(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0017221
(43) 공개일자 2025년02월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/19 (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)
A61P 25/04 (2006.01) *A61P 29/00* (2023.01)
C07K 14/52 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 38/195 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7041847
(22) 출원일자(국제) 2023년05월25일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년12월17일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2023/064091
(87) 국제공개번호 WO 2023/227731
국제공개일자 2023년11월30일
(30) 우선권주장
22305773.8 2022년05월25일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
타팔지 세러퓨틱스
프랑스 13009 마르세유 아브뉘 드 뤼미니 163 파르끄 시앙티피끄 에 테크놀로지끄 드 뤼미니 바띠망 씨씨아이엠피
(72) 발명자
모크리치 압델아지즈
프랑스 13009 마르세유
가이야르 스테빤
프랑스 13009 마르세유
(74) 대리인
특허법인코리아나

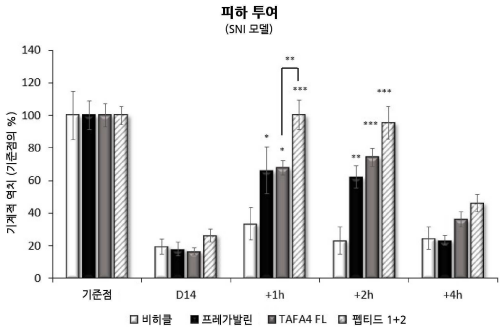
전체 청구항 수 : 총 16 항

(54) 발명의 명칭 **통증의 치료에서 사용을 위한 펩티드 및 방법**

(57) 요 약

본 발명은 펩티드 세트, 상기 펩티드의 발현을 허용하거나 또는 포함하는 조성물 및 키트를 비롯하여, 특히 이를 필요로 하는 대상체에서 통증의 예방 또는 치료를 위한 이의 용도에 관한 것이다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61P 25/04 (2018.01)
A61P 29/00 (2023.02)
C07K 14/521 (2013.01)
A61K 2300/00 (2023.05)

명 세 서

청구범위

청구항 1

SEQ ID NO: 1의 제1 펩티드 또는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드, 및 SEQ ID NO: 2의 제2 펩티드 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드를 포함하는 조성물로서, 상기 2개 펩티드는 서로 연결되지 않은 것인 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 조성물이 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드 및/또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드를 포함하는 경우에, SEQ ID NO: 1의 펩티드의 위치 13의 글루타민 (Q) 잔기는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드의 아미노산 서열에서 변화되지 않은 채로 남아있고, SEQ ID NO: 2의 펩티드의 위치 18의 티로신 (Y) 잔기는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드의 아미노산 서열에서 변화되지 않은 채로 남아있거나 또는 세린 (S)으로 치환되는 것인 조성물.

청구항 3

서로 연결되지 않은 2개 펩티드의 발현을 허용하는 핵산을 포함하는 성분 세트, 또는 조성물로서, 제1 핵산은 SEQ ID NO: 1의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드를 코딩하는 서열을 포함하고, 제2 핵산은 SEQ ID NO: 2의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드를 코딩하는 서열을 포함하는 것인 성분 세트, 또는 조성물.

청구항 4

서로 연결되지 않은 2개 펩티드의 발현을 허용하는 벡터를 포함하는 성분 세트, 또는 조성물로서, 제1 벡터는 SEQ ID NO: 1의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드를 코딩하는 서열을 포함하고, 제2 벡터는 SEQ ID NO: 2의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드를 코딩하는 서열을 포함하는 것인 성분 세트, 또는 조성물.

청구항 5

세포 또는 상기 세포 및 허용가능한 지지체를 포함하는 조성물로서, 세포는 서로 연결되지 않은 2개 펩티드의 발현을 허용하고, 세포는 SEQ ID NO: 1의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드를 코딩하는 제1 핵산 서열 또는 벡터, 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드를 코딩하는 제2 핵산 서열 또는 벡터를 포함하는 것인 세포 또는 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 하나의 항에 있어서, 조성물은 적어도 하나의 추가적인 활성 화합물, 바람직하게 통증에 효율적인 활성 화합물, 보다 더 바람직하게 SAID, NSAID 또는 오피오이드 약물을 더 포함하는 것인 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 하나의 항에 있어서, 조성물은 약학적으로 및/또는 영양학적으로 허용가능한 지지체를 포함하는 것인 조성물.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 하나의 항에 있어서, 조성물은 아스코르브산 또는 아스코르브산 염을 더 포함하는 것인 조성물.

청구항 9

SEQ ID NO: 1의 제1 펩티드 또는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드 및 SEQ ID NO: 2의 제2 펩티드 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드의 세트로서 상기 2개 펩티드는 서로 연결되지 않은 것인 세트, 제3항 또는 제4항의 세트, 제1항 내지 제8항 중 어느 하나의 항의 조성물, 또는 제5항의 세포로서, 세트, 조성물 또는 세포는 이를 필요로 하는 대상체에서 의약으로서 사용을 위한 것인 세트, 조성물 또는 세포.

청구항 10

SEQ ID NO: 1의 제1 펩티드 또는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드 및 SEQ ID NO: 2의 제2 펩티드 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드의 세트로서 상기 2개 펩티드는 서로 연결되지 않은 것인 세트, 제3항 또는 제4항의 세트, 제1항 내지 제8항 중 어느 하나의 항의 조성물, 또는 제5항의 세포로서, 세트, 조성물 또는 세포는 이를 필요로 하는 대상체에서 통증의 예방 또는 치료에 사용을 위한 것인 세트, 조성물 또는 세포.

청구항 11

제10항에 있어서, 통증은 만성 통증, 신경병증성 통증, 수술후 통증, 염증성 통증, 관절염 통증, 관절 손상과 연관된 통증, 엘러스-단로스 증후군과 관련된 통증, 일광 화상에 의한 통증, 얼음 화상에 의한 통증, 통각과민증, 이질통증, 또는 급성 통증인 세트, 조성물 또는 세포.

청구항 12

제9항 내지 제11항 중 어느 하나의 항에 있어서, 대상체는 포유동물이고, 특히 인간인 세트, 조성물 또는 세포.

청구항 13

제9항 내지 제12항 중 어느 하나의 항에 있어서, 조성물은 대상체에게 근육내로, 정맥내로, 복강내로, 경구로(*입으로*), 항문으로, 피부로, 피하로, 국소적으로, 진피로, 경피로 또는 척추강내로, 바람직하게 피하로 또는 경구로 투여되는 것인 세트 또는 조성물.

청구항 14

제9항 내지 제13항 중 어느 하나의 항에 있어서, 세트 또는 조성물은 제1 및 제2 펩티드 둘 모두를 단위 용량당 1 μg과 100 mg 사이, 바람직하게 25 μg과 10 mg 사이로 포함하는 것인 세트 또는 조성물.

청구항 15

제9항 내지 제13항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 세트 또는 조성물은 포유동물에게 1 μg/kg/일과 100 mg/kg/일 사이, 바람직하게 2.5 μg/kg/일과 0.6 mg/kg/일 사이의 용량으로 투여되는 것인 세트 또는 조성물.

청구항 16

i) SEQ ID NO: 1의 제1 펩티드 또는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드, 또는 상기 펩티드를 코딩하는 핵산 서열, ii) SEQ ID NO: 2의 제2 펩티드 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드, 또는 상기 펩티드를 코딩하는 핵산 서열 (제1 및 제2 펩티드, 또는 상기 펩티드를 코딩하는 핵산은 별개 용기에 존재함), 및 임의로 iii) 키트 사용을 위한 서면 설명서를 포함하는 것인 키트.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 일반적으로 통증 관리 분야에 관한 것이다. 보다 특히, 본 발명은 펩티드의 세트, 상기 펩티드의 발현을 허용하거나, 또는 포함하는 조성물 및 키트를 비롯하여, 특히 이를 필요로 하는 대상체에서 통증의 예방 또는 치료를 위한 이의 용도에 관한 것이다. 세트의 펩티드는 신경병증성 통증, 수술후 통증, 또는 염증성 통증에서 기원하는 통증, 특히 급성, 아급성, 또는 만성 통증의 예방 또는 치료, 또는 손상-유도 통증으로 인한 통각과민증 또는 이질통증의 예방 또는 치료를 위한 활성 성분으로서 사용가능한, 인간 TAFA-4 단백질의 특이적 단편, 또는 이의 동등한 단편이다.

배 경 기 술

[0002] 통증은 일반적으로 급성 또는 만성으로 분류된다. 급성 통증은 수명이 짧고, 우리의 신체적 무결성의 유지에 필수적인데 반해서, 만성 통증은 정상적인 치유 시간을 넘어서 지속되고 웰빙에 부정적인 영향을 미친다. 만성 염증성, 신경병증성 또는 수술후 통증은 장기간 지속되는 감각 이상 예컨대 통각과민증 (유독성 자극으로 인해 유발된 극심한 통증) 및 기계적 이질통증 (무해한 기계적 자극으로 유발된 통증)을 일으킨다. 이들 통증 범주는 병인학 및 임상적 특성의 관점에서 상이하지만, 말초 및 중추 둘 모두에서, 신경-면역 상호작용 및 뉴런 감작에 대한 변경을 포함하여, 몇가지 공통 기전을 갖는다 (Costigan et al., 2009). 억제 상실이 만성 통증의 근본적인 핵심 기전일 수도 있다는 것을 시사하는 증거가 늘어나고 있다 (Bourane et al., 2015a; Bourane et al., 2015b; Boyle et al., 2019; Coull et al., 2005; Duan et al., 2014; Peirs et al., 2015; Petitjean et al., 2019; Petitjean et al., 2015; Zeilhofer et al., 2012; Zhang et al., 2018, Yoo et al., 2021). 그러나, 설치류에서 만성 통증의 근본이 되는 기전 및 회로에 대한 우리의 광범위한 지식에도 불구하고, 인간에서 만성 통증의 효과적인 치료로 이들 발견의 해석은 여전히 불만족스럽다 (Colloca et al., 2017). 실제로, 비-스테로이드 항염증제 (NSAID)는 만성 통증에 대한 효능이 제한적이고, 오피오이드는 잠재적으로 치명적인 호흡 저하, 구역, 변비, 통각과민증, 내성, 신체적 및 정신적 의존증을 포함한, 다수의 역효과를 갖는다 (Benyamin et al., 2008). 따라서, 만성 통증의 치료를 위한 무통성 또는 진통성 잠재력을 갖는 신규 표적을 찾으려는 노력이 장려되어야 한다.

[0003] 지난 수년간, 발명자는 만성 통증의 치료를 위한 흥미로운 약물일 수 있음을 시사하는 분비형 단백질 TAFA-4의 놀라운 특성을 발굴하였다 (WO2014180853). TAFA-4는 5개의 고도로 보존된 분비형 뉴로카인의 패밀리에 속한다 (Sarver et al., 2021). TAFA-4는 신호 펩티드에 이어서 사이토카인을 닮게 만드는 CC-케모카인 모티프를 포함하는 10개 시스테인 잔기를 갖는 고도로 보존된 코어 영역을 함유한다 (Tom Tang et al., 2004).

[0004] 본 발명자는 또한 TAFA-4 유전자가 결실된 마우스에서, 신경 손상에 의해 유도된 기계적 과민증이 야생형 (WT) 마우스에 비해서 훨씬 더 오래 지속된다는 것이 이전에 확인되었다 (Delfini et al., 2013). 이들 표현형은 재조합 TAFA-4의 척추강내 주사에 의해 반전된다.

[0005] WO2014180853에 기술된 바와 같이, 발명자는 TAFA-4가 병리학적으로 증가된 기계적 통증에 대항하여 강력한 작용을 보유한다는 것을 입증하는 실험 증거를 이전에 보고하였었다. 숫컷 및 암컷 마우스 둘 모두에서, 인간 재조합 TAFA-4의 척수강내 및 피하 투여가 염증성, 수술후 및 신경 손상-유도된 기계적 과민증을 반전시킨다는 것이 확인되었다. 그들은 TAFA-4가 기계적 역치 변형을 담당하는 것으로 보고된 척수판 II 개재뉴런의 신경 손상-유도된 뉴런 감작을 반전시킬 수 있다는 것을 또한 확인하였다. 그러나, 재조합 성숙 TAFA-4 단백질의 생산은 TAFA-4가 시스테인-풍부 단백질 (총 10개 시스테인)이기 때문에 도전적일 수도 있다. 실제로, 재폴딩은 단백질의 활성에 상당하게 영향을 미칠 수도 있는 비-천연 입체형태 또는 부적절한 디술피드 가교 패턴을 수득할 수 있게 한다. 게다가, 고순도의 재조합 TAFA-4 단백질을 얻는데 필요한 몇몇 정제 단계는, 가능한 응집 문제와 함께 적절하게 폴딩된 단백질의 수율을 제한할 수도 있다. 더 나아가서, TAFA-4 단백질의 화학적 합성이 구현되었지만, 4개 이상의 (보호 또는 부분 보호) 펩티드 절편 (N-말단에서 시작하여 가장 C-말단 펩티드에서 종료)의 조립을 요구하는, 단백질 길이로 인해서 역시 어렵다. 전체 길이 TAFA-4의 생성을 위해서, 3개의 결찰 정제 단계가 요구되어서, 산업적 규모의 생산에 적합하지 않은 저수율을 초래한다. 따라서, 통증, 특히 급성, 아급성 또는 만성 통증의 효율적인 예방 또는 치료에 사용을 위한 대안적인 치료제 및 방법에 대한 강력한 요구가 존재하고, 산업적 규모로, 비용 효율적인 방식으로 제조할 수 있는, 전체 길이 TAFA-4 단백질과 유사하거나 또는 더 나은 활성을 갖는 신규 화합물을 발견하는데서 실질적인 장점이 있을 것이다.

발명의 내용

[0006] 본 발명은 적어도 부분적으로, 진통 또는 무통 활성, 특히 진통 활성을 나타내는 펩티드의 발견을 기반으로 한다. 발명자는 이들 펩티드가 신경 손상, 수술 또는 염증제 예컨대 카라기난의 주사로 인해 유도된 기계적 과민증을 유리하게 반전시킬 수 있다, 다시 말해서 신경병증성, 수술후 또는 염증성 통증을 치료할 수 있다는 것을 발견하였다.

[0007] 관심 펩티드는 인간 TAFA-4 단백질의 특이적 단편이거나, 또는 그로부터 유래된다. 그들은 통증, 특히 만성 통증에 대해서, 전형적으로 손상-유도 통증에 대해서 인간 TAFA-4 전체 길이 단백질 (본 명세서에서 또한 "TAFA-4 FL"이라고 식별됨)에 비해서 더 효과적이고, 생산이 더 쉽다. 실제로, 이들 펩티드는 치료적 효과를 발생시키기 위해서 서로에 연결될 필요가 없는 짧은 펩티드이다. 본 명세서에서 발명자는 통증 치료에 대한 중독 문제를 완화할 수 있는 새로운 도구를 환자에게 제공한다.

[0008] 특히, 본 명세서에서 발명자는 생산물 또는 성분의 세트, 특히 펩티드의 세트, 이러한 펩티드를 코딩하는 핵산의 세트, 이러한 펩티드의 발현을 허용하는 벡터 및/또는 세포의 세트를 최초로 기술하고, 펩티드는 SEQ ID NO: 1의 제1 펩티드 (CFPGQVAGTTRAQPSCVEASIVIQKWW) 또는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드 (본 명세서에서 또한 서열 SEQ ID NO: 1의 "변이체", "펩티드 변이체" 또는 "펩티드의 변이체"로 식별됨), 및 SEQ ID NO: 2의 제2 펩티드 (CHMNPCLEGEDCKVLPDYSGWSCSSGNKVKTTKVTR) 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드 (본 명세서에서 또한 서열 SEQ ID NO: 2의 "변이체", "펩티드 변이체" 또는 "펩티드의 변이체"로 식별됨)를 포함하거나, 또는 그로 이루어지고, 상기 (적어도 2개) 펩티드는 서로 연결되지 않는다. 변이체는 전형적으로 기능성 변이체이고, 다시 말해서, SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2의 펩티드에 대해서 본 발명자가 본 명세서에 기술한 바와 동일한 (치료적) 효과를 갖는 변이체이다.

[0009] 본 명세서는 또한 서열 SEQ ID NO: 1의 펩티드 또는 이의 변이체 (즉, SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드), 및 서열 SEQ ID NO: 2의 펩티드 또는 이의 변이체 (즉, SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드)를 포함하는 조성물을 기술하고, 상기 (적어도 2개) 펩티드는 서로 연결되지 않는다.

[0010] 특정 양태에서, SEQ ID NO: 1의 펩티드 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드와 유사하게, 본 명세서에 기술된 그들 변이체는 척수 개재뉴런 (바람직하게 척수판 IIi 개재뉴런)의 흥분성을 조절한다.

[0011] 바람직한 양태에서, SEQ ID NO: 1의 펩티드의 위치 13 (SEQ ID NO: 1에 기재된 위치에 대함)의 글루타민 (Q) 잔기는 SEQ ID NO: 1의 펩티드의 변이체에서 변화되지 않은 채로 남아있다. 유사하게, SEQ ID NO: 2의 펩티드의 위치 18 (SEQ ID NO: 2에 기재된 위치에 대함)의 티로신 (Y) 잔기는 SEQ ID NO: 2의 펩티드의 변이체에서 변화되지 않은 채로 남아있거나 또는 세린 (S)으로 치환된다.

[0012] 본 명세서에서 발명자는 특히 서로 연결되지 않은 (적어도 2개) 펩티드의 발현을 허용하는 핵산의 세트로서, (제1) 핵산은 SEQ ID NO: 1의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드를 코딩하는 서열을 포함하고, (제2) 핵산은 SEQ ID NO: 2의 펩티드, 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드를 코딩하는 서열을 포함하는 것인 핵산의 세트를 비롯하여, 이러한 핵산의 세트를 포함하는 조성물을 기술한다.

[0013] 본 명세서는 또한 서로 연결되지 않은 (적어도 2개 펩티드)의 발현을 허용하는 벡터의 세트로서, (제1) 벡터는 SEQ ID NO: 1의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드를 코딩하는 서열을 포함하고, (제2) 벡터는 SEQ ID NO: 2의 펩티드, 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드를 코딩하는 서열을 포함하는 것인 벡터의 세트를 비롯하여, 이러한 벡터의 세트를 포함하는 조성물을 개시한다.

[0014] 본 명세서는 또한 서로 연결되지 않은 본 명세서에 기술된 바와 같은 (적어도 2개) 펩티드 (또는 이의 변이체)의 발현을 허용하는 세포를 개시하고, i) 세포는 SEQ ID NO: 1의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드를 코딩하는 (제1) 핵산 서열 또는 벡터, 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드를 코딩하는 (제2) 핵산 서열 또는 벡터를 포함한다. 또한, 이러한 세포 및 허용가능한 지지체를 포함하는 조성물을 개시한다.

[0015] 본 명세서는 또한 활성 치료 또는 예방 성분으로서 사용을 위한, 전형적으로 약학 조성물, 약물 또는 의약으로서 사용을 위한, 본 명세서에 개시된 바와 같은 세트, 조성물 또는 세포를 최초로 기술한다.

[0016] 임의의 본 명세서에 기술된 조성물은 전형적으로 (적어도 2개) 펩티드 이외에도, 약학적으로 및/또는 영양학적으로/식이요법적으로 허용가능한 지지체를 포함하는 약학, 치료, 수의학 또는 영양학/식이요법 조성물이다.

[0017] 특정 양태에서, 조성물은 적어도 하나의 추가적인 (별개) 활성 화합물/활성제, 바람직하게 통증에 효율적인 활성제 (급성, 아급성 또는 만성 통증), 보다 더 바람직하게 스테로이드 항염증 약물 (SAID), 비-스테로이드 항염증 약물 (NSAID) 또는 오피오이드 약물을 더 포함할 수도 있다.

[0018] 본 발명은 또한 이를 필요로 하는 대상체에서 통증의 예방 또는 치료를 위해 (활성 성분(들)으로서) 사용을 위한, 본 명세서에 기술된 바와 같은 세트, 또는 세포, 전형적으로 펩티드의 세트, 이러한 펩티드를 코딩하는 핵산의 세트, 또는 이러한 펩티드의 발현을 허용하는 벡터의 세트, 또는 이러한 세트를 포함하거나 또는 발현하는 세포에 관한 것이다. 또한, 이를 필요로 하는 대상체에서 통증의 예방 또는 치료를 위한 약학 조성물, 약물 또는 의약의 제조를 위한 이러한 펩티드 또는 이러한 세트의 용도에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 만성 통증, 신경병증성 통증, 수술후 통증, 염증성 통증, 통각과민증, 이질통증 또는 급성 통증을 치료하는데 사용될 수도 있다. 본 발명은 또한 관절염 통증, 관절 손상과 연관된 통증, 엘러스-단로스 증후군과 관련된 통증, 일광 화상에 의한 통증 또는 얼음 화상에 의한 통증을 치료하는데 사용될 수도 있다.

[0019] 본 발명은 또한 이를 필요로 하는 대상체에서 통증을 예방하고 치료하는 방법에 관한 것으로서, 방법은 본 명세서에 기술된 바와 같은 세트 및/또는 조성물과 같은 생산물, 바람직하게 SEQ ID NO: 1의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 이의 변이체 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함하는 펩티드의 세트, 또는 이러한 세트를 포함하는 조성물의 (치료적 유효) 양을 투여하는 단계를 포함한다.

[0020] 본 명세서에 기술된 바와 같은 생산물, 특히 펩티드, 세트 및 조성물은 대상체에게 임의의 경로, 예컨대, 예를 들어 근육내, 정맥내, 복강내, 경구로 (*입으로*), 항문으로, 피부로, 피하로, 국소적으로, 진피로, 경피로 또는 척추강내로 투여될 수도 있다. 바람직하게, 본 명세서에 기술된 생산물, 예를 들어 펩티드 또는 조성물은 대상체에게 피하로, 경구로 또는 정맥내로, 보다 더 바람직하게 피하로 또는 경구로 투여된다.

[0021] 본 명세서에 기술된 각각의 생산물, 예를 들어 펩티드, 또는 조성물은 키트의 일부일 수도 있다.

[0022] 본 발명의 특정한 키트는 i) SEQ ID NO: 1의 제1 펩티드, SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드, 또는 이러한 펩티드를 코딩하는 핵산 서열, ii) SEQ ID NO: 2의 제2 펩티드, SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드, 또는 이러한 펩티드를 코딩하는 핵산 서열, 및 임의로 iii) 키트 사용을 위한 서면 설명서를 포함하고, 제1 및 제2 펩티드, 또는 상기 펩티드를 코딩하는 핵산, 제1 및 제2 펩티드, 또는 상기 펩티드를 코딩하는 핵산은 별개 용기에 존재한다. 본 명세서에 기술된 키트는 전형적으로 통증의 예방 또는 치료의 상황에서 사용을 위한 것이다.

[0023] 특정 양태에서, 본 발명의 생산물은 또한 연구 상황에서 사용될 수도 있다. 본 명세서에 기술된 바와 같은 펩티드 또는 이의 변이체를 코딩하는 핵산, 그들 발현을 허용하는 벡터, 또는 이러한 핵산(들)을 포함하거나 또는 이러한 벡터(들)를 사용하여 변형된 세포는 SEQ ID NO: 1의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 이의 기능성 변이체 및/또는 SEQ ID NO: 2의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 이의 기능성 변이체의 발현을 시험관내에서 또는 생체외에서 발현시키거나 또는 조절하는데 사용될 수도 있다.
다른 특정 양태에서, 본 발명은 또한 적어도 2개의 별개의 본 명세서에 기술된 핵산을 발현하도록 변형된 유전자이식 동물에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

[0024] **도 1: 신경병증성 통증의 SNI (Spared Nerve Injury) 모델에서 생체 내에서 피하 투여되었을 때, TAFA-4 (전체 길이 단백질) 및 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 2개 펩티드 세트의 진통 효과의 비교.** 기계적 과민증을 앓는 마우스는 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 2개 펩티드 세트 (이 세트는 본 명세서에서 "펩티드 1+2"로서 식별됨), TAFA-4 전체 길이 단백질 ("TAFA4 FL"로서 식별됨), 음성 대조군 (비히클) 또는 양성 대조군 (프레가발린)이 피하 투여된다. 이 도면은 각 조건 하에서 시간의 함수로서 마우스의 50%에서 발 움츠림 반응을 유발시키는데 필요한 기계적 힘 (그램으로서 이의 무게 당량으로 표시됨)을 보여준다. 데이터는 기준점 수준에 대한 반응율로서 표시된다. 측정은 SNI 통증 모델의 실행 이전 (T0=기준점)에, 기계적 이질통증의 확립을 검증하기 위해 SNI 후 14일에, 이어서 피하 주사 후 1시간, 2시간 및 4시간에 수행되었다. "펩티드 1+2"-처치 마우스, "TAFA-4 FL"-처치 마우스, 및 비히클 그룹 간 통계적 차이가 표시된다 (이원 RM ANOVA에 이어서, Bonferroni 사후 검정: * p <0.05, ** p<0.01, *** p<0.001).

도 2: 신경병증성 통증의 SNI 모델에서 생체 내에서 입으로 투여되었을 때, TAFA-4 (전체 길이 단백질) 및 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 2개 펩티드 세트의 진통 효과 비교. 기계적 과민증을 앓는 마우스는 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 2개 펩티드 세트 (이 세트는 본 명세서에서 "펩티드 1+2"로서 식별됨), TAFA-4 전체 길이 단백질 ("TAFA4 FL"로서 식별됨), 음성 대조군 (비히클) 또는 양성 대조군 (프레가발린)이 입으로 투여된다. 이 도면은 각 조건 하에서 시간의 함수로서 마우스의 50%에서 발 움츠림 반응을 유발시키는데 필요한 기계적 힘 (그램으로서 이의 무게 당량으로 표시됨)을 보여준다. 데이터는 기준점 수준에 대한 반응율로서 표시된다. 측정은 SNI 통증 모델의 실행 전 (T0=기준점)에, 기계적 이질통증의 확립을 검증하기 위해 SNI 후 14일에, 이어서 경구 위관영양 후 1시간, 2시간 및 4시간에 수행되었다. "펩티드 1+2"-처치 마우스, "TAFA-4 FL"-처치 마우스, 및 비히클 그룹 간 통계적 차이가 표시된다 (이원 RM ANOVA에 이어서, Bonferroni 사후 검정: * p <0.05, ** p<0.01, *** p<0.001).

도 3: 신경병증성 통증의 SNI 모델에서 생체 내에서 정맥내 투여되었을 때 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 2개 펩티드 세트의 진통 효과. 기계적 과민증을 앓는 마우스는 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 2개 펩티드 세트 (이 세트는 본 명세서에서 "펩티드 1+2"로서 식별됨) 또는 음성 대조군 (비히클)이 정맥내 투여된다.

이 도면은 각 조건 하에서 시간의 함수로서 마우스의 50%에서 발 움츠림 반응을 유발시키는데 필요한 기계적 힘(그램으로서 이의 무게 당량으로 표시됨)을 보여준다. 데이터는 기준점 수준에 대한 반응율로서 표시된다.

측정은 SNI 통증 모델의 실행 이전 (T0=기준점)에, 기계적 이질통증의 확립을 검증하기 위해 SNI 후 14일에, 이어서 정맥내 주사 후 1시간, 2시간 및 4시간에 수행되었다. "펩티드 1+2"-처치 마우스 및 비히클 그룹 간 통계적 차이가 표시된다 (이원 RM ANOVA에 이어서, Bonferroni 사후 검정: * p <0.05, ** p<0.01, *** p<0.001).

도 4: 숫컷 및 암컷 마우스 둘 모두의 수술후 통증 모델 (Brennan 발 절개 모델)에서 생체 내에서 피하 투여되었을 때 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 2개 펩티드 세트의 진통 효과.

A. 프로토콜의 개략적 대표도. SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 2개 펩티드 세트 또는 음성 대조군 (비히클)은 상이한 시점: 수술 전날 (D-1), 수술 당일 (D0), 및 수술 후 D+1일 및 D+2일에 1일 2회 피하 투여되었다.

D0의 투여는 각각 수술 (및 각성) 이전 1시간 및 이후 1시간에 수행되었다. D+1 및 D+2에 기계적 역치 반응 측정은 2개 펩티드 세트 또는 비히클의 투여 전에 수행되었다.

B. 이 도면은 시간의 함수로 마우스의 50%에서 발 움츠림 반응을 유발시키는데 필요한 기계적 힘 (기준점 수준의 백분율로 표시됨)을 나타낸다. SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드 세트 (이 세트는 본 명세서에서 "펩티드 1+2"로서 식별됨)로 처치된 마우스는 음성 대조군 (비히클)이 처치된 마우스와 비교되었다. "펩티드 1+2" 처치 마우스 및 비히클 그룹 간 통계적 차이가 표시된다 (이원 RM ANOVA에 이어서, Bonferroni 사후 검정: *** p<0.001). "펩티드 1+2"-처치 그룹: 24마리 마우스, 비히클 그룹: 22마리 마우스; 모델 = 수술후 통증 모델; 성별: "펩티드 1+2"가 처치된 마우스 경우 12마리 숫컷 및 12마리 암컷, 비히클 그룹 경우 11마리 마우스 및 11마리 마우스; 투여: 피하; "펩티드 1+2"의 총 농도: 300 ㎍/kg (대략 다음에 해당됨: 펩티드 1의 경우: 128 ㎍/kg, 및 펩티드 2의 경우: 172 ㎍/kg).

도 5: 만성 수축성 손상 (CCI) 신경병증성 통증 모델에서 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드 세트의 반복 피하 투여 후 내성 부재

A. 프로토콜의 개략적 대표도. CCI 신경병증성 통증 모델의 확립 후에, 마우스는 수술 후 7일에 시작하여 연속 14일 동안 1일 2회로 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드 세트 (이 세트는 본 명세서에서 "펩티드 1+2"로서 식별됨) 또는 음성 대조군 (비히클)이 처치되었다. "펩티드 1+2"의 진통 효과는 2일마다 결정되었다.

B. 이 도면은 시간의 함수로 마우스의 50%에서 발 움츠림 반응을 유발시키는데 필요한 기계적 힘 (기준점 수준의 백분율로 표시됨)을 나타낸다. "펩티드 1+2"로 처치된 마우스는 음성 대조군 (비히클)이 처치된 마우스와 비교되었다. "펩티드 1+2"-처치 마우스 및 비히클 그룹의 최초 및 마지막 투여 후 진통 효과 간 통계적 차이가 표시된다 (이원 RM ANOVA에 이어서, Bonferroni 사후 검정: ns: 비-유의). 모델 = CCI 신경병증성 통증 모델; 성별: "펩티드 1+2"-처치 마우스 경우 10마리 숫컷, 비히클 그룹 경우 n=9; 투여: 피하; "펩티드 1+2"의 총 농도: 300 ㎍/kg.

도 6: 숫컷 및 암컷 마우스 둘 모두의 수술후 통증 모델 (Brennan 발 절개 모델)에서 생체 내에서 피하 투여되었을 때 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드 세트를 사용한 상이한 치료 약용량학의 비교.

A. 프로토콜의 개략적 대표도. SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 2개 펩티드 세트 ("펩티드 1+2") 또는 음성 대조군 (비히클)은 다음의 3개 상이한 프로토콜에 따라서 1일 2회 피하 투여되었다. "D-1/D0" 프로토콜: 수술 전날 (D-1) 및 수술 당일 (D0); "D0" 프로토콜: 수술 당일 (D0); "D0/D+1/D+2" 프로토콜: 수술 전날 (D-1), 수술 당일 (D0), 및 수술 후 D+1일 및 D+2일. D0의 투여는 각각 수술 (및 각성) 이전 1시간 및 이후 1시간에 수행되었다. D+1 및 D+2에 기계적 역치 반응 측정은 2개 펩티드 세트 또는 비히클의 투여 전에 수행되었다.

B. 이 도면은 시간의 함수로 마우스의 50%에서 발 움츠림 반응을 유발시키는데 필요한 기계적 힘 (기준점 수준의 백분율로 표시됨)을 나타낸다. "펩티드 1+2"로 처치된 마우스는 상기 기술된 3개의 상이한 프로토콜 "D-1/D0", "D0", "D0/D+1/D+2"에 따라서 음성 대조군 (비히클)으로 처치된 마우스와 비교되었다. "펩티드 1+2"-처치 마우스 및 비히클 그룹 간 통계적 차이가 표시된다 (이원 RM ANOVA에 이어서, Bonferroni 사후 검정: ** p<0.01, *** p<0.001). "펩티드 1+2"-처치 그룹: 16마리 마우스; 비히클 그룹: 11마리 마우스; 모델 = 수술후 통증 모델; 성별: "펩티드 1+2"가 처치된 마우스 경우에 8마리 마우스 및 8마리 암컷, 비히클 그룹 경우에 6마리 숫컷 및 5마리 암컷; 투여: 피하; "펩티드 1+2"의 총 농도: 300 ㎍/kg.

도 7: 염증성 통증 모델 (캡사이신 염증성 통증 모델)에서 생체 내에서 피하 투여된 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드 세트의 진통 효과. 이 도면은 시간의 함수로 마우스의 50%에서 발 움츠림 반응을 유발시키는데 필요한 기계적 힘 (기준점 수준의 백분율로 표시됨)을 나타낸다. SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드 세트 (이 세트는 본 명세서에서 "펩티드 1+2"로서 식별됨)로 처치된 마우스는 음성 대조군 (비히클)으로 처치된 마우스와 비교되었다. "펩티드 1+2"-처치 마우스 및 비히클 그룹 간 통계적 차이가 표시된다 (이원 RM ANOVA에 이어서, Bonferroni 사후 검정: * p <0.05, ** p<0.01, *** p<0.001); 모델 = 염증성 통증 모델; "펩티드 1+2"-처치 그룹: 8마리 수컷 마우스 비히클 그룹: 8마리 수컷 마우스 ; 투여: 피하; "펩티드 1+2"의 총 농도: 300 μg/kg.

도 8: 골관절염 통증 모델 (모노요오드아세테이트 모델)에서 생체 내에서 피하 투여된 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드 세트의 진통 효과.

이 도면은 시간의 함수로 마우스의 50%에서 발 움츠림 반응을 유발시키는데 필요한 기계적 힘 (기준점 수준의 백분율로 표시됨)을 나타낸다. SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드 세트 (이 세트는 본 명세서에서 "펩티드 1+2"로서 식별됨)로 처치된 마우스는 음성 대조군 (비히클) 처치된 마우스와 비교되었다. "펩티드 1+2"-처치 마우스 및 비히클 그룹 간 통계적 차이가 표시된다 (이원 RM ANOVA에 이어서, Bonferroni 사후 검정: * p <0.05, ** p<0.01, *** p<0.001); 모델 = 골관절염 통증 모델; "펩티드 1+2"-처치 그룹: 8마리 수컷 마우스, 비히클 그룹: 8마리 수컷 마우스 ; 투여: 피하; "펩티드 1+2"의 총 농도: 300 μg/kg.

도 9: 냉동 화상 통증 모델에서 생체 내에서 피하 투여된 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드 세트의 진통 효과.

이 도면은 시간의 함수로 마우스의 50%에서 발 움츠림 반응을 유발시키는데 필요한 기계적 힘 (기준점 수준의 백분율로 표시됨)을 나타낸다. SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드 세트 (이 세트는 본 명세서에서 "펩티드 1+2"로서 식별됨)로 처치된 마우스는 음성 대조군 (비히클)으로 처치된 마우스와 비교되었다. "펩티드 1+2"-처치 마우스 및 비히클 그룹 간 통계적 차이가 표시된다 (이원 RM ANOVA에 이어서, Bonferroni 사후 검정: * p <0.05, ** p<0.01, *** p<0.001); 모델 = 냉동 화상 통증 모델; "펩티드 1+2"-처치 그룹: 8마리 수컷 마우스, 비히클 그룹: 8마리 수컷 마우스 ; 투여: 피하; "펩티드 1+2"의 총 농도: 300 μg/kg.

도 10: 자외선-화상 통증 모델에서 생체 내에서 피하 투여된 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드 세트의 진통 효과.

이 도면은 시간의 함수로 마우스의 50%에서 발 움츠림 반응을 유발시키는데 필요한 기계적 힘 (그람으로 이의 무게 당량으로 표시됨)을 나타낸다. 데이터는 기준점 수준에 대한 반응율로서 표시된다. SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드 세트 (이 세트는 본 명세서에서 "펩티드 1+2"로서 식별됨)로 처치된 마우스는 음성 대조군 (비히클)으로 처치된 마우스와 비교되었다. "펩티드 1+2"-처치 마우스 및 비히클 그룹 간 통계적 차이가 표시된다 (이원 RM ANOVA에 이어서, Bonferroni 사후 검정: * p <0.05, ** p<0.01, *** p<0.001); 모델 = 자외선-화상 통증 모델; 각 그룹에 대해서 16마리 마우스 (8마리 숫컷 및 8마리 암컷 마우스); 투여: 피하; "펩티드 1+2"의 총 농도: 300 μg/kg.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0025] 정의

[0026] 본 명세서에서 사용되는 용어는 일반적으로 본 명세서의 상황 내에서 그리고 각 용어가 사용되는 특별한 상황 내에서 당분야의 일반적인 의미를 갖는다. 특정 용어는 본 발명의 방법 및 이를 사용하는 방법을 설명하는 데서 숙련된 독자에게 추가 지침을 제공하기 위해, 하기, 또는 명세서의 다른 곳에서 논의된다. 더욱이, 동일한 항목이 1가지가 넘는 방식으로 언급될 수 있다는 것을 이해하게 된다. 결론적으로, 대체 언어 및 동의어가 본 명세서에 논의되는 어느 하나 이상의 용어에 대해 사용될 수 있다. 특정 용어에 대한 동의어가 제공된다. 하나 이상의 동의어의 설명은 다른 동의어의 사용을 배제하지 않는다.

[0027] 용어 "펩티드", "펩티드 변이체", "단백질 단편", "단백질 절편"은 아미노산 잔기의 서열 또는 중합체를 언급하기 위해 상호교환적으로 사용된다. 아미노산 잔기의 이러한 중합체는 천연 또는 비-천연 아미노산 잔기를 함유할 수도 있다. 이 용어는 또한 펩티드의 발현 후 변형, 예를 들어, 글리코실화, 시알릴화, 아세틸화, 아미드화, 인산화, 카바메틸화 등을 포함한다. 더 나아가서, 본 발명의 상황에서, "펩티드"는 펩티드가 바람직한 활성, 즉 통증의 예방 또는 치료를 유지하는 한, 천연 (야생형) 서열에 대해서, 임의로 하나 또는 몇개

변형 예컨대 결실, 첨가 및 치환 (일반적으로 천연적으로 보존적)과 함께, 발현후 변형 또는 이러한 변형의 조합을 포함할 수도 있는 단백질 단편 또는 절편을 의미한다. 이들 변형은 바람직하게 의도된 돌연변이이고, 예를 들어 부위-지정 돌연변이유발을 통해서 수득된다.

[0028] 용어 "단리된 펩티드"는 이의 본래 환경 (즉, 천연 발생 경우에, 천연 환경)으로부터 제거된 펩티드를 의미한다. 자연계, 예를 들어, 살아있는 동물에 천연적으로 존재하는 펩티드는 상기 자연계에 공존하는 물질의 전부 또는 일부로부터 분리된, 동일 펩티드와 구별되어야 한다. 분리된 펩티드는 본 명세서에서 "단리된 펩티드"라고 명명된다. 달리 말해서, 본 발명의 상황에서, 단리된 펩티드는 자연에서 그 자체로 존재하지 않는 TAFA-4 단백질의 단편이다.

[0029] 용어 "합성 펩티드"는 화학 합성으로 수득된 펩티드를 의미한다.

[0030] 본 명세서에서 사용되는 용어 "펩티드의 세트" 또는 "펩티드 세트"는 가능하게 조성물에서 혼합된 (세트의) 활성 성분으로서 조합되어 존재하지만, 서로 연결되지 않은 적어도 2개 펩티드를 의미한다. 2개 펩티드가 존재하는 경우에, 세트의 펩티드는 임의 결합에 의해서, 예를 들어, 펩티드 (아미노산의 서열)로 이루어지는 결합/연결에 의해서, 또는 화학적 속성 또는 유기 및 화학적 속성 둘 모두의 결합/연결에 의해서 함께 결합되지 않는다 (세트의 펩티드가 2개 초과인 경우, 이들 펩티드는 서로에 결합되지 않음). 세트의 펩티드는 단리된 펩티드, 합성 펩티드 또는 이의 믹스이다. 이 세트는 건조 분말, 용액, 현탁액 또는 콜로이드의 형태일 수도 있고, 균질할 수도 있거나 또는 불균질할 수도 있다. 펩티드의 세트는 일반적으로 조성물의 일부이다.

조성물은 전형적으로 또한 약학적으로 및/또는 영양학적으로 허용가능한 지지체, 담체, 부형제 또는 비히클을 포함한다. 전형적으로, 부형제는 아스코르브산 및/또는 아스코르브산 염일 수 있다. 아스코르브산 또는 L-아스코르브산 (IUPAC 명칭:(5R)-5-[(1S)-1,2-디히드록시에틸]-3,4-디히드록시퓨란-2(5H)-온)은 일반적으로 비타민 C로 알려진 천연 발생 수용성 비타민이다. 아스코르브산 염의 예는 제한없이, 마그네슘 아스코르베이트, 소듐 아스코르베이트, 칼슘 아스코르베이트 및 아스코르빌 팔미테이트를 포함한다. L-아스코르브산 및 이의 소듐 염은 항산화제이고, 펩티드의 세트와 조합하여 사용될 때 보존제 또는 안정화제로서 유용하다. 다른 항산화제 (예를 들어, 메티오닌)이 또한 사용될 수도 있다.

[0031] 용어 "서열 동일성", "적어도 X% 동일성을 갖는 서열" 및 예를 들어, 90인 X와 "X% 동일한 서열"은 서열이 비교창 상에서 뉴클레오티드 대 뉴클레오티드 기반 또는 아미노산 대 아미노산 기반으로 동일한 정도를 의미하고자 상호교환적으로 사용된다. 따라서, "서열 동일성의 백분율"은 비교창에서 2개의 최적으로 정렬된 서열에 의해 계산될 수도 있으며, 비교창에서 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 서열의 일부는 2개 서열의 최적 정렬을 위해 기준 서열과 비교하여 첨가 또는 결실 (즉, 갭)을 포함할 수도 있다. 백분율은 동일한 핵산 염기 (예를 들어, A, T, C, G, U) 또는 동일한 아미노산 잔기 (예를 들어, Ala, Pro, Ser, Thr, Gly, Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp, Lys, Arg, His, Asp, Glu, Asn, Gln, Cys 및 Met)가 양쪽 서열에서 발생되는 위치의 개수를 결정하여 일치되는 위치의 개수를 산출하고, 일치되는 위치의 개수를 비교창의 전체 위치 개수 (즉, 창 크기)로 나누어서, 그 결과에 100을 곱해 서열 동일성 백분율을 산출하여 계산될 수 있다. 대안적으로, 백분율은 양쪽 서열에서 동일한 핵산 염기 또는 아미노산 잔기가 발생되거나 또는 아미노산 잔기가 갭과 정렬되는 위치의 개수를 결정하여 일치되는 위치의 개수를 산출하고, 일치되는 위치의 개수를 비교창의 전체 위치 개수로 나누어서, 그 결과에 100을 곱해 서열 동일성의 백분율을 산출하여 계산될 수 있다. 바람직하게, 서열 동일성은 기준 서열, 여기서 SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2의 전체 길이에 대해 결정된다.

[0032] 비교를 위한 서열의 최적 정렬은 예를 들어, [Smith and Waterman, (1981) Adv. Appl. Math. 2:482]의 국소 상동성 알고리즘, [Needleman and Wunsch, (1970) J. Mol. Biol. 48:443]의 상동성 정렬 알고리즘, [Pearson and Lipman, (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444]의 유사성 방법에 대한 검색, 이들 알고리즘의 컴퓨터화 구현 (GAP, BESTFIT, FASTA, 및 TFASTA), 또는 육안 검사 (참조: 일반적으로 Current Protocols in Molecular Biology, F. M. Ausubel et al., eds., Current Protocols, Greene Publishing Associates, Inc. and John Wiley & Sons, Inc., (1995 Supplement))를 통해 수행될 수 있다.

[0033] 서열 동일성 및 서열 유사성의 백분율을 결정하는데 적합한 알고리즘의 예는 BLAST 및 BLAST 2.0 알고리즘이고, 이것은 각각 다음의 문헌에 기술된다: Altschul et al., (1990), J. Mol. Biol. 215: 403-410 and Altschul et al., (1977) Nucleic Acids Res. 3389-3402. BLAST 분석을 수행하기 위한 소프트웨어는 국립 생물정보 센터 (National Center for Biotechnology Information) 웹사이트를 통해 공공으로 입수가능하다. 이러한 알고리즘은 먼저 데이터베이스 서열에서 동일 길이의 단어와 정렬될 때 일부 양의 값 역치 점수 "T"와 일치하거나 또는 그를 만족하는, 문의 서열의 길이 "W"의 짧은 단어를 확인하여서 높은 점수 서열 쌍 (HSP)을 확인하는 단

계를 포함한다. T는 이웃 단어 점수 역치라고 한다 (Altschul *et al.*, supra). 이들 초기 이웃 단어 적중은 그들을 함유하는 더 긴 HSP를 찾기 위한 검색을 개시하는 시드로서 작용한다. 단어 적중은 이후에 누적 정렬 점수가 증가할 수 있는 한 각 서열을 따라 양 방향으로 연장된다. 누적 점수는 뉴클레오티드 서열 경우, 매개변수 "M" (일치 잔기 쌍에 대한 보상 점수; 항상 >0) 및 "N" (불일치 잔기에 대한 패널티 점수; 항상 <0)을 사용해 계산된다. 아미노산 서열 경우에, 채점 매트릭스는 누적 점수를 계산하는데 사용된다.

각 방향에서 단어 적중의 연장은 누적 정렬 점수가 이의 최대 획득값으로부터 "X" 분량만큼 떨어지고; 하나 이상의 음의 점수 잔기 정렬의 축적으로 인해, 누적 점수가 0 이하가 될 때; 또는 양쪽 서열의 끝에 도달했을 때 중단된다. BLAST 알고리즘 매개변수 W, T, 및 X는 정렬 감도 및 속도를 결정한다. BLASTN 프로그램 (뉴클레오티드 서열 경우)은 디폴트로서 11의 단어 길이 (W), 10의 기대값 ("E"), M=5, N=-4, 및 양쪽 가닥 비교를 사용한다. 아미노산 서열 경우에, BLASTP 프로그램은 디폴트로서, 3의 단어 길이 (W), 10의 기대값 (E), 및 BLOSUM62 채점 매트릭스를 사용한다 (참조: Henikoff and Henikoff, (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915).

[0034] 아미노산 서열 동일성 백분율 정도는 또한 정렬에서 동일한 일치 개수를 계측하고 이러한 동일한 일치 개수를 기준 서열의 길이로 나누어서, ClustalW 분석 (버전 W 1.8)을 통해서도 얻을 수 있는데, 느리고/정확한 쌍별 최적 정렬을 달성하도록 다음의 디폴트 ClustalW 매개변수를 사용한다: 갭 개방 패널티: 10; 갭 연장 패널티: 0.10; 단백질 가중 매트릭스: Gonnet 시리즈; DNA 가중 매트릭스: IUB; Toggle Slow/Fast 쌍별 정렬=SLOW 또는 FULL 정렬.

[0035] 본 명세서에서 사용되는 용어 "핵산" 또는 "폴리뉴클레오티드"는 리보뉴클레오티드 또는 데옥시리보뉴클레오티드의, 임의 길이의 뉴클레오티드의 중합체 형태를 의미한다. 따라서, 이들 용어는 단일 가닥, 이중 가닥, 또는 다수 가닥 DNA 또는 RNA, 게놈 DNA, cDNA, DNA-RNA 하이브리드, 또는 푸린 및 피리미딘 염기, 또는 다른 천연, 화학적 또는 생화학적 변형된, 비천연, 또는 유도체화된 뉴클레오티드 염기를 포함하는 중합체를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 폴리뉴클레오티드의 골격은 당 및 포스페이트 기 (전형적으로 RNA 또는 DNA에서 발견될 수 있음), 또는 변형되거나 또는 치환된 당 또는 포스페이트 기를 포함할 수 있다. 대안적으로, 폴리뉴클레오티드의 골격은 폴스포르아미데이트같은 합성 서브유닛의 중합체를 포함할 수 있고, 따라서 올리고데옥시뉴클레오시드 포스포르아미데이트 (P-NH_2) 또는 혼합 포스포르아미데이트-포스포디에스테르 올리고머일 수 있다. 또한, 이중 가닥 폴리뉴클레오티드는 상보적 가닥을 합성하고 적절한 조건 하에서 가닥을 어닐링하거나, 또는 적절한 프라이머와 DNA 폴리머라제를 사용해 새로운 상보적 가닥을 합성하여서, 화학 합성의 단일 가닥 폴리뉴클레오티드 생성물로부터 수득될 수 있다.

[0036] 용어 "발현 카세트", "핵산 구축" 또는 "핵산 구성체"는 본 명세서에서 상호교환적으로 사용되고, 하나 이상의 관심 (코딩) 서열, 전형적으로 그의 발현 산물이 세포 내에서 관심 기능의 생성에 기여하는 몇개 코딩 서열을 포함하는 오페론, 또는 활성화 서열 및/또는 전사 종결자를 더 포함하는 핵산에 작동적으로 연결 (당업자가 이해하는 의미임)된 적어도 하나의 전사 프로모터를 포함하는 핵산을 의미한다.

[0037] 용어 "벡터"는 i) 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질을 코딩하는, 폴리뉴클레오티드 서열, 예를 들어, 발현 카세트 또는 이식유전자를 포함하는 DNA 또는 RAN 분자, 또는 ii) 이러한 DNA 또는 RNA 분자를 캡슐화한 산물을 의미한다. 벡터는 일반적으로 핵산 분자가 도입되는 세포에서, 이식유전자라고도 하는, 코딩 폴리뉴클레오티드 서열의 발현을 유도할 수 있는 조절 구성요소를 함유한다. 용어 "이식유전자"는 세포에 도입되어서, RNA로 전사될 수 있고, 임의로 적절한 조건 하에서 번역 및/또는 발현되는 폴리뉴클레오티드를 의미한다. 일정 양태에서, 이것은 도입된 세포에 바람직한 성질을 부여하거나, 또는 달리 바람직한 기술적 효과, 여기서는 전형적으로 치료 효과를 초래한다. 이식유전자는 하나 이상의 단백질 또는 단백질의 하나 이상의 단편을 코딩하는 서열(들)을 함유할 수도 있다. 특정 양태에서, 벡터는 플라스미드이다. 대안적으로, 벡터는 본 명세서에 기술된 바와 같은 관심 외래 핵산 서열을 인공적으로 운반할 수 있는 임의의 잘 알려진 비히클, 예컨대, 예를 들어 바이러스 벡터, 코스미드, 파지 또는 관심 부위에서 그들 전달하는데 이용가능한 본 명세서에 기술된 바와 같은 관심 산물이 캡슐화된 이중 지질막 (예컨대, 리포솜) 등이다.

[0038] 용어 "유전자 요법"은 질환의 예방 또는 치료 목적을 위해서 개체의 세포에 유전자/핵산의 전달을 포함하는 대상체의 치료를 의미한다.

[0039] 용어 "형질감염"은 세포, 예컨대 원핵생물 또는 진핵생물 세포에 의한 외래 폴리뉴클레오티드의 흡수를 의미한다. 세포는 외생성 폴리뉴클레오티드가 세포에 도입되었을 때 "형질감염"된 것으로 확인된다. 다수의 형질감염 기술이 일반적으로 당분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 다음의 문헌을 참조한다: Graham *et al.*,

Virology 52:456 (1973), Sambrook et al, Molecular Cloning, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratories, New York (1989), Davis *et al.*, Basic Methods in Molecular Biology, Elsevier (1986), and Chu *et al.*, Gene 13:197 (1981). 이러한 기술은 적합한 숙주 세포에 하나 이상의 외생성 핵산을 도입시키는데 사용될 수 있다.

[0040] 용어 "형질도입"은 예컨대 유전자 전달 벡터, 예를 들어, 재조합 바이러스 벡터, 특히 레트로바이러스, 아데노바이러스, 재조합 아데노-연관 바이러스 (AAV), 헤르페스 심플렉스 바이러스 및 렌티바이러스를 통해서, 수용자 숙주 세포로 핵산 분자의 전달을 의미한다. 예를 들어, rAAV 비리온에 의한 표적 세포의 형질도입은 형질도입되는 세포로 그 비리온에 함유된 rAAV 벡터의 전달을 초래한다.

[0041] 재조합 "아데노-연관 바이러스 (AAV)"는 재조합 방법을 사용하여 인공적으로 생산된, 낮은 면역원성을 나타내고, 병원성이 결여된, 단일 가닥 선형 DNA 게놈을 갖는 소형 디펜도파르보바이러스이다. 재조합 AAV (rAAV)는 바람직하게 조직/세포-특이적 표적화 능력을 가져서, rAAV의 이식유전자가 하나 이상의 사전결정된 조직(들)/세포(들)에 특이적으로 또는 우선적으로 전달되게 된다. AAV 캡시드를 비롯하여 조절 영역 및 투여 경로의 유형은 이들 조직-특이적 표적화 능력의 결정에서 중요한 요소이다.

[0042] 용어 "통증"은 본 발명의 상황 내에서 조직 손상과 연관된 임의의 통증 또는 민감성을 의미한다. 바람직하게, 본 명세서에서 사용되는 용어 통증은 비정상적인 민감성, 즉, 전형적으로 통각수용기 및 비-통각수용기를 포함하여 모든 유형의 감각 뉴런의 이상적으로 증가된 활성에 의해 매개되는 과민성으로 이해된다. 용어 통증은 통각수용기-매개 통증 (본 명세서에서 "통각수용성 통증"이라고도 함), 신경병증성 통증, 염증성 통증, 병리학적 통증, 급성 통증, 아급성 통증, 만성 통증, 기계적 통증, 화학적 통증, 체성 통증, 내장 통증, 심부 체성 통증, 표재성 체성 통증, 신체형 통증, 이질통증, 통각과민증, 또는 신경 손상과 연관된 통증으로부터 선택되는 임의 통증을 포함한다.

[0043] "통각수용성" 통증 또는 "통각수용기-매개" 통증은 강렬하거나 또는 유해한 자극에 의한 말초 감각 뉴런 (통각수용기)의 특정 서브세트의 활성화에 대한 반응으로 발생된다. 본 발명에 따른 통각수용성 통증은 기계적 통증 (압박, 찢김 등) 및 화학적 통증 (상처 부위 요오드, 눈에 고추가루)을 포함한다. 통각수용성 통증의 예는 외상성 또는 외과적 통증, 분만통, 염좌, 뼈 골절, 화상, 타박상, 멍, 주사, 치과 시술, 피부 생검, 및 폐색을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 통각수용성 통증은 내장 통증 및 체성 통증, 특히 심부 체성 통증 및 표재성 체성 통증을 포함한다.

[0044] "내장 통증"은 분산되어서, 위치를 찾는 것이 어렵고, 종종 멀리 떨어진, 일반적으로 표면적인 구조를 의미한다. 구역 및 구토를 동반할 수 있고, 구역질나고, 깊은 곳에서, 쥐어짜는 느낌 및/또는 둔한 느낌으로 설명될 수 있다. 심부 체성 통증은 인대, 힘줄, 뼈, 혈관, 근막 및 근육에서 통각수용기의 자극에 의해 시작되고, 둔하고, 아프며, 위치를 찾기 힘든 통증이다. 심부 체성 통증의 예는 염좌 및 부러진 뼈를 포함한다. 표재성 통증은 피부 및 다른 표재성 조직에서 통각수용기의 활성화에 의해 시작되고, 날카롭고, 명확하며, 위치가 분명하다. 표재성 체성 통증을 일으키는 손상의 예는 경미한 상처 및 경미한 (1도) 화상을 포함한다.

[0045] 용어 "손상-유도된 통증"은 본 발명의 상황 내에서 신경병증성 통증, 염증성 통증 및 수술후 통증을 포괄한다.

[0046] "염증성 통증"은 수술후, 외상후 통증, 관절염 (류마티스성 또는 골관절염) 통증, 자가면역 질환 (예컨대, 건선)과 연관된 통증 및 축성 요통같이 관절, 근육 및 힘줄의 손상과 연관된 통증을 포함하여, 조직 손상 또는 염증 존재 하에서 발생되는 통증이다. 염증은 말초 감각 뉴런의 감작을 담당하여서, 자발적 통증을 초래하고 통증 과민성을 무효화시킨다. 급성 또는 만성 병리학적 조직 염증은 말초 감각 뉴런을 감작화시켜서, 국소적이고 무력한 통증 과민증을 일으켜서, 통증 인식에 강력하게 영향을 미친다. 염증 매개인자는 신경 말단에 존재하는 이온 채널의 발현 및/또는 기능을 변형시켜서 부분적으로 통각수용성 1차 구심성 섬유 흥분성을 증강시키는 것으로 알려져 있다.

[0047] "신경병증성 통증"은 말초 또는 중추 신경계에서 손상 또는 기능장애의 결과인, 일반적인 유형의 만성, 비악성 통증이다. 신경병증성 통증은 상이한 병인을 가질 수 있고, 예를 들어, 외상, 수술, 추간판 탈출, 척수 손상, 당뇨병, 헤르페스 조스터 감염 (대상포진), HIV/AIDS, 말기암, 절단 (유방절제술 포함), 수근관 증후군, 만성 알콜 사용, 방사선 노출, 및 신경독성 치료제, 예컨대 일정 항-HIV 및 화학요법제의 의도하지 않은 부작용의 결과로서 발생될 수 있다. 특정 유형의 신경병증성 통증은 ≪화학요법-유도된 말초 신경병증성 통증≫ (CIPN) 또는 ≪ 화학요법-유도된 신경병증성 통증≫ (CINP)이다. CINP 또는 CIPN은 항암제, 예컨대 백금-유

래 약물 및 탁산-유래 약물 (옥살리플라틴, 시스플라틴, 카르보플라틴 및 파클리탁셀)의 가장 심각한 부작용 중 하나이다. CINP는 심지어 치료 중단 요인일 수도 있고, 결과적으로 사망 위험성을 증가시킬 수도 있다. 신경병증성 통증은 종종 만성 이질통증 (가벼운 접촉같이, 통상적으로는 통증성 반응을 유발하지 않는 자극으로 인한 통증으로 정의됨) 및/또는 통각과민증 (일반적으로 통증성 자극에 대한 증가된 민감성으로 정의됨)의 출현을 특징으로 하거나 또는 그의 원인이고, 임의의 손상된 조직의 분명한 치유 이후 수개월 또는 수년 동안 지속될 수도 있다. 통증은 또한 염증, 압박, 침윤, 뼈 또는 다른 조직으로 전이성 확산같이, 다수의 원인으로 인해서, 암 환자에서 발생될 수도 있다. 또한, 통증은 뇌수막에 분포하는 감각 섬유의 활성화와 연관된 두통 및 편두통을 포함한다.

[0048] 본 발명의 생산물, 특히 펩티드, 세트, 세포 또는 조성물은 만성 통증, 신경병증성 통증, 수술후 통증, 염증성 통증, 통각과민증, 이질통증, 또는 급성 통증의 예방 또는 치료에 사용될 수도 있다.

[0049] 다른 특정 구현예에서, 본 발명의 생산물, 특히 펩티드, 세트, 세포 또는 조성물은 관절염 통증, 관절 손상과 연관된 통증, 엘러스-단로스 증후군과 관련된 통증, 일광 화상에 의한 통증 또는 얼음 화상에 의한 통증의 예방 또는 치료에 사용될 수도 있다

[0050] 특히, 본 발명의 생산물, 특히 펩티드, 세트, 세포 또는 조성물은 만성 근육 및/또는 뼈 및/또는 관절 통증을 포함한 엘러스-단로스 증후군과 관련된 통증의 예방 또는 치료, 특히 치료에 사용될 수도 있다. 본 발명의 생산물, 특히 펩티드, 세트, 세포 또는 조성물은 또한 일광 화상에 의한 통증 (즉, 자외선에 과노출로 인함) 또는 얼음 화상에 의한 통증 (냉동기 화상 또는 냉동 화상이라고도 함)을 예방 또는 치료, 특히 치료하는데 사용될 수도 있다.

[0051] 바람직하게, 본 발명의 생산물, 특히 펩티드, 세트, 세포 또는 조성물은 손상-유도된 통증이 예방 또는 치료에 사용된다. 보다 바람직하게, 본 발명의 생산물, 특히 펩티드, 세트, 세포 또는 조성물은 신경병증성 통증 (예컨대 화학요법-유도된 신경병증성 통증 또는 화학요법-유도된 말초 신경병증성 통증), 수술후 통증 및/또는 염증성 통증의 예방 또는 치료에 사용된다.

[0052] 전형적으로, 본 발명의 생산물, 특히 펩티드, 세트, 세포 또는 조성물은 만성 손상-유도된 통증의 예방 또는 치료에 사용된다. 전형적으로, 본 발명의 생산물은 만성 신경병증성 통증 예컨대 만성 화학요법-유도된 말초 신경병증성 통증 (CIPN), 만성 화학요법-유도된 신경병증성 통증 (CINP) 또는 만성 신경 손상-유도된 통증; 만성 수술후 통증; 및/또는 만성 염증성 통증; 중증 화상과 연관되거나 또는 그로 인한 만성 통증의 예방 또는 치료에 사용된다.

[0053] 본 발명의 상황 내에서, 용어 "치료" 또는 대상체에서 통증을 "치료하는"은 본 발명의 생산물 또는 생산물의 세트, 특히 i) 펩티드의 세트 (여기서, 펩티드는 서로 연결되지 않음), 바람직하게 서열 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 이의 변이체의 세트, ii) 서로 연결되지 않은 이러한 펩티드의 세트의 발현을 허용하는 핵산 또는 핵산의 세트, iii) 본 명세서에 정의된 바와 같은 핵산의 세트를 포함하는 발현 카세트 또는 발현 카세트의 세트, iv) 서로 연결되지 않은 이러한 펩티드의 세트의 발현을 허용하는 벡터 또는 벡터의 세트, v) 서로 연결되지 않은 이러한 펩티드의 세트의 발현을 허용하는 세포 또는 세포의 세트, 또는 vi) 이러한 펩티드, 핵산, 발현 카세트(들), 벡터(들) 및/또는 세포(들)를 포함하는 본 발명에 따른 조성물에 대한 대상체의 노출, 즉 적용 또는 투여 이후에, 본 명세서에 기술된 바와 같은 대상체에서의 임의 형태의 통증, 또는 통증, 특히 급성, 아급성 또는 만성 통증 (특히 전형적으로 신경병증성 통증, 수술후 통증 또는 염증성 통증으로 인한 만성 통증과 연관된 임의의 신경병증성 병태)과 연관된 임의 질환 또는 병태, 또는 이러한 질환 또는 병태의 임의 증상의 지연, 안정화, 교정, 치유, 완화, 경감, 변경, 개선, 호전, 구제 또는 영향 미침을 의미한다.

[0054] 용어 "치료" 또는 "치료하는"은 또한 임의의 객관적 또는 주관적 매개변수, 예컨대 감퇴, 관해, 진행 또는 중증도 둔화, 안정화, 통증의 증상 축소, 또는 대상체가 견딜 수 있게 또는 더 견딜 수 있게 만드는 것을 포함하여, 통증 (임의 손상, 병리 또는 병태와 연관될 수 있음)의 치료에서 성공의 임의 지표를 의미한다. 또한 용어 통증을 "치료하는"은 통증 내성 증가 및/또는 인지된 통증 감소를 포함한다. 특정 양태에서, 본 발명의 방법, 화합물 및 조성물은 통증 내성 증가 및/또는 인식된 통증 감소를 위한 것이다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "통증 내성"은 또한 대상체가 감정적으로 및/또는 신체적으로 무너지기 전에 인식하고 견딜 수 있는 통증의 양을 의미한다. 통증 내성은 통증 역치 (통증을 일으키는데 필요한 최소 기계적 자극)와 구별된다. 본 명세서에서 사용되는, "통증 내성 증가"는 일반적으로 예를 들어, 서열 SEQ ID NO: 1 및 서열 SEQ ID NO: 2의 적합한 펩티드 또는 이의 변이체 또는 상기 펩티드 또는 변이체를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여 후에,

이전 상태와 비교했을 때 대상체가 더 큰 통증 내성 (즉, 덜 인식되는 통증)을 발생시킬 수 있는 상황을 의미한다.

[0055] 본 발명의 상황 내에서, 대상체에서 통증과 관련하여 "예방하는" 또는 "예방"은 본 발명의 생산물(들), 특히 i) 적합한 펩티드의 세트 (여기서, 펩티드는 서로 연결되지 않음), 바람직하게 서열 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 이의 변이체 (전형적으로 기능성 변이체)의 세트, ii) 서로 연결되지 않은 이러한 펩티드의 세트의 발현을 허용하는 핵산 또는 핵산의 세트, iii) 본 명세서에 정의된 바와 같은 핵산의 세트를 포함하는 발현 카세트 또는 발현 카세트의 세트, iv) 서로 연결되지 않은 이러한 펩티드의 세트의 발현을 허용하는 벡터 또는 벡터의 세트, v) 서로 연결되지 않은 이러한 펩티드의 세트의 발현을 허용하는 세트 또는 세포의 세트, 또는 vi) 이러한 펩티드, 핵산, 발현 카세트(들), 벡터(들) 및/또는 세포(들)를 포함하는 본 발명에 따른 조성물에 대한 대상체의 노출, 즉 적용 또는 투여 이후에, 적어도 대상체에 의한 임의 종류의 통증을 획득할 위험 가능성 (또는 획득할 감수성)의 감소를 의미한다. 예를 들어, "예방하는"은 통증의 증상에 노출될 수도 있거나 또는 그러한 성향이 있지만, 아직 통증의 증상을 경험하지 않았거나 또는 나타내지 않는 대상체에서 통증의 적어도 하나의 임상 증상이 발생되지 않도록 하는 것을 포함한다.

[0056] 본 발명의 상황에서, "대상체" 또는 "환자"는 동물, 특히, 질환 또는 장애 또는 이의 증상에 대한 치료를 필요로 하는 포유동물을 의미한다. 대상체는 질환 또는 장애를 앓고 있는 것으로 진단받았거나, 또는 질환 또는 장애가 발생될 위험성이 있다고 결정된 대상체일 수 있고, 상기 질환 또는 장애는 대상체가 통증을 느끼게 하는 것으로 알려져 있다. 특정 예에서, 대상체는 신경병증성 통증, 수술후 통증, 염증성 통증, 통각과민증 및/또는 이질통증을 포함한, 통증, 예컨대 급성 통증 및/또는 아급성 통증 또는 만성 통증으로 진단받거나 또는 그를 앓는다.

[0057] 특정 양태에서, 대상체는 인간이다.

[0058] 다른 특정 양태에서, 대상체는 동물, 특히 가축 또는 번식 동물, 특히 말, 개, 고양이, 소 등이다.

[0059] 다른 특정 양태에서, 대상체는 *myo1A* 유전자에 적어도 하나의 돌연변이된 대립유전자를 갖는다.

[0060] 펩티드

[0061] 본 명세서에서 발명자는 조합하여서, 동시에 또는 순차적으로, 바람직하게 동시에 사용될 때 통증을 예방 또는 치료할 수 있는, 특히 손상되거나 또는 염증이 있는 신경계의 상황에서 기계적 과민증을 반전시킬 수 있는 신규 성분 세트, 특히 펩티드의 세트 (여기서 상기 펩티드는 서로 연결되지 않음)를 발견한다. 임의 이론에 국한하지 않고, 발명자는 척수 네트워크의 흥분성을 조절하여서, 이들 펩티드가 기계적으로 및/또는 화학적으로 유도된 통각수용성 신호를 특이적으로 표적화하여서, 진통 또는 무통 활성, 특히 진통 활성을 나타낸다고 여긴다.

[0062] 본 명세서에 기술된 펩티드는 105개 아미노산 잔기의 인간 TAFA-4 성숙 단백질 (SEQ ID NO: 5: SQHLRGHAGHHQIKQGTCEVVAVHRCCNKNRIEERSQTVKCSCFPGQVAGTTRAQPSCVEASIVIQKWWCHMNPCLEGEDCKVLPDYSGWSCSSGNKVKTTKVTR)로부터의 특별한 단편 (신호 서열의 절단에 의해 생성되며, [Tang *et al.*, 2004]에 개시된 바와 같은 등록 # NP_0011005527 또는 Genbank 등록번호 AAP92409 하에 공공 데이터 베이스에서 식별됨)이고, 다시 말해서, 그로 이루어진다.

[0063] 특히, 본 명세서에서 발명자는 i) SEQ ID NO: 1의 제1 펩티드 (CFPGQVAGTTRAQPSCVEASIVIQKWW, 즉 Cys-Phe-Pro-Gly-Gln-Val-Ala-Gly-Thr-Thr-Arg-Ala-Gln-Pro-Ser-Cys-Val-Glu-Ala-Ser-Ile-Val-Ile-Gln-Lys-Trp-Trp) 또는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드 (본 명세서에서 서열 SEQ ID NO: 1의 "변이체", "펩티드 변이체" 또는 "펩티드의 변이체"로서 식별됨), 및 ii) SEQ ID NO: 2의 제2 펩티드 (CHMNPCLEGEDCKVLPDYSGWSCSSGNKVKTTKVTR, 즉, Cys-His-Met-Asn-Pro-Cys-Leu-Glu-Gly-Glu-Asp-Cys-Lys-Val-Leu-Pro-Asp-Tyr-Ser-Gly-Trp-Ser-Cys-Ser-Ser-Gly-Asn-Lys-Val-Lys-Thr-Thr-Lys-Val-Thr-Arg) 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드 (본 명세서에서 또한 서열 SEQ ID NO: 2의 "변이체", "펩티드 변이체" 또는 "펩티드의 변이체")를 포함하거나, 그로 이루어지거나, 또는 그로 본질적으로 이루어지는, 생산물/성분의 세트, 특히 단리 또는 합성 펩티드의 세트를 최초로 기술하고, 여기서 상기 (적어도 2개) 펩티드는 서로 연결되지 않는다.

[0064] 특정 아미노산/ 펩티드 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드는 본 명세서에서 상기 서열을 갖는 "변이체", "펩티드 변이체" 또는 "펩티드의 변이체"로서 식별된다. 바람직한 양태에서, 세트, 또는 이러한 세트를 포함/발현하는 조성물에 존재하는 임의의 변이체는 하기 본 명세서에서 더욱 설명하는 바와 같은 기능성 변

이체이다.

[0065] 용어 "본질적으로 이루어지는"은 일반적으로 그에 부여된 의미를 갖는데, 예를 들어, 명시적으로 언급되지 않은 구성요소는 허용하지만, 선행 기술에서 발견되거나 또는 본 발명의 기본 또는 신규 특징에 영향을 미치는 구성요소는 배제한다. 이와 같이, 명시된 서열"로 본질적으로 이루어지는" 펩티드의 세트는 이들 서열 (서열은 서로 연결되지 않음)을 포함하거나 또는 그로 이루어지고 펩티드의 활성에 필수적이지 않은 다른 특성을 포함하는 펩티드를 의미한다.

[0066] SEQ ID NO: 1의 펩티드는 인간 TAFA-4 성숙 단백질의 27개 C-말단 아미노산 잔기로 이루어지고, UniProt 등록 # Q96LR4의 아미노산 78-104로서 확인될 수도 있다.

[0067] SEQ ID NO: 2의 펩티드는 인간 TAFA-4 성숙 단백질의 36개 아미노산 잔기로 이루어지고, UniProt 등록 # Q96LR4의 아미노산 105-140으로서 확인될 수도 있다.

[0068] 특정 양태에서, SEQ ID NO: 1의 펩티드 및/또는 SEQ ID NO: 2의 펩티드는 N-말단 위치에서 아세틸화되고, C-말단 위치에서 아미드화된다.

[0069] SEQ ID NO: 1: CFPGQVAGTTRA**Q**PSCVEASIVIQKWW 내에 위치 13에서 굵은체로 표시되는 2개 아미노산 잔기 Q (Glu), 및 SEQ ID NO: 2: CHMNPCLEGEDCKVLPD**Y**SGWSCSSGNKVKTTKVTR 내에 위치 18에서 굵은체로 표시되는 Y (Tyr) (각각 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2에 기재된 위치에 대함)는 본 발명자가 펩티드의 생물학적 활성에 관여하는 것으로 여기고 있다.

[0070] SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드의 변이체는 또한 본 발명자가 최초로 본 명세서에 개시한다. 변이체는 SEQ ID NO: 1의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 2의 펩티드로부터 유래되고, 상기 SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2의 상기 펩티드 내에 하나 이상의 부위에서 하나 이상의 아미노산의 결실 또는 첨가 및/또는 하나 이상의 아미노산의 치환에 의해 생성되는 펩티드를 의미하고자 의도된다. 변이체는 변이체가 SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2의 펩티드의 기능적 활성을 실질적으로 보유하거나, 또는 심지어 통증의 예방 또는 치료를 허용하는 상기 기능적 활성을 개선시키는 경우에 "기능성 변이체"로 여겨질 것이다. 활성은 실험 부분에서 수행된 바와 같은 행동 어세이같은 기능적 어세이를 사용하여 측정될 수도 있다.

[0071] 본 발명의 상황에서 사용가능한 펩티드의 변이체는 상기 펩티드를 코딩하는 서열, 예를 들어 SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2와 상기 본 명세서에 설명된 바와 같이 적어도 90%, 예를 들어 (적어도) 90.5%, 91%, 92%, 92.1%, 93%, 93.7%, 94%, 95%, 95.2%, 96%, 96.8%, 97%, 98%, 98.4% 또는 99% 서열 동일성을 가질 수도 있다.

[0072] 특정 양태에서, SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 변이체는 척수 개재뉴런 (바람직하게, 척수판 IIi 개재뉴런)의 흥분성을 조절한다. 바람직한 양태에서, 변이체는 본 명세서에 기술된 바와 같은 관심 펩티드 서열, 예컨대 특히 SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2에 존재하는 임의 아미노산을 첨가, 결실 또는 치환하는 하나 이상의 점 돌연변이(들) (예를 들어, 2, 3, 4, 5 또는 6개 점 돌연변이)를 포함하는 펩티드이다.

[0073] 특히 SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드 변이체와 관련하여, 앞의 문단은 SEQ ID NO: 1의 위치 13의 아미노산 잔기 Q는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드의 아미노산 서열에서 변화되지 않은 채로 남아있는다는 조건, 및 SEQ ID NO: 2의 위치 18의 아미노산 잔기 Y는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드의 아미노산 서열에서 변화되지 않은 채로 남아있거나 또는 세린 (S)으로 치환된다는 조건으로 적용된다 (위치 13 및 18은 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2에 각각 기재된 위치에 대함). 위치 18에 아미노산 잔기 S를 갖는 펩티드는 SEQ ID NO: 6 (CHMNPCLEGEDCKVLPDSSGWSCSSGNKVKTTKVTR, 즉, Cys-His-Met-Asn-Pro-Cys-Leu-Glu-Gly-Glu-Asp-Cys-Lys-Val-Leu-Pro-Asp-Ser-Ser-Gly-Trp-Ser-Cys-Ser-Ser-Gly-Asn-Lys-Val-Lys-Thr-Thr-Lys-Val-Thr-Arg)이다.

[0074] 따라서, 본 발명의 바람직한 양태에서, SEQ ID NO: 1의 펩티드의 위치 13 (SEQ ID NO: 1에 기재된 위치에 대함)에서 아미노산 Q (글루타민 잔기)는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드의 변이체의 아미노산 서열에서 변화되지 않은 채로 남아있는다. 유사하게, 다른 바람직한 양태에서, SEQ ID NO: 2의 펩티드의 위치 18 (SEQ ID NO: 2에 기재된 위치에 대함)에서 아미노산 Y (티로신 잔기)는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드의 변이체의 아미노산 서열에서 변화되지 않은 채로 남아있거나 또는 S (세린)로 치환된다.

[0075] 본 발명의 다른 바람직한 양태에서, 위치 13 (SEQ ID NO: 1에 대함)의 아미노산 Q는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드의 변이체의 아미노산 서열에서 변화되지 않은 채로 남아있고, 위치 18 (SEQ ID NO: 2

에 대함)의 아미노산 Y는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드의 변이체의 아미노산 서열에서 변화되지 않은 채로 남아있거나 또는 세린 (S)으로 치환된다.

[0076] 다른 특정 양태에서, 본 발명의 상황에서 사용가능한 SEQ ID NO: 1의 펩티드의 변이체는 SEQ ID NO: 1의 펩티드 서열과 적어도 88.8%, 92.5%, 96.2% 서열 동일성을 가질 수도 있고, 바람직하게 SEQ ID NO: 1의 위치 13의 아미노산 잔기 Q에 관해서 상기 본 명세서에 기술된 조건을 갖는다. 다른 특정 양태에서, 본 명세서의 상황에서 사용가능한 SEQ ID NO: 2의 펩티드의 변이체는 SEQ ID NO: 2의 펩티드 서열과 적어도 91.6%, 94.4%, 97.2% 서열 동일성을 가질 수도 있고, 바람직하게 SEQ ID NO: 2의 위치 18의 아미노산 잔기 Y에 관해 상기 본 명세서에 기술된 조건을 갖는다. 바람직하게, 상기 변이체는 척수 개재뉴런 (바람직하게 척수판 IIi 개재뉴런)의 흥분성을 조절한다.

[0077] 특정 양태에서, 변이체는 본 명세서에 기술된 바와 같은 관심 펩티드 서열, 예컨대 특히 SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2에 존재하는 임의 아미노산을 첨가, 결실 또는 치환하는 하나 이상의 점 돌연변이 (예를 들어, 1, 2, 또는 3개 점 돌연변이)를 포함하는 펩티드이고, SEQ ID NO: 1의 위치 13의 아미노산 잔기 Q, 및 SEQ ID NO: 2의 위치 18의 Y에 관한 상기 본 명세서에 기술된 조건을 갖는다.

[0078] 특정 양태에서, 하나 이상의 결실은 관심 서열 예컨대 SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2의 N-말단에 존재한다. 다른 양태에서, 하나 이상의 결실은 관심 서열 예컨대 SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2의 C-말단에서, 또는 임의의 다른 위치에서 존재하고, SEQ ID NO: 1의 위치 13의 아미노산 잔기 Q, 및 SEQ ID NO: 2의 위치 18의 Y에 관해 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2에 대해 상기 본 명세서에 기술된 조건을 갖는다. 다시 다른 양태에서, 둘 이상의 결실은 관심 서열 예컨대 SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2의 N-말단 및 C-말단 둘 모두에 존재한다. 예를 들어, SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2의 펩티드의 N 및/또는 C 말단, 또는 이의 중심에서 이러한 결실은 SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2의 절두된 인간 펩티드 변이체를 생성시킬 수도 있다.

[0079] 또한, 본 발명에 따른 펩티드의 세트의 임의 펩티드는 본 명세서에 기술된 방법에서 사용가능한 접합체를 형성하도록 다른 펩티드 또는 단백질에 융합될 수도 있는데, 단 상기 "다른 펩티드 또는 단백질"은 본 발명의 세트의 "적어도 2개" 펩티드 중 하나가 아니다. 실제로, 본 명세서에 기술된 펩티드의 세트의 펩티드 (세트의 활성 성분)는 서로 연결되어서는 안된다. 이 문맥에서 용어 "접합체"는 예를 들어 표적 세포와 특이적으로 상호작용하거나 또는 결합하는 폴리펩티드와 함께, 예를 들어 통각수용기 또는 개재뉴런의 흥분성을 조절할 수 있는, 단일 폴리펩티드, 특히 SEQ ID NO: 1 또는 2의 펩티드 또는 이의 변이체 내에 2개 분자의 생물학적 기능을 조합한 조작된 융합 구성체를 의미한다.

[0080] 본 발명은 또한 본 발명의 세트의 펩티드, 예를 들어, 본 명세서에 기술된 바와 같은 서열 SEQ ID NO: 1의 펩티드, 서열 SEQ ID NO: 2의 펩티드, 또는 이의 변이체를 코딩하는 핵산에 관한 것이다. 예를 들어, SEQ ID NO: 1의 펩티드, SEQ ID NO: 2의 펩티드, 또는 이의 변이체를 코딩하는 임의의 서열은 유전자 코드의 축퇴성으로 생성된 유사한 서열과 함께 본 발명에 포괄된다. 특정 양태에서, 본 명세서에 기술된 바와 같은 펩티드를 코딩하는 핵산은 SEQ ID NO: 3: TGCTTCCCGGGACAGGTGGCGGGCACAACTCGGGCTCAACCTTCTTGTGTTGAAGCTTCCATTGTGATTCAGAAATGGTGG, 또는 SEQ ID NO: 4: TGTCACATGAATCCGTGTTTGGAAGGAGAGGATTGTAAAGTGCTGCCAGATTACTCAGGTTGGTCCTGTAGCAGTGGCAATAAAGTCAAAACTACGAAGGTAACGCGG의 서열을 포함하거나, 그로 이루어지거나, 또는 그로 본질적으로 이루어진다.

[0081] 발명자는 특히 본 명세서에서 서로 연결되지 않은 (적어도 2개) 펩티드의 발현을 허용하는 핵산의 세트를 기술하고, (제1) 핵산은 (제1) 관심 펩티드, 예를 들어 SEQ ID NO: 1의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드를 코딩하는 서열을 포함하고, (제2) 핵산은 (제2) 관심 펩티드, 예를 들어 SEQ ID NO: 2의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드를 코딩하는 서열을 포함한다. 발명자는 또한 본 명세서에서 바람직하게 본 명세서에 기술된 바와 같은 허용가능한 지지체, 담체, 부형제 또는 비히클과 함께, 이러한 핵산의 세트를 포함하는 조성물을 기술한다.

[0082] SEQ ID NO: 1의 펩티드, SEQ ID NO: 2의 펩티드, 또는 이의 변이체를 코딩하는 상기 언급된 핵산 서열은 적절한 숙주 세포에서 이의 발현을 제어하기 위한 조절 서열이 측접될 수 있다.

[0083] 다른 양태에서, 본 발명은 또한 5'에서 3'의 순서로,

[0084] - 프로모터,

[0085] - 관심 펩티드 예컨대 본 명세서에 기술된 바와 같은 SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, 또는 이의 변이체를 코딩하

는 핵산 서열; 및

[0086] - 종결 신호, 예컨대 예를 들어, 폴리아데닐화 신호

[0087] 를 포함하는, 발현 카세트에 관한 것이다.

[0088] 본 명세서에 개시된 관심 펩티드, 또는 발현 카세트를 코딩하는 상기 언급된 핵산 서열은 세포에서 이의 전사 및/또는 번역을 최적화하는 벡터로 그들 포장에 적합한 서열이 측접될 수 있다.

[0089] 다른 양태에서, 본 발명은 또한 본 명세서에 기술된 바와 같은 펩티드 또는 펩티드의 세트의 발현을 허용하는 벡터에 관한 것이다. 본 발명은 또한 서로 연결되지 않은 (적어도 2개) 펩티드의 발현을 허용하는 핵산의 세트, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 발현 카세트의 세트를 포함하는 벡터에 관한 것이다.

[0090] 추가 양태에서, 본 발명은 서로 연결되지 않은 (적어도 2개 펩티드)의 발현을 허용하는 벡터의 세트에 관한 것으로서, (제1) 벡터는 예를 들어, SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드의 (제1) 관심 펩티드를 코딩하는 서열을 포함하고, (제2) 벡터는 예를 들어 SEQ ID NO: 2의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드의 (제2) 관심 펩티드를 코딩하는 서열을 포함한다. 발명자는 또한 본 명세서에서 본 명세서에 기술된 바와 같은 허용가능한 지지체, 담체, 부형제 또는 비히클과 함께, 이러한 벡터의 세트를 포함하는 조성물을 기술한다.

[0091] 펩티드를 제조하기 위한 방법

[0092] 숙주 세포에서 발현을 허용하기 위해서, 본 발명에 기술된 바와 같은 펩티드(들) (또는 이의 변이체(들))를 코딩하는 핵산은 벡터(들)에 존재할 수 있고, 적합한 숙주 세포로 상기 벡터(들)의 도입 이후에, 서열(들)은 당분야에 충분히 공지된 표준 클로닝 및 발현 기술 (예를 들어, 다음의 문헌에 기술된 바와 같음: Sambrook, J., Fritsh, E. F., and Maniatis, T. Molecular Cloning: A Laboratory Manual 2nd, ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989)에 따라서 본 명세서에 기술된 코딩되어진 펩티드(들)를 생산하도록 발현될 수 있다. 다양한 발현 벡터가 본 명세서에 기술된 바와 같은 펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 발현하도록 적용될 수 있다. 본 발명에서 사용할 수 있는 발현 벡터는 숙주 세포에서 본 명세서에 기술된 펩티드 중 어느 하나를 생산하기 위해서, 비제한적으로, 진핵생물 발현 벡터, 특히 포유동물 발현 벡터, 바이러스-기반 발현 벡터, 배큘로바이러스 발현 벡터, 식물 발현 벡터, 및 임의의 플라스미드 발현 벡터를 포함한다. 발현 벡터는 또한 박테리아 시스템에서 펩티드(들)의 발현을 허용하는 벡터일 수 있다. 핵산이 몇몇 펩티드를 코딩하거나, 또는 단일 벡터가 몇몇 펩티드의 발현을 허용하는 경우에, 최종 펩티드는 서로 연결되지 않는다.

[0093] 발현 벡터의 선택은 벡터를 발현시키고자 의도된 숙주 세포에 따라 좌우된다. 당업자는 쉽게 이러한 선택을 하게 될 것이다. 본 발명은 또한 본 명세서에 기술된 바와 같은 펩티드를 코딩하는 핵산 서열을 포함하는, 세포, 특히 숙주 세포에 관한 것이다. 본 명세서에 기술된 바와 같은 벡터를 사용하여 변형되는 (숙주) 세포는 또한 본 발명자가 최초로 본 명세서에 개시한다.

[0094] 본 명세서는 특히 서로 연결되지 않은 본 명세서에 기술된 바와 같은 (적어도 2개) 펩티드 (또는 이의 변이체)의 발현을 허용하는 세포를 개시한다. 이러한 세포는 전형적으로 관심 펩티드, 예컨대 SEQ ID NO: 1의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드를 코딩하는 (제1) 핵산 서열 또는 벡터, 및 (제2/상이한) 관심 펩티드, 예컨대 SEQ ID NO: 2의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드를 코딩하는 (제2) 핵산 서열 또는 벡터를 포함한다. 또한 바람직하게 본 명세서에 기술된 바와 같은 허용가능한 지지체, 담체, 부형제 또는 비히클과 함께, 이러한 세포를 포함하는 조성물을 개시한다.

[0095] 본 명세서는 특히 서로 연결되지 않은 본 명세서에 기술된 바와 같은 (적어도 2개) 펩티드 (또는 이의 변이체)의 발현을 허용하는 세포의 세트를 개시한다. 전형적으로, 각각의 세포는 관심 펩티드, 예컨대 SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2의 펩티드, 또는 SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드를 코딩하는 핵산 서열 또는 벡터를 포함한다. 또한 바람직하게 본 명세서에 기술된 바와 같은 허용가능한 지지체, 담체, 부형제 또는 비히클과, 이러한 세포를 포함하는 조성물을 개시한다.

[0096] 원핵생물 또는 진핵생물 숙주 세포에서, 본 발명의 펩티드(들), 또는 이의 변이체를 발현시키는 것이 가능하다. 대표적인 숙주 세포는 많은 이.콜라이 (*E. coli*) 균주, 포유동물 세포주, 예컨대, 예를 들어, CHO, CHO-K1, 및 HEK293; 곤충 세포, 예컨대 Sf9 세포; 및 효모 세포, 예컨대, 에스. 세레비지아에 (*S. cerevisiae*) 및 피. 파스토리스 (*P. pastoris*)를 포함한다.

[0097] 본 명세서에 기술된 핵산 또는 벡터는 원핵생물 또는 진핵생물 숙주 세포에 외생성 DNA의 도입을 위해 통상적으로 사용되는 표준 기술, 예컨대, 예를 들어, 전기천공, 칼슘 포스페이트 침전, DEAE-덱스트란 형질감염 등을 통해서 숙주 세포로 형질감염될 수 있다. 대안적으로, 본 명세서에 기술된 핵산 또는 벡터는 바이러스-기반 벡터를 사용한 형질도입을 통해서 숙주 세포에 전달될 수 있다.

[0098] 순도는 임의의 적절한 표준 방법, 예를 들어, 컬럼 크로마토그래피, 박층 크로마토그래피, 또는 고성능 액상 크로마토그래피 (HPLC) 분석을 통해서 측정될 수도 있다. "단리" 또는 "합성" 펩티드는 또한 인간 대상체에게 투여에 안전한, 예를 들어, 감염원 또는 독소원이 결여된, 무균성 정도를 정의한다.

[0099] 본 명세서에 기술된 조성물 및 방법에서 사용되는 펩티드는 또한 고체상 합성 기술을 통해 생산될 수 있다. 펩티드의 직접 화학 합성은 당업자에게 매우 잘 알려진 방법, 예컨대 천연 화학 결찰 (Native Chemical Ligation)(NCL)을 통해서 수행될 수 있다. 이러한 화학적 접근법은 비보호된 펩티드 단편의 커플링 단계로 이루어지는데, N-말단 시스테인을 갖는 펩티드는 C-말단 티오에스테르 펩티드와 반응한다. 이러한 트랜스티오에스테르화는 결찰 부위에서 천연 아미드 결합의 형성을 일으키는 분자내 S,N-아실 이동으로 빠르게 이어진다.

[0100] 유전자 요법

[0101] 적절한 벡터로 본 명세서에 기술된 펩티드를 코딩하는 핵산 서열을 클로닝하여서, 본 발명자는 또한 본 명세서에서 통증, 특히 급성, 아급성 또는 만성 통증, 바람직하게 만성 통증의 유전자 요법을 위한 신규 유전자 전달 도구, 특히 유전자 구성체 (예컨대, 예를 들어, 발현 카세트 또는 벡터)를 제공한다. 유전자 요법은 대상체에서 특이적 세포에 의한 TAFA-4-펩티드 또는 이의 변이체의 내생적 생산을 허용하도록 적용될 수도 있다. 유전자 요법은 생체 내에서 또는 생체 외에서 일어날 수 있다. 생체외 유전자 요법은 적어도 대상체 세포 샘플의 단리 및 정제, 본 명세서에 기술된 바와 같은 펩티드의 세트를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열 (즉, 이식유전자)의 단리된 세포로의 도입, 및 유전자 변경/변형 세포의 대상체로의 재도입을 필요로 한다. 대조적으로, 생체 내 유전자 요법에서, 이식유전자는 전형적으로 대상체에게 투여를 위해 포장된다. 유전자 전달 구성체는 비바이러스 또는 바이러스일 수도 있다. 바람직하게, 본 명세서에 기술되는 유전자 구성체는 표적화된 조직/세포에서 이식유전자/코딩 서열 (즉, 관심 세트의 펩티드 또는 이의 변이체를 코딩하는 핵산 서열)을 발현하는데 사용될 수도 있는 바이러스 구성요소, 바이러스 벡터 및/또는 임의의 바이러스 포장 시스템(들)을 사용해 제조된다. 바이러스 벡터는 표적화된 조직/세포에서 이식유전자 생산물의 발현을 허용하거나 또는 촉진하는 임의의 적합한 프로모터 및 다른 전사 조절자를 포함할 수 있다. 바이러스 포장 시스템은 바람직하게 표적화된 세포에 대해 적합화된다. 표적 세포로 들어가면, 이러한 시스템은 표적화된 조직으로 전달을 촉진한다. 본 명세서에 기술된 방법에서 사용가능한 바이러스 벡터(들)는 바람직하게 복제-결핍 바이러스(들), 예컨대 예를 들어 아데노바이러스 또는 아데노-연관 바이러스 (AAV) 벡터(들)이다.

[0102] 일부 양태에서, 본 발명은 이의 게놈에, 관심 세트의 적어도 하나의 펩티드, 바람직하게 적어도 2개 펩티드, 예를 들어 SEQ ID NO: 1의 펩티드 및/또는 SEQ ID NO: 2의 펩티드, 또는 이의 변이체(들)를 코딩하는 핵산 서열을 포함하는 재조합 아데노-연관 바이러스 (AAV)를 포함한다. 핵산의 코딩 부분은 전형적으로 프로모터에 연결된다.

[0103] 지금까지, 그들 표면 성질에 변이를 갖는 AAV의 적어도 수십종의 상이한 혈청형이 인간 또는 비인간 영장류 (NHP)에서 단리되었고 특징규명되었다. 용어 "혈청형"은 당업자가 혈청학적으로 상이한 캡시드를 갖는 AAV를 구별할 수 있게 한다. 혈청학적 특수성은 다른 AAV 혈청형과 비교하여 한 AAV 혈청형에 대한 항체들 간 교차 반응성의 결여를 기반으로 결정된다. 본 명세서에 기술되는 rAAV는 또한 rAAV 벡터 또는 rAAV 입자라고도 하고, 하기의 알려진 혈청형 중 어느 하나를 가질 수 있고, 다시 말해서, 예를 들어, AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAV13, AAV14, AAV15, AAV16, AAV.rh8, AAV.rhIO, AAV.rh20, AAV.rh39, AAV.Rh74, AAV.RHM4-1, AAV.hu37, AAV.Anc80, AAV.Anc80L65, AAV.7m8, AAV.PHP.B, AAV2.5, AAV2tYF, AAV3B, AAV.LK03, AAV.HSC1, AAV.HSC2, AAV.HSC3, AAV.HSC4, AAV.HSC5, AAV.HSC6, AAV.HSC7, AAV.HSC8, AAV.HSC9, AAV.HSC10, AAV.HSC11, AAV.HSC12, AAV.HSC13, AAV.HSC14, AAV.HSC15, AAV.HSC16 및 AAVhu68로부터 선택될 수도 있다. rAAV 벡터는 특정 세포, 조직 또는 장기에 대해 증강된 향성을 가질 수도 있다. 경구 경로를 통한 투여의 상황에서, rAAV 벡터는 위, 소장 또는 결장 조직, 및 보다 특별히 이들 조직을 구성하는 세포, 특히 상피 세포, 예컨대, 예를 들어, 장세포, 고블렛 세포, 장내분비 세포, 파네스 세포, 솔세포에 대한 증강된 향성을 가질 수 있다. 장에 위치하는 표적 세포, 또는 장으로 전달되는 표적화 세포 경우에, AAV4, AAV7, AAV8, AAV9 또는 AAV10 중 어느 하나가 특히 효율적인 것으로

선택될 수도 있다.

[0104] 본 발명의 유전자 요법 벡터 또는 카세트는 당업자에게 충분히 알려지고, 예를 들어 PCT 특허 출원 공개 번호 WO03042397 및 미국 특허 제6,632,670호에 이전에 기술된 방법으로 생산될 수도 있다.

[0105] 본 설명은 또한, 예를 들어, 하기 단계를 포함하는, 재조합 벡터, 예를 들어, 바이러스 벡터, 예컨대 AAV를 제조하기 위한 방법에 관한 것이다:

[0106] a) 본 명세서에 기술된 재조합 벡터가 형질감염/형질도입된 세포를 배양하는 단계; 및

[0107] b) 형질감염/형질도입된 세포의 상청액으로부터 재조합 벡터를 회수하는 단계.

[0108] 본 발명의 유전자 요법 벡터는 293 또는 293T 인간 배아 신장 세포주로 2개 또는 3개 플라스미드의 형질감염을 통해서 생산될 수 있다. 특정 양태에서, 치료적 펩티드를 코딩하는 DNA(들)는 1개 플라스미드에 의해 제공되며, 하나 이상의 혈청형의 AAV로부터 발생되는 캡시드 단백질 및 복제 유전자, 및 예를 들어 아데노바이러스로부터 발생되는 헬퍼 기능은 모두 제2 플라스미드에 의해 트랜스로 제공된다. 다른 특정 양태에서, SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드 또는 이의 변이체를 코딩하는 DNA는 1개 플라스미드에 의해 제공되며; 하나 이상의 혈청형의 AAV로부터 발생되는 캡시드 단백질 및 복제 유전자는 제2 플라스미드에 의해 트랜스로 제공되고, 예를 들어 아데토바이러스로부터 발생되는 헬퍼 기능은 제3 플라스미드에 의해 제공된다. 특정 양태에서, 제1 플라스미드는 2개의 측접된 반전 말단 반복부 (ITR)를 포함하는, 프로모터에 작동적으로 연결된 본 명세서에 기술된 바와 같은 SEQ ID NO: 1의 펩티드 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드 또는 이의 변이체를 코딩하는 핵산 서열을 포함하는 발현 카세트를 포함한다. 다른 특정 양태에서, 각각의 치료적 펩티드를 코딩하는 DNA는 2개의 별개 플라스미드를 통해 제공되는데, 제1 플라스미드는 SEQ ID NO: 1의 펩티드 또는 이의 변이체를 코딩하는 핵산 서열을 포함하고, 제2 플라스미드는 SEQ ID NO: 2의 펩티드 또는 이의 변이체를 코딩하는 핵산 서열을 포함한다.

[0109] 세포 배양 이후에, 유전자 요법 벡터(들)는 예를 들어, 냉동 해동 사이클을 통해서 세포로부터 방출될 수 있고, 당업자에게 충분히 공지된 임의 방법, 예컨대, 예를 들어 이오딕사놀 단계 구배에 이어서 Hi-Trap QHP 컬럼에서 이온 교환 크로마토그래피를 사용하여 정제될 수 있다. 다음으로, 최종 유전자 요법 벡터(들)는 스핀 컬럼을 통해서 농축될 수도 있고, 정제된 벡터(들)는 예를 들어, 포스페이트 완충 염수 중에 냉동 (-60℃ 이하) 저장될 수 있다.

[0110] 본 발명의 관련 양태는 적어도 하나의 재조합 벡터가 형질감염 또는 형질도입된, 예를 들어 본 명세서에 기술된, 적어도 하나의 AAV 벡터가 형질도입된 숙주 세포; 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 치료적 펩티드 또는 이의 변이체를 코딩하는 DNA를 포함하는 벡터 또는 벡터의 세트가 형질감염된 세포의 세트를 포함한다.
본 발명의 추가 관련 양태는 본 명세서에 기술된, 재조합 벡터, 예를 들어, AAV의 게놈을 포함하거나, 또는 그로 (본질적으로) 이루어지는 임의의 핵산 분자를 포함한다.

[0111] 조성물

[0112] 본 명세서에 기술된 바와 같이 서로 연결되지 않은 (적어도 2개) 펩티드의 세트, 또는 상기 (적어도 2개) 펩티드의 발현을 허용하는 본 명세서에 기술된 바와 같은 생산물 (예를 들어, 핵산, 세포, 핵산의 세포 또는 세포의 세트)을 포함하는 본 명세서에 기술된 조성물은 약학적, 치료적, 예방학적, 또는 수의학적 조성물일 수도 있다.
조성물은 또한 (가능하게 동시에) 영양학적/식이요법 조성물일 수도 있다.

[0113] 본 명세서에 기술된 특정 조성물은 서열 SEQ ID NO: 1의 펩티드 또는 (전형적으로 기능성) 이의 변이체 (즉, SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드), 및 서열 SEQ ID NO: 2의 펩티드 또는 (전형적으로 기능성) 이의 변이체 (즉, SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드)를 포함하고, 상기 (적어도 2개) 펩티드는 서로 연결되지 않는다.

[0114] 본 명세서에 기술된 둘 이상의 펩티드의 세트는 별도로 또는 동시에, 펩티드를 조합하여 사용하기 위해 유리하게 제제화된다. 따라서, 세트의 각각의 펩티드는 별도의 형태로 또는 세트의 적어도 2개 펩티드의 믹스를 포함하는 조성물의 형태로 제조될 수 있다. 조성물은 식이요법/영양학적 조성물 및/또는 약학 조성물일 수도 있고, 본 명세서에 기술된 바와 같은 치료적 또는 예방적 방법에서 사용될 수도 있다.

[0115] 특정 양태에서, 본 발명은 본 명세서에 기술된 바와 같은, 서로 연결되지 않은 적어도 2개 펩티드 또는 이의 변이체, 전형적으로 서로 연결되지 않은 (적어도 2개) 펩티드의 세트, 또는 서로 연결되지 않은 (적어도 2개) 펩티드를 코딩하는 핵산 또는 핵산의 세트, 서로 연결되지 않은 (적어도 2개) 펩티드의 발현을 허용하는 발현 카

세트 또는 발현 카세트의 세트, 서로 연결되지 않은 (적어도 2개) 펩티드의 발현을 허용하는 벡터 또는 벡터의 세트, 또는 서로 연결되지 않은 (적어도 2개) 펩티드의 발현을 허용하는 세포 또는 세포의 세트, 및 바람직하게 본 명세서에 기술된 바와 같은 허용가능한 지지체, 담체, 부형제 또는 비히클, 특히 식이요법 및/또는 약학적으로 허용가능한 지지체, 담체, 부형제 또는 비히클을 포함하는 조성물에 관한 것이다.

[0116] 용어 "식이요법-허용가능한 지지체"는 본 명세서에 기술된 바와 같은 펩티드 또는 펩티드의 세트, 핵산 서열 또는 핵산 서열의 세트, 발현 카세트 또는 발현 카세트의 세트, 벡터 또는 벡터의 세트, 또는 세포 또는 세포의 세트를 포함하는 조성물을 대상체가 위험없이 섭취하고 소화하도록 허용하고, 통증의 속성 및 국재성에 의해 좌우되는 올바른 순간 및 올바른 부위에서 이의 (그들의) 치료 작용(들)을 일으키기 전에 이것 (그들)을 변경시킬 수 있는, 특히 음식물 소화와 관련된 임의의 공격으로부터 상기 펩티드(들)를 보호할 수 있는 담체에 관한 것이다.

[0117] 조성물이 2개 펩티드를 포함하는 특정 양태에서, 제1 및 제2 펩티드는 본 발명의 조성물에서 동일하거나 또는 상이한 비율로 존재할 수 있다. 특정 조성물에서, 제1 및 제2 펩티드는 조성물에 동일한 (등몰) 비율로 존재하며, 다시 말해서, 각각의 펩티드는 조성물의 펩티드 성분의 50%에 해당되고, 조성물이 각각의 2개 펩티드를 동일한 몰수로 함유한다는 것을 의미한다.

[0118] 다른 특정 펩티드 조성물은 다른 펩티드 또는 다른 펩티드들에 비해서 더 큰 비율로 특정 펩티드, 또는 특정 펩티드들을 포함할 수도 있다. 예를 들어, 특정 펩티드는 조성물의 펩티드 성분의 적어도 1%, 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%에 해당할 수도 있다.

[0119] 경구 투여의 상황에서, 조성물은 대상체의 위 pH를 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 및 보다 바람직하게 적어도 5 또는 6 까지 상승시키는데 유효한 양으로 존재하는, 적어도 하나의 위장 보호제, 바람직하게 산 억제제를 더 포함할 수 있다. 용어 "산 억제제"는 위산 분비를 억제하고 위 pH를 증가시키는 작용제를 의미한다. 산 억제제는 시메티딘, 라니티딘, 에브로티딘, 파부티딘, 라푸티딘, 록스티딘, 파모티딘을 포함하는 H_2 차단제; 오메프라졸, 에소메프라졸, 판토프라졸, 란소프라졸, 덱슬란소프라졸, 라베프라졸, 파리프라졸, 레미노프라졸 및 테나토프라졸을 포함하는 양자 펌프 억제제; 또는 이의 임의 조합을 포함할 수도 있지만, 이에 제한되지 않는다.

[0120] "약학적으로-허용가능한 지지체/비히클/담체"는 활성제(들) (즉, 본 발명의 적어도 2개 펩티드 또는 이의 변이체 및 임의로 추가적인 별개 활성제(들))와 투여되는 희석제, 보조제 또는 부형제일 수 있다. 이러한 약학 담체는 석유, 동물성, 식물성 또는 합성 기원의 것, 예컨대 땅콩유, 대두유, 미네랄유, 참깨유 등을 포함한, 오일 또는 물과 같은, 멸균 액체일 수 있다. 약학 조성물이 정맥내로 투여될 때 물이 바람직한 담체이다. 염수 용액 및 수성 덱스트로스 및 글리세롤 용액이 또한 특히 주사용 용액을 위한, 액체 담체로서 적용될 수 있다. 적합한 약학 부형제는 전분, 글루코스, 락토스, 수크로스, 소듐 스테아레이트, 글리세롤 모노스테아레이트, 탈크, 소듐 클로라이드, 탈지유, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 물, 에탄올 등을 포함한다.

[0121] 약학적으로-허용가능한 지지체/비히클/담체는 아스코르브산 및/또는 아스코르브산 염으로 이루어질 수도 있거나 또는 그를 포함할 수 도 있다. 아스코르브산 염의 예는 마그네슘 아스코르베이트, 소듐 아스코르베이트, 칼슘 아스코르베이트 및 아스코르빌 팔미테이트이다.

[0122] 일 구현예에서, 본 발명의 조성물은 아스코르브산 또는 아스코르브산 염을 포함한다.

[0123] 조성물, 예를 들어, 약학 조성물이 경구 투여를 위해 적합화되는 경우에, 정제 또는 캡슐은 약학적으로 허용가능한 부형제 예컨대 결합제 (예를 들어, 전호화 옥수수 전분, 폴리비닐피롤리돈 또는 히드록시프로필 메틸셀룰로스); 충전제 (예를 들어, 락토스, 미세결정질 셀룰로스 또는 칼슘 수소 포스페이트); 윤활제 (예를 들어, 마그네슘 스테아레이트, 탈크 또는 실리카); 붕해제 (예를 들어, 감자 전분 또는 소듐 전분 글리콜레이트); 또는 습윤제 (예를 들어, 소듐 라우릴 술페이트)와 함께 통상적인 수단을 통해서 제조될 수 있다. 정제는 당분야에 충분히 공지된 임의 방법을 통해서 코팅될 수 있다. 경구 투여를 위한 액체 조제물은 예를 들어, 용액, 시럽 또는 현탁액의 형태를 취할 수도 있거나, 또는 그들은 사용 전에 물 또는 다른 적합한 비히클로 재구성을 위한 건조 생성물로서 존재할 수도 있다. 이러한 액체 조제물은 약학적으로 허용가능한 첨가제 예컨대 현탁제 (예를 들어, 솔비톨 시럽, 셀룰로스 유도체 또는 수첨 식용 지방); 유화제 (예를 들어, 레시틴 또는 아카시아); 비-수성 비히클 (예를 들어, 아몬드유, 유성 에스테르, 에틸 알콜 또는 분별 식물성 오일); 및 보존제 (예

를 들어, 메틸 또는 프로필-p-히드록시벤조에이트 또는 솔브산)와 함께 통상적인 수단을 통해서 제조될 수 있다. 조제물은 또한 적절하게 완충제 염, 풍미제, 착색제 및 감미제를 함유할 수도 있다.

[0124] 본 발명의 조성물은 예를 들어, 약학적, 예방학적, 또는 치료적 조성물은 적어도 하나의 추가적인 (별개) 활성 화합물을 더 포함할 수도 있다. 바람직하게, 추가 활성 화합물은 통증에 효율적인 활성제이다. "통증에 효율적인"이란 (대상체가 측정가능하게 느끼는) 무통 또는 진통 성질을 갖는 활성제를 의미한다. 보다 바람직하게, 추가적인 활성 화합물은 스테로이드 항염증 약물 (SAID), 비스테로이드 항염증 약물 (NSAID) 또는 오피오이드 약물이다.

[0125] SAID는 히드로코르티손, 코르티손, 에타메타소넵, 프레드니손, 프레드니솔론, 트리암시놀론, 덱사메타손, 플루드로코르티손, 또는 이의 임의 조합을 포함할 수도 있지만, 이에 제한되지 않는다.

[0126] NSAID는 셀레콕십, 로페콕십, 루미라콕십, 루미라콕십, 발데콕십, 파레콕십, 에토리콕십, CS-502, JTE-522, L-745,337, NS398, 아스피린, 아세타미노펜 (본 개시의 목적을 위한 NSAID로 고려됨), 이부프로펜, 플루르비프로펜, 케토프로펜, 나프록센, 옥사프로진, 에토돌락, 인도메타신, 케토롤락, 로르녹시캄, 멜록시캄, 피록시캄, 드록시캄, 테녹시캄, 나부메톤, 디클로페낙, 메클로페나메이트, 메페남산, 디플루니살, 술린닥, 놀메틴, 페노프로펜, 수프로펜, 베녹사프로펜, 아세클로페낙, 톨페남산, 옥시펜부타존, 아자프로파존, 페닐부타존, 또는 이의 임의 조합을 포함할 수도 있지만, 이에 제한되지 않는다.

[0127] 오피오이드 약물은 (덱스트로)프로폭시펜, A-메틸펜타닐, 알펜타닐, 알릴프로딘, 벤지트라미드, 부프레노르핀, 부토르파놀, 카르펜타닐, 데스메틸프로딘, 덱스트로모라미드, 데조신, 디아세틸모르핀, 디히드로코데이논, 디히드로에토르핀, 디모르폰, 디페녹실레이트, 디피파논, 에토르핀, 펜타닐, 케토베미돈, 레페타민, 레바세틸메타돌, 레보메토르판, 레보르파놀, 로페라미드, 메페리딘, 멥타지놀, 메타돈, 메틸모르핀, 모르핀, 날부핀, 니코모르핀, 오메펜타닐, 오리파빈, 옥시코돈, 옥시모르폰, PEPAP, 파라모르핀, 펜타조신, 페나조신, 피리트라미드, 프로딘, 레미펜타닐, 술펜타닐, 타펜타돌, 틸리딘, 트라마돌, 또는 오피오이드 길항제 예컨대 날메펜, 날록손, 날트렉손 또는 이의 임의 조합을 포함할 수도 있지만, 이에 제한되지 않는다.

[0128] 치료적 및 예방학적 용도

[0129] 본 설명은 활성 예방학적 또는 치료적 성분(들)로서 사용을 위한, 바람직하게 약학 조성물, 약물 또는 의약으로 사용을 위한, 상기 본 명세서에 기술된 바와 같은, 펩티드들, 핵산(들), 발현 카세트(들), 벡터(들), 세포(들), 및 이의 세트, 또는 이의 임의 조합을 비롯하여, 이러한 펩티드들, 핵산(들), 발현 카세트(들), 벡터(들), 세포(들), 및/또는 이의 세트(들)를 포함하는 조성물을 개시한다.

[0130] 특정 양태에서, 펩티드, 특히 SEQ ID NO: 1의 단리 또는 합성 펩티드 및/또는 SEQ ID NO: 2의 단리 또는 합성 펩티드, 바람직하게 상기 펩티드의 세트, 이러한 펩티드들이 발현을 허용하는 임의의 세트, 또는 본 명세서에 기술된 바와 같은 이러한 펩티드들, 핵산(들), 발현 카세트(들), 벡터(들), 세포(들), 및/또는 세트(들)를 포함하는 임의의 조성물은 약학 조성물, 약물 또는 의약으로서 사용을 위한 것이고, 특히 통증의 예방 또는 치료에 사용을 위한 것이다.

[0131] 다른 양태에서, 본 설명은 이를 필요로 하는 대상체에서 통증의 예방 또는 치료를 위한 활성 성분(들)/활성제(들)로서 사용을 위한, 본 명세서에 기술된 바와 같은 펩티드(들), 핵산(들), 발현 카세트(들), 벡터(들) 또는 세포(들), 및/또는 본 명세서에 기술된 바와 같은 세트(들)에 관한 것이다.

[0132] 본 설명은 특히 이를 필요로 하는 대상체에서 통증의 예방 또는 치료를 위해 [활성 성분(들)으로서] 사용을 위한, 본 명세서에 개시된 생산물 또는 임의의 본 명세서에 개시된 생산물의 세트, 예를 들어 본 명세서에 기술된 바와 같은 세포의 세트, 전형적으로 펩티드의 세트 또는 이러한 펩티드의 세트를 포함하거나 또는 발현하는 세포에 관한 것이다.

[0133] 특정 양태에서, 발명자는 본 명세서에서 이를 필요로 하는 대상체에서 통증의 예방 또는 치료를 위한 약학 조성물, 약물 또는 의약의 제조를 위한, 본 명세서에 기술된 바와 같은 본 발명의 임의의 생산물, 예컨대 본 명세서에 기술된 바와 같은, 펩티드(들), 핵산(들), 발현 카세트(들), 벡터(들), 세포(들), 및 본 명세서에 기술된 바와 같은 이의 상응하는 세트, 또는 이의 임의 조합의 용도를 기술한다. 그들은 또한 본 명세서에서 통증을 예방하거나 또는 치료하기 위한 상응하는 방법을 기술하고, 상기 방법은 전형적으로 이를 필요로 하는 대상체에게 본 명세서에 기술된 바와 같은 상기 펩티드(들), 핵산(들), 발현 카세트(들), 벡터(들), 세포(들), 세트(들) 및/또는 조성물(들)을 투여하는 단계를 포함한다.

[0134] 본 설명은 특히 이를 필요로 하는 대상체에서 통증을 예방하거나 또는 치료하는 방법을 제공하고, 방법은 생산물 예컨대 특히 본 명세서에 기술된 바와 같은 펩티드의 세트 및/또는 조성물, 바람직하게 SEQ ID NO: 1의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 이의 변이체, 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함하는 펩티드의 세트, 또는 이러한 세트를 포함하는 조성물의 (치료적) 유효량을 투여하는 단계를 포함한다.

[0135] 특정 양태에서, 발명자는 본 명세서에서 통증, 특히 급성, 아급성 또는 만성 통증, 바람직하게 만성 통증의 예방 또는 치료를 위한, 본 명세서에 기술된 바와 같은 본 발명의 임의의 생산물, 예컨대 본 명세서에 기술된 바와 같은, 펩티드(들), 핵산(들), 발현 카세트(들), 벡터(들), 세포(들), 및 이의 상응하는 세트, 또는 이의 임의 조합 또는 본 명세서에 기술된 바와 같은 조성물의 용도를 기술한다.

[0136] 바람직하게, 통증은 신경병증성 통증 (예컨대 화학요법-유도된 말초 신경병증성 통증 또는 화학요법-유도된 신경병증성 통증), 수술후 통증, 염증성 통증, 통각과민증, 또는 이질통증이다.

[0137] 특정 양태에서, 발명자는 본 명세서에서 신경병증성 통증 (예컨대 화학요법-유도된 말초 신경병증성 통증 또는 화학요법-유도된 신경병증성 통증), 수술후 통증 또는 염증성 통증의 예방 또는 치료를 위한, 본 명세서에 기술된 바와 같은 본 발명의 임의의 생산물, 예컨대 본 명세서에 기술된 바와 같은, 펩티드(들), 핵산(들), 발현 카세트(들), 벡터(들), 세포(들), 및/또는 본 명세서에 기술된 바와 같은 이의 세트(들), 또는 이의 임의 조합 또는 본 명세서에 기술된 바와 같은 조성물의 용도를 기술한다.

[0138] 특정 양태에서, 발명자는 본 명세서에서 만성 신경병증성 통증 (예컨대 만성 화학요법-유도된 말초 신경병증성 통증 또는 만성 화학요법-유도된 신경병증성 통증), 만성 수술후 통증 또는 만성 염증성 통증의 예방 또는 치료를 위한, 본 명세서에 기술된 바와 같은 본 발명의 임의의 생산물, 예컨대 본 명세서에 기술된 바와 같은, 펩티드(들), 핵산(들), 발현 카세트(들), 벡터(들), 세포(들), 및 이의 상응하는 세트, 또는 본 명세서에 기술된 바와 같은 이의 임의의 조성물의 용도를 기술한다.

[0139] 보다 특정한 양태에서, 발명자는 본 명세서에서 골관절염 통증의 예방 또는 치료를 위한 본 명세서에 기술된 바와 같은 본 발명의 임의의 생산물, 예컨대 본 명세서에 기술된 바와 같은 펩티드(들), 핵산(들), 발현 카세트(들), 벡터(들), 세포(들), 및 이의 상응하는 세트, 또는 본 명세서에 기술된 바와 같은 이의 임의의 조성물의 용도를 기술한다.

[0140] 특정 양태에서, 발명자는 본 명세서에서 통각과민증, 특히 열적 (예컨대 열 또는 저온 통각과민증, 바람직하게 저온 통각과민증) 또는 기계적 통각과민증, 바람직하게 기계적 통각과민증 보다 더 바람직하게 손상-유도된 기계적 통각과민증의 예방 또는 치료를 위한, 본 명세서에 기술된 바와 같은 본 발병의 임의의 생산물, 예컨대 본 명세서에 기술된 바와 같은 펩티드(들), 핵산(들), 발현 카세트(들), 벡터(들), 세포(들), 및 이의 상응하는 세트, 또는 본 명세서에 기술된 바와 같은 이의 임의의 조성물의 용도를 기술한다.

[0141] 다른 특정 양태에서, 발명자는 본 명세서에서 이질통증, 특히 기계적 이질통증의 예방 또는 치료를 위한, 본 명세서에 기술된 바와 같은 본 발명의 임의의 생산물, 예컨대 본 명세서에 기술된 바와 같은 펩티드(들), 핵산(들), 발현 카세트(들), 벡터(들), 세포(들), 및 이의 상응하는 세트, 또는 본 명세서에 기술된 바와 같은 이의 임의의 조성물의 용도를 기술한다. 바람직하게, 기계적 이질통증은 신경 손상-유도된 기계적 이질통증 또는 정적 유형의 기계적 이질통증이다.

[0142] 추가의 특정 양태에서, 발명자는 본 명세서에서 이질통증, 특히 열적 이질통증, 예컨대 열 이질통증 (즉, 정상적으로 비-통증성 온열 자극에 대해 인지된 통증) 또는 저온 이질통증 (즉, 정상적으로 비-통증성 저온 자극에 대해 인지된 통증), 바람직하게 저온 이질통증의 예방 또는 치료를 위한, 본 명세서에 기술된 바와 같은 본 발명의 임의의 생산물, 예컨대 본 명세서에 기술된 바와 같은, 펩티드(들), 핵산(들), 발현 카세트(들), 벡터(들), 세포(들), 및 이의 상응하는 세트, 또는 본 명세서에 기술된 바와 같은 이의 임의의 조성물의 용도를 기술한다.

[0143] 특정 양태에서, 발명자는 본 명세서에서 이를 필요로 하는 대상체에서, 기계적 과민증 (기계적 자극에 대한 과민증 또는 단순히 통각과민증이라고도 함), 바람직하게 손상-유도된 기계적 과민증의 예방 또는 치료를 위한, 본 명세서에 기술된 바와 같은 본 발명의 임의의 생산물, 예컨대 본 명세서에 기술된 바와 같은, 펩티드(들), 핵산(들), 발현 카세트(들), 벡터(들), 세포(들), 및 이의 상응하는 세트, 또는 본 명세서에 기술된 바와 같은 이의 임의의 조성물의 용도를 기술한다.

[0144] 특정 양태에서, 발명자는 본 명세서에서 일광 화상에 의한 통증 또는 얼음 화상에 의한 통증의 예방 또는 치료를 위한, 본 명세서에 기술된 바와 같은 본 발명의 임의의 생산물, 예컨대 본 명세서에 기술된 바와 같은 펩티드(들), 핵산(들), 발현 카세트(들), 벡터(들), 세포(들), 및 이의 상응하는 세트, 또는 본 명세서에 기술된 바와 같은 이의 임의의 조성물의 용도를 기술한다.

[0145] 치료는 촉감, 불타는 느낌 또는 차가운 느낌, "핀과 바늘로 찌르는 듯한 느낌", 무감각, 가려움증, 극심한 통증 및 온도를 정확하게 감지하기 어려움 중 하나 이상의 감각의 개선을 야기할 수도 있다. 특정 양태에서, 치료는 통증을 제거한다. 다른 특정 양태에서, 치료는 통증의 증상, 특히 신경병증성 통증 (이질통증 및/또는 통각과민증)의 증상을 감소시킨다. 본 발명의 방법은 신경병증성 통증을 제거하지 못하더라도 이를 더 잘 관리할 수 있게 한다 (즉, 삶의 질 개선).

[0146] 통증, 특히 (만성) 신경병증성 통증이 본 발명의 특정 펩티드를 사용하여 치료되었는지 여부를 평가하기 위해 당업자에게 충분히 공지된 표준 검사가 당분야에서 이용가능하다. 예를 들어, 대상체에서 통증 민감성의 평가는 정량적 감각 검사 (핀프릭, 압력 측각계, 폰 프레이 필라멘트, 접촉, 꼬집기, 또는 손가락으로 가벼운 압력)를 사용하거나 또는 통증 등급 척도를 사용하여 표준화되었다.

[0147] 대상체

[0148] 본 발명의 상황에서, 대상체 또는 환자는 동물, 바람직하게 포유동물이다. 특정 양태에서, 대상체는 가축, 예컨대, 예를 들어, 말, 개, 고양이, 소 등이다. 다른 특정한 바람직한 양태에서, 대상체는 인간이다.

[0149] 신경병증성 통증에서 기원하는 만성 통증을 갖는 대상체는 고전적으로 이러한 신경병증성 통증과 연관된 질환, 예컨대 예를 들어, 섬유근육통, 복합 국소 통증 증후군, 포진후 신경통, 엘러스-단로스 증후군 및 홍반성 사지 통증을 앓을 수도 있다.

[0150] 특정 양태에서, 대상체는 섬유근육통 (FM)을 갖는다. 섬유근육통은 만성 근골격계 통증을 특징으로 하는 증후군이다 (Siracusa *et al.*, 2021). FM은 운동계 수준에서 통증 발현이 우세한, 구심성 통각수용성 자극의 인식, 전달, 및 처리를 포함한, 신경 회로의 기능장애를 특징으로 하는 중추 감작 현상에 의해 유발된다. 이 질환의 주요 증상은 근육 경직, 관절 경직, 불면증, 피로, 기분 장애, 인지 기능장애, 불안, 우울, 전반적 민감증 및 정상적인 일상 활동 수행 불능이다. FM은 또한 특정 질환, 예컨대, 감염, 당뇨병, 류마티스 질환 및/또는 정신과적 또는 신경학적 장애와 연관될 수도 있다.

[0151] 특정 양태에서, 발명자는 본 명세서에서 섬유근육통 (FM)을 예방 또는 치료하기 위한, 본 명세서에 기술된 바와 같은 펩티드(들), 핵산(들), 발현 카세트(들), 벡터(들), 세포(들), 및 이의 상응하는 세트 (즉, 이러한 펩티드, 핵산, 발현 카세트, 벡터 또는 세포의 세트), 또는 본 명세서에 기술된 바와 같은 이러한 펩티드, 핵산, 발현 카세트, 벡터, 세포 또는 세트를 포함하는 조성물의 용도를 기술한다.

[0152] 다른 양태에서, 대상체는 복합 국소 통증 증후군 (CRPS)을 앓는다. 복합 국소 통증 증후군은 감각, 자율신경, 운동 및 영양 장애와 함께 중증 통증을 특징으로 하는 사지와 관련된 만성 신경학적 병태이다 (Goh et al., 2017). 이러한 병태는 수술, 외상 또는 경미한 부상에 의해 유도될 수 있고, 경증 및 자기 제한적인 것부터, 일상 생활 활동 및 건강 관련 삶의 질을 손상시키는 만성 질환에 이르는 범위로, 다양한 과정을 갖는다. CRPS는 다음의 2개 유형으로 분류될 수 있다: 확인가능한 신경 손상의 부재 또는 존재를 특징으로 하는 CRPS I형 및 II형. CRPS I형은 일반적으로 유해한 사건이 시작된 이후에 발생되는 증후군으로서, 단일 말초 신경의 분포에 제한되지 않고, 자극된 사건에 대해 불균형적이다. 이것은 부종, 피부 혈류의 변화, 통증 영역에서 비정상적 발한 운동 활성, 이질통증 및 통각과민증과 연관되고, 일반적으로 영향받은 말단의 원위 측면 또는 원위부터 근위 구배과 관련된다. CRPS II형은 신경 또는 그 영역에 신경분포되는 이의 주요 분지 중 하나의 부분 손상 이후에 사지 영역에서 발생되는 작열통, 이질통증 및 통각과민으로서 정의될 수 있다.

[0153] 특정 양태에서, 발명자는 본 명세서에서 복합 국소 통증 증후군 (CRPS)의 예방 또는 치료를 위한, 본 명세서에 기술된 바와 같은 펩티드(들), 핵산(들), 발현 카세트(들), 벡터(들), 세포(들), 및 이의 상응하는 세트 (즉, 이러한 펩티드, 핵산, 발현 카세트, 벡터 또는 세포의 세트), 또는 본 명세서에 기술된 바와 같은, 이러한 펩티드, 핵산, 발현 카세트, 벡터, 세포 또는 세트를 포함하는 조성물의 용도를 기술한다.

[0154] 여전히 다른 양태에서, 대상체는 포진후 신경통 (PHN)을 갖는다. 포진후 신경통은 감각 신경절에서 휴면 중인 바리셀라 조스터 바이러스의 재활성화를 통해 유발되는 감염인, 헤르페스 조스터 (HZ)의 가장 일반적인 합병증이다 (Ngo *et al.*, 2020). 이는 연관된 피부 분절을 따라서 국재화된 수포성 발진 및 통증을 특징으로

한다. PHN은 HZ 발진의 초기 발병 이후 적어도 90일 동안 지속되는 통증으로서 정의되고, 영향받은 환자의 삶의 질을 상당히 감소시킨다. PHN은 과민성 통각수용기 및 구심로차단 모델로 세분된다. VZV의 재활성화 동안, 바이러스는 등근 신경절에서 이의 각 주변부로 복제되어 확산된다. 전파는 말초 신경을 손상시키는 면역 반응 및 염증을 유발시킨다. 이러한 손상은 통증의 뉴런 억제를 감소시키고, 통증 신호의 탈분극 역치를 저하시킨다. 그 결과로 비통증성 자극에 반응하는 통증성 인식이 야기되는데, 이 과정을 말초 감작이라고 한다. 아형 C-통각수용기의 반복 활성화는 또한 배각에서 흥분의 고조된 상태를 초래한다. HZ에 의한 직접적인 바이러스 손상은 하행 억제성 통증 경로를 약화시켜서, 배각의 2차 뉴런의 만성 활성화를 야기한다. 더 나아가서, 배각에서 억제성 감마 아미노부티르산 (GABA) 생성 개재뉴런의 손실이 PHN 없는 HZ 환자와 비교하여 PHN을 갖는 HZ 환자에서 보고된 바 있다. 이들 요인은 중추 감작이라고 하는 과정으로 구심성 입력으로부터의 모든 후속 반응을 증폭시킨다. PHN에서, 이 과정은 일반적으로 중추 신경계에 무해한 촉각 자극을 전달하는, Aβ-섬유로 불리는, 저-역치 기계수용성 구심성 신경의 해부학적 재구성을 동반한다. 바이러스 손상이 말초에서 C-통각수용기의 손실을 초래하는 경우에, 이들 섬유는 보상적인 방식으로 본래 C-통각수용기 구심성 신경에 연결되어 있는 2차 뉴런에 연결된다. 이러한 과정을 구심로차단이라고 하고, 이질통증을 앓는 환자는 감각 기능의 심각한 손실을 나타낸다.

[0155] 특정 양태에서, 발명자는 본 명세서에서 포진후 신경통 (PHN)을 예방 또는 치료하기 위한, 본 명세서에 기술된 바와 같은 펩티드(들), 핵산(들), 발현 카세트(들), 벡터(들), 세포(들), 및 이의 상응하는 세트 (즉, 이러한 펩티드, 핵산, 발현 카세트, 벡터 또는 세포의 세트), 또는 이러한 펩티드, 핵산, 발현 카세트, 벡터, 세포 또는 세트를 포함하는 조성물의 용도를 기술한다.

[0156] 여전히 다른 양태에서, 대상체는 홍반성 사지 통증 (EM)을 앓는다. 홍반성 사지 통증은 주로 양쪽 하지에 양측 및 대칭으로, 또는 일측으로 영향을 미치는 드문 삽화성 말단증후군으로서, 홍반, 온기 및 작열통의 고전적 3개 증상이 존재한다 (Maria Bibiana Leroux, 2018). EM은 만성 통증 증후군과 함께 분류된다. 원발성 EM은 #133020으로서 OMIN (Online Mendelian Inheritance in Man)에 의해 코팅되는 상염색체 우성 유전 장애이다. 이것은 등근 신경절 및 교감 신경절 뉴런에서 주로 발현되는 Nav1.7 채널에 영향을 미치는, 소듐 채널 9형의 α 서브유닛 단백질 (SCN9A)의 변경과 연관된다. 속발성 EM은 골수증식성 질환, 부신생물증, 자가면역 질환, 독소 접촉 및 감염과 연관된다.

[0157] 특정 양태에서, 발명자는 본 명세서에서 홍반성 사지 통증 (EM)의 예방 또는 치료를 위한, 본 명세서에 기술된 바와 같은 펩티드(들), 핵산(들), 발현 카세트(들), 벡터(들), 세포(들), 및 이의 상응하는 세트 (즉, 이러한 펩티드, 핵산, 발현 카세트, 벡터 또는 세포의 세트), 또는 본 명세서에 기술된 바와 같은 이러한 펩티드, 핵산, 발현 카세트, 벡터, 세포 또는 세트를 포함하는 조성물의 용도를 기술한다.

[0158] 특정 양태에서, 발명자는 본 명세서에서 통각수용기 또는 개재뉴런에 의해 전달되는 신호가 손상된 임의의 통증-연관 병태의 예방 또는 치료를 위한, 본 명세서에 기술된 바와 같은 펩티드(들), 핵산(들), 발현 카세트들, 벡터(들), 세포(들), 및 이의 상응하는 세트 (즉, 이러한 펩티드, 핵산, 발현 카세트, 벡터 또는 세포의 세트), 또는 본 명세서에 기술된 바와 같은 이러한 펩티드, 핵산, 발현 카세트, 벡터, 세포 또는 세트를 포함하는 조성물의 용도를 기술한다.

[0159] 본 발명자는 기능성 Myo1a를 발현하는 $Myo1a^{+/+}$ 기준 대상체에서 관찰되는 발현과 비교했을 때 대상체에서 미오신 IA (Myo1a)의 없거나, 감소되거나 또는 불충분한 발현 또는 비기능성 발현이 대상체를 손상-유도 만성 기계적 통증 및/또는 염증-유도 만성 열적 통증이 발생되는데 취약하게 만든다는 것 이전에 확립하였다 (WO2017153424).

[0160] 여전히 다른 양태에서, 대상체는 *myo1A* 유전자에 하나 또는 2개의 돌연변이된 대립유전자를 갖는 대상체이다. "돌연변이된" 대립유전자란 Myo1a의 발현 또는 발현 수준을 변경시키는 *myo1A* 유전자의 핵산 (코딩 또는 비코딩 영역)에서의 치환, 결실 또는 삽입을 의미한다. 돌연변이는 하나 이상의 핵염기에 영향을 미칠 수 있다. 치환은 단일 뉴클레오티드 다형성 (SNP)일 수도 있다.

[0161] 특정 양태에서, 발명자는 본 명세서에서 이러한 대상체에서 손상-유도된 만성 기계적 통증 및/또는 염증-유도된 만성 열적 통증의 예방 또는 치료를 위한, 본 명세서에 기술된 바와 같은 펩티드(들), 핵산(들), 발현 카세트(들), 벡터(들), 세포(들), 및 이의 상응하는 세트 (즉, 이러한 펩티드, 핵산, 발현 카세트, 벡터 또는 세포의 세트), 또는 본 명세서에 기술된 바와 같은 이러한 펩티드, 핵산, 발현 카세트, 벡터, 세포 또는 세트를 포함하는 조성물의 용도를 기술한다.

[0162] 용량

[0163] 본 발명에 따른 생산물, 특히 펩티드, 펩티드의 세트, 또는 이러한 세트를 포함하거나 또는 이의 발현을 허용하는 조성물은 바람직하게 치료적 유효량으로 대상체에게 직접 투여된다. 용어 "치료적 유효량"은 대상체에서 통증을 치료, 개선, 또는 예방하는데 필요한 관심 펩티드, 특히 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드 또는 이의 기능성 변이체(들)의 양을 의미한다. 치료적 유효량은 초기에 세포 배양 어세이, 또는 동물 모델에서 추정될 수 있다. 동물 모델은 또한 펩티드(의 세트)의 적절한 농도 범위 및 투여 경로를 결정하는데 사용될 수도 있다. 이러한 정보는 이후에 인간에서 투여를 위한 유용한 용량 및 경로를 결정하는데 사용될 수 있다.

[0164] 본 명세서에 기술된 방법에서 사용되는 펩티드의 투약량은 대상체의 일반 건강 상태, 연령, 성별 및 체중, 통증의 성질 및/또는 중증도/강도, 투여 시간, 빈도 및 지속기간, 사용되는 특정 펩티드, 약물 병용물(들), 반응 민감도, 및 요법에 대한 내성/반응에 의존하여 가변적일 수 있다. 이러한 적합한 유효 투약량은 통상의 실험을 통해서 결정될 수 있고, 임상의의 판단 하에 있다.

[0165] 용량은 볼러스 형태로 투여될 수도 있거나 또는 하루에 걸쳐서 별도로 투여되는, 몇개 부분 (/ 단위)으로 나뉠 수도 있다. 달리 말해서, 치료는 단일 용량 일정 또는 다수 용량 일정일 수 있다. 유효 용량은 며칠, 몇 주, 몇 개월 또는 몇 년의 기간 동안 투여될 수도 있다.

[0166] 적합한 진통 또는 무통 효과를 얻기 위해서, 발명자가 본 명세서에서 기술하는, 전형적으로 SEQ ID NO: 1의 펩티드 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드의 펩티드의 세트, 또는 이러한 펩티드의 세트를 포함하는 조성물에 존재하는 펩티드 또는 이의 변이체의 총 유효량은 단위 용량 당 1 ㎍과 10 g 사이, 바람직하게 1 ㎍과 100 mg 사이, 보다 바람직하게 25 ㎍과 10 mg 사이, 보다 더 바람직하게 2 mg과 10 mg 사이이다.

[0167] 본 발명의 특정 양태에서, 펩티드의 세트 또는 이러한 펩티드의 세트를 포함하는 조성물은 포유동물 경우에, 24시간 당 체중 kg 당 1 ㎍ (즉, 1 ㎍/Kg/일)과 100 mg/kg/일 사이, 바람직하게 2.5 ㎍/kg/일과 0.6 mg/kg/일 사이의 용량으로 투여된다.

[0168] 대상체가 인간인 경우에, 대상체에게 투여되는 발명자가 본 명세서에 기술한 바와 같은 펩티드 또는 이의 변이체의 유효량은 대상체가 인간 대상체인 경우에 바람직하게 2.5 ㎍/kg/일과 0.6 mg/kg/일 사이, 바람직하게 5 ㎍ 또는 10 ㎍/kg/일과 0.5 mg/kg/일 사이, 보다 바람직하게 50 ㎍ 또는 75 ㎍/kg/일과 0.3 mg/kg/일 사이이다.

[0169] 본 발명의 특정 양태에서, 펩티드의 세트 또는 이러한 펩티드의 세트를 포함하는 조성물은 SEQ ID NO: 1의 펩티드 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드가 등몰농도인 용량으로 투여된다.

[0170] 본 발명의 보다 특정한 양태에서, 펩티드의 세트 또는 이러한 펩티드의 세트를 포함하는 조성물은 50 ㎍/kg과 150 ㎍/kg 사이의 SEQ ID NO: 1의 펩티드 및 100 ㎍/kg과 250 ㎍/kg 사이의 SEQ ID NO: 2의 펩티드를 포함하는 용량으로 투여된다.

[0171] 이를 필요로 하는 대상체에게 본 명세서에 기술된 바와 같은 생산물, 특히 본 명세서에 기술된 바와 같은 펩티드 또는 조성물의 전달은 임의 경로를 통해서 수행될 수도 있다.

[0172] 본 명세서에 기술된 생산물은 예를 들어, 근육내, 정맥내, 복강내, 경구로 (*입으로*), 항문으로, 피부로, 피하로, 국소적으로, 진피로, 경피로 또는 척추강내로 투여될 수 있다. 바람직하게, 본 명세서에 기술된 생산물은 피하로, 경구로 또는 정맥내, 보다 더 바람직하게 피하로 또는 경구로 투여된다.

[0173] 실험 부분에 표시된 바와 같이, 발명자는 SEQ ID NO: 1의 펩티드 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드를 포함하는 펩티드의 세트는 통증, 특히 신경병증성 통증을 치료하기 위해 피하 투여되었을 때 진통 효과를 갖는 것으로 입증된다. 놀랍게도, 진통 효과는 또한 SEQ ID NO: 1의 펩티드 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드를 포함하는 펩티드의 세트가 경구로 (입으로) 또는 정맥내로 투여되었을 때 관찰된다. 보다 더 놀랍게도 유리하게, 본 발명의 펩티드의 세트는 입으로 또는 피하로 투여되었을 때 TAFA-4 (전체 길이)에 비해서 더 양호한 진통 효과를 보이고, 이것은 상기 전체 길이 단백질에 비해서 환자에게 투여하는 것을 보다 편리하고 적합하게 만든다.

[0174] 유리하게, 본 발명의 2개 펩티드의 세트, 또는 이러한 세트를 포함하는 조성물은 전체 길이 TAFA-4 단백질에 비해서 생산하는 것이 훨씬 쉬우면서 (결론적으로 더 저렴하면서), 피하 투여되었을 때, 후자와 비교하여 더 높은 진통 활성/효과를 유도한다. 보다 더 놀랍게도, 경구 (입으로) 투여시, 본 발명의 펩티드의 세트는 TAFA-4 (전체 길이) 단백질과 비교해 더 나은 진통 효과를 보여서, 상기 TAFA-4 전체 길이 단백질에 비해서 환자에게 투여하는 것을 더 편리하고 적합하게 만든다. 2개 펩티드의 세트의 정맥내 주사는 유리하게 신경병증성 통

증의 치료를 위한 제3 투여 경로를 제공한다.

[0175] 키트

[0176] 본 명세서에 기술된 각각의 생산물, 예를 들어, 본 명세서에 기술된 각각의 생산물, 바람직하게 본 명세서에 기술된 각각의 펩티드, 각각의 펩티드의 세트, 또는 각각의 조성물은 키트의 일부일 수도 있다.

[0177] 본 발명의 전형적인 키트는 펩티드 또는 이의 변이체, 핵산, 발현 카세트, 벡터, 세포, 펩티드의 세트, 핵산의 세트, 발현 카세트의 세트, 벡터의 세트, 세포의 세트, 및 이러한 펩티드, 핵산, 발현 카세트, 벡터, 세포 또는 세트를 포함하는 조성물로부터 선택되는 본 명세서에 기술된 바와 같은 적어도 2개 생산물, 및 임의로 통증에 효율적인 적어도 하나의 추가적인 별개 활성 화합물을 포함한다. 특정 양태에서, 키트는 키트 사용을 위한 서면 설명서를 더 포함한다.

[0178] 키트는 바람직하게 적어도 2개 부품, 예를 들어, 2개 별개 용기를 포함하는 부품 키트이고, 제1 부품은 본 명세서에 개시된 바와 같은 펩티드, 핵산, 발현 카세트, 벡터, 세포, 펩티드의 세트, 핵산, 발현 카세트, 벡터, 또는 세포, 또는 본 명세서에 개시된 바와 같은 조성물을 포함하고, 제2 부품은 통증에 효율적인 적어도 하나의 추가적인 별도 활성 화합물을 포함한다. 바람직하게, 통증에 효율적인 활성 화합물은 본 명세서에 개시된 바와 같은 스테로이드 항염증 약물 (상기), 비스테로이드 항염증 약물 (NSAID) 또는 오피오이드 약물이다.

[0179] 특정 양태에서, 키트는 i) SEQ ID NO: 1의 제1 펩티드, SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드, 또는 이러한 펩티드를 코딩하는 핵산 서열, ii) SEQ ID NO: 2의 제2 펩티드, SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드, 또는 이러한 펩티드를 코딩하는 핵산 서열, 및 임의로, iii) 통증에 효율적인 적어도 하나의 추가적인 별도 활성 화합물, 및/또는 iv) 키트 사용을 위한 서면 설명서를 포함하고, 제1 및 제2 펩티드, 또는 상기 펩티드를 코딩하는 핵산은 별도 용기에 존재한다.

[0180] 일 양태에서, 키트의 펩티드, 핵산, 발현 카세트, 벡터, 세포, 세트 또는 조성물은 근육내, 정맥내, 복강내, 경구 (입으로), 항문, 피부, 피하, 국소, 진피, 경피 또는 척수강내 경로, 바람직하게 피하 또는 경구 경로, 보다 더 바람직하게 경구 경로를 위해 적합화된 형태이다.

[0181] 다른 양태에서, 통증에 효율적인 적어도 하나의 추가적인 별도 활성 화합물은 근육내, 정맥내, 복강내, 경구 (입으로), 항문, 피부, 피하, 국소, 진피, 경피 또는 척수강내 경로를 위해 적합화된 형태이다.

[0182] 치료하려는 통증의 성질, 기원, 강도에 의존하여, 또한 펩티드, 핵산, 벡터, 발현 카세트, 벡터, 세포, 세트 또는 조성물의 내용물의 성질 및 통증에 효율적인 적어도 하나의 추가적인 별도 활성 화합물의 성질에 의존하여, 상기 생산물은 동시에/동시발생적으로 또는 순차적으로 공동-투여되거나 또는 그렇지 않을 수 있다.

[0183] 본 발명은 또한 상기 본 명세서에 기술된 바와 같은, 통증, 예를 들어 만성 통증, 신경병증성 통증, 수술후 통증, 염증성 통증, 통각과민증 또는 이질통증의 예방 또는 치료를 위한 본 발명의 키트의 생체 내, 생체 외, 또는 시험관 내 용도에 관한 것이다. 본 발명의 키트는 또한 급성 또는 아급성 통증의 예방 또는 치료에서 사용될 수도 있다.

[0184] 본 명세서는 또한 이를 필요로 하는 대상체에서 상기 본 명세서에 기술된 바와 같은 통증, 예를 들어 만성 통증, 신경병증성 통증, 수술후 통증, 염증성 통증, 통각과민증 또는 이질통증의 예방 또는 치료를 위한 약학 조성물, 약물 또는 의약의 제조를 위한 본 발명의 키트의 용도를 개시한다. 본 발명의 키트는 또한 이를 필요로 하는 대상체에서 급성 또는 아급성 통증의 예방 또는 치료를 위한 약학 조성물, 약물 또는 의약의 제조를 위해 사용될 수도 있다.

[0185] 연구 도구

[0186] 특정 양태에서, 본 발명의 생산물은 연구 상황에서 또한 사용될 수도 있다.

[0187] 본 발명은 또한 연구 도구로서, 본 명세서에 기술된 바와 같은 펩티드(들) 또는 이의 변이체(들), 특히 펩티드의 세트, 또는 상기 본 명세서에 기술된 바와 같은 임의의 다른 생산물의 용도를 포함한다.

[0188] 본 명세서에 기술된 바와 같은 펩티드(들) 또는 이의 변이체(들)를 코딩하는 핵산, 그들 발현을 허용하는 발현 카세트 또는 벡터, 또는 이러한 핵산(들)을 포함하거나 또는 이러한 발현 카세트들 또는 벡터(들)를 사용해 변형된 세포는 전형적으로 관심 펩티드, 특히 SEQ ID NO: 1의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 이의 기능성 변이체 및/또는 SEQ ID NO: 2의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 이의 기능성 변이체를 발현하거나 또는 시험관 내 또는 생체 외에서 조절하는데 사용된다.

[0189] 이들 도구는 예를 들어 기계적으로 및/또는 화학적으로 유도된 통증 통각수용성 신호를 연구하기 위해 생물학적 조직 또는 세포 배양에서 뉴런 흥분성을 조절하거나 또는 통증을 연구하는데 사용될 수도 있다.

[0190] 본 발명은 또한 생물학적 조직 또는 세포의 배양에서, SEQ ID NO: 1의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드를 발현시키거나 또는 이의 발현(의 수준)을 조절하기 위한, SEQ ID NO: 1의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드를 코딩하는 핵산(들), 또는 그들 발현을 허용하는 발현 카세트(들) 또는 벡터(들)의 용도에 관한 것이다.

[0191] 본 명세서에 기술된 핵산 분자는 또한 유전자이식 동물을 생성시키는데 사용될 수도 있다. 이것은 유전적 변형을 포함하도록 생식 세포에 대한 배선 요법을 통해서 또는 체세포의 변형을 통해 국소적으로 수행될 수 있다. 그러므로, 본 발명은 또한 SEQ ID NO: 3 및/또는 SEQ ID NO: 4 또는 이의 변이체의 핵산(들); SEQ ID NO: 3 및/또는 SEQ ID NO:4의 핵산 또는 이의 변이체를 포함하는 발현 카세트 또는 벡터를 포함 (즉, 함유)하거나; 또는 SEQ ID NO: 1의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드 및/또는 SEQ ID NO: 2의 펩티드 또는 SEQ ID NO: 2와 적어도 90% 동일성을 갖는 펩티드를 발현하는 유전자이식 유기체 (예를 들어, 동물)에 관한 것이다. 그러므로, 본 발명은 또한, 본 명세서에 기술된 바와 같은 (적어도 2개) 펩티드의 임의 세트를 코딩하는 핵산 서열(들), 또는 이의 발현을 허용하는 발현 카세트(들) 또는 벡터(들)를 함유하는, 숙주 세포 또는 유전자이식 유기체, 특히 유전자이식 동물에 관한 것이다.

[0192] 하기 실시예는 본 발명의 일정한 바람직한 양태를 입증하고 추가로 예시하기 위해서 제공되고, 이의 범주를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0193] **실시예**

[0194] **재료 및 방법**

[0195] **펩티드 합성**

[0196] 모든 펩티드는 Symphony X 장비 (Protein Technologies, Inc., USA)에서 Fmoc-SPPS를 사용해 200 μmole 규모로 합성되었다. 합성-등급 Fmoc-AA 시약은 Iris Biotech에서 구매하였다. 특이적 L-슈도프롤린 디펩티드를 사용하여 펩티드 합성을 촉진하였다. HATU, 2-클로로트리틸 클로라이드 수지 (200-400 메쉬, 1.2 mmol/g), RINK 아미드 수지 (200-400 메쉬, 0.42 mmol/g)는 IRIS Biotech에서 구매하였다. DMF, DCM, 메탄올, 디에틸 에테르, 및 HPLC-등급 아세토니트릴은 Aldrich에서 구매하였다. 각 잔기에 대한 표준 탈보호-커플링 사이클은 다음의 6 단계로 이루어졌다:

[0197] 1. 5 mL의 DMF로 세척한다 (3 x 30초).

[0198] 2. 5 mL의 DMF 중 20% 피페리딘으로 Fmoc 기를 탈보호시킨다 (3 x 3분).

[0199] 3. 5 mL의 DMF로 세척한다 (3 x 30초).

[0200] 4. Fmoc-AA를 커플링시킨다 (2 x 60분).

[0201] a. 5 mL의 Fmoc-AA를 DMF 중에 200 mM로 용해시킨다.

[0202] b. 2 mL의 HATU를 NMP 중에 500 mM로 용해시킨다.

[0203] c. 2 mL의 $i\mathrm{Pr}_2\mathrm{NEt}$을 NMP 중에 1 M로 용해시킨다.

[0204] 5. 5 mL의 DMF 중 10% $\mathrm{Ac}_2\mathrm{O}$로 캡핑시킨다 (7분).

[0205] 6. 5 mL의 DMF로 세척한다 (3 x 30초).

[0206] 합성 완료 시, 펩티드 수지를 DMF로 3회 및 DCM으로 3회 세척하였다. 다음으로 펩티드 수지를 3가지 TFA 절단 칵테일 중 1개 (100 μmole 규모 합성 당)로 절단시켰다:

[0207] o 35 mL TFA, 1000 μℓ TIS, 2000 μℓ 물, 1000 mg DTT

[0208] 3시간의 TFA 절단 후에, 절단 용액을 수지로부터 여과하였고, 펩티드는 40 mL의 빙냉 에테르를 첨가하여 침전시켰다. -20℃에서 >1시간 후에, 에테르 용액은 3500 RCF에서 원심분리하였고, 상청액을 옮겨 담았다. 펠렛을 2회 더 에테르로 세척한 다음에, 용해, 분석적 특징규명, 및 정제 전에 진공 건조기에서 >3시간 동안 건조

하였다.

[0209] **펩티드 수지 히드라지드의 제조를 위한 일반 방법**

[0210] 0.35 mmol Fmoc-NH-NH_2를 30 mL DCM에 용해시킨 다음에, 1.5 mmol DIPEA를 용액에 첨가하였다. 이러한 용액을 다음으로 1 g의 수지에 첨가하였고 2시간 동안 실온에서 혼합하였다. 미반응된 기는 17:2:1의 DCM:MeOH:DIPEA로 30분 동안 캡핑하였다. Fmoc-AA-수지를 이어서 DMF로 3회, DCM으로 3회 세척하였고, >20분 동안 진공 건조하였다. Fmoc 기 탈보호의 적정을 통해서 로딩을 결정하였다 (UV, 301 nm).

[0211] **분석 및 정제**

[0212] 펩티드는 UPLC 및 ESI-MS 질량 분광법으로 분석되었다. 장비는 BEH C18 (WATERS), 150*2.1mm (150 X 2.1 mm) (유속: 0.6 mL/분)이 장착되었다. 용매 A 및 B는 수 중 0.1% TFA 및 아세토니트릴 중 0.1% TFA였다.

[0213] 미정제 펩티드의 정제는 역상 컬럼 (Vydac Denali prep C-18, 10 μm, 120Å, 50 X 300 mm) 및 완충액 A 중 완충액 B의 증가 농도의 적절한 구배 (80 mL/분의 유속)를 사용하여 분취용 역상 HPLC (Waters Delta Prep 4000) 시스템에서 수행되었다. 정제된 표적 펩티드를 함유하는 분획은 214 nm에서 UV 측정 (Waters 2489 UV/가시광 검출기)으로 확인되었고, 이어서 선택된 분획을 배합하고 동결건조하였다.

[0214] Ac-CFPGQVAGTTRAQPSCVEASIVIQKWW-$NHNH_2$ (펩티드 F1 - SEQ ID NO: 1)의 합성:

[0215] 펩티드 F1 (Ac-CFPGQVAGTTRAQPSCVEASIVIQKWW-$NHNH_2$)은 히드라지드 수지를 사용해 상기 기술된 바와 같이 표준 Fmoc-SPPS에 의해 제조되었고, 표준 펩티드 절단 조건 (상기 기술됨)이 다음과 같이 적용되었다.

[0216] 표준 절단 절차 이후에, F1 미정제 펩티드를 물에 용해시켰고, RP-HPLC에서 정제하였다. 정제된 표적 펩티드를 함유하는 분획을 확인하였고, 선택된 분획을 이어서 배합하고 동결건조하였다.

[0217] CHMNPCLEGEDCKVLPDYSGWSCSSGNKVKTTKVTR-NH_2 (펩티드 F2 - SEQ ID NO: 2)의 합성:

[0218] 펩티드 F2 (CHMNPCLEGEDCKVLPDYSGWSCSSGNKVKTTKVTR-NH_2)는 RINK 아미드 수지를 사용해 상기 기술된 바와 같이 표준 Fmoc-SPPS를 통해 제조되었다.

[0219] 표준 절단 절차 이후에, F2 미정제 펩티드를 물에 용해시켰고 RP-HPLC에서 정제하였다. 정제된 표적 펩티드를 함유하는 분획을 확인하였고, 선택된 분획을 이어서 배합하고 동결건조하였다.

[0220] **마우스**

[0221] C57/B16J 마우스 (8주령 내지 12주령)는 Charles River Laboratories에서 구매하였다. 양쪽 성별의 마우스가 모든 실험에서 사용되었다. 숫컷과 암컷 간에 차이가 나타나지 않았으므로, 2개 성별에 대한 데이터를 이후 조합하였다. 마우스는 표준 사육 조건 (22℃, 40% 습도, 12시간 명주기, 및 사료 및 식수에 대한 자유로운 접근) 하에서 유지되었다. 이 연구에서 사용되는 마우스의 마릿수, 및 그들이 겪는 스트레스와 고통을 최소화하기 위해 특히 노력하였다. 모든 실험은 실험실 동물의 관리 및 사용에 관한 유럽 지침 (협의회 지침 86/609/EEC)에 따라서 수행되었다. 모든 실험 절차는 동물 실험에 대한 프랑스 법률의 관련 기관 규정에 따르고, 프랑스 법률의 요구에 따라 동물 실험에 관한 독립 윤리 위원회 (independent ethics committee for animal experimentation)(APAFIS)의 승인을 받았다. 모든 실험은 ARRIVE 지침에 따라서 수행되었다.

[0222] **통증 모델 1: 예비 신경 손상 (SNI) 모델 - 신경병증성 통증.**

[0223] [Decosterd and Woolf, 2000; Pain, Vol. 87, p 149-158]에 따라 개발된, 예비 신경 손상 (SNI) 모델이 사용되었다. 이것은 신경병증성 통증 모델로서 사용되었다. SNI 모델은 경골 가지 및 좌골 신경의 총비골 신경의 절개로 이루어지고, 비복 신경은 온전한 채로 남아있는다. 후자는 이후에 상당한 기계적 이질통증을 동반한 신경병증성 통증의 징후가 발생된다. SNI 모델은 많은 장점을 갖는다:

[0224] - 신경병증성 통증이 지속된다. 이것은 펩티드의 반복 주사 시에 습관화 현상을 파악하도록 허용한다.

[0225] - 발생된 통증이 강력하다.

[0226] - 모델이 매우 재현가능하다.

[0227] 마우스는 케타민 (100 mg/kg IP) 및 자일라진 (10 mg/kg IP)으로 마취되었고, 좌측 좌골 신경을 무균 조건 하에

서 노출시켰다. 좌골 신경의 원위 삼분지를 확인하였고, 경골 및 총비골 가지는 폴리프로필렌 비흡수성 6-0 봉합사 (Ethicon)로 결찰시켰고; 1 ㎜를 절단하여서, 비복 가지를 온전한 채로 남겨두었다. 상처는 봉합사로 봉합하였고, 동물이 회복되도록 하고 그들 케이지로 돌려보냈다.

[0228] **통증 모델 2: 발 절개 - 수술후 통증.**

[0229] 발 절개 수술은 Brennan 및 동료 (1999) (Brennan, 1999)가 기술한 대로 수행하였다. 마우스는 케타민 (100 mg/kg IP) 및 자일라진 (10 mg/kg IP)으로 마취시켰고, 오른쪽 뒷발의 피부 및 근막을 통한 세로 방향 절개를 수행하였다. 겸자를 사용하여 단지굴근을 세로로 들어올리고 메스를 사용하여 근육을 절개하여서, 2개 반쪽으로 잘랐다. 상처는 봉합사로 봉합하였고, 동물이 회복되도록 하고 그들 케이지로 돌려보냈다. 발 절개는 수술후 통증 모델로서 사용되었다.

[0230] **통증 모델 3: 카라기난 주사 - 염증성 통증.**

[0231] 발명자는 1 x PBS 중 20 ㎕의 1% λ-카라기난 (Sigma-Aldrich, 22049-5G-F)을 해밀톤 주사기를 사용하여 마우스의 왼쪽 뒷발의 발바닥 표면에 주사하였다. 카라기난 주사가 염증성 통증 모델로서 사용되었다.

[0232] **통증 모델 4: 만성 수축성 손상 (CCI) 모델- 신경병증성**

[0233] CCI 신경병증성 통증 모델: 만성 수축성 손상 (CCI)은 Bennett 및 Xie 1988 (A peripheral mononeuropathy in rats that produces disorders of pain sensation like those in man. Pain vol 33: pp87-107)가 이전에 기술한 대로 수행되었다. 간략하게, 총좌골 신경 주변에 느슨하게 (약 1 mm 간격으로) 묶여진 2개 결찰대 (6-0 모노크릴, Ethicon)에 의해서, 케타민/자일라신 (각각 100 mg/kg 및 10 mg/kg ip)으로 마취된 마우스에서 일측 말초 단일신경병증을 유도하였다. 신경은 거의 식별가능하지 않은 정도로 수축되어서, 경피신경 혈관계를 통한 순환은 방해받지 않았다.

[0234] **통증 모델 5: 캡사이신 염증성 통증.**

[0235] 캡사이신 (Sigma) 원액 용액 (무수 에탄올에 용해됨, 16.7 mg/mL)을 NaCl 0.9%에 0.25 mg/mL로 희석한 다음에, 10 ㎕를 해밀톤 주사기 및 25G 바늘을 사용하여 마우스의 좌측 뒷발의 발바닥 표면에 주사하였다.

[0236] **통증 모델 6: 골관절염 통증 모델 (모노-요오드아세테이트 모델).**

[0237] MIA 모델은 설치류의 골관절염에서 관절 파괴에 대한 표준 모델이다. 간략하게 마우스는 케타민 (100 mg/kg IP) 및 자일라진 (10 mg/kg IP)으로 마취된 다음에, [Pitcher et al. (2016)]에 기술된 바와 같이 해밀톤 주사기 및 26G 바늘을 사용하여 마우스의 좌측 뒷발 무릎의 활액에 NaCl 0.9% 중 1 mg/10 ㎕의 MIA (모노-요오드아세테이트, Sigma)를 주사하였다.

[0238] **통증 모델 7: 자외선-화상 통증 모델**

[0239] 마우스를 케타민 (100 mg/kg IP) 및 자일라진 (10 mg/kg IP)으로 마취시켰고, 한쪽 뒷발의 발바닥 면을 제외하고 완전하게 덮어주었다. 발은 60분 동안 20 cm의 거리에서 312 nm의 파장으로 UV 램프 (VL-215.MC Vilmer)를 사용해 조사되었다. 깨어나면, 동물들은 그들 케이지로 돌려보낸다.

[0240] **통증 모델 8: 냉동 화상 통증 모델**

[0241] 마우스는 케타민 (100 mg/kg IP) 및 자일라진 (10 mg/kg IP)으로 마취되었다. 뒷발을 40초 동안 NaCl 함침된 여과지 조각을 통해 접촉되고 드라이 아이스에 놓여진 구리 튜브를 통해 저온에 노출시켰다. 깨어나면 동물들은 그들 케이지로 돌려보낸다.

[0242] **폰 프레이 시험**

[0243] 폰 프레이 (Von Frey)는 기계적 자극에 대한 설치류의 민감도를 검사하기 위해서 대략 50 ㎜ 길이의, 나일론 막대의 작은 조각인 폰 프레이 (VF) 털 또는 섬유를 사용한다. 이러한 시험에서, 동물은 높은 메쉬 플랫폼 위에 서있고, 폰 프레이 털을 메쉬를 통해 삽입하여서 동물의 뒷발을 찔러준다. 동물의 정상 반응은 발을 움추리거나 또는 핥거나 또는 흔드는 것을 포함한다. "업-다운" 폰 프레이 방법은 동물의 50%에서 발 움츠림을 유발하는데 필요한 기계적 힘을 결정하는데 사용된다. 여기서, 마우스는 와이어 메쉬 그리드 상의 플라스틱 챔버에 배치시켰고, 1 g 필라멘트로 시작하고, 컷오프로서 0.04 g 및 4 g 필라멘트를 사용하는, "업-다운" 방법 (45)을 통해서 폰 프레이 필라멘트 (Vivotech)로 자극하였다.

[0244] **통계 분석**

[0245] 결과는 평균 ± SEM으로 표시된다. 통계적 분석은 Prism 7 (Graphpad Software, La Jolla, CA, USA)로 수행하였다.

[0246] **결과**

[0247] **실시예 1: 통증 모델 1: 예비 신경 손상 (SNI) 모델 - 신경병증성 통증.**

[0248] 1.1 피하 투여 상황에서 TAFA-4 전체 길이 단백질 ("TAFA-4 FL") 및 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 2개 펩티드의 세트 ("펩티드 1+2")의 진통 효과 비교

[0249] 이들 실험의 목적은 신경병증성 통증의 예비 신경 손상 (SNI) 모델에서 피하 주사를 통해서 본 발명에 따른 2개 펩티드의 세트 (이 세트는 본 명세서에서 "펩티드 1+2"로서 식별됨 또는 "펩티드 F1+F2")의 진통 효과를 평가하고, 이러한 효과를 TAFA-4 전체 길이 단백질 ("TAFA-4 FL")에 의해 수득된 것과 비교하는 것이다.

[0250] 실험은 8주령 숫컷 WT C57B16 마우스에서 수행되었다. 6마리 내지 12마리의 4개 그룹이 사용되었다. SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드를 0.9% NaCl에 [0.6 mg/mL]로 재현탁하였다. 2개 펩티드는 이 연구에서 "펩티드 1+2"의 최종 총 농도를 0.3 mg/kg로 사용하기 위해 희석하여서 등몰농도 (SEQ ID NO: 1의 펩티드 경우 12.8 μg/mL, 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드 경우 17.2 μg/mL)를 얻었다. 유사하게, TAFA-4 FL을 0.9% NaCl에 재현탁하였고, 희석하여 0.3 mg/kg의 최종 농도로 사용하였다.

[0251] 0.9% NaCl 용액이 음성 대조군 (비히클)으로서 사용되고, 신경병증성 통증을 치료하는데 사용되는 잘 알려진 약물인, 프레가발린 3 mg/kg이 양성 대조군으로서 사용된다.

[0252] 업/다운 방법 [상이한 조건 하에서 시간의 함수로서 마우스의 50%에서 발 움츠림 반응을 유발하는데 필요한 기계적 힘 (그램으로서 이의 무게 당량으로 표시)을 보여줌]을 통해 폰 프레이 (VF) 필라멘트를 사용한 마우스의 기준 역치 ("기준점")을 측정한 후에, SNI 모델을 설정한다. 마우스를 마취시키고, 경골 신경 및 비골 신경의 봉합을 수행하고, 이어서 이들 2개 신경을 절단한다. 온전하게 남겨둔 비복 신경은 신경병증을 매우 빠르게 발생시킨다. 신경병증의 발생은 수술후 3일 후에 확인한다. 그리하여 동측 발의 폰 프레이 필라멘트에 대한 반응 역치의 감소가 관찰된다.

[0253] 수술 14일 후에, 반응 역치를 다시 측정한다 (도 1의 "D14" 참조). 2개 펩티드의 세트, TAFA-4 전체 길이 단백질, 비히클 또는 프레가발린을 포함하는 각각의 용액의 100 μℓ/10 g을 실험자가 마우스에게 피하로 맹검 주사한다.

[0254] 반응 역치는 투여/주사 후 1시간, 2시간, 및 다음으로 4시간 후에 측정된다.

[0255] SNI 후 14일에, 모든 마우스는 기준점 역치와 비교하여 강력한 기계적 과민증을 의미하는, 기계적 역치의 급격한 감소를 나타냈다 (도 1 참조). 비히클의 피하 투여는 효과가 없었다. 놀랍게도, 투여 후 1시간에, SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 2개 펩티드의 세트/조성물 ("펩티드 1+2")의 진통 효과는 최대치였고, TAFA-4 전체 길이 단백질 ("TAFA4 FL")에 비해서 유의하게 더 높았으며 (p 값 <0.01), 프레가발린에 비해서도 더 높았다. 통계 분석은 음성 대조군 (비히클)과 비교하여 2개 펩티드의 세트/조성물 경우에 1시간 및 2시간에 강력하게 유의한 결과를 보여준다 (p 값 <0.001).

[0256] 1.2 입으로 투여 상황에서 TAFA-4 전체 길이 단백질 ("TAFA-4 FL") 및 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 2개 펩티드 세트 ("펩티드 1+2")의 진통 효과의 비교.

[0257] 2개 펩티드의 세트, TAFA-4 FL, 비히클 및 프레가발린의 투여를 입으로 투여를 사용해 수술 후 14일에 수행한 것을 제외하고 1.1에 기술된 프로토콜을 사용하였다.

[0258] 입으로 투여 경우에, SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 2개 펩티드를 이하 본 명세서에서 HPMC 용액 또는 "비히클"이라고 하는, 1% w/v 히드록시프로필메틸셀룰로스 (Sigma-aldrich #423238, 배치 MKCD3665), 0.5% v/v Tween 80 (Euromedex #2002-A, 배치 100412/16S407)의 용액 중에 30 μg/mL의 총 농도로 희석하였다. 유사한 프로토콜을 TAFA-4 FL에 적용하였다.

[0259] 비히클, TAFA-4 FL 용액 및 2개 펩티드의 세트를 포함하는 용액을 2개 위관영양 바늘을 사용해 경구로 투여하였다. 프레가발린 (3 mg/kg)은 VF 측정을 수행한 실험자와 상이한 실험자가 경구 위관영양 ("입으로")을 통해 투여하여 후자는 처치를 맹검으로 작업하였다 (각 처치에 대해 n=8). 투여는 수술 후 14일에 수행하였다.

[0260] SNI 후 14일에, 모든 마우스는 기계적 역치에서 급격한 감소를 나타냈다 (도 2). 비히클의 경구 투여는 효과가 없었다. TAFA-4 전체 길이 단백질은 경구로 (즉, 입으로) 투여되었을 때 유의한 진통 효과를 보이지 않았다. 놀랍게도, 본 발명의 2개 펩티드의 세트/조성물의 경구 투여는 투여 후 1시간 만에 기계적 역치에 대해서 통계적으로 유의한 반전 효과를 유도하였는데 (p 값 <0.01), 최대 효과가 투여 후 2시간에 일어났다 (p 값 < 0.001). 본 발명의 2개 펩티드의 세트/조성물의 진통 효과는 투여 후 1시간 및 2시간에 프레가발린의 경우와 유사하였는데 반해서 투여 후 2시간에 TAFA-4 전체 길이 단백질 ("TAFA4 FL")의 것에 비해서 유의하게 더 높았다. 도 2로부터, 입으로 투여되었을 때, 본 발명의 2개 펩티드의 세트/조성물은 TAFA-4 전체 길이 단백질에 비해서 훨씬 더 양호한 진통 효과를 갖는다고 결론내릴 수 있다.

[0261] 1.3 정맥내 투여된 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 2개 펩티드 세트 ("펩티드 1+2")의 진통 효과

[0262] 2개 펩티드의 세트 또는 비히클의 투여가 정맥내 경로를 사용하여 수술 후 14일에 수행된 것을 제외하고, 1.1에 기술된 프로토콜을 사용하였다.

[0263] SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드는 0.9% NaCl에 150 ㎍/mL의 총 농도로 재현탁되었다.

[0264] 이전에 기술된 바와 같이, 업/다운 방법을 사용한 폰 프레이 필라멘트 측정을 기준점을 결정하기 위해 수행하였다. 다음으로, SNI 모델을 제자리에 설정한다. 수술 후 14일 (14일차 - D14)에 반응 역치를 측정하여 신경병증성 통증의 발생을 검토한다. 그 다음에 2개 펩티드의 세트를 300 ㎍/kg의 총 농도로 포함하는 20 ㎕/10 g의 용액의 맹검 주사를 꼬리 정맥에서 서서히 수행하였다. 반응 역치는 정맥내 투여 후 1시간, 2시간, 및 이어서 4시간 후에 측정되었다. 비히클 (n=11)이 또한 정맥내로 투여되었다.

[0265] SNI 후 14일에, 모든 마우스는 기준점 역치와 비교하여, 강력한 기계적 과민증을 의미하는, 기계적 역치의 급격한 감소를 나타낸다 (도 3). 비히클의 정맥내 투여는 효과가 없었다. 놀랍게도, SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 2개 펩티드의 세트 ("펩티드 1+2")의 강력하게 유의한 진통 효과가 관찰되었는데, 기계적 역치에 대한 최고 반전 효과가 2시간에 관찰되었다 (p<0.001).

[0266] 전체적으로, 본 실험은 본 발명의 2개 펩티드의 세트가 SNI 모델 (신경병증성 통증 모델)에서 피하, 입으로, 및 정맥내 투여를 통해서 진통 효과를 유도하였다는 것을 보여준다. 유리하게, 매우 초기 (즉, 투여 후 1시간)에, 본 발명의 2개 펩티드의 세트의 진통 효과는 피하 투여되었을 때 TAFA-4 (전체 길이) 단백질에서 관찰된 것에 비해서 훨씬 더 유의하다. 심지어 더 놀랍게도, 본 발명의 2개 펩티드의 세트는 입으로 투여되었을 때 투여 후 2시간에 TAFA-4 (전체 길이) 단백질에 비해서 더 나은 진통 효과를 보인다.

[0267] 발명자의 결과는 신경병증성 통증 모델에서 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 2개 펩티드의 세트의 진통 효과를 입증하였다. 이러한 모델에 의해 유도된 기계적 이질통증 (통증 민감도의 역치 감소)은 본 발명의 펩티드의 세트의 피하, 정맥내 또는 경구 (입으로) 투여에 의해 감소될 수 있다.

[0268] 유리하게, 본 발명의 2개 펩티드의 세트, 또는 이러한 세트를 포함하는 조성물은 전체 길이 TAFA-4 단백질에 비해서 생산이 훨씬 더 쉬우면서 (결과적으로 더 저렴하면서), 피하 투여되었을 때, 후자와 비교하여더 높은 진통 활성/효과를 유도한다. 심지어 더 놀랍게도, 경구 (입으로) 투여 경우에, 본 발명의 펩티드의 세트는 TAFA-4 (전체 길이) 단백질과 비교해 더 나은 진통 효과를 나타내서 상기 TAFA-4 전체 길이 단백질에 비해서 환자에게 투여하는 것을 더 편리하고 적합하게 만든다. 2개 펩티드의 세트의 정맥내 주사는 유리하게 신경병증성 통증의 치료를 위한 제3 투여 경로를 제공한다.

[0269] **실시예 2: 발 절개 - 수술후 통증 -**

[0270] 이들 실험의 목적은 수술후 통증 모델 (Brennan 발 절개 모델)에서 피하 주사를 통해서 본 발명에 따른 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 2개 펩티드 세트 (이 세트는 본 명세서에서 "펩티드 1+2"로서 식별됨)의 진통 효과를 평가하는 것이었다.

[0271] 실험은 8주령 숫컷 및 암컷 마우스 WT C57B16에서 수행되었다. 12마리 숫컷 및 12마리 암컷이 "펩티드 1+2"-처치 그룹에서 사용된 한편 비히클 그룹은 11마리 숫컷 및 11마리 암컷이 사용되었다. SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드의 등몰 조합을 초순수에 [4 mg/mL]로 재현탁하였다. 2개 펩티드는 이 연구에서 0.3 mg/kg의 "펩티드 1+2"의 최종 총 농도를 얻도록 희석되었다.

[0272] "펩티드 1+2" 또는 비히클은 수술 전날 (D-1), 수술 당일 (D0), 및 수술 후 D+1 및 D+2의 상이한 시점에, 1일 2회 피하 투여되었다. D0의 투여는 각각 수술 (및 각성) 이전 1시간 및 이후 1시간에 수행되었다. D+1

(D+1에 주사 전), D+2 (D+2에 주사 전) 및 D+3에 기계적 역치 반응 측정이 수행되었다 (도 4A).

[0273] 발 절개 후에, 비히클 처치된 마우스는 기계적 이질통증이 발생되었다 (도 4B의 D+1, D+2 및 D+3 참조). 대조적으로, "펩티드 1+2"가 처치된 마우스는 기계적 이질통증이 발생되지 않았다. 비히클로 처치된 마우스와 비교하여, "펩티드 1+2"가 처치된 마우스는 D+1, D+2 및 D+3에 통계적으로 유의하게 더 높은 반응 역치를 나타낸다 (도 4B).

[0274] 이들 결과는 본 발명의 펩티드의 세트가 발 절개 모델 (수술후 통증 모델)에서 진통제로서 사용될 수 있다는 것을 보여준다.

[0275] **실시예 3: 만성 수축성 손상 (CCI) 신경병증성 통증 모델에서 내성 부재.**

[0276] 이 실험의 목적은 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드의 세트 ("펩티드 1+2")가 처치된 대상체가 펩티드의 세트의 반복적인 피하 투여 이후에 이 펩티드의 세트에 대한 내성을 유도할 수 있는지 여부를 평가하는 것이었다.

[0277] CCI 모델은 상기 기술된 프로토콜에 따라서 시행된다. 수술 후 D7에 시작하여서, 마우스는 연속 14일 동안 1일 2회 "펩티드 1+2" (0.3 mg/kg)가 피하 주사되었다. 기계적 민감도는 CCI-유도된 기계적 이질통증을 검증하기 위해서 수술 이전 및 이후 7일에 업/다운 방법으로 폰 프레이 필라멘트를 사용해 시험된다. 시간 과정 반응은 제1 투여 이후에 수행되었다. 그 다음에, 격일로, "펩티드 1+2"의 진통 효과를 시험하였다. 이어서, 마지막 투여 (D20) 후에, 완전한 시간 과정 반응을 수행하였다 (도 5A). 마지막 측정은 D+30 (처치 종료 후 10일)에 수행하여서 마우스의 올바른 회복을 검증하였다.

[0278] "펩티드 1+2"의 첫번째 피하 주사는 반응 (즉, 발 움츠림) 역치에서 강력한 증가를 유도하여서 "펩티드 1+2"의 진통 효과가 입증된다 (도 5B - "약물전" 조건 대 제1 투여 시 투여 후 2시간에 측정된 반응 간 비교). 흥미롭게도, "펩티드 1+2"의 진통 효과는 D20에 상응하는 마지막 주사 시에도, 임의의 효능 감소없이 전체 처치 기간 (14일) 동안 일정하게 남아있는다 (도 5B, 마지막 주사 시에 측정된 반응과 비교된 제1 주사로서 측정된 반응간 비유의한 차이). 이들 결과는 본 발명의 펩티드의 세트가 대상체에서 내성을 유도하지 않고 장기간 동안 반복적으로 사용될 수 있다는 것을 보여준다.

[0279] **실시예 4: 수술후 통증 모델의 상이한 치료 약용량학의 비교 - 예방적 효과**

[0280] 이 실험의 목적은 수술후 통증 모델에서 생체 내에서 피하 투여되었을 때 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드의 세트 ("펩티드 1+2")로 수술후 통증을 앓는 대상체를 치료하기 위한 상이한 약용량학을 시험하는 것이었다.

[0281] "펩티드 1+2" 또는 비히클은 3개의 상이한 프로토콜에 따라서 1일 2회 피하 투여되었다. "D-1/D0" 프로토콜: 투여는 수술 전날 (D-1), 및 수술 당일 (D0)에 수행되었다; "D0" 프로토콜: 투여는 수술 당일 (D0)에 수행되었다; "D0/D+1/D+2" 프로토콜: 투여는 수술 전날 (D-1), 수술 당일 (D0), 및 수술 후 D+1 및 D+2 일에 수행되었다. D0의 투여는 각각 수술 (및 각성) 이전 1시간 및 이후 1시간에 수행되었다. D+1 및 D+2에 기계적 역치 반응 측정은 2개 펩티드의 세트 또는 비히클의 투여 전에 수행되었다 (도 6A).

[0282] 발 절개 이후에, 비히클이 처치된 마우스는 기계적 이질통증이 발생되었다 (도 6B의 D+1, D+2 및 D+3 참조). 대조적으로, "펩티드 1+2"가 처치된 마우스는 사용된 프로토콜과 무관하게 기계적 이질통증이 발생되지 않았다. 흥미롭게도, 수술 후에 처치되지 않은, "D-1/D0" 및 "D0" 프로토콜로 처치된 마우스는 기계적 이질통증이 발생되지 않아서, 본 발명의 펩티드의 세트가 발 절개 모델 (수술후 통증 모델)에서 예방적으로 사용될 수 있다는 것을 보여준다.

[0283] **실시예 5: 염증성 통증 모델에서 진통 효과**

[0284] 이 실험의 목적은 염증성 통증 모델 (캡사이신 염증성 통증 모델)에서 생체 내에서 피하 투여된 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드의 세트 ("펩티드 1+2")의 진통 효과를 평가하는 것이었다.

[0285] 실험은 8주령 숫컷 WT C57Bl6에서 수행되었다. 8마리 마우스의 2개 그룹이 사용되었다. "펩티드 1+2"는 그램 당 10 ㎕ 주사를 위해서, 30 ㎍/mL의 농도로 HMPC 용액에 재현탁된다.

[0286] 캡사이신 (Sigma) 원액 용액 (무수 에탄올에 용해됨, 16.7 mg/mL)을 NaCl 0.9% 중에 0.25 mg/mL로 희석한 다음에, 10 ㎕를 해밀톤 시린지 및 26G 바늘을 사용해 마우스의 좌측 뒷발의 발바닥 표면에 주사하였다. 이전에 기술한 바와 같이, 기준점을 결정하기 위해 업/다운 방법을 통한 폰 프레이 필라멘트를 사용한 측정을 수행하였

다. 캡사이신 (D+1)의 주사 후 24시간에, 마우스의 2개 그룹을 각각 "펩티드 1+2" 또는 비히클로 처치하였다. 반응 역치는 0,3 mg/kg의 "펩티드 1+2" 용액 (n=8), 또는 비히클 용액 (n=8)의 피하 투여에 이어서 1시간 (+1h), 2시간 (+2h) 및 이어서 4시간 (+4h)에 측정되었다.

[0287] 캡사이신의 주사 후 24시간에, 마우스는 기계적 이질통증이 발생되었지만 (D+1 - 도 7 참조), 본 발명의 펩티드의 세트의 피하 투여는 투여 후 2시간에 반응 역치의 통계적으로 유의한 증가를 유도하였다.

[0288] 이들 결과는 본 발명의 펩티드의 세트가 캡사이신 모델 (염증성 통증 모델)에서 피하 투여를 통해서 진통 효과를 야기하였다는 것을 보여준다.

[0289] **실시예 6: 골관절염 통증 모델에서 진통 효과**

[0290] 이 실험의 목적은 골관절염 통증 모델 (모노-요오드아세테이트모델)에서 생체 내에서 피하 투여된 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드의 세트 ("펩티드 1+2")의 진통 효과를 평가하는 것이었다.

[0291] 8마리 마우스의 2개 그룹이 사용되었다. 기계적 민감도는 각 그룹에서 모노-요오드아세테이트 (MIA) 주사 이전 (기준점) 및 이후 14일에, 업/다운 방법으로 폰 프레이 필라멘트를 사용해 시험되었다. MIA의 주사 후 14일에, 마우스의 2개 그룹은 각각 "펩티드 1+2" 또는 비히클 (NaCl 용액)로 처치되었다. 시간 과정 반응은 "펩티드 1+2"의 진통 효과를 추적하기 위해 수행되었다. 반응 역치는 "펩티드 1+2" 또는 비히클의 투여 후에 1시간 (+1h), 2시간 (+2h) 및 이어서 4시간 (+4h)에 측정되었다.

[0292] MIA 주사 후 14일에, 모든 마우스는 기준점 역치와 비교하여 강력한 기계적 과민증을 의미하는, 기계적 역치의 급격한 감소를 나타냈다 (도 8). 비히클의 피하 투여는 진통 효과를 갖지 않았다. 대조적으로, 투여 후 1시간 및 2시간에, "펩티드 1+2"의 진통 효과는 음성 대조군 (비히클)과 비교하여 통계적으로 유의하였다 (도 8).

[0293] 이들 결과는 본 발명의 펩티드의 세트가 관절염 통증 모델에서 피하 투여를 통해 진통 효과를 야기하였다는 것을 보여준다.

[0294] **실시예 7: 냉동 화상 통증 모델에서 진통 효과.**

[0295] 이 실험의 목적은 냉동 화상 통증 모델에서 생체 내에서 피하 투여된 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드의 세트 ("펩티드 1+2")의 진통 효과를 평가하는 것이었다.

[0296] 16마리 마우스의 2개 그룹이 사용되었다. 각 그룹은 8마리 숫컷 및 8마리 암컷을 갖는다. 기계적 민감도는 저온 노출 전 (기준점) 및 이후 24시간 (D+1)에 업/다운 방법으로 폰 프레이 필라멘트를 사용해 시험되었다. 저온 노출 이후 24시간에 "펩티드 1+2" 또는 비히클 (NaCl 용액)의 투여 후, 시간 과정 반응은 투여 후 1시간 (D1+1), 2시간 (D1+2h) 및 4시간 (D1+4h)에 "펩티드 1+2"의 진통 효과를 추적하기 위해 수행되었다.

[0297] 저온 노출 후 24시간에, 모든 마우스는 기준점 역치와 비교하여 강력한 기계적 과민증을 의미하는, 기계적 역치의 급격한 감소를 나타냈다 (도 9). 비히클의 피하 투여는 진통 효과를 갖지 않았다. 대조적으로, 투여 후 1시간 및 2시간에, "펩티드 1+2"의 진통 효과는 음성 대조군 (비히클)과 비교하여 통계적으로 유의하였다 (비히클) (도 9).

[0298] 이들 결과는 본 발명의 펩티드의 세트가 냉동 화상 (또는 얼음 화상) 통증 모델에서 피하 투여를 통해 진통 효과를 야기하였다는 것을 보여준다. 이러한 모델은 또한 급성 통증 모델의 한 유형으로 간주된다.

[0299] **실시예 8: 자외선 화상 통증 모델에서 진통 효과**

[0300] 이 실험의 목적은 자외선-화상 통증 모델 (일광 화상 통증 모델이라고도 함)에서 생체 내에서 피하 투여된 SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2의 펩티드의 세트 ("펩티드 1+2")의 진통 효과를 평가하는 것이었다.

[0301] 16마리 마우스의 2개 그룹이 사용되었다. 각 그룹은 8마리 숫컷 및 8마리 암컷을 갖는다. 기계적 민감도는 자외선 조사 이전 (기준점) 및 이후 24시간 (D+1)에 업/다운 방법으로 폰 프레이 필라멘트를 사용하여 시험되었다. "펩티드 1+2" 또는 비히클 (NaCl 용액)의 투여 후, 시간 과정 반응은 투여 후 1시간 (D1+1h), 2시간 (D1+2h) 및 4시간 (D1+4h)에 "펩티드 1+2"의 진통 효과를 추적하기 위해 수행되었다.

[0302] 자외선 조사 이후 24시간에, 모든 마우스는 기준점 역치와 비교하여 강력한 기계적 과민증을 의미하는, 기계적 역치의 급격한 감소를 나타냈다 (도 10). 비히클의 피하 투여는 진통 효과를 갖지 않았다. 대조적으로, 투여 후 1시간 및 2시간에, 세트 "펩티드 1+2"의 진통 효과는 음성 대조군 (비히클)과 비교하여 통계적으로 유

의하였다 (도 10).

[0303] 이들 결과는 본 발명의 펩티드의 세트가 UV 화상 (또는 일광 화상) 통증 모델에서 피하 투여를 통해 진통 효과를 야기하였다는 것을 보여준다. 이러한 모델은 또한 급성 통증 모델의 한 유형으로서 간주된다.

[0304] **참조 문헌**

Benyamin, R., Trescot, A.M., Datta, S., Buenaventura, R., Adlaka, R., Sehgal, N., Glaser, S.E., and Vallejo, R. (2008). Opioid complications and side effects. Pain Physician 11, S105-120.

Bourane, S., Duan, B., Koch, S.C., Dalet, A., Britz, O., Garcia-Campmany, L., Kim, E., Cheng, L., Ghosh, A., Ma, Q., et al. (2015a). Gate control of mechanical itch by a subpopulation of spinal cord interneurons. Science 350, 550-554.

Bourane, S., Grossmann, K.S., Britz, O., Dalet, A., Del Barrio, M.G., Stam, F.J., Garcia-Campmany, L., Koch, S., and Goulding, M. (2015b). Identification of a spinal circuit for light touch and fine motor control. Cell 160, 503-515.

Boyle, K.A., Gradwell, M.A., Yasaka, T., Dickie, A.C., Polgar, E., Ganley, R.P., Orr, D.P.H., Watanabe, M., Abraira, V.E., Kuehn, E.D., et al. (2019). Defining a Spinal Microcircuit that Gates Myelinated Afferent Input: Implications for Tactile Allodynia. Cell reports 28, 526-540 e526.

Colloca, L., Ludman, T., Bouhassira, D., Baron, R., Dickenson, A.H., Yarnitsky, D., Freeman, R., Truini, A., Attal, N., Finnerup, N.B., et al. (2017). Neuropathic pain. Nat Rev Dis Primers 3, 17002.

Costigan, M., Scholz, J., and Woolf, C.J. (2009). Neuropathic pain: a maladaptive response of the nervous system to damage. Annu Rev Neurosci 32, 1-32.

Coull, J.A., Beggs, S., Boudreau, D., Boivin, D., Tsuda, M., Inoue, K., Gravel, C., Salter, M.W., and De Koninck, Y. (2005). BDNF from microglia causes the shift in neuronal anion gradient underlying neuropathic pain. Nature 438, 1017-1021.

Delfini, M.C., Mantilleri, A., Gaillard, S., Hao, J., Reynders, A., Malapert, P., Alonso, S., Francois, A., Barrere, C., Seal, R., et al. (2013). TAFA4, a chemokine-like protein, modulates injury-induced mechanical and chemical pain hypersensitivity in mice. Cell reports 5, 378-388.

Duan, B., Cheng, L., Bourane, S., Britz, O., Padilla, C., Garcia-Campmany, L., Krashes, M., Knowlton, W., Velasquez, T., Ren, X., et al. (2014). Identification of spinal circuits transmitting and gating mechanical pain. Cell 159, 1417-1432.

Goh, EL., Chidambaram, S., Ma, D. (2017). Complex regional pain syndrome: a recent update. Burns & Trauma 5:2.

Leroux, Maria Bibiana (2018). Erythromelalgia: a cutaneous manifestation of neuropathy ? An Bras Dermatol. 93(1):86-94.

[0305] Ngo, AL., Urits, I., Yilmaz, M., Fortier, L., Anya, A., Oh, JH., Berger, AA., Kassem, H., Sanchez, MG., Kaye, AD, et al. (2020). Postherpetic Neuralgia: Current Evidence on the Topical Film-

Forming Spray with Bupivacaine Hydrochloride and a Review of Available Treatment Strategies. Adv Ther. 37(5): 2003–2016.

Peirs, C., Williams, S.P., Zhao, X., Walsh, C.E., Gedeon, J.Y., Cagle, N.E., Goldring, A.C., Hioki, H., Liu, Z., Marell, P.S., et al. (2015). Dorsal Horn Circuits for Persistent Mechanical Pain. Neuron 87, 797-812.

Petitjean, H., F, B.B., Tsao, D., Davidova, A., Sotocinal, S.G., Mogil, J.S., Kania, A., and Sharif-Naeini, R. (2019). Recruitment of Spinoparabrachial Neurons by Dorsal Horn Calretinin Neurons. Cell reports 28, 1429-1438 e1424.

Petitjean, H., Pawlowski, S.A., Fraine, S.L., Sharif, B., Hamad, D., Fatima, T., Berg, J., Brown, C.M., Jan, L.Y., Ribeiro-da-Silva, A., et al. (2015). Dorsal Horn Parvalbumin Neurons Are Gate-Keepers of Touch-Evoked Pain after Nerve Injury. Cell reports 13, 1246-1257.

Sarver, D.C., Lei, X., and Wong, G.W. (2021). FAM19A (TAFA): An Emerging Family of Neurokines with Diverse Functions in the Central and Peripheral Nervous System. ACS Chem Neurosci 12, 945-958.

Siracusa, R., Di Paola, R., Cuzzocrea, S., Impellizzeri, D. (2021). Fibromyalgia: Pathogenesis, Mechanisms, Diagnosis and Treatment Options Update. Int J Mol Sci. 22(8): 3891.

Tom Tang, Y., Emtage, P., Funk, W.D., Hu, T., Arterburn, M., Park, E.E., and Rupp, F. (2004). TAFA: a novel secreted family with conserved cysteine residues and restricted expression in the brain. Genomics 83, 727-734.

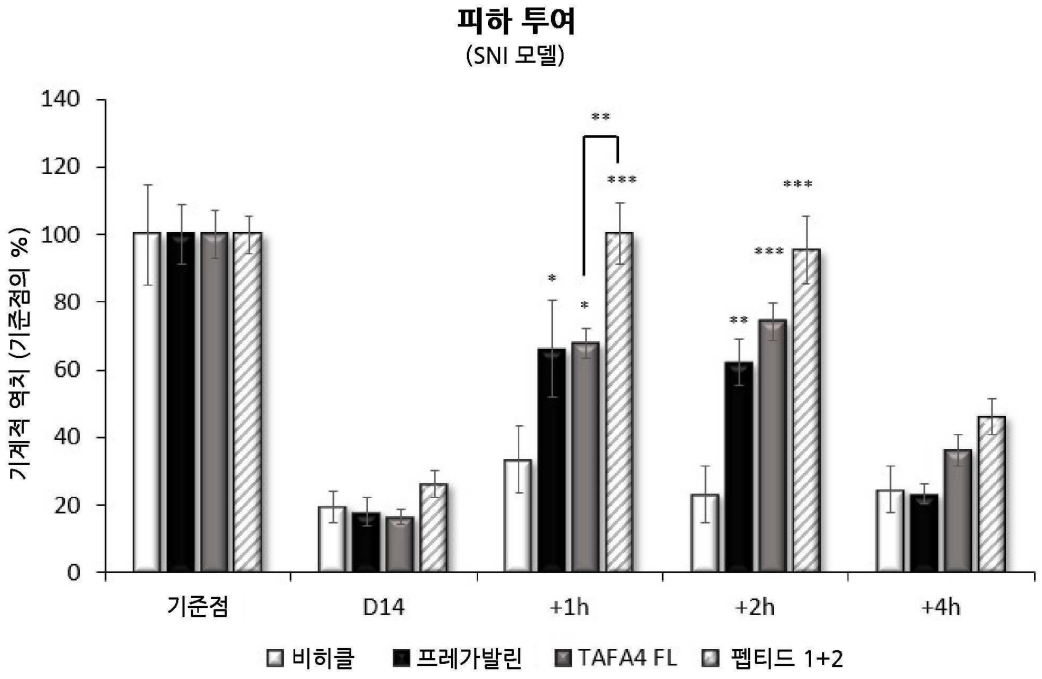
Zeilhofer, H.U., Wildner, H., and Yevenes, G.E. (2012). Fast synaptic inhibition in spinal sensory processing and pain control. Physiol Rev 92, 193-235.

Zhang, Y., Liu, S., Zhang, Y.Q., Goulding, M., Wang, Y.Q., and Ma, Q. (2018). Timing Mechanisms Underlying Gate Control by Feedforward Inhibition. Neuron 99, 941-955 e944.

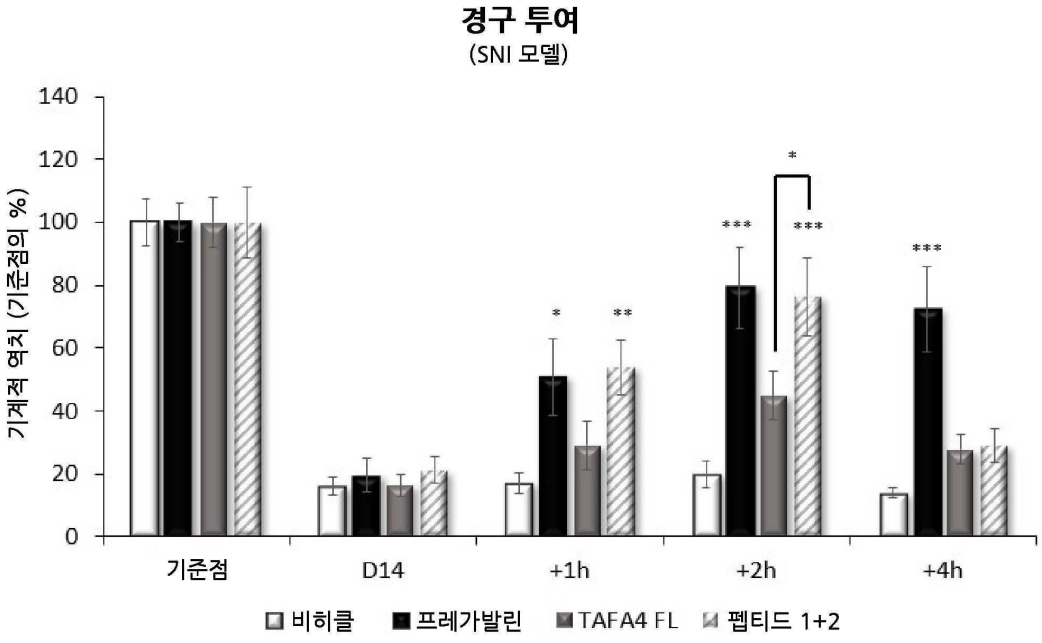
[0306]

도면

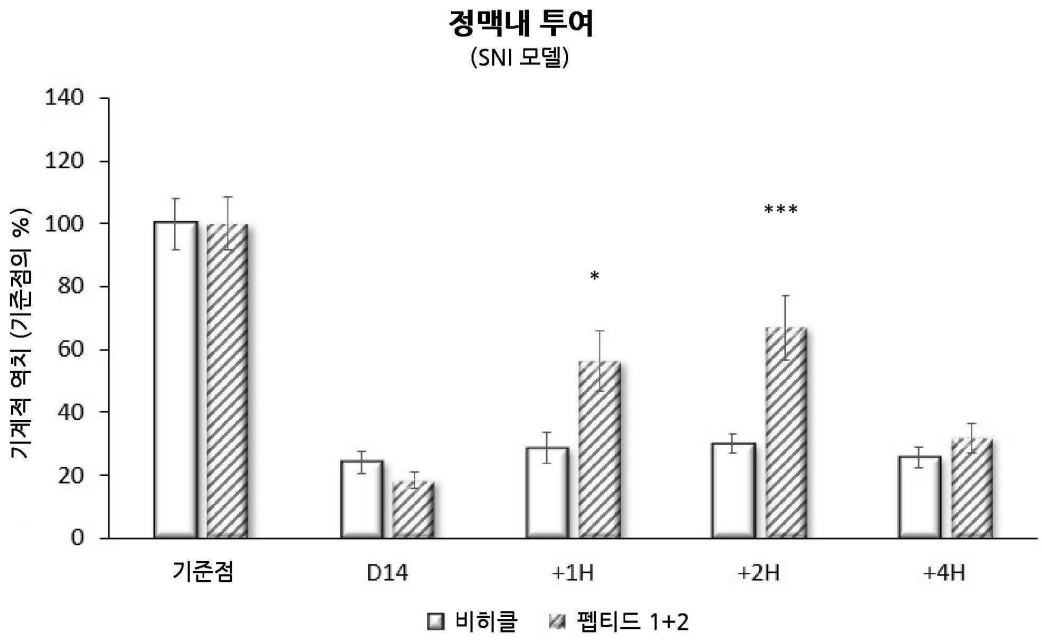
도면1


피하 투여
(SNI 모델)
기계적 역치 (기준점의 %)
140
120
100
80
60
40
20
0
기준점
D14
+1h
+2h
+4h
비히클
프레가발린
TAFA4 FL
펩티드 1+2

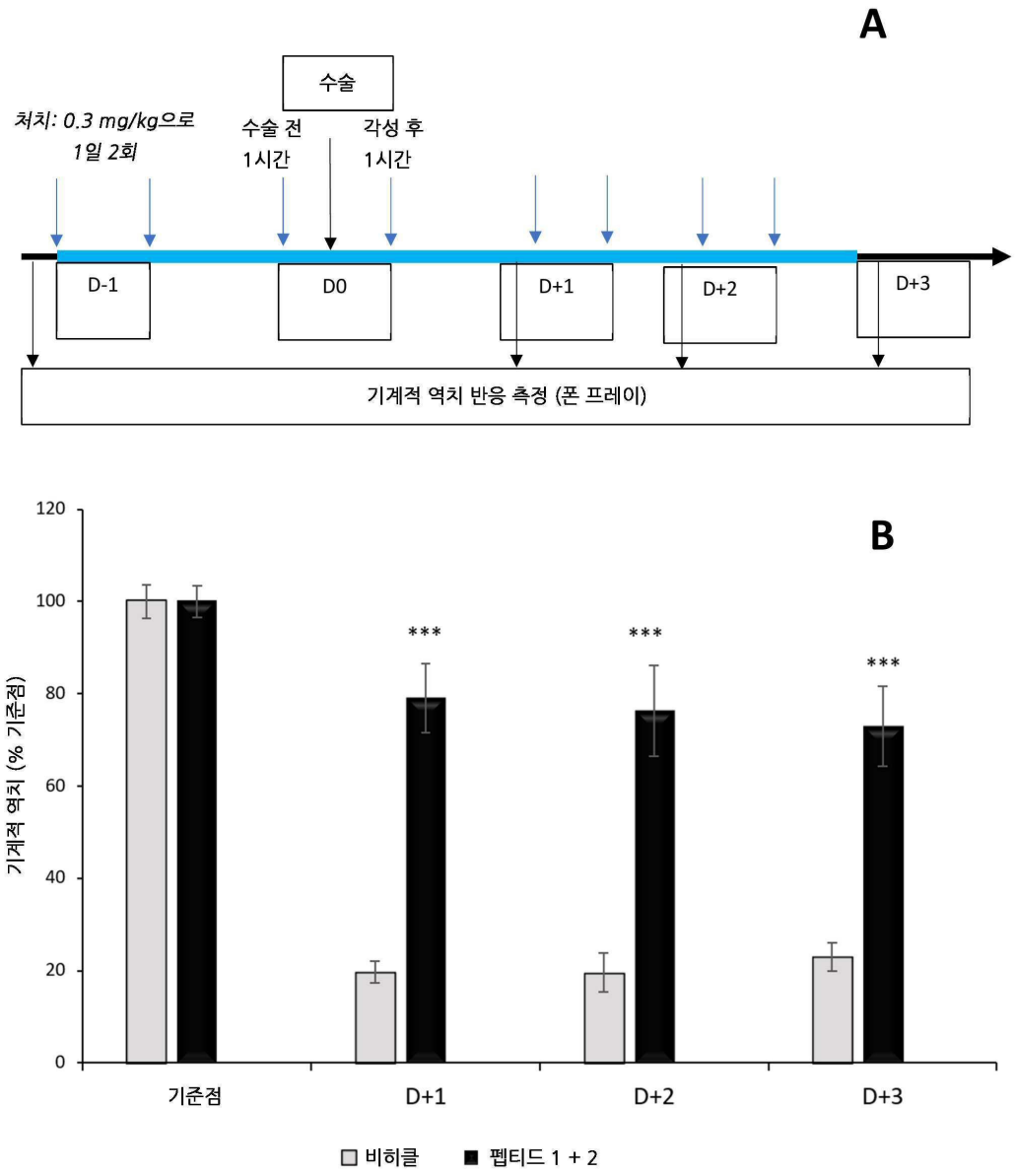
도면2


경구 투여
(SNI 모델)
기계적 역치 (기준점의 %)
140
120
100
80
60
40
20
0
기준점
D14
+1h
+2h
+4h
비히클
프레가발린
TAFA4 FL
펩티드 1+2

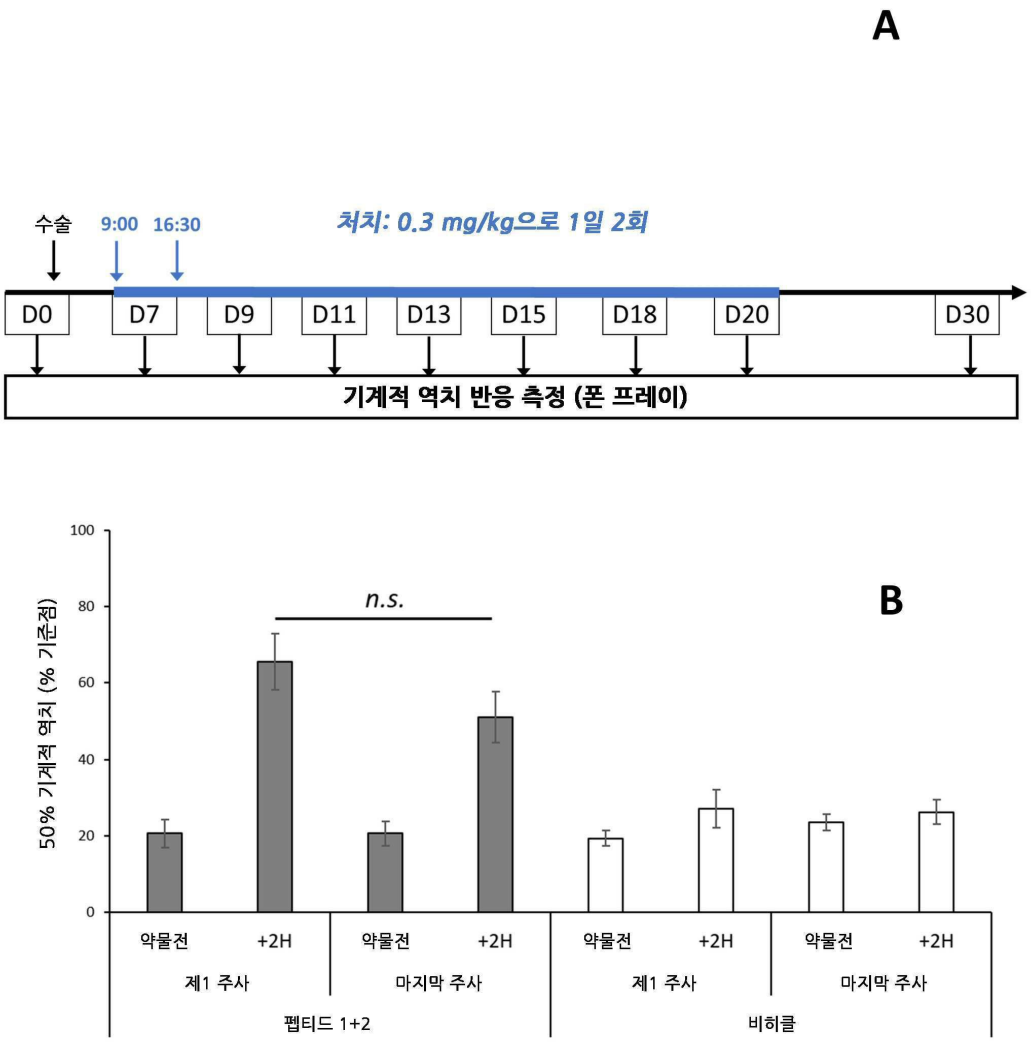
도면3


정맥내 투여
(SNI 모델)
기계적 역치 (기준점의 %)
140
120
100
80
60
40
20
0
*
***
기준점
D14
+1H
+2H
+4H
비히클
펩티드 1+2

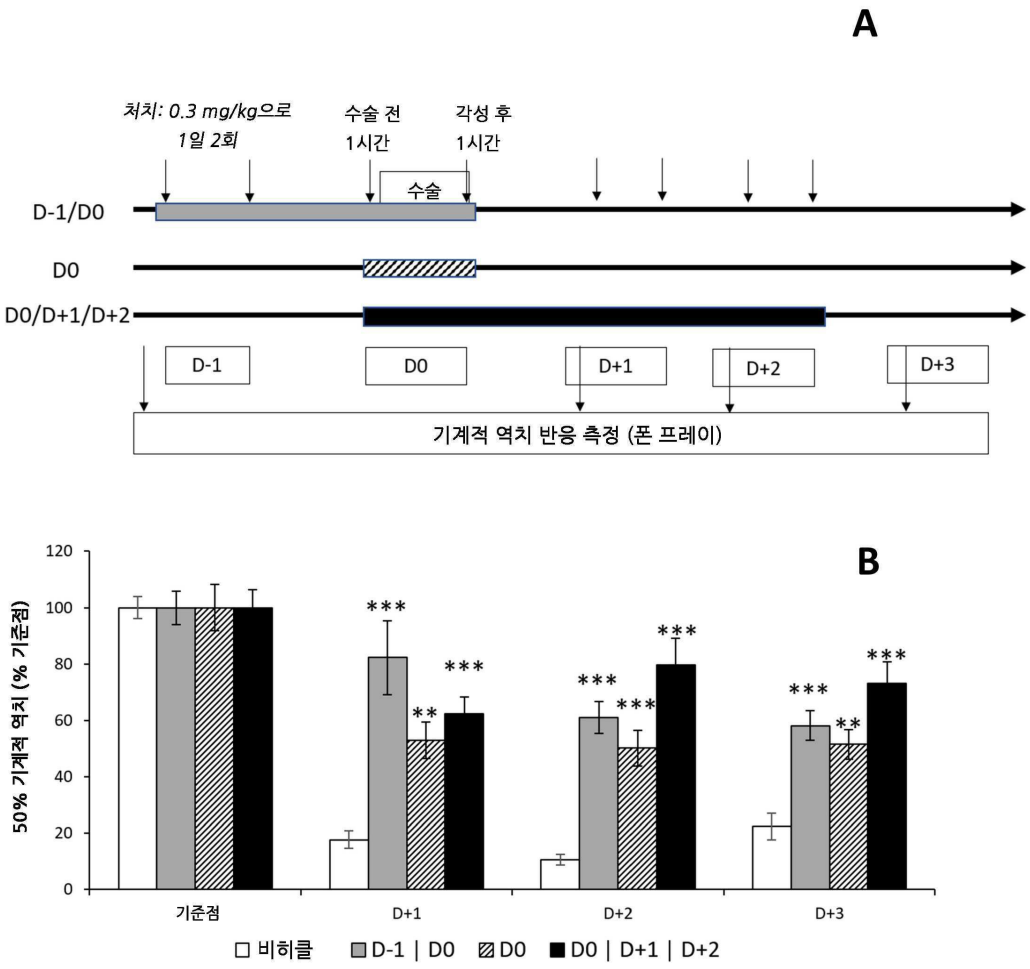
도면4


A
수술
처치: 0.3 mg/kg으로
1일 2회
수술 전
1시간
각성 후
1시간
D-1
D0
D+1
D+2
D+3
기계적 역치 반응 측정 (폰 프레이)
B
기계적 역치 (% 기준점)
120
100
80
60
40
20
0
***
***
***
기준점
D+1
D+2
D+3
비히클
펩티드 1 + 2

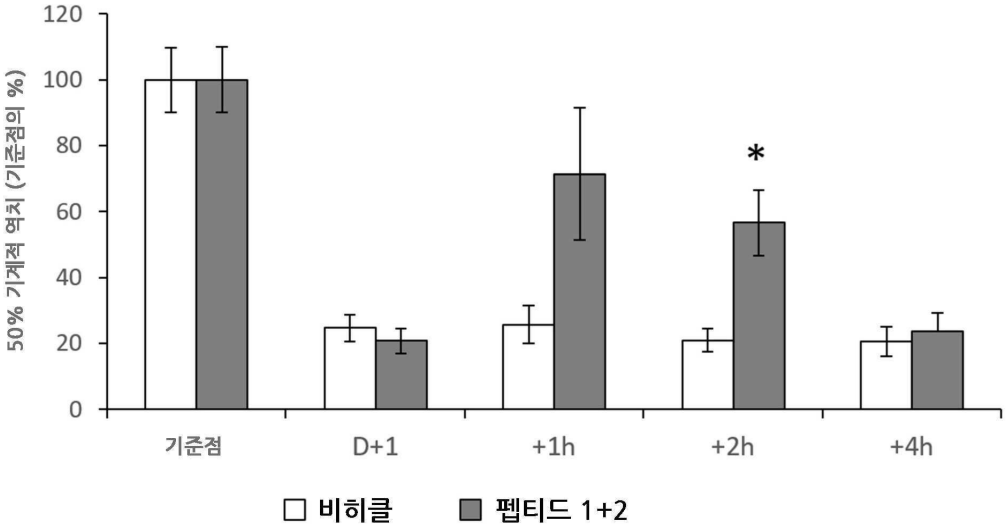
도면5


A
수술
9:00
16:30
처치: 0.3 mg/kg으로 1일 2회
D0
D7
D9
D11
D13
D15
D18
D20
D30
기계적 역치 반응 측정 (폰 프레이)
B
50% 기계적 역치 (% 기준점)
100
80
60
40
20
0
n.s.
약물전
+2H
약물전
+2H
약물전
+2H
약물전
+2H
제1 주사
마지막 주사
제1 주사
마지막 주사
펩티드 1+2
비히클

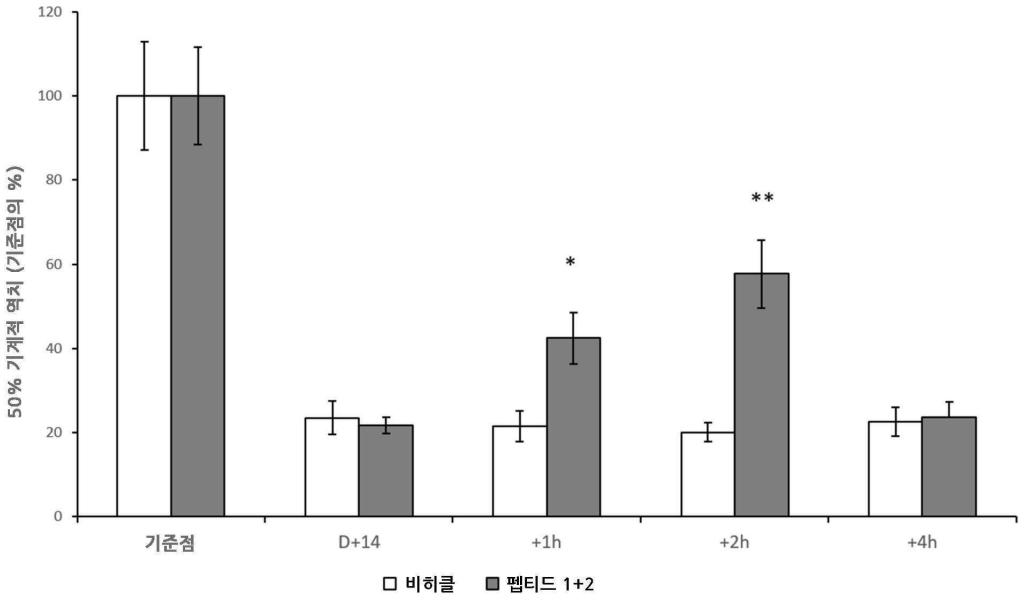
도면6


A
처치: 0.3 mg/kg으로
1일 2회
수술 전
1시간
각성 후
1시간
수술
D-1/D0
D0
D0/D+1/D+2
D-1
D0
D+1
D+2
D+3
기계적 역치 반응 측정 (폰 프레이)
B
50% 기계적 역치 (% 기준점)
120
100
80
60
40
20
0
***
**
기준점
D+1
D+2
D+3
□ 비히클
D-1 | D0
D0
D0 | D+1 | D+2

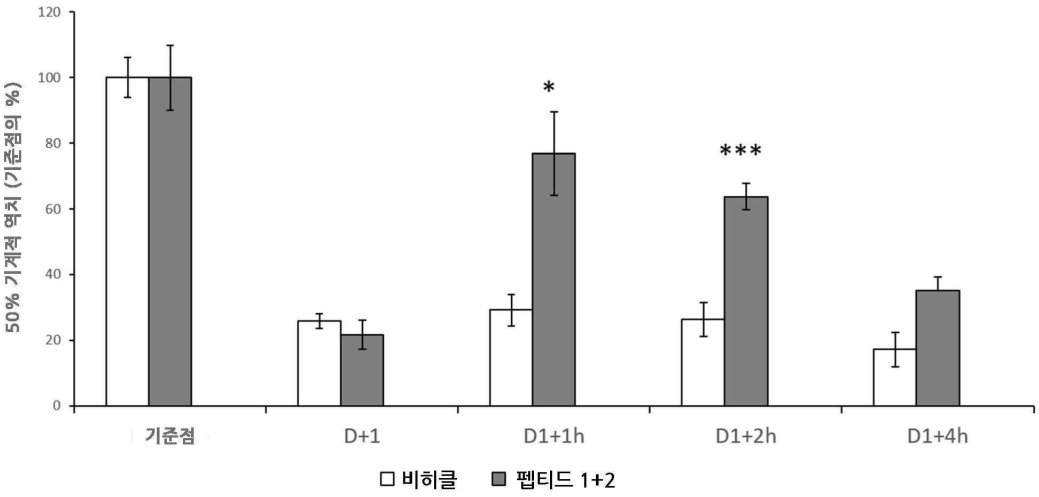
도면7


50% 기계적 역치 (기준점의 %)
120
100
80
60
40
20
0
*
기준점
D+1
+1h
+2h
+4h
□ 비히클
펩티드 1+2

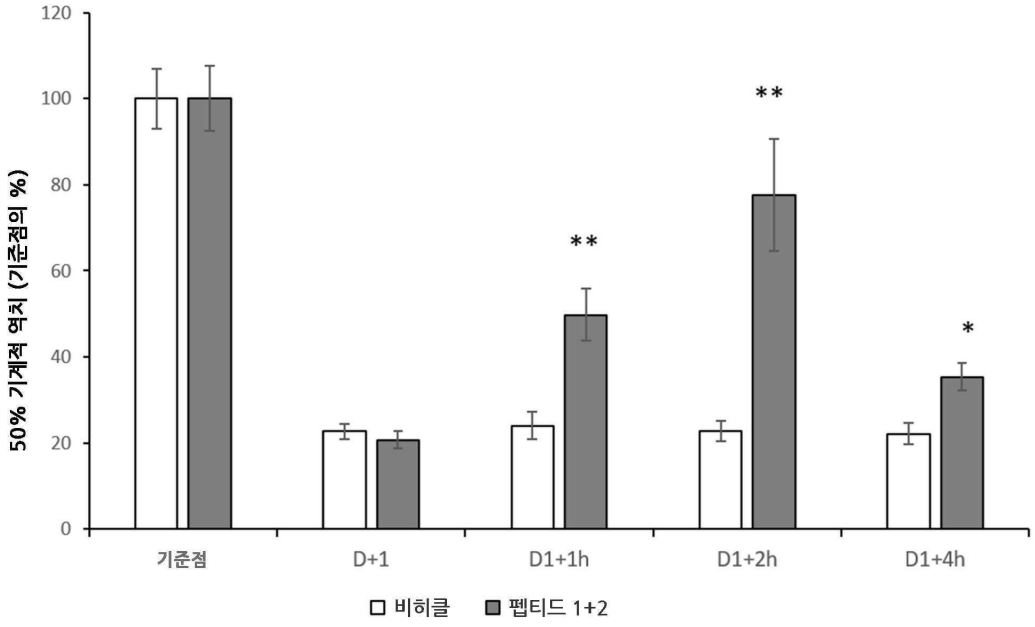
도면8


120
100
80
60
40
20
0
50% 기계적 역치 (기준점의 %)
*
**
기준점
D+14
+1h
+2h
+4h
비히클
펩티드 1+2

도면9


120
100
80
60
40
20
0
50% 기계적 역치 (기준점의 %)
*
***
기준점
D+1
D1+1h
D1+2h
D1+4h
비히클
펩티드 1+2

도면10


120
100
80
60
40
20
0
50% 기계적 역치 (기준점의 %)
**
**
*
기준점
D+1
D1+1h
D1+2h
D1+4h
비히클
펩티드 1+2

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.