(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0001282
(43) 공개일자 2021년01월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/47 (2006.01) *A61K 31/192* (2006.01)
A61K 31/381 (2006.01) *A61K 31/40* (2006.01)
A61K 31/422 (2006.01) *A61K 31/519* (2006.01)
A61K 31/575 (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/47 (2013.01)
A61K 31/192 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-0077153
(22) 출원일자 2019년06월27일
심사청구일자 2019년06월27일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
손정원
서울특별시 성북구 장월로1길 28 동아에코빌아파트 110동 1501호
김용진
서울특별시 성북구 고려대로7라길 18, 205호
(74) 대리인
공병욱

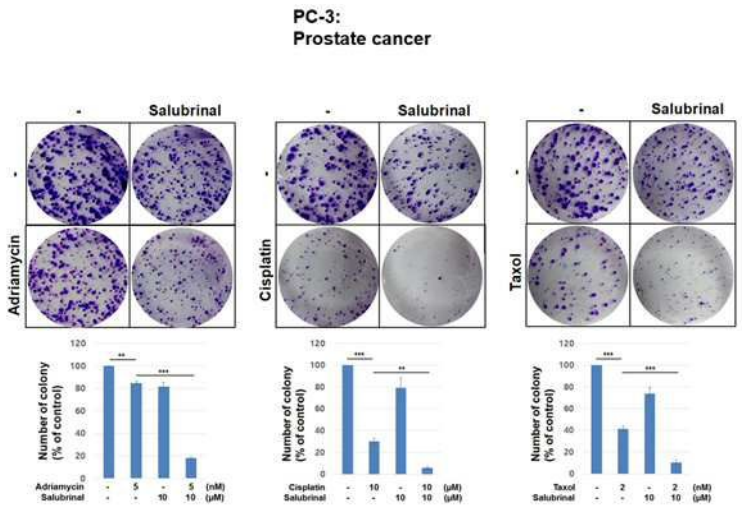
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 **소포체 스트레스 억제제를 포함하는 암 치료용 약제학적 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 유효성분으로 포함하는 암 치료용 약제학적 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 유효성분으로 포함하는 암 치료용 약제학적 조성물을 항암제와 병용하여 노화 암세포를 제거함으로서 항암제 투여에 따른 치료효과를 개선시킬 수 있다.

대 표 도 - 도7



(52) CPC특허분류
A61K 31/381 (2013.01)
A61K 31/40 (2013.01)
A61K 31/422 (2013.01)
A61K 31/519 (2013.01)
A61K 31/575 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
A61K 2300/00 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345296365
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(교육부)(R&D)
연구과제명	ATF6α 과발현에 의한 세포노화의 기전 연구
기 여 율	1/1
과제수행기관명	고려대학교
연구기간	2018.06.01 ~ 2021.05.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 유효성분으로 포함하는 암 치료용 약제학적 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 약제학적 조성물은 항암제와 병용되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 소포체 스트레스(ER stress) 억제제는 salubrinal, GSK2656157, STF-083010, 4-PBA, Tudca, Ceapin-A7, 및 PF-429242로 이루어진 군에서 선택되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 4

제 2 항에 있어서, 상기 항암제는 독소루비신 (doxorubicin), 시스플라틴(cisplatin), 파클리탁셀(paclitaxel), 도세탁셀(docetaxel), 카바지탁셀(cabazitaxel), 카보플라틴(carboplatin), 에토포시드(etoposide), 이리노테칸(irinotecan), 젬시타빈(gemcitabine), 5-플루오로우라실(5-fluorouracil), 카페시타빈(capecitabine), 제피티닙(gefitinib), 소라페닙(sorafenib), 및 이마티닙(imatinib)으로 이루어진 군에서 선택되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 5

제 2 항에 있어서, 상기 항암제는 ACTH(adrenocorticotropic hormone) 생성 종양, 급성 림프구성 또는 림프아구성 백혈병, 급성 또는 만성의 림프구성 백혈병, 급성 비림프구성 백혈병, 방광암, 뇌종양, 유방암, 자궁경부암, 만성 골수성 백혈병, 림프종, 자궁내막증, 식도암, 에윙스 육종(Ewing's sarcoma), 설암, 호지킨 림프종, 카포시스 육종, 신장암, 간암, 담도암, 폐암, 중피종, 다발성 골수종, 신경아세포종, 비호지킨 림프종, 골육종, 난소암, 유방암, 전립선암, 췌장암, 대장암, 음경암, 망막모세포종, 피부암, 위암, 갑상선암, 자궁암, 고환암, 윌름스 종양 및 영양모세포종으로 이루어진 군에서 선택된 1 종 이상에 대한 치료제인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 6

제 2 항에 있어서, 상기 약제학적 조성물은 세포노화 관련 베타-갈락토시다제 어세이(SA-β-gal assay)에서 항암제 사용에 의해 증가된 SA-β-gal 양성 암세포의 수를 감소시키는 것인, 약제학적 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 유효성분으로 포함하는 암 치료용 약제학적 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 세포의 조절 기능은 다양한 원인에 의해 문제가 생길 수 있다. 세포의 조절 기능 문제는 정상적으로 사멸해야 할 비정상 세포들이 과다 증식을 일으키며 경우에 따라 이들이 주변 조직 및 장기에 침입하게 되어 종괴를 형성하고 기존의 정상적인 구조를 파괴하거나 변형시킨다. 현대의학에서는 이러한 상태를 암 또는 악성종양이라고 정의한다. 암은 대표적인 현대의 난치병으로서 환경오염이나 과도한 스트레스, 서구적 식생활 등 다양한 원인으로 인하여 그 발생빈도가 점점 더 증가하고 있는 추세에 있다. 암은 2016년 기준으로 한국인 사망원인 1위이며 21세기 말에는 전세계 사망원인 중 1위가 될 것으로 예측되고 있다.

[0004] 암을 치료하는 방법으로는 현재 외과적 수술, 방사선 치료 및 화학적 치료가 사용되고 있는데, 외과적 수술은 초기상태 암의 제거에는 효과적이나, 경우에 따라서는 장기를 제거해야 하는 등의 부작용과 전이를 방지할 수 없다는 문제가 있으며, 방사선 치료의 경우도 특정부위의 암 치료에는 치료효과가 높은 장점이 있는 반면 방사선 조사로 인한 새로운 발암 위험성과 전이를 방지할 수 없다는 점과 함께 치료시 환자의 고통을 수반한다는 문제가 있다.

[0005] 또한, 화학적 치료는 악성종양의 치료를 위해 화학요법제인 항암제를 사용하는 방법으로서, 항암제는 암세포의 대사경로에 개입하여 DNA의 복제, 전사, 번역과정을 차단하거나, 핵산 전구체의 합성을 방해하고, 세포의 분열을 저해함으로써, 정상세포보다 세포분열이 빠른 암세포에 독성을 유발하는 것이다. 다만 항암제를 사용하는 경우 암세포의 내성 획득, 암 줄기세포 생성, 암의 악성화 증가와 고농도 및 지속적인 항암제 사용으로 인한 다양한 부작용이 생길 수 있어, 암 치료를 위한 새로운 접근법에 대한 필요성이 대두되고 있다.

[0006] 암 치료를 위한 신규한 접근법은 합성 치사(synthetic lethality)의 개념에 관한 것이다. 두 개의 유전자(또는 두 유전자 산물들) 중 하나에만 돌연변이나 기능의 저해가 있는 경우 세포가 생존할 수 있지만, 두 개의 유전자 모두 돌연 변이가 있거나 기능이 저해되는 경우 세포가 죽음에 이르게 되는 것을 합성치사라고 한다. 다시 말해, "합성치사"는 돌연변이 또는 약물이 함께 작용하여 암세포의 죽음을 일으키는 상황에 대해 설명해준다. 암 관련 돌연변이에 합성 치사되는 유전자(또는 유전자 산물)를 타겟팅하면, 암세포만을 사멸시키고 정상적인 세포는 살아남게 된다. 따라서, 합성 치사는 항암 특정 제제의 개발을 위한 프레임워크를 제공하며, 따라서 합성 치사는 암세포의 제거를 위한 새로운 방향을 제시할 수 있다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0008] (비특허문헌 0001) Braakman, I., and Bulleid, N. J. (2011). Protein folding and modification in the mammalian endoplasmic reticulum. Annu Rev Biochem 80, 71-99.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명자들은 종래 항암제의 문제점인 암 세포의 내성 획득, 암 줄기세포 생성, 암의 악성화 증가와 고농도 및 지속적인 항암제 사용으로 인한 다양한 부작용 등을 개선하고, 암세포를 제거하는 새로운 방향을 제시하기 위해 예의 연구 노력하였다. 그 결과 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 유효성분으로 포함하는 암 치료용 약제학적 조성물을 항암제와 병용하여 암세포를 제거함으로써 항암제 투여에 따른 부작용을 개선시킬 수 있음을 규명하여, 본 발명을 완성하게 되었다.

[0010] 따라서, 본 발명의 목적은 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 유효성분으로 포함하는 암 치료용 약제학적 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 유효성분으로 포함하는 암 치료

용 약제학적 조성물을 제공한다.

[0013] 본 명세서 상의 용어 "소포체 스트레스(ER stress)"란 생리적 혹은 병리적 환경에 의해 소포체가 처리할 수 있는 능력 이상의 미성숙 단백질이 소포체 내로 유입이 되거나 소포체 내 칼슘이 고갈되어 소포체 기능에 장애가 발생하는 것을 말하며, 주로 소포체 단백질 폴딩 부하가 초과된 상태를 의미한다.

[0014] 소포체 스트레스가 발생하면 세포는 생존하기 위한 방어기전을 가지는 데 이를 소포체 스트레스 반응(ER stress response)라고 한다. 소포체 스트레스 반응은 소포체 막에 존재하는 세 가지의 신호전달체계인 PERK (pancreatic ER kinase), IRE-1α/XBP-1 (inositol-requiring 1α/X-box binding protein 1) 및 ATF6 (activating transcription factor)에 의해 매개되며 그 하부 기질인 eIF2-α 경로 또한 관여한다.

[0015] 소포체 스트레스 반응은 다음 네가지 단계로 이루어진다. (a) 리보솜에서 mRNA로부터 단백질로 번역되는 것을 억제(translational attenuation)하여 소포체 내로 새로운 단백질이 유입되는 것이 감소되는 단계; (b) 단백질을 폴딩 시키는데 필요한 BiP(HSPA5로도 알려짐)와 같은 소포체 샤페론(chaperone)의 발현을 유도하여 소포체의 폴딩 능력을 향상시키는 단계; (c) 소포체 스트레스 관련 분해(ER stress-asoociated degradation, ERAD)로 소포체에서 폴딩되지 않거나 잘못 폴딩된 단백질을 세포질 내 유비퀴틴-프로테아솜(ubiquitin-proteasome) 시스템을 통해 분해하여 제거하는 단계; (d) 소포체 스트레스가 위의 세 가지 단계로 극복이 되지 못할 정도로 심각해지고 소포체가 제기능을 회복할 수 없을 때는 세포사멸(apoptosis) 경로가 활성화되어 손상된 세포를 제거하는 단계.

[0016] 본 명세서 상의 용어 소포체 스트레스(ER stress) 억제제란 상기 소포체 스트레스 반응(ER stress response)의 일부 또는 전체 단계를 억제하는 물질을 의미한다.

[0017] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 소포체 스트레스(ER stress) 억제제는 상기 소포체 스트레스 반응(ER stress response)을 억제하는 한 어떠한 물질도 적용할 수 있으며 구체적으로, 살루브리날 (salubrinal), GSK2656157 (1-[5-(4-amino-7-methyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-5-yl)-4-fluoro-2,3-dihydro-1H-indol-1-yl]-2-(6-methyl-2-pyridinyl)-ethanone), STF-083010 (N-[(2-Hydroxy-1-naphthyl)methylene]-2-thiophenesulfonamid), 4-PBA (4-phenylbutyrate), Tudca(Tauroursodeoxycholic acid), Ceapin-A7 (N-(1-{[2,4-bis(Trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1H-pyrazol-4-yl)-5-(furan-2-yl)-1,2-oxazole-3-carboxamide), 및 PF-429242 (4-[(Diethylamino)methyl]-N-[2-(2-methoxyphenyl)ethyl]-N-(3R)-3-pyrrolidinyl-benzamide dihydrochloride)이며 바람직하게는 살루브리날 (salubrinal)이나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0018] 보다 구체적으로, 살루브리날 (salubrinal)은 eIF2-α phosphatase 효소를 억제하여 소포체 스트레스 반응을 억제한다. GSK2656157은 PERK의 억제제로 작용하여 소포체 스트레스 반응을 억제한다. STF-083010는 Ire1의 엔도뉴클레아제(endonuclease) 활성을 억제하고 XBP1 mRNA 스프라이싱을 차단하여 소포체 스트레스 반응을 억제한다. 4-PBA 및 Tudca는 chemical chaperone으로 작용하여 소포체 스트레스 반응을 억제한다. Ceapin-A7는 ATF6-alpha의 잠재적 억제자로 소포체 스트레스 반응을 억제한다. PF-429242는 S1P 억제제로 소포체 스트레스 반응을 억제한다.

[0019] 본 명세서에서 용어 "약제학적 유효량"은 상술한 소포체 스트레스 억제제의 암 치료 효능 또는 암 예방 효능을 달성하는 데 충분한 양을 의미한다. 본 발명의 조성물에 포함된 상기 소포체 스트레스 억제제의 양적 상한은 당업자가 적절한 범위 내에서 선택하여 실시할 수 있다.

[0020] 하기의 실시예에서 입증된 바와 같이, 본 발명의 소포체 스트레스 억제제인 살루브리날(salubrinal)은 항암제와 병용하여 세포노화억제 및 종양 세포의 사멸이 증가하는 효과를 나타내었다. 특히 독소루비신(doxorubicin), 시스플라틴(cisplatin), 파클리탁셀(paclitaxel)과 병용하여 시너지 효과를 나타냈으며 유방암세포주(MCF-7, MDA-MB-231), 전립선암세포주(PC-3), 폐암세포주(A549), 위암세포주(MKN28) 및 간암세포주(SK-HEP1)에서 효과를 나타낸다.

[0021] 본 발명의 조성물이 약제학적 조성물로 제조되는 경우, 본 발명의 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있다. 상기 약제학적으로 허용되는 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시 벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 약제학적 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다. 적합한 약제학적으로 허용되는 담체 및 제제는 Remington's Pharmaceutical Sciences

(19th ed., 1995)에 상세히 기재되어 있다.

[0022] 본 발명의 약제학적 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있고, 비경구 투여인 경우에는 정맥내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 근육내 투여, 비강내 투여, 점막내 투여, 경막 내 투여, 복강내 투여, 안구내 투여 등으로 투여할 수 있으며, 구체적으로는 경구 투여할 수 있다.

[0023] 본 발명의 약제학적 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하며, 보통으로 숙련된 의사는 소망하는 치료 또는 예방에 효과적인 투여량을 용이하게 결정 및 처방할 수 있다. 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 본 발명의 약제학적 조성물의 1일 투여량은 0.001-1000 ㎎/㎏이다. 상기 본 발명의 약제학적 조성물의 1일 투여량은 예컨대 0.1-1000 mg/kg, 0.1-900 mg/kg, 0.1-800 mg/kg, 0.1-700 mg/kg, 0.1-600 mg/kg, 0.1-500 mg/kg, 0.1-400 mg/kg, 0.1-300 mg/kg, 0.1-200 mg/kg, 0.1-100 mg/kg, 0.1-50 mg/kg, 0.1-30 mg/kg, 0.1-20 mg/kg, 0.1-10 mg/kg, 0.1-7 mg/kg, 0.1-5 mg/kg 일 수 있고, 1-1000 mg/kg, 1-900 mg/kg, 1-800 mg/kg, 1-700 mg/kg, 1-600 mg/kg, 1-500 mg/kg, 1-400 mg/kg, 1-300 mg/kg, 1-200 mg/kg, 1-100 mg/kg, 1-50 mg/kg, 1-30 mg/kg, 1-20 mg/kg, 1-10 mg/kg, 1-7 mg/kg, 1-5 mg/kg 일 수 있고, 보다 구체적으로는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 mg/kg 일 수 있다. 또한 다른 일 구현예에 있어서, 상기 본 발명의 약제학적 조성물의 1일 투여량은 예컨대 100-900 mg/kg, 100-800 mg/kg , 100-700 mg/kg , 100-600 mg/kg, 100-500 mg/kg, 100-400 mg/kg, 100-300 mg/kg, 100-200 mg/kg 일 수 있고, 200-900 mg/kg, 200-800 mg/kg , 200-700 mg/kg , 200-600 mg/kg, 200-500 mg/kg, 200-400 mg/kg, 200-300 mg/kg 일 수 있고, 300-900 mg/kg, 300-800 mg/kg, 300-700 mg/kg , 300-600 mg/kg, 300-500 mg/kg, 300-400 mg/kg 일 수 있고, 400-900 mg/kg, 400-800 mg/kg , 400-700 mg/kg , 400-600 mg/kg, 400-500 mg/kg 일 수 있고, 보다 구체적으로는 100 mg/kg, 200 mg/kg, 300 mg/kg, 400 mg/kg, 500 mg/kg, 600 mg/kg, 700 mg/kg, 800 mg/kg, 900 mg/kg, 또는 1000 mg/kg 일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0024] 본 발명의 약제학적 조성물은 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화 함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액 또는 유화액 형태이거나 엑스제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캅셀제 형태일 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.

[0025] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 약제학적 조성물은 암의 예방 및 치료의 효과를 가지는 공지의 항암제와 병용하여 투여할 수 있고, 상기 항암제는 화합물 또는 약제학적 조성물을 포함한다.

[0026] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 항암제는 독소루비신 (doxorubicin), 시스플라틴(cisplatin), 파클리탁셀(paclitaxel), 도세탁셀(docetaxel), 카바지탁셀(cabazitaxel), 카보플라틴(carboplatin), 에토포시드(etoposide), 이리노테칸(irinotecan), 젬시타빈(gemcitabine), 5-플루오로우라실(5-fluorouracil), 카페시타빈(capecitabine), 제피티닙(gefitinib), 소라페닙(sorafenib), 및 이마티닙(imatinib)으로 이루어진 군에서 선택될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0027] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 항암제는 ACTH(adrenocorticotropic hormone) 생성 종양, 급성 림프구성 또는 림프아구성 백혈병, 급성 또는 만성의 림프구성 백혈병, 급성 비림프구성 백혈병, 방광암, 뇌종양, 유방암, 자궁경부암, 만성 골수성 백혈병, 림프종, 자궁내막증, 식도암, 에윙스 육종(Ewing's sarcoma), 설암, 호지킨 림프종, 카포시스 육종, 신장암, 간암, 폐암, 중피종, 다발성 골수종, 신경아세포종, 비호지킨 림프종, 골육종, 난소암, 유방암, 전립선암, 췌장암, 대장암, 음경암, 망막모세포종, 피부암, 위암, 갑상선암, 자궁암, 고환암, 윌름스 종양 및 영양모세포종에 대한 치료제인 것이다.

[0028] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 본 발명의 약제학적 조성물은 세포노화 관련 베타-갈락토시다제 어세이(SA-β-gal assay)에서 항암제 사용에 의해 증가된 SA-β-gal 양성 암세포의 수를 감소시킨다.

[0029] 본 명세서 상의 용어 "세포노화"란 정상 체세포가 일정 횟수 분열한 후 더 이상 분열하지 못하는 현상을 의미한다. 노화된 세포는 모양이 커지고, 편평해지며, 핵에 이질염색질이 증가하고, 세포질에 공포가 많아지는 형태학적 특징과 함께, SA-β-gal (senescence-associated β-galactosidase) 활성이 증가하며, p53, p16INK4, p21CIP1/WAF1과 같은 세포성장을 억제하는 단백질들의 양이 많아지고, 인슐린양성장인자 결합단백질 (insulin-like growth factor binding proteins; IGFBPs), 인터루킨-6 (interleukin-6), 전환성장인자-β (transforming growth factorβ; TGF-β), 인터페론 (interferon)과 같은 여러 가지 염증 단백질들을 분비한다.

[0030] 본 명세서 상의 용어 "세포사멸"이란 진핵세포에서 나타나는 세포의 파괴 또는 자살을 의미한다. 세포사멸은 다양한 외부 및 내부 자극에 반응하여 발생하게 되는데, 세포사멸의 진행과 함께, 세포막과 세포질의 파괴, 또는 세포막의 기포 형성(blebbing), 세포 골격의 변화, 세포 수축, 염색체의 응축 및 DNA 분절화 등과 같은 특징적인 변화가 일어난다.

발명의 효과

[0032] 본 발명의 특징 및 이점을 요약하면 다음과 같다:

[0033] (a) 본 발명은 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 유효성분으로 포함하는 암 치료용 약제학적 조성물을 제공한다.

[0034] (b) 본 발명의 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 유효성분으로 포함하는 암 치료용 약제학적 조성물은 항암제와 병용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0036] 도 1은 인체 유방암 세포주에 해당하는 MCF-7 세포를 독소루비신 (doxorubicin) (100 nM), 시스플라틴 (cisplatin) (5 μM), 파클리탁셀 (paclitaxel) (5 nM)에 5일간 노출시키고 SA-β-gal assay로 세포 노화를 측정한 결과를 나타낸다.

도 2는 인체 유방암 세포주에 해당하는 MDA-MB-231 세포를 독소루비신 (doxorubicin) (30 nM), 시스플라틴 (cisplatin) (5 μM), 파클리탁셀 (paclitaxel) (2 nM)에 5일간 노출시키고 SA-β-gal assay로 세포 노화를 측정한 결과를 나타낸다.

도 3은 인체 유방암 세포주에 해당하는 MCF-7 세포를 독소루비신 (doxorubicin) (100 nM), 시스플라틴 (cisplatin) (5 μM), 파클리탁셀 (paclitaxel) (5 nM)과 같은 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제인 살루브리날 (salubrinal) (10 μM)을 병용하여 5일간 노출시키고 SA-β-gal assay로 세포 노화를 측정한 결과를 나타낸다.

도 4는 인체 유방암 세포주에 해당하는 MDA-MB-231 세포를 독소루비신 (doxorubicin) (30 nM), 시스플라틴 (cisplatin) (5 μM), 파클리탁셀 (paclitaxel) (2 nM)과 같은 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제인 살루브리날 (salubrinal) (10 μM)을 병용하여 5일간 노출시키고 SA-β-gal assay로 세포 노화를 측정한 결과를 나타낸다.

도 5는 인체 유방암세포주인 MCF-7 세포를 독소루비신 (doxorubicin) (100 nM), 시스플라틴 (cisplatin) (5 μM), 파클리탁셀 (paclitaxel) (5 nM)과 같은 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제인 살루브리날 (salubrinal) (10 μM)을 병용하여 3일간 노출시킨 후, 7일 째에 암세포 증식 측정을 위한 Colony forming assay를 진행한 결과를 나타낸다.

도 6은 인체 유방암세포주인 MDA-MB-231 세포를 독소루비신 (doxorubicin) (5 nM), 시스플라틴 (cisplatin) (500 nM), 파클리탁셀 (paclitaxel) (1 nM)과 같은 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제인 살루브리날 (salubrinal) (2 μM)을 병용하여 3일간 노출시킨 후 7일 째에 암세포 증식 측정을 위한 Colony forming assay를 진행한 결과를 나타낸다.

도 7는 인체 전립선암세포주인 PC-3 세포를 독소루비신 (doxorubicin) (5 nM), 시스플라틴 (cisplatin) (10 μM), 파클리탁셀 (paclitaxel) (2 nM)과 같은 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제인 살루브리날 (salubrinal) (10 μM)을 병용하여 3일간 노출시킨 후, 7일 째에 암세포 증식 측정을 위한 Colony forming assay를 진행한 결과를 나타낸다.

도 8은 인간 폐암세포주인 A549 세포를 독소루비신 (doxorubicin) (30 nM), 시스플라틴 (cisplatin) (1 μM), 파클리탁셀 (paclitaxel) (2 nM)과 같은 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제인 살루브리날 (salubrinal) (10 μM)을 병용하여 3일간 노출시킨 후 7일 째에 암세포 증식 측정을 위한 Colony forming assay를 진행한 결과를 나타낸다.

도 9는 인간 위암세포주인 MKN28 세포를 독소루비신 (doxorubicin) (10 nM), 파클리탁셀 (paclitaxel) (2 nM)과 같은 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제인 살루브리날 (salubrinal) (10 μM)을 병용하여 3일간 노출시킨 후 7일 째에 암세포 증식 측정을 위한 Colony forming assay를 진행한 결과를 나타낸다.

도 10은 인간 간암세포주인 SK-HEP1 세포를 독소루비신 (doxorubicin) (2 nM), 시스플라틴 (cisplatin) (1 μM), 파클리탁셀 (paclitaxel) (0.5 nM)과 같은 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제인 살루브리날 (salubrinal) (2 μM)을 병용하여 일간 노출시킨 후 7일 째에 암세포 증식 측정을 위한 Colony forming assay를 진행한 결과를 나타낸다.

도 11은 유방암 세포주에 해당하는 MCF-7 세포를 독소루비신 (doxorubicin) (100 nM), 시스플라틴 (cisplatin) (5 μM)과 같은 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제인 살루브리날 (salubrinal) (10 μM)을 병용하여 노출시켜 PI staining 한 결과를 나타낸다.

도 12는 유방암 세포주에 해당하는 MCF-7 세포를 독소루비신 (doxorubicin) (100 nM), 시스플라틴 (cisplatin) (5 μM), 파클리탁셀 (paclitaxel) (5 nM)과 같은 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제인 살루브리날 (salubrinal)(10 μM)을 병용하여 1일간 노출시킨 후 western blotting을 통해 세포사멸 관련 단백질인 cleaved caspase 7 발현 정도를 확인한 결과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0037] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0039] **실시예**

[0040] **실시예 1: 세포 배양 방법**

[0041] MCF-7 (인간 유방암 세포주), SK-HEP-1 (인간 간암 세포주) 세포를 10% 소태아혈청 (Hyclone) 및 1 % 항생제-항진균제 (Gibco)을 함유한 DMEM 배지에서 배양하였다.

[0042] MDA-MB-231 (인간 유방암 세포주), PC3 (인간 전립선암 세포주), MKN28 (인간 위암 세포주), A549 (인간 폐암 세포주) 세포를 10% 소태아혈청 (Hyclone) 및 1 % 항생제-항진균제(Gibco)을 함유한 RPMI-1640 배지에서 배양하였다.

[0044] **실시예 2: SA-β-gal assay를 통한 세포 노화의 확인**

[0045] SA-β-gal staining은 세포 노화를 측정하기 위한 염색 방법으로, SA-β-gal staining을 수행하기 위해 $2x10^5$ 개의 세포를 35 mm 배양접시에 시딩(seeding)하였다. 35 mm 배양접시에 시딩된 세포를 1X PBS로 세척하였고 0.2% 글루타르 알데히드(glutaraldehyde) 용액으로 실온에서 20분동안 고정하였다. 1X PBS 용액으로 3회 세척 후, 세포를 SA-β-gal staining solution [1 mg/ml 5-브로모-4-클로로-3-인돌일-β-D-갈락토피라노사이드(5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-galactopyranoside), 5 mM $K_3Fe(CN)_6$, 및 2 mM $MgCl_2$ 가 포함된 PBS, pH 6.0]로 37 ℃에서 오버나이트(overnight) 배양하였다. 세포를 도립 형광 현미경(inverted fluorescence microscope) (Eclipse 80i; Nikon, Melville, NY)으로 분석하였다. SA-β-gal staining 양성 세포의 비율을 결정하기 위해 15 랜덤 필드(random field)에서 총 300개의 세포를 카운팅 하였다.

[0046] 살루브리날(salubrinal) (Cat.No.2347), 독소루비신 (doxorubicin) (Cat.No.2252), 시스플라틴(Cisplatin) (Cat.No.2251), 파클리탁셀 (paclitaxel) (Cat.No.1097) 은 Tocris로부터 구입하여 사용하였다.

[0048] **실시예 2-1. 항암제를 단독으로 처리시 MCF-7 및 MDA-MB-231 세포 노화**

[0049] 본 발명자들은 인체 유방암 세포주에 해당하는 MCF-7 세포를 독소루비신 (doxorubicin) (100 nM), 시스플라틴 (cisplatin) (5 μM), 파클리탁셀 (paclitaxel) (5 nM)에 5일간 노출시키고 SA-β-gal assay로 세포 노화를 측

정하였다.

[0050] 그 결과, 도 1에서 나타난 바와 같이, 대조 배양 조건에 해당하는 배양 세포주에 비하여 상기 농도의 독소루비신 (doxorubicin), 시스플라틴 (cisplatin), 파클리탁셀 (paclitaxel)을 처리하였을 때 SA-β-gal staining 양성 세포가 현저하게 증가함을 확인하였다.

[0051] 본 발명자들은 인체 유방암 세포주에 해당하는 MDA-MB-231 세포를 독소루비신 (doxorubicin) (30 nM), 시스플라틴 (cisplatin) (5 μM), 파클리탁셀 (paclitaxel) (2 nM)에 5일간 노출시키고 SA-β-gal assay로 세포 노화를 측정하였다.

[0052] 그 결과, 도 2에서 나타난 바와 같이, 대조 배양 조건에 해당하는 배양 세포주에 비하여 상기 농도의 독소루비신 (doxorubicin), 시스플라틴 (cisplatin), 파클리탁셀 (paclitaxel)이 처리되었을 때 SA-β-gal staining 양성 세포가 현저하게 증가함을 확인하였다.

[0054] **실시예 2-2. 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제 병용 처리에 따른 MCF-7 및 MDA-MB-231 세포 노화 억제**

[0055] 본 발명자들은 인체 유방암 세포주에 해당하는 MCF-7 세포를 독소루비신 (doxorubicin) (100 nM), 시스플라틴 (cisplatin) (5 μM), 파클리탁셀 (paclitaxel) (5 nM)과 같은 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제인 살루브리날 (salubrinal)(10 μM)을 병용하여 5일간 노출시키고 SA-β-gal assay로 세포 노화를 측정하였다.

[0056] 그 결과, 도 3에서 나타난 바와 같이, 항암제를 단독으로 처리하는 경우보다 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 병용하여 처리하였을 때 SA-β-gal staining 양성 세포가 감소함을 확인하였다.

[0057] 본 발명자들은 인체 유방암 세포주에 해당하는 MDA-MB-231, 세포를 독소루비신 (doxorubicin) (30 nM), 시스플라틴 (cisplatin) (5 μM), 파클리탁셀 (paclitaxel) (2 nM)과 같은 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제인 살루브리날 (salubrinal) (10 μM)을 병용하여 5일간 노출시키고 SA-β-gal assay로 세포 노화를 측정하였다.

[0058] 그 결과, 도 4에서 나타난 바와 같이, 항암제를 단독으로 처리하는 경우보다 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 병용하여 처리하였을 때 SA-β-gal staining 양성 세포가 감소함을 확인하였다. 상기 결과는 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 병용하여 처리함으로써 항암제로 인한 세포 노화가 소포체 스트레스(ER stress) 억제제에 의해 세포사멸로 전환되는 것을 확인하였다.

[0060] **실시예 3: Colony forming assay를 통한 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제 처리에 따른 종양세포의 증식 억제 확인**

[0061] Colony forming assay를 수행하기 위해, MCF-7, MDA-MB-231, PC-3, A549, MKN28, SK-HEP1 세포를 6 웰 플레이트(well plate)에 시딩하고 표준 조건(standard condition)에서 24시간동안 배양하였다. 다음으로 각 세포를 독소루비신 (doxorubicin), 시스플라틴 (cisplatin), 파클리탁셀 (paclitaxel) 과 같은 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제인 살루브리날 (salubrinal)을 병용하여 3일간 처리하였다. 그 후, 세포를 1X PBS로 세척하고 새 배지(fresh medium)에서 1주 동안 배양하였다. 세포를 1X PBS로 2회 세척하고 0.2% 글루타르 알데히드 (glutaraldehyde) 용액으로 실온에서 20분 동안 고정하였다. 고정 후, 세포를 1X PBS로 2회 세척되고 0.25% crystal violet (Sigma-Aldrich) 용액으로 30분간 염색하고, Image J 프로그램을 이용하여 콜로니 수를 카운팅하였다.

[0063] **실시예 3-1. 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제 처리에 따른 MCF-7 세포의 증식 억제**

[0064] 본 발명자들은 인체 유방암세포주인 MCF-7 세포를 독소루비신 (doxorubicin) (100 nM), 시스플라틴 (cisplatin) (5 μM), 파클리탁셀 (paclitaxel) (5 nM)과 같은 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제인 살루브리날 (salubrinal) (10 μM)을 병용하여 3일간 노출시킨 후, 7일 째에 암세포 증식 측정을 위한 Colony forming assay를 진행하였다.

[0065] 그 결과, 도 5에 나타난 바와 같이, 대조 배양 조건이나 소포체 스트레스(ER stress) 억제제 단독으로 처리하는

경우와 달리, 항암제 단독 또는 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 병용하여 처리하였을 때 colony의 수가 현저하게 감소함을 확인하였다. 또한, 항암제를 단독으로 처리한 경우보다 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 병용하여 처리하였을 때 colony의 수가 더욱 감소함을 확인하였다.

[0067] **실시예 3-2. 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제 처리에 따른 MDA-MB-231 세포의 증식 억제**

[0068] 본 발명자들은 인체 유방암세포주인 MDA-MB-231 세포를 독소루비신 (doxorubicin) (5 nM), 시스플라틴 (cisplatin) (500 nM), 파클리탁셀 (paclitaxel) (1 nM)과 같은 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제인 살루브리날 (salubrinal) (2 μM)을 병용하여 3일간 노출시킨 후 7일 째에 암세포 증식 측정을 위한 Colony forming assay를 진행하였다.

[0069] 그 결과, 도 6에 나타난 바와 같이, 대조 배양조건이나 소포체 스트레스(ER stress) 억제제 단독으로 처리하는 경우와 달리, 항암제 단독 또는 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 병용하여 처리하였을 때 colony의 수가 현저하게 감소함을 확인하였다. 또한, 항암제를 단독으로 처리한 경우보다 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 병용하여 처리하였을 때 colony의 수가 더욱 감소함을 확인하였다.

[0071] **실시예 3-3. 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제 처리에 따른 PC-3 세포의 증식 억제**

[0072] 본 발명자들은 인체 전립선암세포주인 PC-3 세포를 독소루비신 (doxorubicin) (5 nM), 시스플라틴 (cisplatin) (10 μM), 파클리탁셀 (paclitaxel) (2 nM)과 같은 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제인 살루브리날 (salubrinal) (10 μM)을 병용하여 3일간 노출시킨 후, 7일 째에 암세포 증식 측정을 위한 Colony forming assay를 진행하였다.

[0073] 그 결과, 도 7에 나타난 바와 같이, 대조 배양조건이나 소포체 스트레스(ER stress) 억제제 단독으로 처리하는 경우와 달리, 항암제 단독 또는 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 병용하여 처리하였을 때 colony의 수가 현저하게 감소함을 확인하였다. 또한, 항암제를 단독으로 처리한 경우보다 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 병용하여 처리하였을 때 colony의 수가 더욱 감소함을 확인하였다.

[0075] **실시예 3-4. 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제 처리에 따른 A549 세포의 증식 억제**

[0076] 본 발명자들은 인간 폐암세포주인 A549 세포를 독소루비신 (doxorubicin) (30 nM), 시스플라틴 (cisplatin) (1 μM), 파클리탁셀 (paclitaxel) (2 nM)과 같은 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제인 살루브리날 (salubrinal) (10 μM)을 병용하여 3일간 노출시킨 후 7일 째에 암세포 증식 측정을 위한 Colony forming assay를 진행하였다.

[0077] 그 결과, 도 8에 나타난 바와 같이, 대조 배양조건이나 소포체 스트레스(ER stress) 억제제 단독으로 처리하는 경우와 달리, 항암제 단독 또는 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 병용하여 처리하였을 때 colony의 수가 현저하게 감소함을 확인하였다. 또한, 항암제를 단독으로 처리한 경우보다 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 병용하여 처리하였을 때 colony의 수가 더욱 감소함을 확인하였다.

[0079] **실시예 3-5. 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제 처리에 따른 MKN28 세포의 증식 억제**

[0080] 본 발명자들은 인간 위암세포주인 MKN28 세포를 독소루비신 (doxorubicin) (10 nM), 파클리탁셀 (paclitaxel) (2 nM)과 같은 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제인 살루브리날 (salubrinal) (10 μM)을 병용하여 3일간 노출시킨 후 7일 째에 암세포 증식 측정을 위한 Colony forming assay를 진행하였다.

[0081] 그 결과, 도 9에 나타난 바와 같이, 대조 배양조건이나 소포체 스트레스(ER stress) 억제제 단독으로 처리하는 경우와 달리, 항암제 단독 또는 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 병용하여 처리하였을 때 colony의 수가 현저하게 감소함을 확인하였다. 또한, 항암제를 단독으로 처리한 경우보다 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 병용하여 처리하였을 때 colony의 수가 더욱 감소함을 확인하였다.

[0083] **실시예 3-6. 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제 처리에 따른 SK-HEP1 세포의 증식 억제**

[0084] 본 발명자들은 인간 간암세포주인 SK-HEP1 세포를 독소루비신 (doxorubicin) (2 nM), 시스플라틴 (cisplatin) (1 μM), 파클리탁셀 (paclitaxel) (0.5 nM)과 같은 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제인 살루브리날 (salubrinal) (2 μM)을 병용하여 일간 노출시킨 후 7일 째에 암세포 증식 측정을 위한 Colony forming assay를 진행하였다.

[0085] 그 결과, 도 10에 나타난 바와 같이, 대조 배양조건이나 소포체 스트레스(ER stress) 억제제 단독으로 처리하는 경우와 달리, 항암제 단독 또는 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 병용하여 처리하였을 때 colony의 수가 현저하게 감소함을 확인하였다. 또한, 항암제를 단독으로 처리한 경우보다 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 병용하여 처리하였을 때 colony의 수가 더욱 감소함을 확인하였다. 상기 결과는 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 병용하여 처리하는 경우 항암제를 단독으로 처리하는 경우보다 암 세포의 사멸을 효과적으로 유도함을 보여준다.

[0087] **실시예 4: Propidium iodide (PI) staining을 통한 세포사멸의 확인**

[0088] PI staining은 세포를 염색하는데 사용할 수 있는 형광 물질인 Propidium Iodide(PI)를 이용한 염색방법이다. PI는 DNA를 염색하지만 세포막을 통과하지 못하기 때문에 중기 및 후기 세포사멸을 확인하는데 이용할 수 있다.

[0089] $2x10^5$ 개의 세포를 6 웰 플레이트(well plate)에 시딩하고, 각 세포별로 표준 조건(standard condition)에서 24시간동안 배양하였다. 24시간 후, 세포를 독소루비신 (doxorubicin), 시스플라틴 (cisplatin), 파클리탁셀 (paclitaxel) 과 같은 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제인 살루브리날 (salubrinal)을 병용하여 3일간 처리하였다. 그 후, 세포를 저온의 1X PBS 용액으로 2회 세척하고, 현미경 관찰 전에 PI를 2 μg/ml 의 세포 현탁액에 첨가하였다. 세포를 도립 형광 현미경 (inverted fluorescence microscope) (Eclipse 80i; Nikon, Melville, NY)으로 분석하였다.

[0090] 유방암 세포주에 해당하는 MCF-7 세포를 독소루비신 (doxorubicin) (100 nM), 시스플라틴 (cisplatin) (5 μM)과 같은 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제인 살루브리날 (salubrinal) (10 μM)을 병용하여 노출시켰다.

[0091] 그 결과, 도 11에서 나타난 바와 같이, 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 병용하여 처리함으로써 항암제를 단독으로 처리하는 경우보다 중기 및 후기 세포사멸까지 진행된 암 세포의 수가 증가함을 보여준다.

[0093] **실시예 5: 웨스턴 블롯을 통한 세포사멸 관련 단백질의 확인**

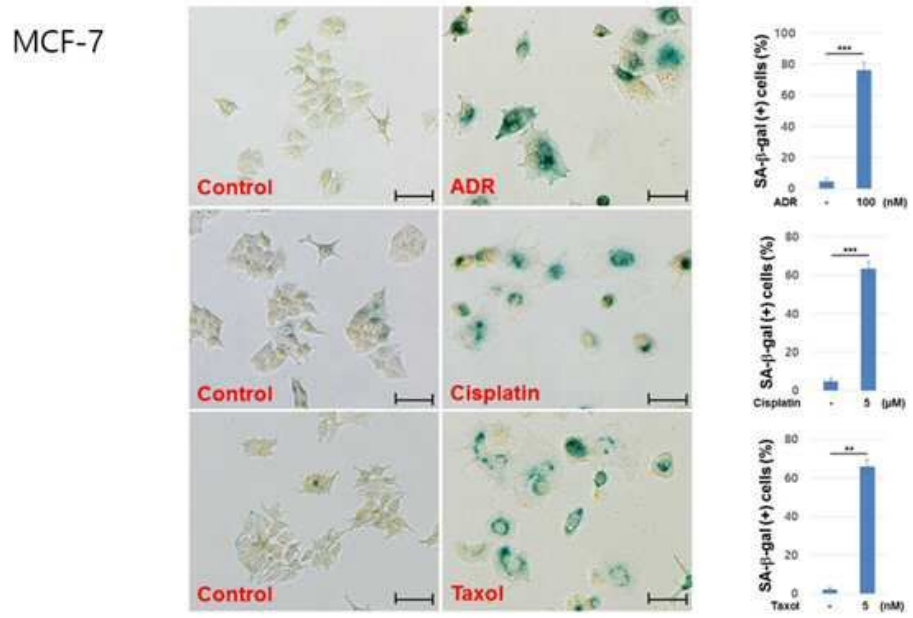
[0094] 본 발명자들은 유방암 세포주에 해당하는 MCF-7 세포를 독소루비신 (doxorubicin) (100 nM), 시스플라틴 (cisplatin) (5 μM), 파클리탁셀 (paclitaxel) (5 nM)과 같은 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제인 살루브리날 (salubrinal)(10 μM)을 병용하여 1일간 노출시킨 후 western blotting을 통해 세포사멸 관련 단백질인 cleaved caspase 7 발현 정도를 확인하였다. α-tubulin 항체는 calbiochem, caspase7 (cleaved form) (#9491) 항체는 Cell Signaling Technology 로부터 구입하여 사용하였다.

[0095] 그 결과, 도 12에 나타난 바와 같이, 대조 배양조건에 해당하는 경우와 달리, 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제인 살루브리날 (salubrinal)이 함께 처리된 경우에 세포사멸 관련 단백질인 cleaved caspase 7 발현이 현저하게 증가하였다.

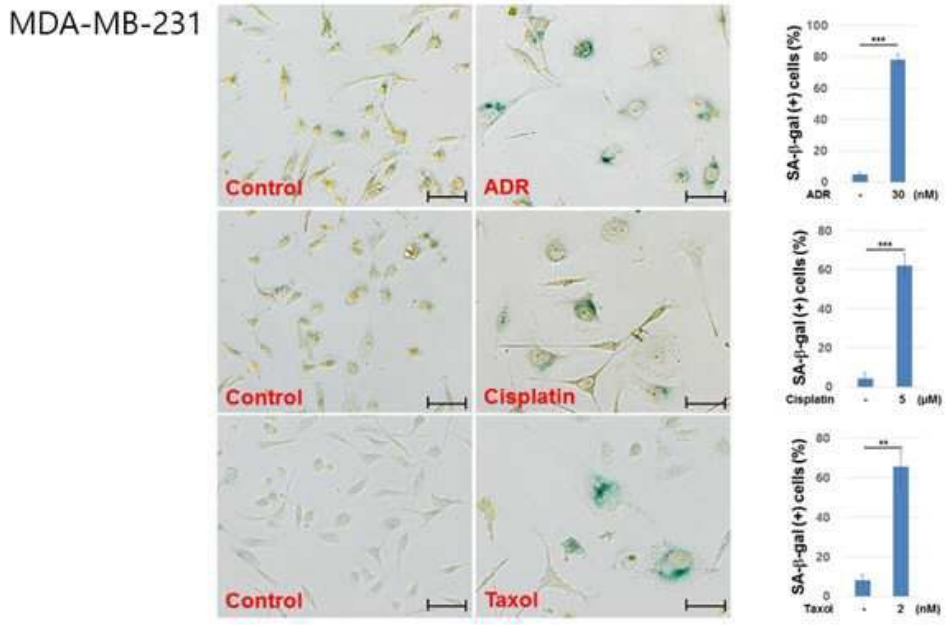
[0096] 상기 결과는 항암제와 소포체 스트레스(ER stress) 억제제를 병용하여 처리하는 경우 항암제를 단독으로 처리하는 경우보다 암 세포의 사멸이 증가함을 보여준다.

도면

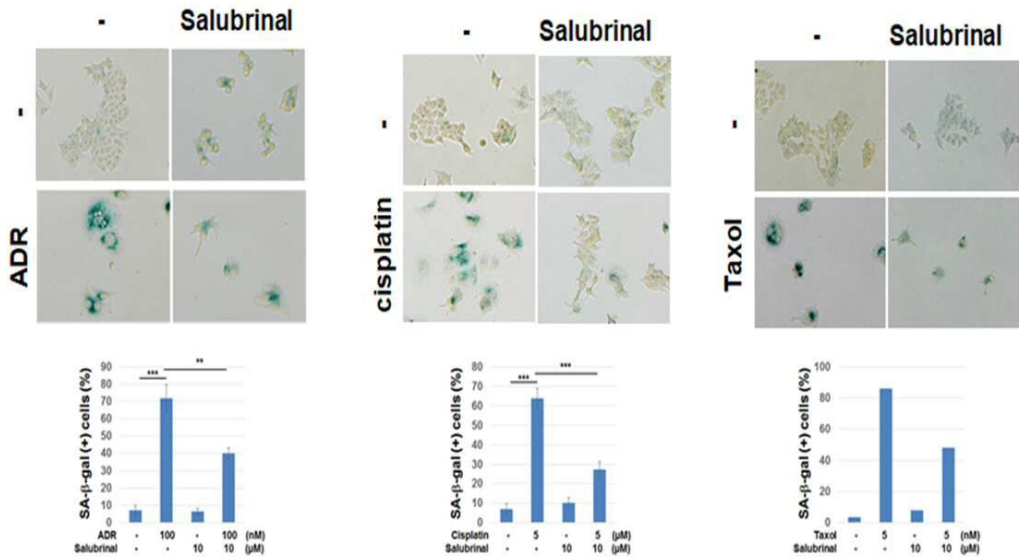
도면1


MCF-7
Control
ADR
Control
Cisplatin
Control
Taxol
SA-β-gal (+) cells (%)
ADR
100 (nM)
Cisplatin
5 (μM)
Taxol
5 (nM)

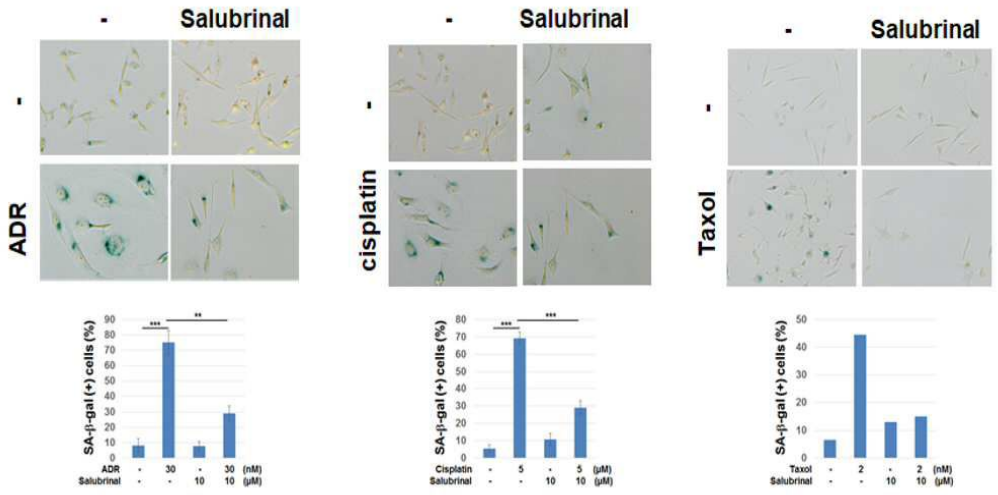
도면2


MDA-MB-231
Control
ADR
Control
Cisplatin
Control
Taxol
SA-β-gal (+) cells (%)
ADR
30 (nM)
Cisplatin
5 (μM)
Taxol
2 (nM)

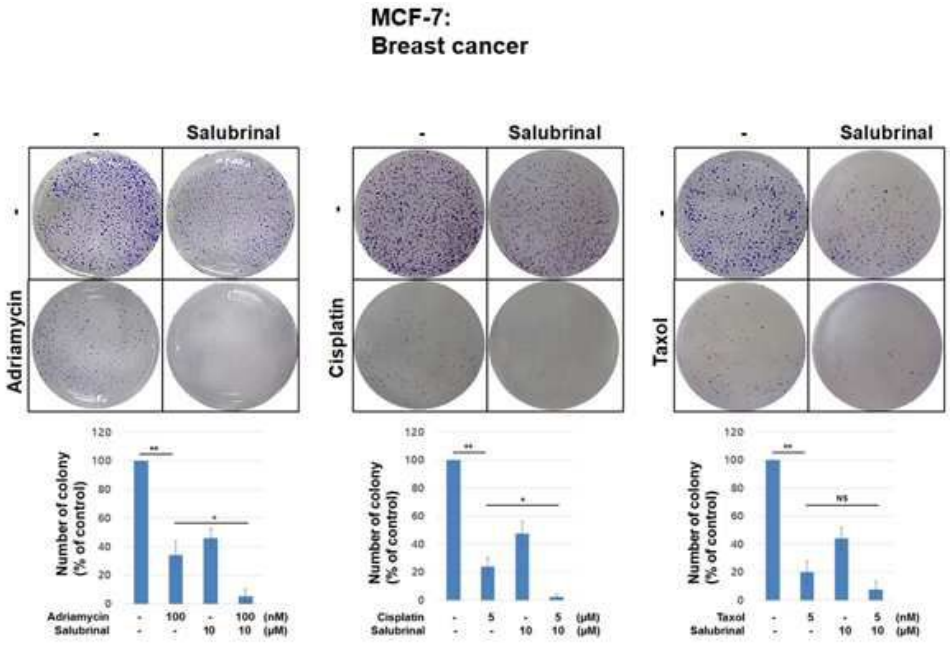
도면3


-
Salubrinal
ADR
cisplatin
Taxol
SA-β-gal (+) cells (%)
ADR
Cisplatin
Taxol
Salubrinal
(nM)
(μM)

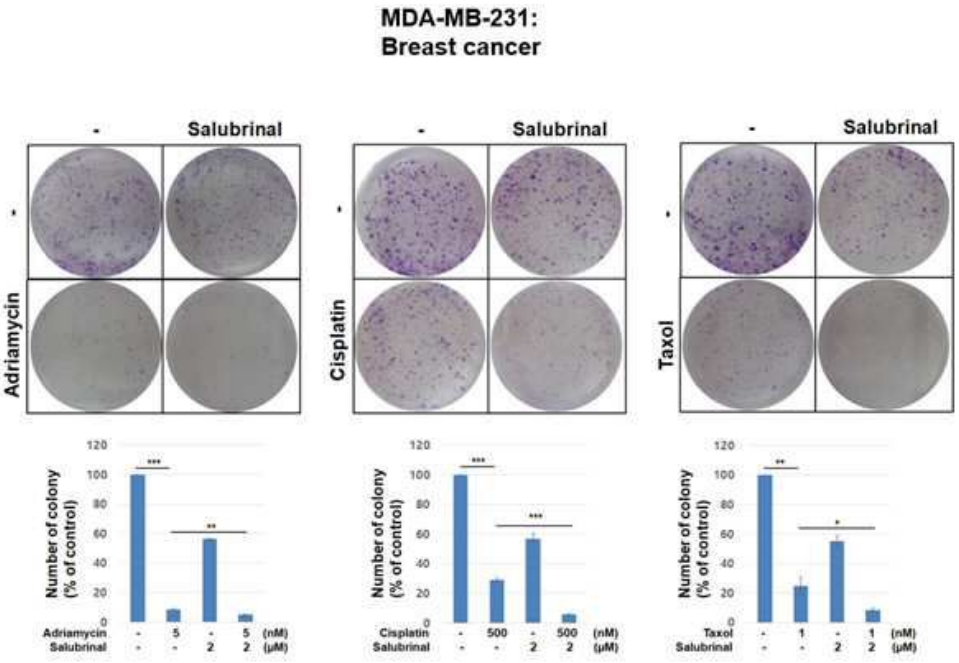
도면4


-
Salubrinal
ADR
cisplatin
Taxol
SA-β-gal (+) cells (%)
ADR
Cisplatin
Taxol
Salubrinal
(nM)
(μM)

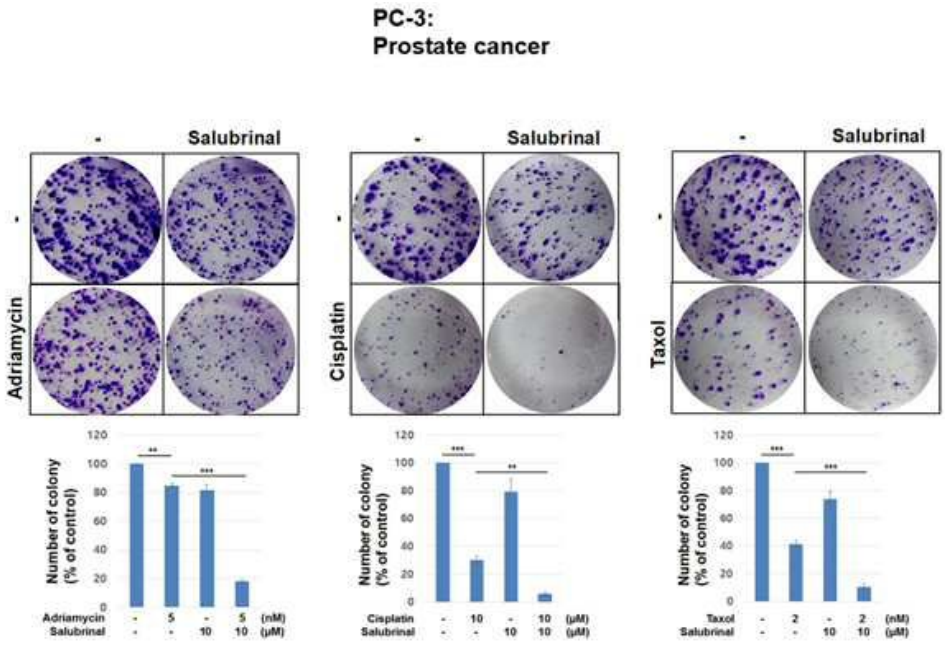
도면5


MCF-7:
Breast cancer
-
Salubrinal
Adriamycin
Cisplatin
Taxol
Number of colony (% of control)
Adriamycin
Cisplatin
Taxol
Salubrinal
(nM)
(μM)
NS

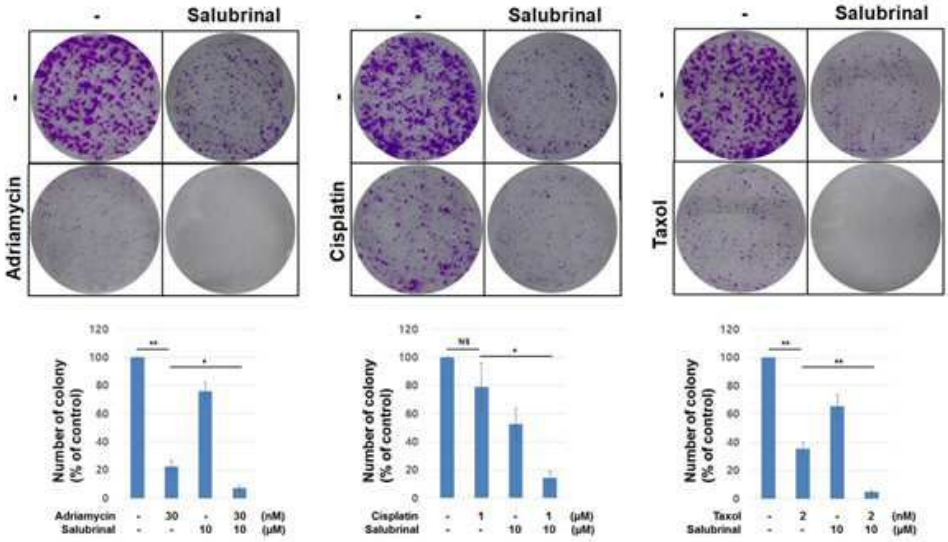
도면6


MDA-MB-231:
Breast cancer
-
Salubrinal
Adriamycin
Cisplatin
Taxol
Number of colony (% of control)
Adriamycin
Cisplatin
Taxol
Salubrinal
(nM)
(μM)

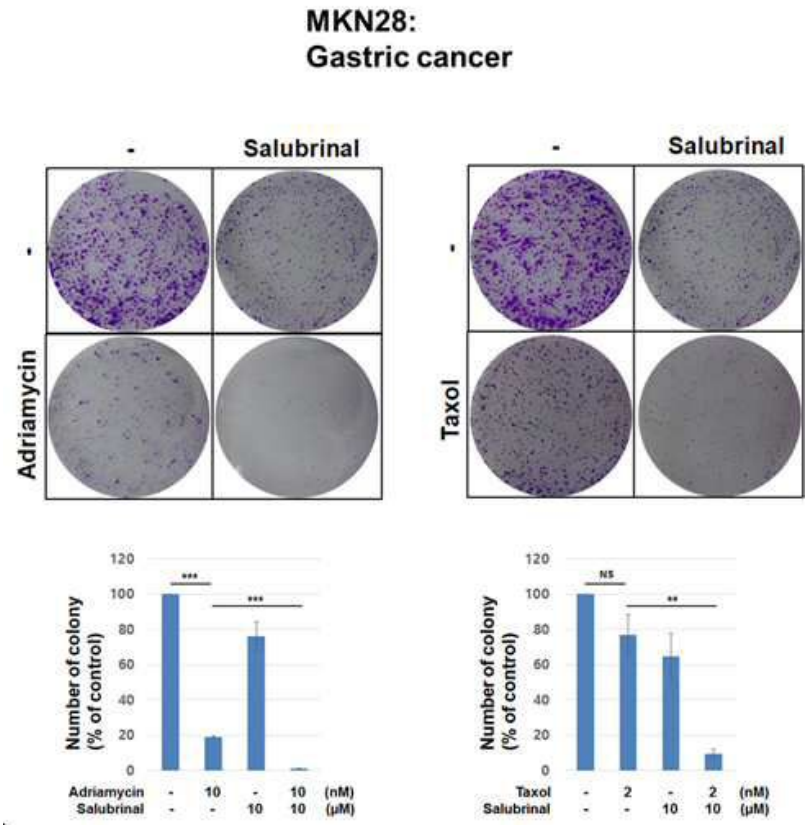
도면7


PC-3:
Prostate cancer
-
Salubrinal
Adriamycin
Cisplatin
Taxol
Number of colony (% of control)
Adriamycin
Cisplatin
Taxol
Salubrinal
(nM)
(μM)

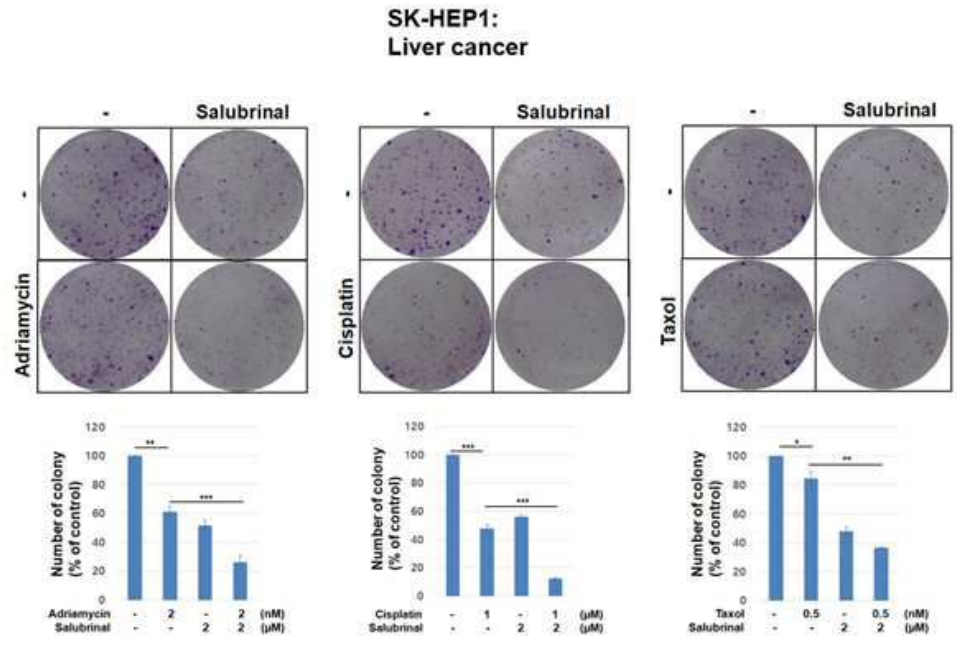
도면8


A549:
Lung cancer
-
Salubrinal
Adriamycin
Cisplatin
Taxol
Number of colony (% of control)
Adriamycin
Cisplatin
Taxol
Salubrinal
(nM)
(μM)

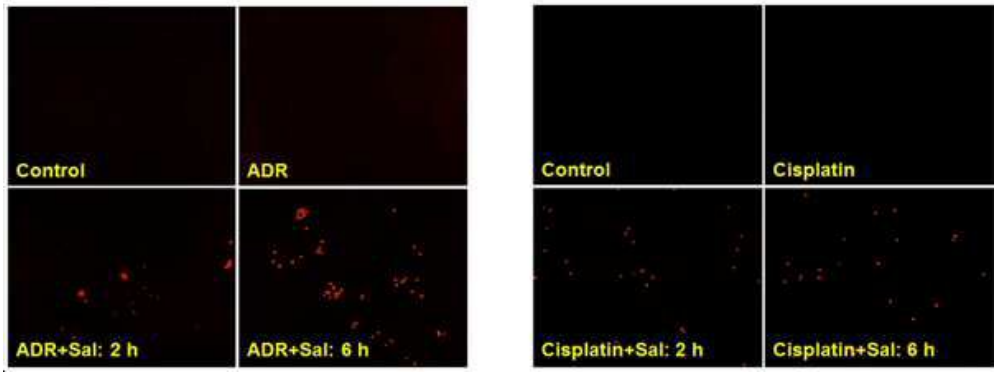
도면9


MKN28:
Gastric cancer
-
Salubrinal
-
Adriamycin
Taxol
Number of colony (% of control)
Adriamycin
Salubrinal
Taxol
(nM)
(μM)
NS

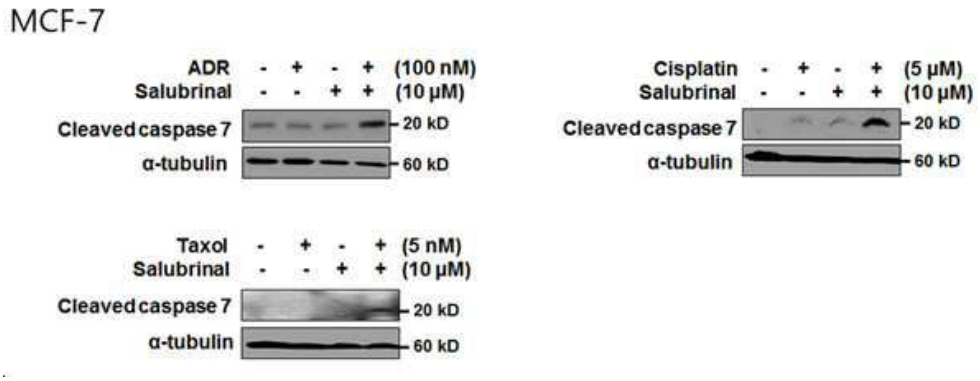
도면10


SK-HEP1:
Liver cancer
-
Salubrinal
Adriamycin
Cisplatin
Taxol
Number of colony (% of control)
Adriamycin
Cisplatin
Taxol
Salubrinal
(nM)
(μM)

도면11


Control
ADR
ADR+Sal: 2 h
ADR+Sal: 6 h
Control
Cisplatin
Cisplatin+Sal: 2 h
Cisplatin+Sal: 6 h

도면12


MCF-7
ADR - + - + (100 nM)
Salubrinal - - + + (10 μM)
Cleaved caspase 7
20 kD
α-tubulin
60 kD
Cisplatin - + - + (5 μM)
Salubrinal - - + + (10 μM)
Cleaved caspase 7
20 kD
α-tubulin
60 kD
Taxol - + - + (5 nM)
Salubrinal - - + + (10 μM)
Cleaved caspase 7
20 kD
α-tubulin
60 kD