(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl.[6]
A61K 51/10

(45) 공고일자 1999년08월02일
(11) 등록번호 10-0211394
(24) 등록일자 1999년05월03일

(21) 출원번호	10-1993-0703348	(65) 공개번호	특1994-0700111
(22) 출원일자	1993년11월05일	(43) 공개일자	1994년02월21일
번역문제출일자	1993년11월05일		
(86) 국제출원번호	PCT/US 92/03311	(87) 국제공개번호	WO 92/19273
(86) 국제출원일자	1992년04월24일	(87) 국제공개일자	1992년11월12일
(81) 지정국	AP ARIPO특허 : 말라위 수단 EA EURASIAN특허 : 러시아 EP 유럽특허 : 오스트리아 스위스 리히텐슈타인 독일 덴마크 스페인 핀랜드 영국 룩셈부르크 네덜란드 스웨덴 OA OAPI특허 : 부르키나파소 베넹 중앙아프리카 콩고 코트디브와르 카메룬 가봉 기네 말리 모리타니 니제르 세네갈 차드 토고 국내특허 : 오스트레일리아 바베이도스 불가리아 브라질 캐나다 헝가리 일본 북한 대한민국 스리랑카 마다가스카르 노르웨이 루마니아 몽고 폴란드		
(30) 우선권주장	694,977 1991년05월06일 미국(US)		

(73) 특허권자 이뮤노메딕스 인코오포레이티드 오트리브 데이비스 더블유
미국 뉴저어지주 07950 모리스플래인즈 어메리칸로오드300
(72) 발명자 골든버그 데이비 엠.
미합중국 뉴저어지 07078 쇼트힐스 롱힐드라이브 397
(74) 대리인 나영환, 이상섭

심사관 : 류종훈

(54) 심장혈관 병변의 검출방법

요약

본 발명은 혈전증 및 색전증, 심근경색 및 다른 기관경색을 비롯한 혈관혈병, 아테롬성 경화증과 같은 심장 혈관 병변을 검출 및 표현하기 위한 시약 및 방법에 관한 것이다. 본 발명에서는 일종의 백혈구에 특이성을 지닌 단일 특이성 항체-표현화제 결합제와, 한종이상의 백혈구 및 피브린, 미오신 또는 혈소판과 관련된 항원에 특이성을 지닌 다특이성 항체-표현화제 결합체도 사용된다. 피브린-, 미오신- 및 혈소판-관련 항원으로 이루어진 군중에서 선택된 2종이상의 다른 항원에 특이성을 지닌 다특이성 항체-표현화제 결합체도 또한 제공된다.

명세서

[발명의 명칭]

심장혈관 병변의 검출방법

[발명의 배경]

본 발명은 동맥경화성 반점, 혈전 및 색전을 비롯한 혈관혈병, 심근 경색, 및 기타 기관 경색과 같은 심장 혈관병변을 검출하고 영상화하는 시약 및 방법에 관한 것이다. 본 발명에서는 일종의 백혈구에 특이성인 단일특이성 항체-영상화제 결합체와 한종 이상의 백혈구 및 피브린, 미오신 또는 혈소판과 관련된 항원에 특이성을 지닌 다특이성 항체-영상화제 결합체가 사용된다. 또한 본 발명에서는 피브린, 미오신, 또는 혈소판 관련 항원으로 이루어진 군중에서 선택된 2개 이상의 다른 항원에 특이성을 지닌 다특이성 항체-영상화제 결합체도 사용된다.

혈관 내피에 손상이 있는 경우에는, 순환성 혈구, 구체적으로 백혈구가 축적된다. 과립세포가 가장 많이 축적되나, 단핵세포 및 림프세포도 또한 이보다 낮은 정도로 축적된다. 이들 세포는 혈관 내피전체를 이동하면서 손상부위에 모이게 된다. 과립세포는 약 3일 이하의 기간동안 혈관외 공간에서 생존하고, 그 이후에는 단핵 세포, 림프세포가 우성집단이 된다.

2가지 단계가 혈관 손상과 관련되는데, 제1단계에서는 단기적으로 혈관 투과성이 증가하고, 보다 장기적인 제2단계에서는 투과성의 증가, 혈관벽에의 백혈구, 주로 과립세포의 결합, 혈관벽을 통한 상당수 백혈구의 누출, 손상부위에 백혈구의 축적, 백혈구의 식작용, 혈관으로부터 피브리노겐 및 혈소판의 누출, 손상된 부위에 피브린의 침착, 혈관파괴로 인한 혈관내 응괴, 회사흔적의 대식세포 심연, 혈관의 이동, 손상부위에 피브린의 침착, 혈관파괴에 따른 혈관내 응괴, 회사흔적의 대식세포심연, 피브로블라스트의 이동 및 결합 조직의 형성, 및 모세관의 성장에 따른 신-유관속화가 이루어진다. 따라서, 백혈구, 구체적으로 과립세포에 의한 침투는 매우 초기에 이루어지며 중요한 현상이다.

잘-발생된 동맥경화성 반점은 염증과 회복의 상호작용의 결과이다. 이로써 세포외 칼슘염, 콜레스테롤 결정, 글리코스아미노글리칸, 및 혈구와 플라즈마 성분으로 이루어진 병변이 나타나게 된다. 동맥벽의 내피세포 투과성이 동맥경화증의 초기단계에 유도되며, 이로써 순환 고분자 및 혈구, 특히 백혈구(주로 과립세포)가 유입된다. 2차 변화는 동맥 내막의 투과성이 저하되고, 이어서 혈소판 및/또는 피브린이 침착되며, 아테롬성 병변을 유발시키는 중식성, 퇴행성, 회사성, 및 회복이 저하된다. 이때, 제1상태에서는 손상부위에 백혈구의 집중 및 출혈이 유발된다.

혈전에 있어서, 혈관이 손상된 경우에는, 피브린이 형성되고, 혈소판이 응집되거나, 이들이 모두 이러우짐으로써 응괴될 수 있다. 이들 현상이 진행되는 동안에는, 혈소판 응집과 무관하게 백혈구의 점착 및 응집이 이루어진다. 매우 조기에, 심지어는 피브린이 생성되기 이전에, 백혈구가 출현된다.

심정맥 혈전증(DVT) 및 폐 색전증은 통상적으로 잘 발생하며, 건강한 남자 및 여자의 경우에는 30% 내지 60%, 중환자에게는 80% 이하로 발생한다. 모든 병원환자의 20%가 혈전 색전증을 지니고 있는 것으로 추정되었다. 단, 미합중국에서만이 매년 250만명이 발생하는 것으로 추정되었다(쉐리, Semin. Nucl. Med. 7:205-211, 1977).

심정맥 혈전증(DVT)에 대해 통상적으로 사용된 대부분의 핵 의료 테스트에는 방사성핵종 정맥조영촬영법에 사용되는 비특이성 방사성 약제가 사용된다. 따라서, 비침투성 외부 섬광 계수법에 의해 혈전을 특이적으로, 민감하게 급속히 나타낼 수 있는 혈전증-특이성 방사성약제가 필요하다. 통상적인 방사성학 방법인 대조 조영법은 DVT에 대해 중요한 표준방법이나, 부작용의 발생율이 높아 반복적인 사용이 제한되고 있다(Rabinov 와 Paulin, Arch. Surg. 104:134-144, 1972). 압축 B-형 초음파도 또한 다리에 혈전이 존재함을 진단하는데 유용하나, 이 방법은 부위적으로 제한되며 또한 병변 특이성이 없다(렌싱 외 다수의, N. Engl. J. Med. 320:342-345, 1989). 따라서, DVT의 검출 및 진단을 위한 단순성, 급속성, 및 특이성을 지닌 방사성약제가 필요하다.

상기 언급된 제제가 DVT에 유용한 경우, 그것들은 생명에 위협을 가하는 병변인 폐 색전증을 밝히지 못할 수도 있다. 다른 혈전에는 다른 종류의 제제가 필요하다. 정맥 혈전은 주로 혈소판층으로 교번된, 포착세포를 지닌 피브린 중합체로 이루어진 반면, 동맥 혈전은 피브린이 적은 응집된 혈소판으로 주로 구성된다(Freiman: 콜만외 다수의, 「Hemostasis and Thromobosis- Basic Principles and Clinical Practice」(뉴욕, 뉴욕, 리핀코트, 56:766-780(1982)). 따라서, 동맥 및 정맥 침착물에 모두 결합할 수 있는 방사성 약제가 요구된다.

대부분의 경우, 시판되는 제제는 피브린-지향 또는 혈소판-지향 약제중 하나에 한정되는 것으로 나타나는데, 이는 Knight 외 「Semin. Nucl. Med.」(20:52-67, 1990)에서 검토되었다.

피브린-특이성 방사성 약제로는 방사성표식 피브리노겐, 가용성 피브린, 항피브린 항체 및 항체 단편, 단편 E_1(가교결합된 피브린을 서서히 플라스민으로 분해하여 제조한 인체 피브린의 60kDa 단편), 플라스민(새로운 혈전을 용해시킬 수 있는 혈액중의 효소), 플라스미노겐 활성인자(예, 유로키나아제, 스트렙토키나아제 및 조직 플라스미노겐 활성인자), 헤파린, 및 피브로넥틴 (450kDa의 접착 플라스마 당단맥질)이 있다.

혈소판-지향 약제로는 방사성 표식 혈소판, 항혈소판 항체 및 항체 단편, 항-활성화 혈소판, 및 항-활성화 혈소판 인자가 있는데, 이것들은 본문에 참고인용된 상기 Knight의 문헌, 및 코블릭외 다수의, 「Semin. Nucl. Med.」(19:221-237, 1989)에 재검토된 바 있다. 혈소판의 영상화는 활성 혈소판 응집이 이루어지는 급성 혈전증 상태동안에 가장 유용하며, 따라서 이들 혈소판에 기초한 영상화방법은 24~48시간 이상된 혈병을 밝히는데 어려움이 있다(오스터 외 다수의, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:3465-3468, 1985). 또다른 관심은, 이들 환자의 치료시 동시의 헤파린 투여에 의해 혈소판 영상화가 억제될 수 있다는 것이다(시볼드 외 다수의, 「J. Nucl. Med.」 29:1169-1180, 1988). 헤파린화는 또한 항-피브린 항체로써 밝혀지는 병변의 총수를 저하시킬 수 있다(Alavi 외 다수의, J. Nucl. Med., 29:825, 1988). 항 피브린 항체와 비교시, 방사성 표식된 단편 E_1은 혈병을 보다 조기에 밝혀낼 수 있는 것으로 나타났다(상기 코블릭외 다수의 참고문헌). 그러나, 단편 E_1은 분리 및 제조가 어려우며, 혈병에 대한 결합이 일시적이다(knight 외 다수의, Radiology, 156:509-514, 1985). 따라서, 2 또는 그 이상의 이들 합병 영상화제의 조합체를 함유한 제제가 계속적으로 요구되는데, 이들 각각은 다른 것들, 예를들면 항-피브린 항체 또는 항체 단편 또는 항체 E_1 및 항-백혈구 항체 또는 항체 단편 및/또는 항-혈소판 또는 항-활성 혈소판 항체 또는 항체 단편, 또는 항-피브린 항체 또는 항체 단편 및 항-혈소판 또는 항-활성 혈소판 항체 또는 단편을 보완하며, 이것들은 모두 적절히 표식된다.

심근 국소빈혈 및 국소빈혈 심장질환의 증상을 유도하는, 심근층에 대한 불충분한 혈액 및 산소공급은 협착성 관상 아테롬성 동맥경화증으로 인한 통상적인 증상이다. 급성 관상 동맥 폐색으로 인한 심한 국소빈혈이 일어나며, 이에따라 심근 경색중이 발생한다. 연대학적으로, 처음으로 국소빈혈 심장 근육의 세포내 변화가 미토콘드리아 입자, 글리코겐 및 호흡계 효소의 저하로서 나타난다. 이어서, 약 1 내지 6시간 동안에는 핵 크로마틴의 변연화 및 응집, 핵 및 미오필라멘트 구조의 손실, 및 과립세포의 침투가 관찰된다. 다음 단계, 즉 약 6 내지 12시간동안에는, 통상적인 국소빈혈 회사가 나타난다. 24시간후에는, 심한 조직학적 변화를 쉽게 볼 수 있으며, 이로써 2-4일까지 다른 크기로 병소가 출혈되고 모세관이 확장된다.

EKG, 크레아티닌 키나아제(CK-MB) 곡선, 방사 단편과 같은, 심근 경색(MI)정도를 진단하고, 정밀하게 조준하여 판정하는데 유용한 테스트는 어느정도 한계가 있다. ^{99m}Tc 피로포스페이트 또는 ^{201}탈륨(Tl)을 사용하는 핵영상화방법이 MI를 진단하고 정량하기 위해 개발되었다. 최근에는, 미오신에 대한 항체 및 항체단편을 실험적 및 임상학적으로 사용하여 국소빈혈로 인해 비가역적 손상된 심근세포에서의 국소화를 증명하였다(Khaw 외 다수의, J. Nucl. Med. 28:1671-1678, 1987); 존슨 외 다수의, J. Am. Coll, Cardiol. 13:27-35, 1989). 미오신 항체의 흡수는 세포사(死)에 특이성을 지니는 것으로 밝혀졌으며(Framie 외 다수의, J. Clin. Invest. 72:535-544, 1983), 영상화 결과가 밝혀지기 까지는 24시간 이상이 요구된다는 점이 상기 언급된 임상학적 연구를 통해 밝혀졌다. 따라서, 항-미오신 항체결합에 유용한 충분한 항원부위가 생기도록 하기 위해서는 충분한 세포사가 먼저 일어나야하기 때문에, 항-미오신 영상화가 성공적으

로 수행되기전에, 국소빈혈이 발생한 후 2일 또는 그 이상이 요구된다. 따라서, 광범위한 세포사 및 심근 손상이 발생하기 전에 진단할 수 있으며 항-미오신 항체의 작용을 백혈구-영상화제와 결합시킬 수 있는 제제 또는 제제 혼합물이 요구된다. 따라서, 조기 경색 또는 심지어 동맥경화증 반점의 경우, 항-백혈구 항체는 국소빈혈증 발생이후 처음 몇시간 이내의 영상화에 충분하다.

[발명의 목적]

본 발명의 목적은 아테롬성 경화증, 혈전 및 색전을 비롯한 혈관 혈병, 및 심근 경색 및 기타 기관 경색과 같은 심장 혈관 병변을 찾아내어 조기에 영상화하기 위한, 일종의 백혈구에 결합하는 항체, Ab 단편, 또는 Ab 서브단편-영상화제 결합체를 제공하는 것이다.

본 발명의 또다른 목적은 한종이상의 백혈구에 선택적으로 결합하고 우수한 타겟-대-배경비로 심장혈관 병변을 찾아내어 조기에 영상화하기 위한, 피브린, 미오신, 또는 혈소판과 관련된 하나 이상의 항원에 선택적으로 결합하는 다특이성 항체, Ab 단편, 또는 Ab 서브단편 합성물-영상화제 결합제를 제공하는 것이다.

본 발명의 또다른 목적은 우수한 타겟-배경비로 심장혈관 병변을 찾아내고 조기에 영상화하기 위한, 피브린-, 미오신- 또는 혈소판-관련 항원으로 이루어진 군중에서 선택된 2종 이상의 항원에 선택적으로 결합하는 다특이성 항체, Ab 단편, 또는 Ab 서브단편 합성물-영상화제 결합체를 제공하는 것이다.

본 발명의 또다른 목적은 단일특이성 또는 다특이성 항체-제제 결합체를 우수한 타겟-배경비와 고효율로 심장혈관 병변에 타겟화하는 방법을 제공하는 것이다.

또한 심장혈관 병변을 보다 효율적으로 검출하는 시약 및 방법을 제공하는 것도 본 발명의 목적이다.

또한, 심장혈관 병변을 조기에 검출하는 시약 및 방법을 제공하는 것도 본 발명의 목적이다.

본 발명의 다른 목적들은 하기 거론된 바에 의해 당업자에게 명백해질 것이다.

[발명의 요약]

본 발명의 이들 목적 및 다른 목적은 하나 이상의 영상화제에 결합된 단일특이성 항체 또는 항체 단편을 포함하는 심장 혈관 병변을 타겟으로 하여 영상화하는 단일특이성 항체-영상화제 결합체를 제공함으로써 이루어지며, 이때 상기 항체 또는 항체 단편은 한 종의 백혈구에 특이적으로 결합한다.

본 발명의 또다른 목적은 하나 이상의 영상화제에 결합된 2개 이상의 다른 거의 단일특이성 항체 또는 항체 단편으로 이루어진 면역반응성 다특이성 합성물을 포함하는, 심장혈관 병변을 타겟으로 하고 영상화하기 위한 다특이성 항체-제제 결합체를 제공함으로써 이루어지는데, 상기 항체 또는 항체 단편 하나 이상은 일종의 백혈구에 특이적으로 결합하고 상기 항체 또는 항체 단편 하나 이상은 피브린, 미오신 또는 혈소판과 관련이 있는 항원에 결합한다.

본 발명의 또다른 목적은 하나 이상의 영상화제에 결합된 2종 이상의 다른 거의 단일특이성 항체 또는 항체 단편으로 이루어진 면역반응성의 다특이성 합성물을 포함하는, 심장혈관 병변을 타겟으로 하여 영상화하기 위한 다특이성 항체-제제 결합체를 제공함으로써 이루어지는데, 상기 항체 또는 항체 단편중 2개 이상은 피브린-, 미오신-, 또는 혈소판- 관련 항원으로 이루어진 군중에서 선택된 2개 이상의 다른 항원에 특이적으로 결합한다.

본 발명의 또다른 목적은 하나 이상의 영상화제에 결합된, 2종 이상의 다른 거의 단일특이성 항체 또는 항체 단편으로 이루어진 면역반응성 다특이성 합성물을 포함하는, 다양한 심장혈관 병변을 타겟으로 하여 영상화하기 위한 다특이성 항체-제제 결합체를 제공함으로써 이루어지는데, 상기 항체 또는 항체 단편 하나 이상은 한종의 백혈구에 특이적으로 결함하며 상기 항체 또는 항체 단편 하나 이상은 피브린, 미오신, 또는 혈소판 관련 항원에 특이적으로 결합한다.

본 발명의 또다른 목적은 하나 이상의 영상화제에 결합된, 2종 이상의 다른 거의 단일특이성 항체 또는 항체 단편으로 이루어진 면역반응성 다특이성 합성물을 포함하는, 다양한 심장혈관 병변을 타겟으로 하여 영상화하기 위한 다특이성 항체-제제 결합체를 제공함으로써 이루어지는데, 상기 항체 또는 항체 단편중 2개 이상은 피브린-, 미오신- 또는 혈소판- 관련 항원으로 이루어진 군중에서 선택된 2개 이상의 다른 항원에 특이적으로 결합한다.

본 발명은 또한 상기 단일특이성 또는 다특이성 항체-제제 결합체를, 타겟을 찾아 영상화할 수 있는 유효량으로 포유동물에게 비경구투여하는 것을 포함하는, 다양한 심장혈관 병변을 영상화하는 방법을 제공한다.

본 발명은 부가로 상기 단일 특이성 또는 다특이성 항체-제제 결합체를, 타겟을 찾기 위한 유효량으로 포유동물에게 비경구적 투여하는 것을 포함하는 심장혈관 병변을 조기 진단하는 방법을 제공한다.

또한, 본 발명은 상기 방법을 실행하는데 유용한 무균 주사용 제제 및 키트를 제공한다.

[발명의 상세한 설명]

본 발명은 손상후 매우 일찍 병리학적 부위에 진단제를 민감하게 타겟화함에 따라 진단이 보다 잘 이루어지고 보다 조기에 치료를 수행할 수 있기 때문에, 동맥경화성 반점, 혈전 및 색전을 비롯한 혈관 혈병, 심근경색, 및 기타 기관 경색과 같은 심장혈관 병변을 위한 종래 영상화 방법에 비해 우수하다.

바람직한 개선점은 다특이성 항체 합성물을 사용한다는 점이다. 다특이성 타겟화 항체 합성물은 2개 이상의 다른 거의 단일특이성 항체 또는 항체 단편을 포함하고, 상기 항체 또는 항체 단편중 하나 이상의 항체 또는 항체 단편은 일종의 백혈구에 특이적으로 결합하고 하나 이상의 항체 또는 항체단편은 피브린, 미오신 또는 혈소판과 관련이 있는 항원에 특이적으로 결합한다. 따라서, 합성물상의 하나 이상의 항원 결합부는 첫 번째 백혈구류에 결합하는 반면, 동일한 타겟화 합성물상의 두 번째 항원 결합부위는 피브린, 미오신 또는 혈소판과 연관된 항원에 결합할 것이다. 백혈구의 종류로는 과립세포, 단핵세포, B-

림프세포 및 T-림프세포가 있는데, 이들은 심장혈관 병변의 발생에 관여한다.

본 발명의 항체 합성물을 제조하는데 사용된 거의 단일 특이성인, 바람직하게는 단일클론인, 항체의 면역학적 특성은 심장혈관 병변에 적절히 결합되고 비타겟부위에는 최소의 결합이 일어나도록 조절될 수 있다. 정확한 비율의 특이성이 사용되는 경우, 특이성이 다른 항체, 항체 단편, 또는 서보-단편, 즉 백혈구, 및 피브린, 미오신 및 혈소판과 연관된 항원에 대한 항체의 혼합물은, 투여된 용량중 표적부위에 도달하는 퍼센테이지를 향상시킬 수 있다. 그래서 항체-제제 결합체의 영상화제성분은 더 높은 효율과 증가된 표적-대-배경비로 표적부위에 편중된다. 백혈구의 침투는 심장혈관 병변의 경우 매우 조기에 이루어지기 때문에, 이 방법은 아테롬성 경화증, 허혈성 심장질환, 혈전 및 색전의 발생을 조기에 인식할 수 있으며, 심지어는 최근의 다른 공지된 항체 방사성 결합체 또는 진단제를 사용하는 것보다 더 빠르다.

본 발명의 면역반응성 결합체는 영상화 방사성 동위원소, 형광제, 추정된 단층촬영 대조제, 또는 상자성체류(자기공명 대조제)에 결합된 단일특이성, 이특이성, 삼특이성, 또는 보다 통상적으로는 다특이성 항체/단편/서브 단편, Fv 또는 단일쇄결합 단백질을 포함할 수 있다. 결합제의 항체성분은 단일 포유동물종 또는 유전공학적으로 조합된 종(예, 인간과 설치류의 조합체, 일명 인체화된 또는 키메라형 항체)의 전체 항체, 항체 단편, 서브 단편(Fv 또는 보다 작은 결합단위)으로 제조될 수 있다. 항체는 IgG, IgM, IgA, IgD, IgE와 같은 임의류의 전체 면역글로블린, 또는 이중 또는 다중 항원 또는 에피토프 특이성을 지닌 카메라 또는 잡종항체, 또는 잡종 단편을 비롯한 단편, 예를 들면 $F(ab')_2$, $F(ab)_2$, Fab, Fab', Fv 등일 수 있으며, 부가로 임의의 면역 글로블린 또는 임의의 천연, 합성 또는 유전공학 단백질, 예를들면 특이 항원과의 결합을 통해 복합체를 형성하여 항체처럼 행동하는 단일쇄 항체단편을 포함한다.

단일클론 항체는 그 특이성이 높기 때문에 본 발명에 사용하기 적당하며 바람직하다. 그것들은 면역 항원제제로서 포유동물을 면역화, 면역 림프 또는 비장세포와 영구적 골수종 세포계의 융합, 및 특이 하이브리도마 클론의 분리를 위한 통상적인 과정을 통해 쉽게 제조될 수 있다. 본 발명에서 그 유용성에 영향을 주는 것은 일차적으로 항체의 항원 특이성이기 때문에 종간의 융합 및 고가변성 영역의 유전공학적 조작과 같은, 단일클론 항체를 제조하는 보다 비 통상적인 방법은 배제되지 않는다. 순수한 인체 단일클론 항체를 사용할 경우에는 환자에게 시약의 면역원성을 감소시키기 때문에 바람직하다.

본 발명에서는 또한 항원-특이 단편을 사용함으로써 다특이성 항체-제제 결합체를 생성시킨다. 항체 단편은, 종래의 방법을 통해 전체 면역글로블린을 펩신 또는 파파인 분해시킴으로써 제조할 수 있다. 항체 단편은, 펩신으로써 항체를 효소 분해하여 $F(ab')_2$로 표시되는 5S 단편을 제공하여 생성될 수 있음이 공지되어 있다. 이 단편은 티올 환원제, 및 임의의 디설파이드 결합의 분해로 인한 설프히드릴기를 위한 차단기를 사용하여 더 분해되어, 3.5S Fab' 1가 단편을 생성할 수 있다. 선택적으로, 펩신을 사용한 효소분해를 통해 2개의 1가 Fab 단편 및 Fc 단편이 직접 생성될 수 있다. 이들 방법은 특히 전문이 본문에 참고인용된 골든버그의 미합중국의 특허 제4,036,945호 및 제4,331,647호 및 그중에 삽입된 참고문헌과, 니소노프 외 다수의, Arch. Biochem. Biophys., 89, 230(1960); Porter, Biochem. J., 73, 119(1959); 및 에델만외 다수의, Method in Immunology and Immunochemistry, 1권, 422(대학출판부, 1967)에 기재되어 있으며, 이들 방법은 당해 기술분야에서는 통상적이다.

1가의 경-중쇄 단편을 형성하기 위한 중쇄 분리, 부가의 단편 분해와 같은 항체를 분해하는 기타 방법 또는 효소적, 화학적 또는 유전학적 방법들을 사용할 수 있는데, 단 단편이 모항체가 발현되는 항원에 특이성을 보유하고 있어야 한다.

백혈구 항원에 대한 환자의 백혈구를 숙주에 접종함으로써 제조될 수 있다. 예를들어, 인체에 유용한 인체 백혈구로써 마우스 또는 다른 포유류를 면역화함으로써 제조될 수 있다. 항-인체 백혈구 혈청을 숙주로부터 수집하고 친화정제하여 합성물 제조를 위한 다클론 항체를 제공할 수 있다. 선택적으로, 비세포는 면역화된 숙주로부터 취해져 체세포 잡종화 방법으로 적당한 종양세포계와 융합되어 항-백혈구 항체를 생성하는 하이브리도마를 형성할 수 있다. 이들 하이브리도마는 분리, 서브클로닝된후 배양됨으로써 단일클론 항체를 형성할 수 있다.

백혈구 항원을 인식하여 그것에 결합하는 단일클론 항체 또는 단편은 시판되며, 또는, 콜러, 비. 와 밀스타인, 씨. 의, 「Nature(1975)」 (256:495-497)에 처음 기재되고, 케네트, 티. 제이 외 다수의 「Monoclonal Antibodies-Plenum(1980)」에서 재검토된 체세포 잡종화 방법을 통해 제조할 수 있다. 백혈구 항원에 대한 시판되는 단일클론 항체는 정상 T-림프구에 결합하는 OKT 항-T 세포 단일클론 항체(오토 파마슈티칼 컴패니에서 시판); ATCC 기탁번호가 HB 44, HB55, HB 12, HB 78 및 HB 2인 하이브리도마에 의해 생성된 단일클론 항체; G7E11, W8E7, NKP 15 및 GO 22(벡튼 디킨슨); NEN 9.4(뉴잉글랜드 뉴클리어); 및 FMC 11(세라 래보러토리즈)로 표시된다.

이류노테크 카탈로그(Marseille, France, Pel Freeze를 비롯하여 세계전역에 분포, 브라운 디어, WI, 미합중구)에는 시판되는 단일클론 항-백혈구 항체가 기재되어 있으며, 이들 대다수는 본 발명의 조성물 또는 치료제를 제조하는데 적당하다. 이것들로는 T-세포, 활성 T-세포, B-세포, 단핵세포 및 과립세포에 특이적으로 결합하는 항체, 이것의 부분 모집단이 있다. 일부 항체는 예를들어 단핵 세포 및 과립세포, B-세포 및 과립세포, T-세포와 B-세포, T-세포 및 과립세포, T-세포 및 단핵세포 및 과립세포 및 B-세포 등과 같은 1종 이상의 백혈구에 공통되는 항원에 결합한다. 이뮤노테크에 의해 제조 및 기탁된 항체는 다른 곳에서 입수한 클론의 다른 항체와 유사하다.

적당한 항-T-세포 항체는 CD1, CD2, CD4, CD6, CD7 또는 CD8 항원에 결합하는 항체를 포함한다. 바람직한 항-T-세포 항체는 CD3 항원 및 CD5 항원에 결합하는 것들이다. 단핵세포 및 과립세포 항원에 모두 결합하는 바람직한 항체는 특히 CDW14 항원에 결합하는 단일클론이다. B-세포에 결합하는 바람직한 항체로는 CD19 또는 CD21 항원에 결합하는 항체가 있다. 활성 T-세포에 결합하는 항체로는 CD25 또는 CD26 항원에 결합하는 단일클론을 들 수 있다. CD 항원은 특히 백혈구 특이성을 지닌 항체를 규정하는 백혈구 결정인자이다. 동일한 CD 항원상의 동일한 에피토프에 결합하는 한쌍의 항체는 동일한 류의 백혈구에 대한 결합을 서로 차단할 것이다. 단핵세포, B-림프세포 및 활성 T-림프세포에 공통되는 Ia(HLA-DR) 조직적합성 항원에 특이적으로 결합하는 항체는 항-HLA-DR II류 항체로서 분류되며, 특정용도에 특히 유용하다.

백혈구 항원에 대한 시판되는 단일클론 항체는 통상적으로 쥐(murine 또는 rat)에서 취한 것이며 통상적으로 IgG 또는 IgM 이나, 본 발명의 결합체를 제조하는데 사용하기 적당한 항체는 상기 제시된 종 또는 Ig류에 제한되지 않는다. 통상적으로, 당해 기술분야에 잘 공지된 많은 종래의 방법을 사용하여 항체는 대부분의 항원에 대해 만들어질 수 있다. 포유동물의 체내 심장혈관 병변에서 충분한 농도로 발견된 백혈구 항원에 결합하는 임의의 항체는 본 발명에서 유용한 타겟용 다특이성 항체 합성물을 제조하는데 사용될 수 있다.

통상적으로 백혈구 항원에 대한 면역반응성이 비교적 높고, 결합상수가 약 10^5 1/몰 이상, 바람직하게는 약 10^7 1/몰 이상이고, 면역특이성이 높은, 즉 약 40% 이상, 바람직하게는 약 60% 이상, 보다 바람직하게는 약 70-95% 이상인 항체를 사용하는 것이 바람직하다.

본 발명에서 다소 낮은 결합상수를 지닌 항체를 사용하는 것이 특정용도에서는 바람직할 수 있다. 결합상수가 높은 항체는 손상 부위의 백혈구 뿐만 아니라 순환계, 골수 또는 정상 조직의 백혈구에도 밀착 결합할 것이다. 반면, 결합상수가 보다 낮은 항체는 일종의 매스(mass) 작용 효과를 통해 변병 부위의 농축된 백혈구 병소에 주로 결합할 것이다. 이로써 영상화 표식의 조기 제거 및 비-타겟 결합을 저하시킬 것이다.

피브린 및 혈소판 항원에 대한 일반적인 항체의 설명은 Knight의, Semin. Nucl. Med., 20:52-67(1990) 중에 있는데, 이는 본문에 참고인용된다. 항-미오신 항체는 Khaw 외 다수의, J. Clin. Invest, 58:439-446, 1976; Khaw 외 다수의, Hybridoma, 3:11-23(1984)에 기재되어 있는데, 이들 문헌은 본문에 참고인용된다.

영상화를 위한 항체 합성물은, 단순한 글루타르알데히드 결합에서부터 작용기들간의 보다 정밀하며 특이적인 결합에 이르는 다양한 종래 방법을 통해 제조할 수 있다. 항체 및/또는 항체 단편은 서로 직접 공유결합하거나, 또는 짧거나 긴 링커부를 통해, 항체/단편상의 하나 또는 그 이상의 작용기, 예를들면 아민, 카르복실, 페닐, 티올 또는 히드록실기를 통해 공유 결합하는 것이 바람직하다. 글루타르알데히드 이외에도 다양한 통상적인 링커, 예를들어 디이소시아네이트, 디이소티오시아네이트, 비스(히드록시숙신이미드) 에스테르, 카르보디이미드, 말레이미드-히드록시숙신이미드 에스테르 등을 사용할 수 있다.

간단한 방법은 글루타르알데히드의 존재하에 항체/단편을 혼합하여 항체 합성물을 형성하는 것이다. 처음 쉬프 염기 결합은, 예를들어 2차 아민으로의 보로하이드리드 환원을 통해 안정화될 수 있다. 이 방법은 단백질의 다른 결합체, 예를들면 면역조직화학 용도 또는 면역분석을 위한 퍼옥시다아제-항체 결합체를 제조하는데 통상적으로 사용된다. 디이소티오시아네이트 또는 카르보디이미드는 비-부위특이성 링커로서 글루타르알데히드 대신 사용될 수 있다.

이특이성 항체는 많은 통상적인 방법, 예를들면 디설파이드 분해 전체 IgG, 바람직하게는 $F(ab')_2$ 단편의 혼합물의 재형성, 하나 이상의 클론의 융합에 의한 1이상의 특이성을 지닌 면역글로블린을 형성하는 폴리오마 생성 방법에 의해, 그리고 유전공학적으로 제조될 수 있다. 이특이성 항체는 피브린, 미오신, 또는 혈소판과 같은 심장혈관 병변과 관련된 다른 세포 또는 단백질과 백혈구의 조합체에 결합할 수있다. 이특이성 항체는 또한 피브린-, 미오신-, 또는 혈소판- 관련 항원으로 이루어진 군중에서 선택된 2개의 다른 항원에 결합할 수 있다. 이특이성(잡종) 항체 단편은 다른 항체의 환원적 분해로 인한 F(ab') 단편의 산화적 결합에 의해 제조되었다. 이들중 일부는, 원래 항체가 반응하는 항원 둘다에 특이성을 지닌 단편을 포함할 것이다. 이는, 2개의 다른 항체를 펩신 분해하여 생성된 2개의 다른 $F(ab')_2$ 단편을 혼합하고, 환원적 분해를 통해 Fab' 단편 혼합물을 형성한 후, 디설파이드 결합을 산화적 재형성함으로써 각각의 원래 항원에 특이성을 지닌 F(ab')부를 포함한 잡종단편을 비롯한 Fab'_2 단편 혼합물을 생성하여 수행하는 것이 바람직하다. 그러한 잡종항체 단편을 제조하는 방법은 Feteanu의, Labeled Antibodies in Biology and Medicine 중 페이지 321-323 (McGraw-Hill Int. Bk. Co., 뉴욕 外, 1978); 니소노프외 다수의, 「Arch Biochem. Biophys.」 (93, 470(1961)); 및 해멀링외 다수의, 「J. Exp. Med.」 (128, 1461(1968)); 및 미합중국 특허 제4,331,647호에 개시되어 있다.

보다 선택적인 결합은 말레이미드-히드록시숙신이미드 에스테르와 같은 헤테로 이작용성 링커를 사용하여 이룰수 있다. 히드록시숙신이미드 에스테르와 항체/단편의 반응을 통해 항체/단편상의 아민기가 유도될 것이며, 이 유도체는 이어서 유리 설프히드릴기를 지닌 항체 Fab' 단편(또는 트라우트시약에 의해 설프히드릴기가 부착된 보다 큰 단편 또는 전체 면역글로블린)과 반응할 수 있다. 그러한 링커는 동일한 항제중의 기와 가교결합되는 정도가 적으며 결합의 선택성이 향상된다.

항원 결합부위로부터 떨어진 부위의 항체/단편을 결합시키는 것이 바람직하다. 이는, 예를들어 상기 주지된 바와 같이 절단된 쇄간 설프히드릴기에의 결합에 의해 이루어질 수 있다. 또다른 방법은, 탄수화물부가 산화된 항체와 하나 이상의 유리 아민기를 지닌 또다른 항체를 반응시키는 것이다. 이로써, 초기의 쉬프 염기(이민)결합이 이루어지며, 이는 예를들어 브로하이드리드 환원반응과 같은, 2차 아민으로의 환원에 의해 안정화되어 최종 합성물을 형성한다. 소분자 또는 폴리펩티드 또는 고체상 중합체 지지체에 대한 그러한 부위-특이성 결합은 미합중국 특허 제4,671,958호에 개시되어 있고, 보다 큰 어덴드의 경우에는 미합중국 특허 제4,699,784호에 개시되어 있다.

본 발명의 다양한 이-특이성 항체 합성물의 종류로는 하기와 같은 것들이 있으며, 이것들은 특정용도에 특히 유용하다 : 심근경색 및 동맥경화성 반점의 검출을 위한 백혈구와 미오신에 특이성을 지닌 항체/단편 합성물. 따라서, 통상적인 목적의 MI 영상화의 용도에는, 항-미오신 항체와 항-백혈구 항체의 합성제제가 바람직하다. Fab' 또는 단일쇄 항체 형태가 바람직한데, 이것은 주사후 병변-대-혈액비를 매우 높게 함으로써 매우 급속히 타겟화 할 수 있다. 환자에게 흉부통 및 MI 다른 신호와 증상이 있을 경우, 이러한 개선점으로 인해 이 방법은 응급실에서 사용될 수 있다. 이러한 초기 적용은 현재에는 항-미오신 항체의 사용만으로는 가능하지 않다(죤슨과 셀딘의, Semin. Nucl, 19:238-246, 1989).

또한 혈전의 검출을 위한, 백혈구와 피브린 관련 항원에 특이성을 지닌 항체/단편 합성물; 혈전의 검출을 위한, 백혈구와 혈소판 관련 항원에 특이성을 지닌 항체/단편 합성물; 및 혈전 및 색전의 검출을 위한,

피브린과 혈소판 관련 항원에 특이성을 지닌 항체/단편 합성물도 들 수 있다.

특허청구범위에 사용된 용어 다특이성 항체 제제 결합체 및 다특이성 합성물에는 또한 각각 이-특이성 항체-제제 결합체 및 이-특이성 합성물이 포함된다.

복수개의 항체 및/또는 항체 단편, 예를들어 Fab 또는 $F(ab')_2$ 단편을 서로 결합시켜 다특이성 합성물을 형성하는데에는 이와 유사한 반응을 사용할 수 있다. 예를들어, 아민기를 유도화하는 헤테르 이작용성 말레이미드-히드록시 숙신이미드 에스테르 링커를 사용한 후, 임의로 2-이미노티올란과 같은 시약의 존재하에 상기 유도체와 유리 설프히드릴기를 지닌 단편을 반응시킴으로써 이-특이성 합성물을 세 번째, 네 번째 또는 부가의 백혈구 세포류 또는 미오신, 피브린 또는 혈소판 관련 항원에 특이성인 항체/단편에 결합시킬 수 있다. 선택적인 결합형태는 이-특이성 합성물 형성에 대한 개시에 준하여 당업자에게 명백하며, 그러한 방법의 약간의 변경만이 필요할 것이다.

본 발명의 다양한 유형의 삼-특이성 또는 다특이성 항체 합성물중에는 혈전 및 폐색전의 검출을 위한, 피브린 및 혈소판과 관련된 항원과 백혈구에 특이성인 항체/단편의 합성물이 있다. 다른 그러한 다특이성 합성물은 당업자에게 쉽게 이해될 것이다.

단일 특이성 항체 또는 항체 합성물은 진단 영상화제로서 이용하기위해, 섬광계수적 영상화를 위한 방사성 동위원소 또는 자기 공명상 강화제로 표식되거나, 결합되거나, 결합을 위해 적용될 수 있다. 생체내 사용을 위해 단백질을 표식하는데 적당한 임의의 종래 방사성 표식 방법은 통상적으로 상기 합성물을 표식하는데 적당할 것이다. 이는 종래방법 또는 보다 복잡한 방법을 사용하여, 할로겐 또는 금속이온의 방사성 동위 원소로써 직접 표식하거나, 또는 방사성금속 또는 상자성체이온을 위한 킬레이터를 부착함으로써 이루어질 수 있다. 그러한 킬레이터 및 항체에 대한 그것의 부착방법은 당업자에게 잘 공지되어 있으며, 예를들어 차일드외 다수의, 「J. Nuc. Med.」, 26:293(1985); 및 골든버그의, 미합중국 특허 제4,331,647호, 제4,348,376호, 제4,361,544호, 제4,468,457호, 제4,444,744호, 및 제4,624,846호에 개시되어 있다. 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA) 및 디에틸렌트리아민펜타 아세트산(DTPA)의 유도체가 통상적이다. 이것들은 통상적으로 측쇄상에 기를 지니는데, 이로써 킬레이터가 항체에 결합될 수 있다. 선택적으로, 킬레이터상의 카르복실 또는 아민기는 활성화된 후 잘 공지된 방법을 통해 항체 합성물에 결합될 수 있다. 예를들어, Ga-67을 위한 킬레이터인 데페록사민은 적당한 링커로써 활성화되어 활성화된 카르복실, 이소티오시아네이트 또는 그와 유사한 기를 포함한후, 항체 합성물상의 아민에 결합할 수 있는 자유 아민기를 지닌다.

킬레이터는 항체 합성물에 직접 결합되거나, 또는 단쇄 또는 장쇄 링커부를 통해, 항체상의 하나 또는 그 이상의 작용기, 예를들어 아민, 카르복실, 페닐, 티올 또는 히드록실기를 통해 항체 합성물에 결합될 수 있다. 다양한 종래의 링커, 예를들어 디이소시아네이트, 디이소티오시아네이트, 카르보디이미드, 비스-히드록시숙신이미드 에스테르, 말레이미드-히드록시숙신이미드 에스테르, 글루타르알데히드 등, 바람직하게는 미합중국 특허 제4,680,338호에 개시된 무수-이소티오시아네이트 링커와 같은 선택적 연속 링커를 사용할 수 있다.

요오드-131 (I-131) 또는 요오드-123(I-123)로의 표식은 산화적 방법을 사용하여 쉽게 수행되는데, 여기에서는 그린우드외 다수의, Biochem. J., 89, 114(1963)에 발표되어 맥코네이 외 다수의, Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 29, 185(1969)에 의해 변형된 바와 같이 방사성 활성 요오드화 칼륨 또는 나트륨과 항체의 혼합물을 클로라민-T로 처리한다. 이로써, 항체분자상, 추측건대 티로신 잔기상의, 아마도 또한 트립토판, 및 심지어는 페닐알라닌 잔기상의 수소원자가 요오드 원자로 직접 치환되는데, 이는 시약의 양 및 반응조건에 좌우된다. 선택적으로, 본문에 참고인용된 상기 Feteanu의 참고문헌 303페이지에 기재된 바와 같이 락토퍼옥시다아제 요오드화반응을 사용할 수 있다.

표식하는 일부 개발된 방법은 계류중인 출원 미합중국 일련번호 제742,436호에(6-7-85), 제084,544호(8-12-87), 및 제176,421호(4-1-88)에 개시되어 있다. 모든 상기 특허 및 출원의 개시내용은 그 전문이 본문에 참고인용된다. 광범위한 표식 방법은 Feteanu의 Labeled Antibodies in Biology and Medicine., 페이지 214-309(McGraw-Hill Int. Book Co., 뉴욕 外, 1978)에 개시되어 있다. 다양한 금속 방사성 동위원소의 도입은 와그너외 다수의, J. Nucl. Med. 20, 428(1979); 선드버그외 다수의, J. Med. Chem., 17, 1304(1974); 및 사하외 다수의, J. Nucl. Med., 6, 542(1976)의 방법에 따라 수행할 수 있다. 상기된 것들은 단지 당해 기술분야에 공지된, 단백질을 방사성 표식하는 많은 방법들의 예시일뿐이다.

MRI 상 강화에 유용한 화합물의 예로는 Gd(III), Eu(III), Dy(III), Pr(III), Pa(IV), Mn(II), Cr(III), Co(III), Fe(III), Cu(II), Ni(II), Ti(III) 및 V(IV) 이온, 또는 라디칼, 예를들어 니트록시드가 있으며, 이것들은 상자성체 이온 킬레이터 또는 노출된 킬레이트화 작용기, 예를들어 이온에 대한 SH, NH_2, COOH, 또는 라디칼 어덴드에 대한 링커를 지닌 기재에 결합된다. MRI 강화제는, 적당히 수득가능하며 환자의 안전 및 기구 디자인과 조화를 이루는 자기장 강도를 사용하여, 외부 카메라를 통해 감지할 수 있을 정도의 충분량을 사용해야 한다. 그러한 제제의 요구조건은 매질중의 물분자에 대해 작용을 하는 제제로서 당해 기술분야에 잘 공지되어 있으며, 예를들어 피켓의, Scientific American, 246:78(1982); 및 런지외 다수의, Am. J. Radiol., 141:1209(1987)에 개시되어 있다.

금속을 직접 또는 킬레이트 형태로 항체에 도입하기 위한 많은 동일한 방법은 MRI제를 본 발명의 항체 합성물에 도입함으로써 감연 병변을 위한 영상화제를 형성하는데 적합할 것으로 이해된다. MRI제는 우수한 영상화를 위한 다수의 상자성체 이온 또는 라디칼을 지니는 것이 바람직하다. 그러한 다수개의 이온을 도입하는 한가지 방법은 담체 중합체에 킬레이트를 부하시켜 담체를 항체 합성물, 바람직하게는 합성물의 항원결합부위로부터 떨어진 부위에 부위-특이적으로 연결시키는 것이다. 이것은 다수의 킬레이터가 항체 자체상의 적은 부위에서 항체에 결합될 수 있어, 면역반응성이 심각히 타협되지 않을 수 있어 바람직하다. 항체에 킬레이터를 부하시키는 데 유용한 중합체의 예로는 폴리올, 다당류, 폴리펩티드 등이 있다. 미합중국 특허 제4,699,784호(쉬 외 다수) 및 제4,046,722호(로우랜드)를 참고한다. 일종의 다당류는 덱스트란이다. 킬레이터는 덱스트란 히드록실에 대해 반응성인 기, 예를들어 무수물, 이소시아네이트 또는 이소티오시아네이트 등을 포함하도록 작용화될 수 있다. 선택적으로, 덱스트란은 많은 방법, 예를들어 아미노덱스트란으로의 전환을 통해 유도화 될 수 있다. 하기에 보다 자세히 거론되는 바와 같이, 유사

한 방법은 항체 또는 항체 합성물상에 다수개의 약물분자를 적재시키는데 유용할 것이다.

아미노덱스트란(AD) 담체와의 항체 결합체를 제조하는 방법은 통상적으로 덱스트란 중합체, 바람직하게는 평균분자량(MW)이 약 10,000 내지 100,000, 바람직하게는 약 10,000-40,000, 보다 바람직하게는 약 15,000인 덱스트란 중합체로 시작한다. 이어서, 상기 덱스트란은 산화제와 반응함으로써 그것의 탄수화물 고리의 일부를 서서히 산화시켜 알데히드 기를 형성한다. 산화반응은 종래방법에 따라 당분해적 화학시약(예, $NaIO_4$)으로써 수행하는 것이 용이하다.

산화제의 양은, 분자량이 약 40,000인 덱스트란인 경우 약 50-150, 바람직하게는 100의 알데히드기가 생성되고, 분자량이 다른 덱스트란인 경우 거의 동일비의 알데히드기가 형성되도록 정하는 것이 바람직하다. 상기 중합체는 폴리리신과 보다 유사하게 작용하므로, 더 많은 수의 알데히드기, 및 아민기는 덜 바람직하다. 더 적은 수는 킬레이터 또는 붕소 어덴드의 적재가 적어지는데, 이는 바람직하지 않을 수 있다.

이어서 산화된 덱스트란은 폴리아민, 바람직하게는 디아민, 및 보다 바람직하게는 모노- 또는 폴리-히드록시 디아민과 반응한다. 적당한 아민으로는, 예를들어 에틸렌디아민, 플로필렌디아민 또는 이와 유사한 폴리메틸렌디아민, 디에틸렌트리아밑 또는 유사한 폴리아민, 1,3-디아미노-2-히드록시프로판 또는 다른 유사한 히드록시화 디아민 또는 폴리아민등이 있다. 알데히드기에 대해 과량의 아민을 사용함으로써 알데히드기를 쉬프염기(이민)기로 거의 완전히 전환시킬 수 있다.

생성된 중간물의 환원적 안정화는 환원제, 예를들어 $NaBH_4$, $NaBH_3CN$ 등과 쉬프 염기 중간물을 반응시켜 수행한다. 과량의 환원제를 사용함으로써 이민기를 2차 아민기로 거의 완전히 환원시키고, 임의의 미반응된 알데히드기를 히드록시기로 환원시킨다. 얻어진 생성물은 종래의 사이징컬럼에 통과시켜 가교결합된 덱스트란을 제거함으로써 부가로 정제할 수 있다. AD 상의 유용한 아미노기의 제1수는 측량된 샘플을 트리니트로벤젠설폭산과 반응시키고 420nm에서의 광학밀도와 표준상태를 상호관련하여 산출할 수 있다. 이 방법을 통해 통상적으로, 산출된 수의 알데히드기가 AD 상의 1차 아민기로 거의 완전히 전환된다.

선택적으로, 덱스트란은 아민기를 도입하기 위한 종래의 방법, 예를들어 브롬화 시아노겐과의 반응후, 디아민과의 반응을 통해 유도화될 수 있다. AD는 활성형태로 특정약물 또는 킬레이터의 유도체, 바람직하게는 종래수단, 예를들어 디시클로헥실카르보디이미드(DCC) 또는 이것의 수용성 변형물을 사용하여 제조된 카르복실-활성 유도체와 반응하여야 한다.

본 발명의 섬광계수적 영상화방법은 포유류, 바람직하게는 인체에 대해 방사성 표식된 단일 특이성 또는 다특이성 항체-제제 결합체를 섬광계수적 영상화하기에 효과적인 유효량으로 비경구투여함으로써 실행된다. 비경구적 투여란, 예를들어 정맥내, 동맥내, 초내, 공동내 투여를 의미한다. 심장 혈관 병변을 영상화하기 위해서는, 정맥내 또는 동맥내 투여방식이 바람직하다. 대상은 약 1mCi 내지 50mCi의 방사성 표식된 결합체를 투여받을 것이며, 그 양은 특정 방사성 동위원소 및 투여방식과 함수관계이다. 정맥내 또는 동맥내 투여의 경우, 그 양은 통상적으로 각각 I-131 약 2-10mCi, 바람직하게는 약 2-5mCi; I-123 약 5-10mCi, 바람직하게는 약 8mCi; Tc-99m 약 10-40mCi, 바람직하게는 In-111 또는 Ga 67 약 20mCi; 약2-5mCi, 바람직하게는 약 4mCi이다.

방사성 표식된 단일 특이성 또는 다특이성 항체-제제 결합체는, 심장혈관 병변에 섬광계수 영상화제를 타겟화하기위해 포유류에 대한 용도에서는 주사용 제제, 바람직하게는 인체 사용할 때에는 무균주사용 제제로서 제조되는 것이 용이한데, 이는 약학적 허용 무균 주사 부형제, 바람직하게는 생리학적 pH 및 농도의 인산염-완충염수(PBS) 중의 방사선 표식 합성물 유효량을 함유한 무균 주사용액을 포함하는 것이 바람직하다. 다른 종래의 약학적 허용 부형제는 비경구 투여부위에 요구되는 바에 따라 이용될 수 있다.

본 발명에 따른 비경구 투여될 대표적인 제제는, 예를들어 0.9%의 염화나트륨이 함유된 0.04M 인산염 완충액(pH 7.4 Bioware) 1ml당 약 10mg의 인체 혈청알부민(1% USP : Parke-Davis)을 함유하는 것이 바람직한 무균용액중에 약 0.1 내지 20mg, 바람직하게는 약 0.5 내지 2.0mg의 방사성표식된 단일특이성 또는 다특이성 항체-제제 결합체를 포함할 것이다.

타겟부위에 일단 충분량의 방사성 동위원소가 침착되면, 종래의 판형 및/또는 SPECT 감마 카메라로써, 또는 외부적 또는 내부적으로 사용된 수동식 감마 탐침을 사용하여 스캐닝하여 심장혈관 병변을 찾아낸다. 섬광계수도는 통상적으로 50-500KeV 범위내의 에너지를 검측하기 위해 하나 또는 그 이상의 윈도우를 지닌 감마 영상화 카메라로 찍은 것이다. 타겟부위는 비교적 집중된 초점에 존재하는 임의의 심장혈관 병변일 수 있다. 심장 혈관 병변의 검출은 비경구적 투여시 병변에 편중된 특이 타겟 항원 및 백혈구와 단일 특이성 또는 다특이성 항체-제제 결합체의 반응성을 통해, 그리고 변병내로 표식된 백혈구의 유입을 통해 직접 일어날 것이다.

자기 공명 영상화(MRI) 방법은 섬광계수적 영상화방법과 유사하되, 영상화제가 방사성 동위원소가 아닌 MRI 강화제류를 함유할 것이다. 자기 공명 현상은 섬광계수법과는 다른 원리로 작동된다. 통상적으로, 나타나는 신호는 영상화될 영역중 물분자의 수소원자핵중 중성자의 자기모멘트의 이완시간과 상호관련이 있다. 자기 공명 상강화제는 이완율을 증가시켜 영상화제가 부착된 영역중의 물분자와 체내 다른 곳의 물분자 사이의 차이를 증가시킴으로써 작용한다. 그러나, 상기 제제는 T_1, 및 T_2를 모두 증가시키며, T_1의 증가는 차이를 더욱 크게하는 반면, T_2의 증가는 차이를 줄인다. 따라서, 상기 현상은 농도에 좌우되며, 통상적으로 최대 효율을 위한 상자성체류의 최적농도가 존재한다. 최적농도는 사용된 특정제제, 영상화지점, 영상화방식, 즉 회전-반향, 채도-회복, 전환-회복에 좌우되며, 다양한 다른 강한 T_1 의존성 또는 T_2 의존성 영상화 기법의 경우에는, 제제가 용해 또는 현탁된 매질의 조성에 좌우될 것이다. 이들 인자, 및 그것의 상대적 중요성은 당해 기술분야에 공지되어 있다. 예를들어, 피켓의 참고문헌 및 런지 외 다수의 참고문헌을 참고한다.

본 발명의 MRI 방법은 단일특이성 또는 다특이성 항체 합성물 및 MRI 강화제를 함유한 본 발명의 결합체를 자기 공명 영상화를 위한 유효량으로 포유류, 바람직하게는 인체에 비경구투여함으로써 수행한다. 대

상에게는 병변부위에 MRI 신호를 약 20% 이상, 바람직하게는 50 내지 500% 강화하기에 충분한 표식된 결합체의 투여량을 투여할 것인데, 이 양은 상자성체류의 종류 및 투여방식에 좌우될 것이다.

또한, 표식된 항체 또는 항체 합성물은 심장혈관 병변에 MRI제를 타겟화하기 위해 포유류에 대한 용도에서는 주사용 제제, 바람직하게는 인체 사용할 때에는 무균 주사용 제제로서 제공되는 것이 용이한데, 이는 약학적 허용 무균 주사 부형제, 바람직하게는 생리학적 pH 및 농도의 인산염-완충염수(PBS) 중의 표식 합성물을 유효량 함유한 무균 주사용액을 포함하는 것이 바람직하다. 비경구 투여를 위한 다른 종래의 약학적 허용부형제는 비경구투여부위에 요구되는 바에 따라 이용할 수 있다.

본 발명에 따라 비경구 투여될 대표적인 제제는 예를들어 0.9%의 염화나트륨이 함유된 0.04M 인산염 완충액(pH 7.4 Bioware) 1ml 당 약 10mg의 인체 혈청알부민(1% USP : Parke-Davis)을 함유하는 것이 바람직한 무균용액중에 약 0.1 내지 20mg, 바람직하게는 약 5mg의 방사성표식된 다특이성 항체-제제 결합제를 포함할 것이다. 일단 충분한 MRI제가 타겟 부위에 침착되면, 병변을 영상화하기 위해 통상적인 MRI 카메라로 스캐닝한다.

본 발명의 바람직한 실시태양, 1차 표식된 항체-제제 결합체의 편중화비(localization ratio)는 비표식된 제2항체의 사용을 통해 비-타겟화된 순환성 결합체를 제거하고 보다 잘 정리함으로써 상승되는데, 이는 골든버그의 미합중국 특허 제4,624,846호의 관련 영상화제에 개시되어 있으며, 상기 특허는 그 전문이 본문에 참고인용된다. 용어 편중화비는 통상적인 의미로 사용되는데, 즉 비타겟 항체 결합체에 대한 타겟 항체 결합체의 비를 의미한다. 통상적으로, 제2항체는 제1항체-제제 결합체의 편중화비를 약 20%, 통상적으로는 50% 또는 그 이상 상승시킬 정도의 양이 사용된다.

제2항체는 제1항체와 결합하여 제1항체 결합체 자체보다는 급속히 순환 및 비-타겟 공간으로부터 제거되는 착물을 형성할 수 있는 한, 전체 IgG 또는 IgM, 또는 IgG 또는 IgM의 단편일 수 있다. 제2항체는 전체 IgG 또는 IgM인 것이 바람직할 것이다. 제1항체가 IgG 또는 IgM의 단편인 경우에는, 제2항체가 전체 IgG 또는 IgM이 되어 제1, 제2항체복합체가 보체 캐스케이드를 활성화할 수 있는 능력을 보유하는 것이 바람직하다. 역으로, 제1항체가 전체 IgG인 경우, 착뭉리 보체-고정 능력을 보유한다면 제2항체는 단편일 수 있다. 1차/2차 항체쌍중 하나 이상이 전체 IgG 또는 IgM인 것이 바람직하다. IgM을 사용하는 것의 한 잇점은 제1항체 또는 킬레이트제등과 같은 분리된 결합체와 고분자량의 착물을 형성한다는 것이다. 이는 특히 혈액으로부터 비-타겟의 제1항체 및/또는 영상화 성분의 제거율 및 효과를 증가시킬 것이다. 제2항체는 상기 언급된 골든버그의 제'846호 특허에 개시된 방법을 통해 제조할 수 있다. 단일 클론 항-IgG류도 또한 입수가능하며 본 발명의 방법에서 제2항체로서 이롭게 사용된다. 비-금속성 결합체, 예를들어 방사성 요오드화 결합기 또는 유기 상자성체류(예, 니트록시드)는, 그러한 목적으로 사용될 때 일어날 수 있듯이 제2항체가 특이성을 지니게 될 수 있다. 제2항체는 제1항체-제제 결합체를 비경구적으로 투여하고 병변에 그것이 최대로 흡수되는데 충분한 시간, 통상적으로 처음투여후 약 15분 내지 약 24시간, 바람직하게는 투여후 24시간 내지 48시간이 지난후 대상에게 투여된다. 제1항체가 정맥내 투여되지 않은 경우에는, 동일한 비경구적 경로를 통해 최소한 일부의 제2항체를 투여하는 것이 바람직할 수 있다. 그러나, 순환계 내로 확산된 제1항체의 제거를 촉진하기 위해 제2항체를 최소한 일부를 정맥내 주사하는 것이 바람직하다. 통상적으로, 영상화제 결합체 및 제거를 위한 제2항체는 동맥내 또는 정맥내 투여될 것이다.

유입되는 제2항체의 양은 통상적으로, 약 0.3시간 내지 약 24시간내에 순환성 제1항체를 10 내지 85% 정도 감소시킬 수 있는 양일 것이다. 제거에 영향을 주게 될, 제1항체에 대한 제2항체의 비는 제1항체 및 제2항체쌍의 결합특성에 좌우될 것이다. 생체외 환자 혈액을 예비 스크린하여 적당한 비율을 산출할 수 있다. 스크린은, 예를들어 겔 확산 테스트에서 침강소 밴드를 수득하는데 요구되는 제1항체에 대한 제2항체의 비를 판정하는데 사용될 것이다. 이로써 제1항체에 대한 제2항체의 몰비의 통상적인 범위를 알 수 있는데, 이것은 비율에 대한 보다 낮은 한계의 측정치로서 간주된다. 이는, 생체내 용도에서는 생체외 테스트에 의해 나타난 것보다 제1항체에 대한 제2항체의 비가 높아야 하기 때문이다.

실제로, 제1항체에 대한 제2항체의 몰비는 통상적으로 약 5-50 이내일 것이나, 이 범위로 제한되는 것은 아니다. 제1항체 및 제2항체가 모두 전체 IgG인 경우에는 제1항체에 대한 제2항체의 몰비가 15-25, 바람직하게는 20-25인 것이 바람직하다.

순환하는, 표식된 제1항체를 제거하고 제1항체의 편중화비를 상승시키는데 제2항체를 사용하는 것은 상기 골든버그 특허와 본문중에 언급된 참고문헌에 개시된 바와 같이 영상-강화 제거기법을 사용함으로써 부가로 강화될 수 있다. 이는, 독립검출할 수 있는 방사성핵종으로 표식된 관련없는 단편 또는 항체를 비-표적 배경수준을 평준화하는데 이용하기 위해 투여하는 당해 기술분야에 공지된 방법이다. 이 항체는 영상화하는데 필요한 기간동안 제1항체와 거의 동일한 분포 및 대사 역학을 지닌다. 그러한 항체의 주사는 Tc-99m 표식된 혈청알부민과 같은 종래의 제거제보다 바람직하나, 상기 종래방법은 배경을 보충함으로써 상처리를 증강시키는데 사용하기 적당하다. 방사성 표식된 무관한 항체를 제거제로서 사용함으로써 순환계에서 항체를 제거하는 기관으로부터 비타겟 배경 방사선에 대해 컴퓨터처리 정정이 가능하다. 제1단일클론항체 및 제거제로서 사용된 무관한 항체는 동일종 또는 골수종/잡종에서 취하여, 제2항체가 거의 동일한 비율로 비타겟 영역에서 제1단일클론항체 및 무관한 항체 면역글로블린을 제거하는 것이 바람직하다는 점을 당업자들은 알고 있다. 또한 제2항체는 제1면역글로블린 및 무관한 면역 글로블린류의 정상부에 특이성을 지니는 것이 바람직하다.

이들 결합체의 타겟화 선택성은 혈전증, 색전증, 동맥경화성 반점 및 다른 심장혈관 병변에 작용하는 약물의 효과를 증명하는 용도로서 사용될 수 있다.

[실시예 1]

[다특이성 항-백혈구/항-미오신 결합체]

이특이성 $F(ab')_2$ 항체 단편 합성물은 과립세포에 높은 특이성을 지닌 단일클론 항체의 Fab' 단편 및 심장미오신에 특이성을 지닌 단일클론 항체의 Fab' 단편으로 제조하였다. 경-중쇄 분해를 방지하도록 주의하면서, 쇄간의 디설파이드 브릿지를 시스테인으로 조심스럽게 환원시켜 Fab'-SH 단편을 형성하였다. 하나의 항체의 SH기(들)은 과량의 비스-말레이미드 링커(1,1'-(메틸렌디-1,4-페닐렌)비스말레이미드(알드리히

케미칼 컴패니, 밀워키, WI))로써 활성화 하였다. 제2단일클론 항체도 또한 Fab'-SH로 전환시킨 후 활성화된 제1항체단편과 반응시켜 이특이성 합성물을 수득하였다. 합성물은 2-이미노티올란과 반응함으로써 상기된 바와 동일한 비스-말레이미드 활성화 방법을 사용하여 상기 합성물을 제3항체/단편과 결합시키는데 유용한, 또는 환원된 퍼테크네네이트로부터의 Tc-99m(예, $SnCl_2$)로써 직접 금속화하는데 유용한 하나 또는 그 이상의 설프히드릴기가 도입될 수 있다. 합성물의 제3항체는 다른 2개중 하나와 동일한 항원 특이성을 지니거나, 단핵 세포에 대해서는 같은 전혀 다른 특이성을 지닐 수 있다. 영상화하는데 유용한 다른 몇 개의 방사성 핵종(예, 100 내지 500KeV 이내의 것)중 하나 또는 Tc-99m와 결합된 이 합성물은 조기 및 말기 단계의 심근 경색증을 영상화하는데 유용하다.

[실시예 2]

[항체 혼합물(칵테일)]

실시예 1에 사용된 동일한 항체는 조기 및 말기 심근경색을 우수하게 영상화하기 위해 항체 단편 또는 서브-단편의 혼합물로서 투여될 수 있다.

본 실시예에서는, 항-미오신 항체(Khaw 외 다수의, Circulation 57:743-750, 1978; Khaw 외 다수의, J. Clin. Invest. 58:439-446, 1976; Khaw 외 다수의, Hybridoma 3:11-23, 1984에 기재), 바람직하게는 단일클론 항체 R11D10 Fab'(Khaw 외 다수의, Hybridoma 3:11-23, 1984에 기재)를 항-과립세포 항체 Fab'와 합성하여 상기 단편을 비경구투여하기 위해 Tc-99m으로 표식한다. 이 혼합물은 실시예 1의 합성물과 거의 같은 결과를 낸다.

[실시예 3]

[심장혈관 영상화 항체]

인체 과립세포에 선택성을 지닌 단일클론 항체, 예를들어 NCA-교차반응성항체로부터 항-백혈구 항체, 바람직하게는 항-과립세포 항체 영상화제를 제조한다. 미합중국 특허출원 제07/408,241호에 기재된 바와 같이, 항체 항-CEA를 Fab'-SH 단편으로 전환시킨 후 주석이온(Ⅰ)과 합성함으로써 환원된 퍼테키테이트로부터의 Tc-99m으로 거의 순간적으로 표식한다. 동맥경화성 반점, 혈전증 및 색전증과 같은 다수의 심장혈관 병변을 영상화하는데 이 단일 항체 제제가 사용된다.

[실시예 4]

[섬광계수적 영상화키트]

진단 영상화키트에는, 고무격막이 고정되어 있고, 실시예 1,2, 또는 3의 티올-활성화 항체(들), 및 동결건조된 제제 형태의 주석(Ⅰ)이온이 수용된 제1무균바이알 및 제제를 표식 및 주사하기 위한 무균주사기가 장착되어 있다.

[실시예 5]

[심근경색증의 진단 영상화]

심한 흉부통을 호소하는 무의식상태의, 회귀성 협심증 병력이 있는 67세 남자를 응급실에 입원시켰다. 흉부통이 약 40분전에 있었던 것을 환자를 통해 확인하였다. 환자에게 실시예 3의 제제를 0.25mg(Tc-99m, 15mCi) 정맥내 투여하고, 30분후, 다시 2시간후에 SPECT 로써 조사하였다. 조사해본 결과 좌심실의 끝부분에 Tc-99m이 흡수된 것으로 밝혀졌으며, 2시간 후의 조사를 통해서는 판독을 통해 더욱 확실시 되었으나, 병변은 이미 조기에 검출 가능했다. 이어진 EKG 변화를 통해 조기 경색증임을 알았으나, 불규칙적인 특성으로 인해 확실한 진단을 할 수 없었다. 이어서, 탈륨으로의 연구는 심장의 동일한 부위에서의 손상을 나타냈으며, 이로써 항-과립세포 항체 제제로써 매우 조기에 검출이 가능함을 알 수 있었다. 또한 나중의 EKG를 통해, 한정파 불규칙성이 영상화되는 바와 일치함을 알 수 있었다.

[실시예 6]

[심정맥 혈전증의 진단 영상화]

종아리에 부종 및 홍반이 있는 82세 여자에게 즉시 헤파린을 투여하였다. 왼쪽팔에 항-과립세포 항체 Fab', 항-피브린 항체 Fab', 및 피브린 단편 E_1의 합성물 혼합물(각 투여량은 0.2mg이고 총 20mCi의 Tc-99m로 표식)을 정맥내 주사하였다. 30분후 찍은 평면상을 통해, 오른쪽 다리의 종아리부위, 오른쪽 경골 정맥부위에 방사능이 축적되어 있음이 명백히 증명되었다. 신체의 다른 부위에는 방사능의 증가가 없었다. 다음날 대조 베노그램을 통해 후경골 정맥에만 심정맥 혈전증이 존재함을 확인하였다. 처음 항체-영상화 연구를 시행하고 3일후, 동일한 항체 혼합물을 투여한 후, 동일한 영상화결과를 수득하였는데, 이로써 조기 및 말기에 혈전증의 영상화가 가능함을 알 수 있었다.

상기 실시예는 실시예에 사용되는 것들 대신 본 발명에 구체적으로 기재된 반응물 및/또는 작동조건을 사용하여 유사하게 반복할 수 있다.

상기된 바를 통해, 당업자는 본 발명의 기본특성을 쉽게 이해할 수 있으며, 본 발명의 기술사상 및 영역에서 벗어나지 않는 한 본 발명의 다양한 용도 및 조건에 적합하도록 다양하게 변경 및 조절할 수 있다.

(57) 청구의 범위

청구항 1

하나 이상의 영상화제(imaging agent)에 결합된 2개 이상의 다른 단일특이성항체 또는 항체 단편으로 이루어진 면역 반응성 다특이성 합성물을 포함하고, 상기 항체 또는 항체단편 하나 이상은 일종의 백혈구에 특이적으로 결합하고, 상기 항체 하나 이상은 피브린-, 미오신-, 또는 혈소판-관련 항원으로 이루어진 군중에서 선택된 항원에 특이적으로 결합하는, 심장혈관 병변을 타겟화하기 위한 다특이성 항체-제제 결합

제.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 백혈구가 과립세포, 단핵구, B-림프세포 및 T-림프세포로 이루어진 군중에서 선택되는 다특이성 결합체.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 각 항체 또는 항체 단편이 단일클론 항체 또는 단편인 다특이성 결합체.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 단일특이성 항체 단편이 각각 $F(ab')_2$, Fab', Fab, Fv 또는 단일쇄 항체 단편인 다특이성 결합체.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 항체 단편이 단일클론 항체의 각 단편인 다특이성 결합체.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 영상화제가 50-500KeV 이내의 감마선을 방사하는 방사성 동위원소인 다특이성 결합체.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 방사성 동위원소가 Tc-99m, I-123, Ga-67 또는 In-111인 다특이성 결합체.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 영상화제가 자기 공명 상 강화제인 다특이성 결합체.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 단편 하나 이상이 Ia(DR) 항원에 특이적으로 결합하는 다특이성 결합체.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 심장혈관 병변이 심근경색 또는 동맥경화성 반점인 다특이성 결합체.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 항체 또는 단편 하나 이상이 백혈구에 특이적으로 결합하고 상기 항체 또는 항체 단편 하나 이상은 미오신에 결합하는 다특이성 결합체.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 백혈구가 과립세포 또는 단핵세포인 다특이성 결합체.

청구항 13

제1항에 있어서, 상기 심장혈관 병변이 혈전중 또는 폐 색전중인 다특이성 결합체.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 단편 하나 이상이 백혈구에 특이적으로 결합하고 상기 항체 또는 항체 단편 하나 이상은 피브린에 특이적으로 결합하는 다특이성 결합체.

청구항 15

제13항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 단편 하나 이상이 백혈구에 특이적으로 결합하고 상기 항체 또는 항체 단편 하나 이상은 혈소판 또는 활성화된 혈소판에 결합하는 다특이성 결합체.

청구항 16

제13항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 단편 하나 이상이 백혈구에 특이적으로, 결합하고, 상기 항체 또는 항체 단편 하나 이상은 피브린에 특이적으로 결합하며, 상기 다특이성 결합체중 제3항체 또는 항체 단편은 혈소판에 특이적으로 결합하는 다특이성 결합체.

청구항 17

2개 이상의 다른 단일특이성 항체 또는 항체단편을 포함하는 다특이성 합성물을 적당한 용기내에 포함하고, 상기 항체 또는 항체 단편 하나 이상은 일종의 백혈구에 특이적으로 결합하며 상기 항체 하나 이상은 피브린, 미오신, 또는 혈소판과 관련된 항원으로 이루어진 군중에서 선택된 항원에 특이적으로 결합하고, 상기 합성물은 방사성 동위원소로써 표식하기 위해 변성 또는 예비처리되는, 심장혈관 병변을 생체내 검출하는데 사용하기 적당한 키트.

청구항 18

제17항에 있어서, 주석(Ⅰ)이온을 더 포함하는 키트.

청구항 19

제17항에 있어서, 상기 합성물이 킬레이트제에 결합되는 키트.

청구항 20

제17항에 있어서, 제2용기내에 상기 합성물 또는 그것의 성분에 특이적으로 결합하는 제2의 비표식된 항체 또는 항체단편을 더 포함하는 키트.

청구항 21

하나 이상의 영상화제에 결합된 2개 이상의 다른 단일 특이성 항체 또는 항체 단편으로 이루어진 면역 반응성 다특이성 합성물을 포함하고, 상기 각 항체 또는 항체 단편은 피브린-, 미오신-, 또는 혈소판-관련 항원으로 이루어진 군중에서 선택된 다른 항원에 특이적으로 결합하는 심장혈관 병변을 타겟화하기 위한 다특이성 항체-제제 결합체.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 각 항체 또는 항체 단편이 단일클론 항체 또는 항체 단편인 다특이성 결합체.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 단일특이성인 항체 단편이 각각 $F(ab')_2$, Fab', Fab, Fv 또는 단일쇄 항체 단편인 다특이성인 결합체.

청구항 24

제21항에 있어서, 단편이 단일클론 항체의 각 단편인 다특이성 결합체.

청구항 25

제21항에 있어서, 상기 영상화제가 50-500KeV 이내의 감마선을 방사하는 방사성 동위원소인 다특이성 결합체.

청구항 26

제25항에 있어서, 상기 방사성 동위원소가 Tc-99m, I-123, Ga-67 또는 In-111인 다특이성 결합체.

청구항 27

제21항에 있어서, 상기 영상화제가 자기 공명 상 강화제인 다특이성 결합체.

청구항 28

제21항에 있어서, 상기 심장혈관 병변이 심근경색 또는 동맥경화성 반점인 다특이성 결합체.

청구항 29

제21항에 있어서, 상기 심장혈관 병변이 혈전증 또는 폐 색전증인 다특이성 결합체.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 단편 하나 이상의 피브린에 특이적으로 결합하고 상기 항체 또는 항체 단편 하나 이상은 혈소판, 활성화된 혈소판, 또는 다른 혈소판 항원에 결합하는 다특이성 결합체.

청구항 31

2개 이상의 다른 단일특이성 항체 또는 항체단편을 포함하는 다특이성 합성물을 적당한 용기내에 포함하고, 상기 각 항체 또는 항체 단편은 피브린-, 미오신-, 또는 혈소판- 관련 항원으로 이루어진 군중에서 선택된 다른 항원에 특이적으로 결합하고, 상기 합성물은 방사성 동위원소로써 표식하기 위해 변성 또는 예비처리되는, 심장혈관 병변을 생체내 검출하는데 사용하기 적당한 키트.

청구항 32

제31항에 있어서, 주석(Ⅰ)이온을 더 포함하는 키트.

청구항 33

제31항에 있어서, 상기 합성물이 킬레이트제에 결합된 키트.

청구항 34

제31항에 있어서, 상기 다특이성 합성물 또는 그것의 성분에 특이적으로 결합하는 제2의 비표식된 항체 또는 항체단편을 제2용기내에 더 포함하는 키트.

청구항 35

타겟화하고 영상화하는데 유효량의 제1항 내지 제16항중 어느 한항의 다특이성 결합체를 활성성분으로 포함하고, 상기 결합체가 포유동물에게 주사되어 상이 수득되는, 심장 혈관 병변을 영상화하는 방법에 사용하기 위한 약제.

청구항 36

제35항에 있어서, 상기 다특이성 결합체 또는 이들 성분에 특이적으로 결합하는 제2의 비표식된 항체 또는 항체단편을 별도의 제제로서, 상기 다특이성 결합체의 편중화비를 약 0.3 내지 약 24시간내에 약 20% 이상까지 증가시키기에 충분한 양만큼 포함하는 약재.

청구항 37

제35항에 있어서, 인체에 사용하기 위한 무균 주사제제 형태이며 약학적 허용 무균 주사 부형제를 추가로 포함하는 약제.

청구항 38

타겟화하고 영상화하기 위한 유효량의 단일 특이성 결합체를 활성성분으로 포함하고, 상기 결합체는 일종의 백혈구에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편을 포함하고, 상기 항체 또는 항체 단편은 영상화제에 결합되며, 상기 결합체가 포유동물에게 주사되어 상이 수득되는, 심장 혈관 병변의 영상화시 사용하기 위한 약제.

청구항 39

제38항에 있어서, 상기 영상화제가 방사성 동위원소이고, 상기 상은 섬광계수상인 약제.

청구항 40

제38항에 있어서, 상기 영상화제가 50-500KeV 이내의 감마선을 방사하는 방사성 동위원소인 약제.

청구항 41

제38항에 있어서, 상기 백혈구가 과립세포, 단핵세포, B-림프세포 및 T-림프세포로 이루어진 군중에서 선택되는 약제.

청구항 42

제38항에 있어서, 상기 단일특이성 항체 단편이 $F(ab')_2$, Fab', Fab, Fv 또는 단일쇄 항체 단편인 약제.

청구항 43

제40항에 있어서, 상기 심장혈관 병변이 심근경색, 동맥경화성 반점, 색전증 및 혈전증으로 이루어진 군중에서 선택되고, 상기 영상화제는 Tc-99m인 약제.

청구항 44

타겟화하고 영상화하는데 유효량의 제21항 내지 제30항중 어느 한항의 다특이성 결합체를 활성성분으로 포함하고, 상기 결합체가 포유동물에게 주사되어 상이 수득되는, 심장혈관 병변을 영상화하는데 사용하기 위한 약제.

청구항 45

제44항에 있어서, 상기 다특이성 결합체 또는 이들 성분에 특이적으로 결합하는 제2의 비표식된 항체 또는 항체단편을 별도의 제제로서, 상기 다특이성 결합체의 편중화비를 약 0.3 내지 약 24시간내에 약 20% 이상까지 증가시키기에 충분한 양만큼 포함하는 약제.

청구항 46

제44항에 있어서, 인체에 사용하기 위한 무균 주사 제제 형태이며 약학적 허용 무균 주사 부형제를 추가로 포함하는 약제.