(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0103018
(43) 공개일자 2020년09월01일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/404 (2006.01) *A61K 31/222* (2006.01)
A61K 31/439 (2006.01) *A61K 31/506* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01) *G01N 33/68* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/404 (2013.01)
A61K 31/222 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-7019080
(22) 출원일자(국제) 2018년12월18일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2020년07월01일
(86) 국제출원번호 PCT/KR2018/016166
(87) 국제공개번호 WO 2019/124951
국제공개일자 2019년06월27일
(30) 우선권주장
62/607,876 2017년12월19일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
주식회사 지피씨알
서울특별시 관악구 낙성대로 38, 407호(봉천동, 낙성대알앤디센터)
(72) 발명자
신동승
대한민국 서울 서초구 고무래로 35 반포 리체 에이피티. 107-3502
김은희
대한민국 서울 송파구 올림픽로 435 파크 리오 에이피티. 227-2201
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 광장리앤고

전체 청구항 수 : 총 173 항

(54) 발명의 명칭 **GPCR 헤테로머 억제제 및 이의 용도**

(57) 요 약

본 발명은 암과 연합된, CXC 수용체 4 (CXCR4)의 억제제-G 단백질-연결된 수용체 (GPCR) 헤테로머들 (CX-CR4-GPCR 헤테로머들)에 관계하며, 여기에서 CXCR4는 다른 G 단백질-연결된 수용체들 (GPCRx)과 기능적 헤테로머를 형성한다. 보다 구체적으로, 본 발명은 CXCR4와 헤테로머를 형성하는 GPCRx에 관계하며, CXCR4 효현제와 GPCRx 효현제의 공동-자극이 있을 때, 이는 CXCR4의 하류 신호전달(signaling)의 강화를 유도한다. 본 발명은 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 상호작용 GPCR 짝의 억제제들, 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머-특이적 항체들의 형성 억제제들을 비롯한 CXCR4-GPCRx 헤테로머-특이적 억제제들의 암 진단 및/또는 치료에의 용도를 또한 제공한다.

(52) CPC특허분류
A61K 31/439 (2013.01)
A61K 31/506 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
G01N 33/57484 (2013.01)
G01N 33/6893 (2013.01)
A61K 2300/00 (2013.01)
G01N 2800/52 (2013.01)

(72) 발명자
정재연
대한민국 서울 동작구 상도로 346-1 상도 엠코타운 센트럴 파크 에이피티. 101-1005
양창수
대한민국 서울 관악구 신림로 7가길 13-38 101
이미림
대한민국 서울 관악구 복은길 67 101
김소휘
대한민국 서울 관악구 장군봉 7길 20 201
허원기
대한민국 서울 동작구 상도로 346-1 상도 엠코타운 센트럴 파크 에이피티. 101-1005
송용범
대한민국 대전 유성구 배울 2로 61 대덕 테크노 밸리 10 에이피티. 1008-602
박철오
대한민국 서울 관악구 복은 6길 72 세종 미니텔 107
박혜령
대한민국 서울 광진구 긴고랑로 4길 43
이지영
대한민국 서울 관악구 남부순환로 226길 23-35

(30) 우선권주장
62/679,598 2018년06월01일 미국(US)
62/732,946 2018년09월18일 미국(US)

명 세 서

청구범위

청구항 1

CXCR4-GPCRx 헤테로머들을 갖는 대상체에서 암의 치료, 개선, 또는 예방에 있어서, 다음을 포함하는 방법:

당해 대상체에게 치료요법적 유효량의 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제를 투여하는 것을 포함하고,

이때:

당해 대상체에서 GPCRx는 CXCR4와 헤테로머화되며,

GPCRx와 CXCR4의 헤테로머화는 CXCR4의 하류 신호전달의 향상을 수반하고; 그리고

CXCR4의 하류 신호전달은 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제에 의해 억제된다.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 이때 CXCR4와 GPCRx의 헤테로머화는 근접성-기반 검정에 의해 평가되는, 방법.

청구항 3

청구항 2에 있어서, 이때 근접 성-기반 검정은 이중분자 형광 상보성 (BiFC), 근접성 결찰 검정 (PLA), 형광 공명 에너지 전달 (FRET), 생물발광 공명 에너지 전달 (BRET), 시스테인 가교, 그리고 공동-면역침전으로 구성된 군에서 선택되는, 방법.

청구항 4

청구항 1-3중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4에 GPCRx의 헤테로머화는 공동-내재화 검정에 의해 평가되는, 방법.

청구항 5

청구항 1-4중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4의 세포 하류 신호전달의 강화는 세포내 Ca2+ 검정에 의해 평가되는, 방법.

청구항 6

청구항 1-5중 임의의 한 항에 있어서, 이때 GPCRx는 ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, APLNR, C5AR1, CALCR, CCR5, CHRM1, GALR1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, PTGER2, PTGER3, SSTR2, 및 TACR3인, 방법.

청구항 7

청구항 1-6중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제는 CXCR4의 억제제인, 방법.

청구항 8

청구항 7에 있어서, 이때 CXCR4의 억제제는 AD-114, AD-114-6H, AD-114-Im7-FH, AD-114-PA600-6H, ALX-0651, ALX40-4C, AMD070 (AMD11070, X4P-001), AMD3100 (플레릭사포르), AMD3465, ATI 2341, BKT140 (BL-8040; TF14016; 4F-벤조일-TN14003), CTCE-9908, CX549D-[Lys3] GHRP-6, FC122, FC131, GMI-1359, GSK812397, GST-NT21MP, 이소티오우레아-1a, 이소티오우레아-1t (IT1t), KRH-1636, KRH-3955, LY2510924, LY2624587, MSX-122, N-[^{11}C]메틸-AMD3465, PF-06747143, POL6326, SDF-1 1-9[P2G]다이머, SDF1 P2G, T134, T140, T22, TC 14012, TG-0054 (부릭사포르), USL311, 울로쿠플루맙 (MDX1338/BMS-936564), 바이러스성 대식세포 염증성 단백질-II (vMIP-II), WZ811, 12G5, 238D2, 238D4, [^{64}Cu]-AMD3100, [^{64}Cu]-AMD3465, [^{68}Ga]펜티사포르, [^{90}Y]펜티사테르, [^{99m}Tc]O_2-AMD3100, [^{177}Lu]펜티사테르, 그리고 508MC1 (화합물 26)로 구성된 군에서 선택되는, 방법.

청구항 9

청구항 7에 있어서, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제는 CXCR4의 길항제인, 방법.

청구항 10

청구항 9에 있어서, 이때 CXCR4의 길항제는 ALX40-4C, AMD070 (AMD 11070, X4P-001), AMD3100 (플레릭사포르), AMD3465, ATI 2341, BKT140 (BL-8040; TF14016; 4F-벤조일-TN14003), CTCE-9908, CX549D-[Lys3] GHRP-6, FC122, FC131, GMI-1359, GSK812397, GST-NT21MP, 이소티오우레아-1a, 이소티오우레아-1t (IT1t), KRH-1636, KRH-3955, LY2510924, MSX-122, N-[^{11}C]메틸-AMD3465, POL6326, SDF-1 1-9[P2G]다이머, SDF1 P2G, T134, T140, T22, TC 14012, TG-0054 (부릭사포르), USL311, 바이러스성 대식세포 염증성 단백질-II (vMIP-II), WZ811, [^{64}Cu]-AMD3100, [^{64}Cu]-AMD3465, [^{68} Ga]펜티사포르, [^{90}Y]펜티사테르, [^{99m}Tc]O_2-AMD3100, [^{177}Lu]펜티사테르, 그리고 508MC1 (화합물 26)로 구성된 군에서 선택되는, 방법.

청구항 11

청구항 7에 있어서, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제는 GPCRx의 억제제를 더 포함하는, 방법.

청구항 12

청구항 11에 있어서, 이때 GPCRx의 억제제는 CXCR4의 억제제와 동시에 또는 연속적으로 투여되는, 방법.

청구항 13

청구항 1-12중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제는 GPCRx의 길항제, 역 효현제, 알로스테릭 조절자, 항체 또는 이의 결합 부분, 또는 리간드의 조합이거나, 또는 이들의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 14

청구항 13에 있어서, 이때 GPCRx의 길항제는 ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, PTGER2, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된 분자의 길항제인, 방법.

청구항 15

청구항 14에 있어서, 이때 GPCRx의 길항제는 알프레놀롤, 아테놀롤, 베탁솔롤, 부프라놀롤, 부톡사민, 카라졸롤, 카르베딜롤, CGP 12177, 시클로프롤롤, ICI 118551, ICYP, 라베타롤, 레보베타옥솔롤, 레보부노롤, LK 204-545, 메토프롤롤, 나돌롤, NIHP, NIP, 프로파페논, 프로프라놀롤, 소탈롤, SR59230A, 및 티몰롤로 구성된 군에서 선택된, ADRB2의 길항제인, 방법.

청구항 16

청구항 15에 있어서, 이때 ADRB2의 길항제는 카르베디롤인, 방법.

청구항 17

청구항 14에 있어서, 이때 GPCRx의 길항제는 α-CGRP-(8-37) (인간), AC187, CT-(8-32) (연어), 그리고 울세게판트로 구성된 군에서 선택된 CALCR 길항제인, 방법.

청구항 18

청구항 17에 있어서, 이때 CALCR의 길항제는 AC187인, 방법.

청구항 19

청구항 14에 있어서, 이때 GPCRx의 길항제는 3-퀴누클리디닐 벤질레이트 (QNB), 4-DAMP, 아클리디늄, AE9C90CB, AFDX384, 아미트립틸린, AQ-RA 741, 아트로핀, 벤즈아트로핀, 비페리덴, 다리페나신, 디사이클로민, 도술레핀, 에토프로파진, 글리코피롤레이트, 구아닐피렌제핀, 헥사히드로디페니돌, 헥사하이드로실라디페니돌, 헥소사이클리움, 힘바신, 이프라트로피움, 리토콜릴콜린, 메톡트라민, ML381, 무스카린 독소 1, 무스카린 독소 2, 무스카린 독소 3, N-메틸 스코폴아민, 오텐제파드, 옥시부티닌, *p*-F-HHSiD, 피렌제핀, 프로판텔린, (R,R)-퀴누클리디닐-4-fluoro메틸-벤질레이트, 스코폴아민, 실라헥시사이클륨, 솔리페나신, 텔렌제핀, 티오트로피움, 톨테로딘,

트리헥시페니딜, 트리피티트라민, UH-AH 37, 우메클리디니움, 그리고 VU0255035로 구성된 군에서 선택되는 CHRM1 길항제인, 방법.

청구항 20

청구항 19에 있어서, 이때 CHRM1의 길항제는 옥시부티닌, 우메클리디니움, 그리고 VU0255035로 구성된 군에서 선택되는, 방법.

청구항 21

청구항 14에 있어서, 이때 GPCRx의 길항제는 A192621, 암브리센탄, 아트라센탄, 보센탄 (RO 470203, 트라클레르);, BQ788, IRL 2500, K-8794, 마씨텐탄, RES7011, Ro 46-8443, SB209670, SB217242 (엔라센탄), TAK 044, 그리고 테조센탄 (RO610612)로 구성된 군에서 선택된 EDNRB의 길항제인, 방법.

청구항 22

청구항 21에 있어서, 이때 EDNRB의 길항제는 보센탄인, 방법.

청구항 23

청구항 14에 있어서, 이때 GPCRx의 길항제는 (-)-클로로페니라민, (+)-클로로페니라민, (-)-*트란스*-H_2-PAT, (+)-*시스*-H_2-PAT, (+)-*트란스*-H_2-PAT, (±)-*시스*-H_2-PAT, (±)-*트란스*-H_2-PAT, *(R)*-세티리진, *(S)*-세티리진, 9-OH-리스페리돈, A-317920, A-349821, ABT-239, 아리메마진, 아미트립틸린, 아리피프라졸,아르프로미딘, 아세나핀, 아스테미졸, AZD3778, 아제라스틴, BU-E 47, 세티리진, 클로로페니라민, 클로르프로마진, 씨프록시판, 클레마스틴, 클로벤프로피트, 클로자핀, 코네신, 시클리진, 사이프로헵타딘, 데스로라타딘, 디펜히드라민, 도술레핀, 독세핀, 에피나스틴, 페소페나딘, 플루페나진, 플루스피릴렌, 할로페리돌, 히드록시진, 임프로미딘, INCB-38579, JNJ-39758979, 케토티펜, 로라타딘, 록사핀, MK-0249, 모린돈, 오란자핀, 페르페나진, 피모지드, 피팜페론, 피톨리산트, 프로메타진, 피릴라민, 퀘티아핀, 리스페리돈, 세르틴돌, 테르페나딘, 티오리다진, 티오티센, 트리플루페라진, 트리페렌아민, 트리프롤리딘, 지프라시돈, 그리고 조테핀으로 구성된 군에서 선택된 HRH1의 길항제인, 방법.

청구항 24

청구항 23에 있어서, 이때 HRH1의 길항제는 세티리진, 피릴라민, 히드록시진, 또는 로라타딘인, 방법.

청구항 25

청구항 14에 있어서, 이때 GPCRx의 길항제는 GM-109, MA-2029, 그리고 OHM-11526으로 구성된 군에서 선택된 MLNR의 길항제인, 방법.

청구항 26

청구항 25에 있어서, 이때 MLNR의 길항제는 MA-2029인, 방법.

청구항 27

청구항 14에 있어서, 이때 GPCRx의 길항제는 메클리너탄트, SR48527, SR48692, 그리고 SR142948A로 구성된 군에서 선택된 NTSR1의 길항제인, 방법.

청구항 28

청구항 27에 있어서, 이때 NTSR1의 길항제는 메클리너탄트인, 방법.

청구항 29

청구항 14에 있어서, 이때 GPCRx의 길항제는 [Trp^7, β-Ala^8]뉴로키닌 A-(4-10), AZD2624, FK 224, GR138676, GSK 172981, GSK 256471, N',2-디페닐퀴놀린-4-카르보히드라지드 8m, N',2-디페닐퀴놀린-4-카르보히드라지드, 오사네탄트, PD 154740, PD 161182, PD157672, 사레두탄트, SB 218795, SB 222200, SB 235375, SCH 206272,

SSR 146977, 그리고 탈네탄트로 구성된 군에서 선택된 TACR3의 길항제인, 방법.

청구항 30

청구항 29에 있어서, 이때 TACR3의 길항제는 SSR146977인, 방법.

청구항 31

청구항 1-30중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제는 단백질-단백질 상호작용 (PPI) 억제제인, 방법.

청구항 32

청구항 1-31중 임의의 한 항에 있어서, 이때 암은 유방암, 폐암, 뇌암, 신장암, 췌장암, 난소암, 전립선암, 흑색종, 다발성 골수종, 위장암, 신장 세포 암종, 연조직 육종, 간세포 암종, 위암, 결장직장암, 식도암 및 백혈병 구성된 군에서 선택되는, 방법.

청구항 33

청구항 1-32중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4-GCPRx 헤테로머의 억제제는 약제학적 조성물 안에서 당해 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 34

암의 치료, 개선 또는 예방에 대하여 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 보유한 대상체의 반응 또는 잠재적 반응을 평가하는 방법에 있어서, 다음을 포함하는 방법:

상기 대상체로부터 샘플을 획득하고;

상기 샘플에서 CXCR4와 GPCRx의 헤테로머화를 탐지하고; 그리고

CXCR4와 GPCRx의 헤테로머화 탐지에 최소한 일부분 근거하여 암의 치료, 개선 또는 예방에 대하여 대상체의 반응 또는 잠재적 반응을 평가한다.

청구항 35

청구항 34에 있어서, 이때 CXCR4와 GPCRx의 헤테로머화는 CXCR4의 하류 신호전달의 향상을 수반하는, 방법.

청구항 36

청구항 35에 있어서, 이때 CXCR4의 세포 하류 신호전달의 강화는 세포내 Ca2+ 검정에 의해 평가되는, 방법.

청구항 37

청구항 34-36중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4에 GPCRx의 헤테로머화는 근접성-기반 검정에 의해 평가되는, 방법.

청구항 38

청구항 37에 있어서, 이때 근접성-기반 검정은 이중분자 형광 상보성 (BiFC), 근접성 결찰 검정 (PLA), 형광 공명 에너지 전달 (FRET), 생물발광 공명 에너지 전달 (BRET), 시스테인 가교, 그리고 공동-면역침전으로 구성된 군에서 선택되는, 방법.

청구항 39

청구항 34-38중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4와 GPCRx의 헤테로머화는 공동-내재화 검정에 의해 평가되는, 방법.

청구항 40

CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 세포를 갖는 환자에서 암을 치료하는 방법에 있어서, 다음을 포함하는 방법:

당해 환자에게 CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억

제제 또는 억제제들의 조합을 투여하고; 이때:

i)CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 갖고; 그리고

ii) 상기 투여된 억제제 또는 억제제들의 조합은 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달을 억제한다

청구항 41

암을 앓고 있는 환자의 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달을 억제하는 방법에 있어서, 다음을 포함하는 방법:

당해 환자에게 CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합을 투여하고; 이때:

i) CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 갖고; 그리고

ii) 상기 투여된 억제제 또는 억제제들의 조합은 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달을 억제한다.

청구항 42

CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 세포를 갖는 환자에서 암 치료용으로 사용하기 위한 약제학적 키트에 있어서, 다음을 포함하는 약제학적 키트:

CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합;

이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 갖는다.

청구항 43

CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 세포를 갖는 환자에서 암 치료용으로 사용하기 위한 약제학적 조성물에 있어서, 다음을 포함하는 약제학적 조성물:

i) CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합; 그리고

ii) 약제학적으로 수용가능한 운반체;

이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 갖는다.

청구항 44

CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 세포를 갖는 환자에서 암 치료 방법에 있어서, 다음을 포함하는 방법:

이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 갖고:

1) 당해 환자가 강화된 하류 신호전달을 보유하는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 암 세포를 가지고 있는 지를 결정하기 위하여, 당해 환자로부터 생물학적 샘플을 획득하거나, 또는 획득하였고, 상기 생물학적 샘플에서 검정을 실행하거나, 또는 실행하였고

i) 당해 환자의 암 세포는 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 지를 결정하고; 또는

ii) CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약이 환자 유래된 세포(들)에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 성질 또는 기능을 변경시키는 지를 ㄱ결정하고; CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하는 환자로부터 유래된 세포(들)의 헤테로머-특이적 성질을 변경시키는 지를 결정하고;

또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포(들)의 세포 증식을 감소시키는지를 결정하고; 그리고

2) 당해 환자가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 암 세포를 보유한다면, 그런 경우, CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합을 당해 암 환자에게 내부적으로 투여한다.

청구항 45

CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 세포를 갖는 환자에서 암 치료 방법에 있어서, 다음을 포함하는 방법:

1) 환자로부터 생물학적 샘플을 획득하거나, 또는 획득하였고, 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머가 당해 환자의 암 세포에 내포되어 있는 지를 결정하기 위하여 당해 생물학적 샘플에서 검정을 실행을 하거나, 또는 실행하였고, 당해 환자의 암 세포에 CXCR4-GPCRx 헤테로머가 내포되어 있는 지를 결정하고; 이때:

a) CXCR4-GPCRx 헤테로머의 GPCRx는 다음으로 구성된 군에서 선택된다: ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3; 그리고

b) 상기 생물학적 샘플 상에서 실행된 검사는 다음중 하나 또는 그 이상이거나, 또는 다음중 하나 또는 그 이상을 포함하고: 공동-내재화 검정, 공동-편재화 검정, 제자리 혼성화법, 면역조직화학법, 면역전자 현미경법, 근접성-기반 검정, 공동-면역침전 검정, 효소-연계된 면역흡착 검정 (ELISA), 유동 세포측정법, RNAseq, qRT-PCR, 마이크로어레이, 또는 형광 동물 검정; 그리고

2) 당해 환자의 암 세포가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포한다면, 그런 경우, CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합을 당해 환자에게 내부적으로 투여한다.

청구항 46

청구항 40-45중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 상기 강화된 하류 신호전달을 갖거나, 야기하거나 또는 생성하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 47

청구항 40-45중 임의의 한 항에 있어서, 이때 강화된 하류 신호전달은 CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터 기인된, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 48

청구항 40-45중 임의의 한 항에 있어서, 이때 강화된 하류 신호전달은 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 효현성(agonism)으로 기인된, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 49

청구항 40-45중 임의의 한 항에 있어서, 이때 강화된 하류 신호전달은 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 CXCR4 효현성으로 기인된, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 50

청구항 40-45중 임의의 한 항에 있어서, 이때 강화된 하류 신호전달은 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 GPCRx 효현성으로 기인된, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 51

청구항 40-45중 임의의 한 항에 있어서, 이때 강화된 하류 신호전달은 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 CXCR4 효현성과 GPCRx 효현성으로 기인된, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 52

청구항 40-51중 임의의 한 항에 있어서, 이때 강화된 하류 신호전달은 CXCR4, 각 GPCRx, 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 하류인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 53

청구항 40-51중 임의의 한 항에 있어서, 이때 강화된 하류 신호전달은 CXCR4의 하류인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 54

청구항 40-51중 임의의 한 항에 있어서, 이때 강화된 하류 신호전달은 각 GPCRx의 하류인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 55

청구항 40-51중 임의의 한 항에 있어서, 이때 강화된 하류 신호전달은 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 하류인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 56

청구항 40-51중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달은 이들의 각 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 프로토머 또는 각 GPCRx 프로토머로부터의 하류 신호전달에 관계된, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 57

청구항 40-51중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달은 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 프로토머로부터의 하류 신호전달에 관계된, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 58

청구항 40-51중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달은 개별 프로토머 구성에서 각 GPCRx 프로토머로부터의 하류 신호전달에 관계된, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 59

청구항 40-51중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달은 이들의 각 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 프로토머 및 각 GPCRx 프로토머로부터의 하류 신호전달에 관계된, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 60

청구항 40-59중 임의의 한 항에 있어서, 이때 억제제 또는 억제제들의 조합은 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달을 억제하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 61

청구항 40-59중 임의의 한 항에 있어서, 이때 투여된 억제제 또는 억제제들의 조합은 당해 환자의 암 세포에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터의 강화된 하류 신호전달을 억제하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 62

청구항 40-61중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달은 세포내 Ca2+ 검정에 의해 결정되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 63

청구항 62에 있어서, 이때 세포내 Ca2+ 검정은 칼슘 동원 검정인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 64

청구항 40-63중 임의의 한 항에 있어서, 이때 강화된 하류 신호전달은 강화된 양의 칼슘 동원인, 치료 방법, 억

제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 65

청구항 64에 있어서, 이때 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제로 공동-자극될 때 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터의 강화된 양의 칼슘 동원은 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, 전술한 세포를 CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제에 의한 단일 효현제 자극으로부터 생성된 칼슘 동원 양의 합보다 더 큰 칼슘 동원 양인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 66

청구항 64에 있어서, 이때 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제로 공동-자극될 때, 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터의 강화된 양의 칼슘 동원은 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, 전술한 세포를 CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제에 의한 단일 효현제 자극으로부터 생성된 칼슘 동원 양의 합보다 적어도 10% 이상, 적어도 20% 이상, 적어도 30% 이상, 적어도 40% 이상, 적어도 50% 이상, 적어도 75% 이상, 또는 적어도 90% 이상인 칼슘 동원 양인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 67

청구항 64에 있어서, 이때 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제로 공동-자극될 때 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터의 강화된 양의 칼슘 동원은 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때 전술한 세포를 CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제에 의한 단일 효현제 자극으로부터 생성된 칼슘 동원 양의 합보다 적어도 100% 이상 더 큰 칼슘 동원 양인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 68

청구항 64-67중 임의의 한 항에 있어서, 이때 강화된 양의 칼슘 동원 세포내 Ca2+ 검정에 의해 결정되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 69

청구항 68에 있어서, 이때 세포내 Ca2+ 검정은 칼슘 동원 검정인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 70

청구항 64-67중 임의의 한 항에 있어서, 이때 강화된 양의 칼슘 동원은 칼슘 동원의 상승적(synergistic) 양인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 71

청구항 70에 있어서, 이때 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제로 공동-자극될 때, 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터의 상승적 양의 칼슘 동원은 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, 전술한 세포를 CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제에 의한 단일 효현제 자극으로부터 생성된 칼슘 동원 양의 합보다 적어도 10% 이상, 적어도 20% 이상, 적어도 30% 이상, 적어도 40% 이상, 적어도 50% 이상, 적어도 75% 이상, 또는 적어도 90% 이상인 칼슘 동원 양인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 72

청구항 40-70중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머 다음 특징들중 2개 또는 그 이상을 갖는. 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트:

1) 공동-내재화 검정, 공동-편재화 검정, 제자리 혼성화법, 면역조직화학법, 면역전자 현미경법, 근접성-기반 검정, 공동-면역침전 검정, 효소-연계된 면역흡착 검정 (ELISA), 유동 세포측정법, RNAseq, qRT-PCR, 마이크로어레이, 또는 형광 동물 검정중 하나 또는 그 이상을 통하여 결정하였을 때, 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머 성분들은 공동국소화되고;

2) 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, 강화된 양의 칼슘 동원은

a) 세포에서 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 또는 각 GPCRx 는 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제의 공동-자극

시에, CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제에 의한 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합에 대등한 또는 이보다 적은 칼슘 동원 양을 초래하고 그리고

b) CXCR4-GPCRx 헤테로머는 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제로의 공동-작극시, CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제로의 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합과 비교하여, 강화된 칼슘 동원을 나타내고; 또는

3) CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은

i) 환자 유래된 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 성질을 변경시키고;

ii)환자 유래된 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 기능을 변경시키고;

iii) CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하는 환자 유래된 세포의 헤테로머-특이적 성질을 변경시키고; 또는

iv) CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포(들)의 세포 증식을 감소시킨다.

청구항 73

청구항 40-72중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머 성분들은 개별 프로토머 CXCR4와 GPCRx를 포함하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 74

청구항 72 또는 청구항 73에 있어서, 이때 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 또는 각 GPCR를 포함하는 세포는 독립적으로 다음을 포함하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트:

i) 차례로, 각 개별 프로토머 GPCRx 부재 하에서 개별 프로토머 CXCR4; 또는

ii) 개별 프로토머 CXCR4 부재 하에서 각 개별 프로토머 GPCRx.

청구항 75

청구항 72-74중 임의의 한 항에 있어서, 이때 개별 프로토머 구성에서 CXCR4를 포함하는 세포는 각 개별 프로토머 GPCRx 부재 하에서 전술한 개별 프로토머 CXCR4를 포함하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 76

청구항 72-74중 임의의 한 항에 있어서, 이때 개별 프로토머 구성에서 각 GPCRx를 포함하는 세포는 개별 프로토머 CXCR4 부재 하에서 전술한 각 개별 프로토머 GPCRx를 포함하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 77

청구항 40-76중 임의의 한 항에 있어서, 이때 공동-내재화 검정, 공동-편재화 검정, 제자리 혼성화법, 면역조직화학법, 면역전자 현미경법, 근접성-기반 검정, 공동-면역침전 검정, 효소-연계된 면역흡착 검정 (ELISA), 유동 세포측정법, RNAseq, qRT-PCR, 마이크로어레이, 또는 형광 동물 검정중 하나 또는 그 이상을 통하여 결정하였을 때, 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머 성분들은 공동국소화되고, 직접적으로 또는 다른자리입체성을 위한 전달관으로 작용하는 중간 단백질들을 경유하여 물리적으로 상호작용하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 78

청구항 77에 있어서, 이때 근접성-기반 검정은 공명 에너지 전달 (RET), 생물발광 RET (BRET), 형광 RET (FRET), 시간-분해 형광 RET (TR-FRET), 항체-지원된 FRET, 리간드-지원된 FRET, 이중분자 형광 상보성 (BiFC), 또는 근접성 결찰 검정 (PLA)이거나, 또는 이를 포함하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 79

청구항 40-76중 임의의 한 항에 있어서, 이때 공동-내재화 검정, 이중분자 형광 상보성 (BiFC), 또는 근접성 결찰 검정 (PLA)중 하나 또는 그 이상을 통하여 결정하였을 때, 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머 성분들은 공동국

소화되고, 직접적으로 또는 다른자리입체성을 위한 전달관으로 작용하는 중간 단백질들을 경유하여 물리적으로 상호작용하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 80

청구항 40-79중 임의의 한 항에 있어서, 이때 당해 환자의 암 세포는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 81

청구항 40-80중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, 다음과 같은 강화된 양의 칼슘 동원을 나타내는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트:

a) 세포 안에서 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 또는 각 GPCRx는 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제로 공동-자극시, CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제의 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합에 대등한 또는 이보다 적은 칼슘 동원 양을 초래하고; 그리고

b) CXCR4-GPCRx 헤테로머는 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제로의 공동-작극시, CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제로의 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합과 비교하여, 강화된 칼슘 동원을 나타낸다.

청구항 82

청구항 40-80중 임의의 한 항에 있어서, 이때:

i) 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, 세포에서 개별 프로토머 구성에서 프로토머 CXCR4 또는 GPCRx로부터의 칼슘 동원은 비-상승적이며; 그리고

ii) 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터의 칼슘 동원은 상승적인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 83

청구항 40-82중 임의의 한 항에 있어서, 이때 개별 프로토머 구성에서

a) 세포에서 각 개별 프로토머 GPCRx 부재 하에서 개별 프로토머 CXCR4; 또는

b) 세포에서 개별 프로토머 CXCR4 부재 하에서 각 개별 프로토머 GPCRx는 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제의 공동-자극 시, 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제에 의한 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합과 같거나, 또는 이보다 적은 칼슘 동원 양을 초래하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 84

청구항 40-82중 임의의 한 항에 있어서, 이때 개별 프로토머 구성에서, 독립적으로:

a) 세포에서 각 개별 프로토머 GPCRx 부재 하에서 개별 프로토머 CXCR4; 그리고

b) 세포에서 개별 프로토머 CXCR4 부재 하에서 각 개별 프로토머 GPCRx는 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제의 공동-자극 시, 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제에 의한 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합과 같거나, 또는 이보다 적은 칼슘 동원 양을 초래하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 85

청구항 40-84중 임의의 한 항에 있어서, 이때 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제의 공동-자극 시, CXCR4-GPCRx 헤테로머는 CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제로 전술한 세포의 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합보다 더 큰 칼슘 동원 양을 초래하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 86

청구항 85에 있어서, 이때 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 공동-자극으로 인

한 칼슘 동원 양은 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 합과 비교하여, 강화된 양의 칼슘 동원인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 87

청구항 86에 있어서, 이때 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, 상기 강화된 양의 칼슘 동원은 CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제의 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원의 합보다 적어도 10% 이상, 적어도 20% 이상, 적어도 30% 이상, 적어도 40% 이상, 적어도 50% 이상, 적어도 75% 이상, 또는 적어도 90% 이상 더 큰, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 88

청구항 86 또는 청구항 87에 있어서, 이때 강화된 양의 칼슘 동원은 칼슘 동원의 상승적 양인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 89

청구항 40-71중 임의의 한 항에 있어서, 이때 방법은 CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약을 투여하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 90

청구항 72-89중 임의의 한 항에 있어서,

이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은

i) 환자 유래된 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 성질을 변경시키고;

ii) 환자 유래된 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 기능을 변경시키고;

iii) CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하는 환자 유래된 세포의 헤테로머-특이적 성질을 변경시키고; 또는

iv) CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포의 세포 증식을 감소시키는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 91

청구항 90에 있어서, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 당해 환자 유래된 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 성질을 변경시키는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 92

청구항 90에 있어서, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 당해 환자 유래된 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 기능을 변경시키는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 93

청구항 90에 있어서, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하는 환자 유래된 세포의 헤테로머-특이적 성질을 변경시키는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 94

청구항 90에 있어서, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하는 환자 유래된 세포의 세포 증식을 감소시키는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 95

청구항 89-94중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 CXCR4 억제제, GPCRx 억제제, 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머 억제제인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 96

청구항 89-94중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 CXCR4 길항제, GPCRx 길항제, 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머 길항제인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 97

청구항 89-96중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 약제학적 조성물로써 투여되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 98

청구항 40-88중 임의의 한 항에 있어서, 이때 방법은 CXCR4 억제제, GPCRx 억제제, 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제를 투여하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 99

청구항 98에 있어서, 이때 억제제는 약제학적 조성물로써 투여되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 100

청구항 99에 있어서, 이때 투여된 억제제는 CXCR4 억제제인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 101

청구항 99에 있어서, 이때 투여된 억제제는 GPCRx 억제제인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 102

청구항 99에 있어서, 이때 투여된 억제제는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 103

청구항 40-88중 임의의 한 항에 있어서, 이때 방법은 CXCR4 억제제, GPCRx 억제제, 그리고 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제들의 조합을 투여하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 104

청구항 103에 있어서, 이때 억제제들의 조합은 약제학적 조성물로써 투여되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 105

청구항 103에 있어서, 이때 억제제들의 조합은 CXCR4 억제제와 GPCRx 억제제를 포함하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 106

청구항 103에 있어서, 이때 억제제들의 조합은 CXCR4 억제제와 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제를 포함하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 107

청구항 103에 있어서, 이때 억제제들의 조합은 GPCRx 억제제와 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제를 포함하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 108

청구항 103-107중 임의의 한 항에 있어서, 이때 억제제들의 조합은 순차적으로(sequentially), 동시에(concurrently) 또는 일제히(simultaneously) 투여되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 109

청구항 103-108중 임의의 한 항에 있어서, 이때 억제제들의 조합은 약제학적으로 수용가능한 운반체를 더 포함하는 약제학적 조성물로써 투여되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 110

청구항 103-109중 임의의 한 항에 있어서, 이때 억제제들의 조합은 별개의 약제학적 조성물로 투여되며, 이때 별개의 약제학적 조성물은 독립적으로 약제학적으로 수용가능한 운반체를 더 포함하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 111

청구항 40-110중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4 억제제는 CXCR4의 길항제, CXCR4의 역 효현제, CXCR4의 부분적 길항제, CXCR4의 알로스테릭 조절자, CXCR4의 항체, CXCR4의 항체 단편, 또는 CXCR4의 리간드인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 112

청구항 40-111중 임의의 한 항에 있어서, 이때 GPCRx 억제제는 GPCRx의 길항제, GPCRx의 역 효현제, GPCRx의 부분 길항제, GPCRx의 알로스테릭 조절자, GPCRx의 항체, GPCRx의 항체 단편, 또는 GPCRx의 리간드인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 113

청구항 40-112중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 길항제, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 역 효현제, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 부분적 길항제, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 알로스테릭 조절자, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 항체, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 항체 단편, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 리간드, 또는 단백질-단백질 상호작용 (PPI) CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 114

청구항 40-110중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4 억제제, GPCRx 억제제, 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제는 항체-약물 콘쥬게이트인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 115

청구항 40-114중 임의의 한 항에 있어서, 이때 치료요법적 유효량의 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제가 당해 환자에게 투여되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 116

청구항 40-114중 임의의 한 항에 있어서, 이때 치료요법적으로 준(sub)-유효량의 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제가 당해 환자에게 투여되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 117

청구항 40-116중 임의의 한 항에 있어서, 이때 치료요법적 유효량의 CXCR4 억제제가 당해 환자에게 투여되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 118

청구항 40-116중 임의의 한 항에 있어서, 이때 치료요법적으로 준-유효량의 CXCR4 억제제는 당해 환자에게 투여

되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 119

청구항 40-118중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트: AD-114, AD-114-6H, AD-114-Im7-FH, AD-114-PA600-6H, ALX-0651, ALX40-4C, AMD070 (AMD11070, X4P-001), AMD3100 (플레릭사포르), AMD3465, ATI 2341, BKT140 (BL-8040; TF14016; 4F-벤조일-TN14003), CTCE-9908, CX549D-[Lys3] GHRP-6, FC122, FC131, GMI-1359, GSK812397, GST-NT21MP, 이소티오우레아-1a, 이소티오우레아-1t (IT1t), KRH-1636, KRH-3955, LY2510924, LY2624587, MSX-122, N-[^{11}C]메틸-AMD3465, PF-06747143, POL6326, SDF-1 1-9[P2G]다이머, SDF1 P2G, T134, T140, T22, TC 14012, TG-0054 (부릭사포르), USL311, 울로쿠플루맙 (MDX1338/BMS-936564), 바이러스성 대식세포 염증성 단백질-II (vMIP-II), WZ811, 12G5, 238D2, 238D4, [^{64}Cu]-AMD3100, [^{64}Cu]-AMD3465, [^{68}Ga]펜티사포르, [^{90}Y]펜티사테르, [^{99m}Tc]O_2-AMD3100, [^{177}Lu]펜티사테르, 그리고 508MC1 (화합물 26).

청구항 120

청구항 40-119중 임의의 한 항에 있어서, 이때 치료요법적 유효량의 GPCRx 억제제가 당해 환자에게 투여되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 121

청구항 40-119중 임의의 한 항에 있어서, 이때 치료요법적으로 준-유효량의 GPCRx 억제제가 당해 환자에게 투여되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 122

청구항 40-121중 임의의 한 항에 있어서, 이때 GPCRx는 다음으로 구성된 군에서 선택되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트: ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3.

청구항 123

청구항 40-122중 임의의 한 항에 있어서, 이때 GPCRx는 ADRB2 또는 HRH1인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 124

청구항 40-122중 임의의 한 항에 있어서, 이때 GPCRx는 ADCYAP1R1인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 125

청구항 124에 있어서, 이때 ADCYAP1R1 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트: M65, Max.d.4, MK-0893, N-스테아릴-[Nle^{17}]뉴로텐신-(6-11)/VIP-(7-28), PACAP-(6-38), 및 PG 97-269.

청구항 126

청구항 40-122중 임의의 한 항에 있어서, 이때 GPCRx는 ADORA2B인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 127

청구항 126에 있어서, 이때 ADORA2B 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트: 3-이소부틸-8-피롤리디녹산틴, 알옥사진, AS16, AS70, AS74, AS94, AS95, AS96, AS99, AS100, AS101, ATL802, BW-A1433, 카페인, CGS 15943, CPX, CSC, CVT-6883, DAX, DEPX, 데레노필린, DPCPX, FK-453,1-ABOPX, 이스트라데필린, KF26777, LAS38096, LUF5981, MRE2029F20, MRE3008F20,

MRS1191, MRS1220, MRS1523, MRS1706, MRS1754, MSX-2, OSIP339391, 펜톡시필린, 프레라데난트, PSB-10, PSB-11, PSB36, PSB603, PSB-0788, PSB1115,롤로필린, SCH 58261, SCH442416, ST-1535, 테오필린, 토나포필린, 비파네난트, 크산틴 아민 동종체, XCC, 그리고 ZM-241385.

청구항 128

청구항 40-122중 임의의 한 항에 있어서, 이때 GPCRx는 ADORA3인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 129

청구항 128-70중 임의의 한 항에 있어서, 이때 ADORA3 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트: ATL802, BW-A1433, 카페인, CGS 15943, CSC, CVT-6883, 데레노필린, 덱스니귤디핀, DPCPX, FK-453, 플라바논, 플라본, 갈랑긴, I-ABOPX, 이스트라데필린, KF26777, LAS38096, LUF5981, MRE2029F20, MRE3008F20, MRE3010F20, MRS1041, MRS1042, MRS1067, MRS1088, MRS1093, MRS1097, MRS1177, MRS1186, MRS1191, MRS1191, MRS1220, MRS1476, MRS1486, MRS1505, MRS1523, MRS1754, MRS928, MSX-2, 니카르디핀, 프레라데난트, PSB-10, PSB-11, PSB36, PSB603, PSB1115,롤로필린, 사쿠라네틴, SCH 58261, SCH442416, ST-1535, 테오필린, 토나포필린, 비파네난트, 비스나긴, VUF5574, VUF8504, VUF8507, 크산틴 아민 동종체, 그리고 ZM-241385.

청구항 130

청구항 40-122중 임의의 한 항에 있어서, 이때 GPCRx는 ADRB2인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 131

청구항 130에 있어서, 이때 ADRB2 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트: 알프레놀롤, 아테놀롤, 베탁솔롤, 부프라놀롤, 부톡사민, 카라졸롤, 카르베딜롤, CGP 12177, 시클로프롤롤, ICI 118551, ICYP, 라베타롤, 레보베타옥솔롤, 레보부노롤, LK 204-545, 메토프롤롤, 나돌롤, NIHP, NIP, 프로파페논, 프로프라놀롤, 소탈롤, SR59230A, 및 티몰롤.

청구항 132

청구항 40-122중 임의의 한 항에 있어서, 이때 GPCRx는 C5AR1인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 133

청구항 132에 있어서, 이때 C5AR1 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트: $A8^{\Delta 71-73}$, AcPhe-Orn-Pro-D-Cha-Trp-Arg, 아바코판, CO89, CHIPS, DF2593A, JPE1375, L-156,602, NDT9520492, *N* -메틸-Phe-Lys-Pro-D-Cha-Trp-D-Arg-CO_2H, PMX205, PMX53, RPR121154, 그리고 W54011.

청구항 134

청구항 40-122중 임의의 한 항에 있어서, 이때 GPCRx는 CALCR인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 135

청구항 134에 있어서, 이때 CALCR 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트: α-CGRP-(8-37) (인간), AC187, CT-(8-32) (연어), 그리고 올세게판트.

청구항 136

청구항 40-122중 임의의 한 항에 있어서, 이때 GPCRx는 CHRM1인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 137

청구항 136에 있어서, 이때 CHRM1 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트: 3-퀴누클리디닐 벤질레이트 (QNB), 4-DAMP, 아클리디늄, AE9C90CB, AFDX384, 아미트립틸린, AQ-RA 741, 아트로핀, 벤자트로핀, 비페리덴, 다리페나신, 디사이클로민, 도술레핀, 에토프로파진, 글리코피롤레이트, 구아닌피렌제핀, 헥사히드로디페니돌, 헥사하이드로실라디페니돌, 헥소사이클리움, 힘바신, 이프라트로피움, 리토콜릴콜린, 메톡트라민, ML381, 무스카린 독소 1, 무스카린 독소 2, 무스카린 독소 3, N-메틸 스코폴아민, 오텐제파드, 옥시부티닌, *p*-F-HHSiD, 피렌제핀, 프로판텔린, (R,R)-퀴누클리디닐-4-플로오르메틸-벤질레이트, 스코폴아민, 시라헥소사이클리움, 솔리페나신, 텔렌제핀, 티오트로피움, 톨테로딘, 트리헥시페니딜, 트리피티트라민, UH-AH 37, 우메클리디니움, 그리고 VU0255035.

청구항 138

청구항 40-122중 임의의 한 항에 있어서, 이때 GPCRx는 EDNRB인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 139

청구항 138에 있어서, 이때 EDNRB 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트: A192621, 암브리센탄, 아트라센탄, 보센탄 (RO 470203, 트라클레르);, BQ788, IRL 2500, K-8794, 마씨텐탄, RES7011, Ro 46-8443, SB209670, SB217242 (엔라센탄), TAK 044, 그리고 테조센탄 (RO610612).

청구항 140

청구항 40-122중 임의의 한 항에 있어서, 이때 GPCRx는 HRH1인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 141

청구항 140에 있어서, 이때 HRH1 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트: (-)-클로로페니라민, (+)-클로로페니라민, (-)-*트란스*-H_2-PAT, (+)-*시스*-H_2-PAT, (+)-*트란스*-H_2-PAT, (±)-*시스*-H_2-PAT, (±)-*트란스*-H_2-PAT, *(R)*-세티리진, *(S)*-세티리진, 9-OH-리스페리돈, A-317920, A-349821, ABT-239, 아리메마진, 아미트립틸린, 아리피프라졸,아르프로미딘, 아세나핀, 아스테미졸, AZD3778, 아제라스틴, BU-E 47, 세티리진, 클로로페니라민, 클로르프로마진, 씨프록시판, 클레마스틴, 클로벤프로피트, 클로자핀, 코네신, 시클리진, 사이프로헵타딘, 데스로라타딘, 디펜히드라민, 도술레핀, 독세핀, 에피나스틴, 페소페나딘, 플루페나진, 플루스피릴렌, 할로페리돌, 히드록시진, 임프로미딘, INCB-38579, JNJ-39758979, 케토티펜, 로라타딘, 록사핀, MK-0249, 모린돈, 오란자핀, 페르페나진, 피모지드, 피팜페론, 피톨리산트, 프로메타진, 피릴라민, 퀘티아핀, 리스페리돈, 세르틴돌, 테르페나딘, 티오리다진, 티오티센, 트리플루페라진, 트리페렌아민, 트리프롤리딘, 지프라시돈, 그리고 조테핀.

청구항 142

청구항 40-122중 임의의 한 항에 있어서, 이때 GPCRx는 MLNR인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 143

청구항 142에 있어서, 이때 MLNR 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트: GM-109, MA-2029, 그리고 OHM-11526.

청구항 144

청구항 40-122중 임의의 한 항에 있어서, 이때 GPCRx는 NTSR1인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 145

청구항 144에 있어서, 이때 NTSR1 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트: 메클리너탄트, SR48527, SR48692, 그리고 SR142948A.

청구항 146

청구항 40-122중 임의의 한 항에 있어서, 이때 GPCRx는 TACR3인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 147

청구항 146에 있어서, 이때 TACR3 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트: [Trp^{7},β-Ala^{8}]뉴로키닌 A-(4-10), AZD2624, FK 224, GR138676, GSK 172981, GSK 256471, N',2-디페닐퀴놀린-4-카르보히드라지드 8m, N',2-디페닐퀴놀린-4-카르보히드라지드, 오사네탄트, PD 154740, PD 161182, PD157672, 사레두탄트, SB 218795, SB 222200, SB 235375, SCH 206272, SSR 146977, 그리고 탈네탄트.

청구항 148

청구항 40-147중 임의의 한 항에 있어서, 이때 각 선택 GPCRx 효현제는 차례로 각 GPCRx의 천연 리간드인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 149

청구항 40-148중 임의의 한 항에 있어서, 이때 방법은 암 환자에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 탐지하는 것들 더 포함하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 150

청구항 40-149중 임의의 한 항에 있어서, 이때 방법은 암 환자에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 식별해내는 것을 더 포함하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 151

청구항 40-150중 임의의 한 항에 있어서, 이때 방법은 다음을 더 포함하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트:

i) 당해 암 환자로부터 생물학적 샘플을 획득하거나, 또는 획득하였고;

ii) 당해 암 환자로부터 획득된 생물학적 샘플에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 존재, 실제 또는 존재 및 실체를 결정하기 위한 진단적 검정을 실행하거나, 또는 실행하였고; 그리고

iii) CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달을 억제하는 억제제 또는 억제제들의 조합을 선별한다.

청구항 152

청구항 40-151중 임의의 한 항에 있어서, 이때 암은 유방암, 폐암, 뇌암, 신장암, 췌장암, 난소암, 전립선암, 흑색종, 다발성 골수종, 위장암, 신장 세포 암종, 연조직 육종, 간세포 암종, 위암, 결장직장암, 식도암 및 백혈병 구성된 군에서 선택되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 153

청구항 40-152중 임의의 한 항에 있어서, 이때 당해 환자의 생물학적 샘플은 생물학적 유체 샘플인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 154

청구항 153에 있어서, 이때 액체 생검은 생물학적 유체 샘플에서 실행되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 155

청구항 153 또는 청구항 154에 있어서, 이때 생물학적 유체 샘플은 혈액 샘플, 혈장 샘플, 타액 샘플, 뇌 유체 샘플, 눈 유체 샘플, 또는 소변 샘플인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 156

청구항 40-152중 임의의 한 항에 있어서, 이때 당해 환자의 생물학적 샘플은 생물학적 조직 샘플인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 157

청구항 156에 있어서, 이때 액체 생검은 생물학적 조직 샘플에서 실행되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 158

청구항 156 또는 청구항 157에 있어서, 이때 생물학적 조직 샘플은 장기 조직 샘플, 뼈 조직 샘플, 또는 종양 조직 샘플인, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 159

강화된 하류 신호전달을 갖는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 세포를 갖는 환자에서 암 치료 방법에 있어서, 다음을 포함하는 암 치료 방법:

1) 당해 환자가 강화된 하류 신호전달을 보유하는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 암 세포를 가지고 있는 지를 결정하기 위하여, 당해 환자로부터 생물학적 샘플을 획득하거나, 또는 획득하였고, 상기 생물학적 샘플에서 검정을 실행하거나, 또는 실행하였고:

i) 당해 환자가 강화된 하류 신호전달을 보유하는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 암 세포를 가지고 있는 지를 결정하고; 또는

ii) CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약이 환자 유래된 세포(들)에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 성질 또는 기능을 변경시키는지; 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포(들)에서 헤테로머-특이적 성질을 변경시키는지; 또는 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포(들)의 세포 증식을 감소시키는 지를 결정하고; 그리고

2) 당해 환자가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 암 세포를 보유한다면, 그런 경우, CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제들의 조합을 당해 암 환자에게 내부적으로 투여하고; 그리고

3) 만일 당해 환자가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하는 암 세포를 보유하지 않는다면, 그런 경우, 상기 암 환자에게 단독 억제제로써 CXCR4 억제제 또는 GPCRx 억제제를 내부적으로 투여한다.

청구항 160

강화된 하류 신호전달을 갖는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 세포를 갖는 환자에서 암 치료 방법에 있어서, 다음을 포함하는 암 치료 방법:

1) 당해 환자가 강화된 하류 신호전달을 보유하는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 암 세포를 가지고 있는 지를 결정하기 위하여, 당해 환자로부터 생물학적 샘플을 획득하거나, 또는 획득하였고, 상기 생물학적 샘플에서 검정을 실행하거나, 또는 실행하였고;

i) 당해 환자가 강화된 하류 신호전달을 보유하는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 암 세포를 가지고 있는 지를 결정하고; 또는

ii) CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약이 환자 유래된 세포(들)에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 성질 또는 기능을 변경시키는지; 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포(들)에서 헤테로머-특이적 성질을 변경시키는지; 또는 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포(들)의 세포 증식을 감소시키는 지를 결정하고; 그리고

2) 당해 환자가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 암 세포를 보유한다면, 그런 경우, 상기 암 환자에게

다음으로 구성괸 군에서 선택된 억제제의 조합을 내부적으로 투여하고: CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 그리고 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제; 그리고

3) 만일 당해 환자가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하는 암 세포를 보유하지 않는다면, 그런 경우, 상기 암 환자에게 단독 억제제로써 CXCR4 억제제 또는 GPCRx 억제제를 내부적으로 투여하고;

이때:

a) CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에서 CXCR4 억제제 또는 GPCRx 억제제를 단일 억제제로써 전술한 환자에게 투여하는 것과 비교하여, 상기 억제제들의 조합을 투여할 경우, 5-100% 범위에서 상기 암의 진행은 더 감소되고;

b) CXCR4 억제제를 단일 억제제로 투여하였을 때 효과와 비교하여, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에게 상기 GPCRx 억제제와 조합하여 투여할 때, CXCR4 억제제의 효능은 5-2000% 범위로 증가되거나; 및/또는

c) CXCR4 억제제를 단일 억제제로 투여하였을 때 효과와 비교하여, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에게 상기 GPCRx 억제제와 조합하여 투여할 때, CXCR4 억제제의 효능은 5-2000% 범위로 증가된다.

청구항 161

CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 세포를 갖는 환자에서 암 치료 방법에 있어서, 다음을 포함하는 암 치료 방법:

1) 환자로부터 생물학적 샘플을 획득하거나, 또는 획득하였고, 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머가 당해 환자의 암 세포에 내포되어 있는 지를 결정하기 위하여 당해 생물학적 샘플에서 검정을 실행을 하거나, 또는 실행하였고, 이에 당해 환자의 암 세포에 CXCR4-GPCRx 헤테로머가 내포되어 있는 지를 결정하고; 이때:

a) CXCR4-GPCRx 헤테로머의 GPCRx는 다음으로 구성된 군에서 선택된다: ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3; 그리고

b) 상기 생물학적 샘플 상에서 실행된 검사는 다음중 하나 또는 그 이상이거나, 또는 다음중 하나 또는 그 이상을 포함한다: 공동-내재화 검정, 공동-편재화 검정, 제자리 혼성화법, 면역조직화학법, 면역전자 현미경법, 근접성-기반 검정, 공동-면역침전 검정, 효소-연계된 면역흡착 검정 (ELISA), 유동 세포측정법, RNAseq, qRT-PCR, 마이크로어레이, 또는 형광 동물 검정; 그리고

2) 당해 환자의 암 세포가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포한다면, 그런 경우, CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제들의 조합을 당해 암 환자에게 내부적으로 투여하고; 그리고

3) 만일 당해 환자의 암 세포가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하지 않는다면, 그런 경우, 상기 암 환자에게 단독 억제제로써 CXCR4 억제제 또는 GPCRx 억제제를 내부적으로 투여한다.

청구항 162

CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 세포를 갖는 환자에서 암 치료 방법에 있어서, 다음을 포함하는 암 치료 방법:

1) 환자로부터 생물학적 샘플을 획득하거나, 또는 생물학적 샘플을 획득하였고, 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머가 당해 환자의 암 세포에 내포되어 있는 지를 결정하기 위하여 당해 생물학적 샘플에서 검정을 실행을 하거나, 또는 실행을 마침으로써 당해 환자의 암 세포에 CXCR4-GPCRx 헤테로머가 내포되어 있는 지를 결정하고; 이때:

a) CXCR4-GPCRx 헤테로머의 GPCRx는 다음으로 구성된 군에서 선택된다: ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3; 그리고

b) 상기 생물학적 샘플 상에서 실행된 검사는 다음중 하나 또는 그 이상이거나, 또는 다음중 하나 또는 그 이상을 포함한다: 공동-내재화 검정, 공동-편재화 검정, 제자리 혼성화법, 면역조직화학법, 면역전자 현미경법, 근접성-기반 검정, 공동-면역침전 검정, 효소-연계된 면역흡착 검정 (ELISA), 유동 세포측정법, RNAseq, qRT-PCR, 마이크로어레이, 또는 형광 동물 검정; 그리고

2) 당해 환자의 암 세포가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포한다면, 그런 경우, CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제들의 조합을 당해 암 환자에게 내부적으로 투여하고; 그리고

3) 만일 당해 환자의 암 세포가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하지 않는다면, 그런 경우, 상기 암 환자에게 단독 억제제로써 CXCR4 억제제 또는 GPCRx 억제제를 내부적으로 투여하고; 이때

a) CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에서 CXCR4 억제제 또는 GPCRx 억제제를 단일 억제제로써 전술한 환자에게 투여하는 것과 비교하여, 상기 억제제들의 조합을 투여할 경우, 5-100% 범위에서 상기 암의 진행은 더 감소되고;

b) CXCR4 억제제를 단일 억제제로 투여하였을 때 효과와 비교하여, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에게 상기 GPCRx 억제제와 조합하여 투여할 때, CXCR4 억제제의 효능은 5-2000% 범위로 증가되거나; 및/또는

c) GPCRx 억제제를 단일 억제제로 투여하였을 때 효과와 비교하여, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에게 상기 CXCR4 억제제와 조합하여 투여할 때, GPCRx 억제제의 효능은 5-2000% 범위로 증가된다.

청구항 163

청구항 159-162중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에서 CXCR4 억제제 또는 GPCRx 억제제를 단일 억제제로써 전술한 환자에게 투여하는 것과 비교하여, 상기 억제제들의 조합을 투여할 경우, 5-100% 범위에서 상기 암의 진행은 더 감소되는, 치료 방법.

청구항 164

청구항 159-163중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4 억제제를 단일 억제제로 투여하였을 때 효과와 비교하여, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에게 상기 GPCRx 억제제와 조합하여 투여할 때, CXCR4 억제제의 효능은 5-2000% 범위로 증가되는, 치료 방법.

청구항 165

청구항 159-164중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4 억제제를 단일 억제제로 투여하였을 때 효과와 비교하여, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에게 상기 GPCRx 억제제와 조합하여 투여할 때, CXCR4 억제제의 효능은 5-2000% 범위로 증가되는, 치료 방법.

청구항 166

청구항 40-165중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에서 CXCR4 억제제 또는 GPCRx 억제제를 단일 억제제로써 전술한 환자에게 투여하는 것과 비교하여, 상기 억제제들의 조합을 투여할 경우, 5-100% 범위에서 상기 암의 진행은 더 감소되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 167

청구항 40-166중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4 억제제를 단일 억제제로 투여하였을 때 효과와 비교하여, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에게 상기 GPCRx 억제제와 조합하여 투여할 때, CXCR4 억제제의 효능은 5-2000% 범위로 증가되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 168

청구항 40-167중 임의의 한 항에 있어서, 이때 CXCR4 억제제를 단일 억제제로 투여하였을 때 효과와 비교하여, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에게 상기 GPCRx 억제제와 조합하여 투여할 때, CXCR4 억제제의 효능은 5-2000% 범위로 증가되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 169

청구항 40-168중 임의의 한 항에 있어서, 이때 방법은 CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 그리고 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제으로 구성된 군에서 선택된 억제제들의 조합을 투여하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 170

청구항 40-169중 임의의 한 항에 있어서, 이때 방법 CXCR4 억제제와 GPCRx 억제제의 조합을 투여하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 171

청구항 40-170중 임의의 한 항에 있어서, 이때 억제제들의 조합을 투여하면 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달이 단일 억제제 투여와 비교하여, 5-2000 배 범위에서 억제되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 172

청구항 40-171중 임의의 한 항에 있어서, 이때 방법은 CXCR4-GPCRx 헤테로머 억제제를 투여하는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

청구항 173

청구항 40-172중 임의의 한 항에 있어서, 이때 억제제 또는 억제제들의 조합을 투여하면, 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달은 이들의 각 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 프로토머 또는 GPCRx 프로토머의 하류 신호전달의 억제와 비교하여, 5-2000 배 범위에서 억제되는, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **기술 분야**

[0002] 본 출원은 2017년 12월 19일자로 제출된 U.S. 가출원 번호. 62/607,876의 우선권을 주장하며, 2018년 6월 1일자로 제출된 U.S. 가출원 번호. 62/679,598의 우선권을 추가 주장하며, 그리고 2018년 9월 18일자 제출된 U.S. 가출원 번호. 62/732,946의 우선권을 더 주장한다. 전술한 관련 출원들의 각 내용은 본 명세서에 이들의 전문이 참고자료에 편입된다.

[0003] 또한, 본원에서 확인된 각 참고자료는 본 명세서에 이들의 전문이 참고자료에 편입된다.

배 경 기 술

[0004] **배경 기술**

[0005] 본원에 기술된 발명은 전반적으로 신규한 기능성 GPCR 헤테로머들의 억제제들에 관계하며, 보다 구체적으로 기능성 헤테로머의 형성 결과로써, CXCR4의 강화된 하류(downstream) 신호전달을 나타내고, 암 및 다른 질환들과 연합된 CXC 수용체 4 (CXCR4) 억제제들-G 단백질-연결된 수용체 (GPCR)의 헤테로머들에 관계한다.

[0006] G 단백질-연결된 수용체들 (GPCRs)은 G 단백질들에 연결된 7개-막 도메인 세포 표면 수용체들이다. GPCRs는 빛, 냄새, 호르몬, 신경전달물질, 케모킨, 소(small)-지질 분자 및 뉴클레오티드를 비롯한 자극을 감지함으로써 다양한 감각 및 생리학적 반응을 매개한다. 인간 게놈에는 약 800 개의 GPCR 유전자가 있으며, 그 중 절반 이상이 후각, 시각 및 미각 수용체와 같은 감각 수용체를 인코드하는 것으로 예측된다 (Bjarnadottir, 외., 2006). 나머지 350개의 GPCRs는 배아 발생, 거동, 기분, 인지, 혈압, 심박수 및 소화 과정의 조절, 면역계 및 염증 조절, 항상성 유지, 암의 성장 및 전이에 있어서 생리적으로 중요한 역할을 한다 (Filmore 2004, Overington, 외., 2006). GPCRs는 많은 질병과 연관되어 있고, 모든 처방 약물의 대략 40%가 이를 표적으로 한다 (Filmore

2004).

[0007] CXC 수용체 4 (CXCR4)는 케모킨 수용체 패밀리 GPCR의 구성원이다. CXCR4는 대부분의 조혈 세포 유형, 골수 줄기 세포, 내피 전구 세포, 혈관 내피 세포, 뉴런 및 뉴런 줄기 세포, 미세교아세포 및 성상세포에서 발현된다 (Klein and Rubin 2004, Griffith, 외., 2014). CXCR4는 일명 SDF-1 (간질 세포-유래된 인자 1)의 리간드 C-X-C 모티브 케모킨 리간드 12 (CXCL12)에 반응하며, 조혈, 심혈관 및 신경계의 배아 발달에 필수적인 역할을 한다 (Griffith, 외., 2014). CXCR4는 인간 면역결핍 바이러스 (HIV)의 공동-수용체로 발견되었으며, 성인에서 조혈 줄기 세포(HSCs)의 골수로 회귀(homing), 염증, 조직의 면역 감시 및 조직 재생에 있어서 중요한 역할을 한다 (Chatterjee, 외. 2014). CXCR4의 C-말단에서 돌연변이는 지속적인 CXCR4 활성화의 원인이며, 호중구감소증 및 B 세포 림프구감소증을 특징으로 하는 일명 WHIM 증후군 (사마귀, 저-감마글로불린 혈증, 감염 및 골수종)이라 불리는 선천성 면역 결핍을 초래한다(Hernandez, 외., 2003; Kawai, 2009). CXCR4는 또한 발달 동안, 그리고 성인에서 림프 기관 및 흉선 내에서 T 및 B 림프구 발달에 필수적인 역할을 한다(Allen, 외., 2004; Ara, 외., 2003).

[0008] CXCR4는 HIV 감염, 허혈, 상처 치유, 류마티스 관절염, 전신 홍반성 루푸스 (SLE), 간질성 폐렴, 혈관 질환, 다발성 경화증, 폐 섬유증 및 알레르기성 기도 질환과 같은 다양한 면역계 및 자가면역 질환에 연루되어 있다(Chu 외., 2017; Debnath, 외., 2013; Domanska, 외., 2013). 류마티스 관절염에서 CXCR4의 연루는 관절염 관절에서 CXCR4-양성 T-세포의 축적 증가 및 CXCR4-결핍 마우스에서 콜라겐-유도된 관절염의 감소에 의해 입증되었다 (Buckley 외., 2000; Chung 외., 2010). 더욱이, CXCR4 길항제인 AMD3100은 마우스 모델에서 콜라겐-유발된 관절염을 현저히 완화시켰다(De Klerck 외., 2005). CXCR4는 또한 폐 손상시, 순환하는 섬유아세포와 골수-유래된 전구 세포를 뽑아 모음으로써 폐 섬유증을 조절하고, AMD3100은 블레오마이신-유도된 마우스 폐 섬유증의 예방 효과를 입증하였다 (Song 외., 2010). CXCR4/CXCL12 축은 SLE의 발병 기전과 또한 관련있다. 루푸스의 마우스 모델 및 SLE 환자들에게서 단핵구, 호중구 및 B-세포와 같은 염증성 세포들은 CXCR4 발현 증가를 보여주었으며, CXCL12를 대개 주로 과발현시키는 피부 및 폐로 이동하였다(Chong and Mohan, 2009; Wang 외., 2009; Wang 외., 2010). CXCR4 길항제인 CTCE-9908은 루푸스 마우스 모델에서 생존 기간 연장 및 질병 상태 그리고 신염이 크게 개선시켰다 (Wang 외., 2009). 더욱이 CXCR4는 뇌 손상, 뇌졸중, 심근 경색증, 죽상동맥경화증을 비롯한 뇌 및 심혈관 질환, 그리고 상해-유발된 혈관 재협착증에도 또한 연루된다 (Cheng 외., 2017; Domanska, 외., 2013; Doring, 외., 2014).

[0009] 만성 림프구성 백혈병 (B-CCL) 환자의 B 세포가 표면에서 높은 수준의 기능성 CXCR4를 발현시킬 때, CXCL12 노출시 칼슘 동원 및 액틴 중합화의 강화, 그리고 CXCL12를 분비하는 골수 기질로의 이동 강화를 보여줌으로써, 암에서 CXCR4의 연루에 대하여 처음으로 주목받았다 (Burger, 외., 1999).

[0010] CXCR4는 림프절, 골수, 폐 및 간과 같이 더 높은 수준의 CXCL12를 발현하는 기관으로의 유방암 전이를 담당하는 것으로 후속적으로 특성화된다 (Muller, 외., 2001). 첫 발견이후, CXCR4는 각종 상이한 암에 연루되고, 악성 종양에서 다중의 잠재적인 역할을 한다는 것을 증거들이 증가한다. CXCR4는 유방암, 폐암, 뇌암, 신장암 (또는 신장 세포 암종), 췌장암, 난소암, 전립선암, 흑색종, 백혈병, 다발성 골수종, 위장 암 및 연조직 암종을 포함하여 23개 이상의 인간 암에서 과발현되며, 불량한 예후 마커로 간주된다(Domanska, 외., 2013; Chatterjee, 외., 2014; Furusato 외., 2010). CXCR4는 대부분의 암 유형에 의해 발현되는 유일한 케모킨 수용체이며 (Liang 외., 2015), 그리고 암 세포 및 주변 암-연루 세포에 의해 분비되는 CXCL12에 반응하여 종양 세포 성장, 생존 및 침습성을 자극한다(Burger and Kipps, 2006; Chatterjee 외., 2014; Domanska 외., 2013).

[0011] PubMed, EMBASE 및 Cochrane 라이브러리를 포함한 데이터베이스를 사용하는 체계적인 메타-검정에서 혈액 악성 종양, 유방암, 결장직장암, 식도암, 두경부암, 신장암, 폐암, 부인과 암, 간암, 전립선암 및 담낭암을 비롯한 다양한 암에서 CXCR4 과다-발현과 더 열악한 무-진행 생존율 및 전체 생존율 사이의 유의적인 연관성이 나타난다 (Du 외., 2015; Hu 외., 2015; Li 외., 2017; Wang 외., 2016; Zhao 외., 2015).

[0012] CXCR4/CXCL12 축은 종양 성장, 침습, 혈관신생(angiogenesis), 맥관형성(vasculogenesis), 전이, 약물 내성 및 암 세포-종양 미세환경 상호작용에서 중심적인 역할을 한다(D'Alterio 외., 2012; Domanska 외., 2013; Guo 외., 2016)

[0013] 암 세포 증식 및 종양 성장에서 CXCR4의 중요한 역할은 CXCR4 길항제들을 사용하여 정위(orthotopic), 피하 인간 이종이식편 및 이식유전자를 가진(transgenic) 마우스 모델과 같은 시험관내 및 생체내 다양한 실험 모델에서 입증되었다(Domanska 외., 2013). Daoy 수모세포종 세포 및 U87 교모세포종 세포는 CXCR4 발현을 나타내었고, 시험관내에서 CXCL12의 구배(gradient)에 대하여 용량-의존적 증식 증가를 나타내었고, AMD3100의

전신 투여로 인하여 두개내(intracranial) U87 및 Daoy 세포 이종이식편(xenografts)의 성장은 억제되었다(Rubin 외., 2003).

[0014] 췌장, 갑상선, 흑색종, 전립선 및 결장암 이종이식편 모델에서 암 세포의 CXCL12 발현 기관으로 전이에 있어서 CXCR4의 연루 또한 입증되었다 (Bartolome 외., 2009; De Falco 외., 2007; Taichman 외., 2002; Wang 외., 2008; Zeelenberg 외., 2003).

[0015] CXCR4의 소 분자 또는 펩티드 길항제에 대해 기술된 주요 작용 메카니즘은 BM으로부터 악성 세포를 동원하여 화학요법에 대하여 이들을 감작화(sensitizing)시키는 그들의 능력에 집중되어 있다. 이들 제제들(agents)은 짧은 반감기에 있어서 한계를 나타내어, 장기적으로 적절한 관리를 어렵게 한다(Hendrix 외., 2000). 대조적으로, 치료용 단일클론성 항체는 반감기가 더 길다는 이점이 있어서, 덜 빈번한 투여에 적합하다. 추가적으로, 인간 IgG 항체들은 항체-의존적 세포 매개된 세포독성/식작용(ADCC/ADCP)을 포함하여, 작동체(effector) 세포상에서 Fc-수용체와의 상호작용을 통해 암 세포 상의 이들 표적 단백질에 결합할 때, 세포 사멸을 유도하는 능력을 갖는다(Jiang 외., 2011). 이러한 세포 독성 작용 기전은 소분자 또는 펩티드에 고유하지 않으며, 몇몇 치료용 항체의 임상 활성에서 중요한 역할을 하는 것으로 입증되었다(Wang 외., 2015).

[0016] 중화 항-CXCR4 항체 또는 CXCR4 특이적 길항제를 사용하여 CXCR4를 표적으로 삼으면 유방암, 결장암, 간세포 암종, 골육종 및 흑색종에서 이차 기관으로의 전이 뿐만 아니라 일차 종양 성장이 억제되었다(De Falco 외., 2007; Hassan 외., 2011; Huang 외., 2009; Kim 외., 2008; Muller 외., 2001; Schimanski 외., 2006; Smith 외., 2004; Zeelenberg 외., 2003). 이식유전자를 가진 유방암 마우스 모델에서, CTCE-9908에 의한 CXCR4의 억제는 일차 종양의 성장을 감소시킬 뿐만 아니라 혈관 내피 성장 인자 (VEGF)의 발현 및 AKT 인산화를 감소시켰다(Hassan 외., 2011).

[0017] 암 줄기 세포 (CSCs)는 무한 자가-재생, 다수의 암 계통으로 분화될 잠재성, 휴면(quiescent) 상태를 채택하는 능력, 화학-요법 및 방사선-요법에 대한 본질적인 높은 내성과 같은 특성을 갖는 암 세포 집단이다. CSCs는 표준 항-증식 요법 이후, 암 재발(relapse) 및 재현(recurrence)의 주요 원인으로 간주된다. 따라서, 암 줄기 세포를 표적으로 하는 것은 암을 근절하고, 재발을 예방하기 위해 보다 효과적인 치료적 중재를 제공할 것으로 예상된다(Batlle and Clevers, 2017; Reya 외., 2001; Wurth, 2016). 흥미롭게도, CSCs는 또한 CXCR4를 발현하고, CXCR4는 이들 세포를 골수 및 뇌의 밀실구역(sub ventricular zone)과 같이 암 줄기 세포 유지, 생존 및 성장을 선호하는 CXCL12-풍부한 미세환경으로의 트래피킹 및 전이를 지휘한다. CXCR4 길항제는 이러한 보호성 미세환경으로부터 CSCs를 동원하고, 통상적인 화학-요법 및 방사선요법 및 항-혈관 신생 요법에 대하여 이들을 감작화시키는 것으로 나타났다 (Burger and Kipps, 2006; Burger and Peled, 2009; Furusato 외., 2010; Redondo-Munoz 외., 2006; Walenkamp 외., 2017; Wurth, 2016).

[0018] 종양 덩어리가 종양 미세환경 (TME)을 구성하는 암세포 또는 암 세포 역할에 추가하여, 기질 섬유아세포, 면역세포, 내피 세포, 결합 조직 및 세포외 매트릭스와 같은 다양한 세포 유형을 함유한다는 것을 보여주는 증거들이 증가되고 있다. CXCR4/CXCL12 축은 다양한 조혈계 및 비-조혈계 암에서 종양 구조, 성장, 혈관신생 및 면역 감시 회피를 지원하는 종양 세포 미세환경 상호작용에서 중추적인 역할을 한다(Burger and Kipps, 2006; Burger and Peled, 2009; Walenkamp 외., 2017). CXCL12는 CXCR4-양성 염증 세포를 종양 덩어리로 유인하고, 이들이 혈관신생을 촉진시키는(proangiogenic) 인자들을 분비하도록 만듦으로써, 내피 세포를 TME에 직접 또는 간접적으로 끌어 모아 종양 혈관 신생을 촉진할 수 있다(Owen and Mohamadzadeh, 2013; Walenkamp 외., 2017).

[0019] CXCR4/CXCL12 축이 혈관신생 억제제들에 대한 종양 반응성의 부족에 기여한다는 것을 나타내는 증거들이 증가하고 있다. 혈관 내피 성장 인자 (VEGF)는 암에서 주요 혈관생성을 촉진시키는 인자로 간주되었고, 항-VEGF 항체인 베바치주맙(bevacizumab)(Genentech)을 사용하여 직장 암종 환자에서 항-혈관신생 치료의 표적이 되었다. 놀랍게도, 베바치주맙은 암 세포에서 CXCL12 및 CXCR4의 발현을 증가시켰고, 이들 환자에서 CXCL12의 혈장 수준 증가는 질환의 신속한 진행 및 전이와 연루되어 있었다 (Owen and Mohamadzadeh, 2013; Xu 외., 2009). 따라서, 재현성 신경교종에 대하여 베바치주맙 및 플레릭사포르(plerixafor)를 이용한 조합(combination) 요법의 효과가 평가되었다 (ClinicalTrials.gov 식별자: NCT01339039). 그러나, 낮은 발생률(accrual)로 인해 이 연구는 종료되었다(Walenkamp 외., 2017).

[0020] 골수-유래된 억제 세포의 침윤을 감소시킴으로써, CD8+ 세포독성 T 세포에 대한 Treg 세포의 비를 증가시킴으로써, 또는 종양 재-맥관화(re-vascularization)를 제거함으로써, 종양 미세환경 (TME)을 파괴하고, 종양 세포를 면역 공격에 노출시키는 것으로 CXCR4/CXCL12 축의 억제가 입증되었다(Burger 외., 2011; Domanska 외., 2013; Walenkamp 외., 2017). CXCR4 길항제들인 AMD3100 또는 T22의 투여로 항체 및 췌장 관 선암종, 진행된 간세포

암종 (HCC) 및 CXCR4-형질도입된 B16 흑색종의 모델에서 세포독성 T-림프구-연합된 항원 4 (CTLA-4) 항체, 예정된 세포 사멸 단백질 1 (PD-1) 그리고 예정된 세포 사멸 리간드 1(PD-L1)과 같은 면역 체크포인트(checkpoint) 억제제들과 공조적으로 작용하여 이들의 항종양 활성이 상당히 증가되었다(Chen 외., 2015; Feig 외., 2013; Lee 외., 2006; Scala, 2015; Walenkamp 외., 2017). 이들 결과에서 CXCR4/CXCL12 축을 표적으로 하는 것이 통상적인 면역 체크포인트 억제제들에 이점을 제공한다는 것이 나타낸다.

[0021] CXCR4를 표적으로 하는 다양한 약물이 개발되었다 (Peled, 외., 2012; Debnath, 외., 2013; Walenkamp, 외., 2017). CXCR4 억제제들은 5가지 범주로 세분될 수 있을 것이다:

[0022] (1) 비-펩티드성 소분자 길항제, 이를 테면, AMD3100 (플레릭사포르, Mozobil™, Genzyme (MA, USA); (Cashen 외., 2007; Donzella 외., 1998), AMD070 (AMD11070; Crawford and Alan Kaller, 2008; Stone 외., 2007), AMD3465 (Genzyme Corp., Biochem Pharmacol. 2009 Oct 15;78(8):993-1000; Bodart 외., 2009; Ling 외., 2013), GSK812397 (Jenkinson 외., 2010; Planesas 외., 2015), KRH-3955 (Murakami 외., 2009; Nakasone 외., 2013), KRH-1636 (Ichiyama 외., 2003), D-[Lys3] GHRP-6 (Patel 외., 2012), TG-0054 (Burixafor, TaiGen Biotechnology Co., Ltd.; de Nigris 외., 2012; Hsu 외., 2015), WZ811 (Zhan 외., 2007), MSX-122 (Metastatix, Inc.; Liang 외., 2012), 그리고 508MC1 (화합물 26; Zhu 외., 2010);

[0023] (2) 소(small)-펩티드 길항제, 이를 테면, 항-HIV 펩티드 T22 (Masuda 외., 1992), T134 및 T140 (Tamamura 외., 1998), BKT140 (a/k/a BL-8040; TF14016; 4F-벤조일-TN14003, Biokine Therapeutics Ltd. (Rehovot, Israel); Fahham 외., 2012; Otani 외., 2012), ALX40-4C (Canadian company Allelix Biopharmaceuticals (ON, Canada); Doranz 외., 2001), GST-NT21MP (Yang 외., 2014), FC131 (Tanaka 외., 2009; Tanaka 외., 2008), FC122 (Inokuchi 외., 2011), POL6326 (de Nigris 외., 2012), 그리고 LY2510924 (Lilly) (Peng 외., 2015);

[0024] (3) CXCR4에 대한 항체들, 이를 테면, 울로쿠플루맙(ulocuplumab) (MDX1338/BMS-936564; Kuhne 외., 2013), PF-06747143 (Pfizer; Liu 외., 2017), 12G5 (Endres 외., 1996), i-바디 (AD-114, AD-114-6H, AD-114-Im7-FH, 그리고 AD-114-PA600-6H; AdAlta; Griffiths 외., 2016; Griffiths 외., 2018), 나노바디 (238D2와 238D4; Jahnichen 외., 2010; Proc. Natl Acad. Sci. 2010, USA 107(47), 20565-20570), 그리고 ALX-0651 (Ablynx, 바이파라토픽(biparatopic) 나노바디, ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01374503);

[0025] (4) 억제성 활성을 갖는 리간드 (CXCL12) 유사체들, 이를 테면, CTCE-9908 (Chemokine Therapeutics (BC, Canada); Wong 외., 2014); 그리고

[0026] (5) 방사능라벨된 CXCR4 리간드들, 이를 테면, [99mTc]02-AMD3100 (Hartimath 외., 2013), [68Ga]펜티사포르(pentixafor) (Demmer 외., 2011; Gourni 외., 2011), [177Lu]펜티사테르(pentixather), 및 [90Y]펜티사테르(Herrmann 외., 2016).

[0027] AMD3100 (JM 3100, 플레릭사포르, Mozobil로 시판됨)은 다양한 세포 유형에서 CXCL12-매개된 칼슘 동원 및 화학주성을 억제하고 (Hatse, Princen 외. 2002), 그리고 마우스 이종이식편 모델에서 종양 성장을 방지하는 (Rubin, Kung 외. 2003, Cho, Yoon 외. 2013, Liao, Fu 외. 2015) CXCR4-특이적 소분자 길항제다. AMD3100은 원래 HIV 치료 (HIV 진입 공동-수용체중 하나로써, CXCR4를 특이적으로 길항하는 HIV 진입 차단제로써)를 위해 개발되었지만, 2008년 림프종 및 다발성 골수종 환자들에서 줄기 세포 동원에 대해서만 U.S. Food and Drug Administration의 승인을 받았다(Keating 2011). HIV 감염에 대한 AMD3100의 초기 임상 시험 동안, 이 화합물은 골수로부터 말초 혈액으로의 조혈 줄기 세포 (HSC, $CD34^{+}$) 동원을 유발하는 것으로 주목받았다 (Broxmeyer 외., 2005; De Clercq, 2003; Liles 외., 2003).

[0028] CXCR4/CXCL12 축의 장기(long-term) 억제 후, 혈소판감소증, 너무 이른 시기의 심실 수축 및 백혈구증가증을 비롯한 심각한 부작용으로 인해 HIV 치료를 위한 AMD3100의 개발이 중단되었다 (Hendrix, 외., 2004; Peled, 외., 2012). 항암제로서 AMD3100의 사용 가능성에 대한 연구가 진행중이기는 하지만, 경구 이용률 부족 및 장기간 사용에 수반되는 일부 심각한 부작용은 극복되어야 한다 (Peled, 외., 2012). 대신, 피하 AMD3100은 G-CSF와 조합하여, US에서 비-호지킨 림프종 (NHL) 환자 또는 다발성 골수종 환자들을 위한 자가 줄기 세포 동원 및 이식용으로 최대 4일 연속으로, 그리고 유럽에서 다발성 골수종 또는 림프종 환자들의 경우 차례로 2-4일 연속과 7일 연속 사용이 승인되었다 (DiPersio 외., 2009a; DiPersio 외., 2009b; Keating, 2011). 현재까지, AMD3100은 FDA에서 승인받은 유일한 CXCR4 길항제이다.

[0029] AMD3100은 CXCR4를 발현시키는 다양한 암 세포 유형에서 CXCL12-매개된 칼슘 동원 및 화학주성을 억제하는 것으

로 나타났으며 (Hatse 외., 2002), 다양한 마우스 이종이식편 모델에서 유의적인 항-종양 활성이 입증되었는데, 전이는 감소되었고, 전반적인 생존이 증가되었다(Burger 외., 2011; Chatterjee 외., 2014; Cho 외., 2013; Debnath 외., 2013; Domanska 외., 2013; Liao 외., 2015; Rubin 외., 2003; Walenkamp 외., 2017).

[0030] 그러나, AMD3100은 시험관내에서 CXCR4의 부분적인 효현성(agonism)을 나타내는데, 흑색종 세포들의 증식을 증가시킨다 (Kim 외., 2010; Zhang 외., 2002). AMD3100은 또한 CXCL12에 대한 대안적인 케모킨 수용체인 CXCR7의 양성 알로스테릭(allosteric) 조절제로서 작용하고, CXCR7에 대한 CXCL12 결합을 증가시킨다(Kalatskaya 외., 2009). CXCR4와 같이, CXCR7은 많은 유형의 암에서 상당히 발현되며, 종양 전이와 연관된다 (Decaillot 외., 2011; Zabel 외., 2011). AMD3100의 복잡한 특성으로 인해, 암에서 AMD3100의 정확한 역할은 신중하게 조사되어야 한다.

[0031] AMD3100은 미토크산트론(mitoxantrone), 에토포시드(etoposide), 시트라빈(cytrabine), 다우노루비신(daunorubicin), 아자시티딘(azacitidine), 레날리도미드(lenalidomide), 데시타빈(decitabine), 클로파라빈(clofarabine), 플루다라빈(fludarabine) 및/또는 이다루비신(idarubicin);수용체 티로신 키나제 억제제들 AC220 및 소라페닙(sorafenib); HSP90 억제제 (Ganetespib); G-CSF; 프로테아좀 억제제 (보르테조밉(bortezomib)); 또는 단일클론성 항체 (리투시맙)와 같은 통상적인 세포 독성 약물과 조합하여 항암 약물로써 급성 골수성 백혈병 (AML), MM, 골수형상이상 증후군 (MDS), CLL, 그리고 소세포 림프구성 림프종 (SLL)을 비롯한 혈액 종양에서 임상적으로 평가되었다(ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00512252, NCT00694590, NCT00903968, NCT00990054, NCT01065129, NCT01373229, NCT01352650, NCT01236144, NCT01301963, NCT01160354, NCT01027923, NCT00943943, 그리고 NCT01435343). 재발성 또는 불응성 AML, ALL 및 MDS 환자들에서 림프종 종양 미세환경 소통 (NCT01610999)을 방해하고, 다른 항암제들과 병용하여 화학감작화에 대해 AMD3100을 검사하였다(ClinicalTrials.gov 식별자: NCT00906945 및 NCT01319864).

[0032] AMD3100은 고악성도(high grade) 신경교종, Ewing 육종, 신경모세포종, 췌장암, 난소암 및 결장직장암을 비롯한 고형 종양에서 단독으로, 또는 혈관신생 억제제인 베바치주맙과의 조합을 통하여 또한 평가되었거나 또는 평가되고 있는 중이다 (ClinicalTrials.gov 식별자: NCT01339039, NCT01977677, NCT01288573, NCT02179970, 및 NCT03277209).

[0033] AMD3100은 AML, MDS, 호중구감소증, 베타-지중해빈혈, 겸상 적혈구병, WHIMS, Fanconi 빈혈, Wiskott-Aldrich 증후군, 전신 비만세포증을 포함한 다양한 혈액 악성 종양 및 질환을 앓고 있는 환자들에서 조혈 줄기 세포/선조(progenitor) 세포/전구(precursor) 세포의 동원에 대해 시험되었거나 또는 현재 평가되고 있다((Domanska 외., 2013), NCT01058993, NCT01206075, NCT03226691, NCT00967785, NCT02678533, NCT03019809, 및 NCT00001756). 당뇨병, 상처, 임계 사지 허혈, 만성 폐쇄성 폐 질환 (COPD), 낭성 섬유증, 폐 섬유증 환자들에서 CD34+ 세포, 내피 선조 세포 세포 (EPC), 및/또는 CD117+ 선조 세포의 모집에 대해여 평가되었거나 또는 현재 평가중이다(ClinicalTrials.gov 식별자: NCT02056210, NCT02790957, NCT01916577, NCT03182426).

[0034] 항암제로서 AMD3100의 사용 가능성에 대한 연구가 진행 중이지만, 경구 이용률 부족 및 장기간 사용으로 인한 일부 심각한 부작용은 극복되어야 한다(Peled 외., 2012).

[0035] 경구로 이용가능한 CXCR4 길항제인 AMD070 (본원에서는 또한 AMD-070, AMD11070, AMD-11070, 또는 X4P-001; X4 Pharmaceuticals로도 지칭됨)은 다양한 종양 모델에서 항종양 활성이 입증되었고 (Morimoto 외., 2016; O'Boyle 외., 2013; Parameswaran 외., 2011), 그리고 단계 I/II 임상 시험에서 HIV 감염 환자들에서 연구되었다 (ClinicalTrials.gov 식별자: NCT00089466, (Debnath 외., 2013). AMD070은 현재 WHIM 증후군, 진행성 흑색종 및 신장 세포 암종 환자들에게서 단독으로, 또는 펨브롤리주맙(pembrolizumab), 니볼루맙(nivolumab) 또는 악시티닙(axitinib)과 함께 단계 I/II 임상 시험중이다 (ClinicalTrials.gov 식별자: NCT03005327, NCT02823405, NCT02923531, 및 NCT02667886).

[0036] CXCR4의 소펩티드 길항제인 T140 및 이의 유사체들인 TN14003, TC14012, 및 BKT140 (본원에서 또한 BL-8040, TF14016, 4F-벤조일-TN14003로 불림, BioLineRx, Ltd.)은 줄기 세포 동원, 소-세포 폐암 (SCLC), 유방암, 흑색종, AML, 만성 골수성 백혈병, MM, 췌장암, 및 류마티스 관절염을 비롯한 다수의 전임상 연구에서 CXCR4의 차단에 대해 입증되었다(Burger 외., 2011). 현재, BKT140은 다양한 혈액 종양에서 조혈 줄기 세포 및 선조 세포 동원에 대하여 임상 개발중에 있다(ClinicalTrials.gov 식별자: NCT02502968, NCT03154827, NCT02763384, NCT02639559, 및 NCT02462252). 추가로, BKT140은 AML를 갖는 대상체에서 시타라빈과 조합하여 종양 미세환경 상호작용 간섭에 대하여 단계 II 임상 시험중이다 (ClinicalTrials.gov 식별자: NCT02502968). 다양한 암, 이를 테면, AML, 위암, 비-소-세포 폐암 (NSCLC), 및 전이성 췌장 암에서 이것은 면역 체크포인트 억제제들, 이를

테면, 펨브롤리주맙 (Keytruda, Merck) 및아테졸리주맙(Atezolizumab)과 함께 조사중에 있다 (Tecentriq, Genentech/Roche) (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03154827, NCT03281369, NCT03337698, NCT02907099, NCT03193190, 및 NCT02826486).

[0037] 유사하게, CXCR4의 펩티드 억제제인 CTCE-9908 (Chemokine Therapeutics Corp., Canada)은 골육종 및 흑색종 마우스 모델에서 전이를 감소시켰다 (Kim 외., 2008). 진행된 고형암 환자들에서 단계 I 연구 이후, CTCE-9908은 2005년 FDA에 의해 골육종 치료용 희귀약물(orphan drug)로 지정되었다. 2008년 단계 I/II 임상 시험이 완료된 후에는 더 이상의 개발이 없었다(Debnath, 외., 2013).

[0038] 소분자 CXCR4 길항제인, MSX-122 (Altiris Therapeutics)는 고형 종양 환자들에서 임상 시험 후 폐기되었다 (ClinicalTrials.gov 식별자: NCT00591682). CXCR4 길항제를 항암제로 개발하는 분야에서 2017년 두 가지 주요 지연사유가 보고되었다. Bristol-Myers Squibb (BMS)는 고형 종양 환자들에서 온전체(fully) 인간 항-CXCR4 항체인 울로쿠플루맙(BMS-936564/MDX1338, (Kuhne 외, 2013))의 단계 I/II 단계 연구를 효능 부족으로 중단했다(https://seekingalphacom/article/4057548-bristol-failure-makes-small-dent-cxcr4-block ing-approach?page=2). 또한, Eli Lilly는 CXCR4 펩티드 길항제인 LY2510924를 포함하는 몇 가지 항-암 프로그램을 고체 종양에서 일련의 임상 시험 후(ClinicalTrials.gov 식별자: NCT02737072, NCT01391130, 및 NCT01439568) 폐기하기로 결정하였다(http://wwwfiercebiotechcom/biotech/lilly-puts-two-thirds-mid-phase-cancer-pipeline-up-for-sale-major-shake-up-r-d-priorities) 이러한 사건들은 항암제로서, 특히 고형 종양에 대한 CXCR4 길항제의 개발은 지속적인 과제임을 나타낸다.

[0039] 현재 임상 연구중인 다른 소분자 길항제는 다음과 같다:

[0040] USL311 (Upsher-Smith)은 차례로 고형 종양 및 다형성 교모세포종 (GBM) 환자에서 단계 I 및 II에 있다 (ClinicalTrials.gov 식별자: NCT02765165); GMI-1359 (Glycomimetics)는 단계 I 임상에 있다 (ClinicalTrials.gov 식별자: NCT02931214).

[0041] PF-06747143 (Pfizer), 인간화된 항-CXCR4 항체로써, 단독으로 또는 화학요법과 복합되어 AML 환자의 단계 I 임상 시험에 있다(ClinicalTrials.gov 식별자: NCT02954653, (Liu 외., 2017)).

[0042] AD-114 (i-바디, AdAlta; (Griffiths 외., 2018)는 인간화된 상어 항-CXCR4 항체이며, 2017년 특발성 폐 섬유증의 치료에 사용되는 약물 후보 물질로 미국 FDA로부터 희귀 약물 지정을 받았다 (https://www.reuters.com/article/idUSFWN1F70Y0). AD-114 연구는 주로 습성 노화-관련 황반 변성 및 비-알콜성 지방간 질환을 포함한 섬유성 상태에 중점을 두고 있다(https://lungdiseasenews.com/2017/08/23/adalta-present-research-on-investigative-therapy-ad-114-at-ipf-summit/).

[0043] POL6326 (발릭사포르티드(balixafortide), Polyphor)는 펩티드 CXCR4 길항제로써, 유방암 환자 (ClinicalTrials.gov 식별자: NCT01837095), 혈액 종양 (ClinicalTrials.gov 식별자: NCT01413568), 그리고 급성 심근 경색 환자의 줄기 세포 동원 및 치료 (ClinicalTrials.gov 식별자: NCT01905475)에서 임상 평가를 받고 있다.

[0044] 방사능라벨된 CXCR4 리간드들, 이를 테면, [99mTc]02-AMD3100 및 [68Ga]펜티사포르는 CXCR4 발현의 전임상 또는 임상 SPECT 또는 PET 영상화에 이용되어 왔다 (Demmer 외., 2011; Goumi 외., 2011; Hartimath 외., 2013; Walenkamp 외., 2017). [68Ga]펜티사포르를 이용한 PET 영상화에 의해 백혈병, 림프종, MM, 부신피질 암종 및 SCLC와 같은 혈액 및 고형 종양, 뿐만 아니라 비장증, 뇌졸중, 죽상경화증 및 심근 경색과 같은 다른 병리학 적 상태에서도 CXCR4의 발현 증가가 입증되었다(Walenkamp 외., 2017).

[0045] α- 또는 β-방출제로 라벨된 펩티드 CXCR4 리간드 ([177Lu]펜티사테르 및 [90Y]펜티사테르)는 혈액 악성 종양 환자들에서 표준 화학요법과 함께 CXCR4-지향된 엔도라디요테라피(endoradiotherapy)으로서 30 가지 이상의 요법에서 시험되었다 (Walenkamp 외., 2017).

[0046] CXCR4를 길항하는 다양한 약물, 또는 CXCR4를 표적으로 하는 다양한 항체들이 개발되어 현재 연구중이지만, 이들은 기존의 항암 요법, 또는 면역 체크포인트 억제제와 함께, 또는 단독으로 사용해도 지금까지 성공은 제한적이었다(Peled, 외., 2012, Debnath, 외., 2013, Walenkamp, 외., 2017). B 및 T 림프구 발달 및 면역 감시에서 CXCR4의 중추적인 역할로 인해, CXCR4 길항제를 이용한 CXCR4의 장기간 또는 지속적 억제는 잠재적으로 면역계 및 조혈 기능 장애를 유발하고, 암 환자를 면역 억제 위험에 노출시킬 수 있다(Burger, 2009). 조혈 줄기 세포 (HSCs)는 일반적으로 골수 틈새(bone marrow niches)에서 보호된다. 만약 CXCR4 길항제가 세포독성 약물이나 또는 방사선요법과 함께 투여된다면, 말초로 동원된 HSCs는 세포독성 처리의 영향에 노출되어, 혈구감소를 악화

시킬 수 있다. AMD3100으로 치료된 환자들에서 관찰된 심장 합병증은 또한 항암제로서 CXCR4 길항제를 장기간 사용하는 것에 대한 전반적인 관심을 불러일으켰다.

[0047] 기존의 CXCR4 길항제와 관련된 잠재적 부작용을 피하고 CXCR4를 표적으로 하는 보다 효율적인 항암제를 개발하기 위해서, CXCR4 억제제 설계를 위한 새로운 패러다임이 절실히 요구된다.

[0048] 최근, GPCR 헤테로머들은 보다 구체적이고, 질병-한정된 치료제를 개발할 수 있는 새로운 가능성을 제시한다. 전통적으로, GPCRs는 모노머(monomeric) GPCRs가 리간드 결합시, 7-헬릭스(heptahelical) 도메인의 형태적 변화를 유도함으로써 G 단백질을 활성화시킬 수 있기 때문에 단량체로 간주되었다 (Pin 외., 2008; Okada 외., 2001). 그러나, GPCRs는 호모- 또는 헤테로-올리고머와 같은 올리고머를 형성할 수 있고, GPCR 헤테로머들은 기존의 잘-정의된 모노머들과 명백히 구별되는 특이적 성질들, 이를 테면, 신호전달 경로, 리간드 결합 친화력, 내재화 (internalization), 및 재순환과 같은 성질을 나타낸다는 증거들이 증가되고 있다 (De Falco 외., 2007; Ferre 외., 2010; Gomes 외., 2016). 따라서, GPCR 올리고머화(oligomerization)는 제한된 수의 유전자로 GPCR 엔터티(entities)의 다양성을 증가시키는 방법을 제공할 수 있다 (Park and Palczewski, 2005). 따라서, 신규한 GPCR 헤테로머들의 확인은 특정 조직 및 특정 질환에서 GPCR 헤테로머들의 역할을 이해하고, 부작용은 보다 적고, 효율은 더 큰 치료제를 개발할 새로운 기회를 제공할 수 있는 새로운 가능성을 부여할 것이다. (Milligan 2008; Rozenfeld and Devi 2010; Gomes 외., 2016; Farran 2017).

[0049] CXCR4는 상이한 GPCRs과도 헤테로머를 또한 형성한다. 현재까지 CXCR4는 케모킨 수용체 패밀리 (CCR2 (Rodriguez-Frade 외., 2004; Sohy 외., 2007; Sohy 외., 2009; Armando 외., 2014), CCR5 (Agrawal 외., 2004; Rodriguez-Frade 외., 2004; Sohy 외., 2007, Sohy 외., 2009; Martinez-Munoz 외., 2014), CXCR3 (Watts 외., 2013), 및 CXCR7 (Sierro 외., 2007; Levoye 외., 2009; Decaillot 외., 2011)), 케메린 케모킨-유사 수용체 1 (CMKLR1) (de Poorter 외., 2013), δ-오피오이드 수용체 (OPRD) (Pello 외. 2008; Burbassi 외., 2010), 그리고 아드레날린 수용체 패밀리 (ADRA1A (Tripathi 외., 2015), ADRA1B (Tripathi 외., 2015), 및 ADRB2 (LaRocca 외. 2010; Nakai 외., 2014))에서 GPCRs와 상호작용하는 것으로 알려져 있다.

[0050] CXCR4-CCR2와 CXCR4-CCR5 헤테로머들의 존재는 HIV 감염을 연구함으로써 처음 발견되었다. Rodriguez-Frade 외.,에서는 CCR2-특이적 단일클론성 항체인 CCR2-01은 CCR2로의 결합 또는 CCR2 신호전달 촉발에 대하여 CCL2와 경쟁하지 않았지만, 그러나 CCR2와 CCR5 또는 CXCR4와의 올리고머화를 유도함으로써, 단일친화성 (R5) 및 T-속성(tropic) (X4) HIV 균주의 복제를 차단시킨다는 것을 보여주었다 (Rodriguez-Frade 외., 2004). Agrawal 외.,에서는 CCR5D32가 CCR5와 CXCR4와의 헤테로머화에 의해 CCR5와 CXCR4 세포 표면 발현을 특이적으로 억제하였고, 이로 인하여 CD4+ 세포에서 CCR5와 CXCR4의 HIV 공동수용체 활성이 억제됨을 보여주었다(Agrawal 외., 2004). CCR5의 공동-발현은 세포 표면에 HIV-1 gp120 결합을 방지하고, CCR5-CD4-CXCR4 올리고머화를 유도하고, CD4와 CXCR4에서 입체형태학적 변화를 유도함으로써, X4 HIV-1 감염성을 감소시키는 것으로 나타났다 (Martinez-Munoz 외., 2014).

[0051] Sohy 외.,는 CXCR4-CCR2 및 CXCR4-CCR5 헤테로머들의 서브 유닛 사이의 음성 결합 협력성의 존재, 즉 하나의 수용체의 리간드들은 재조합 세포주 및 원발성 백혈구에서 다른 하나의 특정 트레이서(tracer)의 결합에 대해 경쟁하였다고 보고하였다 (Sohy 외., 2007; Sohy 외., 2009). 그들은 CCR2 및 CCR5 길항제인 TAK-779가 CCR2와 CXCR4, 또는 CCR5와 CXCR4를 공동-발현시키는 세포에서 CXCR4 효현제 CXCL12에 의해 개시되는 칼슘 동원 및 화학 주성을 방지함을 또한 입증하였다 (Sohy 외., 2007; Sohy 외., 2009). Armando 외.,는 CXCR4와 CCR2가 호모- 및 헤테로-올리고머를 형성할 수 있고, 인간 단핵구 화학주성 단백질 1 (MCP-1) 및 CXCL12와 함께 CCR2 및 CXCR4의 공동-활성화는 칼슘 동원에서 상승적으로 증가를 야기함을 보여주었다 (Armando 외., 2014).

[0052] Watts 외.,는 HEK293T 세포에서 CXCR4-CXCR3 헤테로머들을 확인하고, 내인성 효현제 및 작은 CXCR3 효현제 VUF10661에 대해 음성 결합 협력성을 나타내지만, CXCR3 길항제 VUF10085 또는 CXCR4 길항제 AMD3100에는 그렇지 않았다(Watts 외., 2013).

[0053] CXCR4는 또한 CXCL12 및 CXCL11에 결합하지만, 효현제 결합할 때, G 단백질들과 커플링할 수 없는 케모킨 패밀리 GPCR인 일명 CXCR7로도 알려진 ACKR3과 상호작용한다. Sierro 외.,는 CXCR4-ACKR3 헤테로머들은 HEK293 세포에서 강화된 CXCL12-유도된 칼슘 신호전달을 나타내며, ERK1/2 신호전달을 변경시키는 기능성 헤테로머로 확인하였다(Sierro 외., 2007). Lovoye 외.,는 CXCR4-ACKR3 헤테로머들은 CHO-K1 세포에서 CXCL12에 노출될 때, Gαi 및 칼슘 반응의 감소를 나타내는 반대 결과를 보고하였다(Levoye 외., 2009). Decaillot 외.,는 CXCR4와 ACKR3의 공동-발현은 구성적으로 β-어레스틴을 CXCR4/ACKR3 헤테로머에 끌어들이고, ERK1/2, p38 MAPK를 포함하는 CXCL12-매개된 β-어레스틴-의존적 하류 신호전달 경로를 강화시키고, 그리고 CXCL12에 노출할 때 세포 동

원을 강화시킨다고 하였다 (Decaillot 외., 2011).

[0054] CXCR4는 또한 케메린 케모킨-유사 수용체 1(CMKLR1, 일명 ChemR23)와도 상호작용한다 (de Poorter 외., 2013). CXCR4-CMKLR1 헤테로머들은 비록 Sohy 외., (Sohy 외., 2007; Sohy 외., 2009)에서 보고된 CXCR4-CCR2와 CXCR4-CCR5 헤테로머들과 유사하게 음성 효현제 결합 협력성(cooperativity)을 나타내지만, AMD3100은 CXCL12에 의해 유도된 케메린 결합을 교차 억제하거나, 또는 칼슘 동원을 억제하지 않았다 (de Poorter 외., 2013).

[0055] CXCR4 및 δ-오피오이드 수용체 (DOR)는 뇌 조직과 면역 세포에 널리 분포되어 있다. Pello 외.,는 CXCR4 및 DOR은 헤테로머들을 형성할 수 있고, 비록 이들 개별 효현제가 강한 Gαi 신호전달을 유도하더라도, 두 효현제를 이용한 동시 자극은 Gαi 신호전달의 활성화를 억제하고, CXCL12 로의 세포 이동을 방지한다고 보고하였다 (Pello 외., 2008). Burbassi 외.,는 μ-오피오이드 수용체 (MOR)-결핍 마우스로부터 뇌 조직 및 배양된 교아세포에서 CXCR4-DOR 헤테로머들의 증가 및 G-단백질로의 CXCR4 결합 감소를 주목하였다 (Burbassi 외., 2010). CXCR4 기능은 DOR 길항제로 구제되었으며, 이 점은 DOR이 CXCR4-DOR 헤테로머들을 형성함으로써 교아세포에서 CXCR4의 억제에 연루되어 있음을 나타낸다 (Burbassi 외., 2010).

[0056] CXCR4는 또한 α- 및 β-아드레날린 수용체들 (α-AR 및 β-AR)과도 상호작용하는 것으로 알려져 있다. LaRocca 외.,는 CXCL12로 CXCR4의 자극은 비-선택적 β-AR 효현제, 이소프로테레놀을 이용한 성체 랫 심실 근세포에서 β-AR-유도된 cAMP 축적 및 포스포람반의 PKA-의존적인산화를 음성적으로 조절한다고 보고하였다 (LaRocca 외., 2010). 이들은 또한 심장 근세포 상에서 CXCR4와 ADRB2 (β2-AR)의 공동-발현을 보여주었으며, 공동-침전 및 생물발광 공명 에너지 전달을 이용하여 CXCR4와 ADRB2의 물리적 연합을 보여주었는데, 이로써 CXCR4-ADRB2 헤테로머는 신규한 심장 조절자(modulator)로 제시된다.

[0057] Nakai 외.,는 림프구 상에서 ADRB2의 기능을 연구하였다. ADRB2-선택적 효현제로 림프구를 자극시키면 림프절로부터 림프구의 유출을 억제하였고, 마우스에서 림프구감소증이 나타났다 (Nakai 외., 2014). ADRB2는 CCR7 및 CXCR4와 물리적으로 상호작용하고, ADRB2의 활성화는 CCR7-ADRB2 및 CXCR4-ADRB2 헤테로머들을 통한 잔류(retention)-촉진 신호를 강화시켰으며, 후속적으로 림프절로부터의 림프구 유출을 감소시켰다.

[0058] Tripathi 외.,는 혈관 평활근 세포 (VSMC)의 표면에 CXCR4-ADRA1A (α1A-AR) 및 CXCR4-ADRA1B (α1B-AR) 헤테로머들의 존재를 밝혀내었다 (Tripathi 외., 2015). CXCR4의 제 2 막경유 헬릭스로부터 유래된 펩티드는 ADRA1A/B와 CXCR4 사이의 상호작용을 방해하고, α1-AR 자극 시, 칼슘 동원 및 VSMC의 수축을 억제하였다. CXCL12에 의한 CXCR4의 활성화는 렛에서 혈압 반응에 대한 α1-AR 효현제의 효능을 증가시켰으며, 이는 CXCR4-ADRA1A/B 헤테로머들이 혈압 조절을 위한 신규한 약리학적 표적이 될 수 있음을 시사한다.

[0059] CXCR4는 CNR2 (카나비노이드 수용체 2, 일명 CB2)와 상호작용한다고 보고된 바 있다(Coke 외., 2016; Scarlett 외., 2018). 이들 두 효현제에 의한 CXCR4 및 CB2의 동시 활성화는 ERK1/2 활성화, 칼슘 동원 및 세포 화학주성을 감소시켰다. 이들 결과에서 카나비노이드 계는 CXCR4 기능 및 종양 진행을 음성적으로 조절할 수 있음을 보여준다.

[0060] 전술한 바와 같이, CXCR4와 헤테로머들을 형성하는 GPCRs는 제한된 수의 GPCR 패밀리, 예컨대 케모킨, 아드레날린 및 오피오이드 수용체 패밀리 내에서 연구되었다. 다양한 병리학적 조건에서 CXCR4의 주요 역할 및 증가된 발현을 고려하면, 특정 질환에 독특한 특징을 부여하는 상이한 CXCR4-GPCRx 헤테로머들이 존재할 가능성이 크다. 그러나, 다수의 GPCR 유전자 (약 800 개) 및 고-처리량 근접-기반 스크리닝 기술 및 기능 검정법 확립의 어려움으로 인해, 새로운 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 확인은 주요 도전 과제였다.

[0061] **발명의 내용**

[0062] **기술적 문제**

[0063] 따라서, 관련 기술 분야에서 CXCR4-GPCRx와 같은 기능적 GPCR 헤테로머들을 확인하고, 효능은 더 높고, 부작용은 더 낮은 GPCR 헤테로머 암 표적 치료제로 사용하기 위한 억제제의 개발이 필요하다. 본 발명은 이러한 필요성을 충족시키고, 관련 이점을 제공한다.

[0064] **문제 해결 방법**

[0065] 다수의 재조합 아데노바이러스를 동시에 신속하고, 효율적으로 생성할 수 있는 아데노바이러스 고-처리량 시스템 (AdHTS) (Choi, 외., 2012)과 아데노바이러스-기반 이중분자 형광 상보 (BiFC) 검정법 (특허: Song, 2014)을 이용하여, 발명자들은 U-2 OS 세포에서 CXCR4와의 연관성에 대하여 다수의 GPCRs를 스크리닝하였다.

[0066] 한 측면에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머들을 갖는 대상체에서 암의 치료, 개선, 예방 또는 진단 방법이 본원에 제공되는데, 상기 방법은 치료요법적 유효량의 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제를 당해 대상체에게 투여하는 단계를 포함하며, 이때: GPCRx는 당해 대상체에서 CXCR4와 헤테로머화되고, CXCR4와 GPCRx의 헤테로머화(heteromerization)는 CXCR4의 하류 신호전달의 강화를 동반하고, CXCR4의 하류 신호전달의 강화는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제에 의해 억제된다.

[0067] 또다른 측면에서, 본원에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 세포를 갖는 환자에서 암을 치료하는 방법이 제공되는데, 이 방법은 다음을 포함한다: 당해 환자에게 CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합을 투여하고; 이때:

[0068] i) CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 보유하고; 그리고

[0069] ii) 상기 투여된 억제제 또는 억제제들의 조합은 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달을 억제한다.

[0070] 또다른 측면에서, 본원은 암을 앓고 있는 환자의 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달을 억제하는 방법을 제공하는데, 이 방법은 다음을 포함한다: 당해 환자에게 CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합을 투여하고; 이때:

[0071] i) CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 보유하고; 그리고

[0072] ii) 상기 투여된 억제제 또는 억제제들의 조합은 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달을 억제한다.

[0073] 또다른 측면에서, 본원에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 세포를 갖는 환자에서 암 치료용으로 사용하기 위한 약제학적 키트를 제공하는데, 상기 약제학적 키트는 CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합을 포함하고; 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 갖는다.

[0074] 또다른 측면에서, 본원은 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 세포를 갖는 환자에서 암 치료용으로 사용하기 위한 약제학적 조성물을 제공하는데, 상기 약제학적 조성물은 다음을 포함한다:

[0075] i) CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합; 그리고

[0076] ii) 약제학적으로 수용가능한 운반체;

[0077] 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 갖는다.

[0078] 또다른 측면에서, 본원은 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 세포를 갖는 환자에서 암 치료 방법을 제공하는데, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 갖고, 이 방법은 다음을 포함한다:

[0079] 1) 당해 환자가 강화된 하류 신호전달을 보유하는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 암 세포를 가지고 있는 지를 결정하기 위하여, 당해 환자로부터 생물학적 샘플을 획득하거나, 또는 획득하였고, 상기 생물학적 샘플에서 검정을 실행하거나, 또는 실행하였고, 이에

[0080] i) 당해 환자의 암 세포에 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머가 내포되어 있는지를 결정하거나; 또는

[0081] ii) CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약이 환자 유래된 세포(들)에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 성질 또는 기능을 변경시키는지; CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포(들)에서 헤테로머-특이적 성질을 변경시키는지; 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포(들)의 세포 증식을 감소시키는 지를 결정하고; 그리고

[0082] 2) 당해 환자가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 암 세포를 보유한다면, 그런 경우, CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합을 당해 암 환자에게 내부적으로 투여한다.

[0083] 또다른 측면에서, 본원은 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 암 세포를 보유한 환자의 암 치료 방법을 제공하는데, 이 방법은 다음을 포함한다:

[0084] 1) 환자로부터 생물학적 샘플을 획득하거나, 또는 획득하였고, 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머가 당해 환자의 암

세포에 내포되어 있는 지를 결정하기 위하여 당해 생물학적 샘플에서 검정을 실행하거나, 또는 실행하였고, 이에 당해 환자의 암 세포에 CXCR4-GPCRx 헤테로머가 내포되어 있는 지를 결정하고; 이때:

[0085] a) CXCR4-GPCRx 헤테로머의 GPCRx는 다음으로 구성된 군에서 선택되며: ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3; 그리고

[0086] b) 상기 생물학적 샘플 상에서 실행된 검사는 다음중 하나 또는 그 이상이거나, 또는 다음중 하나 또는 그 이상을 포함한다: 공동-내재화 검정, 공동-편재화(colocalization) 검정, 제자리 혼성화법(in situ hybridization), 면역조직화학법, 면역전자 현미경법, 근접성-기반 검정, 공동-면역침전 검정, 또는 형광 동물 검정; 그리고

[0087] 2) 당해 환자의 암 세포가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포한다면, 그런 경우, CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합을 당해 환자에게 내부적으로 투여한다.

[0088] 또다른 측면에서, 강화된 하류 신호전달을 갖는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 암 세포를 보유한 환자의 암 치료 방법을 제공하는데, 이 방법은 다음을 포함한다:

[0089] 1) 당해 환자가 강화된 하류 신호전달을 보유하는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 암 세포를 가지고 있는 지를 결정하기 위하여, 당해 환자로부터 생물학적 샘플을 획득하거나, 또는 획득하였고, 상기 생물학적 샘플에서 검정을 실행하거나, 또는 실행하였고, 이에:

[0090] i) 당해 환자의 암 세포는 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하는지를 결정하거나; 또는

[0091] ii) CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약이 환자 유래된 세포(들)에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 성질 또는 기능을 변경시키는지; 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포(들)에서 헤테로머-특이적 성질을 변경시키는지; 또는 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포(들)의 세포 증식을 감소시키는 지를 결정하고; 그리고

[0092] 2) 당해 환자가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 암 세포를 보유한다면, 그런 경우, CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제들의 조합을 당해 암 환자에게 내부적으로 투여하고; 그리고

[0093] 3) 만일 당해 환자가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하는 암 세포를 보유하지 않는다면, 그런 경우, 상기 암 환자에게 단독 억제제로써 CXCR4 억제제 또는 GPCRx 억제제를 내부적으로 투여한다.

[0094] 또다른 측면에서, 본원은 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 암 세포를 보유한 환자의 암 치료 방법을 제공하는데, 이 방법은 다음을 포함한다:

[0095] 1) 환자로부터 생물학적 샘플을 획득하거나, 또는 획득하였고, 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머가 당해 환자의 암 세포에 내포되어 있는 지를 결정하기 위하여 당해 생물학적 샘플에서 검정을 실행하거나, 또는 실행하였고 이에 당해 환자의 암 세포에 CXCR4-GPCRx 헤테로머가 내포되어 있는 지를 결정하고; 이때:

[0096] a) CXCR4-GPCRx 헤테로머의 GPCRx는 다음으로 구성된 군에서 선택되며: ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3; 그리고

[0097] b) 상기 생물학적 샘플 상에서 실행된 검사는 다음중 하나 또는 그 이상이거나, 또는 다음중 하나 또는 그 이상을 포함한다: 공동-내재화 검정, 공동-편재화 검정, 제자리 혼성화법, 면역조직화학법, 면역전자 현미경법, 근접성-기반 검정, 공동-면역침전 검정, 효소-연계된 면역흡착 검정 (ELISA), 유동 세포측정법, RNAseq, qRT-PCR, 마이크로어레이, 또는 형광 동물 검정; 그리고

[0098] 2) 당해 환자의 암 세포가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포한다면, 그런 경우, CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제들의 조합을 당해 암 환자에게 내부적으로 투여하고; 그리고

[0099] 3) 만일 당해 환자의 암 세포가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하지 않는다면, 그런 경우, 상기 암 환자에게 단독 억제제로써 CXCR4 억제제 또는 GPCRx 억제제를 내부적으로 투여한다.

[0100] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4에 GPCRx의 헤테로머화는 근접성-기반 검정에 의해 평가된다.

[0101] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 근접성-기반 검정은 이중분자 형광 상보성 (BiFC), 근접성 결찰 검정 (PLA), 형광 공명 에너지 전달 (FRET), 생물발광 공명 에너지 전달 (BRET), 시스테인 가교, 공동-면역침전, 및 TR-FRET와 SNAP-테그의 조합으로 구성된 군에서 선택된다 (Comps-Agrar 외., 2011).

[0102] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4에 GPCRx의 헤테로머화는 공동-내재화 검정에 의해 평가된다.

[0103] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4의 세포 하류 신호전달의 강화는 세포내 Ca2+ 검정에 의해 평가된다.

[0104] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, GPCRx는 ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, APLNR, C5AR1, CALCR, CCR5, CHRM1, GALR1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, PTGER2, PTGER3, SSTR2, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된다.

[0105] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, GPCRx는 ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, PTGER2, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된다.

[0106] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, GPCRx는 ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된다.

[0107] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, GPCRx는 ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된다.

[0108] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, GPCRx는 ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된다.

[0109] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, GPCRx는 ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된다.

[0110] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, GPCRx는 ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된다.

[0111] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, GPCRx는 ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된다.

[0112] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, GPCRx는 ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된다.

[0113] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, GPCRx는 ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된다.

[0114] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, GPCRx는 ADRB2, CHRM1, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된다.

[0115] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, GPCRx는 ADRB2, EDNRB, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된다.

[0116] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, GPCRx는 ADRB2, EDNRB, 및 HRH1로 구성된 군에서 선택된다.

[0117] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, GPCRx는 ADRB2, CHRM1, 및 HRH1로 구성된 군에서 선택된다.

[0118] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, GPCRx는 ADRB2, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된다.

[0119] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, GPCRx는 ADRB2 및 HRH1로 구성된 군에서 선택된다.

[0120] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제는 CXCR4의 억제제이거나, 또는 이를 포함한다.

[0121] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4의 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택된다: AD-114, AD-114-6H, AD-114-Im7-FH, AD-114-PA600-6H, ALX-0651, ALX40-4C, AMD070 (AMD11070, X4P-001), AMD3100 (플레릭사포르), AMD3465, ATI 2341, BKT140 (BL-8040; TF14016; 4F-벤조일-TN14003), CTCE-9908, CX549,, D-[Lys3] GHRP-6, FC122, FC131, GMI-1359, GSK812397, GST-NT21MP, 이소티오우레아-1a, 이소티오우레아-1t (IT1t), KRH-1636, KRH-3955, LY2510924, LY2624587, MSX-122, N-[^{11}C]메틸-AMD3465, PF-06747143, POL6326, SDF-1 1-9[P2G]다이머, SDF1 P2G, T134, T140, T22, TC 14012, TG-0054 (부릭사포르(Burixafor)), USL311, 울로쿠플루맙 (MDX1338/BMS-936564), 바이러스성 대식세포 염증성 단백질-II (vMIP-II), WZ811, 12G5, 238D2, 238D4, [^{64}Cu]-AMD3100, [^{64}Cu]-AMD3465, [^{68}Ga]펜티사포르, [^{90}Y]펜티사테르, [^{99m}Tc]O_2-AMD3100, [^{177}Lu]펜티사테르, 및 508MC1 (화합물 26).

[0122] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제는 CXCR4의 길항제이거나, 또는 이를 포함한다.

[0123] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4의 길항제는 ALX40-4C, AMD070 (AMD 11070, X4P-001), AMD3100 (플레릭사포르), AMD3465, ATI 2341, BKT140 (BL-8040; TF14016; 4F-벤조일-TN14003), CTCE-9908, CX549,, D-[Lys3] GHRP-6, FC122, FC131, GMI-1359, GSK812397, GST-NT21MP, 이소티오우레아-1a, 이소티오우레아-1t (IT1t), KRH-1636, KRH-3955, LY2510924, MSX-122, N-[11C]메틸-AMD3465, POL6326, SDF-1 1-9[P2G]다이머, SDF1 P2G, T134, T140, T22, TC 14012, TG-0054 (부릭사포르), USL311, 바이러스성 대식세포 염증성 단백질-II (vMIP-II), WZ811, [64Cu]-AMD3100, [64Cu]-AMD3465, [68Ga]펜티사포르, [90Y]펜티사테르, [99mTc]02-AMD3100, [177Lu]펜티사테르, 및 508MC1 (화합물 26)로 구성된 군에서 선택된다.

[0124] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제는 CXCR4의 항체이거나, 또는 이를 포함한다.

[0125] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4의 항체는 AD-114, AD-114-6H, AD-114-Im7-FH, AD-114-PA600-6H, ALX-0651, LY2624587, PF-06747143, 울로쿠플루맙 (MDX1338/BMS-936564), 12G5, 238D2, 및 238D4로 구성된 군에서 선택된다.

[0126] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제는 상기 GPCRx의 억제제이거나, 또는 이를 더 포함한다.

[0127] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 CXCR4의 억제제와 동시에 또는 연속적으로 투여된다.

[0128] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제는 GPCRx의 길항제, 역(inverse) 효현제, 알로스테릭(allosteric) 조절자, 항체 또는 이의 결합 부분, 리간드, 또는 임의의 조합들이거나, 또는 이를 포함한다.

[0129] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, PTGER2, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된 분자 억제제다.

[0130] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된 분자 억제제다.

[0131] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된 분자 억제제다.

[0132] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된 분자 억제제다.

[0133] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된 분자 억제제다.

[0134] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된 분자 억제제다.

[0135] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된 분자 억제제다.

[0136] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된 분자 억제제다.

[0137] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된 분자 억제제다.

[0138] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 ADRB2, CHRM1, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된 분자 억제제다.

[0139] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 ADRB2, EDNRB, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된 분자 억제제다.

[0140] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 ADRB2, EDNRB, 및 HRH1로 구성된 군에서 선택된 분자 억제제다.

[0141] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 ADRB2, CHRM1, 및 HRH1로 구성된 군에서 선택된 분자 억제제다.

[0142] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 ADRB2, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된 분자 억제제다.

[0143] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 ADRB2 및 HRH1로 구성된 군에서 선택된 분자 억제제다.

[0144] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택된 ADCYAP1R1의 억제제다: M65, Max.d.4, MK-0893, N-스테아릴-[Nle$^{17]뉴}$로텐신-(6-11)/VIP-(7-28), PACAP-(6-38), 및 PG 97-269.

[0145] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택된 ADORA2B의 억제제다: 3-이소부틸-8-피롤리디녹산틴, 알옥사진, AS16, AS70, AS74, AS94, AS95, AS96, AS99, AS100, AS101, ATL802, BW-A1433, 카페인, CGS 15943, CPX, CSC, CVT-6883, DAX, DEPX, 데레노필린(derenofylline), DPCPX, FK-453,1-ABOPX, 이스트라데필린(istradefylline), KF26777, LAS38096, LUF5981, MRE 2029F20, MRE 3008F20, MRS1191, MRS1220, MRS1523, MRS1706, MRS1754, MSX-2, OSIP339391, 펜톡시필린(pentoxifylline), 프레라데난트(preladenant), PSB-10, PSB-11, PSB36, PSB603, PSB-0788, PSB1115,롤로필린(rolofylline), SCH 58261, SCH442416, ST-1535, 테오필린(theophylline), 토나포필린(tonapofylline), 비파네난트(vipadenant), 크산틴 아민 동종체(xanthine amine congener), XCC, 및 ZM-241385.

[0146] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택된 ADORA3의 억제제다: ATL802, BW-A1433, 카페인, CGS 15943, CSC, CVT-6883, 데레노필린, 덱스니귤디핀(dexniguldipine), DPCPX, FK-453, 플라바논(flavanone), 플라본(flavone), 갈랑긴(galangin), I-ABOPX, 이스트라데필린, KF26777, LAS38096, LUF5981, MRE2029F20,

MRE3008F20, MRE3010F20, MRS1041, MRS1042, MRS1067, MRS1088, MRS1093, MRS1097, MRS1177, MRS1186, MRS1191, MRS1191, MRS1220, MRS1476, MRS1486, MRS1505, MRS1523, MRS1754, MRS928, MSX-2, 니카르디핀(nicardipine), 프레라데난트, PSB-10, PSB-11, PSB36, PSB603, PSB1115,롤로필린, 사쿠라네틴(sakuranetin), SCH 58261, SCH442416, ST-1535, 테오필린, 토나포필린, 비파네난트, 비스나긴(visnagin), VUF5574, VUF8504, VUF8507, 크산틴 아민 동종체, 및 ZM-241385.

[0147] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택된 ADRB2의 억제제다: 알프레놀롤, 아테놀롤(atenolol), 베탁솔롤(betaxolol), 부프라놀롤(bupranolol), 부톡사민(butoxamine), 카라졸롤(카라졸롤), 카르베딜롤(carvedilol), CGP 12177, 시클로프롤롤(cicloprolol), ICI 118551, ICYP, 라베타롤(labetalol), 레보베타옥솔롤(levobetaxolol), 레보부노롤(levobunolol), LK 204-545, 메토프롤롤(metoprolol), 나돌롤(nadolol), NIHP, NIP, 프로파페논(propafenone), 프로프라놀롤(propranolol), 소탈롤(sotalol), SR59230A, 및 티몰롤(timolol).

[0148] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 ADRB2의 억제제는 카르베딜롤이다.

[0149] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택된 C5AR1의 억제제다: $A8^{\Delta 71-73}$, AcPhe-Orn-Pro-D-Cha-Trp-Arg, 아바코판(avacopan), C089, CHIPS, DF2593A, JPE1375, L-156,602, NDT9520492, *N*-메틸-Phe-Lys-Pro-D-Cha-Trp-D-Arg-CO_2H, PMX205, PMX53, RPR121154, 및 W54011.

[0150] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 α-CGRP-(8-37) (인간), AC187, CT-(8-32) (연어), 및 올세게판트(olcegepant)로 구성된 군에서 선택된 CALCR의 억제제다.

[0151] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CALCR의 억제제는 AC187이다.

[0152] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 3-퀴누클리디닐 벤질레이트(QNB), 4-DAMP, 아클리디늄(aclidinium), AE9C90CB, AFDX384, 아미트립틸린(amitriptyline), AQ-RA 741, 아트로핀(atropine), 벤자트로핀(benzatropine), 비페리덴(biperiden), 다리페나신(darifenacin), 디사이클로민(dicyclomine), 도술레핀(dosulepin), 에토프로파진(ethopropazine), 글리코피롤레이트(glycopyrrolate), 구아닐피렌제핀(guanylpirenzepine) 헥사히드로디페니돌(hexahydrodifenidol), 헥사하이드로실라디페니돌(hexahydrosiladifenidol), 헥소사이클리움(hexocyclium), 헴바신(himbacine), 이프라트로피움(ipratropium), 리토콜릴콜린(lithocholylcholine), 메톡트라민(methoctramine), ML381, 무스카린 독소(무스카린 toxin) 1, 무스카린 독소 2, 무스카린 독소 3, N-메틸 스코폴아민(scopolamine), 오텐제파드(otenzepad), 옥시부티닌, *p*-F-HHSiD, 피렌제핀(pirenzepine), 프로판텔린(propantheline), (R,R)-퀴누클리디닐-4-플루오르메틸-벤질레이트, 스코폴아민, 실라헥시사이클륨(silahexocyclium), 솔리페나신(solifenacin), 텔렌제핀(telenzepine), 티오트로피움(tiotropium), 톨테로딘(tolterodine), 트리헥시페니딜(trihexyphenidyl), 트리피티트라민(tripitramine), UH-AH 37, 우메클리디니움(umeclidinium), 및 VU0255035로 구성된 군에서 선택된 CHRM1의 억제제다.

[0153] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CHRM1의 억제제는 옥시부티닌, 우메클리디니움, 및 VU0255035이다.

[0154] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 A192621, 암브리센탄(ambrisentan), 아트라센탄(atrasentan), 보센탄(bosentan) (RO 470203, 트라클레르);, BQ788, IRL 2500, K-8794, 마씨텐탄(macitentan), RES7011, Ro 46-8443, SB209670, SB217242 (엔라센탄(enrasentan)), TAK 044, 및 테조센탄(tezosentan) (RO610612)으로 구성된 군에서 선택된 EDNRB의 억제제다.

[0155] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 EDNRB의 억제제는 보센탄이다.

[0156] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 (-)-클로로페니라민, (+)-클로로페니라민, (-)-*트란스*-H_2-PAT, (+)-*시스*-H_2-PAT, (+)-*트란스*-H_2-

PAT, (±)-시스-H_2-PAT, (±)-트란스-H_2-PAT, (*R*)-세티리진(cetirizine), (*S*)-세티리진, 9-OH-리스페리돈(risperidone), A-317920, A-349821, ABT-239, 아리메마진(alimemazine), 아미트립틸린, 아리피프라졸(aripiprazole), 아르프로미딘(arpromidine), 아세나핀(asenapine), 아스테미졸(astemizole), AZD3778, 아제라스틴(azelastine), BU-E 47, 세티리진, 클로로페니라민, 클로르프로마진(chlorpromazine), 씨프록시판(ciproxifan), 클레마스틴(clemastine), 클로벤프로피트(clobenpropit), 클로자핀(clozapine), 코네신(conessine), 시클리진(cyclizine), 사이프로헵타딘(cyproheptadine), 데스로라타딘(desloratadine), 디펜히드라민(diphenhydramine), 도술레핀, 독세핀(doxepin), 에피나스틴(epinastine), 페소페나딘(fexofenadine), 플루페나진(fluphenazine), 플루스피릴렌(fluspirilene), 할로페리돌(haloperidol), 히드록시진(hydroxyzine), 임프로미딘(impromidine), INCB-38579, JNJ-39758979, 케토티펜(ketotifen), 로라타딘(loratadine), 록사핀(loxapine), MK-0249, 모린돈(molindone), 오란자핀(olanzapine), 페르페나진(perphenazine), 피모지드(pimozide), 피팜페론(pipamperone), 피톨리산트(pitolisant), 프로메타진, 피릴라민(pyrilamine), 퀘티아핀(quetiapine), 리스페리돈, 세르틴돌(sertindole), 테르페나딘(terfenadine), 티오리다진(thioridazine), 티오티센(thiothixene), 트리플루페라진(trifluoperazine), 트리펠렌아민(tripelennamine), 트리프롤리딘(triprolidine), 지프라시돈, 및 조테핀(zotepine)으로 구성된 군에서 선택된 HRH1의 억제제다.

[0157] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 HRH1의 억제제는 세티리진, 피릴라민, 히드록시진, 또는 로라타딘이다.

[0158] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 GM-109, MA-2029, 및 OHM-11526으로 구성된 군에서 선택된 MLNR의 억제제다.

[0159] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 MLNR의 억제제는 MA-2029이다.

[0160] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 메클리너탄트(Meclinertant), SR48527, SR48692, 및 SR142948A로 구성된 군에서 선택된 NTSR1의 억제제다.

[0161] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 NTSR1의 억제제는 메클리너탄트다.

[0162] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx의 억제제는 [Trp^7, β-Ala^8]뉴로키닌 A-(4-10), AZD2624, FK 224, GR138676, GSK 172981, GSK 256471, N',2-디페닐퀴놀린-4-카르보히드라지드 8m, N',2-디페닐퀴놀린-4-카르보히드라지드, 오사네탄트(osanetant), PD 154740, PD 161182, PD157672, 사레두탄트(saredutant), SB 218795, SB 222200, SB 235375, SCH 206272, SSR 146977, 및 탈네탄트로 구성된 TACR3의 억제제다.

[0163] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 TACR3의 억제제는 SSR146977이다.

[0164] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제는 단백질-단백질 상호작용 (PPI) 억제제다.

[0165] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 암은 유방암, 폐암, 뇌암, 신장암, 췌장암, 난소암, 전립선암, 흑색종, 다발성 골수종, 위장암, 신장 세포 암종, 연조직육종, 간세포 암종, 위암, 결장직장암, 식도암 및 백혈병으로 구성된 군에서 선택된다.

[0166] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제는 약제학적 조성물 안에 포함되어 당해 대상체에게 투여된다.

[0167] 암의 치료, 개선 또는 예방에 대하여 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 보유한 대상체의 반응 또는 잠재적 반응을 평가하는 방법이 본원에서 추가 개시되는데, 이 방법은 다음을 포함한다: 상기 대상체로부터 샘플을 획득하고; 상기 샘플에서 CXCR4와 GPCRx의 헤테로머화를 탐지하고; 그리고 CXCR4와 GPCRx의 헤테로머화 탐지에 최소한 부분적으로 기초하여 암의 치료, 개선 또는 예방에 대하여 당해 대상체의 반응 또는 잠재적 반응을 평가한다.

[0168] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4와 GPCRx의 헤테로머화는 CXCR4의 하류 신호전달의 강화에 수반된다.

[0169] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4의 세포 하류 신호전달의 강화는 세포내 Ca2+ 검정에 의해 평가된다.

[0170] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4와 GPCRx의 헤테로머화는 근접성-기반 검정에 의해 평가된다.

[0171] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 근접성-기반 검정은 이중분자 형광 상보성 (BiFC), 근접성 결찰 검정 (PLA), 형광 공명 에너지 전달 (FRET), 생물발광 공명 에너지 전달 (BRET), 시스테인 가교, 및 공동-면역침전으로 구성된 군에서 선택된다.

[0172] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4에 GPCRx의 헤테로머화는 공동-내재화 검정에 의해 평가된다.

[0173] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 갖거나, 야기하거나 또는 생성한다.

[0174] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 강화된 하류 신호전달은 CXCR4-GPCRx 헤테로머로 기인된 것인데, 이를 테면, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 효현성으로 기인된 것이며, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 CXCR4 효현성으로 기인된 것이거나, 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 GPCRx 효현성으로 기인된 것이다.

[0175] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 강화된 하류 신호전달은 CXCR4, 각 GPCRx, 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 하류다.

[0176] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 억제제 또는 억제제들의 조합은 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달을 억제하는데, 이를 테면, 당해 환자의 암 세포에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터 상기 강화된 하류 신호전달을 억제한다.

[0177] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달은 세포내 Ca2+ 검정에 의해 결정된다.

[0178] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 강화된 하류 신호전달은 강화된 양의 칼슘 동원이다.

[0179] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 강화된 양의 칼슘 동원은 상승적(synergistic) 양의 칼슘 동원이다.

[0180] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머는 다음 특징중 2가지 또는 그 이상을 갖는다:

[0181] 1) 세포 안에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머 성분들은 다음의 공동-내재화 검정, 공동-편재화 검정, 제자리 혼성화법, 면역조직화학법, 면역전자 현미경법, 근접성-기반 검정, 공동-면역침전 검정, 또는 형광 동물 검정중 하나 또는 그 이상을 통하여 결정될 때, 공동-국소화되고, 직접적으로 또는 다른자리입체성(allosterism)의 전달관(conduits)으로 작용하는 중간매개 단백질을 통하여 물리적으로 서로 상호작용하거나;

[0182] 2) 강화된 양의 칼슘 동원, 이를 테면: 칼슘 동원 검정에 의해 결정되었을 때, a) 세포 안에서 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 또는 각 GPCRx는 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제로 공동-자극시, CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제의 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합에 대등한 또는 이보다 적은 칼슘 동원 양을 초래하고, 그리고 b) 칼슘 동원 검정에 의해 결정되었을 때, CXCR4-GPCRx 헤테로머는 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제로의 공동-작극시, CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제로의 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합과 비교하여, 강화된 칼슘 동원을 나타내거나; 또는

[0183] 3) CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약(reagent)은 i) 환자 유래된 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 성질을 변경시키고, ii) 환자 유래된 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 기능을 변경시키고; iii) CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포의 헤테로머-특이적 성질을 변경시키고; 또는 iv) CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포(들)의 세포 증식을 감소시킨다.

[0184] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 다음중 하

나 또는 그 이상을 통하여 결정될 때, 세포 안에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머 성분들은 공동-국소화되고, 직접적으로 또는 다른자리입체성의 도관으로 작용하는 중간매개 단백질을 통하여 물리적으로 서로 상호작용한다: 공동-내재화 검정, 공동-편재화 검정, 제자리 혼성화법, 면역조직화학법, 면역전자 현미경법, 근접성-기반 검정, 공동-면역침전 검정, 또는 형광 동물 검정.

[0185] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 근접성-기반 검정은 공명 에너지 전달 (RET), 생물발광 RET (BRET), 형광 RET (FRET), 시간-분해(time-resolved) 형광 RET (TR-FRET), 항체-지원된(aided) FRET, 리간드-지원된 FRET, 이중분자 형광 상보성 (BiFC), 또는 근접성 결찰 검정 (PLA)이거나, 또는 이를 포함한다.

[0186] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머는 상기 강화된 양의 칼슘 동원을 나타내는데, 이를 테면, 칼슘 동원 검정을 통하여 결정될 때,

[0187] a) 세포 안에서 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 또는 각 GPCRx는 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제로 공동-자극시, CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제의 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합에 대등한 또는 이보다 적은 칼슘 동원 양을 초래하고, 그리고

[0188] b) CXCR4-GPCRx 헤테로머는 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제로의 공동-작극시, CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제로의 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합과 비교하여, 강화된 칼슘 동원을 나타낸다.

[0189] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 i) 당해 환자 유래된 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 성질을 변경시키고, ii) 당해 환자 유래된 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 기능을 변경시키고; iii) CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 당해 환자 유래된 세포의 헤테로머-특이적 성질을 변경시키고; 또는 iv) CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포의 세포 증식을 감소시킨다.

[0190] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 CXCR4 억제제, GPCRx 억제제, 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머 억제제다.

[0191] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 CXCR4 길항제, GPCRx 길항제, 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머 길항제다.

[0192] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 방법은 다음으로 구성된 군에서 선택된 억제제를 투여한다: CXCR4 억제제, GPCRx 억제제, 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머 억제제.

[0193] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 억제제는 약제학적 조성물로 투여된다.

[0194] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 투여된 억제제는 CXCR4 억제제다.

[0195] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 투여된 억제제는 GPCRx 억제제다.

[0196] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 투여된 억제제는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제다.

[0197] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 방법은 다음으로 구성된 군에서 선택된 억제제들의 조합을 투여한다: CXCR4 억제제, GPCRx 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제.

[0198] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 억제제들의 조합은 순차적으로(sequentially), 동시에(concurrently) 또는 일제히(simultaneously) 투여된다.

[0199] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4 억제제는 CXCR4의 길항제, CXCR4의 역 효현제, CXCR4의 부분적 길항제, CXCR4의 알로스테릭 조절자, CXCR4의 항체, CXCR4의 항체 단편, CXCR4의 리간드, 또는 CXCR4의 항체-약물 콘쥬게이트(conjugate)이다.

[0200] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx

억제제는 GPCRx의 길항제, GPCRx의 역-효현제, GPCRx의 부분적 길항제, GPCRx의 알로스테릭 조절자, GPCRx의 항체, GPCRx의 항체 단편, GPCRx의 리간드, 또는 GPCRx의 항체-약물 콘쥬게이트이다.

[0201] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 길항제, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 역 효현제, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 부분적 길항제, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 알로스테릭 조절자, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 항체, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 항체 단편, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 리간드, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 단백질-단백질 상호작용(PPI) 억제제, 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 항체-약물 콘쥬게이트다.

[0202] 본원에서 기술된 치료 방법, 또는 억제 방법의 특정 구체예들에서, 상기 방법은 당해 암 환자에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 탐지하는 것을 더 포함한다.

[0203] 본원에서 기술된 치료 방법, 또는 억제 방법의 특정 구체예들에서, 상기 방법은 당해 암 환자에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 식별해내는 것을 더 포함한다.

[0204] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 방법은 다음을 더 포함한다:

[0205] i) 당해 암 환자로부터 생물학적 샘플을 획득하거나, 또는 획득하였고;

[0206] ii) 당해 암 환자로부터 획득된 생물학적 샘플에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 존재, 실체 또는 존재 및 실체를 결정하기 위한 진단적 검정을 실행하거나, 또는 실행하였고; 그리고

[0207] iii) CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달을 억제하는 억제제 또는 억제제들의 조합을 선별한다.

[0208] 본원에서 기술된 치료 방법, 또는 억제 방법의 특정 구체예들에서, 당해 환자의 생물학적 샘플은 생물학적 유체 샘플 또는 생물학적 조직 샘플이다.

[0209] 본원에서 기술된 치료 방법, 또는 억제 방법의 특정 구체예들에서, 액체 생검은 생물학적 유체 샘플 또는 생물학적 조직 샘플 상에서 수행된다.

[0210] 특정 구체예들에서, 상기 생물학적 유체 샘플에는 순환하는 종양 세포 (CTCs), 종양-유래된 세포-없는 DNA (cfDNA), 순환하는 작은 RNAs, 그리고 체내 유체로부터 엑소좀을 비롯한 세포외 소포가 포함되는데, 예를 들면, Campos CDM 외., "Molecular Profiling of Liquid Biopsy Samples for Precision Medicine", Cancer J. 2018 Mar/Apr;24(2):93-103(본원에 이의 전문이 편입됨)에 기술되어 있다.

[0211] 본원에서 기술된 치료 방법, 또는 억제 방법의 특정 구체예들에서, 상기 생물학적 유체 샘플은 혈액 샘플, 혈장 샘플, 타액 샘플, 뇌 유체 샘플, 눈의 유체 샘플, 또는 소변 샘플이다.

[0212] 본원에서 기술된 치료 방법, 또는 억제 방법의 특정 구체예들에서, 상기 생물학적 조직 샘플은 장기 조직 샘플, 골 조직 샘플, 또는 종양 조직 샘플이다.

[0213] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 암 세포는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포한다.

[0214] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 정상적인, 비-암성(cancerous) 세포는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하지 않는다.

[0215] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에서 CXCR4 억제제 또는 GPCRx 억제제를 단일 억제제로써 전술한 환자에게 투여하는 것과 비교하여, 상기 억제제들의 조합을 투여할 경우, 5-100% 범위에서 상기 암의 진행은 더 감소된다.

[0216] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4 억제제를 단일 억제제로 투여하였을 때 효과와 비교하여, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에게 상기 GPCRx 억제제와 조합하여 투여할 때, CXCR4 억제제의 효능은 5-2000% 범위로 증가된다.

[0217] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx 억제제를 단일 억제제로 투여하였을 때 효과와 비교하여, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에게 CXCR4 억제제와 조합하여 투여할 때, GPCRx 억제제의 효능은 5-2000% 범위로 증가된다.

[0218] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에서 CXCR4 억제제 또는 GPCRx 억제제를 단일 억제제로써 전술한 환자에게 투여하는 것과 비교하여, 상기 억제제들의 조합을 투여할 경우, 5-100% 범위에서 상기 암의 진행은 더 감소된다.

[0219] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4 억제제를 단일 억제제로 투여하였을 때 효과와 비교하여, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에게 상기 GPCRx 억제제와 조합하여 투여할 때, CXCR4 억제제의 효능은 5-2000% 범위로 증가된다.

[0220] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 GPCRx 억제제를 단일 억제제로 투여하였을 때 효과와 비교하여, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에게 CXCR4 억제제와 조합하여 투여할 때, GPCRx 억제제의 효능은 5-2000% 범위로 증가된다.

[0221] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 방법은 다음으로 구성된 군에서 선택된 억제제들의 조합을 투여한다: CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제.

[0222] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 방법은 CXCR4 억제제와 GPCRx 억제제의 조합을 투여한다.

[0223] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 방법은 CXCR4-GPCRx 헤테로머 억제제를 투여한다.

[0224] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 억제제들의 조합을 투여하면, 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달이 단일 억제제 투여와 비교하여, 5-2000 배 범위에서 억제된다.

[0225] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 억제제들의 조합을 투여하면, 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달이 단일 억제제 투여와 비교하여, 5-1500 배 범위에서 억제된다.

[0226] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 억제제들의 조합을 투여하면, 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달이 단일 억제제 투여와 비교하여, 500-1500 배 범위에서 억제된다.

[0227] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 억제제 또는 억제제들의 조합을 투여하면, 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달은 이들의 각 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 프로토머 또는 GPCRx 프로토머의 하류 신호전달의 억제와 비교하여, 5-2000 배 범위에서 억제된다.

[0228] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 억제제 또는 억제제들의 조합을 투여하면, 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달은 이들의 각 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 프로토머 또는 GPCRx 프로토머의 하류 신호전달의 억제와 비교하여, 5-1500 배 범위에서 억제된다.

[0229] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 억제제 또는 억제제들의 조합을 투여하면, 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달은 이들의 각 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 프로토머 또는 GPCRx 프로토머의 하류 신호전달의 억제와 비교하여, 500-1500 배 범위에서 억제된다.

[0230] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 당해 환자의 암 세포는 전술한 환자의 정상적인, 비-암성 세포보다 더 높은 농도의 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포한다.

[0231] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 당해 환자의 암 세포 안에 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 존재는 CXCR4-매개된 암 환자들의 하위-집단을 식별한다.

[0232] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 당해 환자의 암 세포 안에 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 존재는 CXCR4-매개된 암 환자들의 하위집단의 생물표지(biomarker)다.

[0233] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4-매개된 암 환자들의 하위집단의 생물표지는 정밀 의료, 환자 계층화(stratification), 또는 환자 분류를 가능하게 한다

[0234] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4-매개된 암 환자들의 하위집단의 생물표지는 GPCR-기반 정밀 암 치료를 가능하게 한다.

[0235] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 억제제는 항체다.

[0236] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 항체다.

[0237] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 항체는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 이중특이적 항체다.

[0238] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 항체는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 항체다.

[0239] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 억제제는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 이중특이적 리간드(들)이다.

[0240] 본원에서 기술된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물 또는 약제학적 키트의 특정 구체예들에서, 상기 항체는 예를 들면, "Strategies and challenges for the next generation of antibody-drug conjugate", Nature Reviews Drug Discovery, 16:315-337, (2017) 및 Lambert, 외, "Antibody-Drug Conjugates for Cancer Treatment", Annual Review of Medicine, 69:191-207 (2018)(이들 각각은 이의 전문이 본원에 편입됨)에 기술된 바와 같은 항체-약물 콘쥬게이트 (ADC)다.

도면의 간단한 설명

[0241] **도면의 간단한 설명**

도 1: 이중분자 형광 상보성 (BiFC) 검정의 계략도를 보여준다. GPCR A는 황색 형광 단백질 (YFP) 비너스의 N-말단 단편 (VN)에 융합되고, GPCR B는 비너스의 C-말단 단편 (VC)에 융합된다. GPCR A와 B가 헤테로머를 형성할 때, 상보성 VN 과 VC는 기능성 비너스의 형성에 충분하도록 근접해 있다.

도 2a-2u: BiFC 검정을 이용한 CXCR4-상호작용 GPCRs의 식별을 보여준다. 음성 BiFC 신호를 나타낸 대표 영상: CXCR4-VN과 HA-VC (도 2a), 그리고 CXCR4-VN과 GCGR-VC (도 2c). 양성 BiFC 신호를 보여준 CXCR4와 GPCRx의 대표 영상; CXCR4-VN과 CXCR4-VC (도 2b), CXCR4-VN과 ADCYAP1R1-VC (도 2d), CXCR4-VC와 ADORA2B-VN (도 2e), CXCR4-VN과 ADORA3-VC (도 2f), CXCR4-VN과 ADRB2-VC (도 2g), CXCR4-VN과 APLNR-VC (도 2h), CXCR4-VN과 C5AR1-VC (도 2i), CXCR4-VN과 CALCR-VC (도 2j), CXCR4-VN과 CCR5-VC (도 2k), CXCR4-VN과 CHRM1-VC (도 2l), CXCR4-VN과 GALR1-VC (도 2m), CXCR4-VN과 EDNRB-VC (도 2n), CXCR4-VN 및 HRH1-VC (도 2o), CXCR4-VN과 MLNR-VC (도 2p), CXCR4-VN과 NTSR1-VC (도 2q), CXCR4-VN과 PTGER2-VC (도 2r), CXCR4-VC와 PTGER3-VN (도 2s), CXCR4-VN과 SSTR2-VC (도 2t), 그리고 CXCR4-VN 및 TACR3-VC (도 2u).

도 3a-3b: GPCR 공동-내재화 연구의 원리를 보여준다. CXCR4-GFP와 GPCRx를 공동발현시키는 세포들은 GPCRx 특이적 효현제로 처리된다. (도 3a) CXCR4와 GPCRx는 서로 물리적으로 상호작용하지 않는다. GPCRx 효현제는 GPCRx의 내재화는 유도하지만, 그러나 CXCR4-GFP의 내재화는 유도하지 않는다. (도 3b) CXCR4와 GPCRx는 물리적으로 상호작용하여, 헤테로머를 형성한다. GPCRx 효현제는 GPCRx의 내재화를 유도하고, CXCR4-GFP는 GPCRx와 공동-내재화된다.

도 4a-4q: GPCRx와 이의 대응하는 효현제로 자극 시, CXCR4-EGFP의 공동-내재화를 보여준다 (대조군: CXCR4-GFP (도 4a)). U-2 OS 세포는 CXCR-EGFP와 GPCRx-VC를 인코딩하는 아데노바이러스로 공동-형질도입되었고, 다음의 GPCRx 짝들은 CXCR4-EGFP와의 헤테로머의 형성 및 CXCR4-EGFP의 공동-내재화를 유도하는 지에 대해 검사되었다: GPCRx는 ADCYAP1R1 (도 4b), ADORA2B (도 4c), ADORA3 (도 4d), ADRB2 (도 4e), APLNR (도 4f), C5AR1 (도 4g), CCR5 (도 4h), CHRM1 (도 4i), GALR1 (도 4j), EDNRB (도 4k), HRH1 (도 4l), MLNR (도 4m), NTSR1 (도 4n), PTGER3 (도 4o), SSTR2 (도 4p), 및 TACR3 (도 4q)를 나타낸다.

도 5a-5d: CXCR4와 ADRB2를 공동발현시키는 세포에서 이들의 각각 선택 효현제로 공동-자극 시에 칼슘 반응의 강화를 보여준다. MDA-MB-231 인간 유방암 세포는 CXCR4와 HA-VC (도 5a), ADRB2와 HA-VC (도 5b), 또는 CXCR4와 ADRB2 (도 5c)를 인코딩하는 아데노바이러스로 형질도입되었다. HA-VC를 인코딩하는 아데노바이러스를 이용하여 형질도입된 아데노바이러스의 총량을 조정하였다. 세포는 2일간 GPCR를 발현하도록 하였고, Cal-520 AM과 함께 2 hr 동안 항온처리되었고, 그리고 15 nM의 CXCL12, 100 nM의 살메테롤(salmeterol) (ADRB2-선택적 효현제), 또는 CXCL12와 살메테롤과 함께 처리되었다. 칼슘 동원은 FlexStation 3 다중-모드 마이크로플레이트 판독기(Multi-Mode Microplate Reader)를 이용하여 측정되었다. 결과들은 기선(base-line) 활성에 대하여 표준화하였다. 데이터는 세 가지 독립적인 실험을 나타낸다 (평균 ± SEM). (도 5d) 칼슘 동원은 A-C에서 각 그래프의 곡선-아래-면적(AUC)를 산출함으로써 정량화되었다. 데이터는 CXCR4만을 발현시키는 세포에서 CXCL12-자극된 칼슘 반응에 대하여 표준화되었다. 합은 강화를 시각화하기 위하여, CXCR4와 ADRB2를 공동-발현시키는 세포에서 CXCL12와 살메테롤에 의한 개별적 자극 후 획득된 반응의 산출된 부가 효과를 나타낸다. ***P < 0.001; Student's t 테스트.

도 6a-6l: 도 5a-c에서 나타낸 바와 같이, CXCR4와 GPCRx를 공동-발현시키는 세포에서 이들의 각각 선택 효현제로 공동-자극 시, 칼슘 반응의 강화를 보여준다. MDA-MB-231 세포는 CXCR4와 HA-VC, GPCRx와 HA-VC, 또는 CXCR4와 GPCRx를 인코딩하는 아데노바이러스로 형질도입되었다. GPCRx는 ADCYAP1R1 (도 6a), ADORA2B (도 6b), ADORA3 (도 6c), C5AR1 (도 6d), CALCR (도 6e), CHRM1 (도 6f), EDNRB (도 6g), HRH1 (도 6h), MLNR (도 6i), NTSR1 (도 6j), PTGER2 (도 6k), 및 TACR3 (도 6l)을 나타낸다. 세포는 Cal-520 AM과 함께 항온처리되며, CXCL12, GPCRx 효현제, 또는 CXCL12와 GPCRx 효현제와 함께 처리되었다. 칼슘 반응은 도 5에서 기술된 바와 같이 정량화되었다. 데이터는 세 가지 독립적인 실험을 나타낸다 (평균 ± SEM). *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001; Student's t 테스트.

도 7a-7e: CXCR4와 GPCRx를 공동-발현시키는 세포 안에서 이들 두 GPCRs에 대한 효현제 존재 하에서 강화된 칼슘 신호전달을 보여주지 못했던 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 예시들을 나타낸다. MDA-MB-231 세포는 CXCR4와 HA-VC, GPCRx와 HA-VC, 또는 CXCR4와 GPCRx를 인코딩하는 아데노바이러스로 형질도입되었다. GPCRx는 APLNR (도 7a), CCR5 (도 7b), GALR1 (도 7c), PTGER3 (도 7d), 및 SSTR2 (도 7e)를 나타낸다. 세포는 Cal-520 AM과 함께 항온처리되며, CXCL12, GPCRx 효현제, 또는 CXCL12와 GPCRx 효현제와 함께 처리되었다. 칼슘 동원은 도 5에서 기술된 바와 같이 정량화되었다. 데이터는 세 가지 독립적인 실험을 나타낸다 (평균 ± SEM). Student's t 테스트, ns: 유의적이지 않음.

도 8a-8l: CXCR4-GPCRx 헤테로머를 발현시키는 세포가 CXCL12와 GPCRx 효현제로 일제히 자극받았을 때, 이들 두 길항제의 공동-처리로 상기 강화된 칼슘 반응이 억제되었음을 보여준다. MDA-MB-231 세포는 CXCR4와 GPCRx를 인코딩하는 아데노바이러스로 공동-형질도입되었다. GPCRx는 ADRB2 (도 8a), CHRM1 (도 8b-8d), EDNRB (도 8e), HRH1(엔도(endo)) (도 8f 및 도 8g), HRH1 (도 8h 및 도 8i), MENR (도 8j), NTSR1 (도 8k), 및 TACR3 (도 8l)를 나타낸다. F & G에서, 세포는 CXCR4를 인코딩하는 아데노바이러스로 형질도입되었고, 내생성 HRH1 반응은 50 nM의 히스타민으로 검사되었다. 세포는 Cal-520 AM으로 2 hr 동안, GPCR 길항제 또는 비히클로 30 분 동안 항온처리되었고, 표시된 양의 CXCL12, GPCRx 효현제, 또는 CXCL12와 GPCRx 효현제로 자극하였다. 칼슘 동원은 도 5d에서 기술된 바와 같이 정량화되었다. 데이터는 세 가지 독립적인 실험을 나타낸다 (평균 ± SEM). *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001; Student's t 테스트.

도 9: 내재화 억제 연구의 원리를 보여준다. CXCR4-GFP와 GPCRx를 공동-발현시키는 세포는 CXCL12 (SDF-1) 및/또는 GPCRx 특이적 길항제로 처리되고, (시나리오 A) CXCR4와 GPCRx는 헤테로머를 형성한다. CXCR4 효현제, CXCL12 (SDF-1)는 CXCR4-GFP 단독 또는 GPCRx와 함께 CXCR4-GFP의 내재화를 유도하였다. (시나리오 B) GPCRx 길항제는 CXCR4-GFP의 내재화를 유도하지 않는다. (시나리오 C) CXCL12 (SDF-1) 자극된 CXCR4-GFP의 내재화는 GPCRx 특이적 길항제에 의해 억제된다.

도 10a-10c: 헤테로머들의 GPCRx 길항제에 의한 내재화 억제를 보여준다. (도 10a) CXCR4-ADRB2; (도 10b) CXCR4-CHRM1; 그리고 (도 10c) CXCR4-HRH1. (도 10a) CXCR4-GFP를 발현시키는 U-2 OS 세포는 ADRB2를 인코딩하는 아데노바이러스로 형질도입되었다. CXCR4 효현제인 CXCL12 (SDF-1)로 처리하면 CXCR4-ADRB2 내재화가 유도되었다. 그러나, ADRB2 길항제인 카르베디롤(Carvedilol)은 내재화를 유도하지 못하였다. CXCL12와 카르베디롤의 공동-처리는 CXCL12 유도된 CXCR4-ADRB2 내재화를 부분적으로 억제하였다. (도 10b) CXCR4-GFP를 발현시키는 U-2 OS 세포는 CHRM1을 인코딩하는 아데노바이러스로 형질도입되었다. CXCL12의 처리에 의해 CXCR4-CHRM1 내재화가 유도되었다. 그러나, CHRM1 길항제인 옥시부티닌 또는 우메클리디니움은 내재화를 유도하지 못하였다. CXCL12와 옥시부티닌 또는 우메클리디니움의 공동-처리로 CXCL12 유도된 CXCR4-CHRM1 내재화가 억제되었다. (도

10c) CXCR4-GFP를 발현시키는 U-2 OS 세포는 HRH1을 인코딩하는 아데노바이러스로 형질도입되었다. CXCL12의 처리에 의해 CXCR4-HRH1 내재화가 유도되었다. 그러나, HRH1 길항제인 프로메타진(Prometazine), 히드록시진, 또는 로라타딘(Loratadine)은 내재화를 유도하지 못하였다. CXCL12와 프로메타진, 히드록시진, 또는 로라타딘의 공동-처리는 CXCL12 유도된 CXCR4-HRH1 내재화를 억제하였다.

도 11a-11c: 암 환자에서 당해 환자 유래된 세포 (PDCs) 생존에 있어서 GPCRx 길항제의 효과를 보여준다. (도 11a) PDC의 생존에 있어서 ADRB2 길항제 (카르베디롤)의 효과. 카르베디롤은 세포의 감소된 생존을 유의적으로 유도하였다. (IC50=11.69 μM) (도 11b) PDC의 생존에 있어서 CHRM1 길항제 (옥시부티닌, 우메클리디니움)의 효과. 옥시부티닌과 우메클리디니움은 각각 차례로 IC50=3.04 μM 및 4.03 μM에서 세포 생존을 유의적으로 감소시켰음을 보여주었다. (도 11c) PDC의 생존에 있어서 HRH1 길항제 (프로메타진, 히드록시진, 및 로라타딘)의 효과. 프로메타진, 히드록시진, 및 로라타딘은 각각 차례로 IC50=18.39 μM, 12.79 μM 및 5.29 μM에서 PDC의 생존이 감소됨을 보여주었다.

도 12a-12c: CXCR4와 ADRB2를 과다-발현시키는 U-2 OS 세포에서 PLA 및 qRT-PCR에 의한 CXCR4-ADRB2 헤테로다이머 탐지를 보여준다. CXCR4-GFP를 발현시키는 U-2 OS 세포는 상이한 MOIs에서 2일간 ADRB2를 인코딩하는 아데노바이러스로 형질도입되었다. 그 다음 CXCR4-ADRB2 공동-발현시키는 U-2 OS 세포에서 PLA가 실행되었다. (도 12a) PLA에 의한 CXCR4-ADRB2 헤테로머 탐지 영상. (도 12b) PLA 신호의 증가는 용량 의존적 방식으로 ADRB2의 발현 수준에 비례한다. (도 12c) qRT-PCR의 데이터는 U-2 OS 세포의 내생성 ADRB2 발현 수준을 보여준다.

도 13a-13b: PDC에서 PLA에 의한 CXCR4-ADRB2 헤테로머 탐지를 보여준다. GBM 기원의 PDCs (샘플 IDs: 986T, 948T, 783T, 777T, 352T1, 352T2, 578T, 559T, 464T, 448T, 096T)는 챔버 슬라이드에 플레이팅시키고, CXCR4-ADRB2 헤테로머는 CXCR4와 ADRB2 특이적 항체들을 이용한 PLA에 의해 탐지되었다. (도 13a) CXCR4-ADRB2 헤테로머 탐지의 영상. DAPI 착색으로 핵을 시각화시켰고, CXCR4-ADRB2 헤테로머들은 작은 점들로 나타났다. (도 13b) PDC에서 CXCR4-ADRB2 헤테로머의 비율.

도 14a-14b: PDC에서 PLA에 의한 CXCR4-CHRM1 헤테로머 탐지를 보여준다. GBM 기원의 PDCs (샘플 IDs: 986T, 948T, 783T, 777T, 352T1, 352T2, 578T, 559T, 464T, 448T, 096T)는 챔버 슬라이드에 플레이팅시키고, CXCR4-CHRM1 헤테로머는 CXCR4와 CHRM1 특이적 항체들을 이용한 PLA에 의해 탐지되었다. (도 14a) CXCR4-CHRM1 헤테로머 탐지의 영상. DAPI 착색으로 핵을 시각화시켰고, CXCR4-ADRB2 헤테로머들은 작은 점들로 나타났다. (도 14b) PDC에서 CXCR4-CHRM1 헤테로머의 비율.

도 15a-15b: PDX에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머 탐지 결과들을 보여준다. GBM 기원의 PDXs (샘플 IDs; 777T, 783T, 948T, 559T)는 CXCR4와 ADRB2 특이적 항체들과 함께 PLA에 의해 CXCR4-ADRB2 헤테로머가 탐지되었다. (도 15a) CXCR4-ADRB2 헤테로머 탐지의 영상. DAPI 착색으로 핵을 시각화시켰고, CXCR4-ADRB2 헤테로머들은 작은 점들로 나타났다. (도 15b) PDX에서 CXCR4-ADRB2 헤테로머의 비율.

도 16a-16b: CXCR4와 GPCRx를 공동-발현시키는 세포에서 이들의 각각 효현제로 공동-자극 시, 칼슘 반응의 강화를 보여준다. MDA-MB-231 세포는 CXCR4와 ADRB2(도 16a) 또는 CXCR4와 HRH1 (도 16b)를 인코딩하는 아데노바이러스로 형질도입되었다. 세포는 3일간 배양되었고, Cal-520 AM로 착색되었고, 그리고 CXCL12 (30 nM) 단독으로, 또는 히스타민 또는 살메테롤 단독으로 용량을 증가시키면서, 또는 30 nM의 CXCL12의 조합과 함께 히스타민 또는 살메테롤의 용량을 증가시키면서 처리되었다. 칼슘 동원은 FlexStation 3을 이용하여 측정되었다. 합은 30 nM의 CXCL12 단독 (빈 네모)으로, 그리고 표시된 용량에서 GPCRx 리간드 단독(검정 원)으로 야기된 반응의 산출된 부가값을 나타낸다. 합 그래프는 역 삼각형이 있는 파선(broken line)으로 표시된다. 각 점에서 합(역 삼각형)과 공동-처리(채워진 네모) 사이의 통계학적으로 유의적인 차이는 Student's *t* 테스트에 의해 결정되었다. *P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001; 데이터는 평균 ± SD (n = 3)을 나타낸다.

도 17a-17c: CXCR4와 GPCRx를 공동-발현시키는 세포에서 이들의 각각 효현제로 공동-자극 시, 칼슘 반응 강화는 없음을 보여준다. MDA-MB-231 세포는 CXCR4와 APLNR (도 17a), CXCR4와 PTGER3 (도 17b), 또는 CXCR4와 SSTR2 (도 17c)를 인코딩하는 아데노바이러스로 형질도입되었다. 세포는 3일간 배양되었고, Cal 6 염료로 착색되었고, 그리고 CXCL12 단독으로 (20 nM), 또는 아펠린-13, PGE2, 또는 옥트레오티드(octreotide) 단독으로 용량을 증가시키면서, 또는 20 nM의 CXCL12와 조합하여 아펠린-13, PGE2 또는 옥트레오티드의 용량을 증가시키면서 처리되었다. 칼슘 동원은 FlexStation 3을 이용하여 측정되었다. 합은 20 nM의 CXCL12 단독 (빈 네모)으로, 그리고 표시된 용량(검정 원)에서 GPCRx 리간드 단독으로 야기된 반응의 산출된 부가값을 나타낸다. 합 그래프는 역 삼각형이 있는 파선으로 표시된다. 각 점에서 합(역 삼각형)을 나타낸다.각 점에서 합(역 삼각형)과 공동-처리(채워진 네모) 사이의 통계학적으로 유의적인 차이는 Student's t 테스트에 의해 결정되었다. 어느 시점에서도 통

계적 차이가 관찰되지 않았다. 데이터는 평균 ± SD (n = 3)을 나타낸다.

도 18a-18b: 야생형 MDA-MB-231 세포에서 CXCL12와 히스타민의 공동-자극시 칼슘 반응 강화를 보여준다. (도 18a) MDA-MB-231 세포는 CXCL12 (100 nM), 히스타민 (10 nM), 또는 CXCL12와 히스타민과 함께 자극받았고, 그리고 내생성 CXCR4 및 HRH1에 의해 유도된 Ca2+ 반응이 측정되었다. (도 18b) 칼슘 동원은 각 그래프의 곡선-아래-면적(AUC)를 산출함으로써 정량화되었다. 합은 각 효현제에 의해 야기된 반응의 산출된 부가 값을 나타낸다. 데이터는 삼중으로 실행된 세 가지 독립적인 실험을 나타낸다 (평균 ± SEM). 각 점에서 합과 공동-처리 간의 통계학적으로 유의적인 차이는 Student's t 테스트에 의해 결정되었다. *P < 0.05.

도 19a-19b: CXCL12 (30 nM) 및 히스타민 (50 nM)을 이용한 공동-자극에 대한 반응으로 MDA-MB-231 세포의 강화된 이동을 보여준다. MDA-MB-231 세포에 CXCR4를 인코드하는 1 MOI의 렌티바이러스를 형질도입시키고, HRH1-선택적 역 효현제인 피릴라민 (1 μM) 존재 또는 부재 하에 CXCL12, 히스타민, CXCL12와 히스타민을 지향하는 이 세포의 화학주성 이동이 평가되었다. 화학주성은 챔버당 10 필드(fields)의 낮은 세포 막 표면 상에서 이주된 세포의 수를 카운팅함으로써 정량화되었다. (도 19a) 각 그룹의 대표 도면이다. (도 19b) 히스타민 자체는 비록 MDA-MB-231 세포의 이동을 유도하지 못하였지만, CXCL12로 공동-자극시 세포의 이동이 유의적으로 증가되었다. HRH1-선택적 역 효현제인 피릴라민 (1 μM)이 완벽하게 상기 강화된 반응을 폐기하였기 때문에, MDA-MB-231 세포의 강화된 이동은 내생성 HRH1로 인한 것이었다. 이 데이터는 평균 ± SEM (n = 3 또는 5)을 나타낸다. Student's *t* 테스트에 의한 통계학적 유의적 차이가 결정되었다. *P < 0.05.

도 20: CXCR4-ADRB2 헤테로머를 발현시키는 세포를 일제히 CXCL12와 ADRB2 효현제로 자극시킬 때, 항-CXCR4 항체 및 ADRB2 길항제에 의한 강화된 칼슘 반응의 효과적인 억제를 보여준다. MDA-MB-231 세포는 CXCR4와 ADRB2를 인코딩하는 아데노바이러스로 공동-형질도입되었다. 세포는 표시된 농도의 ADRB2 길항제 (카르베디롤), 항-CXCR4 항체 (12G5), 또는 비히클로 처리되었고, Cal 6으로 2 시간 동안 항온처리되었다. 세포는 후속적으로 표시된 양의 CXCL12, ADRB2 효현제 (살메테롤), 또는 CXCL12와 ADRB2 효현제로 자극되었다.

도 21a-21b: CXCR4와 GPCRx를 과다-발현시키는 U-2 OS 세포에서 PLA를 통하여 CXCR4-GPCR 헤테로머의 탐지를 보여준다. CXCR4-GFP를 발현시키는 U-2 OS 세포는 2 일 동안 상이한 MOIs에서 CHRM1 또는 HRH1을 인코딩하는 아데노바이러스로 형질도입되었다. 후속적으로, CXCR4- 및 GPCRx-특이적 항체들을 이용하여 CXCR4-GPCRx를 공동-발현시키는 U-2 OS 세포 상에서 PLA가 실행되었다. 이 PLA 신호는 투여량-의존적 방식으로 CHRM1 (도 21a) 및 HRH1(도 21b)의 발현 수준에 비례하여 증가되었다.

도 22a-22b: (도 22a) 이식 후 28일 시점에 부모 세포 A549, 안정적으로 CXCR4를 과다발현시키는 A549-CXCR4, 그리고 안정적으로 CXCR4-ADRB2 헤테로머를 과다발현시키는 A549-CXCR4-ADRB2를 차례로 이식받은 마우스의 사진을 나타낸다; (도 22b) 도 22a의 이식된 세포 간의 종양 성장을 비교하는 그래프를 나타내는데; 매 3일 또는 4일 차에 종양의 길이(L)와 폭(W)을 측정하고, 다음의 식에 기초하여 종양 용적을 산출함으로써, 종양 성장을 모니터하였다: 용적 = 0.5 LW^2. 결과는 3마리 개체의 평균 ± 표준 편차로 나타낸다.

도 23a-23g: CXCL12와 GPCRx의 내생성 리간드와 공동-자극 시에 CXCR4와 GPCRx를 공동발현시키는 MDAMB231 세포에서 칼슘 반응을 나타난다. MDAMB231 세포는 CXCR4를 인코딩하는 아데노바이러스와 HA-VC, GPCRx와 HA-VC, 또는 CXCR4와 GPCRx로 형질도윕되었으며, 여기에서 GPCRx는 ADCYAP1R1 (PAC1) (도 23a), ADORA2B (도 23b), ADORA3 (도 23c), CHRM1 (도 23d), EDNRB (도 23e), MLNR (도 23f), 및 TACR3 (도 23g)를 나타낸다.

도 24a-24b: CXCR4와 ADCYAP1R1은 이들의 선택적 내생성 리간드들로 공동-자극 시, 이들을 공동-발현시키는 MDAMB231 세포에서 칼슘 반응을 나타낸다. MDA-MB-231 세포는 CXCR4와 ADCYAP1R1을 인코딩하는 아데노바이러스로 형질도입된다. (도 24a) 세포는 PACAP38 (1 nM, ADCYAP1R1 선택적 내생성 리간드)로 단독 처리되거나, CXCL12 단독으로 투여량을 증가시키면서 처리되거나, 또는 1 nM의 PACAP38과 조합하여 CXCL12의 투여량을 증가시키면서 처리되었다. (도 24b) 세포는 CXCL12 단독으로 처리되거나, PACAP38 단독으로 투여량을 증가시키면서 처리되거나, 또는 15 nM의 CXCL12와 조합하여 PACAP38의 투여량을 증가시키면서 처리되었다.

도 25a-25b: CXCR4 및 TACR3은 이들의 선택적 내생성 리간드들로 공동-자극 시, 이들을 공동-발현시키는 MDA-MB-231 세포에서 칼슘 반응을 나타낸다. MDA-MB-231 세포는 CXCR4와 TACR3을 인코딩하는 아데노바이러스로 형질도입된다. (도 25a) 세포는 뉴로키닌 B (0.4 nM, TACR3 선택적 내생성 리간드) 단독으로 처리되거나, CXCL12 단독으로 투여량을 증가시키면서 처리되거나, 또는 0.4 nM의 뉴로키닌 B와 조합하여 CXCL12의 투여량을 증가시키면서 처리되었다. (도 25b) 세포는 CXCL12 단독으로 (30 nM) 처리되거나, 뉴로키닌 B 단독으로 투여량을 증가시키면서 처리되거나, 또는 30 nM의 CXCL12와 조합하여 뉴로키닌 B의 투여량을 증가시키면서 처리되었다.

도 26a-26b: MDA-MB-231 세포에서 CRISPR/Cas9-매개된 CXCR4 및 HRH1 유전자 편집(gene editing) 확인을 보여준다. (도 26a) $MDA^{CXCR4+,\ HRH-}$ 세포는 CXCR4 (MDA^{CXCR4+})를 안정적으로 발현시키는 MDA-MB-231 세포에서 Cas9와 HRH1을 표적으로 하는 가이드 RNA를 인코드하는 렌티바이러스를 형질도입시킴으로써, HRH1 유전자를 방해함으로써 만들어졌다. 히스타민에 노출될 때 칼슘 반응을 측정함으로써 기능성 HRH1의 부재가 확인되었다. (도 26b) CXCR4 유전자는 MDA-MB-231 세포에서 CRISPR/Cas-9 시스템을 이용하여 편집되었고, CXCR4의 발현은 면역블랏팅(immunoblotting)을 이용하여 탐지되었다.

도 27a-27b: CXCL12와 히스타민으로 공동-처리될 때, MDA-MB-231 세포에서 강화된 칼슘 반응은 HRH1 부재시에 사라졌음을 보여준다. (도 27a) CXCR4를 안정적으로 과다발현시키는 MDAMB231 세포 (MDA^{CXCR4+}) 또는 CRISPR/Cas9 시스템 ($MDA^{CXCR4+\ HRH1}$)을 이용하여 HRH1로 격감된 MDA^{CXCR4+} 세포는 CXCL12 단독으로 (50 nM) 처리되거나, 히스타민, 또는 히스타민 및 CXCL12를 함께 농도를 증가시키면서 처리되었다. (도 27b) MDA^{CXCR4+} 세포 또는 $MDA^{CXCR4+\ HRH1-}$ 세포는 히스타민 단독으로 (15 nM) 처리되거나, CXCL12, 또는 CXCL12와 히스타민과 함께 농도를 증가시키면서 처리되었다.

도 28a-28b: CXCL12와 히스타민으로 공동-처리될 때, MDA-MB-231 세포에서 강화된 칼슘 반응은 CXCR4 부재시에 사라졌음을 보여준다. (도 28a) MDA-MB-231 세포 (MDA^{WT}) 또는 CRISPR/Cas9 시스템을 이용하여 CXCR4 격감된 MDA^{WT} 세포 (MDA^{CXCR4-})는 히스타민 단독으로 (15 nM) 처리되거나, CXCL12, 또는 히스타민과 CXCL12와 함께 농도를 증가시키면서 처리되었다. (도 28b) MDA-MB-231 세포 또는 MDA^{CXCR4} 세포는 CXCL12 단독으로 (100 nM) 처리되거나, 히스타민 단독으로, 또는 CXCL12와 히스타민과 함께 농도를 증가시키면서 처리되었고, Ca2+ 반응이 측정되었다.

도 29a-29b: CXCR4-ADRB2 헤테로머를 과다발현시키는 A549-CXCR4-ADRB2 세포 계통이 이식된 마우스에서 CXCR4 억제제, ADRB2 억제제, 또는 CXCR4와 ADRB2 억제제의 항-종양 효과를 보여준다. 도 29a는 CXCR4 억제제 LY2510924, ADRB2 억제제 카르베디롤, 또는 LY2510924와 카르베디롤 조합의 생체내 항종양 효과에 있어서 종양 성장율을 비교한 그래프다. 도 29b는 CXCR4 억제제 AMD070, ADRB2 억제제 카르베디롤, 또는 AMD070과 카르베디롤 조합의 항종양 효과에 있어서 종양 성장율을 비교한 그래프다. 매 3일 또는 4일 차에 종양의 길이(L)와 폭(W)을 측정하고, 다음의 식에 기초하여 종양 용적을 산출함으로써, 종양 성장을 모니터하였다: 용적 = 0.5 LW^2. 결과는 10마리 개체의 평균 ± 표준 편차로 나타낸다.

달리 명시되지 않는 한, 본원에 기술된 용어에 대하여 다음의 약어들이 포함된다: 급성 골수성 백혈병 (AML), 아데노신 A3 수용체 (ADORA3), 아데노신 수용체 A2b (ADORA2B), 아데노바이러스 고-처리량 시스템 (AdHTS), 아데닐레이트 사이클라제 활성화 폴리펩티드 1 (뇌하수체) 수용체 타입 I (ADCYAP1R1), 아드레날린수용체 알파 1A (ADRA1A), 아드레날린수용체 베타 2 (ADRB2), 아펠린 수용체 (APLNR), 비정형 케모킨 수용체 3 (ACKR3), 이중분자 형광 상보성 (BiFC), 생물발광 공명 에너지 전달 (BRET), 소 혈청 알부민 (BSA), 칼씨토닌 수용체 (CALCR), 암 줄기 세포 (CSCs), C-C 케모킨 수용체 타입 2 (CCR2), 케메린 케모킨-유사 수용체 1 (CMKLR1), 콜린성 수용체 무스카린 1 (CHRM1), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 만성 골수성 백혈병 (CML), 만성 폐쇄성 폐 질환 (COPD), 보체 C5a 수용체 1 (C5AR1), 비너스의 C-말단 단편 (VC), C-X-C 모티프 케모킨 리간드 12 (CXCL12), CXC 수용체 4 (CXCR4), 세포독성 T-림프구-연합된 항원 4 (CTLA-4), σ-오피오이드 수용체 (OPRD), 엔도텔린 수용체 타입 B (EDNRB), 효소-연계된 면역흡착 검정 (ELISA), 포르말린-고정된 파라핀-매립형 (FFPE), 형광 공명 에너지 전달 (FRET), G 단백질-연결된 수용체 (GPCR), 갈라닌 수용체 1 (GALR1), 다형 교아종 (GBM), 글루타곤 수용체 (GCGR), GPCR 헤테로머 식별 기술 (GPCR-HIT), 과립구-콜로니 자극 인자 (G-CSF), 조혈 줄기 세포 (HSCs), 간세포 암종 (HCC), 히스타민 수용체 H1 (HRH1), 인간 면역결핍 바이러스 (HIV), International Union of Basic and Clinical Pharmacology Committee on Receptor Nomenclature and Drug Classification (NC-IUPHAR), μ-오피오이드 수용체 (MOR), 모틸린 수용체 (MLNR), 다발성 골수종 (MM), 감염 다중도 (MOI), 골수형상이상 증후군 (MDS), 뉴로텐신 수용체 1 (NTSR1), 비-호지킨 림프종 (NHL), 비-소-세포 폐암 (NSCLC), 비너스의 N-말단 단편 (VN), 환자 유래된 세포 (PDC), 환자-유래된 이종이식편 (PDX), 양전자 방출 단층촬영 (PET), 전산화 단층촬영 (CT), 예정된 세포 사멸 리간드 1 (PD-L1), 예정된 세포 사멸 단백질 1(PD-1), 프로스타글란딘 E 수용체 2 (PTGER2), 프로스타글란딘 E 수용체 3 (PTGER3), 근접성 결찰 검정 (PLA), 역 전사-정량적 중합효소 연쇄 반응 (RT-qPCR), 단일-광자 방출 전산화 단층촬영 (SPECT), 소세포 림프구성 림프종 (SLL), 소-세포 폐암 (SCLC), 소마토스태틴 수용체 2 (SSTR2), 간질 세포-유래된 인자 1 (SDF-1),

전신 홍반성 루프스 (SLE), 타키키닌 수용체 3 (TACR3), 임계 사이클 (Ct), 시간-분해 FRET (TR-FRET), 종양 미세환경 (TME), 맥관 내피 성장 인자 (VEGF), 맥관 평활근 세포 (VSMC), WHIM 증후군 (Warts, 저감마글로블린혈증, 감염, 및 골수배출장애), 녹색 형광 단백질 (GFP), 그리고 황색 형광 단백질 (YFP).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0242] **발명의 양식**

[0243] CXCR4는 종양 형성 및 진행에서 중요한 역할을 수행하지만, 항암제로서 CXCR4 길항제의 개발은 허용가능한 용량 (dose) 범위 내에서 부작용 및 효능 부족으로 인하여 성공하지 못한 것 같았다. 최근에, 뚜렷한 생리학적 및 약리학적 특성을 갖는 다양한 CXCR4-GPCR 헤테로머들이 보고되었지만, 그러나 암 생물학에서의 역할 또는 CXCR4-GPCR 헤테로머들을 표적으로 하는 항-암 치료제 개발 가능성에서 이들의 역할은 명확하게 이해되지 않았다.

[0244] 전통적으로 GPCRs는 리간드 결합할 때, 헤테로-트리머 G 단백질과 상호작용하는 모노머로서 기능하는 것으로 여겨졌으며, 약물은 모노머 또는 등가동의(homomeric) GPCRs에 기초하여 개발되었다(Milligan 2008). GPCRs가 헤테로머들을 형성할 수 있다는 발견에 의해 이러한 견해가 크게 바뀌었고, 일부 GPCRs의 경우 헤테로머화는 필수적이다. GPCR 헤테로머화는 GPCR 성숙 및 세포 표면 전달, 리간드 결합 친화력, 신호전달 강도 및 경로, 뿐만 아니라 수용체 탈민감성(desensitization) 및 재순환을 변경시키는 것으로 알려져 있다 (Terrillon and Bouvier 2004; Ferre 외., 2010; Rozenfeld and Devi 2010; Gomes 외., 2016; Farran 2017). 상이한 GPCR 헤테로머들은 별개의 기능성 성질 및 약리학적 성질을 나타내고, GPCR 헤테로머화는 세포 타입, 조직, 및 질환 또는 병리학적 상태에 따라 가변적일 수 있다 (Terrillon and Bouvier 2004; Ferre 외., 2010;Rozenfeld and Devi 2010; Gomes 외., 2016; Farran 2017). 이제 GPCR 헤테로머화는 일반적인 현상으로 간주되며, GPCR 헤테로머화 판독으로 인하여 수용체 기능, 생리학, 질병 및 병리학 적 상태에서의 역할을 이해하기 위한 새로운 길이 열리게 된다. 따라서, GPCR 헤테로머들의 식별 및 이들의 기능성 성질의 식별은 부작용이 적고, 효능이 높으며, 조직 선택성이 증가된 새로운 제약을 개발하거나, 또는 오래된 약물의 새로운 용도를 찾을 수 있는 새로운 기회를 제공한다 (Ferre 외., 2010; Rozenfeld and Devi 2010; Farran 2017).

[0245] 진정한 GPCR 헤테로머를 식별하려면 집중적이고, 임계적인(critical) 평가가 필요하다. GPCRs의 단순 연합으로부터 GPCR 헤테로머들을 구별해내기 위하여, 이 분야의 연구자들 및 International Union of Basic and Clinical Pharmacology Committee on Receptor Nomenclature and Drug Classification (NC-IUPHAR)는 "적어도 2개의 (기능성) 수용체 단위 [프로토머(protomers)]로 구성되고, 이의 개별 성분들과는 입증적으로 상이한 생화학 성질을 갖는 거대분자 복합체"로 규정하고, 이들 헤테로머는 고유 조직에 존재한다고 규정하였다 (Ferre 외., 2009; Gomes 외., 2016; Pin 외., 2007). GPCR 헤테로머들을 설명하기 위해 이들은 세 가지 기준을 제안했다: (1) 헤테로머들은 공동-면역침전, 제자리 혼성화법, 또는 이들 두 수용체를 모두 발현시키는 세포/조직과 이들 수용체중 하나가 결여된 세포/조직에서 근접성 결찰 검정을 포함하는 근접성-기반 기술을 이용하여 적절한 공동-국소화(co-localization) 및 상호작용이 다른자리입체성(allosterism)을 가능하게 함을 보여주어야 하고 (2) 헤테로머들은 분명히 다른 성질, 이를 테면, 오직 이들 두 수용체를 모두 발현시키는 세포/조직에서만 신호전달, 리간드 결합, 및/또는 트래피킹(trafficking)에서의 변화를 나타내고, 이들 수용체중 하나가 결여된 세포/조직에서는 변화를 나타내지 않아야 하고, 그리고 (3) 헤테로머-선택적 시약들은 헤테로머-특이적 성질을 변경시켜야만 한다. 헤테로머-선택적 시약들은 헤테로머-선택적 항체들, 막-투과성 펩티드, 그리고 이가(bivalent)/이(bi)기능성 리간드들을 포함한다 (Gomes 외., 2016; Pin 외., 2007). 이종성(heterologous) 세포에서 발현된 재조합 수용체들을 이용하여 시험관에서 많은 GPCR 헤테로머들이 식별되기는 했지만, 단지 몇몇만이 새로운 특성을 보여 주었고, 기술적 문제로 인해 고유 조직에서 GPCR 헤테로머화에 대한 증거를 보여준 것은 극소수이다 (Gomes 외., 2016). NC-IUPHAR은 새로운 GPCR 헤테로머들의 승인을 위해, 위의 세 가지 기준 중 적어도 두 가지를 충족시키는 증거를 제공해야 한다고 발표했다(Pin 외., 2007).

[0246] 본원에서 기술된 바와 같이, 3가지 기준중 기준 1을 만족하는 지를 알아보기 위하여 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 존재/실재를 결정함에 있어서, 헤테로머 성분들이 공동국소화하고, 직접적으로, 또는 다른자리입체성을 위한 전달관으로 작용하는 중간 단백질을 통하여 물리적으로 상호작용하는 지에 관하여), 다음을 포함하나 이에 국한되지 않는 다음 방법들중 하나 또는 그 이상이 이용될 수 있다: 공동-내재화 검정; 공동-국소화 검정 (세포의 격실 안에 수용체 포르토머(portomers)의 공동-국소화를 결정) 이를 테면, *제자리 혼성화법*, 면역조직화학법, 또는 면역전자 현미경법; 근접성-기반 검정, 이를 테면, 공명 에너지 전달 (RET), 생물발광 RET (BRET), 형광 RET (FRET), 시간-분해 형광 RET (TR-FRET), 항체-지원된 FRET, 리간드-지원된 FRET, 이중분자 형광 상보성 (BiFC)

및 근접성 결찰 검정 (PLA)을 비롯한 근접성-기반 생물물리학 기술; 공동-면역침전 검정; 또는 형광 동물 (fluorescent animals). 예를 들면, CXCR4-GPCRx 헤테로머가 3가지 기준중 기준 1을 충족하는 지를 평가하기 위하여 BiFC, 공동-내재화 검정, 또는 PLA를 이용하였다.

[0247] 본원에서 기술된 바와 같이, 3가지 기준중 기준 2를 충족하는 지를 알아보기 위하여 (헤테로머가 개별 프로토머들의 것과 뚜렷히 상이한 성질을 나타내는 지에 관련하여), 이를 테면, CXCR4-GPCRx 헤테로머가 강화된 하류 신호전달, 예를 들면 강화된 칼슘 동원 (이를 테면, 칼슘 동원 검정에 의해 결정됨)을 초래하는 지에 대하여, 상기에서 논의된 3가지 기준중 기준 1을 충족시킨 CXCR4-GPCRx 헤테로머들에서 2-단(tiered) 접근법이 이용되었다: (1) 예를 들면, CXCL12 단독 또는 각 선택 효현제 단독으로 자극(b)에 비교하여 CXCL12와 각 선택 효현제의 공동-자극(a) 시에, HA-VC와 프로토머 (CXCR4 또는 GPCRx)중 하나를 공동-발현시키는 세포에서 칼슘 동원을 비교하는 내용-에서 개별 프로토머에서 강화된 칼슘 동원(상승작용)과 같은 강화된 하류 신호전달의 존재/부재의 결정; 그리고 (2) CXCL12 단독으로 또는 각 선택 효현제 단독 자극의 합(a)에 비교하여 CXCL12와 각 선택 효현제의 공동-자극(b) 시에, CXCR4와 GPCRx를 공동-발현시키는 세포에서 칼슘 동원을 비교하는 내용-에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머에서 강화된 칼슘 동원 (상승작용)와 같은, 강화된 하류 신호전달의 존재/부재의 결정. 본원에서 기술된 바와 같이, 3가지 기준중 기준 2를 만족시키고, 그리고 강화된 하류 신호전달, 예를 들면 강화된 칼슘 동원을 야기하는 CXCR4-GPCRx 헤테로머로 간주되기 위하여, (1) 강화된 하류 신호전달, 예를 들면, 프로토머 구성(context) (가령, CXCR4와 HA-VC 구성 또는 GPCRx와 HA-VC 구성)에서 강화된 칼슘 동원이 없어야 하고, 그리고 (2) 강화된 하류 신호전달, 예를 들면 CXCR4-GPCRx 헤테로머 구성에서 강화된 칼슘 동원이 존재해야 한다. 프로토머 구성 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머 구성 모두에서, 당해 세포를 자극하는데 이용되는 CXCL12의 농도 (단일 물질로써, 또는 각 선택 GPCRx 효현제와 조합하여) 및 당해 세포를 자극하는데 이용된 선택적 GPCRx 효현제 (내생성 효현제 또는 각 GPCRx의 공지의 선택적 효현제)의 농도 (단일 물질로써, 또는 CXCL12와 조합하여)는 독립적으로 EC50 농도에 100x을 한 농도이거나 또는 이보다 더 낮다. 예를 들면, 당해 세포를 자극하는데 이용된 CXCL12 (단일 물질로써, 또는 각 선택 GPCRx 효현제와 조합하여)의 농도는 15 nM (CXCR4에 대한 대략적 EC50 농도임)의 농도이다.

[0248] 본원에서 기술된 바와 같이, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 존재/실재를 결정함에 있어서, 3가지 기준중 기준 3을 만족하는 지를 알아보기 위하여 (헤테로머-선택적 시약들이 헤테로머-특이적 성질을 변경해야 하는지에 대하여), 3가지 기준중 기준 1과 3가지 기준중 기준 2를 만족하는 환자 유래된 세포는 길항제 (CXCR4 길항제, GPCRx 길항제, 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머 길항제)의 존재 하에서 영향을 받는데, 이를 테면, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하는 당해 환자 유래된 세포의 세포 증식에 영향을 준다.

[0249] 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 바와 같이, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트는 세포에서 CXCR4와 GPCRx의 연합이 CXCR4-GPCRx 헤테로머로 간주되는 다음의 기준 또는 특징중 적어도 2개를 충족하는 지를 포함하거나, 또는 이에 의존한다: 1) 공동-내재화 검정, 공동-편재화 검정, 제자리 혼성화법, 면역조직화학법, 면역전자 현미경법, 근접성-기반 검정, 공동-면역침전 검정, 또는 형광 동물 검정중 하나 또는 그 이상을 통하여 결정하였을 때, 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머 성분들은 공동국소화하고, 직접적으로 또는 다른자리입체성을 위한 전달관으로 작용하는 중간 단백질들을 경유하여 물리적으로 상호작용하고; 2) 강화된 양의 칼슘 동원, 이를 테면: a) CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제로 공동-자극 시, 세포에서 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 또는 각 GPCRx는 CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제에 의한 단일 효현재 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 총합에 대등하거나 또는 이보다 적은 칼슘 동원 양을 초래하고; 그리고 b) 칼슘 동원 검정으로 결정되었을 때 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제에 의한 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원양의 합에 대하여 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제로 공동자극시 강화된 칼슘 동원을 나타내고; 또는 3) CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 i) 환자 유래된 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 성질을 변경시키고; ii) 환자 유래된 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 기능을 변경시키고; iii) CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하는 환자 유래된 세포의 헤테로머-특이적 성질을 변경시키고; 또는 iv) CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포(들)의 세포 증식을 감소시킨다. 일부 구체예들에서, 다음 방법중 적어도 하나에 의해 결정되었을 때, CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 환자 유래된 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 성질을 변경시킨다: PLA, 방사리간드 결합 검정, [35S]GTP-γS 결합 검정, 칼슘 검정, cAMP 검정, GTPase 검정, PKA 활성화, ERK1/2 및/또는 Akt/PKB 인산화 검정, Src 및 STAT3 인산화 검정, CRE-리포터 검정, NFAT-RE-리포터 검정, SRE-리포터 검정, SRF-RE 리포터 검정, NF-kB-RE 리포터 검정, 분비된 알카리 포스파타제 검정, 이노시톨 1-포스페이트 생산 검정, 아데닐일 사이클라제 활성 검정, RT-PCR, RT-qPCR, RNAseq, 차세대 시퀀싱 (NGS), 또는 마이크로어레이에 의한 표적 유전자 발현 분석. 일부 구체예들에서, 다음 방법중 적어도 하나에 의해 결정되었을 때, CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 환자 유래된 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로

머의 헤테로머-특이적 기능을 변경시킨다: PLA, 방사리간드 결합 검정, [35S]GTP-γS 결합 검정, 칼슘 검정, cAMP 검정, GTPase 검정, PKA 활성화, ERK1/2 및/또는 Akt/PKB 인산화 검정, Src 및 STAT3 인산화 검정, CRE-리포터 검정, NFAT-RE-리포터 검정, SRE-리포터 검정, SRF-RE 리포터 검정, NF-kB-RE 리포터 검정, 분비된 알카리 포스파타제 검정, 이노시톨 1-포스페이트 생산 검정, 아데닐일 사이클라제 활성 검정, RT-PCR, RT-qPCR, RNAseq, 또는 마이크로어레이에 의한 표적 유전자 발현 분석. 일부 구체예들에서, 다음 방법중 적어도 하나에 의해 결정될 때, CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하는 환자 유래된 세포의 헤테로머-특이적 성질을 변경시킨다: 암 세포의 증식, 이동, 침범, 및 약물 저항성 (생존), 면역 세포 기능의 조정, 혈관신생, 맥관형성, 전이, 약물 저항성, 조직 마이크로어레이 (TMA), 그리고 암 세포-종양 미세환경 (TME) 상호작용의 검정. 예를 들면, 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 바와 같이, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트는 세포에서 CXCR4와 GPCRx의 연합이 CXCR4-GPCRx 헤테로머로 간주되는 다음의 기준 또는 특징중 적어도 2개를 충족하는 지를 포함하거나, 또는 이에 의존한다: 1) 공동-내재화 검정, 이중분자 형광 상보성 (BiFC), 또는 근접성 결찰 검정 (PLA)중 하나 또는 그 이상을 통하여 결정하였을 때, 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머 성분들은 공동국소화하고, 직접적으로 또는 다른자리입체성을 위한 전달관으로 작용하는 중간 단백질들을 경유하여 물리적으로 상호작용하고; 2) 강화된 양의 칼슘 동원, 이를 테면: a) CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제로 공동-자극 시, 세포에서 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 또는 각 GPCRx는 CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제에 의한 단일 효현재 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 총합에 대등하거나 또는 이보다 적은 칼슘 동원 양을 초래하고; 그리고 b) 칼슘 동원 검정으로 결정되었을 때 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제에 의한 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원양의 합에 대하여 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제로 공동자극시 강화된 칼슘 동원을 나타내고; 또는 3) CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 i) 환자 유래된 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 성질을 변경시키고; ii) 환자 유래된 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 기능을 변경시키고; iii) CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하는 환자 유래된 세포의 헤테로머-특이적 성질을 변경시키고; 또는 iv) CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포(들)의 세포 증식을 감소시킨다. 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 바와 같이, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트는 세포에서 CXCR4와 GPCRx의 연합이 CXCR4-GPCRx 헤테로머로 간주되도록 기준 1과 2를 충족하는 지를 포함하거나, 또는 이에 의존한다: 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 바와 같이, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트는 세포에서 CXCR4와 GPCRx의 연합이 CXCR4-GPCRx 헤테로머로 간주되도록 기준 1과 3을 충족하는 지를 포함하거나, 또는 이에 의존한다. 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 바와 같이, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트는 세포에서 CXCR4와 GPCRx의 연합이 CXCR4-GPCRx 헤테로머로 간주되도록 기준 2와 3을 충족하는 지를 포함하거나, 또는 이에 의존한다. 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 바와 같이, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트는 세포에서 CXCR4와 GPCRx의 연합이 CXCR4-GPCRx 헤테로머로 간주되도록 기준 1, 2와 3을 충족하는 지를 포함하거나, 또는 이에 의존한다.

[0250] 본원에서 기술된 바와 같이, 상기 3가지 기준중 적어도 2개를 충족시키는 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 갖거나, 야기시키거나, 또는 만들 수 있다. 상기 강화된 하류 신호전달은 CXCR4-GPCRx 헤테로머로 인한 결과일 수 있는데, 이를 테면, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 효현성으로 인하여, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 CXCR4 효현성으로 인하여, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 GPCRx 효현성으로 인하여, 및/또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 CXCR4 효현성과 GPCRx 효현성으로 인한 결과일 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 강화된 하류 신호전달은 CXCR4, 각 GPCRx, 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 하류일 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 강화된 하류 신호전달은 이들의 각 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 프로토머 또는 각 GPCRx 프로토머부터 유래된 하류 신호전달에 관련하여 CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터 유래될 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 강화된 하류 신호전달은 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 프로토머부터 유래된 하류 신호전달에 관련하여 CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터 유래될 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 강화된 하류 신호전달은 개별 프로토머 구성에서 각 GPCRx 프로토머로부터 유래된 하류 신호전달에 관련하여 CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터 유래될 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 강화된 하류 신호전달은 이들의 각 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 프로토머와 각 GPCRx 프로토머부터 유래된 하류 신호전달에 관련하여 CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터 유래될 수 있다. 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터의 강화된 하류 신호전달은 일부 구체예들에서, 암 환자에서 억제될 수 있는데, 이를 테면, 당해 환자의 암 세포에 억제된다. 일부 구체예들에서, 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터의 강화된 하류 신호전달은 강화된 양의 칼슘 동원 (또는 칼슘 동원의 상승적 양)일 수 있는데, 세포내 Ca2+ 검정, 이를 테면, 칼슘 동원 검정에 의해 결정될 수 있다.

[0251] 본원에서 기술된 바와 같이, 상기 3가지 기준 중 적어도 2개를 충족시키는 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 갖거나, 야기시키거나, 또는 만들 수 있고, 이때 강화된 하류 신호전달은 강화된 양의 칼슘 동원이

다. 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터의 강화된 양의 칼슘 동원은 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제의 공동-자극 시, CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제로 전술한 세포의 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합보다 적어도 10% 이상인 칼슘 동원양일 수 있다. 일부 구체예들에서, 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터의 강화된 양의 칼슘 동원은 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제의 공동-자극 시, CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제로 전술한 세포의 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합보다 적어도 10% 이상인 칼슘 동원의 상승적 양일 수 있다. 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, 예를 들면, CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터의 상기 강화된 양의 칼슘 동원 (또는 칼슘 동원의 상승적 양)은 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제의 공동-자극 시에, CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제로 전술한 세포의 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합보다 적어도 20% 이상, 적어도 30% 이상, 적어도 40% 이상, 적어도 50% 이상, 적어도 75% 이상, 적어도 90% 이상, 적어도 100% 이상, 적어도 150% 이상, 또는 적어도 200% 이상인 칼슘 동원 양일 수 있다. 일부 구체예들에서, 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터의 상기 강화된 양의 칼슘 동원 (또는 칼슘 동원의 상승적 양)은 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제의 공동-자극 시에, CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제로 전술한 세포의 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합보다 10-100% 사이에서 더 클 수 있고, 예를 들면, 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제의 공동-자극 시에, CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제로 전술한 세포의 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합보다 25-100% 이상, 50-100% 이상, 75-100% 이상, 또는 100-200% 이상이 될 수 있는 칼슘 동원 양일 수 있다.

[0252] 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 바와 같이, 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트에 따르면, CXCR4-GPCRx 헤테로머는 상기 3가지 기준중 적어도 2개를 충족하고, 이로 인하여 강화된 하류 신호전달을 갖거나, 야기시키거나, 또는 만들고, 이때 강화된 하류 신호전달은 강화된 양의 칼슘 동원이며, 이를 테면: a) CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제로 공동-자극 시에, 세포에서 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 또는 각 GPCRx는 CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제에 의한 단일 효현제 자극으로 생성된 칼슘 동원 양의 합에 대등하거나 또는 이보다 적은 칼슘 동원 양을 초래하고; 그리고 b) 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, CXCR4-GPCRx 헤테로머는 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제의 공동-자극 시에 CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제에 의한 단일 효현제 자극으로 생성된 칼슘 동원 양의 합과 관련하여 강화된 칼슘 동원을 나타낸다. 예를 들면, 일부 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달은 강화된 양의 칼슘 동원이며, 이를 테면: i) 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, 세포에서 개별 프로토머 구성에서 프로토머 CXCR4 또는 GPCRx로부터의 칼슘 동원은 비-상승적이며; 그리고 ii) 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, 당해 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터의 칼슘 동원은 상승적이다. 일부 구체예들에서, 개별 프로토머 구성은 다음의 것일 수 있다: 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, a) 각 개별 프로토머 GPCRx 부재 하에서 세포에서 개별 프로토머 CXCR4; 또는 b) 개별 프로토머 CXCR4 부재 하에서 세포에서 각 개별 프로토머 GPCRx; CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제의 공동-자극 시에 CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제에 의한 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합에 대등한 또는 이보다 적은 칼슘 동원 양을 초래한다. 일부 구체예들에서, 개별 프로토머 구성은 독립적으로 다음의 것일 수 있다: 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, a) 각 개별 프로토머 GPCRx 부재 하에서 세포에서 개별 프로토머 CXCR4; 그리고 b) 개별 프로토머 CXCR4 부재 하에서 세포에서 각 개별 프로토머 GPCRx; CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제의 공동-자극 시에 CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제에 의한 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합에 대등한 또는 이보다 적은 칼슘 동원 양을 초래한다. 예를 들면, 일부 구체예들에서, 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, CXCR4-GPCRx 헤테로머는 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제의 공동-자극 시에, CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제로 전술한 세포의 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합보다 더 큰 칼슘 동원 양을 초래할 수 있다.

[0253] 본원에서 사용된 바의, 용어 "CXCR4"는 C-X-C 모티프 케모킨 수용체 4를 지칭하며, 표 1에 나타낸 바와 같이, 고유한 데이터베이스 식별자 (IDs) 및 대체명으로 또한 식별된다 (Chatterjee 외., 2014; Debnath 외., 2013; Domanska 외., 2013; Guo 외., 2016; Peled 외., 2012; Roccaro 외., 2014; Walenkamp 외., 2017).

[0254] 본원에 사용된 바의 용어 "GPCRx"는 표 1 및 표 2에 나타낸 바와 같이, 고유한 데이터베이스 식별자 (IDs) 및 대체명으로 또한 식별되며, GPCRs가 CXCR4와 상호작용하고, 다음을 비롯한 개별 프로토머의 성질과는 구별되는 성질을 나타내는 지를 조사하기 위하여 본 연구에 이용되었던 GPCRs를 지칭한다: ADCYAP1R1 (ADCYAP 수용체 타입 I), ADORA2B (아데노신 A2b 수용체), ADORA3 (아데노신 A3 수용체), ADRB2 (아드레날린수용체 베타 2), APLNR (아펠린 수용체), C5AR1 (보체 C5a 수용체 1), CALCR (칼씨토닌 수용체), CCR5 (케모킨 (C-C 모티프) 수용체 5), CHRM1 (콜린성 수용체 무스카린 1), GALR1 (갈라닌 수용체 1), EDNRB (엔도텔린 수용체 타입 B), HRH1 (히스타민 수용체 H1), MLNR (모틸린 수용체), NTSR1 (뉴로텐신 수용체 1), PTGER2 (프로스타글란딘 E 수

용체 2), PTGER3 (프로스타글란딘 E 수용체 3), SSTR2 (소마토스태틴 수용체 2), 및 TACR3 (타키키닌 수용체 3).

[0255] 하기 표 1는 CXCR4와 헤테로머들을 형성하고, 효현제 모두로 공동-자극 시에 Ca2+ 반응을 상승적으로 강화시키는 GPCRx 명명법을 제공하며, 하기 표 2는 CXCR4와 헤테로머들을 형성하지만, 효현제 모두로 공동-자극 시에 Ca2+ 반응을 상승적으로 강화시키지 못하는 GPCRx 명명법을 제공한다.

표 1

유전자 이름	온전한 이름	다른 이름	IDs
CXCR4	C-X-C 모티프 케모킨 수용체 4	백혈구-유래된 7 개 막 도메인 수용체; 리포폴리사카라이드-연합된 단백질 3; 간질 세포-유래된 인자 1 수용체; 케모킨 (C-X-C 모티프) 수용체 4; LPS-연합된 단백질 3 7 개 막 헬릭스 수용체; C-X-C 케모킨 수용체 타입 4; 뉴로펩티드 Y 수용체 Y3; 뉴로펩티드 Y3 수용체; 케모킨 수용체; 7 개-막-세그먼트 수용체, 비장; 케모킨 (C-X-C 모티프), 수용체 4 (퓨신); SDF-1 수용체; CD 184 항원; 퓨신; LAP-3; LESTR; NPYRL; FB22; HM89; LCR1; D2S201E; HSY3RR; NPYY3R;CXC-R4; CXCR-4; CD 184; NPY3R; WHIMS; LAP3; NPYR; WHIM	GCID: GC02M136114HGNC: 2561Entrez Gene: 7852Ensembl: ENSG000001219660MIM: 162643UniProtKB: P61073
ADCYAP1R 1	ADCYAP 수용체 타입 I	아데닐레이트 사이클라제 활성화 폴리펩티드 1 (뇌하수체) 수용체 타입 I; 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 폴리펩티드 타입 1	GCID: GC07P031058HGNC: 242Entrez Gene: 117Ensembl: ENSG000000785490MIM: 102981UniProtKB:

[0256]

		수용체; PACAP 타입 I 수용체; PACAP 수용체 1; PACAP-R1; 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제 활성화 폴리펩티드 1 수용체 타입 I 힙홉(Hiphop); 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 폴리펩티드 타입 I 수용체; PACAP-R-1; PACAPRI;PACAPR; PAC1R; PAC1	P41586
ADORA2B	아데노신 A2b 수용체	아데노신 수용체 A2b; ADORA2	GCID: GC17P015927HGNC: 264Entrez Gene: 136Ensembl: ENSG000001704250M IM: 600446UniProtKB: P29275
ADORA3	아데노신 A3 수용체	아데노신 수용체 A3; A3AR	GCID: GC01M111499HGNC: 268Entrez Gene: 140Ensembl: ENSG000002826080M IM: 600445UniProtKB: P0DMS8
ADRB2	아드레날린수용체 베타 2	아드레날린, 베타-2-, 수용체, 표면; 베타-2 아드레날린수용체; 베타-2 아드레날린수용체; ADRB2R; B2AR; 아드레날린수용체 베타 2, 표면; 아드레날린수용체 베타 2 표면; 베타-2 아드레날린 수용체; 카테콜아민 수용체;BETA2AR; ADRBR; BAR	GCID: GC05P148825HGNC: 286Entrez Gene: 154Ensembl: ENSG000001692520M IM: 109690UniProtKB: P07550

[0257]

C5AR1	보체 C5a 수용체 1	보체 성분 5 a 수용체 1; 보체 성분 5 수용체 1 (C5a 리간드);C5a 아나필라톡신 화학주성 수용체 1; C5a 아나필라톡신 화학주성 수용체;보체 성분 5 수용체 1; C5a 아나필라톡신 수용체; C5a-R;C5R1; C5AR; CD88 항원; C5 리간드; CD88; C5a	GCID: GC19P047290HGNC: 1338Entrez Gene: 728Ensembl: ENSG000001974050MIM: 113995UniProtKB: P21730
CALCR	칼씨토닌 수용체	CT-R; CTR1; CRT; CTR	GCID: GC07M093424HGNC: 1440Entrez Gene: 799Ensembl: ENSG000000049480MIM: 114131UniProtKB: P30988
CHRM1	콜린성 수용체 무스카린 1	아세틸콜린 수용체, 무스카린 1;무스카린 아세틸콜린 수용체 M1; HM1; M1R; M1	GCID: GC11M062927HGNC: 1950Entrez Gene: 1128Ensembl: ENSG000001685390MIM: 118510UniProtKB: P11229
EDNRB	엔도텔린 수용체 타입 B	엔도텔린 수용체 비-선택적 타입; ET-BR; ET-B;ETRB ;엔도텔린 수용체 서브타입 B1; ABCDS; HSCR2;ETB1; ETBR; WS4A; HSCR; ETB	GCID: GC13M077895HGNC: 3180Entrez Gene: 1910Ensembl: ENSG000001361600MIM: 131244UniProtKB: P24530
HRH1	히스타민 수용체 H1	HH1R; H1R; 히스타민 수용체, 서브클래스 H1; 히스타민 H1 수용체;	GCID: GC03P011113HGNC: 5182Entrez Gene:

[0258]

		HisH1;H1-R	3269Ensembl: ENSG000001966390M IM: 600167UniProtKB: P35367
MLNR	모틸린 수용체	G 단백질-연결된 수용체 38; GPR38; MTLR1; G-단백질 연결된 수용체 38; MTLR	GCID: GC13P049220HGNC: 4495Entrez Gene: 2862Ensembl: ENSG000001025390M IM: 602885UniProtKB: 043193
NTSR1	뉴로텐신 수용체 1	고-친화력 레보(Levo)-카바스틴-무감각 뉴로텐신 수용체;뉴로텐신 수용체 1 (고-친화력); NT-R-1; NTR1; NTRH; 뉴로텐신 수용체 타입 1;NTRR; NTR	GCID: GC20P062708HGNC: 8039Entrez Gene: 4923Ensembl: ENSG000001011880M IM: 162651UniProtKB: P30989
TACR3	타키키닌 수용체 3	뉴로키닌 베타 수용체; 뉴로키닌 B 수용체; NK-3 수용체; NK-3R; NK3RNKR; 뉴로메딘-K 수용체;TAC3RL; TAC3R; HH11	GCID: GC04M103586HGNC: 11528Entrez Gene: 6870Ensembl: ENSG000001698360M IM: 162332UniProtKB: P29371

[0259]

[0260] *GCID: 유전자카드 식별자

[0261] HGNC: HUGO Gene Nomenclature Committee

표 2

유전자 이름	온전한 이름	다른 이름	IDs
APLNR	아펠린 수용체	G-단백질 연결된 수용체 HG11;앙지오텐신 II 수용체-유사 1; 앙지오텐신 수용체-유사 1; APJ (아펠린) 수용체; G 단백질-연결된 수용체 APJ; G-단백질 연결된 수용체 APJ;HG11 올판(orphan) 수용체;APJ 수용체; AGTRL1; APJ; APJR;HG11	GCID: GC11M057233HG NC: 339Entrez Gene: 187Ensembl: ENSG00000134817 OMIM: 600052UniProtKB: P35414
CCR5	케모킨 (C-C 모티프) 수용체 5	C-C 케모킨 수용체 타입 5;케모킨 수용체 CCR5; 케모킨 (C-C 모티프) 수용체 5 (유전자/위(pseudo)유전자);C-C 모티프 케모킨 수용체 5 A159A; 케모킨 수용체 CCR5 델타 32; CD 195 항원; HIV-1 푸젼(Fusion) 공수용체; CC-CKR-5;ChemR13; CMKBR5; CCR-5;C-C CKR-5; CCCKR5; IDDM22;CD195; CKR-5; CKR5	GCID: GC03P046382HGN C: 1606Entrez Gene: 1234Ensembl: ENSG00000160791 OMIM: 601373UniProtKB: P51681
GALR1	갈라닌 수용체 1	GALNR1; GAL1-R; GALR-1; GALNR; 갈라닌 수용체 타입 1	GCID: GC18P077250HGN C: 4132Entrez Gene: 2587Ensembl: ENSG00000166573 OMIM: 600377UniProtKB: P47211
PTGER2	프로스타글란딘 E 수용체 2	프로스타글란딘 E 수용체 2 (서브타입 EP2), 53kDa;	GCID: GC14P052314HGN

[0262]

		프로스타글란딘 E 수용체 2 (서브타입 EP2), 53kD; PGE2 수용체 EP2 서브타입; PGE 수용체 EP2 서브타입; 프로스타노이드 EP2 수용체; 프로스타글란딘 E2 수용체 EP2 서브타입; EP2	C: 9594Entrez Gene: 5732Ensembl: ENSG00000125384 OMIM: 176804UniProtKB: P43116
PTGER3	프로스타글란딘 E 수용체 3	프로스타글란딘 E 수용체 3 (서브타입 EP3); PGE2 수용체 EP3 서브타입; 프로스타노이드 EP3 수용체; PGE2-R; 프로스타글란딘 E 수용체 EP3 서브타입 3 아이소폼; 프로스타글란딘 E2 수용체 EP3 서브타입; 프로스타글란딘 수용체 (PGE-2); PGE 수용체, EP3 서브타입; PGE 수용체 EP3 서브타입; EP3-III; EP3-II; EP3-IV;EP3-VI; EP3-I; EP3e; EP3	GCID: GC01M070852HG NC: 9595Entrez Gene: 5733Ensembl: ENSG00000050628 OMIM: 176806UniProtKB: P43115
SSTR2	소마토스타틴 수용체 2	SRIF-1; SS2R; 소마토스타틴 수용체 타입 2; SS-2-R; SS2-R	GCID: GC17P073165HGN C: 11331Entrez Gene: 6752Ensembl: ENSG00000180616 OMIM: 182452UniProtKB: P30874

[0263]

[0264] *GCID: 유전자카드 식별자

[0265] HGNC: HUGO Gene Nomenclature Committee

[0266] CXCR4와 함께 헤테로머로써 본원에서 평가된 GPCRs에 대한 추가 정보는 하기에서 상술된다:

[0267] (1) ADCYAP1R1 - 일명 PAC1로 알려진 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 폴리펩티드 타입 I 수용체는 인간에서 ADCYAP1R1 유전자에 의해 인코드된 단백질이다. 이 수용체는 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제 활성화 펩티드에 결합한다. ADCYAP1R1은 막-연합된 단백질이며, G-단백질 연결된 클라스 B 글루타곤/세크레틴 수용체 패밀리의 구성요소들과 유의적인 상동성을 공유한다. 이 수용체는 아데닐레이트 사이클라제 활성화 폴리펩티드 1의 다양한 생물학적 작용을 중개하고, 아데닐레이트 사이클라제에 양성적으로(positively) 연결된다 (Vaudry 외., 2000). 이것은 PACAP-27과 PACAP-38의 수용체다. 이 수용체의 활성은 아데닐일 사이클라제를 활성화시키는 G 단백질들에 의해 매개된다. ADCYAP1R1은 아드레노코르티코트로핀, 황체형성 호르몬, 성장 호르몬, 프로락틴, 에피네프린, 및 카테콜아민의 방출을 조절할 수 있다. ADCYAP1R1은 정자형성 및 정자 운동성에 역할을 할 수 있다. ADCYAP1R1은 위장관에서 평활근 이완 및 분비를 유발한다 (Ogi 외., 1993).

[0268] ADCYAP1R1은 부신 수질, 췌장 아시니(pancreatic acini), 자궁, 근층간 신경총(myenteric plexus) 및 뇌에서 발현된다 (Reubi, 2000; Reubi 외., 2000). 삼차신경(trigeminal), 귀 및 상위 경부 신경절 (결합전(prejunctional)) 및 뇌동맥 (결합후(postjunctional))에서도 또한 발현된다(Knutsson and Edvinsson, 2002). ADCYAP1R1과 연합된 질환은 외상-후 스트레스 장애 (Lowe 외., 2015) 및 불안 장애를 포함한다. 이의 관련 경로 중에서 G 알파(들) 신호전달 사건 및 RET 신호전달이 있다 (Cooper 외., 2013).

[0269] (2) ADORA2B - 일명 ADORA2B로 알려진 아데노신 A2B 수용체는 G-단백질 연결된 아데노신 수용체이며, 이를 인코드하는 인간 아데노신 A2b 수용체 유전자를 나타낸다. 아데노신은 4가지 별개의 아데노신 수용체들-ADORA1,

ADORA2A, ADORA2B, 및 ADORA3(차례로 일명 A1, A2A, A2B, 및 A3)의 활성화를 통하여 신호전달 분자로 기능한다. 이러한 필수적인 막 단백질은 아데노신 존재 하에서 아데닐레이트 사이클라제 활성을 자극한다. 이 단백질은 축상 신장(elongation)에 관련된 네트린-1과 또한 상호작용한다. 이들 수용체는 광범위하게 발현되며, 생리학적 및 병리학적으로 여러 생물학적 기능에 연루되어 있다. ADORA2A 수용체와 ADORA2B 수용체는 모두 암 면역학에 중요하다. 종양 미세환경은 저산소성이며, 면역 세포에 의한 CD39 및 CD73의 발현을 촉진시킨다. CD39 및 CD73은 ATP를 아데노신으로 전환시켜, 아데노신의 농도를 국소적으로 상승시키는 엑토뉴클레오티다제이다. 아데노신은 림프구 상의 ADORA2A 및 ADORA2B 수용체에 결합하고, 이는 항종양 면역 반응을 침묵하게 만들기 때문에, 암에서 변경된 면역 기능의 중요한 매개체이다(Chen 외., 2013).

[0270] ADORA2B는 생체 내에서 CXCR4 발현 조절, 혈관 병변 형성을 방지하는 역할을 하며(Yang 외., 2008), 인간 구강암의 진행을 촉진시킨다 (Kasama 외., 2015). 유방암 전이를 촉진하는 약리학적으로 다루기 쉬운 Fra-1/ADORA2B 축의 식별 (Desmet 외., 2013). ADORA2B 수용체는 맹장, 결장 및 방광에서 높은 발현 수준을 나타내며, 폐, 혈관 및 눈에서는 발현 수준이 더 낮다(Fagerberg 외., 2014).

[0271] (3) ADORA3 - 일명 ADORA3으로 알려진 아데노신 A3 수용체는 아데노신 수용체이지만, 이를 인코드하는 인간 유전자를 나타낸다. ADORA3 수용체들은 Gi/Gq에 결합되는 G-단백질 연결된 수용체들이며, 다양한 세포내 신호전달 경로 및 생리학적 기능에 관련되어 있다. 그것은 심장 허혈 동안 지속적인 심장 보호 기능을 매개하며, 호중구-매개된 조직 손상에서 호중구 탈과립의 억제에 관여하고, 신경 보호 및 신경 퇴행 효과에 모두 관련있어, 세포 증식 및 세포 사멸을 또한 매개할 수도 있다(Gao 외., 2008; Miwatashi 외., 2008).

[0272] 코르디세핀(Cordycepin)은 ADORA3 수용체의 활성화를 통해 인간의 방광암 세포에서 아포프톱시스(apoptosis)를 유도한다 (Cao 외., 2017). ADORA3 수용체 효현제는 GLI-1 및 ERK1/2 경로를 통한 유방암 줄기 세포 생존을 억제하였다는 것을 Jafari 외.는 보여주었다 (Jafari 외., 2017). ADORA3은 부신 (RPKM 4.4), 소장 (RPKM 2.9) 및 뇌, 방광, 림프절 및 결장을 포함하는 20가지 다른 조직에서 광범위하게 발현된다 (Fagerberg 외., 2014).

[0273] (4) ADRB2 - 일명 ADRB2로 알려진 베타-2 아드레날린 수용체 (β2 아드레날린수용체)는 에피네프린, 호르몬 및 신경전달물질(리간드 동의어, 아드레날린)과 상호작용하는 세포 막-스패닝(spanning) 베타-아드레날린 수용체로써, 하류 L-타입 칼슘 채널 상호작용을 경유한 이의 신호전달은 생리학적 반응, 이를 테면, 평활근 이완 및 기관지확장을 중개한다 (Gregorio 외., 2017). ADRB2는 근육계에서 이를 테면, 평활근 이완, 운동 신경 말단, 글리코겐분해 기능을 하고, 순환계에서 이를 테면, 심근 수축, 심장 출력 증가(cardiac output increase) 기능을 한다. 정상적인 눈에서 살부타몰(salbutamol)에 의한 베타-2 자극은 네트(net)를 통해 안압을 증가시킨다. 소화계에서 ADRB2는 간에서 글리코겐 분해 및 포도당 생성을 유도하고, 췌장에서 인슐린 분비를 유도한다 (Fitzpatrick, 2004).

[0274] 심장 근육세포에서 ADRB2 신호전달은 CXCR4와의 상호작용에 의해 조절된다 (LaRocca 외., 2010). 노르에피네프린은 CXCR4 발현을 감쇠시키고(attenutates), ADRB2를 경유한 MDA-MB-231 유방암 세포의 상응하는 침범을 감쇠시킨다 (Wang 외., 2015a). ADRB2는 몇몇 암 이를 테면, 췌장암, 전립선암 (Braadland 외., 2014; Xu 외., 2017), 신장암 및 유방암에서 발현된다 (Choy 외., 2016).

[0275] (5) C5AR1 - 일명 보체 성분 5a 수용체 1 (C5AR1) 또는 CD88 (분화 클러스터 88)인 C5a 수용체는 C5a의 G 단백질-연결된 수용체다. 이것은 보체 수용체로 기능한다. C5AR1은 염증 반응, 비만, 발생(development) 및 암을 조중한다. (Gerard and Gerard, 1994).

[0276] C5AR1은 과립구, 단핵구, 수지상 세포, 간세포-유래 세포 계통 HepG2, 성상세포, 미세아교 세포에서 발현된다 (Klos 외., 2013). C5AR1은 염증성 장 질환, 류마티스 관절염, 건선, 실험적인 알레르기성 뇌척수염, 다발성 경화증, 수막염 및 뇌 외상과 같은 여러 질병과 관련있다 (Lee 외., 2008).

[0277] (6) CALCR - 칼씨토닌 수용체 (CT)는 펩티드 호르몬 칼씨토닌에 결합하는 G 단백질-연결된 수용체이며, 칼슘 항상성의 유지, 특히, 뼈 형성 및 대사와 관련하여 칼슘 항상성 유지에 관련된다 (Dacquin 외., 2004; Davey 외., 2008). CT는 파골 세포, 신장 세포 및 뇌 여러 영역의 세포에서 흔히 발견되는 G-단백질 Gs 및 Gq를 활성화시켜 작용한다. 또한 여성의 난소와 남성의 고환에 영향을 줄 수 있다. 이 수용체의 활성은 아데닐일 사이클라제를 활성화시키는 G 단백질들에 의해 매개된다. 칼시토닌 수용체는 콜레라 독소에 민감한 헤테로트리머(heterotrimeric) 구아노신 트리포스페이트-결합 단백질에 커플링되는 것으로 생각된다. 파골 세포 매개된 골흡수 억제 또는 신장에 의한 증가된 Ca2 + 배출과 같은 CT의 생리학적 효과는 고친화력 CTs에 의해 중개된다 (Albrandt 외., 1995).

[0278] CT에서 기능 돌연변이의 상실로 결과가 좋지 않은 매우 공격적인 교모세포종이 식별된다 (Pal 외., 2018). 유선, 연골, 코 및 귀에서 CTRs의 발현이 보고되었다. 이러한 다양한 조직에서 CALCR 유전자 발현의 발달 조절에 의해 이들 조직의 형태 형성에서 CTR의 역할이 암시된다(Pondel, 2000).

[0279] (7) CHRM1 - 무스카린 콜린성 수용체들은 G 단백질-연결된 수용체들의 더 큰 패밀리에 속한다. 이들 수용체의 기능적 다양성은 아세틸콜린의 결합에 의해 특정되며, 세포의 반응, 이를 테면, 아데닐레이트 사이클라제 억제, 포스포이노시티드 퇴행, 및 칼륨 채널 중재를 포함한다. 무스카린 수용체들은 중추 및 말초 신경계에서 아세틸콜린의 많은 효과에 영향을 준다 (Rang, 2003). 무스카린 콜린성 수용체 1은 미주신경(vagally)-유도된 기관지 수축의 중재 및 위장관의 산 분비에 관여한다. 이것은 포스포리파제 C의 상향조절을 이용하는 클라스 Gq의 G 단백질, 그리고 따라서, 신호전달 경로로써 이노시톨 트리스포스페이트 및 세포내 칼슘에 주로 결합된 것으로 발견된다 (Qin 외., 2011).

[0280] 무스카린 수용체들은 몸 전체에 널리 분포하고, 위치 및 서브타입(CHRM1-CHRM5)에 따라 독특한 기능을 제어한다. 그들은 주로 부교감 신경계에서 발현되어, 억제 및 흥분 효과를 모두 발휘한다. 이 수용체는 신경절-후 신경의 신경절에서 느린 흥분성 시냅스 후 전위(potential)를 매개하는 것으로 밝혀지며, 외분비 선과 CNS에서 흔하다(Johnson, 2002). CHRM1과 연합된 질병에는 천식 및 방실 차단(heart block), 선천성 그리고 Pelizaeus-Merzbacher 질환이 포함된다. CHRM1 무스카린 아세틸콜린 수용체들 (mAChRs)의 활성제(activators)는 정신분열증 및 Alzheimer 질환의 새로운 치료를 제공할 수 있다 (Mario 외., 2009).

[0281] (8) EDNRB - 엔도텔린 수용체 타입 B (ETB) 수용체는 ETA 수용체 (EDBRA) 직후 클론되었다. EDNRA와 유사하게, 이것은 외부 아미노 말단 및 내부 카르복시 말단 그리고 상기 수용체의 헵타헬릭스(heptahelical) 부분에 고유한 결합 부위를 갖는 G 단백질-커플링된 헵타헬릭스 수용체의 클래스 A에 속한다. EDNRA와 유사하게, 내생성 효현제 ET-1은 EDNRB에 대하여 고-친화력을 갖는다. EDNRB 수용체의 약리학은 사라포톡신 6c (S6c) 및 IRL1620을 비롯한 EDNRB의 다수 효현제가 인지된다는 점에서 EDNRA보다 다소 풍부하다. EDNRB의 선택적 길항제에는 BQ788, A192621, RES7011, 및 IRL2500이 포함된다. EDNRB는 심혈관 조직, 폐 시스템, 뉴런, 뼈, 췌장 및 신장에 국소화되어 있다 (Watts, 2010).

[0282] EDNRB는 포스파티딜이노시톨-칼슘 2차 메신져 시스템을 활성화시키는 G 단백질-연결된 수용체다. 이의 리간드, 엔도텔린은 3가지 강한(potent) 혈관작용 펩티드 패밀리로 구성된다: ET1, ET2, 및 ET3. 멜라닌 세포에서 EDNRB 유전자는 소안구증(microphthalmia)-연합된 전사 인자에 의해 조절된다. 두 유전자중 하나에서 돌연변이는 Waardenburg 증후군과 관련있다 (Sato-Jin 외., 2008). 다유전적(multigenic) 장애인 Hirschsprung 질환 타입 2는 EDNRB 유전자의 돌연변이로 인한 것이다 (Tanaka 외., 1998). EDNRB와 연합된 질환에는 Waardenburg 증후군, 타입 4A 및 Abed 증후군이 포함된다. 이의 관련 경로 중에는 칼슘 신호전달 경로 및 프로스타글란딘 합성 그리고 Waardenburg 증후군의 조절이 있다(Sato-Jin 외., 2008).

[0283] (9) HRH1 - H1 수용체는 로돕신-유사 G-단백질-연결된 수용체 패밀리에 속하는 히스타민 수용체다. 이 수용체는 생체 아민 히스타민에 의해 활성화된다. HRH1은 포스포리파제 C 및 이노시톨 트리포스페이트 (IP3) 신호전달 경로를 활성화시키는 세포내 G-단백질 (Gq)에 연계된다. 이 수용체에 작용하는 항히스타민은 항-알레르기 약물로 이용된다. 이 수용체의 결정 구조가 확인되었고, 구조-기반 가상(virtual) 스크리닝 연구에서 새로운 HRH1 리간드를 발견하는데 사용되었다(de Graaf 외., 2011). G-단백질의 서브유닛은 후속적으로 다양한 중간생성물 이를 테면, 사이클릭 AMP, 사이클릭 GMP, 칼슘, 및 핵 인자 카파 B와 같은 중간생성물을 통하여 실행된 하류 신호전달을 비롯한 세포내 메세지전달(messaging)을 해리시키고, 영향을 준다. 이것은 면역-세포 화학주성, 전-염증 사이토킨 생산, 세포 흡착 분자의 발현, 그리고 다른 알레르기성 및 염증 상태에서 기능한다 (Canonica and Blaiss, 2011).

[0284] 말초 조직에서, HRH1은 평활근의 수축을 중재하고, 말초 정맥의 수축으로 인한 모세관 투과성을 증가시키고, 그리고 부신 수질로부터의 카테콜아민 방출을 증가시키고, 뿐만 아니라 중추 신경계의 신경 전달을 중개한다. 이것은 아토피성 피부염, 천식, 아나필락시스 및 알레르기성 비염과 같은 알레르기 질환의 병리생리학에 기여하는 것으로 또한 알려져 있다(Xie and He, 2005). 이것은 평활근, 혈관 내피 세포, 심장 및 중추 신경계에서 발현된다(de Graaf 외., 2011).

[0285] (10) MLNR - 모틸린 수용체는 모틸린에 결합하는 G 단백질-연결된 수용체다. 모틸린은 장내 평활근의 수축을 자극하는 장 펩티드이다. 또한 MLNR은 전-위장운동성(progastrokinetic) 효과를 중재한다. MLNR은 운동저하 장애의 치료를 위한 중요한 치료 표적이다 (Depoortere, 2001).

[0286] 그것은 위의 강(antral) 벽의 신경에서 최고 높은 농도로 발견되며, 상부 위장관의 평활근 전체에 걸쳐 상당한 수준으로 발견된다 (Kitazawa 외., 1995). MLNR과 관련된 질병에는 위마비(gastroparesis) 및 당뇨성 자율 신경병증이 포함된다 (Kitazawa 외., 1997).

[0287] (11) NTSR1 - 뉴로텐신 수용체 1은 G-단백질 연결된 수용체들의 큰 슈퍼패밀리에 속한다. 뉴로텐신은 본래 소의 시상 하부로부터 단리되었고, 그리고 나중에 내장으로부터 단리된 13개-아미노산 펩티드이다. 뇌에서 뉴로텐신은 신경 세포, 섬유 및 말단에서 독점적으로 발견되지만, 반면 말초 뉴로텐신의 대부분은 장에 위치한 내분비 N-세포에서 발견된다. 뉴로텐신을 중추 또는 말초에 주사하면, 완전히 상이한 약리학적 효과가 나타나는데, 이는 이 펩티드가 혈액-뇌 장벽을 가로 지르지 않음을 시사한다. NTSR1은 저혈압, 고혈당증, 저체온증, 진통(antinociception), 그리고 장 운동상 및 분비 조절과 같은 뉴로텐신의 여러 기능을 중재한다 (Vincent, 1995).

[0288] 신호전달은 포스파티딜이노시톨-칼슘 2 차 메신저 시스템을 활성화시키는 G 단백질을 통해 영향을 받는다. 신호전달은 하류 MAP 키나제의 활성화를 유도하고, 아포프톱시스로부터 세포를 보호한다 (Heakal 외., 2011). Swift 외.,는 뉴로텐신 수용체들의 변경된 발현이 전립선 암의 분화 상태와 연관이 있음을 보여주었다(Swift 외., 2010).

[0289] (12) PTGER2 - 일명 EP2로 알려진 프로스타글란딘 E2 수용체 2는 인간 유전자 PTGER2에 의해 인코드된 프로스타글란딘 E2 (PGE2)의 프로스타글란딘 수용체다. PTGER2는 활성화되면, 특정 유형의 평활근을 이완시키는 능력에 기초하여, 이완성 타입의 프로스타노이드 수용체로 분류된다. PGE2 또는 이의 임의의 다른 효현제에 처음 결합되면, 이것은 Gαs-Gβγ 복합체를 함유하는 G 단백질을 이동시킨다. Gαs-Gβγ 복합체는 이들을 Gαs와 Gβγ 서브유닛으로 해리시키고, 다시 세포 신호전달 경로를 조절한다. 특히, Gαs는 아데닐 사이클라제를 자극하여 cAMP의 세포 수준을 상승시키고, 이로 인하여 활성화 PKA가 활성화되고; PKA는 이를 테면, 세포 타입에 따라 상이한 타입의 기능성 반응이 유도되는 전사 인자 CREB와 같은 다양한 타입의 신호전달 분자를 활성화시킨다 (Markovic 외., 2017; Woodward 외., 2011). PTGER2는 세포 이동성 반응과, 전-염증 사이토킨 및 인터루킨 생산을 비롯한 본질적인 면역 반응 그리고 세포-세포 흡착을 조절하고, 뿐만 아니라 Wnt 신호전달 경로를 활성화시키고, 이는 다시 세포 이동 및 증식 조절을 담당하는 유전자의 전사를 자극하는 베타-카테닌 경로를 조절하는 GSK-3 경로를 또한 활성화시킨다. (Woodward 외., 2011).

[0290] PTGER2 수용체는 종양 프로모터(promoter)로 작용할 수 있다. PTGER2 유전자 녹아웃 마우스는 발암물질에 노출 후, 폐암, 유방암, 피부암 및 결장암이 줄었다. 선종성 대장폴립증 돌연변이가 있는 마우스에서 이 유전자의 녹아웃은 또한 당해 동물이 발달시키는 전-암성 내장 폴립의 크기와 그 수의 감소 원인이다. 이러한 효과는 일반적으로 PTGER2-중개 상실: 혈관 내피 성장 인자 생성 및 이에 따른 종양 혈관화; 내피 세포 운동성 및 생존의 조절; 형질변형 성장 인자-β의 항-세포 증식 활성의 간섭; 그리고 보다 최근에는 숙주 항-종양 면역 반응의 조절로 대개 간주된다(O'Callaghan and Houston, 2015).

[0291] PTGER2는 인간에서 광범위하게 분포된다. 이 단백질은 인간 소장, 폐, 동맥의 중막(media) 및 신장 세동맥, 흉선, 자궁, 뇌 대뇌 피질, 뇌 선조체, 뇌 해마, 각막 상피, 각막 융모모세관, 자궁근육층 세포, 호산구, 눈의 공막, 관절 연골, 음경 해면체(corpus cavemosum), 기도 평활근에서 발현되며; 이의 mRNA는 잇몸 섬유모세포, 단핵구-유래된 수지상 세포, 대동맥, 음경 해면체, 관절 연골, 기도 평활근 및 기도 상피 세포에서 발현된다. 이 수용체 단백질 및/또는 mRNA는 랫(rat)의 폐, 비장, 내장, 피부, 신장, 간, 장골(long bones)에서 발견되었으며, 뇌 및 중추 신경계의 다른 부분에서 광범위하게 발견되었다(Yagami 외., 2016).

[0292] 전-임상 연구에 따르면, PTGER2는 이를 테면, 천식 (특정 아스피린 및 비스테로이드성 염증 약물-유도된 천식 증후군)과 비염 (Machado-Carvalho 외., 2014)과 같은 알레르기성 질환; 녹내장 (Doucette and Walter, 2017); 신경계 다양한 질환 (Yagami 외., 2016); 골절, 골다공증 및 기타 뼈 이상 (Li 외., 2007); 폐 섬유증; 이를 테면, 선종성 대장폴립증 돌연변이로부터 발생된 것들을 비롯한 결장 암과 같은 특정 형태의 악성 질환 (O'Callaghan and Houston, 2015); 그리고 염분-예민성 고혈압(Yang and Du, 2012)과 관련된 특정 인간 장애를 치료 및/또는 예방하기 위한 표적일 수 있고; 이 수용체는 피임의 표적으로 또한 제안되었다 (Sugimoto 외., 2015).

[0293] (13) TACR3 - 일명 TACR3으로 알려진 타키키닌 수용체 3은 타키키닌의 수용체로 기능한다. 타키키닌은 물질 P (SP), 뉴로키닌 A (NKA), 뉴로키닌 B (NKB) 그리고 인간의 엔도키닌 B (EKB)을 비롯한 종(species) 분기성(divergent) 엔도키닌을 포함하는 펩티드 패밀리다. 이들 타키키닌은 SP 및 NKA를 코딩하는 프레프로타키키닌 1 (TAC1), NKB를 인코딩하는 TAC3 그리고 EKB를 인코딩하는 TAC4의 3 가지 상이한 유전자에서 인코드한다. 3가지

타키키닌 수용체들이 식별되었으며, 이들 타키키닌과 상호작용한다: 차례로 일명 NK1, NK2와 NK3으로 불리는 TACR1, TACR2, 및 TACR3, 여기에서 SP 및 EKB는 TACR1에 대하여 최대 효능을 나타내고, NKA는 TACR2에 대하여, NKB는 TACR3에 대하여 최대 효능을 나타낸다. 수용체 친화력은 서열의 5'-단부 변이에 의해 명시된다. 타키키닌 수용체-3 (TACR3)은 타키키닌의 C-말단 서열에 의해 인코드된 생물학적 작용의 매개체이며, 이에 대하여 뉴로키닌 B는 뉴로키닌 A 또는 물질 P보다 더 강력한 효현제다 (Page 외., 2003).

[0294] 심각한 선천성 성선자극 호르몬 결핍증과 사춘기 장애가 있는 4 명의 인간 가계 혈통에서 보고되었는데, 이들 질환을 앓는 모든 개체는 TAC3 (뉴로키닌 B를 인코딩) 또는 이의 수용체 TACR3 (NK3R을 인코딩)에서 기능-상실 돌연변이에 대하여 동형접합성이다 (Topaloglu 외., 2009). 물질 P-관련된 타키키닌 패밀리 구성요소인 NKB는 성선자극호르몬-방출 호르몬 분비의 조절제로 최근 확인된 (Gianetti and Seminara, 2008) 키셉틴(kisspeptin)을 발현시키는 시상하부 뉴런에서 높게 발현되는 것으로 알려져 있다 (Goodman 외., 2007)

[0295] (14) APLNR - 아펠린 수용체 (일명 APJ 수용체로 알려짐)는 아펠린 및 Apela/ELABELA/Toddler (Medhurst 외., 2003)에 결합하는 G 단백질-연결된 수용체다. 아펠린 수용체 조기(early) 내생성 리간드 (APELA)의 수용체와 아펠린 (APLN) 호르몬은 G 단백질에 연결되어, 아데닐레이트 사이클라제 활성을 저해한다. APLNR은 APELA 호르몬에 대한 수용체로 작용함으로써, 조기 발달, 이를 테면, 장배형성(gastrulation) 및 심장 형태발생에 주요 역할을 한다. APLNR은 APLN 호르몬에 대한 수용체로 작용함으로써 혈관 형성, 혈압, 심장 수축성 및 심부전 조절과 같은 성인의 다양한 과정에서 역할을 또한 수행한다. 10 년간의 조사에 따르면, 아펠린성(apelinergic) 시스템은 광범위한 생물학적 기능을 가지고 있으며, 특히 심혈관계 및 유체 대사의 항상성을 유지하는데 중요한 역할을 한다. APLNR의 활성화로 cAMP 억제, 단백질 키나제 B (Akt)의 인산화, ERK1/25 및 p70S6K, 칼슘 동원7 그리고 산화질소 합성효소 (NOS)를 비롯한 광범위한 생화학적 변화가 야기된다. 그러나, 특정 생물학적 기능에 이러한 생화학적 활성의 연계 특이성은 아직 파악되지 않았다 (Wang 외., 2015c).

[0296] 또한, 이는 배아 및 종양 혈관 신생 (Wu et al., 2017), 그리고 인간 면역 결핍 바이러스 (HIV-1) 공동수용체 (coreceptor) (Zhou 외., 2003)로서 기능한다. APLNR 및 아펠린은 모두 심장, 폐, 내피, 신장 및 뇌를 비롯한 많은 조직에서 발현된다 (Wang 외., 2015c).

[0297] (15) CCR5 - 일명 CCR5 또는 CD195로 알려진 C-C 케모킨 수용체 타입 5는 면역계에 관여하는 백혈구 표면의 단백질로써, 케모킨의 수용체 역할을 한다. 이것은 T 세포가 특정 조직 및 기관 표적으로 유인되는 과정이다. AIDS를 유발하는 바이러스인 여러 형태의 HIV는 초기에 CCR5를 사용하여 숙주 세포로 진입하여, 숙주 세포를 감염시킨다. 특정 개체는 CCR5 유전자에 CCR5-Δ32로 알려진 돌연변이를 가지고 있어, 이들 HIV 균주로부터 보호된다.

[0298] 특정 집단은 델타 32 돌연변이를 물려받았고, 이로 인하여 CCR5 유전자의 일부가 유전적으로 결실된다. 이 돌연변이의 동형접합성 운반체는 HIV-1 감염의 M-트로픽(tropic) 균주에 내성이 있다 (Hutter 외., 2009). CCR5 동족(cognate) 리간드들에는 CCL3, CCL4 (차례로, 일명 MIP 1α 및 1β), 및 CCL3L1이 포함된다. 더하여 CCR5는 CCL5와 상호작용한다 (Struyf 외., 2001).

[0299] CCR5는 감염에 대한 염증 반응에 중요한 역할을 하는 것 같지만, 정상적인 면역 기능에서의 정확한 역할은 불분명하다. 이 단백질의 영역은 케모킨 리간드 결합, 수용체의 기능적 반응 및 HIV 코어 수용체 활성에 또한 중요하다 (Barmania and Pepper, 2013). CCR5는 T 세포, 대식세포, 수지상 세포, 호산구, 미세교아세포 그리고 유방암 또는 전립선암 세포의 하위집단에서 주로 발현된다 (Sicoli 외., 2014; Velasco-Velazquez 외., 2012).

[0300] (16) GALR1 - 갈라닌 수용체 1 (GAL1)는 GALR1 유전자에 의해 인코드된 G-단백질 연결된 수용체다. 편재된 신경펩티드 갈라닌은 내분비 분비물, 내장 운동성 및 거동 활성과 같은 수많은 기능을 제어한다. 갈라닌의 이러한 조절 효과는 특정 막 수용체와의 상호작용을 통해 매개되고, 형질도입 요소로서 백일해 독소-민감성 구아닌 뉴클레오티드 결합 단백질 Gi/Go와 연루된다(Habert-Ortoli 외., 1994).

[0301] GALR1은 경구 편평세포 암종에서 항-증식성 효과를 갖는다. GALR1 단백질, mRNA 발현 및 GAL 분비는 불사화된 인간 경구 각질 세포 및 인간 구강 인두 편평 세포 암종 세포 계통에서 가변 수준으로 검출되었다. GALR1의 경쟁적 억제 시, 증식은 불사화된 그리고 악성 각질 세포에서 상향-조절되었다 (Henson 외., 2005)

[0302] Stevenson 외.,는 약물 내성의 주요 결정인자 및 약물 내성 방지를 위한 잠재적 치료 표적으로써 줄기 세포 마커 및 조절제로써, 갈라닌 및 GALR1을 보고 한다. 기계적으로, 이들은 항-아팝토시스 단백질 FLIPL 발현의 중요한 상류-조절제로서 GALR1-갈라닌 수용체 리간드 축에 대한 신규한 역할을 확인한다. 임상적으로, 갈라닌 mRNA는 결장직장 종양에서 과다발현되는 것으로 밝혀졌으며, 특히 높은 갈라닌 mRNA 발현은 초기 질환에서 무-

질환 생존율이 저조한 것과 관련되었다(Stevenson 외., 2012). GALR1은 뇌 및 척수 뿐만 아니라 소장 및 심장과 같은 말초 부위에서 광범위하게 발현된다 (Fagerberg 외., 2014)

[0303] (17) PTGER3 - 일명 EP3으로 알려진 프로스타글란딘 EP3 수용체 (53kDa)는 인간 유전자 PTGER3에 의해 인코드된 프로스타글란딘 E2 (PGE2)의 프로스타글란딘 수용체이며; 확인된 4가지 EP 수용체중 하나이며, 나머지 것들은 PTGER1, PTGER2 및 PTGER4(차례로 소위 EP1, EP2 및 EP4라고도 함)이며, 이들 모두는 PGE2에 결합하여, 이에 대한 세포 반응을 중재하고, 뿐만 아니라 다른 특징 프로스타노이드에 대하여 일반적으로 다소 적은 친화력 및 반응성을 가지지만 이들에도 결합하고, 이들 세포 반응을 중재한다. PTGER3 활성화는 마우스에서 십이지장 분비를 촉진시키고; 이 기능은 인간에서 PTGER3 활성화에 의해 중재된다. EP 수용체 기능은 종에 따라 다를 수 있으며, 여기에 인용된 대부분의 기능 연구에서 이들의 동물 및 조직 모델이 인간으로 옮겨가지는 않았다 (Moreno, 2017).

[0304] 동물 및 조직 모델에서 암에 대한 PTGER3 활성화의 직접적인 영향에 대한 연구는 이 수용체가 발암에서 중요한 역할을 하지 않음을 시사하는 모순된 결과를 제공한다. 그러나, 일부 연구는 PTGER3에 대한 간접적인 전-발암성 기능을 제시한다: 마우스 폐암 세포 계통인 이식된 Lewis 폐 암종 세포의 성장 및 전이는 PTGER3-결핍 마우스에서 억제된다. 이 효과는 종양 기질에서 혈관 내피 성장 인자 및 매트릭스 메탈로프로테나제-9 발현 수준의 감소와 관련있고; 전-림프관신생(pro-lymphangiogenic) 성장 인자 VEGF-C 및 이의 수용체 VEGFR3의 발현; 종양-연합된 혈관 신생 및 림프관신생과 관련있다 (O'Callaghan and Houston, 2015).

[0305] PTGER3은 인간에서 광범위하게 분포된다. 이 단백질 및/또는 mRNA는 신장(가령, 사구체, Tamm-Horsfall 단백질 음성 후기 말초 구불구불한(convoluted) 세관, 연결 세그먼트, 피질 및 골수 수거 덕트, 동맥 및 세동맥의 중벽 및 내피 세포); 위 (혈관 평활근 세포 및 위 기저부(fundus) 점막 세포); 시상 (전방, 복내층, 옆 등부, 뇌실곁핵(paraventricular) 및 중삼내측핵); 크립트(crypts) 정점에서 내장 점막 상피; 자궁근층 (간질 세포, 내피 세포, 및 임신 중 태반, 융모막 및 양막); 구강 치은 섬유모세포; 그리고 눈 (각막 내피 세포 및 각막 세포, 섬유주(trabecular) 세포, 섬모 상피 그리고 결막 및 홍채 기질 세포, 그리고 망막 Müller 세포) (Norel, 2016)에서 발현된다.

[0306] (18) SSTR2 - 소마토스태틴 수용체 타입 2는 인간에서 SSTR2 유전자에 의해 인코드되는 단백질이다 소마토스태틴은 많은 부위에서 작용하여, 많은 호르몬 및 기타 분비 단백질의 방출을 억제한다. 소마토스태틴의 생물학적 효과는 아마도 조직-특이적 방식으로 발현되는 G 단백질-연결된 수용체 패밀리에 의해 매개될 것이다. SSTR2는 shank2와 상호작용하는 것으로 밝혀졌다 (Zitzer 외., 1999).

[0307] SSTR2는 소마토스태틴 수용체를 인코드하는데, 고형 종양의 세포 증식을 억제할 수 있다. SSTR2 프로모터 과다메틸화는 남성에서 후두 편평 세포 암종의 위험 및 진행과 관련있다(Shen 외., 2016). 대부분의 뇌하수체 선종은 SSTR2를 발현하지만, 다른 소마토스타틴 수용체도 또한 발견된다 (Miller 외., 1995). 소마토스태틴 유사체들 (가령, 옥트레오티드, 란레오티드(Lanreotide))을 이용하여 이 수용체들을 자극하고, 따라서 종양 증식이 더 억제된다 (Zatelli 외., 2007). SSTR2는 뇌와 신장에서 가장 높은 수준으로 발현된다 (Fagerberg 외., 2014).

[0308] 본원에 사용된 용어 "억제제"는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 강화된 기능을 저해(inhibits) 또는 억제하는(suppresses) 분자를 지칭한다. 암 또는 관련된 증상을 치료, 개선, 또는 예아하는데 이용될 수 있는 본 발명의 상기 억제제의 비-제한적인 예로는 GPCRx 길항제, GPCRx 역 효현제, GPCRx 양성 및 음성 알로스테릭 조절자, CXCR4-GPCRx 헤테로머-특이적 항체 또는 이의 항원 결합 부분(단일-도메인 항체-유사 스캐폴드 포함), GPCRx에 선택적인 약물분자구조(pharmacophore)에 스페이스 암(arm)을 통하여 연결된 CXCR4에 선택적 약물분자구조를 갖는 이가(bivalent) 리간드들, CXCR4와 GPCRx에 대항되는 이중특이적 항체, GPCRx 리간드와 연계된 방사능라벨된 CXCR4 리간드, 그리고 헤테로머-선택적 신호전달를 저해하는 소분자 리간드들이 포함된다. CXCR4와 헤테로머들을 형성하는 GPCRx에 대항하고, 이들 두 효현재로 공동-자극 시에 Ca2+ 반응을 강화시키는 억제제들의 특정 예는 표 3에 열거된다.

[0309] 본원에서 이용된 바의 용어 "길항제"는 수용체에 결합하여, 수용체를 차단시켜, 생물학적 반응을 차단 또는 약화시키는(소위 차단제(blockers)로 불리는) 수용체 리간드 또는 약물 타입을 지칭한다. 길항제는 친화력을 갖지만, 이들의 동족 수용체들에 대한 효능은 없으며, 이들의 결합으로 당해 상호작용을 파괴하고, 당해 동족 수용체들에서 효현제 또는 역 효현제의 기능을 저해시킨다. CXCR4와 헤테로머들을 형성하는 GPCRx에 대항하고, 이들 두 효현재로 공동자극 시에 Ca2+ 반응을 강화시키는 길항제들의 특정 예는 표 3에 열거된다.

[0310] 표3. CXCR4와 헤테로머들을 형성하는 GPCRx에 대항하고, 이들 두 효현재로 공동-자극 시에 Ca2+ 반응을 강화시

키는 억제제들의 특정 예시.

표 3

유전자 이름	길항제/역 효현제	항체들/나노바디 /i-바디 /기타
CXCR4	ALX40-4C, AMD070 (AMD11070, X4P-001), AMD3100 (플레릭사포르), AMD3465, ATI 2341, BKT140 (BL-8040; TF14016; 4F-벤조일-TN14003), CTCE-9908, CX549, D-[Lys3] GHRP-6, FC122, FC131, GMI-1359, GSK812397, GST-NT21MP, 이소티오우레아-1a, 이소티오우레아-1t (IT1t), KRH-1636, KRH-3955, LY2510924, MSX-122, N-[^{11}C]메틸-AMD3465, POL6326, SDF-1 1-9[P2G] 다이머, SDF1 P2G, T134, T140, T22, TC 14012, TG-0054 (부릭사포르), USL311, 바이러스성 대식세포 염증성 단백질-II (vMIP-II), WZ811, [^{64}Cu]-AMD3100, [^{64}Cu]-AMD3465, [^{68}Ga]펜티사포르, [^{90}Y]펜티사테르, [^{99m}Tc]0_2-AMD3100, [^{177}Lu]펜티사테르, 그리고 508MC1 (화합물 26).	AD-114, AD-114-6H, AD-114-Im7-FH, AD-114-PA60 0-6H, ALX-0651, LY2624587, PF-06747143, 울로쿠플루맙 (MDX1338/B MS-936564), 12G5, 238D2, 그리고 238D4
ADCYAP1 R1	M65, Max.d.4, MK-0893, N-스테아릴-[Nle^{17}] 뉴로텐신-(6-11)/VIP-(7-28), PACAP-(6-38), 및 PG 97-269	
ADORA2 B	3-이소부틸-8-피롤리디녹산틴, 알옥사진, AS16, AS70, AS74, AS94, AS95, AS96, AS99, AS100, AS101, ATL802, BW-A1433, 카페인, CGS 15943, CPX, CSC, CVT-6883, DAX, DEPX, 데레노필린, DPCPX, FK-453, I-ABOPX, 이스트라데필린, KF26777, LAS38096, LUF5981, MRE2029F20, MRE3008F20, MRS1191, MRS1220, MRS1523, MRS1706, MRS1754, MSX-2, OSIP339391, 펜톡시필린, 프레라데난트, PSB-10, PSB-11, PSB36, PSB603, PSB-0788, PSB1115,롤로필린, SCH 58261, SCH442416, ST-1535, 테오필린, 토나포필린, 비파네난트, 크산틴 아민 동종체, XCC, 그리고 ZM-241385.	
ADORA3	ATL802, BW-A1433, 카페인, CGS 15943, CSC, CVT-6883, 데레노필린, 멕스니굴디핀, DPCPX, FK-453, 플라바논, 플라본, 갈랑긴, I-ABOPX, 이스트라데필린, KF26777, LAS38096, LUF5981, MRE2029F20, MRE3008F20, MRE3010F20, MRS1041, MRS1042,	

[0311]

	MRS1067, MRS1088, MRS1093, MRS1097, MRS1177, MRS1186, MRS1191, MRS1191, MRS1220, MRS1476, MRS1486, MRS1505, MRS1523, MRS1754, MRS928, MSX-2, 니카르디핀, 프레라데난트, PSB-10, PSB-11, PSB36, PSB603, PSB1115,몰로필린, 사쿠라네틴, SCH 58261, SCH442416, ST-1535, 테오필린, 토나포필린, 비파네난트, 비스나긴, VUF5574, VUF8504, VUF8507, 크산틴 아민 동종체, 그리고 ZM-241385	
ADRB2	알프레놀롤, 아테놀롤, 베탁솔롤, 부프라놀롤, 부톡사민, 카라졸롤, 카르베딜롤, CGP 12177, 시클로프롤롤, ICI 118551, ICYP, 라베타롤, 레보베타옥솔롤, 레보부노롤, LK 204-545, 메토프롤롤, 나돌롤, NIHP, NIP, 프로파페논, 프로프라놀롤, 소탈롤, SR59230A, 및 티몰롤.	
C5AR1	A8^{A}71-73, AcPhe-Orn-Pro-D-Cha-Trp-Arg, 아바코판, C089, CHIPS, DF2593A, JPE1375, L-156,602, NDT9520492, *N*-메틸-Phe-Lys-Pro-D-Cha-Trp-D-Arg-CO_2H, PMX205, PMX53, RPR121154, 그리고 W54011.	
CALCR	α-CGRP-(8-37) (인간), AC187, CT-(8-32) (연어), 그리고 올세게판트.	
CHRM1	3-퀴누클리디닐 벤질레이트(QNB), 4-DAMP, 아클리디늄, AE9C90CB, AFDX384, 아미트립틸린, AQ-RA 741, 아트로핀, 벤자트로핀, 비페리덴, 다리페나신, 디사이클로민, 도술레핀, 에토프로파진, 글리코피롤레이트, 구아닐피렌제핀 헥사히드로디페니돌, 헥사하이드로실라디페니돌, 헥소사이클리움, 혐바신, 이프라트로피움, 리토콜릴콜린, 메톡트라민, ML381, 무스카린 독소 1, 무스카린 독소 2, 무스카린 독소 3, N-메틸 스코폴아민, 오텐제파드, 옥시부티닌, *p*-F-HHSiD, 피렌제핀, 프로판텔린, (R,R)-퀴누클리디닐-4-플루오르메틸-벤질레이트, 스코폴아민, 실라헥시사이클림, 솔리페나신, 텔렌제핀, 티오트로피움, 톨테로딘, 트리헥시페니딜, 트리피티트라민, UH-AH37, 우메클리디니움, 및 VU0255035 로 구성된 군에서 선택된 CHRM1 의 억제제다.	
EDNRB	A192621, 암브리센탄, 아트라센탄, 보센탄 (RO	

[0312]

	470203, 트라클레르);, BQ788, IRL 2500, K-8794, 마씨텐탄, RES7011, Ro 46-8443, SB209670, SB217242 (엔라센탄), TAK 044, 그리고 테조센탄 (RO610612).	
HRH1	(-)-클로로페니라민, (+)-클로로페니라민, (-)-*트란스*-H_2-PAT, (+)-*시스*-H_2-PAT, (+)-*트란스*-H_2-PAT, (±)-*시스*-H_2-PAT, (±)-*트란스*-H_2-PAT, (*R*)-세티리진, (*S*)-세티리진, 9-OH-리스페리돈, A-317920, A-349821, ABT-239, 아리메마진, 아미트립틸린, 아리피프라졸,아르프로미딘, 아세나핀, 아스테미졸, AZD3778, 아제라스틴, BU-E 47, 세티리진, 클로로페니라민, 클로르프로마진, 씨프록시판, 클레마스틴, 클로벤프로피트, 클로자핀, 코네신, 시클리진, 사이프로헵타딘, 데스로라타딘, 디펜히드라민, 도술레핀, 독세핀, 에피나스틴, 페소페나딘, 플루페나진, 플루스피릴렌, 할로페리돌, 히드록시진, 임프로미딘, INCB-38579, JNJ-39758979, 케토티펜, 로라타딘, 록사핀, MK-0249, 모린돈, 오란자핀, 페르페나진, 피모지드, 피팜페론, 피톨리산트, 프로메타진, 피릴라민, 퀘티아핀, 리스페리돈, 세르틴돌, 테르페나딘, 티오리다진, 티오티센, 트리플루페라진, 트리펠렌아민, 트리프롤리딘, 지프라시돈, 그리고 조테핀.	
MLNR	GM-109, MA-2029, 그리고 OHM-11526.	
NTSR1	메클리너탄트, SR48527, SR48692, 그리고 SR142948A	
TACR3	[Trp^7, ß-Ala^8] 뉴로키닌 A-(4-10), AZD2624, FK 224, GR138676, GSK 172981, GSK 256471, N',2-디페닐퀴놀린-4-카르보히드라지드 8m, N',2-디페닐퀴놀린-4-카르보히드라지드, 오사네탄트, PD 154740, PD 161182, PD157672, 사레두탄트, SB 218795, SB 222200, SB 235375, SCH 206272, SSR 146977, 그리고 탈네탄트.	

[0313]

[0314] 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 바와 같이, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 세포를 보유한 환자의 암을 치료하는 방법, 또는 암을 앓고 있는 환자의 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달을 억제하는 방법은 다음을 포함하는 약제학적 키트 또는 약제학적 키트를 당해 환자에게 투여하는 것을 포함할 수 있다: CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합; 이때: i) CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 갖고; 그리고 ii) 상기 투여된 억제제 또는 억제제들의 조합은 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달을 억제시킨다. 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 바와 같이, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 세포를 보유하는 환자의 암 치료용 약제학적 키트 또는 약제학적 조성물은 CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합을 포함할 수 있고; 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 갖는다. 예를 들면, 일부 구체예들에서, CXCR4 억제제는 CXCR4의 길항제, CXCR4의 역 효현제, CXCR4의 부분적 길항제, CXCR4의 알로스테릭 조절자, CXCR4의 항체, CXCR4의 항체 단편, CXCR4의 리간드, 또는 CXCR4의 항체-약물 콘쥬게이트이다. 예를 들면, 일부 구체예들에서, GPCRx 억제제는 GPCRx의 길항제, GPCRx의 역-효현제, GPCRx의 부분적 길항제, GPCRx의 알로스테릭 조절자, GPCRx의 항체, GPCRx의 항체 단편, GPCRx의 리간드, 또는 GPCRx의 항체-약물 콘쥬게이트이다. 예를 들면, 일부 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 길항제, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 역 효현제, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 부분적 길항제, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 알로스테릭 조절자, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 항체, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 항체 단편, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 리간드, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 단백질-단백질 상호작용 (PPI) 억제제, 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 항체-약물 콘쥬게이트다.

[0315] 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 바와 같이, 상기 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 키트, 또는 약제학적 조성물은 다음으로 구성된 CXCR4 억제제, GPCRx 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제 군에서 선택된 억제제

들의 조합을 포함하고, 이때 조합은 단일 약제학적 조성물이거나, 또는 각 억제제에 대한 별개 약제학적 조성물 다수로 존재할 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 억제제들의 조합은 CXCR4 억제제와 GPCRx 억제제를 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 억제제들의 조합은 CXCR4 억제제와 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제를 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 억제제들의 조합은 GPCRx 억제제와 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제를 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 억제제들의 조합은 순차적으로, 동시에(concurrently) 또는 일제히(simultaneously) 투여된다. 일부 구체예들에서, 상기 억제제들의 조합은 약제학적으로 수용가능한 운반체를 더 포함하는 약제학적 조성물로써 투여된다. 일부 구체예들에서, 상기 억제제들의 조합은 별개의 약제학적 조성물로 투여되며, 이때 별개의 약제학적 조성물은 독립적으로 약제학적으로 수용가능한 운반체를 더 포함한다. 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 바와 같이, 상기 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 키트, 또는 약제학적 조성물은 치료요법적으로 유효량의 또는 치료요법적으로 준(sub)-유효량의 CXCR4 억제제를 포함하며, 이를 테면, 치료요법적 유효량의 CXCR4 억제제를 당해 환자에 투여한다. 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 바와 같이, 상기 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 키트, 또는 약제학적 조성물은 치료요법적으로 유효량의 또는 치료요법적으로 준(sub)-유효량의 GPCRx 억제제를 포함하며, 이를 테면, 치료요법적 유효량의 GPCRx 억제제를 당해 환자에 투여한다. 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 바와 같이, 상기 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 키트, 또는 약제학적 조성물은 치료요법적으로 유효량의 또는 치료요법적으로 준(sub)-유효량의 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제를 포함하며, 이를 테면, 치료요법적 유효량의 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제를 당해 환자에 투여한다.

[0316] 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 바와 같이, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 암 세포를 보유한 환자의 암을 치료하는 방법은 다음을 포함할 수 있다: 1) 당해 환자가 강화된 하류 신호전달을 보유하는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 암 세포를 보유하는 지를 다음에 의해 결정하고: 환자로부터 생물학적 샘플을 획득하거나, 또는 생물학적 샘플을 획득하였고; 그리고 당해 생물학적 샘플에서 검정을 실행하거나, 또는 실행하였고 i) 당해 환자의 암 세포가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 지를 결정하거나, 또는 ii) CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약이 환자 유래된 세포(들)에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 성질 또는 기능을 변경시키는지; CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 성질을 내포하는 환자 유래된 세포(들)을 변경시키는지; 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포(들)의 세포 증식을 감소시키는 지를 결정하고, 그리고 2) 만일 당해 환자가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 암 세포를 보유한다면, 그 다음 CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합을 상기 암 환자에게 체내로 투여한다. 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 바와 같이, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 암 세포를 보유한 환자의 암을 치료하는 방법은 다음을 포함할 수 있다: 1) 환자로부터 생물학적 샘플을 획득하거나, 또는 생물학적 샘플을 획득하였고, 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머가 당해 환자의 암 세포에 내포되어 있는 지를 결정하기 위하여 당해 생물학적 샘플에서 검정을 실행하거나, 또는 실행하였고, 이에 당해 환자의 암 세포에 CXCR4-GPCRx 헤테로머가 내포되어 있는 지를 결정하고; 이때: a) CXCR4-GPCRx 헤테로머의 GPCRx는 다음 ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되고; 그리고 b) 상기 생물학적 샘플에서 실행되는 검정은 공동-내재화 검정, 공동-편재화 검정, 제자리 혼성화법, 면역조직화학법, 면역전자 현미경법, 근접성-기반 검정, 공동-면역침전 검정, 또는 이를 테면, 공동내재화 검정을 통한 형광 동물 검정, 이중분자 형광 상보성 (BiFC), 또는 근접성 결찰 검정 (PLA)중 하나 또는 그 이상이거나 또는 이를 포함하고; 그리고 2) 당해 환자의 암 세포가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포한다면, 그런 경우, CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합을 당해 환자에게 내부적으로 투여한다. 일부 구체예들에서, 당해 환자의 생물학적 샘플은 생물학적 유체 샘플이거나, 또는 생물학적 조직 샘플이다. 일부 구체예들에서, 액체 생검은 상기 생물학적 유체 샘플 상에서 실행되거나, 또는 상기 생물학적 조직 샘플 상에서 실행된다. 일부 구체예들에서, 상기 생물학적 유체 샘플은 혈액 샘플, 혈장 샘플, 타액 샘플, 뇌 유체 샘플, 눈의 유체 샘플, 또는 소변 샘플이다. 특정 구체예들에서, 상기 생물학적 유체 샘플에는 순환하는 종양 세포 (CTCs), 종양-유래된 세포-없는 DNA (cfDNA), 순환하는 작은 RNAs, 그리고 체내 유체로부터 엑소좀을 비롯한 세포외 소포가 포함되는데, 예를 들면, Campos CDM 외., "Molecular Profiling of Liquid Biopsy Samples for Precision Medicine", Cancer J. 2018 Mar/Apr;24(2):93-103(본원에 이의 전문이 편입됨)에 기술되어 있다. 일부 구체예들에서, 상기 생물학적 조직 샘플은 장기 조직 샘플, 골 조직 샘플, 또는 종양 조직 샘플이다.

[0317] 본원에서 이용된 바의 용어 "헤테로머"는 적어도 2개의 GPCR 단위로 구성된 거대분자 복합체를 지칭한다 [이의 개별 성분들과는 증빙적으로 상이한 화학적 성분을 갖는 프로토머. 헤테로머화는 제자리 혼성화법, 면역조직화학법, RNAseq, 역 전사-정량적 PCR (RT-qPCR, 실시간 PCR), 마이크로어레이, 근접성 결찰 검정 (PLA), 시간-분해 FRET (TR-FRET), 온몸-전체-단일-광자 방출 전산화 단층촬영 (SPECT) 또는 양전자 방출 단층촬영/전산화 단

층촬영 (PET/CT)에 의해 평가될 수 있다.

[0318] 본원에서 이용된 어구 "유효량"은 유익한 또는 원하는 효과를 얻는데 충분한 양을 지칭한다. 효과량은 하나 또는 그 이상의 투여, 도포(applications) 또는 투약형으로 투여될 수 있다. 이러한 전달은 개별 투여 단위가 사용되는 기간, 제제의 생체 이용률, 투여 경로 등을 포함하는 많은 변수에 의존적이다.

[0319] 본원에서 이용된 어구 "치료요법적으로 유효량"이란 암 및/또는 이와 관련된 증상의 심각성 및/또는 지속을 감소, 경감, 및/또는 방지하는데 충분한 치료 제제(가령, 억제제, 길항제, 또는 본원에서 제공된 임의의 다른 치료 제제)의 양을 지칭한다. 치료요법적 유효량의 치료 제제는 암 발전 또는 진행의 감소, 개선, 또는 방지, 암 개시 또는 발달의 감소, 개선, 또는 방지, 및/또는 또다른 치료 (가령, 억제제, 길항제, 또는 본원에서 제공된 임의의 다른 치료 제제의 투여를 제외한 다른 치료)의 예방 또는 치료 효과를 개선 또는 강화에 필수적인 양이 될 수 있다.

[0320] 어구 "치료 제제"는 암 및/또는 이에 관련된 증상의 치료, 개선, 방지, 또는 관리에 이용될 수 있는 임의의 제제를 지칭한다. 특정 구체예들에서, 치료 제제는 본 발명의 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제를 지칭한다. 치료 제제는 암 및/또는 이에 관련된 증상의 치료, 개선, 방지, 또는 관리에 유용한 것으로 공지된, 또는 이용되었던, 또는 현재 이용중인 제제일 수 있다.

[0321] 본원에서 이용된 바의, 어구 "세포내 Ca2+ 검정", "칼슘 동원 검정", 또는 이들의 변형은 GPCR 활성화 또는 억제와 연합된 칼슘 흐름(flux)을 측정하기 위한 세포-기반 검정을 지칭한다. 상기 방법은 대부분 세포의 세포질로 취입되는 칼슘 민감성 형광 염료를 이용한다. 이 염료는 세포내 저장고로부터 방출되는 칼슘에 결합하고, 염료의 형광은 증가된다. 형광 강도의 변화는 관심 대상 수용체의 리간드 활성화에 반응하여 세포질 내로 방출되는 세포 내 칼슘의 양과 직접적으로 상관된다.

[0322] 본원에서 이용된 바의 어구 "근접성-기반 검정"은 시험관(세포 용해질) 및 살아있는 세포 안에서 2개 단백질 분자의 근접 및/또는 결합을 모니터할 수 있는 생물물리학, 생화학 기술을 지칭하는데, 생물발광 공명 에너지 전달 (BRET), 형광 공명 에너지 전달 (FRET), 이중-분자 형광 상보성 (BiFC), 근접성 결찰 검정 (PLA), 시스테인 가교, 및 공동-면역침전 (Ferre 외., 2009; Gomes 외., 2016)이 포함된다.

[0323] 헤테로머 형성을 탐지하는 대체 방법에는 다음이 포함되나, 이에 국한되지 않는다: 면역착색 (Bushlin 외., 2012; Decaillot 외., 2008); 면역전자 현미경법 (Fernandez-Duenas 외., 2015); BRET (Pfleger and Eidne, 2006); 시간-분해된(Time-resolved) FRET 검정 (Fernandez-Duenas 외., 2015); 제자리 혼성화법 (He 외., 2011); FRET (Lohse 외., 2012); BRET, FRET, BiFC, 생물분자 형광 상보성, 효소 단편화 검정, 및 Tango Tango GPCR 검정 시스템 (Thermo Fisher Scientific) (Mustafa, 2010); PRESTO-Tango 시스템 (Kroeze 외., 2015)을 이용한 GPCR 헤테로머 식별 기술 (GPCR-HIT, Dimerix Bioscience)를 이용한 (Mustafa and Pfleger, 2011) β-어레스틴 보충 검정; 조절된 분비/응집 기술 (ARIAD Pharmaceuticals) (Hansen 외., 2009); 수용체 선별 및 증폭 기술 (ARIAD Pharmaceuticals) (Hansen 외., 2009); DimerScreen (Cara Therapeutics) (Mustafa, 2010); 다이머/상호작용 단백질 전위(translocation) 검정 (Patobios) (Mustafa, 2010); 공동-면역침전 (Abd Alla 외., 2009); 표면 효소-연계된 면역흡착 검정 (ELISA) (Decaillot 외., 2008) 또는 유동 세포측정법 (Law 외., 2005)을 이용한 GPCR 내재화 검정; 온전체 세포 인산화 검정 (Pfeiffer 외., 2002); 그리고 근접성-결찰 검정 (PLA) (Frederick 외., 2015).

[0324] CXCR4와 GPCRx를 모두 발현시키는 세포에서 약리학적 성질, 신호전달 성질, 및/또는 트래피킹 성질의 변화를 탐지하는 대체 방법은 다음을 포함하나, 이에 국한되지 않는다: 방사리간드 결합 검정 (Bushlin 외., 2012; Pfeiffer 외., 2002); 세포 표면 바이오티닐화 및 면역블랏팅 (He 외., 2011); 면역착색 (Bushlin 외., 2012; Decaillot 외., 2008); 면역전자 현미경법 (Fernandez-Duenas 외., 2015); [35S]GTP S 결합 검정 (Bushlin 외., 2012); 염료, 이를 테면, Fura 2-아세토메톡시 에스테르 (Molecular Probes), Fluo-4 NW 칼슘 염료 (Thermo Fisher Scientific), 또는 FLIPR5 염료 (Molecular Devices)와 같은 염료를 이용한 칼슘 영상화 또는 검정; 방사능면역검정 키트 (Amersham Biosciences)를 이용한 cAMP 검정; AlphaScreen (PerkinElmer Life Sciences); 매개변수 사이클릭 AMP 검정 (R&D Systems); femto cAMP 키트 (Cisbio); cAMP 직접 면역검정 키트 (Calbiochem) 또는 GloSensor cAMP 검정 (Promega); GTPase 검정 (Pello 외., 2008); PKA 활성화 (Stefan 외., 2007); ERK1/2 및/또는 Akt/PKB 인산화 검정 (Callen 외., 2012); Src 및 STAT3 인산화 검정 (Rios 외., 2006); 리포터 검정 이를 테면, cAMP 반응 요소 (CRE); 활성화된 T-세포 반응 요소 (NFAT-RE)의 핵 인자; 혈청 반응 요소 (SRE); 혈청 반응 인자 반응 요소 (SRF-RE); 그리고 NF-κB-반응 요소 루시퍼라제 리포터 검정; 분비된 알카리 포스파타제 검정 (Decaillot 외., 2011); TR-FRET 또는 [3H]미오(myo)-이노시톨 (Mustafa 외.,

2012)를 이용한 이노시톨 1-포스페이트 생산 측정; 하류 표적 유전자 발현을 측정하기 위한 RT-qPCR (Mustafa 외., 2012); 그리고 아데닐일 사이클라제 활성 (George 외., 2000); 차세대 시퀀싱 (NGS); 그리고 수용체 헤테로다이머화 결과로써 수용체 기능 변화를 탐지할 수 있는 임의의 다른 검정.

[0325] 본원에서 이용된 바의, 어구 "단백질-단백질 상호작용 억제제", "PPI 억제제", 또는 이들의 변이는 단백질-단백질 상호작용을 간섭할 수 있는 임의의 분자를 지칭한다. 잘 특정된 결합 포켓을 포함하는 효소-기질 상호작용과 달리, 단백질-단백질 상호작용은 비교적 넓은 영역에 걸친 단백질 간의 일시적인 상호작용 또는 연관이며, 대개 정전기적 상호작용, 소수성 상호작용, 수소 결합 및/또는 Van der Waals 힘에 의해 구동된다. PPI 억제제들에는 GPCR 헤테로머 계면(interface)을 파괴시키는 펩티드 서열에 융합된 막-투과성 펩티드 또는 지질, 예를 들면, 막 헬릭스, 세포내 루프, 또는 GPCRx의 C-말단 꼬리를 포함하나, 이에 국한되지 않을 것이다. CXCR4-GPCRx 헤테로머의 PPI 억제제는 예를 들면, CXCR4-GPCRx 헤테로머 계면(들)을 표적으로 하는 펩티드에 콘쥬게이트된 막-투과성 펩티드 또는 세포-침투 펩티드 (CPP)이거나, 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머 계면(들)을 표적으로 하는 지질화된 세포-침투 펩티드일 수 있다.

[0326] 예를 들면, 상기 막-투과성 펩티드 또는 세포-침투 펩티드에는 다음이 포함된다: HIV-1 TAT 펩티드, 이를 테면, TAT_{48-60} 및 TAT_{49-57}; 페네트라틴(Penetratins), 이를 테면, pAntp(43-58); 폴리아르기닌 (Rn 이를 테면, R5 내지 R12); Diatos 펩티드 벡터 1047 (DPV1047, Vectocell®); MPG (SV40 큰 T 항원의 핵 국소화 신호(NLS)에 융합된 HIV gp41); Pep-1 (SV40 큰 T 항원의 NLS에 융합된 트립토판-풍부 클러스터); pVEC 펩티드 (맥관 내피 캐드헤린); p14 대체 판독 틀 (ARF) 단백질-기반의 ARF(1-22); 처리안된 소의 프리온 단백질 BPrPr(1-28)의 N-말단; 모델 양친매성(amphipathic) 펩티드 (MAP); 트란스포르탄(Transportans); 아주린(Azurin)-유래된 p28 펩티드; 양친매성 β-쉬트 펩티드, 이를 테면, VT5; 프롤린-풍부 CPPs, 이를 테면, Bac 7 (Bac1-24); 소수성 CPPs, 이를 테면, α1-안티트립신으로부터 유래된 C105Y; 합성 C105Y로부터 유래된 PFVYLI; Pep-7 펩티드 (CHL8 펩티드 파아지(phage) 클론); 그리고 변형된 소수성 CPPs, 이를 테면, 스테이플화된(stapled) 펩티드 및 프레닐화된(prenylated) 펩티드 (Guidotti 외., 2017; Kristensen 외., 2016). 막-투과성 펩티드 또는 세포-침투 펩티드는 예를 들면, TAT-유래된 세포침투 펩티드, 신호 서열-기반의 (가령, NLS) 세포-침투 펩티드, 소수성 막 전위(translocating) 서열 (MTS) 펩티드, 그리고 아르기닌-풍부 분자 운반자를 더 포함할 수 있다. 세포-침투 라피데이트화된(lapidated) 펩티드는 예를 들면, 펩두신(pepducins), 이를 테면, ICL1/2/3, C-꼬리-짧은 팔미토일화된(palmitoylated) 펩티드 (Covic 외., 2002; O'Callaghan 외., 2012)를 포함한다.

[0327] CXCR4-GPCRx 헤테로머 계면을 표적으로 하는 펩티드(들)은 예를 들면, CXCR4의 막 도메인, GPCRx의 막 도메인, CXCR4의 세포내 루프, GPCRx의 세포내 루프, CXCR4의 C-말단 도메인, 또는 GPCRx의 C-말단 도메인, CXCR4의 세포외 루프, GPCRx의 세포외 루프, CXCR4의 N-말단 영역, 또는 GPCRx의 N-말단 영역일 수 있다.

[0328] 일부 구체예들에서, 본 발명은 본 발명의 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제와 약제학적으로 수용가능한 운반체를 갖는 약제학적 조성물 (때로 본원에서 "약제학적 제형(formulations)"으로 지칭되기도 함)을 제공한다. 본 발명의 약제학적 조성물에 이용될 수 있는 약제학적으로 수용가능한 운반체는 당분야에 공지된 임의의 표준 약제학적 운반체들을 포함하는데, 이를 테면, 생리학적으로 허용되는 운반체, 부형제 또는 안정화제, 예를 들어, 포스페이트 완충 염수 용액, 물 및 유제, 예컨대, 오일 및 물 유제, 그리고 다양한 유형의 습윤제를 포함한다. 이들 약제학적 조성물은 본 발명의 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제를 치료를 요하는 대상체의 표적 영역으로 전달하는데 충분한 액체 단위 투여 형태 또는 임의의 다른 투여 형태로 제조될 수 있다. 예를 들면, 약제학적 조성물은 선택된 투여 방식, 예를 들어 혈관 내, 근육 내, 피하, 피내(intradermal), 척수강 내 등에 적합한 임의의 방식으로 제조될 수 있다. 다른 임의의 선택적 성분, 예를 들어, 제약 등급 안정제, 완충제, 보존제, 부형제 및 이와 유사한 것등은 당업자에 의해 용이하게 선택될 수 있다. pH, 등장성, 안정성 등과 관련하여 약제학적 조성물의 제조는 당업자의 수준 범위 안에 있다.

[0329] 본원에서 제공되는 본 발명의 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 하나 또는 그 이상의 억제제를 함유하는 약제학적 제형은 원하는 수준의 억제제들을 임의선택적으로 생리학적으로 수용가능한 운반체, 부형제 또는 안정화제 (Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA)와 혼합하여, 보관용으로 동결건조된 제형 또는 수성 용액 형태로 만들어질 수 있다. 수용가능한 운반체, 부형제, 또는 안정화제는 이용되는 투약형 및 농도에서 수령자에게 비독성이며, 그리고 생리학적으로 수용가능한 담체의 예로는 완충액, 이를 테면, 인산염, 시트르산염, 및 다른 유기산; 아스코르브산, 메티오닌을 포함하는 항산화제; 보존제 (이를 테면, 옥타데실디메틸벤질 암모니움 클로라이드; 헥사메토니움 클로라이드; 벤잘코니움 클로로이드, 벤제토니움 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤 이를 테면, 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레소르씨놀;

사이클로헥사놀; 3-펜타놀; 그리고 m-크레솔); 약 10개 미만의 아미노산 잔기의 저분자량 폴리펩티드; 단백질, 이를 테면, 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로블린; 친수성 폴리머 이를 테면, 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 이를 테면, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌, 또는 리신; 모노사카라이드, 디사카라이드, 그리고 글루코스, 만노스, 또는 덱스트린이 포함된 기타 탄수화물; 킬레이트 물질들, 이를 테면 EDTA; 슈가, 이를 테면, 수크로스, 만니톨, 트레할로스, 또는 솔비톨; 염-형성 카운터-이온, 이를 테면, 나트륨, 금속 착물, 가령, Zn-단백질 착물; 및/또는 비이온성 계면활성제, 이를 테면, TWEEN™, PLURONICS™ 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)을 포함한다.

[0330] 따라서, 일부 구체예들에서, 본 발명은 이를 필요로 하는 대상체의 질환을 치료, 개선, 또는 방지하기 위한 방법을 제공한다. 본 발명의 방법에는 본원에서 제공되는 치료요법적 유효량의 약제학적 조성물을 당해 대상체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다. 예를 들면, 이 약제학적 조성물은 본원에서 제공되는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 하나 또는 그 이상의 억제제들을 포함한다. 본 발명의 방법을 이용하여 치료 또는 예방될 수 있는 질환들에는 암, 종양, 전이, 및/또는 혈관신생이 포함된다. 특히, 본 발명의 방법은 암 또는 관련된 증상을 치료하는데 유용하며, 이때 암, 종양, 및/또는 미세환경의 암은 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 발현시킨다. 본 발명의 방법을 이용하여 치료되거나, 개선되거나, 또는 예방되는 암 또는 종양의 예로는 위장관 종양, 예를 들면, 유방암, 폐암, 폐의 소(small) 세포 암종, 간세포 암종, 뇌 암, 신장 암, 췌장암 또는 췌장 선종, 난소암, 전립선암, 흑색종, 림프종, 백혈병, 다발성 골수종, 신장 세포 암종, 연(soft) 조직 육종, 위장 암, 위암, 결장 암, 결장직장 암, 결장직장 선종, 방광 선종, 식도 암, 그리고 위, 식도, 기관지 및 뇨도관의 선종이 포함된다.

[0331] 일부 구체예들에서, 본 발명은 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 세포를 보유하는 환자에서 암을 치료하는 방법을 제공하거나, 또는 암을 앓고 있는 환자의 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달을 억제하는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 당해 환자에게 CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합를 투여하는 것을 포함하며; 이때: i) CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 갖고; 그리고 ii) 상기 투여된 억제제 또는 억제제들의 조합은 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달을 억제한다.

[0332] 일부 구체예들에서, 본 발명은 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 세포를 갖는 환자에서 암 치료용으로 사용하기 위한 약제학적 키트를 제공하는데, 상기 약제학적 키트는 CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합을 포함하고; 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 갖는다. 일부 구체예들에서, 본 발명은 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 세포를 보유하는 환자의 암 치료용 약제학적 조성물을 제공하며, 상기 약제학적 조성물은 i) CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합; 그리고 ii) 약제학적으로 수용가능한 운반체를 포함하고; 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 갖는다.

[0333] 일부 구체예들에서, 본원에서 제공된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 키트, 또는 약제학적 조성물에 따르면, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에서 암 진행은 전술한 환자에게 단일 억제제로써 CXCR4 억제제 또는 GPCRx 억제제를 투여하는 것과 비교하여, 상기 억제제들의 조합을 투여할 때, 5-100% 범위로 감소되는데, 이를 테면, 전술한 환자에게 단일 억제제로써 CXCR4 억제제 또는 GPCRx 억제제를 투여하는 것과 비교하여, 상기 억제제들의 조합을 투여할 때, 5-100% 이상, 10-100% 이상, 20-100% 이상, 30-100% 이상, 40-100% 이상, 50-100% 이상, 60-100% 이상, 75-100% 이상, 5-75% 이상, 5-50% 이상, 또는 5-25% 이상 범위로 감소된다. 일부 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 GPCRx는 ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; 예를 들면, ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, CHRM1, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, EDNRB, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, EDNRB, 및 HRH1로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, CHRM1, 및 HRH1로 구성된 군에서 선택되며; 또는 ADRB2, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예들에서, GPCRx 억제제는 ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, C5AR1 억제제, CALCR 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, MLNR 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로

구성된 군에서 선택되며; 예를 들면, ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, C5AR1 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, MLNR 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, MLNR 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, HRH1 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, HRH1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, EDNRB 억제제, 및 HRH1 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, 및 HRH1 억제제로 구성된 군에서 선택되며; 또는 ADRB2 억제제, HRH1, 억제제 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택된다.

[0334] 일부 구체예들에서, 본원에서 제공된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 키트, 또는 약제학적 조성물에 따르면, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에게 GPCRx 억제제와 조합하여 투여할 때, CXCR4 억제제를 단일 억제제로 투여하였을 때 효과와 비교하여, CXCR4 억제제의 효능은 5-2000% 범위로 증가되는데, 이를 테면, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에게 상기 GPCRx 억제제와 조합하여 투여할 때, CXCR4 억제제를 단일 억제제로 투여하였을 때 효과와 비교하여, 5-1750%, 5-1500%, 5-1250%, 5-1000%, 5-900%, 5-800%, 5-700%, 5-500%, 5-400%, 5-250%, 5-200%, 5-100%, 5-75%, 5-50%, 5-40%, 5-30%, 5-25%, 100-2000%, 200-2000%, 300-2000%, 500-2000%, 750-2000%, 1000-2000%, 1250-2000%, 1500-2000%, 5-1500%, 25-1500%, 50-1500%, 75-1500%, 100-1500%, 200-1500%, 300-1500%, 500-1500%, 750-1500%, 1000-1500%, 또는 1250-1500% 범위로 증가된다. 일부 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 GPCRx는 ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; 예를 들면, ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, CHRM1, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, EDNRB, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, EDNRB, 및 HRH1로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, CHRM1, 및 HRH1로 구성된 군에서 선택되며; 또는 ADRB2, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예들에서, GPCRx 억제제는 ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, C5AR1 억제제, CALCR 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, MLNR 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; 예를 들면, ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, C5AR1 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, MLNR 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, HRH1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, EDNRB 억제제, 및 HRH1 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, 및 HRH1 억제제로 구성된 군에서 선택되며; 또는 ADRB2 억제제, HRH1, 억제제 및 TACR3 억제제

로 구성된 군에서 선택된다.

[0335] 일부 구체예들에서, 본원에서 제공된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 키트, 또는 약제학적 조성물에 따르면, GPCRx 억제제의 효능은 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에게 CXCR4 억제제와 조합하여 투여할 때, 단일 억제제로써 GPCRx 억제제의 투여 효과와 비교하여 5-2000% 범위로 증가되는데, 이를테면, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에게 CXCR4 억제제와 조합하여 투여할 때, 단일 억제제로써 GPCRx 억제제를 투여할 경우와 비교하여, 5-1750%, 5-1500%, 5-1250%, 5-1000%, 5-900%, 5-800%, 5-700%, 5-500%, 5-400%, 5-250%, 5-200%, 5-100%, 5-75%, 5-50%, 5-40%, 5-30%, 5-25%, 100-2000%, 200-2000%, 300-2000%, 500-2000%, 750-2000%, 1000-2000%, 1250-2000%, 1500-2000%, 5-1500%, 25-1500%, 50-1500%, 75-1500%, 100-1500%, 200-1500%, 300-1500%, 500-1500%, 750-1500%, 1000-1500%, 또는 1250-1500% 범위로 증가된다. 일부 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 GPCRx는 ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; 예를 들면, ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, CHRM1, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, EDNRB, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, EDNRB, 및 HRH1로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, CHRM1, 및 HRH1로 구성된 군에서 선택되며; 또는 ADRB2, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예들에서, GPCRx 억제제는 ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, C5AR1 억제제, CALCR 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, MLNR 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; 예를 들면, ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, C5AR1 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, MLNR 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, MLNR 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, HRH1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, EDNRB 억제제, 및 HRH1 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, 및 HRH1 억제제로 구성된 군에서 선택되며; 또는 ADRB2 억제제, HRH1, 억제제 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택된다.

[0336] 일부 구체예들에서, 본원에서 제공된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 키트, 또는 약제학적 조성물에 따르면, 상기 방법 다음으로 구성된 군에서 선택된 억제제들의 조합을 투여한다: CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 그리고 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제; 또는 약제학적 키트 또는 약제학적 조성물은 CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 그리고 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제들의 조합을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 억제제들의 조합은 다음으로 구성된 군에서 선택된 2개의 억제제들의 조합이다: CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 그리고 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제. 일부 구체예들에서, 본원에서 제공된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 키트, 또는 약제학적 조성물에 따르면, 상기 방법 CXCR4 억제제와 GPCRx 억제제의 조합을 투여하거나; 또는 상기 약제학적 키트 또는 약제학적 조성물은 CXCR4 억제제와 GPCRx 억제제의 조합을 포함한다. 일부 구체예들에서, 본원에서 제공된 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 키트, 또는 약제학적 조성물에 따르면, 상기 방법은 CXCR4-GPCRx 헤테로머 억제제를 투여하거나; 또는 상기 약제학적 키트 또는 약제학적 조성물은 CXCR4-GPCRx 헤테로머 억제제를 포함한다.

[0337] 일부 구체예들에서, 본원에서 제공하는 치료 방법 또는 억제 방법에 따르면, 또는 본원에서 제공하는 약제학적 키트 또는 약제학적 조성물의 용도에 따르면, 상기 억제제들의 조합을 투여하면, 단일 억제제 투여와 비교하여

당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달을 5-2000 배 범위로 억제하고, 이를 테면, 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달은 단일 억제제 투여와 비교하여 5-1750 배, 5-1500 배, 5-1250 배, 5-1000 배, 5-900 배, 5-800 배, 5-700 배, 5-500 배, 5-400 배, 5-250 배, 5-200 배, 5-100 배, 5-75 배, 5-50 배, 5-40 배, 5-30 배, 5-25 배, 100-2000 배, 200-2000 배, 300-2000 배, 500-2000 배, 750-2000 배, 1000-2000 배, 1250-2000 배, 1500-2000 배, 5-1500 배, 25-1500 배, 50-1500 배, 75-1500 배, 100-1500 배, 200-1500 배, 300-1500 배, 500-1500 배, 750-1500 배, 1000-1500 배, 또는 1250-1500 배 범위로 억제한다. 일부 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 GPCRx는 ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, CHRM1, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, EDNRB, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, EDNRB, 및 HRH1로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, CHRM1, 및 HRH1로 구성된 군에서 선택되며; 또는 ADRB2, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예들에서, GPCRx 억제제는 ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, C5AR1 억제제, CALCR 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, MLNR 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; 예를 들면, ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, C5AR1 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, MLNR 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, MLNR 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, HRH1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, EDNRB 억제제, 및 HRH1 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, 및 HRH1 억제제로 구성된 군에서 선택되며; 또는 ADRB2 억제제, HRH1, 억제제 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택된다.

[0338] 일부 구체예들에서, 본원에서 제공하는 치료 방법 또는 억제 방법에 따르면, 또는 본원에서 제공하는 약제학적 키트 또는 약제학적 조성물의 용도에 따르면, 상기 억제제 또는 억제제들의 조합을 투여하면, 이들의 각 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 프로토머 또는 GPCRx 프로토머로부터 하류 신호전달 억제와 비교하여, 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달을 5-2000 배 범위에서 억제하고, 이를 테면, 이들의 각 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 프로토머 또는 GPCRx 프로토머로부터 하류 신호전달 억제와 비교하여, 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달을 5-1750 배, 5-1500 배, 5-1250 배, 5-1000 배, 5-900 배, 5-800 배, 5-700 배, 5-500 배, 5-400 배, 5-250 배, 5-200 배, 5-100 배, 5-75 배, 5-50 배, 5-40 배, 5-30 배, 5-25 배, 100-2000 배, 200-2000 배, 300-2000 배, 500-2000 배, 750-2000 배, 1000-2000 배, 1250-2000 배, 1500-2000 배, 5-1500 배, 25-1500 배, 50-1500 배, 75-1500 배, 100-1500 배, 200-1500 배, 300-1500 배, 500-1500 배, 750-1500 배, 1000-1500 배, 또는 1250-1500 배 범위로 억제한다. 일부 구체예들에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 GPCRx는 ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADORA2B,

ADORA3, ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, CHRM1, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, EDNRB, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, EDNRB, 및 HRH1로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, CHRM1, 및 HRH1로 구성된 군에서 선택되며; 또는 ADRB2, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예들에서, GPCRx 억제제는 ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, C5AR1 억제제, CALCR 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, MLNR 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; 예를 들면, ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, C5AR1 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, MLNR 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, MLNR 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, HRH1 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, HRH1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, EDNRB 억제제, 및 HRH1 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, 및 HRH1 억제제로 구성된 군에서 선택되며; 또는 ADRB2 억제제, HRH1, 억제제 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택된다.

[0339] 본원에서 기술된 방법에 따른 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달 억제에 있어서 효과적인지, 또는 치료요법적으로 효과적인지에 대하여, 또는 본원에 기술된 검정에 따른 IC50 값을 결정함에 있어서, 억제제, 또는 억제제들의 조합의 우선 테스트 및 평가는 상기 억제제 농도 범위 1-10 μM (또는 상기 조합의 각 상기 억제제들의 농도 범위는 1-10 μM이며), 이를 테면, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 μM의 농도를 이용할 수 있다. 상기 억제제에 의한 신호 억제가 결정가능한 측정에 충분하지 않다면, 이를 테면, IC50 값과 같은 결정가능한 측정을 더 잘 평가하기 위하여 더 큰 농도의 억제제가 이용될 수 있다. 상기 억제제에 의한 신호 억제가 너무 강하다면, 이를 테면, IC50 값과 같은 결정가능한 측정을 더 잘 평가하기 위하여 더 큰 농도의 억제제가 이용될 수 있다.

[0340] 본 발명의 다양한 구체 예의 활성에 실질적으로 영향을 미치지 않는 변형이 또한 본원에 제공된 본 발명의 정의 내에서 제공되는 것으로 이해된다. 따라서, 하기 실시 예는 본원에 개시된 본 발명을 예시하기 위한 것이며, 이에 국한되는 것은 아니다.

[0341] **실시예**

[0342] **실시예 1. BiFC 검정에 의한 CXCR4-GPCRx 헤테로머 형성 평가.**

[0343] 새로운 CXCR4-GPCRx 헤테로머들을 찾기 위하여, Song 외. (Song 외., 2014; SNU patent; Song, thesis)에서 기술된 바와 같이, 황색 형광 단백질 비너스의 N-말단 단편 (VN)이 융합된 143개 GPCRs와 비너스의 C-말단 단편 (VC)이 융합된 147개 GPCRs를 인코딩하는 재조합 아데노바이러스를 만들었다. 이중분자 형광 상보성 (BiFC) 검정을 이용하여 CXCR4-GPCR 헤테로머들이 확인되었는데 (도 1), 이때 비너스의 상보적인 2개의 VN 단편과 VC 단편은 이들이 융합된 2개의 상이한 단백질 간에 상호작용을 통하여 이둘 두 단편 모두가 충분히 근접할 때에만 형광 신호를 재구성한다 (Hu 외., 2002).

[0344] U-2 OS 세포는 96-웰 플레이트에 도말되었고, CXCR4-VN과 GPCRx-VC 또는 CXCR4-VC와 GPCRx-VN을 인코딩하는 아데노 바이러스 각 30 MOI로 공동-형질도입되었고, 그리고 2 일 동안 GPCRs의 발현을 허용하였다. Hoechst 33342로 세포를 착색한 후, IN Cell Analyzer 1000을 이용하여 웰 당 3개 필드로부터 BiFC 및 핵 영상을 얻었다. 각 웰로부터 약 200가지 세포 영상을 IN Cell Developer ToolBox (GE Healthcare, Waukesha, WI)에서 다중-표적 분석 소프트웨어로 분석하였다. 세포 경계는 Hoechst 신호에 근거하여 표시되며, 세포 당 형광 강도가 측정되었다. 배경 수준 이상의 형광 강도를 갖는 세포는 BiFC 양성 세포로 간주되었다. 극단적으로 높은 강도를 보였던 죽은 세포는 세포 카운트에서 배제되었다. 양성 세포를 결정하였고, 양성 세포 카운트 비율 ("BiFC 점수")은 (양성 세포/전체 세포) x 100으로 산출되었다 (하기 표 4 참조).

[0345] CXCR4-VN이 HA-VC (도 2a) 또는 GCGR-VC, 글루타곤 수용체를 인코딩하는 GPCR(도 2c)과 공동-발현될 때, 황색 형광 단백질 (YFP) 신호 (BiFC 신호)는 관찰되지 않았다. 대조적으로, CXCR4-VN이 CXCR4-VC (도 2b)와 공동-발현될 때, 혈장 막과 세포질에서 BiFC 신호가 관찰되었다. CXCR4-VN이 ADCYAP1R1-VC (도 2d), ADORA3-VC (도 2f), ADRB2-VC (도 2g), APLNR-VC (도 2h), C5AR1-VC (도 2i), CALCR-VC (도 2j), CCR5-VC (도 2k), CHRM1-VC (도 2l), GALR1-VC (도 2m), EDNRB-VC (도 2n), HRH1-VC (도 2o), MLNR-VC (도 2p), NTSR1-VC (도 2q), PTGER2-VC (도 2r), SSTR2-VC (도 2t), 및 TACR3-VC (도 2u)로 공동-형질도입될 때, 혈장 막과 세포질에서 강력한 BiFC 신호가 관찰되었다. CXCR4-VC와 ADORA2B-VN (도 2e) 또는 PTGER3-VN (도 2s)와 함께 공동형질도입될 때, 강력한 BiFC 신호가 또한 관찰되었다. 배경 수준보다 더 높은 BiFC 형광 신호를 보였단 세포는 BiFC 양성 세포로 간주되었고, BiFC 점수가 산출되었다.

[0346] 단백질-단백질 상호작용은 융합 테그, 이를 테면, 짝 단백질의 발현, 폴딩, 또는 국소화의 간섭을 통하여 BiFc에서 형광 단백질 단편, 또는 BRET에서 레닐라(renilla) 루시퍼라제에 의해 영향을 받을 수 있다. 짝 단백질은 또한 융합 테그의 발현 또는 폴딩을 손상시키고, 근접성-기반 검정 결과에 영향을 줄 수 있다. 따라서, 특정 조합에서 두 단백질 간의 신호 부재는 이들 단백질이 상호작용을 하지 않는다는 것을 반드시 암시하는 것은 아니지만, 부착된 공여자 및 수용자 분자는 상호작용의 발생을 허용하지 않은 특정한 형태구조에 있음을 단순히 나타낸다 (Eidne 외., 2002; Kerppola, 2006).

[0347] 따라서, CXCR4-VN과 GPCRx-VC 또는 CXCR4-VC와 GPCRx-VN 조합에서 BiFC 신호를 제공하였던 CXCR4와 GPCRx는 상호작용 단백질들로 간주되었다. 잘-알려진 호모머(homomer)인 CXCR4-VN과 CXCR4-VC 쌍의 BiFC 점수는 9.9이다. 따라서, BiFC 점수가 10이거나 또는 이보다 큰 CXCR4-GPCRx 쌍은 CXCR-GPCRx 헤테로머 후보로 선별되었으며, 이는 표 4에 나타낸다.

[0348] 표 4. CXCR4와 공동발현되었을 때, 10이거나 또는 이보다 큰 BiFC 점수를 나타낸 GPCRs

표 4

GPCRx		BiFC 점수 CXCR4-VN & GPCRx-VC	GPCRx		BiFC 점수 CXCR4-VN & GPCRx-VC
1	ADCYAP1R1	23	10	GALR1	60
2	ADORA2B	11*	11	ENDRB	41
3	ADORA3	43	12	HRH1	45
4	ADRB2	24	13	MLNR	10
5	APLNR	63	14	NTSR1	48
6	C5AR1	42	15	PTGER2	58
7	CALCR	53	16	PTGER3	13*
8	CCR5	44	17	SSTR2	30
9	CHRM1	24	18	TACR3	33

*CXCR4-VC 및 GPCRx-VN 가 이용되었다.

[0349]

[0350] ADCYAP1R1, ADORA3, ADRB2, APLNR, C5AR1, CALCR, CCR5, CHRM1, GALR1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, PTGER2, SSTR2, 및 TACR3의 16가지의 GPCRs가 CXCR4-VN과 GPCRx-VC 조합에서 CXCR4-상호작용하는 GPCRs로 확인되었으며, 2가지 GPCRs 즉, ADORA2B 및 PTGER3은 CXCR4-VC와 GPCRx-VN 조합에서 10 이상의 BiFC 점수를 제공하였다(표 4에 나타나있음). 이것들 중에 ADRB2와 CCR5는 CXCR4와 헤테로머를 형성하는 것으로 보고되었으며 (LaRocca 2010, Nakai 2014, (Agrawal 외., 2004; LaRocca 외., 2010; Rodriguez-Frade 외., 2004; Sohy 외., 2007; Sohy 외., 2009; Martinez-Munoz 외., 2014)), 나머지 16개의 GPCRs는 우리가 아는 한, 보고된 바 없었던 새로운 CXCR4-GPCRx 헤테로머들인 것으로 밝혀졌다.

[0351] CXCR4와 상호작용하는 것으로 알려진 GPCRs중에서, ADRA1A 및 CXCR3 역시 BiFC 분석에 포함되었다. 다음 GPCRs는 CXCR4와 조합에서 10 미만의 BiFC 신호를 제공했기 때문에, 추가 조사에서 제외되었다: ADRA1A (CXCR4-VN-ADRA1A-VC: BiFC 점수 7.85) 및 CXCR3 (BiFC 점수 1.16).

[0352] 카나비노이드 수용체 2 (CB2, 때로 CNR2로 불리기도 함)는 우리의 BiFC 검정에서 CXCR4-상호작용하는 GPCR로 확인되었다 (CNR2-VN-CXCR4-VC 배열: BiFC 점수 4.25; CNR2-VC-CXCR4-VN 배열: BiFC 점수 38.1), 그리고 공동-내재화 검정(도 3a-3b 및 4a-4q). 그러나, CNR2는 칼슘 동원 분석에서 강화된 하류 신호전달을 나타내지 않기 때

문에 최종 후보로 선정되지 않았다 (하기 실시예 3 참고).

[0353] **실시예 2. 공동내재화 검정에 의한 CXCR4-GPCRx 헤테로머 형성 평가.**

[0354] 헤테로머화 결과로써 일부 GPCR 헤테로머들은 변경된 트래피킹 성질, 이를 테면, 짝 GPCR (GABA(B) 수용체)의 성숙 (White, 1998), 세포 표면으로부터 짝 GPCR (DOR-GRPR, A2A-D2R)의 효현제-매개된 내재화 (Hillion 외., 2002; Liu 외., 2011; Torvinen 외., 2005), 그리고 짝 GPCR(DOR-CB1)의 세포내 격실로부터 세포 표면으로의 국소화에서 변화(Rozenfeld 외., 2012)를 나타내는 것으로 알려져 있다.

[0355] 상기 쌍중 오직 하나에만 선택적인 효현제에 반응하여 공동-발현된 GPCRs 쌍의 공동-내재화를 이용하여 GPCR 헤테로머화를 확인하였다 (Milligan, 2008). GPCRx가 공동-발현되고, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 형성할 때, CXCR4의 트래피킹을 조정하는지를 검사하고, BiFC 검정을 이용하여 확인된 CXCR4와 GPCRx 간의 물리적 상호작용을 또한 확인하기 위하여, 세포는 CXCR4-GFP와 GPCRx를 인코딩하는 아데노바이러스로 공동-형질도입되었으며, GPCRx 효현제로 자극전 그리고 자극 후 30분에 GFP 영상을 확보하였다. 세포 표면 상에서 GFP 발현의 상실 또는 세포 내부에 GFP 과립의 존재는 GPCRx와 공동-내재화된 CXCR4-GFP로 간주되었다 (도 3a-3b).

[0356] 도 4a-4q에서 세포는 다음과 같이, CXCR4 (도 4a), ADCYAP1R1 (도 4b), ADORA2B (도 4c), ADORA3 (도 4d), ADRB2 (도 4e), APLNR (도 4f), C5AR1 (도 4g), CCR5 (도 4h), CHRM1 (도 4i), GALR1 (도 4j), EDNRB (도 4k), HRH1 (도 4l), MLNR (도 4m), NTSR1 (도 4n), PTGER3 (도 4o), SSTR2 (도 4p), 및 TACR3 (도 4q)에 특이적인 GPCRx 효현제로 자극되었다: 차례로 10 nM의 CXCL12 (도 4a), 1 μM의 혈관작용 내장 펩티드 (VIP) (도 4b), 1 μM의 BAY 60-6583 (도 4c), 1 μM의 CGS21680 (도 4d), 100 nM의 포르모테롤 (도 4e), 1 μM의 아펠린-13 (도 4f), 100 nM의 C5a (도 4g), 100 nM의 CCL2 (도 4h), 1 μM의 아세틸콜린 (도 4i), 100 nM의 갈라닌 (도 4j), 1 μM의 엔도텔린 1 (도 4k), 1 μM의 히스타민 (도 4l), 100 nM의 모틸린 (도 4m), 1 μM의 뉴로텐신 (도 4n), 1 μM의 PGE2 (도 4o), 1 μM의 SRIF-14 (도 4p), 그리고 1 μM의 센크티드(senktide) (도 4q). 효현제 자극 전, 그리고 자극 후 30 분 시점에 이미지를 수득하고, IN Cell Analyzer 2000을 사용하여 분석하였다. 이들 GPCRx 효현제 농도의 선택은 각 특이적 GPCRx에 대하여 EC50 농도로 설정되었으며 (또는 대안적으로, Ki 또는 Kd 농도), 그리고 생성 신호가 너무 강한 경우, 농도를 EC50 이하로 낮추었고, 생성 신호가 너무 약한 경우, 이 농도는 EC50 농도의 10,000x 미만까지 증가시켰다.

[0357] CXCR4-GFP를 발현시키는 세포를 CXCL12와 함께 자극하면 혈장 막으로부터 별개의 세포내 과립으로의 GFP가 재-국소화되었으며, 이는 표면 CXCR4-GFP가 세포질로의 내재화를 보여준다(도 4a). BiFC 검정에 의해 확인된 18가지 CXCR4-GPCRx 헤테로머중에서, 16개 헤테로머는 CXCR4-GFP와 GPCRx를 공동발현시키는 세포의 혈장 막에서 세포내 GFP 과립 증가 및 GFP 신호 감소에 의해 드러나는 것과 GPCRx 유도된 CXCR4의 내재화를 포함하였고, 이로써 헤테로머 공동-내재화가 확인되었다: ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, APLNR, C5AR1, CCR5, CHRM1, GALR1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, PTGER3, SSTR2, 및 TACR3 (도 4b-q). 한편, CALCR 및 PTGER2를 포함하는 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 GPCRx 효현제 처리 시, 당해 헤테로머의 공동-내재화를 보이지 않았다. 이들 결과에서 BiFC 검정에서 확인된 특정 GPCRx 짝은 헤테로머의 변경된 세포의 트래피킹 성질에 의해 증명되는 바와 같이, 두 GPCRs를 모두 공동-발현시키는 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 형성한다.

[0358] **실시예 3. CXCR4-GPCRx 헤테로머 형성 시에 강화된 CXCR4 하류 신호전달 및 상기 강화된 신호전달의 억제는 Ca2+ 동원 검정에 의해 평가**

[0359] 이들 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 (이 수용체들중 하나가 결여된 세포에서) 개별 프로토머로부터 별개의 성질을 나타내는지를 추가 검사하기 위하여, GPCR 또는 두 GPCRs를 함께 발현시키는 세포에서 하나의 또는 두 효현제 존재 하에 칼슘 신호전달을 조사하였다. 실시예 2에서 명시된 바와 같이, 본 실시예에서 이들 GPCRx 효현제 농도의 선택은 각 특이적 GPCRx에 대하여 EC50 농도로 설정되었으며 (또는 대안적으로, Ki 또는 Kd 농도), 그리고 생성 Ca2+ 신호가 너무 강한 경우, 농도를 EC50 이하로 낮추었고, 생성 Ca2+ 신호가 너무 약한 경우, 이 농도는 EC50 농도의 100x 미만까지 증가시켰다.

[0360] MDA-MB-231 인간 유방암 세포는 CXCR4와 HA-VC를 인코딩하는 아데노바이러스로 형질도입되었고, CXCL12의 처리로 세포내 칼슘 동원이 유발되었다 (도 5a). 이 세포를 ADRB2-선택적 효현제인 살메테롤로 자극시키면 칼슘 반응이 유도되지 않았고, 이것은 CXCL12에 의해 유발되는 칼슘 반응은 CXCR4에 의해 매개됨을 나타낸다. CXCL12와 살메테롤로 이 세포를 공동-처리하면, CXCL12 단독으로 유도된 것과 비교하였을 때, 유사한 칼슘 반응이 유도되었다. ADRB2 만을 과다발현시키는 세포에서 CXCL12는 칼슘 반응을 유도하지 않았지만, 살메테롤은 칼슘 반응을 유도하였고, 이것은 살메테롤이 ADRB2를 통하여 칼슘 반응을 유도함을 보여준다 (도 5b). 두 효현제의 공동-처

리는 살메테롤 단독으로 자극된 것과 유사한 칼슘 반응을 유도하였다.

[0361] CXCR4와 ADRB2를 모두 과다발현시키는 세포에서, 각 효현제에 의한 자극은 CXCR4 또는 ADRB2만을 발현시키는 세포에서 나타난 것과 유사한 칼슘 반응을 유도하였다 (도 5a와 5b와 대비되는 도 5c). 대조적으로, 두 효현제를 함께 공동-처리하면 개별 효현제에 의해 유발된 것과 비교하였을 때 칼슘 반응이 유의적으로 증가되었다 (도 5c & 5d). 상기 강화된 칼슘 신호전달은 CXCR4와 ADRB2 모두를 발현시키는 세포에서만 관찰되었지만, 그러나 CXCR4 또는 ADRB2만을 단독으로 발현시키는 세포에서는 관찰되지 않았다. 이 결과로부터 CXCR4-ADRB2 헤테로머는 개별 GPCRs와는 별개의 성질을 나타낸다는 것이 명확하게 입증된다.

[0362] BiFC 및 공동-내재화 검정에서 CXCR4와 상호작용하는 것으로 확인된 다른 GPCRs들이 칼슘 신호전달에서 뚜렷한 성질을 또한 나타내는지 여부를 검사하기 위하여, 도 5a-5d에서 나타낸 실험이 확인된 다른 GPCRx 짝에 대하여 실행되었다. ADCYAP1R1 (도 6a), ADORA2B (도 6b), ADORA3 (도 6c), C5AR1 (도 6d), CALCR (도 6e), CHRM1 (도 6f), EDNRB (도 6g), HRH1 (도 6h), MLNR (도 6i), NTSR1 (도 6j), PTGER2 (도 6k), 또는 TACR3 (도 6l)중 하나와 CXCR4를 공동-발현시키는 세포에서, CXCL12와 각 GPCRx 효현제의 공동-처리로 인하여 개별 효현제에 의해 유도된 칼슘 반응의 합과 비교하였을 때, 칼슘 반응이 유의적으로 증가되었으며, 이는 도 5c 및 5d, 그리고 도 6a-6l에 나타낸다. CXCR4와 GPCRx (ADCYAP1R1 (도 6a), ADORA2B (도 6b), ADORA3 (도 6c), C5AR1 (도 6d), CALCR (도 6e), CHRM1 (도 6f), EDNRB (도 6g), HRH1 (도 6h), MLNR (도 6i), NTSR1 (도 6j), PTGER2 (도 6k), 또는 TACR3 (도 6l)중 하나)를 공동-발현시키는 세포는 칼슘 동원 검정에 의해 결정하였을 때, CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제에 의한 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합과 비교하여 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제로 공동-자극(또는 공동-처리) 시에, 강화된 칼슘 동원을 나타내었다. 특히, CXCR4와 CNR2를 공동-발현시키는 세포에서, CXCL12를 단독 추가한 경우, 또는 선택적 CNR2 효현제인 JWH-133과 함께 추가할 경우 CXCR4만을 단독으로 발현시키는 세포에서 관찰된 CXCL12-매개된 칼슘 반응과 비교하여, CXCL12-유도된 칼슘 반응은 강화되기 보다는 유의적으로 감소되었다(데이터는 제공하지 않음).

[0363] 상기 공동-발현 시스템 안에서, CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제의 공동-자극 시에 CXCR4와 PTGER2 관련된 세포의 개별 프로토머 구성(개별 프로토머 구성, *가령, 각* GPCRx 부재 하에 발현된 CXCR4, 또는 CXCR4 부재 하에 발현된 각 GPCRx)에서 강화된 양의 칼슘 동원이 또한 관찰되었다(도 6k). 특히, 두 상황에서 개별 프로토머 구성에서 PTGER2의 경우 강화된 양의 칼슘 동원이 관찰되었으며(도 6k), 여기에서 CXCR4는 각 GPCRx 부재 하에 발현되었고, 각 GPCRx (PTGER2)는 CXCR4 부재 하에 발현되었으며, CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제의 공동-자극 시에 (5 μM의 PGE2), 개별 프로토머 구성 체계로부터 칼슘 동원 양은 CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제 (5 μM의 PGE2)만의 단일 효현제 가극으로 인한 칼슘 동원 양의 합 보다 더 크다.

[0364] 따라서, 이러한 관찰로부터, ADCYAP1R1 (도 6a), ADORA2B (도 6b), ADORA3 (도 6c), C5AR1 (도 6d), CALCR (도 6e), CHRM1 (도 6f), EDNRB (도 6g), HRH1 (도 6h), MLNR (도 6i), NTSR1 (도 6j), 및 TACR3 (도 6l)로 구성된 군에서 선택된 GPCRx와 CXCR4를 공동-발현시키는 시스템은 다음을 보유하는 것으로 간주된다: (i) CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제와 함께 공동-자극 (또는 공동-처리)할 경우 CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제에 의한 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합과 비교하여 강화된 칼슘 동원(칼슘 동원 검정에 의해 결정됨)을 나타내었고; (ii) 개별 프로토머 구성에서 CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제에 의한 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합에 대등하거나 또는 이보다 적은 칼슘 동원 양을 나타내었고; 그리고 따라서 (iii) 개별 GPCR의 성질과는 별개의 성질을 나타내는 CXCR4-GPCRx 헤테로머로 구성되었다. 상기 강화된 칼슘 반응은 개별 GPCRs를 발현시키는 세포에서 관찰되지 않았으며, 이로 인하여 이들CXCR4-GPCRx 헤테로머는 개별 GPCR과는 별개의 성질을 나타낸다는 것이 입증된다.

[0365] 소량의 개별 효현제에 의해 유도된 강화된 칼슘 신호전달은 CXCR4-GPCRx 헤테로머들이 생체 내 리간드 농도를 제한할 때 이들 수용체의 민감도 및 역동 범위를 증가시킬 것이며, 나쁜 예후와 연합될 수 있음을 명백히 나타낸다. CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 칼슘 신호전달은 CXCR4 발현 수준만을 기초하는 현행 진단을 CXCR4와 GPCRx의 발현 수준을 고려하는 것으로 변경시킬 필요가 있음을 또한 나타낸다.

[0366] 대조적으로, GPCRs 이를 테면, APLNR (도 7a), CCR5 (도 7b), GALR1 (도 7c), PTGER3 (도 7d), 및 SSTR2 (도 7e)는 이들 GPCRs는 비록 BiFC (표5) 및 CXCR4-GFP 공동-내재화 검정에서 CXCR4와 상호작용하는 것으로 나타났지만,이들 수용체를 모두 발현시키는 세포를 이들 두 효현제로 공동-처리할 때 강화된 칼슘 반응을 보이지 않았다. 이 결과들로부터 도 5a-5d 및 6a-6l에서 보여준 칼슘 반응의 상승적 증가는 CXCR4-GPCRx 헤테로머들의 유일한 성질로써, 즉, 다른 CXCR4-GPCRx 헤테로머들, 이를 테면, CXCR4-APLNR, CXCR4-CCR5, CXCR4-GALR1, CXCR4-PTGER3, 그리고 CXCR4-SSTR2와는 공유되지 않은 성질이다.

[0367] 표5. CXCR4와 공동 발현될 때, 10 또는 이보다 높은 BiFC 점수를 나타내지만, 두 효현제의 공동-처리시 강화된 Ca2+ 신호전달을 나타내지는 않았던 GPCRs

표 5

두 효현제의 공동-처리시 강화된 Ca^{2+} 신호전달을 나타내지는 않았던 CXCR4-GPCRx 헤테로머들		
GPCRx		BiFC 점수 CXCR4-VN & GPCRx-VC
1	APLNR	63
2	CCR5	44
3	GALR1	60
4	PTGER3*	13
5	SSTR2	30

*CXCR4-VC 와 GPCRx-VN 이 이용되었다.

[0368]

[0369] CXCR4와 GPCRx를 공동-발현시키는 세포를 CXCL12와 GPCRx 리간드들로 공동-자극시에 강화된 칼슘 반응이 GPCRx 길항제에 의해 저해되는지를 더 검사하였다. ADRB2 (도 8a), CHRM1 (도 8b & 도 8c), HRH1 (도 8f-8i), MLNR (도 8j), 또는 NTSR1 (도 8k)와 CXCR4를 공동-발현시키는 세포에서 차례로 10 μM의 ADRB2 길항제 카르베디롤 (도 8a), 1 μM의 CHRM1-선택적 길항제 VU0255035 (도 8b), 10 μM의 CHRM1 길항제 옥시부티닌 (도 8c), 1 μM의 HRH1-선택적 길항제 세티리진 (도 8f), 1 μM의 HRH1-선택적 길항제 피릴라민 (도 8g), 10 μM의 HRH1 길항제 히드록시진 (도 8h), 10 μM의 HRH1-선택적 길항제 로라타딘 (도 8i), 1 μM의 MLNR-선택적 길항제 MA-2029 (도 8j) 그리고 1 μM의 NTSR1-선택적 길항제 메클리너탄트 (도 8k)를 처리하면 강화된 칼슘 신호전달이 유의적으로 억제되었다. 두 길항제를 함께 공동-처리하면 더 완벽하게 억제되었다 (도 8a-8c, 및 8f-8k). 이들 결과는 GPCRx 길항제가 CXCR4-GPCRx 헤테로머들에 대항한 효과적인 치료제로 이용될 수 있음을 입증하는 것이며, 여기에서 GPCRx는 ADRB2, CHRM1, HRH1, MLNR, 및 NTSR1을 나타낸다.

[0370] CXCR4와 CHRM1을 공동-발현시키는 세포에서, 10 μM의 무스카린 아세틸콜린 수용체 길항제 우메클리디니움은 통계학적으로 유의적인 수준은 아니지만, 강화된 칼슘 신호전달을 감소시켰다 (도 8d). 이들 세포에서, AMD3100와 우메클리디니움의 공동-처리로 CXCL12와 베타네콜의 동시 추가에 의해 유도된 칼슘 반응이 거의 완벽하게 저해되었다.

[0371] EDNRB (도 8e) 또는 TACR3 (도 8l)과 CXCR4를 공동-발현시키는 세포에서 1 μM의 AMD3100을 단독으로 (도 8e 및 도 8l), 또는 1 μM의 엔도텔린 수용체 길항제 보센탄 (도 8e) 또는 1 μM의 TACR3-선택적 길항제 SSR 146977을 단독으로 (도 8l) 처리하여도 강화된 칼슘 반응을 유의적으로 저해시키지 못하였다. 그러나 이 세포들을 AMD3100과 보센탄과 함께(도 8e) 또는 AMD3100과 SSR 146977와 함께 (도 8l)처리하였을 때, 상기 강화된 칼슘 반응은 유의적으로 저해되었다.

[0372] CHRM1 (도 8b), EDNRB (도 8e), HRH1 (도 8f 및 8g), 또는 MLNR (도 8j)와 CXCR4를 공동-발현시키는 세포에서 비록 1 μM의 AMD3100 단독은 강화된 칼슘 신호전달을 억제하지 못하였지만, 1 μM의 두 길항제의 공동-처리는 상기 강화된 칼슘 신호전달을 유의적으로 억제하였다.

[0373] 이 결과로부터 각 프로토머를 표적으로 하는 소량의 길항제의 공동-처리는 고 용량의 개별 길항제와 연합된 부작용을 피하면서, CXCR4-GPCRx 헤테로머 반응을 효과적으로 억제하는 새로운 치료 도구를 제공한다는 것이 명백하게 입증된다.

[0374] **실시예 4. GPCRx 길항제에 의한 내재화의 억제.**

[0375] CXCR4 헤테로다이머의 공동-내재화가 짝 GPCRx 길항제에 의해 차단되는 지를 더 연구하기 위하여, 내재화 억제 검정이 실행되었다. 도 4b-4q에서 나타낸 바와 같이, CXCR4와 GPCRx가 일제히 세포로 형질도입될 때 (대조군: CXCR4-GFP (도 4a)), CXCR4-GFP를 발현시키는 U-2 OS 세포는 짝 GPCRx 특이적 효현제에 의해 공동-내재화되었다. CXCR4가 GPCRx와 헤테로다이머를 형성하고, 짝 GPCRx에 의해 공동-내재화된다면, GPCRx 특이적 길항제에 의해 차단될 것이다.

[0376] CXCR4-GFP를 안정적으로 발현시키는 U-2 OS 세포에 GPCRx(ADRB2, CHRM1, HRH1)를 인코딩하는 아데노바이러스를 형질도입시켰다. 2 일 후, CXCR4-특이적 효현제, CXCL12 (SDF-1) (20 nM), 및/또는 GPCRx-특이적 길항제 (10 μM)로 세포를 자극하기 전, 그리고 자극 후 20분 시점에 영상을 확보하였다. IN Cell Analyzer 2500을 이용하여 CXCR4-GFP 내재화는 GFP 과립으로 관찰되었다. 세포 표면 상에서 GFP 발현의 상실 또는 세포 내부에 GFP 과립의 존재는 CXCR4-GFP의 공동-내재화로 간주되었다. CXCR4 효현제, CXCL12는 GPCRx와 함께 CXCR4-GFP의 내재화를 유도하였다 (도 10a-c, 첫번째 컬럼). 다음과 같이 처리된 GPCRx 길항제는 당해 헤테로머 내재화에 효과가 없었다(도 10a-c, 두번째 컬럼): 카르베디롤, ADRB2 길항제 (도 10a); 옥시부티닌 및 우메클리디니움, CHRM1 길항제 (도 10b); 프로메타진, 히드록시진, 및 로라타딘, HRH1 길항제 (도 10c). GPCRx와 함께 CXCR4-GFP로 자극된 CXCL12의 내재화는 GPCRx 특이적 길항제로 저해되었다 (도 10a-c, 세번째 컬럼).

[0377] 이들 데이터에서 CXCR4-GPCRx 공동-내재화는 헤테로머 특이적 사건이며, CXCR4와 GPCRx는 헤테로다이머를 형성한다는 것이 실증된다. 이들 데이터로부터 CXCR4 헤테로머 내재화 억제에 의해, CXCR4-GPCRx 헤테로머 과다발현된 세포, 이를 테면, 암에서 비정상적인 하류 신호는 치료 목적으로 차단될 수 있음이 추가 실증된다.

[0378] **실시예 5. 세포 증식 검정으로 종양 성장에 있어서 CXCR4-GPCRx 헤테로머 신호전달의 억제제의 표현형 효과 평가**

[0379] 여러 CXCR4 길항제들이 개발되었지만, 지금까지 항암 약물로 승인된 것은 없다. CXCR4 억제제의 한계를 극복하고, CXCR4 헤테로머-기반 치료제를 개발하기 위해, 본 발명자들은 세포 증식에 있어서 GPCRx 길항제의 효과를 시험하였다.

[0380] 환자의 교아종 조직으로부터 절제 및 해리된 단일 세포 현탁액을 준비하였다 (Samsung Seoul hospital, Seoul, Korea에서 제공). 이들 세포는 정상 뉴런 줄기 세포의 증식 및 비-분화에 최적 상태에서 배양되었다. 배지는 염기성(basic) FGF 및 EGF가 보충된 무-혈청 Neurobasal 배지로 구성되었다.

[0381] 환자 유래된 세포 (PDCs)의 생존에 있어서 GPCRx 길항제의 효과는 ATPlite (PerkinElmer, Cat. No. 6016739 시약을 이용하여 평가되었다. ATPlite는 초파리 루시퍼라제에 기초한 아데노신 트리포스페이트 모니터링 시스템이다. 이 발광 검정은 배양된 포유류 세포의 증식 및 세포 독성의 정량적 평가를 위한 비색(colorimetric), 형광 및 방사성 동위 원소 분석에 대한 대안적 검정이다. 세포를 40 μl 배양 배지에서 500개 세포/웰로 384-웰 플레이트에 씨딩하였다(seeded). 하룻밤 성장 후, 상기 세포는 몇 가지 용량의 GPCRx 길항제 존재 하에 또는 DMSO 단독으로 존재 하에 7일간 배양되었다. 이와 같은 7-일 항온처리 후, 15 μl ATPlite를 각 웰에 추가하였고, 당해 플레이트는 700 rpm의 오비털(orbital) 진탕기에서 5분간 교반되었다. 발광 신호는 PerkinElmer TopCount 검출 기기에서 30 분 이내에 탐지되었다. 세포 생존력(viability)은 다음의 식을 이용하여 산출되었다: 세포 생존력 (%) = (길항제 처리시 OD/오직 DMSO만으로 처리시 OD) x 100%.

[0382] 도 11a-c에서 볼 수 있는 바와 같이, ADRB2 특이적 길항제인 카르베디롤을 CXCR4와 ADRB2를 발현시키는 PDC에 처리하였을 때, 세포 성장은 유의적으로 저해되었다. (IC50=11.69 μM, 도 11a). CHRM1 길항제인 옥시부티닌 및 우메클리디니움 또한 PDc의 생존을 저해하였다. 옥시부티닌 또는 우메클리디니움은 각각 차례로 IC50=3.04 μM 및 4.03 μM에서 세포 생존을 유의적으로 감소시켰음을 보여주었다. (도 11b). HRH1 길항제인 프로메타진, 히드록시진, 및/또는 로라타딘 각각은 차례로 IC50=18.39 μM, 12.79 μM 또는 5.29 μM에서 PDc의 생존을 저해함을 보여주었다(도 11c).

[0383] 이 결과로부터 CXCR4 헤테로머 유도된 비정상적인 세포 증식은 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 발현시키는 세포에서 짝 GPCRx 특이적 길항제에 의해 차단될 수 있음이 실증되었고, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 품고 있는 환자들에서 짝 GPCRx 길항제를 이용한 암 세포 성장 억제는 암 치료제로써 단독 CXCR4 억제제 만의 한계를 극복할 수 있음을 나타낸다.

[0384] **실시예 6. 환자 유래된 세포 (PDC)에서 근접성 결찰 검정 (PLA)를 이용한 CXCR4-GPCRx 헤테로머 형성 평가**

[0385] 고유(native) 조직에서 GPCR 복합체 존재를 조사하기 위하여, 다양한 방식 이를 테면, 원자력 현미경검사 (Fotiadis 외., 2006), 공동-면역침전 (Gomes 외., 2004) 및 결합 또는 기능성 검정 (Wreggett and Wells, 1995)이 이용되었다. 상호작용을 모니터링하는 가장 편리한 방법은 라벨된 단백질로 수행된 공명 에너지 전달을 기반으로 한다. 선택적 프로브, 이를 테면, 항체들 또는 형광 리간드들에 의해 라벨링이 실행될 수 있다 (Roess 외., 2000; Patel 외., 2002).

[0386] Bazin 외.,는 시간-분해 형광 공명 에너지 전달 (TR-FRET)-기반 방식을 이용하였는데, 이 방식은 훨씬 더 높은

신호-대-노이즈 비율을 제시한다 (Bazin 외., 2002). FRET은 근접한 경우, 두 개의 형광단인 공여자와 수용체 사이의 에너지 전달을 기반으로 한다. 각 짝을 형광 라벨과 결합시키고, 에너지 전달 수준을 검출함으로써, 생체분자 간의 분자 상호작용을 평가할 수 있다. 시스템 여기(excitation)와 형광 측정 사이에 대략적으로 50 내지 150 μ 초의 시간 지연을 도입함으로써 이 신호에서 모든 비-특이적 단명(short-lived) 방출이 제거하도록 한다.

[0387] 근접성 결찰 검정 (PLA)은 높은 특이성 및 민감도를 갖는 단백질의 직접적인 검출, 단백질 상호작용 및 변형이 포함하도록 전통적인 면역검정 능력을 확장하는 기술이다(Gullberg 외., 2004). 상이한 종에서 생성된 2가지 일차 항체들은 관심 대상 단백질 상의 표적 항원을 인지한다. 일명 PLA 프로브라고 불리는 상이한 일차의 불변 영역을 지향하는 2차 항체들은 당해 일차 항체에 결합한다. 각 PLA 프로브는 이에 결합하는 독특한 짧은 DNA 가닥을 보유한다. 이 PLA 프로브가 근접에 있다면 (즉, 도면에 나타낸 것과 같이, 관심 대상의 2가지 원래 단백질들이 근접해있거나, 또는 단백질 복합체의 일부분이), 당해 DNA 가닥들은 적절한 기질 및 효소가 첨가될 때 써클 DNA 합성 구동에 참여할 수 있다. DNA 합성 반응은 DNA 써클의 수-백배 증폭을 초래한다. 그 다음, 형광-라벨된 상보적 올리고뉴클레오티드 프로브가 추가되어, 이들은 증폭된 DNA에 결합한다. 생성된 고농도 형광은 형광 현미경으로 봤을 때, 뚜렷한 밝은 점으로 쉽게 볼 수 있다 (Gustafsdottir 외., 2005).

[0388] CXCR4를 과다발현시키는 세포 계통인, U2OS-CXCR4는 ADRB2를 발현시키는 아데노바이러스인 Ad-ADRB2를 0, 2.5, 10, 40 MOIs 용량으로 2 일 동안 감염시켰다. 앞서 기술된 바와 같이 PLA가 수행되었다(Brueggemann 외., 2014; Tripathi 외., 2014). PLA를 수행하기 위하여, 감염된 세포는 16-웰 조직 배양 슬라이드 상에서 4% 파라포름알데히드(PEA)로 고정되었다. 슬라이드는 Duolink에서 제공되는 블락킹 용액으로 차단되었고, 마우스 항-CXCR4 (1:200, Santacruz, Sc-53534), 토끼 항-ADRB2(1:200, Thermo scientific, PA5-33333), 토끼 항-CHRM1(1:200, Ls bio, Ls-C313301)와 함께 37℃에서 가습 챔버에서 1 h 동안 항온처리되었다. 그 다음 슬라이드를 세철하고, + 및 - Duolink II PLA 프로브와 콘쥬게이트된 2차 항-토끼 항체 및 항-마우스 항체와 함께 항온처리되었다(1 h 동안 37℃에서). 슬라이드를 다시 한번 세척하고, 그 다음 결찰-리게이즈 용액으로 항온처리하고(30분 동안 37℃에서), 증폭-중합효소 용액(2 h 동안 37℃에서)으로 항온처리하였다. 그 다음 슬라이드에 4',6-디아미디노-2페닐인돌(DAPI)과 함께 Duolink II 탑재 배지의 최소 용적을 15-30 분 동안 탑재하였고, 그리고 PLA 신호 [Duolink In Situ Detection Reagents Green (λ 여기/방출 495/527 nm) 또는 Red (λ 여기/방출 575/623 nm)는 IN Cell Analyzer 2500에서 형광 스팟으로 확인되었다.

[0389] 도 12a-12b에 나타낸 바와 같이, PLA 신호는 ADRB2의 발현 수준으로써, 용량 의존적 방식으로 증가된다. 도 12a: 일련의 MOIs (감염 다중도)에 걸쳐 CXCR4-ADRB2 헤테로머를 발현시키는 U2OS 세포로부터 PLA 신호 영상 도 12b: 적색 신호 스팟을 계수하고, 음성 대조군에 대하여 표준화시켜 산출하였다. PLA 신호는 용량 의존적 방식으로 ADRB2의 발현 수준에 비례하여 증가되었다. 도 12c: 내생성 ADRB2 발현을 조사하기 위하여, qRT-PCR는 ADRB2 특이적 프라이머들과 함께 수행되었다. 결과에서 보여주듯이, U2OS 세포의 내생성 ADRB2 발현 수준은 꽤 높았고, 이것은 바이러스 감염 없는 (ADRB2의 경우 MOI는 0임) 구역에서도 PLA 신호가 검출됨을 나타낸다.

[0390] 전통적인 교아종 (GBM)은 가장 흔하며, 치명적인 원발성(primary) 뇌 종양이다. 전임상 암 생물학은 시험관내에서 인간 암 세포주를 사용하고, 이들 세포주를 확립하는 이종이식편 과정에 크게 의존하고 있다. 그러나, 통상적인 세포주를 확립하는 과정은 중요한 생물학적 특성의 비-가역적 손실을 초래하고, 그 결과, 이종이식편 종양 모델은 원래 종양에 존재 하는 게놈 및 표현형 특성을 유지하지 못한다.

[0391] 교아포종으로부터 직접 유래된 환자-유래 세포 (PDC)는 정상적인 신경 줄기 세포와 광범위하게 유사한데, 말하자면, 인간 교아종종의 유전자형, 유전자 발현 패턴 및 생체내 생물학에서 광범위하게 유사하다.

[0392] PDC 샘플로 PLA를 수행하기 위하여, 당해 환자 유래된 세포를 16-웰 조직 배양 슬라이드에 플레이팅하고, 4% PEA로 고정시켰다. 슬라이드는 Duolink에서 제공되는 블락킹 용액으로 차단되었고, 마우스 항-CXCR4 (1:200, Santa Cruz, Sc-53534), 토끼 항-ADRB2 (1:200, Thermo Scientific, PA5-33333), 토끼 항-CHRM1 (1:200, Lsbio, Ls-C313301)와 함께 37℃에서 가습 챔버에서 1 h 동안 항온처리되었다. 그 다음 슬라이드를 세척하고, + 및 - Duolink II PLA 프로브와 콘쥬게이트된 2차 항-토끼 항체 및 항-마우스 항체와 함께 항온처리되었다(1 h 동안 37℃에서). 슬라이드를 다시 한번 세척하고, 그 다음 결찰-리게이즈 용액으로 항온처리하고(30분 동안 37℃에서), 증폭-중합효소 용액(2 h 동안 37℃에서)으로 항온처리하였다. 그 다음 슬라이드에 4',6-디아미디노-2-페닐인돌(DAPI)과 함께 Duolink II 탑재 배지의 최소 용적을 15-30 분 동안 탑재하였고, 그리고 PLA 신호 [Duolink In Situ Detection Reagents Green (λ 여기/방출 495/527 nm) 또는 Red (λ 여기/방출 575/623 nm)는 IN Cell Analyzer 2500에서 형광 스팟으로 확인되었다.

[0393] 도 13a-13b 및 도 14a-14b에 나타낸 바와 같이, PLA 비율은 CXCR4 GPCRx 헤테로머를 지칭하고, 헤테로머 형성의 빈도는 당해 환자에 따라 달라진다. PLA 비율은 다음과 같이 산출되었다: PDC 샘플에서 형광 스팟 수/음성 대조군에서 형광 스팟 수. 음성 대조군 (NC)은 배경 형광 신호로써, + 및 - Duolink II PLA 프로브와 콘쥬게이트된 2차 항체로만 처리된 경우(PLA 프로세싱에서 일차 항체 (마우스 항-CXCR4, 토끼 항-ADRB2, 토끼 항-CHRM1) 처리 없이), 스팟의 수를 나타낸다. 이들 데이터는 암 환자 샘플 안에 CXCR4-ADRB2 헤테로다이머의 정량적 분석을 보여준다.

[0394] **실시예 7. PDX 모델을 이용하여 생체내에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머 형성 평가**

[0395] PDX 샘플을 이용하여 PLA를 실행하기 위하여, 교아종 환자 유래된 FFPE 샘플이 이용되었다 (Samsung Seoul hospital in Seoul, Korea 제공). FFPE 샘플을 탈-파라핀처리하고, 100℃에서 15분 동안 열 유도된 항원 회수 (retrieval)가 실행되었다. 슬라이드는 Duolink에서 제공되는 블락킹 용액으로 차단되었고, 토끼 항-CXCR4 (1:200, Thermoscientific, PA3305), 마우스 항-ADRB2 (1:200, Santacruz, Sc-271322)와 함께 37℃에서 가습 챔버에서 1 h 동안 항온처리되었다. 다른 공정은 전술한 것 (PDC를 이용한 PLA)과 동일하다.

[0396] 도 15a에서 DAPI 착색으로 핵을 시각화시켰고, CXCR4-ADRB4 헤테로머들은 PLA에 의해 작은 점으로 착색되었다. 도 15b에서 PLA 비율은 환자 마다 상이하며, 이 결과에 동반 진단(companion diagnostics)에 의해 개인맞춤 약물 시행이 가능함을 나타낸다.

[0397] **실시예 8. CXCR4-GPCRx 헤테로머 형성 시에 강화된 CXCR4 하류 신호전달을 Ca2+ 동원 검정으로 평가**

[0398] CXCR4와 ADRB2를 모두 과다발현시키는 세포에서, 살메테롤 단독으로 자극하면 용량-의존적 칼슘 동원이 유도되지 않았다(도 16a). 그러나, CXCL12 존재 하에 당해 세포를 살메테롤과 함께 공동-자극할 때, 칼슘 신호전달은 광범위의 살메테롤 농도, 이를 테면, 10 nM 내지 300 nM 범위의 농도에서 상당히 강화되었다.

[0399] 유사하게, 히스타민과 CXCL12로 공동-처리하면 CXCR4 및 HRH1을 모두 과다발현시키는 세포에서 광범위의 히스타민 농도 (0.3 nM 내지 300 nM)에 걸쳐(히스타민 단독으로 처리할 경우 (0.3 nM 및 1 nM), 임의의 칼슘 반응도 유도하지 못했던 히스티만 농도에서도) 유의적으로 칼슘 반응이 강화되었다(도 16b). 인간 혈장과 사구체에서 히스타민 농도가 차례로 10 nM과 2 μM 인 것을 고려하면(Sedor and Abboud, 1984), 이 결과는 CXCR4-HRH1 헤테로머에 의한 강화된 칼슘 신호전달은 생체내 히스타민의 생리학적 농도 수준에서 발생될 수 있음을 나타낸다.

[0400] CXCR4-APLNR (도 17a), CXCR4-PTGER3 (도 17b), 또는 CXCR4-SSTR2 (도 17c)를 발현시키는 세포에서, 오직 GPCRx 효현제 (차례로 아펠린-13, PGE2, 또는 옥트레오티드) 단독으로 자극하면 용량-의존적으로 칼슘 신호가 증가되었다. 그러나, CXCR4-ADRB2 또는 CXCR4-HRH1을 발현시키는 세포와 달리, CXCR4-APLNR, CXCR4-PTGER3, 또는 CXCR4-SSTR2를 발현시키는 세포에서 시험된 임의의 용량 범위 안에서 두 효현제 (CXCL12와 GPCRx 효현제)의 공동-자극시에도 임의의 추가적인 칼슘 신호 강화는 없었다. 이들 결과는 차례로 도 7a, 7d, 7e에서 나타낸 결과와 일관되었으며, CXCR4-APLNR 또는 CXCR4-SSTR2를 발현시키는 세포에서 공동-자극 시, 신호 강화의 결여는 GPCRx 효현제의 특정 용량 사용으로 인한 것이 아니라, 이들 헤테로머의 고유한 성질로 인한 것임을 보여준다. 이들 결과는 도 6a-6l 및 도 16a-16b에 나타난 강화된 칼슘 반응은 도 5c-5d 및 도 6h에서 차례로 기술된 CXCR4-ADRB2 또는 CXCR4-HRH1와 같은 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 독특한 성질임을 또한 실증한다.

[0401] **실시예 9. MDA-MB-231 세포에서 내생성 CXCR4-HRH1 헤테로머의 공동-자극 시에 강화된 Ca2+ 동원 평가**

[0402] RT-qPCR을 이용하여, MDA-MB-231 세포에서 CXCR4 및 HRH1의 내생성 발현 수준이 측정되었다. 12.5 ng의 전체 RNA가 분석되었을 때, CXCR4 및 HRH1의 임계 사이클 (Ct)은 차례로 28.5 및 27.7이었다. MDA-MB-231 세포를 CXCL12 (100 nM), 또는 히스타민 (10 nM) 단독으로 자극하면 약한 칼슘 반응이 유도된다 (도 18a). 그러나, 당해 세포를 CXCL12와 히스타민과 함께 공동-자극시키면, CXCR4 및 HRH1을 함께 발현시키는 세포에서 관찰된 강화와 유사한 매우 강화된 칼슘 반응이 관찰되었다 (도 16b과 비교하였을 때, 도 18a 및 18b). 이 결과는 CXCR4 및 HRH1을 모두 함께 발현시키는 고유 세포에서 두 효현제로 공동-자극 시, 강화된 칼슘 반응이 발생될 수 있음을 나타낸다.

[0403] **실시예 10. 두 리간드를 이용한 공동-자극시 CXCR4-HRH1 헤테로머에 의한 암 세포의 강화된 이동 평가**

[0404] RT-qPCR을 이용하여 측정하였을 때, MDA-MB-231 세포는 CXCR4 mRNA와 비교하여 HRH1 mRNA를 약 2배 이상 발현시키기 때문에, 당해 MDA-MB-231 세포는 CXCR4 (1 MOI)를 인코딩하는 소량(1 MOI)의 렌티바이러스를 형질도입시키고, CXCL12 및 HRH1을 지향하는 당해 세포의 화학주성 이동이 측정되었다(도 19a 및 19b). 도 27a에 나타낸 것과 같이 칼슘 신호전달을 만들기에 충분한 히스타민 (50 nM) 단독으로는 세포 이동이 유도되지 않았다(하기

참고). 다른 한편, CXCL12와 함께 처리될 때, 히스타민은 CXCL12를 지향하는 MDA-MB-231 세포의 이동을 유의적으로 강화시켰다. 그러나, HRH1-선택적 역 효현제인 피릴라민 존재 하에서, 당해 세포를 CXCL12와 히스타민으로 공동-자극시켜도 전술한 CXCL12에 의해 유도되는 세포 이동은 강화되지 못하였다. 이 결과는 관찰된 암 세포 이동의 강화가 HRH1에 의해 특이적으로 유도되었으며, 다른 히스타민 수용체 서브타입에 의해 유도되지 않았음을 실증한다.

[0405] **실시예 11. CXCR4-GPCRx 헤테로머 형성 시에 강화된 CXCR4 하류 신호전달 및 상기 강화된 신호전달의 억제는 Ca2+ 동원 검정에 의해 평가**

[0406] CXCR4와 ADRB2를 모두 과다발현시키는 세포에서, 효현제 CXCL12, CXCR4 효현제 살메테롤, ADRB2-선택적 효현제의 공동-처리는 개별 효현제에 의해 유발된 것과 비교하여 칼슘 반응을 유의적으로 증가시켰다 (도 20). 이 결과로부터 CXCR4-ADRB2 헤테로머는 개별 GPCRs와는 별개의 성질을 나타낸다는 것이 명확하게 입증된다.

[0407] 세포 CXCR4와 ADRB2를 공동-발현시키는 세포에서 CXCL12와 ADRB2 리간드의 공동-자극 시 강화된 칼슘 반응이 CXCR4 길항제로써 항-CXCR4 항체에 의해 저해되는 지를 검사하였다. CXCR4와 ADRB2를 공동-발현시키는 세포에서, 2㎍의 항-CXCR4 항체, 12G5는 도 20에 나타낸 것과 같이 강화된 칼슘 신호전달을 억제하였다. 그리고 길항제 (카르베디롤, ADRB2 길항제와 12G5, CXCR4 길항제를 함께)의 공동-처리는 더 유의적인 억제를 초래하였다. 이들 결과에서 항-CXCR4 항체 및 ADRB2 길항제는 CXCR4-ADRB2 헤테로머에 대항하는 효과적인 치료제로 이용될 수 있음이 실증된다.

[0408] 칼슘 동원 검정을 이용하여, MDA-MB-231 인간 유방암 세포는 검정색 투명 바닥 96-웰 플레이트 (Coming Costar, #3340)에 10% FBS가 보충된 100 μL의 RPMI 1640에서 웰당 20,000개 세포를 씨딩하였다. 다음 날, 세포에 10 MOI의 CXCR4와 30 MOI의 GPCRx를 공동-형질도입시켰다. 2 일 후, 세포를 지정된 양의 ADRB2 길항제, 카르베디롤 (Tocris), 항-CXCR4 항체, 12G5 (Thermo Scientific, 35-8800)로 처리하였고, Cal 6 (FLIPR® 칼슘 6 검정 키트, Molecular Devices, Cat. R8191)로 2 hr 동안 항온처리하였다. 그 다음, 세포는 표시된 양의 CXCL12, ADRB2 효현제, 또는 CXCL12와 ADRB2 효현제로 자극되었다. 칼슘 동원은 FlexStation 3 다중-모드 마이크로플레이트 판독기(Multi-Mode Microplate Reader)를 이용하여 측정되었다. 결과들은 기선 활성에 대하여 표준화하였다. 칼슘 동원은 각 그래프의 곡선-아래-면적(AUC)를 산출함으로써 정량화되었다. 데이터는 CXCR4만을 단독으로 발현시키는 세포에서 CXCL12-자극된 칼슘 반응에 대하여 표준화되었다. 데이터는 세 가지 독립적인 실험을 나타낸다 (평균 ± SEM). *P < 0.05; Student's t 테스트.

[0409] **실시예 12. PLA를 이용하여 CXCR4-GPCRx를 발현시키는 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머 형성 평가**

[0410] CXCR4-GPCRx 헤테로머를 스크리닝하는 공정은 CXCR4-GPCRx 표적화된 항암의 치료에 필수적이다. 우선, CXCR4와 GPCRx 헤테로머의 정량적 탐지를 위하여, CXCR4-GPCRx를 발현시키는 세포에서 PLA가 수행되었다. CXCR4를 과다발현시키는 세포 계통인, U2OS-CXCR4는 GPCRx를 발현시키는 아데노바이러스인 Ad-GPCRx를 0, 2.5, 10, 40 MOIs 용량으로 2 일 동안 감염시켰다. 그 다음, 형질도입된 세포는 4% 파라포름알데히드로 고정되었고, PLA가 수행되었다. PLA 신호 수는 CXCR4-GPCRx 헤테로머화의 형성을 정량적으로 실증한다.

[0411] 도 21a-21b에 나타낸 바와 같이, PLA 신호는 용량 의존적 방식으로 CHRM1 (도 21a) 및 HRH1 (도 21b)의 발현 수준에 비례하여 증가되었다. 이들 결과는 암 환자 샘플에서 상이한 타입의 CXCR-GPCRx 헤테로머 탐지 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 정량적 분석을 실증한다.

[0412] 세포에서 PLA를 이용하여, CXCR4를 과다발현시키는 세포 계통인, U2OS-CXCR4는 GPCRx를 발현시키는 아데노바이러스인 Ad-GPCRx를 0, 2.5, 10, 40 MOIs 용량으로 2 일 동안 감염시켰다. 앞서 기술된 바와 같이 PLA가 수행되었다(Brueggemann 외., 2014; Tripathi 외., 2014). PLA를 수행하기 위하여, 감염된 세포는 16-웰 조직 배양 슬라이드 상에서 4% PFA로 고정되었다. 슬라이드는 Duolink에서 제공되는 블락킹 용액으로 차단되었고, 마우스 항-CXCR4 (Santacruz, Sc-53534), 토끼 항-CHRM1 (LS Bio, LS-C313301), 또는 토끼 항-HRH1 (Thermoscientific, PA5-27817)와 함께 37℃에서 가습 챔버에서 1 h 동안 항온처리되었다. 그 다음 슬라이드를 세철하고, + 및 - Duolink II PLA 프로브와 콘쥬게이트된 2차 항-토끼 항체 및 항-마우스 항체와 함께 항온처리되었다(1 h 동안 37℃에서). 슬라이드를 다시 한번 세척하고, 그 다음 결찰-리게이즈 용액으로 항온처리하고(30 분 동안 37℃에서), 증폭-중합효소 용액(2 h 동안 37℃에서)으로 항온처리하였다. 그 다음 슬라이드에 4',6-디아미디노-2페닐인돌(DAPI)과 함께 Duolink II 탑재 배지의 최소 용적을 15-30 분 동안 탑재하였고, 그리고 PLA 신호 [Duolink In Situ Detection Reagents Green (λ 여기/방출 495/527 nm) 또는 Red (λ 여기/방출 575/623 nm)는 IN Cell Analyzer 2500에서 형광 스팟으로 확인되었다.

[0413] **실시예 13.**

[0414] **CXCR4-GPCRx 헤테로머 형성 시에 강화된 CXCR4 하류 신호전달의 Ca2+ 동원 억제- 단일 억제제 처리에 대한 조합 억제제 처리의 비교.**

[0415] 상기에서 나타낸 데이터(실시예 3, 도 8a 참고)는 CXCR4-ADRB2 헤테로머 형성에 의한 Ca2+ 신호 증가는 CXCR4 억제제와 ADRB2 억제제로 동시 처리될 때, 유의적으로 감소됨을 실증하였다. 억제 정도 (Ca^{2+} 반응에 대한 IC50 값으로 측정됨)는 CXCR4만을 단독으로 (개별 프로토머 구성) 발현시키는 세포에서 단일 처리, CXCR4-ADRB2 헤테로머를 발현시키는 세포에서 단일 처리, 그리고 CXCR4-ADRB2 헤테로머-발현시키는 세포에서 ADRB2 억제제 (카르베디롤; 10μM)와의 공동-처리에서도 평가되었을 때 일련의 CXCR4 억제제들과 비교되었다.

[0416] MDA-MB-231 세포는 오직 CXCR4만, 또는 CXCR4와 ADRB를 인코딩하는 아데노바이러스로 형질도입된다. 당해 세포는 2 일 동안 배양되었고, CXCR4 억제제 단독으로, 또는 CXCR4 억제제와 ADRB2 억제제 (카르베디롤; 10 μM)로 공동-처리되었다. 그 다음 당해 세포는 Cal-6으로 2 시간 동안 착색되었고, CXCR4 효현제 (CXCL12; 20 nM) 및 ADRB2 효현제 (살메테롤; 1 μM)로 자극되었다. 칼슘 동원은 FlexStation3을 이용하여 측정되었고, 이 결과는 표 6에 나타내며, 다음에서의 $Ca2^{+}$ 반응의 IC50를 보여준다: (1) CXCR4만을 단독으로 발현시키는 MDA-MB-231 세포 (개별 프로토머 구성), CXCR4 억제제 만으로 처리됨 (2^{nd} 컬럼); (2) CXCR4-ADRB2 헤테로머를 발현시키는 MDA-MB-231 세포, CXCR4 억제제와 ADRB2 억제제 카르베디롤으로 동시에 처리됨 (3^{rd} 컬럼); 그리고 (3) CXCR4-ADRB2 헤테로머를 발현시키는 MDA-MB-231 세포, 오직 CXCR4 억제제만으로 처리됨 (4^{th} 컬럼).

표 6

[0417]

CXCR4 억제제	CXCR4	CXCR4+ADRB2 (+ 카르베디롤)	CXCR4+ADRB2 (-카르베디롤)
	IC_{50}[nM]	IC_{50}[nM]	IC_{50}[nM]
AMD3100	57.80±20.36	0.053±0.07	28.65±13.23
AMD070	43.37±0.57	1.40±2.2	24.69±8.88
12G5	80.19±48.5	2.784±0.86	13.95±10.04
울로쿠플루맙	0.42±0.09	0.0008±0.0002	1.12±0.56
BKT140	434±4.38	0.81±0.41	130.40±49.78
TZ14011	23.93±3.58	0.02±0.02	17.78±7.84

[0418] 표 6에 나타낸 바와 같이, Ca^{2+} 반응의 IC50 값은 CXCR4만을 단독으로 발현시키는 MDA-MB-231 세포에서 단일 처리 구성에 있어서, 그리고 CXCR4-ADRB2 헤테로머를 발현시키는 MDA-MB-231 세포에서 단일 처리 구성과 ADRB2 억제제와의 공동-처리 구성에 있어서 CXCR4 억제제 의존적이었다. CXCR4 억제제의 실체에 따라, CXCR4-ADRB2 헤테로머 구성에서 Ca^{2+} 반응의 IC50 값은 CXCR4 억제제 단독으로 단일 처리된 것 (4^{th} 컬럼)에 비교하여 ADRB2 억제제와의 조합으로 처리된 경우 (3^{rd} 컬럼), 1400 배 또는 그 이상으로 감소되었다. 예를 들면, CXCR4-ADRB2 헤테로머 구성에서 Ca^{2+} 반응의 IC50 값은 차례로 AMD3100, 울로쿠플루맙, 또는 TZ14011로 단독 처리한 것에 비교하여, AMD3100, 울로쿠플루맙, 또는 TZ14011과 카르베디롤의 공동-처리 시에, 약 540 배 (28.65 nM 내지 0.053 nM), 약 1400 배 (1.12 nM 내지 0.0008 nM), 또는 약 890 배 (17.78 nM 내지 0.02 nM) 감소되었다. 이들 결과는 CXCR4 억제제와 ADRB2 억제제의 공동-처리는 CXCR4-ADRB2 헤테로머를 발현시키는 세포에서 CXCR4 억제제를 단독으로 단일 처리한 것보다 증가된 Ca^{2+} 반응을 훨씬 효과적으로 저해함을 암시한다.

[0419] CXCR4-ADRB2 헤테로머 형성이 CXCR4 억제제에 대한 입체구조 변화 유도, 및/또는 결합 친화력 변화 유도의 가능

성을 결정하기 위하여, CXCR4만을 단독으로 발현시키는 세포와 CXCR4-ADRB2 헤테로머를 발현시키는 세포에서의 CXCR4 억제제로 단일 처리한 경우에 이들 간의 Ca^{2+} 반응의 IC50 값을 비교하였다. 이들 결과로부터 CXCR4 억제제로 단일 처리하면 CXCR4만을 단독으로 발현시키는 세포와 비교하여 (2^{nd} 컬럼), CXCR4-ADRB2 헤테로머를 발현시키는 세포 (4^{th} 컬럼)에서 IC50 값은 겨우 약 0.4-5 배 변경되었음을 보여주었다. 이들 결과로부터 CXCR4 억제제와 ADRB2 억제제의 공동-처리는 CXCR4 억제제로 단일 처리한 것과 비교하였을 때, CXCR4-ADRB2 헤테로머를 발현시키는 환자 및/또는 환자 세포/조직에 대한 치료 효과를 증가시키고, 특정 CXCR4 억제제들의 경우에는 극적인 정도로 증가될 수 있음이 암시된다.

[0420] **실시예 14. 종양 성장에서의 CXCR4-ADRB2 헤테로머의 효과.**

[0421] 종양 성장에서 CXCR4-ADRB2 헤테로머의 효과를 조사하기 위하여, 안정적으로 CXCR4만을 단독으로 또는 CXCR4-ADRB2 헤테로머를 과다발현시키는 세포 계통은 A549 폐암 세포에서 준비되었고, 동량의 세포 (두당(head) $1x10^7$ 개 세포)는 종양 성장율을 비교하기 위하여 누드(nude) 마우스의 피하로 주사되었다. 도 22a-22b에 나타낸 바와 같이, 이식 후 28일 시점에 종양 크기는 A549의 경우 351.4 ± 214.7 mm^3 이었고, A549-CXCR4의 경우 726.9 ± 259.6 mm^3이었고, 그리고 A549-CXCR4-ADRB2의 경우 1012.2 ± 556.1 mm^3이었다. CXCR4를 과다발현시키는 A549-CXCR4이 이식된 마우스의 종양 성장율은 부모계 A549 만을 보유하는 마우스의 것보다 더 빨랐으며, 그리고 CXCR4-ADRB2 헤테로머를 과다발현시키는 세포를 이식받은 마우스에서 가장 빠른 종양 성장이 관찰되었다. 이 결과는 CXCR4-ADRB2 헤테로머의 형성이 상승적으로(synergistically) Ca^{2+} 반응을 증가시키고, 따라서 종양 성장이 촉진됨을 암시한다.

[0422] 부모계 세포 A549, CXCR4를 안정적으로 과다발현시키는 A549-CXCR4, 또는 CXCR4-ADRB2 헤테로머를 과다발현시키는 A549-CXCR4-ADRB2가 이식된, 이식 후 28일 시점에서 이들 3마리 마우스의 영상을 도 22a에 나타낸다. CXCR4-ADRB2 헤테로머를 발현시키는 세포를 품고 있는 마우스의 종양 크기가 그 중에서 가장 컸다(가장 가속화됨)는 것을 이들 영상이 보여준다. 시간 경과에 따른 이들 상이한 3 마리 마우스의 종양 성장율은 도 22b에서 그래프로 도시된다. 매 3일 또는 4일 차에 종양의 길이(L)와 폭(W)을 측정하고, 다음의 식에 기초하여 종양 용적을 산출함으로써, 종양 성장을 모니터하였다: 용적 = 0.5 LW^2. CXCR4-발현 세포를 품고 있는 마우스는 부모계 세포 A549만을 품고있는 마우스와 비교하였을 때, 상대적으로 빠른 종양 성장을 보이며, 종양 성장은 CXCR4-ADRB2 헤테로머를 과다발현시키는 세포로 형질도입된 마우스에서 가장 빨랐다.

[0423] **실시예 15. CXCR4-GPCRx 헤테로머와 내생성 리간드들의 공동-자극 시 Ca2+ 동원 검정에 의한 강화된 CXCR4 하류 신호전달 평가.**

[0424] CXCR4와 GPCRx를 공동-발현시키는 MDA-MB-231 세포에서 CXCL12와 GPCRx에 대한 내생성 리간드와 공동-자극 시, 칼슘 반응의 강화는 도 23a-23g에 나타낸다. MDA-MB-231 세포는 CXCR4와 HA-VC, GPCRx와 HA-VC, 또는 CXCR4와 GPCRx를 인코딩하는 아데노바이러스로 형질도입되며, 여기에서 GPCRx는 ADCYAP1R1 (도 23a), ADORA2B (도 23b), ADORA3 (도 23c), CHRM1 (도 23d), EDNRB (도 23e), MLNR (도 23f), 및 TACR3 (도 23g)를 나타낸다. 세포는 CXCL12 단독으로, GPCRx 내생성 리간드 단독으로, 또는 CXCL12 및 GPCRx 리간드와 함께 처리되었다. 칼슘 동원은 도 5d에서 기술된 바와 같이 산출되었다. 합(점 사각형)과 공동-처리(채워진 네모) 사이의 통계학적으로 유의적인 차이는 Student's *t* 테스트에 의해 결정되었다. *P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001; 평균 ± SEM (n = 3).

[0425] 도 6a에서, CXCL12와 비-선택적 내생성 ADCYAP1R1 리간드인 VIP와 공동처리 시, CXCR4와 ADCYAP1R1를 함께 발현시키는 세포에서 강화된 Ca^{2+} 신호전달이 관찰되었지만, 개별 GPCR만을 단독으로 발현시키는 세포에서는 관찰되지 않았다. 당해 세포가 CXCL12와 ADCYAP1R1-선택적 내생성 리간드인 PACAP-38로 공동-처리될 때, 강화된 Ca^{2+} 신호전달 또한 관찰되었다 (도 23a). 이 결과는 CXCL12와의 공동-자극 시 CXCR4-ADCYAP1R1 헤테로머의 강화된 신호전달은 VIP 뿐만 아니라, 선택적 ADCYAP1R1 천연 리간드에도 적용됨을 실증한다. 이것은 CXCR4와 ADCYAP1R1을 발현시키는 세포에서 이들의 천연 리간드들에 의해 생체내에서 이러한 강화가 일어날 수 있음을 추가 암시한다

[0426] 차례로 CXCL12와 BAY 60-6583 (ADORA2B-선택적 효현제), 또는 CXCL12와 Cl-IB-MECA (ADORA3-선택적 효현제)로 공동-처리될 때, CXCR4와 ADORA2B (도 6b) 또는 CXCR4와 ADORA3(도 6c)을 발현시키는 세포에서는 강화된 Ca^{2+}

신호전달이 관찰되었지만, 개별 GPCR만을 단독으로 발현시키는 세포에서는 관찰되지 않았다. 이들 세포가 CXCL12와 모든 아데노신 수용체들에 대한 내생성 리간드인 아데노신으로 공동-처리될 때, 강화된 Ca^{2+} 신호전달이 또한 관찰되었다 (도 23b 및 23c). 이 결과는 단지 합성 효현제 뿐만 아니라 천연 내생성 리간드가 CXCL12와 공동-자극될 때, CXCR4-ADORA2B 및 CXCR4-ADORA3 헤테로머들의 하류 신호전달을 강화시킨다는 것을 실증한다. CXCR4와 ADORA2B 또는 CXCR4와 ADORA3을 함께 발현시키는 세포에서 하류 신호전달의 상승적 강화는 이들의 천연 리간드들에 의해 생체내에서 일어날 수 있음을 추가 암시한다.

[0427] 도 6f에서 CXCL12와 합성 CHRM1 효현제인 베타네콜로 공동처리 시, CXCR4와 CHRM1을 함께 발현시키는 세포에서 강화된 Ca^{2+} 신호전달이 관찰되었지만, 개별 GPCR만을 단독으로 발현시키는 세포에서는 관찰되지 않았다. 당해 세포가 CXCL12와 모든 아세틸콜린 수용체들의 내생성 리간드인 아세틸콜린으로 공동-처리될 때, 강화된 Ca^{2+} 신호전달 또한 관찰되었다 (도 23d). 이 결과는 단지 합성 효현제 뿐만 아니라 천연 내생성 리간드가 CXCL12와 공동-자극될 때, CXCR4-CHRM1 헤테로머의 신호전달을 강화시킨다는 것을 실증한다. CXCR4와 CHRM1을 함께 발현시키는 세포에서 하류 신호전달의 상승적 강화는 이들의 천연 리간드들에 의해 생체내에서 일어날 수 있음을 추가 암시한다.

[0428] 도 6g에서 CXCL12와 EDNRB-선택적 효현제인 BQ3020으로 공동처리 시, CXCR4와 EDNRB를 함께 발현시키는 세포에서 강화된 Ca^{2+} 신호전달이 관찰되었지만, 개별 GPCR만을 단독으로 발현시키는 세포에서는 관찰되지 않았다. 당해 세포가 CXCL12와 모든 엔도텔린 수용체들의 내생성 리간드인 엔도텔린-1로 공동-처리될 때, 강화된 Ca^{2+} 신호전달 또한 관찰되었다 (도 23e). 이 결과는 단지 합성 효현제 뿐만 아니라 천연 내생성 리간드가 CXCL12와 공동-자극될 때, CXCR4-EDNRB 헤테로머의 신호전달을 강화시킨다는 것을 실증한다. CXCR4와 EDNRB를 함께 발현시키는 세포에서 하류 신호전달의 상승적 강화는 이들의 천연 리간드들에 의해 생체내에서 일어날 수 있음을 추가 암시한다.

[0429] 도 6i에서 CXCL12와 록시프로마이신, 항생제 뿐만 아니라 완전(full) MENR 효현제인 록시프로마이신(roxithromycin)으로 공동처리 시, CXCR4와 록시프로마이신을 함께 발현시키는 세포에서 강화된 Ca^{2+} 신호전달이 관찰되었지만, 개별 GPCR만을 단독으로 발현시키는 세포에서는 관찰되지 않았다. 당해 세포가 CXCL12와, MENR의 선택적 내생성 리간드인 모틸린으로 공동-처리될 때, 강화된 Ca^{2+} 신호전달 또한 관찰되었다 (도 23f). 이 결과는 단지 합성 효현제 뿐만 아니라 천연 내생성 리간드가 CXCL12와 공동-자극될 때, CXCR4-MENR 헤테로머의 신호전달을 강화시킨다는 것을 실증한다. CXCR4와 MENR을 함께 발현시키는 세포에서 하류 신호전달의 상승적 강화는 이들의 천연 리간드들에 의해 생체내에서 일어날 수 있음을 추가 암시한다.

[0430] 도 6l에서 CXCL12와 TACR3-선택적 효현제인 센크티드로 공동처리 시, CXCR4와 TACR3을 함께 발현시키는 세포에서 강화된 Ca^{2+} 신호전달이 관찰되었지만, 개별 GPCR만을 단독으로 발현시키는 세포에서는 관찰되지 않았다. 당해 세포가 CXCL12와 TACR3의 선택적 내생성 리간드인 뉴로키닌으로 공동-처리될 때, 강화된 Ca^{2+} 신호전달이 또한 관찰되었다 (도 23g). 이 결과는 단지 합성 효현제 뿐만 아니라 천연 내생성 리간드가 CXCL12와 공동-자극될 때, CXCR4-TACR3 헤테로머의 신호전달을 강화시킨다는 것을 실증한다. CXCR4와 EDNRB를 함께 발현시키는 세포에서 하류 신호전달의 상승적 강화는 이들의 천연 리간드들에 의해 생체내에서 일어날 수 있음을 추가 암시한다.

[0431] **실시예 16. CXCR4-GPCRx 헤테로머의 공동-자극 시 Ca2+ 동원 검정에 의한 강화된 CXCR4 하류 신호전달 평가.**

[0432] CXCR4와 ADCYAP1R1을 공동-발현시키는 MDA-MB-231 세포에서 차례로 선택적 내생성 리간드 CXCL12 단독으로 또는 PACAP38 단독으로 자극 시, 용량-의존적 칼슘 신호전달이 일어났다 (도 24a-24b). MDA-MB-231 세포는 CXCR4와 ADCYAP1R1을 인코딩하는 아데노바이러스로 형질도입된다. 도 24a에 나타낸 바와 같이, 소량의 ADCYAP1R1 선택적 내생성 리간드 (PACAP38; 1 nM)를 추가하면 표시된 용량의 PACAP38 단독으로, 그리고 CXCL12 단독으로 획득된 반응을 추가하여 산출된 합의 값과 비교하였을 때, 광역의 CXCL12 농도 범위에서 칼슘 반응이 유의적으로 강화되었다 (도 24a). CXCL12 단독에 의해 일어난 최대 Ca^{2+}반응을 100%로 잡는다. 합계는 표시된 용량에서 1 nM의 PACAP38 및 CXCL12 단독으로 야기된 반응의 산출된 부가 값을 나타낸다. 유사하게, 도 24b에 나타낸 바와 같이, CXCR4 선택적 내생성 리간드 (CXCL12; 15 nM)의 추가는 표시된 용량으로 CXCL12 단독으로, 그리고 PACAP38 단독으로 획득된 반응을 부가하여 산출된 합계 값과 비교하였을 때, 광역의 PACAP38 농도 (심지어 단독으로 처리될 때 임의의 반응을 야기하지 않았던 농도(0.03 ~ 0.3 nM)에서 조차도)에 걸쳐 유의적으로 하류 반응이 강화되

었다 (도 24b). PACAP38 단독에 의해 일어난 최대 Ca^{2+}반응을 100%로 잡는다. 합계는 표시된 용량에서 15 nM의 CXCL12 단독으로, 그리고 PACAP38에 의해 야기된 반응의 산출된 부가 값을 나타낸다. 각 점에서 합과 공동-처리 간의 통계학적으로 유의적인 차이는 Student's *t* 테스트에 의해 결정되었다. *P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001; 평균 ± SD (n = 3). 이들 결과는 소량의 CXCL12와 ADCYAP1R1 리간드들이 함께 존재할 때 생체내에서 CXCR4와 ADCYAP1R1을 공동-발현시키는 세포에서 강화된 반응을 암시한다.

[0433] CXCR4 및 TACR3을 공동-발현시키는 세포에서 광역의 리간드 농도에서 칼슘 반응 강화는 도 25a-25b에 나타낸다. MDA-MB-231 세포는 CXCR4와 TACR3을 인코딩하는 아데노바이러스로 형질도입된다. 차례로 CXCL12 단독으로 또는 뉴로키닌 B 단독으로 당해 세포를 자극하면 용량-의존적으로 칼슘 신호전달이 일어났다(도 25a-25b). 도 25a에 나타낸 바와 같이, 소량의 뉴로키닌 B (0.4 nM, TACR3-선택적 내생성 리간드)를 추가하면 표시된 용량에서 뉴로키닌 B 단독으로, 그리고 CXCL12 단독으로 획득되는 반응을 부가하여 산출된 합의 값과 비교하여, 광역의 CXCL12 농도에서 유의적으로 칼슘 반응이 강화되었다. CXCL12 단독에 의해 일어난 최대 칼슘 반응을 100%로 잡는다. 합계는 표시된 용량에서 0.4 nM의 단독 뉴로키닌 B와 단독 CXCL12에 의해 야기된 반응의 산출된 부가 값을 나타낸다. 유사하게, 도 25b에 나타낸 바와 같이, CXCL12의 추가는 표시된 용량에서 CXCL12 단독으로, 그리고 뉴로키닌 B 단독으로 획득된 반응을 부가함으로써 산출된 합의 값과 비교하여, 광역의 뉴로키닌 B 농도에 걸쳐 유의적으로 칼슘 반응이 강화되었다. 뉴로키닌 B 단독에 의해 일어난 최대 반응을 100%로 잡는다. 합계는 표시된 용량에서 30 nM의 CXCL12 단독으로, 그리고 뉴로키닌 B 단독으로 야기된 반응의 산출된 부가 값을 나타낸다. 각 점에서 합과 공동-처리 간의 통계학적으로 유의적인 차이는 Student's *t* 테스트에 의해 결정되었다. *P < 0.05; **P < 0.01; 평균 ± SD (n = 3). 이들 결과는 소량의 CXCL12와 뉴로키닌 B가 함께 존재할 때 생체내에서 CXCR4와 TACR3을 공동-발현시키는 세포에서 강화된 반응을 암시한다.

[0434] **실시예 17. 프로토머의 하나 결손시 헤테로머-특이적 성질이 상실됨을 확인**

[0435] 도 8f & 8g에서, 오직 CXCR4를 단독으로 발현시키는 MDA-MB-231 세포를 CXCL12와 히스타민으로 공동-처리 시, 강화된 칼슘 신호전달이 관찰되었다. RT-qPCR을 이용하여, MDA-MB-231 세포는 HRH1 뿐만 아니라 낮은 수준의 CXCR4 mRNAs를 발현시키고, 이때 CXCR4 mRNA와 비교하였을 때 HRH1 mRNA는 약 2배 이상 발현되었다(실시예 9). 도 8f & 8g에 나타낸 강화된 칼슘 신호전달이 내생성 HRH1 발현의 존재와, 다른 히스타민 수용체들의 부재로 인한 것인지를 확인하기 위하여, MDA^{CXCR4+} 세포에서 HRH1 유전자는 CRISPR/Cas9 시스템을 이용하여 결손시켰다. CXCR4를 안정적으로 발현시키는 MDA-MB-231 세포 (MDA^{CXCR4+})는 Cas9와 HRH1을 표적으로 하는 가이드 RNA를 인코딩하는 렌티바이러스로 형질도입되었다. 기능성 HRH1의 존재는 히스타민에 노출될 때 칼슘 반응을 측정함으로써 확인되었다. MDA^{CXCR4+} 세포는 히스타민에 노출할 때 칼슘 신호전달이 용량-의존적으로 증가됨을 보여준 반면, $MDA^{CXCR4+, HRH1-}$세포는 1 μM 히스타민에서도 임의의 칼슘 반응을 보이지 않았다 (도 26a). 이 결과는 $MDA^{CXCR4+, HRH1-}$ 세포에서 기능성 HRH1이 거의 완벽하게 존재 하지 않음을 시사한다.

[0436] CXCR4를 안정적으로 과다발현시키는 MDA-MB-231 세포 (MDA^{CXCR4+} 세포)를 히스타민으로 처리할 때, 용량-의존적 칼슘 신호전달의 증가가 관찰되었다 (도 27a). 당해 세포를 CXCL12 (50 nM) 존재 하에 히스타민으로 처리하였을 때, 광범위의 히스타민 농도에서 유의적으로 강화된 칼슘 반응이 수득되었고, 이로써 EC_{50} 값과 E_{max} 값의 변화로 증명되는 바와 같이, 효능 및 효과가 증가된다. 그러나, CRISPR/Cas9 시스템을 이용하여 HRH1이 결손된 MDA^{CXCR4+} 세포 ($MDA^{CXCR4+, HRH1-}$ 세포)에서, CXCL12 (50 nM) 존재 또는 부재 하에 히스타민-매개된 반응은 없었고, 이것은 이들 세포에서 기능성 HRH1의 부재를 재확인시킨다. MDA^{CXCR4+}세포에서 히스타민 단독에 의해 일어난 최대 칼슘 반응을 100%로 잡는다. 합계는 표시된 용량에서 50 nM의 CXCL12 단독으로, 그리고 히스타민에 의해 야기된 반응의 산출된 부가 값을 나타낸다.

[0437] MDA^{CXCR4+}세포에서 CXCL12를 이용한 자극은 용량-의존적인 칼슘 반응을 만들었다 (도 27b). 비-신호전달 농도(15 nM)의 히스타민을 추가하면 광역의 CXCL12 농도에서 유의적으로 칼슘 반응이 강화되었고, 이로써 EC_{50} 값과 E_{max} 값의 변화로 증명되는 바와 같이, 효능 및 효과가 매우 증가된다. $MDA^{CXCR4+, HRH1-}$세포에서 CXCL12-매개된 칼슘 반응은 MDA^{CXCR4+} 세포에서 관찰된 반응과 유사하였다. 그러나, 히스타민을 추가하여도 $MDA^{CXCR4+, HRH1-}$ 세포에서 CXCL12-매개된 칼슘 반응을 증가시키지 못하였는데, 이것은 HRH1의 결손 시 헤테로머-특이적 성질이 상실됨을

실증한다. MDA^{CXCR4+}세포에서 CXCL12 단독에 의해 일어난 최대 칼슘 반응을 100%로 잡는다. 합계는 표시된 용량에서 15 nM의 히스타민과 CXCL12 단독으로 야기된 반응의 산출된 부가 값을 나타낸다. 각 점에서 합과 공동-처리 간의 통계학적으로 유의적인 차이는 Student's *t* 테스트에 의해 결정되었다. *P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001; 평균 ± SD (n = 3). EC_{50} 값과 E_{max} 값은 GraphPad Prism 소프트웨어를 이용하여 산출하였다.

[0438] 도 18a-18b에서, CXCL12와 히스타민이 함께 존재할 때(개별 리간드가 단독으로 존재하면 희미한 신호만 생성됨) 야생형 MDA-MB-231 세포에서 칼슘 신호전달의 유의적인 강화가 또한 관찰되었다. 상기 강화된 반응이 내생성 CXCR4의 발현으로 인한 것인지를 확인하기 위하여, CXCR4 유전자는 CRISPR/Cas9 시스템을 이용하여 표적화되었고, CXCR4의 발현은 면역블랏팅을 이용하여 탐지되었다. 대조군 비-표적화 가이드 RNA로 처리된 세포에서의 발현과 비교하였을 때, CXCR4를 표적으로 하는 가이드 RNA로 처리된 MDA-MB-231 세포에서 CXCR4의 발현은 유의적으로 감소되었다 (도 26b).

[0439] CXCL12와 히스타민으로 공동-처리될 때 MDA-MB-231 세포에서 강화된 칼슘 반응은 CXCR4 부재 시에 사라졌다. 도 28a에서 볼 수 있는 것과 같이, MDA-MB-231 세포 (MDA-MB-231 세포 (MDA^{WT})에서 소량의 히스타민 (15 nM) 존재하에 광역의 CXCL12 농도 범위에서 강화된 신호전달이 증명되었지만, CRISPR/Cas9 시스템을 이용하여 CXCR4가 결실된 MDA^{WT} 세포 (MDA^{CXCR4-})에서는 강화된 신호전달이 없었고, CXCR의 낮은 수준 발현으로 인하여 칼슘 반응의 CXCL12-매개된 용량-의존적 증가는 관찰되지 않았다. MDA^{WT} 세포에서 CXCL12 단독에 의해 일어난 최대 칼슘 반응을 100%로 잡는다. 합계는 표시된 용량에서 15 nM의 히스타민과 CXCL12 단독으로 야기된 반응의 산출된 부가 값을 나타낸다. CXCR4의 결손으로 히스타민 존재 하에 상기 강화된 신호전달은 완전하게 제거되며, CXCR4의 결손시 헤테로머-특이적 성질이 상실됨이 실증된다.

[0440] 유사하게, 도 28b에 나타낸 바와 같이, CXCL12의 추가는 MDA-MB-231 세포에서 표시된 용량에서 CXCL12 단독으로, 그리고 히스타민 단독으로 획득된 반응을 부가함으로써 산출된 합의 값과 비교하여, 광역의 히스타민 농도에 걸쳐 유의적으로 칼슘 반응이 강화되었다. MDA-MB-231 세포에서 나타낸 강화된 신호전달은 비록 MDA^{CXCR4-} 세포는 히스타민 반응을 유지하였지만, MDA^{CXCR4-} 세포에서 관찰되지 않았다. MDA^{WT} 세포에서 히스타민 단독에 의해 일어난 최대 칼슘 반응을 100%로 잡는다. 합계는 표시된 용량에서 100 nM의 CXCL12 단독으로, 그리고 히스타민 단독으로 야기된 반응의 산출된 부가 값을 나타낸다. 각 점에서 합과 공동-처리 간의 통계학적으로 유의적인 차이는 Student's *t* 테스트에 의해 결정되었다. **P < 0.01; ***P < 0.001; 평균 ± SD (n = 3). EC_{50} 값과 E_{max} 값은 GraphPad Prism 소프트웨어를 이용하여 산출하였다. 이를 종합하면, 이들 결과에서 CXCR4-HRH1 헤테로머는 야생형 MDA-MB-231 세포에서 CXCL12와 히스타민으로 공동-처리 시 강화된 신호전달을 담당함이 실증된다.

[0441] **실시예 18. CXCR4-GPCRx 헤테로머 형성 시에 강화된 CXCR4 하류 신호전달의 Ca2+ 동원 억제- 단일 억제제 처리에 대한 조합 억제제 처리의 비교.**

[0442] 개요: 하기에서 설명되는 바와 같이 (표 7-14 참고), CXCR4-GPCRx 헤테로머-발현시키는 일련의 세포에서 CXCR4 억제제와 GPCRx 억제제의 다양한 조합에 의한 공동-처리하면 CXCR4 억제제 단독으로 단일 처리된 경우와 비교할 때 유의적으로 감소된 칼슘 반응이 초래된다. 표 7-14에서 평가된 일련의 CXCR4-GPCRx 헤테로머들의 GPCRx 프로토머는 다음과 같다: 차례로 ADRB2, HRH1, ADCYAP1R1, C5AR1, CALCR, EDNRB, MLNR, 및 TACR3. MDA-MB-231 세포는 오직 CXCR4 단독으로, 또는 CXCR4와 명시된 GPCRx를 인코딩하는 아데노바이러스로 형질도입된다. 당해 세포는 2 일 동안 배양되었고, CXCR4 길항제 단독으로 또는 CXCR4 길항제와 명시된 GPCRx 길항제로 공동-처리되었다. 그 다음, 당해 세포는 Cal-6으로 2 시간 동안 착색되었고, CXCL12 (20 nM)와 명시된 GPCRx 효현제로 자극되었다. 칼슘 동원은 FlexStation3을 이용하여 측정되었다. "아무것도 없음(None)"으로 라벨된 컬럼의 값은 명시된 CXCR4-GPCRx 헤테로머-발현시키는 MDA-MB-231에서 오직 CXCR4 억제제 만으로 (명시된 GPCRx 길항제 없이) 처리될 때 Ca2+ 반응의 IC50을 나타낸다. 나머지 컬럼의 값은 CXCR4 길항제와 명시된 GPCRx 길항제의 동시 처리에 의해 명시된 CXCR4-GPCRx 헤테로머-발현시키는 MDA-MB-231에서 Ca2+ 반응의 IC50을 나타낸다.

[0443] CXCR4-ADRB2 헤테로머의 강화된 신호전달 억제에 있어서 CXCR4 억제제들의 효능은 ADRB2 억제제 카라졸롤(Carazolol) 또는 프로프라놀롤(Propranolol)의 존재 또는 부재 하에 측정되었다 **(표7).** MDA-MB-231 세포는 CXCR4와 ADRB2를 인코딩하는 아데노바이러스로 공동-형질도입되었고, CXCL12 (20 nM) 및 살메테롤 (1 μM)로 당해 세포를 공동-자극할 때 Ca2+ 신호전달이 측정되었다. 억제제들은 효현제 자극 전 30분 시점에 처리되었다. Ca2+ 동원은 **도 5**에서 기술된 바와 같이 측정되었고, IC_{50} 값은 GraphPad Prism 소프트웨어를 이용하여 산출되

었다.

표 7

[0444]

CXCR4 억제제들	ADRB2 억제제들		
	아무것도 없음	카라졸롤 (10 μM)	프로프라놀롤 (10 μM)
	IC50[nM]	IC50[nM]	IC50[nM]
AMD3100	22.10±8.53	2.69±3.41	6.23±4.90
울로쿠플루맙	0.226±0.144	0.009±0.004	0.041±0.024
BKT140	123.86±76.91	26.66±19.32	66.14±53.77

[0445] CXCR4 억제제 AMD-3100, 울로쿠플루맙 및 BKT140은 ADRB2 억제제들 부재 하에서 CXCR4 억제제들의 IC_{50} 값과 비교하였을 때, 감소된 IC_{50} 값을 나타냄으로써, 10 μM의 카라졸롤 또는 프로프라놀롤 존재 하에서 CXCR4-ADRB2 신호전달을 효과적으로(더 큰 효능으로) 억제하였다. CXCR4 억제제의 실체에 따라, CXCR4-ADRB2 헤테로머 구성에서 Ca 반응의 IC50 값은 CXCR4 억제제 단독으로 단일 처리한 경우 ("아무것도 없음" 컬럼)에 비교하여 ADRB2 억제제 (카라졸롤 또는 프로프라놀롤)의 조합으로 처리하였을 때, 최대 약 25배 또는 그 이상으로 감소되었다. 이들 결과는 CXCR4 억제제와 ADRB2 억제제의 공동-처리는 CXCR4-ADRB2 헤테로머를 발현시키는 세포에서 CXCR4 억제제를 단독으로 단일 처리한 것보다 증가된 Ca 반응을 훨씬 효과적으로 저해함을 암시한다.

[0446] CXCR4-HRH1 헤테로머의 강화된 신호전달 억제에 있어서 CXCR4 억제제들의 효능은 대표적인 HRH1 억제제인 히드록시진, 프로메타진, 또는 사이프로헵타딘의 존재 또는 부재 하에 측정되었다 **(표 8)**. MDA-MB-231 세포는 CXCR4 및 HRH1을 인코딩하는 아데노바이러스로 공동-형질도입되었고, 당해 세포를 CXCL12 (20 nM) 및 히스타민 (1 nM)으로 공동-자극 시 Ca2+ 신호전달이 측정되었다. 억제제들은 효현제 자극 전 30분 시점에 처리되었다. Ca2+ 동원은 **도 5**에서 기술된 바와 같이 측정되었고, IC_{50} 값은 GraphPad Prism 소프트웨어를 이용하여 산출되었다.

표 8

[0447]

CXCR4 억제제들	HRH1 억제제들			
	아무것도 없음	히드록시진 (10 μM)	프로메타진 (10 μM)	사이프로헵타딘 (10 μM)
	IC50[nM]	IC50[nM]	IC50[nM]	IC50[nM]
AMD3100	39.07±14.5	1.58±1.14	2.59±2.06	0.75±0.49
울로쿠플루맙	0.5±0.44	0.003±0.003	0.000098±0.0001	0.003±0.001
BKT140	232.3±91.95	53.75±21.24	1.66±1.13	9.71±7.17

[0448] CXCR4 억제제들 AMD-3100, 울로쿠플루맙 및 BKT140은 HRH1 억제제들의 부재 하에서 CXCR4 억제제들의 IC_{50} 값과 비교하였을 때, 감소된 IC_{50} 값을 나타냄으로써, 10 μM의 히드록시진, 프로메타진, 또는 사이프로헵타딘 존재 하에 CXCR4-HRH1 신호전달을 효과적으로(더 큰 효능으로) 억제하였다. CXCR4 억제제의 실체에 따라, CXCR4-HRH1 헤테로머 구성에서 Ca 반응의 IC50 값은 CXCR4 억제제 단독으로 단일 처리한 경우 ("아무것도 없음" 컬럼)에 비교하여 HRH1 억제제 (히드록시진, 프로메타진, 또는 사이프로헵타딘)의 조합으로 처리될 때, 최대 약 5,100배 또는 그 이상으로 감소되었다. 이들 결과는 CXCR4 억제제와 HRH1 억제제의 공동-처리는 CXCR4-HRH1 헤테로머를 발현시키는 세포에서 CXCR4 억제제를 단독으로 단일 처리한 것보다 증가된 Ca 반응을 훨씬 효과적으로 저해함을 암시한다.

[0449] CXCR4-ADCYAP1R1 헤테로머의 강화된 신호전달 억제에 있어서 CXCR4 억제제들의 효능은 대표적인 ADCYAP1R1 억제제인 M65 또는 PACAP-(6-38)의 존재 또는 부재 하에 측정되었다 **(표 9)**. MDA-MB-231 세포는 CXCR4 및 ADCYAP1R1을 인코딩하는 아데노바이러스로 공동-형질도입되었고, 당해 세포를 CXCL12 (20 nM) 및 PACAP-38 (1 nM)로 공동-자극 시 Ca2+ 신호전달이 측정되었다. 억제제들은 효현제 자극 전 30분 시점에 처리되었다. Ca2+ 동

원은 **도 5**에서 기술된 바와 같이 측정되었고, IC_{50} 값은 GraphPad Prism 소프트웨어를 이용하여 산출되었다.

표 9

[0450]

CXCR4 억제제들	ADCYAP1R1 억제제들		
	아무것도 없음	M65 (1 μM)	PACAP-(6-38) (1 μM)
	IC50[nM]	IC50[nM]	IC50[nM]
AMD3100	546.8±337.8	20.21±12.83	2.42±0.09
BKT140	213.08±142.72	7.46±1.93	19.56±3.1

[0451] CXCR4 억제제들 AMD-3100 및 BKT140은 ADCYAP1R1 억제제들의 부재 하에서 CXCR4 억제제들의 IC_{50} 값과 비교하였을 때, 감소된 IC_{50} 값을 나타냄으로써, 1 μM의 M65 또는 1 μM의 PACAP-(6-38) 존재 하에 CXCR4-ADCYAP1R1 신호전달을 효과적으로(더 큰 효능으로) 억제하였다. CXCR4 억제제의 실체에 따라, CXCR4-ADCYAP1R1 헤테로머 구성에서 Ca 반응의 IC50 값은 CXCR4 억제제 단독으로 단일 처리한 경우 ("아무것도 없음" 컬럼)에 비교하여 ADCYAP1R1 억제제 (M65 또는 PACAP-(6-38))의 조합으로 처리하였을 때, 최대 약 225배 또는 그 이상으로 감소되었다. 이들 결과는 CXCR4 억제제와 ADCYAP1R1 억제제의 공동-처리는 CXCR4-ADCYAP1R1 헤테로머를 발현시키는 세포에서 CXCR4 억제제를 단독으로 단일 처리한 것보다 증가된 Ca 반응을 훨씬 효과적으로 저해함을 암시한다.

[0452] CXCR4-C5AR1 헤테로머의 강화된 신호전달 억제에 있어서 CXCR4 억제제들의 효능은 대표적인 C5AR1 억제제인 W54011의 존재 또는 부재 하에 측정되었다 **(표10)**. MDA-MB-231 세포는 CXCR4 및 C5AR1을 인코딩하는 아데노바이러스로 공동-형질도입되었고, 당해 세포를 CXCL12 (20 nM) 및 C5a (0.03 nM)로 공동-자극 시 Ca2+ 신호전달이 측정되었다. 억제제들은 효현제 자극 전 30분 시점에 처리되었다. Ca2+ 동원은 **도 5**에서 기술된 바와 같이 측정되었고, IC_{50} 값은 GraphPad Prism 소프트웨어를 이용하여 산출되었다.

표 10

[0453]

CXCR4 억제제들	C5AR1 억제제들	
	아무것도 없음	W54011 (10 μM)
	IC50[nM]	IC50[nM]
AMD3100	769.34±240.77	434.00±82.94
울로쿠플루맙	3.80±0.22	1.06±0.25
BKT140	118.01±56.52	9.72±6.87

[0454] CXCR4 억제제들 AMD-3100, BKT140, 및 울로쿠플루맙은 C5AR1 억제제들의 부재 하에서 CXCR4 억제제들의 IC_{50} 값과 비교하였을 때, 감소된 IC_{50} 값을 나타냄으로써, 10 μM의 W54011 존재 하에 CXCR4-C5AR1 신호전달을 효과적으로(더 큰 효능으로) 억제하였다. CXCR4 억제제의 실체에 따라, CXCR4-C5AR1 헤테로머 구성에서 Ca 반응의 IC50 값은 CXCR4 억제제 단독으로 단일 처리한 경우 ("아무것도 없음" 컬럼)에 비교하여 C5AR1 억제제 (W54011)의 조합으로 처리하였을 때, 최대 약 12배 또는 그 이상으로 감소되었다. 이들 결과는 CXCR4 억제제와 C5AR1 억제제의 공동-처리는 CXCR4-C5AR1 헤테로머를 발현시키는 세포에서 CXCR4 억제제를 단독으로 단일 처리한 것보다 증가된 Ca 반응을 훨씬 효과적으로 저해함을 암시한다.

[0455] CXCR4-CALCR 헤테로머의 강화된 신호전달 억제에 있어서 CXCR4 억제제들의 효능은 대표적인 CALCR 억제제인 CT-(8-32)의 존재 또는 부재 하에 측정되었다 **(표 11)**. MDA-MB-231 세포는 CXCR4 및 CALCR을 인코딩하는 아데노바이러스로 공동-형질도입되었고, 당해 세포를 CXCL12 (20 nM) 및 칼시토닌 (100 nM)로 공동-자극 시 Ca2+ 신호전달이 측정되었다. 억제제들은 효현제 자극 전 30분 시점에 처리되었다. Ca2+ 동원은 **도 5**에서 기술된 바와 같이 측정되었고, IC_{50} 값은 GraphPad Prism 소프트웨어를 이용하여 산출되었다.

표 11

[0456]

CXCR4 억제제	CALCR 억제제들	
	아무것도 없음	CT-(8-32) (연어) (10 μM)
	IC50[nM]	IC50[nM]
AMD3100	2677.67±953.23	12.54±14.7
BKT140	1041.6±756.9	15.62±3.71

[0457] CXCR4 억제제들 AMD-3100 및 BKT140은 CALCR 억제제들의 부재 하에서 CXCR4 억제제들의 IC_{50} 값과 비교하였을 때, 감소된 IC_{50} 값을 나타냄으로써, 10 μM의 CT-(8-32) 존재 하에 CXCR4-CALCR 신호전달을 효과적으로(더 큰 효능으로) 억제하였다. CXCR4 억제제의 실체에 따라, CXCR4-CALCR 헤테로머 구성에서 Ca 반응의 IC50 값은 CXCR4 억제제 단독으로 단일 처리한 경우 ("아무것도 없음" 컬럼)에 비교하여 CALCR 억제제 (CT-(8-32))의 조합으로 처리하였을 때, 최대 약 210배 또는 그 이상으로 감소되었다. 이들 결과는 CXCR4 억제제와 CALCR 억제제의 공동-처리는 CXCR4-CALCR 헤테로머를 발현시키는 세포에서 CXCR4 억제제를 단독으로 단일 처리한 것보다 증가된 Ca 반응을 훨씬 효과적으로 저해함을 암시한다.

[0458] CXCR4-EDNRB 헤테로머의 강화된 신호전달 억제에 있어서 CXCR4 억제제들의 효능은 대표적인 EDNRB 억제제들 암브리센탄 또는 보센탄의 존재 또는 부재 하에 측정되었다 **(표 12)**. MDA-MB-231 세포는 CXCR4 및 EDNRB을 인코딩하는 아데노바이러스로 공동-형질도입되었고, 당해 세포를 CXCL12 (20 nM) 및 BQ3020 (0.5 nM)로 공동-자극 시 Ca2+ 신호전달이 측정되었다. 억제제들은 효현제 자극 전 30분 시점에 처리되었다. Ca2+ 동원은 **도 5**에서 기술된 바와 같이 측정되었고, IC_{50} 값은 GraphPad Prism 소프트웨어를 이용하여 산출되었다.

표 12

[0459]

CXCR4 억제제	EDNRB 억제제들		
	아무것도 없음	암브리센탄 (10 μM)	보센탄 (10 μM)
	IC50[nM]	IC50[nM]	IC50[nM]
AMD3100	926.10±346.23	287.13±88.75	169.12±147.30
울로쿠플루맙	14.1±2.31	2.24±0.18	4.68±2.81
BKT140	2680.5±3927.44	529.37±122.26	8.50±7.37

[0460] CXCR4 억제제들 AMD-3100, BKT140, 및 울로쿠플루맙은 EDNRB 억제제들의 부재 하에서 CXCR4 억제제들의 IC_{50} 값과 비교하였을 때, 감소된 IC_{50} 값을 나타냄으로써, 10 μM의 암브리센탄 또는 10 μM의 보센탄 존재 하에 CXCR4-EDNRB신호전달을 효과적으로(더 큰 효능으로) 억제하였다. CXCR4 억제제의 실체에 따라, CXCR4-EDNRB 헤테로머 구성에서 Ca 반응의 IC50 값은 CXCR4 억제제 단독으로 단일 처리한 경우 ("아무것도 없음" 컬럼)에 비교하여 EDNRB 억제제 (암브리센탄 또는 보센탄)의 조합으로 처리하였을 때, 최대 약 315배 또는 그 이상으로 감소되었다. 이들 결과는 CXCR4 억제제와 EDNRB 억제제의 공동-처리는 CXCR4-EDNRB 헤테로머를 발현시키는 세포에서 CXCR4 억제제를 단독으로 단일 처리한 것보다 증가된 Ca 반응을 훨씬 효과적으로 저해함을 암시한다.

[0461] CXCR4-MLNR 헤테로머의 강화된 신호전달 억제에 있어서 CXCR4 억제제들의 효능은 대표적인 MLNR 억제제인 MA-2029의 존재 또는 부재 하에 측정되었다 **(표13)**. MDA-MB-231 세포는 CXCR4 및 MLNR을 인코딩하는 아데노바이러스로 공동-형질도입되었고, 당해 세포를 CXCL12 (20 nM) 및 모틸린 (0.2 nM)으로 공동-자극 시 Ca2+ 신호전달이 측정되었다. 억제제들은 효현제 자극 전 30분 시점에 처리되었다. Ca2+ 동원은 **도 5**에서 기술된 바와 같이 측정되었고, IC_{50} 값은 GraphPad Prism 소프트웨어를 이용하여 산출되었다.

표 13

[0462]

CXCR4 억제제	MLNR 억제제들	
	아무것도 없음	MA-2029 (10 μM)
	IC50[nM]	IC50[nM]
AMD3100	946.1±171.4	199.23±64.34
울로쿠플루맙	25.51±16.48	2.25±1.30
BKT140	643.6±162.9	93.39±155.20

[0463] CXCR4 억제제들 AMD-3100, BKT140, 및 울로쿠플루맙은 MLNR 억제제의 부재 하에서 CXCR4 억제제들의 IC_{50} 값과 비교하였을 때, 감소된 IC_{50} 값을 나타냄으로써, 10 μM의 MA-2029 존재 하에 CXCR4-MLNR 신호전달을 효과적으로(더 큰 효능으로) 억제하였다. CXCR4 억제제의 실체에 따라, CXCR4-MLNR 헤테로머 구성에서 Ca 반응의 IC50 값은 CXCR4 억제제 단독으로 단일 처리한 경우 ("아무것도 없음" 컬럼)에 비교하여 MLNR 억제제 (MA-2029)의 조합으로 처리하였을 때, 최대 약 11배 또는 그 이상으로 감소되었다. 이들 결과는 CXCR4 억제제와 MLNR 억제제의 공동-처리는 CXCR4-MLNR 헤테로머를 발현시키는 세포에서 CXCR4 억제제를 단독으로 단일 처리한 것보다 증가된 Ca 반응을 훨씬 효과적으로 저해함을 암시한다.

[0464] CXCR4-TACR3 헤테로머의 강화된 신호전달 억제에 있어서 CXCR4 억제제들의 효능은 대표적인 TACR3 억제제인 SB 222200, 오사네탄트, 또는 탈네탄트의 존재 또는 부재 하에 측정되었다 **(표 14).** MDA-MB-231 세포는 CXCR4 및 TACR3을 인코딩하는 아데노바이러스로 공동-형질도입되었고, 당해 세포를 CXCL12 (20 nM) 및 뉴로키닌 B (0.3 nM)로 공동-자극 시 Ca2+ 신호전달이 측정되었다. 억제제들은 효현제 자극 전 30분 시점에 처리되었다. Ca2+ 동원은 **도 5**에서 기술된 바와 같이 측정되었고, IC_{50} 값은 GraphPad Prism 소프트웨어를 이용하여 산출되었다.

표 14

[0465]

CXCR4 억제제	TACR3 억제제들			
	아무것도 없음	SB-222200 (10μM)	오사네탄트 (10 μM)	탈네탄트 (10 μM)
	IC50[nM]	IC50[nM]	IC50[nM]	IC50[nM]
AMD3100	2680.33±210.49	343.13±199.54	567.53±322.61	179.63±52.11
울로쿠플루맙	50.65±23.57	3.07±1.18	4.61±4.36	3.30±0.89
BKT140	1497.67±419.98	217.90±92.86	194.33±91.07	230.30±33.86

[0466] CXCR4 억제제들 AMD-3100, BKT140, 및 울로쿠플루맙은 TACR3 억제제들의 부재 하에서 CXCR4 억제제들의 IC_{50} 값과 비교하였을 때, 감소된 IC_{50} 값을 나타냄으로써, 10 μM의 SB-222200, 10 μM의 오사네탄트, 또는 10 μM의 탈네탄트 존재 하에 CXCR4-TACR3 신호전달을 효과적으로(더 큰 효능으로) 억제하였다. CXCR4 억제제의 실체에 따라, CXCR4-TACR3 헤테로머 구성에서 Ca 반응의 IC50 값은 CXCR4 억제제 단독으로 단일 처리한 경우 ("아무것도 없음" 컬럼)에 비교하여 TACR3 억제제 (SB-222200, 오사네탄트, 또는 탈네탄트)의 조합으로 처리하였을 때, 최대 약 16배 또는 그 이상으로 감소되었다. 이들 결과는 CXCR4 억제제와 TACR3 억제제의 공동-처리는 CXCR4-TACR3 헤테로머를 발현시키는 세포에서 CXCR4 억제제를 단독으로 단일 처리한 것보다 증가된 Ca 반응을 훨씬 효과적으로 저해함을 암시한다.

[0467] **실시예 19. 종양 성장에 있어서 CXCR4-ADRB2 헤테로머 억제제들의 항-종양 효과**

[0468] 도 22에서, CXCR4와 ADRB2를 과다발현시키는 세포를 품고 있는 마우스는 A549 부모 세포를 품고 있는 마우스와

비교하였을 때, 종양 증식의 급격한 증가를 보여준다는 것이 관찰되었다. 이것은 CXCR4-ADRB2 헤테로머가 종양 증식을 촉진시킴을 암시한다.

[0469] 종양 성장에 있어서 CXCR4-ADRB2 헤테로머 억제제들의 항-종양 효과를 조사하기 위하여, CXCR4-ADRB2 헤테로머를 안정적으로 과다발현시키는 A549-CXCR4-ADRB2 (두당(head) $1x10^7$ 세포)는 누드 마우스의 피하로 주사되었다. 종양 크기가 평균 50-100mm^3에 이를 때, CXCR4 억제제, ADRB2 억제제 단독으로, 또는 CXCR4와 ADRB2 억제제들의 조합으로 처리되었다.

[0470] 도 29a는 CXCR4 억제제 LY2510924(3 mg/kg), ADRB2 억제제 카르베디롤(30 mg/kg), 또는 LY2510924(3 mg/kg)와 카르베디롤(30 mg/kg) 조합의 생체내 항종양 효과에 있어서 종양 성장율을 비교한 그래프다. 도 29b는 CXCR4 억제제 AMD070 (10 mg/kg), ADRB2 억제제 카르베디롤 (30 mg/kg), 또는 AMD070 (10 mg/kg)와 카르베디롤 (30 mg/kg)의 조합의 항종양 효과에 있어서 종양 성장율을 비교한 그래프다. 매 3일 또는 4일 차에 종양의 길이(L)와 폭(W)을 측정하고, 다음의 식에 기초하여 종양 용적을 산출함으로써, 종양 성장을 모니터하였다: 용적 = $0.5 LW^2$.

[0471] **도 29a**에 나타낸 바와 같이, CXCR4-ADRB2를 과다발현시키는 마우스는 대조군 마우스와 비교하여 CXCR4 억제제, LY2510924 또는 ADRB2 억제제, 카르베디롤에 의한 종양 성장이 더 많이 저해되었다. 또한, LY2510924와 카르베디롤의 조합은 단일 투여 군보다 종양 성장 억제 효과가 더 우수함이 실증되었다. 보다 구체적으로 CXCR4-ADRB2를 과다발현시키는 A549를 품고 있는 마우스를 비히클로 처리한 대조군 마우스는 LY2510924, 카르베디롤 또는 LY2510924와 카르베디롤로 처리된 것(차례로 평균 종양 용적이 488.9+135.2 mm^3, 432.0+206.4 mm^3, 및 356.3+125.4 mm^3 임)과 비교하였을 때, 처리-후 21일 시점에 평균 종양 용적은 554.2±152.7mm^3에 도달되었다.

[0472] CXCR4의 또다른 억제제인 AMD070으로 처리된 집단에서도 유사한 패턴이 관찰되었다.

[0473] **도 29b**에서는 CXCR4-ADRB2 헤테로머-과다발현시키는 세포 계통을 누드 마우스에 이식시키고, 종양 크기가 50-100 mm^3에 이를 때, CXCR4 억제제인 AMD070 또는 ADRB2 억제제인 카르베디롤을 단독으로 또는 조합하여 23 일 동안 경구 투여하였다. **도 29b**에서 나타난 바와 같이, 이들 약물 투여 후 23일 시점의 종양 크기는 대조군에서 618.5 + 190.9 mm^3 이었고, AMD070 또는 카르베디롤로 처리된 집단에서 차례로, 543.2 + 260.4 mm^3 또는 510.4 + 139.9 mm^3 이었다. 약물 처리된 집단의 종양 크기는 대조군의 것보다 더 작은 것으로 나타났다. 또한, AMD070 및 카르베디롤의 조합에서 종양 크기는 418.0 + 238.4 mm^3이었으며, 이는 단일 투여군과 비교하여 항종양 효과가 더 우수함을 나타낸다.

[0474] 이들 결과는 CXCR4와 ADRB2 억제제들을 공동-처리하면 CXCR4와 ADRB2 헤테로머 발현 환자들에게 더 우수한 치료 효과를 제공할 수 있음을 시사한다.

[0475] 본 명세서에 언급된 모든 공보 및 특허 출원은 각 개별 공보 또는 특허 출원이 구체적이고 개별적으로 참조로 포함된 것으로 표시되는 것과 동일한 정도로 본원에 참고자료로 편입된다.

[0476] 바람직한 구체예들이 여기에 도시되고 설명되었지만, 이러한 구체예들은 단지 예시로서 제공되는 것임을 당업자는 명백하게 인지할 것이다. 다음의 청구범위는 본 발명의 범위를 특정하고, 이들 청구범위의 범위 내의 방법 및 구조 및 그 등가물이 포괄되도록 의도된다.

[0477] ***예시적인 구체예들***

[0478] 구체예에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 세포를 갖는 대상체의 암을 치료하는 방법, 이 방법은 다음을 포함한다: 당해 대상체에게 치료요법적 유효량의 CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합을 투여한다.

[0479] 구체예에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 보유한 대상체를 치료하는 방법, 이 방법은 다음을 포함한다: 당해 대상체에게 치료요법적 유효량의 CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합을 투여하고; 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 세포는 강화된 하류 신호전달을 갖는다.

[0480] 구체예에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머들을 갖는 대상체에서 암의 치료, 개선, 또는 예방하는 방법, 이 방법은 다음

을 포함한다: 당해 대상체에게 치료요법적 유효량의 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제를 투여하고, 이때: GPCRx는 당해 대상체에서 CXCR4와 헤테로머화되고, CXCR4와 GPCRx의 헤테로머화는 CXCR4의 하류 신호전달의 강화를 동반하고, CXCR4의 하류 신호전달의 강화는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제에 의해 억제된다.

[0481] 구체예에서, 암의 치료, 개선 또는 예방에 대하여 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 보유한 대상체의 반응 또는 잠재적 반응을 평가하는 방법, 방법은 다음을 포함한다: 상기 대상체로부터 샘플을 획득하고; 상기 샘플에서 CXCR4와 GPCRx의 헤테로머화를 탐지하고; 그리고 CXCR4와 GPCRx의 헤테로머화 탐지에 최소한 부분적으로 기초하여 암의 치료, 개선 또는 예방에 대하여 당해 대상체의 반응 또는 잠재적 반응을 평가한다.

[0482] 구체예에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 세포를 갖는 환자에서 암을 치료하는 방법, 이 방법은 다음을 포함한다: 당해 환자에게 CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합을 투여하고; 이때:

[0483] i) CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 보유하고; 그리고

[0484] ii) 상기 투여된 억제제 또는 억제제들의 조합은 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달을 억제한다.

[0485] 구체예에서, 암을 앓고 있는 환자의 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달을 억제하는 방법, 이 방법은 다음을 포함한다: 당해 환자에게 CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합을 투여하고; 이때:

[0486] i) CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 보유하고; 그리고

[0487] ii) 상기 투여된 억제제 또는 억제제들의 조합은 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달을 억제한다.

[0488] 구체예에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 세포를 갖는 환자에서 암 치료용으로 사용하기 위한 약제학적 키트, 이 약제학적 키트는 다음을 포함한다: CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합; 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 갖는다.

[0489] 구체예에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 세포를 갖는 환자에서 암 치료용으로 사용하기 위한 약제학적 조성물, 이 약제학적 조성물은 다음을 포함한다:

[0490] i) CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합; 그리고

[0491] ii) 약제학적으로 수용가능한 운반체;

[0492] 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 갖는다.

[0493] 구체예에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 세포를 갖는 환자에서 암 치료 방법, 상기 방법은 다음을 포함하며, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 갖는다:

[0494] 1) 당해 환자가 강화된 하류 신호전달을 보유하는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 암 세포를 가지고 있는 지를 결정하기 위하여, 당해 환자로부터 생물학적 샘플을 획득하거나, 또는 획득하였고, 상기 생물학적 샘플에서 검정을 실행하거나, 또는 실행하였고, 이에:

[0495] i) 당해 환자의 암 세포는 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하는 지를 결정하거나; 또는

[0496] ii) CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약이 환자 유래된 세포(들)에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 성질 또는 기능을 변경시키는지; CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포(들)에서 헤테로머-특이적 성질을 변경시키는지; 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포(들)의 세포 증식을 감소시키는 지를 결정하고; 그리고

[0497] 2) 당해 환자가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 암 세포를 보유한다면, 그런 경우, CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합을 당해 암 환자에게 내부적으로 투여한다.

[0498] 구체예에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 세포를 갖는 환자에서 암 치료 방법, 이 방법은 다음을

포함한다:

[0499] 1) 환자로부터 생물학적 샘플을 획득하거나, 또는 생물학적 샘플을 획득하였고, 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머가 당해 환자의 암 세포에 내포되어 있는 지를 결정하기 위하여 당해 생물학적 샘플에서 검정을 실행을 하거나, 또는 실행하였으며, 이로써 당해 환자의 암 세포에 CXCR4-GPCRx 헤테로머가 내포되어 있는 지를 결정하고; 이때:

[0500] a) CXCR4-GPCRx 헤테로머의 GPCRx는 다음으로 구성된 군에서 선택되며: ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3; 그리고

[0501] b) 상기 생물학적 샘플 상에서 실행된 검사는 다음중 하나 또는 그 이상이거나, 또는 다음중 하나 또는 그 이상을 포함한다: 공동-내재화 검정, 공동-편재화(colocalization) 검정, 제자리 혼성화법(in situ hybridization), 면역조직화학법, 면역전자 현미경법, 근접성-기반 검정, 공동-면역침전 검정, 또는 형광 동물 검정; 그리고

[0502] 2) 당해 환자의 암 세포가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포한다면, 그런 경우, CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합을 당해 환자에게 내부적으로 투여한다.

[0503] 구체예에서, 강화된 하류 신호전달을 갖는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 세포를 갖는 환자에서 암 치료 방법, 이 방법은 다음을 포함한다:

[0504] 1) 당해 환자가 강화된 하류 신호전달을 보유하는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 암 세포를 가지고 있는 지를 결정하기 위하여, 당해 환자로부터 생물학적 샘플을 획득하거나, 또는 획득하였고, 상기 생물학적 샘플에서 검정을 실행하거나, 또는 실행하였고, 이에:

[0505] i) 당해 환자의 암 세포는 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하는지를 결정하고; 또는

[0506] ii) CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약이 환자 유래된 세포(들)에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 성질 또는 기능을 변경시키는지; 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포(들)에서 헤테로머-특이적 성질을 변경시키는지; 또는 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포(들)의 세포 증식을 감소시키는 지를 결정하고; 그리고

[0507] 2) 당해 환자가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 암 세포를 보유한다면, 그런 경우, CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제들의 조합을 당해 암 환자에게 내부적으로 투여하고; 그리고

[0508] 3) 만일 당해 환자가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하는 암 세포를 보유하지 않는다면, 그런 경우, 상기 암 환자에게 단독 억제제로써 CXCR4 억제제 또는 GPCRx 억제제를 내부적으로 투여한다.

[0509] 구체예에서, 강화된 하류 신호전달을 갖는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 세포를 갖는 환자에서 암 치료 방법, 이 방법은 다음을 포함한다:

[0510] 1) 당해 환자가 강화된 하류 신호전달을 보유하는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 암 세포를 가지고 있는 지를 결정하기 위하여, 당해 환자로부터 생물학적 샘플을 획득하거나, 또는 획득하였고, 상기 생물학적 샘플에서 검정을 실행하거나, 또는 실행하였고, 이에:

[0511] i) 당해 환자의 암 세포는 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하는지를 결정하고; 또는

[0512] ii) CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약이 환자 유래된 세포(들)에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 성질 또는 기능을 변경시키는지; 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포(들)에서 헤테로머-특이적 성질을 변경시키는지; 또는 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포(들)의 세포 증식을 감소시키는 지를 결정하고; 그리고

[0513] 2) 당해 환자가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 암 세포를 보유한다면, 그런 경우, CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제들의 조합을 당해 암 환자에게 내부적으로 투여하고; 그리고

[0514] 3) 만일 당해 환자가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하는 암 세포를 보유하지 않는다면, 그런 경우, 상기 암 환자에게 단독 억제제로써 CXCR4 억제제 또는 GPCRx 억제제를 내부적으로 투여하고;

[0515] 이때:

[0516] a) CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에서 CXCR4 억제제 또는 GPCRx 억제제를 단일 억제제로써 전술한 환자에게 투여하는 것과 비교하여, 상기 억제제들의 조합을 투여할 경우, 5-100% 범위에서 상기 암의 진행은 더 감소되고;

[0517] b) CXCR4 억제제를 단일 억제제로 투여하였을 때 효과와 비교하여, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에게 상기 GPCRx 억제제와 조합하여 투여할 때, CXCR4 억제제의 효능은 5-2000% 범위로 증가되거나; 및/또는

[0518] c) GPCRx 억제제를 단일 억제제로 투여하였을 때 효과와 비교하여, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에게 CXCR4 억제제와 조합하여 투여할 때, GPCRx 억제제의 효능은 5-2000% 범위로 증가된다.

[0519] 구체예에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 세포를 갖는 환자에서 암 치료 방법, 이 방법은 다음을 포함한다:

[0520] 1) 환자로부터 생물학적 샘플을 획득하거나, 또는 생물학적 샘플을 획득하였고, 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머가 당해 환자의 암 세포에 내포되어 있는 지를 결정하기 위하여 당해 생물학적 샘플에서 검정을 실행을 하거나, 또는 실행을 마침으로써 당해 환자의 암 세포에 CXCR4-GPCRx 헤테로머가 내포되어 있는 지를 결정하고; 이때:

[0521] a) CXCR4-GPCRx 헤테로머의 GPCRx는 다음으로 구성된 군에서 선택되며: ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3; 그리고

[0522] b) 상기 생물학적 샘플 상에서 실행된 검사는 다음중 하나 또는 그 이상이거나, 또는 다음중 하나 또는 그 이상을 포함한다: 공동-내재화 검정, 공동-편재화 검정, 제자리 혼성화법, 면역조직화학법, 면역전자 현미경법, 근접성-기반 검정, 공동-면역침전 검정, 효소-연계된 면역흡착 검정 (ELISA), 유동 세포측정법, RNAseq, qRT-PCR, 마이크로어레이, 또는 형광 동물 검정; 그리고

[0523] 2) 당해 환자의 암 세포가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포한다면, 그런 경우, CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제들의 조합을 당해 암 환자에게 내부적으로 투여하고; 그리고

[0524] 3) 만일 당해 환자의 암 세포가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하지 않는다면, 그런 경우, 상기 암 환자에게 단독 억제제로써 CXCR4 억제제 또는 GPCRx 억제제를 내부적으로 투여한다.

[0525] 구체예에서, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 세포를 갖는 환자에서 암 치료 방법, 이 방법은 다음을 포함한다:

[0526] 1) 환자로부터 생물학적 샘플을 획득하거나, 또는 생물학적 샘플을 획득하였고, 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머가 당해 환자의 암 세포에 내포되어 있는 지를 결정하기 위하여 당해 생물학적 샘플에서 검정을 실행을 하거나, 또는 실행하였고, 이로써 당해 환자의 암 세포에 CXCR4-GPCRx 헤테로머가 내포되어 있는 지를 결정하고; 이때:

[0527] a) CXCR4-GPCRx 헤테로머의 GPCRx는 다음으로 구성된 군에서 선택되며: ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3; 그리고

[0528] b) 상기 생물학적 샘플 상에서 실행된 검사는 다음중 하나 또는 그 이상이거나, 또는 다음중 하나 또는 그 이상을 포함한다: 공동-내재화 검정, 공동-편재화 검정, 제자리 혼성화법, 면역조직화학법, 면역전자 현미경법, 근접성-기반 검정, 공동-면역침전 검정, 효소-연계된 면역흡착 검정 (ELISA), 유동 세포측정법, RNAseq, qRT-PCR, 마이크로어레이, 또는 형광 동물 검정;

[0529] 그리고

[0530] 2) 당해 환자의 암 세포가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포한다면, 그런 경우, CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제들의 조합을 당해 암 환자에게 내부적으로 투여하고; 그리고

[0531] 3) 만일 당해 환자의 암 세포가 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하지 않는다면, 그런 경우, 상기 암 환자에게 단독 억제제로써 CXCR4 억제제 또는 GPCRx 억제제를 내부적으로 투여하고;

[0532] 이때:

[0533] a) CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에서 CXCR4 억제제 또는 GPCRx 억제제를 단일 억제제로써 전술한 환자에게 투여하는 것과 비교하여, 상기 억제제들의 조합을 투여할 경우, 5-100% 범위에서 상기 암의 진행은 더 감소되고;

[0534] b) CXCR4 억제제를 단일 억제제로 투여하였을 때 효과와 비교하여, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에게 상기 GPCRx 억제제와 조합하여 투여할 때, CXCR4 억제제의 효능은 5-2000% 범위로 증가되거나; 및/또는

[0535] c) GPCRx 억제제를 단일 억제제로 투여하였을 때 효과와 비교하여, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에게 CXCR4 억제제와 조합하여 투여할 때, GPCRx 억제제의 효능은 5-2000% 범위로 증가된다.

[0536] 특정 구체예들에서, 다음의 추가 추가예들 중 하나 이상 (예를 들어, 모두 포함)은 다른 구체예의 각각 또는 그 일부를 포함할 수 있다.

[0537] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 상기 강화된 하류 신호전달을 갖거나, 유발하거나, 또는 만든다.

[0538] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 강화된 하류 신호전달은 CXCR4-GPCRx 헤테로머로 인한 것이다.

[0539] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 강화된 하류 신호전달은 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 효현성으로 인한 것이다.

[0540] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 강화된 하류 신호전달은 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 CXCR4 효현성으로 인한 것이다.

[0541] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 강화된 하류 신호전달은 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 GPCRx 효현성으로 인한 것이다.

[0542] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 강화된 하류 신호전달은 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 CXCR4 효현성과 GPCRx 효현성으로 인한 것이다.

[0543] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 강화된 하류 신호전달은 CXCR4, 각 GPCRx, 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 하류다.

[0544] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 강화된 하류 신호전달은 CXCR4의 하류다.

[0545] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 강화된 하류 신호전달은 각 GPCRx의 하류다.

[0546] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 강화된 하류 신호전달은 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 하류다.

[0547] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달은 이들의 각 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 프로토머 또는 각 GPCRx 프로토머로부터의 하류 신호전달

에 관계한다.

[0548] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달은 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 프로토머로부터의 하류 신호전달에 관계한다.

[0549] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달은 개별 프로토머 구성에서 각 GPCRx 프로토머로부터의 하류 신호전달에 관계한다.

[0550] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달은 이들의 각 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 프로토머와 각 GPCRx 프로토머로부터의 하류 신호전달에 관계한다.

[0551] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 억제제 또는 억제제들의 조합은 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달을 억제한다.

[0552] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 투여된 억제제 또는 억제제들의 조합은 당해 환자의 암 세포에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터의 강화된 하류 신호전달을 억제한다.

[0553] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 방법은 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 존재를 결정 또는 진단하는 것을 더 포함한다.

[0554] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 방법은 암 환자에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 존재를 결정 또는 진단하는 것을 더 포함한다.

[0555] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 방법은 암 세포 또는 암 조직에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 존재를 결정 또는 진단하는 것을 더 포함한다.

[0556] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 방법은 암 환자로부터 획득한 암 세포 또는 암 조직에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 존재를 결정 또는 진단하는 것을 더 포함한다.

[0557] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 방법은 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 존재를 결정 또는 진단하는 것을 더 포함하고; 그리고 이때 결정 또는 진단은 다음을 포함한다:

[0558] 1) 생물학적 샘플 (가령, 세포 또는 조직, 이를 테면, 암 환자의 세포 또는)을 획득하거나, 또는 획득하였고; 그리고

[0559] 2) 당해 생물학적 샘플에서 검정을 실행하거나, 또는 실행하였고, 이때 검정은 다음중 하나 또는 그 이상이거나, 또는 다음중 하나 또는 그 이상을 포함한다: 공동-내재화 검정, 공동-편재화 검정, 제자리 혼성화법, 면역조직화학법, 면역전자 현미경법, 근접성-기반 검정, 공동-면역침전 검정, 또는 형광 동물 검정.

[0560] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달은 세포내 Ca2+ 검정에 의해 결정된다.

[0561] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 강화된 하류 신호전달은 강화된 양의 칼슘 동원이다.

[0562] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의

치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제로 공동-자극될 때 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터의 강화된 양의 칼슘 동원은 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때 전술한 세포를 CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제에 의한 단일 효현제 자극으로부터 생성된 칼슘 동원 양의 합보다 적어도 10% 이상, 적어도 20% 이상, 적어도 30% 이상, 적어도 40% 이상, 적어도 50% 이상, 적어도 75% 이상, 또는 적어도 90% 이상인 칼슘 동원 양이다.

[0563] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제로 공동-자극될 때 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터의 강화된 양의 칼슘 동원은 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때 전술한 세포를 CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제에 의한 단일 효현제 자극으로부터 생성된 칼슘 동원 양의 합보다 10-100% 이상인 칼슘 동원 양이다.

[0564] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제로 공동-자극될 때 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터의 강화된 양의 칼슘 동원은 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때 전술한 세포를 CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제에 의한 단일 효현제 자극으로부터 생성된 칼슘 동원 양의 합보다 25-100% 이상인 칼슘 동원 양이다.

[0565] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 강화된 양의 칼슘 동원은 세포내 Ca2+ 검정에 의해 결정된다.

[0566] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 세포내 Ca2+ 검정은 칼슘 동원 검정이다.

[0567] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 강화된 양의 칼슘 동원은 칼슘 동원의 상승적 양이다.

[0568] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제의 공동-자극 시, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 세포로부터 칼슘 동원의 상승적 양은 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제로 전술한 세포의 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합보다 적어도 10% 이상의, 적어도 20% 이상, 적어도 30% 이상, 적어도 40% 이상, 적어도 50% 이상, 적어도 75% 이상, 또는 적어도 90% 이상인 칼슘 동원 양이다.

[0569] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 다음 특징들중 2개 또는 그 이상을 갖는다:

[0570] 1) 세포 안에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머 성분들은 다음중 하나 또는 그 이상을 통하여 결정될 때, 공동-국소화되고, 직접적으로 또는 다른자리입체성(allosterism)의 전달관(conduits)으로 작용하는 중간매개 단백질을 통하여 물리적으로 서로 상호작용한다: 공동-내재화 검정, 공동-편재화 검정, 제자리 혼성화법, 면역조직화학법, 면역전자 현미경법, 근접성-기반 검정, 공동-면역침전 검정, 또는 형광 동물 검정;

[0571] 2) 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, 다음과 같은 강화된 양의 칼슘 동원:

[0572] a) 세포 안에서 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 또는 각 GPCRx는 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제로 공동-자극시, CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제의 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합에 대등한 또는 이보다 적은 칼슘 동원 양을 초래하고; 그리고

[0573] b) CXCR4-GPCRx 헤테로머는 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제로의 공동-작극시, CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제로의 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합과 비교하여, 강화된 칼슘 동원을 나타내고; 또는

[0574] 3) CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은

[0575] i) 환자 유래된 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 성질을 변경시키고;

[0576] ii) 환자 유래된 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 기능을 변경시키고;

[0577] iii) CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하는 환자 유래된 세포의 헤테로머-특이적 성질을 변경시키고; 또는

[0578] iv) CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포(들)의 세포 증식을 감소시킨다.

[0579] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 다음 방법중 적어도 하나에 의해 결정될 때, CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 환자 유래된 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 성질을 변경시킨다: PLA, 방사리간드 결합 검정, [35S]GTP-rS 결합 검정, 칼슘 검정, cAMP 검정, GTPase 검정, PKA 활성화, ERK1/2 및/또는 Akt/PKB 인산화 검정, Src 및 STAT3 인산화 검정, CRE-리포터 검정, NFAT-RE-리포터 검정, SRE-리포터 검정, SRF-RE 리포터 검정, NF-kB-RE 리포터 검정, 분비된 알카리 포스파타제 검정, 이노시톨 1-포스페이트 생산 검정, 아데닐일 사이클라제 활성 검정, RT-PCR, RT-qPCR, RNAseq, 또는 마이크로어레이에 의한 표적 유전자의 발현 분석.

[0580] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 다음 방법중 적어도 하나에 의해 결정될 때, CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 환자 유래된 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 기능을 변경시키고: PLA, 방사리간드 결합 검정, [35S]GTP-rS 결합 검정, 칼슘 검정, cAMP 검정, GTPase 검정, PKA 활성화, ERK1/2 및/또는 Akt/PKB 인산화 검정, Src 및 STAT3 인산화 검정, CRE-리포터 검정, NFAT-RE-리포터 검정, SRE-리포터 검정, SRF-RE 리포터 검정, NF-kB-RE 리포터 검정, 분비된 알카리 포스파타제 검정, 이노시톨 1-포스페이트 생산 검정, 아데닐일 사이클라제 활성 검정, RT-PCR, RT-qPCR, RNAseq, 차세대 시퀀싱 (NGS), 또는 마이크로어레이에 의한 표적 유전자 발현 분석.

[0581] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 다음 방법중 적어도 하나에 의해 결정될 때 CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하는 환자 유래된 세포의 헤테로머-특이적 성질을 변경시킨다: 암 세포의 증식, 이동, 침범, 및 약물 저항성 (생존), 면역 세포 기능의 조정, 혈관신생, 맥관형성, 전이, 약물 저항성, 조직 마이크로어레이 (TMA), 그리고 암 세포-종양 미세환경 (TME) 상호작용의 검정.

[0582] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머 성분들은 개별 프로토머 CXCR4와 GPCRx를 포함한다.

[0583] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 또는 각 GPCRx를 포함하는 세포는 독립적으로 다음을 포함한다: 차례로

[0584] i) 각 개별 프로토머 GPCRx 부재 하에서 개별 프로토머 CXCR4; 또는

[0585] ii) 개별 프로토머 CXCR4 부재 하에서 각 개별 프로토머 GPCRx.

[0586] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 개별 프로토머 구성에서 CXCR4를 포함하는 세포는 각 개별 프로토머 GPCRx 부재 하에서 전술한 개별 프로토머 CXCR4를 포함한다.

[0587] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 개별 프로토머 구성에서 각 GPCRx를 포함하는 세포 개별 프로토머 CXCR4 부재 하에서 전술한 각 개별 프로토머 GPCRx를 포함한다.

[0588] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 다음중 하나 또는 그 이상을 통하여 결정하였을 때, 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머 성분들은 공동국소화되고, 직접적으로 또는 다른자리입체성을 위한 전달관으로 작용하는 중간 단백질들을 경유하여 물리적으로 상호작용한다: 공동-내재화 검정, 공동-편재화 검정, 제자리 혼성화법, 면역조직화학법, 면역전자 현미경법, 근접성-기반 검정, 공동-면역침전 검정, 또는 형광 동물 검정.

[0589] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 근접 성-기반 검정은 공명 에너지 전달

(RET), 생물발광 RET (BRET), 형광 RET (FRET), 시간-분해 형광 RET (TR-FRET), 항체-지원된 FRET, 리간드-지원된 FRET, 이중분자 형광 상보성 (BiFC), 또는 근접성 결찰 검정 (PLA)이거나, 또는 이를 포함한다.

[0590] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 다음중 하나 또는 그 이상을 통하여 결정하였을 때, 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머 성분들은 공동국소화되고, 직접적으로 또는 다른자리입체성을 위한 전달관으로 작용하는 중간 단백질들을 경유하여 물리적으로 상호작용한다: 공동-내재화 검정, 이중분자 형광 상보성 (BiFC), 또는 근접성 결찰 검정 (PLA).

[0591] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 당해 환자의 암 세포는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함한다.

[0592] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 다음과 같이 강화된 양의 칼슘 동원을 나타낸다:

[0593] a) 세포 안에서 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 또는 각 GPCRx는 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제로 공동-자극시, CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제의 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합에 대등한 또는 이보다 적은 칼슘 동원 양을 초래하고; 그리고

[0594] b) 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, CXCR4-GPCRx 헤테로머는 CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제로의 공동-작극시, CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제로의 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합과 비교하여, 강화된 칼슘 동원을 나타낸다

[0595] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때:

[0596] i) 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, 세포에서 개별 프로토머 구성에서 프로토머 CXCR4 또는 GPCRx로부터의 칼슘 동원은 비-상승적이며; 그리고

[0597] ii) 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터의 칼슘 동원은 상승적이다.

[0598] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 개별 프로토머 구성에서:

[0599] a) 세포에서 각 개별 프로토머 GPCRx 부재 하에서 개별 프로토머 CXCR4; 또는

[0600] b) 세포에서 개별 프로토머 CXCR4 부재 하에서 각 개별 프로토머 GPCRx;

[0601] CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제의 공동-자극 시, 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제에 의한 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합과 같거나, 또는 이보다 적은 칼슘 동원 양을 결과한다.

[0602] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 독립적으로 개별 프로토머 구성에서:

[0603] a) 세포에서 각 개별 프로토머 GPCRx 부재 하에서 개별 프로토머 CXCR4; 그리고

[0604] b) 세포에서 개별 프로토머 CXCR4 부재 하에서 각 개별 프로토머 GPCRx;

[0605] CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제의 공동-자극 시, 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제에 의한 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합과 같거나, 또는 이보다 적은 칼슘 동원 양을 결과한다.

[0606] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, CXCL12와 각 선택 GPCRx 효현제의 공동-자극 시, CXCR4-GPCRx 헤테로머는 CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제로 전술한 세포의 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 양의 합보다 큰 칼슘 동원 양을 결과한다.

[0607] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의

치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 공동-자극으로 인한 칼슘 동원 양은 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원 합과 비교하여, 강화된 양의 칼슘 동원이다.

[0608] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 칼슘 동원 검정을 통하여 결정하였을 때, 상기 강화된 양의 칼슘 동원은 CXCL12 또는 각 선택 GPCRx 효현제의 단일 효현제 자극으로 인한 칼슘 동원의 합보다 적어도 10% 이상, 적어도 20% 이상, 적어도 30% 이상, 적어도 40% 이상, 적어도 50% 이상, 적어도 75% 이상, 또는 적어도 90% 이상 더 크다.

[0609] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 강화된 양의 칼슘 동원은 칼슘 동원의 상승적 양이다.

[0610] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 방법은 CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약을 투여한다.

[0611] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은

[0612] i) 환자 유래된 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 성질을 변경시키고;

[0613] ii) 환자 유래된 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 기능을 변경시키고;

[0614] iii) CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하는 환자 유래된 세포의 헤테로머-특이적 성질을 변경시키고; 또는

[0615] iv) CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 환자 유래된 세포의 세포 증식을 감소시킨다.

[0616] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 당해 환자 유래된 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 성질을 변경시킨다.

[0617] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 당해 환자 유래된 세포에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 기능을 변경시킨다.

[0618] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하는 환자 유래된 세포의 헤테로머-특이적 성질을 변경시킨다.

[0619] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 함유하는 환자 유래된 세포의 세포 증식을 감소시킨다.

[0620] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 CXCR4 억제제, GPCRx 억제제, 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머 억제제이다.

[0621] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 CXCR4 길항제, GPCRx 길항제, 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머 길항제이다.

[0622] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 약제학적 조성물로써 투여된다.

[0623] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 방법은 CXCR4 억제제, GPCRx 억제제, 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제를 투여한다.

[0624] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 억제제는 약제학적 조성물로써 투여된다.

[0625] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 투여된 억제제는 CXCR4 억제제이다.

[0626] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 투여된 억제제는 GPCRx 억제제이다.

[0627] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 투여된 억제제는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제이다.

[0628] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 방법은 CXCR4 억제제, GPCRx 억제제, 그리고 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 다음으로 구성된 군에서 선택된 억제제들의 조합을 투여한다.

[0629] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 억제제들의 조합은 약제학적 조성물로써 투여된다.

[0630] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 억제제들의 조합은 CXCR4 억제제와 GPCRx 억제제를 포함한다.

[0631] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 억제제들의 조합은 CXCR4 억제제와 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제를 포함한다.

[0632] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 억제제들의 조합은 GPCRx 억제제와 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제를 포함한다.

[0633] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 억제제들의 조합은 순차적으로, 동시에(concurrently) 또는 일제히(simultaneously) 투여된다.

[0634] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 억제제들의 조합은 약제학적으로 수용가능한 운반체를 더 포함하는 약제학적 조성물로써 투여된다.

[0635] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 억제제들의 조합은 별개의 약제학적 조성물로써 투여되며, 이때 별개의 약제학적 조성물은 독립적으로 약제학적으로 수용가능한 운반체를 더 포함한다.

[0636] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4 억제제는 CXCR4의 길항제, CXCR4의 역 효현제, CXCR4의 부분적 길항제, CXCR4의 알로스테릭 조절자, CXCR4의 항체, CXCR4의 항체 단편, 또는 CXCR4의 리간드이다.

[0637] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 GPCRx 억제제는 GPCRx의 길항제, GPCRx의 역 효현제, GPCRx의 부분 길항제, GPCRx의 알로스테릭 조절자, GPCRx의 항체, GPCRx의 항체 단편, 또는 GPCRx의 리간드이다.

[0638] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 길항제, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 역 효현제, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 부분적 길항제, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 알로스테릭 조절자, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 항체, CXCR4-GPCRx 헤테로머의 항체 단편,

CXCR4-GPCRx 헤테로머의 리간드, 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 단백질-단백질 상호작용 (PPI) 억제제이다.

[0639] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4 억제제, GPCRx 억제제, 또는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제는 항체-약물 콘쥬게이트이다.

[0640] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 치료요법적 유효량의 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제는 당해 환자에게 투여된다.

[0641] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 치료요법적으로 준-유효량의 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제는 당해 환자에게 투여된다.

[0642] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 치료요법적 유효량의 CXCR4 억제제는 당해 환자에게 투여된다.

[0643] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 치료요법적으로 준-유효량의 CXCR4 억제제는 당해 환자에게 투여된다.

[0644] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택된다:AD-114, AD-114-6H, AD-114-Im7-FH, AD-114-PA600-6H, ALX-0651, ALX40-4C, AMD070 (AMD11070, X4P-001), AMD3100 (플레릭사포르), AMD3465, ATI 2341, BKT140 (BL-8040; TF14016; 4F-벤조일-TN14003), CTCE-9908, CX549,, D-[Lys3] GHRP-6, FC122, FC131, GMI-1359, GSK812397, GST-NT21MP, 이소티오우레아-1a, 이소티오우레아-1t (IT1t), KRH-1636, KRH-3955, LY2510924, LY2624587, MSX-122, N-[^{11}C]메틸-AMD3465, PF-06747143, POL6326, SDF-1 1-9[P2G이합체, SDF1 P2G, T134, T140, T22, TC 14012, TG-0054 (부릭사포르), USL311, 울로쿠플루맙 (MDX1338/BMS-936564), 바이러스성 대식세포 염증성 단백질-II (vMIP-II), WZ811, 12G5, 238D2, 238D4, [^{64}Cu]-AMD3100, [^{64}Cu]-AMD3465, [^{68}Ga]펜티사포르, [^{90}Y]펜티사테르, [^{99m}Tc]O2-AMD3100, [^{177}Lu]펜티사테르, 및 508MC1 (화합물 26).

[0645] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 치료요법적 유효량의 GPCRx 억제제는 당해 환자에게 투여된다.

[0646] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 치료요법적으로 준-유효량의 GPCRx 억제제는 당해 환자에게 투여된다.

[0647] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 GPCRx는 다음으로 구성된 군에서 선택된다: ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3.

[0648] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 GPCRx는 ADRB2 또는 HRH1이다.

[0649] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 GPCRx는 ADCYAP1R1이다.

[0650] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 ADCYAP1R1 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택된다: M65, Max.d.4, MK-0893, N-스테아릴-[Nle^{17}]뉴로텐신-(6-11)/VIP-(7-28), PACAP-(6-38), 및 PG 97-269.

[0651] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의

치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 GPCRx는 ADORA2B이다.

[0652] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 ADORA2B 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택된다: 3-이소부틸-8-피롤리디녹산틴, 알옥사진, AS16, AS70, AS74, AS94, AS95, AS96, AS99, AS100, AS101, ATL802, BW-A1433, 카페인, CGS 15943, CPX, CSC, CVT-6883, DAX, DEPX, 데레노필린, DPCPX, FK-453,1-ABOPX, 이스트라데필린, KF26777, LAS38096, LUF5981, MRE2029F20, MRE3008F20, MRS1191, MRS1220, MRS1523, MRS1706, MRS1754, MSX-2, OSIP339391, 펜톡시필린, 프레라데난트, PSB-10, PSB-11, PSB36, PSB603, PSB-0788, PSB1115,롤로필린, SCH 58261, SCH442416, ST-1535, 테오필린, 토나포필린, 비파네난트, 크산틴 아민 동종체, XCC, 그리고 ZM-241385.

[0653] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 GPCRx는 ADORA3이다.

[0654] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 ADORA3 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택된다:ATL802, BW-A1433, 카페인, CGS 15943, CSC, CVT-6883, 데레노필린, 덱스니귤디핀, DPCPX, FK-453, 플라바논, 플라본, 갈랑긴, I-ABOPX, 이스트라데필린, KF26777, LAS38096, LUF5981, MRE2029F20, MRE3008F20, MRE3010F20, MRS1041, MRS1042, MRS1067, MRS1088, MRS1093, MRS1097, MRS1177, MRS1186, MRS1191, MRS1191, MRS1220, MRS1476, MRS1486, MRS1505, MRS1523, MRS1754, MRS928, MSX-2, 니카르디핀, 프레라데난트, PSB-10, PSB-11, PSB36, PSB603, PSB1115,롤로필린, 사쿠라네틴, SCH 58261, SCH442416, ST-1535, 테오필린, 토나포필린, 비파네난트, 비스나긴, VUF5574, VUF8504, VUF8507, 크산틴 아민 동종체, 그리고 ZM-241385.

[0655] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 GPCRx는 ADRB2이다.

[0656] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 ADRB2 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택된다: 알프레놀롤, 아테놀롤(atenolol), 베탁솔롤(betaxolol), 부프라놀롤(bupranolol), 부톡사민(butoxamine), 카라졸롤(카라졸롤), 카르베딜롤(carvedilol), CGP 12177, 시클로프롤롤(cicloprolol), ICI 118551, ICYP, 라베타롤(labetalol), 레보베타옥솔롤(levobetaxolol), 레보부노롤(levobunolol), LK 204-545, 메토프롤롤(metoprolol), 나돌롤(nadolol), NIHP, NIP, 프로파페논(propafenone), 프로프라놀롤(propranolol), 소탈롤(sotalol), SR59230A, 및 티몰롤(timolol).

[0657] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 GPCRx는 C5AR1이다.

[0658] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 C5AR1 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택된다: $A8^{\Delta 71-73}$, AcPhe-Orn-Pro-D-Cha-Trp-Arg, 아바코판, C089, CHIPS, DF2593A, JPE1375, L-156,602, NDT9520492, N-메틸-Phe-Lys-Pro-D-Cha-Trp-D-Arg-CO_2H, PMX205, PMX53, RPR121154, 및 W54011.

[0659] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 GPCRx는 CALCR이다.

[0660] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CALCR 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택된다: α-CGRP-(8-37) (인간), AC187, CT-(8-32) (연어), 그리고 올세게판트.

[0661] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 GPCRx는 CHRM1이다.

[0662] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CHRM1 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택된다: 3-퀴누클리디닐 벤질레이트(QNB), 4-DAMP, 아클리디늄, AE9C90CB, AFDX384, 아미트립틸린, AQ-RA 741, 아트로핀, 벤자트로핀, 비페리덴, 다리페나신, 디사이클로민, 도술레핀, 에토프로파진, 글리코피롤레이트, 구아닐피렌제핀 헥사히드로디페니돌, 헥사하이드로실라디페니돌, 헥소사이클리움, 헴바신, 이프라트로피움, 리토콜

릴콜린, 메톡트라민, ML381, 무스카린 독소 1, 무스카린 독소 2, 무스카린 독소 3, N-메틸 스코폴아민, 오텐제파드, 옥시부티닌, *p*-F-HHSiD, 피렌제핀, 프로판텔린, (R,R)-퀴누클리디닐-4-플루오르메틸-벤질레이트, 스코폴아민, 실라헥시사이클륨, 솔리페나신, 텔렌제핀, 티오트로피움, 톨테로딘, 트리헥시페니딜, 트리피티트라민, UH-AH37, 우메클리디니움, 및 VU0255035.

[0663] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 GPCRx는 EDNRB이다.

[0664] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 EDNRB 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택된다: A192621, 암브리센탄, 아트라센탄, 보센탄 (RO 470203, 트라클레르);, BQ788, IRL 2500, K-8794, 마씨텐탄, RES7011, Ro 46-8443, SB209670, SB217242 (엔라센탄), TAK 044, 그리고 테조센탄 (RO610612).

[0665] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 GPCRx는 HRH1이다.

[0666] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 HRH1 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택된다: (-)-클로로페니라민, (+)-클로로페니라민, (-)-*트란스*-H_2-PAT, (+)-*시스*-H_2-PAT, (+)-*트란스*-H_2-PAT, (±)-*시스*-H_2-PAT, (±)-*트란스*-H_2-PAT, (*R*)-세티리진, (*S*)-세티리진, 9-OH-리스페리돈, A-317920, A-349821, ABT-239, 아리메마진, 아미트립틸린, 아리피프라졸,아르프로미딘, 아세나핀, 아스테미졸, AZD3778, 아제라스틴, BU-E 47, 세티리진, 클로로페니라민, 클로르프로마진, 씨프록시판, 클레마스틴, 클로벤프로피트, 클로자핀, 코네신, 시클리진, 사이프로헵타딘, 데스로라타딘, 디펜히드라민, 도술레핀, 독세핀, 에피나스틴, 페소페나딘, 플루페나진, 플루스피릴렌, 할로페리돌, 히드록시진, 임프로미딘, INCB-38579, JNJ-39758979, 케토티펜, 로라타딘, 록사핀, MK-0249, 모린돈, 오란자핀, 페르페나진, 피모지드, 피팜페론, 피톨리산트, 프로메타진, 피릴라민, 퀘티아핀, 리스페리돈, 세르틴돌, 테르페나딘, 티오리다진, 티오티센, 트리플루페라진, 트리페렌아민, 트리프롤리딘, 지프라시돈, 그리고 조테핀.

[0667] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 GPCRx는 MLNR이다.

[0668] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 MLNR 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택된다: GM-109, MA-2029, 그리고 OHM-11526.

[0669] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 GPCRx는 NTSR1이다.

[0670] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 NTSR1 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택된다: 메클리너탄트, SR48527, SR48692, 그리고 SR142948A.

[0671] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 GPCRx는 TACR3이다.

[0672] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 TACR3 억제제는 다음으로 구성된 군에서 선택된다: [Trp^7,β-Ala^8]뉴로키닌 A-(4-10), AZD2624, FK 224, GR138676, GSK 172981, GSK 256471, N',2-디페닐퀴놀린-4-카르보히드라지드 8m, N',2-디페닐퀴놀린-4-카르보히드라지드, 오사네탄트, PD 154740, PD 161182, PD157672, 사레두탄트, SB 218795, SB 222200, SB 235375, SCH 206272, SSR 146977, 그리고 탈네탄트.

[0673] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 각 선택 GPCRx 효현제는 각 GPCRx의 천연 리간드이다.

[0674] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 방법은 상기 암 환자에서 CXCR4-GPCRx 헤테

로머를 탐지하는 것을 더 포함한다.

[0675] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 방법은 상기 암 환자에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 식별해내는 것을 더 포함한다.

[0676] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 방법은 다음을 더 포함한다:

[0677] i) 당해 암 환자로부터 생물학적 샘플을 획득하거나, 또는 획득하였고;

[0678] ii) 당해 암 환자로부터 획득된 생물학적 샘플에서 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 존재, 실제 또는 존재 및 실체를 결정하기 위한 진단적 검정을 실행하거나, 또는 실행하였고; 그리고

[0679] iii) CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달을 억제하는 억제제 또는 억제제들의 조합을 선별한다.

[0680] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 암은 유방암, 폐암, 뇌암, 신장암, 췌장암, 난소암, 전립선암, 흑색종, 다발성 골수종, 위장암, 신장 세포 암종, 연조직 육종, 간세포 암종, 위암, 결장직장암, 식도암 및 백혈병으로 구성된 군에서 선택된다.

[0681] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 당해 환자의 생물학적 샘플은 생물학적 유체 샘플이다.

[0682] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 액체 생검은 상기 생물학적 유체 샘플에서 수행된다. 일부 구체예들에서, 상기 생물학적 유체 샘플에는 순환하는 종양 세포 (CTCs), 종양-유래된 세포-없는 DNA (cfDNA), 순환하는 작은 RNAs, 그리고 체내 유체로부터 엑소좀을 비롯한 세포외 소포가 포함되는데, 예를 들면, Campos CDM 외., "Molecular Profiling of Liquid Biopsy Samples for Precision Medicine," Cancer J. 2018 Mar/Apr;24(2):93-103(본원에 이의 전문이 편입됨)에 기술되어 있다.

[0683] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 생물학적 유체 샘플은 혈액 샘플, 혈장 샘플, 타액 샘플, 뇌 유체 샘플, 눈 유체 샘플, 또는 소변 샘플이다.

[0684] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 당해 환자의 생물학적 샘플은 생물학적 조직 샘플이다.

[0685] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 액체 생검은 상기 생물학적 조직 샘플 상에서 수행된다.

[0686] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 생물학적 조직 샘플은 장기 조직 샘플, 뼈 조직 샘플, 또는 종양 조직 샘플이다.

[0687] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 암 세포는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함한다.

[0688] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 정상적인, 비-암성 세포는 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하지 않는다.

[0689] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 당해 환자의 암 세포는 전술한 환자의 정상적인, 비-암성 세포보다 더 큰 농도의 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는데, 예를 들면, 전술한 환자의

정상적인, 비-암성 세포보다 10% 이상의 농도, 이를 테면, 전술한 환자의 정상적인, 비-암성 세포보다 25% 이상, 50% 이상, 100% 이상, 200% 이상, 또는 300% 이상의 농도로 포함한다.

[0690] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 당해 환자의 암 세포에 포함된 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 전술한 환자의 정상적인, 비-암성 세포보다 더 큰 농도이며, 예를 들면, 전술한 환자의 정상적인, 비-암성 세포의 10% 이상 농도, 이를 테면, 전술한 환자의 정상적인, 비-암성 세포의 25% 이상, 50% 이상, 100% 이상, 200% 이상, 또는 300% 이상의 농도이며; 그리고 이때 당해 환자의 암 세포에 포함된 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 GPCRx는 다음으로 구성된 군에서 선택된다: ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3.

[0691] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 당해 환자의 암 세포 안에 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 존재로 CXCR4-매개된 암 환자들의 준-집단이 확인된다.

[0692] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 당해 환자의 암 세포 안에 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 존재는 CXCR4-매개된 암 환자들의 준-집단의 생물 표지다.

[0693] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4-매개된 암 환자들의 하위집단의 생물 표지로 정밀 의료, 환자 계층화, 또는 환자 분류가 가능하다.

[0694] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4-매개된 암 환자들의 하위집단의 생물 표지는 GPCR-기반의 정밀 암 치료제를 허용한다.

[0695] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 당해 환자의 암 세포 안에 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 존재로 CXCR4-매개된 암 환자들의 준-집단이 확인되며; 그리고 이때 당해 환자의 암 세포 안에 존재하는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 GPCRx는 다음으로 구성된 군에서 선택된다: ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3.

[0696] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 당해 환자의 암 세포 안에 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 존재는 CXCR4-매개된 암 환자들의 준-집단의 생물표지이며; 그리고 당해 환자의 암 세포 안에 존재 하는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 GPCRx는 다음으로 구성된 군에서 선택된다: ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3.

[0697] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 억제제는 항체이다.

[0698] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머-선택적 시약은 항체이다.

[0699] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 항체는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 이중-특이적 항체이다.

[0700] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 항체는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 헤테로머-특이적 항체이다.

[0701] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 억제제는 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 이중특이적 리간드(들)이다.

[0702] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 예를 들면, Beck a 외., "Strategies and challenges for the next generation of antibody-drug conjugates", Nature Reviews Drug Discovery, 16:315-337, (2017) 그리고 Lambert, 외., "Antibody-Drug Conjugates for Cancer Treatment", Annual Review of Medicine, 69:191-207 (2018)-이들 각각은 전문에 본원의 참고자료에 편입된다-에 기술된 바와 같이, 상기 항체는 항체-약물 콘쥬게이트 (ADC)이다.

[0703] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 방법은 다음을 포함한다: 당해 환자에게 CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합을 투여하고; 이때: i) CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 갖고; 그리고 ii) 상기 투여된 억제제 또는 억제제들의 조합은 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달을 억제한다.

[0704] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 이를 테면, CXCR4-GPCRx 헤테로머를 포함하는 세포를 갖는 환자의 암 치료용 약제학적 키트 또는 약제학적 조성물은 CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 및 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제 또는 억제제들의 조합을 포함하고; 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머는 강화된 하류 신호전달을 갖는다.

[0705] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자의 암 진행은 상기 억제제들의 조합을 투여할 때, 전술한 환자에게 단일 억제제로써 CXCR4 억제제 또는 GPCRx 억제제를 투여하는 것과 비교하여, 5-100% 이상, 10-100% 이상, 20-100% 이상, 30-100% 이상, 40-100% 이상, 50-100% 이상, 60-100% 이상, 75-100% 이상, 5-75% 이상, 5-50% 이상, 또는 5-25% 이상 범위로 감소된다.

[0706] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4 억제제의 효능은 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에게 GPCRx 억제제와 조합하여 투여할 때, CXCR4 억제제를 단일 억제제로 투여하였을 때 효과와 비교하여, 5-2000%, 5-1750%, 5-1500%, 5-1250%, 5-1000%, 5-900%, 5-800%, 5-700%, 5-500%, 5-400%, 5-250%, 5-200%, 5-100%, 5-75%, 5-50%, 5-40%, 5-30%, 5-25%, 100-2000%, 200-2000%, 300-2000%, 500-2000%, 750-2000%, 1000-2000%, 1250-2000%, 1500-2000%, 5-1500%, 25-1500%, 50-1500%, 75-1500%, 100-1500%, 200-1500%, 300-1500%, 500-1500%, 750-1500%, 1000-1500%, 또는 1250-1500% 범위로 증가된다.

[0707] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 GPCRx 억제제의 효능은 CXCR4-GPCRx 헤테로머를 내포하는 전술한 암 세포를 갖는 당해 환자에게 CXCR4 억제제와 조합하여 투여될 때, GPCRx가 단일 억제제로 투여될 경우 이의 억제제 효능과 비교하여, 5-2000%, 5-1750%, 5-1500%, 5-1250%, 5-1000%, 5-900%, 5-800%, 5-700%, 5-500%, 5-400%, 5-250%, 5-200%, 5-100%, 5-75%, 5-50%, 5-40%, 5-30%, 5-25%, 100-2000%, 200-2000%, 300-2000%, 500-2000%, 750-2000%, 1000-2000%, 1250-2000%, 1500-2000%, 5-1500%, 25-1500%, 50-1500%, 75-1500%, 100-1500%, 200-1500%, 300-1500%, 500-1500%, 750-1500%, 1000-1500%, 또는 1250-1500% 범위로 증가된다.

[0708] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 방법은 CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 그리고 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제들의 조합을 투여하고; 또는 상기 약제학적 키트 또는 약제학적 조성물은 CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 그리고 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 억제제들의 조합을 포함한다.

[0709] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 억제제들의 조합은 CXCR4의 억제제, GPCRx의 억제제, 그리고 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 억제제로 구성된 군에서 선택된 두 가지 억제제들의 조합이다.

[0710] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 방법 CXCR4 억제제와 GPCRx 억제제의 조합을 투여하거나; 또는 상기 약제학적 키트 또는 약제학적 조성물은 CXCR4 억제제와 GPCRx 억제제의 조합을 포함한다.

[0711] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 방법은 CXCR4-GPCRx 헤테로머 억제제를 투여하거나; 또는 상기 약제학적 키트 또는 약제학적 조성물은 CXCR4-GPCRx 헤테로머 억제제를 포함한다.

[0712] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 억제제들의 조합 투여로 인하여 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달은 단일 억제제 투여와 비교하여, 5-2000 배, 5-1750 배, 5-1500 배, 5-1250 배, 5-1000 배, 5-900 배, 5-800 배, 5-700 배, 5-500 배, 5-400 배, 5-250 배, 5-200 배, 5-100 배, 5-75 배, 5-50 배, 5-40 배, 5-30 배, 5-25 배, 100-2000 배, 200-2000 배, 300-2000 배, 500-2000 배, 750-2000 배, 1000-2000 배, 1250-2000 배, 1500-2000 배, 5-1500 배, 25-1500 배, 50-1500 배, 75-1500 배, 100-1500 배, 200-1500 배, 300-1500 배, 500-1500 배, 750-1500 배, 1000-1500 배, 또는 1250-1500 배 범위로 억제된다.

[0713] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 억제제 또는 억제제들의 조합 투여로 인하여 당해 암 환자에서 전술한 CXCR4-GPCRx 헤테로머에 의해 강화된 하류 신호전달은 이들의 각 개별 프로토머 구성에서 CXCR4 프로토머 또는 GPCRx 프로토머로부터의 하류 신호전달 억제와 비교하여, 5-2000 배, 5-1750 배, 5-1500 배, 5-1250 배, 5-1000 배, 5-900 배, 5-800 배, 5-700 배, 5-500 배, 5-400 배, 5-250 배, 5-200 배, 5-100 배, 5-75 배, 5-50 배, 5-40 배, 5-30 배, 5-25 배, 100-2000 배, 200-2000 배, 300-2000 배, 500-2000 배, 750-2000 배, 1000-2000 배, 1250-2000 배, 1500-2000 배, 5-1500 배, 25-1500 배, 50-1500 배, 75-1500 배, 100-1500 배, 200-1500 배, 300-1500 배, 500-1500 배, 750-1500 배, 1000-1500 배, 또는 1250-1500 배 범위에서 억제된다.

[0714] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 CXCR4-GPCRx 헤테로머의 GPCRx는 ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CALCR, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; 예를 들면, ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, C5AR1, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, MLNR, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1, ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADORA2B, ADORA3, ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, NTSR1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, CHRM1, EDNRB, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, CHRM1, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, EDNRB, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, EDNRB, 및 HRH1로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2, CHRM1, 및 HRH1로 구성된 군에서 선택되며; 또는 ADRB2, HRH1, 및 TACR3으로 구성된 군에서 선택된다.

[0715] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 GPCRx 억제제는 ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, C5AR1 억제제, CALCR 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, MLNR 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; 예를 들면, ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, C5AR1 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, MLNR 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, MLNR 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADCYAP1R1 억제제, ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, HRH1 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADORA2B 억제제, ADORA3 억제제, ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, CHRM1

억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, NTSR1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, HRH1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, EDNRB 억제제, HRH1 억제제, 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, EDNRB 억제제, 및 HRH1 억제제로 구성된 군에서 선택되며; ADRB2 억제제, CHRM1 억제제, 및 HRH1 억제제로 구성된 군에서 선택되며; 또는 ADRB2 억제제, HRH1, 억제제 및 TACR3 억제제로 구성된 군에서 선택된다.

[0716] 추가 구체예에서, 상기 구체예들중 임의의 하나 그리고 본원의 추가 구체예들중 하나 또는 그 이상의 구체예의 치료 방법, 억제 방법, 약제학적 조성물, 또는 약제학적 키트, 이때 억제제의 초기 농도는 1-10 uM (또는 이 조합의 각 억제제의 농도 범위 1-10 uM) 범위, 이를 테면, CXCR4-GPCRx 헤테로머로부터의 강화된 하류 신호전달 억제에 효과적, 또는 치료요법적으로 효과적인지에 대하여, 전술한 억제제, 또는 억제제들의 조합을 테스트 및/또는 평가할 때, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 uM 농도이다.

[0717] **재료와 방법**

[0718] **시약**

[0719] BAY 60-6583, CGS 21680, C5a, 아세틸콜린, 모틸린, 뉴로텐신, 센크티드, 살메테롤, C1-IB-MECA, 연어 칼씨토닌, BQ-3020, 옥트레오티드, VU0255035, 세티리진, 피릴라민, MA-2029, 메클리너탄트, 그리고 SSR 146977은 Tocris Bioscience (Ellisville, MO, USA)에서 구입하였다. 갈라닌, 엔도텔린-1, 히스타민, 프로스타글란딘 E2 (PGE2), SRIF-14 (소마토스태틴), 그리고 베타네콜은 Sigma-Aldrich (St Louis, Mo., USA)에서 구입하였다. CXCL12, 혈관작용 내장 펩티드 (VIP), 그리고 CCL2은 R&D systems (Minneapolis, Minnesota, USA)에서 구입하였다. 포르모테롤, 카르베디롤, 옥시부티닌, 보센탄, 히드록시진, 그리고 로라타딘은 Prestwick Chemical (Illkirch, France)에서 온 것들이다. 아젤린-13, 록시프로마이신, AMD3100, 우메클리디니움은 차례로 Cayman Chemical Company (Ann Arbor, MI, USA), Selleckchem (Huston, TX, USA), Medchem express (Princeton, NJ, USA), 그리고 Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA, USA)에서 구하였다.

[0720] **GPCR cDNAs를 포함하는 아데노바이러스 벡터의 구축**

[0721] BiFC 단편, pCS2+VNm10 및 pBiFC-VC155를 함유하는 벡터들은 차례로 Chang-Deng Hu (Hu 외., 2002) 및 James Smith (Saka 외., 2007)에서 구하였다. VNm10은 L46F 및 L64F 돌연변이를 포함하는 비너스 VN154 변이체다. pAdBiFC-VN 벡터와 pAdBiFC-VC 벡터를 구축하기 위하여, VNm10 및 VC155를 포함하는 DNAs는 PCR에 의해 증폭되었고, pShuttle-CMV에 클론되었다. pAdBiFC-VN 벡터와 pAdBiFC-VC 벡터는 AdEasy 벡터 시스템을 이용하여 제조업자의 지침에 따라 (Qbiogene, Carlsbad, CA) pAdEasy-1과 pShuttle-CMV-VNm10 또는 pShuttle-CMV-VC155 사이에 상동성 재조합을 통하여 얻었다. 인간 GPCR cDNA 클론은 Missouri S&T cDNA Resource Center (Rolla, MO, USA)로부터 구하였다. GPCR cDNAs는 PCR에 의해 증폭되었고, pDONR201 벡터 안에 클로닝되었다. GPCR, GPCR-VN, GPCR-VC, 그리고 GPCR-EGFP를 인코드하는 아데노바이러스는 pAdHTS, pAdBiFC-VN, pAdBiFC-VC, 또는 pAdHTS-GFPC 벡터중 하나와 GPCR을 포함하는 엔트리 클론 사이에 시험관 LR 재조합을 통하여 얻었고, 그리고 기존 (Choi 외., 2012; Song 외., 2014)에 설명된 바와 같이 AdHTS 시스템을 이용하여 293A 세포로 후속적으로 형질감염되었다.

[0722] **세포 배양**

[0723] U-2 OS 세포 및 MDA-MB-231 세포는 American Type Culture Collection (Manassas, VA, USA)에서 구입하였고, 293A 세포는 Invitrogen (Carlsbad, CA, USA)에서 구입하였다. U-2 OS 세포, MDA-MB-231 세포, 그리고 293A 세포는 차례로 McCoy의 5A 배지, RPMI 1640, 그리고 변형된 Eagle 배지에서 10% 태아 소 혈청 (FBS), 100 units/페니실린 ml, 그리고 100 μg/스트렙토마이신 ml의 존재 하에서 성장되었다. 세포는 5% CO2, 37 ℃에서 배양되었다.

[0724] **BiFC 검정**

[0725] U-2 OS 세포는 검정색 투명 바닥 96-웰 플레이트에서 10% FBS가 보충된 100 μl의 McCoy의 5A 배지에서 웰당 3000개 세포의 밀도로 씨딩되었다. 다음 날, 당해 세포는 GPCR-VN과 GPCR-VC를 인코딩하는 아데노바이러스 30 MOI로 형질도입되었다. 형질도입 후 3일 시점에, 세포는 2% 포름알데이드로 고정되었고, 핵은 Hoechst 33342 (Invitrogen, Carlsbad, CA)으로 착색되었다. IN Cell Analyzer 1000를 이용하여 영상을 확보하고, IN Cell Developer ToolBox (GE Healthcare, Waukesha, WI)를 이용하여 분석하였다. BiFC 및 핵 영상은 x20 대물렌즈와 360-nm (Hoechst) 및 480-nm 여기(excitation) 필터를 이용하여 가시화하였고, 그리고 차례로 61002 삼색성

(trichroic) 거울과 함께, 460- 및 535-nm 방출(emission) 필터를 통하여 모니터하였다.

[0726] **공동-내재화 검정**

[0727] U-2 OS 세포는 검정색 투명-바닥 96-웰 플레이트에서 10% FBS가 보충된 100 μl의 McCoy의 5A 배지에서 웰당 3000개 세포의 밀도로 씨딩되었다. 다음 날, 당해 세포는 CXCR4-EGFP (10 MOI) 및 GPCR-VC 또는 GPCR-VN (30 MOI)를 인코딩하는 아데노바이러스로 공동-형질도입되었다. 형질도입 후 2일 시점에, 세포는 GPCRx 효현제로 30 분 동안 자극되고, 2% 포름알데히드로 고정되었다. 480 nm의 여기 파장과 535 nm의 방출 파장을 이용하여 IN Cell Analyzer 2000에서 영상을 획득하였다.

[0728] **칼슘 동원 검정**

[0729] MDA-MB-231 인간 유방암 세포는 검정색 투명 바닥 96-웰 플레이트 (Coming Costar, #3340)의 10% FBS가 보충된 100 μL의 RPMI 1640에서 웰당 20,000개 세포를 씨딩하였다. 다음 날, 세포는 10 MOI의 CXCR4와 30 MOI의 HA-VC, 10 MOI의 HA-VC와 30 MOI의 GPCRx, 또는 10 MOI의 CXCR4와 30 MOI의 GPCRx로 공동-형질도입시켰다. HA-VC를 인코딩하는 아데노바이러스를 이용하여 형질도입된 아데노바이러스의 총량을 조정하였다. 2 일 후, 세포는 검정 완충액 (Hank의 평형염액-페놀 레드 없음, 0.1% BSA와 20 mM HEPES는 보충됨, pH7.4)으로 2회 세척되었고, 검청 완충액에 희석된 5 μg/ml의 Cal-520 AM (AAT Bioquest, Sunnyvale, CA, USA)으로 2 hr 동안 착색되었다. 세포는 검정 완충액으로 3회 세척되었고, 37 ℃에서 추가 30 분 동안 항온처리되었다. 플레이트는 FlexStation 3 다중-모드 마이크로플레이트 판독기 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)에 로딩되었고, GPCRx 효현제가 추가되었다. 세포내 Ca2+ 동원은 37 ℃에서 490 nm의 여기 파장과 525 nm의 방출 파장을 이용하여 측정되었다. 길항제 또는 비히클은 효현제 처리 30분 전에 추가되었다.

[0730] **내재화 억제 검정**

[0731] CXCR4-GFP 발현된 U-2 OS 세포는 검정색 투명-바닥 96-웰 플레이트에서 10% FBS가 보충된 100 μl의 McCoy의 5A 배지에서 웰당 5000개 세포의 밀도로 씨딩되었다. 다음 날, 당해 세포는 GPCRx (30 MOI)를 인코딩하는 아데노바이러스로 형질도입되었다. 형질도입 후 2일 시점에, 세포는 SDF-1 및/또는 GPCRx 효현제로 20 분 동안 자극되고, 4% 포름알데히드로 고정되었다. 480 nm의 여기 파장과 535 nm의 방출 파장을 이용하여 IN Cell Analyzer 2500에서 영상을 획득하였다.

[0732] **증식 검정**

[0733] PDCs는 40 μl 배양 배지에서 500ea/웰로 384-웰 플레이트에 씨딩되었다. 하룻밤 성장 후, 상기 세포는 몇 가지 용량의 GPCRx 길항제 존재 하에 또는 DMSO 단독으로 존재 하에 7일간 배양되었다. 이와 같은 7-일 항온처리 후, 15 ul ATPlite(PerkinElmer, Cat. No. 6016739)를 각 웰에 추가하였고, 당해 플레이트는 700 rpm의 오비털 (orbital) 진탕기에서 5분간 교반되었다. 발광 신호는 PerkinElmer TopCount 검출 기기에서 30 분 이내에 탐지되었다. 세포 생존력(viability)은 다음의 식을 이용하여 산출되었다: 세포 생존력 (%) = (길항제 처리할 경우 OD/오직 DMSO만으로 처리할 경우 OD) x 100%.

[0734] **세포에서 근접성 결찰 검정**

[0735] CXCR4를 과다발현시키는 세포 계통인, U2OS-CXCR4는 ADRB2를 발현시키는 아데노바이러스인 Ad-ADRB2를 0, 2.5, 10, 40 MOIs 용량으로 2 일 동안 감염시켰다. 근접성 결찰 검정 (PLA)은 이미 기술된 바와 같이 수행되었다 (Brueggemann 외., 2014; Tripathi 외., 2014). PLA를 수행하기 위하여, 감염된 세포는 16-웰 조직 배양 슬라이드 상에서 4% 파라포름알데히드(PFA)로 고정되었다. 슬라이드는 Duolink에서 제공되는 블락킹 용액으로 차단되었고, 마우스 항-CXCR4 (1:200, Santacruz, Sc-53534), 토끼 항-ADRB2(1:200, Thermo scientific, PA5-33333)와 함께 37℃에서 가습 챔버에서 1 h 동안 항온처리되었다. 그 다음 슬라이드를 세철하고, + 및 - Duolink II PLA 프로브와 콘쥬게이트된 2차 항-토끼 항체 및 항-마우스 항체와 함께 항온처리되었다(1 h 동안 37℃에서). 슬라이드를 다시 한번 세척하고, 그 다음 결찰-리게이즈 용액으로 항온처리하고(30분 동안 37℃에서), 증폭-중합효소 용액(2 h 동안 37℃에서)으로 항온처리하였다. 그 다음 슬라이드에 4',6-디아미디노-2페닐인돌(DAPI)과 함께 Duolink II 탑재 배지의 최소 용적을 15-30 분 동안 탑재하였고, 그리고 PLA 신호 [Duolink In Situ Detection Reagents Green (λ 여기/방출 495/527 nm) 또는 Red (λ 여기/방출 575/623 nm)는 IN Cell Analyzer 2500에서 형광 스팟으로 확인되었다.

[0736] **PDC에서 근접성 결찰 검정**

[0737] PDCs는 100 μl 배양 배지에서 100000 ea/웰로 96-웰 플레이트에 씨딩되었다. PLA를 수행하기 위하여, PDCs는

4% 파라포름알데히드(PFA)로 고정되었고, Duolink에서 제공되는 블락킹 용액으로 차단되었고, 마우스 항-CXCR4 (1:200, Santacruz, Sc-53534), 토끼 항-ADRB2 (1:200, Thermoscientific, PA5-33333), 토끼 항-CHRM1 (1:200, Ls bio, Ls-C313301)와 함께 37℃에서 가습 챔버에서 1 Duolink II PLA 프로브와 콘쥬게이트된 2차 항-토끼 항체 및 항-마우스 항체와 함께 항온처리되었다(1 h 동안 37℃에서). 슬라이드를 다시 한번 세척하고, 그 다음 결찰-리게이즈 용액으로 항온처리하고(30분 동안 37℃에서), 증폭-중합효소 용액(2 h 동안 37℃에서)으로 항온처리하였다. 그 다음 슬라이드에 4',6-디아미디노-2페닐인돌(DAPI)과 함께 Duolink II 탑재 배지의 최소 용적을 15-30 분 동안 탑재하였고, 그리고 PLA 신호 [Duolink In Situ Detection Reagents Green (λ 여기/방출 495/527 nm) 또는 Red (λ 여기/방출 575/623 nm)는 IN Cell Analyzer 2500에서 형광 스팟으로 확인되었다.

[0738] **PDX에서 근접성 결찰 검정**

[0739] PDX 샘플을 이용하여 PLA를 실행하기 위하여, 교아종 환자 유래된 FFPE 샘플이 이용되었다 (Samsung Seoul hospital in Seoul, Korea 제공). FFPE 샘플을 탈-파라핀처리하고, 100℃에서 15분 동안 열 유도된 항원 회수 (retrieval)가 실행되었다. 슬라이드는 Duolink에서 제공되는 블락킹 용액으로 차단되었고, 토끼 항-CXCR4 (1:200, Thermoscientific, PA3305), 마우스 항-ADRB2 (1:200, Santacruz, Sc-271322)와 함께 37℃에서 가습 챔버에서 1 h 동안 항온처리되었다. 다른 공정은 전술한 것 (PDC를 이용한 PLA)과 동일하다.

[0740] **화학주성 이동 검정**

[0741] 트란스웰(transwell) 플레이트(Coming Inc.) (8 μm 포어 크기의 폴리카보네이트 막, 6.5-mm 직경)는 50 μg/mL 콜라겐으로 2 h 동안 37 ℃에서 피복되었다 . MDA-MB-231 세포는 24h 동안 혈청-공급이 없었으며 (starved), 그 다음 탑 챔버에서 0.5% BSA를 함유하는 무-혈청 배지에 도말되었다 (20,000개 세포/100 μL). 길항제 또는 역 효현제는 당해 세포를 트란스웰 플레이트에 도말하기 30분 전, 당해 세포에 추가되었다. 유인물질은 바닥 챔버에 추가되었다. 길항제 또는 역 효현제 또한 바닥 챔버에 포함되었다. 37 ℃에서 3시간 후, 트란스웰 막 상부에 있는 세포는 면봉으로 제거하여 고정시킨 후, 0.1% Crystal violet으로 착색시켰다. 화학주성은 10x 대물렌즈에서 챔버당 10 필드(fields)의 낮은 세포 막 표면 상에서 이주된 세포의 수를 카운팅함으로써 정량화되었다.

[0742] **역 전사-정량적 중합효소 연쇄 반응 (RT-qPCR)**

[0743] TRIzol (Invitrogen)를 이용하여 전체 RNA를 추출하였고, DNase I (Sigma)로 처리 후 1μg의 전체 RNA로부터 cDNA를 합성하였다. RT-qPCR은 SensiFAST SYBR 키트 (Bioline)를 이용하여 수행되었다. 프라이머 서열은 다음과 같다:

[0744] ADRB2-F: 5'-CTCTTCCATCGTGTCCTTCTAC-3' (서열 변호 :1),
ADRB2-R: 5'-AATCTTCTGGAGCTGCCTTT-3' (서열 변호 :2);
HRH1-F: 5'- CCTCTGCTGGATCCCTTATTTC-3' (서열 변호 :3),
HRH1-R: 5'-GGTTCAGTGTGGAGTTGATGTA-3' (서열 변호 :4);
CXCR4-F: 5'- CCACCATCTACTCCATCATCTTC-3' (서열 변호 :5),
CXCR4-R: 5'-ACTTGTCCGTCATGCTTCTC-3' (서열 변호 :6);
β-액틴-F: 5'-GGAAATCGTGCGTGACATTAAG-3' (서열 변호 :7),
β-액틴-R: 5'-AGCTCGTAGCTCTTCTCCA-3' (서열 변호 :8); GAPDH-F:
5'-ATGACATCAAGAAGGTGGTGAA-3' (서열 변호 :9), GAPDH-R:
5'-GCTGTTGAAGTCAGAGGAGAC-3' (서열 변호 :10).

[0745] 임계 사이클 (Ct)은 QuantStudio 3 Real-Time PCR 시스템 (Thermo Fisher Scientific)을 이용하여 산출되었다.

[0746] **렌티바이러스 생산**

[0747] pLenti CMV Hygro DEST (w117-1)는 Eric Campeau & Paul Kaufman (Addgene 플라스미드 # 17454) (Campeau 외., 2009)로부터 기증받았다. CXCR4 cDNA를 LR 재조합을 이용하여 렌티바이러스 벡터 안에 삽입하였다. CXCR4를 인코딩하는 렌티바이러스는 ViraPower Lentiviral Expression Systems (Invirtogen)을 이용하여 만들었다.

[0748] **CXCR4 단독으로 또는 CXCR4와 ADRB2 헤테로머를 발현시키는 안정적인 세포 계통 구축**

[0749] CXCR4를 안정적으로 발현시키는 세포 계통을 확립하기 위하여, 렌티바이러스 스톡 (pLenti-CMV Hygro DEST (Addgene, #17454)에 CXCR4 유전자와 함께 삽입된 pLenti6-CXCR4 발현 구조체의 패키지를 포함)은 ViraPower

Lentiviral Packaging Mix (Invitrogen, K497500)와 pLenti6-CXCR4 발현 구조체를 293FT 생산자 세포 계통에 공동-형질감염시킴으로써 만들어졌다. 이 렌티바이러스 스톡을 A549 세포 계통으로 형질도입시키고, 이어서 하이그로마이신 (100 μ/mL) 및 블라스티씨딘 (5 μg/mL)으로 선별하였다. CXCR4-ADRB2 헤테로머를 안정적으로 발현시키는 세포 계통을 확립하기 위하여, 렌티바이러스 스톡 (pLenti6/V5-DEST Gateway™ 벡터 (Invitrogen, V49610)에 ADRB2 유전자와 함께 삽입된 pLenti6/V5-ADRB2 발현 구조체 패키지 포함)는 ViraPower Packaging Mix와 pLenti6/V5-ADRB2 발현 구조체를 293FT 생산자 세포 계통에 공동-형질감염시킴으로써 만들어졌다. 이 렌티바이러스 스톡을 A549-CXCR4 세포 계통으로 형질도입시키고, 이어서 하이그로마이신 (100 μ/mL) 및 블라스티씨딘 (5 μg/mL)으로 선별하였다. 그 다음 항생제에 저항성을 보이는 클론이 선별되었고, RT-qPCR 및 면역형광이 실행되어, 삽입된 유전자 CXCR4와 ADRB2의 발현을 확인하였다.

[0750] **마우스 이종이식편 모델**

[0751] 5-주령의 암컷 Balb/c-nu/nu 마우스는 Envigo (France)로부터 구하였고, 특정 병원균-없는 동물 시설에 유지시켰다. 동물 사용 및 안락사에 대한 모든 프로토콜은 동물 보호법(Animal Protection Act) 근거한 Qubest Bio (한국) 동물 실험 윤리위원회(Animal Experimental Ethics Committee)의 승인을 받았다. $1x10^7$ 세포의 A549, A549-CXCR4 또는 A549-CXCR4-ADRB2는 100 μL의 포스페이트-완충된 염수 (PBS)에 현탁되었고, 후속적으로 마우스 오른쪽의 쇄골과 흉벽 사이의 겨드랑이 부위에 피하로 이식하였다. 매 3일 또는 4일 차에 전자 칼리퍼(electronic caliper)를 이용하여 종양의 길이(L)와 폭(W)을 측정하고, 다음의 식에 기초하여 종양 용적을 산출함으로써, 종양 성장을 모니터하였다: 용적 = $0.5\ LW^2$.

[0752] **CRISPR/Cas9 시스템을 이용하여 CXCR4 또는 HRH1 녹아웃 세포 생산**

[0753] CXCR4 및 HRH1를 표적으로 하는 CRISPR 가이드 RNAs, 그리고 lentiCRISPR v2 벡터에 클론된 비-표적 가이드 RNA는 GenScript (Piscataway, NJ) (Sanjana 외., 2014)로부터 구입하였다. 가이드 RNA 서열은 다음과 같다:

[0754] TGTTGGCTGCCTTACTACAT (CXCR4 gRNA #1; (서열 번호: 11)),

[0755] CGATCAAGTCCGCCACCGAG (HRH gRNA #3; (서열 번호: 12)), 그리고

[0756] ACGGAGGCTAAGCGTCGCAA (비-표적화 gRNA; (서열 번호: 13)).

[0757] 렌티바이러스는 ViraPower Lentiviral Expression Systems (Invirtogen)을 이용하여 만들었다. MDA-MB-231 세포와 CXCR4를 과다발현시키는 MDA-MB-231 세포 (MDA^{CXCR4+})는 비-표적 gRNA, CXCR4 gRNA, 또는 HRH1 gRNAs를 인코딩하는 렌티바이러스로 형질도입되었다. 세포는 2주 동안 퓨로마이신(3 μM)로 선별되었고, CXCR4 및 HRH1의 상실은 차례로 면역블랏팅 및 칼슘 반응으로 추정되었다. CXCR4를 탐지하기 위하여, 항-CXCR4 토끼 단일클론성 항체 (Abeam, #ab 124824)가 이용되었다.

[0758] **GPCRx 억제제들의 출처**

[0759] 울로쿠플루맙은 Creative Biolabs (Shirley, NY, USA)에서 구입하였다. BKT140은 Chem Scene (Monmouth Junction, NJ, USA)에서 구입하였다. 카라졸롤은 Santacruz Biotech (Dallas, TX, USA)에서 구입하였다. 오사네탄트는 Axon Medchem (Groningen, Netherland)에서 구입하였다. M65 및 CT-(8-32) (연어)는 Bachem (San Diego, CA, USA)에서 구입하였다. PACAP-(6-38), W54011, PMX205, PMX53, AC187, SB 222200, 그리고 탈네탄트는 Tocris Bioscience (Ellisville, MO, USA)에서 구입하였다. 프로프라놀롤, 프로메타진, 사이프로헵타딘, 히드록시진, 암브리센탄 및 마씨텐탄은 차례로 Prestwick Chemical (Illkirch, France), 그리고 Selleckchem (Huston, TX, USA)에서 구입하였다.

[0760] 생체내 연구

[0761] CXCR4와 ADRB2 억제제의 항종양 효능을 테스트하기 위하여, 폐암 세포 계통인 A549에서 CXCR4와 ADRB2를 과다발현시키는 A549-CXCR4-ADRB2 세포 계통을 BALB/c-nu에게 피하 투여하였다(두당(head) $1x10^7$ 세포/100μL PBS). 종양 크기가 50-100 mm^3에 이를 때, 10 마리 마우스 집단에게 비히클(1% 디메틸셀룰로스/PBS), CXCR4 억제제 (PBS에서 제형화된 3 mg/kg의 LY2510924, DMSO에서 제형화된 10 mg/kg의 AMD070), ADRB2 억제제 (1% 디메틸셀룰로스/PBS에서 제형화된 30 mg/kg의 카르베디롤), 또는 CXCR4와 ADRB2 억제제의 조합, AMD070과 카르베디롤의 조합, 또는 LY2510924와 카르베디롤의 조합을 21-23 일 동안 하루 한번씩 투여하였다 LY2510924는 피하 주사되었으며, AMD070 또는 카르베디롤은 경구 투여되었다. 매 3일 또는 4일 차에 종양의 길이(L)와 폭(W)를 측정함으

로써 종양 성장은 모니터되었다: 용적 = 0.5 LW^2.

[0762] **참조자료**

[0763] 다음의 각 참고 문헌은 그 전체가 참고로 본원에 포함된다:

Abd Alla, J., Reeck, K., Langer, A., Streichert, T., and Quitterer, U. (2009). Calreticulin enhances B2 bradykinin receptor maturation and heterodimerization. Biochem Biophys Res Commun *387*, 186-190;

Agrawal, L., Lu, X., Qingwen, J., VanHorn-Ali, Z., Nicolescu, I.V., McDermott, D.H., Murphy, P.M., and Alkhatib, G. (2004). Role for CCR5Delta32 protein in resistance to R5, R5X4, and X4 human immunodeficiency virus type 1 in primary CD4+ cells. J Virol *78*, 2277-2287;

Albrandt, K., Brady, E.M., Moore, C.X., Mull, E., Sierzega, M.E., and Beaumont, K. (1995). Molecular cloning and functional expression of a third isoform of the human calcitonin receptor and partial characterization of the calcitonin receptor gene. Endocrinology *136*, 5377-5384;

Allen, C.D., Ansel, K.M., Low, C., Lesley, R., Tamamura, H., Fujii, N., and Cyster, J.G. (2004). Germinal center dark and light zone organization is mediated by CXCR4 and CXCR5. Nat Immunol *5*, 943-952;

Ara, T., Itoi, M., Kawabata, K., Egawa, T., Tokoyoda, K., Sugiyama, T., Fujii, N., Amagai, T., and Nagasawa, T. (2003). A role of CXC chemokine ligand 12/stromal cell-derived factor-1/pre-B cell growth stimulating factor and its receptor CXCR4 in fetal and adult T cell development *in vivo*. J Immunol *170*, 4649-4655;

Armando, S., Quoyer, J., Lukashova, V., Maiga, A., Percherancier, Y., Heveker, N., Pin, J.P., Prezeau, L., and Bouvier, M. (2014). The chemokine CXC4 and CC2 receptors form homo- and heterooligomers that can engage their signaling G-protein effectors and betaarrestin. FASEB J *28*, 4509-4523;

Barmania, F., and Pepper, M.S. (2013). C-C chemokine receptor type five (CCR5): An emerging target for the control of HIV infection. Appl Transl Genom *2*, 3-16;

[0764] Bartolome, R.A., Ferreiro, S., Miquilena-Colina, M.E., Martinez-Prats, L., Soto-Montenegro, M.L., Garcia-Bernal, D., Vaquero, J.J., Agami, R., Delgado, R., Desco,

M., *et al.* (2009). The chemokine receptor CXCR4 and the metalloproteinase MT1-MMP are mutually required during melanoma metastasis to lungs. Am J Pathol *174*, 602-612;

Batlle, E., and Clevers, H. (2017). Cancer stem cells revisited. Nat Med *23*, 1124-1134;

Bazin, H., Trinquet, E., and Mathis, G. (2002). Time resolved amplification of cryptate emission: a versatile technology to trace biomolecular interactions. J Biotechnol *82*, 233-250;

Beck a et al., "Strategies and challenges for the next generation of antibody-drug conjugates", Nature Reviews Drug Discovery, 16:315-337, (2017);

Bjarnadottir, T.K., Gloriam, D.E., Hellstrand, S.H., Kristiansson, H., Fredriksson, R., and Schioth, H.B. (2006). Comprehensive repertoire and phylogenetic analysis of the G protein-coupled receptors in human and mouse. Genomics *88*, 263-273;

Bodart, V., Anastassov, V., Darkes, M.C., Idzan, S.R., Labrecque, J., Lau, G., Mosi, R.M., Neff, K.S., Nelson, K.L., Ruzek, M.C., *et al.* (2009). Pharmacology of AMD3465: a small molecule antagonist of the chemokine receptor CXCR4. Biochem Pharmacol *78*, 993-1000;

Braadland, P.R., Ramberg, H., Grytli, H.H., and Tasken, K.A. (2014). beta-Adrenergic Receptor Signaling in Prostate Cancer. Front Oncol *4*, 375;

Broxmeyer, H.E., Orschell, C.M., Clapp, D.W., Hangoc, G., Cooper, S., Plett, P.A., Liles, W.C., Li, X., Graham-Evans, B., Campbell, T.B., *et al.* (2005). Rapid mobilization of murine and human hematopoietic stem and progenitor cells with AMD3100, a CXCR4 antagonist. J Exp Med *201*, 1307-1318;

Brueggemann, L.I., Mackie, A.R., Cribbs, L.L., Freda, J., Tripathi, A., Majetschak, M., and Byron, K.L. (2014). Differential protein kinase C-dependent modulation of Kv7.4 and Kv7.5 subunits of vascular Kv7 channels. J Biol Chem *289*, 2099-2111;

Buckley, C.D., Amft, N., Bradfield, P.F., Pilling, D., Ross, E., Arenzana-Seisdedos, F., Amara, A., Curnow, S.J., Lord, J.M., Scheel-Toellner, D., *et al.* (2000). Persistent induction of the chemokine receptor CXCR4 by TGF-beta 1 on synovial T cells contributes to their accumulation within the rheumatoid synovium. J Immunol *165*, 3423-3429;

Burbassi, S., Sengupta, R., and Meucci, O. (2010). Alterations of CXCR4 function in mu-opioid receptor-deficient glia. Eur J Neurosci *32*, 1278-1288;

Burger, J.A., Burger, M., and Kipps, T.J. (1999). Chronic lymphocytic leukemia B cells express functional CXCR4 chemokine receptors that mediate spontaneous migration beneath bone marrow stromal cells. Blood *94*, 3658-3667;

Burger, J.A., and Kipps, T.J. (2006). CXCR4: a key receptor in the crosstalk between tumor cells and their microenvironment. Blood *107*, 1761-1767;

[0765]

Burger, J.A., and Peled, A. (2009). CXCR4 antagonists: targeting the microenvironment in leukemia and other cancers. Leukemia *23*, 43-52;

Burger, J.A., Stewart, D.J., Wald, O., and Peled, A. (2011). Potential of CXCR4 antagonists for the treatment of metastatic lung cancer. Expert Rev Anticancer Ther *11*, 621-630;

Bushlin, I., Gupta, A., Stockton, S.D., Jr., Miller, L.K., and Devi, L.A. (2012). Dimerization with cannabinoid receptors allosterically modulates delta opioid receptor activity during neuropathic pain. PLoS One *7*, e49789;

Callen, L., Moreno, E., Barroso-Chinea, P., Moreno-Delgado, D., Cortes, A., Mallol, J., Casado, V., Lanciego, J.L., Franco, R., Lluis, C., *et al.* (2012). Cannabinoid receptors CB1 and CB2 form functional heteromers in brain. J Biol Chem *287*, 20851-20865;

Campeau, E., Ruhl, V.E., Rodier, F., Smith, C.L., Rahmberg, B.L., Fuss, J.O., Campisi, J., Yaswen, P., Cooper, P.K., and Kaufman, P.D. (2009). A versatile viral system for expression and depletion of proteins in mammalian cells. PLoS One *4*, e6529;

Canonica, G.W., and Blaiss, M. (2011). Antihistaminic, anti-inflammatory, and antiallergic properties of the nonsedating second-generation antihistamine desloratadine: a review of the evidence. World Allergy Organ J *4*, 47-53;

Cao, H.L., Liu, Z.J., and Chang, Z. (2017). Cordycepin induces apoptosis in human bladder cancer cells via activation of A3 adenosine receptors. Tumour Biol *39*, 1010428317706915;

Cashen, A.F., Nervi, B., and DiPersio, J. (2007). AMD3100: CXCR4 antagonist and rapid stem cell-mobilizing agent. Future Oncol *3*, 19-27;

Chatterjee, S., Behnam Azad, B., and Nimmagadda, S. (2014). The intricate role of CXCR4 in cancer. Adv Cancer Res *124*, 31-82;

Chen, J.F., Eltzschig, H.K., and Fredholm, B.B. (2013). Adenosine receptors as drug targets--what are the challenges? Nat Rev Drug Discov *12*, 265-286;

Chen, Y., Ramjiawan, R.R., Reiberger, T., Ng, M.R., Hato, T., Huang, Y., Ochiai, H., Kitahara, S., Unan, E.C., Reddy, T.P., *et al.* (2015). CXCR4 inhibition in tumor microenvironment facilitates anti-programmed death receptor-1 immunotherapy in sorafenib-treated hepatocellular carcinoma in mice. Hepatology *61*, 1591-1602;

Cheng, X., Wang, H., Zhang, X., Zhao, S., Zhou, Z., Mu, X., Zhao, C., and Teng, W. (2017). The Role of SDF-1/CXCR4/CXCR7 in Neuronal Regeneration after Cerebral Ischemia. Front Neurosci *11*, 590;

Cho, K.S., Yoon, S.J., Lee, J.Y., Cho, N.H., Choi, Y.D., Song, Y.S., and Hong, S.J. (2013). Inhibition of tumor growth and histopathological changes following treatment with a chemokine receptor CXCR4 antagonist in a prostate cancer xenograft model.

[0766]

Oncol Lett *6*, 933-938;

Choi, E.W., Seen, D.S., Song, Y.B., Son, H.S., Jung, N.C., Huh, W.K., Hahn, J.S., Kim, K., Jeong, J.Y., and Lee, T.G. (2012). AdHTS: a high-throughput system for generating recombinant adenoviruses. J Biotechnol *162*, 246-252;

Chong, B.F., and Mohan, C. (2009). Targeting the CXCR4/CXCL12 axis in systemic lupus erythematosus. Expert Opin Ther Targets *13*, 1147-1153;

Choy, C., Raytis, J.L., Smith, D.D., Duenas, M., Neman, J., Jandial, R., and Lew, M.W. (2016). Inhibition of beta2-adrenergic receptor reduces triple-negative breast cancer brain metastases: The potential benefit of perioperative beta-blockade. Oncol Rep *35*, 3135-3142;

Chu, T., Shields, L.B.E., Zhang, Y.P., Feng, S.Q., Shields, C.B., and Cai, J. (2017). CXCL12/CXCR4/CXCR7 Chemokine Axis in the Central Nervous System: Therapeutic Targets for Remyelination in Demyelinating Diseases. Neuroscientist *23*, 627-648;

Chung, S.H., Seki, K., Choi, B.I., Kimura, K.B., Ito, A., Fujikado, N., Saijo, S., and Iwakura, Y. (2010). CXC chemokine receptor 4 expressed in T cells plays an important role in the development of collagen-induced arthritis. Arthritis Res Ther *12*, R188;

Comps-Agrar, L., Maurel, D., Rondard, P., Pin, J.P., Trinquet, E., and Prezeau, L. (2011). Cell-surface protein-protein interaction analysis with time-resolved FRET and snap-tag technologies: application to G protein-coupled receptor oligomerization. Methods Mol Biol *756*, 201-214;

Cooper, A.J., Narasimhan, S., Rickels, K., and Lohoff, F.W. (2013). Genetic polymorphisms in the PACAP and PAC1 receptor genes and treatment response to venlafaxine XR in generalized anxiety disorder. Psychiatry Res *210*, 1299-1300;

Covic, L., Gresser, A.L., Talavera, J., Swift, S., and Kuliopulos, A. (2002). Activation and inhibition of G protein-coupled receptors by cell-penetrating membrane-tethered peptides. Proc Natl Acad Sci USA, *99*, 643-648;

Crawford, J.B., Chen, G., Gauthier, D., Wilson, T., Carpenter, B., Baird, I.R., McEachern, E., and Alan Kaller, C.H., Bem Atsma, Renato T. Skerlj, and Gary J. Bridger (2008). AMD070, a CXCR4 Chemokine Receptor Antagonist: Practical Large-Scale Laboratory Synthesis. Organic Process Research & Development *12*, 823-830;

D'Alterio, C., Barbieri, A., Portella, L., Palma, G., Polimeno, M., Riccio, A., Ierano, C., Franco, R., Scognamiglio, G., Bryce, J., *et al.* (2012). Inhibition of stromal CXCR4 impairs development of lung metastases. Cancer Immunol Immunother *61*, 1713-1720;

Dacquin, R., Davey, R.A., Laplace, C., Levasseur, R., Morris, H.A., Goldring, S.R., Gebre-Medhin, S., Galson, D.L., Zajac, J.D., and Karsenty, G. (2004). Amylin inhibits bone resorption while the calcitonin receptor controls bone formation *in vivo*. J Cell

[0767]

Biol *164*, 509-514;

Davey, R.A., Turner, A.G., McManus, J.F., Chiu, W.S., Tjahyono, F., Moore, A.J., Atkins, G.J., Anderson, P.H., Ma, C., Glatt, V., *et al.* (2008). Calcitonin receptor plays a physiological role to protect against hypercalcemia in mice. J Bone Miner Res *23*, 1182-1193;

De Clercq, E. (2003). The bicyclam AMD3100 story. Nat Rev Drug Discov *2*, 581-587;

De Falco, V., Guarino, V., Avilla, E., Castellone, M.D., Salerno, P., Salvatore, G., Faviana, P., Basolo, F., Santoro, M., and Melillo, R.M. (2007). Biological role and potential therapeutic targeting of the chemokine receptor CXCR4 in undifferentiated thyroid cancer. Cancer Res *67*, 11821-11829;

de Graaf, C., Kooistra, A.J., Vischer, H.F., Katritch, V., Kuijer, M., Shiroishi, M., Iwata, S., Shimamura, T., Stevens, R.C., de Esch, I.J., *et al.* (2011). Crystal structure-based virtual screening for fragment-like ligands of the human histamine H(1) receptor. J Med Chem *54*, 8195-8206;

De Klerck, B., Geboes, L., Hatse, S., Kelchtermans, H., Meyvis, Y., Vermeire, K., Bridger, G., Billiau, A., Schols, D., and Matthys, P. (2005). Pro-inflammatory properties of stromal cell-derived factor-1 (CXCL12) in collagen-induced arthritis. Arthritis Res Ther *7*, R1208-1220;

de Nigris, F., Schiano, C., Infante, T., and Napoli, C. (2012). CXCR4 inhibitors: tumor vasculature and therapeutic challenges. Recent Pat Anticancer Drug Discov *7*, 251-264;

de Poorter, C., Baertsoen, K., Lannoy, V., Parmentier, M., and Springael, J.Y. (2013). Consequences of ChemR23 heteromerization with the chemokine receptors CXCR4 and CCR7. PLoS One *8*, e58075;

Debnath, B., Xu, S., Grande, F., Garofalo, A., and Neamati, N. (2013). Small molecule inhibitors of CXCR4. Theranostics *3*, 47-75;

Decaillot, F.M., Kazmi, M.A., Lin, Y., Ray-Saha, S., Sakmar, T.P., and Sachdev, P. (2011). CXCR7/CXCR4 heterodimer constitutively recruits beta-arrestin to enhance cell migration. J Biol Chem *286*, 32188-32197;

Decaillot, F.M., Rozenfeld, R., Gupta, A., and Devi, L.A. (2008). Cell surface targeting of mu-delta opioid receptor heterodimers by RTP4. Proc Natl Acad Sci U S A *105*, 16045-16050;

Demmer, O., Gourni, E., Schumacher, U., Kessler, H., and Wester, H.J. (2011). PET imaging of CXCR4 receptors in cancer by a new optimized ligand. ChemMedChem *6*, 1789-1791;

Depoortere, I. (2001). Motilin and motilin receptors: characterization and functional significance. Verh K Acad Geneeskd Belg *63*, 511-529;

[0768]

Desmet, C.J., Gallenne, T., Prieur, A., Reyal, F., Visser, N.L., Wittner, B.S., Smit, M.A., Geiger, T.R., Laoukili, J., Iskit, S., *et al.* (2013). Identification of a pharmacologically tractable Fra-1/ADORA2B axis promoting breast cancer metastasis. Proc Natl Acad Sci U S A *110*, 5139-5144;

DiPersio, J.F., Micallef, I.N., Stiff, P.J., Bolwell, B.J., Maziarz, R.T., Jacobsen, E., Nademanee, A., McCarty, J., Bridger, G., Calandra, G., *et al.* (2009a). Phase III prospective randomized double-blind placebo-controlled trial of plerixafor plus granulocyte colony-stimulating factor compared with placebo plus granulocyte colony stimulating factor for autologous stem-cell mobilization and transplantation for patients with non-Hodgkin's lymphoma. J Clin Oncol *27*, 4767-4773;

DiPersio, J.F., Stadtmauer, E.A., Nademanee, A., Micallef, I.N., Stiff, P.J., Kaufman, J.L., Maziarz, R.T., Hosing, C., Fruehauf, S., Horwitz, M., *et al.* (2009b). Plerixafor and G-CSF versus placebo and G-CSF to mobilize hematopoietic stem cells for autologous stem cell transplantation in patients with multiple myeloma. Blood *113*, 5720-5726;

Domanska, U.M., Kruizinga, R.C., Nagengast, W.B., Timmer-Bosscha, H., Huls, G., de Vries, E.G., and Walenkamp, A.M. (2013). A review on CXCR4/CXCL12 axis in oncology: no place to hide. Eur J Cancer *49*, 219-230;

Donzella, G.A., Schols, D., Lin, S.W., Este, J.A., Nagashima, K.A., Maddon, P.J., Allaway, G.P., Sakmar, T.P., Henson, G., De Clercq, E., *et al.* (1998). AMD3100, a small molecule inhibitor of HIV-1 entry via the CXCR4 co-receptor. Nat Med *4*, 72-77;

Doranz, B.J., Filion, L.G., Diaz-Mitoma, F., Sitar, D.S., Sahai, J., Baribaud, F., Orsini, M.J., Benovic, J.L., Cameron, W., and Doms, R.W. (2001). Safe use of the CXCR4 inhibitor ALX40-4C in humans. AIDS Res Hum Retroviruses *17*, 475-486;

Doring, Y., Pawig, L., Weber, C., and Noels, H. (2014). The CXCL12/CXCR4 chemokine ligand/receptor axis in cardiovascular disease. Front Physiol *5*, 212;

Doucette, L.P., and Walter, M.A. (2017). Prostaglandins in the eye: Function, expression, and roles in glaucoma. Ophthalmic Genet *38*, 108-116;

Du, Y., Long, Q., Guan, B., and Mu, L. (2015). Prognostic Value of High CXCR4 Expression in Renal Cell Carcinoma: A System Review and Meta-Analysis. Dis Markers *2015*, 568980;

Eidne, K.A., Kroeger, K.M., and Hanyaloglu, A.C. (2002). Applications of novel resonance energy transfer techniques to study dynamic hormone receptor interactions in living cells. Trends Endocrinol Metab *13*, 415-421;

Endres, M.J., Clapham, P.R., Marsh, M., Ahuja, M., Turner, J.D., McKnight, A., Thomas, J.F., Stoebenau-Haggarty, B., Choe, S., Vance, P.J., *et al.* (1996). CD4-independent infection by HIV-2 is mediated by fusin/CXCR4. Cell *87*, 745-756;

[0769]

Fagerberg, L., Hallstrom, B.M., Oksvold, P., Kampf, C., Djureinovic, D., Odeberg, J., Habuka, M., Tahmasebpoor, S., Danielsson, A., Edlund, K., *et al.* (2014). Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics. Mol Cell Proteomics *13*, 397-406;

Fahham, D., Weiss, I.D., Abraham, M., Beider, K., Hanna, W., Shlomai, Z., Eizenberg, O., Zamir, G., Izhar, U., Shapira, O.M., *et al.* (2012). *In vitro* and *in vivo* therapeutic efficacy of CXCR4 antagonist BKT140 against human non-small cell lung cancer. J Thorac Cardiovasc Surg *144*, 1167-1175 e1161;

Farran, B. (2017). An update on the physiological and therapeutic relevance of GPCR oligomers. Pharmacol Res *117*, 303-327;

Feig, C., Jones, J.O., Kraman, M., Wells, R.J., Deonarine, A., Chan, D.S., Connell, C.M., Roberts, E.W., Zhao, Q., Caballero, O.L., *et al.* (2013). Targeting CXCL12 from FAP-expressing carcinoma-associated fibroblasts synergizes with anti-PD-L1 immunotherapy in pancreatic cancer. Proc Natl Acad Sci U S A *110*, 20212-20217;

Fernandez-Duenas, V., Taura, J.J., Cottet, M., Gomez-Soler, M., Lopez-Cano, M., Ledent, C., Watanabe, M., Trinquet, E., Pin, J.P., Lujan, R., *et al.* (2015). Untangling dopamine-adenosine receptor-receptor assembly in experimental parkinsonism in rats. Dis Model Mech *8*, 57-63;

Ferre, S., Baler, R., Bouvier, M., Caron, M.G., Devi, L.A., Durroux, T., Fuxe, K., George, S.R., Javitch, J.A., Lohse, M.J., *et al.* (2009). Building a new conceptual framework for receptor heteromers. Nat Chem Biol *5*, 131-134;

Ferre, S., Navarro, G., Casado, V., Cortes, A., Mallol, J., Canela, E.I., Lluis, C., and Franco, R. (2010). G protein-coupled receptor heteromers as new targets for drug development. Prog Mol Biol Transl Sci *91*, 41-52;

Filmore, D. (2004). It's a GPCR world. Modern Drug Discovery American Chemical Society *2004 (November)*, 24-28;

Fitzpatrick, D., Purves, D., Augustine, G. (2004). "Table 20:2" (Mass: Sunderland);

Fotiadis, D., Jastrzebska, B., Philippsen, A., Muller, D.J., Palczewski, K., and Engel, A. (2006). Structure of the rhodopsin dimer: a working model for G-protein-coupled receptors. Curr Opin Struct Biol *16*, 252-259;

Frederick, A.L., Yano, H., Trifilieff, P., Vishwasrao, H.D., Biezonski, D., Meszaros, J., Urizar, E., Sibley, D.R., Kellendonk, C., Sonntag, K.C., *et al.* (2015). Evidence against dopamine D1/D2 receptor heteromers. Mol Psychiatry *20*, 1373-1385;

Furusato, B., Mohamed, A., Uhlen, M., and Rhim, J.S. (2010). CXCR4 and cancer. Pathol Int *60*, 497-505;

Gao, Z.G., Ye, K., Goblyos, A., Ijzerman, A.P., and Jacobson, K.A. (2008). Flexible modulation of agonist efficacy at the human A3 adenosine receptor by the imidazoquinoline allosteric enhancer LUF6000. BMC Pharmacol *8*, 20;

[0770]

George, S.R., Fan, T., Xie, Z., Tse, R., Tam, V., Varghese, G., and O'Dowd, B.F. (2000). Oligomerization of mu- and delta-opioid receptors. Generation of novel functional properties. J Biol Chem *275*, 26128-26135;

Gerard, C., and Gerard, N.P. (1994). C5A anaphylatoxin and its seven trans-membrane-segment receptor. Annu Rev Immunol *12*, 775-808;

Gianetti, E., and Seminara, S. (2008). Kisspeptin and KISS1R: a critical pathway in the reproductive system. Reproduction *136*, 295-301;

Gomes, I., Ayoub, M.A., Fujita, W., Jaeger, W.C., Pfleger, K.D., and Devi, L.A. (2016). G Protein-Coupled Receptor Heteromers. Annu Rev Pharmacol Toxicol *56*, 403-425;

Gomes, I., Gupta, A., Filipovska, J., Szeto, H.H., Pintar, J.E., and Devi, L.A. (2004). A role for heterodimerization of mu and delta opiate receptors in enhancing morphine analgesia. Proc Natl Acad Sci U S A *101*, 5135-5139;

Goodman, R.L., Lehman, M.N., Smith, J.T., Coolen, L.M., de Oliveira, C.V., Jafarzadehshirazi, M.R., Pereira, A., Iqbal, J., Caraty, A., Ciofi, P., *et al.* (2007). Kisspeptin neurons in the arcuate nucleus of the ewe express both dynorphin A and neurokinin B. Endocrinology *148*, 5752-5760;

Gourni, E., Demmer, O., Schottelius, M., D'Alessandria, C., Schulz, S., Dijkgraaf, I., Schumacher, U., Schwaiger, M., Kessler, H., and Wester, H.J. (2011). PET of CXCR4 expression by a (68)Ga-labeled highly specific targeted contrast agent. J Nucl Med *52*, 1803-1810;

Gregorio, G.G., Masureel, M., Hilger, D., Terry, D.S., Juette, M., Zhao, H., Zhou, Z., Perez-Aguilar, J.M., Hauge, M., Mathiasen, S., *et al.* (2017). Single-molecule analysis of ligand efficacy in beta2AR-G-protein activation. Nature *547*, 68-73;

Griffith, J.W., Sokol, C.L., and Luster, A.D. (2014). Chemokines and chemokine receptors: positioning cells for host defense and immunity. Annu Rev Immunol *32*, 659-702;

Griffiths, K., Dolezal, O., Cao, B., Nilsson, S.K., See, H.B., Pfleger, K.D., Roche, M., Gorry, P.R., Pow, A., Viduka, K., *et al.* (2016). i-bodies, Human Single Domain Antibodies That Antagonize Chemokine Receptor CXCR4. J Biol Chem *291*, 12641-12657;

Griffiths, K., Habiel, D.M., Jaffar, J., Binder, U., Darby, W.G., Hosking, C.G., Skerra, A., Westall, G.P., Hogaboam, C.M., and Foley, M. (2018). Anti-fibrotic Effects of CXCR4-Targeting i-body AD-114 in Preclinical Models of Pulmonary Fibrosis. Sci Rep *8*, 3212;

Guidotti, G., Brambilla, L., and Rossi, D. (2017). Cell-Penetrating Peptides: From Basic Research to Clinics. Trends Pharmacol Sci *38*, 406-424;

Gullberg, M., Gustafsdottir, S.M., Schallmeiner, E., Jarvius, J., Bjarnegard, M.,

[0771]

Betsholtz, C., Landegren, U., and Fredriksson, S. (2004). Cytokine detection by antibody-based proximity ligation. Proc Natl Acad Sci U S A *101*, 8420-8424;

Guo, F., Wang, Y., Liu, J., Mok, S.C., Xue, F., and Zhang, W. (2016). CXCL12/CXCR4: a symbiotic bridge linking cancer cells and their stromal neighbors in oncogenic communication networks. Oncogene *35*, 816-826;

Gustafsdottir, S.M., Schallmeiner, E., Fredriksson, S., Gullberg, M., Soderberg, O., Jarvius, M., Jarvius, J., Howell, M., and Landegren, U. (2005). Proximity ligation assays for sensitive and specific protein analyses. Anal Biochem *345*, 2-9;

Habert-Ortoli, E., Amiranoff, B., Loquet, I., Laburthe, M., and Mayaux, J.F. (1994). Molecular cloning of a functional human galanin receptor. Proc Natl Acad Sci U S A *91*, 9780-9783;

Hansen, J.L., Hansen, J.T., Speerschneider, T., Lyngso, C., Erikstrup, N., Burstein, E.S., Weiner, D.M., Walther, T., Makita, N., Iiri, T., *et al.* (2009). Lack of evidence for AT1R/B2R heterodimerization in COS-7, HEK293, and NIH3T3 cells: how common is the AT1R/B2R heterodimer? J Biol Chem *284*, 1831-1839;

Hartimath, S.V., Domanska, U.M., Walenkamp, A.M., Rudi, A.J.O.D., and de Vries, E.F. (2013). [(9)(9)mTc]O(2)-AMD3100 as a SPECT tracer for CXCR4 receptor imaging. Nucl Med Biol *40*, 507-517;

Hassan, S., Buchanan, M., Jahan, K., Aguilar-Mahecha, A., Gaboury, L., Muller, W.J., Alsawafi, Y., Mourskaia, A.A., Siegel, P.M., Salvucci, O., *et al.* (2011). CXCR4 peptide antagonist inhibits primary breast tumor growth, metastasis and enhances the efficacy of anti-VEGF treatment or docetaxel in a transgenic mouse model. Int J Cancer *129*, 225-232;

Hatse, S., Princen, K., Bridger, G., De Clercq, E., and Schols, D. (2002). Chemokine receptor inhibition by AMD3100 is strictly confined to CXCR4. FEBS Lett *527*, 255-262;

He, S.Q., Zhang, Z.N., Guan, J.S., Liu, H.R., Zhao, B., Wang, H.B., Li, Q., Yang, H., Luo, J., Li, Z.Y., *et al.* (2011). Facilitation of mu-opioid receptor activity by preventing delta-opioid receptor-mediated codegradation. Neuron *69*, 120-131;

Heakal, Y., Woll, M.P., Fox, T., Seaton, K., Levenson, R., and Kester, M. (2011). Neurotensin receptor-1 inducible palmitoylation is required for efficient receptor-mediated mitogenic-signaling within structured membrane microdomains. Cancer Biol Ther *12*, 427-435;

Hendrix, C.W., Collier, A.C., Lederman, M.M., Schols, D., Pollard, R.B., Brown, S., Jackson, J.B., Coombs, R.W., Glesby, M.J., Flexner, C.W., *et al.* (2004). Safety, pharmacokinetics, and antiviral activity of AMD3100, a selective CXCR4 receptor inhibitor, in HIV-1 infection. J Acquir Immune Defic Syndr *37*, 1253-1262;

Hendrix, C.W., Flexner, C., MacFarland, R.T., Giandomenico, C., Fuchs, E.J.,

[0772]

Redpath, E., Bridger, G., and Henson, G.W. (2000). Pharmacokinetics and safety of AMD-3100, a novel antagonist of the CXCR-4 chemokine receptor, in human volunteers. Antimicrob Agents Chemother *44*, 1667-1673;

Henson, B.S., Neubig, R.R., Jang, I., Ogawa, T., Zhang, Z., Carey, T.E., and D'Silva, N.J. (2005). Galanin receptor 1 has anti-proliferative effects in oral squamous cell carcinoma. J Biol Chem *280*, 22564-22571;

Hernandez, P.A., Gorlin, R.J., Lukens, J.N., Taniuchi, S., Bohinjec, J., Francois, F., Klotman, M.E., and Diaz, G.A. (2003). Mutations in the chemokine receptor gene CXCR4 are associated with WHIM syndrome, a combined immunodeficiency disease. Nat Genet *34*, 70-74;

Herrmann, K., Schottelius, M., Lapa, C., Osl, T., Poschenrieder, A., Hanscheid, H., Luckerath, K., Schreder, M., Bluemel, C., Knott, M., *et al.* (2016). First-in-Human Experience of CXCR4-Directed Endoradiotherapy with 177Lu- and 90Y-Labeled Pentixather in Advanced-Stage Multiple Myeloma with Extensive Intra- and Extramedullary Disease. J Nucl Med *57*, 248-251;

Hillion, J., Canals, M., Torvinen, M., Casado, V., Scott, R., Terasmaa, A., Hansson, A., Watson, S., Olah, M.E., Mallol, J., *et al.* (2002). Coaggregation, cointernalization, and codesensitization of adenosine A2A receptors and dopamine D2 receptors. J Biol Chem *277*, 18091-18097;

Hsu, W.T., Jui, H.Y., Huang, Y.H., Su, M.Y., Wu, Y.W., Tseng, W.Y., Hsu, M.C., Chiang, B.L., Wu, K.K., and Lee, C.M. (2015). CXCR4 Antagonist TG-0054 Mobilizes Mesenchymal Stem Cells, Attenuates Inflammation, and Preserves Cardiac Systolic Function in a Porcine Model of Myocardial Infarction. Cell Transplant *24*, 1313-1328;

Hu, C.D., Chinenov, Y., and Kerppola, T.K. (2002). Visualization of interactions among bZIP and Rel family proteins in living cells using bimolecular fluorescence complementation. Mol Cell *9*, 789-798;

Hu, F., Miao, L., Zhao, Y., Xiao, Y.Y., and Xu, Q. (2015). A meta-analysis for C-X-C chemokine receptor type 4 as a prognostic marker and potential drug target in hepatocellular carcinoma. Drug Des Devel Ther *9*, 3625-3633;

Huang, E.H., Singh, B., Cristofanilli, M., Gelovani, J., Wei, C., Vincent, L., Cook, K.R., and Lucci, A. (2009). A CXCR4 antagonist CTCE-9908 inhibits primary tumor growth and metastasis of breast cancer. J Surg Res *155*, 231-236;

Hutter, G., Nowak, D., Mossner, M., Ganepola, S., Mussig, A., Allers, K., Schneider, T., Hofmann, J., Kucherer, C., Blau, O., *et al.* (2009). Long-term control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 stem-cell transplantation. N Engl J Med *360*, 692-698;

Ichiyama, K., Yokoyama-Kumakura, S., Tanaka, Y., Tanaka, R., Hirose, K., Bannai, K., Edamatsu, T., Yanaka, M., Niitani, Y., Miyano-Kurosaki, N., *et al.* (2003). A

[0773]

duodenally absorbable CXC chemokine receptor 4 antagonist, KRH-1636, exhibits a potent and selective anti-HIV-1 activity. Proc Natl Acad Sci U S A *100*, 4185-4190;

Inokuchi, E., Oishi, S., Kubo, T., Ohno, H., Shimura, K., Matsuoka, M., and Fujii, N. (2011). Potent CXCR4 antagonists containing amidine type Peptide bond isosteres. ACS Med Chem Lett *2*, 477-480;

Jafari, S.M., Panjehpour, M., Aghaei, M., Joshaghani, H.R., and Enderami, S.E. (2017). A3 Adenosine Receptor Agonist Inhibited Survival of Breast Cancer Stem Cells via GLI-1 and ERK1/2 Pathway. J Cell Biochem *118*, 2909-2920;

Jahnichen, S., Blanchetot, C., Maussang, D., Gonzalez-Pajuelo, M., Chow, K.Y., Bosch, L., De Vrieze, S., Serruys, B., Ulrichts, H., Vandevelde, W., *et al.* (2010). CXCR4 nanobodies (VHH-based single variable domains) potently inhibit chemotaxis and HIV-1 replication and mobilize stem cells. Proc Natl Acad Sci U S A *107*, 20565-20570;

Jenkinson, S., Thomson, M., McCoy, D., Edelstein, M., Danehower, S., Lawrence, W., Wheelan, P., Spaltenstein, A., and Gudmundsson, K. (2010). Blockade of X4-tropic HIV-1 cellular entry by GSK812397, a potent noncompetitive CXCR4 receptor antagonist. Antimicrob Agents Chemother *54*, 817-824;

Jiang, X.R., Song, A., Bergelson, S., Arroll, T., Parekh, B., May, K., Chung, S., Strouse, R., Mire-Sluis, A., and Schenerman, M. (2011). Advances in the assessment and control of the effector functions of therapeutic antibodies. Nat Rev Drug Discov *10*, 101-111;

Johnson, G. (2002). PDQ Pharmacology (2nd ed.) (Hamilton, Ontario: BC Decker Inc.);

Kalatskaya, I., Berchiche, Y.A., Gravel, S., Limberg, B.J., Rosenbaum, J.S., and Heveker, N. (2009). AMD3100 is a CXCR7 ligand with allosteric agonist properties. Mol Pharmacol *75*, 1240-1247;

Kasama, H., Sakamoto, Y., Kasamatsu, A., Okamoto, A., Koyama, T., Minakawa, Y., Ogawara, K., Yokoe, H., Shiiba, M., Tanzawa, H., *et al.* (2015). Adenosine A2b receptor promotes progression of human oral cancer. BMC Cancer *15*, 563;

Kawai, T., and Malech, H.L. (2009). WHIM syndrome: congenital immune deficiency disease. Curr Opin Hematol *16*, 20-26;

Keating, G.M. (2011). Plerixafor: a review of its use in stem-cell mobilization in patients with lymphoma or multiple myeloma. Drugs *71*, 1623-1647;

Kerppola, T.K. (2006). Design and implementation of bimolecular fluorescence complementation (BiFC) assays for the visualization of protein interactions in living cells. Nat Protoc *1*, 1278-1286;

Kim, H.Y., Hwang, J.Y., Kim, S.W., Lee, H.J., Yun, H.J., Kim, S., and Jo, D.Y. (2010). The CXCR4 Antagonist AMD3100 Has Dual Effects on Survival and Pro-

[0774]

liferation of Myeloma Cells *In vitro*. Cancer Res Treat *42*, 225-234;

Kim, S.Y., Lee, C.H., Midura, B.V., Yeung, C., Mendoza, A., Hong, S.H., Ren, L., Wong, D., Korz, W., Merzouk, A., *et al.* (2008). Inhibition of the CXCR4/CXCL12 chemokine pathway reduces the development of murine pulmonary metastases. Clin Exp Metastasis *25*, 201-211;

Kitazawa, T., Taneike, T., and Ohga, A. (1995). Excitatory action of [Leu13]motilin on the gastrointestinal smooth muscle isolated from the chicken. Peptides *16*, 1243-1252;

Kitazawa, T., Taneike, T., and Ohga, A. (1997). Functional characterization of neural and smooth muscle motilin receptors in the chicken proventriculus and ileum. Regul Pept *71*, 87-95;

Klein, R.S., and Rubin, J.B. (2004). Immune and nervous system CXCL12 and CXCR4: parallel roles in patterning and plasticity. Trends Immunol *25*, 306-314;

Klos, A., Wende, E., Wareham, K.J., and Monk, P.N. (2013). International Union of Basic and Clinical Pharmacology. [corrected]. LXXXVII. Complement peptide C5a, C4a, and C3a receptors. Pharmacol Rev *65*, 500-543;

Knutsson, M., and Edvinsson, L. (2002). Distribution of mRNA for VIP and PACAP receptors in human cerebral arteries and cranial ganglia. Neuroreport *13*, 507-509;

Kristensen, M., Birch, D., and Morck Nielsen, H. (2016). Applications and Challenges for Use of Cell-Penetrating Peptides as Delivery Vectors for Peptide and Protein Cargos. Int J Mol Sci *17*;

Kroeze, W.K., Sassano, M.F., Huang, X.P., Lansu, K., McCorvy, J.D., Giguere, P.M., Sciaky, N., and Roth, B.L. (2015). PRESTO-Tango as an open-source resource for interrogation of the druggable human GPCRome. Nat Struct Mol Biol *22*, 362-369;

Kuhne, M.R., Mulvey, T., Belanger, B., Chen, S., Pan, C., Chong, C., Cao, F., Niekro, W., Kempe, T., Henning, K.A., *et al.* (2013). BMS-936564/MDX-1338: a fully human anti-CXCR4 antibody induces apoptosis *in vitro* and shows antitumor activity *in vivo* in hematologic malignancies. Clin Cancer Res *19*, 357-366;

Lambert, et al., "Antibody-Drug Conjugates for Cancer Treatment", Annual Review of Medicine, 69:191-207 (2018);

LaRocca, T.J., Schwarzkopf, M., Altman, P., Zhang, S., Gupta, A., Gomes, I., Alvin, Z., Champion, H.C., Haddad, G., Hajjar, R.J., *et al.* (2010). beta2-Adrenergic receptor signaling in the cardiac myocyte is modulated by interactions with CXCR4. J Cardiovasc Pharmacol *56*, 548-559;

Law, P.Y., Erickson-Herbrandson, L.J., Zha, Q.Q., Solberg, J., Chu, J., Sarre, A., and Loh, H.H. (2005). Heterodimerization of mu- and delta-opioid receptors occurs at the cell surface only and requires receptor-G protein interactions. J Biol Chem *280*, 11152-11164;

[0775]

Lee, C.H., Kakinuma, T., Wang, J., Zhang, H., Palmer, D.C., Restifo, N.P., and Hwang, S.T. (2006). Sensitization of B16 tumor cells with a CXCR4 antagonist increases the efficacy of immunotherapy for established lung metastases. Mol Cancer Ther *5*, 2592-2599;

Lee, H., Whitfeld, P.L., and Mackay, C.R. (2008). Receptors for complement C5a. The importance of C5aR and the enigmatic role of C5L2. Immunol Cell Biol *86*, 153-160;

Levoye, A., Balabanian, K., Baleux, F., Bachelerie, F., and Lagane, B. (2009). CXCR7 heterodimerizes with CXCR4 and regulates CXCL12-mediated G protein signaling. Blood *113*, 6085-6093;

Li, M., Thompson, D.D., and Paralkar, V.M. (2007). Prostaglandin E(2) receptors in bone formation. Int Orthop *31*, 767-772;

Li, Y.P., Pang, J., Gao, S., Bai, P.Y., Wang, W.D., Kong, P., and Cui, Y. (2017). Role of CXCR4 and SDF1 as prognostic factors for survival and the association with clinicopathology in colorectal cancer: A systematic meta-analysis. Tumour Biol *39*, 1010428317706206;

Liang, J.X., Gao, W., Liang, Y., and Zhou, X.M. (2015). Chemokine receptor CXCR4 expression and lung cancer prognosis: a meta-analysis. Int J Clin Exp Med *8*, 5163-5174;

Liang, Z., Zhan, W., Zhu, A., Yoon, Y., Lin, S., Sasaki, M., Klapproth, J.M., Yang, H., Grossniklaus, H.E., Xu, J., *et al.* (2012). Development of a unique small molecule modulator of CXCR4. PLoS One *7*, e34038;

Liao, Y.X., Fu, Z.Z., Zhou, C.H., Shan, L.C., Wang, Z.Y., Yin, F., Zheng, L.P., Hua, Y.Q., and Cai, Z.D. (2015). AMD3100 reduces CXCR4-mediated survival and metastasis of osteosarcoma by inhibiting JNK and Akt, but not p38 or Erk1/2, pathways in *in vitro* and mouse experiments. Oncol Rep *34*, 33-42;

Liles, W.C., Broxmeyer, H.E., Rodger, E., Wood, B., Hubel, K., Cooper, S., Hangoc, G., Bridger, G.J., Henson, G.W., Calandra, G., *et al.* (2003). Mobilization of hematopoietic progenitor cells in healthy volunteers by AMD3100, a CXCR4 antagonist. Blood *102*, 2728-2730;

Ling, X., Spaeth, E., Chen, Y., Shi, Y., Zhang, W., Schober, W., Hail, N., Jr., Konopleva, M., and Andreeff, M. (2013). The CXCR4 antagonist AMD3465 regulates oncogenic signaling and invasiveness *in vitro* and prevents breast cancer growth and metastasis *in vivo*. PLoS One *8*, e58426;

Liu, S.H., Gu, Y., Pascual, B., Yan, Z., Hallin, M., Zhang, C., Fan, C., Wang, W., Lam, J., Spilker, M.E., *et al.* (2017). A novel CXCR4 antagonist IgG1 antibody (PF-06747143) for the treatment of hematologic malignancies. Blood Adv *1*, 1088-1100;

[0776]

Liu, X.Y., Liu, Z.C., Sun, Y.G., Ross, M., Kim, S., Tsai, F.F., Li, Q.F., Jeffry, J., Kim, J.Y., Loh, H.H., *et al.* (2011). Unidirectional cross-activation of GRPR by MOR1D uncouples itch and analgesia induced by opioids. Cell *147*, 447-458;

Lohse, M.J., Nuber, S., and Hoffmann, C. (2012). Fluorescence/bioluminescence resonance energy transfer techniques to study G-protein-coupled receptor activation and signaling. Pharmacol Rev *64*, 299-336;

Lowe, S.R., Pothen, J., Quinn, J.W., Rundle, A., Bradley, B., Galea, S., Ressler, K.J., and Koenen, K.C. (2015). Gene-by-social-environment interaction (GxSE) between ADCYAP1R1 genotype and neighborhood crime predicts major depression symptoms in trauma-exposed women. J Affect Disord *187*, 147-150;

Machado-Carvalho, L., Roca-Ferrer, J., and Picado, C. (2014). Prostaglandin E2 receptors in asthma and in chronic rhinosinusitis/nasal polyps with and without aspirin hypersensitivity. Respir Res *15*, 100;

Markovic, T., Jakopin, Z., Dolenc, M.S., and Mlinaric-Rascan, I. (2017). Structural features of subtype-selective EP receptor modulators. Drug Discov Today *22*, 57-71;

Marlo, J.E., Niswender, C.M., Days, E.L., Bridges, T.M., Xiang, Y., Rodriguez, A.L., Shirey, J.K., Brady, A.E., Nalywajko, T., Luo, Q., *et al.* (2009). Discovery and characterization of novel allosteric potentiators of M1 muscarinic receptors reveals multiple modes of activity. Mol Pharmacol *75*, 577-588;

Martinez-Munoz, L., Barroso, R., Dyrhaug, S.Y., Navarro, G., Lucas, P., Soriano, S.F., Vega, B., Costas, C., Munoz-Fernandez, M.A., Santiago, C., *et al.* (2014). CCR5/CD4/CXCR4 oligomerization prevents HIV-1 gp120IIIB binding to the cell surface. Proc Natl Acad Sci U S A *111*, E1960-1969;

uda, M., Nakashima, H., Ueda, T., Naba, H., Ikoma, R., Otaka, A., Terakawa, Y., Tamamura, H., Ibuka, T., Murakami, T., *et al.* (1992). A novel anti-HIV synthetic peptide, T-22 ([Tyr5,12,Lys7]-polyphemusin II). Biochem Biophys Res Commun *189*, 845-850;

Medhurst, A.D., Jennings, C.A., Robbins, M.J., Davis, R.P., Ellis, C., Winborn, K.Y., Lawrie, K.W., Hervieu, G., Riley, G., Bolaky, J.E., *et al.* (2003). Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin. J Neurochem *84*, 1162-1172;

Miller, G.M., Alexander, J.M., Bikkal, H.A., Katznelson, L., Zervas, N.T., and Klibanski, A. (1995). Somatostatin receptor subtype gene expression in pituitary adenomas. J Clin Endocrinol Metab *80*, 1386-1392;

Milligan, G. (2008). A day in the life of a G protein-coupled receptor: the contribution to function of G protein-coupled receptor dimerization. Br J Pharmacol *153 Suppl 1*, S216-229;

[0777] Miwatashi, S., Arikawa, Y., Matsumoto, T., Uga, K., Kanzaki, N., Imai, Y.N., and

Ohkawa, S. (2008). Synthesis and biological activities of 4-phenyl-5-pyridyl-1,3-thiazole derivatives as selective adenosine A3 antagonists. Chem Pharm Bull (Tokyo) *56*, 1126-1137;

Moreno, J.J. (2017). Eicosanoid receptors: Targets for the treatment of disrupted intestinal epithelial homeostasis. Eur J Pharmacol *796*, 7-19;

imoto, M., Matsuo, Y., Koide, S., Tsuboi, K., Shamoto, T., Sato, T., Saito, K., Takahashi, H., and Takeyama, H. (2016). Enhancement of the CXCL12/CXCR4 axis due to acquisition of gemcitabine resistance in pancreatic cancer: effect of CXCR4 antagonists. BMC Cancer *16*, 305;

Muller, A., Homey, B., Soto, H., Ge, N., Catron, D., Buchanan, M.E., McClanahan, T., Murphy, E., Yuan, W., Wagner, S.N., *et al.* (2001). Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. Nature *410*, 50-56;

Murakami, T., Kumakura, S., Yamazaki, T., Tanaka, R., Hamatake, M., Okuma, K., Huang, W., Toma, J., Komano, J., Yanaka, M., *et al.* (2009). The novel CXCR4 antagonist KRH-3955 is an orally bioavailable and extremely potent inhibitor of human immunodeficiency virus type 1 infection: comparative studies with AMD3100. Antimicrob Agents Chemother *53*, 2940-2948;

Mustafa, S., Ayoub, M.A., Pfleger, K.D.G. (2010). Uncovering GPCR heteromer-biased ligands. Drug Discov Today Technol *7*, e1-e94;

Mustafa, S., and Pfleger, K.D. (2011). G protein-coupled receptor heteromer identification technology: identification and profiling of GPCR heteromers. J Lab Autom *16*, 285-291;

Mustafa, S., See, H.B., Seeber, R.M., Armstrong, S.P., White, C.W., Ventura, S., Ayoub, M.A., and Pfleger, K.D. (2012). Identification and profiling of novel alpha1A-adrenoceptor-CXC chemokine receptor 2 heteromer. J Biol Chem *287*, 12952-12965;

Nakai, A., Hayano, Y., Furuta, F., Noda, M., and Suzuki, K. (2014). Control of lymphocyte egress from lymph nodes through beta2-adrenergic receptors. J Exp Med *211*, 2583-2598;

Nakasone, T., Kumakura, S., Yamamoto, M., Murakami, T., and Yamamoto, N. (2013). Single oral administration of the novel CXCR4 antagonist, KRH-3955, induces an efficient and long-lasting increase of white blood cell count in normal macaques, and prevents CD4 depletion in SHIV-infected macaques: a preliminary study. Med Microbiol Immunol *202*, 175-182;

Norel, X., Jones, R.L., Giembycz, M., Narumiya, S., Woodward, D.F., Coleman, R.A., Abramovitz, M., Breyer, R.M., Hills, R. (2016). Prostanoid receptors: EP3 receptor. IUPHAR/BPS Guide to Pharmacology;

[0778] O'Boyle, G., Swidenbank, I., Marshall, H., Barker, C.E., Armstrong, J., White, S.A.,

Fricker, S.P., Plummer, R., Wright, M., and Lovat, P.E. (2013). Inhibition of CXCR4-CXCL12 chemotaxis in melanoma by AMD11070. Br J Cancer *108*, 1634-1640;

O'Callaghan, K., Kuliopulos, A., and Covic, L. (2012). Turning receptors on and off with intracellular pepducins: new insights into G-protein-coupled receptor drug development. J Biol Chem *287*, 12787-12796;

O'Callaghan, G., and Houston, A. (2015). Prostaglandin E2 and the EP receptors in malignancy: possible therapeutic targets? Br J Pharmacol *172*, 5239-5250;

Ogi, K., Miyamoto, Y., Masuda, Y., Habata, Y., Hosoya, M., Ohtaki, T., Masuo, Y., Onda, H., and Fujino, M. (1993). Molecular cloning and functional expression of a cDNA encoding a human pituitary adenylate cyclase activating polypeptide receptor. Biochem Biophys Res Commun *196*, 1511-1521;

Okada, T., Ernst, O.P., Palczewski, K., and Hofmann, K.P. (2001). Activation of rhodopsin: new insights from structural and biochemical studies. Trends Biochem Sci *26*, 318-324;

Otani, Y., Kijima, T., Kohmo, S., Oishi, S., Minami, T., Nagatomo, I., Takahashi, R., Hirata, H., Suzuki, M., Inoue, K., *et al.* (2012). Suppression of metastases of small cell lung cancer cells in mice by a peptidic CXCR4 inhibitor TF14016. FEBS Lett *586*, 3639-3644;

Overington, J.P., Al-Lazikani, B., and Hopkins, A.L. (2006). How many drug targets are there? Nat Rev Drug Discov *5*, 993-996;

Owen, J.L., and Mohamadzadeh, M. (2013). Macrophages and chemokines as mediators of angiogenesis. Front Physiol *4*, 159;

Page, N.M., Bell, N.J., Gardiner, S.M., Manyonda, I.T., Brayley, K.J., Strange, P.G., and Lowry, P.J. (2003). Characterization of the endokinins: human tachykinins with cardiovascular activity. Proc Natl Acad Sci U S A *100*, 6245-6250;

Pal, J., Patil, V., Kumar, A., Kaur, K., Sarkar, C., and Somasundaram, K. (2018). Loss-of-Function Mutations in Calcitonin Receptor (CALCR) Identify Highly Aggressive Glioblastoma with Poor Outcome. Clin Cancer Res *24*, 1448-1458;

Parameswaran, R., Yu, M., Lim, M., Groffen, J., and Heisterkamp, N. (2011). Combination of drug therapy in acute lymphoblastic leukemia with a CXCR4 antagonist. Leukemia *25*, 1314-1323;

Park, P.S., and Palczewski, K. (2005). Diversifying the repertoire of G protein-coupled receptors through oligomerization. Proc Natl Acad Sci U S A *102*, 8793-8794;

Patel, K., Dixit, V.D., Lee, J.H., Kim, J.W., Schaffer, E.M., Nguyen, D., and Taub, D.D. (2012). Identification of ghrelin receptor blocker, D-[Lys3] GHRP-6 as a CXCR4 receptor antagonist. Int J Biol Sci *8*, 108-117;

[0779] Patel, R.C., Kumar, U., Lamb, D.C., Eid, J.S., Rocheville, M., Grant, M., Rani, A.,

Hazlett, T., Patel, S.C., Gratton, E., *et al.* (2002). Ligand binding to somatostatin receptors induces receptor-specific oligomer formation in live cells. Proc Natl Acad Sci U S A *99*, 3294-3299;

Peled, A., Wald, O., and Burger, J. (2012). Development of novel CXCR4-based therapeutics. Expert Opin Investig Drugs *21*, 341-353;

Pello, O.M., Martinez-Munoz, L., Parrillas, V., Serrano, A., Rodriguez-Frade, J.M., Toro, M.J., Lucas, P., Monterrubio, M., Martinez, A.C., and Mellado, M. (2008). Ligand stabilization of CXCR4/delta-opioid receptor heterodimers reveals a mechanism for immune response regulation. Eur J Immunol *38*, 537-549;

Peng, S.B., Zhang, X., Paul, D., Kays, L.M., Gough, W., Stewart, J., Uhlik, M.T., Chen, Q., Hui, Y.H., Zamek-Gliszczynski, M.J., *et al.* (2015). Identification of LY2510924, a novel cyclic peptide CXCR4 antagonist that exhibits antitumor activities in solid tumor and breast cancer metastatic models. Mol Cancer Ther *14*, 480-490;

Pfeiffer, M., Koch, T., Schroder, H., Laugsch, M., Hollt, V., and Schulz, S. (2002). Heterodimerization of somatostatin and opioid receptors cross-modulates phosphorylation, internalization, and desensitization. J Biol Chem *277*, 19762-19772;

Pfleger, K.D., and Eidne, K.A. (2006). Illuminating insights into protein-protein interactions using bioluminescence resonance energy transfer (BRET). Nat Methods *3*, 165-174;

Pin, J.P., Neubig, R., Bouvier, M., Devi, L., Filizola, M., Javitch, J.A., Lohse, M.J., Milligan, G., Palczewski, K., Parmentier, M., *et al.* (2007). International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXVII. Recommendations for the recognition and nomenclature of G protein-coupled receptor heteromultimers. Pharmacol Rev *59*, 5-13;

Planesas, J.M., Perez-Nueno, V.I., Borrell, J.I., and Teixido, J. (2015). Studying the binding interactions of allosteric agonists and antagonists of the CXCR4 receptor. J Mol Graph Model *60*, 1-14;

Pondel, M. (2000). Calcitonin and calcitonin receptors: bone and beyond. Int J Exp Pathol *81*, 405-422;

Qin, K., Dong, C., Wu, G., and Lambert, N.A. (2011). Inactive-state preassembly of G(q)-coupled receptors and G(q) heterotrimers. Nat Chem Biol *7*, 740-747;

Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M., Moore, P.K. (2003). "Ch. 10", Pharmacology (5th ed.). (Elsevier Churchill Livingstone);

Redondo-Munoz, J., Escobar-Diaz, E., Samaniego, R., Terol, M.J., Garcia-Marco, J.A., and Garcia-Pardo, A. (2006). MMP-9 in B-cell chronic lymphocytic leukemia is up-regulated by alpha4beta1 integrin or CXCR4 engagement via distinct signaling pathways, localizes to podosomes, and is involved in cell invasion and migration. Blood *108*, 3143-3151;

[0780]

Reubi, J.C. (2000). *In vitro* evaluation of VIP/PACAP receptors in healthy and diseased human tissues. Clinical implications. Ann N Y Acad Sci *921*, 1-25;

Reubi, J.C., Laderach, U., Waser, B., Gebbers, J.O., Robberecht, P., and Laissue, J.A. (2000). Vasoactive intestinal peptide/pituitary adenylate cyclase-activating peptide receptor subtypes in human tumors and their tissues of origin. Cancer Res *60*, 3105-3112;

Reya, T., Morrison, S.J., Clarke, M.F., and Weissman, I.L. (2001). Stem cells, cancer, and cancer stem cells. Nature *414*, 105-111;

Rios, C., Gomes, I., and Devi, L.A. (2006). mu opioid and CB1 cannabinoid receptor interactions: reciprocal inhibition of receptor signaling and neuritogenesis. Br J Pharmacol *148*, 387-395;

Roccaro, A.M., Sacco, A., Purschke, W.G., Moschetta, M., Buchner, K., Maasch, C., Zboralski, D., Zollner, S., Vonhoff, S., Mishima, Y., *et al.* (2014). SDF-1 inhibition targets the bone marrow niche for cancer therapy. Cell Rep *9*, 118-128;

Rodriguez-Frade, J.M., del Real, G., Serrano, A., Hernanz-Falcon, P., Soriano, S.F., Vila-Coro, A.J., de Ana, A.M., Lucas, P., Prieto, I., Martinez, A.C., *et al.* (2004). Blocking HIV-1 infection via CCR5 and CXCR4 receptors by acting in trans on the CCR2 chemokine receptor. EMBO J *23*, 66-76;

Roess, D.A., Horvat, R.D., Munnelly, H., and Barisas, B.G. (2000). Luteinizing hormone receptors are self-associated in the plasma membrane. Endocrinology *141*, 4518-4523;

Rozenfeld, R., Bushlin, I., Gomes, I., Tzavaras, N., Gupta, A., Neves, S., Battini, L., Gusella, G.L., Lachmann, A., Ma'ayan, A., *et al.* (2012). Receptor heteromerization expands the repertoire of cannabinoid signaling in rodent neurons. PLoS One *7*, e29239;

Rozenfeld, R., and Devi, L.A. (2010). Receptor heteromerization and drug discovery. Trends Pharmacol Sci *31*, 124-130;

Rubin, J.B., Kung, A.L., Klein, R.S., Chan, J.A., Sun, Y., Schmidt, K., Kieran, M.W., Luster, A.D., and Segal, R.A. (2003). A small-molecule antagonist of CXCR4 inhibits intracranial growth of primary brain tumors. Proc Natl Acad Sci U S A *100*, 13513-13518;

Saka, Y., Hagemann, A.I., Piepenburg, O., and Smith, J.C. (2007). Nuclear accumulation of Smad complexes occurs only after the midblastula transition in Xenopus. Development *134*, 4209-4218;

Sanjana, N.E., Shalem, O., and Zhang, F. (2014). Improved vectors and genome-wide libraries for CRISPR screening. Nat Methods *11*, 783-784;

Sato-Jin, K., Nishimura, E.K., Akasaka, E., Huber, W., Nakano, H., Miller, A., Du, J., Wu, M., Hanada, K., Sawamura, D., *et al.* (2008). Epistatic connections between

[0781]

microphthalmia-associated transcription factor and endothelin signaling in Waardenburg syndrome and other pigmentary disorders. FASEB J *22*, 1155-1168;

Scala, S. (2015). Molecular Pathways: Targeting the CXCR4-CXCL12 Axis--Untapped Potential in the Tumor Microenvironment. Clin Cancer Res *21*, 4278-4285;

Schimanski, C.C., Bahre, R., Gockel, I., Muller, A., Frerichs, K., Horner, V., Teufel, A., Simiantonaki, N., Biesterfeld, S., Wehler, T., *et al.* (2006). Dissemination of hepatocellular carcinoma is mediated via chemokine receptor CXCR4. Br J Cancer *95*, 210-217;

Sedor, J.R., and Abboud, H.E. (1984). Actions and metabolism of histamine in glomeruli and tubules of the human kidney. Kidney Int *26*, 144-152;

Shen, Z., Chen, X., Li, Q., Zhou, C., Li, J., Ye, H., and Duan, S. (2016). SSTR2 promoter hypermethylation is associated with the risk and progression of laryngeal squamous cell carcinoma in males. Diagn Pathol *11*, 10;

Sicoli, D., Jiao, X., Ju, X., Velasco-Velazquez, M., Ertel, A., Addya, S., Li, Z., Ando, S., Fatatis, A., Paudyal, B., *et al.* (2014). CCR5 receptor antagonists block metastasis to bone of v-Src oncogene-transformed metastatic prostate cancer cell lines. Cancer Res *74*, 7103-7114;

Sierro, F., Biben, C., Martinez-Munoz, L., Mellado, M., Ransohoff, R.M., Li, M., Woehl, B., Leung, H., Groom, J., Batten, M., *et al.* (2007). Disrupted cardiac development but normal hematopoiesis in mice deficient in the second CXCL12/SDF-1 receptor, CXCR7. Proc Natl Acad Sci U S A *104*, 14759-14764;

Smith, M.C., Luker, K.E., Garbow, J.R., Prior, J.L., Jackson, E., Piwnica-Worms, D., and Luker, G.D. (2004). CXCR4 regulates growth of both primary and metastatic breast cancer. Cancer Res *64*, 8604-8612;

Sohy, D., Parmentier, M., and Springael, J.Y. (2007). Allosteric transinhibition by specific antagonists in CCR2/CXCR4 heterodimers. J Biol Chem *282*, 30062-30069;

Sohy, D., Yano, H., de Nadai, P., Urizar, E., Guillabert, A., Javitch, J.A., Parmentier, M., and Springael, J.Y. (2009). Hetero-oligomerization of CCR2, CCR5, and CXCR4 and the protean effects of "selective" antagonists. J Biol Chem *284*, 31270-31279;

Song, J.S., Kang, C.M., Kang, H.H., Yoon, H.K., Kim, Y.K., Kim, K.H., Moon, H.S., and Park, S.H. (2010). Inhibitory effect of CXC chemokine receptor 4 antagonist AMD3100 on bleomycin induced murine pulmonary fibrosis. Exp Mol Med *42*, 465-472;

Song, Y.B., Park, C.O., Jeong, J.Y., and Huh, W.K. (2014). Monitoring G protein-coupled receptor activation using an adenovirus-based beta-arrestin bimolecular fluorescence complementation assay. Anal Biochem *449*, 32-41;

Stefan, E., Aquin, S., Berger, N., Landry, C.R., Nyfeler, B., Bouvier, M., and Michnick, S.W. (2007). Quantification of dynamic protein complexes using Renilla lu-

[0782]

ciferase fragment complementation applied to protein kinase A activities *in vivo*. Proc Natl Acad Sci U S A *104*, 16916-16921;

Stevenson, L., Allen, W.L., Turkington, R., Jithesh, P.V., Proutski, I., Stewart, G., Lenz, H.J., Van Schaeybroeck, S., Longley, D.B., and Johnston, P.G. (2012). Identification of galanin and its receptor GalR1 as novel determinants of resistance to chemotherapy and potential biomarkers in colorectal cancer. Clin Cancer Res *18*, 5412-5426;

Stone, N.D., Dunaway, S.B., Flexner, C., Tierney, C., Calandra, G.B., Becker, S., Cao, Y.J., Wiggins, I.P., Conley, J., MacFarland, R.T., *et al.* (2007). Multiple-dose escalation study of the safety, pharmacokinetics, and biologic activity of oral AMD070, a selective CXCR4 receptor inhibitor, in human subjects. Antimicrob Agents Chemother *51*, 2351-2358;

Struyf, S., Menten, P., Lenaerts, J.P., Put, W., D'Haese, A., De Clercq, E., Schols, D., Proost, P., and Van Damme, J. (2001). Diverging binding capacities of natural LD78beta isoforms of macrophage inflammatory protein-1alpha to the CC chemokine receptors 1, 3 and 5 affect their anti-HIV-1 activity and chemotactic potencies for neutrophils and eosinophils. Eur J Immunol *31*, 2170-2178;

Sugimoto, Y., Inazumi, T., and Tsuchiya, S. (2015). Roles of prostaglandin receptors in female reproduction. J Biochem *157*, 73-80;

Swift, S.L., Burns, J.E., and Maitland, N.J. (2010). Altered expression of neurotensin receptors is associated with the differentiation state of prostate cancer. Cancer Res *70*, 347-356;

Taichman, R.S., Cooper, C., Keller, E.T., Pienta, K.J., Taichman, N.S., and McCauley, L.K. (2002). Use of the stromal cell-derived factor-1/CXCR4 pathway in prostate cancer metastasis to bone. Cancer Res *62*, 1832-1837;

Tamamura, H., Xu, Y., Hattori, T., Zhang, X., Arakaki, R., Kanbara, K., Omagari, A., Otaka, A., Ibuka, T., Yamamoto, N., *et al.* (1998). A low-molecular-weight inhibitor against the chemokine receptor CXCR4: a strong anti-HIV peptide T140. Biochem Biophys Res Commun *253*, 877-882;

Tanaka, H., Moroi, K., Iwai, J., Takahashi, H., Ohnuma, N., Hori, S., Takimoto, M., Nishiyama, M., Masaki, T., Yanagisawa, M., *et al.* (1998). Novel mutations of the endothelin B receptor gene in patients with Hirschsprung's disease and their characterization. J Biol Chem *273*, 11378-11383;

Tanaka, T., Nomura, W., Narumi, T., Esaka, A., Oishi, S., Ohashi, N., Itotani, K., Evans, B.J., Wang, Z.X., Peiper, S.C., *et al.* (2009). Structure-activity relationship study on artificial CXCR4 ligands possessing the cyclic pentapeptide scaffold: the exploration of amino acid residues of pentapeptides by substitutions of several aromatic amino acids. Org Biomol Chem *7*, 3805-3809;

[0783]

Tanaka, T., Tsutsumi, H., Nomura, W., Tanabe, Y., Ohashi, N., Esaka, A., Ochiai, C., Sato, J., Itotani, K., Murakami, T., *et al.* (2008). Structure-activity relationship study of CXCR4 antagonists bearing the cyclic pentapeptide scaffold: identification of the new pharmacophore. Org Biomol Chem *6*, 4374-4377;

Terrillon, S., and Bouvier, M. (2004). Roles of G-protein-coupled receptor dimerization. EMBO Rep *5*, 30-34;

Topaloglu, A.K., Reimann, F., Guclu, M., Yalin, A.S., Kotan, L.D., Porter, K.M., Serin, A., Mungan, N.O., Cook, J.R., Imamoglu, S., *et al.* (2009). TAC3 and TACR3 mutations in familial hypogonadotropic hypogonadism reveal a key role for Neurokinin B in the central control of reproduction. Nat Genet *41*, 354-358;

Torvinen, M., Torri, C., Tombesi, A., Marcellino, D., Watson, S., Lluis, C., Franco, R., Fuxe, K., and Agnati, L.F. (2005). Trafficking of adenosine A2A and dopamine D2 receptors. J Mol Neurosci *25*, 191-200;

Tripathi, A., Davis, J.D., Staren, D.M., Volkman, B.F., and Majetschak, M. (2014). CXC chemokine receptor 4 signaling upon co-activation with stromal cell-derived factor-1alpha and ubiquitin. Cytokine *65*, 121-125;

Tripathi, A., Vana, P.G., Chavan, T.S., Brueggemann, L.I., Byron, K.L., Tarasova, N.I., Volkman, B.F., Gaponenko, V., and Majetschak, M. (2015). Heteromerization of chemokine (C-X-C motif) receptor 4 with alpha1A/B-adrenergic receptors controls alpha1-adrenergic receptor function. Proc Natl Acad Sci U S A *112*, E1659-1668;

Vaudry, D., Gonzalez, B.J., Basille, M., Yon, L., Fournier, A., and Vaudry, H. (2000). Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide and its receptors: from structure to functions. Pharmacol Rev *52*, 269-324;

Velasco-Velazquez, M., Jiao, X., De La Fuente, M., Pestell, T.G., Ertel, A., Lisanti, M.P., and Pestell, R.G. (2012). CCR5 antagonist blocks metastasis of basal breast cancer cells. Cancer Res *72*, 3839-3850;

Vincent, J.P. (1995). Neurotensin receptors: binding properties, transduction pathways, and structure. Cell Mol Neurobiol *15*, 501-512;

Walenkamp, A.M.E., Lapa, C., Herrmann, K., and Wester, H.J. (2017). CXCR4 Ligands: The Next Big Hit? J Nucl Med *58*, 77S-82S;

Wang, A., Fairhurst, A.M., Tus, K., Subramanian, S., Liu, Y., Lin, F., Igarashi, P., Zhou, X.J., Batteux, F., Wong, D., *et al.* (2009). CXCR4/CXCL12 hyperexpression plays a pivotal role in the pathogenesis of lupus. J Immunol *182*, 4448-4458;

Wang, A., Guilpain, P., Chong, B.F., Chouzenoux, S., Guillevin, L., Du, Y., Zhou, X.J., Lin, F., Fairhurst, A.M., Boudreaux, C., *et al.* (2010). Dysregulated expression of CXCR4/CXCL12 in subsets of patients with systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum *62*, 3436-3446;

[0784] Wang, F., Li, S., Zhao, Y., Yang, K., Chen, M., Niu, H., Yang, J., Luo, Y., Tang, W.,

and Sheng, M. (2016). Predictive role of the overexpression for CXCR4, C-Met, and VEGF-C among breast cancer patients: A meta-analysis. Breast *28*, 45-53;

Wang, L.P., Jin, J., Lv, F.F., Cao, J., Zhang, J., Wang, B.Y., Shao, Z.M., Hu, X.C., and Wang, Z.H. (2015a). Norepinephrine attenuates CXCR4 expression and the corresponding invasion of MDA-MB-231 breast cancer cells via beta2-adrenergic receptors. Eur Rev Med Pharmacol Sci *19*, 1170-1181;

Wang, W., Erbe, A.K., Hank, J.A., Morris, Z.S., and Sondel, P.M. (2015b). NK Cell-Mediated Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity in Cancer Immunotherapy. Front Immunol *6*, 368;

Wang, Z., Ma, Q., Liu, Q., Yu, H., Zhao, L., Shen, S., and Yao, J. (2008). Blockade of SDF-1/CXCR4 signalling inhibits pancreatic cancer progression *in vitro* via inactivation of canonical Wnt pathway. Br J Cancer *99*, 1695-1703;

Wang, Z., Yu, D., Wang, M., Wang, Q., Kouznetsova, J., Yang, R., Qian, K., Wu, W., Shuldiner, A., Sztalryd, C., *et al.* (2015c). Elabela-apelin receptor signaling pathway is functional in mammalian systems. Sci Rep *5*, 8170;

Watts, A.O., van Lipzig, M.M., Jaeger, W.C., Seeber, R.M., van Zwam, M., Vinet, J., van der Lee, M.M., Siderius, M., Zaman, G.J., Boddeke, H.W., *et al.* (2013). Identification and profiling of CXCR3-CXCR4 chemokine receptor heteromer complexes. Br J Pharmacol *168*, 1662-1674;

Watts, S.W. (2010). Endothelin receptors: what's new and what do we need to know? Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol *298*, R254-260;

White, J.H., Wise, A., Main, M.J., Green, A., Fraser, N.J., Disney, G.H., Barnes, A.A., Emson, P., Foord, S.M., Marshall, F.H. (1998). Heterodimerization is required for the formation of a functional GABA(B) receptor. Nature *396*, 679-682;

Wong, D., Kandagatla, P., Korz, W., and Chinni, S.R. (2014). Targeting CXCR4 with CTCE-9908 inhibits prostate tumor metastasis. BMC Urol *14*, 12;

Woodward, D.F., Jones, R.L., and Narumiya, S. (2011). International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXXIII: classification of prostanoid receptors, updating 15 years of progress. Pharmacol Rev *63*, 471-538;

Wreggett, K.A., and Wells, J.W. (1995). Cooperativity manifest in the binding properties of purified cardiac muscarinic receptors. J Biol Chem *270*, 22488-22499;

Wu, L., Chen, L., and Li, L. (2017). Apelin/APJ system: A novel promising therapy target for pathological angiogenesis. Clin Chim Acta *466*, 78-84;

Wurth, R., Florio, T. (2016). Subventricular zone microenvironment protects glioblastoma cells from radiotherapy cytotoxicity: role of the chemokine CXCL12. Translational Cancer Research *5(Suppl 6):*, S1098-S1101;

Xie, H., and He, S.H. (2005). Roles of histamine and its receptors in allergic and inflammatory bowel diseases. World J Gastroenterol *11*, 2851-2857;

[0785]

Xu, H., Fu, S., Chen, Q., Gu, M., Zhou, J., Liu, C., Chen, Y., and Wang, Z. (2017). The function of oxytocin: a potential biomarker for prostate cancer diagnosis and promoter of prostate cancer. Oncotarget *8*, 31215-31226;

Xu, L., Duda, D.G., di Tomaso, E., Ancukiewicz, M., Chung, D.C., Lauwers, G.Y., Samuel, R., Shellito, P., Czito, B.G., Lin, P.C., *et al.* (2009). Direct evidence that bevacizumab, an anti-VEGF antibody, up-regulates SDF1alpha, CXCR4, CXCL6, and neuropilin 1 in tumors from patients with rectal cancer. Cancer Res *69*, 7905-7910;

Yagami, T., Koma, H., and Yamamoto, Y. (2016). Pathophysiological Roles of Cyclooxygenases and Prostaglandins in the Central Nervous System. Mol Neurobiol *53*, 4754-4771;

Yang, D., Koupenova, M., McCrann, D.J., Kopeikina, K.J., Kagan, H.M., Schreiber, B.M., and Ravid, K. (2008). The A2b adenosine receptor protects against vascular injury. Proc Natl Acad Sci U S A *105*, 792-796;

Yang, Q., Zhang, F., Ding, Y., Huang, J., Chen, S., Wu, Q., Wang, Z., Wang, Z., and Chen, C. (2014). Antitumour activity of the recombination polypeptide GST-NT21MP is mediated by inhibition of CXCR4 pathway in breast cancer. Br J Cancer *110*, 1288-1297;

Yang, T., and Du, Y. (2012). Distinct roles of central and peripheral prostaglandin E2 and EP subtypes in blood pressure regulation. Am J Hypertens *25*, 1042-1049;

Zabel, B.A., Lewen, S., Berahovich, R.D., Jaen, J.C., and Schall, T.J. (2011). The novel chemokine receptor CXCR7 regulates trans-endothelial migration of cancer cells. Mol Cancer *10*, 73;

Zatelli, M.C., Ambrosio, M.R., Bondanelli, M., and Uberti, E.C. (2007). Control of pituitary adenoma cell proliferation by somatostatin analogs, dopamine agonists and novel chimeric compounds. Eur J Endocrinol *156 Suppl 1*, S29-35;

Zeelenberg, I.S., Ruuls-Van Stalle, L., and Roos, E. (2003). The chemokine receptor CXCR4 is required for outgrowth of colon carcinoma micrometastases. Cancer Res *63*, 3833-3839;

Zhan, W., Liang, Z., Zhu, A., Kurtkaya, S., Shim, H., Snyder, J.P., and Liotta, D.C. (2007). Discovery of small molecule CXCR4 antagonists. J Med Chem *50*, 5655-5664;

Zhang, W.B., Navenot, J.M., Haribabu, B., Tamamura, H., Hiramatu, K., Omagari, A., Pei, G., Manfredi, J.P., Fujii, N., Broach, J.R., *et al.* (2002). A point mutation that confers constitutive activity to CXCR4 reveals that T140 is an inverse agonist and that AMD3100 and ALX40-4C are weak partial agonists. J Biol Chem *277*, 24515-24521;

Zhao, H., Guo, L., Zhao, H., Zhao, J., Weng, H., and Zhao, B. (2015). CXCR4 overexpression and survival in cancer: a system review and meta-analysis. Oncotarget *6*, 5022-5040;

[0786] Zhou, N., Fan, X., Mukhtar, M., Fang, J., Patel, C.A., DuBois, G.C., and Pomerantz, R.J. (2003). Cell-cell fusion and internalization of the CNS-based, HIV-1 co-receptor, APJ. Virology *307*, 22-36;

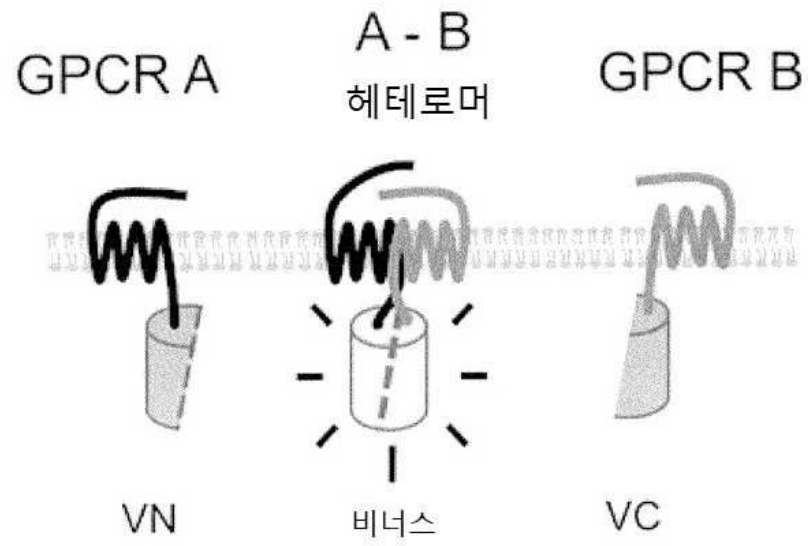
Zhu, A., Zhan, W., Liang, Z., Yoon, Y., Yang, H., Grossniklaus, H.E., Xu, J., Rojas, M., Lockwood, M., Snyder, J.P., *et al.* (2010). Dipyrimidine amines: a novel class of chemokine receptor type 4 antagonists with high specificity. J Med Chem *53*, 8556-8568; and

Zitzer, H., Honck, H.H., Bachner, D., Richter, D., and Kreienkamp, H.J. (1999). Somatostatin receptor interacting protein defines a novel family of multidomain proteins present in human and rodent brain. J Biol Chem *274*, 32997-33001.

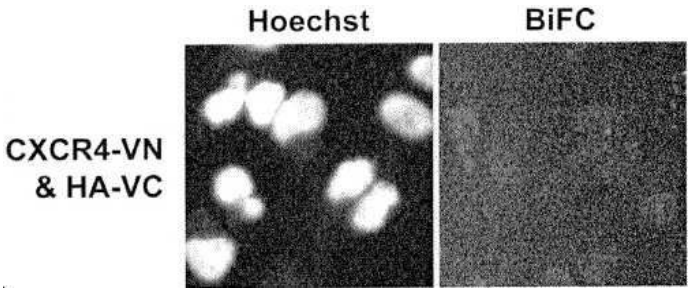
[0787]

도면

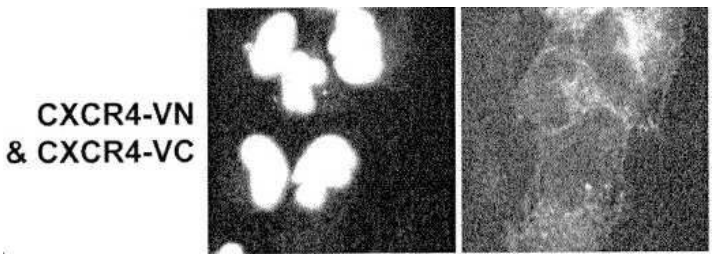
도면1



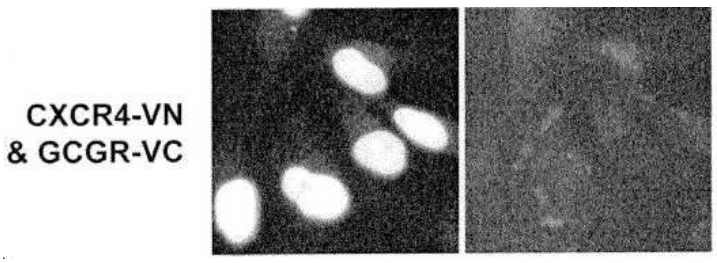
도면2a



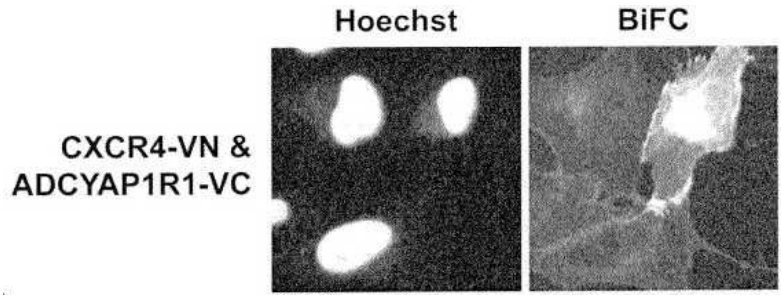
도면2b



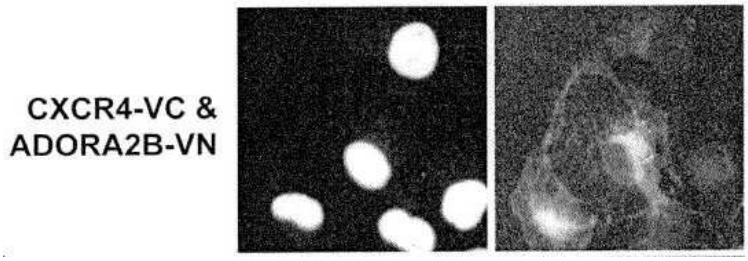
도면2c



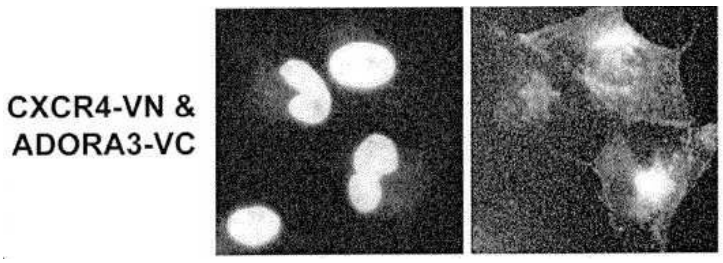
도면2d



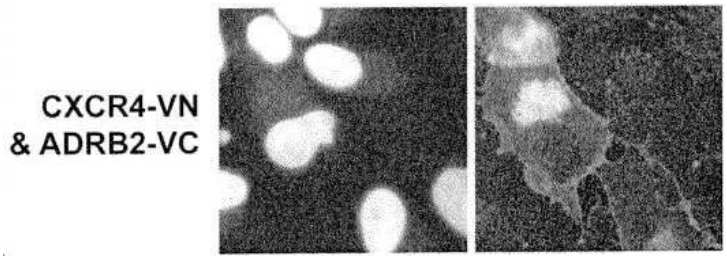
도면2e



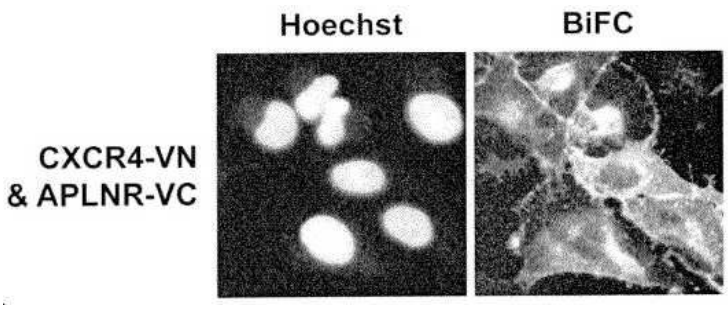
도면2f



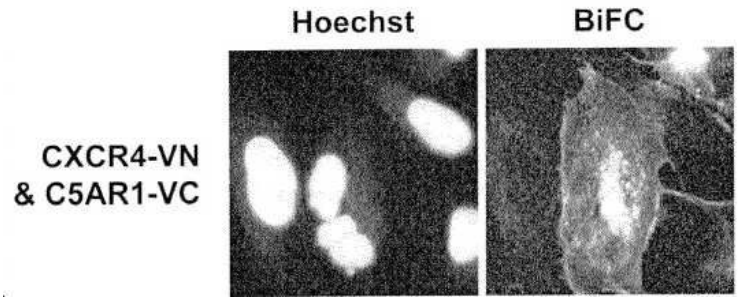
도면2g



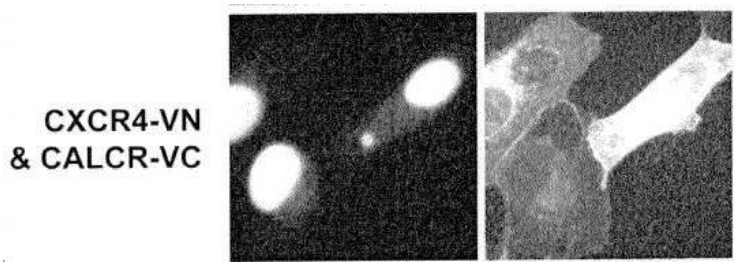
도면2h



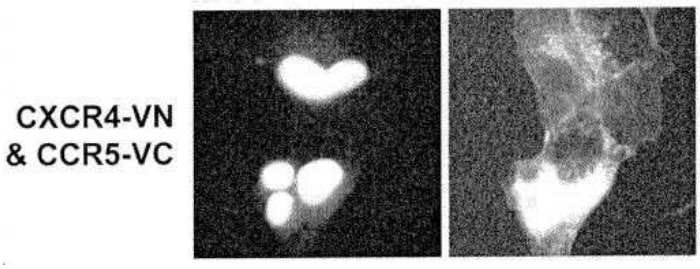
도면2i



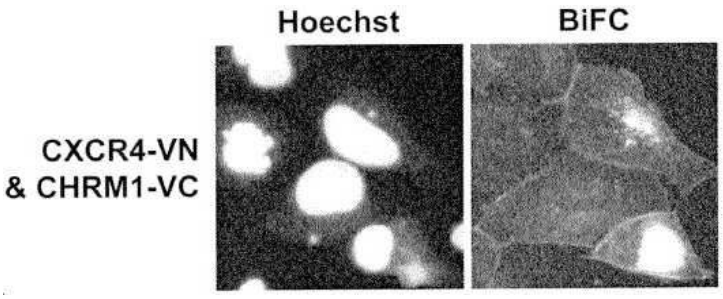
도면2j



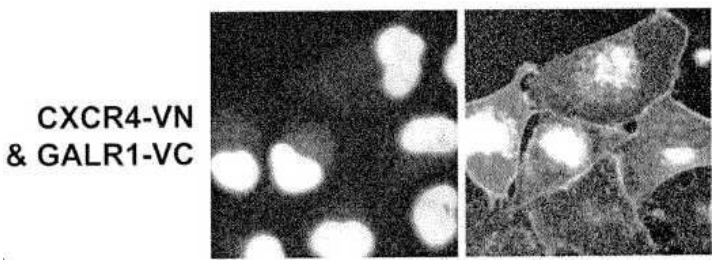
도면2k



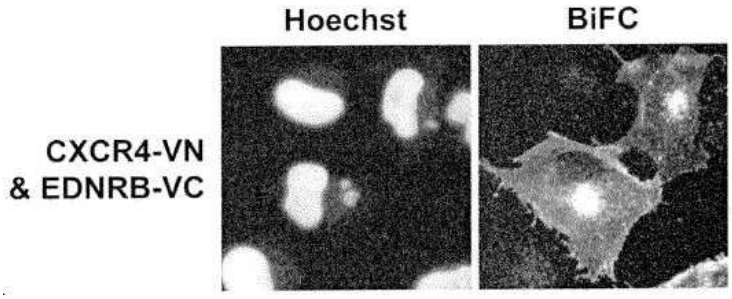
도면2l



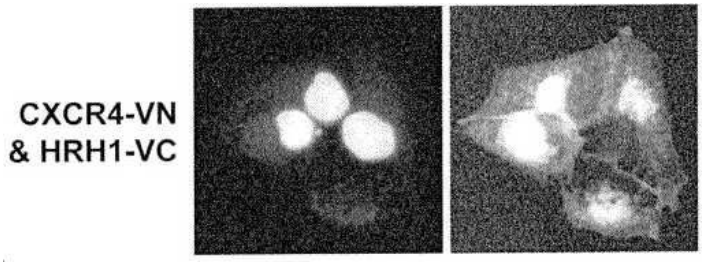
도면2m



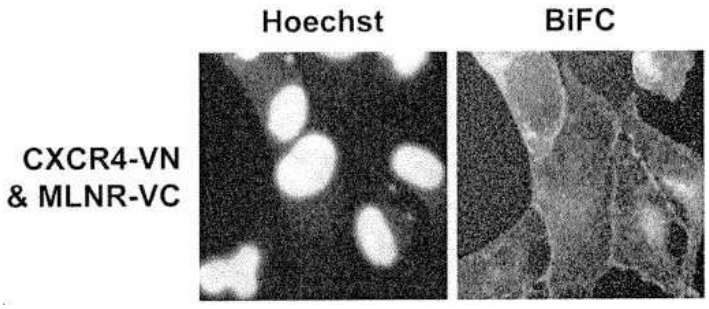
도면2n



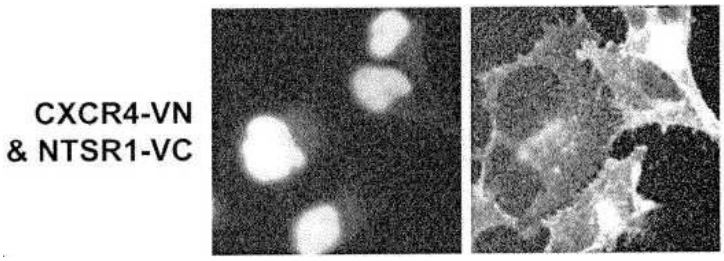
도면2o



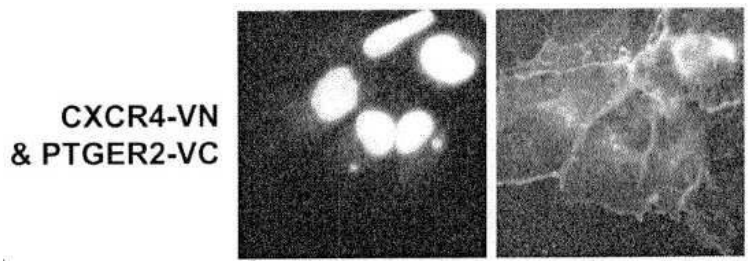
도면2p



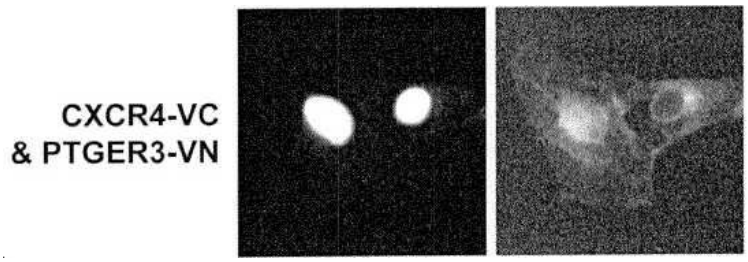
도면2q



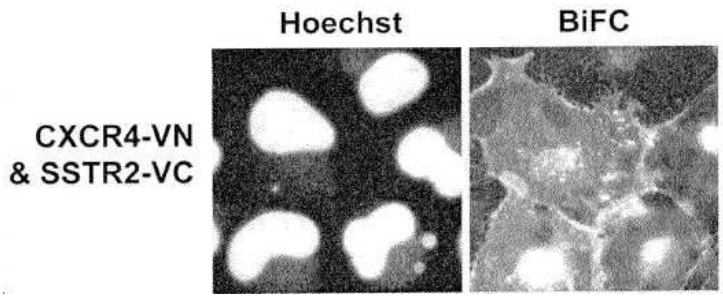
도면2r



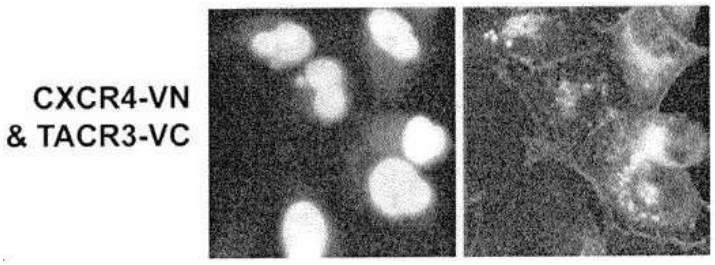
도면2s



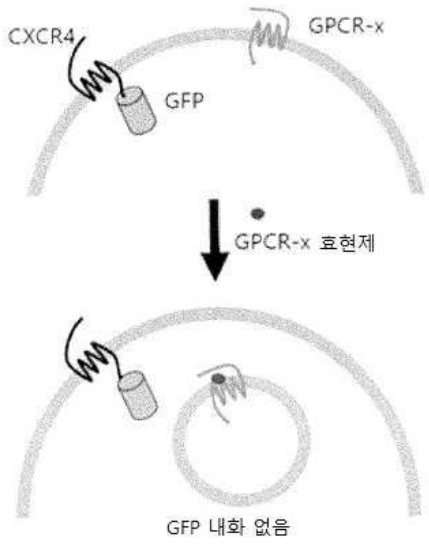
도면2t



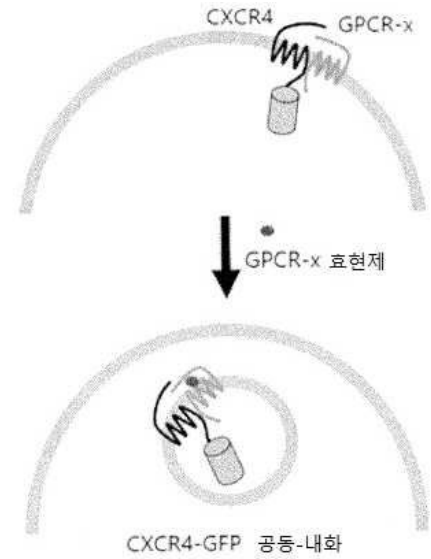
도면2u



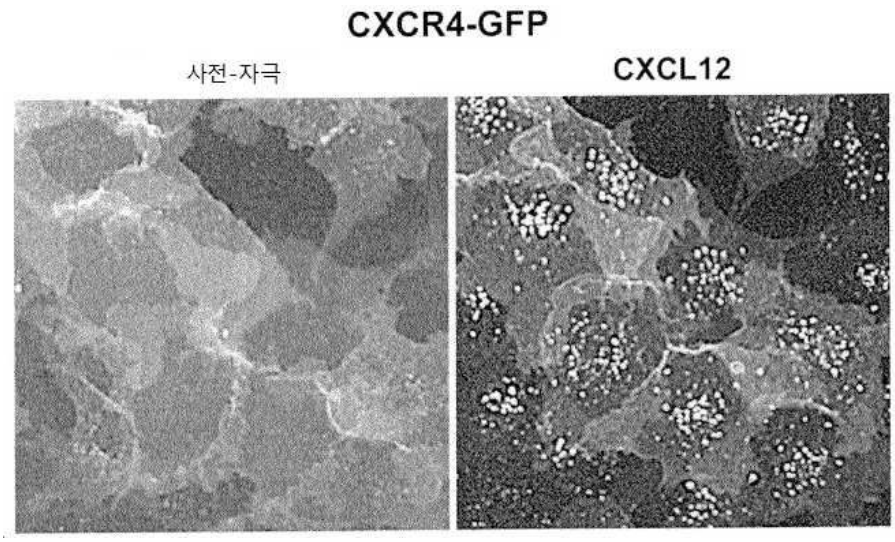
도면3a



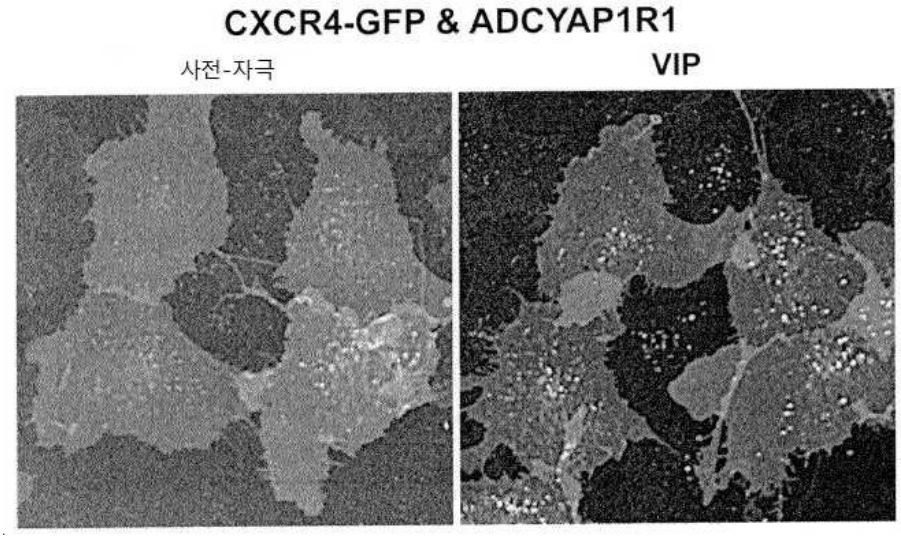
도면3b



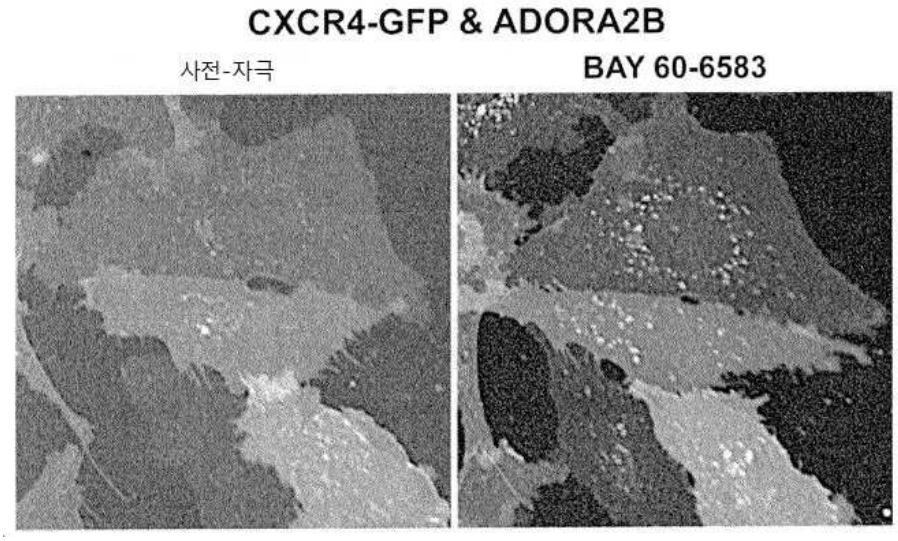
도면4a



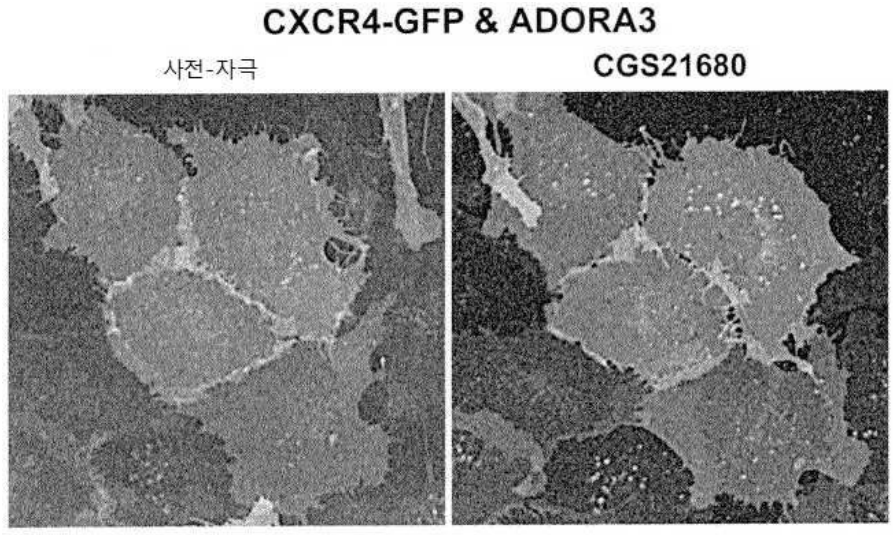
도면4b


CXCR4-GFP & ADCYAP1R1
사전-자극
VIP

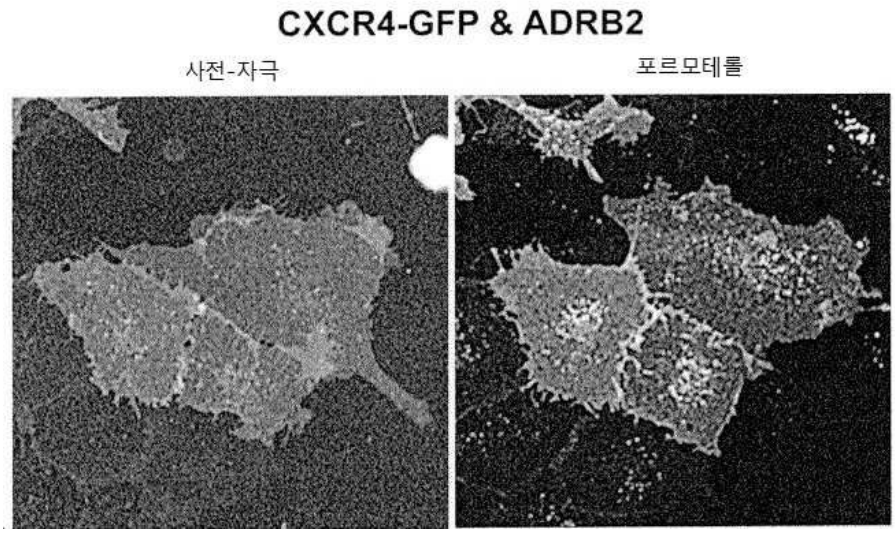
도면4c


CXCR4-GFP & ADORA2B
사전-자극
BAY 60-6583

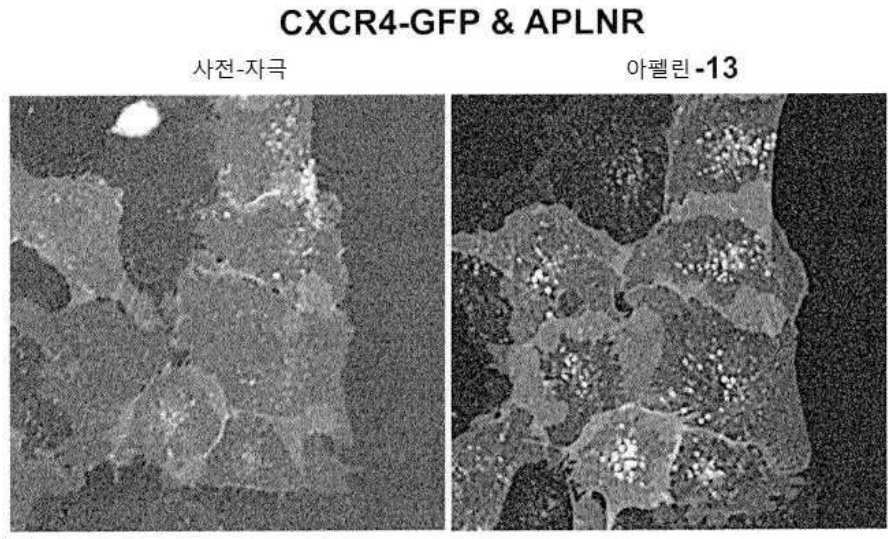
도면4d



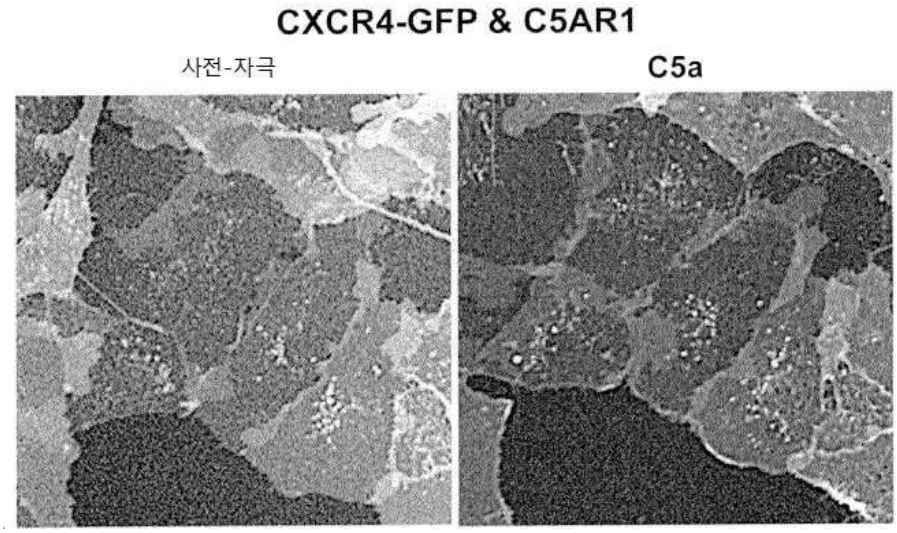
도면4e



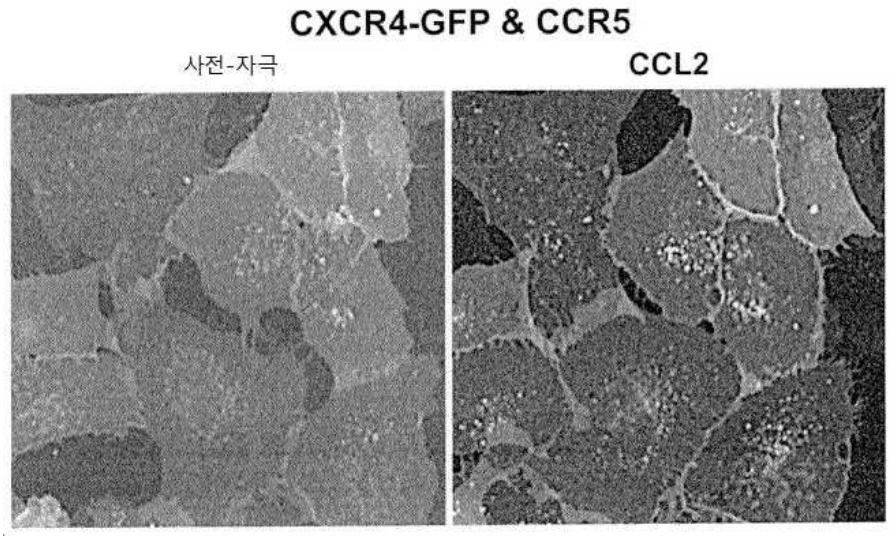
도면4f



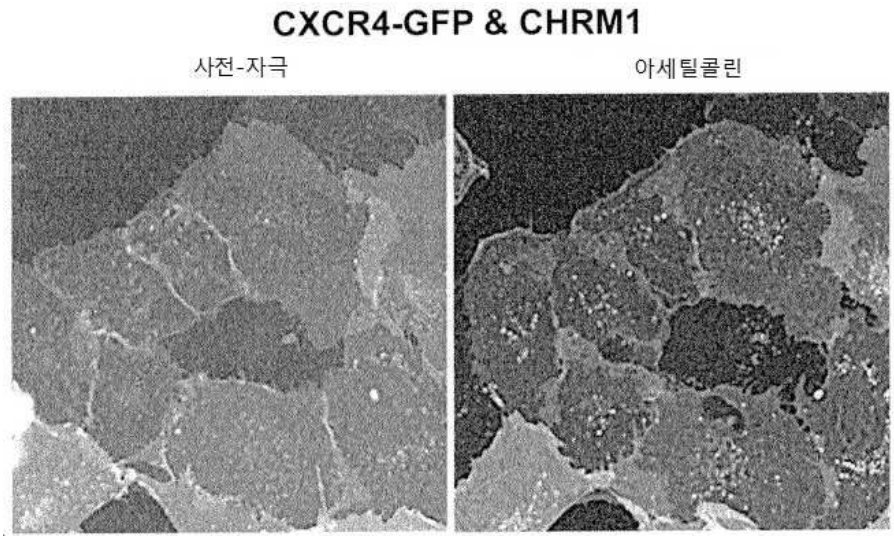
도면4g



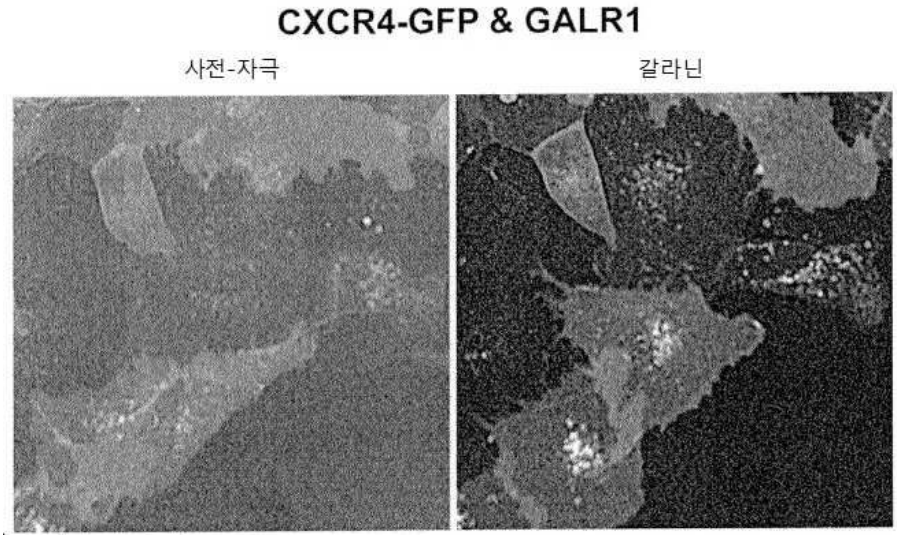
도면4h



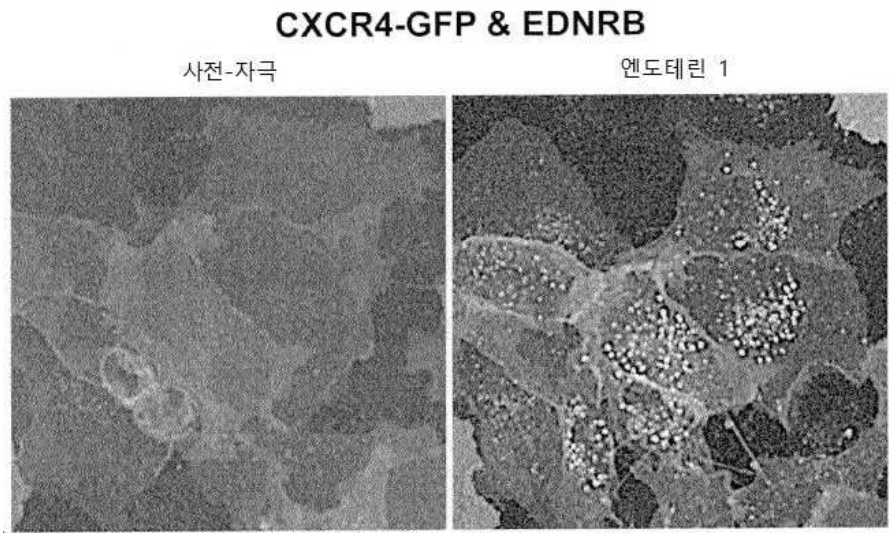
도면4i



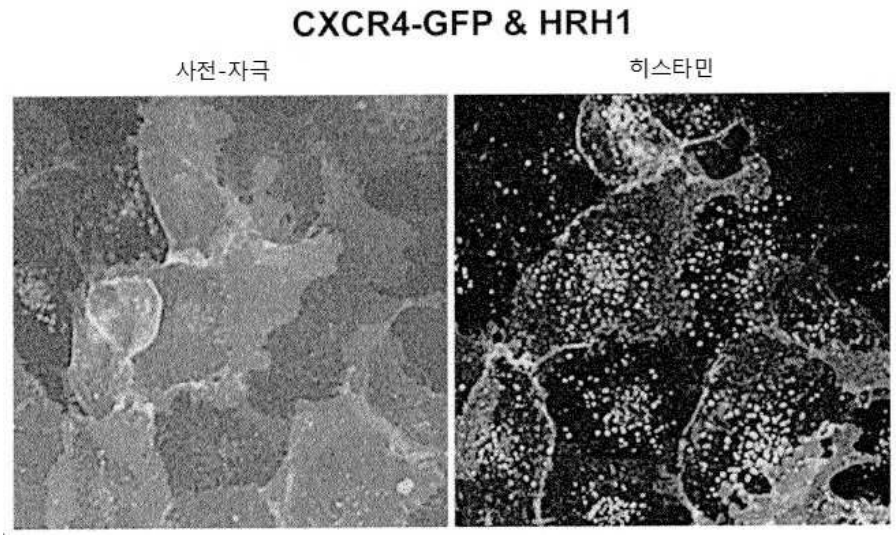
도면4j



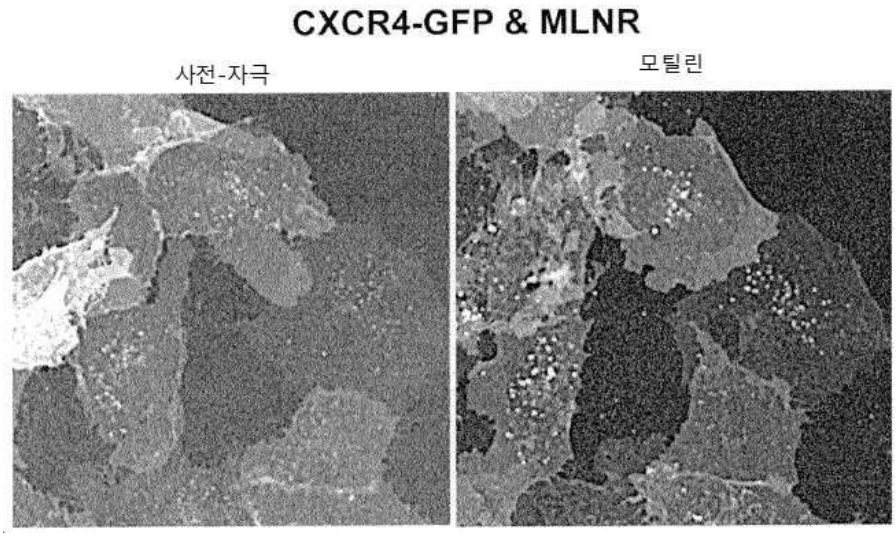
도면4k



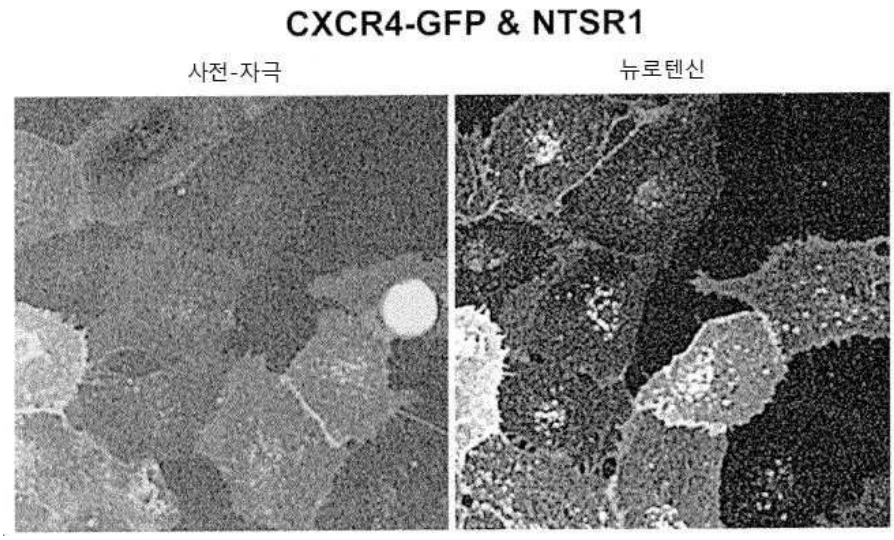
도면4l



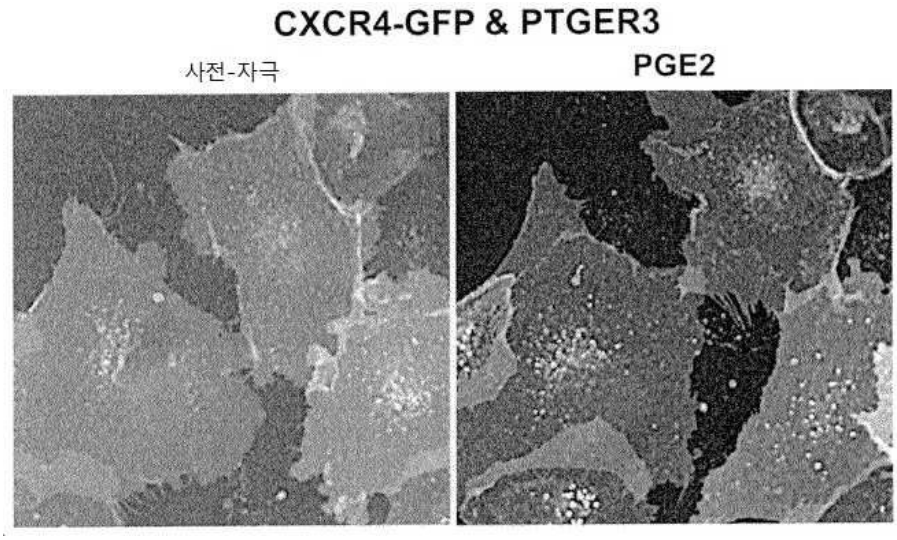
도면4m



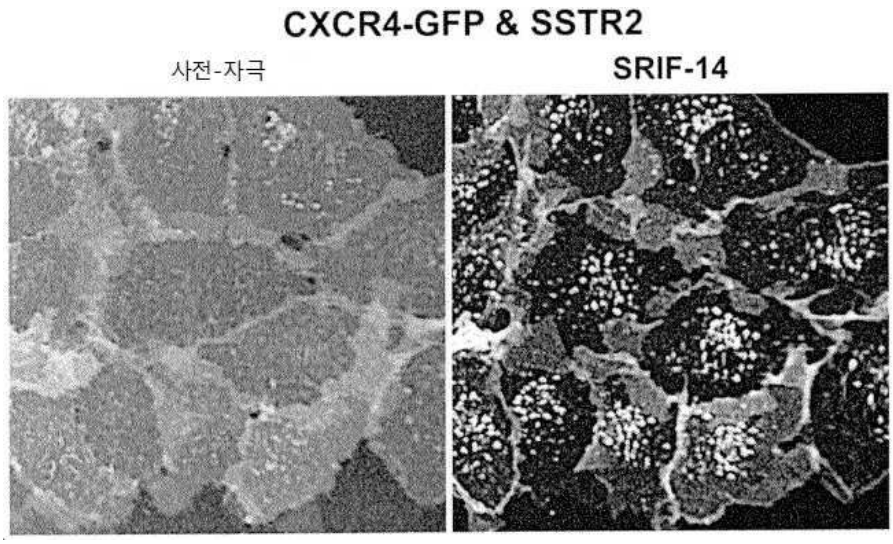
도면4n



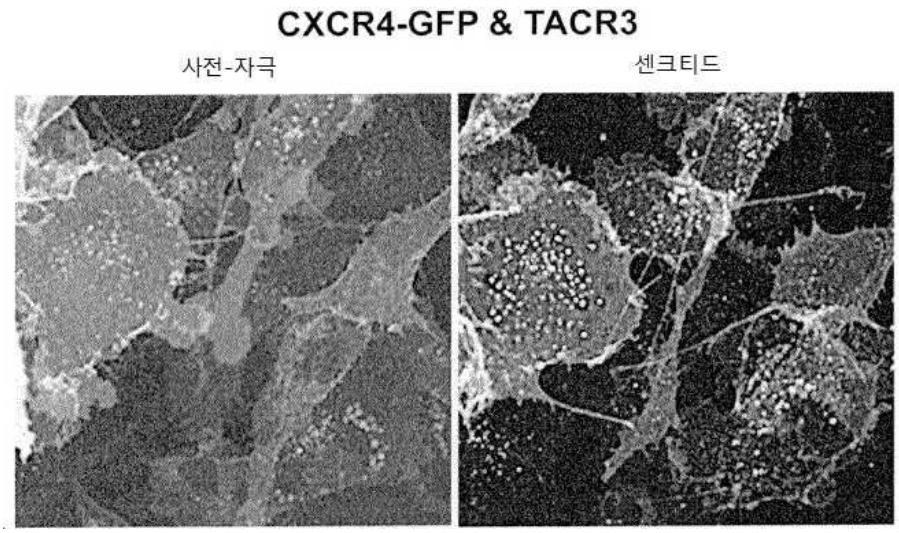
도면4o



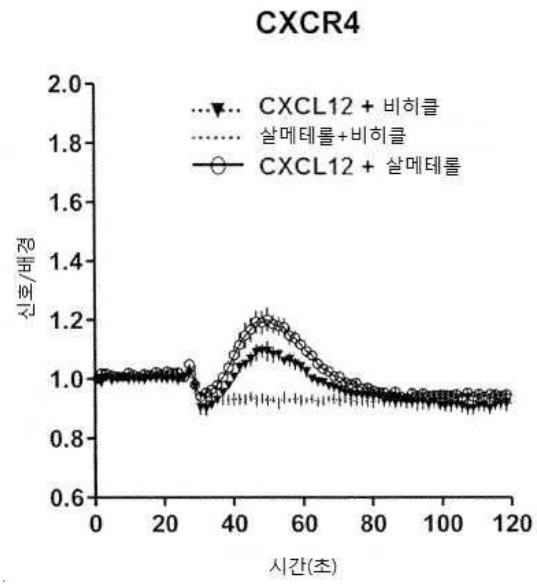
도면4p



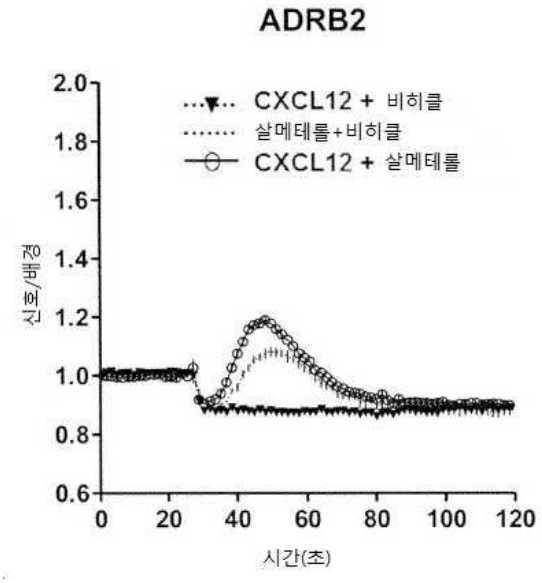
도면4q


CXCR4-GFP & TACR3
사전-자극
센크티드

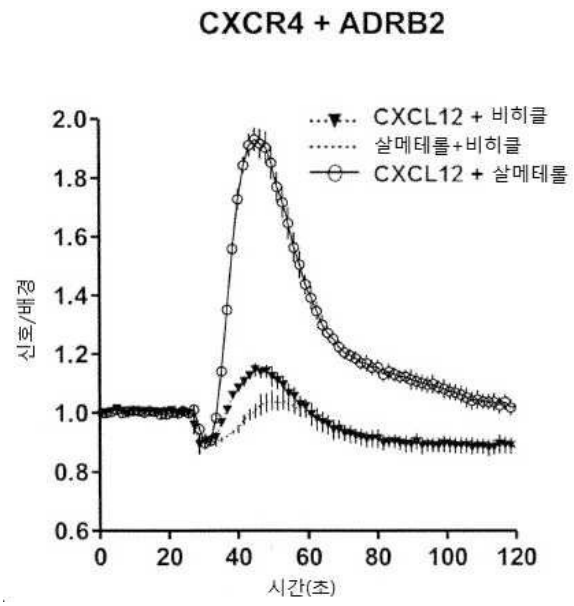
도면5a


CXCR4
CXCL12 + 비히클
살메테롤+비히클
CXCL12 + 살메테롤
신호/배경
2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0
20
40
60
80
100
120
시간(초)

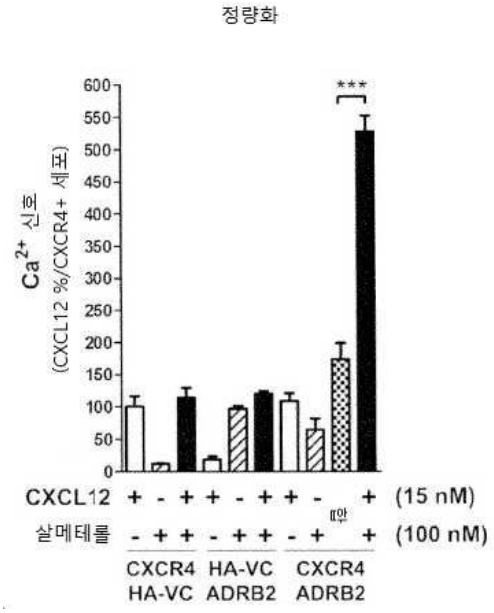
도면5b


ADRB2
CXCL12 + 비히클
살메테롤+비히클
CXCL12 + 살메테롤
신호/배경
2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0
20
40
60
80
100
120
시간(초)

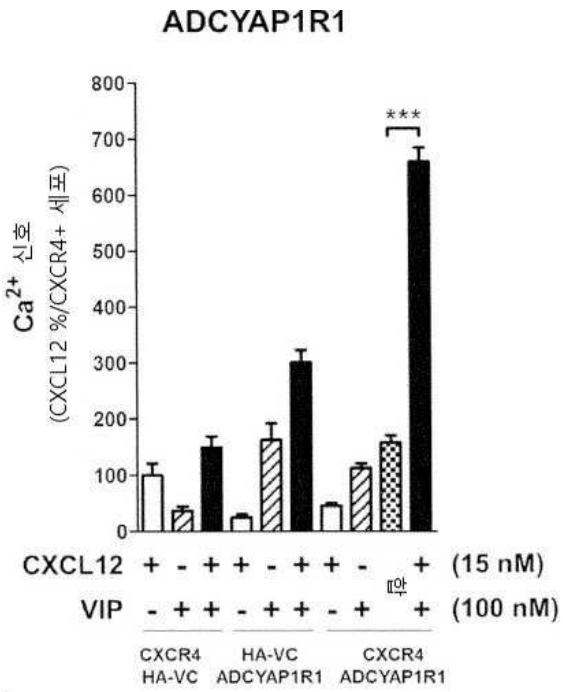
도면5c


CXCR4 + ADRB2
CXCL12 + 비히클
살메테롤+비히클
CXCL12 + 살메테롤
신호/배경
2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0
20
40
60
80
100
120
시간(초)

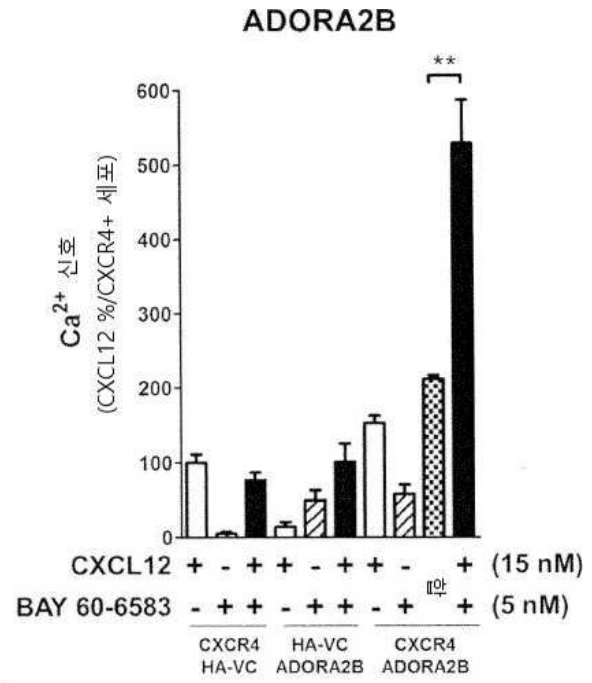
도면5d


정량화
Ca2+ 신호
(CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
600
550
500
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
***
CXCL12 + - + + - + + - + (15 nM)
살메테롤 - + + - + + - + + (100 nM)
CXCR4 HA-VC CXCR4
HA-VC ADRB2 ADRB2

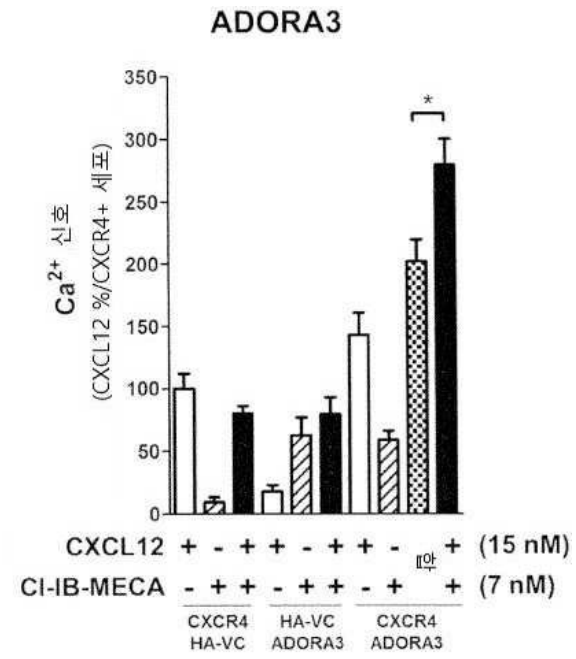
도면6a


ADCYAP1R1
Ca2+ 신호
(CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
800
700
600
500
400
300
200
100
0
***
CXCL12 + - + + - + + - + (15 nM)
VIP - + + - + + - + + (100 nM)
CXCR4 HA-VC CXCR4
HA-VC ADCYAP1R1 ADCYAP1R1

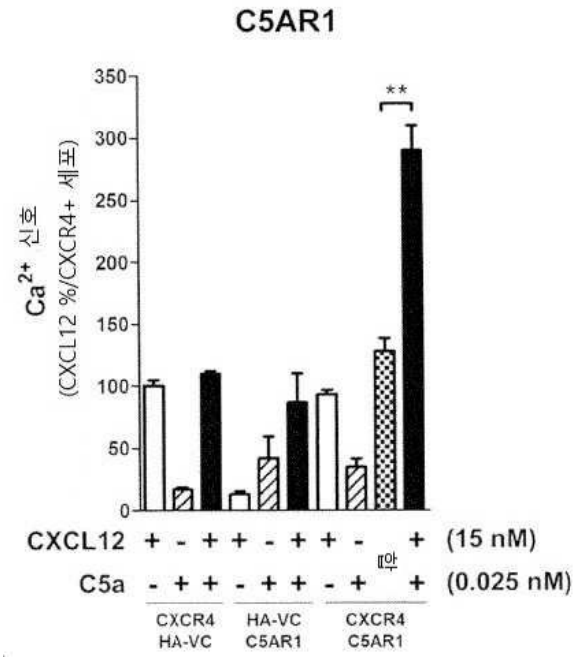
도면6b


ADORA2B
**
600
500
400
300
200
100
0
Ca2+ 신호
(CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
CXCL12 + - + + - + + - 약 + (15 nM)
BAY 60-6583 - + + - + + - + + (5 nM)
CXCR4 HA-VC
HA-VC ADORA2B
CXCR4 ADORA2B

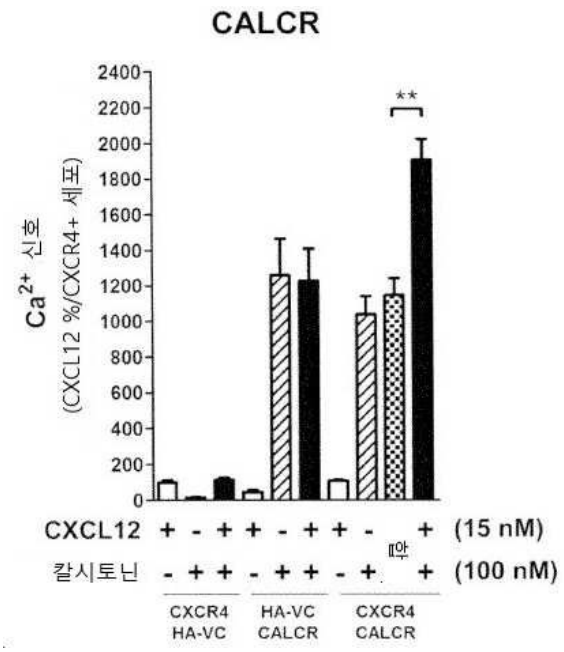
도면6c


ADORA3
*
350
300
250
200
150
100
50
0
Ca2+ 신호
(CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
CXCL12 + - + + - + + - 약 + (15 nM)
Cl-IB-MECA - + + - + + - + + (7 nM)
CXCR4 HA-VC
HA-VC ADORA3
CXCR4 ADORA3

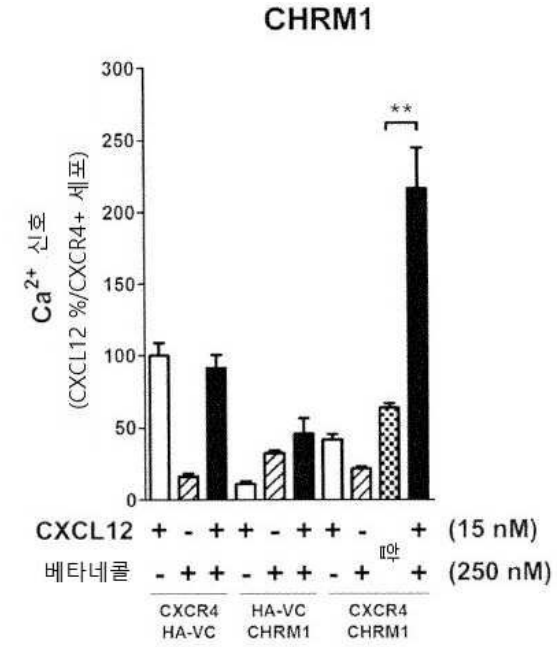
도면6d


C5AR1
Ca2+ 신호
(CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
350
300
250
200
150
100
50
0
**
CXCL12 + - + + - + + - + (15 nM)
C5a - + + - + + - + + (0.025 nM)
CXCR4
HA-VC
HA-VC
C5AR1
CXCR4
C5AR1

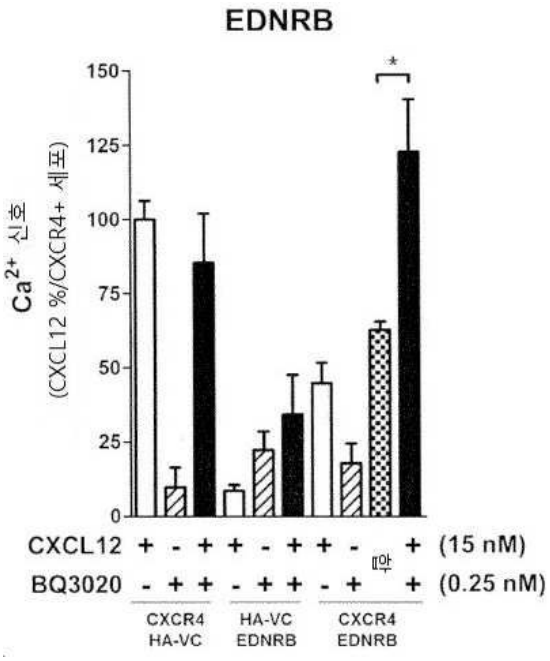
도면6e


CALCR
Ca2+ 신호
(CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
2400
2200
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
**
CXCL12 + - + + - + + - + (15 nM)
칼시토닌 - + + - + + - + + (100 nM)
CXCR4
HA-VC
HA-VC
CALCR
CXCR4
CALCR

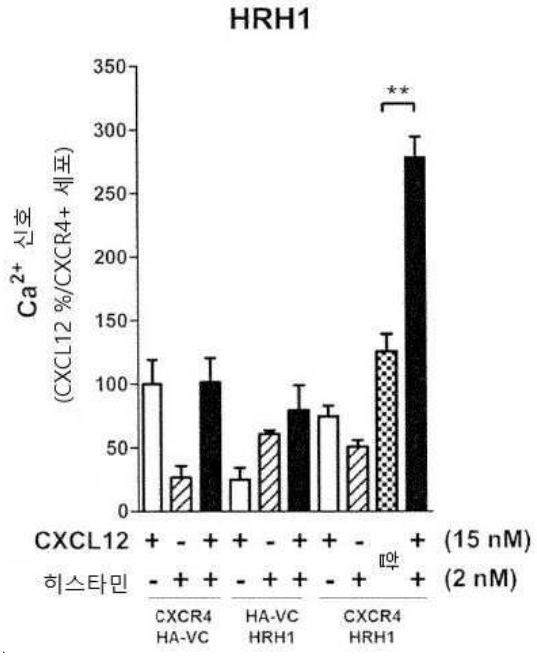
도면6f


CHRM1
Ca2+ 신호
(CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
300
250
200
150
100
50
0
**
CXCL12 + - + + - + + - 파악 + (15 nM)
베타네콜 - + + - + + - + + (250 nM)
CXCR4
HA-VC
HA-VC
CHRM1
CXCR4
CHRM1

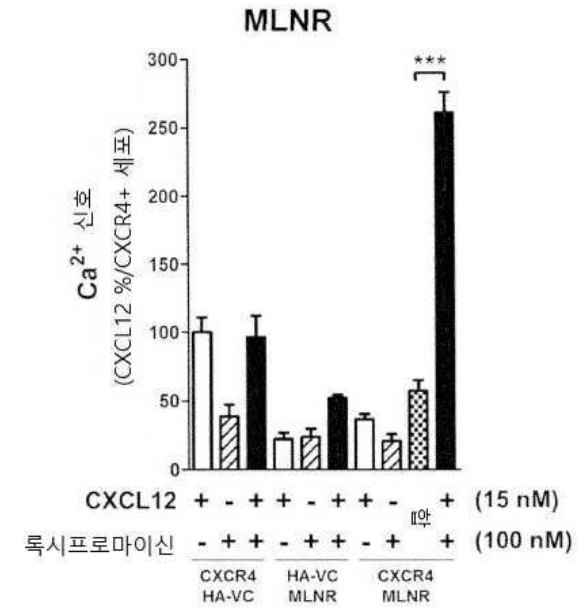
도면6g


EDNRB
Ca2+ 신호
(CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
150
125
100
75
50
25
0
*
CXCL12 + - + + - + + - 파악 + (15 nM)
BQ3020 - + + - + + - + + (0.25 nM)
CXCR4
HA-VC
HA-VC
EDNRB
CXCR4
EDNRB

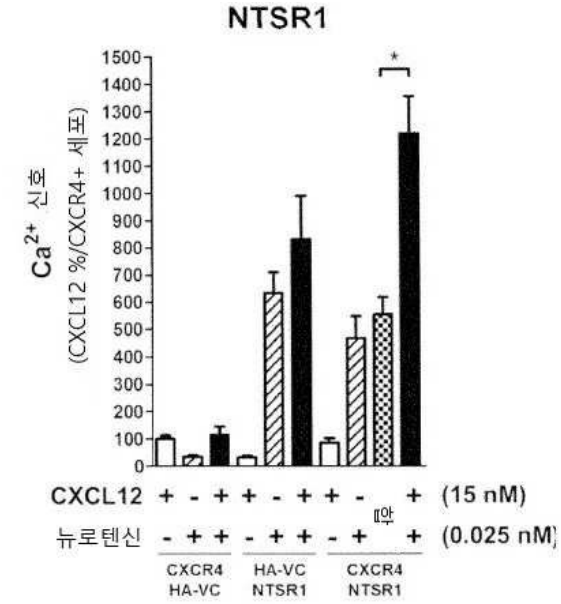
도면6h


HRH1
Ca2+ 신호
(CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
350
300
250
200
150
100
50
0
**
CXCL12 + - + + - + + - + (15 nM)
히스타민 - + + - + + - + + (2 nM)
CXCR4
HA-VC
HA-VC
HRH1
CXCR4
HRH1

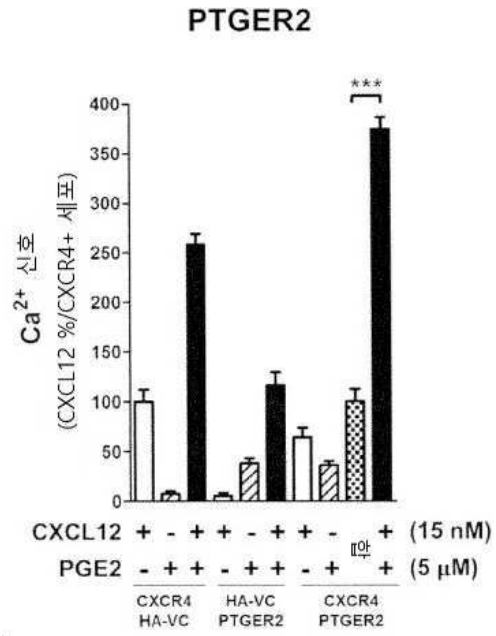
도면6i


MLNR
Ca2+ 신호
(CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
300
250
200
150
100
50
0
***
CXCL12 + - + + - + + - + (15 nM)
록시프로마이신 - + + - + + - + + (100 nM)
CXCR4
HA-VC
HA-VC
MLNR
CXCR4
MLNR

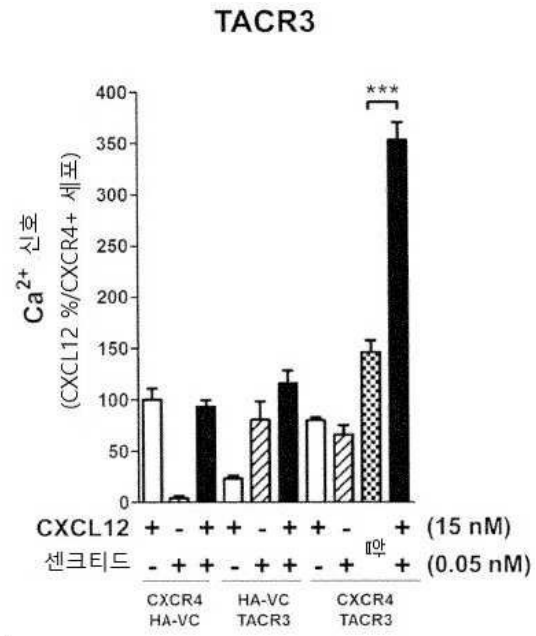
도면6j


NTSR1
Ca2+ 신호
(CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
1500
1400
1300
1200
1100
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
*
CXCL12 + - + + - + + - + (15 nM)
뉴로텐신 - + + - + + - + + (0.025 nM)
때약
CXCR4
HA-VC
HA-VC
NTSR1
CXCR4
NTSR1

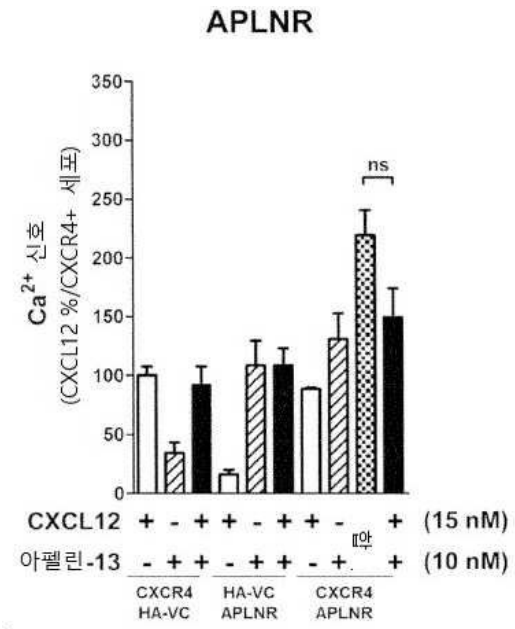
도면6k


PTGER2
Ca2+ 신호
(CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
400
350
300
250
200
150
100
50
0
***
CXCL12 + - + + - + + - + (15 nM)
PGE2 - + + - + + - + + (5 μM)
때약
CXCR4
HA-VC
HA-VC
PTGER2
CXCR4
PTGER2

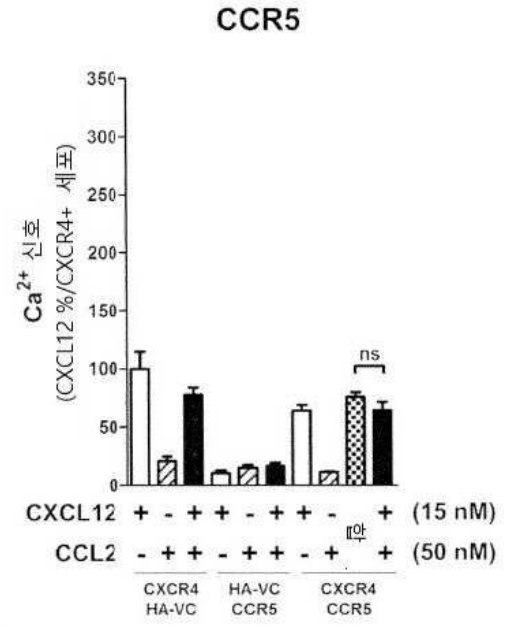
도면61


TACR3
Ca2+ 신호
(CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
400
350
300
250
200
150
100
50
0
***
CXCL12 + - + + - + + - + (15 nM)
센크티드 - + + - + + - + + (0.05 nM)
땅
CXCR4
HA-VC
HA-VC
TACR3
CXCR4
TACR3

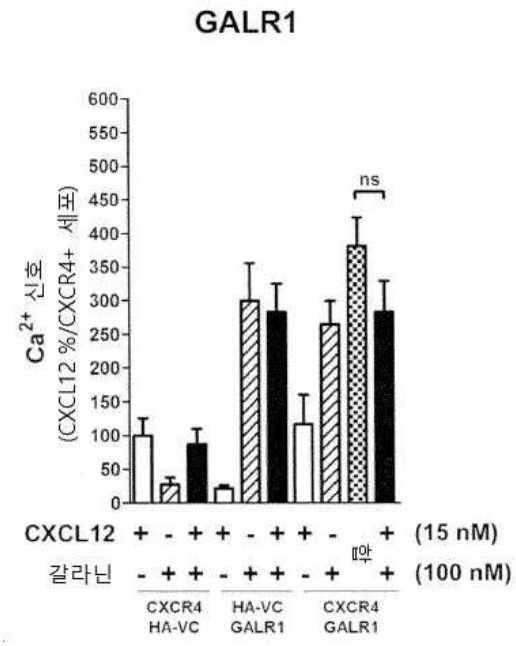
도면7a


APLNR
Ca2+ 신호
(CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
350
300
250
200
150
100
50
0
ns
CXCL12 + - + + - + + - + (15 nM)
아펠린-13 - + + - + + - + + (10 nM)
땅
CXCR4
HA-VC
HA-VC
APLNR
CXCR4
APLNR

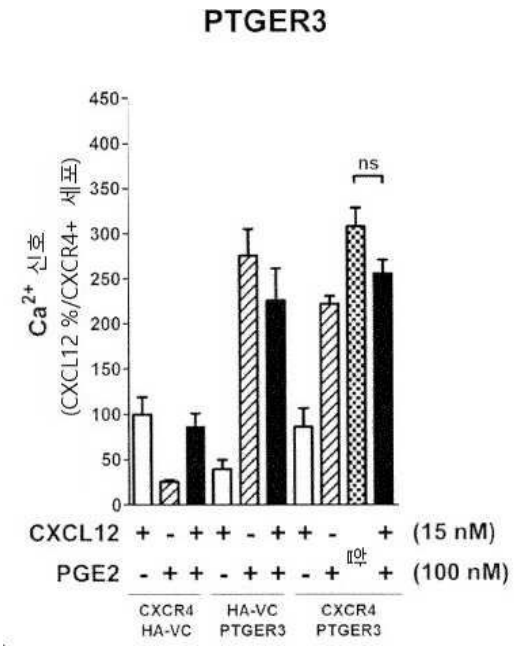
도면7b


CCR5
Ca2+ 신호
(CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
350
300
250
200
150
100
50
0
ns
CXCL12 + - + + - + + - + (15 nM)
CCL2 - + + - + + - + + (50 nM)
없음
CXCR4
HA-VC
HA-VC
CCR5
CXCR4
CCR5

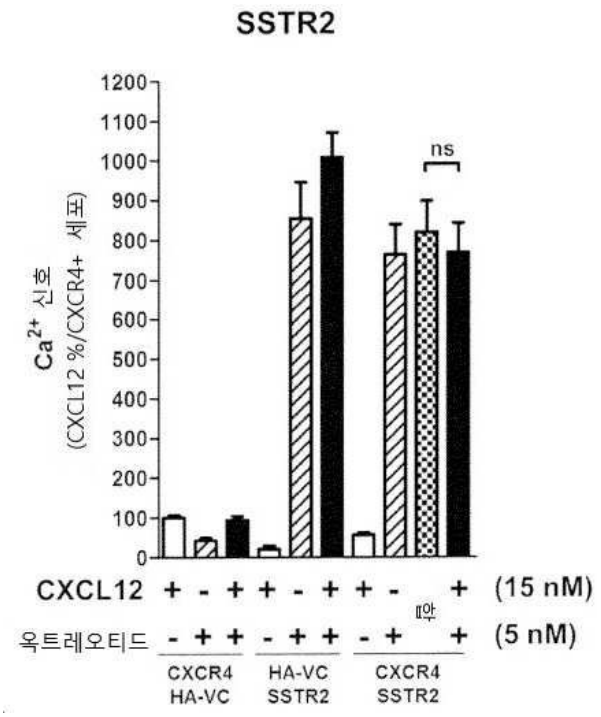
도면7c


GALR1
Ca2+ 신호
(CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
600
550
500
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
ns
CXCL12 + - + + - + + - + (15 nM)
갈라닌 - + + - + + - + + (100 nM)
없음
CXCR4
HA-VC
HA-VC
GALR1
CXCR4
GALR1

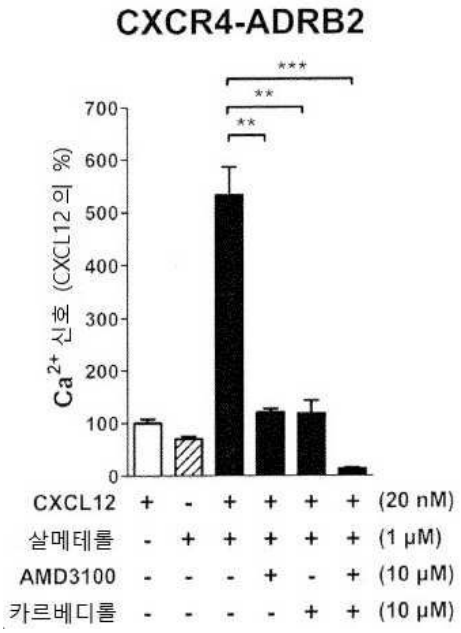
도면7d


PTGER3
Ca2+ 신호 (CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
ns
CXCL12 + - + + - + + - + (15 nM)
PGE2 - + + - + + - + 없음 + (100 nM)
CXCR4 HA-VC
HA-VC PTGER3
CXCR4 PTGER3

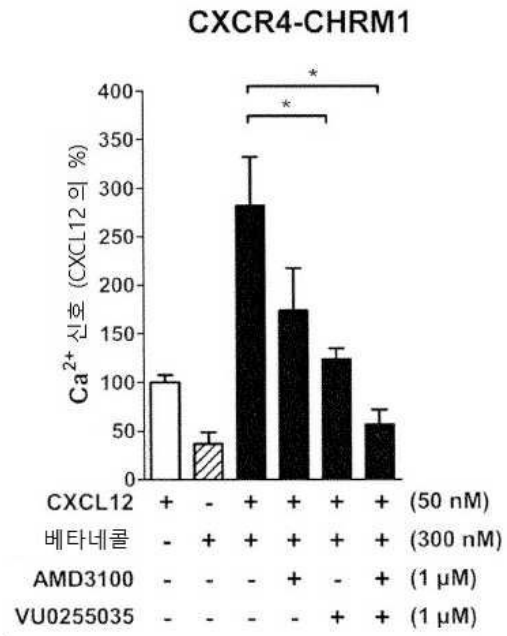
도면7e


SSTR2
Ca2+ 신호 (CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
1200
1100
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
ns
CXCL12 + - + + - + + - + (15 nM)
옥트레오티드 - + + - + + - + 없음 + (5 nM)
CXCR4 HA-VC
HA-VC SSTR2
CXCR4 SSTR2

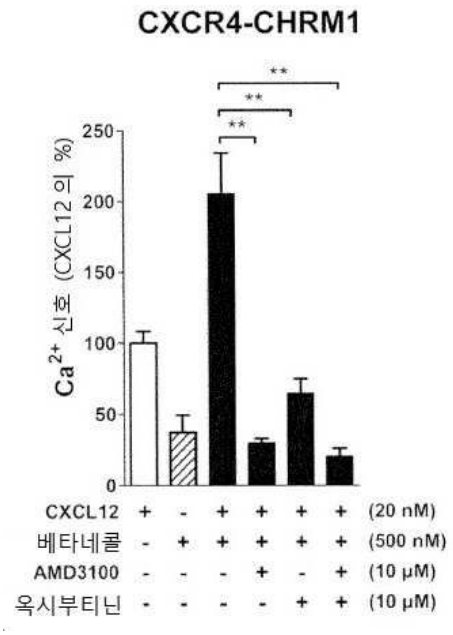
도면8a


CXCR4-ADRB2
***
**
**
700
600
500
400
300
200
100
0
Ca2+ 신호 (CXCL12 의 %)
CXCL12 + - + + + + (20 nM)
살메테롤 - + + + + + (1 μM)
AMD3100 - - - + - + (10 μM)
카르베디롤 - - - - + + (10 μM)

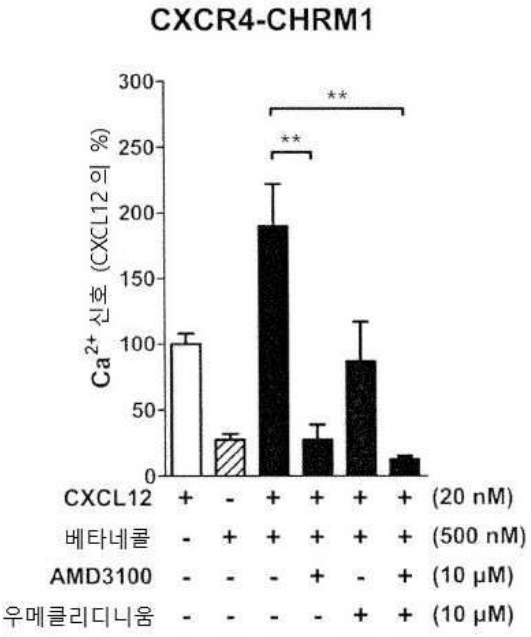
도면8b


CXCR4-CHRM1
*
*
400
350
300
250
200
150
100
50
0
Ca2+ 신호 (CXCL12 의 %)
CXCL12 + - + + + + (50 nM)
베타네콜 - + + + + + (300 nM)
AMD3100 - - - + - + (1 μM)
VU0255035 - - - - + + (1 μM)

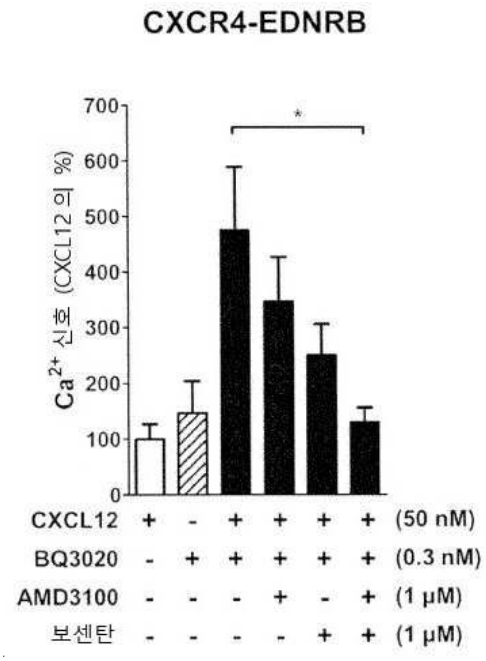
도면8c


CXCR4-CHRM1
**
**
**
250
200
150
100
50
0
Ca2+ 신호 (CXCL12 의 %)
CXCL12 + - + + + + (20 nM)
베타네콜 - + + + + + (500 nM)
AMD3100 - - - + - + (10 μM)
옥시부티닌 - - - - + + (10 μM)

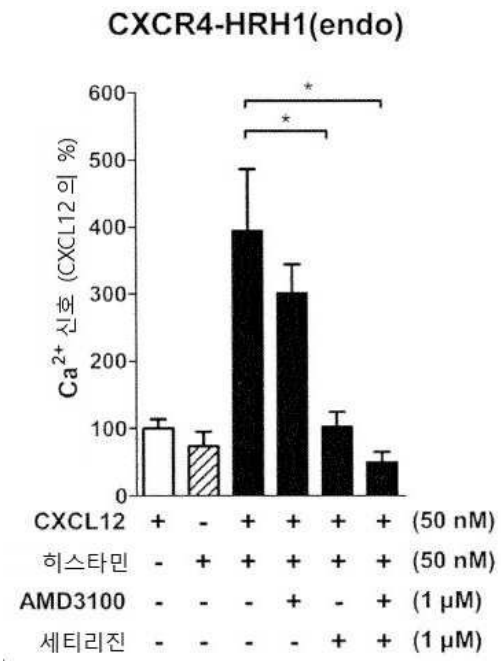
도면8d


CXCR4-CHRM1
**
**
300
250
200
150
100
50
0
Ca2+ 신호 (CXCL12 의 %)
CXCL12 + - + + + + (20 nM)
베타네콜 - + + + + + (500 nM)
AMD3100 - - - + - + (10 μM)
우메클리디니움 - - - - + + (10 μM)

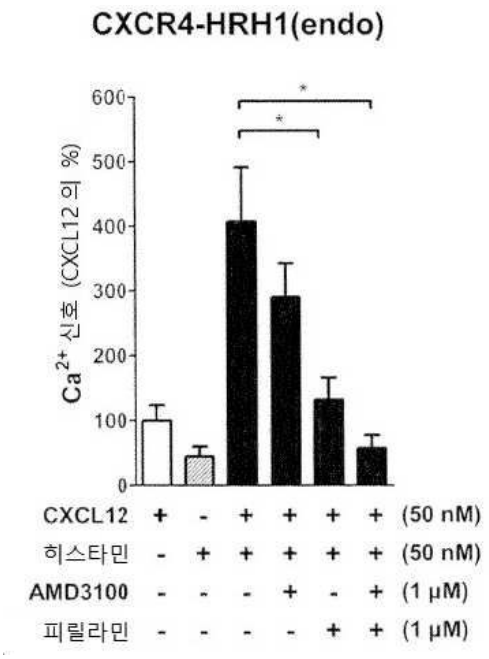
도면8e


CXCR4-EDNRB
Ca2+ 신호 (CXCL12 의 %)
700
600
500
400
300
200
100
0
*
CXCL12 + - + + + + (50 nM)
BQ3020 - + + + + + (0.3 nM)
AMD3100 - - - + - + (1 μM)
보센탄 - - - - + + (1 μM)

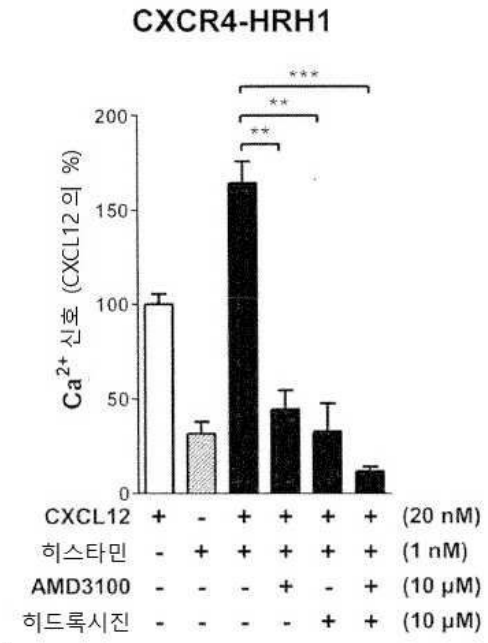
도면8f


CXCR4-HRH1(endo)
Ca2+ 신호 (CXCL12 의 %)
600
500
400
300
200
100
0
*
*
CXCL12 + - + + + + (50 nM)
히스타민 - + + + + + (50 nM)
AMD3100 - - - + - + (1 μM)
세티리진 - - - - + + (1 μM)

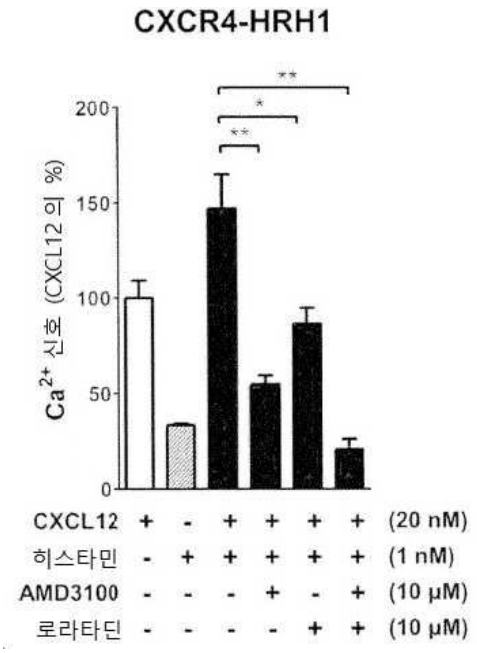
도면8g


CXCR4-HRH1(endo)
Ca2+ 신호 (CXCL12 의 %)
600
500
400
300
200
100
0
*
*
CXCL12 + - + + + + (50 nM)
히스타민 - + + + + + (50 nM)
AMD3100 - - - + - + (1 μM)
피릴라민 - - - - + + (1 μM)

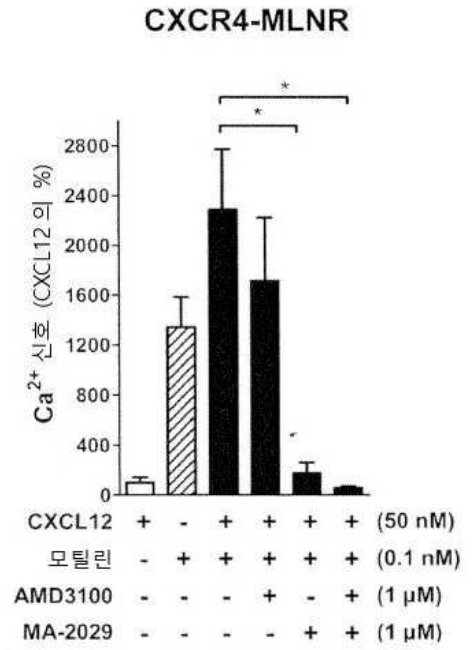
도면8h


CXCR4-HRH1
Ca2+ 신호 (CXCL12 의 %)
200
150
100
50
0
***
**
**
CXCL12 + - + + + + (20 nM)
히스타민 - + + + + + (1 nM)
AMD3100 - - - + - + (10 μM)
히드록시진 - - - - + + (10 μM)

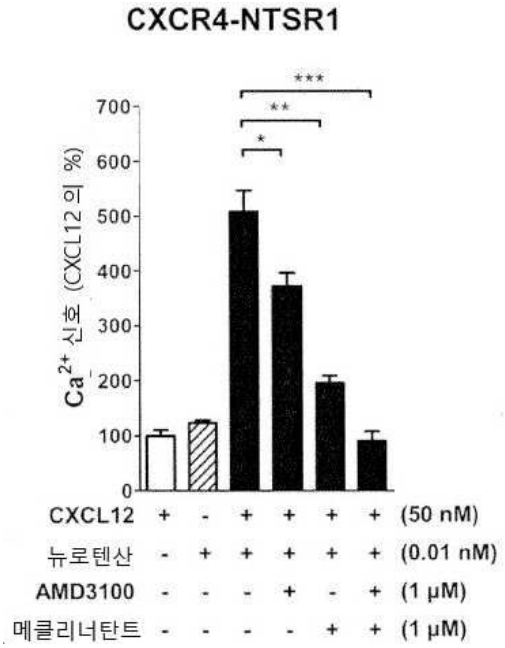
도면8i


CXCR4-HRH1
Ca2+ 신호 (CXCL12 의 %)
200
150
100
50
0
**
*
**
CXCL12 + - + + + + (20 nM)
히스타민 - + + + + + (1 nM)
AMD3100 - - - + - + (10 μM)
로라타딘 - - - - + + (10 μM)

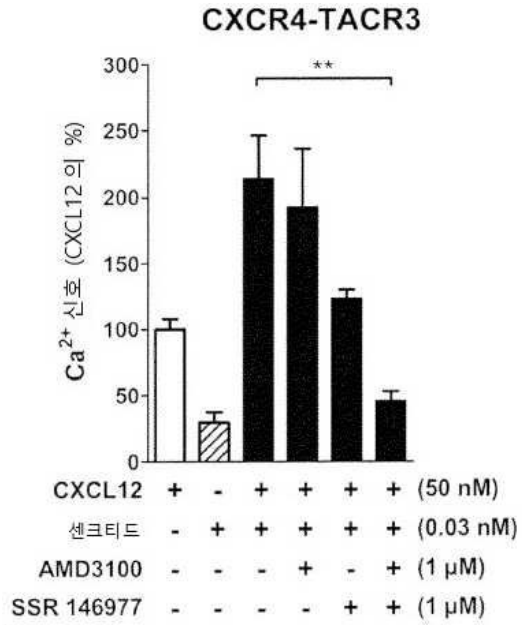
도면8j


CXCR4-MLNR
Ca2+ 신호 (CXCL12 의 %)
2800
2400
2000
1600
1200
800
400
0
*
*
CXCL12 + - + + + + (50 nM)
모틸린 - + + + + + (0.1 nM)
AMD3100 - - - + - + (1 μM)
MA-2029 - - - - + + (1 μM)

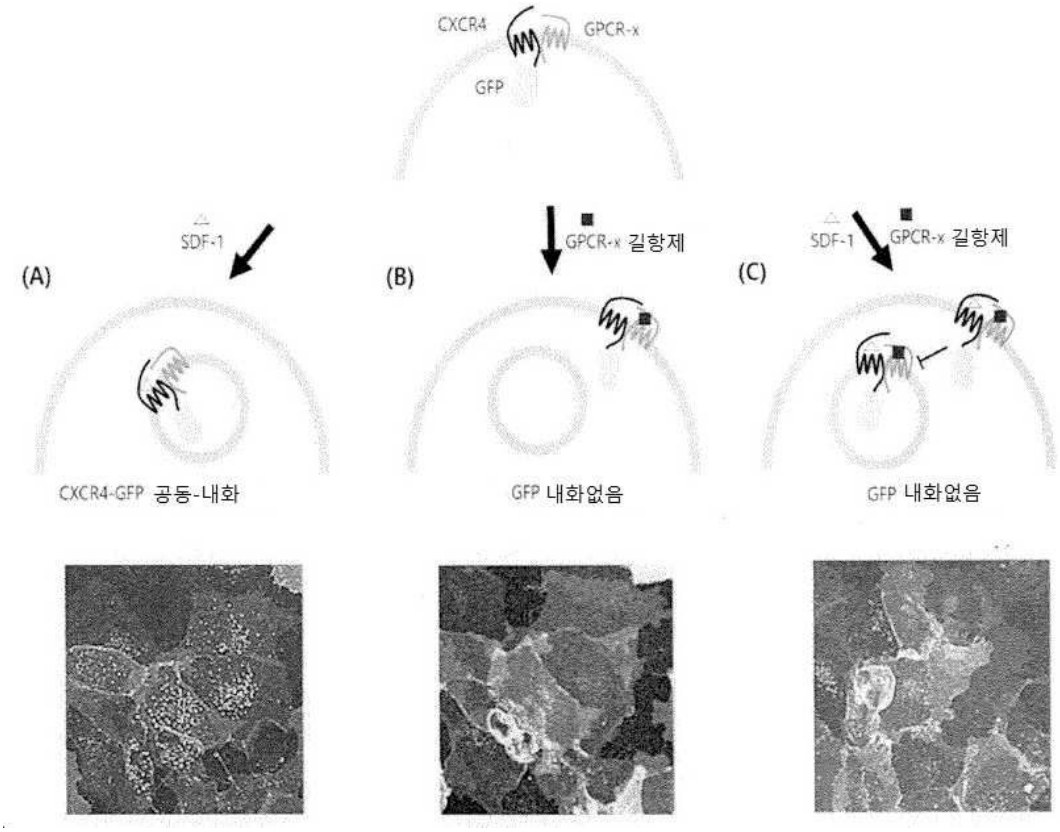
도면8k


CXCR4-NTSR1
***
**
*
700
600
500
400
300
200
100
0
Ca2+ 신호 (CXCL12 의 %)
CXCL12 + - + + + + (50 nM)
뉴로텐산 - + + + + + (0.01 nM)
AMD3100 - - - + - + (1 μM)
메클리너탄트 - - - - + + (1 μM)

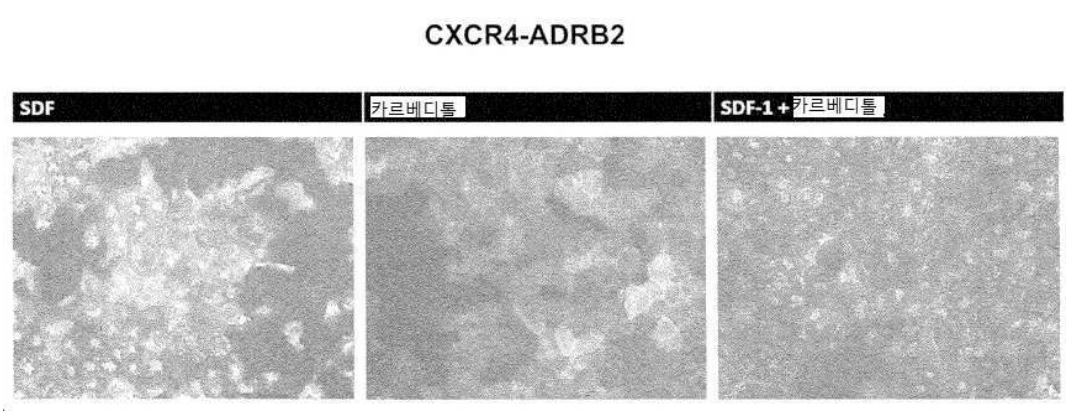
도면81


CXCR4-TACR3
**
300
250
200
150
100
50
0
Ca2+ 신호 (CXCL12 의 %)
CXCL12 + - + + + + (50 nM)
센크티드 - + + + + + (0.03 nM)
AMD3100 - - - + - + (1 μM)
SSR 146977 - - - - + + (1 μM)

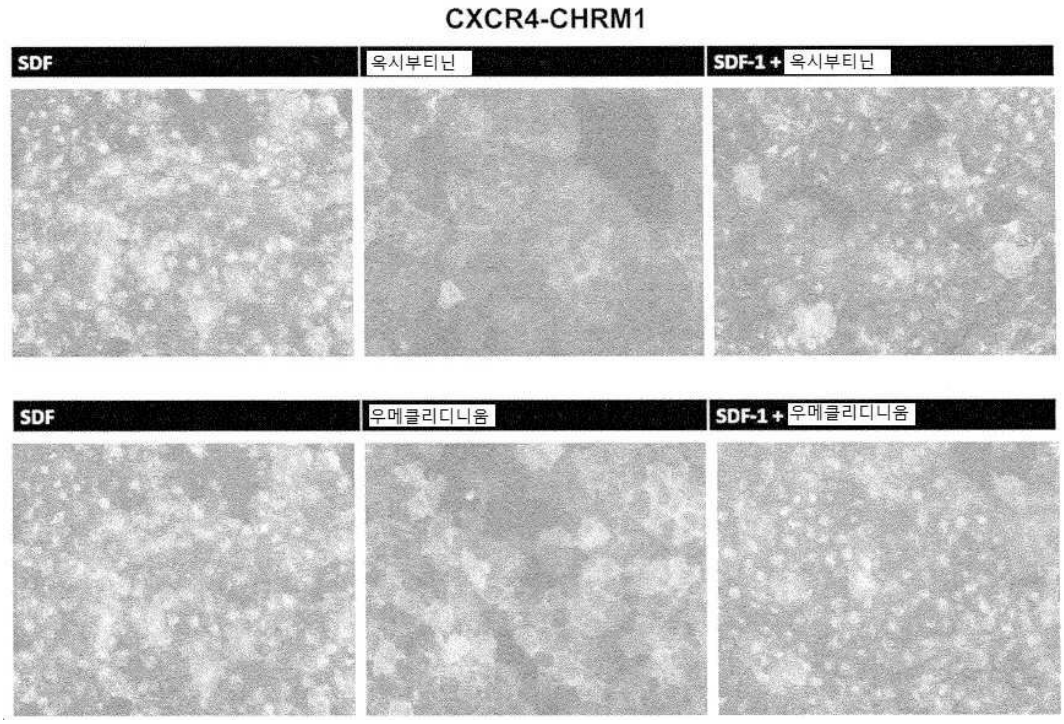
도면9


CXCR4
GPCR-x
GFP
(A)
SDF-1
CXCR4-GFP 공동-내화
(B)
GPCR-x 길항제
GFP 내화없음
(C)
SDF-1
GPCR-x 길항제
GFP 내화없음

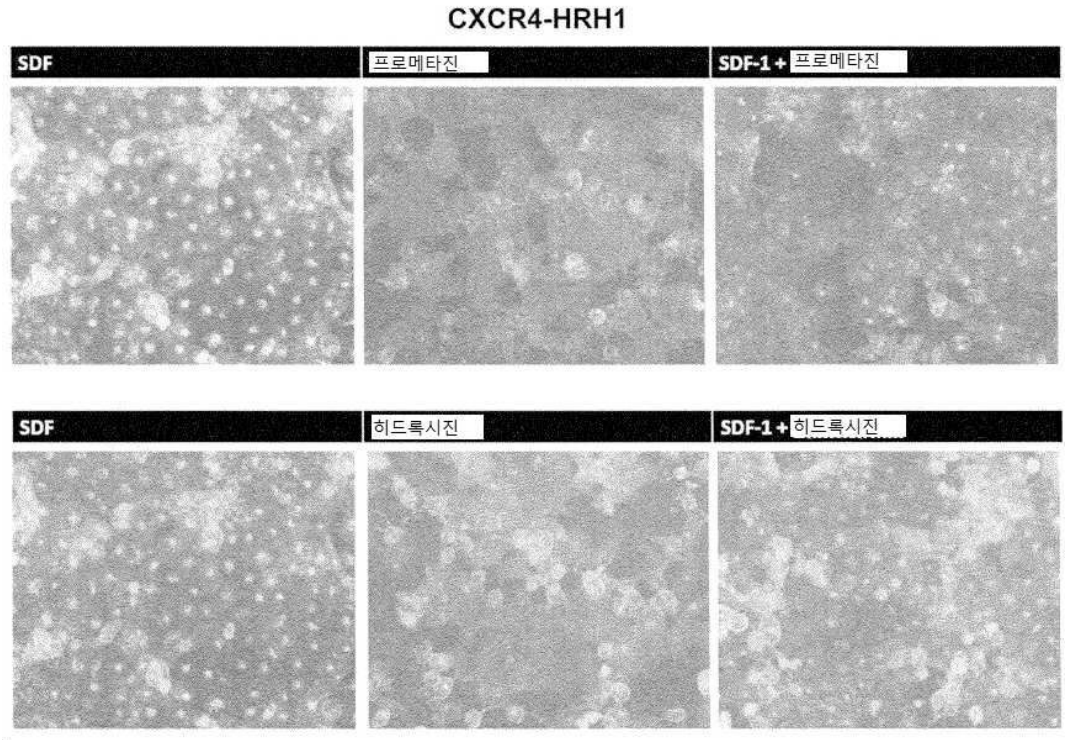
도면10a


CXCR4-ADRB2
SDF
카르베디톨
SDF-1 + 카르베디톨

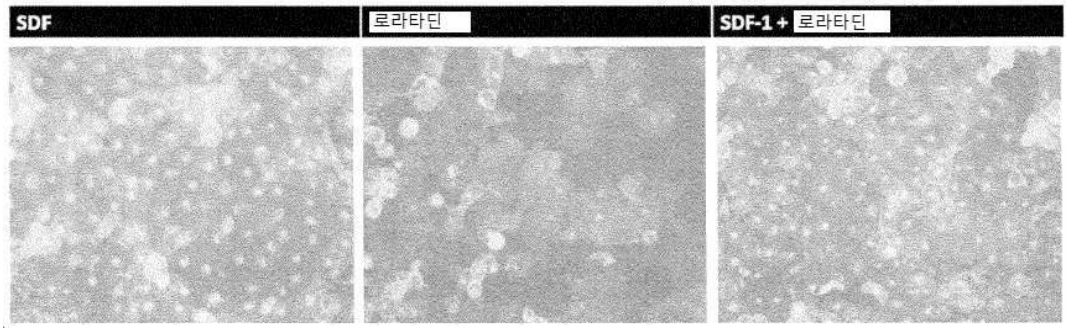
도면10b



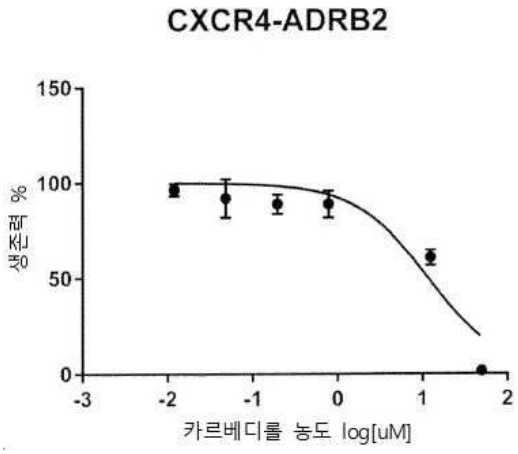
도면10ca



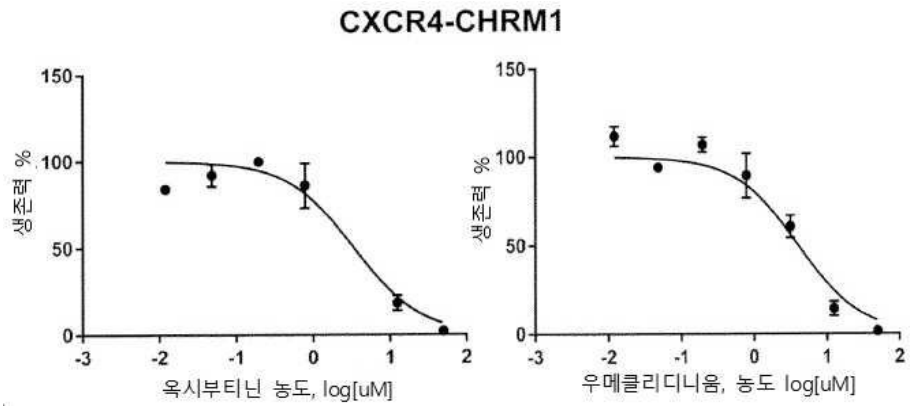
도면10cb



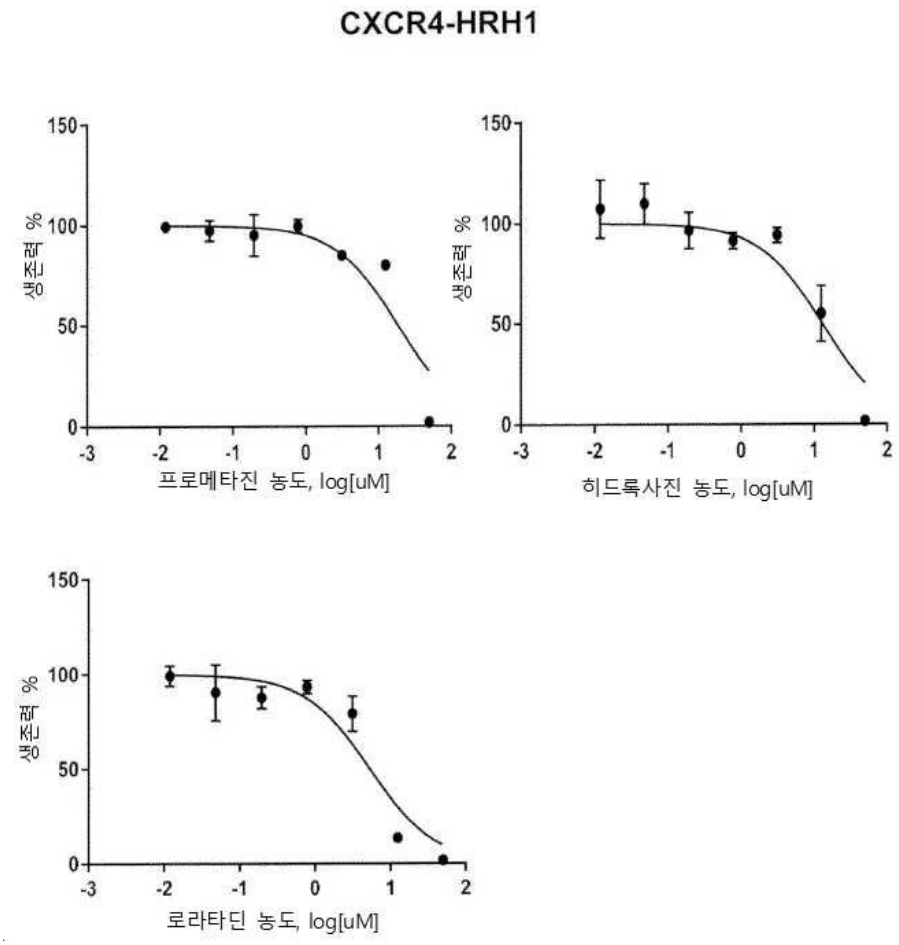
도면11a



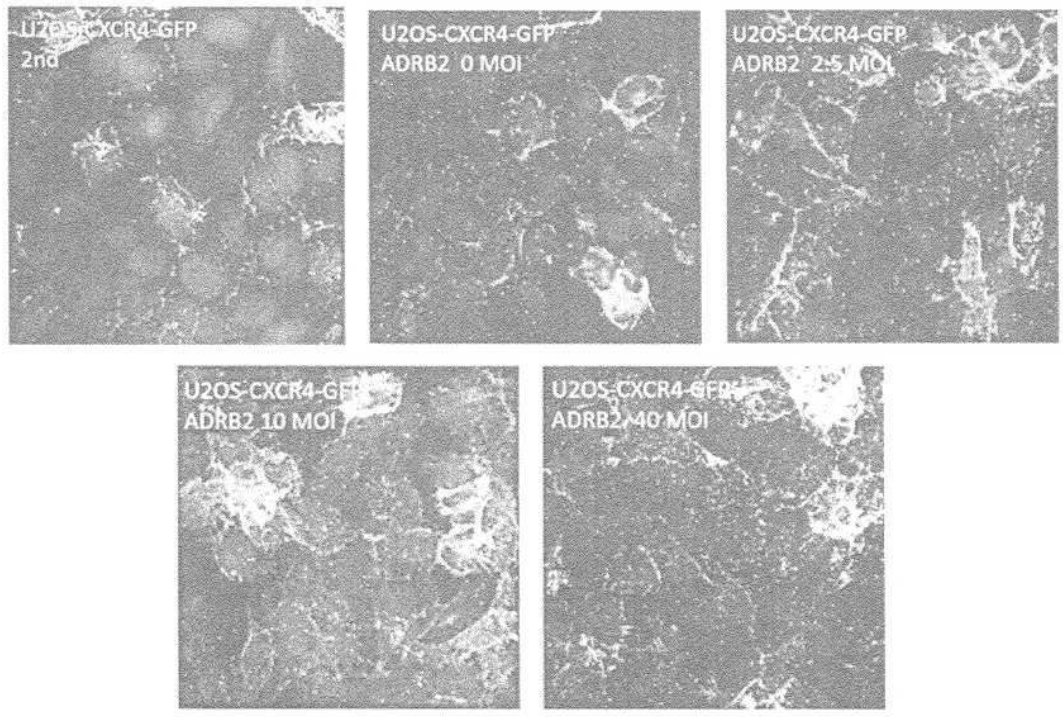
도면11b



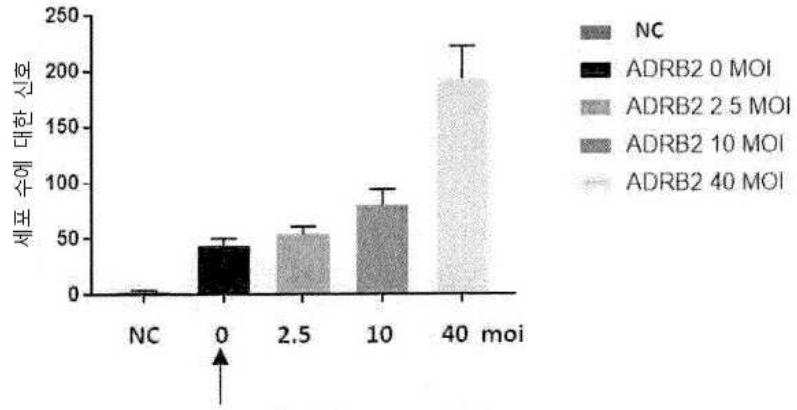
도면11c


CXCR4-HRH1
생존력 %
150
100
50
0
-3
-2
-1
0
1
2
프로메타진 농도, log[uM]
히드록사진 농도, log[uM]
로라타딘 농도, log[uM]

도면12a


U2OS-CXCR4-GFP
2nd
U2OS-CXCR4-GFP
ADRB2 0 MOI
U2OS-CXCR4-GFP
ADRB2 2.5 MOI
U2OS-CXCR4-GFP
ADRB2 10 MOI
U2OS-CXCR4-GFP
ADRB2 40 MOI

도면12b



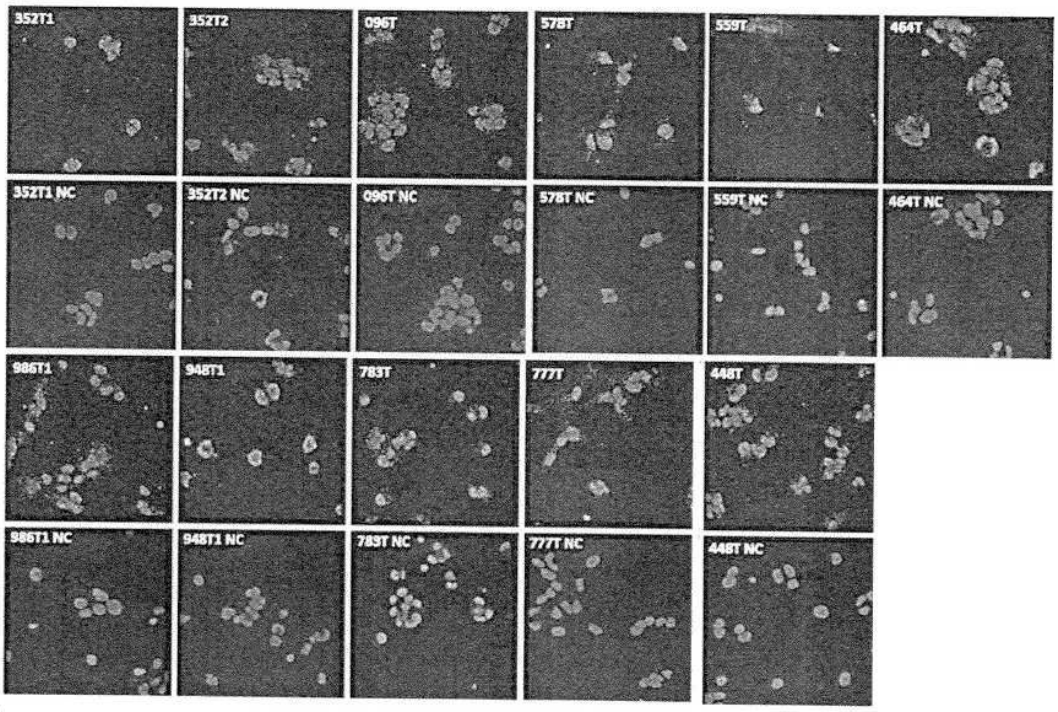
U2OS 세포에서 내생성 ADRB2 실험

도면12c

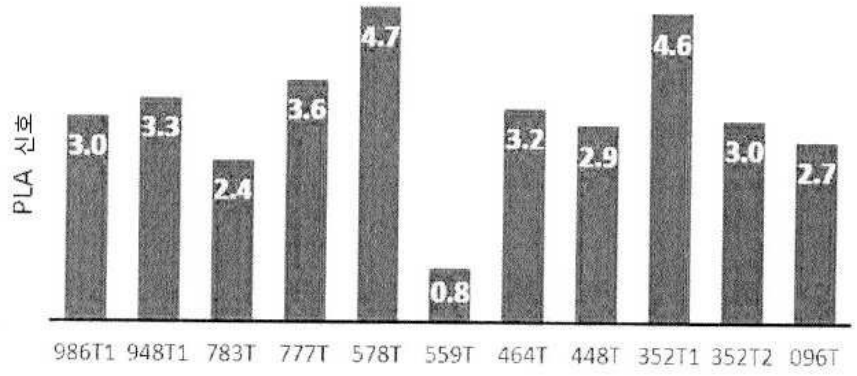
샘플	액틴	ADRB2
U2OS	*14.2	*22.3

*qPCR (Ct 값)

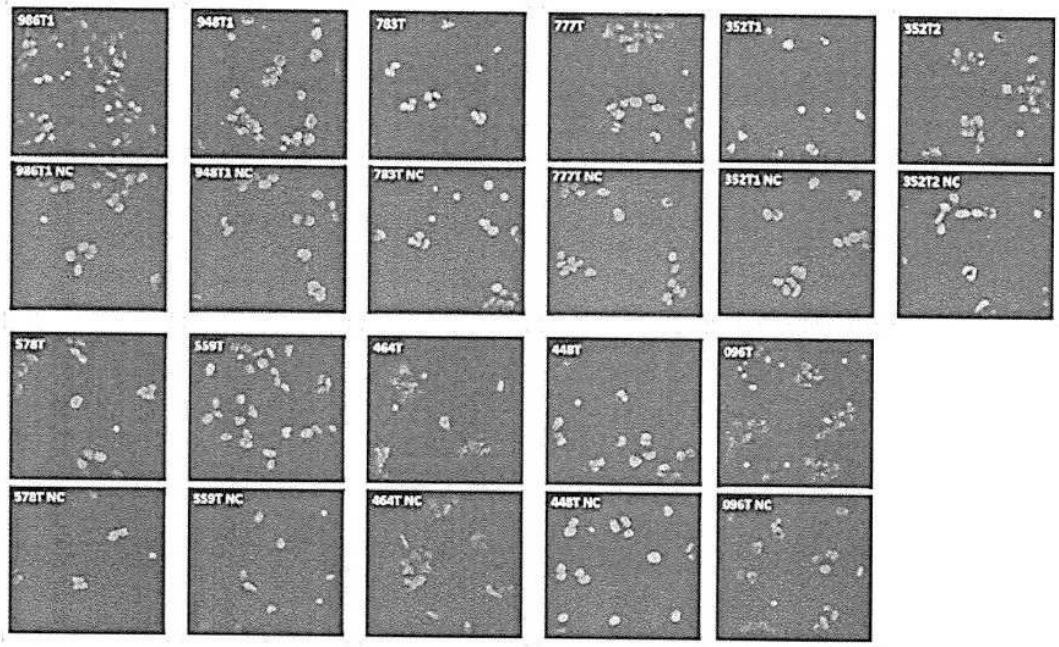
도면13a



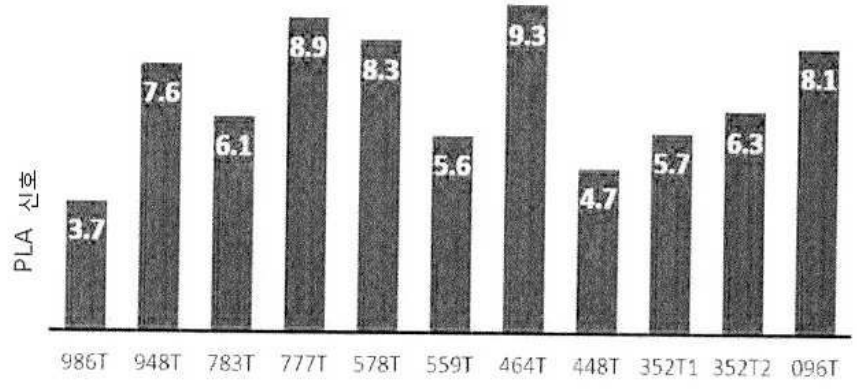
도면13b



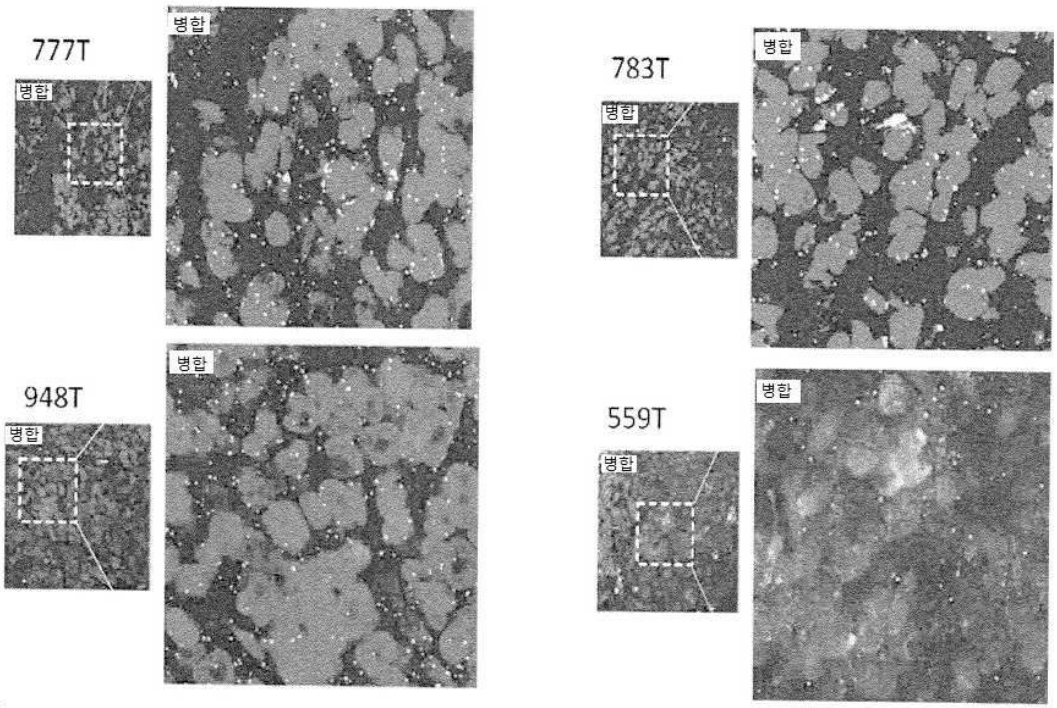
도면14a



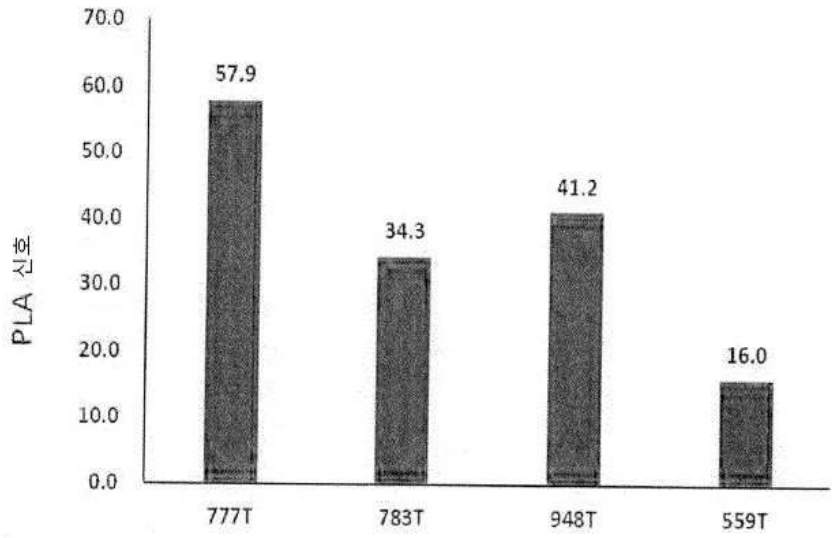
도면14b



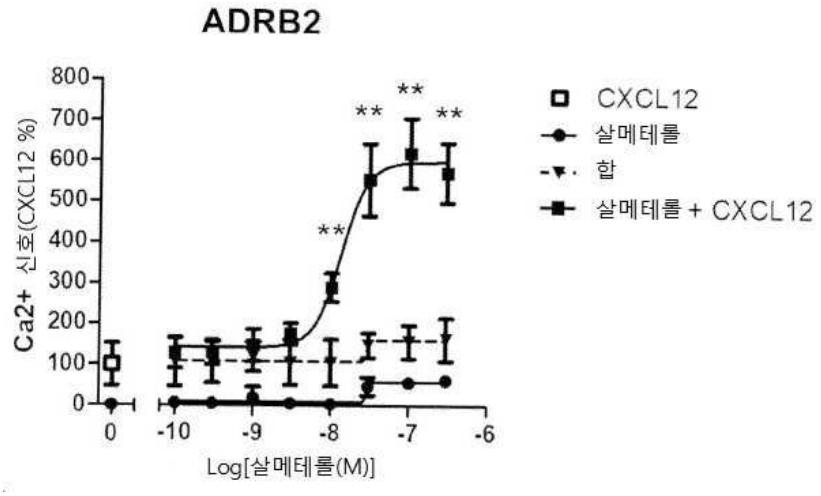
도면15a


777T
병합
병합
783T
병합
병합
948T
병합
병합
559T
병합
병합

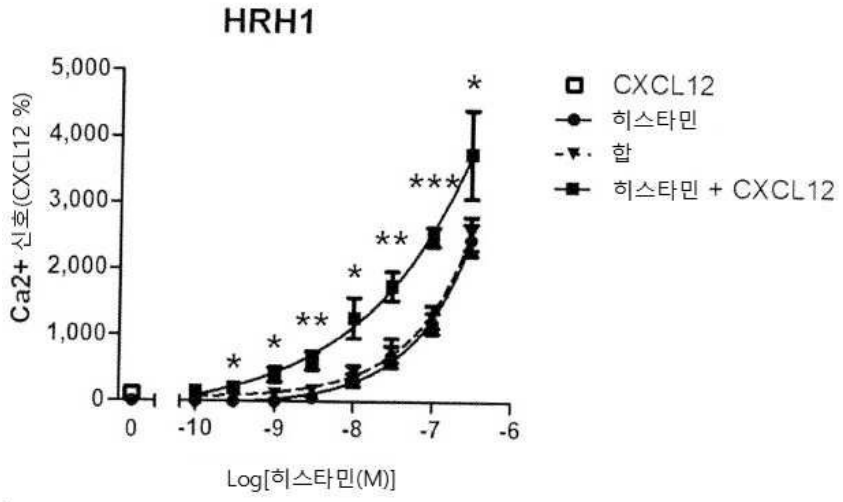
도면15b


70.0
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
PLA 신호
57.9
34.3
41.2
16.0
777T
783T
948T
559T

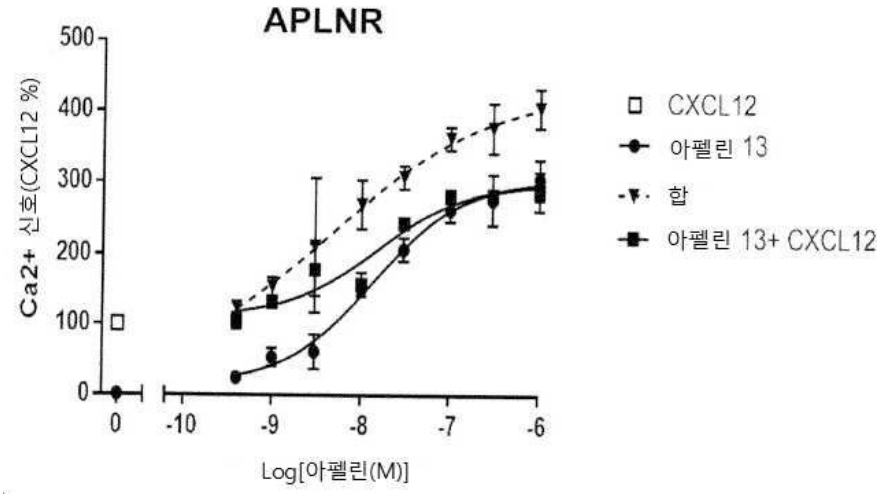
도면16a



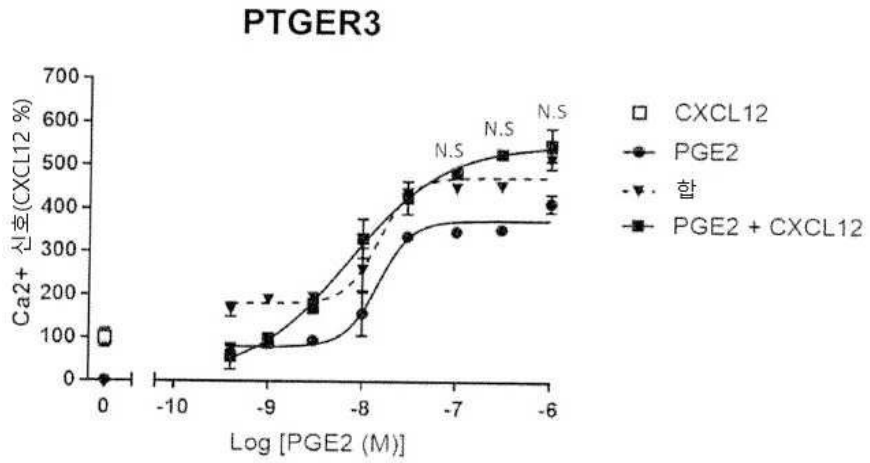
도면16b



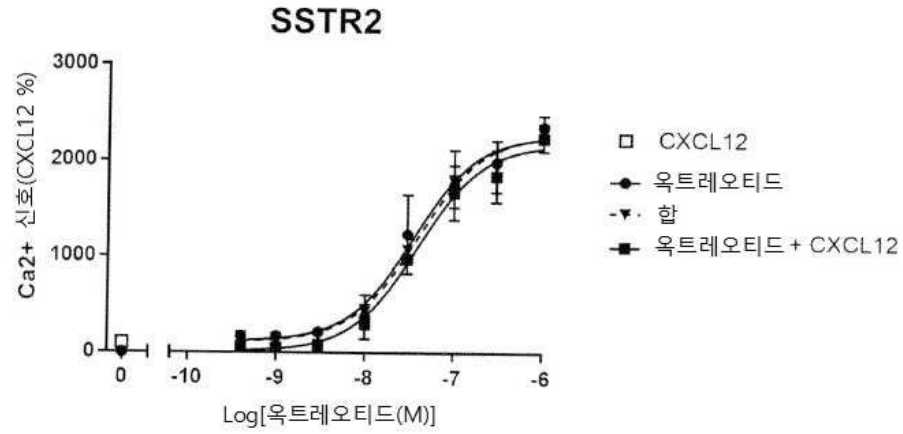
도면17a



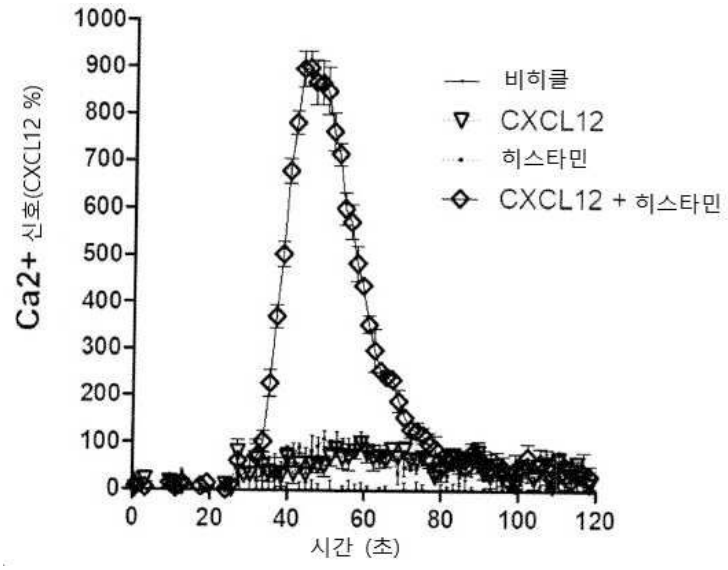
도면17b



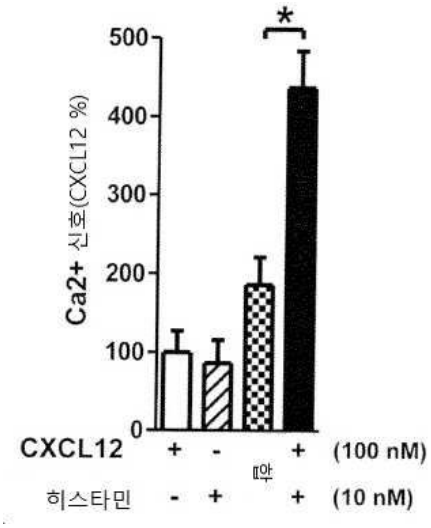
도면17c



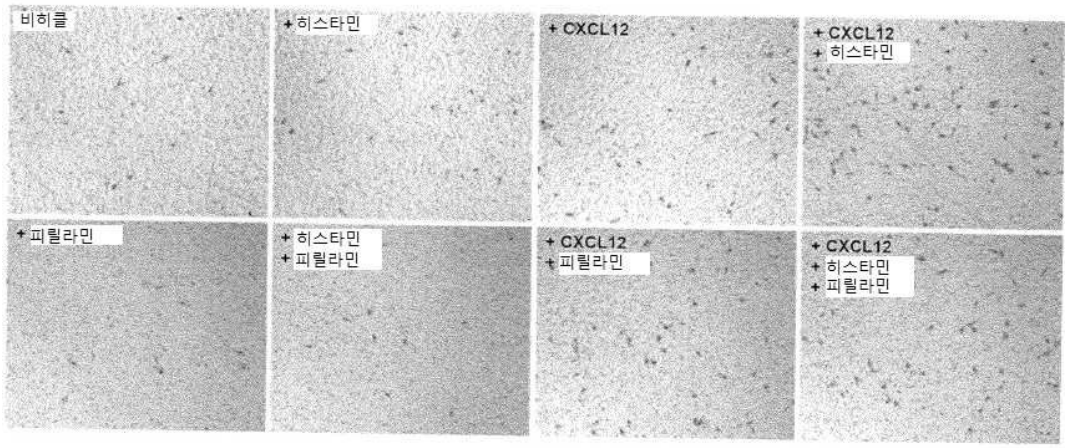
도면18a



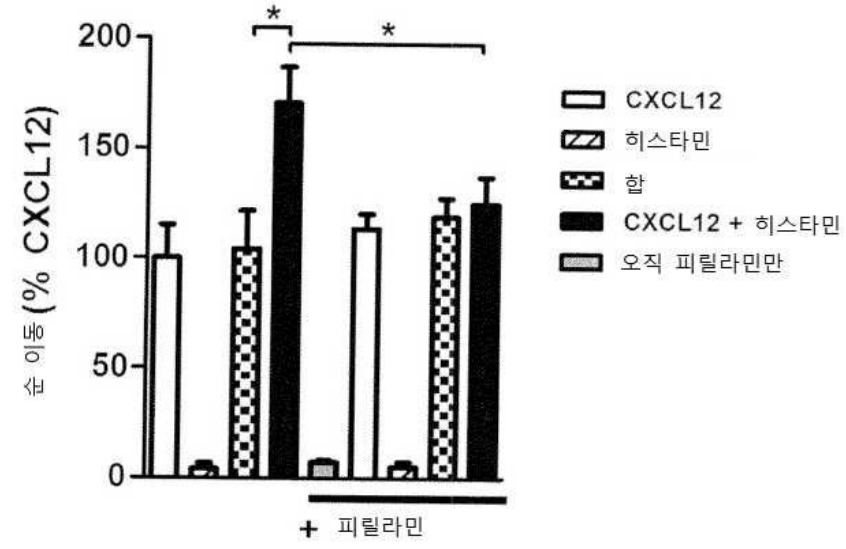
도면18b



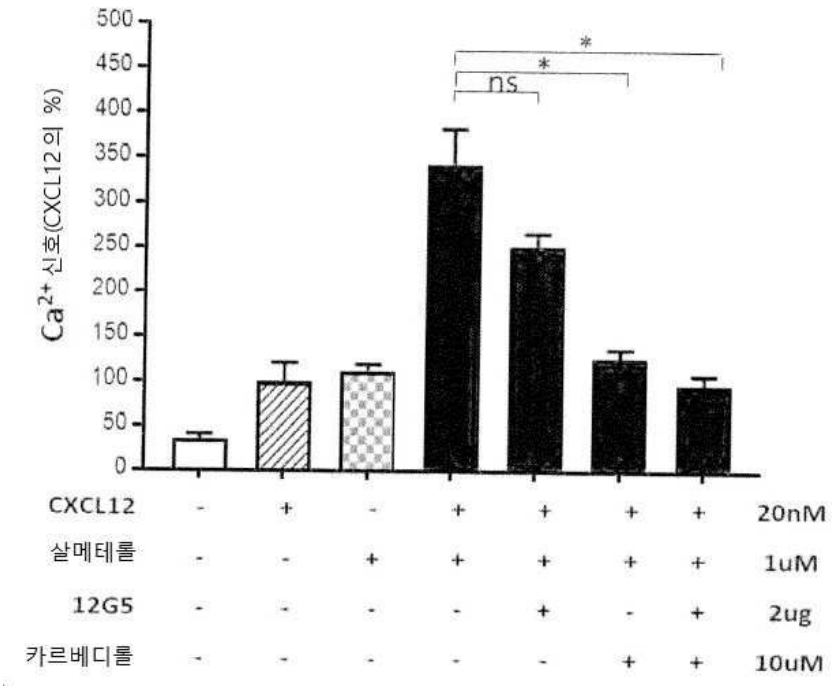
도면19a



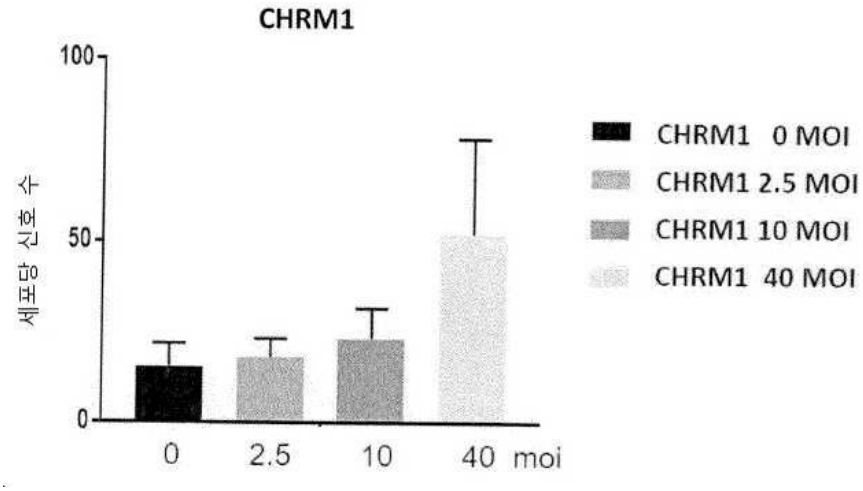
도면19b



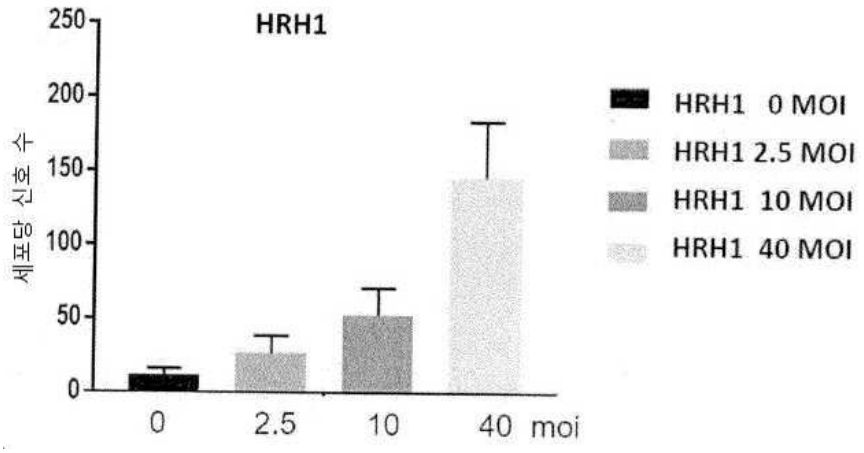
도면20


500
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
Ca2+ 신호(CXCL12 의 %)
*
*
ns
CXCL12 - + - + + + + 20nM
살메테롤 - - + + + + + 1uM
12G5 - - - - + - + 2ug
카르베디롤 - - - - - + + 10uM

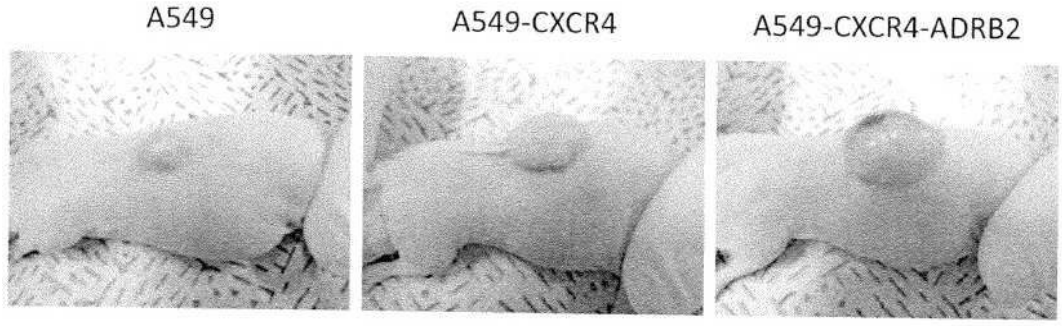
도면21a


CHRM1
100
50
0
세포당 신호 수
0
2.5
10
40 moi
CHRM1 0 MOI
CHRM1 2.5 MOI
CHRM1 10 MOI
CHRM1 40 MOI

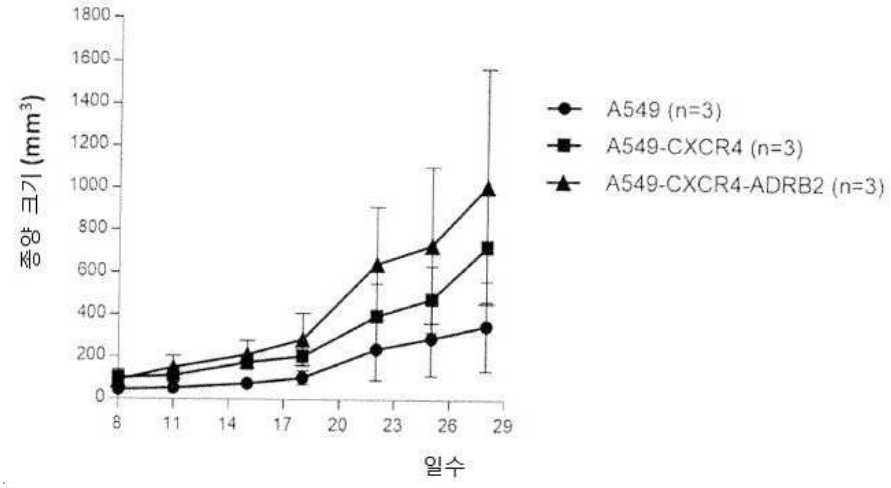
도면21b



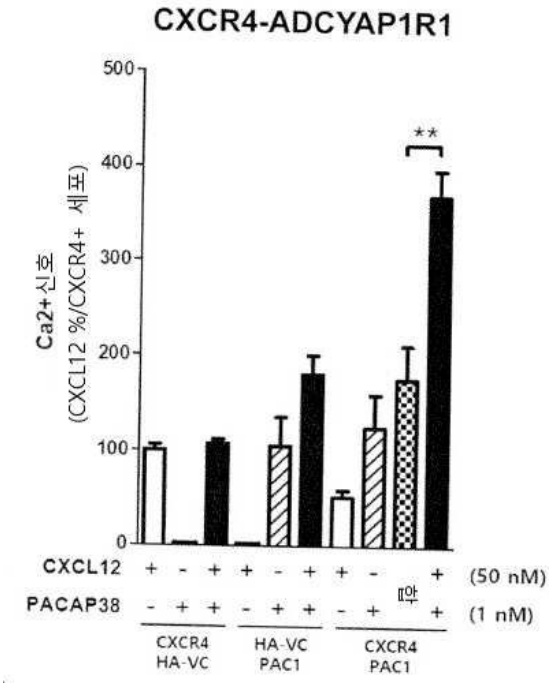
도면22a



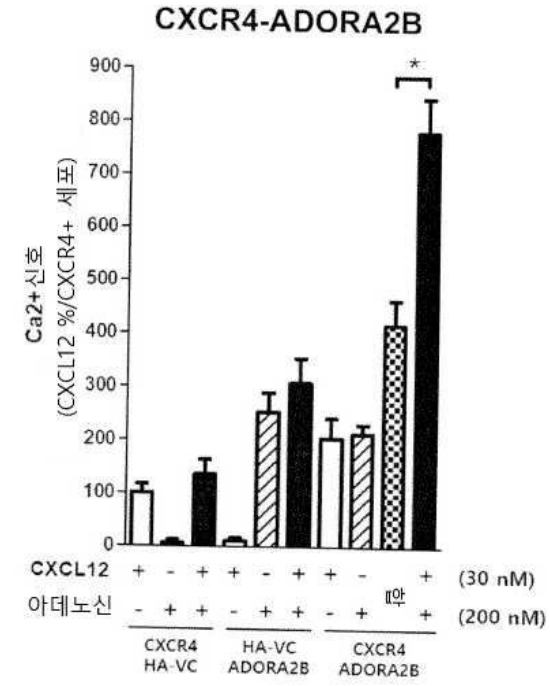
도면22b



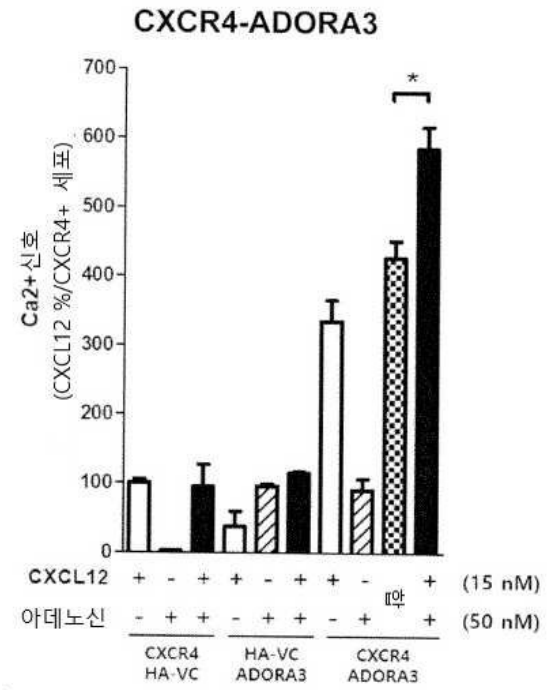
도면23a


CXCR4-ADCYAP1R1
Ca2+신호
(CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
500
400
300
200
100
0
**
CXCL12
PACAP38
(50 nM)
(1 nM)
약
CXCR4
HA-VC
HA-VC
PAC1
CXCR4
PAC1

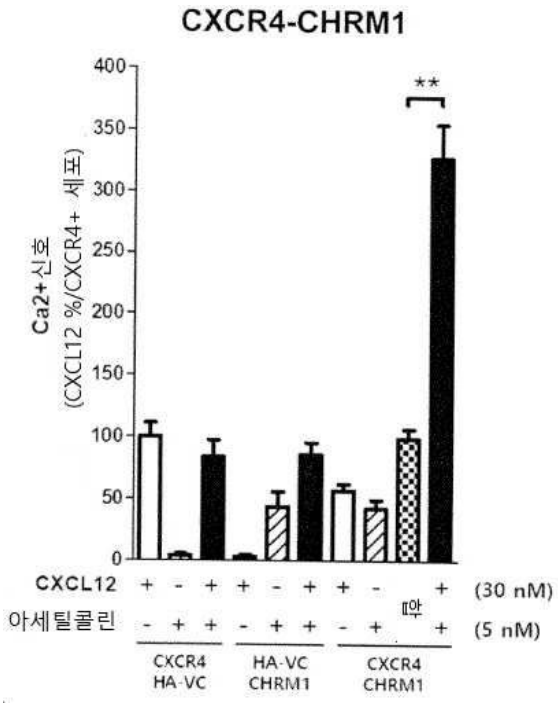
도면23b


CXCR4-ADORA2B
Ca2+신호
(CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
*
CXCL12
아데노신
(30 nM)
(200 nM)
약
CXCR4
HA-VC
HA-VC
ADORA2B
CXCR4
ADORA2B

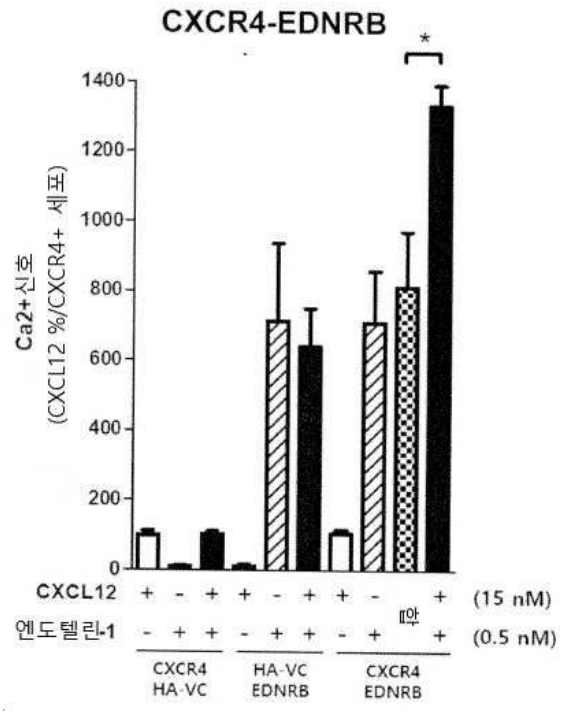
도면23c


CXCR4-ADORA3
Ca2+신호
(CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
700
600
500
400
300
200
100
0
*
CXCL12
(15 nM)
아데노신
(50 nM)
없음
CXCR4
HA-VC
HA-VC
ADORA3
CXCR4
ADORA3

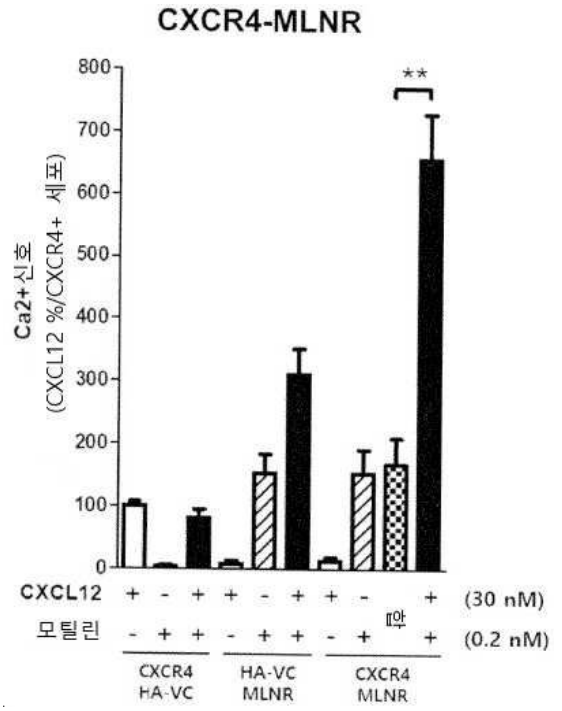
도면23d


CXCR4-CHRM1
Ca2+신호
(CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
400
350
300
250
200
150
100
50
0
**
CXCL12
(30 nM)
아세틸콜린
(5 nM)
없음
CXCR4
HA-VC
HA-VC
CHRM1
CXCR4
CHRM1

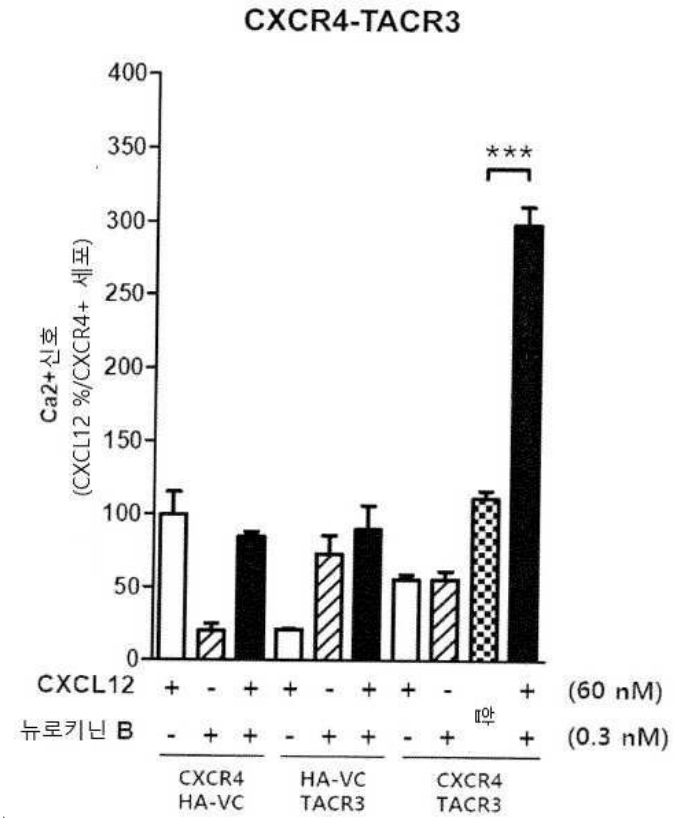
도면23e


CXCR4-EDNRB
*
Ca2+신호
(CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
CXCL12 + - + + - + + - + (15 nM)
엔도텔린-1 - + + - + + - + + (0.5 nM)
약
CXCR4
HA-VC
HA-VC
EDNRB
CXCR4
EDNRB

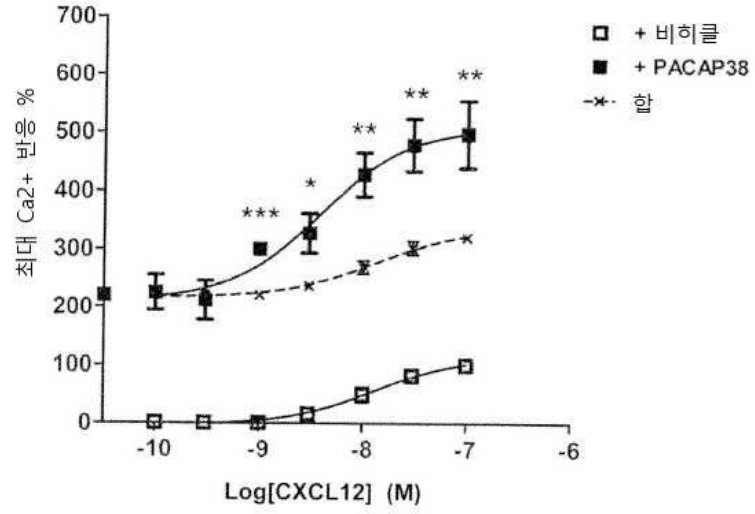
도면23f


CXCR4-MLNR
**
Ca2+신호
(CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
800
700
600
500
400
300
200
100
0
CXCL12 + - + + - + + - + (30 nM)
모틸린 - + + - + + - + + (0.2 nM)
약
CXCR4
HA-VC
HA-VC
MLNR
CXCR4
MLNR

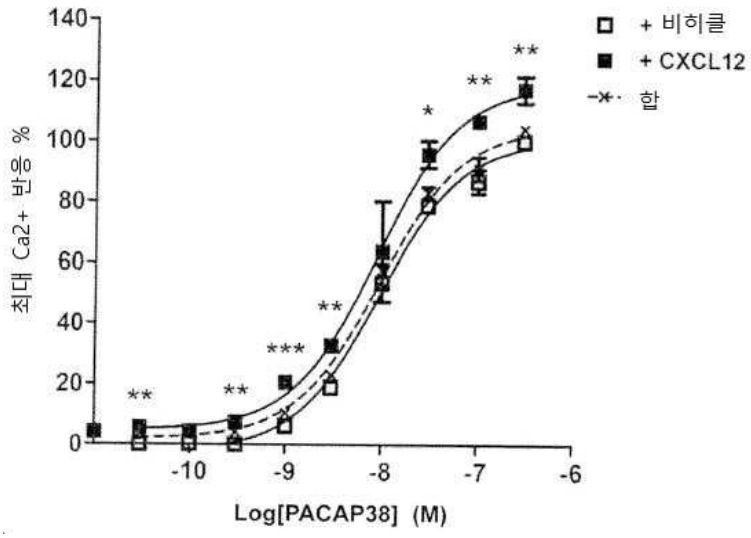
도면23g


CXCR4-TACR3
Ca2+신호
(CXCL12 %/CXCR4+ 세포)
400
350
300
250
200
150
100
50
0
***
CXCL12 + - + + - + + - + (60 nM)
뉴로키닌 B - + + - + + - + + (0.3 nM)
CXCR4
HA-VC
HA-VC
TACR3
CXCR4
TACR3

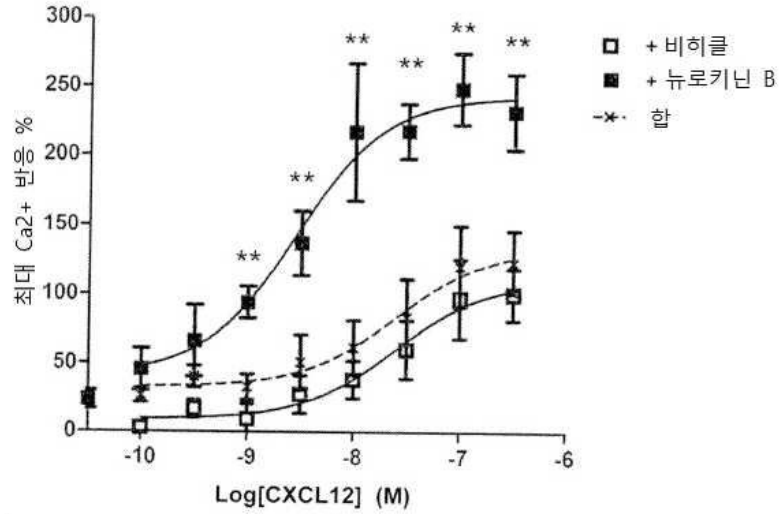
도면24a


최대 Ca2+ 반응 %
700
600
500
400
300
200
100
0
***
*
**
**
**
-10
-9
-8
-7
-6
Log[CXCL12] (M)
+ 비히클
+ PACAP38
합

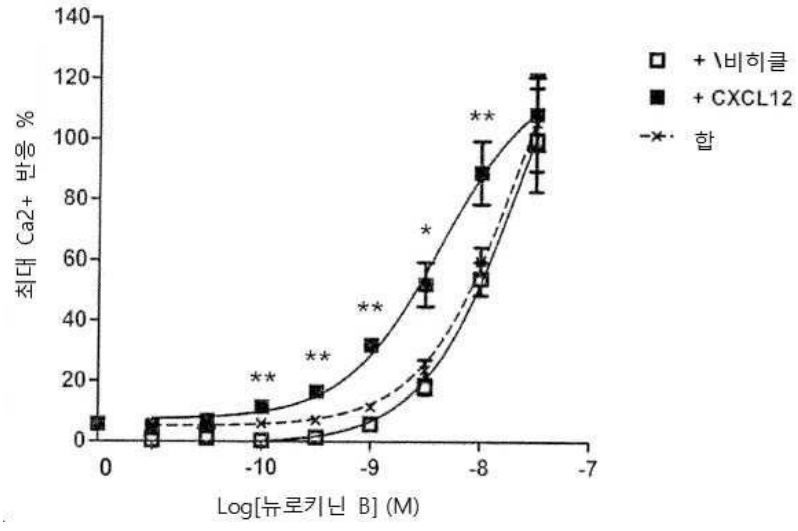
도면24b



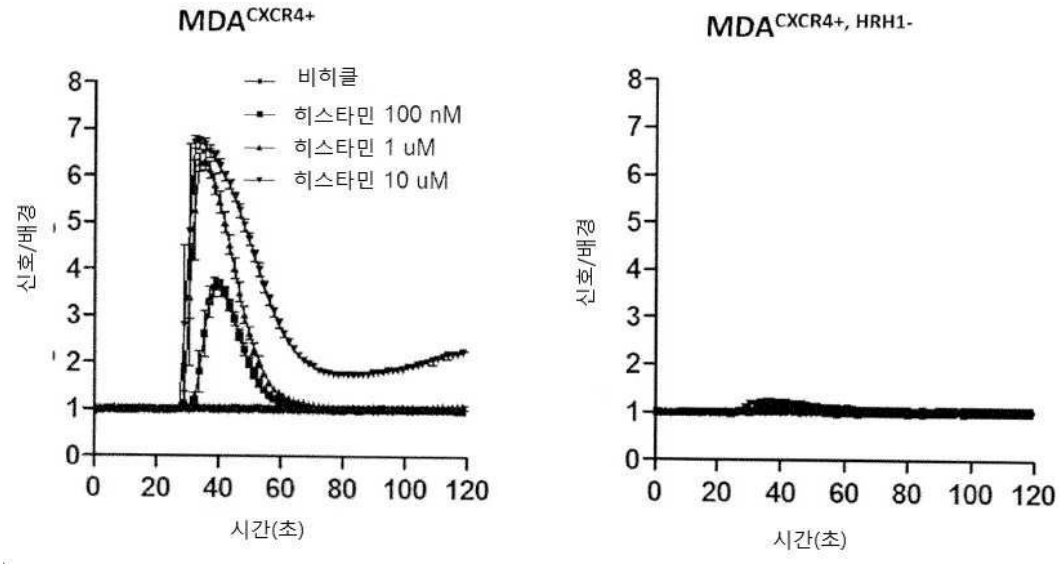
도면25a



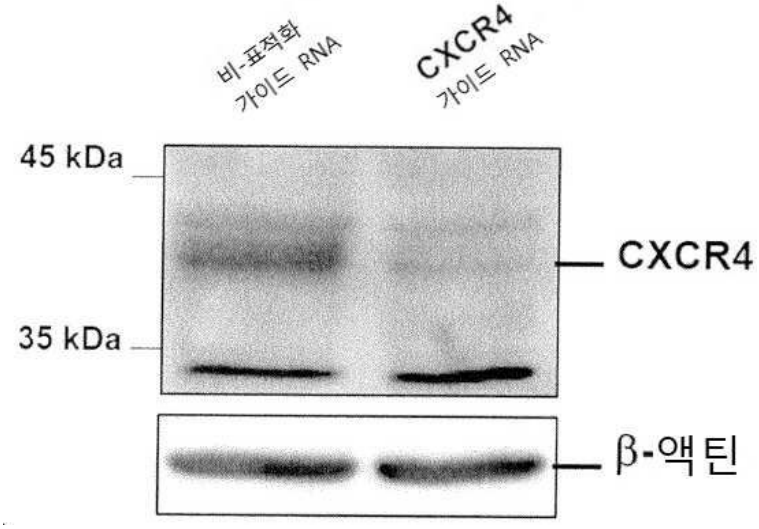
도면25b



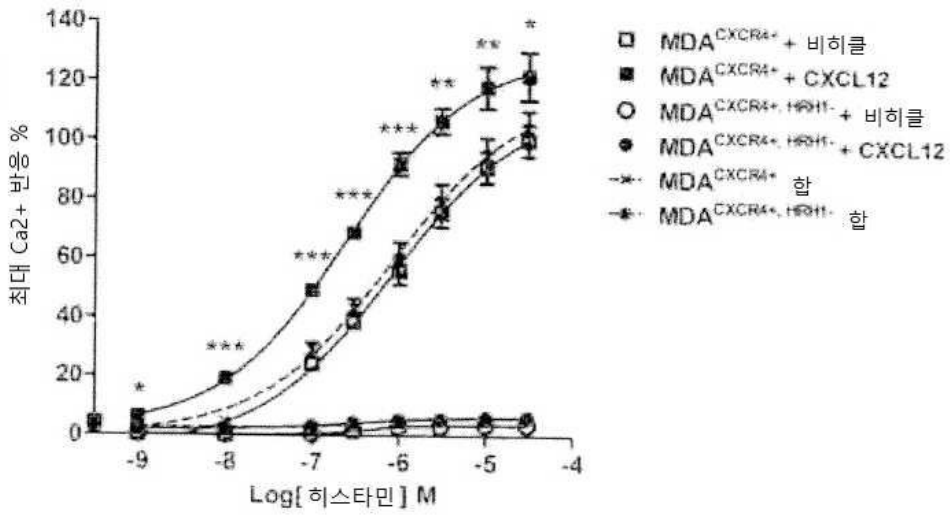
도면26a


MDA CXCR4+
비히클
히스타민 100 nM
히스타민 1 uM
히스타민 10 uM
신호/배경
시간(초)
MDA CXCR4+, HRH1-
신호/배경
시간(초)

도면26b

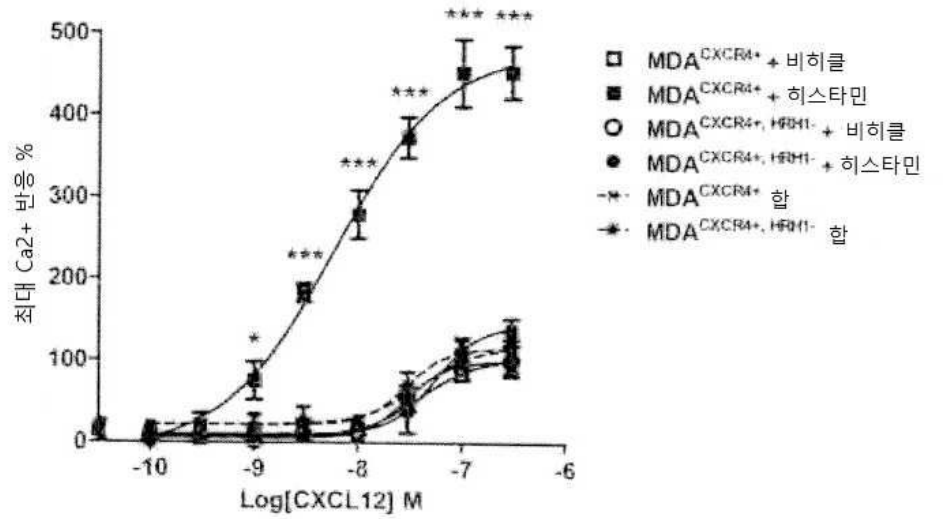

비-표적화 가이드 RNA
CXCR4 가이드 RNA
45 kDa
35 kDa
CXCR4
β-액틴

도면27a



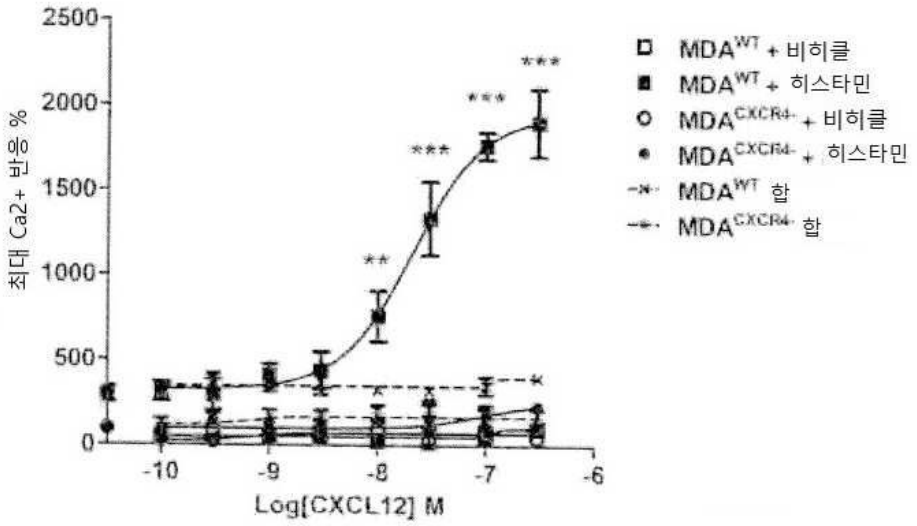
	EC50 (nM)		$E_{최대}$ (최대의 %)	
MDA^{CXCR4+} 합	843.6 ± 164.2	**	104.4 ± 5.2	*
MDA^{CXCR4+} + CXCL12	246.8 ± 43.6		121.7 ± 8.1	
$MDA^{CXCR4+, HRH1-}$ 합	420.9 ± 171	ns	6.2 ± 0.4	ns
$MDA^{CXCR4+, HRH1-}$ + CXCL12	398.4 ± 346.9		6.4 ± 0.7	

도면27b



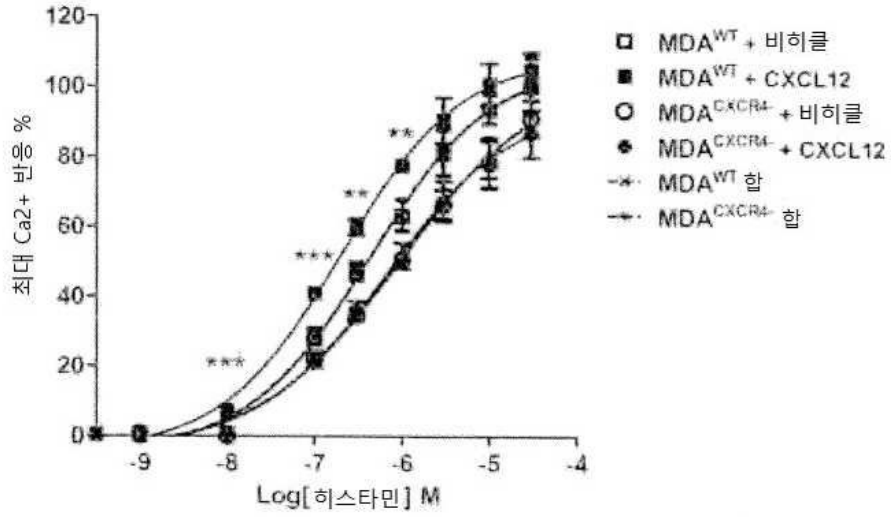
	EC50 (nM)		$E_{최대}$ (최대 %)	
MDA^{CXCR4+} 합	40.7 ± 14.9	**	114.9 ± 13.7	***
MDA^{CXCR4+} + 히스타민	5.86 ± 0.1		456.6 ± 32.1	
$MDA^{CXCR4+, HRH1-}$ 합	41.2 ± 25.7	ns	116.1 ± 18.9	ns
$MDA^{CXCR4+, HRH1-}$ + 히스타민	60.9 ± 29.8		138.7 ± 12.9	

도면28a



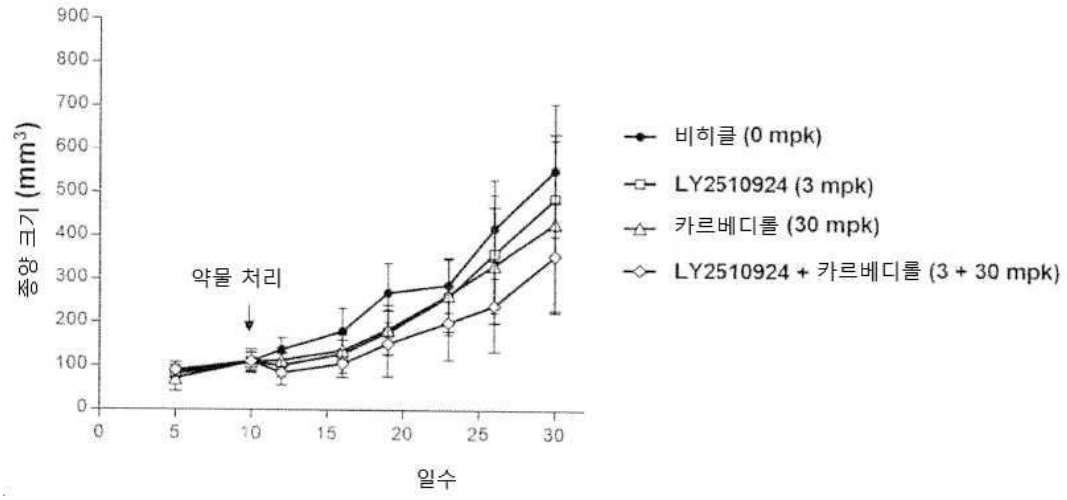
	EC50 (nM)	$E_{최대}$ (최대 %)	
MDA^{WT} 합	-	396.9 ± 10.8	***
MDA^{WT} + 히스타민	21.4 ± 6.2	1902 ± 199.6	
MDA^{CXCR4-} 합	-	142.1 ± 66.6	ns
MDA^{CXCR4-} + 히스타민	-	230.6 ± 30.5	

도면28b

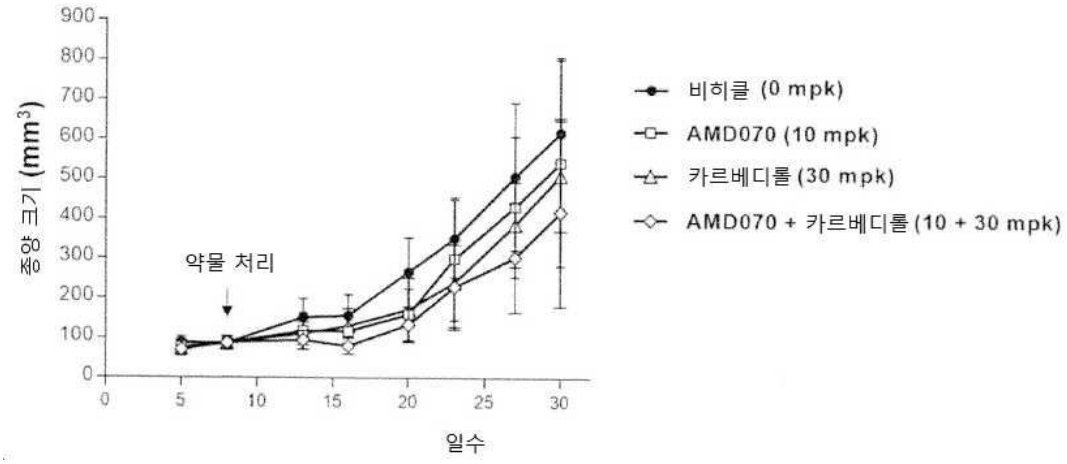


	EC50 (nM)		$E_{최대}$ (최대 %)	
MDA^{WT} 합	433.4 ± 27.1	***	100.4 ± 8.1	ns
MDA^{WT} + CXCL12	205.3 ± 34.8		104.8 ± 5.0	
MDA^{CXCR4-} 합	992.7 ± 341.2	ns	91.29 ± 5.1	ns
MDA^{CXCR4-} + CXCL12	630.8 ± 109.8		86.63 ± 6.7	

도면29a



도면29b



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> GPCR THERAPEUTICS, INC.

<120> GPCR HETEROMER INHIBITORS AND USES THEREOF

<130> 14462-009-228

<140> To Be Assigned

<141> Herewith

<150> 62/732,946

<151> 2018-09-18

<150> 62/679,598

<151> 2018-06-01

<150> 62/607,876

<151> 2017-12-19

<160> 13

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer DNA sequence of ADRB2-F

<400> 1

ctcttccatc gtgtccttct ac 22

<210> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer DNA sequence of ADRB2-R

<400> 2

aatcttctgg agctgccttt 20

<210> 3

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer DNA sequence of HRH1-F

<400> 3

cctctgctgg atcccttatt tc 22

<210> 4

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer DNA sequence of HRH1-R

<400> 4

ggttcagtgt ggagttgatg ta 22

<210> 5

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer DNA sequence of CXCR4-F

<400> 5

ccaccatcta ctccatcatc ttc 23

<210> 6

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer DNA sequence of CXCR4-R

<400> 6

acttgtccgt catgcttctc 20

<210> 7

<211> 22

<212> DNA

<213

> Artificial Sequence

<220><223> Primer DNA sequence of Beta-actin-F

<400> 7

ggaaatcgtg cgtgacatta ag 22

<210> 8

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer DNA sequence of Beta-actin-R

<400> 8

agctcgtagc tcttctcca 19

<210> 9

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer DNA sequence of GAPDH-F

<400> 9

atgacatcaa gaaggtggtg aa 22

<210> 10

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer DNA sequence of GAPDH-R

<400> 10

gctgttgaag tcagaggaga c 21

<210> 11

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Guide RNA sequence of CXCR4 gRNA no 1

<400> 11

tgttggctgc cttactacat 20

<210> 12

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Guide RNA sequence of HRH gRNA no 3

<400> 12

cgatcaagtc cgccaccgag 20

<210> 13

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Guide RNA sequence of non-targeting gRNA

<400> 13

acggaggcta agcgtcgcaa 20