

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。 Int. Cl. A61K 39/395 (2006.01)	(45) 공고일자 (11) 등록번호 (24) 등록일자	2006년08월30일 10-0618081 2006년08월23일
--	-------------------------------------	--

(21) 출원번호	10-2005-7013113(분할)	(65) 공개번호	10-2005-0089165
(22) 출원일자	2005년07월15일	(43) 공개일자	2005년09월07일
(62) 원출원	특허10-1999-7006253		
	원출원일자 : 1999년07월09일	심사청구일자	2002년12월30일
번역문 제출일자	2005년07월15일		
(86) 국제출원번호	PCT/US1997/023482	(87) 국제공개번호	WO 1998/30240
국제출원일자	1997년12월31일	국제공개일자	1998년07월16일

(81) 지정국

국내특허 : 알바니아, 아르메니아, 오스트리아, 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아 헤르체고비나, 바르바도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 캐나다, 스위스, 중국, 쿠바, 체코, 독일, 덴마크, 에스토니아, 스페인, 핀란드, 영국, 그루지야, 헝가리, 이스라엘, 아이슬란드, 일본, 케냐, 키르기스스탄, 북한, 대한민국, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 리베이라, 레소토, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아공화국, 몽고, 말라위, 멕시코, 노르웨이, 뉴질랜드, 슬로베니아, 슬로바키아, 타지키스탄, 투르크멘, 터키, 트리니다드토바고, 우크라이나, 우간다, 미국, 우즈베키스탄, 베트남, 폴란드, 포르투갈, 루마니아, 러시아, 수단, 스웨덴, 싱가포르, 가나, 감비아, 기니 비사우, 인도네시아, 시에라리온, 세르비아 앤 몬테네그로, 짐바브웨,

AP ARIPO특허 : 케냐, 레소토, 말라위, 수단, 스와질랜드, 우간다, 가나, 감비아, 짐바브웨,

EA 유라시아특허 : 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르기스스탄, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크멘,

EP 유럽특허 : 오스트리아, 벨기에, 스위스, 독일, 덴마크, 스페인, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투갈, 스웨덴, 핀란드,

OA OAPI특허 : 부르키나파소, 베닌, 중앙아프리카, 콩고, 코트디부아르, 카메룬, 가봉, 기니, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고,

(30) 우선권주장	60/034,673	1997년01월10일	미국(US)
------------	------------	-------------	--------

(73) 특허권자	바이오젠 아이텍 엠에이 인코퍼레이티드 미국 매사추세츠 02142 캠프리지 캠프리지 센터 14
-----------	--

(72) 발명자	칼레드 수잔 엘 미국 매사추세츠주 02130 자메이카 플레인 브루이어 스트리트 2이
----------	---

토마스 데이비드 더블유
미국 매사추세츠주 02182 웰레스레이 업랜드 로드 9

(74) 대리인	김진희 강승욱
----------	------------

심사관 : 임혜준

(54) 항 CD40L 화합물을 포함하는 신염성 루푸스의 치료용약제**요약**

본 발명은 항CD40L 화합물을 사용하여 면역 복합 질병과 관련된 신염을 치료하는 방법을 제공한다. 한 실시 형태에서, 항CD40L 화합물은 신장 동종 이식편을 수용한 면역 복합 질병에 걸린 환자에 투여하여 이식된 신장 내부의 면역 복합 사구체신염의 발생을 억제한다.

대표도

도 1

명세서**도면의 간단한 설명**

도 1은 실험 II에서 대조군과 처리된 (SWR X NZB) F_1 쥐로부터 혈액과 뇨의 특징을 수 회 측정하여 시간 경과에 따른 변화를 나타낸 차트이다. 쥐가 생후 4 개월이 되었을 때, 항CD40L mAb MR1을 동물 한 마리당 500 ug으로 1회 복강내 투여하였고, 7 개월째 다시 투여하였으며, 9 개월째 다시 투여한 다음, 한달 간격으로 투여하였다. 차트의 위쪽에 있는 5개의 열을 AR 내지 BN으로 표시하고, 여기에 단일 대조 동물로부터 얻은 데이터를 나타내었으며, 아래쪽의 6개의 열은 CL 내지 CR로 표시하고, 단일 처리된 동물로부터 얻은 데이터를 나타내었다. 이 실험 연구는 동물이 생후 4개월 되었을 때인 1996년 2월에 개시하였다. 수직 이중선에 의해 데이터는 4개의 그룹으로 나뉘게 되는데, 각각의 데이터 그룹은 데이터 위에 기록된 날짜에 수집된 뇨 및 혈액 시료에 대한 측정치를 제공한다. 단백뇨(PU) 레벨은 미량 내지 레벨 4로 나타내었다. 레벨 1은 뇨 알부민 30 mg/dl 알부민에 해당하고, 레벨 2는 100 mg/dl, 레벨 3은 300 mg/dl, 레벨 4는 2000 mg/dl 이상에 해당한다. 항MR1 항체의 레벨("항MR1"으로 라벨화된 칼럼으로 제공함), 항ssDNA 항체의 레벨 및 항dsDNA 항체의 레벨은 $\mu\text{g/ml}$ 혈액으로 나타내었다. 평균(S.D.) 형태로 사용하는 경우에, 수치는 몇 가지 시료의 평균 및 표준 편차를 나타낸다. 대쉬는 시료가 수집되지 않음을 나타내는데, 통상 동물이 죽었기 때문이다. ND는 "수행하지 않음"을 나타낸다.

도 2는 시간 경과에 따른 실험 II 동물의 단백뇨 측정치의 차트이다. 첫번째 칼럼에는 도 1에서와 같이 동물 번호를 나타내었다. 칼럼들의 첫머리에는 시료를 수집한 날짜를 기록하였다. NC는 "수집되지 않음"을 의미한다.

도 3은 생후 4.5 개월에 치료를 시작한 실험 V 대조군 및 미처리된 쥐의 시간경과에 따른 혈액 및 뇨 특징의 차트이다. 쥐가 생후 4.5 개월이 될 때 처리된 동물에 MR1을 동물 한 마리당 500 ug으로 복강내 투여한 후, 매달 500 ug씩 복강내 주사하였다. 차트의 위쪽에 있는 7개의 열은 각각 AR 내지 BLR로 표시하였고, 여기에는 단일 대조군 동물로부터 얻은 데이터를 나타내었으며, 아래쪽에 있는 7개의 열 각각은 CR 내지 CLR로 표시하고, 단일 처리된 동물로부터 얻은 데이터를 나타내었다. 이 실험 연구는 동물의 연령이 4.5 개월이 된 1996년 5월에 개시하였다. 이 도면의 나머지 설명은 도 1의 것과 동일하다.

도 4는 시간 경과에 따른 실험 V 동물의 단백뇨 측정치의 차트이다. 동물 번호는 도 3에 기재된 것과 같다. 이 도면의 나머지 설명은 도 2의 것과 동일하다.

도 5는 생후 5.5 개월에 치료를 시작한 실험 VII 대조군 및 미처리된 쥐의 시간 경과에 따른 혈액 및 뇨 특징의 차트이다. 처리된 동물에 MR1을 6주 동안 일주일에 한 번 동물 한 마리당 500 ug 복강내 투여한 후, 매달 500 ug씩 복강내 주사하였다. 차트의 위쪽에 있는 3개의 열 각각은 AN 내지 BL로 표시하였고, 여기에는 단일 대조군 동물로부터 얻은 데이터를 나타내었으며(도 6에서 동일한 대조군 동물은 도 5에 대한 데이터가 수집되기 이전에 사망하였음에 주목해야 함), 아래쪽의 7개의 열은 각각 CR 내지 DN으로 표시하고, 단일 처리된 동물로부터 얻은 데이터를 나타내었다. 이 실험 연구는 동물의 연령이 5.5 개월이 된 1996년 6월에 개시하였다. 이 도면의 나머지 설명은 도 1의 것과 동일하다.

도 6은 시간 경과에 따른 실험 VII 동물의 단백뇨 측정치의 차트이다. 차트의 위쪽에 있는 7개의 열은 각각 AR 내지 BN으로 표시하였고, 여기에는 단일 대조군 동물로부터 얻은 데이터를 나타내었으며, 아래쪽에 있는 7개의 열은 각각 CR 내지 DN으로 표시하고, 단일 처리된 동물로부터 얻은 데이터를 나타내었다. 이 도면의 나머지 설명은 도 2의 것과 동일하다.

도 7은 생후 5.5개월에 치료를 시작한 실험 X 대조군 및 미처리된 쥐의 시간 경과에 따른 혈액 및 뇨 특징의 차트이다. 처리된 동물에 MR1을 4주 동안 일주일에 한 번 동물 한 마리당 500 ug씩 복강내 투여한 후, 매달 200 ug씩 복강내 주사하였다. 차트의 위쪽에 있는 3개의 열은 각각 AR 내지 BLR로 표시하였고, 여기에는 단일 대조군 동물로부터 얻은 데이터를 나타내었고, 아래쪽의 8개의 열은 각각 CR 내지 DLR로 표시하고, 단일 처리된 동물로부터 얻은 데이터를 나타내었다. 이 실험 연구는 동물의 연령이 5.5 개월이 된 1996년 10월에 개시하였다. 이 도면의 나머지 설명은 도 1의 것과 동일하다.

도 8은 시간 경과에 따른 실험 X 동물의 단백뇨 측정치의 차트이다. 첫번째 칼럼에는 도 7에서와 같이 동물 번호를 기재하였다. 이 도면의 나머지 설명은 도 2의 것과 동일하다.

도 9는 생후 7개월에 치료를 시작한 실험 VI 대조군 및 미처리된 쥐의 시간 경과에 따른 혈액 및 뇨 특징의 차트이다. 처리된 4 마리 동물에 MR1을 6주 동안 일주일에 한 번 동물 한 마리당 500 ug씩 복강내 투여한 후, 매달 500 ug씩 복강내 주사하였다. 아래쪽에 있는 4개의 열 각각은 DN 내지 EN으로 표시하였고, 여기에는 단일 처리된 동물로부터 얻은 데이터를 나타내었다. 이 차트에 대한 첫번째 데이터 수집 시간에서, 모든 대조군 동물은 도 10에 나타난 바와 같이 사망하였다. 이 실험 연구는 동물의 연령이 7 개월이 된 1996년 6월에 개시하였다. 이 도면의 나머지 설명은 도 1의 것과 동일하다.

도 10은 시간 경과에 따른 실험 VI 동물의 단백뇨 측정치의 차트이다. 차트의 위쪽 4개의 열 각각은 AR 내지 CN으로 표시하였고, 여기에는 단일 대조군 동물로부터 얻은 데이터를 나타내었으며, 아래쪽 4개의 열 각각은 DN 내지 EN으로 표시하고, 단일 처리된 동물로부터 얻은 데이터를 나타내었다. 이 도면의 나머지 설명은 도 2와 동일하다.

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 면역 복합 사구체신염, 특히 신염성 루푸스의 치료를 요하는 환자에 항CD40L 화합물을 투여하는 방법에 관한 것이다.

본 발명은 면역 복합 사구체신염을 치료하기 위한 방법 및 조성물에 관한 것이다. 더욱 구체적으로, 본 발명은 B와 각종 다른 세포의 CD40 표면 분자에 대한 리간드에 결합되는 화합물을 단독으로 사용하거나 또는 다른 시약들과 함께 사용하여 루푸스 또는 약물 유도 혈청 질환 등의 항체 매개 질병과 관련된 신염의 진행, 통증, 징후 또는 효과를 경감시키거나 치료하는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 한 실시 형태에 따르면, 본 발명은 단일 클론 항체 5c8을 사용한다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

면역 복합 질병은 신장 사구체 및 혈관벽을 비롯한 특정 조직에서 면역 복합체의 침착에 의해 매개된다. 상기 복합체는 항원과 항체의 집합체이다. 신체가 자체 조직의 성분에 대해 항체를 생성할 경우, 항원은 자가항원이거나 또는 전염성 체제 또는 약물 등의 외래 항원일 수 있다. 각각의 경우에, 혈관 내부의 면역 복합체의 침착은 피부 발진, 심막염 및 맥관염을 유발할 수 있다. 사구체의 내부에 있는 면역 복합체 침착물은 신장의 여과능을 방해하여, 심한 경우 신장 결손 및 사망을 유도할 수 있다.

전신 홍반성 루푸스(SLE)는 생명을 위협하는 자가면역 질환으로서, 각종 조직에 대해 자가항체를 생성하고, DNA에 대해서도 종종 자가항체를 생성하는 것이 특징이다. SLE에 걸린 사람이 미국 내에 대략 140,000명이 존재하고, 서유럽에는 105,000명이 존재하며, 이들 중 대부분은 가임기 여성이다.

SLE는 피부, 관절 및 기관계를 비롯한 연결 조직에 염증을 유발하는 특징이 있고, 흔히 감염되는 기관은 신장, 심장, 폐 및 중추신경계이다. SLE의 임상학적 증상에는 전신 질병, 통증, 피진, 인식 기능부전, 혈전증, 빈혈, 늑막염, 위장 기능부전 및 가임 여성의 낙태가 흔히 포함된다. 대부분의 환자에게, 루푸스 관련 면역글로불린 및 면역 복합체는 신장 사구체에 침착되어 신장 기능을 쇠퇴시킨다. 질병의 경중이 보통 내지 심각한 SLE 환자중 루푸스 환자가 총 70%를 차지하고, 그중 반은

뇨에 단백질이 존재하는 임상 신염증으로 진행된다. 이들 환자중 일부는 면역억제 약물 및/또는 세포독성 약물에 의해 성공적으로 치료될 수 있으나, 이들 약물에 대한 임상 반응은 일시적일 수 있으므로, 약물 치료는 원치 않는 부작용을 일으킬 수 있고, 환자의 대부분은 시판되는 약물 치료에 반응하지 않는다. 이들 환자중 상당수는 신장결손으로 진행되므로, 평생 투석을 반복해야만 하거나, 또는 신장 이식을 해야만 한다. 새로운 신장은 또한 SLE 환자의 혈액에 존재하는 끈질긴 자가 항체로부터의 손상에 민감하므로, 이식 조직은 그 자체가 수명이 짧다. SLE 환자가 투석을 시작하는 평균 연령은 35세이다. 대부분의 SLE 환자는 종극적으로 사망하게 되는데, 직간접적인 사인은 신장염이다.

SLE 치료에 사용되는 치료요법제는 다음과 같이 여러 부류로 구분된다: 살리신산염 및 비스테로이드계 항염증 제제, 스테로이드계 항염증 제제(전신 코르티코스테로이드), 면역억제제 또는 세포독성 약물, 항말라리아 약물, 투석, 이식, 림프양방사선 치료 또는 혈장분리만출법. 이들 대부분은 증상 제제로서 작용하고, 염증을 개선시키도록 설계되고, 상기 질병의 징후를 표적으로 하며, 투여의 총 과정에서 투여 후 및 투여 전반에 효과를 발휘한다. 증상 제제의 예로는 살리실산, 글루코코르티코이드 및 비스테로이드성 항염증 제제, 예컨대 인도메타신을 들 수 있다. 기타 치료 약물은 질병의 병인으로 작용하여 자가면역 반응을 억제하고, 이들의 효과는 투여 후 초기 몇 주 동안 발휘되며, 치료를 중단한 이후에도 효과가 지속된다. 이러한 제제에는 화학요법제 아자티오프린 및 시클로포스파미드 등의 면역억제제 뿐만 아니라, 프레드니손 등의 코르티손이 있다.

SLE를 치료하는데 현재 흔히 사용되는 일반적인 면역 억제제는 환자의 감염 감수성을 증가시키는 것과 같은 해로운 부작용을 유발하므로, 이들 약제를 장기간 사용하는 것은 금지된다. 질병의 발병 중 특정 단계를 표적으로 하는 선택적인 면역 억제제를 사용하여 SLE 환자에 면역글로불린 농도를 감소시키거나 또는 정상화시키는 시도가 시작되었고, 그 결과 질병의 신장 증상에 유리한 영향을 미칠 것으로 기대되어졌다. 항체의 생성시 필요한 반응중 하나는 B 세포 성장과 이에 따른 항체의 생성에 필요한 단계인 B 세포 상의 CD40과 활성화 T 세포 상의 CD40 리간드(CD40L)의 상호작용이다. 또한, CD40L은 문헌에서 "gp39" 및 "T 세포-B 세포 활성화 분자(T-BAM)"로 지칭되어 왔다. 본 명세서에서, CD40L, gp39 및 T-BAM은 같은 의미이며, 동일한 분자임을 이해해야 한다. PCT 공보 WO 93/09812(1993년 5월 27일)에는 마우스의 단일 클론 항체, 5c8이 활성화된 T 세포의 표면상의 T-BAM에 특이적으로 결합되어 B 세포의 T 세포 활성을 억제한다고 기재되어 있다.

문헌(Durie 등(1993), 261 Science 1328~1330)에는 항CD40L 단일 클론 항체, MR1을 투여함으로써 만성 면역계 질환, 콜라겐 유도 관절염을 예방하는 마우스 모델계 연구가 기재되어 있다. 마우스 모델계에는 치크 타입 II 콜라겐(CII)으로 마우스를 면역시킨 다음, 이들을 부가의 CII로 3주 후에 항원 투여함으로써 관절염을 유도하는 것과 관련이 있다. 이러한 항원 투여 후에 질병 증상이 관찰되었다. Durie 등의 문헌에는 MR1 치료요법이 모든 처리된 마우스에서 임상학적 질병(관절염)을 예방한다고 보고하였고, CD40L의 차단은 자가 면역 질병의 개시에 악영향을 미치는 잠재적인 치료학적 이로움을 준다고 결론내었다.

젊은 NZB 교배 마우스에 항CD40L 단일 클론 항체(mAbs)를 사용하여 CD40-CD40L 상호작용을 차단하는 두 개의 그룹을 실험하였고, 그 결과 마우스에서 신염이 발생하는 데 미치는 영향을 조사하였다.(Mohan 등, J. Immunol. 154:1470~1480, 1995; Early 등, J. Immunol. 157:3159~3164, 1994). 뉴질랜드 백색(NZW) 마우스 또는 정상 SWR 마우스 중 하나와 교배된 뉴질랜드 흑색(NZB) 마우스의 암컷 자손[각각 (NZB X NZW) F_1 및 (SWR X NZB) F_1 이라 함]은 많은 측면에서 인간의 SLE에 대하여 유사한 징후를 나타내었다(Steinberg 등, Ann. Int. Med. 115:548, 1991; Wofsy 및 Seaman, J. Exp. Med. 161:378, 1985). 동일 연령으로 교배된 암컷 F_1 쥐는 비정상적인 혈청 자가항체와 사구체신염을 나타내었다.

Mohan 등(상기 문헌)에서는 생후 3 개월된 마우스에 3일 동안 격일로 젊은 암컷(SWR X NZB) F_1 마우스에 250 mg의 MR1을 3회 투여하였다. 이 동물은 신염이 발생한 후 사망하였고, 단백뇨는 연속 2주간 300 μ g/dl 이상이였다. 미처리된 동물은 6 개월에 신염이 발생되었고, 10 개월이 되어서야 60%의 신염을 나타내었다. MR1로 처리된 동물 중 최초로 9 개월에 신염이 발생하였고, 처리된 동물의 40%가 연구의 종료 시점인 12 개월에 신염을 나타내었다. 또한, 이러한 치료는 항단일 표준화 DNA(항ssDNA) 및 항 이중 표준화 DNA(항dsDNA) 자가항체의 혈청 농도를 지속 감소시키는 것과 관련이 있다: 7 개월령 동물 중에서, 미처리되거나 또는 MR1 치료 후 4 개월된 동물의 중앙 항ssDNA는 각각 4.5 U/ml 또는 0.6 U/ml이고, 중앙 항dsDNA는 각각 2.2 U/ml 또는 0.4 U/ml이었다. 이 처리는 총 IgG의 혈청 농도에는 영향을 미치지 못하였다.

Early 등(상기 문헌)에 의해 실시된 연구에서, 암컷(NZB X NZW) F_1 마우스를 햄스터 항muCD40L mAb MR1(Noelle 등, Proc. Natl. Acad. Sci. 89:6550, 1992)으로 실질적인 투여량 200 mg MR1을 4 개월 내지 10 개월간 2주마다 복강내 처

리하였다. 이 치료는 임의의 마우스가 500 mg/dl 이상의 단백뇨를 나타내는 심각한 신염을 나타내기 전에 개시하였다. [10 마리의 미처리 대조군 마우스중 최초로 4.5 개월에 그러한 심각한 단백뇨를 나타내었다(Early 등, 상기 문헌 3161 페이지)]. MR1 치료는 처리된 동물의 신염 발생을 현저히 억제하였고, 이들의 생존을 연장시켰다: 미처리된 F₁ 마우스중 반은 6 개월에 신염이 발생하였고, 전부 10 개월에 사망하였으며, MR-1로 처리된 동물의 반에 못미치는 숫자가 신염에 걸렸고, MR1 치료가 종료된 10 개월에 단지 35%만이 사망하였다. 또한, MR1 치료는 치료의 개시후에도 몇달간 항DNA 자가 항체 역가를 안정화시키는 반면, 미처리된 대조군 항ssDNA 항체 역가는 동일한 기간 동안 매우 높은 수준으로 상승된다.

이러한 연구 결과는 다음과 같은 이유로 인하여 자발적인 SLE에 걸린 환자의 유사한 치료에 사용하는 것과 제한된 관련이 있다는 정보를 준다. 가장 중요하게는, 상기 연구에서 마우스는 단백뇨가 뚜렷해지기 이전에 항CD40L mAb로 치료를 시작하였다는 점이다. 따라서, 상기 연구 결과는 징후적인 질병이 존재하기 이전에 치료법을 개시하는 경우에 항CD40L 치료법에 의해 신염의 발생을 예방할 수 있다는 것을 암시할 수는 있으나, 그 결과를 통해 검체가 확정된 징후적인 루푸스에 걸린 임상학적으로 관련이 있는 상황에서 무엇이 발생할수 있는지에 관해서는 알 수 없다. 또한, Early 등에 의해 사용된 모델, (NZB X NZW)F₁ 마우스는 치료학적 중재의 결과에 대하여 예상되도록 인간 SLE 환자의 병인과 충분히 유사한 신염의 병인을 가지지 않을 수도 있다. 예를 들면, (NZB X NZW)F₁ 마우스는 높은 혈액 농도의 레트로바이러스 단백질을 가지며, 이는 혈청 자가항체와 함께 동물의 신염에 기여하는 것으로 간주된다. 대부분의 인간 SLE 환자는 이들의 혈액에 레트로바이러스 단백질을 갖지 않기 때문에, 항CD40L 화합물이 레트로바이러스의 농도에 미치는 영향은 알려져 있지 않고, 항CD40L 화합물이 자가항체와 관련된 인간 루푸스 신염에 미치는 영향은 (NZB X NZW)F₁ 마우스에서 치료학적 중재의 결과로부터 예견할 수 없다.

발명의 구성 및 작용

발명의 개요

본 발명은 면역 복합 질병 또는 징후적 SLE 중 하나에 걸린 환자에 치료학적 유효량의 항CD40L 화합물을 투여함으로써 신염의 진행을 치료, 회복, 안정화 또는 억제시키는 방법을 제공한다. "징후적 SLE"는 다음과 같은 징후를 하나 이상 갖는 환자를 의미한다: 단백뇨가 150 mg/L를 초과함, 뇨 단백질 총량이 150 mg/일 이상임, 항dsDNA 항체의 혈청 농도가 정상인의 농도보다 높은 경우. 활성 신염은 흔히 단백뇨가 300 mg/L를 초과함을 나타낸다.

항CD40L 화합물은 활성화된 T 세포와 같은 CD40L 발현 세포의 표면 상에서 CD40L에 결합하는 임의의 화합물일 수 있다. 한 실시 형태에서, 이 화합물은 항CD40L 항체, 바람직하게는 단일 클론 항체이다. 단일 클론 항체는 5c8(ATCC 수탁 번호 HB10916)일 수 있다.

항CD40L 화합물은 치료학적 유효량의 항CD40L 화합물과 약학적 허용 담체를 포함하는 치료 조성물로 제형화될 수 있다. 또한, 치료 조성물은 제2의 약학적으로 유효한 화합물을 포함할 수 있다.

또한, 본 발명은 면역 복합 질병에 걸린 환자의 신장 기능을 개선시키는 방법을 제공하는데, 이 방법은 치료학적 유효량의 항CD40L 화합물을 환자에 투여하고, 그 후 환자의 뇨에서 단백질 농도를 측정하는 단계를 포함하며, 단백질 농도는 항CD40L 화합물을 투여하기 전에 측정한 뇨 단백질 농도보다 낮다.

또한, 본 발명은 치료 조성물이 내장되는 의약 제품을 제공하는데, 상기 조성물은 치료학적 유효량의 항CD40L 화합물과 약학적 허용 담체를 포함하고, 루푸스 신염 또는 다른 면역 복합 질병을 치료하는 데 사용하기 위한 지시에 따라 용기를 멸균 포장한다. 이러한 조성물에서, 항CD40L 화합물은 단일 클론 항체, 예컨대 5c8일 수 있다.

또 다른 측면에서, 본 발명은 면역 복합 질병에 걸린 환자에 속하는 신장 동종이식편에서 신염의 발생 또는 진행을 억제하는 방법을 제공한다. 이 방법에서, 치료학적 유효량의 항CD40L 화합물을 환자에 투여한다. 이 방법은 SLE 및 혈청 질병을 비롯한 면역 복합 질병에 걸린 환자에게 유용할 수 있다. 항CD40L 화합물은 환자에 동종이식편을 이식하기 전, 이식할 때, 이식한 이후, 이식한 후 주기적으로 또는 이러한 투여 섭생법을 1회 이상 행한 후에 투여할 수 있다.

본 발명의 상세한 설명

본 발명은 면역 복합 질병 또는 확정된 SLE 질병 중 하나에 걸린 환자의 신염증을 치료, 회복 또는 안정화시키는 방법에 관한 것이다. 환자들은 T 세포 상의 CD40L과 B 세포 상의 CD40의 상호작용을 차단하는 화합물로 치료한다. 이는 병리학적 항체의 생성을 억제하는 것으로 사료되고, 면역 복합체와 관련된 신염증을 발달 및 악화시키는 것과 관련이 있는 병리학적 자가항체의 레벨을 사실상 감소시킨다.

화합물

본 발명의 방법에 유용한 치료학적 화합물에는 B 세포 상의 CD40과 활성화된 T 세포의 표면에 발현된 CD40L의 상호작용을 차단하는 임의의 화합물이 포함된다. 특별히 고려되는 항CD40L 화합물로는 폴리 클론 항체 및 단일 클론 항체 (mAbs)뿐만 아니라, 키메라 분자, 인간화된 분자, 작동체 기능이 감소된 분자, 2특이성 분자 및 항체의 접합체 등의 항체 유도체가 있다. 바람직한 구체예에서, 항체는 본 명세서에서 참고로 인용되고 있는 미국 특허 제5,474,771호에 기재된 바와 같은 5c8이다. 5c8 항원에 대항하는 다른 알려진 항체로는 항체 ImxM90, ImxM91 및 ImxM92(Immunex에서 입수함), Ancell(미국 미네소타주 베이포트 소재)에서 시판하는 항CD40L mAb(클론 24-31, 카탈로그 #353-020) 및 Genzyme(미국 매사추세츠주 캄브리지 소재)에서 시판하는 항CD40L mAb(카탈로그 #80-3703-01)가 있다. 또한, PharMingen(미국 샌디에고 소재)에서 항CD40L mAb(카탈로그 #33580D)가 시판되고 있다. 수많은 다른 항CD40L 항체가 제조되어 왔고, 특징화되어 왔다(본 명세서에서 참고로 인용되고 있는 브리스톨-메이어 스쿼브의 WO 96/23071 참조).

또한, 본 발명은 다른 종류의 항CD40L 분자, 예컨대 Fab 분획들, $F(ab')_2$ 화합물, V_H 영역, F_V 영역, 단쇄 항체(예컨대 WO96/23071호 참조), 폴리펩티드, 폴리펩티드의 융합 구조물, CD40의 융합물(본 명세서에서 참고로 인용되고 있는 Hollenbaugh 등, J. Immunol. Meth. 188:1~7, 1995에 기재된 바와 같은 CD40Ig 등) 및 작은 세미 펩티드 화합물 또는 비펩티드 화합물 등의 저분자량 화합물을 포함하고, 이들 모두는 CD40-CD40L 상호작용을 차단할 수 있다. 소분자들을 설계, 선별 및 최적화하는 방법이 특허 출원 PCT/US96/10664(1996년, 6월 21일자 출원)에 제공되어 있고, 이들 내용은 본 명세서에서 참고로 인용되고 있다.

항체의 각종 형태는 표준 재조합 DNA 기술을 사용하여 제조할 수 있다(Winter and Milstein, Nature 349:293-99, 1991). 예를 들어, "키메라" 항체를 작제할 수 있으며, 이 때 동물 항체로부터 유래한 항원 결합 도메인은 인간 불변 도메인에 결합된다(키메라 항체는 재조합 DNA 기술을 이용하여 힌지 및 중쇄의 불변부 및/또는 경쇄의 불변부의 일부 또는 전부를 인간 면역글로불린 경쇄 또는 중쇄에서 유래한 해당 영역으로 교체한 비인간 포유류로부터 처음에 유도된 항체임). (참고; 예컨대 Cabilly 등., 미국 특허 4,816,567; Morrison 등., Proc.Natl.Acad.Sci. 81: 6851-55, 1984). 키메라 항체는 인간의 임상 치료에 사용되는 경우 동물 항체에 의해 유발되는 면역원성 반응을 감소시킨다.

또한, 재조합 "인간화된" 항체를 합성할 수 있다. 인간화된 항체는, 재조합 DNA 기술을 사용하여 항원 결합에 필요하지 않는 아미노산의 일부 또는 전부를 인간 면역글로불린 경쇄 또는 중쇄의 해당 영역에서 유래한 아미노산으로 치환한 비인간 포유류로부터 처음에 유도된 항체이다[키메라는 특이적 항원 결합을 담당하는 영역이 삽입된 대부분의 인간 IgG 서열을 포함함](참고, PCT 특허 출원 WO94/04679). 동물을 소정의 항원으로 면역화시키고, 해당 항체를 분리하고, 특이적 항원 결합을 담당하는 가변부 서열의 일부를 제거한다. 이어서, 동물에서 유래된 항원 결합 영역을 항원 결합 영역이 결실된 인간 항체 유전자의 적절한 위치 내로 클로닝한다. 인간화된 항체는 인간 항체 중 이중 서열(중간 서열)의 사용을 최소화하고, 치료 검체에서 면역 반응을 유발하지 않을 것이다.

영장류 또는 영장화된 항체도 본 발명의 방법 및 조성물에 유용하다.

항체 단편 및 일가(univalent) 항체는 본 발명의 방법 및 조성물에 사용될 수 있다. 일가 항체는 2차 중쇄의 Fc(또는 간상부) 영역에 결합된 중쇄/경쇄 이량체를 포함한다. "Fab 영역"은, 중쇄의 Y 분지부를 포함하는 서열과 완전한 경쇄에 대해 대략적으로 동일하거나 또는 유사하며, 종괄적으로(전체적으로) 항체 활성을 나타내는 것으로 보이는 쇄의 부분을 의미한다. Fab 단백질은 1개의 경쇄와 1개의 중쇄의 집합체(보통 Fab'라고 부름) 뿐 아니라, 항체 Y의 2개의 분지 분절에 해당하는 사량체(통상 $F(ab)_2$ 로 알려져 있음)를 포함하며, 상기 집합체가 특정 항원 또는 항원계와 선택적으로 반응할 수 있는 한 전술한 임의의 것은 공유적으로 또는 비공유적으로 집합될 수 있다.

또한, 표준 재조합 DNA 기술을 사용하여 항원 결합 부위의 부근에 있는 아미노산 잔기를 변경시켜 항원과 재조합 항체의 결합 친화도를 변경할 수 있다. 인간화된 항체의 항원 결합 친화도는 분자 모델링을 기초로 돌연변이 유발에 의해 증가시킬 수 있다(Queen 등., Proc. Natl. Acad. Sci. 86:10029-33, 1989; PCT 특허 출원 WO 94/04679). 표적화된 조직 유형 또는 설정한 특정 치료 계획에 따라, CD40L에 대한 항체의 친화도를 증가 또는 감소시키는 것이 바람직할 수 있다. 이는

과지 디스플레이 기술을 이용하여 수행될 수 있다(참고: 예컨대 Winter 등., Ann. Rev. Immunol. 12:433-455, 1994; 및 Schier 등., J.Mol.Biol. 255:28-43, 1996, 본원에서 참고로 인용함). 예를 들어, 반(半)예방적 치료를 위해 CD40L에 대한 친화도가 감소된 일정량의 항체를 보유하는 환자를 치료하는 것이 유리할 수 있다. 유사하게, CD40L에 대한 친화도가 증가된 항체는 단기간 치료에 유리할 수 있다.

검체

본 발명의 방법이 목적하는 검체는 면역 복합 질병에 걸린 것이다. 이들 질병은 혈중에서 순환하는 면역글로불린 및 면역 복합체의 존재에 의해 특징지워진다. 면역 복합 질병 중 한 부류는 혈청 질환이라고 하는 것인데, 이는 전염성 제제, 약물, 외래 항원 또는 혈액 산물 등의 외인성 항원에 대한 면역 반응에 의해 유발될 수 있다. 또한, 면역 복합 질병은 환자가 "자가항체"를 만들 때 발생할 수 있는 데, 자가항체는 환자 자체 조직의 성분에 대항하는 항체이다. 이러한 면역 복합 자가면역 질병의 예로는 SLE, 류마티스 관절염, 굿파스튜어 증후군, 베게너 육아종증, 미시적 다발성 동맥염, 결절성 다발성 동맥염, 처그-스트라우스 증후군 및 다른 형태의 맥관염을 들 수 있다. 진술한 범위에 속하지 않는 면역 관련 증상과 관련이 있는 신염증 역시 본 발명의 방법으로 치료할 수 있다. 이러한 범위에 속하는 증상으로는 헤노흐-솔나인 자반병, 특발성(혼합된) 저온형면역글로불린혈증, ANCA-관련된 사구체신염 및 단일 클론 감마글로불린 장애, 예컨대 다발성 골수종, 양성 단일 클론 감마글로불린 장애 및 발덴스트럼 매크로글로불린혈증을 들 수 있다.

"환자"는 항CD40L 화합물이 투여되는 임의의 포유류 환자를 의미한다. 특히 본 발명의 방법으로 치료하고자 하는 환자는 인간과 비인간 영장류, 양, 말, 소, 염소, 돼지, 개, 고양이, 토끼, 기니 피그, 햄스터, 게르빌투스 쥐, 래트 및 마우스 뿐 아니라, 상기 숙주에서 유래되거나 유도된 세포, 기관 및 종양을 포함한다.

투여 경로

본 발명의 화합물은 의학적으로 허용되는 임의의 방식으로 투여될 수 있다. 이는 정맥내, 혈관내, 관절내, 피하, 근육내, 종양내, 복강내, 심실내, 경막상내 등의 비경구 경로 뿐 아니라 경구, 비강, 안구, 직장 또는 국소 경로를 통한 주사를 포함할 수 있다. 특히 데포우 주사와 같은 수단에 의한 서방형 투여도 본 발명에 포함된다. 또한, 항CD40L 화합물의 일부 형태는 경구 투여에 적절할 수 있으며, 현탁액 또는 환제로 제형화될 수 있다.

투여량 및 치료 빈도

소정의 면역 복합 질병을 위해 환자에게 투여하고자 하는 임의의 특정 화합물의 투여량 및 투여 빈도수는, 여러 가지 요인을 기초로 환자의 담당 의사가 결정한다. 일반적인 용량은 잠복기 및 임상 실험을 통해 정해지는데, 상이한 용량의 화합물이 환자에게 미치는 유익한 효과와 유해한 효과를 결정하는 광범위한 실험도 포함한다. 권장 사항이 작성된 후에도, 담당 의사는 환자의 연령, 의학적 상태, 체중, 성별 및 다른 약화물과의 동시 치료 등의 각종 고려 사항을 기준으로 하여 환자에 따라 상이한 용량을 투여하는 일이 흔히 있다. 루푸스 신염을 치료하는 데 사용되는 항CD40L 화합물 각각에 대한 최적량을 결정하는 것은 약학 및 의학 분야의 당업자에게는 일반적인 사항이다.

각종 섭생법이 본 발명에 따른 루푸스나 기타 면역 복합 질병의 치료에 사용될 수 있다. 일반적으로 투여 빈도는 주치의가 결정하며, 1회 투여, 또는 일일 반복 투여를 2 내지 6일 간격, 주 간격, 2주 간격 또는 달 간격으로 할 수 있다.

항CD40L 화합물에 대한 투여 고려 사항을 예시하기 위해서, 항CD40L mAb에 대한 투여 방법의 예가 하기에 제시되어 있다. 기타 유형의 항CD40L 화합물에 대해서 투여량을 조절하는 것은 쉽다. 일반적으로, 환자의 체중 1 kg당 약 0.05 및 약 50 mg의 단일 용량이 투여되지만, 체중 1 kg 당 1~20 mg의 양을 투여하는 것이 가장 빈번하게 사용된다. 급성 치료의 경우, 효과적인 항체 투여량은 체중 1 kg 당 약 1~20 mg으로서, 약 1~5일 동안 매일 투여되고, 바람직하게는 농축과 정맥내 투여된다. 동일한 투여량 및 투여 계획이 적재 유지 섭생법의 적재기에 사용되며, 유지기에서는 1주 내지 3개월 간격으로 임의의 치료 기간 동안 체중 1 kg 당 약 0.1~20 mg의 항체를 정맥내 또는 근육내 투여한다. 유지 섭생법으로 만성 치료를 수행할 수 있는데, 이 방법에서 항체는 정맥내 또는 근육내 경로로 체중 1 kg 당 약 0.1~20 mg 투여되고, 투여 사이의 간격은 약 1주 내지 약 3 개월이다. 또한, 항체를 체중 1 kg당 약 0.2 내지 10 mg의 범위로 투여할 수도 있다. 또한, 간헐적인 농축과 정맥내 섭생법에 의해 만성 치료를 실시할 수 있으며, 이 방법에서는 체중 1 kg 당 약 1.0~100 mg의 항체가 투여되고, 치료 사이의 간격은 1 내지 6개월이다. 간헐적인 농축과 섭생법을 제외하고는, 모두 경구, 폐, 비강 또는 피하 경로로 투여될 수도 있다.

저 용량의 항체를 사용하여 치료를 개시하는 것이 일반적이다. 예를 들어 항체의 초기 용량은, 예컨대 주사 또는 주입에 의해 환자에게 투여된다. 초기 투여량은 70 kg 환자의 경우 1일 동안 항체 약 1.0~30 mg을 포함해야 한다. 수일 동안 반복

투여되는 경우, 질병 증상의 소정의 억제제가 관찰될 때까지 매일, 2일 내지 6일 마다, 일주일에 1회, 2 내지 4주 마다 또는 1 개월에 1회 용량을 투여할 수 있다. 그러나, 다른 투여량 섭생법도 유용하다. 증상이 원하는 정도로 경감되면 치료를 중단할 수 있다. 그러나, 환자는 질병 증상의 재발시 장기간 간헐적인 치료를 요할 수도 있다.

루푸스 치료를 위한 본 발명의 대안적인 실시 형태에서, 항체의 효과는, 연속적으로 투여하거나 또는 종래의 항루푸스 치료제나 약물, 예컨대 살리실레이트, 코르티코스테로이드 또는 면역억제제와 함께 투여하면 증가될 수 있다. 별법으로, 항체는 종래 제제와 접합될 수 있다. 이는 제제가 단일 치료법으로서 투여되는 경우 종래의 제제를 통상적인 용량보다 소량, 예컨대 통상적인 용량의 약 50% 미만을 투여하여도 되므로 유리하다. 따라서, 제제와 관련된 다수의 부작용이 발생하는 것을 피할 수 있다.

루푸스의 치료를 위한 본 발명의 조합 치료는 항CD40L 항체와 함께 B 세포에 표적화된 제제, 예컨대 항CD19, 항CD28 또는 항CD20 항체(비접합되거나 방사선표지됨), IL-14 길항물질, LJP394(라졸라 파마슈티칼스의 수용체 차단제), IR-1116(다케다 소분자) 및 항Ig 유전형 단일 클론 항체를 사용한다. 별법으로, 조합 치료는 T 세포/B 세포 표적화된 제제, 예컨대 CTLA4Ig, IL-2 길항물질, IL-4 길항물질, IL-6 길항물질, 수용체 길항물질, 항B7 단일 클론 항체, TNF, LFA1/ICAM 길항물질, VLA4/VCAM 길항물질, 브레키나르 및 IL-2 독신 접합체(예, DAB), 프레드니손, 시클로포스파미드 및 기타 면역 억제제를 포함할 수 있다. 조합 치료제는 T 세포 표적된 제제, 예컨대 CD4 길항물질, CD2 길항물질 및 IL-12를 포함할 수도 있다.

루푸스외의 면역 복합 질병에 걸린 환자의 치료를 위한 조합 치료는 항CD40L 화합물 뿐 아니라 해당 특정 면역 복합 질병을 위해 통상적으로 투여되는 제제를 포함할 수 있다.

일단 환자의 증상이 개선되면, 필요에 따라 항CD40L 항체의 유지 용량을 단독으로 또는 종래의 항루푸스 제제와 함께 투여한다. 이어서, 증상의 함수로서 투여 용량이나 투여 빈도 또는 두가지 모두 개선된 증상을 유지할 수 있을 정도로 감소시킬 수 있다. 증상이 원하는 정도로 경감되면, 치료를 중단한다. 기타의 예에서, 환자의 담당의사의 결정대로, 예컨대 4주 이상의 간격을 두고 가끔 치료제를 투여한다. 그러나, 환자는 질병 증상이 재발하는 경우 장기간 간헐적인 치료를 요할 수 있다.

제제

본 발명의 방법에 사용된 항CD40L 화합물은 약학적 유효량으로 투여되는데, 이 양은 면역 복합 질병, 특히 SLE에 걸린 환자의 신장에 의학적으로 이로운 효과를 주는 양이다. 의학적으로 이로운 효과는 환자의 신장 기능 또는 건강 상태가 악화되는 것을 예방하거나 또는 증상의 호전을 유발하는 것을 포함한다. 신장 기능과 건강 상태는 혈액 또는 뇨 중의 관련 물질의 농도, 기타 뇨 특성 또는 혈액에서 뇨로 각종 물질이 제거되는 속도를 측정하는 하나 이상의 실험실 테스트로 모니터링할 수 있다. 개별적으로 또는 함께 이들 테스트에 의해 측정되는 매개 변수를 사용하여 담당의사가 신장 기능 또는 손상을 평가할 수 있다. 이러한 매개 변수의 예로는 우레아, 크레아티닌 또는 단백질의 혈중 농도; 단백질 또는 적혈구나 백혈구와 같은 각종 혈액 세포의 뇨 농도; 뇨 비중; 뇨의 양; 이눌린, 크레아티닌, 우레아 또는 p-아미노hip푸르산의 제거율; 및 고혈압 또는 부종의 존재가 있다. 의학적으로 이로운 효과는 루푸스 환자의 혈청내의 자가항체, 예컨대 항dsDNA 항체를 감소시키는 것이다.

본 발명의 항CD40L 화합물은, 약학적 허용 담체를 포함할 수 있는 약학적 허용 조성물로 환자에게 투여된다. 이러한 담체는 항CD40L 화합물 또는 기타 활성 성분의 활성이 효과적인 농도에서 환자에게 무해하고 비교적 독성이 없으므로, 담체로 인한 임의의 부작용은 조성물 중 활성 성분의 이로운 효과를 손상시키지 않는다. 조성물은 기타 상용성 물질을 포함할 수 있다. 본 명세서에서 사용한 "상용성"이라는 용어는, 약학물의 치료 효과를 실질적으로 감소시키는 상호작용이 없도록 하는 통상적인 방식으로 약학 조성물의 성분들이 항CD40L 화합물과 혼합되고, 또한 각 성분들도 서로 혼합될 수 있다는 것을 의미한다. 비강 분무 제제는 보존제 및 등장제와 활성 성분의 정제 수용액을 포함한다. 이러한 제제는 비강 점막에 적합한 pH 및 등장 상태로 조정되는 것이 바람직하다. 경구 투여에 적합한 본 발명의 제제는 캡슐, 카세제, 정제, 환제 또는 로젠지와 같은 분리된 단위체로서 제공될 수 있으며, 각각은 분말 또는 과립; 리포솜; 수성액 또는 비수성액내의 현탁액, 예컨대 시럽, 엘릭시르, 유화액 또는 돈복수제로서 규정량의 유효한 항CD40L 화합물을 포함한다.

본 발명의 조성물은 멸균 상태를 유지하고, 적절한 유통 및 보관 중에 활성 성분의 활성을 보호하며, 환자에 투여하기 위한 조성물의 효과적인 접근 용이성 및 편리함을 제공하기 위하여 적합한 용기에 제공될 수 있다. 항CD40L 화합물의 주사용 제제에 있어서, 조성물은 주사침과 주사기를 사용하여 내용물을 뽑기 적합한 마개가 장착된 바이알에 공급될 수 있다. 바이알은 일회 사용하거나 또는 여러번 사용가능하다. 또한, 조성물은 미리 충전된 주사기로서 공급될 수 있다. 어떤 경우에 있어서, 내용물은 액체 제형으로 공급되는데, 다른 것들이 건조 또는 동결건조 상태로 공급되는 경우에, 표준 또는 공급 회

석제를 액체 상태로 재조정할 필요가 있다. 화합물이 정맥 투여용 액체로서 공급되는 경우에, 정맥 투여 라인 또는 도뇨관에 연결하기에 적합한 멸균 백 또는 용기에 제공될 수 있다. 항CD40L 화합물이 정제 또는 환제형으로 경구 투여되는 경우에, 조성물은 제거 가능한 커버를 구비한 병에 공급될 수 있다. 용기에는 화합물의 종류, 제조업체 또는 분배처의 이름, 지시 사항, 제안 용량, 적합한 보관에 관한 지시 사항 또는 투여에 관한 지시 사항 등의 정보가 적힌 라벨이 사용된다.

비인간 검체에서 신염성 루푸스를 치료하기 위한 항CD40L 화합물의 용도

본 발명자들은 전술한 바와 같은 몇 가지 연구에서 암컷(SWR X NZB) F_1 마우스의 신염 경과에 대한 햄스터 항 muCD40L mAb MR1의 효과를 검사하였다. 대조군 동물에게 시리안 햄스터 폴리 클론 Ig, 또는 KLH에 대해 유도된 미국 햄스터 mAb인 Ha4/8을 주사하였다. 단백뇨 농도는 미량 내지 레벨 4였다. 레벨 1은 알부민 1 dl당 뇨 알부민 30 mg, 레벨 2는 100 mg, 레벨 3은 300 mg, 레벨 4는 2000 mg 이상과 관련이 있다. 레벨 2는 보통 정도의 신염, 2.5 이상은 중증의 신염을 나타내는 것으로 간주된다.

대조군 동물에게 투여된 비특이적 햄스터 면역글로불린으로 처리하거나, 또는 처리하지 않은 경우, 마우스는 12 개월령에 죽는 것이 일반적이다. 미처리 동물군에서의 단백뇨 개시는 가변적이지만, 대부분의 마우스는 3 개월령에서 약간 내지 중간 정도의 단백뇨가 생기며, 연령이 증가함에 따라 단백뇨도 증가하는 경향이 있다. 약 5 개월령까지, 모든 대조 동물군은 통상적으로 검출 가능한 항dsDNA 항체를 보유하며, 대부분은 검출 가능한 항ssDNA 항체를 보유한다. 이는 (SWR \times NZB) F_1 마우스의 암컷 SWR 모체와 같은 보통 쥐에서 이들 항체의 검출 가능한 레벨이 완전히 부족한 것과는 대조적이다.

[실시예]

실험 II: 4개월에서 시작된 처치(도 1 및 도 2)

MR1 처리는 마우스가 4 개월령일 때 개시하였다. 마우스가 4 개월령, 7 개월령, 9 개월령일 때 각 1회, 그 다음 매월 1회 동물 1마리당 MR1 500 μ g을 처리된 마우스에게 복강내 투여하였다. 처리한 지 4 개월 후에, 5 마리의 대조군 동물 중 4마리가 죽었으나, 6 마리의 처리된 동물 중 4 마리는 아직 살아있었다. 생존해 있던 처리된 마우스 4 마리중 3 마리는, 각각 12 개월, 13 개월, 13.5 개월에 죽었다. 1 마리는 아직 살아있고 지금 15 개월령인데, 이는 교배 마우스로서는 예상외로 수명이 긴 것이다. 생존 동물(마우스 도 2의 II:DN)은 8 개월령 내지 13 개월령에서 보통의 신염(2+ 단백뇨)을 나타내었으며, 마지막 2 개월 동안 단백뇨는 소량으로 감소하였다. 이는 상기 종의 마우스에서 신염이 기능적으로 회복되었다는 제1 증거이다.

실험 V: 4.5 개월에서 시작된 처치(도 3 및 도 4)

MR1 처리는 마우스가 4.5 개월령일 때 개시하였다. 마우스가 4.5 개월령일 때 동물 1 마리당 MR1 500 μ g을 1회 투여하고, 그 다음 매월 1회 동물 1 마리당 MR1 500 μ g을 처리된 동물에게 복강내 투여하였다. 처리한 지 4.5 개월 후에, 7 마리의 대조군 동물 중 6 마리가 죽었으나, 7 마리의 처리된 동물 중 6 마리는 살아있었다. 처리한 지 8 개월 후에, 모든 대조군은 죽었지만, 7 마리의 처리된 마우스 중에서는 단지 3 마리만 죽었다. 도 4에 도시된 바와 같이, 7 마리의 MR1로 처리된 동물 중 4 마리는 신염이 회복되었으며, 이는 단백뇨의 저레벨이 유지되는 것으로 알 수 있다. 이들 4 마리의 동물은 12.5 개월째에서도 여전히 살아있다.

실험 VII: 5.5 개월에서 시작된 처치(도 5 및 도 6)

MR1 처리는 마우스가 5.5 개월령일 때 개시하였다. 6주 동안 매주 1회, 이후에는 매월 1회 복강내 주사로 동물 1 마리당 500 μ g의 MR1을 처리된 동물에게 투여하였다. 처리한 지 5 개월 후, 즉 10.5 개월령이 되었을 때, 7 마리의 대조군 중 6 마리가 죽었다. 7 마리의 처리된 동물군은 모두 12 개월령에 살아있었다. 다음 값은 처리한 지 3.5 개월 후, 즉 8.5 개월째에 여전히 생존해 있는 동물에서 측정하였다.

	항SS DNA	항DS DNA	PU
대조군	2.4	0	4
	8.8	6.3	4
	6.3	10.1	4
	5.8(2.6)	5.4(4.1)	4(0)
MR1	2.7	0	1
	2.0	0	1.5
	2.0	1.5	3
	0	0	2
	2.7	0	1
	0	0	2
	3.5	0	1.5
	1.8(1.2)	0.2(0.5)	1.7()

실험 X: 덜 집중적인 처치, 5.5 개월에 시작됨(도 7 및 도 8)

MR1 처리는 마우스가 5.5 개월령일 때 개시하였다. 동물 1 마리당 500 μ g의 MR1을 4주 동안 매주 1회 복강내 주사한 후, 200 μ g의 MR1을 매월 1회 복강내 주사하여 처리된 동물에게 투여하였다. 연구에 사용된 16 마리의 마우스(대조군 및 치료군 각 8 마리)중, 현재 8.5 개월령에서 죽은 마우스는 1 마리 뿐이며, 이 죽은 마우스는 7.5 개월령의 대조군 동물이었다. 도 8에 도시된 바와 같이, 8 마리의 대조군 동물 중 7 마리에서 단백뇨가 서서히 고 레벨로 증가하였으며, 7 마리의 생존 대조군 마우스의 평균 레벨은 +3.4였다. 8 마리의 MR1 처리된 마우스 중 1 마리만을 제외한 모든 마우스의 단백뇨가 낮게 유지되었으며, 8 마리의 처리된 마우스의 평균 레벨은 일반적으로 평균 +2였다. 도 7에 도시된 바와 같이, 대조군 중 단 한 마리만을 제외하고 처리된 동물 6 마리는 검출 가능한 항dsDNA 항체를 보유하지 않았다.

실험 VI: 7개월에서 시작된 처치(도 9 및 도 10)

MR1 처리는 마우스가 7 개월령일 때 개시하였다. 동물 1 마리당 500 μ g의 MR1을 6주 동안 매주 1회 복강내 주사한 후 매월 1회 복강내 주사하여 4 마리의 처리된 동물에게 투여하였다. 10 개월령까지 모두 4 마리의 대조 동물이 죽었다. 치료 마우스 2 마리는 11 개월령에, 또 다른 1 마리는 13 개월령에 죽었지만, 4 마리의 처리된 동물 중 한 마리는 처리한 지 7 개월 후인 14 개월에 살아있었다. 생존한 처리된 동물(번호 VI:ER)은 일반적으로 단백뇨의 레벨이 1이고 항dsDNA 및 항ssDNA 항체가 검출 가능하다.

이들 실험은 항CD40L mAb를 투여하여 (SWR \times NZB) F_1 마우스를 치료하면, 대조군 동물에 비해 현저하게 지속적으로 생존이 연장되며, 단백뇨 레벨에 의해 제시되는 바와 같이 신염 발생이 지연된다는 것을 보여준다. 일부 동물에서, 처리는 신염을 급속하게 회복시키며, 이는 단백뇨 레벨이 감소하는 것으로 알 수 있다. 32 마리의 처리된 동물 중에서, 11 마리의 단백뇨 레벨은 항CD40L mAb 치료로 감소되며, 대조 동물 중 유사한 감소를 나타낸 동물은 없었다. 혈청 혈액 요소 질소(BUN)가 측정된 24 마리의 처리된 동물 중 3 마리는 치료 후에 BUN 농도가 감소하였으며, 이는 임의의 대조 동물에서는 관찰되지 않았다. 또한, MR1 처리로, 동일한 유형의 미처리된 동물에서 통상 생성되는 항DS DNA 자가 항체 및 항SS DNA 자가 항체의 혈청 농도가 감소된다.

발명의 효과

앞에서 상술된 바와 같이, 본 발명 항CD40L 화합물은 면역복합 질병과 관련된 신염을 치료하는데 특유한 효과를 갖는 것입니다.

전술한 본 발명은 이해를 명확하게 하기 위해서 실시예 및 예시적 방법으로 상세히 설명하였지만, 당업자라면 일부 변형 및 수정도 본 발명의 범위 내에서 실시할 수 있으며, 본 발명은 단지 청구 범위에 의해 한정된다는 것을 알 것이다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

(a) 신염의 진행을 억제하거나, (b) 신염을 안정화시키거나, 또는 (c) 신염을 회복시키기 위하여 항CD40L 항체 또는 항체 유도체를 포함하는 약제를 환자의 체중을 기준으로 0.05 mg/kg 내지 50 mg/kg 범위의 투여량으로 상기 환자에게 사용하는 방법.

청구항 2.

(a) 단백뇨의 진행을 억제하거나, (b) 단백뇨를 안정화시키거나, 또는 (c) 단백뇨를 회복시키기 위하여 항CD40L 항체 또는 항체 유도체를 포함하는 약제를 환자의 체중을 기준으로 0.05 mg/kg 내지 50 mg/kg 범위의 투여량으로 상기 환자에게 사용하는 방법.

청구항 3.

(a) 맥관염의 진행을 억제하거나, (b) 맥관염을 안정화시키거나, 또는 (c) 맥관염을 회복시키기 위하여 항CD40L 항체 또는 항체 유도체를 포함하는 약제를 환자의 체중을 기준으로 0.05 mg/kg 내지 50 mg/kg 범위의 투여량으로 상기 환자에게 사용하는 방법.

청구항 4.

제1항 내지 제3항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 항CD40L 항체 또는 항체 유도체를 투여하기 전에 상기 환자가 (a) 150 mg/L 이상; 또는 (b) 300 mg/L 이상의 단백뇨 수치를 갖고 있는 것인 방법.

청구항 5.

제1항 내지 제3항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 약제는 상기 환자에게서 (a) 항DNA 항체의 혈청 수치 증가를 억제하거나, (b) 항DNA 항체의 혈청 수치를 안정화시키거나, 또는 (c) 항DNA 항체의 상승된 혈청 수치를 감소시키는 데 효과적인 양의 상기 항CD40L 항체 또는 항체 유도체를 포함하는 것인 방법.

청구항 6.

제1항 내지 제3항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 약제는 상기 환자에게서 (a) 환자의 우레아, 크레아티닌 또는 단백질의 혈중 농도, (b) 환자의 단백질 또는 혈액 세포의 뇨 농도, (c) 환자의 뇨 비중, (d) 환자의 뇨의 양, (e) 환자의 이눌린, 크레아티닌, 우레아 또는 p-아미노hip푸르산의 제거율, (f) 환자의 고혈압, (g) 환자의 부종 및 (h) 환자의 순환하는 자가항체 수치로부터 선택되는 임상학적 매개 변수를 안정화 또는 감소시키는 데 효과적인 양의 상기 항CD40L 항체 또는 항체 유도체를 포함하는 것인 방법.

청구항 7.

제1항 내지 제3항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 항CD40L 항체가 모노클론 항체인 것인 방법.

청구항 8.

제7항에 있어서, 상기 모노클론 항체가 ATCC 수탁번호 HB10916에 의해 생산되는 5c8인 것인 방법.

청구항 9.

제7항에 있어서, 상기 항CD40L 항체가 인간화된 항체인 것인 방법.

청구항 10.

제1항 내지 제3항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 항CD40L 항체 유도체가 (a) Fab 단편, (b) $F(ab)_2$ 화합물, (c) V_H 영역, (d) F_V 영역 및 (e) 1본쇄 항체로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 11.

삭제

청구항 12.

삭제

청구항 13.

삭제

청구항 14.

삭제

청구항 15.

삭제

청구항 16.

삭제

청구항 17.

삭제

청구항 18.

삭제

청구항 19.

삭제

청구항 20.

삭제

도면

도면1

[illegible]

도면2

라벨 #	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
실험연구 I(A-H)q	R	1.5	1.5	2	3	2.5	2.5	3			6-10	7-10	8-14
	L	1.6		2	3	4					실험 6/4	실험 /G+19	4
실험연구 II(B-H)q	N		2.5	4	4	4					실험 6/4	실험 /G+19	
	N			0.5	2	4	4				실험 6/10	실험 /G+19	
실험연구 II(C-M)R	N		1	1	3	2.5	3				4+	실험 /G+19	
	L	1.5	1	2	3	3	3						
	N	1	1	2	2	2	2						
	L	1	1	2	2	2	2						
실험연구 II(D-M)R	R		0.5	1	1	NC	1.6	1/2					
	N	1	1	1	1	1	1	1					

도면3

V	PU	5-2-96 이전 량 - SSDNA ug/ml	량 - DSDNA ug/ml	PU	10-4-96 MR1 ug/ml	9/18 5 INJ 량 - MR1 ug/ml	량 - SSDNA ug/ml	량 - DSDNA ug/ml	PU	11-15-96 MR1 ug/ml	10/15 6INJ 량 - MR1 ug/ml
AR	미량	13.4(1.3)	4.3(0.5)	"	"	"	"	"	"	"	"
AL	0	0	"	"	"	"	"	"	"	"	"
AN	미량	5.4(0.6)	1.3(0.3)	"	"	"	"	"	"	"	"
BR	2	2.9(0.1)	0	"	"	"	"	"	"	"	"
BL	2	0.8(0.03)	0	"	"	"	"	"	"	"	"
BN	2	0	0	4+	ND	ND	13.2(1.1)	3.3(0.3)	4+	ND	ND
BLR	2	0	0	"	"	"	"	"	"	"	"
CR	2	1.2(0.1)	2.3(0.3)	4	30(4.6)	ND	0	0	"	"	"
CL	1	0.9(0.1)	0	1	0	926(51)	2.6(0.3)	0	1	0	0.2(0.00)
CN	1	0	0	1	68(3.5)	ND	0	0	1	39(6.4)	0
OR	1	0	0	2	143(27)	ND	0	0	1	77.5(8.4)	0
DL	2	2.9(0.2)	0	1.5	36.6(6.7)	ND	0	0	1.5	30.4(6.8)	0.5(0.00)
DN	미량	1.9(0.1)	0	"	"	"	"	"	"	"	"
DLR	1	0	0	"	"	"	"	"	"	"	"

도면4

실험연구 V/A Hg R	6-8-96	6-17	4-10	4-10	4-26	7-3	7-10	7-17	7-25	7-31	8-14	8-21	8-28	9-4
	미량	2	미량	3	4	4	4	4		4			미량	
	L NC	3		4	4	4	4	NC		4				
	N 미량	3												
실험연구 V/B Hg R	2	2	4		NC	2	4	NC	4+		미량	8-13		
	L NC	3			NC	4	2	2	2	3			3	
	N/2 불검	NC	2		NC	2	2	2	2	2				
	L 미량	미량	5-12											
실험연구 V/C MRI R	2	NC	2		NC	1	3	3	4	4			4	
	L 1	1	2			1	1	1	1	1	1	1	1	1
	N 1	1	1		1	1	1	1	NC	1	1	1	1	1
	NC	NC	2		NC	2	2	2	2	2	2	2	2	2
실험연구 V/D MRI R	NC	1	1		NC	1	2	2	1.5	1.5	1.5	NC	1.5	
	L 2	2	2		NC	2	2	1.5	1.5	1.5	1.5	NC	1.5	
	N 미량	2	2		NC	1	1	1	1	NC	1	2	2	
	L NC	1	2		NC	3	3	NC	3	미량	8-14			
9-11	9-25	10-9	10-23	10-30	11-6	11-13	11-20	11-27	12-4	12-11	12-18	12-26	1-1-97	
4	미량	9-23												
4+	4+													
4														
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2	NC	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
NC	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
NC	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2

도면5

	9-30-96 MR1 ug/ml	9/3-7 INJ 항 - MR1 ug/ml	SSDNA 항 - SSDNA ug/ml	DSDNA 항 - DSDNA ug/ml	총 Ig mg/ml	PU	11-1-96 MR1 ug/ml	10/1-6 INJ 항 - MR1 ug/ml	SSDNA 항 - SSDNA ug/ml	DSDNA 항 - DSDNA ug/ml	총 Ig mg/ml
VII PU											
AN4	ND	ND	ND	2,410.3	0	"	0,140.03	"	"	"	"
BR4	ND	ND	ND	8,310.7	8,310.1	4	ND	ND			1.2 (0.1)
BL4	ND	ND	ND	8,310.1	10,111.1	4	ND	ND			0.7 (0.06)
CR1	35.7 (1.5)	ND	ND	2,710.6	0	1	22.5 (5)	0	1.5 (0)		1.7 (0.2)
CL1	15.82(3)	ND	ND	2,002.2	0	1	15.24 (5)	0	0.4 (0.07)	0.7 (0.06)	1.4 (0.4)
CN3	240.6	0	ND	2,001.1	1,501.1	3	0	5.3 (0.6)	3.5 (0)	3.7 (0.2)	1.4 (0.4)
CLR2	36.112(8)	0	0	0	0	1	6.4 (0.6)	0.05 (0.002)	1.8 (0)	1 (0.1)	1.4 (0.4)
DR1	27.6(39)	0	0	2,710.6	0	1	5.9 (0.9)	0.05 (0.003)	2.5 (0.9)	2.9 (0.2)	1.3 (0.3)
DL2	51.3(5.4)	ND	0	0	0	2	23.6(4)	0	0	0	0.6 (0.1)
DN15(204)	0	0	0	3,611.381	0	1,110.1	1,514.8(0.9)	0	0	0	

	11-20-96 MR1 ug/ml	10/1-6 INJ 항 - MR1 ug/ml	SSDNA 항 - SSDNA ug/ml	DSDNA 항 - DSDNA ug/ml
PU				
"	"	"	"	"
"	"	"	"	"
4 ND	ND	0	0	0
1	38.5 (5.7)	0	0	0
1*	47.3 (2.5)	0	98.2 (1.8)	0
(3)	313.6 (52)	0	49.5 (0.2)	0
1	16.2 (0.9)	0	0	0
1	40.6 (7.3)	0 Rev BUN 111	0	0
1	71 (6)	0	0	0
1	15.855 (7.7)	0	0	0

도면6

[illegible]

도면7

		10-14-96 01점		11/25/96		
X	PU	함 - SSDNA ug/ml	함 - DSDNA ug/ml	PU	함 - SSDNA ug/ml	함 - DSDNA ug/ml
AR	1	4.2(1.2)	0	2	64.8(3.3)	24.8(1)
AL	1	2.5(0.3)	0.2(0.0)	2	107.6(4.2)	11.3(1)
AN	1	5.1(0.7)	4.2(0.5)	4	0	0
ALR	미량	0.3(0.1)	0	1	40.9(1.5)	23(1.5)
BR	2	49.0(3.5)	3.3(0.1)	3	10.8(1.6)	3.9(0.4)
BL	1	3.8(1.0)	0	3	4.7(0.2)	3.1(0.1)
BN	미량	5.1(0.02)	0	1	26.8(3.8)	15.9(2.6)
BLR	1	3.0(0.3)	0	1	22.1(3.2)	23.1(0.4)
CR	1	17.8(2.8)	6.7(0.8)	1	124(0)	0
CL	1	0	18.9(2.2)	1	140(23)	68.7(5.6)
CN	1	1.03(0.3)	0.6(0.10)	1	0	0
CLR	미량	22.6(2.08)	7.7(1.06)	0.5	18.6(1.6)	6.1(0.3)
DR	3	0	0	4	70.3(7.5)	0
DL	1	4.3(0.6)	3.6(0.6)	1	8.4(0.1)	0
DN	미량	5.1(1.1)	8.6(0.1)	0.5	42.5(4.6)	0
DLR	미량	0	0	0.5	0	0

도면8

	9-16	9-25	10-2	10-9	10-14	10-23	10-30	11-6	11-13	11-20	11-27	12-4	12-11	12-18	12-26	1-1-97
실험연구 XA Ha4/8 R					1	2	2	2	2	2	NC	2	3	3	3	4
L					1	1	1	1	1	1	2	NC	2	3	3	3
N					1	2.5	2.5	3	4+	4+	4+	4+	4+	실험 12-18	4	4
LR					미량	미량	1	1	1	1	1	4	NC	4	4	4
실험연구 XA Ha4/8 R					2	2	NC	3	NC	3	NC	3	NC	3	3	4
L					1	1	1	1	NC	2	3	3	3	4	4	4
N					1	1	1	1	1	1	3	3	3	4	4	4
LR					미량	1	1	1	1	1	2	1	1	3	4	NC
실험연구 X C MR1 R					1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	NC	1
L					1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	NC	4
N					1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2
LR					1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
실험연구 X D MR1 R					3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4
L					1	1	NC	1	1	1	1	NC	1	1	1	3
N					미량	미량	미량	미량	미량	미량	미량	미량	미량	미량	미량	1
LR					3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4
실험연구 X D MR1 R					1	1	NC	1	1	1	1	NC	1	1	1	3
L					미량	미량	미량	미량	미량	미량	미량	미량	미량	미량	미량	1
N					1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
LR					미량	미량	미량	미량	NC	미량	미량	미량	미량	미량	NC	NC

도면9

		10-2-96	10/1-8 INJ			11-1-96	10/1-8 INJ		
VI	PU	MR1 ug/ml	량 - MR1 ug/ml	량 - SSDNA ug/ml	PU	MR1 ug/ml	량 - MR1 ug/ml	량 - SSDNA ug/ml	량 - DSDNA ug/ml
DN	4	8.1 (1.4)	0.64 (0.8)	17.9 (1.1)	"	"	"	"	"
ER	1	153 (7.8)	ND	0	1	27 (6)	0	3.2 (1.3)	1.3 (0.08)
EL	3	46.7 (4.6)	0.35 (0.09)	10.8 (0.9)	3	"	4.9 (0.2)	0	1.7 (0.2)
EN	3	25 (3.5)	0	5.6 (0.6)	"	"	"	"	"

PU	11-20-96	11/5-9 INJ
	MR1 ug/ml	량 - MR1 ug/ml
"	"	"
1	90 (9.8)	0
3	151.7 (4.6)	0.5 (0.04) REV BUN 11/1
"	"	"

도면10

	6-24	7-10	7-17	7-25	7-31	8-14	8-21	8-28	9-4	9-11	9-25	10-2
실험연구 VIA Hig R	3.5	3	3	4		시양 8-10						
N		3	NC	3	4	4				4	시양 9-15	
실험연구 VIB Hig N	4	4	4			4				4+	4+	시양 9-30
실험연구 VIC Hig N	1.5	3	3	4+		4				시양 9-11		
실험연구 VID MR1 N	4	4	4			4		4		4	4	4
실험연구 VIE MR1 R	미량	미량	미량	미량	미량	미량	미량	미량	미량	미량	NC	1
L	2.5	2.5	2.5	2.5	NC	3	3	3	3	3	3	NC
N	2.5	2.5	NC	2.5	3	3	2.5	3	3	3	NC	3

10-9	10-23	10-30	11-6	11-15	11-20	11-27	12-4	12-11	12-18	12-26	1-1-97
시양 10-20											
NC	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3	3	3	3	3	3	3	NC	3	시양 12-18		
3	시양 10-21										