



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0147981
(43) 공개일자 2024년10월10일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/00 (2006.01) A61P 25/28 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 39/0007 (2013.01)
A61P 25/28 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7025028
- (22) 출원일자(국제) 2023년02월09일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2024년07월24일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2023/053259
- (87) 국제공개번호 WO 2023/152260
국제공개일자 2023년08월17일
- (30) 우선권주장
22156006.3 2022년02월09일
유럽특허청(EPO)(EP)
22156007.1 2022년02월09일
유럽특허청(EPO)(EP)

- (71) 출원인
에이씨 이문 에스에이
스위스, 체하-1015 라우산느, 빌딩 비, 이피에프
엘 이노베이션 파크
- (72) 발명자
파이퍼, 안드레아
스위스, 1015 라우산느, 빌딩 비, 이피에프엘 이
노베이션 파크, 에이씨 이문 에스에이 내.
- (74) 대리인
특허법인정진

전체 청구항 수 : 총 45 항

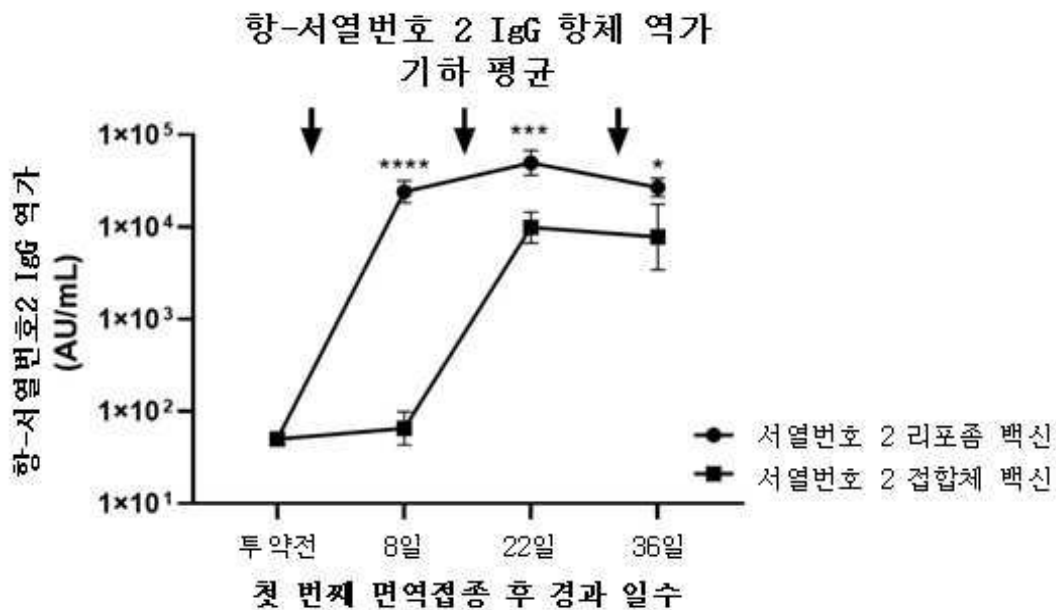
(54) 발명의 명칭 항-알파시누클레인 치료 백신

(57) 요약

본 발명은 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원; T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및 아췌번트를 포함하는, 리포솜 백신 조성물에 관한 것으로, 펩타이드 항원은 다음 구조를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는다: $X_1-X_2-X_3-E-X_4-X_5-P-V-D-P-D-N-E-X_6$, 여기서: E는 글루탐산이고, P는 프롤린이고; V는

(뒷면에 계속)

대표도



발린, D는 아스파르트산, N은 아스파라긴이고; X_1 은 존재하거나 부재하며, 존재하는 경우, G이고, 여기서 G는 글리신이고; X_2 는 존재하거나 부재하며, 존재하는 경우, G이고, 여기서 G는 상기 정의한 바와 같고; X_3 는 L, K 또는 S이고, 여기서 L은 류신, K는 리신, S는 세린이고; X_4 는 D, K 또는 S이고, 여기서 D, K 및 S는 상기 정의한 바와 같고; X_5 는 M이고, 여기서 M은 메티오닌 또는 메티오닌 설폭사이드이고; X_6 는 A, K 또는 S이고, 여기서 A는 알라닌이고, K 및 S는 상기 정의한 바와 같고; 단, X_3 -E- X_4 - X_5 -P-V-D-P-D-N-E- X_6 는 L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A이 아니며, 아미노산 서열 G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A와 비교하여 1 내지 5개의 아미노산 차이를 포함하고, 여기서 펩타이드 항원은 X_6 바로 다음에 디펩타이드 Y-E를 포함하지 않으며, 여기서 Y는 티로신이고 E는 상기 정의한 바와 같다.

(52) CPC특허분류

A61K 2039/55516 (2013.01)

A61K 2039/55555 (2013.01)

A61K 2039/55561 (2013.01)

A61K 2039/55572 (2013.01)

A61K 2039/60 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

리포좀 백신 조성물로서,

- a. 리포좀의 표면에 제시되는(displayed) 펩타이드 항원;
- b. T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및
- c. 아쥬번트,

를 포함하고,

상기 펩타이드 항원은 하기 구조를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되며:

$X_1-X_2-X_3-E-X_4-X_5-P-V-D-P-D-N-E-X_6$,

여기서:

E는 글루탐산이고, P는 프롤린이고; V는 발린이고, D는 아스파르트산이고, N은 아스파라긴이고;

X_1 은 존재하거나 부재하며, 존재하는 경우, G이고, 여기서 G는 글리신이고;

X_2 은 존재하거나 부재하며, 존재하는 경우, G이고, 여기서 G는 상기 정의한 바와 같고;

X_3 은 L, K 또는 S이고, 여기서 L은 류신이고, K는 리신이고, S는 세린이고;

X_4 은 D, K 또는 S이고, 여기서 D, K 및 S는 상기 정의한 바와 같고;

X_5 은 M이고, 여기서 M은 메티오닌 또는 메티오닌 설폭사이드이고;

X_6 은 A, K 또는 S이고, 여기서 A는 알라닌이고, K 및 S는 상기 정의한 바와 같고,

단, $X_3-E-X_4-X_5-P-V-D-P-D-N-E-X_6$ 는 L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A가 아니며,

아미노산 서열 G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A와 비교하여 1 내지 5개의 아미노산 차이를 포함하고,

상기 펩타이드 항원은 X_6 바로 다음에 디펩타이드 Y-E를 포함하지 않으며, 여기서 Y는 티로신이고 E는 상기 정의한 바와 같은, 리포좀 백신 항원 :

청구항 2

청구항 1에 있어서,

X_1 및 X_2 가 존재하는, 리포좀 조성물.

청구항 3

청구항 1에 있어서,

X_1 및 X_2 가 부재하는, 리포좀 조성물.

청구항 4

청구항 1 내지 청구항 3 중 어느 한 항에 있어서,

X_5 가 메티오닌 설폭사이드인, 리포좀 조성물.

청구항 5

청구항 1 내지 청구항 4 중 어느 한 항에 있어서,
X₆가 A 또는 S인, 리포솜 조성물.

청구항 6

청구항 1 내지 청구항 5 중 어느 한 항에 있어서,
X₃가 L 또는 K인, 리포솜 조성물.

청구항 7

청구항 1 내지 청구항 6 중 어느 한 항에 있어서,
X₄가 D 또는 S인, 리포솜 조성물.

청구항 8

청구항 1에 있어서,
상기 펩타이드 항원이 GGKESMPVDPDNEA(서열번호 2), GGKEDMPVDPDNEA(서열번호 3), LESMPVDPDNES(서열번호 4), LEKMPVDPDNEA(서열번호 5), GGSESMPVDPDNEA(서열번호 6), GGSESMPVDPDNES(서열번호 7), KEDMPVDPDNEA(서열번호 8), SESMPVDPDNEA(서열번호 9), LESMPVDPDNEA(서열번호 10), GGKESMPVDPDNES(서열번호 11), KESMPVDPDNEA(서열번호 12), KESMPVDPDNES(서열번호 13), SEKMPVDPDNEA(서열번호 14), LEKMPVDPDNES(서열번호 15), GGSESMPVDPDNEK(서열번호 16), LEKMPVDPDNEK(서열번호 17), GGKEKMPVDPDNEA(서열번호 18), GGKESMPVDPDNEK(서열번호 19) 및 GGKEKMPVDPDNEK(서열번호 20)로 이루어진 그룹에서 선택되는, 리포솜 조성물.

청구항 9

청구항 1에 있어서,
상기 펩타이드 항원이 GGKESMPVDPDNEA(서열번호 2), GGKEDMPVDPDNEA(서열번호 3), LESMPVDPDNES(서열번호 4) 및 KESMPVDPDNEA(서열번호 12)로 이루어진 그룹에서 선택되는, 리포솜 백신 조성물.

청구항 10

청구항 1에 있어서,
상기 펩타이드 항원이 GGKESMPVDPDNEA(서열번호 2)로 구성되는, 리포솜 백신 조성물.

청구항 11

청구항 1에 있어서,
상기 펩타이드 항원이 KESMPVDPDNEA(서열번호 12)로 구성되는, 리포솜 백신 조성물.

청구항 12

청구항 1 내지 청구항 11 중 어느 한 항에 있어서,
상기 펩타이드 항원이 적어도 하나의 화학적 변형을 추가로 포함하는, 리포솜 백신 조성물.

청구항 13

청구항 1 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,
T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드가 서열번호 35(PaDre), 서열번호 36(P2), 서열번호 37(P30), 서열번호 21(SAT13), 서열번호 22(SAT15), 서열번호 23(SAT17), 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27 및/또는 이들의 임의의 조합으로 이루어진 그룹에서 선택되는 적어도 하나의 아미노산 서열을 포함하는, 리포솜 백신 조성물.

청구항 14

청구항 1 내지 청구항 13 중 어느 한 항에 있어서,

T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드가 서열번호 29(SAT42), 서열번호 30(SAT43), 서열번호 31(SAT44), 서열번호 32(SAT47), 서열번호 35(PaDre), 서열번호 36(P2) 및 서열번호 37 (P30)로 이루어진 그룹에서 선택되는 아미노산 서열 또는 이의 근접 서열 유사체를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜 백신 조성물.

청구항 15

청구항 1 내지 청구항 14 중 어느 한 항에 있어서,

T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드가 서열번호 32(SAT47)의 아미노산 서열 또는 이의 근접 서열 유사체를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜 백신 조성물.

청구항 16

청구항 1 내지 청구항 15 중 어느 한 항에 있어서,

T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드가 서열번호 33(SAT58)의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜 백신 조성물.

청구항 17

청구항 1 내지 청구항 16 중 어느 한 항에 있어서,

아주번트가 톨-유사 수용체 4 리간드 및/또는 톨-유사 수용체 9 리간드를 포함하는, 리포솜 백신 조성물.

청구항 18

청구항 17에 있어서,

톨-유사 수용체 4 리간드가 모노포스포릴 지질 A(MPLA)를 포함하고/거나 톨-유사 수용체 9 리간드가 CpG를 포함하는, 리포솜 백신 조성물.

청구항 19

청구항 1 내지 청구항 18 중 어느 한 항에 있어서,

아주번트가 모노포스포릴 지질 A(MPLA)를 포함하는, 리포솜 백신 조성물.

청구항 20

청구항 1 내지 청구항 19 중 어느 한 항에 있어서,

아주번트가 CpG를 추가로 포함하는, 리포솜 백신 조성물.

청구항 21

청구항 1 내지 청구항 20 중 어느 한 항에 있어서,

T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드가 리포솜에 캡슐화되어 있는, 리포솜 백신 조성물.

청구항 22

리포솜 백신 조성물로서,

d. 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5 또는 서열번호 12 중에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,

e. 서열번호 24, 및/또는 서열번호 25, 및/또는 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드, 및

f. 아쥬번트로서, 상기 아쥬번트는 톨-유사 수용체 4 리간드, 바람직하게는 모노포스포릴 지질 A(MPLA), 및/또는 톨-유사 수용체 9 리간드, 바람직하게는 CpG를 포함하는 아쥬번트를 포함하는, 리포솜 백신 조성물.

청구항 23

리포솜 백신 조성물로서,

g. 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5 또는 서열번호 12 중에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,

h. 서열번호 46, 및/또는 서열번호 25, 및/또는 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드, 및

i. 아쥬번트로서, 상기 아쥬번트는 톨-유사 수용체 4 리간드, 바람직하게는 모노포스포릴 지질 A(MPLA), 및/또는 톨-유사 수용체 9 리간드, 바람직하게는 CpG를 포함하는 아쥬번트를 포함하는, 리포솜 백신 조성물.

청구항 24

제22항 또는 제23항에 있어서,

펩타이드 항원이 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜 백신.

청구항 25

제22항 또는 제23항에 있어서,

펩타이드 항원이 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜 백신.

청구항 26

리포솜 백신 조성물로서,

a. 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5 또는 서열번호 12 중에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원; 및

b. 서열번호 32(SAT47)의 아미노산 서열 또는 이의 근접 서열 유사체를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및

c. 아쥬번트로서, 상기 아쥬번트는 톨-유사 수용체 4 리간드를 포함하고; 톨-유사 수용체 4 리간드는 모노포스포릴 지질 A(MPLA)를 포함하는 아쥬번트를 포함하는, 리포솜 백신 조성물.

청구항 27

리포솜 백신 조성물로서,

a. 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 또는 서열번호 12 중에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원; 및

b. 서열번호 33(SAT58)의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및

c. 아쥬번트로서, 상기 아쥬번트는 톨-유사 수용체 4 리간드를 포함하고; 톨-유사 수용체 4 리간드는 모노포스포릴 지질 A(MPLA)를 포함하는 아쥬번트를 포함하는, 리포솜 백신 조성물.

청구항 28

제26항 또는 제27항에 있어서,

상기 펩타이드 항원이 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4 또는 서열번호 12 중에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜 백신 조성물.

청구항 29

제26항 또는 제27항에 있어서,

상기 펩타이드 항원이 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜 백신 조성물.

청구항 30

제26항 또는 제27항에 있어서,

펩타이드 항원이 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜 백신 조성물.

청구항 31

리포솜 백신 조성물로서,

- a. 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,
- b. 서열번호 32(SAT47)의 아미노산 서열 또는 이의 근접 서열 유사체를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및
- c. 아쥬번트로서, 상기 아쥬번트는 톨-유사 수용체 4 리간드 및/또는 톨-유사 수용체 9 리간드를 포함하고; 상기 톨 유사 수용체 4 리간드는 모노포스포릴 지질 A(MPLA)를 포함하고, 상기 톨 유사 수용체 9 리간드는 CpG를 포함하는 아쥬번트

를 포함하는, 리포솜 백신 조성물.

청구항 32

리포솜 백신 조성물로서,

- a. 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,
- b. 서열번호 33(SAT58)의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드, 및
- c. 아쥬번트로서, 상기 아쥬번트는 톨-유사 수용체 4 리간드 및/또는 톨-유사 수용체 9 리간드를 포함하고; 상기 톨 유사 수용체 4 리간드는 모노포스포릴 지질 A(MPLA)를 포함하고, 상기 톨 유사 수용체 9 리간드는 CpG를 포함하는 아쥬번트

를 포함하는, 리포솜 백신 조성물.

청구항 33

청구항 1 내지 청구항 32 중 어느 한 항의 리포솜 백신 조성물, 및 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제 및/또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 34

청구항 1 내지 청구항 32 중 어느 한 항에 정의된 리포솜 백신 조성물 또는 청구항 33의 약제학적 조성물 및 용기를 포함하는 키트.

청구항 35

청구항 1 내지 청구항 32 중 어느 한 항, 또는 청구항 33, 또는 청구항 34에 있어서,

알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한, 리포좀 백신 조성물, 약제학적 조성물, 또는 키트.

청구항 36

청구항 35에 있어서,

알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상이 시누클레인병증인 리포좀 백신 조성물, 약제학적 조성물, 또는 키트.

청구항 37

청구항 35 또는 청구항 36에 있어서,

알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상 또는 시누클레인병증이 파킨슨병(산발성, 알파-시누클레인 돌연변이가 있는 가족성, 알파-시누클레인 이외의 돌연변이가 있는 가족성, 순수 자율신경 부전 및 루이소체 연하곤란), 루이소체 치매(LBD; 루이소체를 동반한 치매(DLB)("순수" 루이소체 치매), 파킨슨병 치매(PDD)), 확산성 루이소체병(DLBD), 산발성 알츠하이머병, APP 돌연변이가 있는 가족성 알츠하이머병, PS-1, PS-2 또는 기타 돌연변이가 있는 가족성 알츠하이머병, 가족성 영국 치매, 알츠하이머병의 루이소체 변종, 및 다운증후군, 다계통 위축(샤이-드래거 증후군, 선조체축질 변성 및 올리보폰토소뇌 위축), 외상성 뇌손상, 만성 외상성 뇌병증, 권투선수 치매, 타우병증(픽병, 전두측두엽 치매, 진행성 핵상 마비, 피질기저핵 변성 및 니만-픽 유형 C1 병, 17번 염색체 관련 파킨슨증을 동반한 전두측두엽 치매), 운동 신경 질환, 헌팅턴병, 근위축성 측삭 경화증(광의 산발성, 가족성 및 ALS-치매의 복합증), 신경축삭 이영양증, 뇌 철분 축적 유형 1을 동반한 신경변성(할리보든-슈페츠 증후군), 프리온병, 크로이츠펔트-야콥병, 모세혈관 확장성 운동실조증, 메이게 증후군, 아급성 경화성 범뇌염, 게르스트만-스트라우슬러-샤인커병, 봉입체 근염, 고셔병, 크라베병을 비롯한 기타 리소좀 축적 장애(쿠포-라케트 증후군 및 산필리포 증후군 포함) 및 급속 안구 운동(REM) 수면 행동 장애로 이루어진 그룹에서 선택되는, 리포좀 백신 조성물, 약제학적 조성물, 또는 키트.

청구항 38

제35항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서,

알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상, 또는 시누클레인병증이 루이소체 및/또는 루이 신경돌기 및/또는 신경교세포질 봉입체, 예컨대 파킨슨병, 다계통 위축, 루이소체 치매(LBD; 루이소체를 동반한 치매(DLB)("순수" 루이소체 치매), 파킨슨병 치매(PDD)), 또는 확산성 루이소체병으로 이루어진 그룹에서 선택되는, 리포좀 백신 조성물, 약제학적 조성물, 또는 키트.

청구항 39

제35항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서,

알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상, 또는 시누클레인병증이 다계통 위축인, 리포좀 백신 조성물, 약제학적 조성물, 또는 키트.

청구항 40

제35항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서,

알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상, 또는 시누클레인병증이 파킨슨병인, 리포좀 백신 조성물, 약제학적 조성물, 또는 키트.

청구항 41

알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상과 관련된 질환의 예방, 치료 및 완화 방법으로서, 청구항 1 내지 청구항 32 중 어느 한 항의 리포좀 백신 조성물 또는 청구항 33의 약제학적 조성물을 대상체에게 투

여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 42

청구항 41에 있어서,

알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상이 시누클레인병증인, 방법.

청구항 43

청구항 41 또는 청구항 42에 있어서,

청구항 1 내지 청구항 32 중 어느 한 항의 리포좀 백신 조성물 또는 청구항 33의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계가 알파-시누클레인 응집체에 대한 면역 반응을 유도하는, 방법.

청구항 44

청구항 41 또는 청구항 42에 있어서,

청구항 1 내지 청구항 32 중 어느 한 항의 리포좀 백신 조성물 또는 청구항 33의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계가 알파-시누클레인 응집체에 대한 보호 면역 반응을 유도하는, 방법.

청구항 45

청구항 41 또는 청구항 42에 있어서,

청구항 1 내지 청구항 32 중 어느 한 항의 리포좀 백신 조성물 또는 청구항 33의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계가 알파-시누클레인 단백질, 바람직하게는 인간 알파-시누클레인 단백질에 대한 면역 반응을 유도하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은, 파킨슨병, 다계통 위축(Multiple System Atrophy), 루이소체 치매(LBD, Lewy Body dementia); 루이소체를 동반한 치매(DLB, dementia with Lewy bodies)("순수(pure)" 루이소체 치매), 파킨슨병 치매(PDD, Parkinson's disease dementia), 또는 확산성 루이소체병(Diffuse Lewy Body Disease)과 같은, 루이소체 및/또는 루이 신경돌기 및/또는 신경교세포질 봉입체(glial cytoplasmic inclusions)를 포함하지만, 이로만 국한되는 것은 아닌, 알파-시누클레인(α -시누클레인, A-시누클레인, a시누클레인, A-syn, α -syn, aSyn, a-syn) 응집체와 관련된 질환, 장애 및 이상을 예방, 완화 및/또는 치료하는데 사용될 수 있는 항-알파-시누클레인 치료 백신에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 많은 퇴행성 질환은 질환의 발병(pathogenesis)뿐 아니라 진행에 기여하는 아밀로이드 또는 아밀로이드 유사 단백질의 세포외 또는 세포내 침착과 연관되어 있다. 세포외 응집체를 형성하는 가장 특징적인 아밀로이드 단백질은 아밀로이드 베타(A β)이다. 주로 세포내 응집체를 형성하는 아밀로이드 유사 단백질에는, 이로만 국한되는 것은 아니지만, 알파-시누클레인, 타우, 및 헌팅틴(htt)이 포함된다.

[0003] aSyn은 일반적으로 시냅스 소포의 막에 결합되어 있거나 세포질에 있는 전시냅스 말단(presynaptic terminals)에 위치하는 14kD 천연 단량체 단백질이다. 이의 본래의 기능은 아직 잘 이해되지 않았으며 시냅스 전달에 관여할 것으로 여겨지고 있다. 발병 진행 동안 aSyn의 미스폴딩 및 응집은 중추신경계(CNS)와 말초신경계에서 발생하며, 이는 아마도 특히 C-말단 프로테아제 절단을 포함한 번역 후 변형의 결과일 수 있다(Dufty 2007, Bassil 2016). 응집은 올리고머, 프로피브릴(profibrils), 및 피브릴과 같은 LB 질환의 발병과 연관된 다양한 aSyn 종의 생성을 유발한다. aSyn의 피브릴 형태는 신경 세포체에 위치한 LB에서 주로 검출된다(Kosaka et al., 1990, Dickson et al., 1989). aSyn의 응집체는 정상교세포에서도 검출될 수 있다(Braak 2007). 피브릴뿐만 아니라 다양한 올리고머 aSyn 종이 질환에 걸린 인간의 뇌에서 발견되었다. 피브릴 aSyn과 달리, 올리고머 응집체는 시냅스를 손상시킬 수 있는 신경 돌기와 전시냅스 말단에 위치할 가능성이 높으며, 그에 따라 올리고머 aSyn

은 세포 세포독성에 기여한다.

[0004] 단량체 aSyn은 다양한 시험관 내 조건에서 다양한 모양, 형태, 세포독성 및 화학적 특성을 갖는 다양한 유형의 응집체를 형성할 수 있는 것으로 드러났다. 단량체의 형태와 사전 베일링(pre-vailing) 허용 조건에 따라, 다양한 구조적 특성을 보유하는, 다양한 유형의 응집체가 발달할 수 있다. 시딩되면, 별개의 aSyn 스트레인(strains)이 수용 세포에 자신의 형태(예를 들어, "피브릴(fibrils)" 또는 "리본(ribbons)")를 각인시키고 "형태적 템플릿화(conformational templating)"라고 불리는 과정에서 동일 스트레인의 응집체를 생성한다. 이들을 랫트의 뇌에 주입하면, 이러한 유형의 응집체는 생체 내에서 봉입체 형성 및 행동 및 신경독성 표현형의 생성 측면에서 다양한 특성을 나타낸다.

[0005] 상이한 유형의 aSyn 응집체가 이들의 구별되는 형태로 인해 상이한 폴리펩타이드 사슬을 노출시키는 것으로 추론된다. 이와 같이 상이하게 노출된 표면은 서로 다른 세트의 분자간 상호작용을 가능케 할 수 있다. 따라서, 해당 aSyn 스트레인의 형태는 시딩 성향이나 특정 세포 유형에 대한 선호도(predilection)와 같은 특성을 지배한다. PD 및 다계통 위축(MSA) 물질에서 추출된 aSyn 스트레인의 다양한 특성을 입증하는 실험 데이터가 출현하고 있으며; PD 또는 MSA 환자의 병리학적 뇌 물질에 대한 분석으로 전달가능한 aSyn 응집체의 다양한 특성이 입증되었다.

[0006] 알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환은 일반적으로 시누클레인병증(또는 α -시누클레인병증, 알파-시누클레인병증)으로 목록화되며, 이들에는, 이로만 국한되는 것은 아니지만, 파킨슨병(PD)이 포함된다. 시누클레인병증에는 파킨슨병(산발성, 알파-시누클레인 돌연변이가 있는 가족성, 알파-시누클레인 이외의 돌연변이가 있는 가족성, 순수 자율신경 부전 및 루이소체 연하곤란(dysphagia)), 루이소체 치매(LBD; 루이소체를 동반한 치매(DLB)("순수" 루이소체 치매), 파킨슨병 치매(PDD)), 확산성 루이소체병(DLBD), 산발성 알츠하이머병, APP 돌연변이가 있는 가족성 알츠하이머병, PS-1, PS-2 또는 기타 돌연변이가 있는 가족성 알츠하이머병, 가족성 영국 치매, 알츠하이머병의 루이소체 변형 및 다운증후군이 포함된다. 알파-시누클레인의 신경세포 및 신경교세포 응집체를 동반한 시누클레인병증에는, 이로만 국한되는 것은 아니지만, 다계통 위축(샤이-드래거(Shy-Drager) 증후군, 선조체축질 변성 및 올리보폰토소뇌 위축(olivopontocerebellar atrophy))이 포함된다. 알파-시누클레인 면역반응성 병변을 가질 수 있는 다른 질병에는 외상성 뇌 손상, 만성 외상성 뇌병증, 권투선수 치매(dementia pugilistica), 타우병증(픽병(Pick's disease), 전두측두엽 치매, 진행성 핵상 마비, 피질기저핵 변성 및 니만-픽 유형 C1병(Niemann-Pick type C1 disease), 염색체 17번 연관 파킨슨병을 동반한 전두측두엽 치매), 운동 신경 질환, 헌팅턴병, 근위축성 측색 경화증(광의 산발성, 가족성 및 ALS-치매의 복합증), 신경축삭 이영양증, 뇌 철 축적 유형 1을 동반한 신경변성(할러보든-슈페츠 증후군(Hallervorden-Spatz syndrome)), 프리온병, 크로이츠펔트-야콥병(Creutzfeldt-Jakob disease), 모세혈관 확장증, 메이게 증후군(Meige's syndrome), 아급성 경화성 범뇌염, 게르스트만-스트라우슬러-샤인커병(Gerstmann-Straussler-Scheinker disease), 봉입체 근염, 고셔병(Gaucher disease), 크라베병(Krabbe disease)을 비롯한 기타 리소좀 축적 장애(쿠포-라케브 증후군(Kufor-Rakeb syndrome) 및 산필리포 증후군(Sanfilippo syndrome) 포함) 및 빠른 안구 운동(REM) 수면 행동 장애가 포함된다(Jellinger, Mov Disord 2003, 18 Suppl. 6, S2-12; Galvin et al., JAMA Neurology 2001, 58 (2), 186-190; Kovari et al., Acta Neuropathol. 2007, 114(3), 295-8; Saito et al., J Neuropathol Exp Neurol. 2004, 63(4), 323-328; McKee et al., Brain, 2013, 136(Pt 1), 43-64; Puschmann et al., Parkinsonism Relat Disord 2012, 18S1, S24-S27; Usenovic et al., J Neurosci. 2012, 32(12), 4240-4246; Winder-Rhodes et al., Mov Disord. 2012, 27(2), 312-315; Ferman et al., J Int Neuropsychol Soc. 2002, 8(7), 907-914; Smith et al., J Pathol. 2014;232:509-521, Lipka et al., Ann Neurol. 1999 Mar;45(3):353-7; Schmitz et al., Mol Neurobiol. 2018 Aug 22; Charles et al., Neurosci Lett. 2000 Jul 28;289(1):29-32; Wilhelmsen et al., Arch Neurol. 2004 Mar;61(3):398-406; Yamaguchi et al., J Neuropathol Exp Neurol. 2004, 80th annual meeting, vol.63; Askanas et al., J Neuropathol Exp Neurol. 2000 Jul;59(7):592-8).

[0007] 파킨슨병(PD)은 시누클레인병증(synucleinopathy)이며 두 번째로 가장 흔한 신경퇴행성 운동 질환이다. PD 유병률은 일반 인구에서 100~200/100,000 사이이고, 60세 이상 인구의 대략 1%에 영향을 미치며 연간 발병률은 약 15/100,000이다. 이는 운동증후군(운동완서, 강직, 휴식시 떨림, 그리고 자세 불안정)과 일반적으로 운동증후군에 선행하는 비운동 증후군(다양한 자율신경 기능장애, 감각 이상, 그리고 정신 이상)의 조합으로 정의되는 만성 진행성 장애이다. 이 질환의 특징은 주로 알파-시누클레인(aSyn)으로 구성되어 있는 루이소체(LB)라고 불리는 필라멘트 단백질 봉입체의 축적을 동반하는, 흑색질(SN)의 도파민성 뉴런의 심각한 손실이다. PD, DLB 및 기타 LB 질환은 다양한 뇌 영역 및 세포 집단에서 aSyn의 축적 및 재분배를 보여준다.

- [0008] MSA는 또 다른 매우 중요한 시누클레인병증이다. MSA는 L-DOPA 저항성 파킨슨증, 소뇌 운동실조, 그리고 자율신경실조의 증상을 특징으로 하는 산발성 신경퇴행성 질환이다. 환자는 선조체, 흑색질, 소뇌, 교뇌뿐만 아니라 하부 올리브(inferior olives) 및 척수를 포함한 다양한 뇌 영역에 영향을 미치는 다중 시스템 신경세포 손실을 앓는다. MSA는 aSyn 양성 신경교 세포질(GCI)과 중추 신경계 전체에 걸쳐 드문 신경 봉입체가 특징이다. 이러한 봉입체는 선조체 흑질 변성, 올리보뇌교소뇌 위축(olivopontocerebellar atrophy), 수질과 척수의 자율핵 침범과 연관되어 있다. MSA의 발병에 대한 GCI의 중요성은 회돌기아교세포에서 aSyn 과발현의 영향을 분석하는 형질 전환 마우스 모델의 최근 분석에 의해 일반적으로 인정되고 강조된다. 인간 aSyn을 과발현하는 tg 마우스에서 GCI 유사 응집체와 MSA의 생화학적 마커가 모두 관찰되었다.
- [0009] DLB는 알츠하이머병(AD)에 이어 서구 사회에서 두 번째로 가장 흔한 유형의 신경퇴행성 치매이다. 이는 임상적으로 진단된 치매의 4~7%를 차지하며, 동일한 수의 사례가 올바른 임상 진단을 받지 못하는 것으로 예상된다. DLB의 진단은 어려운데, 이 질환이 AD와 PD의 "중간(in-between)"으로 나타나고 두 질환(entities)의 중첩되는 특징을 보여주기 때문이다. "가능한 DLB(probable DLB)"를 진단하기 위해 반드시 제시되어야 하는 4가지 임상적 합의 기준은 인지 및 주의력 변동, 반복적인 시각적 환각, REM 수면 행동 장애 및 자발적인 파킨슨병 운동 징후이며, 이는 다른 기준에 비해 이 질환의 후기에 발생한다. 이는 실신 및 무반응의 일시적 에피소드, 무관심, 불안, 우울증, 정신병적 에피소드 및 신경이완제 민감성 등과 같은 발생할 수 있지만 반드시 발생할 필요는 없는 다양한 추가 임상 기준에 의해 뒷받침될 수 있다. 증상은 환자들 간에 일정하지 않다.
- [0010] DLB 병리학은 신경세포의 기능 및 구조의 상실에 역할을 하는 알파 시누클레인(aSyn)으로 주로 구성된 루이소체(LB)라고 불리는 단백질성 봉입체를 특징으로 한다. 그러나, DLB에서는 LB가 피질 전체에 확산적으로 분포되어 있는 것으로 발견되는 반면, PD에서는 흑색질의 도파민성 신경세포에서 주로 발견된다. DLB에서의 LB는 PD의 것보다 경계가 덜 명확하고 호산구성이 적으며 필라멘타성이 적다. 또한, A베타1-A2와 같은 아밀로이드 베타(Abeta)의 카복시 말단 신장 형태를 주로 함유하는 아밀로이드 플라크가 DLB 환자의 뇌에서 발견될 수 있다. 대뇌 피질의 아밀로이드 침착은 하부 측두엽 관류 및 해마 위축 경향과 연관되어 있다.
- [0011] 알파-시누클레인과 관련된 근본적인 신경변성을 개선(modification)할 수 있는 현재 잠재적 치료법은 아직 개발 진행 중이다. 이전에 개발된 aSyn을 표적으로 하는 AFFITOPE®으로, PD01 및 PD03을 이용한 백신접종은 aSyn 응집 장애의 다양한 동물 모델에서 효능이 입증되었으며, aSyn 병리 현상을 줄이고 신경염증을 방지할 뿐 아니라 행동 결함을 개선했다(Mandler et al. 2014; WO 2009/103105 A1, WO 2011/020133 A1, WO 2017/076873 A1). 이들 펩타이드는 인간에서 표적 특이적 항체를 유도할 수 있는 안전하고 내약성이 양호한 백신인 것으로 밝혀졌다. 능동 면역요법을 표적으로 하는 또 다른 알파 시누클레인인 UB-312는 인간 알파 시누클레인 형질전환 마우스 모델에서 테스트되었으며 뇌와 장에서 알파 시누클레인의 축적을 감소시키는 것으로 나타났다. 이는 치료된 동물의 운동 능력 향상을 동반했다(Nimmo JT et al., 2022 Acta Neuropathol, Jan;143(1):55-73). UB-312는 현재 1/2상 임상 시험에서 테스트 중이다. 이 연구는 건강한 참가자와 PD 및 MSA 환자에서 UB-312의 안전성, 내약성 및 면역원성을 결정할 것이다(Fleming SM et al., 2022, Neuropharmacology 202).
- [0012] 현재까지 시중에는 알파-시누클레인 관련 질환을 예방 및/또는 치료하기 위해 승인된 항-알파-시누클레인 백신이 없다. 따라서 이들 질환을 예방 및/또는 치료할 수 있는 새로운 치료용 백신 조성물을 확인하는 것이 바람직할 수 있다.

발명의 내용

- [0013] **설명**
- [0014] 본 발명자들은 항원성 펩타이드를 포함하는 백신 조성물을 설계했으며, 이것은 본 명세서에서 고도로 면역원성이고 말초에서 다량의 aSyn-특이적 항체를 유도하는 것으로 나타났다. 백신 조성물은 올리고클론 항체 반응으로 인해 유도된 항체의 표적 결합을 증가시킬 것으로 예측된다.
- [0015] 하나의 일반적인 양태에서, 본 발명은 리포솜의 표면에 제시되는 항원성 펩타이드 및 아주번트(adjuvant)를 포함하는 리포솜 조성물에 관한 것이며, 여기서 항원성 펩타이드는 다음 구조를 갖는다:
- [0016] $X_1-X_2-X_3-E-X_4-X_5-P-V-D-P-D-N-E-X_6$,
- [0017] 여기서:
- [0018] E는 글루탐산이고, P는 프롤린이고; V는 발린이고, D는 아스파르트산이고, N은 아스파라긴이고;

- [0019] X_1 은 존재하거나 부재하며, 존재하는 경우, G이고, 여기서 G는 글리신이고;
- [0020] X_2 는 존재하거나 부재하며, 존재하는 경우, I 또는 G이고, 여기서 I는 이소류신이고, G는 상기 정의한 바와 같고;
- [0021] X_3 는 L, K 또는 S이고, 여기서 L은 류신이고, K는 리신이고, S는 세린이고;
- [0022] X_4 는 D, K 또는 S이고, 여기서 D, K 및 S는 상기 정의한 바와 같고;
- [0023] X_5 는 M이고, 여기서 M은 메티오닌 또는 메티오닌 설폭사이드이고;
- [0024] X_6 는 A, K 또는 S이고, 여기서 A는 알라닌이고, K 및 S는 상기 정의한 바와 같다.
- [0025] 본 명세서에서는 당업계에서 일반적으로 공지된 단일 문자 아미노산 코드가 사용된다.
- [0026] 한 양태에서, 본 발명은 리포솜의 표면에 제시되는 항원성 펩타이드 및 아ジュ번트를 포함하는 리포솜 백신 조성물을 제공하며, 여기서 항원성 펩타이드는 하기 구조를 갖는다:
- [0027] X_1 - X_2 -L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A
- [0028] 여기서:
- [0029] L은 류신이고, E는 글루탐산이고, M은 메티오닌 또는 메티오닌 설폭사이드이고, P는 프롤린이고; V는 발린이고, D는 아스파르트산이고, N은 아스파라긴이고, A는 알라닌이고;
- [0030] X_1 은 존재하거나 부재하며, 존재하는 경우, G이고, 여기서 G는 글리신이고;
- [0031] X_2 는 존재하거나 부재하며, 존재하는 경우, I 또는 G이고, 여기서 I는 이소류신이고 G는 상기 정의한 바와 같다.
- [0032] 한 실시형태에서, 본 발명은 리포솜의 표면에 제시되는 항원성 펩타이드 및 아ジュ번트를 포함하는 리포솜 백신 조성물에 관한 것이며, 여기서 항원성 펩타이드는 아미노산 서열 G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A(서열번호 1)을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성된다. 따라서, 한 양태에서 본 발명은 리포솜 백신 조성물에서의 천연 aSyn-펩타이드(서열번호 28을 참조하여, 아미노산 위치 111-124)의 사용을 포함한다.
- [0033] 한 실시형태에서, 본 발명은 리포솜의 표면에 제시되는 항원성 펩타이드 및 아ジュ번트를 포함하는 리포솜 백신 조성물에 관한 것이며, 여기서 항원성 펩타이드는 아미노산 서열 L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A(서열번호 38)을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성된다. 따라서, 또 다른 양태에서 본 발명은 리포솜 백신 조성물에서의 천연 aSyn-펩타이드(서열번호 28을 참조하여, 아미노산 위치 113-124)의 사용을 포함한다.
- [0034] 리포솜 백신 조성물의 항원성 펩타이드는 아미노산 서열 G-G-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A(서열번호 45)를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성될 수 있다. 따라서, 본 발명은 아미노산 위치 112에서 하나의 I에서 G로의 치환을 갖는 aSyn-펩타이드(아미노산 위치 111-124)의 사용을 포함할 수 있으며, 여기서 X_2 는 G이므로 리포솜 백신 조성물의 aSyn-펩타이드는 다음의 아미노산 서열을 갖는다: G-G-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A(서열번호 45).
- [0035] 항원성 펩타이드는 선택적으로 아미노산 서열 G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A와 비교하여 1 내지 2개의 아미노산 차이(즉, 1, 2개의 차이)를 포함할 수 있다. 이 차이는 일반적으로 각 위치에 대해 설정된 옵션에 따른 아미노산 치환이다. 이들 차이는 임의의 아미노산 X_1 - X_2 중에서 선택될 수 있다. X_1 및/또는 X_2 가 부재하면 차이가 있는 것으로 간주된다. 예를 들어, 서열번호 38은 위치 X_1 및 X_2 에 아미노산이 결여되어 있어 서열번호 1과 비교하여 2개의 차이를 나타내고, 서열번호 45는 위치 X_2 에 아미노산 치환을 나타내며(여기서 I는 G로 치환됨), 그에 따라 아미노산 서열 G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A와 비교하여 1개의 차이가 나타난다.
- [0036] 일부 실시형태에서, 아미노산 서열: 서열번호 1, 서열번호 38 또는 서열번호 45을 포함하는, 리포솜 백신 조성물의 항원성 펩타이드는 알라닌 잔기 바로 다음에(즉, X_6 위치에 있는) 디펩타이드 Y-E를 포함하지 않으며, 여기서 Y는 티로신이고 E는 글루탐산이다.

- [0037] 전형적으로, 본 발명의 리포솜 백신 조성물에 포함된 항원성 펩타이드는 서열번호 1 또는 서열번호 38의 알라닌 다음에 추가적인 알파 시누클레인 아미노산 잔기를 추가로 포함하지 않는다. 특히, 이들은 알라닌 바로 다음에 디펩타이드 Y-E를 포함하지 않는다.
- [0038] 리포솜 백신 조성물의 항원성 펩타이드는 서열번호 1, 서열번호 38 또는 서열번호 45로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 구성되거나, 이로 필수적으로 구성될 수 있다. 그러나 항원성 펩타이드는 제한된 수의 추가 N 및/또는 C 말단 아미노산 잔기를 포함하여 (펩타이드 항원이 리포솜의 표면에 제시되도록 하는 방식으로) 항원성 펩타이드가 리포솜에 삽입될 수 있도록 할 수 있다. 예를 들어, 항원성 펩타이드는 팔미토일화를 촉진하기 위해 리신 잔기와 같은 추가 잔기를 포함할 수 있다. 이러한 잔기는 일반적으로 항원성 펩타이드 서열의 N 및/또는 C 말단에서 발견된다. 일부 실시형태에서, N 및/또는 C 말단에 1-4개의 리신 잔기가 부가될 수 있고, 바람직하게는 N 및 C 말단에 2개의 리신 잔기가 부가될 수 있다.
- [0039] 이러한 맥락에서, 용어 "필수적으로 구성된다(consists essentially of)"는 알파-시누클레인 유래 펩타이드 항원이 알파-시누클레인(서열번호 28)의 위치 111 또는 113에서 시작하여 10 내지 14개의 연속(contiguous) 아미노산을 포함하지만, 리포솜 표면에 제시를 촉진하기 위해 2 내지 4개의 리신 잔기와 같은 제한된 수의 추가 잔기를 포함할 수 있다는 것을 의미한다.
- [0040] 본 발명의 리포솜 조성물에 포함된 아미노산 서열인 서열번호 1, 서열번호 38 또는 서열번호 45를 포함하거나, 이로 구성되거나, 이로 필수적으로 구성되는 펩타이드 항원은 적어도 하나의 화학적 변형을 추가로 포함할 수 있다. 아미드화, 에스테르화, 팔미토일화, 포르밀화, 아세틸화, 기타 화학적 치환 등과 같은 변형은 펩타이드 또는 그 측쇄의 유리 C-말단(또는 N-말단) 단부(end)에 이루어질 수 있다. 이러한 변형은 별도로 명시되지 않더라도 본 명세서에서 사용된 "필수적으로 구성되는(consisting essentially of)"이라는 용어의 범위 내에 있다. 팔미토일화는 중화 항체 생산에 도움이 되는 구조적 배열로 있도록 하는, 리포솜 표면의 펩타이드 항원 제시를 촉진하는 바람직한 변형이다.
- [0041] 본 발명의 실시형태는 이제 아래 번호매겨진 항목을 참조하여 정의될 것이다.
- [0042] 1. 리포솜 백신 조성물로서,
- [0043] 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;
- [0044] T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및
- [0045] 아쥬번트;
- [0046] 를 포함하고,
- [0047] 여기서 펩타이드 항원은 다음 구조를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되며:
- [0048] X_1 - X_2 -L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A,
- [0049] 여기서:
- [0050] L은 류신이고, E는 글루탐산이고, M은 메티오닌 또는 메티오닌 설펍사이드이고, P는 프롤린이고; V는 발린이고, D는 아스파르트산이고, N은 아스파라긴이고, A는 알라닌이고;
- [0051] X_1 은 존재하거나 부재하며, 존재하는 경우, G이고, 여기서 G는 글리신이고;
- [0052] X_2 는 존재하거나 부재하며, 존재하는 경우, I 또는 G이고, 여기서 I는 이소류신이고 G는 상기 정의한 바와 같고, .
- [0053] 상기 펩타이드 항원은 A 바로 다음에 디펩타이드 Y-E를 포함하지 않으며, 여기서 Y는 티로신이고 E는 상기 정의한 바와 같은, 리포솜 백신 조성물,
- [0054] 2. 항목 1에 있어서, X_1 및 X_2 가 존재하는, 리포솜 조성물.
- [0055] 3. 항목 1에 있어서, X_1 및 X_2 가 부재하는, 리포솜 조성물.
- [0056] 4. 항목 1 또는 항목 2에 있어서, X_2 가 I인, 리포솜 조성물.
- [0057] 5. 항목 1에 있어서, 펩타이드 항원이 G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A(서열번호 1), L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-

E-A(서열번호 38) 및 G-G-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A(서열번호 45)로 이루어진 그룹에서 선택되는, 리포솜 조성물.

- [0058] 6. 항목 1 내지 항목 5 중 어느 한 항목에 있어서, M이 메티오닌 설펍사이드인, 리포솜 조성물.
- [0059] 7. 항목 1 내지 항목 6 중 어느 한 항목에 있어서, 펩타이드 항원이 적어도 하나의 화학적 변형을 추가로 포함하는, 리포솜 백신 조성물.
- [0060] 8. 항목 1 내지 항목 7 중 어느 한 항목에 있어서, 펩타이드 항원의 한쪽 또는 양쪽 말단이 적어도 하나의 아르기닌 I 또는 글루탐산 I 잔기를 추가로 포함하는, 리포솜 백신 조성물.
- [0061] 9. 항목 1 내지 항목 8 중 어느 한 항목에 있어서, 펩타이드 항원의 한쪽 또는 양쪽 말단이 적어도 3개의 아르기닌 I 또는 글루탐산 I 잔기를 추가로 포함하는, 리포솜 백신 조성물.
- [0062] 10. 항목 1 내지 항목 9 중 어느 한 항목에 있어서, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드가 서열번호 35(PaDre), 서열번호 36(P2), 서열번호 37(P30), 서열번호 21(SAT13), 서열번호 22(SAT15), 서열번호 23(SAT17), 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 그룹에서 선택되는 적어도 하나의 아미노산 서열을 포함하는, 리포솜 백신 조성물.
- [0063] 11. 항목 1 내지 항목 10 중 어느 한 항목에 있어서, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드가 서열번호 29(SAT42), 서열번호 30(SAT43), 서열번호 31(SAT44), 서열번호 32(SAT47), 서열번호 35(PaDre), 서열번호 36(P2) 및 서열번호 37 (P30)로 이루어진 그룹에서 선택된 아미노산 서열 또는 이의 근접 서열 유사체(close sequence analogue)을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜 백신 조성물.
- [0064] 12. 항목 1 내지 항목 11 중 어느 한 항목에 있어서, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드가 서열번호 32(SAT47)의 아미노산 서열 또는 이의 근접 서열 유사체를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜 백신 조성물.
- [0065] 13. 항목 1 내지 항목 12 중 어느 한 항목에 있어서, 아쥬번트가 톨-유사 수용체 4 리간드 및/또는 톨-유사 수용체 9 리간드를 포함하는, 리포솜 백신 조성물.
- [0066] 14. 항목 13에 있어서, 톨-유사 수용체 4 리간드가 모노포스포릴 지질 A(MPLA)를 포함하고/하거나 톨-유사 수용체 9 리간드가 CpG를 포함하는, 리포솜 백신 조성물.
- [0067] 15. 항목 1 내지 항목 14 중 어느 한 항목에 있어서, 아쥬번트가 모노포스포릴 지질 A(MPLA)를 포함하는, 리포솜 백신 조성물.
- [0068] 16. 항목 1 내지 항목 15 중 어느 한 항목에 있어서, 아쥬번트가 CpG를 추가로 포함하는, 리포솜 백신 조성물.
- [0069] 17. 항목 1 내지 항목 16 중 어느 한 항목에 있어서, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드가 리포솜에 캡슐화되는, 리포솜 백신 조성물.
- [0070] 18. 리포솜 백신 조성물로서,
- [0071] G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A(서열번호 1), L-E-D-M-P-D-P-D-N-E-A(서열번호 38) 및 G-G-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A(서열번호 45)로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 리포솜의 표면에 제시되는 펩티드 항원; 및
- [0072] 서열번호 32(SAT47)의 아미노산 서열 또는 이의 근접 서열 유사체를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 T-세포 에피토프를 포함하는 펩티드;
- [0073] 아쥬번트, 여기서 아쥬번트는 톨-유사 수용체 4 리간드를 포함하고; 여기서 톨-유사 수용체 4 리간드는 모노포스포릴 지질 A(MPLA)를 포함하는 것임,
- [0074] 을 포함하는, 리포솜 백신 조성물.
- [0075] 19. 항목 18에 있어서, 펩타이드 항원이 아미노산 서열 G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A(서열번호 1)을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜 백신 조성물.
- [0076] 20. 항목 18에 있어서, 펩타이드 항원이 아미노산 서열 L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A(서열번호 38)을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜 백신 조성물.

- [0077] 21. 항목 1 내지 항목 20 중 어느 하나의 항목의 리포좀 백신 조성물, 및 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제 및/또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물.
- [0078] 22. 항목 1 내지 항목 20 중 어느 하나의 항목에 정의된 리포좀 백신 조성물 또는 항목 21의 약제학적 조성물 및 용기를 포함하는 키트.
- [0079] 23. 항목 1 내지 20 중 어느 하나의 항목, 또는 항목 21, 또는 항목 22에 있어서, 알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한, 리포좀 백신 조성물, 약제학적 조성물, 또는 키트.
- [0080] 24. 항목 23에 있어서, 알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상이 시누클레인병증인, 리포좀 백신 조성물, 약제학적 조성물 또는 키트.
- [0081] 25. 항목 23 또는 24에 있어서, 알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상 또는 또는 시누클레인병증이 파킨슨병(산발성, 알파-시누클레인 돌연변이가 있는 가족성, 알파-시누클레인 이외의 돌연변이가 있는 가족성, 순수 자율신경 부전 및 루이소체 연하곤란), 루이소체 치매(LBD; 루이소체를 동반한 치매(DLB)("순수" 루이소체 치매), 파킨슨병 치매(PDD)), 확산성 루이소체병(DLBD), 산발성 알츠하이머병, APP 돌연변이가 있는 가족성 알츠하이머병, PS-1, PS-2 또는 기타 돌연변이가 있는 가족성 알츠하이머병, 가족성 영국 치매, 알츠하이머병의 루이소체 변종, 및 다운증후군, 다계통 위축(샤이-드래거(Shy-Drager) 증후군, 선조체흑질 변성 및 올리보폰토소뇌 위축), 외상성 뇌손상, 만성 외상성 뇌병증, 권투선수 치매, 타우병증(픽병, 전두측두엽 치매, 진행성 핵상 마비, 피질기저핵 변성 및 니만-픽 유형 C1병, 17번 염색체 관련 파킨슨증을 동반한 전두측두엽 치매), 운동 신경 질환, 헌팅턴병, 근위축성 측삭 경화증(팜의 산발성, 가족성 및 ALS-치매의 복합증), 신경축삭 이영양증, 뇌 철분 축적 유형 1을 동반한 신경변성(할리보든-슈페츠 증후군), 프리온병, 크로이츠펠트-야콥병, 모세혈관 확장성 운동실조증, 메이게 증후군, 아급성 경화성 범뇌염, 게르스트만-스트라우슬러-샤인커병, 봉입체 근염, 고서병, 크라베병을 비롯한 기타 리소좀 축적 장애(쿠포-라케트 증후군 및 산필리포 증후군 포함) 및 급속 안구 운동(REM) 수면 행동 장애로 이루어진 그룹에서 선택되는, 리포좀 백신 조성물, 약제학적 조성물, 또는 키트.
- [0082] 26. 항목 23 내지 항목 25 중 어느 한 항목에 있어서, 알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상 또는 시누클레인병증이 루이소체 및/또는 루이 신경돌기 및/또는 신경교세포질 봉입체, 예컨대 파킨슨병, 다계통 위축, 루이소체 치매(LBD; 루이소체를 동반한 치매(DLB)("순수" 루이소체 치매), 파킨슨병 치매(PDD)), 또는 확산성 루이소체병으로 이루어진 그룹에서 선택되는, 리포좀 백신 조성물, 약제학적 조성물, 또는 키트.
- [0083] 27. 항목 23 내지 항목 26 중 어느 한 항목에 있어서, 알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상 또는 시누클레인병증이 다계통 위축인, 리포좀 백신 조성물, 약제학적 조성물 또는 키트.
- [0084] 28. 항목 23 내지 항목 26 중 어느 한 항목에 있어서, 알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상 또는 시누클레인병증이 파킨슨병인, 리포좀 백신 조성물, 약제학적 조성물 또는 키트.
- [0085] 29. 알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상과 관련된 질환의 예방, 치료 및 완화 방법으로서, 상기 방법은 항목 1 내지 항목 20 중 어느 하나의 항목의 리포좀 백신 조성물 또는 항목 21의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0086] 30. 항목 29에 있어서, 알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상이 시누클레인병증인, 방법.
- [0087] 31. 항목 29 또는 항목 30에 있어서, 항목 1 내지 항목 20 중 어느 하나의 항목의 리포좀 백신 조성물 또는 항목 21의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계가 알파-시누클레인 응집체에 대한 보호 면역 반응을 유도하는, 방법.
- [0088] 한 양태에서, 본 발명은 리포좀의 표면에 제시되는 항원성 펩타이드 및 아주번트를 포함하는 리포좀 조성물에 관한 것이며, 여기서 항원성 펩타이드는 하기 구조를 갖는다:
- [0089] $X_1-X_2-X_3-E-X_4-X_5-P-V-D-P-D-N-E-X_6$,
- [0090] 여기서:
- [0091] E는 글루탐산이고, P는 프롤린이고; V는 발린이고, D는 아스파르트산이고, N은 아스파라긴이고;
- [0092] X_1 은 존재하거나 부재하며, 존재하는 경우, G이고, 여기서 G는 글리신이고;

- [0093] X_2 는 존재하거나 부재하며, 존재하는 경우, I 또는 G이고, 여기서 I는 이소류신이고, G는 상기 정의한 바와 같고;
- [0094] X_3 는 L, K 또는 S이고, 여기서 L은 류신, K는 리신, S는 세린이고;
- [0095] X_4 는 D, K 또는 S이고, 여기서 D, K 및 S는 상기 정의한 바와 같고;
- [0096] X_5 는 M이고, 여기서 M은 메티오닌 또는 메티오닌 설폭사이드이고;
- [0097] X_6 는 A, K 또는 S이고, 여기서 A는 알라닌이고, K 및 S는 상기 정의한 바와 같다.
- [0098] 이 펩타이드 서열과 비교하여 펩타이드가 변형되는 것이 바람직하다. 이러한 펩타이드는 강력한 항- α Syn 항체 반응을 유도할 수 있으며 유도된 항체는 이러한 펩타이드가 천연 서열과 다른 서열을 가지고 있음에도 불구하고 인간 α Syn과 높은 교차 반응성을 나타낸다. 천연 서열을 이용한 반응(즉, 동일한 천연 구조를 표적으로 삼음)보다 우수한 면역 반응이 본 발명에 따른 펩타이드를 이용하여 달성되었다. 따라서, 본 발명은 다음을 포함하는 리포솜 백신 조성물에 관한 것이다:
- [0099] 리포솜의 표면에 제시되는 항원성 펩타이드;
- [0100] 및 아쥬번트;
- [0101] 여기서 항원성 펩타이드는 다음 구조를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되며:
- [0102] X_1 - X_2 - X_3 -E- X_4 - X_5 -P-V-D-P-D-N-E- X_6 ,
- [0103] 여기서:
- [0104] E는 글루탐산이고, P는 프롤린이고; V는 발린이고, D는 아스파르트산이고, N은 아스파라긴이고,
- [0105] X_1 은 존재하거나 부재하며, 존재하는 경우, G이고, 여기서 G는 글리신이고;
- [0106] X_2 는 존재하거나 부재하며, 존재하는 경우, G이고, 여기서 G는 위와 같이 정의되고;
- [0107] X_3 는 L, K 또는 S이고, 여기서 L은 류신이고, K는 리신이고, S는 세린이고;
- [0108] X_4 는 D, K 또는 S이고, 여기서 D, K 및 S는 상기 정의한 바와 같고;
- [0109] X_5 는 M이고, 여기서 M은 메티오닌 또는 메티오닌 설폭사이드이고;
- [0110] X_6 는 A, K 또는 S이고, 여기서 A는 알라닌이고, K 및 S는 상기 정의한 바와 같고;
- [0111] 단, X_3 -E- X_4 - X_5 -P-V-D-P-D-N-E- X_6 는 L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A가 아니고, 여기서 항원성 펩타이드는 X_6 바로 다음에 디펩타이드 Y-E를 포함하지 않으며, 여기서 Y는 티로신이고 E는 상기 정의한 바와 같다. 따라서, 본 명세서에서는 일반적으로 단일 문자 아미노산 코드가 사용된다.
- [0112] 본 명세서에 기재된 항원성 펩타이드는 아미노산 서열 G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A와 비교하여 1 내지 5개의 아미노산 차이(즉, 1, 2, 3, 4 또는 5개의 차이) 또는 바람직하게는 1 내지 4개의 아미노산 차이를 포함할 수 있다. 차이는 일반적으로 각 위치에 대해 설정된 옵션에 따른 아미노산 치환이다. 그러나 일부 실시형태에서는 X_6 가 결실된다. 아미노산 서열 G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A(서열번호 1, 서열번호 28의 아미노산 111-124의 야생형 알파 시누클레인 서열)과 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 차이가 있는 것이 더욱 바람직하다. 이들 차이는 임의의 아미노산 X_1 - X_6 중에서 선택될 수 있다. 일부 실시형태에서, 항원성 펩타이드는 아미노산 서열 G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A와 비교하여 X_1 , X_2 , X_3 , X_4 , X_5 및 X_6 로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 아미노산 차이를 포함한다. X_1 , X_2 및/또는 X_6 가 없으면 차이인 것으로 간주된다.
- [0113] 메티오닌은 자연적으로 발생하는 아미노산이다. 황 함유 아미노산인 메티오닌과 시스테인은 다른 아미노산보다 더 쉽게 산화된다. 메티오닌의 황이 산화되면 메티오닌 설폭사이드 또는 메티오닌 설폰이 생성된다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 리포솜 조성물의 항원성 펩타이드는 산화된 형태의 메티오닌 설폭사이드의 메티오닌을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 리포솜 조성물은 메티오닌 설폭사이드를 포함하는 항원성 펩타이드를 포함

한다. 한 실시형태에서, X_5 는 메티오닌 또는 메티오닌 술폰시드이다. 한 실시형태에서 X_5 는 메티오닌이다. 다른 실시형태에서, X_5 는 메티오닌 설폰사이드이다.

[0114] 본 발명의 리포솜 조성물은 면역원으로 사용될 때 aSyn-특이적 항체를 생성하는 능력을 유지하는 항원성 펩타이드를 포함한다. 더욱이, 본 발명의 항원성 펩타이드는 본 명세서의 비교 실험에서 입증된 바와 같이, aSyn 특이적 항체 생성 측면에서 상응하는 야생형 aSyn 펩타이드(14량체 G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A(서열번호 1) 포함)에 비해 면역원성이 더 높다(실시예 2). 이들은 또한 aSyn의 C 말단 영역의 다른 aSyn 펩타이드보다 면역원성이 더 높다(아래 표 2 및 4 참조).

[0115] 본 발명의 리포솜 백신 조성물에 포함된 항원성 펩타이드는 일반적으로 X_6 다음에 알파 시누클레인 아미노산 잔기를 추가로 포함하지 않는다. 특히 이들은 X_6 바로 다음의 디펩타이드 Y-E를 포함하지 않는다. 본 명세서에 기술된 바와 같이 아미노산 Y_{125} 및 E_{126} 을 포함하는 펩타이드는 인실리코(*in silico*) 분석에 의해 MHC I의 다양한 대립유전자 변이체에 높은 친화도로 결합하여 잠재적인 aSyn 특이적 세포독성 T-세포 에피토프를 나타낼 것으로 예측된다(www.syfpeithi.de). 따라서, MHC I의 다양한 대립유전자 변이체에 높은 친화력으로 결합할 수 있어 잠재적인 세포독성 T-세포 에피토프가 될 수 있는, 아미노산 연장은 (예를 들어, WO 2005/108423 A1에 개시된 용합 단백질과 대조적으로) aSyn의 천연 아미노산 서열, 즉 구체적으로 Tyr₁₂₅ 및 Glu₁₂₆을 나타내는 C-말단에 존재하지 않아야 한다. 따라서, Y 아미노산 잔기 또는 YE 디펩타이드 사슬은 펩타이드의 C-말단 단부에 존재하지 않아야 하며, 여기서 Y는 티로신이고 E는 상기 정의한 바와 같다.

[0116] 그러나, 리포솜 백신 조성물에 포함된 항원성 펩타이드는 제한된 수의 추가 N 말단 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 항원성 펩타이드는 추가적으로 또는 대안적으로 항원성 펩타이드가 리포솜 내로 삽입되도록 (펩타이드 항원이 리포솜의 표면에 제시되도록 허용하는 방식으로) 제한된 수의 추가 C 말단 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 예를 들어, 펩타이드는 팔미토일화를 촉진하기 위해 리신 잔기와 같은 추가 잔기를 포함할 수 있다. 이러한 잔기는 일반적으로 펩타이드의 N 및/또는 C 말단에서 발견된다. 일부 실시형태에서, N 및/또는 C 말단에 1-4개의 리신 잔기가 부가될 수 있고, 바람직하게는 N 또는 C 말단에 2개의 리신 잔기가 부가되거나, 바람직하게는 N 및 C 말단에 2개의 리신 잔기가 부가될 수 있다. 이러한 맥락에서, 용어 "필수적으로 구성된다(*consists essentially of*)"는 알파-시누클레인 유래 펩타이드 항원이 알파-시누클레인(서열번호 28)의 위치 111 또는 113에서 시작하여 10 내지 14개의 연속 아미노산을 포함하지만, 리포솜 표면에 제시를 촉진하기 위해 2 내지 4개의 리신 잔기와 같은 제한된 수의 추가 잔기를 포함할 수 있다는 것을 의미한다.

[0117] 본 발명의 일부 실시형태에서, 펩타이드 항원의 한쪽 또는 양쪽 말단은 알파-시누클레인 단백질 서열로부터 유래되지 않고 오히려 펩타이드의 특성을 변형시키도록 설계된 추가 잔기를 포함할 수 있다. 본 발명의 일부 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드 항원은 적어도 하나의 아미노산, 선택적으로 아르기닌(R) 또는 글루탐산(E)을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 패치(patch)를 추가로 포함한다. 본 발명의 일부 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드 항원은 적어도 3개의 아미노산, 임의로 아르기닌(R) 또는 글루탐산(E)을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 패치를 추가로 포함한다. 이러한 서열을 패치라고 지칭한다. 예를 들어, 이들은 3개(RRR) 내지 8개(RRRRRRRR)의 아르기닌으로 구성된 반복 아르기닌(R) 서열 또는 3(EEE)개 내지 8(EEEEEEEE)개의 글루탐산으로 구성된 반복 글루탐산(E) 서열과 같은 서열로 구성될 수 있다.

[0118] 따라서 본 발명의 항원성 펩타이드는 일반적으로 길이가 11-22개 아미노산, 바람직하게는 12-14개 아미노산 길이(즉, 12, 13 또는 14개 아미노산 길이)이다. 항원성 펩타이드의 길이가 12개 또는 14개 아미노산인 것이 특히 바람직하다. 리포솜 백신 조성물의 항원성 펩타이드는 T 세포 반응이 없을 때 항체 반응을 생성한다. 따라서, 본 발명의 항원성 펩타이드 자체는 일반적으로 T-세포 에피토프, 특히 세포독성 T-세포 에피토프를 함유하지 않는다.

[0119] 본 명세서에 기술된 항원성 펩타이드를 포함하는 본 발명의 리포솜 백신 조성물은 고도의 면역원성을 나타낼 것으로 예상되며, 유도된 항체 반응은 낮은 환자간(patient-to-patient) 변동성을 나타낼 것으로 예상된다. 또한, 팔미토일화된 펩타이드가 도입된 본 발명의 리포솜 백신 조성물은 또한 β -시트 형태의 알파-시누클레인 서열에 대한 항체를 우선적으로 생성하여, 병리학적 및/또는 응집된 aSyn 종에 대한 증가된 친화성을 나타낼 수 있다. 리포솜 제제에서와 같은, 주기적인 펩타이드 배열은 매우 효과적인 방식으로 B 세포의 면역글로불린 항원 수용체를 가교시켜 항체 생산에 대한 강력한 자극을 제공하는 것으로 알려져 있다(Pihlgren et al., 2013).

[0120] 한 실시형태에서, 리포솜의 표면 상에 제시된 항원성 펩타이드를 포함하는 리포솜 조성물이 제공되며, 여기서

항원성 펩타이드는 다음 구조를 갖는다:

- [0121] $X_1-X_2-X_3-E-X_4-X_5-P-V-D-P-D-N-E-X_6$,
- [0122] 여기서:
- [0123] E는 글루탐산이고, P는 프롤린이고; V는 발린이고, D는 아스파르트산이고, N은 아스파라긴이고;
- [0124] X_1 은 존재하거나 부재하며, 존재하는 경우, G이고, 여기서 G는 글리신이고;
- [0125] X_2 는 존재하거나 부재하며, 존재하는 경우, I 또는 G이고, 여기서 I는 이소류신이고, G는 상기 정의한 바와 같고;
- [0126] X_3 는 L, K, 또는 S이고, 여기서 L은 류신이고, K는 리신이고, S는 세린이고;
- [0127] X_4 는 D, K 또는 S이고, 여기서 D, K 및 S는 상기 정의한 바와 같고;
- [0128] X_5 는 M이고, 여기서 M은 메티오닌 또는 메티오닌 설폭사이드이고;
- [0129] X_6 는 A, K 또는 S이고, 여기서 A는 알라닌이고, K 및 S는 상기 정의한 바와 같다.
- [0130] 한 실시형태에서, 리포좀의 표면 상에 제시된 항원성 펩타이드를 포함하는 리포좀 조성물이 제공되며, 여기서 항원성 펩타이드는 다음 구조를 갖는다:
- [0131] $X_1-X_2-X_3-E-X_4-X_5-P-V-D-P-D-N-E-X_6$,
- [0132] 여기서:
- [0133] E는 글루탐산이고, P는 프롤린이고; V는 발린이고, D는 아스파르트산이고, N은 아스파라긴이고;
- [0134] X_1 은 존재하거나 부재하며, 존재하는 경우, G이고, 여기서 G는 글리신이고;
- [0135] X_2 는 존재하거나 부재하며, 존재하는 경우, G이고, 여기서 G는 위와 같이 정의되고;
- [0136] X_3 는 L, K, 또는 S이고, 여기서 L은 류신이고, K는 리신이고, S는 세린이고;
- [0137] X_4 는 D, K 또는 S이고, 여기서 D, K 및 S는 상기 정의한 바와 같고;
- [0138] X_5 는 M이고, 여기서 M은 메티오닌 또는 메티오닌 설폭사이드이고;
- [0139] X_6 는 A, K 또는 S이고, 여기서 A는 알라닌이고, K 및 S는 상기 정의한 바와 같고;
- [0140] 단, $X_3-E-X_4-M-P-V-D-P-D-N-E-X_6$ 는 $L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A$ 가 아니다.
- [0141] 일부 실시형태에서, X_1 및 X_2 는 부재한다. 특정 실시형태에서, 본 발명은 다음 구조를 갖는 항원성 펩타이드를 포함하는 리포좀 조성물에 관한 것이다:
- [0142] $X_3-E-X_4-X_5-P-V-D-P-D-N-E-X_6$,
- [0143] 여기서:
- [0144] E는 글루탐산이고, P는 프롤린이고; V는 발린이고, D는 아스파르트산이고, N은 아스파라긴이고;
- [0145] X_3 는 L, K, 또는 S이고, 여기서 L은 류신이고, K는 리신이고, S는 세린이고;
- [0146] X_4 는 D, K 또는 S이고, 여기서 D, K 및 S는 상기 정의한 바와 같고;
- [0147] X_5 는 M이고, 여기서 M은 메티오닌, 또는 메티오닌 설폭사이드이고;
- [0148] X_6 는 A, K 또는 S이고, 여기서 A는 알라닌이고, K 및 S는 상기 정의한 바와 같고;

- [0149] 단, X_3 -E- X_4 - X_5 -P-V-D-P-D-N-E- X_6 는 L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A가 아니다.
- [0150] 일부 실시형태에서, X_1 은 존재하고 G이다. 일부 실시형태에서, X_2 는 존재하고 G이다. 일부 실시형태에서, X_1 이 존재하는 경우, X_2 는 존재하고 X_2 는 G이다. 일부 실시형태에서 X_3 는 L, K 또는 S이다. 일부 실시형태에서 X_4 는 D, S 또는 K이다. 일부 실시형태에서 X_5 는 메티오닌 또는 메티오닌 설펍사이드, 바람직하게는 메티오닌 설펍사이드이다. 일부 실시형태에서, X_6 는 A, K 또는 S이다.
- [0151] 일부 실시형태에서, X_1 , X_2 가 존재하고 각각 G이고, X_3 는 K이다.
- [0152] 일부 실시형태에서, X_1 , X_2 가 존재하고 각각 G이고, X_3 는 K이고, X_6 는 A이다.
- [0153] 바람직한 실시형태에서, X_1 , X_2 가 존재하고 각각 G이고, X_3 는 K이고, X_4 는 S이고, X_6 는 A이다. 바람직한 실시형태에서, X_1 , X_2 가 존재하고 각각 G이고, X_3 는 K이고, X_4 는 D이고, X_6 는 A이다.
- [0154] 일부 실시형태에서, X_3 는 L 또는 K이다.
- [0155] 일부 실시형태에서, X_4 는 D 또는 S이다.
- [0156] 일부 실시형태에서, X_5 는 M이다.
- [0157] 일부 실시형태에서, X_6 는 A 또는 S이다.
- [0158] 일부 실시형태에서 X_1 및 X_2 는 부재한다.
- [0159] 일부 실시형태에서, X_1 , X_2 는 부재하고, X_3 는 L이다.
- [0160] 바람직한 실시형태에서, X_1 , X_2 는 부재하고, X_3 는 L이고, X_6 는 S이다. 또 다른 바람직한 실시형태에서, X_1 , X_2 는 부재하고, X_3 는 L이고, X_4 는 D이다.
- [0161] 본 발명의 리포좀 조성물에 포함된 펩타이드 항원은 적어도 하나의 화학적 변형을 추가로 포함할 수 있다. 펩타이드 또는 그 측쇄의 유리 C-말단(또는 N-말단) 단부의 아미드화, 에스테르화, 팔미토일화, 포르밀화, 아세틸화, 기타 화학적 치환 등과 같은 변형은 명백히 본 발명의 범위 내에 포함된다. 이러한 변형은 별도로 명시되지 않더라도 본 명세서에서 사용된 "필수적으로 구성되는"이라는 용어의 범위 내에 있다. 팔미토일은 리포좀의 표면에 펩타이드 항원 제시를 촉진하는 바람직한 변형이며, 이는 중화 항체 생산에 도움이 되는 구조적 배열로 있을 수 있게 한다.
- [0162] 본 발명에 따른 펩타이드("(본 발명의) (항원성) 펩타이드(들)", " X_1 내지 X_6 "; 등등)는 시누클레인병증을 예방 및/또는 치료하기 위한 의도된 용도에 적합한 조성물, 특히 약제학적 조성물, 바람직하게는 약제학적으로 허용 가능한 담체와 조합되어 제공될 수 있다. 이러한 약제학적 조성물은 본 명세서에서 더욱 상세히 논의되는 바와 같이 예방 및/또는 치료 효과를 달성하기 위한 유효량으로 이를 필요로 하는 환자에게 투여될 수 있다.
- [0163] 특정 실시형태에서, 본 발명에 따른 항원성 펩타이드는 GILEDMPVDPDNEA(서열번호 1), GGKESMPVDPDNEA(서열번호 2), GGKEDMPVDPDNEA(서열번호 3), LESMPVDPDNEA(서열번호 4), LEKMPVDPDNEA(서열번호 5), GGSESMPVDPDNEA(서열번호 6), GGSESMPVDPDNEA(서열번호 7), KEDMPVDPDNEA(서열번호 8), SESMPVDPDNEA(서열번호 9), LESMPVDPDNEA(서열번호 10), GGKESMPVDPDNEA(서열번호 11), KESMPVDPDNEA(서열번호 12), KESMPVDPDNEA(서열번호 13), SEKMPVDPDNEA(서열번호 14), LEKMPVDPDNEA(서열번호 15), GGSESMPVDPDNEA(서열번호 16), LEKMPVDPDNEA(서열번호 17), GGKEKMPVDPDNEA(서열번호 18), GGKESMPVDPDNEA(서열번호 19), GGKEKMPVDPDNEA(서열번호 20), LEDMPVDPDNEA(서열번호 38) 및 GGLEDMPVDPDNEA(서열번호 45)로 이루어진 그룹에서 선택된다.
- [0164] 따라서, 특정 실시형태에서, 본 발명에 따른 항원성 펩타이드는 GGKESMPVDPDNEA(서열번호 2), GGKEDMPVDPDNEA(서열번호 3), LESMPVDPDNEA(서열번호 4), LEKMPVDPDNEA(서열번호 5), GGSESMPVDPDNEA(서열번호 6), GGSESMPVDPDNEA(서열번호 7), KEDMPVDPDNEA(서열번호 8), SESMPVDPDNEA(서열번호 9), LESMPVDPDNEA(서열번호 10), GGKESMPVDPDNEA(서열번호 11), KESMPVDPDNEA(서열번호 12), KESMPVDPDNEA(서열번호 13), SEKMPVDPDNEA(서열번호 14), LEKMPVDPDNEA(서열번호 15), GGSESMPVDPDNEA(서열번호 16), LEKMPVDPDNEA(서열번호 17),

GGKEKMPVDPDNEA(서열번호 18), GGKESMPVDPDNEK(서열번호 19) 및 GGKEKMPVDPDNEK(서열번호 20)로 이루어진 그룹에서 선택된다.

- [0165] 바람직하게는, 본 발명에 따른 항원성 펩타이드는 GGKESMPVDPDNEA(서열번호 2), GGKEDMPVDPDNEA(서열번호 3), LESMPVDPDNEK(서열번호 4), LEKMPVDPDNEA(서열번호 5) 및 KESMPVDPDNEA(서열번호 12)로 이루어진 그룹에서 선택된다.
- [0166] 훨씬 더 바람직하게는 본 발명에 따른 항원성 펩타이드는 GGKESMPVDPDNEA(서열번호 2), GGKEDMPVDPDNEA(서열번호 3), LESMPVDPDNEK(서열번호 4)로 이루어진 그룹에서 선택된다. 한 실시형태에서, 본 발명에 따른 항원성 펩타이드는 GGKESMPVDPDNEA(서열번호 2)이다. 한 실시형태에서, 본 발명에 따른 항원성 펩타이드는 KESMPVDPDNEA(서열번호 12)이다.
- [0167] 이들 실시형태에 따르면, 천연 G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A 서열과 비교하여 항원성 펩타이드에는 최대 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개의 돌연변이가 존재하는 것이 바람직하다. 일부 실시형태에서 천연 G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A 서열과 비교하여 항원성 펩타이드에는 돌연변이가 없다. 돌연변이는 각 위치 X_1 내지 X_6 에 대해 설정된 옵션에 따른 아미노산 치환이다.
- [0168] 알파시누클레인 유래 펩타이드 항원은 리포솜의 표면에 제시된다. 이는 일반적으로 리포솜의 외부 표면 내로의 삽입으로 이루어진다. 리포솜의 외부 표면으로의 삽입은 리포솜의 외부 표면에 삽입되는 부분에 알파-시누클레인 유래 펩타이드 항원의 부착을 통해 촉진될 수 있다. 리포솜은 알파-시누클레인 유래 펩타이드 항원을 표면 상에 제시하고 또한 T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드, 특히 보편적인(universal) T 헬퍼 세포 에피토프를 포함하는 aSyn 무관한 펩타이드를 캡슐화하는데 적합한 임의의 리포솜일 수 있다. 전형적으로, 모이어티는 리포솜의 지질 이중층으로의 삽입을 보장하기 위해 소수성 모이어티를 포함한다. 모이어티는 임의의 적합한 모이어티일 수 있지만 바람직하게는 지방산이다. 지방산은 팔미토일 잔기를 포함할 수 있다.
- [0169] 본 발명의 한 실시형태에서, 리포솜 조성물은 펩타이드의 N 또는 C 말단 영역에 있는 1개 또는 2개의 팔미토일 잔기에 부착된 본 명세서에 기술된 항원성 펩타이드를 포함한다. 따라서, 항원성 펩타이드는 펩타이드의 말단 영역 중 하나 및 선택적으로 둘 다에서 단일- 또는 이중-팔미토일화된다. 이는 알파-시누클레인 유래 펩타이드 항원의 N 및 C 말단 영역에 리신 잔기를 통합함으로써 촉진될 수 있다. 리신 잔기는 팔미토일화된다.
- [0170] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 리포솜 조성물은 항원성 펩타이드의 N 및 C 말단 영역에 있는 적어도 하나의 팔미토일 잔기에 부착된 본 명세서에 기술된 항원성 펩타이드를 포함한다. 따라서, 항원성 펩타이드는 디팔미토일화된다. 이는 알파-시누클레인 유래 펩타이드 항원의 N 및 C 말단 영역에 적어도 하나의 리신 잔기를 도입함으로써 촉진될 수 있다. 리신 잔기는 팔미토일화된다.
- [0171] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 리포솜 조성물은 펩타이드의 N 및 C 말단 영역에 있는 2개의 팔미토일 잔기에 부착된 항원성 펩타이드를 포함한다. 따라서, 항원성 펩타이드는 테트라팔미토일화된다. 이는 알파-시누클레인 유래 펩타이드 항원의 N 및 C 말단 영역에 2개의 리신 잔기를 도입함으로써 촉진될 수 있다. 리신 잔기는 팔미토일화된다.
- [0172] 본 발명의 리포솜 백신 조성물은 T-세포 에피토프, 특히 T 보조 세포 에피토프를 포함하는 펩타이드를 포함한다. 바람직하게는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드는 적어도 2개의 T-세포 에피토프를 포함한다. T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드는 리포솜에 적어도 부분적으로 캡슐화될 수 있고/있거나 리포솜의 표면에 도 존재할 수 있고/있거나 리포솜의 지질 이중층에 적어도 부분적으로 포함될 수 있다. T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드가 캡슐화되는 것이 바람직하다. 이는 전형적으로 T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드를 함유하는 용액에서 리포솜을 형성함으로써 달성된다. 캡슐화 과정 동안 T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드의 일부가 리포솜의 외부 표면에 흡착될 수 있고 T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드의 일부가 리포솜의 지질 이중층에 도입될 수 있다는 점에 유의해야 한다. 따라서, 캡슐화된 T-세포 에피토프에 대해 언급할 때, 이는 T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드의 적어도 일부가 캡슐화된다는 것을 의미하도록 의도된다.
- [0173] 리포솜과 결합되는 T-세포 에피토프를 포함하는 전체 펩타이드의 비율로서, 이는 적어도 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%(나머지는 표면에 흡착되어 지질 이중층에 도입됨)를 나타낼 수 있다. 캡슐화의 정확한 수준은 T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드의 특성에 따라 달라질 수 있다.
- [0174] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포솜 백신 조성물은 적어도 1개 또는 적어도 두개(2)의 T-세포 에피토프를 포함한다. T-세포 에피토프는 적어도 두개(2)의 선형 T-세포 에피토프이거나, 스페이서와 함께 또는 이것 없이 여

러 T-세포 에피토프의 접합체(conjugate)일 수 있다. 본 발명의 일부 실시형태에서, T-세포 에피토프는 적어도 1개의 아미노산, 바람직하게는 적어도 3개의 아미노산, 보다 바람직하게는 VVR을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는 스페이스와 함께 연결된 여러 T-세포 에피토프를 포함한다. 접합체는 리포솜 내에 캡슐화된 적어도 2개, 3개 또는 4개의 서로 다른 T-세포 에피토프를 포함한다. 일부 실시형태에서, T-세포 에피토프는 디프테리아 독소, 파상풍 독소, 엡스타인 바 바이러스, 인플루엔자 헤마글루티닌 및/또는 키홀 림펫 헤모시아닌으로부터 유래된다. 따라서 T-세포 에피토프의 바람직한 특정 조합은 다음 중에서 선택된다:

[0175] a) 디프테리아 독소와 파상풍 독소 T-세포 에피토프의 조합

[0176] b) 엡스타인 바 바이러스와 파상풍 독소 T-세포 에피토프의 조합

[0177] c) 엡스타인 바 바이러스, 파상풍 독소 및 키홀 림펫 헤모시아닌 T-세포 에피토프의 조합; 또는

[0178] d) 인플루엔자 헤마글루티닌, 디프테리아 독소, 파상풍 독소 및 엡스타인 바 바이러스 T-세포 에피토프의 조합.

[0179] 상기 조합은 지정된 순서로 포함되는 것이 바람직하지만, 다른 순서로 포함될 수도 있다. 예를 들어, 3개의 T-세포 에피토프 A, B, C가 있는 경우, ABC, ACB, BAC, BCA, CAB 또는 CBA 순서 중 임의의 순서로 포함될 수 있다.

[0180] 이러한 펩타이드는 바람직하게는 본 발명의 백신 조성물에 포함된다. 따라서, 본 발명에 유용한 펩타이드는 서열번호 21(SAT13), 서열번호 22(SAT15), 서열번호 23(SAT17), 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27 및/또는 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성된다. 바람직한 실시형태에서, T-세포 에피토프는 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27 및/또는 이들의 조합으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성된다. 일부 실시형태에서, T-세포 에피토프는 서열번호 24를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성된다. 일부 실시형태에서, T-세포 에피토프는 서열번호 25를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성된다. 일부 실시형태에서, T-세포 에피토프는 서열번호 26을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성된다. 일부 실시형태에서, T-세포 에피토프는 서열번호 27을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성된다. 다른 실시형태에서, T-세포 에피토프는 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26 및 서열번호 27로부터 선택된 적어도 2개의 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, T-세포 에피토프는 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26 및 서열번호 27로부터 선택된 적어도 3개의 아미노산 서열을 포함한다. 가장 바람직한 실시형태에서 T-세포 에피토프는 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26 및 서열번호 27을 포함한다. 적절하게 길이가 10-20개 아미노산으로 트리밍된 이들 펩타이드의 조합은, 또한 본 발명의 백신 조성물에 포함될 수 있다. 조합된 펩타이드는 바람직하게는 본 명세서에 정의된 하나 이상의 링커에 의해 연결된다.

[0181] 일부 실시형태에서, 본 발명의 T-세포 에피토프는 아미노산 치환 및 번역 후 변형을 포함하지만 이에 국한되는 것은 아닌, 하나 이상의 변형을 포함할 수 있다. 보다 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 T-세포 에피토프는 1 내지 5개의 아미노산 변형을 포함한다.

[0182] Pan DR 에피토프(PADRE 또는 PaDre) 펩타이드(서열 AKFVAAWTLKAAA(서열번호 35)를 가짐))가 알려져 있으며, 예를 들어, 문헌[Alexander et al. (1994) 및 de Guercio et al. (1997)]을 참조하면 된다. PADRE 펩타이드는 항체 반응에 대한 도움을 제공하고 생체 내에서 헬퍼 T 세포 활성을 제공하는 펩타이드이다. 이러한 특성은 PADRE 펩타이드를 포함하는 구조물이 대규모 다량 항원만큼 면역 반응을 생성하는 데 효율적일 수 있음을 시사한다.

[0183] P2(아미노산 서열: QYIKANSKFIGITEL(서열번호 36)을 가짐) 및 P30 펩타이드(아미노산 서열: FNNFTVSFWLRVPKVSASHLE(서열번호 37)을 가짐)는 파상풍 독소로부터 유래되었다(예를 들어, 문헌[Panina-Bordignon et al. (1989); 및 Boeckler et al., (1999)] 참조).

[0184] 일부 실시형태에서, 본 발명의 리포솜 백신 조성물은 서열번호 29(SAT42), 서열번호 32(SAT47) 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 근접 서열 유사체로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 보편적인 T-세포 에피토프를 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 리포솜 백신 조성물은 서열번호 32(SAT47) 또는 본 명세서에 정의된 근접 서열 유사체를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 보편적인 T-세포 에피토프를 포함한다.

[0185] 일부 실시형태에서, 본 발명의 리포솜 백신 조성물은 서열번호 32(SAT47) 또는 서열번호 33(SAT58)을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 보편적인 T-세포 에피토프를 갖는 펩타이드를 포함한다.

일부 실시형태에서, 본 발명의 리포좀 백신 조성물은 서열번호 33(SAT58)을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 보편적인 T-세포 에피토프를 갖는 펩타이드를 포함한다.

[0186] 바람직하게는, T-세포 에피토프의 조합은 서열번호 29 (SAT42), 서열번호 30(SAT43), 서열번호 31(SAT44), 서열번호 32(SAT47), 서열번호 35(PaDre), 서열번호 36(P2), 서열번호 37(P30), 서열번호 21(SAT 13), 서열번호 22(SAT 15), 서열번호 23(SAT17), 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26 또는 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드, 또는 이와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 바람직하게는 99% 서열 동일성을 갖는 변이체(이는 근접 서열 유사체로 지칭될 수 있음) 또는 1개에서 5개 사이의 아미노산 치환을 포함하는 변이체로 제공되며, 단, 생성된 펩타이드는 T-세포 에피토프를 유지해야 한다.

[0187] 한 실시형태에서, T-세포 에피토프의 조합은 서열번호 32(SAT47)의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드, 또는 이와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 바람직하게는 99% 서열 동일성을 갖는 변이체(이를 근접 서열 유사체라고 지칭할 수 있음) 또는 1개에서 5개 사이의 아미노산 치환을 포함하는 변이체로 제공되며, 단, 생성된 펩타이드는 T-세포 에피토프를 보유해야 한다.

[0188] 한 실시형태에서, T-세포 에피토프의 조합은 서열번호 33(SAT58)의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드, 또는 이와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 바람직하게는 99% 서열 동일성을 갖는 변이체(이를 근접 서열 유사체라고 지칭할 수 있음) 또는 1개에서 5개 사이의 아미노산 치환을 포함하는 변이체로 제공되며, 단, 생성된 펩타이드는 T-세포 에피토프를 보유해야 한다.

[0189] 변이체의 정렬은 일반적으로 본래의 선형 펩타이드의 전체 길이 서열과의 비교에 기초하여 수행된다. CLUSTALW 및 GAP와 같은, 다양한 정렬 알고리즘을 사용할 수 있으며 일상적으로 사용된다. 이들 펩타이드의 구성에 대해서는 아래 표 1을 참조하여 더욱 자세히 설명한다. 이러한 펩타이드는 본 발명의 리포좀 백신 조성물에 포함된다. 바람직하게는, 본 발명의 리포좀 백신 조성물은 서열번호 29(SAT42), 서열번호 32(SAT47)의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 또는 본 명세서에 정의된 이와 근접 서열 유사체를 포함한다. 훨씬 더 바람직하게는, 리포좀 백신 조성물은 서열번호 32(SAT 47)의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 또는 이의 근접 서열 유사체를 포함한다. 예를 들어, 리포좀 백신 조성물은 서열번호 33(SAT58)의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드를 포함할 수 있다.

[0190] [표 1]

명칭	서열	펩타이드 기원
SAT42	VHHNTEIVAQSIALSSLMVPMGAPQYIKAN SKFIGITEL (서열번호 29)	디프테리아 독소 +파상풍 독소
SAT43	VYGGSKTSLYNLRRGTALAIIVVRQYIKANSKFI GITELVVRPIFFLHHSNTDRLWAI (서열번호 30)	엡스타인 바 + 파상풍 + KLH
SAT44	VYGGSKTSLYNLRRGTALAIIVVRQYIKANSKFI GITEL (서열번호 31)	엡스타인 바 + 파상풍
SAT47	SMGVYQILAIYSTVVRIVAQSIALSSVRYIKA NSKFIGVVRLYNLRRGTAL (서열번호 32)	인플루엔자 헤마글루티닌 + 디프테리아+파상풍 + 엡스타인 바

[0191]

SAT58	SAGVYQILAIYSTVVRIVAQSIALSSVRYIKAN SKFIGVVRLYNLRRGTAL (서열번호 33)	인플루엔자 헤마글루티닌 + 디프테리아+파상풍 + 엡스타인 바
SAT13	VHHNTEEIVAQSIALSSLMV 서열번호 21	디프테리아 독소
SAT15	IDGVKLESMGVYQILAIYSTVASSL 서열번호 22	인플루엔자 헤마글루티닌
SAT17	VYGGSKTSLYNLRRGTALAI 서열번호 23	엡스타인 바 바이러스
트리밍된 펩타이드 1	SMGVYQILAIYST 서열번호 24	인플루엔자 헤마글루티닌
트리밍된 펩타이드 2	IVAQSIALSS 서열번호 25	디프테리아 독소
트리밍된 P2	YIKANSKFIG 서열번호 26	파상풍 독소
트리밍된 펩타이드 3	LYNLRRGTAL 서열번호 27	엡스타인 바 바이러스
트리밍된 펩타이드 4	SAGVYQILAIYST 서열번호 46	인플루엔자 헤마글루티닌

[0192]

[0193]

본 발명의 일부 실시형태에서, T-세포 에피토프는 캡슐화되거나 리포솜의 표면 상에 제시될 수 있다. T-세포 에피토프의 특성에 따라, 이는 어느 정도 리포솜 막과 결합하거나 회합하여 일정 수준의 표면 제시 및/또는 리포솜 막 내 일정 수준을 가능하게 할 수 있다.

[0194]

일부 실시형태에서, 리포솜은 음의 표면 전하를 갖고; 리포솜은 음이온성이다. 바람직하게는, 리포솜은 인지질을 포함하고, 훨씬 더 바람직하게는 인지질은 디미르시토일포스파티딜-콜린(DMPC) 및 디미르시토일포스파티딜-글리세롤(DMPG)을 포함한다. 리포솜은 콜레스테롤을 추가로 포함할 수 있다. 이들 3가지 성분의 몰비는 일부 실시형태에서 9:1:7일 수 있다.

[0195]

따라서 가장 바람직한 구성은 리포솜에서 재구성된 항원성 펩타이드를 포함한다. 따라서, 본 발명의 이들 조성물은 일반적으로 본 명세서에서 "본 발명의 리포솜 백신 조성물(liposomal vaccine compositions of the invention)"로 지칭될 수 있다.

[0196]

본 발명의 조성물은 전형적으로 적어도 하나의 아쥬번트를 포함한다. 본 발명의 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 2종의 아쥬번트를 포함한다. 아쥬번트(들)의 목적은 대상체의 면역 반응을 증가시키거나 자극하는 것이다. 바람직하게는, 적어도 하나의 아쥬번트는 (담체 내에 캡슐화되는 것과는 대조적으로) 담체의 일부이다. 따라서, 적어도 하나의 아쥬번트는 리포솜의 일부를 형성할 수 있으며; 지질 이중층의 일부를 형성할 수 있다. 아쥬번트는 TLR 효능제(agonist)일 수 있다. 따라서 아쥬번트는 지질계 아쥬번트일 수 있다. 아쥬번트는 리포솜의 표면에 적어도 부분적으로 제시될 수 있으며; 이는 지질 이중층의 일부를 형성하는 아쥬번트의 결과일 수 있다. 아쥬번트는 TLR4 효능제 및/또는 TLR9 효능제를 포함할 수 있다.

[0197]

본 발명에 유용한 TLR4 리간드의 예에는, 이에 국한되는 것은 아니지만, 모노포스포릴 지질 A(MPLA)를 포함는, TLR4 효능제가 포함된다. 본 명세서에 사용된 용어 "모노포스포릴 지질 A(monophosphoryl lipid A)" 또는 MPLA"는 그람 음성 박테리아 지질다당류(LPS) 내독소의 생물학적 활성 부분인 지질 A의 변형된 형태를 의미한다. MPLA는 면역자극 활성을 유지하면서 LPS보다 독성이 낮다. 백신 아쥬번트로서 MPLA는 백신 항원에 대한 세포 및 체액 반응을 모두 자극한다. MPLA의 예는 3-O-데스아실-4'-모노포스포릴 지질 A, 모노포스포릴 헥사-아실 지질 A, 3-데아실, 모노포스포릴 3-데아실 지질 A, 및 이들의 구조적으로 관련된 변이체를 포함하지만,

이로만 국한되는 것은 아니다. 본 발명에 유용한 MPLA는 당업계에 공지된 방법을 사용하거나, 다양한 상업적 공급원으로부터 입수할 수 있으며, 예컨대 아반티 폴라 리피즈(Avanti Polar Lipids)(알라바스터(Alabaster), 미국(USA), 알라바마)의 3D-(6-아실) PHAD[®], PHAD[®], PHAD[®]-504, 3D-PHAD[®] 또는 다양한 상업적 공급원의 MPLTM이 있다. 특정 실시형태에 따르면, TLR4 효능제는 MPLA이다.

[0198] 본 발명에 유용한 TLR9 리간드의 예에는 CpG 올리고뉴클레오타이드를 포함하지만 이로만 국한되는 것은 아닌 TLR9 효능제가 포함된다.

[0199] 본 발명에 따라 사용될 수 있는 다른 아쥬번트에는 특히 수산화알루미늄(명반) 및/또는 CpG가 포함된다. 당업자에게 공지된 임의의 적합한 CpG가 본 개시내용의 관점에서 본 발명에 사용될 수 있다. 이러한 CpG 올리고뉴클레오타이드의 예에는 CpG2006(CpG 7909로도 알려짐), CpG 1018, CpG2395, CpG2216 또는 CpG2336이 포함되지만 이로만 국한되는 것은 아니다. CpG는 본 개시내용의 관점에서 당업계에 공지된 방법을 사용하여 지질화될 수 있다. 일부 실시형태에서, CpG 올리고뉴클레오타이드의 3' 말단 또는 5' 말단은 포스페이트 결합을 통해, 임의로 PEG 링커를 통해 콜레스테롤 분자에 공유적으로 연결된다. 따라서, 바람직한 아쥬번트는 CpG-cho1(콜레스테롤)이다. 본 발명의 일부 실시형태에서 CpG는 다음 뉴클레오타이드 서열(서열번호 34)에 의해 정의되는 CpG 2006(CpG 7909로도 알려짐)을 포함한다:

[0200] 5' -tcgtcgttttgtcgttttgtcgtt-3'(서열번호 34),

[0201] 여기서 염기는 포스포로티오에이트(ps)이다.

[0202] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:

[0203] a. 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 및 서열번호 20으로 이루어진 그룹에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;

[0204] b. T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및

[0205] c. 아쥬번트.

[0206] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:

[0207] a. 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 및 서열번호 20으로 이루어진 그룹에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;

[0208] b. T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및

[0209] c. 아쥬번트,

[0210] 여기서 아쥬번트는 적어도 하나의 TLR 리간드를 포함하는 것임.

[0211] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:

[0212] a. 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 및 서열번호 20으로 이루어진 그룹에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;

[0213] b. T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및

[0214] c. 아쥬번트,

[0215] 여기서 아쥬번트는 TLR4 리간드 및/또는 TLR9 리간드 중 적어도 하나를 포함하는 것임.

[0216] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:

[0217] a. 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18,

서열번호 19, 및 서열번호 20으로 이루어진 그룹에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;

[0218] b. 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 및 서열번호 27 또는 이들의 임의의 조합으로 이루어진 그룹에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및

[0219] c. 아쥬번트,

[0220] 여기서 아쥬번트는 TLR4 리간드 및/또는 TLR9 리간드 중 적어도 하나를 포함하는 것임.

[0221] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:

[0222] a. 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 및 서열번호 20으로 이루어진 그룹에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;

[0223] b. 서열번호 32(SAT47) 또는 서열번호 32의 근접 서열 유사체를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및

[0224] c. 아쥬번트,

[0225] 여기서 아쥬번트는 TLR4 리간드 및/또는 TLR9 리간드 중 적어도 하나를 포함하는 것임.

[0226] 본 발명의 일부 실시형태에서 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:

[0227] a. 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5 또는 서열번호 12로 이루어진 그룹에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;

[0228] b. 서열번호 24 및/또는 서열번호 25 및/또는 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및

[0229] c. 아쥬번트; 여기서 아쥬번트는 톨-유사 수용체 4 리간드, 바람직하게는 모노포스포릴 지질 A(MPLA), 및/또는 톨-유사 수용체 9 리간드, 바람직하게는 CpG를 포함하는 것임.

[0230] 본 발명의 일부 실시형태에서 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:

[0231] a. 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5 또는 서열번호 12로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,

[0232] b. 서열번호 24, 및 서열번호 25, 및 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드 및

[0233] c. 아쥬번트; 여기서 아쥬번트는 톨-유사 수용체 4 리간드, 바람직하게는 모노포스포릴 지질 A(MPLA), 및/또는 톨-유사 수용체 9 리간드, 바람직하게는 CpG를 포함하는 것임.

[0234] 본 발명의 일부 실시형태에서 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:

[0235] a. 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5 또는 서열번호 12로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,

[0236] b. 서열번호 46 및/또는 서열번호 25 및/또는 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드 및

[0237] c. 아쥬번트; 여기서 아쥬번트는 톨-유사 수용체 4 리간드, 바람직하게는 모노포스포릴 지질 A(MPLA), 및/또는 톨-유사 수용체 9 리간드, 바람직하게는 CpG를 포함하는 것임.

[0238] 본 발명의 일부 실시형태에서 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:

[0239] a. 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5 또는 서열번호 12로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,

- [0240] b. 서열번호 46, 및 서열번호 25, 및 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드 및
- [0241] c. 아쥬번트; 여기서 아쥬번트는 톨-유사 수용체 4 리간드, 바람직하게는 모노포스포릴 지질 A(MPLA), 및/또는 톨-유사 수용체 9 리간드, 바람직하게는 CpG를 포함하는 것임.
- [0242] 본 발명의 일부 실시형태에서 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0243] a. 서열번호 2, 또는 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,
- [0244] b. 서열번호 46, 및/또는 서열번호 25, 및/또는 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드 및
- [0245] c. 아쥬번트; 여기서 아쥬번트는 톨-유사 수용체 4 리간드, 바람직하게는 모노포스포릴 지질 A(MPLA), 및/또는 톨-유사 수용체 9 리간드, 바람직하게는 CpG를 포함하는 것임.
- [0246] 본 발명의 일부 실시형태에서 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0247] a. 서열번호 2, 또는 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,
- [0248] b. 서열번호 46, 및 서열번호 25, 및 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드 및
- [0249] c. 아쥬번트; 여기서 아쥬번트는 톨-유사 수용체 4 리간드, 바람직하게는 모노포스포릴 지질 A(MPLA), 및/또는 톨-유사 수용체 9 리간드, 바람직하게는 CpG를 포함하는 것임.
- [0250] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0251] a. 서열번호 2, 서열번호 3, 및 서열번호 4로 이루어진 그룹에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;
- [0252] b. T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및
- [0253] c. 아쥬번트.
- [0254] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0255] a. 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4 및 서열번호 12로 이루어진 그룹에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;
- [0256] b. T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및
- [0257] c. 아쥬번트.
- [0258] 본 발명의 추가 실시형태에서, 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0259] a. 서열번호 2, 서열번호 3, 및 서열번호 4로 이루어진 그룹에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;
- [0260] b. 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 및 서열번호 27 또는 이들의 임의의 조합로 이루어진 그룹에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및
- [0261] c. 아쥬번트.
- [0262] 본 발명의 추가 실시형태에서, 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0263] a. 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4 및 서열번호 12로 이루어진 그룹에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;
- [0264] b. 서열번호 24 및 서열번호 25 및 서열번호 26, 및 서열번호 27 또는 이들의 임의의 조합의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및

- [0265] c. 아쥬번트.
- [0266] 본 발명의 추가 실시형태에서, 리포솜 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0267] a. 서열번호 2, 서열번호 3, 및 서열번호 4로 이루어진 그룹에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;
- [0268] b. 서열번호 46, 서열번호 25, 서열번호 26, 및 서열번호 27로 이루어진 그룹에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드, 및
- [0269] c. 아쥬번트.
- [0270] 본 발명의 추가 실시형태에서, 리포솜 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0271] a. 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4 및 서열번호 12로 이루어진 그룹에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;
- [0272] b. 서열번호 46 및 서열번호 25 및 서열번호 26, 및 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및
- [0273] c. 아쥬번트.
- [0274] 본 발명의 일부 실시형태에서 리포솜 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0275] a. 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,
- [0276] b. 서열번호 32 (SAT47) 또는 서열번호 32의 근접 서열 유사체의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드 및
- [0277] c. 아쥬번트.
- [0278] 일부 실시형태에서 리포솜 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0279] a. 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,
- [0280] b. 서열번호 33(SAT58)의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드 및
- [0281] c. 아쥬번트.
- [0282] 본 발명의 일부 실시형태에서 리포솜 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0283] a. 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,
- [0284] b. 서열번호 32 (SAT47) 또는 서열번호 32의 의 근접 서열 유사체의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드 및
- [0285] c. 아쥬번트.
- [0286] 본 발명의 일부 실시형태에서 리포솜 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0287] a. 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,
- [0288] b. 서열번호 33(SAT58)의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드 및
- [0289] c. 아쥬번트.
- [0290] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포솜 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0291] a. 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜

의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,

- [0292] b. 서열번호 33(SAT58)의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및
- [0293] c. 아쥬번트; 여기서 아쥬번트는 툴-유사 수용체 4 리간드 및/또는 툴-유사 수용체 9 리간드를 포함하는 것임. 선택적으로 툴 유사 수용체 4 리간드는 모노포스포릴 지질 A(MPLA)를 포함하고 툴 유사 수용체 9 리간드는 CpG를 포함한다.
- [0294] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포솜 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0295] a) 서열번호 2, 서열번호 3, 또는 서열번호 4를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;
- [0296] b) 서열번호 32(SAT47) 또는 서열번호 32의 근접 서열 유사체를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드;
- [0297] c) 모노포스포릴 지질 A(MPLA)를 포함하는 TLR4 리간드; 및
- [0298] d) CpG를 포함하는 TLR9 리간드.
- [0299] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포솜 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0300] a) 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4 또는 서열번호 12를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;
- [0301] b) 서열번호 32(SAT47) 또는 서열번호 32의 근접 서열 유사체를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드;
- [0302] c) 모노포스포릴 지질 A(MPLA)를 포함하는 TLR4 리간드; 및
- [0303] d) CpG를 포함하는 TLR9 리간드.
- [0304] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포솜 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0305] a) 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5 또는 서열번호 12로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원; 및
- [0306] b) 서열번호 32(SAT47) 또는 이의 근접 서열 유사체의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및
- [0307] c) 아쥬번트; 여기서 아쥬번트는 툴-유사 수용체 4 리간드를 포함하고; 툴-유사 수용체 4 리간드는 모노포스포릴 지질 A(MPLA)를 포함하는 것임.
- [0308] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포솜 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0309] a) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,
- [0310] b) 서열번호 32(SAT47) 또는 이의 근접 서열 유사체의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및
- [0311] c) 아쥬번트; 여기서 아쥬번트는 툴-유사 수용체 4 리간드 및/또는 툴-유사 수용체 9 리간드를 포함하고; 툴-유사 수용체 4 리간드는 모노포스포릴 지질 A(MPLA)를 포함하고, 툴-유사 수용체 9 리간드는 CpG를 포함하는 것임.
- [0312] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포솜 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0313] a) 서열번호 2를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;
- [0314] b) 서열번호 32(SAT47) 또는 서열번호 32의 근접 서열 유사체를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드;

- [0315] c) 모노포스포릴 지질 A(MPLA)를 포함하는 TLR4 리간드; 및
- [0316] d) CpG를 포함하는 TLR9 리간드.
- [0317] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포솜 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0318] a) 서열번호 2를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;
- [0319] b) 서열번호 33(SAT58)를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드;
- [0320] c) 모노포스포릴 지질 A(MPLA)를 포함하는 TLR4 리간드; 및
- [0321] d) CpG를 포함하는 TLR9 리간드.
- [0322] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포솜 백신 조성물을 이하를 포함한다:
- [0323] a) 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5 또는 서열번호 12로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원; 및
- [0324] b) 서열번호 33(SAT58)의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및
- [0325] c) 아쥬번트; 여기서 아쥬번트는 톨-유사 수용체 4 리간드를 포함하고; 톨-유사 수용체 4 리간드는 모노포스포릴 지질 A(MPLA)를 포함하는 것임.
- [0326] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포솜 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0327] a) 서열번호 3를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;
- [0328] b) 서열번호 32(SAT47) 또는 서열번호 32의 근접 서열 유사체를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드;
- [0329] c) 모노포스포릴 지질 A(MPLA)를 포함하는 TLR4 리간드; 및
- [0330] d) CpG를 포함하는 TLR9 리간드.
- [0331] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포솜 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0332] a) 서열번호 4를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;
- [0333] b) 서열번호 32(SAT47) 또는 서열번호 32의 근접 서열 유사체를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드;
- [0334] c) 모노포스포릴 지질 A(MPLA)를 포함하는 TLR4 리간드; 및
- [0335] d) CpG를 포함하는 TLR9 리간드.
- [0336] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포솜 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0337] a) 서열번호 12를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;
- [0338] b) 서열번호 32(SAT47) 또는 서열번호 32의 근접 서열 유사체를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드;
- [0339] c) 모노포스포릴 지질 A(MPLA)를 포함하는 TLR4 리간드; 및
- [0340] d) CpG를 포함하는 TLR9 리간드.
- [0341] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포솜 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0342] a) 서열번호 2, 서열번호 3, 또는 서열번호 4를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성

되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;

b) T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및

c) 아쥬번트,

여기서 펩타이드 항원은 펩타이드의 N 및/또는 C 말단 영역에 1개 또는 2개의 팔미토일 잔기를 포함하는 것임.

본 발명의 일부 실시형태에서, 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:

a) 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4 또는 서열번호 12를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;

b) T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및

c) 아쥬번트,

여기서 펩타이드 항원은 펩타이드의 N 및/또는 C 말단 영역에 1개 또는 2개의 팔미토일 잔기를 포함하는 것임.

본 발명의 일부 실시형태에서, 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:

d) 서열번호 2, 서열번호 3, 또는 서열번호 4를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;

e) T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및

f) 아쥬번트,

여기서 펩타이드 항원은 펩타이드의 N 또는 C 말단 영역에 2개의 팔미토일 잔기를 포함하는 것임.

본 발명의 일부 실시형태에서, 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:

a) 서열번호 2, 서열번호 3, 또는 서열번호 4를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;

b) T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및

c) 아쥬번트,

여기서 펩타이드 항원은 펩타이드의 N 말단 영역과 C 말단 영역에 2개의 팔미토일 잔기를 포함하는 것임.

본 발명의 일부 실시형태에서, 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:

a) 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4 또는 서열번호 12를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;

b) T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및

c) 아쥬번트,

여기서 펩타이드 항원은 펩타이드의 N 말단 영역에 1개 또는 2개의 팔미토일 잔기를 포함하는 것임.

본 발명의 일부 실시형태에서, 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:

a) 서열번호 2를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,

b) T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및

c) 아쥬번트,

여기서 펩타이드 항원은 펩타이드의 N 말단 영역에 1개 또는 2개의 팔미토일 잔기를 포함하는 것임.

본 발명의 일부 실시형태에서, 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:

a) 서열번호 12를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,

- [0373] b) T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및
- [0374] c) 아쥬번트,
- [0375] 여기서 펩타이드 항원은 펩타이드의 N 말단 영역에 1개 또는 2개의 팔미토일 잔기를 포함하는 것임.
- [0376] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포솜 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0377] a. 서열번호 1, 서열번호 38, 및 서열번호 45로 이루어진 그룹에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,
- [0378] b. T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및
- [0379] c. 아쥬번트,
- [0380] 여기서 아쥬번트는 TLR4 리간드 및/또는 TLR9 리간드 중 적어도 하나를 포함하는 것임.
- [0381] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포솜 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0382] a. 서열번호 1, 서열번호 38, 및 서열번호 45로 이루어진 그룹에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,
- [0383] b. 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 또는 서열번호 27 또는 이들의 임의의 조합으로 이루어진 그룹에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및
- [0384] c. 아쥬번트,
- [0385] 여기서 아쥬번트는 TLR4 리간드 및/또는 TLR9 리간드 중 적어도 하나를 포함하는 것임.
- [0386] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포솜 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0387] a. 서열번호 1, 서열번호 38, 및 서열번호 45로 이루어진 그룹에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,
- [0388] b. 서열번호 24 및 서열번호 25 및 서열번호 26 및 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드,
- [0389] c. 아쥬번트,
- [0390] 여기서 아쥬번트는 TLR4 리간드 및/또는 TLR9 리간드 중 적어도 하나를 포함하는 것임.
- [0391] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포솜 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0392] a. 서열번호 1, 서열번호 38, 및 서열번호 45로 이루어진 그룹에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,
- [0393] b. 서열번호 46, 서열번호 25, 서열번호 26 또는 서열번호 27로 이루어진 그룹에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드,
- [0394] c. 아쥬번트.
- [0395] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포솜 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0396] a. 서열번호 1, 서열번호 38, 및 서열번호 45로 이루어진 그룹에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포솜의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,
- [0397] b. 서열번호 46 및 서열번호 25 및 서열번호 26 및 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드,
- [0398] c. 아쥬번트,
- [0399] 여기서 아쥬번트는 TLR4 리간드 및/또는 TLR9 리간드 중 적어도 하나를 포함하는 것임.
- [0400] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포솜 백신 조성물은 이하를 포함한다:
- [0401] a. 서열번호 1, 서열번호 38, 및 서열번호 45로 이루어진 그룹에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나,

이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,

[0402] b. 서열번호 32 (SAT47) 또는 서열번호 32의 근접 서열 유사체를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및

[0403] c. 아쥬번트,

[0404] 여기서 아쥬번트는 TLR4 리간드 및/또는 TLR9 리간드 중 적어도 하나를 포함하는 것임.

[0405] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:

[0406] a. 서열번호 1, 서열번호 38, 및 서열번호 45로 이루어진 그룹에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,

[0407] b. 서열번호 33(SAT58)를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및

[0408] c. 아쥬번트,

[0409] 여기서 아쥬번트는 TLR4 리간드 및/또는 TLR9 리간드 중 적어도 하나를 포함하는 것임.

[0410] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:

[0411] a. 서열번호 1, 서열번호 38, 및 서열번호 45로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원,

[0412] b. 서열번호 33(SAT58)의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및

[0413] c. 아쥬번트; 여기서 아쥬번트는 톨-유사 수용체 4 리간드 및/또는 톨-유사 수용체 9 리간드를 포함하는 것임. 선택적으로, 톨 유사 수용체 4 리간드는 모노포스포릴 지질 A(MPLA)를 포함하고 톨 유사 수용체 9 리간드는 CpG를 포함한다.

[0414] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:

[0415] a) 서열번호 1, 서열번호 38, 및 서열번호 45를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;

[0416] b) 서열번호 32(SAT47) 또는 서열번호 32의 근접 서열 유사체를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드;

[0417] c) 모노포스포릴 지질 A(MPLA)를 포함하는 TLR4 리간드; 및

[0418] d) CpG를 포함하는 TLR9 리간드.

[0419] 본 발명의 일부 실시형태에서, 리포좀 백신 조성물은 이하를 포함한다:

[0420] a) 서열번호 1, 서열번호 38, 및 서열번호 45를 포함하거나, 이로 필수적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 리포좀의 표면에 제시되는 펩타이드 항원;

[0421] b) T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드; 및

[0422] c) 아쥬번트,

[0423] 여기서 펩타이드 항원은 펩타이드의 N 및/또는 C 말단 영역에 1개 또는 2개의 팔미토일 잔기를 포함하는 것임.

[0424] 본 발명의 리포좀 백신 조성물은 보호 면역 반응을 생성하기 위해 대상체에게 1회 투여될 수 있다. 그러나 일부 실시형태에서, 본 발명의 백신 조성물은 동일한 대상체에게 여러 번 투여된다. 따라서, 소위 프라임-부스트 요법이 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 백신 투여는 일반적으로 최소 1주, 종종 약 1 내지 12개월의 간격을 두고 분리된다.

[0425] (예를 들어, 주사에 의한) 투여 시기는 1일 1회, 1년에 1회, 10년에 1회까지 크게 달라질 수 있다. 일반적인 요법은 면역접종 후 4 내지 6주 간격 등 정기적인 간격으로 (예를 들어, 주사에 의한) 추가 접종으로 구성된다. 그러나, 연간 부스팅과 같은 덜 정기적인 부스터 투여가 편의성과 규정 준수를 이유로 선호될 수 있다.

- [0426] 1회 이상의 면역접종을 실시할 수 있다. 일반적인 요법은 면역접종 후 4 내지 6주 간격과 같은 시간 간격으로 추가 접종을 하는 것으로 구성된다. 또 다른 요법은 면역접종 후 1, 2, 6, 9 및/또는 12개월 후 추가 접종으로 구성될 수 있다.
- [0427] 대안적으로, 부스터 주사는 면역 반응의 모니터링에 의해 지시된 바와 같이 불규칙적으로 이루어질 수 있다(예를 들어, 항체 수준이 의사 또는 당업자에 의해 결정된 역치 미만인 경우).
- [0428] 본 발명의 백신 조성물은 루이스체 및/또는 루이 신경돌기 및/또는 신경교 세포질 봉입체를 포함하지만 이에 국한되지 않는 알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상, 예컨대 파킨슨병, 다계통 위축, 루이스체 치매(LBD; 루이스체를 동반한 치매(DLB)("순수" 루이스체 치매), 파킨슨병 치매(PDD)), 또는 확산성 루이스체병을 예방 및 치료하기 위한 강력하고 새로운 치료 옵션을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 동일한 백신 조성물이 동종 백신접종 요법으로 매번 투여된다 - 동종 백신접종 섭생. 동종 백신접종은 프라임(1차 면역접종)과 부스팅(2차 또는 임의의 추가 면역접종) 모두에 대해 동일한 백신을 사용하는 면역접종 요법을 의미한다.
- [0429] 본 발명의 백신 조성물은 임의의 적절한 투여 경로에 의해 대상체에게 투여될 수 있다. 당업자가 알고 있는 바와 같이, 백신 조성물은 국소, 경구, 직장, 비강 또는 비경구(예컨대 정맥내, 피내, 피하 또는 근육내) 경로로 투여될 수 있다. 또한, 백신 조성물은 생분해성 중합체와 같은 지속 방출 매트릭스에 포함될 수 있으며, 중합체는 전달이 요구되는 곳 근처 또는 아주 근접하게 이식될 수 있다. 바람직한 실시형태에서, 백신 조성물은 근육내로 또는 피하로 투여된다.
- [0430] 본 발명의 백신 조성물은 알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상과 관련된 증상을 치료, 예방, 이에 대한 방어적 면역 반응을 유도하거나 완화하기 위해 대상체에게 투여된다.
- [0431] 따라서 백신 조성물은 예방적 및 치료적 애플리케이션 둘 다 가질 수 있다. 대상체는 포유동물이며 일반적으로 인간이다.
- [0432] 본 발명의 특정 실시형태에서, 알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상은 시누클레인병증이다.
- [0433] 본 발명의 다른 실시예에서, 알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상, 또는 시누클레인병증은 다음으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다: 파킨슨병(산발성, 알파-시누클레인 돌연변이가 있는 가족성, 알파-시누클레인 이외의 돌연변이가 있는 가족성, 순수 자율신경 부전 및 루이스체 연하곤란), 루이스체 치매(LBD; 루이스체를 동반한 치매(DLB)("순수한" 루이스체 치매), 파킨슨병 치매(PDD)), 확산성 루이스체병(DLBD), 산발성 알츠하이머병, APP 돌연변이가 있는 가족성 알츠하이머병, PS-1, PS-2 또는 기타 돌연변이가 있는 가족성 알츠하이머병, 가족성 영국 치매, 알츠하이머병의 루이스체 변종, 및 다운 증후군, 다계통 위축(샤이-드래거(Shy-Drager) 증후군, 선조체 흑질 변성 및 올리보폰토소뇌 위축), 외상성 뇌손상, 만성 외상성 뇌병증, 권투선수 치매, 타우병증(픽병, 전두측두엽 치매, 진행성 핵상 마비, 피질기저핵 변성 및 니만-픽 C1형 질환, 17번 염색체 연관 파킨슨증을 동반한 전두측두엽 치매), 운동 신경 질환, 헌팅턴병, 근위축성 측색 경화증(광의 산발성, 가족성 및 ALS-치매의 복합증), 신경축삭 이영양증, 뇌 철 축적 유형 1을 동반한 신경변성(할러보든-슈페츠 증후군), 프리온병, 크로이츠펠트-야콥병, 모세혈관 확장증, 메이게 증후군, 아급성 경화성 범뇌염, 게르스트만-스트라우슬러-샤인커병, 봉입체 근염, 고서병, 크라베병을 비롯한 기타 리소좀 축적 장애(쿠포-라케브 증후군 및 산필리프 증후군 포함) 및 급속 안구 운동(REM) 수면 행동 장애.
- [0434] 바람직한 실시형태에서, 알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상, 또는 시누클레인병증은, 루이스체 및/또는 루이 신경돌기 및/또는 신경교 세포질 봉입체, 예컨대 파킨슨병, 다계통 위축, 루이스체 치매(LBD; 루이스체를 동반한 치매(DLB)("순수" 루이스체 치매), 파킨슨병 치매(PDD)) 또는 확산성 루이스체병으로 이루어진 그룹에서 선택된다. 실시형태에서, 알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상, 또는 시누클레인병증은 파킨슨병 또는 다계통 위축, 더욱 바람직하게는 다계통 위축이다.
- [0435] 따라서, 본 발명은 대상체에서 알파-시누클레인 응집체에 대한 보호 면역 반응을 치료, 예방, 유도하거나 이와 관련된 증상을 완화시키는 방법을 제공하며, 이 방법은 대상체에게 본 발명의 백신 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0436] 이러한 방법은 또한 본 발명의 백신 조성물의 의학적 용도의 형태로 표현될 수 있다. 따라서, 본 발명은 또한 대상의 알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상과 연관된 증상을 완화시키거나 이에 대한 보호 면역 반응을 치료, 예방, 유도하는데 사용하기 위한 본 발명의 백신 조성물을 제공한다.
- [0437] 따라서, 본 발명은 알파-시누클레인 응집체에 대한 면역 반응을 유도하기 위해 본 발명에 따른 리포좀 백신 조

성물 또는 약제학적 조성물을 대상에게 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 알파-시누클레인 단백질에 대한 면역 반응을 유도하기 위해 본 발명에 따른 리포솜 백신 조성물 또는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 발명에 따른 리포솜 백신 조성물 또는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 것은 알파-시누클레인 응집체에 대한 보호 면역 반응을 유도한다. 일부 실시형태에서, 본 발명에 따른 리포솜 백신 조성물 또는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 것은 알파-시누클레인 단백질, 바람직하게는 인간 알파-시누클레인 단백질에 대한 면역 반응을 유도한다.

[0438] 유사하게, 본 발명은 대상체에서 알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상과 관련된 증상을 완화하거나 이에 대한 보호 면역 반응을 치료, 예방, 유도하는 데 사용하기 위한 약제의 제조에 있어서 본 발명의 백신 조성물의 용도를 제공한다.

[0439] 본 발명의 목적은 시누클레인병증의 예방 및 치료에 사용하기 위한 약제(medicament)를 백신 형태로 제공하는 것이다. 인간 사용에 적합한 백신접종 펩타이드를 제공하는 것이 추가 목적이다.

[0440] 본 발명의 목적은 시누클레인병증의 예방 및 치료에 사용하기 위한 리포솜 조성물을 백신 형태로 제공하는 것이다. 인간 사용에 적합한 항원성 펩타이드를 제공하는 것이 추가 목적이다.

[0441] 본 명세서의 모든 실시형태는 어떻게 표현되든 그러한 방법 또는 의학적 용도에 적용된다. 대상체에게 본 발명의 백신 조성물을 투여하면 알파-시누클레인의 병리학적 및/또는 응집된 형태에 결합하는 전형적으로 다클론성 IgG 항체가 생성된다. 이미 설명한 바와 같이, 알파-시누클레인의 병리학적 및/또는 응집된 형태는 다량체를 포함한다. 따라서 생산된 항체는 "알파-시누클레인-다량체 특이적(alpha-synuclein-multimer specific)" 항체라고 불릴 수 있다.

[0442] 본 발명은 치료 유효량의 항원성 펩타이드를 포함하는 리포솜 백신 조성물을 제공한다. "치료 유효량(therapeutically effective amount)"이라는 용어는 인간 또는 동물에게 투여될 때 면역 반응을 유도하는 항원/면역원성 조성물의 양을 의미한다. 유효량은 일상적인 절차에 따라 당업자에 의해 쉽게 결정된다.

[0443] 절대량으로, 적어도 10 µg, 예를 들어 적어도 50 µg의 용량으로 항원성 펩타이드의 양을 사용하는 것이 바람직하다. 이와 관련하여, 본 발명에서 언급된 "µg 펩타이드"는 용량 내 항원성 펩타이드의 양을 의미하며 리포솜 백신 조성물의 다른 성분을 포함하지 않는다는 점을 주목하는 것이 중요하다.

[0444] 본 발명은 본 발명에 따른 백신 조성물을 함유하는 키트를 추가로 제공한다. 따라서, 본 명세서에 기술된 본 발명의 리포솜 백신 조성물을 포함하는 피험자의 알파-시누클레인 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상과 관련된 증상에 대한 보호 면역 반응을 치료, 예방, 유도하거나 이와 관련된 증상을 완화하기 위한 키트가 제공된다. 이러한 키트에는 적절한 사용 지침이 제공될 수 있다. 사용 지침은 조성물의 투여 일정을 설명할 수 있다. 따라서 키트는 본 발명의 백신 조성물의 다중(별도) 용량을 포함할 수 있다. 사용 지침은 특히 백신 조성물 용량의 투여 사이의 기간 동안 조성물의 보관 조건을 추가로 설명할 수 있다. 이들 키트는 본 명세서에 개시된 본 발명의 모든 관련 방법에 적용될 수 있다.

[0445] 본 발명의 리포솜 백신 조성물을 생산하는 방법은 본 명세서에 예시된 바와 같이 교차류(crossflow) 주입에 의존할 수 있다. 그러한 방법은 다음 단계를 포함할 수 있다:

[0446] a) 용액에서 리포솜을 형성하는 지질(및 지질 기반인 경우 보조제)을 용해시키는 단계;

[0447] b) (보편적인) T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드를 용액에 용해시키는 단계;

[0448] c) 보편적인 T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드를 캡슐화하는 중간 리포솜을 형성하기 위해 교차 흐름 주입 모듈을 사용하여 a. 및 b. 단계의 용액을 혼합하는 단계;

[0449] d) 중간 리포솜을 막을 통해 압출하여 크기와 다분산성을 감소시키는 단계;

[0450] e) 교차류 주입 모듈을 사용하여 본 명세서에 기술된 펩타이드 항원을 포함하는 용액을 단계 d의 용액과 혼합하여, 펩타이드 항원을 리포솜의 지질 이중층에 삽입하는 단계.

[0451] 그러한 방법이 본 명세서에 예시되어 있으며, 그 세부사항은 본 발명의 이러한 측면에 적용될 수 있다. 일반적으로, 이 방법은 보편적인 T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드를 캡슐화하고 알파-시누클레인 유래 펩타이드 항원을 리포솜의 지질 이중층에 삽입하기 위해 교차류 주입을 사용한다.

[0452] 정의

- [0453] "T-세포 에피토프(T-cell epitope)"는 대다수의 인간 집단에 존재하는 T-세포에 특이적인 에피토프를 의미한다. 이는 일반적으로 인간이 일생 동안 일반적으로 노출되는 항원에서 유래한다. 예로는 정기적으로 투여되는 백신에 포함된 항원이 있다. T-세포 에피토프의 구체적인 예로는, 이로만 국한되는 것은 아니지만, 파상풍, 인플루엔자 및 디프테리아(CRM197과 같은 이들의 무독성 돌연변이 포함), 키홀 림펫 헤모시아닌(KLH), 엡스타인 바 바이러스(EBV) 및 PaDre(범 HLA DR-결합 에피토프)가 포함된다. T 세포를 활성화하는 T-세포 에피토프의 능력은, 적어도 2가지의 상보적인 특성, i) HLA 그루부에 대한 결합 친화도(결합 강도를 의미함)를 비롯하여, ii) HLA 분자 발현의 차이와 관련하여, 매우 다양한 인구 집단을 포괄할 수 있는 능력을 의미하는, 상이한 HLA에 결합하는 능력의 결과이다. T-세포 에피토프는 인간 집단에 존재하는 대부분의 MHC 클래스 II 대립유전자에 결합할 수 있다. 따라서 본 발명의 백신 조성물에 포함된 T-세포 에피토프는 CD4 T 세포 반응을 자극할 수 있다. 따라서 본 발명의 백신 조성물에 포함된 T-세포 에피토프는 B 세포에 의한 알파-시누클레인 관련 항체 생산을 향상시키는 보조 T 세포 반응을 자극할 수 있다. 이들은 본 명세서에서 당업계에서 일반적으로 사용되는 용어인 "보편적(universal)" T-세포 에피토프로 지칭될 수 있다.
- [0454] 따라서 본 명세서의 T-세포 에피토프는 보조 T 세포 또는 T 세포 보조 반응을 자극할 수 있는 에피토프로 이해되어야 한다.
- [0455] 본 발명의 "근접 서열 유사체(close sequence analogue)"는, 이로만 국한되는 것은 아니지만, 본 명세서에 설명된 서열의 아미노산 치환, 번역 후 변형, 연장(추가 아미노산의 부가), 길이 단축(일부 아미노산의 제거)과 같은 하나 이상의 변형을 포함할 수 있다. 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 T-세포 에피토프의 밀접한 서열 유사체는 1 내지 5개의 아미노산 변형, 바람직하게는 1개, 2개 또는 3개의 변형을 포함한다.
- [0456] "톨-유사 수용체 4 효능제(toll-like receptor 4 agonist)" 또는 "TLR4"라는 용어는 TLR4의 효능제로서 작용하는 임의의 화합물을 의미한다. 당업자에게 알려져 있거나 발견된 임의의 적합한 TLR4 작용제가 본 발명에 사용될 수 있다. 본 발명에 유용한 TLR4 리간드의 예에는 모노포스포릴 지질 A(MPLA)를 포함하지만 이에 제한되지 않는 TLR4 효능제가 포함된다.
- [0457] "톨-유사 수용체 9 효능제(toll-like receptor 9 agonist)" 또는 "TLR9"라는 용어는 TLR9의 효능제로서 작용하는 임의의 화합물을 지칭한다. 당업자에게 공지되어 있거나 당업자에 의해 발견된 임의의 적합한 TLR9 작용제가 본 발명에 사용될 수 있다. 본 발명에 유용한 TLR9 리간드의 예에는 CpG 올리고뉴클레오타이드를 포함하지만 이에 제한되지 않는 TLR9 효능제가 포함된다.
- [0458] 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제, 보조제 및 부형제는 약학 분야에 잘 알려져 있으며, 예를 들어, 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th or 18th Ed. (Alfonso R. Gennaro, ed.; Mack Publishing Company, Easton, PA, 1990); Remington: the Science and Practice of Pharmacy 19th Ed.(Lippincott, Williams & Wilkins, 1995); Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd Ed. (Arthur H. Kibbe, ed.; Amer. Pharmaceutical Assoc, 1999); Pharmaceutical Codex: Principles and Practice of Pharmaceutics 12th Ed. (Walter Lund ed.; Pharmaceutical Press, London, 1994); The United States Pharmacopeia: The National Formulary (United States Pharmacopeial Convention); Fiedler's "Lexikon der Hilfsstoffe" 5th Ed., Edition Cantor Verlag Aulendorf 2002; "The Handbook of Pharmaceutical Excipients", 4th Ed., American Pharmaceuticals Association, 2003; and Goodman and Gilman's: the Pharmacological Basis of Therapeutics (Louis S. Goodman and Lee E. Limbird, eds.; McGraw Hill, 1992)]에 기재되어 있으며, 상기 문헌의 개시는 본 명세서에 참조로 통합된다.
- [0459] 담체, 희석제, 보조제 및 약제학적 부형제는 의도된 투여 경로 및 표준 약학 관행과 관련하여 선택될 수 있다. 이들 화합물은 수용자에게 해롭지 않다는 의미에서 허용되어야 한다. 다음 문헌 참조: Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th or 18th Ed. (Alfonso R. Gennaro, ed.; Mack Publishing Company, Easton, PA, 1990); Remington: the Science and Practice of Pharmacy 19th Ed.(Lippincott, Williams & Wilkins, 1995); Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd Ed. (Arthur H. Kibbe, ed.; Amer. Pharmaceutical Assoc, 1999); Pharmaceutical Codex: Principles and Practice of Pharmaceutics 12th Ed. (Walter Lund ed.; Pharmaceutical Press, London, 1994); The United States Pharmacopeia: The National Formulary (United

States Pharmacopeial Convention); Fiedler's "Lexikon der Hilfstoffe" 5th Ed., Edition Cantor Verlag Aulendorf 2002; "The Handbook of Pharmaceutical Excipients", 4th Ed., American Pharmaceuticals Association, 2003; and Goodman and Gilman's: the Pharmacological Basis of Therapeutics (Louis S. Goodman and Lee E. Limbird, eds.; McGraw Hill, 1992), 상기 문헌의 개시는 본 명세서에 참조로 통합된다.

[0460] 용어 "리포좀 백신 조성물(liposomal vaccine composition)"은 본 명세서에서 "리포좀 면역원성 조성물(liposomal immunogenic composition)"과 상호교환적으로 사용될 수 있다. 본 발명의 "근접 서열 유사체(close sequence analogue)"는 본 명세서에서 설명된 서열의 아미노산 치환, 번역 후 변형, 연장(추가 아미노산의 부가), 길이 단축(일부 아미노산의 제거)과 같은 하나 이상의 변형을 포함할 수 있지만 이에 국한되는 것은 아니다.

[0461] 본 명세서에서 아미노산이 언급되는 경우, 이는 일반적으로 천연 아미노산이다. 그러나 아미노산에 대한 언급에는 비천연 아미노산(예를 들어, 베타-아미노산, 감마-아미노산, D-아미노산)도 포함되며, 전체 펩타이드의 맥락에서 천연 아미노산과 비-천연 아미노산의 조합도 포함된다.

[0462] 인간 알파-시누클레인의 천연 서열은 다음과 같다:

MDVFMKGLSKAKEGVVAAAETKQGVAAEAGKTKEGVLYVGSKTKEGVVHGVA
TVAEKTKEQVTNVGGAVVTGVTAVAQKTVEGAGSIAAATGTFVKKDQLGKNEEGAP
QEGILEDMPVDPDNEAYEMPSEEGYQDYEP EA (서열번호 28)

[0463]

[0464] "면역 반응(immune response)"은 항-aSyn 항체, 바람직하게는 알파-시누클레인에 특이적으로 결합하는 항체의 생성을 포함한다. 이러한 항체의 생산은 면역검정과 같은 임의의 적합한 방법, 특히 ELISA에 의해 테스트될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0465] 도 1은 서열번호 2-리포좀 또는 서열번호 2 접합체 백신을 면역접종한 마우스에서 서열번호 2 펩타이드에 대한 IgG 역가를 보여주는 그래프이다. Y 축은 항-서열번호 2 IgG 역가(AU/mL)를 나타내고 X 축은 면역접종 후 경과일수 기준으로 측정 시간을 나타낸다. 리포좀 백신 처치 그룹(검은색 원)을 접합체 백신 처치 그룹(검은색 사각형)과 비교했다.

도 2는 서열번호 2-리포좀 또는 서열번호 2 접합체 백신을 면역접종한 마우스에서 α-syn 단백질에 대한 IgG 역가를 보여주는 그래프이다. Y 축은 항-a-syn 단백질 IgG 역가(AU/mL)를 나타내고 X 축은 면역접종 후 경과일수 기준으로 측정 시간을 나타낸다. 리포좀 백신 처치 그룹(검은색 원)을 접합체 백신 처치 그룹(검은색 사각형)과 비교했다.

도 3은 서열번호 2-리포좀 또는 서열번호 2 접합체 백신을 면역접종한 마우스에서 α-syn 응집체에 대한 IgG 역가를 보여주는 그래프이다. Y 축은 항-a-syn 응집체 IgG 역가(AU/mL)를 나타내고 X 축은 면역접종 후 경과일수 기준으로 측정 시간을 나타낸다. 리포좀 백신 처치 그룹(검은색 원)을 접합체 백신 처치 그룹(검은색 사각형)과 비교했다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0466] 실시예

[0467] 본 발명은 다음의 비제한적인 실시예를 참조하여 더 이해될 것이다.

[0468] 실시예 1. 백신 합성 및 제제화

[0469] 백신은 하기 3단계 접근법으로, 즉 중간 리포좀 제조 후 CpG-Chol을 통합하여 완전히 아췌변형된 리포좀을 생성하고 최종적으로 항원성 펩타이드를 도입하여 생산된다.

[0470] 중간 리포좀: 먼저 지질(DMPG, DMPC, 콜레스테롤 및 모노포스포릴 헥사-아실 지질 A, 3-테아실, 첫 번째 아췌변형)을 60℃에서 에탄올에 용해시켰다. 완전히 용해된 후 지질/에탄올 용액을 0.2 μm 기공 크기 필터를 통해 60℃로 예열된 주입 시스템으로 여과했다. 별도의 용기에서, T-세포 에피토프를 포함하는 펩타이드(예를 들어, SAT47, 또는 근접 서열 유사체)를 10 mM 히스티딘, 250 mM 수크로스에 용해시켰다. 이 용액을 0.2 μm 기공 크기

필터를 통해 여과하고 40℃로 가열했다. 지질/에탄올 용액과 T-세포 에피토프(예를 들어, SAT47 또는 근접 서열 유사체)를 포함하는 펩타이드 용액을 교차류 주입 모듈을 사용하여 혼합하여 중간 리포솜을 형성하고, 이어서 활성 냉각을 거친 후 반복되는 압출 사이클을 이용하여 크기를 감소시켰다. 마지막으로 한외여과(UDF)를 수행하여 에탄올을 제거했다. 중간 리포솜을 0.2 μm 기공 크기 필터를 통해 여과하고 사용할 때까지 4℃에서 보관했다.

[0471] CpG-Chol 통합: 중간 리포솜을 지질 1 mg/mL의 농도로 희석하고 최대 60℃까지 가온했다. 두 번째 아췌번트인 CpG-Chol을 리포솜에 적가했다. 리포솜 분산액을 교반하면서 추가로 30분 동안 60℃에서 인큐베이션했다. 완전히 아췌번팅된 리포솜을 UDF로 정제한 후 0.45 μm, 이어서 0.2 μm 기공 크기 필터를 통해 여과하고 4℃에서 보관했다.

[0472] 알파-시누클레인(Asyn) 유래 항원성 펩타이드 도입: 완전히 아췌번팅된 리포솜을 원하는 지질 농도로 희석했다. 이와 동시에, 팔미토일화된 항원성 펩타이드(예를 들어, 서열번호 2, 서열번호 3 또는 서열번호 4의 아미노산 서열을 갖는 펩타이드)를 0.1 내지 10 mg/mL의 펩타이드 최종 농도로 용해시켰다. 리포솜과 펩타이드 용액을 교차류 모듈을 이용하여 최종적으로 혼합하였고 리포솜 분산액을 교반하면서 30℃ 내지 60℃ 사이의 온도에서 인큐베이션했다. UDF 단계를 수행하여 완충액을 제제화 시스템으로 교체했다. 생성물을 최종 부피까지 농축하고, 0.45 μm 기공 크기 필터에 이어 0.2 μm 기공 크기 필터를 통해 여과했다. 벌크 약물 생성물을 4℃에서 보관했다.

[0473] **실시예 2: 마우스에서의 면역원성 연구**

[0474] 천연 알파 시누클레인 서열 및 이의 유도체(VARIOTOPES)를 포함하는, 시스테인을 통해 CRM197에 접합된 다양한 알파 시누클레인 유래 항원성 펩타이드를 제시하는 백신의 면역원성 연구를, BALB/c 마우스에서 수행했다. 마우스에 0일, 14일 및 28일에 총 3회 피하(s.c.) 면역접종(주사당 순(net) 펩타이드 10 μg)을 제공했다. 이를 위해 G30 게이지 바늘을 구비한 인슐린 20 주사기를 사용하여 마우스의 옆구리에 200 μl의 개별 백신을 적용했다. ELISA로 알파 시누클레인 특이적 IgG 역가를 측정하기 위해 마지막 주사 2주 후에 혈액을 채취했다. 이를 위해, 96웰 플레이트(Nunc-Maxisorp)를 재조합 인간 알파 시누클레인(1 μg/ml)으로 코팅하고 역가를 비선형 회귀 분석법(4개 매개변수 로지스틱 적합 함수)으로 PRISM® 5.04(GraphPad Inc, San Diego, CA)를 이용하여 EC50 값을 계산했다.

[0475] 알파 시누클레인 113-124 천연 서열을 따라 세린이 교체된 펩타이드를 함유한 백신의 면역원성을 BALB/c 마우스에서 평가하고 직접적인 비교를 위해 천연 서열을 함유한 백신의 면역원성과 비교했다(표 2).

표 2

치료 그룹 및 개별 백신에 존재하는 펩타이드 서열이 제시되어 있다. 그룹 1 을 직접적인 비교를 위해 천연 서열을 함유하는 백신으로 면역화시켰다.

그룹	서열
1	LEDMPVDPDNEA (서열번호 38)
2	LESMPVDPDNES (서열번호 4)
3	SESMPVDPDNEA (서열번호 9)
4	LESSPVDPDNEA (서열번호 39)
5	SEDMPVDPDNES (서열번호 40)
6	LEDSPVDPDNES (서열번호 41)
7	SEDSPVDPDNEA (서열번호 42)

[0476]

[0477]

위치 1과 3(그룹 3) 또는 위치 3과 12(그룹 2)에서 세린이 교체된 펩타이드를 함유한 백신은 천연 펩타이드 서열을 함유한 백신(그룹 1)에 비해 4 내지 6배 더 높은 알파 시누클레인 특이적 IgG 반응을 유도했다. 위치 4에서 세린이 교체된 펩타이드를 함유한 백신(그룹 4, 6 및 7)은 천연 서열을 함유한 백신에 비해 면역원성을 유의하게 증가시키지 않았다(표 3). 위치 1 및 12에서 세린이 교체된 펩타이드를 함유하는 백신(그룹 5)은 천연 서열을 함유하는 백신에 비해 면역원성을 2배 미만으로 증가시켰다(표 3).

표 3

알파 시누클레인에 대한 역가를 단일 마우스에서 평가했으며 값은 천연 서열로 얻은 중앙값 대비 중앙값을 나타낸다.

그룹	%로 나타낸 그룹 1 대비 역가
1	100
2	622
3	397
4	146
5	189
6	110
7	101

[0478]

[0479]

위치 1, 3, 12에서 세린으로의 아미노산 교체가 이루어진 펩타이드를 함유한 백신이 높은 알파 시누클레인 특이적 IgG 역가를 유도하는 것으로 나타났기 때문에, 위치 1, 3 및 12에서 세린 또는 리신이 교체된 펩타이드를 함유한 백신을 사용하여 추가 면역원성 연구를 수행했다. 테스트된 펩타이드 중 일부는 2개의 글리신 잔기를 부가하여 N-말단에서 연장되었다(표 4). 또한, 직접적인 비교를 위해 이들 백신을 이전에 선택한 항원성 펩타이드 서열 DQPVLDP(서열번호 43)를 함유하는 백신과 비교했다.

표 4

치료 그룹 및 개별 백신에 존재하는 펩타이드 서열이 제시되어 있다. 본 실험과 이전 실험을 연결하기 위해 펩타이드 서열 LESMPVDPDNES(표 2 의 그룹 2)를 함유하는 백신으로 그룹 1 을 면역화시켰다.

그룹	서열
1	LESMPVDPDNES (서열번호 4)
2	GG-KEDMPVDPDNEA (서열번호 3)
3	LEKMPVDPDNES (서열번호 15)
4	SEKMPVDPDNEA (서열번호 14)
5	LEKMPVDPDNEK (서열번호 17)
6	GG-KESMPVDPDNEA (서열번호 2)
7	GG-KESMPVDPDNEK (서열번호 19)
8	DQPVLPD 서열번호 43

[0480]

[0481]

새롭게 설계된 모든 백신은 이미 면역원성이 높은 항원성 펩타이드 LESMPVDPDNES를 함유한 백신에 비해 더 높은 알파 시누클레인 특이적 IgG 역가(최대 3배 - 그룹 6)를 유도했다. 더욱이, 표 4에 제시된 그룹 1 내지 7의 모든 백신은 항원성 펩타이드 DQPVLPD(서열번호 43)를 함유한 백신(표 5)에 비해 실질적으로 더 높은 알파 시누클레인 특이적 역가를 유도했다.

표 5

알파 시누클레인에 대한 역가를 단일 마우스에서 평가했으며, 값은 항원성 펩타이드 LESMPVDPDNES 를 함유하는 백신으로 얻은 증양값 대비 증양값을 나타낸다.

그룹	%로 나타낸 그룹 1 대비 역가
1	100
2	160
3	142
4	143
5	258
6	295
7	205
8	37

[0482]

[0483]

달리 정의하지 않는 한, 본 명세서에 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야의 숙련자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖습니다. 본 명세서에 구체적으로 언급된 모든 간행물 및 특허는 본 발명과 관련된 모든 목적을 위해 그 전체가 참조로 통합된다.

[0484] **실시예 3: 마우스에서 서열번호 2 리포좀 백신과 서열번호 2 접합체 백신의 면역원성 연구**

[0485] 항원성 펩타이드로서 서열번호 2를 함유하는 리포좀 백신("서열번호 2 리포좀 백신"이라 함), 및 단백질 담체 CRM197에 결합된 항원성 펩타이드로서 서열번호 2를 함유하는 단백질-접합체 백신("서열번호 2 접합체 백신"으로 지칭됨)의 면역원성 CRM197을 C57BL/6J 암컷 마우스에서 평가했다.

[0486] **a) 서열번호 2 리포좀 백신 합성 및 제제화**

[0487] 백신을 실시예 1에 따라 3단계 접근 방식으로 아래와 같이 생산했다.

[0488] 중간 리포좀: 먼저, 지질(DMPG, DMPC, 콜레스테롤 및 모노포스포릴 Hexa-acyl Lipid A, (3D-(6-acyl) PHAD™ (아반티 폴라 리비즈, 미국)), 첫 번째 아췘번트)을 에탄올에 60℃에서 용해시켰다. 완전히 용해된 후, 지질/에탄올 용액을 0.2 μm 기공 크기 필터를 통해 60℃로 예열된 주입 시스템으로 여과했다. 별도의 용기에서 T-세포 에피토프 SAT58을 포함하는 펩타이드를 초음파 처리를 통해 실온에서 에탄올에 분산시키고 10 mM 히스티딘, 250 mM 수크로스로 희석하여 용해시켰다. SAT58 용액을 0.2 μm 기공 크기 필터를 통해 여과하고 최대 40℃까지 가열했다. 그런 다음 지질/에탄올 용액과 SAT58 용액을 교차류 주입 모듈을 사용하여 혼합하여 중간 리포좀을 형성한 다음, 이어서 활성 냉각을 거친 후 반복적인 압출 사이클을 이용하여 크기를 감소시켰다. 마지막으로 한외여과(UDF)를 수행하여 에탄올을 제거했다. 중간 SAT58 리포좀을 0.2 μm 기공 크기 필터를 통해 여과하고 사용할 때까지 4℃에서 보관했다.

[0489] CpG-Chol 통합: 중간 리포좀을 20 mM 히스티딘, 145 mM NaCl 중의 1 mg/mL의 지질 농도로 희석하고 60℃까지 가온했다. 두 번째 아췘번트인 CpG-콜레스테롤을 리포좀에 적가했다. 리포좀 분산액을 교반하면서 추가로 30분 동안 60℃에서 인큐베이션했다. 완전히 아췘번팅된 리포좀을 UDF로 정제한 후 0.45 μm, 이어서 0.2 μm 기공 크기 필터를 통해 여과하고 4℃에서 보관했다.

[0490] 알파-시누클레인(Asyn) 유래 항원성 펩타이드 도입: 완전히 아췘번팅된 리포좀을 20 mM 히스티딘, 145 mM NaCl 중 총 지질 함량 1 mg/mL의 농도로 희석했다. 동시에, N-말단 디팔미토일화된 서열번호 2 펩타이드를 60℃에서 20 mM 히스티딘, 145 mM NaCl에 1 mg/mL의 최종 농도로 용해시키고, 용액을 0.2 μm 기공 크기 필터를 통해 여과했다. 리포좀과 펩타이드 용액을 크로스플로우 모듈을 사용하여 최종적으로 혼합하고 리포좀 분산액을 30분 동안 교반하면서 60℃ 온도에서 인큐베이션했다. 완충액을 최종 제제화 시스템, 즉 10 mM 히스티딘, 250 mM 수크로스 완충액으로 교체하기 위해 UDF 단계를 수행했다. 생성물을 최종 부피까지 농축하고, 0.45 μm 기공 크기 필터에 이어 0.2 μm 기공 크기 필터를 통해 여과했다. 벌크 약물 생성물을 4℃에 보관했다.

[0491] **b) 서열번호 2의 접합체 백신 합성 및 제제화:**

[0492] 서열번호 2 접합체 백신은 서열번호 2의 항원성 펩타이드와 담체 단백질 CRM197의 접합체이다. 시스테인 잔기를 함유하도록 항원성 펩타이드를 변형시켰다. 스테인 잔기를 통해 담체 단백질 CRM197에 항원성 펩타이드를 결합시켰다. 접합은 CRM197의 리신 잔기의 측쇄 아미노 그룹과 펩타이드의 아미노(N)-말단 시스테인의 유리 티올 그룹을 이용하는 유도된 절차이다. CRM197의 활성화를 위해, CRM197 수용액을 10 mM 인산염 완충 식염수(PBS)로 조정된 다음, 이관능성 링커인 4-말레이미도부티르산 N-히드록시숙신이미드 에스테르(GMBS)와 함께 부드럽게 진탕시켰다. 이어서, 투석이나 한외여과를 통해 과량의 반응하지 않은 GMBS를 제거했다. 획득된 활성화된 CRM197 용액을 후속적으로 인산염 완충액에 용해시킨 항원성 펩타이드(서열번호 2)와 함께 인큐베이션했다. 펩타이드 내의 시스테인의 유리 티올 그룹은 말레이미도 그룹과 반응하여 최종 항원성 펩타이드(서열번호 2)-CRM197 생성물을 형성했다.

[0493] **c) 연구 설계**

[0494] 1차 면역화 시 대략 10주령인 총 20마리의 C57BL/6J 암컷 마우스를 표 6에 나타낸 바와 같이 2개의 그룹(그룹 1에 마우스 10마리, 그룹 2에 마우스 10마리)으로 할당했다. 2개의 그룹은 1일, 15일 및 29일에 서열번호 2 접합체 백신(그룹 1) 또는 서열번호 2 리포좀 백신(그룹 2)을 등쪽 피하에 피하(s.c) 주사하여 3회 면역접종했다.

표 6

연구 설계

그룹 번호	백신	표적 펩타이드 용량 수준 (μ g/주사)	용량 부피 (mL/동물)	투여 경로	동물/그룹
1	서열번호 2 접합 백신	10	0.2	s.c	10
2	서열번호 2 리포좀 백신	80	0.2	s.c	10

s.c: 피하

[0495]

[0496]

C57BL/6J 마우스에서 본 연구를 위한 서열번호 2 리포좀 백신 및 서열번호 2 접합체 백신에 대한 용량 선택은 마우스의 최고 항체 수준을 기준으로 한다.

[0497]

d) 면역원성은 혈장에서 발생한다:

[0498]

서열번호 펩타이드, a-syn 전장 인간 단백질 및 a-syn 응집체에 대한 면역원성을 1일차(첫 번째 투여 전 사전-용량) 및 각 면역접종 1주 후(8일, 22일 및 36일차)에 수집된 혈장 샘플에서 평가했다. a-syn 응집체를 문헌 [Kumar et al. 2020]에 기술된 프로토콜에 따라 준비했다.

[0499]

항-서열번호 2, 항-a-syn 단백질 또는 항-a-syn 응집체 IgG 역가를 효소 결합 면역 흡착 분석(ELISA)에 의해 각 시점에서 분석했다. 간략하게, BSA 접합된 서열번호 2 펩타이드 또는 a-syn 단백질 또는 a-syn 올리고머/응집체를 96-웰 마이크로 역가 플레이트에 밤새 고정시켰다. 세척 및 차단 후, 플레이트를 혈장 샘플과 함께 37°C에서 2시간 동안 인큐베이션하여 혈장에 존재하는 항체가 펩타이드 또는 단백질에 결합하도록 했다. 인큐베이션 후, 플레이트를 세척하여 비반응성 혈장 성분을 제거했다. 알칼리성 포스파타제에 접합된 2차 항-마우스 IgG 항체를 통해 항체/항원 복합체를 검출했다. pNPP(p-니트로페닐 인산염) 기질을 웰에 첨가하고 광학 밀도를 ELISA 플레이트 판독기에서 405nm로 판독했다. 항-서열번호 2 펩타이드, 항-a-syn 단백질 또는 항-a-syn 응집체 IgG 역가는 비가중 4-매개변수 로지스틱 회귀 모델을 사용하여 8개의 2배 연속 희석으로 보정 곡선으로 역계산했다. Gen5 소프트웨어(BioTek, 스위스)를 사용했다. 결과를 AU/mL로 나타냈다.

[0500]

데이터는 시간에 따른 기하 평균 $\pm$ 95% 신뢰 구간(CI)으로 표시되며, 이때 $n=10$ /그룹(22일 및 36일차 그룹 2의 경우 $n=9$)이었다. 수정되지 않은 피셔(Fisher)의 LSD 다중 비교 테스트를 이용한 2-원(Way) ANOVA를 통계 분석에 이용했다. $**p<0.05$, $***p<0.01$, $****p<0.001$, $*****p<0.0001$.

[0501]

결과(도 1, 2, 3)는 서열번호 2 리포좀 백신으로 면역접종한 동물에서 1회 면역접종 후 강력한 항-서열번호 2 펩타이드, 항-a-syn 단백질 및 항-a-syn 응집체 반응이 나타났음을 보여준 반면, 서열번호 2 접합체 백신을 면역접종한 마우스의 경우 2회 면역접종이 요구되었다. 모든 시점에서, 서열번호 2 리포좀 백신은 테스트된 모든 판독값에 대해 서열번호 2 접합체 백신보다 통계적으로 유의하게 더 높은 역가를 유도했다.

[0502]

결론적으로, 이 결과는 알파-시누클레인 단백질 및 응집된 알파-시누클레인에 대해 생체 내에서 강력한 면역 반응을 유도하는 서열번호 2 리포좀 백신의 잠재력을 확인시켜주었다. 또한, 이 결과는 서열번호 2 리포좀 백신이 서열번호 2 접합체 백신과 비교하여 항-서열번호 2 펩타이드, 알파-시누클레인 단백질 및 응집된 알파-시누클레인에 대해 놀랍게도 증가된 생체내 면역 반응을 제공했음을 보여준다.

[0503]

본 발명은 본 명세서에 설명된 특정 실시형태에 의해 범위가 제한되지 아니한다. 실제로, 본 명세서에 기술된 것 외에 본 발명의 다양한 변형이 전술한 설명 및 첨부 도면으로부터 당업자에게 명백해질 것이다. 이러한 변형은 첨부된 청구범위의 범위 내에 속하도록 의도된다. 더욱이, 본 명세서에 기술된 본 발명의 모든 양태 및 실시 형태는 적절하게 본 발명의 다른 양태(단독 포함)로부터 취해진 것들을 포함하여 임의의 및 모든 다른 일관된 실시형태와 광범위하게 적용가능하고 조합 가능한 것으로 간주된다.

[0504] 참고문헌:

- Alexander J, Sidney J, Southwood S, Ruppert J, Oseroff C, Maewal A, Snoke K, Serra HM, Kubo RT, Sette A, et al. Development of high potency universal DR-restricted helper epitopes by modification of high affinity DR-blocking peptides. *Immunity*
- Andreas Puschmann, Roongroj Bhidayasiri, William J. Weiner, Synucleinopathies from bench to bedside, *Parkinsonism & Related Disorders*, Volume 18, Supplement 1, 2012, Pages S24-S27, ISSN 1353-8020
- Askanas V, Engel WK, Alvarez RB, McFerrin J, Broccolini A. Novel immunolocalization of alpha-synuclein in human muscle of inclusion-body myositis, regenerating and necrotic muscle fibers, and at neuromuscular junctions. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2000 Jul;59(7):592-8.
- Bassil F, Fernagut PO, Bezard E, Pruvost A, Leste-Lasserre T, Hoang QQ, Ringe D, Petsko GA, Meissner WG. Reducing C-terminal truncation mitigates synucleinopathy and neurodegeneration in a transgenic model of multiple system atrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016 Aug 23;113(34):9593-8
- Braak H, Sastre M, Del Tredici K. Development of alpha-synuclein immunoreactive astrocytes in the forebrain parallels stages of intraneuronal pathology in sporadic Parkinson's disease. *Acta Neuropathol*. 2007 Sep;114(3):231-41.
- Bengoia-Vergniory N, Roberts RF, Wade-Martins R, Alegre-Abarrategui J. Alpha-synuclein oligomers: a new hope. *Acta Neuropathol*. 2017 Dec;134(6):819-838.
- Bernis ME, Babila JT, Breid S, Wüsten KA, Wüllner U, Tamgüney G. Prion-like propagation of human brain-derived alpha-synuclein in transgenic mice expressing human wild-type alpha-synuclein. *Acta Neuropathol Commun*. 2015 Nov 26;3:75
- Charles V., Mezey E., Reddy P.H., Dehejia A., Young T.A., Polymeropoulos M.H., Brownstein M.J., Tagle D.A. (2000). Alpha-synuclein immunoreactivity of huntingtin polyglutamine aggregates in striatum and cortex of Huntington's disease patients and transgenic mouse models.. *Neurosci. Lett.* 289, 29-32

[0505]

- Dickson DW, Crystal H, Mattiace LA, Kress Y, Schwagerl A, Ksiezak-Reding H, Davies P, Yen SH. Diffuse Lewy body disease: light and electron microscopic immunocytochemistry of senile plaques. *Acta Neuropathol.* 1989;78(6):572-84.
- Del Guercio M.F, Jeff Alexander, Ralph T. Kubo, Thomas Arrhenius, Ajesh Maewal, Ettore Appella, Stephen L. Hoffman, Trevor Jones, Danila Valmori, Kazuyasu Sakaguchi, Howard M. Grey, Alessandro Sette, Potent immunogenic short linear peptide constructs composed of B cell epitopes and Pan DR T Helper Epitopes (PADRE) for antibody responses in vivo, *Vaccine*, Volume 15, Issue 4, 1997, Pages 441-448.
- Dufty BM, Warner LR, Hou ST, Jiang SX, Gomez-Isla T, Leenhouts KM, Oxford JT, Feany MB, Masliah E, Rohn TT. Calpain-cleavage of alpha-synuclein: connecting proteolytic processing to disease-linked aggregation. *Am J Pathol.* 2007 May;170(5):1725-38
- FERMAN, T., BOEVE, B., SMITH, G., SILBER, M., LUCAS, J., GRAFF-RADFORD, N., IVNIK, R. (2002). Dementia with Lewy bodies may present as dementia and REM sleep behavior disorder without parkinsonism or hallucinations. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 8(7), 907-914. doi:10.1017/S1355617702870047
- Fleming S.M., Ashley Davis, Emily Simons, Targeting alpha-synuclein via the immune system in Parkinson's disease: Current vaccine therapies, *Neuropharmacology*, Volume 202, 2022, 108870, ISSN 0028-3908
- Galvin JE, Lee VM, Trojanowski JQ. Synucleinopathies: Clinical and Pathological Implications. *Arch Neurol.* 2001;58(2):186-190. doi:10.1001/archneur.58.2.186
- Jellinger KA. Neuropathological spectrum of synucleinopathies. *Mov Disord.* 2003 Sep;18 Suppl 6:S2-12. doi: 10.1002/mds.10557. PMID: 14502650.
- Kosaka K. Diffuse Lewy body disease in Japan. *J Neurol.* 1990 Jun;237(3):197-204.
- Kövari E, Burkhardt K, Lohrman JA, Bouras C. Lewy body dysphagia. *Acta Neuropathol.* 2007 Sep;114(3):295-8. doi: 10.1007/s00401-007-0233-6. Epub 2007 Jun 19. PMID: 17576582
- Lashuel HA, Overk CR, Oueslati A, Masliah E. The many faces of α -synuclein: from structure and toxicity to therapeutic target. *Nat Rev Neurosci.* 2013 Jan;14(1):38-48.
- Lee HJ, Suk JE, Bae EJ, Lee JH, Paik SR, Lee SJ. Assembly-dependent endocytosis and clearance of extracellular alpha-synuclein. *Int J Biochem Cell Biol.* 2008;40(9):1835-49
- Lippa CF, Schmidt ML, Lee VM, Trojanowski JQ. Antibodies to alpha-synuclein detect Lewy bodies in many Down's syndrome brains with Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* 1999;45:353-7
- Mandler M, Valera E, Rockenstein E, Weninger H, Patrick C, Adame A, Santic R, Meindl S, Vigil B, Smrzka O, Schneeberger A, Mattner F, Masliah E. Next-generation active

immunization approach for synucleinopathies: implications for Parkinson's disease clinical trials. *Acta Neuropathol.* 2014;127(6):861-79.

Nimmo JT, Smith H, Wang CY, Teeling JL, Nicoll JAR, Verma A, Dodart JC, Liu Z, Lin F, Carare RO. Immunisation with UB-312 in the Thy1SNCA mouse prevents motor performance deficits and oligomeric α -synuclein accumulation in the brain and gut. *Acta Neuropathol.* 2022 Jan;143(1):55-73.

McKee AC, Stern RA, Nowinski CJ, Stein TD, Alvarez VE, Daneshvar DH, Lee HS, Wojtowicz SM, Hall G, Baugh CM, Riley DO, Kubilus CA, Cormier KA, Jacobs MA, Martin BR, Abraham CR, Ikezu T, Reichard RR, Wolozin BL, Budson AE, Goldstein LE, Kowall NW, Cantu RC. The spectrum of disease in chronic traumatic encephalopathy. *Brain.* 2013 Jan;136(Pt 1):43-64. doi: 10.1093/brain/aws307. Epub 2012 Dec 2. Erratum in: *Brain.* 2013 Oct;136(Pt 10):e255. PMID: 23208308; PMCID: PMC3624697.

Panina-Bordignon P, Tan A, Termijtelen A, Demotz S, Corradin G, Lanzavecchia A. Universally immunogenic T cell epitopes: promiscuous binding to human MHC class II and promiscuous recognition by T cells. *Eur J Immunol.* 1989 Dec;19(12):2237-42.

Pihlgren M, Silva A.B., Madani R, Giriens V., Waeckerle-Men Y., Fettelschoss A., Hickman D.T., López-Deber M.P., Ndao D.M., Vukicevic M., Buccarello A.L., Gafner V., Chuard N., Reis P., Piorkowska K., Pfeifer A., Kundig T.M., Muhs A., Johansen P., TLR4-and TRIF-dependent stimulation of B lymphocytes by peptide liposomes enables T cell/-independent isotype switch in mice. *Blood.* Jan 3;121 (1):85-94 (2013).

Schmitz, M., Villar-Piqué, A., Llorens, F. et al. Cerebrospinal Fluid Total and Phosphorylated α -Synuclein in Patients with Creutzfeldt-Jakob Disease and Synucleinopathy. *Mol Neurobiol* 56, 3476–3483 (2019). <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1313-4>

Smith BR, Santos MB, Marshall MS, Cantuti-Castelvetri L, Lopez-Rosas A, Li G, van Breemen R, Claycomb KI, Gallea JI, Celej MS, Crocker SJ, Givogri MI, Bongarzone ER. Neuronal inclusions of alpha-synuclein contribute to the pathogenesis of Krabbe disease. *J Pathol.* 2014;232:509–521. doi: 10.1002/path.4328.

Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM, Trojanowski JQ, Jakes R, Goedert M. Alpha-synuclein in Lewy bodies. *Nature.* 1997 Aug 28;388(6645):839-40.

Usenovic M, Tresse E, Mazzulli JR, Taylor JP, Krainc D. Deficiency of ATP13A2 leads to lysosomal dysfunction, α -synuclein accumulation, and neurotoxicity. *J Neurosci.* 2012 Mar 21;32(12):4240-6. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5575-11.2012. PMID: 22442086; PMCID: PMC3462811.

[0507]

Volc D, Poewe W, Kutzelnigg A, Lührs P, Thun-Hohenstein C, Schneeberger A, Galabova G, Majbour N, Vaikath N, El-Agnaf O, Winter D, Mihailovska E, Mairhofer A, Schwenke C, Staffler G, Medori R. Safety and immunogenicity of the α -synuclein active immunotherapeutic PD01A in patients with Parkinson's disease: a randomised, single-blinded, phase I trial. *Lancet Neurol.* 2020 Jul;19(7):591-600.

Wilhelmsen KC, Forman MS, Rosen HJ, Alving LL, Goldman J, Feiger J, et al. 17q-linked frontotemporal dementia-amyotrophic lateral sclerosis without tau mutations with tau and alpha-synuclein inclusions. *Arch Neurol.* 2004;61(3):398-406

Winder-Rhodes SE, Garcia-Reitböck P, Ban M, et al. Genetic and pathological links between Parkinson's disease and the lysosomal disorder Sanfilippo syndrome. *Mov Disord* 2012;27(2):312-315

Yamaguchi et al., *J Neuropathol Exp Neurol.* 2004, 80th annual meeting, vol.63

Yuko Saito, MD, PHD, Kinuko Suzuki, MD, Christine M. Hulette, MD, Shigeo Murayama, MD, PHD, Aberrant Phosphorylation of α -Synuclein in Human Niemann-Pick Type C1 Disease, *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, Volume 63, Issue 4, April 2004,

American Pharmaceuticals Association, 2003; and Goodman and Gilman's: the Pharmacological Basis of Therapeutics (Louis S. Goodman and Lee E. Limbird, eds.; McGraw Hill, 1992)

Fiedler's "Lexikon der Hilfsstoffe" 5th Ed., Edition Cantor Verlag Aulendorf 2002; "The Handbook of Pharmaceutical Excipients", 4th Ed

Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd Ed. (Arthur H. Kibbe, ed.; Amer. Pharmaceutical Assoc, 1999)

Pharmaceutical Codex: Principles and Practice of Pharmaceutics 12th Ed. (Walter Lund ed.; Pharmaceutical Press, London, 1994)

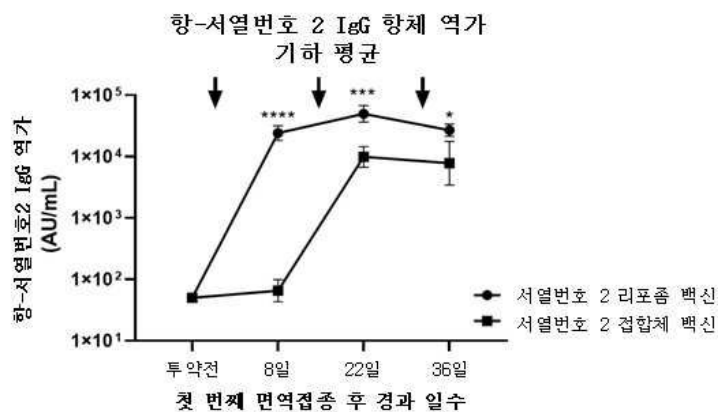
Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th or 18th Ed. (Alfonso R. Gennaro, ed.; Mack Publishing Company, Easton, PA, 1990)

Remington: the Science and Practice of Pharmacy 19th Ed. (Lippincott, Williams & Wilkins, 1995)

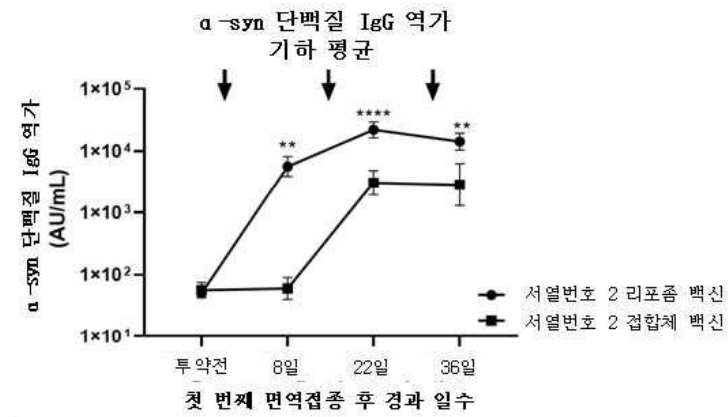
[0508]

도면

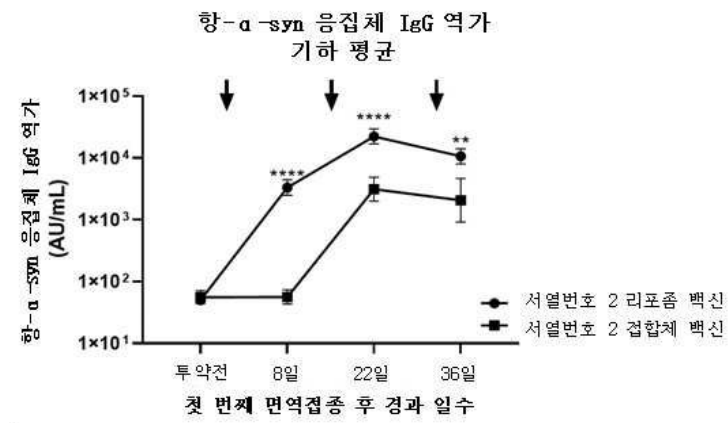
도면1



도면2



도면3



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.