



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0143848
(43) 공개일자 2021년11월29일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 48/00 (2006.01) A61P 25/28 (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01) C12N 15/86 (2006.01)
C12N 9/40 (2006.01) C12N 9/48 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
A61K 48/005 (2013.01)
A61P 25/28 (2018.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2021-7034175
(22) 출원일자(국제) 2020년03월20일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2021년10월21일
(86) 국제출원번호 PCT/US2020/023768
(87) 국제공개번호 WO 2020/197967
국제공개일자 2020년10월01일</p> <p>(30) 우선권주장
62/822,310 2019년03월22일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
러쉬 유니버시티 메디컬 센터
미합중국 일리노이 60612, 시카고, 웨스트 콘그레스 파크웨이 1653</p> <p>(72) 발명자
파한 칼리파다
미국 일리노이주 60076 스키키 트립 에비뉴 7830</p> <p>(74) 대리인
장훈</p> |
|---|--|

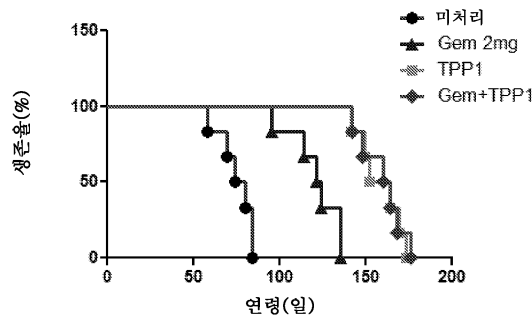
전체 청구항 수 : 총 27 항

(54) 발명의 명칭 리소좀 축적 장애를 위한 비강 유전자 전달 및 경구 신남산, 올레아미드 또는 켈피브로질의 병용

(57) 요약

본원에는 리소좀 효소를 암호화하는 유전자 및 약제의 투여를 포함하는 리소좀 축적 질환의 치료 방법이 제공된다. 공동투여에 의한 유전자 요법과 약제학적 조성물의 병용은 각 개별 요법의 효과를 더욱 향상시킬 뿐만 아니라 각 개별 조성물의 다양한 작용 메커니즘으로 인해 치료에 대한 다면적 접근을 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C07K 14/705 (2013.01)

C12N 15/86 (2013.01)

C12N 9/2465 (2013.01)

C12N 9/485 (2013.01)

C12Y 302/01022 (2013.01)

C12Y 302/01046 (2013.01)

C12Y 302/01052 (2013.01)

C12Y 304/14009 (2013.01)

C12N 2710/10343 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

리소좀 축적 질환의 치료 방법으로서, 리소좀 효소를 암호화하는 유전자의 치료학적 유효량을 포함하는 제1 조성물 및 약제의 치료학적 유효량을 포함하는 제2 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 제1 조성물이 비강내 투여되는, 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 유전자가 혈뇌 장벽을 가로질러 전달되는, 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 제1 조성물이 약 7일 내지 30일마다 1회 투여되는, 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 제1 조성물이 리소좀 효소를 암호화하는 유전자를 포함하는 바이러스 벡터를 포함하는, 방법.

청구항 6

제6항에 있어서, 상기 바이러스 벡터가 아데노바이러스-연관 바이러스 벡터인, 방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 유전자가 *ppt1*, *cln2*, *cln3*, *gale* 또는 *hexa*를 포함하는, 방법.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 리소좀 효소가 팔미토일-단백질 티오에스테라제-1, 트리키프티딜 펩티다제 1, 갈락토실세라마이드, 바테닌 또는 헥소스아미니다제 A를 포함하는, 방법.

청구항 9

제7항에 있어서, 영아 신경세포 세로이드 리포푸신증을 포함하는 리소좀 축적 질환을 치료하기 위한 *ppt1* 유전자를 포함하는 제1 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 10

제7항에 있어서, 후기 영아 신경세포 세로이드 리포푸신증을 포함하는 리소좀 축적 질환을 치료하기 위한 *cln2* 유전자를 포함하는 제1 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 11

제7항에 있어서, 소아 신경세포 세로이드 리포푸신증을 포함하는 리소좀 축적 질환을 치료하기 위한 *cln3* 유전자를 포함하는 제1 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 12

제7항에 있어서, 크라베병을 포함하는 리소좀 축적 질환을 치료하기 위한 *gale* 유전자를 포함하는 제1 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 13

제7항에 있어서, 테이-삭스병을 포함하는 리소좀 축적 질환을 치료하기 위한 *hexa* 유전자를 포함하는 제1 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 14

제1항에 있어서, 상기 약제가 신남산, 올레아미드 또는 피브레이트를 포함하는, 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 피브레이트가 켈피브로질 또는 페노피브레이트인, 방법.

청구항 16

제1항에 있어서, 상기 제2 조성물이 치료학적 유효량의 올-트랜스 레티노산(all-trans retinoic acid)을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 17

제1항에 있어서, 상기 약제의 치료학적 유효량이, 해당 약제가 올-트랜스 레티노산 없이 전달될 때보다 올-트랜스 레티노산과 병용되어 투여될 때 더 낮은, 방법.

청구항 18

제1항에 있어서, 상기 제2 조성물이 경구 투여되는, 방법.

청구항 19

제1항에 있어서, 상기 제2 조성물이 1일 1회 투여되는, 방법.

청구항 20

제1항에 있어서, 상기 제1 조성물과 상기 제2 조성물의 투여가, 제1 조성물 또는 제2 조성물의 단독 투여보다 대상체에서 더 큰 치료 효과를 제공하는, 방법.

청구항 21

제1항에 있어서, 리소좀 축적 장애가 후기 영아 바텐병, 소아 바텐병, 크라베병, 테이-삭스병, 니만-픽병, 파브리병, 파버병 및 고셔병으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 방법.

청구항 22

제1항에 있어서, 상기 제1 조성물이 비강내 투여되고 상기 제2 조성물이 경구 투여되는, 방법.

청구항 23

제1항 또는 제22항에 있어서, 상기 제1 조성물이 적어도 7일마다 1회 투여되고 상기 제2 조성물이 1일 1회 투여되는 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 바이러스 벡터가 아데노바이러스-연관 바이러스 벡터인, 방법.

청구항 25

제23항에 있어서, 상기 유전자가 *cIn2*를 포함하는, 방법.

청구항 26

제23항에 있어서, 상기 제2 조성물이 켈피브로질을 포함하는, 방법.

청구항 27

제25항에 있어서, 제1 조성물의 투여가 수명을 약 100일 증가시키는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] **관련 출원에 대한 상호 참조**

[0002] 본 출원은 2019년 3월 22일에 출원된 미국 가특허출원 제62/822,310호에 대한 우선권을 주장하며, 이는 그 전체가 본원에 참조로 포함된다.

[0003] **기술 분야**

[0004] 본 발명은 리소좀 효소를 암호화하는 유전자를 후기 영아 바텐병 및 크라베병과 같은 리소좀 축적 장애의 치료를 위한 억제와 병용하여 투여하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 리소좀은 지질, 단백질, 탄수화물 및 핵산의 분해를 담당하는 몇몇 효소를 함유하는 막 결합된 소기관이다(De Duve and Wattiaux, 1966). 이들 성분 중 거의 모든 것의 결합 및 결합은 리소좀 내의 분해되지 않고/거나 부분적으로 분해된 물질의 축적을 초래하여, 바텐병(영아, 후기-영아 및 소아(juvenile) 신경세포 세로이드 리포푸신증), 크라베병 및 테이-삭스병을 포함하는 수많은 리소좀 축적 장애(LSD)의 기초를 형성한다(De Duve and Wattiaux, 1966, Perez-Sala *et al.*, 2009).

[0006] 신경세포 세로이드 리포푸신증(neuronal ceroid lipofuscinosis: NCL)은 주로 전형적인 상염색체 열성 리소좀 축적 장애로 구성된 신경퇴행성 질환의 한 그룹이다. NCL은 뉴런 또는 다른 세포 유형 내의 자가형광 저장 물질의 축적과 같은 조직학적 소견을 동반하는 진행성 정신 저하, 인지 장애, 시각 기능상실, 발작 및 운동 기능 약화와 같은 임상 징후를 특징으로 할 수 있다(Hachiya *et al.*, 2006). NCL은 발병 연령, 축적된 저장 물질의 초미세구조적 변이 및 각각의 특정 질환 유형 고유의 유전적 변경에 기반하여 여러 그룹(1형 내지 10형)으로 세분화되었다(Lane *et al.*, 1996 and Mole *et al.*, 2005).

[0007] 영아 신경세포 세로이드 리포푸신증(INCL)은 그 자체로 실명, 인지 결함, 발작 및 조기 사망을 포함하는 증상으로 약 18개월령의 아동에서 나타난다(Hawkins-Salsbury *et al.*, 2013). 리소좀 효소 팔미토일 단백질 티오에스테라제-1(PPT1)을 암호화하는 *cln1* 유전자의 결함은 중추 신경계와 조직 둘 다에서 리포푸신과 같은 다양한 자가형광 물질 기질의 축적을 유발한다(*Id.*). 뒤이어 발생하는 신경 변성, 피질 박막화 및 뇌 위축은 이환되지 않은 아동에 비해 뇌 질량의 약 50% 감소를 초래한다(*Id.*). 현재 이용 가능한 치료법은 없다.

[0008] 후기 영아 신경세포 세로이드 리포푸신증(얀스키-빌쇼스키병(Jansky-Bielschowsky disease), LINCL, 2형)는 전형적으로 2세 내지 4세에 증상을 야기하고, 빠르고 진행되고, 뉴런 및 다른 세포의 수가 급격히 감소한 결과로서 8세 내지 15세에 사망으로 종결된다(Lane *et al.*, 1996 and Sleat *et al.*, 1997). LINCL은 염색체 11p15.5에 매핑된 총 길이 6.65kb의 13개 엑손과 12개 인트론의 *cln2* 유전자의 돌연변이와 연관된다. *cln2* 유전자는 리소좀 구획의 산성 환경에서 단백질의 아미노 말단으로부터 트리펩타이드를 제거하는 기능을 하는 46 KD 단백질인 리소좀 트리펩티달 트리펩티다제 I(TPP-I 또는 펩스틴 비민감성 프로테아제)을 암호화한다(Goebel 1995 and Vines *et al.*, 1999). 이러한 *cln2* 유전자의 돌연변이는 TPP1 단백질의 결핍 및/또는 기능 상실을 초래하여, 세로이드-리포푸신으로서 공지된 자가형광 지방색소가 리소좀 내부에 축적되도록 야기한다(Goebel, 1995). 현재 상기 질환용으로 이용 가능한 확립된 치료법 또는 약물은 없으며 모든 접근법은 단지 보조적이거나 대증적이며, 이는 신규한 치료적 방식이 필요함을 나타낸다(Chang *et al.*, 2008). 그러나, *cln2* 돌연변이의 상이한 변이체들이 있으며 LINCL 환자에서 잔류 TPP-1 활성이 발견될 수 있다는 보고가 있으며, 이는 LINCL에 걸린 환자에서 정상 *cln2* 유전자의 수개의 카피가 남아있어야 함을 나타낸다 [Viglio *et al.*, 2001 and Walus *et al.*, 2010].

[0009] 또 다른 NCL은 소아 바텐병(소아 영아 신경세포 세로이드 리포푸신증(JINCL))이다. *cln3* 유전자는 시냅스 기능 또는 분해에 관여할 수 있는 리소좀 막관통 단백질을 암호화한다(Dolisca *et al.*, 2013). JINCL과 연관된 *cln3*의 돌연변이는 1.01 kb 결실을 특징으로 한다. 다른 NCL과 마찬가지로, JINCL의 발병은 점진적인 실명, 운동 및 인지 저하, 발작 및 조기 사망을 포함하는 증상으로 4세 내지 7세의 아동에서 발생한다.

- [0010] 크라베병은 희귀한 리소좀 축적 질환으로, 미엘린초(myelin sheath)의 스펅고리피도스 기반 저하의 결과이다. 상기 질환은 β -갈락토세레브로시다제 리소좀 저장 효소의 돌연변이, 그로 인한 세포독성 대사산물 축적 및 탈수초화를 초래하는 붕괴된 다양한 대사 경로에 의해 유발된다. 크라베병은 영아형, 후기 영아형, 소아형 및 심지어 성인형일 수 있다(Pavuluri *et al.*, 2017).
- [0011] 테이-삭스병은 GM2 강글리오시드를 GM3 강글리오시드로 프로세싱하는 역할을 하는 효소인 β -헥소사아미니다제를 암호화하는 *hexa* 유전자가 돌연변이된 결과이다(Dersh *et al.*, 2016). 상기 효소는 2개의 서브유닛으로 구성되며 돌연변이는 상기 효소의 상실 또는 비활성화를 초래하여 GM2의 축적을 초래한다. 테이-삭스병과 연관된 *hexa* 유전자에서 식별된 100가지가 넘는 돌연변이가 있다(*Id.*).
- [0012] 다양한 유전자 돌연변이가 다수의 효소와 연관되어 리소좀 축적 장애를 초래하기 때문에, 유전자 요법은 잠재적인 치료 옵션이다. 그러나, 특히 신경퇴행성 질환의 치료를 위한 유전자 전달은 치료 유전자를 뇌에 전달하는 문제를 나타낸다. 바이러스 기반 유전자 전달 메커니즘은 익히 공지되어 있으며, 유전자 전달은 바이러스의 불량한 면역원성 때문에 아데노-연관 바이러스 벡터의 사용을 통해 명확하게 달성될 수 있다(Shaw *et al.*, 2013). 또한, 치료 유전자를 포함하는 이들 바이러스 벡터의 비강 투여는 뇌로의 전달을 허용한다. 비강 전달은 뇌로 직접 전달하기 위해 혈뇌 장벽을 우회할 수 있는 몇 가지 가능성이 있는 "코-뇌"(N2B) 수송 시스템(Djupesland, 2013)을 이용하는 것으로 믿어진다. 여기에는 비점막에서 흡수된 약물의 부비동으로 및 결국에는 경동맥으로의 배출이 포함되며, 여기서 정맥혈로부터 뇌로의 "역류 전달"이 발생할 수 있다. 중추신경계(CNS) 사이의 후각 삼차 신경부터 혈관주위 공간으로의 림프로(lymphatic drainage) 또한 N2B 수송의 메커니즘으로서 가정되었다.
- [0013] 더욱이, 유전자 요법과 경구 약제 치료의 병용은 단일 요법의 효과를 향상시키는 또 다른 강력한 치료학적 접근법을 제공한다. 유전자 요법과의 병용을 위한 2가지 약제 후보는 신남산과 올레아미드를 포함한다. 신남산은 신경보호 효과를 갖는 식물에서 발견되는 천연 발생 지방산이다(Prorok *et al.*, 2019). 이는 파킨슨병에서 도파민성 뉴런의 보호를 위한 피옥시즘 증식인자-활성화 수용체a(PPARa)의 활성화에 관여하는 것으로 밝혀졌다(*Id.*). 신남산의 다양한 유도체는 이의 항산화 프로파일 및 혈뇌 장벽을 가로지르는 능력에 대해서도 알려져 있고, 이로 인해서 이들 제제는 신경퇴행성 장애 치료에 이상적이 된다(Roleira *et al.*, 2010). 올레아미드는 광범위한 신경약리학적 작용을 갖는 또 다른 지방산이다. 공지된 내인성 지방산인 올레아미드는 뇌척수액에서 처음 발견되었다(Nam *et al.*, 2017). 이는 해마에 항시(constitutively) 존재하고, 여기서 PPARa 리간드로 작용하고 수면 유도에 관여한다(Pahan, 2017). 따라서, 유전자 요법과 병용된 천연 약제로서의 신남산과 내인성 뇌 리간드로서의 올레아미드의 잠재적인 사용은 가치가 있다.
- [0014] 또한, 여러 연구는 신경-염증 및 세포자멸사(apoptotic) 경로의 유도가 LINCL을 포함하는 대부분의 형태의 NCL에서 신경 손상에 기인할 수 있다고 결론을 내렸다(Geraets *et al.* 2016, Dhar *et al.* 2002, Puranam *et al.* 1997, Kohan *et al.* 2011). 염증이 LINCL에서 개시 인자는 아니지만, 신경교-매개 지속 염증 반응은 질환 진행에 기여하는 것으로 믿어진다(Cooper *et al.* 2015, Macauley *et al.* 2014). FDA 승인된 지질-저하 약물인 켄피브로질은 혈액 순환에서 트리글리세라이드의 수준을 감소시키고 고지혈증의 위험을 감소시키는 것으로 공지되어 있다(Robins *et al.* 2001, Rubins & Robins 1992, Rubins *et al.* 1999). 그러나, 최근의 수많은 연구는 켄피브로질이 이의 지질 저하 효과 외에도, 염증, T-헬퍼 세포의 전환, 세포-대-세포 접촉, 이동, 산화 스트레스 및 리소좀 생물발생을 담당하는 다른 많은 신호전달 경로를 또한 조절할 수 있음을 밝히고 있다(Ghosh & Pahan 2012a, Corbett *et al.* 2012, Ghosh *et al.* 2012, Jana *et al.* 2007, Jana & Pahan 2012, Dasgupta *et al.* 2007, Pahan *et al.* 2002, Roy & Pahan 2009, Ghosh *et al.* 2015). 따라서, 켄피브로질과 병용된 유전자 요법은 큰 잠재력을 가지고 있다.

발명의 내용

- [0015] 본원에 기재된 일 실시형태는 리소좀 효소를 암호화하는 유전자의 치료학적 유효량을 포함하는 제1 조성물 및 약제의 치료학적 유효량을 포함하는 제2 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 리소좀 축적 질환의 치료 방법이다.
- [0016] 한 측면에서, 제1 조성물은 비강내 투여된다.
- [0017] 또 다른 측면에서, 유전자는 혈뇌 장벽을 가로질러 전달된다.
- [0018] 또 다른 측면에서, 제1 조성물은 약 7일 내지 30일마다 1회 투여된다.
- [0019] 또 다른 측면에서, 제1 조성물은 리소좀 효소를 암호화하는 유전자를 포함하는 바이러스 벡터를 포함한다.

- [0020] 한 측면에서, 바이러스 벡터는 아데노바이러스-연관 바이러스 벡터이다.
- [0021] 또 다른 측면에서, 유전자는 *ppt1*, *cln2*, *cln3*, *gale* 또는 *hexa*를 포함한다.
- [0022] 또 다른 측면에서, 리소좀 효소는 팔미토일-단백질 티오에스테라제-1, 트리펩티딜 펩티다제 1, 갈락토실세라마이드, 바테닌 또는 핵소스아미니다제 A를 포함한다.
- [0023] 또 다른 측면에서, 방법은 영아 신경세포 세로이드 리포푸신증을 포함하는 리소좀 축적 질환을 치료하기 위한 *ppt1* 유전자를 포함하는 제1 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0024] 한 측면에서, 방법은 후기 영아 신경세포 세로이드 리포푸신증을 포함하는 리소좀 축적 질환을 치료하기 위한 *cln2* 유전자를 포함하는 제1 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0025] 또 다른 측면에서, 방법은 소아 신경세포 세로이드 리포푸신증을 포함하는 리소좀 축적 질환을 치료하기 위한 *cln3* 유전자를 포함하는 제1 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0026] 또 다른 측면에서, 방법은 크라베병을 포함하는 리소좀 축적 질환을 치료하기 위한 *gale* 유전자를 포함하는 제1 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0027] 또 다른 측면에서, 상기 방법은 테이-삭스병을 포함하는 리소좀 축적 질환을 치료하기 위한 *hexa* 유전자를 포함하는 제1 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0028] 한 측면에서, 약제는 신남산, 올레아미드 또는 피브레이트를 포함한다.
- [0029] 또 다른 측면에서, 피브레이트는 쯤피브로질 또는 페노피브레이트이다.
- [0030] 또 다른 측면에서, 제2 조성물은 치료학적 유효량의 올-트랜스 레티노산(all-trans retinoic acid)을 추가로 포함한다.
- [0031] 또 다른 측면에서, 약제의 치료학적 유효량은 약제가 올-트랜스 레티노산 없이 전달될 때보다 약제가 올-트랜스 레티노산과 병용되어 투여될 때 더 낮다.
- [0032] 한 측면에서, 제2 조성물은 경구 투여된다.
- [0033] 또 다른 측면에서, 제2 조성물은 1일 1회 투여된다.
- [0034] 또 다른 측면에서, 제1 조성물과 제2 조성물을 투여하는 것은 제1 조성물 또는 제2 조성물을 단독으로 투여하는 것보다 대상체에서 더 큰 치료 효과를 제공한다.
- [0035] 또 다른 측면에서, 리소좀 축적 장애는 후기 영아 바텐병, 소아 바텐병, 크라베병, 테이-삭스병, 니만-픽병, 파브리병, 파버병 및 고셔병(Gaucher disease)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0036] 한 측면에서, 제1 조성물은 비강내 투여되고 제2 조성물은 경구 투여된다.
- [0037] 또 다른 측면에서, 제1 조성물은 적어도 7일마다 1회 투여되고, 제2 조성물은 1일 1회 투여된다.
- [0038] 또 다른 측면에서, 바이러스 벡터는 아데노바이러스-연관 바이러스 벡터이다.
- [0039] 또 다른 측면에서, 유전자는 *cln2*를 포함한다.
- [0040] 또 다른 측면에서, 제2 조성물은 쯤피브로질을 포함한다.
- [0041] 또 다른 측면에서, 제1 조성물의 투여는 수명을 약 100일 증가시켰다.

도면의 간단한 설명

- [0042] 도 1: 아데노바이러스 인간 *Cln2* 유전자(Ad-*Cln2*)의 비강내 전달은 후기 영아 바텐병의 동물 모델인 *Cln2*^(-/-) 마우스의 수명을 연장시킨다. 비강내 유전자 전달을 위해, *Cln2*^(-/-) 마우스에게 2주령부터 시작하여 4주 동안 주 2회 5 μ l의 용적 중의 Ad-*Cln2*의 5×10^6 게놈 카피를 비강내(2.5 μ l/콧구멍)로 투여하였다. 쯤피브로질(gem) 처리를 위해, 마우스에게 6주령부터 시작하여 7.5 mg/체중 kg/일의 용량으로 gem(0.1% MeC에 용해됨)을 경구 투여하였다. 도 1은 카플란-마이어 플롯으로 도시되는 생존율(%)을 설명한다.
- 도 2: 아데노바이러스 인간 *Cln2* 유전자(Ad-*Cln2*)의 비강내 전달은 후기 영아 바텐병의 동물 모델인 *Cln2*^(-/-) 마

우스의 수명을 연장시킨다. 비강내 유전자 전달을 위해, C1n2^(-/-) 마우스에게 2주령부터 시작하여 4주 동안 주 2회 5 μ l의 용적 중의 Ad-C1n2의 5 x 10⁶ 게놈 카피를 비강내(2.5 μ l/콧구멍)로 투여하였다. 켈피브로질(gem) 처리를 위해, 마우스에게 6주령부터 시작하여 7.5 mg/체중 kg/일의 용량으로 gem(0.1% MeC에 용해됨)을 경구 투여하였다. 도 2는 평균 생존 일수를 설명한다. 3마리의 수컷과 3마리의 암컷을 포함하는 6마리의 마우스(n=6)가 각 그룹에서 사용되었다. ***p< 0.001; NS, 유의하지 않음.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0043] 본원에 개시된 실시형태는 총망라한 것이거나 다음의 설명에서 본 개시내용의 범위를 정확한 형태로 한정하려는 것은 아니다. 오히려, 실시형태의 교시를 당업자가 이용할 수 있도록 실시형태가 선택되고 설명된다.
- [0044] 본 개시내용은 리소좀 효소를 암호화하는 유전자를 후기 영아 바텐병 및 크라베병과 같은 리소좀 축적 장애의 치료를 위한 약제와 병용하여 공동투여하는 방법에 관한 것이다.
- [0045] 정의
- [0046] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 기술 용어 및 과학 용어는 당업자가 통상적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 상충되는 경우, 정의를 포함하는 본 문서가 우선할 것이다. 본원에 기재된 것과 유사하거나 동등한 방법 및 재료가 본 발명의 실시 또는 시험에서 사용될 수 있지만, 바람직한 방법 및 재료가 하기에 기재된다. 본원에 언급된 모든 간행물, 특허출원, 특허 및 기타 참고 문헌은 그 전체가 참고로 포함된다. 본원에 개시된 재료, 방법 및 예는 단지 예시적이며 제한하려는 의도가 아니다.
- [0047] 본원에서 사용되는 용어 "포함한다(comprise(s))", "포함된다(include(s))", "갖는(having)", "갖다(has)", "할 수 있다(can)", "함유한다(contain(s))" 및 이들의 변형어는 추가 행위 또는 구조의 가능성을 배제하지 않는 개방형 전환 구, 용어 또는 단어인 것으로 의도된다. 단수형("a", "and" 및 "the")은 문맥상 명확히 달리 나타내지 않는 한, 복수의 지시대상을 포함한다. 본 개시내용은 또한 명시적으로 나타내진 아니건, 본원에 제시된 실시형태 또는 요소를 "포함하는", "이로 구성되는" 및 "이로 본질적으로 구성되는" 다른 실시형태를 고려한다.
- [0048] 본원에서 사용되는 용어 "비강내"는 비점막 표면과의 접촉 또는 폐의 기관지 통로에서의 흡수를 위한 흡입을 포함하는 투여 방식을 지칭한다.
- [0049] 본원에서 사용되는 용어 "경구"는 경구(oral), 장관, 구강(buccal), 구순하 및 설하 위(gastric) 투여를 포함하는 투여 방식을 지칭한다.
- [0050] 본원에서 사용되는 "치료하는", "치료하다" 또는 "치료"는 장애 또는 질환과 연관된 증상의 완화, 또는 이러한 증상의 추가 진행 또는 악화의 중단, 또는 질환 또는 장애의 방지 또는 예방을 의미한다. 예를 들어, 본 개시내용의 맥락 내에서, 성공적인 치료는 신경퇴행성 질환의 예방, 신경퇴행성 질환과 관련된 증상의 완화 또는 신경퇴행성 질환과 같은 질환의 진행의 정지를 포함할 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 대조군은 그것과 비교하여 치료를 측정하기 위한 것으로, 대조군은 치료제를 투여받지 않은 대상체이다.
- [0051] 본원에서 수치 범위의 언급을 위해, 동일한 정도의 정확성을 가진 그 사이의 각각의 개재 숫자가 명시적으로 고려된다. 예를 들어, 6 내지 9의 범위의 경우, 6 및 9 이외에도 숫자 7 및 8이 추가로 고려되고, 범위 6.0 내지 7.0의 경우, 숫자 6.0, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9 및 7.0이 명시적으로 고려된다.
- [0052] 리소좀 효소를 암호화하는 유전자와 약제학적 조성물을 대상체에게 공동투여하는 방법으로서, 상기 유전자의 치료학적 유효량과 리소좀 축적 장애의 치료를 위한 약제를 투여하는 것을 포함하는 방법이 본원에 제공된다.
- [0053] 유전자 조성물
- [0054] 일 실시형태에서, 관심대상의 치료 유전자의 "치료학적 유효량"을 포함할 수 있는 유전자 조성물이 본원에 기재된다. "치료학적 유효량"은 원하는 치료 결과를 달성하기 위해 필요한 투여량에서 및 기간 동안 유효한 양을 지칭한다. 치료 유전자의 치료학적 유효량은 당업자에 의해 결정될 수 있고, 개체의 질환 상태, 연령, 성별 및 체중과 같은 인자 및 개체에서 원하는 반응을 유발하는 조성물의 능력에 따라 달라질 수 있다. 치료학적 유효량은 또한 유전자의 임의의 독성 또는 유해한 효과보다 치료학적으로 유의한 효과가 더 큰 양이다.
- [0055] 본원에 기재된 한 측면에서, 치료 유전자를 포함하는 조성물을 전달하는 방법은 비강내 투여를 통한 것이다. 치료 유전자를 포함하는 조성물을 전달하는 방법은 수동적 또는 능동적 전달 메커니즘을 통한 비강 투여를 위한 조성물의 액체 또는 분말 제형의 전달을 포함하는 임의의 수의 코로의 투여 방식을 포함한다. 일 실시형태에서,

액체 제형은 비강 흡입, 수동 작동 비강 장치 및 기계적 분무 펌프를 통한 기화를 포함하는 다양한 메커니즘을 통해 전달될 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 이러한 전달 메커니즘을 위한 제형은 에어로졸을 함유하는 추진제 또는 추진제-비함유 흡입가능한 용액의 형태일 수 있다. 다른 실시형태에서, 기계적 분무 펌프는 수동 작동 또는 가스 구동될 수 있거나, 전기로 작동하는 네블라이저 및 아토마이저의 경우와 같이 전기적일 수 있다. 추가 실시형태에서, 분말 제형은 기계적 동력 분무기, 비강 흡입기 및 네블라이저/아토마이저를 통해 전달될 수 있다.

[0056] 비강내 투여의 목표는 궁극적으로 치료 유전자를 혈뇌 장벽을 가로질러 뇌로 전달하는 것이다. 어떠한 이론에도 얽매임 없이, 유전자 요법의 비강 투여는 뇌로 직접 전달하기 위해 혈뇌 장벽을 우회할 수 있는 몇 가지 가능성이 있는 "코-뇌"(N2B) 수송 시스템(Djupesland, 2013)을 이용할 수 있다. 여기에는 비점막에서 흡수된 약물의 부비동으로 및 결국에는 경동맥으로의 배출이 포함되며, 여기서 정맥혈로부터 뇌로의 "역류 전달"이 발생할 수 있다. 따라서, 본원에 기재된 한 측면에서, 유전자는 혈뇌 장벽을 가로질러 전달된다.

[0057] 본원에 기재된 한 실시형태에서, 치료학적 유효량의 유전자를 포함하는 유전자 조성물은 약 1일 내지 약 100일 마다 1회, 약 2일 내지 약 90일마다 1회, 약 3일 내지 약 80일마다 1회, 약 4일 내지 약 70일마다 1회, 약 5일 내지 약 60일마다 1회, 약 6일 내지 약 50일마다 1회, 7일 내지 약 40일마다 1회, 약 8일 내지 약 30일마다 1회 또는 약 9일 내지 20일마다 1회 투여된다. 한 측면에서, 유전자 조성물은 약 7일 내지 약 30일마다 1회 투여된다. 다른 측면에서, 유전자 조성물은 약 7일마다 1회 투여된다.

[0058] 본원에 기재된 일 실시형태에서, 치료 유전자는 바이러스 벡터의 사용을 통해 전달된다. 유전자 요법에 이상적인 바이러스 벡터는 독성을 유발하지 않으면서 표적 세포를 성공적으로 감염시키고 핵으로 전달되며 발현 수준을 유지할 수 있다. 바이러스 벡터는 레트로바이러스 또는 아데노바이러스를 포함하는 유전자 요법에 적합한 임의의 바이러스로 구성될 수 있다. 바이러스 벡터에 적합한 다른 바이러스는 아데노-연관 바이러스, 렌티바이러스, 폭스 바이러스, 알파바이러스 및 헤르페스 바이러스를 포함한다. 아데노-연관 바이러스 벡터는 이의 상대적으로 낮은 병원성과 지속적인 발현으로 인해 이상적인 벡터이다. 따라서, 본원에 기재된 한 측면에서, 바이러스 벡터는 아데노-연관 바이러스 벡터를 포함한다.

[0059] 본원에 기재된 다른 실시형태에서, 바이러스 벡터는 리소좀 효소를 암호화하는 치료 유전자를 포함한다. 리소좀 효소 및 연관 단백질을 암호화하는 유전자는 아스파르트릴글루코시다아미니다제(*ago*), 아릴설패타제 A(*arsa*), 아릴설패타제 B(*arsb*), 산 세라미다제(*asah1*), 자가포식 단백질 5(*atg5*), 자가포식 단백질 7(*atg7*), 팔미토일 단백질 티오에스테라제 1 또는 PPT1(*cln1*), 트리펩티딜 펩티다제 1(*cln2*), 바테닌(*cln3*), 막관통 소포체 단백질(*cln6*), 소포체 탐재물 수용체(*cln8*), 시스티노신(*ctns*), 카텡신 A(*ctsa*), 카텡신 K(*ctsk*), 포스포이노시티드 포스파타제(*fig4*), 알파-L-푸코시다제 1(*fuca1*), 산 알파-글루코시다제(*gaa*), 갈락토실세라미다제(*galc*), 갈락토사민(N-아세틸)-6-설패타제(*galns*), 베타-글루코세레브로시다제(*gba*), 알파-갈락토시다제 A(*gld*), 베타-갈락토시다제 1(*glb1*), GM2 강글리오시드 활성화제(*gm2a*), g1cNac-1-포스포트랜스퍼라제(*gnptab*), N-아세틸글루코사민-1-포스포트랜스퍼라제(*gnptg*), N-아세틸글루코사민-6-설패타제(*gns*), 베타-글루쿠로니다제(*gush*), 베타-헥소사아미니다제 A(*hexa*), 베타-헥소사아미니다제 B(*hexb*), 헤파란-알파-글루코사미니다제 N-아세틸트랜스퍼라제(*hgsnat*), 히알루로니다제-1(*hyal1*), 이두로네이트 2-설패타제(*ids*), 알파-L-이두로니다제(*idua*), 리소좀 연관 막 단백질 2(*lamp2*), 리소좀 산 리파제(*lipa*), 알파-만노시다제(*man2b1*), 베타-만노시다제(*manba*), 무코리핀-1(*mcoln1*), 라파마이신 복합체 1의 포유동물 표적 또는 라파마이신 복합체 1의 기계론적 표적(*mtorcl*), 알파-N-아세틸갈락토사아미니다제(*naga*), 알파-N-아세틸글루코사아미니다제(*naglu*), 뉴라미니다제 1(*neur1*), 니만-픽 C1(*npc1*), 니만-픽 C1(*npc2*), 파타틴-유사 포스포리파제 도메인-함유 단백질 1(*pnpla2*), 팔미토일-단백질 티오에스테라제 1(*ppt1*), 프로사포신(*psap*), N-설패글루코사민 설패하이드롤라제(*sgsh*), 시알린 단백질(*slc17a5*), TOR 조절 단백질(*slc389*), 나트륨/수소 교환체 6(*slc9a6*), 산 스펅고미엘리나제(*smpd1*), 포르밀글리신-생성 효소(*sumf1*) 또는 트리펩티딜 펩티다제 1(*tpp1*)을 포함한다. 본원에 기재된 한 측면에서, 치료 유전자는 *ppt1*, *cln2*, *cln3*, *galc* 또는 *hexa*를 포함한다.

[0060] 리소좀 축적 질환을 일으키는 리소좀 효소는 광범위하다. 리소좀 축적 질환에 관여하는 리소좀 효소의 예로는 N-아세틸갈락토사아미니다제, 산 세라미다제, 산 말타제, 산 스펅고미엘리나제, 산 스펅고미엘리나제, 산 β-글루코시다제, 지방조직 트리글리세라이드 리파제, 아릴설패타제 A, 아릴설패타제 B, ATG5, ATG7, 바테닌, 카텡신 K, 시스티노신, 부고환 분비 단백질 HE1, 갈락토사민-6-설패이트 설패타제, 갈락토실세라미드, N-아세틸글루코사민-1-포스포트랜스퍼라제의 감마 서브유닛, 글리코실아스파라기나제, GM2-활성화제 단백질, 헤파란 N-설패타제, 헥소사아미니다제 A 및 B, 히알루로니다제, 이두로네이트 2-설패타제, 리소좀 산 리파제, 리소좀 β-만노시다제, 리소좀-연관 막 단백질-2, 일가 나트륨-선택적 나트륨/수소 교환체(NHE), mTORC1, 무코리핀-1, Na-a-아

세틸글루코스아미니다제, 뉴라미니다제, 팔미토일-단백질 티오에스테라제-1, PIP(2) 5-포스파타제, 보호성 단백질/카테스핀 A, 사포신 B, 사포신 C, 시알린, SLC38A9, 설파타제-변형 인자-1, 트리펩티딜 펩티다제 1, a-갈락토시다제, a-L-푸코시다제, a-L-이두로니다제, a-만노시다제 또는 β-글루코시다제가 포함된다. 본원에 기재된 한 측면에서, 리소좀 효소는 팔미토일-단백질 티오에스테라제-1, 트리펩티딜 펩티다제 1, 갈락토실세라마이드, 바텐닌 또는 헥소스아미니다제 A를 포함한다.

[0061] 뇌를 표적화하기 위한 치료 유전자의 비강내 전달은 신경퇴행성 장애 및 리소좀 축적 장애의 치료에 이상적이다. 신경퇴행성 장애로는 알츠하이머병(AD), 헌팅턴병, 근위축성 측삭 경화증(ALS), 다계통 위축증(MSA)와 같은 파킨슨 플러스병을 포함하는 파킨슨병, 다발성 경화증(MS), 진행성 핵상 마비(PSP), 피질기저핵 변성(CBD) 또는 루이소체 치매(DLB)가 포함될 수 있다. 신경퇴행성 질환은 리소좀 축적 장애로 인해 유발될 수 있다. 바텐병은 영아 신경세포 세로이드 리포푸신증(INCL), 후기 영아 신경세포 세로이드 리포푸신증(LINCL) 및 소아 신경세포 세로이드 리포푸신증(JINCL)을 포함하는 신경세포 세로이드 리포푸신증(NCL)이라 칭해지는 장애의 그룹 중 가장 흔한 형태이다. 리소좀 축적 장애는 또한 예를 들어 테이-삭스병, 파브리병, 니만-픽병, 크라베병, 고셔병, 헌터 증후군, 알파-만노시드증, 아스파르틸글루코사민노증, 콜레스테롤 에스테르 축적 질환, 만성 헥소스아미니다제 A 결핍증, 시스틴증, 다논병, 파버병, 푸코시드축적증(Fucosidosis) 또는 갈락토시알리도시스일 수 있다. 한 측면에서, 리소좀 축적 장애는 영아 신경세포 세로이드 리포푸신증(INCL), 후기 영아 신경세포 세로이드 리포푸신증(LINCL) 및 소아 신경세포 리포푸신증 또는 크라베병을 포함한다. 본원에 기재된 한 측면에서, 리소좀 축적 장애는 후기 영아 바텐병, 소아 바텐병, 크라베병, 테이-삭스병, 니만-픽병, 파브리병, 파버병 및 고셔병을 포함한다.

[0062] 본 명세서에 기재된 또 다른 측면에서, *ppt1* 유전자는 영아 신경세포 세로이드 리포푸신증에 관여하는 효소를 암호화한다. 또 다른 측면에서, *cln2* 유전자는 후기 영아 신경세포 세로이드 리포푸신증에 관여하는 효소를 암호화한다. 또 다른 측면에서, *cln3* 유전자는 소아 신경세포 세로이드 리포푸신증에 관여하는 효소를 암호화한다. 또 다른 측면에서, *gale* 유전자는 크라베병에 관여하는 효소를 암호화한다. 또 다른 측면에서, *hexa* 유전자는 테이-삭스병에 관여하는 효소를 암호화한다.

[0063] 약제학적 조성물

[0064] 약제학적 조성물은 약제의 "치료학적 유효량" 또는 "예방학적 유효량"을 포함할 수 있다. "치료학적 유효량"은 원하는 치료 결과를 달성하기 위해 필요한 투여량에서 및 기간 동안 유효한 양을 지칭한다. 조성물의 치료학적 유효량은 당업자에 의해 결정될 수 있고, 개체의 질환 상태, 연령, 성별 및 체중과 같은 인자 및 개체에서 원하는 반응을 유발하는 조성물의 능력에 따라 달라질 수 있다. 치료학적 유효량은 또한 제제의 임의의 독성 또는 유해한 효과보다 치료학적으로 유익한 효과가 더 큰 양이다. "예방학적 유효량"은 원하는 예방학적 결과를 달성하기 위해 필요한 투여량에서 및 기간 동안 유효한 양을 지칭한다. 전형적으로, 예방학적 용량은 질환의 전 또는 초기 단계에서 대상체에서 사용되기 때문에, 예방학적 유효량은 치료학적 유효량보다 적을 것이다.

[0065] 약제는 리소좀 축적 장애의 치료를 위한 치료 효과를 유도하는 임의의 활성 성분일 수 있다. 제제는 천연 발생 또는 합성일 수 있다. 천연 발생 제제의 예로는 천연 포화 지방산 및 이들의 유도체, 예를 들어 스테아르산, 팔미트산, 신남산, 라우르산, 카프르산 등이 포함된다. 천연 발생 불포화 지방산 및 이들의 유도체의 예로는 올레산, 올레아미드, 리놀레산, 리놀렌산 및 리시놀레산이 포함된다. 본원에 기재된 한 측면에서, 약제는 신남산 또는 올레아드마이드이다.

[0066] 약제로서 합성 제제의 예로는, 예를 들어 피브레이트와 같은 지질 저하 약물이 포함된다. 피브레이트의 비제한적인 예로는 쯔피프로질, 페노피브레이트, 클로피브레이트, 베자피브레이트, 시프로피브레이트 및 클리노피브레이트가 포함된다. 쯔피프로질 (5-(2,5-디메틸페녹시)-2,2-디메틸펜탄산)은 화이자(Pfizer)에 의해 상표명 Lopid[®] 하에 시판되고 있다. 페노피브레이트 (2-(4-(4-클로로벤조일)페녹시)-2-메틸-프로판산 1-메틸 에틸 에스테르)는 애브비(Abbvie)에 의해 Tricor[®] 로서 시판되고 있다. 추가의 피브레이트로는 클로피브레이트 (2-(4-클로로페녹시)-2-메틸-프로판산 에틸 에스테르), 베자피브레이트 (2-(4-(2-(4-클로로-벤조일아미노)-에틸)페녹시)-2-메틸-프로판산), 시프로피브레이트 (2-(4-(2,2-디클로로사이클로프로필)페녹시)-2-메틸 프로판산) 및 클리노비브레이트 (2-[4-[1-[4-(2-카복시부탄-2-일옥시)페닐]사이클로헥실]페녹시]-2-메틸부탄산)이 포함된다. 본원에 기재된 한 측면에서, 약제는 피브레이트이다. 본원에 기재된 다른 측면에서, 약제는 쯔피프로질 또는 페노피브레이트이다.

[0067] 제제는 대상체(인간 또는 비-인간일 수 있는 환자와 같은)에 대한 투여에 적합한 약제학적 조성물 내로 혼입될

수 있다.

- [0068] 약제학적 조성물은 다른 치료학적으로 유효한 제제를 추가로 포함할 수 있다. 본원에 기재된 한 측면에서, 약제학적 조성물은 치료학적 유효량의 올-트랜스 레티노산을 추가로 포함한다. 올-트랜스 레티노산은 인지 활동과 관련되었으며 알츠하이머병과 연관된 산화 스트레스를 감소시키는 것으로 제안되었다(Lee *et al.*, 2009). 따라서, 올-트랜스 레티노산과 약제 및 치료 유전자를 함께 투여하는 것은 올-트랜스 레티노산, 약제 또는 치료 유전자를 단독으로 투여하는 것보다 대상체에서 더욱 향상된 치료 효과를 제공할 수 있다. 본원에 기재된 다른 측면에서, 약제의 치료학적 유효량은 약제가 올-트랜스 레티노산 없이 전달될 때보다 약제가 올-트랜스 레티노산과 병용되어 투여될 때 더욱 낮다.
- [0069] 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있다. 본원에 사용된 용어 "약제학적으로 허용되는 담체"는 비독성, 불활성 고체, 반고체 또는 액체 충전제, 희석제, 캡슐화 물질 또는 임의 유형의 제형 보조제를 의미한다. 약제학적으로 허용되는 담체로서 작용할 수 있는 물질의 일부 예는 락토오스, 글루코오스 및 수크로오스와 같지만 이에 한정되지 않는 당; 옥수수 전분 및 감자 전분과 같지만 이에 한정되지 않는 전분; 나트륨 카복시메틸 셀룰로오스, 에틸 셀룰로오스 및 셀룰로오스 아세테이트와 같지만 이에 한정되지 않는 셀룰로오스 및 이의 유도체; 분말 트라가칸트; 맥아; 젤라틴; 활석; 코코아 버터 및 좌제 왁스와 같지만 이에 한정되지 않는 부형제; 땅콩유, 면실유, 홍화유, 참기름, 올리브유, 옥수수유 및 대두유와 같지만 이에 한정되지 않는 오일; 글리콜; 프로필렌 글리콜과 같은; 에틸 올레이트 및 에틸 라우레이트와 같지만 이에 한정되지 않는 에스테르; 한천; 수산화마그네슘 및 수산화알루미늄과 같지만 이에 한정되지 않는 완충제; 알긴산; 무-발열원 물; 등장 식염수; 링거액; 에틸 알코올 및 포스페이트 완충액뿐만 아니라 나트륨 라우릴 설페이트 및 마그네슘 스테아레이트와 같지만 이에 한정되지 않는 기타 비독성 상용성 윤활제이며, 뿐만 아니라 착색제, 이형제, 코팅제, 감미료, 향미제 및 방향제, 보존제 및 항산화제가 조제자의 판단에 따라 조성물에 또한 존재할 수 있다.
- [0070] 후기 영아 신경세포 세로이드 리포푸신증과 같은 신경계 질환을 치료하는 방법은 약제 또는 약제의 약제학적 조성물을 투여하는 임의의 수의 방식을 포함할 수 있다. 본원에 기재된 한 측면에서, 약제학적 조성물은 유전자 조성물과 함께 투여된다.
- [0071] 본원에 기재된 또 다른 측면에서, 약제학적 조성물은 경구 투여된다. 경구 투여는 정제, 환제, 당의정, 경질 및 연질 껍 캡슐, 과립, 펠렛, 수성, 지질, 유성 또는 기타 용액, 수중유 에멀전과 같은 에멀전, 리포솜, 수성 또는 유성 현탁액, 시럽, 엘릭시르, 고체 에멀전, 고체 분산액 또는 분산성 분말을 포함할 수 있다. 경구 투여용 약제학적 조성물의 제조를 위해, 제제는 예를 들어 아라비아 검, 활석, 전분, 당(예를 들어, 만니토오스, 메틸 셀룰로오스, 락토오스와 같은), 젤라틴, 계면활성제, 마그네슘 스테아레이트, 수성 또는 비수성 용매, 과라핀 유도체, 가교결합제, 분산제, 유화제, 윤활제, 보존제, 향미제(예를 들어, 에테르 오일), 용해도 향상제(예를 들어, 벤질 벤조에이트 또는 벤질 알코올) 또는 생체이용률 향상제(예를 들어, Gelucire.TM)와 같은 통상적으로 공지되고 사용되는 보조제 및 부형제와 함께 혼합될 수 있다. 약제학적 조성물에서, 제제는 또한 마이크로입자, 예를 들어 나노입자, 조성물에 분산될 수 있다.
- [0072] 일 실시형태에서, 치료학적 유효량의 약제학적 조성물은 약 1일 내지 약 100일마다 1일 1회, 약 2일 내지 약 90일마다 1일 1회, 약 3일 내지 약 80일마다 1일 1회, 약 4일 내지 약 70일마다 1일 1회, 약 5일 내지 약 60일마다 1일 1회, 약 6일 내지 약 50일마다 1일 1회, 7일 내지 약 40일마다 1일 1회, 약 8일 내지 약 30일마다 1일 1회 또는 약 9일 내지 약 20일마다 1일 1회 투여된다. 본원에 기재된 다른 실시형태에서, 약제학적 조성물은 약 1일 내지 약 100일마다 2회, 약 2일 내지 약 90일마다 2회, 약 3일 내지 약 80일마다 1회, 약 4일 내지 약 70일마다 1회, 약 5일 내지 약 60일마다 1회, 약 6일 내지 약 50일마다 1회, 7일 내지 약 40일마다 1회, 약 8일 내지 약 30일마다 1회, 또는 약 9일 내지 약 20일마다 1회 투여된다. 본원에 기재된 한 측면에서, 약제학적 조성물은 매일 투여된다.
- [0073] 병용 요법
- [0074] 공동투여에 의해 유전자 요법과 약제학적 조성물을 병용하면 각 개별 요법의 효과가 더욱 향상될 뿐만 아니라, 각 개별 조성물의 다양한 작용 메커니즘으로 인해 치료에 대한 다면적 접근을 제공한다. 이러한 방식으로, 효소 기능이 회복될 뿐만 아니라 기능적 효소의 집단이 향상된다. 따라서, 본원에 기재된 한 측면에서, 유전자 전달은 리소솜 기능을 회복시키고, 약제는 리소솜의 양을 증가시킨다. 본원에 기재된 또 다른 측면에서, 제1 조성물과 제2 조성물의 공동투여는 제1 조성물 또는 제2 조성물 단독의 투여보다 대상체에서 더 큰 치료 효과를 제공한다. 일부 측면에서, 유전자 조성물은 하나의 간격으로 전달될 수 있고 약제학적 조성물은 제2의 상이한 간격으로 전달될 수 있다. 일부 측면에서, 유전자 조성물은 약제학적 조성물보다 덜 빈번하게 전달될 수 있다. 비제

한적인 예로서, 유전자 조성물은 매주 전달될 수 있고 약제학적 조성물은 매일 전달될 수 있다. 다른 병용 투약 용법도 병용 요법을 전달하는 데 사용될 수 있다.

- [0075] 본 개시내용은 하기의 비제한적 실시예에 의해 예시되는 다수의 측면을 갖는다.
- [0076] 실시예
- [0077] 신경퇴행성 장애의 동물 모델에서 약제학적 조성물과 병용된 비강내 유전자 요법의 효과를 평가하기 위한 연구가 수행될 것이다.
- [0078] **유전자 조성물 및 약제학적 조성물.** 유전자 조성물은 *ppt1*, *cln2*, *cln3*, *galc* 또는 *hexa* 유전자를 포함하는 아데노-연관 바이러스 벡터를 사용하여 제조될 것이다. 경구 젤피브로질, 신남산 또는 올레아미드 조성물이 사용될 것이다.
- [0079] **분무.** 일부 측면에서, 비강내 전달을 위해 분무가 사용될 것이지만, 점비액, 연고, 분무 펌프 및 가압 에어로졸과 같지만 이에 한정되지 않는 다른 비강내 방법도 사용될 수도 있다. DSI™에 의한 복스코 흡입 타워 올인원 컨트롤러(Buxco Inhalation Tower All-In-One Controller)가 분무용 공기 공급을 위해 사용될 것이다(도 1A). 전신 챔버에는 복스코 바이어스 유동 펌프로부터 공기가 공급되는 Aeroneb® Ultrasonic Nebulizer(도 1B)가 장착될 것이다. 마우스에게 3분 동안 적절한 용량으로 유전자 조성물(100pi 이중 증류수/마우스의 용적으로 가용화됨)이 분무될 것이다. 마우스의 대조군은 또한 분무에 의해 100 μ l 물을 투여받을 것이다.
- [0080] 실시예 1: 영아 신경세포 세로이드 리포푸신증
- [0081] **INCL을 갖는 마우스에서 비강내 유전자 요법 및 경구 젤피브로질, 신남산 또는 올레아미드로의 *ppt1*^(-/-) 마우스 처리:** 동일한 배경 유래의 연령- 및 성별-일치된 *ppt1*^(+/+) 마우스가 야생형(WT) 대조군으로서 사용될 것이고, *ppt1*^(-/-) 동물은 다른 처리군에서 사용될 것이다. 마우스는 유전자 요법 조성물, 및 젤피브로질, 신남산 및 올레아미드로 이루어진 그룹으로부터 선택된 약제학적 조성물로 처리될 것이고, 대조군은 담체로만 처리될 것이다.
- [0082] *ppt1*^(-/-) 마우스 및 대조군은 매주 비강 AAV1-PPT1(마우스당 2 x 10⁶개 게놈 카피를 함유하는 2 μ l) + 매일 경구 신남산(25 mg/체중 kg/일), 올레아미드(5 mg/체중 kg/일) 또는 젤피브로질(8 mg/체중 kg/일)을 처리한 후, 수명을 기록하고 뇌 내의 축적 물질을 모니터링할 것이다.
- [0083] 실시예 2: 소아 바텐병
- [0084] *Cln3*^(-/-) 마우스는 매주 비강 AAV1-CLN3(마우스당 2 x 10⁶개 게놈 카피를 함유하는 2 μ l) + 매일 경구 신남산(25 mg/체중 kg/일), 올레아미드(5 mg/체중 kg/일) 또는 젤피브로질(8 mg/체중 kg/일)로 처리한 후, 수명을 기록하고 뇌 내의 축적 물질을 모니터링할 것이다.
- [0085] 실시예 3: 크라베병
- [0086] *Galc*^(-/-) 마우스는 매주 비강 AAV1-GALC(마우스당 2 x 10⁶개 게놈 카피를 함유하는 2 μ l) + 매일 경구 신남산(25 mg/체중 kg/일), 올레아미드(5 mg/체중 kg) 또는 젤피브로질(8 mg/체중 kg/일)로 처리한 후, 수명을 기록하고 뇌 내의 축적 물질을 모니터링할 것이다.
- [0087] 실시예 4: 테이-삭스병
- [0088] *Hexa*^(-/-) 마우스는 매주 비강 AAV1-HEXA(마우스당 2 x 10⁶개 게놈 카피를 함유하는 2 μ l) + 매일 경구 신남산(25 mg/체중 kg/일), 올레아미드(5 mg/체중 kg/일) 또는 젤피브로질(8 mg/체중 kg/일)로 처리한 후, 수명을 기록하고 뇌 내의 축적 물질을 모니터링할 것이다.
- [0089] 실시예 5: 후기 영아 신경세포 세로이드 리포푸신증(LINCL)
- [0090] 비강내 유전자 전달은 치명적인 리소좀 축적 장애에 대한 유효한 옵션으로서 조사하였다. 트리펩티딜 펩티다제 1(TPP1) 효소의 결핍 또는 기능 상실을 초래하는 *Cln2* 유전자의 돌연변이로 인해 유발되는 희귀 신경퇴행성 질환인 후기 영아 신경세포 세로이드 리포푸신증(LINCL)의 마우스 모델을 사용하였다.
- [0091] 아데노바이러스 벡터는 인간 *Cln2* 유전자(Ad-Cln2)를 비강내 경로를 통해 2주령 *Cln2*^{-/-} 마우스에 전달하였다(주

2회 5 μ l 용적 중의 Ad-Cln2의 5×10^6 개 계놈 카피; 2.5 μ l/콧구멍). 4주의 비강내 유전자 요법 후, 한 마우스 그룹(n=6)은 처리하지 않고 남겨두고 다른 마우스 그룹(n=6)은 7.5mg/체중 kg/일의 용량에서 쥘피브로질로 경구 처리하였다. 따라서, Ad-Cln2를 투여받지 않은 한 그룹의 Cln2^{-/-} 마우스도 쥘피브로질로 경구 처리하였다.

[0092] 쥘피브로질 처리는 Cln2^{-/-} 마우스의 수명을 유의하게 증가시키는 것으로 밝혀졌다(도 1 내지 도 2). 그러나, 4주간의 격주 비강내 유전자 전달 단독은 Cln2^{-/-} 마우스의 수명을 증가시키는 데 있어 쥘피브로질보다 유의하게 더 효과적이었다(도 1 내지 도 2). 그러나, 4주간의 격주 비강내 유전자 전달 단독은 Cln2^{-/-} 마우스의 수명을 증가시키는데 있어 쥘피브로질보다 유의하게 더 효과적이었다(도 1 내지 도 2). 대조적으로, 경구 쥘피브로질 처리는 비강내 Ad-Cln2를 투여받은 Cln2^{-/-} 마우스의 수명을 더 증가시키지 않았다(도 1 내지 도 2).

[0093] 본 명세서에 인용된 모든 간행물, 특허 및 특허출원은 이러한 인용이 사용되는 교시를 위해 본원에 참고로 포함된다.

[0094] 관찰된 특정 반응은 사용되는 제형의 특정 유형 및 투여 방식에 따라 그리고 이에 의존하여 달라질 수 있고, 이러한 결과의 예상된 변화 또는 차이는 본 발명의 실시예에 따라 고려된다.

[0095] 본원에서 본 발명의 구체적인 실시형태가 상세히 예시되고 설명되지만, 본 발명은 이에 한정되지 않는다. 상기 상세한 설명은 본 발명의 예시로서 제공되며, 본 발명의 어떠한 제한으로도 해석되지 않아야 한다. 변형은 당업자에게 명백할 것이며, 본 발명의 취지를 벗어나지 않는 모든 변형은 첨부된 청구범위에 포함되는 것으로 의도된다.

[0096] 참고문헌

Chang, M., Cooper, J. D., Sleat, D. E., Cheng, S. H., Dodge, J. C., Passini, M. A., Lobel, P., and Davidson, B. L. (2008) *Mol Ther* **16**, 649-656.

Cooper, J. D., Tarczyluk, M. A. and Nelvagal, H. R. (2015) Towards a new understanding of NCL pathogenesis. *Biochim Biophys Acta*, **1852**, 2256-2261.

Corbett, G. T., Gonzalez, F. J. and Pahan, K. (2015) Activation of peroxisome proliferator-activated receptor alpha stimulates ADAM10-mediated proteolysis of APP. *Proc Natl Acad Sci USA*, **112**, 8445-8450.

Dasgupta, S., Roy, A., Jana, M., Hartley, D. M. and Pahan, K. (2007) Gemfibrozil ameliorates relapsing-remitting experimental autoimmune encephalomyelitis independent of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha. *Mol Pharmacol*, **72**, 934-946.

De Duve, C. and Wattiaux, R. (1966) Functions of lysosomes. *Annu Rev Physiol*, **28**, 435-492.

Dersh, D., Iwamoto, Y., and Argon, Y., *Mol Biol Cell* (2016) Dec 1; 27(24): 3813-3827.

Djupesland, P.G. (2013) Nasal drug delivery devices: characteristics and performance in a clinical perspective—a review. *DrugDeliv TranslRes*. **3(1)**, 42-62.

Dhar, S., Bitting, R. L., Rylova, S. N., Jansen, P. J., Lockhart, E., Koeberl, D. D., Amalfitano, A. and Boustany, R. M. (2002) Flupirtine blocks apoptosis in batten patient lymphoblasts and in human postmitotic CLN3- and CLN2-deficient neurons. *Ann Neurol*, **51**, 448-466.

Dolisca, S.B., Mehta, M., Pearce, D.A., Mink, J. W., Maria, B. L., *J Child Neurol* (2013) Sep; **28(9)**: 1074-1 100.

Food and Drug Administration-approved lipid-lowering drugs, up-regulate tripeptidyl-peptidase 1 in brain cells via peroxisome proliferator-activated receptor alpha: implications for late infantile Batten disease therapy. *J Biol Chem*, **287**, 38922-38935.

Geraets, R. D., Koh, S., Hastings, M. L., Kielian, T., Pearce, D. A. and Weimer, J. M. (2016) Moving towards effective therapeutic strategies for Neuronal Ceroid Lipofuscinosis. *Orphanet J Rare Dis*, **11**, 40.

Goebel, H. H. (1995) *J Child Neurol* **10**, 424-437.

Ghosh, A., Jana, M., Modi, K., Gonzalez, F. J., Sims, K. B., Berry-Kravis, E. and Pahan, K. (2015) Activation of peroxisome proliferator-activated receptor alpha induces lysosomal biogenesis in brain cells: implications for lysosomal storage disorders. *J Biol Chem*, **290**, 10309-10324.

[0097]

- Ghosh, A. and Pahan, K. (2012a) Gemfibrozil, a lipid-lowering drug, induces suppressor of cytokine signaling 3 in glial cells: implications for neurodegenerative disorders. *J Biol Chem*, 287, 27189-27203.
- Hachiya, Y., Hayashi, M., Kumada, S., Uchiyama, A., Tsuchiya, K., and Kurata, K. (2006) *Acta Neuropathol* 111, 168-177.
- Hawkins-Salsbury, J.A., Cooper, J.D., and Sands, M.S., (2013) *Biochim Biophys Acta* 1832(11): 1906-1909.
- Jana, M. and Pahan, K. (2012) Gemfibrozil, a lipid lowering drug, inhibits the activation of primary human microglia via peroxisome proliferator-activated receptor beta. *Neurochem Res*, 37, 1718-1729.
- Kohan, R., Cismondi, I. A., Oller-Ramirez, A. M., Guelbert, N., Anzolini, T. V., Alonso, G., Mole, S. E., de Kremer, D. R. and de Halac, N. I. (2011) Therapeutic approaches to the challenge of neuronal ceroid lipofuscinoses. *Curr Pharm Biotechnol*, 12, 867-883.
- Lane, S. C., Jolly, R. D., Schmechel, D. E., Alroy, J., and Boustany, R. M. (1996) *Neurochem* 67, 677-683.
- Lee, H. P., Casadesus, G., Zhu, X., Lee, EL, Perry, G., Smith, M.A., Gustaw-Rothenberg, K. and Lemer, A. (2009) *Expert Rev Neurother*. 9(11): 1615-1621.
- Macauley, S. L., Wong, A. M., Shyng, C. et al. (2014) An anti-neuroinflammatory that targets dysregulated glia enhances the efficacy of CNS-directed gene therapy in murine infantile neuronal ceroid lipofuscinosis. *JNeurosci*, 34, 13077-13082.
- Mole, S. E., Williams, R. E., and Goebel, H. H. (2005) *Neurogenetics* 6, 107-126.
- Nam, H.Y., Na, E. J., Lee, E., Kwon, Y., and K. H.J., *Front Pharmacol*. (2017); 8: 817.
- Pahan, K., *Improvement of Brain Function by a Lipid-Lowering Factor*, (2017)
<https://www.rush.edu/sites/default/files/2017RushNeuroscienceReview.pdf#page=20>
- Pahan, K. (2006) Lipid-lowering drugs. *Cell Mol Life Sci*, 63, 1165-1178.
- Pahan, K., Jana, M., Liu, X., Taylor, B. S., Wood, C. and Fischer, S. M. (2002) Gemfibrozil, a lipidlowering drug, inhibits the induction of nitric-oxide synthase in human astrocytes. *J Biol Chem*, 277, 45984-45991.
- Pavuluri, P., Vadakedath, S., Gundu, R., Uppulety, S., and Kandi, V., *Cureus* (2017) Jan; 9(1): e949.
- Prorok, T., Malabendu, J., Patel, D., and Pahan, K., *Neurochem Research* (2019)
<https://doi.org/10.1007/s11064-018-02705-0>.

[0098]

Puranam, K., Qian, W. H., Nikbakht, K., Venable, M., Obeid, L., Hannun, Y. and Boustany, R. M. (1997) Upregulation of Bcl-2 and elevation of ceramide in Batten disease. *Neuropediatrics*, **28**, 37-41.

Robins, S. J., Collins, D., Wittes, J. T. et al. (2001) Relation of gemfibrozil treatment and lipid levels with major coronary events: VA-HIT: a randomized controlled trial. *JAMA*, **285**, 1585-1591.

Roleira, F.M.; Siquet, C.; Orru, E.; Garrido, E.M.; Garrido, J.; Milhazes, N.; Podda, G.; Paiva-Martins, F.; Reis, S.; Carvalho, R.A.; et al. Lipophilic phenolic antioxidants: Correlation between antioxidant profile, partition coefficients and redox properties. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 5816-5825.

Roy, A. and Pahan, K. (2009) Gemfibrozil, stretching arms beyond lipid lowering. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, **31**, 339-351.

Rubins, H. B. and Robins, S. J. (1992) Effect of reduction of plasma triglycerides with gemfibrozil on high-density-lipoprotein-cholesterol concentrations. *J Intern Med*, **231**, 421-426.

Rubins, H. B., Robins, S. J., Collins, D. et al. (1999) Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high-density lipoprotein cholesterol. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial Study Group. *N Engl J Med*, **341**, 410-418.

Shaw, Alan R. & Feinberg, Mark B., *Clinical immunology* (4th ed., 2013).

Sleat, D. E., Donnelly, R. J., Lackland, H., Liu, C. G., Sohar, F, Pullarkat, R. K., and Lobel, P. (1997) *Science* **277**, 1802-1805.

Vines, D. J., and Warburton, M. J. (1999) *FEBS Lett* **443**, 131-135.

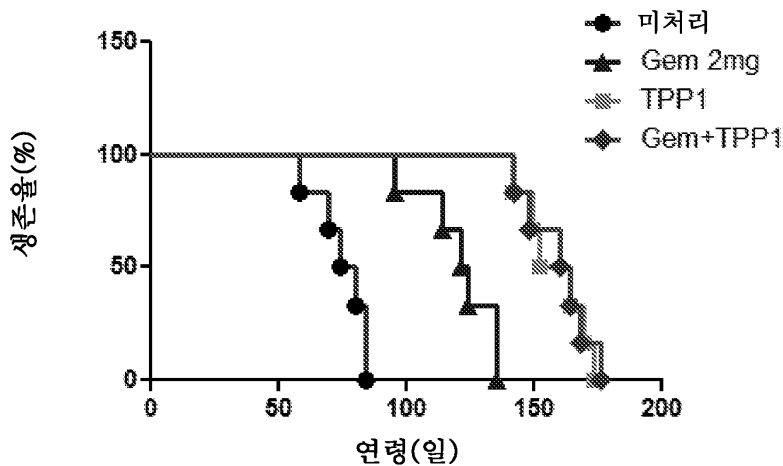
Viglio, S., Marchi, E., Wisniewski, K., Casado, B., Cetta, G., and Iadarola, P. (2001) *Electrophoresis* **22**, 2343-2350.

Walus, M., Kida, E., and Golabek, A. A. (2010) *Hum Mutat* **31**, 710-721.

[0099]

도면

도면1



도면2

