 수 있다. 이와 달리, 예를 들면 웨스턴 블롯으로 효소 수준을 결정할 수 있거나, 또는 특정 유전자 산물에 대한 mRNA 수준을 분석할 수 있다. 임의의 검출가능한 감소는 지방산 산화 장애가 존재하며, 티로신 키나제 억제제에 의한 치료가 정상 세포 및 장기에 독성일 수 있다는 지표를 제공한다.

[0037] 한 방법에서, 키나제 억제제에 의한 치료 후보자인 환자가 심근세포 독성을 겪을 가능성이 있는 지의 여부를 결정하기 위해 이들 질환에 대해 환자를 선별할 수 있다. 예를 들면, 후보 약물의 투여가 생물학적 거대분자의 수준에 어떠한 영향을 미치는 지를 결정하기 위해, 배양 중에 성장한 심근세포에서 생물학적 거대분자를 측정할 수 있다. 한 방법에서, 인간 심근세포를 배양 중에 성장시킬 수 있고, 후보 약물의 존재하에서 인산화된 AMP-활성화된 단백질 키나제의 수준을 모니터링할 수 있다. 이것은 인산화된 AMP 활성화된 키나제를 검출하는 웨스턴 블롯으로 결정할 수 있다.

[0038] 본 발명을 제한함이 없이, 저산소증, 허혈, 글루코스 부족 및 단식과 같은 스트레스 조건 하에서 세포내 AMP:ATP 비율의 증가는 AMP-활성화된 단백질 키나제 (AMPK), 세포 에너지 균형을 유지하도록 설계된 반응을 알로스테릭하게 활성화시키는 것으로 여겨진다. AMP-활성화된 단백질 키나제가 아세틸-CoA 카르복실라제(ACC) 및 3-히드록시-3-메틸글루타릴-CoA 환원효소(HMG-CoA 환원효소, HMGR)의 생성을 억제하는 것이 초기에 발견되었다. AMPK의 활성화는 세포를 활성 ATP 소비 (예를 들면, 지방산, 콜레스테롤 및 단백질 생합성)에서 ATP 생산 (예를 들면, 지방산 및 글루코스 산화)으로 전환시키는 일련의 하류 인산화 사건을 개시하는 것으로 생각된다. 스트레스로 유발되는 AMPK의 활성화는 칼모듈린-의존성 키나제 키나제 β(CAMKKβ), 칼슘-활성 단백질 키나제, 및 포이츠-예거(Peutz-Jegher) 증후군 종양 억제 유전자에 의해 코딩된 세린/트레오닌 키나제인 LKB1을 비롯한 하나 이상의 상부 AMPK 키나제 (AMPKK)에 의한 α 서브유닛의 트레오닌 172에서의 후속 인산화를 일으키는 것으로 생각된다. 골격근 및 심장에서의 AMPK의 활성화는 아세틸-CoA 카르복실라제(ACC)를 인산화 및 억제하는 것으로 여겨지고, 이는 차례로 그 자체가 카르니틴 팔미토일트랜스퍼라제 1(CPT 1)의 억제제인 말로닐-CoA의 수준을 감소시키는 것으로 생각된다. CPT 1의 탈-억제는 지방산의 β-산화의 동시적인 증가를 유발하는 것으로 생각되며, 그것은 미토콘드리아의 ATP 생산을 증가시키는 것으로 생각된다. 스트레스로 유발되는 AMPK의 활성화는 또한 mTOR을 억제하고, 심장 보호와 관련이 있는 것으로 알려진 번역 신장 인자인 eEF2를 직접 조절함으로써 단백질 합성을 억제하는 것으로 생각된다. 중요하게는, 미토콘드리아의 기능 변화가 이마티니브에 의한 심근세포 사멸을 야기하는 것으로 생각된다. 게다가, AMPK-매개 TSC2 인산화를 통한 캡-의존성 번역의 억제가 ATP 고갈에 따른 세포 생존을 위해 매우 중요하다고 생각된다. AMPK 활성화에 따른 ATP의 소비보다는 그것의 증가된 생합성이 허혈성 손상에 대해 심근세포를 또한 보호할 수 있다.

[0039] AMPK 및 그의 하류 기질을 활성화할 수 있는, 라파티니브와 유사한 활성 추이를 갖는 강력한 소분자 HER2/EGFR 티로신 키나제 억제제인 GW2974와 같은 분자가 지방산 산화를 자극하고, 차례로 HER2를 발현하는 인간 심근세포에서 ATP 생산을 증가시켜, 심부전에서 검출되는 공지된 사이토킨인 TNFα에 의해 유도되는 아폽토시스로부터 보호한다는 것이 발견되었다. 반대로, AMPK를 활성화하지 않는 트라스투주맙과 같은 분자는 TNFα에 반응하여 심근세포의 사멸을 증가시킨다. AMPK에 대한 특이적 HER2-표적화 요법의 효과 및 그 결과로서의 에너지 생산은 심근증 관련 위험을 예측할 수 있고, 급성 허혈성 손상에 따른 TNFα의 사멸 효과 또는 기타 아폽토시스-전 자극으로부터 심근층을 보호하기 위한 신규한 HER2-지향 치료 전략을 제공할 수 있다.

[0040] 또한, 티로신 키나제 억제제는 세포, 특히 달리 정상이거나 단백질 티로신 키나제 활성 매개 질환이 없는 세포내의 지방을 감소시키는데 사용할 수 있다. 따라서, 세포 내의 지질의 양을 감소시키기 위해 포유동물 또는 조직의 적어도 일부를 키나제 억제제로 치료할 수 있다. 임의의 적합한 키나제 억제제를 사용할 수 있다. 적합한 억제제를 결정하는 방법은 널리 공지되어 있다. 예를 들면, 키나제 억제제가 저장된 지방을 감소시키는 지의 여부를 결정하기 위한 공지된 방법으로 지방 세포의 시료를 키나제 억제제의 존재하 및 부재하에서 성장시키고, 오일 레드 O으로 염색할 수 있다. 지방 저장에서 관찰가능한 감소를 유발하는 키나제 억제제가 본 발명에 적합하다. 본 발명에 적합한 예시적인 키나제 억제제에는 특히 GW2974, GW572016 등을 비롯한 erbB 억제제가 포함된다. 아래의 표 2는 GS2974에 의한 처리에 의해 수득된 지질 함량의 감소를 보여준다. Au565 세포를 당업계 공지의 정상 조건 하에서 성장시키고, 2일 동안 GW2974 (25μM)로 처리한다. 세포를 회수하고, 세척하고, 수중에서 초음파 처리한다 (물 200 ㎕ 중의 2,000,000 세포). 세포를 스핀-다운시키고, 세포내 대사에 대해 MS/MS로 아실카르니틴 (미토콘드리아 지방산 산화의 부산물)에 대해 시험하였다.

표 2

[0041]

아실카르니틴 (단백질 피코몰)			
	C18:1	C16	C2
대조군 (세포 펠렛)	8.56	4.09	148.54
GW2974 (세포 펠렛)	4.1	0.83	258.88

[0042] 한 방법에서, 지질 저장을 감소시키기 위해 세포를 적합한 키나제 억제제로 처리할 수 있다. 상기 방법은 세포가 그 자신으로부터 저장된 지질을 소정량, 바람직하게는 대부분, 또는 보다 바람직하게는 사실상 모든 잔여물까지 제거하도록, 세포를 충분한 양의 적합한 티로신 키나제 억제제와 접촉시키는 단계를 포함할 수 있다. 상기 세포는 시험관내 세포 배양액 중에 있을 수 있거나, 또는 개별적으로 위치할 수 있다. 상기 방법은 질환이 없거나, 단백질 티로신 키나제 활성 관련 질환이 없는 세포에 사용하는 경우에 특히 효과적이다.

[0043] 또한, 지방산 산화 효과를 방해하고 심장 근육 및/또는 뇌 세포를 보호하기 위해, 심장 재관류 또는 심장 마비 중에 있는 환자에게 키나제 억제제, 예컨대 티로신 키나제 억제제 또는 2중 티로신 키나제 억제제를 투여하기 위한 방법을 개시한다. 이러한 치료는 심장 세포, 뇌 세포, 및 다른 조직 및 장기의 세포를 허혈, 사이토킨 방출, 글루코스 부족, 또는 세포에서 대사성 스트레스를 유발시키는 질병에 의해 유발되는 급성 곤란 상태로부터 보호하는데 사용할 수 있다.

[0044] 바람직하게는 키나제 억제제는 대사 활성에 변화를 유발시키는데 있어서 특이적이고, 관계 없는 표적에는 영향을 미치지 않는다. 다양한 키나제 억제제의 특이성은 Fabian 등의 문헌 [A small molecule-kinase interaction map for clinical kinase inhibitors, Nature Biotechnology 23, p.329]에 기재된 방법으로 결정할 수 있고, 이것은 참고문헌으로 도입된다. 대사 활성에 있어서의 변화는 AMP 활성화된 단백질 키나제 활성에 있어서의 증가를 통해 유발되는 것으로 여겨진다.

[0045] 활성제는 경구적으로, 주사에 의해 국소적으로, 또는 피부 패치, 고약 또는 로션을 통해 개별적으로 투여할 수 있거나, 또는 그것이 그의 지질 감소 효과를 발휘하는데 충분한 양으로 의도하는 표적 세포에 이르도록 비경구적으로 투여할 수 있다. 예를 들면, 지질 함량을 감소시키기 위해 지질을 저장하는 지방 조직과 같은 조직에 AMP 활성화된 단백질 키나제 활성화제를 국소적으로 투여하는 것이 바람직하다. 그것은 대사성 스트레스, 심장 마비, 허혈 등의 치료가 필요한 환자의 전신에 투여할 수 있다.

[0046] AMP 활성화된 단백질 키나제 활성화제를 염 또는 용매화물로서, 또는 유리 화학물질로서 투여할 수 있지만, 제약상 제형 형태의 억제제를 투여하는 것이 바람직하다. 상기 제형은 활성제에 더하여, 하나 이상의 제약상 허용되는 담체, 희석제 또는 부형제를 함유할 수 있다.

[0047] 제약상 제형은 단위 투여당 예정된 양의 활성 성분을 함유하는 단위 투여 형태로 존재할 수 있다. 상기 단위는 투여 경로 및 환자의 연령, 체중 및 상태에 의존하여, 활성제를 예를 들면 0.5 mg 내지 1 g, 바람직하게는 70 mg 내지 700 mg, 보다 바람직하게는 5 mg 내지 100 mg 함유할 수 있다. 예를 들면, 마우스에 대하여 단식 기간 동안 심장을 보존하기 위해 100 mg/kg의 GW2974를 투여할 수 있다.

[0048] 제약상 제형은 임의의 적합한 경로, 예를 들면 경구 (볼 또는 설하를 포함), 직장, 코, 국부 (볼, 설하 또는 경피를 포함), 질 또는 비경구 (피하, 근육내, 정맥내 또는 피내를 포함) 경로에 의한 투여를 위해 개조될 수 있다. 상기 제형은 제약업계에 공지된 임의의 방법에 의해, 예를 들면 활성 성분을 담체(들) 또는 부형제(들)과 합하여 제조할 수 있다.

[0049] 경구 투여를 위해 개조된 제약상 제형은 캡슐제 또는 정제; 산제 또는 과립제; 수성 또는 비수성 액체 중의 용액제 또는 현탁액; 식용 포말 또는 휩(whip); 또는 수중유 액체 에멀젼 또는 유중수 액체 에멀젼의 형태일 수 있고, 리포좀 내에 있을 수 있다.

[0050] 경피 투여를 위한 제약상 제형은 연장된 시간 동안 수용자의 피부와 밀접하게 접촉하여 유지되도록 분리된 패치로서 존재할 수 있다. 활성 성분은 공지된 방법에 의한 전리요법에 의해 패치로부터 전달될 수 있다.

[0051] 국부 투여를 위한 제약상 제형은 연고, 크림, 현탁액, 로션, 산제, 용액제, 페이스트, 겔, 스프레이, 에어로졸 또는 오일로 제형화될 수 있다.

[0052] 외부 조직의 치료를 위해, 상기 제형을 국부 연고 또는 크림으로서 적용할 수 있다. 연고로 제형화할 때, 활성제를 파라핀성 또는 물-혼화성 연고 기재와 함께 사용할 수 있다. 이와 달리, 수중유 크림 기재 또는 유중수 기재로 상기 활성제를 크림으로 제형화할 수 있다. 바람직하게는 상기 연고는, 특히 지방 함유 조직 및 장기에서 지방의 개선을 위해, 활성제가 피부를 통과하여 표적 세포 및 조직과 접촉하도록 할 것이다.

[0053] 구강 내의 국부 투여를 위해 개조된 제약상 제형에는 로젠지제, 패스틸(pastille) 및 구강 세척제가 포함된다.

[0054] 흡입에 의한 투여를 위한 제약상 제형에는, 다양한 유형의 정량식 가압 에어로졸, 네뷸라이저 또는 취분기에 의해 생성될 수 있는 미세 입자 더스트 또는 미스트가 포함된다.

[0055] 질 투여를 위한 제약상 제형은 페서리, 탐폰, 크림, 겔, 페이스트, 포말 또는 스프레이 제형으로 존재할 수 있다.

[0056] 비경구 투여를 위한 제약상 제형에는 토코페롤과 같은 항산화제, 완충액, 세균발육저지제, 및 제형이 수용자의 혈액과 등장성이 되도록 하는 용질을 추가로 포함할 수 있는 수성 및 비수성 살균 주사 용액; 및 현탁제 및 증점제를 포함할 수 있는 수성 및 비수성 살균 현탁액이 포함될 수 있다.

[0057] 제형은 단위-투여 용기 또는 다중-투여 용기, 예를 들면 밀봉된 앰플 및 바이알 내에 존재할 수 있고, 사용 직전에 살균 액체 담체, 예를 들면 주사용수를 첨가하는 것만이 요구되는 동결-건조 상태로 저장할 수 있다. 즉석 주사 용액 및 현탁액은 살균 산제, 과립제 및 정제로 제조할 수 있다.

[0058] 바람직한 단위 투여 제형은 하루 투여량 또는 부-투여량(sub-dose), 또는 활성 성분의 적당한 분획을 함유하는 것이다.

[0059] 특히 상기에서 언급한 성분에 더하여, 제형은 해당 유형의 제형에 관하여 당업계에서 통상적인 그 밖의 제제를 포함할 수 있고, 예를 들면 경구 투여를 위해 적합한 제형은 풍미제를 포함할 수 있음을 이해해야 한다.

[0060] 본 발명의 화합물, 염 또는 용매화물에 의한 치료가 요구되는 동물은 일반적으로 포유동물, 예컨대 인간이다.

[0061] 본 발명의 활성제, 염 또는 용매화물의 치료상 유효량은, 예를 들면 동물의 연령 및 체중, 치료를 요구하는 증상의 중증도, 제형의 속성 및 투여 경로를 비롯한 다수의 인자에 의존할 것이며, 결국 참석한 의사 또는 수의사의 자유재량일 것이다. 그러나, 독성의 치료를 위한 본 발명의 화합물의 유효량은 일반적으로 하루에 수용자(포유동물)의 체중 1 kg 당 0.1 내지 500 mg의 범위, 보다 일반적으로는 하루에 체중 1 kg 당 1 내지 200 mg의 범위일 것이다. 따라서, 70 kg의 성인 포유동물에 대해서는 실제 1일 투여량이 일반적으로 70 내지 700 mg일 것이며, 이러한 양을 하루에 단일 투여량으로 제공하거나, 총 하루 투여량이 동일하도록 하루에 임의의 횟수의 부-투여량으로 제공할 수 있다. 본 발명의 염 또는 용매화물의 유효량은 화합물 그 자체의 유효량의 비율로서 결정할 수 있다.

[0062] 본 발명의 화합물 및 그의 염 및 용매화물은 단독으로 또는 다른 치료제와 조합하여 사용할 수 있다. 즉, 본 발명에 따른 조합 요법은 적어도 하나의 본 발명의 AMP 활성화된 단백질 키나제 활성화제 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 용매화물과, 적어도 하나의 다른 치료상 활성제, 예컨대 암 치료제의 투여를 포함한다. 조합 활성물질은 함께 또는 별도로 투여될 수 있으며, 별도로 투여될 때에는 동시에 또는 임의의 순서로 순차적으로 투여될 수 있다. 본 발명의 키나제 억제제 및 다른 제약상 활성제(들)의 양 및 상대적인 투여 시기는 목적으로 하는 조합 치료 효과를 달성하기 위해 선택될 것이다.

실 시 예

[0063] **실시예 1**

[0064] 하기 실시예는 Au565 세포의 시험관내 세포 배양물 중에서 헤르셉틴의 처리에 의해 영향받는 유전자의 확인을 입증한다. Au565 세포를 정상 조건 하에서 성장시키고, 헤르셉틴으로 처리하거나 또는 비처리로 놓아두었다. 세포를 펠렛화하고, 액체 질소 중에서 급속 냉동시키고, 표준 조건을 사용하여 마이크로어레이로 분석하였다. Cy3 및 Cy5 표지된 cDNA를 세포 펠렛으로부터 단리된 RNA로부터 제조하였다. 지질 대사에 관여하는 유전자를 표 3에 나타내었다. 상향조절되거나 또는 하향조절되는 여타 경로에 관여하는 유전자도 또한 도 1에 나타내었다.

표 3

[0065] 헤르셉틴으로 처리 또는 비처리한 Au565 세포의 마이크로어레이 분석에 의한 대사 유전자의 변화

유전자	설명	비처리한 세포와 비교한 헤르셉틴 처리한 세포의 상대 변화

NKX2-5	심장 발달 및 가능하게는 아폽토시스에 관여하는 전사 인자인 심장 특이적 호메오박스이고; 상응하는 유전자에서의 돌연변이는 선천성 심장 질환, 중격 및 전도 장애, 및 팔로 4징후(tetralogy of Fallot)와 관련이 있음	4.71 x
ESRR6	에스트로겐-관련된 수용체 감마는 에스트로겐 반응 요소에 결합하고 리간드-독립적 방식의 전사를 활성화시키며, 조직 분화 및 유지에서 역할을 할 수 있음	4.18 x
FABP1	퍼옥시좀 증식 활성화 수용체 알파 (PPARA)의 양성 조절자인 지방산 결합 단백질 1 간(liver)은 지방산 수송, 세포 증식 및 아폽토시스에서 역할을 하고, 이의 증가된 발현은 전립선암과 관련이 있음	-6.29 x
NRG1	분비 단백질인 뉴레글린(Neuregulin) 1은 ERBB2, 및 티로신 키나제 수용체의 EGF 수용체 군의 여타 구성원을 활성화시키고, 세포 이동, 세포 증식 및 신경발생을 유도함; 이 유전자의 증폭은 일부 유방 종양과 관련이 있음	-5.07 x
PERC	핵 호르몬 수용체에 결합하여 이를 활성화시키는 전사 공활성화제인 PGC-1 관련 에스트로겐 수용체 알파 공활성화제 (PPAR 감마 공활성화제 1 베타)는 글루코스신합성 또는 지방산 산화에서 역할을 할 수 있음	-5.20 x
ERBB4	뉴레글린 리간드에 의해 활성화되고, EGF 수용체 군의 수용체 티로신 키나제인 조류 적혈모구증 종양유전자 B4는 세포 이동, 증식 및 분화에서 역할을 하고, 복합 악성 신생물의 발병에 관여함	4.48 x

[0066]

유전자	설명	로그 비율
BBOX1	부티로베타인 (감마) 2-옥소글루타레이트 디옥시게나제 (감마-부티로베타인 히드록실라제) 1은 카르니틴 생합성에서 감마 부티로베타인의 L-카르니틴으로의 전환을 촉매함	5.13E-01
GLS	신장-유형 글루타미나제는 글루타민의 글루타메이트 및 암모니아로의 가수분해를 촉매하고, TCA 사이클 중간체를 제공하며, 산-염기 균형을 유지하는 것을 돕고, 신경전달물질을 생성하며, 글루타민 이화작용을 개시함	5.12E-01
IQGAP2	GTPase 활성화 단백질 2를 함유하는 IQ 모티프는 CDC42 및 RAC1의 GTPase 활성을 억제하고, 액틴과 결합하여 세포 형태의 Rho-군 GTPase 조절에서 역할을 할 수 있음	4.85E-01
TRPM4	1가 양이온 투과성인 Ca^{2+}-활성화된 채널이며, G 단백질-커플링된 수용체-매개된 Ca^{2+} 상승에 반응성인 트랜지언트 수용체 포텐셜 양이온 채널 아군 M 구성원 4는 막 포텐셜 탈분극을 통해 Ca^{2+} 유입을 억제함	4.43E-01
SAT	스퍼미딘/스퍼민 N1-아세틸트랜스퍼라제는 폴리아민 이화작용의 속도 제한 단계를 촉매하고, 산화적 스트레스 및 열 충격 반응에 관여하는 폴리아민 항상성을 촉진하며, 일부 항암 약물에 대한 종양성 및 민감도를 조절함	4.04E-01
I_1152020	일부 세포외 단백질 및 C-말단 C1q 도메인에서 발견되는 3개의 콜라겐 3중 나선 반복단위를 함유하는 단백질은 에너지 균형, 인슐린 민감도 및 지방세포를 제어하는 마우스 Acrp30과 중간정도의 유사성을 가짐	4.00E-01
CLSP	칼슘-결합 단백질의 칼모듈린 군의 구성원인 칼모듈린-유사 피부 단백질은 각질세포 분화에서 역할을 할 수 있고, 태양광-손상된 피부에서 변화된 발현을 나타냄	-4.03E-01

ME1	말산 효소 1은 말레이트의 산화적 탈카르복실화를 촉매하여 피루베이트를 형성하고, 지방형성의 역할을 할 수 있고; 이의 변이체는 유방암과 관련이 있을 수 있음	-4.04E-01
ACAT2	호모 사피엔스 아세틸-조효소 A 아세틸트랜스퍼라제 2 (아세토아세틸 조효소 A 티올라제) (ACAT2), mRNA	-4.33E-01
ACAT2	아세틸-조효소 A 아세틸트랜스퍼라제 2 (세포질 아세토아세틸 조효소 A 티올라제), 아실-CoA 대사에서 기능하는 간 효소	-5.30E-01
ACAT2	호모 사피엔스 아세틸-조효소 A 아세틸트랜스퍼라제 2 (아세토아세틸 조효소 A 티올라제) (ACAT2), mRNA	-4.33E-01
ACAT2	아세틸-조효소 A 아세틸트랜스퍼라제 2 (세포질 아세토아세틸 조효소 A 티올라제), 아실-CoA 대사에서 기능하는 간 효소	-5.30E-01
ALDOA	알돌라제 A (프룩토스-비스포스페이트 알돌라제)는 해당작용에서 프룩토스-1,6-비스포스페이트의 디히드록시아세톤포스페이트 및 글리세르알데히드-3-포스페이트로의 절단 또는 축합을 촉매하고, 결핍되면 용혈성 빈혈 및 대사성 근육병증이 나타남	-4.54E-01
NFκBIL2	I카파B 군의 구성원인 NF-카파B 억제제-유사 2는 NFKB1-RELA NF-카파B 이종이량체 및 NFKB1 동종이량체의 DNA 결합을 억제하고, Ig카파 인핸서로부터 NF-카파B-매개된 전사를 억제하며, 상피 세포에서 NF-카파B 기능을 조절할 수 있음	-4.90E-01
ENO1	에놀라제 1 (알파 에놀라제)은 해당작용에서 2-포스포-D-글리세레이트를 포스포에놀피루베이트로 전환시키고, 복합 자가면역 질환에서의 자가항원인 짧은 대체 형태의 c-myc 프로모터 결합 단백질 (MPB1)은 전사 억제자임	-5.01E-01
GSTT2	생체이물 대사에 관여하는 세타 군 글루타티온 트랜스퍼라제 및 퍼옥시다제인 글루타티온 S-트랜스퍼라제 세타 2는 지방산 히드로퍼옥시드의 해독에 관여할 수 있고, 발암물질을 불활성화시킴으로써 암 예방에서 역할을 함	-5.33E-01
APOL1	크고 apoA-I(APOA1)를 함유한 고밀도 지단백질의 구성요소인 아포지단백질 L은 지질 수송 및 대사에 관여할 수 있고; 이의 전전두엽 피질에서의 상승된 발현은 정신분열병과 관련됨	-6.43E-01
AKR1C2	알도 케토 환원효소 군 1 구성원 C2 (디히드로디올 데히드로게나제)는 담즙 수송, 스테로이드 대사 및 생체이물 대사에서 기능하고, 선택적 세로토닌 재흡수 억제제에 의해 매개되는 거동 변형에서 역할을 할 수 있음	-7.44E-01
AKR1C2	알도 케토 환원효소 군 1 구성원 C2 (디히드로디올 데히드로게나제)는 담즙 수송, 스테로이드 대사 및 생체이물 대사에서 기능하고, 선택적 세로토닌 재흡수 억제제에 의해 매개되는 거동 변형에서 역할을 할 수 있음	-8.23E-01
CAMK4	CREBBP-의존성 유전자 발현을 포함하는, Ca(2+)-조절된 유전자 발현에 관여하는 단백질 키나제인 칼슘/칼모듈린-의존성 단백질 키나제 IV	4.46E-01
FKSG14	고환에서의 SoxLZ-Sox6 류신 지퍼 결합 단백질 (마우스 Solt)과 높은 유사성을 갖는 단백질이며, 이는 SoxLZ/Sox6에 결합하고 칼슘/칼모듈린-의존성 단백질 키나제 IV (마우스 Camk4)와 함께 SoxLZ/Sox6-매개된 전사 활성화를 증진시킴	-4.57E-01
SOAT1	아실-조효소 A:콜레스테롤 아실트랜스퍼라제는 콜레스테롤 및 장쇄 지방산 아실-조효소 A로부터 콜레스테롤 에스테르를 합성하고, 지단백질 대사, 콜레스테롤 항상성 및 단핵구 분화에 작용하며; 아테롬성 동맥경화증과 관련이 있음	-4.05E-01

I_962304.FL1	뉴런 및 심장 세포 [647-aa 형태]의 흥분도의 제어에 중요한 A-유형 트랜지언트 외향 K+ 전류를 생성하는 것으로 예측되는 칼륨 전압-개폐 채널 (Shal-관련된 아군, 구성원 1)	-4.16E-01
SCN2A2	나트륨 채널 전압 개폐 유형 II 알파 2는 전압-의존성 및 나트륨-선택적 전류를 나타내고, 테트로도톡신에 민감성인 흥분성 세포에서의 작용 포텐셜의 상승기에서 역할을 할 수 있음	4.54E-01
SCN1A	전압-민감성 나트륨 채널인 나트륨 채널 전압-개폐 유형 I (알파 서브유닛)이고; 이의 돌연변이는 유아 중증 근간대성 간질, 및 열성 발작을 추가로 갖는 전신 간질과 관련이 있음	4.14E-01
SCN11A	말초 감각 뉴런에서 테트로도톡신-저항성 나트륨 전류를 생성할 수 있는 추정 전압-민감성 나트륨 채널인 나트륨 채널 전압-개폐 유형 XI 알파 폴리펩티드는 통증 전달 및 신경병증성 통증에서 역할을 함	4.02E-01
FASN	식이 단백질 및 탄수화물로부터 지방산을 합성하는 복합기능성 효소인 지방산 신타제이며, 이의 증가된 발현은 다양한 암과 관련이 있고, 이의 억제는 유방암 및 전립선암에 치료적일 수 있음	-4.29E-01
ELOVL2	매우 장쇄인 지방산 (FEN1/Elo2, SUR4/Elo3, 효모)-유사 2 (ELOVL2)의 호모 사피엔스 연장, mRNA	-4.36E-01
HPCAL1	축삭 및 수상돌기에 편재화된 칼슘-결합 단백질의 신경 비지닌-유사 (NVP) 군의 구성원이며, 추정 칼슘-감각 단백질인 히포칼신-유사 1은 중추 신경계의 뉴런 신호전달에서 역할을 할 수 있음	-4.53E-01
KCNG2	이온 채널의 Kv6 군의 구성원인 칼륨 전압 채널 아군 감마 2는 Kv2.1 알파 서브유닛과의 상호작용에 대해 전압-개폐 칼륨 채널로 기능하고, 심장 작용 강화 재분극에 기여할 수 있음	-5.53E-01
CCL14	골수 전구세포의 증식을 증진시키고 HIV 1 바이러스의 복제에 영향을 미칠 수 있는 화학유인제인 작은 유도성 사이토카인 아군 A 구성원 14는 AIDS 발병 및 케모카인 수용체 CCR1 관련 질환에서 역할을 할 수 있음	-4.49E-01
CLCA1	점액표피 세포에서 점액 생성의 역할을 하고 종양 억제자로 기능할 수 있는 클로라이드 채널인 칼슘-활성화된 클로라이드 채널 1이고; 이의 조절곤란은 천식 및 직장결장암의 진행에 기여할 수 있음	-6.70E-01
FABP1	퍼옥시좀 증식 활성화 수용체 알파 (PPARA)의 양성 조절자인 지방산 결합 단백질 1 간(liver)은 지방산 수송, 세포 증식 및 아폽토시스에서 역할을 하고, 이의 증가된 발현은 전립선암과 관련이 있음	-7.22E-01
BBOX1	부티로베타인 (감마) 2-옥소글루타레이트 디옥시게나제 (감마-부티로베타인 히드록실라제) 1은 카르니틴 생합성에서 감마 부티로베타인의 L-카르니틴으로의 전환을 촉매함	5.13E-01
GLS	신장-유형 글루타미나제는 글루타민의 글루타메이트 및 암모니아로의 가수분해를 촉매하고, TCA 사이클 중간체를 제공하고, 산-염기 균형을 유지하는 것을 돕고, 신경전달물질을 생성하며, 글루타민 이화작용을 개시함	5.12E-01
IQGAP2	GTPase 활성화 단백질 2를 함유하는 IQ 모티프는 CDC42 및 RAC1의 GTPase 활성을 억제하고, 액틴과 결합하여 세포 형태의 Rho-군 GTPase 조절에서 역할을 할 수 있음	4.85E-01
TRPM4	1가 양이온에 투과성인 Ca^{2+}-활성화된 채널이며, G 단백질-커플링된 수용체-매개된 Ca^{2+} 상승에 반응성인 트랜지언트 수용체 포텐셜 양이온 채널 아군 M 구성원 4는 막 포텐셜 탈분극을 통해 Ca^{2+} 유입을 억제함	4.43E-01

SAT	스퍼미딘/스퍼민 N1-아세틸트랜스퍼라제는 폴리아민 이화작용의 속도 제한 단계를 촉매하고, 산화적 스트레스 및 열 충격 반응에 관여하는 폴리아민 항상성을 촉진하며, 일부 항암 약물에 대한 종양성 및 민감도를 조절함	4.04E-01
I_1152020	일부 세포외 단백질 및 C-말단 C1q 도메인에서 발견되는 3개의 콜라겐 3중 나선 반복단위를 함유하는 단백질은 에너지 균형, 인슐린 민감도 및 지방세포를 제어하는 마우스 Acrp30과 중간정도의 유사성을 가짐	4.00E-01

[0067] **실시예 2**

[0068] 이 실시예는 지방세포를 소분자 티로신 키나제 억제제인 GW2974로 처리한 경우 지질이 손실된다는 것을 입증한다. 도 2는 ErbB 자극 리간드, NDF 또는 모노클로날 항체 헤르셉틴으로 처리한 Au565 세포가 모두 지질의 생성을 유도한다는 것을 나타낸다. 이를 세포의 배경 역염색 (헤마톡실린)에 대해 오일 레드로의 지질의 염색에 의해 나타내었다 (지질이 적색 점으로 나타남). 도 3은 지질이 비처리한 Au565 세포 중에 존재하나, 2중 EGFR 및 ErbB2 억제제, GW2974로 처리한 세포 중에서는 감소된다는 것을 나타낸다. 도 4는 GW2974, 헤르셉틴 또는 NDF로 처리한 심근 세포를 나타낸다. 지질은 헤르셉틴 및 NDF로 처리한 세포 중에서 (비처리한 세포와 비교하여) 증가하나, GW2974로 처리한 세포 중에서는 감소되지 않는다. 도 5는 대조군, 헤르셉틴 및 GW2974로 처리한 세포 중에서의 지질의 정량적 수치를 나타낸다.

[0069] GW2974로의 세포의 처리는 세포내 칼슘의 재분포를 유도한다 (도 6). 이는 칼슘이 플루오로-4에 의해 형광 검출되는 경우 MDA-MB-468 유방암 세포 중에서 볼수 있다. 이러한 칼슘의 재분포는 AMPK의 활성화 및 인산화를 유도한다. 활성화된 AMPK는, eEF-2를 불활성화시키고 단백질 합성을 억제하는 번역 인자 eEF-2의 인산화에 의해 번역을 억제하고 (도 7), 이는 TKI의 공지된 효과이다. 도 7A는 자극 리간드 (EGF) 또는 GW2974로 처리하고 p-eEF-2에 대해 프로빙한 Au565 세포의 웨스턴 블롯을 나타낸다. p-eEF-2는 GW2974 처리 후에 크게 증가하였다. 도 7B는 IHC에 의한 p-eEF-2의 발현을 나타낸다. C225 및 헤르셉틴은 p-eEF-2를 증가시키지 않으나, TKI 유사 이레사, GW2974 및 라파마이신은 p-eEF-2를 증가시킨다.

[0070] ERRα는 심장 세포의 지질 대사에서 역할을 하고, MCAD는 지질 및 지방산을 파괴하는 효소이다. MCAD의 돌연변이는 특히 북유럽 계통(northern European descent) 사람들의 통상적인 유전적 장애이다. 도 8은 헤르셉틴으로 처리한 세포 중에서, ERRα의 수준이 약간 감소된다는 것을 나타낸다. MCAD는 헤르셉틴으로 처리한 세포 중에서 발현되나, GW2974로 처리한 세포에는 완전히 결여되었다.

[0071] **실시예 3**

[0072] 하기 실시예는 GW2974로 처리한 세포의 mRNA 발현 프로파일의 변화를 입증한다.

[0073] Au565 세포를 정상 조건 하에서 성장시키고, GW2974 (25 μM)로 처리하거나 비처리하였다. 세포를 펠렛화하고, 액체 질소로 급속 냉동시키고, 마이크로어레이 분석을 수행하였다. RNA를 아질런트(Agilent) 총 RNA 단리 키트를 사용하여 단리시켰다. Cy3 및 Cy5 표지된 cRNA를 아질런트 RNA 저 투입 형광 선형 증폭 키트를 사용하여 제조하였다. 표지된 cRNA를 18K 특성분석된 전장 인간 유전자를 나타내는 60-합체 올리고뉴클레오티드로 이루어진 G4110A 인간 1A(V2) 마이크로어레이로 하이브리드화시켰다. 표 4는 각 표 형태의 결과를 제공한다.

표 4A

[0074] 이온 채널

유전자 명칭	설명	대조군과 비교한 GW2974 변화
FLJ12476	IQ 칼모듈린-결합 도메인을 함유하는 단백질	5.0 x
CAMK4	CREBBP-의존성 유전자 발현을 포함하는, Ca(2+)-조절된 유전자 발현에 관여하는 단백질 키나제인 칼슘/칼모듈린-의존성 단백질 키나제 IV	4.5 x

AVIL	겔솔린 군의 구성원인 액틴 필라멘트를 붙이고 절단하고 묶으며, 빌린 머리부 도메인을 함유하는 칼슘-조절된 액틴-결합 단백질인, 빌린 1에 높은 유사성을 갖는 단백질 (인간 VIL 1)	4.2 x
SCN1A	전압-민감성 나트륨 채널인 나트륨 채널 전압-개폐 유형 I (알파 서브유닛)이며; 이의 돌연변이는 유아 중증 근간대성 간질, 및 열성 발작을 추가로 갖는 전신 간질과 관련이 있음	4.1 x
CLSP	칼슘-결합 단백질의 칼모듈린 군의 구성원인 칼모듈린-유사 피부 단백질은 각질세포 분화에서 역할을 할 수 있고, 태양광-손상된 피부에서 변화된 발현을 나타냄	-4.0 x
GNB5	G 단백질-커플링된 수용체로부터 하류 이펙터 단백질로 신호를 전달하는 이종삼량체 G 단백질 복합체의 구성성분인 구아닌 뉴클레오티드 결합 단백질 (G 단백질) 베타 5는 칼슘 채널 활성을 조절할 수 있음	-4.1 x
KCNK6	직렬 공극 도메인 K+ 채널 군의 pH-민감성 외향 및 적당한 내향 조정 구성원인 칼륨 채널 아군 K 구성원 6 (TWIK-2)은 세포 휴지 막 포텐셜을 세팅하고 심장 세포 흥분도에 있어서 역할을 할 수 있음	-4.1 x
CASK	원형질막에서 복합단백질 복합체를 동원하는데 관여하는 MAGUK 군의 구성원인 칼슘/칼모듈린-의존성 세린 단백질 키나제는 세포외 매트릭스를 액틴 세포골격에 연결하고, 시냅스 소포 세포외유출을 조절할 수 있음	-4.2 x
I_962304.FL1	뉴런 및 심장 세포 [647-aa 형태]의 흥분도를 제어하는데 중요한 A-유형 트랜지언트 외향 K+ 전류를 생성하는 것으로 예측되는 칼륨 전압-개폐 채널 (Shal-관련된 아군, 구성원 1)	-4.2 x
CD38	CD38 항원은 시클릭 ADP-리보스-형성 및 -가수분해 활성 모두를 갖고, 세포내 칼슘 이동을 조절하고, 거대항원-유도된 T 세포 증식에서 역할을 할 수 있고, 자가항체는 비-인슐린 의존성 당뇨병에 기여할 수 있음	-4.4 x
HPCAL1	축삭 및 수상돌기에 편재화된 칼슘-결합 단백질의 신경 비지닌-유사 (NVP) 군의 구성원이며, 추정 칼슘-감각 단백질인 히포칼신-유사 1은 중추 신경계의 뉴런 신호전달에서 역할을 할 수 있음	-4.5 x
FKSG14	고환에서의 SoxLZ-Sox6 류신 지퍼 결합 단백질 (마우스 Solt)과 높은 유사성을 갖는 단백질이며, 이는 SoxLZ/Sox6에 결합하고 칼슘/칼모듈린-의존성 단백질 키나제 IV (마우스 Camk4)와 함께 SoxLZ/Sox6-매개된 전사 활성화를 증진시킴	-4.6 x
CCR2	CC 아군 케모카인에 결합하고 화학주성 및 세포내 칼슘 유동을 매개하는 G 단백질-커플링된 수용체인 CC 케모카인 수용체 2이며; CCR2의 변이체는 인간 면역결핍 바이러스 감염 후의 증가된 생존률을 부여할 수 있음	-5.0 x
FREQ	칼슘-결합 단백질 및 추정 키나제 억제제인 프리퀘닌 상동체 (드로소필라)는 결합하여 Ca^{2+}-의존성 방식으로 $KV4K^{+}$ 채널의 활성을 조절하고, 분비에서 조절 역할을 할 수 있음	-5.3 x
STK33	칼슘/칼모듈린-의존성 단백질 키나제 군의 구성원일 수 있는 추정 세린-트레오닌 키나제인 세린-트레오닌 단백질 키나제 33	-5.3 x
S100A9	베타2 인테그린 (ITGB2) 리간드 결합을 활성화하는 S100A8과의 복합체 (27e10 항원)의 부분이며, 이에 의해 염증 중에 호중구 부착을 매개하는 S100 칼슘-결합 단백질 A9 (칼그라뉼린 B)는 지방산에 결합하고 이를 수송함	-5.5 x
KCNG2	이온 채널의 Kv6 군의 구성원인 칼륨 전압 채널 아군 감마 2는 Kv2.1 알파 서브유닛과의 상호작용에 대해 전압-개폐 칼륨 채널로 기능하고, 심장 작용 강화 재분극에 기여할 수 있음	-5.5 x

CLCA1	점액표피 세포에서 점액 생성의 역할을 하고 종양 억제자로 기능할 수 있는 클로라이드 채널인 칼슘-활성화된 클로라이드 채널 1이고; 이의 조절곤란은 천식 및 직장결장암의 진행에 기여할 수 있음	-6.7 x
AKAP5	A 키나제 고정 단백질 5는 cAMP-의존성 단백질 키나제를 유형 2 조절 서브유닛인 PRKAR2A 및 PRKAR2B에 결합시킴으로써 시냅스후 치밀질에 고정시키고, 이에 의해 시냅스후 사건을 조절할 수 있으며; 또한 칼모듈린 및 단백질 키나제 C에 결합함	-7.3 x

표 4B

[0075] 심장 조절

유전자 명칭	설명	대조군과 비교한 GW2974 변화
PRKG1	cGMP-의존성 단백질 키나제 유형 1은 혈관 평활근을 이완하고 혈소판 응집을 억제하며, 심장 수축성과 관련될 수 있고, 고혈압 및 아테롬성 동맥경화증과 관련될 수 있음; 마우스 Prkg1은 발기부전과 관련이 있음	6.51 x
TGFβ1	형질전환 성장 인자 베타 (TGFB1)에 의해 유도되는 세포외 부착 단백질인 형질전환 성장 인자 베타 유도성 68 kDa (각질-상피)는 골발생 및 폐 구조/기능에 있어서 역할을 할 수 있고; 이 유전자의 변화는 각막 이상증을 유발함	5.31 x
NRXN3	시냅스 세포 표면 단백질의 뉴렉신 군의 구성원, 및 축삭 유도에서 역할을 할 수 있는 추정 통합 막 단백질인 뉴렉신 3이며, 심장 동형체는 디스트로글리칸과 복합체를 형성하고 세포내 연결을 매개할 수 있음	4.58 x
KCNK6	직렬 공극 도메인 K^+ 채널 군의 pH-민감성 외향 및 적당한 내향 조정 구성원인 칼륨 채널 아군 K 구성원 6 (TWIK-2)은 세포 휴지 막 포텐셜을 세팅하고 심장 세포 흥분도에 있어서 역할을 할 수 있음	-4.08 x
I_962304.FL1	뉴런 및 심장 세포 [647-aa 형태]의 흥분도를 제어하는데 중요한 A-유형 트랜지언트 외향 K^+ 전류를 생성하는 것으로 예측되는 칼륨 전압-개폐 채널 (Shal-관련된 아군, 구성원 1)	-4.16 x
KCNG2	이온 채널의 Kv6 군의 구성원인 칼륨 전압 채널 아군 감마 2는 Kv2.1 알파 서브유닛과의 상호작용에 대해 전압-개폐 칼륨 채널로 기능하고, 심장 작용 강화 재분극에 기여할 수 있음	-5.53 x

표 4C

[0076] 지방산 및 아미노산 대사

유전자 명칭	설명	대조군과 비교한 GW2974 변화
PRKG1	cGMP-의존성 단백질 키나제 유형 1은 혈관 평활근을 이완하고 혈소판 응집을 억제하며, 심장 수축성과 관련될 수 있고, 고혈압 및 아테롬성 동맥경화증과 관련될 수 있음; 마우스 Prkg1은 발기부전과 관련이 있음	6.5 x
BBOX1	부티로베타인 (감마) 2-옥소글루타레이트 디옥시게나제 (감마-부티로베타인 히드록실라제) 1은 카르니틴 생합성에서 감마 부티로베타인의 L-카르니틴으로의 전환을 촉매함	5.1

GLS	신장-유형 글루타미나제는 글루타민의 글루타메이트 및 암모니아로의 가수분해를 촉매하고, TCA 사이클 중간체를 제공하고, 산-염기 균형을 유지하는 것을 돕고, 신경전달물질을 생성하고, 글루타민 이화작용을 개시함	5.1
NRXN3	시냅스 세포 표면 단백질의 뉴렉신 군의 구성원, 및 축삭 유도에서 역할을 할 수 있는 추정 통합 막 단백질인 뉴렉신 3이며, 심장 동형체는 디스트로글리칸과 복합체를 형성하고 세포내 연결을 매개할 수 있음	4.6 x
CYP2C8	스테로이드, 지방산 및 생체이물을 대사하는 헴-결합 모노옥시게나제 거대군의 구성원인 사이토크롬 P450 거대군 IIC (메페니토인 4-히드록실라제) 폴리펩티드 8이며; 이의 간 발현은 리팜핀 처리에 의해 상향조절됨	4.5 x
SAT	스퍼미딘/스퍼민 N1-아세틸트랜스퍼라제는 폴리아민 이화작용의 속도 제한 단계를 촉매하고, 산화적 스트레스 및 열 충격 반응에 관여하는 폴리아민 항상성을 촉진하며, 일부 항암 약물에 대한 종양성 및 민감도를 조절함	4.4
SOAT1	아실-조효소 A:콜레스테롤 아실트랜스퍼라제는 콜레스테롤 및 장쇄 지방산 아실-조효소 A로부터 콜레스테롤 에스테르를 합성하고, 지단백질 대사, 콜레스테롤 항상성 및 단핵구 분화에 작용하며; 아테롬성 동맥경화증과 관련이 있음	-4.0 x
KCNK6	직렬 공극 도메인 K^+ 채널 군의 pH-민감성 외향 및 적당한 내향 조정 구성원인 칼륨 채널 아군 K 구성원 6 (TWIK-2)은 세포 휴지 막 포텐셜을 세팅하고 심장 세포 흥분도에 있어서 역할을 할 수 있음	-4.1 x
I_962304.FL1	뉴런 및 심장 세포 [647-aa 형태]의 흥분도의 제어에 중요한 A-유형 트랜지언트 외향 K^+ 전류를 생성하는 것으로 예측되는 칼륨 전압-개폐 채널 (Shal-관련된 아군, 구성원 1)	-4.2 x
HSPA8	분자 샤페론의 열 충격 HSP70 군의 구성적으로 발현된 구성원인 열 충격 70 kD 단백질 8이며; 이의 발현은 비후성 심근병증을 갖는 환자의 심장에서 상승됨	-4.2 x
FASN	식이 단백질 및 탄수화물로부터 지방산을 합성하는 복합기능성 효소인 지방산 신타제이며, 이의 증가된 발현은 다양한 암과 관련이 있고, 이의 억제는 유방암 및 전립선암에 치료적일 수 있음	-4.3 x
ELOVL2	매우 장쇄인 지방산 (FEN1/Elo2, SUR4/Elo3, 효모)-유사 2 (ELOVL2)의 호모 사피엔스 연장, mRNA	-4.4 x
PFKL	간 포스포프룩토키나제는 해당작용에서 프룩토스-6-포스페이트의 프룩토스-1,6-비스포스페이트로의 인산화를 촉매하고, 이의 결핍은 글리코겐증 유형 VII과 관련이 있고, 이의 과다발현은 다운 증후군의 인지능력장애를 유발할 수 있음	-4.7
LDLR	저밀도 지단백질 수용체는 지질 대사에 관여하는 저밀도 지단백질의 흡수를 매개하고; 이 유전자의 변이는 가족성 고콜레스테롤혈증, 고혈압, 아테롬성 동맥경화증 및 관상 동맥 질환과 관련이 있음	-5.2 x
GSTT2	생체이물 대사에 관여하는 세타 군 글루타티온 트랜스퍼라제 및 퍼옥시다제인 글루타티온 S-트랜스퍼라제 세타 2는 지방산 히드로퍼옥시드의 해독에 관여할 수 있고, 발암물질을 불활성화시킴으로써 암 예방에서 역할을 함	-5.3
ACAT2	아세틸-조효소 A 아세틸트랜스퍼라제 2 (세포질 아세토아세틸 조효소 A 티올라제), 아실-CoA 대사에서 기능하는 간 효소	-5.3
S100A9	베타2 인테그린 (ITGB2) 리간드 결합을 활성화시키는 S100A8과의 복합체 (27e10 항원)의 부분이며, 이에 의해 염증 중에 호중구 부착을 매개하는 S100 칼슘-결합 단백질 A9 (칼그라뉼린 B)는 지방산에 결합하고 이를 수송함	-5.4

KCNG2	이온 채널의 Kv6 군의 구성원인 칼륨 전압 채널 아군 감마 2는 Kv2.1 알파 서브유닛과의 상호작용에 대해 전압-개폐 칼륨 채널로 기능하고, 심장 작용 강화 재분극에 기여할 수 있음	-5.5 x
FABP1	퍼옥시좀 증식 활성화 수용체 알파 (PPARA)의 양성 조절자인 지방산 결합 단백질 1 간(liver)은 지방산 수송, 세포 증식 및 아폽토시스에서 역할을 하고, 이의 증가된 발현은 전립선암과 관련이 있음	-7.2

[0077] 본원에 기재된 본 발명의 바람직한 실시양태들에 대한 다양한 변화 및 변형이 당업자에게 명백할 것이라고 이해되어야 한다. 그러한 변화 및 변형은 본 발명의 취지 및 범주를 벗어나지 않고, 본 발명의 의도하는 이점을 감소시키지 않으면서 수행될 수 있다. 따라서, 그러한 변화 및 변형은 첨부된 특허청구범위에 의해 포괄되도록 의도한다.

도면의 간단한 설명

[0019] 도 1은 Au565 세포에서 헤르셉틴 처리로 조절된 유전자 목록이다.

[0020] 도 2는 NDF 또는 헤르셉틴으로 처리되고 지질에 대해 염색된 Au-565 세포의 사진이다.

[0021] 도 3은 GW-2974로 처리되고 지질에 대해 염색된 Au-565 세포의 사진이다.

[0022] 도 4는 다양한 조건 하에서 성장되고 지질에 대해 염색된 일차 인간 심장 근세포의 사진이다.

[0023] 도 5는 다양한 조건 하에서 지질에 대해 양성으로 시험된 인간 심근세포의 백분율을 나타낸 막대 그래프이다.

[0024] 도 6은 GW-2974로 처리된 MDA-MB-468 세포 및 플루오로-4로 검출된 세포내 Ca의 사진이다.

[0025] 도 7A는 p-eEF2 및 p-AMPKα의 발현에 대한 특정 티로신 키나제 억제제의 효과를 보여주는 웨스턴 블롯 사진이다.

[0026] 도 7B는 다양한 화합물의 존재하에서 Au565 세포에서의 p-eEF2의 발현을 보여주는 염색된 세포의 사진이다.

[0027] 도 8은 다양한 키나제 억제제로 처리 및 비처리된 심근세포의 ERRα 및 MCAD의 사진이다.

[0028] 도 9는 상이한 유형의 erbB 억제제 및 TNFα의 조합으로 처리된 HMC의 성장 억제를 나타낸 막대 그래프이다.

[0029] 도 10은 TNFα, GW2974 또는 헤르셉틴 (또는 조합)에 의한 처리 이후에 NF-κB에 대해 탐침된 HMC의 웨스턴 블롯이다.

Au565 세포에서 헤르셉틴 처리로 조절된 유전자

DNA 수복 (하향-조절)
- RAD51-상호작용 단백질 (PIR51)
- p53 표적 아연 핑거 단백질 (WIG1)
- 엑소뉴클레아제 I (EXO1)
- BRCA2
- RAD51
- RAD54

세포 주기 & DNA 합성 (하향-조절)
- 시클린 A2
- 시클린 D1
- 시클린 E2
- CHK1
- 티미딘 키나제 1 (TK1)
- 조기 성장 반응 1 (EGR1)
- CTP 신테타제 (CTPS)
- 티미딜레이트 신타제 (TS)

아폽토시스 (상향-조절)
- TNFR1
- TRAIL
- 포크헤드 박스 O3A (FOXO3A)

아폽토시스 (하향-조절)
- FLIP
- NF-κB 억제제-유사 2 (NFKBIL2)
- 결합 조직 성장 인자 (CTGF)
- 미토겐-유도성 유전자 6 (MIG-6)

이온 채널 (상향-조절)
- IQ 칼모듈린-결합 도메일을 함유하는 단백질
- 나트륨 채널 전압-개폐 유형 I (알파 서브유닛) (SCN1A)

이온 채널 (하향-조절)
- 칼슘/칼모듈린-의존성 세린 단백질 키나제 (CASK)
- 세린-트레오닌 단백질 키나제 33 (STK33)
- 칼슘-활성화된 염소 채널 1
- 키나제 앵커 단백질 5 (AKAP5)

번역 (상향-조절)
- 효모 BMs1p와 유사함 (40S 생물발생)

번역 (하향-조절)
- 진핵생물 개시 인자 5A (EIF5A)

지방산 대사/조절 (상향-조절)
- NKX2-5
- ACOX2
- AFP
- S100A9

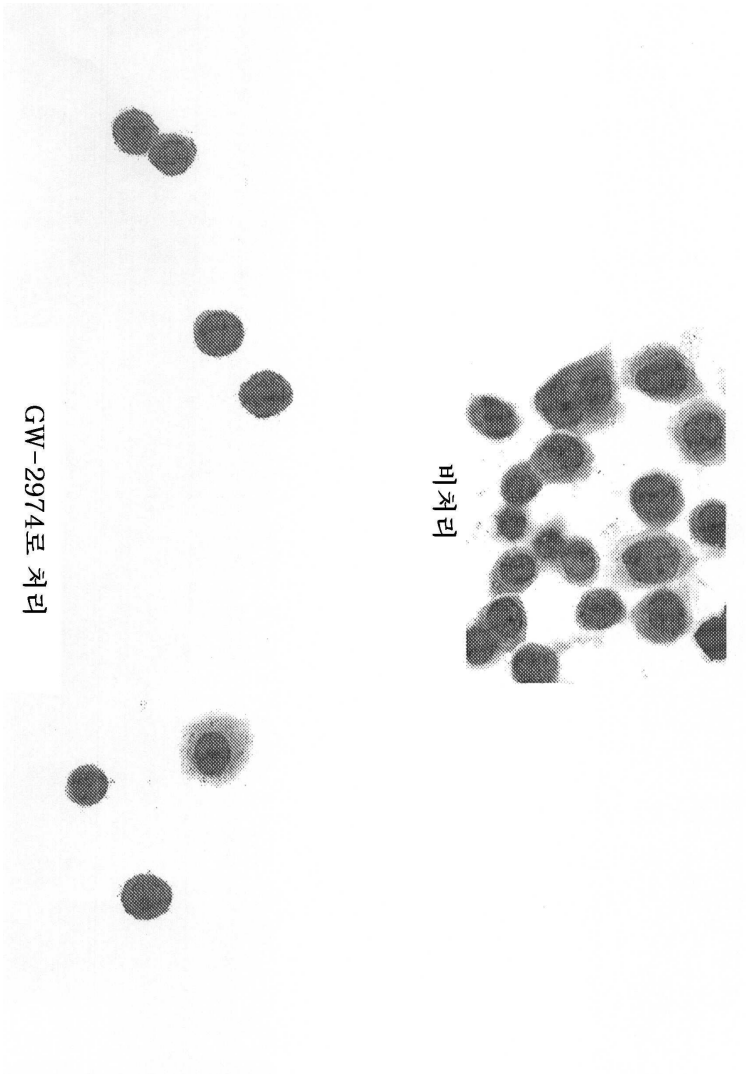
지방산 대사/조절 (하향-조절)
- EMD
- TEAD1
- KCNH2
- SOAT1
- PERC
- FABP1
- CRBPIV

도면1

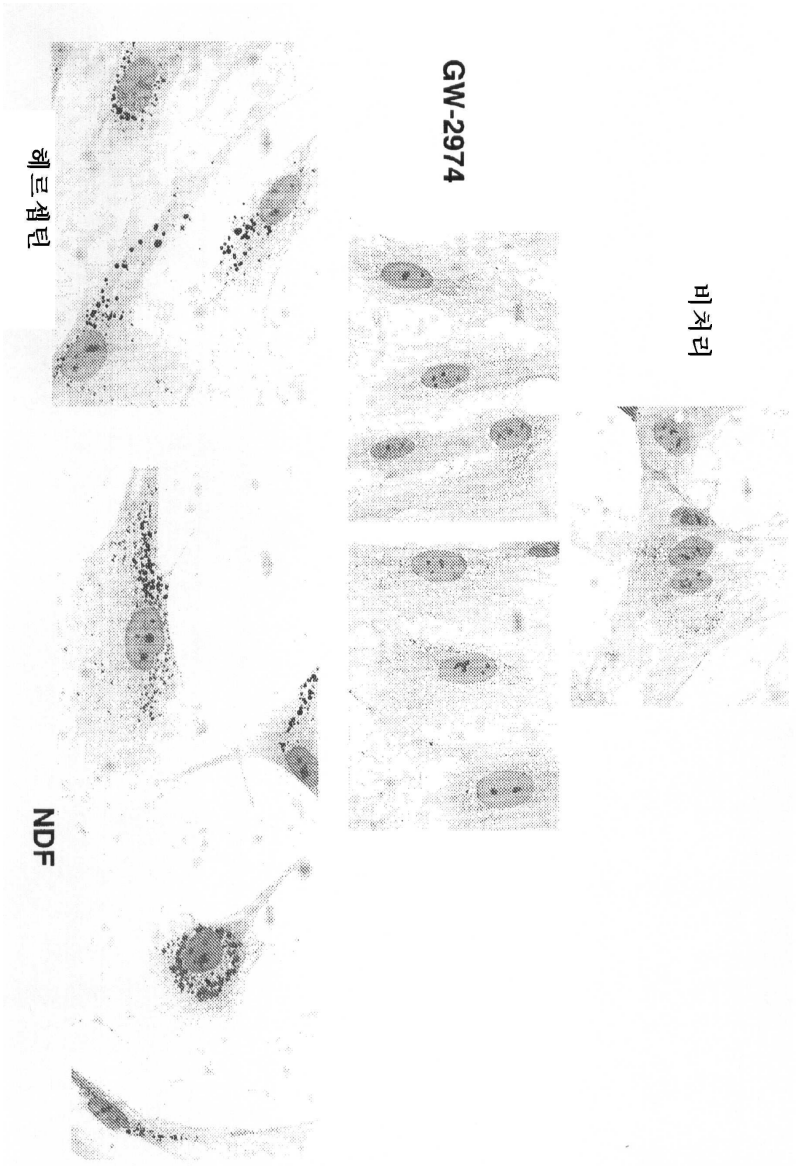
도면

도면2

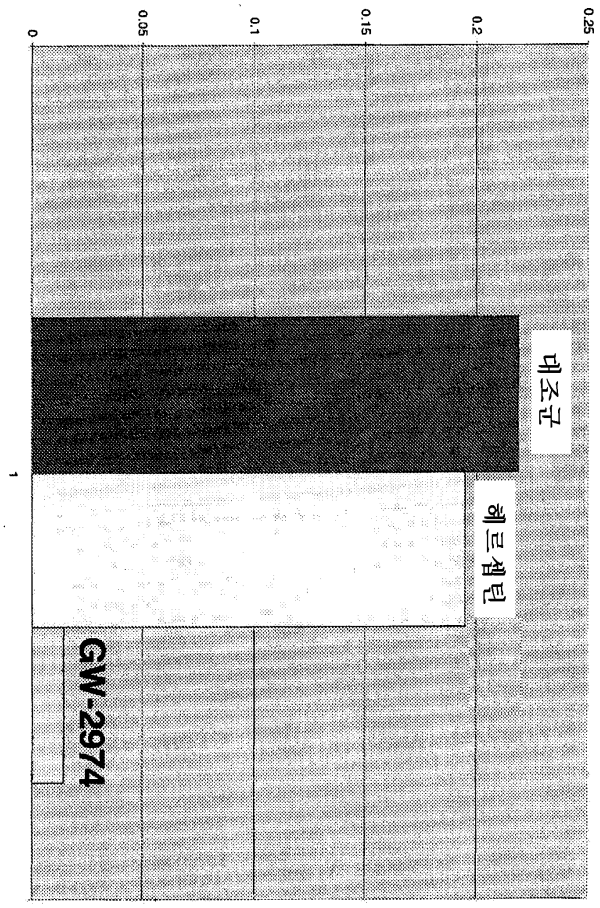
도면3



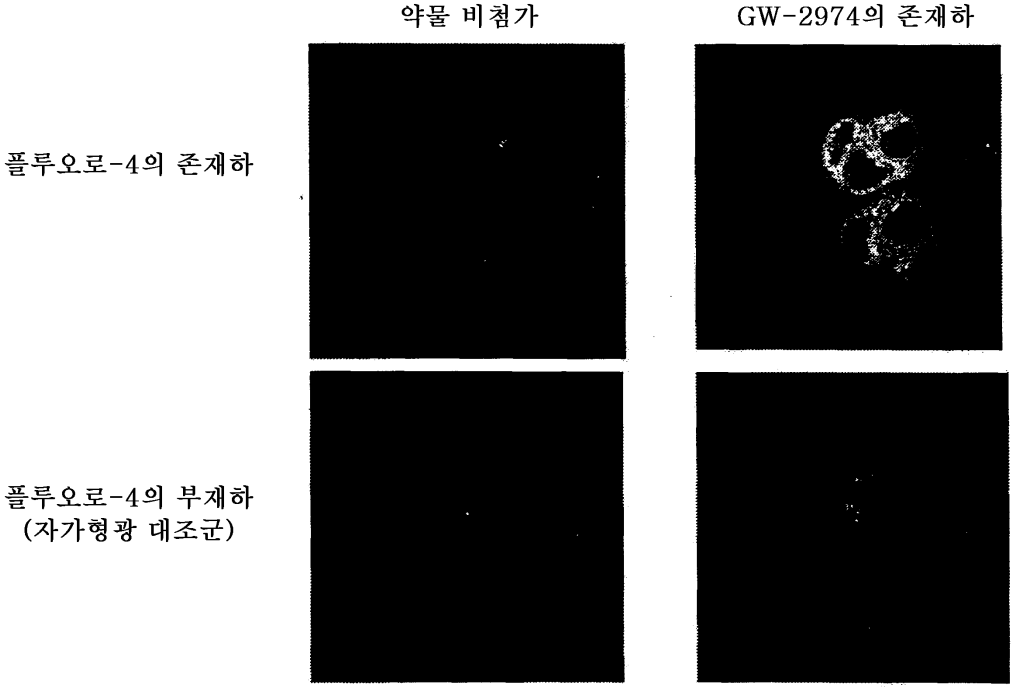
도면4



도면5

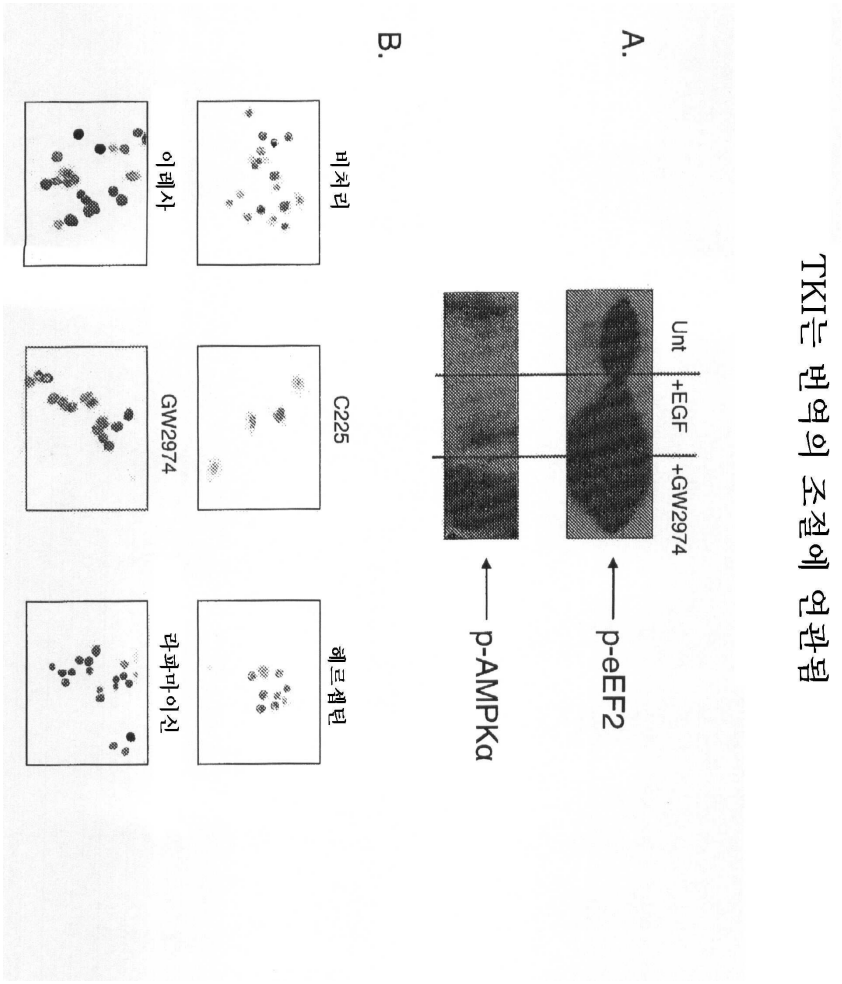


GW-2974로 처리된 MDA-MB-468 세포 및
플루오로-4로 검출된 세포내 Ca



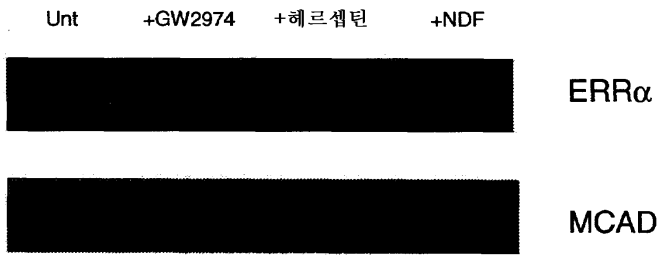
도면6

도면7

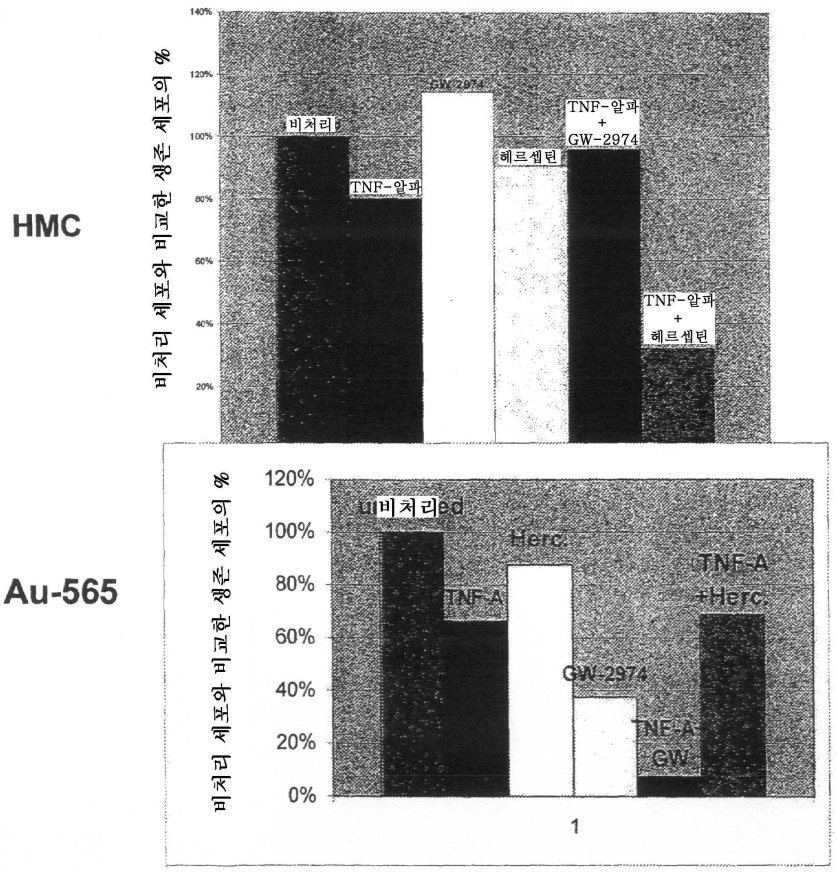


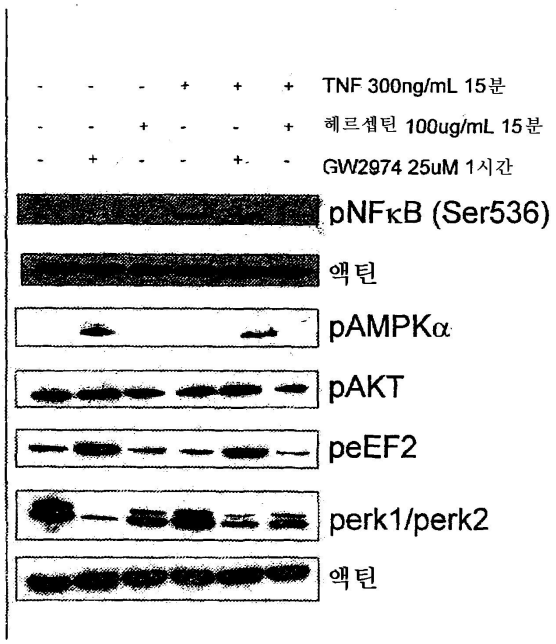
도면8

처리 및 비처리 심근세포에서 ERRα 및 MCAD의 발현



도면9



도면10

처리된 인간 심근세포