(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0118796
(43) 공개일자 2024년08월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/47 (2006.01) *A61K 38/17* (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01) *A61P 25/04* (2006.01)
A61P 29/00 (2023.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/4702 (2013.01)
A61K 38/1709 (2020.05)
(21) 출원번호 10-2024-7021399
(22) 출원일자(국제) 2022년12월08일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년06월26일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2022/084971
(87) 국제공개번호 WO 2023/104960
국제공개일자 2023년06월15일
(30) 우선권주장
21213798.8 2021년12월10일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
호바 세라퓨틱스 에이피에스
덴마크 2200 코펜하겐 올레 말레스 베이 3
(72) 발명자
페테르센 케네스
덴마크, 2000 프레데릭스베르크, 그룬달스베이 68.1
먼로 고돈
덴마크, 2740 스코브룬드, 린딘겐 95
멜드가드 마드센 토르스텐
덴마크, 2100 코펜하겐 오, 4티브이, 외스터브로가데 21
(74) 대리인
특허법인한얼

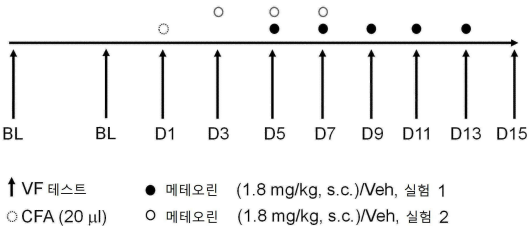
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **침해수용성 통증의 치료**

(57) 요 약

본 개시내용은 메테오린 및 침해수용성 통증의 예방 및/또는 치료에 있어서의 이의 용도에 관한 것이다. 예를 들어 신체 부상이나 염증에 의해 유발된 급성 및 만성 침해수용성 통증은 메테오린을 환자에게 투여함으로써 치료할 수 있다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61P 25/00 (2018.01)
A61P 25/04 (2018.01)
A61P 29/00 (2023.02)

명 세 서

청구범위

청구항 1

a. 서열번호 3의 아미노산 서열; 및

b. 서열번호 3의 아미노산 서열의 생물학적 활성 서열 변이체로서, 서열번호 3과 적어도 70%의 서열 동일성(sequence identity)을 갖는 변이체

로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는, 대상체(subject)에서 침해수용성 통증(nociceptive pain)의 치료 또는 예방에서 사용하기 위한 단리된(isolated) 폴리펩티드.

청구항 2

제1항에 있어서, 침해수용성 통증이 체성 통증(somatic pain) 또는 내장 통증(visceral pain)인, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 침해수용성 통증이 염증성 통증(inflammatory pain), 하부 요통(lower back pain), 어깨 통증, 근골격계 통증(musculoskeletal pain), 관절염 통증(arthritis pain), 관절통(joint pain), 수술 후 통증(post-operative pain), 외상 후 통증(post-traumatic pain) 또는 암 통증인, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 침해수용성 통증이 염증성 통증 및 수술 후 통증으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

청구항 5

제3항에 있어서, 침해수용성 통증이 염증성 통증, 예컨대 염증성 통각과민증(inflammatory hyperalgesia)인, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

청구항 6

제1항에 있어서, 대상체가 관절염을 앓고 있는, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

청구항 7

제6항에 있어서, 관절염이 골관절염(Osteoarthritis), 류마티스 관절염(Rheumatoid arthritis) 또는 루푸스(Lupus)로 이루어진 군으로부터 선택되는, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 서열번호 3과 적어도 70%의 서열 동일성, 서열번호 3과 보다 바람직하게는 적어도 75%, 보다 바람직하게는 적어도 80%, 보다 바람직하게는 적어도 85%, 보다 바람직하게는 90%, 보다 바람직하게는 95%, 보다 바람직하게는 98%의 서열 동일성을 갖는, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 서열번호 11의 컨센서스 서열을 포함하는, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 전신 투여에 의해 투여되는, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 비경구 주사, 바람직하게는 피하 주사 또는 척추강내 주사(intrathecal injection)에 의해 투여되는, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 1 μg/kg - 10,000 μg/kg, 예컨대 1 μg/kg - 7,500 μg/kg, 예컨대 1 μg/kg - 5,000 μg/kg, 예컨대 1 μg/kg - 2,000 μg/kg, 예컨대 1 μg/kg - 1,000 μg/kg, 예컨대 1 μg/kg - 700 μg/kg, 예컨대 5 μg/kg - 500 μg/kg, 예컨대 10 μg/kg 내지 100 μg/kg 체중의 투여량(dosage)으로 투여되는, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 매주 적어도 1-3회, 예컨대 매주 2-5회, 예컨대 매주 3-6회 투여되는, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

청구항 14

a. 서열번호 3의 아미노산 서열;

b. 서열번호 3의 아미노산 서열의 생물학적 활성 서열 변이체로서, 서열번호 3과 적어도 70%의 서열 동일성을 갖는 변이체

로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열을 포함하는, 대상체에서 침해수용성 통증의 치료 또는 예방에서 사용하기 위한 단리된 핵산 분자.

청구항 15

대상체에서 침해수용성 통증의 치료 또는 예방에서 사용하기 위한 벡터로서, 상기 벡터는 제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 따른 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 메테오린(Meteorin) 및 침해수용성 통증(nociceptive pain)의 치료 및/또는 예방에 있어서의 이의 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 급성 통증(Acute pain)은 전형적으로 조직 외상(tissue trauma) 및 관련 염증 과정에 대한 반응으로 발생하고 상처 치유(wound healing)에 필수적인 역할을 하는 불쾌하고 역동적인 정신생리학적 과정이다. 그러나, 3개월의 치유 기간을 초과하여 지속되는 통증 (국제 질병 분류, 11판 기준(International Classification of Diseases, 11th edition criteria)에 따라)은 어떤 분명한 생물학적 목적도 제공하지 않으며 본질적으로 만성으로 간주된다. 통증을 "실제적이거나 잠재적인 조직 손상(tissue damage)과 연관되거나 이와 비슷한 불쾌한 감각적 및 감정적 경험"으로 정의하는 국제 통증 연구 협회(International Association for the Study of Pain)는 만성 통증(chronic pain)을 세 가지 주요 범주: 침해수용성, 신경병증성(neuropathic) 및 침해가소성(nociplastic) 통증으로 분류하였다. 침해수용성 통증은 관절염(arthritis) 및 대부분의 척추 통증(spinal pain)을 포함하는, 만성 통증의 가장 흔한 형태이다. 그러나, 많은 통증 상태, 특히 암 및 척추 통증과 관련된 통증 상태가 혼합형 통증 표현형(mixed pain phenotype)을 갖는다는 인식이 증가하고 있다. 이 적용의 목적을 위해, 정확한 정의를 제공하는데 도움이 되도록 이들 세 가지 만성 통증 범주를 간단히 비교한다.

[0003] **침해수용성 통증 대 신경병증성 및 침해가소성 통증**

[0004] 침해수용성 통증은 조직 또는 잠재적인 조직 손상으로 인해 발생한다. 전형적인 예는 정상적인 마모(wear and tear) (퇴행성 디스크 질환(degenerative disc disease), 후관절병증(facet arthropathy), 원발성 골관절염

(primary osteoarthritis), 외상(trauma), (예를 들어, 화상(burn), 근육 파열(muscle tear), 외상성 관절염(traumatic arthritis)), 근육 경련(muscle spasm), 내장 병리(visceral pathology) (예를 들어, 궤양(ulcer), 신장 결석(renal stone), 췌장염)를 통해 발생하는 퇴행성 변화(degenerative change)를 포함한다. 이는 전형적으로 욱신거리는(throbbing) 또는 쑤시는(aching) 특질로서 기재되며, 신경병증성 통증과 대조적으로 감각 결핍(sensory deficit) (예를 들어, 무감각(numbness), 얼얼함(tingling), 따끔거림(pricking))과 거의 연관이 없다. 침해수용성 과민증(hypersensitivity)은 일반적으로 부상의 직접적인 부위로 제한되며, 이는 다시 비통증성(non-painful) 자극(이질통(allodynia))과 통상적으로 연관되고 신경 또는 신경 뿌리에서 원위 방향으로 방사되는 신경병증성 통증과 대조된다. 침해수용성 통증은 안전성과 내약성(tolerance) 문제로 인해 점차 기피되는 오피오이드(opioid) 진통제, 비스테로이드성 항염증제(non-steroidal anti-inflammatory drug) (국소 및 전신), 근육 이완제 (급성 및 아급성(acute) 척추 통증에 더 효과적), 및 질환 변형(disease modifying) 항류마티스제(anti-rheumatic drug) (염증성 관절염(inflammatory arthritis))를 사용하여 성공적으로 치료할 수 있다.

[0005] 신경병증성 통증은 또한 신경계에 영향을 미치는 질환이나 부상의 결과로 발생하는 식별 가능한 근거를 가진다. 침해수용성 통증과 비교하여, 신경병증성 통증은 전형적으로 감각 이상(sensory abnormalities), 예컨대 무감각 및 이질통, 보다 두드러진 통증 발작(pain paroxysm) 및, 영향을 받은 신경(들)에 따라, 신경학적 소견과 연관이 있다. 신경병증성 통증은 일반적으로 칼로베는(lancinating) 및/또는 쑤시듯 아픈(shooting) 특징을 갖는 것으로 기재된다. 많은 형태의 침해수용성 통증 및 급성 신경 손상(acute nerve injury)과 달리, 만성 신경병증성 통증은 항상 부적응적(maladaptive)이다.

[0006] 침해수용성 통증과 신경병증성 통증의 차이는 공식적인 치료 지침에도 반영되어 있으며, 그 이유는 아래에 상세히 설명된 바와 같이 신경병증성 통증 치료에 권장되고 사용되는 약물과 침해수용성 통증 치료에 권장되고 사용되는 약물 사이에는 중복이 거의 없기 때문이다.

[0007] 신경병증성 통증의 약리학적 치료에 대해, 국제 통증 연구 협회 (Finnerup et al. 2015), 유럽 신경학회 연맹(European Federation of Neurological Societies) (EFNS) (Attal et al. 2010), 영국의 국가 보건의료 우수증진기관(Institute for Health and Care Excellence) (NICE) (NICE 2013) 및 캐나다 통증학회(Canadian Pain Society) (CPS) (Moulin et al. 2014)가 임상 실무 지침을 발표하였다. 모든 지침에서 세 가지 약물 부류가 1차 요법(first-line therapy)으로 권장되었다:

[0008] 1. 트리시클릭 항우울제, 특히 아미트립틸린;

[0009] 2. 세로토닌-노르에피네프린 재흡수 억제제 (SNRI), 예컨대 둘록세틴; 및

[0010] 3. Ca^{2+} 채널 알파-2-델타 리간드 가바펜틴 및 프레가발린.

[0011] 혼합형 오피오이드/SNRI인 트라마돌이 신경병증성 통증의 2차 치료(secondary-line treatment)에 권장된다. 3차 및 4차 치료에 권장되는 약물은 통상적으로 가바펜티노이드 (예를 들어, 라모트리진), 및 카나비노이드 이외의 강력한 오피오이드 및 항뇌전증제(anti-epileptic agent)를 포함한다.

[0012] 침해수용성 통증에 대한 약리학적 치료에 대해 WHO는 세 단계 사다리 접근법(three-step ladder approach)을 사용할 것을 권장한다:

[0013] i) 1 단계에서는, 비마약성 진통제(non-opioid analgesic) (예를 들어, 파라세타몰) 및 NSAID (예를 들어, 아스피린, 디클로페낙, 이부프로펜)를 권장한다.

[0014] ii) 2 단계에서는, 약한 오피오이드 (예를 들어, 코데인, 트라마돌)를 1 단계 진통제와 조합하여 도입할 수 있다.

[0015] iii) 3 단계에서는, 강력한 오피오이드, 주로 모르핀을 1 단계 진통제와 조합하여 사용할 수 있다.

[0016] 더욱이, 침해수용성 통증과 신경병증성 통증의 차이는 EMA (EMA/CHMP/970057/2011) 및 FDA (FDA 34355740dft.docx 02/07/22, 초안 버전)로부터 이용 가능한 통증 치료제에 대한 공식 임상 개발 지침에도 반영되어 있다.

[0017] 지침 전반에 걸쳐, 규제 당국은 침해수용성 통증과 신경병증성 통증을 명확하게 구분한다. 침해수용성 통증을 위해 의도되는 통증 화합물은 근본적인 병인 및 질환 메커니즘을 표적으로 하여야 하며, 연구 집단은 동질적이어야 하며 진단, 강도(intensity), 및 지속기간 (급성 대 만성)에 따라 선택되어야 한다는 점이 강조된다. 성공적인 개발은 조사된 침해수용성 통증 적응증 및 병인에 대해서만 승인을 야기할 것이다. 신경병증성 통증에

도 동일하게 적용되며, 즉, 당뇨병성 신경병증성 통증(diabetic neuropathic pain)을 위한 신경병증성 진통제가 개발되면, 이 적응증(indication)만 표지에 포함될 것이다.

[0018] 혼합형 통증 (침해가소성 통증 (개정된 IASP 용어))의 경우, 잠재적 후보를 조사하고 하나는 침해수용성 통증에서이고 하나는 신경병증성 통증에서인, 적어도 두 가지 상이한 임상 프로그램에서 효율적이라는 것이 확인되어야 한다.

[0019] 결론적으로, 규제 당국에 따르면, 한 가지 통증 적응증에 대한 약물 후보의 승인은 자동으로 승인되거나 다른 통증 유형에 대해 고려조차 되지 않을 것이다. 이는 신경병증성 통증을 위해 개발된 약물이 침해수용성 통증 치료에 효율적일 수 있는지 또는 효율적일 것인지 그리고 그 반대의 경우도 마찬가지인지 여부를 예측할 수 없다는 점을 인정한다.

[0020] 침해가소성 통증이라고 불리는 세 번째 유형의 만성 통증은 조직 손상이나 체성 감각계(somatosensory system)와 관련된 별개의 병리의 어떠한 명확한 증거 없이 통증 신호의 비정상적인 처리로 인해 발생하는 통증 유형이다. 이전에 기능성 통증 증후군(functional pain syndrome)으로 공지된, 이들 병태는 통증 상태 예컨대 섬유근육통(fibromyalgia), 과민성 대장 증후군(irritable bowel syndrome), 가능하게는 비특이적 요통(non-specific back pain)을 포함한다. 이들 장애를 유발하는 병리생리학적 메커니즘은 주로 침해수용성 축(nociceptive axis) 전체에 걸친 감각 처리 증대와 중추신경계 내 억제 경로의 기능 저하를 수반한다.

[0021] 현재 사용되는 통증 요법은 대부분의 환자에서 단지 보통의 효능을 가지며 이의 부작용은 이의 사용에 상당한 제한을 나타낸다. 따라서, 진통제 내약성(analgesic tolerance)을 생성하지 않고 환자의 일반 건강 및 행복(well-being)에 영향을 미치는 부작용을 갖지 않거나 단지 경미한 부작용을 갖는, 침해수용성 통증의 예방 및 치료를 위한 안전하고 효과적인 요법에 대한 필요성이 높다.

[0022] 메테오린은 배양된 뉴런의 성장(outgrowth)을 촉진하는 것으로 이전에 입증된 내인성 단백질이다 (WO 2005/095450). 또한, 메테오린은 말초 신경 손상으로부터 발생하는 신경병증성 통증을 역전시키는데 효과적인 것으로 이전에 나타났다 (WO 2012/041328).

발명의 내용

[0023] 본 발명은 급성 및 만성 침해수용성 통증을 앓고 있는 환자의 삶의 질을 개선하기 위한 수단을 제공한다. 본 개시내용의 발명자들은 메테오린의 투여가 침해수용성 통증 관리를 위한 효과적인 치료 전략이라는 것을 밝혀냈다. 메테오린은 강력하고 또한 장기간의 진통 작용을 보유하며, 한편 내약성이 양호한 것으로 나타났다. 메테오린은 염증성 통각과민증(inflammatory hyperalgesia)을 앓고 있는 대상체(subject)에서 기계적 통각과민증(mechanical hyperalgesia)을 완전히 역전시키며, 반복 투여에 의한 진통제 내약성이 발생하지 않는다.

[0024] 한 측면에서, 본 발명은

[0025] a. 서열번호 3의 아미노산 서열; 및

[0026] b. 서열번호 3의 아미노산 서열의 생물학적 활성 서열 변이체로서, 서열번호 3과 적어도 70%의 서열 동일성(sequence identity)을 갖는 변이체

[0027] 로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는, 대상체에서 침해수용성 통증의 치료 및/예방에서 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드에 관한 것이다.

[0028] 제2 측면에서, 본 발명은

[0029] a. 서열번호 3의 아미노산 서열;

[0030] b. 서열번호 3의 아미노산 서열의 생물학적 활성 서열 변이체로서, 서열번호 3과 적어도 70%의 서열 동일성을 갖는 변이체

[0031] 로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 코딩(coding)하는 핵산 서열을 포함하는, 대상체에서 침해수용성 통증의 치료 및/예방에서 사용하기 위한 단리된 핵산 분자에 관한 것이다.

[0032] 추가 측면에서, 본 발명은 대상체에서 침해수용성 통증의 치료 또는 예방에서 사용하기 위한 벡터(vector)로서, 상기 벡터는 대상체에서 침해수용성 통증의 치료 및/예방에서 사용하기 위한 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

[0033] **도 1: CFA 염증성 통증 모델을 사용한 일반 연구 설계.** 기계적 역치는 기준선 (BL)에서 폰 프레이(von Frey) 필라멘트 (VF; 실선 화살표)를 사용하여 평가한 다음에 완전 프로인트 아주반트(complete Freund's adjuvant) (CFA, 파선 원)를 뒷발에 주사한 후 3일 내지 5일차차에 평가하였다. 일단 통각과민증이 완전히 확립되면, 재조합 마우스 rm메테오린(rmMeteorin) 1.8 mg/kg 또는 비히클을 마우스에게 s.c.로 첫 번째 실험 (실시예 1)에서는 5일, 7일, 9일, 11일 및 13일차, 그리고 두 번째 실험 (실시예 2)에서는 3일차 (1회 주사), 3일 및 5일차 (2회 주사), 및 3일, 5일 및 7일차 (3회 주사)에 투여하였다. 약어; 피하 (s.c.).

도 2. rm메테오린을 사용한 반복 처리는 CFA 염증성 통각과민증을 가진 마우스에서 기계적 통증을 완전히 역전시킨다. a) 폰 프레이 자극에 대한 뒷발 회피 역치(Hindpaw withdrawal threshold) (g)는 기준선 (BL)에서 뒷발 CFA (20 μl, s.c.) 주사 (파선 화살표) 전에 암컷 C57BL/6JRj 마우스에서 평가한 다음에 그 후에 CFA 주사 후 15일차까지 일상적으로 평가하였다. **(b, c)** 발 폭 (mm) 및 체중 (g)은 CFA 주사 (파선 화살표) 전과 일상적으로 후에 염증 부하(inflammatory load) 및 일반 복지의 대용 마커로 각각 측정하였다.

rm메테오린 (1.8 mg/kg, s.c.)의 반복 전신 주사는 5일 내지 13일차 (실선 화살표)에 수행하였으며 기계적 통증의 강력한 역전을 생성하였다. 이와 대조적으로, 발 폭 또는 체중에 대한 어떤 효과도 관찰되지 않았다. 연구 종료 시 노출 분석을 위해 몸통 혈액 샘플을 수득하기 위한 목적으로 나이브(Naïve) 마우스를 포함시켰다. *P<0.05, **P<0.01, 이원(two-way) RM ANOVA 및 터키(Tukey's). 데이터는 평균 ± S.E.M이다.

도 3. rm메테오린을 사용한 급성 처리는 CFA 염증성 통각과민증을 가진 마우스에서의 반복 처리와 유사하게 기계적 통증을 역전시킨다. a) 폰 프레이 자극에 대한 뒷발 회피 역치 (g)는 기준선 (BL)에서 뒷발 CFA (20 μl, s.c.) 주사 (파선 화살표) 전에 암컷 C57BL/6JRj 마우스에서 평가한 다음에 그 후에 CFA 주사 후 14일차까지 일상적으로 평가하였다. rm메테오린 (1.8 mg/kg, s.c.)의 전신 주사를 3일차 (그룹 1 (메테오린1): 1회 주사), 3일 및 5일차 (그룹 2 (메테오린2): 2회 주사), 및 3일, 5일 및 7일차 (그룹 3 (메테오린3): 3회 주사)에 마우스의 3개의 별개의 그룹에 실선 화살촉으로 표시된 바와 같이 투여하였다. rm메테오린의 단일회 주사(single injection)는 기계적 통각과민증이 역전되는 유사한 정도와 지속기간을 생성하였다. **b)** 14 내지 15일차 실험 종료 시에, 부분적 μ-오피오이드 수용체 효능제(agonist) 부프레노르핀 (0.1 mg/kg, s.c.) 또는 비히클을 이전에 비히클의 반복 주사로 처리한 마우스에게 투여하고 기계적 회피 역치에 대한 효과를 평가하였다. 각 그룹의 마우스 수는 괄호 안에 표시된다.

$^{\wedge,\#,}$*P<0.05, $^{\#\#,}$**P<0.01, $^{\wedge\wedge\wedge}$$P$<0.001, $^{\wedge\wedge\wedge\wedge}$$P$<0.0001 대 상응하는 비히클, 이원 RM ANOVA 및 터키. (b) ****P<0.0001 대 비히클, 스튜던트 t 검정(Student's t test). 데이터는 평균 ± S.E.M.이다.

도 4: 메테오린의 CLUSTAL W (1.82) 다중 서열 정렬.

A) 인간 (서열번호 2), 래트 (서열번호 9) 및 마우스 (서열번호 5)로부터의 메테오린 전구체의 정렬. B) 인간 (서열번호 3), 래트 (서열번호 10) 및 마우스 (서열번호 6)로부터의 성숙한 메테오린의 정렬. C) 인간, 마우스 및 래트 서열에 있는 완전히 보존된 잔기로부터 생성된 성숙한 메테오린, 컨센서스 서열(consensus sequence) (서열번호 11). X는 DNA에 의해 인코딩된(encoded) 21개의 자연 발생 아미노산 중 임의의 것을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0034] **정의**

[0035] 본원에 사용된 바와 같이 "생체적합성 캡슐"은, 상기 캡슐이 숙주 포유동물에 이식(implantation) 시, 캡슐의 거부를 초래하거나, 예를 들어 이것이 분해(degradation)를 통해 작동할 수 없도록 하기에 충분한 유해한 숙주 반응을 도출하지 않는다는 것을 의미한다.

[0036] 본원에 사용된 바와 같이, "코딩 서열"은 폴리펩티드로 전사되고 번역되는 폴리뉴클레오티드 서열이다.

[0037] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "발현 벡터"는 작동가능하게 연결된 유전자의 발현을 지시할 수 있는 벡터를 지칭한다. 일반적으로, 재조합 DNA 기술을 사용하여 유용한 발현 벡터는 종종 플라스미드 형태이다.

[0038] 본원에 사용된 바와 같은 "메테오린"은 임의의 종, 특히 침팬지, 소, 양, 돼지, 뮤린(murine), 말, 및 바람직하게는 인간을 포함한 포유동물로부터, 천연, 합성, 반합성 또는 재조합에 관계없이 임의의 공급원으로부터 수득된 실질적으로 정제된 메테오린의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 지칭한다. 또한, 상기 용어는 이들 종

중 임의의 것으로부터 수득한 메테오린의 생물학적 활성 단편, 뿐만 아니라 이들의 생물학적 활성 서열 변이체 및 번역 후 변형이 적용되는 단백질을 지칭한다.

[0039] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "작동가능하게 연결된"은 관심 뉴클레오티드 서열이 (예를 들어, 시험관내 전사/번역 시스템에서 또는 벡터가 숙주 세포에 도입되는 경우 숙주 세포에서) 뉴클레오티드 서열의 발현을 허용하는 방식으로 연결된다는 것을 의미하는 것으로 의도된다.

[0040] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "조절 서열(regulatory sequence)"은 프로모터, 인핸서(enhancer) 및 기타 발현 제어 요소 (예를 들어, 폴리아데닐화 신호)를 포함하는 것으로 의도된다.

[0041] "서열 동일성": 높은 수준의 서열 동일성은 제1 서열이 제2 서열로부터 유래될 가능성을 나타낸다. 아미노산 서열 동일성은 두 개의 정렬된 서열들 간에 동일한 아미노산 서열을 필요로 한다. 따라서, 참조 서열과 70%의 아미노산 동일성을 공유하는 후보 서열은 정렬 후에 후보 서열에 있는 아미노산의 70%가 참조 서열에 있는 상응하는 아미노산과 동일할 것을 필요로 한다. 동일성은 컴퓨터 분석, 예컨대, 제한 없이, ClustalW 컴퓨터 정렬 프로그램 (Higgins D., Thompson J., Gibson T., Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J., 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Res. 22:4673-4680), 및 거기에 제안된 디폴트 파라미터를 활용하여 결정할 수 있다. ClustalW 소프트웨어는 http://www.ebi.ac.uk/clustalw 로부터 유럽 생물정보학 연구소(the European Bioinformatics Institute)에서 ClustalW WWW 서비스로서 이용가능하다. 이 프로그램을 이의 디폴트 설정으로 사용하면, 의문의(query) 폴리펩티드 및 참조 폴리펩티드의 성숙한 (생리활성(bioactive)) 부분을 정렬시킨다. 완전히 보존된 잔기의 수를 계수하고, 참조 폴리펩티드의 길이로 나눈다.

[0042] ClustalW 알고리즘은 유사하게 뉴클레오티드 서열을 정렬하는데 사용될 수 있다. 서열 동일성은 아미노산 서열에 대해 지시된 바와 유사한 방식으로 계산될 수 있다.

[0043] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "대상체"는 메테오린 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드, 치료용 세포 또는 생체적합성 캡슐이 투여될 수 있는 임의의 포유동물을 의미하는 것으로 간주된다. 본 발명의 방법으로 치료하기 위해 구체적으로 의도된 대상체는 인간, 뿐만 아니라 인간이 아닌 영장류, 양, 말, 소, 염소, 돼지, 개, 고양이, 토끼, 기니아 피그, 햄스터, 저빌쥐(gerbil), 래트 및 마우스를 포함한다.

[0044] "치료"는 치유적 및/또는 개선을 포함하여 상이한 방식으로 수행될 수 있다. 치유적 치료는 일반적으로 치료받은 개체에 이미 존재하는, 임상적 병태를 치유하는 것을 목표로 한다. 개선 치료는 일반적으로 개체에서 기존의 임상적 병태를 호전시키고자 치료하는 것을 의미한다.

[0045] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "예방"은 임상적 병태를 예방하거나 병태에 걸릴 위험을 감소시키거나 병태의 정도를 감소시키는 것을 지칭한다. 예방은 본원에서 예방적 치료 또는 선제적 치료로도 지칭될 수 있다.

[0046] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "벡터"는 이에 연결된 또 다른 핵산을 수송할 수 있는 핵산 분자를 지칭한다. 한 유형의 벡터는, 추가의 DNA 세그먼트가 라이게이션(ligation)될 수 있는 원형(circular) 이중 가닥의 DNA 루프를 지칭하는, "플라스미드"이다. 본 명세서에서, "플라스미드" 및 "벡터"는 플라스미드가 가장 통상적으로 사용되는 형태의 벡터이기 때문에 상호교환적으로 사용될 수 있다. 그러나, 본 발명은 동등한 기능을 제공하는, 바이러스 벡터 (예를 들어, 복제 결핍 레트로바이러스(replication defective retroviruse), 아데노바이러스 및 아데노-연관(adeno-associated) 바이러스)와 같은 이러한 다른 형태의 발현 벡터를 포함하는 것으로 의도된다.

[0047] **침해수용성 통증**

[0048] 두 가지 주요 유형의 통증: 신경계가 손상되지 않은 침해수용성 통증 및 신경계 손상으로 인해 발생하는 신경병증성 통증이 존재한다.

[0049] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "신경병증성 통증"은 체성감각 신경계 (말초 및 중추 신경계 둘 다)의 감각 신경에 대한 손상 (병변 또는 질환)에 의해 유발되는 통증을 지칭하며, 이는 또한 국제 통증 연구 협회, IASP: https://www.iasp-pain.org/resources/terminology/#neuropathic-pain에 의해 기재된 바와 같다. 신경병증성 통증은 전형적으로 널리 국소화되어 있고, 지속적이며, 종종 쑤시는 또는 욱신거리는 특질을 가진다.

[0050] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "침해수용성 통증"은 IASP: https://www.iasp-pain.org/resources/terminology/#nociceptive-pain에 의해 사용된 정의에 따라, 비신경 조직(non-neural

tissue)에 대한 실제 또는 위협 손상으로부터 발생하고 침해수용기(nociceptor)의 활성화로 인한 통증을 지칭한다.

[0051] 침해수용성 통증은 신체 및 신체의 비신경 조직에 대한 특정 자극에 반응하여 발생하며 대상체에게 조직 손상이 임박했음을 알려준다.

[0052] 침해수용성 통증은 조직 손상-유도 통증 및 염증성 통증을 포함한다.

[0053] IASP는 최근 침해수용성 통증 및 신경병증성 통증과 관련된 이의 정의 및 용어를 개정하여 임의의 잘못 해석을 피하도록 하였다. IASP는 침해수용성 통증의 정의 하에 다음의 "**이 용어는 신경병증성 통증과 대조되도록 설계된다**"라는 것을 추가하였다. 개정된 정의는 용어 침해수용성 통증이 용어 신경병증성 통증과 대조되도록 설계된다는 것을 강조한다.

[0054] 상기로부터 알 수 있는 바와 같이, 신경병증성 통증과 침해수용성 통증은 상이한 기저 원인을 가진 상이한 현상이다. 침해수용성 통증은 신경병증성 통증에서 나타나는 비정상적인 신경 기능과 대조적으로 정상적으로 기능하는 체성감각 신경계에 의해 발생하는 통증을 기술한다.

[0055] 침해수용성 통증의 통상적인 예는 하부 요통(lower back pain), 어깨 통증, 근골격계 통증(musculoskeletal pain), 관절염 통증(arthritis pain), 관절통(joint pain), 수술 후 통증(post-operative pain), 외상 후 통증(post-traumatic pain) 및 암 통증을 포함한다.

[0056] 침해수용성 통증은 내장(visceral) 또는 체성(somatic)으로 분류될 수 있다.

[0057] "내장 통증"은 위장관 또는 췌장과 같은 내장 기관에서 발생하는 통증을 지칭한다.

[0058] "체성 통증"은 피부, 피하 조직, 근육, 및 관절과 같은 근골격계에서 발생하는 통증을 지칭한다.

[0059] 추가 침해수용성 통증은 급성 및 만성 둘 다일 수 있다.

[0060] 본원에 사용된 바와 같은 "급성 통증"은 특정 원인 (예컨대 부상, 감염, 염증)으로 인해 제한된 기간 동안 지속되는 갑작스런, 중증 통증을 지칭한다.

[0061] 본원에 사용된 바와 같은 "만성 통증"은 통증의 원인이 쉽게 제거되지 않는 지속적인 통증 상태를 지칭한다. 만성 통증은 지속적 또는 간헐적일 수 있다. 만성 통증은 소정의 기간, 전형적으로 약 3개월 초과로 지속되는 통증으로 정의할 수 있다. 만성 통증은 종종 장기간 치유 불가능하거나 다루기 힘든 의학적 상태 또는 질환과 연관이 있다.

[0062] 만성 통증의 통상적인 원인은 관절염, 암, 반복적 스트레스 손상(repetitive stress injury), 두통, 하부 요통, 목 및 어깨 통증, 외상 후 통증, 수술 후 통증(postsurgical pain), 중등도(moderate) 내지 중증 골관절염(severe osteoarthritis) 및 중증 편두통(severe migraine)을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0063] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "염증성 통증"은 염증과 연관된 통증을 지칭하며, 이는 빨개짐(redness), 부종(swelling), 온기(warmth) 및 통증을 특징으로 한다. 염증은 감염, 자극상태(irritation) 및/또는 손상에 대한 유기체의 비특이적 면역 반응이며 염증유발성(pro-inflammatory) 분자 (예를 들어, 퀩티드, 시토카인, 프로스타노이드, 성장 인자)의 방출을 수반한다. 이들 분자는 촉각, 열, 한랭 및 화학적 정보와 같은 자극의 형질도입 및 전달에 관여하는 말초 감각 뉴런의 구심성 말단을 감작화한다. 염증성 통증은 종종 염증성 통각과민증을 초래한다.

[0064] **통각과민증**

[0065] 통각과민증은 일반적으로 고통스러운 것으로 인식되는 자극에 대한 극단적인 반응이다. 자극은 기원이 기계적/촉각적, 열적 또는 화학적일 수 있다. 통각과민증은 종종 신경 손상 (신경병증성 통증)과 연관이 있지만, 본원에 사용된 바와 같은 통각과민증은 조직 손상 또는 염증에 의해 유발된 증가된 민감도(sensitivity)를 지칭한다.

[0066] 본원에 사용된 바와 같은 "염증성 통각과민증"은 손상된 조직에서 직접적으로 발생하는 통증 민감도 증가 및 손상되지 않은 주변 조직에서 발생하는 통증 민감도 증가를 지칭한다.

[0067] 한 실시양태에서, 본 발명은 통각과민증의 치료에 있어서 메테오린의 용도에 관한 것이다. 본 발명의 한 실시양태에서, 치료될 통각과민증은 염증성 통각과민증이다.

[0068] 본 발명의 한 실시양태에서, 치료될 통각과민증은 기계적 통각과민증이다. 또 다른 실시양태에서, 치료될 통각과민증은 열성 통각과민증(thermal hyperalgesia)이다.

[0069] 본 발명의 한 실시양태에서, 열성 통각과민증은 한랭 통각과민증(cold hyperalgesia)이다. 또 다른 실시양태에서, 열성 통각과민은 열 통각과민증(heat hyperalgesia)이다.

[0070] 환경 자극제(Environmental irritant) 예컨대 프탈레이트 및 납, 알루미늄, 수은을 포함한 중금속은, 면역 기능을 방해하여 염증 생성 증가를 촉발시켜 화학적 통각과민증(chemical hyperalgesia)을 야기할 수 있다.

[0071] 본 발명의 한 실시양태에서, 통각과민증은 화학적 통각과민증이다. 한 실시양태에서화학적 통각과민증은 프탈레이트, 납, 알루미늄, 수은 및/또는 기타 환경 자극제에 의해 촉발된다.

[0072] 상기에 언급한 바와 같이 메테오린을 투여받는 동물에서는 정상적인 감각 기능의 실질적으로 완전한 역전이 달성되었다. 따라서 메테오린은 적어도 치료 대상체의 하위 집합에서 통각과민증의 완전한 역전을 매개할 수 있다고 생각된다.

[0073] 침해수용성 통증은 부상 및 염증을 포함한 상이한 자극에 의해 유도될 수 있다. 메테오린은 침해수용성 통증, 예컨대 급성 침해수용성 통증, 만성 침해수용성 통증, 내장 침해수용성 통증, 체성 침해수용성 통증의 예방 또는 치료에 사용될 수 있다.

[0074] 한 실시양태에서, 침해수용성 통증은 염증성 통증, 하부 요통, 어깨 통증, 근골격계 통증, 관절염 통증, 관절통, 수술 후 통증, 외상 후 통증, 암 통증 및 기타 침해수용성 통증 중 하나 이상이다.

[0075] 한 실시양태에서, 침해수용성 통증은 신체에 대한 특정 자극에 반응하여 발생한다. 특정 자극은 염증, 수술, 신체적 외상(physical trauma), 관절염, 암, 반복적 스트레스 부상, 두통, 중등도 내지 중증 골관절염, 및 편두통과 관련되지만 이에 제한되지는 않는 신체 부상 및 조직 손상을 포함한다.

[0076] 한 실시양태에서, 침해수용성 통증은 염증과 연관이 있어, 촉각, 열, 한랭 및 화학적 정보와 같은 자극의 형질 도입 및 전달에 관여하는 말초 감각 뉴런의 구심성 말단을 감작화한다.

[0077] 한 실시양태에서, 침해수용성 통증은 관절염과 연관이 있다.

[0078] 한 실시양태에서, 메테오린은 간헐적 투여에 의해 투여된다.

[0079] 한 실시양태에서, 메테오린은 투여 수일 이내에 염증성 통각과민증을 역전시킨다.

[0080] **침해수용성 통증의 치료 및/또는 예방**

[0081] 실시예 1에서는 메테오린을 계속해서 간헐적으로 투여하면 투여 개시 후 수일 이내에 CFA-유도 염증성 통각과민증이 완전히 역전된다는 것이 입증된다 (도 2). 추가로 염증성 부종(inflammatory oedema)의 크기는 rm메테오린 처리에 전혀 영향을 받지 않는다는 것이 입증된다. rm메테오린은 염증 부하에 어떤 영향도 미치지 않았으며 이는 rm메테오린이 직접적인 항염증 메커니즘 자체를 보유하지 않음을 나타낸다.

[0082] 실시예 2에서는 rm메테오린을 사용한 급성 처리 (단일회 주사)가 CFA 염증성 통각과민증을 가진 마우스에서의 반복 처리 (다회 주사)와 유사하게 기계적 통증을 역전시키는 것으로 입증된다. rm메테오린을 단일회 주사하면 3회 주사에 의해 관찰된 바와 같이 유사한 통각과민증의 역전 정도와 지속기간을 생성하였다 (도 3).

[0083] 오피오이드와 같은 만성 통증 병태에 대해 일반적으로 효과적인 약물은 수많은 부작용과 연관이 있으므로, 침해수용성 통증을 예방하거나 치료하기 위한 안전하고 효과적인 요법의 개발이 요망된다.

[0084] 본 발명은 메테오린을 통증이 있는 대상체에게 투여함으로써 침해수용성 통증의 치료, 개선 및/또는 예방을 제공한다. 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명은 침해수용성 통증의 치료 및/또는 예방에 사용하기 위한 메테오린에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 본 발명은 침해수용성 통증의 치료에 사용하기 위한 메테오린에 관한 것이다.

[0085] 메테오린은 급성 침해수용성 통증의 예방 및 치료에 사용될 수 있다. 한 실시양태에서, 메테오린은 급성 침해수용성 통증의 치료에 사용된다. 추가로 메테오린은 만성 침해수용성 통증의 치료 및 예방에 사용될 수 있다. 한 실시양태에서, 메테오린은 만성 침해수용성 통증의 치료에 사용된다.

[0086] 한 실시양태에서, 본 개시내용은

[0087] i. 서열번호 3의 아미노산 서열; 및

[0088] ii. 서열번호 3의 아미노산 서열의 생물학적 활성 서열 변이체로서, 서열번호 3과 적어도 70%의 서열 동일성을 갖는 변이체

[0089] 로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는, 대상체에서 침해수용성 통증의 치료 및/예방에서 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드를 제공한다.

[0090] 한 실시양태에서, 본 발명은

[0091] i. 서열번호 3의 아미노산 서열; 및

[0092] ii. 서열번호 3의 아미노산 서열의 생물학적 활성 서열 변이체로서, 서열번호 3과 적어도 70%의 서열 동일성을 갖는 변이체

[0093] 로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 단리된 폴리펩티드의 치료 유효량을

[0094] 침해수용성 통증의 치료 및/또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 침해수용성 통증의 치료 및/또는 예방 방법에 관한 것이다

[0095] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 대상체에서 침해수용성 통증의 치료 및/또는 예방을 위한 의약의 제조를 위한 단리된 폴리펩티드의 용도로서,

[0096] i. 서열번호 3의 아미노산 서열; 및

[0097] ii. 서열번호 3의 아미노산 서열의 생물학적 활성 서열 변이체로서, 서열번호 3과 적어도 70%의 서열 동일성을 갖는 변이체

[0098] 로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 단리된 폴리펩티드의 용도를 제공한다.

[0099] 한 실시양태에서, 본 발명은 침해수용성 통각과민증의 치료 방법에서 메테오린의 용도에 관한 것이다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 기계적 침해수용성 통각과민증의 치료를 위한 메테오린의 용도에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 본 발명은 열성 침해수용성 통각과민증의 치료를 위한 메테오린의 용도에 관한 것이다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 한랭 침해수용성 통각과민증의 치료를 위한 메테오린의 용도에 관한 것이다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 열 침해수용성 통각과민증의 치료를 위한 메테오린의 용도에 관한 것이다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 화학적 통각과민증의 치료를 위한 메테오린의 용도에 관한 것이다.

[0100] 한 실시양태에서, 본 발명은 침해수용성 통증의 치료를 위한 메테오린의 용도에 관한 것이다. 보다 바람직한 실시양태에서, 본 발명은 염증 또는 신체 부상과 연관된 통증의 치료를 위한 메테오린의 용도에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 메테오린은 염증성 통각과민증을 앓고 있는 대상체에서 기계적 통증을 역전시키는 방법에 사용된다.

[0101] 본 개시내용의 실시예 1 및 2에서 입증된 바와 같이, 메테오린 투여는 염증성 통각과민증을 앓고 있는 대상체에서 감각 기능 획득을 완전히 감소시킨다. 메테오린에 의해서는 진통제 내약성이 발생하지 않으므로 염증성 통각과민증의 역전이 유지될 수 있다.

[0102] 따라서, 바람직한 실시양태에서, 본 발명은 침해수용성 통증의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 메테오린에 관한 것이다.

[0103] 한 실시양태에서, 본 개시내용은

[0104] i. 서열번호 3의 아미노산 서열; 및

[0105] ii. 서열번호 3의 아미노산 서열의 생물학적 활성 서열 변이체로서, 서열번호 3과 적어도 70%의 서열 동일성을 갖는 변이체

[0106] 로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는, 대상체에서 침해수용성 통증의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드를 제공한다.

[0107] 한 측면에서, 본 개시내용은 대상체에서 침해수용성 통증의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드에 관한 것이다.

[0108] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 대상체에서 침해수용성 통증의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 단리된 폴

리펩티드에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 침해수용성 통증은 체성 통증 또는 내장 통증이다. 또 다른 실시양태에서, 침해수용성 통증은 염증성 통증, 하부 요통, 어깨 통증, 근골격계 통증, 관절염 통증, 관절통, 수술 후 통증, 외상 후 통증 또는 암 통증이다.

[0109] 침해수용성 통증이 염증성 통증 및 수술 후 통증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 또 다른 실시양태.

[0110] 본 개시내용의 한 실시양태에서, 단리된 폴리펩티드는 침해수용성 통증의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 것이며, 여기서 침해수용성 통증은 침해수용성 통각과민증 또는 염증성 통증, 예컨대 염증성 통각과민증이다. 본 개시내용의 또 다른 실시양태에서, 단리된 폴리펩티드는 화학적 통각과민증의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 것이다.

[0111] 본 개시내용의 한 실시양태에서, 단리된 폴리펩티드는 침해수용성 통증의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 것이며, 여기서 침해수용성 통증은 수술 후 통증이다.

[0112] 본 개시내용의 한 실시양태에서, 단리된 폴리펩티드는 침해수용성 통증의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 것이며, 여기서 대상체는 관절염, 염증성 통증 및 수술 후 통증으로 이루어진 군으로부터 선택된 질환 또는 장애를 앓고 있다.

[0113] 한 실시양태에서 관절염은 골관절염, 류마티스 관절염(Rheumatoid arthritis) 또는 루푸스(Lupus)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0114] 또 다른 실시양태에서 염증성 통증은 염증성 통각과민, 수술 후 통증 및 관절염으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0115] 한 실시양태에서, 본 발명은

[0116] i. 서열번호 3의 아미노산 서열; 및

[0117] ii. 서열번호 3의 아미노산 서열의 생물학적 활성 서열 변이체로서, 서열번호 3과 적어도 70%의 서열 동일성을 갖는 변이체

[0118] 로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 단리된 폴리펩티드의 치료 유효량을

[0119] 침해수용성 통증의 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 침해수용성 통증을 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0120] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 대상체에서 침해수용성 통증의 예방 및/또는 치료를 위한 의약의 제조를 위한 단리된 폴리펩티드의 용도로서,

[0121] i. 서열번호 3의 아미노산 서열; 및

[0122] ii. 서열번호 3의 아미노산 서열의 생물학적 활성 서열 변이체로서, 서열번호 3과 적어도 70%의 서열 동일성을 갖는 변이체

[0123] 로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 폴리펩티드의 용도를 제공한다.

[0124] **투여 및 제제**

[0125] 메테오린 폴리펩티드는 의학적으로 허용되는 임의의 방식으로 투여될 수 있다. 이는 비경구 경로 예컨대 정맥내, 혈관내, 동맥내, 피하, 근육내, 종양내, 복강내, 심실내(ntraventricular), 경막외내(intraepidural), 척추강내(intrathecal), 뇌실내(intracerebroventricular), 뇌내(intercerebral) 등뿐만 아니라 비강(nasal), 또는 국소 경로에 의한 주사를 포함할 수 있다. 데포(depot) 주사 또는 침식 가능 이식물(erodible implant)과 같은 수단에 의한 서방출(slow-release) 투여도 본 발명에 구체적으로 포함된다.

[0126] 본 발명에 따른 메테오린의 투여는 다음을 포함하는 임의의 적합한 전달 수단을 사용하여 달성될 수 있다: 피하, 정맥내, 동맥내, 근육내, 척추강내 또는 다른 적합한 부위에 주사; 펌프 (예를 들어, 문헌 [Annals of Pharmacotherapy, 27:912 (1993); Cancer, 41:1270 (1993); Cancer Research, 44:1698 (1984)] 참조, 본원에 참조로 포함됨); 마이크로캡슐화 (예를 들어, 미국 특허 4,352,883; 4,353,888; 및 5,084,350 참조, 본원에 참조로 포함됨), 서방출 중합체 이식물 (예를 들어, Sabel, 미국 특허 4,883,666, 본원에 참조로 포함됨); 캡슐화된 세포 ("Biocompatible capsules" 참조); 비캡슐화된 세포 이식편(graft) (예를 들어, 미국 특허 5,082,670 및 5,618,531, 각각 본원에 참조로 포함됨); 및 흡입.

[0127] 투여는 하나의 볼루스(bolus)의 제제를 주기적 주사에 의한 것일 수 있거나 외부 저장소 (예를 들어, IV 백) 또는 내부 저장소 (예를 들어, 생체침식성 이식물, 생체합성 기관, 메테오린 생산 세포의 생체적합성 캡슐, 또는 이식된 메테오린 생산 세포의 콜로니)로부터 정맥내 또는 복강내 투여에 의해 더욱 연속적으로 수행될 수 있다. 예를 들어, 각각 본원에 참조로 포함된 US 4,407,957, 5,798,113 및 5,800,828을 참조한다.

[0128] 국소 전달은 카테터를 통한 전달과 같은 수단에 의해 하나 이상의 동맥에 전달될 수 있다. 본 발명의 한 실시양태에서, 국소 전달은 캡슐화된 세포를 사용한 전달을 포함한다 ("생체적합성 캡슐" 섹션에 기재된 바와 같음). 추가 유형의 국소 전달은 일반적으로 주사되는 유전자 요법 벡터의 국소 전달을 포함한다.

[0129] 본 발명의 바람직한 실시양태에서 투여는 비경구 주사, 바람직하게는 피하 주사 또는 척추강내 주사 (intrathecal injection)이다.

[0130] 본 발명의 화합물이 미가공(raw) 화학물질로서 투여될 수 있지만, 이를 제약 제제의 형태로 제공하는 것이 바람직하다. 제약 제제는 통상적인 기술, 예를 들어 문헌 [Remington: The Science and Practice of Pharmacy 2005, Lippincott, Williams & Wilkins]에 기재된 바와 같이 제조될 수 있다.

[0131] 용어 "제약상 허용되는 담체"는 메테오린 폴리펩티드의 적용을 용이하게 하도록 메테오린 폴리펩티드와 조합되는 천연 또는 합성인 하나 이상의 유기 또는 무기 성분을 의미한다. 제약상 허용되는 것으로 공지된 다른 수성 및 비수성 등장성 멸균 용액 및 멸균 현탁액이 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있긴 하지만, 적합한 담체는 멸균 식염수를 포함한다.

[0132] 본 발명의 화합물은 비경구 투여용으로 제제화될 수 있고, 임의로 첨가된 보존제와 함께 앰플, 미리-충전된 주사기, 소용적 주입물(infusion) 또는 다용량 용기에 단위 용량 형태로 제조될 수 있다. 조성물은 유성 또는 수성 비히클 중의 현탁액, 용액 또는 에멀젼, 예를 들어 수성 폴리에틸렌 글리콜 중의 용액과 같은 형태를 취할 수 있다. 유성 또는 비-수성 담체, 희석제, 용매 또는 비히클의 예는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물성유 (예를 들어, 올리브유), 및 주사가능한 유기산 에스테르 (예를 들어, 에틸 올레에이트)를 포함하고, 보존제, 습윤제, 유화제 또는 현탁제, 안정화제 및/또는 분산제와 같은 작용제를 함유할 수 있다. 대안적으로, 활성 성분은, 적합한 비히클, 예를 들어 발열물질-미함유 물(pyrogen-free water)을 사용하여 사용 전에 구성하기 위한 용액으로부터 동결건조에 의해 또는 멸균 고체의 무균 단리에 의해 수득되는, 분말 형태일 수 있다.

[0133] "유효량"은 질환, 퇴행 또는 손상 상태의 진행을 개선 또는 지연시킬 수 있는 양을 지칭한다. 유효량은 개별 기준에 기초하여 결정될 수 있으며, 부분적으로는 치료될 증상 및 목적하는 결과를 고려하는 것에 기초할 것이다. 유효량은 이러한 인자를 이용하고 단지 일상적인 실험을 사용하여 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 결정될 수 있다.

[0134] 리포솜 시스템은 임의의 다양한 단층 소포(unilamellar vesicle), 다층 소포(multilamellar vesicle) 또는 안정한 복수층 소포(plurilamellar vesicle)일 수 있으며, 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지된 방법, 예를 들어 미국 특허 5,169,637, 4,762,915, 5,000,958 또는 5,185,154의 교시내용에 따라 제조 및 투여될 수 있다. 또한, 본 발명의 신규 폴리펩티드, 뿐만 아니라 리포단백질로서 다른 선택되는 폴리펩티드는, 리포솜에 대한 이들의 결합을 증진시키기 위해 발현시키는 것이 바람직할 수 있다. 재조합 메테오린 단백질은, 예를 들어 CHO 세포로부터 면역친화성 크로마토그래피 또는 임의의 다른 편리한 방법으로 정제된 다음에, 리포솜과 혼합되고, 고효율로 리포솜에 혼입된다. 리포솜-캡슐화된 단백질은 세포 성장 자극에 대한 임의의 효과를 위해 시험관내에서 시험될 수 있다.

[0135] 메테오린 폴리펩티드의 투여를 필요로 하는 임의의 질환 또는 장애를 치료하는데 적합한 방출 특성을 가진 제제로서의 메테오린 폴리펩티드의 서방출 투여가 요망되는 경우, 메테오린 폴리펩티드의 마이크로캡슐화가 고려된다. 지속 방출(sustained release)을 위한 재조합 단백질의 마이크로캡슐화는 인간 성장 호르몬 (rhGH), 인터페론-(rhIFN-), 인터류킨-2 및 MN rgp120으로 성공적으로 수행되었다 [Johnson et al., Nat. Med., 2:795-799 (1996); Yasuda, Biomed. Ther., 27:1221-1223 (1993); Hora et al., Bio/Technology, 8:755-758 (1990); Cleland, "Design and Production of Single Immunization Vaccines Using Polylactide Polyglycolide Microsphere Systems," in Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach, Powell and Newman, eds, (Plenum Press: New York, 1995), pp. 439-462; WO 97/03692, WO 96/40072, WO 96/07399; 및 미국 특허 번호 5,654,010].

[0136] 이들 단백질의 서방출 제제가, 폴리-락틱-코글리콜산 (PLGA) 중합체의 생체적합성 및 광범위한 생분해성 특성으로 인해 이를 이용하여 개발되었다. PLGA의 분해 생성물인 락트산과 글리콜산은 인간 신체 내에서 신속히 제거

될 수 있다. 또한, 이러한 중합체의 분해성은 이의 분자량 및 조성에 따라 수개월 내지 수년으로 조정될 수 있다[Lewis, "Controlled release of bioactive agents from lactide/glycolide polymer," in: M. Chasin and R. Langer (Eds.), Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems (Marcel Dekker: New York, 1990), pp. 1-41].

[0137] 본 발명의 한 실시양태에서, 메테오린을 포함하는 조성물이 고려된다. 본 조성물은 본원에 기재된 바와 같은 단리된 폴리펩티드, 본원에 기재된 바와 같은 단리된 핵산, 본원에 기재된 바와 같은 메테오린 인코딩 발현 벡터, 본원에 기재된 바와 같은 메테오린 발현 세포주 또는 본원에 기재된 바와 같은 메테오린을 분비하는 생체적합성 캡슐을 포함할 수 있다.

[0138] **투여량(dosage)**

[0139] 전신 투여(systemic administration)를 위한 다양한 투여 요법이 고려된다. 한 실시양태에서, 메테오린 폴리펩티드를 포함하는 제제를 대상체에게 투여하는 방법은 용량당 1 μg/kg 내지 10,000 μg/kg 대상체 체중의 투여량으로 메테오린을 투여하는 단계를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 투여량은 용량당 1 μg/kg 내지 7,500 μg/kg 대상체 체중이다. 추가 실시양태에서, 투여량은 용량당 1 μg/kg 내지 5,000 μg/kg 대상체 체중이다. 상이한 실시양태에서, 투여량은 용량당 1 μg/kg 내지 2,000 μg/kg 대상체 체중이다. 또 다른 실시양태에서, 투여량은 용량당 1 μg/kg 내지 1,000 μg/kg 대상체 체중이다. 또 다른 실시양태에서, 투여량은 용량당 1 μg/kg 내지 700 μg/kg 대상체 체중이다. 보다 바람직한 실시양태에서, 투여량은 용량당 5 μg/kg 내지 500 μg/kg 대상체 체중이다. 가장 바람직한 실시양태에서, 투여량은 용량당 10 μg/kg 내지 100 μg/kg 대상체 체중이다. 바람직한 실시양태에서, 치료될 대상체는 인간이다.

[0140] 특정한 투여량 및 전달 방법에 대한 지침이 문헌에 제공되어 있으며; 예를 들어, WO 02/78730 및 WO 07/100898을 참조한다. 동물 실험에 사용된 투여량을 기준으로 인간 등가 투여량을 계산하는 것에 대한 지침이 문헌[Reagan-Shaw et al., FASEB J, 22, 659-661 (2007)]에 제공되어 있다.

[0141] 투여되는 용량은 치료되는 개체의 연령, 체중 및 상태, 뿐만 아니라 투여 경로, 투여 형태 및 요법, 및 원하는 결과에 따라 신중하게 조정되어야 하며, 정확한 투여량은 의사가 결정하여야 한다.

[0142] 본 발명의 한 실시양태에서 메테오린은 전신 투여에 의해 투여된다.

[0143] 한 실시양태에서 메테오린은 비경구 주사, 바람직하게는 피하 주사 또는 척추강내 주사에 의해 투여된다.

[0144] 한 실시양태에서 메테오린 폴리펩티드는 1 μg/kg - 10,000 μg/kg, 예컨대 1 μg/kg - 7,500 μg/kg, 예컨대 1 μg/kg - 5,000 μg/kg, 예컨대 1 μg/kg - 2,000 μg/kg, 예컨대 1 μg/kg - 1,000 μg/kg, 예컨대 1 μg/kg - 700 μg/kg, 예컨대 5 μg/kg - 500 μg/kg, 예컨대 10 μg/kg 내지 100 μg/kg 체중의 투여량으로 투여된다.

[0145] 본 발명의 한 실시양태에서 투여는 매일 반복된다. 또 다른 실시양태에서, 투여는 매주 적어도 1-3회, 예컨대 매주 2-5회, 예컨대 매주 3-6회 반복된다.

[0146] 한 실시양태에서, 투여는 1일에 1회, 2일마다 1회, 3일마다 1회, 4일마다 1회, 5일마다 1회, 6일마다 1회, 또는 7일마다 1회 반복된다. 바람직한 실시양태에서, 투여는 2일마다 1회 반복된다.

[0147] 한 실시양태에서, 본 발명은 침해수용성 통증의 치료를 제공한다. 따라서, 한 실시양태에서 투여는 침해수용성 통증의 증상이 시작된 후에 개시된다.

[0148] 일 실시양태에서, 본 발명은 침해수용성 통증의 예방을 제공한다. 따라서, 한 실시양태에서, 메테오린 폴리펩티드는 침해수용성 통증의 증상의 개시 전에 투여된다.

[0149] 다른 실시양태에서, 메테오린은 비교적 긴 투여 간격으로 투여된다. 비교적 긴 투여 간격은 투여 사이에 적어도 2일, 예컨대 투여 사이에 적어도 3일, 예를 들어 주당 2회의 투여를 포함하도록 의도된다. 보다 바람직하게는 긴 투여 간격은 적어도 1주, 예를 들어 적어도 2주, 보다 바람직하게는 적어도 3주, 예컨대 적어도 4주, 또는 적어도 1개월이다.

[0150] 상대적으로 긴 투여 간격은 투여 사이에 적어도 2일, 적어도 투여 사이에 적어도 3일, 예를 들어 주당 2회의 투여를 의도한다. 보다 바람직하게는 긴 투여 간격은 적어도 1주, 예를 들어 적어도 2주, 보다 바람직하게는 적어도 3주, 예를 들어 적어도 4주, 또는 적어도 1개월이다.

[0151] 상이한 방식으로 표현하면, 투여 간격이 너무 길어서 메테오린 폴리펩티드를 1회 투여한 후, 다음 투여량을 투여할 때 치료될 대상체의 혈청 중에서 폴리펩티드가 더 이상 검출되지 않는다. 또 다른 실시양태에서, 혈청 수준은 10 ng/mL 미만, 예를 들어 5 ng/mL 미만, 보다 바람직하게는 1 ng/mL 미만, 예컨대 0.5 ng/mL 미만, 예를 들어 0.1 ng/mL 미만이다.

[0152] 일부 실시양태에서, 긴 투여 범위는 메테오린의 보다 빈번한 초기 투여에 의해, 예를 들어 1일 2회, 매일, 2일마다 1회, 3일마다 1회, 또는 4일마다 1회 선행된다. 이 초기 투여 일정은 예를 들어 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 14, 21일, 또는 그 초과 동안 유지될 수 있다. 이 투여 일정의 완료 후, 상기에 기재된 바와 같이 메테리온을 덜 빈번하게 투여할 수 있다.

[0153] 따라서 한 측면에서, 본 발명은 신경병증성 통증의 치료를 필요로 하는 인간 대상체에게 서열번호 3의 아미노산 서열과 적어도 70%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 치료 유효량의 신경영양성(neurotrophic) 폴리펩티드를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 신경병증성 통증을 치료하는 방법으로서, 여기서 상기 투여는 주당 3회 이상 빈번하지 않은 것인 방법에 관한 것이다.

[0154] 바람직하게는, 투여는 매주 이상 보다 빈번하지 않은 투여이다. 훨씬 더 바람직하게는 투여는 격주 이상의 보다 빈번하지 않은 투여이다.

[0155] 상이한 방식으로 표현하면, 투여 간격이 너무 길어서 메테오린 폴리펩티드를 1회 투여한 후, 다음 투여량을 투여할 때 치료될 대상체의 혈청에서 상기 폴리펩티드가 더 이상 검출되지 않는다. 또 다른 실시양태에서, 혈청 수준은 10 ng/mL 미만, 예컨대 5 ng/mL 미만, 보다 바람직하게는 1 ng/mL 미만, 예컨대 0.5 ng/mL 미만, 예를 들어 0.1 ng/mL 미만이다.

[0156] 일부 실시양태에서, 메테오린의 초기 투여는, 예를 들어 1일 2회, 매일, 2일마다 1회, 3일마다 1회, 또는 4일마다 1회이다. 이 투여 일정은 예를 들어 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 14, 21일, 또는 그 초과 동안 유지될 수 있다. 이 투여 일정의 완료 후, 예를 들어, 상기에 기재된 바와 같이 메테리온을 덜 빈번히 투여할 수 있다.

[0157] **메테오린**

[0158] 본 발명은 침해수용성 통증의 치료에서 메테오린 단백질로 확인된 폴리펩티드 및 상기 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드의 용도에 관한 것이다. 한 실시예에서 전달은 분비된 생물학적 활성 메테오린 및/또는 이의 상동체(homologue)를 대상체에게 전달하기 위한 캡슐을 사용하는 것으로 고려된다. 메테오린 단백질은 인간 (서열번호 2), 마우스 (서열번호 5), 래트 (서열번호 8) 및 기타 다양한 종에서 확인되었다.

[0159] 인간 메테오린은 293개의 아미노산 전구체로 존재하며, 이를 처리하여 적어도 하나의 생물학적 활성 펩티드를 생성할 수 있다. 메테오린은 신경계와 눈, 특히 뇌의 하위 영역에서 높은 수준으로 발현된다. 마우스 (서열번호 5)와 래트 (서열번호 8) 메테오린 전구체는 291개의 아미노산으로 이루어지며, 인간 메테오린 단백질 (서열번호 2)과의 서열 동일성 (%)은 각각 80.3 및 80.2이다 (도 4 참조).

[0160] 인간 메테오린은 23개 아미노산의 N-말단 신호 펩티드 서열을 함유하고 있으며 이는 서열 모티프 ARA-GY에서 절단된다. 이 신호 펩티드 절단 부위는 SignalP 방법으로 예측된다. 마우스 메테오린의 N-말단은 N-말단 서열분석에 의해 검증되었다 (Jørgensen et al., Characterization of Meteorin - An evolutionary conserved neurotrophic factor, J mol Neurosci 2009 Sep; 39 (1-2): 104-116).

[0161] 표 1은 전장(full length) 인간 메테오린 대 마우스 및 래트 서열 간의 % 서열 동일성을 나타낸다. 도 4a의 정렬 참조

서열	% 서열 동일성
인간	-
마우스	80.3
래트	80.2

[0162]

[0163] 표 2는 N-말단 신호 펩티드 제거 후 인간 메테오린 대 마우스 및 래트 서열 사이의 % 서열 동일성을 나타낸다. 도 4b의 정렬 참조.

서열	% 서열 동일성
인간	-
마우스	81.9
래트	79.6

[0164]

[0165] 완전히 보존된 잔기에 기초하여, 성숙한 메테오린에 대한 컨센서스 서열이 유래될 수 있으며 (서열번호 11, 도 4c), 여기서 X는 DNA에 의해 인코딩된 21개의 자연 발생 아미노산 중 임의의 것에서 독립적으로 선택된다. 바람직한 실시양태에서, 메테오린 변이체는 컨센서스 서열을 포함한다.

[0166] 메테오린의 생물학적 기능 중 하나는 문헌 [Jørgensen et al., Characterization of Meteorin - An evolutionary conserved neurotrophic factor, J mol Neurosci 2009 Sep; 39 (1-2): 104-116 and Nishino et al., "Meteorin: a secreted protein that regulates glial cell differentiation and promotes axonal extension", EMBO J., 23(9):1998-2008 (2004)]에 기재된 바와 같이, 해리된 등근 신경절(dorsal root ganglia) (DRG) 배양에서 신경돌기 성장을 유도하는 능력이다.

[0167] 시스테인의 높은 보존성으로 인해, 이들 잔기는 생리활성 단백질의 2차 및 3차 구조에서 중요한 역할을 할 것으로 예상된다. 하나 이상의 시스테인은 분자내 및/또는 분자간 이황화물 가교 형성에 참여할 수 있다.

[0168] **메테오린 폴리펩티드**

[0169] 본 발명은, 전장 메테오린, 실질적 전장 메테오린 및 프로-메테오린에 더하여, 폴리펩티드의 생물학적 활성 변이체를 제공한다. 메테오린 폴리펩티드 또는 단편은 신경영양성과 같이 본원에 기재된 바와 같은 자연 발생 메테오린의 생물학적 활성을 나타내는 경우 생물학적으로 활성이다. 본 발명은 본원에 정의된 바와 같은 메테오린에 관한 것으로 이해되어야 한다.

[0170] 본 발명은

[0171] a) 서열번호 3, 6 및 9로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열;

[0172] b) 서열번호 3, 6 및 9로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열의 생물학적 활성 서열 변이체로서, 상기 서열번호와 적어도 70%의 서열 동일성을 갖는 변이체; 및

[0173] c) a) 또는 b) 중 임의의 것의 적어도 50개 인접 아미노산의 생물학적 활성 단편으로서, 상기 서열번호와 적어도 70%의 동일성인 단편

[0174] 으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는, 침해수용성 통증의 치료 방법에 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드 분자에 관한 것이다.

[0175] 한 실시양태에서, 본 발명은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는 단리된 폴리펩티드에 관한 것이다:

[0176] i) 서열번호 2의 AA_{30}-AA_{288}, 및 서열의 한쪽 또는 양쪽 말단부에 천연 서열로부터 1 내지 5개의 추가 아미노산을 갖는, 서열번호 2의 AA_{25}-AA_{293}까지의 폴리펩티드;

[0177] ii) 서열번호 8의 AA_{28}-AA_{286} 및 서열의 한쪽 또는 양쪽 말단부에 천연 서열로부터 1 내지 5개의 추가 아미노산을 갖는, 서열번호 8의 AA_{23}-AA_{291}까지의 폴리펩티드;

[0178] iii) 서열번호 5의 AA_{31}-AA_{289} 및 서열의 한쪽 또는 양쪽 말단부에 천연 서열로부터 1 내지 5개의 추가 아미노산을 갖는, 서열번호 5의 AA_{26}-AA_{294}까지의 폴리펩티드; 및

[0179] iv) 선택된 서열에 명시된 임의의 아미노산이 상이한 아미노산으로 변화되되, 단, 서열의 아미노산 잔기 중 20개 이하가 그렇게 변화되는 것인, 상기 폴리펩티드의 변이체.

[0180] 바람직한 생물학적 활성은 문헌 [Jørgensen et al., Characterization of Meteorin - An evolutionary conserved neurotrophic factor, J mol Neurosci 2009 Sep; 39 (1-2): 104-116]에 기재된 마우스 메테오린에 대해 수득된 바와 같은 DRG 검정에서와 실질적으로 동일한 반응을 도출하는 능력이다. 이 검정에서 DRG 세포는 전장 인간 메테오린 코딩 서열 (서열번호 3)의 존재 하에 성장된다. DRG 세포로부터 신경 돌기 성장이 문헌 [Jørgensen et al., Characterization of Meteorin - An evolutionary conserved neurotrophic factor, J mol

Neurosci 2009 Sep; 39 (1-2): 104-116]에 기재된 DRG 검정에서 수득한 수의 적어도 20%, 보다 바람직하게는 적어도 30%, 보다 바람직하게는 적어도 40%, 보다 바람직하게는 적어도 50%, 보다 바람직하게는 적어도 60%, 보다 바람직하게는 적어도 70%, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 보다 바람직하게는 적어도 80%, 보다 바람직하게는 적어도 85%, 보다 바람직하게는 적어도 90%인 것이 DRG 검사에서 실질적으로 동일한 반응으로 의도된다. 메테오린의 단편 또는 변이체의 생물학적 활성은 또한 자연 발생 메테오린 (서열번호 3)의 생물학적 활성보다 더 높을 수 있다.

[0181] 변이체는 자연 발생 메테오린과는 아미노산 서열에서 또는 서열을 포함하지 않는 방식에서, 또는 둘 다의 방식에서 상이할 수 있다. 아미노산 서열의 변이체 ("서열 변이체")는 자연 발생 메테오린의 하나 이상의 아미노산이 상이한 천연 아미노산, 아미노산 유도체 또는 비천연 아미노산으로 치환되는 경우 생성된다. 특히 바람직한 변이체는, 서열이 통상적으로 단백질 또는 펩티드의 2차 및 3차 구소 및 소수성 특성에 대해 최소한의 영향을 미치는 하나 이상의 보존적 및/또는 반-보존적 아미노산 치환에 의해 야생형 서열과 상이한, 자연 발생 메테오닐 또는 이의 생물학적 단편을 포함한다. 또한, 변이체는 메테오린의 생물학적 활성을 없애지 않는 하나 이상의 비보존적 아미노산 치환, 결실 또는 삽입에 의해 상이한 서열을 가질 수 있다. 도 4의 Clustal W 정렬을 사용하여 단백질의 생물학적 활성에 실질적으로 영향을 주지 않고 어떤 아미노산 잔기가 치환될 수 있는지 예측할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 변이체 메테오린 서열은 서열번호 11을 갖는 컨센서스 서열을 포함한다.

[0182] 다음의 그룹 (Clustal W, '강한' 보존 그룹) 내의 치환은 본 발명의 의미 내에서 보존적 치환으로 간주될 수 있다.

[0183] -S,T,A; N,E,Q,K; N,H,Q,K; N,D,E,Q; Q,H,R,K; M,I,L,V; M,I,L,F; H,Y; F,Y,W.

[0184] 다음의 그룹 (Clustal W, '약한' 보존 그룹)내의 치환은 본 발명의 의미 내에서 반-보존적 치환으로 간주될 수 있다.

[0185] -C,S,A; A,T,V; S,A,G; S,T,N,K; S,T,P,A; S,G,N,D; S,N,D,E,Q,K; N,D,E,Q,H,K; N,E,Q,H,R,K; V,L,I,M; H,F,Y.

[0186] 본 발명 내의 다른 변이체는 펩티드 안정성을 증가시키는 변형을 갖는 변이체이다. 이러한 변이체는 예를 들어 펩티드 서열에 하나 이상의 비펩티드 결합 (이는 펩티드 결합을 대체함)을 함유할 수 있다. 또한, 자연 발생 L-아미노산 이외의 잔기, 예컨대 D-아미노산 또는 비자연 발생 또는 합성 아미노산, 예컨대 베타 또는 감마 아미노산 및 사이클릭 변이체를 포함하는 변이체가 포함된다. 폴리펩티드로 L-아미노산 대신에 D-아미노산의 포함은 프로테아제에 대한 이의 내성을 증가시킬 수 있다. 예를 들어, US 5,219,990 참조. 스플라이스 변이체가 본 발명에 구체적으로 포함된다.

[0187] 주어진 치환의 결과를 확실하게 예측할 수 없는 경우, 신경영양 활성의 존재 또는 부재를 결정하기 위해 본원에 개시된 방법에 따라 유도체를 쉽게 분석할 수 있으며, 바람직하게는 예를 들어 문헌 [Jørgensen et al., Characterization of meteorin - An evolutionary conserved neurotrophic factor, J mol Neurosci 2009 Sep; 39 (1-2): 104-116]에 기재된 DRG 검정을 사용하여 쉽게 검정할 수 있다.

[0188] 한 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 3, 6 및 9로 이루어진 군으로부터 선택된 서열의 자연 발생 대립형질 변이체이다. 이 폴리펩티드는 서열번호 1, 4 및 7로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 서열로부터의 단일 뉴클레오티드가 상이한 핵산 서열의 번역물인 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0189] 한 실시양태에서 본원에 기재된 바와 같은 변이체 폴리펩티드는 선택된 서열에 특정된 임의의 아미노산이 보존적 치환을 제공하도록 변경된 폴리펩티드를 포함한다.

[0190] 한 실시양태에서, 본 발명의 범위 내의 변이체는 인간, 뮤린 또는 래트 메테오린 (서열번호 3, 6 및 9)과 적어도 70%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 단백질 및 펩티드가 포함된다. 보다 바람직하게는 서열 동일성은 적어도 75%, 보다 바람직하게는 적어도 80%, 보다 바람직하게는 적어도 85%, 보다 바람직하게는 적어도 90%, 보다 바람직하게는 적어도 95%, 보다 바람직하게는 적어도 98%이다.

[0191] 바람직한 실시양태에서, 변이체 메테오린의 서열 동일성은 인간 메테오린 폴리펩티드 (서열번호 3)를 참조하여 결정된다.

[0192] 한 실시양태에서, 변이체는 서열번호 3과 적어도 70%, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 보다 바람직하게는 적어도 80%, 보다 바람직하게는 적어도 85%, 보다 바람직하게는 적어도 90%, 보다 바람직하게는 적어도 95%, 보다

바람직하게는 적어도 98%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 단백질을 포함한다.

[0193] 한 실시양태에서, 바람직한 변이체는 서열번호 6과 적어도 70%, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 보다 바람직하게는 적어도 80%, 보다 바람직하게는 적어도 85%, 보다 바람직하게는 적어도 90%, 보다 바람직하게는 적어도 95%, 보다 바람직하게는 적어도 98%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 단백질을 포함한다.

[0194] 한 실시양태에서, 바람직한 변이체는 서열번호 9와 적어도 70%, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 보다 바람직하게는 적어도 80%, 보다 바람직하게는 적어도 85%, 보다 바람직하게는 적어도 90%, 보다 바람직하게는 적어도 95%, 보다 바람직하게는 적어도 98%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 단백질을 포함한다.

[0195] 신경영양성 폴리펩티드는 바람직하게는 서열번호 3의 아미노산 서열과 적어도 85%, 보다 바람직하게는 적어도 90%, 보다 바람직하게는 적어도 95%, 보다 바람직하게는 적어도 98%의 서열 동일성을 갖는다.

[0196] 한 실시양태에서 신경영양성 폴리펩티드는 서열번호 11의 컨센서스 서열을 포함한다.

[0197] 바람직하게는 신경영양성 폴리펩티드는 서열번호 3의 아미노산 서열을 기준으로 위치 7, 28, 59, 95, 148, 151, 161, 219, 243 및 265에 시스테인 잔기를 갖는다.

[0198] 한 실시양태에서, 메테오린의 바람직한 변이체는 50-270개 아미노산, 보다 바람직하게는 75-270개 아미노산, 보다 바람직하게는 90-270개 아미노산, 보다 바람직하게는 100-270개 아미노산, 보다 바람직하게는 125-270개 아미노산, 보다 바람직하게는 150-270개 아미노산, 보다 바람직하게는 175-270개 아미노산, 보다 바람직하게는 200-270개 아미노산, 보다 바람직하게는 225-270개 아미노산, 보다 바람직하게는 250-270개 아미노산을 포함하는 단백질을 포함한다.

[0199] 한 실시양태에서, 상응하는 위치에서 변이체 메테오린은 완전히 보존되는 잔기로서 도 4에 표시된 잔기를 포함하며 (*), 보다 바람직하게는 변이체 메테오린은 또한 상응하는 위치에서 강력히 보존되는 잔기로서 도 4에 표시된 잔기를 포함하며 (: 강력히 보존되는 그룹은 다음을 포함한다: S,T,A; N,E,Q,K; N,H,Q,K; N,D,E,Q; Q,H,R,K; M,I,L,V; M,I,L,F; H,Y; F,Y,W), 보다 바람직하게는 변이체 메테오린은 또한 상응하는 위치에 덜 보존된 잔기로서 도 4에 표시된 잔기를 포함한다 (덜 보존되는 그룹은 다음을 포함한다: C,S,A; A,T,V; S,A,G; S,T,N,K; S,T,P,A; S,G,N,D; S,N,D,E,Q,K; N,D,E,Q,H,K; N,E,Q,H,R,K; V,L,I,M; H,F,Y). 특히, 보존된 시스테인은 변이체 메테오린의 상응하는 위치에 위치시켜야 한다는 것이 고려된다. 따라서 한 실시양태에서, 변이체 메테오린 서열은 서열번호 3의 아미노산 서열에 대해 위치 7, 28, 59, 95, 148, 151, 161, 219, 243 및 265에서 시스테인 잔기를 갖는다.

[0200] 한 실시양태에서, 침해수용성 통증의 치료 및/또는 예방에 사용하기 위한 폴리펩티드는 서열번호 11의 컨센서스 서열을 포함한다.

[0201] 한 실시양태에서, 침해수용성 통증의 치료 및/또는 예방에 사용하기 위한 폴리펩티드는 서열번호 3의 아미노산 서열에 대해 위치 7, 28, 59, 95, 148, 151, 161, 219, 243 및 265에 시스테인 잔기를 갖는다.

[0202] 한 실시양태에서, 침해수용성 통증의 치료 및/또는 예방에 사용하기 위한 폴리펩티드는 임의의 아미노산 치환이 보존적 치환인 변이체 폴리펩티드이다.

[0203] 한 실시양태에서, 침해수용성 통증의 치료 및/또는 예방에 사용하기 위한 폴리펩티드는 적어도 하나의 분자내 이황화물 가교를 형성할 수 있다.

[0204] 한 실시양태에서, 포유동물, 바람직하게는 영장류, 보다 바람직하게는 인간과 같은 대상체에서 침해수용성 통증의 치료 및/또는 예방에 사용하기 위한 폴리펩티드.

[0205] 한 실시양태에서, 침해수용성 통증의 치료 및/또는 예방에 사용하기 위한 폴리펩티드는 비경구 주사, 바람직하게는 피하 주사 또는 척추강내 주사와 같은 전신 투여에 의해 투여된다.

[0206] 한 실시양태에서, 침해수용성 통증의 치료 및/또는 예방에 사용하기 위한 폴리펩티드는 1 μg/kg - 10,000 μg/kg, 예컨대 1 μg/kg - 7,500 μg/kg, 예컨대 1 μg/kg - 5,000 μg/kg, 예컨대 1 μg/kg - 2,000 μg/kg, 예컨대 1 μg/kg - 1,000 μg/kg, 예컨대 1 μg/kg - 700 μg/kg, 예컨대 5 μg/kg - 500 μg/kg, 예컨대 10 μg/kg 내지 100 μg/kg 체중의 투여량으로 투여된다.

[0207] 한 실시양태에서, 침해수용성 통증의 치료 및/또는 예방에 사용하기 위한 폴리펩티드는 매주 적어도 1-3회, 예컨대 매주 2-5회, 예컨대 매주 3-6회 투여된다. 다른 실시양태에서, 폴리펩티드는 매일 투여된다. 또 다른 실

시양태에서, 폴리펩티드는 매일 투여된다.

[0208] 한 실시양태에서, 침해수용성 통증의 치료 및/또는 예방에 사용하기 위한 폴리펩티드의 한 실시양태에서, 상기 폴리펩티드의 투여는 침해수용성 통증의 증상이 시작된 후에 개시된다.

[0209] 한 실시양태에서, 인코딩된 폴리펩티드는 서열번호 11의 컨센서스 서열을 포함한다. 컨센서스 서열은 도 4c에 표시된 바와 같이 인간, 마우스 및 래트 메테오린에 보존된 아미노산 잔기를 포함한다. 바람직하게는 신경영양성 폴리펩티드는 서열번호 3의 아미노산 서열에 대해 위치 7, 28, 59, 95, 148, 151, 161, 219, 243 및 265에 시스테인 잔기를 갖는다.

[0210] 비서열 변형은, 예를 들어, 자연 발생 메테오린 부분의 생체내 또는 시험관내 화학적 유도체화, 뿐만 아니라 아세틸화, 메틸화, 인산화, 카르복실화, PEG-일화 또는 글리코실화를 포함할 수 있다. 단백질의 치환기를 대체하는 것이 가능한 것처럼, 단백질에 결합되어 있는 작용기를 유사한 특징을 갖는 기로 대체하는 것도 가능하다. 이러한 변형은 1차 서열을 변경하지 않는다. 이들은 처음에는 보존적일 것이며, 즉, 대체 그룹은 원래 그룹과 거의 동일한 크기, 모양, 소수성 및 전하를 가질 것이다.

[0211] 말단 아미노산을 포함한 많은 아미노산은 글리코실화 및 기타 번역 후 변형과 같은 자연적 과정에 의해 또는 관련 기술분야에 널리 공지된 화학적 변형 기술에 의해 주어진 폴리펩티드에서 변형될 수 있다. 본 발명의 폴리펩티드에 존재할 수 있는 공지된 변형 중에는 예를 들어 아세틸화, 아실화, ADP-리보실화, 아미드화, 플라빈의 공유 부착, 헴 모이어티의 공유 부착, 폴리뉴클레오티드의 공유 부착 또는 폴리뉴클레오티드 유도체, 지질 또는 지질 유도체의 공유 부착, 포스포티딜이노시톨의 공유 부착, 가교, 고리화, 이황화 결합 형성, 탈메틸화, 공유 가교 형성, 시스테인 형성, 피로글루타메이트 형성, 포르밀화, 감마-카르복실화, 당화, 글리코실화, GPI 앵커 형성, 수산화, 요오드화, 메틸화, 미리스토일화, 산화, 단백질 분해 처리, 인산화, 프레닐화, 라세미화, 셀레노일화, 황산화, 아르기닐화 및 유비퀴틴화와 같은 단백질에 아미노산의 전달-RNA 매개 첨가가 있다.

[0212] 이러한 변형은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지되어 있으며 과학 문헌에 매우 상세히 설명되어 있다. 예를 들어 몇몇 특히 일반적인 변형, 글리코실화, 지질 부착, 황산화, 글루탐산 잔기의 감마-카르복실화, 수산화 및 ADP-리보실화는 대부분의 기본 문헌, 예를 들어 문헌 [I. E. Creighton, Proteins-Structure and Molecular Properties, 2nd Ed., W. H. Freeman and Company, New York, 1993]에 설명되어 있다. 이 주제에 대한 많은 상세한 리뷰가 이용 가능하다. 예를 들어 문헌 [Wold, F., in Posttranslational Covalent Modification of Proteins, B. C. Johnson, Ed., Academic Press, New York, pp 1-12, 1983; Seifter et al., Meth. Enzymol. 182: 626-646, 1990] 및 [Rattan et al., Protein Synthesis: Posttranslational Modifications and Aging, Ann. N.Y. Acad. Sci. 663: 48-62, 1992]에 의해 제공된 검토가 이용 가능하다.

[0213] 또한, 단백질은 엔도펩티다제를 사용하여 태그를 후속적으로 정제하고 임의로 제거할 수 있도록 단백질 태그를 포함할 수 있다. 태그는 또한 태그의 후속 제거를 용이하게 하기 위해 프로테아제 절단 부위를 포함할 수 있다. 친화성 태그의 비제한적인 예는 폴리히스 태그, GST 태그, HA 태그, 플래그 태그, C-myc 태그, HSV 태그, V5 태그, 말토스 결합 단백질 태그, 셀룰로스 결합 도메인 태그를 포함한다. 생산 및 정제를 위해 바람직하게는, 태그는 다발성 태그이다. 바람직하게는, 태그는 단백질의 C-말단 부분에 있다.

[0214] 메테오린의 고유 신호 서열은 또한 다른 포유동물 세포 유형의 재조합 생산에서 단백질 분비를 증가시키기 위해 대체될 수 있다.

[0215] 변형은 펩티드 백본, 아미노산 측쇄, 아미노 또는 카르복실 말단을 포함하여 폴리펩티드의 어느 곳에서나 발생할 수 있다. 실제로, 공유 변형에 의한 폴리펩티드 내 아미노 기 또는 카르복실 기 또는 둘 다의 차단은 자연 발생 및 합성 폴리펩티드에서 흔히 발생하며, 이러한 변형은 본 발명의 폴리펩티드에도 존재할 수 있다.

[0216] 폴리펩티드에서 발생하는 변형은 종종 그것이 만들어지는 방식에 따라 달라진다. 예를 들어, 숙주에서 클로닝된 유전자를 발현시켜 만들어진 폴리펩티드의 경우, 대부분 변형의 성격과 정도는 숙주 세포의 번역 후 변형 능력과 폴리펩티드 아미노산 서열에 존재하는 변형 신호에 의해 결정된다. 예를 들어, 글리코실화는 이. 콜라이(*E. coli*)와 같은 박테리아 숙주에서는 종종 일어나지 않는다. 따라서, 글리코실화가 요망되는 경우, 폴리펩티드는 글리코실화 숙주, 일반적으로 진핵 세포에서 발현되어야 한다. 곤충 세포는 종종 포유동물 세포와 동일한 번역 후 글리코실화를 수행하며, 이러한 이유로 곤충 세포 발현 시스템은 특히 글리코실화의 고유 패턴을 갖는 포유동물 단백질을 효율적으로 발현하도록 개발되었다. 다른 변형에도 비슷한 고려사항이 적용된다.

[0217] 동일한 유형의 변형이 주어진 폴리펩티드의 몇몇 부위에서 동일하거나 다양한 정도로 존재할 수 있음이 이해될

것이다. 또한, 주어진 폴리펩티드에는 다양한 유형의 변형이 포함될 수 있다.

[0218] 일반적으로, 본원에 사용된 바와 같이, 용어 폴리펩티드는 이러한 모든 변형, 특히 숙주 세포에서 폴리뉴클레오티드를 발현함으로써 합성된 폴리펩티드에 존재하는 변형을 포괄한다.

[0219] **메테오린 뉴클레오티드 서열**

[0220] 본 발명은 예를 들어 인간 cDNA 뉴클레오티드 서열 (서열번호 1 및 10), 마우스 cDNA 서열 (서열번호 4) 및 래트 cDNA 서열 (서열번호 7)을 포함한, 메테오린을 코딩하는 게놈 DNA 및 cDNA의 의학적 용도를 제공한다.

[0221] 이들 서열의 변이체가 또한 본 발명의 범위 내에 포함된다.

[0222] 본 발명은 침해수용성 통증의 치료 및/또는 예방 방법에 사용하기 위한, 단리된 핵산 분자로서,

[0223] i. 서열번호 3의 아미노산 서열;

[0224] ii. 서열번호 3의 아미노산 서열의 생물학적 활성 서열 변이체로서, 서열번호 3과 적어도 70%의 서열 동일성을 갖는 것인 서열 변이체; 및

[0225] iii. i) 또는 ii)의 적어도 50개의 인접 아미노산으로 이루어진 생물학적 활성 단편으로서, 서열번호 3과 적어도 70% 동일한 단편

[0226] 으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산 분자에 관한 것이다.

[0227] 한 측면에서, 본 발명은 대상체에서 침해수용성 통증의 치료 및/또는 예방에 사용하기 위한, 단리된 핵산 분자에 관한 것이다.

[0228] 한 실시양태에서 단리된 핵산 분자는

[0229] a. 서열번호 3의 아미노산 서열;

[0230] b. 서열번호 3의 아미노산 서열의 생물학적 활성 서열 변이체로서, 서열번호 3과 적어도 70%의 서열 동일성을 갖는 변이체

[0231] 로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열을 포함한다.

[0232] 한 실시양태에서, 본 발명은 침해수용성 통증의 치료 및/또는 예방 방법에 사용하기 위한, 단리된 핵산 분자로서,

[0233] i) 서열번호 2의 AA_{30}-AA_{288}, 및 서열의 한쪽 또는 양쪽 말단부에 천연 서열로부터 1 내지 5개의 추가 아미노산을 갖는, 서열번호 2의 AA_{25}-AA_{293}까지의 폴리펩티드;

[0234] ii) 서열번호 8의 AA_{28}-AA_{286} 및 서열의 한쪽 또는 양쪽 말단부에 천연 서열로부터 1 내지 5개의 추가 아미노산을 갖는, 서열번호 8의 AA_{23}-AA_{291}까지 폴리펩티드;

[0235] iii) 서열번호 5의 AA_{31}-AA_{289} 및 서열의 한쪽 또는 양쪽 말단부에 천연 서열로부터 1 내지 5개의 추가 아미노산을 갖는, 서열번호 5의 AA_{26}-AA_{294}까지의 폴리펩티드; 및

[0236] iv) 선택된 서열에 명시된 임의의 아미노산이 상이한 아미노산으로 변화되되, 단, 서열의 아미노산 잔기 중 20개 이하가 그렇게 변화되는 것인, 상기 폴리펩티드의 변이체

[0237] 로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 인코딩하는 단리된 핵산 분자에 관한 것이다.

[0238] 핵산 분자는 자연 발생 대립유전자 핵산 변이체의 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다.

[0239] 본 발명의 핵산 분자는 변이체 폴리펩티드를 인코딩할 수 있으며, 여기서 변이체 폴리펩티드는 자연 발생 폴리펩티드 변이체의 폴리펩티드 서열을 갖는다.

[0240] 한 실시양태에서, 핵산 분자는 서열번호 1, 4, 7 및 10으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 서열과 단일 뉴클레오티드가 상이하다.

[0241] 바람직하게는 인코딩된 폴리펩티드는 서열번호 3으로 이루어진 군으로부터 선택된 서열과 적어도 60% 서열 동일성, 바람직하게는 적어도 65% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 70%의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 75% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 80% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 85% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 95% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 98%의 서열 동일성을 가지며, 보다 바람직하게는 폴리펩티드는 상기 서열번호들로 이루어진 군으로부터 선택된 서열을 갖는다. 상기 서열은 인간 메테오린을 구성한다.

[0242] 바람직한 실시양태에서, 인코딩된 폴리펩티드는 서열번호 11을 갖는 컨센서스 서열을 포함한다.

[0243] 바람직한 실시양태에서, 인코딩된 폴리펩티드는 서열번호 3과 적어도 70%, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 보다 바람직하게는 적어도 80%, 보다 바람직하게는 적어도 95%, 보다 바람직하게는 적어도 98%, 보다 바람직하게는 적어도 98%의 서열 동일성을 가지며, 보다 바람직하게는 상기 폴리펩티드는 서열번호 3의 서열을 갖는다.

[0244] 한 측면에서, 핵산 분자는

[0245] a) 서열번호 1, 4, 7 및 10으로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열;

[0246] b) 서열번호 1, 4, 7 및 10으로 이루어진 군으로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열과 적어도 70%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열; 및

[0247] c) 서열번호 1, 4, 7 및 10으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열의 적어도 150개의 인접 뉴클레오티드의 핵산 서열

[0248] 로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0249] 한 실시양태에서, 본 발명의 단리된 폴리뉴클레오티드는 서열번호 1로 제시되는 폴리뉴클레오티드 서열과 적어도 60, 보다 바람직하게는 적어도 65%, 보다 바람직하게는 적어도 70%, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 보다 바람직하게는 적어도 80%, 바람직하게는 적어도 85%, 보다 바람직하게는 적어도 90%, 보다 바람직하게는 적어도 95%, 보다 바람직하게는 적어도 98%의 서열 동일성을 갖는다.

[0250] 한 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 단리된 폴리뉴클레오티드는 서열번호 10으로 제시되는 폴리뉴클레오티드 서열과 적어도 50%, 바람직하게는 적어도 60%, 보다 바람직하게는 적어도 70%, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 보다 바람직하게는 적어도 80%, 바람직하게는 적어도 85%, 보다 바람직하게는 적어도 90%, 보다 바람직하게는 적어도 95%, 보다 바람직하게는 적어도 98%의 서열 동일성을 갖는다.

[0251] 한 실시양태에서, 본 발명의 바람직한 단리된 폴리뉴클레오티드 변이체는 150-900개의 핵산, 보다 바람직하게는 175-900개의 핵산, 보다 바람직하게는 200-900개의 핵산, 보다 바람직하게는 225-900개의 핵산, 보다 바람직하게는 250-900개의 핵산, 보다 바람직하게는 300-900개의 핵산, 보다 바람직하게는 350-900개의 핵산, 보다 바람직하게는 400-900개의 핵산, 보다 바람직하게는 450-900개의 핵산, 보다 바람직하게는 500-900개의 핵산, 보다 바람직하게는 550-900개의 핵산, 보다 바람직하게는 600-900개의 핵산, 보다 바람직하게는 650-900개의 핵산, 보다 바람직하게는 700-900개의 핵산, 보다 바람직하게는 750-900개의 핵산, 보다 바람직하게는 800-900개의 핵산, 보다 바람직하게는 850-900 핵산을 포함한다.

[0252] 단리된 폴리뉴클레오티드의 바람직한 그룹은 인간 메테오린 cDNA 서열인 서열번호 1 및 10을 포함한다. 일반적으로, cDNA 서열은 게놈 서열보다 훨씬 더 짧아서 적절한 발현 벡터에 더 쉽게 삽입되고, 생체내 또는 생체외에서 생산 세포 또는 인간 세포에 형질도입/감염된다.

[0253] 또한, 본 발명의 뉴클레오티드 서열은 이들 서열의 유도체인 서열을 포함한다. 본 발명은 또한 이들 서열 중 하나 또는 이들 서열 중 하나의 유도체를 포함하는 벡터, 리포솜 및 기타 담체 비히클을 포함한다. 또한, 본 발명은 인간 메테오린 및 유도체 및 변이체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는, 메테오린 cDNA, 바람직하게는 인간 메테오린 cDNA로부터 전사되고 번역된 단백질을 포함한다.

[0254] 또한, 이. 콜라이, 효모 종, 중국 햄스터(Chinese Hamster), 아기 햄스터(Baby Hamster), 곤충, 진균 및 인간을 포함하나 이에 제한되지는 않는, 선택된 숙주 세포에서 증진된 발현을 위한 코돈 최적화된 핵산 분자가 고려된다.

[0255] 변이체 핵산은 최신 돌연변이 유발 방법에 의해 제조될 수 있다. 인간으로부터의 코딩 서열을 마우스, 래트 또는 침팬지의 코딩 서열과 섞는 방법도 고려된다.

[0256] 변이체 핵산은, 마우스 또는 래트 메테오린에 존재하는 아미노산이 인간 메테오린에 존재하는 아미노산과 상이한 경우, 인간 메테오린에 존재하는 아미노산을 상응하는 위치에서 마우스 또는 래트 메테오린에 존재하는 아미노산으로 교환함으로써 제조되었다.

[0257] **바이러스 벡터**

[0258] 광범위하게, 유전자 요법은 새로운 유전 물질을 환자의 세포에 전달하여 환자에게 치료상의 이점을 제공하는 것을 모색한다. 이러한 이점은 광범위한 질환, 장애 및 기타 병태의 치료 또는 예방을 포함한다.

[0259] 생체외 유전자 요법 접근법은 단리된 세포 (줄기 세포, 신경 및 아교 전구세포 및 태아 줄기 세포를 포함하나 이에 제한되지는 않음)를 변형한 다음에 환자에게 주입, 이식(grafting) 또는 그 밖의 방식으로 이식(transplanting)하는 변형을 포함한다. 예를 들어, 미국 특허 4,868,116, 5,399,346 및 5,460,959 참조. 생체내 유전자 요법은 생체내에서 숙주 환자 조직을 직접적으로 표적화하는 것을 모색한다.

[0260] 유전자 전달 벡터로 유용한 바이러스는 파포바바이러스(papovavirus), 아데노바이러스, 백시니아 바이러스, 아데노-연관 바이러스(adeno-associated virus), 헤르페스바이러스 및 레트로바이러스를 포함한다. 적합한 레트로바이러스는 HIV, SIV, FIV, EIAV, MoMLV로 이루어진 군을 포함한다. 적합한 레트로바이러스의 추가 그룹은 HIV, SIV, FIV, EAIV, CIV로 이루어진 군을 포함한다. 바람직한 바이러스 벡터의 또 다른 그룹은 알파바이러스, 아데노바이러스, 아데노 연관 바이러스, 바큘로바이러스, HSV, 코로나바이러스, 소 유두종 바이러스, Mo-MLV, 바람직하게는 아데노 연관 바이러스로 이루어진 군을 포함한다.

[0261] 신경계 장애 치료에 바람직한 바이러스는 렌티바이러스 및 아데노 연관 바이러스이다. 이들 두 유형의 바이러스 모두 세포 분열 없이 게놈에 통합될 수 있으며, 두 유형 모두 신경계, 특히 중추신경계의 징후에 대한 전임상 동물 연구에서 테스트되었다.

[0262] AAV의 제조 방법은 관련 기술분야, 예를 들어 US 5,677,158에 기재되어 있다. US 6,309,634 및 US 6,683,058은 AAV를 중추신경계로 전달하는 예를 기재하고 있다.

[0263] 바람직하게는, 렌티바이러스 벡터는 복제-결함 렌티바이러스 입자이다. 이러한 렌티바이러스 입자는 5' 렌티바이러스 LTR, tRNA 결합 부위, 패키징 신호, 상기 융합 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드 신호에 작동 가능하게 연결된 프로모터, 두 번째 가닥 DNA 합성의 기원 및 3' 렌티바이러스 LTR을 포함하는 렌티바이러스 벡터로부터 생성될 수 있다. 렌티바이러스의 제조 방법 및 렌티바이러스를 신경 세포에 준비하고 생체내 투여하는 방법은 US 20020037281 (렌티바이러스 벡터를 사용하여 신경 세포를 형질도입하는 방법)에 기재되어 있다.

[0264] 레트로바이러스 벡터는 인간 임상 시험에서 가장 일반적으로 사용되는 벡터이며, 그 이유는 이들이 7 내지 8 kb를 운반하고 세포를 감염시키는 능력이 있으며 숙주 세포에 높은 효율로 안정적으로 통합되는 유전 물질을 갖기 때문이다. 예를 들어 WO 95/30761; WO 95/24929 참조. 종양바이러스(Oncovirinae)는 외인성 핵산 서열을 환자에게 전달하고 통합하기 위해 적어도 1회의 표적 세포 증식이 필요로 한다. 레트로바이러스 벡터는 환자의 게놈에 무작위로 통합된다. 신경계 (특히 CNS)의 다른 세포에서는 세포 분열이 거의 일어나지 않기 때문에, 레트로바이러스를 신경계의 줄기 세포를 표적으로 하는 데 사용될 수 있다.

[0265] 세 가지 부류의 레트로바이러스 입자가 기재되어 있다; 뮤린 세포를 효율적으로 감염시킬 수 있는 동종숙주역(ecotropic), 및 많은 종의 세포를 감염시킬 수 있는 양종숙주역(amphotropic)이다. 제3의 부류는 바이러스를 생산한 종과 또 다른 종의 세포를 감염시킬 수 있는 이종숙주역(xenotropic) 레트로바이러스를 포함한다. 분열하는 세포의 게놈에만 통합되는 이들의 능력으로 인해 레트로바이러스를 발생 연구에서 세포 계통을 표시하고, 암이나 종양에 치료 또는 자살 유전자를 전달하기에 바람직한 바이러스가 되도록 하였다.

[0266] 인간 환자에게 사용하기 위해, 레트로바이러스 벡터는 복제 결함이 있어야 한다. 이는 표적 조직 내에서 감염성 레트로바이러스 입자의 추가 생성을 방지하고, 대신에 복제-결함 벡터는 표적 세포 게놈으로 안정되게 통합된 "포획(captive)" 이식유전자(transgene)가 된다. 전형적으로, 복제-결함 벡터에는 gag, env 및 pol 유전자가 (나머지 바이러스 게놈의 대부분과 함께) 결실되어 있다. 결실된 바이러스 유전자 대신에 이종 DNA가 삽입된다. 이종 유전자는 내인성 이종 프로모터, 또는 표적 세포에서 활성인 또 다른 이종 프로모터, 또는 레트로바이러스 5' LTR (바이러스 LTR은 다양한 조직에서 활성임)의 제어 하에 있을 수 있다. 전형적으로, 레트로바이러스 벡터는 약 7 내지 8 kb의 이식유전자 수용력을 갖는다.

[0267] 복제-결함이 있는 레트로바이러스 벡터는, 예를 들어, 조작된 패키징 세포주로부터 복제 및 트랜스로의 어셈블리에 필요한 바이러스 단백질의 제공을 필요로 한다. 복제 적격(competent) 바이러스 및/또는 헬퍼 바이러스를

방출하지 않는 것이 중요하다. 이는 ψ 신호가 결여된 RNA로부터 바이러스 단백질을 발현하고 별도의 전사 단위로부터 gag/pol 유전자와 env 유전자를 발현함으로써 달성되었다. 또한, 일부 2세대 및 3세대 레트리바이러스에서, 5' LTR은 이들 유전자의 발현을 제어하는 비-바이러스성 프로모터로 대체되었으며, 3' 프로모터는 근접 프로모터만 함유하도록 최소화되었다. 이들 설계는 복제 적격 벡터 또는 헬퍼 바이러스를 생산시키는 재조합 가능성을 최소화한다.

[0268] **발현 벡터**

[0269] 본 발명에 사용하기 위한 메테오린 폴리펩티드의 재조합 발현을 위한 벡터의 구축은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 상세한 설명을 할 필요가 없는 통상적인 기술을 사용하여 달성될 수 있다. 그러나, 검토를 위해 관련 기술분야의 통상의 기술자는 문헌 [Maniatis et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, (NY 1982)]에 참고를 원할 수 있다. 발현 벡터는 의료용 메테오린 폴리펩티드의 재조합 생산을 위한 생산자 세포를 생성하고, 나출형(naked) 또는 캡슐화된 요법을 위해 메테오린 폴리펩티드를 분비하는 치료 세포를 생성하는데 사용될 수 있다.

[0270] 간단히 설명하면, 재조합 발현 벡터의 구축은 표준 라이게이션 기술을 이용한다. 구축된 벡터의 정확한 서열을 확인하기 위한 분석의 경우, 예를 들어 메싱(Messing) 등의 방법 [Messing, et al., (Nucleic Acids Res., 9: 309-, 1981), 막삼(Maxam) 등의 방법 (Methods in Enzymology, 65: 499, 1980), 또는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지될 다른 적합한 방법을 이용하여 유전자를 서열분석한다.

[0271] 절단된 단편의 크기 분리는 예를 들어 문헌 [Maniatis, et al., (Molecular Cloning, pp. 133-134,1982)에 기재되어 있는 바와 같은 통상적인 겔 전기영동법을 사용하여 수행된다.

[0272] 효율적인 발현 벡터를 생성하기 위해, 이들은 인코딩된 유전자를 정확한 판독 프레임에서 발현하기 위해 필수적인 조절 서열을 함유해야 한다. 유전자의 발현은 전사, 번역 또는 번역 후 수준에서 제어된다. 전사 개시는 유전자 발현에서 초기의 중요한 사건이다. 이는 프로모터 및 인핸서 서열에 따라 달라지며 이들 서열과 상호작용하는 특정한 세포 인자에 의해 영향을 받는다. 많은 유전자의 전사 단위는 프로모터 및, 일부 경우, 인핸서 또는 조절 요소로 구성된다 ([Banerji et al., Cell 27: 299 (1981); Corden et al., Science 209: 1406 (1980)]; 및 [Breathnach and Chambon, Ann. Rev. Biochem. 50: 349 (1981)]). 레트로바이러스의 경우, 레트로바이러스 게놈의 복제에 관여하는 제어 요소는 긴 말단 반복부 (LTR)에 존재한다 (Weiss et al., eds., The molecular biology of tumor viruses: RNA tumor viruses, Cold Spring Harbor Laboratory, (NY 1982)). 몰로니(Moloney) 래트 백혈병 바이러스 (MLV) 및 라우스(Rous) 육종 바이러스 (RSV) LTR은 프로모터 및 인핸서 서열을 함유한다 (Jolly et al., Nucleic Acids Res. 11: 1855 (1983); Capecchi et al., In : Enhancer and eukaryotic gene expression, Gulzman and Shenk, eds., pp. 101- 102, Cold Spring Harbor Laboratories (NY 1991). 기타 강력한 프로모터는 거대세포바이러스 (CMV) 유래 프로모터 및 기타 야생형 바이러스성 프로모터를 포함한다.

[0273] 또한, 다수의 비-바이러스성 프로모터의 프로모터 및 인핸서 영역이 기술되어 있다 (Schmidt et al., Nature 314: 285 (1985); Rossi and deCrombrugghe, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 5590-5594 (1987)). 휴지 세포 (quiescent cell)에서 이식유전자의 발현을 유지하고 증가시키는 방법은 콜라겐 I형 (1 및 2) (Prockop and Kivirikko, N. Eng. J. Med. 311: 376 (1984); Smith and Niles, Biochem. 19: 1820 (1980); de Wet et al., J. Biol. Chem., 258: 14385 (1983)), SV40 및 LTR 프로모터를 포함하는 프로모터의 사용을 포함한다.

[0274] 본 발명의 한 실시양태에 따르면, 프로모터는 유비퀴틴 프로모터, CMV 프로모터, JeT 프로모터 (US 6,555,674), SV40 프로모터, 신장 인자 1 알파 프로모터 (EF1-알파), RSV, CAG로 이루어진 군으로부터 선택되는 구성적 프로모터이다. 유도성/억제성 프로모터의 예는 Tet-On, Tet-Off, 라파마이신-유도성 프로모터, Mx1, Mo-MLV-LTR, 프로게스테론, RU486을 포함한다.

[0275] 바람직한 프로모터 그룹은 CAG, CMV, 인간 UbiC, JeT, SV40, RSV, Tet 조절 가능 프로모터, Mo-MLV-LTR, Mx1, Mt1 및 EF-1알파를 포함한다.

[0276] 이식유전자 발현을 유도하기 위해 바이러스성 및 비바이러스성 프로모터를 사용하는 것 외에도, 이식유전자 발현 수준을 증가시키기 위해 인핸서 서열을 사용할 수 있다. 인핸서는 이의 고유 유전자뿐만 아니라 일부 외래 유전자의 전사 활성도를 증가시킬 수 있다 (Armelor, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 70: 2702 (1973)). 예를 들어, 본 발명에서 콜라겐 인핸서 서열은 이식유전자 발현을 증가시키기 위해 콜라겐 프로모터 2(I)와 함께 사용될 수 있다. 또한, SV40 바이러스에서 발견되는 인핸서 요소를 사용하여 이식유전자 발현을 증가시킬 수 있다.

이 인핸서 서열은 문헌 [Gruss et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78: 943 (1981); Benoist and Chambon, Nature 290: 304 (1981)], 및 [Fromm and Berg, J. Mol. Appl. Genetics, 1 : 457 (1982)]에 기재되어 있는 바와 같이 72개 염기쌍 반복부로 구성되어 있으며, 상기 문헌 모두는 본원에 참조로 포함된다. 이러한 반복 서열은 다양한 프로모터와 직렬로 존재하는 경우에 다수의 상이한 바이러스 및 세포 유전자의 전사를 증가시킬 수 있다 (Moreau et al., Nucleic Acids Res. 9:6047(1981)).

[0277] 추가의 발현 증진 서열은 우드척(Woodchuck) 간염 바이러스 전사후 조절 요소, WPRE, SP163, CMV 인핸서 및 닭 β-글로빈 절연체 또는 기타 절연체를 포함되나 이에 제한되지는 않는다.

[0278] 한 측면에서, 본 발명은 대상체의 침해수용성 통증을 치료 또는 예방하는데 사용하기 위한 벡터에 관한 것이다.

[0279] 한 실시양태에서, 대상체의 침해수용성 통증의 치료 및/또는 예방에 사용하기 위한 벡터는 본원에 정의된 바와 같은 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다.

[0280] 다른 실시양태에서, 벡터는 핵산 분자에 작동 가능하게 연결된 프로모터를 추가로 포함한다.

[0281] 한 실시양태에서, 침해수용성 통증의 치료 및/또는 예방에 사용하기 위한 벡터는 알파바이러스, 아데노바이러스, 아데노 연관 바이러스, 바쿨로바이러스, HSV, 코로나바이러스, 소 유두종 바이러스 및 Mo-MLV, 바람직하게는 아데노 연관 바이러스로 이루어진 군으로부터 선택된다

[0282] **세포주**

[0283] 한 측면에서, 본 발명은 본 발명에 따른 벡터로 유전적으로 변형된 단리된 숙주 세포에 관한 것이다.

[0284] 또한, 본 발명은 메테오린을 과발현하도록 유전적으로 변형되고 생체활성 메테오린 폴리펩티드를 국소적으로 전달하도록 환자에게 이식될 수 있는 나출형 또는 캡슐화된 세포를 통한 메테오린의 생체 전달에 적합한 세포에 관한 것이다. 이러한 세포는 광범위하게 치료 세포로 지칭될 수 있다.

[0285] 생체외 유전자 치료의 경우, 바람직한 세포 그룹은 신경 세포, 신경 전구 세포, 신경 선조 세포, 신경 줄기 세포, 인간 아교 줄기 세포, 인간 전구 세포, 줄기 세포 및 태아 세포를 포함한다.

[0286] 캡슐화를 위해 바람직한 세포는 ARPE-19 세포를 포함하는 망막 색소 상피 세포; 인간 불멸화 섬유모세포; 및 인간 불멸화 성상교세포를 포함한다.

[0287] ARPE-19 세포주는 캡슐화 세포 기반 전달 기술을 위한 우수한 플랫폼 세포주이며 비캡슐화 세포 기반 전달 기술에도 유용하게 한다. ARPE-19 세포주는 강건하다 (즉, 이 세포주는 중추신경계 또는 안내 환경으로의 이식과 같은 엄격한 조건에서 생존 가능하다). ARPE-19 세포는 치료학적 관심의 물질을 분비하도록 유전적으로 변형될 수 있다. ARPE-19 세포는 비교적 긴 수명을 가지고 있다. ARPE-19 세포는 인간 기원의 세포이다. 더욱이, 캡슐화된 ARPE-19 세포는 생체내 장치 생존능력이 양호하다. ARPE-19 세포는 유효량의 성장 인자를 전달할 수 있다. ARPE-19 세포는 무시할 만한 숙주 면역 반응을 유도한다. 더욱이, ARPE-19 세포는 비종양성을 유발한다. ARPE-19 세포의 배양 및 캡슐화 방법은 US 6,361,771에 기재되어 있다.

[0288] 또 다른 실시양태에서, 치료 세포주는 인간 섬유모세포 세포주, 인간 성상교세포 세포주, 인간 중뇌 세포주 및 인간 내피 세포주로 이루어진 군으로부터 선택되며, 바람직하게는 TERT, SV40T 또는 vmyc로 불멸화된다.

[0289] **세포외 기질**

[0290] 본 발명은 포유동물 신경계에 이식하기 전에 세포외 기질 상에서 메테오린 생산 세포를 시험관내에서 배양하는 것을 추가로 포함한다. 이식 전 세포를 미세캐리어(microcarrier)에 미리 부착시키는 것은 이식된 세포의 장기 생존능력을 향상시키고 장기적인 기능적 이점을 제공하도록 설계되었다.

[0291] 세포외 기질을 구성할 수 있는 물질은 세포가 시험관내 인큐베이션 후 부착하여, 세포가 성장할 수 있으며, 이식 세포를 파괴하거나 또는 그렇지 않으면 이식 세포의 생물학적 또는 치료학적 활성을 방해하는 염증 반응이나 독성 반응을 유발함이 없이 포유동물 신체내로 이식될 수 있는 물질을 포함한다. 이러한 물질은 합성 또는 천연 화학 물질이거나 생물학적 기원을 갖는 물질일 수 있다.

[0292] 기질(matrix) 물질은, 제한 없이, 유리 및 기타 산화 규소, 폴리스티렌, 폴리프로필렌, 폴리에틸렌, 폴리비닐리덴 플루오라이드, 폴리우레탄, 폴리알기네이트, 폴리설폰, 폴리비닐 알코올, 아크릴로니트릴 중합체, 폴리아크릴아미드, 폴리카보네이트, 폴리펜텐트, 나일론, 아밀라제, 천연 및 변형 젤라틴, 천연 및 코딩된 콜라겐, 덱스트란 및 셀룰로오스 (예를 들어, 니트로셀룰로오스)를 포함한 천연 및 변형 다당류, 한천 및 자철석을

포함한다. 흡수성 또는 비흡수성 재료를 사용할 수 있다. 또한 관련 기술분야에 널리 공지된 세포외 기질 물질도 사용될 수 있다. 세포외 기질 물질은 시판되고 있거나, 이러한 기질을 분비하는 세포를 성장시키고, 분비 세포를 제거시킨 다음에, 이 세포를 기질과 상호작용하고 기질에 부착되도록 이식함으로써 제조될 수 있다. 이식될 세포가 성장하거나 세포와 혼합되는 기질 물질은 RPE 세포의 고유 산물(indigenous product)일 수 있다. 따라서, 예를 들어 기질 물질은 이식될 RPE 세포에 의해 생산되고 분비되는 세포외 기질 또는 기저막 물질일 수 있다.

[0293] 세포 부착, 생존 및 기능을 개선하기 위해, 고체 매트릭스는 선택적으로 세포 부착, 성장 또는 생존을 촉진하는 관련 기술분야에 공지된 인자로 외부 표면에 코팅될 수 있다. 이러한 인자는 세포 접착 분자, 세포외 기질, 예를 들어 피브로넥틴, 라미닌, 콜라겐, 엘라스틴, 글리코사미노글리칸 또는 프로테오글리칸 또는 성장 인자를 포함한다.

[0294] 대안적으로, 이식된 세포가 부착되는 고체 매트릭스가 다공성 물질로 구성되는 경우, 성장 또는 생존 촉진 인자 또는 인자들이 매트릭스 물질에 포함시켜, 이로부터 생체내 이식 후 서서히 방출될 수 있게 할 수 있다.

[0295] 지지체의 형상은 바람직하게는 비드와 같이 구형이지만 원통형, 타원형, 편판 시트 또는 스트립, 바늘 또는 핀 모양 등일 수 있다. 지지체 매트릭스의 바람직한 형태는 유리 비드이다. 또 다른 바람직한 비드는 폴리스티렌 비드이다.

[0296] 비드 크기는 직경이 약 10 μm 내지 1 mm, 바람직하게는 약 90 μm 내지 약 150 μm의 범위일 수 있다. 다양한 마이크로캐리어 비드에 대한 설명은 예를 들어 문헌 [Fisher Biotech Source 87-88, Fisher Scientific Co., 1987, pp. 72-75; Sigma Cell Culture Catalog, Sigma Chemical Co., St, Louis, 1991, pp. 162-163; Ventrex Product Catalog, Ventrex Laboratories, 1989]에 기재되어 있으며; 이들 문헌은 본원에 참조로 포함된다. 비드 크기의 상한은 비드에 의한 원하지 않은 숙주 반응의 자극에 의해 결정될 수 있으며, 이는 이식된 세포의 기능을 방해하거나 주변 조직에 손상을 유발할 수 있다. 비드 크기의 상한은 투여 방법에 따라 결정될 수도 있다. 이러한 제한은 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 쉽게 결정될 수 있다.

[0297] **실시예**

[0298] **실시예 1: rm메테오린을 사용한 반복 처리는 CFA 염증성 통각과민증을 가진 마우스에서의 기계적 통증을 완전히 역전시킴**

[0299] *재료 및 방법:*

[0300] 성체 암컷 C57BL/6JRj 마우스를 세 그룹으로 나누었다; (i) 완전 프로인트 아주반트 (CFA) + 비히클 (둘베코 (Dulbecco's) PBS), (ii) CFA + rm메테오린 (1.8 mg/kg), (iii) 노출 분석을 위한 나이브 위성(satellite). 도 1에 표시된 바와 같이 인슐린 주사기 (30G)를 사용하여 비히클 또는 rm메테오린 (실선 화살표)의 피하 (s.c) 주사를 격일로 (D1, D3, D5, D7 및 D9) 투여하였다. CFA (20 μl; 파선 화살표)를 이소플루란 마취 (4%, 유도용 O2 4 ml/분), 이어서 2%, 유지용 O2 2 ml/분) 하에 s.c 주사하였다. 모든 마우스는 빠르게 회복되었으며 전형적으로 마취에서 제거 직후 5 내지 10분 이내에 활동하였다. CFA-유도 감작의 완전한 발달을 촉진하는데 도움이 되는 어떤 수술 후 진통제(post-operative analgesia)도 제공되지 않았다. 거동 테스트를 위해, 실험을 시작하기 전에 아크릴 거동 챔버를 청소하기 위해 CFA 마우스를 15-30분 동안 습관화시켰다. 발 회피 역치 (PWT)를 기준선에서 테스트한 다음에 기계적, 침해수용성 통각과민증의 대용 마커로서 14 내지 15일차까지 교정된 폰 프레이 필라멘트를 사용하여 일상적으로 테스트하였다. 발 두께는 CFA 주사 전 디지털 마이크로미터를 사용하여 발의 가장 두꺼운 부분에 걸쳐 배쪽에서 등쪽 측면까지 측정한 다음에 그 후에 염증성 부종/부하의 지표로 일상적으로 측정하였다. 일반 복지의 대용 마커로서 연구 기간 내내 체중을 일상적으로 측정하였다. 모든 테스트는 실험자가 처리에 대해 맹검인 상태에서 수행하였다. 그룹 간의 통계 분석은 혼합-효과 ANOVA를 사용하여 수행하였다. 모든 데이터는 평균 ± SEM으로 표시되며 여기서 $P<0.05$가 유의한 것으로 간주된다.

[0301] *결과:*

[0302] 5일차에 모든 CFA-주입 마우스는 도 2a에 표시된 바와 같이 강력한 뒷발 기계적, 침해수용성 통각과민증이 발생하였다. 1.8 mg/kg rm메테오린 (실선, 흑색 원)을 처음 주사한 지 4일 후, 9일차에 PWT의 증가가 관찰되었다 ($P<0.01$). rm메테오린을 계속해서 간헐적으로 투여하면, PWT의 증가가 각각 11일, 13일 및 15일차에 유지되었다. 도 2b는 CFA 주사가 발 폭을 거의 2배 증가시킨 것을 명확히 나타내며 이는 rm메테오린 처리에 전혀 영향을 받지 않은 대규모 염증성 부종의 존재를 나타낸다. 마지막으로, rm메테오린으로 처리한 CFA 마우스의 체중은 비히클로 처리한 CFA 마우스와 거의 동일하였으며 (도 2c), 이는 마우스의 일반 복지가 처리에 의해 영향을

받지 않았음을 시사한다.

[0303] *결론:*

[0304] rm메테오린의 반복 s.c. 주사를 사용한 처리는 투여 개시 후 수일 이내에 CFA-유도 염증성 통각과민증을 완전히 역전시켰다. 이러한 역전은 실험 지속기간 내내 유지되었으며, 이는 rm메테오린에 의해서는 진통제 내약성이 발생하지 않음을 나타낸다. rm메테오린은 염증 부하에 전혀 영향을 미치지 않았으며 이는 그것이 직접적인 항염증 메커니즘 자체를 보유하지 않음을 나타내며, 한편 체중에 대한 효과의 결핍은 rm메테오린 마우스의 일반 복지가 유지되었음을 나타낸다.

[0305] **실시예 2: rm메테오린을 사용한 급성 처리는 CFA 염증성 통각과민증을 가진 마우스에서의 반복 처리와 유사하게 기계적 통증을 역전시킴**

[0306] *재료 및 방법:*

[0307] 성체 암컷 C57BL/6JRj 마우스를 네 그룹으로 나누었다; (i) CFA + 비히클 (ii) CFA + rm메테오린의 1회 주사 (iii) CFA + rm메테오린의 2회 주사 (iv) CFA + rm메테오린의 3회 주사. 인슐린 주사기 (30G)를 사용하여 비히클 또는 rm메테오린 (실선 화살표)의 피하 (s.c) 주사를 격일로 (D3, D5 및 D9; 실선 화살표) 투여하였다. CFA (20 μl)를 이소플루란 마취 (4%, 유도용 O2 4 ml/분), 이어서 2%, 유지용 O2 2 ml/분) 하에 s.c 주사하였다. 모든 마우스는 빠르게 회복되었으며 전형적으로 마취에서 제거 직후 5 내지 10분 이내에 활동하였다. CFA-유도 감작의 완전한 발달을 촉진하는데 도움이 되는 어떤 수술 후 진통제도 제공되지 않았다. 거동 테스트를 위해, 실험을 시작하기 전에 아크릴 거동 챔버를 청소하기 위해 CFA 마우스를 15-30분 동안 습관화시켰다. 발 회피 역치 (PWT)를 기준선에서 테스트한 다음에 기계적, 침해수용성 통각과민증의 대용 마커로서 14 내지 15일차까지 교정된 폰 프레이 필라멘트를 사용하여 일상적으로 테스트하였다. 모든 테스트는 실험자가 처리에 대해 맹검인 상태에서 수행하였다. 그룹 간의 통계 분석은 혼합-효과 ANOVA를 사용하여 수행하였다. 모든 데이터는 평균 ± SEM으로 표시되며 여기서 $P<0.05$가 유의한 것으로 간주된다.

[0308] *결과:*

[0309] 3일차에 모든 마우스는 도 3a에 표시된 바와 같이 CFA 주사 처리에 의해 유도된 강력한 뒷발 기계적, 침해수용성 통각과민증이 발생하였다. 1.8 mg/kg rm메테오린 (실선 흑색 원)을 처음 주사한 지 4일 후, 7일차에 PWT의 증가가 관찰되었다 ($P<0.01$). rm메테오린을 2회 또는 3회 주사를 받은 CFA 마우스에서도 9일차에 PWT의 유사한 증가가 관찰되었다. 계속해서 간헐적으로 투여하면, PWT의 증가가 각각 11일, 13일 및 14일차에 유지되었다. 14 내지 15일차 실험 종료 시에, 부분적 μ-오피오이드 수용체 길항제 부프레노르핀 (0.1 mg/kg, s.c.) 또는 비히클을 이전에 비히클의 반복 주사로 처리한 마우스에게 투여하여 사용된 검정 조건의 민감도를 확인하였다. 예상된 바와 같이, 부프레노르핀은 PWT의 완전한 역전을 초래하였다 ($P<0.0001$).

[0310] *결론:*

[0311] rm메테오린의 전신 주사는 CFA-유도 염증성 통각과민증을 가진 암컷 마우스의 뒷발 기계적 통증을 완전히 역전시켰다. rm메테오린을 단일회 주사하면 3회 주사에 의해 관찰된 것과 유사한 침해수용성 통각과민증의 역전 정도와 지속기간을 초래하였다.

[0312] **서열 개요**

[0313] 서열번호 1: 인간 메테오린 cDNA

[0314] 서열번호 2: 인간 메테오린 전장 아미노산 서열

[0315] 서열번호 3: 신호 펩티드가 없는 인간 메테오린 아미노산 서열

[0316] 서열번호 4: 마우스 메테오린 cDNA

[0317] 서열번호 5: 마우스 메테오린 전장 아미노산 서열

[0318] 서열번호 6: 신호 펩티드가 없는 마우스 메테오린 아미노산 서열

[0319] 서열번호 7: 래트 메테오린 cDNA

[0320] 서열번호 8: 래트 메테오린 전장 아미노산 서열

[0321] 서열번호 9: 신호 펩티드가 없는 래트 메테오린 아미노산 서열

[0322] 서열번호 10: 인간 코돈 최적화된 DNA 서열

[0323] 서열번호 11: 성숙한 메테오린, 컨센서스 서열

[0324] 인간 메테오린 cDNA (1109 bp; CDS=118-999) (서열번호 1)

[0325] >gi|34147349|ref|NM_024042.2| 호포 사피엔스(*Homo sapiens*) 가설 단백질 MGC2601 (MGC2601), mRNA

GCTTCGCCGGGGCCGGGCGGCCGGCGCCCCCGGCTGCTCCCGCCGCCGCCCGGACCCGCGCCCCGCCGGG
GCAGCGGTGGTGAGAGCCCCGACTCCCCGGACGCCGCCCGCCGTGCCATGGGGTTCCCGGCCGCGGCGCT
GCTCTGCGCGCTGTGCTGCGGCCTCCTGGCCCCGGCTGCCCGCGCCGGCTACTCCGAGGAGCGCTGCAGC
TGGAGGGGCAGCGGCCTCACCCAGGAGCCCGGCAGCGTGGGGCAGCTGGCCCTGGCCTGTGCGGAGGGCG
CGGTTGAGTGGCTGTACCCGGCTGGGGCGCTGCGCCTGACCCTGGGCGGCCCCGATCCCAGAGCGCGGCC
CGGCATCGCCTGTCTGCGGCCGGTGCGGCCCTTCGCGGGCGCCCAGGTCTTCGCGGAGCGCGCAGGGGGC
GCCCTGGAGCTGCTGCTGGCCGAGGGCCCGGGCCCGGCAGGGGGCCGCTGCGTGCGCTGGGGTCCCCGCG
AGCGCCGGGCCCTCTTCCTGCAGGCCACGCCGCACCAGGACATCAGCCGCCGCGTGGCCGCCTTCCGCTT
TGAGCTGCGCGAGGACGGGCGCCCCGAGCTGCCCCCGCAGGCCCACGGTCTCGGCGTAGACGGTGCCTGC
AGGCCCTGCAGCGACGCTGAGCTGCTCCTGGCCGCATGCACCAGCGACTTCGTAATTCACGGGATCATCC
ATGGGGTCACCCATGACGTGGAGCTGCAGGAGTCTGTCATCACTGTGGTGGCCGCCCGTGTCCTCCGCCA
GACACCGCCGCTGTTCCAGGCGGGGCGATCCGGGGACCAGGGGCTGACCTCCATTCGTACCCCACTGCGC
TGTGGCGTCCACCCGGGCCCAGGCACCTTCCTCTTCATGGGCTGGAGCCGCTTTGGGGAGGCCCGGCTGG
GCTGTGCCCCACGATTCCAGGAGTTCCGCCGTGCCTACGAGGCTGCCCGTGCTGCCCACCTCCACCCCTG
CGAGGTGGCGCTGCACTGAGGGGCTGGGTGCTGGGGAGGGGCTGGTAGGAGGGAGGGTGGGCCCACTGCT
[0326] TTGGAGGTGATGGGACTATCAATAAGAACTCTGTTCACGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

[0327] 인간 메테오린 전장 아미노산 서열 (서열번호 2)

[0328] >IPI00031531.1 REFSEQ_NP:NP_076947 TREMBL:Q9UJH9

[0329] ENSEMBL:ENSP00000219542 Tax_Id=9606 C380A1.2.1 (신규한 단백질)

MGFPAAALLC ALCCGLLAPA ARAGYSEERC SWRGSGLTQE PGSVGQLALA CAEGAVEWLY
PAGALRLTLG GPDPRARPGI ACLRPVRPFA GAQVFAERAG GALELLLAEG PGPAGGRCVR
WGPRERRALF LQATPHQDIS RRVAAFRFEL REDGRPELPP QAHGLGVDGA CRPCSDAELL
LAACTSDFVI HGIIHGVTHD VELQESVITV VAARVLRQTP PLFQAGRSGD QGLTSIRTPL
RCGVHPGPGT FLFMGWSRFG EARLGCAPRF QEFRRAYEAA RAAHLHPCEV ALH
[0330]

[0331] 신호 펩티드가 없는 인간 메테오린, 단백질 (서열번호 3)

GYSEERCSWR GSGLTQEPGS VGQLALACAE GAVEWLYPAG ALRLTLGGPD PRARPGIACL
RPVRPFAGAQ VFAERAGGAL ELLLAEGPGP AGGRCVRWGP RERRALFLQA TPHQDISRRV
AAFRFELRED GRPELPPQAH GLGVDGACRP CSDAELLLAA CTSDFVIHGI IHGVTHDVEL
QESVITVVAA RVLRQTPPLF QAGRSGDQGL TSIRTPLRCG VHPGPGTFLF MGWSRFGEAR
LGCAPRFQEF RRAYEAARAA HLHPCEVALH
[0332]

[0333] 마우스 메테오린 cDNA, 1363 bp, CDS 84..959 (서열번호 4)

[0334] NM_133719. 머스 머스쿨러스(*Mus musculus*) 메테오린.[gi:56550040]

gggcagccgc gccgcgggct gctcgcgctg cggccccgac cctcccgggg cagcagtccg
aggccccggc gcgtccccta accatgctgg tagccacgct tctttgcgcg ctctgttgcg
gcctcctggc cgcgtccgct cacgctggct actcggaaga ccgctgcagc tggaggggca
gcggtttgac ccaggagcct ggcagcgtgg ggcagctgac cctggactgt actgagggcg
ctatcgagtg gctgtaccca gctggggcgc tgcgcctgac cctgggcggc cccgatccgg
gcacacggcc cagcatcgtc tgtctgcgcc cagagcggcc cttcgctggt gcccaggtct
tcgctgaacg tatgaccggc aatctagagt tgctactggc cgagggcccg gacctggctg
ggggccgctg catgcgctgg ggtccccgcg agcgccgagc ccttttcctg caggccacac
cacaccgcga catcagccgc agagttgctg ccttccgttt tgaactgcac gaggaccaac
gtgcagaaat gtctccccag gctcaaggtc ttggtgtgga tggtgcctgc aggccctgca
gtgatgccga gctcctcctg gctgcatgca ccagtgattt tgtgatccac gggaccatcc
atggggtcgc ccatgacaca gagctgcaag aatcagtcat cactgtggtg gttgctcgtg
tcatccgcca gacactgcca ctgttcaagg aagggagctc ggagggccaa ggccgggcct
ccattcgtac cttgctgcgc tgtggtgtgc gtcctggccc aggctccttc ctcttcatgg
gctggagccg atttggcgaa gcttggctgg gctgtgctcc ccgcttccaa gagttcagcc
gtgtctattc agctgctctc acgacccatc tcaacccatg tgagatggca ctggactgag
agacctggga gcaagccctg gatggacctt cttctggaga tggggtgttg gggagggtga
tgggagggtg ggtgagaagg gtgtggctcg gatggcatcc tggtacccac agtgagctgg
tagaatacta agtaatctgg accataccag ccactgtagt catggtcttc tgtggcaggc
agcataccca gctctgtgcc tgcctcactt tgtctactct ccagtctgct gcccttctaa
cccttcttag cctgctgacc agtgagctca tgttttcctc gaattccagg gtgctgctgg
ggttcagagc aaccgtgccg tagtttggaa gacttgagct aattgttttt tttttgtttg

[0335] ttttttttgtt tgtttaaagg tggcctgggg ggggcggcaa aca

[0336] 마우스 메테오린 전장 아미노산 서열 (서열번호 5)

[0337] ref|NP_598480.1| 메테오린 [머스 머스쿨러스]

MLVATLLCAL CCGLLAASAH AGYSEDRCSW RGSGLTQEPG SVGQLTLDCT EGAIEWLYPA
GALRLTLGGP DPGTRPSIVC LRPERPFAGA QVFAERMTGN LELLLAEGPD LAGGRCMRWG
PRERRALFLQ ATPHRDISRR VAAFRFELHE DQRAEMSPQA QGLGVDGACR PCSDAELLLA
ACTSDFVIHG TIHGVAHDTE LQESVITVVV ARVIRQTLPL FKEGSSEGQG RASIRTLLRC

[0338] GVRPGPGSFL FMGWSRFGEA WLGCAPRFQE FSRVYSAALT THLNPCEMAL D

[0339] 신호 펩티드가 없는 마우스 메테오린 단백질 (서열번호 6)

GYSEDRCSWR GSGLTQEPGS VGQLTLDCTE GAIEWLYPAG ALRLTLGGPD PGTRPSIVCL RPERPFAGAQ
VFAERMTGNL ELLLAEGPDL AGGRCMRWGP RERRALFLQA TPHRDISRRV AAFRFELHED QRAEMSPQAQ
GLGVDGACRP CSDAELLLAA CTSDFVIHGT IHGVAHDTEL QESVITVVVA RVIRQTLPLF KEGSSEGQGR

[0340] ASIRTLLRCG VRPGPGSFLF MGWSRFGEAW LGCAPRFQEF SRVYSAALTT HLNPCEMALD

[0341] 래트 메테오린 cDNA (1026 bp; CDS=1-876) (서열번호 7)

[0342] >gi|34870570|ref|XM_213261.2| 라터스 노르베기커스(*Rattus norvegicus*), 1810034B16Rik 단백질과 유사 (LOC287151), mRNA

ATGCTGGTAGCGGCGCTTCTCTGCGCGCTGTGCTGCGGCCTCTTGGCTGCGTCCGCTCGAGCTGGCTACT
CCGAGGACCGCTGCAGCTGGAGGGGCAGCGGTTTGACCCAGGAACCTGGCAGCGTGGGGCAGCTGACCCT
GGATTGTACTGAGGGTGCTATCGAGTGGCTGTATCCAGCTGGGGCGCTGCGCCTGACTCTAGGCGGCTCT
GATCCGGGCACGCGGCCCAGCATCGTCTGTCTGCGCCCAACACGGCCCTTCGCTGGTGCCCAGGTCTTCG
CTGAACGGATGGCCGGCAACCTAGAGTTGCTACTGGCCGAGGGCCAAGGCCTGGCTGGGGGCCGCTGCAT
GCGCTGGGGTCCTCGCGAGCGCCGAGCCCTTTTCCTGCAGGCCACGCCACACCGGGACATCAGCCGCAGA
GTTGCTGCCTTCCAATTTGAACTGCACGAGGACCAACGTGCAGAAATGTCTCCCCAGGCCCAAGGTTTTG
GTGTGGATGGTGCCTGCAGGCCCTGCAGTGATGCCGAGCTCCTTCTGACTGCATGCACCAGTGACTTTGT
GATCCATGGGACCATCCATGGGGTCGTCCATGACATGGAGCTGCAAGAATCAGTCATCACTGTGGTGGCC
ACTCGTGTCATCCGCCAGACACTGCCACTGTTCCAGGAAGGGAGCTCGGAGGGCCGGGGCCAGGCCTCCG
TTCGTACCTTGTTGCGCTGTGGTGTGCGTCCTGGCCCAGGCTCCTTCCTCTTCATGGGCTGGAGCCGATT
TGGCGAAGCTTGGCTGGGCTGCGCTCCCCGCTTCCAAGAGTTCAGCCGTGTCTATTCAGCTGCTCTCGCG
GCCCACCTCAACCCATGTGAGGTGGCACTGGACTGAGAGACCTGGGAGCAAGCCCTGGATGGATCTTCCT
CTGGGGATGGGGTGTTGGGGAGGGGTGATAGGAGGGTGGGTGGGAAGGGTGTGGCTCAGATGGCATCCTG

[0343] GTACCCACAGTGAGGTGGTAGAATACTAAATAACCTGGATCACACC

[0344] 래트 메테오린 전장 아미노산 서열 (서열번호 8)

[0345] >IPI00369281.1 |REFSEQ_XP:XP_213261|ENSEMBL:ENSRNOP00000026676

MLVAALLCAL CCGLLAASAR AGYSEDRCSW RGSGLTQEPG SVGQLTLDCT EGAIEWLYPA
GALRLTLGGS DPGTRPSIVC LRPTRPFAGA QVFAERMAGN LELLLAEGQG LAGGRCMRWG
PRERRALFLQ ATPHRDISRR VAAFQFELHE DQRAEMSPQA QGFGVDGACR PCSDAELLLT
ACTSDFVIHG TIHGVVHDME LQESVITVVA TRVIRQTLPL FQEGSSEGRG QASVRTLLRC
GVRPGPGSFL FMGWSRFGEA WLGCAPRFQE FSRVYSAALA AHLNPCEVAL D

[0346]

[0347] 신호 펩티드가 없는 래트 메테오린, 단백질 (서열번호 9)

GYSEDRCSWR GSGLTQEPGS VGQLTLDCTE GAIEWLYPAG ALRLTLGGSD PGTRPSIVCL
RPTRPFAGAQ VFAERMAGNL ELLLAEGQGL AGGRCMRWGP RERRALFLQA TPHRDISRRV
AAFQFELHED QRAEMSPQAQ GFGVDGACRP CSDAELLLTA CTSDFVIHGT IHGVVHDMEL
QESVITVVAT RVIRQTLPLF QEGSSEGRGQ ASVRTLLRCG VRPGPGSFLF MGWSRFGEAW
LGCAPRFQEF SRVYSAALAA HLNPCEVALD

[0348]

[0349] 구축물 pCAn.메테오린 및 pT2.CAn.메테오린에 존재하는 코돈 최적화된 메테오린 뉴클레오티드 서열 (서열번호 10)

ATGGGCTTTCCCGCTGCCGCCCTGCTGTGCGCTCTGTGCTGCGGACTGCT
GGCTCCTGCAGCCAGAGCCGGCTACAGCGAGGAACGGTGCAGCTGGCGGG
GCAGCGGCCTGACCCAGGAACCTGGCAGCGTCGGCCAGCTCGCACTGGCC
TGTGCAGAAGGCGCCGTGGAGTGGCTGTACCCCGCAGGCGCCCTGAGACT
GACCCTGGGCGGACCCGACCCCAGAGCCAGACCCGGCATTGCCTGTCTGA
GGCCCGTGCGGCCTTTCGCTGGCGCCCAGGTGTTCGCCGAGAGAGCCGGC
GGAGCCCTGGAACTCCTGCTCGCCGAAGGCCCTGGTCCAGCCGGCGGAAG
ATGCGTGAGATGGGGCCCAAGAGAGCGGAGAGCCCTGTTCCTGCAAGCCA
CCCCCCACCAGGACATCAGCAGACGGGTGGCCGCCTTCAGATTCGAGCTG
CGGGAGGACGGTAGACCCGAGCTGCCACCTCAGGCCCACGGACTGGGAGT
GGACGGCGCCTGCAGACCCTGTAGCGACGCCGAGCTGCTGCTCGCCGCCT
GCACCAGCGACTTCGTGATCCACGGCATCATCCACGGCGTGACCCACGAC
GTGGAGCTGCAGGAAAGCGTCATCACCGTCGTCGCCGCCAGAGTGCTGAG
ACAGACCCCCCCTCTGTTCCAGGCCGGCAGAAGCGGCGACCAGGGCCTGA
CCAGCATCCGGACCCCCCTGAGATGCGGCGTGCATCCCGGACCCGGCACC
TTCCTGTTCATGGGCTGGTCCAGATTCGGCGAGGCCCGGCTGGGCTGCGC
TCCCCGGTTCCAGGAATTCAGACGGGCCTACGAGGCCGCCAGGGCCGCTC
ATCTGCACCCCTGCGAGGTGGCCCTGCATTGA

[0350]

[0351] 컨센서스 서열, 성숙한 메테오린 (서열번호 11)

GYSEXRCSWR GSGLTQEPGS VGQLXLXCXE GAXEWLYPAG ALRLTLGGXD PXXRPXIXCL 60
RPXRPFAGAQ VFAERXXGXL ELLLAEGXXX AGGRCXRWGP RERRALFLQA TPHXDISRRV 120
AAFXFELXED XRXEXXPQAX GXGVDGACRP CSDAELLLXA CTSDFVIHGX IHGVXHDXEL 180
QESVITVVXX RVXRQTXPLF XXGXSXXXGX XSXRTXLRCG VXPGPGXFLF MGWSRFGEAX 240
LGCAPRFQEF XRXYXAAXXX HLXPCEXALX 270

[0352]

[0353] X는 DNA에 의해 인코딩될 수 있는 21개의 아미노산 중 임의의 것이다.

[0354] **참고문헌**

Armelor, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 70: 2702 (1973).
Attal et al. 2010, “EFNS guidelines on the pharmacological treatment of neuropathic pain: 2010 revision”, Eur J Neurol. 2010 Sep;17(9):1113-e88. doi: 10.1111/j.1468-1331.2010.02999.x. Epub 2010 Apr 9.
Fisher Biotech Source 87-88, Fisher Scientific Co., 1987, pp. 72-75.
Banerji et al., Cell 27: 299 (1981).
Benoist and Chambon, Nature 290: 304 (1981).
Breathnach and Chambon, Ann. Rev. Biochem. 50: 349 (1981)).
Capecchi et al., In : Enhancer and eukaryotic gene expression, Gulzman and Shenk, eds., pp. 101-102, Cold Spring Harbor Laboratories (NY 1991).
Cleland, "Design and Production of Single Immunization Vaccines Using Polylactide Polyglycolide Microsphere Systems," in Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach, Powell and Newman, eds, (Plenum Press: New York, 1995), pp. 439-462
Corden et al., Science 209: 1406 (1980).
EMA/CHMP/970057/2011, “Guideline on the clinical development of medicinal products intended for the treatment of pain (EMA/CHMP/970057/2011)” from EMA.
FDA 34355740dft.docx 02/07/22, ” Draft Development of Non-Opioid Analgesics for Acute Pain Guidance for Industry” from FDA.
Finnerup et al. 2015, ”Pharmacotherapy for neuropathic pain in adults: systematic review, meta-analysis and updated NeuPSIG recommendations”, Lancet Neurol. 2015 Feb; 14(2): 162–173.
Fromm and Berg, J. Mol. Appl. Genetics, 1 : 457 (1982).
Gruss et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78: 943 (1981).
Hora et al., Bio/Technology, 8:755-758 (1990).
I. E. Creighton, Proteins-Structure and Molecular Properties, 2nd Ed., W. H. Freeman and Company, New York, 1993.
Johnson et al., Nat. Med., 2:795-799 (1996).
Jolly et al., Nucleic Acids Res. 11: 1855 (1983).
Jørgensen et al., Characterization of Meteorin – An evolutionary conserved neurotrophic factor, J mol Neurosci 2009 Sep; 39 (1-2): 104-116.
Lysaght et al., 56 J. Cell Biochem. 196 (1996).
Maniatis et al., in Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, (NY 1982).

[0355]

Maxam, et al., (Methods in Enzymology, 65: 499, 1980).Messing, et al., (Nucleic Acids Res., 9: 309-, 1981).
Moulin et al. 2014, "Pharmacological management of chronic neuropathic pain: Revised consensus statement from the Canadian Pain Society", Pain Res Manag. 2014 Nov-Dec; 19(6): 328–335.
Moreau et al., Nucleic Acids Res. 9: 6047 (1981).
NICE 2013, "Neuropathic pain in adults: pharmacological management in non-specialist settings", Clinical guideline [CG173], 20 November 2013.
Nishino et al., "Meteorin: a secret3ed protein that regulates glial cell differentitaion and promotes axonal extension", EMBO J., 23(9):1998-2008 (2004).
Prockop and Kivirikko, N. Eng. J. Med. 311: 376 (1984).
Rattan et al., Protein Synthesis: Posttranslational Modifications and Aging, Ann. N.Y. Acad. Sci. 663: 48-62, 1992.
Reagan-Shaw et al., FASEB J, 22, 659-661 (2007).
Rossi and deCrombrugghe, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 5590-5594 (1987)).
Schmidt et al., Nature 314: 285 (1985).
Seifter et al., Meth. Enzymol. 182: 626-646, 1990.
Sigma Cell Culture Catalog, Sigma Chemical Co., St, Louis, 1991, pp. 162-163
Smith and Niles, Biochem. 19: 1820 (1980).
Ventrex Product Catalog, Ventrex Laboratories, 1989.
Weiss et al., eds., The molecular biology of tumor viruses: RNA tumor viruses, Cold Spring Harbor Laboratory, (NY 1982)).
de Wet et al., J. Biol. Chem., 258: 14385 (1983).
Wold, F., in Posttranslational Covalent Modification of Proteins, B. C. Johnson, Ed., Academic Press, New York, pp 1-12, 1983.
Yasuda, Biomed. Ther., 27:1221-1223 (1993).

[0356]

[0357] **항목**

[0358] 1. i. 서열번호 3의 아미노산 서열; 및

[0359] ii. 서열번호 3의 아미노산 서열의 생물학적 활성 서열 변이체로서, 서열번호 3과 적어도 70%의 서열 동일성을 갖는 변이체

[0360] 로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는, 대상체에서 침해수용성 통증의 치료 또는 예방에서 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

[0361] 2. 전술한 항목 중 어느 한 항목에 있어서, 침해수용성 통증이 체성 통증 또는 내장 통증인, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

[0362] 3. 전술한 항목 중 어느 한 항목에 있어서, 침해수용성 통증이 염증성 통증, 하부 요통, 어깨 통증, 근골격계 통증, 관절염 통증, 관절통, 수술 후 통증, 외상 후 통증 또는 암 통증인, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

[0363] 4. 전술한 항목 중 어느 한 항목에 있어서, 침해수용성 통증이 염증성 통증 및 수술 후 통증으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

[0364] 5. 항목 3에 있어서, 침해수용성 통증이 염증성 통증, 예컨대 염증성 통각과민증인, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

[0365] 6. 항목 3에 있어서, 침해수용성 통증이 수술 후 통증인, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

[0366] 7. 항목 1에 있어서, 대상체가 관절염, 염증성 통증 및 수술 후 통증으로 이루어진 군으로부터 선택된 질환 또는 장애를 앓고 있는, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

[0367] 8. 항목 6에 있어서, 관절염이 골관절염, 류마티스 관절염 또는 루푸스로 이루어진 군으로부터 선택되는, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

[0368] 9. 항목 6에 있어서, 염증성 통증이 염증성 통각과민증, 수술 후 통증 및 관절염으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

[0369] 10. 전술한 항목 중 어느 한 항목에 있어서, 서열번호 3과 적어도 70%의 서열 동일성, 서열번호 3과 보다 바람직하게는 적어도 75%, 보다 바람직하게는 적어도 80%, 보다 바람직하게는 적어도 85%, 보다 바람직하게는 90%, 보다 바람직하게는 95%, 보다 바람직하게는 98%의 서열 동일성을 갖는, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

[0370] 11. 전술한 항목 중 어느 한 항목에 있어서, 서열번호 11의 컨센서스 서열을 포함하는, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

[0371] 12. 전술한 항목 중 어느 한 항목에 있어서, 서열번호 3의 아미노산 서열에 대해 위치 7, 28, 59, 95, 148, 151, 161, 219, 243 및 265에 시스테인 잔기를 갖는, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

[0372] 13. 전술한 항목 중 어느 한 항목에 있어서, 폴리펩티드가 변이체 폴리펩티드이고, 여기서 임의의 아미노산 치환이 보존적 치환인, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

[0373] 14. 전술한 항목 중 어느 한 항목에 있어서, 적어도 하나의 분자내 이황화물 가교를 형성할 수가 있는, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

[0374] 15. 전술한 항목 중 어느 한 항목에 있어서, 치료할 대상체가 포유동물, 바람직하게는 영장류, 보다 바람직하게는 인간인, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

[0375] 16. 전술한 항목 중 어느 한 항목에 있어서, 전신 투여에 의해 투여되는, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

[0376] 17. 전술한 항목 중 어느 한 항목에 있어서, 비경구 주사, 바람직하게는 피하 주사 또는 척추강내 주사에 의해 투여되는, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

[0377] 18. 전술한 항목 중 어느 한 항목에 있어서, 1 μg/kg - 10,000 μg/kg, 예컨대 1 μg/kg - 7,500 μg/kg, 예컨대 1 μg/kg - 5,000 μg/kg, 예컨대 1 μg/kg - 2,000 μg/kg, 예컨대 1 μg/kg - 1,000 μg/kg, 예컨대 1 μg/kg - 700 μg/kg, 예컨대 5 μg/kg - 500 μg/kg, 예컨대 10 μg/kg 내지 100 μg/kg 체중의 투여량으로 투여되는, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

[0378] 19. 전술한 항목 중 어느 한 항목에 있어서, 매주 적어도 1-3회, 예컨대 매주 2-5회, 예컨대 매주 3-6회 투여되는, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

[0379] 20. 전술한 항목 중 어느 한 항목에 있어서, 격일로 투여되는, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

[0380] 21. 전술한 항목 중 어느 한 항목에 있어서, 매일 투여되는, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

[0381] 22. 전술한 항목 중 어느 한 항목에 있어서, 상기 폴리펩티드의 투여가 침해수용성 통증의 증상의 개시 후에 개시되는, 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드.

[0382] 23. a. 서열번호 3의 아미노산 서열;

[0383] b. 서열번호 3의 아미노산 서열의 생물학적 활성 서열 변이체로서, 서열번호 3과 적어도 70%의 서열 동일성을 갖는 변이체

[0384] 로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열을 포함하는, 대상체에서 침해수용성 통증의 치료 또는 예방에서 사용하기 위한 단리된 핵산 분자.

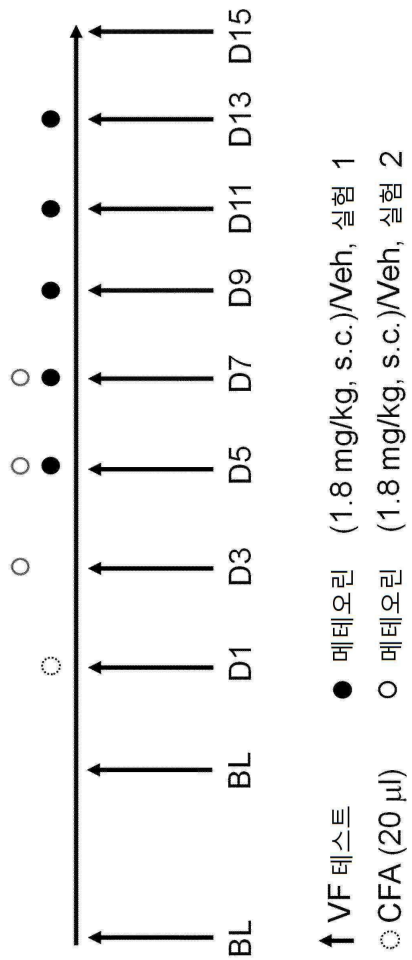
[0385] 24. 대상체에서 침해수용성 통증의 치료 또는 예방에서 사용하기 위한 벡터로서, 상기 벡터는 항목 1 내지 항목 22 중 어느 한 항목에 따른 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터.

[0386] 25. 항목 24에 있어서, 핵산 분자에 작동 가능하게 연결된 프로모터를 추가로 포함하는, 사용하기 위한 벡터.

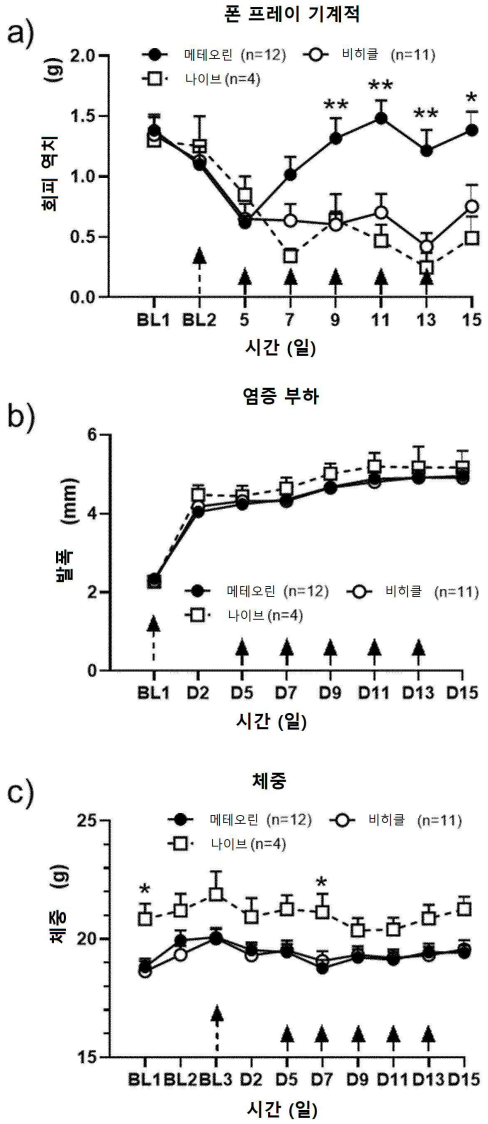
[0387] 26. 항목 24 또는 항목 25에 있어서, 알파바이러스, 아데노바이러스, 아데노 연관 바이러스, 바쿨로바이러스, HSV, 코로나바이러스, 소 유두종 바이러스, 및 Mo-MLV, 바람직하게는 아데노 연관 바이러스로 이루어진 군으로부터 선택되는, 사용하기 위한 벡터.

도면

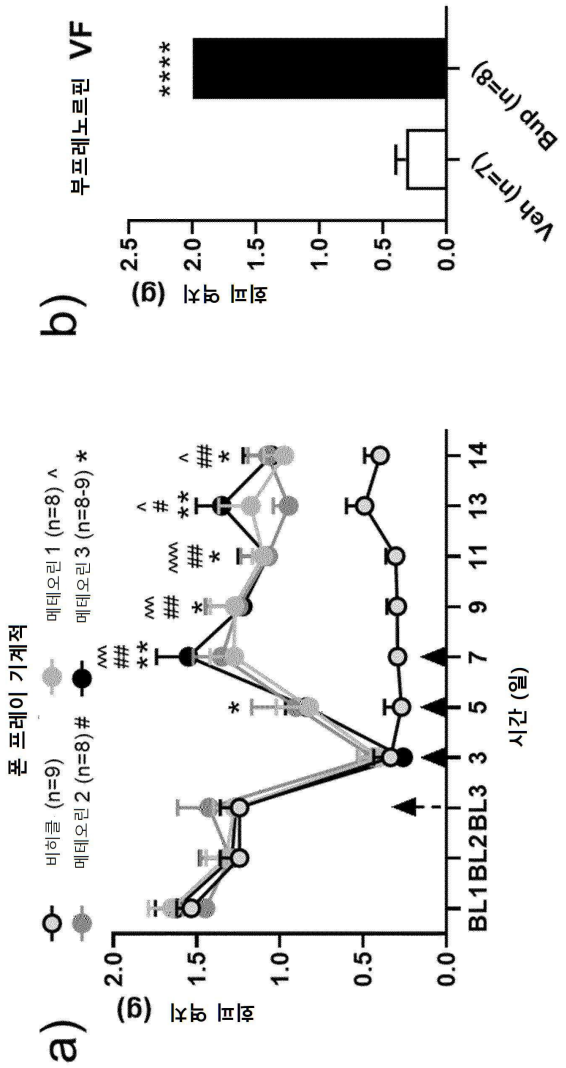
도면1


BL
BL
D1
D3
D5
D7
D9
D11
D13
D15
VF 테스트
CFA (20 μl)
메테오린 (1.8 mg/kg, s.c.)/Veh, 실험 1
메테오린 (1.8 mg/kg, s.c.)/Veh, 실험 2

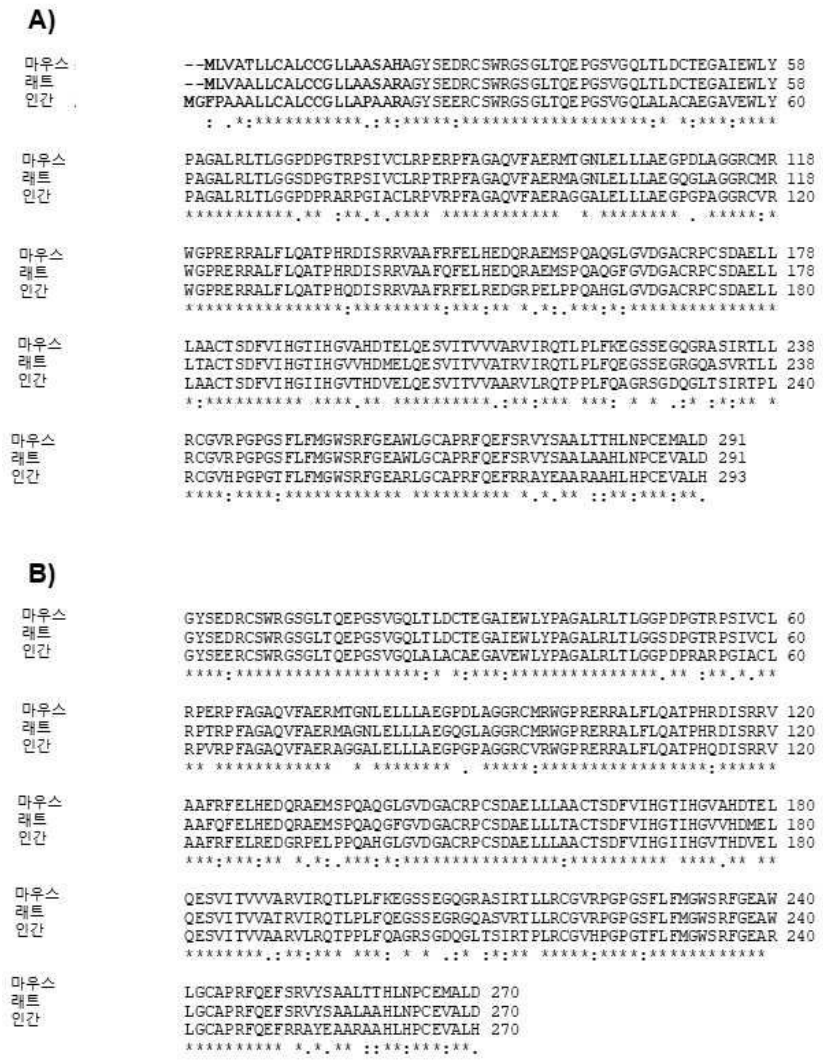
도면2


a)
폰 프레이 기계적
메테오린 (n=12)
비히클 (n=11)
나이브 (n=4)
회피 역치 (g)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
**
**
**
*
BL1 BL2 5 7 9 11 13 15
시간 (일)
b)
염증 부하
발목 (mm)
6
4
2
0
메테오린 (n=12)
비히클 (n=11)
나이브 (n=4)
BL1 D2 D5 D7 D9 D11 D13 D15
시간 (일)
c)
체중
메테오린 (n=12)
비히클 (n=11)
나이브 (n=4)
체중 (g)
25
20
15
*
*
BL1 BL2 BL3 D2 D5 D7 D9 D11 D13 D15
시간 (일)

도면3

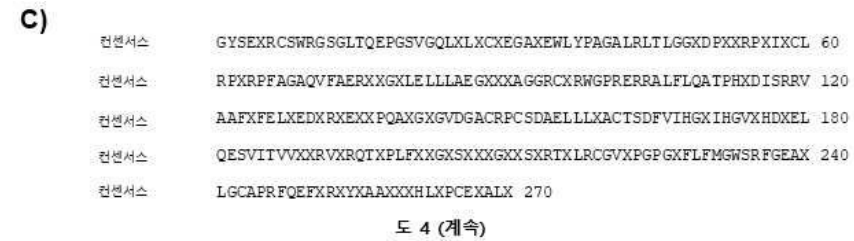

a)
폰 프레이 기계적
비히클 (n=9)
메테오린 1 (n=8) ^
메테오린 2 (n=8) #
메테오린 3 (n=8-9) *
회피 역치 (g)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
BL1
BL2
BL3
3
5
7
9
11
13
14
시간 (일)
b)
부프레노르핀 VF
회피 역치 (g)
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
****
Veh (n=7)
Bup (n=8)

도면4ab



도 4

도면4c



도 4 (계속)

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.