



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2014-0053816  
 (43) 공개일자 2014년05월08일

- |  |  |
|--|--|
| (51) 국제특허분류(Int. Cl.)<br>A61K 39/385 (2006.01) A61K 39/39 (2006.01)<br>C07K 7/04 (2006.01) C07K 7/06 (2006.01)<br>A61K 39/00 (2006.01)<br>(21) 출원번호 10-2013-7013674<br>(22) 출원일자(국제) 2011년12월21일<br>심사청구일자 없음<br>(85) 번역문제출일자 2013년05월28일<br>(86) 국제출원번호 PCT/EP2011/073599<br>(87) 국제공개번호 WO 2012/085090<br>국제공개일자 2012년06월28일<br>(30) 우선권주장<br>10196232.2 2010년12월21일<br>유럽특허청(EPO)(EP) | (71) 출원인<br>아피리스 아게<br>오스트리아 비엔나 칼-파카스-가쎄 22 (우: 1030)<br>(72) 발명자<br>슈타플러, 쿤터<br>오스트리아 아-1030 비엔나 유희가쎄 8/10<br>란들링어, 크리스티네<br>오스트리아 아-1120 비엔나 쾨브룬너슈트라쎄<br>223/10<br>마트너, 프랑크<br>오스트리아 아-1190 비엔나 지베어링어슈트라쎄<br>190<br>(74) 대리인<br>특허법인 남앤드남 |
|--|--|

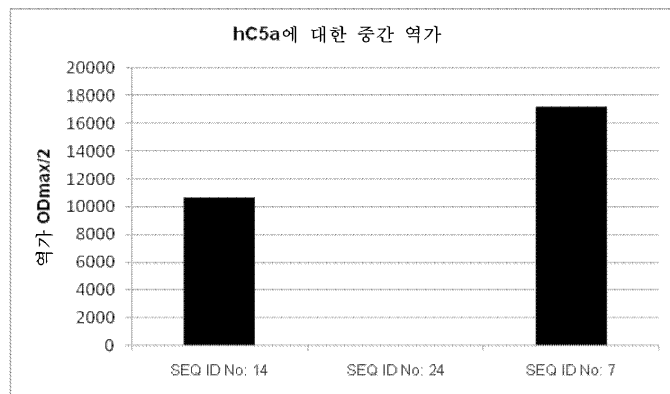
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 **보체 단백질 C 5 A의 펩티드를 기초로 한 백신**

**(57) 요약**

본 발명은 적어도 하나의 T 세포 에피토프를 포함하는 담체 단백질에 커플링되거나 융합된 아미노산 서열 LRANISHKDMQLGR (SEQ ID No: 1) 또는 이의 펩티드 단편 (SEQ ID No: 2-13)으로 구성되는 적어도 하나의 펩티드를 포함하는 백신에 관한 것으로, 상기 펩티드 단편이 아미노산 서열 HKDMQLGR (SEQ ID No: 16) 및 HKDMQLG (SEQ ID No: 22)로 구성되지 않는 규정 하에서 상기 펩티드 단편은 적어도 7개의 아미노산 잔기 및 아미노산 서열 KDMQLGR (SEQ ID No: 7) 또는 KDMQLG (SEQ ID No: 23)를 포함한다.

**대표도** - 도1



## 특허청구의 범위

### 청구항 1

적어도 하나의 T 세포 에피토프를 포함하는 담체 단백질에 커플링되거나 융합된 아미노산 서열 LRANISHKDMQLGR (SEQ ID No: 1) 또는 이의 펩티드 단편으로 구성되는 적어도 하나의 펩티드를 포함하는 백신으로서, 상기 펩티드 단편이 아미노산 서열 HKDMQLGR (SEQ ID No: 16) 및 HKDMQLG (SEQ ID No: 22)로 구성되지 않는 규정 하에서 상기 펩티드 단편이 적어도 7개의 아미노산 잔기 및 아미노산 서열 KDMQLGR (SEQ ID No: 7) 또는 KDMQLG (SEQ ID No: 23)를 포함하는, 백신.

### 청구항 2

제 1항에 있어서, 펩티드 단편이 아미노산 서열 KDMQLGR (SEQ ID No: 7)을 포함함을 특징으로 하는 백신.

### 청구항 3

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 펩티드 단편이 ANISHKDMQLGR (SEQ ID No: 3), RANISHKDMQLGR (SEQ ID No: 2), NISHKDMQLGR (SEQ ID No: 4), ISHKDMQLGR (SEQ ID No: 5), SHKDMQLGR (SEQ ID No: 6), KDMQLGR (SEQ ID No: 7), LRANISHKDMQLG (SEQ ID No: 8), RANISHKDMQLG (SEQ ID No: 9), ANISHKDMQLG (SEQ ID No: 10), NISHKDMQLG (SEQ ID No: 11), ISHKDMQLG (SEQ ID No: 12) 및 SHKDMQLG (SEQ ID No: 13)으로 구성되는 군으로부터 선택됨을 특징으로 하는 백신.

### 청구항 4

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서, KDMQLGR (SEQ ID No: 7)을 포함하는 LRANISHKDMQLGR (SEQ ID No: 1)의 펩티드 단편이 ANISHKDMQLGR (SEQ ID No: 3), RANISHKDMQLGR (SEQ ID No: 2), NISHKDMQLGR (SEQ ID No: 4), ISHKDMQLGR (SEQ ID No: 5), SHKDMQLGR (SEQ ID No: 6), KDMQLGR (SEQ ID No: 7)으로 구성되는 군으로부터 선택됨을 특징으로 하는 백신.

### 청구항 5

제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항에 있어서, 아미노산 서열 LRANISHKDMQLGR (SEQ ID No: 1) 또는 이의 펩티드 단편으로 구성되는 적어도 하나의 펩티드가 이의 N-말단에 직접 결합되거나 스페이스(spacer) 서열을 통해 결합된 적어도 하나의 시스테인 잔기를 포함함을 특징으로 하는 백신.

### 청구항 6

제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항에 있어서, 담체가 단백질 담체임을 특징으로 하는 백신.

### 청구항 7

제 6항에 있어서, 단백질 담체가 키홀 림펫 헤모시아닌(keyhole limpet haemocyanin, KLH), 파상풍 독소이드(TT) 또는 디프테리아 독소(DT)로 구성되는 군으로부터 선택됨을 특징으로 하는 백신.

### 청구항 8

제 1항 내지 제 7항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물이 애쥬번트와 함께 제형화되고, 바람직하게는 명반(alum)에 흡착됨을 특징으로 하는 백신.

### 청구항 9

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 보체-매개 장애의 치료에서 사용하기 위한 백신.

### 청구항 10

제 9항에 있어서, 보체-매개 장애가 염증성 질병, 바람직하게는 만성 염증성 질병임을 특징으로 하는 백신.

### 청구항 11

제 10항에 있어서, 염증성 질병이 연령-관련 황반 변성(age-related macular degeneration, AMD), 신경변성 장애(neurodegenerative disorder), 바람직하게는, 알츠하이머병(Alzheimer's disease), 파킨슨병(Parkinson's disease) 또는 헌팅턴병(Huntington's disease), 천식(asthma), 죽상경화증(atherosclerosis), 혈관염(vasculitis), 피부염(dermatitis), 바람직하게는 건선(psoriasis) 및 두드러기(urticaria), 용혈 요독 증후군(hemolytic uremic syndrome), 류머티스 관절염(rheumatoid arthritis), 길랑-바레 증후군(Guillain-Barre syndrome), 다발경화증(multiple sclerosis), 항인지질 증후군(antiphospholipid syndrome), 용혈 요독 증후군(hemolytic uremic syndrome), 및 전신 홍반 루푸스(systemic lupus erythematosus, SLE)로 구성되는 군으로부터 선택됨을 특징으로 하는 백신.

**청구항 12**

제 9항에 있어서, 보체-매개 장애가 허혈/재관류 손상(ischemia/reperfusion injury), 급성 폐 손상(acute lung injury), 급성 호흡 곤란 증후군(acute respiratory distress syndrome), 패혈증(sepsis), 암(cancer), 임신 합병증(pregnancy complication), 예를 들어, 자간전증(preeclampsia), 반복 자연 유산(recurrent spontaneous abortion), 자궁내 성장 지연(intra-uterine growth retardation) 및 항인지질 증후군(antiphospholipid syndrome), 및 혈액투석-관련 혈전증(hemodialysis-associated thrombosis)으로 구성되는 군으로부터 선택됨을 특징으로 하는 백신.

**명세서**

**발명의 내용**

- [0001] 본 발명은 보체 성분 C5a 유도성 만성 염증 질병을 예방하고/하거나 치료하기 위해 의약, 면역학 및 분자생물학 분야에서 사용되는 약제에 관한 것이다.
- [0002] 보체는 바이러스, 박테리아, 및 다른 외래 및 비정상 세포와 같은 미생물로부터 숙주를 보호하는 작용을 하는 선천면역계의 중추 성분이다. 그러나, 보체 시스템의 부적절하거나 과도한 활성화는 숙주 자체에 대한 파괴적 능력을 야기시킬 수 있다. 조절되지 않는 보체 활성화는 다수의 신경변성 질병, 예를 들어, 알츠하이머병(Alzheimer's disease), 파킨슨병(Parkinson's disease) 및 헌팅턴병(Huntington's disease), 만성 염증 질병(chronic inflammatory disease), 예를 들어, 연령-관련 황반 변성(age-related macular degeneration), 류머티스 관절염(rheumatoid arthritis), 전신 홍반 루푸스(systemic lupus erythematosus, SLE), 항인지질 증후군(antiphospholipid syndrome, APS), 천식(asthma), 혈관염(vasculitis), 죽상경화증(atherosclerosis), 다발경화증(multiple sclerosis), 염증성 피부염(inflammatory dermatitis), 예를 들어, 건선(psoriasis) 및 만성 두드러기(chronic urticaria), 길랑-바레 증후군(Guillain-Barre syndrome), 및 용혈 요독 증후군(hemolytic uremic syndrome)과 관련된다.
- [0003] 조절되지 않는 보체 활성화는 또한 암(cancer), 임신 합병증(pregnancy complication), 예를 들어, 자간전증(preeclampsia) 및 APS, 급성 병리 질환, 예를 들어, 패혈증(sepsis), 급성 폐 손상(acute lung injury), 급성 호흡 곤란 증후군(acute respiratory distress syndrome, ARDS), 허혈-재관류 손상(ischemia-reperfusion injury), 및 혈액투석-관련 혈전증(hemodialysis-associated thrombosis)을 발생시키는 인공 표면에서 발생할 수 있다.
- [0004] 상기 질환들에서 관찰되는 많은 독성 효과는 염증 반응을 촉진하고 영구화시키는 아나필락시스독소 C5a의 과도한 생성에 기인된다. C5a의 주요 기능은 가용성 면역 매개체를 방출하는 과립구, 비만세포, 및 대식세포의 화학주성 및 활성화이다. 따라서, 보체 활성화의 억제 또는 조절은 여러해 동안 유망한 치료 방법으로 인식되어 왔다.
- [0005] 대부분의 보체 단백질은 비활성 전구체로 혈장에 존재하고, 이들은 고전적 경로, 렉틴-유도성 경로, 및 대체 경로의 3개의 상이한 메커니즘에 의하여 단백질분해성 캐스케이드(cascade)로 서로 절단하고 활성화시킨다. 3개 모두의 활성화 캐스케이드의 최종 결과는 반응의 대량 증폭, 및 아나필락시스독소 C3a 및 C5a 및 세포-사멸 막 공격 복합체(MAC), 세포의 용해를 야기시키는 포어(pore)의 형성이다.
- [0006] 고전적 경로는 주로 항원-항체 복합체에 의해 활성화된다. 온전한 고분자 C1 단백질이 적어도 2개의 항원 결합된 항체의 노출된 영역에 결합하는 경우, C1r 및 C1s 서브유닛이 활성화된다. 활성화된 C1s는 다음 2개의 관련 보체 성분 C4 및 C2의 절단을 담당한다. C4는 2개의 단편으로 절단된다. 보다 큰 C4b 분자는 표적 막 가까이

에 부착되는 반면, 작은 C4a 분자는 떠돌아 다닌다. 다시, 활성화된 C1s는 C2 분자를 절단하여, C2b 및 C2a를 발생시키며, C2a는 방출된다. 막에 결합된 채로 남아있는 것은 C3 전환효소로도 공지된 C4b2a이며, 이는 다음 보체 성분 C3를 이의 활성 형태로 전환시킨다. C3 전환효소는 다수의 C3를 보다 큰 C3b 및 보다 작은 C3a 단편으로 분할시킨다. 이후, 비활성으로 복귀하기 전에 수백 내지 수천개의 C5 보체 성분의 C5a 및 C5b로의 절단을 촉매하는 이종삼합체 복합체 C4b2a3b의 어셈블리에 의해 C5 전환효소가 형성된다. C5a는 떠돌아 다니고, 염증에 기여하는 반면, C5b 단편은 항원 표면에 결합하여 막 공격 복합체(MAC)의 형성을 개시시킨다.

[0007] 두번째 보체 활성화 경로는 렉틴-결합 경로이다. 이러한 경로는 만노스-결합 렉틴(MBL)-관련 세린 프로테아제 MASP-1 및 MASP-2를 활성화시키는 병원체 표면 상의 만노스 잔기에 대한 MBL 또는 피콜린(ficolin)의 결합에 의해 촉발된다. 이후, MASP는 C4를 C4a 및 C4b로 분할시키고, C2를 C2a 및 C2b로 분할시켜, 고전적 경로 C3 및 C5 전환효소의 형성을 발생시킬 수 있다.

[0008] 대체 경로는 병원체의 탄수화물 및 지질을 함유하는 표면 분자에 의해 직접 개시된다. 보체 성분 C3는 낮은 수준으로 자발적으로 절단된다. C3b 성분은 외래 및 숙주 세포 둘 모두에 똑같이 다수의 상이한 표면에 부착될 수 있다. C3b는 대부분의 포유동물 세포 표면에서 발견되는 시알산에 의해 신속히 비활성화된다. 시알산이 결합된 대부분의 미생물은 C3b 침착에 대한 안정적 부위이다. 막-결합된 C3b 단편은 B 인자에 의해 결합되고, 이는 차례로 D 인자에 의해 절단된다. 단편 Ba는 방출되는 반면, Bb는 C3b와 결합된 채로 있다. 생성된 C3bBb 분자는 대체 경로 C3 전환효소이다. C3b 분자는 부착된 채로 남아 대체 경로 C5 전환효소 C3bBb3b를 형성한다. 이러한 효소는 C5를 C5a 및 C5b로 절단한다. C5b 분자는 막과 결합된 상태로 남아있고, C6 내지 C9와 결합하여 MAC를 형성하는 반면, C5a는 아나필락시스독소로 작용한다.

[0009] 보체 성분 C5는 190 kDa 단백질이며, 2개의 사슬( $\alpha$  115 kDa 및  $\beta$  75 kDa)을 포함한다. 어느 한 보체 경로의 활성화는 C5를 C5b 및 효능있는 아나필락시스독소 C5a로 절단할 수 있는 C5 전환효소를 발생시킬 수 있다. C5의 절단 후, C5a 단편 상에 C-말단 네오에피토프(neoepitope)가 형성된다.

[0010] 인간 C5a는 12-14.5 kDa의 분자량을 갖는 74개의 아미노산 당단백질이다. 생물학적 활성화에 필수적이진 않지만, 생체내에서 C5a 활성을 조절할 확률이 매우 높은 N-결합된 탄수화물 모이어티를 갖는 아스파라긴이 위치 64에 위치된다. NMR 분광법은 3개의 이황화결합에 의해 안정화되고 루프 세그먼트에 의해 연결되는 4개의 상이한 나선형 세그먼트인 4개의 역평행 나선 다발을 나타내었다. N-말단 상에서, 짧은 1.5 턴(turn) 나선이 또한 존재한다. C5a는 매우 다양한 세포, 특히 대식세포, 호중구, 비만세포 및 T 세포와 같은 면역 세포의 표면에서 편재성으로 발현되는 2개의 7-막횡단 도메인 수용체 C5aR(CD88) 및 C5L2(gpr77)에 결합한다. C5aR의 리간드-결합 부위는 복잡하며, 적어도 2개의 물리적으로 분리가능한 결합 도메인으로 구성된다. 하나는 C5a 이황화-결합된 코어(아미노산 15-46)에 결합하는 한편, 두번째 것은 C5a 카르복시-말단 단부(아미노산 67-74)에 결합한다. 리간드 C5a에 대한 C5aR의 결합 친화성은 매우 높으며, 약 1nM의 해리상수( $K_D$ )를 나타낸다. 그러나, C5a는 혈청 및 세포 표면 카르복시-펩티드분해효소에 의해 73개의 아미노산 형태 C5a desArg로 신속하게 대사되며, 여기서 C5aR에 대한 결합 친화성은 10 내지 100배 감소된다.

[0011] N-말단 영역 잔기 1-16, 중간 영역 잔기 17-36, 및 C-말단 영역 잔기 58-77의 래트 C5a의 3개의 펩티드 영역에 대해 토끼 폴리클로날 항체가 발생된 한편, 항-C-말단 항체는 래트에서의 실험 패혈증에서 최적의 보호 효과를 나타내었다(Huber-Lang, Sarma et al. 2001, FABSEB J 15(3): 568-70).

[0012] 또한, 돼지 C5a의 생물활성을 중화시키는 돼지 C5a의 C-말단 네오에피토프(위치 57-74)에 대한 모노클로날 항체가 기재되었다(Hopken, Mohr et al. 1996, Eur J Immunol 26 (5): 1103-9). 주요 질병의 병태생리학에서의 보체의 중추적 역할은 이를 약학 산업을 위한 흥미로운 표적으로 만든다. 보체의 임상적 대응, 억제 또는 조절을 위한 다수의 방법이 개발되었다. 그러나, 지금까지 FDA에 의해 승인된 유일한 보체 특이적인 약물은 발작성야간혈색뇨(PNH)의 적응증에 대한 SOLIRIS®(Eculizumab)이다. 이러한 모노클로날 항체는 보체 단백질 C5를 표적으로 하여, 절단 생성물 C5a 및 C5b의 생성을 방지한다.

[0013] C5에 결합하고 C5a 및 C5b로의 분리를 차단하는 다른 모노클로날 항체가 생성되었고, 보체 시스템의 조절되지 않는 활성화로부터 유래되는 조직 손상 관련 질병의 치료에서의 사용에 대해 제안되었다(WO 95/29697, WO 2004/022096, US 2006/0115676, EP 1 878 441). C5 및 C5a에 결합하나, C5b의 활성화를 방지하지 않는 항체는 항체 MAb137-26(US 7,432,356)이다. 절단 생성물 C5a에 특이적으로 결합하는 항체가 성인 호흡 곤란 증후군(ARDS)(WO 86/05692) 및 유해한 혈관내 보체 활성화(EP 0 245 993)의 치료에 대해 연구되었다. 또한, C5a 수용체(C5aR)에 반응성이고 이에 의해 추정상 C5a와 C5aR의 결합을 감소시키거나 억제하는 모노클로날 항체의 사용이 면역병리학 장애의 치료에서 제안되었다(WO 2003/062278, NZ 538384, JP 8109200). 인간 C5a 수용체에

결합하는 인간화된 항-C5aR 항체의 치료제 및 진단제로서의 용도가 최근에 공개되었다(WO 2009/103113).

- [0014] 모노클로날 항체를 이용하는 수동 면역화 방법은 항체 생성의 높은 비용 및 반복된 항체 적용 후의 치료 항체 (항 약물 항체)에 대한 중화 면역 반응의 발생을 포함하는 다양한 한계와 마주하게 된다.
- [0015] C5의 C5a 및 C5b로의 절단을 방지하는 치료 항체의 적용은 재발성 감염을 발생시킬 수 있는데, 이는 박테리아를 용해시키는데 중요한 C5b 단편(MAC에 대한 시드(seed) 성분)의 생성이 방지되기 때문이다. 또한, C5 및 C5a에 접근가능하나 C5 분자의 절단을 방지하지는 않는 에피토프를 표적으로 하는 면역요법 방법은 불리한데, 이는 활성 약물 화합물(모노클로날 항체) 또는 유도된 표적 특이적 항체가 C5의 활성 형태와 비활성 형태를 구별하지 않기 때문이다. 활성 C5a의 주요 부분이 중화되는 것을 보장하는데 있어서 혈청에서의 매우 높은 항체 농도가 요구될 것이다. 혈청에서의 정상 C5 단백질 농도는 약 75  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 인 반면, C5a는 10 내지 100ng/ml의 농도에서 작용한다.
- [0016] 보체 성분 C5a 유도성 질병의 치료를 위한 수단 및 방법을 제공하는 것이 본 발명의 목적이다.
- [0017] 본 발명은 적어도 하나의 T 세포 에피토프를 포함하는 담체 단백질에 커플링되거나 융합된 아미노산 서열 LRANISHKDMQLGR (SEQ ID No: 1) 또는 이의 펩티드 단편으로 구성되는 적어도 하나의 펩티드를 포함하는 백신에 관한 것으로, 상기 펩티드 단편이 아미노산 서열 HKDMQLGR (SEQ ID No: 16) 및 HKDMQLG (SEQ ID No: 22)로 구성되지 않는 규정 하에서 상기 펩티드 단편은 적어도 7개의 아미노산 잔기 및 아미노산 서열 KDMQLGR (SEQ ID No: 7) 또는 KDMQLG (SEQ ID No: 23)를 포함한다.
- [0018] 인간 C5a의 아미노산 잔기 61 내지 74에 해당하는 펩티드 LRANISHKDMQLGR (SEQ ID No: 1) 또는 상기 펩티드의 단편이 포유동물, 특히 인간 개체에서 C5a 특이적 항체의 생체내 형성을 유도할 수 있는 것으로 판명되었다. SEQ ID No: 1의 펩티드 단편은 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개, 또는 적어도 13개의 아미노산 잔기를 포함한다. 또한, N-말단에 히스티딘 잔기를 갖는 상기 서열의 단편, 예를 들어, HKDMQLGR (SEQ ID No: 16) 및 HKDMQLG (SEQ ID No: 22)는 본 발명의 일부가 아니다. 본 발명의 바람직한 구체예에 따르면, 본 발명의 백신의 펩티드 단편은 최대 13, 12, 11, 10, 9 또는 8개의 아미노산 잔기를 포함한다.
- [0019] 상기 언급된 펩티드 중 (적어도) 1개, (적어도) 2개, (적어도) 3개 또는 심지어 (적어도) 4개를 포함할 수 있는 본 발명에 따른 백신은 포유동물, 특히 인간 개체에서의 능동 면역화를 가능케 하며, 펩티드 또는 폴리펩티드 또는 담체 단백질(T 세포 에피토프를 포함하는 분자로서)에 커플링되거나 융합되는 경우 C-말단 C5a 유래 단편을 이용한 예방접종에 의해 보체 단백질 인간 C5a에 대한 중화 항체가 유도된다. 펩티드/담체 조합은 중요한데, 이는 본 발명의 펩티드가 담체로의 커플링 없이 주사되는 경우 적절한 양의 항체를 유도하는 능력을 갖고 있지 않기 때문이다. 따라서, 본 발명의 hC5a에 대한 능동 면역화는 C5a를 기초로 하는 질병을 치료하기 위한 모노클로날 항체 요법을 이용하는 것에 비해 장점을 제공한다. 따라서, 많은 양의 항체의 반복 주입 필요, 환자의 빈번한 병원 왕래, 및 인간화된 항체의 높은 생산 비용을 포함하는 모노클로날 C5a 항체 요법의 결점이 회피될 수 있다.
- [0020] WO 2006/134125호에 바이러스 유사 입자(VLP)에 연결된 20-머(mer) C-말단 hC5a 단편(SEQ ID No: 14로 본원에서 확인되는 hC5a 위치 55-74)의 사용에 의한 hC5a에 대한 능동 면역화가 개시되어 있다. 그러나, 본 발명의 화합물(표 1)은 SEQ ID No: 14와 비교하는 경우 인간 C5a에 대해 명백히 더 높은 면역 반응을 유도할 수 있는 C-말단 hC5a-유래 펩티드를 제공한다(표 2)(도 2 및 3 참조). 또한, 본 발명의 화합물은 SEQ ID No: 14와 비교하는 경우 세포-기반 검정 뿐만 아니라 생체내 모델에서 보다 높은 기능적 활성을 나타내는 항체를 유도한다(표 1)(도 4, 5, 및 6 참조).
- [0021] 아미노산 서열 KDMQLGR (SEQ ID No: 7)을 포함하는 본 발명에 따른 화합물을 이용한 포유동물의 면역화는 상기 언급된 20-머 C-말단 hC5a 단편을 이용한 면역화보다 훨씬 높은 면역 반응을 발생시킨다. 또한, 아미노산 서열 CVVASQLRAN (SEQ ID No: 24)로 구성되는 상기 20-머의 N-말단 부분을 이용한 포유동물의 면역화는 놀랍게도 C5a 특이적 항체의 생체내 형성을 발생시키지 않았다(도 1 참조). 이는 20-머 C-말단 hC5a 단편의 모든 단편이 C5a 특이적 항체를 유도할 수 있는 것이 아님을 명백히 나타낸다.
- [0022] 그러므로, 표 1에 제시된 바와 같은 14 내지 7개의 아미노산 잔기 범위의 C-말단 hC5a 유래 단편을 이용한 예방 접종은 C5a가 중요한 역할을 하는 보체-매개 장애, 예를 들어, 급성 또는 만성 염증 질병을 완화시킨다. C5a C-말단 에피토프에 대한 펩티드-유도성 항체의 특이적 결합으로 인해, C5a 분자는 포유동물 내에서 중화될 것이며, C5a의 이의 수용체(C5aR)에 대한 결합은 차단될 것이다.

- [0023] 또한, 이러한 방법은 숙주 방어에서 중요한 역할을 하는 C5b 단편의 생성 및 기능을 방해하지 않는데, 이는 유도된 항체가 전체 C5 단백질을 인지하는 것이 아니라, 절단 생성물 C5a 상의 네오에피토프만을 인지하기 때문이다.
- [0024] C5a 단독의 C-말단의 6-8개의 잔기가 C5a 수용체에 결합하는 능력을 갖고, 더욱 중요하게는 효능제로서 작용하는 능력을 갖는 것으로 밝혀졌다. 또한, C5a 수용체의 길항 효과를 나타내는 C5a 아나필락시스독소의 다수의 고-친화성 C-말단 유사체가 공개되었다(US 6,821,950; US 6,465,614; US 5,807,824; US 2009/0117171). 상기 방법과 대조적으로, 펩티드 단독(다른 성분 없음)이 혼자 힘으로 C5aR을 차단하거나 활성화시키는데 적용되는 경우, 본 발명에서, 펩티드는 보체 단백질 C5a에 대한 특정 항체의 형성을 유도하기 위해 투여 전에 담체 단백질(또는 T 세포 에피토프를 함유하는 펩티드)에 커플링된다.
- [0025] 본 발명의 화합물/펩티드는 마지막 위치에 아르기닌을 갖거나 아르기닌을 갖지 않는 14 내지 7개의 아미노산 잔기로 구성된다(표 1: SEQ ID No: 1-13). N-말단에 아미노산 잔기 히스티딘을 갖는 펩티드를 청구되는 서열로부터 배제시켰는데, 이는 상기 펩티드(SEQ ID No: 16 및 SEQ ID No: 22)가 hC5a에 대해 기능적으로 활성인 항체를 유도하지 않았기 때문이다(도 4 및 5 참조). 특정 면역 반응을 유도하는 펩티드 및/또는 C5a에 대한 기능적으로 활성인 항체의 최소 길이는 7개의 아미노산 잔기이다(도 2, 3, 4, 및 5).
- [0026] 본 발명의 화합물/펩티드는 분리된 펩티드로서 또는 또 다른 펩티드 또는 폴리펩티드의 부분으로서, 당 분야에 널리 공지된 화학 합성 방법에 의해 합성적으로 생성될 수 있다. 대안적으로, 화합물/펩티드는 이후에 분리되고 요망시 추가로 정제되는 화합물/펩티드를 생성시키는 미생물, 예를 들어, 박테리아, 효모 또는 진균, 진핵생물 세포, 예를 들어, 포유동물 또는 곤충 세포, 또는 재조합 바이러스 벡터, 예를 들어, 아데노바이러스, 폭스 바이러스, 헤르페스바이러스, 심리키 삼림 바이러스(Simlik forest virus), 배큘로바이러스(baculovirus), 박테리오파지, 신드비스 바이러스 또는 센다이 바이러스에서 생성될 수 있다. 화합물/펩티드를 생성하기에 적합한 박테리아는 E. 콜리(*E. coli*), B. 섭틸리스(*B. subtilis*), 또는 펩티드를 발현시킬 수 있는 임의의 다른 박테리아를 포함한다. 상기 화합물/펩티드를 발현시키기에 적합한 효모 유형은 사카로마이세스 세레비지에(*Saccharomyces cerevisiae*), 스키토사카로마이세스 폼베(*Schizosaccharomyces pombe*), 캔디다 종(*Candida spp.*), 피키아 파스토리스(*Pichia pastoris*), 또는 펩티드를 발현시킬 수 있는 임의의 다른 효모를 포함한다. 상응하는 방법이 당 분야에 널리 공지되어 있다. 재조합적으로 생성된 펩티드를 분리하고 정제하는 방법이 또한 당 분야에 널리 공지되어 있고, 이는, 예를 들어, 겔 여과, 친화성 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피 등을 포함한다.
- [0027] 화합물/펩티드의 분리를 촉진하기 위해, 화합물/펩티드가 친화성 크로마토그래피에 의한 분리를 가능하게 하는 이중성 폴리펩티드에 빈역적으로 융합(공유 결합)되는 융합 폴리펩티드가 생성될 수 있다. 통상적인 이중성 폴리펩티드는 His-Tag (예를 들어, His6; 6 히스티딘 잔기), GST-Tag (글루타티온-S-트랜스퍼라제) 등이다. 융합 폴리펩티드는 화합물/펩티드의 정제를 촉진할 뿐만 아니라 정제 동안 상기 화합물/펩티드의 분해를 방지할 수 있다. 정제 후 이중성 폴리펩티드를 제거하는 것이 요망되는 경우, 융합 폴리펩티드는 화합물/펩티드와 이중성 폴리펩티드 사이의 접합부에 절단 부위를 포함할 수 있다. 절단 부위는 상기 부위에서 아미노산 서열에 특이적인 효소(예를 들어, 프로테아제)로 절단되는 아미노산 서열로 구성된다.
- [0028] 본 발명의 바람직한 구체예에 따르면, 펩티드 단편은 RANISHKDMQLGR (SEQ ID No: 2), ANISHKDMQLGR (SEQ ID No: 3), NISHKDMQLGR (SEQ ID No: 4), ISHKDMQLGR (SEQ ID No: 5), SHKDMQLGR (SEQ ID No: 6), KDMQLGR (SEQ ID No: 7), LRANISHKDMQLG (SEQ ID No: 8), RANISHKDMQLG (SEQ ID No: 9), ANISHKDMQLG (SEQ ID No: 10), NISHKDMQLG (SEQ ID No: 11), ISHKDMQLG (SEQ ID No: 12) 및 SHKDMQLG (SEQ ID No: 13)로 구성되는 군으로부터 선택된다.
- [0029] 본 발명의 추가의 바람직한 구체예에 따르면, KDMQLGR (SEQ ID No: 7)을 포함하는 LRANISHKDMQLGR (SEQ ID No: 1)의 펩티드 단편은 ANISHKDMQLGR (SEQ ID No: 3), RANISHKDMQLGR (SEQ ID No: 2), NISHKDMQLGR (SEQ ID No: 4), ISHKDMQLGR (SEQ ID No: 5), SHKDMQLGR (SEQ ID No: 6), KDMQLGR (SEQ ID No: 7)로 구성되는 군으로부터 선택된다.
- [0030] 특히 바람직한 구체예에 따르면, 아미노산 서열 LRANISHKDMQLGR (SEQ ID No: 1) 또는 이의 펩티드 단편으로 구성되는 적어도 하나의 펩티드는 이의 N-말단 및/또는 C-말단에 직접 결합되거나 스페이서 서열을 통해 결합된 적어도 하나의 시스테인 잔기를 포함한다.
- [0031] 이러한 시스테인 잔기는 또 다른 분자 또는 담체에 펩티드를 결합시키기 위해 반응성 기로 작용할 수 있다. 예

를 들어, 이러한 기는 담체 단백질에 펩티드를 결합시키는데 사용될 수 있다. 시스테인 잔기는 본 발명의 펩티드에 직접 결합되거나 스페이서 서열을 통해 결합될 수 있다. 스페이서 서열은 바람직하게는 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 적어도 3개, 더욱 더 바람직하게는 적어도 4개, 및 임의로 최대 10개, 바람직하게는 최소 5개의 작은 비-극성 아미노산 잔기, 예를 들어, 글리신을 포함한다.

- [0032] 본 발명의 바람직한 구체예에 따르면, 담체는 키홀 림프 헤모시아닌(KLH), 과산화물 독소이드(TT), 디프테리아 독소(DT), 또는 T 세포 에피토프를 함유하는 임의의 다른 단백질 또는 펩티드로 구성되는 군으로부터 선택된다.
- [0033] 본 발명에 따르면, 펩티드는 약학적으로 허용되는 담체, 바람직하게는 KLH(키홀 림프 헤모시아닌), 과산화물 독소이드, 알부민-결합 단백질, 소 혈청 알부민, 덴드리머(dendrimer)(MAP; Biol. Chem. 358: 581), 펩티드 링커(또는 플랭킹 영역) 뿐만 아니라 문헌[Singh et al. (Singh et al. 1999, Nat. Biotech. 17: 1075-1081 (특히, 이러한 문헌의 표 1에 기재된 것)), 및 O'Hagan et al. (O'Hagan and Valiante, 2003, Nature Reviews, Drug Discovery 2 (9): 727-735 (특히, 이러한 문헌에 기재된 내인성 면역-강화 화합물 및 전달 시스템)]에 기재된 애주번트 물질, 또는 이들의 혼합물에 커플링되거나 융합된다. 이와 관련하여 컨주게이션 화학(예를 들어, 문헌["Bioconjugate Techniques", Greg T. Hermanson]에 기재된 바와 같은 이중기능성 화합물, 예를 들어, GMBS 및 물론 또한 다른 화합물을 포함)은 당업자에게 공지된 반응으로부터 선택될 수 있다. 또한, 백신 조성물은 애주번트, 바람직하게는 낮은 가용성의 알루미늄 조성물, 특히 알루미늄 하이드록사이드와 함께 제형화될 수 있다. 물론, MF59, 알루미늄 포스페이트, 칼슘 포스페이트, 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-12, GM-CSF), 사포닌(예를 들어, QS21), MDP 유도체, CpG 올리고, LPS, MPL, 폴리포스파젠, 에멀전(예를 들어, 프로인트(Freund's), SAF), 리포솜, 바이로솜, ISCOM, 코클레이트(cochleate), PLG 미세입자, 폴록사머 입자, 바이러스 유사 입자, 열-민감 장독소(LT), 콜레라 독소(CT), 돌연변이 독소(예를 들어, LTK63 및 LTR72), 미세입자 및/또는 중합된 리포솜과 같은 애주번트가 또한 사용될 수 있다.
- [0034] 본 발명의 바람직한 구체예에 따르면, 펩티드는 애주번트와 함께 제형화되고, 바람직하게는 명반(alum)에 흡착된다.
- [0035] 본 발명의 백신은 피하, 근내, 피내, 정맥내 투여될 수 있다(예를 들어, "Handbook of Pharmaceutical Manufacturing Formulations", Sarfaraz Niazi, CRC Press Inc, 2004 참조). 투여 경로에 따라, 약제는 각각의 담체, 애주번트, 및/또는 부형제를 포함할 수 있다.
- [0036] 본 발명에 따른 백신은 0.1 ng 내지 10 mg, 바람직하게는 10 ng 내지 1 mg, 특히 100 ng 내지 100  $\mu$ g, 또는 대안적으로, 예를 들어, 100 fmol 내지 10  $\mu$ mol, 바람직하게는 10 pmol 내지 1  $\mu$ mol, 특히 100 pmol 내지 100 nmol의 양으로 본 발명에 따른 화합물을 함유한다. 본 발명의 화합물 또는 펩티드는 용량 당 바람직하게는 100 ng 내지 1 mg, 더욱 바람직하게는 1  $\mu$ g 내지 500  $\mu$ g, 더욱 더 바람직하게는 10  $\mu$ g 내지 100  $\mu$ g, 특히 20 내지 40 또는 30  $\mu$ g의 양으로 포유동물에 투여된다. 통상적으로, 백신은 또한 보조 물질, 예를 들어, 완충제, 안정화제 등을 함유할 수 있다. 본 발명에 따른 백신은 2주 내지 2개월의 시간 간격으로 3 내지 6회 적용된다. 항 C5a 항체가 나타난 후, 백신은 약 6개월의 정기적 간격으로 적용된다.
- [0037] 본 발명의 바람직한 구체예에 따르면, 보체-매개 장애의 치료에서 백신이 사용된다. 따라서, 본 발명은 또한 본 발명에 따른 백신을 투여함으로써 보체-매개 장애를 갖는 개체를 치료하는 방법에 관한 것이다.
- [0038] 보체-매개 장애는 바람직하게는 염증 질병, 바람직하게는 만성 염증 질병이다.
- [0039] 염증 질병은 바람직하게는 연령-관련 황반 변성(AMD), 신경변성 장애, 바람직하게는, 알츠하이머병, 파킨슨병 또는 헌팅턴병, 알레르기성 천식(allergic asthma), 죽상경화증, 길랑-바레 증후군, 혈관염, 염증성 피부염(inflammatory dermatitis), 바람직하게는 건선 및 두드러기(urticaria), 류머티스 관절염, 항인지질 증후군(APS), 다발경화증, 용혈 요독 증후군, 및 전신 홍반 루푸스(SLE)로 구성되는 군으로부터 선택된다.
- [0040] 보체-매개 장애는 바람직하게는 허혈-재관류 손상, 급성 폐 손상, 급성 호흡 곤란 증후군(ARDS), 패혈증, 암, 임신 합병증, 예를 들어, 자간전증, 반복 자연 유산(recurrent spontaneous abortion), 자궁내 성장 지연(intra-uterine growth retardation) 및 APS이다.
- [0041] 본 발명에 따른 보체-매개 장애는 또한 요망되지 않거나 부적절한 보체 활성을 수반하는 장애, 예를 들어, 혈액 투석-관련 혈전증이다. 이러한 활성은 당 분야에 공지된 방법에 의해 결정될 수 있다. 본 발명에 따른 백신으로 치료될 수 있는 장애는 증가된 C5a 활성을 특징으로 한다.
- [0042] AMD는 보통 노령의 성인이 걸리고, 망막에 대한 손상으로 인해 시야의 중심(황반)에서 시력을 상실하는 의학 질

환이다. 이는 "건성" 및 "습성" 형태로 발생하는 한편, 건성 형태가 모든 AMD 경우의 90%에 해당한다. 습성 및 건성 AMD의 가장 초기의 임상 특징 중 하나는 망막 색소 상피에 근접한 영역에서 세포외적으로 축적되는 무정형 지질단백질성의 침전물의 출현이다. 이러한 병원성 성분은 드루젠(drusen)으로 언급된다. 최근의 연구는 국소 염증 및 건성 AMD의 특징인 드루젠의 형성에서의 보체 캐스케이드의 활성화를 연관시켰다. 이는 다른 분자 외에 보체 성분 C5가 상기 드루젠 내에 축적되는 것을 나타내는 다른 연구와 일치한다.

- [0043] 또한, VEGF 외에 C5a(C5a는 VEGF의 방출과 관련됨)가 AMD의 습성 형태에서 발생하는 맥락막 혈관신생의 유도에서 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀졌다. 가장 중요하게는, C5a에 대한 중화 항체는 동물 모델에서 질병의 진행을 중지시킬 수 있는 것으로 지적될 수 있었다.
- [0044] 종합적으로, AMD의 습성 및 건성 형태에서 보체-매개 질병에 대한 강한 근거가 존재하며, 이에 따라, C5a는 AMD의 둘 모두의 형태의 치료를 위한 최적 표적인 것으로 보인다.
- [0045] 주로 C5a에 의해 야기되는 보체-매개 염증은 알츠하이머병의 가속화 또는 진행에서 일정한 역할을 하는 것으로 제안된다. 연장된 보체 활성화는 알츠하이머병 뇌의 섬유원성 Aβ 플라크에 의해 촉발되며, 상기 질병의 많은 소견은 염증 사건을 촉진시키는 C5a-보충되고 활성화된 아교세포에 기인될 수 있다. 유사한 사건이 파킨슨병 및 헌팅턴병에 적용될 수 있다. 또한, 예비 데이터는 진행성 운동 뉴런 사멸을 야기시켜 중국적인 마비 및 사망을 발생시키는 신경변성 장애의 그룹인 운동 뉴런 질병에서 보체 C5의 활성화 단편(C5a)에 대한 특정 병원성 역할을 나타낸다.
- [0046] C5aR의 차단은 실험 알레르기성 천식에서 기도 염증 및 기도 과반응성을 명백히 감소시킨다. 그러나, 천식에서의 보체 성분 C5의 역할은 논의의 여지가 남아있다. C5는 실험 알레르기성 천식에서 기도 과반응성에 대해 촉진적이거나 보호적인 것으로 기재되었으며, 이는 알레르기성 천식에서 C5a에 대한 이중 역할을 암시한다. 하나의 가설은 알레르겐 민감화 동안의 C5aR 신호전달이 폐 알레르기의 발생으로부터 보호하지만, 효과기 단계 동안에는 염증성 폐 환경에서 알레르기 표현형을 향상시킨다는 것이다. 따라서, C5aR 차단은 확립된 천식의 치료에 대해 치료적 이점이 될 수 있다.
- [0047] C5a는 또한 죽상경화증에서 일정한 역할을 한다. C3a 및 C5a는 인간 관상 플라크에서 발견된다. 또한, C5a가 진행된 죽상경화증을 갖는 환자에서 심혈관 사건을 예측하고, C5a의 상승된 혈청 수준이 표면 대퇴동맥의 풍선 혈관확장술(balloon angioplasty) 후에 재협착의 발생과 관련된 것이 최근에 밝혀졌다.
- [0048] 혈관염은 혈관벽의 염증 및 섬유소성 피사를 조직병리학적 특징으로 하는 혈관의 염증 과정이다. 상기 형태의 혈관염의 임상 범위는 자색반증으로부터 중증 증식성 사구체신염에 이르기까지 가변적이며, 보체 시스템이 상기 과정과 정밀하게 관련된 것으로 추정된다. 예를 들어, C5a는 비교적 흔하지 않지만 잠재적으로는 생명을 위협하는 전신 자가면역 질병인 항호중구 세포질 자가항체(ANCA)-관련 혈관염에서 중요한 역할을 한다. ANCA-유도 괴사성 초승달사구체신염(crescentic glomerulonephritis)은 이의 발병기전에서 보체 참여를 필요로 한다. C5a 및 호중구 C5aR은 ANCA-매개 호중구 활성화를 위한 증폭 루프를 구성할 수 있다. C5aR은 ANCA-유도 괴사성 초승달사구체신염에 대한 신규한 치료 표적을 제공할 수 있다.
- [0049] 보체 활성화는 수포성 유천포창(bullous pemphigoid, BP), 심상성 건선(psoriasis vulgaris), 및 만성 두드러기를 포함하는 자가면역 피부염에서 염증성 변화의 발병기전과 관련된다. 천포창에 의한 천포창 보체 활성화에서, 표피 내의 항체는 호산구성 해면화로 언급되는 특징적인 염증성 변화의 발생의 원인이 되는 것으로 보인다. 건선 척도에서, 높은 수준의 C5a가 발견되며, 이는 보체 활성화가 상기 질병과 관련된 것을 나타낸다. 건선은 T 세포 매개 질병인 것으로 공지되어 있으나, 호중구 및 비만세포가 또한 상기 질병의 발병기전과 관련될 수 있다. T 세포 및 호중구는 C5a에 의해 화학유인되고, 따라서 C5a는 건선의 치료를 위한 중요한 치료 표적이 될 수 있다.
- [0050] 보체 활성화는 또한 자가면역 염증 질병인 류머티스 관절염에 기여한다. 아나필락시스독소 C5a가 류머티스 관절염에서 조직 손상의 원인이 되는 보체 활성화의 주요 생성물이나, 막 공격 복합체의 침착 뿐만 아니라 C3b의 단편과의 흡소닌화가 또한 중요한 것으로 보인다.
- [0051] 전신 홍반 루푸스(SLE)의 발병기전에서의 보체의 역할은 논의의 여지가 남아있다. 한편으로, 보체 성분은 자가항체-개시 조직 손상을 매개하는 것으로 보인다. 다른 한편으로, 보체 시스템은, 일부 보체의 유전성 결핍이 SLE에 대한 위험 증가와 관련됨에 따라 보호 특징을 갖는 것으로 보인다. SLE를 갖는 환자가 종종 저보체혈증(hypocomplementemia)을 갖는 것이 공지되어 있다. 또한, C5a/C5aR 신호전달이 혈액뇌장벽의 온전성을 조절함으로써 중추신경계 루푸스의 발병기전에서 중요한 역할을 하는 것이 입증되었다. C5a/C5aR 차단의 잠재성이

SLE에서의 유망한 치료 방법임이 강조되었다.

- [0052] 조직 재관류(R)는 보체를 활성화시키고, 염증-유도성 손상을 야기시키나, 허혈(I)은 그렇지 않은 것으로 보인다. I/R 손상에서의 보체 활성화의 정확한 관련성은 여전이 불명확하나, 여러 실험 연구는 보체와 I/R 손상의 발병기전 사이의 관계를 나타내었고, 효능있는 요법으로서의 보체 억제제를 제시하였다. 예를 들어, 무린 심근 I/R 손상 모델에서, 재관류 30분 전의 전신 C5 억제는 심근 I/R 손상으로부터 마우스를 유의하게 보호하였다.
- [0053] 급성 폐 손상의 많은 형태에서 보체 활성화가 나타났다. C5a 농도는 산 점적주입에 의해 유도된 급성 폐 손상에서의 기관지폐포 세척 유체(BALF)에서 증가되며, C5a 농도는 또한 인간에서 이식된 폐에서 상승된다. C5a는 폐로 호중구를 유인하며, 호중구, 대식세포, 및 내피세포를 직접 활성화시킨다. 항-C5a의 보호 역할은 TNF- $\alpha$ 의 BALF 수준에서의 급격한 감소 뿐만 아니라 폐 혈관 세포간 부착 분자 ICAM-1 발현에서의 현저한 감소와 관련되었으며, 이는 C5a가 염증성 매개체의 발현 및 부착 분자의 발현을 조절하는 염증 네트워크의 성립에 필수적인 것을 암시한다.
- [0054] 급성 폐 손상 및 급성 호흡 곤란 증후군(ARDS)은 폐포내 공간 내의 피브린-풍부 염증성 삼출물의 존재 및 폐의 폐포로의 호중구의 광범위한 이동을 특징으로 한다. 건강한 지원자로부터의 호중구에서의 TNF- $\alpha$  및 C5a 신호 전달의 약리학적 차단은 상기의 달리 정상인 세포의 BALF 유도성 전응고물질(procoagulant) 활성을 유의하게 감소시키고, 조직 인자(TF) 발현의 동반 상실을 야기시킬 수 있었다. 이러한 결과는 C5a 및 TNF- $\alpha$  신호전달이 ARDS에 걸린 폐의 폐포 내에 축적되는 호중구에서의 TF 발현의 유도에 기여하는 것을 나타낸다.
- [0055] 패혈증의 발병 동안, 염증 시스템은 세포 및 체액성 방어 메커니즘 둘 모두를 포함하여 과활성이 된다. 특히 C5a의 상승된 수준으로 반영되는 인간 패혈증 동안의 보체 활성화는 덜 중증인 패혈 환자 및 생존자와 비교하는 경우 다기관 부전(multi-organ failure)과 함께 유의하게 감소된 생존률과 관련된 것으로 밝혀졌다. 또한, C5a 또는 C5aR의 차단은 설치류에서 실험 패혈증 동안 생존을 극적으로 향상시킨다. 따라서, C5a는 패혈증의 발생을 위한 중요한 요인인 것으로 보이며, C5a/C5aR 결합의 간섭은 패혈증이 발생할 위험이 높은 환자의 예방 치료를 위한 효능있는 임상적 방법을 제공할 수 있다.
- [0056] 심폐우회술 및 혈액투석에서, C5a는 인간 혈액이 인공심폐기 또는 신장 투석 기계의 인공 표면과 접촉하는 경우에 대체 보체 경로의 활성화의 결과로서 발생된다. C5a는 증가된 모세관 투과성 및 부종, 기관지수축, 폐혈관 수축, 백혈구 및 혈소판 활성화 및 조직, 특히 폐로의 침윤을 야기시킨다. 항-C5a 모노클로날 항체의 투여는 심폐우회술 및 심장마비-유도성 관상동맥 내피 기능이상을 감소시키는 것으로 밝혀졌다.
- [0057] 종양-유래 보체 활성화는 종양 성장 이점을 제공할 수 있다. 종양 미세환경에서의 보체 C5a의 생성은 항종양 CD8+ T 세포 매개 반응을 억제함으로써 종양 성장을 향상시킨다. 종양 성장의 마우스 모델을 이용하는 것은 C5aR의 결핍 또는 차단이 종양 성장의 지연과 관련된 것을 나타내었다. 따라서, 보체 억제는 항암 요법에서 효과적이고 유망한 방법으로 간주된다.
- [0058] 보체 활성화의 유의한 증가는 다양한 병리적 임신 결과, 즉, 자간전증, 반복 자연 유산, 자궁내 성장 지연, 및 항인지질 증후군(APS)과 관련되었다. 자간전증을 갖는 여성은 정상의 임신한 여성에 비해 C5a의 증가된 혈장 농도를 나타내었다. APS와 관련하여, 항인지질 항체 및 보체 활성화(C3a, C5a, 및 MAC를 포함)는 국소 염증 과정을 촉발시키는데 있어서 협동하여 결국에는 태반 혈전증(placental thrombosis), 저산소증(hypoxia), 및 호중구 침윤을 야기시킬 수 있다. 조직 인자(TF)는 항인지질 항체 유도 태아 손상에서 C5a와 호중구 활성화 사이의 연관성을 나타낸다.
- [0059] C5a에 대해 펩티드-유도 면역 반응을 개괄하는 것은 C5a 매개성 (만성 염증) 질병, 예를 들어, 신경변성 질병, 예를 들어, 알츠하이머병(예를 들어, Fonseca, M.I. et al. (2009), J Immunol "Treatment with a C5aR Antagonist Decreases Pathology and Enhances Behavioral Performance in Murine Models of Alzheimer's Disease." and Klos, A. et al. (2009), Mol Immunol "The role of the anaphylatoxins in health and disease." 참조), 파킨슨병(예를 들어, McGeer, P. L. et al. (2004), Parkinsonism Relat Disord "Inflammation and neurodegeneration in Parkinson's disease." 참조), 헌팅턴병(예를 들어, Singhrao, S. K. et al. (1999), Exp Neurol "Increased complement biosynthesis by microglia and complement activation on neurons in Huntington's disease." 참조) 및 연령-관련 황반 변성(예를 들어, Nozaki, M. et al. (2006), Proc Natl Acad Sci "Drusen complement components C3a and C5a promote choroidal neovascularization." 참조), 류머티스 관절염(예를 들어, Okroj, M. et al. (2007), Ann Med "Rheumatoid arthritis and the

complement system." 참조), 전신 홍반 루푸스(SLE)(예를 들어, Chen, M. et al. (2009), J Autoimmun "The complement system in systemic autoimmune disease."; Jacob, A. et al. (2010), J Neuroimmunol "Inhibition of C5a receptor alleviates experimental CNS lupus." and Jacob, A, et al. (2010), FASEB J "C5a alters blood-brain barrier integrity in experimental lupus." 참조), 천식(예를 들어, Kohl, J. et al. (2006), J Clin Invest "A regulatory role for the C5a anaphylatoxin in type 2 immunity in asthma." 참조), 혈관염, 항인지질 증후군(APS), 죽상경화증, 염증성 피부염, 예를 들어, 건선 및 만성 두드러기, 길랑-바레 증후군, 용혈 요독 증후군, 및 다발경화증에 대한 효과적인 요법을 가져다 준다. 조절되지 않는 hC5a 방출이 다른 병리 질환, 예를 들어, 허혈 및 재관류 손상, 폐혈증, 급성 폐 손상, 혈액투석과 관련된 합병증, 암, 임신 합병증, 예를 들어, 자간전증 및 APS에 기여하므로, 능동 면역화에 의한 C5a의 중화는 또한 상기 병리 합병증에 대한 효과적인 요법을 제공할 수 있다.

[0060] 본 발명의 추가 양태는 적어도 하나의 T 세포 에피토프를 포함하는 담체 단백질에 커플링되거나 융합된 LRANISHKDMQLGR (SEQ ID No: 1) 또는 이의 펩티드 단편을 포함하는 백신에 관한 것으로, 상기 펩티드 단편이 아미노산 서열 HKDMQLGR (SEQ ID No: 16)로 구성되지 않는 규정 하에서 상기 펩티드 단편은 적어도 7개의 아미노산 잔기 및 아미노산 서열 KDMQLGR (SEQ ID No: 7) 또는 KDMQLG (SEQ ID No: 23)를 포함한다.

[0061] 본 발명의 또 다른 양태는 LRANISHKDMQCGR (SEQ ID No: 1), RANISHKDMQLGR (SEQ ID No: 2), ANISHKDMQLGR (SEQ ID No: 3), NISHKDMQLGR (SEQ ID No: 4), ISHKDMQLGR (SEQ ID No: 5), SHKDMQLGR (SEQ ID No: 6), KDMQLGR (SEQ ID No: 7), LRANISHKDMQLG (SEQ ID No: 8), RANISHKDMQLG (SEQ ID No: 9), ANISHKDMQLG (SEQ ID No: 10), NISHKDMQLG (SEQ ID No: 11), ISHKDMQLG (SEQ ID No: 12) 및 SHKDMQLG (SEQ ID No: 13)의 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 펩티드에 관한 것이다.

[0062] 본 발명은 하기 도면 및 실시예에서 추가로 예시되나, 이에 제한되지는 않는다.

[0063] 도 1은 hC5a의 이전에 기재된 20개의 아미노산 길이의 면역원성 C-말단 단편(SEQ ID No: 14), 및 이의 N-말단 부분 및 C-말단 부분(SEQ ID No: 7 및 24)의 면역원성 시험을 도시한다.

[0064] 도 2는 hC5a의 C-말단의 20 내지 4개의 아미노산을 포함하는 펩티드(SEQ ID No: 1-7 및 SEQ ID No: 14-19)에 의해 유도된 hC5a에 대한 면역 반응을 도시한다.

[0065] 도 3은 위치 74에 아르기닌을 갖지 않는 C-말단 hC5a 단편의 19 내지 6개의 아미노산을 포함하는 펩티드(SEQ ID No: 8-13 및 SEQ ID No: 20-23)에 의해 유도된 hC5a에 대한 면역 반응을 도시한다.

[0066] 도 4는 SEQ ID No: 1-7 및 SEQ ID No: 14-17을 이용한 면역화에 의해 유도된 항체의 기능적 활성의 평가를 도시한다.

[0067] 도 5는 SEQ ID No: 8-13 및 SEQ ID No: 20-23을 이용한 면역화에 의해 유도된 항체의 기능적 활성의 평가를 도시한다.

[0068] 도 6은 본 발명의 SEQ ID No: 3 및 SEQ ID No: 7을 이용한 면역화에 의한 토끼에서의 인간 C5a-유도성 호중구감소의 예방을 도시한다.

[0069] **실시예**

[0070] 본 발명의 목적은 병리 활성을 피하기 위해 과도한 인간 C5a에 대한 중화 활성 면역 반응을 발생시키는 것이다. 기재된 방법에서, C5 전환효소에 의한 C5 단백질의 절단 후에 접근가능하게 되는 C-말단 네오에피토프가 표적화된다. 따라서, 예방접종에 의해, 숙주 방어에서의 C5b의 역할은 유지되는 반면, 아나필락시스독소 C5a의 과도한 활성은 차단되는 것으로 추정된다.

[0071] 재료 및 방법:

[0072] 마우스의 면역화

[0073] 암컷 BALB/c 마우스(6-8주)를 KLH-컨쥬게이션된 펩티드 백신(200  $\mu$ l의 포스페이트 완충액 pH 7.4 중 피하)으로 프라이밍(priming)시키고, 격주 간격으로 4회 부스트(boost) 면역화시켰다. 알루미늄 하이드록사이드를 애주번트로 사용하였다. 각각의 KLH-컨쥬게이션된 펩티드 백신을 이용한 주사에 대해 5 내지 6마리의 마우스를 사용하였다. 실험을 반복하였고, 이의 대표가 하기에 제시된다.

[0074] 마우스 혈청의 항체 역가를 효소결합면역흡착측정법(ELISA)에 의해 분석하였다. 역가를 최대 절반 결합(half-

maximal binding)(즉,  $OD_{max}/2$ )을 제공하는 혈청 희석으로 계산하였고, 이는 군 당 5 내지 6마리의 마우스의 중간 역가로 제시된다. 유도된 항체의 기능적 활성을 글루쿠로니다제 효소 방출 검정에 의해 평가하였다.

- [0075] 실시예 1: hC5a의 이전에 기재된 20개의 아미노산 길이의 면역원성 C-말단 단편, 및 이의 N-말단 부분 및 C-말단 부분의 면역원성 시험.
- [0076] 본 실시예에서, 인간 C5a의 20개 아미노산 길이의 C-말단 단편(SEQ ID No: 14) 뿐만 아니라 이의 N-말단 부분(SEQ ID No: 24) 및 C-말단 부분(SEQ ID No: 7)을 이들의 면역원성에 대해 시험하였다. 마우스를 표시된 펩티드로 면역화시켰고, hC5a에 대해 유도된 항체의 중간 역가가 도 1에 제시된다.
- [0077] hC5a 단편 위치 55-74(SEQ ID No: 14) 뿐만 아니라 이의 C-말단 부분(SEQ ID No: 7)은 hC5a에 대한 역가를 유도할 수 있었으나, 이의 N-말단 부분(SEQ ID No: 24)은 그렇지 않았다(도 1). 따라서, 20머(mer) 펩티드의 C-말단 부분(SEQ ID No: 7)은 hC5a에 대한 체액성 면역 반응의 유도에 중요한 반면, N-말단 단편(SEQ ID No: 24)은 상기 유도에 있어서 무시할만 하다.
- [0078] 실시예 2: hC5a의 C-말단의 20 내지 4개의 아미노산을 포함하는 펩티드(SEQ ID No: 1-7 및 SEQ ID No: 14-19)에 의해 유도된 hC5a에 대한 면역 반응.
- [0079] 20 내지 4개의 아미노산 잔기로 다양한 13개의 C-말단 hC5a 유래 펩티드(표 2에 표시된 바와 같은 SEQ ID No: 1-7 및 SEQ ID No: 14-19)를 hC5a에 대한 체액성 면역 반응을 유도하는 능력에 대해 시험하였다.
- [0080] 마우스를 표시된 펩티드로 면역화시켰고, hC5a에 대해 유도된 항체의 중간 역가가 도 2에 제시된다. 모든 시험된 C-말단 펩티드는 주사된 펩티드에 결합하는 항체를 유도할 수 있었으나(데이터는 제시되지 않음), 단지 7개의 펩티드가 도 2에 제시(박스 표시)된 바와 같이 단백질 hC5a에 대해 높은 역가를 유도하였다. 7개 아미노산 보다 짧은 C-말단 펩티드(SEQ ID No: 17-19)는 hC5a에 대해 관련된 체액성 면역 반응을 유도하지 않는다(도 2). 모든 예에서, 절단되지 않은 C5 단백질에 대한 면역 반응이 관찰되지 않았다(데이터는 제시되지 않음).
- [0081] 실시예 3: 마지막 위치에 아르기닌을 갖지 않는 hC5a의 C-말단의 19 내지 5개의 아미노산을 포함하는 펩티드(SEQ ID No: 8-13 및 SEQ ID No: 20-23)에 의해 유도된 hC5a에 대한 면역 반응.
- [0082] 마지막 위치에 아르기닌을 갖지 않는 10개의 C-말단 hC5a 유래 펩티드(표 2에 표시된 바와 같은 SEQ ID No: 8-13 및 SEQ ID No: 20-23)를 hC5a에 대한 항체를 발생시키는데 사용하였다. 마우스를 표시된 펩티드로 면역화시켰고, hC5a에 대해 유도된 항체의 중간 역가가 도 3에 제시된다. 시험된 모든 펩티드는 주사된 펩티드에 결합하는 항체를 유도할 수 있었으나(데이터는 제시되지 않음), SEQ ID No: 8-13 및 SEQ ID No: 22-23만이 hC5a에 대한 높은 반응을 나타내었다(도 3, 박스 표시). 절단되지 않은 C5 단백질에 대한 면역 반응이 관찰되지 않았다(데이터는 제시되지 않음).
- [0083] 실시예 4: 마지막 위치에 아르기닌을 갖는 C-말단 펩티드(SEQ ID No: 1-7 및 SEQ ID No: 14-17) 및 마지막 위치에 아르기닌을 갖지 않는 C-말단 펩티드(SEQ ID No: 8-13 및 SEQ ID No: 20-23)를 이용한 면역화에 의해 유도된 항체의 기능적 활성의 평가.
- [0084] hC5a에 대한 펩티드-유도성 항체의 억제 활성을 글루쿠로니다제 효소 방출 검정에 의해 시험하였다.  $\beta$ -글루쿠로니다제는 hC5a를 이용한 자극 후 분화된 인간 U937 세포로부터 방출된다. 이러한 효과는 도 4 및 5에 제시된 펩티드 유도성 항-hC5a 면역 혈청의 첨가에 의해 차단될 수 있다.
- [0085] 간단히, U937 세포를 RPMI, 10% FCS 중 0.5 mM 고리형 아데노신 3':5'-모노포스페이트(cAMP)를 이용하여 5일 동안 분화시켰다. 5일째에, 세포를 37°C에서 10분 동안 사이토칼라신 B(2.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )로 전처리하였다. 각각의 방법을 위해,  $1.8 \times 10^5$ 개의 전처리된 세포를 25 nM hC5a 단독, 또는 25 nM hC5a 및 120  $\mu\text{L}$  HAG-CM 완충액(20 mM HEPES pH= 7.4, 125 mM NaCl, 5 mM KCl, 0.5 mM 글루코스, 1 mM CaCl<sub>2</sub>, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.25% BSA)의 최종 부피 중 다양한 펩티드(표 2에 표시된 바와 같은 SEQ ID No: 1-17 및 SEQ ID No: 20-23)로 면역화된 마우스로부터 유래된 4% 혈청으로 자극시켰다. 37°C에서 10분 동안 인큐베이션 후, 세포를 펠렛화시키고, 상층액을 96-웰 미세역가 플레이트로 옮기고, 150  $\mu\text{L}$ 의 전체 부피로 0.01 M P-니트로페닐- $\beta$ -D-글루쿠로니다이드(0.1 M 소듐 아세테이트 pH= 4.0에 용해됨)로 1:1 희석시켰다. 미세역가 플레이트를 어두운 곳에서 37°C에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 이후, 0.4 M 글리신 완충액(pH= 10.0)의 첨가에 의해 반응을 중지시켰다.  $\beta$ -글루쿠로니다제는 P-니트로페닐- $\beta$ -D-글루쿠로니다이드를 405 nm에서 관측되는 황색을 띠는 색으로 전환시킨다.
- [0086] 도 4 및 5에서, 펩티드-유도성 면역 혈청(6 내지 5마리의 동물의 풀을)이 첨가되거나 첨가되지 않은 hC5a 자극

된 세포의 글루쿠로니다제 방출(405 nm에서의 흡수로 표시됨)이 제시된다. 최적 억제 활성을 갖는 면역 혈청, SEQ ID No: 1-7, 및 SEQ ID No: 8-13이 본 발명에 의해 포함된다(도 4 및 5, 박스 표시).

[0087] 일반적으로, 펩티드-유도성 혈청의 역가 및 기능적 활성의 우수한 상관관계가 관찰되었다(도 2, 3, 4, 및 5). 그러나, SEQ ID No: 16, 22, 및 23의 면역 혈청은 hC5a에 대해 우수한 역가를 유도할 수 있었으나(도 2 및 3), 글루쿠로니다제 검정에서 제한된 기능적 활성만 나타내었다(도 4 및 5). N-말단에 히스티딘 잔기를 갖거나 7개 보다 짧은 아미노산 잔기를 갖는 상기 펩티드는 hC5a에 대해 기능적 활성 항체를 유도하지 않았고, 이에 따라 본 발명의 펩티드의 패널에서 배제시켰다.

[0088] **실시예 5:** hC5a에 대한 본 발명의 펩티드-유도성 능동 면역화의 생체내 평가.

[0089] 보체 활성화는 동물 모델에서 일시적 호중구감소증/호중구증가증을 유도하는 것으로 널리 공지되어 있다. 토끼에서의 정제된 인간 C5a의 주사는 단지 수분 지속되는 즉각적인 호중구감소증을 나타낸 후, 4시간의 기간 동안 지속되는 현저한 호중구증가증을 나타내었다. 순환되는 호중구는 C5a에 의해 활성화되고, 이에 의해 변형되고 부착성이 되어, 호중구감소증, 격리, 및 순환으로부터의 세포의 고갈이 야기된다. 호중구감소증 사건 후, 즉각적인 호중구 반응이 상기 특정 세포 집단의 대체 및 항상성을 재확립시키는데 필요하다.

[0090] hC5a에 대한 펩티드-유도성 능동 면역화의 효과를 토끼의 인간 C5a-유도성 호중구감소증 모델의 생체내 모델에서 시험하였다.

[0091] 토끼의 면역화

[0092] 수컷 뉴질랜드 화이트(New Zealand White) 토끼(6-8주)를 KLH-컨쥬게이션된 펩티드 백신을 이용한 피하 주사(하배부(lower back)에 200  $\mu$ l 및 대퇴부에 200  $\mu$ l)에 의해 프라이밍시키고, 격주로 4회 부스트-면역화시켰다. 알루미늄 하이드록사이드를 애쥘벤트로 사용하였다. 각각의 KLH-컨쥬게이션된 펩티드 백신을 이용한 주사를 위해 4마리의 토끼를 이용하였다.

[0093] 본 발명에 의해 청구된 hC5a C-말단 유래 펩티드(표 1)에 대한 대표인 SEQ ID No: 14(표 2); SEQ ID No: 3 및 SEQ ID No: 7; 및 담체 단백질 KLH 단백을 상기 기재된 면역화 절차에 사용하였다. 세번째 부스트 후, 모든 토끼에 우측 귀의 모서리 정맥에 2  $\mu$ g/kg의 hC5a를 주사하고, 주사 6분 후 좌측 귀의 중심 동맥으로부터 혈액을 수거하였다. 과립구의 수를 결정하고, hC5a의 주사 2분 전에 수거된 사전-혈액(pre-blood)의 과립구의 수와 비교하였다. 각 군의 중간 값이 도 6에 제시된다.

[0094] 본 실시예에서 본 발명의 화합물의 대표(SEQ ID No: 3 및 SEQ ID No: 7 KLH-컨쥬게이션된 펩티드 백신)로 면역화된 토끼에서 hC5a-유도성 호중구감소증의 명백한 감소가 나타났으나, KLH-컨쥬게이션된 SEQ ID No: 14 백신 또는 KLH 단백질로 면역화된 토끼에서는 그렇지 않았다.

[0095] **표 1.** hC5a에 대한 활성 펩티드-유도성 면역 반응을 위해 본 발명에서 사용된 hC5a의 C-말단 단편.

서열 식별 번호	hC5a의 아미노산 위치 (>gi 109731812)	서열
SEQ ID No: 1	61-74	LRANISHKDMQLGR
SEQ ID No: 2	62-74	RANISHKDMQLGR
SEQ ID No: 3	63-74	ANISHKDMQLGR
SEQ ID No: 4	64-74	NISHKDMQLGR
SEQ ID No: 5	65-74	ISHKDMQLGR
SEQ ID No: 6	66-74	SHKDMQLGR
SEQ ID No: 7	68-74	KDMQLGR
SEQ ID No: 8	61-73	LRANISHKDMQLG
SEQ ID No: 9	62-73	RANISHKDMQLG
SEQ ID No: 10	63-73	ANISHKDMQLG
SEQ ID No: 11	64-73	NISHKDMQLG
SEQ ID No: 12	65-73	ISHKDMQLG
SEQ ID No: 13	66-73	SHKDMQLG

[0096]

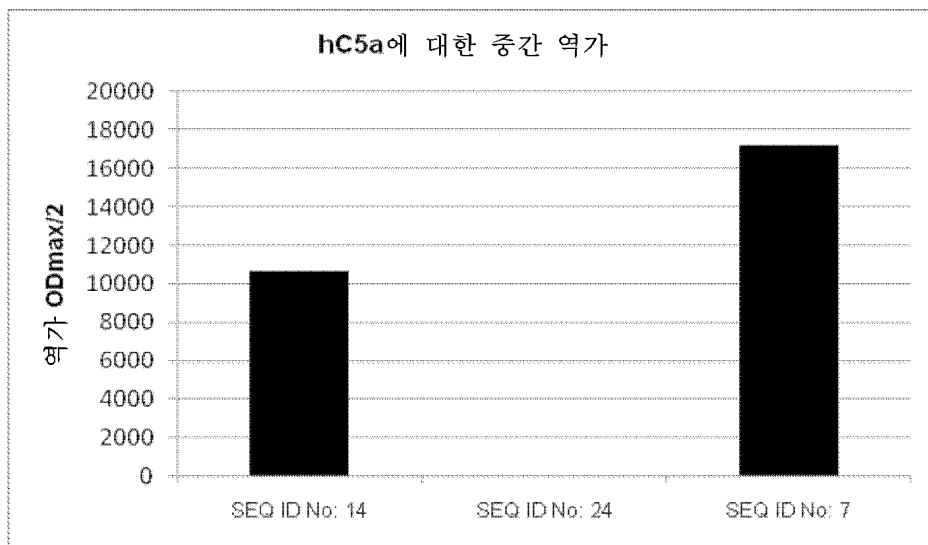
[0097] 표 2. 실시예 1, 2 및 3에 기재된 번역원성 연구에 사용된 펩티드.

서열 식별 번호	hC5a의 아미노산 위치 (>gi 109731812)	서열
SEQ ID No: 14	55-74	CVVASQLRANISHKDMQLGR
SEQ ID No: 15	60-74	QLRANISHKDMQLGR
SEQ ID No: 1	61-74	LRANISHKDMQLGR
SEQ ID No: 2	62-74	RANISHKDMQLGR
SEQ ID No: 3	63-74	ANISHKDMQLGR
SEQ ID No: 4	64-74	NISHKDMQLGR
SEQ ID No: 5	65-74	ISHKDMQLGR
SEQ ID No: 6	66-74	SHKDMQLGR
SEQ ID No: 16	67-74	HKDMQLGR
SEQ ID No: 7	68-74	KDMQLGR
SEQ ID No: 17	69-74	DMQLGR
SEQ ID No: 18	70-74	MQLGR
SEQ ID No: 19	71-74	QLGR
SEQ ID No: 20	55-73	CVVASQLRANISHKDMQLG
SEQ ID No: 21	60-73	QLRANISHKDMQLG
SEQ ID No: 8	61-73	LRANISHKDMQLG
SEQ ID No: 9	62-73	RANISHKDMQLG
SEQ ID No: 10	63-73	ANISHKDMQLG
SEQ ID No: 11	64-73	NISHKDMQLG
SEQ ID No: 12	65-73	ISHKDMQLG
SEQ ID No: 13	66-73	SHKDMQLG
SEQ ID No: 22	67-73	HKDMQLG
SEQ ID No: 23	68-73	KDMQLG
SEQ ID No: 24	55-64	CVVASQLRAN

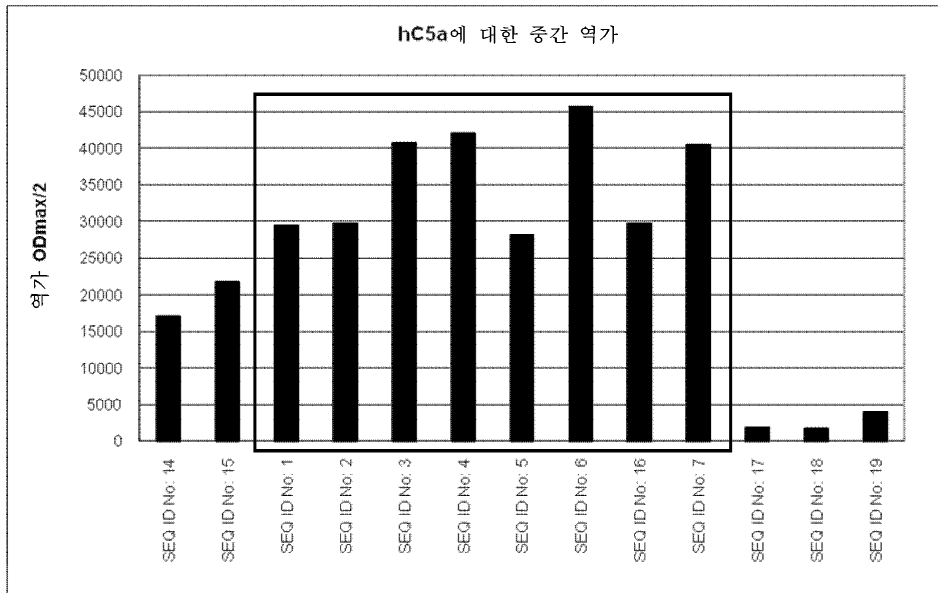
[0098]

도면

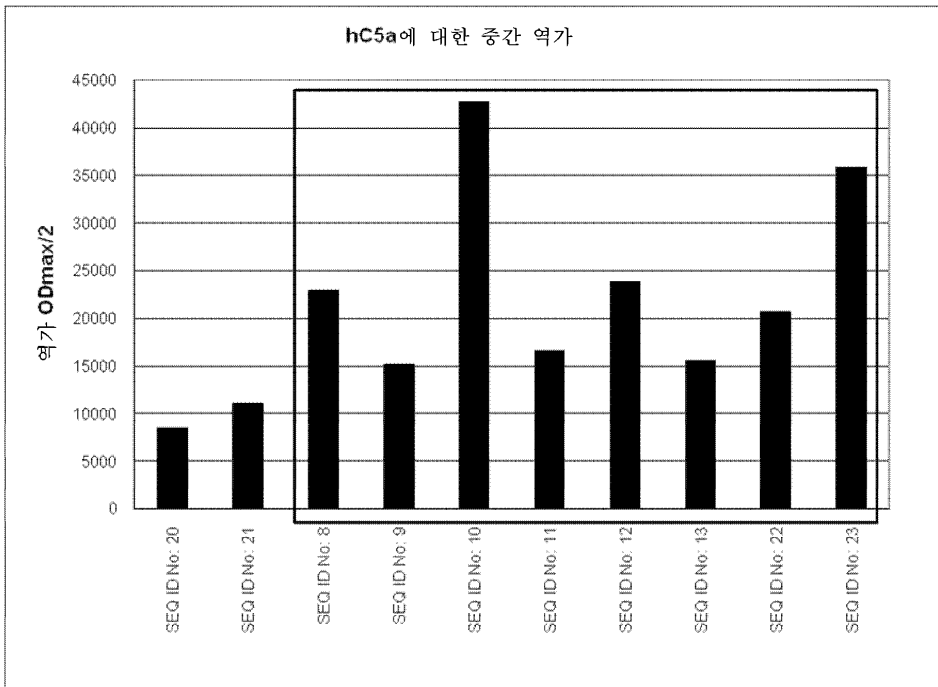
도면1



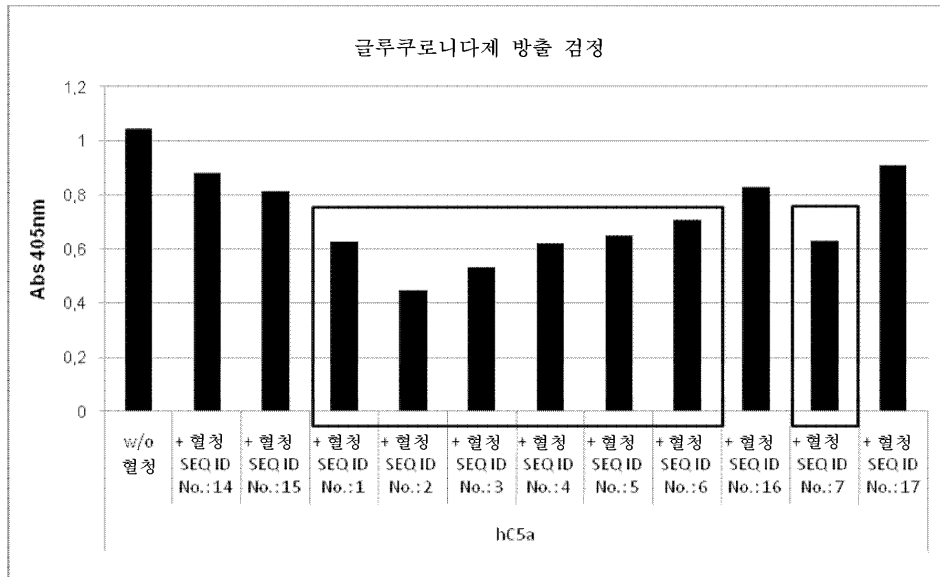
도면2



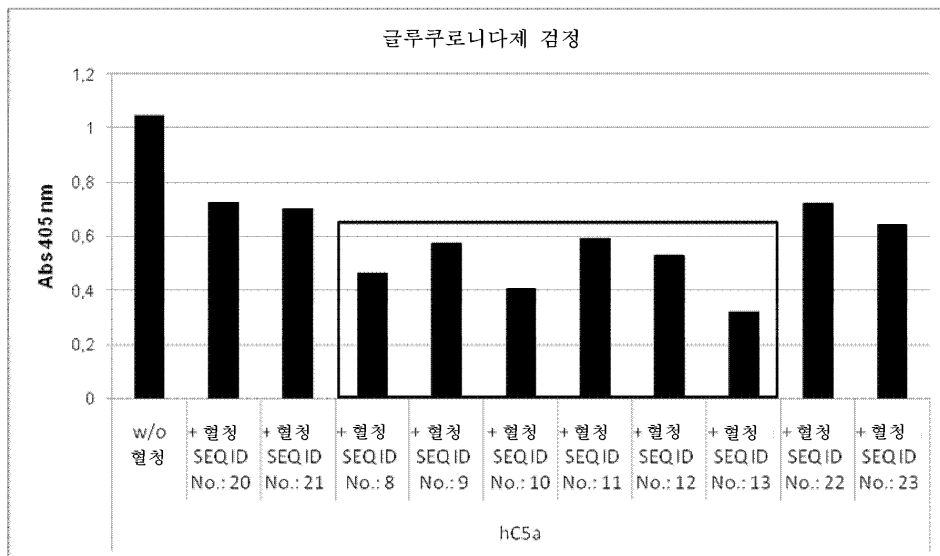
도면3



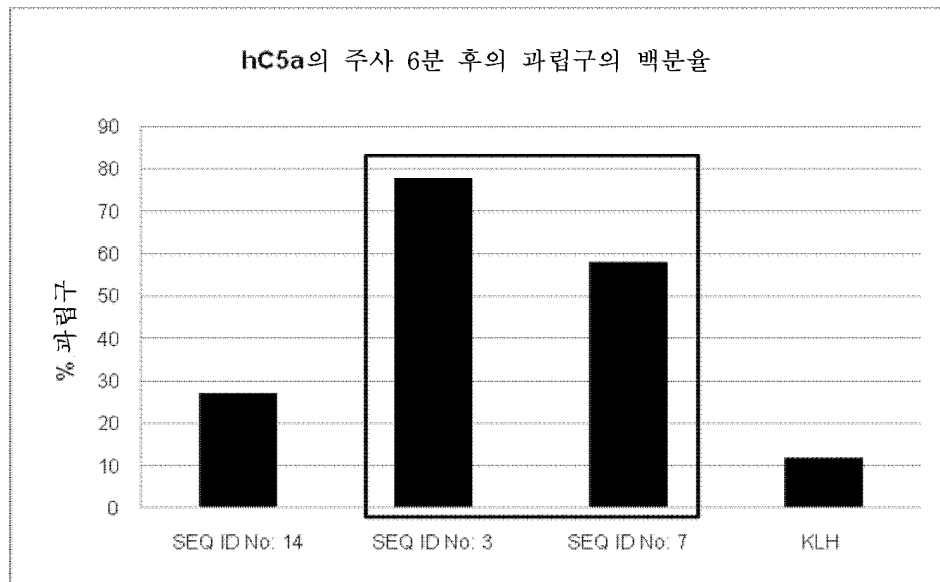
도면4



도면5



도면6



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> Affiris AG

<120> Vaccine

<130> R 60359

<150> EP 10196232.2

<151> 2010 12 21

<160> 24

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C5a fragment

<400> 1

Leu Arg Ala Asn Ile Ser His Lys Asp Met Gln Leu Gly Arg

1                    5                    10

<210> 2

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C5a fragment

<400> 2

Arg Ala Asn Ile Ser His Lys Asp Met Gln Leu Gly Arg

1                    5                    10

<210> 3

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C5a fragment

<400> 3

Ala Asn Ile Ser His Lys Asp Met Gln Leu Gly Arg

1                    5                    10

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C5a fragment

<400> 4

Asn Ile Ser His Lys Asp Met Gln Leu Gly Arg

1                    5                    10

<210

> 5

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C5a fragment

<400> 5

Ile Ser His Lys Asp Met Gln Leu Gly Arg

1                    5                    10

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C5a fragment

<400> 6

Ser His Lys Asp Met Gln Leu Gly Arg

1 5

<210> 7

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C5a fragment

<400> 7

Lys Asp Met Gln Leu Gly Arg

1 5

<210> 8

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C5a fragment

<400> 8

Leu Arg Ala Asn Ile Ser His Lys Asp Met Gln Leu Gly

1 5 10

<210> 9

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C5a fragment

<400> 9

Arg Ala Asn Ile Ser His Lys Asp Met Gln Leu Gly

1 5 10

<210> 10

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C5a fragment

<400>

> 10

Ala Asn Ile Ser His Lys Asp Met Gln Leu Gly

1                    5                    10

<210> 11

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C5a fragment

<400> 11

Asn Ile Ser His Lys Asp Met Gln Leu Gly

1                    5                    10

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C5a fragment

<400> 12

Ile Ser His Lys Asp Met Gln Leu Gly

1                    5

<210> 13

<211> 8

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220><223> C5a fragment

<400> 13

Ser His Lys Asp Met Gln Leu Gly

1                    5

<210> 14

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C5a fragment

<400> 14

Cys Val Val Ala Ser Gln Leu Arg Ala Asn Ile Ser His Lys Asp Met

1                    5                    10                    15

Gln Leu Gly Arg

20

<210> 15

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C5a fragment

<400> 15

Gln Leu Arg Ala Asn Ile Ser His Lys Asp Met Gln Leu Gly Arg

1

5

10

15

<210> 16

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C5a fragment

<400> 16

His Lys Asp Met Gln Leu Gly Arg

1

5

<210> 17

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C5a fragment

<400> 17

Asp Met Gln Leu Gly Arg

1

5

<210> 18

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C5a fragment

<400> 18

Met Gln Leu Gly Arg

1                    5  
<210> 19  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> C5a fragment  
<400> 19  
Gln Leu Gly Arg

1  
<210> 20  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> C5a fragment  
<400> 20  
Cys Val Val Ala Ser Gln Leu Arg Ala Asn Ile Ser His Lys Asp Met

1                    5                    10                    15  
Gln Leu Gly  
  
<210> 21  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> C5a fragment

<400> 21  
Gln Leu Arg Ala Asn Ile Ser His Lys Asp Met Gln Leu Gly  
1                    5                    10  
<210> 22  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> C5a fragment  
<400> 22  
His Lys Asp Met Gln Leu Gly

1                    5

<210> 23

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C5a fragment

<400> 23

Lys Asp Met Gln Leu Gly

1                    5

<210> 24

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C5a fragment

<400> 24

Cys Val Val Ala Ser Gln Leu Arg Ala Asn

1                    5                    10