(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년06월21일
(11) 등록번호 10-2412114
(24) 등록일자 2022년06월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/28 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
C07K 14/00 (2006.01) *C07K 14/47* (2006.01)
C07K 14/62 (2006.01) *G01N 33/68* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 38/28 (2013.01)
A61K 39/0005 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-7026591
(22) 출원일자(국제) 2015년02월20일
심사청구일자 2020년02월20일
(85) 번역문제출일자 2016년09월26일
(65) 공개번호 10-2017-0029405
(43) 공개일자 2017년03월15일
(86) 국제출원번호 PCT/GB2015/050493
(87) 국제공개번호 WO 2015/128617
국제공개일자 2015년09월03일
(30) 우선권주장
1403258.5 2014년02월25일 영국(GB)
(56) 선행기술조사문헌
US05547669 A*
WO2009004315 A1*
L. Chang et al., Tissue Antigens, 2003, vol.62, pp.408-417
Takashi Arai et al., Clinical Immunology, 2010, vol.136, pp.74-82
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
오르반, 티하머
영국 에스더블유15 6알티 런던 57 퍼트니 힐 라일 파크 플랫 17
자라헤즈, 헤이암
영국 에스더블유15 6알티 런던 57 퍼트니 힐 라일 파크 플랫 17
(뒷면에 계속)
(72) 발명자
오르반, 티하머
영국 에스더블유15 6알티 런던 57 퍼트니 힐 라일 파크 플랫 17
자라헤즈, 헤이암
영국 에스더블유15 6알티 런던 57 퍼트니 힐 라일 파크 플랫 17
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인필앤온지

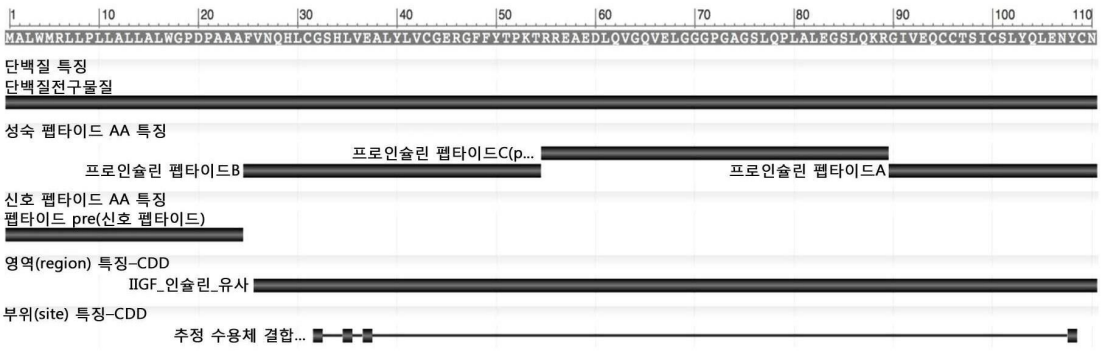
전체 청구항 수 : 총 19 항 심사관 : 최홍석

(54) 발명의 명칭 **제1형 당뇨병 자가면역에 대한 면역 조절 요법**

(57) 요 약

제1형 당뇨병 자가 면역 치료용 조성물은 적어도 하나의 폴리펩타이드 절편이 항원성인, 인슐린전구물질의 둘 이상의 중복 절편의 치료학적으로 유효한 양 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
C07K 14/001 (2013.01)
C07K 14/4713 (2013.01)
C07K 14/62 (2013.01)
G01N 33/6893 (2013.01)
A61K 2039/55 (2013.01)
A61K 2039/55505 (2013.01)
A61K 2039/55511 (2013.01)
A61K 2039/55566 (2013.01)
A61K 2039/57 (2013.01)
(73) 특허권자
다우베니, 나라
영국 런던 에스더블유15 6엘유 퍼트니 9 하즐웰 로드
다우베니, 피어스
영국 런던 에스더블유15 6엘유 퍼트니 9 하즐웰 로드

(72) 발명자
다우베니, 나라
영국 런던 에스더블유15 6엘유 퍼트니 9 하즐웰 로드
다우베니, 피어스
영국 런던 에스더블유15 6엘유 퍼트니 9 하즐웰 로드

명 세 서

청구범위

청구항 1

서열번호 1의 둘 이상의 중복(overlapping) 절편; 및

오일 및 유화제를 포함하는 어쥬번트, 약학적으로 허용 가능한 담체, 또는 이들 모두를 포함하며,

상기 둘 이상의 중복 절편 각각은 인슐린전구물질(preproinsulin) 에피토프를 포함하며,

상기 둘 이상의 중복 절편은 길이가 20개 아미노산이며, 10개 아미노산에 의해 중복되는 첫번째 폴리펩타이드 절편 및 두번째 폴리펩타이드 절편을 포함하는 제1형 당뇨병 자가 면역 치료용 조성물.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 조성물은 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100 또는 그 이상의 중복 인슐린전구물질 폴리펩타이드 절편을 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 10

삭제

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 절편은 적어도 하나의 내부 인슐린전구물질 에피토프를 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 12

제1항에 있어서, 상기 절편은 둘 이상의 인슐린전구물질 에피토프를 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 13

제1항에 있어서, 상기 절편은 인슐린-유사 대사 활성을 나타내지 않는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 14

제1항에 있어서, 상기 절편은 인슐린에 존재하지 않는 적어도 하나의 에피토프를 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 15

삭제

청구항 16

제1항에 있어서, 상기 조성물은 조절 면역 반응을 촉진하는 어쥬번트를 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 17

삭제

청구항 18

제1항에 있어서, 상기 조성물은 불완전 프로인트 어쥬번트(IFA)를 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 19

제1항에 있어서, 상기 조성물은 알룸(alum) 어쥬번트 또는 다른 약학적으로 허용 가능한 담체를 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 20

제1항에 있어서, 상기 조성물은 면역 조절성(immunomodulatory)인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 21

제1항에 있어서, 상기 조성물은 면역 억제성(immunosuppressive)이 아닌 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 22

제1항에 있어서, 상기 조성물은 Th2 면역 반응을 유발하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 23

제1항에 있어서, 상기 조성물은 Th1 면역 반응을 유발하지 않는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 24

제1항에 있어서, 상기 조성물은 전조절(proregulatory) 류코트리엔(leukotriene) 및 사이토카인; 및 항-염증 류코트리엔 및 사이토카인으로 이루어진 군으로부터 적어도 하나를 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 25

제1항에 있어서, 상기 조성물은 베타 세포 촉진제, 항염증제, 및 항자가면역제로 이루어진 군으로부터 하나 이상을 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

제1항에 따른 조성물의 치료학적으로 유효한 양; 및 이것이 필요한 개체에 상기 조성물의 투여를 위한 지시(instructions)를 포함하는 제1형 당뇨병 자가면역 치료용 키트.

청구항 40

삭제

청구항 41

제39항에 있어서, 상기 키트는 베타 세포 촉진제, 항염증제, 및 항자가면역제; 및 적어도 하나의 전조절 류코트리엔, 사이토카인 및 항염증 류코트리엔, 사이토카인으로 이루어진 군으로부터 하나 이상을 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 키트.

청구항 42

서열번호 1의 둘 이상의 중복 절편; 및 오일 및 유화제를 포함하는 어쥬번트, 약학적으로 허용 가능한 담체, 또

는 이들 모두를 조합하는 단계를 포함하며,

상기 둘 이상의 중복 절편 각각은 인슐린전구물질 에피토프를 포함하며,

상기 둘 이상의 중복 절편은 길이가 20개 아미노산이며, 10개 아미노산에 의해 중복되는 첫번째 폴리펩타이드 절편 및 두번째 폴리펩타이드 절편을 포함하는 제1항에 따른 조성물의 제조 방법.

청구항 43

제42항에 있어서, 상기 방법은 상기 절편 및 약학적 담체와 함께 베타 세포 촉진제, 항염증제, 및 항자가면역제; 및 적어도 하나의 전조절 류코트리엔, 사이토카인 및 항염증 류코트리엔, 사이토카인으로 이루어진 군으로부터 하나 이상을 조합하는 단계를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 제조 방법.

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 일반적으로 자가면역 질병의 분야, 특히 제1형 당뇨병의 치료, 예방, 또는 지연된 진행에 관한 것이다. 본 발명은 보다 특히 제1형 당뇨병 자가면역에 대한 면역 조절 요법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 인간 제1형 당뇨병(“T1DM”)의 발병은 T 세포 매개 자가면역 파괴에 의해 유발된 β-세포 실패(failure)의 임상적 징후이다. T1DM은 매일 인슐린 주사에 평생 의존하고 급성 및 만성 합병증 모두에 노출을 초래한다. 이의 치료에 현저한 진보가 이루어졌음에도 불구하고, T1DM은 개인 및 사회에 심각한 부담을 나타낸다. T1DM은 특히 가장 심각한 만성 유년기 질병의 하나를 나타내는, 어린이 및 그들의 가족에 부담이 된다. T1DM의 발병이 성인에 일어날 수 있는 반면, 이는 어린이 및 청소년에게 큰 문제이다. 4-7세 및 14-16세 사이에 T1DM 발병의 두 정

점(bimodal peak)이 있다. T1DM의 세계적인 발생 정도는 5세 이하 어린이에 가장 큰 증가와 함께, 증가하고 있다. 따라서, 이러한 질병을 개선하기 위한 노력이 시급하며 증가하고 있다.

[0003] T1DM은 어린이에 일반적인 내분비 질병이며, T1DM을 갖는 어린이의 80%까지는 단기 위험 및 장기 결과 모두와 관련된, 당뇨병성 케톤산증(diabetic ketoacidosis, DKA)을 나타낸다. 단기, 및 종종 생명을 위협하는 합병증은 종종 산증(acidosis)과 복합된 저혈당 및 고혈당 에피소드를 포함한다. 장기 합병증은 추가로 현저한 병적 상태(morbidity) 및 치사(mortality)를 나타낼 수 있다. 환자는 쇠약하게 하며 생명을 위협할 수 있는, 큰(macro)혈관 및 미세혈관 합병증, 심혈관 합병증, 고혈압, 망막증, 신장병증, 및 신경병증에 직면할 수 있다. 이들은 진보된 치료와 함께 감소될 수 있으나, 현재 T1DM 환자에서 제거될 수 없다. 보다 심각한(sever) 합병증은 신부전, 실명, 및 절단(amputation)을 포함한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 일반적으로 자가면역 질병의 분야, 특히 제1형 당뇨병을 치료, 예방, 또는 지연시키는 것이다.

[0005] 또한, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 제1형 당뇨병 자가면역에 대한 면역 조절 요법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0006] **본 발명의 요약**

[0007] 다양한 측면 및 실시예에서 본 발명은 요법제(therapeutics), 요법(therapeutics), 진단, 키트, 및 이를 제조하는 방법을 포함하는, 제1형 당뇨병(“T1DM”)에 대한 면역 조절 요법을 제공한다. 예를 들어, 본 발명은 폴리펩타이드 절편의 적어도 하나가 항원성인, 서열번호 1의 둘 이상의 중복 절편(즉 인슐린전구물질)의 치료학적으로 유효한 양 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 조성물을 제공한다. 상기 조성물은 제1형 당뇨병을 치료할 수 있다. 면역 조절(예를 들어 면역 억제에 반대로)되는 것에 추가하여 본 발명에 따른 특정한 요법은 대사적으로 활성이 아니며(예를 들어 인슐린 유사 활성이 없음), 따라서 사용하기에 유리하게 안전하다(즉 인슐린의 대량 투여와 같이, 대량 투여는 환자를 죽이거나 해치지 않을 수 있다).

[0008] 임상적 T1DM을 완화하는 것에 추가하여, 본 발명은 특정한 실시예에서 전임상 T1DM의 발달 또는 진행을 예방할 수 있다. 이는 다양한 측면 및 실시예에서 T1DM의 임상적 발현을 지연시킬 수 있기 때문에 유용할 수 있으며, 따라서 보다 긴 증상이 없는 기간을 제공하거나, T1DM의 임상적 발병을 완전히 예방한다. 진단의 시점에, T1DM 환자는 여전히 인슐린 생산의 주목할 만한 양을 가질 수 있다(예를 들어, C-펩타이드 수준에 의해 측정되는 베타 세포로 기능). T1DM 내 기능적 잔여 β-세포 질량의 손실을 정지 또는 지연시킬 수 있는 조절(intervention)은, T1DM의 발병 이후 보다 긴 '(병의)차도(remission)' 기간을 제공할 수 있기 때문에, 매우 바람직하다. 게다가, 본 발명은 특정한 환자에 급성 및 만성 합병증의 발달을 감소 또는 지연시킬 수 있다.

[0009] 유사하게, 본 발명은 당뇨를 갖는 개체에 대한 하루하루의 관리를 현저하게 증진시킬 수 있다. 예를 들어, 본 발명은 저혈당에 대한 보호를 제공할 수 있으며, 당노병의 미세 및 큰(macro-) 혈관 합병증에 지연 및/또는 감소를 초래하는, 증진된 대사 조절을 제공한다. 요약해서, 본 발명에 의한 잔여 베타 세포 기능의 보존은 T1DM의 단기 및 장기 합병증의 감소를 유도할 수 있는 것과 같이, 매우 바람직하다.

[0010] 일 양태에서, 본 발명은 적어도 하나의 폴리펩타이드 절편이 항원성인, 서열번호 1의 둘 이상의 중복 절편(즉 인슐린전구물질)의 치료학적으로 유효한 양 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 조성물을 제공한다. 다양한 실시예에서, 상기 조성물은 제1형 당뇨병을 치료하기 위한 것이다. 다른 양태에서, 본 발명은 제1형 당뇨병 자가 면역을 치료하는데 사용하기 위하여, 적어도 하나의 폴리펩타이드 절편이 항원성인, 서열번호 1의 둘 이상의 중복 절편의 치료학적으로 유효한 양 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 조성물을 제공한다.

[0011] 다른 양태에서, 본 발명은 이것을 필요로 하는 개체에 본 발명에 따른 조성물의 어느 하나의 조성물의 치료학적으로 유효한 양을 투여하는 단계를 포함하는 제1형 당뇨병에 대한 치료를 제공한다.

[0012] 다른 양태에서, 본 발명은 (i) 제1형 당뇨병 자가 면역의 치료가 필요한 개체를 선별하는 단계; 및 (ii) 개체에 본 발명에 따른 조성물의 어느 하나의 조성물의 치료학적으로 유효한 양을 투여하는 단계를 포함하는 제1형 당뇨병의 치료를 제공한다.

[0013] 다른 양태에서, 본 발명은 (i) 본 발명에 따른 조성물의 어느 하나의 조성물의 치료학적으로 유효한 양; 및 (ii) 이것이 필요한 개체에 조성물의 투여를 위한 지시(instructions)를 포함하는 제1형 당뇨병 자가 면역의 치료용 키트를 제공한다.

[0014] 다른 양태에서, 본 발명은 (i) 제1형 당뇨병 자가 면역 진단(예를 들어 자가항원 실험-항인슐린 IAA, 항 GAD65, 항 IA2-인슐린종 항원2, 항 Zn8-zink 수송체 8 항체, T 세포 생물마커 등); (ii) 제1항 내지 제21항 중 어느 하나의 조성물의 치료학적으로 유효한 양; 및 (iii) 개체가 이를 필요로 할 경우 개체를 진단 및 개체에 상기 조성물을 투여하기 위한 지시(instructions)를 포함하는 제1형 당뇨병 자가 면역을 진단 및 치료용 키트를 제공한다.

[0015] 다른 양태에서, 본 발명은 적어도 하나의 폴리펩타이드 절편이 항원성인, 서열번호 1의 둘 이상의 중복 절편 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 조합하는 단계를 포함하는, 본 발명에 설명된 제1형 당뇨병을 치료하기 위한 본 발명에 따른 조성물을 제조하는 방법을 제공한다.

[0016] 본 발명의 다양한 실시예에서, 상기 양태의 어느 것은 하나 이상의 하기 특징과 함께 조합될 수 있다.

[0017] 다양한 실시예에서, 상기 절편은 길이가 약 20개 아미노산이다.

[0018] 다양한 실시예에서, 상기 절편의 길이는 약 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9 및/또는 8개 아미노산이다. 본 발명에 따른 조성물은 길이의 분포뿐만 아니라 일정한 길이의 절편(예를 들어, 모두 길이가 약 20개 아미노산)을 포함할 수 있다.

[0019] 다양한 실시예에서, 상기 절편은 약 10개 아미노산에 의해 중복되는 첫번째 폴리펩타이드 절편 및 두번째 폴리펩타이드 절편을 포함한다.

[0020] 다양한 실시예에서, 상기 절편은 약 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 또는 3개 아미노산에 의해 중복되는 첫번째 폴리펩타이드 절편 및 두번째 폴리펩타이드 절편을 포함한다. 본 발명에 따른 조성물은 다양한 중복뿐만 아니라 일정한 중복(예를 들어, 모두 약 10개 아미노산)의 절편을 포함할 수 있다.

[0021] 다양한 실시예에서, 상기 절편은 길이가 약 20개 아미노산이며 약 10개 아미노산에 의해 중복되는 첫번째 폴리펩타이드 절편 및 두번째 폴리펩타이드 절편을 포함한다. 그렇지 않으면, 상기 절편은 길이가 약 20개 아미노산이며 약 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 또는 3개 아미노산에 의해 중복되는 첫번째 폴리펩타이드 절편 및 두번째 폴리펩타이드 절편을 포함한다.

[0022] 다양한 실시예에서, 상기 절편, 첫번째 폴리펩타이드 절편 및/또는 두번째 폴리펩타이드는 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100개 또는 그 이상의 중복 인슐린전구물질 폴리펩타이드 절편을 포함한다. 조성물은 전체 인슐린전구물질 서열을 필수적으로 커버하는 절편을 포함할 수 있거나, 인슐린전구물질 에피토프의 집합 또는 하위집합에 제한될 수 있다. 조성물은 절편의 미리 결정된 집합(예를 들어, 각각 10개 아미노산 길이의 100개 절편)에 의해 커버되는, 전체 인슐린전구물질 서열(예를 들어 110개 아미노산)을 포함할 수 있다.

[0023] 다양한 실시예에서, 상기 절편은 적어도 하나의 내부 인슐린전구물질 에피토프를 포함한다. 상기 절편은 둘 이상의 인슐린전구물질 에피토프를 포함할 수 있다.

[0024] 다양한 실시예에서, 상기 절편은 인슐린 유사 대사 활성을 나타내지 않는다.

[0025] 다양한 실시예에서, 상기 절편은 인슐린에 존재하지 않는 적어도 하나의 에피토프를 포함한다.

[0026] 다양한 실시예에서, 둘 또는 그 이상의 중복 절편의 각각은 인슐린전구물질 에피토프를 포함한다. 에피토프는 알려진 에피토프, 예를 들어 B 체인 B9-23 및 A 체인 1-15를 포함한다. 에피토프는 인슐린전구물질 절편화의 초래에 노출되는 비밀(cryptic) 에피토프(즉 천연, 접힌 인슐린전구물질에 접근 가능한 용제가 아닌 에피토프)를 포함할 수 있다. 에피토프는 인슐린전구물질 서열(또는 이의 유사체)에 존재하는 에피토프의 완전한 집합을 포함할 수 있다. 에피토프는 베타 세포에 특별한 하나 이상의 에피토프(즉, T1DM에 자가면역의 특정한 표적)를 포함할 수 있다.

[0027] 다양한 실시예에서, 상기 조성물은 조절 면역 반응을 촉진하는 어쥬번트를 포함한다.

[0028] 다양한 실시예에서, 상기 조성물은 오일 및 물과 혼합된 유화제를 포함하는 어쥬번트를 포함한다.

[0029] 다양한 실시예에서, 상기 조성물은 불완전 프로이드 어쥬번트(IFA)를 포함한다. 다양한 실시예에서, 상기 조성물은 알룸(alum) 어쥬번트를 포함한다. 다양한 실시예에서, 상기 조성물은 스쿠알렌, 사멸된 박테리아 및 변성 독소, 알루미늄 염-알룸/무기 화합물, 리포좀, 나노에멀전, 및 덴드리머 등과 같은 어쥬번트를 포함한다.

[0030] 다양한 실시예에서, 상기 조성물은 면역 조절성(immunomodulatory)이다.

[0031] 다양한 실시예에서, 상기 조성물은 면역 억제성(immunosuppressive)이 아니다.

[0032] 다양한 실시예에서, 상기 조성물은 Th2 면역 반응을 유도한다.

[0033] 다양한 실시예에서, 상기 조성물은 Th1 면역 반응을 유도하지 않는다.

[0034] 다양한 실시예에서, 상기 조성물은 하나 이상의 추가적 요법(예를 들어 T1DM의 두번째 요법)을 추가로 포함한다. 추가적 요법의 실시예 전조절(proregulatory) 류코트리엔(leucotrienes), 사이토카인(예를 들어, IL-10, 및 TGF 베타 등), 및/또는 조절 반응, 또는 자기(self) 내성 회복을 촉진 또는 증진시키기 위한 다른 물질을 포함한다. 추가적 요법의 다른 실시예는 항염증 류코트리엔 및 자가면역 반응을 차단하는 사이토카인(예를 들어 IL-1 길항제)을 포함한다. 다양한 실시예에서, 상기 조성물은 하나 이상의 베타 세포 촉진제, 항염증제, 및/또는 항자가면역제를 추가로 포함한다. 그렇지 않으면, 하나 또는 그 이상의 추가적인 요법은 조성물로 분리될 수 있다. 이들 실시예에서, 하나 이상의 추가적 요법은 조성물과 함께 조합되어 및/또는 조성물에 분리되어 투여될 수 있다. 하나 이상의 추가적 요법은 조성물과 함께 동시에 투여; 및/또는 조성물의 투여 전 및/또는 후에 투여될 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 추가적 요법은 조성물의 일부를 형성할 수 있으며, 하나 이상의 추가적 요법과 함께, 조성물에 분리하여, 동시에, 조성물의 전 또는 후에 투여된다.

[0035] 다양한 실시예에서, 상기 개체는 성인이다. 다른 실시예에서, 상기 개체는 청소년이다.

[0036] 다양한 실시예에서, 상기 개체는 제1형 당뇨병을 가지며 상기 치료는 적어도 하나의 임상적 종점(예를 들어, 증진된 C-펩타이드 분비, 감소된 인슐린 사용, 및 증진된 HbA1c 등)을 달성한다.

[0037] 다양한 실시예에서, 상기 개체는 제1형 당뇨병을 가지며 상기 치료는 제1형 당뇨병의 적어도 하나의 증상(예를 들어 저혈당/고혈당의 빈도, 감소된 당뇨(glucosuria), 입원의 수준/수, 신증, 신경병증, 및 망막증과 같은 합병증의 수준/수)을 완화한다.

[0038] 다양한 실시예에서, 상기 개체는 전임상 제1형 당뇨병을 가지며 상기 치료는 임상적 제1형 당뇨병에 대한 진행을 예방 또는 지연시킨다.

[0039] 다양한 실시예에서, 상기 개체는 제1형 당뇨병을 발달시키는 성향이며 상기 치료는 제1형 당뇨병의 발달을 예방 또는 지연시킨다.

[0040] 다양한 실시예에서, 상기 치료는 췌장 베타 세포에 자가 면역을 완화시킨다.

[0041] 다양한 실시예에서, 상기 투여 단계는 정맥내, 근육내, 또는 피하 투여를 포함한다.

[0042] 다양한 실시예에서, 상기 방법은 또한 하나 또는 그 이상의 추가적 요법(예를 들어, T1DM의 두번째 요법)의 투여를 포함한다. 추가적 요법의 실시예는 베타 세포 재생 및/또는 성장을 촉진하는 제제(예를 들어, 엑세나티드(Exenatide)) 및/또는 다른 항염증/항자가면역 제제(예를 들어, 비타민 D 및 이의 유사체)를 포함한다. 다양한 실시예에서, 상기 조성물은 하나 이상의 베타 세포 촉진제, 항염증제, 및/또는 항자가면역제를 추가로 포함한다. 그렇지 않으면, 하나 이상의 추가적 요법은 조성물에 분리될 수 있다, 이들 실시예에서 하나 이상의 추가적 요법은 조성물과 함께 조합되어 및/또는 조성물과 분리되어 투여될 수 있다. 하나 이상의 추가적 요법은 조성물과 함께 투여; 및/또는 조성물의 투여 전 및/또는 후에 투여될 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 추가적 요법은 조성물의 일부를 형성할 수 있으며, 하나 이상의 추가적 요법과 함께, 조성물과 분리되어, 동시에, 조성물의 전 또는 후에 투여된다.

[0043] 다양한 실시예에서, 상기 방법은 또한 본 발명에 따른 치료학적 화합물 또는 조성물의 치료학적으로 유효한 양을 투여하기 전에, 개체가 제1형 당뇨병 자가 면역에 대한 치료를 필요로 하는지를 결정하는 단계를 포함한다.

[0044] 다양한 실시예에서, 치료학적으로 유효한 양은 5 마이크로그램 내지 10 밀리그램, 0.5 내지 4.0 밀리그램, 또는 이들 사이에 어느 값일 수 있다. 다양한 실시예에서, 치료학적으로 유효한 양은 5, 10, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 350, 400, 450, 500, 600, 700, 800, 또는 900 마이크로그램, 또는 이들 사이의 어느 값일 수 있다. 다양한 실시예에서, 치료학적으로 유효한 양은 1.0, 1.25, 1.5, 1.75, 2.0, 2.25,

2.5, 2.75, 3.0, 3.25, 3.5, 3.75, 4.0, 4.25, 4.5, 4.75, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5, 또는 10 밀리그램, 또는 이들 사이의 어느 값일 수 있다.

[0045] 다양한 실시예에서, 투여는 저장소(depot) 주사를 포함할 수 있다. 투여는 약 6개월 내지 2년의 간격으로 반복될 수 있다. 다양한 실시예에서, 상기 간격은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 또는 11 개월, 또는 1, 2, 3, 4 년일 수 있다. 다양한 실시예에서, 상기 간격은 분기별, 반년마다, 또는 매년일 수 있다. 다양한 실시예에서, 상기 간격은 면역 조절 반응(예를 들어, Th1/조절 세포)을 관찰하고 그에 따라 치료를 조정(예를 들어, T 세포 수/활성이 떨어지기 시작할 때 재-투여)함에 의해 결정될 수 있다.

발명의 효과

[0046] 본 발명의 제1형 당뇨병 자가면역에 대한 면역 조절 요법은 제1형 당뇨병을 효과적으로 치료, 예방, 또는 지연시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0047] 다양한 실시예의 구체적인 설명은 하기 도면에 따라 실시예의 방법에 의해 참고와 함께 하기에 제공된다. 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 기술자는 하기 설명된 도면이 단지 설명 목적인 것을 이해할 것이다. 도면은 어떠한 방법으로 본 출원인의 교시의 범위를 제한하려는 것은 아니다.

도 1은 인슐린전구물질 110개 아미노산 펩타이드의 설명이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0048] **상세한 설명**

[0049] 다양한 양태 및 실시예에서 본 발명은 요법제, 요법, 진단, 키트, 및 이를 제조하는 방법을 포함하는, 제1형 당뇨병(“T1DM”) 자가 면역에 대한 면역 조절 요법을 제공한다. 예를 들어, 본 발명은 적어도 하나의 폴리펩타이드 절편이 항원성인, 서열번호 1의 둘 이상의 중복 절편(즉, 인슐린전구물질)의 치료학적으로 유효한 양 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 제1형 당뇨병 자가 면역 치료용 조성물을 제공한다.

[0050] ***인슐린 및 인슐린전구물질(Preproinsulin)***

[0051] 인슐린은 이의 인슐린전구물질 전구체로부터 췌장섬(pancreatic islets) 베타 세포에서 합성된다. 인슐린은 췌장 베타 세포 내에서 생산 및 분해 모두 된다. 인슐린전구물질은 생물학적으로 활성인 내분비 호르몬 인슐린에 110개 아미노산 생물학적으로 비활성인 전구체이다. 인슐린전구물질은 이의 N-말단으로부터 이의 신호 펩타이드를 제거하는 신호 펩티다제에 의해 프로인슐린(proinsulin)로 전환된다. 최종적으로 프로인슐린은 이의 연결 펩타이드(C-펩타이드)의 제거에 의해 생물활성 호르몬 인슐린으로 전환된다.

[0052] 신호 펩타이드의 제거는 분리 단계가 아니기 때문에, 대부분 인슐린전구물질은 베타 세포 외부에 존재하지 않으나, 오히려 소포체(ER)에 단백질의 전위(translocation)에 가깝게 연결된다. 이러한 이유에 대해, 인슐린전구물질은 인슐린, 성숙 제품, 및 프로인슐린, 안정한 ER 중간체와 다르게 의약으로 드물게 사용된다.

[0053] 도 1은 하기 서열을 갖는 인슐린전구물질 110개 아미노산 펩타이드의 설명이다:

[0054] MALWMRLLPLLALLALWGPDPAAAFVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRREAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQKRGIVEQCCTSICSLYQLENYCN (서열번호 1)

[0055] 다양한 양태 및 실시예에서, 본 발명은 서열번호 1뿐만 아니라 이의 상동체(homologs) 및 유사체(analogs)도 고려한다. 예를 들어, 본 발명은 서열번호 1에 구조적 및/또는 기능적으로 유사한 인슐린전구물질 서열을 사용할 수 있다. 상동성은 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91%, 90%, 89%, 88%, 87%, 86%, 85%, 84%, 83%, 82%, 81%, 80%, 79%, 78%, 77%, 76%, 75%, 74%, 73%, 72%, 71%, 또는 70% 상동성을 포함할 수 있다. 유사체 서열은 변이된 인슐린전구물질 서열 또는 인슐린전구물질 서열 다형성(polymorphisms), 및 하나 이상의 인슐린전구물질 에피토프 또는 교차 반응성 에피토프를 포함하는 합성 펩타이드 서열을 갖는 비인간 종, 인간으로부터 인슐린전구물질 서열을 포함할 수 있다.

[0056] 인슐린 생물발생은 조면 소포체 내 인슐린전구물질의 합성 및 인슐린전구물질에서 프로인슐린으로 전환과 함께 시작한다. 인슐린전구물질은 조면 소포체의 루멘으로 전위 잠시 이후(또는 동안) 프로인슐린으로 전환된다. 프로인슐린은 이후 초기의, 비성숙 분비 과립으로 향한 곳에서 골지 복합체의 트랜스-시스터네(trans-

cisternae)로 수송된다. 단백질 가수분해에 의한 프로인슐린에서 인슐린 및 C-펩타이드로의 전환은 분비 과립 내에서 일어나고, ATP-의존 양성자 펌프를 통해 그들의 산성화에 의존한다. 프로인슐린은 B-체인, C-펩타이드 및 A 체인으로 이루어진다. C-펩타이드는 절단되고 두 말단 B-체인 및 A체인은 인슐린으로부터 이황화 결합에 의해 연결된다. 분비 과립은 인슐린 내용물이 중핵(dense-core) 과립과 같이 아연 및 칼슘과 함께 결정화되는 성숙 과정을 수행한다. 이들 새로운 성숙 중핵 인슐린 과립은 두 특정한 세포 내 풀(pools), 쉽게 방출되는 풀(RRP) 및 예비(reserved) 풀을 형성한다. 이들 중핵 과립의 두 집단은 인슐린 방출의 두개의 상(biphasic)의 본성에 책임이 있다. RRP 과립은 세포막에 관련되고 첫번째 상 인슐린 분비에 책임이 있는 급성 칼슘-의존성 방출을 수행한다. 이들 과립 내용물은 적절한 자극 1차 글루코스(stimulus primarily glucose)에 반응하여 세포 외 유출에 의해 배출된다. 이러한 과정은 99% 이상의 프로인슐린이 건강한 개인의 베타 세포에 직결되는 조절된 분비 경로를 나타낸다. 대조적으로, 두번째 상 인슐린 분비는 세포막에 비축된 과립 풀의 추적을 필요로 하며, 즉각적인 방출을 위해 세포막에 골지 복합체로부터 생산물의 빠른 이송을 포함한다. 세포막과 함께 인슐린 과립 융합에 대한 초기 계기는 세포 내 칼슘의 상승이며, 글루코스 자극의 경우는 ATP의 증가된 생산, ATP-감응성 칼슘 통로의 차단 및 세포 감극(cellular depolarization)으로부터 초래된다. 차례로, 이는 세포 외 칼슘의 유입을 증가시키는 전압 의존성 칼슘 통로를 연다. 칼슘은 융합 억제 단백질 복합체를 기능적으로 억제하는 융합 조절 단백질 시냅토가민(synaptogamin)의 구성에 결합할 수 있다.

[0057] 즉, 인슐린전구물질은 베타 세포 특이적 항원이며 따라서 본 발명에 따른 T1DM에 대한 면역 조절 조성물 및 요법의 기초를 형성할 수 있다.

[0058] ***인슐린전구물질(Preproinsulin) 절편***

[0059] 다양한 실시예에서 본 발명은 베타 세포 제한된 항원과 같이 인슐린전구물질의 면역 조절 잠재력을 획득하기 위해, 이를 대사적으로 비활성인 중복 인슐린전구물질 폴리펩타이드 절편으로 분해함으로써 인슐린전구물질을 활용한다. 인슐린전구물질을 중복 펩타이드로 분해함으로써, 면역계는 인슐린전구물질에 특수한 펩타이드 서열과 함께 나타낼 수 있으나, 인슐린 또는 C-펩타이드(모두 순환에 존재) 내 존재하지 않는다.

[0060] 다양한 실시예에서, 본 발명은 면역 조절 조성물 내 인슐린전구물질 절편을 활용한다. 상기 절편은 길이가 약 20개 아미노산일 수 있다. 그렇지 않으면, 절편은 다른 길이 또는 길이들일 수 있으며, 예를 들어 상기 절편은 길이가 약 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9 및/또는 8개 아미노산일 수 있다. 본 발명에 따른 조성물은 길이의 분포뿐만 아니라 일정한 길이(예를 들어, 모두 약 20개 아미노산 길이)의 절편을 포함할 수 있다. 절편 길이, 또는 이의 분포는 면역 조절 효과를 최적화하는데 선택될 수 있다.

[0061] 다양한 실시예에서, 상기 절편은 약 10개 아미노산에 의해 중복되는 첫번째 폴리펩타이드 절편 및 두번째 폴리펩타이드 절편을 포함한다. 그렇지 않으면, 상기 절편은 약 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 또는 3개 아미노산에 의해 중복되는 첫번째 폴리펩타이드 절편 및 두번째 폴리펩타이드 절편을 포함할 수 있다. 본 발명에 따른 조성물은 일정한 중복(예를 들어, 모두 약 10개 아미노산)뿐만 아니라 다양한 중복의 절편을 포함할 수 있다. 다시, 중복 길이, 또는 이의 분포는 면역 조절 효과를 최적화하기 위해 선택될 수 있다.

[0062] 다양한 실시예에서, 상기 절편은 약 20개 아미노산 길이이며 약 10개 아미노산에 의해 중복되는 첫번째 폴리펩타이드 절편 및 두번째 폴리펩타이드 절편을 포함한다. 그렇지 않으면, 상기 절편은 약 20개 아미노산 길이이며 약 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 또는 3개 아미노산에 의해 중복되는 첫번째 폴리펩타이드 절편 및 두번째 폴리펩타이드 절편을 포함한다.

[0063] 다양한 실시예에서, 절편, 첫번째 폴리펩타이드 절편 및/또는 두번째 폴리펩타이드 절편은 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100 또는 그 이상의 중복 인슐린전구물질 폴리펩타이드 절편을 포함할 수 있다. 조성물은 전체 인슐린전구물질 서열을 필수적으로 커버하는 절편을 포함할 수 있거나, 인슐린전구물질 에피토프의 집합 또는 하위 집합에 제한될 수 있다. 조성물은 절편의 미리 결정된 집합(예를 들어, 각 10개 아미노산 길이의 백개의 절편)에 의해 커버되는 전체 인슐린전구물질 서열(예를 들어, 110개 아미노산)을 포함할 수 있다.

[0064] 다양한 실시예에서, 상기 절편은 인슐린 유사 대사적 활성(예를 들어, 인간 개체 내)을 보이지 않는다. 이러한 실시예는 그들이 바람직한 또는 최대 내성의 인슐린의 투여량보다 큰 절편의 농도를 투여할 수 있기 때문에 유익할 수 있다.

[0065] 일 실시예에서, 상기 절편은 적어도 하나의 내부 인슐린전구물질 에피토프를 포함한다. 상기 절편은 둘 이상의 인슐린전구물질 에피토프를 포함할 수 있다. 상기 에피토프는 면역 조절 효과를 최적화하기 위해 선택될 수 있다.

[0066] 다양한 실시예에서, 상기 절편은 인슐린에 존재하지 않는 적어도 하나의 에피토프를 포함한다. 이러한 실시예는 인슐린전구물질을 포함하는 세포에 본 발명에 따른 조성물의 효과를 유리하게 제한할 수 있다.

[0067] 일 실시예에서, 둘 이상의 중복 절편의 각각은 인슐린전구물질 에피토프를 포함한다. 에피토프는 알려진 에피토프, 예를 들어 B 체인 B9-23 및 A 체인 1-15를 포함할 수 있다. 에피토프는 인슐린전구물질을 절편화의 초래와 같이 노출된 비밀 에피토프(즉, 천연, 접힌 인슐린전구물질에 접근 가능한 용제가 아닌 에피토프)를 포함할 수 있다. 에피토프는 인슐린전구물질 서열(또는 이의 유사체)에 존재하는 에피토프의 전체 집합을 포함할 수 있다. 에피토프는 베타 세포에 특수한(즉, T1DM 내 자가면역의 특이적 표적) 하나 또는 그 이상의 에피토프를 포함할 수 있다.

[0068] 일 실시예에서, 상기 절편은 인슐린 A-체인 1-15 에피토프, B-체인 9-23 또는 B-체인 11-27 에피토프, 및 C-펩타이드에 에피토프 C3-27/C13-32 및 C13-29의 하나 이상을 포함한다.

[0069] 임의의 특정한 이론에 얽매임을 바람이 없이, 인슐린, 일차 자가항원에 대한 자기 내성의 손실은 자가공격 T 세포를 촉발시키고 자가 면역을 유발할 수 있다. 따라서, 인슐린 생산 세포의 파괴는 T1DM의 임상적 발현 전에 잘 시작될 수 있다. 일부 개체의 임상적 진단에, 여전히 의학적 중재 없이 수년간 완전히 파괴될 수 있는, 약 20-50%의 자기 인슐린 생산이 있을 수 있다. 상기 파괴 과정은 T 세포 조절되며, CD4+ 세포를 포함할 수 있다. 그러나, 자가공격 T 세포 집단을 억제할 수 있는 조절 T 세포(Tregs)는 또한 중요한 역할을 수행할 수 있다. Tregs는 자연 발생 CD4+CD25+ 세포 및 항원 유도 CD4+ Th2-유사 조절 세포를 포함한다. T 세포의 자가공격 및 조절 집합 사이의 불균형은 자가 면역의 중심에 있을 수 있다. 따라서, 성공적인 중재는 조절을 재정립하고 건강 균형을 만들기 위해, 자가공격 세포를 삭제 및/또는 조절 집단을 촉진함에 의해 수행될 수 있다.

[0070] 다시, 어느 특정한 이론에 얽매임을 바람이 없이, 자가면역 셋팅에 항원 시험(challenge)은 사이토카인 생산, 및/또는 조절 T 세포 유도에, T 세포 하위 집단(예를 들어, Th2 vs. Th1)에 유리한 변화를 촉진할 수 있다. 실제로, 자가면역 질병에 대한 항원 특이적 요법 접근방법은 질병 병인(aetiopathogenesis)에 연관된 추정 자기(self)-항원을 사용할 수 있다. 인슐린은 베타 세포 특이적 주요 단백질이며, 또한 단독으로 사용될 때 보통의 면역 원성이다. 그러나, 인슐린이 사용될 때, 다른 부작용 가운데 저혈당에 대한 염려가 있다. 따라서 인슐린 관련된 펩타이드는 그들이 저혈당 효과를 필수적으로 가지지 않기 때문에, 인체에 사용하기에 인슐린에 비해 보다 안전한 선택일 수 있다.

[0071] 자기(self) 항원의 연장된 말초(peripheral) 제시(presentation)는 자가 반응성 세포독성 T 림프구(CTLs) 및 자기 항원의 제시 모두를 억제하여, 그에 따라 추가적인 피해로부터 베타 세포를 보호하는, 기억-유사 자가 조절 T 세포로 분화시키기 위해, 낮은 결합능력(avidity) 자가 반응 T 세포를 유발할 수 있다. T1DM 내 자가면역 과정은 선택적으로 췌장섬 내 베타 세포를 사멸시키고, 알파 세포를 생산하는 글루카곤 유사 다른 내분비 세포를 파괴하지 않는다. 이러한 선택성은 자기 항원이 되는 자기 항원은 아마 베타 세포에 제한됨을 가리킨다. 오직 하나의 펩타이드가 베타 세포 내 특수하게 존재하며 어느 다른 세포에 존재하지 않으며 이는 인슐린전구물질, 인슐린의 전구체이다. 대조적으로, 인슐린 및 C-펩타이드는 베타 세포를 남기고 혈액 내 순환하는 분비 생산물이다.

[0072] 요컨대, 일차 자가항원, 예를 들어, 어쥬번트 내 인슐린전구물질 폴리펩타이드의 말초 재유도는 조절 면역 반응을 유도 및 T1DM 환자에 면역 내성을 재정립할 수 있다. 만약 자가면역 과정이 심지어 이러한 늦은 단계에서 저지될 수 있다면, 베타 세포는 보존될 수 있으며 아마 그들의 재생산을 허용한다. 이는 특수한, T1DM 특이적, 표적된 및 비-면역 억제 접근 방법이며, 따라서 특히 T1DM을 갖는 어린이 및 젊은 성인 및 위험 인간 개체에 예방에도 적합하다.

[0073] **어쥬번트(*Adjuvants*)**

[0074] 본 발명에 따른 조성물은 조절 면역 반응을 촉진하는(예를 들어 인간 개체 내) 어쥬번트를 포함할 수 있다. 일 실시예에서, 상기 조성물은 오일 및 물과 혼합된 유화제를 포함하는 어쥬번트를 포함한다. 일 실시예에서, 상기 조성물은 불완전 프로인트 어쥬번트(IFA)를 포함한다. 다른 일 실시예에서, 상기 조성물은 알룸 어쥬번트 또는 스쿠알렌, 또는 사멸된 박테리아, 또는 변성 독소, 또는 무기 화합물, 또는 리포좀, 또는 덴드리머, 또는 나노에멀전 등을 포함한다.

[0075] IFA(시판중인, 예를 들어, Seppic Inc., France로부터 어쥬번트 몬타니드(Montanide) ICA 51와 같은)는 전형적으로 두 구성 요소, 오일 및 유화제로 이루어진다. IFAs는 세포 매개 면역 및 보호 동형(isotypes)(쥐 내 IgG2a 및 영장류 내 IgG1)의 항체의 생산을 유도하기 위해 항원과 함께 사용될 수 있다. 어쥬번트의 다른 형태는 주사 부위에 반응 및 발열성과 같은 유사한 부작용을 공유한다. 인간 백신에 통상적으로 사용되는 어쥬번트, 알룸은 또한 주사 부위에 주목할 만한 육아종 반응을 생산할 수 있다.

[0076] 불완전 프로인트 어쥬번트의 활동의 방법은 비특이적뿐만 아니라 특이적 면역 반응(예를 들어 인간 개체 내)을 포함할 수 있다. IFAs는 또한 항원 비히클(vehicle) 및 늦은 방출 또는 장기 항원 제시 장치로 활동할 수 있다. 자기 항원의 말초 제시의 연장이 낮은 결합능력(avidity) 자가 반응 T 세포를 자가 반응성 CTLs 및 항원 제시 세포(APCs) 자기 항원 제시 모두를 억제하는 기억-유사 자가 조절 T 세포로 분화시킴을 유발하는 것과 같이, 이는 IFA의 중요한 특징일 수 있다.

[0077] 항원 면역원성에 IFA의 특정한 증진 효과는 증가된 체액성 면역(예를 들어, 우선적으로 보호 항체 생산; 인간 내 IgG1 및 쥐 내 IgG2a) 및 특정한 세포 매개 면역력(예를 들어, Th2 타입)의 촉발을 유도할 수 있다. 보호의 신뢰성 및 기간 때문에, T1DM에 자가항원 특이적 면역 요법의 사용은 유용할 수 있다.

[0078] ***조합 요법(Combination Therapies)***

[0079] 본 발명에 따른 조성물은 인슐린전구물질 절편에 추가하여 하나 이상의 요법을 포함할 수 있다. 추가 요법은 T1DM에 대한 요법 및/또는 다른 관련된 또는 동시에 존재하는 조건일 수 있다.

[0080] 추가 요법의 예시는 전조절 류코트리엔, 사이토카인(예를 들어, IL-10, TGF 베타 등), 또는 조절 반응을 촉진 또는 증진, 또는 자기 내성을 회복하기 위한 다른 물질을 포함한다. 추가 요법의 다른 예시는 자가면역 반응을 차단하는 항염증 류코트리엔 및 사이토카인(예를 들어 IL-1 길항자)를 포함한다. 추가적 요법의 추가 예시는 베타 세포 재생산 및/또는 성장(예를 들어, 엑세나티드(Exenatide))을 촉진시키는 제제 및/또는 다른 항염증/항자가면역제(예를 들어, 비타민 D 및 이의 유사체)를 포함한다. 하나 이상의 추가 요법은 조성물의 일부일 수 있다; 및/또는 하나 또는 그 이상의 추가 요법은 조성물로 분리될 수 있다. 하나 또는 그 이상의 추가 요법은 조성물과 함께 조합 및/또는 조성물에 분리되어 투여될 수 있다. 하나 또는 그 이상의 추가 요법은 조성물과 함께 동시에 투여; 및/또는 조성물의 투여 전 및/또는 후에 투여될 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 추가적 요법은 조성물의 일부를 형성할 수 있으며, 하나 이상의 추가적 요법과 함께 조성물과 별도로, 동시에, 조성물 전 또는 후에 투여될 수 있다.

[0081] ***약학적 조성물 및 키트(Pharmaceutical Compositions and Kits)***

[0082] 일 양태에서, 본 발명은 적어도 하나의 폴리펩타이드 절편이 항원성인, 서열번호 1의 둘 이상의 중복 절편(즉, 인슐린전구물질)의 치료학적으로 유효한 양 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 제1형 당뇨병 자가면역 치료용 조성물을 제공한다.

[0083] 수많은 약학적으로 허용 가능한 담체는 기술분야에 알려져 있다. 예시들은 예를 들어, The *Handbook of Pharmaceutical Excipients* Rowe et al. (eds.) Pharmaceutical Press; 7 Updated edition (June 6, 2012)에서 발견될 수 있다. 예시 어쥬번트는 불완전 프로인트 어쥬번트, 알룸, 스쿠알렌, 사멸된 박테리아, 변성 독소 및 무기 화합물, 리포좀, 지질 기초 나노입자, 나노에멀전 또는 나노겔 또는 표적화된 약물 전달 시스템 유사 덴드리머 등을 포함한다.

[0084] 다른 양태에서, 본 발명은 (i) 본 발명에 따른 조성물의 어느 하나의 조성물의 치료학적으로 유효한 양; 및 (ii) 이것이 필요한 개체에 상기 조성물을 투여하기 위한 지시를 포함하는 제1형 당뇨병 자가 면역 치료용 키트를 제공한다.

[0085] 다른 양태에서, 본 발명은 (i) 제1형 당뇨병 자가면역 진단(예를 들어, 자가항체 실험-항인슐린 IAA, 항 GAD65, 항 IA2-인슐린종 항원 2, 항 Zn8-아연 수송체 8 항체, T 세포 생물마커 등); (ii) 제1항 내지 제21항 중 어느 하나의 조성물의 치료학적으로 유효한 양; 및 (iii) 만약 개체가 이를 필요로 할 경우 개체를 진단하고 개체에 상기 조성물을 투여하기 위한 지시를 포함하는 제1형 당뇨병 자가 면역 진단 및 치료용 키트를 제공한다.

[0086] ***제조 방법(Methods of Manufacture)***

[0087] 다른 양태에서, 본 발명은 적어도 하나의 폴리펩타이드 절편이 항원성인, 서열번호 1의 중복 절편(또는 이의 유사체 또는 상동체)의 둘 이상 및 약학적으로 허용 가능한 담체의 조합을 포함하는, 본 발명에 설명된 제1형 당뇨병 자가면역을 치료하기 위한 본 발명에 따른 조성물을 제조하는 방법을 제공한다. 통상의 기술자는 상기 폴

리펩타이드 절편이 알려진 폴리펩타이드 합성 방법을 사용하여 합성될 수 있음을 인식할 것이다. 하나의 실례가 되는 예시가 하기 실시예 1에 제공된다.

[0088] ***사용 방법(Methods of Use)***

[0089] 다른 양태에서, 본 발명은 이것이 필요한 개체에 본 발명에 따른 조성물의 어느 하나의 조성물의 치료학적으로 유효한 양을 투여하는 단계를 포함하는 제1형 당뇨병 자가 면역에 대한 치료를 제공한다.

[0090] 다른 양태에서, 본 발명은 (i) 제1형 당뇨병 자가면역에 대한 치료를 필요로 하는 개체를 선택하는 단계; 및 (ii) 개체에 본 발명에 따른 조성물의 어느 하나의 조성물의 치료학적으로 유효한 양을 투여하는 단계를 포함하는 제1형 당뇨병 자가 면역에 대한 치료를 제공한다. 치료를 필요로 하는 환자의 선택은 의사에 의한 신체 검사 및/또는 연구실 실험을 포함할 수 있다.

[0091] 일 실시예에서, 상기 조성물은 면역 조절성이다. 일 실시예에서, 상기 조성물은 면역 억제성이 아니다. 일 실시예에서, 상기 조성물은 Th2 면역 반응을 유도한다. 일 실시예에서, 상기 조성물은 Th1 면역 반응을 유도하지 않는다.

[0092] 일 실시예에서, 상기 개체는 성인이다. 다른 실시예에서, 상기 개체는 청소년이다.

[0093] 일 실시예에서, 상기 개체는 제1형 당뇨병을 가지며 상기 치료는 적어도 하나의 임상적 종점(예를 들어, 증진된 C-펩타이드 분비, 감소된 인슐린 사용, 증진된 HbA1c, 보통 혈당 수준에 가까워짐, 적은 혈당 수준 변동 등)을 달성한다.

[0094] 일 실시예에서, 상기 개체는 제1형 당뇨병을 가지며 상기 치료는 제1형 당뇨병의 적어도 하나의 증상(예를 들어, 저혈당증/고혈당증의 빈도, 감소된 당뇨(glucosuria), 입원의 수준/수, 및 신증, 신경병증, 및 망막증과 같은 합병증의 수준/수)을 완화한다.

[0095] 일 실시예에서, 상기 개체는 전임상 제1형 당뇨병을 가지며, 상기 치료는 임상 제1형 당뇨병에 진행을 예방 또는 지연시킨다.

[0096] 일 실시예에서, 상기 개체는 제1형 당뇨병을 발달시키는 성향이며 상기 치료는 제1형 당뇨병의 발달을 예방 또는 지연시킨다.

[0097] 일 실시예에서, 상기 치료는 췌장 베타 세포에 자가 면역을 완화시킨다.

[0098] 일 실시예에서, 상기 투여 단계는 정맥내, 근육내, 또는 피하 투여를 포함한다.

[0099] 일 실시예에서, 상기 방법은 또한 본 발명에 따른 치료 화합물 또는 조성물의 치료학적으로 유효한 양을 투여하기 전에, 개체가 제1형 당뇨병 자가 면역에 치료를 필요로 하는지 여부를 결정하는 것을 포함한다.

[0100] 일 실시예에서, 치료학적으로 유효한 양은 5 마이크로그램 내지 10 밀리그램, 0.5 내지 4.0 밀리그램, 또는 이들 사이의 어느 값일 수 있다. 다양한 실시예에서, 치료학적으로 유효한 양은 5, 10, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 350, 400, 450, 500, 600, 700, 800, 또는 900 마이크로그램, 또는 이들 사이의 어느 값일 수 있다. 다양한 실시예에서, 치료학적으로 유효한 양은 1.0, 1.25, 1.5, 1.75, 2.0, 2.25, 2.5, 2.75, 3.0, 3.25, 3.5, 3.75, 4.0, 4.25, 4.5, 4.75, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5, 또는 10 밀리그램, 또는 이들 사이의 어느 값일 수 있다. 다양한 실시예에서, 치료학적으로 유효한 양은 유익한 면역 반응(예를 들어, Th2/Treg 반응)의 검출에 의해 및/또는 적어도 하나의 임상적 종점 또는 적어도 하나의 증상 감소(예를 들어, 상기 설명된 것과 같이)의 검출에 의해 결정될 수 있다.

[0101] 일 실시예에서, 투여는 저장소(depot) 주사를 포함할 수 있다. 투여는 약 6개월 내지 2년의 간격으로 반복될 수 있다. 다양한 실시예에서, 상기 간격은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 또는 11 개월, 또는 1, 2, 3, 4 년일 수 있다. 다양한 실시예에서, 상기 간격은 분기마다, 반년마다, 또는 매년일 수 있다. 다양한 실시예에서, 상기 간격은 면역 조절 반응(예를 들어, Th1/조절 세포)을 관찰하고 그에 따라 치료를 조정함(예를 들어, T 세포 수/활성이 떨어지기 시작할 때 재투여)으로써 결정될 수 있다.

[0102] ***실시예***

[0103] ***실시예 1 - 폴리펩타이드 합성***

[0104] 화학 및 제조 소개: 중복(overlapping) 인슐린전구물질 20개 아미노산 펩타이드가 하기 펩타이드의 각각이 선행 펩타이드 서열과 함께 10개 아미노산에 의해 중복되도록 설계되었다. 이들 펩타이드는 단일성분 HPLC (C18

칼럼) 정제된 펩타이드로 제조되었고, Peptide International로부터 아미노산 재료를 사용하여, Applied Biosystems로부터 단백질 합성기 모델 433A(Protein Synthesizer Model 433A)에서 단백질-코어 실험실에서 합성되었다. 이는 하기 주요 단계를 갖는 표준 고체상 펩타이드 합성(SPPS) 절차이다:

[0105] 체인 조립(Chain assembly).

[0106] 단백질 합성에 사용된 조립 전략은 ABI (Applies Biosystem Inc.)-Fmoc/Thr이다. Fmoc 그룹은 아미노산의 α-아미노 그룹을 보호한다. 상기 펩타이드는 고체 지지(레진(resin))에 부착되는 시작 아미노산의 α-카르복실기와 함께 N-말단쪽으로 C-말단으로부터 조립된다. 조립을 위해 사용된 레진은 폴리스티렌 비드, NMP(N-메틸피롤리돈)으로 세척 이후 팽창된 직경이 400-1000 마이크론의 크기를 갖는 비수용성 지지이다. 상기 레진은 C-말단으로부터 첫번째 아미노산(Thr)과 함께 미리 설치되었다.

[0107] 체인 조립에 첫번째 단계는 탈보호, 또는 보호기의 제거이다. Fmoc 보호기는 22% 피페리딘을 사용하여 제거되었다. 피페리딘/NMP와 함께 Fmoc 그룹의 제거를 통해 형성된 카르밤산염의 전도도 피드백은 짝지음 효율을 나타내는데 사용될 수 있다.

[0108] 탈보호 이후, 다음 아미노산은 활성화되었고 성장하는 펩타이드의 아미노산 말단을 탈보호하기 위해 짝지어졌고 펩타이드 결합을 형성한다. 들어오는 아미노산 카르복실기의 활성화는 HBTU/HOBt를 사용하여 달성되었다.

[0109] 짝지음 사이에, 칼럼은 메탄올 및 NMP(N-메틸피롤리돈)로 세척되었고, 이는 레진을 부풀리고 잔기를 세척하였다. 상기 사이클은 원하는 길이의 펩타이드가 달성될 때까지 반복되었다.

[0110] 이후 DCM(디클로로메탄)으로 레진을 세척하고, 레진으로부터 NMP를 제거하고, 이후 용이하게 제거 가능한 용제, 및 증발/건조되는 고휘발성 메탄올로 레진을 전체적으로 세척하였다.

[0111] 레진으로부터 분열 및 곁사슬 보호기의 제거.

[0112] 분열 혼합물이 제조되었다 (0.75 g 결정 페놀 + 0.25 g 에탄디티올 + 0.5 ml 티오아니솔 + 0.5 ml 탈이온화된 H2O + 10 ml 트리플루오로아세트산). 건조된 펩타이드 레진은 1.5 시간 동안 얼음 용기 내 차가운 플라스크에서 배양되었다 (10 ml 혼합물/ 100-150 mg 펩타이드-레진). 이후 고 진공 하에 유리 깔때기 여과에 의해 반응 혼합물로부터 펩타이드를 분리하였다. 차가운 메틸 t-부틸 에터(MTBE)로 펩타이드를 침전시키고 진공 건조하였다.

[0113] 멸균 조건 하에 정제.

[0114] 본 단계는 역상 HPLC로 수행되었다. 버퍼 A = 0.1% 트리플루오로아세트산(TFA) 및 버퍼 B = 70% 에세토니트릴, 30% H2O, 0.09% 트리플루오로아세트산(TFA). C18 칼럼을 사용함으로써 샘플의 용리는 소수성(보다 이른 친수성 샘플 용출)에 기초한다. 피크 검출은 214 nm에서 펩타이드 결합의 흡수 측정에 의해 수행되었고 질량분광기를 통해 식별되었다. 바람직한 분획은 멸균 바이알로 모아졌고 동결 건조되었고, 서열을 확인하기 위해 샘플이 AAA(아미노산 분석) 분석적인 rpHPLC 및 질량분광기을 위해 수집되었다.

[0115] ***실시예 2 - 인슐린전구물질 폴리펩타이드 백신 제형(Preproinsulin Polypeptide Vaccine Formulations)***

[0116] A. 인슐린전구물질 폴리펩타이드 (3P) 백신. 3P 면역 조절 백신은 수용성 인슐린전구물질 20-아미노산 중복 폴리펩타이드 혼합물 및 불완전 프로인트 어쥬번트 용액의 조합이다. 주사/에멀전(최종 약물 생산품)은 Montanide ISA51 (0.5 ml) (Seppic Inc.)와 함께 혼합에 의한 인간 인슐린전구물질 펩타이드 혼합 용액 (0.5 ml)의 50/50 (w/w) 에멀전으로 고압 멸균 주사를 사용함으로써 멸균 조건 하에, 층류-흐름(lamina-flow) 보호 후드에서 투여 전에 즉시 제조되었다.

[0117] B. 인슐린전구물질 폴리펩타이드 (3P) 백신. 3P 면역 조절 백신은 수용성 인슐린전구물질 20-아미노산 중복 폴리펩타이드 혼합물 및 불완전 프로인트 어쥬번트 용액의 조합이다. 주사/에멀전(예를 들어, 최종 약물 생산물)은 미리 제조되었고(예를 들어 제조 셋팅에서) 확장된 넓어진 시효 기간(shelf life) (예를 들어, 몇 년)을 가질 수 있다.

[0118] C. 인슐린전구물질 폴리펩타이드 (3P) 백신. 3P 면역 조절 백신은 수용성 인슐린전구물질 20-아미노산 중복 폴리펩타이드 혼합물 및 불완전 프로인트 어쥬번트 용액의 조합이다. 주사/에멀전 (예를 들어, 최종 약물 생산품)은 키트; 단기간(예를 들어, 몇일/몇주)에 사용되도록 신선한 혼합물을 제조하기 위한 메커니즘으로 만들어진 다른 봉인된 구획에 두 주요 성분(예를 들어, 펩타이드 및 어쥬번트)으로 제조되었다.

[0119] D. 인슐린전구물질 폴리펩타이드 (3P) 백신. 3P 면역 조절 백신은 수용성 인슐린전구물질 20-아미노산 중복 폴

리펩타이드 혼합물 및 불완전 프로인트 어쥬번트 용액의 조합이며, 상기 불완전 프로인트 어쥬번트 용액은 Montanide ISA51 외이다.

[0120] E. 인슐린전구물질 폴리펩타이드 (3P) 백신. 3P 면역 조절 백신은 수용성 인슐린전구물질 20-아미노산 중복 폴리펩타이드 혼합물 및 불완전 프로인트 어쥬번트 용액 외에 면역 어쥬번트(예를 들어, 스쿠알렌; 사멸된 박테리아 및 변성 독소; 알루미늄염-알룸/무기 화합물 등 또는 리포좀, 지질 기초 나노입자, 나노에멀전, 나노겔, 덴드리머 등)의 조합이다.

[0121] ***실시예 3 - 인슐린전구물질 폴리펩타이드 백신 요법(Preproinsulin Polypeptide Vaccine Therapies)***

[0122] A. 제1형 당뇨병(예를 들어, IAA, GAD65, Ia2, Zn 수송체8 또는 제1형 당뇨병 특이적 T 세포 마커 양성과 같은 임상 진단 + 적어도 하나의 양성 제1형 당뇨병 특이적 자가항원)으로 진단받은 개체(예를 들어, 어느 연령 및/또는 어느 질병 기간)에 본 발명에 따른 조성물을 투여.

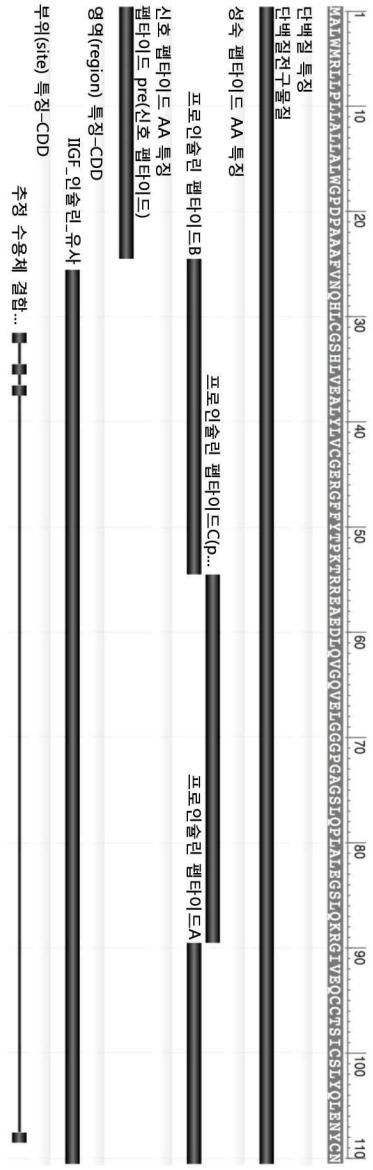
[0123] B. 제1형 당뇨병의 임상적 진단을 갖지 않으나, 적어도 하나의 양성 제1형 당뇨병 특이적 자가항체(예를 들어, IAA, GAD65, Ia2, Zn 수송체8) 또는 제1형 당뇨병 특이적 T 세포 마커를 갖는 개체에 본 발명에 따른 조성물을 투여. 상기 개체는 구강 혈당 내성 실험을 통해 실험된 일반 혈당 상태 또는 손상된 혈당 내성을 가질 수 있다. 이러한 개체는 제1형 당뇨병을 갖는 환자의 패밀리 스크리닝, 또는 보다 큰 집단을 스크리닝함으로써 식별될 수 있다.

[0124] 본 발명에 사용된 섹션 제목은 오직 조직(organizational)하기 위한 것이며, 어느 방식으로든 개시된 요지를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0125] 출원인의 교시는 다양한 실시예와 관련하여 설명되지만, 이는 출원인의 교시가 이러한 실시예에 한정되는 것은 아니다. 반대로, 출원인의 교시는 다양한 대안, 변형 및 등가물을 포함하며, 통상의 기술자에 의해 이해될 것이다.

도면

도면1



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> ORBAN Tihamer

JALAHEJ Heyam

DAUBENEY Nara

DAUBENEY Piers

<120> IMMUNOMODULATORY THERAPY FOR TYPE 1 DIABETES MELLITUS AUTOIMMUNITY

<130> IMP162859GB

<160> 1

<170> BiSSAP 1.3

<210> 1

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

```
Met Ala Leu Trp Met Arg Leu Leu Pro Leu Leu Ala Leu Leu Ala Leu
1               5                  10                  15
Trp Gly Pro Asp Pro Ala Ala Ala Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly
            20                  25                  30

Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe
        35                  40                  45
Phe Tyr Thr Pro Lys Thr Arg Arg Glu Ala Glu Asp Leu Gln Val Gly
    50                  55                  60
Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly Ser Leu Gln Pro Leu
65                  70                  75                  80
Ala Leu Glu Gly Ser Leu Gln Lys Arg Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys
                85                  90                  95

Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln Leu Glu Asn Tyr Cys Asn
            100                 105                 110
```