

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2009-0027732 (43) 공개일자 2009년03월17일
(51) Int. Cl. <i>A61K 35/74</i> (2006.01) <i>A61P 21/02</i> (2006.01) (21) 출원번호 10-2009-7001114 (22) 출원일자 2009년01월19일 심사청구일자 없음 번역문제출일자 2009년01월19일 (86) 국제출원번호 PCT/EP2007/005754 국제출원일자 2007년06월28일 (87) 국제공개번호 WO 2008/000490 국제공개일자 2008년01월03일 (30) 우선권주장 60/817,756 2006년06월29일 미국(US)		(71) 출원인 메르츠 파마 게엠베하 운트 코. 카가아 독일연방공화국 60318 프랑크푸르트 암 마인 에첸하이머 란트스트라세 100 (72) 발명자 마르크스, 마티아스 독일 만하임 68199, 임 로호 52 그라페, 수산네 독일 프랑크푸르트 암 마인 60599, 발두인스트라세 3씨 (뒷면에 계속) (74) 대리인 김성기, 김진희

전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 보툴리눔 독소의 신경독성 성분의 고 빈도 사용

(57) 요약

본 발명은 클로스트리디움 보툴리눔 독소 복합체의 신경독성 성분을 함유하는 조성물을 투여함으로써 질병 및 증상을 치료하는 방법에 관한 것으로서, 상기 조성물은 클로스트리디움 보툴리눔 독소 복합체의 다른 단백질을 함유하지 않으며, 상기 조성물은 짧은 투여간격 및/또는 고용량으로 투여된다.

(72) 발명자

베네케, 라이너

독일 네우 툰도르프 18184, 암 스톨켄호프 5

드레슬러, 디르크

독일 함부르크 20144, 브람살레 21

특허청구의 범위

청구항 1

환자의 외분비선 또는 근육의 과잉 반응성 콜린성 신경 분포와 관련되거나 또는 이에 기인한 질병 또는 상태의 치료 방법으로서, 상기 방법은 유효량의 클로스트리디움 보툴리눔 독소 복합체(*Clostridium botulinum* toxin complex)의 신경독성 성분을 포함하는 조성물 투여 단계를 포함하며, 상기 조성물은 클로스트리디움 보툴리눔 독소 복합체의 다른 단백질 성분을 포함하지 않으며,

- (a) 상기 환자는 인간이고,
- (b) 상기 조성물은 주사 투여되고, 그리고
- (c) 상기 조성물은 3개월 미만의 투여간격으로 투여되되, 투여간격은 1차 치료 및 2차 치료를 포함하며, 상기 2차 치료의 투여량은 1차 치료의 투여량보다 적거나, 많거나 또는 동일할 수 있는 것인 치료 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 2차 치료는 상기 1차 치료의 치료 효과를 향상시키기위해 실시되는 것인 치료 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

- (a) 상기 환자는 중증의 운동 장애 또는 중증의 경직(spasticity) 증상을 가진 환자이고; 그리고
- (b) 상기 투여 유효량은 성인의 경우 500U의 신경독성 성분을 초과하거나, 소아의 경우 15U/체중kg를 초과하는 것인 치료 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 500U를 초과하는 용량은 성인의 경우 총량이며, 15U/체중kg를 초과하는 용량은 소아의 경우 총량이고, 상기 용량은 하기 단계에 의해 투여되는 것인 치료 방법:

- (a) 1차 치료세션 동안 이 용량의 1차 분획을 주사투여하는 단계; 및
- (b) 1회 이상의 연속 치료세션 동안에 남은 분획을 주사투여하는 단계로서, 상기 연속 치료세션은 상기 1차 치료세션 하루 이상 이후에 예정되는 것인 단계.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 클로스트리디움 보툴리눔 독소로 치료받았으나 치료 효과의 감소에 대한 불만이 있고, 상기 치료 후 3개월 만료 전 치료가 필요한 인간인 치료 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 과잉 반응성 분비선은 자율 외분비선이며, 상기 조성물은 그 분비선 근처 또는 분비선 내로 주사투여되는 것인 치료 방법.

청구항 7

제6항에 있어서,

- (a) 상기 분비선은 땀샘, 눈물샘, 침샘 및 점액샘으로 이루어진 군으로부터 선택되는 분비선이거나; 또는
- (b) 상기 분비선은 프레이 증후군(Frey syndrome), 악어 눈물 증후군(Crocodile Tears syndrome), 겨드랑이 다한증(axillar hyperhidrosis), 손바닥 다한증, 발 다한증, 머리 및 목 다한증, 몸 다한증, 비루, 또는 뇌졸중, 파킨슨씨병 또는 근위축성 측삭 경화증 환자의 상대적 과잉 침흘림(hypersalivation)으로 이루어진 군에서 선택되는 질병 또는 상태에 관련된 분비선인 것인 치료 방법.

청구항 8

환자의 근육의 과잉 반응성 콜린성 신경 분포에 기인한 질병 또는 상태의 치료 방법으로서, 상기 방법은 유효량의 클로스트리디움 보툴리눔 독소 복합체의 신경독성 성분을 포함하는 조성물 투여 단계를 포함하며, 상기 조성물은 클로스트리디움 보툴리눔 독소 복합체의 다른 단백질 성분을 포함하지 않으며,

(a) 상기 환자는 중증의 운동 장애 또는 중증의 경직 증상을 가진 환자이고;

(b) 상기 조성물은 주사 투여되며; 그리고

(c) 상기 투여 유효량은 성인의 경우 500U의 신경독성 성분을 초과하거나, 소아의 경우 15U/체중kg를 초과하는 것인 치료 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 500U를 초과하는 용량은 성인의 경우 총량이며, 15U/체중kg를 초과하는 용량은 소아의 경우 총량이고, 상기 용량은 하기 단계에 의해 투여되는 것인 치료방법:

(a) 1차 치료세션 동안 이 용량의 1차 분획을 주사투여하는 단계; 및

(b) 1회 이상의 연속 치료세션 동안에 남은 분획을 주사투여하는 단계로서, 상기 연속 치료세션은 상기 1차 치료세션 하루 이상 이후에 예정되는 것인 단계.

청구항 10

제8항 또는 제9항에 있어서, 상기 조성물은 3개월 미만의 투여간격으로 투여되되, 투여간격은 1차 치료 및 2차 치료를 포함하며, 상기 2차 치료의 투여량은 1차 치료의 투여량보다 적거나, 많거나 또는 동일할 수 있는 것인 치료 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 질병 또는 상태는 근육 긴장이상증(dystonia)이거나 이를 포함하는 것인 치료 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 긴장이상증은

(a) (1) 안검경련(blepharospasm), 개구형 또는 폐구형의 구하악부 긴장이상증, 이같이, 메이그 증후군(Meige syndrome), 혀 긴장 이상증, 눈뜨기 상실증을 포함하는 두개 긴장이상증, (2) 전굴(antecollis), 목후굴(retrocollis), 측경(laterocollis), 사경(torticollis)을 포함하는 목 긴장이상증, (3) 인두 긴장 이상증, (4) 내전근형 또는 외전근형의 경련성 발성장애, 경련성 호흡곤란을 포함하는 후두 긴장이상증, (5) 작가의 근육경련(cramp), 음악가의 근육경련, 또는 골프선수의 근육경련을 포함하는 작업 특이적 긴장이상증과 같은 팔 긴장이상증, 대퇴 내전근, 대퇴 외전근, 무릎 굴곡(flexion), 무릎 신전(extension), 발목 굴곡, 발목 신전 또는 내반 척추 변형을 포함하는 다리 긴장이상증, 선조체 발가락, 발가락 굴곡 또는 발가락 신전을 포함하는 발 긴장이상증, 피사 증후군(Pisa syndrome) 또는 벨리 댄서 긴장이상증과 같은 축성 긴장이상증, 체절성 긴장이상증, 반신성 또는 전신성 긴장이상증을 포함하는 사지 긴장이상증, (6) 루백(Lubag)에서의 긴장이상증, (7) 피질 기저 퇴화에서의 긴장이상증, (8) 지연성 긴장이상증, (9) 척수소뇌성 운동실조에서의 긴장이상증, (10) 파킨슨씨병에서의 긴장이상증, (11) 헌팅턴병에서의 긴장이상증, (12) 할레보르텐-스팟 병(Hallervorden Spatz disease)에서의 긴장이상증, (13) 도파-유도 운동 이상증(dyskinesia)/도파-유도 긴장이상증, (14) 지연성 운동 이상증/지연성 긴장이상증, (15) 발작성 운동 이상증/긴장이상증(운동성, 비-운동성, 활성-유도성)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 긴장이상증; 또는

(b) 사경, 측경, 목후굴, 전굴, 굴곡 팔꿈치, 내전된 전완, 굴곡 손목, 무지의 내전 굴곡 변형(thumb-in-palm) 또는 접힌 손목으로 이루어진 군으로부터 선택되는 임상 패턴을 포함하는 긴장이상증인 것인 치료 방법.

청구항 13

제11항에 있어서, 상기 근육은 동측 판상근(ipsilateral splenius), 대측 흉쇄유돌근(contralateral sternocleidomastoid), 동측 흉쇄유돌근(ipsilateral sternocleidomastoid), 두 판상근(splenius capitis), 사각근 복합근(scalene complex), 견갑거근(levator scapulae), 후척추(postvertebralis), 동측 승모근

(ipsilateral trapezius), 견갑거근(levator scapulae), 양측성 두 판상근(bilateral splenius capitis), 상부 승모근(upper trapezius), 심 후척추(deep postvertebralis), 양측성 흉쇄유돌근(bilateral sternocleidomastoid), 사각근(scalene complex), 이하 복합근(submental complex), 상완요골근(brachioradialis), 상완이두근(biceps brachialis), 방형회내근(pronator quadratus) 원회내근(pronator teres), 요측수근굴근(flexor carpi radialis), 척측수근굴근(flexor carpi ulnaris), 장무지굴근(flexor pollicis longus), 무지내전근(adductor pollicis), 단무지굴근/맞섬근(flexor pollicis brevis/opponens), 천지굴근(flexor digitorum superficialis), 심지굴근(flexor digitorum profundus)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 치료 방법.

청구항 14

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 질병 또는 상태는 근육 경직이거나 이를 포함하는 것인 치료 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 경직은

(1) (a) 다발성 경화증, 횡단 척수염, 데빅 증후군(Devic syndrome)에 관한 것을 포함하는 자가면역 과정(autoimmune process), (b) 바이러스 감염, (c) 박테리아 감염, (d) 기생충 감염, 또는 (e) 진균 감염과 관련된 뇌염(encephalitis) 및 척수염(myelitis)의 경직 상태, (2) 유전적인 경직성 하반신 마비(paraparesis), (3) 반구경색, 뇌간 경색 또는 척수 경색에 의한 중풍 후 증후군, (4) 예를 들어 반구 상해, 뇌간 상해, 척수 상해를 포함하는 중추 신경계 외상, (5) 뇌내 출혈, 지주막하출혈, 경질막하출혈 또는 척수강내 출혈과 같은 중추신경계 출혈, (6) 예를 들어, 반구 종양, 뇌간 종양 또는 척수 종양의 신생물 형성(neoplasia), 또는 (7) 뇌졸중 후 경직, 또는 (9) 대뇌 마비에 의한 경직이거나 또는 이와 관련된 것인 치료 방법.

청구항 16

제14항에 있어서, 상기 근육은 평활근 또는 횡문근인 것인 치료 방법.

청구항 17

안면 비대칭을 제거하거나 또는 피부 주름 또는 안면 주름을 감소시키는 방법으로서, 상기 방법은 유효량의 클로스트리디움 보툴리눔 독소 복합체의 신경독성 성분을 포함하는 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하며, 상기 조성물은 클로스트리디움 보툴리눔 독소 복합체의 다른 단백질 성분을 포함하지 않으며,

(a) 상기 개체는 인간이며;

(b) 상기 조성물은 비대칭 또는 피부 주름 형성을 포함하는 하나 이상의 안면 근육 또는 근육의 근처 또는 근육 내로 피하주사 또는 근육내 주사 투여되고; 그리고

(c) 상기 조성물은 3개월 미만의 투여간격으로 투여되되, 투여간격은 1차 치료와 2차 치료를 포함하며, 상기 2차 치료의 투여량은 1차 치료의 투여량보다 적거나, 많거나 또는 동일할 수 있는 것인 치료 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 조성물은 인상 주름(frown line), 이마 수평 주름(horizontal forehead line), 눈꼬리 잔주름(crow's feet), 코 입가 주름(nose perioral fold), 턱 갈라짐(mental creases), 아래턱끝 잔주름(popply chin), 및/또는 활경근띠(platysmal bands)내로 주사투여되는 것인 치료 방법.

청구항 19

제17항 또는 제18항에 있어서, 상기 주사되는 근육은 추미근(corrugator supercillii), 안륜근(orbicularis oculi), 비근(procerus), 후두전두근의 전두복근(venter frontalis of occipitofrontalis), 안륜근의 안와부(orbital part of orbicularis oculi), 비근(nasalis), 상순(upper lip): 구륜근(orbicularis oris), 하순(lower lip): 구각하체근(depressor angulis oris), 이근(mentalis) 및 활경근(platysma)으로 이루어진 군으로부터 선택되며, 이들은 상기 주름을 형성하는데 관련되는 근육인 것인 치료 방법.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 신경독성 성분은 A, B, C, D, E, F, G형 또는 이의 혼합물로 이루어진 군에서 선택되는 것인 치료 방법.

명세서

기술분야

- <1> 본 발명은 클로스트리디움 보툴리눔 독소 복합체(Clostridium botulinum toxin complex)의 신경독성 성분을 포함하는 조성물을 투여함으로써 질병 및 증상을 치료하는 방법에 관한 것으로, 상기 조성물은 클로스트리디움 보툴리눔 독소 복합체의 다른 단백질을 함유하지 않으며, 상기 조성물은 짧은 투여 간격 및/또는 고용량으로 투여된다.
- <2> 보다 상세하게는, 본 발명은 환자의 근육 또는 외분비선의 과잉 반응성 콜린성 신경분포와 관련되거나 또는 이에 기인한 질병 또는 상태의 치료 방법에 관한 것으로서, 본 방법은 유효량의 클로스트리디움 보툴리눔 독소 복합체의 신경독성 성분을 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 조성물은 클로스트리디움 보툴리눔 독소 복합체의 다른 단백질 성분을 포함하지 않고, (a) 상기 환자는 인간이며, (b) 상기 조성물은 주사 투여되고, 그리고 (c) 상기 조성물은 3개월 미만의 투여간격으로 투여되되, 투여간격은 1차 치료 및 2차 치료를 포함하며, 상기 2차 치료의 투여량은 1차 치료의 투여량보다 적거나, 많거나 또는 동일할 수 있다. 발명은 또한 환자의 근육의 병리적 활성화와 관련되거나 이에 기인한 질병 또는 상태의 치료 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 유효량의 클로스트리디움 보툴리눔 독소 복합체의 신경독성 성분을 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 조성물은 클로스트리디움 보툴리눔 독소 복합체의 다른 단백질 성분을 포함하지 않으며, (a) 상기 환자는 중증의 운동 장애 또는 중증의 경직(spasticity) 증상을 가진 환자이며, (b) 상기 조성물은 주사투여되고; 그리고 (c) 상기 투여 유효량은 성인의 경우 500U의 신경독성 성분을 초과하거나, 소아의 경우 15U/체중kg를 초과한다. 마지막으로, 본 발명은 또한 안면 비대칭을 제거하거나 또는 피부 주름 또는 안면 주름을 감소시키는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 유효량의 클로스트리디움 보툴리눔 독소 복합체의 신경독성 성분을 포함하는 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하며, 상기 조성물은 클로스트리디움 보툴리눔 독소 복합체의 다른 단백질 성분을 포함하지 않으며, (a) 상기 개체는 인간이며; (b) 상기 조성물은 비대칭 또는 피부 주름 형성에 관련된 하나 이상의 안면 근육 또는 근육의 근처 또는 근육내로 피하주사 또는 근육내 주사 투여되고; 그리고 (c) 상기 조성물은 3개월 미만의 투여간격으로 투여되되, 투여간격은 1차 치료와 2차 치료를 포함하며, 상기 2차 치료의 투여량은 1차 치료의 투여량보다 적거나, 많거나 또는 동일할 수 있다.

배경기술

- <3> 보툴리눔 독소는 클로스트리디움 박테리아에 의해 생성된다. 7종류의 보툴리눔 독소의 항원 특이적 혈청형, 즉, 보툴리눔 독소 A, B, C, D, E, F 및 G형이 있다. 용해된 클로스트리디움 배양액으로부터 방출될 때, 보툴리눔 독소는 일반적으로 다른 박테리아성 단백질과 결합하여, 함께 독소 복합체형을 형성한다. 여기서, 이 복합체의 신경독성 서브유닛(subunit)은 보툴리눔 독소 복합체의 "신경독성 성분"으로 언급된다. 용어 "보툴리눔 독소" 또는 "보툴리눔 독소들"은 다른 단백질 클로스트리디움 단백질(clostridial protein)이 전혀 없는 신경독성 성분을 의미하나, 또한 "보툴리눔 독소 복합체"를 의미하기도 하는데, 이는 신경독성 성분의 두 상태간 구별이 필요하거나 요구되는 경우가 아닌 때에 사용된다. 이 복합체는 통상적으로 부가적인 소위 "비-독성"단백질을 포함하며, 우리는 이를 "복합 단백질" 또는 "박테리아성 단백질"이라고 할 것이다. 신경독성 성분 및 박테리아성 단백질의 복합체는 "클로스트리디움 보툴리눔 독소 복합체" 또는 "보툴리눔 독소 복합체"로 불린다. 이 복합체의 분자량은 약 300,000 내지 약 900,000Da으로 다양할 수 있다. 예를 들어, 상기 복합 단백질들은 다양한 헤마글루티닌(hemagglutinin)이다. 이 독소 복합체의 단백질은 그 자체가 독성이 아니라, 신경독성 성분에 안정성을 제공하고, 보툴리눔 중독시 경구 독성을 야기한다. 독소 복합체와 달리, 분리되어 정제된 형태, 즉, 복합체 클로스트리디움 단백질을 전혀 함유하지 않는 형태의 신경독성 성분은 산에 불안정하며, 위장관내의 극한 환경에 내성이 없다.
- <4> 보툴리눔 독소 복합체의 신경독성 성분은 처음에는 A형 혈청형의 경우, 대략 150kDa의 분자량을 갖는 단일 폴리펩타이드 채로 형성된다. 다른 혈청형에서, 신경독성 성분은 박테리아원에 따라 약 145 내지 약 170kDa로 다양하게 관찰되었다. 예를 들어, A형 혈청형의 경우, 폴리펩타이드의 단백질 분해 과정은 디설피드 결합(disulfide bond)으로 연결된 중쇄 및 경쇄로 구성되는 이중쇄(dichain) 폴리펩타이드형태의 활성 폴리펩타이드를

생성한다. 인간의 경우, 중쇄는 시냅스전 콜린성 신경 말단에의 결합 및 독소의 세포내 내재화(internalization)을 매개한다. 경쇄는 아연-엔도펩티다아제(zinc-endopeptidase)로 활동하며, 맴브레인 융합(SNARE 복합체)을 담당하는 특정 단백질을 절단하여, 독성 작용을 담당하는 것으로 여겨진다(예로서, Montecucco C., Shiavo G., Rosetto O: The mechanism of action of tetanus and botulinum neurotoxins. Arch Toxicol.1996;18(Suppl.):342-354를 참고한다). 세포내에서 맴브레인 융합 과정을 방해함으로써, 보툴리눔 독소는 아세틸콜린의 시냅스 틱새내로의 방출을 억제한다. 신경-근육 연결부에서 보툴리눔 독소의 전반적인 효과는 신경-근육 전달을 방해하고, 사실상 근육을 탈신경시키는 것이다. 또한 보툴리눔 독소는 다른 말초 콜린성 시냅스에서 활성을 가지며, 침분비 또는 땀분비의 감소를 야기한다.

<5> 보툴리눔 독소 각각의 혈청형은 시냅스전 신경 말단의 혈청형 특이 수용체 자리에 결합한다. 콜린성 신경에 대한 보툴리눔 독소의 특이성은 이들 신경 말단의 수용체 자리에 대한 중쇄의 높은 친화력에 기초한다(참고: Katsekas S., Gremmler G., Pich E. M.: Nerve terminal proteins; to fuse to learn. Transneuro Science 1994; 17: 368-379).

<6> 그 독성 효과에도 불구하고, 보툴리눔 독소 복합체는 많은 질병에 대한 치료제로서 사용되고 있다. 보툴리눔 독소 A 혈청형은 1989년 미국에서 인간의 사시증(strabism), 안검경련(blepharospasm) 및 다른 질환 치료용으로 승인받았다. 예를 들어, 보툴리눔 독소 A 단백질 복합체로서 상품명 BOTOX(Allergan Inc.) 또는 상품명 DYSPORT(Ipsen Ltd.)가 상업적으로 입수가 가능하다. 치료용으로 사용되는 복합체는 치료될 근육내로 직접 주사투여된다. 생리 pH에서, 단백질 복합체로부터 독소가 방출되고, 소정의 약리 효과가 발생된다. 보툴리눔 독소의 효과는 단지 일시적이기 때문에, 치료 효과를 유지하기 위해서 보툴리눔 독소의 반복 투여가 필요하다. 많은 경우에서, 보툴리눔 독소 단백질 복합체의 반복 투여 이후에 보툴리눔 독소에 대한 내성이 관찰되었다. 환자들은 신경독성 성분에 대하여 그 활성을 차단하는 중화 항체를 상당 수준으로 나타냈다(Goeschel H, Wohlfarth K, Frevert J, Dengler R, Bigalke H.(1997) Exp Neurol.1997 Sep;147(1):96-102.). 그 결과로서, 보툴리눔 독소 복합체에 의한 치료는 이러한 (예를 들어 Botox 또는 Dysport를 사용한) 환자들에게 더이상 유효하지 않다. Botox 또는 Dysport와 같은 보툴리눔 독소 약제의 연속적인 사용은 비효과적이다. 보툴리눔 독소 단백질 복합체 치료를 중지할 경우, 항체 역가는 감소될 수 있다. 그러나 치료가 중지되어야 하는 기간이 길어질 수 있다(예로서, Dressler D, Bigalke H (2002) Botulinum toxin antibody titres after cessation of botulinum toxin therapy. Mov Disord 17:170-173 참고).

<7> 처음에는, 보툴리눔 독소 복합체에 대한 내성은 흔하지 않은 것으로 여겨졌다. 이후 보고서는 경부 긴장이상증(cervical dystonia)으로 보툴리눔 독소 치료를 받은 환자들의 약 5%의 빈도에서 항체 유도성 치료 실패를 제시하고 있다(참고: Kessler KR, Skutta M, Benecke R., Long-term treatment of cervical dystonia with botulinum toxin A: efficacy, safety, and antibody frequency. German Dystonia Study Group. J Neurol. 1999 Apr;246(4):265-74.). 이 관찰은 단일 지점에서 환자의 후향적 평가에 기초한 것이다. 그러나, 최근에는 훨씬 더 빈번한 빈도가 보고되었고, 이는 치료 개체의 약 20%가 영향받는 것을 제시하였다(참고: The Muscular Nerve May 2004, p.630). 일반적으로, 항체 유도성 치료 실패의 위험은 보툴리눔 독소의 단일 투여량과 상당히 관련된 것으로 여겨진다.

<8> 복합체내에 포함된 단백질은 면역 반응을 강화시킬 수 있다고 여겨진다. 보툴리눔 독소 치료의 항체 유도성의 완전한 실패에 대한 다른 위험 요소는 주사투여간격 즉, 일련의 연속 주사간의 간격이다. 따라서, 항체 형성의 위험을 줄이기 위해, 매 3개월마다 단 1회만 보툴리눔 독소를 투여하는 것이 통상적이다. 보툴리눔 투여의 효과가 보다 일찍 나타나지 않게 된 환자는 경구약으로 치료할 수 있다. 그러나 이런 경구제제의 유효성은 제한적이다.

<9> 보툴리눔 독소 단백질 복합체의 또 다른 불리한 효과는 표적 근육내에 주사를 한 후, 이의 국부 또는 전신으로의 확산이다. 단일-섬유 근전도검사(SF-EMG)는 주사부위로부터 떨어진 근육에서도 증가된 신경과민(jitter)을 보여준다. 예를 들어, 1988년 Alnty 등은 목 근육내에 주사치료를 받은 환자들이 주사 부위에서 떨어진 근육에서 증가된 신경과민과 섬유 밀도를 가짐을 보여준다(Alny R. K., Aminoff M.J., Gelb D.J., Loewenstein D.H.: Myomuscular effects distant from the site of botulinum neurotoxin injection. Neurology 1988;38:1780-1783). 이런 이상반응은 약 3개월 내지 6개월 후에 정상으로 돌아온다. 국소 주사후의 보툴리눔 독소의 전신으로의 확산에 대한 다른 증거는 심혈관 반사 및 혈압에서의 변화의 발생이다(참고: Alny R.K., Aminoff M.J., Gelb D.J., Loewenstein D.H.: Myomuscular effects distant from the site of botulinum neurotoxin injection. Neurology 1988;38:1780-1783).

<10> 일부 환자에서, 고용량의 보툴리눔 독소 단백질 복합체의 투여는 치료시 근육에 의도하지 않은 영향을 줄 수 있다. 예를 들어, 보툴리눔 독소 단백질 복합체로 안검경련(blepharospasm)을 치료한 경우, 확산은 안검하수증을 야기하는 눈꺼풀 올림근에 영향을 줄 수 있다.

<11> 그러므로, 항체 형성의 위험뿐만 아니라, 전신으로의 확산에 대한 위험으로 인해 상대적으로 낮은, 따라서 잠재적으로 덜 효과적인 용량의 보툴리눔 독소 투여가 요구된다. 결과적으로, 의료진은 매 3개월 마다 1회 이하의 BOTOX 또는 DYSPORT의 투여를 강력히 권고받는다. 이것은 특히 고용량의 보툴리눔 독소가 필요한 환자에게 적용된다.

발명의 상세한 설명

<12> 상기 관점에서, 본 발명의 목적은 상대적으로 고용량 및/또는 짧은 투여간격으로 치료용 보툴리눔 독소 제제 투여가 가능한, 여기 언급한 질병을 앓는 환자들을 위한 치료방법을 제공하는 것이다. 치료용 보툴리눔 독소 제제는 특정 표적 조직(예를 들어, 특정 근육 또는 분비선)에 사용되기 때문에, 이웃 조직으로의 확산을 제한하는 것은 중요한 요구사항이다. 마지막으로 덜 중요한 것이 아닌 요구 사항은 치료적 보툴리눔 독소 제제의 감소된 항원성(antigenicity)이다. 또한 본 발명의 목적은 가변적 및/또는 빈번한 투여간격으로 적절한 약제로 근 경련성 또는 긴장 근 이상증과 관련된 질병의 치료 방법을 제공하는 것이다. 본 발명의 또 다른 목적은 감소된 항원성 위험도 및/또는 감소된 전신으로의 확산을 갖는, 빈번한 투여간격으로 약물을 사용하는 미용적 처치를 제공하는 것이다.

<13> 그러므로, 본 발명은 환자의 외분비선 또는 근육의 과잉 반응성 콜린성 신경 분포와 관련되거나 또는 이에 기인한 질병 또는 상태의 치료 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 유효량의 클로스트리디움 보툴리눔 독소 복합체(*Clostridium botulinum* toxin complex)의 신경독성 성분을 포함하는 조성물 투여 단계를 포함하며, 상기 조성물은 클로스트리디움 보툴리눔 독소 복합체의 다른 단백질 성분을 포함하지 않으며, (a) 상기 환자는 인간이고, (b) 상기 조성물은 주사 투여되고, 그리고 (c) 상기 조성물은 3개월 미만의 투여간격으로 투여되되, 투여간격은 1차 치료 및 2차 치료를 포함하며, 상기 2차 치료의 투여량은 1차 치료의 투여량보다 적거나, 많거나 또는 동일할 수 있다.

<14> 본 발명의 개념은 보툴리눔 독소 복합체의 신경독성 성분을 투여하는 단계를 포함하는 것으로서, 일반적으로 외분비선 또는 근육의 과잉 반응성 콜린성 신경분포와 관련된 임의의 상태 치료를 가능케하며, 여기서 상기 신경독성 성분은 아세틸콜린의 시냅스 틈새내로의 분비를 차단한다는 것은 주목할만 하다. 그러므로, 본 발명에 의해 제공되는 치료는 하기의 임의의 적응증에 적용될 수 있으며, 이들 적응증의 대부분은 Dressier D(2000)에 상세히 기술되어 있다(Botulinum Toxin Therapy. Thieme Verlag, Stuttgart, New York):

<15> 긴장이상증

<16> 두개 긴장이상증

<17> 안검경련

<18> 구하악부 긴장이상증

<19> 개구형

<20> 폐구형

<21> 이갈이(bruxism)

<22> 메이그 증후군(Meige syndrome)

<23> 혀 긴장이상증

<24> 눈뜨기 행위상실증(apraxia of eyelid opening)

<25> 경부(cervical) 긴장이상증

<26> 전굴(antecollis)

<27> 목후굴(retrocollis)

<28> 측경(laterocollis)

- <29> 사경(torticollis)
- <30> 인두 긴장이상증
- <31> 후두 긴장이상증
- <32> 경련성 발성장애/내전근형
- <33> 경련성 발성장애/외전근형
- <34> 경련성 호흡곤란
- <35> 사지 긴장이상증
- <36> 팔 긴장이상증
- <37> 업무 특이적 긴장이상증
- <38> 작가의 근육경련(writer's cramp)
- <39> 음악가의 근육경련
- <40> 골프선수의 근육경련
- <41> 다리 긴장이상증
- <42> 대퇴부 내전, 대퇴부 외전
- <43> 무릎 굴곡(flexion), 무릎 신전(extension)
- <44> 발목 굴곡, 발목 신전
- <45> 내반족 기형
- <46> 발 긴장이상증
- <47> 선조 발가락(striatal toe)
- <48> 발가락 굴곡
- <49> 발가락 신전
- <50> 측성 긴장이상증
- <51> 피사 증후군(Pisa syndrome)
- <52> 밸리 댄서 긴장이상증
- <53> 체질성 긴장이상증
- <54> 반신성 긴장이상증
- <55> 전신성 긴장이상증
- <56> 루백(lubag)에서의 긴장이상증
- <57> 피질 기저 퇴화에서의 긴장이상증
- <58> 루백에서의 긴장이상증
- <59> 자연성 긴장이상증
- <60> 척수소뇌성 운동실조에서의 긴장이상증
- <61> 파킨슨씨병에서의 긴장이상증
- <62> 헌팅턴병에서의 긴장이상증
- <63> 할레보르텐-스파팅(Hallervorden Spatz disease)에서의 긴장이상증
- <64> 도파-유도 운동이상증(dyskinesias)/도파-유도 긴장이상증

- <65> 지연성 운동이상증/지연성 긴장이상증
- <66> 발작성 운동이상증/긴장이상증
- <67> 운동성(kinesiogenic)
- <68> 비-운동성(non-kinesiogenic)
- <69> 활동-유도성
- <70> 구개 간대성 근경련증(palatal myoclonus)
- <71> 간대성 근경련증
- <72> 근 잔떨림(myokymia)
- <73> 강직(rigidity)
- <74> 양성 근육경련
- <75> 유전성 아래턱 떨림
- <76> 모순 턱 근육 활동
- <77> 반저작 경련
- <78> 비대성 아가미성 근질환
- <79> 교근 비대
- <80> 앞 전강근 비대
- <81> 안구진탕(nystagmus)
- <82> 진동시(oscillopsia)
- <83> 핵상 주시 마비(supranuclear gaze palsy)
- <84> 지속성 부분 간질(epilepsia partialis continua)
- <85> 경련성 사경 수술력(planning of spasmodic torticollis operation)
- <86> 외전근 성대 마비(abductor vocal cord paralysis)
- <87> 난치성 변이성 발성 장애
- <88> 상부 식도 조임근 기능 장애
- <89> 성대 주름 육아종(vocal fold granuloma)
- <90> 말더듬(stuttering)
- <91> 뚜렛 증후군 (Gilles de la Tourette Syndrome)
- <92> 중이 간대성 근경련증
- <93> 보호성 후두 폐쇄(protective larynx closure)
- <94> 후두 절제술 후 언어 실조
- <95> 보호성 안검하수증
- <96> 안검내반증(entropion)
- <97> 오디 괄약근 기능이상(sphincter Odii dysfunction)
- <98> 유사-이완불능증(pseudoachalasia)
- <99> 비이완불능 식도 운동 장애(nonachalsia oesophageal motor disorder)
- <100> 질경련(vaginismus)

- <101> 수술후 부동
- <102> 떨림
- <103> 방광 기능 장애
- <104> 배뇨근 조임근 협동 장애(detrusor sphincter dyssynergia)
- <105> 방광 조임근 경련
- <106> 반얼굴 경련(hemifacial spasm)
- <107> 신경재분포 운동이상증
- <108> 미용적 사용
- <109> 눈꼬리 잔주름(crow's feet)
- <110> 인상 찌푸림(frowning)
- <111> 안면 비대칭
- <112> 턱끝 보조개(mentalis dimples)
- <113> 강직 인간 증후군(stiff person syndrome)
- <114> 파상풍(tetanus)
- <115> 전립성 비대증
- <116> 비만증(adipositas) 치료
- <117> 소아성 대뇌 발작(infantile cerebral palsy)
- <118> 사시(strabismus)
- <119> 혼합형
- <120> 마비형
- <121> 동시형
- <122> 망막 박리 수술 후
- <123> 백내장 수술 후
- <124> 무수정체증(aphakia) 내
- <125> 외안근성(myositic) 사시
- <126> 근질환성 사시
- <127> 해리 수직 편위(dissociated vertical deviation)
- <128> 사시 수술 부속물
- <129> 내사시(esotropia)
- <130> 외사시(exotropia)
- <131> 이완 불능증(achalasia)
- <132> 항문 열창(anal fissure)
- <133> 외분비선 과잉 활동성
- <134> 프레이 증후군(Frey syndrome)
- <135> 악어 눈물 증후군(Crocodile Tears syndrome)
- <136> 다한증(hyperhidrosis)

- <137> 겨드랑이
- <138> 손바닥
- <139> 발바닥
- <140> 비루
- <141> 상대적 타액분비과다(hypersalivation)
- <142> 뇌졸중에서
- <143> 파킨슨씨병에서
- <144> 근 위축성 측상 경화증에서
- <145> 경련성 상태(spastic condition)
- <146> 뇌염 및 척수염에서
- <147> 자가 면역 과정
- <148> 다발성 경화증
- <149> 횡단성 척수염
- <150> 데빅 증후군(Devic syndrome)
- <151> 바이러스성 감염
- <152> 박테리아성 감염
- <153> 기생충 감염
- <154> 진균성 감염
- <155> 유전성 경련성 대부전 마비(hereditary spastic paraparesis)에서
- <156> 중풍 후 증후군(postapoplectic syndrome)
- <157> 반구 경색(hemispheric infarction)
- <158> 뇌간 경색
- <159> 척수 경색
- <160> 중추 신경계 외상에서
- <161> 반구 상해
- <162> 뇌간 상해
- <163> 척수 상해
- <164> 중추 신경계 출혈에서
- <165> 뇌내 출혈
- <166> 지주막하 출혈
- <167> 경막하 출혈
- <168> 척수강내 출혈
- <169> 신생물 형성에서
- <170> 반구 종양
- <171> 뇌간 종양
- <172> 척수 종양

- <173> 예를 들어, 보툴리눔 독소는 클로스트리디움 박테리아를 배양하여 얻을 수 있다. 본 발명의 바람직한 클로스트리디움 종은 클로스트리디움 보툴리눔이다. 그러나, 신경독성 성분이 다른 박테리아 종으로부터도 유래될 수 있다는 점은 중요한 사실이다. 단 그것은 클로스트리디움 보툴리눔으로부터 유래되는 신경독성 성분과 기능적 유사체이다. 본 발명의 방법에서 사용되는 조성물은 항상 임의의 다른 클로스트리디움 보툴리눔 단백질이 없는 신경독성 성분을 포함할 것이다. 그러나, 신경독성 성분을 생산할 때, 독소는 신경독성 성분, 즉, 인간에 독성 효과를 나타내는 단백질, 및 다른 박테리아성 단백질을 포함하는 복합체로서, 박테리아로부터 분리될 수 있다. 연속적으로 신경독성 성분은 독소 복합체로부터 정제될 수 있다. 여기에 사용된 용어 "독소 복합체", "보툴리눔 독소 복합체" 또는 "보툴리눔 신경독소 복합체"는 번갈아 사용가능하고, 이들은 약 150kDa의 신경독성 성분 및 추가로 헤마글루티닌(hemagglutinin) 및 비-헤마글루티닌 단백질을 포함하는, 클로스트리디움 보툴리눔의 비-독성 단백질을 포함하는 고분자량의 복합체를 의미한다(Sakaguchi 1983; Sugiyama 1980).
- <174> 본 발명은 외분비선 또는 근육의 과잉 반응성 콜린성 신경 분포와 관련된 질병을 갖는 것을 특징으로 하는 환자 치료에 관한 것이다. 여기에 사용된 용어 "환자"는, 보툴리눔 독소에 노출된 적 없는 환자 뿐만 아니라, 보툴리눔 독소에 노출된 적 있는 환자를 말한다. 보툴리눔 독소에 노출된 적 있는 환자는 보툴리눔 독소 복합체 또는 그 성분에 대한 항체가 생겼을 수도 있다. 이런 항체들은 중화 항체일 수 있다. 바람직하게는 환자는 7mU 초과 의 항체 역가를 갖지 않으며, 특히 7mU 초과의 중화 항체 역가를 갖지 않는다. 용어 "~초과 하지 않는 항체 역가"는 7mU 미만, 예를 들어 1mU 내지 6 mU, 또는 0.01mU 내지 1mU를 의미한다.
- <175> 여기에서 사용되는 용어 "과잉 반응성 콜린성 신경분포"는 시냅스에 관한 것이며, 이는 상기 시냅스 틈새 사이로 매우 많은 양의 아세틸콜린이 방출되는 것을 특징으로 한다. "매우 많은"은 예를 들어, 동일 유형의 시냅스로 방출되는 과잉 반응 상태가 아닌 방출과 비교하여, 얻을 수 있는 기준 활성에 대해 25% 이하, 50% 이하, 또는 그 이상의 증가를 나타내며, 여기서 큰 긴장이상증은 과잉 반응 상태를 나타내는 것일 수 있다. "25% 이하"는 예를 들어, 약 1% 내지 약 25% 이다. 필요한 측정 수행 방법은 당해 기술분야에 공지되어 있다.
- <176> 본 발명과 관련하여 사용된 용어 "약"은 "대략" 또는 "거의"의 의미이다. 엄격한 수치 정의가 없는 수치에 있어서, 상기 용어는 지시된 수치 또는 범위의 +/- 10% 값으로 추정되는 것으로 파악될 수 있다.
- <177> 본 명세서 전반에 사용된 용어 "신경독성 성분" 또는 "신경독소 성분"은, 신경독성 활성을 갖으며, 대략 150kDa의 분자량을 갖는 A형 혈청형의 보툴리눔 독소 복합체의 서브유닛을 나타낸다. 용어 "신경독성 성분"은 또한 클로스트리디움 보툴리눔의 다른 혈청형에서 발견되는 기능 유사체를 포함한다. 본 발명의 바람직한 구체예에서, 신경독성 성분은 다른 C. 보툴리눔 단백질이 전혀 없으며, 바람직하게는 신경독성 성분과 잠재적으로 관련된 RNA도 없다. 신경독성 성분은 대략 50kDa의 단일쇄 전구체 단백질이거나, 대략 50kDa의 경쇄(L_c) 및 대략 100kDa의 중쇄(H_c)를 포함하는, 하나 이상의 디설피드 결합으로 연결될 수 있는, 단백질 분해 처리된 신경독성 성분일 수 있다. (예를 들어, 참고로 Simpson LL, Ann Rev Pharmacol Toxicol. 2004;44:167-93을 참조한다). 당해 분야의 기술자는 미처리된 전구체가 약간의 생물학적 기능 또는 부분적인 활성을 발휘할 수 있음에도 불구하고, 전체 생물 활성은 단백질 분해 활성 이후에만 얻어지는 것을 이해할 것이다. "생물 활성"은 (a) 수용체 결합, (b) 내재화(internalization), (c) 엔도솜 막막레인(endosomal membrane)을 가로지르는 세포질내로의 전위(translocation), 및/또는 (d) 시냅스 소체 막막레인 융합내에 관련되는 단백질의 내부단백질분해 절단(endoproteolytic cleavage)을 나타낸다. 생물 활성 측정을 위한 생체의 분석은 문헌[Pearce LB, Borodic GE, First ER, MacCallum RD (1994)(Measurement of botulinum toxin activity: evaluation of the lethality assay. Toxicol Appl Pharmacol 128: 69-77)] 및 문헌[Dressier D, Lange M, Bigalke H (2005)(The mouse diaphragm assay for detection of antibodies against botulinum toxin type B. Mov Disord 20:1617-1619)]에 의해 기술된 마우스 반형격막(hemidiaphragm) 분석 및 마우스 LD₅₀ 분석을 포함한다.
- <178> 생물 활성은 일반적으로 마우스 단위(MU)로 나타낸다. 여기에 사용된 것과 같이, 1MU는 복막내 주사투여(interperitoneal injection)후 특정 마우스군의 50%를 죽이는 신경독성 성분의 양, 즉 마우스 i.p. LD₅₀이다(Schantz & Kauter, 1978). 용어 "MU" 및 "단위" 또는 "U"로 번갈아 사용가능하다. 대안적으로, 생물 활성은 단백질(즉, 신경독성 성분)의 치사 용량 단위(LDU)/ng로 나타낼 수 있다. 여기에 사용된 용어 "MU"는 용어 "U" 또는 "LDU"로 상호교환이 가능하다.
- <179> 용어 "유효량"은 투여 후, 질병 증상을 부분적으로 또는 완전히 해소하는 신경독성 성분의 양을 의미한다. 유효량은 일반적으로 1 내지 2000MU의 범위이나, 5000MU 이하의 양이 사용될 수도 있다. 고용량의 신경독성 성분이 환자에게 투여될때, 치료를 1회 이상의 치료세션으로 나누는 것이 효과적일 수 있다. 용어 "1회 이상의 치료세

선"은 예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9회의 치료세션을 의미한다.

- <180> 바람직하게는, 본 발명의 방법에서 사용되는 신경독성 성분은 C. 보툴리눔의 배양액으로부터 정제된다. C. 보툴리눔 배양 및 이로부터 독소 복합체를 정제하는 방법은 당해 기술분야에 공지되어 있다(Schantz & Kauter, 1978. Microbiological methods. Standardized assay for Clostridium botulinum neurotoxins. J Assoc Off Anal Chem 1978; 61 (1):96-99 참고). 신경독성 성분은 본질적으로 DasGupta 및 Sathyamoorthy의 방법 [DasGupta BR, Sathyamoorthy V. Purification and amino acid composition of type A botulinum neurotoxin. Toxicon. 1984;22(3):415-24.]에 기술되어 있는 바와 같이, C. 보툴리눔으로부터 정제될 수 있다. 이를 위해, 예로서 클로스트리디움 보툴리눔 A형을 20ℓ의 발효조에서, 2%의 프로테오스 펩톤, 1%의 이스트 추출물, 1%의 글루코오스 및 0.05% 소듐 치오글리콜레이트로 구성된 배지에서 배양한다. 72시간동안 성장시킨 후, 3N의 황산을 가하여 독소를 침전시킨다(최종 pH = 3.5). 침전 및 원심분리된 바이오매스(biomass)를 pH 6.0에서 0.2M의 소듐 포스페이트 완충제로 추출한다. 프로타민 설페이트로 침전하여 핵산을 제거한 후, 암모니움 설페이트를 가하여 독소를 침전시킨다. pH 6.0에서 50mM의 소듐 포스페이트에 용해 및 투석된 침전물은 동일한 pH에서 DEAE-세파텍스[®] 컬럼에 결합되고, 150mM의 NaCl로 용출된다. 그 후, 50mM의 트리스/HCl 완충제로 pH 7.9로 평형을 맞추는, QAE-세파텍스[®] 컬럼으로 크로마토그래피를 실시한다. 독소는 NaCl은 농도구배에 따라 용출된다. 마지막 단계로, 독소를 pH 7.0에서 SP-세파텍스[®]로 크로마토그래피한다. 이 경우, 결합된 독소를 NaCl 농도 구배(0-300mM)를 이용하여 컬럼으로부터 용출시킨다. 정제된 독소를 SDS-폴리아크릴아미드 겔 전기 영동(SDS-PAGE)로 분석하고, 일반적으로 95+/-5%의 순도를 나타낸다.
- <181> 보툴리눔 신경독소, 특히 위에 기술한 독소 복합체는 종래에는 7개의 특징적인 혈청형 A, B, C, D, E, F 및 G형으로 분류되었다. 최근 수년간, A형 혈청형(A1 및 A2) 및 C형 혈청형(C1 및 C2)의 특징적인 개체군이 확인되었다. 여기서, 이 개체군을 "아형(subtype)"으로 지칭한다.
- <182> A형 혈청형의 신경독성 성분은 Merz Pharmaceuticals사의 상품명 XEOMIN으로, 클로스트리디움 보툴리눔 독소 복합체의 다른 단백질 성분을 포함하지 않는 조성물로 상업적으로 입수가능하다.
- <183> 대안적으로, 본 발명의 방법에 사용되는 신경독성 성분은 재조합 유전자 발현에 의해 생성될 수 있다. 이를 위해, 신경독성 성분 또는 이의 변이체를 암호화하는 오픈 리딩 프레임(open reading frame)은 대상 숙주 세포내 유전자 발현에 적합한 벡터내로 클론화될 수 있다. 재조합 유전자 발현 및 단백질 정제 방법은 당해 기술분야의 기술자에게 공지되어 있다.
- <184> 신경독성 성분을 암호화하는 재조합 핵산 분자는 공지 핵산 서열로부터 유래되거나, 재조합 기술 또는 화학 합성에 의하여 2 이상의 공지 서열로부터 재조합될 수 있다. 키메라(chimeric) 신경독성 성분의 예는, 예를 들어 제1 혈청형의 경쇄를 신경독성 성분의 제2 혈청형의 중쇄와 융합하여 생성된 분자이다. 화학적 합성의 예는 전체 신경독성 성분의 화학적 합성이다.
- <185> 또한 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 20개 이하의 아미노산 변이를 포함하는 유전자 변형된 신경독성 성분을 포함한다. 변이는 치환, 삽입 또는 결실일 수 있다. 바람직하게, 변이는 상기한 어떤 생물 활성도 포함하지 않는다. 그러나, 신경독성 성분의 생물 활성을 조정하기 위해 변이를 사용하는 것 또한 허용된다.
- <186> 또한 화학적으로 변성된 아미노산, 예를 들어, 글리코실화, 아세틸화 또는 다른 방식으로 변성된 하나 이상의 아미노산을 포함하는 보툴리눔 독소의 신경독성 성분을 포함하며, 이는 독소의 업테이크(uptake) 또는 안정화에 유리할 수 있다. 특히 바람직하게는 신경독성 성분의 지방화(lipidation)이다. 변성 잔기는 예를 들어, 생체의 효소반응에 의해 또는 적당한 화학 반응 조건을 이용하여, 신경독성 성분에 가해질 수 있다. 대안적으로, 숙주 세포내에서 효소를 발현시킴으로써, 변성 효소의 기능이 트랜스로 제공될 수 있다.
- <187> 위에 기술된 방법을 이용하는 경우, 신경독성 성분에 대한 중화 항체의 유도 없이 치료의 빈도가 상당히 증가된다. 이와 관련하여, 보툴리눔 독소의 보다 빈번한 투여가 치료대상 환자의 면역 반응을 유도할 가능성을 증가시키는 것으로 여겨졌기 때문에, 본 발명 이전의 공지의 치료 지침에서는 3개월 미만의 투여간격으로 보툴리눔 독소를 투여하는 것을 엄격히 피해야 했음을 유념해야 한다. 여기 기술된 예들은 보툴리눔 독소 복합체 대신 신경독성 성분을 사용함으로써 이와 같은 문제를 피할 수 있음을 뒷받침한다.
- <188> 본 발명의 바람직한 구체예에서, 상기 2차 치료는 상기 1차 치료의 치료 효과를 향상시키기 위해 실시된다. 이것은 적당한 보툴리눔 독소 용량 투여가 보다 효과적임을 보여준다. 예로서, 1차 치료세션동안 신경독성 성분의 불충분한 용량(suboptimal dose)이 투여될 수 있다. 환자의 질병 증상이 충분히 반응하지 않는다면, 2차 또는

그 이후의 치료세션에서는 더 많은 양의 신경독성 성분이 투여될 수 있다. 그러므로, 본 발명의 방법과 관련된 위험을 감소시키기 위한 관점에서, 효율적으로 환자를 치료하는데 필요한 최적의 용량에 접근하기 위해, 다수의 치료 세션이 사용될 수 있다.

- <189> 본 발명에 있어서, 1차, 2차 및 그 이후의 치료세션은 이전 치료 세션 후 하루 이상 경과한 후에 예정될 수 있다. 용어 "하루 이상 경과 후"는 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10 일, 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12주를 의미한다. 그러나, 2차 치료가 1차 치료 이후 단지 몇 시간, 예를 들어 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8시간 후에 예정되는 것 또한 본 발명에 의해 제시된다.
- <190> 바람직한 구체예에서, 1차(이전) 치료의 효과가 감소되기 시작하는 시점에서 2차(이후) 치료를 수행한다. 이런 치료 지침으로, 환자의 안정적인 삶의 질이 확보될 수 있다.
- <191> 환자의 "안정적인 삶의 질" 파라미터 측정은, 소위 안검경련장애지표(Blepharospasm Disability Index (BSD I))에 기초한, 본 발명에 따라 치료되는 일 증상, 즉, 안검경련에 대한 참고문헌에 의해 이하 예시적으로 기술한다. 안검경련장애지표[BSDI]는 문헌[BEB Goertelmeyer R, Brinkmann S, Comes G, Delcker A, The Blepharospasm Disability Index (BSDI) for the Assessment of Functional Health in Focal Dystonia, Clin. Neurophysiol. 2002; 113(1): S77-S78)]에서 기인한 일상 생활의 특정 활동장애 측정의 자가 평가 척도이다.
- <192> 상기 척도는 매 방문시 환자에게 질문을 하여 작성된다. 이는 "불편사항 없음", "약간/중등도/중증도 불편" 및 "질병으로 더이상 불가능함"의 범위를 나타내는, 5점 척도(즉, 항목당 0-4점)으로 평가되는 6개 항목을 포함한다. 6개 항목은 "운전", "독서", "TV 시청", "쇼핑", "도보" 및 "일상생활"이다. 해당되지 않는 항목의 경우 척도를 무시하는 다른 기능 척도와 달리, BSDI는 "일상생활"을 제외한 5개 항목에 대해 "해당없음"의 답변이 가능하다.
- <193> 필수항목에 대한 BSDI 평균 점수는 해당되는 답변 항목 모두를 더하여 답변 항목의 수로 나누어 계산된다.
- <194> 그러나 이런 파라미터들은 본 발명내의 치료되는 많은 다른 질병과 상태에 사용 가능하다. 예를 들어, 경부 긴장 이상증에 대한 위한 두개 경부긴장증 설문지(CCDQ 24)(Mueller J, Wissel J, Kemmler G, Bodner T, Poewe W, Quality of life in patients with craniocervical dystonia: development of the CCDQ-24, Mov. Disord. 2000; 15(Suppl 3): 761) 및 경직에 대한 스웨덴 쇼트폼 36 건강 설문지(SF-36)에 의한 HRQL(Welmer AK, von Arbin M, Widen Holmqvist L, Sommerfeld DK, Spasticity and its association with functioning and health-related quality of life 18 months after stroke, Cerebrovasc. Dis. 2006; 21 (4): 247-253).
- <195> 환자의 각각의 재주사 치료 또는 마지막 치료시, 실측 BSDI 관찰값 및 기저 BSDI 값간의 차, Δ_{BSDI} 가 계산될 것이다: $\Delta_{\text{BSDI}} = \text{BSDI}_{\text{실측}} - \text{BSDI}_{\text{기저}}$
- <196> $\text{BSDI}_{\text{기저}}$ 는 치료받는 환자의 1차 방문동안, 의약품 1차 주입 이전에 측정된다. $\text{BSDI}_{\text{실측}}$ 은 각각의 의약품 (재)투여 후 및 이로부터 3주후에 각각 측정된다.
- <197> 1차 치료에서 기록된 Δ_{BSDI} 값을 기준으로 하여, 각각의 환자는 다음의 방법으로 세 단계 중 하나에 해당하게 될 것이다:
- <198> - 제1 단계(중등도의 향상): $-1.00 \leq \Delta_{\text{BSDI}} \leq -0.65$
- <199> - 제2 단계(두드러진 향상): $-1.35 \leq \Delta_{\text{BSDI}} \leq -1.00$
- <200> - 제3 단계(징후 및 증상의 소실): $\Delta_{\text{BSDI}} \leq -1.35$
- <201> 환자를 반응도에 따라 분류한다. 즉, 만일 계산된 Δ_{BSDI} 값이 역치 Δ_c 를 초과하지 않는다면, 환자는 안정한 수준의 삶의 질을 나타내는 것이다. 역치 Δ_c 의 값은 환자가 속해 있는 단계에 따라 다르다. 역치 값은 다음과 같다:
- <202> - 제1 단계: $\Delta_c = -0.40$
- <203> - 제2 단계: $\Delta_c = -0.75$
- <204> - 제3 단계: $\Delta_c = -1.10$

- <205> 반응을 보이는 자는 이들 기저 BSDI 값의 감소, 따라서 향상된 삶의 질의 상태를 보인다. 향상의 최저 크기는 역치 Δ_c 에 의해 주어지게 된다. 제2 단계의 환자는 제1 단계의 환자보다 초기 투여시 강한 반응을 보이고(보다 낮은 BSDI 차이를 보임), 제3 단계의 환자는 제2 단계의 환자보다 더욱 강하게 반응하기 때문에, Δ_c 값은 해당 단계 숫자에 따라 감소한다.
- <206> 최종적으로, 재투여 치료일의 BSDI 값과 기저 BSDI 값 사이의 관찰된 차이를 분석하여, 재투여시(치료 효과 감소의 예상시점) 시간에 따라 삶의 질의 향상이 있는지를 조사할 것이다.
- <207> 본 발명의 범주내에서 사용되는, 상기 구체적으로 기술(및 청구)한 투여 방법은 일반적으로 환자를 치료하는 의료진의 활동영역에 속한다. 그러나, 투여 방법은 또한 제약 영역일 수도 있다. 예를 들어, 의약품 패키지는 의료진 및/또는 환자에 대한 지시사항이 담긴 구체적으로 작성된 인쇄물을 함유하고/하거나 상기 패키지는 본 발명에 따른 투여 방법이 가능하도록 구체적으로 작성된다.
- <208> 본 발명의 명세서 전반에서 사용되는 용어 "치료 당 주사투여되는 총량"은, 총투여량을 나타내고, 단일 치료동안 환자에게 투여되는 신경독소의 합을 의미한다. 단일 치료는 1회 이상의 주사투여를 포함할 수 있다. 예를 들어 흉쇄유돌근(M. sternocleidomastoideus), 두 판상근(M. splenius capitis), 두반극근(M. semispinalis capitis) 및 승모근(M. trapezius)의 치료는 1, 2, 3, 4 또는 5회의 주사투여를 포함할 수 있는 반면에, 견갑거근(M. levator scapulae) 또는 사각근(M. scaleni)의 치료는 1 내지 3회의 주사투여만을 포함할 수 있다. 이전에 지정한 바와 같이, 치료에 사용되는 양은 당해 기술분야에 알려진 많은 파라미터에 따라 달라진다. 이런 파라미터들은 예를 들어, 신경독성 성분의 혈청형, 주사 투여될 표적 조직 및 다수의 환자 특이인자를 포함한다. 본 발명의 교시에 따라, 단일 치료는 상기 언급한 신경 독성 총량을 투여하는 동안 2회 이상의 치료 세션으로 나눌 수 있다. 이것은 특히 많은 양의 신경독성 성분을 투여하는 경우일 것이다.
- <209> 또한, 본 발명 방법의 구체예를 기초로 할 때, 신경독성 성분의 추가 투여가 필요한 환자를 보다 효과적으로 치료하는 것이 가능할 것이다. 예를 들어, 1차 또는 이전 치료 이후, 추가적인 근육이 질병 증상에 기여하는 경우, 또는 근육을 놓친 경우일 것이다.
- <210> 본 발명의 또 다른 바람직한 다른 구체예에서, 환자는 고용량의 신경독성 성분이 필요한 환자이다. 본 발명의 또 다른 바람직한 구체예에서, (a) 상기 환자는 중증의 운동 장애 또는 중증의 경직 증상을 갖는 환자이며, (b) 상기 투여 유효량은 성인의 경우 500U의 신경독성 성분을 초과하거나, 또는 소아의 경우 15U/체중kg를 초과한다.
- <211> 본 발명의 구체예를 기초로 할 때, 이제 더 많은 양의 신경독성 성분으로 환자를 치료하는 것이 가능하다. 예를 들어, 성인 환자의 경우 이 양은 500U의 신경독성 성분을 초과할 수 있다.
- <212> 본 발명을 통해 사용되는 500U를 초과하는 양은, 예를 들어 500U 초과 및 550U 이하, 600U 이하, 700U 이하, 800U 이하, 900U 이하, 1000U 이하, 1100U 이하, 1200U 이하, 1300U 이하, 1400U 이하, 1500U 이하, 1600U 이하, 1700U 이하, 1800U 이하, 1900U 이하, 또는 2000U 이하의 양이다. 바람직하게는, 투여 용량은 500 내지 900U 범위내이며, 더욱 바람직하게는 약 850U이다. 소아의 경우 "고용량"은 15U/kg 초과 및 16U/kg 이하, 17U/kg 이하, 18U/kg 이하, 19U/kg 이하, 20U/kg이하의 양을 의미한다.
- <213> 본 발명의 보다 바람직한 구체예에서, 500U를 초과하는 양은 성인의 경우 총량이며, 15U/체중kg를 초과하는 용량은 소아의 경우 총량이며, 상기 용량은 (a) 1차 치료 세션동안 이 용량의 1차 분획을 주사투여하는 단계, 및 (b) 1회 이상의 연속 치료 세션(들)동안에 남은 분획을 주사투여하는 단계로서, 상기 연속 치료 세션(들)은 상기 1차 치료세션 하루 이상 이후에 예정되는 단계에 의해 투여된다. 신경독성 성분의 총 유효량은 동일 또는 다른날, 즉, 다른 치료세션에 투여될 수 있다. 바람직하게는 고용량의 신경독성 성분이 투여될 때, 총 투여 총량을 나누어 2회 이상의 치료 세션에 투여할 수 있다. 이러한 방법으로, 단일 치료 세션에서 투여될 때 쉽지 않은 고용량을 심각한 부작용이 관찰되지 않게 환자에게 투여할 수 있다.
- <214> 본 발명의 또 다른 바람직한 구체예에서, 환자는 보툴리눔 독소로 치료받은 적이 있으나 치료 효과의 감소에 대한 불만이 있고, 상기 치료 후 3개월 만료 전 치료가 필요한 인간이다.
- <215> 이런 치료 효과의 감소는 환자가 매일 질병의 정도를 기록한 치료달력(예를 들어, Merz Pharmaceuticals에서 배포한 치료달력)으로 모니터링될 수 있다.
- <216> 본 발명의 다른 바람직한 구체예에서, 과잉 반응성 분비선은 자율 외분비선이며, 상기 조성물은 그 분비선내 또

는 분비선 근처로 주사투여된다.

- <217> 바람직한 구체예에서, 자율 외분비선은 (a) 땀샘, 눈물샘, 침샘 및 점액샘으로 이루어진 군으로부터 선택되는 분비선이거나; 또는 (b) 프레이 증후군(Frey syndrome), 악어눈물 증후군(Crocodile Tears syndrome), 겨드랑이 다한증, 손바닥 다한증, 발 다한증, 머리 및 목 다한증, 몸 다한증, 비루 또는 뇌졸중, 파킨슨씨병 또는 근위축성 측삭 경화증 환자의 상대적 과잉 침흘림으로 이루어진 군으로부터 선택되는 질병 또는 상태와 관련된 과잉 반응성 분비선이다. 그러나, 신경독성 성분 치료의 표적 조직은 과잉 반응성을 갖는 임의의 외분비선을 포함함을 유의한다. 따라서, 본 발명은 여기 참고로 포함되는 Sobotta, Johannes의 문헌(Atlas der Anatomie des Menschen. 22. Auflage. Band 1 und 2. Urban & Fischer, 2005)에 언급되어 있는 임의의 분비선을 포함한 치료에 사용될 수 있다.
- <218> 본 발명은 또한 환자의 근육의 병리적 활성화에 관련되거나 이에 기인한 질병 또는 상태를 치료하는 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 유효량의 클로스트리디움 보툴리눔 독소 복합체의 신경독성 성분을 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 조성물은 클로스트리디움 보툴리눔 독소 복합체의 다른 단백질을 포함하지 않으며, (a) 상기 환자는 중증의 운동 장애 또는 중증의 경직 증상을 가진 인간이며; (b) 상기 조성물은 주사 투여되며; 그리고 (c) 상기 투여 유효량은 성인의 경우 500U의 신경독성 성분을 초과하거나, 소아의 경우 15U/체중 kg를 초과한다.
- <219> 본 발명의 바람직한 구체예에서, 500U를 초과하는 용량은 성인의 경우 총량이고, 15U/체중kg를 초과하는 용량은 소아의 경우 총량이며, 상기 용량은 (a) 1차 치료세션 동안에 이 용량의 1차 분획을 주사투여하는 단계, 및 (b) 1회 이상의 연속 치료세션 동안에 남은 분획을 주사투여하는 단계로서, 상기 연속 치료세션은 상기 1차 세션 후 하루 이상 이후에 예정되는 단계에 의해 투여된다.
- <220> 본 발명의 다른 바람직한 구체예에서, 상기 조성물은 3개월 미만의 투여간격으로 투여되며, 상기 투여간격은 1차 치료 및 2차 치료를 포함하며, 상기 2차 치료의 투여량은 1차 치료의 투여량보다 적거나, 많거나 또는 동일할 수 있다.
- <221> 본 발명의 다른 바람직한 구체예에서, 질병 또는 상태는 근육 긴장이상증이거나 또는 근육 긴장이상증을 포함한다. 용어 "긴장 이상증 또는 근육 긴장이상증 또는 이들을 포함하는 질병 또는 상태"는, 근육 긴장이상증을 포함하는 상태를 나타낸다. 바람직하게는, 상태는 일반적인 긴장이상증, 분절 긴장이상증, 국소 긴장이상증, 다발성 긴장이상증 및 반긴장이상증으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 국소 긴장이상증은 바람직하게는 두개 긴장이상증, 경부 긴장이상증, 사지 긴장이상증, 몸통 긴장이상증 및 경련성 운동 이상증으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 경부 긴장이상증은 연축성 사경(torticollis)으로도 언급되며, 목 및 어깨 근육의 불수적인 부적당한 근육 과잉 반응성을 특징으로 하며, 비정상적인 머리 운동 및 자세, 반사(jerk) 또는 떨림을 야기한다(Fahn S. Assessment of the Primary Dystonias. In: Munsat TL, editor. Quantification of Neurologic Deficit. Boston: Butterworths; 1989. p.241-270.(ID 1760137)). 손상된 목과 어깨 근육으로 신경독성 성분 주사투여는 대부분의 환자에서 증상의 상당한 완화를 유도한다.
- <222> 본 발명의 더욱 바람직한 구체예에서, 긴장이상증은 (a) (1) 안검경련, 개구형 또는 폐구형의 구하악부 긴장이상증, 이갈이, 메이그 증후군, 혀 긴장이상증, 눈뜨기 상실증을 포함하는 두개 긴장이상증, (2) 전굴(antecollis), 목후굴(retrocollis), 측경(laterocollis), 사경(torticollis)을 포함하는 목 긴장이상증, (3) 인두 긴장이상증, (4) 내전근형 또는 외전근형의 경련성 발성장애, 경련성 호흡곤란을 포함하는 후두 긴장이상증, (5) 작가의 근육경련(cramp), 음악가의 근육경련, 골프선수의 근육경련을 포함하는 작업 특이 긴장이상증과 같은 팔 긴장이상증, 대퇴 내전근, 대퇴 외전근, 무릎 굴곡, 무릎 신전, 발목 굴곡, 발목 신전 또는 내반 침착 변형을 포함하는 다리 긴장이상증, 선조체 발가락, 발가락 굴곡 또는 발가락 신전을 포함하는 발 긴장이상증, 피사 증후군(Pisa syndrome) 또는 빨리 댄서 긴장이상증을 포함하는 축성 긴장이상증, 체절성 긴장이상증, 반신성 또는 전신성 긴장이상증을 포함하는 사지 긴장이상증, (6) 루백(Lubag)에서의 긴장이상증, (7) 피질기저 퇴화에서의 긴장이상증, (8) 지연성 긴장이상증, (9) 척수소뇌성 운동실조에서의 긴장이상증, (10) 파킨슨씨병에서의 긴장이상증, (11) 헌팅턴병에서의 긴장이상증, (12) 할레보르덴-스팟 병(Hallervorden Spatz disease)에서의 긴장이상증, (13) 도파-유도 운동이상증/도파-유도 긴장이상증, (14) 지연성 운동이상증/지연성 긴장이상증, (15) 발작성 운동이상증/긴장이상증(운동성, 비-운동성, 활동-유도성)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 긴장이상증이거나; 또는 (b) 사경, 측경, 목후굴, 전굴, 굴곡 팔꿈치, 내전된 전완, 굴곡 손목, 무지의 굴곡 변형(thumb-in-palm) 또는 굴곡 손목으로 이루어진 군으로부터 선택되는 임상 패턴을 포함한다.
- <223> 다음의 표는 잠재적으로 관련된 근육 및 임상 패턴의 비제한적인 목록을 제시하여, 상기 근육은 바람직하게는

본 발명의 교시에 따른 표적 근육이다.

<224>

임상 패턴	잠재적 표적 근육
사경	두 판상근, 흉쇄유돌근, 승모근
측경	흉쇄유돌근, 두 판상근, 사각근, 견갑거근
목후굴	두 판상근, 승모근-부분 목신경
전굴	흉쇄유돌근, 사각근, 이하 복합근, 설골상근 및 설골하근

<225>

"연축성 운동이상증"은 후두의 하나 이상의 근육의 불수의적 움직임으로 인한 목소리 장애이다. 연축성 운동이상증 환자들은 말하는데 어려움이 있다. 연축성 운동이상증은 목소리 중단 또는 조임, 긴장, 질식 또는 부자연스런 음질을 야기한다. 기술된 바와 같이, 신경독성 성분을 병에 걸린 후두근대로 주사투여 하는 것은 일반적으로 목소리를 향상시킨다.

<226>

안검경련은 안륜근 양측의 자발적이고 간헐적 또는 지속적인 불수의적 수축으로 특징화된다(Grandas F, Elston J, Quinn N, Marsden CD. Blepharospasm: A review of 264 patients. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1988; 51 (6): 767-772. (ID 1759120); Jankovic J, Orman J. Blepharospasm: Demographic and clinical survey of 250 patients. Ann Ophthalmol 1984; 16(4): 371-376. (ID 1761786); Mauriello JA, Leone T, Dhillon S, Pakeman B, Mostafavi R, Yopez MC. Treatment choices of 119 patients with hemifacial spasm over 11 years. Clin Neurol Neurosurg 1996; 98(3): 213-216. (ID 1777068)). 본 발명의 방법을 토대로, 안륜근내로 국소적인 주사투여를 한 경우, 보툴리눔 독소는 안검경련의 증상치료에 매우 효과적이며 좋은 반응을 보였다.

<227>

다른 바람직한 구체예에서, 단기 효능을 갖는 보툴리눔 독소 A형으로 이전에 치료받은 양성 본태성 안검경련 증상의 환자는, 보다 짧은 투여 간격(즉, 3개월 미만의 투여간격)으로 상기 보툴리눔 신경독소를 투여함으로써, 복합 단백질이 없는 보툴리눔 신경독소로 치료한다. 바람직하게는, 복합 단백질이 없는 보툴리눔 신경독소는 고순도로 정제된 보툴리눔 신경독소 A형이다. 환자가 치료효과의 감소를 통보할때, 보툴리눔 신경독소의 새로운 주사투여가 처방된다. 상기 치료 지침으로 인해, 상기 환자는 앞서 기술된 것과 같이, 바람직하게는 앞서 기술된 방법으로 측정된, 안정적인 삶의 질을 얻을 수 있다.

<228>

본 발명의 더욱 바람직한 구체예에서, 상기 근육은 동측 판상근(ipsilateral splenius), 대측 흉쇄유돌근(contralateral sternocleidomastoid), 동측 흉쇄유돌근(ipsilateral sternocleidomastoid), 두 판상근(splenius capitis), 사각근 복합근(scalene complex), 견갑거근(levator scapulae), 후척추(postvertebralis), 동측 승모근(ipsilateral trapezius), 견갑거근(levator scapulae), 양측성 두 판상근(bilateral splenius capitis), 상부 승모근(upper trapezius), 심 후척추(deep postvertebralis), 양측성 흉쇄유돌근(bilateral sternocleidomastoid), 사각근 복합근(scalene complex), 이하 복합근(submental complex), 상완요굴근(brachioradialis), 상완이두근(bicepsbrachialis), 방형회내근(pronator quadratus), 원회내근(pronator teres), 요측수근굴근(flexor carpi radialis), 척측수근굴근(flexor carpi ulnaris), 장무지굴근(flexor pollicis longus), 무지내전근(adductor pollicis), 단무지굴근/맞섬근(flexor pollicis brevis/opponens), 천지굴근(flexor digitorum superficialis), 심지굴근(flexor digitorum profundus)으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

<229>

본 발명의 바람직한 구체예에서, 질병 또는 상태는 근육의 경직이거나, 경직을 포함한다.

<230>

본 발명의 더욱 바람직한 구체예에서, 경직은 (a) 뇌성마비에 기인한 경직, 뇌졸중 후 경직; 또는 (b) (1) (a) 다발성 경화증, 횡단 척수염, 데빅 증후군(Devic syndrome)에 관한 것을 포함하는 자가면역 과정(autoimmune process), (b) 바이러스 감염, (c) 박테리아 감염, (d) 기생충 감염, 또는 (e) 진균 감염과 관련된 뇌염(encephalitis) 및 척수염(myelitis)의 경직 상태, (2) 유전적인 경직성 하반신 마비(paraparesis), (3) 반구 경색, 뇌간 경색 또는 척수 경색에 의한 중풍 후 증후군, (4) 예를 들어, 반구 상해, 뇌간 상해, 척수 상해를 포함하는 중추 신경계 외상, (5) 뇌내 출혈, 지주막하출혈, 경질막하출혈 또는 척수강내 출혈과 같은 중추신경계 출혈, 또는 (6) 신생물 형성(neoplasia), 예를 들어, 반구 종양, 뇌간 종양 또는 척수 종양이거나 이와 관련된 것이다. 다른 치료는 소뇌 발작 또는 전립선 비대증에 의한 방광, 연축성 방광, 요실금, 연축성 조임근, 경직의 치료일 수 있다.

<231>

용어 "뇌졸중 후 경직"은 뇌졸중 이후 발생하는 경직을 나타낸다. 뇌졸중은 환자의 19%(2) 내지 38%에서 발생하는 경직을 수반하는 장시간 장애의 원인이다(Watkins CL, Leathley MJ, Gregson JM, Moore AP, Smith TL, Sharma AK. Prevalence of spasticity post stroke. Clin Rehabil 2002;16(5):515-522.(ID 1915001)). 경직은

상부 운동 신경 증후군(4)의 하나로서, 신전 반사(stretch reflex)의 과잉반응에 의한 과대 인대 반사를 수반하는 강직성 신전 반사(근긴장)가 속도 의존적으로 증가하는 것으로 특징되는 운동 장애로 정의된다. 부목처럼 기능하는 손상된 사지로 무게를 지탱할 수 있는 엉덩이 및 무릎 신전 경직의 경우, 일부 환자에서는 이 경직이 이로울 수도 있다. 그러나, 환자의 대다수에 있어서, 경직은 굽혀진 손(6)의 손바닥 씻기 및 옷 입기와 같은 일상 생활 활동에 어려움을 초래한다. 본 발명의 교시에 따르면, 해당 근육 군내 경직과 관련된 변형(deformity)의 일반적인 임상 패턴은 신경독성 성분으로 치료된다.

<232> 용어 "방광"은 척수 병변, 다발성 경화증 또는 외상으로부터 종종 발생하거나, 반드시 발생하는 것은 아닌 방광의 질병에 관한 것으로, 요실금 및 요 배출 방해로 야기한다. 바람직하게는, 신경독 투여의 표적 근육은 다른 문헌에서 기술된 바와 같이, 줄무늬 요도 조임근이다(Schurch B. The role of botulinum toxin in neuourology. *Drugs Today* 2004; 40(3): 205-212. (ID 3097145); Schurch B, De Seze M, Denys P, Chartier-Kastler E, Haab F, Everaert K, et al. Botulinum toxin type a is a safe and effective treatment for neurogenic urinary incontinence: results of a single treatment, randomized, placebo controlled 6-month study. *J Urol* 2005; 174(1): 196-200. (ID 3528462)).

<233> 용어 "요실금"은 요의 실금을 의미하는 것으로, 방광으로부터 요의 흐름을 조절하지 못하는 것이다. 다양한 유형 및 정도의 요실금이 있고, 이들은 본 발명에 의해 교시되는 범주에 해당한다: 범람 요실금은 배출 이후에도 방광에 요가 남아있는 상태이다. 그 결과 방광은 대부분의 시간동안 요가 가득 남아 있어, 방광으로부터 불수의적인 요의 누출이 야기되고; 스트레스성 요실금은 기침을 하거나 무거운 물체를 들어올리기 위해 긴장하는 때와 같이 방광에 압력이 증가할 때, 요의 불수의적인 배출이고; 전요실금은 방광목 및 요도 조임근의 수의적인 운동 조절이 불가능한 것으로, 저류능이 모두 상실된 것이다. 요실금의 치료에서, 여기 언급한 조성물은 예를 들어, 방광삼각부위를 제외한, 배뇨근내로 방광경적으로 주사할 수 있다(Schurch B. The role of Botulinum toxin in neuourology. *Drugs Today* 2004; 40(3): 205-212. (ID 3097145); Schurch B, De Seze M, Denys P, Chartier-Kastler E, Haab F, Everaert K, et al. Botulinum toxin type a is a safe and effective treatment for neurogenic urinary incontinence: results of a single treatment, randomized, placebo controlled 6-month study. *J Urol* 2005; 174(1): 196-200. (ID 3528462)).

<234> 용어 "전립선 비대증"은 전립선의 비대를 나타내며, 여기서 전립선 분비선의 정상 요소는 크고 다수로 성장한다. 이들 완전한 벌크는 요도를 누르고, 이것은 전립선 중양을 통해 지나가고, 요도를 통해 방광으로부터 바깥으로의 요의 흐름을 방해할 수 있다. 이것은 요저류 및 빈뇨의 요구를 야기할 수 있다. 만약 전립선 비대증이 심각한 경우, 완전한 차단이 발생할 수 있다. 여기 기술한 조성물을 전립선에 투여한 후, 증상, 전립선 혈청 마커, 전립선 부피, 배뇨후 잔뇨 부피 및 최고 요의 유속의 상당한 감소가 관찰된다. 유사한 결과가 다른 문헌에서도 기술되고 있다(Maria G, Brisinda G, Civello IM, Bentivoglio AR, Sganga G, Albanese A. Relief by Botulinum toxin of voiding dysfunction due to benign prostatic hyperplasia: results of a randomized, placebo-controlled study. *Urology* 2003; 62(2): 259-265. (ID 2562820)).

<235> "뇌성 마비"는 마비를 야기하는 광범위의 추체로 장애, 긴장이상증, 강직, 경직 및 경련을 야기하는 추체외로 장애, 운동불능 요소 및 동등한 기능장애를 말한다. 뇌성 마비는 뇌 출혈, 질식, 미성숙 출산 및 다른 산전 합병증 후에 발생할 수 있다(Koman LA, Mooney JF, Smith BP, Goodman A, Mulvaney T. Management of spasticity in cerebral palsy with botulinum - A toxin: report of a preliminary, randomized, double-blind trial. *J Pediatr Orthop* 1994; 14(3): 299-303. (ID 1767458); Pidcock FS. The emerging role of therapeutic botulinum toxin in the treatment of cerebral palsy. *J Pediatr* 2004; 145(2 Suppl): S33-S35. (ID 2994781)). 이는 부조화된 움직임, 마비 및 다양한 유형의 근육의 과잉 반응성을 야기하는 장기간의 상태이다. 뇌성마비 환자들을 여기 기술된 방법에 따라 치료할 때, 과잉 반응성 근육의 기능적 향상이 나타난다.

<236> 본 발명의 더욱 바람직한 구체예에서, 경직성 근육은 평활근 또는 횡문근이다. 근육 과잉 반응성 질환 치료시의 신경독성 성분에 대한 표적 조직은 원칙적으로 문헌[Sobotta, Johannes: *Atlas der Anatomie des Menschen*. 22. Auflage. Band 1 und 2. Urban & Fischer, 2005.]에 기술되어 있는 인체의 모든 평활근 및 횡문근이다. 이 문헌에서 언급하고 있는 근육은 여기 참고로서 포함된다. 본 발명의 방법은 이들의 임의의 근육을 표적으로 할 수 있다.

<237> 본 발명은 또한 안면 비대칭을 제거하거나 또는 피부 주름 또는 안면 주름을 감소시키는 방법으로서, 상기 방법은 유효량의 클로스트리디움 보툴리눔 독소 복합체의 신경독성 성분을 포함하는 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하며, 상기 조성물은 클로스트리디움 보툴리눔 독소 복합체의 다른 단백질 성분을 포함하지 않으며, (a)

상기 개체는 인간이며; (b) 상기 조성물은 비대칭 또는 피부 주름 형성에 관련된 하나 이상의 안면 근육 또는 근육의 근처 또는 근육내로 피하주사 또는 근육내 주사 투여되고; 그리고 (c) 상기 조성물은 3개월 미만의 투여 간격으로 투여되되, 상기 투여간격은 1차 치료 및 2차 치료를 포함하고, 상기 2차 치료의 투여량은 1차 치료의 투여량보다 적거나, 많거나 또는 동일한 것인 방법에 관한 것이다.

<238> 본 발명의 이 방법으로 안면 근육 또는 환자의 피부의 주름 또는 안면 비대칭 치료가 가능해진다. 일반적으로 보다 소량의 신경독성 성분을 이러한 미용 치료에 사용한다. 이 양은 바람직하게는 1 내지 5, 5 내지 10, 10 내지 20, 또는 20 내지 50 단위(unit) 범위내이다. 이 총량은 동일 또는 이후의 치료일에 투여할 수 있다. 예를 들어, 1차 치료세션동안, 용량의 1차 분획을 투여할 수 있다. 이 1차 분획은 바람직하게는 최적에 불충분한 분획으로, 즉, 주름이나 피부 주름살을 완전히 제거하지 못하는 분획이다. 1회 이상의 치료세션동안, 총량 중 남은 분획을 투여할 수 있다.

<239> 본 발명의 바람직한 구체예에서, 상기 조성물은 인상 주름(frown lines), 이마 수평주름(horizontal forehead lines), 눈꼬리 잔주름(crow's feet), 입가 주름(perioral folds), 턱 갈라짐(mental creases), 아래턱끝 잔주름(popple chin), 및/또는 활경근띠(platysmal bands)내로 주사투여된다.

<240> 본 발명의 다른 바람직한 구체예에서, 상기 근육은 다음의 근육으로 구성되는 군으로부터 선택된다: 두 관상근(splenius capitis), 흉쇄유돌근(sternocleidomastoid), 사각근 복합체(scalene complex), 견갑거근(levator scapulae), 반극근(semispinalis), 두 최장근(longissimus capitis), 경 최장근(longissimus cervicis), 다열근(multifidus), 후두사근(obliquus capitis inferior), 상두사근(obliquus capitis superior), 대후두직근(rectus capitis posterior major), 소후두직근(rectus capitis posterior minor), 승모근/부분 수평근(trapezius/pars horizontalis), 승모근/부분 경(trapezius/pars cervicalis), 설골상근(suprahyoid muscles), 설골하근(infrayhyoid muscles), 악이복근(digastricus), 내측익돌근(ptyergoideus medialis), 외측익돌근(ptyergoideus lateralis), 교근(masseter), 측두근(temporalis), 안륜근(orbicularis oculi), 비근(nasalis), 비근근(procerus), 추미근(corrugator supercilii), 구각하체근(depressor anguli oris), 하순하체근(depressor labii inferioris), 전두근(frontalis), 상순거근(levator labii superioris), 상순비익거근(levator labii superioris alaeque nasi), 구륜근(orbicularis oris), 소근(risorius), 소관골근(zygomaticus minor), 대관골근(zygomaticus major), 삼각근(deltoides), 상완삼두근(triceps brachii), 상완요골근(brachioradialis), 상완이두근(biceps brachii), 방형회내근(pronator quadratus), 원회내근(pronator teres), 요측수근굴근(flexor carpi radialis), 척측수근굴근(flexor carpi ulnaris), 장무지굴근(flexor pollicis longus), 맞섬근(opponens), 골간근(interossei), 충양근(lumbricales), 무지내전근(adductor pollicis), 단무지굴근(flexor pollicis brevis), 천지굴근(flexor digitorum superficialis), 심지굴근(flexor digitorum profundus), 내전근(adductor group), 대퇴사두근(quadriceps femoris), 대퇴굴근(hamstrings), 하퇴 삼두근(triceps surae), 후경골근(tibialis posterior), 장족무지굴근(flexor hallucis longus), 전경골근(tibialis anterior), 장족무지신근(extensor hallucis longus), 장족지신근(extensor digitorum longus), 단족무지굴근(flexor hallucis brevis), 단족지굴근(flexor digitorum brevis), 척추측방근(paravertebral muscles).

<241> 상술된 신경독성 성분은, 조성물이나 약학 조성물의 일부일 수 있다. 이 약학 조성물은 부가적인 약학 활성 성분을 포함할 수 있다. "약학 조성물"은 의약 또는 진단용으로 사용되는 활성 성분을 함유하거나 포함하는 제제이다. 이런 약학 조성물은 인간 환자에 대해 진단 또는 치료적 투여(즉, 근육내 또는 피하근육 주사)에 적합할 수 있다. 약학 조성물은 동결건조 또는 진공건조되거나, 재구성되거나, 또는 용액의 형태일 수 있다. 재구성될 때, 재구성 용액은 멸균 생리 식염수(0.9% NaCl)를 가하여 제조하는 것이 바람직하다.

<242> 이런 조성물은 pH 완충액, 부형제, 희석제, 세포보호제 및/또는 안정화제와 같은 부가적인 성분을 포함할 수 있다.

<243> "pH 완충제"는 조성물, 용액등의 pH 값을 특정 수치나 특정 pH 범위로 조절할 수 있는 화학물질이다.

<244> "안정화제", "안정화하다" 또는 "안정화"는 활성 성분, 즉, 재구성된 또는 수용액 약학 조성물내의 신경독성 성분이, 상기 약학 조성물내로 함유되기 전에 생물학적 활성 신경독성 성분이 갖는 독성의 약 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%초과, 및 약 100% 이하를 갖는 것을 의미한다. 상기 제제의 활성은 이하 기술에 결정될 수 있다.

<245> "세포보호제"는 부형제의 결과로 활성성분, 즉, 재구성된 또는 수용액 약학 조성물내 신경독성 성분이, 상기 약

학 조성물로 동결건조되기 전에 생물활성 신경독성 성분이 갖는 독성의 약 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 초과 및 약 100% 이하를 갖는 것을 의미한다. 상기 제제의 활성은 이하 기술되는 바와 같이 측정될 수 있다.

- <246> 이런 안정화제의 예는 젤라틴 또는 알부민이고, 바람직하게는 인간 기원이거나, 재조합 소스로부터 얻을 수 있다. 안정화제는 화학적 방법 또는 재조합 유전자에 의해 변형될 수 있다. 본 발명의 바람직한 구체예에서, 세포 보호 첨가제로서 알콜, 예를 들어, 이노시톨, 만니톨을 사용하여 동결 건조되는 동안 단백질을 안정화하는 것을 포함한다.
- <247> 본 발명의 보다 바람직한 구체예에서, 안정화제는 히알루론산 또는 폴리비닐피롤리돈 또는 폴리에틸렌글리콜 또는 이들의 2 이상의 혼합물을 포함하는 비단백질성 안정화제일 수 있다. 이런 조성물은 현저한 안정성을 갖는 보다 안정한 조성물로 여겨진다.
- <248> 본 발명의 보다 바람직한 구체예에서, 약학 조성물은 신경독성 성분 및 히알루론산 또는 폴리비닐피롤리돈 또는 폴리에틸렌글리콜을 포함할 수 있으며, 이런 조성물은 선택적으로, 적절한 pH 완충제, 특히 소듐 아세테이트 완충제 및/또는 세포보호제 폴리알콜에 의해 pH가 안정화된다.
- <249> 약학 조성물이 신경독성 성분외에도, 알부민, 히알루론산, 폴리비닐피롤리돈 및/또는 폴리에틸렌글리콜 안정화제와 같은 부가 성분을 포함/불포함하든지 간에, 약학 조성물은 약 8℃ 및 약 -20℃의 온도에서 보관시 6개월, 1년, 2년, 3년 및/또는 4년의 기간동안, 이의 효능이 실질적으로 변하지 않고 유지된다. 추가적으로, 상기 언급된 약학 조성물은 재구성시에 약 20% 내지 약 100%의 효과 또는 퍼센트 회수율을 가질 수 있다.
- <250> 본 발명 범주내의 약학 조성물은 신경독성 성분 및 하나 이상의 부가 성분을 포함할 수 있다. 여기 기술된 약학 조성물은 재구성되거나 주사할 때, 바람직하게는 pH 4 내지 7.5이며, 더욱 바람직하게는 약 pH 6.8 내지 pH 7.6 이고, 가장 바람직하게는 pH 7.4 내지 pH 7.6이다. 일반적으로 본 발명의 약학 조성물은 약 6pg 내지 30ng 양의 신경독성 성분을 포함한다. 마우스 LD₅₀ 어세이로 측정할 때, 신경독성 성분은 바람직하게는 신경독성 성분 1ng 당, 50 내지 250LD₅₀ 단위의 생물활성을 갖는다. 더욱 바람직하게는 신경독성 성분은 약 150LD₅₀의 생물활성을 갖는다.
- <251> 본 발명의 약학 조성물은 신경독소 및 히알루론산을 포함할 수 있다. 히알루론산은 신경독소를 안정화한다. 여기 기술된 약학 조성물은 재구성되거나 주사시 예, 약 4 내지 7.5의 pH를 가질 수 일 수 있다. 본 약학 조성물 내의 히알루론산은 바람직하게는 본 신경독성 성분과 0.1 내지 10mg의 양으로 배합되며, 특히 200U/ml의 보툴리눔 독소용액내 1ml 당 1mg의 히알루론산이다. 더욱 바람직하게는, 본 용액은 1-100mM, 특히 10mM의 소듐 아세테이트 완충액을 또한 포함한다.
- <252> 다른 바람직한 구체예에서, 조성물은 세포보호제로서 폴리알콜을 포함할 수 있다. 사용될 수 있는 폴리알콜의 예는, 예를 들어, 이노시톨, 만니톨 및 다른 비-환원성 알콜을 포함한다.
- <253> 단백질성 안정화제를 포함하지 않는 본 발명의 약학 조성물의 특정 구체예에서는, 바람직하게는 세포보호제로 종종 사용되는 트레할로스 또는 말토트리오스 또는 관련 당 또는 폴리히드록시 화합물을 함유하지 않는다.
- <254> 본 약학 조성물내의 폴리비닐피롤리돈은 본 신경독성 성분과 바람직하게는 200U/ml의 보툴리눔 독소 용액당 1ml 당 10 내지 500mg, 특히 100mg의 폴리비닐피롤리돈의 양으로 배합된다. 보다 바람직하게는, 본 용액은 또한 1-100mM, 특히 10mM의 소듐 아세테이트 완충액을 포함한다.
- <255> 본 약학 조성물내의 폴리에틸렌글리콜은 본 신경독성 성분과 바람직하게는 200U/ml의 보툴리눔 독소 용액 1ml 당 10 내지 500mg, 특히 100mg의 폴리에틸렌글리콜의 양으로 배합된다. 보다 바람직하게는, 본 용액은 1-100mM, 특히 10mM의 소듐 아세테이트 완충액을 또한 포함한다.
- <256> 따라서, 본 발명은 보다 바람직한 구체예에서, 신경독성 성분을 포함하며, 약학 조성물로 제제화된다. 이는 히알루론산 안정화제 또는 폴리비닐피롤리돈 안정화제 또는 폴리에틸렌글리콜 안정화제를 포함한다. 또한 약학 조성물은 소듐 아세테이트 완충제 시스템 및/또는 알콜성 세포보호제를 포함할 수 있다.
- <257> 다음의 예는 예시의 수단으로 제시된 것일 뿐이고, 이들로 제한되는 것으로 의도되지 않는다.

실시예

- <258> 실시예 1: 경부 긴장이상증 치료를 위한 보툴리눔 독소 치료법

- <259> 45세 경부 긴장이상증 남성 환자에 대해 보툴리눔 독소 치료법을 평가한다. 모든 적당한 검사 후, 주사 투여 스케줄을 구성하고, 복합체 단백질이 없는 보툴리눔 독소 총량 300MU를 사용한다. 2주 후 재평가에서, 종합적인 증상은 향상되나, 부가적인 표적 근육을 포함시키고, 초기에 주사투여된 표적 근육에 보툴리눔 독소를 증량할 필요가 있다. 2주 후, 상기 환자를 다시 재평가하고, 치료 결과는 최상이다.
- <260> 부작용은 발생하지 않는다. 지금까지 7회 연속 주사투여에서, 치료 결과는 항체 유도에 의한 치료 실패의 증상 없이 유지되었다.
- <261> **실시예 2: 안검경련의 치료를 위한 보툴리눔 독소 치료법. 단기 활성.**
- <262> 61세의 안검경련 여성환자를 복합 단백질이 없는 본 발명의 신경독성 성분 총량 48MU를 포함하는 의약으로 치료하여, 우수한 결과가 관찰된다. 신경독성 성분 주사투여 4주 후, 효과가 감소하기 시작한다. 2주가 더 경과한 후, 치료 효과는 거의 완전히 사라졌다. 재주사 투여는 초기 주사투여 시리즈 후 7주차에 이루어진다. 신경독성 성분으로 한 치료는 초기 용량으로 반복하고, 동일한 효과가 확인된다. 신경독성 성분 치료는 6차례 연속 주사투여를 지속하고, 항체 유도에 의한 치료 실패의 증상없이 우수한 치료결과가 얻어진다.
- <263> **실시예 3: 전신성 경직 치료를 위한 보툴리눔 독소 치료법. 고용량 사용.**
- <264> 35세의 전신성 경직 증상을 갖는 뇌 저산소성 뇌손상 환자를 복합체 단백질이 없는 본 발명의 신경독성 성분 총량 750MU를 1일 간격으로 세번에 걸쳐 250MU씩 분할 투여한다. 투여 2주 후, 상태가 점차적으로 호전되었다. 국소적, 지엽적 또는 전신적 부작용은 관찰되지 않는다. 7차례 주사투여시, 치료 효과는 부작용의 발생 없이 안정적이다. 항체 유도에 의한 치료 실패의 증상은 없다.
- <265> **실시예 4: 보툴리눔 독소의 미용적 사용. 주사투여 계획 구성 및 단기 활성에서의 어려움.**
- <266> 40세의 근육 인상 주름 및 이마 수평주름을 보이는 여성 환자를 복합체 단백질이 없는 보툴리눔 독소(즉, 본 발명의 신경독성 성분) 20MU로 치료하였다. 2주 후, 종합적인 증상은 개선되나, 20MU의 보툴리눔 독소의 추가 주사투여가 필요하다. 2주 후 환자는 결과에 매우 만족한다. 4주 후, 좋은 효과의 감소가 시작되기 때문에, 총 용량 40MU의 보툴리눔 독소의 재주사투여가 필요해진다. 지금까지, 환자는 각각 40MU의 총량으로, 4회의 연속 주사투여를 하였다. 항체 유도에 의한 치료 실패의 증상은 없다.