(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년08월05일
(11) 등록번호 10-2429919
(24) 등록일자 2022년08월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
C07K 16/24 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 39/395 (2013.01)
C07K 16/245 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2021-7027089(분할)
(22) 출원일자(국제) 2013년10월01일
심사청구일자 2021년09월23일
(85) 번역문제출일자 2021년08월25일
(65) 공개번호 10-2021-0108496
(43) 공개일자 2021년09월02일
(62) 원출원 특허 10-2015-7009716
원출원일자(국제) 2013년10월01일
심사청구일자 2018년09월28일
(86) 국제출원번호 PCT/US2013/062903
(87) 국제공개번호 WO 2014/055544
국제공개일자 2014년04월10일
(30) 우선권주장
61/709,754 2012년10월04일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
US20040224893 A1*
(뒷면에 계속)
전체 청구항 수 : 총 8 항

(73) 특허권자
얀센 바이오테크 인코포레이티드
미국, 펜실베니아주 19044, 호샴, 럿지뷰 드라이브 800
(72) 발명자
시마드, 존
미국, 텍사스 78744, 오스틴, 5217 위네바고 레인
(74) 대리인
특허법인한얼

심사관 : 이수정

(54) 발명의 명칭 **혈관 질환 및 이에 따른 합병증 치료**

(57) 요 약

IL-1α에만 특이적으로 결합하는 항체의 투여는, 협착된 혈관에 대해 수술적 처치를 받았거나 또는 받을 것으로 예상되는 포유류 개체에서 주요 임상 부작용의 발생 가능성 또는 중증도를 감소시키고, 협착된 혈관에 대해 수술적 처치를 받았거나 또는 받을 것으로 예상되는 포유류 개체에서 재협착의 발생 가능성을 줄이는 (또는 재협착이 발생할 때까지의 시간을 늘리는) 데 유용하다.

(52) CPC특허분류
A61K 2039/505 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌
WO2009148575 A1*
Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol., 제292권, H2927-H2934면 (2007)*
Circulation, 제102권, 1697-1702면(2000)*
NCT01270945 (2012.05.15)*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

명 세 서

청구범위

청구항 1

약제학적으로 허용 가능한 담체 및 항-IL-1α 항체를 포함하는, 협착된 혈관에 대해 수술적 처치를 받았거나 또는 받을 것으로 예상되는 개체에서 주요 임상 부작용 (major adverse clinical event)의 발생 가능성을 줄이기 위한 약제학적 조성물으로서, 상기 주요 임상 부작용이 30일째의 사망, 뇌졸중, 심근 경색/불안정 협심증, 긴급한 수술적 혈관재건, 표적 사지의 유의한 색전술, 표적 혈관의 혈전증, 또는 만성 사지 허혈증/재협착의 증상 악화이고, 개체에서 주요 임상 부작용의 발생 가능성이 치료학적 유효량의 항-IL-1α 항체를 개체에 투여한 후에 감소되고, 상기 항-IL-1α 항체가 적어도 1×10^{9} M^{-1}의 Ka로 인간 IL-1α에 결합하는 모노클로날 항체인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 모노클로날 항체가 IgG1인, 약제학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 모노클로날 항체가 MABp1의 상보성 결정 영역을 포함하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 모노클로날 항체가 MABp1인, 약제학적 조성물.

청구항 5

약제학적으로 허용 가능한 담체 및 항-IL-1α 항체를 포함하는, 협착된 혈관에 대해 수술적 처치를 받았거나 또는 받을 것으로 예상되는 개체에서 재협착 (restenosis)의 발생 가능성을 줄이기 위한 약제학적 조성물로서, 개체에서 재협착의 발생 가능성이 치료학적 유효량의 항-IL-1α 항체를 개체에 투여한 후에 감소되고, 상기 항-IL-1α 항체가 적어도 1×10^{9} M^{-1}의 Ka로 인간 IL-1α에 결합하는 모노클로날 항체인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 모노클로날 항체가 IgG1인, 약제학적 조성물.

청구항 7

제5항에 있어서, 모노클로날 항체가 MABp1의 상보성 결정 영역을 포함하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 8

제5항에 있어서, 모노클로날 항체가 MABp1인, 약제학적 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원에 대한 교차 참조

[0002] 본 출원은 2012년 10월 4일에 출원되고 발명의 명칭이 "Compositions and Methods for Treating Vascular Disease and Complications from the Treatment of Vascular Diseases"인 미국 특허 가출원 번호 61/709,754의 우선권을 주장한다.

[0003] 기술 분야

[0004] 본 발명은 일반적으로 의학, 혈관 생물학 및 면역학 분야에 관한 것이다. 보다 상세하게는, 본 발명은 인터루킨

-1α(IL-1α)에 특이적으로 결합하여 혈관 질환과 관련된 합병증을 예방하는 항체(Ab)와 같은 제제의 용도 및 이의 치료에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0005] 풍선 혈관성형술(balloon angioplasty) 및 스텐트 삽입(stent placement) 후 발생하는 관상동맥의 재협착은 심혈관 중재시술(interventional cardiology) 시 사망에 이르는 주 원인 중 하나이다. 재협착은 시술(즉, 풍선 혈관성형술)에 의해 입은 상처에 대한 염증 반응 및 스텐트 자체에 대한 반응 때문에 일어나는 것으로 생각된다. 사실상, 스텐트 삽입 후 재협착 비율(rate of restenosis)을 낮추려는 요구 덕분에, 최근 약물-용출 스텐트(drug-eluting stent; DES)가 출현하게 되었다. 관상동맥에서의 시롤리무스(sirolimus) 및 파클리탁셀(paclitaxel)-용출 스텐트에 대한 연구에서 일반 금속 스텐트(bare metal stent)와 비교해 재협착 비율이 감소한 것으로 나타났지만, 보다 최근의 메타-분석은 후기 스텐트 혈전증(late stent thrombosis) 및 사망 비율의 뚜렷한 증가에 대해 우려를 표명하고 있다.

[0006] DES는 재협착의 근간이 되는 신생내막 과증식(neointimal hyperplasia) 과정을 방해하는 것 외에도, 스텐트 루미날 표면(stent luminal surface)의 재혈관내피화(reendothelialization)를 제한하는 필요치 않는 성향을 가진다. 그 결과 영구적으로 노출되는 스텐트 표면은 연후 혈전이 환자의 몸 속에 쉽게 형성되도록 하며 이는 항응고제 치료법의 중단과 일치하는 것으로 보인다. 진행 중인 항응고제 치료법은 그 자체가 상당히 높은 사망률과 관련 있기 때문에, 스텐트 전개(stent deployment)에 의해 유도되는 신생내막 과증식을 제한하는 다른 기전들이 큰 흥미를 끌고 있다.

[0007] 혈관재건 후 관상동맥 재협착을 야기하는 염증 과정은 말초 동맥 질환에서의 중재시술 이후 혈관 개존율(vessel patency)의 상실과도 관련이 있다. 표재 대퇴동맥(superficial femoral artery)은 중재시술이 특히 빈번하게 이루어지는 부위로 재협착 비율이 높다. 대퇴-슬와 시스템(femoro-popliteal system)은 병변의 길이, 하지 혈관과 관련된 비정상적인 토오크(torque) 및 항응고의 필요성으로 인해, 스텐트 삽입에 항상 이상적으로 적합하지는 않다. 혈관재건 시술은 풍선 혈관 성형술 단독에 의해, 또는 스텐트 삽입을 동반하거나 또는 동반하지 않은 죽종제거술(atherectomy)에 의해 수행될 수 있다. 재협착은 혈관재건 시술에 대한 염증 반응에 의해 발생한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은, IL-1α를 특이적으로 표적화하는 제제가, 협착된 혈관에 수술적 처치(예를 들어, 스텐트 삽입, 풍선 혈관성형술 및 죽종제거술)를 받은 환자의 주요 임상 부작용(major adverse clinical event; MACE) 및 재협착 비율을 감소시킬 수 있다는 발견을 토대로 한다.

과제의 해결 수단

[0009] 이에, 본 발명은 협착된 혈관에 대해 수술적 처치를 받았거나 또는 받을 것으로 예상되는 포유류 개체에서 주요 임상 부작용의 발생 가능성 또는 중증도를 감소시키는 방법을 특징으로 하며, 이 방법은, 약학적으로 허용 가능한 담체 및 항-IL-1α 항체(Ab)와 같은 IL-1α-표적화 제제를, 이 개체에서 주요 임상 부작용의 발생 가능성 또는 중증도를 감소시키는데 효과적인 양만큼 포함하는 약제학적 조성물을 이 개체에 투여하는 단계를 포함한다.

[0010] 또한, 본 발명은, 협착된 혈관에 대해 수술적 처치를 받았거나 또는 받을 것으로 예상되는 포유류 개체에서 재협착 발생 가능성을 줄이는 (또는 재협착이 발생할 때까지의 시간을 늘리는) 방법을 포함하며, 이 방법은, 약학적으로 허용 가능한 담체 및 항-IL-1α Ab와 같은 IL-1α-표적화 제제를, 혈관이 재협착될 가능성을 줄이는데 효과적인 양만큼 포함하는 약제학적 조성물을 이 개체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0011] 또한, 본 발명은, 협착된 혈관에 대해 수술적 처치를 받았거나 또는 받을 것으로 예상되는 인간 개체에서 주요 임상 부작용의 발생 가능성을 줄이는 항-IL-1α Ab와 같은 IL-1α-표적화 제제의 용도 및 협착된 혈관에 대해 수술적 처치를 받았거나 또는 받을 것으로 예상되는 인간 개체에서 재협착의 발생 가능성을 줄이기 위한 항-IL-1α Ab와 같은 IL-1α-표적화 제제의 용도에 관한 것이다.

[0012] IL-1α-표적화 제제는 항-IL-1α 모노클로날 Ab(mAb)와 같은 항-IL-1α Ab일 수 있다. 항-IL-1α Ab는, MABp1으로서 지정되는 mAb(이 항체에 대한 설명은 2011년 9월 2일에 출원된 미국 특허 출원 13/225,029를 참조), 또는 MABp1의 상보성 결정 영역(CDR)을 하나 이상 포함하는 mAb와 같은 IgG1일 수 있다.

[0013] IL-1α-표적화 제제는 피하, 정맥 또는 근육 주사를 통해 개체에 투여될 수 있는 약제학적 조성물로 제형화될 수 있다. 본 방법에서, 환자에 투여되는 투여량은 체중 1 kg 당 0.5 mg 이상(예를 들어, 0.5 mg 이상, 1 mg 이상, 2 mg 이상, 2.5 mg 이상, 3 mg 이상, 3.75 mg 이상, 4 mg 이상 또는 5 mg 이상)일 수 있다.

[0014] 다르게 명시하지 않는 한, 본원에 사용되는 모든 기술 용어는 본 발명이 속하는 당해 기술분야의 당업자가 보편적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 지닌다. 보편적으로 이해되는 생물학적 용어의 정의는 Rieger et al., Glossary of Genetics: Classical and Molecular, 5th edition, Springer-Verlag: New York, 1991; 및 Lewin, Genes V, Oxford University Press: New York, 1994에서 확인할 수 있다. 보편적으로 이해되는 의학 용어의 정의는 Stedman's Medical Dictionary, 27th Edition, Lippincott, Williams & Wilkins, 2000에서 확인할 수 있다.

[0015] 본원에서, "항체" 또는 "Ab"는 면역글로불린(Ig), 동일한(identical) Ig 또는 상이한(heterogeneous) Ig의 용액, 또는 Ig의 혼합물이다. "Ab"는 또한, Fab, Fab' 및 F(ab')2 단편과 같은 Ig의 단편 및 조작된 버전; 및 scFv', 헤테로컨쥬게이트 Ab, 및 항원 특이성을 부여하는 Ig-유래의 CDR을 이용하는 유사한 인공 분자를 지칭할 수 있다. "모노클로날 항체" 또는 "mAb"는 하나의 클로날 B 세포주에 의해 발현되는 Ab, 또는 특정 항원의 특정 에피토프와 면역 작용할 수 있는 항원 결합 부위를 단 1종만 포함하는 Ab 분자의 집단(population)이다. "폴리클로날 항체" 또는 "폴리클로날 Ab"는 이형(heterogeneous) Ab의 혼합물이다. 전형적으로, 폴리클로날 Ab는, 특정 항원을, 해당 항원의 서로 다른 에피토프와 면역 작용하는 서로 다른 Ab 중 적어도 일부와 결합시키는 서로 다른 Ab 분자를 다수 포함할 것이다. 본원에서, 폴리클로날 Ab는 2종 이상의 mAb의 혼합물일 수 있다.

[0016] Ab의 "항원-결합 부위"는 Ab의 Fab 부위의 가변 영역에 포함되어 있으며, Ab에 항원 특이성을 부여하는 해당 Ab의 부위(즉, 전형적으로, Ab의 중쇄 및 경쇄의 CDR에 의해 형성되는 3차원 포켓)이다. "Fab 부위" 또는 "Fab 영역"은 파파인(papain)에 의해 절단되는 Ig의 단백분해 단편으로서, 해당 Ig의 항원-결합 부위를 포함한다. "비-Fab 부위"는 Fab 부위에 포함되지 않는 Ab의 부위로서, 예를 들어, "Fc 부위" 또는 "Fc 영역"이다. Ab의 "불변 영역"은 전체 Ab 부위 중 가변 영역 이외의 Ab 부위이다. 일반적으로, 불변 영역에는 Ab의 "효과기 부위"가 포함되며, 이 효과기 부위는 면역 반응을 촉진하는 기타 면역계 성분의 결합에 관여하는 Ab의 부위이다. 따라서, 예를 들어 (Ab의 항원-결합 부위를 통하지 않고) 상보성 성분 또는 Fc 수용체에 결합하는 Ab 상의 부위는 해당 Ab의 효과기 부위이다.

[0017] Ab와 같은 단백질 분자를 지칭하는 경우, "정제된"은 이러한 분자를 자연적으로 가지는 성분으로부터 분리되는 것을 의미한다. 전형적으로, Ab 또는 단백질은, 이것이 자연적으로 연관되어 있는 비-Ab 단백질 또는 기타 자연적으로 존재하는 유기 분자로부터 적어도 약 10 중량% (예를 들어, 9 중량%, 10 중량%, 20 중량%, 30 중량%, 40 중량%, 50 중량%, 60 중량%, 70 중량%, 80 중량%, 90 중량%, 95 중량%, 98 중량%, 99 중량%, 99.9 중량% 및 100 중량%) 유리되는 경우, 정제된다. 순도는 컬럼 크로마토그래피, 폴리아크릴아미드 겔 전기영동 또는 HLPC 분석과 같이 임의의 적절한 방법으로 측정될 수 있다. 자연적으로 존재하는 유형이 아닌 세포 유형에서 생성되는 기타 재조합 단백질 또는 화학적으로 합성된 단백질이 "정제된"다.

[0018] "결합하다", "결합한다" 또는 "~와 작용한다"란, 하나의 분자가 샘플 내의 특정한 제2 분자를 인지하고 그에 부착되되, 샘플 내의 다른 분자를 실질적으로 인지하거나 그에 부착되지 않는 것을 의미한다. 일반적으로, 또 다른 분자에 "특이적으로 결합하는" Ab는 다른 분자에 대해 약 105, 106, 107, 108, 109, 1010, 1011, 또는 1012 리터/몰(liter/mole) 초과의 Kd를 가진다.

[0019] "치료적 유효량"이란, 치료를 받는 동물 또는 인간에서 의학적으로 바람직한 효과(예를 들어, 질환이나 질환 증상의 개선 또는 예방, 또는 생존율이나 수명 연장)를 낼 수 있는 양이다.

[0020] 본원에 기술되는 것과 유사하거나 또는 동등한 방법 및 물질이 본 발명의 시행 또는 테스트에 사용될 수 있지만, 적합한 방법 및 물질은 후술된다. 또한, 후술되는 특정 구현예는 단지 예시적인 것이며 제한적이지 않은 것으로 의도된다.

발명의 효과

[0021] 본 발명은 협착된 혈관에 대해 수술적 처치를 받았거나 또는 받을 것으로 예상되는 포유류 개체에서 주요 임상 부작용의 발생 가능성 또는 중증도를 감소시키고, 협착된 혈관에 대해 수술적 처치를 받았거나 또는 받을 것으로 예상되는 포유류 개체에서 재협착의 발생 가능성을 줄이는 (또는 재협착이 발생할 때까지의 시간을 늘리는) 데 유용한 IL-1α에만 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0022] 본 발명은 협착된 혈관에 대해 수술적 처치를 받았거나 또는 받을 것으로 예상되는 인간 개체에서 합병증을 예방하거나 또는 늦추기 위한 조성물 및 방법을 포함한다. 후술되는 바람직한 구현예는 이 같은 조성물 및 방법의 적용(adaptation)을 예시한 것이다. 그러나, 이들 구현예의 설명으로부터, 본 발명의 다른 측면 또한 하기에 제공되는 상세한 설명을 토대로 이루어지고/이루어지거나 시행될 수 있다.

[0023] 일반적인 방법론

[0024] 종래의 면역학적 및 분자생물학적 기술을 수반하는 방법이 본원에 기술된다. 면역학적 방법(예를 들어, 항원-Ab 복합체의 검출 및 위치화(localization) 분석법, 면역침강법(immunoprecipitation), 면역블로팅(immunoblotting) 등)은 당해 기술분야에 일반적으로 알려져 있으며, Current Protocols in Immunology, Coligan et al., ed., John Wiley & Sons, New York 등 방법론에 관한 논문에 기술되어 있다. 분자생물학 기술은 Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed., vol. 1-3, Sambrook et al., ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 2001; 및 Current Protocols in Molecular Biology, Ausubel et al., ed., Greene Publishing and Wiley-Interscience, New York 등의 논문에 상세히 기술되어 있다. Ab 방법은 Handbook of Therapeutic Abs, Dubel, S., ed., Wiley-VCH, 2007에 기술되어 있다. 일반적인 의학적 치료 방법은 McPhee and Papadakis, Current Medical Diagnosis and Treatment 2010, 49th Edition, McGraw-Hill Medical, 2010; 및 Fauci et al., Harrison's Principles of Internal Medicine, 17th Edition, McGraw-Hill Professional, 2008에 기술되어 있다.

[0025] MACE 및 재협착 감소

[0026] 본원에 기술되는 조성물 및 방법은 협착된 혈관에 대해 수술적 처치를 받았거나 또는 받을 것으로 예상되는 포유류 개체에서 MACE의 발생 가능성 또는 중증도를 감소시키고, 이 개체에서 재협착의 발생 가능성을 줄이거나 또는 이 개체에서 재협착이 발생할 때까지의 시간을 늘리는 데 유용하다. 포유류 개체는 인간, 개, 고양이, 말, 소, 양, 염소 및 돼지를 비롯하여, 혈관 질환을 앓고 있는 임의의 개체일 수 있다. 인간 개체는 남성, 여성, 성인, 어린이 또는 노인 (65세 이상)이다. 포유류 개체는 말초 동맥 질환, 관상 동맥 질환, 신장 동맥 질환, 버거병(Buerger's disease), 아테롬성 동맥경화증(atherosclerosis) 또는 허혈증을 앓고 있는 개체일 수 있다. 이 개체는 또한 항-응고제, 스타틴(statin), 항고혈압제, 실로스타졸(cilostazol) 및/또는 펜톡시필린(pentoxifylline)으로 치료를 받고 있거나 또는 받은 적이 있는 개체일 수 있다. 협착된 혈관에 대한 수술적 처치는 혈관성형술, 바이패스 수술, 죽종제거술 및/또는 (일반 금속 또는 약물-용출 스텐트를 이용한) 스텐트 삽입을 포함할 수 있다.

[0027] MACE는 30일째의 사망, 뇌졸중, 심근 경색/불안정 협심증, 긴급한 수술적 혈관재건, 표적 사지의 유의한 색전술(significant embolization of the target limb), 표적 혈관의 혈전증, 또는 만성 사지 허혈증의 증상 악화를 포함할 수 있다. %로 측정가능한 경우, 감소 또는 증가는 1% 이상, 2% 이상, 3% 이상, 4% 이상, 5% 이상, 10% 이상, 15% 이상, 20% 이상, 25% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상 또는 90% 이상일 수 있다.

[0028] IL-1α를 표적화하는 항체 및 기타 제제

[0029] IL-1α에 특이적으로 결합하여, 협착된 혈관에 대해 수술적 처치를 받았거나 또는 받을 것으로 예상되는 인간 개체에서 합병증을 예방하거나 또는 늦추는데 적합한 임의의 유형의 Ab 또는 기타 생물학적 제제(예를 들어, IL-1 수용체와 같은 IL-1α-결합 성분을 포함하는 융합 단백질)가 본 발명에 사용될 수 있다. 예를 들어, 사용되는 항-IL-1α Ab는 mAb, 폴리클로날 Ab, mAb 혼합물, 또는 Ab 단편, 또는 scFv와 같은 조작된 Ab-유사 분자일 수 있다. Ab의 Ka는 바람직하게는 1 x10^{9} M^{-1} 이상 또는 그보다 크다(예를 들어, 9 x10^{10} M^{-1} 초과, 8 x10^{10} M^{-1} 초과, 7 x10^{10} M^{-1} 초과, 6 x10^{10} M^{-1} 초과, 5 x10^{10} M^{-1} 초과, 4 x10^{10} M^{-1} 초과, 3 x10^{10} M^{-1} 초과, 2 x10^{10} M^{-1} 초과 또는 1 x10^{10} M^{-1} 초과). 바람직한 구현예에서, 본 발명은 (i) 인간 IL-1α에 대해 매우 높은 결합 친화성(예를 들어, 나노몰 이상 또는 피코몰 이상)을 보이는 항원-결합 가변 영역, 및 (ii) 불변 영역을 포함하는 완전 인간(fully human) mAb 또는 트루 인간(TRUE HUMAN) mAb를 이용한다. 인간 Ab는 바람직하게는 IgG1이지만, IgM, IgA나 IgE와 같은 상이한 이소타입(isotype), 또는 IgG2, IgG3나 IgG4와 같은 서브클래스일 것이다. 특히 유용한 mAb의 일례는 MABp1으로, 2009년 6월 1일에 출원된 미국 특허 출원 번호 12/455,458에 기술된 IL-1α-특이적

IgG1이다. 다른 유용한 mAb는 MABp1의 CDR을 하나 이상 포함하는 것이지만, 바람직한 것은 이 CDR을 모두 포함하는 것이다. CDR은 Ofran et al., J. Immunol., 181:6230, 2008; 및 Antibody Engineering Volume 2, 2d edition, Konterman and Dubel (eds), Springer, 2010에 기술된 방법과 같은 공지된 방법에 따라 결정될 수 있다.

[0030] 인간 IL-1α에만 특이적인 Ig을 발현하는 B 림프구는 체내에서 자연적으로 발생하기 때문에, 현재 mAb를 생성하는 바람직한 방법은, 먼저 개체로부터 이 같은 B 림프구를 분리한 다음 불멸화시켜, 배양액 내에서 계속 복제될 수 있도록 하는 것이다. 인간 IL-1α에만 특이적인 Ig을 발현하는 B 림프구의 자연적 발생 수가 상당히 상실된 개체는 이러한 B 림프구의 수를 증가시키기 위해 1종 이상의 인간 IL-1α 항원으로 면역화될 수 있다. 인간 mAb는 인간 Ab 분비 세포(예를 들어, 인간 혈장 세포)를 불멸화시킴으로써 준비된다. 예를 들어, 미국 특허 4,634,664를 참조한다.

[0031] 예시적인 방법에서, 1명 이상(예를 들어, 5명, 10명, 25명, 50명, 100명, 1000명 또는 그 이상)의 인간 개체를 대상으로, 이들의 혈액에 이러한 인간 IL-1α-특이적 Ab가 존재하는지 스크리닝한다. 그런 다음, 원하는 Ab 를 발현하는 개체를 B 림프구 공여자로 이용할 수 있다. 한 가지 가능한 방법은 인간 IL-1α-특이적 Ab를 발현하는 B 림프구를 가진 인간 공여자로부터 말초 혈액을 수득하는 것이다. 그런 다음, 이러한 B 림프구를 예를 들어, 세포 소팅(sorting)(예를 들어, 형광 활성화된 세포 소팅, "FACS"; 또는 자기 비드 세포 소팅)으로 혈액 샘플로부터 분리하여, 인간 IL-1α-특이적 Ab를 발현하는 B 림프구를 선별한다. 그 후 이 세포들은 공지된 기술에 따라, (예를 들어, EBV를 이용한) 바이러스 형질전환에 의해, 또는 인간 골수종 세포와 같은 또 다른 불멸화된 세포로 융합시켜 불멸화될 수 있다. 그런 다음, 인간 IL-1α에만 특이적인 Ig을 발현하는 집단 내의 B 림프구를 한계 희석법(limiting dilution method)(예를 들어, 인간 IL-1α에만 특이적인 Ig에 양성(positive)인 마이크로타이터 플레이트의 웰에 존재하는 세포를 선별 및 서브 배양한 다음, 원하는 클론주(clonal line)를 분리할 수 있을 때까지 이 과정을 반복함)에 의해 분리할 수 있다. 예를 들어, Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp. 59-103, Academic Press, 1986을 참조한다. 인간 IL-1α에 대해 나노몰 이상 또는 피코몰 이상의 결합 친화성을 가진 Ig을 발현하는 클론 세포주가 바람직하다. 이들 클론 세포주에 의해 분비되는 mAb는 솔트 컷(salt cut), 크기 배제, 이온 교환 분리 및 친화성 크로마토그래피 등 종래의 Ig 정제 과정을 통해, 배양 배지 또는 체액(예를 들어, 복수)으로부터 정제할 수 있다.

[0032] 불멸화된 B 림프구를 시험관 내 배양에 사용하여 mAb를 직접 생성하기도 하겠지만, 일부 경우, mAb를 생성하는 이종성 발현 시스템(heterologous expression system)을 이용하는 것도 바람직할 것이다. 예를 들어, 미국 특허 출원 번호 11/754,899에 기술된 방법을 참조한다. 예를 들어, 인간 IL-1α에 특이적인 mAb를 코딩하는 유전자를 클로닝하여, 이종성 숙주 세포(예를 들어, CHO 세포, COS 세포, 골수종 세포 및 E.coli 세포)에서의 발현을 위해 발현 벡터 (예를 들어, 플라스미드-기재의 발현 벡터)에 도입할 수 있다. Ig가 중쇄(H) 및 경쇄(L)를 H_2L_2 배치로 포함하기 때문에, 각각을 코딩하는 유전자는 개별적으로 분리된 다음 서로 다른 벡터에서 발현될 수 있다.

[0033] 일반적으로 개체가 항-Ab 반응을 일으키려는 경향이 더 크므로 덜 바람직하긴 하지만, 서로 다른 동물 종에서 유래되는 서로 다른 부위를 가진 항원-결합 분자(예를 들어, 인간 Ig 의 불변 영역에 마우스 Ig의 가변 영역을 융합한 분자)인 키메라 mAb(예를 들어, "인간화된" mAb)가 본 발명에 사용될 수 있다. 이러한 키메라 Ab는 당해 기술분야에 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, Morrison et al., Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA, 81:6851, 1984; Neuberger et al., Nature, 312:604, 1984; Takeda et al., Nature, 314:452, 1984를 참조한다. 마찬가지로, Ab는 당해 기술분야에 공지된 방법에 의해 인간화될 수 있다. 예를 들어, 원하는 결합 특이성을 가진 mAb는 다양한 벤더(vendor)에 의해 또는 미국 특허 5,693,762; 5,530,101; 또는 5,585,089에 기술된 바와 같이 인간화될 수 있다.

[0034] 본원에 기술되는 mAb는 VH 및 VL 도메인 셔플링(Marks et al. Bio/Technology 10:779-783, 1992), 초가변 영역(HVR) 및/또는 프레임워크 잔기(framework residue)의 무작위 돌연변이형성(Barbas et al. Proc Nat. Acad. Sci. USA 91:3809-3813, 1994; Schier et al. Gene 169:147-155, 1995; Yelton et al. J. Immunol. 155:1994-2004, 1995; Jackson et al., J. Immunol. 154(7):3310-9, 1995; 및 Hawkins et al, J. Mol. Biol. 226:889-896, 1992) 등 공지된 방법에 의해 이들(mAb)의 결합 특이성이 증가되거나 또는 변경되도록 mAb의 친화성이 숙성될 수도 있다. Ab의 아미노산 서열 변이체는 Ab를 코딩하는 뉴클레오타이드 서열에 적절한 변화를 줌으로써 제조될 수 있다. 또한, mAb를 코딩하는 핵산 서열에 대한 변형은, 소정의 발현 시스템에서 mAb의 생성을 증가시키기 위해 (예를 들어, mAb의 아미노산 서열은 바꾸지 않으면서) 변경될 것이다(예를 들어, 해당 발현 시스템에 대한 코돈 최적화 및/또는 인트론 제거). 본원에 기술되는 mAb는 또 다른 단백질(예를 들어, 또 다른 mAb) 또는

비-단백질 분자의 공액(conjugation)에 의해 변형될 수도 있다. 예를 들어, mAb는 폴리에틸렌 글리콜 또는 탄소 나노튜브와 같은 수용성 폴리머에 공액될 수 있다(예를 들어, Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605, 2005 참조). 예를 들어, 미국 특허 출원 번호 11/754,899를 참조한다.

[0035] 바람직하게는, 부작용은 최소화하면서 인간 IL-1α-특이적 mAb를 고 타이터(titer)로 개체에 투여할 수 있기 위해서는, 본 발명의 mAb 조성물은 적어도 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98, 99, 99.9 중량% 또는 그 이상 순수하다(임의의 부형제를 포함하지 않음). 본 발명의 mAb 조성물은 하나의 단일 유형의 mAb(즉, 단일 B 림프구 클론주로부터 생성되는 mAb)를 포함하거나, 또는 2종 이상(예를 들어, 2종 이상, 3종 이상, 4종 이상, 5종 이상, 6종 이상, 7종 이상, 8종 이상, 9종 이상, 10종 이상 또는 그 이상)의 서로 다른 유형의 mAb의 혼합물을 포함할 수 있다.

[0036] 전술한 IL-1α 특이적 Ab가 본 발명에 사용하기에 바람직하지만, 일부 경우에서는, IL-1α를 특이적으로 표적화하는 다른 제제 또한 협착된 혈관에 대한 수술적 처치를 받았거나 또는 받을 것으로 예상되는 인간 개체에 투여되어 합병증을 예방하거나 또는 늦출 수 있는 한 사용될 수 있다. 이들 다른 제제로는, IL-1α에 특이적으로 결합하는 유기 소분자, 앱타머(aptamer), 펩타이드 및 단백질이 포함될 수 있다.

[0037] 약제학적 조성물 및 방법

[0038] 항-IL-1α Ab 조성물은 투여 방식 및 경로와 표준 약제학적 시행을 토대로 선별되는 약학적으로 허용 가능한 담체(예를 들어, 멸균 식염수)를 통해 동물 또는 인간에게 투여될 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 담체 및 약제학적 제형에 대한 목록은 Remington's Pharmaceutical Sciences, 당해 분야의 표준적인 텍스트 및 USP/NF에서 확인할 수 있다. 조성물의 멸균 및/또는 보존, 및/또는 개체의 투여를 촉진하기 위해, 조성물에 다른 성분들이 첨가되고 기타 단계가 취해질 수 있다.

[0039] 예를 들어, Ab 조성물은 동결건조(Draber et al., J. Immunol. Methods. 181:37, 1995; 및 PCT/US90/01383 참조); 나트륨 및 클로라이드 이온을 포함하는 용액에 용해; 알부민, 글루코스, 말토스, 수크로스, 소르비톨, 폴리에틸렌 글리콜 및 글리신과 같은 1종 이상의 안정화제를 포함하는 용액에 용해; (예를 들어, 0.45미크론 필터 및/또는 0.2미크론 필터를 사용한) 여과; 베타-프로피오락톤과 접촉; 및/또는 살균제(예를 들어, 세제, 유기 용매, 및 세제와 유기 용매의 혼합물)를 포함하는 용액에 용해될 수 있다.

[0040] Ab 조성물은 임의의 적합한 기법에 의해 동물이나 인간에게 투여될 수 있다. 전형적으로, 이 같은 투여는 비경구 투여(예를 들어, 정맥내, 피하, 근육내 또는 복강내 투여)일 것이다. 조성물은 또한 예를 들어, 주사를 통해 표적 부위에 직접 투여될 수도 있다. 리포좀 전달, 또는 조성물이 함침된 디바이스로부터의 확산 등 기타 전달 방법도 당해 기술분야에 알려져 있다. 조성물은 1회 볼루스, 다회 주사(multiple injection), 또는 연속 주입(예를 들어, 정맥내 주입 또는 복막 투석)으로 투여될 수 있다.

[0041] 치료적 유효량은 치료를 받는 동물이나 인간에게서 의학적으로 바람직한 결과를 볼 수 있는 양이다. 항-IL-1α Ab 조성물의 유효량은 전술한 특징들 중 하나 이상에서의 개선으로 측정되는 바와 같이, 투여된 환자가 임상적인 효능을 보이는 양이다. 의학 분야에서 잘 알려진 바와 같이, 동물 또는 인간의 대한 투여량은, 개체의 크기, 체표면적, 연령, 투여되는 특정 조성물, 성별, 투여 시간 및 경로, 일반적인 건강상태 및 현재 투여중인 기타 약물을 비롯해 여러 요소들에 따라 다르다. 바람직한 투약 범위는 체중 1 kg 당 약 0.2 내지 20 (예를 들어, 0.05, 0.10, 0.15, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20 또는 40) mg이다. 투약은 예를 들어, 매시간, 매일, 1주에 2회(semi-weekly), 매주, 격주, 3주마다 또는 매달, 반복적으로 행해질 수 있다. 바람직하게는 2회 이상 (예를 들어, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10회 또는 그 이상)의 투약이 시행된다.

[0042] **실시예**

[0043] 실시예 1: CV-18C3는 안정화시키는 등장성 완충제(stabilizing isotonic buffer)에서의 MABp1의 멸균된 주사액 제형이다.

[0044] 실시예 2: 경피 대퇴-슬와 혈관재건술을 받는 환자의 재협착 위험을 줄이는 데 있어서, 항-염증성 치료 항체의 안전성, 약물 동력학 및 예비 효능에 대한 II상 오픈 라벨, 무작위 연구(Phase II Open Label, Randomized Study) 분석

[0045] 혈관 질환을 앓고 있는 시험 개체를 2개의 군 중 하나로 무작위로 나누었다. 2개군 모두 표준 치료 처치(예를 들어, 일반 금속 스텐트 삽입, 풍선 혈관성형술 및/또는 죽종제거술)를 받도록 계획되었다. 테스트 군에는 MABp1 (0일, 2주, 4주 및 6주째에 3.75 mg/kg IV; 이후, 2개월째부터 시작하여 4주마다 200 mg씩 피하 처치)을

처치하였지만, 대조군에는 MABp1을 제공하지 않았다. 2개의 군에서 혈관의 수술적 재-중재시술 비율(vascular surgical re-intervention rate)의 차이를 분석하였다. 주요 심혈관 부작용("MACE": 30일째의 사망, 뇌졸중, 심근 경색/불안정 협심증, 긴급한 수술적 혈관재건, 표적 사지의 유의한 색전술, 표적 혈관의 혈전증, 또는 만성 사지 허혈증/재협착의 증상 악화)도 분석하였다. 평가 대상 개체 43명 중, 22명은 테스트 군에 포함되었으며, 21명은 대조군에 포함되었다.

[0046] 무작위에도 불구하고, 2개 군 모두 베이스라인 특징은 균형을 이루지 않았다. MABp1 군의 환자는 대조군에 비해 재협착의 위험률이 상당히 높았으며(당뇨병의 성행 (59% vs. 24%), 죽종제거술 시술이 보다 빈번했으며(41% vs. 29%)), 시술 후 발목 상완 지수(ankle brachial index;ABI)의 개선이 낮았다(표 1).

[0047] 15주간의 추적 조사 시, MABp1을 처치 받은 환자 중 9%(22명 중 2명)가 MACE를 경험한 데 비해, 대조군에서는 24%(21명 중 5명)가 경험하였다(p=0.24). 이때, 대조군의 환자는 MABp1 군과 비교해 MACE를 경험할 가능성이 3배 더 높았다(오즈비(odds ratio) 3.1, 95% CI 0.53 내지 18.3)

[0048] 말초 혈관 질환의 임상적인 증상(파행(claudication))을 토대로 개존율을 평가하였으며, 혈관촬영법으로 재협착을 확인하였다. 처음 15주 동안, 대조군 환자 2명(9.5%)의 표적 혈관에서 재-중재시술이 필요한 정도의 재협착이 발생하였다. 한편, MABp1을 제공받은 환자들은 모두 보다 높은 베이스라인 위험률에서도 혈관 개존율을 유지하였으며, 중재 시술 후 15주 동안 재협착이 발견되지 않았다.

[0049] 표 1은 연구 집단의 베이스라인 특징이다.

표 1

[0050]

	MABp1 군 (n=22)	대조군 (n=21)	p
연령, 세(year)	63±10	64±11	0.68
성별, 남성	14 (64%)	16 (76%)	0.51
병변 길이, 평균±SD (중앙값), cm	15.1±10.5 (12)	16.3±15.8 (9)	0.78
베이스라인 ABI, 평균±SD (중앙값)	0.71±0.21 (0.70)	0.65±0.20 (0.64)	0.35
시술 후 ABI, 평균±SD (중앙값)	0.86±0.17 (0.91)	0.89±0.21(0.91)	0.45
시술 후 ABI 변화, 평균±SD (중앙값)	0.26±0.31 (0.27)	0.40±0.28 (0.48)	0.23
당뇨병	13 (59%)	5 (24%)	0.03
신부전	3 (14%)	3 (14%)	1.00
현재 흡연자	10 (45%)	9(43%)	0.86
금연 < 10년	5 (23%)	4 (19%)	0.76
시술			
혈관성형술	7 (32%)	5 (24%)	0.73
죽종제거술	1 (5%)	1 (5%)	1.00
스텐트 삽입	9 (41%)	10 (48%)	0.76
혈관성형술 + 죽종제거술	8 (36%)	4 (19%)	0.31
혈관성형술 + 스텐트 삽입	6 (27%)	8 (38%)	0.53
혈관성형술 + 죽종제거술 + 스텐트 삽입	2 (9%)	1 (5%)	1.00
죽종제거술 + 임의의 다른 시술	9 (41%)	6 (29%)	0.52

[0052] 다른 구현예본 발명은 이의 상세한 설명과 함께 기술되었지만, 상기 상세한 설명은 예시일 뿐, 첨부되는 청구항의 범위에 의해 한정되는 본 발명의 범위를 제한하지 않는다는 점을 이해할 것이다. 다른 양태, 이점 및 변형에 관한 내용이 하기 청구항의 범위에 포함된다.