



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0047899
(43) 공개일자 2010년05월10일

(51) Int. Cl.

A61K 38/08 (2006.01) *A61K 31/7068* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-7005967

(22) 출원일자(국제출원일자) 2008년08월19일
심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2010년03월18일

(86) 국제출원번호 PCT/JP2008/002232

(87) 국제공개번호 WO 2009/028150
국제공개일자 2009년03월05일

(30) 우선권주장

60/957,923 2007년08월24일 미국(US)

(71) 출원인

온쿄세라피 사이언스 가부시키가이샤

일본, 가나가와 213-0012, 가와사키시, 다카쓰구,
사카도 3쵸메 2-1

(72) 별명자

야마우에 히로키

일본 641-8509 와카야마켄 와카야마시 키미데라
811-1 코리츠다이가쿠 호우진 와카야마켄리츠 이
카다이가쿠나이

(74) 대리인

이원희

전체 청구항 수 : 총 21 항

(54) 항원 펩티드 및 화학요법제를 이용한 췌장암 조합 치료법

(57) 요 약

본 명세서는 췌장암의 치료 등에 적합한 조합 치료법이 기재되어 있다. 또한, 켐시타빈(gemcitabine)과 같은 화학요법제의 치료학적 효과를 강화시키는 방법이 기재되어 있다.

특허청구의 범위

청구항 1

하기 (i) 및 (ii)를 개체에 투여하는 단계를 포함하는 상기 개체내 암의 치료방법:

(i) 하기 (a) 내지 (h)로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 웨티드;

(a) RFVPDGNI(서열번호: 1), VYSSEEAL(서열번호: 2), GYRIYDVVL(서열번호: 3), SYMISYAGM(서열번호: 4), KWEFPRDRL(서열번호: 5), DFLTLEHLI(서열번호: 6)으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 하나 또는 그 이상의 웨티드;

(b) 상기 (a) 웨티드에서, 1, 2, 또는 그 이상의 아미노산이 치환, 결실, 또는 첨가되고, 세포독성 T 세포 유도능을 갖는 웨티드;

(c) 상기 (b) 웨티드에서, N 말단에서 두 번째 아미노산이 페닐alanine(phenylalanine), 타이로신(tyrosine), 메티오닌(methionine), 또는 트립토phan(tryptophan)인 웨티드;

(d) 상기 (b) 또는 (c) 웨티드에서, C 말단 아미노산이 페닐alanine, 루신(leucine), 이소루신(isoleucine), 트립토판, 또는 메티오닌인 웨티드;

(e) AMFFWLLL(서열번호: 7), VIAMFFWL(서열번호: 8), AVIAMFFWL(서열번호: 9), KLIEIGVQT(서열번호: 10), YMISYAGMV(서열번호: 11), IQSDVWSFGV(서열번호: 12) 및 VLAMFFWLL(서열번호: 13)으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 하나 또는 그 이상의 웨티드;

(f) 상기 (e) 웨티드에서, 1, 2, 또는 그 이상의 아미노산이 치환, 결실, 또는 첨가되고, 세포독성 T 세포 유도능을 갖는 웨티드;

(g) 상기 (f) 웨티드에서, N 말단에서 두 번째 아미노산이 루신 또는 메티오닌인 웨티드; 및

(h) 상기 (f) 또는 (g) 웨티드에서, C 말단 아미노산이 발린(valine) 또는 루신인 웨티드;

(ii) 켐시타빈(gemcitabine), 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전구 약물로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 화학요법제.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 개체는 HLA-A24-양성 또는 HLA-A02-양성인 것을 특징으로 하는 웨티드.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 암은 췌장암인 것을 특징으로 하는 웨티드.

청구항 4

유효성분으로 하기 (i) 및 (ii), 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물을 포함하는 암의 치료용 키트:

(i) 하기 (a) 내지 (h)로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 웨티드;

(a) RFVPDGNI(서열번호: 1), VYSSEEAL(서열번호: 2), GYRIYDVVL(서열번호: 3), SYMISYAGM(서열번호: 4), KWEFPRDRL(서열번호: 5), DFLTLEHLI(서열번호: 6)으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 하나 또는 그 이상의 웨티드;

(b) 상기 (a) 웨티드에서, 1, 2, 또는 그 이상의 아미노산이 치환, 결실 또는 첨가되고, 세포독성 T 세포 유도능을 갖는 웨티드;

- (c) 상기 (b) 웨티드에서, N 말단에서 두 번째 아미노산이 페닐, 타이로신, 메티오닌 또는 트립토파인 웨티드;
 - (d) 상기 (b) 또는 (c) 웨티드에서, C 말단 아미노산이 페닐알라닌, 루신, 이소루신, 트립토파인, 또는 메티오닌인 웨티드;
 - (e) AMFFWLLLV(서열번호: 7), VIAMFFWLL(서열번호: 8), AVIAMFFWL(서열번호: 9), KLIEIGVQT(서열번호: 10), YMISYAGMV(서열번호: 11), IQSDVWSFGV(서열번호: 12) 및 VLAMFFWLL(서열번호: 13)으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 하나 또는 그 이상의 웨티드;
 - (f) 상기 (e) 웨티드에서, 1, 2, 또는 그 이상의 아미노산이 치환, 결실 또는 첨가되고, 세포독성 T 세포 유도능을 갖는 웨티드;
 - (g) 상기 (f) 웨티드에서, N 말단에서 두 번째 아미노산이 루신 또는 메티오닌인 웨티드; 및
 - (h) 상기 (f) 또는 (g) 웨티드에서, C 말단 아미노산이 발린 또는 루신인 웨티드.
- (ii) 챔시타빈(챔시타빈), 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전구 약물로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 화학요법제.

청구항 5

제 4항에 있어서, 상기 개체는 HLA-A24-양성 또는 HLA-A02-양성인 것을 특징으로 하는 키트.

청구항 6

제 4항에 있어서, 상기 암은 췌장암인 것을 특징으로 하는 키트.

청구항 7

하기 (i)과 (ii)의 조합을 포함하는 개체내 암의 치료용 항암제:

- (i) 하기 (a) 내지 (h)로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 웨티드;
 - (a) RFVPDGNI(서열번호: 1), VYSSEEAL(서열번호: 2), GYRIYDVVL(서열번호: 3), SYMISYAGM(서열번호: 4), KWEFPRDR(서열번호: 5), DFLTLEHLI(서열번호: 6)으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 하나 또는 그 이상의 웨티드;
 - (b) 상기 (a) 웨티드에서, 1, 2, 또는 그 이상의 아미노산이 치환, 결실 또는 첨가되고, 세포독성 T 세포 유도능을 갖는 웨티드;
 - (c) 상기 (b) 웨티드에서, N 말단에서 두 번째 아미노산이 페닐알라닌, 타이로신, 메티오닌, 또는 트립토파인 웨티드;
 - (d) 상기 (b) 또는 (c) 웨티드에서, C 말단 아미노산이 페닐알라닌, 루신, 이소루신, 트립토파인, 또는 메티오닌인 웨티드;
 - (e) AMFFWLLLV(서열번호: 7), VIAMFFWLL(서열번호: 8), AVIAMFFWL(서열번호: 9), KLIEIGVQT(서열번호: 10), YMISYAGMV(서열번호: 11), IQSDVWSFGV(서열번호: 12) 및 VLAMFFWLL(서열번호: 13)으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 하나 또는 그 이상의 웨티드;
 - (f) 상기 (e) 웨티드에서, 1, 2, 또는 그 이상의 아미노산이 치환, 결실 또는 첨가되고, 세포독성 T 세포 유도능을 갖는 웨티드;
 - (g) 상기 웨티드 (f)에서, N 말단에서 두 번째 아미노산이 루신 또는 메티오닌인 웨티드; 및
 - (h) 상기 웨티드 (f) 또는 (g)에서, C 말단 아미노산이 발린 또는 루신인 웨티드.
- (ii) 챔시타빈, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전구 약물로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상

의 화학요법제.

청구항 8

제 7항에 있어서, 상기 개체는 HLA-A24-양성 또는 HLA-A02-양성인 것을 특징으로 하는 항암제.

청구항 9

제 7항에 있어서, 상기 암은 췌장암인 것을 특징으로 하는 항암제.

청구항 10

개체내 암의 치료에 있어서의 (i) 및 (ii)의 조합의 용도:

(i) 하기 (a) 내지 (h)로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 웨티드;

(a) RFVPDGNI(서열번호: 1), VYSEEAEI(서열번호: 2), GYRIYDVVL(서열번호: 3), SYMISYAGM(서열번호: 4), KWEFPRDRL(서열번호: 5), DFLTLEHLI(서열번호: 6)으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 하나 또는 그 이상의 웨티드;

(b) 상기 (a) 웨티드에서, 1, 2, 또는 그 이상의 아미노산이 치환, 결실 또는 첨가되고, 세포독성 T 세포 유도 능을 갖는 웨티드;

(c) 상기 (b) 웨티드에서, N 말단에서 두 번째 아미노산이 페닐알라닌, 타이로신, 메티오닌, 또는 트립토판인 웨티드;

(d) 상기 (b) 또는 (c) 웨티드에서, C 말단 아미노산이 페닐알라닌, 루신, 이소루신, 트립토판, 또는 메티오닌 인 웨티드;

(e) AMFFWLLV(서열번호: 7), VIAMFFWL(서열번호: 8), AVIAMFFWL(서열번호: 9), KLIEIGVQT(서열번호: 10), YMISYAGMV(서열번호: 11), IQSDVWSFGV(서열번호: 12) 및 VLAMFFWLL(서열번호: 13)으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 하나 또는 그 이상의 웨티드;

(f) 상기 (e) 웨티드에서, 1, 2, 또는 그 이상의 아미노산이 치환, 결실 또는 첨가되고, 세포독성 T 세포 유도 능을 갖는 웨티드;

(g) 상기 (f) 웨티드에서, N 말단에서 두 번째 아미노산이 루신 또는 메티오닌인 웨티드; 및

(h) 상기 (f) 또는 (g) 웨티드에서, C 말단 아미노산이 발린 또는 루신인 웨티드.

(ii) 젬시타빈, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전구 약물로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 화학요법제.

청구항 11

제 10항에 있어서, 상기 개체는 HLA-A24-양성 또는 HLA-A02-양성인 것을 특징으로 하는 용도.

청구항 12

제 10항에 있어서, 상기 암은 췌장암인 것을 특징으로 하는 용도.

청구항 13

하기 (a) 내지 (h)로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 웨티드를 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 암의 치료를 위한 쎈시타빈의 치료학적 효과 증진 방법:

- (a) RFVPDGNI(서열번호: 1), VYSSEEAEI(서열번호: 2), GYRIYDVVL(서열번호: 3), SYMISYAGM(서열번호: 4), KWEFPRDRL(서열번호: 5), DFLTLEHLI(서열번호: 6)으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 하나 또는 그 이상의 웨티드;
- (b) 상기 (a) 웨티드에서, 1, 2, 또는 그 이상의 아미노산이 치환, 결실 또는 첨가되고, 세포독성 T 세포 유도 능을 갖는 웨티드;
- (c) 상기 (b) 웨티드에서, N 말단에서 두 번째 아미노산이 페닐알라닌, 타이로신, 메티오닌, 또는 트립토판인 웨티드;
- (d) 상기 (b) 또는 (c) 웨티드에서, C 말단 아미노산이 페닐알라닌, 루신, 이소루신, 트립토판, 또는 메티오닌 인 웨티드;
- (e) AMFFWLLLV(서열번호: 7), VIAMFFWLL(서열번호: 8), AVIAMFFWL(서열번호: 9), KLIEIGVQT(서열번호: 10), YMISYAGMV(서열번호: 11), IQSDVWSFGV(서열번호: 12) 및 VLAMFFWLL(서열번호: 13)으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 하나 또는 그 이상의 웨티드;
- (f) 상기 (e) 웨티드에서, 1, 2, 또는 그 이상의 아미노산이 치환, 결실 또는 첨가되고, 세포독성 T 세포 유도 능을 갖는 웨티드;
- (g) 상기 (f) 웨티드에서, N 말단에서 두 번째 아미노산이 루신 또는 메티오닌인 웨티드; 및
- (h) 상기 (f) 또는 (g) 웨티드에서, C 말단 아미노산이 발린 또는 루신인 웨티드.

청구항 14

제 13항에 있어서, 상기 개체는 HLA-A24-양성 또는 HLA-A02-양성인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 15

제 13항에 있어서, 상기 암은 췌장암인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 16

개체내 암의 치료에 있어서 쎈시타빈의 치료학적 효과 증진용 약학적 조성물을 제조하기 위하여, 하기 (a) 내지 (h)로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 웨티드의 용도:

- (a) RFVPDGNI(서열번호: 1), VYSSEEAEI(서열번호: 2), GYRIYDVVL(서열번호: 3), SYMISYAGM(서열번호: 4), KWEFPRDRL(서열번호: 5), DFLTLEHLI(서열번호: 6)으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 하나 또는 그 이상의 웨티드;
- (b) 상기 (a) 웨티드에서, 1, 2, 또는 그 이상의 아미노산이 치환, 결실 또는 첨가되고, 세포독성 T 세포 유도 능을 갖는 웨티드;
- (c) 상기 (b) 웨티드에서, N 말단에서 두 번째 아미노산이 페닐알라닌, 타이로신, 메티오닌, 또는 트립토판인 웨티드;
- (d) 상기 (b) 또는 (c) 웨티드에서, C 말단 아미노산이 페닐알라닌, 루신, 이소루신, 트립토판, 또는 메티오닌 인 웨티드;
- (e) AMFFWLLLV(서열번호: 7), VIAMFFWLL(서열번호: 8), AVIAMFFWL(서열번호: 9), KLIEIGVQT(서열번호: 10), YMISYAGMV(서열번호: 11), IQSDVWSFGV(서열번호: 12) 및 VLAMFFWLL(서열번호: 13)으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 하나 또는 그 이상의 웨티드;

- (f) 상기 (e) 펩티드에서, 1, 2, 또는 그 이상의 아미노산이 치환, 결실 또는 첨가되고, 및 본 명세서 상기 세포독성 T 세포 유도능을 갖는 펩티드;
- (g) 상기 (f) 펩티드에서, N 말단에서 두 번째 아미노산이 루신 또는 메티오닌인 펩티드; 및
- (h) 상기 (f) 또는 (g) 펩티드에서, C 말단 아미노산이 발린 또는 루신인 펩티드.

청구항 17

제 16항에 있어서, 상기 개체는 HLA-A24-양성 또는 HLA-A02-양성인 것을 특징으로 하는 용도.

청구항 18

제 16항에 있어서, 상기 암은 췌장암인 것을 특징으로 하는 용도.

청구항 19

하기 (a) 내지 (h)로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 펩티드를 유효성분으로 포함하는 쟈시타빈에 대한 치료학적 효과 증진제;

- (a) RFVPDGNI(서열번호: 1), VYSSEEAEI(서열번호: 2), GYRIYDVVL(서열번호: 3), SYMISYAGM(서열번호: 4), KWEFPRDRL(서열번호: 5), DFLTLEHLI(서열번호: 6)으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 하나 또는 그 이상의 펩티드,
- (b) 상기 (a) 펩티드에서, 1, 2, 또는 그 이상의 아미노산이 치환, 결실 또는 첨가되고, 세포독성 T 세포 유도능을 갖는 펩티드;
- (c) 상기 (b) 펩티드에서, N 말단에서 두 번째 아미노산이 페닐알라닌, 타이로신, 메티오닌, 또는 트립토판인 펩티드;
- (d) 상기 (b) 또는 (c) 펩티드에서, C 말단 아미노산이 페닐알라닌, 루신, 이소루신, 트립토판, 또는 메티오닌인 펩티드;
- (e) AMFFWLLL(서열번호: 7), VIAMFFWL(서열번호: 8), AVIAMFFWL(서열번호: 9), KLIEIGVQT(서열번호: 10), YMISYAGMV(서열번호: 11), IQSDVWSFGV(서열번호: 12) 및 VLAMFFWLL(서열번호: 13)으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 하나 또는 그 이상의 펩티드;
- (f) 상기 (e) 펩티드에서, 1, 2, 또는 그 이상의 아미노산이 치환, 결실 또는 첨가되고, 세포독성 T 세포 유도능을 갖는 펩티드;
- (g) 상기 (f) 펩티드에서, N 말단에서 두 번째 아미노산이 루신 또는 메티오닌인 펩티드; 및
- (h) 상기 (f) 또는 (g) 펩티드에서, C 말단 아미노산이 발린 또는 루신인 펩티드.

청구항 20

제 19항에 있어서, 상기 증진되는 치료학적 효과는 개체내 암의 치료에 있어서 쟈시타빈의 치료학적 효과이고, 상기 개체는 HLA-A24-양성 또는 HLA-A02-양성인 것을 특징으로 하는 증진제.

청구항 21

제 20항에 있어서, 상기 암은 췌장암인 것을 특징으로 하는 증진제.

명세서

기술분야

[0001] 우선권

[0002] 본 출원은 그 내용이 전체로 본 명세서에 참조로 통합된 2007년 8월 24일에 제출된 미국 가출원 제 60/957,923호의 우선권을 주장한다.

[0003] 기술적 분야

[0004] 본 발명은 항원 펩티드 및 화학요법제를 이용한 췌장암을 위한 새로운 조합 치료법에 관한 것이다.

배경기술

[0005] 췌장암은 악성 종양 중 가장 사망률이 높은 것들 중 하나이며, 환자들의 5년 생존율은 4%이다. 대략 28.000명의 환자들은 매년 췌장암으로 진단되며, 거의 모든 환자들이 이 병으로 인해서 사망하게 된다(Greenlee, R. T., et al., (2001) CA Cancer J Clin, 51: 15-36). 이 악성 종양의 좋지 않은 예후는 초기 진단의 어려움 및 현재의 치료학적 방법들의 좋지 않은 반응에 기인한다(Greenlee, R. T., et al. (2001) CA Cancer J Clin, 51: 15-36, Klinkenbijl, J. H., et al. (1999) Ann Surg, 230: 776-82; discussion 782-4.). 특정적으로 상기 병의 치료 가능성이 큰 시기인 초기에 신뢰성 있는 스크리닝을 가능하게 하는 동정된 종양 마커가 현재 없다.

[0006] 암 발생 기작의 교육에 목적을 둔 연구는 항종양제의 개발을 위한 많은 후보 표적 분자를 밝혀왔다. 예를 들어, 파네실전환효소 억제제(FTI)는 동물 모델에서 라스-의존적(Ras-dependent) 종양의 치료에 효과를 나타낸다(Sun J et al., (1998) Oncogene, 16:1467-73.). 이러한 약학제는 결과적으로 전사 후의 파네실화(farnesylation)에 의존적인 라스(Ras)와 관련된 신호 전달 성장을 억제하도록 개발되었다. 항종양제가 원암 유전자 HER2/neu를 억제하기 위하여 항 사람 표피 성장 인자 수용체 유형 2(HER2) 단독 클론성 항체, 트라스투주마브(trastuzumab)와 조합하여 사용된 인간 임상 실험에서 임상 반응을 증진시켰으며, 유방암 환자의 전체적인 생존율을 증진시켰다. 타이로신 키나아제 억제제 STI-571은 bcr-abl 융합 단백질을 선택적으로 비활성화시키는 억제제이다. 이 약학제는 결과적으로 bcr-abl 타이로신 키나아제의 끊임없는 활성이 백혈구의 변형에 중요한 역할을 하는 만성 골수성 백혈병의 치료용으로 개발되었다. 이러한 약학제는 특이적 유전자 산물의 발암 활성을 억제시키기 위해서 제작되었다(Molina MA, et al., (2000) Cancer Res, 16:4744-9). 따라서, 암세포에서 증진된 발현이 있는 유전자 산물은 일반적으로 새로운 항종양제의 개발의 잠재적인 표적으로 역할을 한다. 또한 핵산 합성 억제는 대안적으로 항종양제로 사용된다. 예를 들어, 젠시타빈(gemcitabine)(Gemzar^R)은 제 일선의 췌장암의 치료법이다. 또한, 젠시타빈 및 파클리티셀의 조합 치료법은 췌장암의 치료에 적용되어 왔다.

[0007] 한편, 종양 혈관신생은 종양 진행에 있어서 중요한 연관이 있다. 종양 혈관신생에 대한 효과적인 백신은 HLA class I 분자가 내피세포에서 저발현될 때, 내피 세포 기반한 접근, 혈관 내피세포의 성장 인자 수용체(VEGFRs) 1 및 2에 따라서 개발될 수 있다는 것을 이전에 밝혔다(Wada S et al., Cancer Res 2005 Jun 1, 65(11): 4939-46; Ishizaki H et al., Clin Cancer Res 2006 Oct 1, 12(19): 5841-9). VEGFR를 발현하는 세포에 특이적으로 세포독성 T 림프구(CTLs)를 유도하여, 또한, 이에 따라 특이적이고 효과적인 CTL 반응을 갖는 종양 혈관신생을 억제하는 이전에 기술되었다(WO/2004/024766, 본 명세서에 참조로 통합됨).

[0008] 본 발명은 항원 펩티드, 특히 VEGFR2를 표적화 하는 항원 펩티드 및 항원 백신 및 젠시타빈과 같은 화학요법제를 이용한 췌장암 치료용 새로운 조합 치료법을 제공함으로써, 췌장암의 치료법의 향상을 위한 당업계의 필요성을 기술하였다.

도면의 간단한 설명

[0009] 본 발명의 다양한 측면 및 적용은 도면의 간단한 설명 및 본 발명의 상세한 설명 및 잇따르는 바람직한 실시예

를 고려하면 당업자에게 자명하게 될 것이다:

[도 1] 도 1은 본 발명의 실시예에서 이용한 항원 웨티드 및 화학요법제를 위한 투여 프로토콜을 제시한다.

[도 2] 도 2은 CD8 양성 T 세포 중에서 나이브(naive), 메모리, 및 작용기 T 세포의 유세포 분석의 결과를 제시하고, 여기에서 기능성 램프구 분획은 퍼포린 염색에 의해서 결정된다.

[도 3] 도 3은 백신 투여 전 및 후, 4가지 색으로 염색한 후, 유세포 분석으로 측정한 조절 T 세포(예, CD4 양성 T 세포 중에서 CD25고 및 Foxp3-양성 세포)의 수치 변화를 제시한다.

[도 4] 도 4는 특히 백신 접종 후, 접종 부위 근처의 임파선염 Case 3에 대한 PET 스캔결과를 제시한다.

[도 5] 도 5는 Case 3에서 시간의 경과에 따른 종양 마커의 변화를 제시한다.

[도 6] 도 6은 백신 투여 전 및 후, Case 3에서 특이적 CTL 반응의 수준의 증가를 제시한다.

[도 7] 도 7은 Case 4에서 췌장암을 초점으로 한 치료의 감소 효과를 나타내는 CT 스캔을 제시한다.

[도 8] 도 8은 Case 4에서 췌장암 간 전이성 초점 1에 대한 종양 감소 효과를 나타내는 일련의 CT 스캔을 제시한다.

[도 9] 도 9는 Case 4에서 췌장암 간 전이성 초점 2에 대한 종양 감소 효과를 나타내는 일련의 CT 스캔을 제시한다.

[도 10] 도 10은 치료 과정 중에 Case 4에서 증가하는 종양 마커, CEA 및 CA 19-9에 있어서 변화를 제시한다.

[도 11] 도 11은 백신 투여 전 및 후, Case 4에서 증가하는 특이적 CTL 반응을 제시한다.

[도 12] 도 12는 Case 6에서 췌장암 주 초점으로 종양 감소 효과를 나타내는 일련의 CT 스캔을 제시한다.

[도 13] 도 13은 Case 6에서 췌장암 주 초점으로 종양 감소 효과를 나타내는 일련의 PET 스캔을 제시한다.

[도 14] 도 14는 백신 투여 전 및 후, Case 6에서 증가하는 특이적 CTL 반응을 제시한다.

[도 15] 도 15는 Case 7에서 췌장암 주 초점으로 변화를 나타내는 일련의 CT 스캔을 제시한다.

[도 16] 도 16은 치료 과정 중에 Case 7에서 증가하는 종양 마커 CA 125에 있어서 변화를 제시한다.

[도 17] 도 17은 백신 투여 전 및 후, Case 7에서 증가하는 특이적 CTL 반응을 제시한다.

[도 18] 도 18은 Case 10에서 췌장암 주 초점 변화를 나타내는 일련의 CT 스캔을 제시한다.

[도 19] 도 19는 치료 과정 중에 Case 10에서 증가하는 종양 마커 CA 125에 있어서 변화를 제시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0010] 본 발명의 개요

암의 치료법의 분야의 기술적 수준의 관점에서, 화학 치료법의 치료학적 효과를 높이기 위한 수단을 찾는 것이 본 발명의 목적이었다. VEGFR2는 종양 조직 내피 세포에서 과발현되며, VEGF 신호에 의한 내피 세포의 증식에 관여하는 것으로 간주한다. 따라서, 본 발명은 VEGFR2(KDR/f1k-1; 하기에 KDR으로 언급)를 표적으로 하는 가능한 암 백신 치료법에 초점을 맞추었다. 이에 따라, 젠시타빈과 같은 화학요법제의 치료학적 효과가 VEGFR2를 발현하는 세포에 대하여 세포독성 T 세포를 유도하는 VEGFR2(KDR/f1k-1; 하기에 KDR으로 언급) 웨티드에 의해서 강화된다는 것을 밝혔다. 따라서, 하기를 제공하는 것이 본 발명의 목적이다:

[0012]

[1]. 하기 (i) 및 (ii)를 개체에 투여하는 단계를 포함하는 상기 개체내 암의 치료 방법:

[0013]

(i) 하기 (a) 대지 (h)로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 웨티드;

[0014]

(a) RFVPDGNI(서열번호: 1), VYSSEEAEL(서열번호: 2), GYRIYDVVL(서열번호: 3), SYMISYAGM(서열번호: 4), KWEFPDRDL(서열번호: 5), DFLTLEHLI(서열번호: 6)으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 하나 또는 그 이상의 웨티드;

[0015]

(b) 상기 (a) 웨티드에서 1, 2, 또는 그 이상의 아미노산이 치환, 결실 또는 첨가되고, 세포독성 T 세포 유도능을 갖는 웨티드;

- [0016] (c) 상기 (b) 웨티드에서 N 말단에서 두 번째 아미노산이 페닐알라닌(phenylalanine), 타이로신(tyrosine), 메티오닌(methionine), 또는 트립토판(tryptophan)인 웨티드;
- [0017] (d) 상기 (b) 또는 (c) 웨티드에서 C 말단 아미노산이 페닐알라닌, 루신(루신), 이소루신(isoleucine), 트립토판, 또는 메티오닌인 웨티드;
- [0018] (e) AMFFWLLV(서열번호: 7), VIAMFFWL(서열번호: 8), AVIAMFFWL(서열번호: 9), KLIEIGVQT(서열번호: 10), YMISYAGMV(서열번호: 11), IQSDVWSFGV(서열번호: 12) 및 VLAMFFWLL(서열번호: 13)으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 하나 또는 그 이상의 웨티드;
- [0019] (f) 상기 (e) 웨티드에서 1, 2, 또는 그 이상의 아미노산이 치환, 결실, 또는 첨가되고, 세포독성 T 세포 유도를 갖는 웨티드;
- [0020] (g) 상기 (f) 웨티드에서 N 말단에서 두 번째 아미노산이 루신 또는 메티오닌인 웨티드; 및
- [0021] (h) 상기 (f) 또는 (g) 웨티드에서 C 말단 아미노산이 발린(valine) 또는 루신인 웨티드;
- [0022] (ii) 켐시타빈, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전구 약물로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 화학요법제.
- [0023] [2] [1]에 있어서, 상기 개체는 HLA-A24-양성 또는 HLA-A02-양성인 것을 특징으로 하는 웨티드.
- [0024] [3] [1]에 있어서, 상기 암은 췌장암인 것을 특징으로 하는 웨티드.
- [0025] [4] 유효성분으로 하기 (i) 및 (ii), 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물을 포함하는 암의 치료용 키트:
- [0026] (i) [1]-(i)의 (a) 내지 (h)로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 웨티드;
- [0027] (ii) 켐시타빈(gemcitabine), 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전구 약물로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 화학요법제.
- [0028] [5] [4]에 있어서, 상기 개체는 HLA-A24-양성 또는 HLA-A02-양성인 것을 특징으로 하는 키트.
- [0029] [6] [4]에 있어서, 상기 암은 췌장암인 것을 특징으로 하는 키트.
- [0030] [7] 하기 (i)과 (ii)의 조합을 포함하는 암의 치료용 항암제:
- [0031] (i) [1]-(i)의 (a) 내지 (h)로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 웨티드;
- [0032] (ii) 켐시타빈, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전구 약물로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 화학요법제.
- [0033] [8] [7]에 있어서, 상기 개체는 HLA-A24-양성 또는 HLA-A02-양성인 것을 특징으로 하는 항암제.
- [0034] [9] [7]에 있어서, 상기 암은 췌장암인 것을 특징으로 하는 항암제.
- [0035] [10] 개체내 암을 치료에서 (i) 및 (ii)의 조합의 용도:
- [0036] (i) [1]-(i)의 (a) 내지 (h)로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 웨티드;
- [0037] (ii) 켐시타빈, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전구 약물로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 화학요법제.
- [0038] [11] [10]에 있어서, 상기 개체는 HLA-A24-양성 또는 HLA-A02-양성인 것을 특징으로 하는 용도.
- [0039] [12] [10]에 있어서, 상기 암은 췌장암인 것을 특징으로 하는 용도.
- [0040] [13] 개체내 암의 치료에 있어서 켐시타빈의 치료학적 효과 증진용 약학적 조성물을 제조하기 위한, [1]-(i)의 (a) 내지 (h)로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 웨티드의 용도.
- [0041] [14] 상기 증진되는 치료학적 효과는 개체내 암의 치료에 있어서 켐시타빈의 치료학적 효과이고, 상기 개체는 HLA-A24-양성 또는 HLA-A02-양성인 것을 특징으로 하는 [13]의 용도.
- [0042] [15] [14]에 있어서, 상기 암은 췌장암인 것을 특징으로 하는 용도.

- [0043] 본 발명의 하나 또는 그 이상의 측면이 특정 목적을 충족시킬 수 있고, 본 발명의 하나 또는 그 이상의 다른 측면에서 다른 목적을 만족시킬 수 있다는 것을 당업자에 의해 이해될 것이다. 예를 들어, 우선되는 목적은 본 발명의 어느 하나의 측면과 호환되는 것으로 간주할 수 있다. 이러한 목적 및 다른 목적 및 본 발명의 특징들은 하기의 도면 및 실시예가 동반된 본 발명의 상세한 설명을 읽었을 때, 더욱 명백해질 것이다. 그러나, 앞서 상기 본 발명의 개요 및 하기 본 발명의 상세한 설명 모두는 바람직한 실시예 중 하나이며, 본 발명 또는 본 발명의 호환적인 실시예를 제한하지 않는 것으로 이해될 수 있다.
- [0044] 본 발명의 상세한 설명
- [0045] 비록 본 명세서에 기재된 방법 및 재료와 유사하거나 동등한 방법 및 재료가 본 발명의 실시예의 수행 또는 실험에 사용될 수 있다고 하더라도, 바람직한 방법 및 재료는 하기에 기재된 것이다. 그러나, 본 발명은 본 명세서에 기재된 특정 문자, 조성물, 방법 또는 프로토콜에 한정되지 않으며, 이들은 통상적인 실험 및 최적화에 부응하여 변화될 수 있다. 또한, 명세서에 사용된 용어는 단지 특정 범위 또는 실시예를 기재하기 위한 목적이며, 본 발명의 범위가 첨부된 청구항에 의해서만 한정되는 것을 의도하는 것이 아니다.
- [0046] 본 명세서에 사용된 모든 기술 및 과학적 용어는 달리 정의되지 않는 한, 본 발명이 속하는 당업계의 일반적인 기술의 하나로 통상적으로 이해되는 의미를 갖는다. 그러나, 상충하는 경우에, 정의를 포함하는 본 발명의 상세한 설명에 따른다. 따라서, 본 발명의 명세서에서는 하기의 정의를 적용한다:
- [0047] 정의
- [0048] 본 발명에서 사용된 단어는 따로 명시하지 않는 한, 단수를 의미한다.
- [0049] 본 발명에서 아미노산 첨가, 결실 및/또는 치환에 적용되는 용어 "다수"는 3-7, 바람직하게 3-5, 더욱 바람직하게는 3-4, 이보다 더욱 바람직하게 3개의 아미노산 잔기(residue)를 의미한다.
- [0050] 본 명세서에 사용되었듯이, 용어 "유기체"는 적어도 하나의 세포로 구성된 살아있는 개체를 일컫는다. 살아있는 개체는 예를 들어, 단일 진핵 세포와 같이 단순할 수 있으며, 인간을 포함한 포유류와 같이 복잡할 수 있다.
- [0051] 본 명세서에 사용되었듯이, 용어 "생물학적 시료"는 전체 유기체 또는 이의 조직의 일부, 세포 또는 구성요소 부분(예, 혈액, 점액, 림프액, 유흘액, 뇌척수액, 림프액, 양수, 양막의 제대혈, 소변, 질액 및 정액을 포함하나 이에 한정되지 않는 체액)을 일컫는다. 상기 용어 "생물학적 시료"는 나아가 전체 유기체 또는 이의 세포, 조직 또는 구성요소 부분의 일부, 또는 분획 또는 이의 부분으로부터 제조되는 균질화액, 용해물, 추출물, 세포 배양물 또는 조직 배양물을 일컫는다. 마지막으로, "생물학적 시료"는 유기체가 변식될 수 있고, 단백질 또는 폴리뉴클레오티드와 같은 세포 구성요소가 포함된 영양 브로스(broth) 젤(gel)과 같은 배지를 일컫는다.
- [0052] 본 명세서에서 호환적으로 사용되는 용어 "폴리펩티드", "펩티드", 및 "단백질"은 아미노산 잔기의 중합체를 일컫는다. 상기 용어는 하나 또는 그 이상 아미노산 잔기가 변형된 잔기 또는 친연적으로 생성된 아미노산에 상응하는 인공적 화학 미메틱(mimetic)과 같은 비천연적으로 생성된 잔기뿐만 아니라, 천연적으로 생성된 아미노산 중합체인 아미노산 잔기의 중합체를 의미한다.
- [0053] 본 명세서에서 호환적으로 사용되는 용어 "폴리뉴클레오티드", "올리고뉴클레오티드" "뉴클레오티드", "핵산", 및 "핵산 분자"는 달리 정의되지 않는 한, 핵산의 중합체를 의미하며, 유사하게 통상적으로 한 문자 코드로 받아들여지는 아미노산이 의미하는 상기 아미노산과 유사하다. 상기 아미노산과 유사하게, 이들은 천연적으로 생성된 및 비천연적으로 생성된 핵산 폴리머를 포함한다.
- [0054] 본 명세서에 사용된 용어 "화학요법제"는 암의 치료에 있어서 유용한 화학적 화합물을 일컫는다. 화학요법제의 예는 하기 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염, 산 및 파생물을 포함하나, 이에 한정되지 않는다: 티오텐파(thiotepa) 및 시클로포스파미드(cyclophosphamide)와 같은 알킬화제(alkylating agents); 부설판(busulfan), 임프로설판(improsulfan) 및 피포설판(piposulfan)과 같은 알킬 살포네이트(alkyl sulfonates); 벤조도파(benzodopa), 카보쿠온(carboquone), 메투레도파(meturedopa), 및 유레도파(uredopa)와 같은 아지리딘(aziridines); 알트레타민(altretamine), 트리에틸렌멜라민(triethylenemelamine), 트리에닐렌포스포라미드(triethylenephosphoramide), 트리에틸렌에티오포스포라미드(triethylenethiophosphoramide) 및 트리메틸로멜라민(trimethylololomelamine)을 포함하는 에틸레니민(ethylenimines) 및 메틸라멜라민(methylamelines); 클로람부실(chlorambucil), 클로나파진(chlornaphazine), 클로로포스파미드(chlorophosphamide), 에스트라무스틴(estramustine), 이포스파미드(ifosfamide), 메클로레타민(mechlorethamine), 메클로로레타민 옥사이드 하이드로

클로라이드(mechlorethamine oxide hydrochloride), 멜팔란(melphalan), 노벰비에린(novembiehin), 펜에스테린(phenesterine), 프레드니무스틴(prednimustine), 트로포스파미드(trofosfamide), 우라실 머스타드(uracil mustard)와 같은 질소 머스터드(nitrogen mustards); 카르무스틴(carmustine), 클로로조토신(chlorozotocin), 포테무스틴(fotemustine), 로무스틴(lomustine), 니무스틴(nimustine), 라니무스틴(ranimustine)과 같은 니트로조우레아(nitrosoureas); 아클라시노마이신(aclacinomysins), 액티노마이신(actinomycin), 오쓰라마이신(authramycin), 아자세린(azaserine), 블레오마이신(bleomycins), 캐티노마이신(cactinomycin), 칼리키마이신(calicheamicin), 카라비신(carabacin), 카미노마이신(carminomycin), 카지노필린(carzinophilin), 크로모이니신(chromoinycins), 닉티노마이신(dactinomycin), 다우노루비신(daunorubicin), 데토루비신(detorubicin), 6-디아조-5-옥소-L-노르루신(6-diazo-5-oxo-L-norluecine), 독소루비신(doxorubicin), 에피루비신(epirubicin), 에소루비신(esorubicin), 아이담비신(idamycin), 마르셀로마이신(marcellomycin), 미토마이신(mitomycin), 마이코펠로닉 산(mycophenolic acid), 노갈라마이신(nogalamycin), 올리포마이신(olivomycins), 페플로마이신(peplomycin), 포피로마이신(poffiromycin), 퓨로마이신(puromycin), 퀼라마이신(quelamycin), 로도루비신(rodrubicin), 스트렙토니그린(streptonigrin), 스트렙토조신(streptozocin), 튜베르시딘(tubercidin), 우베니멕스(ubenimex), 지노스타틴(zinostatin), 조루비신(zorubicin)과 같은 항생물질(antibiotics); 메토트렉세이트(methotrexate) 및 5-플루루유러실(5-fluorouracil)(5-FU)과 같은 대사 길항 물질(anti-metabolites); 데노프테린(denopterin), 메토트렉세이트(methotrexate), 프테로프테린(pteropterin), 트리메트렉세이트(trimetrexate)와 같은 염산 유사체(folic acid analogues); 플루다라빈(fludarabine), 6-메르캡토퓨린(6-mercaptopurine), 티아미프린(thiamiprime), 티오구아닌(thioguanine)과 같은 퓨린 유사체(purine analogs); 안시타빈(ancitabine), 아자시티딘(azacitidine), 6-아자우리딘(6-azauridine), 카르모푸르(carmofur), 사이타라빈(cytarabine), 디덱소우리딘(dideoxyuridine), 독시풀루리딘(doxifluridine), 에노시타빈(enocitabine), 플루루유러실(floxuridine), 5-FU와 같은 피리미딘 유사체(pyrimidine analogs); 칼러스테론(calusterone), 드로모스탈노론 프로페오네이트(dromostanolone propionate), 에피티오타놀(epitiostanol), 메피티오스테인(mepitiostane), 테스토락톤(testolactone)과 같은 안드로겐(androgens); 아미노글루테미드(aminoglutethimide), 미토태인(mitotane), 트릴로스태인(trilostane)과 같은 항부신(anti-adrenals); 프로리낙 산(frolinic acid)과 같은 염산 리플레니셔(folic acid replenisher); 아세칼라تون(aceglatone); 알도포스파미드 글리코사이드(aldophosphamide glycoside); 아미노레볼린산(aminolevulinic acid); 암사크린(amsacrine); 베스트라부실(bestrabucin); 비산트렌(bisantrene); 에다트랙세이트(edatraxate); 데포파민(defofamine); 데메콜신(demecolcine); 디아지쿠온(diaziquone); 엘포르니틴(el fornithine); 엘리프니티움 아세테이트(elliptinium acetate); 에토글루시드(etoglucid); 갈리움 나이트레이트(gallium nitrate); 하이드록시유레아(hydroxyurea); 렌티안(lentianan); 로니다민(lonidamine); 미토구아존(mitoguazone); 미톡산트론(mitoxantrone); 모피다몰(mopidamol); 니트라크린(nitracrine); 펜토스타틴(pentostatin); 폐나멧(phenaemet); 피라루비신(pirarubicin); 포도필리낙 산(podophyllinic acid); 2-에틸하이드라자이드(2-ethylhydrazide); 프로카르바진(procarbazine); PSK@ 라족산(razoxane); 시조프란(sizofrran); 스피로게르마늄(spirogermanium); 태누아진산(tenuazonic acid); 트리아지쿠온(triазiquone); 2, 2', 2"-트리클로로트리에틸아민(2, 2', 2"-trichlorotriethylamine); 우레탄(urethan); 빈데스틴(vindesine); 다카바진(dacarbazine); 마노무스틴(mannomustine); 미토브로니톨(mitobronitol); 미토락톨(mitolactol); 피포브로만(pipobroman); 가시스토신(gacytosine); 아라비노사이드(arabinoside)("Ara-C"); 사이클로포스파미드(cyclophosphamide); 티오텐페파(thiotepa); 파클리택셀(paclitaxel)(TAXOLO, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, NJ) 및 도세택셀(doxetaxel)(TAXOTER, Rhβ-ne-Poulenc Rorer, Antony, France)과 같은 탁소이드(taxoids); 클로람부실(chlorambucil); 젠시타빈(gemcitabine); 6-티오구아닌(6-thioguanine); 머캅토퓨린(mercaptopurine); 메토트렉세이트(methotrexate); 시스플라틴(cisplatin) 및 카르보플라틴(carboplatin)과 같은 백금 유사체(platinum analogs); 빈블라스틴(vinblastine); 플래티넘(platinum); 에토포사이드(etoposide)(VP-16); 이포스파미드(ifosfamide); 미토마이신 C(mitomycin C); 미톡산트론(mitoxantrone); 빈크리스틴(vincristine); 비노렐빈(vinorelbine); 나벨빈(navellbine); 노반트론(novantrone); 테니포시드(teniposide); 다우노마이신(daunomycin); 아미노프테린(aminopterin); 젤로다(xeloda); 이반드로네이트(ibandronate); CPT-I I; 토포이소머라이제(topoisomerase) 억제제 RFS 2000; 디플루로메틸오리니틴(difluoromethylornithine)(DMFO); 레티노산(retinoic acid); 에스페라마이슨(esperamicins); 및 카페시타빈(capecitabine); 또한, 예를 들어, 타목시펜(tamoxifen), 랄록시펜(raloxifene), 아로마테이즈(aromatase) 억제 4(5)-이미다졸(4(5)-imidazoles), 4 하이드록시타모시펜(4-hydroxytamoxifen), 트리옥시펜(trioxifene), 케옥시펜(keoxifene), 오나프리스톤(onapristone), 및 토레미펜(toremifene)(Fareston)을 포함하는 항 에스테로젠(anti-estrogens)과 같은 종양에서 호르몬 작용을 조절 또는 억제하는 작용을 하는 항호르몬제; 및 예를 들어, 플루타마이드(Flutamide), 닐루

타마이드(nilutamide), 비칼루타마이드(bicalutamide), 류프로라이드(leuprolide), 및 고세레린(goserelin)과 같은 항안드로겐(anti-androgens); 및 상기 중 어느 하나의 약학적으로 허용 가능한 염, 산 또는 유도체.

[0055] 항원 펩티드:

[0056] 상기 기재되어 있듯이, 본 발명은 화학 치료법의 치료적 효과를 강화 또는 향상시키는 약제에 관한 것으로, 보다 구체적으로는, VEGFR2를 발현하는 세포에 대하여 세포독성 T 세포를 유도하는 VDGFR2를 표적으로 하는 항원 펩티드, 및 켐시타빈과 같은 화학요법제의 치료학적 효과를 강화 또는 향상시키는 것에 관한 것이다.

[0057] VEGFR2의 부분서열을 갖고 있는 항원 펩티드는 본 발명의 방법, 키트, 또는 조성물로 이용될 수 있다. 본 발명의 문맥에 사용에 적합한 항원 펩티드는 바람직하게 하기에 표시된 서열들로부터 선택된 하나의 아미노산 서열을 갖고 있다.

[0058] VYSSEEAEL(서열번호: 2),

[0059] GYRIYDVVL(서열번호: 3),

[0060] SYMISYAGM(서열번호: 4),

[0061] RFVPDGNRI(서열번호: 1),

[0062] KWEFFPRDRRL(서열번호: 5), 또는

[0063] DFLTLEHLI(서열번호: 6).

[0064] 특정 아미노산 서열의 하나 또는 그 이상 아미노산 잔기가 결실, 첨가 및/또는 치환에 의해 변형된 아미노산 서열을 갖는 변이된 또는 변형된 펩티드는 본래의 생물학적 활성이 유지된다고 알려져 있다(Mark, D. F. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1984) 81, 5662-5666, Zoller, M. J. 및 Smith, M., Nucleic Acids Research (1982) 10, 6487-6500, Wang, A. et al., Science 224, 1431-1433, Dalbadie-McFarland, G. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1982) 79, 6409-6413). 따라서, 본 발명은 상기 서열의 변이 및 변형을 고려한다. 특히, 상기 언급한 아미노산 서열에서 하나, 둘 또는 그 이상의 아미노산이 치환 또는 첨가된 항원 펩티드는 상기 변형된 펩티드가 필수적인 세포독성 T 세포 유도능을 유지하는 한, 본 발명의 문맥에서 유용한 것이다. 그러한 CTL 유도능 뿐만 아니라 상기 언급한 하나의 아미노산 서열에서 하나, 둘, 또는 그 이상의 아미노산이 치환 또는 첨가된 아미노산 서열을 가지는 상기 변형된 펩티드는 다른 단백질의 아미노산 서열과 일치하지 않는 한, 본 발명의 문맥에 고려된다.

[0065] 따라서 하나의 바람직한 실시예에서, 바람직하게 N 말단에서 두 번째 아미노산은 페닐알라닌, 타이로신, 메티오닌, 또는 트립토판으로 치환되거나, 또는 바람직하게 C 말단 아미노산이 페닐알라닌, 루신, 이소루신, 트립토판, 또는 메티오닌으로 치환되거나, 또는 하나 또는 두 개의 아미노산이 N 말단 및/또는 C 말단에 첨가된다.

[0066] 대안적으로, 하기에 나타난 아미노산 서열을 갖는 펩티드에서 선택된 노나펩티드(nonapeptide) 및 데카펩티드(decapeptide)는 높은 CTL 유도능을 갖는 펩티드인 것이 바람직하다.

[0067] AMFFWLLL(서열번호: 7),

[0068] VIAMFFWLL(서열번호: 8),

[0069] AVIAMFFWL(서열번호: 9),

[0070] KLIEIGVQT(서열번호: 10),

[0071] YMISYAGMV(서열번호: 11),

[0072] IQSDVWSFGV(서열번호: 12), 또는

[0073] VLAMFFWLL(서열번호: 13).

[0074] 또한, 본 발명의 문맥에서 세포독성 T 세포 유도능을 갖는 펩티드에서 하나, 둘 또는 그 이상의 아미노산이 상기 언급한 아미노산 서열에 치환 또는 첨가된 펩티드가 사용될 수 있다. 하나, 둘 또는 그 이상의 아미노산이 치환 또는 첨가된 상기 언급된 바와 같은 아홉 개 또는 열 개의 아미노산으로 구성된 아미노산 서열을 갖는 펩티드는 다른 단백질의 아미노산 서열과 일치하지 않는 한, CTL 유도능을 가질 수 있다. 특히, 예를 들어, N 말

단에서 두 번째 아미노산은 바람직하게 루신 또는 메티오닌으로 치환되거나, 또는 C 말단 아미노산은 바람직하게 발린(valine) 또는 루신으로 치환된다; 또는 하나 또는 두 개의 아미노산이 N 말단 및/또는 C 말단에 첨가된다.

[0075] 이러한 변형된 펩티드의 한 예는 VIAMFFWLL(서열번호: 8)의 펩티드에서 N 말단에서 두 번째 아미노산이 루신으로 치환된 (VLAMFFWLL(서열번호: 13))이다; 그러나, 본 발명은 이러한 예에 한정되지 않는다. 이러한 변형된 펩티드로 자극되어 얻은 CTL 클론은 상기 원래의 펩티드를 인식하고 손상을 일으킬 수 있다.

[0076] 고려되는 아미노산 서열 삽입의 예는 하나 내지 다수의 잔기의 범위의 아미노- 및/또는 카르복실-말단 융합뿐만 아니라, 하나 또는 다수의 아미노산 잔기의 서열내 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 예는 N 말단 메티오닐 잔기 또는 세포독성 폴리펩티드와 융합된 항체를 포함한다. 또한, 본 발명에 사용된 상기 펩티드는 상기 변형이 본 명세서에 기재된 상기 펩티드의 생물학적 활성을 파괴하지 않는 한, 당쇄화(glycosylation), 측쇄 산화(side chain oxidation) 또는 인산화(phosphorylation)를 포함한다. 다른 변형은 상기 항체의 혈청 반감기를 증진시키는 하나의 효소 또는 폴리펩티드를 상기 펩티드의 N 또는 C 말단에 융합하는 것을 포함한다. 상기 후자의 예는 D-아미노산 또는 다른 아미노산 미메틱(mimetics)을 포함한다.

[0077] 본 발명의 펩티드에 하나 또는 그 이상 아미노산 잔기가 첨가되는 아미노산 삽입의 문맥에 있어서, 본 발명은 또한 융합 단백질을 고려한다. 융합 단백질은 일반적으로 유용성이 알려진 폴리펩티드 또는 단백질의 관심 있는 폴리펩티드 또는 단백질로 구성된다. 융합 단백질은 본 발명의 펩티드를 암호화하는 DNA와 다른 펩티드 또는 단백질을 암호화하는 DNA를 연결하여, 프레임(frame)을 일치시키고, 상기 융합 DNA를 발현 벡터에 삽입하고, 숙주 내에서 발현하는 것과 같은 당업자에게 알려진 기술에 의해서 제조될 수 있다. 본 발명의 단백질에 융합되는 상기 펩티드 또는 단백질은 제한되지 않는다. 그러나 융합 단백질의 문맥에 사용된 알려진 펩티드의 예는, 이에 한정되지 않으나, FLAG(Hopp, T. P. et al., Biotechnology (1988) 6, 1204-1210), 6개 His를 포함하는 6×His(히스티딘) 잔기, 10×His, 인플루엔자 응집소(Influenza agglutinin)(HA), 인간 c-myc 단편, VSP-GP 단편, pi 8HIV 단편, T7-tag, HSV-tag, E-tag, SV40T 항원 단편, lck tag, 알파 투불린(alpha-tubulin) 단편, B-tag, 단백질 C 단편 등을 포함한다. 본 발명의 단백질과 융합할 수 있는 단백질의 예는 글루타티오닌-황-트랜스퍼레이즈(glutathione-S-transferase), 인플루엔자 응집소(HA), 면역 글로불린 불변 부위, 베타 갈락토시다아제(beta-galactosidase), MBP(말토오즈-결합 단백질)(maltose-binding protein) 등을 포함한다. 아미노산 치환의 문맥에 있어서 치환될 수 있는 상기 아미노산 서열은 바람직하게 상기 아미노산 측쇄의 성질이 보존된(보존적 아미노산 치환으로 알려진 과정) 다른 아미노산으로 변형된다. 아미노산 측쇄의 성질의 예는 소수성 아미노산(A, I, L, M, F, P, W, Y, V), 친수성 아미노산(R, D, N, C, E, Q, G, H, K, S, T), 및 하기 작용기 또는 공통적 특징을 가지는 측쇄가 있다: 지방족 측쇄(G, A, V, L, I, P); 수산기를 포함하는 측쇄(S, T, Y); 황 원자를 포함하는 측쇄(C, M); 카르복실 산 및 아미드를 포함하는 측쇄(D, N, E, Q); 염기를 포함하는 측쇄(R, K, H); 및 방향족을 포함하는 측쇄(H, F, Y, W). 또한, 팔호 안의 문자는 아미노산의 한 문자 코드를 가리킨다.

[0078] 본 발명의 항원 펩티드는 알려진 방법으로 제조될 수 있다. 예를 들어, 상기 펩티드는 융합 DNA 기술 또는 화학 합성 중 어느 하나를 이용하여 제조될 수 있다. 펩티드는 각각 또는 둘 또는 그 이상의 펩티드로 구성된 길이가 더 긴 폴리펩티드로 합성될 수 있다. 이러한 펩티드는 바람직하게, 즉, 상당량의 천연적으로 생성되는 숙주 세포에서 생성된 자유 단백질 및 이의 단편으로 분리된다.

[0079] 본 발명의 상기 펩티드는 각테일로 제공될 수 있거나, 또는 표준 기술을 이용하여 서로 결합될 수 있다. 예를 들어, 상기 펩티드는 하나의 단독 폴리펩티드 서열로 발현될 수 있다. 상기 조합에서 펩티드는 동일 또는 상이 할 수 있다. 본 발명의 상기 펩티드를 투여함으로써, 상기 펩티드는 항원 제시 세포의 HLA 항원을 높은 농도로 제시하고, 이는 결국, 상기 나타난 펩티드 및 상기 HLA 항원 사이에 형성된 복합체를 향해서 특이적인 반응을 하는 CTL을 유도한다. 대안적으로, 본 발명의 상기 펩티드를 항원 제시 세포의 표면에 가지고 있는 항원 제시 세포는 개체의 수지상 세포를 제거하여 얻을 수 있다. 각각의 개체에 이러한 세포의 재투여는 CTL을 유도하고, 그 결과로서 표적 세포를 향한 공격성을 증가시킬 수 있다.

[0080] 약학적 조성물 및 이를 이용하는 방법:

[0081] 본 발명은 켐시타빈과 같은 화학요법제와 조합하여 사용되는, 췌장암의 치료 및/또는 예방제를 제공한다. 본 발명에 사용되는 상기 펩티드는 췌장암의 치료에 있어서 특이적인 유용성을 발견한다.

[0082] 본 발명의 상기 항원 펩티드에 의한 수지상 세포의 생체 내 및 실험관 내 자극은 상기 세포를 이러한 펩티드가

상기 세포의 표면에 원래 고정되어 있는 웨პ티드와의 교체를 유도하는 높은 농도의 상기 웨პ티드를 노출시킴으로써 손쉽게 수행될 수 있다. 따라서 본 발명의 문맥에 있어서 유용하기 위해, 상기 항원 웨პ티드는 HLA 항원에 대한 적어도 특정 수준의 결합 친화성을 가져야 한다.

[0083] 이러한 웨პ티드를 포함하는 상기 약학제는 상기 웨პ티드 자체 또는 통상적인 제조 방법으로 제조된 약학적 조성물로서 투여될 수 있다. 이러한 경우에 상기 약학제는 상기 약학제에 추가로 담체, 수용체, 첨가제 및 약학제로 일반적으로 사용될 수 있는 것들이 특별한 제한 없이 적절하게 포함될 수 있다. 상기 약학제는 쟈시타빈과 혼합하여 췌장암의 치료 및 예방에 사용될 수 있다.

[0084] 본 발명의 항원 웨პ티드를 유효성분으로 포함하는 췌장암의 치료 및/또는 예방을 위한 약학제는 세포의 면역을 효과적으로 유도하는 보조제와 함께 투여될 수 있고; 항종양제와 같은 다른 유효성분과 함께 투여될 수 있으며; 및 과립의 형태로 투여될 수 있다. 본 발명의 적합한 약학제는 리포솜(liposome) 제형, 직경이 수 마이크로미터(micrometer)인 비드에 결합한 과립 제형, 및 지질이 결합된 제형으로 투여될 수 있다.

[0085] 투여방법은 예를 들어, 경구, 피내, 또는 피하, 또는 정맥 주사를 통해 수행될 수 있다. 전신 투여 또는 표적 종양 근처의 국소적 투여 또는 표적 종양으로 직접적인 투여가 이용될 수 있다. 본 발명의 웨პ티드의 투여량은 치료될 질환, 환자의 나이 및 체중, 투여방법 등에 따라 적절하게 조절될 수 있다. 보통, 상기 웨პ티드의 0.001 mg ~ 1,000 mg, 바람직하게 0.001 mg ~ 1,000 mg, 더욱 바람직하게 0.1 mg ~ 10 mg을 수 개월에 걸쳐서 수 일에 한 번씩 투여되는 것이 바람직하다. 보다 구체적으로, 쟈시타빈의 치료학적 효과를 향상시키기 위해서, 바람직한 실시예에서 상기 웨პ티드의 0.5 mg ~ 2.0 mg을 수 개월에 걸쳐 수일에 한 번씩, 더욱 바람직하게 일주일(7일)에 한 번씩 쟈시타빈과 조합하여 투여할 수 있다. 당업자가 적절하게 적합한 투여량을 선택할 수 있다.

[0086] 대안적으로 본 발명의 문맥에서 세포의 표면에서 본 발명의 웨პ티드 및 HLA 항원 사이에 형성된 복합체를 제시하는 세포내 소포(endocytic vesicles)는 본 발명의 목적을 위하여 사용될 수 있다. 이러한 세포내 소포는 엑소솜(exosome)이라고 불린다. 엑소솜은 예를 들어, 국제 특허 번호. Hei 11-510507 및 2000-512161의 공개된 일본어 번역문에 구체적으로 기재되어 있는 방법에 따라 제조될 수 있다. 바람직하게 엑소솜은 치료 또는 예방의 표적이 되는 개체로부터 얻은 항원 제시 세포를 이용하여 제조될 수 있다. 본 발명의 엑소솜은 본 발명의 웨პ티드로써 암 백신으로 주입될 수 있다.

[0087] HLA 항원의 종류는 치료 및/또는 예방이 필요한 개체의 HLA 항원의 종류와 일치해야 한다. 예를 들어, 일본인을 위해서는 HLA-A24 또는 HLA-A02, 보다 구체적으로는 HLA-A2402 또는 HLA-0201이 종종 적합하다.

[0088] 유사하게, 본 발명의 문맥에서 상기 웨პ티드에 의해서 유도된 분리된 세포독성 T 세포는 또한, 본 발명의 목적을 위하여 사용될 수 있다. 본 발명의 웨პ티드를 제시하는 항원 제시 세포로 자극되어 유도된 상기 세포독성 T 세포는 바람직하게 치료 및/또는 예방의 표적이 되는 개체로부터 유래된다. 상기 획득된 세포독성 T 세포는 본 발명의 웨პ티드를 제시하는 표적세포에 대하여 특이적으로 작용하거나, 또는 바람직하게 유도를 위해서 사용한 동일한 상기 웨პ티드를 제시하는 표적세포에 대하여 작용한다. 상기 표적 세포는 내인성으로 KDR을 발현할 수 있거나, 또는 KDR을 강제적으로 발현하는 세포일 수 있다. 더욱이, 이러한 웨პ티드에 의한 자극 때문에 그 세포의 표면에 본 발명의 웨პ티드를 제시하는 세포 또한 표적이 될 수 있다.

[0089] 또한, 본 발명의 문맥에서, HLA 항원 및 상기 웨პ티드 사이에 형성된 복합체를 제시하는 항원 제시 세포는 본 발명의 목적을 위해서 사용될 수 있다. 상기 웨პ티드와 접촉 또는 상기 웨პ티드를 암호화하는 뉴클레오티드와 접촉함으로써 획득되는 상기 항원 제시 세포는 바람직하게 치료 및/또는 예방을 위한 표적이 되는 개체로부터 유래한다. 항원 제시 세포는 백신 단일로 투여 또는 다른 약물 예를 들어, 본 발명의 웨პ티드, 엑소솜 및 세포독성 T 세포와 결합하여 투여될 수 있다.

[0090] 본 발명의 문맥에 있어서, 상기 웨პ티드는 바람직하게 쟈시타빈과 결합하여 투여된다. 쟈시타빈은 2'-데옥시-2',2'-다이플루오로사이티딘(2'-deoxy-2',2'-difluorocytidine monohydrochloride)(b-isomer) 화합물에 주어진 일반적인 이름이다. 쟈시타빈의 염산염(gemcitabine HCl)으로 구성된 약학적 조성물은 Gemzar (trade name)등의 일반적으로 상업적 이용이 가능한 것이 있다. 본 발명의 문맥에서, 적어도 하나의 쟈시타빈, 쟈시타빈의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 이의 전구 약물은 상기 언급한 웨პ티드와 결합하여 투여될 수 있다. 따라서, 달리 명시되지 않는 한, 본 명세서의 쟈시타빈은 이의 염 또는 전구 약물을 포함한다.

[0091] 쟈시타빈은 췌장암을 포함하는 다양한 암을 위한 치료학적 약물로서 임상에 이미 사용되는 화학요법제이다. 췌장암의 치료를 위해서 성인에게 쟈시타빈을 투여하는 표준 치료학적 프로토콜은 7주 동안 주당 1000 mg/m² 쟈시

타빈을 투여하는 것을 포함한다. 켐시타빈은 전형적으로 정맥 투여로 주입된다. 췌장암의 치료법에서, 일반적으로 치료가 없는 1주 뒤에 3주의 투여 주기를 하나의 주기로 정하고, 상기 치료는 필요에 따라 지속 및 반복된다. 이러한 시기 동안, 켐시타빈의 투여량은 혈액 독성 또는 지시약 등을 이용하여 조절될 수 있다. 본 발명에서, 상기 웨티드는 켐시타빈을 위한 투여 주기와 부합되게 투여된다. 본 발명의 항원 웨티드는 상기 켐시타빈 투여 주기 중의 어떠한 단계에도 투여될 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 항원 웨티드에 의해서 유도되는 CTLs가 이들의 생체 내 활성을 유지하는 한, 이러한 웨티드는 켐시타빈 투여 이전에 투여될 수 있다. 일반적으로 이러한 웨티드를 켐시타빈 투여 주기와 동일하게 투여하고, 최소한 환자의 시간 의무를 지키는 것이 합리적이다.

[0092] 본 발명에서 밝혔듯이, RFVPDGNI(서열번호: 1)와 같은 아미노산 서열을 갖는 VEGFR2로부터 파생된 웨티드의 투여는 켐시타빈의 치료학적 효과를 향상시킬 수 있다. 본 발명의 문맥에서 사용된 예시적인 VEGFR2로부터 파생된 웨티드의 아미노산 서열은 하기에 다시 기술되어있다. 또한, 본 발명의 문맥에서 이러한 아미노산 서열의 변형 또는 변이된 버전은 이들이 CTL 유도능을 유지하는 한, 본 발명에 사용될 수 있다.

[0093] VYSSEEAL(서열번호: 2),

[0094] GYRIYDVVL(서열번호: 3),

[0095] SYMISYAGM(서열번호: 4),

[0096] RFVPDGNI(서열번호: 1),

[0097] KWEFPRDRL(서열번호: 5),

[0098] DFLTLEHLI(서열번호: 6),

[0099] AMFFWLLLV(서열번호: 7),

[0100] VIAMFFWLL(서열번호: 8),

[0101] AVIAMFFWL(서열번호: 9),

[0102] KLIEIGVQT(서열번호: 10),

[0103] YMISYAGMV(서열번호: 11),

[0104] IQSDVWSFGV(서열번호: 12), 또는

[0105] VLAMFFWLL(서열번호: 13).

[0106] 그러므로, 본 발명은 켐시타빈의 췌장암의 치료학적 효과를 높이기 위한 상기 기재된 VEGFR2로부터 파생된 웨티드를 유효성분으로 포함하는 약제를 제공한다. 대안적으로, 본 발명은 췌장암에서 켐시타빈의 치료학적 효과를 높이기 위한 약학적 조성물의 산물에 있어서 VEGFR2로부터 파생된 웨티드의 용도를 제공한다. 더욱이, 본 발명은 켐시타빈을 이용한 췌장암의 치료법 중에, 상기 VEGFR2로부터 파생된 웨티드의 조합된 이용(조합)을 제공한다.

[0107] 본 발명에 따르면, 상기 VEGFR2로부터 파생된 웨티드는 췌장암의 치료법을 위한 켐시타빈과 조합하여 사용될 수 있다. 보다 구체적으로, 본 발명은 각각의 약학적으로 허용 가능한 담체, 상기 언급한 VEGFR2로부터 파생된 웨티드, 및 켐시타빈을 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물로 구성된 췌장암 치료용 키트(kit)를 제공한다. 더욱이, 본 발명은 상기 언급한 VEGFR2로부터 파생된 웨티드 및 켐시타빈의 조합을 포함하는 췌장암 치료용 항암제를 제공한다. 대안적으로, 본 발명은 췌장암을 치료하기 위한 상기 언급한 VEGFR2로부터 파생된 웨티드 및 췌장암 환자에게 상기 웨티드가 켐시타빈과 조합하여 투여되었을 때, 켐시타빈의 치료학적 효과가 증진되는 것을 명시한 설명서를 포함하는 키트를 제공한다.

[0108] 또 다른 실시예에서, 본 발명은 또한 췌장암을 포함한 암을 치료하기 위한 약학적 조성물의 제조에 있어서, 상기 VEGFR2로부터 파생된 웨티드와 켐시타빈, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 이의 전구 약물로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 화학요법제의 조합의 용도를 제공한다. 대안적으로, 또 다른 실시예에서 본 발명은 켐시타빈, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 이의 전구 약물로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 화학요법제의 조합에 이용되는 췌장암을 포함한 암의 치료용 약학적 조성물의 제조에 있어서 VEGFR2로부터 파생된 웨티드의 용도를 제공한다. 또 다른 실시예에서, 본 발명은 나아가 켐시타빈, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 이의 전구 약물로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 화학요법제의 치

료학적 효과 증진시키기 위한, 췌장암을 포함한 암의 치료용 약학적 조성물의 제조에 있어서, 상기 VEGFR2로부터 파생된 웨티드의 용도를 제공한다.

[0109] 대안적으로 본 발명은 나아가 췌장암을 포함한 암을 치료하기 위한 젠시타빈, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 이의 전구 약물로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 화학요법제의 치료학적 효과 증진용 유효 성분으로 상기 VEGFR2로부터 파생된 웨티드와 약학적 또는 생리학적으로 허용 가능한 담체를 제형화시키는 단계를 포함하는 약학적 조성물의 제조를 위한 방법 또는 공정을 제공한다. 또 다른 실시예에서, 본 발명은 나아가 췌장암을 포함한 암을 치료하기 위한 젠시타빈, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 이의 전구 약물로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 화학요법제의 치료학적 효과 증진용 VEGFR2로부터 파생된 웨티드와 약학적 또는 생리학적으로 허용 가능한 담체를 혼합하는 단계를 포함하는 방법 또는 공정을 제공한다.

[0110] 또 다른 실시예에서, 본 발명은 또한 VEGFR2로부터 파생된 웨티드 및 약학적 또는 생리학적으로 허용 가능한 담체와 젠시타빈, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 이의 전구 약물로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 화학요법제를 함께 포함하는 약학적 조성물을 결합 또는 포장하는 단계를 포함하는 췌장암을 포함한 암을 치료용 키트를 제조하는 방법 또는 공정을 제공한다. 대안적으로, 또 다른 실시예에서 본 발명은 또한 췌장암을 포함한 암을 치료하기 위한 키트를 제조하는 방법에 있어서, 상기 VEGFR2로부터 파생된 웨티드 및 젠시타빈, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 이의 전구 약물로 구성된 군으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 화학요법제의 조합의 용도를 제공한다.

[0111] 상기 언급한 본 발명의 실시예에서 암이 치료되어야 하는 개체는 HLA-A24-양성 또는 HLA-A02-양성일 수 있다. 상기 치료되어야 하는 암은 췌장암을 포함한다.

실시예

[0113] 이하, 본 발명은 실시예를 참조하며, 보다 구체적으로 수술적 절제가 불가능한 진행성 췌장암용 젠시타빈과 조합하여 새로운 종양 혈관을 표적으로 하는 에피토프(에피토프) 웨티드의 용도를 분석하는 임상 실험을 참조하여 상세하게 기술된다. 그러나, 본 명세서에 기재된 재료, 방법 등은 단지 본 발명의 측면들을 보여주는 것이며, 본 발명의 범위를 한정하는 것으로 의도되지 않는다. 그러한 본 발명에 기재된 재료, 방법 등과 유사하거나 동등한 재료 및 방법은 본 발명의 실시 또는 실험에 사용될 수 있다.

도입

[0115] 본 명세서에는 혈관 내피세포 성장인자 수용체 2(VEGFR2/KDR)로부터 파생된 에피토프 웨티드를 Incomplete Freund's 보조제 (IFA)와 혼합한 후, 수술적 절제가 불가능한 진행성 췌장암 환자에게 투여되는, 상기 환자를 위한 새로운 백신 화학 치료 방법의 임상 실험이 기재되어 있다. 상기 웨티드 백신은 종양 신혈관 형성 억제를 통한 항 종양 효과를 보일 것으로 예측된다. 이러한 백신은 본 명세서에서 현재 표준 췌장암 화학치료법인 젠시타빈과 조합하여 사용되었다. 현재 임상 실험은 3명의 환자의 코호트(cohort)에서 투여량 증가를 수행하는 화학치료법을 통해 샐운 종양 혈관을 억제하고, 항종양 효과의 생성을 목적으로 하는 새로운 백신 화학 치료법의 안정성을 확인하는데에 그 목적을 두고 있다. 두 번째 목적은 상기 반응률, 생존율 및 면역 반응을 평가하는 것이다.

[0116] 수술적 절개는 췌장암의 치료를 위해서 요구되는 치료법이다; 그러나, 초기 진단이 어려우며, 진단 시기에 대략 60%의 환자들은 절개가 불가능한 상태이다[Matsuno S et al. Int J Clin Oncol. 5:153-157, 2000., Pantalone D et al. 18:41-46, 2001.]. 현재 젠시타빈은 수술적으로 절제할 수 없는 췌장암에 대한 표준 치료법으로 이용된다; 그러나 비록 평균적인 생존기간 및 1년 생존율이 5-FU를 단독으로 투여한 군과 비교하여 증가하였지만, 이들은 각각 5.7개월 및 18개월이고 결코 만족스럽다고 할 수 없다. 더욱이, 상기 반응률은 높지 않은 5.4% 내지 14.3%이며[Burris HA et al. J.Clin Oncol. 15: 2403-2413, 1997., Casper ES et al. 12:29-34, 1994., Carmichael J et al. Br J Cancer.;73:101-105, 1996., Rothenberg ml et al. Ann Oncol. 7: 347-53, 1996.], 젠시타빈과 조합하여 상기 반응률 및 생존기간이 증가할 수 있는 새로운 치료학적 방법을 검증할 필요가 있다.

[0117] 반면, 최근 T 세포가 항원을 인식하는 기작이 밝혀졌으며, 더욱이 CTLs에 의해서 인식되는 종양 항원인 단백질이 밝혀졌으며, 종양 항원 또는 상기 항원 유전자를 이용한 치료학적 방법의 연구가 시작되고 있다. 이렇게 동정된 종양 거부 항원 웨티드를 이용한 면역 치료법은 악성흑색종 치료를 위해서 빠르게 도입되었으며, 성과가 1998년 이후로 주로 Rosenberg et al.[Celis E. et al. Cancer Biology 6:329-336, 1995., Marchard M, et al. Int.J.Cancer 63:883-885, 1995.]에 의해서 보고되었다. 따라서, IL-2 또는 GM-CSF와 조합된 사용인, 복수의 종양 거부 항원 웨티드의 투여를 위한 프로토콜의 개발, 변형된 웨티드의 개발 및 웨티드 자극 수지상 세

포의 임상 실험이 수행되어 왔으며, 종양 거부 항원 펩티드를 이용한 항종양 면역 치료법이 심지어 외과 수술 및 화학 치료법과 같은 종래의 치료학적 방법이 고려되는 지금까지 치료방법에서도 관심을 받고 있다.

[0118] 세포독성 T 세포 (CTLs)에 의해서 인식되고 공격받는 종양 항원이 발견되었으며, 따라서 종양 특이적 항원이 있 따라서 동정되었으며, 에피토프 펩티드를 이용한 이러한 항원을 표적으로 하는 특이적 면역 치료법인 암 백신 치료법을 위한 임상실험이 진행중이다. 그러나 새로운 문제 역시 발견되었다. 강력한 CTLs가 유도되었다 할지라도, 종양 세포에서 MHC 분자의 감소 또는 상실, 상기 종양 세포에서 표적 분자의 결핍 등이 상기 CTL 항종양 효과를 유발할 수 있다. 더욱이 현재 동정된 상기 종양 항원 펩티드는 특정 종류의 종양을 제시하나, 모든 종양을 포함하지 않는다. 따라서, 이러한 문제들을 극복하기 위해서 백신 치료법에 있어서 상기 CTLs의 표적 세포는 상기 종양 세포 자체가 아니라 종양 신혈관 내피 세포로 교정되어야 하며, 새로운 종양 혈관 유래된 분자를 표적으로 하는 백신 치료법이 제조되었다. 상기 표적 분자로서 정상 또는 내피 세포에서 거의 발현되지 않으나 종양 신혈관 내피세포에서 과발현되며, 이러한 세포의 성장에 필수불가결한 내피 세포 성장 인자 수용체인 혈관의 내피 세포 성장 인자 수용체는 2(VEGFR2/KDR)에 관심이 모였다.

[0119] VEGFR2는 많은 유방암, 대장암, 신장암, 악성흑색종 및 폐암과 같은 많은 고형 종암의 종양 조직에서 발현되고 있다고 알려져 있다[Folkman J. Nature Biotechnol. 15, 510, 1997., Folkman J. EXS 79, 1-8, 1997.]. 또한, VEGFR2 발현은 암 세포의 증식과 관계가 깊다고 밝혀졌다[Kranz A, et al. Int J Cancer 84: 293-298, 1999., Nakopoulou L, et al. Hum Pathol 33:863-870, 2002., Reden L, et al. Breast Cancer Res. and Treat. 82:147-154, 2003.].

[0120] 반면, VEGFR2가 면역 치료법의 표적이 될 수 있을지의 여부와 관련하여 VEGFR2 단백질 및 DNA 백신 접종에 관한 기초 연구의 결과는 종양의 종류와 관계없이 새로운 종양 혈관의 억제를 통해서 항종양 효과가 인식된다는 것을 밝혔다; 그러므로, VEGFR2 특이적 세포독성 T 세포는 이러한 항종양 효과에 책임이 있다. 상기는 VEGFR2가 종양 면역 치료법을 위한 표적이 될 수 있음을 나타냈다[Yiwen, Li, et al. J. Exp. Med. 195, 1575-1584, 2002. Niethammer, A.G. et al. Nature Med. 8, 1369-1375, 2002.]. 더욱이, 본 발명자의 인간을 대상으로 한 기초 분석 결과, VEGFR2를 인식하고 손상시키는 CTL 클론의 존재를 증명하였으며, 강력한 CTLs를 유도할 수 있는 다수의 HLA-A24 또는 A02 제한적 에피토프 펩티드 종류를 동정하였다. 이러한 에피토프 펩티드에 의해서 유도된 CTLs는 HLA 제한적인 방식으로 VEGFR2를내인성으로 발현시키는 배양된 인간 탯줄 정맥 내피 세포(HUVEC)를 손상시켰다. 더욱이, HLA를 발현하는 A2/Kb 형질 전환 마우스를 이용한 생체 내 항종양 효과의 측정에 있어서, 암의 종류와 관계없는 강력한 항종양 효과가 VEGFR2 과생된 에피토프 펩티드를 이용한 암 백신 치료법을 통해서 확인되었다. 또한, CTLs가 본 발명의 임상에서 사용한 펩티드를 이용한 암 환자 말단 혈액에서 유도될 수 있기 때문에, CTL 전구체 세포 또한 암환자에 존재하는 것을 발견할 수 있었다[Wada S, Cancer Res. 65, 4939-4946, 2005.]. 상기에 따르면, 본 발명의 펩티드의 투여 및 환자에게서 VEGFR2 특이적 CTLs 유도에 의한 종양 신혈관 생성은 억제될 수 있으며, 강력한 항종양 효과를 획득할 수 있다.

[0121] 따라서, 종양 신혈관 형성 억제를 통한 항종양 효과를 보일 것으로 예상되는 펩티드 백신을 체장암에 대한 현재 표준 화학 치료법인 켈시타빈과 조합하여 사용하는 새로운 백신 화학 치료법을 발명하였다. VEGFR2로부터 과생되고, HLA-A24 또는 HLA-A02 제한적인 에피토프 펩티드인 RFVPDGNI(서열번호: 1), VYSSEEAEI(서열번호: 2), GYRIYDVVL(서열번호: 3), SYMISYAGM(서열번호: 4), KWEFPRDRL(서열번호: 5), DFLTLEHLI(서열번호: 6), AMFFWLLLV(서열번호: 7), VIAMFFWLL(서열번호: 8), AVIAMFFWL(서열번호: 9), KLIEIGVQT(서열번호: 10), YMISYAGMV(서열번호: 11), IQSDVWSFGV(서열번호: 12), 또는 VLAMFFWLL(서열번호: 13) [Wada S, Cancer Res. 65, 4939-4946, 2005., WO2004/024766]은 조합된 이용을 위해 백신 제형에 사용된다

[0122] 이론적 설명의 요약은 하기에 있다:

[0123] 1. VEGFR2는 종양 신혈관 내피 세포의 성장에 관련되는 중요한 분자이며, 이러한 펩티드는 실험관 내 특이적 CTLs를 유도할 수 있다[Wada S, Cancer Res. 65, 4939-4946, 2005., WO2004/024766].

[0124] 2. 또한, 특이적 CTLs는 실험관 내에서 VEGFR2 과생된 HLA-A24 또는 HLA-A02 제한적인 에피토프 펩티드를 이용한 암 환자 말단 혈액 단독핵 세포로부터 유도될 수 있다[Wada S, Cancer Res. 65, 4939-4946, 2005.].

[0125] 3. 대부분의 일본인은 HLA-A24 또는 HLA-A02를 가지고 있다[Date Y, et al. Tissue Antigen, 47, 93-101, 1996.].

[0126] 4. 이들은 생화학적으로 안정되며, 임상 실험에 적합하다[Wada S, Cancer Res. 65, 4939-4946, 2005.].

- [0127] 5. 켐시타빈은 이미 체장암에 대한 화학요법제로 승인되었다.
- [0128] 6. 켐시타빈은 CTL 유도능과 같은 면역성을 증진시킨다고 알려져 있으며[Correale P, et al. J Immunol. 175, 820-828, 2005., Dauer M, et al. J Immunother. 28, 332-342, 2005.], 백신 제형으로 조합된 이용으로부터 효과를 기대할 수 있다.
- [0129] 본 발명의 임상 실험은 상기 언급한 이론적 설명에 근거하여 수행되었다.
- [0130] 재료 및 방법
- [0131] 개체:
- [0132] 개체 환자는 하기의 선택 기준 및 제외 기준에 따라서 선택되었다.
- [0133] 선택 기준:
- [0134] 1. 근치적 절제가 불가능하다고 판단되는 원발성 체장암의 원인은 하기이다: CT 또는 초음파 검사에 의한 이미지 진단과 같은 다양한 진단으로부터 간 전이 복막 전이, 및 골 전이; 일본 체장 학회 편집된 분류의 체장암 5 번째 판에 의해서 정의된 원격 림프절 전이; 또는 큰 혈관(재건될 수 없는 복부대동맥, 적절한 간동맥, 왼쪽 및 오른쪽 간동맥, 상장간막동맥, 및 상장간막정맥)으로의 침투; 또는 재발성 체장암.
- [0135] 2. 반면 RECIST에 의해서 측정된 손상의 존재 또는 부재는 문제가 아니라, 상기 종양에 대한 임상 효과의 측정은 가능해야한다.
- [0136] 3. 0~2의 ECOG 수행 수치.
- [0137] 4. 동의를 얻은 시기에 20 또는 그 이상 및 80 또는 그 이하의 나이.
- [0138] 5. 예상되는 생명의 예후는 켐시타빈 및 백신 치료법을 시작으로부터 반드시 3개월 또는 그 이상이어야 한다.
- [0139] 6. 만일 상기 환자가 어떤 종류의 수술을 받을 경우, 상기 환자는 상기 수술의 효과로부터 회복되어야 한다. 대안적으로, 4주 또는 그 이상이 상기 이전 치료로부터 지나야한다.
- [0140] 7. 주요 기관의 기능은 반드시 유지되어야 한다: 골수 기능(백혈구 $2000/\text{mm}^3$ 횟수 또는 그 이상 및 $15000/\text{mm}^3$ 횟수 또는 그 이하, 및 혈소판 $7.5/\text{mm}^3$ 횟수 또는 그 이상); 간 기능(GOT 150 IU/L 또는 그 이하, GPT 150 IU/L 또는 그 이하, 및 T-bil 3.0 g/dL 또는 그 이하); 및 신장 기능(Cr 3.0 또는 그 이하).
- [0141] 8. 적합한 HLA의 존재.
- [0142] 9. 상기 원발성 질환에 대해서 켐시타빈을 이용한 치료 기록이 없음.
- [0143] 제외 기준:
- [0144] 1. 임산부(이러한 임상 연구를 시작한 후에 피임 수단을 복용하는 임신 가능한 여성).
- [0145] 2. 수유 여성(이러한 임상 연구를 시작한 후에 수유는 중단되어야 한다).
- [0146] 3. 임신을 하려는 환자(상기 실험기간 중에 적합한 피임 수단이 남성 및 여성 모두에 의해서 취해져야 한다).
- [0147] 4. 조절하기 어려운 활성 감염을 갖는 환자.
- [0148] 5. 상기 실험기간 중에 하기의 약학제가 투여된 환자: 부신 스테로이드제의 전신 투여; 면역 억제제의 전신투여.
- [0149] 6. 억제되지 않는 이중 암을 갖는 환자.
- [0150] 7. 치유되지 않는 정신적 외상 손상을 갖는 환자.
- [0151] 8. 내장 마비 또는 간질성 폐렴을 가질 것으로 추정되는 환자.
- [0152] 9. 적합하지 않은 내과 의사 또는 주요 내과 의사에 의해서 결정된 환자.
- [0153] 치료 계획:

[0154] 개체 암 환자의 선택:

[0155] 개체 환자는 적합한 HLA를 가지고 있으며, 근치적 결제가 불가능 또는 재발성 췌장암인 원발성 췌장암을 갖는 환자이다. 또한, 영상 진단에 의해서 췌장암이 거의 확실하게 추정되는 사례는 상기 개체 환자를 포함한다.

[0156] HLA 발현 측정 방법:

[0157] SRL, Inc (Tokyo)에 외주 심사를 요청하였다.

[0158] 젬시타빈의 투여량:

[0159] 주의 복용량 및 보험 적용 범위로 허용되는 $1,000 \text{ mg}/\text{m}^2$ 의 켐시타빈(gemcitabine HCL)을 투여하지 않은 1주 후에 3주 동안 투여한다.

[0160] 상기 웨티드 및 보조제의 투여를 위한 투여량 및 방법:

[0161] 합성된 웨티드의 0.5 mg, 1 mg, 및 2 mg을 각각 incomplete Freund's 보조제 (MONTANIDE*ISA51VG, SEPPIC, France) 0.5 mL, 1 mL, 및 2 mL과 혼합하며, 상기 환자의 피하에서 겨드랑이 밑 또는 서혜부 근처 부위에 투여 한다.

[0162] 투여 일정:

[0163] 상기 일정은 도 1에 나타난다. 1회의 과정은 처음 투여 시작으로부터 28일로 정했다.

[0164] 투여량 단계적 확대 방법 및 3명의 환자 코호트:

[0165] 상기 켐시타빈($1,000 \text{ mg}/\text{m}^2$, 1 주간 비투여 후, 3주간 투여)의 투여량 및 투여는 고정되었으며, 백신 투여는 웨티드에 측면에서 투여량이 0.5 mg, 1 mg, 및 2 mg로 단계적으로 확대되었다. 특히, 웨티드 0.5 mg은 3명의 환자에게 투여된다. 만약 특정한 개인이 Grade 4(NCI-CTC version 3.0) 또는 그 이상(메스꺼움/구토 제외)의 혈액 독성 또는 Grade 3(NCI-CTC version 3.0) 또는 그 이상의 혈액 독성을 보이지 않는다면, 상기 웨티드의 다음 투여량(1 mg)은 상기 3명의 환자에게 투여된다. 만일 부작용이 둘 또는 그 이상의 개인에게서 표출되면, 이 임상 실험은 중단된다. 만일 부작용이 한 명의 개인에게서 표출된다면, 세 명 이상의 환자는 추가로 동일한 투여량으로 등록되며, 만일 부작용이 6개의 사례중 1개에서 표출될 경우, 상기 실험은 다음 투여량으로 이동된다. 만일 부작용이 이 단계에서 심지어 단 한 명에게서 관찰된다면, 본 발명의 임상 실험은 중단된다. 1 mg에서 2 mg으로 투여량의 단계적 확대는 상기와 동일한 방법으로 수행되었다.

[0166] 품질 관리:

[0167] 상기 투여되는 웨티드에 관하여, cGMP grade 웨티드(Neo-MPS, San Diego)는 인간 게놈 센터, 의과학 연구원, 도쿄 대학으로부터 받았다. 상기 보조제에 관하여, GMP grade-compliant incomplete Freund's 보조제 (MONTANIDE*ISA51VG)는 SEPPIC Co., 프랑스로부터 구입하였다. 상기 웨티드의 보관 및 상기 웨티드 백신의 제조는 와카야마(Wakayama) 의료 대학 병원의 약학과에서 수행하였다.

[0168] "예비 실험 투여"에 관함:

[0169] 과민성 쇼크와 같은 예측되지 않은 부작용을 피하기 위한 목적으로 최초의 백신 투여 전에 실제로 투여하는 위치가 아닌 다른 부위에 상기 웨티드 10 mg을 예비 실험 투여로서 피하에 투여하였고, 30분간 관찰하였다. 만약 Grade 3 또는 그 이상의 국소 반응 또는 전신 부작용이 관찰되지 않았을 때, 실제 투여가 수행되었다. "예비 실험 투여"에 관하여, 국소 부작용 및 전신 부작용은 어떠한 사례에서도 관찰되지 않았다.

[0170] 결과

[0171] 실험 데이터의 평가:

[0172] 안정성 평가:

[0173] 안정성 평가는 켐시타빈 및 상기 웨티드의 적어도 1회의 투여를 받은 환자를 표적으로 하였다. 부작용의 존재 및 정도는 National Cancer Institute-Common Toxicity Criteria, (NCI-CTC)(일본어 번역 JCOG 판) version 3에 기재된 것에 따라서 결정되었다.

[0174] 면역학적 평가:

- [0175] 백신 투여 이전에, 각 과정(최초 투여 후 28일)을 완료한 후, 50 ml의 말단 혈액을 채취하였고, 말단 혈액 단독 혈 세포(PBMC)를 피콜-플라크(Ficoll-paque) 밀도 원심분리법을 이용하여 분리 및 측정하였다.
- [0176] CTL 반응의 분석:
- [0177] 상기 투여되는 웨프티드로 인한 CTL 반응은 IFN gamma ELISPOT 분석기(ELISPOT 인간 IFN gamma set, BD)를 이용하여 측정하였다. 보다 구체적으로, 자극기는 VEGFR2-169(서열번호: 1) 및 A24-LCL에 도입된 HIV-A24 웨프티드 (HLA-A*2402-양성)에 의해서 자극되어 제조되었으며, HIV 웨프티드는 음성 대조군으로 사용되었다. 상기 분석은 한 번에 3개의 웰(well)에서 수행되었으며, R/S 비율 및 자극기 및 평균치 각각은 하나의 웰당 스팟(spot)의 수에 의해서 계산되었다. 상기 스팟의 수는 ELISPOT 리더기(IMMUNO SPOT, Cellular Technology Ltd.)에서 읽었다. VEGFR2-169 자극의 스팟 수로부터 HIV 자극 스팟을 차감하여 얻은 수치는 VEGFR2-169(특이적 스팟)에 대하여 특이적 IFN gamma 생성 스팟에서 얻었다. 만약 상기 특이적 IFN gamma 생성 스팟에서 향상이 1회의 과정 이후 및 2회의 과정 이후에 관찰된다면, 백신 투여로 인한 면역 반응이라고 간주할 수 있다.
- [0178] CD8 양성 T 세포의 접단 분석(도 2):
- [0179] 나이브, 메모리, 작용기 메모리, 및 CD8 양성 T 세포 중에서 작용기 T 세포 각각의 분획의 부분 비율에서 변화의 유무를 4가지 색 염색을 이용한 유세포(FACS Calibur, BD)에 의해서 분석하였다. 도 2에 나타났듯이, 상기 PBMC의 림프구 분획은 제한되며, 상기 CD8 양성 분획이 제한되었다. 또한, 상기 CD8 양성 분획은 나아가 상기 작용기 분획(CD27-음성/CD45RA-양성), 상기 작용기 메모리 분획(CD27-음성/CD45RA-음성), 상기 메모리 분획(CD27-양성/CD45RA-음성), 및 상기 나이브 분획(CD27-양성/CD45RA-양성)을 얻기 위해서 CD27(BD) 및 CD45RA(SD)을 이용하여 개발되었다. 동시에, 상기 기능성 림프구 분획은 퍼포린(perforin) 염색(Cytofix/Cytoperm 키트, BD)에 의해서 결정되었다.
- [0180] 조절 T 세포의 분석(도 3):
- [0181] CD4 양성 T 세포 중에서 CD25고 및 Foxp3-양성 세포는 조절 T 세포에 의해서 구체화되며, 백신 투여 전 및 후의 이들의 수치 변화는 4가지 색 염색을 이용한 유세포(FACS Calibur, BD)에 의해서 측정하였다. 보다 구체적으로, 도 3에 나타나있듯이, PBMC의 림프구 분은 제한되며, CD4 및 CD25를 이용한 개발 후에, CD4 양성 T 세포 중에서 상기 CD25고 및 Foxp3-양성 세포의 부분 비율을 계산하였다.
- [0182] 임상 효능 평가:
- [0183] 세포감소 효과
- [0184] 본 발명의 프로토콜에 정의된 적어도 하나의 과정을 완료한 환자는 개체로서 선택되었다. 영상에 의해서 진단될 수 있는 종양에서는 임상 효과는 주로 "고형종양 치료효과 평가를 위한 새로운 지침서(RECIST guideline Version 2) 일본어 번역, JCOG 판"에 따라서 각 과정에서 최초의 백신 접종 후에 평가되었다. 심지어 임상 평가 시기에 4주의 기간을 채우지 못한 경우에도 이러한 효과는 객관적 반응으로 기록되며, 이러한 효과의 임상적 중요성은 참조 데이터로서 평가되었다. CT 및 PET는 상기 항종양 효과 평가를 위해서 사용되었다.
- [0185] 생존시간:
- [0186] 장기간 후속 관찰이 수행되었으며, 생존시간 및 생존율을 조사하였다.
- [0187] 환자 결과:
- [0188] 세 명의 사람이 각 수준을 차지하였으며, 안정성 평가가 가능하게 되었다. 6월 31일의 사례는 표 1에 요약되어 있다(하기 참조).
- [0189] Case 1(Level 1/0.5 mg)
- [0190] Case 1은 이전에 TS-I을 이용한 화학치료법을 받은 후, 불응성이 되었으며, 그 이후로 일시적인 실험에 등록된 68세 연령의 여성이다. 2회의 과정이 수행되었으나, 전신 부작용은 없었고, 또한 국소적 부작용이 백신 접종을 한 위치에 나타나지 않았다(표 1, 하기 참조). 영상 평가는 진행성 병변(PD)이었다. 또한, 종양 마커가 증가하였다. 면역 관찰에 따르면, 상기 투여된 웨프티드에 대한 특이적 CTL 반응은 관찰되지 않았다(표 2, 하기 참조). 백신 접종 이전에 조절 T 세포의 정상 범위(정상 평균은 $3.9 \pm 1.2\%$ 이다)이내였으나, 상기 정상 범위를 넘는 증가가 1회의 과정 후 및 2회의 과정 후에 관찰되었다(표 6, 하기 참조). 상기 환자는 상기 최초의 백신 접종 3.3개월 후에 원래 질환의 악화로 인해서 사망하였다.

[0191] Case 2(Level I/0.5 mg)

Case 2는 이전에 두 번의 백신 접종을 받았으나 본인의 요청에 의해서 다른 병원으로 이송되고, 이에 따라 상기 실험에서 탈락된 66세 연령의 남성이다(표 1, 하기 참조). 전신 부작용은 없었으며, 백신 접종 위치에서 국소적 부작용 또한 없었다.

[0193] Case 3(Level I/0.5 mg)

Case 3은 64세 연령의 남성이다. 1회의 과정이 수행되었다. Grade 3 호중구감소증(neutropenia) 및 간 역기능이 전신 부작용으로서 관찰되었다(표 1, 하기 참조). 1주 동안 쟈시타빈의 희수는 양자의 조건에서 회복을 도왔으며, 그 뒤에 투여가 계속되었다. 접종 위치의 Grade 2 경화 및 조홍이 관찰되었으며, 상기 접종 부위 근처의 임파선염(서혜부의 부기)가 국소적 부작용으로서 관찰되었다. 강력한 축적을 보이는 영상은 PET를 이용한 부어오른 부위에서 관찰되었으며(도 4), 웨티드 접종에 대한 반응에서 면역 반응을 제시하는 조직 병리학적인 강력한 염증이 생체 검사 결과로써 관찰되었다. 영상 평가는 안정성 병변(SD)이었으며, 상기 종양 마커(CA19-9)는 감소하였다(도 5). 면역 관찰에 따르면, 상기 투여된 웨티드에 대한 특이적 CTL 반응이 관찰되었고(도 6), CD8 양성 T 세포 분획 분석에서, 증가가 상기 나이브 T 세포 분획 및 상기 작용기 T 세포 분획에서 관찰되었다(표 3, 하기 참조). 조절 T 세포는 백신 접종 시작 전에 상기 정상 범위(정상 평균은 3.9 +/- 1.2%이다)였으나, 1회의 과정 후에 정상 범위로부터 감소하였다(표 6, 하기 참조). 그 이후, 상기 환자는 최초의 백신 접종 7.3개월 후, 원래 질환의 악화로 인해서 사망하였다.

[0195] Case 4(Level I/0.5 mg)

Case 4는 61세 연령의 남성이다. 2회의 과정이 수행되었다. 전신 부작용은 없었으며, 국소적 부작용으로써 Grade 2 경화 및 조홍이 상기 접종된 위치에서 관찰되었다(표 1, 하기 참조). 영상 평가는 객관적 반응이었다. 보다 구체적으로, 췌장 말단 부위의 주 초점은 1회의 과정 후, 안정성 병변을 발견하였고, 2회의 과정 후 이는 확실하게 감소하였으며, 이러한 효과는 거의 2개월 동안 지속되었다(도 7). 간의 간문맥 위치에서 간 전이성 초점은 2회의 과정 후에 완전히 불분명하게 되었다(도 8). 쓸개 근처의 간 전이성 초점은 1회의 과정 후에 불분명하게 되었으며, 2회의 과정 후에 거의 사라졌다(도 9). 반면, 백신 접종 이전에 높은 수준인 종양 마커(CA19-9 및 CEA)는 1회의 과정 후 및 2회의 과정 후에 감소되었으며, 상기 종양 마커의 감소 경향은 심지어 1개월이 지난 후에도 지속되었다(도 10). 면역 관찰에 따르면, 상기 투여된 웨티드에 대한 특이적 CTL 반응이 관찰되었다(도 11). 조절 T 세포는 백신 접종 시작 전, 1회의 과정 후 및 2회의 과정 후에 정상 범위 내에 있었다(표 6, 하기 참조). 상기 최초의 백신 접종 후에 6.3개월 후에 상기 환자는 생존하였다.

[0197] Case 5(Level II/1 mg)

Case 5는 65세 연령의 남성이다. 2회의 과정이 수행되었다. 전신 부작용 및 국소적 부작용이 없었다(표 1, 하기 참조). 영상 평가는 안정성 병변이었다. 또한, 종양 마커가 증가하였다. 면역 관찰에 따르면 상기 투여된 웨티드에 대한 특이적 CTL 반응이 관찰되었고(표 2, 하기 참조), CD8 양성 T 세포 분획 분석에서, 증가가 상기 나이브 T 세포 분획 및 작용기 T 세포 분획에서 관찰되었다(표 4, 하기 참조). 조절 T 세포는 백신 접종 시작 전, 1회의 과정 후 및 2회의 과정 후에 정상 범위 내에 있었다(표 6, 하기 참조). 그 이후, 상기 환자는 최초의 백신 접종 4.5개월 이후에 원래 질환의 악화로 인해서 사망하였다.

[0199] Case 6(Level II/1 mg)

Case 6은 57세 연령의 여성이다. 2회의 과정이 수행되었다. Grade 3 호중구감소증이 전신 부작용으로서 관찰되었다(표 1, 하기 참조). GEM의 1주일 동안의 희수는 회복을 도왔으며, 그 뒤에 투여가 지속되었다. 상기 접종 위치에서 Grade 2 경화 및 조홍이 관찰되었으며, 상기 접종 근처에서 임파선염(서혜부의 부기)이 국소적 부작용으로서 관찰되었다. 영상 평가는 객관적 반응이었다. 보다 구체적으로 췌장암 머리 부위에서 주 초점은 2회의 과정 후에 감소되었으며, 이러한 효과는 거의 2.5개월 동안 지속되었다(도 12). 백신 접종 이전 및 2회의 과정 완료 후 PET 스캔을 비교하였다. 2회의 과정 후 상기 종양에서 축적은 감소되었다(도 13). 상기 종양에 축적량을 객관적으로 나타내는 SUV 수치를 비교함으로써, 6에서 4.5로 감소는 확실하게 항종양효과가 있음을 제시하였다. 더욱이, 상기 종양 마커(DUP AN2 이외의 종양 마커는 등록 시간에서 정상이었다)는 2회의 과정 후에 감소되었으며, 상기 감소 효과는 심지어 2개월이 지난 후에도 지속되었다(표 7, 하기 참조). 면역 관찰에 따르면, 상기 투여된 웨티드에 대한 특이적 CTL 반응이 관찰되었고(도 14), CD8 양성 T 세포 분획 분석에서, 증가가 상기 나이브 T 세포 분획에서 관찰되었으며, 상기 작용기 T 세포 분획에서 감소가 관찰되었다(표 4, 하기 참조). 조절 T 세포는 백신 접종 시작 전, 1회의 과정 후 및 2회의 과정 후에 정상 범위 내에 있었다(표 6,

하기 참조). 최초의 백신 접종 6개월 후에, 상기 QOL은 좋았으며, 상기 환자는 살아있었다.

[0201] Case 7(Level II/1 mg)

Case 7은 69세 연령의 남성이다. 2회의 과정이 수행되었다. Grade 3 호중구감소증이 전신 부작용으로서 관찰되었다(표 1, 하기 참조). GEM의 1주일 동안의 회수는 회복을 도왔으며, 그 뒤에 투여가 지속되었다. Grade 2 경화 및 조홍이 상기 접종 위치에서 관찰되었으며, 상기 접종 부위 근처에서 임파선염(서혜부의 부기)이 국소적 부작용으로서 관찰되었다. 영상 평가는 안정성 병변이었다(도 15). 보다 구체적으로, 췌장 머리 부분의 주 초점은 2회의 과정 후에 아무런 변화를 보이지 않았으며, 이러한 효과는 거의 2개월 동안 지속되었다(도 15). 더욱이, 상기 종양 마커(CA125 이외의 종양 마커는 등록된 기간에서 정상이었다)는 1회의 과정 후에 감소되었으며, 상기 감소 효과는 심지어 2개월 이후에도 지속되었다(도 16). 면역 관찰에 따르면, 상기 투여된 웨티드에 대한 특이적 CTL 반응이 관찰되었으며(도 17), CD8 양성 T 세포 분획 분석에서, 감소가 나이브 T 세포 분획에서 관찰되었으며, 상기 작용기 T 세포 분획에서 증가가 관찰되었다(표 4, 하기 참조). 조절 T 세포는 백신 접종 시작 전, 1회의 과정 후 및 2회의 과정 후에 정상 범위 내에 있었다(표 6, 하기 참조). 최초의 백신 접종 4.3개월 후에, 상기 QOL은 좋았으며, 상기 환자는 살아있었다.

[0203] Case 8(Level III/2 mg)

Case 8은 58세 연령의 남성이다. 1회의 과정이 완료되었으며, 반면 두 번째 과정이 수행되고 있었으며, 확대된 종양으로부터 위장 출혈이 발생하였다. 상기 종양 확대가 된 원인을 판단하였으며, 상기 실험은 중지되었다(표 1, 하기 참조). 간 역기능이 전신 부작용으로서 관찰되었다. 국소적 부작용은 없었다. 1회의 과정 완료로서 영상 평가는 진행성 병변이었다. 또한, 상기 종양 마커는 증가하였다.

[0205] Case 9(Level III/2 mg)

Case 9는 73세 연령의 남성이다. 1회의 투여 후에, 상기 연구는 상기 종양의 확대로 인한 위장 수축으로 인해서 연기되었다(표 1, 하기 참조).

[0207] Case 10(Level III/2 mg)

Case 9는 62세 연령의 남성이다. 1회의 과정이 수행되었다. 전신 부작용은 없었으며, 국소적 부작용으로서 Grade 2 또는 그 이하의 경화 및 조홍이 관찰되었다(표 1, 하기 참조). 영상 평가는 안정성 병변이었다(도 18). 더욱이, 상기 종양 마커(CA125 이외의 다른 종양 마커는 등록 시간에서 정상이었다)는 감소하였으며, 상기 종양 마커의 감소는 대략 1개월 동안 지속되었다(도 19). 면역 관찰에 따르면, 상기 투여된 웨티드에 대한 특이적 CTL 반응이 관찰되었고(표 2, 하기 참조), CD8 양성 T 세포 분획 분석에서 상기 나이브 T 세포 분획의 증가가 관찰되었으며, 상기 작용기 T 세포 분획에서 감소가 관찰되었다(표 5, 하기 참조). 조절 T 세포는 백신 접종 시작 전에 6.4의 높은 수치였으나, 1회의 가정 후에 2.1의 정상 범위로 감소하였다(표 6, 하기 참조).

[0209] 젬시타빈 단독과의 비교

표 8(하기 참조)에서 상기 사례들의 항종양 효과의 관점 및 면역 반응의 하나인 DTH 반응의 관점에서 여태까지 얻은 데이터와 젬시타빈 단독과 비교를 수행하였다. 항종양 효과는 질병 대조군 비율(CR의 수 + PR의 수 + SD의 수/모든 사례) 및 확실한 항종양 효과 발현 비율(객관적 반응)의 측면에서 비교하였다. 상기 비율은 GEM 단독에서 45% 내지 48%에 머무는 반면, 상기 비율이 본 프로토콜에서는 62.5%로 크게 능가하였다. 또한, 상기 객관적 반응은 2배 또는 그 이상 능가하였다. 면역 반응의 하나인 DTH 반응이 높은 빈도로 관찰되었다. DTH 반응은 VEGFR2 단독(개인적 의사소통)에서는 거의 발견되지 않기 때문에, 젬시타빈이 상기 면역 반응을 증가시킨다고 간주할 수 있다. 사실상 DTH 반응이 일어난 사례에서 SD의 반응 또는 이상이 임상에서 획득되었으며, PD 사례 및 DTH가 부재된 사례가 완전히 일치하였다. 그러므로, 다양한 종류의 면역 반응이 유도된 사례는 임상적으로 매우 효과적이라고 간주된다.

[0211] 표

표 1

임상 실험 사례의 요약

case	patiëntid	나이 성별	백신 상태	전 신 부작용	국소적 부작용	측정가능한 손상	측정	증상 피커	관찰 기간, 생존
1	Level II 0.5 mg	68 ⁺ 여성	2 과정 원료됨	없음	없음	주 초점	진행성 평면	증기증	33 개월, 사망
2		66 ⁺ 남성	중단(2회 투여)	없음	없음				
3		64 ⁺ 남성	1 과정 원료됨	호증구 감소증/ 간 손상	경화/ 조홍/ 침포열 증상	주 초점	안정성 평면	감소증	7.3 개월, 사망
4		61 ⁺ 남성	2 과정 원료됨	없음	경화/ 조홍	주 간 전이성 초점	객관적 반응	감소증	6.3 개월, 생존
5	Level II 1 mg	65 ⁺ 남성	2 과정 원료됨	없음	없음	주 초점	진행성 평면	증기증	4.5 개월, 사망
6		59 ⁺ 여성	2 과정 원료됨	호증구 감소증	경화/ 조홍/ 침포열 증상	주 초점	객관적 반응	감소증	6.0 개월, 생존
7		69 ⁺ 남성	2 과정 원료됨	호증구 감소증	사례부의 부기	주 초점	안정성 평면	감소증	4.3 개월, 생존
8	Level III 2 mg	58 ⁺ 남성	2 과정 중	호증구 감소증/ 간 손상	없음	주 초점	진행성 평면	증기증	3.7 개월, 생존
9		73 ⁺ (1회 투여)	(1회 투여)	중앙 황대로 인한 위장 수축으로 연기됨	주 간 전이성 초점				2.8 개월, 생존
10		62 ⁺ 남성	1 과정 원료됨	없음	경화/ 조홍	주 초점	안정성 평면	감소증	2.4 개월, 생존

[0212]

표 2

투여된 펩티드에 대한 특이적 CTL 반응/DTH 반응

		투여 전	투여 후	DTH 반응	임상 평가
LEVEL	CASE 1	-	-	-	PD
I	CASE 3	-	+	+	SD
0.5 mg	CASE 4	NT	+	+	Objective R
LEVEL	CASE 5	-	+	-	PD
II	CASE 6	-	+	+	Objective R
1 mg	CASE 7	-	+	+	SD
LEVEL	CASE 8	NT	NT	-	PD
III	CASE 9	NT			NT
2 mg	CASE 10	-	+	+	SD

※ NT: 시험되지 않음

[0213]

표 3

Level I CD8 양성 T 세포 분획의 분석

	투여 전	1 과정 후	2 과정 후	임상 평가
Naive/CD8+ (%)				
CASE 1	Memory/CD8+ (%)		NT	PD
E.	Memory/CD8+ (%)			
Effector/CD8+ (%)				

	Naive/CD8+ (%)	12.5	16.9	
CASE 3	Memory/CD8+ (%)	11.8	10.9	SD
E.	Memory/CD8+ (%)	3.7	2.4	
	Effector/CD8+ (%)	60.9	64.0	

Naive/CD8+ (%)				
CASE 4	Memory/CD8+ (%)		NT	Objective R
E.	Memory/CD8+ (%)			
Effector/CD8+ (%)				

※ CASE3: 1과정 후, 종료됨.
NT: 시험되지 않음

표 4

	투여 전	1 과정 후	2 과정 후	임상 평가
CASE 5	Naive/CD8+ (%) Memory/CD8+ (%) E Memory/CD8+ (%) Effector/CD8+ (%)	0 0.1 21.5 14.0	11.9 11.5 22.3 11.2	3.9 8.8 24.3 19.2
CASE 6	Naive/CD8+ (%) Memory/CD8+ (%) E Memory/CD8+ (%) Effector/CD8+ (%)	54.3 25.8 1.2 10.2	64.5 22.1 0.4 5.9	69.3 20.6 0.3 3.9
CASE 7	Naive/CD8+ (%) Memory/CD8+ (%) E Memory/CD8+ (%) Effector/CD8+ (%)	9.4 4.4 10.6 14.4	1.1 0.1 12.0 17.8	0.1 0 8.3 18.0
				PD Objective R SD

[0215]

표 5

Level III CD8 양성 T 세포 분획의 분석

	투여 전	1 과정 후	2 과정 후	임상 평가
CASE 8	Naive/CD8+ (%) Memory/CD8+ (%) E Memory/CD8+ (%) Effector/CD8+ (%)		NT	PD
CASE 9	Naive/CD8+ (%) Memory/CD8+ (%) E Memory/CD8+ (%) Effector/CD8+ (%)		NT	NT
CASE 10	Naive/CD8+ (%) Memory/CD8+ (%) E Memory/CD8+ (%) Effector/CD8+ (%)	51.0 10.7 4.7 18.2	57.2 11.4 3.4 14.8	
				SD

※ CASE8: 1 과정 후, 종료됨.
NT: 시험되지 않음

[0216]

표 6

CD4 양성/CD25 고 / Foxp3 양성 조절 T 세포의 분석

LEVELS	CASES	전	1 과정 후	2 과정 후	임상 평가
I	1	2.4	9.5	7.8	PD
	3	10.6	4.4		SD
	4	3.2	2.2	1.5	Objective R
II	5	4.6	2.3	1.8	PD
	6	3.1	3.9	4.1	Objective R
	7	3.1	3.3	3.1	SD
III	8	N.T.	N.T.		PD
	9	N.T.	N.T.		N.T.
	10	6.4	2.1		SD

건강한 사람의 평균 (SD) . . .
 CD4+CD25고Foxp3+: 3.9%(± 1.2)

[0217]

표 7

치료 과정 중 Case 6에서 증가하는 종양 마커의 변화

	1/26	2/8	3/15	4/24	5/29	6/26
	수행 4주 전	수행 전	1 과정 후	2 과정 후	1 개월 후	2 개월 후
DUPAN2	1600<	1600<	1600<	1200	960	880

(CEA, CA19-9, CA125; NORMAL RANGE)

[0218]

표 8

일시적인 발명의 치료와 관계된 항종양 효과 및
DTH 반응의 요약

	GEM 단독	GEB+R2-169 (양성 cases /총 cases)
질병 조절 비율 (SD 또는 이상)	45 - 48%	62.5% (5/8)
확인한 종양 감소 효과 (객관적 반응)	10%	25% (2/8)
DTH 반응	N.T.	62.5% (5/8)

[0219]

토의

[0220]

췌장암이 불응성이며, 가장 좋지 않은 예후를 갖는다는 데에는 의심할 여지가 없다. 현재 췌장암에 대한 약학적 치료법은 오직 켈시타빈이 있었으나, 임상에서는 여전히 만족스럽지 못하다.

[0221]

반면, 종양 항원에 대한 종양 항원의 동정 후에, 암 백신 치료법을 위한 기대가 커졌다; 그러나, 현재까지의 임상 수행이 그러한 기대에 미치지 못한다는 사실은 잘 알려져 있다. 주원인은 종양 세포에서 MHC 분자의 저발현 또는 결핍이다. 보다 구체적으로, 백신을 이용하여 강력한 CTLs가 유도된다 하더라도, MHC 분자가 결핍된다면, 상기 항종양 효과가 나타날 수 없다.

[0222]

MHC 분자의 저발현 또는 결핍에 대한 방법은 백신에 의해서 유발되는 CTLs 반응이 면역 관찰에 의해서 감지된다 할지라도, 항종양 효과와 직접적으로 관련지을 수 없다는 사실을 고려하면, 매우 중요한 목적이다. 더욱이, 종양의 이질성 역시 중요한 문제이다. 심지어 CTLs가 하나의 종양 항원에 대해서 유도될 때, 발현되는 분자가 종양 성장을 위한 필수적인 분자가 아니면, 그 분자는 CTLs의 더 이상 표적이 되지 않아서 결실되며, 상기 종양은 지속적으로 성장할 수 있다. 이러한 백신 치료의 항종양 효과와 관련된 필수적인 문제를 해결하기 위한 목적으로, 본 발명자들은 그들의 관심을 종양 신혈관 내피 세포에서 과발현되는 VEGFR2 및 백신으로 사용할 수 있는 에피토프 웨티드에 집중하였다[Wada S, Cancer Res. 65, 4939-4946, 2005., WO 2004/024766].

[0223]

종래에는 백신 치료법 및 화학 치료법의 조합된 이용은 이들의 생물학적 특징에 기반하여 양립할 수 없다고 간주해 왔다. 그러나, 조절 T 세포 및 이들의 무효의 발견과 같은 종양 면역의 관점에서 화학 치료법의 조합된 이용의 가능성이 제시되고 있다. 그러므로, 임상 실험은 켈시타빈의 조합된 이용 및 신 종양 혈관을 표적으로 하는 웨티드 백신 치료법의 효과가 췌장에 효과가 있을지를 측정하기 위해서 계획되었다.

[0224]

그 결과, 우선 안정성의 측면에서 완전히 허용 가능한 것을 찾았다. 투여량의 단계적 확대에 있어서, Grade 3 또는 이상의 전신 부작용(1회의 과정 완료)의 분석은 Level I에서 3개의 사례로부터 1개의 사례, Level II에서 3개의 사례로부터 2개의 사례, Level III에서 2개의 사례로부터 1개의 사례에서 나타났다; 그러나, 약물 회수 또는 G-CSF의 투여는 지속된 투여를 가능하게 하였다. 상기에 따르면, 본 발명에서 모든 Level은 허용 가능한 범위 내에 있다. 이러한 방법이 종양 신혈관 내피 세포를 표적으로 하는 백신 치료법이기 때문에, 출혈 경향 및 다른 부작용이 우려가 되었다; 그러나, 상기 공정을 수행하기 전 정상 관 내피 세포에서 저발현과 같은 이론적 근거는 어느 정도 맞다는 것이 증명되었다. 면역 관찰을 통해서 투여량 단계적 확대가 분석되었을 때, 임상 효과는 DTH 반응, CTL 반응 및 질병 대조군 비율의 측면에서 분석되었으며, 이들 모두는 Level I에서 3개의 사

례로부터 2개의 사례, Level III에서 2개의 사례로부터 1개의 사례였으며, CTL 단독 반응은 3개의 사례로부터 3개의 사례에서 양성이었다(Level I 및 III에서 DTH 반응 및 상기 질병 대조군 비율은 동일하였다). 비록 상기 사례의 수가 적으나, 상기는 Level II가 권장되는 투여량이 될 것이라는 가능성을 제시하였다.

[0226] 상기 항종양 효과에 관하여, 비록 상기 조합된 이용의 효과가 백신 화학 치료법과 함께 확실하게 관찰되지 않았으나, 백신이 쟈시타빈의 항종양 효과를 증가시킨다는 가능성에 대하여 논의된다. 표 8과 비교하였을 때, 쟈시타빈 단독과 비교하였을 때, 상기 종양 감소 효과는 2배 또는 그 이상 능가하였다. 이는 쟈시타빈의 직접적인 항종양효과가 상기 백신에 의해서 증진되었다는 것을 의미한다. 보다 구체적으로, 상기 백신에 의해서 유도된 CTL이 쟈시타빈이 상기 종양을 효과적으로 도달할 수 있는 것 같이 상기 종양 신혈관 내피세포를 파괴하며, 그 결과, 강력한 항종양 효과를 표출하였다. 다음에, 쟈시타빈이 상기 백신의 항종양 효과를 증진시키는 가능성이 검토된다. 상기 투여된 웨티드에 대한 면역 반응의 분석은 강력한 CTL 반응이 임상적으로 효과가 있는 SD 사례를 포함한 사례에서 주로 유도되었다는 것을 확인하였다. 더욱이, DTH 반응이 강화되었기 때문에, 이는 쟈시타빈이 상기 백신에 의한 항종양 효과의 주요 요소인 상기 CTL 반응을 증가시킨다는 가능성을 강력하게 제시한다. 또한, 임상에서 5개의 사례로부터 4개에서 상기 항종양 효과가 SD를 포함한 오랜 기간의 시간 동안 유지되었고 (Case 4: 1개월; Case 6: 2개월; Case 7: 2개월, 및 Case 10: 1개월), 이는 상기 백신에 의한 오랜 기간의 항종양 효과의 결과로 간주된다. 보다 구체적으로 이는 쟈시타빈에 의해서 CTL이 효과적으로 유도되며, 이러한 CTL은 오랜 기간 항종양 효과를 유도한다는 가능성을 제시한다. 더욱이, 상기 종양이 쟈시타빈으로 인해서 세포사멸을 겪으며, 이는 상기 백신에 의해서 활성화된 항종양 면역 반응과 함께 상조적으로 역할을 한다는 가능성이 있다. 이러한 방법으로 부작용의 상승없이 수명의 연장을 포함하는 항종양 효과의 향상이 쟈시타빈 및 VEGFR2 웨티드를 조합으로 사용한 백신 화학 치료법을 통해서 높이 기대될 수 있다. 이는 좋지 않은 예후를 갖는 체장암을 위한 치료 결과의 향상을 향한 굉장한 소식이라고 간주할 수 있다.

[0227] 산업상 이용 가능성

[0228] 본 명세서에서 상기 체장암에 대한 예를 들어 쟈시타빈과 같은 화학요법제의 치료학적 효과는, 그 내용이 전제로 본 명세서에 참조로서 통합되는 WO 2004/024766에서 암 백신으로 동정된 KDR 웨티드와 같은 항원 웨티드를 적절하게 조합되었을 때, 개선 또는 증진될 수 있다. 이와 같이, 본 발명은 치료가 필요한 개체에서 체장암의 치료를 위한 향상된 방법을 제공한다.

[0229] 본 명세서에 인용된 모든 공개, 데이터베이스, 서열, 특히 및 특허 출원은 본 명세서에 참조로써 통합된다.

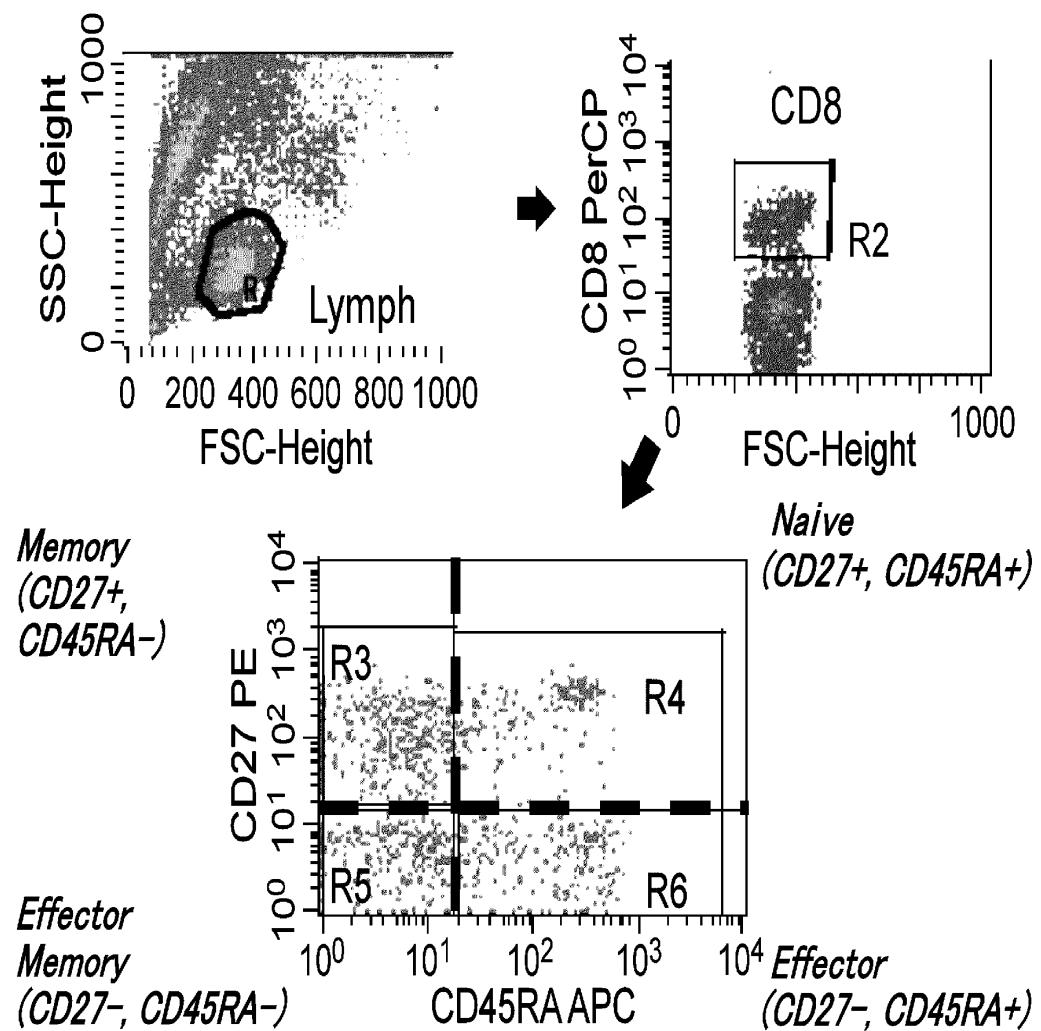
[0230] 본 발명은 상세하게 기재되어 있고, 이의 특정적인 실시예의 참조에 기재되어 있으나, 본 발명의 사상 및 범위로부터 벗어나지 않고, 첨부된 청구항에 충족 및 결합될 수 있는 다양한 변화 및 변형이 될 수 있는 것은 당업자에게 자명할 것이다.

도면

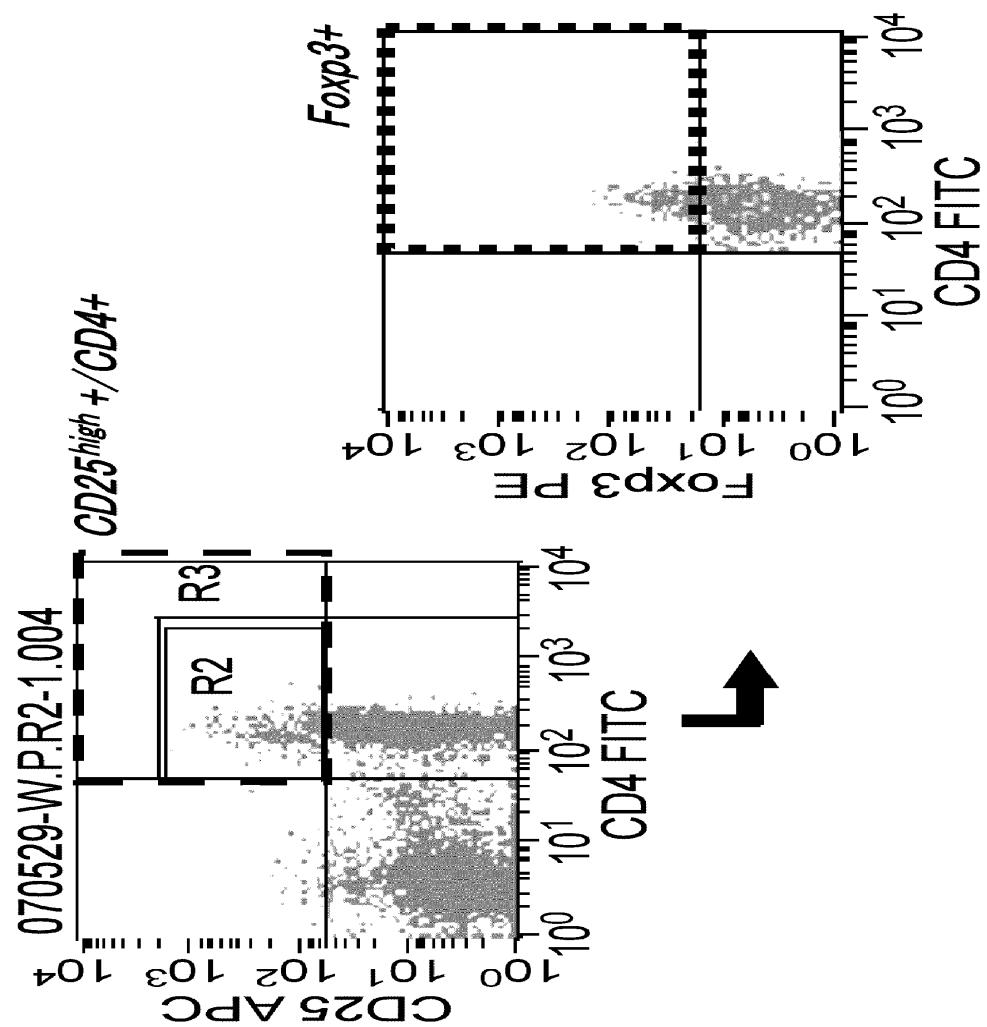
도면1

	1 Vac	2 Vac	3 Vac	4 Vac
Vaccine	day 1	day 8	day 15	day 22
Gemcitabine	day 1	day 8	day 15	drug cessation
	↓	↓	↓	↓

도면2

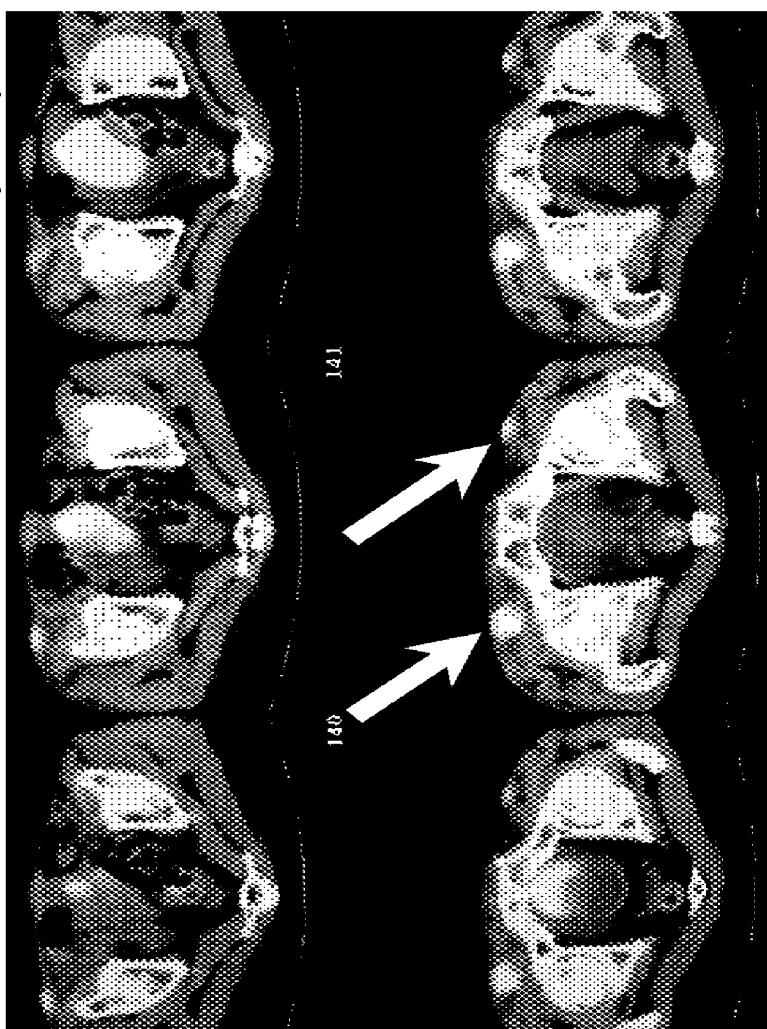


도면3

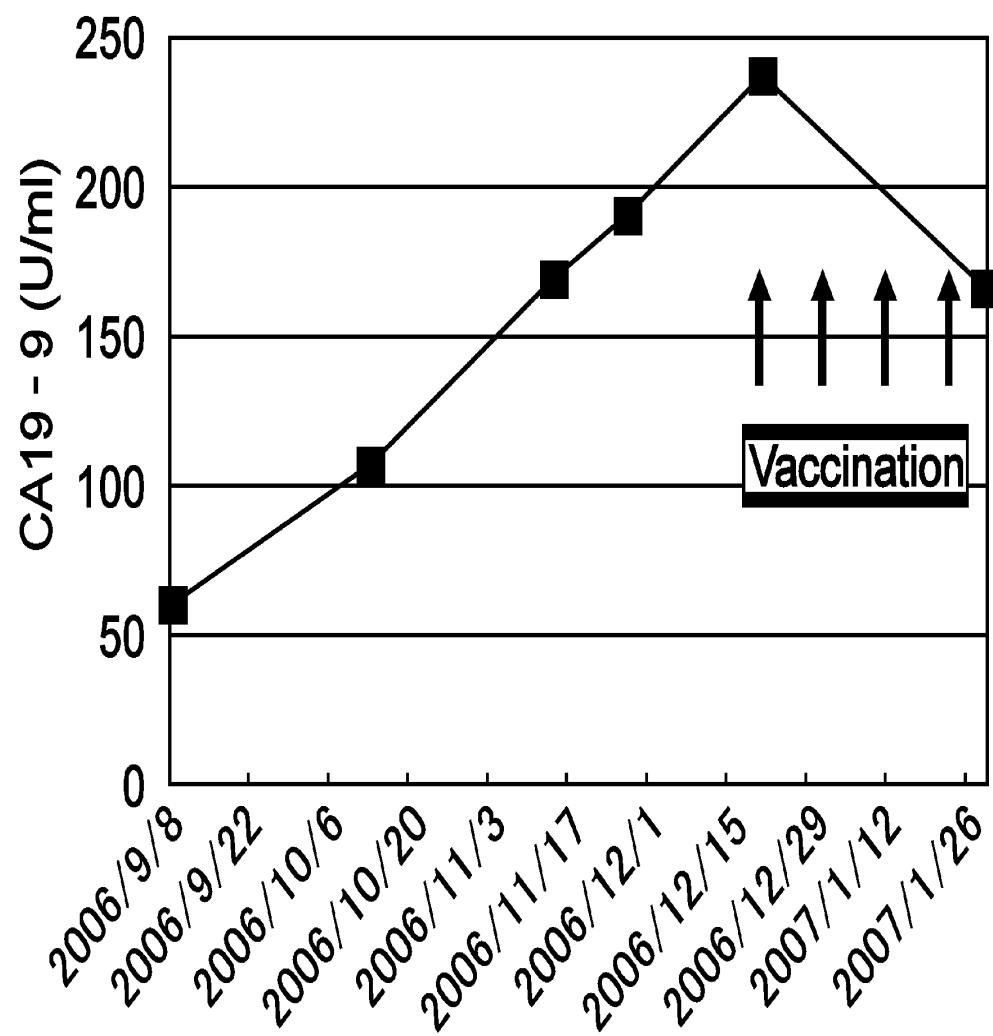


도면4

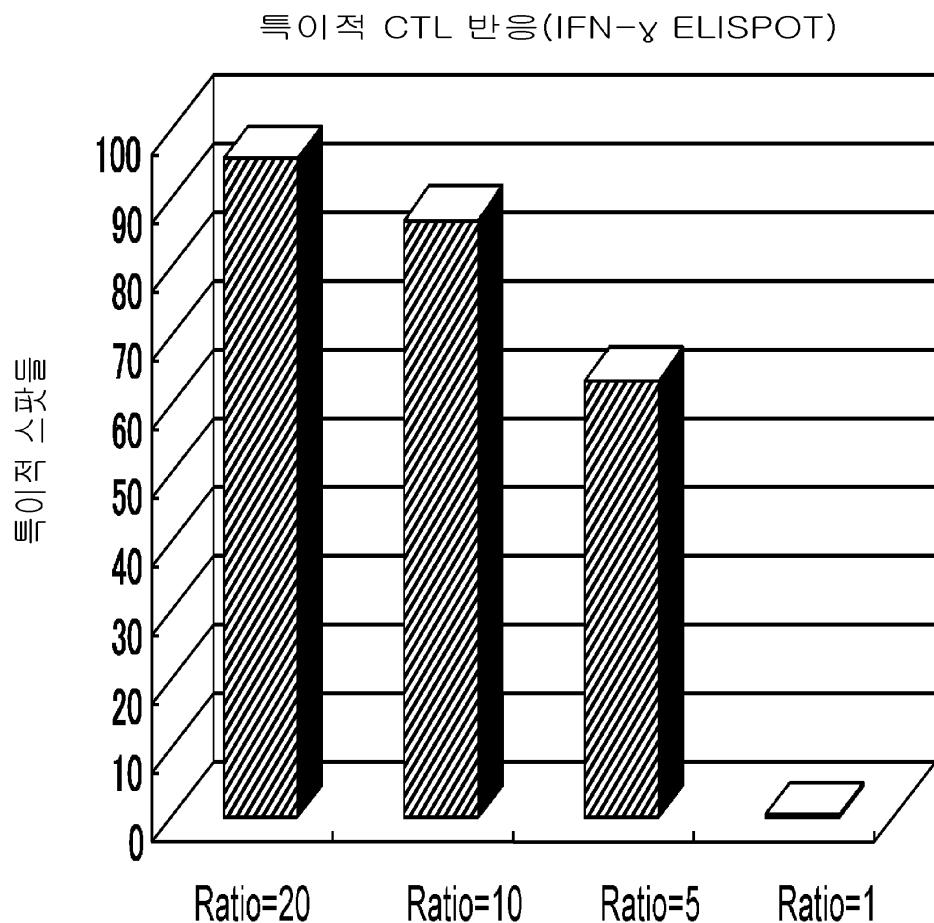
(PET)



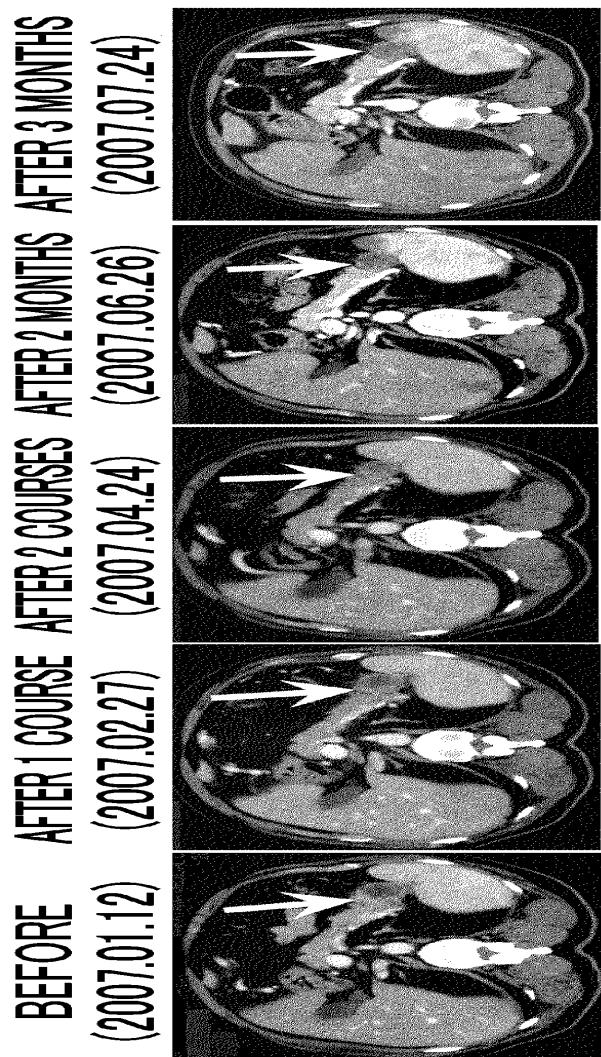
도면5



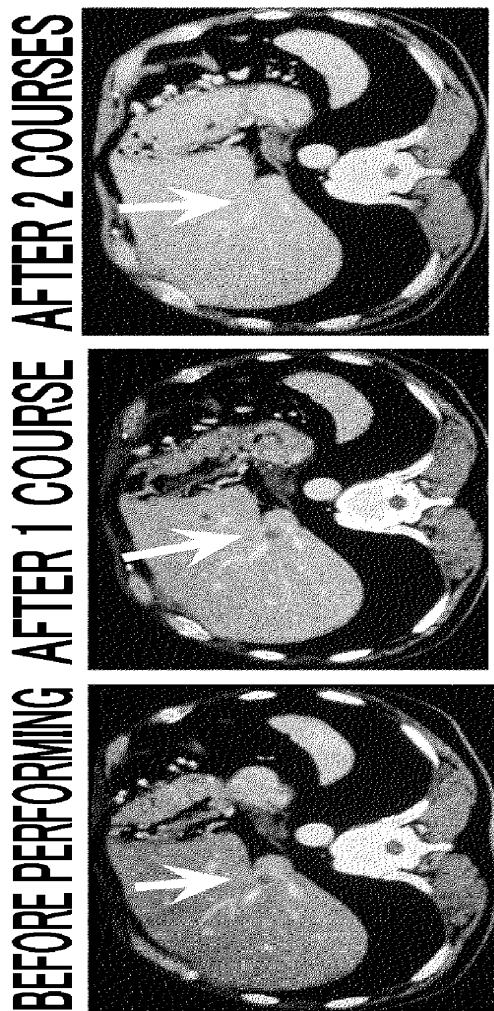
도면6



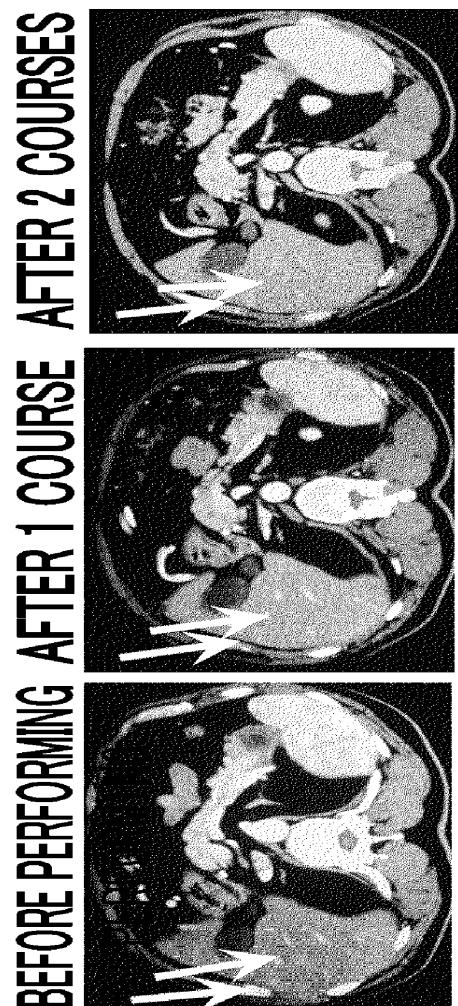
도면7



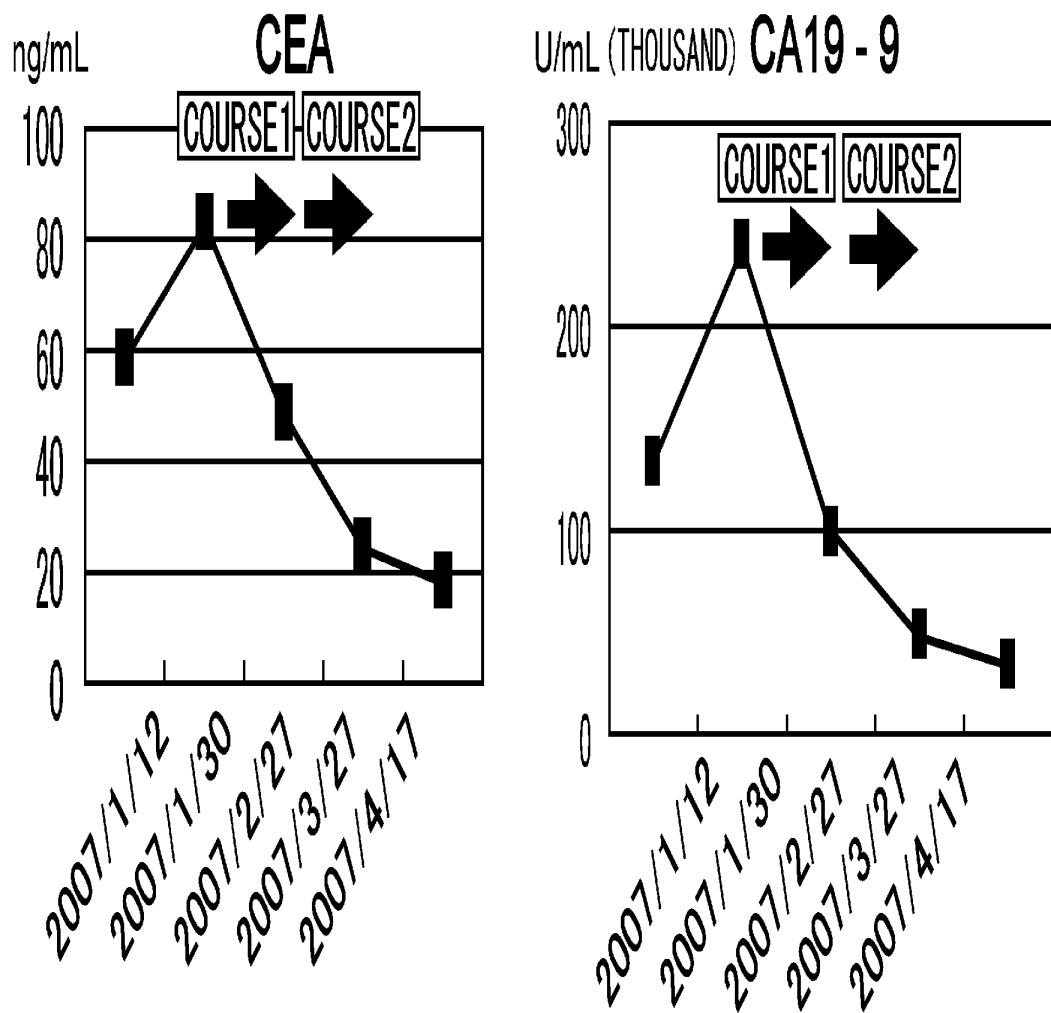
도면8



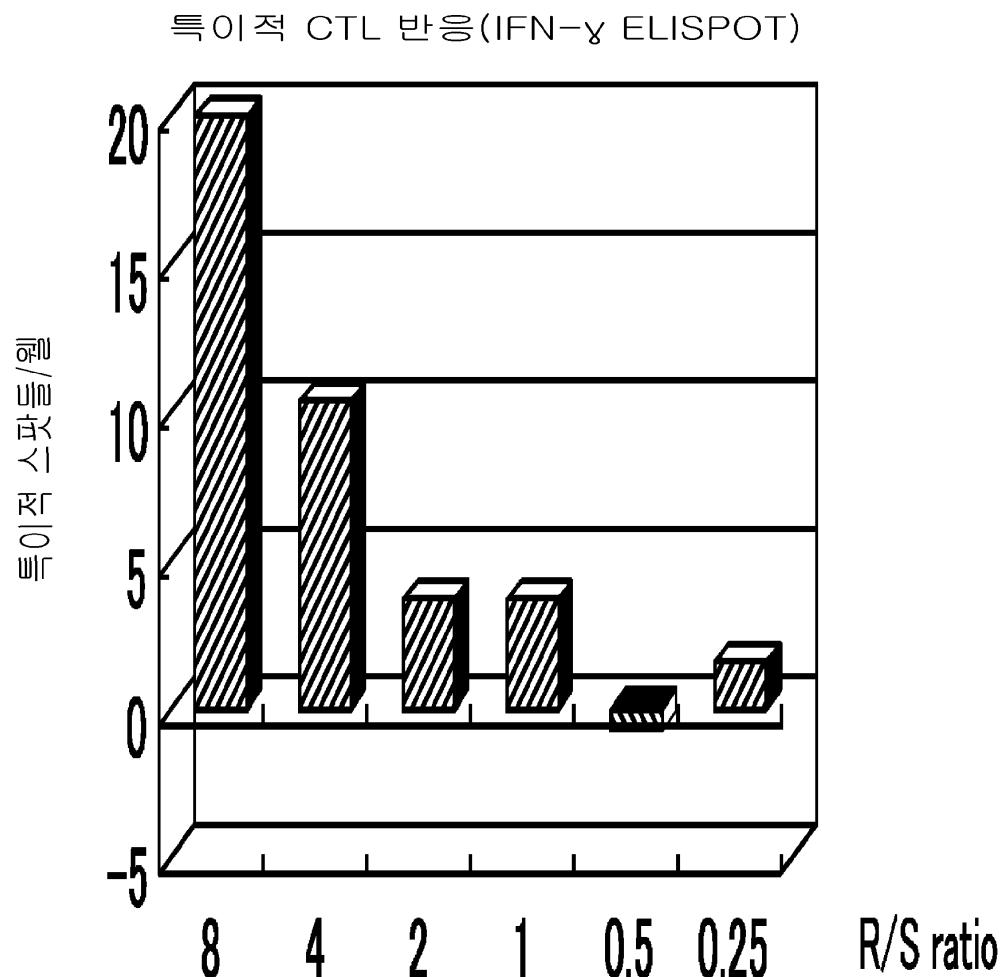
도면9



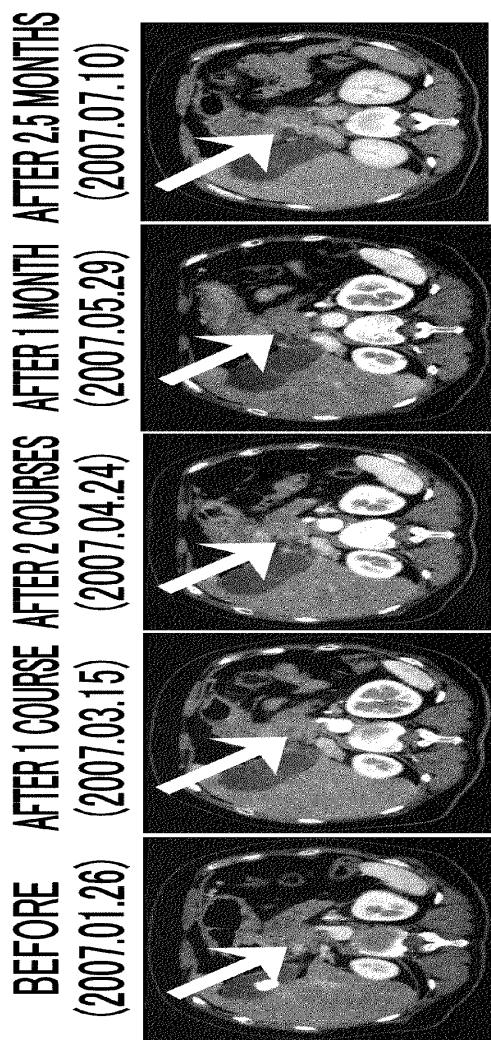
도면10



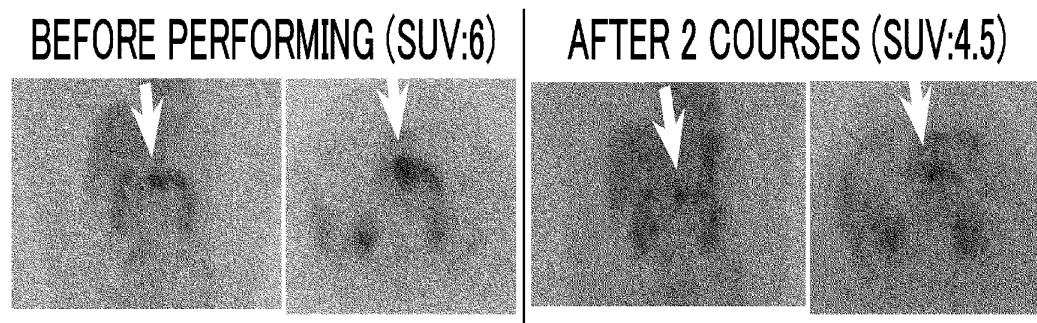
도면11



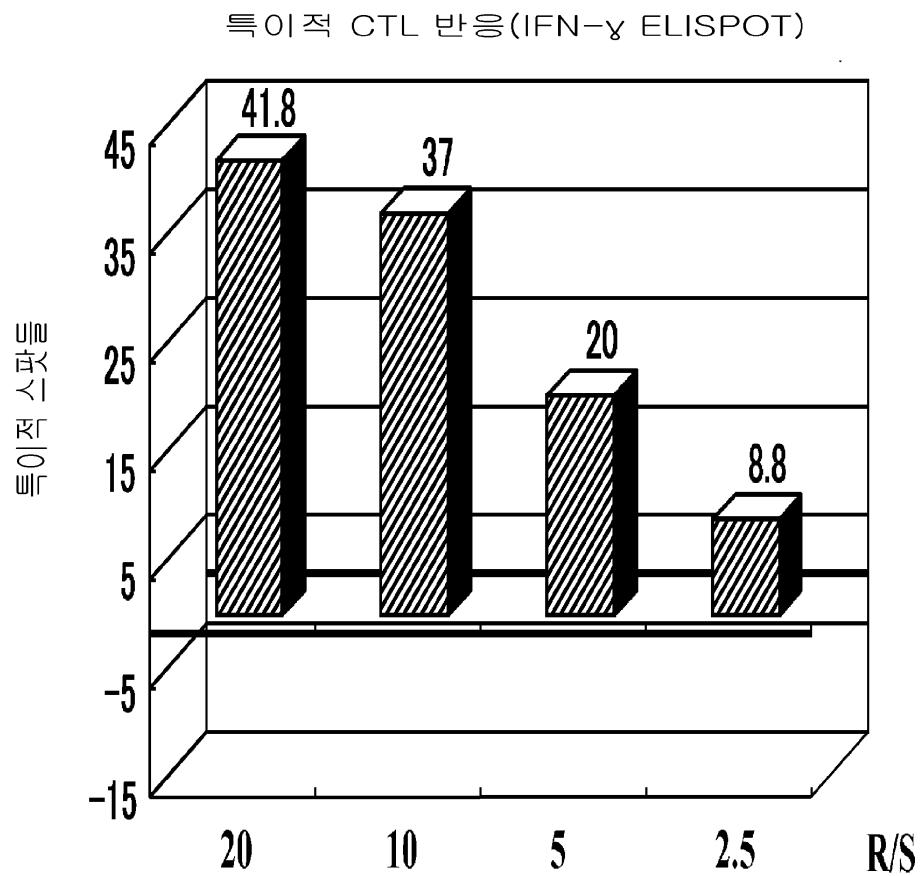
도면12



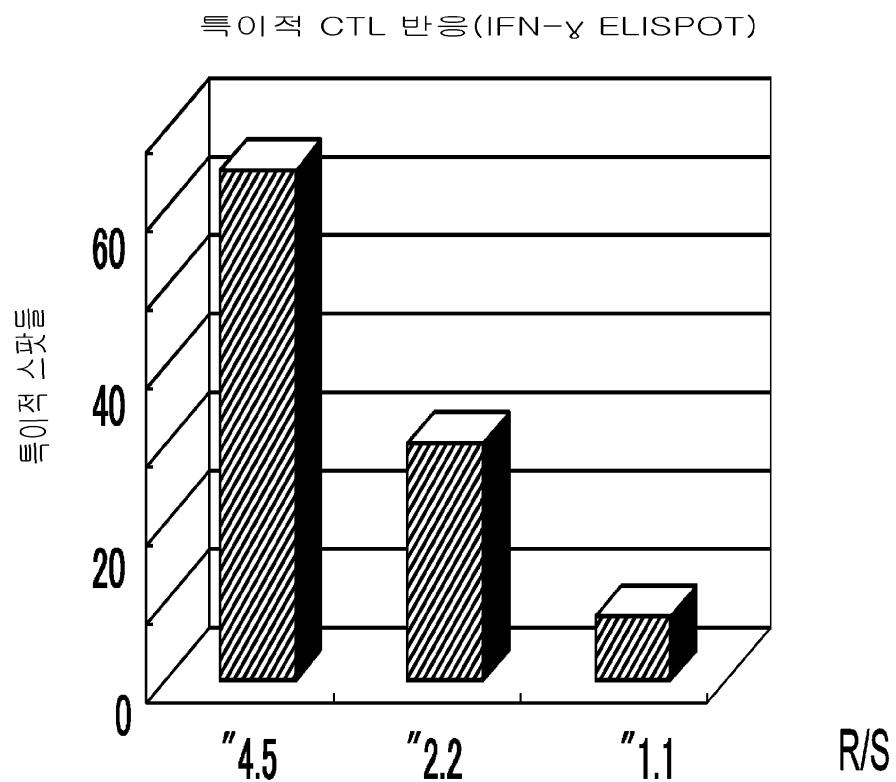
도면13



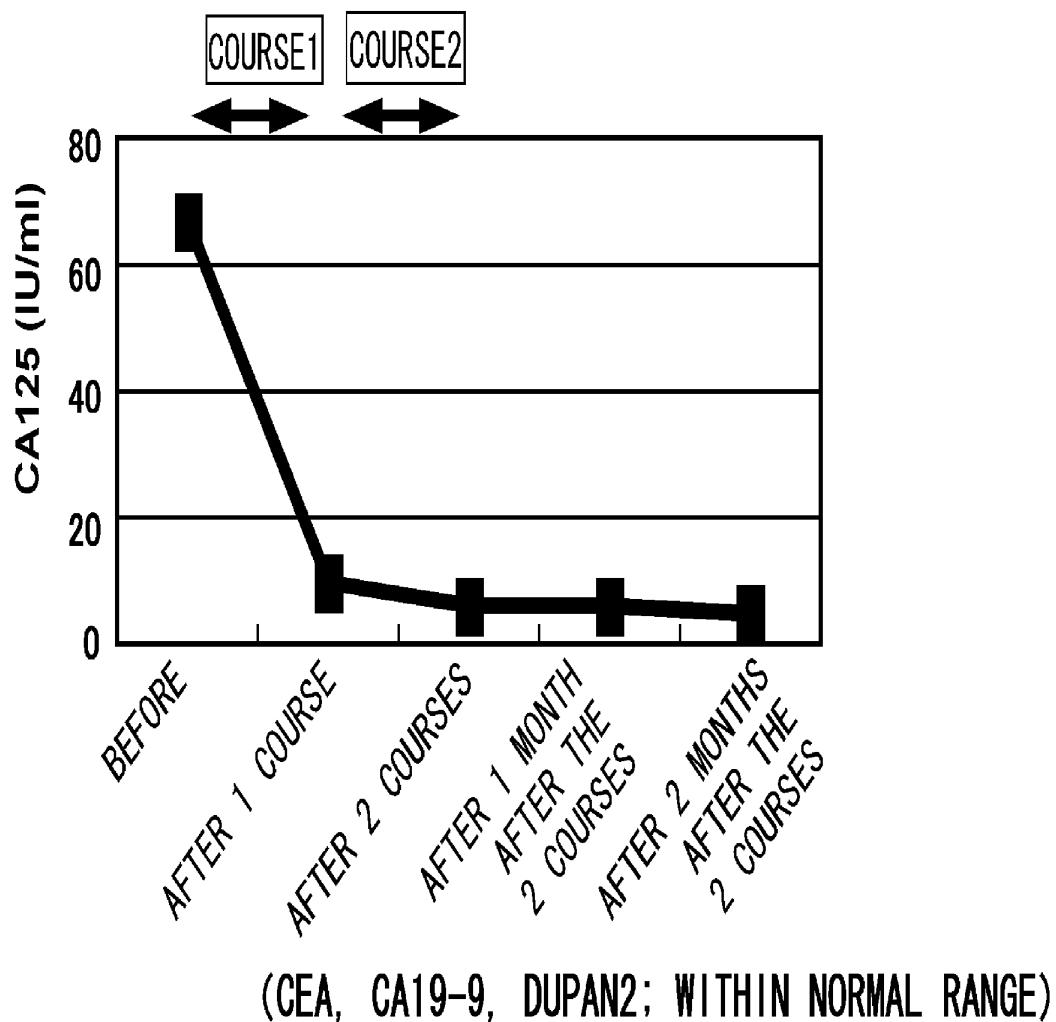
도면14



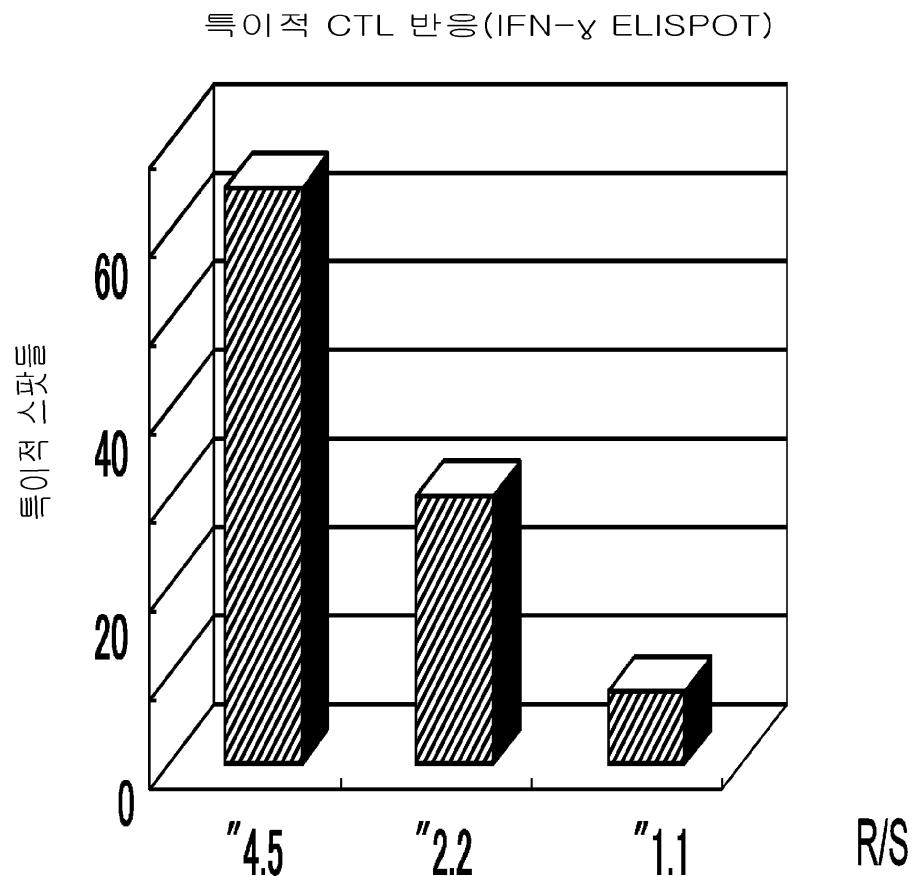
도면15



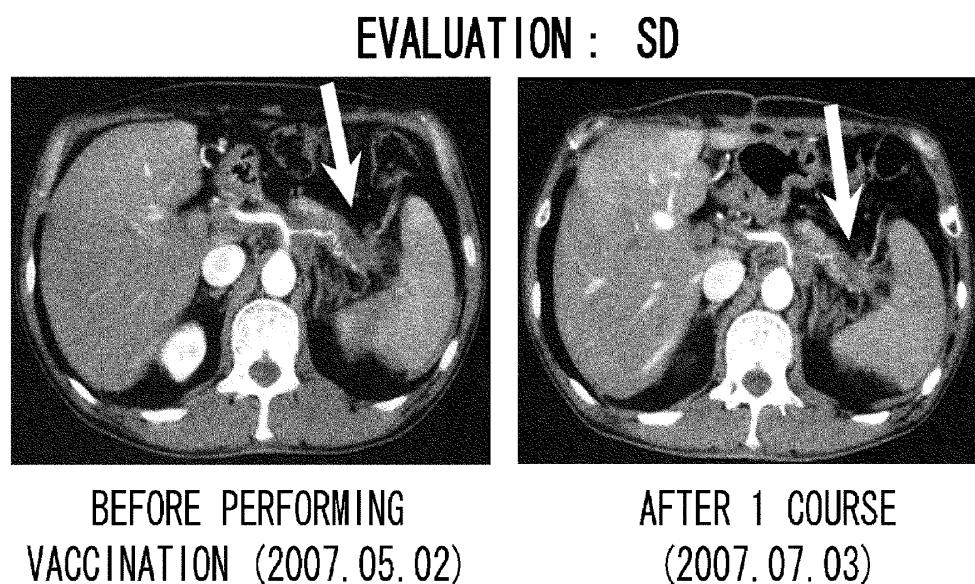
도면16



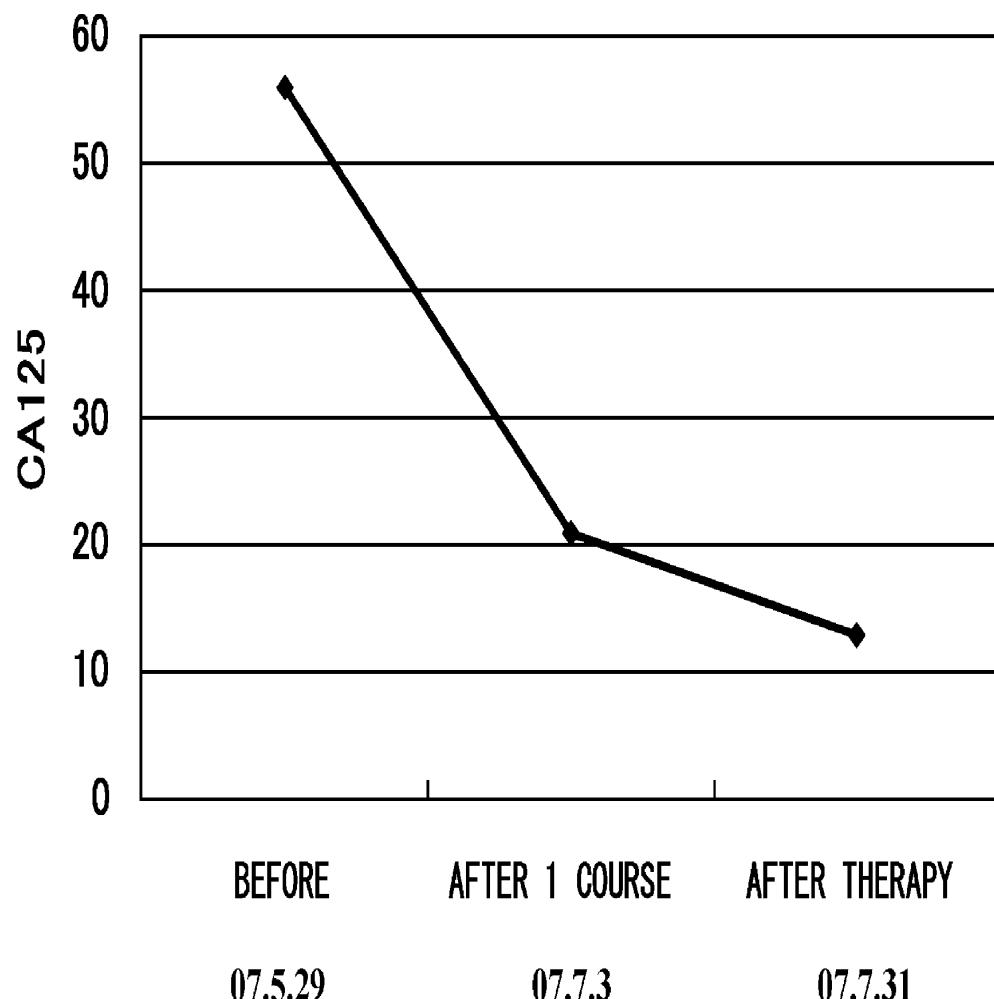
도면17



도면18



도면19



서 열 목록

- <110> YAMAUE, Hiroki
- <120> COMBINATION THERAPY FOR PANCREATIC CANCER USING AN ANTIGENIC PEPTIDE AND CHEMOTHERAPEUTIC AGENT
- <130> 10fpi-02-11
- <150> US 60/957,923
- <151> 2007-08-24
- <160> 13
- <170> Patent In version 3.4
- <210> 1
- <211> 9
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <400> 1

Arg Phe Val Pro Asp Gly Asn Arg Ile

1 5

<210> 2

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Val Tyr Ser Ser Glu Glu Ala Glu Leu

1 5

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Gly Tyr Arg Ile Tyr Asp Val Val Leu

1 5

<210> 4

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Ser Tyr Met Ile Ser Tyr Ala Gly Met

1 5

<210> 5

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Lys Trp Glu Phe Pro Arg Asp Arg Leu

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Asp Phe Leu Thr Leu Glu His Leu Ile

1 5

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Ala Met Phe Phe Trp Leu Leu Leu Val

1 5

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Val Ile Ala Met Phe Phe Trp Leu Leu

1 5

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Ala Val Ile Ala Met Phe Phe Trp Leu

1 5

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Lys Leu Ile Glu Ile Gly Val Gln Thr

1 5

<210> 11

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Tyr Met Ile Ser Tyr Ala Gly Met Val

1 5

<210> 12

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 12

Ile Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val

1 5 10

<210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 13

Val Leu Ala Met Phe Phe Trp Leu Leu

1 5