

【11】證書號數：I412369

【45】公告日：中華民國 102 (2013) 年 10 月 21 日

【51】Int. Cl. : A61K31/713 (2006.01) A61P35/00 (2006.01)

發明

全 15 頁

【54】名稱：抑制癌細胞發炎反應之醫藥組合物

PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR INHIBITING CANCER CELL INFLAMMATION

【21】申請案號：099118442

【22】申請日：中華民國 99 (2010) 年 06 月 07 日

【11】公開編號：201143775

【43】公開日期：中華民國 100 (2011) 年 12 月 16 日

【72】發明人：張偉嶠 (TW) CHANG, WEI CHIAO；卓夙航 (TW) HANK JUO, SUH HANG；陳炳焜 (TW) CHEN, BEN KUEN；張朕佳 (TW) CHANG, ZHEN JIA；張偉斌 (TW) CHANG, WEI BIN

【71】申請人：高雄醫學大學 KAOHSIUNG MEDICAL UNIVERSITY  
高雄市三民區十全一路 100 號

【56】參考文獻：

WO 2009/095719A2

Enfissi A et al., "The blocking of capacitative calcium entry by 2-aminoethyl diphenylborate (2-APB) and carboxyamidotriazole (CAI) inhibits proliferation in Hep G2 and Huh-7 human hepatoma cells", CELL CALCIUM, vol.36, no.6, p. 459-467, 2004/12

詹舒蘋, "STIM1 在細胞分裂的蛋白質修飾", 國立成功大學藥理學研究所碩士論文, 2009

Slice LW et al., "G alpha(q) signaling is required for Rho-dependent transcriptional activation of the cyclooxygenase-2 promoter in fibroblasts", JOURNAL OF CELLULAR PHYSIOLOGY, vol. 194, no.2, p.127-138, 2002

審查人員：施雅儀

[57]申請專利範圍

1. 一種核酸用於製備抑制癌細胞發炎反應之藥物的用途，其中該核酸係包含 SEQ ID NO：1 或 SEQ ID NO：2；以及其中該發炎反應係指由 *COX2* 基因活化所導致之發炎反應。
2. 根據申請專利範圍第 1 項之用途，其中該癌細胞為腎癌、軟組織癌、乳癌、肺癌、子宮頸癌、子宮癌、頭及頸癌、神經膠瘤、前列腺癌、胰臟癌、淋巴瘤、黑色素癌、卵巢癌、大腸癌、食道癌、胃癌、結腸直腸癌或原發性癌細胞。

圖式簡單說明

圖 1 顯示 2-胺基乙烯二苯基硼酸(2-aminoethoxydiphenyl borate, 簡稱 2-APB)的化學式。

圖 2 顯示 *COX2* 表現質體的構造，並帶有 Luciferase 螢光基因以測量基因轉殖的效率。圖 3A 顯示 A431 轉殖質體 *COX2* 基因表現的效率，圖 3B 以即時聚合酶連鎖反應(real-time PCR)評估細胞內生性的 *COX2* 基因和轉殖質體 *COX2* 基因的數量，圖 3C 以西方墨點法(Western blot)測量細胞經 EGF 作用後 *COX2* 蛋白質的表現。

(2)

圖 4A 顯示經組織胺處理後，A549 細胞轉殖質體 *COX2* 基因表現效率，圖 4B 以反轉錄聚合酶連鎖反應(RT-PCR)評估組織胺誘導細胞內生性的 *COX2* 基因表現情形，圖 4C 以西方墨點法(Western blot)測量 A549 細胞經組織胺作用後 *COX2* 蛋白質的表現。

圖 5A 為反轉錄聚合酶連鎖反應(RT-PCR)及西方墨點法實驗結果，顯示 A431 細胞可正常表現鈣池調控鈣離子通道(SOC)的 *STIM1* 及 *Orai1*，圖 5B 顯示 EGF 可以開啟鈣池調控鈣離子通道(SOC)，造成鈣離子內流，另在約 297 秒時加入 100uM 2-APB，可觀察到鈣離子的流量明顯下降，顯示 2-APB 可有效地關閉鈣池調控鈣離子通道。

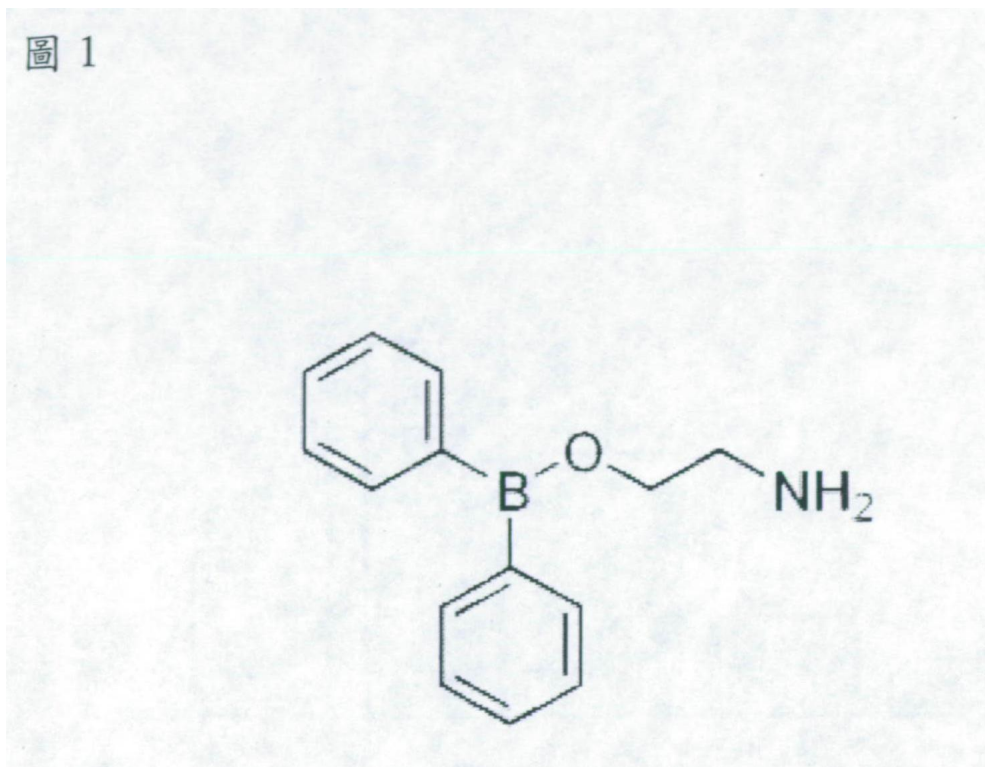
圖 6A 顯示反轉錄聚合酶連鎖反應(RT-PCR)及西方墨點法實驗結果可看出 A549 細胞可正常表現鈣池調控鈣離子通道(SOC)的 *STIM1* 及 *Orai1*。圖 6B 顯示組織胺可以開啟鈣池調控鈣離子通道(SOC)。

圖 7A 及圖 7B 顯示子宮上皮癌細胞 A431 以 25 奈克/毫升 EGF 處理後的 *COX2* 基因表現情形，25 奈克/毫升 EGF 可以有效地活化 *COX2* 基因，但 *COX2* 基因表現會受到 2-APB 的抑制。圖 7C 顯示 *COX2* 蛋白質表現也隨著 2-APB 抑制劑的濃度上升而下降，圖 7D 顯示經 2-APB 抑制劑作用後  $PGE_2$  表現量。

圖 8A 顯示預先處理組織胺的細胞，當加入 2-APB 的劑量增加，鈣池調控鈣離子通道的鈣離子入流量隨之減少，圖 8B 及圖 8C 顯示子宮上皮癌細胞 A549 以 20uM~100uM 組織胺處理後的 *COX2* 基因表現情形，圖 8D 顯示經 2-APB 抑制劑作用後  $PGE_2$  表現量。

圖 9A 顯示轉殖小片段核酸 *Orai1* 後 A431 細胞內生性 *Orai1* 蛋白質表現量，圖 9B 顯示轉殖小片段核酸 *Orai1* 後，鈣離子的內流量受到抑制，圖 9C 顯示轉殖小片段核酸 *Orai1* 後，A431 細胞的 *COX2* 基因表現。

圖 10A 及 10B 顯示轉殖小片段核酸 *Orai1* 後，A549 細胞 *COX2* 基因及其代謝產物  $PGE_2$  的表現。



(3)

圖 2

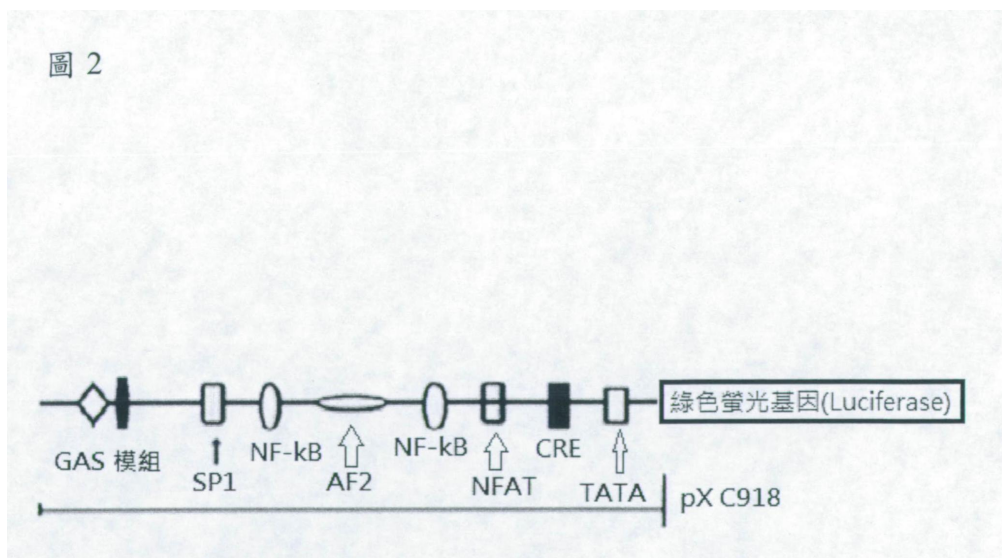
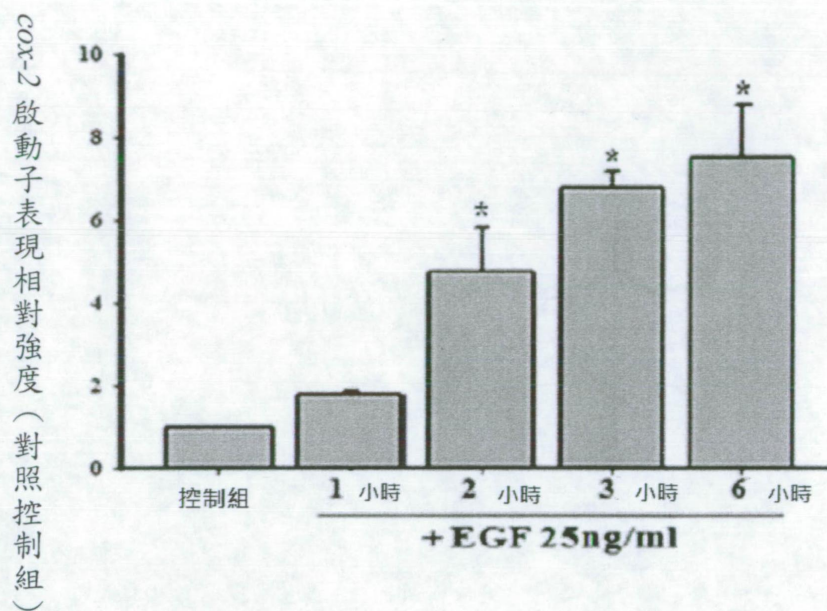


圖 3

3A

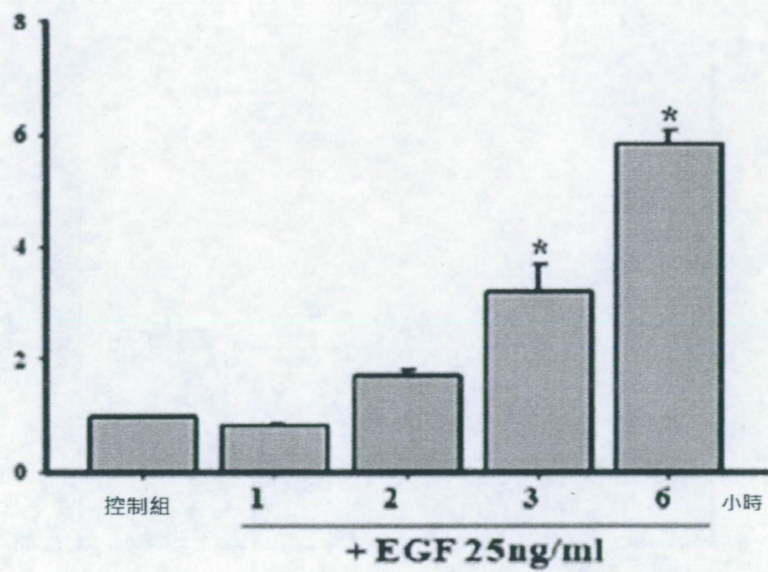


(4)

圖 3

3B

cox-2 基因表現 (對照控制組)



3C

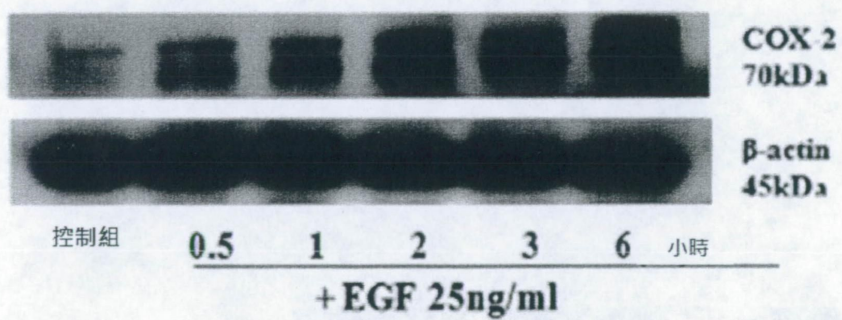


圖 4

4A  
COX-2 啟動子表現相對強度 (對照控制組)

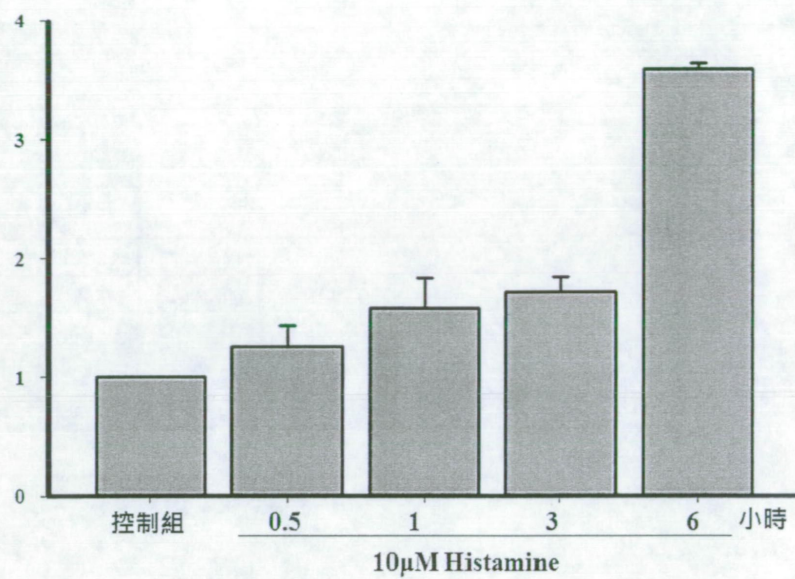
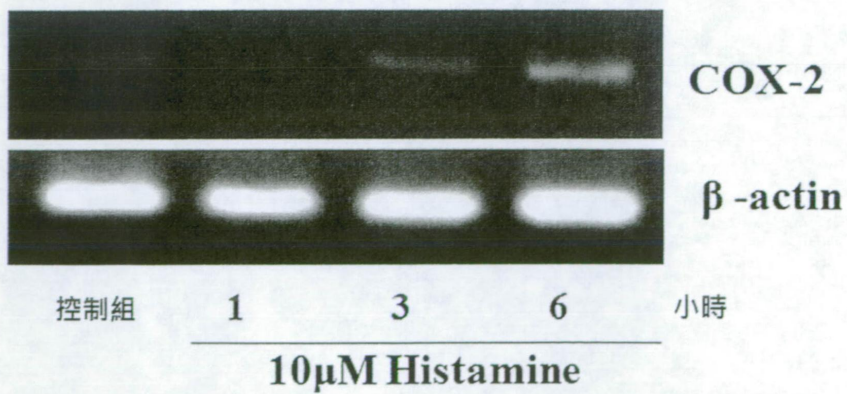
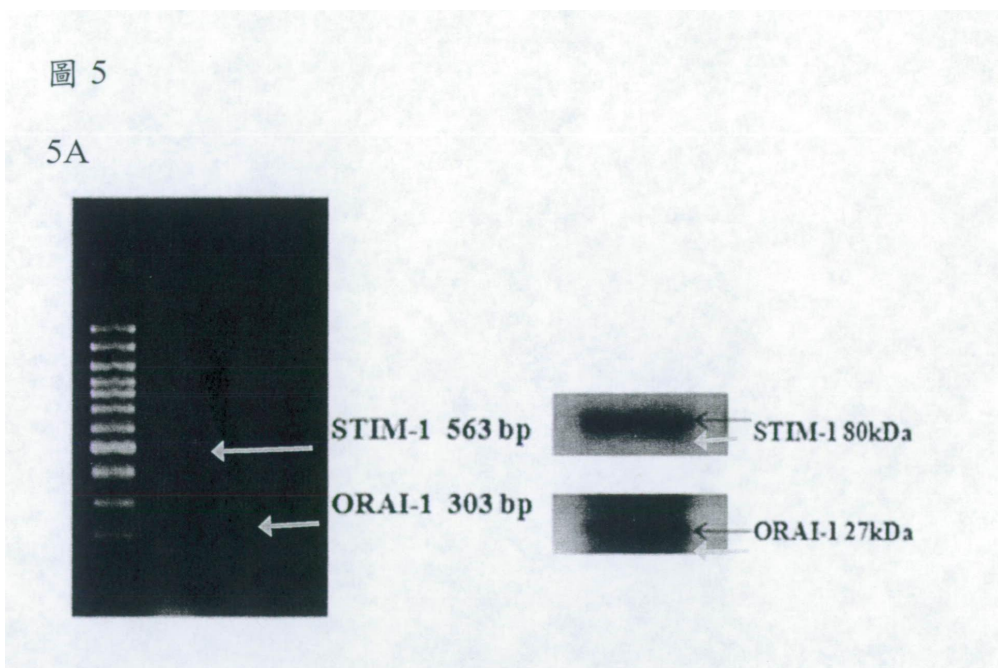
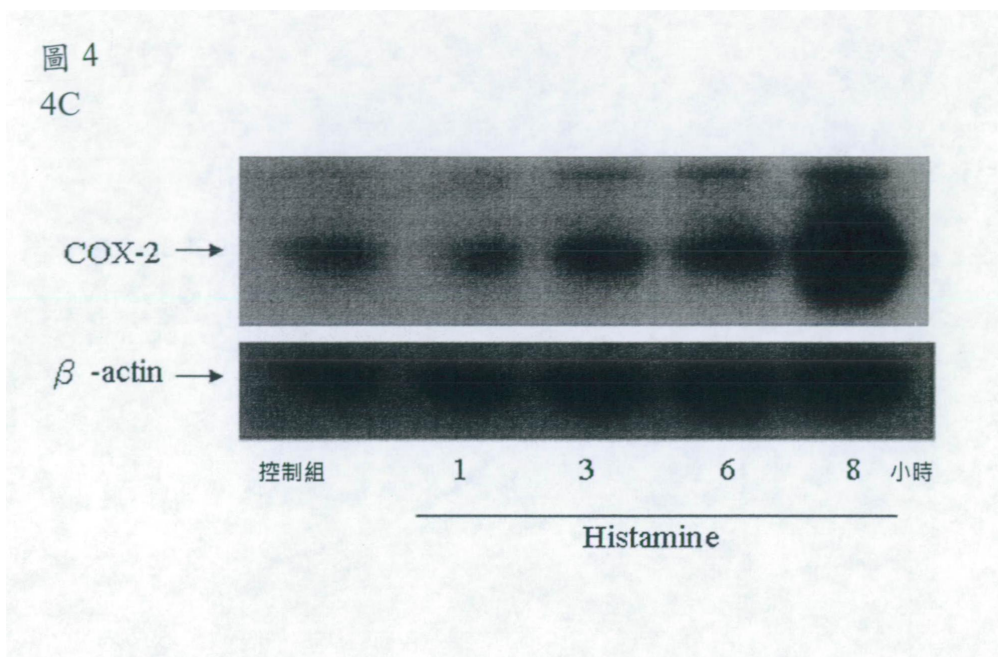


圖 4

4B



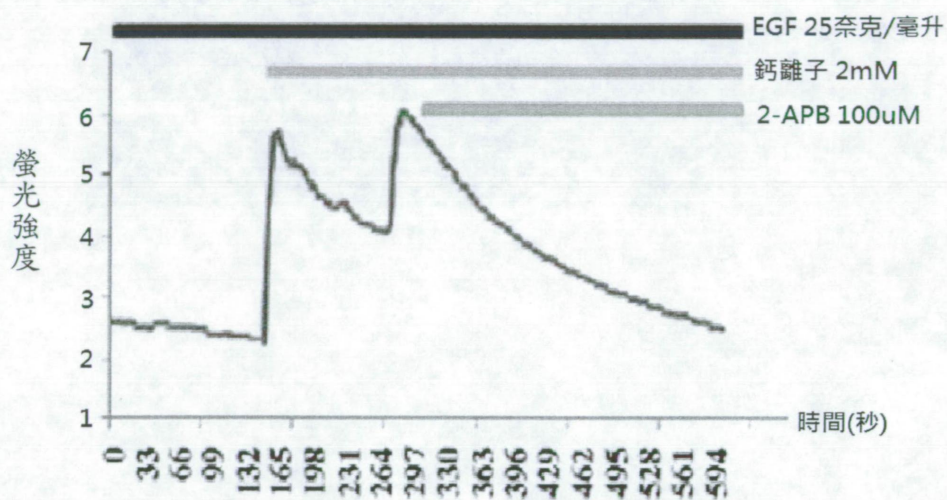
(6)



(7)

圖 5

5B



(8)

圖 6

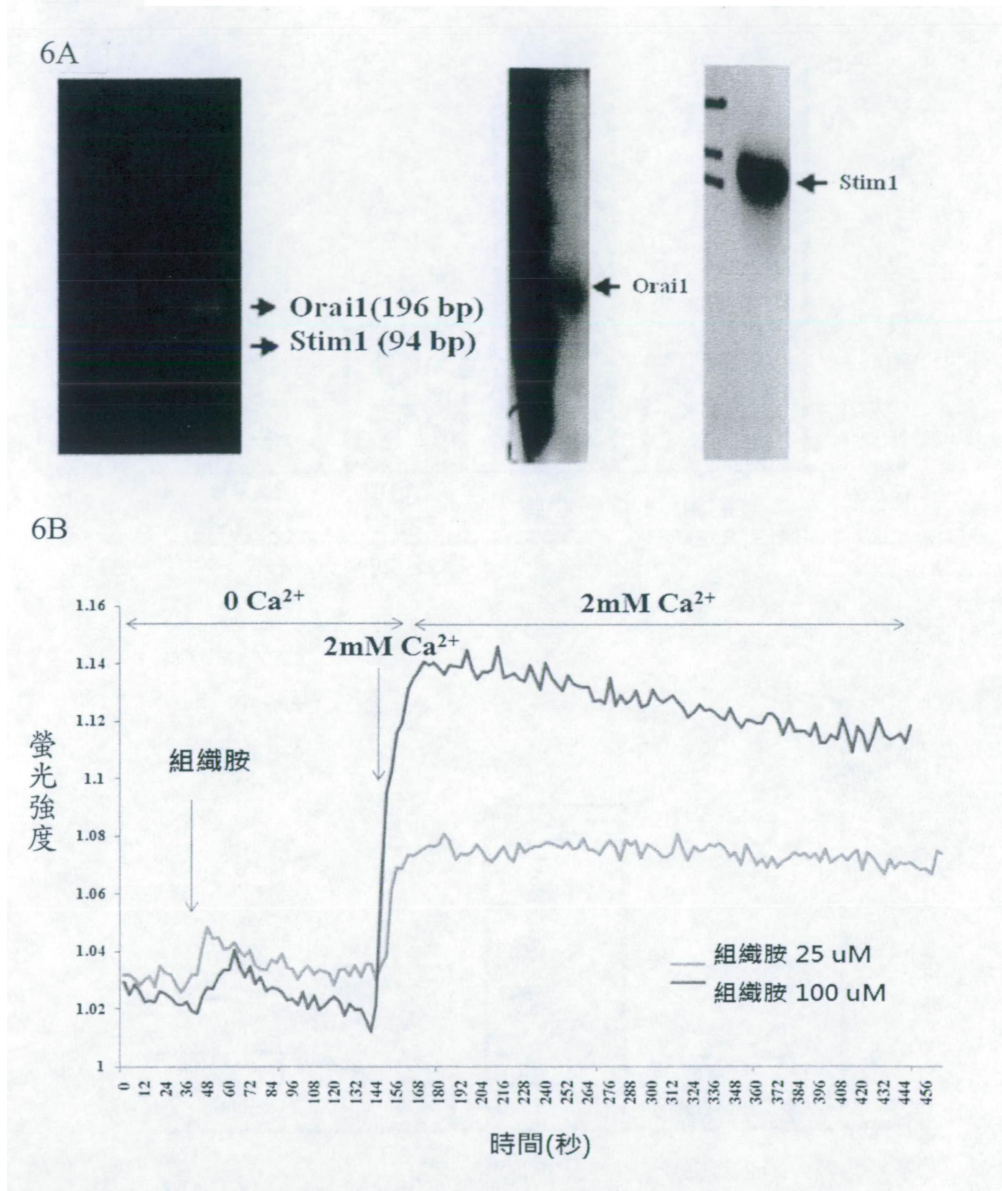
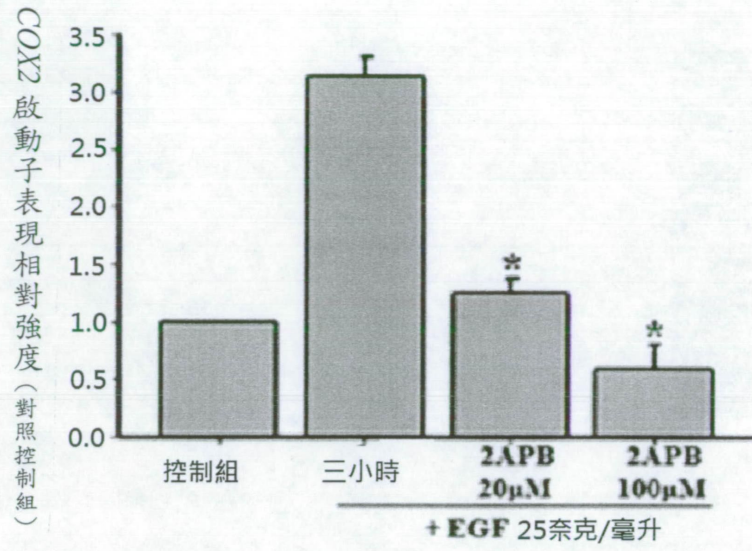




圖 7

7A



7B

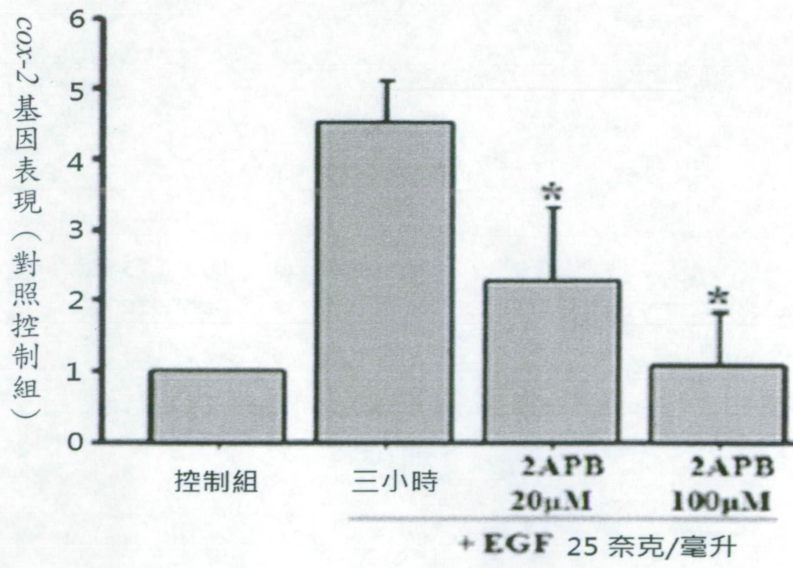
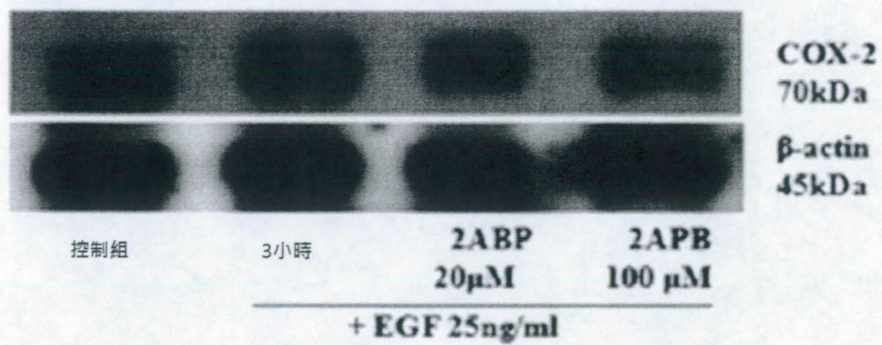


圖 7  
7C



7D

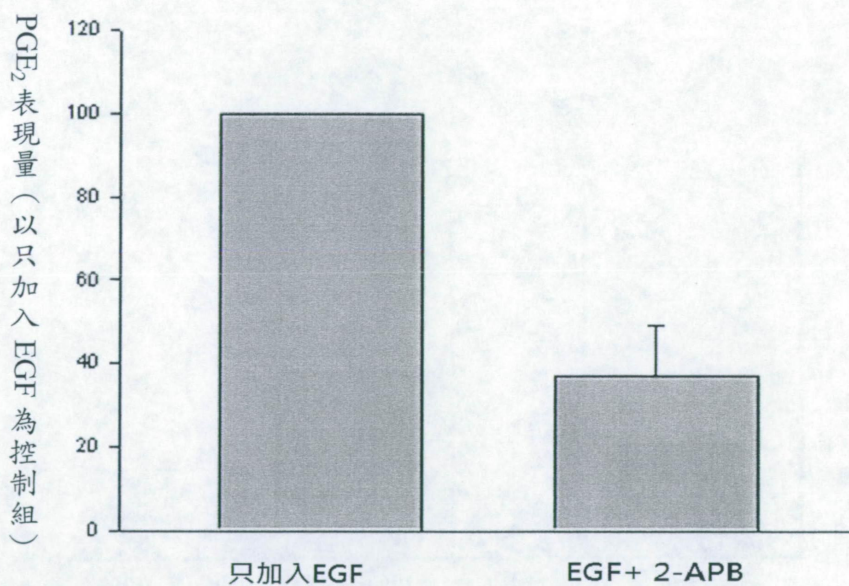
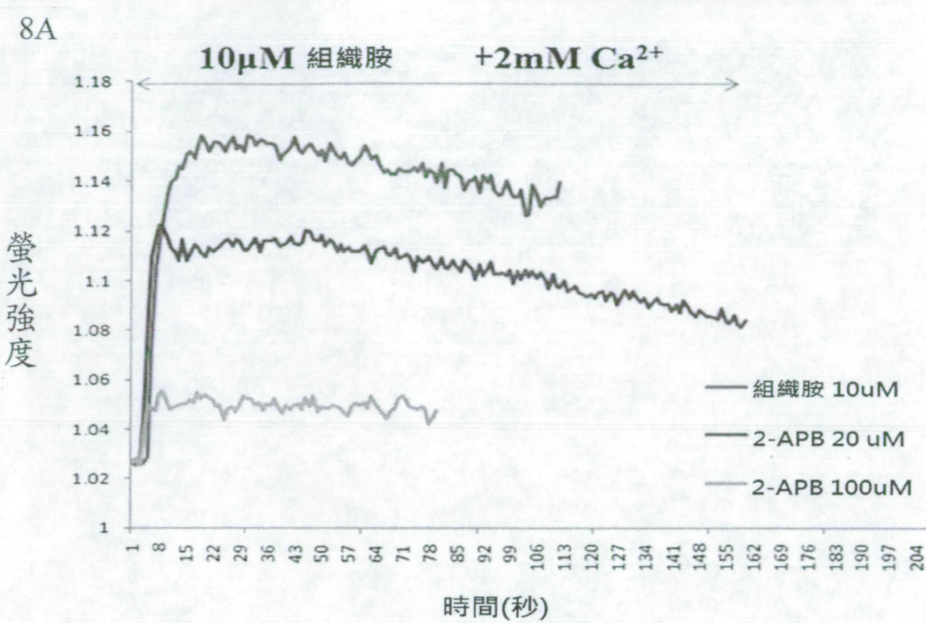


圖 8



8B

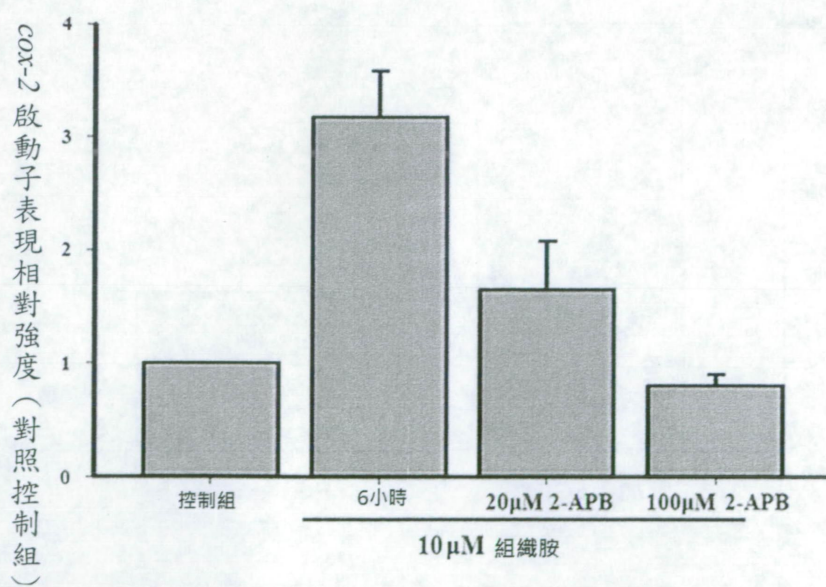
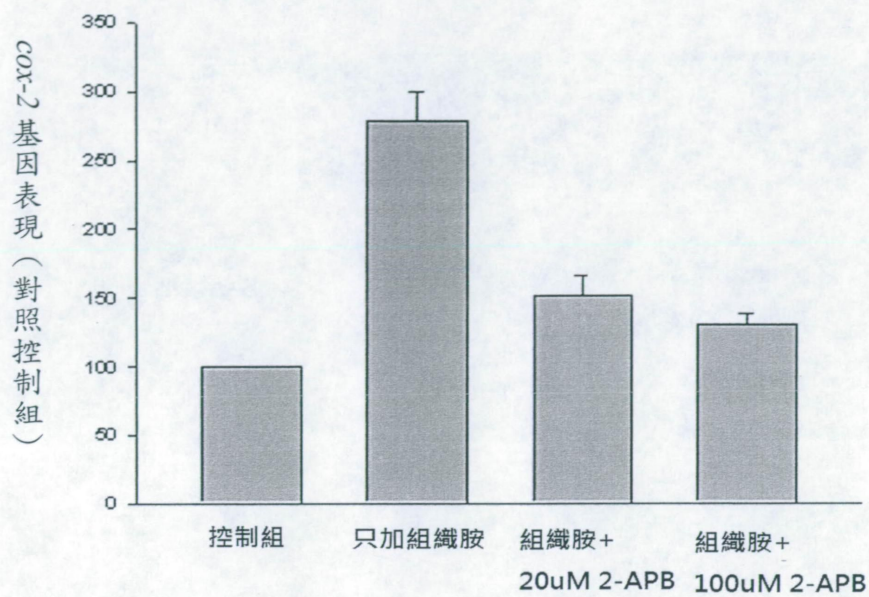


圖 8  
8C



8D

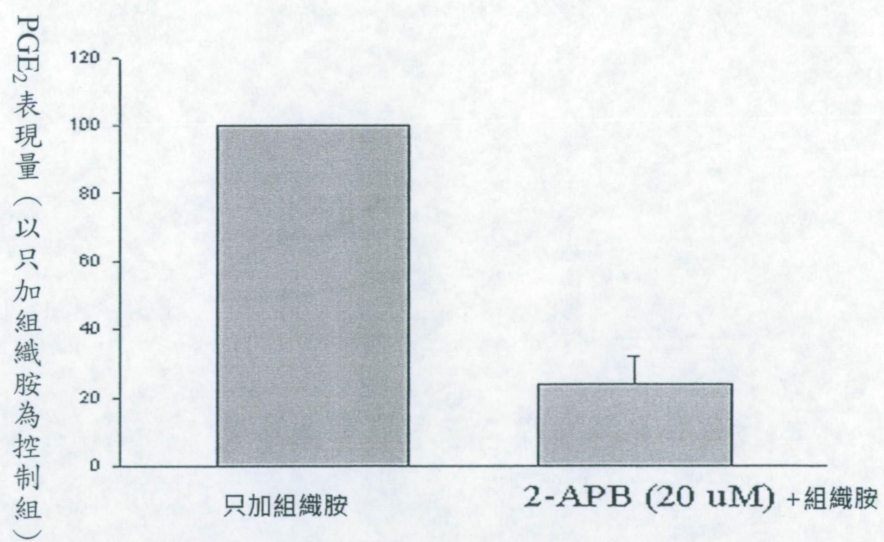
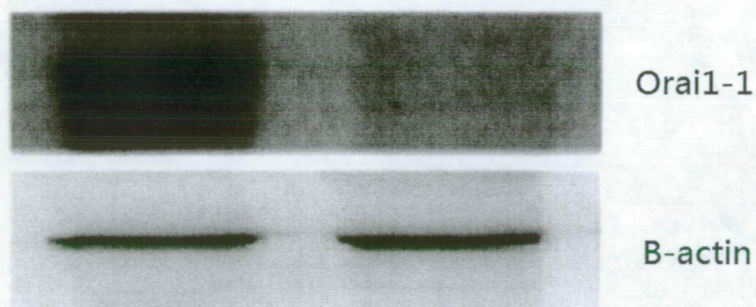


圖 9  
9A



控制組      siOrai1-1

9B

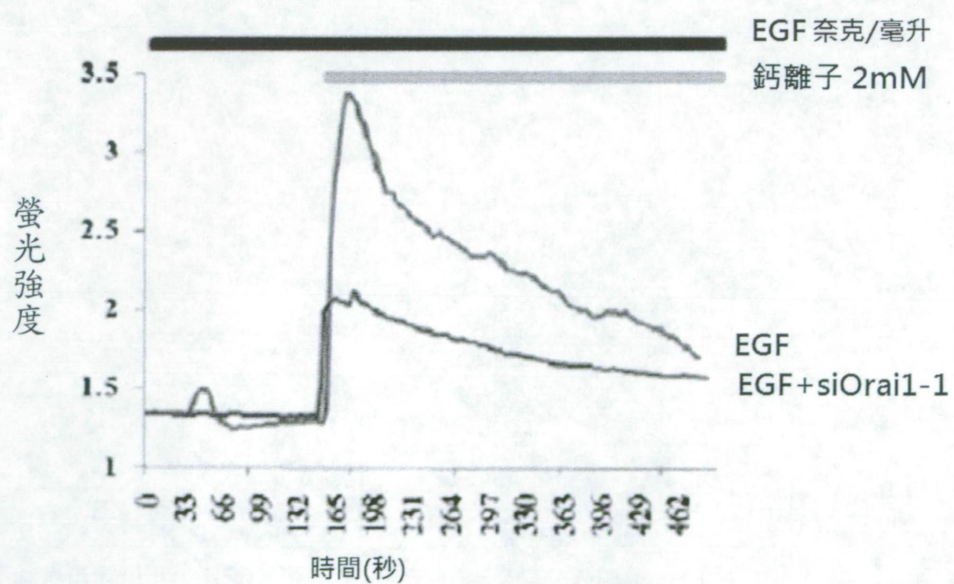


圖 9  
9C

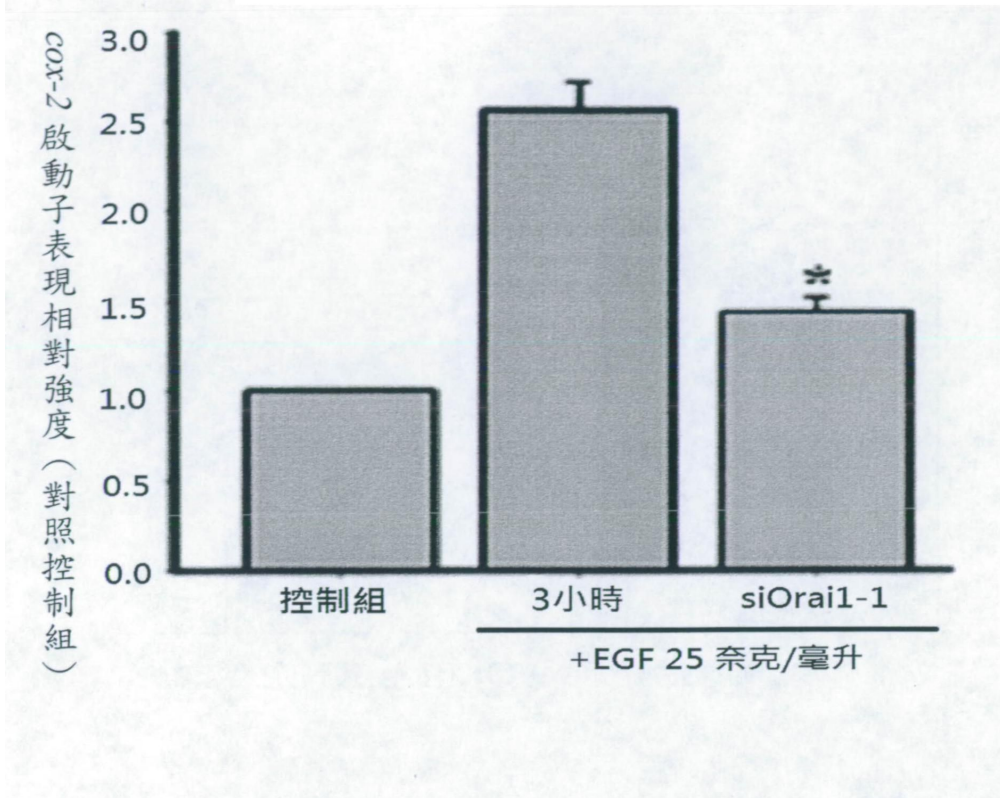
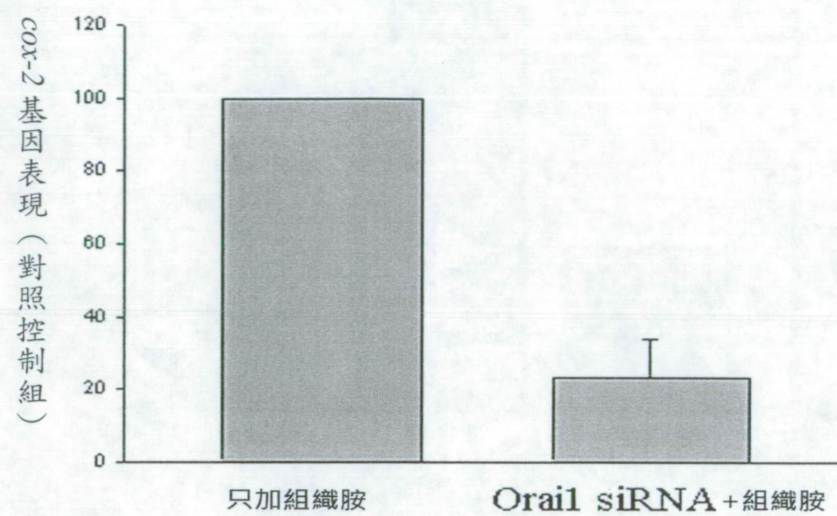


圖 10

10A



10B

