



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년12월01일

(11) 등록번호 10-2473113

(24) 등록일자 2022년11월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/5377 (2006.01) A61K 31/404 (2006.01)

A61K 31/436 (2006.01) A61K 31/4375 (2006.01)

A61K 31/496 (2006.01) A61K 31/4965 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/5377 (2013.01)

A61K 31/404 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-7017622

(22) 출원일자(국제) 2014년12월08일

심사청구일자 2019년12월06일

(85) 번역문제출일자 2016년06월30일

(65) 공개번호 10-2016-0085365

(43) 공개일자 2016년07월15일

(86) 국제출원번호 PCT/US2014/069167

(87) 국제공개번호 WO 2015/085325

국제공개일자 2015년06월11일

(30) 우선권주장

61/913,063 2013년12월06일 미국(US)

(뒷면에 계속)

(56) 선행기술조사문헌

W02013155464 A1*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

에피자임, 인코포레이티드

미국 02139 메사추세츠주 캄브리지 4th 플로어 테크놀로지 스퀘어 400

(72) 발명자

케일해크, 헤이케

미국, 메사추세츠 02478, 벨몬트, 3 팰머스 스트리트

넛슨, 사라 케이.

미국, 메사추세츠 02138, 캄브리지, 유닛 22, 24 베이 스테이트 로드

쿤츠, 케빈 더블유.

미국, 메사추세츠 01801, 워번, 8 뉴 빌리지 로드

(74) 대리인

특허법인한얼

전체 청구항 수 : 총 23 항

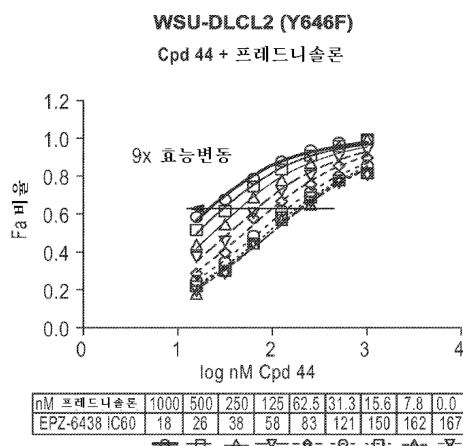
심사관 : 신영신

(54) 발명의 명칭 암 치료를 위한 병용 요법

(57) 요약

본 발명은 인간 히스톤 메틸기전이효소 EZH2의 억제제와, 기타 치료제, 구체적으로 항암제, 예를 들어 프레드니손을 포함하는 조성물과, 암 치료를 필요로 하는 피험체에 상기 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 암 치료 병용 요법에 관한 것이다.

대표도 - 도2a



(52) CPC특허분류

A61K 31/436 (2013.01)
A61K 31/4375 (2013.01)
A61K 31/496 (2013.01)
A61K 31/4965 (2013.01)
A61K 31/519 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
A61K 2300/00 (2013.01)

(30) 우선권주장

61/934,388 2014년01월31일 미국(US)
 61/992,881 2014년05월13일 미국(US)

명세서

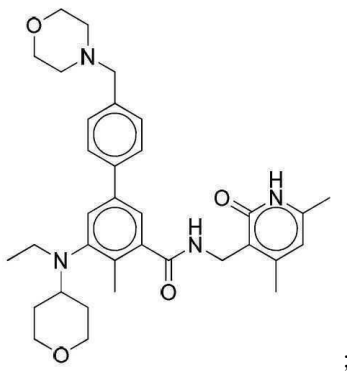
청구범위

청구항 1

치료학적 유효량의 EZH2 억제제를 포함하는, 림프종 치료를 필요로 하는 환자에서 림프종을 치료하기 위한 약학적 조성물로서,

상기 약학적 조성물이 치료학적 유효량의 치료 기준 제제와 조합되어 투여되고,

상기 EZH2 억제제가 하기 화학식을 가지는 화합물 44 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이고:



;

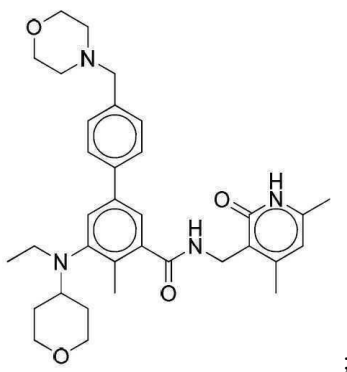
상기 치료 기준 제제가 MK-2206, 이텔랄리십, 트라메티닙, 타마티닙, 및 이브루티닙으로부터 선택되는 BCR 억제제인, 약학적 조성물.

청구항 2

치료학적 유효량의 치료 기준 제제를 포함하는, 림프종 치료를 필요로 하는 환자에서 림프종을 치료하기 위한 약학적 조성물로서,

상기 약학적 조성물이 치료학적 유효량의 EZH2 억제제와 조합되어 투여되고,

상기 EZH2 억제제가 하기 화학식을 가지는 화합물 44 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이고:



;

상기 치료 기준 제제가 MK-2206, 이텔랄리십, 트라메티닙, 타마티닙, 및 이브루티닙으로부터 선택되는 BCR 억제제인, 약학적 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 림프종이 비호지킨 림프종인, 약학적 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, 비호지킨 림프종이 DLBCL(범발성 거대 B 세포 림프종) 또는 GCB(배 중심 B 세포 유사) 림프종

인, 약학적 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 림프종이 EZH2 돌연변이 림프종인, 약학적 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, EZH2 돌연변이 림프종이 Y646, A682 또는 A692 돌연변이를 가지는 것인, 약학적 조성물.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서,

- (a) 림프종이 EZH2 야생형 림프종이거나; 또는
- (b) 림프종이 H3K27에서의 증가된 삼메틸화를 특징으로 하거나; 또는
- (c) 림프종이 EZH2 억제제 내성 또는 EZH2 억제제 난치성 림프종인, 약학적 조성물.

청구항 8

제1항 또는 제2항에 있어서,

- (a) EZH2 억제제와 치료 기준 제제가 동시 또는 순차적으로 투여되거나; 또는
- (b) EZH2 억제제가 치료 기준 제제의 투여 전에 투여되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 9

제1항 또는 제2항에 있어서, 적어도 1개의 유전자가 환자에서 상향조절되며, 여기서 상기 유전자는 글루코코르티코이드 표적 유전자이거나, 세스트린, TNF 및 GILZ (Glucocorticoid-induced leucine zipper)로부터 선택되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서,

- (a) 상기 유전자의 상향조절이 EZH2 억제제의 치료학적 유효량을 결정 또는 조정하는 데 사용되거나; 또는
- (b) 상기 유전자의 상향조절이 치료 기준 제제의 치료학적 유효량을 결정 또는 조정하는 데 사용되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 11

제1항 또는 제2항에 있어서, BCR 억제제가 MK-2206인, 약학적 조성물.

청구항 12

제1항 또는 제2항에 있어서, BCR 억제제가 이텔랄리십인, 약학적 조성물.

청구항 13

제1항 또는 제2항에 있어서, BCR 억제제가 트라메티닙인, 약학적 조성물.

청구항 14

제1항 또는 제2항에 있어서, BCR 억제제가 타마티닙인, 약학적 조성물.

청구항 15

제1항 또는 제2항에 있어서, BCR 억제제가 이브루티닙인, 약학적 조성물.

청구항 16

제1항 또는 제2항에 있어서, 림프종이 EZH2 야생형 림프종인, 약학적 조성물.

청구항 17

제1항 또는 제2항에 있어서, 림프종이 H3K27에서의 증가된 삼메틸화를 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 18

제1항 또는 제2항에 있어서, 림프종이 EZH2 억제제 내성 또는 난치성 림프종인, 약학적 조성물.

청구항 19

제1항 또는 제2항에 있어서, EZH2 억제제와 치료 기준 제제가 동시 또는 순차적으로 투여되는, 약학적 조성물.

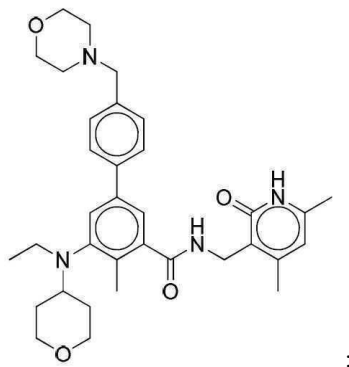
청구항 20

제1항 또는 제2항에 있어서, EZH2 억제제가 치료 기준 제제의 투여 전에 투여되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 21

치료학적 유효량의 EZH2 억제제 및 치료학적 유효량의 치료 기준 제제를 포함하는, 림프종 치료를 필요로 하는 환자에서 림프종을 치료하기 위한 약학적 조합물로서,

상기 EZH2 억제제가 하기 화학식을 가지는 화합물 44 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이고:



;

상기 치료 기준 제제가 MK-2206, 이델랄리십, 트라메티닙, 타마티닙, 및 이브루티닙으로부터 선택되는 BCR 억제제인, 약학적 조합물.

청구항 22

제21항에 있어서, EZH2 억제제가 치료 기준 제제와 조합되어 환자에게 투여되는, 약학적 조합물.

청구항 23

제21항에 있어서, EZH2 억제제 및 치료 기준 제제를 포함하는 조성물인, 약학적 조합물.

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원들

[0002] 본 출원은 미국 가출원 번호 61/913,063(2013년 12월 6일 출원), 61/934,388(2014년 1월 31 일 출원) 및 61/922,881(2014년 5월 13일 출원)에 대한 우선권과 그 이익을 주장하며, 이들 각각의 내용은 본원에 전체가 참고로 포함되어 있다.

[0003] 본 발명의 분야

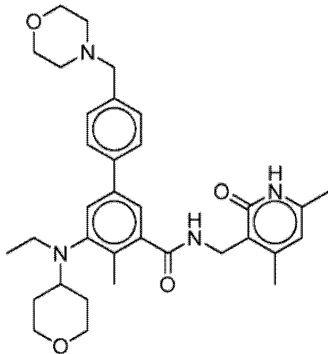
[0004] 본 발명은 인간 히스톤 메틸기전이효소 EZH2의 억제제, 히스톤 H3상 리신 27(H3-K27)의 일메틸화 내지 삼메틸화를 촉매화하는 PRC2 복합체의 촉매 서브유닛, 그리고 기타 치료제, 특히 항암제 1 개 이상을 포함하는 조성물과, 암 치료를 위한 병용 요법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 암의 병용 요법 치료는, 부분적으로는 다수의 방안들을 통해 질병을 공격하는 것으로 인지된 이점으로 말미암아 더 일반적으로 행하여지고 있다. 비록 지난 수십년에 걸쳐 다수의 효과적인 병용 요법 치료가 알려져 왔지만; 매년 암으로 인한 사망자수가 계속해서 증가하는 것을 보았을 때, 항암 치료에 사용될 효과적인 치료의 치료계획들을 찾을 필요성은 여전히 있다.

발명의 내용

[0006] 본 발명은 적어도 부분적으로 EZH2 억제제, 예를 들어 화합물 44(EPZ-6438, E7438이라고도 알려짐), 즉



는, EZH2 돌연변이 상태와는 상관없이, 현재 사용되고 있는 치료 기준(standard of care)을 비롯한 다양한 제제와 조합되어 임의의 암을 치료함에 있어 매우 유효하다는 발견을 기반으로 하고 있다. 특정 구현예에서, 암은 림프종이다. 특정 구현예에서, 암은 배 중심 B 세포(GCB) 기원의 범발성 대형 B 세포 림프종(DLBCL) 또는 비호지킨 림프종(NHL)이다. 특정 구현예들에서, 림프종은 EZH2 돌연변이체 림프종이다. 특정 구현예들에서, 림프종은 EZH2 비 돌연변이체 림프종 또는 EZH2 야생형 림프종이다. 본 발명은 또한, EZH2 억제제, 예를 들어 화합물 44와 글루코코르티코이드 수용체 작동제(GRag), 예를 들어 프레드니손, 프레드니솔론 또는 텍사메타손이 암에 있어서 치료 활성이 극적으로 증가하도록 협조한다는 발견을 기반으로 하고 있다. 화합물 44와 프레드니솔론의 조합은 EZH2 억제에 감수성인 세포의 범위를 오로지 돌연변이체 보유 GCB NHL세포로부터 모든 GCB NHL 세포에 이르기까지로 확장한다.

[0007] 하나의 양태에서, 본 발명은, 치료학적 유효량의 EZH2 억제제와 치료학적 유효량의 치료 기준 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 EZH2 억제제와 치료 기준 제제의 투여를 필요로 하는 환자에 있어서 암을 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0008] 다른 양태에서, 본 발명은, EZH2 억제제 및 치료 기준 제제를 포함하는 조합 치료학적 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 상기 조합의 투여를 필요로 하는 환자에 있어서 암을 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0009] 본 발명의 다른 양태는 EZH2 억제제 및 치료 기준 제제를 포함하는 조성물 치료학적 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 상기 조성물의 투여를 필요로 하는 환자에 있어서 암을 치료하는 방법에 관한 것이다.

- [0010] 몇몇 구현예에서, EZH2 돌연변이체 림프종은 Y646, A682 또는 A692 돌연변이이다.
- [0011] 몇몇 구현예들에서, 치료 기준 제제는 R-CHOP 성분, BCL 억제제 및 BCR 억제제로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물 1 개 이상이다.
- [0012] 몇몇 구현예들에서, R-CHOP는 CHOP의 GRag 성분인 프레드니솔론 또는 텍사메타손이다.
- [0013] 몇몇 구현예에서, R-CHOP는 글루코코르티코스테로이드 수용체 작동제이다. 특정 구현예에서, 글루코코르티코스테로이드 수용체 작동제는 프레드니솔론 또는 텍사메타손이다.
- [0014] 몇몇 구현예에서, 독소루비신은 R-CHOP로부터 배제된다.
- [0015] 몇몇 구현예에서, BCL 억제제는 나비토클락스, 오바토클락스 또는 ABT-19이다.
- [0016] 몇몇 구현예에서, BCR 억제제는 리톡시맙, AKT 억제제 MK-2206, 이텔랄리십, 트라메티닙, 타마티닙, 에베로리무스 또는 이브루티닙이다.
- [0017] 몇몇 구현예들에서, BCR 억제제는 PI3K/Akt/mTOR 신호전달 캐스케이드 억제제이다.
- [0018] 몇몇 구현예들에서, BCR 억제제는 리톡시맙, MK-2206, 이텔랄리십, 트라메티닙, 타마티닙, 에베로리무스, VELCADE 또는 이브루티닙이다.
- [0019] 몇몇 구현예들에서, EZH2 억제제와 치료 기준 제제는 동시에 또는 순차적으로 투여된다. 다른 구현예들에서, EZH2 억제제는 치료 기준 제제 투여 이전에 투여된다.
- [0020] 몇몇 구현예들에서, 적어도 1 개의 유전자는 환자에 있어서 상향조절된다. 특정 구현예들에서, 상향조절된 유전자는 세스트린(Sestrin), TNF 및 GILZ로 이루어진 군으로부터 선택된다. 다른 구현예들에서, 유전자, 즉 상향조절된 유전자는 글루코코르티코이드 표적 유전자이다.
- [0021] 몇몇 구현예들에서, 유전자의 상향조절은 EZH2 억제제와 치료 기준 제제 치료학적 유효량을 결정하거나 조정하는데 사용된다.
- [0022] 다른 양태에서, 본 발명은 치료 대상인 환자를 선택하는 방법에 관한 것인데, 여기서 환자는 세스트린, TNF 및 GILZ로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자 1 개 이상의 발현 프로필을 기반으로 선택된다.
- [0023] 하나의 양태에서, 본 발명은, 치료학적 유효량의 EZH2 억제제와 치료학적 유효량의 치료 기준 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 EZH2 억제제와 치료 기준 제제의 투여를 필요로 하는 환자에서 암을 치료하는 방법에 관한 것이고, 여기서 환자는 세스트린, TNF 또는 GILZ의 발현이 상향조절된다.
- [0024] 몇몇 구현예에서, 암은 EZH2 억제제 내성(resistant) 또는 난치성(refractory) 암이다.
- [0025] 몇몇 구현예에서, 암은 H3K27에서의 삼메틸화 증가에 의해 특징지어진다.
- [0026] 본 발명의 하나의 양태는, EZH2 억제제 내성 또는 난치성 돌연변이체 세포, 예를 들어 EZH2 돌연변이 보유 세포에 있어서 비감수성을 역전시키는 EZH2 억제제와 GRag의 조합에 관한 것이다.
- [0027] 특정 구현예들에서, EZH2 억제제는 화합물 44, 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물과, 기타 치료제 1 개 이상이다.
- [0028] 본 발명의 다른 특징들과 이점들은 이하 상세한 설명 및 청구항들로부터 분명해질 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0029] 도 1의 A 내지 F는 돌연변이체 EZH2 배 중심 B 세포 림프종 세포주에 있어서 CHOP 성분들과 화합물 44(Cpd44)로 인하여 얻어지는 복합 이익(combination benefit)을 나타내는 일련의 Fa-CI 플롯들이다. 화합물 44와 독소루비신은 WSU-DLCL2 세포에서 상승 작용하고(도 1의 A), SU-DHL-10 세포에서는 부가 효과를 나타낸다(도 1의 D). 복합 이익은 마포스파미드가 WSU-DLCL2 세포에 사용될 때(도 1의 C) 그리고 SU-DHL-10 세포에 사용될 때(도 1의 F) 관찰된다. 복합 이익은 또한 빈크리스틴이 EZH2 Y646 돌연변이체 세포주 둘 다(즉 WSU-DLCL2 세포(도 1의 B) 및 SU-DHL-10 세포(도 1의 E))에 사용될 때에도 관찰된다. WSU-DLCL2에 있어서 용량은 독소루비신이 0.16 nM 내지 20 nM이었고, 빈크리스틴은 0.04 nM 내지 5 nM이었으며, 마포스파미드는 0.156 μ M 내지 10 μ M이었고, 화합물 44는 15 nM 내지 1000 nM이었다. SU-DHL-10 세포에 있어서 용량은 독소루비신이 0.5 nM 내지 60 nM이었고, 빈크리스틴은 0.016 nM 내지 2 nM이었으며, 마포스파미드는 0.156 μ M 내지 10 μ M이었고, 화합물 44는 1.56 nM

내지 100 nM이었다. 세포들은 전처리 모델 A에 따라서 처리되었으며, 데이터는 Calcsyn 소프트웨어가 사용되어 분석되었다.

도 2a 내지 2d는 글루코코르티코이드 작동제들이 EZH2 돌연변이체 림프종 주들에 있어서 화합물 44(Cpd44)의 효능을 증가시키는 것을 도시하고 있는 일련의 플롯들이다. 화합물 44의 효능은 이 화합물 44가 글루코코르티코이드 작동제와 조합될 때 극적으로 증가하였다. 전처리 모델 A에 따라서 2 개의 EZH2 Y646F 돌연변이체 DLBCL 주들에 프레드니솔론이 부가되었을 때(도 2a, 2c), 또는 덱사메타손이 부가되었을 때(도 2b, 2d), 화합물 44의 IC₅₀은 용량 의존적 변동을 나타낸다. 상기 두 세포주들에 있어서 프레드니솔론의 용량 범위는 15 nM 내지 1000 nM이었고, 덱사메타손의 용량 범위는 1.5 nM 내지 100 nM이었다. 화합물 44의 용량 범위는, WSU-DLCL2 세포의 경우에는 15 nM 내지 1000 nM이었고, SU-DHL-10 세포의 경우에는 1.5 nM 내지 100 nM이었다.

도 3a 내지 3d는, WSU-DLCL2 EZH2 돌연변이체(도 3a, 3b)와 DOHH2 EZH2 야생형(도 3c, 3d) GCB 림프종 세포주에 있어서 화합물 44(Cpd 44)와, 프레드니솔론 또는 덱사메타손의 각각의 조합의 이익들을 나타내는, 일련의 용량 응답 플롯들이다. 화합물 44의 용량 범위는 15.6 nM 내지 1000 nM이었고, 프레드니솔론의 용량 범위는 7.8 nM 내지 1000 nM이었으며, 덱사메타손의 용량 범위는 0.8 nM 내지 100 nM이었다(도 3a 및 도 3b). 화합물 44의 효능은 EZH2 돌연변이체 WSU-DLCL2 세포에 있어서 프레드니솔론 또는 덱사메타손이 사용될 때 증가하였다(도 3c 및 3d). 화합물 44는 DOHH2 EZH2 야생형 세포에서 단일 제제로서는 항증식 효과를 나타내지 않았으므로, 프레드니솔론 또는 덱사메타손의 효능 변동이 확인되었다. DOHH2 세포에 있어서 프레드니솔론 또는 덱사메타손의 효능은 화합물 44가 첨가되었을 때 증가하였다.

도 4는, 화합물 44(Cpd 44)/글루코코르티코이드 작동제 조합이 EZH2 억제제(EZH2i)에 내성인 세포주 내에서 EZH2 억제제 비감수성을 극복한다는 것을 나타내는 요약 표이다. 전체적으로 프레드니솔론과 화합물 44의 조합은 EZH2i 감수성 세포주에서만 아니고, 테스트 대상인 모든 GCB 세포에서 더 큰 감수성을 유도한다. RL 세포의 경우를 제외하고, 약물 첨가 순서는 중요한데, 그 이유는 프레드니솔론과의 예비 항온처리후 화합물 44가 투여되는 것은 효과적이지 않기 때문이다.

도 5의 A 및 B는, 화합물 44(Cpd44)와 다른 표적화 요법들이 조합되어 적용될 때 EZH2 돌연변이체 림프종 세포주에서 관찰되는 매우 강력한 상승효과를 나타내는 플롯 2 개다. 매우 강력한 상승효과는 화합물 44가, BCL2 억제제인 나비토클락스와 조합되어 투여될 때(도 5의 A), 그리고 mTOR 억제제 에베로리무스와 조합되어 투여될 때(도 5의 B) 관찰된다. 나비토클락스의 용량 범위는 0.16 μ M 내지 10 μ M이고, 에베로리무스의 용량 범위는 0.04 nM 내지 5 nM이며, 화합물 44의 용량 범위는 31 nM 내지 2000 nM이다. 이와 같은 데이터는 전처리 모델 A에서 구하여졌으며, 데이터는 Calcsyn 소프트웨어가 사용되어 분석되었다.

도 6은, 화합물 44(Cpd 44)가 사용되는 약물 요법들 및/또는 다양한 약물들의 조합으로부터 얻어진 결과에 대한 요약 표이다. EZH2 돌연변이체 림프종 주들에서 화합물 44로 인한 복합 이익은 테스트 대상인 모든 약물이 사용될 때 달성되었다. 글루코코르티코이드 작동제들은 EZH2 WT 및 돌연변이체 GCB 림프종 주들에 있어서 복합 이익을 나타내었다.

도 7a 내지 7c는, EZH 돌연변이체 림프종 이종이식편 모델 몇 개에 있어서 화합물 44(Cpd44)-CHOP 조합 적용이 단일 제제가 투여되었을 때에 비하여 증가된 항종양 활성을 나타내는 것을 입증하는 일련의 플롯들이다. WSU-DLCL2(EZH2 Y646F) 이종이식편들은 방법들에 지정된 바와 같이 화합물 44, CHOP, 또는 이것들의 조합으로 28 일 동안 처리되었다(도 7a). 평균 종양 부피 \pm SEM이 플롯으로 작성되었다. 화합물 44 용량 150 mg/kg TID 및 225 mg/kg BID 둘 다는 비이클 단독 용량 상기만큼보다 종양 성장 억제에 있어 통계학적으로 더 유의적이었다(*p값 < 0.05). 225 mg/kg BID만큼의 화합물 44와 CHOP가 적용되는 처리는 임의의 단일 제제 단독 처리보다 더 큰 종양 퇴행을 초래하였다(***p값 < 0.001 대 비이클). 통계 결과들은 반복된 측정치 ANOVA에 의해 산정되었다. SU-DHL6(EZH2 Y646N) 이종이식편은 방법들에 지정된 바와 같이 화합물 44, CHOP 또는 이것들의 조합으로 28 일 동안 처리되었다(도 7b). 평균 종양 부피 \pm SEM이 맨위 패널에 플롯으로 작성되었다. CHOP 또는 단일 제제 화합물 44 단독은 종양 성장에 어떠한 영향도 미치지 않았지만, 225 mg/kg BID만큼의 화합물 44와 CHOP가 함께 적용된 처리는 28 일의 처리 기간 동안에 종양 성장 퇴행을 초래하였는데, 다만 이때 종양 성장 지연은 35 일간의 투여 중지 이후에 유지되었다(*p값 < 0.0001). 60 일에 걸친 생존 곡선들(아래 패널)은, 화합물 44와 CHOP가 조합되어 처리된 동물들에서 유의적 종양 성장 지연을 나타내고 있다(***p값 < 0.05). 통계 결과들은 양측 꼬리 검정(two-tailed t-test)에 의해 산정되었다. SUDHL-10(EZH2 Y646F) 이종이식편들은 방법들에 지정된 바와 같이 화합물 44, COP(독소루비신 성분 불포함 SOC) 또는 이것들의 조합으로 28 일 동안 처리되었다(도 7c). 평균 종양 부피 \pm SEM은 맨위 패널에 플롯으로 작성되었다. 종양 성장 지연 연구 60 일에 걸친 생존율(%)은 중간 패널에

플롯으로 작성되었다(주의: 500 mg/kg 및 250 mg/kg +COP 생존 곡선들은 중첩됨). 평균 중앙 무게들은 맨아래 패널에 비교되어 있는데, 이는 그룹들 간 중앙 무게에 유의적 차이가 있음을 나타내고 있다(*p값 < 0.05, ** p 값 < 0.01, ****p값 < 0.0001).

도 8의 A 내지 C는, 다양한 세포주들이 화합물 44, 프레드니솔론, 이 화합물 44와 프레드니솔론의 조합, 또는 DMSO로 처리될 때, 글루코코르티코이드 표적 유전자 세트인 1(*SESN1*, 도 8의 A), *TNF*(도 8의 B) 및 *GILZ*(도 8의 C)의 발현 수준 변화를 나타내는 패널들이다. 도 8의 A 내지 C에 나타난 바와 같이, 공동 처리 후에는 화합물 44 또는 프레드니솔론 중 어느 하나만이 단독 처리된 후에 비하여 세트인 1, *TNF* 및 *GILZ*의 발현 수준 증가가 관찰되었다.

도 9a 내지 도 9d는 전반적인 H3K27 아세틸화 및 트리메틸화가 프레드니솔론 또는 조합 처리에 의해 영향받지 않음을 나타내는 패널들이다. 세포들은 4 일 동안, 프레드니솔론, 화합물 44(Cpd44), 또는 프레드니솔론과 화합물 44의 조합(프레드니솔론의 용량은 일정하게 유지함)의 용량을 늘려가면서 이것들로 처리되었다. 산 추출된 히스톤은 H3K27Me3 수준들에 대해 ELISA에 의하여 분석되었다(도 9a)(프레드니솔론 단독 처리, 좌측 패널; 화합물 44/프레드니솔론 조합 처리, 우측 패널; IC₅₀값들은 각 그래프의 주석으로서 제공됨). 프레드니솔론 처리에 있어서 H3K27Me3값들은, 본 화합물이 사용되어 관찰되는 용량 의존적 변화들이 존재하지 않았던 것으로서, 막대 그래프로 제시되어 있다. WSU-DLCL2(도 9b), OCI-LY19(도 9c) 또는 RL(도 9d) 세포들은 4 일 동안 프레드니솔론, 화합물 44, 또는 화합물 44와 프레드니솔론의 조합(다만 프레드니솔론의 용량은 일정하게 유지함)의 양을 늘려가면서 이것들로 처리되었다. 산 추출된 히스톤은 H3K27 아세틸화 수준들에 대해 웨스턴 블롯에 의하여 분석되었다.

도 10은 화합물 44 또는 프레드니솔론 중 어느 하나가 사용되는 단일 제제 처리는 SMARCB1 단백질 수준에 어떠한 영향도 미치지 않음을 나타내는 웨스턴 블롯 결과이다.

도 11의 A 및 D는 화합물 44와 에베로리무스의 복합 이익을 나타내는 Fa-CI 플롯들이다. 도 11의 B 및 E는, 화합물 44, 에베로리무스, 화합물 44와 에베로리무스의 조합, 또는 DMSO로 처리된 WSU-DLCL2 세포 및 SU-DHL-5 세포에서 세포자살을 나타내는 패널들이다. 도 11의 C 및 F는, WSU-DLCL2 세포 및 SU-DHL-5 세포 둘 다에서 화합물 44만이 단독으로 처리되었을 때와 비교되는, 화합물 44와 에베로리무스가 공동 처리되었을 때 관찰되는, 세포주기 중 G1기에서의 변화들을 보여주는 플롯들이다. WSU-DLCL2 세포 및 SU-DHL-5 세포 둘 다에서 화합물 44와 에베로리무스 조합에 대해 강력한 상승효과들이 관찰되었다(도 11의 A 및 D).

도 12의 A 및 D는 화합물 44와 이브루티닙의 복합 이익을 나타내는 Fa-CI 플롯들이다. 도 12의 B 및 E는 화합물 44, 이브루티닙, 화합물 44와 이브루티닙의 조합, 또는 DMSO로 처리된 WSU-DLCL2 세포 및 SU-DHL-5 세포에서의 세포자살을 나타내는 패널이다. 도 12의 C 및 F는 WSU-DLCL2 세포 및 SU-DHL-5 세포 둘 다에서 화합물 44만이 단독으로 처리되었을 때와 비교되는, 화합물 44와 이브루티닙이 공동 처리되었을 때 관찰되는, 세포주기 중 G1기에서의 변화들을 나타내는 플롯들이다. WSU-DLCL2 세포 및 SU-DHL-5 세포 둘 다에서 화합물 44와 이브루티닙 조합에 대해 강력한 상승효과들이 관찰되었다(도 12의 A 및 D).

도 13의 A, D 및 G는 WSU-DLCL2 세포, SU-DHL-5 세포 및 OCI-LY19 세포에서의 화합물 44 및 MK-2206의 복합 이익을 나타내는 Fa-CI 플롯들이다. 도 13의 B, E 및 H는 화합물 44, MK-2206, 화합물 44와 MK-2206의 조합, 또는 DMSO로 처리된 WSU-DLCL2 세포, SU-DHL-5 세포 및 OCI-LY19 세포에서의 세포자살을 나타내는 패널이다. 도 13의 C, F 및 I는 상기 3 개의 세포주들에서 화합물 44만이 단독으로 처리되었을 때와 비교되는, 화합물 44와 MK-2206이 공동 처리되었을 때 관찰되는, 세포주기 중 G1기에서의 변화들을 나타내는 플롯들이다. WSU-DLCL2 세포, SU-DHL-5 세포 및 OCI-LY19 세포에서 화합물 44와 MK-2206의 조합에 대해 강력한 상승효과들이 관찰되었다(도 13의 A, D 및 G).

도 14의 A 내지 C는, WSU-DLCL2 세포 및 SU-DHL-5 세포가 화합물 44, 이브루티닙, MK-2206, 화합물 44와 이브루티닙의 조합, 또는 화합물 44와 MK-2206의 조합으로 처리되었을 때, EGR1, FOS, TCL1, AICDA 및 GJA1의 유전자 발현 변화를 보여주는 막대 그래프이다. EGR1(40 배) 및 FOS(4 배)의 하향조절과, AICDA(3 배), TCL1A(5 배) 및 GJA1(3 배)의 상향조절은 단일 제제 단독 처리시보다 화합물 44와 제2 제제의 조합이 처리되었을 때 관찰되었다(도 14의 A 내지 C).

도 15는 신호전달 경로 내 다양한 화학 요법 제제들의 표적들과 범발성 대형 B 세포 림프종(DLBCL) 생물학에 연루된 신호전달 경로들에 관한 도해이다.

도 16의 A 및 D는, WSU-DLCL2 세포 및 SU-DHL-5 세포가 화합물 44, 에베로리무스, 화합물 44와 에베로리무스의

조합, 그리고 DMSO로 처리된 후에 관찰되는, 세포주기 중 G1기에서의 변화들을 나타내는 플롯들이다. 도 16의 B 및 E는 WSU-DLCL2 세포 및 SU-DHL-5 세포가 화합물 44, 에베로리무스, 화합물 44와 에베로리무스의 조합, 그리고 DMSO로 처리되었을 때 관찰되는, 세포주기 중 S기에서의 변화들을 나타내는 플롯들이다. 도 16의 C 및 F는 WSU-DLCL2 세포 및 SU-DHL-5 세포가 화합물 44, 에베로리무스, 화합물 44와 에베로리무스의 조합, 그리고 DMSO로 처리되었을 때 관찰되는, 세포주기 중 G2/M기에서의 변화들을 나타내는 플롯들이다. SU-DHL-5 세포들에 조합 처리된 후 48 시간 경과시에는 세포주기 중 G1, S 및 G2/M 기 각각에 있는 세포들의 상승적 감소가 나타난다(도 16의 D 내지 F). WSU-DLCL2 세포들이 단일 제제 처리 또는 조합 처리되었을 때 세포주기 중 서브 G1기에서는 어떠한 변화도 관찰되지 않았다(도 16의 A). WSU-DLCL2 세포가 조합으로 처리되었을 때, 세포주기 중 S기 및 G2/M 기 각각에 있는 세포들의 시간 의존 상승적 감소가 관찰되었다(도 16의 B 및 C).

도 17의 A 및 D는, WSU-DLCL2 세포 및 SU-DHL-5 세포가 화합물 44, 이브루티닙, 화합물 44와 이브루티닙의 조합, 그리고 DMSO로 처리되었을 때 관찰되는, 세포주기 중 G1기에서의 변화들을 나타내는 플롯들이다. 도 17의 B 및 E는 WSU-DLCL2 세포들 및 SU-DHL-5 세포들이 화합물 44, 이브루티닙, 화합물 44와 이브루티닙의 조합, 그리고 DMSO로 처리되었을 때 관찰되는, 세포주기 중 S기에서의 변화들을 나타내는 플롯들이다. 도 17의 C 및 F는 WSU-DLCL2 및 SU-DHL-5 세포들이 화합물 44, 이브루티닙, 화합물 44와 이브루티닙의 조합, 그리고 DMSO로 처리되었을 때 관찰되는, 세포주기 중 G2/M기에서의 변화들을 나타내는 플롯들이다. 도 17의 A 내지 F는, WSU-DLCL2 세포 및 SU-DHL-5 세포가, 화합물 44 또는 이브루티닙이 단일 제제로서 처리되었을 때와 비교되는, 이 화합물 44 또는 이브루티닙으로 공동 처리된 후 24시간 경과시 세포주기 중 G1, S 및 G2/M 각각에 있는 세포들의 상승적 감소를 나타낸다.

도 18의 A, D 및 G는, WSU-DLCL2 세포, SU-DHL-5 세포 및 OCI-LY19 세포가 화합물 44, MK-2206, 화합물 44와 MK-2206의 조합, 그리고 DMSO로 처리된 후에 관찰되는, 세포주기 중 G1기에서의 변화들을 나타내는 플롯들이다. 도 18의 B, E 및 H는 WSU-DLCL2 세포, SU-DHL-5 세포 및 OCI-LY19 세포가 화합물 44, MK-2206, 화합물 44와 MK-2206의 조합, 그리고 DMSO로 처리되었을 때 관찰되는, 세포주기 중 S기에서의 변화들을 나타내는 플롯들이다. 도 18의 C, F 및 I는 WSU-DLCL2 세포, SU-DHL-5 세포 및 OCI-LY19 세포가 화합물 44, MK-2206, 화합물 44와 MK-2206의 조합, 그리고 DMSO로 처리되었을 때 관찰되는, 세포주기 중 G2/M기에서의 변화들을 나타내는 플롯들이다. 도 18의 A 내지 I는, WSU-DLCL2 세포 및 SU-DHL-5 세포가, 화합물 44 또는 MK-2206이 단일 제제로서 처리되었을 때와 비교되는, 이 화합물 44 및 MK-2206으로 공동 처리되었을 때에 세포주기 중 G1, S 및 G2/M 각각에 있는 세포들의 상승적 감소를 나타낸다.

도 19는, 화합물 44, 프레드니솔론, 화합물 44와 프레드니솔론의 조합, 또는 DMSO로 처리된 *EZH2* 야생형(OCI-LY19, DOHH2), *EZH2* Y646-감수성(WSU-DLCL2, SUDHL10), 그리고 *EZH2* Y646-내성(RL, SUDHL) 세포주들에 대해서, 글루코코르티코이드 수용체의 발현 수준의 변화(DMSO 대조군에 대해 정규화됨)를 나타내는 막대 그래프이다. 배수 변화값들은 컴Ct 방법이 사용되고, 참고 유전자로서는 *ACTB*, *B2M* 및 *GAPDH* 가 사용되어 정량되었다. 결과들이 나타내는 바와 같이, 글루코코르티코이드 수용체들의 발현 수준들은 조합 처리시 세포주들 간에 통상 영향받지 않았다.

도 20의 A 내지 C는 이종이식편 보유 마우스에서 진행된 CHOP 치료계획에서 1 개 또는 모든 화학요법 성분들이 배제되었을 때의 효과들을 보여주는 것이다. 도 20의 A는, 화합물 44, COP(독소루비신 성분을 포함하지 않는 화학요법) 또는 이것들의 조합이 28 일 동안 처리/적용되었을 때 SUDHL10(*EZH2* Y646F) 이종이식편 보유 마우스에서 종양 무게 변화들을 나타내는 플롯이다. 도 20의 B는 화합물 44, 프레드니솔론 또는 이것들의 조합 2 회 용량으로 28 일 동안 처리되었을 때 SUDHL10(*EZH2* Y646F) 이종이식편 보유 마우스에서 종양 무게 변화들을 나타내는 플롯이다. 도 20의 C는 화합물 44, 프레드니솔론 또는 이것들의 조합이 처리되었을 때 SUDHL10(*EZH2* Y646F) 이종이식편 보유 마우스의 체중 변화들을 나타내는 플롯이다(도 20의 B 참조). 최대 허용 용량의 화합물 44 또는 화합물 44/COP 조합이 투여/적용된 마우스는 60 일 경과시 100% 생존율을 나타내었고, 최대 허용 용량의 화합물 44 처리 그룹을 비롯하여 기타 모든 처리 그룹들 중 조합 투여 그룹은 28 일 경과시 최소 종양 무게를 나타내었다(도 20의 A). 프레드니손 단독 투여는 어떠한 유의적 항종양 효과도 유도하지 않았다(도 20의 B). 앞선 연구와 병행하여 화합물 44가 투여되었을 경우에는 오로지 부분 응답만을 나타냈으나, 프레드니손 투여계획 2 회차 진행시가 아닌 화합물 44와 프레드니손의 공동 투여시에는 화합물 44가 단독으로 최대 용량만큼 투여될 때 달성되는 최대 가능 퇴행(maximal possible regression)이 유도되었다.

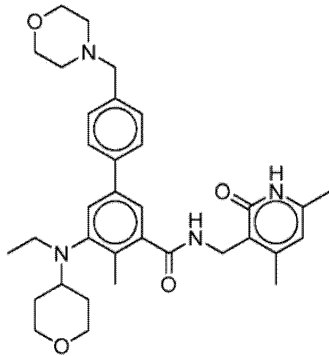
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0030]

본 발명은 적어도 부분적으로는, 화합물 44가, EZH2 돌연변이 상태와는 상관없이, 현재 사용되고 있는 치료 기

준을 비롯한 다양한 제제와 조합되어 임의의 암을 치료함에 있어 매우 유효하다는 발견을 기반으로 하고 있다. 특정 구현예에서, 암은 림프종이다. 특정 구현예에서, 암은 배 중심 B 세포(GCB) 기원의 범발성 대형 B 세포 림프종(DLBCL) 또는 비호지킨 림프종(NHL)이다. 특정 구현예들에서, 림프종은 EZH2 돌연변이체 림프종이다. 특정 구현예들에서, 림프종은 EZH2 비 돌연변이체 림프종 또는 EZH2 야생형 림프종이다.

[0031] 본 발명의 특정 양태들에서, EZH2 억제제는 하기 화학식을 가지는 화합물 44(EPZ-6438, E7438이라고도 알려짐) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이다:



[0032]

[0033] 본 발명은, 종양이 EZH2 히스톤 메틸기전이효소 억제제 또는 항암제가 단독 처리되어 달성되는 결과보다 월등한 결과를 달성하면서, EZH2 히스톤 메틸기전이효소 억제제와 기타 항암제가 임의의 종양을 치료하는데 조합되어 사용될 수 있다는 발견을 기반으로 한다. 그러므로, 본 발명은 EZH2 히스톤 메틸기전이효소 억제제와 1 개 이상의 기타 치료제를 포함하는 조성물, 그리고 진행 과정이 히스톤 또는 기타 단백질의 메틸화 상태 조절에 의해 영향을 받을 수 있는 질병(예를 들어, 암)을 치료하는데 있어서 상기 조성물의 사용 방법을 제공한다. 특정 구현예에서, 본 발명은 화합물 44 및 프레드니손을 포함하는 조성물을 특징으로 한다. 본 발명은 또한 암, 예를 들어 여포성 림프종(FL) 및 범발성 세포 대형 B 세포 림프종(DCLBL)을 치료하기 위한, EZH2 히스톤 메틸기전이효소 억제제 및 1 개 이상의 치료제, 예를 들어 화합물 44 및 프레드니손을 포함하는 병용 요법의 방법을 포함하기도 한다. 구체적으로 본 발명의 방법은 암을 치료 또는 예방하거나, 암 세포 증식을 억제하는데 유용하다.

[0034] 본 발명의 하나의 양태는, 돌연변이체 EZH2를 발현하는 피험체에 치료학적 유효량의 EZH2 억제제와 1 개 이상의 기타 치료제를 투여함으로써 피험체 내에서 암 또는 전암성 병태의 증상을 치료 또는 완화하기 위한 방법에 관한 것이다. 본 발명의 돌연변이체 EZH2는, 돌연변이체 EZH2 폴리펩티드 또는 이 돌연변이체 EZH2 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 서열을 지칭한다. 특정 구현예에서, 돌연변이체 EZH2는 자체의 기질 포켓 도메인에 1 개 이상의 돌연변이를 포함한다.

[0035] 본 발명의 다른 양태는, 돌연변이체 EZH2 또는 야생형 EZH2를 발현하는 피험체에 치료학적 유효량의 EZH2 억제제와 1 개 이상의 기타 치료제를 투여함으로써 피험체 내에서 암 또는 전암성 병태의 증상을 치료 또는 완화하기 위한 방법에 관한 것이다. 본 발명의 돌연변이체 EZH2는, 돌연변이체 EZH2 폴리펩티드 또는 돌연변이체 EZH2 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 서열을 지칭한다. 특정 구현예들에서, 돌연변이체 EZH2는 자체의 기질 포켓 도메인에 1 개 이상의 돌연변이를 포함한다.

[0036] 다른 양태에서, 본 발명은 돌연변이체 EZH2 또는 야생형 EZH2를 발현하는 피험체에 치료학적 유효량의 EZH2 억제제, 예를 들어 화합물 44와 1 개 이상의 글루코코르티코이드 수용체 작동제(GRag), 예를 들어 프레드니손, 프레드니솔론 또는 텍사메타손을 투여함으로써 피험체 내에서 암 또는 전암성 병태의 증상을 치료 또는 완화하기 위한 방법에 관한 것이다. 본 발명의 돌연변이체 EZH2는 돌연변이체 EZH2 폴리펩티드 또는 이 돌연변이체 EZH2 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 서열을 지칭한다. 특정 구현예들에서, 돌연변이체 EZH2는 자체의 기질 포켓 도메인에 1 개 이상의 돌연변이를 포함한다.

[0037] 인간 EZH2 핵산 및 폴리펩티드는 이미 기술된 바 있다. 예를 들어 각각이 본원에 그 자체로서 참고문헌으로 인용되어 있는 문헌 및 입수처[Chen et al. (1996) *Genomics* 38:30-7 [746 개 아미노산]; Swiss-Prot 승인번호 Q15910 [746 아미노산]; GenBank 승인번호 NM_004456 및 NP_004447(동형체 a[751 개 아미노산]); 및 GenBank 승인번호 NM_152998 및 NP_694543(동형체 b [707 개 아미노산])]를 참조한다.

[0038] 본 출원을 위해 인간 EZH2의 아미노산 잔기 Y641은 Swiss-Prot 승인번호 Q15910의 Y641이거나 이에 상응하는 티로신 잔기를 지칭하는 것으로 이해될 것이다.

- [0039] 또한 본 출원을 위해서 인간 EZH2의 Y641 돌연변이체, 그리고 균등하게는 EZH2의 Y641 돌연변이체는 야생형 인간 EZH2의 Y641에 상응하는 아미노산 잔기가 티로신 이외의 아미노산 잔기에 의해 치환된 인간 EZH2를 지칭하는 것으로 이해될 것이다.
- [0040] 특정 구현예들에서, R-CHOP는 CHOP의 GRag 성분인 프레드니솔론 또는 텍사메타손이다. 특정 구현예들에서, B 세포 수용체(BCR) 신호전달 경로 억제제는 리툭시맙, AKT 억제제 MK-2206, 이텔랄리십, 트라메티닙, 타마티닙, 에베로리무스 또는 이브루티닙이다.
- [0041] 본 발명은 부분적으로, PI3K-AKT-mTOR BCR 신호전달 경로 억제제, 예를 들어 이텔랄리십, MK-2206 및 에베로리무스가 화합물 44와 조합되어 투여될 때 WSU-DLCL2 세포주 및 SU-DHL-10 세포주 내에서 매우 강력한 상승효과를 유도하였다는 발견을 기반으로 한다. 본 발명은 또한 부분적으로, 화합물 44 및 B 세포 수용체 경로 억제제, 예를 들어 이브루티닙 및 타마티닙의 조합은 상기 돌연변이체 세포주 둘 다에서 매우 강력한 상승효과를 나타내었다는 발견을 기반으로 한다. 특정 구현예들에서, BCL 수용체 억제제는 나보티클락스 또는 ABT-199이다.
- [0042] 몇몇 구현예들에서, 암은 배 중심 B 세포의 비호지킨 림프종, 범발성 대형 B 세포 림프종 또는 비호지킨 림프종이다.
- [0043] 몇몇 구현예들에서, 치료 기준 제제는 R-CHOP, BCL 억제제 및 BCR 억제제로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물 1 개 이상이다.
- [0044] 몇몇 구현예들에서, R-CHOP는 CHOP의 GRag 성분인 프레드니솔론 또는 텍사메타손이다.
- [0045] 몇몇 구현예들에서, BCR 억제제는 리툭시맙, AKT 억제제 MK-2206, 이텔랄리십, 트라메티닙, 타마티닙, 에베로리무스 또는 이브루티닙이다.
- [0046] 몇몇 구현예들에서, 암은 EZH2 돌연변이체 암이다.
- [0047] 몇몇 구현예들에서, 암은 EZH2 억제제 내성 또는 난치성 암이다.
- [0048] 하나의 구현예에서, EZH2의 Y641 돌연변이체 아미노산 서열은, 오로지 야생형 인간 EZH2의 Y641에 상응하는 단일 아미노산 잔기의, 티로신 이외의 아미노산 잔기에 의한 치환으로 말미암아, 야생형 인간 EZH2의 아미노산 서열과 상이하다.
- [0049] 하나의 구현예에서, EZH2의 Y641 돌연변이체 아미노산 서열은, 오로지 야생형 인간 EZH2의 Y641에 상응하는 단일 아미노산 잔기에 대한 페닐알라닌(F)의 치환으로 말미암아 야생형 인간 EZH2의 아미노산 서열과 상이하다. 본 구현예에 의한 EZH2의 Y641 돌연변이체는 본원에서 Y641F 돌연변이체 또는 균등하게는 Y641F로서 지칭된다.
- [0050] 하나의 구현예에서, EZH2의 Y641 돌연변이체 아미노산 서열은, 오로지 야생형 인간 EZH2의 Y641에 상응하는 단일 아미노산 잔기에 대한 히스티딘(H)의 치환으로 말미암아 야생형 인간 EZH2의 아미노산 서열과 상이하다. 본 구현예에 의한 EZH2의 Y641 돌연변이체는 본원에서 Y641H 돌연변이체 또는 균등하게는 Y641H로서 지칭된다.
- [0051] 하나의 구현예에서, EZH2의 Y641 돌연변이체 아미노산 서열은, 오로지 야생형 인간 EZH2의 Y641에 상응하는 단일 아미노산 잔기에 대한 아르기닌(N)의 치환으로 말미암아 야생형 인간 EZH2의 아미노산 서열과 상이하다. 본 구현예에 의한 EZH2의 Y641 돌연변이체는 본원에서 Y641N 돌연변이체 또는 균등하게는 Y641N으로서 지칭된다.
- [0052] 하나의 구현예에서, EZH2의 Y641 돌연변이체 아미노산 서열은, 오로지 야생형 인간 EZH2의 Y641에 상응하는 단일 아미노산 잔기에 대한 세린(S)의 치환으로 말미암아 야생형 인간 EZH2의 아미노산 서열과 상이하다. 본 구현예에 의한 EZH2의 Y641 돌연변이체는 본원에서 Y641S 돌연변이체 또는 균등하게는 Y641S로서 지칭된다.
- [0053] 하나의 구현예에서, EZH2의 Y641 돌연변이체 아미노산 서열은, 오로지 야생형 인간 EZH2의 Y641에 상응하는 단일 아미노산 잔기에 대한 시스테인(C)의 치환으로 말미암아 야생형 인간 EZH2의 아미노산 서열과 상이하다. 본 구현예에 의한 EZH2의 Y641 돌연변이체는 본원에서 Y641C 돌연변이체 또는 균등하게는 Y641C로서 지칭된다.
- [0054] 하나의 구현예에서, EZH2의 A677 돌연변이체 아미노산 서열은, 오로지 야생형 인간 EZH2의 A677에 상응하는 단일 아미노산 잔기에 대한 비 알라닌 아미노산, 바람직하게는 글리신(G)의 치환으로 말미암아 야생형 인간 EZH2의 아미노산 서열과 상이하다. 본 구현예에 의한 EZH2의 A677 돌연변이체는 본원에서 A677 돌연변이체, 바람직하게는 A677G 돌연변이체, 또는 균등하게는 A677G로서 지칭된다. A677은 또한 A682라 지칭되기도 한다.
- [0055] 하나의 구현예에서, EZH2의 A687 돌연변이체 아미노산 서열은, 오로지 야생형 인간 EZH2의 A687에 상응하는 단일 아미노산 잔기에 대한 비 알라닌 아미노산, 바람직하게는 발린(V)의 치환으로 말미암아 야생형 인간 EZH2의

아미노산 서열과 상이하다. 본 구현예에 의한 EZH2의 A687 돌연변이체는 본원에서 A687 돌연변이체, 바람직하게는 A687V 돌연변이체, 또는 균등하게는 A687V로서 지칭된다. A687은 또한 A692라 지칭되기도 한다.

[0056] 하나의 구현예에서, EZH2 돌연변이체의 아미노산 서열은 야생형 인간 EZH2의 아미노산 서열과, 자체의 기질 포켓 도메인의 아미노산 잔기 1 개 이상만큼 상이하다. 본 구현예에 의한 EZH2의 돌연변이체는 본원에서 EZH2 돌연변이체로서 지칭된다.

[0057] 기타 예시적 치환 아미노산 돌연변이는 677번, 687번 또는 641번 아미노산 위치 에서의 치환, 예를 들어 677번 아미노산 위치에서 야생형 잔기 알라닌(A)에 대한 글리신(G)의 치환(A677G); 687번 아미노산 위치에서 야생형 잔기 알라닌(A)에 대한 발린(V)의 치환(A687V); 641번 아미노산 위치에서 야생형 잔기 티로신(Y)에 대한 페닐알라닌(F)의 치환(Y641F); 641번 아미노산 위치에서 야생형 잔기 티로신(Y)에 대한 히스티딘(H)의 치환(Y641H); 641번 아미노산 위치에서 야생형 잔기 티로신(Y)에 대한 아스파라긴(N)의 치환(Y641N); 641번 아미노산 위치에서 야생형 잔기 티로신(Y)에 대한 세린(S)의 치환(Y641S); 또는 641번 아미노산 위치에서 야생형 잔기 티로신(Y)에 대한 시스테인(C)의 치환(Y641C)(이에 한정되는 것은 아님)을 포함한다. Y641은 또한 Y646이라고 지칭되기도 한다.

[0058] EZH2에 대해 이형접합성인 세포들은, WT 효소에 의한 H3-K27me1의 효율적 형성과, 돌연변이체 효소 형태(들)에 의한 부모 종의 H3-K27me2, 특히 H3-K27me3로의 효율적 후속 전이로 말미암아, 악성 표현형을 보일 것으로 예상될 것이다.

[0059] 본 발명의 다른 양태는 피험체 내 H3-K27의 삼메틸화된 H3-K27로의 전환을 억제하기 위한 방법이다. 상기 억제는 피험체 내 메틸화되지 않은 H3-K27의 일메틸화된 H3-K27로의 전환, 일메틸화된 H3-K27의 이메틸화된 H3-K27로의 전환, 이메틸화된 H3-K27의 삼메틸화된 H3-K27로의 전환, 또는 이것들의 임의의 조합, 예를 들어 일메틸화된 H3-K27의 이메틸화된 H3-K27로의 전환과, 이메틸화된 H3-K27의 삼메틸화된 H3-K27로의 전환을 수반할 수 있다. 본원에 사용된 바와 같은 "메틸화되지 않은 H3-K27"이란, 메틸기가 27번 리신의 아미노기에 공유 결합되지 않은 히스톤 H3을 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같은 "일메틸화된 H3-K27"이란, 하나의 메틸기가 27번 리신의 아미노기에 공유 결합된 히스톤 H3을 지칭한다. 일메틸화된 H3-K27은 또한 본원에서 H3-K27me1이라 칭하여지기도 한다. 본원에 사용된 바와 같은 "이메틸화된 H3-K27"이란, 2 개의 메틸기가 27번 리신의 아미노기에 공유 결합된 히스톤 H3을 지칭한다. 이메틸화된 H3-K27은 또한 본원에서 H3-K27me2라 칭하여지기도 한다. 본원에 사용된 바와 같은 "삼메틸화된 H3-K27"이란, 3 개의 메틸기가 27번 리신의 아미노기에 공유 결합된 히스톤 H3을 지칭한다. 삼메틸화된 H3-K27은 또한 본원에서 H3-K27me3라 칭하여지기도 한다. 본 발명의 조성물은 화합물 44와, 기타 치료제 1 개 이상을 포함한다. 본 발명의 화합물과 조합은, 동시에, 순차적으로 또는 교대로 투여 또는 수행되기 적당한 1 개 이상의 기타 치료제 또는 치료 방법과의 병용 요법 또는 병행 요법의 일환으로서 투여되기에 적당하다. 본 발명의 방법에 적당한 다른 화합물들은 미국 특허출원 공개 20120264734에 기술되어 있다.

[0060] 본 발명의 특정 구현예에서, EZH2의 억제제는, 이것이 야생형 EZH2의 히스톤 메틸기전이효소 활성을 억제하는 것보다 더 효율적으로 돌연변이체 EZH2의 히스톤 메틸기전이효소의 활성을 억제할 때, 돌연변이체 EZH2의 히스톤 메틸기전이효소 활성을 "선택적으로 억제"한다. 예를 들어 하나의 구현예에서, 선택적 억제제는 돌연변이체 EZH2에 대한 IC50이 야생형 EZH2에 대한 IC50보다 적어도 40% 낮다. 하나의 구현예에서, 선택적 억제제는 돌연변이체 EZH2에 대한 IC50이 야생형 EZH2에 대한 IC50보다 적어도 50% 낮다. 하나의 구현예에서, 선택적 억제제는 돌연변이체 EZH2에 대한 IC50이 야생형 EZH2에 대한 IC50보다 적어도 60% 낮다. 하나의 구현예에서, 선택적 억제제는 돌연변이체 EZH2에 대한 IC50이 야생형 EZH2에 대한 IC50보다 적어도 70% 낮다. 하나의 구현예에서, 선택적 억제제는 돌연변이체 EZH2에 대한 IC50이 야생형 EZH2에 대한 IC50보다 적어도 80% 낮다. 하나의 구현예에서, 선택적 억제제는 돌연변이체 EZH2에 대한 IC50이 야생형 EZH2에 대한 IC50보다 적어도 90% 낮다.

[0061] 본 발명의 특정 양태들에서, 억제제는 H3-K27me2의 H3-K27me3로의 전환을 억제한다. 하나의 구현예에서, 억제제는 H3-K27의 삼메틸화를 억제한다고 한다. H3-K27me1의 H3-K27me2로의 전환은 H3-K27me2의 H3-K27me3로의 전환에 선행하므로, H3-K27me1의 H3-K27me2로의 전환 억제제는 자연적으로 H3-K27me2의 H3-K27me3로의 전환을 억제하기도 하는데, 즉 상기 억제제는 H3-K27의 삼메틸화를 억제한다. H3-K27me1의 H3-K27me2로의 전환이 억제되지 않고서도 H3-K27me2의 H3-K27me3로의 전환이 억제될 수도 있다. 이와 같은 유형의 억제는 또한 H3-K27의 이메틸화를 억제하지 않고서도 H3-K27의 삼메틸화 억제를 초래하기도 할 것이다.

[0062] 하나의 구현예에서, 억제제는 H3-K27me1의 H3-K27me2로의 전환과 H3-K27me2의 H3-K27me3로의 전환을 억제한다. 이러한 억제제는 H3-K27me1의 H3-K27me2로의 전환만을 직접 억제할 수 있다. 대안적으로 이러한 억제제는 H3-K27me1의 H3-K27me2로의 전환과 H3-K27me2의 H3-K27me3로의 전환 둘 다를 직접 억제할 수 있다.

- [0063] 본 발명의 특정 양태들에서, 억제제 화합물은 히스톤 메틸기전이효소 활성을 억제한다. 히스톤 메틸기전이효소 활성의 억제는 임의의 적당한 방법이 이용되어 확인될 수 있다. 억제제, 예를 들어 히스톤 메틸기전이효소 활성의 비율의 관점에서 측정될 수 있거나, 아니면 히스톤 메틸기전이효소 활성의 산물로서 측정될 수 있다.
- [0064] 억제제는 적당한 대조군의 억제제와 비교되어 측정 가능한 억제이다. 하나의 구현예에서, 억제제는 적당한 대조군의 억제제와 비교되었을 때 적어도 10%의 억제이다. 다시 말해서, 억제제가 존재할 때의 효소적 활성 비율 또는 산물의 양은, 억제제가 존재하지 않을 때의 상기와 상응하는 비율 또는 양의 90% 이하이다. 다양한 기타 구현예들에서, 억제제는 적당한 대조군의 억제제에 비교되었을 때 적어도 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 90% 또는 95% 억제이다. 하나의 구현예에서, 억제제는 적당한 대조군의 억제제에 비교되었을 때 적어도 99% 억제이다. 다시 말해서, 억제제가 존재할 때의 효소적 활성 비율 또는 산물의 양은 억제제가 존재하지 않을 때의 상기와 상응하는 비율 또는 양의 1% 이하이다.
- [0065] 본 발명의 조성물은 EZH2 억제제 또는 화합물 44 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과, 1 개 이상의 기타 치료제 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함한다. 본 발명은 EZH2 억제제 또는 화합물 44 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과, 1 개 이상의 기타 치료제 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의, 통합 제제(co-formulation) 또는 별도 제제(separate formulation)로서의 투여를 제공하는데, 여기서 제제의 투여는 동시 투여, 순차적 투여 또는 교대 투여이다. 특정 구현예들에서, 기타 치료제들은 본 발명의 조성물에 의해 치료되는 질병 또는 병태를 치료하는데 유용한 것으로서 당업계에 인식되어 있는 제제일 수 있다. 다른 구현예에서, 기타 치료제는 본 발명의 조성물에 의해 치료되는 질병 또는 병태를 치료하는데 유용한 것으로서 당업계에 인식되어 있지 않은 제제일 수 있다. 하나의 양태에서, 기타 치료제들은 본 발명의 조성물에 유리한 속성을 부여하는 제제(예를 들어, 조성물의 점도에 영향을 미치는 제제)일 수 있다. 본 발명의 조성물에 유리한 속성은, EZH2 억제제 또는 화합물 44와, 1 개 이상의 기타 치료제의 조합으로부터 기인하는 약물동태학적 또는 약력학적 상호작용을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 예를 들어 1 개 이상의 기타 치료제는 항암제 또는 화학요법제일 수 있다. 예를 들어 1 개 이상의 기타 치료제는 글루코코르티코이드일 수 있다. 예를 들어 1 개 이상의 기타 치료제는 프레드니손, 프레드니솔론, 사이클로포스파미드, 빈크리스틴, 독소루비신, 마포스파미드, 시스플라틴, AraC, 에베로리무스, 데시타빈, 텍사메타손, 또는 이것들의 기능성 유사체, 유도제, 전구약물 및 대사산물로부터 선택될 수 있다. 다른 양태에서, 기타 치료제는 프레드니손 또는 이의 활성 대사산물인 프레드니솔론일 수 있다.
- [0066] 이하에 제시된 치료제들은 예시를 위한 목적이지만, 본 발명을 제한하고자 하는 것은 아니다. 본 발명은 이하에 나열된 것들로부터 선택되는 기타 치료제 적어도 1 개를 포함한다. 본 발명은 1 개 초과인 기타 치료제, 예를 들어 2 개, 3 개, 4 개 또는 5 개의 기타 치료제를 포함할 수 있으므로, 본 발명의 조성물은 자체의 의도된 기능을 수행할 수 있다.
- [0067] 다른 구현예에서, 기타 치료제는 www.cancer.org/docroot/cdg/cdg_0.asp에 나열된 알킬화제; 항생제; 항대사산물; 해독제; 인티페론; 폴리클로날 또는 모노클로날 항체; EGFR 억제제; HER2 억제제; 히스톤 디아세틸라아제 억제제; 호르몬; 유사분열 억제제; MTOR 억제제; 멀티키나아제 억제제; 세린/트레오닌 키나아제 억제제; 티로신 키나아제 억제제; VEGF/VEGFR 억제제; 탁산 또는 탁산 유도제, 아로마타아제 억제제; 안트라사이클린, 미세소관 표적화 약물, 토포이소머라아제 독소 약물, 분자 표적 또는 효소(예를 들어, 키나아제 또는 단백질 메틸기전이효소)의 억제제, 시티딘 유사체 약물 또는 임의의 화학요법제, 항신생물제 또는 항증식제를 포함하는 군으로부터 선택되는 화학요법제(항신생물제 또는 항증식제라고도 지칭됨)이다.
- [0068] 본 발명은 EZH2 억제제 또는 화합물 44 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과, 1 개 이상의 기타 치료제를 포함하는 조성물이 질병 또는 암 치료를 필요로 하는 피험체에 투여되는 병용 요법을 위한 방법을 제공한다. 병용 요법은 또한 증식을 억제하거나 세포 사멸을 유도하기 위해 암 세포에 투여될 수도 있다. 하나의 양태에서, 화합물 44 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은, 화합물 44 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과, 1 개 이상의 기타 치료제를 포함하는 본 발명의 조성물 투여 이후에 투여된다. 하나의 양태에서, 화합물 44 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은, 화합물 44 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과, 1 개 이상의 기타 치료제를 포함하는 본 발명의 조성물 투여 이전에 투여된다. 하나의 양태에서, 화합물 44 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 1 개 이상의 기타 치료제 투여 이후에 투여되므로, 이 기타 치료제는 단일 조성물 중에 또는 2 개 이상의 조성물 중에 포함되어, 예를 들어 동시에, 순차적으로 또는 교대로 투여된다. 하나의 양태에서, 화합물 44 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 1 개 이상의 기타 치료제 투여 이전에 투여되므로, 이 기타 치료제는 단일 조성물 중에 또는 2 개 이상의 조성물 중에 포함되어, 예를 들어 동시에, 순차적으로 또는 교대로 투여된

다.

- [0069] 하나의 구현예에서, 본 발명의 조성물은 화합물 44 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과, 1 개 이상의 항암제, 예를 들어 CHOP(사이클로포스파미드, 하이드록시도노루비신, 온코빈 및 프레드니손 또는 프레드니솔론) 또는 R-CHOP(리톡시맵, 사이클로포스파미드, 하이드록시도노루비신, 온코빈, 프레드니손 또는 프레드니솔론)를 포함한다. 하나의 구현예에서, 본 발명의 조성물은 화합물 44 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과, 프레드니손 또는 프레드니솔론을 포함한다. 본 발명의 방법은, 화합물 44의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과, 항암제, 즉 CHOP, R-CHOP, 프레드니손 또는 프레드니솔론을 투여하는 병용 요법을 포함한다.
- [0070] 특정 구현예들에서, "EZH2 억제제 및 치료 기준 제제를 포함하는 조합"은, 통합제제화되지 않은 치료제들을 투여하는 것을 포함하는 것으로 의도된다.
- [0071] 특정 구현예들에서, "병용 요법"은 순차적 방식으로 이와 같은 치료제들을 투여하는 것을 포함하는 것으로 의도되되, 다만 각각의 치료제는 상이한 시간에 투여될뿐만 아니라, 이와 같은 치료제들 또는 이와 같은 치료제들 중 적어도 2 개는 동시 투여되거나, 또는 실질적 동시 투여 방식으로 투여된다. 동시 투여는, 예를 들어 각각의 치료제가 고정된 비율로 담긴 단일 캡슐 또는 치료제들 각각에 대한 단일 캡슐들 다수 개의, 피험체로의 투여에 의해 달성될 수 있다. 각각의 치료제의 순차적 투여 또는 실질적 동시 투여는 임의의 적당한 경로, 예를 들어 경구 투여 경로, 정맥내 투여 경로, 근육내 투여 경로, 그리고 점막 조직을 통한 직접 흡수(이에 한정되는 것은 아님)에 의해 이루어질 수 있다. 치료제들은 동일한 경로에 의하거나 상이한 경로들에 의해 투여될 수 있다. 예를 들어 선택되는 조합의 제1 치료제는 정맥내 주사에 의해 투여될 수 있는 반면에, 이 조합의 다른 치료제들은 경구 투여될 수 있다. 대안적으로, 예를 들어 모든 치료제는 경구 투여될 수 있거나, 또는 모든 치료제는 정맥내 주사에 의해 투여될 수 있다. 치료제는 또한 교대로 투여될 수도 있다.
- [0072] 본 발명의 특정 양태들에서, 본 발명의 특징을 이루는 병용 요법들은 질병이나 암 치료에 상승효과를 달성할 수 있다. "상승효과"는 치료제들 조합의 효능이 소정의 제제들 중 임의의 것 하나로 인한 효과들의 합보다 큰 경우로서 정의된다. 상승효과는 또한 화합물들 또는 기타 치료제들 중 임의의 것의 단일 제제로서의 투여에 의해 달성될 수 없는 효과일 수도 있다. 상승효과는 종양 크기 감소에 의한 암 치료 효과, 종양 성장 억제 효과, 또는 피험체의 생존율 증가 효과를 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상승효과는 또한 암 세포 자생력 감소, 암 세포 사멸 유도, 그리고 암 세포 성장 억제 또는 지연을 포함할 수도 있다.
- [0073] 본 발명의 특정 양태들에서, "병용 요법"은 또한, 추가로 기타 생물학적으로 활성인 성분들 및 비 약물 요법(예를 들어, 수술 또는 방사선 치료)와 함께, 상기 기술된 치료제들의 투여를 포함하기도 한다. 병용 요법이 비 약물 치료를 추가로 포함하는 경우, 이 비 약물 치료는, 치료제와 비 약물 치료 조합의 상호 작용으로부터 유리한 효과가 달성되는 한, 임의의 적당한 시간에 수행될 수 있다. 예를 들어 적당한 경우에 있어서, 유리한 효과는 치료제 투여시 비 약물 치료가 일시적으로(예를 들어, 수 일 또는 심지어 수 주 동안) 배제될 때에도 여전히 달성된다.
- [0074] 다른 양태에서, 본 발명의 조성물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물은 방사선 요법 수행과 조합되어 투여될 수 있다. 방사선 요법은 또한 본원에 기술된 본 발명의 조성물 및 다른 화학요법제와 조합되어 다중 제제 요법(multiple agent therapy)의 일환으로서 적용될 수도 있다.
- [0075] 병용 요법은 2 개 이상의 제제, 예를 들어 화합물 44와 1 개 이상의 기타 치료제(이것들 각각은 제제화되어 별도로 투여됨)의 투여에 의해 달성될 수 있거나, 또는 2 개 이상의 제제의 단일 제제로서의 투여에 의해 달성될 수 있다. 기타 조합들도 또한 병용 요법에 포함된다. 예를 들어 2 개의 제제들은 함께 제제화되어, 제3 제제를 함유하는 별도의 제제와 함께 투여될 수 있다. 병용 요법에 사용되는 2 개 이상의 제제는 동시에 투여될 수 있지만, 꼭 그럴 필요는 없다. 예를 들어 제1 제제(또는 제제들의 조합)의 투여는 제2 제제(또는 제제들의 조합)의 투여에 수 분, 수 시간, 수 일 또는 수 주만큼 선행될 수 있다. 그러므로, 2 개 이상의 제제는 서로 간에 수 분 이내의 간격으로 투여될 수 있거나, 또는 서로 간에 1 시간, 2 시간, 3 시간, 6 시간, 9 시간, 12 시간, 15 시간, 18 시간 또는 24 시간 이내에 투여될 수 있거나, 또는 서로 간에 1 일, 2 일, 3 일, 4 일, 5 일, 6 일, 7 일, 8 일, 9 일, 10 일, 12 일, 14 일 이내에 투여될 수 있거나, 또는 서로 간에 2 주, 3 주, 4 주, 5 주, 6 주, 7 주, 8 주, 9 주 또는 10 주 이내에 투여될 수 있다. 몇몇 경우, 상기 간격들보다 더 긴 간격이 적용될 수도 있다. 다수의 경우 병용 요법에 사용된 제제 2 개 이상은 동시에 환자의 체내에 존재하게 되는 것이 요망되긴 하지만, 반드시 그럴 필요는 없다.
- [0076] 본 발명은 또한, 본원에 기술된 질병 또는 병태를 치료 또는 예방하는 용량으로 약학적으로 적당한 운반체 또는

부형제(들)와 혼합된, 화합물 44 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 그리고 본원에 개시된 기타 치료제 1 개 이상을 포함하는 약학 조성물을 제공하기도 한다. 본 발명의 약학 조성물은 또한 기타 치료제 투여와 조합되어, 또는 기타 치료 방법들의 수행과 조합되어, 동시에, 순차적으로 또는 교대로 투여될 수도 있다.

[0077] 본 발명의 조성물들의 혼합물들은 또한 간단한 혼합물로서, 또는 적당히 제제화된 약학 조성물에 포함되어 환자에게 투여될 수도 있다. 예를 들어 본 발명의 하나의 양태는 치료학적 유효량의 EZH2 억제제 또는 화합물 44, 또는 이것들의 약학적으로 허용 가능한 염, 수화물, 거울상이성체 또는 입체이성체; 기타 치료제 1 개 이상, 그리고 약학적으로 허용 가능한 희석제 또는 운반체를 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다.

[0078] "약학 조성물"은 본 발명의 화합물을 함유하는, 피험체에 투여되기 적당한 형태를 가지는 제제이다. 본원에 기술된 바와 같은 화합물 44 및 기타 치료제 1 개 이상은 각각 개별적으로 또는 다수의 약학 조성물로서, 활성 성분들의 임의의 조합에 포함되어 제제화될 수 있다. 그러므로 1 개 이상의 투여 경로는 각각의 약학 조성물의 투여형을 기반으로 적당히 선택될 수 있다. 대안적으로, 본원에 기술된 화합물 44 및 기타 치료제 1 개 이상은 하나의 약학 조성물로서 제제화될 수 있다.

[0079] 하나의 구현예에서, 약학 조성물은 벌크 형태 또는 단위 투여형의 형태를 가진다. 단위 투여형은 다양한 형태들, 예를 들어 캡슐, IV 백, 정제, 에어로졸 흡입기상 단일 펌프 또는 바이알 중 임의의 것이다. 조성물의 단위 용량 중 활성 성분(예를 들어, 본원에 개시된 화합물 또는 이의 염, 수화물, 용매화물 또는 이성체의 제제)의 양은 유효량으로서, 관련된 구체적인 치료에 따라서 달라진다. 당업자는, 때때로 환자의 나이와 병태에 따라서 용량에 통상적인 변형이 가하여질 필요가 있음을 이해할 것이다. 용량은 또한 투여 경로에 의존하기도 할 것이다. 다양한 경로들, 예를 들어 경구, 폐, 직장, 비경구, 경피, 피하, 정맥 내, 근육 내, 복막 내, 흡입, 협측, 설하, 흉막 내, 초내 및 비 내 경로 등이 고려된다. 본 발명의 화합물의 국소 투여 또는 경피 투여용 투여형들은 분말, 스프레이, 연고, 페이스트, 크림, 로션, 젤, 용액, 패치 및 흡입제를 포함한다. 하나의 구현예에서, 활성 화합물은 멸균 조건들 하에서 약학적으로 허용 가능한 운반체, 그리고 필요한 임의의 보존제, 완충제 또는 추진제와 혼합된다.

[0080] 본원에 사용된 바와 같은 어구 "약학적으로 허용 가능한"이란, 올바른 의학적 판단 범위내에 있으며, 과도한 독성, 염증, 알레르기 반응 또는 기타 문제나 합병증을 일으키지 않고 인간 및 동물 조직과 접촉되어 사용되기 적당한 화합물, 음이온, 양이온, 재료, 조성물, 운반체 및/또는 투여형이 합리적인 이익/위험 비율(benefit/risk ratio)과 비례하는 경우를 지칭한다.

[0081] "약학적으로 허용 가능한 부형제"란, 일반적으로 생물학적으로 안정하거나 달리 요망될 때에도 안전하고 무독성인 약학 조성물을 제조하는데 유용한 부형제를 의미하고, 수의학적 용도 및 인간 대상의 약학적 용도로서 허용 가능한 부형제를 포함한다. 본 명세서 및 청구항들에 사용된 "약학적으로 허용 가능한 부형제"는 이와 같은 부형제 1 개 및 1 개 초과 두가지 경우를 모두 포함한다.

[0082] 본 발명의 약학 조성물은 자체의 의도된 투여 경로와 양립 가능하도록 제제화된다. 투여 경로의 예들은 비경구 경로, 예를 들어 정맥 내, 피내, 피하, 경구(예를 들어, 흡입), 경피(국소) 및 경점막 투여를 포함한다. 비경구, 피내 또는 피하 적용에 사용되는 용액 또는 현탁액은 다음과 같은 성분들을 포함할 수 있다: 멸균 희석제, 예를 들어 주사용 물, 염수 용액, 불휘발성유, 폴리에틸렌글리콜, 글리세린, 프로필렌글리콜 또는 기타 합성 용매; 향생제, 예를 들어 벤질알코올 또는 메틸파라벤; 향산화제, 예를 들어 아스코르브산 또는 중아황산나트륨; 칼레이트화제, 예를 들어 에틸렌디아민테트라아세트산; 완충제, 예를 들어 아세트산염, 시트르산염 또는 인산염; 그리고 긴장성 조정 제제, 예를 들어 염화나트륨 또는 텍스트로스. pH는 산이나 염기, 예를 들어 염화수소산 또는 수산화나트륨이 사용되어 조정될 수 있다. 비경구 제제는 유리나 플라스틱으로 만들어진 앰플, 일회용 시린지 또는 다수 투여용 바이알에 담길 수 있다.

[0083] 본 발명의 조성물은 현재 화학요법 치료에 사용되는, 널리 공지된 방법들 다수를 통해 피험체에 투여될 수 있다. 예를 들어 암 치료를 위해서 본 발명의 화합물은 종양에 직접 주사될 수 있거나, 혈류나 체강에 주사될 수 있거나, 경구 섭취될 수 있거나, 또는 패치가 사용되어 피부를 통해 적용될 수 있다. 선택되는 용량은 유효한 치료를 구성하는데 충분하되, 다만 허용되지 않는 부작용들을 유발할 정도로 많지는 않아야 한다. 질병 병태(예를 들어, 암, 전암 등)의 상태와 환자의 건강은, 바람직하게 치료후 합리적인 기간 동안, 그리고 이와 같은 기간에 걸쳐 밀접하게 모니터링되어야 한다.

[0084] 본원에 사용된 용어 "치료학적 유효량"이란, 특정된 질병이나 병태를 치료, 완화 또는 예방하거나, 또는 확인 가능한 치료 효과 또는 억제 효과를 보이기 위한 약학 제제의 양을 지칭한다. 효과는 당업계에 공지된 임의의

분석 방법에 의해 확인될 수 있다. 피험체에 대해 정확한 유효량은 해당 피험체의 체중, 크기 및 건강 상태; 병태의 성질과 정도; 그리고 투여를 위해 선택되는 치료제 또는 치료제의 조합에 따라서 달라질 것이다. 소정의 상황에 대한 치료학적 유효량은, 숙련된 기술 범위 안에 속하는 통상의 실험과 임상치의 판단에 의해 결정될 수 있다. 바람직한 양태에서, 치료될 질병 또는 병태는 암이다. 다른 양태에서, 치료될 질병 또는 병태는 세포 증식성 질환이다.

[0085] 특정 구현예들에서, 조합되어 사용되는 약학적 제제 각각의 치료학적 유효량은 각각의 제제가 단독으로 사용되는 단일 요법과는 대조적으로, 조합 사용될 때 더 적을 것이다. 이와 같이 적은 치료학적 유효량은 치료 계획의 독성을 낮출 수 있었다.

[0086] 임의의 화합물에 대한 치료학적 유효량은 우선, 예를 들어 신생물 세포의 세포 배양 분석법에서, 또는 동물 모델, 보통은 래트, 마우스, 토끼, 개 또는 돼지에서 추산될 수 있다. 상기 동물 모델은 또한 적당한 농도 범위 및 투여 경로를 결정하는데 사용될 수도 있다. 그 다음, 이러한 정보는 인간에 있어서의 유용한 투여 용량 및 투여 경로를 결정하는데 사용될 수 있다. 치료/예방 효능 및 독성, 예를 들어 ED₅₀(모집단의 50%에서 치료학적으로 유효한 용량) 및 LD₅₀(모집단의 50%에 치사적인 용량)은 세포 배양액 또는 실험 동물에서의 표준적 약학 방법들에 의해 측정될 수 있다. 독성 효과와 치료 효과간 용량비는 치료 지수이고, 이는 비율, 즉 LD₅₀/ED₅₀으로 표현될 수 있다. 높은 치료 지수를 보이는 약학 조성물은 바람직하다. 용량은 사용된 투여형, 환자의 감수성 및 투여 경로에 따라서 상기 범위 내에서 다양할 수 있다.

[0087] 용량 및 투여는 활성 제제(들)의 충분한 수준을 제공하고, 원하는 효과를 유지하도록 조정된다. 고려될 수 있는 요소들은 질병 상태의 심각성, 피험체의 전체적 건강 상태, 피험체의 나이, 체중 및 성별, 식습관, 투여 시간 및 투여 횟수, 약물 조합(들), 반응 감수성, 그리고 요법에 대한 관용성/응답을 포함한다. 장기 작용성 약학 조성물은 특정 제제의 반감기와 제거율(clearance rate)에 따라서 3 일 내지 4 일마다, 매 주 또는 2 주에 1 회씩 투여될 수 있다.

[0088] 본 발명의 활성 화합물을 함유하는 약학 조성물은 일반적으로 공지된 방법, 예를 들어 통상의 혼합, 용해, 과립화, 당의정 제조, 분말화, 유화, 피포화, 포집 또는 동결건조 방법으로 제조될 수 있다. 약학 조성물은 활성 화합물들의, 약학적으로 사용될 수 있는 제제로의 가공을 촉진하는 부형제 및/또는 조제를 포함하는 약학적으로 허용 가능한 운반체 1 개 이상이 사용되어, 종래의 방식으로 제제화될 수 있다. 물론 적당한 제제는 선택되는 투여 경로에 의존적이다.

[0089] 주사용으로 적당한 약학 조성물은, 멸균 주사 용액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 멸균 분말과, 멸균 수용액(수용성인 경우) 또는 분산액을 포함한다. 정맥 내 투여에 적당한 운반체는 생리 염수, 정균수, Cremophor™ EL(BASF, Parsippany, N.J.) 또는 인산염 완충 염수(PBS)를 포함한다. 모든 경우들에 있어서, 조성물은 멸균되어야 하고, 용이하게 주사 가능한 정도의 유체이어야 한다. 조성물은 제조 및 보관 조건 하에서 안정적이어야 하고, 미생물, 예를 들어 박테리아 및 진균의 오염 작용에 대해 보존되어야 한다. 운반체는, 예를 들어 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌글리콜 및 액체 폴리에틸렌글리콜 등), 그리고 이것들의 적당한 혼합물을 함유하는 분산 매질 또는 용매일 수 있다. 적당한 유동도는, 예를 들어 코팅, 예를 들어 레시틴이 사용되고, 분산액의 경우 필요한 입도가 유지되며, 계면활성제가 사용됨으로써 유지될 수 있다. 미생물 활동의 예방은 다양한 항박테리아 제제 및 항진균 제제, 예를 들어 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 아스코르브산 및 티메로살 등에 의해 달성될 수 있다. 다수의 경우에 등장제, 예를 들어 당, 다가알코올, 예를 들어 만니톨 및 솔비톨, 그리고 염화나트륨이 조성물 중에 포함되는 것이 바람직한 것이다. 주사 가능한 조성물의 흡수 시간 연장은, 조성물에 흡수를 지연시키는 제제, 예를 들어 일스테아르산알루미늄 및 젤라틴이 포함됨으로써 이루어질 수 있다.

[0090] 멸균 주사 용액은, 필요에 따라서 상기 나열된 성분 1 개 또는 이의 조합과 함께, 필요량만큼의 활성 화합물을 적당한 용매에 혼입한 다음, 멸균 여과함으로써 제조될 수 있다. 일반적으로 분산액은 활성 화합물을, 상기 나열된 것들 중 필요한 기타 성분과 염기성 분산 매질을 함유하는 멸균 비이클에 혼입함으로써 제조된다. 멸균 주사 용액 제조를 위한 멸균 분말의 경우, 제조 방법은, 미리 멸균 여과한 용액으로부터 원하는 임의의 부가 성분과 활성 성분의 분말을 제조하는 임의의 진공 건조법 및 동결 건조법이다.

[0091] 경구 투여 조성물은 일반적으로 비활성 희석제 또는 약학적으로 허용 가능한 식용 운반체를 포함한다. 이 조성물은 젤라틴 캡슐 내에 담겨거나 정제로 압착될 수 있다. 경구 투여 치료제 투여를 위해서 활성 화합물은 부형제와 함께 혼입되어, 정제, 트로키 또는 캡슐의 형태로서 사용될 수 있다. 경구 투여용 조성물은 또한 가글로서 사용되도록 유체 운반체가 사용되어 제조될 수도 있는데, 여기서 이 유체 운반체 중 화합물은 경구 적용되고,

입안에서 획 소리를 내며 가글링된 후 뱉어지거나 삼켜질 수 있다. 약학적으로 양립 가능한 결합제들 및/또는 보조제 재료들이 조성물의 일부로서 포함될 수 있다. 정제, 알약, 캡슐 및 트로키 등은 다음과 같은 성분들 중 임의의 것, 또는 유사한 성질을 가지는 화합물을 함유할 수 있다: 결합제, 예를 들어 미세결정질 셀룰로스, 겔 트래거칸트 또는 젤라틴; 부형제, 예를 들어 전분 또는 락토스; 붕해제, 예를 들어 알긴산, Primogel 또는 옥수수 전분; 윤활제, 예를 들어 스테아르산마그네슘 또는 Sterotes; 활강제, 예를 들어 콜로이드성 이산화실리콘; 감미제, 예를 들어 수크로스 또는 사카린; 또는 풍미제, 예를 들어 페퍼민트, 살리실산메틸 또는 오렌지향.

[0092] 흡입에 의한 투여를 위하여 화합물은, 적당한 추진제, 예를 들어 가스, 예를 들어 이산화탄소가 담긴 가압 용기나 분배기, 또는 분무기로부터 에어로졸 스프레이의 형태로 전달된다.

[0093] 전신 투여는 또한 경점막 수단이나 경피 수단에 의해 이루어질 수도 있다. 경점막 투여 또는 경피 투여를 위하여 투과할 장벽에 적당한 경피흡수 촉진제가 제제 중에 사용된다. 이러한 경피흡수 촉진제는 일반적으로 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 경점막 투여용 경피흡수 촉진제는 세제, 담즙염 및 후시딘산 유도체를 포함한다. 경점막 투여는 비내 스프레이 또는 좌제를 통해 달성될 수 있다. 경점막 투여를 위해 활성 화합물은 당업계에 일반적으로 공지된 바와 같이 연고, 살브(salve), 젤 또는 크림으로 제제화된다.

[0094] 활성 화합물은, 이 화합물이, 예를 들어 임플란트 및 미세피포화된 운반 시스템을 비롯하여 제어 방출형 제제로서 체내에서 빠르게 없어지는 것을 막아줄, 약학적으로 허용 가능한 운반체들과 함께 제조될 수 있다. 생분해성, 생체적합성 중합체, 예를 들어 에틸렌아세트산비닐, 다가 무수물, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르 및 폴리락트산이 사용될 수 있다. 이러한 제제들을 제조하기 위한 방법들은 당업자들에게 명백할 것이다. 재료들은 또한 Alza Corporation 및 Nova Pharmaceuticals, Inc.로부터 상업적으로 입수될 수 있다. 리포솜 현탁액(바이러스 항원에 대한 모노클로날 항체들과 함께, 감염된 세포들에 표적화된 리포솜 포함)도 또한 약학적으로 허용 가능한 운반체로서 사용될 수 있다. 이와 같은 현탁액은 당업자들에게 공지된 방법들, 예를 들어 미국 특허 번호 4,522,811에 기술된 바에 따라서 제조될 수 있다.

[0095] 투여의 용이함과 용량의 균일함을 위해 경구 투여용 또는 비경구 투여용 조성물을 용량 단위형으로서 제제화하는 것이 특히 유리하다. 본원에 사용된 바와 같은 용량 단위형이란, 치료될 피험체에 대한 단위 투여형으로서 적당한 물리적으로 구분된 단위를 지칭하는데; 이와 같은 각각의 단위는 필요한 약학 운반체와 함께, 원하는 치료 효과를 내도록 산정된 소정량의 활성 화합물을 함유한다. 본 발명의 용량 단위형에 관한 설명은 활성 화합물의 독특한 특징들과 달성될 구체적인 치료 효과에 의해 기술되고, 이에 직접적으로 의존한다.

[0096] 치료적 적용에 있어서, 본원에 기술된 EZH2 억제제 화합물, 본원에 기술된 기타 치료제, 화합물 44와 1 개 이상의 기타 치료제를 포함하는 조성물, 또는 본 발명에 따라서 사용되는 약학 조성물의 용량은, 선택되는 용량에 영향을 미치는 다른 어떤 요소들 중에서도, 제제, 투여받는 환자의 나이, 체중 및 임상 상태, 그리고 요법을 적용하는 임상이나 실무자의 경험과 판단에 따라서 달라진다. 일반적으로 용량은 종양의 성장을 늦추고, 바람직하게는 퇴행시킬뿐만 아니라, 바람직하게는 암의 완전한 퇴행을 초래하기에 충분하여야 한다. 용량은 1 일에 약 0.01 mg/kg 내지 약 5000 mg/kg의 범위에 있을 수 있다. 바람직한 양태들에서, 용량은 1 일에 약 1 mg/kg 내지 약 1000 mg/kg의 범위에 있을 수 있다. 하나의 양태에서, 용량은, (환자의 체중(kg), 체표면적(m²) 및 나이(세)에 따라서 조정될 수 있는) 단일 용량, 분할 용량 또는 연속 용량으로서 약 0.1 mg/일 내지 약 50 g/일; 약 0.1 mg/일 내지 약 25 g/일; 약 0.1 mg/일 내지 약 10 g/일; 약 0.1 mg/일 내지 약 3 g/일; 또는 약 0.1 mg/일 내지 약 1 g/일일 것이다. 약학 제제의 유효량은 임상이나 기타 자격이 있는 관찰자에 의해 주목되는 바와 같이 객관적으로 확인될 수 있는 개선을 제공하는 양이다. 예를 들어 환자에 있어서 종양의 퇴행은 종양의 지름을 참고로 하여 측정될 수 있다. 종양 지름의 감소는 퇴행을 나타낸다. 퇴행은 또한 치료가 중단된 후 종양이 재발되지 않음에 의해서도 나타내어진다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 "용량 유효 방식"이란, 활성 화합물의 양이 피험체 또는 세포 내에서 원하는 생물학적 효과를 발휘하는 방식을 지칭한다.

[0097] 약학 조성물은 투여 지침과 함께 용기, 팩 또는 분배기 내에 담길 수 있다.

[0098] 본 발명의 조성물은 추가로 염을 생성할 수 있다. 본 발명의 조성물은 분자당 1 개를 초과하는 염(예를 들어, 일염, 이염, 삼염)을 생성할 수 있다. 이러한 형태 모두는 또한 본 발명의 범위 내에서 고려된다.

[0099] 본원에 사용된 "약학적으로 허용 가능한 염"이란, 본 발명의 화합물의 유도체를 지칭하는데, 여기서 모체 화합물은 이의 산 염 또는 염기 염이 제조됨으로써 변형된다. 약학적으로 허용 가능한 염의 예들은 염기성 잔기, 예를 들어 아민의 무기염 또는 유기산염, 산성 잔기, 예를 들어 카르복실산의 알칼리염 또는 유기염 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 약학적으로 허용 가능한 염은, 예를 들어 무독성 무기산 또는 유기산으로부터

생성된 모체 화합물의 4차 암모늄 염 또는 종래의 무독성 염을 포함한다. 예를 들어 이와 같은 종래의 무독성 염은, 2-아세톡시벤조산, 2-하이드록시에탄설포산, 아세트산, 아스코르브산, 벤젠설포산, 벤조산, 중탄산, 탄산, 시트르산, 에데트산, 에탄디설포산, 1,2-에탄설포산, 푸마르산, 글루코헵탄산, 글루콘산, 글루탐산, 글리콜산, 글리콜리아르사닐산, 핵실레소르신산, 히드라밤산, 브롬화수소산, 염화수소산, 요오드화수소산, 하이드록시말레산, 하이드록시나프톤산, 이세티온산, 락트산, 락토비온산, 라우릴설포산, 말레산, 말산, 만텔산, 메탄설포산, 납질산, 질산, 옥살산, 판산, 판토텐산, 페닐아세트산, 인산, 폴리갈락투론산, 프로피온산, 살리실산, 스테아르산, 2차 아세트산, 숙신산, 설파산, 설파닐산, 황산, 탄닌산, 타르타르산, 톨루엔설포산, 그리고 통상적으로 발생하는 아민산, 예를 들어 글리신, 알라닌, 페닐알라닌, 아르기닌 등으로부터 선택되는 무기산 및 유기산으로부터 유래하는 염들을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0100] 약학적으로 허용 가능한 염의 기타 예들은 핵산산, 사이클로펜탄프로피온산, 피루브산, 말론산, 3-(4-하이드록시벤조일)벤조산, 신남산, 4-클로로벤젠설포산, 2-나프탈렌설포산, 4-톨루엔설포산, 캄포설포산, 4-메틸비사이클로-[2.2.2]-옥트-2-엔-1-카복실산, 3-페닐프로피온산, 트리메틸아세트산, 3차 부틸아세트산, 뮌콘산 등의 염을 포함한다. 본 발명은 또한 모체 화합물 중에 존재하는 산성 양성자가 금속 이온, 예를 들어 알칼리 금속 이온, 알칼리 토금속 이온 또는 알루미늄 이온에 의해 치환되거나; 또는 유기 염기, 예를 들어 에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 트로메타민 및 N-메틸글루카민 등과 배위결합할 때 생성되는 염을 포함한다.

[0101] 약학적으로 허용 가능한 염들에 대한 모든 언급에는 동일한 염의 용매 부가 형태(용매화물)들이 포함됨이 이해될 것이다.

[0102] 조성물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물은 경구, 비 내, 경피, 폐내, 흡입, 협측, 설하, 복막 내, 피하, 근육 내, 정맥 내, 직장, 흉막 내, 초 내 및 비경구 투여된다. 하나의 구현예에서, 화합물은 경구 투여된다. 당업자는 임의의 투여 경로의 이점을 인지할 것이다.

[0103] 화합물이 사용되는 용량 치료계획은 다양한 요소들, 예를 들어 환자의 유형, 종, 나이, 체중, 성별 및 의학적 상태; 치료될 병태의 심각성; 투여 경로; 환자의 신장 및 간 기능; 그리고 사용된 구체적 화합물 또는 이의 염에 따라서 선택된다. 보통의 숙련된 전문의 또는 수의사는 상기 병태의 진행을 예방, 방지 또는 막는데 필요한 약물의 유효량을 용이하게 결정하여 처방할 수 있다.

[0104] 본 발명에 개시된 화합물의 제제화 및 투여 기술들은 문헌[Remington: the Science and Practice of Pharmacy, 19th edition, Mack Publishing Co., Easton, PA (1995)]에서 발견될 수 있다. 하나의 구현예에서, 본원에 기술된 화합물과 이의 약학적으로 허용 가능한 염은, 약학적으로 허용 가능한 운반체 또는 희석제와 함께 약학 제제 중에 사용된다. 약학적으로 허용 가능한 적당 운반체는 비활성 고체 충전제 또는 희석제, 그리고 멸균 수용액 또는 유기 용액을 포함한다. 화합물은 이와 같은 약학 조성물 중에 본원에 기술된 범위의 원하는 투여량을 제공하기에 충분한 양으로 존재할 것이다.

[0105] 본원에 사용된 모든 백분율과 비율은 달리 지정되지 않는 한 중량부이다. 본 발명의 기타 특징들과 이점들은 상이한 실시예들로부터 분명해진다. 제공된 실시예들은 본 발명을 수행함에 있어서 유용한 방법과 상이한 구성 요소들을 예시한다. 실시예들은 청구된 발명을 제한하지 않는다. 당업자는 본원에 개시된 사항을 기반으로 본 발명을 수행하는데 유용한 방법과 기타 구성 요소들을 인지하여 사용할 수 있다.

[0106] 본 발명은 히스톤과 기타 단백질의 메틸화 상태가 조정됨으로써 그 경과가 영향을 받을 수 있는 질병 및 병태를 치료하기 위한 조성물 및 방법을 제공하는데, 여기서 상기 메틸화 상태는 적어도 부분적으로 EZH2의 활성화에 의해 매개된다. 히스톤의 메틸화 상태의 조정은 결과적으로 메틸화에 의해 활성화되는 표적 유전자들, 및/또는 메틸화에 의해 억제되는 표적 유전자들의 발현 수준에 영향을 줄 수 있다. 상기 방법은 이와 같은 치료를 필요로 하는 피험체에 본 발명의 조성물 치료학적 유효량만큼을 투여하거나, 또는 이와 같은 치료를 필요로 하는 피험체에 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0107] 적어도 비정상적 히스톤 메틸화가 임의의 암 및 전암성 병태와 연관되어 있음이 발견되었다는 사실을 기반으로 하였을 때, 피험체 내에서 돌연변이체 EZH2로 암 또는 전암성 병태를 치료하기 위한 방법은, 메틸화를 억제하는 화합물 치료학적 유효량을, 상기 치료를 필요로 하는 피험체에 투여하는 단계를 포함한다. 하나의 구현예에서, 피험체 내에서 암 또는 전암성 병태를 치료하기 위한 방법은, 메틸화되지 않은 H3-K27의 일메틸화된 H3-K27(H3-K27me1)으로의 전환을 억제하는 화합물 치료학적 유효량을, 상기 치료를 필요로 하는 피험체에 투여하는 단계를 포함한다. 하나의 구현예에서, 피험체 내에서 암 또는 전암성 병태를 치료하기 위한 방법은 일메틸화된 H3-K27(H3-K27me1)의 이메틸화된 H3-K27(H3-K27me2)으로의 전환을 억제하는 화합물 치료학적 유효량을, 상기 치료

를 필요로 하는 피험체에 투여하는 단계를 포함한다. 하나의 구현예에서, 피험체 내에서 암 또는 전암성 병태를 치료하기 위한 방법은 H3-K27me2의 삼메틸화된 H3-K27(H3-K27me3)으로의 전환을 억제하는 화합물 치료학적 유효량을, 상기 치료를 필요로 하는 피험체에 투여하는 단계를 포함한다. 하나의 구현예에서, 피험체 내에서 암 또는 전암성 병태를 치료하기 위한 방법은 H3-K27me1의 H3-K27me2로의 전환과 H3-K27me2의 H3-K27me3으로의 전환 둘 다를 억제하는 화합물 치료학적 유효량을, 상기 치료를 필요로 하는 피험체에 투여하는 단계를 포함한다. 메틸화의 질병 특이적 증가는, 히스톤 또는 단백질 메틸화의 세포내 수준의 전반적 증가가 일어나지 않을 때 크로마틴의 핵심 게놈상 위치에서 발생할 수 있음을 주목하는 것은 중요하다. 예를 들어 질병 관련 핵심 유전자에서의 이상 과메틸화가 전체 히스톤 또는 단백질 과메틸화의 배경에 거슬러 발생하는 것이 가능하다.

[0108] 메틸화의 조정은 일반적으로 세포 증식을 조정하는데 사용될 수 있다. 예를 들어 몇몇 경우에서 과도한 증식은 메틸화를 감소시키는 제제로 감소될 수 있는 반면에, 불충분한 증식은 메틸화를 증가시키는 제제로 자극될 수 있다. 그러므로, 치료될 수 있는 질병들은 과증식성 질병, 예를 들어 양성 세포 성장과 악성 세포 성장(암)을 포함한다.

[0109] EZH2 매개 단백질 메틸화가 어떠한 역할을 담당하는 질환은 암, 세포 증식성 질환 또는 전암성 병태일 수 있다. 본 발명은, 본 발명의 조성물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물의, 암 치료를 필요로 하는 피험체에 대해 이와 같은 치료에 유용한 의약품의 제조를 위한 용도를 추가로 제공한다. 치료될 수 있는 예시적 암은 림프종, 예를 들어 비호지킨 림프종, 여포성 림프종(FL) 및 범발성 대형 B 세포 림프종(DLBCL), 예를 들어 GCB 림프종을 포함한다.

[0110] 일반적으로 메틸화 조정제인 화합물은 일반적으로 세포 증식을 조정하는데 사용될 수 있다. 예를 들어 몇몇 경우에 있어서, 과도한 증식은 메틸화를 감소시키는 제제로 감소될 수 있는 반면에, 불충분한 증식은 메틸화를 증가시키는 제제로 자극될 수 있다. 그러므로, 본 발명의 화합물에 의해 치료될 수 있는 질병들은 과증식성 질병, 예를 들어 양성 세포 성장과 악성 세포 성장을 포함한다.

[0111] 본원에 사용된 "~를 필요로 하는 피험체"는, EZH2-매개 단백질 메틸화가 어떠한 역할을 담당하는 질환이 발병한 피험체, 또는 이러한 질환이 발달할 위험이 모집단 전체의 경우에 비하여 증가한 피험체이다. "~를 필요로 하는 피험체"는 전암성 병태가 발병하였을 수 있다. 바람직하게 "~를 필요로 하는 피험체"는 암이 발병하였다. "피험체"는 포유동물을 포함한다. 포유동물은, 예를 들어 임의의 포유동물, 예를 들어, 인간, 영장류, 조류, 마우스, 래트, 개, 고양이, 소, 말, 염소, 낙타, 양 또는 돼지일 수 있다. 바람직하게 포유동물은 인간이다.

[0112] 본 발명의 피험체는 암 또는 전암성 병태로 이미 진단받았거나, 이러한 암 또는 전암성 병태의 증상들이 발생하거나 또는 이러한 암 또는 전암성 병태로의 발달 위험이 있는 임의의 인간 피험체를 포함한다. 본 발명의 피험체는 돌연변이체 EZH2를 발현하는 임의의 인간 피험체를 포함한다. 예를 들어 돌연변이체 EZH2는 1 개 이상의 돌연변이를 포함하는데, 여기서 이 돌연변이는 치환, 점 돌연변이, 넌센스 돌연변이, 미스센스 돌연변이, 결실, 삽입, 또는 기타 본원에 기술된 임의의 EZH2 돌연변이이다.

[0113] "~를 필요로 하는 피험체"는 난치성 또는 내성 암이 발병하였을 수 있다. "난치성 또는 내성 암"이란, 치료에 응답하지 않는 암을 의미한다. 암은 치료 개시시에 내성일 수 있거나, 또는 치료가 진행되는 동안에 내성이 될 수 있다. 몇몇 구현예들에서, "~를 필요로 하는 피험체"는 가장 최근의 요법에 대해 차도를 나타낸 후 암이 재발한 피험체이다. 몇몇 구현예들에서, "~를 필요로 하는 피험체"는 암 치료를 위한 것으로서 공지된 모든 효과적인 요법들을 처치받았거나 이와 같은 요법들에서 실패를 거둔 피험체이다. 몇몇 구현예들에서, "~를 필요로 하는 피험체"는 적어도 1 개의 사전 요법(prior therapy)을 처치받은 피험체이다. 특정 구현예들에서, 사전 요법은 단일 요법이다. 특정 구현예들에서, 사전 요법은 병용 요법이다.

[0114] 몇몇 구현예에서, "~를 필요로 하는 피험체"는 이전의 요법으로 말미암아 속발성 암이 발병할 수 있다. "속발성 암"이란, 이전의 발암성 요법, 예를 들어 화학요법으로 기인하거나 이의 결과로서 발생하는 암을 의미한다.

[0115] 피험체는 또한 EZH2 히스톤 메틸기전이효소 억제제 또는 기타 임의의 치료제에 내성을 보일 수도 있다.

[0116] 본 발명은 또한 암이 발병한 피험체를 대상으로 하는 병용 요법을 선택하는 방법을 특징으로 하기도 한다. 상기 방법은, 피험체로부터 유래한 시료 중에서 본원에 기술된 EZH2 돌연변이 1 개 이상을 검출하는 단계; 그리고 1 개 이상의 EZH2 돌연변이 존재를 기반으로 하여 암 치료를 위한 병용 요법을 선택하는 단계를 포함한다. 하나의 구현예에서, 요법은 피험체에 본 발명의 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 하나의 구현예에서, 상기 방법은 피험체에 본 발명의 조성물 치료학적 유효량을 투여하는 단계를 추가로 포함한다. EZH2 돌연변이는 당업계에 공지된 임의의 적당한 방법이 사용되어 검출될 수 있다. 더 많은 방법들이, 그 자체로서 본원에 참고문헌으로 인

용되어 있는, 미국 특허출원 공개 US 20130040906에 기술되어 있다.

- [0117] 본원에 기술된 방법 및 사용 방법은, 본 발명의 조성물(예를 들어, 화합물 44 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과, 1 개 이상의 치료제를 포함하는 조성물)의 피험체로의 투여 전 및/또는 투여 후에, 이러한 투여를 필요로 하는 피험체로부터 유래하는 시료에서 본원에 기술된 EZH2 돌연변이 1 개 이상을 검출하는 단계를 포함할 수 있다. 테스트된 시료 중에 본원에 기술된 EZH2 돌연변이 1 개 이상이 존재함은, 해당 피험체가 본 발명의 병용 요법에 응답한다는 것을 말해주는 것이다.
- [0118] 본 발명은 피험체에 있어서 본원에 기술된 EZH2 돌연변이 1 개 이상의 유전자 스크리닝에 의하여 피험체에 대한 개인 맞춤형 의약품, 치료 및/또는 암 관리를 제공한다. 예를 들어 본 발명은, 병용 요법에 대한 피험체의 응답성을 측정하고, 피험체가 병용 요법에 응답할 때, 피험체에 본 발명의 조성물을 투여함으로써, 암 또는 전암성 병태의 치료 또는 완화를 필요로 하는 피험체에서 상기와 같이 암 또는 전암성 병태를 치료 또는 완화하기 위한 방법을 제공한다. 응답성은, 피험체로부터 시료를 얻은 다음, 본원에 기술된 EZH2 돌연변이 1 개 이상을 검출하여 측정되는데, 이와 같이 본원에 기술된 EZH2 돌연변이 1 개 이상의 존재는, 해당 피험체가 본 발명의 조성물에 응답한다는 것을 말해준다. 일단 피험체의 응답성이 측정되면, 조성물, 예를 들어 화합물 44 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과, 1 개 이상의 치료제를 포함하는 조성물 치료학적 유효량이 투여될 수 있다. 조성물의 치료학적 유효량은 당업자에 의해 결정될 수 있다.
- [0119] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "응답성"은 용어들 "응답하는", "감수성인" 및 "감수성"과 호환되어 사용될 수 있으며, 이는, 본 발명의 조성물이 투여되었을 때 피험체가 보이는 치료 응답, 예를 들어 피험체의 종양 세포 또는 종양 조직이 세포자살 및/또는 세포괴사를 진행하고/진행하거나, 감소된 성장, 분열 또는 증식을 보이는 경우를 의미한다. 이 용어는 또한 본 발명의 조성물이 투여되었을 때 피험체가 치료 응답, 예를 들어 피험체의 종양 세포 또는 종양 조직이 세포자살 및/또는 세포괴사를 진행하고/진행하거나, 감소된 성장, 분열 또는 증식을 보일 것이거나, 모집단 전체에 비하여 이와 같은 치료 응답을 보일 확률이 높음을 의미하기도 한다.
- [0120] "시료"란, 피험체로부터 유래하는 임의의 생물학적 시료를 의미하는데, 세포, 조직 시료, 체액(점액, 혈액, 혈장, 혈청, 소변, 타액 및 정액을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아님), 종양 세포 및 종양 조직을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 바람직하게 시료는 골수, 말초 혈액 세포, 혈액, 혈장 및 혈청으로부터 선택된다. 시료는 치료중이거나 테스트중인 피험체에 의해 제공될 수 있다. 대안적으로 시료는 당업계의 통상의 실무에 따라서 전문의에 의해 얻어질 수 있다.
- [0121] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "세포 증식성 질환"이란, 세포의 조절되지 않는 성장 또는 비정상적인 성장, 아니면 이것들 둘 다가 원치않는(암성일 수 있거나 아닐 수 있는) 병태 또는 질병의 발달을 유도할 수 있는 병태를 지칭한다. 본 발명의 예시적 세포 증식성 질환은, 세포 분열이 조절 해제된 다수의 병태를 포함한다. 예시적인 세포 증식성 질환은 신생물, 양성 종양, 악성 종양, 전암성 병태, 제자리 종양, 피포화된 종양, 전이성 종양, 액체 종양, 고형 종양, 면역학적 종양, 혈액학적 종양, 암, 암종, 백혈병, 림프종, 육종 및 급속 분열 세포(rapidly dividing cell)를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본원에 사용된 바와 같은 용어"급속 분열 세포"는, 동일한 조직 내에서 이웃하고 있거나 나란히 있는 세포들 가운데 예상 또는 실측되는 속도를 초과하거나 이보다 더 빠른 속도로 분열하는 임의의 세포로서 정의된다. 세포 증식성 질환은 전암 또는 전암성 병태를 포함한다. 세포 증식성 질환은 암을 포함한다. 바람직하게 본원에 제공된 방법들은 암의 증상을 치료 또는 완화하는데 사용된다. 용어 "암"은 고형암뿐만 아니라, 혈액학적 종양 및/또는 악성 종양을 포함한다. "전암 세포" 또는 "전암성 세포"는 전암 또는 전암성 병태인 세포 증식성 질환을 나타내는 세포이다. "암 세포" 또는 "암성 세포"는 암인 세포 증식성 질환을 나타내는 세포이다. 암 세포 또는 전암성 세포를 동정하기 위해 임의의 재현 가능한 측정 수단이 사용될 수 있다. 암 세포 또는 전암성 세포는 조직 시료(예를 들어, 생검 시료)의 조직학적 형별(histological typing) 또는 등급부여(grading)에 의해 동정될 수 있다. 암 세포 또는 전암성 세포는 적당한 분자 마커의 사용을 통해 동정될 수 있다.
- [0122] 치료될 암은 DNA 세포분석, 유동 세포분석 또는 영상 세포분석에 의해 평가될 수 있다. 치료될 암은 세포들의 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%가 세포 분열 중 합성기(예를 들어, 세포 분열의 S기)에 있는 것으로 형별될 수 있다. 치료될 암은 저 S기 구간 또는 고 S기 구간에 있는 것으로서 형별될 수 있다.
- [0123] 본원에 사용된 바와 같은 "정상 세포"는, "세포 증식성 질환"의 일부로서 분류될 수 없는 세포이다. 정상 세포는 원치않는 병태 또는 질병의 발달을 유도할 수 있는, 조절되지 않는 성장 또는 비정상적인 성장, 아니면 이것들 둘 다를 보이지 않는다. 바람직하게 정상 세포는 정상적으로 작용을 하는 세포주기 확인점 제어 기작을 가진다.

- [0124] 본원에 사용된 바와 같은 "세포를 접촉시키는 것"은, 중요 화합물 또는 기타 중요 조성물이 세포와 직접 접촉하거나, 세포 내에서 원하는 생물학적 효과를 유도하기에 충분히 가까이 있는 상태를 지칭한다.
- [0125] 본원에 사용된 바와 같은 "후보 화합물"은, 해당 화합물이 연구자나 임상의에 의해 구하여진 세포, 조직, 계통, 동물 또는 인간에서 원하는 생물학적 또는 의학적 응답이 유도될 수 있을지 여부를 확인하기 위해서, 1 개 이상의 시험관 내 또는 생체 내 생물학적 분석법에서 테스트된 바 있거나 테스트될, 본 발명의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 지칭한다. 후보 화합물은 본 발명의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물이다. 생물학적 또는 의학적 응답은 암의 치료일 수 있다. 생물학적 또는 의학적 응답은 세포 증식성 질환의 치료 또는 예방일 수 있다. 시험관 내 또는 생체 내 생물학적 분석법은 효소 활성 분석법, 전기영동 이동도 변동 분석법, 리포터 유전자 분석법, 시험관 내 세포 자생력 분석법, 그리고 본원에 기술된 분석법들을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0126] 본원에 사용된 바와 같은 "치료하는 것" 또는 "치료하다"란, 질병, 병태 또는 질환을 이겨낼 목적으로 환자를 관리 및 보호하는 것을 말하며, 질병, 병태 또는 질환의 증상이나 합병증을 완화하기 위하거나, 또는 질병, 병태 또는 질환을 완치하기 위하여 본 발명의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0127] 본 발명의 조성물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물은 또한 질병, 병태 또는 질환을 예방하기 위해 사용될 수도 있다. 본원에 사용된 바와 같은 "예방하는 것" 또는 "예방하다"란, 질병, 병태 또는 질환의 증상이나 합병증의 개시를 감소 또는 막는 것을 말한다.
- [0128] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "완화하다"란, 질환의 증상이나 징후의 심각성이 감소하는 과정을 의미한다. 중요한 점은, 징후나 증상은 완치되지 않고 완화될 수 있다는 점이다. 바람직한 구현예에서, 본 발명의 약학 조성물의 투여는 징후나 증상의 완치를 유도하지만, 이와 같은 완치는 반드시 필요한 것은 아니다. 유효 용량은 징후나 증상의 심각성을 감소시킬 것으로 예상된다. 예를 들어 다수의 병소에서 발생할 수 있는 질환, 예를 들어 암의 징후나 증상은, 만일 해당 암의 심각성이 다수의 병소들 중 적어도 한군데에서 감소된다면, 완화된 것이다.
- [0129] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "심각성"은, 암이 전암성 또는 양성 상태에서 악성 상태로 변형될 가능성을 설명해 주어야 할 것이다. 대안적으로 또는 부가적으로 심각성은, 예를 들어 (국제 암 연합(UICC) 및 미국 공동 암 위원회(AJCC)에 의해 승인된) T NM 시스템에 따르거나 또는 기타 업계에 인식된 방법들에 의해 암의 단계를 설명해 주어야 할 것이다. 암의 단계란, 요소들, 예를 들어 원발성 종양의 병소, 종양 크기, 종양의 수, 그리고 림프절 관련여부(암이 림프절로 확산되었는지 여부)를 기반으로 한 암의 정도 또는 심각성을 지칭한다. 대안적으로 또는 부가적으로, 심각성은 업계에 인식된 방법에 의해 종양의 등급을 설명해 주어야 할 것이다(국립 암 연구소, www.cancer.gov 참조). 종양의 등급은, 암 세포가 현미경 하에서 어떻게 비정상적으로 보이는지와, 종양이 어떻게 급속하게 성장하여 확산되는지의 관점에서, 암 세포들을 분류하는데 사용되는 체계이다. 종양 등급이 결정될 때에는 다수의 요소들, 예를 들어 세포의 구조와 성장 패턴이 고려된다. 종양 등급을 결정하는데 사용되는 특이적 요소들은 암의 유형 각각에 따라서 달라진다. 심각성은 또한, 얼마나 많은 종양 세포들이 동일 유형의 조직을 이루는 정상 세포들과 닮았는지를 말해주는 조직학적 등급("분화"라고도 칭하여짐)도 설명해준다(국립 암 연구소, www.cancer.gov 참조). 더이 심각성은, 종양 세포내 핵의 크기와 형태, 그리고 분열중인 종양 세포의 백분율을 말해주는 핵 분화도를 설명해준다(국립 암 연구소, www.cancer.gov 참조).
- [0130] 본 발명의 다른 양태에서, 심각성은, 종양이 성장 인자들을 분비한 정도나, 세포 외 매트릭스를 분해한 정도나, 맥관화된 정도나, 나란히 있는 조직에 대한 부착성이 상실된 정도, 또는 전이된 정도를 설명해준다. 더이, 심각성은 원발성 종양이 전이된 병소의 수를 설명해준다. 마지막으로, 심각성은 다양한 유형의 종양들과 이 종양들이 발생한 병소를 치료함에 있어서의 난점을 포함한다. 예를 들어 수술이 불가능한 종양, 다수의 신체 계통에 대한 접근성이 더 큰 암(혈액학적 및 면역학적 종양)과, 전통적인 치료에 가장 큰 내성을 보이는 암이 가장 심각한 암으로 간주된다. 이와 같은 상황에서, 피험체의 기대 수명을 늘리는 것 및/또는 통증을 줄이는 것, 암 세포의 비율을 낮추는 것 또는 세포들을 하나의 계통에 제한시키는 것, 그리고 암의 단계/종양 등급/조직학적 등급/핵 분화도를 개선하는 것은 암의 징후나 증상을 완화하는 것으로 간주된다.
- [0131] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "증상"은, 질병, 병증, 손상 또는 체내에서 일어나는 것이 바람직하지 않은 그 어떤 현상에 대한 표시로서 정의된다. 증상은, 해당 증상을 경험하고 있는 개체에 의하여 느껴지거나 지각되지, "타인"에 의해서는 쉽게 지각될 수 없다. 이때의 "타인"은 건강 관리 전문가가 아닌 사람으로서 정의된다.

- [0132] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "징후"는 또한, 체내에서 일어나는 것이 바람직하지 않은 그 어떤 현상에 대한 표시로서 정의되기도 한다. 그러나 징후는 의사, 간호사 또는 기타 건강 관리 전문가에 의해 관찰될 수 있는 그 어떤 현상으로서 정의된다.
- [0133] 암은 거의 모든 임의의 징후 또는 증상을 일으킬 수 있는 질병의 군이다. 징후 및 증상은, 암이 어느 부위에 발병하였는지와, 암의 크기, 그리고 암이 근처의 장기 또는 구조에 얼마나 많은 영향을 미치는지에 의존할 것이다. 만일 암이 확산되면(전이되면), 증상은 체내 상이한 부분들에서 나타날 수 있다.
- [0134] 암 치료는 종양 크기의 감소를 초래할 수 있다. 종양 크기의 감소는 또한 "종양 퇴행"으로 지칭될 수도 있다. 바람직하게 치료후 종양 크기는, 치료전 종양 크기에 비하여 5% 이상까지 감소되고; 더 바람직하게 종양 크기는 10% 이상까지 감소되며; 더 바람직하게 20% 이상까지 감소되고; 더 바람직하게 30% 이상까지 감소되며; 더 바람직하게 40% 이상까지 감소되고; 훨씬 더 바람직하게 50% 이상까지 감소되며; 가장 바람직하게 75% 이상까지 감소된다. 종양의 크기는 임의의 재현 가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 종양 크기는 종양의 지름으로서 측정될 수 있다.
- [0135] 암 치료는 종양 부피의 감소를 초래할 수 있다. 바람직하게 치료후 종양 부피는, 치료전 종양 크기에 비하여 5% 이상까지 감소되고; 더 바람직하게 종양 부피는 10% 이상까지 감소되며; 더 바람직하게 20% 이상까지 감소되고; 더 바람직하게 30% 이상까지 감소되며; 더 바람직하게 40% 이상까지 감소되고; 훨씬 더 바람직하게 50% 이상까지 감소되며; 가장 바람직하게 75% 이상까지 감소된다. 종양의 부피는 임의의 재현 가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다.
- [0136] 암 치료는 종양 수의 감소를 초래한다. 바람직하게 치료후 종양 수는, 치료전 종양 수에 비하여 5% 이상까지 감소되고; 더 바람직하게 종양 수는 10% 이상까지 감소되며; 더 바람직하게 20% 이상까지 감소되고; 더 바람직하게 30% 이상까지 감소되며; 더 바람직하게 40% 이상까지 감소되고; 훨씬 더 바람직하게 50% 이상까지 감소되며; 가장 바람직하게 75% 이상까지 감소된다. 종양 수는 임의의 재현 가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 종양 수는 나안으로 확인될 수 있거나 특정 배율로 확대되었을 때 확인될 수 있는 종양을 계수하여 측정될 수 있다. 바람직하게 특정 배율은 $2\times$, $3\times$, $4\times$, $5\times$, $10\times$ 또는 $50\times$ 이다.
- [0137] 암 치료는 원발성 종양 위치와 멀리 떨어져 있는 다른 조직이나 장기에서의 전이 병소 수 감소를 초래할 수 있다. 바람직하게, 치료후 전이 병소 수는 치료전 전이 병소 수에 비하여 5% 이상까지 감소되고; 더 바람직하게 전이 병소 수는 10% 이상까지 감소되며; 더 바람직하게 20% 이상까지 감소되고; 더 바람직하게 30% 이상까지 감소되며; 더 바람직하게 40% 이상까지 감소되고; 훨씬 더 바람직하게 50% 이상까지 감소되며; 가장 바람직하게 75% 이상까지 감소된다. 전이 병소 수는 임의의 재현 가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 전이 병소 수는 나안으로 확인될 수 있거나 특정 배율로 확대되었을 때 확인될 수 있는 전이 병소 수를 계수하여 측정될 수 있다. 바람직하게 특정 배율은 $2\times$, $3\times$, $4\times$, $5\times$, $10\times$ 또는 $50\times$ 이다.
- [0138] 암 치료는 운반체만을 투여받은 모집단의 평균 생존 시간과 비교되었을 때, 치료된 피험체 모집단의 평균 생존 시간의 증가를 초래할 수 있다. 바람직하게 평균 생존 시간은 30 일 초과까지 증가되고; 더 바람직하게는 60 일 초과; 더 바람직하게는 90 일 초과; 그리고 가장 바람직하게는 120 일 초과까지 증가된다. 모집단의 평균 생존 시간 증가는 임의의 재현 가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 모집단의 평균 생존 시간 증가는, 예를 들어 활성 화합물이 사용되는 치료 개시후 모집단 생존 기간의 평균 길이를 산정함으로써 측정될 수 있다. 모집단의 평균 생존 시간의 증가는 또한, 예를 들어 활성 화합물이 사용되는 치료의 제1 라운드 종료후 모집단 생존 시간의 평균 길이를 산정함으로써 측정될 수 있다.
- [0139] 암 치료는 비치료 피험체들 모집단의 평균 생존 시간과 비교되었을 때, 치료된 피험체들 모집단의 평균 생존 시간 증가를 초래할 수 있다. 바람직하게 평균 생존 시간은 30 일 초과까지 증가되고; 더 바람직하게는 60 일 초과; 더 바람직하게는 90 일 초과; 그리고 가장 바람직하게는 120 일 초과까지 증가된다. 모집단의 평균 생존 시간 증가는 임의의 재현 가능한 수단에 의해 측정될 수 있다. 모집단의 평균 생존 시간의 증가는, 예를 들어 활성 화합물이 사용되는 치료 개시후 모집단의 생존 시간의 평균 길이를 산정함으로써 측정될 수 있다. 모집단의 평균 생존 시간 증가는 또한, 예를 들어 활성 화합물이 사용되는 치료의 제1 라운드 종료후 모집단의 생존 시간의 평균 길이를 산정함으로써 측정될 수 있다.
- [0140] 암 치료는 본 발명의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물이 아닌 약물로 단일요법을 처치받은 모집단의 평균 생존 시간과 비교되었을 때, 치료된 피험체 모집단의 평균 생존 시간의 증가를 초래할 수 있다. 바람직하게 평균 생존 시간은 30 일 초과; 더 바람직하게 60 일 초과; 더 바람직하게 90 일 초과; 그리고

가장 바람직하게 120 일 초과까지 증가된다. 모집단의 평균 생존 시간 증가는 임의의 재현 가능한 수단에 의해 측정될 수 있다. 모집단의 평균 생존 시간의 증가는, 예를 들어 활성 화합물이 사용되는 치료 개시후 모집단 생존 시간의 평균 길이를 산정함으로써 측정될 수 있다. 모집단의 평균 생존 시간 증가는 또한, 예를 들어 활성 화합물이 사용되는 치료의 제1 라운드 종료후 모집단 생존 시간의 평균 길이를 산정함으로써 측정될 수 있다.

[0141] 암 치료는 운반체만을 처치받은 모집단의 사망률과 비교되었을 때, 치료된 피험체 모집단의 사망률의 감소를 초래할 수 있다. 암 치료는 비치료 모집단의 사망률과 비교되었을 때, 치료된 피험체 모집단의 사망률의 감소를 초래할 수 있다. 암 치료는 본 발명의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물이 아닌 약물로 단일요법을 처치받은 모집단의 사망률과 비교되었을 때, 치료된 피험체 모집단의 사망률의 감소를 초래할 수 있다. 바람직하게 사망률은 2% 초과; 더 바람직하게 5% 초과; 더 바람직하게 10% 초과; 그리고 가장 바람직하게 25% 초과까지 감소된다. 치료된 피험체 모집단의 사망률 감소는 임의의 재현 가능한 수단에 의해 측정될 수 있다. 모집단의 사망률 감소는, 예를 들어 활성 화합물이 사용되는 치료 개시후 모집단의 단위 시간당 질병 관련 사망자의 평균 수를 산정함으로써 측정될 수 있다. 모집단의 사망률 감소는 또한, 예를 들어 활성 화합물이 사용되는 치료의 제1 라운드 종료후 모집단의 단위 시간당 질병 관련 사망자의 평균 수를 산정함으로써 측정될 수 있다.

[0142] 암 치료는 종양 성장 속도의 감소를 초래할 수 있다. 바람직하게 치료후 종양 성장 속도는 치료전 수에 비하여 적어도 5%까지 감소되고; 더 바람직하게 종양 성장 속도는 적어도 10%까지 감소되며; 더 바람직하게 적어도 20%까지 감소되고; 더 바람직하게 적어도 30%까지 감소되며; 더 바람직하게 적어도 40%까지 감소되고; 더 바람직하게 적어도 50%까지 감소되며; 훨씬 더 바람직하게 적어도 50%까지 감소되고; 가장 바람직하게 적어도 75%까지 감소된다. 종양 성장 속도는 임의의 재현 가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 종양 성장 속도는 단위 시간당 종양 지름의 변화에 의해 측정될 수 있다.

[0143] 암 치료는 종양 재성장률 감소를 초래할 수 있다. 바람직하게 치료후 종양 재성장률은 5% 미만이고; 더 바람직하게 종양 재성장률은 10% 미만이며; 더 바람직하게 20% 미만이고; 더 바람직하게 30% 미만이며; 더 바람직하게 40% 미만이고; 더 바람직하게 50% 미만이며; 훨씬 더 바람직하게 50% 미만이고; 가장 바람직하게 75% 미만이다. 종양 재성장률은 임의의 재현 가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 종양의 재성장률은, 예를 들어 이전에 치료되었을 때 수축되었던 종양의 종양 지름 증가를 측정함으로써 측정된다. 종양 재성장률 감소는, 치료 중단 후 종양이 재발되지 않는 것에 의해 나타내어진다.

[0144] 세포 증식성 질환의 치료 또는 예방은 세포 증식 속도의 감소를 초래할 수 있다. 바람직하게 치료후 세포 증식 속도는 적어도 5%; 더 바람직하게 적어도 10%; 더 바람직하게 적어도 20%; 더 바람직하게 적어도 30%; 더 바람직하게 적어도 40%; 더 바람직하게 적어도 50%; 훨씬 더 바람직하게 적어도 50%; 그리고 가장 바람직하게 적어도 75%까지 감소된다. 세포 증식 속도는 임의의 재현 가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 세포 증식 속도는, 예를 들어 단위 시간당 조직 시료중 분열하는 세포의 수를 측정함으로써 측정된다.

[0145] 세포 증식성 질환의 치료 또는 예방은 증식중인 세포의 비율 감소를 초래할 수 있다. 바람직하게 치료후 증식중인 세포의 비율은 적어도 5%; 더 바람직하게 적어도 10%; 더 바람직하게 적어도 20%; 더 바람직하게 적어도 30%; 더 바람직하게 적어도 40%; 더 바람직하게 적어도 50%; 훨씬 더 바람직하게 적어도 50%; 그리고 가장 바람직하게 적어도 75%까지 감소된다. 증식중인 세포의 비율은 임의의 재현 가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 바람직하게 증식중인 세포의 비율은, 예를 들어 조직 시료중 분열하지 않는 세포의 수에 비하여 분열 중인 세포의 수를 정량함으로써 측정된다. 증식중인 세포의 비율은 분열 지수와 동일할 수 있다.

[0146] 세포 증식성 질환의 치료 또는 예방은 세포 증식 영역 또는 대역의 크기 감소를 초래할 수 있다. 바람직하게 치료후 세포 증식 영역 또는 대역의 크기는 치료전 세포 증식 영역 또는 대역의 크기에 비하여 적어도 5%까지 감소되고; 더 바람직하게 적어도 10%까지 감소되며; 더 바람직하게 적어도 20%까지 감소되고; 더 바람직하게 적어도 30%까지 감소되며; 더 바람직하게 적어도 40%까지 감소되고; 더 바람직하게 적어도 50%까지 감소되며; 훨씬 더 바람직하게 적어도 50%까지 감소되고; 그리고 가장 바람직하게 적어도 75%까지 감소된다. 세포 증식 영역 또는 대역의 크기는 임의의 재현 가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 세포 증식 영역 또는 대역의 크기는 세포 증식 영역 또는 대역의 지름 또는 폭으로서 측정될 수 있다.

[0147] 세포 증식성 질환의 치료 또는 예방은 비정상적인 외관 또는 형태를 가지는 세포의 수 또는 비율 감소를 초래할 수 있다. 바람직하게 치료후 비정상적인 형태를 가지는 세포의 수는 치료전 비정상적인 형태를 가지는 세포의 수에 비하여 적어도 5%까지 감소되고; 더 바람직하게 적어도 10%까지 감소되며; 더 바람직하게 적어도 20%까지 감소되고; 더 바람직하게 적어도 30%까지 감소되며; 더 바람직하게 적어도 40%까지 감소되고; 더 바람직하게 적

어도 50%까지 감소되며; 훨씬 더 바람직하게 적어도 50%까지 감소되고; 그리고 가장 바람직하게 적어도 75%까지 감소된다. 비정상적인 세포 외관 또는 형태는 임의의 재현 가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 비정상적인 세포 외관 또는 형태는, 예를 들어 반전된 조직 배양 현미경이 사용되는 현미경 관찰에 의해 측정될 수 있다. 비정상적인 세포 형태는 핵 다형태성의 형태를 취할 수 있다.

[0148] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "선택적으로"는, 어떤 현상이 다른 모집단에서보다 어느 하나의 모집단에서 높은 발생 빈도로 발생하는 경향을 의미한다. 비교 대상인 모집단은 세포 모집단일 수 있다. 바람직하게 본 발명의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물은 암 또는 전암성 세포에 선택적으로 작용을 하지만, 정상 세포에서는 그러하지 않다. 바람직하게 본 발명의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물은 하나의 분자 표적(예를 들어, 표적 단백질 메틸기전이효소)을 조정하도록 선택적으로 작용을 하지만, 다른 분자 표적(예를 들어, 비 표적 단백질 메틸기전이효소)을 유의적으로 조정하지는 않는다. 본 발명은 또한 효소, 예를 들어 단백질 메틸기전이효소의 활성을 선택적으로 억제하는 방법을 제공하기도 한다. 바람직하게 하나의 현상은, 만일 그 현상이 모집단 B와 비교되었을 때 모집단 A에서 2 배 더 빈번하게 발생한다면, 모집단 B에 비하여 모집단 A내에서 선택적으로 발생하는 것이 된다. 만일 하나의 현상이 모집단 A에서 5 배 이상 더 빈번하게 발생한다면, 그 현상은 선택적으로 발생하는 것이 된다. 만일 하나의 현상이 모집단 B와 비교되었을 때 모집단 A에서 10 배 이상; 바람직하게 50 배 이상; 훨씬 더 바람직하게 100 배 이상; 그리고 가장 바람직하게 1000 배 이상 더 빈번하게 발생한다면, 그 현상은 선택적으로 발생하는 것이 된다. 예를 들어 세포 사멸은, 이 세포 사멸이 정상 세포에 비교되었을 때, 암 세포에서 2 배 이상 빈번하게 발생한다면, 암 세포에서 선택적으로 발생한다고 일컬어질 것이다.

[0149] 본 발명의 조성물, 예를 들어 화합물 44 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과, 1 개 이상의 기타 치료제, 예를 들어 프레드니손은 분자 표적(예를 들어, 표적 단백질 메틸기전이효소)의 활성을 조정할 수 있다. 조정이란, 분자 표적의 활성을 촉진하거나 억제하는 것을 지칭한다. 바람직하게 본 발명의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물은, 만일 그것이 분자 표적의 활성을, 동일한 조건이되, 단지 상기 화합물이 존재하지 않는 조건하에 있는 분자 표적의 활성에 비하여 적어도 2 배까지 자극하거나 억제하면, 분자 표적의 활성을 조정하는 것이 된다. 더 바람직하게 본 발명의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물은, 만일 그것이 분자 표적의 활성을, 동일한 조건이되, 단지 상기 화합물이 존재하지 않는 조건하에 있는 분자 표적의 활성에 비하여 적어도 5배, 적어도 10 배, 적어도 20 배, 적어도 50 배, 적어도 100 배까지 자극하거나 억제하면, 분자 표적의 활성을 조정하는 것이 된다. 분자 표적의 활성은 임의의 재현 가능한 수단에 의해 측정될 수 있다. 분자 표적의 활성은 시험관 내 또는 생체 내 측정될 수 있다. 예를 들어 분자 표적의 활성은 효소 활성 분석법 또는 DNA 결합 분석법에 의해 시험관 내에서 측정될 수 있거나, 또는 분자 표적의 활성은 리포터 유전자의 발현을 분석함으로써 생체 내 측정될 수 있다.

[0150] 본 발명의 조성물은, 만일 화합물의 첨가가 분자 표적의 활성을, 동일한 조건이되, 단지 상기 화합물이 존재하지 않는 조건하에 있는 분자 표적의 활성에 비하여 10% 이상까지 자극 또는 억제하지 않는다면, 분자 표적의 활성을 유의적으로 조정하지 않는 것이 된다.

[0151] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "동질 효소 선택적인"이란, 어느 효소의 제2 동질 효소와 비교되었을 때 해당 효소의 제1 동질 효소를 선호하여 억제 또는 자극하는 경우(예를 들어, 단백질 메틸기전이효소 동질 효소 베타와 비교되었을 때 단백질 메틸기전이효소 동질 효소 알파를 선호하여 억제 또는 자극하는 경우)를 의미한다. 바람직하게 본 발명의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물은 생물학적 효과를 달성하는데 필요한 용량에 있어서 적어도 4 배, 바람직하게는 10 배, 더 바람직하게는 50 배 차이를 나타낸다. 바람직하게 본 발명의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물은 억제 범위에 걸쳐 이와 같은 차이를 나타내고, 그 차이는 관심있는 분자 표적에 대해 IC₅₀(즉 50% 억제)에서 예시된다.

[0152] 본 발명의 조성물의 투여를 필요로 하는 세포 또는 피험체에 이러한 조성물을 투여하는 것은, 관심있는 단백질 메틸기전이효소 활성의 조정(즉 자극 또는 억제)을 초래할 수 있다.

[0153] 본 발명의 화합물, 예를 들어 화합물 44 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과, 1 개 이상의 기타 치료제, 예를 들어 프레드니손을 포함하는 조성물을 이의 투여를 필요로 하는 세포나 피험체에 투여하는 것은, 세포 내 표적(예를 들어, 기질)의 활성 조정(즉 자극 또는 억제)을 초래한다. 몇몇 세포 내 표적들은 본 발명의 화합물, 예를 들어 단백질 메틸기전이효소(이에 한정되는 것은 아님)로 조정될 수 있다.

[0154] 활성화란, 물질(예를 들어, 단백질 또는 핵산)의 조성물이 원하는 생물학적 기능을 수행하기에 적당한 상태로 만들어지는 것을 지칭한다. 활성화될 수 있는 물질의 조성물은 또한 불활성화된 상태를 가지기도 한다. 물질의

활성화된 조성물은 억제 생물 기능 또는 자극 생물 기능, 아니면 이 둘 다를 가질 수 있다. 상승이란, 물질(예를 들어, 단백질 또는 핵산)의 조성물의 원하는 생물학적 활성의 증가를 지칭한다. 상승은 물질의 조성물 농도 증가를 통해 일어날 수 있다.

[0155] 본원에 사용된 바와 같은 "세포주기 확인점 경로"란, 세포주기 확인점 조절에 관여하는 생화학적 경로를 지칭한다. 세포주기 확인점 경로는 세포주기 확인점을 포함하는 1 개 이상의 기능에 대해 자극 효과 또는 억제 효과, 아니면 이 둘 다를 발휘할 수 있다. 세포주기 확인점 경로는 물질, 바람직하게는 단백질의 조성물 적어도 2 개로 이루어져 있는데, 이 조성물 둘 다는 세포주기 확인점의 조절에 기여한다. 세포주기 확인점 경로는 이 세포주기 확인점 경로에 관여하는 일원 1 개 이상을 활성화함으로써 활성화될 수 있다. 바람직하게 세포주기 확인점 경로는 생화학적 신호 전달 경로이다.

[0156] 본원에 사용된 바와 같은 "세포주기 확인점 조절제"란, 세포주기 확인점 조절에 있어서 적어도 부분적으로나마 작용을 할 수 있는 물질의 조성물을 지칭한다. 세포주기 확인점 조절제는 세포주기 확인점을 포함하는 1 개 이상의 기능에 대해 자극 효과 또는 억제 효과, 아니면 이 둘 다를 발휘할 수 있다. 세포주기 확인점 조절제는 단백질일 수 있거나 단백질이 아닐 수 있다.

[0157] 암 또는 세포 증식성 질환의 치료는 세포 사멸을 초래할 수 있고, 바람직하게 세포 사멸은 모집단 내 세포 수의 적어도 10% 감소를 초래한다. 더 바람직하게 세포 사멸이란, 세포 수의 적어도 20%의 감소; 더 바람직하게 적어도 30%의 감소; 더 바람직하게 적어도 40%의 감소; 더 바람직하게 적어도 50%의 감소; 가장 바람직하게 적어도 75%의 감소를 의미한다. 모집단 내 세포 수는 임의의 재현 가능한 수단에 의해 측정될 수 있다. 모집단 내 세포 수는 형광도 활성화 세포 분류법(Fluorescence Activated Cell Sorting; FACS), 면역 형광도 현미경(immunofluorescence microscopy) 및 광학 현미경에 의해 측정될 수 있다. 세포 사멸 측정 방법은 문헌[Li *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 100(5): 2674-8, 2003]에 나타내어져 있다. 하나의 양태에서, 세포 사멸은 세포자살에 의해 발생한다.

[0158] 바람직하게 본 발명의 조성물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물의 유효량은 정상 세포에 대해 유의적으로 세포 독성을 나타내지는 않는다. 화합물의 치료학적 유효량은, 만일 화합물 치료학적 유효량만큼의 투여가 정상 세포의 10% 이상에서 세포 사멸을 유도하지 않는다면, 정상 세포에 대해 유의적으로 세포 독성을 나타내지 않는 것이다. 화합물의 치료학적 유효량은, 만일 화합물 치료학적 유효량만큼의 투여가 정상 세포의 10% 이상에서 세포 사멸을 유도하지 않는다면, 정상 세포의 자생력에 유의적으로 영향을 미치지 않는 것이다. 하나의 양태에서, 세포 사멸은 세포자살에 의해 일어난다.

[0159] 본 발명의 조성물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물과 세포의 접촉은 암 세포 내에서 세포 사멸을 선택적으로 유도 또는 활성화할 수 있다. 본 발명의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물의 투여를 필요로 하는 피험체에 이러한 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 투여하는 것은, 암 세포 내에서 세포 사멸을 선택적으로 유도 또는 활성화할 수 있다. 본 발명의 조성물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물과 세포의 접촉은 세포 증식성 질환에 의해 영향을 받은 세포 1 개 이상에서 세포 사멸을 선택적으로 유도할 수 있다. 바람직하게 본 발명의 조성물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물의 투여를 필요로 하는 피험체에 이러한 조성물, 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 투여하는 것은, 세포 증식성 질환에 의해 영향을 받은 세포 1 개 이상에서 세포 사멸을 선택적으로 유도한다.

[0160] 본 발명은, 본 발명의 조성물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 암 치료 또는 예방을 필요로 하는 피험체에 투여함으로써 암을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것인데, 여기서, 본 발명의 조성물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물의 투여는, 다음과 같은 것들 중 1 개 이상을 초래한다: 세포주기의 1 개 이상의 기(예를 들어, G1, G1/S, G2/M)에 있는 세포의 축적, 또는 세포 노화의 유도, 또는 종양 세포 분화의 축진을 통한 암 세포 증식의 예방; 동물에서의 세포 독성, 세포 괴사 또는 세포 자살(정상 세포는 유의적인 양만큼의 세포 사멸이 초래되지 않음), 항종양 활성(치료 지수 2 이상)을 통한 암 세포에서의 세포 사멸 축진. 본원에 사용된 바와 같은 "치료 지수"는 최대 허용 용량이 유효 용량에 의해 나누어졌을 때의 값이다.

[0161] 당업자는 본원에 논의된 공지 기술들 또는 이와 균등한 기술들에 관한 상세한 설명이 기술되어 있는 일반 참고 서적을 참조할 수 있다. 이러한 서적은 문헌[Ausubel *et al.*, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley and Sons, Inc. (2005); Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual* (3rd edition), Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, New York (2000)]; [Coligan *et al.*, *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons, N.Y.]; [Enna *et al.*, *Current Protocols in Pharmacology*,

John Wiley & Sons, N.Y.]; [Fingl *et al.*, *The Pharmacological Basis of Therapeutics* (1975)], [Remington's *Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co., Easton, PA, 18th edition (1990)]을 포함한다. 이와 같은 문헌은 물론 본 발명의 하나의 양태를 이루거나 이용함에 있어서 참고될 수 있다.

[0162] 실시예 1.

[0163] 글루코코르티코이드 및 EZH2 억제제의 상승적 항종양 활성

[0164] 화합물 44을, 본원에 전체가 참고로 포함되어 있는 미국 특허 번호 8,410,088에 기술되어 있는 바와 같이 합성하였다.

[0165] 화합물 44(Cpd44)가 단지 글루코코르티코이드 수용체 작동제(GRag)인, CHOP의 프레드니솔론, 또는 기타 GRag, 예를 들어 텍사메타손과만 조합되었을 때, 극적인 상승효과가 관찰되었다. 화합물 44가 CHOP와 조합되었을 때, 이 화합물 44의 항증식 효과는 매우 증가하였으며, 이러한 상승효과 대부분은 CHOP의 GRag 성분인 프레드니솔론(프레드니손의 활성 대사산물)에 기인할 수 있다. 눈에 띄는 점은, 화합물 44와 프레드니솔론의 조합이, EZH2 억제에 감수성인 세포 범위를 돌연변이체 보유 GCB NHL 세포로부터 모든 GCB NHL 세포에 이르기까지 늘린다는 점이다.

[0166] 2 개의 EZH2 돌연변이체 세포주, 즉 WSU-DLCL2와 SU-DHL10을 화합물 44로 4 일 동안 예비 처리한 다음, 3 일 더 화합물 44와 개별 CHOP 성분들의 조합으로 공동 처리하였다(4+3 모델). 마포스파미드(사이클로포스파미드의 유사체), 독소루비신 및 빈크리스틴은 모두 돌연변이체 세포주에서 이것들 자체에 의한 농도 의존적 성장 억제를 나타내었다. 그러므로 화합물 44와 조합되는 상기 약물들에 대해 복합 지수(Combination Index; CI, Calculusyn 소프트웨어가 사용되어 산정)를 구하였다. 그러나, 이러한 세포주들은 프레드니솔론(프레드니손의 활성 대사산물) 자체에 대한 감수성을 나타내지 않았다. 그러므로 이러한 경우 CI를 측정할 수 없었으며, 그 대신 프레드니솔론의 농도-응답 곡선으로 나타내어지는 화합물 44의 IC₅₀ 변동을 기반으로 하여 효능 증가를 산정하였다.

[0167] 화합물 44와 마포스파미드의 조합은 EZH2 돌연변이체 세포주 둘 다에서 전체적인 부가 복합 이익을 가져왔다(도 1의 C 및 F). WSU-DLCL2 세포에 있어서, 화합물 44와 독소루비신의 조합은 4+3 모델에서 상승 작용하였던 반면에(도 1의 A), 이 조합은 SU-DHL10 세포에서는 부가적이었다(도 1의 D). 화합물 44와 빈크리스틴의 조합 또한 EZH2 돌연변이체 세포주 둘 다에서 부가작용(additivity)을 나타내었다(도 1의 B 및 E). WSU-DLCL2 세포를 프레드니솔론 및 화합물 44의 조합으로 처리하였을 때, 화합물 44의 큰 효능(greater potency)에 대해 9 배의 변동이 관찰되었다. 상이한 GRag, 텍사메타손 처리는 화합물 44의 IC₅₀에 있어서 17 배 더 큰 변동을 초래하였다(도 2a 및 도 2b). SU-DHL10 세포들에서도 화합물 44의 효능 변동(potency shift)에 유사한 경향이 관찰되었다(도 2c 및 도 2d).

[0168] 화합물 44와 CHOP의 복합 효과(combination effect)가 WT EZH2 림프종 세포주를 화합물 44에 감수성이도록 만들 수 있었는지 여부를 관찰하였다. 화합물 44 처리 단독으로는 EZH2 WT 림프종 주에서 성장 억제를 유도하지 않으므로, 효능 변동을 개별 CHOP 성분들의 농도-응답 곡선을 기반으로 산정하였다. 4 개의 CHOP 성분들 중 오로지 GRag 및 화합물 44의 조합만이 WT GCB 림프종 세포주에서 효능 변동을 초래하였다.

[0169] 그 다음, 화합물 44와 CHOP의 복합 효과가 EZH2 돌연변이체 및 야생형 세포주, 즉 WSU-DLCL2 *EZH2* 돌연변이체(도 3a, 도 3b) 및 DOHH2 *EZH2* 야생형(도 3c, 도 3d) GCB 림프종 세포주를, 화합물 44에 감수성이도록 만들 수 있었는지 여부를 관찰하였다. 프레드니솔론 및 화합물 44의 조합으로 WSU-DLCL2 세포를 처리하면, 화합물 44의 활성 증가가 유발되었는데(도 3a), 이때 화합물 44의 IC₅₀은 최대 24 배 감소하였다. 상이한 GRag, 즉 텍사메타손 처리는 화합물 44 IC₅₀의 30 배 이상의 감소를 초래하였다(도 3b). 프레드니솔론에 대한 생물학적 관련 농도 1 μ M과, 텍사메타손에 대한 생물학적 관련 농도 100 nM에서, 효능 증가는 각각 7 배 및 15 배였다. 화합물 44는 DOHH2 *EZH2* 야생형 세포에서 단일 제제로서는 항증식 효과를 나타내지 않았으므로(도 3c, 도 3d), 프레드니솔론 또는 텍사메타손의 효능 변동이 측정되었다. 흥미롭게도, 화합물 44를 야생형 GCB 림프종 세포주(DOHH2)에서 테스트하였을 때에는 CHOP의 오로지 GRag 성분만이 화합물 44 존재 하에서 증가된 효능을 나타내었다(도 3c, 도 3d). DOHH2 세포 내에서 프레드니솔론 또는 텍사메타손의 효능은 화합물 44가 첨가될 때 증가하였다(도 3c, 도 3d).

[0170] 오로지 GRag와 EZH2i 조합만이, 이 제제들 중 어느 하나만에 비교되었을 때, EZH2 WT 및 돌연변이체 GCB 림프종 세포주에서 극적으로 증가한 항증식 효과를 유도하였던 것을 고려하여, 화합물들의 처리 지속 기간 및/또는 첨가 순서가 감수성에 영향을 미쳤는지 여부를 확인하였다. 세포주 패널은 또한 EZH2 WT, EZH2 돌연변이체, 화합

물 44 감수성 및 EZH2 돌연변이체, 화합물 44 비감수성 세포주(이전에 McCabe의 다수에 의해 보고되었으나, 내부 데이터로서는 발표되지 않음)를 포함하도록 확대하였다. 이전의 4+3 모델에서 효능 변동은 (EZH2 Y646(Y641로서도 공지됨) 감수성 세포주에서의) 화합물 44 노출 또는 (EZH2 WT 세포주에서의) 프레드니솔론 노출 중 어느 하나를 기반으로 하였다. 이와 같은 실험 세트에 있어서 프레드니솔론의 고정된 농도에서의 화합물 44의 IC₅₀ 변동은, 4+3 모델, 4 일간 또는 7 일간 공동 처리, 또는 4 일간 프레드니솔론 전처리 + 3일간 공동 처리 중 어느 하나의 방식으로 처리된 세포주에서 복합 이익을 확인하는데 사용하였다. EZH2 돌연변이체, 즉 화합물 44 감수성 세포주를 4 일 동안 공동 처리하였을 때, 화합물 44의 IC₅₀은 30 배 내지 60 배 더 낮아졌음이 관찰되었는데, 이때 4+3 처리 스케줄에서의 IC₅₀도 유사한 경향을 나타내었다(표 1). 7 일간 공동 처리 및 4+3 모델에서도 유사한 결과들이 관찰되었다(표 1). EZH2 WT GCB 세포주에서, 4 일 경과시 측정 가능한 화합물 44의 IC₅₀이 얻어지지 않았음에도 불구하고 상기 두 세포주는 프레드니솔론 공동 처리 4 일 경과시 감소된 증식 및 측정 가능한 화합물 44 IC₅₀을 나타내었다(표 1). EZH2 WT GCB 세포주는 또한 4+3 모델 및/또는 7 일간 공동 처리 스케줄에 응답하였다(표 1). 놀랍게도, 4 일간 처리후 측정 가능한 화합물 44 IC₅₀을 나타내지 않는 EZH2 돌연변이체, 즉 화합물 44 비감수성 세포주는 4 일간 공동 처리에 의해 감소된 증식을 나타내었는데, 이때 4+3 처리 스케줄과 7 일간 공동 처리 조합에의 응답은 더 컸다(표 1). 세포들을 프레드니솔론으로 전처리한 다음, 화합물 44 및 프레드니솔론으로 공동 처리하였을 때 세포주들 중 오로지 하나만이 복합 이익을 나타내었는데, 이는 약물 첨가 순서가 상승효과에 중요함을 암시하는 것이다(표 1).

[표 1]

화합물44/GRag 조합은 EZH2 Y646(Y641) 세포주에서 EZH2i 감수성을 증가시켰고, EZH2i에 내성인 세포주에서 EZH2i 비감수성을 극복하였다.

세포주	4일 Cpd44 IC50 (uM)		7일 Cpd44 IC50 (uM)		
	Cpd44 단독처리	Cpd44 공동처리	4일 Cpd44 Pre/3일 공동처리	4일 Pred Pre/3일 공동처리	7일 공동처리
WSU (Y646-Sens)	0.53 +/- 0.014	0.020 +/- 0.021	0.011 +/- 0.0062	>1	0.014 +/- 0.0049
SU-DHL10 (Y646-Sens)	0.64 +/- 0.26	0.0092 +/- 0.0044	0.0027 +/- 0.0013	0.52, >1	0.020 +/- 0.0057
RL (Y646-Res)	>1	0.0096 +/- 0.0066	<<0.004	0.38	<0.004
SU-DHL4 (Y646-Res)	>1	>1, 0.2, >1	0.035 +/- 0.043	>1	0.51 +/- 0.35
DOHH2 (WT)	>1	0.20 +/- 0.25	>1, 0.03, >1	>1	0.34 +/- 0.078
OCI-Ly19 (WT)	>1	0.19 +/- 0.11	0.0055 +/- 0.0047	>1	0.026, <0.004

이와 같은 세포주들에서 화합물 44와 GRag의 관찰된 복합 이익의 원인인 잠재적 기작들을 평가하기 위해, 본 발명자들은 프레드니솔론 처리가, 이 프레드니솔론 단독 처리 또는 화합물 44와의 조합 처리한지 4 일 후, WSU-DLCL2, OCI-LY19 및 RL 세포 내 H3K27의 전반적인 메틸화 및 아세틸화에 영향을 미쳤는지 여부를 확인하였다(2회의 독립적인 실험을 통해 이루어짐). 단일 제제인 프레드니솔론은 WSU-DLCL2 세포 또는 RL 세포에서 H3K27Me3 수준에 영향을 미치지 않았지만, OCI-LY19 세포에서는 높은 용량으로 H3K27Me3 수준을 증가시켰다(도 9a). 프레드니솔론 비감수성 EZH2 돌연변이체 주들의 경우와는 대조적으로, 프레드니솔론에 대한 OCI-LY19 세포의 높은 감수성으로 말미암아, 더 낮은 프레드니솔론 용량이 OCI-LY19 세포 처리에 필요하였다. 프레드니솔론의 포함은 어떠한 세포주에서도 H3K27Me3 억제에 대한 화합물 44 IC₅₀을 변경하지 않았다(도 9a). 이와 유사하게, 전반적인 H3K27 아세틸화 수준은 프레드니솔론 단독 또는 화합물 44와 프레드니솔론의 조합에 의해 영향받지 않았다(도 9b, 도 9c 및 도 9d).

H3K27 아세틸화 또는 삼메틸화의 전반적인 수준은 영향받지 않았음이 발견되었는데, 이를 기반으로 GR 신호전달 경로들의 전사 조절을 연구하였다. WSU-DLCL2, SU-DHL10, RL, SU-DHL4, OCI-LY19 및 DOHH2 세포들을 단일 농도의 화합물 44, 프레드니솔론 또는 이의 조합으로 4 일 동안 처리하였으며, 유전자 발현을 글루코코르티코이드

신호전달 PCR 어레이를 사용하여 분석하였다(표 4a 내지 4f). 전반적으로, 모든 세포주에서 프레드니솔론 처리 및 조합 처리 둘 다가 행하여졌을 때 더 많은 수의 유전자가 하향 조절되었는데, 이는 GR의 유전자 발현 활성인자 및 억제인자 둘 다로서의 역할을 암시한다. 본 실시예에서는 GR의 활성화 기능에 초점을 맞추었으며, 세포주 패널에서 조합 처리시 상승적 상향 조절이 일어난 3 개의 유전자를 기술하였다. 세스트린(*SESN1*), 즉 mTOR 신호 전달을 억제하는 추정 중앙 억제 인자(ref)는 통상, EZH2 WT 세포주에서가 아닌, 4 개의 EZH2 돌연변이 세포주 가운데에서 조합 처리에 의해 상승적 방식으로 상향 조절되는 유전자로서 동정되었다(도 8의 A 및 표 2). TNF 발현은 2 개의 EZH2 돌연변이체, 화합물 44 비감수성 세포주(SUDHL4) 중 하나에서만 상승적으로 상향 조절되었는데, 이 경우 기타 EZH2 돌연변이체, 화합물 44 비감수성 세포주(RL)도 동일한 결과를 나타내는 경향이 있었다(도 8의 B 및 표 2). *TSC22D3/GILZ*의 발현은, 프레드니솔론에 의해 모든 세포주에서 상향조절되었지만, EZH2 돌연변이체, 화합물 44 감수성 세포주에서는 오로지 상승적으로 증가한다(도 8의 C 및 표 2).

[표 2]

도 8에 제시된 유전자 발현 데이터의 통계학적 분석

세포주	비교	세스트린		TNF		GILZ	
		P 값	P 값 요약	P 값	P 값 요약	P 값	P 값 요약
OCI-LY19	DMSO vs 조합	0.9164	ns	0.0071	**	0.0075	**
OCI-LY19	EPZ-6438 vs 조합	0.3232	ns	0.1553	ns	0.0326	*
OCI-LY19	프레드니솔론 vs 조합	0.1486	ns	0.5050	ns	0.6353	ns
DOHH2	DMSO vs 조합	0.0063	**	0.0589	ns	0.0056	**
DOHH2	EPZ-6438 vs 조합	0.0186	*	0.1401	ns	0.0071	**
DOHH2	프레드니솔론 vs 조합	0.557	ns	0.1000	ns	0.2828	ns
WSU-	DMSO vs 조합	<0.0001	****	0.0001	***	<0.0001	****

DLCL2							
WSU-DLCL2	EPZ-6438 vs 조합	<0.0001	****	0.3813	ns	<0.0001	****
WSU-DLCL2	프레드니솔론 vs 조합	<0.0001	****	0.9483	ns	0.0001	***
SUDHL10	DMSO vs 조합	0.0073	**	0.0058	**	0.0102	*
SUDHL10	EPZ-6438 vs 조합	0.0081	**	0.0050	**	0.0076	**
SUDHL10	프레드니솔론 vs 조합	0.0126	*	0.1159	ns	0.0236	*
RL	DMSO vs 조합	0.0449	*	0.0529	ns	0.0623	ns
RL	EPZ-6438 vs 조합	0.0484	*	0.0639	ns	0.0635	ns
RL	프레드니솔론 vs 조합	0.2329	ns	0.0997	ns	0.5716	ns
SUDHL4	DMSO vs 조합	0.0033	**	0.0043	**	0.0275	*
SUDHL4	EPZ-6438 vs 조합	0.0045	**	0.0059	**	0.0196	*
SUDHL4	프레드니솔론 vs 조합	0.010	*	0.0205	*	0.0107	ns
양측 꼬리 검정에 의해 쌍별 통계학적 비교들을 수행하였다. ns: 유의적이지 않음; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; **** $p < 0.0001$							

- [0178] 그 다음, 본 발명의 발명자들은 SUDHL10 이종이식편 모델 내에서 화합물 44와 프레드니손의 28 일간 조합 투여에 대해 조사하였는데, 이때 2 차례의 상이한 스케줄로 화합물 44 또는 프레드니손을 2 차례 투여하였다(Pred-1 = 제1 일 내지 제5 일 및 제22 일 내지 제26 일에 프레드니손 0.15 mg/kg BID \times 5; Pred-2 = 프레드니손 0.15 mg/kg BID 그 다음, 본 발명의 발명자들은 SUDHL10 이종이식편 모델 내에서 화합물 44와 프레드니손의 28 일간 조합 투여에 대해 조사하였는데, 이때 2 차례의 상이한 스케줄로 화합물 44 또는 프레드니손을 2 차례 투여하였다(Pred-1 = 제1 일 내지 제5 일 및 제22 일 내지 제26 일에 프레드니손 0.15 mg/kg BID \times 5; Pred-2 = 프레드니손 0.15 mg/kg BID \times 28). 시험관 내 데이터에 의해 제안되는 바와 같이, 프레드니손 단독 투여는 어떠한 유의적 항종양 효과도 유도하지 않았다(도 20의 B). 앞선 연구와 유사하게, 화합물 44의 125 mg/kg BID(1 일 2 회) 투여는 단지 부분 응답만을 나타내었지만, 2 회차의 주기에 걸친 프레드니손 치료계획에 의한 투여가 아닌, 화합물 44와 프레드니손의 공동 투여(0.15 mg/kg BID)는, 화합물 44만을 고용량으로 단독 투여하였을 때 달성되는 최대 가능 퇴행을 유도하였다. 모든 마우스의 체중은 도 20의 C에 나타내어져 있다.
- [0179] SUDHL10(EZH2 Y646F) 이종이식편 보유 마우스를, 본 방법에서 지정된 바와 같이, 화합물 44, COP(독소루비신 성분을 포함하지 않는 화학요법), 또는 이것들의 조합으로 28 일 동안 처리하였다. 28 일째 되는 날 안락사된 16 마리 마우스 중 8 마리 마우스에서 구하여진 평균 종양 무게들을 비교하였는데, 이로써 그룹 간 종양 무게에 유의적 차이가 있음이 입증되었다(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, **** $p < 0.0001$; 양측 t 검정). B) SUDHL10(EZH2 Y646F) 이종이식편 보유 마우스에 2 차례의 상이한 스케줄로 화합물 44 또는 프레드니손을 2 차례 투여하였다(Pred-1 = 제1 일 내지 제5 일 및 제22 일 내지 제26 일에 프레드니손 0.15 mg/kg BID \times 5; Pred-2 = 프레드니손 0.15 mg/kg BID \times 28). 상기 두 화합물을 또한 지정된 바와 같이 조합 투여하였다. 평균 종양 부피 \pm SEM ($n=10$)을 맨위 패널에 플롯 작성하였다. EPZ-6438이 투여된 모든 그룹들은 종양 성장에 있어 통계학적으로 유의적인 감소를 나타내었던 반면에(적어도 $p < 0.01$, vs. 비이클 또는 프레드니손 단일 제제, 상기 두 스케줄에 따름; 반복된 측정치의 ANOVA, Dunnett 사후 검정), 프레드니손 단일 제제는 비이클에 비교되었을 때, 어떠한 유의적 항종양 효과도 유도하지 않았다(도 20의 B). 앞선 연구와 유사하게, 화합물 44의 125 mg/kg BID(1 일 2 회) 투여는 단지 부분 응답만을 나타내었지만, 2 회차의 주기에 걸친 프레드니손 치료계획에 의한 투여가 아닌, 화합물 44와 프레드니손의 공동 투여(0.15 mg/kg BID)는, 화합물 44만을 고용량으로 단독 투여하였을 때 달성되는 최대 가능 퇴행을 유도하였다. 모든 마우스의 체중은 도 20의 C에 나타내어져 있다.
- [0180] SUDHL10(EZH2 Y646F) 이종이식편 보유 마우스를, 본 방법에서 지정된 바와 같이, 화합물 44, COP(독소루비신 성분을 포함하지 않는 화학요법), 또는 이것들의 조합으로 28 일 동안 처리하였다. 28 일째 되는 날 안락사된 16 마리 마우스 중 8 마리 마우스에서 구하여진 평균 종양 무게들을 비교하였는데, 이로써 그룹 간 종양 무게에 유의적 차이가 있음이 입증되었다(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, **** $p < 0.0001$; 양측 t 검정). B) SUDHL10(EZH2 Y646F) 이종이식편 보유 마우스에 2 차례의 상이한 스케줄로 화합물 44 또는 프레드니손을 2 차례 투여하였다(Pred-1 = 제1 일 내지 제5 일 및 제22 일 내지 제26 일에 프레드니손 0.15 mg/kg BID \times 5; Pred-2 = 프레드니손 0.15 mg/kg BID \times 28). 상기 두 화합물을 또한 지정된 바와 같이 조합 투여하였다. 평균 종양 부피 \pm SEM ($n=10$)을 맨위 패널에 플롯 작성하였다. EPZ-6438이 투여된 모든 그룹들은 종양 성장에 있어 통계학적으로 유의적인 감소를 나타내었던 반면에(적어도 $p < 0.01$, vs. 비이클 또는 프레드니손 단일 제제, 상기 두 스케줄에 따름; 반복된 측정치의 ANOVA, Dunnett 사후 검정), 프레드니손 단일 제제는 비이클에 비교되었을 때, 어떠한 유의적 항종양 효과도 유도하지 않았다.

[0181] [표 3]

화합물 44와의 조합에 관한 요약

	세포주						
	EZH2 돌연변이체 GCB			EZH2 WT GCB			
	WSU-DLCL2	SU-DHL10	SU-DHL6	DOHH2	SU-DHL5	OCI-LY-19	Toledo
C 마포스파미드	부가적	부가적	부가적	효과없음	--	--	효과없음
H 독소루비신	상승효과	부가적	부가적	효과없음	--	--	효과없음
O 빈크리스틴	부가적	부가적	부가적	효과없음	--	--	효과없음
P 프레드니솔론	상승효과	상승효과	상승효과	상승효과	상승효과	상승효과	효과없음
텍사메타손	상승작용	상승작용	상승작용	상승작용	상승작용	상승작용	효과없음

[0182]

[0183] 마지막으로, 3 개의 상이한 EZH2 돌연변이체 림프종 이종이식편 모델에서 종양 성장 억제를 평가하였다. 림프종 이종이식편을 피하 이식한 누드 마우스 또는 SCID에 화합물 44와 화학요법제, 즉 CHOP 또는 COP(단, CHOP는 독소루비신을 포함하지않음)를 공동 적용하였으며, 그 결과를 단일 제제 처리시와 비교하였다. WSU-DLCL2 이종이식편 보유 마우스에서, 화합물 44의 모든 용량 및 적용된 스케줄에서 종양 성장 억제가 달성되었으며, 그 결과는 CHOP 화학요법 단독 적용시보다 더 우수하였다(도 7a). 뿐만 아니라, 화합물 44와 CHOP의 병용 요법은 확고한 항종양 응답과, 단일 제제만이 단독 투여된 경우의 종양 성장 억제(CHOP 및 화합물 44에 대해 각각 45% 및 71%)보다 유의적으로($p<0.001$) 우수한 종양 성장 억제(93%)를 유도하였다. 모든 단일 처리들은 관용되었는데; 제1 차 주기 이후 화합물 44/CHOP 조합 처리/적용 그룹의 경우 미미한 체중 감소가 일어났고(11.3%), 그 후 본 처리의 다음 회차 주기가 시작되기 전 마우스는 회복하였다.

[0184] SU-DHL6 이종이식편 모델에서, EZH2 억제제 GSK503을 사용하여, Beguelin의 다수에 의해 이전에 발표된 결과들과는 대조적으로, CHOP 단독 적용시 또는 화합물 44 처리시 유의적 종양 성장 억제가 관찰되지 않았다 (도 7b, 맨위 패널). 놀랍게도 화합물 44/CHOP 조합은 종양 퇴행을 초래하였다. 28 일째 되는 날 투여가 중단되고 나서 60 일째 되는 날, 마우스를 대상으로 종양 성장 지연이 관찰되었을 때, 상기와 같은 조합은 마우스의 58%에서 무종양 생존을 달성하였다(도 7b, 맨 아래 패널).

[0185] CHOP의 독소루비신 성분은, 자체의 심장 독성으로 말미암아 생애 누적 용량 한계(lifetime cumulative dosing limit)가 550mg/m^2 미만이다. 그러므로, 상기 성분이 배제되었을 때의 화합물 44/화학요법 치료계획의 복합 이익이 관찰되었다. 제3차 연구에서, SU-DHL10 이종이식편 보유 마우스에서 화합물 44(BID)의 용량을 점차 증가하거나, 독소루비신 불포함 화학요법 치료계획(COP)을 적용하거나, 또는 COP와 화합물 44의 조합을 적용하면서 28 일 동안 처리하였다. 화합물 44의 모든 용량에서 COP를 적용하면서 종양 성장 억제가 관찰되었다(도 7c, 맨위 패널). 266 mg/kg, 532 mg/kg 및 COP/화합물 44 조합 처리는, 측정치에 대한 반복된 ANOVA 및 Dunnett'사후 검정에 의해 평가되는 바와 같이, 비이클이 투여되었을 때와 통계학적으로 상이한 퇴행을 초래하였는데($p>0.001$), 이 경우 화합물 44/COP 조합 그룹은 최선의 전체 응답을 나타내었다. 투여후/적용후 28 일 경과시, 종양 크기가 가장 작았던 마우스 하위 그룹(그룹당 마우스 8마리)은 종양 성장 지연 종말점에 상기 화합물 44/COP를 추가로 투여/적용하지 않고서도 여전히 살아있었다. 화합물 44로 처리한 마우스의 경우에는 뚜렷한 용량 의존적 종양 성장 지연 이익이 달성되었던 반면에, COP 적용된 종양들은 화합물 44로 처리한 종양들보다 더 빠르게 진행되었다(도 7c, 중간 패널). 최대 허용 용량의 화합물 44로 처리하거나 또는 화합물 44/COP를 조합 처리한 마우스는 제60 일에 100% 생존율을 나타내었음과 아울러, 조합 그룹은 최소의 최종 종양 무게를 나타내었는데, 이는 화합물 44에 대한 최대 허용 용량이 적용된 기타 모든 처리 그룹들과는 통계학적으로 상이한 결과였다($p>0.05$)(도 7c, 맨 아래 패널).

[0186] B 세포 NHL에 대한 표준 치료는, 사이클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴 및 프레드니솔론으로 구성된 병용 화학요법 치료계획이다. 완전 응답 비율 40% 내지 50%가 달성될 수 있을 때, 상당 비율의 환자들에서는상기

B 세포 NHL이 재발하였는데, 이 경우 3 년간의 전체 생존률은 약 30%에 불과하였다. 재발된 림프종은 광범위한 항암 약물에 내성을 나타낼 수 있는데, 이 내성은 이와 같은 공격적 악성종양을 다스리기 위한 임상에 있어서 심각한 도전이 된다. 림프종에 있어서 약물 내성 획득은 부분적으로 종양 세포의 불안정성과 유전적 이질성에 의해 유도된다. 그러므로, 약물 내성 NHL의 성공적 치료는 B 세포 NHL의 상이한 아형들에 특이적인 다수의 경로를 표적화하는 약물들의 합리적 조합이 필요할 것이다. 예를 들어 활성화된 B 세포류의 림프종에 있어서, NFkB 경로의 구성적 활성화는 요법의 내성에 연루되었고, 몇몇 신규 표적 요법들은 이러한 아형에 희망을 나타내었다.

[0187] 후성적 효과기, 예를 들어 폴리콤(polycomb)도 또한 암 세포 약물 내성에 연루되었다. EZH2, 즉 폴리콤 억제 복합체 2(polycomb repressive complex 2; PRC2)의 촉매 서브유닛은 배 중심 유래 B 세포 림프종에서 중요한 발암 구동 인자이다. 이와 같이 더 원시적인 B 세포 악성종양들, 특히 변경된 촉매 활성을 가지는 EZH2 돌연변이체 발현 변이체는 증식 및 생존을 위해 EZH2를 필요로 한다. 전임상 연구들로부터 얻어진 결과들은, 이와 같이 유전적으로 정의된 암의 치료를 위한 EZH2 촉매 억제제에 대해 지대한 가능성을 예측하고, EZH2 억제제는 또한 화학요법 내성을 경감시킬 수도 있다. 본원에 제시된 데이터는, 화합물 44, 즉 임상 단계의 EZH2 억제제가 CHOP 성분들로 인한 다양한 정도의 복합 이익(부가작용 내지 상승효과)을 나타냄을 제시하였다. 이와 같은 복합 효과들은 특히 배 중심 기원의 림프종에서 발견되었는데, 사이클로포스파미드, 독소루비신 및 빈크리스틴의 경우에는 EZH2 돌연변이체 보유 세포에 제한되었다. 림프종 세포 사멸에 있어서 유의적인 상승효과는 또한 화합물 44를 CHOP와 함께 생체 내 적용할 때 발견되었다. 이는, 단일 제제가 어떠한 유의적 항종양 활성을 나타내지 않았을 뿐만 아니라, 조합이 50% 초과 마우스에서 지속적인 퇴행을 유도하지 않았던 SU-DHL6 이중이식편 모델에서 특히 그러했다. 이는, EZH2 돌연변이체 림프종의 약물내성에 있어서 과활성인 EZH2의 잠재적 중요성을 강조해 주는 것이다. CHOP 성분들 가운데 화합물 44와 프레드니손의 조합은 가장 강력한 항증식 활성을 유도하였으며, 이 조합은 또한 EZH2 돌연변이 상태와는 상관없이, 비감수성 GCB 림프종 세포주를 EZH2 억제에 감수성이 되도록 만들 수 있었다. 부가적으로, 이러한 복합 이익은, 화합물 44와 프레드니솔론을 동시에 투여하거나, 특이적 양태의 순서로 투여할 때 더 분명해지는데; 세포를 EZH2 억제제로 프라이밍한 다음, GR 작동제로 처리하면 특히 효과적인 것으로 판명되었다. 이와 같은 놀라운 발견은 임상에서 EZH2 억제제들의 적용에 대해 잠재적으로 중요한 함축성을 가진다. 첫째, 널리 사용된 GRag는 종종 항암 약물들과 공동 투여되어, 약물 유도성 알레르기 반응을 예방하고, 통증, 오심 및 구토를 완화하며, 이와 같은 암에서 세포자살을 유도하는 능력으로 말미암아 조혈 세포 악성종양 치료의 중심이 된다. 기타 CHOP 성분들과 비교되게, GRag는 최소한의 심각한 부작용을 유발한다. 또한, SU-DHL10 이중이식편 모델의 데이터에 의해 시사되는 바와 같이, 화합물 44에 의한 복합 이익이 보존되면 CHOP 치료계획으로부터 독소루비신이 배제되는 기회는, 환자를 독소루비신의 용량 제한 심장 독성 부작용으로부터 보호할 수 있었다. 마지막으로, 전임상 연구들은, 단일 제제 EZH2 억제제가, 충족되지 않는 임상 요구사항이 많은 GCB 림프종 환자들 일부(20%)를 대표하는 EZH2 돌연변이체 보유 림프종 환자들에서만 유의적 세포 사멸을 유도함을 나타내었다. 이때의 결과들은 GRag/EZH2 억제제 조합들이 모든 배 중심 유래 B 세포 림프종에서 임상학적 유용성을 가질 수 있음을 말해주는 것이다.

[0188] 글루코코르티코이드 결합 GR 분자들은 핵으로 이동하여, 세포 환경에 따라서 전사 활성인자로서의 역할 또는 전사 억제인자로서의 역할을 할 수 있다. GR은 생산적 상호작용에 대하여 뉴클레오솜을 꾸준히 샘플링하고, 크로마틴 변형 효소의 목적은 GR, 이의 보조인자 및 DNA에 대한 기저 전사 기구의 조절된 접근통로를 제공하는 것임이 제안된 바 있다. 기타 연구들은, GR이 종종 개방 크로마틴의 기존 영역들에 결합하고, 소정의 세포류 내 크로마틴 구조는, 이 GR이 조직 특이적 방식으로 작용을 할 수 있도록 조직화됨을 나타낸다. GR 결합 위치들에 대한 접근 가능성은 ATP 의존적 크로마틴 리모델링에 의해 추가로 증가될 수 있으며, SWI/SNF 복합체는 이와 같은 활성화에 중요한 역할을 담당한다. 특정 이론 또는 구체적인 작용 기작에 구속되고자 하는 것은 아니지만, H3K27의 EZH2 매개 과메틸화에 의해 유도된 이상 크로마틴 억제는, 정상적인 GR 매개 유전자 유도 또는 억제를 방해하지 않고, 달리 접근 가능한 GR 결합 위치들 중 일부를 차단할 수 있음이 상상될 수 있다. 정말로 모든 EZH2 돌연변이체 림프종 세포주들은 GRag 처리에 비감수성인 반면에, 농도 의존적 세포 사멸은 EZH2 WT 세포들에서 관찰된다. 프레드니솔론 전처리 후 화합물 44 처리가 행하여지면, 테스트된 거의 모든 세포주에서 상승효과를 유도할 수 없다는 관찰은, EZH2 억제제가, GR의 강화된 작용에 대한 속도 제한 단계인 크로마틴 리모델링을 유도하였을 가능성을 지지하고 있다. 또한, PRC2는 SWI/SNF 기능에 길항작용을 하는 것으로 알려져 있으며, SWI/SNF 복합체 중심 서브유닛들(SMARCA4, ARID1A 및 INI)의 하향조절은 급성 림프아구성 T 세포 백혈병에서 프레드니솔론에 대한 내성과 연관지어졌다. INI1 상실과 EZH2 과활성화의 관계가 간상소체 종양에서 확립되었으므로, 전반적인 INI1 단백질 수준이, SWI/SNF 기능 증가후 GR의 자체 결합 위치들에 대한 더 큰 접근가능성을 잠재적으로 허용하는 화합물 44 또는 프레드니솔론에 노출된 다양한 림프종 세포 내에서 증가할지 여부가 관찰되

었다.

[0189] GR 경로 유전자 발현 어레이는, 몇몇 GCB 림프종 세포(EZH2 WT 및 돌연변이체 둘 다)를 화합물 44, 프레드니솔론 또는 이것들의 조합으로 처리한 후의 증가된 유전자 발현 및 감소된 유전자 발현 둘 다를 규명하였는데, 이로써 GR의 이중 기능이 확인되었다. 모든 EZH2 돌연변이체 림프종 세포에서 조합에 의해 상승적으로 상향조절되는 유일한 유전자는 SESN1, 즉 DNA 손상 및 산화 스트레스에 대한 세포 응답을 유발하는 TP53 종양 억제인자였다. 세스트린은, AMP-활성화 단백질 키나아제를 활성화하여 mTOR 경로의 억제를 초래함으로써 세포 성장을 억제한다. 그러므로, SESN1 매개성 mTOR 경로 억제는 화합물 44 처리후 EZH2 돌연변이체 림프종 세포에 있어서 GRag 감수성을 다시 도입하는 중요한 기작일 수 있다.

[0190] 역으로, GRag/화합물 44 조합 처리는 또한, EZH2 억제제 처리에 난치성인 것으로 보고된 EZH2 돌연변이체 림프종 세포주들(RL, SU-DHL4)에서 세포사멸을 유도할 수도 있었다. SESN1은 이와 같은 세포주들에서 역시 조합 처리로 유도되었지만, 부가적으로 TNF, 즉 유력한 염증 시토킨의 상승적 상향조절이 RL 세포 및 SU-DHL4 세포에서 특이적으로 관찰되었다. TNF 및 글루코코르티코이드는 보통 길항 작용을 하므로, 이와 같은 관찰은 놀라워 보인다. TNF는 이의 수용체 TNFR-1을 통해서 세포자살을 유도할 수 있지만, 또한 주로 NFkB 경로를 통해 생존 신호를 전달하는 능력도 가진다. 그러므로, 화합물 44/프레드니솔론 조합에 의해 유도된 TNF 발현 증가는 NFkB-매개 전사의 GR 작동제 억제가 진행되는 중에 세포자살을 향한 TNF 작용을 변동시킬 수 있다. 하지만, 이러한 기작이 왜 화합물 44 비감수성 EZH2 돌연변이체 세포 내에서 상승적 세포 사멸을 초래하는지는 명확하지 않다. GRag 내성에 있어서 NFkB 경로 중 네거티브 조절인자들의 이상 억제와, 이를 매개하는 EZH2의 잠재적 역할의 잠재적인 중요성은, GILZ가, 조합 처리된 세포주 6 개 중 2 개에서 상승적으로 상향조절되었다는 본 발명자들의 관찰에 의해 추가로 뒷받침된다.

[0191] **방법**

[0192] *중간 처리량 분석법*

[0193] 림프종 세포들을 플라스크에 접종하였으며(WSU-DLCL2 및 DOHH2의 경우 50,000 개 세포/mL, SU-DHL10의 경우 10,000 개 세포/mL, 그리고 Toledo의 경우 100,000 개 세포/mL), Toledo 분석을 위해 화합물 44 또는 DMSO를 4 일 또는 6일 동안 7 회 투여하여 전처리하였다. 이후, 세포들을 다시 WSU-DLCL2 및 DOHH2에 대해서는 50,000 개 세포/mL로, 또는 SU-DHL-10에 대해서는 30,000 개 세포/mL로 나누었으며, 이후 HP D300 디지털 분배기(Tecan)를 사용하여 화합물 44와 관심있는 화합물로 공동 처리하였다. 상기 두 약물들은 연속으로 2 배 희석하였으며, 평판 전체에 걸쳐 진단상 일정한 비율로 매트릭스 내에서 합하였다(이때 최종 DMSO 함량은 0.11%(v/v)). 공동 처리시로부터 3 일(Toledo 분석을 위한 경우에는 5 일) 경과후, ATP 함량을 통해 CellTiter-Glo®(Promega)를 이용하여 세포의 자생력을 측정하였으며, 발광도는 SpectraMax M5 미세평판 판독기(Molecular Devices)를 사용하여 확인하였다.

[0194] 약물 조합에 대한 상승 효과의 정량은 Chou-Talalay 방법을 사용하여 수행한다(Ref 1). 복합 지수(CI) 등식은 부가작용(CI=1), 상승 효과(CI < 1) 및 길항작용(CI > 1)에 대한 정량적 정의를 제공한다. 이러한 등식은 CI값들을 결정하기 위해 일정한 약물 조합 비로부터 구하여진 분수 효과(fractional effect; Fa)값들을 사용하였다. 이로부터 구하여진 플롯(Fa-CI) 플롯은, 95% 신뢰 구간에 의해 괄호 안에 제시된 결과의 CI값들을 나타낸다. 이러한 Fa-CI 플롯들은 윈도우즈용 Calcsyn 소프트웨어를 사용하여 작성한다(Ref 2). 신뢰 구간 선들도 1 이하인 1 미만의 CI값들은 통계학적으로 유의적인 상승 효과를 말해준다.

[0195] 오로지 하나의 약물만이 50%를 초과하는 억제율을 나타내었던 약물 조합에 대해 효능 변동이 측정되었다. 용량 응답들은 Graphpad Prism을 사용하여 플롯으로 작성하였으며, 50% 억제 농도 또는 60% 억제 농도 중 어느 하나는 용량 응답 곡선으로부터 내삽하였다. 용량 응답에 대한 신뢰 구간이 중첩되지 않았을 때, 효능 변동은 유의적인 것으로 간주되었다.

[0196] *세포주, 화합물 및 치료의 개요*

[0197] WSU-DLCL2, SU-DHL10, RL, SU-DHL4, OCI-LY19 및 DOHH2는 이미 기술되어 있다(NatChemBio 2012). 조합 연구를 위해, 문헌[Daigle et al, Cancel Cell, Vol. 20, 1. Pg. 53-65 (2011); Daigle et al., Blood, 121, 13, 2533-2541 (2013)]에 이미 기술된 바와 같이 현탁 세포들 중 본 발명자들의 증식 분석법의 변형을 사용하였다. 간단히 말해서, 제0 일에 세포들을 초기 밀도로 96 웰 평판들에 3 회 반복하여 도말하였으며, 그 결과 4 일에 걸친 선형 대수기 성장이 보장되었다. 세포들을, 약물 투여후 4 일째 되는 날의 IC50보다 10 배 낮은 농도에서 화합물 44의 용량 곡선(최고 용량 1 ?M로부터 시작), 프레드니솔론 단일 용량(카탈로그 # 및 제조자)으로 처리

하였거나, 또는 화합물 44와 프레드니솔론의 조합으로 처리하였다. 4 일째 되는 날, 세포들을 구아바 easyCyte 유동 세포분석기 내에서 Viacount 시약을 사용하여 계수하였으며, 살아있는 세포의 수는 3 일 더 세포를 재도말하여 원래 밀도로 만드는데에 사용하였다. 화합물 44로 전처리된 세포들에는 이후, 화합물 44만을 연속으로 투여하였거나, 또는 화합물 44와 프레드니솔론의 조합을 (일정한 용량으로) 투여하였고; 프레드니솔론으로 전처리된 세포들에는 이후, 프레드니솔론을 연속으로 투여하였거나, 또는 프레드니솔론과 화합물 44의 조합을 투여하였는데; 4 일 동안 공동 처리된 세포들에는 이후로도 계속해서 7 일 동안 공동 처리하였다.

[0198] 이종이식편 연구

[0199] 본 연구에서 동물 취급, 보호 및 처리와 관련된 모든 절차들은 국제 실험동물 관리평가 인증 협회(AAALAC)의 가이드라인에 따라서 CRL Piedmont 및 Shanghai ChemPartner의 실험동물 운영 위원회(IACUC)에 의해 승인된 가이드라인에 의해 수행하였다. WSU-DLCL2, SU-DHL6 또는 SU-DHL10 세포들을 중간 대수기 성장(mid-log phase growth)이 진행되는 동안에 수득하여, 50% Matrigel™(BD Biosciences)을 포함하는 PBS 중에 재현탁하였으며, 이후 면역 약화된 마우스에 주사하였다. 각각의 마우스에는 1×10^7 개 세포(세포 현탁액 0.2 mL)를 피하 투여하였으며(우측 옆구리), 일단 종양들이 소정의 크기에 도달하면 마우스에는 상이한 용량의 화합물 44를 다양한 스케줄에 따라서 28 일 이하의 기간 동안 경구 투여하였고/투여하였거나 CHOP/COP는 다음 스케줄에 따라서 적용하였다: 사이클로포스파미드는 복막 내(i.p.) 투여하였고, 독소루비신과 빈크리스틴은 각각 꼬리 정맥에 볼루스 주사(i.v.)를 통해 투여하였으며; 상기 각각의 약물들은, SU-DHL6 연구의 경우에는 제1 일과 제8 일에, 그리고 WSU-DLCL2 연구 및 SU-DHL10 연구의 경우에는 제1 일과 제22 일에 매일 1 회 투여하였다. 프레드니솔론은, SU-DHL6 연구의 경우 제1 일 및 제8 일을 시작으로((qd?)2, 제1 일, 제8 일), 그리고 WSU-DLCL2 및 SU-DHL10 연구의 경우에는 제1 일 및 제22 일을 시작으로((qd?)2, 제1 일, 제22 일), 2 회차 주기(매일 투여, 총 5 회)로 p.o. 투여하였다. 각각의 용량은 0.2 mL/20 g 마우스(10 mL/kg)의 부피로 전달하였으며, 마지막으로 기록된 개별 동물의 체중에 대해 조정하였다. 종양에 관한 측정치 및 체중은 모든 연구에 대해 총 28 일 동안 2 주마다 수집하였다. SU-DHL10 연구 및 SU-DHL6 연구에서 종양 성장 지연을 측정하기 위해, 테스트 동물의 신생물 부피가 종말점 부피인 2000 mm³에 도달하였을 때, 또는 연구의 마지막 날(제60 일)에(상기 두 시기 중 어느 것이 먼저 오든지 그 시기에) 각각의 테스트 동물을 안락사시켰다.

[0200] 정량적 PCR

[0201] WSU-DLCL2, SU-DHL10, RL, SU-DHL4, OCI-LY19 및 DOHH2 세포들을 DMSO와 함께 1 μM의 화합물 44, 4 일 경과시 IC₅₀보다 10 배 낮은 농도의 프레드니솔론 어느 용량 또는 이 약물들의 조합으로 4 일 동안 처리하였다(SU-DHL10은 100 nM 화합물 44로 처리됨). 세포들을 획득하였으며, 총 mRNA는 RNeasy Plus Mini Kit(Qiagen; 74134)를 사용하여 세포 펠릿으로부터 추출하였다. RT2 First Strand Kit(Qiagen; 330401)에 의해 RT2 글루코코르티코이드 신호전달 PCR 어레이(Qiagen; PAHS-154ZE-4)용 cDNA를 제조하였다. RT2 SYBR Green ROX qPCR Mastermix(Qiagen; 330521)가 담긴 ViiA 7 실시간 PCR 시스템[Applied Biosystems(AB)]을 사용하여 어레이 RT-PCR을 수행하였다. 유전자 발현을 어레이의 B2M에 대해 정규화하였으며, DMSO 투여시와 비교된 배수 변화는 컴 Ct 방법을 사용하여 산정하였다. 어레이 데이터를 입증하기 위해 세스트린(AB; Hs00902787_m1) 및 TNF(AB; Hs01113624_m1)에 대한 TaqMan Fast Advanced Master Mix(AB; 4444964) 및 TaqMan 프라이머/프로브 세트가 사용되는 TaqMan 프로브 기반 qPCR을 수행하였다. 배수 변화는 상기한 바와 같이 산정하여, RPLPO(AB; 4333761F)에 대해 정규화하였다.

[0202] ELISA

[0203] 상기 기술된 바와 같이 종양 시료들로부터 히스톤을 추출하였다. 히스톤을 코팅 완충액(PBS + 0.05% BSA)중 농도와 동일한 농도로 제조하였으며, 그 결과 시료 1 μl당 0.5 ng의 농도로 하였고, 시료 또는 표준 100 μl가 2 개의 96 웰 ELISA 평판(Thermo Labsystems, Immulon 4HBX #3885)에 2 회 반복 첨가하였다. 상기 평판들을 밀봉하여 4℃에서 밤새 항온처리하였다. 그 다음날, 평판들은 Bio Tek 평판 세정기에서 300 μl/웰의 PBST(PBS + 0.05% Tween 20; 10X PBST, KPL #51-14-02)로 3 회 세정하였다. 평판들은 300 μl/웰의 희석제(PBS + 2%BSA + 0.05% Tween 20)로 차단한 후, RT에서 2 시간 동안 항온처리하였으며, 이후 PBST로 3 회 세정하였다. 모든 항체들을 희석제 중에 희석하였다. 100 μl/웰의 항 H3K27me3(CST #9733, 50% 글리세롤 스톱 1:1,000) 또는 항 총 H3(Abcam ab1791, 50% 글리세롤 1:10,000)을 각 평판에 첨가하였다. 평판들은 RT에서 90 분 동안 항온처리한 후 PBST로 3 회 세정하였다. 100 μl/웰의 항 Rb-IgG-HRP(Cell Signaling Technology, 7074)는, 1:2,000의 비율로 H3K27me3 평판에, 그리고 1:6,000의 비율로 H3 평판에 첨가하였으며, 이후 RT에서 90 분 동안 항온처리하였다. 평판들을 PBST로 4 회 세정하였다. 검출을 위해 100 μl/웰의 TMB 기질(BioFfx Laboratories, #TMBS)을 첨가

[0206]

NR8BA	21.672	21.505	22.337	21.755	4.667	4.666	4.710	4.609	0.019	0.987	0.943	0.971	-0.058	1.041
NR3C1	20.940	21.131	21.276	20.605	3.935	3.912	3.645	3.459	-0.023	1.016	-0.786	1.213	-0.476	1.391
PKD7	23.121	23.358	23.814	23.491	6.116	6.140	10.637	6.345	0.044	0.984	0.371	0.944	0.219	0.853
PDGR8	32.160	33.308	30.540	30.932	15.155	16.089	12.913	13.786	0.934	0.523	-2.242	4.731	-1.369	2.583
PD01	26.092	25.788	26.282	25.520	9.087	8.569	8.665	8.374	-0.518	1.032	-0.432	1.640	-0.713	1.639
PER1	24.615	25.503	25.500	26.016	7.610	8.873	7.873	8.381	0.674	0.627	0.663	0.831	1.259	0.418
PER2	23.177	23.707	23.482	23.482	4.949	5.988	6.080	6.396	0.000	0.991	0.000	0.991	0.000	0.991
PK3R1	23.175	23.115	23.678	23.317	6.170	5.896	6.051	6.171	-0.274	1.209	-0.119	1.086	0.001	0.999
PD01	23.175	23.115	23.678	23.317	6.170	5.896	6.051	6.171	-0.274	1.209	-0.119	1.086	0.001	0.999
PER4R1	20.216	20.894	20.977	20.285	13.711	12.475	13.550	13.159	-0.786	1.046	0.138	0.908	-0.072	1.051
POU2F1	24.562	24.566	25.232	24.555	7.567	7.437	7.495	7.408	-0.120	1.027	0.048	0.967	-0.148	1.106
POU2F2	31.485	31.740	31.543	31.843	14.480	14.437	13.916	14.437	0.631	0.979	-0.574	1.483	0.007	0.955
RA5A3	23.112	23.251	23.743	23.463	6.107	6.032	6.115	6.316	-0.075	1.053	0.009	0.994	0.209	0.965
RG32	28.455	27.701	29.467	28.122	11.450	10.462	11.840	10.976	-0.568	1.056	0.590	0.783	-0.474	1.389
RH08	22.108	20.944	20.967	19.659	5.103	3.735	3.340	2.513	-1.378	2.599	-1.763	3.384	-2.590	6.021
RH01	23.483	22.424	23.126	22.491	5.656	5.205	5.099	5.945	-0.253	1.192	0.041	0.972	-0.113	1.081
SE5M1	26.351	26.107	25.819	24.816	9.346	8.888	8.152	7.670	-0.458	1.374	-1.154	2.235	-1.576	3.535
SGR1	31.409	30.432	31.656	32.746	14.398	13.213	14.079	15.600	-1.185	2.374	-0.969	1.391	1.202	0.435
SLC19A2	24.878	24.862	25.910	25.274	7.873	7.662	8.283	8.126	-0.213	1.157	0.410	0.743	0.255	0.838
SLC22A5	29.254	29.103	30.112	29.115	12.249	11.892	12.485	11.969	-0.567	1.280	0.236	0.849	-0.280	1.714
SNIA1	28.151	27.457	28.652	28.463	11.246	10.238	11.255	11.337	-0.308	1.376	0.119	0.931	0.791	0.676
SPH1	28.555	28.787	29.199	29.124	11.550	11.568	11.572	11.978	0.018	0.988	0.022	0.985	0.318	0.743
SP5B1	27.338	27.455	28.347	28.097	10.333	10.236	10.720	10.951	-0.067	1.070	0.337	0.765	0.618	0.652
STAT5A	22.115	22.442	22.673	22.591	5.110	5.213	5.046	5.245	0.113	0.925	-0.064	1.045	0.135	0.911
STAT5B	22.886	22.978	23.838	23.327	5.881	5.760	6.111	6.151	-0.121	1.037	0.320	0.786	0.270	0.829
TBC1R1	21.317	21.488	21.705	21.430	4.312	4.269	4.078	4.284	-0.043	1.030	-0.234	1.176	-0.028	1.020
TNF	24.763	24.377	24.612	23.620	7.750	7.158	6.985	6.474	-0.600	1.516	-0.773	1.709	-1.284	2.435
TNFAIP3	22.256	22.827	23.168	23.327	5.281	5.606	5.541	6.161	0.317	0.903	0.750	0.841	0.630	0.540
TSC22D3	25.692	25.335	24.619	24.219	8.687	8.016	6.992	7.078	-0.672	1.592	-1.685	3.238	-1.614	3.961
USP2	33.949	31.341	33.585	32.493	16.944	14.312	16.359	15.347	-2.832	7.071	-0.595	1.500	-1.597	3.025
USP54	24.656	25.235	25.764	24.989	7.851	8.016	8.137	7.843	0.165	0.992	0.786	0.920	-0.008	1.005
VDR	25.052	24.754	24.595	24.651	8.088	7.535	7.358	7.505	-0.553	1.467	-0.730	1.653	-0.593	1.498
VDR	25.052	24.754	24.595	24.651	8.088	7.535	7.358	7.505	-0.553	1.467	-0.730	1.653	-0.593	1.498
VDUR	28.988	28.902	29.671	29.483	11.963	11.663	12.044	12.342	-0.280	1.214	0.031	0.945	0.579	0.769
ZDH	24.550	25.191	24.550	25.349	7.545	7.972	7.972	8.203	0.217	0.744	0.000	0.991	0.000	0.991
ZFP36	24.550	25.191	24.550	25.349	7.545	7.972	7.972	8.203	0.217	0.744	0.000	0.991	0.000	0.991
ZHX3	24.841	24.761	24.853	24.312	7.936	7.542	7.306	7.176	-0.384	1.314	-0.730	1.659	-0.760	1.593
ZNF281	22.504	23.249	23.957	23.695	5.499	6.030	6.270	6.549	0.531	0.692	0.871	0.547	1.050	0.483
ACTB	15.098	14.692	16.093	14.957	-0.507	-2.317	-1.554	-2.159						
SCM1	17.005	17.218	17.627	17.446	0.000	0.000	0.000	0.000						
GAPDH	15.880	16.149	16.519	16.647	-1.125	-1.070	-1.108	-0.459						
HPRT1	21.467	21.828	22.125	21.813	4.457	4.609	4.498	4.667						
RPD0	14.351	14.350	15.017	14.197	-2.554	-2.869	-2.616	-2.949						
HGD	22.174	21.961	21.962	22.251	5.169	4.742	4.335	5.105						
RTC	22.089	21.953	22.140	22.008	5.084	4.734	4.513	4.862						
RTC	22.195	21.961	22.167	21.993	5.190	4.742	4.540	4.847						
PPC	18.337	18.168	18.432	18.571	1.392	1.049	0.805	1.315						
PPC	18.426	18.180	18.320	18.147	1.421	1.111	0.663	1.201						
PPC	18.301	17.872	18.372	18.378	1.396	0.453	0.745	1.232						

[0207]

[0208]

DOHH2 세포주에 대한 RT2 글루코코르티코이드 신호전달 PCR 배열이 분석으로부터 구하여진 배수 변화 및 Ct값

[표 4b]

유전자	Ct값				ΔCt (82M)				Cpda4				Pred		조합	
	DN50	Cpda4	Pred	조합	DN50	Cpda4	Pred	조합	ΔΔCt	배수변화	ΔΔCt	배수변화	ΔΔCt	배수변화	ΔΔCt	배수변화
ADAR81	31.818	31.431	33.560	30.189	12.809	12.855	12.038	12.038	0.046	0.969	1.887	0.274	-0.771	1.706	-0.771	1.706
AFF1	24.034	23.888	23.992	23.224	5.675	5.312	5.103	5.073	-0.363	1.286	-0.587	1.481	-0.692	1.518	-0.692	1.518
AK2	20.334	20.173	20.262	19.961	1.375	1.597	1.378	1.810	0.272	0.828	0.053	0.964	0.485	0.714	0.485	0.714
ANKRD3	26.401	26.146	27.535	26.852	7.302	7.651	8.651	8.884	1.278	0.884	1.259	0.418	1.309	0.404	1.309	0.404
ANKRD4	31.134	30.820	31.538	30.854	12.425	12.244	12.654	12.703	0.119	0.921	0.329	0.693	0.578	0.670	0.578	0.670
ARPF	24.817	24.273	24.997	24.268	5.909	5.697	6.117	6.117	-0.111	1.080	0.305	0.809	0.309	0.807	0.309	0.807
ARPF	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
ARID5B	23.881	23.782	23.885	23.886	4.872	5.206	5.001	5.735	0.334	0.793	0.129	0.914	0.863	0.550	0.863	0.550
ASPH	22.870	22.823	23.369	22.996	3.961	4.247	4.485	4.845	0.286	0.820	0.524	0.695	0.884	0.542	0.884	0.542
ATF4	19.156	19.190	19.313	18.983	0.147	0.614	0.429	0.832	0.467	0.723	0.282	0.822	0.685	0.622	0.685	0.622
BCL6	21.529	21.323	21.801	21.773	2.520	2.747	2.917	3.612	0.297	0.854	0.397	0.759	1.101	0.466	1.101	0.466
BNIP1	38.037	38.092	39.378	39.656	19.028	20.515	20.494	21.505	1.488	0.957	1.466	0.362	2.477	0.180	2.477	0.180
CALC1	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	15.054	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
CEBPA	34.854	30.676	32.188	30.646	15.445	12.103	13.304	12.495	-3.545	11.672	-2.341	5.067	-3.140	8.277	-3.140	8.277
CEBPB	23.911	23.925	24.317	24.001	4.902	5.349	5.433	5.850	0.447	0.734	0.531	0.692	0.948	0.518	0.948	0.518
COL4A2	32.314	34.119	38.993	34.143	13.305	15.543	20.109	15.992	2.238	0.212	5.804	0.009	2.687	0.155	2.687	0.155
CREB1	22.930	22.746	22.890	22.730	3.921	4.170	4.095	4.579	0.249	0.841	0.085	0.943	0.698	0.694	0.698	0.694
CREB3	24.929	24.840	24.865	24.647	5.920	6.264	5.981	6.496	0.344	0.788	0.061	0.959	0.576	0.671	0.576	0.671
CREB3L4	24.405	24.110	24.616	24.371	5.396	5.534	5.732	6.272	0.138	0.909	0.336	0.792	0.826	0.564	0.826	0.564
CTGF	33.711	32.760	33.728	33.696	14.702	14.184	14.644	15.545	-0.518	1.432	0.142	0.906	0.843	0.557	0.843	0.557
CYB5B1	37.790	31.945	39.582	34.331	18.781	13.369	20.698	16.180	-5.412	42.577	1.917	0.265	-2.601	6.067	-2.601	6.067
DNF4	23.934	23.508	24.105	23.948	4.975	4.832	5.221	4.797	0.037	0.935	0.296	0.815	-0.128	1.063	0.296	1.063
DNF4S2	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
DUGP1	27.604	27.132	27.666	27.262	8.595	8.556	8.982	9.111	-0.039	1.027	0.387	0.765	0.516	0.699	0.516	0.699
EDN1	31.233	32.260	32.263	31.224	12.124	13.684	13.379	13.073	1.460	0.363	1.155	0.449	0.849	0.555	0.849	0.555
END3	32.315	28.852	31.098	28.674	13.206	10.276	12.214	10.523	-3.090	8.168	-1.092	2.132	-2.783	6.883	-2.783	6.883
ERRF1	32.525	30.163	32.635	29.588	13.516	11.587	13.751	11.437	-1.929	3.808	0.235	0.850	-2.079	4.225	0.235	4.225
FKBP5	21.985	21.520	20.912	20.512	2.976	2.944	2.028	2.361	-0.032	1.022	-0.948	1.929	-0.815	1.532	-0.948	1.532
FOSL2	31.767	29.872	31.543	29.925	12.758	11.295	12.659	11.774	1.462	2.755	-0.099	1.071	-0.884	1.978	-0.099	1.978
GSDC1	27.532	27.570	27.884	27.396	8.523	8.994	9.000	9.245	0.471	0.721	0.477	0.718	0.722	0.606	0.477	0.606
GSHR	37.684	39.644	38.095	37.813	18.675	21.068	17.211	19.662	2.393	0.490	-1.464	2.739	0.987	0.505	-1.464	0.987
GLUL	36.133	36.671	34.574	36.093	17.124	18.095	15.650	17.948	0.971	0.510	-1.434	2.702	0.824	0.565	-1.434	0.824
GOT1	23.427	23.126	23.532	22.880	4.418	4.550	4.648	4.719	0.132	0.913	0.230	0.853	0.311	0.806	0.230	0.806

HPD	24.217	24.377	24.969	24.453	5.708	5.801	6.085	6.302	6.093	6.938	6.377	6.770	6.594	6.663
MAS2	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
MNRPL	30.324	29.151	33.284	31.380	11.315	10.575	14.400	13.229	-0.740	1.670	3.085	0.118	1.914	0.265
ILIO	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#VALUE!	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
B4RN	측정안됨	32.271	31.560	31.586	#값1	13.095	14.676	13.435	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
IL6	측정안됨	측정안됨	34.758	37.608	#값1	#값1	15.874	10.452	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
IL6R	측정안됨	31.962	측정안됨	32.385	#값1	13.386	#값1	14.232	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
KLF13	22.951	22.420	22.546	21.765	3.942	3.844	3.682	3.614	-0.098	1.070	-0.280	1.214	-0.328	1.255
KLF9	28.691	28.439	28.547	27.741	9.682	9.683	9.683	9.590	0.181	0.882	-0.019	1.013	-0.082	1.066
LOX	33.562	32.997	34.158	32.855	14.521	14.421	15.274	14.704	-0.132	1.086	0.721	0.607	0.151	0.901
MERN	32.997	32.456	32.892	31.474	13.988	13.880	14.008	13.313	0.108	1.078	0.020	0.986	-0.665	1.586
M71E	39.692	측정안됨	측정안됨	측정안됨	20.683	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
M72A	39.646	측정안됨	측정안됨	측정안됨	20.617	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
NEBIA	22.891	22.625	22.830	22.625	3.882	4.049	3.946	4.474	0.167	0.891	0.064	0.957	0.592	0.663
NR3C1	22.602	22.430	22.794	22.579	3.593	3.854	3.910	4.422	0.261	0.835	0.317	0.803	0.829	0.563
PRCD7	23.656	23.417	23.552	23.397	4.647	4.841	4.688	5.246	0.194	0.874	0.021	0.986	0.589	0.660
PGFR8	측정안됨	35.193	34.934	31.552	#값1	16.617	16.030	13.401	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
PDP1	25.863	25.175	25.682	25.330	6.854	6.590	6.798	7.179	-0.295	1.193	-0.056	1.040	0.375	0.788
PER1	24.944	24.717	25.142	25.289	5.935	6.141	6.258	7.138	0.706	0.867	0.323	0.799	1.203	0.434
PER2	24.642	23.835	24.159	23.476	5.633	5.259	5.275	5.325	-0.374	1.296	-0.358	1.282	-0.308	1.238
PK3R1	24.177	23.712	23.850	23.610	5.168	5.136	4.986	5.459	-0.032	1.022	-0.202	1.150	0.291	0.817
PLD1	37.038	측정안됨	37.120	38.323	18.029	#값1	18.236	20.172	#값1	#값1	0.207	0.865	2.143	0.226
PLEK4E1	29.886	28.946	29.414	28.738	10.877	10.370	10.530	10.587	-0.507	1.421	-0.347	1.272	-0.290	1.223
POU2F1	24.378	24.003	24.648	23.667	5.369	5.427	5.764	5.516	0.958	0.961	0.395	0.760	0.147	0.903
POU2F2	22.469	22.167	22.489	21.930	3.460	3.591	3.695	3.779	0.131	0.913	0.145	0.904	0.319	0.802
RAS43	27.152	27.636	27.803	28.392	8.143	9.060	8.919	10.241	0.917	0.530	0.776	0.584	2.098	0.234
RGS2	24.790	24.861	25.514	25.639	5.781	6.285	6.630	7.488	0.504	0.705	0.849	0.555	1.707	0.306
RHD8	32.661	30.745	33.162	30.702	13.652	12.168	14.278	12.551	-1.483	2.795	0.626	0.648	-1.101	2.145
RHO1	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
SE5M1	24.226	23.848	22.839	21.993	5.217	5.272	3.955	3.842	0.655	0.963	-1.262	2.398	-1.375	2.594
SGK1	27.633	27.821	29.628	29.125	8.624	9.245	10.744	10.974	0.621	0.650	2.120	0.230	2.380	0.196
SLC10A6	34.483	36.435	36.176	32.738	15.474	17.859	17.292	14.387	2.385	0.191	1.818	0.284	-0.887	1.849
SLC19A2	25.680	24.859	25.455	24.769	6.591	6.283	6.571	6.618	-0.308	1.238	-0.020	1.014	0.027	0.981
SLC22A5	26.392	27.992	28.915	27.835	9.383	9.416	10.031	9.684	0.633	0.977	0.648	0.633	0.301	0.812
SN7A1	24.584	24.550	25.124	25.050	5.575	5.974	6.240	6.849	0.399	0.758	0.665	0.631	1.274	0.414
SPH1	30.677	28.865	29.971	28.646	11.688	10.287	11.087	10.495	-1.381	2.604	-0.581	1.495	-1.173	2.255
SP5B1	27.110	26.652	26.911	26.621	8.101	8.076	8.027	8.470	-0.025	1.017	-0.074	1.053	0.369	0.774

[0210]

STAT5A	24.237	23.771	23.885	23.477	5.228	5.195	5.601	5.326	-0.093	1.023	-0.227	1.170	0.098	0.994
STAT5B	22.503	22.328	22.632	22.414	3.494	3.752	3.748	4.263	0.258	0.856	0.254	0.839	0.769	0.587
TBC1D11	21.397	20.994	21.304	21.133	2.388	2.418	2.420	2.982	0.930	0.979	0.032	0.976	0.594	0.663
TNF	31.328	31.849	31.956	31.194	12.319	13.273	13.072	13.043	0.954	0.516	0.753	0.593	0.724	0.805
TNFAIP3	28.260	27.520	28.986	30.986	9.251	8.944	#값1	12.435	-0.907	1.237	#값1	#값1	3.184	0.110
TSC22D3	25.175	24.752	25.310	22.374	6.157	6.176	4.426	4.223	0.099	0.954	-1.741	3.343	-1.944	3.848
USP2	24.104	23.684	23.501	22.871	5.095	5.108	4.820	4.820	0.813	0.951	-0.478	1.393	-0.275	1.210
USP34	26.599	25.892	26.683	25.856	7.593	7.316	7.799	7.705	-0.274	1.209	0.209	0.865	0.115	0.923
VDR	27.406	26.426	26.847	26.577	8.397	7.850	7.963	8.426	-0.547	1.461	-0.434	1.351	0.029	0.980
VDLR	27.166	27.232	28.584	27.543	8.157	8.696	9.793	9.392	0.499	0.708	1.543	0.343	1.235	0.425
XDR	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
ZFP36	24.170	23.980	24.270	24.094	5.161	5.404	5.386	5.943	0.243	0.845	0.225	0.856	0.782	0.582
ZNF3	25.200	24.611	24.418	23.897	6.191	5.095	5.594	5.246	-0.156	1.114	-0.657	1.577	-0.445	1.361
ZNF281	24.065	23.541	23.828	23.343	5.057	4.965	4.944	5.192	-0.092	1.066	-0.113	1.081	0.135	0.911
ACTB	34.843	34.519	34.721	34.509	-4.166	-4.057	-4.163	-3.642						
8286	19.098	18.576	18.884	18.151	0.900	0.900	0.900	0.900						
GAPDH	16.513	16.197	16.551	16.157	-2.496	-2.379	-2.333	-1.994						
HPR1	21.698	21.561	21.777	21.657	2.689	2.985	2.893	3.306						
RPLP0	15.187	14.935	15.128	14.595	-3.822	-3.641	-3.756	-3.556						
HGDC	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1						
RTC	21.284	21.345	21.449	21.483	2.275	2.769	2.565	3.332						
RTC	21.287	21.410	21.464	21.371	2.278	2.834	2.590	3.220						
RTC	21.358	21.384	21.483	21.483	2.342	2.808	2.593	3.332						
PPC	18.611	18.672	18.684	18.624	-0.998	0.096	-0.230	0.473						
PPC	18.638	19.142	18.699	18.587	-0.371	0.566	-0.195	0.436						
PPC	18.645	18.711	19.076	18.685	-0.363	0.135	0.192	0.554						

[0212]

[0211]

WSU 세포주에 대한 RT2 글루코코르티코이드 신호전달 PCR 어레이 분석으로부터 구하여진 배수 변화 및 Ct값

[표 4c]

유전자	Ct 값				ΔCt (B2M)				Cp44				Pred		조합	
	DM5Q	Cp44	Pred	조합	DM5Q	Cp44	Pred	조합	ΔΔCt	배수변화	ΔΔCt	배수변화	ΔΔCt	배수변화	ΔΔCt	배수변화
ADAR1	26.316	25.386	26.108	26.018	6.866	5.701	6.953	5.845	-1.165	2.242	0.097	0.935	-1.021	2.029		
AF1	28.103	27.925	27.334	26.727	8.653	8.240	8.189	6.554	-0.413	1.331	-0.454	1.379	-2.699	4.284		
AK2	20.644	21.365	20.433	22.069	1.194	1.680	1.288	1.896	0.744	0.094	0.937	1.164	-2.343	5.074		
AMPD3	28.467	27.162	27.943	26.847	9.017	7.477	8.798	6.674	-1.540	2.908	-0.219	1.164	-2.343	5.074		
ANGPTL4	31.444	30.487	30.810	31.510	11.994	10.892	11.665	11.337	-1.192	2.285	-0.329	1.256	-0.657	1.577		
ANXA4	27.736	28.665	27.406	25.013	8.286	4.974	8.261	4.840	-3.312	9.931	-0.025	1.017	-3.446	10.898		
AOP1	측정안됨	33.645	33.595	32.756	#값1	13.960	14.450	12.623	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1		
ARID5B	26.244	26.126	26.721	27.140	6.794	6.441	7.576	6.987	-0.353	1.277	0.782	0.582	0.175	0.887		
ASPH	22.285	22.415	21.939	22.834	2.835	2.730	2.794	2.661	-0.105	1.075	-0.041	1.029	-0.174	1.128		
ATF4	19.874	20.670	19.659	20.871	0.424	0.785	0.514	0.698	0.361	0.779	0.090	0.940	0.274	0.827		
BCL6	20.954	20.795	20.898	21.133	1.504	1.110	1.753	0.960	-0.394	1.314	0.249	0.841	-0.544	1.458		
BMPK	39.814	측정안됨	측정안됨	38.494	20.364	#값1	#값1	18.321	#값1	#값1	#값1	#값1	-2.043	4.321		
CACR	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1		
CEBPA	28.438	27.014	27.838	27.647	9.988	7.329	8.693	7.474	-1.859	3.158	-0.295	1.227	-1.514	2.856		
CEBPB	25.266	26.770	25.775	27.187	5.816	7.085	6.530	7.014	1.269	0.415	0.814	0.569	1.198	0.436		
COL4A2	측정안됨	측정안됨	34.328	측정안됨	#값1	#값1	15.183	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1		
CREB1	23.170	23.413	22.732	23.778	3.720	3.728	3.587	3.605	0.008	0.994	-0.133	1.097	-0.115	1.083		
CREB3	25.369	25.459	24.551	25.353	5.859	5.774	5.406	5.220	-0.085	1.061	-0.453	1.369	-0.639	1.557		
CREB3L4	25.072	24.392	24.437	24.344	5.622	4.707	5.292	4.171	-0.915	1.886	-0.380	1.257	-1.481	2.784		
CTGF	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1		
CXCR6	36.874	31.478	32.971	33.799	17.424	11.793	13.826	13.626	-5.631	49.556	-3.598	12.109	-3.798	13.910		
DNT4	24.229	24.404	22.252	22.755	4.779	4.719	3.107	2.566	-0.080	1.042	-1.672	5.187	-2.213	4.638		
DIRAS2	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1		
DUSP1	25.679	27.284	25.878	26.552	6.279	7.599	6.883	6.379	1.370	0.387	0.454	0.730	0.150	0.901		
EDN1	측정안됨	26.349	30.819	26.407	#값1	6.654	11.674	6.234	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1		
EPH3	29.674	24.270	27.724	24.166	10.224	4.585	8.579	3.993	-5.539	49.832	-1.645	3.127	-6.231	75.113		
ERF1	측정안됨	32.772	측정안됨	32.856	#값1	23.086	#값1	12.723	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1		
FRS5	22.873	23.267	21.321	21.824	3.423	3.582	3.176	3.651	0.159	0.896	-1.247	2.373	-1.773	3.415		
FOSL2	31.169	34.140	33.547	34.590	11.559	14.455	14.502	14.517	2.796	0.144	2.843	0.139	2.858	0.138		
GDPD1	28.371	27.484	28.235	27.303	8.921	7.809	9.090	7.130	-1.112	2.161	0.169	0.889	-1.791	3.461		
GHRHR	34.636	39.957	37.789	측정안됨	15.186	20.272	18.644	#값1	5.086	0.029	3.458	0.091	#값1	#값1		
GUL	측정안됨	26.395	31.475	30.591	#값1	8.710	10.418	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1		
GOT1	22.884	23.827	22.841	24.411	3.434	4.142	3.696	4.238	0.708	0.612	0.262	0.834	0.804	0.573		

H6P0	26.360	25.976	26.197	25.435	6.910	6.291	7.052	5.262	-0.619	1.536	0.142	0.906	-3.648	3.134
HAS2	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
HNNP1	23.972	24.170	24.750	26.864	4.522	4.485	5.605	6.691	-0.637	1.026	1.083	0.472	2.169	0.222
IL10	측정안됨	34.229	34.306	35.010	#값1	14.564	15.161	14.837	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
IL18N	32.606	28.388	33.599	29.393	13.156	8.703	14.454	9.220	-4.453	21.902	1.298	0.407	-3.936	15.305
IL6	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
IL6R	측정안됨	33.834	측정안됨	측정안됨	#값1	14.129	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
IL13	24.539	23.800	23.792	23.671	5.089	4.115	4.647	3.498	-0.974	1.984	-0.462	1.358	-1.591	3.013
IL19	30.841	28.881	30.105	28.187	11.391	9.196	10.980	8.034	-2.195	4.579	-0.431	1.348	-3.377	10.389
LOX	34.266	34.399	34.511	34.207	14.616	34.714	15.366	14.034	-0.102	1.073	0.550	0.683	-0.782	1.720
MEPR	측정안됨	31.323	32.524	측정안됨	#값1	11.638	13.379	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
MIF1	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
MIF2A	24.717	25.499	24.518	24.950	5.267	3.814	5.373	4.177	-1.453	2.738	0.106	0.929	-1.090	2.129
NFKB1A	22.971	23.807	22.895	23.454	2.921	4.122	3.750	3.281	1.701	0.435	0.829	0.563	0.360	0.779
NFKB1	23.259	23.121	23.110	23.300	3.800	3.436	3.365	3.127	-0.364	1.287	0.165	0.892	-0.673	1.594
PDCD7	24.179	24.740	22.874	25.248	4.729	5.055	4.729	5.975	0.326	0.798	0.000	1.000	0.346	0.787
PDGFRB	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
PDPI	25.971	25.726	24.957	25.536	5.921	5.541	5.812	5.369	-0.380	1.301	-0.169	1.078	-0.558	1.472
PER1	25.109	25.820	24.989	26.651	5.659	6.135	5.844	6.476	0.476	0.719	0.185	0.880	0.819	0.567
PER2	24.451	24.837	24.218	25.563	5.001	5.152	5.673	5.390	0.151	0.901	0.072	0.891	0.389	0.764
PK3R1	23.784	24.332	23.429	24.080	4.284	4.647	4.284	3.907	0.363	0.778	0.000	1.000	-0.377	1.299
PLD1	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	16.121	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
PLEKH1	27.205	28.660	26.977	29.985	7.755	8.975	7.892	9.412	1.220	0.429	0.077	0.948	1.657	0.317
POU2F1	24.234	24.671	24.368	24.732	4.784	4.986	5.223	4.559	0.202	0.369	0.439	0.738	-0.215	1.169
POU2F2	23.123	22.878	22.565	22.820	3.673	2.993	3.420	2.767	-0.680	1.602	-0.253	1.192	-0.926	1.900
RASA3	23.952	23.238	23.454	23.293	4.502	3.523	4.399	3.120	-0.979	1.971	-0.193	1.143	-2.382	2.606
RGS2	22.902	24.869	21.982	27.302	3.452	5.184	4.817	7.129	1.732	0.301	1.365	0.388	3.677	0.978
RHOB	29.724	27.234	28.803	27.392	10.274	7.549	9.658	7.219	-2.725	6.612	-0.616	1.533	-3.055	8.311
RHOJ	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
SESN1	28.689	25.215	25.915	21.378	9.239	5.530	6.770	1.205	-3.709	13.077	-2.469	5.537	8.034	262.105
SEK1	25.579	26.524	27.309	30.174	6.129	8.939	8.164	10.001	2.810	0.143	2.035	0.244	5.872	0.068
SLC10A6	36.617	35.584	37.200	39.653	17.167	15.999	18.055	19.480	-1.168	2.247	0.888	0.540	2.313	0.201
SLC19A2	26.658	26.125	25.887	26.401	7.188	6.440	6.742	5.928	-0.748	1.679	-0.446	1.362	-1.263	2.595
SLC22A5	28.901	26.640	29.417	27.488	9.451	6.955	10.282	7.315	-2.496	5.641	0.831	0.562	-2.136	4.395
SNF1A1	24.438	24.181	24.329	25.156	4.988	4.496	5.184	4.993	-0.492	1.466	0.196	0.873	0.095	0.997
SPHK1	29.643	29.333	29.804	29.702	10.193	9.648	10.659	9.529	-0.545	1.459	0.466	0.724	-0.684	1.584
SPS1	29.613	26.952	29.963	27.294	10.163	7.267	10.818	7.121	-2.896	7.444	0.655	0.635	-3.042	8.236

[0214]

STAT5A	25.567	25.495	25.699	24.956	5.117	5.810	6.554	4.783	-0.307	1.237	0.497	0.793	-1.334	2.521
STAT5B	23.414	23.453	23.270	23.985	3.964	3.768	4.125	3.812	-0.196	1.146	0.161	0.894	-0.152	1.131
TB13K1	21.602	22.111	21.479	22.588	2.152	2.426	2.334	2.415	0.274	0.827	0.182	0.881	0.263	0.833
TNF	23.894	25.079	24.151	25.675	4.244	5.394	5.095	5.802	1.150	0.451	0.762	0.590	1.258	0.418
TNFAIP3	24.946	26.903	26.733	28.675	5.496	7.218	7.588	8.562	1.722	0.303	2.092	0.235	3.006	0.124
TSC22D3	25.514	25.390	22.481	21.679	6.964	5.705	3.336	1.506	-0.359	1.283	-2.728	6.615	-4.598	23.555
USP2	22.646	21.933	20.884	20.640	1.196	2.219	1.739	0.467	-0.978	1.970	-1.457	2.745	-1.729	6.630
USP54	26.549	26.897	26.453	27.806	7.699	7.122	7.308	7.138	0.023	0.984	0.209	0.885	0.034	0.977
VDR	30.102	27.233	29.232	27.319	10.652	7.608	10.087	7.146	-3.644	8.248	-0.565	1.479	-3.596	11.361
VIDR	28.252	32.346	30.596	30.596	8.892	12.661	11.451	#값1	3.859	0.059	2.649	0.159	#값1	#값1
XDH	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
ZFP36	24.367	25.541	25.166	26.450	4.917	5.856	6.021	6.277	0.939	0.522	1.104	0.465	1.360	0.390
ZHX3	25.774	24.831	25.570	25.485	6.324	5.146	6.425	5.312	-1.176	2.283	0.101	0.932	-1.012	2.017
ZNF281	24.007	23.913	23.608	24.577	4.557	4.238	4.463	4.464	-0.329	1.256	-0.094	1.067	-0.153	1.112
ACTB	14.801	15.450	14.572	16.143	-4.649	-4.235	-4.573	-4.030						
R2M	18.438	18.688	18.143	20.173	0.000	0.000	0.000	0.000						
GAPDH	16.538	17.275	16.349	17.416	-2.922	-2.410	-2.796	-2.757						
HPRT1	21.509	22.793	21.361	23.732	2.059	3.108	2.216	3.559						
RP19C	15.697	15.681	15.330	15.349	-3.753	-4.004	-3.815	-4.824						
HGDC	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1						
RTC	21.199	20.891	21.392	21.368	1.749	1.206	2.247	1.195						
RTC	21.219	20.949	21.293	21.425	1.769	1.264	2.148	1.252						
RTC	21.216	20.945	21.237	21.320	1.766	1.260	2.092	1.147						
PFC	18.984	18.798	18.835	18.992	-0.466	-0.887	-0.310	-1.181						
PFC	18.832	18.877	18.870	18.841	-0.618	-0.808	-0.275	-1.932						
PFC	18.869	19.027	18.873	18.835	-0.581	-0.678	-0.272	-1.338						

[0215]

[표 4]

SUDHL10 세포주에 대한 RT2 글루코코르티코이드 신호전달 PCR 어레이 분석으로부터 구하여진 배수 변화 및 Ct값

유전자	Ct값			ΔCt (B2M)			Cq44			Pred			조합		
	QMSQ	Cq44	Pred	QMSQ	Cq44	Pred	ΔCt	배수변화	ΔΔCt	배수변화	ΔΔCt	배수변화	ΔΔCt	배수변화	배수변화
ADAM1	30.421	31.215	32.883	11.995	12.088	14.012	0.073	0.951	0.234	0.213	2.037	2.247	2.037	2.247	2.105
APB1	28.476	29.849	27.600	10.052	10.702	9.946	0.650	0.637	-0.106	1.076	-1.074	2.105	-1.074	2.105	1.064
AK2	20.354	20.974	19.237	1.928	1.983	1.838	1.979	1.979	-0.345	1.279	-0.090	1.064	-0.345	1.279	1.261
AMPD3	27.489	27.654	26.390	9.063	8.997	8.736	-0.556	1.470	-0.227	1.254	-0.334	1.261	-0.334	1.254	0.851
ANGPT14	30.771	32.107	29.894	12.345	12.950	12.578	0.615	0.653	-0.105	1.075	-0.233	0.851	-0.233	1.075	1.562
ANKK4	26.715	24.961	25.942	8.229	5.814	5.921	-2.475	5.569	-0.091	1.091	-2.398	1.562	-2.398	1.562	0.893
AQP1	26.837	28.208	27.668	8.411	9.061	10.014	0.650	0.537	1.603	0.329	0.164	0.893	0.164	0.329	0.468
ARHGE	22.820	24.837	22.217	4.394	4.660	4.563	0.296	0.815	0.169	0.889	1.094	0.468	1.094	0.889	1.872
ASPH	18.149	20.607	18.947	-0.277	1.460	1.293	1.737	0.300	1.570	0.337	1.872	0.273	1.872	0.337	0.355
ATF4	21.278	22.639	23.181	2.852	3.492	3.919	0.640	0.542	1.057	0.477	1.495	0.355	1.495	0.477	0.427
BMPER	22.884	26.624	24.539	4.438	7.477	6.385	3.039	0.123	2.427	0.186	2.360	0.195	2.360	0.186	2.360
CAICR	28.205	28.900	29.217	10.779	9.753	11.563	-1.026	2.936	0.784	0.581	-1.241	2.364	-1.241	2.364	0.195
CEBPA	24.612	26.139	24.960	6.186	6.992	7.306	0.806	0.572	1.120	0.460	1.228	0.427	1.228	0.460	1.899
COL4A2	23.139	23.809	22.395	4.713	4.662	4.741	-0.051	1.036	0.028	0.981	0.091	0.839	0.091	0.981	0.839
CREB1	25.310	26.452	24.440	6.884	7.305	6.786	0.421	0.747	-0.098	1.070	-0.330	1.248	-0.330	1.248	0.427
CREB3	24.612	26.139	24.960	6.186	6.992	7.306	0.806	0.572	1.120	0.460	1.228	0.427	1.228	0.460	1.899
CTGF	38.682	37.034	38.074	20.258	17.857	20.420	-2.399	5.274	0.164	0.833	-0.925	1.899	-0.925	1.899	6.034
CYB5B1	23.944	26.109	21.960	5.518	6.962	4.306	1.444	0.368	-1.212	2.317	-2.593	6.034	-2.593	6.034	0.839
DNAH2	29.480	31.300	27.989	11.054	12.153	10.335	1.098	0.467	0.719	1.646	-1.503	2.634	-1.503	2.634	0.839
DNAH3	26.932	26.758	25.898	8.505	7.621	8.234	-0.885	1.947	-0.272	1.207	-1.537	2.902	-1.537	2.902	0.839
ERRF1	22.120	22.883	19.749	3.684	3.756	2.095	0.042	0.971	-1.599	3.029	-1.853	3.613	-1.853	3.613	0.839
FKBP5	33.273	32.931	29.990	13.847	13.764	12.336	-0.063	1.045	-1.511	2.850	-1.832	3.560	-1.832	3.560	4.067
GDPD1	31.627	30.943	29.917	13.201	11.796	12.263	-1.405	2.648	-0.938	1.916	-2.024	4.067	-2.024	4.067	0.839
GHRHR	35.940	36.757	36.757	15.514	19.103	19.103	3.589	0.839	0.839	0.839	0.839	0.839	0.839	0.839	0.839
GUL	23.110	25.396	23.519	5.084	6.159	5.865	1.075	0.475	0.781	0.582	0.885	0.541	0.885	0.582	0.541

H6PD	26.184	28.126	26.256	26.915	7.758	8.979	8.602	8.081	1.221	0.429	0.844	0.557	0.373	0.799
HAS2	속정안됨	속정안됨	속정안됨	속정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
HHRFL	22.972	23.764	22.692	24.016	4.546	4.617	5.098	5.182	0.071	0.952	0.832	0.711	0.636	0.643
H10	속정안됨	32.505	속정안됨	32.875	#값1	13.358	#값1	14.041	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
HLRN	속정안됨	32.182	속정안됨	속정안됨	#값1	13.035	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
H6	속정안됨	속정안됨	속정안됨	속정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
H6R	속정안됨	33.307	33.801	속정안됨	#값1	14.660	16.147	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
H6F13	25.451	24.536	22.488	22.832	7.025	5.369	4.834	3.998	-1.636	3.168	-2.191	4.566	-3.027	6.151
H159	32.831	32.525	30.255	29.681	14.505	15.378	12.601	10.857	-1.227	2.184	-1.904	3.742	-3.648	12.556
LOX	33.500	35.385	32.223	32.465	15.074	16.238	14.569	13.631	1.164	0.446	-0.505	1.419	-1.443	2.719
MERTK	속정안됨	34.652	속정안됨	속정안됨	#값1	15.505	#값1	14.327	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
M11E	속정안됨	속정안됨	속정안됨	34.803	#값1	#값1	#값1	15.669	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
M12A	34.844	37.225	35.909	35.845	16.418	18.078	13.255	17.015	1.660	0.316	1.837	0.480	0.597	0.661
M8RHA	22.331	23.654	21.628	22.744	3.905	4.507	3.974	3.910	0.802	0.559	0.069	0.953	0.005	0.997
NR3C1	22.516	23.764	22.000	22.835	4.090	4.617	4.346	4.001	0.527	0.694	0.256	0.837	-0.089	1.064
PDGFR	23.600	25.123	23.256	24.731	5.174	5.976	5.602	5.697	0.802	0.574	0.428	0.743	0.773	0.666
PDGFRB	속정안됨	속정안됨	속정안됨	속정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
PBP1	25.438	26.175	25.178	26.259	7.012	7.028	7.524	7.425	0.016	0.989	0.512	0.701	0.413	0.751
PER1	26.209	27.710	24.782	26.886	7.783	8.569	7.108	7.852	0.780	0.582	-0.875	1.587	0.069	0.953
PER2	23.618	24.780	22.642	24.465	5.192	5.633	4.988	5.631	0.441	0.737	-0.204	1.152	0.439	0.738
PR3K1	23.509	24.661	22.697	23.585	5.083	5.514	5.043	4.751	0.431	0.742	-0.040	1.028	-0.332	1.759
PLD1	속정안됨	속정안됨	속정안됨	속정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
PLK4F1	27.789	28.979	26.691	27.831	9.363	9.832	9.037	8.497	0.469	0.722	-0.326	1.254	-0.868	1.823
POU2F1	25.415	25.842	24.283	24.827	6.689	6.605	6.629	5.993	0.906	0.996	-0.060	1.042	-0.696	1.820
POU2F2	23.953	25.098	22.977	24.098	5.527	5.951	5.323	5.264	0.424	0.745	-0.204	1.152	-0.263	1.260
RASA3	23.171	24.277	22.449	23.648	4.745	5.130	4.795	4.815	0.385	0.766	0.069	0.666	0.070	0.953
R652	24.794	25.587	25.390	26.161	6.368	6.440	7.736	7.327	0.072	0.951	1.368	0.387	0.959	0.514
RHOB	28.583	27.829	27.968	26.383	10.157	8.682	10.314	7.949	-1.475	2.780	0.157	0.897	-2.608	6.097
RHOJ	속정안됨	36.530	속정안됨	속정안됨	#값1	17.381	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
SESN1	28.405	27.480	24.220	22.646	9.079	8.333	6.566	3.812	-1.646	3.130	-3.413	10.652	-6.167	71.854
SEK1	22.694	25.358	22.897	24.642	4.268	6.211	5.243	5.808	1.843	0.260	0.975	0.509	1.540	0.344
SHC10A6	36.987	37.060	34.670	36.258	18.561	17.913	17.016	17.424	-0.648	1.567	-1.545	2.918	-1.137	2.199
SLC19A2	31.019	30.597	31.940	31.854	12.593	11.450	14.286	12.520	-1.145	2.208	1.693	0.309	-0.073	1.052
SLC22A5	31.275	30.263	32.426	29.324	12.849	11.116	14.772	10.490	-1.733	3.324	1.923	0.264	-2.359	5.130
SNTA1	25.751	27.003	24.913	26.374	7.325	7.856	7.259	7.540	0.531	0.692	-0.066	1.047	0.215	0.862
SPHK1	26.852	27.804	25.801	27.082	8.426	8.657	8.147	8.248	0.221	0.852	-0.279	1.213	-0.178	1.131
SPSB1	25.856	26.133	24.455	24.642	7.430	6.986	6.801	5.808	-0.444	1.360	-0.629	1.546	-1.622	3.078

STATSA	24.170	25.275	23.779	24.550	5.744	6.128	6.125	5.716	0.324	0.766	0.381	0.768	-0.038	1.020
STATSB	23.533	24.281	23.480	24.231	5.107	5.134	5.826	5.397	0.027	0.981	0.719	0.608	0.250	0.818
TBL1XK1	20.891	21.846	20.224	21.815	2.465	2.699	2.570	2.381	0.234	0.850	0.105	0.930	0.516	0.699
TRF	23.208	23.725	22.657	24.569	4.782	4.578	5.003	5.835	-0.204	1.152	0.221	0.858	1.053	0.482
TRFAIP3	26.832	27.677	27.010	26.748	9.406	8.530	9.356	7.915	0.124	0.918	0.950	0.518	-0.491	1.405
YSC22D3	25.441	26.871	23.160	22.809	7.015	9.724	5.506	3.975	2.709	0.153	-1.509	2.846	-3.040	8.225
USP2	22.643	23.434	21.579	22.360	4.217	4.287	3.925	3.526	0.070	0.963	-0.292	1.224	-0.693	1.634
USP54	27.132	27.789	26.401	27.379	8.706	8.642	8.747	8.545	-0.064	1.045	0.041	0.972	-0.161	1.128
VDR	29.507	29.514	28.490	28.525	11.081	10.367	10.836	9.891	-0.714	1.646	-0.745	2.185	-1.396	2.821
VIDR	27.937	32.904	31.762	32.093	9.511	13.757	14.108	13.259	4.246	0.053	4.597	0.041	3.748	0.074
XDH	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
ZFP36	25.707	26.643	24.515	25.887	7.381	7.496	6.861	7.653	0.215	0.862	-0.420	1.318	-0.228	1.171
ZHX3	26.753	26.305	26.008	26.392	8.327	7.158	8.354	7.559	-1.169	2.249	0.027	0.981	-0.768	1.705
ZNF281	23.573	23.957	22.336	23.665	5.147	4.710	4.982	4.831	-0.437	1.354	-0.465	1.380	-0.316	1.245
ACT8	14.330	14.928	13.138	14.548	-4.095	-4.319	-4.516	-4.186						
8288	48.428	43.147	47.854	48.834	0.030	0.000	0.000	0.000						
GAPDH	16.544	17.793	15.669	16.935	-1.982	-1.354	-1.985	-1.699						
HPRT1	19.452	20.615	18.679	20.706	1.026	1.468	1.025	1.872						
RPLP0	15.746	16.821	15.169	15.785	-2.680	-2.326	-2.485	-3.049						
HGDC	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1						
ATC	22.619	22.346	22.496	23.181	4.193	3.199	4.842	4.347						
RTC	22.626	22.362	22.621	23.201	4.200	3.215	4.967	4.367						
RTC	22.662	22.313	22.484	23.114	4.236	3.166	4.830	4.280						
PPC	18.253	18.442	17.980	18.476	-0.173	-0.705	0.305	-0.358						
PPC	18.527	18.474	18.434	18.446	0.101	-0.673	0.780	-0.388						
PPC	18.410	18.623	18.515	18.482	-0.015	-0.524	0.861	-0.852						

[0219] [4]

RI 세포주에 대한 RT2 글루코코르티코이드 신호전달 PCR 어레이 분석으로부터 구해진 배수 변화 및 Ct값

유전자	Ct값				ΔCt (82M)				Qd44				Pred				조합			
	DRS2	Caldn	Pred	조합	DRS2	Caldn	Pred	조합	ΔΔCt	배수변화	ΔΔCt	배수변화	ΔΔCt	배수변화	ΔΔCt	배수변화	ΔΔCt	배수변화	ΔΔCt	배수변화
ACARB1	27.745	26.650	28.557	28.623	8.964	7.292	9.377	9.377	-1.672	3.187	0.413	0.751	-1.390	2.621	-1.397	3.333	-1.397	3.333	-1.397	3.333
AFF1	28.249	26.820	27.258	26.977	9.468	7.462	8.078	7.791	-2.006	4.017	-1.390	2.621	-1.390	2.621	-1.397	3.333	-1.397	3.333	-1.397	3.333
AK2	19.425	20.270	20.510	21.066	0.644	0.912	1.330	2.210	0.268	0.886	0.622	1.575	-0.544	1.458	-0.726	1.684	-0.544	1.458	-0.726	1.684
AKAP3	27.499	27.191	27.354	27.258	8.748	7.838	8.174	7.992	-0.885	1.847	-0.544	1.458	-0.544	1.458	-0.726	1.684	-0.544	1.458	-0.726	1.684
AKAP4	30.178	29.820	32.245	29.696	11.397	10.462	13.065	10.350	-0.635	1.512	1.663	0.315	-1.047	2.066	-1.047	2.066	-1.047	2.066	-1.047	2.066
AKAP4	24.380	24.395	24.910	24.771	5.569	5.037	5.730	5.525	-0.562	1.436	0.131	0.913	-0.562	1.436	-0.562	1.436	-0.562	1.436	-0.562	1.436
ADP1	27.976	27.353	28.708	28.495	9.195	7.978	10.028	9.249	-1.220	2.229	0.853	0.561	-0.853	0.561	-0.853	0.561	-0.853	0.561	-0.853	0.561
ARH59	22.415	22.450	23.593	24.410	3.682	4.108	4.403	4.164	0.476	1.719	0.771	0.586	0.476	1.719	0.771	0.586	0.476	1.719	0.771	0.586
ATF4	17.889	18.269	19.452	20.540	-1.092	-1.089	0.272	1.294	0.003	0.998	1.364	0.989	0.003	0.998	1.364	0.989	0.003	0.998	1.364	0.989
BCL6	19.449	20.289	20.785	20.772	0.668	0.931	1.605	1.516	0.263	0.833	0.937	0.522	0.263	0.833	0.937	0.522	0.263	0.833	0.937	0.522
BMP6	27.499	27.191	27.354	27.258	8.748	7.838	8.174	7.992	-0.885	1.847	-0.544	1.458	-0.544	1.458	-0.726	1.684	-0.544	1.458	-0.726	1.684
CAICA	27.499	27.191	27.354	27.258	8.748	7.838	8.174	7.992	-0.885	1.847	-0.544	1.458	-0.544	1.458	-0.726	1.684	-0.544	1.458	-0.726	1.684
CEBPA	27.499	27.191	27.354	27.258	8.748	7.838	8.174	7.992	-0.885	1.847	-0.544	1.458	-0.544	1.458	-0.726	1.684	-0.544	1.458	-0.726	1.684
CEBPB	23.152	23.785	26.229	27.211	4.411	4.407	7.049	7.665	-0.004	1.003	2.638	0.161	-0.004	1.003	2.638	0.161	-0.004	1.003	2.638	0.161
COL4A2	31.978	31.782	32.785	35.212	13.197	12.424	14.611	15.966	-0.773	1.709	0.762	0.590	-0.773	1.709	0.762	0.590	-0.773	1.709	0.762	0.590
CNRB1	22.435	23.217	23.317	23.470	3.684	3.859	4.137	4.224	0.205	0.868	0.463	0.715	0.205	0.868	0.463	0.715	0.205	0.868	0.463	0.715
CNRB3	23.790	24.178	24.951	24.755	5.009	4.820	5.771	5.489	-0.189	1.140	0.762	0.590	-0.189	1.140	0.762	0.590	-0.189	1.140	0.762	0.590
CRER1A	23.683	23.500	24.211	23.870	4.902	4.142	5.031	4.624	-0.760	1.693	0.129	0.914	-0.760	1.693	0.129	0.914	-0.760	1.693	0.129	0.914
CTGF	27.499	27.191	27.354	27.258	8.748	7.838	8.174	7.992	-0.885	1.847	-0.544	1.458	-0.544	1.458	-0.726	1.684	-0.544	1.458	-0.726	1.684
CYB5B1	39.352	38.452	38.088	37.618	20.571	19.094	18.908	18.372	-1.477	2.784	-1.663	3.167	-1.477	2.784	-1.663	3.167	-1.477	2.784	-1.663	3.167
DGIF4	21.641	22.679	23.471	22.583	2.860	3.221	4.291	3.337	0.461	0.726	1.431	0.371	0.461	0.726	1.431	0.371	0.461	0.726	1.431	0.371
DIRAS2	25.166	25.412	25.412	24.981	6.985	6.064	6.732	5.735	-0.921	1.248	-0.153	1.112	-0.921	1.248	-0.153	1.112	-0.921	1.248	-0.153	1.112
DNM1	32.448	31.815	39.440	30.790	12.685	12.457	20.260	11.454	-1.208	2.310	6.595	0.010	-1.208	2.310	6.595	0.010	-1.208	2.310	6.595	0.010
EHF3	24.957	24.572	25.411	23.975	6.176	5.214	6.231	4.729	-0.962	1.948	0.055	0.963	-0.962	1.948	0.055	0.963	-0.962	1.948	0.055	0.963
ERRF1	31.705	32.655	31.791	31.791	11.964	12.347	13.475	12.548	-0.388	0.764	-0.333	1.260	-0.388	0.764	-0.333	1.260	-0.388	0.764	-0.333	1.260
FKBP5	20.792	21.767	20.858	20.881	2.011	2.995	1.678	1.655	0.388	0.764	-0.333	1.260	0.388	0.764	-0.333	1.260	0.388	0.764	-0.333	1.260
FOSL2	31.458	30.761	34.157	36.459	12.677	11.403	14.977	17.213	-1.274	2.418	2.300	0.203	-1.274	2.418	2.300	0.203	-1.274	2.418	2.300	0.203
GDFD1	27.589	27.594	26.699	26.110	8.608	6.086	9.519	8.694	-0.772	1.708	0.711	0.611	-0.772	1.708	0.711	0.611	-0.772	1.708	0.711	0.611
GSMHR	37.546	39.555	39.797	39.797	11.964	12.347	13.475	12.548	-0.388	0.764	-0.333	1.260	-0.388	0.764	-0.333	1.260	-0.388	0.764	-0.333	1.260
GUL1	30.775	28.738	32.181	32.951	11.964	9.560	13.003	13.715	-2.614	6.122	1.607	0.496	-2.614	6.122	1.607	0.496	-2.614	6.122	1.607	0.496
GOT1	21.489	22.584	23.356	24.551	2.708	3.226	4.175	5.302	0.518	0.698	1.487	0.362	0.518	0.698	1.487	0.362	0.518	0.698	1.487	0.362
H6PD	25.108	25.012	26.442	24.742	6.327	5.654	7.262	5.496	-0.673	1.594	0.935	0.523	-0.673	1.594	0.935	0.523	-0.673	1.594	0.935	0.523

[0220]

#A552	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌
#H9BL	21.958	22.844	23.146	24.289	3.177	3.486	3.966	5.043	9.393	0.607	0.793	0.579	1.595	0.274	#값1	#값1	#값1	#값1
#LJG	32.353	31.458	32.669	33.669	13.972	13.140	13.488	-1.432	2.698	-0.083	1.059	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
#LBN	29.709	29.405	29.300	29.204	10.228	9.047	10.120	9.353	1.881	3.683	-0.808	2.751	-0.970	1.556	#값1	#값1	#값1	#값1
#L6	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌
#LR	29.184	29.246	30.468	31.321	10.403	9.898	11.288	12.075	-0.519	1.629	0.855	0.541	1.672	0.314	#값1	#값1	#값1	#값1
#LF13	22.843	22.854	23.590	23.332	4.082	3.486	4.410	4.076	-0.566	1.480	0.348	0.786	0.014	0.990	#값1	#값1	#값1	#값1
#L9	34.469	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	15.898	#값1	14.567	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
#LOX	33.918	33.915	34.135	33.948	15.137	11.333	12.026	12.626	-4.419	21.332	#값1	#값1	-3.726	13.232	#값1	#값1	#값1	#값1
#MERTK	34.535	35.691	측정안뎌	31.272	15.752	11.333	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
#MTSE	측정안뎌	34.215	측정안뎌	측정안뎌	#값1	14.857	0.650	#값1	0.577	0.670	1.556	0.317	1.980	0.293	#값1	#값1	#값1	#값1
#MTZA	23.125	24.279	25.180	25.570	4.344	4.921	6.324	6.324	0.884	0.553	0.955	0.554	0.658	0.615	#값1	#값1	#값1	#값1
#NFBIA	22.779	23.710	23.842	3.351	3.498	4.352	4.351	4.196	0.884	0.553	0.955	0.554	0.658	0.615	#값1	#값1	#값1	#값1
#NR3CI	21.972	22.616	23.323	23.237	3.191	3.258	4.143	3.991	0.067	0.955	0.952	0.517	0.800	0.574	#값1	#값1	#값1	#값1
#PDCD7	23.823	24.406	24.616	24.915	5.042	5.048	5.436	5.679	9.008	0.996	0.394	0.761	0.697	0.643	#값1	#값1	#값1	#값1
#POGRB	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
#PSPI	25.798	25.387	26.940	25.667	7.038	6.028	7.760	6.421	-0.988	1.985	0.742	0.593	-0.597	1.513	#값1	#값1	#값1	#값1
#PR1	24.531	25.482	27.180	26.707	5.760	6.134	7.963	7.461	0.384	0.765	2.230	0.213	1.711	0.305	#값1	#값1	#값1	#값1
#REZ	24.152	24.378	24.311	24.547	5.381	5.020	5.631	5.301	-0.361	1.184	0.150	0.841	-0.080	1.087	#값1	#값1	#값1	#값1
#R42RI	22.958	23.508	24.331	24.802	4.177	4.590	5.151	5.356	0.373	0.772	0.374	0.509	1.179	0.442	#값1	#값1	#값1	#값1
#RCQ	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
#PERHF1	29.893	30.520	31.367	34.212	11.112	11.162	12.187	14.956	0.050	0.966	1.075	0.475	3.854	0.069	#값1	#값1	#값1	#값1
#POLUP3	23.693	24.243	25.222	25.607	4.932	4.985	5.502	6.361	-0.027	1.019	2.130	0.457	1.498	0.595	#값1	#값1	#값1	#값1
#POLUP2	21.776	21.785	22.972	22.359	3.995	3.752	3.113	-0.584	1.469	0.797	0.576	0.118	0.931	0.760	#값1	#값1	#값1	#값1
#RAS83	25.711	26.279	27.853	26.571	6.990	6.021	8.473	7.525	-0.029	1.006	1.543	0.345	0.385	0.184	#값1	#값1	#값1	#값1
#R632	25.326	25.771	26.477	28.212	6.525	6.363	7.257	8.366	-0.162	1.113	0.772	0.586	2.441	0.184	#값1	#값1	#값1	#값1
#R808	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	38.682	#값1	#값1	#값1	19.436	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
#R803	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	측정안뎌	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
#SSNA1	25.545	24.425	21.832	20.973	6.764	5.067	2.702	1.727	-1.697	3.242	-4.062	16.703	-5.037	32.831	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C1046	35.750	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C18A2	25.756	26.202	25.342	7.022	6.096	-0.787	1.737	0.047	0.968	-0.879	1.839	6.143	0.014	0.602	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950	16.946	#값1	15.224	16.704	#값1	#값1	-1.725	3.306	-0.245	1.185	#값1	#값1	#값1	#값1
#S1C22A5	32.280	측정안뎌	34.604	35.950														

[0222]

TBLNR1	20.594	21.683	21.587	21.682	1.613	2.305	2.407	2.445	0.692	0.619	0.794	0.577	0.833	0.563
TNF	23.972	24.712	24.773	22.812	6.191	5.354	5.583	3.566	-0.837	1.786	-0.598	1.514	-2.625	6.108
TNFAP3	25.453	26.896	27.393	23.474	6.652	7.553	6.215	9.728	0.866	0.541	1.561	0.339	2.576	0.168
TSC22D3	22.534	23.300	21.502	21.179	3.753	3.942	2.332	1.933	0.189	0.877	-1.411	2.696	-1.820	3.531
UGP2	20.982	21.410	20.720	20.616	2.201	2.082	1.540	1.370	-0.139	1.101	-0.661	1.581	-0.831	1.779
LSP4A	26.748	26.364	27.618	16.992	7.967	7.006	8.458	7.746	-0.861	1.947	0.491	0.712	-0.221	1.166
VDR	29.317	27.736	31.463	23.503	11.955	8.373	12.393	10.262	-2.658	0.312	1.247	0.411	-0.774	1.710
WDR	36.442	특정안원	33.979	특정안원	16.661	#값1	14.799	#값1	#값1	#값1	-1.862	3.835	#값1	#값1
NDR	특정안원	특정안원	특정안원	특정안원	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
ZFP36	23.933	24.374	25.160	24.997	5.082	5.016	5.880	5.751	-0.036	1.025	0.928	0.526	0.699	0.616
ZHX3	24.547	29.785	25.114	24.601	3.766	10.427	5.934	5.355	4.861	0.040	0.168	0.883	-0.411	1.330
ZNF281	23.044	23.667	23.314	23.569	4.263	4.309	4.634	4.423	0.046	0.969	0.371	0.773	0.160	0.895
ACTB	14.754	15.664	15.466	15.976	-3.587	-3.994	-3.714	-3.270						
SSX8	18.781	18.358	18.180	18.346	0.000	0.000	0.000	0.000						
GAPDH	15.388	15.790	16.234	17.444	-3.393	-3.658	-2.948	-1.902						
HPRT1	21.297	22.013	21.626	22.777	2.616	2.655	2.446	3.531						
RPLPQ	15.092	14.837	15.984	15.862	-3.689	-4.521	-3.186	-3.234						
MEPC	특정안원	특정안원	특정안원	특정안원	#값1	#값1	#값1	#값1						
RTC	20.832	21.659	20.818	20.383	2.061	2.301	1.638	1.137						
RTC	20.752	21.713	20.691	20.380	1.571	2.355	1.501	1.134						
RTC	20.792	21.628	20.780	20.481	2.011	2.271	1.600	1.235						
PRC	18.493	18.197	18.474	18.380	-0.168	-1.161	-0.756	-0.866						
PRC	18.557	18.303	18.491	18.255	-0.214	-1.075	-0.689	-0.991						
PRC	18.448	18.435	18.381	18.325	-0.337	-0.923	-0.799	-0.911						

[0223]

[0224]

SUDHL4 세포주에 대한 RT2 글루코코르티코이드 신포전달 PCR 아레이 분석으로부터 구하어진 배수 변화 및 Ct값

유전자	Ct값				ΔCt (B2M)				Cpda4				Pred				조합			
	DMSO	Cd44	Pred	조합	DMSO	Cd44	Pred	조합	DMSO	Cd44	Pred	조합	ΔCt	배수변화	ΔCt	배수변화	ΔCt	배수변화	ΔCt	배수변화
ADARB1	27.696	28.562	27.634	28.373	10.407	8.878	9.591	8.992	-4.229	2.344	-0.516	1.530	-0.516	1.530	-0.516	1.530	-1.115	2.166	-1.115	2.166
AFP1	26.492	25.936	25.874	25.960	7.394	7.118	6.955	7.788	-0.276	1.211	-0.429	1.346	-0.429	1.346	-0.429	1.346	0.394	0.761	0.394	0.761
AK2	19.861	20.311	20.602	20.682	2.416	1.846	1.340	1.357	-0.570	1.485	-1.076	2.108	-1.076	2.108	-1.076	2.108	-1.259	2.393	-1.259	2.393
AMPD3	25.234	25.553	24.780	25.735	7.473	6.014	6.582	6.530	-1.449	2.730	-0.691	1.854	-0.691	1.854	-0.691	1.854	-0.843	1.323	-0.843	1.323
ANGPTL4	29.764	29.825	29.326	30.167	11.301	10.854	11.060	11.060	-1.331	2.516	-1.047	2.066	-1.047	2.066	-1.047	2.066	-0.841	1.791	-0.841	1.791
ANKK4	26.847	26.717	26.973	26.902	10.636	8.217	9.746	8.143	-2.418	5.348	-0.890	1.853	-0.890	1.853	-0.890	1.853	-2.493	5.629	-2.493	5.629
AQP1	측정안됨	측정안됨	32.982	32.161	13.895	14.226	#값1	#값1	0.333	0.795	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
AREB28	25.120	25.129	24.504	24.555	6.289	5.748	6.158	6.416	-0.541	1.455	-0.131	1.095	-0.131	1.095	-0.131	1.095	0.127	0.916	0.127	0.916
ASPH	22.618	23.348	22.741	23.094	4.828	3.995	4.377	3.914	-0.843	1.794	-0.451	1.367	-0.451	1.367	-0.451	1.367	-0.914	1.894	-0.914	1.894
ATF4	19.323	18.778	18.988	18.352	0.086	0.232	-0.193	0.619	0.146	0.904	-0.279	1.213	-0.279	1.213	-0.279	1.213	0.535	0.691	0.535	0.691
BCL6	20.521	21.075	20.634	21.163	2.897	1.878	2.104	1.817	-1.019	2.027	-0.799	1.733	-0.799	1.733	-0.799	1.733	-1.080	2.114	-1.080	2.114
BMP6	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
CACR	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
CEBPA	28.837	31.206	28.782	30.802	12.536	10.026	12.235	10.133	-2.516	5.696	-0.303	1.232	-0.303	1.232	-0.303	1.232	-2.403	5.289	-2.403	5.289
CEBPB	24.507	23.911	23.944	22.678	4.412	5.188	4.940	5.803	0.776	0.884	0.578	0.894	0.578	0.894	0.578	0.894	1.391	0.381	1.391	0.381
COL4A2	측정안됨	측정안됨	측정안됨	33.904	15.638	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
CREB1	22.966	22.973	22.993	22.816	4.550	4.237	4.002	4.202	-0.313	1.242	-0.548	1.462	-0.548	1.462	-0.548	1.462	-0.348	1.273	-0.348	1.273
CREB3	24.930	24.566	24.421	24.421	6.135	5.805	5.595	5.626	-0.480	1.404	-0.560	1.374	-0.560	1.374	-0.560	1.374	-0.529	1.443	-0.529	1.443
CREB3L4	24.729	25.089	24.418	24.583	6.317	5.662	6.118	6.005	-0.655	1.575	-0.199	1.148	-0.199	1.148	-0.199	1.148	-0.312	1.241	-0.312	1.241
CYGF	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
CYB5B1	33.993	36.737	33.006	36.751	18.486	14.256	17.766	15.289	-4.236	18.844	-0.770	1.647	-0.770	1.647	-0.770	1.647	-3.197	9.170	-3.197	9.170
DCAF4	21.247	21.455	21.854	22.681	4.415	3.098	2.484	2.543	-1.317	2.491	-1.931	3.813	-1.931	3.813	-1.931	3.813	-1.872	3.660	-1.872	3.660
DNAH2	측정안됨	측정안됨	33.382	측정안됨	#값1	34.626	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
DUSP1	26.436	26.325	26.754	26.713	8.447	7.998	7.354	7.732	-0.449	1.365	-1.093	2.133	-1.093	2.133	-1.093	2.133	-0.715	1.541	-0.715	1.541
EPN1	32.440	33.297	32.372	측정안됨	#값1	13.616	14.316	13.736	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
EPH3	24.298	25.766	24.878	26.386	8.120	5.122	6.795	5.594	-1.998	3.994	-1.325	2.505	-1.325	2.505	-1.325	2.505	-2.526	5.760	-2.526	5.760
ERBBF1	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
FKBP5	20.533	20.494	21.869	21.371	3.105	3.113	1.523	1.829	0.008	0.994	-1.582	2.994	-1.582	2.994	-1.582	2.994	-1.276	2.422	-1.276	2.422
FOSL2	35.083	31.757	33.362	측정안됨	#값1	14.606	12.786	16.379	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
GDPD1	27.358	28.134	26.972	27.838	9.572	8.216	9.163	8.654	-1.356	2.560	-0.409	1.328	-0.409	1.328	-0.409	1.328	-0.918	1.889	-0.918	1.889
GHRHR	36.313	37.623	측정안됨	36.734	19.468	#값1	18.652	17.609	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	0.184	0.880	-0.859	1.814
GUL	35.436	35.795	34.414	측정안됨	#값1	15.658	16.824	16.732	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
GOT1	22.480	22.607	22.859	22.304	4.038	4.103	3.636	3.696	0.065	0.956	-0.402	1.321	-0.402	1.321	-0.402	1.321	-0.342	1.268	-0.342	1.268

MS2	25.209	25.745	24.819	24.878	5.612	5.663	5.772	5.595	-0.549	2.463	0.160	0.895	-0.107	1.077
MAX2	측정안됨	35.628	31.961	측정안됨	#값1	13.205	16.557	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
HMRP1	22.667	22.577	22.558	22.558	4.492	3.821	4.005	3.963	-0.471	1.366	-0.286	1.219	-0.329	1.256
RL0	33.210	33.059	31.119	32.574	14.258	12.363	14.128	13.506	-1.895	3.719	-0.130	1.094	-0.752	1.684
RLRN	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	17.503	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
RL6	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
RL6R	32.607	33.589	31.995	33.408	15.142	13.239	14.618	13.993	-1.943	3.740	-0.524	1.438	-1.239	2.360
RLP13	22.295	22.649	22.834	22.878	4.612	4.078	3.678	3.552	-0.534	1.448	-0.934	1.911	-1.060	2.085
RLP9	26.816	27.456	26.769	27.672	9.306	8.013	8.485	8.112	-1.293	2.450	-0.821	1.787	-1.384	2.238
LOX	33.947	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	15.243	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
MERTK	33.257	측정안됨	35.859	31.392	13.126	15.103	#값1	14.553	1.977	0.254	#값1	#값1	1.437	0.372
MTIE	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
MT2A	23.416	24.175	23.522	23.341	5.075	4.766	5.204	4.712	-0.309	1.239	0.129	0.914	-0.363	1.286
NRQ0A	22.744	22.909	23.016	22.914	4.648	4.260	3.938	4.040	-0.388	1.309	-0.750	1.636	-0.608	1.524
NR3C1	22.602	22.803	22.781	22.525	4.159	4.025	3.898	3.898	-0.234	1.176	-0.427	1.344	-0.361	1.284
PDCD7	23.859	24.858	24.113	23.750	5.484	5.357	5.887	5.155	-0.127	1.092	0.403	0.756	-0.329	1.256
PDSFR8	측정안됨	측정안됨	35.205	측정안됨	#값1	16.449	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
PDP1	25.255	25.112	25.507	25.928	7.662	6.751	7.141	6.951	-0.911	1.860	-0.521	1.435	-1.111	2.160
PER1	24.612	24.926	24.973	25.007	6.741	6.217	5.955	5.908	-0.524	1.438	-0.786	1.724	-0.833	1.781
PER2	23.794	24.371	24.403	24.767	6.501	5.647	5.400	5.090	-0.894	1.808	-1.101	2.145	-1.411	2.859
PK3B1	23.210	23.440	23.615	23.637	5.361	4.859	4.469	4.506	-0.502	1.416	-0.892	1.886	-0.855	1.809
PLD1	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
PLERH1	27.292	27.868	27.684	28.448	10.182	8.928	8.897	8.988	-1.234	2.565	-1.285	2.437	-1.594	3.019
POU2F1	23.799	24.224	23.866	23.951	5.685	5.110	5.253	5.095	-0.575	1.490	-0.432	1.349	-0.590	1.595
POU2F2	23.502	23.920	23.841	23.890	3.624	3.085	2.949	2.798	-0.539	1.453	-0.675	1.597	-0.826	1.773
RAS23	22.754	23.207	22.984	23.225	4.959	4.228	4.236	4.050	-0.731	1.660	-0.723	1.651	-0.909	1.878
RGS2	24.883	25.145	24.679	24.812	6.546	5.914	6.174	6.179	-0.632	1.550	-0.372	1.294	-0.367	1.290
RHO8	30.760	32.584	30.084	31.155	12.889	11.328	13.613	12.056	-1.561	2.951	0.724	0.605	-0.833	1.731
RLQ01	측정안됨	측정안됨	36.493	측정안됨	#값1	19.737	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1	#값1
SES01	22.189	측정안됨	25.185	26.963	8.697	6.439	#값1	3.485	-2.258	4.783	#값1	#값1	-5.212	37.065
SGK1	25.886	25.808	26.513	25.449	7.183	7.757	6.837	7.182	0.574	0.672	-0.346	1.271	-0.001	1.001
SLC10A6	37.655	34.857	34.336	38.026	19.760	15.580	15.886	18.951	-4.180	18.126	-3.874	14.662	-0.809	1.752
SLC19A2	26.295	27.465	26.633	27.795	9.489	7.877	8.494	7.591	-1.612	3.057	-0.995	1.993	-1.898	3.727
SLC22A5	27.847	28.544	27.725	28.010	9.744	8.968	9.573	9.143	-0.775	1.711	-0.171	1.126	-0.601	1.517
SNR11	24.008	24.797	24.422	24.779	6.513	5.666	5.826	5.304	-0.887	1.799	-0.687	1.610	-1.209	2.312
SPH11	29.372	30.619	29.007	29.583	11.317	10.251	11.648	10.668	-1.066	2.094	0.331	0.795	-0.649	1.568
SPS81	25.746	26.495	25.583	25.722	7.456	6.832	7.524	7.032	-0.624	1.541	0.068	0.954	-0.424	1.342

STAT5A	24.652	25.174	24.761	24.858	6.592	6.005	6.203	5.948	-0.587	1.502	-0.389	1.309	-0.684	1.363
STAT5B	21.986	22.153	21.908	21.716	3.450	3.152	3.182	3.282	-0.298	1.229	-0.268	1.204	-0.188	1.123
FBX1XR1	20.756	20.805	20.821	20.821	2.555	2.099	1.834	2.052	-0.856	1.372	-0.721	1.648	-0.903	1.417
TNF	27.273	28.337	29.509	31.477	13.211	10.753	10.366	9.919	2.458	5.495	-2.845	7.185	-4.192	18.278
TNFAIP3	28.965	28.521	27.807	26.978	8.712	9.051	9.550	10.161	0.339	0.791	0.838	0.959	1.549	0.342
TS22D23	21.819	21.432	21.384	22.896	4.630	4.628	2.461	3.115	-0.002	1.001	-2.169	4.497	-1.515	2.858
USP2	20.842	21.542	22.123	22.318	4.052	3.364	2.371	2.138	-0.688	1.611	-1.681	3.207	-1.914	3.769
USP34	26.353	26.552	33.090	27.307	9.041	15.234	7.981	7.629	6.193	0.014	-1.060	2.085	-1.412	2.661
VDR	27.497	28.330	26.956	28.621	10.355	8.200	9.369	8.793	-2.155	4.454	-0.996	2.994	-1.562	2.753
VDLR	30.410	28.792	27.824	26.896	8.630	9.068	9.821	11.706	0.438	0.738	1.191	0.438	3.076	0.119
NDH	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨
ZFP36	24.716	24.706	24.773	24.542	6.276	6.014	5.755	6.012	-0.262	1.199	-0.541	1.455	-0.284	1.201
ZHX3	24.009	24.719	24.325	24.882	6.616	5.569	5.748	5.305	-3.047	2.066	-0.868	1.825	-1.311	2.481
ZNF281	23.423	23.861	23.813	23.935	5.669	5.057	4.910	4.719	-0.612	1.528	-0.759	1.692	-0.950	1.932
ACT1B	13.717	14.247	14.284	14.272	-3.994	-4.472	-4.774	-4.987						
ZR282	18.794	18.873	18.798	18.866	0.000	0.000	0.000	0.000						
GAPDH	15.435	15.835	15.793	15.782	-2.484	-2.566	-3.136	-3.269						
MEP11	21.349	21.358	21.582	21.214	2.548	2.826	2.387	2.645						
RPI1P0	15.192	15.469	15.266	15.194	-3.072	-3.490	-3.502	-3.512						
M65JC	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨	측정안됨						
RYC	21.372	21.163	21.368	21.673	3.407	2.632	2.492	2.668						
RYC	21.441	21.008	21.369	21.554	3.288	2.613	2.037	2.737						
RYC	21.504	21.137	21.357	21.500	3.234	2.601	2.166	2.800						
PPC	18.529	18.295	18.338	18.368	0.102	-0.418	-0.676	-0.175						
PPC	18.544	18.326	19.432	18.405	0.139	0.676	-0.645	-0.160						
PPC	18.784	18.635	18.061	18.679	0.413	-0.675	-0.036	0.080						

실시예 2

화합물 44와 에베로리무스는 상승 작용하여, EZH2 돌연변이체 WSU-DLCL2 세포에서 세포주기중 G1기에의 억류를 강화하고, 야생형 EZH2 SU-DH-L5 세포에서의 세포자살을 촉진한다.

도 11의 패널 B 및 E에 있어서, 각각의 점은 초기 및 후기 세포자살에 있어서 게이팅된 세포(gated cell)들의 백분율 평균을 나타낸다(Annexin-V 포지티브, 평균 \pm S.D., n=3). 패널 C 및 F에서 진전 곡선상의 점들은 DNA 내용물에 의해 게이팅된 세포들의 평균 백분율을 나타낸다(PI 포지티브, 평균 \pm S.D., n=2). 패널 A에서, WSU-DLCL2 세포들에는 화합물 44 및 에베로리무스의 조합을 400:1의 일정한 비율로 처리하였다. 상기 조합은 CI 값 0.34 내지 0.003으로 매우 강력한 상승효과를 유도하는 것으로 나타났다. 패널 B에서, 세포자살 수준을 화합물 44(500 nM), 에베로리무스(5 nM), 또는 이것들의 조합(동일 농도들)으로 처리한 WSU-DLCL2 세포들에서 평가하였다. WSU-DLCL2 세포에서 세포자살이 증가하지 않았음이 확인되었다. 패널 C에서, 화합물 44 단독 처리시와 비교되게, 공동 처리시 세포주기 중 G1기의 유의적 증가가 관찰되었다. 패널 D에서, SU-DHL-5 세포들을 4000:3의 일정 비율로 조합 처리하였다. 이와 같은 조합은 CI값 0.135 내지 0.008로 매우 강력한 상승효과를 유도하는

것으로 나타났다. 패널 E에서, 화합물 44 단독 처리시와 비교되게, 공동 처리시(500 nM 화합물 44, 0.75 nM 에베로리무스) Annexin 포지티브 세포의 유의적 증가가 관찰되었다($p < 0.0001$). 패널 F에서, 공동 처리시 세포주기 중 서브 G1기의 유의적 증가가 관찰되었다.

[0230] 실시예 3

[0231] **화합물 44와 이브루티닙은 상승 작용하여, EZH2 돌연변이체 WSU-DLCL2 세포 및 야생형 EZH2 SU-DH-L5 세포에서의 세포 자살을 촉진한다.**

[0232] 도 12의 패널 B 및 E에 있어서, 각각의 점은 초기 및 후기 세포자살에 있어서 게이팅된 세포들의 백분율 평균을 나타낸다(Annexin-V 포지티브, 평균 \pm S.D., $n=3$). 패널 C 및 F에서 진전 곡선상의 점들은 DNA 내용물에 의해 게이팅된 세포들의 평균 백분율을 나타낸다(PI 포지티브, 평균 \pm S.D., $n=2$). 패널 A에서, WSU-DLCL2 세포들은 화합물 44 및 이브루티닙의 조합을 4:5의 일정한 비율로 처리하였다. 이와 같은 제제들의 조합은 CI값 0.39 내지 0.14로 강력한 상승효과를 나타내었다. 패널 B에서, 세포자살 수준을 화합물 44(500 nM), 이브루티닙(625 nM), 또는 이것들의 조합으로 처리한 WSU-DLCL2 세포들에서 평가하였다. 이와 같은 조합은, WSU-DLCL2 세포에서 세포자살의 시간 의존 상승적 증가가 일어났음이 확인되었다. 패널 C에서, 세포주기 분석은, G1기에 있는 WSU-DLCL2 세포들의 백분율이 시간 의존적으로 증가하였음(다만, 조합 처리후 가파르게 증가함)을 규명하였다. 패널 D에서, SU-DHL-5 세포들을 화합물 44:이브루티닙이 1:5의 일정한 비율로 처리하였다. 상기 조합은 CI값 0.222 내지 0.002로 매우 강력한 상승효과를 유도하였다. 패널 E에서는, 화합물 44 단독 처리시와 비교되게 ($p < 0.0001$), 화합물 44(1000 nM) 및 이브루티닙(2500 nM) 공동 처리후 SU-DHL-5 세포의 Annexin 포지티브 염색 진하기의 상승적이면서도 시간 의존적인 증가가 관찰되었다. 패널 F에서, 조합 처리된 SU-DHL-5 세포들의 세포주기 분석은, 각각의 제제들의 단독 처리시와 비교되게, 상기 제제들의 공동 처리후 서브 G1기에 있는 모집단의 세포가 증가함을 규명하였다.

[0233] 실시예 4

[0234] **화합물 44와 MK-2206은 상승 작용하여, EZH2 돌연변이체 WSU-DLCL2 세포 및 야생형 EZH2(SU-DH-L5 및 OCI-LY-19) 세포에서의 세포 자살을 촉진한다.**

[0235] 도 13의 패널 A에 있어서, WSU-DLCL2 세포들을 4:1의 일정 비율로 화합물 44 및 MK-2206의 조합으로 처리하였다. Fa-CI 플롯은 CI값 0.77 내지 0.005로 매우 강력한 상승효과를 나타낸다. 패널 B에서, 화합물 44(2000 nM) 및 MK-2206(400 nM)을 공동 처리할 때, Annexin 포지티브 WSU-DLCL2 세포 백분율은 시간 의존적으로 증가하였다. 패널 C에서, 세포주기 분석은 G1기에 있는 WSU-DLCL2 세포들의 백분율이, 화합물 44 단독 처리하였을 때와 비교되게 화합물 44 및 MK-2206을 공동 처리하고 나서 제1 일째되는 날에 가파르게 증가되었음을 규명하였다($p < 0.0001$). 패널 D에서, SU-DHL-5 세포들을 화합물 44 및 MK-2206 2:1의 일정 비율로 처리하였다. 상기 조합은 CI값 0.276 내지 0.001로 매우 강력한 상승효과를 유도하였다. 패널 E에서, SU-DHL-5를 대상으로 행하여진 세포자살 수준 평가는, 화합물 44 단독 처리하였을 때와 비교되게, 24 시간 동안 공동 처리(500 nM 화합물 44, 250 nM MK-2206)를 행하였을 때 Annexin 포지티브 세포가 증가하였음을 규명하였다($p < 0.0001$). 패널 F에서, 조합하여 처리한 SU-DHL-5 세포의 세포주기 분석은, 제제들이 개별적으로 처리되었을 때와 비교되게, 서브 G1기 모집단의 세포수 백분율 증가를 나타내었다. 패널 G에서는, 화합물 44 및 MK-2206 조합 처리에 의해 OCI-LY19 세포에서 $1/\alpha$ 값 71.4로 강력한 상승효과가 관찰되었다. 패널 H에서는, OCI-LY19 세포들을 조합 처리하였을 때(1000 nM 화합물 44, 2500 nM MK-2206), 화합물 44 단독 처리하였을 때와 비교되게 세포자살의 시간 의존적 증가가 나타났다($p < 0.0001$). 패널 I에서, 조합 처리된 OCI-LY19 세포들의 세포주기 분석은 세포주기의 서브 G1기에 있는 세포들이 시간 의존적으로 증가하였음을 규명하였다($p < 0.0001$).

[0236] 실시예 5

[0237] **화합물 44와 BCR 경로 억제제의 조합으로 인한 표적 유전자들의 조절**

[0238] 도 14의 패널 A에서, WSU-DLCL2 세포에서의 화합물 44와 이브루티닙의 조합으로 인한 EGR1 및 FOS의 하향 조절(각각 단일 제제 투여시의 40 배 및 4 배)은, 단일 제제로 인한 EGR1 및 FOS의 하향조절과 비교된다. 패널 B에서, WSU-DLCL2 세포에서의 화합물 44와 MK-2206의 조합으로 인한 AICDA 및 TCL1A의 상향조절(각각 단일 제제 투여시의 3 배 및 5 배)은, 단일 제제로 인한 AICDA 및 TCL1A의 상향조절과 비교된다. 패널 C에서, SU-DHL-5 세포에서의 화합물 44와 이브루티닙의 조합으로 인한 GJA1의 상향조절(단일 제제 투여시의 3 배)은, 단일 제제 투여로 인한 GJA1의 상향조절과 비교되었다. 통계학적 분석에 대한 값은 2 회 또는 3 회 반복 실험의 평균 \pm SD이다(t 검정, $*P < 0.05$, $**P < 0.01$, $***P < 0.001$, $****P < 0.0001$).

- [0239] 실시예 6
- [0240] 배 중심 B 세포주에 있어서 EZH2 억제와 BCR 신호전달 경로 조정, BCL2 억제와 GR 길항작용 사이의 상승적 상호작용들
- [0241] 본 연구에서는, DLBCL 생물학에 연루된 신호전달 경로의 핵심 작동자들을 사용하여 몇몇 상승적 조합들을 규명하였다(도 15 참조). B 세포 수용체 경로의 소절 표적화 억제제, 예를 들어 PI3K/Akt/mTOR 신호전달 캐스케이드의 억제제, MAPK 캐스케이드의 MEK1/2, SYK 및 BTK는, 돌연변이체 EZH2 보유 GCB 세포주들로부터 야생형 아형의 세포주들에 이르기까지 EZH2 억제의 영향력을 확장하는 EZP-6438과 병용될 때, 매우 강력한 상승효과를 나타내었다. 단백질의 BCL-2과의 억제제, 오바토클락스, 나비토클락스 및 ABT-199는, 화합물 44와의 조합시 상승적인 항증식 활성을 나타내었다. 글루코코르티코이드 수용체 작동제, 프레드니솔론 및 텍사메타손은 돌연변이체 세포주에 있어서 EZH2 억제의 극적인 증가를 나타내고, EZH2i에 야생형을 감작시킨다. 리툭시맵, 즉 R-CHOP의 화학요법제와 결합된 항체는 cd-20을 표적화하여, 돌연변이체 세포주에서 시험관 내 증가된 항증식 효과를 유도해낸다.
- [0242] 실시예 7.
- [0243] 화합물 44와 에베로리무스는 상승 작용하여, 돌연변이체 WSU-DLCL2 세포들 중 S기 및 G2/M기에 있는 세포들, 그리고 야생형 SU-DHL-5 세포들 중 G1, S 및 G2/M기에 있는 세포들의 모집단을 감소시킨다.
- [0244] WSU-DLCL2, SU-DHL-5 및 OCI-LY19(테이터는 나타내지 않음) 세포들을 화합물 44(WSU 및 SU-DHL-5의 경우 500 nM)로 전처리한 후, 화합물 44와 에베로리무스의 조합(WSU: 5 nM, SU-DHL-5: 0.75 nM)으로 공동 처리하였. 도 16의 패널 A에 있어서, WSU-DLCL2 세포들을 단일 제제들 또는 이 제제들의 조합으로 처리할 때, 세포주기의 서브 G1기에는 변화가 나타나지 않는다. 패널 B 및 C에 있어서, WSU-DLCL2 세포들을 조합으로 처리할 때, 세포주기 중 S기와 G2/M기에 있는 세포들은 각각 시간에 의존하는 상승적 감소를 나타낸다. 패널 D, E 및 F에 있어서, SU-DHL-5 세포들이 공동 처리되고 나서 48 시간 경과시, 세포주기 중 G1, S 및 G2/M 기에 있는 세포들 각각의 상승적 감소를 나타낸다.
- [0245] 실시예 8
- [0246] 화합물 44와 이브루티닙은 상승 작용하여, 돌연변이체 WSU-DLCL2 세포들 그리고 야생형 SU-DHL-5 세포들 중 G1, S 및 G2/M기에 있는 세포들의 모집단을 감소시킨다.
- [0247] WSU-DLCL2, SU-DHL-5 및 OCI-LY19(테이터는 나타내지 않음) 세포들을 화합물 44(WSU: 500 nM, SU-DHL-5: 1000 nM)로 전처리한 후, 화합물 44와 이브루티닙의 조합(WSU: 625 nM, SU-DHL-5: 2500 nM)으로 공동 처리하였다. 도 17의 패널 A, B 및 C에 있어서, WSU-DLCL2 세포들을 단일 제제로서 화합물 44 또는 이브루티닙으로 처리하였을 때와 비교되게, 조합 처리하고 나서 24 시간 경과시, 세포주기의 G1, S 및 G2/M기에 있는 세포들은 상승적으로 감소하였다. 패널 D, E 및 F에 있어서, SU-DHL-5 세포들을 공동 처리하고 나서는, 단일 제제로서 화합물 44 또는 이브루티닙으로 처리되었을 때와 비교되게, 세포주기 중 G1, S 및 G2/M 기에 있는 세포들 각각의 시간에 의존하는 상승적 감소를 나타낸다.
- [0248] 실시예 9
- [0249] 화합물 44와 MK-2206은 상승 작용하여, 돌연변이체 WSU-DLCL2 세포들 그리고 야생형 SU-DHL-5 및 OCI-LY19 세포들 중 G1, S 및 G2/M기에 있는 세포들의 모집단을 감소시킨다.
- [0250] WSU-DLCL2, SU-DHL-5 및 OCI-LY19 세포들을 화합물 44(각각 2000 nM, 500 nM, 1000 nM)로 전처리한 후, 화합물 44와 MK-2206의 조합(각각 400 nM, 250 nM 및 2500 nM)으로 공동 처리하였다. 도 18의 패널 A에 있어서, WSU-DLCL2 세포들을 MK-2206과 조합 처리하였을 때, 세포주기의 G1기에는 시간 의존 상승적 감소가 나타난다. 패널 B 및 C에 있어서, WSU-DLCL2 세포들을 조합 처리하였을 때, 세포주기 중 S기 및 G2/M기에 있는 세포들의 상승적 감소가 각각 나타난다. 패널 D, E 및 F에 있어서, 단일 제제 처리시와 비교되게, SU-DHL-5 세포들을 공동 처리하고 나서 48 시간 경과시에는 세포주기 중 G1, S 및 G2/M 기에 있는 세포들의 상승적 감소가 각각 나타난다. 패널 G, H 및 I에 있어서, OCI-LY19 세포들을 조합 처리하였을 때, 세포주기 중 G1, S 및 G2/M기에 있는 세포들의 시간 의존 상승적 감소가 각각 나타난다.
- [0251] 야생형 및 EZH2 돌연변이체 보유 DLBCL 세포주들에 대한, 화합물 44와 개별 SOC, 또는 기타 선택되는 제제들의 조합이 사용되는 증식 연구들의 결과들은 표 5에 나타내어져 있다.

[0252] [표 5]

[0253] 증식 연구의 결과들

	WSU-DLCL2		SU-DHL-10		SU-DHL-5		DOHH2	OCI-LY19	Toledo
화합물	CR	CI 범위 또는 1/a	CR	CI 범위 또는 1/a	CR	CI 범위 또는 1/a	1/a	1/a	1/a
프레드니솔론		9.7		4.2		7.6	9.5	4.2	효과없음
텍사메타손		17 ^b		3.7	400:1	0.42-0.076	4.2	7.7	효과없음
ABT-199	4:3	0.27-0.002	3:200	1.2-1.4 ^e		효과없음	1.9 ^b	4.20	1.9 ^b
나비토클락스	1:5	0.42-0.067	1:100	0.90-0.36 ^a		효과없음	1.5 ^b	6.60	효과없음
오바토클락스	40:3	1.10 ^e	1:1	0.91-1.36 ^e	320:1	1.26-1.61 ^e	1.4 ^b	1.50	1.1 ^b
이브루티닙	4:5	0.39-0.14	1:10	0.78-0.062	1:5	0.22-0.002	0.67	효과없음	효과없음
이텔랄리십	1:5	0.31-0.062	3:200	0.64-0.02	2:5	0.24-0.000025	0.59	효과없음	1.1
에베로리무스	400:1	0.34-0.003	100:3	0.65-0.14	4000:3	0.14-0.008	0.83	효과없음	효과없음
타마티닙	1:5	0.24-0.025	3:50	1.1 ^e - 0.061	1:5	0.57-0.19	0.81	효과없음	효과없음
트라메티닙	1:5	0.45-0.16		5.6 ^b	2:5	0.031-0.001	1.2 ^b	효과없음	효과없음
MK-2206	4:1	0.77-0.005	3:20	0.56-0.04	2:1	0.28-0.001	0.64	71.40	1.7 ^b
리톡시맵		2.6							
보르테조밋	400:3	1.4-1.3 ^e	15:1	1.5-1 ^e	1600:1	1.00	0.96	1.67	0.96

[0254]

CR = 조합 비율, CI = 복합 지수

CI 범위는 분수 효과

0.5 초과함

a-1 회의 실험을 기반으로 하였으며, 다른 실험 결과들은 6438 의 최고 농도와 약물 단독의 최고 농도 사이의 IC₅₀ 변동 값임.

b-알파 값을 산정할 수 없었으므로, IC₅₀

변동이 보고됨

c-DMSO 농도 대신 개별 6438 에 대해 정규화된 DOHH2

데이터

d-리톡시맵 농도 (µg/mL)

e-이와 같은 CI 값들은 1 과 유의적으로 상이하지 않았음.

[0255]

[0256] 증식 분석에서 사용된 화합물들의 효능과, 각각의 세포주에서 적용된 용량 범위들은 표 6에 나타내어져 있다.

[0257] [표 6]

[0258] 화합물의 효능 및 용량 범위

	GCB 이형 EZH2 Y646F				GCB 아형 WT EZH2							
	WSU-DLCL2		SU-DHL-10		SU-DHL-5		DOHH-2		OCI-LY19		Toledo	
	효능 (nM)	약물 범위 (nM)	효능 (nM)	약물 범위 (nM)	효능 (nM)	약물 범위 (nM)	효능 (nM)	약물 범위 (nM)	효능 (nM)	약물 범위 (nM)	효능 (nM)	약물 범위 (nM)
프레드니솔론	90.6	7.8-1000	>1000	7.8-1000	39	0.62-5-80	133	7.8-1000	47	0.78-100	>1000	7.8-1000
덱사메타손	>1000	0.78-100	>100	0.78-100	3.4	0.07-8-10	5.6	1.56-200	79	0.078-10	>100	0.78-100
ABT-199	1942	23.4-3000	3037	78-1000	>1000	78-1000	77	7.8-1000	53	1.56-200	190	4.69-600
나비토클락스	3539	78-1000	>10,000	78-1000	>1000	78-1000	540	78-1000	131	15.6-2000	590	11.7-1500
오바토클락스	59	1.2-50	19.5	0.78-100	9.8	0.39-50	51	1.56-200	42	1.56-200	96	1.17-150
이브루티닙	277.7	39-5000	1146	187-3000	1327	312-5000	956	39-5000	>10000	78-10000	>1000	78-10000
이텔랄리십	2046	78-1000	8433	1250-1000	2587	78-1000	2984	78-1000	>10000	78-10000	9796	78-10000
에베쿨리무스	0.653	0.03-5	0.854	0.09-6	0.72	0.09-3	0.13	0.07-8-5	ND	7.8-1000	0.1	0.078-10
타마티닙	3415.2	78-1000	2214	312.5-5000	3761	313-1000	1209	78-1000	>10000	78-10000	3200	78-10000
트라메티닙	8608	78-1000	>10,000	78-1000	>1000	78-1000	>1000	78-1000	ND (*>10,000 prism)	78-10000	>1000	78-10000
MK-2206	127	7.8-500	274.6	7.8-500	162	7.8-1000	86	7.8-1000	304	78-1000	95	7.8-1000
리톡시맙	>10 ^a	10-0.39										
보르테조밐	6.5	0.94-7.5	8.6	5.0-20	4	0.04-5	6.6	0.07-8-10	12	0.23-30	4.3	0.12-15
화합물 44	310	31-2000	73	3.1-200	3300	62-4000	>1000	31.3-2000	>10000	125-8000	>1000	15.6-1000

[0259]

GCB 이형 EZH2 Y646F				GCB 아형 WT EZH2							
WSU-DLCL2		SU-DHL-10		SU-DHL-5		DOHH-2		OCI-LY19		Toledo	

a-리톡시맙의 농도(μg/ml)
 나열된 IC₅₀ 값들은, Toledo 의 경우(5 일 동안 투여된 후 산정됨)를 제외하고 3 일 동안 투여된 후에 산정됨.
 화합물 44 의 IC₅₀ 값들은, 모든 세포주에 대해 Toledo 의 경우(11 일 동안 처리된 후 산정됨)를 제외하고 7 일 동안 처리된 후에 산정됨

[0260]

[0261] 참고문헌으로서의 포함

[0262] 본원에 인용된 모든 간행물들과 특허 문서들은, 마치 이러한 간행물이나 문서 각각이 본원에 참고로 포함되어 있다고 구체적으로 그리고 개별적으로 기술된 것처럼, 본원에 참고로 포함되어 있다. 간행물들과 특허 문헌들에 관한 인용은 임의의 문헌이 선행 기술과 관련되어 있음을 인정하는 것으로서 의도되지 않을 뿐만 아니라, 이러한 문헌의 내용이나 날짜에 관하여 어떤식으로든지 인정하는 것을 구성하는 것도 아니다. 당업자는, 이제 서술된 설명에 의해 기술된 본 발명을 다양한 구현예들로 실행할 수 있으며, 상기 설명과 그 뒤에 오는 실시예들은 설명의 목적을 위한 것이지, 이하에 첨부된 청구항들을 제한하는 것은 아님을 인지할 것이다.

[0263] **균등물들**

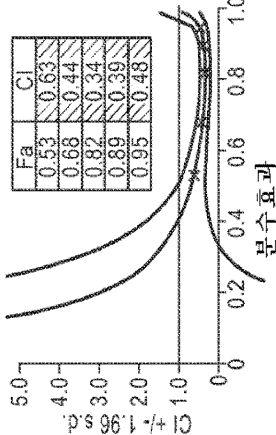
[0264] 본 발명은 본 발명의 사상이나 본질적인 특징들로부터 벗어나지 않고 다른 특정 형태로서 구현될 수 있다. 따라서, 상기 구현예들은 모든 관점에서 본원에 기술된 발명을 제한한다기보다는 예시하는 것으로서 간주될 것이다. 그러므로 본 발명의 범주는 상기 설명에 의하기 보다는 첨부된 청구범위에 의해 지정되며, 청구항의 균등 범위와 의미에 속하는 모든 변화들은 본 발명에 포함되어야 한다.

도면

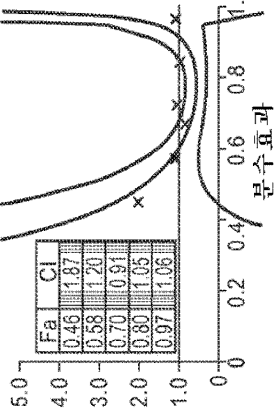
도면1

WSU-DLCL2 (Y646F)

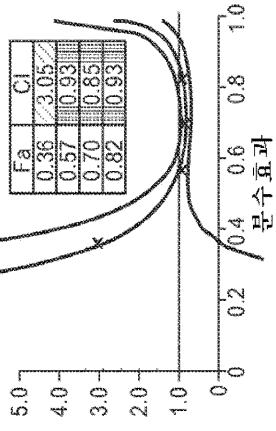
A Cpd 44 + 독소루비신 (50:1)



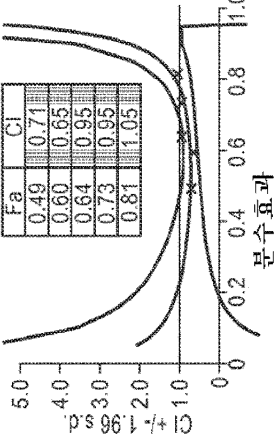
B Cpd 44 + 빈크리스틴 (400:1)



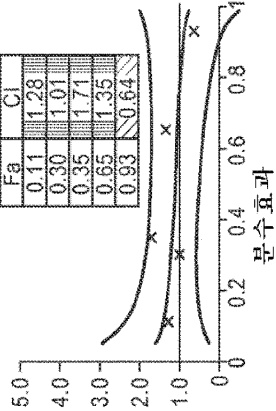
C Cpd 44 + 마포스파미드 (1:20)



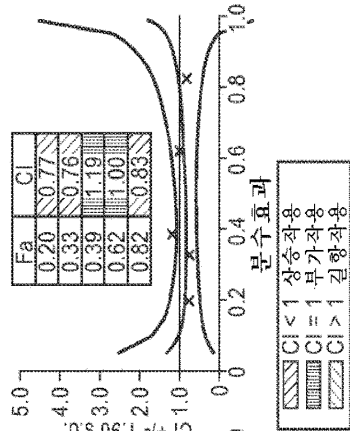
D Cpd 44 + 독소루비신 (10:3)



E Cpd 44 + 빈크리스틴 (800:1)



F Cpd 44 + 마포스파미드 (4:25)



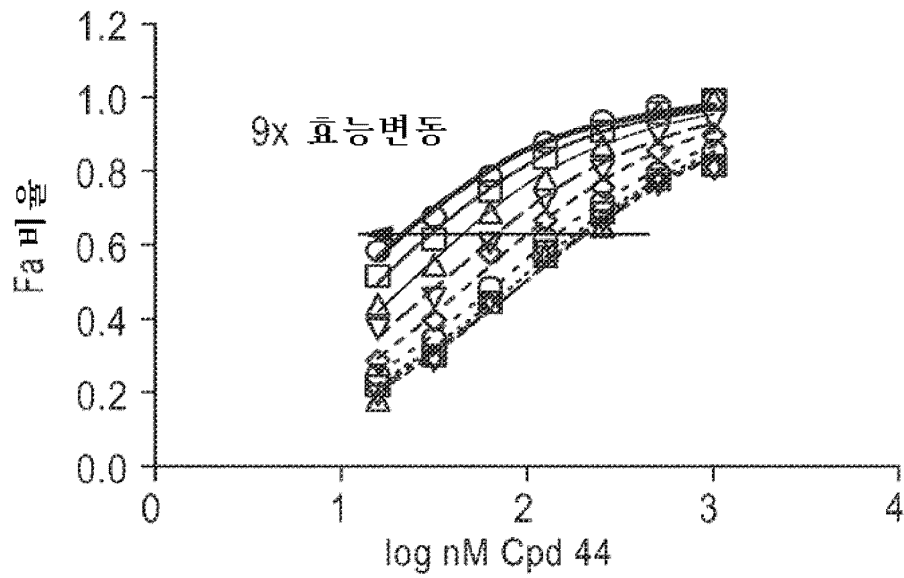
SU-DHL-10 (Y646F)



도면2a

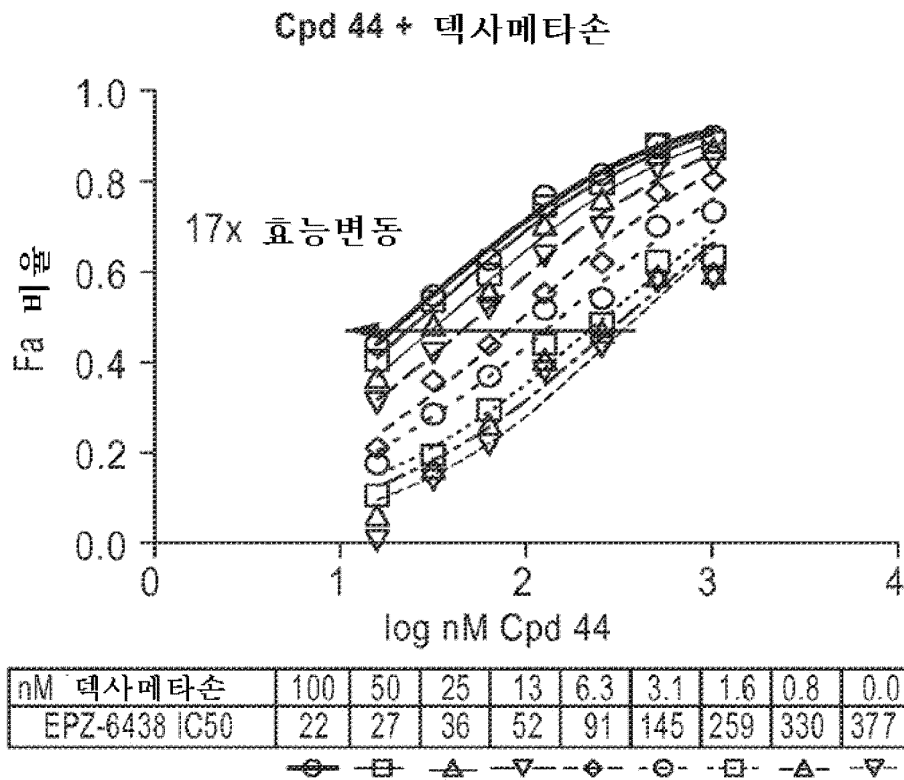
WSU-DLCL2 (Y646F)

Cpd 44 + 프레드니솔론

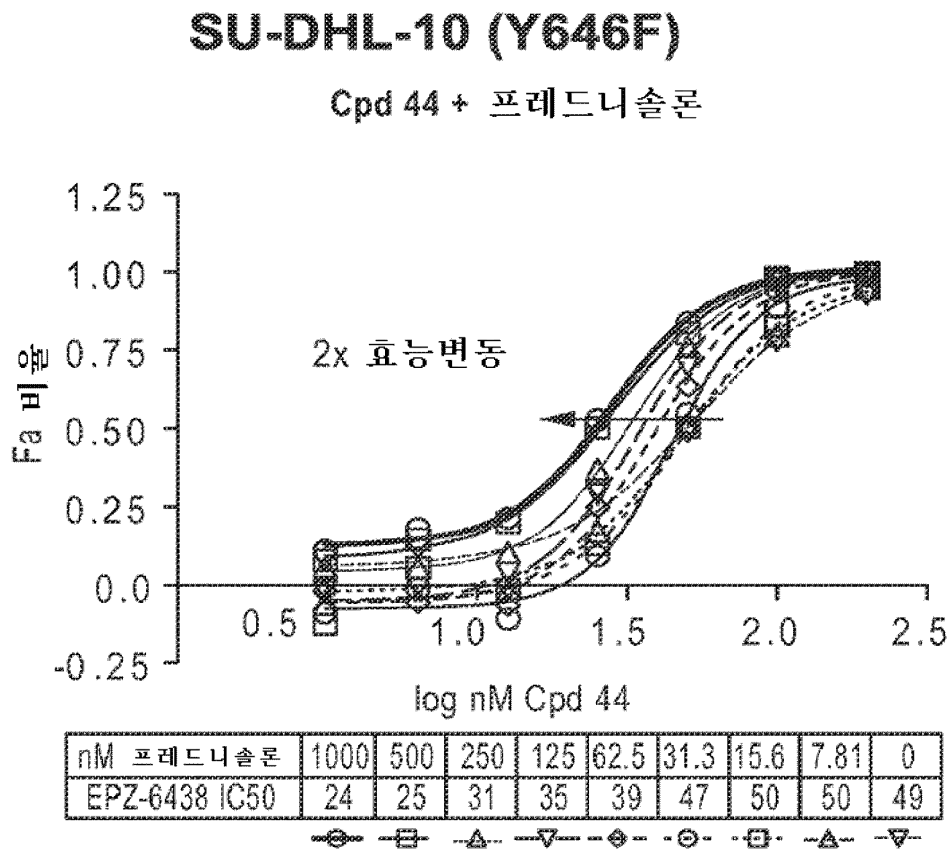


nM 프레드니솔론	1000	500	250	125	62.5	31.3	15.6	7.8	0.0
EPZ-6438 IC60	18	26	38	58	83	121	150	162	167
	—○—	—□—	—△—	—▽—	—◇—	—⊖—	—⊞—	—▲—	—▼—

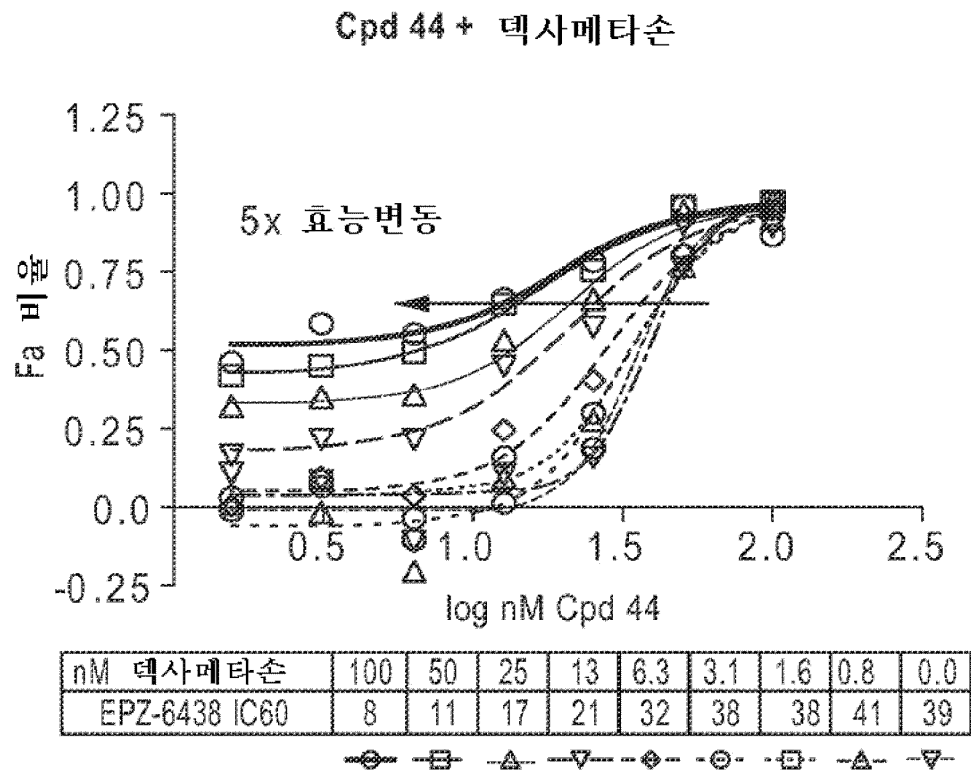
도면2b



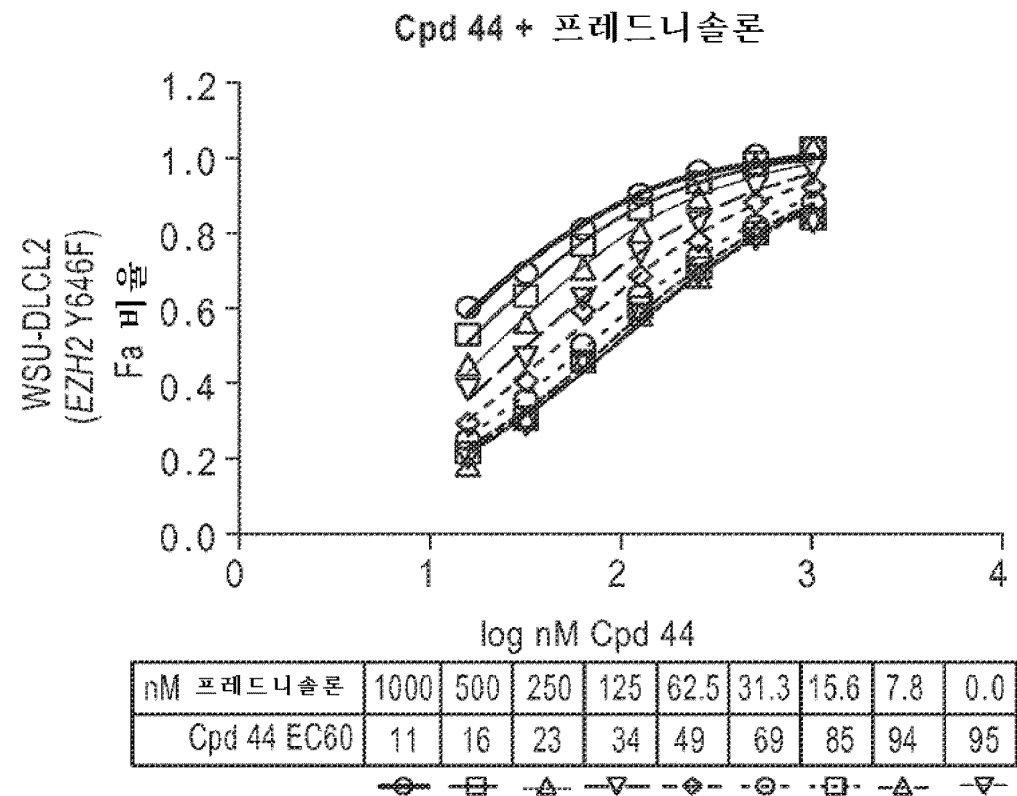
도면2c



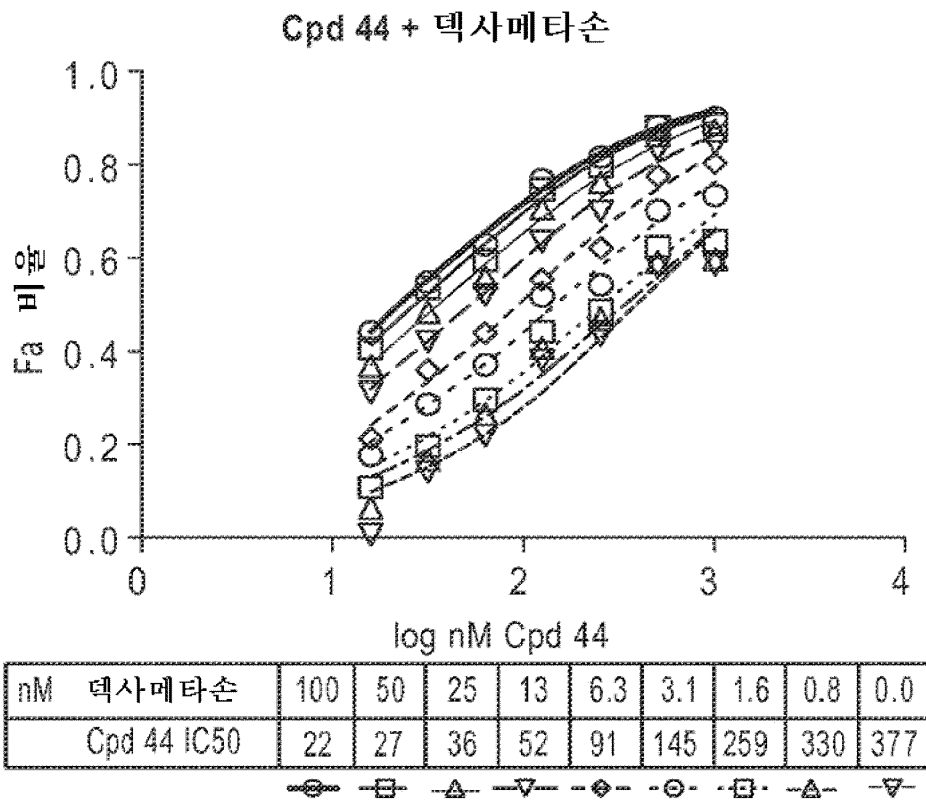
도면2d



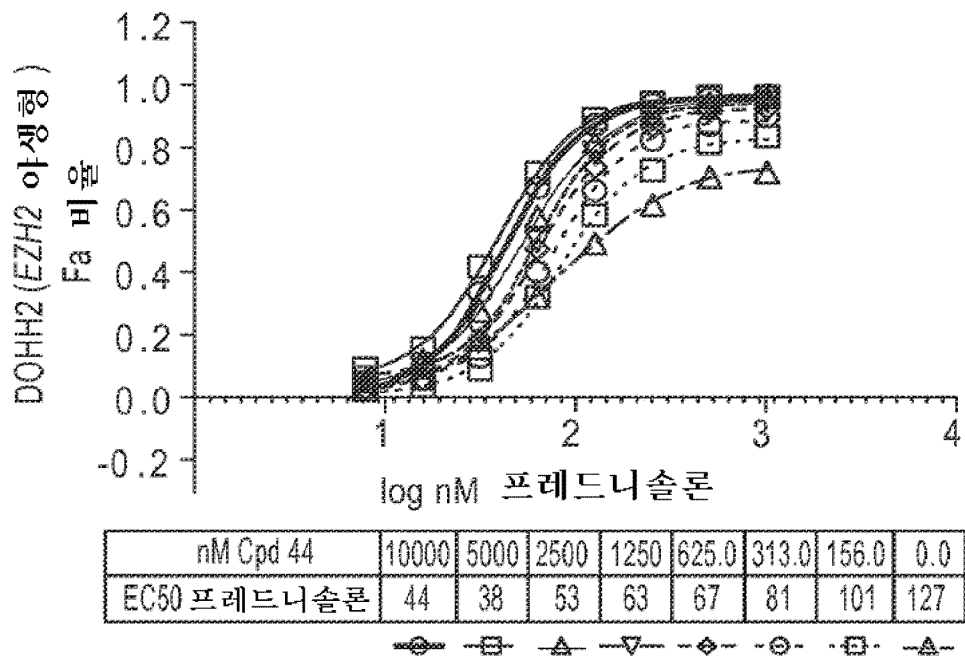
도면3a



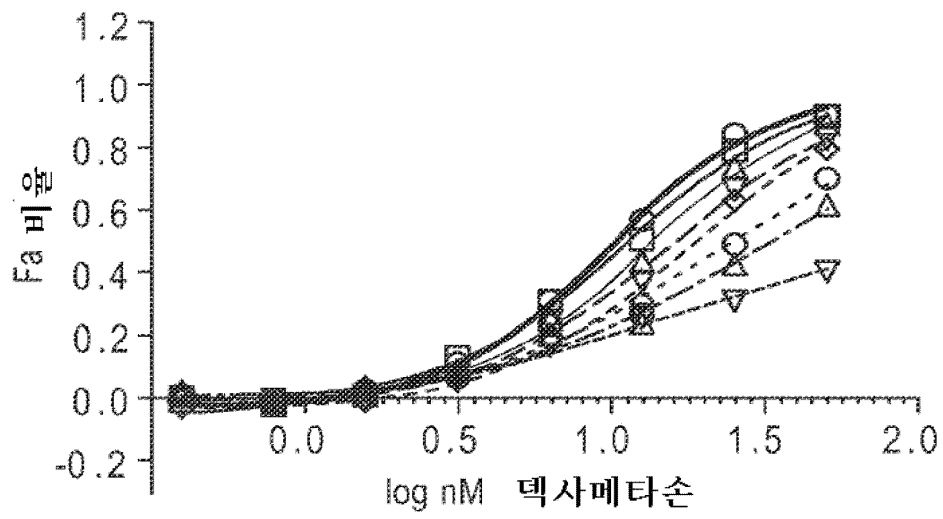
도면3b



도면3c



도면3d



nM Cpd 44	10000	5000	2500	1250	625.0	313.0	156.0	0.0
덱사메타손 IC40	8	9	10	12	14	17	22	44

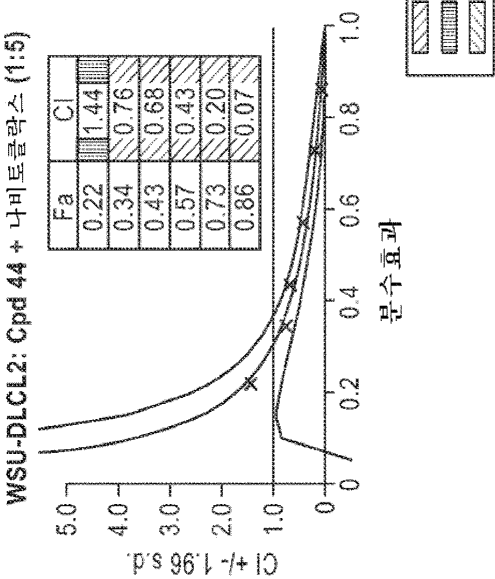
도면4

세포주	4일 Cpd44 IC ₅₀ (uM)		7일 Cpd44 IC ₅₀ (uM)		
	Cpd44 단독처리	Cpd44 공동처리	4일 Cpd44 전처리/ 3일 공동처리	4일 Pred 전처리/ 3일 공동처리	7일 공동처리
WSU (Y646-Sens)	0.53 +/- 0.014	0.020 +/- 0.021	0.011 +/- 0.0062	>1	0.014 +/- 0.0049
SU-DHL10 (Y646-Sens)	0.64 +/- 0.26	0.0092 +/- 0.0044	0.0027 +/- 0.0013	0.52, >1	0.020 +/- 0.0057
RL (Y646-Res)	>1	0.0096 +/- 0.0066	<<0.004	0.38	<0.004
SU-DHL4 (Y646-Res)	>1	>1, 0.2, >1	0.035 +/- 0.043	>1	0.51 +/- 0.35
DOHH2 (WT)	>1	0.20 +/- 0.25	>1, 0.03, >1	>1	0.34 +/- 0.078
OCI-Ly19 (WT)	>1	0.19 +/- 0.11	0.0055 +/- 0.0047	>1	0.026, <0.004

도면5

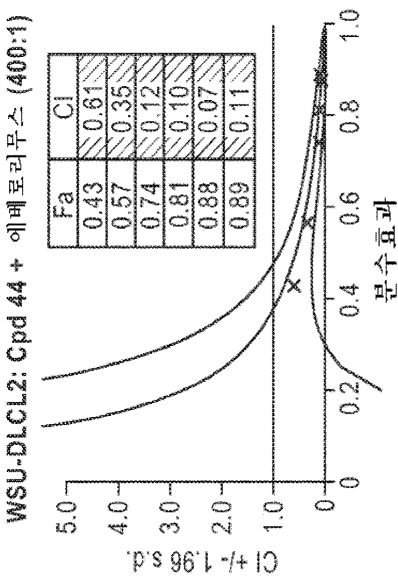
A

Cpd44는 BCL2 억제제-나비토크락스와 상승작용함



B

Cpd44는 mTOR 억제제-에베로리무스와 상승작용함



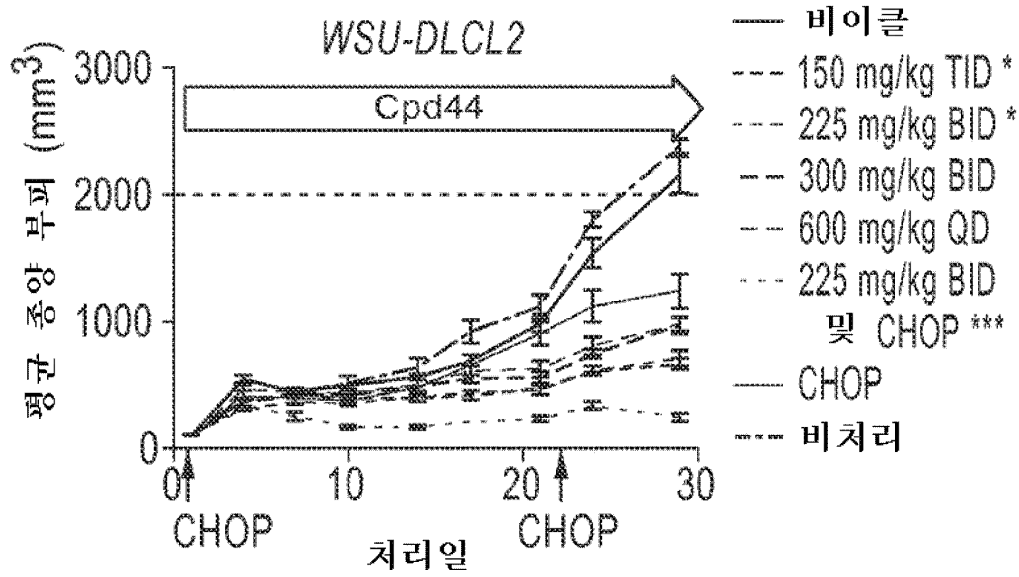
도면6

WSU-DLCL2 (EZH2 돌연변이체 GCB)				SU-DHL-10 (EZH2 돌연변이체 GCB)		Toledo (WT EZH2 GCB)		DOHH2 (WT EZH2 GCB)	
치료기준 DLBCL	프레드니솔론	7x 효능증가	2x 효능증가	2x 효능증가	효과없음	2x 효능증가	효과없음	2x 효능증가	효과없음
	독소루비신	상승작용	부가작용	부가작용	효과없음	효과없음	효과없음	효과없음	효과없음
	미포스파미드	부가작용	부가작용	부가작용	효과없음	효과없음	효과없음	효과없음	효과없음
	빈크리스틴	부가작용	부가작용	부가작용	효과없음	효과없음	효과없음	효과없음	효과없음
	시스플라틴	상승작용	부가작용	부가작용	효과없음	효과없음	효과없음	효과없음	효과없음
	AraC	상승작용	부가작용	부가작용	효과없음	효과없음	효과없음	효과없음	효과없음
후성적 약물	보리노스타트	부가작용	부가작용	부가작용	효과없음	효과없음	효과없음	효과없음	효과없음
	파노비노스타트*	부가작용	테스트 안됨	테스트 안됨	테스트 안됨	테스트 안됨	테스트 안됨	테스트 안됨	테스트 안됨
	아자시타빈	부가작용	테스트 안됨	테스트 안됨	테스트 안됨	테스트 안됨	테스트 안됨	테스트 안됨	테스트 안됨
기타 치료제들	에베로리무스	매우강한 상승작용	강한 상승작용	강한 상승작용	효과없음	효과없음	효과없음	효과없음	효과없음
	덱사메타손	15x 효능증가	5x 효능증가	5x 효능증가	효과없음	4x 효능증가	효과없음	4x 효능증가	효과없음
	나비토클락스	매우강한 상승작용	2x 효능증가	2x 효능증가	테스트 안됨	테스트 안됨	테스트 안됨	테스트 안됨	테스트 안됨
	오비토클락스	부가작용	부가작용	부가작용	효과없음	효과없음	효과없음	효과없음	효과없음

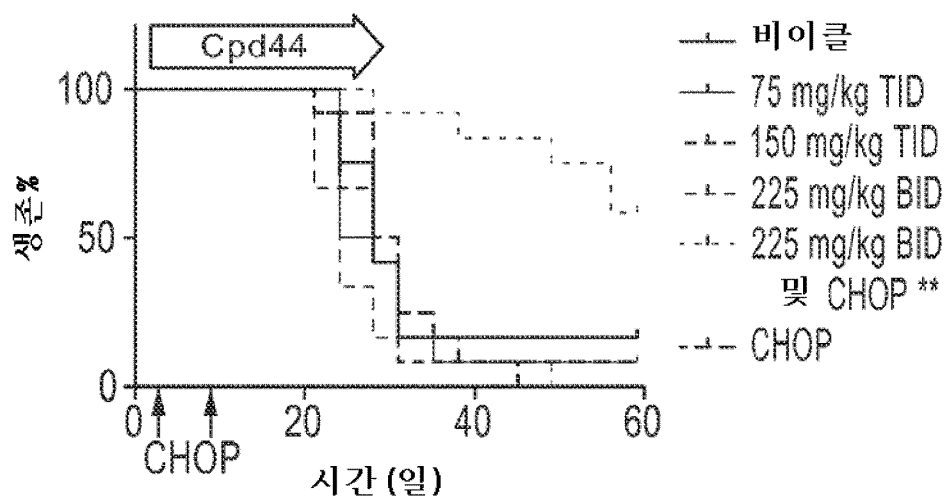
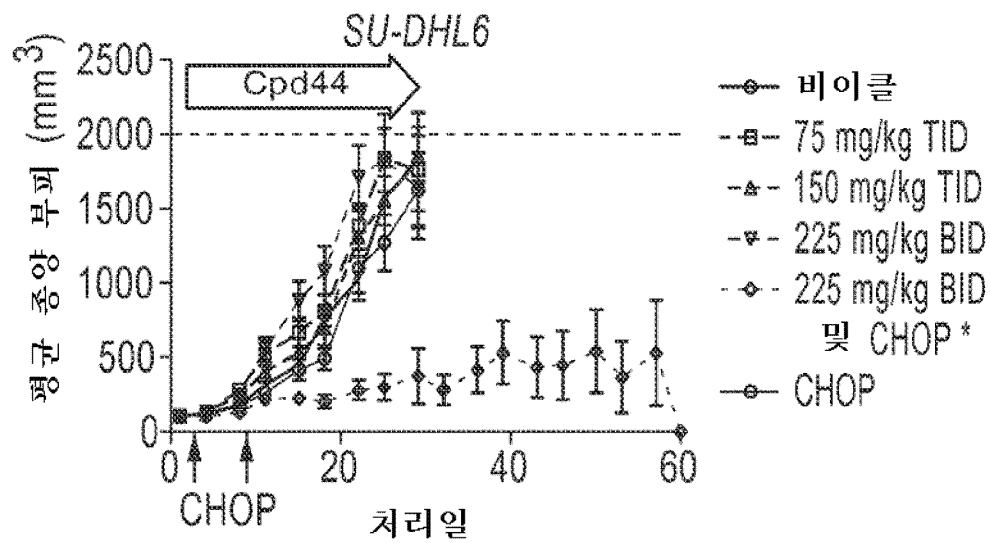
효과없음 = Cpd44 첨가시 약물 IC50에 변화가 없음
 *실험들은 Cpd44대신 EZHi 톨 화합물이 사용되어 수행됨

	Ci < 1	상승작용
	Ci = 1	부가작용
	Ci > 1	결함작용

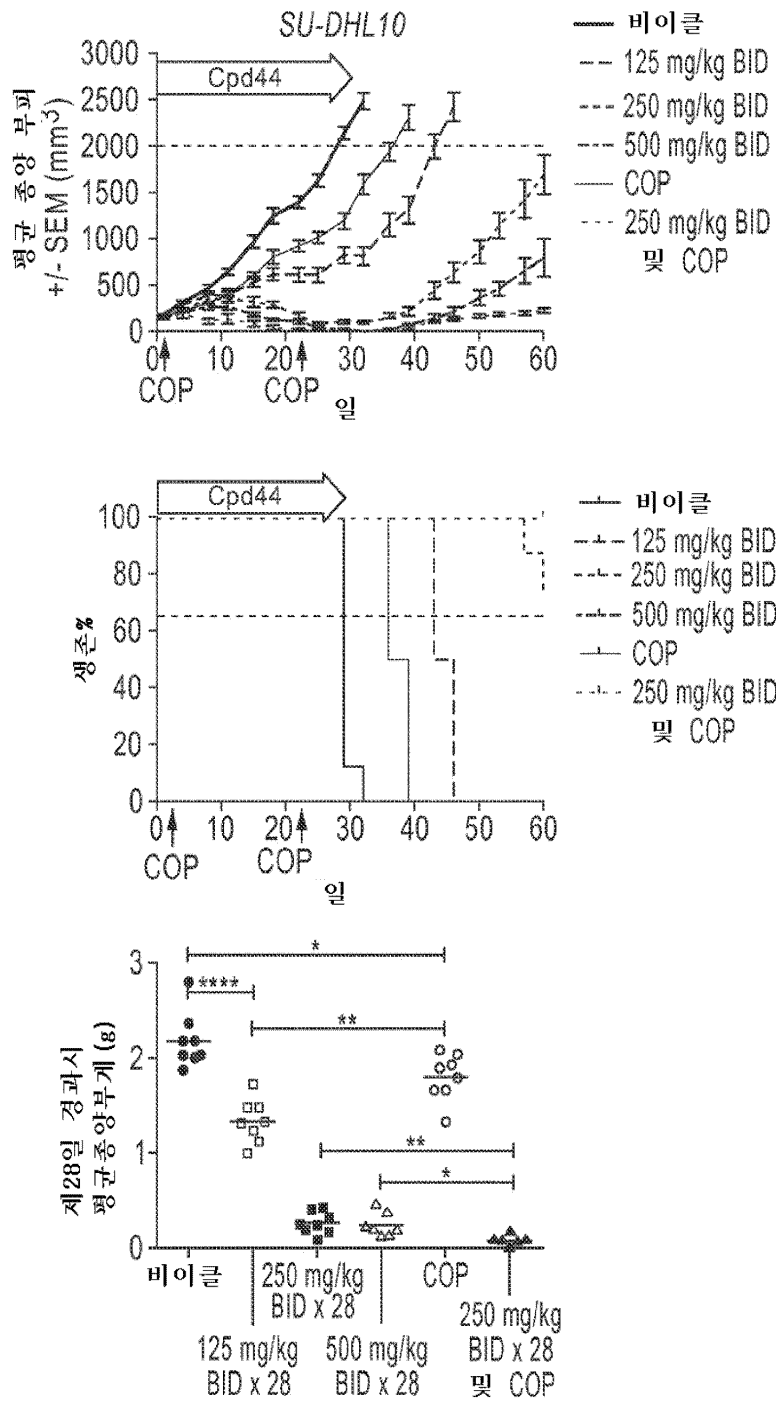
도면7a



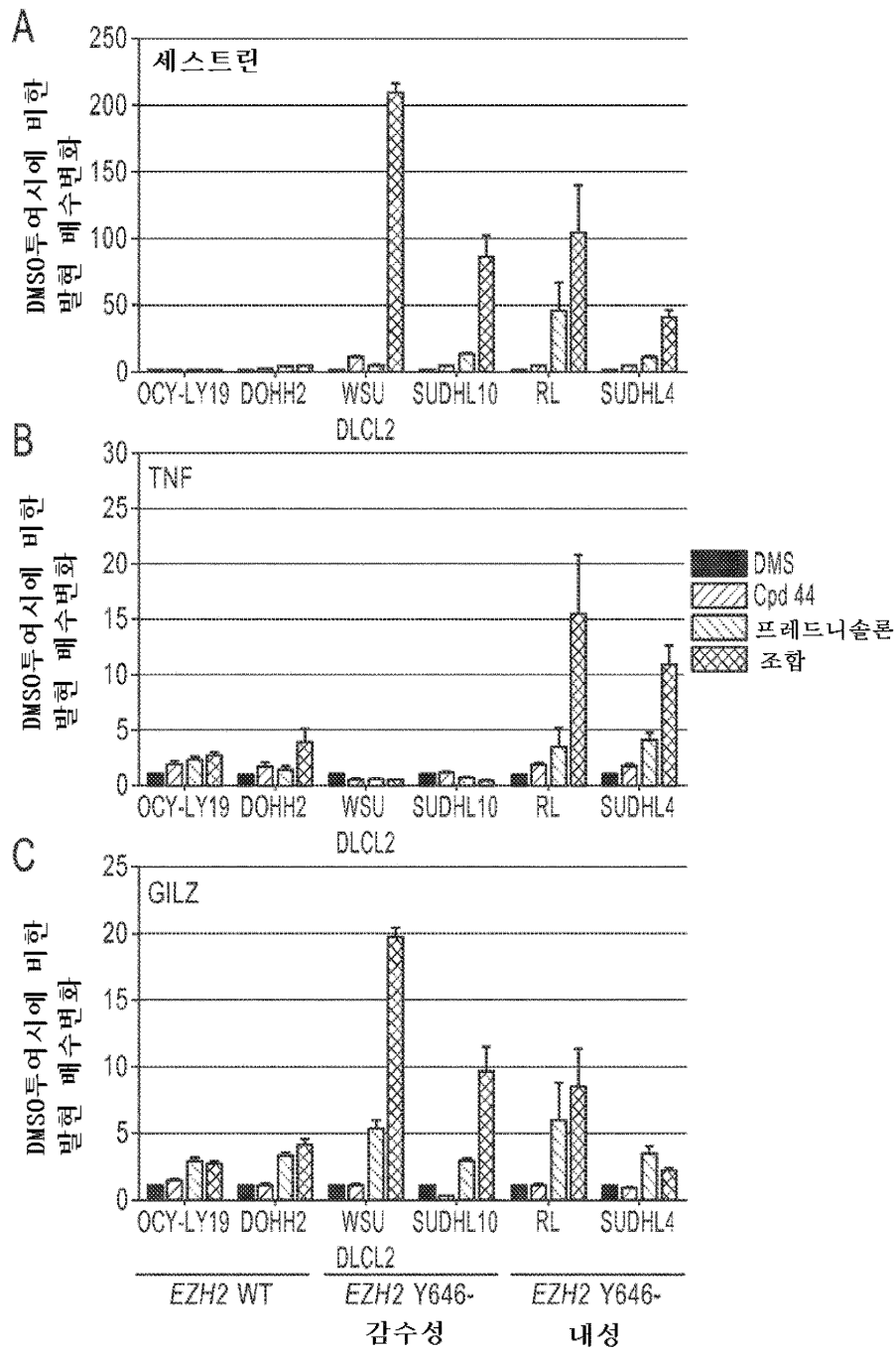
도면7b



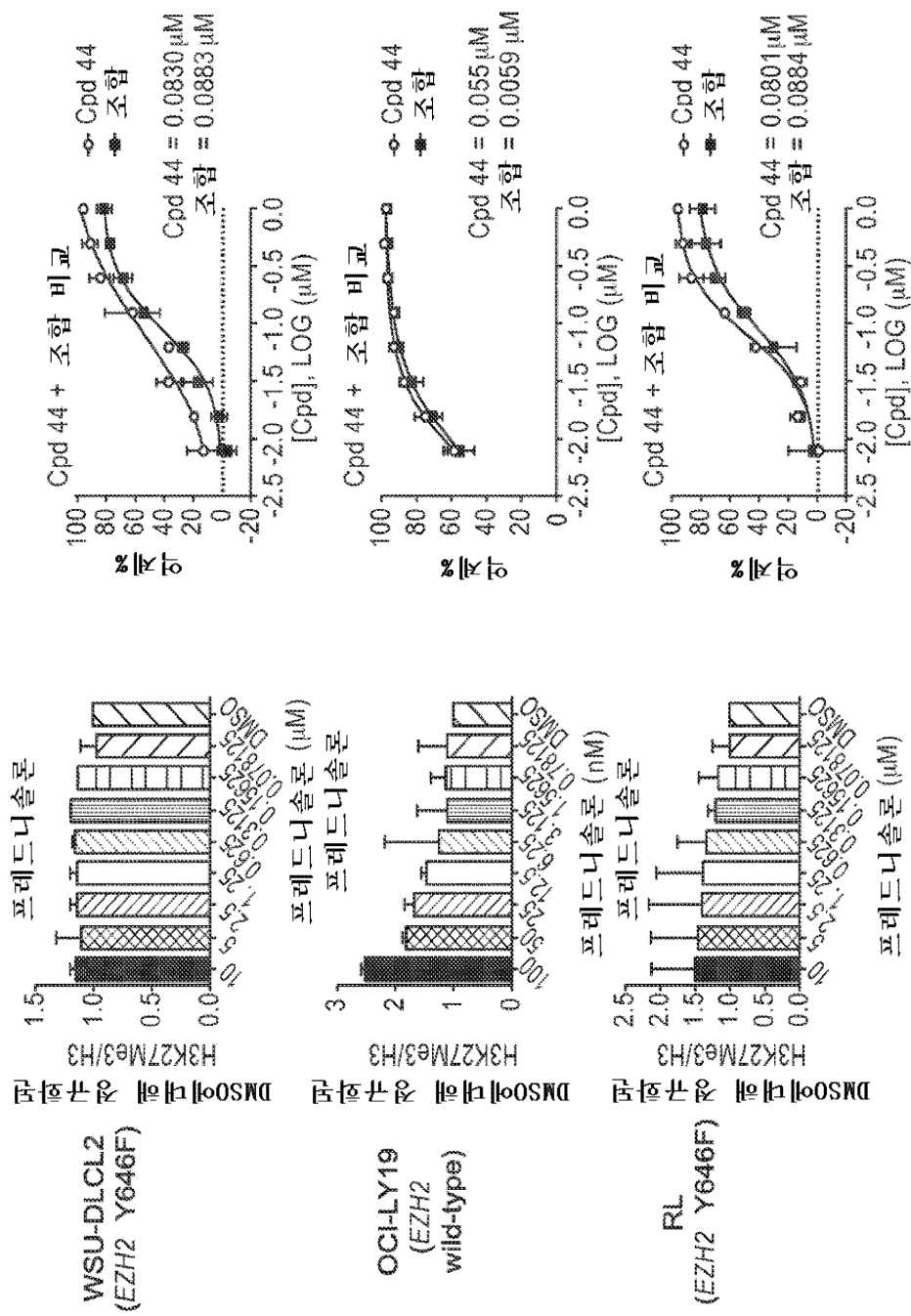
도면7c



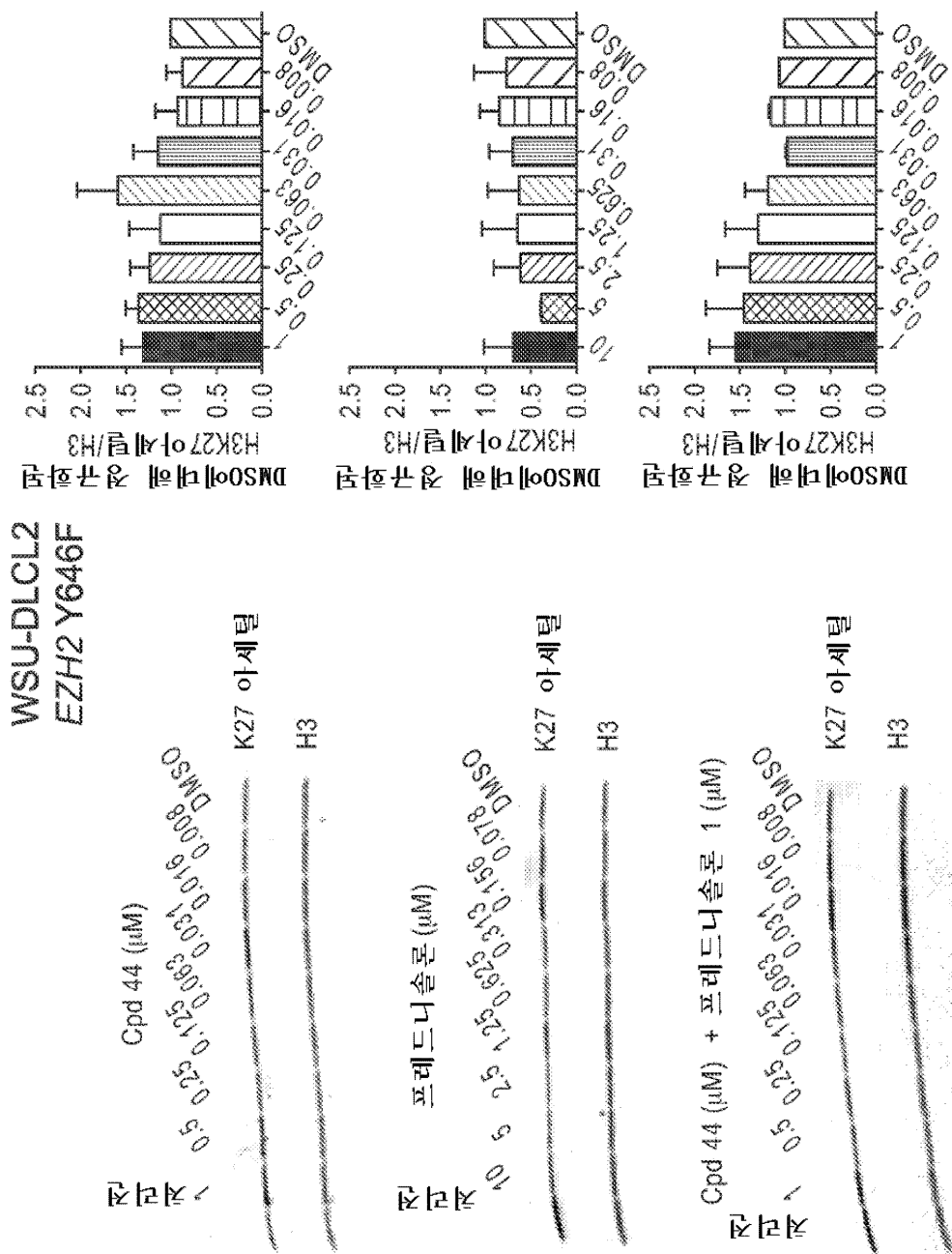
도면8



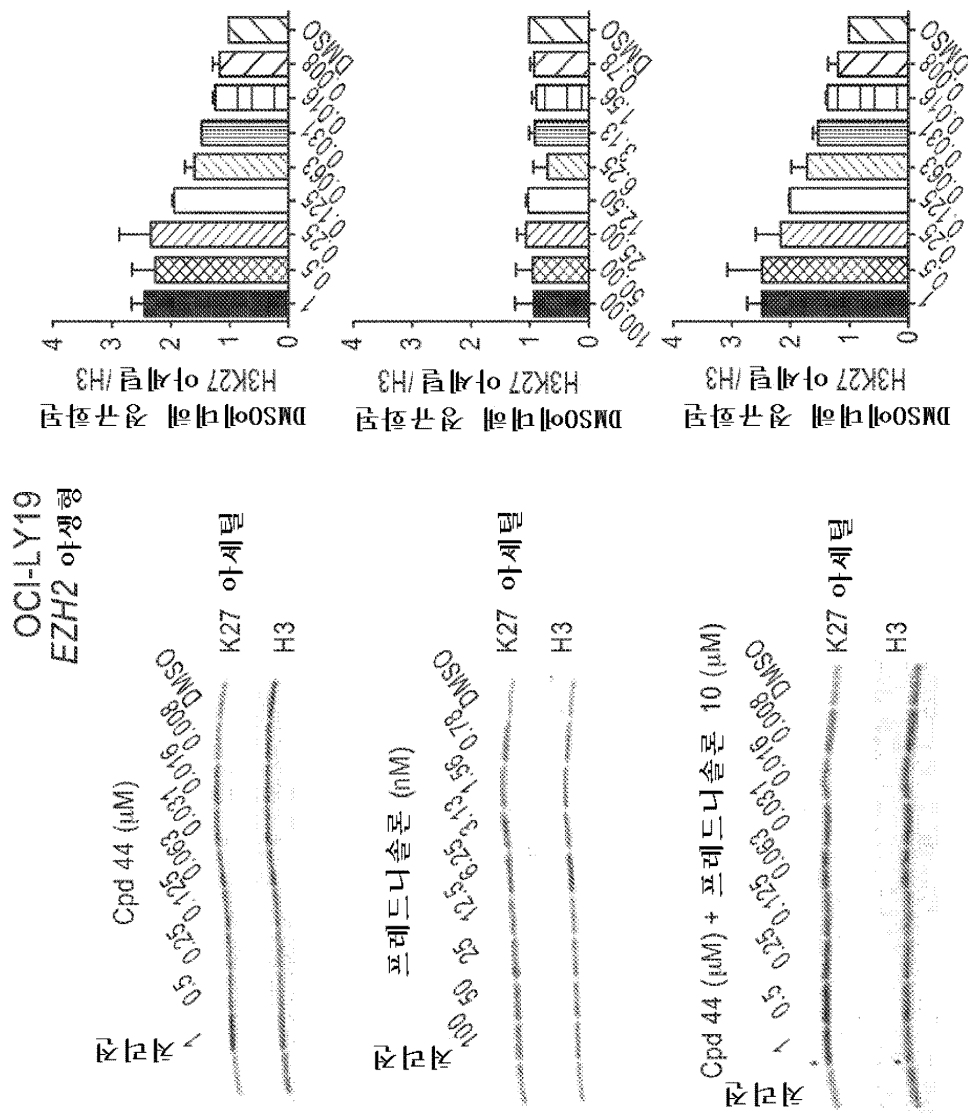
도면9a



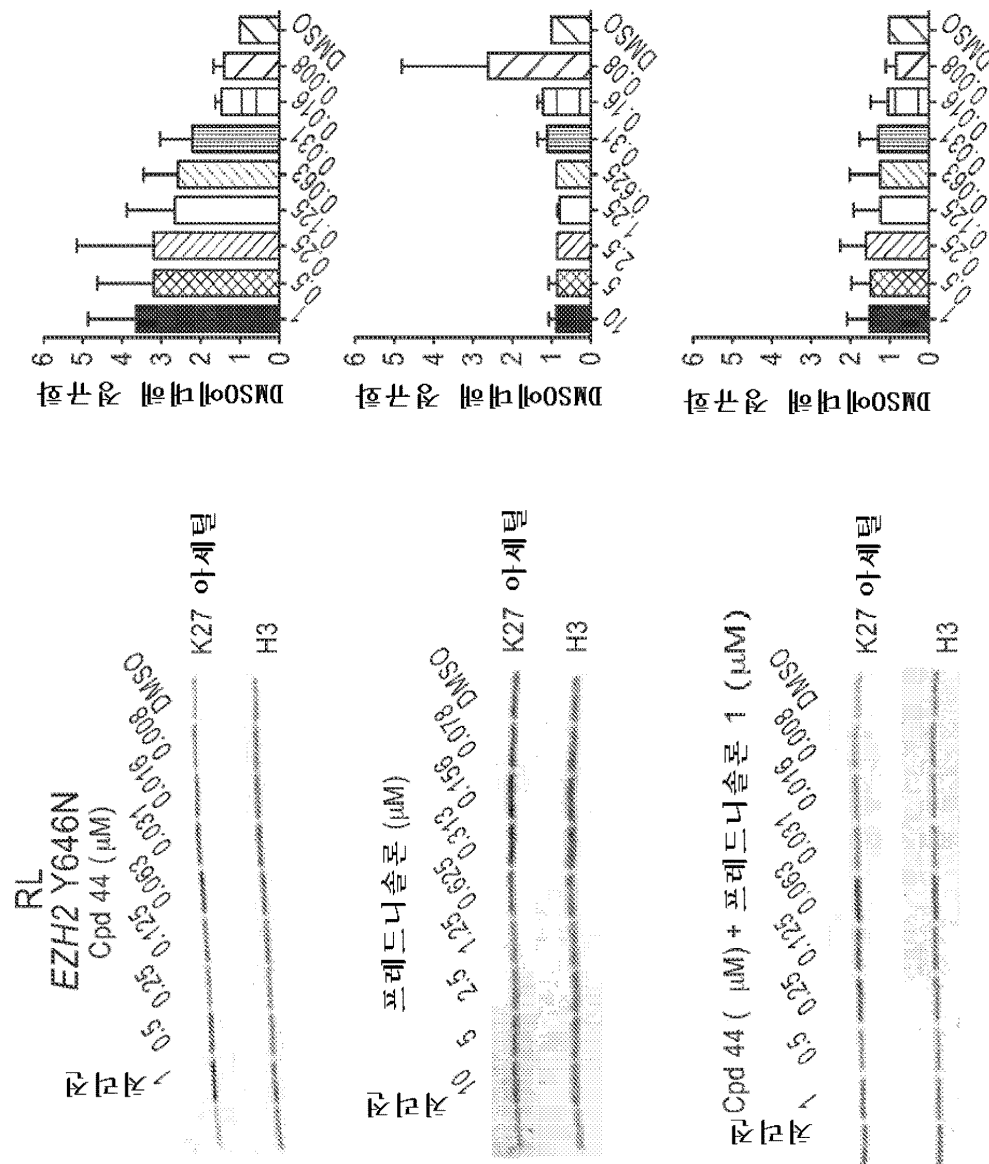
도면9b



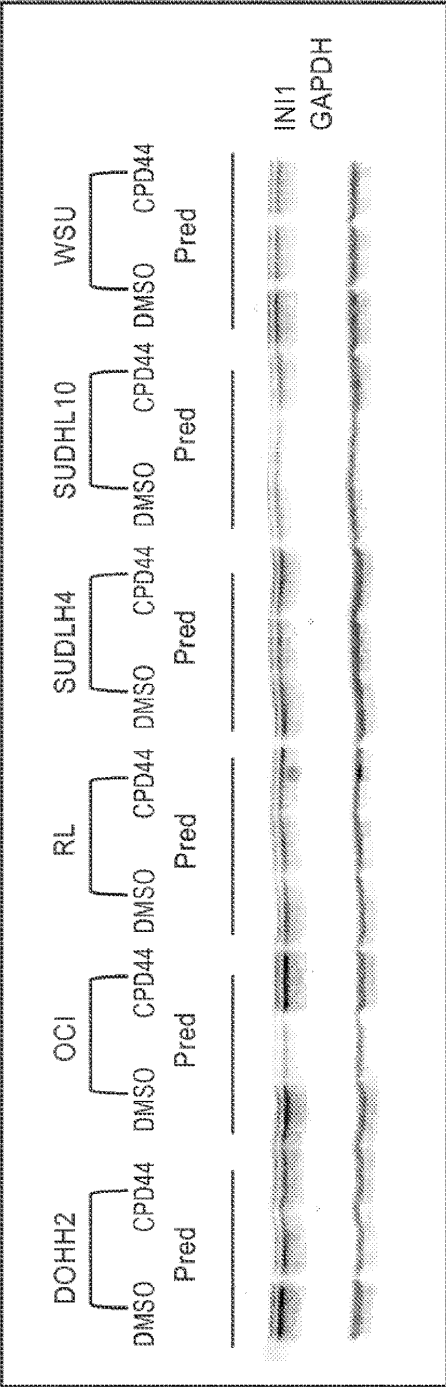
도면 9c



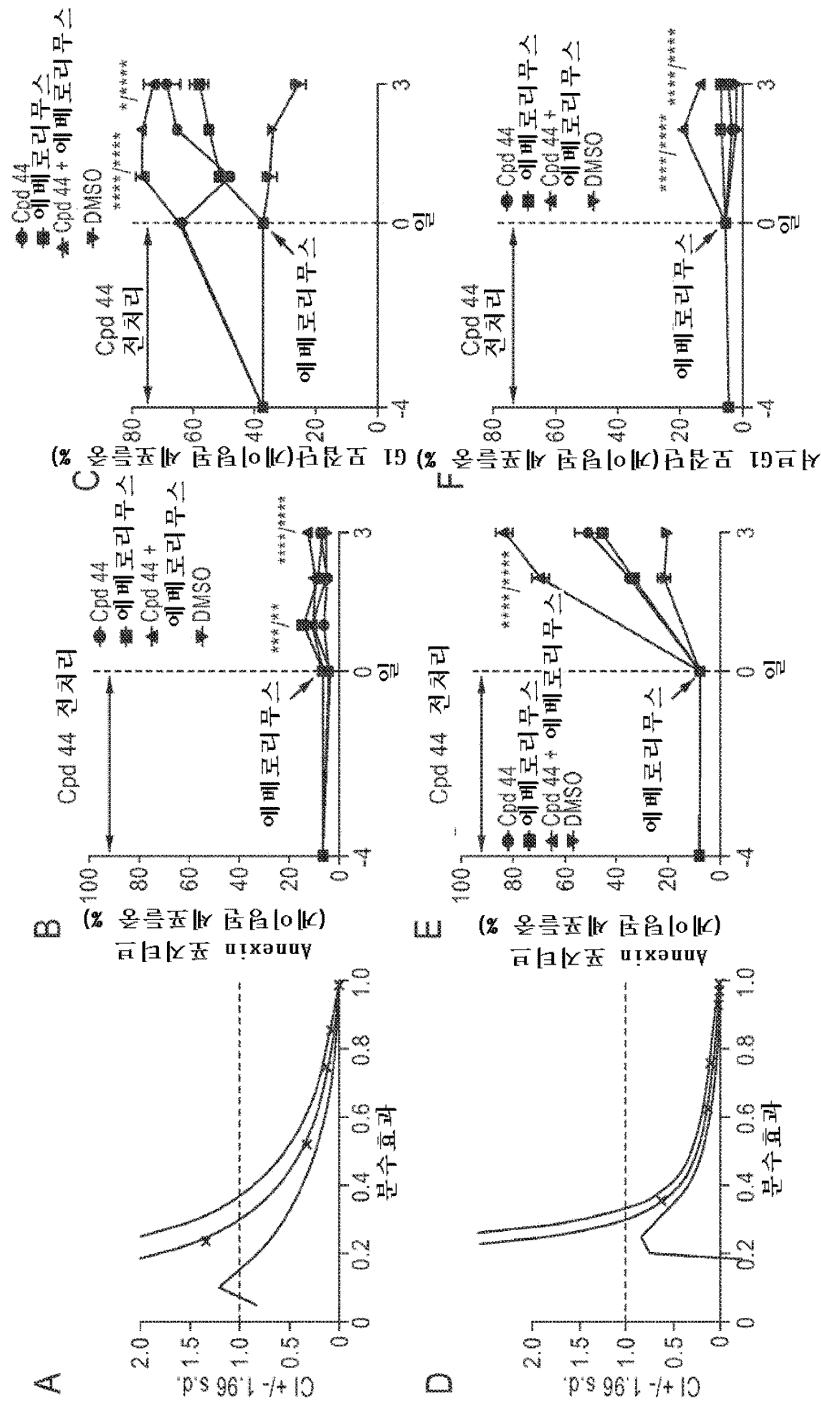
도면 9d



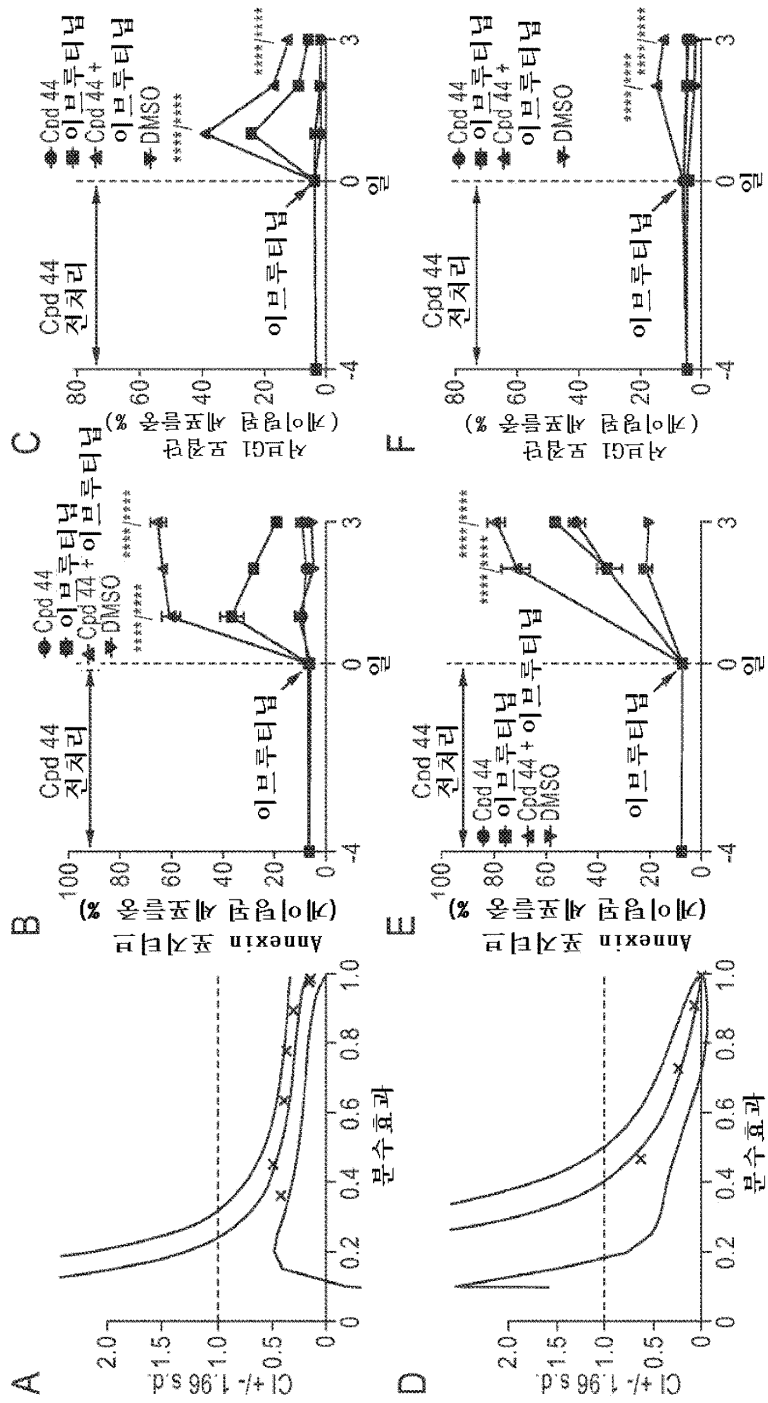
도면10



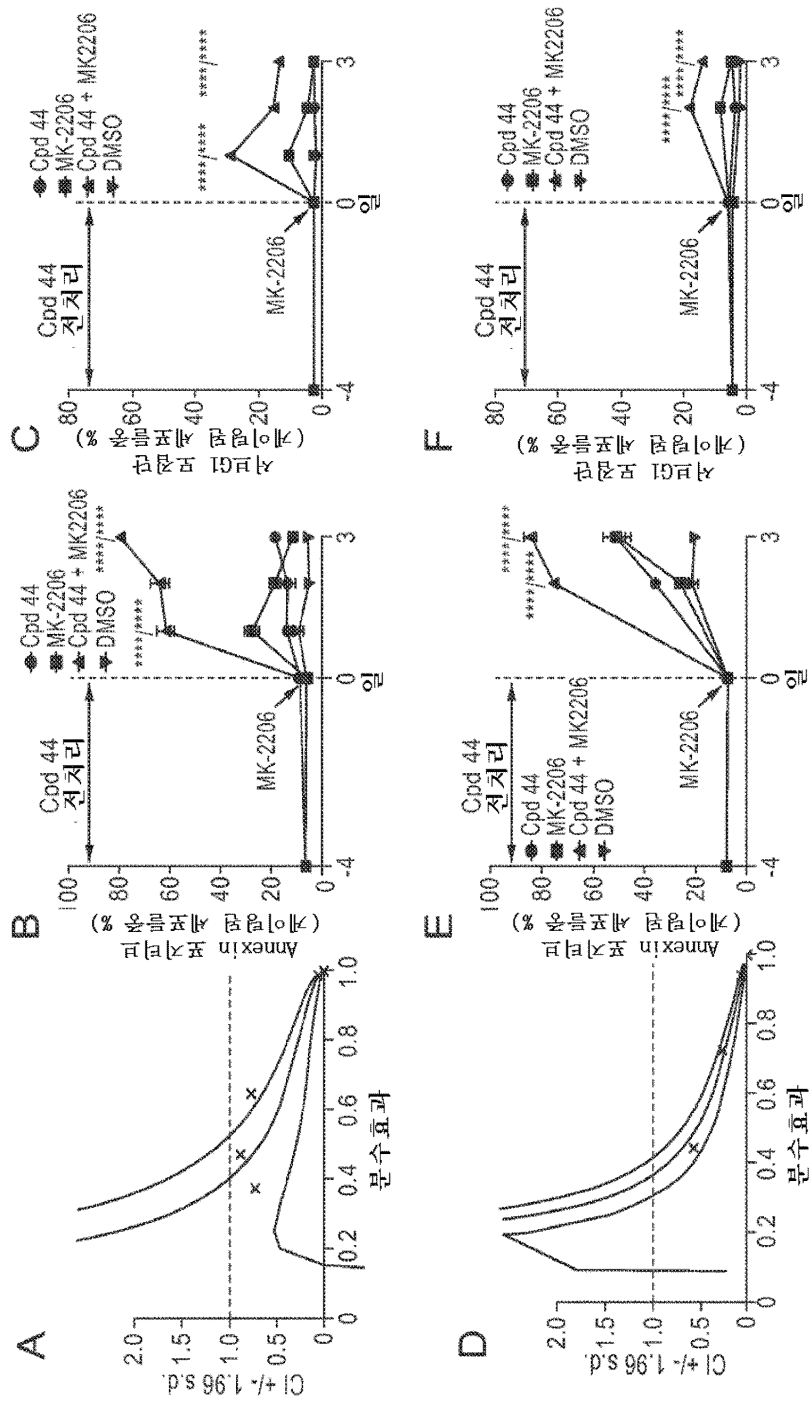
도면11



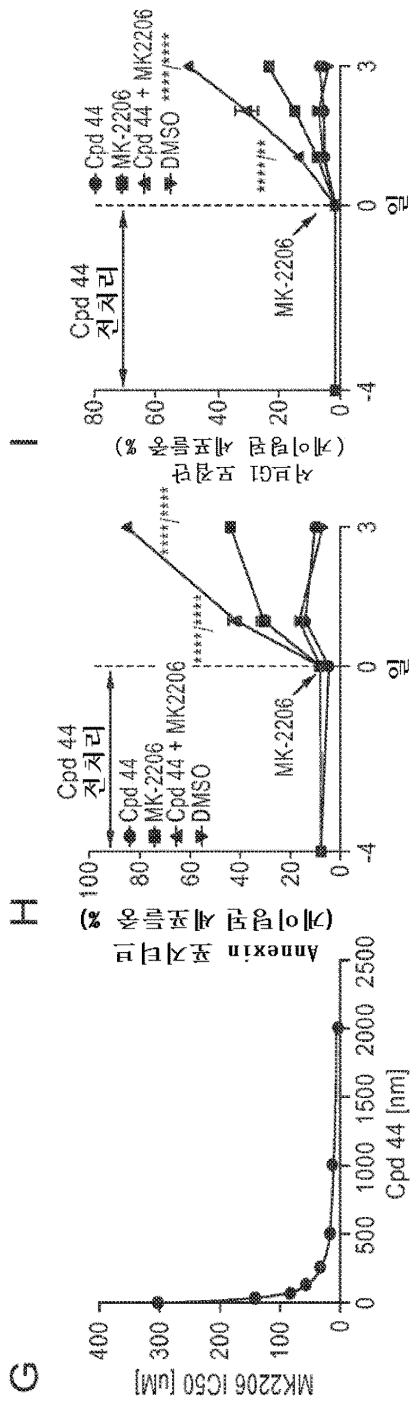
도면12



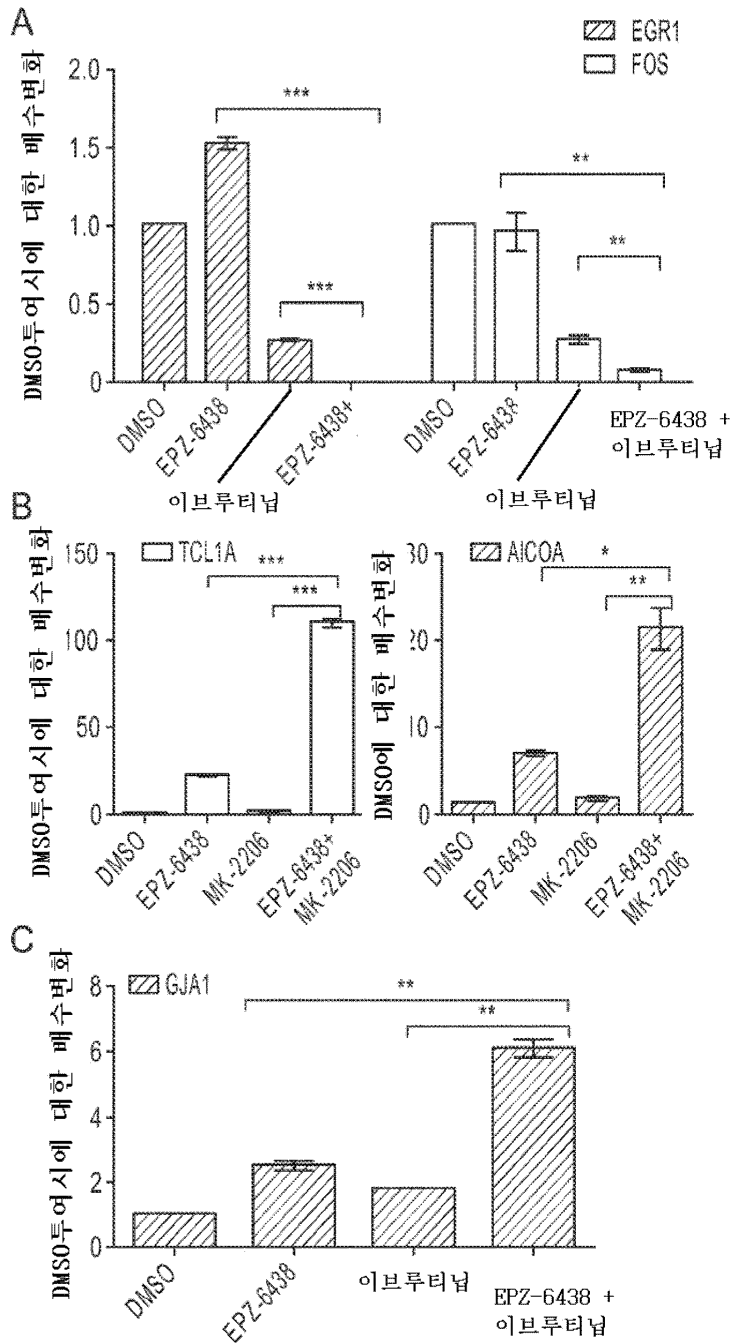
도면13a



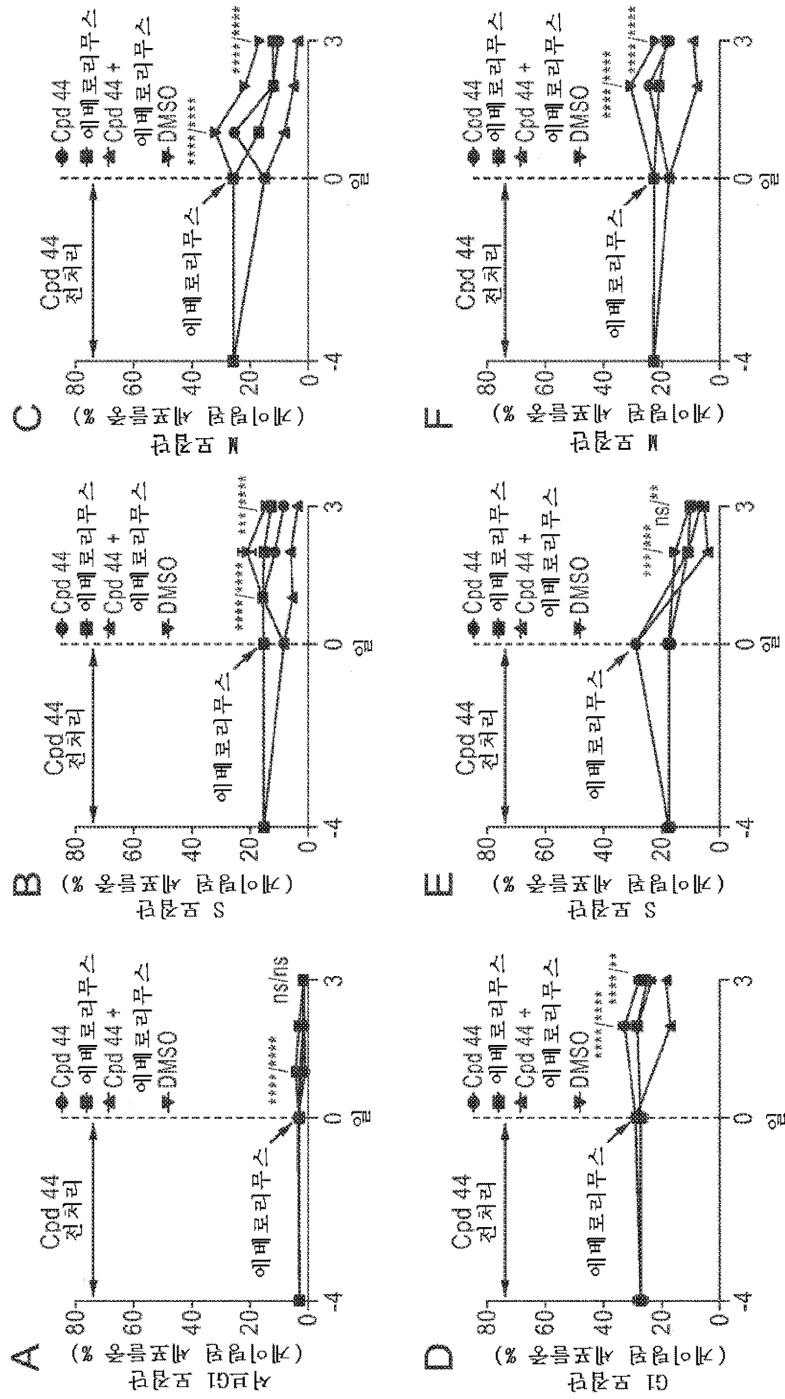
도면13b



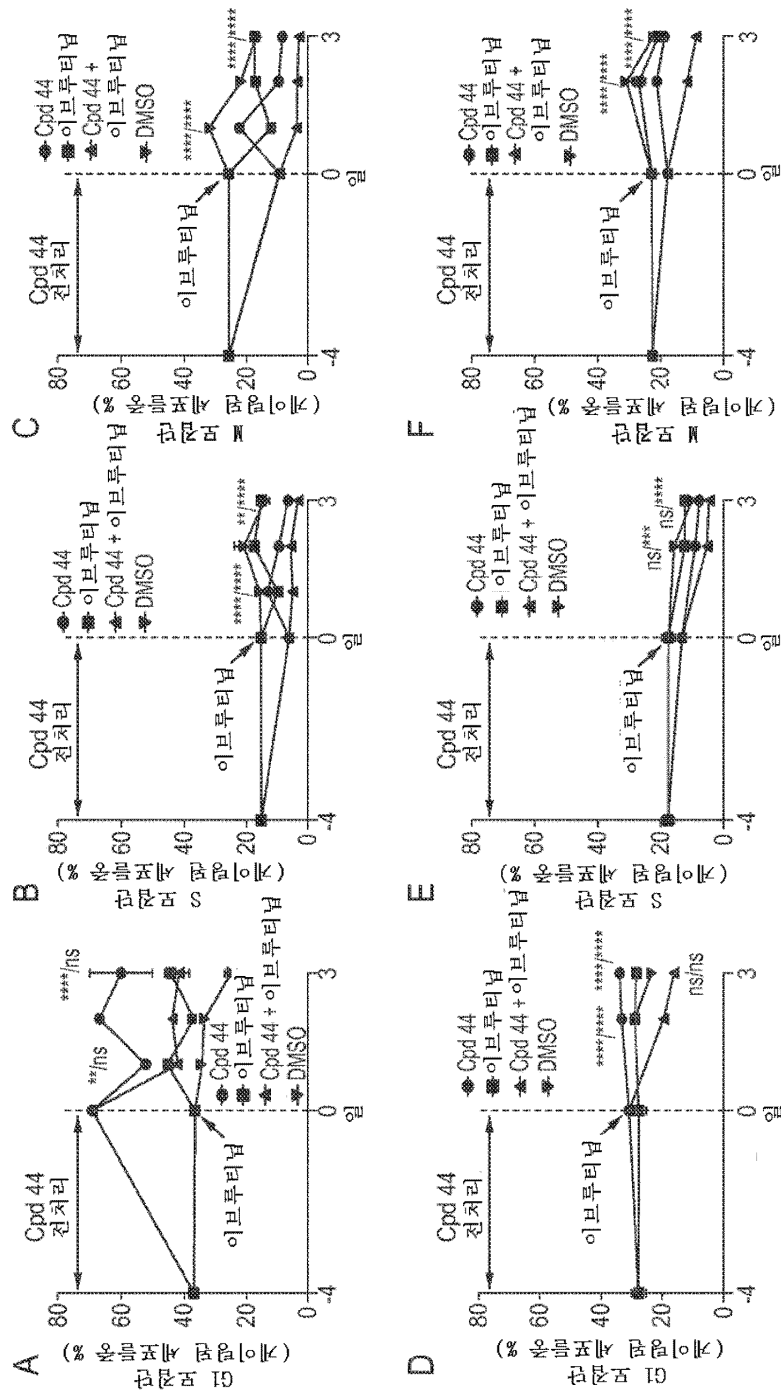
도면14



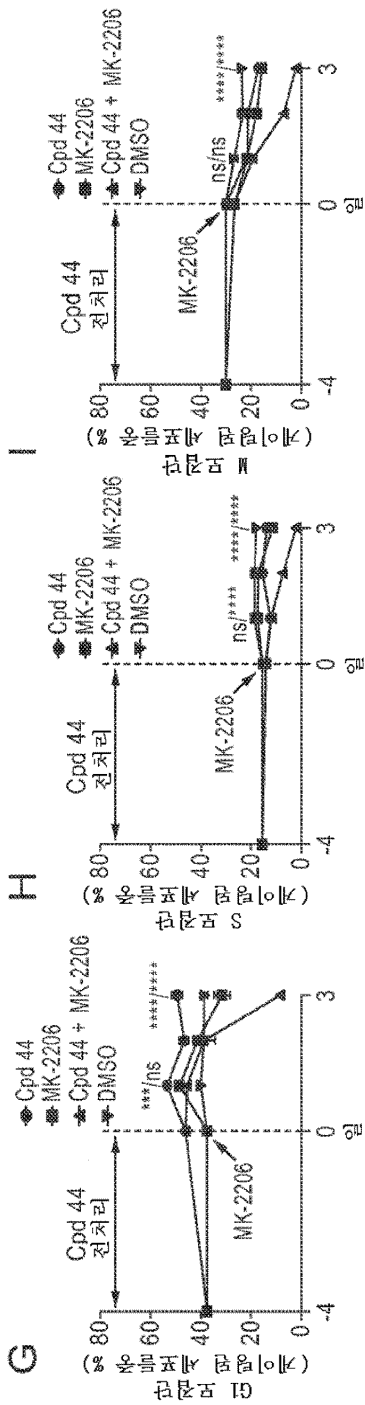
도면16



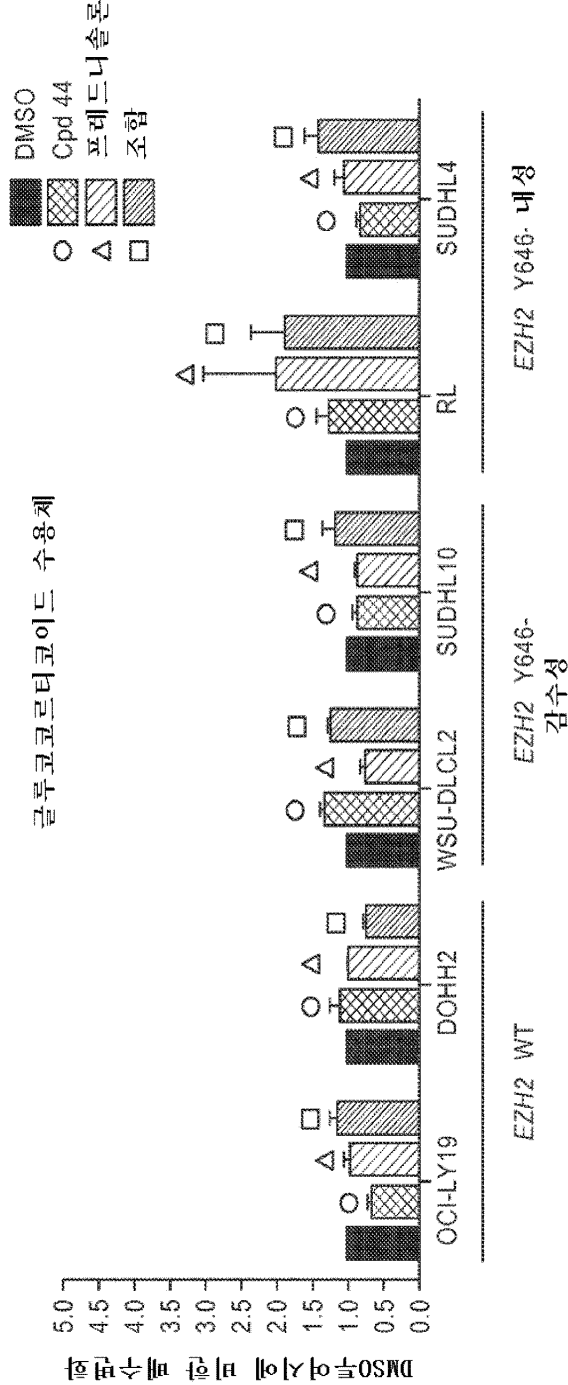
도면17



도면18b



도면19



도면20

