



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0078689
(43) 공개일자 2017년07월07일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/08 (2006.01) **A61K 31/7068** (2006.01)
A61K 38/10 (2006.01) **A61K 38/16** (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) **C07K 14/00** (2006.01)
C07K 5/08 (2006.01) **C07K 5/10** (2006.01)
C07K 7/06 (2006.01) **C07K 7/08** (2006.01)

- (52) CPC특허분류
A61K 38/08 (2013.01)
A61K 31/7068 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-7012656
(22) 출원일자(국제) 2015년10월13일
 심사청구일자 없음

- (85) 번역문제출일자 2017년05월10일
(86) 국제출원번호 PCT/US2015/055305
(87) 국제공개번호 WO 2016/061087
 국제공개일자 2016년04월21일

- (30) 우선권주장
 62/063,909 2014년10월14일 미국(US)

- (71) 출원인
 더 유에스에이, 애즈 레프리젠티드 바이 더 세크
 러터리, 디파트먼트 오브 헬스 앤드 휴먼 서비스
 미국 매릴랜드 20892-7660 베세즈다 앤에스씨
 7660 스위트 325 이그제큐티브 블러바드 6011 내
 셔널 인스티튜츠 오브 헬스
립타이드 바이오사이언스, 인코포레이티드
 미국 캘리포니아 94592 발레이오 레일로드 애비뉴
 941
(72) 발명자
루들로프, 우도
 미국 매릴랜드 20892 베세즈다 센터 드라이브 10
 4-3740 씨씨알-햇필드 센터
제인스, 제시, 엔.
 미국 앨라배마 36830 오번 오버힐 코트 1583
 (뒷면에 계속)
(74) 대리인
윤의섭, 김수진

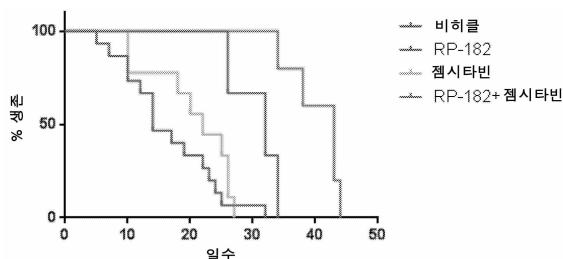
전체 청구항 수 : 총 10 항

- (54) 발명의 명칭 **췌장암을 치료하기 위한 웹타이드 기반 방법**

(57) 요 약

본 발명은 소형 항암증 웹타이드의 투여를 통해 췌장암을 치료하기 위한 방법에 관한 것이다. 상기 웹타이드는 또 다른 치료제 또는 치료학적 레지メン과 연계하여 투여될 수 있다.

대 표 도 - 도1b



(52) CPC특허분류

A61K 38/10 (2013.01)

A61K 38/16 (2013.01)

A61K 45/06 (2013.01)

C07K 14/00 (2013.01)

C07K 5/08 (2013.01)

C07K 5/10 (2013.01)

C07K 7/06 (2013.01)

C07K 7/08 (2013.01)

(72) 발명자

로페즈, 헨리, 더블유.

미국 캘리포니아 94558 나파 실버라도 트레일 7780

마틴, 조지, 알.

미국 매릴랜드 20850 록빌 #202 킹 팜 블러바드

403

예이츠, 클레이턴

미국 엘라배마 36830 오번 로아노크 레인 1753

명세서

청구범위

청구항 1

아미노산 서열 Lys-Phe-Arg-Lys-Ala-Phe-Lys-Arg-Phe-Phe(서열 번호: 1) 또는 Phe-Ala-Lys-Lys-Phe-Ala-Lys-Lys-Phe-Lys(서열 번호: 2)를 포함하는 웨타이드 또는 이의 다량체, 유도체 또는 변이체를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 췌장암을 치료하기 위한 방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 웨타이드가 폴리에틸렌 글리콜 링커에 콘주게이트되는, 방법.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 웨타이드가 서열 번호: 1의 이량체 또는 사량체 중 적어도 하나 또는 이의 조합으로서 투여되는, 방법.

청구항 4

청구항 1 내지 3 중 어느 한 청구항에 있어서, 상기 투여가 추가의 치료제의 투여를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 5

청구항 4에 있어서, 상기 치료제가 화학치료제인, 방법.

청구항 6

청구항 5에 있어서, 상기 화학치료제가 쟈시타빈 또는 면역 관문 억제제로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 방법.

청구항 7

청구항 5에 있어서, 상기 화학치료제가 쟈시타빈 아브락산, 또는 FOLFIRINOX (플루오로우라실, 류코보린, 이리노테칸, 옥살리플라틴 레지멘)인, 방법.

청구항 8

청구항 1 내지 4 중 어느 한 청구항에 있어서, 상기 투여가 비경구용인, 방법.

청구항 9

청구항 1 내지 4 중 어느 한 청구항에 있어서, 상기 웨타이드가 약 0.05 내지 약 25mg/kg의 투여량으로 투여되는, 방법.

청구항 10

청구항 1 내지 4 중 어느 한 청구항에 있어서, 상기 대상체가 인간인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원 데이터

[0002] 본원에 인용된 출원 및 특허 문헌 각각 및 상기 출원 및 특허 문헌 각각에 인용된 각각의 문서 또는 참조문헌 (각각의 발행된 특허의 진행 동안에 "출원 인용된 문서들"을 포함하는) 및 임의의 이들 출원 및 특허 문헌으로부터 우선권에 상응하고/하거나 주장하는 PCT 및 국외 출원 또는 특허 문헌 각각 및 출원 인용된 문서 각각에서

인용되거나 참조된 문서들 각각은 명백히 본원에 참조로 인용되고 본 발명의 수행에 사용될 수 있다. 보다 일반적으로, 문서들 또는 참조문헌들은 청구범위 전의 참조문헌 목록 또는 본원 자체에 인용되고; 이들 문서들 또는 참조문헌들 각각("여기에 인용된 참조문헌들"), 및 여기에 인용된 참조문헌 각각에 인용된 각각의 문서들 또는 참조문헌(임의의 제조업자의 설명서, 설명서 등을 포함하는)은 명백하게 본원에 참조로 인용된다.

[0003] 서열 목록 데이터

본원에 첨부된 서열목록 텍스트 파일은 2015년 10월 13일자로 작성되었고 크기는 2킬로바이트이고, 파일명은 "6137NCI-38-PCT_서열 목록_ST25"이고 이의 전체가 참조로 본원에 인용된다.

배경기술

[0005] 췌장암은 췌장 조직에서 악성(암성) 세포가 형성된 질환이다. 췌장암은 흔히 조기에 진단되는 경우에도 나쁜 예후를 갖는다. 췌장암은 전형적으로 급속하게 퍼지고 이의 조기 단계에서 좀처럼 검출되지 않아 이는 이것이 암 사망의 주요 원인이 되는지의 주요 이유이다. 실제로, 췌장암은 미국(U.S.)에서 남성 및 여성 모두에서 암 사망의 주요 원인 중 4번째이고 연간 38,000명 이상이 사망한다. 췌장암은 2020년까지 미국에서 모든 암-관련 사망에서 2번째로 랭크될 것으로 예상된다. 추가로, 미국에서 췌장암의 5년 생존율은 고령 기관 종양 중에서 최저로 랭크된다. 췌장암의 조기 검출을 위해 신뢰할 수 있는 스크리닝 시험이 없다. 침후 및 증상은 췌장암이 상당히 진전될 때까지 나타나지 않을 수 있고 완전한 수술 제거는 가능하지 않다.

[0006] 수술, 방사선 치료요법 및 화학치료요법을 포함하는 췌장암의 표준 치료는 대부분 제한된 효능을 보여준다. 실제로, 쟈시타빈, 폴피리녹스, 쟈시타빈 및 아브락산의 조합물 및 쟈시타빈 및 에를로티닙의 조합물을 포함하는 승인된 치료는 기껏해야 몇개월 내지 수개월까지 생존을 개선시킨다. 보다 새로운 치료요법은 보다 큰 성공을 입증하지 못했고 이는 능히 췌장내 두터운 스트로마(stroma) 및 풍부한 혈관의 상대적 부재로 인한 것이다.

발명의 내용

[0007] 아미노산 서열 Lys-Phe-Arg-Lys-Ala-Phe-Lys- Arg-Phe-Phe(서열 번호: 1)을 갖는 웨타이드 A, 및 아미노산 서열 Phe-Ala- Lys-Lys-Phe-Ala-Lys-Lys-Phe-Lys(서열 번호: 2)를 갖는 웨타이드 B는 다수의 염증 질환 모델에서 평가하였고 이들 모두에서 강한 활성을 보여주었다.

[0008] 췌장암은 이것이 매우 강한 염증 성분을 갖는다는 것에 독특하다(문헌참조: Farrow, et al. 2004 *Annals of Surgery* 239(6):763-771; Zambirinis, et al. 2015 *Cancer J* 20(3): 195-202). 또한 이의 약물 확산/관류 요건에서 췌장 종양은 약물을 용이하게 흡수하지 않는다는 것에서 독특하다(문헌참조: Whatcott, et al. Ch 8: Desmoplasia and chemoresistance in pancreatic cancer 2012 *Pancreatic Cancer and Tumor Microenvironment*, editors Grippo and Munshi). 추가로, 스트로마의 치료요법을 통해 스트로마를 표적화하는 것이 췌장암의 임상전 모델에서 효과적인 종양 반응을 산출할 수 있는 것으로 나타났다(문헌참조: Olive, et al. 2009 *Science* 324(5933):1457-61; Provanzano, et al. 2012 *Cancer Cell* 21 (3):418-29).

[0009] 다양한 췌장암 동물 모델에서 웨타이드 A 및 웨타이드 B를 시험하는 즉시, 웨타이드의 강한 항암 활성을 본원에 기재된 바와 같은 췌장암에 대해 작용하는 것으로 밝혀졌다. 또한 본원에서는 종양을 수축시키고 췌장암을 발병하는 형질전환 동물의 수명을 연장시키는 승인된 화학치료요법제인 쟈시타빈과 병용하여 웨타이드 A 또는 웨타이드 B를 투여하는 것을 기재하고 있다. 따라서, 이러한 기재는 시험관내 및 생체내 강력한 항-염증 활성을 갖는 웨타이드의 발견 및 또 다른 측면에서 웨타이드가 또한 질량 분광학적 측정시 순환계에서 충분히 안정하여 이들의 약리역학 및 투여량-반응 성질의 측정을 가능하게 한다는 발견에 토대한다.

[0010] 본원의 개시내용은 대상체에서 췌장암을 치료하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 항-염증 웨타이드 A 또는 웨타이드 B, 또는 이의 변이체를 포함하는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0011] 또 다른 양상에서, 본 발명은 대상체에서 췌장암을 치료하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 항-염증 웨타이드 A 또는 웨타이드 B, 또는 이의 변이체, 및 적어도 하나의 화학치료요법제를 포함하는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 이들 방법은 아미노산 서열 Lys-Phe-Arg-Lys-Ala-Phe-Lys-Arg-Phe-Phe(서열 번호: 1), 또는 Phe-Ala-Lys- Lys-Phe-Ala-Lys-Phe-Lys(서열 번호: 2)를 포함하는 웨타이드 또는 이의 다양체, 유도체 또는 변이체를 대상체에게 투여함에 의해 대상체에서 췌장암을 치료함을 포함할 수 있다. 이들 방법은 추가의 치료제의 투여를 포함할 수 있다. 추가의 치료제(들)은 하나 이상의 화학치료요법제일 수 있다. 상기 화학치료요법제는 쟈시타빈 또는 면역 관문 억제제로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다. 화학치료제는 쟈

시타빈 아브락산 또는 폴피리녹스 레지멘(플루오로우라실, 류코보린, 이리노테칸, 옥살리플라틴)일 수 있다(문헌참조: J. Clin. Oncol. October 1, 2011, 29(28):3727-3729).

[0012] 이들 방법에서, 상기 투여는 비경구 투여에 의한 것일 수 있다. 이들 방법에서, 웨타이드는 약 0.05 내지 약 25mg/kg의 투여량으로 투여될 수 있다. 이들 방법에서, 대상체는 인간일 수 있다.

[0013] 하나의 양상은 아미노산 서열 Lys-Phe-Arg-Lys-Ala-Phe-Lys-Arg-Phe-Phe(서열 번호: 1) 또는 Phe-Ala-Lys-Lys-Phe-Ala-Lys-Lys-Phe-Lys(서열 번호: 2)를 포함하는 웨타이드 또는 이의 다량체, 유도체 또는 변이체 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는, 췌장암을 치료하기 위한 약제학적 조성물이다. 이들 조성물은 적어도 하나의 추가의 치료제를 포함할 수 있고 따라서 또 다른 양상은 아미노산 서열 Lys-Phe-Arg-Lys-Ala-Phe-Lys-Arg-Phe-Phe(서열 번호: 1) 또는 Phe-Ala-Lys-Lys-Phe-Ala-Lys-Phe-Lys(서열 번호: 2)를 포함하는 웨타이드 또는 이의 다량체, 유도체 또는 변이체, 적어도 하나의 추가의 치료제, 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는, 췌장암을 치료하기 위한 약제학적 조성물이다. 관련 양상은 아미노산 서열 Lys-Phe-Arg-Lys-Ala-Phe-Lys-Arg-Phe-Phe(서열 번호: 1) 또는 Phe-Ala-Lys-Lys-Phe-Ala-Lys-Phe-Lys(서열 번호: 2)를 포함하는 웨타이드 또는 이의 다량체, 유도체 또는 변이체를 포함하는 췌장암의 치료를 위한 용도이다.

[0014] 본 발명의 다른 양상은 하기에 기재되어 있고 이의 기재로부터 명백하고 본 발명의 범위 내에 있다.

도면의 간단한 설명

[0015] 실시예에 의해 제공되지만 본 발명을 기재된 특정 구현예로 제한하는 것이 아닌 하기의 상세한 설명은 첨부된 도면과 연계하여 이해될 수 있고, 여기서:

도 1a는 비히클(H₂O 또는 PBS); 50mg/kg 켐시타빈; 20mg/kg 웨타이드 A; 또는 웨타이드 A(20mg/kg) 및 켐시타빈(50mg/kg)의 배합물을 사용한 치료에 무작위로 할당되는 종양을 갖는 마우스에서 종양 용적의 상대적 증가를 보여준다. 모든 치료제는 복강내 주사에 의해 투여되었다. 상기 결과는 단독의 웨타이드 A가 유전자전이 동물에서 췌장암의 성장을 정지시키고 웨타이드 A와 켐시타빈 RP-182의 배합은 유전자전이 동물에서 췌장암의 성장을 상당히 감소시킴을 보여준다. 도 1b는 3개의 약물, 및 대조군, 레지멘으로 치료된 유전자전이 동물의 생존을 보여준다. 생존 곡선은 RP-182가 켐시타빈과 병용하여 생존을 상당히 개선시킴을 보여준다.

도 2는 췌장암의 유전자전이 동물 모델에서 웨타이드 A 투여(단독으로 및 켐시타빈과 병용된)와 다른 연구 제제(또한 단독으로 시험되고 켐시타빈과 병용된)의 비교를 보여준다.

도 3은 웨타이드 A('RP182'로서 보여지는) 및 다른 공지된 연구 항암제의 투여 후 췌장암에 대한 표준화된 평균 종양 용적에서의 % 변화 비교를 보여준다.

도 4는 췌장암의 유전자전이 동물 모델에서 종양 용적에서의 % 변화에 대한 생존에서 % 증가의 비율로서 웨타이드 A(웨타이드 A는 'RP182'로서 나타낸다) 및 켐시타빈과 병용하여 사용되는 다른 연구 제제의 상대적 이득의 개요를 보여준다.

도 5는 웨타이드 A 결합이 p16 췌장암 세포에 특이적임을 입증하는 무작위 10량체 비오티닐화된 웨타이드와 C말단-비오티닐화된 웨타이드 A의 결합 비교를 보여준다.

도 6은 웨타이드 A의 N-말단을 통한 암 세포로의 바람직한 결합을 지적하는 N- 및 C-말단 표지된 웨타이드 A에 대한 세포 결합 곡선을 보여준다.

도 7은 췌장암의 이종이식체 모델에서 상이한 약물 치료의 비교를 보여준다. 비히클 대 단독의 RP-182에 대해 (*), p=0.007이다. 단독의 켐시타빈 대 켐시타빈 + RP-182에 대해 (**), p<0.007이다.

도 8은 웨타이드 B를 사용한 치료 후 췌장암에서 면역계 세포의 분석을 보여주고 이는 웨타이드 B 치료가 B 세포를 증가시키고 이를 췌장 종양에서 대식세포를 감소시킴을 지적한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] 상기 논의된 바와 같이, 본원에 기재된 발명은 항염증 웨타이드, 특히 면역억제 성질을 갖는 웨타이드의 용도 및 상기 웨타이드를 췌장암을 앓거나 췌장암을 발병할 위험에 처한 대상체에게 투여하는 방법에 관한 것이다.

[0017] 정의

[0018] 본원에 사용된 바와 같은, 단수 형태 "a", "및", 및 "the"는 달리 명백히 지적되지 않는 경우 복수의 대상을 포

함한다. 따라서, 예를 들어, "세포(a cell)"에 대한 언급은 복수의 상기 세포를 포함하고 "단백질(the protein)"에 대한 언급은 하나 이상의 단백질 및 당업자에게 공지된 이의 균등물에 대한 언급을 포함한다. 본원에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 달리 명백히 지적되지 않는 경우 본 발명이 속하는 당업자 중 한명에게 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다.

- [0019] 용어 "펩타이드" 및 "폴리펩타이드"는 본원에서 동의어로 사용되어 아미노산 잔기들로부터 제작된 중합체를 언급한다.
- [0020] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "스트리아페틱 영역(striapathic region)"은 소수성 및 친수성 모듈의 또 다른 서열을 언급한다. "소수성 모듈"은 1 내지 5개의 소수성 아미노산 잔기들로 이루어진 펩타이드 서열로 구성된다. 또한, 친수성 모듈은 1 내지 5개의 친수성 아미노산 잔기로 이루어진 펩타이드 서열로 구성된다.
- [0021] 본원에 사용된 바와 같은 "실질적으로 순수한"은, 예를 들어, 약제학적 조성물과 관련하여 펩타이드가 조성물의 총 함량(예를 들어, 조성물의 총 단백질)의 약 50% 초과, 또는 총 단백질 함량의 약 80% 초과를 구성함을 의미한다. 예를 들어, "실질적으로 순수한" 펩타이드는 총 조성물의 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 이상이 펩타이드(예를 들어, 총 단백질의 95%, 98%, 99%, 99% 초과)인 조성물을 언급한다. 상기 펩타이드는 조성물에서 총 단백질의 약 90% 초과, 약 95% 초과, 98% 초과, 또는 99% 초과를 구성할 수 있다. 일부 구현예에서, 펩타이드는 펩타이드가 제조 동안에 회합되는 유기 분자가 부재인 적어도 60중량% 또는 적어도 75중량%인 경우 실질적으로 순수하다. 일부 구현예에서, 펩타이드는 적어도 60중량%, 적어도 75중량%, 적어도 80중량%, 적어도 85중량%, 적어도 90중량%, 적어도 95중량%, 또는 적어도 99중량% 순수하다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 면역조절 펩타이드는 상기 면역조절 펩타이드가 제조 동안에 펩타이드(들)과 회합된 유기 분자가 부재인 적어도 60중량% 또는 적어도 75중량%인 경우 실질적으로 순수하고, 일부 구현예에서, 면역조절 펩타이드는 적어도 60중량%, 적어도 75중량%, 적어도 80중량%, 적어도 85중량%, 적어도 90중량%, 적어도 95중량%, 또는 적어도 99중량% 순수하다.
- [0022] 본원에 상호교환적으로 사용되는 바와 같은 용어 "대상체", "환자" 및 "개체"는 다세포 동물(포유동물(예를 들어, 인간, 비-인간 영장류, 쥐, 양, 소, 반추동물, 토끼류, 돼지, 염소, 말, 개, 고양이, 아에스(ayes) 등), 조류(예를 들어, 닭), 양서류(예를 들어, 제노푸스), 과충류 및 곤충(예를 들어, 드로소필라)을 포함하는)을 언급한다. "동물"은 기니아 퍼그, 햄스터, 페럿, 친칠라, 마우스 및 목화쥐를 포함한다.
- [0023] 본원에 사용된 바와 같은 "종양"은 악성이든 또는 양성이든 모든 신생물 세포 성장 및 증식 및 모든 전암성 및 암성 세포 및 조직을 언급한다. 용어 "암", "암성", "세포 증식 장애", "증식 장애" 및 "종양"은 본원에 언급된 바와 같이 상호 배타적이지 않다.
- [0024] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "항-염증 성질"은 상승될 수 있고/있거나 단백질 표적에 의해 매개되는 염증 촉진 시그널을 감소시키거나 억제하거나, 감소시키거나 억제할 것으로 예상되고/되거나 대상체에서 염증을 감소시키거나 억제하는 폴리펩타이드의 임의의 성질을 언급한다.
- [0025] "유효량"은 목적하는 치료학적 또는 예방학적 결과를 성취하기 위해 효과적인 양, 투여량 및 이를 위해 필요한 시기를 언급한다. 본원에 기재된 펩타이드 또는 펩타이드를 포함하는 약제학적 조성물의 "치료학적 유효량"은 질환 상태, 연령, 성별 및 개체의 체중 및 펩타이드 또는 조성물이 개체에서 목적하는 반응을 유발하는 능력에 따라 다양할 수 있다. 치료학적 유효량은 또한, 펩타이드 또는 상기 펩타이드를 포함하는 조성물의 임의의 독성 또는 해로운 효과가 치료학적 이득 효과보다 우세하지 않은 양이다.
- [0026] 본원에서 임의의 수치적 범위(예를 들어, 투여량 범위)에 대한 언급은 명백하게 상기 범위에 의해 포함되는 각각의 수치 값(분획 숫자 및 전체 숫자 포함)을 포함한다. 예를 들어, 그러나 제한 없이, 본원에서 0.5mg/kg 내지 100mg/kg의 범위에 대한 언급은 명백하게 2개 사이의 모든 정수와 소수를 포함한다.
- [0027] 본원에 기재된 바와 같은 체장암을 "앓는"으로서 언급되는 개체는 체장암으로 진단되었고/되었거나 체장암의 하나 이상의 증상을 나타낸다.
- [0028] 본원에 사용된 바와 같은 용어 체장암에 대해 "위험에 처한"은 체장암을 발병할 성향이 있고/있거나 상기 질환의 하나 이상의 증상을 발현하는 성향이 있는 대상체(예를 들어, 인간)를 언급한다. 상기 성향은 유전학적이거나 다른 인자로 인한 것일 수 있다. 본 발명은 임의의 특정 징후 또는 증상으로 제한되는 것으로 의도되지 않는다. 따라서, 본 발명은 준-임상적으로부터 완전히 발달한 임의의 범위의 체장암을 경험하는 대상체를 포함하고, 여기서, 상기 대상체는 체장암과 관련된 지시(예를 들어, 징후 및 증상) 중 적어도 하나를 나타낸다.

- [0029] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "치료하다", "치료", 또는 "치료하는"은 질환, 장애 및/또는 병태(예를 들어, 췌장암)의 하나 이상의 증상 또는 특징을 부분적으로 또는 완전하게 약화시키고, 개선시키고, 경감시키고, 억제하고, 예방하고, 별명을 지연시키고, 이의 중증도를 감소시키고/시키거나, 발생율을 감소시키기 위해 사용되는 임의의 방법을 언급한다. 치료제는 질환, 장애 및/또는 병태의 징후를 나타내지 않는 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 치료는 질환, 장애 및/또는 병태와 관련된 병리를 발병할 위험을 감소시킬 목적으로 질환, 장애 및/또는 병태의 조기 징후만을 나타내는 대상체에게 투여될 수 있다.
- [0030] 용어 "포함한다", "포함하는"은 미국 특허법에 정하는 광범위한 의미를 갖는 것으로 의도되고 "함유한다", "함유하는" 등을 의미할 수 있다.
- [0031] 본 발명은 하기의 상세한 설명 및 예시적 실시예를 참조로 보다 완전하게 이해될 수 있고 이는 본 발명의 비-제한 구현예를 예시하는 것으로 의도된다.
- [0032] 폴리펩타이드
- [0033] 펩타이드 A는 서열 Lys-Phe-Arg-Lys-Ala-Phe-Lys-Arg-Phe-Phe(서열 번호: 1)을 갖는 펩타이드를 포함하거나, 필수적으로 이루어지거나, 이루어진다.
- [0034] 펩타이드 B는 서열 Phe-Ala-Lys-Lys-Phe-Ala-Lys-Lys-Phe-Lys(서열 번호: 2)을 포함하거나, 필수적으로 이루어지거나, 이루어진다.
- [0035] 펩타이드 A 및 B는 혈청에서 안정하고, 예를 들어, (이온 포집) 질량 분광측정에 의해 검출될 수 있고 측정될 수 있다.
- [0036] 변이체 폴리펩타이드
- [0037] 본원에 기재된 펩타이드의 "변이체"는 본원에 기재된 폴리펩타이드와 실질적으로 유사하고 본 발명의 폴리펩타이드의 적어도 하나의 항염증 성질 또는 항암을 보유하는 폴리펩타이드이다. 변이체는 본원에 기재된 본 발명의 폴리펩타이드의 N-말단 또는 C-말단에서 하나 이상의 아미노산 잔기들의 결실(즉, 절단); 본원에 기재된 본 발명의 폴리펩타이드 내 하나 이상의 내부 부위에서 하나 이상의 아미노산 잔기들의 결실 및/또는 첨가; 및/또는 본원에 기재된 본 발명의 폴리펩타이드 내 하나 이상의 위치에서 하나 이상의 아미노산 잔기의 치환을 포함할 수 있다. 길이가 12개 이하의 아미노산 잔기들인 본 발명의 폴리펩타이드에 대해, 변이체 폴리펩타이드는 바람직하게 내부적으로 N-말단 및/또는 C-말단에 위치되든 상관없이 3개 또는 그 이하(예를 들어, 2개, 1개 또는 부재)의 결실된 아미노산 잔기들을 포함한다.
- [0038] 따라서, 본 발명의 방법 및 조성물은 또한 본원에 기재된 항염증 폴리펩타이드와 적어도 50% 동일하거나(예를 들어, 적어도 60%, 70%, 80%, 90% 이상) 적어도 하나의 항염증 성질을 보유하는 항염증 폴리펩타이드에 대해 고려된다.
- [0039] 치환된 아미노산 잔기들은 대체된 아미노산 잔기와 관련되지 않을 수 있거나(예를 들어, 용어, 또는 소수성/친수성, 크기, 전하, 극성 등에서 관련되지 않은) 치환된 아미노산 잔기들은 유사하거나, 보존성이거나 고도로 보존성의 아미노산 치환으로 구성할 수 있다. 본원에 사용된 바와 같은 "유사한", "보존성", 및 "고도로 보존성"의 아미노산 치환들은 하기 표에 나타낸 바와 같이 정의된다. 아미노산 잔기 치환이 유사하거나, 보존성이거나 고도로 보존성인지의 결정은 전적으로 아미노산 잔기의 측쇄를 기준으로 하고 펩타이드 골격을 기준으로 하지 않고, 이는 변형되어 하기 논의된 바와 같이 펩타이드 안정성을 증가시킬 수 있다.

아미노산	유사 아미노산	보존적 아미노산 치환	고도로 보존적인 아미노산
글리신 (G)	A,S,N	A	n/a
알라닌 (A)	S,G,T,V,C,P,Q	S,G,T	S
세린 (S)	T,A,N,G,Q	T,A,N	T,A
트레오닌 (T)	S,A,V,N,M	S,A,V,N	S
시스테인 (C)	A,S,T,V,I	A	n/a
프롤린 (P)	A,S,T	A	n/a
메티오닌 (M)	L,I,V,F	L,I,V	L,I
발린 (V)	I,L,M,T,A	I,L,M	I
류신 (L)	M,I,V,F,T,A	M,I,V,F	M,I
이조류신 (I)	V,F,M,F,T,C	V,F,M,F	V,L,M
페닐알라닌 (F)	W,F,M,I,V	W,L	n/a
티로신 (Y)	F,W,H,F,I	F,W	F
트립토판 (W)	F,L,V	F	n/a
아스파라긴 (N)	Q	Q	Q
글루타민 (Q)	N	N	N
아스파르트산 (D)	E	E	E
글루탐산 (E)	D	D	D
히스티딘 (H)	R,K	R,K	R,K
리신 (K)	R,H	R,H	R,H
아르기닌 (R)	K,H	K,H	K,H

[0040]

본 발명의 웨타이드와 관련된 보존성 아미노산 치환은 웨타이드의 활성을 보존하도록 하기 위해 선택된다. 하나의 구현예에서, 변이체 폴리웨타이드는 2개 이상의 표적(예를 들어, 염증 촉진 표적)에 결합한다. 보다 바람직하게, 변이체 폴리웨타이드는 3개, 4개 또는 5개 이상의 염증 촉진 표적에 결합한다. 예를 들어, 변이체 폴리웨타이드는 임의의 표적 조합(예를 들어, NF-kB 부류 II 단백질 및 인간 혈청 알부민(HSA))에 결합한다. 상기 결합은 인실리코, 시험관내 또는 생체내 데이터를 기준으로 할 수 있다.

[0042]

변형된 폴리웨타이드

[0043]

또한 본 발명의 방법 및 조성물과 관련하여 화학적 또는 유전학적 수단에 의해 본원에 기재된 임의의 폴리웨타이드의 변형이 고려된다. 상기 변형의 예는 L 또는 D 형태로 비-천연 아미노산 및/또는 천연 아미노산을 갖는 부분 또는 완전 서열의 웨타이드의 작제를 포함한다. 예를 들어, 본원에 기재된 임의의 웨타이드 및 이의 변이체는 모든 D 형태로 제조될 수 있다. 추가로, 폴리웨타이드는 아미노산의 측쇄 또는 N-말단 또는 C-말단에 공유적으로 결합된 당 또는 지방산과 같은 탄수화물 또는 지질 모이어티를 함유하도록 변형될 수 있다. 추가로, 상기 폴리웨타이드는 투여되는 경우 용해도 및/또는 반감기를 증진시키도록 변형될 수 있다. 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 및 관련 중합체는 혈액에서 단백질 치료제의 용해도 및 반감기를 증진시키기 위해 사용되어 왔다. 따라서, 폴리웨타이드는 PEG 중합체 등에 의해 변형될 수 있다. 폴리웨타이드는 또한 황, 인, 할로겐, 금 속 등을 함유하도록 변형될 수 있다. 그리고, 아미노산 모사체는 폴리웨타이드를 제조하기 위해 사용될 수 있다. 하나의 구현예에서, 폴리웨타이드는 내분해성과 같은 증진된 성질을 갖는 아미노산 모사체를 포함한다. 예를 들어, 폴리웨타이드는 하나 이상(예를 들어, 모든)의 단량체를 포함할 수 있다.

[0044]

치료/치료요법

[0045]

특정 구현예에서, 본 발명은 대상체에서 체장암 또는 체장암과 관련된 하나 이상의 증상을 치료(예를 들어, 이의 약화, 개선, 경감, 안정화, 발병 지연, 이의 진행 억제, 이의 중증도 감소 및/또는 이의 발생율 감소)하고/하거나 예방하기 위한 방법 및 조성물을 제공한다. 대상체는 인간일 수 있다.

[0046]

본 발명의 치료 방법은 웨타이드 A 또는 웨타이드 B를 포함하는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를

포함한다. 특정 구현예에서, 치료 방법은 추가로 대상체의 염증 부위에서 적어도 하나의 염증 촉진 시토카인(들)의 발현 수준 및/또는 활성(적어도 10%(예를 들어, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% 또는 50% 이상)까지)을 감소시킴을 포함한다. 적어도 하나의 염증 촉진 시토카인은 TNFa, IL-1a, IL-6, 및 IL-12로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다. 다른 구현예에서, 치료 방법은 대상체에서 염증의 잠재적 부위에서 이들 염증 촉진 시토카인(들)의 적어도 하나의 발현 수준 및/또는 활성에서의 증가를 억제하거나 제한한다.

[0047] 병용 치료요법

추가로, 본원에 기재된 것은 치료 방법(및 조성물)이고, 여기서, 항염증 폴리펩타이드 (또는 상기 폴리펩타이드를 포함하는 약제학적 조성물)는 췌장암의 치료에 효과적인 것으로 현재 공지되거나 이후 발견될 적어도 하나의 다른 약물 또는 치료요법과 병용하여 투여될 수 있다. 하나의 구현예에서, 약물은 화학치료제이다. 또 다른 구현예에서, 화학치료학적 약물은 알킬화제, 항대사물/뉴클레오사이드 유사체(예를 들어, 5-플루오로우라실, 6-미 кап토퓨린, 카페시타빈, 시타라빈, 플록수리딘, 플루다라빈, 켐시타빈, 하이드록시우레아, 메토트렉세이트, 페메트렉세드 등), 항종양 항생제 및 웨타이드 항생제(안트라사이클린(예를 들어, 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 이다루시신 등), 액티노마이신-D, 블레오마이신, 미토마이신-C, 미톡산트론 등을 포함하는), 토포이소머라제 억제제(예를 들어, 에토포사이드, 테니포사이드, 미톡산트론 등), 유사 분해 억제제(예를 들어, 탁산, 에포틸론, 빈카 알칼로이드, 에스트라무스틴 등), 코르티코스테로이드(예를 들어, 프레드니손, 메틸프레드니손, 덱사메타손 등), 세포골격 봉괴제/탁산, 에포틸론, 히스톤 데아세틸라제 억제제, 키나제 억제제, 백금계 제제, 레티노이드, 빈카 알칼로이드 (및 유도체), 및 효소(예를 들어, L-아스파라기나제)를 포함하는 다른 제제, 프로테아좀 억제제(예를 들어, 보르테조립), 치료학적 암 백신, 모노클로날 항체(종양-특이적 모노클로날 항체를 포함하는), 시토카인(예를 들어, IL-2 및 IFN- α), 및 면역 관문 억제제, 예를 들어, 항-CTLA4 또는 항-PD-1 및 항-PD-IL 제제로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0049] 면역계는 건강한 세포 상의 면역계의 과활성화를 회피하기 위해 다수의 관문에 의존하고 종양 세포는 흔히 면역계에 의한 검출을 회피하기 위해 이들 관문을 이용한다. 특정 암에서 T 세포의 표면 상에서 비정상적으로 상향조절되고 존재하는 것으로 나타난 CTLA-4 및 또한 특정 종양에서 상향조절되고 T 세포 기능을 억제하는 것으로 밝혀진 PD-1은 암 치료요법을 위한 표적으로서 연구되고 췌장암에 효과적인 것으로 밝혀질 수 있는 관문이다(문헌참조: Pardoll, D.M. 2012 *Nat Rev Cancer* 12(4):252-264; Sharma, et al. 2011 *Nat Rev Cancer* 11(11):805-812).

[0050] 고려되는 치료요법은 수술 (췌장암이 췌장으로 국한되는 경우; 췌장의 헤드에 위치되는 경우, 휘플(Whipple) 과정 (췌십이지장절제술); 췌장 꼬리 및 몸체에서 췌장의 꼬리, 또는 몸체의 꼬리 및 소부분을 제거하기 위한 수술 (원거리 췌장절제술)); 방사선 치료요법(암 세포를 파괴하기 위해 X-선과 같은 고에너지 범을 사용한다); 화학치료요법(정맥으로 주사되거나 경구 투여됨; 하나의 화학치료요법 약물 또는 화학치료요법 약물의 조합일 수 있다); 방사선 치료요법과 조합된 화학치료요법(화학방사선); 표적화된 치료요법(암 세포내 특이적 비정상을 공격하는 약물; 예를 들어, 암 세포가 성장하고 분열하도록 하는 신호물질을 차단하는 에를로티닙을 사용한다); 항체 치료요법; 유전자 치료요법을 포함한다.

[0051] 항염증 폴리펩타이드(들)은 추가의 약물 및/또는 치료요법의 투여 전, 투여와 동시 또는 투여 후에 투여될 수 있다. 하나의 구현예에서, 본 발명의 방법은 치료학적 치료의 효능을 평가하는 단계를 포함한다. 상기 효능의 평가는 조직 및/또는 혈청에서 조직 염증의 감소, IL-1, IL-6, IL-12, 및 TNF와 같은 염증 매개체의 과도한 생산의 억제 또는 감소(나타내지 않음), 염증 시토카인 수준의 감소(예를 들어, 혈청에서) 등을 제한 없이 포함하는 임의의 다수의 평가 결과를 기준으로 할 수 있다. 평가된 효능 수준에 의존하여, 항염증 폴리펩타이드(들)의 투여량은 요구시 상향 또는 하향으로 조정될 수 있다.

[0052] 따라서, "병용되는"이란, 웨타이드 및 추가의 제제 또는 치료요법제가 동시에 투여되어야만 하거나 함께 전달하기 위해 제형화되어야만 하는 것을 의미하는 것으로 의도되지 않지만 상기 전달 방법은 본 발명의 범위 내에 있다. 추가로, 병용하여 사용되는 치료학적 활성 제제는 단일 조성물로 함께 투여되거나 상이한 조성물에서 별도로 투여될 수 있는 것으로 이해된다. 일반적으로, 각각의 제제는 상기 제제에 대한 투여량 및/또는 이에 대해 결정된 시간 스케줄로 투여된다.

[0053] 일반적으로, 각각의 제제(이와 관련하여, "제제들" 중 하나는 본원에 기재된 조성물이다)는 상기 제제에 대해 결정된 투여량 및 시간 스케줄로 투여된다. 추가로, 본 발명은 이들의 생물유용성을 개선시키거나 이들의 대사를 감소시키거나 변형시키거나, 이들의 분비를 억제하거나 이들의 신체내 분포를 변형시킬 수 있는 제제와 병용되는 조성물의 전달을 포함한다.

- [0054] 병용 레지멘에 사용할 치료요법들(예를 들어, 치료 또는 과정)의 특정 병용은 목적하는 치료 및/또는 과정 및 성취될 목적하는 치료학적 효과의 양립성을 고려한다. 일반적으로, 병용하여 사용되는 제제들은 이들이 개별적으로 사용되는 수준을 초과하지 않는 수준으로 사용되는 것으로 예상된다. 일부 구현예에서, 병용하여 사용되는 수준은 개별적으로 사용되는 것들 보다 낮다.
- [0055] 진단
- [0056] 하나의 구현예에서, 본 발명의 치료 방법은 췌장암을 갖는 환자를 진단하거나 치료 동안에 치료 방법의 효능을 진단함을 추가로 포함한다. 췌장 암은 i) 이미지화 시험(췌장을 포함하는 내부 기관을 가시화하기 위한; 예를 들어, 초음파, 컴퓨터화된 단층촬영(CT) 스캔 및 자기 공명 이미지화(MRI)); ii) 복부 내부로부터의 내시경 초음파(EUS)를 사용한 췌장의 초음파 이미지; iii) 혈액 시험(췌장 암 세포에 의해 배출되는 특이적 단백질(종양 마커를 포함하는)에 대해 시험하기 위해); iv) 복강경검사(췌장의 수술적 가시화); iv) 내시경 역행 담췌관조영술(ERCP); v) 현미경 하에 조사를 위한 췌장으로부터 소형 샘플의 조직을 제거하기 위해 생검(예를 들어, 미세-바늘 흡입여과 또는 ERCP 동안에); 및/또는 vi) 경피 간통과 담관촬영법(PTC)에 의해 진단될 수 있다.
- [0057] 췌장암을 치료하기 위한 조성물 및 투여
- [0058] 본원 개시내용의 췌장암을 치료하기 위한 조성물은 당업계에 공지되고 문헌에 광범위하게 기재된 임의의 통상의 방법에 따라 제형화될 수 있다. 따라서, 활성 성분(예를 들어, 웨타이드 A 또는 웨타이드 B, 또는 이의 변이체)은 임의로 다른 활성 물질과 함께, 적합하거나 투여용으로 적합하게 될 수 있는 통상의 제제를 제조하기 위해 조성물의 특정 용도를 위해 적당한 하나 이상의 통상의 약제학적으로 허용되는 담체, 희석제 및/또는 부형제 등과 함께 혼입될 수 있다. 이들은 의도된 투여 방식 및 치료학적 적용에 따라 액체, 반고체 또는 고체, 액체 용액, 분산제, 혼탁제 등으로서 제형화될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 조성물은 주사가능하거나 주입 가능한 용액 형태로 제조된다.
- [0059] 본원의 췌장암을 치료하기 위한 조성물은 혈청 알부민(예를 들어, HSA, BSA 등)과 같은 담체 단백질을 포함할 수 있다. 혈청 알부민은 정제되거나 재조합적으로 제조될 수 있다. 약제학적 조성물 중의 항염증 폴리웨타이드(들)과 혈청 알부민을 혼합함에 의해, 항염증 폴리웨타이드는 혈청 알부민 상으로 효과적으로 "로딩"될 수 있고 보다 큰 양의 항염증 폴리웨타이드가 염증 부위에 성공적으로 전달되도록 한다.
- [0060] 본원의 개시내용의 췌장암을 치료하는 방법은 정맥내(IV), 근육내(IM), 동맥내, 골수내, 척추강내, 피하(SQ), 심실내, 경피, 표피간, 피내, 기관내 적하, 기관지 적하 및/또는 흡입; 비강 분무제로서 및/또는 에어로졸로서 및/또는 간문액을 통한 것을 포함하는 다양한 경로 중 어느 하나를 통한 투여를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 정맥내 주사 또는 주입이 사용될 수 있다. 임의의 적합한 투여 부위가 사용될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 조성물은 작용이 요구되거나 부착되거나 회합될 수 있는, 예를 들어, 콘주케이트될 수 있는 부위에서 국소적으로 및 직접적으로 투여될 수 있고 이는 신체내 적당한 위치로의 표적화를 촉진시키는 실체를 갖는다.
- [0061] 췌장암의 치료에 유용한 이들 조성물에서, 임의의 생리학적으로 화합될 수 있는 담체, 부형제, 희석제, 완충제 또는 안정화제가 사용될 수 있다. 적합한 담체, 부형제, 희석제, 완충제 및 안정화제의 예는 하나 이상의 물, 식염수, 포스페이트 완충 식염수, 텍스트로스, 글리세롤, 에탄올 등 및 이의 조합물을 포함한다. 일부 경우에, 등장성 제제, 예를 들어, 당, 폴리알콜(예를 들어, 만니톨, 소르비톨), 또는 염화나트륨이 포함될 수 있다. 특정 구현예에서, 본 발명의 조성물은 당업계에 널리 공지된 과정들을 사용함에 의해 대상체에게 투여 후 활성 성분(웨타이드 A, 웨타이드 B 또는 이의 변이체 및/또는 추가의 약물(들))의 신속하거나, 지속적이거나 지연된 방출을 제공하도록 제형화될 수 있다. 상기된 바와 같이, 특정 구현예에서, 조성물은 주사용으로 적합한 형태로 있고 적합한 담체는 임의의 적당한 농도로 존재할 수 있지만 예시적 농도는 1% 내지 20% 또는 5% 내지 10%이다.
- [0062] 치료학적 조성물은 전형적으로 제조 및 저장 조건하에서 멸균성이고 안정해야만 한다. 상기 멸균성 및 적합성을 성취하는 적당한 방법은 널리 공지되어 있고 당업계에 기재되어 있다.
- [0063] 약제학적 조성물은 전형적으로 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 유닛 투여 형태(unit dosage form)로 제형화된다. 그러나, 본 발명의 조성물의 총 하루(또는 다른) 용도는 완전한 의학적 판단 범위 내에서 담당의에 의해 결정되는 것으로 이해된다. 임의의 특정 대상체에 대한 특정 치료학적 유효 투여량 수준은 사용되는 조성물의 활성; 투여 후 조성물의 반감기; 대상체의 연령, 체중, 일반적 건강, 성별 및 식이; 투여 시간, 투여 경로 및 웨타이드 A 및 (사용되는 경우) 사용된 추가의 치료제의 분비율; 치료 지속 기간; 사용되는 특정 화합물과 병용되거나 동시에 사용되는 약물; 및 당업계에 널리 공지된 인자들을 포함하는 다양한 인자에 의존한다. 추가로, 유효량은 시험관내 및/또는 생체내 동물 모델로부터 유래된 투여량-반응 곡선으로부터 외삽될 수 있다.

- [0064] 따라서, 본원의 개시내용의 웨타이드 및 다른 활성 성분(포함되는 경우)의 적합한 투여량은 환자마다 다양하고 또한 췌장암의 단계에 의존한다. 일부 구현예에서, 상기 투여량은 포함된 치료 특성에 의존하여 치료학적 유효량 또는 예방학적 유효량을 구성한다. 개체에서 목적하는 반응을 유발하는 웨타이드의 능력은 또한 인자이다. 예시적 하루 투여량은: 활성 성분에 대해 0.1 내지 250mg/kg, 또는 0.1 내지 200 또는 100mg/kg, 또는 0.5 내지 100mg/kg, 또는 1 내지 50 또는 1 내지 10mg/kg이다. 이것은 단일 유닛 투여량 또는 하루 1회 이상 투여되는 다중 유닛 투여량으로서 예를 들어, 피하, 복강내 또는 정맥내로 투여될 수 있다. 그러나, 적당한 투여량은 환자에 의존하여 다양할 수 있고 임의의 특정 대상체에 대해, 특정 투여 레지멘이 환자의 개별 필요에 따라, 시간 경과에 따라 조정되어야 함을 주지해야 한다. 따라서, 본원에 제시된 투여량 범위는 예시적인 것으로 간주되어야 하고 청구된 조성물 또는 방법의 범위 또는 수행을 제한하는 것으로 의도되지 않는다.
- [0065] 췌장암을 치료하기 위한 키트
- [0066] 하나의 양상에서, 본 발명은 웨타이드 A 및/또는 웨타이드 B, 또는 이의 변이체, 또는 이를 포함하는 조성물을 포함하는, 췌장암의 치료를 위한 키트를 추가로 제공한다. 키트는 사용 설명서; 다른 치료제(즉, 췌장암의 병용 치료요법을 위해); 다른 시약, 예를 들어, 희석제, 장치 또는 투여용 조성물을 제조하기 위한 다른 물질; 약제학적으로 허용되는 담체; 및 대상체에게 투여하기 위한 장치 또는 다른 물질을 포함하는 하나 이상의 다른 요소를 포함할 수 있다. 사용 설명서는 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같이 인간 대상체에서 제안된 투여 투여량 및/또는 투여 방식을 포함하는, 치료학적 적용을 위한 설명서를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 키트는 본원에 기재된 바와 같은 방법 및 용도, 예를 들어, 치료학적, 진단학적 또는 이미지화 방법에 사용하기 위한 것이거나 시험관내 검정 또는 방법에 사용하기 위한 것이다.
- [0067] 일부 구현예에서, 상기 키트는 췌장암을 진단하기 위한 것이고 임의로 췌장암을 진단하기 위한 키트 성분들의 사용 설명서를 포함한다.
- [0068] 동물 모델
- [0069] 상기된 바와 같이, 췌장암을 갖는 대상체에 대한 예후를 개선시키는데 있어서 하나의 주요 장애는 치료학적 시간 원도우가 부재라는 것이다. 조기 암성 병변은 검출 역치 훨씬 아래에 있다는 것이다. 진단시까지 심지어 조기(T1) 종양은 전이성일 수 있고 통상의 치료에 내성이다. 시험관내 및 생체내 실험적 성공과 임상 시험에서의 실망 간의 모순은 종양 미세환경을 재생성시키는데 있어서 현재 실험적 셋업의 비효율성으로부터 비롯된다. 80% 초과의 종양 질량을 형성할 수 있는 췌장관 선암종의 섬유증 스트로마는 악성 세포에 대해 수동 스캐폴드가 아니고 차라리 이들은 밸암에서 능동 역할을 수행한다. 이것은 이종이식-/동종이식- 마우스 모델에서 흔히 소실되는 요소이다(문헌참조: Erkan, et al. 2012 *Curr Mol Med* 12(3):288-303; Olive, et al. 2009 *Science* 324(5933): 1457-61).
- [0070] 따라서, 동물에서 췌장암의 모델은 웨타이드 A의 임상전 시험에 중요하다. 췌장암에서 약물 개발을 위한 골드 표준물로서 간주되는 KP16 유전자전이 마우스 모델은 Ras-구동된 조건적 췌장암 모델(췌장암-특이적 Ras G12D 대립형질의 녹-인 및 p16/p19 유전자좌의 녹-아웃)이다(문헌참조: Aguirre, et al. 2003 *Genes & Dev* 17(24):3112-26). 이를 동물은 인간 췌장암과 매우 많이 유사한 자발적 췌장암을 발병한다. 추가로, 동물은 완전히 면역 적격성이다. 동종접합 마우스는 평균 수명을 갖지만 녹아웃 마우스는 약 59일의 수명을 갖는다.
- [0071] 이소성 HP AC 이종이식 모델은 면역순상된 마우스로 이식된 인간 HPAC 암세포를 구성한다. 이소성 HPAC 이종이식 모델은 이전에 췌장암에서 면역치료요법의 장점을 평가하기 위해 성공적으로 사용되어 왔다(문헌참조: Abate-Daga, et al. 2014 *Hu Gene Ther* 25(12): 1003-1012).
- [0072] 실시예
- [0073] 하기의 실시예는 단지 설명을 목적으로만 제공되고 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 의도되지 않는다.
- [0074] 실시예 1. 폴리웨타이드 결합
- [0075] 웨타이드 A는 염증을 조절하는 다양한 시그널 전달 경로의 특이적 성분을 표적화하는 웨타이드 연구를 통해 항 염증 활성을 갖는 것으로서 동정되었다. 웨타이드 결합은 이전에 기관[Boston University]에서 개발된 웨 기반 ClusPro™ 알고리듬을 사용하여 평가하였다. 웨타이드 A는 Re1B, TGF β , Notch1, Wnt8R, TRAIL, IL-6R, IL-10R, EGFR, 및 CDK6에 대해 높은 결합 친화성을 입증하였다. 웨타이드 A는 또한 대식세포 활성 및 아폽토시스와 관련된 단백질(둘 다 염증 및 종양 발생 및 전이와 관련되고), 예를 들어, CD47, SIRP- α , CD206, 및 TGM2 뿐만 아니라 히스톤 변형 효소 HMT에 대해 높은 결합 친화성을 입증하였다. 최종적으로, 웨타이드 A는 인간 혈청 알부

민(HSA)에 대해 높은 결합 친화성을 갖는 것으로 밝혀졌다. 혈청 알부민은 순환계에서 가장 풍부한 단백질이고, 고형 종양, 특히 췌장 종양은 혈청 알부민을 이들의 세포내로(음세포작용 과정을 통해) 흡수하고 이를 에너지원으로서 사용한다.

[0076] 종양 발생 및 전이에서 염증의 상당한 역할, 종양 발육과 M2 대식세포 활성의 공지된 회합, 및 CD47/SIRP 상호 작용이 M1 대식세포의 활성을 불능시킬 수 있는 경우, 본원의 개시내용의 펫타이드의 투여가 췌장암 치료 결과에 양성으로 영향을 줄 수 있는 것으로 예상되었다.

[0077] 실시예 2. 펫타이드 A는 KP16 마우스 모델에서 생체내 종양 성장을 억제한다

[0078] 펫타이드 A는 췌장암의 KP16 유전자전이 마우스 모델에서 켐시타빈과 병용하여 생존을 개선시켰다(도 1b). 목적 하는 유전자형을 갖는 마우스(Pdx-1-Cre; LSL-KrasG12D/+; Ink4a(p16)/Arf(p19)flox/flox)를 선택하고 6주째에 개시하는 경복강 초음파로 스크리닝하였다. 2-4 mm³의 종양은 치료를 위해 선택하였다. 종양을 갖는 마우스는 하 기의 치료에 무작위로 할당하였다: 비히클(100μl H₂O 또는 PBS의 복강내 주사); 100μl PBS의 용적 중에서 복강 내 주사에 의한 1주 2회 50mg/kg의 켐시타빈; 100μl H₂O 중에서 복강내 주사에 의해 주어지는 1주 2회 20mg/kg 펫타이드 A; 및 이들의 각각의 용해제 중에서 1주 2회 20mg/kg의 투여량으로 주어진 펫타이드 A와 1주 2회 50mg/kg의 켐시타빈의 병용. 펫타이드 A는 형질전환 동물에서 췌장암의 성장을 정지시켰다(도 1a 및 1b; 펫타이드 A는 'RP-182'로서 나타낸다).

[0079] 펫타이드 B는 생존의 연장 및 종양 성장의 감소 둘 다에 대하여 켐시타빈과 병용되는 항종양 활성을 동등하게 입증하였다.

[0080] 실시예 3. 펫타이드 A + 켐시타빈은 췌장암에서 다른 제제보다 더 큰 효능을 입증한다

[0081] 펫타이드 A와 켐시타빈(펫타이드 A + 켐시타빈)의 병용이 임상 시험 중에 있는 다른 연구 제제(심지어 수득된 조절 승인을 갖는 하나)와 비교하는 경우, 췌장암의 비교가능한 동물 모델에서 각각, 펫타이드 A는 대조군보다 평균 생존에서 보다 큰 % 증가를 보여주었다. 비교 목적을 위해 사용되는 연구 약물은 CXCR2를 억제하고 종양-스트로마 상호작용을 봉괴시키고 췌장관 선암종의 마우스 모델에서 생존을 개선시키는 SB225002/TgfbrKO/Kras(문헌참조: Hideaki Ijichi, et al. 2011; The Journal of Clinical Investigation; 본 논문에서, 약물 및 비히클 대조군에 대한 데이터만이 제공된다); 췌장암의 마우스 모델에서 헷지호그 신호전달을 억제하고 화학치료 요법제의 전달을 증진시키는 IPI-926/Trp53R172H/Kras(문헌참조: Kenneth P. Olive et al. 2009; Science); 스트로마의 효소적 표적화를 갖고 췌장관 선암종의 치료에 대한 물리적 장벽을 제거하는 PEGH20/Trp53R172H/Kras(문헌참조: Paolo Provenzano et al. 2012; Cancer Cell). 인용된 연구의 각각에 대해, 전체 생존 결과는 검토 되었고 비히클-처리된 코호트의 결과는 대조군으로서 설정하였다. 생존에서의 변화 또는 종양 성장에서의 변화(본래의 공보에서 중앙값으로서 기록된)는 코호트 당 % 변화로서 그래프로 나타냈다(도 2; 펫타이드 A는 'RP182'로서 나타낸다).

[0082] 비교 시험을 위해 사용되는 다른 연구 제제는 Ras-구동 Tgfbr^{KO}/KrasG12D 동물 모델에서 시험된 SB225002(문헌 참조: Ijichi, et al. 2011 J Clin Invest), 또는 Pdx/Trp53R172H/KrasG12D KPC 모델(문헌참조: Olive, et al. 2009 Science)에서 시험된 IPI-926, 또는 Pdx/Trp53R172H/KrasG12D KPC 모델에서 또한 시험된 PEGH20 (문헌참조: Provenzano, et al. 2012 Cell)을 포함하고, IPI-926 및 PEGH20는 둘 다 단독의 제제 또는 켐시타빈과 병용되어 주어진다.

[0083] 펫타이드 A + 켐시타빈은 또한 표준화된 평균 종양 용적에서 % 변화의 측면에서 보여지는 바와 같이 종양 성장에서 강한 (및 비교가능하게 약간 개선되지 않은 경우) 감소를 나타냈다(도 3; 펫타이드 A는 'RP182'로서 나타낸다). 비교 시험을 위해 사용되는 다른 연구 제제는 SB225002; IPI-926(기관(Infinity Pharmaceuticals)으로부터 췌장 선암종에 대한 연구 치료); PEGH20(nab-파클리탁셀(ABRAXANE®)과 켐시타빈의 병용 치료를 위해 추천됨); 2014년에 조절 승인을 받았음; PEGPH20 논문에는 단독의 켐시타빈 및 약물 + 켐시타빈 치료에 대한 종양 용적 데이터가 있음을 주지함)을 포함했다.

[0084] 종양 용적에서 % 변화에 대한 생존에서의 % 증가 비율로서 췌장암의 형질전환 동물 모델에서 켐시타빈과 병용되는 연구 제제의 상대적 이득은 도 4에 요약한다(펫타이드 A는 'RP182'로서 나타낸다). 후속적으로 임상 시험으로 이동된 상기 언급된 연구 제제와 비교하여, 펫타이드 A와 켐시타빈의 병용은 대부분의 생존 연장과 관련된 종양 성장의 가장 큰 감소를 보여주었다.

[0085] 실시예 4. 웨타이드 A는 특이적 세포 결합을 보여준다

[0086] 웨타이드 A의 세포 및/또는 분자 표적을 설명하기 위해, 후자의 p16 췌장 암 세포로의 결합은 무작위 10량체 웨타이드의 결합과 비교하였다. (8(gly) 링커 + cys를 통해) 표지된 C-말단 비오틴은 p16 췌장암 세포와 10분 동안 증가하는 농도로 항온처리하였고, 과량의 웨타이드를 세척 제거하고, 세포는 플루오로-표지된 스트렙타비딘으로 다시 항온처리하고 유동 세포측정에 의해 분석하였다. 총 세포에 대한 스트렙타비딘-표지된 세포의 분획은 각각의 농도에 대해 그래프로 나타내고, 완전한 EC50 약물-결합 곡선을 작성하였다(문헌참조: Ingolese, et al. 2006 PNAS USA 103(31):11473-8). 도 5에 나타낸 바와 같이, C-말단-비오틴화된 웨타이드 A ('RP-182')와 무작위 10량체 비오틴화된 웨타이드('Elim 웨타이드')의 결합 비교는 웨타이드 A 결합이 p16 췌장 암 세포에 특이적임을 보여주었다. 대조군 10량체 웨타이드의 무(또는 비특이적) 결합과 비교하여 결합 곡선(완전한 부류 Ia 곡선, S자 모양의 형태)의 형태 및 구성은 "촉진된 결합", 즉, 특이적 세포 표면 기작을 통한 결합을 지적하고, 이는 인 실리코 컴퓨터 모델링 데이터와 일치한다. 추가로, 웨타이드 A는 대조군 10량체 웨타이드 보다 암 세포에 5배 초과의 강한 결합을 나타냈다(도 5).

[0087] 실시예 5. 웨타이드 A는 이의 N-말단을 통해 세포에 결합한다

[0088] 웨타이드 A가 이의 N-말단 또는 C-말단을 통해 암 세포로 결합하는지를 결정하기 위해, N- 및 C-말단 표지된 웨타이드 A('RP-182')의 세포 결합에 이어서 유동 세포측정을 통한 결합된 세포 분획의 측정은 이전의 실시예에서와 같이 수행하였다. 도 6에서 EC50 곡선은 N-말단을 통해 바람직한 암 세포의 결합을 보여준다. 웨타이드 A의 N-말단의 비오틴화를 통한 입체 장애는 로그 대수의 감소된 세포 결합을 유도한다.

[0089] 실시예 6. 웨타이드 A는 췌장암의 이종이식 모델에서 생체내 종양 성장을 억제한다

[0090] 웨타이드 A는 췌장암의 또 다른 마우스 모델에서 시험하였다: 이소성 HPAC 이종이식 모델(면역손상된 마우스로 이식된 인간 HPAC 암 세포). 루시페라제 태그된 1×10^6 인간 췌장 세포는 32마리 누드 무흉선 마우스로 주사하였다. 이어서 마우스에 비히클, 웨타이드 A, 쟈시타빈 또는 웨타이드 A + 쟈시타빈을 웨타이드 A에 대해 1주 2회 복강내 20mg/kg의 농도 및 1주 1회 120mg/kg 쟈시타빈의 농도로 투여(주사)하였다. 치료 4주 후, 종양 및 비장을 수거하고, CD11b+ 자기 세포 단리를 수행하였다. 단리된 CD11b+ 세포는 시험관내에서 HPAC와 동시 배양하였다. 암 세포 생존능은 푸시페라제-태그된 암 세포의 루시페라제 활성을 통해 정량하였다. 웨타이드 A-치료된 동물로부터 수득된 CD11b-양성 세포는 비히클-처리된 동물로부터 수득된 CD11b 동시항온처리된 세포와 비교하여 암 세포 성장을 억제하였다.

[0091] 웨타이드 A는 췌장암의 이종이식 모델에서 생체내 종양 성장을 억제하는 것으로 밝혀졌다. 도 7에 나타낸 바와 같이, HPAC 췌장암 세포 이종이식체는 비히클, 웨타이드 A(도 7에서 'RP-182'로서 나타낸), 쟈시타빈 및 쟈시타빈과 웨타이드 A의 조합("쟈시타빈 + RP-182")으로 마우스가 이전 측정된 종점(연구 수의사 감독하에 안락사)에 도달할 때까지 처리하고 종양의 무게를 측정하였다. 종양 용적은 비히클-처리된 마우스에 대한 변화로서 기록하였다. 웨타이드 A는 췌장암의 이종이식 마우스 모델에서 독성을 입증하지 못했다(데이터는 나타내지 않음). 비히클과 웨타이드 A 간($*p=0.007$), 및 단독의 쟈시타빈과 웨타이드 A와 병용되는 쟈시타빈($**p<0.001$) 간의 종양 용적에서 통계학적으로 유의적인 차이를 나타냈다.

[0092] 실시예 7. 웨타이드 B는 췌장암에서 면역계에 영향을 미친다

[0093] 웨타이드 B가 췌장암에서 면역계에 영향을 주는지의 여부를 연구하기 위한 노력에서, 비히클 대 웨타이드 B로 복강내로 2mg/kg으로 매일 처리된 P16 종양을 절개하고 분해시키고 이전에 적정되고 최적화된 면역 세포 마커로 항온처리하고 다중 색상 유동 세포측정에 의해 분석하였다. 다양한 세포 서브집단의 세포 분획은 도 8에 나타낸다. 웨타이드 B('RP-398'로서 나타냄)는 이들 종양에서 B 세포를 증가시키고 이들 종양에서 대식세포를 감소시킴에 의해 췌장암에서 면역계에 영향을 미치는 것으로 나타났다.

[0094] 실시예 8. 종양 관련 대식세포는 비처리된 마우스 대 처리된 마우스로부터 상이하게 나타나는 작용을 한다

[0095] 웨타이드 A-처리된 대 비처리된 종양으로부터 단리된 대식세포는 상이하게 작용하는 것으로 밝혀졌다. 1주 2회 복강내 주사에 의한 비히클 또는 20mg/kg 웨타이드 A로 처리된 HPAC 이종이식체는 $>1.5\text{cm}^3$ 인 경우 수거하고, 분해시키고 자기 비드 풀-다운에 CD11b 세포를 단리하였다. $>80\%$ 의 풀-다운 후 CD11b-양성 세포의 집적은 유동 세포측정에 의해 확인하였다. 단리된 CD11b-양성 세포는 비율 3:1 및 10:1로 5,000개 루시페라제-태그된 HPAC 세포와 동시 배양하고, 암 세포의 성장을 루시페라제-태그 활성을 사용하여 측정하였다. 웨타이드-A 처리된 종양으로부터의 대식세포는 증가된 항종양 활성을 갖고 이들과 동시 배양되는 경우 암 세포의 성장을 정지시켰다(데

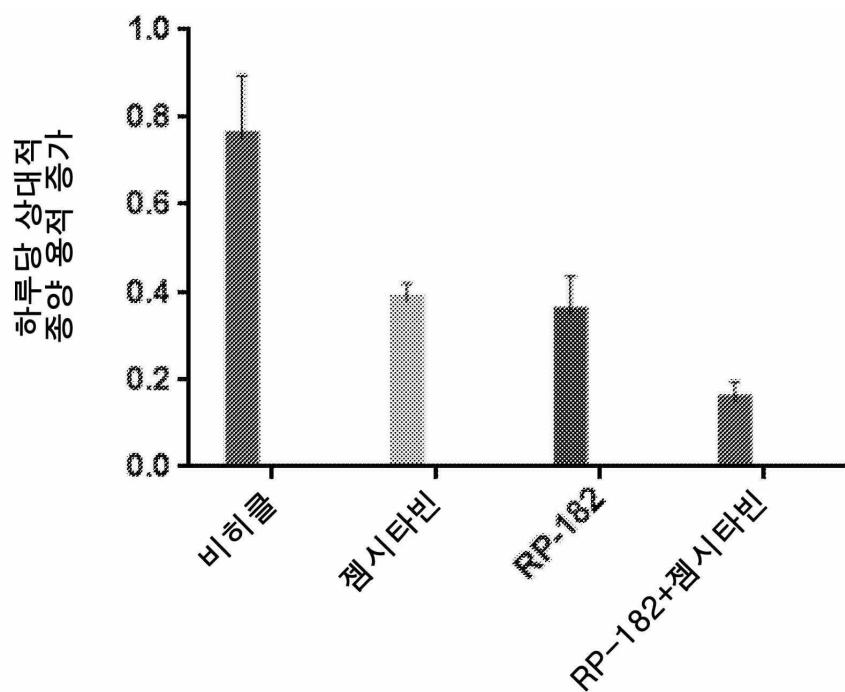
이터는 나타내지 않음).

[0096] 실시예 9. 펫타이드 A는 뮤린 및 인간 혈청에서 측정될 수 있다

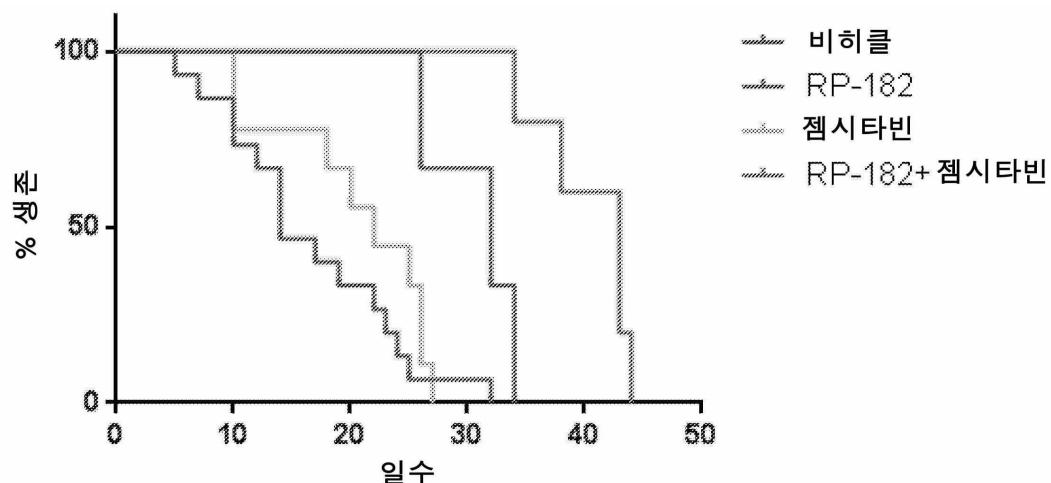
[0097] 질량 분광측정을 사용하여 마우스의 혈청에서 펫타이드 A를 정량하였다(데이터는 나타내지 않음). 본원에 기재된 마우스 연구에서 사용된 투여량에서 복강내 주사는 생물학적 효과를 발휘할 수 있는 측정가능한 혈청 농도를 유도한다. 펫타이드 A는 연장된 농도 구배와 함께 5분 후 688.08의 질량으로 이온 질량 분광측정기에서 검출가능하였다. 펫타이드 A의 마우스 혈청으로의 스파이크-인 실험은 동일한 질량 및 타임-오브-플라이트를 확인하였다. 계산된 혈청 농도(ng/ml)는 펫타이드 A가 생물학적 기능을 발휘할 수 있는 것과 일치하였다(데이터는 나타내지 않음). 마우스 혈청에서 펫타이드를 측정하기 위한 상기 능력은 약역학적 및 독성 연구를 위한 기본이다.

도면

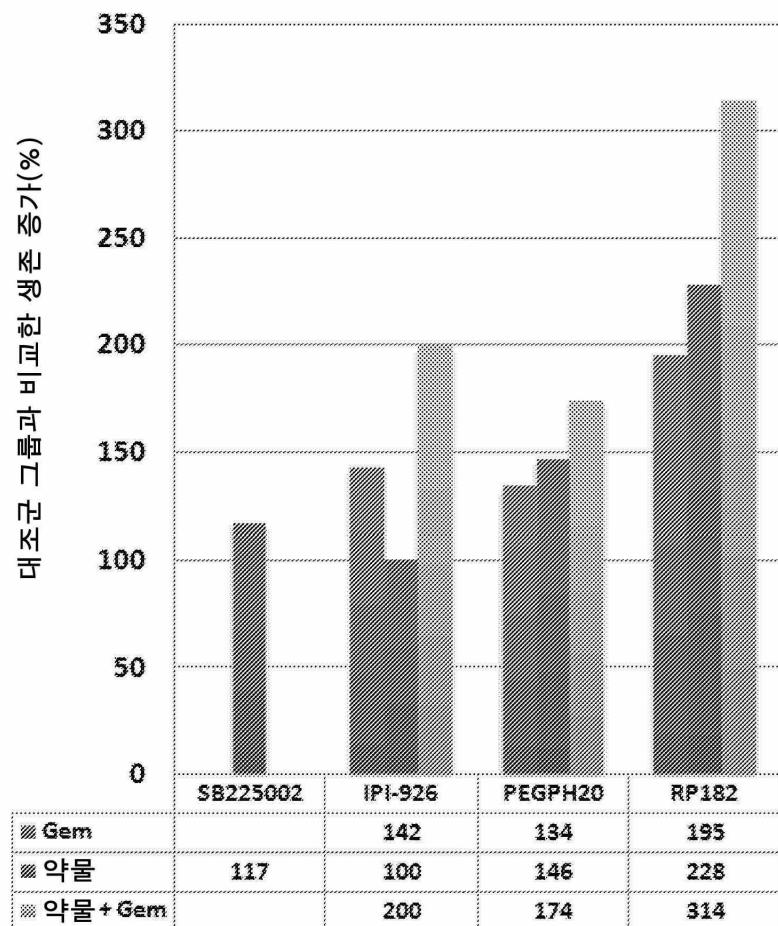
도면1a



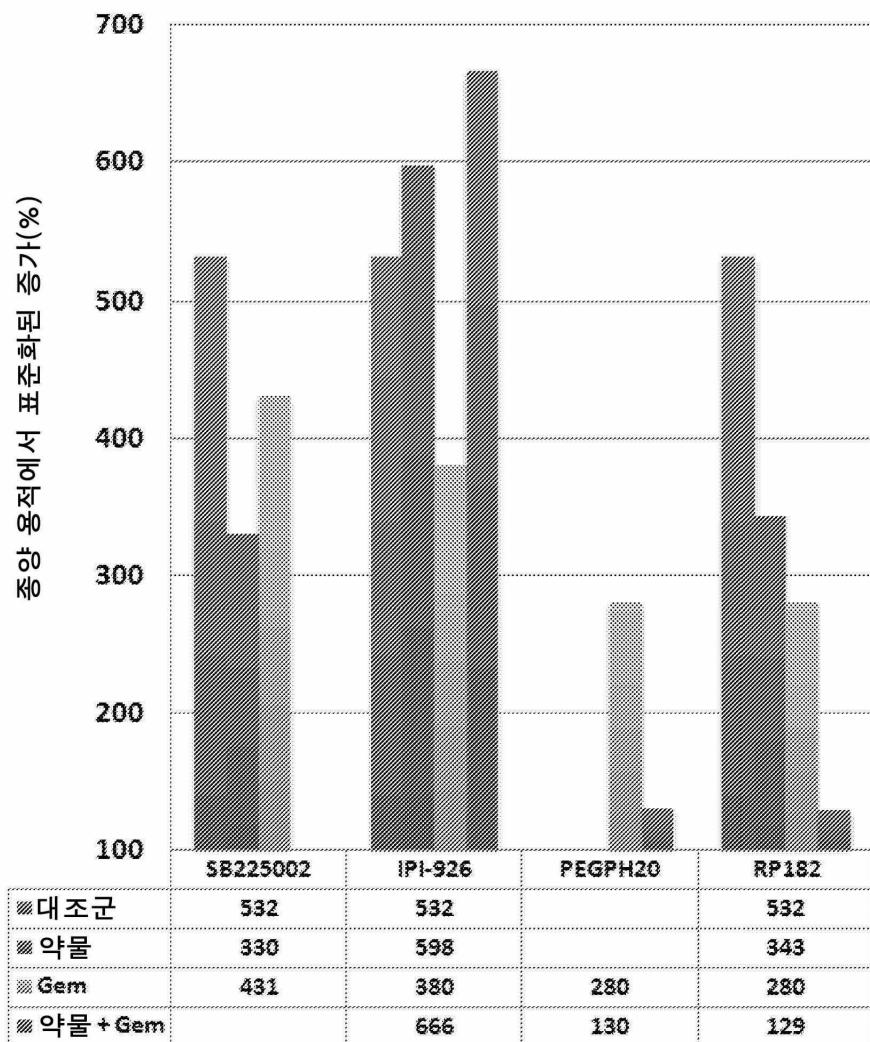
도면1b



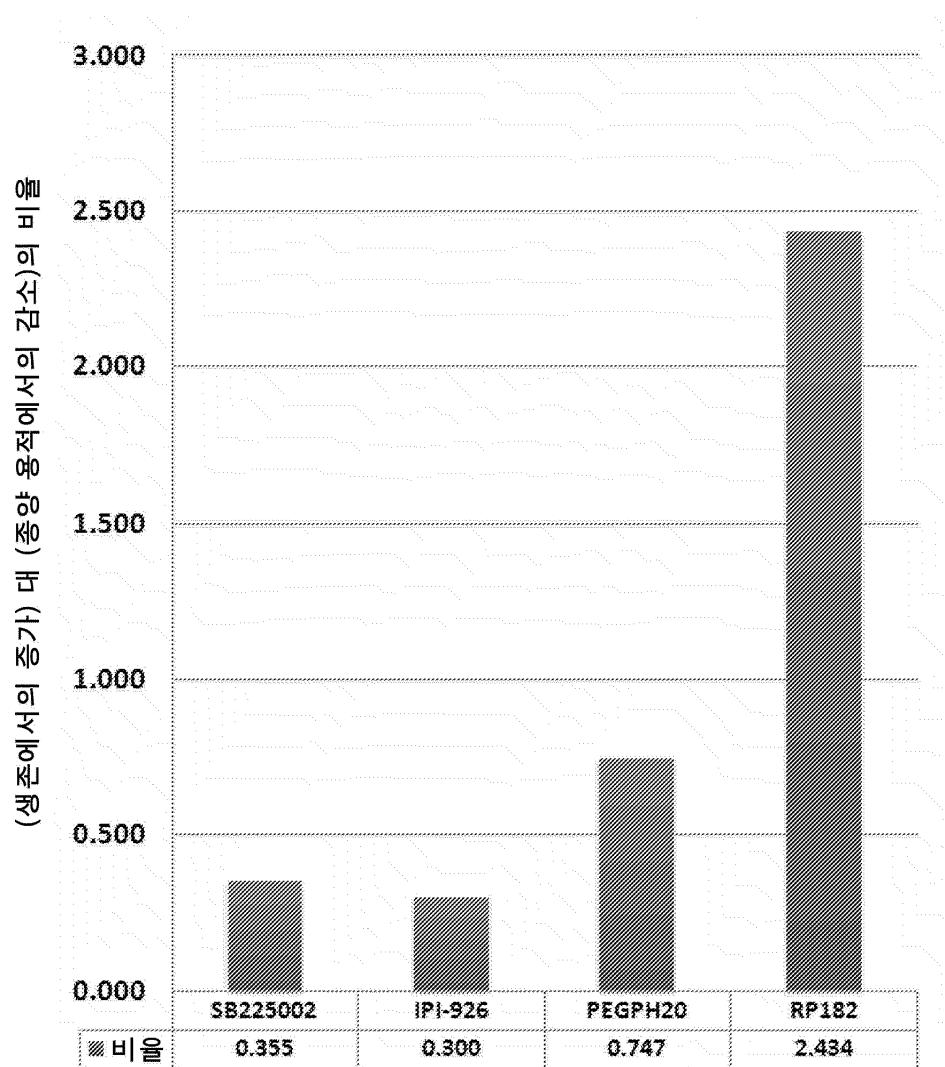
도면2



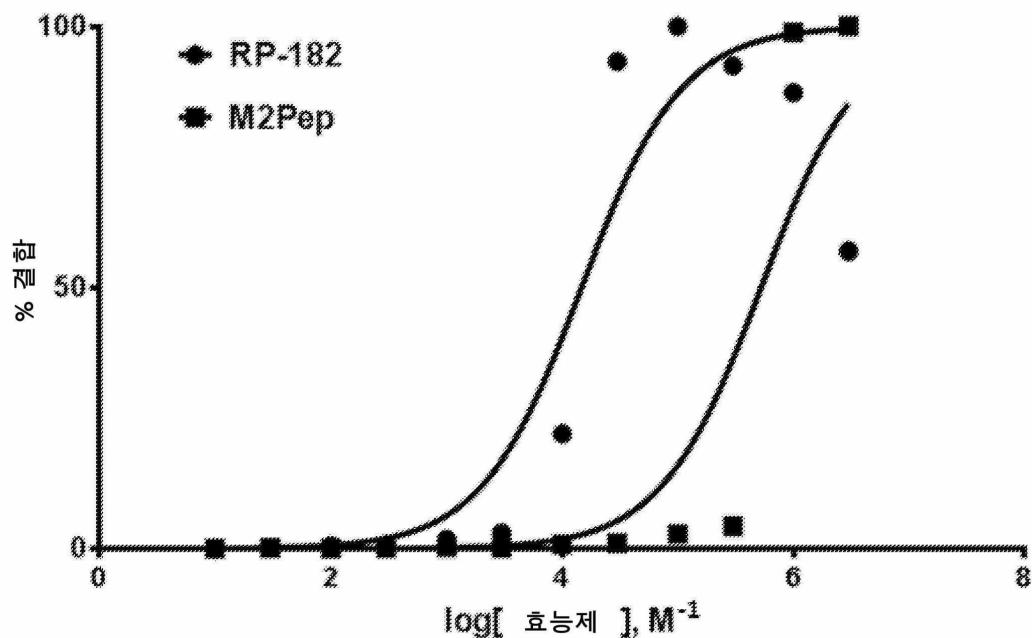
도면3



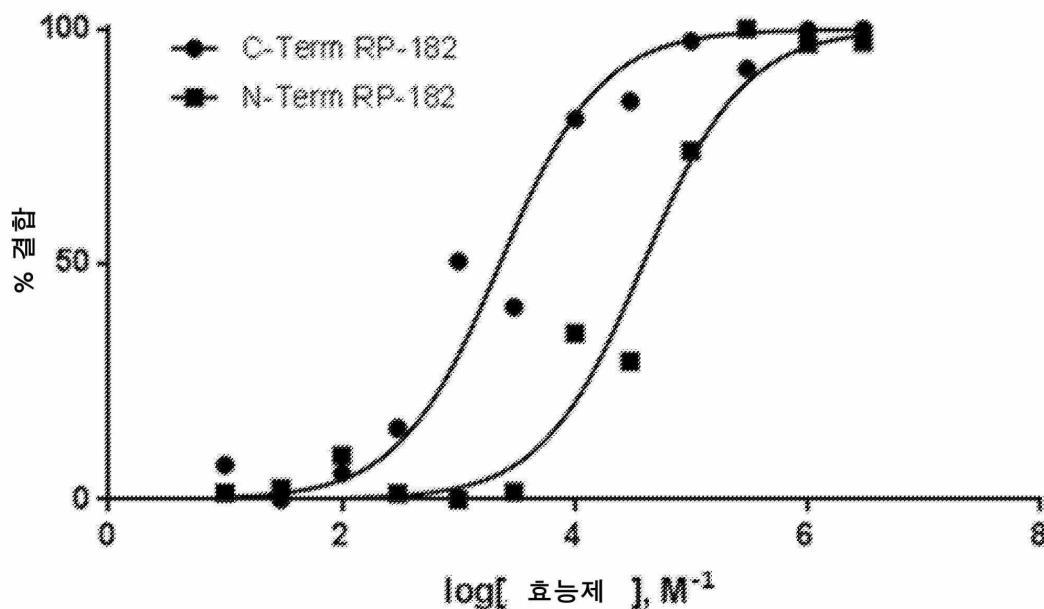
도면4



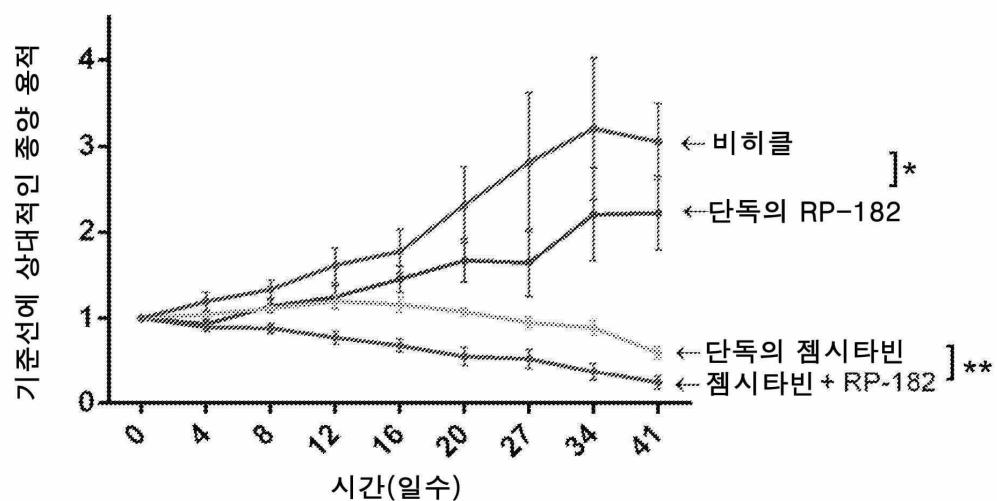
도면5



도면6

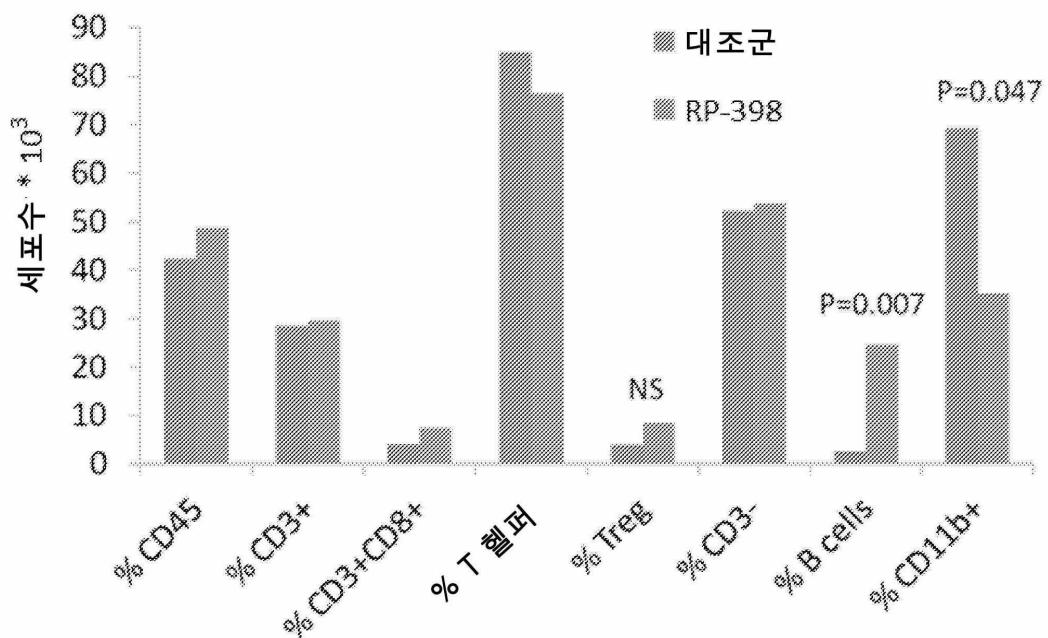


도면7



도면8

세포 표적의 동정



서 열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Rudloff, Udo

Jaynes, Jesse

Lopez, Henry Wilfred

Martin, George R.

Yates, Clayton

<120> PEPTIDE-BASED METHODS FOR TREATING PANCREATIC CANCER

<130> 6137NCI-38-PCT

<140> Not yet assigned

<141> 2015-10-13

<150> 62/063,909

<151> 2014-10-14

<160> 2

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 1

Lys Phe Arg Lys Ala Phe Lys Arg Phe Phe

1 5 10

<210> 2

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 2

Phe Ala Lys Lys Phe Ala Lys Lys Phe Lys

1 5 10