



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년10월27일

(11) 등록번호 10-1454286

(24) 등록일자 2014년10월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 47/10 (2006.01) *A61K 9/127* (2006.01)*A61K 31/07* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-7020266(분할)

(22) 출원일자(국제) 2005년12월22일

심사청구일자 2013년08월28일

(85) 번역문제출일자 2013년07월30일

(65) 공개번호 10-2013-0099232

(43) 공개일자 2013년09월05일

(62) 원출원 특허 10-2007-7015733

원출원일자(국제) 2005년12월22일

심사청구일자 2010년11월30일

(86) 국제출원번호 PCT/JP2005/023619

(87) 국제공개번호 WO 2006/068232

국제공개일자 2006년06월29일

(30) 우선권주장

JP-P-2004-382791 2004년12월22일 일본(JP)

(56) 선행기술조사문헌

WO2004069159 A2*

Biol. Pharm. Bull. 2003, 제26권 제7호,
1060-1063쪽.*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

닛토덴코 가부시키가이샤

일본국 오사카후 이바라키시 시모호초미 1-1-2

(72) 발명자

니츠 요시로

일본국 060-0061 훗카이도 샷포로시 추오쿠 미나
미 1조 니시 16쵸메 291반지 샷포로 이카 다이가
쿠 나이 카가쿠 다이 4 코자나이

카토 준지

일본국 060-0061 훗카이도 샷포로시 추오쿠 미나
미 1조 니시 16쵸메 291반지 샷포로 이카 다이가
쿠 나이 카가쿠 다이 4 코자나이

사토 야스시

일본국 060-0061 훗카이도 샷포로시 추오쿠 미나
미 1조 니시 16쵸메 291반지 샷포로 이카 다이가
쿠 나이 카가쿠 다이 4 코자나이

(74) 대리인

이원희

전체 청구항 수 : 총 6 항

심사관 : 이예리

(54) 발명의 명칭 섬유화 억제를 위한 약물 담체 및 약물 담체 키트

(57) 요약

본 발명은, 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그를 구성 성분으로 하는 성상세포 특이적 약물 담체, 이를 이용한 약물 전달 방법, 이것을 포함한 의약, 및 이 의약을 이용한 치료 방법에 관한 것이다. 약물 담체에 비타민 A 등의 레티노이드 유도체 또는 비타민 A 아날로그를 결합 또는 포함시키는 것으로, 치료용 약물을 성상세포 특이적으로 운반하는 것이 가능하게 되어, 성상세포 관련 질환을 효율적 또한 효과적으로, 최소한의 부작용으로 억제 또는 예방할 수 있다. 성상세포의 활성 또는 증식을 제어하는 약물로서 예를 들어 콜라겐 특이적 분자 샤프론인 HSP47에 대한 siRNA를 해당 약물 담체에 봉입해 이용하는 것으로, I형 ~ IV형 콜라겐의 분비를 동시에 억제하여, 그 결과 섬유 형성을 효과적으로 억제할 수가 있다.

대 표 도



특허청구의 범위

청구항 1

성상세포 특이적으로 약물을 전달하기 위한 표적화제로서 레티노이드 유도체 또는 비타민 A 유사체를 포함하는, 성상세포 특이적인 약물 전달용 약학적 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 레티노이드 유도체는 비타민 A를 포함하는 것을 특징으로 하는 성상세포 특이적인 약물 전달용 약학적 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 조성물은 0.2 ~ 20 중량%의 레티노이드 유도체 또는 비타민 A 유사체를 포함하는 것을 특징으로 하는 성상세포 특이적인 약물 전달용 약학적 조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 조성물은 고분자 미셀, 리포솜, 에멀젼, 미소공 또는 나노소공 중 어느 하나의 형태인 것을 특징으로 하는 성상세포 특이적인 약물 전달용 약학적 조성물.

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

제 1항에 있어서, 상기 약물은 TGF β 활성 저해제, HGF 활성 제제, MMP 생산 촉진제, TIMP 생산 저해제, PPAR γ 리간드, 안지오텐신 활성 저해제, PDGF 활성 저해제, 나트륨 채널 저해제, 아포토시스(apoptosis) 유도제 및, 성상세포에 의해 생산되는 세포 외 매트릭스 구성분자를 표적으로 하거나 해당 세포 외 매트릭스 구성분자의 세균이 고분자물질을 생합성하거나 또는 분비에 기능하는 분자 가운데 하나 또는 그 이상을 표적으로 하는 siRNA, 리보자임, 안티센스 핵산, DNA/RNA 키메라폴리뉴클레오티드 및 이것들을 발현하는 벡터로부터 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 약물인 것을 특징으로 하는 성상세포 특이적인 약물 전달용 약학적 조성물.

청구항 8

제 7항에 있어서, 상기 세포 외 매트릭스 구성분자의 세균이 고분자물질을 생합성하거나 또는 분비에 기능하는 분자는 HSP47인 것을 특징으로 하는 성상세포 특이적인 약물 전달용 약학적 조성물.

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

명세서

기술 분야

[0001]

본 발명은, 성상세포로의 약물수송계(drug delivery system, DDS)에 이용하는 약물 담체, 이것을 포함한 의약 및 해당 의약의 조제 키트, 특히, 유효 성분이 성상세포의 활성 또는 증식을 제어하는 약물, 특히 성상세포에 의해 분비되는 세포 외 매트릭스(matrix) 구성분자를 표적으로 하는, 또는 세포 외 매트릭스 구성분자의 생산 또는 분비에 기능하는 분자 중 1개 또는 그 이상을 표적으로 하는 약물인 의약 및 그 조제 키트에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

간장의 섬유화는 한정되는 것은 아니지만, 예를 들어 B형 또는 C형 간염 바이러스 등에서 기원되는 바이러스성 간질환, 비알코올성 지방성 간염, 영양 장해 당뇨병, 기생충, 결핵 또는 매독 등의 감염증, 심장병 등에 의한 간장 내의 울혈, 또는 담즙의 통과 장해 등에 수반되는 간장 내의 조직 상해 등에 대한 창상 치유 기전의 결과, 간성세포(HSC)가 활성화되어 과도하게 생산·분비되는 복수 종의 콜라겐 분자 및 파이브리노넥틴(fibronectin) 등의 세포 외 매트릭스(ECM)가 간질에 침착됨으로써 초래된다. 간섬유화의 종말 증상은 간경변이며, 간부전이나 간세포암 등을 일으키는 것으로부터, 이것을 미리 막기 위해, 및/또는 이러한 진행을 억제하기 위해, 적어도 간섬유화를 억제하는 약물 담체 및 약물 담체 키트의 개발이 바람직하다.

[0003]

또한, 췌장에서도 간섬유화와 같은 메커니즘(機序)에 의한 췌섬유화에 의해 만성 췌장염이 발병한다 (Madro A 등, Med Sci Monit. 2004 Jul;10(7):RA166-70.; Jaster R, Mol Cancer. 2004 Oct 06;3(1):26.). 그러나, 췌섬유화 또는 만성 췌장염 등의 진행을 억제하는 유효한 수단은 여전히 규명되지 않고 있다.

[0004]

간장 또는 췌장의 섬유화를 억제하는 유효한 수단으로서 성상세포가 중요한 표적 후보의 하나가 될 가능성이 있다(Fallowfield JA, Iredale JP, Expert Opin Ther Targets. 2004 Oct;8(5):423-35; Pinzani M, Rombouts K, Dig Liver Dis. 2004 Apr;36(4):231-42.). 섬유화 과정 중, 성상세포는 쿠퍼 세포(Kupffer cell)나 침윤 세포로부터의 사이토카인에 의해 활성화되고 활성화 세포로 형질 전환되어 세포 외 매트릭스(ECM)를 매우 분명하게 생산한다. 성상세포는 비타민 A의 저장 세포로서 알려져 있고, 줄기섬유아세포 패밀리에 속한다. 한편, 성상세포는 매트릭스 분해 효소(MMP), 그 억제 인자(TIMP), TGF- β , PDGF 등의 사이토 카인 및 HGF 등의 증식 인자를 생산하고, 간섬유화에 있어서 중심적인 역할을 완수한다. 활성화된 성상세포는 수축능이 향진하여 혈류의 조절에 관여하는 것 외에, 각종 사이토카인 수용체의 발현을 증가시켜 사이토카인에 대해서 고감수성이 된다.

[0005]

섬유화에 대한 치료 방법으로서 현재까지 시도되고 있는 방법으로서는, 콜라겐 대사의 제어, 콜라겐 분해계의 촉진 또는 성상세포 활성화의 억제 등을 들 수 있다. 이들에는, 절단된 TGF β 타입 II 수용체 (truncated TGF β type II receptor, Qi Z 등, Proc Natl Acad Sci U S A. 1999 Mar 2;96(5):2345-9.), 또는 용해성 TGF β 타입 II 수용체(George J 등, Proc Natl Acad Sci U S A. 1999 Oct 26;96(22):12719-24.), 또는 HGF(특표평 5-503076호 공보 ;Ueki K 등, Nat Med. 1999 Feb;5(2):226-30.) 등을 이용한[성상세포를 활성화시킨 세포 외 매트릭스(ECM) 생산을 촉진하는 인자로서 알려져있다] TGF β 의 억제, HGF 또는 MMP 유전자를 함유한 벡터에 의한 매트릭스 분해 효소(MMP)의 생산 촉진(Iimuro Y 등, Gastroenterology 2003; 124:445-458.), MMP 저해 인자인 TIMP의 안티센스 RNA 등에 의한 억제(Liu WB 등, World J Gastroenterol. 2003 Feb;9(2):316-9), PPAR γ 리간드(Marra F 등, Gastroenterology. 2000 Aug;119(2):466-78) 또는 안지오텐신-II type I 수용체 길항제(angiotensin-II type I receptor antagonist, Yoshiji H 등, Hepatology. 2001 Oct;34(4 Pt 1):745-50.)에 의한 성상세포 활성화의 제어, PDGF 티로신ки나제 저해제 등에 의한 PDGF 작용의 억제(Liu XJ 등, World J Gastroenterol. 2002 Aug;8(4):739-45.) 및 아밀로라이드(amiloride)에 의한 나트륨 채널 저해(Benedetti A 등, Gastroenterology. 2001 Feb;120(2):545-56) 등을 개입시킨 성상세포의 증식 억제, 컴파운드(compound) 861(Wang L, 등 , World J Gastroenterol 2004 October 1;10(19):2831-2835), 글리오톡신(gliotoxin, Orr JG 등, Hepatology. 2004 Jul;40(1):232-42.) 등에 의한 성상세포의 아포토시스(apoptosis) 유도 등이 포함된다. 그러나, 어느 경우에도 작용 특이성 및/또는 장기 특이성이 낮기 때문에 효과 및 부작용에 문제가 있다.

[0006]

콜라겐의 단백질 합성에 대해서는 대사 경로가 불명확한 점이 많아, 이것을 억제하는 약제에 의한 치료 방법에 대해서는 부작용 등의 점에서 효율적 또한 생체에 안전한 치료 방법으로서는 확립되어 있지 않다. 즉 콜라겐 생산에 관여되는 분자를 표적으로 하는 방법에 대해서는, 그러한 분자가 갖는 다양한 기능을 위하여 표적의 특이성을 높이지 못하고, 부작용을 일으킬 가능성이 높다. 최종 산물인 콜라겐을 직접 억제할 수 있다면, 섬유화 과정에 대한 공통의 치료 방법으로서 이론상으로 적합하지만, 그 때문에, 타입 I ~ IV로 대표되는 여러가지 타입의 콜라겐을 일망타진하여 제어하는 것이 필요하다.

[0007]

콜라겐에 대한 특이성을 잊지 않고, 여러 종류로 존재하는 콜라겐 분자의 합성을 동시에 억제하는 유효한 수단의 하나로서 HSP47의 기능을 제어하는 방법이 고려되고 있다. HSP47는 여러가지 타입의 콜라겐의 합성 과정에서 공통되는 세포내 수송 및 분자 성숙화에 필수적인 콜라겐 특이적 분자 샤프론이다. 따라서, 성상세포에 대해 HSP47의 기능을 특이적으로 제어할 수가 있다면, 간섬유화의 억제가 가능하다고 생각되어지지만, 그러한 치료 방법의 시도에 대해서는 아직까지 보고가 없다.

[0008]

발명자들은 세포계에 대해, HSP47의 기능을 특이적으로 제어하는 리보자임을 제작하고, 이것에 의해 콜라겐 생산 분비를 한 번에 억제할 수 있는 것을 확인하였다(Sasaki H, et al. Journal of Immunology, 2002, 168: 5178-83; Hagiwara S, et al. J Gene Med. 2003, 5:784-94). HSP47의 합성을 특이적으로 억제하기 위해서는, 리보자임보다 최적화가 용이한 siRNA가 적용되고 수득되었다. 본 명세서에서 이용하는 siRNA(small interfering RNAs)란, RNAi(RNA interference)로 이용하는 이중 사슬 RNA의 총칭이다. RNAi란, 어느 유전자와 상동인, 센스 RNA 및 안티센스 RNA로부터 되는 이중 사슬 RNA(double-strand RNA; dsRNA)가, 그 유전자의 전사산물(mRNA)의 상동 부분을 파괴하는 현상으로, 당초 선충을 이용한 실험을 통해 나타났지만(Fire A, et al: Nature (1998) 391:806-811), 포유동물 세포에서도 동일한 유도 기구가 존재하는 것이 밝혀지고 있다(Ui-Tei K, et al:FEBS Lett(2000) 479:79-82). 또한, Elbashir 등에 의해, 21 ~ 23 bp 정도의 짧은 길이의 dsRNA가, 포유동물 세포계에서도 세포독성을 나타내지 않고 RNAi를 유도할 수 있다고 보고되고 있다(Elbashir SM, et al:Nature(2001)411:494-498). 그러나, 이러한 분자의 효과를 유효하게 발휘시키기 위해서는, 표적 장기에 특이적인 방법이 필요하다.

선행기술문헌

특허문헌

[0009]

(특허문헌 0001) 특표평 5-503076호 공보.

비특허문헌

- [0010] (비)특허문현 0001) Madro A 등, Med Sci Monit. 2004 Jul;10(7) :RA166-70.
- (비)특허문현 0002) Jaster R, Mol Cancer. 2004 Oct 06;3(1):26.
- (비)특허문현 0003) Fallowfield JA, Iredale JP, Expert Opin Ther Targets. 2004 Oct;8(5):423-35.
- (비)특허문현 0004) Pinzani M, Rombouts K. Dig Liver Dis. 2004 Apr;36(4):231-42.
- (비)특허문현 0005) Qi Z 등, Proc Natl Acad Sci USA. 1999 Mar 2;96(5):2345-9.
- (비)특허문현 0006) George J 등, Proc Natl Acad Sci U S A. 1999 Oct 26;96(22):12719-24.
- (비)특허문현 0007) Ueki K 등, Nat Med. 1999 Feb;5(2):226-30.
- (비)특허문현 0008) Iimuro Y 등, Gastroenterology 2003; 124:445-458.
- (비)특허문현 0009) Liu WB 등, World J Gastroenterol. 2003 Feb;9(2):316-9.
- (비)특허문현 0010) Marra F 등, Gastroenterology. 2000 Aug;119(2):466-78.
- (비)특허문현 0011) Yoshiji H 등, Hepatology. 2001 Oct;34(4 Pt 1):745-50.
- (비)특허문현 0012) Liu XJ 등, World J Gastroenterol. 2002 Aug;8(4):739-45.
- (비)특허문현 0013) Benedetti A 등, Gastroenterology. 2001 Feb;120(2):545-56.
- (비)특허문현 0014) Wang L 등, World J Gastroenterol 2004 October 1;10(19):2831-2835.
- (비)특허문현 0015) Orr JG 등, Hepatology. 2004 Jul;40(1):232-42.
- (비)특허문현 0016) Sasaki H 등, Journal of Immunology, 2002, 168: 5178-83.
- (비)특허문현 0017) Hagiwara S 등, J Gene Med. 2003,5:784-94.
- (비)특허문현 0018) Fire A 등 :Nature(1998)391:806-811.
- (비)특허문현 0019) Ui-Tei K 등 :FEBS Lett(2000) 479:79-82.
- (비)특허문현 0020) Elbashir SM 등 :Nature(2001)411:494-498.
- (비)특허문현 0021) 타바타 야스히코, 약물수송계 DDS 기술의 새로운 전개와 그 활용법-생물 의학 연구·선진의료를 위한 최첨단 테크날러지메디칼두사, ISBN:4944157932, 2003.
- (비)특허문현 0022) 하시다 미츠루, 약물수송계-창약과 치료에의 새로운 도전, 신바이오사이언스 시리즈, 화학 동인, ISBN:4759803858, 1995.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 조직 및/또는 장기를 표적으로 하기 위해서는, 약물수송계(DDS)의 응용이 유효한 수단의 하나이다(타바타 야스히코, 약물수송계 DDS 기술의 새로운 전개와 그 활용법-생물 의학 연구·선진의료를 위한 최첨단 테크날러지메디칼두사, ISBN: 4944157932, 2003; 하시다 미츠루, 약물수송계-창약과 치료에의 새로운 도전, 신바이오사이언스 시리즈, 화학 동인, ISBN : 4759803858, 1995). 약물수송계(DDS)에 이용하는 약물 담체에는, 고분자 미셀(micelle), 리포솜, 마이크로 에멀젼 등을 응용한 것 등이 존재한다. 이러한 담체의 표적 장기에 대한 특이성을 높이기 위해서, 장기 및/또는 조직 특이적인 항원 또는 수용체에 대한 항체 및/또는 리간드 등을 해당 담체에 혼입 또는 결합시키는 기술, 및 담체의 물리화학적 성질을 이용하는 기술 등이 알려져 있지만, 특히 성상세포를 표적으로 하는 기술에 대해서는 아직도 알려져 있지 않다.

과제의 해결 수단

[0012] 본 발명은 진단 및/또는 치료용 약물을 성상세포에 특이적으로 운반하는 것이 가능한 약물 담체 및 약물 담체

키트에 관한 것이다. 본 발명에 있어서 약물 담체는, 고분자 미셀, 리포솜, 에멀젼, 미소공, 나노소공 중에 어느 형태라도 가능하며, 이것들에 비타민 A(VA) 또는 레티노이드 유도체, 예를 들면 트레티노인(tretinoin), 아다팔렌(Differin Gel), 팔미틴산레티놀 등, 또는 비타민 A 아날로그, 예를 들면 Fenretinide(4-HPR) 등을 결합시키든가 또는 포함시키는 것으로, 치료용 약물을 간 성상세포에 특이적으로 운반하는 것을 가능하게 한다. 또한, 해당 약물 담체에 절단된 TGF β II 타입 수용체(truncated TGF β type II receptor) 및 수용성 TGF β II 타입 수용체(soluble TGF β type II receptor) 등의 TGF β 활성저해제, HGF 등의 성장 인자 제제, MMP 유전자 함유한 아데노바이러스벡터 등의 MMP 생산 촉진제, PPAR γ -리간드(PPAR γ -ligand), 안지오텐신 II 타입 I 수용체 길항체(angiotensin-II type I receptor antagonist), PDGF 티로신ки나제 저해제, 및 아미로라이드 등의 나트륨 채널 저해제를 포함한 세포 활성화 억제제 및/또는 증식 억제제, 및 컴파운드(compound) 861, 및 글리톡신(gliotoxin) 등의 아포토시스(apoptosis) 유도제로 구성된 군으로부터 선택되는 1개 또는 복수의 분자를 포함 하는 것을 제작하고, 섬유화의 위험이 있을지도 모르는 또는 섬유화의 증상을 갖는 환자 또는 섬유화에 따르는 각종 질환, 예를 들면 간경변, 간부전, 간장암, 또는 만성 궤장염을 갖는 환자에게 경구투여 또는 비경구 투여, 예를 들어 정맥 또는 복강내 투여하는 것에 의해, 성상세포의 활성화를 억제해 섬유화 및/또는 섬유화에 따르는 해당하는 각각의 질환 상태를 예방, 억제 또는 개선할 수 있다. 또는 이것에 더해, 콜라겐 특이적 분자 샤프론인 HSP47 또는 MMP 저해 인자인 TIMP를 특이적으로 억제하는 리보자임, 안티센스 RNA, 또는 siRNA를 해당 약물 담체에 봉입하여 이용하는 것으로, 각각 I형 ~ IV형 콜라겐의 분비를 동시에 억제하고, 그 결과 섬유 형성을 효과적으로 억제할 수 있다.

- [0013] 따라서, 본 발명은 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그를 구성 성분으로 하는 성상세포 특이적 약물 담체에 관한 것이다.
- [0014] 또한, 본 발명은 레티노이드 유도체가 비타민 A를 포함하는 것을 특징으로 하는 상기 약물 담체에 관한 것이다.
- [0015] 아울러, 본 발명은 0.2 ~ 20 중량%의 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그를 포함하는 것을 특징으로 하는 상기 약물 담체에 관한 것이다.
- [0016] 한층 더, 본 발명은 고분자 미셀, 리포솜, 에멀젼, 미소공, 나노소공의 가운데 몇 개의 형태인 상기 약물 담체에 관한 것이다.
- [0017] 또한, 본 발명은 상기의 약물 담체와 성상세포의 활성 또는 증식을 제어하는 약물을 포함하는, 성상세포에 관련하는 질환을 치치하기 위한 의약에 관한 것이다.
- [0018] 또한, 본 발명은 질환이 간염, 간섬유증, 간경변, 간암, 궤염, 궤섬유증, 궤암, 성대반흔형성, 성대 점막 섬유증 및 후두의 섬유화로부터 이루어진 군으로부터 선택되는, 상기 의약에 관한 것이다.
- [0019] 한층 더, 본 발명은 성상세포의 활성 또는 증식을 제어하는 약물이, TGF β 활성 저해제, HGF 활성 제제, MMP 생산 촉진제, TIMP 생산 저해제, PPAR γ 리간드, 안지오텐신 활성 저해제, PDGF 활성 저해제, 나트륨 채널 저해제, 아포토시스(apoptosis) 유도제, 및 성상세포에 의해 생산되는 세포 외 매트릭스 구성분자를 표적으로 하고, 또는 해당 세포 외 매트릭스 구성분자의 생산 또는 분비에 기능하는 분자 중의 하나 또는 그 이상을 표적으로 하는 siRNA, 리보자임, 안티센스 핵산, DNA/RNA 키메라폴리뉴클레오티드 및 이들을 발현하는 벡터로부터 구성되는 군으로부터 선택되는, 상기 의약에 관한 것이다.
- [0020] 본 발명은 또한, 세포 외 매트릭스 구성분자의 생산 또는 분비에 기능하는 분자가 HSP47인 상기 의약에 관한 것이다.
- [0021] 본 발명은 또한 약물과 약물 담체가 의료의 현장 또는 그 근방에서 혼합되는, 상기 의약에 관한 것이다.
- [0022] 본 발명은 한층 더, 성상세포의 활성 또는 증식을 제어하는 약물, 약물 담체 구성물질 및 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그 가운데 하나 또는 그 이상을 포함한 1개 또는 그 이상의 용기를 포함하는 상기 의약의 조제 키트에 관한 것이다.
- [0023] 또한, 본 발명은 상기 의약의 유효량을, 그것을 필요로 하는 대상으로 투여하는 것을 포함하는, 성상세포에 관련하는 질환을 치치하기 위한 방법에 관한 것이다.
- [0024] 더 나아가 본 발명은 질환이 간염, 간섬유증, 간경변, 간암, 궤염, 궤섬유증, 궤암, 성대반흔형성, 성대 점막 섬유증 및 후두의 섬유화로부터 구성되는 군으로부터 선택되는 상기 방법에 관한 것이다.
- [0025] 한층 더, 본 발명은 의약이 비경구투여되는, 상기 방법에 관한 것이다.

- [0026] 본 발명은 또한, 성상세포에 관련되는 질환을 치치하기 위하여 상기 약물 담체를 의약의 제조에 사용하는 용도에 관한 것이다.
- [0027] 또한, 본 발명은 상기 약물 담체를 이용하는, 성상세포에의 약물 전달 방법에 관한 것이다.
- [0028] 본 발명은, 또한 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그를 구성 성분으로 하는, 성상세포의 활성 또는 증식을 제어하는 약물을 성상세포에 특이적으로 운반하는 섬유화 억제를 위한 약물 담체, 레티노이드 유도체가 비타민 A를 포함하는 것을 특징으로 하는 전기 섬유화 억제를 위한 약물 담체, 0.2% ~ 20%의 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그를 포함하는 것을 특징으로 하는 전기 섬유화 억제를 위한 약물 담체, 고분자 미셀, 리포솜, 에멀젼, 미소공, 나노소공의 가운데 몇개의 형태인 전기 섬유화 억제를 위한 약물 담체, 성상세포의 활성 또는 증식을 제어하는 약물이, TGF β 활성 저해제, HGF 활성 제재, MMP 생산 촉진제, TIMP 생산 저해제, PPAR γ 리간드, 안지오텐신 활성 저해제, PDGF 활성 저해제, 나트륨 채널 저해제, 아포토시스(apoptosis) 유도제로 구성된 군으로부터 선택되는 1개 또는 그 이상의 약물을 포함하는 것을 특징으로 하는 상기 섬유화 억제를 위한 약물 담체, 성상세포의 활성 또는 증식을 제어하는 약물이, 성상세포에 의해 생산되는 세포 외 매트릭스 구성분자를 표적으로 한다. 또는 해당 세포 외 매트릭스 구성분자의 생산 또는 분비에 기능하는 분자 가운데 하나 또는 그 이상을 표적으로 하는 siRNA, 리보자임, 또는 안티센스 RNA 또는 이들을 발현하는 벡터를 포함하는 것을 특징으로 하는 상기 섬유화 억제를 위한 약물 담체, 그리고 세포 외 매트릭스 구성분자의 생산 또는 분비에 기능하는 분자가 HSP47인 상기 섬유화 억제를 위한 약물 담체에 관한 것이다.
- [0029] 본 발명은 한층 더, 성상세포의 활성 또는 증식을 제어하는 약물, 약물 담체 구성물질, 및 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그 가운데 하나 또는 그 이상을 포함한 1개 또는 그 이상의 용기로부터 구성되는 섬유화 억제를 위한 약물 담체 키트, 레티노이드 유도체가 비타민 A를 포함하는 것을 특징으로 하는 전기 섬유화 억제를 위한 약물 담체 키트, 0.2% ~ 20%의 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그를 포함하는 것을 특징으로 하는 전기 섬유화 억제를 위한 약물 담체 키트, 고분자 미셀, 리포솜, 에멀젼, 미소공, 나노소공 가운데 몇 개의 형태인 전기 섬유화 억제를 위한 약물 담체 키트, 성상세포의 활성 또는 증식을 제어하는 약물이, TGF β 활성 저해제, HGF 활성 제재, MMP 생산 촉진제, TIMP 생산 저해제, PPAR γ 리간드, 안지오텐신 활성 저해제, PDGF 활성 저해제, 나트륨 채널 저해제, 아포토시스(apoptosis) 유도제 가운데로부터 선택되는 1개 또는 그 이상의 약물을 포함하는 것을 특징으로 하는 상기 섬유화 억제를 위한 약물 담체 키트, 성상세포의 활성 또는 증식을 제어하는 약물이, 성상세포에 의해 분비되는 세포 외 매트릭스 구성분자를 표적으로 한다. 또는 세포 외 매트릭스 구성분자의 생산 또는 분비에 기능하는 분자 중 1개 또는 그 이상을 표적으로 하는 siRNA, 리보자임, 또는 안티센스 RNA 또는 이들을 발현하는 벡터를 포함하는 것을 특징으로 하는 전기 섬유화 억제를 위한 약물 담체 키트, 그리고, 세포 외 매트릭스 구성분자의 생산 또는 분비에 기능하는 분자가 HSP47인 섬유화 억제를 위한 약물 담체 키트에 관한 것이다.
- [0030] 발명을 실시하기 위한 최선의 형태
- [0031] 본 발명에 있어서 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그는, 비타민 A를 포함하는 것과 동시에, 이것을 용해 또는 유지할 수 있는 용매에 용해시키거나 혼입시킨 상태에 있는 레티노이드 유도체 또는 비타민 A 아날로그도 포함한다.
- [0032] 본 발명에 있어서의 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그는, 성상세포에 의해 적극적으로 촉진되는 것 이면 어느 것이든 바람직하며, 예를 들어 레티노이드 유도체는, 특별히 한정되는 것은 아니지만, 트렌티노인(tretinoin), 아다팔렌(Differin Gel), 팔미틴산레티놀, 또는 특히 비타민 A(레티놀산) 등을 이용할 수가 있고, 또한 비타민 A 아날로그는, 특별히 한정되는 것은 아니지만, 예를 들어 펜레티나이드(Fenretinide, 4-HPR) 등을 이용할 수 있다. 본 발명은 성상세포가 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그를 적극적으로 수용하는 성질을 이용하는 것이며, 이러한 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그를 약물 담체로서 이용하거나, 또는 이외의 약물 담체 구성 성분에 결합 또는 포함시키는 것에 의해, 대상 물질이나 물체를 성상세포에 특이적으로 운반시키고 수득한 것이다.
- [0033] 따라서, 본 발명의 약물 담체는, 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그 이외의 약물 담체 구성 성분을 포함하고 있어도 무방하다. 구성 성분은 특별히 한정되지 않고, 의약 및 약학의 분야로 알려진 임의의 것을 이용할 수가 있지만, 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그를 포함하거나 또는, 이것과 결합할 수 있는 것이 바람직하다. 이러한 성분으로서는, 지질, 예를 들어, 글리세롤린 지질 등의 인 지질, 스펀고미에린 등의

스핀고 지질, 콜레스테롤 등의 스테롤, 콩기름, 양귀비유 등의 식물유, 광유, 난황 레시틴 등의 레시틴류 등을 들 수 있지만, 이것들로 한정되지 않는다. 이 중, 리포솜을 구성할 수 있는 것, 예를 들어, 레시틴 등의 천연 인지질, 디미리스토일포스파티딜콜린(dimyristoylphosphatidylcholine, DMPC), 디팔미토일포스파티딜콜린(dipalmitoylphosphatidylcholine, DPPC), 디스테아로일포스파티딜콜린(distearoylphosphatidylcholine, DSPC) 등의 반합성 인지질, 콜레스테롤 등이 바람직하다.

[0034] 또한, 본 발명의 약물 담체는, 성상세포로의 도입을 개선시키는 물질, 예를 들면, 레티놀 결합 단백질(RBP) 등을 포함하고 있어도 무방하다.

[0035] 본 발명의 약물 담체로의 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그의 결합 또는 포함은, 화학적 및/또는 물리적인 방법에 따라 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그를 약물 담체의 다른 구성 성분에 결합 또는 포함시키는 것에 의해도 가능해진다. 또는, 본 발명의 약물 담체로의 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그의 결합 또는 포함은 해당 약물 담체의 제작시에 기본적인 약물 담체 구성 성분과 함께 형성 친화성이 있는 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그를 약물 담체의 구성 성분 중에 혼입시키는 것에 의해도 가능해진다. 본 발명의 약물 담체에 결합 또는 포함시키는 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그의 양은 약물 담체 구성 성분 중의 중량비로 0.01% ~ 100%, 바람직하게는 0.2% ~ 20%, 더욱 바람직하게는 1 ~ 5%로 하는 것이 가능하다.

[0036] 본 발명의 약물 담체의 형태는, 대상 물질이나 물체를 표적으로 하는 성상세포에 운반할 수 있다면 어떤 형태라도 바람직하다. 예를 들어, 특별히 한정되는 것은 아니지만, 고분자 미셀, 리포솜, 에멀젼, 미소공, 나노소공 등의 어떤 형태라도 취할 수 있다. 또한, 본 발명의 약물 담체는 이것에 포함되는 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그가, 늦어도 성상세포에 도달하기까지, 제제의 외부에 조금이라도 부분적으로 노출하고 있다면, 운반물을 내부에 포함해도, 운반물의 외부에 부착하여 존재해도, 또한 운반물과 혼합되어 있어도 무방하다.

[0037] 본 발명의 약물 담체는 성상세포를 특이적으로 표적하는 것이며, 대상 물질이나 물체, 예를 들면 성상세포의 활성 또는 증식을 제어하는 약물 등을 성상세포에 효율적으로 운반하는 것에 의해, 최대의 효과 및 최소의 부작용으로, 원하는 효과, 예를 들어 섬유화의 억제 또는 예방을 가능하게 한다. 본 약물 담체가 전달하는 물질이나 물체는 특히 제한되지 않지만, 투여 부위로부터 성상세포가 존재하는 간장이나 췌장 등에, 생물의 체내를 물리적으로 이동할 수 있는 크기인 것이 바람직하다. 따라서, 본 발명의 약물 담체는, 원자, 분자, 화합물, 단백질, 핵산 등의 물질은 물론, 백터, 바이러스 입자, 세포, 1 이상의 요소로 구성된 약물 방출 시스템, 마이크로 머신 등의 물체도 운반할 수 있다. 상기 물질 또는 물체는, 바람직하게는 성상세포에 어떠한 영향을 주는 성질을 갖는다. 예를 들어, 성상세포를 표지하는 것이나 성상세포의 활성 또는 증식을 제어하는 것을 포함한다.

[0038] 따라서, 본 발명의 한 종류에 대해서는, 약물 담체가 전달하는 것은 「성상세포의 활성 또는 증식을 제어하는 약물」이다. 이것은 섬유화 촉진에 관여하는 성상세포의 물리화학적인 작용을 직접 또는 간접적으로 억제하는 어느 쪽의 약물이어도 무방하며, 특별히 한정되는 것은 아니지만, 예를 들어 절단된 TGF β II 타입 수용체(truncated TGF β type II receptor) 및 수용성 TGF β II 타입 수용체(soluble TGF β type II receptor) 등의 TGF β 활성저해제, HGF 등의 증식 인자 제제 및 그러한 발현 백터, MMP 유전자 함유한 아데노바이러스백터 등의 MMP 생산하는 촉진제, 안티센스 TIMP 핵산 등의 TIMP 생산하는 저해제, PPAR γ 리간드, 안지오텐신 활성 저해제, PDGF 활성 저해제, 나트륨 채널 저해제를 포함한 세포 활성화 억제제 및/또는 세포 증식 억제제, 및 컴파운드(compound) 861, 글리톡신(gliotoxin) 등의 아포토시스(apoptosis) 유도제, 아디포넥틴(특개 2002-363094호 공보 참조), (+)-트랜스-4-(1-아미노 에틸)-1-(4-페리틸카바모일) 시클로 헥산 등의 Rho 키나제 저해 활성을 갖는 화합물(국제 공개 WO 00/64478호 팜플렛 참조)을 포함한다. 또한, 본 발명에 있어서 「성상세포의 활성 또는 증식을 제어하는 약물」은 섬유화 억제에 직접 또는 간접적으로 관여하는 성상세포의 물리화학적인 작용을 직접 또는 간접적으로 촉진하는 어느 쪽의 약물이어도 무방하며, 특별히 한정되는 것은 아니지만, 예를 들어 콜라겐 분해제를 촉진하는 약물, 예를 들어 MMP 발현 백터 등의 MMP 생산 촉진제, 및 HGF, HGF 아날로그, 또는 이러한 발현 백터 등의 HGF 등의 활성을 갖는 약물을 포함한다.

[0039] 본 발명에 있어서 「성상세포의 활성 또는 증식을 제어하는 약물」의 다른 예로서는, 세포 외 매트릭스, 예를 들어 콜라겐의 대사를 제어하는 약물, 예를 들어 성상세포에 의해 생산되는 세포 외 매트릭스 구성분자를 표적으로 한다. 또는 해당 세포 외 매트릭스 구성분자의 생산 또는 분비에 기능하는 분자 가운데 하나 또는 그 이상을 표적으로 하는 siRNA, 리보자임, 안티센스 핵산(RNA, DNA, PNA, 또는 이러한 복합물을 포함한다) 등의 표

적 분자의 발현을 억제하는 효과를 갖는 물질, 또는 도미넌트 네가티브 효과를 갖는 물질, 또는 이것들을 발현하는 벡터 등을 들 수 있다.

[0040] siRNA는 mRNA 등의 표적 분자에 특이적인 서열을 갖는 이중 사슬 RNA이며, 표적 분자의 분해를 촉진하는 것으로서, 그에 따라 형성되는 물질, 예를 들어 단백질의 발현을 억제한다(RNA 간섭). Fire 등에 의해 그 원리가 발표된 이래(Nature, 391:806-811, 1998), siRNA의 최적화에 관해서는 별씨 광범위한 연구가 이루어지고 있어 당업자는 siRNA의 최적화 기술에 정통해 있다. 또한, siRNA 이외의 RNA 간섭 또는 그 외의 유전자 발현 저해 반응을 가져오는 물질에 대해서도 정밀적인 연구가 이루어지고 있어 현재는 이러한 물질도 많이 탄생하고 있다.

[0041] 예를 들어, 특개 2003-219893호 공보에는 표적 유전자의 발현을 저해하는 DNA와 RNA로부터 이루어지는 이중 사슬 폴리뉴클레오티드가 기재되어 있다. 이 폴리뉴클레오티드는 이중 사슬의 한 쪽이 DNA이고, 다른 한 쪽이 RNA인 DNA/RNA 하이브리드(hybrid)이거나, 같은 사슬의 일부가 DNA이고, 다른 부분은 RNA인 DNA/RNA 키메라이어도 무방하다. 이러한 폴리뉴클레오티드는 바람직하게는 19 ~ 25, 보다 바람직하게는 19 ~ 23, 더욱 바람직하게는 19 ~ 21 뉴클레오티드로부터 이루어지며, DNA/RNA 하이브리드(hybrid)의 경우에는, 센스 사슬이 DNA이며, 암티센스 사슬이 RNA인 것이 바람직하고, 또한, DNA/RNA 키메라의 경우에는, 이중 사슬 폴리뉴클레오티드의 상류부분의 일부가 RNA로 되어 있는 것이 바람직하다. 이러한 폴리뉴클레오티드는, 자체 공지의 화학 합성법에 의해 의한 정법에 따라, 임의의 서열을 갖는 것을 제작하는 것이 가능하다.

[0042] 상기 표적 분자로서는 예를 들어 세포 외 매트릭스 구성분자의 분비를 일망타진에 억제할 수 있을 것 같은 분자가 바람직하고, 그러한 분자의 예로서는 특별히 한정되는 것은 아니지만, HSP47가 포함된다. HSP47 또는 그 상동체의 유전자 서열은, 예를 들어, GenBank accession No. AB010273(인간), X60676(마우스), M69246(랫트, gp46)로서 개시되고 있다.

[0043] 따라서, 본 발명의 약물 담체가 운반하는 바람직한 물질로서는, 예를 들어, HSP47를 표적으로 하는 siRNA나 DNA/RNA 하이브리드(hybrid) 또는 키메라폴리뉴클레오티드, 암티센스 핵산 등을 들 수 있다.

[0044] 본 발명의 약물 담체의 전달 대상은 또한, 섬유화를 억제하는 약제, 예를 들어, G-CSF(WO 2005/082402 참조), 트롬보모듈린(Thrombomodulin) 등의 단백질(특개 2002-371006호 참조), 캐라탄(keratan) 황산 올리고당(특개평 11-269076호 참조) 등을 들 수 있다.

[0045] 본 발명의 약물 담체가 전달하는 물질이나 물체는 표지 되어 있지 않아도 무방하다. 표지화에 의해, 운반의 성공 여부나, 성상세포의 증감 등을 모니터링 하는 것이 가능해져서, 특히 실험·연구 렛트에서는 유용하다. 표지는, 당업자에게 공지인 임의의 것, 예를 들어, 임의의 방사성 동위체, 표지화 물질에 결합하는 물질(예를 들어 항체), 형광 물질, 플루오르화, 화학 발광 물질 및 효소 등에서 선택할 수 있다.

[0046] 본 발명은 또한, 상기 약물 담체와 상기 성상세포의 활성 또는 증식을 제어하는 약물을 포함하며, 성상세포와 관련된 질환을 치치하기 위한 의약, 및, 상기 약물 담체를 성상세포와 관련된 질환을 치치하기 위한 의약의 제조에 사용하는 것과 관련있다. 여기서, 성상세포와 관련된 질환이란, 성상세포가 질환의 과정, 즉 질환의 발증, 악화, 개선, 관해, 치유 등에 직접적 또는 간접적으로 관여하고 있는 질환을 가르키며, 예를 들어, 간염, 특히 만성 간염, 간섬유증, 간경변 및 간암 등의 간질환, 췌염, 특히 만성 췌염, 췌섬유증 및 췌암 등의 췌질환이 포함된다. 또한, 최근의 보고에 의하면 성대에도 성상세포가 존재하기 때문에(예를 들어, Fuja TJ 등, Cell Tissue Res. 2005;322(3):417-24 참조), 상기 질환에는 성대반흔형성, 성대 점막 섬유증, 후두의 섬유화 등의 성대·후두의 질환도 포함된다.

[0047] 본 발명의 의약에 대해서는, 약물 담체에 포함되는 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그의 적어도 일부가, 늦어도 성상세포에 도달하기까지 제재의 외부에 노출하고 있으면, 약물 담체가 약물을 내부에 포함해도, 약물 함유체의 외부에 부착해서 존재해도, 또한, 약물과 혼합되어 있어도 무방하다. 따라서, 투여 경로나 약물 방출 양식 등에 의해, 상기 의약을, 적절한 재료, 예를 들어, 장용성의 코팅이나, 시한 붕괴성의 재료로 피복해도 무방하며, 또한, 적절한 약물 방출 시스템에 넣을 수도 있다.

[0048] 본 발명의 의약은 경구 및 비경구의 양쪽 모두를 포함하는 여러 가지의 경로, 예를 들어, 한정하는 일 없이, 경구, 정맥내, 근육내, 피하, 국소, 직장, 동맥내, 문맥내, 심실내, 불경 점막, 경피, 비내, 복강내, 폐내 및 자궁내 등의 경로에서 투여할 수 있으며, 각 투여 경로에 적절한 제형으로 제재하는 것이 바람직하다. 이러한 제형 및 제재 방법은 임의의 공지의 것을 적당히 채택할 수 있다(예를 들어, 표준 약제학, 와타나베희테루 등편, 난코우당, 2003년 등을 참조).

[0049] 예를 들어, 경구투여에 적절한 제형으로서는, 한정하는 일 없이, 가루약, 과립제, 정제, 캡슐제, 물약, 혼탁제,

유제, 젤제, 시럽제 등을 들 수 있다. 또한, 비경구투여에 적절한 제형으로서는, 용액성 주사제, 혼탁성 주사제, 유탁성 주사제, 항시조제형 주사제 등의 주사제를 들 수 있다. 비경구투여용 제재는, 수성 또는 비수성의 등장성 무균 용액 또는 혼탁액의 형태일 수 있다.

[0050] 본 발명의 약물 담체 또는 의약은, 어느 형태로 공급되어도 무방하지만, 보존 안정성의 관점으로부터, 바람직하게는 항시조제 가능한 형태, 예를 들어, 의료의 현장 또는 그 근방에서 의사 및/또는 약제사, 간호사, 또는 그 외의 준의료인 의해 조제될 수 있는 형태로 제공된다. 이 경우, 본 발명의 약물 담체 또는 의약은, 이것들에 필수 구성요소의 적어도 1개를 포함하는 1개 또는 2개 이상의 용기로서 제공되며 사용 전, 예를 들어, 24 시간 전 이내, 바람직하게는 3 시간 전 이내, 그리고 더욱 바람직하게는 사용 직전에 조제된다. 조제시에는, 조제하는 장소에서 통상 입수 가능한 시약, 용매, 조제 기구 등을 적당히 사용할 수 있다.

[0051] 따라서, 본 발명은 또한, 약물 담체 구성물질, 및 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그, 및/또는 약물 가운데 하나 또는 그 이상을 포함하는 1개 또는 그 이상의 용기를 포함한 약물 담체 또는 의약의 조제 키트를 포함하며, 이러한 키트의 형태로 제공되는 약물 담체 또는 의약의 필수구성요소도 포함한다. 본 발명의 키트는, 상기 외, 본 발명의 약물 담체 및 의약의 조제 방법이나 투여 방법 등이 기재된 설명서 등을 포함할 수 있다. 또한, 본 발명의 키트는 본 발명의 약물 담체 또는 의약을 완성하기 위한 구성요소의 모두를 포함할 수 있지만, 반드시 모든 구성요소를 포함하지 않아도 무방하다. 따라서, 본 발명의 키트는 의료 현장이나, 실험 시설 등에서 통상 입수 가능한 시약이나 용매, 예를 들어, 무균수나 생리 식염수, 포도당 용액 등을 포함하지 않아도 무방하다.

[0052] 본 발명은 또한 상기 의약의 유효량을, 그것을 필요로 하는 대상으로 투여하는 것을 포함하는 성상세포와 관련된 질환을 치치하기 위한 방법에 관한 것이다. 여기서, 유효량이란, 대상 질환의 발증을 저감시키고, 증상을 경감시키며, 또는 진행을 방지하는 양이며, 바람직하게는, 대상 질환의 발증을 예방, 또는 대상 질환을 치유하는 양이다. 또한, 투여에 의한 이익을 넘는 악영향이 생기지 않는 양이 바람직하다. 이러한 양은, 배양 세포 등을 이용한 시험관 내 실험(*in vitro*)이나, 마우스, 랫트, 개 또는 돼지 등의 모델 동물에 있어서의 시험에 의해 적당히 결정할 수 있으며 이러한 시험법은 당업자에게 잘 알려져 있다.

[0053] 본 발명의 방법에 있어서 투여하는 의약의 용량은, 사용하는 약물이나, 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그의 종류에 따라서 다르지만, 예를 들어, 약물로서 HSP47에 대한 siRNA를 이용하는 경우에는 약물의 중량으로서 예를 들어 0.01 ~ 45 mg/kg/일, 바람직하게는 0.1 ~ 30 mg/kg/일, 보다 바람직하게는 1 ~ 20 mg/kg/일, 가장 바람직하게는 4 ~ 6 mg/kg/일이다. 또한, 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그로 비타민 A를 이용하는 경우는, 비타민 A가 전형적으로는 10 ~ 20 mg/kg/일의 용량으로 투여되도록 한다. 약물 담체에 포함되는 레티노이드 유도체 및/또는 비타민 A 아날로그, 및 본 발명의 방법으로 이용하는 약물의 용량은 당업자에게 공지 또는 상기의 시험 등에 의해 적당 결정할 수 있다.

[0054] 본 발명의 방법에 있어서, 투여하는 의약의 구체적인 용량은, 치치를 필요로 하는 대상에 관한 여러 가지의 조건, 예를 들어, 증상의 중독도, 대상의 일반 건강 상태, 연령, 체중, 대상의 성별, 식사, 투여의 시기 및 빈도, 병용하고 있는 의약, 치료에 대한 반응성 및 치료에 대한 컴플라이언스(compliance) 등을 고려해 결정될 수 있기 때문에, 상기의 전형적인 용량과 다를 수도 있지만, 이러한 경우에도, 이러한 방법은 또한 본 발명의 범위에 포함된다.

[0055] 투여 경로로서는, 경구 및 비경구의 양쪽 모두를 포함하는 여러 가지의 경로, 예를 들어, 경구, 정맥내, 근육내, 피하, 국소, 직장, 동맥내, 문맥내, 심실내, 경첩막, 경피, 비내(鼻內), 복강내, 폐내 및 자궁내 등의 경로가 포함된다.

[0056] 투여 빈도는 이용하는 의약의 성질과 상태나 상기와 같은 대상의 조건에 따라서 다르지만, 예를 들어, 1일에 여러번(즉 1일에 2, 3, 4회 또는 5회 이상), 1일 1회, 몇일마다(즉 2, 3, 4, 5, 6, 7일 마다 등), 1주간마다, 수주간마다(즉 2, 3, 4주간마다 등) 일 수 있다.

[0057] 본 발명의 방법에 있어서, 「대상」이란 용어는 임의의 생물 개체를 의미하며, 바람직하게는 동물, 더욱 바람직하게는 포유동물, 가장 바람직하게는 사람의 개체이다. 본 발명에 있어서, 대상은 건강하여도 되며 어떠한 질환에 이환되고 있어도 되지만, 질환의 치치가 예정되는 경우에 대상은 전형적으로는 동질환에 이환하고 있거나 이환하는 리스크를 갖는 대상을 의미한다.

[0058] 또한, 「치료」라는 용어는, 질환의 치유, 일시적 완치 또는 예방 등을 목적으로 하는 의학적으로 허용되는 모든 타입의 예방적 및/또는 치료적 개입을 포함 하는 것으로 한다. 예를 들어, 질환이 간접유증의 경우, 「치료」

의 용어는, 섬유화의 진행의 지연 또는 정지, 병변의 퇴축 또는 소실, 섬유증발증의 예방 또는 재발의 방지 등을 포함한, 여러 가지의 목적의 의학적으로 허용되는 개입을 포함한다.

[0059] 본 발명은 또한, 상기 약물 담체를 이용한 성상세포로 약물을 전달하는 방법에 관한 것이다. 이 방법은, 한정되지 않고, 예를 들어, 상기 약물 담체에 전달물을 함유시키는 공정 및 전달물을 함유한 약물 담체를 성상세포를 포함한 생물이나 매체, 예를 들어 배양 배양지 등에 투여 또는 첨가하는 공정을 포함한다. 이러한 공정은 공자의 임의의 방법이나, 본 명세서 중에 기재된 방법 등에 따라 적당히 달성할 수 있다. 상기 전달 방법은 또한, 다른 전달 방법, 예를 들어, 성상세포가 존재하는 장기를 표적으로 하는 다른 전달 방법 등과 조합할 수도 있다.

도면의 간단한 설명

[0060] 도 1은 NRK 세포를 이용한 gp46-siRNA의 시험관 내 실험(*in vitro*)에서의 효과 판정, 및 대상 서열, 시기, 농도의 결정에 관한 프로토콜을 나타낸 그림이다.

도 2는 gp46 및 액틴(Actin)의 웨스턴 블롯의 결과를 나타낸 사진이다(24 시간 배양, 대상 서열의 검토).

도 3은 gp46 및 액틴의 웨스턴 블롯의 결과를 나타낸 사진이다(24 시간 배양, 적정 농도의 검토).

도 4는 gp46 및 액틴의 웨스턴 블롯의 결과를 나타낸 사진이다(농도 50 nM, 적정 배양 시간의 검토).

도 5는 NRK 세포에 대해, gp46-siRNA에 의한 콜라겐(collagen)의 발현의 억제를 평가하기 위한 프로토콜을 나타낸 그림이다.

도 6은 siRNA에 의한 콜라겐 합성의 억제를 나타낸 그래프이다.

도 7은 HSC 특이적인 siRNA의 도입을 나타낸 사진이다.

도 8은 HSC 특이적인 siRNA의 도입율을 평가한 사진이다.

도 9는 siRNA에 의한 gp46의 발현 억제를 평가한 사진이다.

도 10은 DMN을 투여한 랫트의 간의 아잔(Azan) 염색을 나타낸 사진이다.

도 11은 LC 랫트의 처치 프로토콜을 나타낸 그림이다.

도 12는 VA-Lip-gp46 siRNA를 투여한 LC 랫트의 간의 아잔 염색을 나타낸 사진이다.

도 13은 NIH 이미지에 의한 피부염색 부분의 추출 방법을 나타낸 그림이다. 아잔 염색 이미지로부터 무작위적으로 6개 부분의 촬영을 수행하였다.

도 14는 간조직 이미지에서의 섬유화 부분이 차지하는 면적비(콜라겐 면적비, %)를 나타낸 그래프이다.

도 15는 간조직 중의 히드록시프롤린의 양을 나타낸 그래프이다.

도 16은 VA-Lip-gp46 siRNA를 문맥내 투여한 간경변 랫트의 생존 곡선을 나타낸 그래프이다.

도 17은 VA-Lip-gp46 siRNA를 문맥내 투여한 간경변 랫트의 간조직의 아잔 염색을 나타낸 사진이다.

도 18은 VA-Lip-gp46 siRNA를 문맥내 투여한 간경변 랫트의 생존 곡선을 나타낸 그래프이다.

도 19는 VA-Lip-gp46 siRNA를 문맥내 투여한 간경변 랫트의 간조직의 아잔염색을 나타낸 사진이다.

도 20은 VA-Lip-gp46 siRNA를 정맥내 투여한 간경변 랫트의 생존 곡선을 나타낸 그래프이다.

도 21은 VA-Lip-gp46 siRNA를 정맥내 투여한 간경변 랫트의 생존 곡선을 나타낸 그래프이다.

도 22는 VA-Lip-gp46 siRNA를 정맥내 투여한 간경변 랫트의 간조직의 아잔염색을 나타낸 사진이다.

도 23은 RBP에 의한 VA-Lip-gp46 siRNA의 도입 효율의 개선을 나타낸 그림이다.

도 24는 항 RBP 항체에 의한 VA-Lip-gp46 siRNA 도입의 억제를 나타낸 그림이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0061] 이하의 실시예는 본 발명을 설명하는 것만을 목적으로 하는 것이며, 본 발명이 시야(視野)로 하는 범위는 실시 예에 나타난 구체적 수치 및 순서로 한정되는 것은 아니다.

[0062] 실시예 1 gp46에 대한 siRNA의 제작

[0063] 콜라겐(collagen, I ~ IV형)의 공통 분자 샤프론인 HSP47의 염기 서열을 표적으로 하는 siRNA 인식 대상 서열 가운데서, 서열 A 및 B는 주식회사 iGENE의 siRNA 올리고용 프로그램 디자인에 따라 작성하였다. 또한, 서열 C는 인터넷상에서 Ambion사의 siRNA Target Finder(http://www.ambion.com/techlib/misc/siRNA_finder.html)를 이용해, 랫트 gp46(사람 HSP47 호모 로그, GenBank Accession No. M69246)에 대한 표적이 되는 19 염기 서열을 선택하고 검색하여 작성하였다. 설계에 대해서는, 1) 개시 코돈으로부터 75 ~ 100 염기 하류로부터 개시하는 것, 2) 최초의 AA 다이며 위치에 놓이는 것 및 3) GC 함유율이 30% ~ 70%인 것에 유의하였다. 본 실시예에서는, 이하의 서열을 가지는 siRNA를 제작하였다.

[0064] A : GUUCCACCAUAAGAUGGUAGACAAC(서열상의 757번째로부터 시작되는 25 염기의 정방향 siRNA, 서열 번호 1)

[0065] B : CCACAAGUUUUAUCCAAUCUAGC(서열상의 1626번째로부터 시작되는 25 염기의 정방향 siRNA, 서열 번호 2)

[0066] C : GAAACCUGUAGAGGCCGCA(서열상의 64번째로부터 시작되는 19 염기의 정방향 siRNA, 서열 번호 3)

[0067] 실시예 2 제작한 siRNA에 의한 gp46 발현의 억제

[0068] *랫트의 gp46를 가지고 있고 또한 콜라겐을 생산하는 섬유줄기세포인 정상 랫트 신장(Normal rat kidney, NRK) 세포에, 0.1 nM ~ 50 nM의 각각의 siRNA를 각각 트랜스펙션하고, 12 ~ 48 시간 배양하였다(도 1). gp46의 발현량은 웨스턴 블롯(Western blot) 방법으로 확인하였다[도 2 ~ 4, 위의 밴드가 gp46, 아래가 컨트롤의 액틴(actin)]. 모든 siRNA는 매체(vehicle)에 비해 현저하게 gp46 단백질의 발현을 억제하였다(도 2). 이하의 실험에서는 이 중 가장 효과가 강했던 서열 A를 갖는 siRNA를 이용하였다. siRNA에 의한 억제는 농도 의존적이고 (도 3), gp46의 단백질 발현은 50 nM의 siRNA에서 48 시간 후에는 약 90%가 억제되었다(도 4).

[0069] 실시예 3 제작한 siRNA에 의한 콜라겐(collagen) 합성의 억제

[0070] 전술한 조건과 같은 조건(siRNA의 농도는 50 nM, 시간은 48 시간에 처리)으로, 콜라겐의 합성량을 검토하기 위하여 랫트의 섬유줄기세포(NRK 세포)의 배양상청액에 ³H-프롤린(proline)을 첨가하고 트랜스펙션(transfection) 후의 분비 단백질 중의 ³H량을 검토하였다(도 5). 콜라겐 합성량은 Peterkofsky 등의 보고(Peterkofsky 등, *Biochemistry*. 1971 Mar 16;10(6):988-94)를 바탕으로, gp46 siRNA 도입 섬유줄기세포를 ³H-프롤린 존재하에 배양하고, 상청액 중에 분비된 단백질량과 콜라겐아제(collagenase)로 분해된 단백질량의 비로부터 산정하였다.

수학식 1

$$\text{콜라겐 합성률} = \frac{\text{콜라겐 합성량} \times 100}{5.4 \times \text{콜라겐아제 비감수성 분획} + \text{콜라겐아제 감수성 분획}}$$

[0071]

[0072]

[0073] 랫트 섬유줄기세포에서의 콜라겐 합성률은 대조군과 비교해 약 40% 저하되었다(도 6).

[0074] 실시예 4 혁산의 간성세포(HSC) 특이적인 도입

[0075] 10% VA와 리포솜을 혼합해 VA를 포획한(encapsulated) 리포솜과 GFP 발현 플라스미드(plasmid)를 혼합한 에멀젼(VA-Lip-GFP)을 제작해, 랫트 문맥 내에 투여 후, 간조직을 회수고정하였다. 에멀젼은 200 g의 랫트의 혈장량을 약 10 mL과 상정해, 문맥 혈중의 VA 및 GFP 농도가 10 μM이 되도록 제작하였다. 구체적으로는, 우선 모든-트랜스-레티놀(all-trans-retinol; VA) 25 mg을 DMSO 87 μL로 용해하여 100 mM의 저장액(stock solution)을 제작하였다. 상기 VA 저장액 1 μL에 리포펙타민(lipofectamine) 10 μL, PBS 179 μL를 첨가하고, 또한, GFP 발현 플라스미드 10 μg을 첨가해 총 200 μL를 3분간 볼텍스(voltex)하여 VA-Lip-GFP로 하였다. SD 랫트를 개복해, VA-Lip-GFP를 말초 문맥내에 천천히 주입하였다. 주입 후 48 시간이 경과한 후에 간조직을 채취하였다. 중간지름 필라멘트(filament)의 데스민은 다른 간세포와 비교해 간성세포(HSC)에 특이적으로 발현하고 있으므로, 고정간조직을 Alexa Fluor568 표지항 데스민 항체로 염색하여, GFP와의 형광 이중 이미지를 관찰한 결과, 간성세포(HSC) 내에서 GFP가 발현하고 있는 것이 확인되었다(도 7). 무처치 대조군에서나 GFP 발현 플라스미드 벡터(plasmid vector) 단독 투여군에서는 랫트 간성세포에서의 발현은 확인되지 않았지만, VA-Lip-GFP를 투여한 군에서는 성상세포 특이적으로 GFP의 발현을 확인하였다.

[0076] 실시예 5 혁산 도입율의 정량

[0077] GFP 발현 플라스미드(plasmid) 대신에 FITC 표지 gp46 siRNA를 이용한 이외에는 실시예 4와 같이하여 수행하였다. VA를 포획한 리포솜과 FITC 표지 gp46 siRNA를 포함한 에멀젼[VA-Lip-gp46siRNA(FITC)]을 제작해, SD 랫트에게 문맥내 투여하였다(siRNA의 양으로서 10 μg/200 μL). 투여 48 시간 후에 간조직을 채취해, 다른 간세포와 비교해 HSC에 특이적으로 발현하고 있는 αSMA(평활근 엑틴)를 Alexa Fluor568 표지항 αSMA 항체로, 세포핵을 DAPI로 각각 염색하여, 공초점 레이저 주사 현미경(LSM)으로 형광 이미지를 관찰하였다. 도 8 좌측에 나타내는 대로, VA-Lip-gp46 siRNA(FITC) 투여군에서는, FITC에 의한 녹색 형광과 Alexa Fluor568에 의한 적색 형광을 발산하는 세포가 많이 볼 수 있었고, NIH 이미지에 의해 정량한 결과(×1000의 형광 현미경 사진을 임의의 10 시야 선택, 상기 세포수를 검정하였다), 도입 효율은 77.6%(10 시야 평균)이었다. 이것에 비해, VA를 포함하지 않는 Lip-gp46 siRNA(FITC) 투여군에 대해서는, 도입 효율은 14.0%로 낮았고, 또한, 성상세포 이외의 세포로의 도입이 3.0%로 나타났다(도 8 우측 참조). 이상의 결과로부터, VA를 포함시키는 것으로, 성상세포에의 도입 효율이 극적으로 높아지는 것을 알수 있었다.

[0078] 실시예 6 VA-Lip-gp46 siRNA에 의한 gp46의 발현 억제

[0079] 실시예 5에서 채취한 조직의 다른 절편에 대해, gp46를 Alexa Fluor568 표지항 HSP47 항체로 세포핵을 DAPI로 각각 염색하고, 공초점 레이저 주사 현미경으로 형광 이미지를 관찰하였다. 도 9에 나타내는 대로, VA-Lip-gp46 siRNA 투여군에 대해, 적색 형광으로서 확인되는 gp46의 발현(도 9 우측)이, gp46에 특이적이지 않은 무작위(random) siRNA를 포함한 VA-Lip-랜덤 siRNA를 투여한 대조군(도 9 좌측)에 비해 현저하게 감소하고 있는 것이 확인되었다. 대조군의 6 시야 평균에 대한 발현 억제율은 실시예 7과 같은 NIH 이미지에 의해 ×1000의 형광 현미경 사진을 임의의 10 시야 선택, gp46 음성 세포수를 검정했는데, 75%로 지극히 높았다.

[0080] 실시예 7 LC 랫트의 치료(문맥내 투여 1)

[0081] Jezequel 등(Jezequel AM 등, *J Hepatol.* 1987 Oct;5(2):174-81)의 보고에 따라, 디메틸니트로사민(Dimethylnitrosamine, DMN)을 사용하여, LC 모델 랫트를 제작하였다(도 10). 구체적으로는, 5주령의 SD 랫트(수컷)에 1% 디메틸니트로사민(DMN)을 1 mL/kg(복강내 투여)의 분량에 대해 주 3회 연일 투여하였다. 이미 알려진 바와 같이 2주째부터 섬유의 증가가 확인되었고 4주째에는 매우 분명한 섬유화, 간소엽 구축의 파괴, 재생 결절 형성을 수반하는 소견을 나타냈다(도 11). 여기서, 실시예 4와 같은 방법에 따라 gp46 siRNA를 리포솜화하고, 이것에 10% VA를 혼합한 에멀젼(VA-Lip-gp46 siRNA)을 투여하였다. 충분히 섬유화가 확인되는 3주째부터 VA-Lip-gp46 siRNA의 투여를 개시하고, 4주째와 5주째에 평가를 실시하였다. 실시예 2에서 인비트로에서 48 시간까지 효과가 인정되는 것을 확인하였으므로, 투여는 주 2회로 하였다(도 11). 투여량은 siRNA를 직접

주입한 기준의 보고(McCaffery 등, *Nature*. 2002 Jul 4;418(6893):38-9)에 근거해 siRNA의 총량을 40 μg 으로 하였다. siRNA 투여 후, 간장의 아잔(azan) 염색에서는 4주째에는 생식 투여군, siRNA(random) 투여군 및 siRNA(gp46) 투여군의 사이에서 분명한 차이를 나타내지 않았지만, 5주째에는 gp46 siRNA 투여군에서 섬유량의 저하를 볼 수 있었다(도 12). 섬유의 양을 정량화하기 위해서 NIH 이미지를 사용해 피염색 부분을 추출하고, 그 면적을 계측한(도 13) 결과, gp46 siRNA 투여군에 있어서 유의하게 콜라겐(collagen) 면적의 저하가 인정되었다(도 14). 또한, 다른 척도로 섬유화의 정도를 평가하기 위하여 섬유화의 지표가 되는 히드록시프롤린의 정량을 정법으로 수행하였다. 구체적으로는, 동결건조한 간조직 20 mg을 HCl로 24 시간 가수분해한 후, 반응액을 원심분리하고, 상청액을 Ehrlich's solution 등의 시약으로 처리하여 원심분리하였다. 상청액을 회수해, 560 nm에서 흡광도를 측정하는 것으로, 간조직 중의 히드록시프롤린량을 측정하였다(Hepatology 1998 Nov; vol. 28:1247-1252). 도 15에 나타내는 대로, gp46 siRNA 투여군에서는, 히드록시프롤린의 양이 지극히 적어지고 있었다.

[0082] 실시예 8 LC 랫트의 치료(문맥내 투여 2)

또한 본 발명의 의약의 투여에 의한 생존률의 변화를 검토하기 위하여 Qi Z 등의 방법(Proc Natl Acad Sci U S A. 1999 Mar 2;96(5):2345-9.)에 근거해, 통상보다 20% 증량한 디메틸니트로사민(Dimethylnitrosamine, DMN)을 사용하여 LC 모델 랫트를 제작하였다. 본모델에서는, 1주째와 2주째에 합계 4회의 문맥 내 투여를 실시하였다. 투여 내용은 PBS, Lip-gp46 siRNA, VA-Lip-랜덤(random) siRNA 및 VA-Lip-gp46 siRNA로 하였다(각 군 모두 n=7). 3주 후에는, 대조군(PBS 투여군, VA-Lip-랜덤 siRNA 투여군 및 Lip-gp46 siRNA 투여군)이 모두 사망한 것에 비하여, VA-Lip-gp46 siRNA 투여군에서는 7마리 중 6마리가 생존하고 있었다(도 16). 또한, 21 일째의 간장의 아잔(azan) 염색에서는 gp46 siRNA 투여군에서 섬유량의 분명한 저하를 볼 수 있었다(도 17).

[0084] 실시예 9 LC 랫트의 치료(문맥내 투여 3)

다른 실험에서는, 상기 Qi Z 등의 방법 및 Ueki T 등의 방법(Nat Med. 1999 Feb;5(2):226-30)에 근거해 제작한 LC 모델 랫트(1% DMN 1 mg/kg을 주 3회 복강내 투여)에, 3주째부터 하기 표에 나타낸대로 문맥내 투여를 실시하였다(각 군 모두 n=6). 덧붙여, 각 투여물에는 PBS를 첨가해 총체적으로 200 μl 가 되도록 하여 투여하였으며, 투여 회수는 주 1회로 하였다.

표 1

처치군	투여내용	투여량
9-1	VA	VA 200 nmol
9-2	Lip-gp46 siRNA	리포솜 100 nmol, gp46 siRNA 20 μg
9-3	VA-Lip-랜덤 siRNA	VA 200 nmol, 리포솜 100 nmol, 랜덤 siRNA 20 μg
9-4	VA-Lip-gp46 siRNA	VA 200 nmol, 리포솜 100 nmol, gp46 siRNA 20 μg

이 결과, 본 발명의 의약이 투여된 군(처치군 9-4) 이외에는 DMN의 투여 개시부터 45일 후까지 6마리 모두 사망했지만, 본 발명의 의약이 투여된 군은 36 일째에 사망한 1예를 제외하고, 전개체가 DMN의 투여 개시부터 70 일을 넘어 생존을 계속하였다(도 18). 덧붙여, 사망 개체에 대해 간의 섬유량을 실시예 7과 같이 콜라겐(Collagen) 면적에 근거해 정량했는데, VA-Lip-gp46 siRNA의 투여에 의해 간섬유량의 증가가 현저하게 억제되고 있었다(도 19).

[0088] 실시예 10 LC 랫트의 치료(정맥내 투여)

실시예 9와 같이하여 제작한 LC 모델 랫트[1% DMN 1 $\mu\text{g}/\text{BW(g)}$]를 주 3회 복강내 투여]에, 3주째부터 하기 표에 기재된 내용으로 정맥내 투여를 실시하였다(각 군 모두 n=6). 덧붙여, 각 투여물에는 PBS를 첨가하여 총체적으로 200 μl 가 되도록하여 투여하였다. 또한, 투여 기간은 10-4군은 7주째까지, 10-10군은 6주째까지 각각 투여한 이외에는 사망할 때까지 투여하였다.

표 2

[0090]	처치군	투여내용	투여량	투여횟수
10-1	VA	VA 200 nmol	리포솜 100 nmol, gp46 siRNA 100 µg	주 2회
10-2	Lip-gp46 siRNA	리포솜 100 nmol, gp46 siRNA 100 µg		
10-3	VA-Lip-랜덤 siRNA	VA 200 nmol, 리포솜 100 nmol, 랜덤 siRNA 100 µg		
10-4	VA-Lip-gp46 siRNA	VA 200 nmol, 리포솜 100 nmol, gp46 siRNA 100 µg		
10-5	PBS	200 µl		
10-6	VA	VA 200 nmol	리포솜 100 nmol, gp46 siRNA 150 µg	주 3회
10-7	VA-Lip	VA 200 nmol, 리포솜 100 nmol		
10-8	Lip-gp46 siRNA	리포솜 100 nmol, gp46 siRNA 150 µg		
10-9	VA-Lip-랜덤 siRNA	VA 200 nmol, 리포솜 100 nmol, 랜덤 siRNA 150 µg		
10-10	VA-Lip-gp46 siRNA	VA 200 nmol, 리포솜 100 nmol, gp46 siRNA 150 µg		

[0091] 이 결과, 본 발명의 의약이 투여된 군(처치군 10-4 및 10-10) 이외는, DMN의 투여 개시부터 45일 후까지 6마리 모두가 사망했지만, 본 발명의 의약이 투여된 군은 처치군 4에 대하여 45일째에 2마리가 사망한 것을 제외하면 전개체가 DMN의 투여 개시부터 70일을 넘어 생존을 계속하였다(도 20 및 21). 덧붙여, 사망 개체에 대해 간의 섬유량을 실시에 7과 같게 정량한 결과, VA-Lip-gp46 siRNA의 투여에 의한 간섬유량의 증가가 현저하게 억제되고 있었다(도 22).

[0092] 이상의 결과는, 본 발명의 의약이 성상세포가 관여하는 섬유화의 예방 및 치료에 지극히 유효한 것임을 나타내는 것이다.

실시예 11 RBP(레티놀 결합 단백질)에 의한 효과의 개선

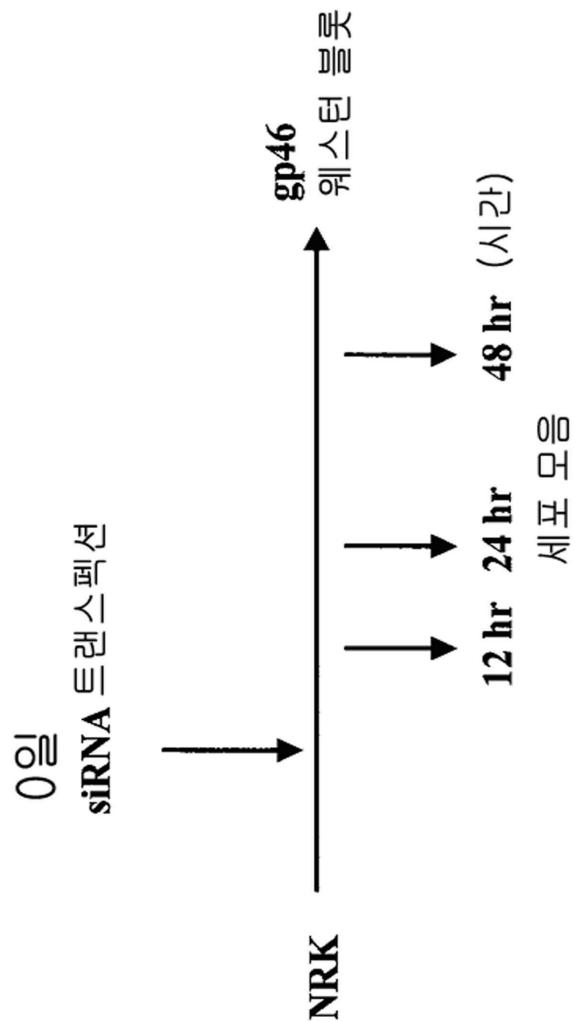
[0094] 인간간성상세포 유래의 세포계인 LI90를 이용해, RBP가 VA-Lip-gp46 siRNA 도입 효율에 가져오는 영향에 대해 검토하였다. 우선, 실시예 5에서 제작한 VA-Lip-gp46 siRNA(FITC) 100 nM을 여러 가지의 농도(즉, 0, 0.1, 0.5, 1, 2, 4 또는 10%)의 FBS(소태아혈청)와 함께 배양 중의 LI90에 첨가하고 48 시간 배양한 후, 형광 이미지를 LSM로 관찰하여, 개개의 세포에 도입된 siRNA의 양을 FACS에서 정량하였다. 덧붙여, FBS에는 RBP가 약 0.7 mg/dl가 포함되어 있다. 도 23에 나타낸 대로, FBS(RBP)는 농도 의존적으로 siRNA의 도입량을 증가시켰다. 다음으로, 100 nM의 VA-Lip-gp46 siRNA(FITC)와 4%의 FBS와 함께, 10 µg(21,476 nmol)의 항 RBP 항체를, 배양 중의 LI90에 첨가하고 똑같이 siRNA의 도입 효율을 평가하였다. 도 24에 나타난 바와 같이, RBP에 의해 증대한 도입량이 항 RBP 항체의 첨가에 의해 현저하게 감소하고 있는 것을 알 수 있다. 이상의 결과는, RBP가 본 발명의 의약의 도입을 한층 더 향상시키는데 유효한 것임을 나타내는 것이다.

산업상 이용가능성

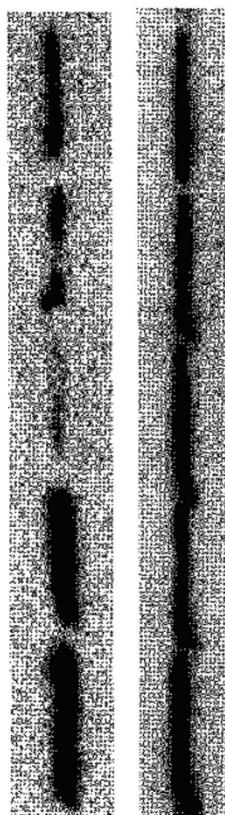
[0095] 섬유화 및/또는 거기에 따르는 각종 질환을 예방, 억제 또는 개선하는 유효한 수단으로서 진단 및/또는 치료용 약물을 성상세포에 특이적으로 운반하는 것을 가능하게 하는 본 발명의 약물 담체 및 약물 담체 키트를 이용하는 것에 의해, 실시예에서 보는 것과 같은 획기적인 치료 효과를 제공할 수 있다. 즉, 본 발명에 의한 약물 담체 및 약물 담체 키트는 성상세포를 특이적인 표적으로 하기 위하여, 성상세포가 중심이 되어 발현하는 병의 형태, 예를 들면 섬유화 등을 효율적이며 효과적으로, 또한 최소한의 부작용으로 억제할 수 있다.

도면

도면1



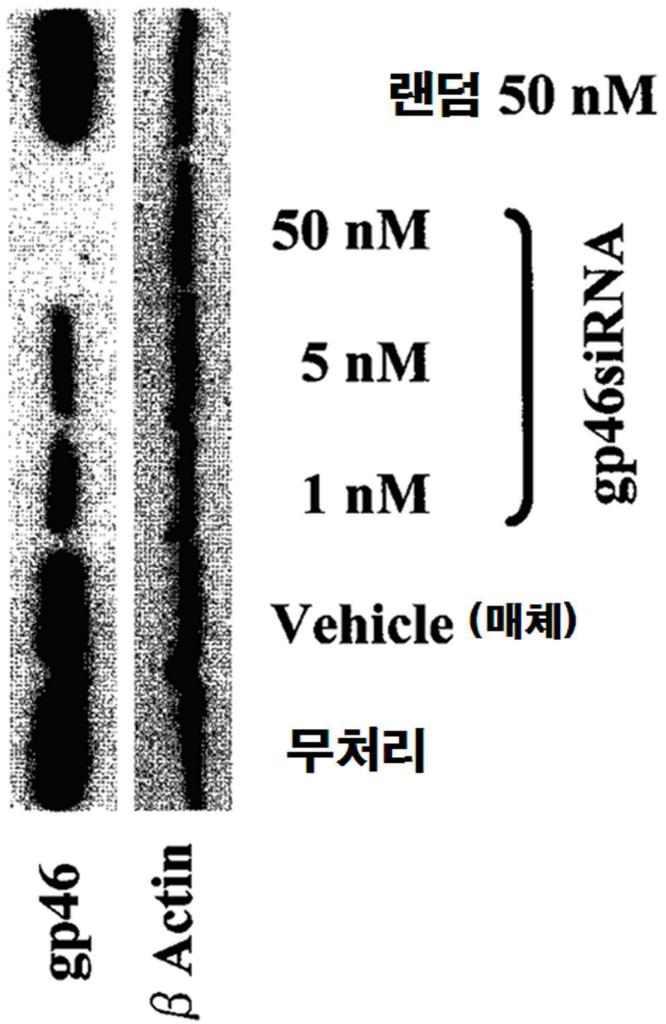
도면2



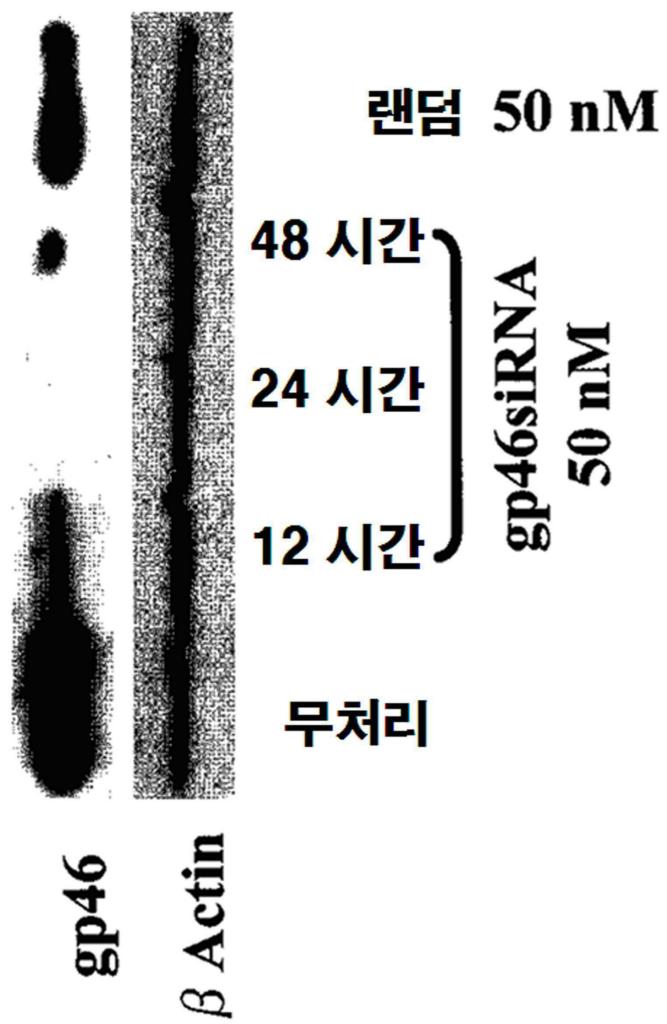
gp46

β Actin

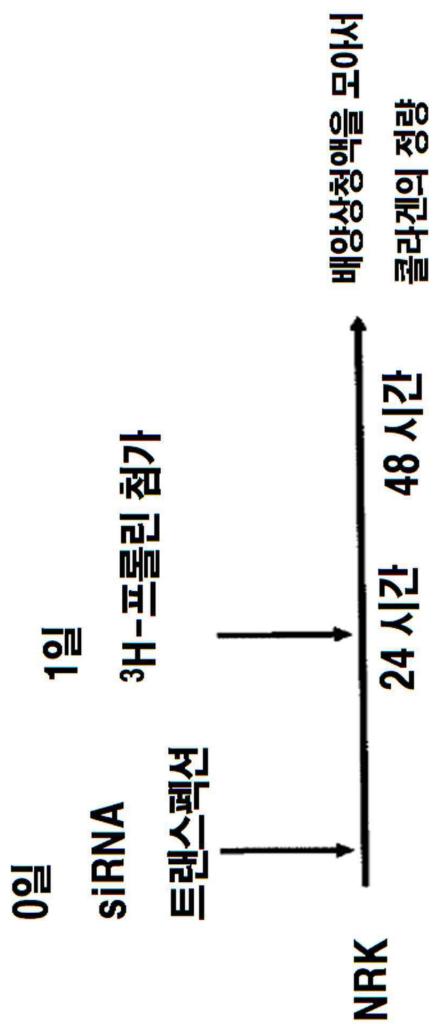
도면3



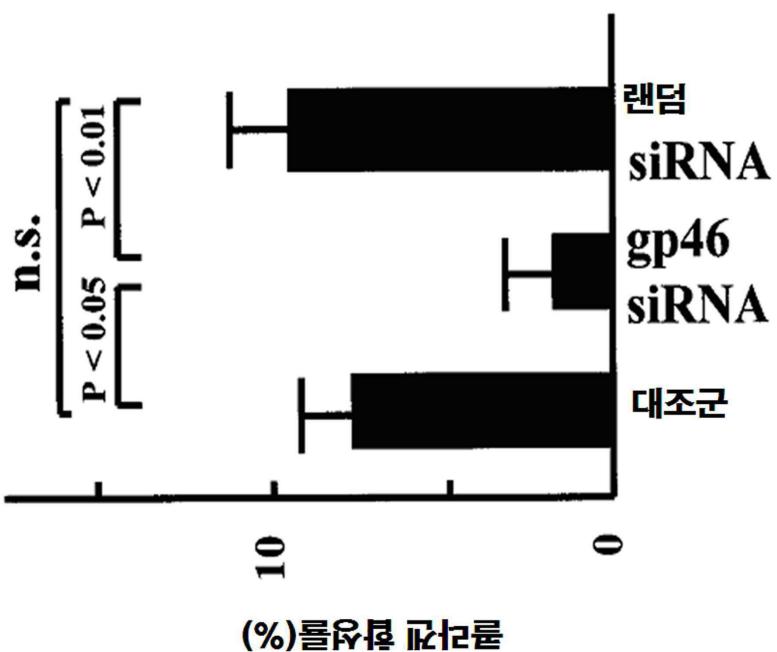
도면4



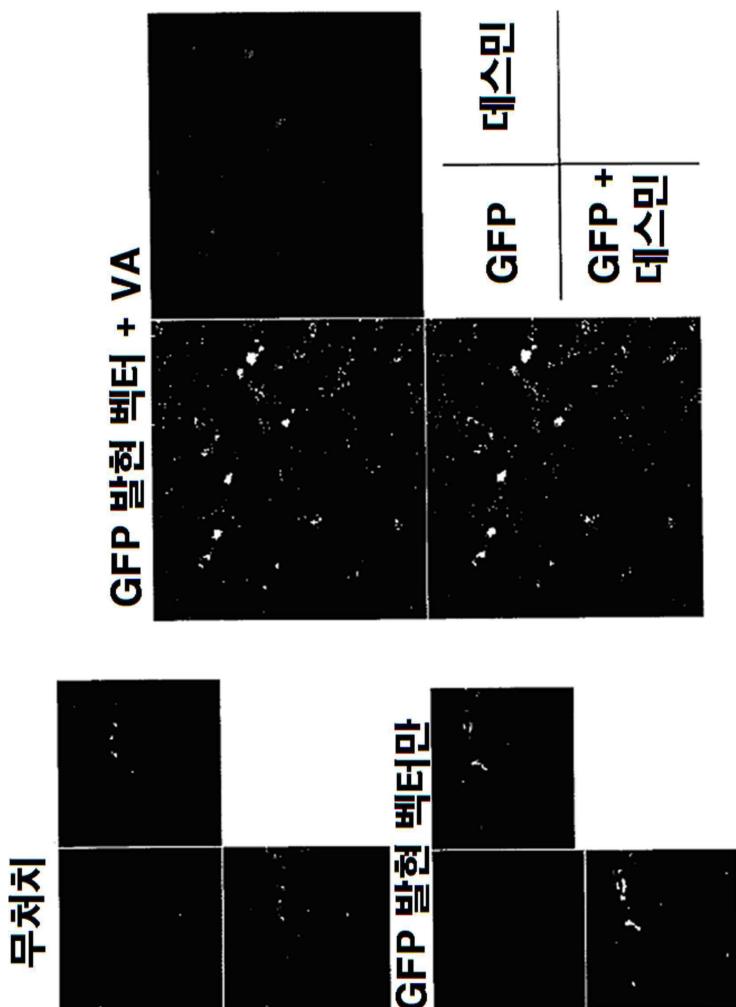
도면5



도면6



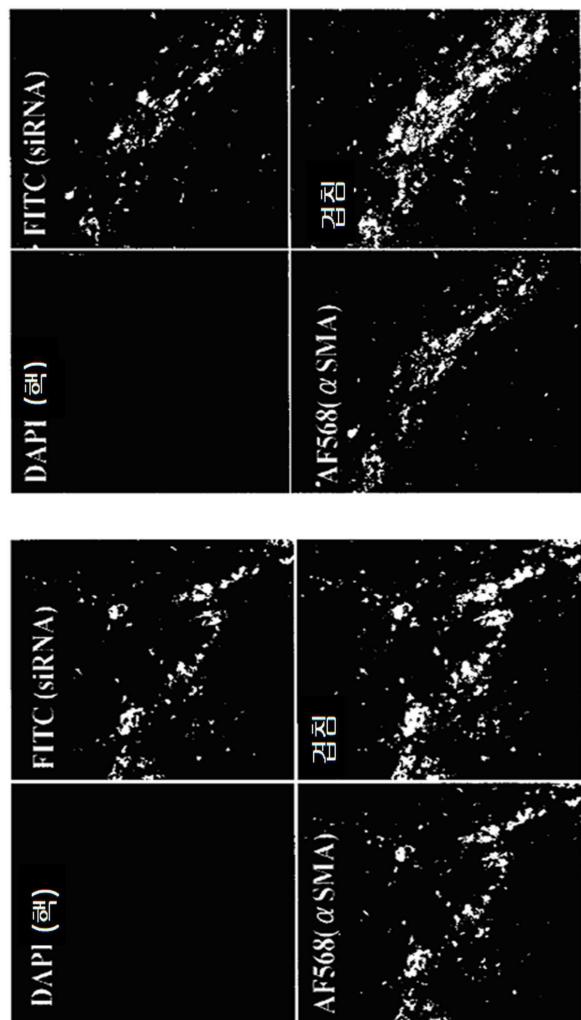
도면7



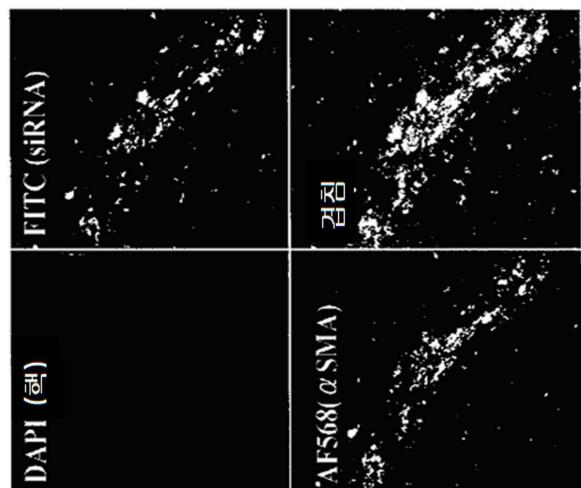
무처치

도면8

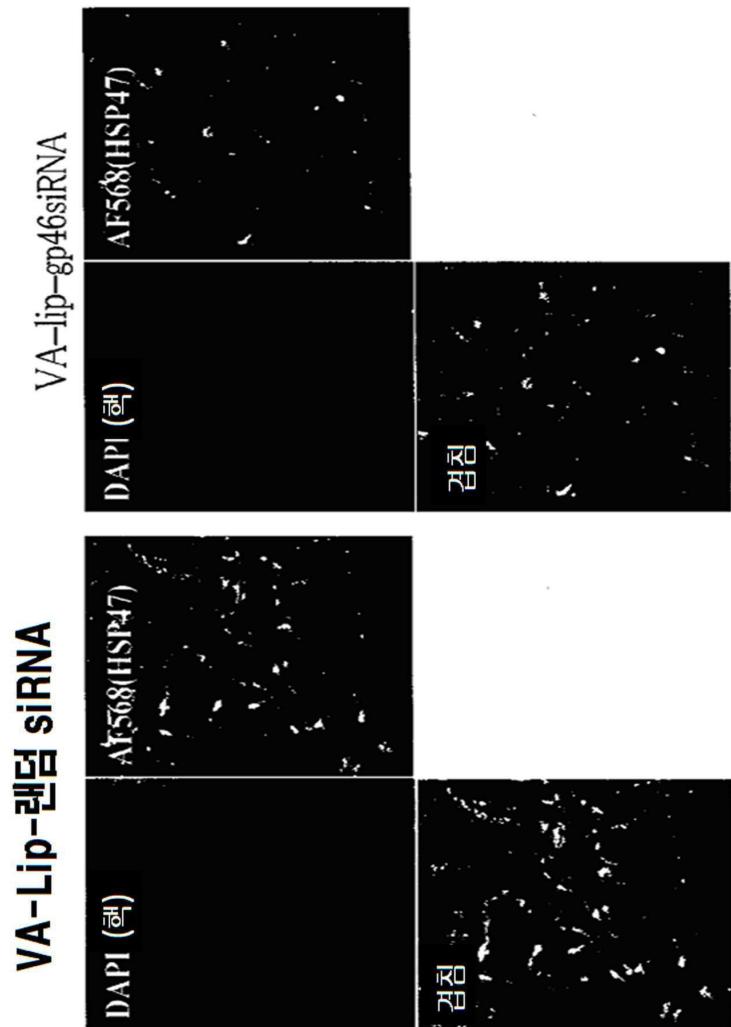
VA-Lip-siRNA (FITC)



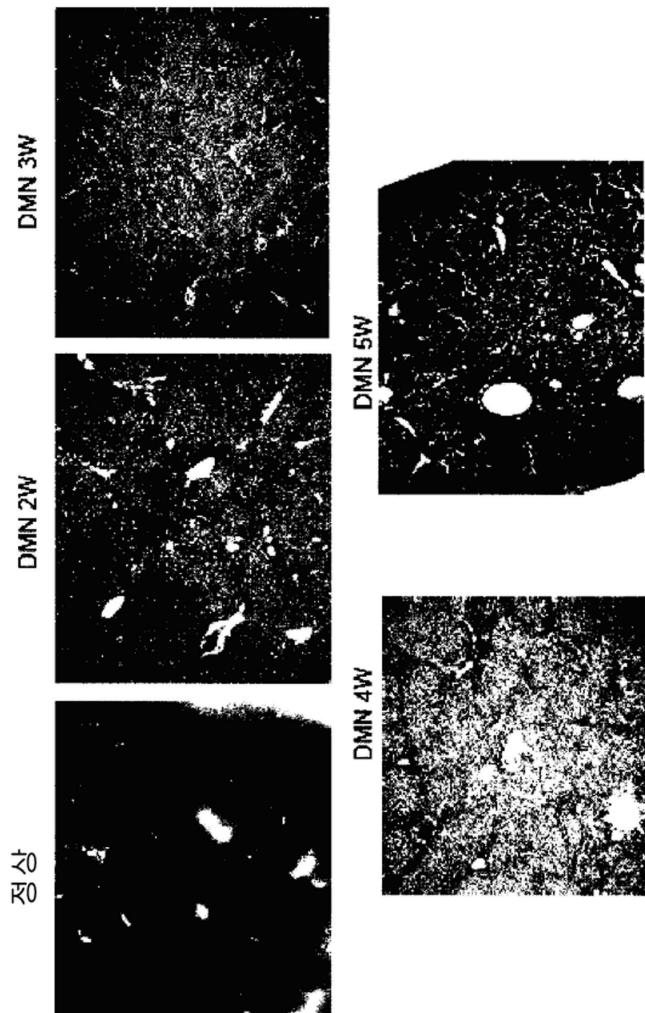
Lip - siRNA(FITC)



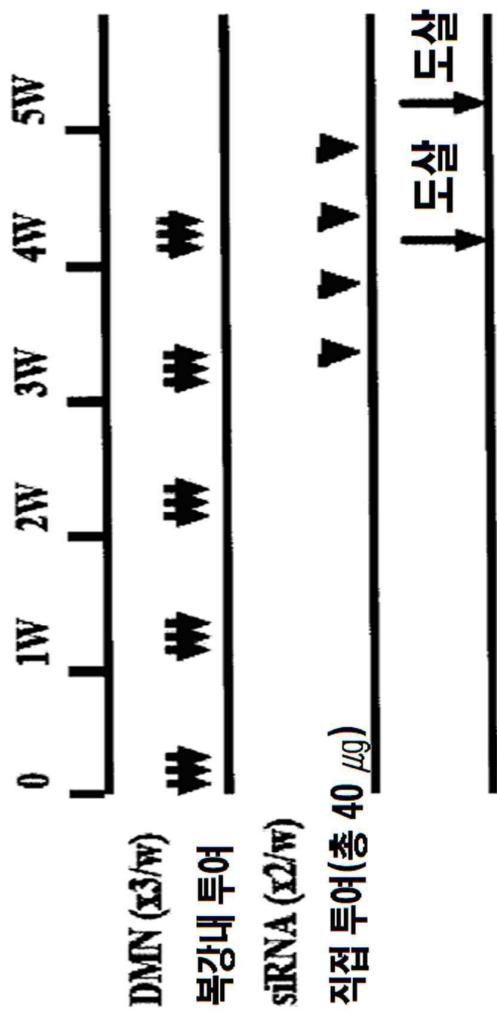
도면9



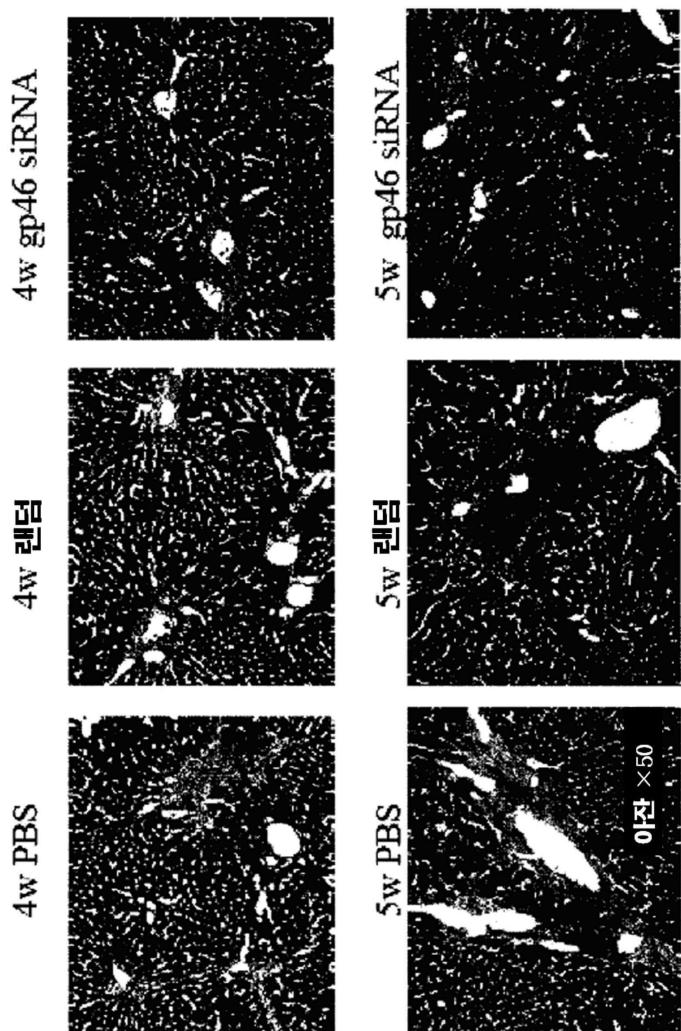
도면10



도면11

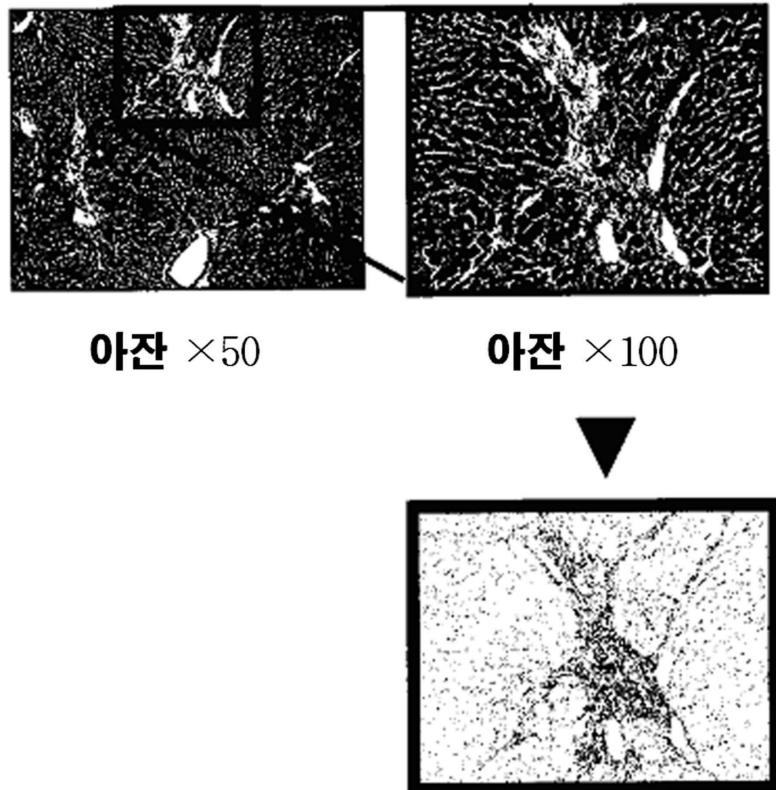


도면12



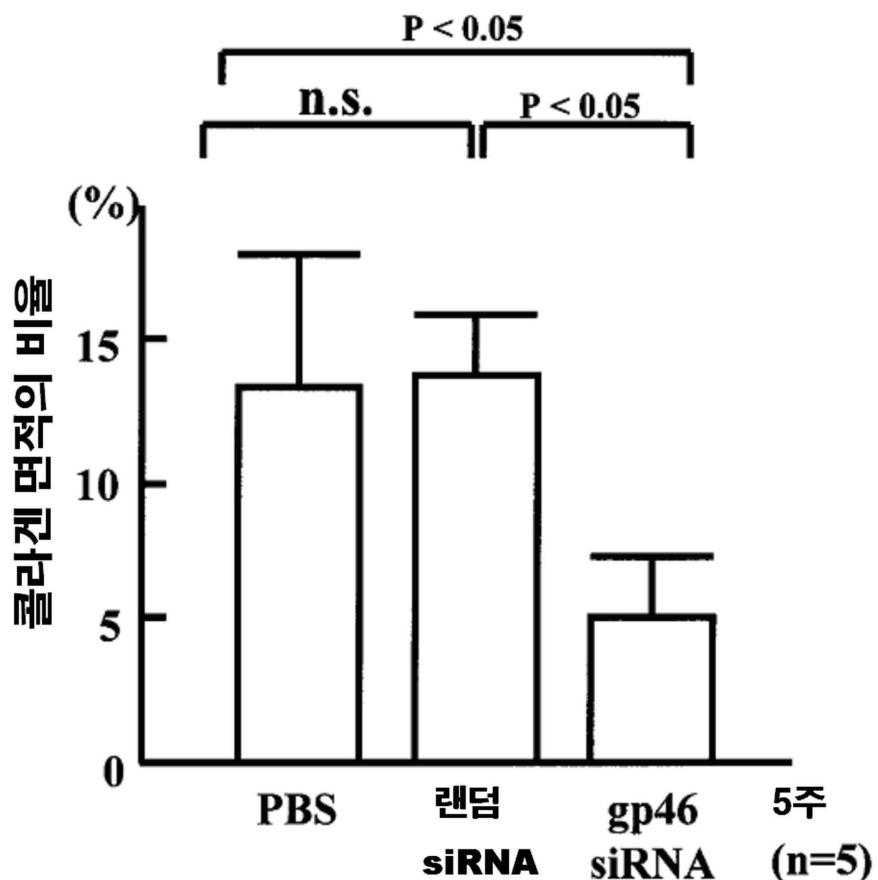
도면13

아잔 염색, 무작위적으로 6개 부분 촬영

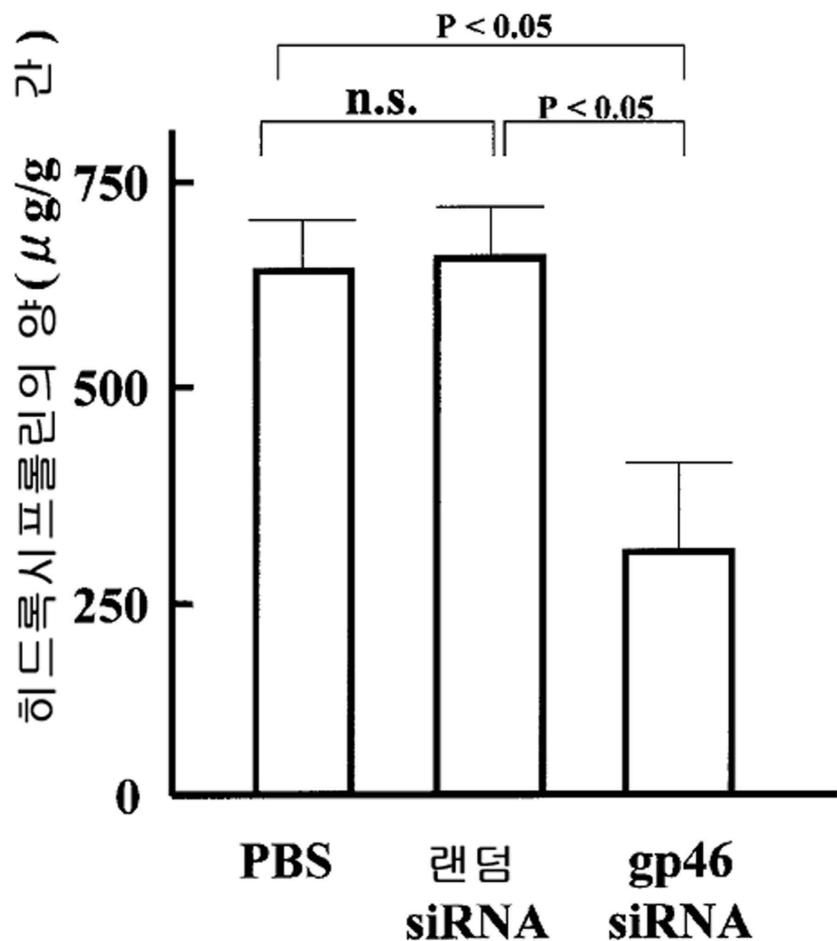


NIH 이미지에서 청색 콜라겐의
면적을 추출하여 계측

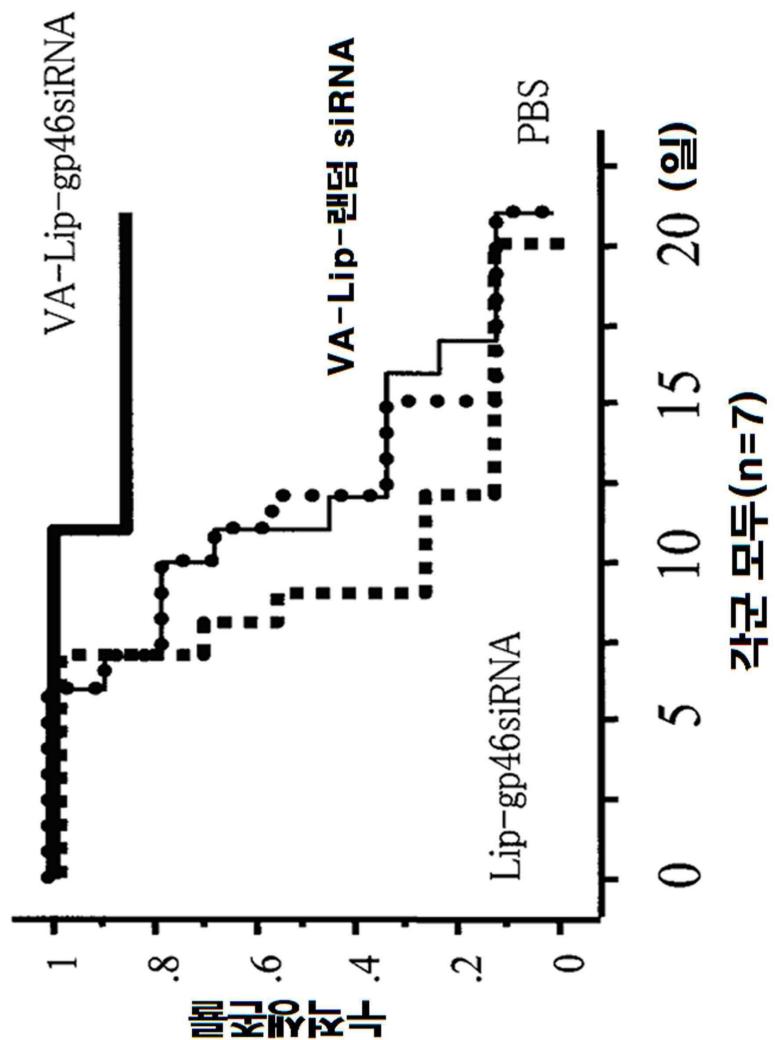
도면14



도면15



도면16

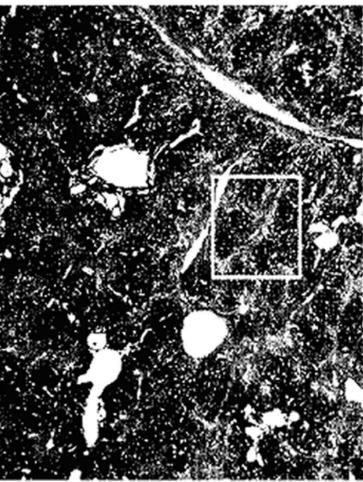


도면17

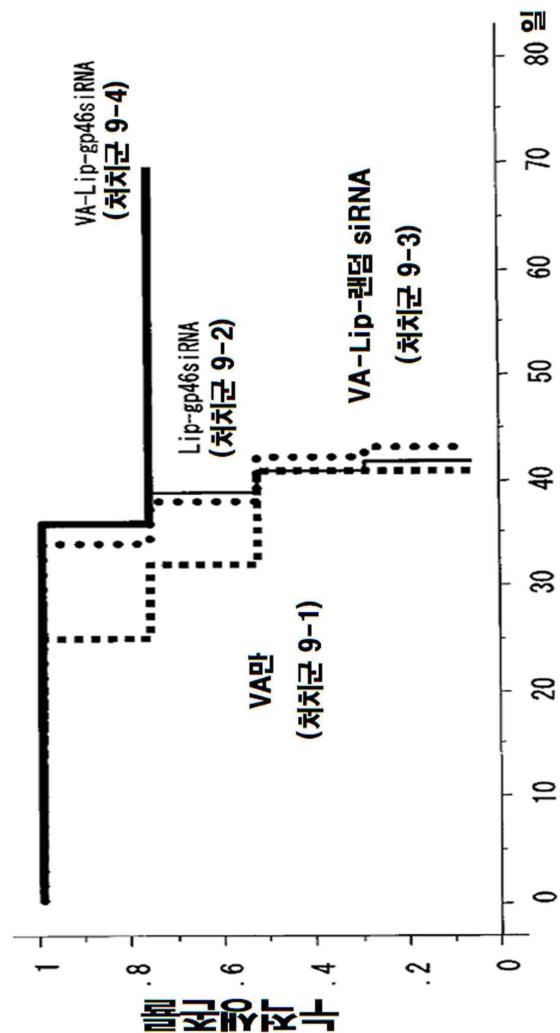
VA-Lip-gp46siRNA



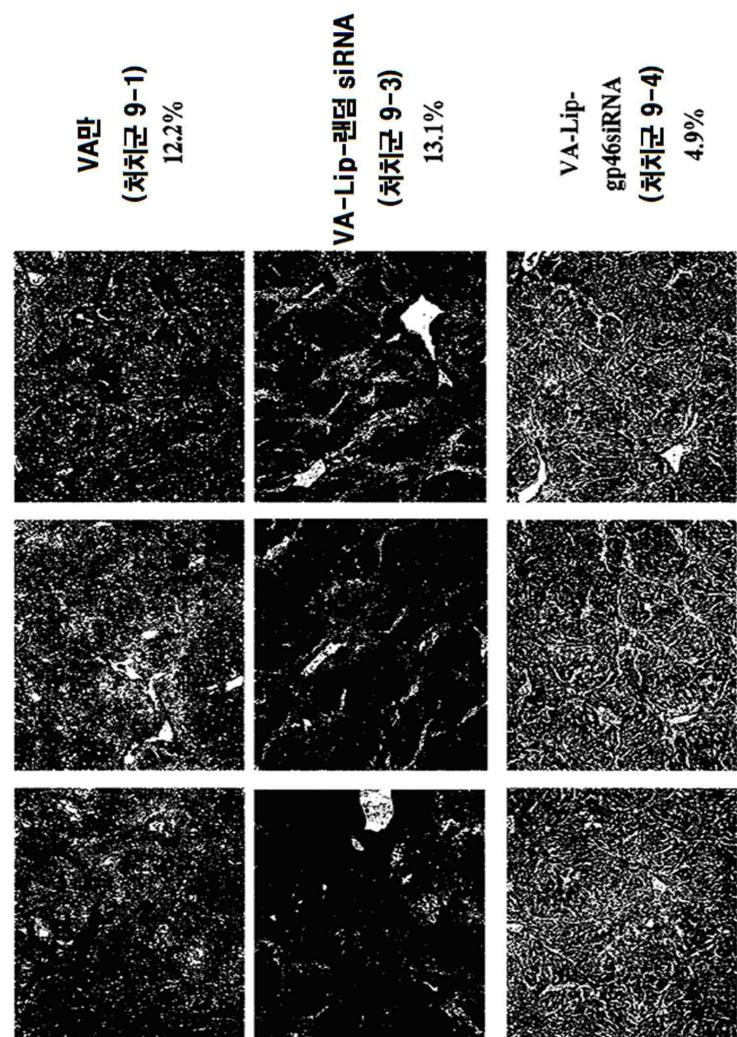
PBS



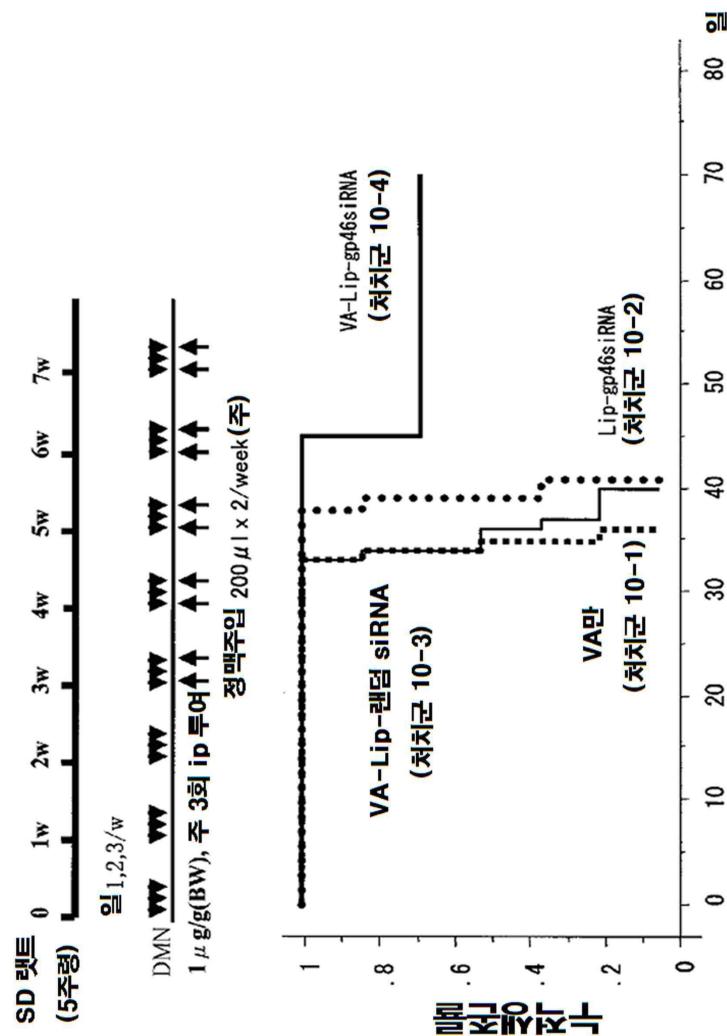
도면18



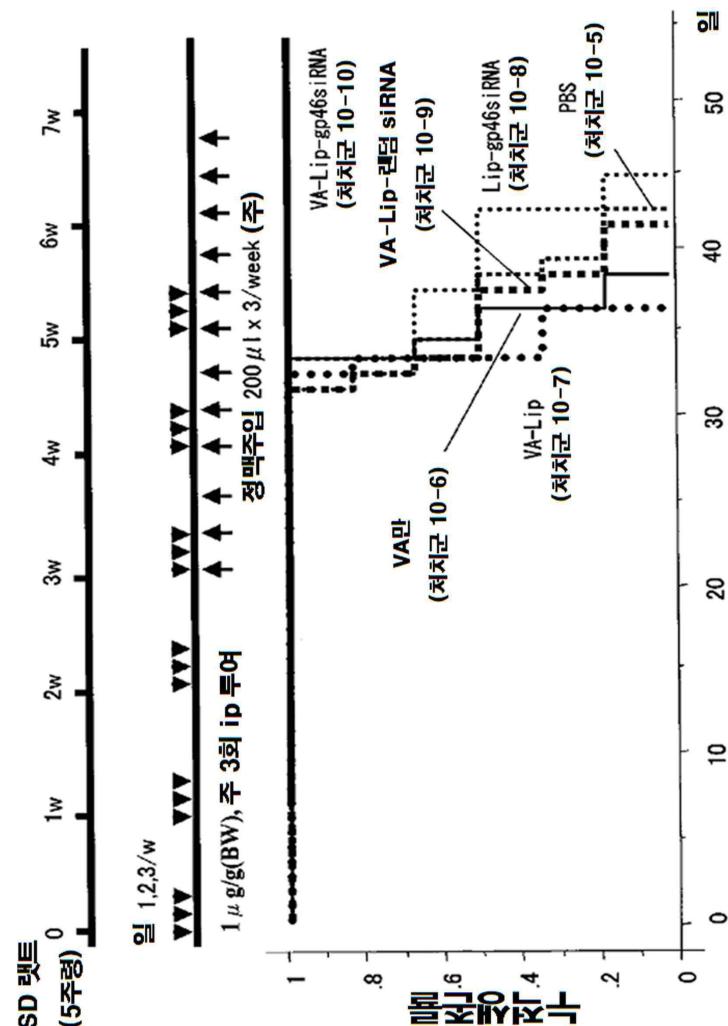
도면19



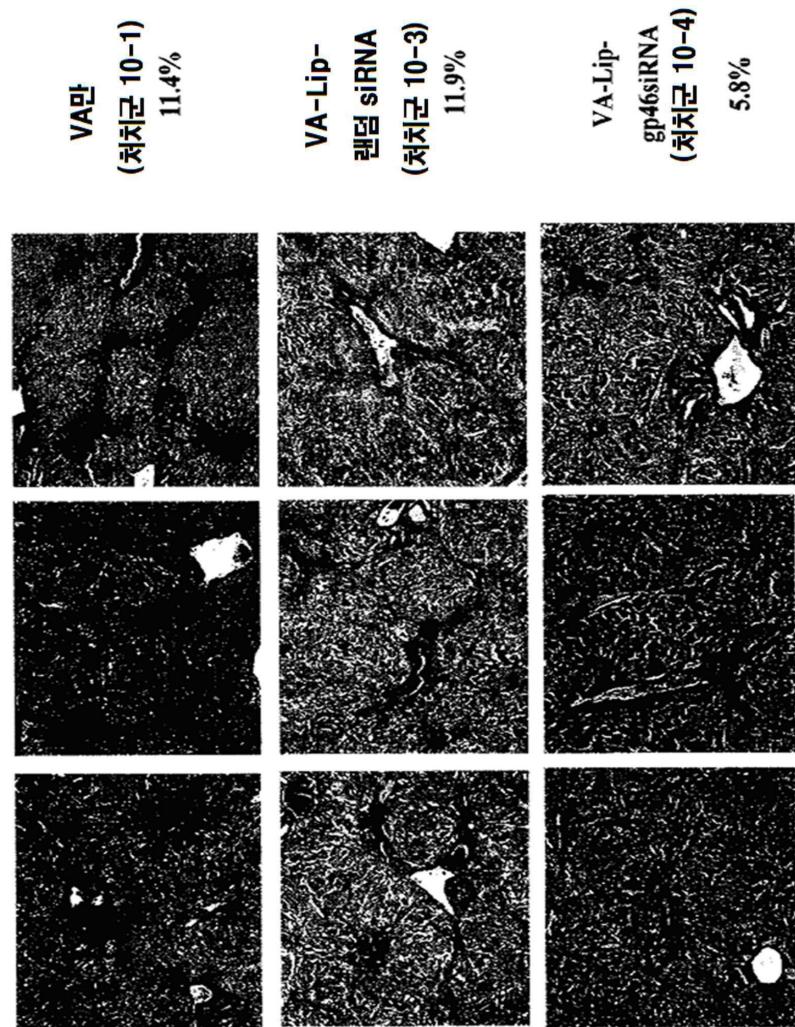
도면20



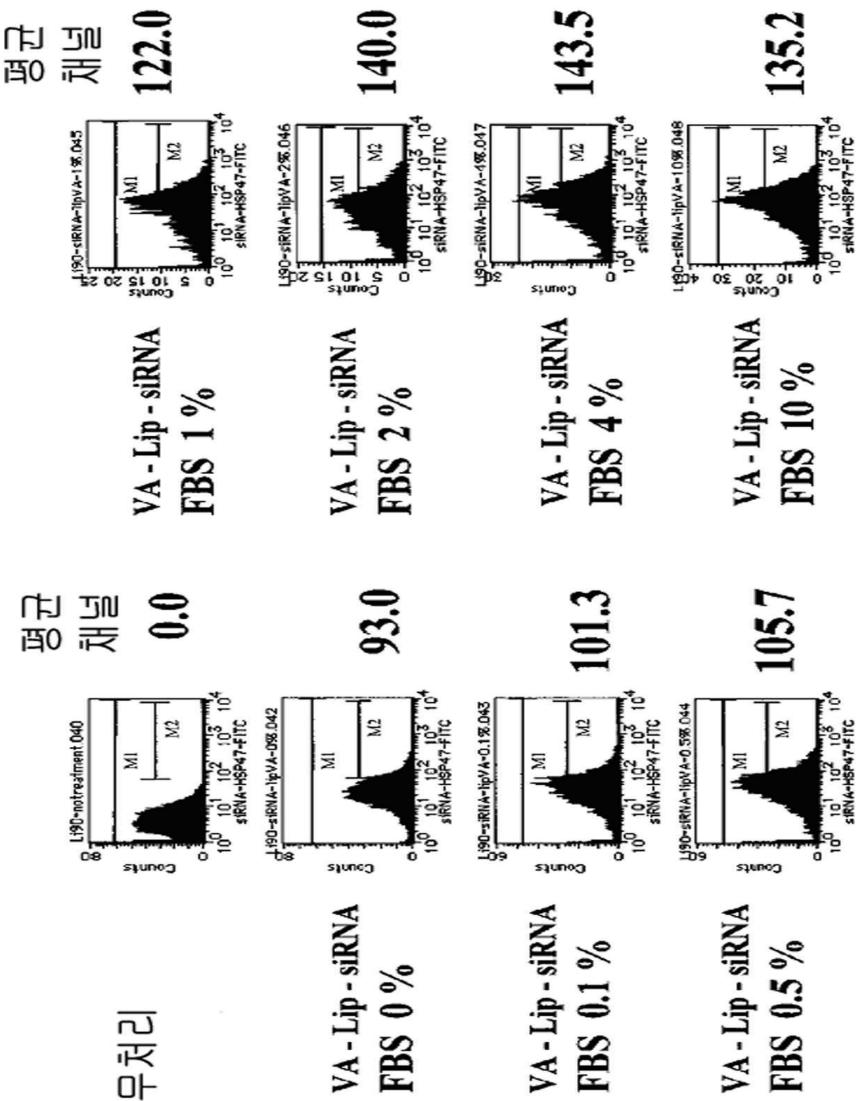
도면21



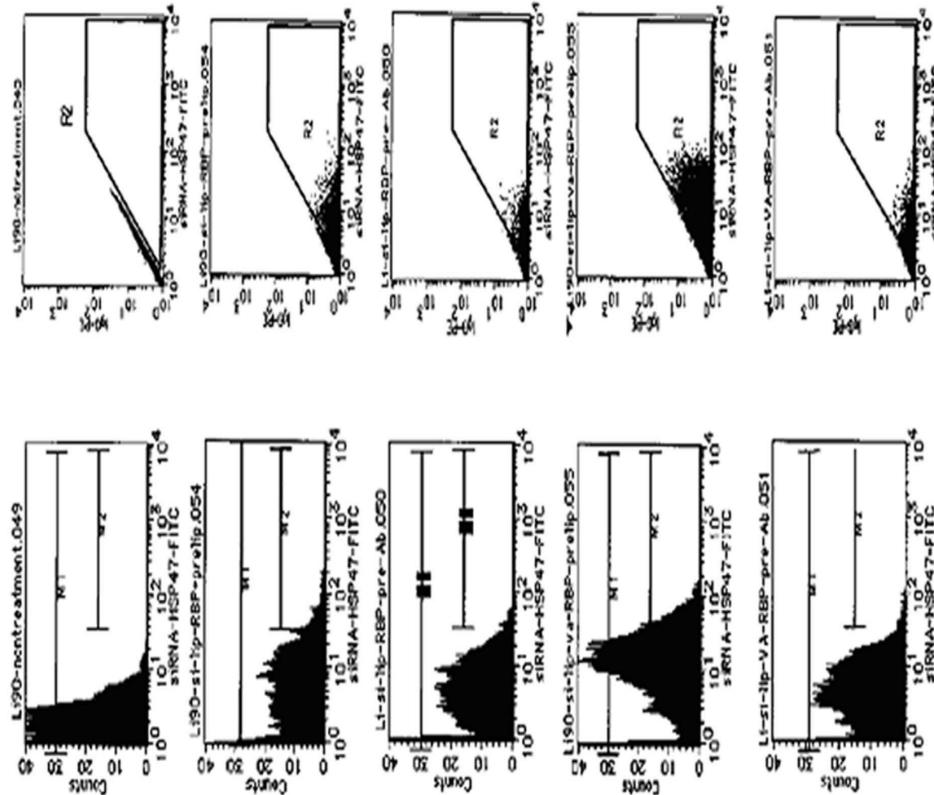
도면22



도면23



도면24



무처리

리포솜
+ siRNA(FITC)리포솜
+ siRNA(FITC)
+ RBP 항체리포솜 + VA
+ siRNA(FITC)리포솜 + VA
+ siRNA(FITC)
+ RBP 항체

서 열 목 록

<110> Hokkaido

Renomedix Institute Inc.

<120> Drug carrier and drug carrier kit for inhibiting fibrosis

<130> 13fpi-07-19

<150> JP2004-382791

<151> 2004-12-22

<150> PCT/JP2005/023619

<151> 2005-12-22

<150> 10-2007-7015733
<151> 2007-07-10
<160> 3
<170> PatentIn version 3.1
<210> 1
<211> 25
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> siRNA for rat gp46
<400> 1

guuccaccau aagaugguag acaac 25

<210> 2
<211> 25
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> siRNA for rat gp46

<400> 2
ccacaaguuu uauauccaau cuagc 25
<210> 3
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> siRNA for rat gp46

<400> 3
gaaaccugua gaggccgca 19