



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년07월12일

(11) 등록번호 10-1757523

(24) 등록일자 2017년07월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 38/16 (2006.01) A61K 9/12 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01) A61P 31/18 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-7027241(분할)

(22) 출원일자(국제) 2007년04월27일

심사청구일자 2014년10월24일

(85) 번역문제출일자 2014년09월26일

(65) 공개번호 10-2014-0123601

(43) 공개일자 2014년10월22일

(62) 원출원 특허 10-2008-7029120

원출원일자(국제) 2007년04월27일

심사청구일자 2012년04월26일

(86) 국제출원번호 PCT/SE2007/000413

(87) 국제공개번호 WO 2007/126363

국제공개일자 2007년11월08일

(30) 우선권주장

0600933-6 2006년04월27일 스웨덴(SE)

(56) 선행기술조사문헌

WO1997008202 A1*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

란트만넨 아스-파토르 아베

스웨덴 스톡홀름 박스 30192 (우편번호: 104 25)

(72) 발명자

한순 한스-아르네

스웨덴 에스-436 58 호베스 도테빅스뵈겐 8

랑게 스테판

스웨덴 에스-411 28 괴테보르그 네드레 포겔베르

그스가탄 9비

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김진희

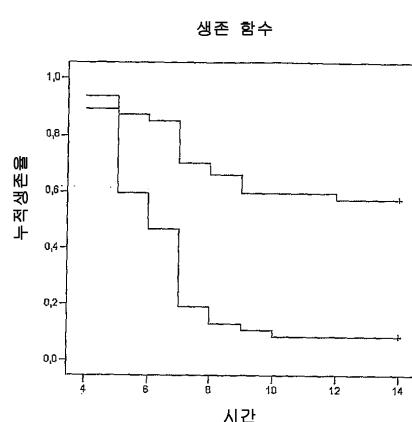
전체 청구항 수 : 총 23 항

심사관 : 이수정

(54) 발명의 명칭 구획 증후군의 치료에 사용하기 위한 항분비 단백질

(57) 요 약

본 발명은 구획 증후군의 치료 및/또는 예방용 약학 조성물 및/또는 의료 식품의 제조를 위한, 항분비 단백질, 또는 항분비 활성을 갖는 이의 유도체, 동족체, 및/또는 단편, 및/또는 이들의 약학적 활성 염의 용도에 관한 것이다. 구획 증후군은 바이러스 및 세균 감염과 같은 본 발명의 범위 내에 속하는 다양한 다른 상태에 의하여 야기되거나 그러한 상태를 야기할 수 있다. 나아가, 본 발명은 구획 증후군의 치료 및/또는 예방을 필요로 하는 포유동물에서 그러한 구획 증후군을 치료 및/또는 예방하는 방법에 관한 것이다.

대 표 도 - 도3

(72) 발명자
제니쉐 에바
스웨덴 에스-411 28 괴테보르그 네드레 포겔베르그
스가탄 9비

베르그스트룀 토마스
스웨덴 에스-416 74 괴테보르그 엘뢰스가탄 4

명세서

청구범위

청구항 1

서열 번호: 6의 아미노산 서열에 해당하는 항분비 단백질, 또는 서열 번호: 1의 아미노산 서열을 포함하고 항분비 활성을 갖는 상기 항분비 단백질의 단편, 또는 이들의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 구획 증후군의 치료 또는 예방용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 약학 조성물은 상기 항분비 단백질 및 상기 단편 중 2종 이상을 포함하는 것인 약학 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 항분비 단백질은 이러한 항분비 단백질이 풍부한 난황으로 제공되는 것인 약학 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 약학 조성물은 약제학적으로 허용가능한 부형제를 추가로 포함하는 것인 약학 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 약학 조성물은 체강으로의 투여, 안내 투여, 비강내 투여, 경구 투여, 국소 투여, 피부 투여, 피하 투여, 근육내 투여 및 전신 투여로 이루어진 군으로부터 선택되는 투여 경로를 위해 제제화되는 것인 약학 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 약학 조성물은 스프레이로서의 투여, 에어로졸로서의 투여, 흡입기에 의한 투여, 또는 분무기에 의한 투여를 위해 제제화되는 것인 약학 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 약학 조성물은 1일 및 체중 1 kg당 0.1 μg ~10 mg의 적용 투여량으로 혈액에 전신 투여하기 위해 제제화되는 것인 약학 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 약학 조성물은 단회 투여량으로서 또는 1일 다회 적용으로서 투여되는 것인 약학 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 증후군은 세포, 조직 또는 기관에서의 유체의 비정상적인 팽창 또는 축적; 허혈; 뇌 및 척수의 비정상적 기능; 또는 하나 이상의 추간판의 손상을 유발하는 것인 약학 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 증후군은 비뇨생식기로 구성체, 선(腺), 근육, 활액낭, 신경, 혈관, 관절 또는 건(腱)과 관련된 비정상적 부하, 손상 또는 질환; 약물, 또는 치료적 또는 진단적 조치; 미생물; 바이러스 감염; 프리온; 세포, 조직 또는 기관에서의 생성물의 비정상적 부하, 운반 또는 축적; 동맥류, 뇌출증 또는 허혈로 인한 두개 골, 뇌, 척추 또는 척수에서의 과도한 부하, 손상 또는 출혈; 피막, 근막 또는 막에 의해 둘러싸인 기관 또는 구조의 압전(tamponade); 피부, 심장, 신장, 고환, 난소, 선(腺) 또는 림프 기관의 압전; 골, 연골 또는 막에 의해 둘러싸인 기관 또는 구조의 압전; 체내에 존재하는 양성 또는 악성 종양; 면역 반응; 또는 독성 화합물에 의해 유발되는 것인 약학 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 바이러스 감염은 RNA 바이러스 또는 DNA 바이러스에 의해 유발되는 것인 약학 조성물.

청구항 12

제10항에 있어서, 상기 미생물이 원생생물, 원생동물, 충(worm), 진균 또는 세균인 약학 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 세균은 미코박테리아, 슈도모나스, 코커스, 클라미디아, 브루셀라 및 리스테리아로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인 약학 조성물.

청구항 14

제10항에 있어서, 상기 미생물은 하나 이상의 효소, 독소 또는 안료를 방출하거나, 인접하는 세포, 조직 또는 기관에 의한 하나 이상의 반응성 인자의 형성 또는 방출을 유도하는 것인 약학 조성물.

청구항 15

제1항에 있어서, 간질 압력을 저하시킴으로써 암 치료 효능을 향상시키기 위한 약학 조성물.

청구항 16

제7항에 있어서, 상기 약학 조성물은 1일 및 체중 1 kg당 1 μg ~1000 μg 의 적용 투여량으로 혈액에 전신 투여하기 위해 제제화되는 것인 약학 조성물.

청구항 17

서열 번호: 6의 아미노산 서열에 해당하는 항분비 단백질, 또는 서열 번호: 1의 아미노산 서열을 포함하고 항분비 활성을 갖는 상기 항분비 단백질의 단편, 또는 이들의 영양학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 구획 증후군의 치료 또는 예방을 보조하기 위한 식품.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 항분비 단백질은 이러한 항분비 단백질이 풍부한 난황으로 제공되는 것인 식품.

청구항 19

제17항 또는 제18항에 있어서, 상기 식품은 영양학적으로 허용가능한 부형제를 추가로 포함하는 것인 식품.

청구항 20

제17항 또는 제18항에 있어서, 상기 식품은 유체 또는 고체 형태인 식품.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 식품은 액체 또는 분말인 식품.

청구항 22

제17항 또는 제18항에 있어서, 상기 증후군은 세포, 조직 또는 기관에서의 유체의 비정상적인 팽창 또는 축적을 유발하는 것인 식품.

청구항 23

제17항 또는 제18항에 있어서, 상기 증후군은 미생물, 또는 체내에 존재하는 양성 또는 악성 종양에 의해 유발되는 것인 식품.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 구획 증후군(compartment syndrome) 분야 및 이에 관련된 다양한 상태에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 임의로 정상화를 목적으로 하는 체내 조직, 기관 및/또는 한정된 구조에 의하여 형성되는 구획 내에 세포와 다른 세포의 공간 및 혈관계와의 사이의 유체, 염 및 물질의 운반에 관한 것이다. 상기 폐쇄된 구획은 세포, 조직, 한정된 해부학적 단위로부터 체내 기관에 이르기까지 크기와 범위에 있어 다양한 구조를 포함한다. 병리학적으로 병에 걸린 구조는 과도한 부하, 외상, 독성 제제, 약물, 출혈, 종양, 세균 및/또는 바이러스와 같은 미생물 감염으로 인하여 기능 부전이 될 수 있으며, 이는 비정상적으로 상승된 간질액 압력 및/또는 다른 질환들을 야기한다. 본 발명은 또한 병적 상태뿐 아니라 정상적인 상태하의 구획 증후군의 범위 내에서 특정 항분비 단백질의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

구획 증후군이라는 용어는, 의료 분야에서, 특정의 한정된 용적을 통한 혈액 및 림프 흐름의 감소 또는 심지어 막힘을 야기하는, 폐쇄된 용적 즉 구획 내에 비정상적으로 증가된 압력을 특징으로 하는 병리학적 상태를 규명하기 위하여 사용된다. 지나치게 높은 혈관 압력은 정맥, 모세혈관 및 심지어 소동맥과 동맥을 통한 혈액 흐름을 방해하고, 세포의 환경에서 간질액에 대한 작동 조건을 변화시켜, 상기 공간 내에서 세포 및 조직에 대한 영양분 및 산소의 충분한 공급 고갈을 초래한다. 종종 산성인 노폐물과 대사산물 배출의 결여는 또한 동등하게 중요한 인자이며, 이는 상기 노폐물과 대사산물의 축적으로 인하여 상기 구획 내에 세포의 기능 및 대사 장애를 더욱 초래한다. 상기 장애의 순수한 효과는 상기 구획 내에 압력을 상승시켜 결국 전신 동맥압에 가까운 수준에 근접하도록 한다는 것이다. 따라서, 동맥 혈관계의 상기 구획으로 들어가는 입구에서 실제 혈압이 상기 압력이 상승할 수 있는 최대 수준을 결정하는 중요한 요소가 된다. 연골 및 추간판과 같은 무혈성 구조에서 충분한 공급은, 적절한 세포 기능을 필요로 하는 확산, 세포 이온 및 유체 펌프 시스템 및 삼투압 구배에 의한, 어떤 영역으로 가고 및 그 영역으로부터 오는 유체 및 기타 성분들의 운반에 의존한다. 매우 상승된 구획 압력(CP:compartment pressure)이 지속되면, 관련되는 세포, 조직 및 기관에 심각한 손상을 야기할 것이다. 상기 구획 내에서의 세포 및 조직의 출혈 및 팽창은 연이은 허혈과 같이 더욱 손상을 가할 것이다. 상승된 CP를 가진 경과 시간이 길수록, 손상은 더욱 광범위하고 심각해지며, 결국 비가역적이며 괴저성의 세포사가 뒤따른다. 기계적 만곡(distortion), 탈구(dislocation) 및 전단(shearing)이 손상을 가중시킨다. 연이어 세포사멸성 세포사(apoptotic cell death)가 초기 손상을 가중시킬 수 있다. 상기 구획 증후군(CS: compartment syndrome)은 통증(pain), 압통(tenderness), 팽창 및 기능 감소 또는 심지어 손상, 및 결국에는 괴사(necrosis)와 같은 심상치 않은 임상적 신호를 야기한다. 이러한 손상의 심각성은 구획의 위치, 관련되는 세포 및 조직의 유형, 세포의 환경의 특성, 실제 CP, 대사장애 및 그 지속기간에 의존하며, 상기 주요 인자들 중 일부는 그 과정과 장기 결과가 중요하다.

[0003]

체내에 대부분의 구획은 종종 초(sheath), 근막(fasciae), 견(腱)(tendon), 인대, 관절낭 또는 심막과 같은 유사한 비유연성의 교원질막으로 분화되는 고밀도의 결합조직에 의하여 범위가 정하여진다. 이에 부가하여, 갑상선과 같은 많은 내분비 기관 및 외분비선이 결합 조직 막과 초에 의하여 둘러싸여지고 세분되며, 따라서 구획을 형성한다. 둘러싸인 폐쇄된 강성 구획에 대한 또 다른 예는 사지골, 두개골, 척추골 및 안면골과 같은 골 구조이다. 상승된 CP에 노출된 각각의 유형의 세포 및 조직은 확산된 대사 및 기계적 장애에 대한 자체의 내성을 가짐을 특징으로 한다. 그러나, CP를 적당한 시간 내에 정상 수준으로 경감시키면 손상이 완화될 것이다.

[0004]

상기 항분비 단백질은 원래 설사 질환 및 장염에 대한 보호를 제공하기 위하여 기술되었던 41 kDa 단백질이다(검토를 위해, Lange and Lonnroth, 2001 참조). 상기 항분비 단백질은 서열화되고 그 cDNA는 클로닝되어 있다. 상기 항분비 활성은 상기 항분비 단백질 서열 상의 포지션 35 내지 50 사이에 위치하는 웹타이드에 의해 주로 발휘되는 것으로 보인다. 면역화학적 및 면역조직화학적 연구개발에 의하면, 상기 항분비 단백질은 체 내에 대부분의 조직 및 기관에 존재하며 또한 이에 의하여 합성될 수 있는 것으로 밝혀졌다. 항설사 서열을 포함하는 합성 웹타이드가 규명되었다(WO 97/08202; WO 05/030246). 항분비 인자는, 예컨대 콜레라 독소 공격 후에 중추신경계내 맥락총(choroid plexus) 및 장 내에서, 병리학적 유체 운반 및/또는 염증성 반응을 정상화하는 것으로 개시된 바 있다(WO 97/08202). 따라서, WO 97/08202에는 항분비 인자를 음식 또는 사료에 첨가하는 것이 부종, 설사, 탈수 및 감염 치료에 유용한 것으로 제안되어 있다. WO 98/21978은 항분비 단백질의 형성을 유도하는 식품 제조에 있어서 효소 활성을 가지는 제품의 사용을 개시하고 있다. WO 00/038535는 나아가 이와 같은 항분비 단백질이 풍부한 식품 제품들을 개시하고 있다.

[0005]

항분비 단백질 및 이의 단편은 또한 세포 손실 및/또는 획득과 관련된 상태의 치료에 있어서 신경 조직의 회복, 및 줄기 세포(stem cell) 및 전구 세포(progenitor cell) 및 이로부터 유도된 세포의 증식, 세포사멸, 분화 및/

또는 이동을 증진시키는 것으로 입증된 바 있다(WO 05/030246).

[0006] 현재로써, 확립된(established) CS에서 명백하게 압력 상승을 차단하고 이를 정상 수준으로 되돌리며, CS에 걸릴 위험에 있거나 진행중인 CS에 대하여 손상을 발전시키는 것을 예방할 수 있는 어떠한 약물도 없다. 예컨대, 요소 또는 만니톨의 고장 용액이 상승된 두개내압(ICP: intracranial pressure)을 가지는 선별된 환자에 대하여 현재 사용되고 있으나, 그 효과는 해부학상 위치 및 실제 치료 스키줄에 따라 단지 몇 시간 지속되는 일시적인 것이다. 코르티코스테로이드 또한 상승된 ICP를 저지시키기 위하여 사용되어 왔으나, 심각한 부작용이 종종 전개될 수 있다. 추가적인 약물이 지지되어 왔으나, 주로 발생하는 증상들을 차단하기 위한 것이었다. 바르비투르산염(barbiturate) 마취와 함께 체간 온도를 낮추는 것이 이로운 것으로 간주되고 있다. 그러나, 예컨대, 근육, 관절 및 신경에서 발생하는 CS에 유용한 신뢰할 수 있는 약물요법은 없다. 외과적 개입(surgical intervention)은 종종 사용되는 치료이나, 합병증의 위험뿐 아니라 그 자체로 부가적인 손상 및 불편을 가하는 불리함이 있다.

[0007] 절박한(imminent), 진행중인(developing) 또는 확립된 CS에 대한 신뢰할 수 있는 진단을 내리는 것은 경험있는 의사에게조차도 어려울 것이다. 예컨대, 초음파 및 자기공명영상(MRI: magnetic resonance imaging)에 근거한 진단상의 보조 기구가 현재 전산화된 프로그램과 종종 결합되어 사용되고 있다. 본 발명에서, 검사될 구획 내에 간질액의 압력은 첨단에 도광 유리 섬유를 가진 매우 작은 센서에 의하여 실제 압력을 측정함으로써 결정된다. 상기 탐침(probe)의 직경은 0.4 mm이고, 상기 유연성 유리 섬유의 직경은 단지 0.3 mm이며, 이는 측정 장치로 인한 손상이 미미할 것이며 압력 수준에 대한 주목할만한 영향을 미치지 않음을 의미한다. 따라서, 사용되는 장치는 세포외 유체에서 그리고 특정한 경우 인접한 세포 및/또는 세포 응집체내 세포내에서 모두 구획내 우세한 압력에 대하여 신뢰할 수 있는 값을 제시하는 것으로 간주되어야 한다.

[0008] 항분비 인자(AF: antisecretory factors), 특히 WO 97/08202에 상세히 기술된 단백질 및 웨타이드는 설사와 같이 장내 과분비 상태 및 질환을 치료하는데 효율적이다. 과분비 상태와 관련된 AF의 효과에 관한 다른 예는, 예컨대, 염증성 장질환(inflammatory bowel disease), 뇌부종(brain oedema), 녹내장(glaucoma), 두개내압 상승(elevated intracranial pressure), 메니에르병(Morbus Meniere), 및 유선염(mastitis)이다. AF는 또한 녹내장의 치료를 위하여 고려된 바 있다(WO 97/08202).

발명의 내용

[0009] 본 발명은 구획 중후군의 치료 및/또는 예방용 약학 조성물 및/또는 의료 식품의 제조를 위한, 항분비 단백질, 항분비 활성을 갖는 이의 동족체, 유도체, 및/또는 단편, 및/또는 이들의 약학적 활성 염의 용도에 관한 것이다. 본 발명은 또한, 세포 및 조직의 팽창, 세균 및/또는 바이러스를 포함하는 미생물에 의한 감염, 및/또는 예컨대 심장, 신장, 고환, 난소, 골, 관절, 선(腺)(gland), 면역 림프 구조, 신경, 뇌, 척수, 피부, 근육 및/또는 혈관벽에서의 압전(tamponade) 형성과 같은 구획 중후군과 관련된 다양한 상태의 치료 및/또는 예방에 관한 것이다.

[0010] 또한, 본 발명은 상기 언급된 바와 같은 구획 중후군의 치료 및/또는 예방 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 그러한 구획 중후군의 치료 및/또는 예방을 필요로 하는 포유동물에게 항분비 단백질, 항분비 활성을 갖는 이의 동족체, 유도체, 및/또는 단편, 및/또는 이들의 약학적 활성 염을 포함하는 약학 조성물 및/또는 의료 식품을 치료학적 유효한 양으로 투여하는 단계를 포함한다.

[0011] 본 발명은 또한, 환자의 연령, 성별, 상태 등 뿐아니라 의도하는 치료 목적에 적합한 다양한 투여 용량 및 경로에 관한 것이다.

[0012] 본 발명에 의한 치료는 구획 중후군이 발생할 위험에 있고/있거나 그 구획 중후군을 앓고 있는 환자 및/또는 병원성 물질의 흡수 및/또는 방출이 발생할 위험이 있고/있거나 그 흡수 및/또는 방출을 앓고 있는 환자에게 가장 유용할 것이다. 또한, 이와 같은 치료는 비정상적 압력을 가지는 구획과 같은 둘러싸인 구획으로부터 유체 및 이온의 비정상적인 턴오버(turnover)를 특징으로 하는 다른 상태들에도 또한 유익할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0013] 도 1: 도 1은 서열 번호 6에 따른 본 발명의 항분비 단백질의 아미노산 서열을 도시한다. 상기 서열은 미국 특허 제 6,344,440 호의 서열 번호 2에 상응한다.

도 2: 측뇌실(lateral ventricles) 영역 내 대뇌 피질 내에 삽입된 광섬유 도광 탐침을 이용하여 측정한 래트

(rat) 내에서의 ICP를 도시한 것이다. 도 2a는 5일째 HSV-1 감염이 40 mmHg를 초과하는 ICP 증가를 초래함을 입증한다. 이와 대조적으로, 도 2b는 ICP가 거의 정상 수준으로 복귀되었음을 입증한다. 도 2c는 정상인, 비-치료되고 비-감염된 래트 내에서 낮은 ICP가 명백히 나타났음을 입증한다. 상기 탐침은 대기압에 대하여 보정하였다.

도 3: 0일째 우측 콧구멍에 바이러스 용액 투여에 의하여 HSV-1 감염된 래트의 생존 빈도를 도시한 것이다. 래트의 절반(n=15)을 1 µg의 AF-16으로 매일 2회 비강내 투여하였고(상부 선), 나머지 절반은 HSV-1 감염 후 비히클만으로 처리하였다(하부 선). 비히클만으로 처리된 래트들 중 단지 10%만이 14일간 생존하였으며, 이는 AF-16으로 처리된 래트들의 60%가 생존한 것과 대조적이었다. 따라서, AF-16은 HSV 뇌염에서 생존율을 현저히 증가시켰다.

도 4: 우측 콧구멍에 바이러스 용액 주입에 의한 설치류 내 HSV 감염후 뇌 절편의 저배율(a,b) 및 고배율(c,d) 확대를 도시한 것이다. 세포질 내에 HSV 단백질을 갖는 신경 세포는 뚜렷하게 어둡게 염색한다. 시상(thalamus)의 신경교세포(d)는 그 세포질 내에 HSV 단백질이 풍부하므로 뚜렷하게 윤곽이 나타난다. 많은 신경 세포들이 비-반응성(염색되지 않음)임을 주목한다. AF-16 처리된 동물과 단지 비히클만으로 처리된 동물 간에 HSV-1 양성 뇌 세포의 빈도 또는 분포에 있어서 차이는 없었다.

도 5: 우측 콧구멍 내에 HSV-1로 감염된 래트의 뇌조직에서 수행된 정량적 PCR를 도시한 것이다. 우측 콧구멍 내에 바이러스 접종후 5일 내지 14일 사이에 뇌 표본을 얻었다. 그 결과, 비히클 처리군과 AF-처리군 사이에 HSV-1 DNA 양에 있어서 차이를 나타내지 않았다. 따라서, AF-16 처리는 비히클만으로 처리된 래트들(도 2a)과 비교하여 생존율을 현저히 증진시켰음에도(도 2b) 불구하고, AF-16은 HSV-1 생산에 현저한 영향을 미치지 않았다.

도 6: 코로부터 뇌를 분리시키며 후각 신경이 통과하는 골 구조인 사상판(cribriform lamina)을 통한 절편을 도시한 것이다. 도 6a에서, 염료-단백질 복합체인 에반스 블루-알부민(EBA: Evans blue-albumin)을 HSV-1 감염 후 5일째에 지주막하 공간(subarachnoid space)내로 주입하였다. 상기 동물들은 종종 뇌염을 앓았다. 뇌와 비강 사이에 통로가 막혀 있으므로, 사상판 내에 또는 코 내에 적색 EBA는 없음을 주목한다. 도 6b에서, EBA를 비-감염된 정상 래트의 지주막하 공간 내로 주입하였다. 사상판을 통한 강한 적색 염색은 뇌(위)로부터 비강(아래)으로의 CSF의 통과를 나타낸다. HSV-1 감염된 동물을 AF-16으로 처리하여 사상판을 통한 CSF 통로를 개방하였으며, 따라서 도 b에 나타난 바와 같이 정상적인 비-감염된 동물과 동일하게 보이는 사진을 얻었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

정의 및 약어

약어

ICP: 두개내압(intracranial pressure); CSF: 뇌척수액(cerebrospinal fluid); CNS: 중추신경계(central nervous system), 즉, 뇌 및 척수; IFP: 간질액 압력(interstitial fluid pressure); HSV: 단순포진바이러스(herpes simplex virus); PBS: 인산 완충 식염수(phosphate buffered saline); CP: 구획 압력(compartment pressure); CC: 폐쇄된 구획(closed compartment); CS: 구획 증후군(compartment syndrome); AF: 항분비 인자(antisecretory factor), AF-16: 아미노산 VCHSKTRSNPPNNVGL; 옥타펩타이드 IVCHSKTR; 셋타펩타이드 VCHSKTR; 헥사펩타이드 CHSKTR; 펜타펩타이드 HSKTR로 구성되는 웨بت아이드.

정의

본 명세서에서, "구획 증후군"은 압력 내성 구조에 의해 범위가 정하여지는 세포, 조직, 한정된 구조 및/또는 기관 내 한정된 공간 내에서 대사 장애 및 결국 손상을 초래하는 상승된 압력으로 정의된다. 구획 증후군이라는 용어는 의료 실습에서 특정되고 한정된 용적을 통한, 예컨대, 혈액 및/또는 림프 흐름의 감소 또는 심지어 차단을 야기하는 폐쇄된 용적, 즉 구획 내에서 비정상적으로 증가된 압력을 특징으로 하는 병리학적 상태를 규명하기 위하여 사용된다. 구획 증후군은 본 명세서에 개시된 바와 같은 바이러스 및 미생물 감염, 종양, 출혈, 혀혈, 외상, 과도하한 및/또는 비정상적인 기능 또는 부하 등과 같은 다양한 상태에 의하여 야기되거나 그러한 상태를 야기할 수 있다. 본 발명의 문맥상, 용어 "폐쇄된 구획"은 압력 내성 구조에 의해 범위가 정하여지는 세포, 조직, 기관 및/또는 해부학상 구조에서의 한정된 공간을 의미한다.

단백질은 웨بت아이드 결합에 의하여 결합되는 아미노산 잔기로 구성되는 생물학적 거대분자이다. 단백질은 아미노산의 선형 고분자로서 또한 폴리펩타이드로도 불리운다. 전형적으로, 단백질은 50 내지 800 개의 아미노산 잔기

를 가지며, 따라서 약 6,000 내지 약 수십만 달톤 이상의 범위의 분자량을 가진다. 작은 단백질은 펩타이드 또는 올리고펩타이드로 불리운다. 용어 "단백질" 및 "펩타이드"는 본 발명의 문맥상 호환적으로 사용될 수 있다.

[0020] "약학 조성물"은 본 발명의 문맥상, 임의로 약제학적으로 활성인 부형제(excipient), 예컨대 담체(carrier) 또는 비히클(vehicle)과 함께 치료학적 활성 양의 항분비 단백질을 포함하는 조성물을 의미한다. 상기 약학 조성물은 적절한 투여 경로를 위하여 제제화되며, 이는 환자의 상태 및 연령 또는 선호하는 선택과 같은 기타 요인들에 의하여 변화할 수 있다. 항분비 단백질을 포함하는 약학 조성물은 약물 전달 체계로서 작용한다. 상기 약학 조성물은 투여시 활성 물질을 인간 또는 동물의 체내에 제공한다. 상기 약학 조성물은 예컨대 정제, 환약, 로젠지(lozenge), 캡슐, 죠약, 갤 등의 형태일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0021] 용어 "약학적 활성 염"은 소위 호프마이스터 계열(Hofmeister series)에 근거한 항분비 단백질로부터 유도되는 임의의 염일 수 있는 항분비 단백질의 염을 의미한다. 기타 약학적 활성 염의 예는 트리플루오로아세테이트, 아세테이트 및 리신 클로라이드를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0022] 용어 "항분비"는 본 발명의 문맥상 분비 특히 장 분비를 억제 또는 감소시킴을 의미한다. 따라서, 용어 "항분비 단백질"은 체내에서 분비를 억제하거나 감소시킬 수 있는 단백질을 의미한다.

[0023] 본 발명의 문맥상 "의료 식품"은 본 발명에 의한 항분비 단백질을 포함하는 조성물을 이용하여 제조된 식품을 의미한다. 상기 식품은 액상 또는 분말과 같은 유체 또는 고체 형태의 임의의 적절한 식품이거나 기타 임의의 적절한 식료품일 수 있다. 이와 같은 물질의 예는 WO 00/38535에서 찾을 수 있다.

[0024] 본 발명의 문맥상, "항분비 단백질" 또는 이의 동족체, 유도체 및/또는 단편은 WO 97/08202에 정의된 바와 같은 용어 "항분비 인자" 또는 "항분비 인자 단백질"과 호환적으로 사용될 수 있으며, 항분비 단백질 또는 펩타이드 또는 항분비 활성을 갖는 이의 동족체, 유도체 및/또는 단편을 의미한다. 따라서, 본 발명의 문맥상, "항분비 인자", "항분비 인자 단백질", "항분비 펩타이드", "항분비 단편" 또는 "항분비 단백질"은 이의 유도체, 동족체 및/또는 단편을 의미할 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 상기 용어들은 본 발명의 문맥상 모두 호환적으로 사용될 수 있다. 또한, 본 발명의 문맥상, 용어 "항분비 인자"는 약어 "AF"로 사용될 수 있다. 본 발명의 문맥상 항분비 단백질 또한 WO 97/08202 및 WO 00/38535에서 앞서 정의된 바와 같은 항분비 특성을 가지는 단백질을 의미한다. 항분비 인자는 또한 예컨대 WO 05/030246에 개시된 바 있다. 또한, 이하 추가로 기술될 SE 900028-2 및 WO 00/38535에 개시된 바와 같은 항분비 인자가 풍부한 난황은 용어 항분비 인자를 의미한다.

[0025] "분무기(nebulizer)"는 본 발명의 문맥상 분무제 형태로 약물을 기도에 전달하는 의약 기구를 의미한다. "분무기" 압축기는 관을 통하여 물약으로 채워진 약 컵 내로 공기를 밀어 넣는다. 공기의 힘은 액체를 기도 내로 깊이 흡입될 수 있는 작은 분무제와 같은 입자로 부서뜨린다.

[0026] 본 발명의 문맥상, "흡입기"(inhaler)는 약제를 건조 분말의 형태로 기도에 전달하는 의약 기구를 의미한다. 흡입된 공기는 흡입될 건조 분말을 통과하고 기도 내로 깊이 흡입될 수 있는 작은 입자들을 분배시킨다. 처리될 피험체는 흡입하여 필요로 하는 힘을 공기에 전달하거나, 압축 공기가 이용되거나, 대안적으로 이들의 조합이 이용된다.

[0027] 용어 "에어로졸"은 본 발명의 문맥상 미세 고체 또는 액체 입자의 기체 혼탁액을 의미한다.

[0028] 본 발명의 문맥상 "미생물"은 예컨대 세균, 진균, 원생동물 및 바이러스와 같은 미생물을 의미한다. 미생물의 다른 예는 본 명세서에 기재된다.

발명의 상세한 설명

[0030] 본 발명자들은 놀랍게도, 구획 증후군(CS)에서 생체를 항분비 단백질 및/또는 펩타이드(AF)로 처리하면 영양분, 노폐물, 대사산물, 이온, 물 및/또는 기타 분자의 전달을 회복하고 정상화함을 발견하였다. 항분비 단백질 및 펩타이드는 따라서 놀랍게도 예컨대 혈관으로부터 뿐아니라 세포로부터 운반된 물, 이온, 대사산물 및 물질의 폐쇄된 구획(CC) 내로의 전달을 회복하고/하거나 정상화하는 것으로 밝혀졌다. 이에 따라, 항분비 단백질은 불리한 영향을 감소 및/또는 상쇄시키고, 또한 세포로 유입하고/하거나 세로포로부터 방출되는 물질의 내재화 및/또는 방출을 예방할 수 있다. 상기 항분비 단백질, 이의 동족체, 유도체, 단편 및/또는 펩타이드는 구획 증후군의 개시 원인이 출혈, 외상, 큰 부하, 혈관 장애, 미생물 및/또는 바이러스, 독성 제제에 의한 감염 또는 이들 원인들의 조합이든 상관없이 작용한다. 상기 항분비 단백질, 이의 동족체, 유도체, 단편 및/또는 펩타이드는 따라서 CC 내에 세포 및 조직의 생존을 증진시키는 것을 보조한다. 결과적으로, 달리 CS로 인해 유도된 손상은 감소시키거나 또는 심지어 방지할 수 있다.

- [0031] 현재 구획 증후군에 유용한 적절한 치료법이 없기 때문에, 구획 증후군의 약리학적 치료를 목적으로 하는 개선된 약물이 오랫동안 요구되어 왔다. 본 발명에 의한 항분비 단백질의 유리한 효과가 이하 예증된다.
- [0032] 본 발명자들은 항분비 단백질, 이의 동족체, 유도체, 단편 및/또는 웨타이드가 다양한 서로 다른 위치에서 서로 다른 병인의 CS에 대하여 유리한 효과를 가지는 것을 발견하였다. 본 발명을 특정 과학적 설명에 한정하고자 하는 것은 아니지만, 항분비 단백질 및 웨타이드(AF)는, 이들이 세포막 내에 지질 라프트(lipid raft) 및 카베올라(caveolae)에 영향을 미친다는 발휘된 효과로 인하여, CS 확립을 강력한 방식으로 파괴하고 앞서 언급한 상태들을 정상화하는 것으로 현재 믿어지고 있다.
- [0033] 지질 라프트는 병소의 높은 콜레스테롤 및 스팽고마이엘린 농도를 특징으로 하는 나노미터의 평균 크기를 가지는 막 영역이다(Lodish et al., 2004; Pollard & Earnshaw, 2002; Ross & Pawlina, 2006 참조). 상기 지질 라프트는 대량 운반 및 세포 신호전달에 수반되는 다양한 내재성 및 표재성 막 단백질을 함유한다. 이와 같은 신호전달 플랫폼은 세포막 내에 부유하며, 수용체, 커플링 인자, G 단백질 시스템, 작동체, 효소 및 화합물, 및 기질로서 적당한 기능을 위하여 필요한 요소들을 구비함으로써, 특정 이온, 분자 및 신호를 받고 전달할 수 있다. 상기 영역은 나아가 예컨대 세포 골격과 상호작용하고 있으며, 부가적으로, 간질액 압력뿐 아니라 간질액의 조성 및 턴오버에도 영향을 미친다. 플로틸린-1(Flotillin-1)은 지질 라프트의 확산의 지표가 되는 단백질이다. 다른 지질 라프트의 마커는 스팽고지질(sphingolipid) GMI이다. 나아가, 지질 라프트는 매우 다양한 포유동물 세포 내에서 및 예컨대 바이러스의 흡수, 내재화 및 나아가 세포 내 처리뿐 아니라 소포 이동 및 신호 변환과 같은 중요한 세포 기능을 위한 부위 내에서 발견되는 병형상의 합입부인 카베올라와 관련된다. 카베올라의 턴오버가 존재하며, 이는 부가적으로 바이러스뿐 아니라 미생물의 방출 및 내재화와 관련된다. 성장 인자 수용체, 염증성 신호 수용체, 신경전달물질 수용체 및 신경전달물질, 이온 채널, 아쿠아포린 및 기타 운반체의 제흡수를 위한 시스템의 세포막 내에 지질 라프트와 카베올라가 밀접된다. 상기 지질 라프트와 카베올라는 매 순간 세포와 기관의 우세한 기능에 관련된 신속하고 동적인 변화를 겪는다.
- [0034] 본 발명자들은 최근에 항분비 단백질, 항분비 활성 및/또는 이와 동등한 기능 및/또는 유사 활성을 갖는 이의 동족체, 유사체 또는 단편, 또는 이의 약학적 활성 염이 세포막 내에서 지질 라프트 및/또는 카베올라의 기능 장애, 예컨대 기능 이상, 기능 불충분, 기능 저하 및/또는 기능 항진을 치료 및/또는 예방함에 있어서 유리한 효과를 가짐을 입증할 수 있었다.
- [0035] 따라서, 항분비 단백질, 동등한 기능 활성을 갖는 이의 유도체, 동족체, 및/또는 단편, 및/또는 이들의 약학적 활성 염은 세포막 내에서 지질 라프트 및/또는 카베올라의 기능 장애에 대하여 유리한 효과를 가지는 것으로 입증되었으며, 따라서 세포막 내에 지질 라프트 및/또는 카베올라의 구조, 분포 및 다양한 기능을 모니터링하고/하거나 이에 유리한 영향을 미치는데에 이용될 수 있다. 이와 같은 유리한 영향의 예는 기능 저하 또는 기능 항진과 같은 기능 이상을 중화하여, 지질 라프트 또는 카베올라를 구조적으로 및 기능적으로 회복 및/또는 정상화하여, 질환, 손상, 회복 과정 및 기타 기능 장애에서 생존 및/또는 구조를 개선하는 것일 수 있다. 부가적으로, 상기 항분비 단백질은 조직 구성 성분의 분포를 정상화하기 위해서뿐 아니라 세포 산물의 세포내 운반 및 방출을 모니터링하기 위하여 사용될 수 있다.
- [0036] CS 발병 위험이 높은 상태의 예는, 출혈과 관련되거나 관련되지 않은 외상, 큰 부하, 종양, 또는 다리 또는 가슴과 같은 사지에의 실질적인 손상(예컨대, 심장 압전)이다. 근육 또는 전에 대한 극심한 부하 또한 CS의 신호를 야기할 수 있다. 기관, 조직 또는 관절의 감염 또한 마찬가지이다. 마이코박테리아(*Mycobacteria*), 슈도모나스(*Pseudomonas*), 클라미디아(*Chlamydia*), 코커스(*Cocci*), 브루셀라(*Brucella*) 및 리스테리아(*Listeria*)와 같은 세균 및 광범위한 바이러스를 포함하는 미생물 및 미생물 독소가 원인이 될 수 있다. 약물의 과용 및 예컨대 신경전달물질, 점막, 효소 및 바이러스의 방출은 기타 병원성 요인이다. 원발성 또는 전이성 종양 및 출혈은 CS를 초래할 가능성이 있는 원인의 예의 목록에 추가된다.
- [0037] 본 발명의 문맥상, 검사될 구획 내에 간질액의 압력을 첨단의 도광 유리 섬유 센서를 이용하여 실제 압력을 측정함으로써 결정된다. 따라서, 구획 내에 및 어떠한 경우 인접하는 세포 내에서도 우세한 압력에 대한 신뢰할 수 있는 값이 얻어진다.
- [0038] 예컨대 고형종양은 높은 간질액 압력을 가지므로 종양 세포와 혈액과 림프 순환 사이에 모세관 운반을 방해하는 것으로 문헌에 알려져 있다. 이에 따라, 세포독성 약물과 같은 치료제의 불충분한 흡수로 인하여 종양 치료에 대한 장해가 발생한다(Heldin et al., 2004 참조). 나아가, 제한된 혈액 순환으로 인한 산소 능력 제한으로 인하여 방사선 치료에서 자유 라디칼 생성이 불충분할 것이다. 따라서, 간질액 압력을 낮춤으로써 암 치료 효능을

개선시키는 새로운 치료 스케줄이 크게 요구되고 있다.

- [0039] 항분비 단백질 및 웨타이드(AF)의 사용은 실시예에 기술된 조직, 기관 및 해부학상 구조에 제한되지 않으며, 간 질액 압력 상승 및 특정 물질의 흡수 및 방출을 또한 특징으로 하는 부가적인 상태 및 질환을 포함한다.
- [0040] 본 발명의 약학 조성물은 국소 적용, 원위치(*in situ*) 국소 적용, 경구 투여, 비강내 투여, 피하 투여 및/또는 혈관 또는 호흡기를 통하여 전신 투여될 수 있다.
- [0041] 항분비 인자는 체 내에서 자연적으로 발생하는 부류의 단백질이다. 인간 항분비 인자 단백질은 뇌하수체로부터 분리시 382개의 아미노산을 포함하는 41 kD 단백질이다. 본 발명에 의한 구획 증후군에 대한 활성 부위는 단백질의 N-말단에 가까운 영역 내 단백질로 편재화되는 것으로 보이며, 아마도 서열 번호 6의 아미노산 1 내지 163 또는 이 영역의 단편으로 편재화될 것이다.
- [0042] 본 발명자들은 상기 항분비 인자가 모든 세포 내에, 보다 구체적으로 19 S/PA 700 cap 내 우세한 구성 성분의 서브유니트인 26 S 프로테아좀(proteasome)을 구성하는, Rpn10으로도 불리우는 단백질 S5a와 어느 정도 상동인 것을 입증하였다. 본 발명에서, 항분비 단백질은 동일한 기능적 특성을 가지는 부류의 동족체 단백질로 정의된다. 상기 프로테아좀은 과잉 단백질 및 수명이 짧고 원치 않는 변성되고 이상접힌(misfolded) 비정상적인 단백질의 분해와 관련된 여러가지 기능을 가진다. 나아가, 상기 항분비 인자/S5a/Rpn10은 가장 명백히 단백질인 세포 구성성분의 분포 및 운반에 관여한다.
- [0043] 본 발명에 의한 항분비 단백질 및/또는 웨타이드의 동족체, 유도체 및 단편은 모두 구획 증후군의 치료 및/또는 예방용 약제의 제조에 그리고 구획 증후군의 치료 방법에 사용될 수 있는 유사한 생물학적 활성을 가진다. 본 발명의 문맥상, 동족체, 유도체 및 단편은 자연적으로 발생하는 항분비 단백질의 적어도 4개의 아미노산을 포함하며, 구획 증후군의 치료 및/또는 예방에서 항분비 인자의 생물학적 활성을 최적화하기 위하여 하나 이상의 아미노산을 변경함으로써 추가로 변형될 수 있다.
- [0044] 또한, 본 발명에 의한 항분비 단백질, 웨타이드, 동족체, 유사체 및/또는 단편의 아미노산 서열과 적어도 70% 동일한, 예컨대 적어도 72%, 75%, 77%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 임의의 아미노산 서열 또한 본 발명의 범위 내인 것으로 간주된다. 본 발명의 문맥상, 용어 상동 및 동일성은 호환적으로 사용된다. 즉, 다른 아미노산 서열과 명시된 정도의 동일성을 가지는 아미노산 서열은 명시된 아미노산 서열과 동일한 정도의 상동을 가진다.
- [0045] 본 발명의 문맥상, 유도체라 함은, 다른 물질로부터 직접적으로 유도되거나 또는 하나 이상의 아미노산이 변형되거나 비천연 아미노산일 수 있는 다른 아미노산으로 치환되는 부분적 치환 또는 변형에 의하여 유도되는 본원 명세서에 정의된 바와 같은 항분비 활성을 가지는 단백질을 의미한다. 예를 들면, 본 발명의 항분비 인자 유도체는 N 말단 및/또는 C 말단 보호기를 포함할 수 있다. N 말단 보호기의 한 예는 아세틸을 포함한다. C 말단 보호기의 한 예는 아미드를 포함한다.
- [0046] 기준 아미노산 서열과 적어도 예컨대 95% 동일한 아미노산 서열을 가지는 단백질, 이의 동족체, 유도체, 웨타이드 및/또는 단편이라 함은, 예컨대 웨타이드의 아미노산 서열이 기준 아미노산 서열의 각 100개 아미노산 당 5 점 변이 이하를 포함할 수 있음을 제외하고 상기 기준 서열과 동일함을 의미한다. 즉, 기준 아미노산 서열과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 가지는 폴리웨타이드를 얻기 위하여, 기준 서열 내에 5% 이하의 아미노산을 결실 또는 다른 아미노산으로 치환하거나, 또는 기준 서열의 전체 아미노산 중에 5% 이하의 갯수의 아미노산을 기준 서열 내에 삽입할 수 있다. 상기 기준 서열의 변이는 기준 아미노산 서열의 아미노 또는 카복시 말단 포지션에서, 또는 이들 말단 포지션들 사이의 임의의 장소에서, 상기 기준 서열 내 아미노산 중에 개별적으로 또는 기준 서열 내에 하나 이상의 인접하는 기 내에 산재되어 일어날 수 있다.
- [0047] 본 발명에서 동일성을 결정하는데에는 국소 알고리즘 프로그램이 가장 적합하다. Smith Waterman과 같은 국소 알고리즘 프로그램은 한 서열 내에 하위서열을 다른 서열 내에 하위서열과 비교하고, 하위서열들과 이를 하위서열들의 정렬의 조합을 구하여, 최고의 전체 유사성 점수를 얻는다. 내부 공백은 허용된다면 폐널티를 가한다. 국소 알고리즘은 단일 도메인 또는 단지 결합 부위만이 공통되는 복수 도메인 단백질을 비교하는데 적합하다.
- [0048] 동일성 및 유사성을 결정하는 방법은 공중이 이용 가능한 프로그램으로 코드화된다. 두 개의 서열 간에 동일성 및 유사성을 결정하는 바람직한 컴퓨터 프로그램 방법은 이에 제한되지 않으나 GCG 프로그램 패키지(Devereux, J et al(1994)), BLASTP, BLASTN, 및 FASTA (Altschul, S.F. et al(1990))를 포함한다. BLASTX 프로그램은 NCBI 및 다른 출처(BLAST 매뉴얼, Altschul, S.F. et al, Altschul, S.F. et al(1990))로부터 공중이 이용할 수 있다. 각 서열 분석 프로그램은 디폴트값 기입 매트릭스와 디폴트 캡 폐널티를 가진다. 일반적으로, 문자생물학

자들은 사용되는 소프트웨어 프로그램에 의하여 확립된 디폴트 세팅을 사용할 것으로 예상된다.

[0049] 본 명세서에 정의된 바와 같은 항분비 단백질 또는 웹타이드 또는 이의 동족체, 유도체 및/또는 단편은 4 개 이상의 아미노산, 예컨대, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 아미노산과 같은 5 내지 18개의 아미노산을 포함할 수 있다. 다른 바람직한 구체예에서, 상기 항분비 인자는 42, 43, 45, 46, 51, 80, 128, 129 또는 163 개의 아미노산으로 구성된다. 바람직한 구체예에서, 상기 항분비 인자는 5, 6, 7, 8 또는 16 개의 아미노산으로 구성된다.

[0050] 바람직한 구체예에서, 상기 항분비 단백질은 난황내 적어도 1000 FIL 유닛/ml의 농도로 제공된다. 본 발명의 문맥상, 1 FIL 유닛은, WO 00/38535 및 SE 9000028-2에 개시된 바와 같이, 항분비 인자가 공급되지 않은 대조군과 비교하여 장 내에 유체 흐름의 50% 감소에 상응하는 것이다.

[0051] 다른 바람직한 구체예에서, 본 발명의 의한 항분비 단백질 또는 웹타이드 또는 항분비 활성을 갖는 이의 동족체, 유도체 또는 단편은 이하의 식에 따른 서열로 구성된다:

[0052] X1-V-C-X2-X3-K-X4-R-X5

[0053] 상기 식에서, X1은 I이거나, 서열 번호 6의 아미노산 1-35이거나, 또는 존재하지 않고; X2는 H, R 또는 K이고; X3은 S 또는 L이고; X4는 T 또는 A이고; X5는 서열 번호 6의 아미노산 43-46, 43-51, 43-80 또는 43-163이거나 또는 존재하지 않는다.

[0054] 본 발명에 의한 항분비 인자는 생체 내에서 또는 시험관 내에서, 예컨대, 재조합, 합성 및/또는 화학적 합성에 의하여 생산되고/되거나 돼지 뇌하수체 또는 새 알로부터와 같이 자연적으로 발생하는 항분비 인자의 출처로부터 분리될 수 있다. 생산후, 항분비 인자는 예컨대 보다 작은 항분비 활성 단편으로 화학적 또는 효소적 절단에 의해 또는 아미노산의 변형에 의해 추가로 가공 처리될 수 있다. 항분비 인자를 정제에 의하여 순수한 형태로 얻는 것은 현재로서 가능하지 않다. 그러나, WO 97/08202 및 WO 05/030246에 앞서 개시된 바와 같이, 생물학적으로 활성인 항분비 인자 단백질을 재조합 또는 합성에 의하여 생산하는 것은 가능하다. WO 97/08202는 또한 7-80 아미노산의 상기 단백질의 생물학적 활성 단편의 제조를 개시한다.

[0055] 본 발명에 의한 항분비 인자는 N 말단 및/또는 C 말단 보호기를 추가로 포함할 수 있다. N 말단 보호기의 한 예는 아세틸을 포함한다. C 말단 보호기의 한 예는 아미드를 포함한다.

[0056] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 상기 항분비 인자는 서열번호 1 내지 6, 즉, 아미노산에 대하여 일반적인 한 문자로 된 약어를 사용하여 VCHSKTRSNPENNVL(서열 번호 1, 또한 본 명세서에서 AF-16으로 명명됨), IVCHSKTR(서열 번호 2), VCHSKTR(서열 번호 3), CHSKTR(서열 번호 4), HSKTR(서열 번호 5) 또는 서열 번호 6에 따른 항분비 단백질의 아미노산 서열 중에서 선택된다. 서열 번호 1, 2 및 3은 예컨대 WO 05/030246에 앞서 개시된 바 있다. 첨부하는 서열 목록에 명시된 바와 같이, 상기 명시된 서열 내에 아미노산 중 일부는 다른 아미노산으로 치환될 수 있다. 이하 본 단락에서는, 특정 아미노산 서열 내에 특정 아미노산의 포지션을 좌측으로부터 계산하여, 그 특정 서열 내에 가장 N-말단의 아미노산을 포지션 1로 표시한다. 이하 명시된 바와 같은 임의의 아미노산 치환은 그 서열 내에 다른 아미노산 치환과 무관하게 수행될 수 있다. 서열 번호 1에서, 포지션 2의 C는 S로 치환될 수 있고/있거나, 포지션 3의 H는 R 또는 K로 치환될 수 있고/있거나, 포지션 4의 S는 L로 치환될 수 있고/있거나, 포지션 6의 T는 A로 치환될 수 있다. 서열 번호 2에서, 포지션 3의 C는 S로 치환될 수 있고/있거나, 포지션 4의 H는 R 또는 K로 치환될 수 있고/있거나, 포지션 5의 S는 L로 치환될 수 있고/있거나 포지션 7의 T는 A로 치환될 수 있다. 서열 번호 3에서, 포지션 2의 C는 S로 치환될 수 있고/있거나, 포지션 3의 H는 R 또는 K로 치환될 수 있고/있거나, 포지션 4의 S는 L로 치환될 수 있고, 및/또는 포지션 6의 T는 A로 치환될 수 있다. 서열 번호 4에서, 포지션 1의 C는 S로 치환될 수 있고/있거나, 포지션 2의 H는 R 또는 K로 치환될 수 있고/있거나, 포지션 3의 S는 L로 치환될 수 있고/있거나 포지션 5의 T는 A로 치환될 수 있다. 서열 번호 5에서, 포지션 1의 H는 R 또는 K로 치환될 수 있고/있거나, 포지션 2의 S는 L로 치환될 수 있고/있거나 포지션 4의 T는 A로 치환될 수 있다.

[0057] 항분비 인자가 풍부한 난황과 임의로 결합된 서열 번호 1 내지 6에 따른 단편 중 2 이상의 조합 또한 본 발명에서 의도된다.

[0058] 항분비 인자가 풍부한 난황의 투여에 의하여 구획 증후군을 치료 및/또는 예방하는 가능성 또한 본 발명에서 의도된다. SE 9000028-2는 새에서 항분비 인자의 형성이 어떻게 자극되고 난황의 소화물로부터 항분비 인자가 어떻게 회수되고 농축되는지에 대하여 개시한다. WO 00/38535는 나아가 이와 같이 회수되거나 농축된 항분비 인자를 음식물 또는 사료로 또는 다소 분리된 제품으로서 어떻게 인간 또는 동물에 투여하고 약제학적 제품으로 제

제화하는지에 대하여 개시한다. 따라서, 구획 증후군의 치료 및/또는 예방을 위한 또는 이와 같은 치료 방법에 사용하기 위한 약학 조성물과 같은 제품의 제조를 위한 항분비 인자가 풍부한 난황의 용도 또한 본원에서 의도된다.

[0059] 본 발명의 한 구체예에서, 본 발명에 의한 약학 조성물은 약제학적으로 허용가능한 부형제를 추가로 포함한다. 약제학적으로 허용가능한 부형제의 선택 및 본 발명에 사용하기 위한 최적의 농도의 선택은 당업자가 실험에 의하여 용이하게 결정할 수 있다. 본 발명에 사용하기 위한 약제학적으로 허용가능한 부형제는 용매, 완충제, 보존제, 킬레이트화제, 항산화제, 안정화제, 유화제, 혼탁제 및/또는 희석제를 포함한다. 본 발명의 약학 조성물은 통상적인 약제학적 관행에 따라, 예컨대, "Remington: 제약 과학 및 실습", 21th edition, ISBN 0-7817-4673-6 또는 "약제 기법 백과사전", 2nd edition, ed. Swarbrick J., ISBN:0-8247-2152-7에 따라 제제화될 수 있다. 약제학적으로 허용가능한 부형제는 조성물이 투여될 개체에 실질적으로 해가 없는 물질이다. 이러한 부형제는 국립 보건 기관에 의하여 주어진 요구 조건을 정상적으로 충족시킨다. 예컨대, 영국 약전, 미국 약전 및 유럽 약전과 같은 공식적인 약전에는 약제학적으로 허용가능한 부형제에 대한 규격이 정하여져 있다.

[0060] 본 발명의 약학 조성물에 임의로 사용하기에 적절한 조성물의 검토는 다음과 같다. 이러한 검토는 특정 투여 경로에 근거한 것이다. 그러나, 약제학적으로 허용가능한 부형제가 서로 다른 투여 형태 또는 조성물 내에 사용되는 경우, 특정의 약제학적으로 허용가능한 부형제는 특정의 투여 형태 또는 특정 기능의 부형제로 제한되지 않는 것으로 이해될 것이다. 본 발명은 이하 언급되는 조성물의 용도로 제한되지 않는 것으로 강조되어야 한다.

[0061] 비경구 조성물:

[0062] 전신 적용을 위하여, 본 발명의 조성물은 미소구체(microsphere) 및 리포솜을 포함하는 통상적인 비독성의 약제학적으로 허용가능한 담체 및 부형제를 포함할 수 있다. 경피 전달은 전신 투여에 대한 대안적 경로를 구성한다.

[0063] 본 발명에 사용하기 위한 조성물은 모든 종류의 고체, 반-고체 및 유체 조성물을 포함할 수 있다.

[0064] 상기 약제학적으로 허용가능한 부형제는 용매, 완충제, 보존제, 킬레이트화제, 항산화제, 안정화제, 유화제, 혼탁제 및/또는 희석제를 포함할 수 있다. 다양한 제제의 예는 이하에 주어지는 바와 같다.

[0065] 다양한 제제의 예:

[0066] 용매의 예는 이에 제한되지 않으나 물, 알코올, 혈액, 혈장, 척수액, 복수액 및 림프액을 포함한다.

[0067] 완충제의 예는 이에 제한되지 않으나, 구연산, 초산, 주석산, 젖산, 인산수소, 중탄산염, 인산염, 디에틸아민 등을 포함한다.

[0068] 퀼레이트화제의 예는 이에 제한되지 않으나 소듐 EDTA 및 구연산을 포함한다.

[0069] 항산화제의 예는 이에 제한되지 않으나 부틸화된 하이드록실 아니솔(BHA: butylated hydroxyl anisole), 아스코르브산 및 이의 유도체, 토코페롤 및 이의 유도체, 시스테인 및 이들의 혼합물을 포함한다.

[0070] 희석제 및 봉해제의 예는 이에 제한되지 않으나 락토오스, 사카로오스, emdex(등록상표), 인산 칼슘, 탄산 칼슘, 황산 칼슘, 만니톨, 전분 및 미세결정성 셀룰로오스를 포함한다.

[0071] 결합제의 예는 이에 제한되지 않으나 사카로오스, 폴리사카로오스, 솔비톨, 겹 아카시아, 소듐 알기네이트, 젤라틴, 전분, 셀룰로오스, 키토산, 소듐 카르복시메틸셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 폴리비닐파리돈 및 폴리에틸렌글리콜을 포함한다.

[0072] 본 발명의 약학 조성물은 국소 투여되거나, 정맥내 말초 주입을 통해 투여되거나, 또는 근육내 또는 피하 주사를 통해 환자 내로 투여되거나, 또는 구강, 폐, 코, 피부 또는 경구 경로를 통하여 투여될 수 있다. 나아가, 상기 약학 조성물을 환자의 뇌실 내로 외과적으로 삽입된 선투(shunt)을 통하여 투여하는 것 또한 가능하다.

[0073] 한 구체예에서, 본 발명에 사용되는 약학 조성물은 안내(intraocular), 국소, 비강내(intranasal), 경구, 피하 및/또는 전신 투여를 위하여 제제화된다. 바람직한 구체예에서, 본 발명의 조성물은 혼탁액으로서 적용되거나, 또는 보다 바람직하게는 스프레이, 에어로졸, 흡입기 또는 분무기를 사용하여 코 및/또는 호흡기에 흡입하기 위한 분말로서 적용되어 투여된다.

[0074] 항분비 인자를 포함하는 분말의 투여는 안정성 및 투여량의 측면에서 부가적인 이점을 가진다. 본 발명의 약학 조성물은 또한 국소 적용되거나, 안내, 비강내, 경구, 피하 및/또는 혈관을 통하여 전신 투여될 수 있다. 바람

직한 구체예에서, 상기 약학 조성물은 정맥내, 근육내, 국소, 경구 또는 경비 투여를 위하여 제제화된다. 전형적으로, 눈에 국소 적용을 위하여 사용하는 경우, 본 발명의 조성물 내에 적용된 농도는, 매일 단회 투여량로서 또는 매일 수회 반복(다회 투여)으로서, 1회 적용 당 1 μg 내지 10 mg, 예컨대, 1회 적용 당 1 μg 내지 1 mg, 바람직하게 50 내지 1000 μg , 보다 바람직하게 50 내지 250 μg 이나, 이에 제한되지는 않는다.

[0075] 혈액에 전신 투여하는 경우, 투여량은, 매일 단회 투여량으로서 또는 매일 수회 반복(다회 투여)으로서, 체중 1kg 및 1회 적용 당 0.1 μg 내지 10 mg, 예컨대 체중 1kg 및 1회 적용 당 0.1 μg 내지 1 mg, 바람직하게 1 내지 1000 μg /체중 kg의 범위이다. 항분비 인자가 풍부한 난황이 본 발명에 따라 사용될 경우, 이러한 제제는 바람직하게 경구 투여된다.

[0076] 따라서, 본 발명은 구획 증후군의 치료 및/또는 예방용 약학 조성물 및/또는 의료 식품의 제조를 위한, 항분비 단백질 또는 항분비 활성을 갖는 이의 유도체, 동족체, 및/또는 단편, 및/또는 이들의 약학적 활성 염의 용도에 관한 것이다. 한 구체예에서, 상기 항분비 단백질은 하기 식에 따른 서열로 구성된다:

[0077] X1-V-C-X2-X3-K-X4-R-X5

[0078] 상기 식에서, X1은 I이거나, 서열 번호 6의 아미노산 1-35이거나, 또는 존재하지 않고; X2는 H, R 또는 K이고; X3은 S 또는 L이고; X4는 T 또는 A이고; X5는 서열 번호 6의 아미노산 43-46, 43-51, 43-80 또는 43-163이거나 또는 존재하지 않는다. 한 구체예에서, 본 발명은 서열 번호 1에 도시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 항분비 단백질의 용도에 관한 것이다. 다른 구체예에서, 본 발명은 서열 번호 2에 도시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 항분비 단백질의 용도에 관한 것이다. 또 다른 구체예에서, 본 발명은 서열 번호 3에 도시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 항분비 단백질의 용도에 관한 것이다. 또 다른 구체예에서, 본 발명은 서열 번호 4에 도시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 항분비 단백질의 용도에 관한 것이다. 또 다른 구체예에서, 본 발명은 서열 번호 5에 도시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 항분비 단백질의 용도에 관한 것이다.

[0079] 또 다른 구체예에서, 본 발명은 서열 번호 6에 도시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 항분비 단백질, 서열 번호 6의 아미노산 38-42를 포함하는 이의 동족체, 유도체 및/또는 단편의 용도에 관한 것이다.

[0080] 또 다른 구체예에서, 본 발명은 서열 번호 1 내지 6에 개시된 바와 같은 단백질, 및 서열 번호 6에 개시된 바와 같은 단백질, 또는 서열 번호 6의 아미노산 38-42 또는 본 명세서에 기술된 일반식으로 표시되는 서열을 포함하는 이의 동족체, 유도체 및/또는 단편으로부터 선택되는 2 이상의 항분비 단백질을 포함하는 약학 조성물의 용도에 관한 것이다.

[0081] 한 바람직한 구체예에서, 상기 항분비 단백질은 이와 같은 항분비 단백질이 풍부한 난황으로 제공되며, 여기서 상기 항분비 단백질은 바람직하게 상기 난황내 적어도 1000 FIL 유닛/ml의 농도로 제공된다.

[0082] 본 발명의 한 구체예에서, 상기 약학 조성물은 약제학적으로 허용가능한 부형제를 추가로 포함한다. 이러한 부형제는 특정 목적에 적절한 것으로 선택되는 임의의 바람직한 부형제일 수 있다. 부형제의 예는 본원 명세서에 개시된 바와 같다.

[0083] 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 약학 조성물은 안내, 비강내, 경구, 국소, 피하 및/또는 전신 투여를 위하여 제제화된다. 선택되는 투여 경로는 처리될 환자의 상태 및 환자의 연령 및 성별 등에 따라 변화할 것이다.

[0084] 다른 구체예에서, 상기 약학 조성물은 스프레이로서 투여, 에어로졸로서 투여, 또는 분무기 또는 흡입기에 의한 투여를 위하여 제제화된다. 다른 구체예에서, 본 발명은, 매일 단회 투여량으로서 또는 매일 수회 반복 투여로서, 체중 1kg 및 1회 적용 당 0.1 μg 내지 10 mg, 예컨대, 체중 1kg 및 1회 적용 당 0.1 μg 내지 1 mg, 바람직하게는 1 - 1000 μg /체중 kg, 예컨대, 1-50, 1-100, 100-250, 또는 50-500 μg /체중 kg의 투여량으로, 혈액에 전신 투여를 위하여 제제화되는 약학 조성물 및/또는 의료 식품에 관한 것이다. 필요로 하는 환자에게 배분되는 약학 조성물의 양은 물론 처리될 환자에 따라 변화할 것이며, 각각의 경우에 대하여 개업의와 같은 당업자에 의하여 결정될 것이다. 상기 투여는 단회 투여량으로서 또는 1일 다회 투여로서 수행할 수 있다.

[0085] 한 구체예에서, 본 발명은, 세포 및 조직의 비정상적인 팽창을 야기하는 구획 증후군의 치료 및/또는 예방용 약학 조성물 및/또는 의료 식품의 제조를 위한, 항분비 단백질, 항분비 활성을 갖는 이의 유도체, 동족체 및/또는 단편, 및/또는 이들의 약학적 활성 염의 용도에 관한 것이다. 다른 구체예에서, 상기 구획 증후군은 근육, 신경, 혈관 및/또는 건과 관련된 비-정상적 부하, 손상 또는 질환에 의하여 야기된다. 이와 같은 근육, 신경, 혈관, 관절 및/또는 건에 대한 비정상적인 부하는 예컨대 외상, 장기간에 걸친 운동 또는 높은 부하에서 발생할

수 있다. 나아가, 약물은 세포 팽창뿐 아니라 간질 조직액 압력의 상승을 야기할 수 있다. 다른 바람직한 구체 예에서, 상기 증후군은 미생물에 의하여 야기된다. 본 발명의 문맥상, 상기 미생물은 세균, 및 바이러스, 예컨대 단순포진바이러스 1형(Herpes Simplex Virus Type 1)과 같은 RNA 바이러스 또는 DNA 바이러스일 수 있다. 파포바비리다에(Papovaviridae), 오르토믹소비리다에(Orthomyxoviridae), 플라비비리다에(Flaviviridae), 토가비리다에(Togaviridae), 헤파드나비리다에(Hepadnaviridae), 인간 면역결핍 바이러스 또는 간염 C 바이러스 모두 본 발명의 범위 내에 포함된다. 다른 구체예에서, 본 발명은 바이러스 및/또는 미생물 감염 및 바이러스 및/또는 미생물 감염과 관련된 상태의 치료 및/또는 예방용 약학 조성물 및/또는 의료 식품의 제조를 위한, 항분비 단백질, 또는 항분비 활성을 갖는 이의 유도체, 동족체 및/또는 단편, 및/또는 이들의 약학적 활성 염의 용도에 관한 것이다. 본 발명의 범위 내에 포함되는 세균 감염의 예는, 미코박테리아, 슈도모나스, 클라미디아, 브루셀라 및 리스테리아와 같은 병원성 균주에 의한 감염을 포함한다. 본 발명은 그러나 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 한 구체예에서, 세균과 같은 미생물은 효소, 독소 및/또는 안료를 방출하고/하거나 인접하는 세포 및 조직에 의한 반응성 인자의 형성 및/또는 방출을 유도한다. 또한, 본 발명의 문맥상, 상기 미생물은 원생생물, 원생동물, 충(worm) 및 진균으로 이루어지는 군으로부터 선택될 수 있다.

[0086] 다른 구체예에서, 상기 증후군은 프리온에 의하여 야기된다. 프리온은 바이러스와 유사하나 핵산이 결여되어 있는 감염성 단백질 입자로서 정의되며, 스크래피(scrapie) 및 기타 신경계의 퇴행성 질환에 책임이 있는 제제로 생각되고 있다. 프리온은, 광우병, 스크래피 및 이와 관련된 상태 및 질환의 인간 유형을 구성하는, 산발성, 유전적 및 후천적 변형을 포함하여, 크로이펠츠-야코프병(Creutzfeldt-Jakob's disease)과 같은 많은 신경계 장애의 원인으로 간주되고 있는 단백질 유형이다. 또 다른 구체예에서, 상기 증후군은 세포 또는 조직 내 생성물질의 비정상적 운반에 의하여 야기된다.

[0087] 또 다른 본 발명의 구체예에서, 상기 증후군은 허혈을 야기한다. 허혈은 낮은 산소 상태로서 정의되며, 이는 주로 동맥혈 공급 파괴 또는 조직 내 저산소증을 초래하는 불충분한 혈액 흐름으로 인한 것이다. 또 다른 구체예에서, 상기 증후군은 약물 및/또는 치료상 또는 진단상 측정에 의하여 야기된다.

[0088] 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 구획 증후군은 두개골내 및/또는 뇌내 및/또는 척추 및 척수내 및/또는 동맥, 정맥 또는 심장벽의 확장에 의하여 형성되는 낭(sac)인 맥류(aneurysms)에 의한 출혈과 같은 출혈에 의하여 야기된다. 다른 구체예에서, 상기 증후군은 심장, 고환, 난소, 선(腺), 림프 기관 및/또는 신장과 같은 피막(capsule)에 의해 둘러싸인 기관 또는 구조의 압전에 의하여 야기된다. 심장압전은 심근(심장의 근육)과 심낭(심장의 바깥쪽을 덮는 낭) 사이의 공간에 혈액 또는 유체 축적에 의하여 야기되는 심장의 압축이다. 또 다른 구체예에서, 상기 증후군은 체 내 어느 곳에라도 존재하는 양성 및/또는 악성 종양에 의하여 야기되고/하거나 종양 및/또는 인접한 구조의 치료와 관련이 있다. 종양은 간질액 압력 상승을 특징으로 하며, 이는 약물 및 치료상 측정에 대한 종양 세포의 유용성을 감소시킬 수 있다. 또한, 종양 내 압력 상승은 전이성 전파 경향에 영향을 미칠 수 있다. 부가적으로, 종양은 그 크기의 팽창에 의하여 인접하는 정상 조직 및 기관의 압력 상승을 야기함으로써, CS를 발생할 수 있다. 따라서, CS는 종양을 앓고 있는 많은 환자 내에서 빈번하고 심각한 합병증이다. 또 다른 구체예에서, 상기 증후군은 면역 반응에 의하여 야기된다. 또한, 한 구체예에서, 상기 증후군은 추간판 손상 또는 외상을 야기하거나 이러한 손상 또는 외상의 결과일 수 있다.

[0089] 추가적인 구체예에서, 상기 증후군은 관절 및/또는 전(腱) 및/또는 인대의 세포독성 팽창에 의하여 야기된다. 또한, 본 발명의 다른 측면에서, 상기 증후군은 신경 및/또는 혈관 벽의 세포독성 의존적 팽창에 의하여 야기된다. 또 다른 구체예에서, 상기 증후군은 약물 및/또는 약학 조성물에 의하여 야기된다. 또 다른 구체예에서, 상기 증후군은 x-레이, 고에너지 방사, 국소 냉각, 국소 가열, 광선요법 및 종양 치료용 약물을 이용하는 종양의 치료에 의하여 야기되는 부작용에 의하여 야기된다.

[0090] 다른 측면에서, 본 발명은 구획 증후군의 치료 및/또는 예방 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 항분비 단백질 또는 항분비 활성을 갖는 이의 유도체, 동족체 및/또는 단편, 및/또는 이들의 약학적 활성 염을 포함하는 약학 조성물을 유효량으로 그러한 구획 증후군의 치료 및/예방을 필요로 하는 포유동물에게 투여하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 본 발명은 상기 항분비 단백질이 하기 식: X1-V-C-X2-X3-K-X4-R-X5 (상기 식에서, X1은 I이거나, 서열 번호 6의 아미노산 1-35이거나, 또는 존재하지 않고; X2는 H, R 또는 K이고; X3은 S 또는 L이고; X4는 T 또는 A이고; X5는 서열번호 6의 아미노산 43-46, 43-51, 43-80 또는 43-163이거나 또는 존재하지 않음)에 따른 서열로 구성되는 것을 특징으로 하는 방법에 관한 것이다. 다른 구체예에서, 본 발명은 상기 항분비 단백질이 서열 번호 1에 도시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법에 관한 것이다. 다른 구체예에서, 본 발명은 상기 항분비 단백질이 서열 번호 2에 도시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법에 관한 것이다. 다른 구체예에서, 본 발명은 상기 항분비 단백질이 서열 번호 3에 도시된

바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법에 관한 것이다. 다른 구체예에서, 본 발명은 상기 항분비 단백질이 서열 번호 4에 도시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법에 관한 것이다. 다른 구체예에서, 본 발명은 상기 항분비 단백질이 서열 번호 5에 도시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법에 관한 것이다. 다른 구체예에서, 본 발명은 상기 항분비 단백질이 서열 번호 6에 도시된 바와 같은 아미노산 서열을 가지는 단백질, 또는 서열 번호 6의 아미노산 38-42를 포함하는 이의 동족체, 유도체 및/또는 단편인 것을 특징으로 하는 방법에 관한 것이다. 한 구체예에서, 본 발명은 상기 약학 조성물이 서열 번호 1 내지 6, 및 서열번호 6의 단백질, 또는 서열 번호 6의 아미노산 38-42 또는 본 명세서에 기술된 일반식으로 표시되는 서열을 포함하는 이의 동족체, 유도체 및/또는 단편으로부터 선택되는 2 개 이상의 항분비 단백질을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법에 관한 것이다. 또한, 한 구체예에서, 본 발명은 상기 항분비 단백질이 그러한 항분비 단백질이 풍부한 난황으로 제공되며, 상기 항분비 단백질이 상기 난황내 바람직하게 적어도 1000 FIL 유닛/ml의 농도로 제공되는 것을 특징으로 하는 본 명세서에 개시된 바와 같은 방법에 관한 것이다. 또 다른 구체예에서, 본 발명은 상기 약학 조성물이 약제학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법에 관한 것이다. 한 구체예에서, 상기 약학 조성물은 안내, 비강내, 경구, 국소, 피하 및/또는 전신 투여를 위하여 제제화된다. 또 다른 구체예에서, 상기 약학 조성물 및/또는 의료 식품은 스프레이로서 투여, 에어로졸로서 투여, 또는 분무기 또는 흡입기에 의한 투여를 위하여 제제화된다. 상기 약학 조성물이 1일, 체중 1kg 및 1회 적용 당 0.1 µg 내지 10 mg, 바람직하게는 1일, 체중 1kg 및 1회 적용 당 1 - 1000 µg의 투여량으로 혈액에 전신 투여를 위하여 제제화되는 것을 특징으로 하는 방법 또한 본 발명의 구체예에 포함된다. 상기 방법의 한 구체예에서, 상기 투여는 단회 투여량으로서 또는 1일 다회 적용으로서 실행될 수 있다. 본 발명은, 또한, 세포 및 조직의 비정상적인 팽창을 야기하는 구획 증후군의 치료 및/또는 예방 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 항분비 단백질, 항분비 활성을 갖는 이의 유도체, 동족체 및/또는 단편, 및/또는 이들의 약학적 활성 염을 포함하는 약학 조성물을 유효량으로 그러한 구획 증후군의 치료 및/또는 예방을 필요로 하는 포유동물에게 투여하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 상기 증후군은 근육, 신경, 혈관 및/또는 건과 관련된 비-정상적 부하, 손상 또는 질환에 의하여 야기된다. 다른 구체예에서, 상기 증후군은 미생물 감염에 의하여 야기된다. 또 다른 구체예에서, 상기 증후군은 바이러스 감염에 의하여 야기된다. 한 구체예에서, 그러한 바이러스 감염은 헤르페스비리다에(Herpesviridae), 단순포진바이러스 1형(Herpes Simplex Virus Type 1), 플라비비리다에(Flaviviridae), 파포바비리다에(Papovaviridae), 오르토믹소비리다에(Orthomyxoviridae), 헤파드나비리다에(Hepadnaviridae), 토가비리다에(Togaviridae), 간염 C 바이러스 및/또는 인간 면역결핍 바이러스와 같은 RNA 바이러스 또는 DNA 바이러스에 의하여 야기되며, 이들은 모두 본 발명의 범위 내에 포함된다.

[0091]

한 바람직한 구체예에서, 본 발명은 또한, 원생생물, 원생동물, 총, 진균, 세균(이에 국한되는 것은 아님)과 같은 미생물에 의하여 야기되는 구획 증후군의 치료 및/또는 예방 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 항분비 단백질, 또는 항분비 활성을 갖는 이의 유도체, 동족체 및/또는 단편, 및/또는 이들의 약학적 활성 염을 포함하는 약학 조성물을 유효량으로 그러한 구획 증후군의 치료 및/또는 예방을 필요로 하는 포유동물에게 투여하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 상기 세균은 미코박테리아(Mycobacteria), 슈도모나스(Pseudomonas), 클라미디아(Chlamydia), 브루셀라(Brucella) 및 리스테리아(Listeria)로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 또 다른 구체예에서, 세균과 같은 미생물은 효소, 독소 및/또는 안료를 방출하고/하거나 인접하는 세포 및 조직에 의하여 반응성 인자의 형성 및/또는 방출을 유도한다. 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 증후군은 프리온에 의하여 야기된다. 또 다른 구체예에서, 상기 증후군은 세포 또는 조직 내 생성 물질의 비정상적 운반에 의하여 야기된다. 또 다른 구체예에서, 상기 증후군은 허혈을 야기한다. 또 다른 구체예에서, 상기 증후군은 약물 및/또는 치료상 또는 진단상 측정에 의하여 야기된다. 나아가, 본 발명은 상기 증후군이 뇌 척수의 기능 이상을 야기하는 것을 특징으로 하는 구체예 또한 포함한다. 또 다른 구체예에서, 상기 증후군은 두개골 내 및/또는 뇌내 및/또는 척추 및 척수내 및/또는 맥류에 의한 출혈에 의하여 야기된다. 또 다른 구체예에서, 상기 증후군은 심장, 신장, 고환, 난소, 선 및/또는 림프 기관과 같은 피막으로 둘러싸인 기관 또는 구조의 압전에 의하여 야기된다. 또 다른 구체예에서, 상기 증후군은 체 내에 존재하는 양성 및/또는 악성 종양에 의하여 야기되거나, 종양 및 인접하는 구조의 치료에 관련된다.

[0092]

나아가, 상기 증후군이 면역 반응에 의하여 야기되는 구체예 또한 본 발명의 범위 내에 포함된다. 다른 구체예에서, 상기 증후군은 추간판에 손상을 야기한다.

[0093]

본 발명에 의한 항분비 단백질, 또는 항분비 활성을 갖는 이의 유도체, 동족체 및/또는 단편, 및/또는 이들의 약학적 활성 염을 포함하는 약학 조성물을 이를 필요로 하는 포유동물에게 투여하는 단계를 포함하는 방법 및/또는 상기 약학 조성물의 제2 의약 용도는 구획 증후군과 관련된 것으로 본 명세서에 기술된 모든 상태에 관한

것임이 분명하며 이와 같이 이해되어야 할 것이다.

[0094] [실시예]

[0095] 실시예 1

[0096] 성숙한 래트의 우측 콧구멍에 단순포진바이러스 1형 용액(HSV-1; 균주 2762, 배치 041028; 1.7×10^7 PFU/mL; $25 \mu\text{l}$)을 주입하여 감염시켰다. 한 군의 동물(n=6)에 대해서는 감염 10분 후에 우측 콧구멍에 $25 \mu\text{l}$ ($10 \mu\text{g}$)의 AF-16를 투여하였으며, 그 후에, 8일 째에 실험을 종결할때까지 매일 오전 8시와 매일 오후 6시에 하루에 두번씩 동일한 투여량의 AF-16을 투여하였다. 다른 HSV-1 감염된 래트(n=6)에 동일한 시간 간격으로 코에 $25 \mu\text{l}$ 의 비히클인 인산 완충 식염수(PBS)를 투여하였다. 6일째에, 상기 동물들을 마취시키고, 두부 상의 피부를 통하여 외과적 절개를 만들고, 두개골로부터 골막과 결합 조직을 제거하였다. 우측 두정골을 통하여 약 1 mm 직경의 구멍을 뚫었으며 소형 압력 센서를 뇌 내로 또는 뇌우측뇌실 내로 3-5 mm 삽입하였다. 약 0.4 mm의 매우 작은 직경을 가지는 광섬유 압력 측정계(Samba System 3200 & Samba Preclin 420 센서; Samba Sensors AB, V Frolunda, 스웨덴)를 사용하였다. 비-감염된 정상 래트는 4-8 mmHg 범위의, 때때로 12 mmHg 이하의 두개내압(ICP)을 가졌다(도 2c). 단지 비히클만으로 처리된 HSV-1 감염된 래트는 30-45 mmHg의 높은 압력을 가지며(도 2a), 신경 장애 상태의 심각성이 증가하는 것에 의해 반영되듯이 동물에 상당한 영향을 미치는 것으로 측정되었다. 이와 대조적으로, 감염시부터 AF-16으로 매일 2회 처리된 HSV-1 감염된 래트는 거의 정상적인 ICP인 8-14 mmHg를 가졌다(도 2b). AF-16으로 매일 2회 비강내 처리함으로써, 콧물, 적안, 침흘림, 호흡곤란, 운동 불안정성, 홍분, 공격성(aggressiveness), 기면(lethargy), 감정의 신속한 변화, 반복운동, 발작, 부전마비(paresis)의 신호 및 결국 무의식으로 되는 것과 같은 신경 장애의 전개를 예방하였다는 것이 주된 관측이었다.

[0097] 명백한 상태를 가지는 추가적인 HSV-1 감염된 동물들을 또한 그 전날 비히클로 처리한 후 5, 6 또는 7일째 10 또는 $25 \mu\text{g}$ 의 AF-16으로 비강내 처리하였다. 이러한 경우, 상기 기술한 신경 장애 상태들이 30분 이내에 감소되었으며 한 시간 후 더 이상 눈에 띄지 않았다. 동시에, 감염되고 AF-16 처리된 래트 내에서 AF-16의 이로운 압력 감소 효과가 한 시간 내에 감지되었고 수 시간 지속되었다. 따라서, 단시간에 AF-16 처리된 래트들 중 어느 것도 해로운 ICP의 지속적인 신호를 나타내지 않았으며 따라서 CS 또한 발병되지 않았다.

[0098] 지주막하 공간 내에 그리고 좌우측뇌실 내에 소 혈청 알부민(EBA)과 접합하여 염료 에반스 블루를 주입하였더니 정상 래트에서 15-30분 후 코점막 내에서 마커가 나타났다(도 5b). 이는 CSF의 상당 부분이 코점막 내에서 임파선으로 추가로 경부임파선을 통하여 흘러나가 청색(형광 현미경으로 검사하면 적색)으로 변함을 입증한다. 신경 장애 신호를 나타내는 감염된 래트들은, 유사하게 EBA를 주입하면, 사판 또는 코점막의 염색을 나타내지 않았다(도 5a). 이는 도 5a의 우측 절반의 적색 염색이 없는 것으로 상기 도면에서 나타난다. 그러나, 10 또는 $25 \mu\text{g}$ 의 AF-16으로 비강내 처리하였더니 HSV-1 감염된 래트 내에서의 사진이 정상적인 비-감염된 것과 같이 변화되었다. 따라서, AF-16의 비강내 주입은 HSV-1 감염에 의하여 유도되는 CSF의 유출 차단을 번복시킨다. 이에 따라, CSF의 유출이 회복되고 ICP가 정상으로 되었다.

[0099] 설치류를 AF-16으로 처리함으로써 HSV-1 뇌염에 대한 임상적 상태를 최소화하고, HSV-1 감염되고 단지 비히클 PBS만으로 처리된 군에서 측정된 매우 높은 ICP에 의한 유해한 영향들과 대조적으로, 명백하게, 그렇지 않으면 상승될 ICP를 정상화하는 것으로 결론내린다. 뇌염 환자는 상승된 ICP를 가지는 것으로 임상적 실험의 결과 알려져 있으며, 이는 급성뿐 아니라 영구 뇌 손상을 야기할 수 있으므로 중요성이 크다. 실제로, 높은 ICP는 결국 신경 장애 및 사망의 원인이 되므로 매우 중요한 것으로 간주된다. 따라서, 본 실험의 결과로부터, AF-16을 CS에 대한 기준을 충족하는 상태를 가지는 체 내에 투여함으로써 병리학적으로 상승된 ICP를 중화시키고 이를 감소시키고 심지어 정상 수준으로 되돌림으로써, 신경 장애의 전개를 예방하고 체류성 뇌 기능부전 또는 영구적 전신 기능부전없이 또는 이를 최소화하면서 생존을 증진시킬 수 있다.

[0100] 실시예 2

[0101] 두번째 실험에서, AF-16이 실시예 1에 기재된 바와 같은 상승된 ICP를 감소시키는 투여량에서 또한 HSV-1 감염된 성숙한 설치류의 생존을 증진시키는지 여부를 조사하였다. 따라서, 래트의 우측 콧구멍에 $25 \mu\text{l}$ 의 단순포진 바이러스 1형 용액(HSV-1; 균주 2762, 배치 041028; 1.7×10^7 PFU/mL; $25 \mu\text{l}$)을 주입하여 감염시켰다. 상기 래트들의 절반을 10분 후에 $25 \mu\text{l}$ ($1, 10$ 또는 $25 \mu\text{g}$)의 AF-16으로 우측 콧구멍에 주입하였고, 그 후, 실험이 14일 째 종결될 때까지 매일 오전 8시 및 매일 오후 6시에 동일한 투여량의 AF-16을 주입하였다. HSV-1 감염된 래트의 군의 다른 절반을 동일한 시간 간격으로 $25 \mu\text{l}$ 의 비히클 PBS로 처리하였다. 상기 동물들을 매일 수회 행동장애 또는 일반적인 병의 신호에 대하여 주의하여 관찰하였다. 그 다음, 동물들을 희생시켰다. 도 3은 모두

HSV-1 감염된 동물들의 생존율을 도시하고 있다. 1 μg 의 AF-16으로 처리된 래트(n=15; 상부 선)는 시험이 진행 중인 2주 후반에 약 60%로 현저히 보다 높은 정도로 생존하였다(도 3). 이와 대조적으로, 단지 비히를만으로 처리된 HSV-1 감염 래트(n=15)는 사망률이 높았으며 단지 10%만이 실험 기간의 후반인 14일 째에 생존하고 있었다(도 3). 비히를 처리된 감염된 래트들 모두 신경 장애 신호를 나타냈다. 10 μg 또는 25 μg 의 AF-16으로 매일 2회 비강내 처리하였더니 모든 감염된 동물들이 생존하였으며, 어떠한 동물도 신경 장애의 어떠한 신호도 보이지 않았다. 포르말린 내에 고정되고 조직병리학 및 면역조직화학 검사에 있어서 통상적인 절차(Zhu, Wang & Hansson 2003을 참조)에 따라 가공 처리된 표본을 광학 현미경으로 검사하였더니, 감염된 다음 비히를 처리된 동물 내에서 가장 뚜렷이 해마상 융기(hippocampus), 소뇌 및 뇌간 내에서 염증성, 퇴행성 및 반응성 변화가 관찰되었다. 손상의 정도 및 심각성은 노출 기간 및 ICP 상승 수준 및 생존 시간에 의존하는 것임이 강조되어야 한다. 감염되고 비히를 처리된 래트의 뇌를 면역조직화학적 검사하였더니, 맥락총 내에 예컨대 플로틸린-1 및 아쿠아포린 1 면역반응성이 더 이상 나타나지 않았다. 이와 대조적으로, AF-16으로 처리된 감염된 동물 내에서, 플로틸린-1 및 아쿠아포린 1 면역반응성이 정상의 비-감염되고 비-처리된 래트와 유사하게 용이하게 감지되었다. 따라서, AF-16 처리는 세포 손실을 방지하고, 신경계 내에 시냅시스 및 지지세포를 포함하는 뉴런, 도관과 같은 정렬된 구조의 발생 및 분포의 정상화를 촉진하였다. 또한, 낮은 아쿠아포린 1 면역반응성으로 나타나는, 플로틸린-1 염색 손실, 구획 간의 물 분배 방해, 예컨대, CSF 제조, 회전 및 호흡 방해에 의해 나타나는 바와 같은 면역조직화학적으로 입증되는 맥락총 내에 플로틸린-1 및 아쿠아포린 1 면역반응성 손실은 지질 라프트의 확산, 분포 및 구성의 심각한 방해를 나타낸다. HSV-1 뇌염을 가지는 동물을 AF-16으로 처리하면 중추 신경계 내에 필수 기능을 정상화함으로써 ICP 상승 및 결과적인 CS의 발병을 차단하는 것으로 결론내린다.

[0102] 콧구멍 내에 1, 10 또는 25 μg 의 AF-16을 매일 2회 주입하여 처리함으로써 뇌염성 HSV-1 감염된 성숙한 래트의 생존율을 증가시키고 신경 장애의 전개를 차단하는 것으로 결론내려진다. 이와 같은 효과는, 두개골에 의하여 형성된 CC 내에서, 실시예 1에서 입증되는 바와 같이, AF-16 처리가 ICP가 해로운 수준으로 증가하는 것을 방지하고, ICP를 대략 정상 값으로 돌림으로써 해로운 CS의 발병을 예방하였기 때문일 것이다.

실시예 3

[0104] HSV-1 감염된 동물의 생존 개선은, AF-16 처리가 바이러스 증식 및/또는 뇌 내에 확산을 방지하였기 때문인 것으로 대안적으로 설명될 수 있었다. 이는 사실이 아님이 이하의 실험에 의하여 입증되었다. 성숙한 래트의 우측 콧구멍에 25 μl 의 단순포진바이러스 1형 용액(HSV-1; 균주 2762, 배치 041028; 1.7×10^7 PFU/mL; 25 μl)을 주입하여 감염시켰다. 상기 래트들의 절반에 10분 후에 25 μl (1 또는 10 μg)의 AF-16을 우측 콧구멍에 주입하였고, 그 후, 실험이 6일째 종결될 때까지 매일 오전 8시 및 매일 오후 6시에 동일한 투여량의 AF-16을 주입하였다. HSV-1 감염된 래트의 다른 균을 동일한 시간 간격으로 25 μl 의 비히를 PBS로 처리하였다. 상기 동물들을 행동 및 운동 장애 및 일반적인 병의 신호에 대하여 주의깊게 관찰하였다. 6일째 마취제를 과잉 투여하여 상기 동물들을 희생시키고, 두개골을 열어 뇌를 제거하였다. 후구(olfactory bulb)를 포함하는 뇌를 완충된 포르말린 내에 적어도 하루 동안 침지하여 고정시켰다. 상기 뇌를 절개하고 몇몇 개의 표본으로 나누고, 이를 파라핀 포매 및 절개후 광선 현미경 검사 처리하였다. 상기 절편을 통상적인 염색 처리 및 HSV-1 단백질의 면역 조직화학적 시각화 처리하였다(도 4). HSV-1 단백질이 신경 세포 내에서 뿐아니라(도 4a-c) 후엽과 삼차신경절을 포함하는 뇌 내에 교세포에서도(도 4d) 감지될 수 있었다는 것이 두드러진 발견이다. 신경 세포가 뚜렷이 염색되었음에 주목한다(도 4a-c에서 흑색). 그러나, 비히를만으로 처리된 동물들과 비교하여, AF-15 처리된 감염된 동물들의 뇌에서 HSV-1 단백질의 확산과 분포에 있어서 명백한 차이는 없었다. 동시에, 생래트를 HSV-1 감염시키고, 우측 콧구멍 내 매일 2회 주입에 의하여 AF-16 또는 비히를 처리하고, 6일 후 희생시켰으며, 뇌 표본을 HSV 항원 검출을 위하여 상기한 바와 같이 처리하였다. 래트에 있어서, 치료와 관련된 바이러스 항원의 분포 또는 정도에 있어서 명백한 차이는 없었다.

[0105] 따라서, 인간 치사 상태로부터 원래 분리된 뇌염성 HSV-1 균주로 감염된 설치류를 AF-16 처리하여도, 담체만으로 처리된 것들과 비교하여, 뇌 내에 HSV-1 바이러스 단백질의 확산 또는 세포 분포를 변경시키지 않는 것으로 결론내려진다. 따라서, AF-16 처리는 CNS에서 HSV-1 분포를 변경시키지 않는다. 따라서, 실시예 2에서 예증되는 바와 같은 설치류의 현저히 증진된 생존의 원인은, 실시예 1에서 보고되는 바와 같이 두개골에 의하여 형성된 CC 내에서 AF-16가 ICP가 해로운 수준으로 상승하는 것을 방지하였기 때문일 것이다. 이에 따라, 해로운 CS의 발병을 막았다.

실시예 4

[0107] 실시예 2에서 예증되는 바와 같은 HSV-1 감염된 설치류의 증진된 생존은, AF-16이 감염된 뇌 내에 HSV-1 바이러

스의 증식을 막거나 적어도 감소시켰기 때문일 수 있다는 가설이 있었다. 따라서, 성숙한 래트의 우측 콧구멍에 25 μl 의 단순포진바이러스 1형 용액(HSV-1; 균주 2762, 배치 041028; 1.7 x 10⁷ PFU/mL; 25 μl)을 주입하여 감염시켰다. 상기 래트들의 절반에 10분 후에 25 μl (1 또는 10 μg)의 AF-16으로 우측 콧구멍에 주입하였고, 그 후, 실험이 6일째 종결될 때까지 매일 오전 8시 및 매일 오후 6시에 동일한 투여량의 AF-16을 주입하였다. HSV-1 감염된 래트의 다른 군을 동일한 시간 간격으로 25 μl 의 비히를 PBS로 처리하였다. 상기 동물들을 행동 및 운동 장애 및 일반적인 병의 신호에 대하여 주의깊게 관찰하였다. 6일째 마취제를 과잉 투여하여 상기 동물들을 희생시키고, 두개골을 신속히 열어 뇌를 제거하였다. 그 후, 뇌 조직 표본을 뇌 조직 내에 나타나는 HSV-1 카피수를 측정하기 위하여, [Clinical Virology Laboratory, Sahlgrenska University Hospital, Goteborg, Sweden]에서 사용되는 통상적인 절차에 따라 RT-PCR 처리하였다. 담체만으로 처리된 것들과 비교하여 AF-16 처리된 설치류 내에 HSV-1 DNA 카피수의 확산 및 분포에 있어서 유의한 차이는 없었다는 것이 두드러진 발견이다(도 5). 상기한 실험을 또한 동시에 마우스 내에서 수행하고, 유사한 결과를 얻었는바, 이는 여러 종에서 AF-16의 효능을 확인하는 것이다. 따라서, AF-16은 PCR 데이터(도 5)에 의하여 입증되는 바와 같이 HSV-1 바이러스의 증식에 대하여 현저한 영향을 미치지 않았다. 이로운 효과는 아마도 실시예 1에 기재된 바와 같이 두개골에 의하여 형성된 CC 내에서 AF-16이 ICP의 비정상적 상승을 막았기(도 2) 때문일 것이며, AF-16으로 처리되지 않았다면 해로운 CS를 초래하여 감염된 동물의 CNS에 심각한 손상을 초래하였을 것이다.

[0108] 실시예 5

[0109]

HSV-1 뇌염을 앓는 동물들에 대한 AF-16의 이로운 효과는 AF가 CNS 내에서 염증성 반응을 감소시켰기 때문일 수 있다는 가설이 있었다. 이러한 가설을 시험하기 위하여, 성숙한 래트의 우측 콧구멍에 25 μl 의 단순포진바이러스 1형 용액(HSV-1; 균주 2762, 배치 041028; 1.7 x 10⁷ PFU/mL; 25 μl)을 주입하여 감염시켰다. 상기 래트들의 절반에 10분 후에 25 μl (1 또는 10 μg)의 AF-16으로 우측 콧구멍에 주입하였고, 그 후, 실험이 6일째 종결될 때까지 매일 오전 8시 및 매일 오후 6시에 동일한 투여량의 AF-16을 주입하였다. HSV-1 감염된 래트의 다른 절반을 동일한 시간 간격으로 25 μl 의 비히를 PBS로 처리하였다. 6일째, 문헌[Huan, Saljo and Hansson(1996)]에 기재된 절차에 따라, 뇌척수액(CSF) 표본을 상기 래트들로부터 채취하고 AF-16(n=3) 또는 비히(n=3) 처리하였다. 감염 마커 IL-1, IL-6 및 TNF- α 의 농도 분석 결과, 비히만으로 처리된 동물들과 비교하여 AF-16 처리된 감염된 동물의 CSF 내에 상기 농도의 유의한 차이는 없는 것으로 밝혀졌다. AF-16 처리는 염증성 반응을 변경함으로써 HSV-1 뇌염 설치류의 생존을 증진시키는 것이 아니라, 두개내압을 정상화하여 CC 내에 높은 ICP의 확산 및 CS의 발병을 방지함으로써 생존을 증진시키는 것으로 결론내릴 수 있다. 따라서, HSV-1 뇌염에 대한 AF-16의 이로운 효과는 AF가 CS의 발병을 방해하였기 때문인 것으로 간주된다.

[0110] 실시예 6

[0111]

뇌부종 및 ICP 상승을 초래하는 것으로 문헌에 알려져 있는 절차인 지주막하 공간에 자가 혈액 주입에 의하여 서로 다른 유형의 대뇌 CS를 유도하였다. 마취시킨 성숙한 래트의 후두골에 작은 구멍을 뚫어서 또는 고리뒤통수막(atlanto-occipital membrane)을 통하여 소뇌수뇌수조(cisterna magna) 내에 주입함으로써 지주막하 공간 내에 50 - 350 μl 의 혜파린화된 혈액을 침적시켰다. 두개골 내에 뚫린 구멍을 SuperBond(등록상표) 접착제로 막았다. 이와 같은 지주막하 공간 내 혈액 처리는, 의학 논문의 보고와 일치하여, ICP를 증가시켜 하루만에 또는 일주일 안에 CS 발병을 유도하였으며, 정확한 시간은 침적된 혈액의 상태 및 양에 의존하였다. 본 실험에서, 0.2-0.3 mL의 자가 혜파린화된 혈액을 성숙한 스프라그-돌리(Sprague-Dawley) 래트의 소뇌수뇌수조 내에 주입하였더니, 삽입된 소형의 압력 도광 탐침(Samba System 3200 & Samba Preclin 420 sensor; Samba Sensore AB, Gruvgatan 6, SE 42130 V. Frolunda, Sweden)을 이용하여 측정된 바에 따르면, 1-3일 내에 ICP를 13 내지 30 mmHg로 상승시켰다. 비-처리되거나 인산 완충 식염수가 대신 주입된 정상의 성숙한 래트에서의 ICP는 6 - 9 mmHg였다. 25 μg 의 AF-16을 매일 2회 비강내 처리하였더니 상승된 ICP가 감소하였으며, 1 - 2 시간 내에 거의 정상 수준으로 회복되었다. 상기 AF 처리된 설치류는, 지주막하 공간 내에 혈액 침적된 후 비히를 처리된 동물들과 대조적으로, 손상된 뇌 기능의 신호 또는 행동 또는 운동 기능의 명백한 손상의 신호를 보이지 않았다. AF-16 처리는, 단지 비히를 PBS만으로 처리된 동물들과 비교하여, 지주막하 공간 내 혈액 침적에 의하여 유도되는 뇌 손상의 정도 및 심각성을 감소시킨 것으로 결론내려진다. 이는 AF-16이 CS 발병을 막으며 이미 발병된 대뇌 CS의 경우 그 심각성을 감소시킴을 의미한다. AF-16에 대한 신속한 반응은 AF-16에 의하여 발휘되는 이로운 효과에 있어서 결정적인 것이었다.

[0112] 실시예 7

[0113]

관절은 저탄성이면서 가소성을 가짐을 특징으로 하는 압통성이고 비-유연성인 콜라겐 피막으로 둘러싸여 있다.

관절염에서, 관절강 내 활액의 압력이 상승되며, 염증은 이러한 상태를 가중시킨다. 즉, CS가 확산되어 있다. AF-16 처리가 이와 같은 CS의 발병을 적어도 감소시킬 수 있는지를 검사하기 위하여, 성숙한 래트에 관절염을 일으키는 스태필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*)(SA: 균주 LS1) 용액을 전신 주입하여 감염시켰다. 한 군의 래트(n=3)를 AF-16로 처리하고, 두번째 군의 래트(n=3)를 단지 비히를 PBS만으로 처리하였다. 몇일 후 무릎 관절 및 그 후 부가적으로 사지 및 발 관절이 압통이 있고 팽창되었으며, Samba 광섬유 압력 탐침(Samba System 3200 & Samba Preclin 420 sensor; Samba Sensore AB, Gruvgatan 6, SE 42130 V. Frolunda, Sweden)을 이용하여 측정한 결과, 관절강 및 이를 둘러싸는 조직 내 압력이 상승되었다. 정상적인 대관절 활액 내 압력은 0~5 mmHg이나, 감염되고 염증이 있는 관절에서는 5 배 이상 증가될 수 있다. 감염된 관절로부터 떨어진 피하 조직 내 간질액 압력을 비교를 위하여 측정하였으며, 이는 정상 한계±2 mmHg 내에 유지되는 것으로 나타났다. 이와 대조적으로, SA 감염된 대관절을 가지며 AF-16 처리된 설치류들은 상기와 같은 압통이 있고 팽창되고 통증이 있는 관절을 가지지 않았으며, 관절내 압력이 정상에 가까웠다. 비히를 PBS만으로 처리된 감염된 동물들에서는 CS가 발병되었으며, 시간 경과에 따라 그 심각성이 증가되었다. 상기 두 군으로부터 얻은 활액 표본을 세균 확산에 대하여 정량적 및 정성적으로 분석한 결과, 래트를 AF-16 처리하였는지 여부와 상관없이, 스태필로코커스 아우레우스의 수는 대관절에서 거의 동일한 것으로 나타났다.

[0114] AF-16 처리는 관절염을 일으키는 미생물, 예컨대 세균 및 바이러스, 및 면역학적 제제의 접종후 감염된 관절 내 압력을 감소시키는 것으로 결론내릴 수 있다. 그러나, 병원성 세균, 예컨대 스태필로코커스 아우레우스(균주 LS1)의 관절 내 증식 또는 분포에 있어서는 차이가 없었다. 따라서, 항생제가 투여되지 않았으므로 감염된 관절은 SA 감염에 의하여 손상되었을 것이다. 그러나, 동물들을 그렇게 오랫동안 생존하도록 두지 않았다.

[0115] AF-16 처리는 CC를 구성하는 병에 걸린 관절 내에 상기 처리가 없을 경우 상승될 압력을 재생가능하게 중화한다는 것이 주된 발견이다, 이에 따라, 본 연구에서 평가된 바와 같이, 감염된 관절 내에 AF-16 처리후 CS가 발병하지 않았다.

실시예 8

[0117] 성숙한 래트의 골격근 내에 CC 상태를 유도하고 평가하였다. 뒷다리에, 장지신근(Musculus extensor digitorum longus: EDL)으로 들어가는 큰 도관을 외부 압력 부하를 가함으로써 1-3 시간 동안 폐색하였다(Jennische & Hansson, 1987; Jennische, Skottner & Hansson, 1987 참조). 그 후, 혈류가 회복되도록 하였으며, 근육 동봉물과 피부 절개를 치료하고 봉합하였다. 이러한 처리는 일부 EDL 골격근 섬유의 괴사를 야기하는 허혈 손상을 초래하였다. 조직 및 간질 조직이 이와 같이 폐쇄된 구획 내에 유체를 축적시키고 부가적으로 근육 조직이 팽창하고 부종을 나타내었으므로 CS가 나타났다. 이와 같이 폐쇄된 구획 내 압력이 증가되어, CS 발병을 초래하였다. 부가적인 처리가 없다면 골격근 조직 일부가 괴사 상태로 되는 것을 방지하기 위하여 외과적 중재가 요구되었다. 그러나, AF-16 처리하면, 손상된 조직의 반응성 팽창 및 이에 따라 구획 내에 압력이 거의 정상으로 돌아오는 것이 Samba 압력 센서를 이용하여 입증될 수 있었던바, 어떠한 폐쇄된 구획 증후군도 나타나지 않았다. EDL 근육으로부터 얻은 표본의 광선 현미경 검사 결과, AF-16 처리가 비히를 처리시와 비교하여 조직 손상 정도 및 용적을 감소시키는 것이 확인되었다. 따라서, AF-16 처리는 CS 발병을 예방하며, 결국 조직 손상 및 손실을 감소시킨다.

실시예 9

[0119] 성숙한 래트에서 심낭에 영향을 미치는 CC 상태를 유도하고 펫타이드 AF-16 처리의 효과에 대하여 평가하였다. 심낭강(pericardial cavity)은 심장의 경계를 정하며, 갑작스럽고 강제적인 심장 수축으로부터 초래되는 미끄럼 이동(sliding movement)의 조정을 가능케 하는 최소 부피의 유체로 채워진 낭을 형성한다. 상기 심낭강은 그 주위가 콜라겐이 풍부한 벽(parietal)막으로 둘러싸여 있다. 마취시킨 래트의 심낭을 횡격막 및 종격막 내 작은 "창(window)"을 통하여 외과적으로 개방하였다. 심낭 내부를 절개를 통하여 외과적으로 문지름으로써 외상을 입혔다. 상기 동물들을 두 개의 군으로 나누어, 한 군은 AF-16 처리하고 다른 한 군은 단지 비히를 PBS만을 처리하였다. 일주일 동안 AF-16 처리된 군은 심낭강 내에 낮은 압력에서 단지 소량의 유체만이 축적되었다. 이와 대조적으로, 상기 문지름후 비히를 처리된 군은 심낭이 압력하에 유체로 채워졌으며 나아가 무수한 섬유소 가닥 및 염증성 세포를 가졌다. 부가적으로, 상기 벽측 심낭 외피가 팽창되고 염증이 발생하였으며, 무수한 거대하고 부분적으로는 새롭게 형성된 혈관들이 침입하였다.

[0120] 간, 비장, 신장 및 갑상선을 압축에 의하여 유사하게 기계적으로 손상시키고 찰과상에 노출시켰다. AF-16 처리는 이러한 경우에도 비히를 처리와 비교하여 상기 구조물들의 팽창 및 부종을 감소시키는 것으로 입증되었다. 나아가, 복수 및 이와 관련된 유형의 상승된 압력의 과도한 세포외 유체의 확산이 감소되었다. 따라서, AF-16은

유연 기관 및 조직 내에 CS의 정도 및 심각성을 감소시켰다.

[0121] 따라서, AF 처리된 동물 내에서 심장 기능을 심각하게 방해하는 CC는 발병하지 않았다. 따라서, AF-16은 심장 CS 발병을 방해하였다. AF에 의한 동일한 이로운 효과는 다른 조사된 유연 구조 및 기관에 대하여도 마찬가지였다.

실시예 10

[0123] 척추 내에서 척추체를 분리하는 추간판은 그 크기를 실제 부하에 따라 매일 수회 조정한다. 추간판 내에 무혈성 수핵 및 섬유테의 수분 함량은 인접하는 인대 및 척추의 말단 판으로부터의 유체, 이온, 영양분 및 산소 공급에 의존한다(Holm et al., 2007 참조). 무혈성 추간판의 광대한 생성 물질은 혈관계에 도달하기 전에 동일한 장애물을 통과하여야 한다. 따라서, 설치류, 토끼 및 돼지에 있어서 부하시 및 비-부하시 AF 단백질 및 AF 웨타이드의 추간판에 대한 영향에 대하여 평가하였다. AF-16 처리는 손상된 추간판의 팽창 및 염증성 반응을 감소시키는 것으로 입증될 수 있었다. 나아가, 광선 현미경법에 의하여 검사한 결과, 이와 같은 추간판으로부터 제조된 염색된 절편은, AF-16 처리된 동물 내에서 수핵에 손상이 감소되며, 비처리시 섬유테 및 이를 둘러싸는 인대 및 인접하는 결합 조직 내에 나타날 것으로 예상되는 반응성 변경이 두드러지지 않는 것으로 입증되었다. 나아가, 초극대 부하후 및 추간판 외상후 AF 및 AF-16 d의 효과에 있어서, 추간 결합의 경직성 및 유도되는 변형은 비히클 처리시에 비하여 AF-16 처리후 정상에 가까웠음을 나타냈다. 따라서, AF 화합물은 추간판에 대한 외상 또는 변형 및/또는 과부하시 팽창 및 조직 손상을 감소시킴에 있어 이로운 것으로 나타난다.

실시예 11

[0125] 성숙한 래트에서, 건 또는 신경과 같은 압통성 구조에 의하여 둘러싸인 한정된 구조 내에 CS를 실험적으로 유도하고, AF-16이 그 사망에 영향을 미치는지 여부를 검사하였다. 말초 및 자율신경은 모두 신경내막, 신경주막 그리고 최외곽의 신경상막에 의하여 그 경계가 정하여진다. 복수의 신경다발은 신경을 형성한다(Hansson et al., 1987 참조). 체 내에 건 및 인대의 일부는 압통성 콜라겐막 유사 구조인 윤활집에 의하여 경계가 정하여진다. 그 내부 경계층은 건을 윤활 협막(synovial vagina)과 연결시켜, 최소 마찰시 미끄럼을 가능케 한다. 그 구조의 경계는 섬유질의 막과 같은 층인 섬유질 협막(fibrous vagina)에 의하여 둘러싸여있다. 상기 둘러싸는 힘줄다발 막은 어떤 위치에서는 제 위치에 유지되고 건간막과 연결(vinculae)에 의하여 영양물을 받는다(Hansson et al., 1980 참조). 나아가, 또 다른 윤활 기구는 박막의 유체를 가지며 인접하는 강성 구조물에 대하여 및 이를 사이에 마찰 및 높은 부하를 방지하는 폐쇄된 섬유질 낭인 활액낭이다. 과부하 및 외상과 염증으로 인한 팽창 및 부종은 말초 신경, 건 및 활액낭의 구조 및 기능을 손상시킨다.

[0126] 마취시킨 래트에서, 이전에 기술되었던(Stemme et al., 1985; Hansson et al., 1987 참조) 특별히 고안된 집게를 이용하여 좌골신경을 분쇄하였다. 이와 같은 절차는, 인접하고 둘러싸는 구조들을 포함하여, 신경 기능 및 구조 손상뿐 아니라 혈액 및 림프 순환 손상을 야기하였으며, 좌골신경 팽창 및 부종을 야기하였다. 병에 걸린 조직 내에 Samba 광섬유 압력 측정 탐침을 삽입하여 평가한 결과, IFP가 상승되었다. 손상시부터 시작하여 이를마다 래트를 높은 투여량의 AF-16으로 처리하였다. 위와 동일하게 처리된 래트들 중 일부는 이를마다 비히클만으로 처리하였다. 비히클만으로 처리한 래트에서, 육안으로 식별되는 팽창 및 국소 부종과 일치하여, 신경주막 내 압력이 하루만에 상승, 즉 CS가 발병되는 것으로 나타났다. 이와 대조적으로, AF-16 처리된 좌골신경은 정상적인 신경에서 측정된 것보다 약간 상승되거나 이에 가까운 신경내 압력을 가지는 것으로 입증되었다. 손상된 좌골신경의 얇은 염색된 절편의 광선 현미경 검사 결과, AF-16이 염증, 부종 및 조직 변형을 감소시켰음이 확인되었다.

[0127] 손상된 건을 AF-16으로 처리시, 비히클 투여후 관측한 결과와 비교하여, 위와 유사한 결과가 얻어졌다. AF 및 AF-16 처리된 래트와 대조적으로, 비히클 처리된 래트는 CS 신호를 나타냈다.

[0128] AF-16이 예컨대 신경, 건 또는 활액낭의 손상시 CS 발병을 방해하는 것으로 결론내릴 수 있다.

실시예 12

[0130] 수술 및 외상시, 동맥이 손상되어 혈관벽 팽창을 야기할 수 있다. 이는 혈관벽 내에 상승된 IFP를 초래하여, 염증성 반응 및 재건을 초래한다(Hansson, Jennische & Skottner, 1987 참조). 한 군의 래트에 대해서는 피하 삽입되고 얇은 실리콘 튜브로 손상 부위에 연결되는 AF-16으로 채워진 Alza 삼투 미니펌프를 미리 시작하였으며, 이는 웨타이드 AF-16이 외상을 입은 조직으로 직접적으로 전달되도록 하였다. 다른 래트들에 대해서는 대조를 위하여 펌프를 비히클로 채웠다. 손상된 동맥을 3, 5, 7, 또는 14일 후에 검사하였다. 비히클 처리된 래트로부터 회수한 혈관은 압통성이고 증가된 외부 칙경을 가지며 팽창되었다. 이와 대조적으로, AF-15 처리된 동물들은

덜 팽창되고 염증이 덜 발생된 것으로 나타났다. 비히클 처리된 군과 비교하여 AF-16 처리된 군에서 성공률이 더 높았다. 염색되고 절개된 대퇴동맥 표본을 14일 후 검사한 결과, AF-16 처리된 래트들에서, 비히클만으로 처리된 래트들과 비교하여, 손상 및 현저한 염증성 반응이 덜 나타났으며, 평활근 세포를 포함하는 신내막 형성과 같은 광범위한 반응성 변경이 덜 나타났음이 확인되었다. 나아가, 대식 세포, 거품세포(foam cell) 및 램프구의 수 또한 AF-16 처리에 의하여 감소되었다. AF-16이 손상된 혈관 치유에 이로운 효과가 있는 것으로 결론내려진다.

[0131] 실시예 13

설치류 내에 양성 및 악성 종양을 피하 및 근육내 삽입하였다. 이를마다 10 mm 내지 15 mm 범위의 직경을 가지는 종양을 가지는 동물에, 피하 삽입된 Alzet 삼투 미니펌프를 이용하여 AF 단백질 또는 AF-16으로 전신 처리하여, AF-16을 종양 주위에 또는 종양 내로 주입하였다. 다른 실험에서, 미세 실리콘 튜브를 가진 삽입된 Alzet 2001 펌프로부터 AF-16 펫타이드를 종양 위로 및/또는 내로 직접적으로 전달하였다. 다른 래트들에 대해서는 사료에 의하여 또는 난황으로 AF를 제공함으로써 AF-단백질을 유도하였다. 비교를 위하여, 동일한 수의 래트에 비히클을 제외하고 동일한 처리를 하였다. 보호 배관을 가지거나 가지지 않는 Samba 광섬유 압력 센서(직경 0,4 mm) 및 "심지"(wick) 기법에 의하여 간질액 압력을 측정할 수 있는 장치를 이용하여, 종양 내 및 그 인접한 영역에서의 간질액 압력(IPF)을 측정하였다. 비히클 처리된 동물의 종양 내 IPF는 12 mm Hg를 초과하여 현저히 상승하였다. 인접하는 결합 조직 내 IPF는 0 내지 4 mmHg 범위였으나, 경우에 따라서는 음의 값을 수 있었다. 상기한 바와 같이 AF-16 처리된 10-15 mm 범위의 종양은 IPF 감소를 보였으며, 보통 12 mmHg 이하로 감소된 것으로 나타났다. 나아가, 고정되고 가공 처리된 표본으로부터 제조된 염색된 얇은 절편의 광선 현미경법에 의해 평가한 결과, AF-16은 염증성 반응의 강도 및 정도를 감소시켰다.

[0133] 설치류에 대하여 동시 수행된 실험에서, 비히클의 효과와 비교하여, AF 단백질 풍부한 난황 처리가 삽입된 종양의 성장 및 확산에 대하여 이로운 효과가 있음이 입증될 수 있었다.

[0134] 종양 내에 IPF를 낮추어 미세순환을 개선시킴으로써 세포와 환경을 덜 저산소성으로 하고 항종양 약물의 침투를 개선시키고 이를 보다 효율적으로 분배시킬 수 있을 것으로 결론내린다. AF-16의 종양 내 IPF를 감소시키는 능력은 특정 약물 치료 효능을 증진시킬 수 있을 것이다. 나아가, AF-16 처리후 증진된 미세순환이 노출된 조직 내에 산소 수준을 증가시킴으로써 종양 성장 방해에 있어 매우 중요한 자유 라디칼 형성을 촉진시키고, 결국 종양 세포 사멸을 증진시킬 것이므로, 방사선 치료가 더욱 효율적일 것이다. 이와 같은 AF-16의 IPF에 대한 효과는 종양 박멸에 기여하며 환자 내에 전파의 조정을 가능케 할 것으로 간주된다.

[0135] 실시예 14

[0136] 복잡한 세포벽에 의하여 둘러싸여 있으며 따라서 막 기능 방해로 인한 상승된 압력 전개가 가능한 원핵세포 내에서 AF의 효과를 또한 검사하였다. 이는, 포유동물 세포 및 따라서 신체에 손상을 일으킬 수 있는 광범위한 물질들을 합성하고 방출하는 세균 내에서 행하여졌다. 이와 같은 생성 물질의 예는 안료, 효소 및 독소로, 이들은 외부 세균막을 통하여 세포와 환경으로 운반된다. 이와 같은 막 활성의 저해는 상기 병원성 물질의 운반 및/또는 방출을 감소시키거나 심지어 차단할 것이다. 펫타이드 AF-16이 세균 내에서 합성된 생성물질의 외부로의 운반에 영향을 미치는지를 검사하기 위하여, 이하의 실험을 수행하였다. 황색 안료를 합성하는 세균 스태필로코커스 아우레우스를 펫타이드 AF-16 존재하에 또는 부재하에 배양하였으나, 투과성 펠릿으로 만들어진 세균으로부터 스태필로코커스 아우레우스에 의하여 형성된 황색 안료를 메탄올을 이용하여 추출하였으며, 흡광을 분광광도법에 의하여 측정하였다. 측정된 값을 세균 수에 대하여 교정한 후, AF-16 존재하에 성장된 세균 배양액은 단지 비히클에만 노출된 것에 비하여 훨씬 더 많은 황색 안료를 가졌다. 상기 결과는 AF-16 처리가 세균 내에 형성된 구성 성분의 세포와 환경으로의 운반 및 방출을 막았음을 명백히 입증하였다.

[0137] 상기 실험은 AF-16이 살아있는 세균으로부터의 생성물의 세포 내 대량 운반 및 방출에 효율적으로 영향을 미침을 입증한다.

[0138] 요약 및 결론

[0139] 펫타이드 AF-16에 의한 처리는 폐쇄된 구획 내에서 상승된 압력의 전개를 막거나 적어도 감소시킨다. AF에 의한 처리 처리는 나아가 과부하, 손상, 혀혈, 독성 제제, 약물에의 노출시 및 감염시 불리한 임상적 신호를 감소시킨다. AF-16으로 처리하면, 동물을 비히클만으로 처리하였을 경우 명백히 나타나는 바와 같이 폐쇄된 구획 내에 압력이 예상되는 손상 수준으로 상승하지 않았다. 처리되는 병리학적 상태는 AF 단백질 및 펫타이드에 의한 과

분비 상태의 제거와 관련이 없었다. AF 웨타이드 및 단백질 투여의 상술한 효과는 대개 한시간 내에 식별되었으며 수 시간 동안 지속되었다. AF 투여에 대한 반응은 신속하였으며 폐쇄된 구획 내에서 상승된 압력의 해로운 효과를 상당히 감소시켰다. AF 단백질 및 웨타이드는, 따라서, 병에 걸린 조직과 기관의 기능에 해로울 폐쇄된 CS의 발병을 막았으며, 유기체 내에서 CS 치료에 효율적이었다. 당업자라면 폐쇄된 구획 내에 압력 정상화가 상승된 압력 및 그 합병증의 원인을 감소시킴을 목적으로 하는 기타 약제학적 제제의 투여 및 이들 약제의 표적화를 촉진시키는 것으로 이해할 것이다.

[0140] 참고 문헌

1. Hansson H.-A., Jennische E, & Skottner A. Regenerating endothelial cells express insulin-like growth factor-I immunoreactivity after arterial injury. *Cell Tissue Res.*, 1987; 250: 499-505, 1987.
2. Hansson H.-A., Lundborg G & Rydevik B. Restoration of superficially damaged flexor tendons in synovial environment. An experimental ultrastructural study in rabbits. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 14, 109-114, 1980.
3. Hansson H.-A., Rozell B, & Skottner A. Rapid axoplasmic transport of insulin-like growth factor I in the sciatic nerve of adult rats. *Cell Tissue Res.* 1987; 247: , 241-247, 1987.
4. Heldin CH, Rubin K, Pietras K & Östman A. High interstitial fluid pressure – an obstacle in cancer therapy. *Nature Reviews Cancer* 4, 806-13, 2004.
5. Holm S, Baranto A, Kaigle Holm A, Ekström L, Swärd L, Hansson T & Hansson H.-A. Reactive changes in the adolescent porcine spine with disc degeneration due to endplate injury. *Vet Comp Orthop Traumatol* 20, 12-17, 2007.
6. Jennische E & Hansson H.-A. Regenerating skeletal muscle cells express insulin-like growth factor I. *Acta Physiol Scand.* Jun;130, 327-332, 1987
7. Jennische E, Skottner A & Hansson H.-A. Satellite cells express the trophic factor IGF-I in regenerating skeletal muscle. *Acta Physiol Scand.* 129, 9-15, 1987
8. Kumar V, Abbas, AK & Fausto N: Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, 7th ed., W.B.Saunders Co., Philadelphia, 2005.
9. Lange S, & Lönnroth I. The antisecretory factor: synthesis, anatomical and cellular distribution, and biological action in experimental and clinical studies. *Intern Rev. Cytology* 210, 39-75, 2001.
10. Lodish H, Berk A, Matsudaira P, Kaiser CA, Krieger M, Scott MP, Zipursky SL & Darnell J. Molecular biology of the cell. 5th edit. WH Freeman & Co., New York, 2004.
11. Pollard TD & Earnshaw WC. Cell biology, Saunders, Philadelphia, 2002.
12. Ross MH & Pawlina W. Histology, a text and atlas. 5th edit., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, 2006.
13. Stemme S, Hansson H.-A., Holmgren A, & Rozell B. Axoplasmic transport of thioredoxin and thioredoxin reductase in rat sciatic nerve. *Brain Res.* 1985; 359 :140-146.

14. WO 05/030246
15. WO 97/08202
16. WO 98/21978
17. US 6344440

[0141]

[0142]

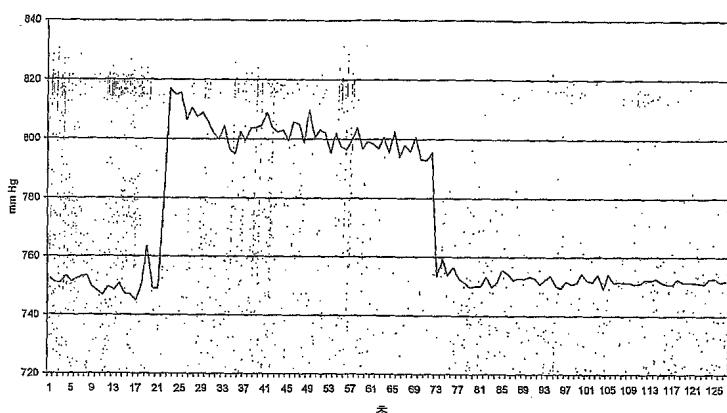
도면

도면1

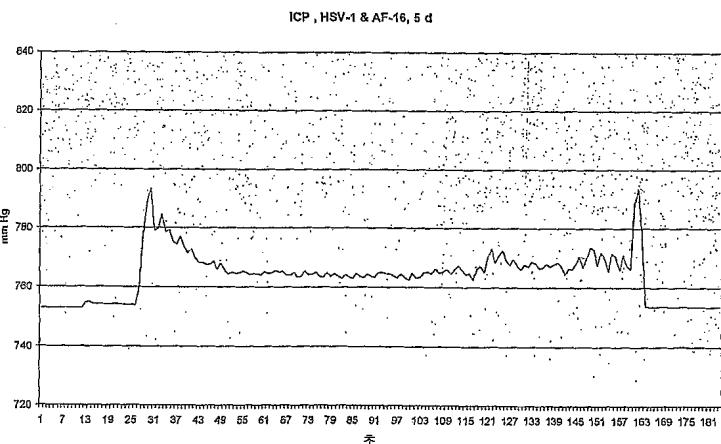
Met Val Leu Glu Ser Thr Met Val Cys Val Arg Asn Ser Glu Tyr Met
 1 5 10 15
 Arg Asn Gly Asp Phe Leu Pro Thr Arg Leu Ala Gln Asp Ala
 20 25 30
 Val Asn Ile Val Cys His Ser Cys Thr Arg Ser Asn Pro Glu Asn Asn
 35 40 45
 Val Gly Leu Ile Thr Leu Ala Asn Asp Cys Glu Val Leu Thr Thr Leu
 50 55 60
 Thr Pro Asp Thr Gly Arg Ile Leu Ser Lys Leu His Thr Val Glu Pro
 65 70 75 80
 Lys Gly Lys Ile Thr Phe Cys Thr Gly Ile Arg Val Ala His Leu Ala
 85 90 95
 Leu Lys His Ile Gln Gly Lys Asn His Lys Met Arg Ile Ile Ala Phe
 100 105 110
 Val Gly Ser Pro Val Glu Arg Asn Lys Arg Leu Val Lys Leu Ala
 115 120 125
 Lys Arg Leu Lys Lys Glu Lys Val Asn Val Asp Ile Ile Asn Phe Gly
 130 135 140
 Glu Glu Glu Val Asn Thr Glu Lys Leu Thr Ala Phe Val Asn Thr Leu
 145 150 155 160
 Asn Gly Lys Asp Gly Thr Gly Ser His Leu Val Thr Val Pro Pro Gly
 165 170 175
 Pro Ser Leu Ala Asp Ala Leu Ile Ser Ser Pro Ile Leu Ala Gly Glu
 180 185 190
 Gly Gly Ile Met Leu Gly Leu Ile Ser Asp Phe Glu Phe Gly Val
 195 200 205
 Asp Pro Ser Ala Asp Pro Glu Leu Ala Leu Ile Asn Arg Val Ser Met
 210 215 220
 Glu Glu Glu Arg His Ala Gly Gly Ala Arg Arg Ala Ala Arg Ala
 225 230 235 240
 Ser Ala Ala Glu Ala Gly Ile Ala Thr Thr Gly Thr Glu Asp Ser Asp
 245 250 255
 Asp Ala Leu Leu Lys Met Thr Ile Ser Glu Glu Glu Phe Gly Arg Thr
 260 265 270
 Gly Leu Pro Asp Leu Ser Ser Met Thr Glu Glu Glu Glu Ile Ala Tyr
 275 280 285
 Ala Met Glu Met Ser Leu Glu Gly Ala Glu Ile Gly Glu Ala Glu Ser
 290 295 300
 Ala Asp Ile Asp Ala Ser Ser Ala Met Asp Thr Ser Glu Pro Ala Lys
 305 310 315 320
 Glu Glu Asp Asp Tyr Asp Val Met Glu Asp Pro Glu Thr Leu Glu Ser
 325 330 335
 Val Leu Glu Asn Leu Pro Gly Val Asp Pro Asn Asn Glu Ala Ile Arg
 340 345 350
 Asn Ala Met Gly Ser Leu Pro Pro Arg Pro Pro Arg Thr Ala Arg Arg
 355 360 365
 Thr Arg Arg Arg Lys Thr Arg Ser Glu Thr Gly Gly Lys Gly
 370 375 380

도면2a

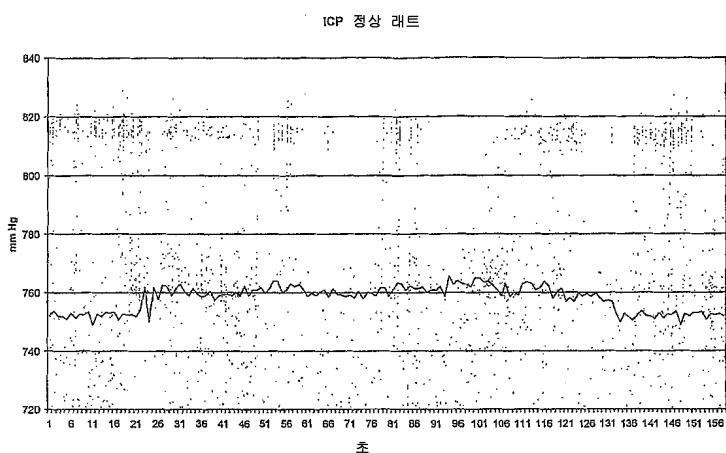
ICP : HSV-1 5 d, 부형제



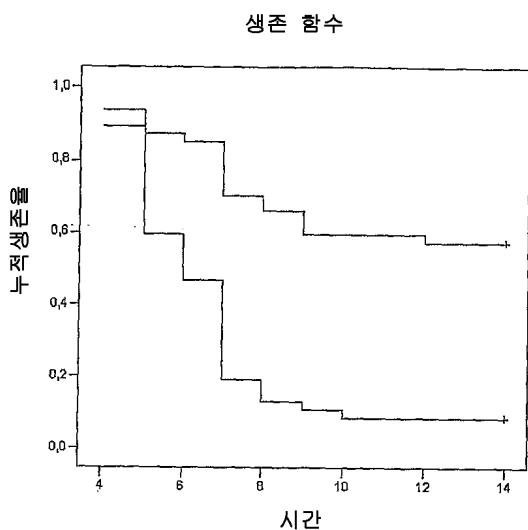
도면2b



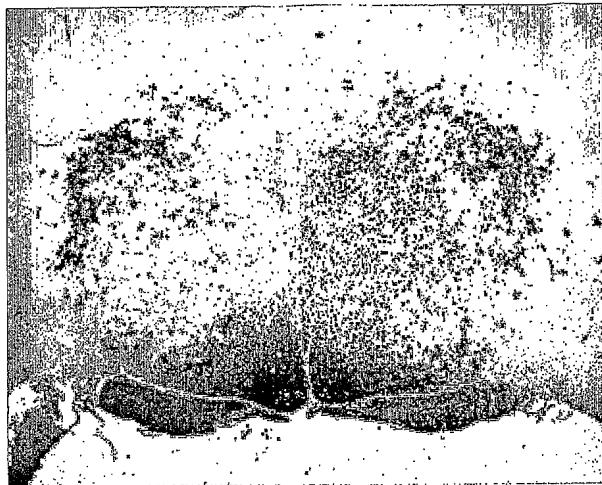
도면2c



도면3



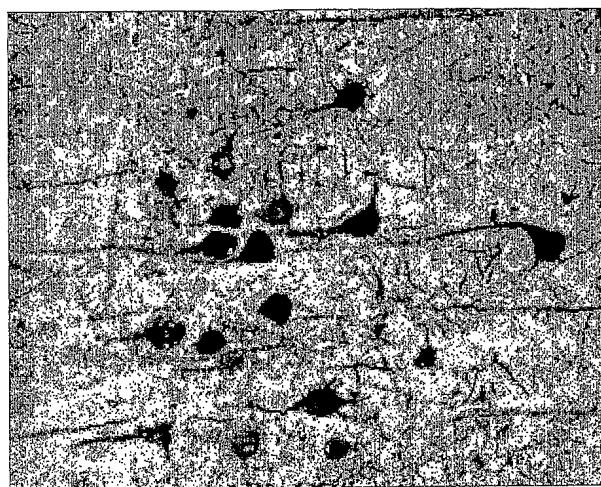
도면4a



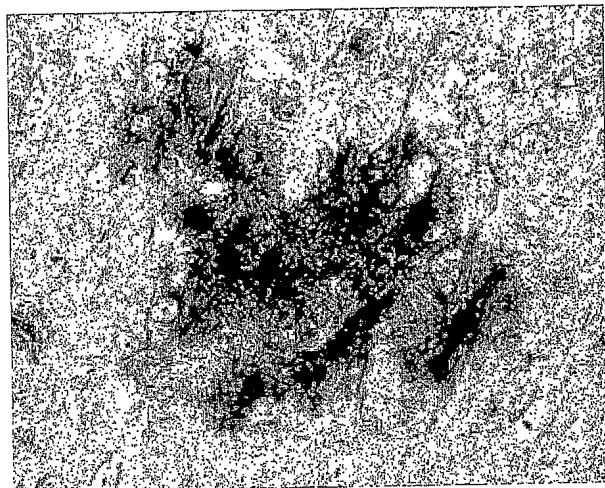
도면4b



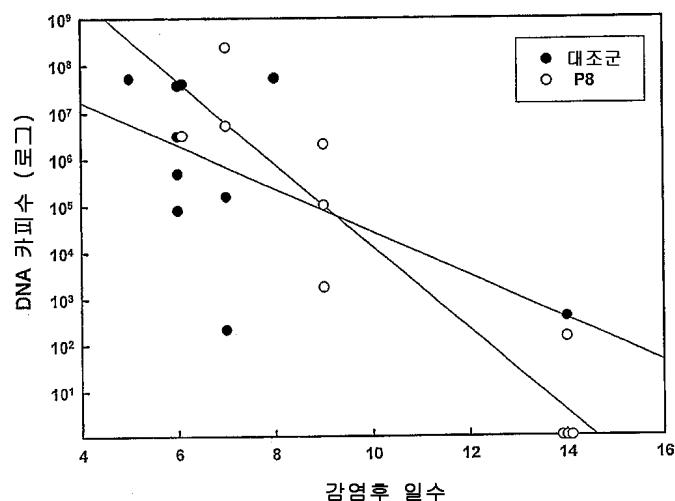
도면4c



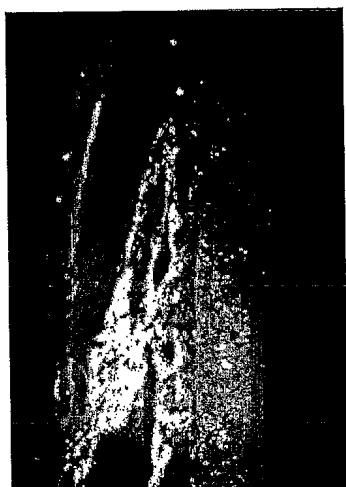
도면4d



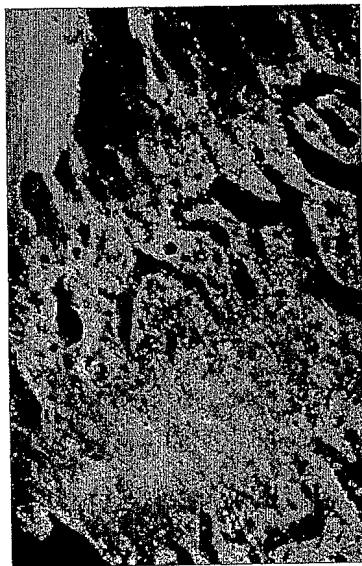
도면5



도면6a



도면6b



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Lantmannen AS Faktor AB
<120> New approach to the treatment of compartment syndrome
<130> PD53689PC00
<160> 6
<170> FastSEQ for Windows Version 4.0
<210> 1
<211> 16
<212> PRT
<213> artifical sequence
<220> Active Peptide
<221> VARIANT
<222> 6
<223> may be replaced with A
<221> VARIANT
<222> 3
<223> may be replaced with R or K
<221> VARIANT
<222> 4
<223> may be replaced with L

<221> VARIANT

<222> 2

<223> may be replaced by S

<400> 1

Val Cys His Ser Lys Thr Arg Ser Asn Pro Glu Asn Asn Val Gly Leu

1 5 10 15

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

<213> Artifical Sequence

<220> Active Peptide

<221> VARIANT

<222> 7

<223> may be replaced by A

<221> VARIANT

<222> 4

<223> may be replaced by R or K

<221> VARIANT

<222> 5

<223> may be replaced by L

<221> VARIANT

<222> 3

<223> may be replaced by S

<400> 2

Ile Val Cys His Ser Lys Thr Arg

1 5

<210> 3

<211> 7

<212> PRT

<213> Artifical sequence

<220> Active Peptide

<221> VARIANT

<222> 6

<223> may be replaced by A

<221> VARIANT

<222> 3

<223> may be replaced by R or K

<221> VARIANT

<222> 4

<223> may be replaced by L

<221> VARIANT

<222> 2

<223> may be replaced by S

<400> 3

Val Cys His Ser Lys Thr Arg

1 5

<210> 4

<211> 6

<212

> PRT

<213> Artificial sequence

<220> Active Peptide

<221> VARIANT

<222> 5

<223> may be replaced by A

<221> VARIANT

<222> 2

<223> may be replaced by R or K

<221> VARIANT

<222> 3

<223> may be replaced by L

<221> VARIANT

<222> 1

<223> may be replaced by S

<400> 4

Cys His Ser Lys Thr Arg

1 5

<210> 5

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220> Active Peptide

<221> VARIANT

<222> 1

<223> may be replaced by R or K

<221> VARIANT

<222> 2

<223> may be replaced by L

<221> VARIANT

<222> 4

<223> may be replaced by A

<400> 5

His Ser Lys Thr Arg

1 5

<210> 6

<211> 382

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 6

Met Val Leu Glu Ser Thr Met Val Cys Val Asp Asn Ser Glu Tyr Met

1 5 10 15

Arg Asn Gly Asp Phe Leu Pro Thr Arg Leu Gln Ala Gln Gln Asp Ala

20 25 30

Val Asn Ile Val Cys His Ser Lys Thr Arg Ser Asn Pro Glu Asn Asn

35 40 45

Val Gly Leu Ile Thr Leu Ala Asn Asp Cys Glu Val Leu Thr Thr Leu

50 55 60

Thr Pro Asp Thr Gly Arg Ile Leu Ser Lys Leu His Thr Val Gln Pro

65 70 75 80

Lys Gly Lys Ile Thr Phe Cys Thr Gly Ile Arg Val Ala His Leu Ala

85 90 95

Leu Lys His Arg Gln Gly Lys Asn His Lys Met Arg Ile Ile Ala Phe

100 105 110

Val Gly Ser Pro Val Glu Asp Asn Glu Lys Asp Leu Val Lys Leu Ala

115 120 125

Lys Arg Leu Lys Lys Glu Lys Val Asn Val Asp Ile Ile Asn Phe Gly

130 135 140

Glu Glu Glu Val Asn Thr Glu Lys Leu Thr Ala Phe Val Asn Thr Leu

145 150 155 160

Asn Gly Lys Asp Gly Thr Gly Ser His Leu Val Thr Val Pro Pro Gly

165 170 175

Pro Ser Leu Ala Asp Ala Leu Ile Ser Ser Pro Ile Leu Ala Gly Glu

180 185 190

Gly Gly Ala Met Leu Gly Leu Gly Ala Ser Asp Phe Glu Phe Gly Val

195 200 205

Asp Pro Ser Ala Asp Pro Glu Leu Ala Leu Ala Leu Arg Val Ser Met

210 215 220

Glu Glu Gln Arg His Ala Gly Gly Ala Arg Arg Ala Ala Arg Ala

225 230 235 240

Ser Ala Ala Glu Ala Gly Ile Ala Thr Thr Gly Thr Glu Asp Ser Asp

245 250 255

Asp Ala Leu Leu Lys Met Thr Ile Ser Gln Gln Glu Phe Gly Arg Thr

260 265 270

Gly Leu Pro Asp Leu Ser Ser Met Thr Glu Glu Glu Gln Ile Ala Tyr

275 280 285

Ala Met Gln Met Ser Leu Gln Gly Ala Glu Phe Gly Gln Ala Glu Ser

290 295 300

Ala Asp Ile Asp Ala Ser Ser Ala Met Asp Thr Ser Glu Pro Ala Lys

305 310 315 320

Glu Glu Asp Asp Tyr Asp Val Met Gln Asp Pro Glu Phe Leu Gln Ser

325 330 335

Val Leu Glu Asn Leu Pro Gly Val Asp Pro Asn Asn Glu Ala Ile Arg

340 345 350

Asn Ala Met Gly Ser Leu Pro Pro Arg Pro Pro Arg Thr Ala Arg Arg

355 360 365

Thr Arg Arg Arg Lys Thr Arg Ser Glu Thr Gly Gly Lys Gly

370 375 380

SL3