



(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。 Int. Cl. A61K 31/4741 (2006.01)	(45) 공고일자 (11) 등록번호 (24) 등록일자	2007년05월17일 10-0718900 2007년05월10일
---	-------------------------------------	--

(21) 출원번호	10-2001-7013336	(65) 공개번호	10-2002-0012172
(22) 출원일자	2001년10월19일	(43) 공개일자	2002년02월15일
심사청구일자	2005년04월18일		
번역문 제출일자	2001년10월19일		
(86) 국제출원번호	PCT/EP2000/003578	(87) 국제공개번호	WO 2000/62781
국제출원일자	2000년04월19일	국제공개일자	2000년10월26일

(81) 지정국

국내특허 : 알바니아, 아르메니아, 오스트리아, 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아 헤르체고비나, 바베이도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 캐나다, 스위스, 중국, 쿠바, 체코, 독일, 덴마크, 에스토니아, 스페인, 핀란드, 영국, 그루지야, 헝가리, 이스라엘, 아이슬란드, 일본, 케냐, 키르키즈스탄, 북한, 대한민국, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 리베이라, 레소토, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아공화국, 몽고, 말라위, 멕시코, 노르웨이, 뉴질랜드, 슬로베니아, 슬로바키아, 타지키스탄, 투르크멘, 터키, 트리니다드토바고, 우크라이나, 우간다, 미국, 우즈베키스탄, 베트남, 폴란드, 포르투갈, 루마니아, 러시아, 수단, 스웨덴, 싱가포르, 아랍에미리트, 남아프리카, 가나, 감비아, 크로아티아, 인도네시아, 인도, 시에라리온, 세르비아 앤 몬테네그로, 짐바브웨,

AP ARIPO특허 : 케냐, 레소토, 말라위, 수단, 스와질랜드, 우간다, 시에라리온, 가나, 감비아, 짐바브웨, 탄자니아,

EA 유라시아특허 : 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르키즈스탄, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크멘,

EP 유럽특허 : 오스트리아, 벨기에, 스위스, 독일, 덴마크, 스페인, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투갈, 스웨덴, 핀란드, 사이프러스,

OA OAPI특허 : 부르키나파소, 베닌, 중앙아프리카, 콩고, 코트디부아르, 카메룬, 가봉, 기니, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고, 기니 비사우, 적도 기니,

(30) 우선권주장 19917990.5 1999년04월20일 독일(DE)

(73) 특허권자 랑 플로리안
독일 데-72076 튀빙겐 그멜린슈트라쎬 5 피지올로지쎬 인스티튜트 아이 메디찌니쎬 파클태트 에버하르트 칼스 유니버지태트

(72) 발명자 랑 플로리안
독일 데-72076 튀빙겐 그멜린슈트라쎬 5 피지올로지쎬 인스티튜트 아이 메디찌니쎬 파클태트 에버하르트 칼스 유니버지태트

발태거지그프리트
독일 데-22297함부르크베벨알레138

바그너카르스텐

독일데-72076튀빙겐하비히트백6

브로이어슈테판

독일데-72770로이트링겐-오멘하우젠보대커슈트라제9

클링겔카린

독일데-72108로텐부르크헤펠레슈트라제16

(74) 대리인 김성기
 김태홍
 김진희

(56) 선행기술조사문헌

Biochim. Biophys. Acta, Vol. 1418, 1999년, 31~38

Clin. Exp. Hypertens. Vol. 13, 1991년, pp. 219

심사관 : 김성길

전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 세포 부피 조절된 인간 키나아제 h-s g k 의 억제제를 함유하는 의약

(57) 요약

본 발명은 세포 부피 조절된 인간 키나아제 h-sgk의 억제제 또는 활성화제를 함유하는 의약에 관한 것이다. 그러나 의약은 h-sgk 형질발현의 증가 또는 감소가 확인되는 병리 상태의 치료에 적합하다.

특허청구의 범위

청구항 1.

스타우로스포린, 킬에리스린, 또는 127 위치에서의 Lys이 Arg으로 치환된 트랜스도미난트 억제 인간 세포 부피 조절된 키나아제인 인간 혈청 및 글루코코르티코이드 의존성 키나아제(h-sgk)를 포함하며, 간경변, 섬유성 췌장염, 폐 섬유증, 방사선 섬유증, 경피증, 낭포성 섬유증 및 만성 기관지염으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 질환 치료용으로 사용되는 약학조성물.

청구항 2.

유효성분이 인간 세포 부피 조절된 키나아제인 인간 혈청 및 글루코코르티코이드 의존성 키나아제(h-sgk)이며, 간경변, 섬유성 췌장염, 폐 섬유증, 방사선 섬유증, 경피증, 낭포성 섬유증 및 만성 기관지염으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 질환 진단용으로 사용되는 약학 제제.

청구항 3.

제2항에 있어서, 상기 약학 제제는 인간 세포 부피 조절된 키나아제인 인간 혈청 및 글루코코르티코이드 의존성 키나아제(h-sgk)의 안티센스 RNA인 약학 제제.

청구항 4.

127 위치에서 Lys이 Arg으로 치환된 트랜스도미난트 억제 인간 세포 부피 조절된 키나아제인 인간 혈청 및 글루코코르티코이드 의존성 키나아제(h-sgk).

청구항 5.

삭제

청구항 6.

삭제

청구항 7.

삭제

청구항 8.

삭제

청구항 9.

삭제

청구항 10.

삭제

청구항 11.

삭제

청구항 12.

삭제

청구항 13.

삭제

청구항 14.

삭제

청구항 15.

삭제

청구항 16.

삭제

청구항 17.

삭제

청구항 18.

삭제

명세서

기술분야

본 발명은 세포 부피 조절된 인간 키나아제 h-sgk(hsgk)의 억제제 또는 활성화제를 함유하는 의약에 관한 것이다. 그러한 의약은 h-sgk 형질발현의 증가 또는 감소가 확인되는 병리 상태의 치료에 적합하다. EP-0 861 896에는 h-sgk 및 그 제조 방법이 기재되어 있으며, 그 내용은 본 명세서의 일부를 명백히 구성하고 있다.

용어에 대한 정의

h-sgk(human serum and glucocorticoid dependent kinase): 인간 혈청 및 글루코코르티코이드 의존성 키나아제(세린/트레오닌 키나아제)

ENaC(epithelial Na⁺ channel): 상피 Na⁺ 채널

MDEG(mammalian degenerin): 포유동물의 디제너린(왈드만, 알., 라즈던스키, 엠(1998)의 문헌[Current Opinion in Neurobiology 8:418-424]. 동의어는 "BNC"(뇌의 Na⁺ 채널)임.

TGFβ₁(tumor growth factor β₁): 종양 성장 인자 β₁

NKCC(Na⁺, K⁺, 2Cl⁻ cotransporter): Na⁺, K⁺, 2Cl⁻ 공동수송자

HEPES: [4-(2-히드록시에틸)피페라지노]에탄설폰산

SEM: 평균 표준 오차

트랜스도미넌트 억제 키나아제(Transdominant inhibitory kinase): 돌연변이에 의해 변성된 h-sgk: 127 위치의 리신이 아르기닌으로 치환됨(K127R); 돌연변이는 촉매부 내에 위치하고, 키나아제의 촉매적 기능을 억제함.

배경기술

h-sgk의 형질발현 상승은 당뇨병, 아테롬성 경화증, 알츠하이머병, 간경변, 크론병, 섬유성 췌장염, 폐 섬유증 및 만성 기관지염에서 자주 발견된다. h-sgk 생성의 증가는 TGFβ₁에 의한 형질발현의 촉진을 통해 명백히 알 수 있다(도 1). 섬유성 질환은 매트릭스 단백질의 형성 증가 및 분해 감소에 의해 발생한다. 이들 모두 TGFβ₁의 작용이다. 섬유아세포에 있어 매트릭스 단백질의 형질발현 증가는, 푸로세마이드에 의한 NKCC의 억제를 통해 억제시킬 수 있다(도 2). h-sgk의 형질발현 증가가 상기 질병의 결과인지 원인인지는 이제까지 명백히 밝혀지지 않았다.

현재, h-sgk가 Na⁺, K⁺, 2Cl⁻ 공동수송을 활성화시킨다는 의외의 사실이 밝혀졌다(도 3). 이로부터, h-sgk에 의한 NKCC의 촉진이 섬유증을 야기시킨다고 결론지을 수 있다. Na⁺, K⁺, 2Cl⁻ 공동수송 이외에도, h-sgk는 또한 ENaC(도 4 및 도 5)와 MDEG를 활성화시킨다.

ENaC에 대한 h-sgk의 촉진 작용은 키나아제 억제제, 예를 들어 스타우로스포린(독일 데-82041 다이센호펜 소재의 시그마 제품) 또는 킬에리스린(Chelerythrine; 시그마 제품)에 의해 억제될 수 있다(도 4). 또한, ENaC에 대한 h-sgk의 작용은, 예를 들어 트랜스도미넌트 억제 키나아제에 의해 억제될 수 있다(도 5). 따라서, 스타우로스포린, 킬에리스린 또는 다른 키나아제 억제제 등의 h-sgk의 억제제는 전술한 질병의 치료에 사용될 수도 있다. 통상적으로 모든 공지된 키나아제 억제제가 이 목적에 적합하다. 키나아제 억제제는 많은 경우, 예를 들어 칼바이오켄-노바바이오켄 게엠베하(독일 데-65812 바트 조덴 리스트백 1 소재)("1998 제너럴 카탈로그" 참조)에서 시판한다. 또다른 키나아제 억제제는 당업자에게 공지된 다른 상업적 및 비상업적 판매업체로부터 입수할 수 있다.

h-sgk의 형질발현은 간질 발작 시에 증가한다. 본 발명자들이 발견한 함수 데이터는, NKCC의 활성화는 세포외 K⁺ 농도의 감소와 그 이후의 과다분극화 및 이에 따른 뉴런의 활성화 억제를 유도하기 때문에 뉴런의 흥분을 감소시키는 데 적합하다 것을 말해준다. 또한, MDEG의 억제는 뉴런의 흥분을 억제해야 한다. 따라서, 뇌혈관장벽(blood-brain barrier)을 통과하는 키나아제 활성화제는 간질 발작에 성공적으로 사용할 수도 있다. 역으로, 뇌혈관장벽을 통과하는 약물에 의한 키나아

제 억제제는 주의력과 학습 능력을 증가시킬 수 있다. 또한, 키나아제 활성화제는 오랜 기간 동안 당업자에게 공지되어 왔으며, 그 중에서도 단백질 키나아제 C 활성화제가 특히 적합하다(예, 칼바이오캠-노바바이오캠 1998 제너럴 카탈로그 참조). 다른 키나아제 활성화제는 당업자에게 공지된 다른 상업적 및 비상업적 판매업체로부터 입수할 수 있다.

Na^+ , K^+ , 2Cl^- 공동수송 및 Na^+ 채널은 신장의 Na^+ 흡수에 중요하고, 신장 Na^+ 흡수의 증가는 고혈압과 관련이 있기 때문에, 키나아제 형질발현의 증가는 고혈압을 유도하고, 키나아제 형질발현의 감소는 저혈압을 유도한다고 가정해야 한다.

발명의 상세한 설명

따라서, 본 발명은 당뇨병, 아테롬성 경화증, 알츠하이머병, 간경변, 크론병, 섬유성 췌장염, 폐섬유증, 만성 기관지염, 방사선 섬유증, 경피증, 낭포성 섬유증 및 또다른 섬유 질환의 치료 및 주로 고혈압의 치료를 위한 의약의 제조 시의 h-sgk 억제제의 용도에 관한 것이다. 따라서, h-sgk의 억제제 또는 활성화제를 함유하는 의약은 뉴런의 흥분을 조절하는 데에도 사용할 수 있다. 상기 억제제 스타우로스포린 또는 킬에리스린 및 이들의 유사체를 사용하는 것이 특히 유리하다.

효과

당뇨병 신장:

정상 신장에서 h-sgk의 형질발현은 저조한 수준에 불과하다. 상기 사구체에 있어 말단부 및 기부 세관 내에서는 몇개의 세포만이 명백한 h-sgk 형질발현을 나타내 보인다. 이와는 대조적으로, 당뇨병 신장 내에서는 h-sgk의 대규모 형질발현이 이루어진 세포가 축적된다.

아테롬성 경화증:

h-sgk를 대규모 형질발현하는 세포는 아테롬 경화증 혈관의 벽 내에서 빈번하게 발견된다.

알츠하이머병:

정상의 뇌에서는 h-sgk를 형질발현하는 몇개의 세포만이 발견된다. 이들 세포는 펩돌기교세포인 것으로 추정된다. h-sgk 형질발현 세포의 개수는 알츠하이머병을 가진 뇌에서 상당히 증가한다.

간경변:

정상 간에서는 몇개의 코퍼 세포(copper cell)만이 h-sgk를 형질발현한다. 그러나, 간 경변의 조직에는 h-sgk 형질발현 세포가 산재해 있다.

크론병:

정상 장 조직에서는, h-sgk가 장세포에서만 형질발현된다.

그러나, 크론병의 경우, 결합 조직에서도 상기 키나아제가 발견된다.

섬유성 췌장염:

정상 췌장에서는, 포상 세포 및 도관 세포 내에서 h-sgk가 발견된다. 췌장 도관 주위에서는 몇개의 h-sgk 형질발현 단핵 세포가 발견된다. 섬유성 췌장염의 경우에는, 키나아제 형질발현이 현저히 증가한다.

폐 섬유증 및 만성 기관지염:

폐 섬유증 및 만성 기관지염에서는 h-sgk의 대규모 형질발현이 관찰된다.

TGFβ₁에 의한 h-sgk 형질발현의 촉진:

h-sgk의 형질발현은 TGFβ₁에 의해 촉진된다(도 1). TGFβ₁은 섬유성/염증 조직 내에서 형성되기 때문에, 이러한 발견은 염증 조직 내 h-sgk의 형질발현 증가를 설명해준다.

TGFβ₁는 매트릭스 단백질 비글리칸의 형질발현을 촉진시키고, 그 효과는 NKCC 억제제 프로세마이드에 의해 억제된다.

TGFβ₁는 비글리칸의 형질발현을 촉진한다. NKCC 억제제 프로세마이드의 존재 하에, 비글리칸 형질발현에 대한 TGFβ₁의 영향은 완전히 억제된다. 따라서, NKCC의 활성화는 TGFβ₁의 섬유성 효과에 대한 전제조건이다(도 2).

h-sgk에 의한 NKCC의 촉진:

섬유성 조직 내 키나아제 형질발현의 증가는 여러가지 의미를 가질 수 있으며, 섬유증과 인과적 관련은 없다. 그러나, 2개의 전극 전압 집계를 이용한 실험을 통해, NKCC의 활성화는 h-sgk에 의해 상당히 촉진된다는 점이 밝혀졌다(도 3). 비글리칸 합성의 프로세마이드 민감성에 비추어 볼때, 이러한 점은 섬유증에 있어 h-sgk가 원인이 된다는 것을 입증해준다.

h-sgk에 의한 ENaC의 촉진:

이 효과는 키나아제 억제제인 스타우로스포린 및 킬에리스린에 의해 억제될 수 있다. 도 4에 제시한 바와 같이, h-sgk에 의한 공동 형질발현을 통해 ENaC도 함께 대량으로 증가한다. 따라서, 상기 키나아제는 ENaC를 촉진시킨다. 상기 키나아제 억제제인 스타우로스포린 및 킬에리스린은 h-sgk에 의한 ENaC의 활성화를 완전히 억제할 수 있다.

h-sgk에 의한 상피 ENaC의 촉진은, 트랜스도미난트 억제 키나아제 h-sgk의 공동 형질발현에 의해 역전될 수 있다.

도 5에 도시된 바와 같이, ENaC 매개 Na⁺ 전류에 대한 h-sgk 공동 형질발현의 촉진 효과는 트랜스도미난트 억제 키나아제의 공동 형질발현에 의해 억제될 수 있다. 이 트랜스도미난트 억제 키나아제("용어의 정의"와 비교)는, 더이상 그 작용을 나타내 보일 수 없도록 촉매 유닛 상에서 변형된다. 그러나, 이것은 기질에 결합하기 때문에, 활성 키나아제를 치환하고 그 효과를 억제한다. 트랜스도미난트 억제 키나아제는 외인성 h-sgk로 인한 ENaC 활성화의 증가를 억제할 뿐 아니라, 내인성 h-sgk에 의한 ENaC의 촉진을 명백히 억제한다.

MDEG는 h-sgk에 의한 공동 형질발현에 의해 완전히 차단된다.

도 6에 제시된 바와 같이, 난모세포 내 MDEG의 형질발현은 세포의 pH를 저하시킴으로써 활성화되는 강한 Na⁺ 전류를 유도한다. 상기 채널은 h-sgk에 의한 공동 형질발현에 의해 완전히 차단된다. 이로부터, h-sgk는 뉴런 흥분을 억제한다는 결론이 도출된다.

실시예

실시예 1: 현장 교잡

정상 채장, 간, 혈관, 뇌, 폐, 신장 및 장 조직과, 당뇨병 신병, 아테롬성 경화증, 알츠하이머병, 간 경변, 크론병, 섬유성 채장염 및 폐 섬유증을 가진 조직을 4% 파라포름알데히드/0.1M 인산나트륨 완충액(pH 7.2) 중의 파라핀에 4 시간 동안 침지시켰다. 조직 절편을 전술한 바와 같이 탈랍시키고, 교잡시켰다(문헌 [Kandolf, R., D. Ameis, P. Kirschner, A. Canu, P.H. Hofschneider, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:6272-6276, 1987]; 문헌 [Hohenadl, C., K. Klingel, J. Mertsching, P. H. Hofschneider, R. Kandolf., Mol. Cell. Probes 5:11-20, 1991]; 문헌 [Klingel, K., C. Hohenadl, A. Canu, M. Albrecht, M. Seemann, G. Mall, R. Kandolf, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:314-318, 1992]).

교잡 혼합물은 10 mM의 트리스-HCl(pH 7.4), 50%(부피/부피)의 탈이온화된 포름아미드; 600 mM의 NaCl; 1 mM의 EDTA; 0.2%의 폴리비닐피롤리돈; 0.02%의 Ficoll; 0.05%의 소혈청 알부민; 10%의 텍스트란 설페이트; 10 mM의 디티오트레이톨; 200 μg/ml의 변성된 초음파처리 연어 정자 DNA 및 100 μg/ml의 토끼 간 tRNA 중에, h-sgk에 대한 암호화 ³⁵S 표지된 센스 RNA 또는 이 RNA에 상보적인 ³⁵S 표지된 안티센스 RNA를 함유하였다.

RNA 프로브에 의한 교잡은 18 시간 동안 42°C에서 실시하였다. 슬라이드는 기재된 바와 같이 세정하고(문헌 [Hohenadl et al., 1991; Klingel et al., 1992), 55°C 하에 2 x 표준 구연산나트륨 중에서 1 시간 동안 항온 처리하였다. 비교잡된 단일 스트랜드 RNA 프로브는 37°C 하에 10 mM 트리스-HCl(pH 8.0/0.5 M NaCl) 중의 RNAase A(20 µg/ml)로 30분동안 절단하였다. 이어서, 조직 샘플을 3주 동안 방사선 사진 촬영한 후(Klingel et al., 1992), 헤마톡실린/에오신으로 염색하였다.

실시에 2: 비글리칸 및 h-sgk의 전사 조절

세포를 10%(부피/부피)의 소태아 혈청(FCS)이 강화된 37°C의 RPMI/5% CO₂/10 mM 글루코즈(pH 7.4) 중에서 배양하였다. 이 세포를 90% 합류점까지 성장시킨 후, TRIZOL(GIBCO/BRL)(약 0.4 x 10⁶/샘플) 내에서 균질화시켰다. 전체 RNA는 제조업자의 지시에 따라 제조하였다. 노던 흡입(Northern blots)은 2.4 몰/ℓ(포름알데히드)의 존재 하에 별도의 대조군과 함께 15 µg 또는 20 µg의 RNA를 사용하여 10 g/ℓ의 아가로즈 겔을 통한 전기 영동에 의해 분별하였다. RNA는 배큐엄(독일 하이델베르크 어플리진 소재의 어플리젠 온코 트랜스 DNA 익스프레스 배큐엄 블로터 제품)에 의해 양극화된 나일론 막(독일 소재의 비링거 만하임)으로 전이시키고, 자외선(UV Stratalinker 2400, 독일 하이델베르크 스트라타젠) 하에서 가교 결합시켰다. 교잡은 밤새 50°C 하에 25 µg/ℓ의 프로브 농도에서 DIG-Easy-Hyb(비링거 만하임)을 사용하여 실시하였다. 디곡시게닌(DIG) 표지된 프로브는 종전에 상세히 기재된 바와 같이 PCR에 의해 제조하였다(Waldegger et al. (1997) PNAS 94:4440-4445). 방사선 촬영의 경우, 필터를 X선 필름(코닥)에 평균 5분 동안 노출시켰다.

실시에 3: 2개의 전극 전압 고정 및 트레이서 유량 실험

손톱 개구리의 해부와, 난모세포의 취득 및 처리는 종전에 상세히 기재된 바 있다(Busch et al. 1992). 난모세포에는, h-sgk를 동시에 주사하거나 또는 주사하지 않으면서, NKCC, ENaC 또는 MDEG의 cRNA 1 ng을 주사하였다. 주사하고 2일 내지 8일 후, 2개의 전극 전압 및 전류 고정 실험을 실시할 수 있다. NKCC를 통한 푸로세마이드에 의해 억제될 수 있는 Na⁺ 유량은 난모세포 내로의 ²²Na⁺ 흡수에 의해 측정하였으며, 이것은 신틸레이션 계측기를 사용하여 측정하였다. Na⁺ 전류(ENaC)는 10 Hz에서 역과하여, 펄 기록기로 기록하였다. 실험은 대개 cRNA 주사 후 이틀째에 실시하였다. 조 용액은 96 mM의 NaCl, 2 mM의 KCl, 1.8 mM의 CaCl₂, 1 mM의 MgCl₂ 및 5 mM의 HEPES(pH 7.5)를 함유하였고, 보유 전위는 -50 mV이었다. pH는 모든 실험에서 HCl 또는 NaOH로 적정하여 조절하였다. 조 액의 유량은, 10초 내지 15초 이내에 측정 챔버 내 용액이 완전히 변할 수 있도록 20 ml/분으로 설정하였다. 모든 데이터는 산술평균 ±SEM의 형태로 표시하였다.

도면의 간단한 설명

도 1은 TGFβ₁에 의한 h-sgk 형질발현의 촉진을 제시한 것이다.

h-sgk의 형질발현은 TGFβ₁에 의해 촉진된다. 0.5 시간 내지 6 시간 후의 TGFβ₁의 영향이 제시되어 있다(상부). 포블 에스테르 PDD(4-알파-포블-12,13-디데카노에이트; 단백질 키나아제 C를 촉진함) 및 Ca⁺⁺ 이오노포 이오노마이신(시그마 제품; 세포 내 Ca⁺⁺ 농도를 증가시킴)도 마찬가지로 h-sgk 형질발현을 촉진시킴(하부).

도 2는 TGFβ₁에 의한 비글리칸 형질발현의 촉진을 제시한 것이다.

비글리칸(B)의 형질발현은 세포의 삼투압 팽윤(hypo = h, 좌측 상단) 및 TGFβ₁(우측 상단)에 의해 촉진된다. 비글리칸 형질발현에 대한 TGFβ₁의 영향은 NKCC 억제제 부메타나이드(b)의 존재 하에 거의 완전히 억제된다(대조군 = c).

도 3은 h-sgk에 의한 NKCC의 촉진을 제시한 것이다.

NKCC를 형질발현하는 난모세포(흡수(nmol/20분/난모세포)) 내 ²²Na⁺의 푸로세마이드에 의해 억제될 수 있는 흡수는 h-sgk에 의해 대량으로 촉진된다. NKCC 주사된 난모세포는 비주사된 난모세포(n.i.)보다 Na⁺ 유량이 보다 높지않다. 이

Na⁺ 유량은 NKCC 억제제 푸로세마이드(=F)에 의해 억제되지 않는다(상단). h-sgk 단독의 형질발현은 Na⁺ 유량의 촉진을 유도하지 않는다. NKCC에 의한 h-sgk의 공동 형질발현은 Na⁺ 유량의 큰 증가를 가져오고, 이 증가는 푸로세마이드에 의해 완전히 억제된다(하단).

도 4는 h-sgk에 의한 ENaC의 촉진을 도시한 것이다.

ENaC(I)를 통한 전류는 h-sgk와의 공동 형질발현을 통해 상당히 증가한다. 키나아제 억제제 스타우로스포린(S) 또는 킬 에리스린(C)에 의한 난모세포의 처리는 h-sgk에 의한 Na⁺ 채널의 활성화를 억제한다.

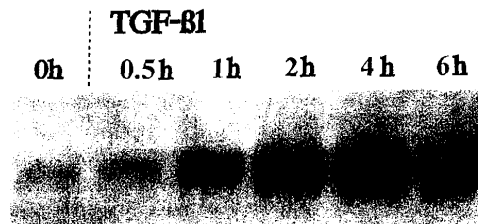
도 5는 h-sgk에 의한 ENaC의 촉진이 트랜스도미난트 억제 키나아제의 공동 형질발현에 의해 역전될 수 있다는 것을 제시한 것이다. ENaC 및 h-sgk를 동시에 형질발현하는 난모세포는 ENaC만을 형질발현하는 난모세포보다 훨씬 많은 양의 전류(I)를 나타내 보인다. 트랜스도미난트 억제 키나아제의 공동 형질발현은 h-sgk에 의한 ENaC의 촉진을 억제한다.

도 6은 h-sgk에 의한 MDEG의 억제를 도시한 것이다.

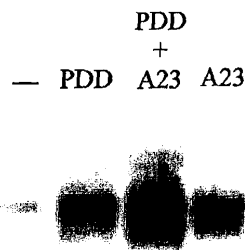
MDEG(I)를 통한 전류는 항온 처리 기간[일수(T) 1 내지 4]에 따라 증가한다. 전류는 h-sgk에 의한 공동 형질발현에 의해 완전히 억제된다(피크 = p, 플래토 = pl).

도면

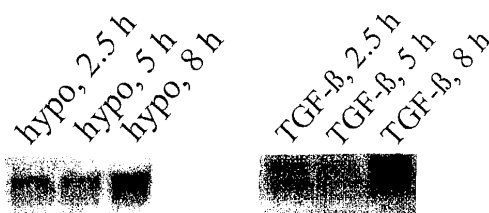
도면1a



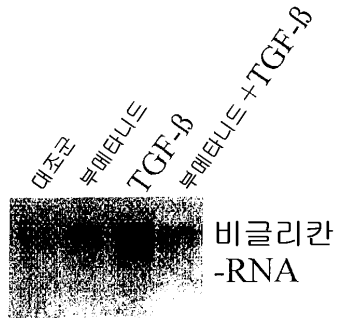
도면1b



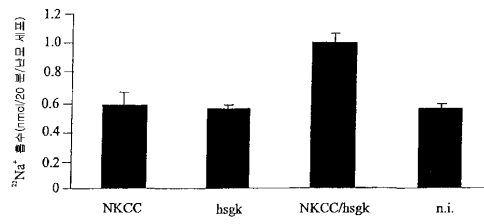
도면2a



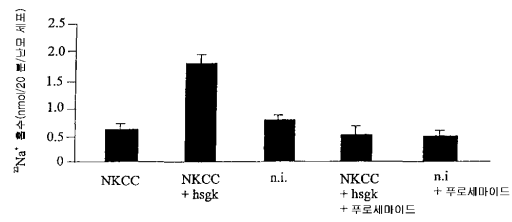
도면2b



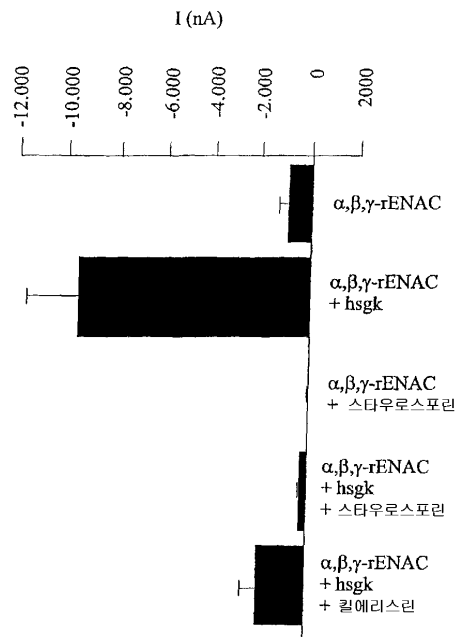
도면3a



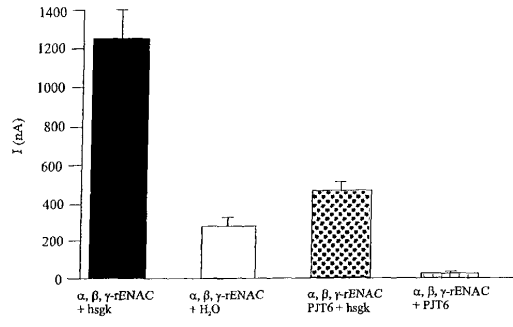
도면3b



도면4



도면5



도면6

