



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년08월06일

(11) 등록번호 10-1884616

(24) 등록일자 2018년07월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/16 (2006.01) A61K 9/00 (2006.01)
C07K 14/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-7011373

(22) 출원일자(국제) 2009년10월20일

심사청구일자 2014년10월17일

(85) 번역문제출일자 2011년05월19일

(65) 공개번호 10-2011-0095867

(43) 공개일자 2011년08월25일

(86) 국제출원번호 PCT/US2009/061345

(87) 국제공개번호 WO 2010/065206

국제공개일자 2010년06월10일

(30) 우선권주장

61/106,834 2008년10월20일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

WO2008085191 A1*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

모레 매트릭스 인코포레이티드

미국 뉴저지주 모리스타운 매디슨 에비뉴 55 슈트
400 (우: 07960)

(72) 발명자

파니치 엘리사

미국 47906 인디애나주 웨스트 라피엣 힐크레스트
로드 607

(74) 대리인

특허법인코리아나

전체 청구항 수 : 총 17 항

심사관 : 김영수

(54) 발명의 명칭 유착 치료 또는 예방용 폴리펩티드

(57) 요약

본 발명은 아미노산 서열 YAAAAARQARAKALARQLGVAA [SEQ ID NO:1] 을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 동등물 및 단체를 포함하는 조성물의 유착-감소량을 부여하는 단계 (a) 를 포함하는, 이를 필요로 하는 대상에서의 유착을 치료 또는 예방하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 상기 방법은 초기 유착 형성 감소 및 존재하는 반흔의 치료적 처리에 임상적으로 유용하다.

명세서

청구범위

청구항 1

치료량의 폴리펩티드 YARAAARQARAKALARQLGVAA [SEQ ID NO:1] 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는, 이를 필요로 하는 대상에서의, 수술, 염증 또는 손상 후 진전되는 통상 서로 분리되는 2 개의 해부 표면이 함께 결합하는 반흔 조직의 발생률 또는 정도를 감소하기 위한 조성물로서, 이때 치료량은 정상적 치유를 해치지 않고 반흔 조직의 발생률, 중증도 또는 양자 모두를 감소시키기에 유효한 것인 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 반흔 조직이 수술, 염증 또는 손상 후 진전되는 통상 서로 분리되는 2 개의 해부 표면이 함께 결합하는 복부 반흔 조직, 골반 반흔 조직 또는 심장 반흔 조직인 조성물.

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

제 1 항에 있어서, 국소 또는 비경구 적용되는 조성물.

청구항 6

제 5 항에 있어서, 생물의학적 장치에 의해 적용되는 조성물.

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

수술, 염증 또는 손상 후 진전되는 통상 서로 분리되는 2 개의 해부 표면이 함께 결합하는 반흔 조직의 발생률 또는 정도를 감소하기 위한 생물의학적 장치로서, 상기 장치는 장치 내 또는 장치 상 배치된 치료량의 폴리펩티드 YARAAARQARAKALARQLGVAA (SEQ ID NO:1) 를 포함하고, 이때 치료량은 정상적 치유를 해치지 않고 반흔 조직의 발생률, 중증도 또는 양자 모두를 감소시키기에 유효한 것인 생물의학적 장치.

청구항 10

제 9 항에 있어서, 반흔 조직이 수술, 염증 또는 손상 후 진전되는 통상 서로 분리되는 2 개의 해부 표면이 함께 결합하는 복부 반흔 조직, 골반 반흔 조직 또는 심장 반흔 조직인 생물의학적 장치.

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

제 9 항에 있어서, 폴리펩티드가 장치 상에 배치된 매트릭스 내에 배치되는 생물의학적 장치.

청구항 14

제 13 항에 있어서, 매트릭스가 히파린 코팅인 생물의학적 장치.

청구항 15

필요로 하는 대상에서 수술, 염증 또는 손상 후 진전되는 통상 서로 분리되는 2 개의 해부 표면이 함께 결합하는 반흔 조직의 발생률 또는 정도를 감소시키는 약제의 제조에 사용하기 위한 약학 조성물로서, 치료량의 폴리펩티드 YARAAARQARAKALARQLGVAA [SEQ ID NO:1] 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 조성물의 치료량의 투여를 위해 제형화되고, 이때 치료량은 정상적 치유를 해치지 않고 반흔 조직의 발생률, 중증도 또는 양자 모두를 감소시키기에 유효한 것인 약학 조성물.

청구항 16

제 15 항에 있어서, 반흔 조직이 수술적 개입에서 유래하는 약제의 제조에 사용하기 위한 약학 조성물.

청구항 17

제 15 항에 있어서, 반흔 조직이 수술, 염증 또는 손상 후 진전되는 통상 서로 분리되는 2 개의 해부 표면이 함께 결합하는 복부 반흔 조직, 골반 반흔 조직, 심장 반흔 조직, 소장 반흔 조직, 또는 대장 반흔 조직인 약제의 제조에 사용하기 위한 약학 조성물.

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

제 15 항에 있어서, 반흔 조직이 수술, 염증 또는 손상 후 진전되는 통상 서로 분리되는 2 개의 해부 표면이 함

게 결합하는 기존의 반흔 조직인 약제의 제조에 사용하기 위한 약학 조성물.

청구항 28

제 15 항에 있어서, 표적 조직에 근접한 염증을 감소시키고, 상기 표적 조직은 복부 조직, 골반 조직 및 심장 조직으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 약제의 제조에 사용하기 위한 약학 조성물.

청구항 29

제 28 항에 있어서, 반흔 조직에 근접한 표적 조직에서의 하나 이상의 바이오마커의 수준이 표적 조직에서의 하나 이상의 바이오마커의 정상 수준과 비교시 상승되는 약제의 제조에 사용하기 위한 약학 조성물로서, 이때 하나 이상의 바이오마커는 하기로 이루어진 군으로부터 선택되는 약학 조성물: 전환 성장 인자 베타 1 ($TGF\beta 1$); 콜라겐 I; 결합 조직 성장 인자 (CTGF); α -평활근 액틴; 종양 괴사 인자 알파 ($TNF-\alpha$); 인터류킨 1 (IL-1); 인터류킨 6 (IL-6); 인터류킨 8 (IL-8); 시클로옥시게나아제 2 (COX-2); 및 대식세포 염증 단백질 (MIP).

청구항 30

제 27 항에 있어서, 기존의 반흔 조직이 기존의 복부 반흔 조직, 기존의 골반 반흔 조직, 기존의 심장 반흔 조직, 기존의 소장 반흔 조직, 기존의 대장 반흔 조직으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상이고, 이때 기존의 반흔 조직은 수술적 개입에서 유래하는 것인 약제의 제조에 사용하기 위한 약학 조성물.

청구항 31

제 27 항에 있어서, 기존의 반흔 조직이 기존의 복부 반흔 조직, 골반 반흔 조직, 심장 반흔 조직, 소장 반흔 조직 또는 대장 반흔 조직인 약제의 제조에 사용하기 위한 약학 조성물.

청구항 32

약제

청구항 33

제 29 항에 있어서,

약학 조성물의 치료량은 반흔 조직에 의해 영향받는 표적 조직에서의 하나 이상의 바이오마커의 수준을 실제적으로 정상 수준으로 유지시키는데 유효한 것인 약제의 제조에 사용하기 위한 약학 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 교차 참조

[0002] 본 출원은 2008 년 10 월 20 일에 출원한 미국 출원 제 61/106,834 호 및 2008 년 1 월 10 일에 출원한 미국 출원 제 11/972,459 호 (2007 년 1 월 10 일에 출원한 미국 가출원 제 60/880,137 호에 우선권을 주장함) 에 대해 우선권을 주장한다. 이들 각 출원은 그 전체가 본원에 참고로 포함된다.

[0003] 정부 지원에 대한 성명

[0004] 본 출원은 미국 국립 보건 연구원 (National Institute of Health) 에 의해 부여된 NIH/NHLBI 인가 번호 K25 HL074968 하에 정부 지원으로 이루어졌다. 정부는 본 발명에 특정 권리를 갖는다.

[0005] 발명의 분야

[0006] 본 발명은 세포 및 분자 생물학, 폴리펩티드, 및 치료적 사용 방법의 분야에 있는 것이다.

배경 기술

[0007] 1. 유착 (Adhesion)

[0008] 유착은 수술, 염증 또는 손상 후 진전되는, 통상 서로 분리되는 2 개의 해부 표면이 함께 결합하는 반흔 조직의 띠이다. 유착은 얇은 조직 시트 또는 두꺼운 섬유성 띠로서 나타날 수 있다. 포함되는 조직에 따라, 유

착은 다양한 장애를 일으킬 수 있다. 예를 들어, 안구에서 홍채의 수정체에 대한 유착은 녹내장을 유발할 수 있다.

[0009] 유착은 어디에서든지 발생할 수 있다. 가장 흔한 장소는 복부, 골반 및 심장 내이다.

[0010] 복부 유착은 복부 또는 골반 수술의 흔한 합병증이며, 수술을 받아본 적이 없었던 환자에서 또한 발생한다. 유착은 또한, 맹장염 또는 또다른 복부 감염 후에 통상 발생하는, 복부 기관을 덮는 막인 복막에 퍼진 감염인 복막염에 걸린 환자에서 발생할 수 있다. 장에서, 유착은 성인에서의 부분 또는 완전 장 폐색을 일으킬 수 있으며 만성 골반 통증의 진전을 일으키는 것으로 여겨진다.

[0011] 복부 유착은 통상 수술 후 첫 수일 후 내에 형성되기 시작하지만, 수 개월 또는 수년 동안 증상을 나타내지 않을 수도 있다. 반흔 조직이 소장 운동의 제한하기 시작하기 때문에, 소화계를 통한 음식물의 통과가 점차 더 어려워지게 되고, 장이 폐색될 수 있다. 극심한 경우, 유착은 장 단편 주변에 섬유성 띠를 형성하여 혈류를 수축시키고 조직 사멸을 유발할 수 있다.

[0012] 골반 유착은 가중, 난소, 나팔관 또는 방광과 같은 골반 내의 임의의 기관을 포함할 수 있으며, 통상 수술 후에 발생한다. 골반 염증 질환 (PID) 은 나팔관 내 유착을 자주 일으키는 감염 (통상 성병) 으로 인한 것이다. 나팔관 유착은 불임증 및 증가된 발생의 자궁외 임신을 유발할 수 있다. 복부 및 심각한 복부 외상을 또한 포함할 수 있는 염증 상태인 자궁내막증이 또한 유착을 일으킬 수 있다.

[0013] 예를 들어 세균, 바이러스 또는 진균 감염, 심각한 흉부 상해 또는 심장 수술의 결과로서 반흔 조직이 또한 심장을 둘러싼 막인 심낭 내에 형성됨으로써 심장 기능을 제한시킬 수 있다. 예를 들어 급성 교착성 심막염에서, 심막은 경화된 섬유성 물질의 밀집 덩어리로 덮인다. 류머티즘열과 같은 감염이, 심장 판막 상에 형성되어 심장 효율을 감소시키는 유착을 유발할 수 있다.

[0014] 2. 이환률 및 사망률의 감소

[0015] 유착을 예방하는 방법은 알려져 있지 않다. 복부 유착은 치료될 수 있으나, 수술이 원인과 치료법 모두이기 때문에 이는 제발하는 문제점이 있을 수 있다. 모두는 아니지만, 유착 형성을 감소시키는데 효과적인 것으로 주목되는 대부분의 작용제는 장 문합 치료법에 대해 해로운 영향을 갖는다.

[0016] 장 문합의 부적절한 치료 및 이후의 누수는 복부 수술에 있어서 심각한 수술 후 합병증이다. 장 문합 합병증 (EAC) 은 누수, 누공 (장 부위와 같은 두 중공 부분이 비정상적 연결을 형성하는 경우 발생하는 상태를 의미함) 및 복강내 농양 (복강 내부에 위치한 감염된 체액 및 고름 부분을 의미함) 을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.

[0017] 장피 누공은 종종 밀집된 유착과 연관된다. 누공은 장사이, 장피부, 장방광, 장대장 또는 장질 누공일 수 있다. 누공은 수술 후 합병증과 같은 의원성일 수 있거나, 게실염 또는 염증성 장 질환을 포함하는 일부 다른 경로로부터의 것일 수 있다.

[0018] 소공 (Stoma) (장 또는 요로의, 신체면에 대해 수술적으로 생성된 개방) 및 이를 둘러싼 유착이 또한 복잡성을 만들어낼 수 있다.

[0019] 유착은 외과 의사에게 꽤 방해가 될 수 있으며, 보다 중요하게는 이의 존재가 환자에 대해 유의한 결과를 가질 수 있다. 장 유착은 만성 복부 통증 및 소장 폐색을 포함하는, 환자에 대한 많은 상태와 연관된다. 복강내 유착의 존재 및 이의 결과는 아마도 소장 절제와 함께 수술의 필요성을 유발할 수 있다.

[0020] 유의한 복강내 유착을 갖는 환자에서, 요관은 종종 직시로부터 모호해지며 심지어 장의 유착물에 연루될 수 있어, 요관에 대한 상해 위험성을 증가시킨다. 다른 잠재적 상해는 대혈관, 장 및 방광의 상해를 포함한다. 실질 기관 (Solid organ) 상해는 또한 광대한 복강내 유착을 갖는 환자에서의 수술을 잠재적으로 복잡하게 한다. 수술, 감염성 또는 염증 과정 후, 장에서 간과 비장까지 유착이 형성될 수 있다. 외과 의사는 장이 유착에 의해 기관 중 어느 하나에 부착될 수 있기 때문에, 장이 수축되지 않도록 주의를 기울여야 한다. 이러한 문제점은 종종 담낭 절제술 후의 환자에서 발견된다. 다수의, 종종 밀집된 유착이 우측 반-결장 절제 동안 생성된다. 간 굴곡부 또는 횡행 결장은 쓸개오목의 부위 내 간 캡슐에 유착될 수 있으며, 심지어 십이지장이 포함될 수 있다. 복강경 검사 또는 개복술 여부에 의한 결장의 수축은, 캡슐성 열상 및 큰 출혈을 야기할 수 있는 간 캡슐 상의 수축을 유발할 수 있다. 십이지장은 또한, 특히 게실 질환 또는 대장염을 갖는 환자에서의 이러한 절제 동안 손상될 수 있다. 종종, 게실 질환은 비장 굴곡부를 포함하며 상기 비장 굴곡부로부터 비장으로의 유착은 이미 잠재적으로 어려운 절제를 복잡하게 한다. 그러므로, 장의 수축이 잠

재적 출혈을 유발하고 심지어 비장 절제술을 필요로 하는 비장의 캡슐성 열상을 다시 유발할 수 있기 때문에, 골곡부의 가동화 (mobilization) 동안 특별 관리가 사용되어야 한다.

- [0021] 이러한 유착의 결과는 매우 심각하여, 유의한 이환률 및 사망률이 생길 수 있다. 유착은 수술의 길이 및 복잡성을 크게 증가시킬 수 있으며, 이러한 수술 후에는 장피부 누공, 단장 증후군 (short-bowel syndrome) 및 현저한 장기간 장폐색증이 뒤따를 수 있다.
- [0022] 또한, 심지어 광대하고 완전한 유착용해술 (유착을 분리시키거나 제거하기 위한 수술을 의미함) 후에는, 새로운 유착 형성이 발생하고 추가적인 입원 및 수술을 야기할 수 있다. 명백하게는 불쾌감, 결함 및 비용이 중요하다. 건강관리 비용에 대해 주안점이 증가된 이러한 시기에서, 장 유착은 미국에서만 연간 10 억 달러가 넘는 비용의 원인이 된다.
- [0023] 외과 의사는 유착의 생성을 예방하거나, 적어도 이의 중증도 및/또는 양을 감소시키기 위한 전략 및 제품을 발전시키고자 노력해 왔다. 이들은 상이한 작용제 및 기술을 시도하였으나 성공은 작았다. 지난 십 년 정도, 복강경 검사와 같은 새로운 기술, 및 Seprafilm (Genzyme, Cambridge, MA) 과 같은 새로운 제품이 수술 후 복강내 유착을 감소시키는데 있어서 중요한 역할을 해왔다.
- [0024] 특히 이러한 과정의 병리학적 성질에 있어서 변화를 가져온 이러한 진보에도 불구하고, 유착은 환자와 외과 의사 모두에게 매우 중요한 도전으로 남아 있다 (Jobanputra, S. and Wexner, SD Colorectal Dis. 2007 Oct; 9 Suppl 2: 54-9). 복강내 유착의 존재는 주의깊은 수술 전 계획, 세심한 수술 중 기술, 및 상세한 수술 후 관리를 필요로 하는 매우 복잡한 상황을 만들어낼 수 있다.
- [0025] 2.1. 복잡한 경우의 원인
- [0026] 유착의 병리생리학은 복잡하다. 대다수의 유착이 수술 후의 것이기 때문에, 수술 기술이 복강내 유착의 가장 흔한 원인이다. 조직면이 교란되는 때이면, 신체의 자연적 반응은 반흔 조직의 형성에 반응하는 것이며; 복강의 경우, 그 결과는 유착이다. 다수의 실행은 소장을 다루는 것에서부터 불량한 기술까지의 범위인 이러한 문제점의 악화와 연관된다. 관련 있는 것으로 발견된 다른 인자는 장 벽의 장막 (serosal) 표면에 대한 손상, 수술용 장갑으로부터의 분말, 사용된 봉합 물질 유형, 및 실행 조직의 정도를 포함한다. 그러므로, 수술 후 유착은 유착 예방에 있어서 대부분의 새로운 혁신의 주안점이다.
- [0027] 염증은 수술을 보다 복잡하게 만들 수 있는 유착의 또다른 원인이다. 염증성 질환을 갖는 환자는 염증에 반응하여 복강내 유착이 진전된다. 이러한 유착은 종종 개복술 또는 복강경 검사 동안 생긴다. 이러한 환자 집단은 이들의 유착 뿐 아니라 이들의 수술 후 관리가 스테로이드 및 기타 항-염증 약물 사용과 같은 외부 인자에 의해 복잡해질 수 있기 때문에, 관리하기가 매우 어려울 수 있다. 예를 들어, 면역 억제 및 영양 실조는 특히 염증성 장 질환을 갖는 환자에서는 흔한 것이다.
- [0028] 유착 형성을 일으키는 보다 흔한 염증 과정 중 하나인 게실 질환은 복강경 검사 또는 통상적인 개복술에 의해, 전방 절제를 보다 복잡한 경우로 변화시킬 수 있다. 이는 대체로 지역 사회의 일반 외과 의사에 의해 직면되는 유착에 대해 두 번째로, 유착성 소장 폐색 다음으로 가장 흔한 복잡한 경우이다. 유착 형성을 유발할 수 있는 다른 흔한 복강내 감염성 과정은 골반 염증 질환, 담낭염 및 맹장염의 이전 에피소드를 포함한다.
- [0029] 유착 형성의 메카니즘이 덜 연구되었으나, 체외 방사선 요법은 또한 유착과 연관된다. 존재하는 복강내 유착에 대한 체외 방사선 요법의 효과는 잘 알려져 있으며; 특히 방사선요법 후 유착은 비방사선조사 유착에 비해 보다 혈관적이고, 보다 광대하며 보다 섬유성인 경향이 있다.
- [0030] 유착 형성에 대한 증가된 연령의 관계를 설명한 Weibel 등 (Weibel, MA and Majano, G. Am. J. Surg. 1973; 126: 345-53) 은, 60 세를 넘는 환자에서의 자연 유착의 증가된 발생을 기재하였다. 이러한 유착의 중요성은 잘 이해되어 있지 않으나, 염증성 또는 감염성 과정으로 인한 것으로 보인다.
- [0031] 복강내 유착이 존재하는 가능성이 높은 환자에서의 수술을 진행하기 위한 결정이 이루어질 때, 이환률 및 사망률을 감소시키기 위해 주의 깊은 수술 전 계획이 필요하다. 복강내 유착의 존재는 임의의 수술적 케이스를 보다 복잡하고 유의한 수술 후 이환률 가능성을 갖는 시간 소비적인 것으로 만들 수 있다. 그러므로, 수술 전 및 수술 중 예방적 측정이 치료적 수술 후 처리보다 우위에 있는 것으로 고려된다.
- [0032] 병인에 관계없이, 복강내 유착성 질환은 환자 및 외과 의사에게 엄청난 부담이 될 수 있다. 유착은 임의의 절차를 환자에 대한 심각한 부작용 후유증을 가질 수 있는 잠재적 위협으로 가득 찬 복잡한 것으로 전환시킬 수 있다. 이는 이러한 결과를 피하기 위해 주의 깊은 판단과 모든 이용가능한 기술을 사용하는 외과 의사의 의

무이다.

[0033] 본 발명은 이러한 문제점에 대처한다.

발명의 내용

[0034] 발명의 요약

[0035] 한 양상에 따르면, 본 발명은 서열 YARAAARQARAKALARQLGVAA [SEQ ID NO:1] 를 갖는 폴리펩티드 및 약학적으로 허용가능한 담체의 유착 예방량을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상에서 유착을 치료 또는 예방하기 위한 조성물을 제공한다. 한 구현예에 따르면, 유착은 복부 유착이다. 또다른 구현예에 따르면, 유착은 골반 유착이다. 또다른 구현예에 따르면, 유착은 심장 유착이다. 또다른 구현예에 따르면, 조성물은 국소적으로 적용된다. 또다른 구현예에 따르면, 조성물은 생물의학적 장치에 의해 국소적으로 적용된다. 또다른 구현예에 따르면, 조성물은 비경구적으로 적용된다. 또다른 구현예에 따르면, 조성물은 생물의학적 장치에 의해 비경구적으로 적용된다.

[0036] 또다른 양상에 따르면, 본 발명은 장치 상에 또는 장치 내에 배치된 서열 YARAAARQARAKALARQLGVAA (SEQ ID NO:1) 를 갖는 폴리펩티드의 유착 예방량을 포함하는, 유착 치료 또는 예방용 생물의학적 장치를 제공한다. 한 구현예에 따르면, 유착은 복부 유착이다. 또다른 구현예에 따르면, 유착은 골반 유착이다. 또다른 구현예에 따르면, 유착은 심장 유착이다. 또다른 구현예에 따르면, 폴리펩티드는 장치 상에 배치된 매트릭스 내에 배치된다. 또다른 구현예에 따르면, 매트릭스는 해파린 코팅이다.

[0037] 또다른 양상에 따르면, 본 발명은 YARAAARQARAKALARQLGVAA [SEQ ID NO:1] 의 폴리펩티드 및 약학적으로 허용가능한 담체의 유착 예방량을 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 투여하는 단계 (a) 를 포함하는, 이를 필요로 하는 대상에서의 유착 예방 방법을 제공한다. 한 구현예에 따르면, 유착은 수술적 개입으로 인한 것이다. 또다른 구현예에 따르면, 유착은 복부 유착이다. 또다른 구현예에 따르면, 유착은 골반 유착이다. 또다른 구현예에 따르면, 유착은 심장 유착이다. 또다른 구현예에 따르면, 유착은 소장 유착이다. 또다른 구현예에 따르면, 유착은 대장 유착이다.

[0038] 또다른 양상에 따르면, 본 발명은 하기 단계를 포함하는, 존재하는 유착 반흔의 치료 방법을 제공한다: (a) 유착 반흔이 형성된 후 이를 수술적으로 절개하는 단계; (b) 절개된 표면을 재연결하는 단계; (c) 절개 부위를 본 발명의 조성물로 처리하는 단계; (d) 조성물의 존재 하에 절개 부위가 치료되게 하는 단계 (이로써, 존재하는 유착 반흔이 감소됨). 한 구현예에 따르면, 방법은 하기 단계를 추가로 포함한다: (i) 표적 조직에서의 하나 이상의 바이오마커 수준을 모니터링하는 단계 (하나 이상의 바이오마커는 하기로 이루어지는 군에서 선택됨: TGF β 1 발현; 콜라겐 I 발현; CTGF 발현; α -평활근 액틴 발현; TNF- α ; IL-1; IL-6; IL-8; COX-2; MIP-1 α ; 및 MIP-2); 및 (ii) 표적 조직에서의 바이오마커 수준을 치료 동안 실제로 정상 수준으로 유지시키는 단계.

[0039] 또다른 양상에 따르면, 본 발명은 [SEQ ID NO:1] 과 85% 이상의 아미노산 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 (상기 폴리펩티드는 유착을 예방함) 를 인코딩하는 단리된 핵산을 포함하는 유착 치료 또는 예방용 조성물을 제공한다. 한 구현예에 따르면, 단리된 핵산 서열은 [SEQ ID NO:1] 과 95% 이상의 아미노산 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 인코딩한다. 또다른 구현예에 따르면, 단리된 핵산은 [SEQ ID NO:1] 과 100% 이상의 아미노산 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 (상기 폴리펩티드는 복부 유착을 예방함) 를 인코딩한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0040] 발명의 상세한 설명

[0041] 본 발명은 아미노산 서열 YARAAARQARAKALARQLGVAA [SEQ ID NO:1] 을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 동등물 및 담체를 포함하는 조성물의 유착-감소량을 투여하는 단계 (a) 를 포함하는 방법인, 이를 필요로 하는 대상에서의 유착을 치료 또는 예방하기 위한 방법 및 조성물을 제공한다. 방법은 복부 유착의 형성을 초기에 감소시키고 존재하는 반흔을 치료적으로 처리하는데 임상적으로 유용하다.

[0042] 본원에서는 아미노산에 대한 단일 문자 표기가 주로 사용된다. 당업계의 지식 중 하나에 의해 잘 알려져 있듯이, 이러한 단일 문자 표기는 하기와 같다:

[0043] A 는 알라닌이고; C 는 시스테인이고; D 는 아스파르트산이고; E 는 글루탐산이고; F 는 페닐알라닌이고; G 는 글리신이고; H 는 히스티딘이고; I 는 이소류신이고; K 는 리신이고; L 은 류신이고; M 은 메티오닌이고; N 은 아스파라긴이고; P 는 프롤린이고; Q 는 글루타민이고; R 은 아르기닌이고; S 는 세린이고; T 는 트레오닌이고;

V 는 발린이고; W 는 트립토판이고; Y 는 티로신임.

- [0044] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "문합 (anastomosis)" 은 장의 루프와 같은 2 개의 관형 구조의 연결을 의미한다. 장 단편이 절개되는 경우 수술적 문합이 발생하며 남아 있는 2 개의 말단이 꿰매어지거나 함께 고정된다 (문합됨). 상기 절차는 장 문합으로서 나타내어진다. 외상 또는 질환으로 인해 유발되며 정맥, 동맥 또는 장을 포함할 수 있는 병리학적 문합은 통상 누공으로서 나타내어진다. 정맥 또는 동맥의 경우, 외상성 누공은 통상 동맥과 정맥 사이에서 발생한다. 외상성 장 누공은 통상 장의 두 루프 사이 (장사이누공) 또는 장과 피부 사이 (장피부 누공) 에서 발생한다.
- [0045] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "질환" 또는 "장애" 는 비정상적 기능의 건강 또는 상태의 악화를 의미한다. 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "증후군" 은 일부 질환 또는 상태를 나타내는 증상의 패턴을 의미한다. 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "상해" 는 물리적이거나 화학적일 수 있는 외부 작용제 또는 힘에 의해 유발된 신체 구조 또는 기능에 대한 손상 또는 손해를 의미한다. 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "상태" 는 다양한 건강 상태를 의미하며 임의의 기저 메카니즘 또는 장애, 상해, 및 건강한 조직 및 기관의 촉진에 의해 유발된 장애 또는 질환을 포함하는 것을 의미한다.
- [0046] 용어 "이를 필요로 하는 개인" 은 유착 형성을 일으킬 수 있거나, 유착 형성을 일으킨 상처를 겪거나 겪을 (예를 들어 수술적 절차를 통해) 개인을 의미하는데 사용된다.
- [0047] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "염증" 은 해독 및 회복에 관여하는 세포가 염증 매개체에 의해 저하된 부위로 이동하는 감염 및 상해에 대한 생리적 반응을 의미한다. 염증의 전형적인 징후는 통증 (동통 (dolor)), 열 (고온 (calor)), 발진 (발적 (rubor)), 부기 (종양) 및 기능 손실 (기능 상실 (functio laesa)) 이다. 조직학적으로, 염증은 복잡한 일련의 사건을 포함하는데, 이는 증가된 투과성 및 혈류와 함께 소동맥, 모세혈관 및 소정맥의 팽창; 혈장 단백질을 포함하는 체액의 삼출; 및 염증 부위로의 백혈구의 이동을 포함한다.
- [0048] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "급성 염증" 은 우세한 혈관 및 삼출 과정과 함께 전형적인 징후를 특징으로 하는, 통상 급작스런 발병의 염증을 의미한다.
- [0049] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "만성 염증" 은 느린 염증 과정을 의미하며 새로운 결합 조직의 형성에 의해 주로 두드러지고; 이는 급성 형태 또는 연장된 저급 형태의 지속될 수 있으며, 통상 영구적인 조직 손상을 일으킨다.
- [0050] 개시제에 관계없이, 급성 염증을 수반하는 생리학적 변화는 하기 4 가지의 주요 특징을 포함한다: (1) 혈류에서의 순 증가를 일으키는 혈관 확장은 급성 조직 상해의 초기 물리적 반응 중 하나이며; (2) 염증 자극에 반응하여, 내피 세포는 소정맥 수축을 안에서 받치고, 세포내 접합부를 넓혀 간격을 만들고, 혈장 단백질 및 혈액 세포를 혈관 외부로 누수시키는 증가된 혈관 투과성을 일으키며; (3) 염증은 종종 염증 부위에서의 백혈구, 특히 호중구 (다형핵 세포) 의 강한 침윤을 특징으로 한다. 이러한 세포는 혈관벽 또는 비상해 조직에서 독성 물질을 방출함으로써 조직 손상을 촉진하며; (4) 발열원에 의해 생성된 열이 특정 자극에 반응하여 백혈구로부터 방출된다.
- [0051] 염증 과정 동안, 염증 반응의 가용성 염증 매개체는 물리적 고통을 일으키는 작용제를 포함하고 제거하기 위해 침투적 방식으로 세포 성분과 함께 작용한다. 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "염증 매개체" 는 염증 과정의 분자 매개체를 의미한다. 이러한 가용성, 확산성 분자는 조직 손상 및 감염 부위에서, 및 보다 먼 부위에서 모두 국소적으로 작용한다. 일부 염증 매개체는 염증 과정에 의해 활성화되는 한편, 다른 것들은 급성 염증에 반응하여, 또는 다른 가용성 염증 매개체에 의해 세포원으로부터 합성 및/또는 방출된다. 염증 반응의 염증 매개체의 예는 혈장 프로테아제, 보체, 키닌, 응고 및 섬유소용해 단백질, 지질 매개체, 프로스타글란딘, 류코트리엔, 혈소판-활성화 인자 (PAF), 히스타민, 세로토닌 및 뉴로펩티드를 비제한적으로 포함하는 펩티드 및 아민, 인터류킨-1, 인터류킨-4, 인터류킨-6, 인터류킨-8, 종양 괴사 인자 (TNF), 인터페론-감마 및 인터류킨-12 를 비제한적으로 포함하는 전염증 사이토카인을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0052] 용어 "장" 은 위에서 항문까지 펼쳐지며, 인간 및 기타 포유류에서는 소장과 대장 두 부분으로 이루어지는 소화관 부분을 의미하는데 사용된다. 인간에서는, 소장은 십이지장, 공장 및 회장으로 세분되는 한편, 대장은 맹장 및 결장으로 세분된다.
- [0053] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "조정하다 (modulate)" 는 특정 측정값 또는 비율을 조절하고, 적절하게 하거나 조정 (adjust) 하는 것을 의미한다.

- [0054] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "감소" 또는 "감소시키는" 은 장애 진전의 위험성이 있는 개인에서의 장애 발생을 제한시키는 것을 의미한다.
- [0055] 본원에서 사용되는 바와 같은 어구 "반흔 형성을 감소시키는" 은 환자에게 치료적 또는 미용적 이득을 제공하는 반흔 형성에 있어서의 임의의 감소를 의미한다. 상기 치료적 또는 미용적 이득은 예를 들어 본 발명의 방법으로의 처리의 부재 하에 반흔 형성에 관해 반흔의 크기 및/또는 깊이를 감소시키거나, 존재하는 반흔의 크기를 감소시킴으로써 달성될 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 이러한 반흔은 수술의 결과로서 발생하는 것들을 비제한적으로 포함하는 기관 표면 사이의 유착 형성을 포함한다.
- [0056] 용어 "대상" 또는 "개인" 은 인간을 포함하는 포유류 기원 동물 종의 일원을 의미하는 것으로 상호교환가능하게 사용된다.
- [0057] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "치료" 또는 "치료하는" 은 하기 중 하나 이상을 이루는 것을 의미한다: (a) 장애의 중증도를 감소시키고; (b) 치료되는 장애(들) 의 증상 특징의 진전을 제한시키고; (c) 치료되는 장애(들) 의 증상 특징의 악화를 제한시키고; (d) 장애(들) 를 이미 가졌던 환자에서의 장애(들) 의 재발을 제한시키고; (e) 장애(들) 에 대해 이미 증상이 있었던 환자에서의 증상의 재발을 제한시킨다.
- [0058] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "상처" 는 피하 조직에 대한 상해를 광범위하게 의미한다. 상기 상처는 누공; 궤양; 감염으로 인한 병변; 개복술 상처; 수술 상처; 절개 상처; 및 심장 조직 섬유증을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0059] 전형적으로 머리 및 구강을 갖는 하나의 말단과, 항문과 꼬리를 종종 갖는 반대쪽 말단을 갖는 동물을 나타내는 경우, 머리 말단은 두개 (cranial) 말단으로서 나타내어지는 한편, 꼬리 말단은 미추 (caudal) 말단으로서 나타내어진다. 머리 자체 내에서, 주둥이는 코의 말단을 향한 방향을 의미하며, 미추는 꼬리 방향을 의미하는 것으로 사용된다. 통상 중력의 당김으로부터 벗어나는 상승 방향으로 향하는 동물 신체의 표면 또는 측면은 등쪽 (dorsal) 면이며; 통상 모든 다리로 걷고, 헤엄치거나 비행할 때 지면에 가장 가까운 반대면은 배쪽 (ventral) 면이다. 수족 또는 기타 부속 기관에서, 주요 신체에 더 가까운 지점은 "근위부" 이며; 더 먼 지점은 "원위부" 이다. 3 가지 기본적 참조면이 동물 해부에서 사용된다. "시상" 면은 신체는 좌측 및 우측 부분으로 나눈다. "정중시상" 면은 정중선이며, 즉 척추와 같은 정중선 구조를 통과하고, 모든 다른 시상면은 이에 평행하다. "관상" 면은 신체를 등쪽 및 배쪽 부분으로 나눈다. "가로" 면은 신체를 두개 및 미추 부분으로 나눈다.
- [0060] 인간을 나타내는 경우, 신체 및 이의 부분은 항상 신체가 직립으로 서 있다는 가정을 사용하여 설명된다. 머리 말단에 더 가까운 신체 부분은 "상위" (동물에서의 두개에 상응함) 인 한편, 더 먼 부분은 "하위" (동물에서의 미추에 상응함) 이다. 신체 앞면 근처의 대상은 "전방" (동물에서의 배쪽에 상응함) 으로 나타내어지며; 신체의 후부 근처의 대상은 "후방" (동물에서의 등쪽에 상응함) 으로 나타내어진다. 가로, 축, 또는 수평면은 지면에 평행한 X-Y 면이며, 이는 하위/발로부터 상위/머리를 분리시킨다. 관상 또는 전두면은 지면에 수직인 Y-Z 면이며, 이는 후방으로부터 전방을 분리시킨다. 시상면은 지면과 관상면에 수직인 X-Z 면이며, 이는 우측으로부터 좌측을 분리시킨다. 정중시상면은 신체에서 정확히 중앙에 있는 특이적인 시상면이다.
- [0061] 정중선에 가까운 구조는 내측 (medial) 이라고 불리며 동물 쪽에 가까운 구조는 외측이라고 불린다. 그러므로, 내측 구조는 정중시상면에 더 가까우며, 외측 구조는 정중시상면에서 더 멀다. 신체의 정중선 안의 구조는 정중 (median) 이다. 예를 들어, 인간 대상의 코 끝은 정중선 안에 있다.
- [0062] 동측은 동일한 면 상에 있는 것을 의미하고, 대측은 다른 면 상에 있는 것을 의미하며, 양측은 두 면 상 모두에 있는 것을 의미한다. 신체의 중앙에 가까운 구조는 근위부 또는 중앙부인 한편, 더 먼 구조는 원위부 또는 말초부이다. 예를 들어, 손은 팔의 원위부 말단에 있는 한편, 어깨는 근위부 말단에 있다.
- [0063] 한 양상에서는, 본 발명은 아미노산 서열 YARAAARQARAKALARQLGVAA [SEQ ID NO:1] 을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 동등물 및 약학적으로 허용가능한 담체의 치료적 유효량을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상에서의 유착 형성 치료 또는 예방용 조성물을 제공한다. 이러한 약학 조성물은 하기 본 발명의 방법을 실행하기에 특히 유용하다.
- [0064] 용어 "활성" 은 의도된 치료적 효과에 있어서 역할하는 본 발명의 조성물의 구성 요소, 성분 또는 구성물을 의미한다.

- [0065] "약학 조성물" 은 연방 규정 재검토를 거친 상태, 증후군, 장애 또는 질환을 예방하고, 강도에 있어서 감소시키고, 치유하거나 다르게는 치료하는데 사용되는 것이다.
- [0066] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "약학적으로 허용가능한 담체" 는 본 발명의 단리된 폴리펩티드가 안정하고 생물학적으로 이용가능하게 남아있을, 약물의 투여에 통상적으로 사용가능한 임의의 실제적으로 비독성인 담체를 의미한다.
- [0067] 용어 "펩티드" 는 펩티드 결합에 의해 연결되는 둘 이상의 아미노산을 의미하도록 본원에서 사용된다.
- [0068] 용어 "폴리펩티드" 는 아단위 아미노산, 아미노산 유사체 또는 펩티드유사체의 서열을 의미하도록 이의 넓은 의미로 사용된다. 아단위는 표시된 것을 제외하고는 펩티드 결합에 의해 연결된다. 본원에서 기재된 폴리펩티드는 화학적으로 합성된 것이거나 재조합적으로 발현된 것일 수 있다.
- [0069] 용어 "단백질" 은 아미노산으로 이루어진 큰 복합체 분자 또는 폴리펩티드를 의미하도록 본원에서 사용된다. 단백질에서의 아미노산 서열은 이를 인코딩하는 핵산 서열에서의 염기 서열에 의해 결정된다.
- [0070] 용어 "펩티드", "폴리펩티드" 및 "단백질" 은 또한 하나 이상의 아미노산 잔기가 상응하는 자연 발생적 아미노산의 인공적인 화학적 유사체인 아미노산 중합체 뿐 아니라 자연 발생적 아미노산 중합체에 또한 적용된다. 자연 발생적 아미노산의 이러한 유사체의 필수적인 성질은, 단백질에 혼입되는 경우 상기 단백질이 동일한 단백질에 이끌어 내어진 항체에 특이적으로 반응성이지만 모두 자연 발생적 아미노산으로 이루어진다는 것이다. 용어 "폴리펩티드", "펩티드" 및 "단백질" 은 또한 글리코실화, 지질 부착, 황화, 글루탐산 잔기의 감마-카르복실화, 히드록실화 및 ADP-리보실화를 포함하나 이에 제한되지는 않는 변형을 포함한다. 잘 알려져 있으며 상기 나타낸 바와 같이, 폴리펩티드가 완전히 선형이 아닐 수도 있다는 것이 이해될 것이다. 예를 들어, 폴리펩티드는 유비퀴틴화의 결과로서 분지형일 수 있고, 이는 일반적으로, 자연적 가공 사건 및 자연적으로 발생하지 않는 인간 조작에 의해 야기된 사건을 포함하는 번역 후 사건의 결과로서 분지를 갖거나 갖지 않는 원형일 수 있다. 원형, 분지형 및 분지된 원형 폴리펩티드는 비-번역 자연적 과정 및 완전히 합성적인 방법에 의해 또한 합성될 수 있다.
- [0071] 용어 "잔기" 또는 "아미노산 잔기" 또는 "아미노산" 은 자연 발생적 아미노산 및 자연 발생적 아미노산과 유사한 방식으로 기능할 수 있는 자연적 아미노산의 알려져 있는 유사체를 포함하나 이에 제한되지는 않는, 단백질, 폴리펩티드 또는 펩티드에 혼입되는 아미노산을 의미하도록 상호교환가능하게 사용된다.
- [0072] 용어 "변이체", "돌연변이체" 및 "유도체" 는 참조 뉴클레오티드 서열과 실제적인 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 의미하도록 본원에서 사용된다. 서열에서의 차이는 서열 또는 구조에 있어서의 자연적인 또는 설계에 의한 변화의 결과에 의한 것일 수 있다. 자연적 변화는 특정 핵산 서열의 성질을 갖는 정상적인 복제 또는 중복 과정 동안 발생할 수 있다. 설계된 변화는 특정 목적을 위해 특이적으로 설계되고 서열에 도입될 수 있다. 이러한 특정 변화는 다양한 돌연변이유발 기술을 사용하여 시험관내 생성될 수 있다. 특이적으로 생성된 이러한 서열 변이체는 본래 서열의 "돌연변이체" 또는 "유도체" 로 나타내어질 수 있다.
- [0073] 숙련된 기술자는 마찬가지로 단일 또는 다수의 아미노산 치환, 결실, 추가 또는 대체를 갖는 폴리펩티드 변이체를 생성할 수 있다. 이러한 변이체는 그 중에서도 하기를 포함할 수 있다: (a) 하나 이상의 아미노산 잔기가 보존적 또는 비보존적 아미노산으로 치환되는 변이체; (b) 하나 이상의 아미노산이 첨가된 변이체; (c) 하나 이상의 아미노산이 치환기를 포함하는 변이체; (d) 한 종류로부터의 아미노산 잔기가 또다른 종류에서의 상응하는 잔기에 대해, 보존 또는 비보존 위치에서 치환되는 변이체; 및 (d) 표적 단백질이 또다른 펩티드 또는 폴리펩티드 예컨대 융합 파트너, 단백질 태그 또는 기타 화학적 부분 (표적 단백질에 유용한 특성을 부여할 수 있는, 예를 들어 항체에 대한 에피토프) 과 융합되는 변이체. 유전적 (억제, 결실, 돌연변이 등), 화학적, 및 효소적 기술을 포함하는 상기 변이체를 수득하기 위한 기술은 숙련된 기술자에게 알려져 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "돌연변이" 는 모체 유형에서는 발견되지 않는 새로운 특징 또는 특색을 생성시키는 유전자의 유전자 또는 염색체 내의 DNA 서열의 변화, 또는 유전자를 코딩하는 DNA 의 뉴클레오티드 서열에서의 변경을 통해, 또는 염색체의 물리적 배열에서의 변화를 통해 이러한 변화가 염색체에서 발생하는 과정을 의미한다. 돌연변이의 3 가지 메카니즘은 치환 (한 염기 쌍의 또다른 쌍으로의 교환), 첨가 (하나 이상의 염기의 서열 내로의 삽입), 및 결실 (하나 이상의 염기 쌍의 손실) 이다.
- [0074] 용어 "치환" 은 염기(들) 가 DNA 내에서 또다른 염기(들) 로 교환되는 것을 의미하도록 본원에서 사용된다. 치환은 동의 (synonymous) 치환 또는 비동의 치환일 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "동의 치환" 은 생성된 아미노산이 변형되지 않도록, 단백질을 코딩하는 유전자의 엑손 내에서 한 염기가 또다른 염기에 대

해 치환되는 것을 의미한다. 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "비동의 치환" 은 생성된 아미노산 서열이 변형되도록, 단백질을 코딩하는 유전자의 엑손 내에서 한 염기가 또다른 염기에 대해 치환되는 것을 의미한다.

- [0075] 용어 "결실" 및 "결실 돌연변이" 는 염기(들) 가 DNA 로부터 소실되는 것을 의미하도록 본원에서 상호교환가능하게 사용된다.
- [0076] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "첨가" 는 하나 이상의 염기, 또는 하나 이상의 아미노산이 서열 내에 삽입되는 것을 의미한다.
- [0077] 하기는 서로에 대해 보존적 치환인 아미노산의 군을 나타낸다:
- [0078] 1) 알라닌 (A), 세린 (S), 트레오닌 (T);
- [0079] 2) 아스파르트산 (D), 글루탐산 (E);
- [0080] 3) 아스파라긴 (N), 글루탐산 (Q);
- [0081] 4) 아르기닌 (R), 리신 (K);
- [0082] 5) 이소류신 (I), 류신 (L), 메티오닌 (M), 발린 (V); 및
- [0083] 6) 페닐알라닌 (F), 티로신 (Y), 트립토판 (W).
- [0084] 용어 "유사한" 은 용어 '유사한', '필적할만한', 또는 '닮은' 과 상호교환가능하게 사용되며, 공통되는 특색 또는 특징을 갖는 것을 의미한다.
- [0085] 일부 구현예에서, 본 발명의 폴리펩티드는 화학적으로 합성된다. 고체상, 액체상, 또는 펩티드 축합 기술의 잘 알려져 있는 기술, 또는 이의 임의의 조합을 사용하여 제조된 이러한 합성 폴리펩티드는 자연적 및 비자연적 아미노산을 포함할 수 있다. 펩티드 합성에 사용되는 아미노산은 Merrifield (1963, J. Am. Chem. Soc. 85:2149-2154) 의 본래 고체상 절차의 표준 탈보호, 중화, 결합 및 세척 프로토콜로의 표준 Boc (N- α -아미노 보호 N- α -t-부틸옥시카르보닐) 아미노산 수지, 또는 Carpino 와 Han (1972, J. Org. Chem. 37:3403-3409) 에 의해 최초로 기재된 염기-불안정 N- α -아미노 보호 9-플루오레닐메톡시카르보닐 (Fmoc) 아미노산일 수 있다. Fmoc 과 Boc N- α -아미노 보호 아미노산 모두 Sigma, Cambridge Research Biochemical, 또는 당업자에게 친숙한 다른 화학 회사에서 취득할 수 있다. 또한, 폴리펩티드는 당업자에게 친숙한 다른 N- α -보호기로 합성될 수 있다.
- [0086] 고체상 펩티드 합성은 당업자에게 친숙하며 예를 들어 [Stewart and Young, 1984, Solid Phase Synthesis, 제 2 판, Pierce Chemical Co., Rockford, Ill.; Fields and Noble, 1990, Int. J. Pept. Protein Res. 35: 161-214] 에 제공된 기술에 의해, 또는 자동화 합성기를 사용하여 달성될 수 있다.
- [0087] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "기능적으로 동등한" 은 유사하거나 동일한 효과 또는 용도를 갖는 물질, 분자, 단백질, 펩티드 또는 폴리펩티드를 의미한다. 폴리펩티드 [SEQ ID NO:1] 의 기능적으로 동등한 폴리펩티드는 유사하거나 동일한 활성, 유사하거나 동일한 저해 활성, 운동 매개변수, 염 저해, 공동 인자-의존적 활성, 및 발현된 폴리펩티드 [SEQ ID NO:1] 과 매우 유사한 기능적 단위 크기를 가질 수 있다.
- [0088] 일부 구현예에서, 본 발명의 폴리펩티드는 D-아미노산 (생체내에서 L-아미노산-특이적 프로테아제에 저항성임), D- 및 L-아미노산의 조합, 및 다양한 "설계자" 아미노산 (예를 들어 β -메틸 아미노산, C- α -메틸 아미노산 및 N- α -메틸 아미노산 등) 을 포함하여 특정 특성을 전달할 수 있다. 합성 아미노산은 리신에 대한 오르니틴, 및 류신 또는 이소류신에 대한 노르류신을 포함한다.
- [0089] 또한, 본 발명의 폴리펩티드가 에스테르 결합과 같은 펩티드유사체 결합을 가져, 신규한 특성을 갖는 펩티드가 제조될 수 있다. 예를 들어, 감소된 펩티드 결합, 즉 $R_1-CH_2-NH-R_2$ [SEQ ID NO:2] (상기 R_1 및 R_2 는 아미노산 잔기 또는 서열임) 를 혼입하는 펩티드가 생성될 수 있다. 감소된 펩티드 결합은 디펩티드 아단위로서 도입될 수 있다. 이러한 폴리펩티드는 프로테아제 활성에 저항성일 수 있으며, 연장된 세포내 반감기를 가질 수 있다.
- [0090] 또다른 구현예에서, 본 발명은 [SEQ ID NO:1] 과 85% 이상의 아미노산 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 인코딩하는 단리된 핵산을 제공한다. 일부 이러한 구현예에서, 본 발명은 [SEQ ID NO:1] 과 95% 이상의 아미노산 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 인코딩하는 단리된 핵산을 제공한다. 일부 이러한 구현예에서, 본 발명은 [SEQ ID NO:1] 과 100% 이상의 아미노산 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 인코딩하는 단리된 핵산을 제공한다.

또다른 구현예에서, 본 발명은 [SEQ ID NO:1] 과 85% 이상의 아미노산 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 인코딩하는 단리된 핵산을 제공하며, 상기 폴리펩티드는 복부 유착을 예방한다. 또다른 구현예에서, 본 발명은 [SEQ ID NO:1] 과 95% 이상의 아미노산 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 인코딩하는 단리된 핵산을 제공하며, 상기 폴리펩티드는 복부 유착을 예방한다. 또다른 구현예에서, 본 발명은 [SEQ ID NO:1] 과 100% 이상의 아미노산 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 인코딩하는 단리된 핵산을 제공하며, 상기 폴리펩티드는 복부 유착을 예방한다.

[0091] 용어 "단리된" 은 하기와 같은 핵산, 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질과 같은 물질을 비제한적으로 의미한다: (1) 이의 자연 발생적 환경에서 발견되는 바와 같이 통상 이를 수반하거나 이와 반응하는 성분이 실제적으로 또는 본질적으로 없다. 용어 "실제적으로 없는" 또는 "본질적으로 없는" 은 꽤 또는 유의하게 없거나, 약 95% 초과로 없거나, 약 99% 초과로 없는 것을 의미하도록 본원에서 사용된다. 단리된 물질은 임의로는 이의 자연 환경에서의 물질로는 발견될 수 없는 물질을 포함한다; 또는 (2) 물질이 이의 자연 환경 내에 있는 경우, 상기 물질은 조성물에 대한 고의적인 인간 개입에 의해 합성적으로 (비-자연적으로) 변경되고/되거나 그 환경에서 발견되는 물질에 대해 선천적인 것이 아닌 세포 (예를 들어 계놈 또는 아세포성 세포 기관) 내의 장소에 위치된다. 합성 물질이 수득되게 하는 변경은 이의 자연 상태 내의, 또는 그로부터 제거된 물질 상에서 수행될 수 있다. 예를 들어, 자연 발생적 핵산은 이것이 기원하는 세포 내에서 수행된 인간 개입에 의해, 변경되거나 변경된 DNA로부터 전사되는 경우 단리된 핵산이 된다. 예를 들어, 하기를 참조한다: Compounds and Methods for Site Directed Mutagenesis in Eukaryotic Cells, Kmiec, 미국 특허 제 5,565,350 호; In Vivo Homologous Sequence Targeting in Eukaryotic Cells; Zarling et al., PCT/US93/03868. 마찬가지로, 자연 발생적 핵산 (예를 들어 프로모터) 은 비-자연적 발생 수단에 의해 상기 핵산에 대해 선천적인 아닌 계놈의 장소 (locus) 에 도입되는 경우 단리되게 된다. 본원에서 정의된 바와 같이 "단리된" 핵산은 또한 "이중" 핵산으로 나타내어진다.

[0092] 용어 "핵산" 은 단일- 또는 이중-가닥 형태인 데옥시리보뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드 중합체를 의미하도록 본원에서 사용되고, 다르게 제한하지 않는 한, 자연적 뉴클레오타이드의 필수적 성질을 갖는 알려져 있는 유사체를 포함하여, 이는 자연 발생적 뉴클레오타이드 (예를 들어 펩티드 핵산) 와 유사한 방법으로 단일-가닥 핵산으로 하이브리드화된다.

[0093] 용어 "뉴클레오타이드" 는 헤테로시클릭 염기, 당, 및 하나 이상의 포스페이트기로 이루어지는 화학적 화합물을 의미하도록 본원에서 사용된다. 가장 흔한 뉴클레오타이드에서, 염기는 퓨린 또는 피리미딘의 유도체이며, 당은 펜토오스 데옥시리보오스 또는 리보오스이다. 뉴클레오타이드는 핵산이 형성되도록 셋 이상의 결합을 함께 갖는 핵산의 단량체이다. 뉴클레오타이드는 RNA, DNA 및 여러 공동 인자 (CoA, FAD, DMN, NAD 및 NADP 를 포함하지만 이에 제한되지 않음) 의 구조적 단위이다. 퓨린은 아데닌 (A) 및 구아닌 (G) 을 포함하며; 피리미딘은 시토신 (C), 티민 (T) 및 우라실 (U) 을 포함한다.

[0094] 하기의 용어는 둘 이상의 핵산 또는 폴리뉴클레오타이드 사이의 서열 관계가 설명되도록 본원에서 사용된다: (a) "참조 서열", (b) "비교 윈도우", (c) "서열 동일성", (d) "서열 동일성 %", 및 (e) "실제적 동일성".

[0095] 용어 "참조 서열" 은 서열 비교를 위한 기초로서 사용되는 서열을 의미한다. 참조 서열은 특정 서열의 하위 집합 또는 전체; 예를 들어 전체 길이 cDNA 또는 유전자 서열, 또는 전체 cDNA 또는 유전자 서열의 단편일 수 있다.

[0096] 용어 "비교 윈도우" 는 폴리뉴클레오타이드 서열의 연속적이고 특이적인 단편을 의미하며, 상기 폴리뉴클레오타이드 서열은 참조 서열과 비교될 수 있고 비교 윈도우에서의 폴리뉴클레오타이드 서열 부분은 2 개 서열의 최적 정렬에 대한 참조 서열 (첨가 또는 결실을 포함하지 않는) 과 비교하여 첨가 또는 결실 (즉, 간격) 을 포함할 수 있다. 일반적으로, 비교 윈도우는 20 개 이상의 인접 뉴클레오타이드 길이이며, 임의로는 30 개 이상의 인접 뉴클레오타이드 길이, 40 개 이상의 인접 뉴클레오타이드 길이, 50 개 이상의 인접 뉴클레오타이드 길이, 100 개 이상의 인접 뉴클레오타이드 길이일 수 있거나, 더 길 수 있다. 당업자는 폴리뉴클레오타이드 서열 내의 간격의 포함으로 인한 참조 서열에 대한 높은 유사성을 피하기 위해, 통상 갭 패널티를 도입하고 매치 수로부터 감하는 것을 이해한다.

[0097] 비교를 위한 서열의 정렬 방법은 당업계에 잘 알려져 있다. 비교를 위한 서열의 최적 정렬은 [Smith and Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482 (1981)] 의 국소적 상동성 알고리즘; [Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443 (1970)] 의 상동성 정렬 알고리즘; [Pearson and Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. 85:2444 (1988)] 의 유사성 탐색법; 하기를 포함하나 이에 제한되지는 않는 이들 알고리즘의 컴퓨터화 실행에 의해 수행

될 수 있다: Intelligenetics, Mountain View, Calif. 에 의한 PC/Gene 프로그램에서의 CLUSTAL; Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group (GCG), 575 Science Dr., Madison, Wis., USA 에서의 GAP, BESTFIT, BLAST, FASTA 및 TFASTA; 상기 CLUSTAL 은 하기에 의해 잘 설명되는 프로그램임: Higgins and Sharp, Gene 73:237-244 (1988); Higgins and Sharp, CABIOS 5: 151-153 (1989); Corpet, et al., Nucleic Acids Research 16:10881-90 (1988); Huang, et al., Computer Applications in the Biosciences 8:155-65 (1992), 및 Pearson, et al., Methods in Molecular Biology 24:307-331 (1994). 데이터베이스 유사성 탐색에 사용될 수 있는 BLAST 부류의 프로그램은 하기를 포함한다: 뉴클레오티드 데이터베이스 서열에 대한 뉴클레오티드 의문 서열을 위한 BLASTN; 단백질 데이터베이스 서열에 대한 뉴클레오티드 의문 서열을 위한 BLASTX; 단백질 데이터베이스 서열에 대한 단백질 의문 서열을 위한 BLASTP; 뉴클레오티드 데이터베이스 서열에 대한 단백질 의문 서열을 위한 TBLASTN; 및 뉴클레오티드 데이터베이스 서열에 대한 뉴클레오티드 의문 서열을 위한 TBLASTX. [Current Protocols in Molecular Biology, Chapter 19, Ausubel, et al., Eds., Greene Publishing and Wiley-Interscience, New York (1995)] 을 참조한다.

- [0098] 다르게 언급하지 않는 한, 본원에서 제공된 서열 동일성/유사성은 디폴트 매개변수를 사용하는 BLAST 2.0 별 (suite) 을 사용하여 수득된 값을 의미한다. Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 (1997).
- BLAST 분석을 수행하기 위한 소프트웨어는 예를 들어 미국 국립 생명공학 센터 (National Center for Biotechnology Information) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 를 통해 공개적으로 이용가능하다. 이러한 알고리즘은 의문 서열에서의 길이 W 의 짧은 단어를 확인함으로써 높은 스코어의 서열 쌍 (HSP) 을 먼저 확인하는 것을 포함하는데, 이는 데이터베이스 서열에서 동일한 길이의 단어로 정렬된 경우 일부 플러스-값 (positive-valued) 의 역치 스코어 T 와 매치 또는 이에 충족된다. T 는 이웃 단어 스코어 역치로서 나타내어진다 (Altschul et al., 상기 참조). 이러한 초기 이웃 단어 적중 (hit) 은 이를 포함하는 더 긴 HSP 를 발견하기 위한 탐색을 개시하는 근원으로서 역할한다. 누적 정렬 스코어가 증가될 수 있는 한, 단어 적중은 각 서열을 따라 두 방향 모두에서 연장된다. 누적 스코어는 뉴클레오티드 서열에 대해, 매개변수 M (매치되는 잔기 쌍에 대한 보상 스코어; 항상 > 0) 및 N (매치되지 않는 잔기 쌍에 대한 패널티 스코어; 항상 < 0) 을 사용하여 계산된다. 아미노산 서열에 대해, 누적 스코어를 계산하는데 스코어 매트릭스가 사용된다. 각 방향에서의 단어 적중의 연장은 하기의 경우 정지된다: 누적 정렬 스코어가 이의 최대 달성값으로부터 양 X 로 하락하는 경우; 하나 이상의 마이너스 스코어 (negative-scoring) 잔기 정렬의 누적으로 인해 누적 스코어가 0 이하로 되는 경우; 또는 각 서열의 말단에 도달하는 경우. BLAST 알고리즘 매개변수 W, T 및 X 는 정렬의 속도 및 민감성을 결정한다. BLASTN 프로그램 (뉴클레오티드 서열에 대한) 은 단어 길이 (W) 11, 기대치 (E) 10, 절삭값 100, M=5, N=-4, 및 두 가닥의 비교를 디폴트로서 사용한다. 아미노산 서열에 대해, BLASTP 프로그램은 단어 길이 (W) 3, 기대치 (E) 10, 및 BLOSUM62 스코어 매트릭스를 디폴트로서 사용한다 (Henikoff & Henikoff (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915 참조).

- [0099] 서열 동일성 % 를 계산하는 것에 추가로, BLAST 알고리즘은 또한 2 개 서열 사이의 유사성의 통계적 분석을 수행한다 (예를 들어 Karlin & Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5787 (1993) 참조). BLAST 알고리즘에 의해 제공되는 유사성의 한 측정은 최소 합 확률 (P(N)) 인데, 이는 2 개 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열 사이에 매치가 우연히 발생하는 확률을 나타낸다. BLAST 탐색은 단백질이 무작위 서열로서 모델링될 수 있다고 가정한다. 그러나, 많은 실제 단백질은 단일중합체 부분, 단기간 반복물, 또는 하나 이상의 아미노산에 풍부한 부위일 수 있는 비무작위 서열의 부위를 포함한다. 단백질의 다른 부위가 완전히 다름에도 불구하고, 이러한 저-복잡성 부위는 연관되지 않은 단백질 사이에 정렬될 수 있다. 많은 저-복잡성 필터 프로그램이 사용되어 이러한 낮은 복잡성 정렬을 감소시킬 수 있다. 예를 들어, SEG (Wooten and Federhen, Comput. Chem., 17:149-163 (1993)) 및 XNU (Claverie and States, Comput. Chem., 17:191-201 (1993)) 저-복잡성 필터가 단독으로 또는 조합으로 사용될 수 있다.

- [0100] 두 핵산 또는 폴리펩티드 서열의 맥락에 있어서 용어 "서열 동일성" 또는 "동일성" 은 특이적 비교 윈도우에 걸쳐 최대 일치율을 위해 정렬되는 경우 동일한 두 서열 내의 잔기를 의미하도록 본원에서 사용된다. 서열 동일성의 % 가 단백질을 참조로 사용되는 경우, 이는 동일하지 않은 잔기 위치가 보존적 아미노산 치환 (즉, 아미노산이 유사한 화학적 특성 (예를 들어 전하 또는 소수성) 을 갖는 다른 아미노산 잔기로 치환됨으로써 분자의 기능적 특성을 변화시키지 않는 경우) 에 의해 종종 상이한 것으로 인지된다. 서열이 보존적 치환에서 상이한 경우, 서열 동일성 % 는 치환의 보존적 성질을 바로잡기 위해 상향 조정될 수 있다. 이러한 보존적 치환에 의해 상이한 서열은 "서열 유사성" 또는 "유사성" 을 갖는 것으로 일컬어진다. 조정하기 위한 수단은 당업자에게 잘 알려져 있다. 전형적으로 이는 전체 미스매치보다는 일부분으로서 보존적 치환을 스코어링함으로써 서열 동일성 % 를 증가시키는 것을 포함한다. 따라서, 예를 들어 동일한 아미노산이 주어지는 경우 스코

어는 1 이고, 비보존적 치환이 주어지는 경우 스코어는 0 이며, 보존적 치환이 주어지는 경우 스코어는 0 내지 1 이다. 보존적 치환의 스코어는 예를 들어 [Meyers and Miller, Computer Applic. Biol. Sci., 4:11-17 (1988)] 의 알고리즘에 따라, 예를 들어 프로그램 PC/GENE (Intelligenetics, Mountain View, Calif, USA) 에서 실행된 바와 같이 계산된다.

[0101] 용어 "서열 동일성 %" 는 비교 윈도우에 걸쳐 2 개의 최적 정렬된 서열을 비교함으로써 측정된 값을 의미하는 것으로 본원에서 사용되며, 상기 비교 윈도우에서의 폴리뉴클레오티드 서열 부분은 2 개 서열의 최적 정렬에 대한 참조 서열 (침가 또는 결실을 포함하지 않는) 과 비교하여 침가 또는 결실 (즉, 간격) 을 포함할 수 있다. % 는, 동일한 핵산 염기 또는 아미노산 잔기가 2 개 서열 모두에서 발생하여 많은 매치된 위치가 산출되는 위치의 수를 측정하고, 매치된 위치 수를 비교 윈도우에서의 총 위치 수로 나누고, 그 결과를 100 으로 곱하여 서열 동일성 % 를 산출함으로써 계산된다.

[0102] 폴리뉴클레오티드 서열의 "실체적 동일성" 의 용어는 표준 매개변수를 사용하는 기재된 정렬 프로그램 중 하나를 사용하여 참조 서열과 비교시 폴리뉴클레오티드가 70% 이상의 서열 동일성, 80% 이상의 서열 동일성, 90% 이상의 서열 동일성 및 95% 이상의 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 것을 의미한다. 당업자는 이러한 값을 적절히 조정하여, 코돈 퇴화성, 아미노산 유사성, 관독 프레임 위치화 등을 고려하여 2 개 뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩되는 단백질의 상응하는 동일성을 측정할 수 있다는 것을 인지할 것이다. 이러한 목적을 위한 아미노산 서열의 실체적 동일성은 보통 60% 이상, 또는 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 또는 95% 이상의 서열 동일성을 의미한다. 뉴클레오티드 서열이 실체적으로 동일하다는 또다른 표시는, 2 개 분자가 엄격한 조건 하에 서로 하이브리드화되는 경우이다. 그러나, 엄격한 조건 하에 서로 하이브리드화되지 않는 핵산은, 이들이 인코딩하는 폴리펩티드가 실체적으로 동일하다면 여전히 실체적으로 동일하다. 이는 예를 들어 핵산 카피가 유전적 코드에 의해 허용된 최대 코돈 퇴화성을 사용하여 생성되는 경우 발생할 수 있다. 2 개 핵산 서열이 실체적으로 동일하다는 한 표시는, 제 1 핵산이 인코딩하는 폴리펩티드가 제 2 핵산에 의해 인코딩되는 폴리펩티드와 면역학적으로 교차 반응성이라는 것이다.

[0103] 펩티드의 맥락에 있어서 용어 "실체적 동일성" 은, 펩티드가 특이적 비교 윈도우에 걸쳐 참조 서열에 대해 70% 이상의 서열 동일성, 80% 이상의 서열 동일성, 85% 이상의 서열 동일성, 90% 이상의 서열 동일성 또는 95% 이상의 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다는 것을 나타낸다. 임의로는, 최적 정렬은 [Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443 (1970)] 의 상동성 정렬 알고리즘을 사용하여 수행된다. 두 펩티드 서열이 실체적으로 동일하다는 표시는, 한 펩티드가 두 번째 펩티드에 대해 야기된 항체와 면역학적으로 반응성이라는 것이다. 따라서, 예를 들어 두 펩티드가 단지 보존적 치환에 의해 상이한 경우 펩티드는 두 번째 펩티드와 실체적으로 동일하다. "실체적으로 유사한" 펩티드는 동일하지 않은 잔기 위치가 보존적 아미노산 변화에 의해 상이할 수 있다는 것을 제외하고는 상기 나타난 바와 같이 서열을 공유한다.

[0104] 또다른 양상에서, 본 발명은 SEQ ID NO:1 의 폴리펩티드 또는 이의 기능적 동등물 및 담체를 포함하는 치료적 유효량의 조성물을 투여하는 단계 (a) 를 포함하는, 이를 필요로 하는 대상에서의 유착 치료 또는 예방 방법을 제공한다.

[0105] 투여를 위해서, 본 발명의 폴리펩티드는 보통 투여의 표시된 경로에 적절한 하나 이상의 담체와 조합된다. 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "담체" 및 "약학적 담체" 는 하나 이상의 활성제를 대상에게 전달하기 위한 약학적으로 허용가능한 불활성제 또는 비히클을 의미하며, 종종 "부형제" 로 나타내어진다. 용어 "비히클" 은 약물 또는 이와 혼합되는 다른 물질의 사용을 촉진시키는 물질을 의미한다.

[0106] (약학적) 담체는 처리되는 대상에 대한 투여에 적합하게 되도록 충분히 고순도이며 충분히 저독성이어야만 한다. (약학적) 담체는 또한 활성제, 예를 들어 본 발명의 폴리펩티드의 안정성 및 생체이용률을 유지시켜야 한다. (약학적) 담체는 액체 또는 고체일 수 있으며, 활성제 및 주어진 조성물의 다른 성분과 조합되는 경우, 원하는 벌크, 경도 등이 제공되도록 계획된 방식의 투여를 염두에 두고 선택된다. (약학적) 담체는 제한없이, 결합제 (예를 들어, 예비젤라틴화 옥수수 전분, 폴리비닐피롤리돈 또는 히드록시프로필 메틸셀룰로오스 등), 충전제 (예를 들어, 락토오스 및 기타 당류, 미세결정질 셀룰로오스, 펙틴, 젤라틴, 황산칼슘, 에틸 셀룰로오스, 폴리아크릴레이트, 인산 수소 칼슘 등), 윤활제 (예를 들어, 마그네슘 스테아레이트, 탈크, 실리카, 콜로이드성 이산화규소, 스테아르산, 금속성 스테아레이트, 수소화 식물성유, 옥수수 전분, 폴리에틸렌 글리콜, 나트륨 벤조에이트, 나트륨 아세테이트 등), 봉해제 (예를 들어, 전분, 나트륨 전분 글리콜레이트 등) 또는 습윤제 (예를 들어, 나트륨 라우릴 술페이트 등) 일 수 있다. 본 발명의 조성물에 대한 다른 적합한 (약학적) 담체는 물, 염 용액, 알코올, 폴리에틸렌 글리콜, 젤라틴, 아밀로오스, 마그네슘 스테아레이트, 탈크, 규산, 점

성 파라핀, 히드록시메틸셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 폴리펩티드의 비경구 투여를 위한 본 발명의 조성물은 (약학적) 담체 예컨대 무균 수용액, 알코올과 같은 통상적 용매 중의 비수용액, 또는 액체 오일 베이스 중의 폴리펩티드의 용액을 포함한다.

[0107] 일부 구현예에서, 본 발명의 조성물의 담체는 서방형 또는 지연방출형 담체와 같은 이형제를 포함한다. 이러한 구현예에서, 담체는 신호 변환 조절자 화합물을 서방출 또는 지연방출시켜 보다 효과적인 투여를 제공할 수 있는, 예를 들어 덜 빈번하고/하거나 감소된 화합물의 투약량을 야기하고, 취급 용이성을 향상시키고, 치료, 예방 또는 촉진되는 질환, 장애, 상태, 증후군 등에 대한 효과를 연장시키거나 지연시키는 임의의 물질일 수 있다. 이러한 담체의 비제한적인 예는 천연 또는 합성 중합체 등의 리포솜, 마이크로스폰지, 미세구체 또는 마이크로캡슐을 포함한다. 리포솜은 콜레스테롤, 스테아릴아민 또는 포스파티딜콜린과 같은 다양한 인지질로부터 형성될 수 있다.

[0108] 폴리펩티드는 폴리에틸렌 글리콜과 같은 다른 화합물과 연결되어 생체내 반감기 증가를 촉진할 수 있다. 이러한 연결은 당업자에 의해 이해되는 바와 같이 공유 또는 비공유 결합일 수 있다.

[0109] 폴리펩티드는 고체 형태 (과립, 분말 또는 좌약을 포함) 또는 액체 형태 (예를 들어 용액, 현탁액 또는 유액)로 제조될 수 있다. 본 발명의 폴리펩티드는 다양한 용액에 적용될 수 있다. 적합하게는, 제형은 무균성이며, 충분한 양의 폴리펩티드를 용해하고, 제시된 적용에 대해 해롭지 않다.

[0110] 예를 들어, 본 발명의 조성물은 활성 성분(들)이 수성 현탁액의 제조에 적합한 부형제와 혼합되는 수성 현탁액으로서 제형화될 수 있다. 상기 부형제는 현탁제, 예를 들어 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 히드록시프로필메틸셀룰로오스, 나트륨 알기네이트, 폴리비닐피롤리돈, 트래거캔스 고무 및 아카시아 고무이고; 분산제 또는 습윤제는 자연 발생적 포스파티드 예컨대 레시틴, 또는 알킬렌 옥시드와 지방산과의 축합 생성물, 예를 들어 폴리옥시에틸렌 스테아레이트, 또는 에틸렌 옥시드와 장쇄 지방족 알코올과의 축합 생성물, 예를 들어 헵타데카에틸-에네옥시세탄올, 또는 에틸렌 옥시드와 지방산 및 헥시톨 유래 부분 에스테르와의 축합 생성물, 예컨대 폴리옥시에틸렌 소르비톨 모노올레에이트, 또는 에틸렌 옥시드와 지방산 및 헥시톨 무수물 유래 부분 에스테르와의 축합 생성물, 예를 들어 폴리에틸렌 소르비탄 모노올레에이트일 수 있다.

[0111] 본 발명의 조성물은 또한 활성 성분을 식물성유, 예를 들어 아라키스유, 올리브유, 참깨유 또는 코코넛유에, 또는 액체 파라핀과 같은 광물유에 현탁시킴으로써 유성 현탁액으로서 제형화될 수 있다. 유성 현탁액은 증점제, 예를 들어 밀랍, 경질 파라핀 또는 세틸 알코올을 함유할 수 있다.

[0112] 본 발명의 조성물은 또한, 물의 첨가에 의한 수성 현탁액의 제조에 적합한 분산성 분말 및 과립의 형태로 제형화될 수 있다. 상기 분말 및 과립 내 활성 성분은 분산 또는 습윤제, 현탁제, 및 하나 이상의 보존제와 혼합되어 제공된다. 적합한 분산 또는 습윤제 및 현탁제는 상기 이미 언급된 것들으로써 예시된다. 추가적인 부형제가 또한 존재할 수 있다.

[0113] 본 발명의 조성물은 또한 유액의 형태일 수 있다. 유액은 2 개의 비혼합성 액체 담체 (이 중 하나는 다른 것의 전체에 균일하게 분배되며 최대 콜로이드성 입자 직경 이상의 직경을 갖는 소구체 (globule)로 이루어짐)를 조합하여 제조된 2-상 시스템이다. 소구체 크기는 중요하며 시스템이 최대 안정성을 얻도록 하는 것이어야 한다. 통상, 2 상의 분리는 제 3 물질인 유화제가 도입되지 않는 한 발생하지 않을 것이다. 따라서, 기본적 유액은 3 개 이상의 성분, 2 개 비혼합성 액체 담체 및 유화제 뿐 아니라 활성 성분을 함유한다. 대부분의 유액은 수상을 비수상에 혼입시킨다 (또는 반대로도 가능). 그러나, 기본적으로 비수성인 유액, 예를 들어 올리브유 및 비수성 비혼합성 시스템 글리세린의 음이온성 및 양이온성 계면활성제를 제조할 수 있다. 따라서, 본 발명의 조성물은 수중유 유액의 형태일 수 있다. 유상은 식물성유, 예를 들어 올리브유 또는 아라키스유, 또는 광물유, 예를 들어 액체 파라핀, 또는 이의 혼합물일 수 있다. 적합한 유화제는 자연 발생적 고무, 예를 들어 아카시아 고무 또는 트래거캔스 고무, 자연 발생적 포스파티드, 예를 들어 대두, 레시틴, 및 지방산 및 헥시톨 무수물 유래 에스테르 또는 부분 에스테르, 예를 들어 소르비탄 모노올레에이트, 및 부분 에스테르와 에틸렌 옥시드와의 축합 생성물, 예를 들어 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레에이트일 수 있다.

[0114] 또다른 양상에서, 본 발명은 생물의학적 장치 상에 또는 장치 내에 배치된 SEQ ID NO:1의 폴리펩티드 또는 이의 기능적 동등물을 포함하는 생물의학적 장치를 제공한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "생물의학적 장치"는 원하는 결과를 유발하기 위해 대상, 예를 들어 인간에 이식되는 장치를 의미한다. 본 발명의 이러한 양상에 따른 특히 바람직한 생물의학적 장치는 스텐트, 이식편, 선트, 스텐트 이식편, 누공, 혈관성형 장치, 풍

선 도관, 정맥 도관, 이식가능 약물 전달 장치, 조직을 분리하기 위한 유착 배리어 (카르복시메틸셀룰로오스, 히알루론산 및 PTFE 시트를 비제한적으로 포함), 상처 드레싱 예컨대 필름 (예를 들어 폴리우레탄 필름), 히드로콜로이드 (폴리우레탄 발포체에 결합된 친수성 콜로이드성 입자), 히드로겔 (약 60% 이상의 물을 함유하는 가교 중합체), 기타 점성 액체 및 히드로겔성 종류 (US 20030190364 에 개시된 것들을 비제한적으로 포함), 발포체 (친수성 또는 소수성), 칼슘 알기네이트 (칼슘 알기네이트로부터의 섬유의 부직포 복합체), 셀로판, pluronics (즉, 폴리(에틸렌 글리콜)-블록-폴리(프로필렌 글리콜)) 및 생물학적 중합체를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0115] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "이식편" 은 자연적 및 인공적 이식편 및 이식물을 모두 의미한다.

[0116] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "~상에 또는 ~ 내에 배치된" 은 하나 이상의 폴리펩티드가 외부 표면, 내부 표면과 직접적으로 또는 간접적으로 접촉될 수 있거나, 생물의학적 장치 내에 포매될 수 있는 것을 의미한다. "직접적인" 접촉은 장치 상 또는 장치 내에 직접적으로 폴리펩티드가 배치되는 것을 의미하며, 생물의학적 장치를 하나 이상의 폴리펩티드를 함유하는 용액 안에 잠기게 하고, 하나 이상의 폴리펩티드를 함유하는 용액을 장치에 스핀 코팅하거나 분무하고, 폴리펩티드를 전달할 수 있는 임의의 장치를 이식하고, 폴리펩티드를 도관을 통해 표면 상에 또는 임의의 기관 내에 직접적으로 투여하는 것을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0117] "간접적인" 접촉은 하나 이상의 폴리펩티드가 생물의학적 장치와 직접적으로 접촉하지 않는 것을 의미한다. 예를 들어, 하나 이상의 폴리펩티드는 생물의학적 장치 상에 배치되는 매트릭스, 예컨대 겔 매트릭스 (예를 들어 헤파린 코팅) 또는 점성 액체에 배치될 수 있다. 이러한 매트릭스는 예를 들어 하나 이상의 폴리펩티드의 결합 및 방출 특성이 원하는 바와 같이 변형되도록 제조될 수 있다. 한 비제한적인 예에서, 헤파린 코팅은 생물의학적 장치 (예컨대 폴리(테트라플루오로에틸렌) (PTFE) 혈관 장치 또는 시트) 상에 배치되고, 하나 이상의 폴리펩티드는 헤파린 코팅 상에 또는 헤파린 코팅 내에 배치되며; 이러한 예에서, 하나 이상의 폴리펩티드는 제어된 방식으로 이를 필요로 하는 대상에 전달될 수 있다. 한 비제한적인 예에서, 폴리(테트라플루오로에틸렌) (PTFE) 혈관 장치 또는 시트의 빈틈 표면으로부터의 하나 이상의 폴리펩티드의 방출은 먼저 헤파린을 PTFE 장치의 표면 및/또는 빈틈에 흡수시키거나 결합시킨 후 폴리펩티드를 흡수시켜 제어될 수 있다. 헤파린 및 폴리펩티드의 대체층이 또한 사용되어 폴리펩티드 투여량 및/또는 방출 시간을 증가시킬 수 있다. 체내 생리학적 조건 하에, 헤파린에 대한 및 헤파린으로부터의 본원에서 개시된 폴리펩티드의 결합 및 해리의 동역학은 노출된 (bare) PTFE 장치로부터의 폴리펩티드의 방출과 비교하여 지연방출 프로파일을 유발할 것이다. 또한, 방출 프로파일은 국부적 온도, pH 또는 이온 강도에서의 변화를 통해 추가적으로 변경될 수 있다. 이러한 제어 방출은 하기 토의된 바와 같이, 생물의학적 장치가 사용될 수 있는 다양한 치료적 처리에서 사용하기 위해 큰 가치가 있는 것이다.

[0118] 다양한 의학적 장치 상의 헤파린 코팅은 당업계에 알려져 있다. 인간에서의 적용은 중앙 정맥 도관, 관상동맥 스텐트, 심실 보조 장치, 체외 혈액 순환, 혈액 샘플링 장치 및 혈관 이식편을 포함한다. 상기 코팅은 겔 또는 비-겔 형태일 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같은 "헤파린 코팅" 은 표면에 흡수된 헤파린, 표면에 결합된 헤파린, 및 PTFE 중합체 표면 내에 포매된 헤파린을 포함한다. 헤파린 결합을 위한 방법의 예는, 예를 들어 PTFE 표면을 처리하기 위해 암모니아 혈장을 사용하고, 산화된 헤파린과 생성된 아민을 반응시키는 것일 수 있다. 하나 이상의 폴리펩티드 및 헤파린의 층-대-층 비축이 사용되어 표면 상의 폴리펩티드를 증가시키고 전달 시간을 연장시킬 수 있다. 헤파린 코팅의 겔 형태는 공유결합적으로 또는 물리적으로 겔에 결합하는 헤파린을 함유하는 임의의 히드로겔을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 헤파린 코팅은 생물의학적 장치 상에 배치되는데, 이는 생물의학적 장치의 외부 표면 또는 내부 표면과 직접 접촉하거나, 생물의학적 장치 내에 포매되는 것을 포함한다. "직접적인" 접촉은 헤파린 코팅 용액 내에 생물의학적 장치를 적시는 것 (폴리펩티드가 헤파린 코팅 용액의 일부로서 첨가될 수 있거나, 장치와 접촉한 후 헤파린 코팅 상에 또는 헤파린 코팅 내에 후속적으로 배치될 수 있음), 장치 상에 헤파린 코팅 용액을 스핀 코팅 또는 분무하는 것 (폴리펩티드가 헤파린 코팅 용액의 일부로서 첨가될 수 있거나, 장치와 접촉한 후 헤파린 코팅 상에 또는 헤파린 코팅 내에 후속적으로 배치될 수 있음), 및 표면 상에 또는 임의의 기관에 직접적으로 도관을 통해 폴리펩티드를 함유하는 헤파린 코팅 용액을 투여하는 것을 포함하나 이에 제한되지는 않는, 장치 상에 또는 장치 내에 직접적으로 배치되는 것을 의미한다. 헤파린층의 물리적 특징 및 특정 조성은 하나 이상의 폴리펩티드의 원하는 방출 특성을 제공하는 임의의 것일 수 있다. 예를 들어, [Seal and Panitch, Biomacromolecules 2003(4): 1572-1582 (2003)]; 본원에 그 전체가 참고로 포함되는 US20030190364; 및 스웨덴 스톡홀름의 Carmeda AB 의 제품인 Carmeda BioActive Surface (CBAS™) 을 참조한다. "간접적인" 접촉은 헤파린 코팅이, 예를 들어 간접 코팅이 장치 표면과 헤파린 코팅 사이에 위치하는 경우 장치와 직접적으로 접촉되지 않는 것을 의미한다.

한 비제한적인 예에서, 하나 이상의 폴리펩티드는 초기에 흡수된 후 (직접적으로 또는 간접적으로) 헤파린 코팅을 흡수할 수 있으며; 임의로는 원하는 바 대로 이후에 폴리펩티드층, 헤파린층, 또는 이의 조합이 뒤따를 수 있다. 당업자에게 이해될 바와 같이, 임의의 황산화 다당류 또는 음전하 중합체가 상기 기재된 바와 같은 방식으로 헤파린에 사용되어 원하는 방출 특징이 제공될 수 있다.

[0119] 이론에 의해 속박됨이 없이, SEQ ID NO:1 의 폴리펩티드가 HSP27 키나아제 (MAPKAP 키나아제 2) 에 의한 HSP27 인산화 저해의 결과로서 일부분 이상 이의 치료적 효과를 제공한다고 여겨진다. 대안적인 메카니즘은 MAPKAP 키나아제 3 에 의한 HSP27 인산화 저해를 포함하나 이에 제한되지는 않으며, MAPKAP 키나아제 5 또한 이의 치료적 효과에 기여할 수 있다. MAPKAP2 가 p38 MAP 키나아제의 하류이기 때문에, p38 MAPK 저해제가 유용한 임의의 치료적 용도는 또한 본 발명의 범주 내에 있다.

[0120] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "투여하는" 은 생체내 투여 뿐 아니라 생체외 (ex vivo) 로 조직에 직접 투여하는 것을 포함한다. 본 발명의 조성물은 통상적으로 비독성인 약학적으로 허용가능한 담체, 보조제 및 비히클을 원하는 바와 같이 함유하는 투약 단위 제형으로 경구, 볼쪽 (buccally), 비경구, 국소적, 흡입 또는 통기 (즉, 입을 통하거나 코를 통해) 에 의해, 또는 직장으로 전신 투여될 수 있다.

[0121] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "비경구" 는 예를 들어, 피하 (즉, 피부 밑에 주사), 근육내 (즉, 근육에 주사); 정맥내 (즉, 정맥에 주사), 경막내 (즉, 척수를 둘러싼 공간에 주사), 흉골내 주사 또는 주입 기술을 포함하는 주사 (즉, 주사에 의한 투여) 에 의해 신체에 도입되는 것을 의미한다. 본 발명의 비경구 투여된 조성물은 주사 바늘, 예를 들어 수술용 주사 바늘을 사용하여 전달된다. 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "수술용 주사 바늘" 은 본 발명의 유체 (즉, 흐를 수 있는) 조성물을 선택된 해부학적 구조에 전달하기 위해 적합화된 임의의 주사 바늘을 의미한다. 무균 주사가 가능 수성 또는 유질 현탁액과 같은 주사가 가능 제제는 적합한 분산 또는 습윤제 및 현탁제를 사용하여 종래 기술에 따라 제형화될 수 있다.

[0122] 무균 주사가 가능 제제는 또한 예를 들어 1,3-부탄디올 중 용액으로서 비독성인 비경구적으로 허용가능한 희석제 또는 용매 중 무균 주사가 가능 용액 또는 현탁액일 수 있다. 용액은 일반적으로 둘 이상의 물질의 균질 혼합물로서 고려되며; 반드시 는 아니지만, 종종 액체이다. 용액에서, 용질 (또는 용해된 물질) 의 분자는 이들 용매 중에 균일하게 분포된다. 현탁액은 세분된 종류가 또다른 종류와 조합되는 분산액 (혼합물) 이며, 세분된 종류는 급속히 침전되지 않도록 이처럼 세분되며 혼합된다. 일상생활에서, 가장 흔한 현탁액은 액체물 중 고체인 것들이다. 사용될 수 있는 허용가능한 비히클 및 용매 중에서는, 물, 링거액 및 등장성 염화나트륨 용액이 있다. 또한, 무균, 고정유 (fixed oil) 가 용매 또는 현탁 매질로서 통상적으로 사용된다. 비경구 적용을 위해서는, 특히 적합한 비히클은 용액, 바람직하게는 유성 또는 수성 용액 뿐 아니라 현탁액, 유액 또는 이식물로 이루어진다. 수성 현탁액은 현탁액의 점도를 증가시키는 물질을 함유할 수 있으며, 예를 들어 나트륨 카르복시메틸 셀룰로오스, 소르비톨 및/또는 텍스트란을 포함한다. 임의로는, 현탁액은 또한 안정화제를 함유할 수 있다.

[0123] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "국소" 는 본 발명의 조성물을 적용 지점에, 또는 바로 그 밑에 투여하는 것을 의미한다. 어구 "국소 적용" 은 상피 표면을 포함하는 하나 이상의 표면(들) 상에 적용하는 것을 기술한다. 국소 투여가 경피 투여와 반대로 일반적으로 전신 효과보다는 국부적인 효과를 제공함에도 불구하고, 본원에서 사용되는 바와 같이, 다르게 언급하거나 내포하지 않는 한, 국소 투여 및 경피 투여라는 용어가 상호 교환가능하게 사용된다.

[0124] 국소 투여는 또한 당업계에 잘 알려져 있는 기술 및 절차에 따라 제조되는 경피 패치 또는 이온도입 장치와 같은 경피 투여의 사용을 포함할 수 있다. 용어 "경피 절단 시스템", "경피 패치" 또는 "패치" 는 전신 순환계를 통한 분포에 이용가능한, 피부를 통한 투약 형태로부터의 경로에 의해 약물(들) 의 지효성 투약량을 전달하기 위해 피부 상에 위치한 접착성 시스템을 의미한다. 경피 패치는 멀미용 스코폴라민, 협심증 치료용 니트로글리세린, 고혈압용 클로니딘, 폐경후 징후용 에스트라디올, 및 금연용 니코틴을 비제한적으로 포함하는 다양한 약학물을 전달하는데 사용되는 잘 적합화된 기술이다. 본 발명에서 사용하기에 적합한 패치는 하기를 포함하나 이에 제한되지는 않는다: (1) 매트릭스 패치; (2) 저장소 패치; (3) 다중 박판 접착제내 약물형 패치 (multi-laminate drug-in-adhesive patch); 및 (4) 획일적 (monolithic) 접착제내 약물형 패치; 본원에 참고로 포함되는 [TRANSDERMAL AND TOPICAL DRUG DELIVERY SYSTEMS, pp. 249-297 (Tapash K. Ghosh et al. eds., 1997)]. 이러한 패치들은 당업계에 잘 알려져 있으며 일반적으로 시판되는 것들이다.

[0125] 본 발명의 조성물은 흡입 또는 통기 (입을 통하거나 코를 통한) 에 의한 전달용 분산성 건조 분말의 형태일 수 있다. 건조 분말 조성물은 동결건조 및 제트 분쇄 (참고로 포함되는 개시물들인 국제 특허 공개 번호 WO

91/16038 에서 개시된 바와 같고 미국 특허 제 6,921,527 호에 개시된 바와 같음) 와 같은, 당업계에 알려져 있는 방법에 의해 제조될 수 있다. 본 발명의 조성물은 대상에게 단위 투약량 처리를 제공하기에 충분한 양으로 적합한 투약량 저장소 내에 위치한다. 투약량 저장소는, 기체 스트림 내에 분산시켜 에어로졸을 형성시킨 후, 이렇게 생성된 에어로졸을 치료가 필요한 대상에 의한 후속적 흡입을 위해 부착된 마우스피스에 갖는 챔버 내에 포획함에 의한, 건조 분말 조성물의 에어로졸화가 가능하도록 적합한 흡입 장치 내에 끼워진 것이다.

이러한 투약량 저장소는, 건조 분말 조성물을 분산시키기 위해 기체 스트림 (예를 들어 공기) 이 용기 내로 유도될 수 있게 하는 젤라틴 또는 제거가능 부분을 갖는 플라스틱 캡슐과 같은 당업계에 알려져 있는 조성물 동봉 임의 용기를 포함한다. 상기 용기는 미국 특허 제 4,227,522 호; 미국 특허 제 4,192,309 호; 및 미국 특허 제 4,105,027 호에 나타낸 것들에 의해 예시된다. 적합한 용기는 또한 Glaxo's Ventolin® Rotahaler 브랜드 분말 흡입기 또는 Fison's Spinhaler® 브랜드 분말 흡입기와 함께 사용되는 것들을 포함한다. 우수한 수분 배리어를 제공하는 또다른 적합한 단위-용량 용기는 알루미늄 호일 플라스틱 박편으로부터 형성된다.

약학물-기체 분말은 형성력이 있는 호일 내 함몰된 곳에 중량 또는 부피에 의해 충전되며 덮개 호일-플라스틱 박편으로 밀폐하여 밀봉된다. 분말 흡입 장치와 함께 사용하기 위한 이러한 용기는 미국 특허 제 4,778,054 호에 기재되며 Glaxo's Diskhaler® 와 함께 사용된다 (미국 특허 제 4,627,432 호; 제 4,811,731 호; 및 제 5,035,237 호). 이들 문헌 모두는 본원에서 참고로 포함된다.

[0126] 본 발명의 조성물은 조성물의 직장 투여를 위한 좌약의 형태일 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같은 "직장" 또는 "직장으로" 는 흡수가 직장 벽을 통해 일어나는, 직장을 통한 신체 내 도입을 의미한다. 이러한 조성물은 약물을 적합한 비자극 부형제 예컨대 코코아 버터 및 폴리에틸렌 글리콜 (보통의 온도에서 고체이지만 직장 온도에서는 액체이므로 직장 내에서 용융되어 약물이 방출됨) 과 혼합하여 제조될 수 있다. 좌약으로서 제형화되는 경우 본 발명의 조성물은 전통적인 결합제 및 담체, 예컨대 트리글리세리드와 함께 제형화될 수 있다.

[0127] 이러한 구현예의 방법은 초기 유착 형성의 감소, 및 존재하는 유착의 치료적 처리 둘 모두를 위한 유착 형성 감소를 위해 모든 유형의 상처를 치료하기에 임상적으로 유용하다. 존재하는 유착을 치료하기 위해서, 상기 방법은 이의 형성 후 유착 반환을 절개하는 단계, 절개 부위를 본 발명의 조성물로 처리하는 단계, 및 절개 부위가 더 천천히 치료되게 하는 단계를 포함한다.

[0128] 일부 구현예에서, 섬유증 장애를 치료 또는 제한하기 위한 치료요법이 필요한 개인은 TGF β -유도 결합 조직 성장 인자 ("CTGF") 발현과 연관되는 하나 이상의 섬유증 장애 {조직 섬유증 (특발성 폐 섬유증, 간 섬유증, 신장 섬유증, 복막후 섬유증, 낭포성 섬유증, 혈관 섬유증, CNS 섬유증 및 심장 조직 섬유증을 포함하나 이에 제한되지는 않음); 당뇨병성 신장병, 사구체경화증 및 IgA 신장병 (신부전의 원인이며 투석 및 재이식을 필요로 함); 당뇨병성 망막증 및 황반 변성 (눈의 섬유증 질환이며 실명을 일으키는 원인임); 간경변 및 담도 폐쇄 (간 섬유증 및 부전을 일으키는 원인임); 울혈성 심부전; 폐 섬유증; 경피증; 복부 유착; 및 사이질 섬유증을 포함하나 이에 제한되지는 않음} 를 겪거나 이의 위험이 있는 자들이다. CTGF 는 시스테인-풍부하고, 매트릭스-연관되는, 해파린-결합 단백질이다. CTGF 는 상처 치료, 경피증 및 기타 섬유증 과정에서 세포의 매트릭스 리모델링에서 역할을 갖는데, 이것이 매트릭스 메탈로프로테이나아제 (MMP) 및 이의 저해제 (TIMP) 를 모두 상향 조절할 수 있기 때문이다.

[0129] 다양한 다른 구현예에서, 섬유증 장애를 치료하고/하거나 제한하기 위한 치료요법이 필요한 개인은 하나 이상의 하기 바이오마커의 상승된 수준을 갖는 자들이다: TGF β 1 발현; 콜라겐 I; CTGF 발현; 및 알파 평활근 액틴.

[0130] 전환 성장 인자 베타 (TGF β 1) 는 사이토카인의 전환 성장 인자 베타 슈퍼패밀리의 폴리펩티드 일원이다. 이는 세포 성장 조절, 세포 증식, 세포 분화 및 세포자멸사를 포함하는 많은 세포적 기능을 수행하는 분비 단백질이다.

[0131] 유형-I 콜라겐은 인체의 가장 풍부한 콜라겐이다. 이는 반환 조직 내에 존재한다. 이는 또한 힘줄, 근원 섬유의 근섬유막 및 뼈의 유기 부분에서 발견된다. 유형-I 콜라겐의 주요 성분은 유전자 COL1A1 에 의해 인코딩된다.

[0132] 알파-평활근 (알파-sm) 액틴은 평활근 세포 (SMC) 의 전형적인 동형 (isoform) 이며 혈관 SMC 내에서 높은 양으로 존재한다. 알파-sm 은 SMC 의 변별 마커로서 이용된다.

[0133] 이러한 바이오마커의 상승된 수준은, 하나 이상의 바이오마커에 대한 시판되는 항체를 사용하는 면역학적 기술 (ELISA, 면역세포화학 등) 을 포함하나 이에 제한되지는 않는 표준 기술을 사용하여 검출될 수 있다.

- [0134] 하기에 개시된 바와 같이, 본 발명의 폴리펩티드는 섬유증 상태에서 상승되는, 인간 켈로이드 섬유모세포에서의 TGFβ1-유도 CTGF 및 콜라겐 발현을 저해하는데, 이는 하나 이상의 이러한 바이오마커의 상승된 수준을 갖는 개인이 본 발명의 방법으로 특히 이득을 얻을 수 있다는 것을 나타낸다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 하나 이상의 바이오마커의 "상승된" 수준은 관련된 표적 조직 내에서의 개인 또는 유사한 경우의 개인들에 대해 정상치를 초과하는 임의의 증가를 의미한다. 이러한 표적 조직은 섬유증 상태에 의해 영향받는 것들이며, 혈액, 상처 삼출물, 및 상기 기재된 것들을 비제한적으로 포함하는 섬유증에 의해 영향받은 조직으로부터 채취한 생검 조직 (피부, 신장, 폐, 간, 복막, 혈관, 심장, 망막 등) 을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 다양한 추가적 구현예에서, 이를 필요로 하는 개인은 정상 수준의 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 50%, 75%, 100% 이상의 하나 이상의 언급된 바이오마커 수준을 갖는다. 하나 이상의 바이오마커 수준의 측정은 하기에 기재된 것들을 포함하나 이에 제한되지는 않는, 단백질 및/또는 유전자 발현 측정을 위한 당업계의 표준 기술을 사용하여 수행될 수 있다.
- [0135] 이들 하나 이상의 바이오마커의 "정상" 수준은, 섬유증 상태 및/또는 켈로이드의 부재 하 개인 또는 유사한 경우의 개인들에서의 정상 수준을 측정하는 것을 포함하나 이에 제한되지는 않는 임의의 적합한 수단, 또는 참조를 위한 표준을 확립하기 위한 임의의 다른 적합한 수단에 의해 확립될 수 있다. 본 발명에 따른 질환, 장애 또는 상태 치료 방법은 하기 단계를 포함한다: (1) 본 발명에 따른 치료적 유효량의 조성물을 이를 필요로 하는 대상에게 투여하는 단계; (2) 표적 조직에서의 하나 이상의 바이오마커의 수준을 모니터링하는 단계 (상기 하나 이상의 바이오마커는 TGFβ1 발현; 콜라겐 I 발현; CTGF 발현; 및 α-平滑근 액틴 발현으로 이루어지는 군에서 선택됨); 및 (3) 표적 조직에서의 바이오마커의 수준을 처리 동안 실제로 정상 수준에서 유지시키는 단계.
- [0136] 다른 구현예에서, 본 발명의 방법은 염증 발생을 치료 또는 제한하는데 사용된다.
- [0137] 다양한 다른 구현예에서, 염증 장애 및/또는 자가면역 질환의 치료 및/또는 제한을 위한 치료요법을 필요로 하는 개인은 종종 하기의 하나 이상의 바이오마커의 상승된 수준을 갖는 자들이다: TGFβ1 발현; TNF-α; IL-1; IL-6; IL-8; COX-2; MIP-1α; 및 MIP-2.
- [0138] 종양 괴사 인자 알파 (TNF-α) 는 전신 염증에 포함되는 사이토카인이며 급성 상 반응을 모두 자극하는 사이토카인 군의 일원이다. TNF 는 세포자멸사적 세포 사멸; 세포 증식, 분화, 염증, 종양 형성 및 바이러스 복제를 일으킨다.
- [0139] 인터류킨-1 (IL-1) 은 IL-1α 및 IL-1β 로 이루어지는 사이토카인이다. IL-1α 및 IL-1β 모두는 대식세포, 단핵세포 및 수지상 세포에 의해 생성된다. 이는 감염에 대한 신체의 염증성 반응의 중요한 부분을 형성한다. 이러한 사이토카인은, 백혈구가 감염 부위로 이동하고 시상 하부 체온 조절 중추가 재설정될 수 있도록 내피 세포에 대한 접착 인자의 발현을 증가시켜, 자체적으로 열을 나타내는 신체 온도 증가를 일으킨다.
- [0140] 인터류킨-6 (IL-6) 은 전-염증 및 항-염증 사이토카인 모두로서 작용하는 인터류킨이다. 이는 T 세포 및 대식세포에 의해 분비되어 외상, 특히 화상 또는 염증을 일으키는 기타 조직 손상에 대한 면역 반응을 자극한다.
- [0141] 인터류킨-8 (IL-8) 은 대식세포 및 기타 세포 유형 예컨대 상피 세포에 의해 생성되는 케모카인이다. 이는 IL-8 을 이의 저장 소로, 마이벨-펠라드 (Weibel-Palade) 체에 저장하는, 내피 세포에 의해 또한 합성된다. IL-8 의 제 1 기능은 이의 표적 세포 (예를 들어 호중구 과립구) 에서 주화성을 유도하는 것이다.
- [0142] 시클로옥시게나아제 (COX) 는 프로스타노이드 (프로스타글란딘, 프로스타시클린 및 트롬복산을 포함) 라고 지칭되는 중요한 생물학적 매개체 형성에 책임을 갖는 효소이다 (EC 1.14.99.1). COX-1 및 COX-2 는 유사한 분자량 (각각 약 70 및 72 kDa) 의 것이며, 65% 아미노산 서열 상동성 및 거의 동일한 촉매적 부위를 갖는다. 선택적 저해를 가능하게 하는 동질효소 사이의 가장 유의한 차이점은, COX-1 내 위치 523 에서의 이소류신의 COX-2 내 발린으로의 치환이다. COX-2 내의 상대적으로 작은 Val523 잔기는 효소에서의 소수성 측면-포켓 (Ile523 가 입체적으로 방해하는) 에 접근할 수 있게 한다.
- [0143] 대식세포 염증 단백질 (MIP) 은 케모카인으로 알려져 있는 화학주성 사이토카인의 패밀리에 속한다. MIP 는 급성 호중구 염증을 일으킬 수 있는 인간 과립구 (호중구, 호산구 및 호염기구) 를 활성화시킨다. 이는 또한 섬유모세포 및 대식세포로부터 인터류킨 1 (IL-1), IL-6 및 TNF-α 와 같은 다른 전-염증 사이토카인의 합성 및 방출을 유도한다. 대식세포 염증 단백질-1 (MIP-1) 은 다형핵 백혈구의 보충 및 활성화에서의 급성 염증 상태에 포함되는 모노카인이다.

- [0144] 이러한 바이오마커의 상승된 수준은, 하나 이상의 바이오마커에 대한 시판되는 항체를 사용하는 면역학적 기술 (ELISA, 면역세포화학 등) 을 포함하나 이에 제한되지는 않는 표준 기술을 사용하여 검출될 수 있다.
- [0145] 염증 (본 발명의 방법이 이의 발생을 치료 또는 감소시키는데 사용될 수 있는) 의 특징적 증상은 발진, 열, 부기, 통증 및 관련 기관의 부전을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 본 발명의 방법에 의해 치료될 수 있거나 이의 발생이 감소될 수 있는 특이적 염증 장애는 천식, 관절염 (류머티스성 또는 퇴행성), 폐혈증, 내독소혈증 쇼크, 건선, 방사선 장염, 경피증, 간경변, 사이질 섬유증, 크론병, 염증성 장 질환, 맹장염, 위염, 후두염, 수막염, 췌장염 및 이염을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0146] 이론에 의해 속박됨이 없이, 본 발명의 폴리펩티드를 항-염증 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것이, TGF β 1, 종양 괴사 인자 α (TNF- α), 인터류킨 1 (IL-1), IL-6, IL-8, COX-2 및 대식세포 염증 단백질 (예를 들어, MIP-1 α 및 MIP-2) 을 포함하나 이에 제한되지는 않는 염증 사이토카인에 대한 반응 및/또는 이의 발현을 억제한다고 여겨진다.
- [0147] 본 발명의 치료적 방법의 모든 상기 구현예에서, 본 발명의 폴리펩티드는 단독 활성제로서 사용될 수 있거나, 참여하는 의사에 의해 결정된 바와 같은 표시용의 하나 이상의 다른 치료제와 조합될 수 있다.
- [0148] 본 발명의 모든 방법에 대해 본원에서 사용되는 바와 같이, 하나 이상의 폴리펩티드의 "치료적 유효량" 또는 "유효량" 은 치료의 의도된 이득을 제공하기에 충분한 양이다. 사용될 수 있는 폴리펩티드의 유효량은 일반적으로 약 0.01 μ g/kg (체중) 내지 약 10 mg/kg (체중), 바람직하게는 약 0.05 μ g/kg (체중) 내지 약 5 mg/kg (체중) 범위이다. 그러나 투약량 수준은 상해 유형, 연령, 체중, 성별, 개인의 의학적 상태, 상태 중증도, 투여 경로 및 사용된 특정 화합물을 포함하는 다양한 인자들을 기준으로 한다. 따라서, 투약량 양생법은 광범위할 수 있으나, 표준 방법을 사용하여 의사에 의해 관례적으로 결정될 수 있다.
- [0149] 용어 폴리펩티드의 "복부 유착 예방량" 은 대상에서의 복부 유착을 저해하고, 회피하고, 방해하거나 이의 형성, 발생, 또는 형성 또는 발생의 위험성을 감소시키기에 충분한 양을 의미한다.
- [0150] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "배치된" 은 순차적, 비순차적, 무작위, 비무작위, 균일, 또는 비균일한 순서, 밀도, 점도, 농도 또는 부피로 위치시키거나 넣는 것을 의미한다.
- [0151] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "매트릭스" 는 그 안에서 다르게 기원하고, 발전되거나, 함유되는 물질을 의미한다.
- [0152] 이러한 적용 내에서, 다르게 언급하지 않는 한, 이용된 기술은 하기와 같은 여러 잘 알려져 있는 임의의 참고문헌에서 발견될 수 있다 (모두 본원에 참고로 포함됨): Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Sambrook, et al., 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press), Gene Expression Technology (Methods in Enzymology, Vol. 185, edited by D. Goeddel, 1991. Academic Press, San Diego, CA), "Guide to Protein Purification" in Methods in Enzymology (M. P. Deutscher, ed., (1990) Academic Press, Inc.); PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications (Innis, et al. 1990. Academic Press, San Diego, CA), Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique, 2nd Ed. (R.I. Freshney. 1987. Liss, Inc. New York, NY), 및 Gene Transfer and Expression Protocols, pp. 109-128, ed. E.J. Murray, The Humana Press Inc., Clifton, N.J.).
- [0153] 본원에서 사용된 바와 같이, 문맥에서 다르게 명백히 나타내지 않는 한, 단수형은 복수형 대상을 포함한다. 예를 들어, "폴리펩티드" 에 대한 지시 내용은 하나 이상의 폴리펩티드를 의미한다.
- [0154] 수치 범위가 제공되는 경우, 문맥에서 다르게 명백히 나타내지 않는 한, 상기 범위의 상한과 하한 사이의 하한 단위의 10 번째에 대한 각각의 중간 수치 (intervening value), 및 상기 언급된 범위 내의 임의의 다른 언급된 또는 중간 수치가 본 발명 내에 포함된다는 것이 이해된다. 작은 범위 내에 독립적으로 포함될 수 있는 이들 작은 범위의 상한 및 하한이 또한 본 발명 내에 포함되며, 언급된 범위 내에서 임의의 특별히 배제된 한계가 된다. 언급된 범위가 한계 중 하나 또는 둘 모두를 포함하는 경우, 이들 포함된 한계 중 어느 쪽이든 둘 모두를 배제하는 범위가 또한 본 발명에 포함된다.
- [0155] 다르게 정의하지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 기술적이고 과학적인 용어들은 본 발명이 속하는 당업계의 통상적 지식 중 하나에 의해 흔히 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기재된 것들과 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 물질이 본 발명의 실행 또는 시험에서 또한 사용될 수 있으나, 바람직한 방법 및 물질이 이제 기재된다. 본원에서 언급된 모든 공개물이 본원에 참고로 포함되어, 공개물에 인용된 관련되는 방법

및/또는 물질이 개시 및 기재된다.

[0156] 본원에 개시된 공개물은 본 출원의 출원일 전 이의 개시물에 대해 단독으로 제공된다. 본원에서, 본 발명이 종래 발명에 의해 이러한 공개물에 앞서는 것으로 자격이 부여되지 않는다는 것을 허용하는 것으로서 간주되지는 않는다. 또한, 제공된 공개일은 독립적으로 확인될 필요가 있을 수 있는 실제 공개일과 상이할 수 있다.

[0157] 실시예

[0158] 하기의 실시예는 본 발명을 어떻게 만들고 사용하는지의 완전한 개시 및 기재가 당업자에게 제공되도록 제시되며, 발명자가 그들의 발명으로 간주하는 범주를 제한하는 것으로 의도되지 않고, 하기 실험이 수행된 모든 실험이거나 유일한 실험이라는 것을 나타내는 것으로 의도되지도 않는다. 사용된 숫자 (예를 들어 양, 온도 등)에 대한 정확성을 확실히 하기 위한 노력이 이루어졌으나, 일부 실험적 오류 및 편차가 설명되어야 한다. 다르게 나타내지 않는 한, 부는 중량부이고, 분자량은 중량 평균 분자량이고, 온도는 섭씨 온도이며, 압력은 대기압 또는 대기압 근처이다.

[0159] 실시예 1. 장 유착 모델

[0160] 인간 질환의 동물 장 유착 모델에서의 실험을 사용하여 서열 SEQ ID NO:1 을 갖는 폴리펩티드의 영향을 측정할 것이다. 이러한 동물 모델이 다른 조사자들에 의해 사용되었으며, 일반적으로 그로서 허용된다. 그러므로 상기 모델로 수득된 치료적 결과는 치료하는 인간 대상의 방법에 대해 추론될 수 있다.

[0161] 동물 연구는 미국 국립보건원 실험동물 관리규정 (National Institutes of Health Guide for Care and Use of Animals) 에 따른 퍼듀 대학교 (Purdue University) 에서의 AAALAC 공인 동물 시설에서 실행될 것이다. 중량 240-280 g 의 수컷 스프라그-돌리 (Sprague-Dawley) 랫트가 본 연구에 포함될 것이다. 양성 대조군, 맹장 찰과상, 무-치료, 및 음성 대조군, 무-찰과상, 무-치료를 포함하도록 코호트를 설계하고, 장 유착을 예방하기 위한 최적의 전달 방법을 평가하기 위한 추가적인 코호트를 설계하였다. 모든 동물은 수술 전 및 후 모두에 개별적 케이지에서 12 시간 명/암 주기 하에 유지되며 원하는 대로 사료와 물이 제공될 것이다. 모든 동물은 케타민 (75-100 mg/kg) 및 자일라진 (5-10 mg/kg) 의 복강내 주사를 사용하여 마취될 것이다. 케타민/자일라진의 10% 유도 투약량의 복강내 주사로 마취를 유지시킬 것이다. 발끝 조임법 (toe pinch method) 을 사용하여 마취 수준을 평가할 것이다. 또한, 동물의 호흡 및 점액성 막의 색깔을 절차 동안 모니터링할 것이다. 바르비투르산염 (barbiturate) 과용량 (예를 들어, 냄부탈 (Nembutal) 120 mg/kg) 또는 유사한 시판 안락사 용액을 권고된 투약 량 IV 또는 IP 에서 사용하여 동물을 안락사시킬 것이다.

[0162] 마취된 랫트를, 하부 복부를 면도하고 이를 요오드로 세정하여 수술을 위해 프랩할 것이다. 동물을 정중선 개복술을 거치게 하고, 맹장을 확인하고 거즈 패드 상에 놓고 염수를 사용하여 조직 수분을 유지시킬 것이다. 출혈이 전방 표면 상에 나타날 때까지, 1 x 1 cm 전기외과 팁 세정제 (Johnson and Johnson) 를 사용하여 맹장벽을 벗길 것이다. 0.8 mm 생검 펀치를 사용하여 1.6 mm x 0.8 mm 홈을 복막 및 기저근 내에 만들 것이다. 처리 적용 전에 복강을 관개할 것이다. 나란히 놓인 맹장과 손상된 복막 사이에 적절한 처리를 가할 것이다. 특히, 코호트 1 에서 벗긴 맹장을 손상된 복막과 나란히 놓고 외과적인 절개부를 폐쇄할 것이다. 코호트 2 를 오직 개복술만을 거치게 하고 절개부를 폐쇄할 것이다. 추가적인 코호트를 적절한 농도의 MK2 저해제를 함유하는 10 ml 의 PBS 로 관개할 것이다. 수술 동안 천공성 장과 같은 상해가 발생하거나 배리어가 손상된 조직을 분리시키는데 실패한 경우, 동물을 연구로부터 제거하고 대체할 것이다 [Buckenmaier, CC, 3rd, et al., Comparison of antiadhesive treatments using an objective rat model. Am Surg, 1999. 65(3): p. 274-82; Zong, X., et al., Prevention of postsurgery-induced abdominal adhesions by electrospun bioabsorbable nanofibrous poly(lactide-co-glycolide)-based membranes. Ann Surg, 2004. 240(5): p. 910-5].

[0163] 수술 후 14 일에 랫트를 상기 기재된 바와 같이 다시 마취하고, 처리에 대해 맹검으로 의과 의사가 제 2 개복술을 수행하여 유착의 정도 및 중증도를 평가할 것이다. 광대한 대다수의 복부 유착 연구는 조직학보다는 시각적 아날로그 스코어링 시스템을 사용한다. 하기의 스코어링 시스템을 사용할 것이다: 0 = 유착 없음, 1 = 얇고 박막의, 쉽게 분리된 유착, 2 = 유의하고 박막의, 조직을 분리하기에 어려운 유착, 3 = 심각한 섬유증, 조직 분리에 기구가 필요한 유착. 각 군 내의 유착을 갖는 동물 수 및 유착의 중증도를 기록한 후 ANOVA 분석을 사용하여 군들을 교차 비교하여, 유착을 저해하는 최적 처리 조합을 결정할 것이다 (배리어, 방출 속도 및 약물 농도).

[0164] 실시예 2. 유착 예방에 있어서의 펩티드 YAAAAARAKALARQLGVAA [SEQ ID NO:1] 의 효능 및 장 문합에 대한 이

의 영향

- [0165] 인간 질환의 동물 장 유착 모델에서의 실험을 사용하여, 유착 예방에 있어서의, 및 장 문합에 대한, 아미노산 서열 SEQ ID NO:1 을 갖는 폴리펩티드의 효능을 측정하였다. 이러한 동물 모델이 다른 조사자에 의해 사용되었고 일반적으로 그로서 허용되기 때문에, 상기 모델로 수득된 치료적 결과는 치료하는 인간 대상의 방법에 대해 추론될 수 있다.
- [0166] 40 마리의 수컷 스프라그 돌리 랫트를 개별적으로 케이지에 넣고 5 일 순화 기간을 주었다. 표준 펠렛화 실험실 음식을 사용하여, 모든 동물에게 사료와 물을 무제한으로 제공하였다. 모든 동물을, 통증 조절을 위해 수술 전 30 분에 부프레노르핀 (50 μ g/kg) 을 피하로 수술전 주사하여 전처리하였다. 우측 뒷다리에 케타민 (35 mg/kg) IM, 및 좌측 뒷다리에 자일라진 (5 mg/kg) IM 을 사용하여 마취를 수행하였다.
- [0167] 적절한 마취 수준이 달성된 후, 복부를 털이 없도록 깎고 베타딘 (Betadine) 용액으로 프랩하였다. 15 블레이드를 사용하여 3 cm 수직 정중선 복부 절개를 실시하였다. 소장을 우세하게 수축시키고 하강 결장을 노출시켰다. S 자형 결장을 복막 반전부에 대해 약 2 cm 우위로 선명하게 나누었다. 6-0 프로렌 (Prolene) 을 사용하여, 8 개 단속 봉합을 실시하여 손으로 껴맨 문합을 생성시켰다.
- [0168] 가시적 간격을 갖는 임의의 부위를 또한 추가적으로 껴매었다.
- [0169] 폐쇄 전, 5 ml 의 시험 용액 (무균 생리식염수에 용해된 펩티드 약물, 최종 농도 100 μ M) 또는 염수를 문합부 및 복강과 골반에 가하였다. 이후 복부를 3-0 실크 봉합으로 잇따라 연속 방식으로 폐쇄하고, 피부를 별도의 층으로서 동일한 방식으로 폐쇄하였다. 동물을 마취에서 완전히 깰 때까지 Gaymar 가열 펌프 하 회복 영역에 두었다. 통증 조절을 위해 수술 4 시간 후 뿐 아니라 다음날 아침에 부프레노르핀을 추가 주사하였다.
- [0170] 수술일로부터 4 일 및 10 일에 동물을 희생시켰다 (10 마리 동물, 각 군에서 5 마리를 하루하루 처치함). 1) 4 일에 장 무결성 (integrity) 에 대한 영향 (존재한다면) 이 가장 두드러질 것으로 예측되며; 2) 10 일 기간이 최대 유착 형성 기간 중 하나이기 때문에, 희생 지점을 의도적으로 선택하였다.
- [0171] 유타솔 (Euthasol) (200 mg/kg) 로 동물을 안락사시켰다. 좌측 방정중 절개를 사용하여 복강으로 들어간 후; 2 개 수평 절개를 절개의 정점에서 실시하여, 피부 절편 (flap) 이 끌어 모아지고 전방 복부벽에 대한 유착형성이 어떠한 조직에도 우연히 해를 입히는 일 없이 평가될 수 있도록 하였다.
- [0172] 임의의 기저 비-유착성 내장을 주의깊게 수축시킨 후, 문합을 확인하였다. 문합에 직접적인 임의의 유착형성을, 그 부위를 제거하거나 방해하지 않고 그 자리에 유지시켰다. 추가적인 평가를 위해 문합을 사진 찍었다. 이것은 유착 스코어링 시스템의 두 번째 부분이다. 부고환 지방, 망 (omentum), 소장, 대장을 포함하는, 문합에 대해 유착성인 것으로 발견된 각각의 조직에 대해 "1" 을 할당하였다. 모든 가능성을 누적 스코어의 일부로서 부가하였다.
- [0173] 이후 결장 파열압을 측정하였다. 실크 타이를 사용하여, 대변이 없도록 문합에 대한 결장 원위부를 짜내고 결찰하였다. 임의의 결장 함량을 나머지를 주의깊게 근위부적으로 짜낸 후 결장을 문합에 대해 근접하게 선명히 나누었다. 18 게이지 안지오키스 (angiocath) 를 결장 내강에 삽입하고, 실크 타이로 다시 사용하여 근위부 말단을 묶고, 그 자리에 안정시키고 누수가 없음을 확인하기 위해 안지오키스를 포함시켰다. 안지오키스를 압력 변환기에 연결시키고, 결장내 압력을 점차적으로 증가시키기 위한 수단으로서 300 cc/시간의 생리식염수가 전달되도록 주입 펌프를 사전설정하였다. 문합에서 또는 봉합선 외부에서 누수가 발생하는지의 여부에 관계없이, 결장에서 염수가 누수되거나 압력이 갑자기 강해지기 시작한 지점을 파열압으로서 기록하였다.
- [0174] 다음으로, 문합에 대한 유착을 밀도 및 점착성에 대해 등급화하였다. 유착을 문합으로부터 가늘게 찢거나 절개하고 절개의 어려움에 따라 등급화하였다. 이러한 스코어를 누적 총합의 일부로서 포함시켰다.
- [0175] 이후, 문합을 각 면에 대해 5 mm 가장자리로 절개하였다. 콜라겐 함량의 지표로서, 히드록시프롤린 분석을 위해 -20°C 에서 일부를 보관하였다. 이후, 가능한 노던 분석을 위해 문합의 다른 단편을 RNAlater 에 넣었다.

[0176] 유착 스코어링 시스템:

유착 장소	스코어
복벽에 대한 유착	1
문합에 대한 부고환 지방	1
문합에 대한 소장	1
문합에 대한 결장	1
문합에 대한 망	1
밀도	스코어
가볍고, 약하며, 쉽게 절개됨	1
중간 정도이고, 유착성이며, 약간의 힘이 필요함	2
대량이며, 선명한 절개가 필요함	3

[0177] 이론적으로, 가능한 최소 스코어는 0 이며, 가능한 최고 스코어는 8 이다.

[0178] 처음 48-72 시간 동안 동물은 유의량의 체중이 줄었으나 이후 다시 늘었다. 4 일 군에서의 펩티드 군에서 1 마리의 마취 사망이 있었다. 10 일 군에서, 대조군에서 2 마리의 수술 후 사망이 있었고 (1 마리는 수술 5 일 후 횡행 결장의 장꼬임으로부터, 1 마리는 수술 7 일 후 문합 누수로부터); 수술 후 6 일에 펩티드 군에서 1 마리 사망이 있었으나 부검 상 명백한 원인은 없었다. 그러므로, 이들 두 실험에 대한 전체 사망률은 10% 였다.

[0179] 표 2 에서 나타낸 바와 같이, 펩티드 처리군에서 초기에 일부 중량 손실이 있었으나, 10 일에서는, 중량 손실은 유의하지 않았으며 사실상 대조군에서 나타난 것 미만이었다. 문합 부위에서의 조직으로부터의 산화 생성물 내 히드록시프롤린 함량 (OHP, 콜라겐 함량을 측정하는데 사용) 을 측정함으로써, 정상 콜라겐 합성을 측정하였다. OHP 함량 및 파열 강도를 기준으로 정상적 치유에서는 저해가 관찰되지 않았다. 유착 스코어는 10 일에 형성된 유착의 수 및 중증도에 있어서 유의한 감소를 입증하였다.

표 2

[0180] 데이터 요약 - 평균 ± SEM

	중량 증가 (누적)	파열압 (mmHg)	OHP 문합술	유착 기관 스 코어	유착 중증도 스 코어	유착 누적 스 코어
대조군 4 일	0.7±4.3	96±32	2679±475	2.2±0.2	2.4±0.2	4.7±0.4
펩티드 4 일	-3.3±5.2	86±13	2055±184	2.0±0.2	2.1±0.2	4.1±0.3
P	NS	NS	NS	NS	NS	NS
대조군 10 일	-5.6±3.1	191±29	4980±205	3.4±0.3	2.6±0.2	6.0±0.3
펩티드 10 일	-1.3±3.7	175±27	5284±218	2.1±0.2	1.5±0.3	3.8±0.4
P	NS	NS	NS	0.003	0.023	0.00296±32

[0181] 약물이 정상적 치유를 악화시키지 않는다는 것을 확인하기 위해, 문합술 견지로부터의 산화된 히드록시프롤린 (OHP) 을 사용하여 새로운 콜라겐 합성을 측정하였다.

[0182] 표 2 에서 사용된 바와 같이, "파열압" 은 결장 파열 또는 찢어져 열리는 것을 유발하는 최소 내부 압력을 의미한다.

[0183] 펩티드는, 4 일 (가장 관련 있는) 또는 10 일에서의 장 파열압 또는 OHP 함량에 영향을 주지 않고 10 일 (가장 관련 있는 시간 지점) 에서의 유착의 수와 품질 모두를 유의하게 감소시켰다.

[0184] 본 발명이 이의 특정 구현예를 참조로 기재되지만, 본 발명의 참된 취지 및 범주에 벗어나지 않고 다양한 변화가 생성될 수 있으며 동등물을 대신 사용할 수 있음이 당업자에 의해 이해되어야 한다. 또한, 본 발명의 목적한 취지 및 범주에 대해 특정 위치, 물질, 물질 조성, 공정, 공정 단계(들) 를 차용하기 위해 많은 변형이 생

성될 수 있다. 이러한 모든 변형은 이에 첨부된 청구항의 범주 내에 있는 것으로 의도된다.

서열 목록

<110> Panitch, Alyssa
 <120> Polypeptide for Treating or Preventing Adhesions
 <130> 117477.010101
 <150> US 61/106,834
 <151> 2008-10-20
 <160> 1
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Unknown
 <220><223> MAMMALIAN
 <400> 1
 Tyr Ala Arg Ala Ala Ala Arg Gln Ala Arg Ala Lys Ala Leu Ala Arg
 1 5 10 15
 Gln Leu Gly Val Ala Ala
 20