



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0117455
(43) 공개일자 2017년10월23일

- | | |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>A61K 39/395</i> (2006.01) <i>A61K 39/00</i> (2006.01)
 <i>A61K 47/68</i> (2017.01) <i>C07K 16/28</i> (2006.01)
 <i>C12Q 1/68</i> (2006.01) <i>G01N 33/574</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 <i>A61K 39/39558</i> (2013.01)
 <i>A61K 47/6825</i> (2017.08)</p> <p>(21) 출원번호 10-2017-7024869
 (22) 출원일자(국제) 2016년02월16일
 심사청구일자 없음
 (85) 번역문제출일자 2017년09월04일
 (86) 국제출원번호 PCT/SE2016/050116
 (87) 국제공개번호 WO 2016/133449
 국제공개일자 2016년08월25일
 (30) 우선권주장
 1550168-7 2015년02월16일 스웨덴(SE)</p> | <p>(71) 출원인
 신텔라 에이비
 스웨덴, 223 81 룬드, 메디콘 빌리지</p> <p>(72) 발명자
 룬드그렌 아커룬드, 예비
 스웨덴, 237 33 비야르드, 트롤조바겐 165
 기슬러, 라미로
 스웨덴, 224 60 룬드, 라거브링스 바그 6이
 탈츠, 안
 스웨덴, 245 93 스타판스토르프, 살스뢰브스 비야
 바그 31</p> <p>(74) 대리인
 손민</p> |
|--|--|

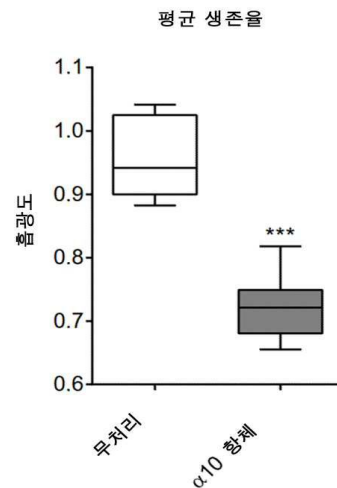
전체 청구항 수 : 총 57 항

(54) 발명의 명칭 CNS에서 악성 종양의 검출 및 치료

(57) 요약

본 발명은, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 또는 이의 단편 또는 변이체를 발현하는 포유동물 조직을 검출하고 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적인 약물을 투여함으로써 CNS의 악성 신생물을 진단 및 치료하는 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도11



(52) CPC특허분류

A61K 47/6849 (2017.08)
C07K 16/2845 (2013.01)
C12Q 1/6886 (2013.01)
G01N 33/57407 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/73 (2013.01)
C12Q 2600/156 (2013.01)
G01N 2333/70546 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

중추신경계에서 악성 신생물의 치료에 사용하기 위한 조성물로서,
상기 조성물이 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적으로 결합하는 항체를 포함하는, 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 항체가, 세포독성 모이어티, 예를 들면, 독소, 화학요법제 및 방사성 체제로부터 선택된 세포독성 모이어티에 공유 결합되는, 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 독소가 리보솜 불활성화 단백질, 예를 들면, 시가(shiga) 및 시가-형 독소; 타입 I 리보솜 불활성화 단백질, 예를 들면, 트리코산틴 및 루핀; 타입 II 리보솜 불활성화 단백질, 리신, 아글루티닌 및 아브린; 및 사포린으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 리보솜 불활성화 단백질인, 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 항체가 생물학적 반응 변형제, 예를 들면, 사이토킨, 예를 들면, 림포카인 또는 인터페론에 공유 결합되는, 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물이 하나 이상의 화학요법제를 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물이 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 희석제, 담체 또는 부형제를 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛이 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 천연 발생 변이체, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 이소형 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 스플라이싱 변이체인, 조성물.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 항체가 사포사를 유도할 수 있고/있거나, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛을 발현하는 세포의 성장 및/또는 증식 및 이동을 억제할 수 있는, 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 세포가 악성 세포 또는 종양-연관 세포인, 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 악성 세포 또는 종양-연관 세포가, 교세포; 주피 세포; 내피 세포; 조혈 세포; 줄기 세포; 및 소교세포로 이루어진 그룹으로부터 선택된 세포를 포함하는, 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 조혈 세포가, 조혈 줄기 세포, T-세포, B-세포, 형질 세포, NK-세포, 수지상 세포, 마크로파지 및 단핵구로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 마크로파지가 종양-연관 마크로파지(TAM)인, 조성물.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛이 인테그린 $\alpha 10\beta 1$ 헤테로이량체의 일부인, 조성물.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 치료가 예방적, 개선적 또는 치유적인, 조성물.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 치료가 상기 대상체에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 검출시에 개시되는, 조성물.

청구항 16

중추신경계에서 세포사를 유도하고/하거나 악성 신생물과 연관된 세포의 성장 및/또는 증식 및/또는 이동을 억제하는 방법으로서,

상기 세포가 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛을 발현하는, 방법.

청구항 17

포유동물의 중추신경계의 악성 신생물과 연관된 세포를 검출하는데 사용하기 위한 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 대해 특이성을 갖는 항체를 포함하거나 이들로 이루어진 제제로서,

상기 세포가 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛을 발현하는, 제제.

청구항 18

포유동물의 중추신경계에서 악성 신생물을 검출하는 방법으로서,

상기 방법은, 단리된 샘플에서,

a) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드를 포함하는 항원; 및/또는

b) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물의 존재 또는 부재를 분석하는 것을 포함하고,

여기서, a)의 항원 및/또는 b)의 폴리뉴클레오티드 전사물의 존재가 상기 포유동물의 중추신경계에서 악성 신생물을 나타내는, 방법.

청구항 19

악성 또는 종양-연관 포유동물 세포를 검출하는 방법으로서,

상기 방법은, 단리된 샘플에서,

a) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드를 포함하는 제1 항원; 및/또는

b) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체를 코딩하는 제1 폴리뉴클레오티드 전사물 및

c) EGFRvIII, 네스틴, PSA-NCAM, GFAP, PDGFRb(CD140b), PECAM-1(CD31), CD45, CD68, CD163 및 CD206으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 폴리펩티드를 포함하는 제2 항원; 및/또는

d) 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체를 코딩하는 제2 폴리뉴클레오티드 전사물로서, 상기 폴리펩티드가 EGFRvIII, 네스틴, PSA-NCAM, GFAP, PDGFRb (CD140b), PECAM-1 (CD31), CD45, CD68, CD163, 및 CD206로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 전사물의 존재 또는 부재를 분석하는 것을 포함하고,

여기서, a)의 제1 항원 및/또는 b)의 제1 폴리뉴클레오타이드 전사물의 존재가, c)의 제2 항원 및/또는 d)의 제2 전사물과 함께, 상기 포유동물 세포가 악성 세포 또는 종양-연관 세포인 것을 나타내는, 방법.

청구항 20

제18항 또는 제19항에 있어서, 상기 샘플이 악성 세포 또는 종양-연관 세포를 포함하고, 예를 들면, 상기 악성 세포 또는 종양-연관 세포가 교세포; 성상세포; 주피 세포; 내피 세포; 조혈 세포; 줄기 세포; 및 소교세포로 이루어진 그룹으로부터 선택된 세포를 포함하는, 방법.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 조혈 세포가 조혈 줄기 세포, T-세포, B-세포, 형질 세포, NK-세포, 수지상 세포, 마크로파지, 예를 들면, 종양-연관 마크로파지(TAM) 및 단핵구로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 방법.

청구항 22

제19항 내지 제21항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 세포가 EGFRvIII⁺ 세포, 네스틴⁺ 세포, PSA-NCAM⁺ 세포, GFAP⁺ 세포, PDGFRb⁺ 세포(CD140b⁺ 세포), PECAM-1⁺ 세포(CD31⁺ 세포), CD45⁺ 세포, CD68⁺ 세포, CD163⁺ 세포 및 CD206⁺ 세포, 또는 이의 임의의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 방법.

청구항 23

제19항 내지 제22항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 세포가 인테그린 α10 서브유닛⁺ 및 EGFRvIII⁺ 세포인, 방법.

청구항 24

제19항 내지 제22항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 세포가 인테그린 α10 서브유닛⁺ 및 네스틴⁺ 세포인, 방법.

청구항 25

제19항 내지 제22항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 세포가 인테그린 α10 서브유닛⁺ 및 PSA-NCAM⁺ 세포인, 방법.

청구항 26

제19항 내지 제22항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 세포가 인테그린 α10 서브유닛⁺ 및 GFAP⁺ 세포인, 방법.

청구항 27

제19항 내지 제22항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 세포가 인테그린 α10 서브유닛⁺ 및 PDGFRb⁺ 세포(CD140b⁺ 세포)인, 방법.

청구항 28

제19항 내지 제22항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 세포가 인테그린 α10 서브유닛⁺ 및 PECAM-1⁺ 세포(CD31⁺ 세포)인, 방법.

청구항 29

제19항 내지 제22항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 세포가 인테그린 α10 서브유닛⁺ 및 CD45⁺ 세포인, 방법.

청구항 30

제19항 내지 제22항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 세포가 인테그린 α10 서브유닛⁺ 및 CD68⁺ 세포인, 방법.

청구항 31

제19항 내지 제22항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 세포가 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛⁺ 및 CD163⁺ 세포인, 방법.

청구항 32

제19항 내지 제22항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 세포가 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛⁺ 및 CD206⁺ 세포인, 방법.

청구항 33

제1항 내지 제32항 중의 어느 한 항에 따르는 조성물, 제제 또는 방법으로서, 상기 악성 신생물이

a) i) 모양세포성(Pilocytic) 성상세포종(ICD-O 9421/1, WHO 등급 I), 필로믹소이드(Pilomyxoid) 성상세포종(ICD-O 9425/3, WHO 등급 II), 서브상의(Subependymal) 거대 세포 성상세포종(ICD-O 9384/1, WHO 등급 I), 다형성(Pleomorphic) 황색성상세포종(ICD-O 9424/3, WHO 등급 II), 미만성(Diffuse) 성상세포종(ICD-O 9400/3, WHO 등급 II), 미분화(Anaplastic) 성상세포종(ICD-O 9401/3, WHO 등급 III), 교아종(Glioblastoma)(ICD-O 9440/3, WHO 등급 IV), 거대 세포 교아종(ICD-O 9441/3, WHO 등급 IV), 교육종(Gliosarcoma)(ICD-O 9442/3, WHO 등급 IV), 대뇌 교종증(Gliomatosis cerebri)(ICD-O 9381/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 성상세포 종양, 및

ii) 희돌기교종(Oligodendroglioma)(ICD-O 9450/3, WHO 등급 II) 및 미분화 희돌기교종(ICD-O 9451/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 희돌기교세포(Oligodendroglial) 종양,

iii) 희돌기성상세포종(Oligoastrocytoma)(ICD-O 9382/3, WHO 등급 II) 및 미분화 희돌기성상세포종(ICD-O 9382/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 희돌기성상세포 종양, 및

iv) 서브상의세포종(Subependymoma)(ICD-O 9383/1, WHO 등급 I), 점액유두 뇌실막종(Myxopapillary ependymoma)(ICD-O 9394/1, WHO 등급 I), 상의종(Ependymoma)(ICD-O 9391/3, WHO 등급 II), 미분화 상의종(ICD-O 9392/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 상의 종양(Ependymal tumour), 및

v) 맥락막 신경총 유두종(Choroid plexus papilloma)(ICD-O 9390/0, WHO 등급 I), 비전형 맥락막 신경총 유두종(Atypical choroid plexus papilloma)(ICD-O 9390/1, WHO 등급 II) 및 맥락막 신경총 암(Choroid plexus carcinoma)(ICD-O 9390/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 맥락막 신경총 종양, 및

vi) 성상아세포종(Astroblastoma) (ICD-O 9430/3, WHO 등급 I), 제3 뇌실의 척삭모양 교종(Chordoid glioma)(ICD-O 9444/1, WHO 등급 II) 및 혈관중심성 교종(Angiocentric glioma)(ICD-O 9431/1, WHO 등급 I)으로부터 선택된 기타 신경상피 종양

vii) 소뇌의 이형성 신경절 세포종(Dysplastic gangliocytoma)(Lhermitte-Duclos)(ICD-O 9493/0), 섬유조직형 성상 유아 성상세포종/신경절교종(Desmoplastic infantile astrocytoma/ganglioglioma)(ICD-O 9412/1, WHO 등급 I), 이상 배세포성 신경상피 종양(Dysembryoplastic neuroepithelial tumour)(ICD-O 9413/0, WHO 등급 I), 신경교종(Gangliocytoma)(ICD-O 9492/0, WHO 등급 I), 신경절교종(Ganglioglioma)(ICD-O 9505/1, WHO 등급 I), 미분화 신경절교종(ICD-O 9505/3, WHO 등급 III), 중추 신경세포종(Central neurocytoma)(ICD-O 9506/1, WHO 등급 II), 뇌실의 신경세포종(Extraventricular neurocytoma)(ICD-O 9506/1, WHO 등급 II), 소뇌 지방신경세포종(Cerebellar liponeurocytoma)(ICD-O 9506/1, WHO 등급 II), 유두상 글리오뉴로날 종양(Papillary glioneuronal tumour)(ICD-O 9509/1, WHO 등급 I), 제4 뇌실의 로제트-형성 글리오뉴로날 종양(Rosette-forming glioneuronal tumour)(ICD-O 9509/1, WHO 등급 I) 및 부신경절종(Paraganglioma)(ICD-O 8680/1, WHO 등급 I)으로부터 선택된 뉴런 및 혼합 뉴런-교세포 종양,

viii) 송과체세포종(Pineocytoma)(ICD-O 9361/1, WHO 등급 I), 중간 분화의 송과체 실질 종양(Pineal parenchymal tumour)(ICD-O 9362/3, WHO 등급 II, III), 송과체아종(Pineoblastoma)(ICD-O 9362/3, WHO 등급 IV) 및 송과체 영역의 유두 종양(Papillary tumour)(ICD-O 9395/3, WHO 등급 II, III)으로부터 선택된 송과체 영역의 종양,

ix) 수아세포종(Medulloblastoma)(ICD-O 9470/3, WHO 등급 IV), 광범위한 소결절형성을 갖는 수아세포종(ICD-O 9471/3, WHO 등급 IV), 미분화 수아세포종(ICD-O 9474/3, WHO 등급 IV), CNS 원시 신경외배엽성 종양(Primitive neuroectodermal tumour)(ICD-O 9473/3, WHO 등급 IV), CNS 신경아세포종(Neuroblastoma)(ICD-O

9500/3, WHO 등급 IV) 및 비정형 기형종양/랩도이드 종양(Atypical teratoid/rhabdoid tumour)으로부터 선택된 배아 종양

으로부터 선택된 신경상피 조직의 종양,

b) i) 신경초종(Schwannoma)(ICD-O 9560/0, WHO 등급 I),

ii) 신경섬유종(Neurofibroma)(ICD-O 9540/0, WHO 등급 I),

iii) 신경주위막종(Perineurioma)(ICD-O 9571/0, 9571/3, WHO 등급 I, II, III) 및

iv) 악성 말초 신경초 종양(Malignant peripheral nerve sheath tumour)(MPNST) (ICD-O 9540/3, WHO 등급 II, III, IV)

으로부터 선택된 두개내(cranial) 및 척추주위(paraspinal) 신경의 종양, 및

c) i) 수막종(Meningioma)(ICD-O 9530/0, WHO 등급 I), 비전형 수막종(ICD-O 9539/1, WHO 등급 II), 미분화 수막종(ICD-O 9530/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 수막세포성 세포의 종양, 및

ii) 지방종(Lipoma)(ICD-O 8850/0), 혈관지방종(Angiolipoma)(ICD-O 8861/0), 갈색지방종(Hibernoma)(ICD-O 8880/0), 지방육종(Liposarcoma)(ICD-O 8850/3), 고립성 섬유성 종양(Solitary fibrous tumour)(ICD-O 8815/0), 섬유육종(Fibrosarcoma)(ICD-O 8810/3), 악성 섬유성 조직구종(Malignant fibrous histiocytoma)(ICD-O 8830/3), 평활근종(Leiomyoma)(ICD-O 8890/0), 평활근육종(Leiomyosarcoma)(ICD-O 8890/3), 횡문근(Rhabdomyoma)(ICD-O 8900/0), 횡문근육종(Rhabdomyosarcoma)(ICD-O 8900/3), 연골종(Chondroma)(ICD-O 9220/0), 연골육종(Chondrosarcoma)(ICD-O 9220/3), 골종(Osteoma)(ICD-O 9180/0), 골육종(Osteosarcoma)(ICD-O 9180/3), 골-연골종(Osteo-chondroma)(ICD-O 9210/0), 혈관종(Haemangioma)(ICD-O 9120/0), 유사피 혈관내피종(Epithelioid hemangioendothelioma)(ICD-O 9133/1), 혈관주위 세포종(Haemangiopericytoma)(ICD-O 9150/1, WHO 등급 II), 미분화 혈관주위 세포종(ICD-O 9150/3, WHO 등급 III) 및 혈관육종(Angiosarcoma)(ICD-O 9120/3) 3.2.22 카포시 육종(Kaposi Sarcoma)(ICD-O 9140/3), 유잉 육종(Ewing Sarcoma)-PNET (ICD-O 9364/3)으로부터 선택된 간엽 종양, 및

iii) 미만성 멜라닌세포증(Diffuse melanocytosis)(ICD-O 8728/0), 멜라닌세포종(Melanocytoma)(ICD-O 8728/1), 악성 흑색종(Malignant melanoma)(ICD-O 8720/3), 수막성 멜라닌종증(Meningeal melanomatosis)(ICD-O 8728/3)으로부터 선택된 일차 멜라닌세포 병변, 및

iv) 헴-혈관아세포종(Haem-angioblastoma)(ICD-O 9161/1, WHO 등급 I)과 같은 수막과 관련된 기타 신생물로부터 선택된 수막의 종양,

d) i) 악성 림프종(Malignant Lymphomas)(ICD-O 9590/3) 4.2 형질세포종(Plasmocytoma)(ICD-O 9731/3) 및

ii) 과립구성 육종(Granulocytic sarcoma)(ICD-O 9930/3)

으로부터 선택된 조혈계의 종양

e) i) 두개인두종(Craniopharyngioma)(ICD-O 9350/1, WHO 등급 I),

ii) 과립 세포 종양(Granular cell tumour)(ICD-O 9582/0, WHO 등급 I)

iii) 뇌하수체세포종(Pituicytoma)(ICD-O 9432/1, WHO 등급 I) 및

iv) 샘뇌하수체의 방추 세포 호산성세포종(Spindle cell oncocytoma)(ICD-O 8991/0, WHO 등급 I)

으로부터 선택된 셀러 영역(sellar region)의 종양

으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 조성물, 제제 또는 방법.

청구항 34

제1항 내지 제33항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 악성 신생물이 등급 II, III 또는 IV 신경교종과 같은 신경교종인, 조성물, 제제 또는 방법.

청구항 35

제1항 내지 제34항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 악성 신생물이 정상세포종인, 조성물, 제제 또는 방법.

청구항 36

제1항 내지 제35항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 악성 신생물이 일차 또는 이차 교아종과 같은 교아종인, 조성물, 제제 또는 방법.

청구항 37

제1항 내지 제36항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 악성 신생물이 수아세포종인, 조성물, 제제 또는 방법.

청구항 38

제1항 내지 제37항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 악성 신생물이 신경아세포종인, 조성물, 제제 또는 방법.

청구항 39

제33항 내지 제38항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플이 뇌 조직 또는 척수 조직 샘플인, 조성물.

청구항 40

제33항 내지 제39항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플이 혈액 샘플인, 조성물.

청구항 41

제1항 내지 제40항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 항체가 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 항체 단편 및 단일 사슬 항체로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 조성물, 제제 또는 방법.

청구항 42

제1항 내지 제41항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 항체가 모노클로날 항체인, 조성물, 제제 또는 방법.

청구항 43

제1항 내지 제42항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 항체가 비-인간 항체, 키메라 항체, 이중특이적 항체, 인간화 항체 또는 인간 항체인, 조성물, 제제 또는 방법.

청구항 44

제1항 내지 제43항 중의 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 항체가 검출가능한 모이어티, 예를 들면, 형광단, 효소 또는 방사성 트레이서 또는 방사성 동위원소로 이루어진 그룹으로부터 선택된 검출가능한 모이어티에 공유 결합되는, 조성물, 제제 또는 방법.

청구항 45

제1항 내지 제44항 중의 어느 한 항에 있어서, 세포독성 모이어티 및/또는 검출가능한 모이어티가 연결 모이어티를 통해 항체 또는 항원-결합 단편에 직접 결합되는, 조성물, 제제 또는 방법.

청구항 46

제1항 내지 제45항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 항체가 IgA, IgD, IgG 및 IgM으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 이소형을 갖는, 조성물, 제제 또는 방법.

청구항 47

제1항 내지 제46항 중의 어느 한 항에 있어서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적인 상기 항체가

a) 수탁번호 DSM ACC2583하에 도이츠 삼룽 폰 마이크로오르가스멘 운트 젤쿨투렌 게엠베하(Deutsche Sammlung von Microorganismen und Zellkulturen GmbH)에 기탁된 하이브리도마 세포주에 의해 생산된 모노클로날 항체; 또는

b) 수탁번호 DSM ACC2583하에 도이츠 삼룽 폰 마이크로오르가스멘 운트 젤쿨투렌 게엠베하(Deutsche Sammlung

von Microorganismen und Zellkulturen GmbH)에 기탁된 하이브리도마에 의해 생산된 모노클로날 항체에 의해 결합된 에피토프와 동일한 에피토프에의 결합에 대해 경쟁하는 항체; 또는

c) 상기 a) 또는 b)의 단편으로서, 상기 단편이 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 쇄의 세포외 I-도메인에 특이적으로 결합할 수 있는 단편인, 조성물, 제제 또는 방법.

청구항 48

방사성 트레이서에 공유 결합된 인테그린- $\alpha 10$ 특이적 항체를 포함하는 항체-약물 접합체.

청구항 49

제48항에 있어서, 신경교종, 신경아세포종 또는 수아세포종과 같은 중추신경계의 악성 신생물의 진단에 사용하기 위한, 항체-약물 접합체.

청구항 50

인테그린 $\alpha 10$ 특이적 항체 및 방사성 트레이서를 포함하는 나노입자.

청구항 51

시험관내, 동일 반응계내 또는 생체내에서 신경교종, 신경아세포종 또는 수아세포종과 같은 중추신경계의 악성 신생물을 검출하는 키트로서,

상기 키트가 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적인 항체, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원에 특이적으로 결합할 수 있는 펩티드, 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 전사물 또는 이의 상보체와 특이적으로 하이브리드화할 수 있는 폴리뉴클레오티드, 및 임의로, 사용 설명서를 포함하는, 키트.

청구항 52

중추신경계에서 악성 신생물을 앓고 있는 대상체를 치료하는 방법으로서,

상기 방법은

a) 대상체가 중추신경계의 악성 신생물을 앓고 있는지를 제33항 내지 제38항 중의 어느 한 항에 따라 측정하는 단계 및

b) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적으로 결합하는 치료학적 유효량의 항체를 중추신경계의 악성 신생물을 갖는 것으로 진단된 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 53

중추신경계에서 악성 신생물의 치료용 의약을 제조하기 위한, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적으로 결합하는 항체를 포함하는 조성물의 용도.

청구항 54

포유동물에서 종양 연관 혈관신생을 억제하는 방법으로서, 상기 방법이 치료학적 유효량의 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체를 상기 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 55

리보솜 불활성화 단백질과 같은 세포독성제에 공유 결합된 항-인테그린- $\alpha 10$ 서브유닛 특이적 항체를 포함하는 항체-약물 접합체.

청구항 56

제55항에 있어서, 상기 리보솜 불활성화 단백질이 시가(shiga) 및 시가-형 독소; 타입 I 리보솜 불활성화 단백질, 예를 들면, 트리코산틴 및 루핀; 타입 II 리보솜 불활성화 단백질, 리신, 아글루티닌 및 아브린; 및 사포린으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 항체-약물 접합체.

청구항 57

제1항 내지 제56항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛이 인테그린 $\alpha 10\beta 1$ 헤테로이량체의 일부로서 존재하는, 조성물, 제제, 방법, 용도 또는 항체-약물 접합체.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 발현에 기초하여 중추신경계에서 악성 종양을 검출 및 치료하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 원발성 뇌 종양은 뇌 조직 내에서 기원한다. 원발성 뇌 종양에는 몇몇 종류가 있다. 진단된 악성 원발성 뇌 종양의 가장 일반적 타입은 신경교종의 그룹에 속한다. 신경교종은 몇몇 타입의 교세포(glia cell), 예를 들면, 성상세포(astrocyte), 희돌기교세포(oligodendrocyte), 및 상의 세포(ependymal cell)로부터 발달할 수 있다. 신경교종은 종양의 성장능 및 공격성을 반영하여 낮은 등급(I)로부터 높은 등급(IV)까지 평가된다.

[0003] 교아종(또한 교아종 다형태로서 공지됨, GBM)은 신경교종의 그룹에 속하고, 높은 등급 신경교종으로 평가된다. 이는 가장 일반적이고 가장 공격적인 타입의 원발성 뇌 종양이다. 세계 보건 기구(WHO) 분류에 의해 기재된 바와 같이, 교아종 종양은 미분화 세포에 의해 둘러싸인 괴사 조직의 작은 부분의 존재를 특징으로 한다. 이러한 특징은, 과형성 혈관의 존재와 함께, 이들 특징을 갖지 않는 등급 III 성상세포종으로 종양을 구별한다. 형태학으로만 기초하지 않는 새로운 분류 도식은 이들 종양을 추가로 구별하는 분자의 차이를 도입할 가능성이 있다. 따라서, 교아종은 이들의 분자 발현 패턴에 따라 4개의 상이한 서브타입으로 추가 특성화될 수 있다[참조: Verhaak et al, 2010; Dunn et al, 2012]. 표피 성장 인자 수용체(EGFR), 신경섬유종증(NF1), 혈소판 유래 성장 인자 수용체 A(PDGFR α) 및 이소시트레이트 데하이드로게나제(IDH1)의 이상 및 유전자 발현에 의해 고전적, 간엽계, 전신 및 신경계 서브타입이 정의된다.

[0004] 교아종은 상이한 타입의 세포를 함유하는 고도의 이종성 종양이고, 환자 사이의 세포 내용에 큰 변화가 있다. 발생하는 세포 타입은, 예를 들면, 성상세포, 희돌기교세포(oligodendrocyte) 및 섬유아세포이다. 종양 세포는 확산하고 인접한 조직에 매우 신속하게 침윤하고, 방사선 및 화학요법 양자에 대해 높은 내성을 나타낸다. 이 질환의 약 28,000개 신규 종래가 미국 및 유럽에서 매년 진단되고 있다(공급처: U.S. National Cancer Registry). 교아종은 가장 치명적 뇌 종양이다. 치료를 받지 않는 경우에는 중간 생존 기간이 4개월이고, 이용 가능한 치료의 경우에는 약 15개월이다. 다수의 환자는 진단으로부터 6개월 이상 생존하지 못하고, 대부분의 환자는 2년 이내에 사망한다. 소수만이 5년간 생존한다.

[0005] 오늘날까지, 특정의 수술전 실험실 연구는 GBM의 진단에 도움을 주지 못한다. 콘트라스트의 유무에 상관 없이, 컴퓨터 단층촬영, 자기 공명 영상법, 양전자 방출 단층촬영 및 자기 공명 분광법을 포함하는, 진단을 수행하기 위해서는 뇌의 화상 검사가 필수적이다. 진단을 확실히 하기 위해, 뇌 조직의 병리 검사를 수행할 필요가 있다. 종양 유전학은 보조 요법에 대하여 반응을 예측하는데 유용하다. 그러나, 오늘날, 상이한 타입의 교아종 사이의 치료 선택에 차이는 없다.

[0006] 교아종은 CNS의 가장 일반적이고 가장 공격적인 악성 신생물이다. 발생율은 2 내지 3 사례/100,000명이다. 오늘날의 치료는 수술, 화학요법 및 방사선요법을 포함한다. 표준 치료는, 뇌에 대한 압박을 경감하는 최대의 외과적 절개, 방사선요법, 및 테모졸로미드와의 동시 및 보조 화학요법으로 이루어진다. 치료를 받지 않는 경우에는 평균 생존 기간이 4.5개월이고, 현재의 치료법이 이용 가능한 경우, 이는 15개월까지 연장될 수 있다. 질환의 중증도 때문에, 교아종 및 뇌의 기타 악성 신생물을 치료하기 위한 신약의 발견이 시도되고 있다. 그러나, 이들 치료법도 종래의 치료법도 교아종 환자를 위한 유의한 개선, 또는 생존율의 증가를 제공하지 못했다.

[0007] 따라서, 신경교종을 포함하는 CNS의 악성 신생물의 검출, 진단 및 치료를 위한 보다 유효한 방법을 발견하는 것이 급선무이다.

발명의 내용

[0008] 본 발명자들은 단백질 인테그린 $\alpha 10\beta 1$ 이 CNS의 악성 신생물로부터 수득된 조직에서 발현되는 것을 발견했다. 이러한 발견에 기초하여, 본 발명자들은 CNS의 악성 신생물을 진단 및 치료하는 목적으로 인테그린 $\alpha 10$ 서브유

닛을 검출하는 방법 및 도구를 개발했다.

- [0009] 따라서, 본 발명의 목적은 환자의 CNS에서 악성 신생물의 존재를 측정하는 방법을 제공하고 이를 치료하는 것이다.
- [0010] 한 가지 양태에서, 본 발명은 중추신경계에서 악성 신생물의 치료에 사용하기 위한 조성물로서, 상기 조성물이 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적으로 결합하는 항체를 포함하는, 조성물에 관한 것이다.
- [0011] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 이를 필요로 하는 대상체의 중추신경계에서 악성 신생물의 치료 방법으로서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적으로 결합하는 항체를 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 치료 방법에 관한 것이다.
- [0012] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 중추신경계에서 악성 신생물을 앓고 있는 대상체를 치료하는 방법으로서,
- [0013] a) 대상체가 중추신경계의 악성 신생물을 앓고 있는지를 본원에 기재된 방법에 따라 측정하는 단계 및
- [0014] b) 선행 실시형태 중의 어느 하나에 정의된 상기 대상체에게, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적으로 결합하는 치료학적 유효량의 항체를 중추신경계의 악성 신생물로 진단된 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법에 관한 것이다.
- [0015] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 중추신경계에서 악성 신생물의 치료용 의약을 제조하기 위한, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적으로 결합하는 항체를 포함하는 조성물의 용도에 관한 것이다.
- [0016] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 포유동물에서 종양 연관 혈관신생을 억제하는 방법으로서, 선행 청구항 중의 어느 하나에 따라 치료학적 유효량의 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체를 상기 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 방법에 관한 것이다.
- [0017] 또 다른 양태에서, 본 발명은 방사성 트래이서 또는 세포독성 모이어티에 공유 결합된 인테그린- $\alpha 10$ 특이적 항체를 포함하는 항체-약물 접합체에 관한 것이다.
- [0018] 또 다른 양태에서, 본 발명은 인테그린 $\alpha 10$ 특이적 항체 및 방사성 트래йс어를 포함하는 나노입자에 관한 것이다.
- [0019] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 시험관내, 동일 반응계내 또는 생체내에서 신경교종과 같은 중추신경계의 악성 신생물을 검출하는 키트로서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적인 항체, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원에 특이적으로 결합할 수 있는 펩티드, 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 전사물 또는 이의 상보체와 특이적으로 하이브리드화할 수 있는 폴리뉴클레오티드, 및 임의로, 사용 설명서를 포함하는, 키트에 관한 것이다.
- [0020] 본 발명의 추가의 목적은, 신경교종 등의 CNS의 악성 신생물의 검출, 진단 및 성공적 및 표적화 치료에 사용될 수 있는 생성물을 제공하는 것이다.
- [0021] 첫번째 양태에서, 본 발명은, 포유동물의 중추신경계에서 악성 신생물을 검출하는 방법으로서, 단리된 샘플에서,
- [0022] i) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드를 포함하는 항원; 또는
- [0023] ii) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물의 존재 또는 부재를 분석하는 것을 포함하고,
- [0024] 여기서, a)의 항원 및/또는 b)의 폴리뉴클레오티드 전사물의 존재가 상기 포유동물의 중추신경계에서 악성 신생물을 나타내는, 방법에 관한 것이다.
- [0025] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 포유동물의 중추신경계에서 악성 신생물을 검출하는 방법으로서, 상기 방법은
- [0026] a) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리뉴클레오티드 전사물에 특이적으로 결합할 수 있는 분자 프로브(여기서, 상기 분자 프로브는 광자를 방출할 수 있는 모이어티에 공유 결합한다)를 대상체에게 투여하는 단계,
- [0027] b) 상기 모이어티로부터 방출된 광자를 검출하고, 중추신경계 또는 이의 일부의 화상을 형성하는 단계를 포함하고,
- [0028] 여기서, 상기 모이어티로부터 광자의 국제화 방출은 상기 포유동물의 중추신경계에서 악성 신생물을 나타내는,

방법에 관한 것이다.

- [0029] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 포유동물의 중추신경계에서 악성 신생물을 진단하는 시험관내 진단 방법으로서, 상기 방법은
- [0030] a) 시험관내 샘플을, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리뉴클레오티드 전사물에 특이적으로 결합할 수 있는 분자 프로브(여기서, 상기 분자 프로브는 광자를 방출할 수 있는 모이어티에 공유 결합한다)와 접촉시키는 단계, 및
- [0031] b) 상기 모이어티로부터 방출된 광자를 검출하고, 샘플의 화상을 형성하는 단계를 포함하고,
- [0032] 여기서, 상기 모이어티로부터 광자의 국제화 방출은 상기 포유동물의 중추신경계에서 악성 신생물을 나타내는, 방법에 관한 것이다.
- [0033] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 단리된 샘플에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 검출을 위한 시험관내 방법으로서,
- [0034] 상기 방법은, 단리된 샘플에서,
- [0035] a) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드를 포함하는 항원; 또는
- [0036] b) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물의 존재 또는 부재를 분석하는 것을 포함하고,
- [0037] 여기서, 상기 a)의 항원 및/또는 b)의 폴리뉴클레오티드 전사물의 존재가 상기 단리된 샘플에서 악성 신생물을 나타내는, 방법에 관한 것이다.
- [0038] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 시험관내, 동일 반응계내 또는 생체내에서 생물학적 샘플 중의 중추신경계의 악성 신생물을 검출하기 위한 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적으로 결합하는, 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛-특이적 항체의 용도에 관한 것이다.
- [0039] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 시험관내, 동일 반응계내 또는 생체내에서 생물학적 샘플 중의 중추신경계의 악성 신생물을 검출하기 위해 하이브리드화 반응으로 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 mRNA 또는 cDNA에 결합하는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 핵산 프로브의 용도에 관한 것이다.
- [0040] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 중추신경계의 악성 신생물을 진단하는 키트의 제조에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 핵산 프로브 화합물의 용도에 관한 것이다.
- [0041] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 중추신경계의 악성 신생물을 검출하는 키트의 제조에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 결합하는 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛-특이적 항체의 용도에 관한 것이다.
- [0042] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 대상체가 중추신경계의 악성 신생물을 갖는지를 진단, 모니터링 또는 측정하기 위한 진단제의 제조를 위한 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 핵산 프로브의 용도로서, 상기 진단제가 생물학적 샘플에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리뉴클레오티드의 존재를 측정하기 위해 제조되고, 상기 샘플 중의 상기 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리뉴클레오티드의 존재가 상기 대상체의 중추신경계의 악성 신생물을 나타내는, 용도에 관한 것이다.
- [0043] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 포유동물이 중추신경계의 악성 신생물을 갖는지를 진단, 모니터링 또는 측정하기 위한 진단제의 제조를 위한 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 결합하는 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛-특이적 항체의 용도로서, 상기 진단제가 샘플에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드의 존재를 측정하기 위해 제조되고, 상기 샘플 중의 상기 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드의 존재가 상기 포유동물의 중추신경계의 악성 신생물을 나타내는, 용도에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0044] 도 1: 뇌의 악성 신생물 및 이들의 진행의 개요. 악성 신생물은 이들의 명백한 형태에 따라 표현형적으로 분류되고, 종양의 조직학적 특징에 기초하여 이들의 중증도에 따라 평가된다. 이 도면에는 신경교종, 및 정상 세포로부터 교아종으로의 추정적 종양 진행 경로의 주요 분류가 제시되어 있다.

도 2: 인테그린 $\alpha 10$ 은 교아종 종양 조직으로부터 단리된 세포에 의해 발현된다. 인테그린 $\alpha 10$ 에 대해 지시된 항체를 사용함으로써, 인테그린 $\alpha 10$ 은 면역형광 염색에 의해 시각화된 교아종 세포주 중의 교아종 세포 상에 특이적으로 및 강력하게 발현되는 것으로 나타났다.

도 3: 인테그린 $\alpha 10$ 은 교아종 조직 중의 세포에 의해 발현된다. 인테그린 $\alpha 10$ 에 대해 지시된 항체를 사용함으로써, 인테그린 $\alpha 10$ 은 면역형광 염색에 의해 시각화된 교아종 조직 샘플로 이루어진 환자 재료 중의 교아종 세포 상에 특이적으로 및 강력하게 발현되는 것으로 나타났다.

도 4: 인테그린 $\alpha 10$ 은 교아종 조직에서 검출되지만, 영향을 받지 않은 뇌 조직에서는 검출되지 않는다. 도 4A는 전형적 뇌 형태를 갖는 환자 샘플의 일부를 나타내고, 도 4B는 악성 뇌 조직(교아종 다형태)을 갖는 동일한 샘플의 또 다른 부분을 나타낸다. 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 대해 지시된 폴리클로날 항체[참조: Camper et al (1998) J Biol Chem. 273(32):20383-9]를 사용함으로써, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛은 교아종 세포 상에서 특이적으로 및 강력하게 발현되지만, 형태학적으로 영향을 받지 않은 뇌 조직에서는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 무시할 수 있는 발현이 관찰되었다.

도 5: 인테그린 $\alpha 10$ 의 발현은 상이한 등급의 신경교종에서 상이하게 검출된다. 인테그린 $\alpha 10$ 에 대해 지시된 항체를 사용함으로써, 인테그린 $\alpha 10$ 은, 면역조직화학 염색에 의해 시각화된, 성상세포종 등급 II(소수의 세포; 화살표 참조)(A), 성상세포종 등급 III(B), 또한 성상세포종 등급 IV로서 공지된 교아종 다형태(C)로 이루어진 환자 뇌 종양 조직 샘플 중의 세포 상에서 특이적으로 발현된다. 인테그린 $\alpha 10$ 의 발현은 등급과 함께 증가하고, 성상세포종 등급 III 및 IV에서 강력하게 발현된다. 혈관 내의 세포의 양성 염색은 모든 등급의 신경교종에서 발견할 수 있다(D).

도 6: 신경아세포종 및 수아세포종에서 인테그린 $\alpha 10$ 의 발현. 인테그린 $\alpha 10$ 에 대해 지시된 항체를 사용함으로써, 인테그린 $\alpha 10$ 은, 면역조직화학에 의해 시각화된 바와 같이, 환자로부터 신경아세포종 종양 조직(A) 및 수아세포종 종양 조직(B) 중의 세포 상에서 특이적으로 및 강력하게 발현되는 것으로 나타났다.

도 7: 인테그린 $\alpha 10$ 은 몇몇 뇌 종양 조직에서 검출된다. 뇌 암 cDNA 어레이를, 환자 뇌 종양 조직 재로서 유전자 발현 차이 분석 및 유전자 발현 검증을 위해 사용했다. 각 어레이의 cDNA는 2개의 연속 qPCR 분석에서 β -액틴으로 정규화 및 검증된 병리학자-확인 조직의 고품질 전체 RNA로부터 합성했고, 임상 정보와 함께 분석했다. 도면은 2회 작동에 대한 평균 상태 정량(RQ) 값을 나타낸다. 도면에서 볼 수 있는 바와 같이, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 대한 mRNA는 성상세포종, 미분화 성상세포종, 섬유성 성상세포종, 교아종 다형태, 뇌의 혈관세포종, 수막종, 뇌관종 혈관종, 비정형 수막종, 섬유아세포성 수막종, 수막표피 수막종, 미세낭종 수막종, 분비 수막종, 희돌기성상세포종, 미분화 희돌기성상세포종, 희돌기교종 및 미분화 희돌기교종에서 검출할 수 있다.

도 8: 교아종 조직 중의 세포 상에서 인테그린 $\alpha 10$ 와 CD163 및 CD206과의 동시-국재화. 도 8A는 DAPI로 DNA에 대해 표지된 뇌 종양 교아종 조직의 공초점 현미경 화상을 나타낸다. 도 8B는 위상차 현미경에 의해 시각화된 조직의 현미경 화상을 나타낸다. 도 8C는 항-CD163 항체를 사용하여 종양 조직에서 CD163 발현의 공초점 현미경 화상을 나타낸다. 도 8D는 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체를 사용하여 종양 조직에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 발현의 공초점 현미경 화상을 나타낸다. 도 8E는 조직 중의 항-CD206을 사용하여 종양 조직에서 CD206 발현의 공초점 현미경 화상을 나타낸다. 도 8F는 도 8A 내지 8E의 중합을 나타내고, CD163, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 및 CD206의 동시-국재화를 입증한다.

도 9: 교아종 조직에서 인테그린 $\alpha 10$ 과 EGFRvIII과의 동시-국재화. 도 9A는 DAPI로 DNA에 대해 표지된 뇌 종양 교아종 조직의 공초점 현미경 화상을 나타낸다. 도 9B는 위상차 현미경에 의해 시각화된 조직의 현미경 화상을 나타낸다. 도 9C는 항-EGFRvIII 항체를 사용하여 종양 조직에서 EGFRvIII 발현의 공초점 현미경 화상을 나타낸다. 도 9D는 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체를 사용하여 종양 조직에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 발현의 공초점 현미경 화상을 나타낸다. 도 9E는 도 9A 내지 9D의 중합을 나타내고, EGFRvIII 및 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 동시-국재화를 입증한다.

도 10: 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 대한 항체는 교아종 세포의 구 형성을 억제한다. 이 도면은 교아종 세포 상의 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 결합하는 모노클로날 항체가 무처리 세포와 비교하여 구 형성을 감소시킬 수 있음을 나타낸다. 이 효과는 IgG 대조군 항체로 처리된 세포에서 관찰되지 않았다.

도 11: 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 대한 항체는 생존을 및/또는 교아종 세포의 성장을 감소시킨다. 이 도면은 신경교종(GBM) 세포가 WST-1 검정을 사용하여 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 대한 비접합 모노클로날 항체에 감수성임을 나타낸다. 항-인테그린 $\alpha 10$ 항체를 사용한 처리는 무처리 세포와 비교하여 교아종의 세포 생존 및/또는 성장을 감소시켰다.

도 12: 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 대한 항체는 세포 생존 및/또는 교아종 세포의 증식을 감소시킨다. 이 도면은 $\alpha 10$ 에 대한 모노클로날 항체를 사용한 교아종의 처리, 이어서 사포린과 접합된 이차 항체($\alpha 10$ 항체에 결합)의

첨가가 대조군 항체를 사용한 처리와 비교하여 교아중 세포의 생존 및/또는 증식을 감소시켰음을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0045] 본원에 사용된 "항-인테그린 $\alpha 10$ 항체" 또는 "항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체"는, 헤테로이량체성 단백질 인테그린 $\alpha 10\beta 1$ 의 적어도 $\alpha 10$ 서브유닛을 인식하고 이에 결합할 수 있는 항체를 지칭한다. 이들 항체는 헤테로이량체성 단백질 인테그린 $\alpha 10\beta 1$ 의 에피토프를 인식하는 항체일 수 있고, 여기서 상기 에피토프는 $\alpha 10$ 및 $\beta 1$ 서브유닛 둘 다의 아미노산 잔기를 포함한다.
- [0046] 본원에 사용된 "인테그린 $\alpha 10$ " 또는 "인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛"은 헤테로이량체성 단백질 인테그린 $\alpha 10\beta 1$ 의 $\alpha 10$ 서브유닛을 지칭한다. 이 표시는 $\alpha 10$ 서브유닛에 결합되어 인테그린 $\alpha 10\beta 1$ 헤테로이량체의 4차 구조를 형성하는 $\beta 1$ 서브유닛의 존재를 배제하지 않는다.
- [0047] 본원에 사용된 "이중특이적 항체"는, 각각 상이한 항원에 결합하는 2개의 상이한 가변 도메인 결합 부위(Fv)를 갖는 항체를 지칭한다.
- [0048] 본원에 사용된 "대상체"는 포유동물, 예를 들면, 설치류, 고양이과, 개과 및 영장류를 의미한다. 바람직하게는, 본 발명에 따르는 대상체는 인간이다.
- [0049] 본원에 사용된 바와 같이, 단수형 "a", "an" 및 "the"는, 문맥이 달리 명시하지 않는 한, 복수의 지시대상을 포함한다. 따라서, 예를 들면, "항체"에 대한 언급은 복수의 이러한 항체를 포함한다.
- [0050] 본원에 사용된 "생물학적 샘플"은 임의의 대상체, 및 임의의 대상체로부터 수득된 다양한 샘플 타입을 포괄한다. 개시된 방법에 유용한 생물학적 샘플의 예는, 이로써 한정되지 않지만, 대상체, 액체 조직 샘플, 예를 들면, 혈액, 또는 고체 조직 샘플, 예를 들면, 생검 재료 또는 이들 및 이의 자손으로부터 유래된 조직 배양물 또는 세포를 포함한다. 예를 들면, 생물학적 샘플은 대상체로부터 채취된 조직 샘플로부터 수득된 세포를 포함한다. 따라서, 생물학적 샘플은 임상 샘플, 배양 세포, 세포 상청액, 세포 용해물 및 조직 샘플, 예를 들면, 성인 뇌 등의 뇌의 조직 샘플, 뇌 등의 중양 샘플을 포함하는 CNS의 조직 샘플을 포괄한다.
- [0051] 본원에 사용된 "검출", "검출한다", "검출하는"은 대조군에 대한 참조를 수분하거나 수반하지 않고서 정성적 및/또는 정량적 검출(측정 수준)을 포함하고, 소정 표적, 구체적으로 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 표적의 존재, 부재 또는 양의 동정을 추가로 지칭한다.
- [0052] 본원에 사용된 "분석하는"은, 대조군에 대한 참조를 수반하거나 수반하지 않고서 정성적 및/또는 정량적 검출(측정 수준)을 포함하고, 소정 표적, 구체적으로 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 존재, 부재 또는 양의 동정을 추가로 지칭한다.
- [0053] "방사성 트레이서" 또는 "방사성 표지"는 하나 이상의 원자가 방사성동위원소에 의해 치환된 화학적 화합물이고, 따라서 이의 방사성 붕괴의 측면에서, 방사성동위원소가 반응물로부터 생성물까지 따르는 경로를 추적하는 것에 의해 화학 반응의 메커니즘을 탐색하기 위해 사용될 수 있다.
- [0054] 수소, 탄소, 인, 황 및 요오드의 방사성동위원소는 생물학적 반응의 경로를 추적하기 위해 광범위하게 사용되어 왔다. 방사성 트레이서는 또한 세포 또는 조직 등의 천연 시스템 내의 물질의 분포를 추적하기 위해 사용될 수 있다. 방사성 트레이서는 다양한 화상 시스템, 예를 들면, PET 스캔, SPECT 스캔 및 테크네튬 스캔의 기초를 형성한다. 용어 "방사성 트레이서"는 ¹³¹요오드 등의 방사선의 치료 용량을 방출하는 방사성 동위원소를 포함한다.
- [0055] **상세한 설명**
- [0056] 본 발명자들은, 놀랍게도, 유전자 ITGA10에 의해 코딩된 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛(유니프로: 075578)이 CNS 조직의 생검물, 특히 뇌의 악성 악성 신생물로부터 수득된 조직에서 발현되는 것을 밝혀냈다. 이러한 발견에 기초하여, 본 발명자들은 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛을 검출하는 방법 및 도구를 개발했고, 이는 신경교종 등의 CNS의 악성 신생물 및 서브타입을 진단 및/또는 치료할 수 있음을 입증했다.
- [0057] **중추신경계의 악성 신생물의 치료**
- [0058] 한 가지 양태에서, 본 발명은 CNS의 하나 이상의 악성 신생물의 치료에 관한 것이다. 바람직한 실시형태에서, 상기 치료는 본원에 기재된 특이적 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체를 사용하여 수행된다. 상기 항체는 바람직하게는 하기 개략된 바와 같이 약제학적 조성물에 포함되도록 제조된다.

- [0059] 약제학적 조성물 및 이의 투여
- [0060] 한 가지 실시형태에서, 본 발명은 본 발명에 따르는 항체 및 이의 기능적 등가물을 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다. 본 발명은 추가로 상기 항체를 포함하는 임상 병태의 치료를 위한 의약, 상기 항체의 투여를 포함하는 CNS의 악성 신생물의 치료 방법, 또는 임상 병태의 치료용 의약의 제조를 위한 상기 항체의 용도에 관한 것이다.
- [0061] 임상 병태는 본원에 언급된 임의의 병태일 수 있다. 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체의 투여를 필요로 하는 개체는 상기 병태를 앓고 있거나 상기 임상적 병태를 획득할 위험에 있는 임의의 개체일 수 있다. 바람직하게는, 개체는 인간이다.
- [0062] 치료는 치유적, 완화적, 개선적 및/또는 예방적 치료일 수 있다.
- [0063] 본 발명의 약제학적 조성물은 바람직하게는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 세포외 도메인 내에 에피토프를 특이적으로 인식하는 적어도 하나의 항체 또는 이의 기능적 등가물(상기 및 하기 본원에서 "항-인테그린 $\alpha 10$ 항체" 또는 "항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체"로서 지칭됨)의 약제학적 유효량을 포함한다. 시험관내 목적을 위해, 예를 들면, 혈액 또는 조직 샘플에서 인테그린 $\alpha 10 \beta 1$ 을 검출하기 위해, 인테그린 $\alpha 10 \beta 1$ 의 세포질 도메인을 인식할 수 있는 항체를 또한 사용할 수 있다.
- [0064] 본원에서 지칭된 약제학적 유효량은 전형적으로, 상기 약제학적 조성물을 제공받은 개체에서 목적하는 반응을 유도하는, 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체의 양이다.
- [0065] 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체의 약제학적 유효량은 투여되어야 하는 개체, 특히 상기 개체의 크기 뿐만 아니라 임상적 병태 및 특정한 투여 방식에 의존한다. 그러나, 일반적으로, 1mg 내지 5000mg의 범위, 바람직하게는 10mg 내지 3000mg의 범위, 보다 바람직하게는 50mg 내지 1000mg의 범위, 예를 들면, 100mg 내지 750mg의 범위, 예를 들면, 150mg 내지 500mg의 범위, 예를 들면, 200mg 내지 400mg의 범위, 예를 들면, 250mg 내지 350mg의 범위, 예를 들면, 대략 300mg의 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체가 용량당 성인에게 투여되어야 한다.
- [0066] 본 발명의 약제학적 조성물은 비경구 투여에 적합한 약제학적 조성물일 수 있다. 이러한 조성물은 바람직하게는, 습윤제 또는 유화제, 항산화제, pH 완충제, 항균성 화합물, 및 제형을 개체의 체액, 바람직하게는 혈액과 등장성으로 되게 하는 용질을 함유할 수 있는 수성 및 비수성 멸균 주사액; 및 현탁화제 또는 증점제를 포함할 수 있는 수성 및 비수성 멸균 현탁액을 포함한다. 약제학적 조성물은 단위 용량 또는 복수 용량 용기, 예를 들면, 밀봉 앰플 중에 존재할 수 있고, 사용 직전에 멸균 액체 담체의 첨가만을 필요로 하는 동결건조 상태로 저장할 수 있다.
- [0067] 바람직하게는, 본 발명의 조성물은 세포, 조직 또는 기관과 함께 사용하기 위한, 비멸균 또는 멸균일 수 있는 하나 이상의 적합한 약제학적 부형제, 예를 들면, 개체에게 투여하기에 적합한 약제학적 부형제를 포함한다. 이러한 부형제는, 이로써 한정되는 것은 아니지만, 염수, 완충 염수, 텍스트로즈, 물, 글리세롤, 에탄올 및 다양한 양의 이들 부형제의 조합물을 포함할 수 있다. 제형은 투여 방식에 적합해야 한다. 본 발명은 추가로 본 발명의 상술된 조성물의 하나 이상의 성분으로 충전된 하나 이상의 용기를 포함하는 부분의 약제학적 키트에 관한 것이다. 비수성 부형제의 예는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물성 오일, 예를 들면, 올리브유, 및 주사가 가능한 유기 에스테르, 예를 들면, 에틸 올레에이트이다.
- [0068] 바람직하게는, 본 발명의 약제학적 조성물은 액체 용액 또는 현탁액으로 주사가 가능한 형태로 제조되고; 추가로 주사 전에 용액 또는 현탁액 또는 액체 현탁액에 적합한 고체 형도도 또한 본 발명의 범위 내에 포함된다. 제제는 또한 유화되거나 리포솜으로 캡슐화될 수 있다.
- [0069] 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체는 단독으로 또는 다른 화합물과 조합하여 동시에 또는 임의의 순서로 순차 투여할 수 있다.
- [0070] 투여는, 예를 들면, 주사 또는 주입을 통한 비경구일 수 있다. 비경구 주사는, 예를 들면, 심실내, 종양내, 정맥내, 근육내, 피내 또는 피하 주사일 수 있다. 바람직하게는 상기 투여는 주사 또는 주입에 의한 비경구적으로 수행한다.
- [0071] 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체는 필요에 따르는 빈도로 투여되어야 하고, 따라서 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체는 1회 이상, 예를 들면, 적어도 2회, 예를 들면, 적어도 3회, 예를 들면, 적어도 4회, 예를 들면, 적어도 5회, 예를 들면, 1 내지 100회 범위, 예를 들면, 1 내지 50회 범위, 예를 들면, 1 내지 25회 범위, 예를 들면,

1 내지 10회 범위로 투여할 수 있다.

- [0072] 바람직하게는, 2회 투여 사이에 적어도 1일, 예를 들면, 적어도 2일간, 예를 들면, 적어도 3일, 예를 들면, 적어도 5일, 예를 들면, 적어도 1주, 예를 들면, 적어도 2주, 예를 들면, 적어도 1개월, 예를 들면, 적어도 6개월, 예를 들면, 적어도 1년, 예를 들면, 적어도 2년, 예를 들면, 적어도 3년, 예를 들면, 적어도 5년, 예를 들면, 적어도 10년이다.
- [0073] 화학요법제는 인테그린 α -10 결합 단백질, 예를 들면, 항-인테그린 α -10 항체를 사용하여 CNS의 악성 신생물, 예를 들면, 신경교종을 표적화할 수 있다. 다른 실시형태에서, 신경교종 등의 CNS의 악성 신생물은 보체를 활성화시키는 능력 등의 적절한 효과기 기능을 갖는 항-인테그린 α 10 서브유닛 항체로 치료할 수 있다.
- [0074] 한 가지 양태에서, 본 발명은, 중추신경계에서 악성 신생물의 치료에 사용하기 위한 조성물로서, 인테그린 α 10 서브유닛에 특이적으로 결합하는 항체를 포함하는 조성물에 관한 것이다.
- [0075] 한 가지 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 2를 포함하거나 이들로 이루어진 폴리펩티드(인테그린 α 10의 세포외 도메인)에 특이적으로 결합하고, 다른 실시형태에서 상기 항체는 서열번호 3을 포함하거나 이들로 이루어지는 폴리펩티드(인테그린 α 10의 세포외 I-도메인)에 특이적으로 결합한다.
- [0076] 한 가지 실시형태에서, 상기 항체는 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체 및 이의 단편, 예를 들면, Fab-단편, Fab' 단편, F(ab')₂ 단편 및 Fv 단편, 예를 들면, 단일-사슬 가변 단편(scFv) 및 단일-도메인 항체로 이루어진 그룹으로부터 선택된 항체 단편으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0077] 치료학적 용도에 사용된 항체는 바람직하게는 키메라, 인간화 또는 완전 인간 항체, 바람직하게는 인간 불변 영역을 갖는 항체이다.
- [0078] 한 가지 실시형태에서, 항체는 비-인간 항체, 키메라 항체, 인간화 항체, 인간 항체 또는 헤테로특이적 항체, 예를 들면, 이중특이적 항체이다.
- [0079] 항체는 IgA, IgD, IgG 및 IgM으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 이소형을 가질 수 있다. IgG 이소형은, 예를 들면, IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다.
- [0080] 특정의 실시형태에서, 항체는
- [0081] a. 수탁번호 DSM ACC2583하에 도이츠 삼룽 폰 마이크로오르가스멘 운트 젤쿨투렌 게엠베하(Deutsche Sammlung von Microorganismen und Zellkulturen GmbH)에 기탁된 하이브리도마에 의해 생산된 모노클로날 항체 또는 이의 항원 결합 단편(여기서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인테그린 α 10 사슬의 세포외 I-도메인에 특이적으로 결합한다); 또는
- [0082] b. 수탁번호 DSM ACC2583하에 도이츠 삼룽 폰 마이크로오르가스멘 운트 젤쿨투렌 게엠베하(Deutsche Sammlung von Microorganismen und Zellkulturen GmbH)에 기탁된 하이브리도마에 의해 생산된 모노클로날 항체에 의해 결합된 에피토프와 동일한 에피토프에의 결합에 대해 경쟁하는 항체; 또는
- [0083] c. 상기 a) 또는 b)의 단편으로서, 상기 단편이 인테그린 α 10 서브유닛 쇄의 세포외 I-도메인에 특이적으로 결합할 수 있는 단편이다.
- [0084] 한 가지 실시형태에서, 본 발명의 항- α 10 항체는 인테그린 α 10 β 1을 통해 세포 기능을 차단할 수 있는 항체이다.
- [0085] 상기 항체는 세포독성 모이어티, 예를 들면, 독소, 화학요법제 및 방사성 제제로부터 선택된 세포독성 모이어티에 공유 결합할 수 있다.
- [0086] 한 가지 실시형태에서, 상기 독소는 리보솜 불활성화 단백질, 예를 들면, 트리코산틴 및 루핀으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 리보솜 불활성화 단백질; 타입 II 리보솜 불활성화 단백질, 예를 들면, 리신, 아글루티닌 및 아브린; 및 사포린이다.
- [0087] 한 가지 실시형태에서, 독소는 사포린이다. 사포린은 단백질 합성을 비가역적으로 차단하는 28S 리보솜 RNA 중의 특이적 뉴클레오티드를 탈퓨린화하는 N-글리코시다제 활성을 갖는 식물 효소, 30kDa 단백질이다. 이는 리보솜 불활성화 단백질(RIP)의 충분히 특성화된 계열에 속한다. 표적화된 SAP 접합체는 분자 수술로서 공지된 기술에 사용된 강력한 특이적 병변제이다. 사포린(식물, 사포나리아 오피시날리스(Saponaria officinalis)의 종자로부터)는 표적화제, 이 경우에 항-인테그린 α 항체에 결합할 수 있고, 세포(시험관내 또는 생체내)에 투여할 수

있다. 표적화제는 세포 표면 상에서 이의 표적을 탐지하고 이에 결합한다. 접합체는 내재화되고, 사포린은 표적 화제로부터 이탈하고, 단백질 억제 및 궁극적으로 세포 사멸을 유발하는 리보솜을 불활성화시킨다. 세포 표면 마커를 갖지 않는 세포는 영향을 받지 않는다.

- [0088] 한 가지 실시형태에서, 화학요법제는 항체에 공유 결합된다. 다른 실시형태에서, 화학요법제는 나노입자, 예를 들면 리포솜에 캡슐화되고, 상기 입자는 이들의 표면에 결합된 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체를 가짐으로써 신경교종을 표적으로 한다.
- [0089] 항체-약물 접합체(ADC), 예를 들면, 사포린에 접합된 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체는 당해 기술분야의 숙련 가에 의해 제조될 수 있다[참조예: Bidard and Tredan (2014) Targ Oncol 9:1-8 or Agarwal and Bertozzi (2015) Bioconjugate Chem. 26:176192].
- [0090] 한 가지 실시형태에서, CNS의 악성 신생물의 치료에 사용하기 위한 조성물은 생물학적 반응 변형제, 예를 들면, 사이토킨, 예를 들면, 림포카인 및 인터페론으로부터 선택된 사이토킨에 공유 결합되는 항체를 포함한다.
- [0091] 치료에 사용하기 위한 조성물은 추가로 활성 성분, 예를 들면, 하나 이상의 화학요법제 및 임의로 약제학적으로 허용되는 희석제, 담체 또는 부형제를 포함할 수 있다.
- [0092] 본 발명의 항체는 한 가지 실시형태에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적이도록 설계되고, 다른 실시형태에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 천연 발생 변이체, 예를 들면, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 이소형 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 스플라이싱 변이체에 특이적이도록 설계된다.
- [0093] 한 가지 실시형태에서, 본 발명은 인테그린 $\alpha 10\beta 1$ 헤테로이량체의 $\alpha 10$ 및 $\beta 1$ 서브유닛 둘 다에 결합하는 항 체에 관한 것이다.
- [0094] 또 다른 실시형태에서, 본 발명은 인테그린 $\alpha 10\beta 1$ 헤테로이량체의 $\alpha 10$ 에 결합하지만 $\beta 1$ 서브유닛에 결합하 지 않는 항체에 관한 것이다.
- [0095] 한 가지 실시형태에서, 상기 항체는 세포사를 유도할 수 있고/있거나 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛을 발현하는 세포 의 성장 및/또는 증식을 억제할 수 있다.
- [0096] 한 가지 실시형태에서, 상기 항체는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛을 발현하는 세포의 세포사를 유도할 수 있다. 한 가지 실시형태에서, 상기 항체는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛을 발현하는 세포의 성장을 억제할 수 있다. 한 가지 실시형태에서, 상기 항체는 인테그린 $\alpha 10$ 을 발현하는 세포의 증식을 억제할 수 있다. 한 가지 실시형태에서, 상기 항체는 인테그린 $\alpha 10$ 을 발현하는 세포의 이동을 억제할 수 있다.
- [0097] 한 가지 실시형태에서, 세포는 하나 이상의 EGFRvIII, 네스틴, PSA-NCAM, GFAP, PDGFRb(CD140b), PECAM-1(CD31), CD45, CD68, CD163 및/또는 CD206을 추가로 발현한다.
- [0098] 한 가지 실시형태에서, 세포는 EGFRvIII을 추가로 발현한다. 한 가지 실시형태에서, 세포는 네스틴을 추가로 발 현한다. 한 가지 실시형태에서, 세포는 PSA-NCAM을 추가로 발현한다.
- [0099] 한 가지 실시형태에서, 세포는 GFAP를 추가로 발현한다. 한 가지 실시형태에서, 세포는 PDGFRb(CD140b)를 추가 로 발현한다. 한 가지 실시형태에서, 세포는 PECAM-1(CD31)을 추가로 발현한다. 한 가지 실시형태에서, 세포는 CD45를 추가로 발현한다. 한 가지 실시형태에서, 세포는 CD68을 추가로 발현한다. 한 가지 실시형태에서, 세포 는 CD163을 추가로 발현한다. 한 가지 실시형태에서, 세포는 CD206을 추가로 발현한다.
- [0100] 따라서, 한 가지 실시형태에서, 본 발명은, 중추신경계에서 악성 신생물과 연관된 세포의 세포사를 유도하고/하 거나 세포의 성장 및/또는 증식을 억제하는 방법으로서, 상기 세포가 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 및 임의로 하나 이상의 EGFRvIII, 네스틴, PSA-NCAM, GFAP, PDGFRb(CD140b), PECAM-1(CD31), CD45, CD68, CD163 및/또는 CD206을 발현하는, 방법에 관한 것이다.
- [0101] 한 가지 실시형태에서, 중추신경계에서 악성 신생물과 연관된 세포는 악성 세포 또는 종양-연관 세포이다.
- [0102] 악성 신생물 또는 종양-연관 세포의 예는 교세포; 성상세포; 주피 세포; 내피 세포; 조혈 세포; 및 소교세포를 포함한다.
- [0103] 한 가지 실시형태에서, 세포는 교세포이다.
- [0104] 조혈 세포는, 예를 들면, 조혈 줄기 세포, T-세포, B-세포, 형질 세포, NK-세포, 수지상 세포, 마크로파지 및

단핵구로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다.

- [0105] 한 가지 실시형태에서, 마크로파지는 중앙-연관 마크로파지(TAM)이다.
- [0106] 임상 병태
- [0107] 본 발명에 따르는 임상 병태는, 본 발명의 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체의 투여에 의한 치유적, 개선적 또는 예방적 치료를 포함하여, 본원에 정의된 CNS의 악성 신생물의 임의의 하나의 치료일 수 있다.
- [0108] 상기 본원에 정의된 조성물은
- [0109] a) i) 모양세포성(Pilocytic) 성상세포종(ICD-O 9421/1, WHO 등급 I), 필로믹소이드(Pilomyxoid) 성상세포종(ICD-O 9425/3, WHO 등급 II), 서브상의(Subependymal) 거대 세포 성상세포종(ICD-O 9384/1, WHO 등급 I), 다형성(Pleomorphic) 황색성상세포종(ICD-O 9424/3, WHO 등급 II), 미만성(Diffuse) 성상세포종(ICD-O 9400/3, WHO 등급 II), 미분화(Anaplastic) 성상세포종(ICD-O 9401/3, WHO 등급 III), 교아종(Glioblastoma)(ICD-O 9440/3, WHO 등급 IV), 거대 세포 교아종(ICD-O 9441/3, WHO 등급 IV), 교육종(Gliosarcoma)(ICD-O 9442/3, WHO 등급 IV), 대뇌 교종증(Gliomatosis cerebri)(ICD-O 9381/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 성상세포 종양, 및
- [0110] ii) 희돌기교종(Oligodendroglioma)(ICD-O 9450/3, WHO 등급 II) 및 미분화 희돌기교종(ICD-O 9451/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 희돌기교세포(Oligodendroglial) 종양,
- [0111] iii) 희돌기성상세포종(Oligoastrocytoma)(ICD-O 9382/3, WHO 등급 II) 및 미분화 희돌기성상세포종(ICD-O 9382/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 희돌기성상세포 종양, 및
- [0112] iv) 서브상의세포종(Subependymoma)(ICD-O 9383/1, WHO 등급 I), 점액유두 뇌실막종(Myxopapillary ependymoma)(ICD-O 9394/1, WHO 등급 I), 상의종(Ependymoma)(ICD-O 9391/3, WHO 등급 II), 미분화 상의종(ICD-O 9392/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 상의 종양(Ependymal tumour), 및
- [0113] v) 맥락막 신경종 유두종(Choroid plexus papilloma)(ICD-O 9390/0, WHO 등급 I), 비전형 맥락막 신경종 유두종(Atypical choroid plexus papilloma)(ICD-O 9390/1, WHO 등급 II) 및 맥락막 신경종 암(Choroid plexus carcinoma)(ICD-O 9390/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 맥락막 신경종 종양, 및
- [0114] vi) 성상아세포종(Astroblastoma) (ICD-O 9430/3, WHO 등급 I), 제3 뇌실(ventricle)의 척삭모양 교종(Chordoid glioma)(ICD-O 9444/1, WHO 등급 II) 및 혈관중심성 교종(Angiocentric glioma)(ICD-O 9431/1, WHO 등급 I)으로부터 선택된 기타 신경상피 종양
- [0115] vii) 소뇌의 이형성 신경절 세포종(Dysplastic gangliocytoma)(Lhermitte-Duclos)(ICD-O 9493/0), 섬유조직형 성상 유아 성상세포종/신경절교종(Desmoplastic infantile astrocytoma/ganglioglioma)(ICD-O 9412/1, WHO 등급 I), 이상 배세포성 신경상피 종양(Dysembryoplastic neuroepithelial tumour)(ICD-O 9413/0, WHO 등급 I), 신경교종(Gangliocytoma)(ICD-O 9492/0, WHO 등급 I), 신경절교종(Ganglioglioma)(ICD-O 9505/1, WHO 등급 I), 미분화 신경절교종(ICD-O 9505/3, WHO 등급 III), 중추 신경세포종(Central neurocytoma)(ICD-O 9506/1, WHO 등급 II), 뇌실의 신경세포종(Extraventricular neurocytoma)(ICD-O 9506/1, WHO 등급 II), 소뇌 지방신경세포종(Cerebellar liponeurocytoma)(ICD-O 9506/1, WHO 등급 II), 유두상 글리오뉴로날 종양(Papillary glioneuronal tumour)(ICD-O 9509/1, WHO 등급 I), 제4 뇌실의 로제트-형성 글리오뉴로날 종양(Rosette-forming glioneuronal tumour)(ICD-O 9509/1, WHO 등급 I) 및 부신경절종(Paraganglioma)(ICD-O 8680/1, WHO 등급 I)으로부터 선택된 뉴론 및 혼합 뉴론-교세포 종양,
- [0116] viii) 송과체세포종(Pineocytoma)(ICD-O 9361/1, WHO 등급 I), 중간 분화의 송과체 실질 종양(Pineal parenchymal tumour)(ICD-O 9362/3, WHO 등급 II, III), 송과체아종(Pineoblastoma)(ICD-O 9362/3, WHO 등급 IV) 및 송과체 영역의 유두 종양(Papillary tumour)(ICD-O 9395/3, WHO 등급 II, III)으로부터 선택된 송과체 영역의 종양,
- [0117] ix) 수아세포종(Medulloblastoma)(ICD-O 9470/3, WHO 등급 IV), 광범위한 소결절형성을 갖는 수아세포종(ICD-O 9471/3, WHO 등급 IV), 미분화 수아세포종(ICD-O 9474/3, WHO 등급 IV), CNS 원시 신경외배엽성 종양(Primitive neuroectodermal tumour)(ICD-O 9473/3, WHO 등급 IV), CNS 신경아세포종(Neuroblastoma)(ICD-O 9500/3, WHO 등급 IV) 및 비전형 기형종양/랩도이드 종양(Atypical teratoid/rhabdoid tumour)으로부터 선택된 배아 종양

- [0118] 으로부터 선택된 신경상피 조직의 종양,
- [0119] b) i) 신경초종(Schwannoma)(ICD-O 9560/0, WHO 등급 I),
- [0120] ii) 신경섬유종(Neurofibroma)(ICD-O 9540/0, WHO 등급 I),
- [0121] iii) 신경주위막종(Perineurioma)(ICD-O 9571/0, 9571/3, WHO 등급 I, II, III) 및
- [0122] iv) 악성 말초 신경초 종양(Malignant peripheral nerve sheath tumour)(MPNST) (ICD-O 9540/3, WHO 등급 II, III, IV)
- [0123] 으로부터 선택된 두개내(cranial) 및 척추주위(paraspinal) 신경의 종양, 및
- [0124] c) i) 수막종(Meningioma)(ICD-O 9530/0, WHO 등급 I), 비전형 수막종(ICD-O 9539/1, WHO 등급 II), 미분화 수막종(ICD-O 9530/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 수막세포성 세포의 종양, 및
- [0125] ii) 지방종(Lipoma)(ICD-O 8850/0), 혈관지방종(Angiolipoma)(ICD-O 8861/0), 갈색지방종(Hibernoma)(ICD-O 8880/0), 지방육종(Liposarcoma)(ICD-O 8850/3), 고립성 섬유성 종양(Solitary fibrous tumour)(ICD-O 8815/0), 섬유육종(Fibrosarcoma)(ICD-O 8810/3), 악성 섬유성 조직구종(Malignant fibrous histiocytoma)(ICD-O 8830/3), 평활근종(Leiomyoma)(ICD-O 8890/0), 평활근육종(Leiomyosarcoma)(ICD-O 8890/3), 횡문종(Rhabdomyoma)(ICD-O 8900/0), 횡문근육종(Rhabdomyosarcoma)(ICD-O 8900/3), 연골종(Chondroma)(ICD-O 9220/0), 연골육종(Chondrosarcoma)(ICD-O 9220/3), 골종(Osteoma)(ICD-O 9180/0), 골육종(Osteosarcoma)(ICD-O 9180/3), 골-연골종(Osteo-chondroma)(ICD-O 9210/0), 혈관종(Haemangioma)(ICD-O 9120/0), 유사피 혈관내피종(Epithelioid hemangioendothelioma)(ICD-O 9133/1), 혈관주위 세포종(Haemangiopericytoma)(ICD-O 9150/1, WHO 등급 II), 미분화 혈관주위 세포종(ICD-O 9150/3, WHO 등급 III) 및 혈관육종(Angiosarcoma)(ICD-O 9120/3) 3.2.22 카포시 육종(Kaposi Sarcoma)(ICD-O 9140/3), 유잉 육종(Ewing Sarcoma)-PNET (ICD-O 9364/3)으로부터 선택된 간엽 종양, 및
- [0126] iii) 미만성 멜라닌세포증(Diffuse melanocytosis)(ICD-O 8728/0), 멜라닌세포종(Melanocytoma)(ICD-O 8728/1), 악성 흑색종(Malignant melanoma)(ICD-O 8720/3), 수막성 멜라닌종증(Meningeal melanomatosis)(ICD-O 8728/3)으로부터 선택된 일차 멜라닌세포 병변, 및
- [0127] iv) 헴-혈관아세포종(Haem-angioblastoma)(ICD-O 9161/1, WHO 등급 I) 등의 수막과 관련된 기타 신생물
- [0128] 으로부터 선택된 수막의 종양,
- [0129] d) i) 악성 림프종(Malignant Lymphomas)(ICD-O 9590/3) 4.2 형질세포종(Plasmocytoma)(ICD-O 9731/3) 및
- [0130] ii) 과립구성 육종(Granulocytic sarcoma)(ICD-O 9930/3)
- [0131] 으로부터 선택된 조혈계의 종양
- [0132] e) i) 두개인두종(Craniopharyngioma)(ICD-O 9350/1, WHO 등급 I),
- [0133] ii) 과립 세포 종양(Granular cell tumour)(ICD-O 9582/0, WHO 등급 I)
- [0134] iii) 뇌하수체세포종(Pituicytoma)(ICD-O 9432/1, WHO 등급 I) 및
- [0135] iv) 샘뇌하수체의 방추 세포 호산성세포종(Spindle cell oncocytoma)(ICD-O 8991/0, WHO 등급 I)
- [0136] 으로부터 선택된 셀러 영역(sellar region)의 종양으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 악성 신생물의 치료에서 사용하기 위한 것이다.
- [0137] 한 가지 실시형태에서, 본 발명의 항-인테그린 $\alpha 10$ 항체 또는 항-인테그린 $\alpha 10$ 항체를 포함하는 조성물에 의해 치료되는 악성 신생물은 신경교종이다.
- [0138] 한 가지 실시형태에서, 본 발명의 항-인테그린 $\alpha 10$ 항체 또는 항-인테그린 $\alpha 10$ 항체를 포함하는 조성물에 의해 치료되는 악성 신생물은 등급 II, III 또는 IV 신경교종이다.
- [0139] 한 가지 실시형태에서, 본 발명의 항-인테그린 $\alpha 10$ 항체 또는 항-인테그린 $\alpha 10$ 항체를 포함하는 조성물에 의해 치료되는 악성 신생물은 성상세포종, 예를 들면, 성상세포종 등급 II, 성상세포종 등급 III 또는 성상세포종 등급 IV이다.

- [0140] 한 가지 실시형태에서, 본 발명의 항-인테그린 $\alpha 10$ 항체 또는 항-인테그린 $\alpha 10$ 항체를 포함하는 조성물에 의해 치료되는 신경교종은 교아종이다.
- [0141] 한 가지 실시형태에서, 신경교종은 원발성 교아종이다.
- [0142] 한 가지 실시형태에서, 신경교종은 이차 교아종이다.
- [0143] 한 가지 실시형태에서, 본 발명의 항-인테그린 $\alpha 10$ 항체 또는 항-인테그린 $\alpha 10$ 항체를 포함하는 조성물에 의해 치료되는 악성 신생물은 수아세포종이다.
- [0144] 한 가지 실시형태에서, 본 발명의 항-인테그린 $\alpha 10$ 항체 또는 항-인테그린 $\alpha 10$ 항체를 포함하는 조성물에 의해 치료되는 악성 신생물은 신경아세포종이다.
- [0145] 한 가지 실시형태에서, 본 발명의 항-인테그린 $\alpha 10$ 항체 또는 항-인테그린 $\alpha 10$ 항체를 포함하는 조성물에 의해 치료되는 악성 신생물은 성상세포종, 미분화 성상세포종, 뇌의 혈관주위 세포종, 수막종, 혈관중성 혈관종, 이형 수막종, 섬유아세포 수막종, 수막표피 수막종, 분비성 수막종, 회돌기성상세포종, 미분화 회돌기성상세포종, 회돌기교종 및 미분화 회돌기교종으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0146] 한 가지 실시형태에서, 본 발명의 조성물에 의해 치료되는 악성 신생물은 성상세포 종양, 회돌기교종, 상의 세포 종양, 혼합 신경교종, 불특정 기원의 신경상피 종양, 맥락막 신경종의 종양, 신경 및 혼합 뉴런-교세포 종양, 송광체 실질 종양, 및 신경아 또는 신경교질 요소를 갖는 종양(태아 종양), 상의세포종, 성상세포종, 회돌기교종, 회돌기성상세포종, 신경상피 종양, 및 신경 및 혼합 뉴런-교세포 종양으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0147] 한 가지 양태에서, 본 발명은, 이를 필요로 하는 대상체의 중추신경계에서 악성 신생물의 치료 방법으로서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적으로 결합하는 항체를 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 치료 방법에 관한 것이다. 상기 치료는 예방적, 개선적 또는 치유적일 수 있다.
- [0148] 상기 본원에 정의된 치료는 상기 대상체에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 검출로 개시될 수 있다.
- [0149] 한 가지 양태에서, 본 발명은, 중추신경계에서 악성 신생물을 앓고 있는 대상체를 치료하는 방법으로서,
- [0150] a) 대상체가 중추신경계의 악성 신생물을 앓고 있는지를 본원에 정의된 검출 방법에 따라 측정하는 단계 및
- [0151] b) 상기 대상체에게, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적으로 결합하는 치료학적 유효량의 항체를 중추신경계의 악성 신생물로 진단된 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법에 관한 것이다.
- [0152] 한 가지 양태에서, 본 발명은, 중추신경계에서 악성 신생물의 치료용 의약을 제조하기 위한, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적으로 결합하는 항체를 포함하는 조성물의 용도에 관한 것이다.
- [0153] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 포유동물에서 종양 연관 혈관신생을 억제하는 방법으로서, 치료학적 유효량의 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체를 상기 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 방법에 관한 것이다.
- [0154] 한 가지 실시형태에서, 본 발명은, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛을 발현하는 세포의 성장 및/또는 증식을 억제하는 방법으로서, 치료학적 유효량의 항-인테그린 $\alpha 10$ 항체를 상기 세포에게 투여하는 것을 포함하는, 방법에 관한 것이다. 상기 세포는 본원에 정의된 하나 이상의 추가 마커를 발현시킬 수 있다. 특히 바람직한 실시형태에서, 상기 세포는 신경교종 세포이다. 상기 방법은 시험관내 또는 생체내에서 수행할 수 있다.
- [0155] 한 가지 실시형태에서, 본 발명은, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛을 발현하는 세포의 종양형성 또는 전이 가능성을 감소시키는 방법으로서, 유효량의 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체를 상기 세포에게 투여하는 것을 포함하는, 방법에 관한 것이다. 상기 세포는 본원에 정의된 하나 이상의 추가 마커를 발현시킬 수 있다. 특히 바람직한 실시형태에서, 상기 세포는 신경교종 세포이다. 상기 방법은 시험관내 또는 생체내에서 수행할 수 있다. 본원에 제공된 데이터는, 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체와 함께 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛을 발현하는 신경교종(GBM) 세포의 치료가 구 형성능을 유의적으로 감소시키는 것을 나타내고, 따라서 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체를 사용한 치료는 종양을 형성하는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛-발현 세포의 능력을 억제하거나 적어도 감소시키는 것을 나타낸다.
- [0156] 추가의 실시형태에서, 치료 방법은 본원에 기재된 방법을 사용하여 신경교종의 위치를 검출하기 위해 중추신경계의 화상을 취득하는 것을 포함하고, 바람직하게는 상기 위치는 3D 공간에서 및 신경교종을 치료하기 위해 후속 방사선 요법을 유도하는 위치에 대한 정보를 사용하여 검출된다.

- [0157] 추가의 실시형태에서, 외과의는 수술 중의 신경교종의 존재를 검출하기 위해 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 특이적 분자 프로브를 사용할 수 있다.
- [0158] *중추신경계의 악성 신생물의 검출 및 진단*
- [0159] 본 발명은 또한, 포유동물의 중추신경계에서 악성 신생물을 검출하는 방법으로서, 상기 방법은, 단리된 샘플에서,
- [0160] a) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드를 포함하는 항원; 또는
- [0161] b) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물의 존재 또는 부재를 분석하는 것을 포함하고,
- [0162] 여기서, a)의 항원 및/또는 b)의 폴리뉴클레오티드 전사물의 존재가 상기 포유동물의 중추신경계에서 악성 신생물을 나타내는, 방법에 관한 것이다.
- [0163] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 포유동물의 중추신경계에서 악성 신생물을 검출하는 방법으로서,
- [0164] a) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리뉴클레오티드 전사물에 특이적으로 결합할 수 있는 분자 프로브(여기서, 상기 프로브는 광자를 방출할 수 있는 모이어티에 공유 결합한다)를 대상체에게 투여하는 단계,
- [0165] b) 상기 모이어티로부터 방출된 광자를 검출하고 중추신경계 또는 이의 일부의 화상을 형성하는 단계를 포함하고,
- [0166] 여기서, 상기 모이어티로부터 광자의 국제화 방출은 상기 포유동물의 중추신경계에서 악성 종양을 나타내는, 방법에 관한 것이다.
- [0167] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 포유동물의 중추신경계에서 악성 신생물을 진단하는 시험관내 진단 방법으로서,
- [0168] a) 시험관내 샘플을, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리뉴클레오티드 전사물에 특이적으로 결합할 수 있는 분자 프로브(여기서, 상기 분자 프로브는 광자를 방출할 수 있는 모이어티에 공유 결합한다)와 접촉시키는 단계, 및
- [0169] b) 상기 모이어티로부터 방출된 광자를 검출하고, 샘플의 화상을 형성하는 단계를 포함하고,
- [0170] 여기서, 상기 모이어티로부터 광자의 국제화 방출은 상기 포유동물의 중추신경계에서 악성 신생물을 나타내는, 방법에 관한 것이다.
- [0171] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 단리된 샘플에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 검출을 위한 시험관내 방법으로서,
- [0172] 상기 방법은, 단리된 샘플에서,
- [0173] a) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드를 포함하는 항원; 또는
- [0174] b) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물의 존재 또는 부재를 분석하는 것을 포함하고,
- [0175] 여기서, 상기 a)의 항원 및/또는 b)의 폴리뉴클레오티드 전사물의 존재가 상기 단리된 샘플에서 악성 신생물을 나타내는, 방법에 관한 것이다.
- [0176] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 포유동물의 중추신경계의 악성 신생물관 연관된 세포를 검출하는데 사용하기 위한, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 대해 특이성을 갖는 항체를 포함하거나 이들로 이루어진 제제에 관한 것이다.
- [0177] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 포유동물의 중추신경계에서 악성 신생물을 진단하는 시험관내 진단 방법으로서, 상기 방법은
- [0178] a) 상기 포유동물로부터 수득된 시험관내 샘플을, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리뉴클레오티드 전사물에 특이적으로 결합할 수 있는 분자 프로브(여기서, 상기 분자 프로브는 광자를 방출할 수 있는 모이어티에 공유 결합한다)와 접촉시키는 단계, 및
- [0179] b) 상기 모이어티로부터 방출된 광자를 검출하고, 샘플의 화상을 형성하는 단계를 포함하고,
- [0180] 여기서, 상기 모이어티로부터 광자의 국제화 방출은 상기 포유동물의 중추신경계에서 악성 신생물을 나타내는,

방법에 관한 것이다.

- [0181] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 포유동물로부터 단리된 샘플에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 검출을 위한 시험관 내 방법으로서,
- [0182] 상기 방법은, 단리된 샘플에서,
- [0183] a) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드를 포함하는 항원; 및/또는
- [0184] b) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 전사물의 존재 또는 부재를 분석하는 것을 포함하고,
- [0185] 여기서, 상기 a)의 항원 및/또는 b)의 폴리뉴클레오타이드 전사물의 존재는 상기 단리된 샘플에서 악성 신생물을 나타내는, 방법에 관한 것이다.
- [0186] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 시험관내, 동일 반응계내 또는 생체내에서 생물학적 샘플 중의 중추신경계의 악성 신생물을 검출하기 위한 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적으로 결합하는, 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛-특이적 항체의 용도에 관한 것이다.
- [0187] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 시험관내, 동일 반응계내 또는 생체내에서 생물학적 샘플 중의 중추신경계의 악성 신생물을 검출하기 위해 하이브리드화 반응으로 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 mRNA 또는 cDNA에 결합하는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 핵산 프로브의 용도에 관한 것이다.
- [0188] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 중추신경계의 악성 신생물을 진단하는 키트의 제조에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 핵산 프로브 화합물의 용도에 관한 것이다.
- [0189] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 중추신경계의 악성 신생물을 검출하는 키트의 제조에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 결합하는 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛-특이적 항체의 용도에 관한 것이다.
- [0190] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 대상체가 중추신경계의 악성 신생물을 갖는지를 진단, 모니터링 또는 측정하기 위한 진단제의 제조를 위한 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 핵산 프로브의 용도로서, 상기 진단제가 생물학적 샘플에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리뉴클레오타이드의 존재를 측정하기 위해 제조되고, 상기 샘플 중의 상기 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리뉴클레오타이드의 존재가 상기 대상체의 중추신경계의 악성 신생물을 나타내는, 용도에 관한 것이다.
- [0191] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 포유동물이 중추신경계의 악성 신생물을 갖는지를 진단, 모니터링 또는 측정하기 위한 진단제의 제조를 위한 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 결합하는 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛-특이적 항체의 용도로서, 상기 진단제가 샘플에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드의 존재를 측정하기 위해 제조되고, 상기 샘플 중의 상기 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드의 존재가 상기 포유동물의 중추신경계의 악성 신생물을 나타내는, 용도에 관한 것이다.
- [0192] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 악성 또는 종양-연관 포유동물 세포를 검출하는 방법으로서,
- [0193] 상기 방법은, 단리된 샘플에서,
- [0194] a) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드를 포함하는 제1 항원; 및/또는
- [0195] b) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체를 코딩하는 제1 폴리뉴클레오타이드 전사물 및
- [0196] c) EGFRvIII, 네스틴, PSA-NCAM, GFAP, PDGFRb(CD140b), PECAM-1(CD31), CD45, CD68, CD163 및 CD206으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 폴리펩티드를 포함하는 제2 항원; 및/또는
- [0197] d) 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체를 코딩하는 제2 폴리뉴클레오타이드 전사물로서, 상기 폴리펩티드가 EGFRvIII, 네스틴, PSA-NCAM, GFAP, PDGFRb (CD140b), PECAM-1 (CD31), CD45, CD68, CD163, 및 CD206로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 전사물의 존재 또는 부재를 분석하는 것을 포함하고,
- [0198] 여기서, a)의 제1 항원 및/또는 b)의 제1 폴리뉴클레오타이드 전사물은, c)의 제2 항원 및/또는 d)의 제2 전사물과 함께, 상기 포유동물 세포가 악성 세포 또는 종양-연관 세포인 것을 나타내는, 방법에 관한 것이다.
- [0199] 상기 a)의 제1 항원 및/또는 상기 b)의 제1 폴리뉴클레오타이드 전사물의 존재는, 상기 c)의 제2 항원 및/또는 상기 d)의 전사물과 함께, 상기 포유동물 세포가 악성 세포 또는 종양-연관 세포인 것을 나타낸다.

- [0200] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 포유동물의 악성 또는 종양-연관 세포를 검출하는 방법으로서, 상기 방법은
- [0201] a) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드 및/또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리뉴클레오티드 전사물에 특이적으로 결합하는 제1 분자 프로브(여기서, 상기 제1 프로브는 광자를 방출할 수 있는 제1 모이어티에 공유 결합된다)를 포유동물에게 투여하는 단계; 및
- [0202] b) EGFRvIII, 네스틴, PSA-NCAM, GFAP, PDGFRb (CD140b), PECAM-1 (CD31), CD45, CD68, CD163 및 CD206으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 폴리펩티드; 및/또는 EGFRvIII, 네스틴, PSA-NCAM, GFAP, PDGFRb (CD140b), PECAM-1 (CD31), CD45, CD68, CD163 및 CD206으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물에 특이적으로 결합할 수 있는 제2 분자 프로브(여기서, 상기 제2 분자 프로브는 광자를 방출할 수 있는 제2 모이어티에 공유 결합된다)를 포유동물에게 투여하는 단계;
- [0203] c) 상기 제1 및 상기 제2 모이어티로부터 방출된 광자를 검출하고, 중추신경계 또는 이의 일부의 화상을 형성하는 단계를 포함하는, 방법에 관한 것이다.
- [0204] 상기 제1 및 상기 제2 모이어티로부터 광자의 국제화 방출은 상기 포유동물의 악성 또는 종양-연관 세포를 나타낸다.
- [0205] *CNS의 악성 신생물*
- [0206] 악성 신생물은 2개 방법으로 분류된다. 이들은 이들의 외관 형태에 따라 표현형적으로 분류되고, 이들의 중증도에 따라 등급화된다. 이러한 등급화는 또한 종양의 조직학적 특징에 기초한다.
- [0207] 예를 들면, 신경교종에서, 악성 신생물은, 이들의 형태학적으로 정상세포 모양인 것으로 나타나는 경우에 성상세포종으로 명명되고, 악성 신생물이 형태학적으로 회돌기교세포 모양인 것으로 나타나는 경우에 회돌기교종으로 명명된다. 또한, 혼합 형태의 신경교종이 있고, 이 경우에는 회돌기성상세포종으로 명명된다.
- [0208] 종양 등급은 종양이 얼마나 신속하게 성장하고 확산할 가능성이 있는 지표이다. 종양 세포 및 종양 조직의 구성이 정상 세포 및 조직의 것들에 근접한 경우, 종양은 고분화형(낮은 등급)으로 불리운다. 이들 종양은, 이상-발견 세포를 갖고 보다 빠르게 성장(높은 등급)하는, 불량하게 분화되거나 분화되지 않는 종양보다 느린 속도로 성장 및 확산하는 경향이 있다. 신경교종 분류의 예에 대해서는 도 1을 참조한다.
- [0209] CNS 종양의 WHO 등급화는 종양의 조직학적 특징에 기초하여 악성 스케일을 확립한다. 조직학적 등급은 다음과 같다: WHO 등급 I은, 낮은 증식능, 빈번한 분리 성질, 및 단독의 외과적 절개 후의 치유 가능성을 갖는 병변을 포함한다. WHO 등급 II는, 일반적으로 침윤하고 분열 활성이 낮지만 국소 치료 후에 등급 I 악성 종양보다 빈번하게 재발하는 병변을 포함한다. 일부 종양 타입은 보다 높은 등급의 악성도로 진행되는 경향이 있다. WHO 등급 III은, 핵 이형성 및 증가된 유사분열 활성을 포함하는 악성종양의 조직학적 증거를 갖는 병변을 포함한다. 이들 병변은 미분화 조직학 및 침윤 능력을 갖는다. 이들은 통상 적극적 보조 요법으로 치료된다. WHO 등급 IV는, 유사분열적으로 활성이고 괴사를 일으키기 쉬우며 일반적으로 신속한 수술전 및 수술후 진행 및 치명적 결과와 연관되는 병변을 포함한다. 병변은 통상 적극적 보조 요법으로 치료된다.
- [0210] 완전한 현재의 분류를 위해, 2000년에 발표되고 신경병리학자의 1999년 국제 컨센서스 회의로부터 유래된 신경계 종양의 새로운 세계 보건 기구(WHO) 분류를 참조한다[참조: Kleihues and Cavanee, Eds., 2000: Pathology and Genetics of Tumours of the Nervous System, Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.; Kleihues et al. (2002) The WHO Classification of Tumours of the Nervous System. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 61:215-225]. 실제의 분류는, 분자 유전자 특징, 예측 인자 및 계승된 종양 증후군에 대한 별개의 챕터를 포함하여 각 종양 타입의 임상병리학적 특징의 광범위한 기재 및 설명을 수반한다.
- [0211] 본 개시는, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 발현을 특징으로 하는 CNS에서 악성 신생물의 검출 및/또는 치료에 관한 것이다. 따라서, 한 가지 실시형태에서, CNS의 악성 신생물은
- [0212] a) i) 모양세포성(Pilocytic) 성상세포종(ICD-O 9421/1, WHO 등급 I), 필로믹소이드(Pilomyxoid) 성상세포종(ICD-O 9425/3, WHO 등급 II), 서브상의(Subependymal) 거대 세포 성상세포종(ICD-O 9384/1, WHO 등급 I), 다형성(Pleomorphic) 황색성상세포종(ICD-O 9424/3, WHO 등급 II), 미만성(Diffuse) 성상세포종(ICD-O 9400/3, WHO 등급 II), 미분화(Anaplastic) 성상세포종(ICD-O 9401/3, WHO 등급 III), 교아종(Glioblastoma)(ICD-O 9440/3, WHO 등급 IV), 거대 세포 교아종(ICD-O 9441/3, WHO 등급 IV), 교육종(Gliosarcoma)(ICD-O 9442/3, WHO 등급 IV), 대뇌 교종증(Gliomatosis cerebri)(ICD-O 9381/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 성상세포

종양, 및

- [0213] ii) 희돌기교종(Oligodendroglioma)(ICD-O 9450/3, WHO 등급 II) 및 미분화 희돌기교종(ICD-O 9451/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 희돌기교종(Oligodendroglial) 종양,
- [0214] iii) 희돌기성상세포종(Oligoastrocytoma)(ICD-O 9382/3, WHO 등급 II) 및 미분화 희돌기성상세포종(ICD-O 9382/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 희돌기성상세포 종양, 및
- [0215] iv) 서브상의세포종(Subependymoma)(ICD-O 9383/1, WHO 등급 I), 점액유두 뇌실막종(Myxopapillary ependymoma)(ICD-O 9394/1, WHO 등급 I), 상의종(Ependymoma)(ICD-O 9391/3, WHO 등급 II), 미분화 상의종(ICD-O 9392/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 상의 종양(Ependymal tumour), 및
- [0216] v) 맥락막 신경총 유두종(Choroid plexus papilloma)(ICD-O 9390/0, WHO 등급 I), 비전형 맥락막 신경총 유두종(Atypical choroid plexus papilloma)(ICD-O 9390/1, WHO 등급 II) 및 맥락막 신경총 암(Choroid plexus carcinoma)(ICD-O 9390/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 맥락막 신경총 종양, 및
- [0217] vi) 성상아세포종(Astroblastoma) (ICD-O 9430/3, WHO 등급 I), 제3 뇌실의 척삭모양 교종(Chordoid glioma)(ICD-O 9444/1, WHO 등급 II) 및 혈관중심성 교종(Angiocentric glioma)(ICD-O 9431/1, WHO 등급 I)으로부터 선택된 기타 신경상피 종양
- [0218] vii) 소뇌의 이형성 신경절 세포종(Dysplastic gangliocytoma)(Lhermitte-Duclos)(ICD-O 9493/0), 섬유조직형 성성 유아 성상세포종/신경절교종(Desmoplastic infantile astrocytoma/ganglioglioma)(ICD-O 9412/1, WHO 등급 I), 이상 배세포성 신경상피 종양(Dysembryoplastic neuroepithelial tumour)(ICD-O 9413/0, WHO 등급 I), 신경교종(Gangliocytoma)(ICD-O 9492/0, WHO 등급 I), 신경절교종(Ganglioglioma)(ICD-O 9505/1, WHO 등급 I), 미분화 신경절교종(ICD-O 9505/3, WHO 등급 III), 중추 신경세포종(Central neurocytoma)(ICD-O 9506/1, WHO 등급 II), 뇌실의 신경세포종(Extraventricular neurocytoma)(ICD-O 9506/1, WHO 등급 II), 소뇌 지방신경세포종(Cerebellar liponeurocytoma)(ICD-O 9506/1, WHO 등급 II), 유두상 글리오뉴로날 종양(Papillary glioneuronal tumour)(ICD-O 9509/1, WHO 등급 I), 제4 뇌실의 로제트-형성 글리오뉴로날 종양(Rosette-forming glioneuronal tumour)(ICD-O 9509/1, WHO 등급 I) 및 부신경절종(Paraganglioma)(ICD-O 8680/1, WHO 등급 I)으로부터 선택된 뉴런 및 혼합 뉴런-교세포 종양,
- [0219] viii) 송과체세포종(Pineocytoma)(ICD-O 9361/1, WHO 등급 I), 중간 분화의 송과체 실질 종양(Pineal parenchymal tumour)(ICD-O 9362/3, WHO 등급 II, III), 송과체아종(Pineoblastoma)(ICD-O 9362/3, WHO 등급 IV) 및 송과체 영역의 유두 종양(Papillary tumour)(ICD-O 9395/3, WHO 등급 II, III)으로부터 선택된 송과체 영역의 종양,
- [0220] ix) 수아종(Medulloblastoma)(ICD-O 9470/3, WHO 등급 IV), 광범위한 소결절형성을 갖는 수아종(ICD-O 9471/3, WHO 등급 IV), 미분화 수아종(ICD-O 9474/3, WHO 등급 IV), CNS 원시 신경외배엽성 종양(Primitive neuroectodermal tumour)(ICD-O 9473/3, WHO 등급 IV), CNS 신경아세포종(Neuroblastoma)(ICD-O 9500/3, WHO 등급 IV) 및 비전형 기형종양/랩도이드 종양(Atypical teratoid/rhabdoid tumour)으로부터 선택된 배아 종양
- [0221] 으로부터 선택된 신경상피 조직의 종양,
- [0222] b) i) 신경초종(Schwannoma)(ICD-O 9560/0, WHO 등급 I),
- [0223] ii) 신경섬유종(Neurofibroma)(ICD-O 9540/0, WHO 등급 I),
- [0224] iii) 신경주위막종(Perineurioma)(ICD-O 9571/0, 9571/3, WHO 등급 I, II, III) 및
- [0225] iv) 악성 말초 신경초 종양(Malignant peripheral nerve sheath tumour)(MPNST) (ICD-O 9540/3, WHO 등급 II, III, IV)
- [0226] 으로부터 선택된 두개내(cranial) 및 척추주위(paraspinal) 신경의 종양, 및
- [0227] c) i) 수막종(Meningioma)(ICD-O 9530/0, WHO 등급 I), 비전형 수막종(ICD-O 9539/1, WHO 등급 II), 미분화 수막종(ICD-O 9530/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 수막세포성 세포의 종양, 및
- [0228] ii) 지방종(Lipoma)(ICD-O 8850/0), 혈관지방종(Angiolipoma)(ICD-O 8861/0), 갈색지방종(Hibernoma)(ICD-O 8880/0), 지방육종(Liposarcoma)(ICD-O 8850/3), 고립성 섬유성 종양(Solitary fibrous tumour)(ICD-O 8815/0), 섬유육종(Fibrosarcoma)(ICD-O 8810/3), 악성 섬유성 조직구종(Malignant fibrous

histiocytoma)(ICD-O 8830/3), 평활근종(Leiomyoma)(ICD-O 8890/0), 평활근육종(Leiomyosarcoma)(ICD-O 8890/3), 횡문근(Rhabdomyoma)(ICD-O 8900/0), 횡문근육종(Rhabdomyosarcoma)(ICD-O 8900/3), 연골종(Chondroma)(ICD-O 9220/0), 연골육종(Chondrosarcoma)(ICD-O 9220/3), 골종(Osteoma)(ICD-O 9180/0), 골육종(Osteosarcoma)(ICD-O 9180/3), 골-연골종(Osteo-chondroma)(ICD-O 9210/0), 혈관종(Haemangioma)(ICD-O 9120/0), 유상피 혈관내피종(Epithelioid hemangioendothelioma)(ICD-O 9133/1), 혈관주위 세포종(Haemangiopericytoma)(ICD-O 9150/1, WHO 등급 II), 미분화 혈관주위 세포종(ICD-O 9150/3, WHO 등급 III) 및 혈관육종(Angiosarcoma)(ICD-O 9120/3) 3.2.22 카포시 육종(Kaposi Sarcoma)(ICD-O 9140/3), 유잉 육종(Ewing Sarcoma)-PNET (ICD-O 9364/3)으로부터 선택된 간엽 종양, 및

[0229] iii) 미만성 멜라닌세포증(Diffuse melanocytosis)(ICD-O 8728/0), 멜라닌세포종(Melanocytoma)(ICD-O 8728/1), 악성 흑색종(Malignant melanoma)(ICD-O 8720/3), 수막성 멜라닌종증(Meningeal melanomatosis)(ICD-O 8728/3)으로부터 선택된 일차 멜라닌세포 병변, 및

[0230] iv) 햄-혈관아세포종(Haem-angioblastoma)(ICD-O 9161/1, WHO 등급 I) 등의 수막과 관련된 기타 신생물

[0231]로부터 선택된 수막의 종양,

[0232] d) i) 악성 림프종(Malignant Lymphomas)(ICD-O 9590/3) 4.2 형질세포종(Plasmocytoma)(ICD-O 9731/3) 및

[0233] ii) 과립구성 육종(Granulocytic sarcoma)(ICD-O 9930/3)

[0234]으로부터 선택된 조혈계의 종양

[0235] e) i) 두개인두종(Craniopharyngioma)(ICD-O 9350/1, WHO 등급 I),

[0236] ii) 과립 세포 종양(Granular cell tumour)(ICD-O 9582/0, WHO 등급 I)

[0237] iii) 뇌하수체세포종(Pituicytoma)(ICD-O 9432/1, WHO 등급 I) 및

[0238] iv) 섬유하수체의 방추 세포 호산성세포종(Spindle cell oncocytoma)(ICD-O 8991/0, WHO 등급 I)

[0239]으로부터 선택된다.

[0240] 한 가지 실시형태에서, 본 발명의 방법에 의해 검출 및/또는 치료된 악성 신생물은 신경교종, 예를 들면, 등급 II, III 또는 IV 신경교종이다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에 의해 검출 및/또는 치료되는 악성 신생물은 성상세포종이다.

[0241] 특정한 실시형태에서, 악성 신생물은 신경교종, 예를 들면, 교아종이다. 본 발명에 의해 검출되는 교아종 종양은 또한 성상세포 종양, 희돌기교종 종양, 상의 세포 종양, 혼합 신경교종, 불특정 기원의 신경상피 종양, 맥락막 신경총의 종양, 뉴런 및 혼합 뉴런-교세포 종양, 송과체 실질 종양 및 신경아 또는 신경교질 요소를 갖는 종양(태아 종양), 상의세포종, 성상세포종, 희돌기교종, 희돌기성상세포종, 신경상피 종양, 및 신경 및 혼합 뉴런-교세포 종양으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0242] *III. 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛*

[0243] 인테그린은 알파 및 베타 서브유닛으로 이루어진 헤테로이량체이다. 인테그린 $\alpha 10\beta 1$ 헤테로이량체는 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛-특이적 항체 및 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 결합 펩티드 및 단백질에 의해 검출될 수 있다. 인테그린 $\alpha 10\beta 1$ 은 연골 조직에서 가장 풍부한 콜라겐-결합 인테그린이고, 이의 발현 패턴은 다른 콜라겐-결합 인테그린의 것과는 상이하다. 시험관내 및 생체내 연구는, 연골세포 분화 및 적절한 연골 발달에 필요한 세포-매트릭스 상호작용의 중요한 매개인자를 위한 특유한 표현형 마커로서 인테그린 $\alpha 10\beta 1$ 을 동정했다[참조: Lundgren Akerlund and Aszodi (2014) Adv Exp Med Biol. 819:61-71].

[0244] 인테그린 $\alpha 10\beta 1$ 은 1998년 연골세포 상에서 콜라겐 타입 II 결합 수용체로서 동정되었다[참조: Camper et al., 1998]. 발달중 및 성체 조직에서 면역조직화학 분석은 연골-함유 조직에 대한 마커의 제한된 국제화를 입증했다[참조: Camper et al. 1998, Camper et al., 2001]. 마커를 결여하는 녹아웃 마우스는, 무질서한 성장판, 매트릭스 중의 감소된 콜라겐 및 보다 짧은 장골(long-bones)를 갖고, 이는 이의 구조적 중요성을 추가로 뒷받침한다[참조: Bengtsson et al., 2005]. 아미노산 서열, 변이체, 이소형 및 서열 주석은 유니프로(Uniprot) 수탁 번호 075578- ITA10_HUMAN로 발견할 수 있다.

[0245] 더욱이, 인테그린 $\alpha 10\beta 1$ 은 간엽계 줄기 세포(MSC) 상에 존재하고, 응집체 배양물에서 시험관내 연골형성 중에 증가한다. MSC의 대규모 배양은 인테그린 $\alpha 10\beta 1$ 을 하향 조절하는 반면, 섬유아세포 성장 인자-2를 사용한 배

양된 간엽계 줄기 세포의 처리는 콜라겐 타입 II 및 아그레칸 등의 연골 특이적 분자와 함께 인테그린 $\alpha 10 \beta 1$ 의 발현을 증가시킨다. 이는 $\alpha 10 \beta 1$ 이 연골형성 능력을 갖는 MSC의 세포 표면 생물마커인 것을 입증한다[참조: Varas et al., 2007].

- [0246] 전좌를 포함하여 몇몇 상이한 마우스 뇌 구조는 이전에 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 발현을 위해 분석되었고, 분석된 임의의 건강한 뇌 구조에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 발현이 존재하지 않는 것으로 밝혀졌다(WO 99/51639).
- [0247] 따라서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛은 질환의 우수한 생물마커이다. 따라서, 본 발명은, 예를 들면, 서열번호 1(인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛), 서열번호 2(인테그린 $\alpha 10$ 의 세포외 도메인) 또는 서열번호 3(인테그린 $\alpha 10$ 의 세포외 I-도메인)에 대해 특이적으로 지시된 항체를 사용한 항원 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드의 검출에 관한 것이다. 추가로, 항원은 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 이소형, 스플라이싱 변이체 또는 천연 발생 변이체인 항원이다.
- [0248] 한 가지 실시형태에서, CNS의 악성 신생물은 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 변이체의 항원의 존재 또는 부재를 검출함으로써 검출되거나 진단되고, 여기서 상기 변이체는 서열번호 1, 2 또는 3과 적어도 70% 동일하고, 예를 들면, 서열번호 1, 2 또는 3과 적어도 75% 동일한 변이체, 예를 들면, 서열번호 1, 2 또는 3과 적어도 80% 동일한 변이체, 예를 들면, 변이체는 서열번호 1, 2 또는 3과 적어도 85% 동일한 변이체, 예를 들면, 서열번호 1, 2 또는 3과 적어도 90% 동일한 변이체, 예를 들면, 서열번호 1, 2 또는 3과 적어도 95% 동일한 변이체, 예를 들면, 서열번호 1, 2 또는 3과 적어도 96% 동일한 변이체, 예를 들면, 서열번호 1, 2 또는 3과 적어도 97% 동일한 변이체, 예를 들면, 서열번호 1, 2 또는 3과 적어도 98% 동일한 변이체, 예를 들면, 서열번호 1, 2 또는 3과 적어도 99% 동일한 변이체, 예를 들면, 서열번호 1, 2 또는 3과 적어도 99.5% 동일한 변이체이다.
- [0249] 한 가지 실시형태에서, CNS의 악성 신생물은 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 단편인 항원의 존재 또는 부재를 검출함으로써 검출되거나 진단되고, 여기서 상기 단편은 서열번호 1의 적어도 100개 연속 아미노산, 바람직하게는 서열번호 1의 적어도 200개 연속 아미노산, 바람직하게는 서열번호 1의 적어도 300개 연속 아미노산, 바람직하게는 서열번호 1의 적어도 400개 연속 아미노산, 바람직하게는 서열번호 1의 적어도 500개 연속 아미노산, 바람직하게는 서열번호 1의 적어도 600개 연속 아미노산, 바람직하게는 서열번호 1의 적어도 700개 연속 아미노산, 바람직하게는 서열번호 1의 적어도 800개 연속 아미노산, 바람직하게는 서열번호 1의 적어도 900개 연속 아미노산, 바람직하게는 서열번호 1의 적어도 1000개 연속 아미노산을 포함한다.
- [0250] 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛은 또한, 번역시 상기 본원에 정의된 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원을 생성하는 mRNA 전사물의 존재에 대해 샘플을 분석함으로써 뉴클레오티드 수준에서 검출할 수 있다.
- [0251] *인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 대해 지시된 항체*
- [0252] 한 가지 실시형태에서, 생물학적 샘플에서, 전형적으로 인테그린 $\alpha 10 \beta 1$ 헤테로이량체 단백질의 일부로서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 존재는, 면역학적 반응으로 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 결합하는 항-인테그린 $\alpha 10$ -특이적 항체를 사용함으로써 검출된다. 바람직하게는, 항체는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 세포외 도메인에 결합하지만, 특정 실시형태에서 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체는 전체 인테그린 $\alpha 10 \beta 1$ 헤테로이량체성 복합체에 대해 중첩 특이성을 갖는다. 이는, 예를 들면, 본 발명의 항체가 $\alpha 10$ 및 $\beta 1$ 서브유닛 둘 다를 커버하는 에피토프에 결합하는 것을 의미한다.
- [0253] 항체 및 이의 기능적 등가물은 당업자에게 공지된 임의의 적합한 방법으로 생산될 수 있다. 한 가지 실시형태에서, 본 발명의 항체는 하이브리도마 세포주(예를 들면, 수탁번호 DSM ACC2583하에 도이츠 삼릉 폰 마이크로오르가스텐 운트 젤쿨투렌 게엠베하(Deutsche Sammlung von Microorganismen und Zellkulturen GmbH)에 기탁된 mAb 365 하이브리도마 세포주)에서 생산되고, 따라서 세포외 $\alpha 10 \beta 1$ -도메인에 결합하는 항체를 생성한다. 이러한 하이브리도마의 생산을 위해, 인테그린 $\alpha 10 \beta 1$ 의 유전자 녹아웃 마우스를 사용할 수 있다. 녹아웃 마우스는 본원에서 참조로서 도입된 국제공개공보 제WO 03/101497호에 기재되어 있다.
- [0254] 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 세포외 도메인 또는 I-도메인 내의 에피토프를 특이적으로 인식하고 이에 결합하는 항체를 생산하는 한 가지 방법은 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 또는 이의 단편 또는 이의 기능적 동족체를 포유동물에게 투여하는 단계를 포함한다. 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 또는 이의 단편 또는 이의 기능적 동족체의 상기 세포외 도메인 또는 I-도메인은 본원에 기재된 임의의 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 단편 및 펩티드일 수 있다. 상기 포유동물에게 투여되는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 또는 이의 단편 또는 이의 기능적 동족체의 세포외 도메인 또는 I-도메인은 또한 "인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원" 또는 "인테그린 $\alpha 10$ 항원"으로 본원에서 지시된다.
- [0255] 한 가지 실시형태에서, 본 발명은 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 활성을 억제할 수 있는 항체를 생산하는 방법에 관

한 것이고, 여기서 상기 항체는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 세포외 도메인 또는 I-도메인 내의 에피토프를 특이적으로 인식한다.

- [0256] 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원은 상기 포유동물에게 1회 이상, 예를 들면, 2회, 예를 들면 3회, 예를 들면, 3 내지 5회, 예를 들면, 5 내지 10회, 예를 들면, 10 내지 20회, 예를 들면, 20 내지 50회, 예를 들면, 50회 이상 투여할 수 있다. 또한, 상이한 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원을 상기 포유동물에게 동시에 또는 임의 순서로 순차적으로 투여할 수 있다.
- [0257] 일반적으로, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원은 투여 전에 수용액 또는 현탁액으로 존재할 것이다. 추가로, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원은 하나 이상의 기타 화합물과 혼합할 수 있다. 예를 들면, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원은 하나 이상의 적합한 보조제 및/또는 하나 이상의 담체와 혼합할 수 있다.
- [0258] 보조제는 투여된 항원과 혼합하여 상기 항원에 대한 면역 반응을 증가시키거나 달리는 변형시키는 임의의 물질이다. 적합한 보조제는 당업자에게 공지되어 있다.
- [0259] 담체는 항원이 회합할 수 있는 스캐폴드 구조, 예를 들면, 폴리펩티드 또는 다당류이다. 담체는 보조제와는 독립적으로 존재할 수 있다. 적합한 담체는 당업자에게 공지되어 있다.
- [0260] 모노클로날 항체, 모노클로날 항체 또는 폴리클로날 항체의 혼합물을 제조하는 방법은 당업계에 공지되어 있고, 예를 들면, 문헌[참조: Antibodies: A Laboratory Manual, By Ed Harlow and David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988]에 기재되어 있다.
- [0261] 한 가지 실시형태에서, 본 발명의 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛은 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 생물학적 활성을 억제할 수 있는 항체이다.
- [0262] 한 가지 실시형태에서, 본 발명의 항체는 IgA, IgD, IgG 및 IgM로 이루어진 그룹으로부터 선택된 이소형을 갖는다. 추가의 실시형태에서, 항체는 IgG 이소형, 예를 들면, IgG1, IgG2 (e.g. IgG2a), IgG3 및 IgG4로 이루어진 그룹으로부터 선택된 IgG 이소형이다.
- [0263] 본 발명은, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 결합할 수 있는 모노클로날 및 폴리클로날 항체 및 이의 단편, 이의 항원 결합 단편 및 재조합 단백질을 의도한다.
- [0264] 한 가지 실시형태에서, 생물학적 샘플에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 존재를 검출하는데 사용된 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛-특이적 항체는 폴리클로날 항체이다.
- [0265] 한 가지 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원을 검출하는데 사용된 항체는 항체 단편이다. 항체의 항원 결합 단편은 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 항체의 단편이다. 본 발명의 항체 단편의 예는 Fab-단편, Fab' 단편, F(ab')₂ 단편 및 Fv 단편, 예를 들면, 단일-사슬 가변 단편(scFv) 및 단일-도메인 항체로 이루어진 그룹으로부터 선택된 항체 단편을 포함한다.
- [0266] 본 발명에 따르는 항체는 또한 키메라 항체, 즉 상이한 종으로부터 유래된 영역을 포함하는 항체일 수 있다. 키메라 항체는, 예를 들면, 하나의 동물 종으로부터의 가변 영역 및 또 다른 동물 종으로부터의 불변 영역을 포함할 수 있다. 예를 들면, 키메라 항체는 마우스 모노클로날 항체로부터 유래하는 가변 영역 및 인간인 불변 영역을 갖는 항체일 수 있다. 이러한 항체는 또한 인간화 항체로서 지칭될 수 있다.
- [0267] 한 가지 실시형태에서, 항체는, 상이한 특이성을 갖는 2개의 상이한 항원 결합 부위를 포함하는 단백질 또는 폴리펩티드인 이중특이적 항체 등의 헤테로특이적 항체이다. 예를 들면, 이중특이적 항체는 (a) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 상의 에피토프 및 (b) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 상의 또 다른 에피토프를 인식하고 이에 결합할 수 있다. 따라서, 이는 동일한 항원 내의 2개의 상이한 에피토프를 인식하고 이에 결합할 수 있다. 용어 "헤테로특이적 항체"는, 상이한 특이성을 갖는 2개 이상의 상이한 항원 결합 부위를 갖는 임의의 단백질 또는 폴리펩티드를 포함하는 것으로 의도된다. 따라서, 본 발명은, 이로써 한정되는 것은 아니지만, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 대해 지시되는, 이중특이적, 삼중특이적, 사중특이적 및 기타 다중특이적 항체를 포함한다.
- [0268] 한 가지 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적인 항체는
- [0269] a) 수탁번호 DSM ACC2583하에 도이츠 삼룽 폰 마이크로오르가스멘 운트 젤쿨투렌 게엠베하(Deutsche Sammlung von Microorganismen und Zellkulturen GmbH)에 기탁된 하이브리도마 세포주에 의해 생산된 모노클로날 항체; 또는

- [0270] b) 수탁번호 DSM ACC2583하에 도이츠 삼룽 폰 마이크로오르가스멘 운트 젤쿨투렌 게엠베하(Deutsche Sammlung von Microorganismen und Zellkulturen GmbH)에 기탁된 하이브리도마에 의해 생산된 모노클로날 항체에 의해 결합된 에피토프와 동일한 에피토프에의 결합에 대해 경쟁하는 항체; 또는
- [0271] c) 상기 a) 또는 b)의 단편으로서, 상기 단편이 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 쇄의 세포외 I-도메인에 특이적으로 결합할 수 있는 단편이다.
- [0272] 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체를 검출할 때에 양호한 신호 대 노이즈 비율을 수득하기 위해, 모이어티를 항체에 접합시켜 검출을 용이하게 할 필요가 있을 수 있다.
- [0273] 한 가지 실시형태에서, 항체는 검출가능한 모이어티, 예를 들면, 형광단, 효소 또는 방사성 트래이서 또는 방사성 동위원소로 이루어진 그룹으로부터 선택된 검출가능한 모이어티에 공유 결합된다. 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원은 또한 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 이외의 펩티드, 단백질 또는 폴리펩티드를 검출함으로써 검출할 수 있고, 여기서 상기 기타 펩티드, 단백질 또는 폴리펩티드는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원에 특이적으로 결합할 수 있다. 한 가지 실시형태에서, 상기 펩티드, 단백질 또는 폴리펩티드는 효소, 형광단 또는 방사성 트래이서에 결합된다. 방사성 트래이서는, 예를 들면, 양전자 방사체 또는 감마 방사체로부터 선택될 수 있다.
- [0274] 당업자는, 샘플의 상황 및 물리적 상태에 따라, 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체의 검출을 위한 표준 실험실 장치를 선택할 수 있다.
- [0275] 한 가지 실시형태에서, 당업자는 형광-활성화된 세포 선별(FACS) 등의 유세포 계측법을 사용하여 검출 단계를 수행할 것이다.
- [0276] 당업자에게 공지된 일반적 면역학적 방법은, 이로써 한정되는 것은 아니지만, 웨스턴 블롯, 효소 결합 면역흡착 검정(ELISA), 방사성면역검정(RIA), 면역조직화학(IHC), 면역형광 점정을 포함한다.
- [0277] 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 검출은 종래의 형광 현미경, 공초점 현미경, 2-광자 현미경, 유도 방출 고갈(STED) 등과 같은 검출 및 화상 분야에 공지된 방법, 예를 들면, 임상 화상을 사용하여 달성할 수 있다.
- [0278] *인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 검출을 위한 분자 프로브*
- [0279] 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원, 또는 폴리뉴클레오티드를 코딩하는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 존재에 대해 생물학적 샘플의 분석은 또한, 생물학적 샘플에서 이의 발현을 검출하기 위해 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 mRNA, cDNA 또는 단백질에 결합하거나 이와 하이브리드화할 수 있는 분자 프로브(단백질 또는 폴리뉴클레오티드)를 사용하거나, PCR, 바람직하게는 Q-PCR을 사용하여 수행할 수 있다.
- [0280] 한 가지 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 특이적 폴리뉴클레오티드 프로브는 광자를 임의로 방출할 수 있는 검출가능한 모이어티에 결합된다. 이러한 실시형태를 사용함으로써 진단 또는 조사되는 대상체는, 상기 검출가능한 모이어티, 예를 들면, 형광단을 여기할 수 있는 광원을 사용하여 조사할 수 있다. 광자를 검출하는 방법은, 이로써 한정되지 않지만, PET-스캔 및 SPECT-스캔을 포함한다.
- [0281] 특정 실시형태에서, 검출가능한 모이어티는 형광단, 효소 또는 방사성 트래이서로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0282] 폴리뉴클레오티드 전사물은 PCR, 바람직하게는 Q-PCR을 사용하여 검출할 수 있다.
- [0283] 추가의 실시형태에서, 생물학적 샘플에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 존재는, 하이브리드화 반응으로 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 RNA 또는 cDNA에 결합하는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 핵산 프로브를 사용하여 검출한다.
- [0284] 예시적 핵산 인테그린- $\alpha 10$ -특이적 표적 성분은 DNA-프로브, 안티센스 RNA 또는 RNAi, 예를 들면, 마이크로 RNAs, 짧은 간섭 RNA(siRNA) 및 짧은 헤어핀 RNA(shRNA)를 포함한다.
- [0285] 당해 기술분야에 공지된 핵산을 검출하는 전형적 방법은, 이로써 한정되는 것은 아니지만, 노턴 블롯팅, 서던 블롯팅, 폴리머라제 연쇄 반응(PCR), 마이크로어레이, 동일 반응계내 하이브리드화 등을 포함한다.
- [0286] 추가의 실시형태에서, 생물학적 샘플에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 존재는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 결합 펩티드 또는 단백질을 사용하여 검출한다. 이러한 펩티드 또는 단백질은 재조합으로 제조하거나, 화학적으로 합성하거나, 천연 공급원으로부터 정제할 수 있다.
- [0287] 추가의 실시형태에서, 생물학적 샘플에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 존재는, 하이브리드화 반응으로 인테그린

$\alpha 10$ 서브유닛 RNA 또는 cDNA에 결합하는, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛-특이적 항체, 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 결합 펩티드 또는 단백질, 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 핵산 프로브를 사용하여 생체내에서 검출된다.

- [0288] 생체내에서 세포 표면 항원 및 폴리뉴클레오타이드의 검출을 위한 일반적 방법은 당해 기술분야에 공지되어 있고, 이로써 한정되는 것은 아니지만, 양전자 방출 단층촬영, x-선 컴퓨터 단층촬영(CT), 자기 공명 영상(MRI) 및 기능적 자기 공명 영상(fMRI), 초음파 및 단일-광자 방출 컴퓨터 단층촬영(SPECT)를 포함한다. 특히, 세포 표면 항원은 항체 또는 기타 특이적으로 결합하는 단백질에 결합된 방사성 트래йс어를 사용한 면역표지화를 사용하여 생체내에서 영상화할 수 있다.
- [0289] 바람직하게는, 생체내 영상화에 사용된 항체는 이들의 보다 작은 크기 및 효과기 기능의 부재에 기인하여 항체 단편, 예를 들면, Fab 단편, 및 단일 사슬 항체이다.
- [0290] 상기 방법의 추가 단계는, 검출된 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 양을 양성 및/또는 음성 대조군과 비교하고, 이에 의해 CNS의 악성 신생물을 검출하는 것을 포함할 수 있다. 이는 양성 염색을 음성 염색으로부터 구별할 수 있도록 설정된 특정 실험에서 염색의 배경 수준을 설정하여, 당해 방법이 예상된 바와 같이 수행되고 양성 염색이 상기 종양의 진정한 검출임을 평가함으로써 수행할 수 있다.
- [0291] 추가로, 양성 대조군은 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛을 발현하는 것으로 공지된 세포주 또는 조직을 포함할 수 있다. 대조군 샘플의 예는, 이로써 한정되는 것은 아니지만, 교아종 세포주를 포함한다.
- [0292] 추가로, 음성 대조군은 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛을 발현하지 않는 것으로 공지된 세포주 또는 조직을 포함할 수 있다. 대조군 샘플의 예는, 이로써 한정되는 것은 아니지만, 뇌, 예를 들면, 인간 뇌로부터의 정상 세포, 조직 또는 세포주를 포함한다.
- [0293] *IV. 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛과 공-발현하는 마커*
- [0294] 악성 종양 세포(또한 암 세포로서 지칭됨)는 질환으로서 암의 기초이다. 이들 세포는 종양을 개시하고 종양 진행을 전방으로 유도하여, 유전자 질환으로서 암을 정의하는 발암 및 종양 억제인자 돌연변이를 갖는다[참조: Hanahan and Weinberg (2011) Cell 144(5):646-74].
- [0295] 악성 종양 세포에 대한 특이적 특징은, 이들이 인접 조직으로 침입하고 혈관에 유입하고 원격 부위로 전이한다는 것이다. 악성 세포 이외에, 종양 미소환경도 또한, 둘러싸고 있고 종양의 성장을 지지하는, 비악성 세포(예: 섬유아세포, 근섬유아세포, 내피 세포, 주피 세포 및 염증 세포) 및 분비된 단백질을 포함한다. 종양 세포의 미소환경 사이의 크로스토크(Crosstalk)는 한 방향으로 미소환경의 구성을 변화시키고, 역으로, 미소환경은 종양 세포가 성장하고 확산하는 방법에 영향을 미친다[참조: Ansell and Vonderheide (2013) Ansell SM, Vonderheide RH (2013) Cellular composition of the tumour microenvironment. Am Soc Clin Oncol Educ Book].
- [0296] 종양 미소환경 조성은 종양 부위에 따라 달라진다. 특히, 뇌는 다수의 특수화된 세포 타입, 예를 들면, 소교세포, 성상세포 및 뇌 내피 세포로 이루어진다. 뇌-관류 세포 이외에, 뇌 종양은 또한 조혈 세포의 상이한 모집단에 의해 침윤되는 것으로 밝혀졌다[참조: Loriger (2012) Cancers 4:218-243].
- [0297] 다수의 상이한 세포 타입은 암의 치료를 위해 가능한 표적이다. 예를 들면, 뇌 중의 혈관은 신경교종에서 암 줄기 세포 모집단의 확장 및 유지에 중요한 것으로 밝혀졌고, 주피 세포 및 이들과 종양 혈관계와의 상호작용은 동물 모델에서 두개내 종양 성장에 중요한 것으로 밝혀졌으며, 종양에 대한 내피 전구세포 동원의 억제는 또한 치료적 가치를 가질 수 있다.
- [0298] 혈관이 암 세포에 영양 및 산소를 공급함으로써 종양 성장을 촉진한다는 것은 충분히 인정되고 있다. 또한, 종양 세포는 내피 세포와 성상세포 종말 발(end feet) 프로세스 사이의 외골격 혈관 부위를 따라 이동함으로써 뇌 실질을 통해 확산하기 위해 혈관을 사용한다. 원발성 뇌 종양에서 암 줄기 세포(SCS) 모집단의 유지는 또한 소위 혈관주변 틈새(niche)의 존재에 의존한다.
- [0299] 단핵구계의 세포는 이들의 성숙 상태에 기초하여 분류되고, 이들의 자손은 마크로파지 및 수지상 세포를 포함한다. 이들 세포의 분화는 CD11c, CD14 및 CD68 등의 다양한 세포 표면 마커에 의해 정의된다.
- [0300] 단핵구 세포는, 적응 면역 반응을 또한 활성화시키면서 병원체에 대한 저항의 일선으로 작용하는 선천성 면역 반응에 필수적이다. 자극의 타입에 따라, 마크로파지는 고전적 M1 활성화(리포다당 및 IFN- γ 에 의해 자극됨) 또는 달리는 M2 활성화(IL-4 및 IL-13에 의해 자극됨)를 받을 수 있다. 수득되는 M1 및 M2 마크로파지는 상이한

사이토킨을 생산하고, 선천성 면역 반응에서 상이한 기능적 역할을 갖는다. 예를 들면, M1 마크로파지는 IL-12를 분비하고 Th1 세포 발달을 촉진하며, M2 마크로파지는 IL-10을 분비하고 Th2 세포의 발달을 촉진한다[참조: Schmieder et al. (2012) Semin Cancer Biol. 22:289-297]. M1 마크로파지는, 염증 신호에 대한 반응으로 종양 미소환경에 침윤하는 초기 종양으로 동원된다. 후속적으로, M1 마크로파지는, T 및 NK 세포의 발달 및 분화를 촉진하기 위해 염증성 사이토킨 및 케모카인을 방출한다. 이후 단계에서, 마크로파지는 종양 연관 마크로파지(TAM)으로 불리우는 아집단으로 분화한다. TAM은, TH2 분화 및 동원을 조장하기 위해 사이토킨을 방출하는 M2 세포로 분극할 수 있다. 추가로, TAM은, 혈관신생의 증가, 및 종양 성장을 지지하는데 관여하는 성장 인자의 발현을 유도하는, TGF- 등의 억제성 사이토킨을 분비함으로써 항종양 면역을 억제한다. 임상적 관찰은 종양내 마크로파지의 수 또는 밀도의 증가가 악성 신생물의 대부분에서 진행 및 예후 둘 다와 상관하는 것을 시사한다[참조: Bingle et al. (2002) Bingle L, Brown NJ, Lewis CE. (2002)]. 종양 진행에서 종양-연관 마크로파지의 역할은 문헌[참조: Bingle et al (2002) J Pathol. 196:254-265]에 기재되어 있다.

- [0301] 실시예 7 및 도 8 내지 9에서 입증된 바와 같이, 본 발명자들은 다양한 정도로 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛과 공-발현하는 다수의 마커를 발견했다. 이들 마커는 EGFRvIII, 네스틴, PSA-NCAM, GFAP, PDGFRb(CD140b), PECAM-1(CD31), CD45, CD68, CD163 및 CD206을 포함한다. 이들 발견에 기초하여, 본 발명자들은 포유동물의 중추신경계의 악성 신생물을 포함하는 세포를 검출 및 치료하는 다차원 방법을 제공한다.
- [0302] 따라서, 한 가지 양태에서, 본 발명은, 악성 또는 종양-연관 포유동물 세포를 검출하는 방법으로서,
- [0303] 상기 방법은, 단리된 샘플에서,
- [0304] a) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드를 포함하는 제1 항원; 및/또는
- [0305] b) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체를 코딩하는 제1 폴리뉴클레오티드 전사물 및
- [0306] c) EGFRvIII, 네스틴, PSA-NCAM, GFAP, PDGFRb(CD140b), PECAM-1(CD31), CD45, CD68, CD163 및 CD206으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 폴리펩티드를 포함하는 제2 항원; 및/또는
- [0307] d) 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체를 코딩하는 제2 폴리뉴클레오티드 전사물로서, 상기 폴리펩티드가 EGFRvIII, 네스틴, PSA-NCAM, GFAP, PDGFRb (CD140b), PECAM-1 (CD31), CD45, CD68, CD163, 및 CD206로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 전사물의 존재 또는 부재를 분석하는 것을 포함하고,
- [0308] 여기서, a)의 제1 항원 및/또는 b)의 제1 폴리뉴클레오티드 전사물은, c)의 제2 항원 및/또는 d)의 제2 전사물과 함께, 상기 포유동물 세포가 악성 세포 또는 종양-연관 세포인 것을 나타내는, 방법에 관한 것이다.
- [0309] 한 가지 양태에서, 본 발명은, 포유동물의 악성 또는 종양-연관 세포를 검출하는 방법으로서, 상기 방법은
- [0310] a) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드 및/또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리뉴클레오티드 전사물에 특이적으로 결합하는 제1 분자 프로브(여기서, 상기 제1 프로브는 광자를 방출할 수 있는 제1 모이어티에 공유 결합된다)를 포유동물에게 투여하는 단계; 및
- [0311] b) EGFRvIII, 네스틴, PSA-NCAM, GFAP, PDGFRb (CD140b), PECAM-1 (CD31), CD45, CD68, CD163 및 CD206으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 폴리펩티드; 및/또는 EGFRvIII, 네스틴, PSA-NCAM, GFAP, PDGFRb (CD140b), PECAM-1 (CD31), CD45, CD68, CD163 및 CD206으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물에 특이적으로 결합할 수 있는 제2 분자 프로브(여기서, 상기 제2 분자 프로브는 광자를 방출할 수 있는 제2 모이어티에 공유 결합된다)를 포유동물에게 투여하는 단계;
- [0312] c) 상기 제1 및 상기 제2 모이어티로부터 방출된 광자를 검출하고, 중추신경계 또는 이의 일부의 화상을 형성하는 단계를 포함하는, 방법에 관한 것이다.
- [0313] 상기 제1 및 상기 제2 모이어티로부터 광자의 국제화 방출은 상기 포유동물의 악성 또는 종양-연관 세포를 나타내는, 방법에 관한 것이다.
- [0314] *EGFRvIII*
- [0315] 상피 성장 인자 수용체(EGFR)는, 종종 유전자 증폭의 결과로서, 다양한 인간 상피 종양에서 과발현된다. EGFR 유전자 증폭을 갖는 종양은 종종 EGFR 유전자 재배열을 함유하고, 가장 일반적인 세포외 도메인 돌연변이는 EGFRvIII이다. 이상 EGFRvIII 신호전달은 종양 진행을 유도하는데 중요한 것으로 밝혀졌고, 종종 불량한 예후와

상관한다. EGFRvIII은 교아종 다형태(GBM)을 갖는 환자의 상당한 비율에서 발현되는 것이 명백하다. 그러나, 다른 종양 타입에서 EGFRvIII의 존재는 논쟁의 여지가 있다[참조: Gan et al (2013) FEBS J 280(21): 5350-5370]. 본 발명자들은 EGFRvIII가 악성 세포에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛과 매우 고도로 공-발현하는 것을 발견했다. 따라서, 본 발명의 한 가지 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 및 EGFRvIII 항원을 공-발현하는 세포의 검출은, 상기 샘플이 유래하는 포유동물에서, 상기 세포가 악성 세포, 예를 들면, CNS의 악성 신생물의 세포, 예를 들면, 신경교종의 세포인 것을 나타낸다. 또 다른 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛을 코딩하는 폴리뉴클레오티드; 및 EGFRvIII 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물을 포함하는 세포의 검출은, 상기 샘플이 유래하는 포유동물에서, 상기 세포가 악성 세포, 예를 들면, CNS의 악성 신생물의 세포, 예를 들면, 신경교종의 세포인 것을 나타낸다.

[0316] *네스틴(Nestin)*

[0317] 네스틴은 타입 VI 중간 필라멘트(IF) 단백질이다. 이들 중간 필라멘트 단백질은 이들이 액손의 반경 성장에 관여하는 뉴런에서 주로 발현된다. 네스틴은 발달 신경계의 다양한 영역 및 배양된 세포에서 CNS 줄기 세포를 시험관내에서 동정하기 위해 가장 광범위하게 사용되는 마커였다. 본 발명자들은 네스틴이 일부 CNS 세포에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛과 공-발현하는 것을 발견했다. 따라서, 본 발명의 한 가지 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원 및 네스틴 항원을 공-발현하는 세포의 검출은, 상기 샘플이 유래하는 포유동물에서, 상기 세포가 악성 또는 종양-연관 세포, 예를 들면, CNS의 악성 신생물의 세포, 예를 들면, 신경교종의 세포인 것을 나타낸다. 또 다른 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물; 및 네스틴 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물을 포함하는 세포의 검출은, 상기 샘플이 유래하는 포유동물에서, 상기 세포가 악성 또는 종양-연관 세포, 예를 들면, CNS의 악성 신생물의 세포, 예를 들면, 신경교종의 세포인 것을 나타낸다.

[0318] *PSA-NCAM*

[0319] 폴리시알화(PolySialylated) 신경 세포 접착 분자(PSA-NCAM)는 미성숙 척추 신경계에서 뉴런의 발달 및 이동 및 시냅스형성의 마커이다. 본 발명자들은 PSA-NCAM가 악성 또는 종양 연관 세포에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛과 공-발현하는 것을 발견했다. 따라서, 본 발명의 한 가지 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원 및 PSA-NCAM 항원을 공-발현하는 세포의 검출은, 상기 샘플이 유래하는 포유동물에서, 상기 세포가 악성 또는 종양-연관 세포, 예를 들면, CNS의 악성 신생물의 세포, 예를 들면, 신경교종의 세포인 것을 나타낸다.

[0320] 또 다른 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물; 및 PSA-NCAM 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물을 포함하는 세포의 검출은, 상기 샘플이 유래하는 포유동물에서, 상기 세포가 악성 또는 종양-연관 세포, 예를 들면, CNS의 악성 신생물의 세포, 예를 들면, 신경교종의 세포인 것을 나타낸다.

[0321] *GFAP*

[0322] 교세포 섬유 산성 단백질(GFAP)은, 정상세포 및 상의 세포를 포함하는 중추신경계(CNS)의 다수의 세포 타입에 의해 발현되는 중간 필라멘트(IF) 단백질이다. GFAP는 세포의 형상 뿐만 아니라 정상세포 기계적 강도를 유지하는데 역할을 하는 것으로 생각되지만, 이의 정확한 기능은, 세포 마커로서 이를 사용하는 다수의 연구에도 불구하고, 충분히 알지 못하는 상태이다. 본 발명자들은 GFAP가 포유동물 세포에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛과 공-발현하는 것을 발견했다. 따라서, 본 발명의 한 가지 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원 및 GFAP 항원을 공-발현하는 세포의 검출은, 상기 샘플이 유래하는 포유동물에서, 상기 세포가 악성 또는 종양-연관 세포, 예를 들면, CNS의 악성 신생물의 세포, 예를 들면, 신경교종의 세포인 것을 나타낸다. 또 다른 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물; 및 GFAP 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물을 포함하는 세포의 검출은, 상기 샘플이 유래하는 포유동물에서, 상기 세포가 악성 또는 종양-연관 세포, 예를 들면, CNS의 악성 신생물의 세포, 예를 들면, 신경교종의 세포인 것을 나타낸다.

[0323] *PDGFRb (CD140b)*

[0324] 베타-타입 혈소판-유래 성장 인자 수용체는 인간에서 PDGFRB 유전자에 의해 코딩되는 단백질이다. 이 유전자는 혈소판-유래 성장 인자 계열의 구성원에 대해 세포 표면 티로신 키나제 수용체를 코딩한다. 이들 성장 인자는 중엽계 기원의 세포에 대한 미토겐이다. 본 발명자들은 PDGFRb/CD140b가 악성 세포에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛과 공-발현하는 것을 발견했다. 따라서, 본 발명의 한 가지 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원 및 PDGFRb/CD140b 항원을 공-발현하는 세포의 검출은, 상기 샘플이 유래하는 포유동물에서, 상기 세포가 악성 또는

종양 연관 세포, 예를 들면, CNS의 악성 신생물의 세포, 예를 들면, 신경교종의 세포인 것을 나타낸다. 또 다른 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드; 및 PDGFRb/CD140b 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물을 포함하는 세포의 검출은, 상기 샘플이 유래하는 포유동물에서, 상기 세포가 악성 또는 종양 연관 세포, 예를 들면, CNS의 악성 신생물의 세포, 예를 들면, 신경교종의 세포인 것을 나타낸다.

[0325] *PECAM-1(CD31)*

[0326] 분화 클러스터 31(CD31)로서 또한 공지된 혈소판 내피 세포 접착 분자(PECAM-1)는 인체로부터 성숙 호중구를 제거하는데 중요한 역할을 한다. PECAM-1은 통상 내피 세포, 혈소판, 마크로파지 및 쿠퍼(Kupffer) 세포, 과립구, T/NK 세포, 림프구, 거핵구, 과골세포, 호중구 상에서 발견된다. CD31은 또한 유상피 혈관내피종, 유상피 육종-양 혈관내피종, 기타 혈관 종양, 조직구성 악성종양 및 형질세포종을 포함하는 특정 종양에서 발현된다. 이는 카포시 육종 등의 일부 육종 및 암종에서 거의 발견되지 않는다. 본 발명자들은 PECAM-1(CD31)이 악성 세포에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛과 공-발현하는 것을 발견했다. 따라서, 본 발명의 한 가지 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원 및 PECAM-1(CD31) 항원을 공-발현하는 세포의 검출은, 상기 샘플이 유래하는 포유동물에서, 상기 세포가 악성 또는 종양 연관 세포, 예를 들면, CNS의 악성 신생물의 세포, 예를 들면, 신경교종의 세포인 것을 나타낸다. 또 다른 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물; 및 PECAM-1(CD31) 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물을 포함하는 세포의 검출은, 상기 샘플이 유래하는 포유동물에서, 상기 세포가 악성 또는 종양 연관 세포, 예를 들면 CNS의 악성 신생물의 세포, 예를 들면, 신경교종의 세포인 것을 나타낸다.

[0327] *CD45*

[0328] 단백질 티로신 포스파타제, 수용체 타입, C(PTPRC)로서 또한 공지된 CD45는, 인간에서 PTPRC 유전자에 의해 코딩되는 효소이다. CD45는, 이들 세포의 활성화를 보조하는 적혈구 및 혈장세포를 제외하고는, 다양한 형태로 모든 분화된 조혈 세포 상에 존재하는 타입 I 막관통 단백질이다. CD45는 림프구, B-세포 만성 림프구성 백혈병, 헤어 세포 백혈병 및 급성 비림프성 백혈병에서 발현된다. 본 발명자들은 CD45가 악성 세포에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛과 고도로 공-발현하는 것을 발견했다. 따라서, 본 발명의 한 가지 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원 및 CD45 항원을 공-발현하는 세포의 검출은, 상기 샘플이 유래하는 포유동물에서, 상기 세포가 악성 또는 종양 연관 세포, 예를 들면, CNS의 악성 신생물의 세포, 예를 들면, 신경교종의 세포인 것을 나타낸다.

[0329] 또 다른 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물; 및 CD45 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물을 포함하는 세포의 검출은, 상기 샘플이 유래하는 포유동물에서, 상기 세포가 악성 또는 종양 연관 세포, 예를 들면, CNS의 악성 신생물의 세포, 예를 들면, 신경교종의 세포인 것을 나타낸다.

[0330] *CD68*

[0331] CD68(분화 클러스터 68)은 저밀도 지단백질에 결합하는 당단백질이다. CD68은, 상이한 혈액 세포 및 근세포 범위의 세포질 과립에서 발견된다. 이는, 단핵구, 조직구, 거대세포, 쿠퍼 세포 및 연골세포를 포함하는 다양한 마크로파지 계통의 세포에 대한 마커로서 특히 유용한 것으로 생각된다. 마크로파지에서 이의 존재는 또한 이들 세포의 증식 또는 이상과 관련되는 상태, 예를 들면, 악성 조직구중, 조직구성 림프종 및 고셔(Gaucher)병을 진단하는데 유용하게 한다. 본 발명자들은 CD68이 악성 세포에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛과 고도로 공-발현하는 것을 발견했다. 따라서, 본 발명의 한 가지 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원 및 CD68 항원을 공-발현하는 세포의 검출은, 상기 샘플이 유래하는 포유동물에서, 상기 세포가 악성 또는 종양 연관 세포, 예를 들면, CNS의 악성 신생물의 세포, 예를 들면, 신경교종의 세포인 것을 나타낸다. 또 다른 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물; 및 CD68 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물을 포함하는 세포의 검출은, 상기 샘플이 유래하는 포유동물에서, 상기 세포가 악성 또는 종양 연관 세포, 예를 들면, CNS의 악성 신생물의 세포, 예를 들면, 신경교종의 세포인 것을 나타낸다.

[0332] *CD163*

[0333] CD163(분화 클러스터 163)은 헤모글로빈-합토크로빈 복합체에 대한 스캐빈저 수용체이다. 또한, 이는 단핵구/마크로파지 계통의 세포를 표지하는 것으로 밝혀졌다. 본 발명자들은 CD163이 악성 세포에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛과 공-발현하는 것을 발견했다. 따라서, 본 발명의 한 가지 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원 및 CD163 항원을 공-발현하는 세포의 검출은, 상기 샘플이 유래하는 포유동물에서, 상기 세포가 악성 또는 종양 연

관 세포, 예를 들면, CNS의 악성 신생물의 세포, 예를 들면, 신경교종의 세포인 것을 나타낸다. 또 다른 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물; 및 CD163 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물을 포함하는 세포의 검출은, 상기 샘플이 유래하는 포유동물에서, 상기 세포가 악성 또는 종양 연관 세포, 예를 들면, CNS의 악성 신생물의 세포, 예를 들면, 신경교종의 세포인 것을 나타낸다.

[0334] CD206

[0335] 만노즈 수용체로서 또한 지칭되는 CD206(분화 클러스터 206)은 마크로파지 및 미성숙 수지상 세포의 표면 상에 주로 존재하지만, 인간 피부 섬유아세포 및 각질세포 등의 피부 세포의 표면 상에서 또한 발현된다. 본 발명자들은 CD206이 악성 세포에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛과 공-발현하는 것을 발견했다. 따라서, 본 발명의 한 가지 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원 및 CD206 항원을 공-발현하는 세포의 검출은, 상기 샘플이 유래하는 포유동물에서, 상기 세포가 악성 또는 종양 연관 세포, 예를 들면, CNS의 악성 신생물의 세포, 예를 들면, 신경교종의 세포인 것을 나타낸다. 또 다른 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물; 및 CD206 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물을 포함하는 세포의 검출은, 상기 샘플이 유래하는 포유동물에서, 상기 세포가 악성 또는 종양 연관 세포, 예를 들면, CNS의 악성 신생물의 세포, 예를 들면, 신경교종의 세포인 것을 나타낸다.

[0336] 본 발명의 데이터 및 문헌 증거에 기초하여, 본 발명자들은 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드, 및 EGFRvIII, 네스틴, PSA-NCAM, GFAP, PDGFRb(CD140b), PECAM-1(CD31), CD45, CD68, CD163 및 CD206으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 추가의 폴리펩티드를 발현하는 세포를 동정하는 방법을 제공한다. 발현 패턴에 따라, 세포는 표 1에 제시된 바와 같이 동정할 수 있다.

[0337] 본 발명에 따라 분석한 샘플은 악성 세포 또는 종양-연관 세포를 함유한다. 한 가지 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛을 발현하는 세포는 악성 세포이다. 한 가지 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛을 발현하는 세포는 종양-연관 세포이다. 한 가지 실시형태에서, 악성 세포 또는 종양-연관 세포는 교세포; 줄기 세포; 전구 세포; 성상세포; 주피 세포; 내피 세포; 조혈 세포; 및 소교세포로 이루어진 그룹으로부터 선택된 세포를 포함한다.

[0338] 조혈 세포는, 예를 들면, 조혈 줄기 세포, T-세포, B-세포, 형질 세포, NK-세포, 수지상 세포, 마크로파지 및 단핵구로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다. 특정 실시형태에서, 마크로파지는 종양-연관 마크로파지(TAM)이다.

[0339] 한 가지 실시형태에서, 세포는 EGFRvIII⁺ 세포, 네스틴⁺ 세포, PSA-NCAM⁺ 세포, GFAP⁺ 세포, PDGFRb⁺ 세포(CD140b⁺ 세포), PECAM-1⁺ 세포(CD31⁺ 세포), CD45⁺ 세포, CD68⁺ 세포, CD163⁺ 세포 및 CD206⁺ 세포, 또는 이의 임의의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0340] V. 샘플

[0341] 샘플은 CNS로부터 또는 이로부터 유래하는 임의의 샘플일 수 있다. 조직 또는 혈액 샘플을 수득하는 방법은 당업자에게 통상적이다. 특정 실시형태에서, 생물학적 샘플은 뇌 조직 샘플 또는 척수 조직 샘플이다. 추가의 실시형태에서, 생물학적 샘플은 뇌 종양 조직 샘플 또는 척수 종양 조직 샘플이다. 추가의 실시형태에서, 생물학적 샘플은 혈액 샘플이다.

[0342] 실시예 4 및 도 5에서 입증된 바와 같이, 전혈 또는 혈장 등의 혈액에 존재하는 세포에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛을 또한 검출할 수 있다. 따라서, 한 가지 실시형태에서, CNS의 악성 신생물의 검출 또는 진단은, 상기 혈액 샘플에 존재하는 세포 상에서 또는 세포 내에서, 혈액 샘플을 채취하고 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 또는 이의 단편(예를 들면, 서열번호 2 또는 3을 포함하는 단편)의 존재 또는 부재를 분석함으로써 수행된다.

[0343] 추가의 실시형태에서, 생물학적 샘플은 대상체이고, 예를 들면, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 발현을 위한 시험은 생체내 또는 동일 반응계에서 수행된다. 수술에 의해 대상체로부터 CNS의 악성 신생물을 제거한 후, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛-특이적 항체, 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 결합 펩티드 또는 단백질, 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 핵산 프로브를 사용하여 종양으로부터의 잔류 세포를 검출할 수 있다. 이는, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛-특이적 항체, 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 결합 펩티드 또는 단백질, 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 핵산 프로브를 종양 제거 후에 나타나는 공동에 적용함으로써 뇌 종양이 제거된 공간을 접촉시킴으로써 수행할 수 있다. 따라서, 적용된 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛-특이적 항체, 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 결합 펩티드 또는 단백질, 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 핵산 프로브는 종양의 제거 후에 공동에 잔류한 신경교종 종양으로부터 임의의 잔류 세포

를 검출할 것이다.

- [0344] 추가의 실시형태에서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛-특이적 항체, 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 결합 펩티드 또는 단백질, 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 핵산 프로브는 브러싱 또는 분무에 의해 종양 제거 후 나타나는 공동에 적용할 수 있다.
- [0345] 생체내에서 조직 또는 세포의 검출을 위한 다수의 검출 방법은 당업자에게 공지되어 있다. 이러한 촬영 방법은 양전자 방사 단층촬영(PET), 단일 광자 방출 컴퓨터 단층촬영(SPECT), X-선 컴퓨터 단층촬영(CT), 자기 공명 영상(MRI), 기능적 자기 공명 영상(fMRI) 및 초음파를 포함한다.
- [0346] 본 발명의 추가의 양태는, 시험관내, 동일 반응계내 또는 생체내에서 생물학적 샘플 중의 신경교종을 검출하기 위한 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛-특이적 항체, 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 결합 펩티드 또는 단백질, 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 핵산 프로브의 용도이다.
- [0347] VI. 키트
- [0348] 추가로, 본 발명의 양태는, 생물학적 샘플에서, 신경교종 등의 CNS의 악성 신생물을 검출하기 위한 키트로서, 상기 키트는
- [0349] a) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적인 항체, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원에 결합하는 펩티드, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 전사물과 하이브리드화할 수 있는 폴리뉴클레오티드 프로브; 또는
- [0350] b) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 전사물의 증폭을 위한 프라이머 쌍; 및
- [0351] c) 임의로, 사용 설명서를 포함하는, 키트를 제공한다.
- [0352] 추가로, 상기 키트는 양성 및/또는 음성 대조군 샘플, 예를 들면, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛을 발현하거나 발현하지 않는 것으로 공지된 세포주 또는 조직을 포함할 수 있다. 대조군 샘플의 예는, 이로써 한정되는 것은 아니지만, 교아종 세포주, 정상 세포, 뇌, 예를 들면, 인간 뇌로부터의 조직 또는 세포주를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 뇌 세포 또는 세포주는 성인 기원의 것이다.
- [0353] 일부 실시형태에서, 키트는, 예를 들면, 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛-특이적 항체, 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원에 결합하는 펩티드, 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛을 코딩하는 핵산 프로브 또는 이의 보체의 사용 수단을 개시하는 교재를 포함한다. 상기 지침은 전자적 형태로 기재될 수 있거나, 시각적일 수 있다.
- [0354] 일부 실시형태에서, 키트는 또한, 당해 키트가 설계되는 특정 적용을 용이하게 하기 위한 추가 성분을 포함할 수 있다. 따라서, 예를 들면, 키트는 개시된 방법의 실시를 위해 통상 사용되는 완충제 및 기타 시약을 포함할 수 있다. 이러한 키트 및 적절한 내용은 당업자에게 공지되어 있다.
- [0355] 특정 실시형태에서, 키트는, 본원의 다른 개소에 기재된 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛과 공-발현되거나 공-국재화되는 것으로 공지된 하나 이상의 추가 마커를 검출하기 위한 추가의 재료, 예를 들면, 항체를 포함한다.
- [0356] VII. 검출가능한 모이어티
- [0357] 본 발명의 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체는 검출가능한 모이어티를 포함할 수 있고, 예를 들면, 항체는 검출가능한 모이어티에 공유 결합될 수 있다.
- [0358] 한 가지 실시형태에서, 항체는 형광단, 효소 또는 방사성 트래이서 또는 방사선 동위원소로 이루어진 그룹으로부터 선택된 검출가능한 모이어티에 공유 결합된다. 한 가지 실시형태에서, 검출가능한 모이어티는 양자 방사체 및 감마 방사체로부터 선택된 방사성 트래이서이다. 한 가지 실시형태에서, 방사선 동위원소는 ^{99m}Tc , ^{111}In , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{72}As , ^{89}Zr , ^{123}I 및 ^{201}Tl 로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0359] 한 가지 실시형태에서, 항체는 검출가능한 및 세포독성 방사성핵종의 쌍, 예를 들면, $^{86}\text{Y}/^{90}\text{Y}$ 또는 $^{124}\text{I}/^{211}\text{At}$ 를 포함한다.
- [0360] 한 가지 실시형태에서, 방사선 동위원소는 검출가능한 모이어티로서 및 또한 세포독성 모이어티로서 멀티-모달 방식으로 동시에 작용할 수 있다.
- [0361] 한 가지 실시형태에서, 검출가능한 모이어티는 항자성 동위체, 예를 들면, ^{157}Gd , ^{55}Mn , ^{162}Dy , ^{52}Cr 및 ^{56}Fe 로 이루어진 그룹으로부터 선택된 것을 포함하거나 이들로 이루어진다. 한 가지 실시형태에서, 검출가능한 모이어티

는 SPECT, PET, MRI, 광학 또는 초음파 영상 등의 영상화 기술에 의해 검출할 수 있다.

- [0362] 한 가지 실시형태에서, 세포독성 모이어티 및/또는 검출가능한 모이어티는 연결 모이어티를 통해 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 간접적으로 결합된다. 연결 모이어티는, 예를 들면, 킬레이트제, 예를 들면, 1,4,7,10-테트라아자사이클로데칸-1,4,7,10, 테트라아세트산(DOTA)의 유도체, 데페록사민(DFO), 디에틸렌트리아민펜타아세트산(DTPA)의 유도체, S-2-(4-이소티오시아나토벤질)-1,4,7-트리아자사이클로노난-1,4,7-트리아세트산(NOTA)의 유도체 및 1,4,8,11-테트라아자사이클로데칸-1,4,8,11-테트라아세트산(TETA)의 유도체로 이루어진 그룹으로부터 선택된 킬레이트제일 수 있다.
- [0363] **항목**
- [0364] 1. 중추신경계에서 악성 신생물의 치료에 사용하기 위한 조성물로서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적으로 결합하는 항체를 포함하는 조성물.
- [0365] 2. 항목 1에 있어서, 상기 항체가 세포독성 모이어티가 세포독성 모이어티에 공유 결합되는, 조성물.
- [0366] 3. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 세포독성 모이어티가 독소, 화학요법제 및 방사성 제제로부터 선택되는, 조성물.
- [0367] 4. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 독소가 리보솜 불활성화 단백질인, 조성물.
- [0368] 5. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 불활성화 단백질이 시가(shiga) 및 시가-형 독소; 타입 I 리보솜 불활성화 단백질, 예를 들면, 트리코산틴 및 루핀; 타입 II 리보솜 불활성화 단백질, 예를 들면, 리신, 아글루티닌 및 아브린; 및 사포린으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 조성물.
- [0369] 6. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 리보솜 불활성화 단백질이 사포린인, 조성물.
- [0370] 7. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 항체가 생물학적 반응 변형제에 공유 결합되는, 조성물.
- [0371] 8. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 생물학적 반응 변형제가, 사이토킨, 예를 들면, 림포카인 또는 인터페론인, 조성물.
- [0372] 9. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 조성물이 하나 이상의 화학요법제를 추가로 포함하는, 조성물.
- [0373] 10. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 조성물이 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 희석제, 담체 또는 부형제를 추가로 포함하는, 조성물.
- [0374] 11. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛이 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 천연 발생 변이체, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 이소형 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 스프라이스 변이체인, 조성물.
- [0375] 12. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 항체가 사포사를 유도할 수 있고/있거나, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛을 발현하는 세포의 성장 및/또는 증식을 억제할 수 있는, 조성물.
- [0376] 13. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 세포가 악성 세포 또는 종양-연관 세포인, 조성물.
- [0377] 14. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 악성 세포 또는 종양-연관 세포가, 교세포; 주피 세포; 내피 세포; 조혈 세포; 및 줄기 세포로 이루어진 그룹으로부터 선택된 세포를 포함하는, 조성물.
- [0378] 15. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 조혈 세포가, 조혈 줄기 세포, T-세포, B-세포, 형질 세포, NK-세포, 수지상 세포, 마크로파지 및 단핵구로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 조성물.
- [0379] 16. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 마크로파지가 종양-연관 마크로파지(TAM)인, 조성물.
- [0380] 17. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 중추신경계 중의 악성 신생물이 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛을 발현하는 세포와 연관되는, 조성물.
- [0381] 18. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛이 인테그린 $\alpha 10\beta 1$ 헤테로이량체의 일부인, 조성물.
- [0382] 19. 이를 필요로 하는 대상체의 중추신경계에서 악성 신생물의 치료 방법으로서, 상기 방법이 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적으로 결합하는 임상적 유효량의 항체를 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 치료 방법.
- [0383] 20. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 치료가 예방적, 개선적 또는 치유적인, 치료 방법.

- [0384] 21. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 치료가 상기 대상체에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 검출로 개시되는, 치료 방법.
- [0385] 22. 세포사를 유도하고/하거나 중추신경계에서 악성 신생물과 연관된 세포의 성장 및/또는 증식을 억제하는 방법으로서, 상기 세포가 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛을 발현하는, 방법.
- [0386] 23. 포유동물의 중추신경계의 악성 신생물과 연관된 세포를 검출하는데 사용하기 위한 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 대해 특이성을 갖는 항체를 포함하거나 이들로 이루어지는 제제로서, 상기 세포가 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛을 발현하는, 제제.
- [0387] 24. 포유동물의 중추신경계에서 악성 신생물을 검출하는 방법으로서,
- [0388] a) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리뉴클레오티드 전사물에 특이적으로 결합할 수 있는 분자 프로브(여기서, 상기 분자 프로브는 광자를 방출할 수 있는 모이어티에 공유 결합한다)를 대상체에게 투여하는 단계,
- [0389] b) 상기 모이어티로부터 방출된 광자를 검출하고, 중추신경계 또는 이의 일부의 화상을 형성하는 단계를 포함하고,
- [0390] 여기서, 상기 모이어티로부터 광자의 국제화 방출은 상기 포유동물의 중추신경계에서 악성 신생물을 나타내는, 방법.
- [0391] 25. 포유동물의 중추신경계에서 악성 신생물을 검출하는 방법으로서,
- [0392] 단리된 샘플에서,
- [0393] a) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드를 포함하는 항원; 및/또는
- [0394] b) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물의 존재 또는 부재를 분석하는 것을 포함하고,
- [0395] 여기서, 상기 a)의 항원 및/또는 b)의 폴리뉴클레오티드 전사물의 존재가 상기 단리된 샘플에서 악성 신생물을 나타내는, 방법.
- [0396] 26. 포유동물의 중추신경계에서 악성 신생물을 진단하는 시험관내 진단 방법으로서,
- [0397] a) 시험관내 샘플을, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리뉴클레오티드 전사물에 특이적으로 결합할 수 있는 분자 프로브(여기서, 상기 분자 프로브는 광자를 방출할 수 있는 모이어티에 공유 결합한다)와 접촉시키는 단계, 및
- [0398] b) 상기 모이어티로부터 방출된 광자를 검출하고, 샘플의 화상을 형성하는 단계를 포함하고,
- [0399] 여기서, 상기 모이어티로부터 광자의 국제화 방출은 상기 포유동물의 중추신경계에서 악성 신생물을 나타내는, 방법.
- [0400] 27. 단리된 샘플에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 검출을 위한 시험관내 방법으로서, 단리된 샘플에서,
- [0401] a) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드를 포함하는 항원; 및/또는
- [0402] b) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물의 존재 또는 부재를 분석하는 것을 포함하고,
- [0403] 여기서, 상기 a)의 항원 및/또는 b)의 폴리뉴클레오티드 전사물의 존재가 상기 단리된 샘플에서 악성 신생물을 나타내는, 방법.
- [0404] 28. 시험관내, 동일 반응계내 또는 생체내에서 생물학적 샘플 중의 중추신경계의 악성 신생물을 검출하기 위한 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적으로 결합할 수 있는, 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛-특이적 항체의 용도.
- [0405] 29. 시험관내, 동일 반응계내 또는 생체내에서 생물학적 샘플 중의 중추신경계의 악성 신생물을 검출하기 위해 하이브리드화 반응으로 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 mRNA 또는 cDNA에 결합할 수 있는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 핵산 프로브의 용도.
- [0406] 30. 중추신경계의 악성 신생물을 진단하는 키트의 제조에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 핵산 프로브 화합물의

용도.

- [0407] 31. 중추신경계의 악성 신생물을 검출하는 키트의 제조에서, 인테그린 α10 서브유닛에 결합하는 항-인테그린 α10 서브유닛-특이적 항체의 용도.
- [0408] 32. 대상체가 중추신경계의 악성 신생물을 갖는지를 진단, 모니터링 또는 측정하기 위한 진단제의 제조를 위한 인테그린 α10 서브유닛 핵산 프로브의 용도로서, 상기 진단제가 생물학적 샘플에서 인테그린 α10 서브유닛 폴리뉴클레오타이드의 존재를 측정하기 위해 제조되고, 상기 샘플 중의 상기 인테그린 α10 서브유닛 폴리뉴클레오타이드의 존재가 상기 대상체의 중추신경계의 악성 신생물을 나타내는, 용도.
- [0409] 33. 포유동물이 중추신경계의 악성 신생물을 갖는지를 진단, 모니터링 또는 측정하기 위한 진단제의 제조를 위한 인테그린 α10 서브유닛에 결합하는 항-인테그린 α10 서브유닛-특이적 항체의 용도로서, 상기 진단제가 샘플에서 인테그린 α10 서브유닛 폴리펩티드의 존재를 측정하기 위해 제조되고, 상기 샘플 중의 상기 인테그린 α10 서브유닛 폴리펩티드의 존재가 상기 포유동물의 중추신경계의 악성 신생물을 나타내는, 용도.
- [0410] 34. 악성 또는 종양-연관 포유동물 세포를 검출하는 방법으로서,
- [0411] 상기 방법은, 단리된 샘플에서,
- [0412] a) 인테그린 α10 서브유닛 폴리펩티드를 포함하는 제1 항원; 및/또는
- [0413] b) 인테그린 α10 서브유닛 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체를 코딩하는 제1 폴리뉴클레오타이드 전사물 및
- [0414] c) EGFRvIII, 네스틴, PSA-NCAM, GFAP, PDGFRb(CD140b), PECAM-1(CD31), CD45, CD68, CD163 및 CD206으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 폴리펩티드를 포함하는 제2 항원; 및/또는
- [0415] d) 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체를 코딩하는 제2 폴리뉴클레오타이드 전사물로서, 상기 폴리펩티드가 EGFRvIII, 네스틴, PSA-NCAM, GFAP, PDGFRb (CD140b), PECAM-1 (CD31), CD45, CD68, CD163, 및 CD206로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 전사물의 존재 또는 부재를 분석하는 것을 포함하고,
- [0416] 여기서, a)의 제1 항원 및/또는 b)의 제1 폴리뉴클레오타이드 전사물은, c)의 제2 항원 및/또는 d)의 제2 전사물과 함께, 상기 포유동물 세포가 악성 세포 또는 종양-연관 세포인 것을 나타내는, 방법.
- [0417] 35. 포유동물의 악성 또는 종양-연관 세포를 검출하는 방법으로서, 상기 방법은
- [0418] a) 인테그린 α10 서브유닛 폴리펩티드 및/또는 인테그린 α10 서브유닛 폴리뉴클레오타이드 전사물에 특이적으로 결합하는 제1 분자 프로브(여기서, 상기 제1 프로브는 광자를 방출할 수 있는 제1 모이어티에 공유 결합된다)를 포유동물에게 투여하는 단계; 및
- [0419] b) EGFRvIII, 네스틴, PSA-NCAM, GFAP, PDGFRb (CD140b), PECAM-1 (CD31), CD45, CD68, CD163 및 CD206으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 폴리펩티드; 및/또는 EGFRvIII, 네스틴, PSA-NCAM, GFAP, PDGFRb (CD140b), PECAM-1 (CD31), CD45, CD68, CD163 및 CD206으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 전사물에 특이적으로 결합할 수 있는 제2 분자 프로브(여기서, 상기 제2 분자 프로브는 광자를 방출할 수 있는 제2 모이어티에 공유 결합된다)를 포유동물에게 투여하는 단계;
- [0420] c) 상기 제1 및 상기 제2 모이어티로부터 방출된 광자를 검출하고, 중추신경계 또는 이의 일부의 화상을 형성하는 단계를 포함하고,
- [0421] 여기서, 상기 제1 및 상기 제2 모이어티로부터 광자의 국제화 방출은 상기 포유동물의 악성 또는 종양-연관 세포를 나타내는, 방법.
- [0422] 36. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 샘플이 악성 세포 또는 종양-연관 세포를 포함하는, 악제, 방법 또는 용도.
- [0423] 37. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 악성 세포 또는 종양-연관 세포가 교세포; 성상세포; 주피 세포; 내피 세포; 조혈 세포; 소교세포 및 줄기 세포로 이루어진 그룹으로부터 선택된 세포를 포함하는, 제제, 방법 또는 용도.
- [0424] 38. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 조혈 세포가 조혈 줄기 세포, T-세포, B-세포, 형질 세포, NK-세포, 수지상 세포, 마크로파지 및 단핵구로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 제제, 방법 또는 용도.

- [0425] 39. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 마크로파지가 종양-연관 마크로파지(TAM)인, 제제, 방법 또는 용도.
- [0426] 40. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 세포가 EGFRvIII⁺ 세포, 네스틴⁺ 세포, PSA-NCAM⁺ 세포, GFAP⁺ 세포, PDGFRb⁺ 세포(CD140b⁺ 세포), PECAM-1⁺ 세포(CD31⁺ 세포), CD45⁺ 세포, CD68⁺ 세포, CD163⁺ 세포 및 CD206⁺ 세포, 또는 이의 임의의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 제제, 방법 또는 용도.
- [0427] 41. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 세포가 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛⁺ 및 EGFRvIII⁺ 세포인, 제제, 방법 또는 용도.
- [0428] 42. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 세포가 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛⁺ 및 네스틴⁺ 세포인, 제제, 방법 또는 용도.
- [0429] 43. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 세포가 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛⁺ 및 PSA-NCAM⁺인, 제제, 방법 또는 용도.
- [0430] 44. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 세포가 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛⁺ 및 GFAP⁺ 세포인, 제제, 방법 또는 용도.
- [0431] 45. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 세포가 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛⁺ 및 PDGFRb⁺ 세포(CD140b⁺ 세포)인, 제제, 방법 또는 용도.
- [0432] 46. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 세포가 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛⁺ 및 PECAM-1⁺ 세포(CD31⁺ 세포)인, 제제, 방법 또는 용도.
- [0433] 47. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 세포가 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛⁺ 및 CD45⁺ 세포인, 제제, 방법 또는 용도.
- [0434] 48. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 세포가 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛⁺ 및 CD68⁺ 세포인, 제제, 방법 또는 용도.
- [0435] 49. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 세포가 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛⁺ 및 CD163⁺ 세포인, 제제, 방법 또는 용도.
- [0436] 50. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 세포가 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛⁺ 및 CD206⁺ 세포인, 제제, 방법 또는 용도.
- [0437] 51. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서,
- [0438] a) EGFRvIII, 네스틴, PSA-NCAM, GFAP, PDGFRb(CD140b), PECAM-1(CD31), CD45, CD68, CD163 및 CD206으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 폴리펩티드를 포함하는 항원; 및/또는
- [0439] b) 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물로서, 상기 폴리펩티드가 EGFRvIII, 네스틴, PSA-NCAM, GFAP, PDGFRb (CD140b), PECAM-1 (CD31), CD45, CD68, CD163, 및 CD206로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 전사물 중의 적어도 하나를 검출하는 것을 추가로 포함하는, 제제, 방법 또는 용도.
- [0440] 52. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 악성 신생물이
- [0441] a) i) 모양세포성(Pilocytic) 성상세포종(ICD-O 9421/1, WHO 등급 I), 필로믹소이드(Pilomyxoid) 성상세포종(ICD-O 9425/3, WHO 등급 II), 서브상기의(Subependymal) 거대 세포 성상세포종(ICD-O 9384/1, WHO 등급 I), 다형성(Pleomorphic) 황색성상세포종(ICD-O 9424/3, WHO 등급 II), 미만성(Diffuse) 성상세포종(ICD-O 9400/3, WHO 등급 II), 미분화(Anaplastic) 성상세포종(ICD-O 9401/3, WHO 등급 III), 교아종(Glioblastoma)(ICD-O 9440/3, WHO 등급 IV), 거대 세포 교아종(ICD-O 9441/3, WHO 등급 IV), 교육종(Gliosarcoma)(ICD-O 9442/3, WHO 등급 IV), 대뇌 교종증(Gliomatosis cerebri)(ICD-O 9381/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 성상세포

종양, 및

- [0442] ii) 회돌기교종(Oligodendroglioma)(ICD-O 9450/3, WHO 등급 II) 및 미분화 회돌기교종(ICD-O 9451/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 회돌기교세포(Oligodendroglial) 종양,
- [0443] iii) 회돌기성상세포종(Oligoastrocytoma)(ICD-O 9382/3, WHO 등급 II) 및 미분화 회돌기성상세포종(ICD-O 9382/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 회돌기성상세포 종양, 및
- [0444] iv) 서브상의세포종(Subependymoma)(ICD-O 9383/1, WHO 등급 I), 점액유두 뇌실막종(Myxopapillary ependymoma)(ICD-O 9394/1, WHO 등급 I), 상의종(Ependymoma)(ICD-O 9391/3, WHO 등급 II), 미분화 상의종(ICD-O 9392/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 상의 종양(Ependymal tumour), 및
- [0445] v) 맥락막 신경총 유두종(Choroid plexus papilloma)(ICD-O 9390/0, WHO 등급 I), 비전형 맥락막 신경총 유두종(Atypical choroid plexus papilloma)(ICD-O 9390/1, WHO 등급 II) 및 맥락막 신경총 암(Choroid plexus carcinoma)(ICD-O 9390/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 맥락막 신경총 종양, 및
- [0446] vi) 성상아세포종(Astroblastoma)(ICD-O 9430/3, WHO 등급 I), 제3 뇌실의 척삭모양 교종(Chordoid glioma)(ICD-O 9444/1, WHO 등급 II) 및 혈관중심성 교종(Angiocentric glioma)(ICD-O 9431/1, WHO 등급 I)으로부터 선택된 기타 신경상피 종양
- [0447] vii) 소뇌의 이형성 신경절 세포종(Dysplastic gangliocytoma)(Lhermitte-Duclos)(ICD-O 9493/0), 섬유조직형 성상 유아 성상세포종/신경절교종(Desmoplastic infantile astrocytoma/ganglioglioma)(ICD-O 9412/1, WHO 등급 I), 이상 배세포성 신경상피 종양(Dysembryoplastic neuroepithelial tumour)(ICD-O 9413/0, WHO 등급 I), 신경교종(Gangliocytoma)(ICD-O 9492/0, WHO 등급 I), 신경절교종(Ganglioglioma)(ICD-O 9505/1, WHO 등급 I), 미분화 신경절교종(ICD-O 9505/3, WHO 등급 III), 중추 신경세포종(Central neurocytoma)(ICD-O 9506/1, WHO 등급 II), 뇌실의 신경세포종(Extraventricular neurocytoma)(ICD-O 9506/1, WHO 등급 II), 소뇌 지방신경세포종(Cerebellar liponeurocytoma)(ICD-O 9506/1, WHO 등급 II), 유두상 글리오뉴로날 종양(Papillary glioneuronal tumour)(ICD-O 9509/1, WHO 등급 I), 제4 뇌실의 로제트-형성 글리오뉴로날 종양(Rosette-forming glioneuronal tumour)(ICD-O 9509/1, WHO 등급 I) 및 부신경절종(Paraganglioma)(ICD-O 8680/1, WHO 등급 I)으로부터 선택된 뉴런 및 혼합 뉴런-교세포 종양,
- [0448] viii) 송과체세포종(Pineocytoma)(ICD-O 9361/1, WHO 등급 I), 중간 분화의 송과체 실질 종양(Pineal parenchymal tumour)(ICD-O 9362/3, WHO 등급 II, III), 송과체아종(Pineoblastoma)(ICD-O 9362/3, WHO 등급 IV) 및 송과체 영역의 유두 종양(Papillary tumour)(ICD-O 9395/3, WHO 등급 II, III)으로부터 선택된 송과체 영역의 종양,
- [0449] ix) 수아세포종(Medulloblastoma)(ICD-O 9470/3, WHO 등급 IV), 광범위한 소결절형성을 갖는 수아세포종(ICD-O 9471/3, WHO 등급 IV), 미분화 수아세포종(ICD-O 9474/3, WHO 등급 IV), CNS 원시 신경외배엽성 종양(Primitive neuroectodermal tumour)(ICD-O 9473/3, WHO 등급 IV), CNS 신경아세포종(Neuroblastoma)(ICD-O 9500/3, WHO 등급 IV) 및 비전형 기형종양/랩도이드 종양(Atypical teratoid/rhabdoid tumour)(ICD-O 9508/3, WHO 등급 IV)으로부터 선택된 배아 종양
- [0450] 으로부터 선택된 신경상피 조직의 종양,
- [0451] b) i) 신경초종(Schwannoma)(ICD-O 9560/0, WHO 등급 I),
- [0452] ii) 신경섬유종(Neurofibroma)(ICD-O 9540/0, WHO 등급 I),
- [0453] iii) 신경주위막종(Perineurioma)(ICD-O 9571/0, 9571/3, WHO 등급 I, II, III) 및
- [0454] iv) 악성 말초 신경초 종양(Malignant peripheral nerve sheath tumour)(MPNST) (ICD-O 9540/3, WHO 등급 II, III, IV)
- [0455] 으로부터 선택된 두개내(cranial) 및 척추주위(paraspinal) 신경의 종양, 및
- [0456] c) i) 수막종(Meningioma)(ICD-O 9530/0, WHO 등급 I), 비전형 수막종(ICD-O 9539/1, WHO 등급 II), 미분화 수막종(ICD-O 9530/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 수막세포성 세포의 종양, 및
- [0457] ii) 지방종(Lipoma)(ICD-O 8850/0), 혈관지방종(Angiolipoma)(ICD-O 8861/0), 갈색지방종(Hibernoma)(ICD-O 8880/0), 지방육종(Liposarcoma)(ICD-O 8850/3), 고립성 섬유성 종양(Solitary fibrous tumour)(ICD-O

8815/0), 섬유육종(Fibrosarcoma)(ICD-O 8810/3), 악성 섬유성 조직구종(Malignant fibrous histiocytoma)(ICD-O 8830/3), 평활근종(Leiomyoma)(ICD-O 8890/0), 평활근육종(Leiomyosarcoma)(ICD-O 8890/3), 횡문종(Rhabdomyoma)(ICD-O 8900/0), 횡문근육종(Rhabdomyosarcoma)(ICD-O 8900/3), 연골종(Chondroma)(ICD-O 9220/0), 연골육종(Chondrosarcoma)(ICD-O 9220/3), 골종(Osteoma)(ICD-O 9180/0), 골육종(Osteosarcoma)(ICD-O 9180/3), 골-연골종(Osteo-chondroma)(ICD-O 9210/0), 혈관종(Haemangioma)(ICD-O 9120/0), 유사피 혈관내피종(Epithelioid hemangioendothelioma)(ICD-O 9133/1), 혈관주위 세포종(Haemangiopericytoma)(ICD-O 9150/1, WHO 등급 II), 미분화 혈관주위 세포종(ICD-O 9150/3, WHO 등급 III) 및 혈관육종(Angiosarcoma)(ICD-O 9120/3) 3.2.22 카포시 육종(Kaposi Sarcoma)(ICD-O 9140/3), 유잉 육종(Ewing Sarcoma)-PNET (ICD-O 9364/3)으로부터 선택된 간엽 종양, 및

[0458] iii) 미만성 멜라닌세포증(Diffuse melanocytosis)(ICD-O 8728/0), 멜라닌세포종(Melanocytoma)(ICD-O 8728/1), 악성 흑색종(Malignant melanoma)(ICD-O 8720/3), 수막성 멜라닌종증(Meningeal melanomatosis)(ICD-O 8728/3)으로부터 선택된 일차 멜라닌세포 병변, 및

[0459] iv) 햄-혈관아세포종(Haem-angioblastoma)(ICD-O 9161/1, WHO 등급 I) 등의 수막과 관련된 기타 신생물
[0460] 로부터 선택된 수막의 종양,

[0461] d) i) 악성 림프종(Malignant Lymphomas)(ICD-O 9590/3) 4.2 형질세포종(Plasmacytoma)(ICD-O 9731/3) 및

[0462] ii) 과립구성 육종(Granulocytic sarcoma)(ICD-O 9930/3)

[0463] 으로부터 선택된 조혈계의 종양

[0464] e) i) 두개인두종(Craniopharyngioma)(ICD-O 9350/1, WHO 등급 I),

[0465] ii) 과립 세포 종양(Granular cell tumour)(ICD-O 9582/0, WHO 등급 I)

[0466] iii) 뇌하수체세포종(Pituicytoma)(ICD-O 9432/1, WHO 등급 I) 및

[0467] iv) 샘뇌하수체의 방추 세포 호산성세포종(Spindle cell oncocytoma)(ICD-O 8991/0, WHO 등급 I)

[0468] 으로부터 선택된 셀러 영역(sellar region)의 종양으로 이루어진 그룹으로부터 선택된, 조성물, 제제 또는 방법.

[0469] 53. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 악성 신생물이

[0470] a) i) 모양세포성(Pilocytic) 성상세포종(ICD-O 9421/1, WHO 등급 I), 필로믹소이드(Pilomyxoid) 성상세포종(ICD-O 9425/3, WHO 등급 II), 서브상의(Subependymal) 거대 세포 성상세포종(ICD-O 9384/1, WHO 등급 I), 다형성(Pleomorphic) 황색성상세포종(ICD-O 9424/3, WHO 등급 II), 미만성(Diffuse) 성상세포종(ICD-O 9400/3, WHO 등급 II), 미분화(Anaplastic) 성상세포종(ICD-O 9401/3, WHO 등급 III), 교아종(Glioblastoma)(ICD-O 9440/3, WHO 등급 IV), 거대 세포 교아종(ICD-O 9441/3, WHO 등급 IV), 교육종(Gliosarcoma)(ICD-O 9442/3, WHO 등급 IV), 대뇌 교종증(Gliomatosis cerebri)(ICD-O 9381/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 성상세포 종양, 및

[0471] ii) 희돌기교종(Oligodendroglioma)(ICD-O 9450/3, WHO 등급 II) 및 미분화 희돌기교종(ICD-O 9451/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 희돌기교세포(Oligodendroglial) 종양,

[0472] iii) 희돌기성상세포종(Oligoastrocytoma)(ICD-O 9382/3, WHO 등급 II) 및 미분화 희돌기성상세포종(ICD-O 9382/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 희돌기성상세포 종양, 및

[0473] iv) 서브상의세포종(Subependymoma)(ICD-O 9383/1, WHO 등급 I), 점액유두 뇌실막종(Myxopapillary ependymoma)(ICD-O 9394/1, WHO 등급 I), 상의종(Ependymoma)(ICD-O 9391/3, WHO 등급 II), 미분화 상의종(ICD-O 9392/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 상의 종양(Ependymal tumour), 및

[0474] v) 맥락막 신경총 유두종(Choroid plexus papilloma)(ICD-O 9390/0, WHO 등급 I), 비전형 맥락막 신경총 유두종(Atypical choroid plexus papilloma)(ICD-O 9390/1, WHO 등급 II) 및 맥락막 신경총 암(Choroid plexus carcinoma)(ICD-O 9390/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 맥락막 신경총 종양, 및

[0475] vi) 성상아세포종(Astroblastoma)(ICD-O 9430/3, WHO 등급 I), 제3 뇌실의 척삭모양 교종(Chordoid glioma)(ICD-O 9444/1, WHO 등급 II) 및 혈관중심성 교종(Angiocentric glioma)(ICD-O 9431/1, WHO 등급 I)으

로부터 선택된 기타 신경상피 종양,

- [0476] vii) 소뇌의 이형성 신경절 세포종(Dysplastic gangliocytoma)(Lhermitte-Duclos)(ICD-O 9493/0), 섬유조직형 성형 유아 성상세포종/신경절교종(Desmoplastic infantile astrocytoma/ganglioglioma)(ICD-O 9412/1, WHO 등급 I), 이상 배세포성 신경상피 종양(Dysembryoplastic neuroepithelial tumour)(ICD-O 9413/0, WHO 등급 I), 신경교종(Gangliocytoma)(ICD-O 9492/0, WHO 등급 I), 신경절교종(Ganglioglioma)(ICD-O 9505/1, WHO 등급 I), 미분화 신경절교종(ICD-O 9505/3, WHO 등급 III), 중추 신경세포종(Central neurocytoma)(ICD-O 9506/1, WHO 등급 II), 뇌실외 신경세포종(Extraventricular neurocytoma)(ICD-O 9506/1, WHO 등급 II), 소뇌 지방신경세포종(Cerebellar liponeurocytoma)(ICD-O 9506/1, WHO 등급 II), 유두상 글리오뉴로날 종양(Papillary glioneuronal tumour)(ICD-O 9509/1, WHO 등급 I), 제4 뇌실의 로제트-형성 글리오뉴로날 종양(Rosette-forming glioneuronal tumour)(ICD-O 9509/1, WHO 등급 I) 및 부신경절종(Paraganglioma)(ICD-O 8680/1, WHO 등급 I)으로부터 선택된 뉴런 및 혼합 뉴런-교세포 종양,
- [0477] viii) 송과체세포종(Pineocytoma)(ICD-O 9361/1, WHO 등급 I), 중간 분화의 송과체 실질 종양(Pineal parenchymal tumour)(ICD-O 9362/3, WHO 등급 II, III), 송과체아종(Pineoblastoma)(ICD-O 9362/3, WHO 등급 IV) 및 송과체 영역의 유두 종양(Papillary tumour)(ICD-O 9395/3, WHO 등급 II, III)으로부터 선택된 송과체 영역의 종양,
- [0478] ix) 수아세포종(Medulloblastoma)(ICD-O 9470/3, WHO 등급 IV), 광범위한 소결절형성을 갖는 수아세포종(ICD-O 9471/3, WHO 등급 IV), 미분화 수아세포종(ICD-O 9474/3, WHO 등급 IV), CNS 원시 신경외배엽성 종양(Primitive neuroectodermal tumour)(ICD-O 9473/3, WHO 등급 IV), CNS 신경아세포종(Neuroblastoma)(ICD-O 9500/3, WHO 등급 IV) 및 비정형 기형종양/램도이드 종양(Atypical teratoid/rhabdoid tumour)(ICD-O 9508/3, WHO 등급 IV)으로부터 선택된 배아 종양
- [0479] 으로부터 선택된 신경상피 조직의 종양,
- [0480] b) i) 신경초종(Schwannoma)(ICD-O 9560/0, WHO 등급 I),
- [0481] ii) 신경섬유종(Neurofibroma)(ICD-O 9540/0, WHO 등급 I),
- [0482] iii) 신경주위막종(Perineurioma)(ICD-O 9571/0, 9571/3, WHO 등급 I, II, III) 및
- [0483] iv) 악성 말초 신경초 종양(Malignant peripheral nerve sheath tumour)(MPNST) (ICD-O 9540/3, WHO 등급 II, III, IV)
- [0484] 으로부터 선택된 두개내(cranial) 및 척추주위(paraspinal) 신경의 종양, 및
- [0485] c) i) 수막종(Meningioma)(ICD-O 9530/0, WHO 등급 I), 비전형 수막종(ICD-O 9539/1, WHO 등급 II), 미분화 수막종(ICD-O 9530/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 수막세포성 세포의 종양, 및
- [0486] ii) 지방종(Lipoma)(ICD-O 8850/0), 혈관지방종(Angiolipoma)(ICD-O 8861/0), 갈색지방종(Hibernoma)(ICD-O 8880/0), 지방육종(Liposarcoma)(ICD-O 8850/3), 고립성 섬유성 종양(Solitary fibrous tumour)(ICD-O 8815/0), 섬유육종(Fibrosarcoma)(ICD-O 8810/3), 악성 섬유성 조직구종(Malignant fibrous histiocytoma)(ICD-O 8830/3), 평활근종(Leiomyoma)(ICD-O 8890/0), 평활근육종(Leiomyosarcoma)(ICD-O 8890/3), 횡문근종(Rhabdomyoma)(ICD-O 8900/0), 횡문근육종(Rhabdomyosarcoma)(ICD-O 8900/3), 연골종(Chondroma)(ICD-O 9220/0), 연골육종(Chondrosarcoma)(ICD-O 9220/3), 골종(Osteoma)(ICD-O 9180/0), 골육종(Osteosarcoma)(ICD-O 9180/3), 골-연골종(Osteo-chondroma)(ICD-O 9210/0), 혈관종(Haemangioma)(ICD-O 9120/0), 유사피 혈관내피종(Epithelioid hemangioendothelioma)(ICD-O 9133/1), 혈관주위 세포종(Haemangiopericytoma)(ICD-O 9150/1, WHO 등급 II), 미분화 혈관주위 세포종(ICD-O 9150/3, WHO 등급 III) 및 혈관육종(Angiosarcoma)(ICD-O 9120/3) 3.2.22 카포시 육종(Kaposi Sarcoma)(ICD-O 9140/3), 유잉 육종(Ewing Sarcoma)-PNET (ICD-O 9364/3)으로부터 선택된 간엽 종양, 및
- [0487] iii) 미만성 멜라닌세포증(Diffuse melanocytosis)(ICD-O 8728/0), 멜라닌세포종(Melanocytoma)(ICD-O 8728/1), 악성 흑색종(Malignant melanoma)(ICD-O 8720/3), 수막성 멜라닌종증(Meningeal melanomatosis)(ICD-O 8728/3)으로부터 선택된 일차 멜라닌세포 병변, 및
- [0488] iv) 햄-혈관아세포종(Haem-angioblastoma)(ICD-O 9161/1, WHO 등급 I) 등의 수막과 관련된 기타 신생물
- [0489] 으로부터 선택된 수막의 종양으로 이루어진 그룹으로부터 선택된, 조성물, 제제 또는 방법.

- [0490] 54. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 악성 신생물이
- [0491] a) i) 모양세포성(Pilocytic) 성상세포종(ICD-O 9421/1, WHO 등급 I), 필로믹소이드(Pilomyxoid) 성상세포종(ICD-O 9425/3, WHO 등급 II), 서브상외(Subependymal) 거대 세포 성상세포종(ICD-O 9384/1, WHO 등급 I), 다형성(Pleomorphic) 황색성상세포종(ICD-O 9424/3, WHO 등급 II), 미만성(Diffuse) 성상세포종(ICD-O 9400/3, WHO 등급 II), 미분화(Anaplastic) 성상세포종(ICD-O 9401/3, WHO 등급 III), 교아종(Glioblastoma)(ICD-O 9440/3, WHO 등급 IV), 거대 세포 교아종(ICD-O 9441/3, WHO 등급 IV), 교육종(Gliosarcoma)(ICD-O 9442/3, WHO 등급 IV), 대뇌 교종증(Gliomatosis cerebri)(ICD-O 9381/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 성상세포종양, 및
- [0492] ii) 수아세포종(Medulloblastoma)(ICD-O 9470/3, WHO 등급 IV), 광범위한 소결절형성을 갖는 수아세포종(ICD-O 9471/3, WHO 등급 IV), 미분화 수아세포종(ICD-O 9474/3, WHO 등급 IV), CNS 원시 신경외배엽성 종양(Primitive neuroectodermal tumour)(ICD-O 9473/3, WHO 등급 IV), CNS 신경아세포종(Neuroblastoma)(ICD-O 9500/3, WHO 등급 IV) 및 비정형 기형종양/랩도이드 종양(Atypical teratoid/rhabdoid tumour)(ICD-O 9508/3, WHO 등급 IV)으로부터 선택된 배아 종양
- [0493] 으로부터 선택된 신경상피 조직의 종양,
- [0494] b) i) 수막종(Meningioma)(ICD-O 9530/0, WHO 등급 I), 비전형 수막종(ICD-O 9539/1, WHO 등급 II), 미분화 수막종(ICD-O 9530/3, WHO 등급 III)으로부터 선택된 수막세포성 세포의 종양, 및
- [0495] ii) 지방종(Lipoma)(ICD-O 8850/0), 혈관지방종(Angiolipoma)(ICD-O 8861/0), 갈색지방종(Hibernoma)(ICD-O 8880/0), 지방육종(Liposarcoma)(ICD-O 8850/3), 고립성 섬유성 종양(Solitary fibrous tumour)(ICD-O 8815/0), 섬유육종(Fibrosarcoma)(ICD-O 8810/3), 악성 섬유성 조직구종(Malignant fibrous histiocytoma)(ICD-O 8830/3), 평활근종(Leiomyoma)(ICD-O 8890/0), 평활근육종(Leiomyosarcoma)(ICD-O 8890/3), 횡문종(Rhabdomyoma)(ICD-O 8900/0), 횡문근육종(Rhabdomyosarcoma)(ICD-O 8900/3), 연골종(Chondroma)(ICD-O 9220/0), 연골육종(Chondrosarcoma)(ICD-O 9220/3), 골종(Osteoma)(ICD-O 9180/0), 골육종(Osteosarcoma)(ICD-O 9180/3), 골-연골종(Osteo-chondroma)(ICD-O 9210/0), 혈관종(Haemangioma)(ICD-O 9120/0), 유상피 혈관내피종(Epithelioid hemangioendothelioma)(ICD-O 9133/1), 혈관주위 세포종(Haemangiopericytoma)(ICD-O 9150/1, WHO 등급 II), 미분화 혈관주위 세포종(ICD-O 9150/3, WHO 등급 III) 및 혈관육종(Angiosarcoma)(ICD-O 9120/3) 3.2.22 카포시 육종(Kaposi Sarcoma)(ICD-O 9140/3), 유잉 육종(Ewing Sarcoma)-PNET (ICD-O 9364/3)으로부터 선택된 간엽 종양, 및
- [0496] iii) 미만성 멜라닌세포증(Diffuse melanocytosis)(ICD-O 8728/0), 멜라닌세포종(Melanocytoma)(ICD-O 8728/1), 악성 흑색종(Malignant melanoma)(ICD-O 8720/3), 수막성 멜라닌종증(Meningeal melanomatosis)(ICD-O 8728/3)으로부터 선택된 일차 멜라닌세포 병변, 및
- [0497] iv) 헴-혈관아세포종(Haem-angioblastoma)(ICD-O 9161/1, WHO 등급 I) 등의 수막과 관련된 기타 신생물
- [0498] 으로부터 선택된 수막의 종양으로 이루어진 그룹으로부터 선택된, 조성물, 제제 또는 방법.
- [0499] 55. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 악성 신생물이 신경교종인, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0500] 56. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 악성 신생물이 등급 II, III 또는 IV 신경교종인, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0501] 57. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 악성 신생물이 성상세포종인, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0502] 58. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 악성 신생물이 교아종인, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0503] 59. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 뇌의 상기 악성 신생물이 교아종, 수아세포종, 신경아세포종, 성상세포종, 미분화 성상세포종, 뇌의 혈관주위 세포종, 수막종, 혈관종성 혈관종, 이형 수막종, 섬유아세포 수막종, 수막표피 수막종, 분비성 수막종, 희돌기성상세포종, 미분화 희돌기성상세포종, 희돌기교종 및 미분화 희돌기교종으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0504] 60. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 교아종 종양이 성상세포 종양, 희돌기교종 종양, 상의 세포 종양, 혼합 신경교종, 불특정 기원의 신경상피 종양, 맥락막 신경종의 종양, 뉴런 및 혼합 뉴런-교세포 종양, 송과체 실질 종양 및 신경아 또는 신경교질 요소를 갖는 종양(태아 종양), 상의세포종, 성상세포종, 희돌기교종, 희돌기성상세포종, 신경상피 종양, 및 신경 및 혼합 뉴런-교세포 종양으로 이루어진 그룹으로부터

선택되는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.

- [0505] 61. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 샘플이 뇌 조직 또는 척수 조직 샘플인, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0506] 62. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 샘플이 뇌 종양 조직 샘플인, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0507] 63. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 샘플이 혈액 샘플인, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0508] 64. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 검출 및 진단이 전혈 샘플 또는 혈액 혈장 샘플 등의 혈액 샘플에 존재하는 세포에 기초하는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0509] 65. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 방법 또는 용도가 인테그린 α10 서브유닛에 특이적인 하나 이상의 항체를 사용하여 수행되는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0510] 66. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 항원이 인테그린 α10 서브유닛의 이소형, 스플라이싱 변이체 또는 천연 발생 변이체인, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0511] 67. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 항원이 인테그린 α10 서브유닛(서열번호 1)을 포함하는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0512] 68. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 항원이 인테그린 α10 서브유닛의 세포외 도메인(서열번호 2)을 포함하는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0513] 69. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 항원이 인테그린 α10 서브유닛의 I-도메인(서열번호 3)을 포함하는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0514] 70. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 항체가 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 항체 단편 또는 단일 사슬 항체로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0515] 71. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 항체가 모노클로날 항체인, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0516] 72. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 항체가 폴리클로날 항체인, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0517] 73. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 항체가 비-인간 항체, 키메라 항체, 이중특이적 항체, 인간화 항체 또는 인간 항체인, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0518] 74. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 항체가 서열번호 1(인테그린 α10 서브유닛)에 특이적으로 결합하는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0519] 75. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 항체가 서열번호 2(인테그린 α10의 세포외 도메인)에 특이적으로 결합하는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0520] 76. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 항체가 서열번호 3(인테그린 α10의 세포외 I-도메인)에 특이적으로 결합하는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0521] 77. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 적어도 하나의 항체가 검출가능한 모이어티에 공유 결합되는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0522] 78. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 적어도 하나의 항체가 형광단, 효소 또는 방사성 트래이서 또는 방사선 동위원소로 이루어진 그룹으로부터 선택된 검출가능한 모이어티에 공유 결합되는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0523] 79. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 항체가 양자 방사체 및 감마 방사체로부터 선택된 방사성 트래이서에 연결되는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0524] 80. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 방사선 동위원소가 ^{99m}Tc , ^{111}In , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{72}As , ^{89}Zr , ^{123}I 및 ^{201}Tl 로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0525] 81. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 항체가 $^{86}\text{Y}/^{90}\text{Y}$ 또는 $^{124}\text{I}/^{211}\text{At}$ 등의 검출가능한 및 세포독성 방사성핵종의 쌍을 포함하는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.

- [0526] 82. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 방사선 동위원소가 검출가능한 모이어티 및 또한 세포독성 모이어티로서 멀티-모달 방식으로 동시에 작용할 수 있는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0527] 83. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 검출가능한 모이어티가 항자성 동위체를 포함하거나 이들로 이루어지는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0528] 84. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 항자성 동위체가 ^{157}Gd , ^{55}Mn , ^{162}Dy , ^{52}Cr 및 ^{56}Fe 로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0529] 85. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 검출가능한 모이어티가 SPECT, PET, MRI, 광학 또는 초음파 영상 등의 영상화 기술에 의해 검출할 수 있는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0530] 86. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 세포독성 모이어티 및/또는 검출가능한 잔기가 연결 모이어티를 통해 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 간접적으로 결합되는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0531] 87. 항목 86에 있어서, 상기 연결 모이어티가 킬레이트제인, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0532] 88. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 킬레이트제가 1,4,7,10-테트라아자사이클로도데칸-1,4,7,10, 테트라아세트산(DOTA)의 유도체, 데페록사민(DFO), 디에틸렌트리아민펜타아세트산(DTPA)의 유도체, S-2-(4-이소티오시아나토벤질)-1,4,7-트리아자사이클로노난-1,4,7-트리아세트산(NOTA)의 유도체 및 1,4,8,11-테트라아자사이클로도세단-1,4,8,11-테트라아세트산(TETA)의 유도체로 이루어진 그룹으로부터 선택된 킬레이트제인, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0533] 89. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 항체가 IgA, IgD, IgG 및 IgM으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 이소형을 갖는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0534] 90. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 항체가 IgG 이소형, 예를 들면, IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4로 이루어진 그룹으로부터 선택된 IgG 이소형인, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0535] 91. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 항체 단편이 Fab-단편, Fab' 단편, F(ab')₂ 단편 및 Fv 단편, 예를 들면, 단일-사슬 가변 단편(scFv) 및 단일-도메인 항체로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0536] 92. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적인 상기 항체가
- [0537] a) 수탁번호 DSM ACC2583하에 도이츠 삼룽 폰 마이크로오르가스멘 운트 젤쿨투렌 게엠베하(Deutsche Sammlung von Microorganismen und Zellkulturen GmbH)에 기탁된 하이브리도마에 의해 생산된 모노클로날 항체 또는
- [0538] b) 수탁번호 DSM ACC2583하에 도이츠 삼룽 폰 마이크로오르가스멘 운트 젤쿨투렌 게엠베하(Deutsche Sammlung von Microorganismen und Zellkulturen GmbH)에 기탁된 하이브리도마에 의해 생산된 모노클로날 항체에 의해 결합된 에피토프와 동일한 에피토프에의 결합에 대해 경쟁하는 항체; 또는
- [0539] c) 상기 a) 또는 b)의 단편으로서, 상기 단편이 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 쇄의 세포외 I-도메인에 특이적으로 결합할 수 있는 단편인, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0540] 93. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 항원이 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원에 특이적으로 결합할 수 있는 펩티드의 결합을 검출함으로써 검출되는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0541] 94. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 검출이 경광-활성화된 세포 선별(FACS) 등의 유세포 계측법을 사용하여 수행되는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0542] 95. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 방법이 광자를 방출할 수 있는 모이어티에 연결된 하나 이상의 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 특이적 폴리뉴클레오티드 프로브를 사용하여 수행되는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0543] 96. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 폴리뉴클레오티드 전사물이 PCR, 바람직하게는 Q-PCR에 의해 검출되는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0544] 97. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 검출가능한 모이어티가 형광단, 효소 또는 방사성 트랜이서로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0545] 98. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 광자를 방출할 수 있는 상기 모이어티가 형광단인, 조성물, 제제, 방

법 또는 용도.

- [0546] 99. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 포유동물이 상기 형광단을 여기할 수 있는 광원으로 조사되는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0547] 100. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 광자가 PCT-스캔 또는 SPECT-스캔을 사용하여 검출되는, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0548] 101. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 포유동물이 인간인, 조성물, 제제, 방법 또는 용도.
- [0549] 102. 방사성 트레이서에 공유 결합된 인테그린 $\alpha 10$ 특이적 항체를 포함하는 항-약물 접합체.
- [0550] 103. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 신경교종, 신경아세포종 또는 수아세포종 등의 중추신경계의 악성 신생물의 진단에 사용하기 위한, 항체-약물 접합체.
- [0551] 104. 인테그린 $\alpha 10$ 특이적 항체 및 방사성 트레이서를 포함하는 나노입자.
- [0552] 105. 시험관내, 동일 반응계내 또는 생체내에서 신경교종 등의 중추신경계의 악성 신생물을 검출하기 위한 키트로서, 상기 키트는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적인 항체, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항원에 특이적으로 결합할 수 있는 펩티드, 또는 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 전사물과 특이적으로 하이브리드화할 수 있는 폴리뉴클레오티드 프로브 또는 이의 보체, 및 임의로 사용 설명서를 포함하는, 키트.
- [0553] 106. 중추신경계에서 악성 신생물을 앓고 있는 대상체를 치료하는 방법으로서,
- [0554] a) 대상체가 중추신경계의 악성 신생물을 앓고 있는지를 상기 항목 중의 어느 하나에 따라 측정하는 단계 및
- [0555] b) 상기 항목 중의 어느 하나에 정의된 바와 같이, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적으로 결합하는 치료학적 유효량의 항체를 중추신경계의 악성 신생물로 진단된 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0556] 107. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 검출이
- [0557] a. 상기 대상체로부터 생물학적 샘플을 수득하는 단계,
- [0558] b. 상기 샘플에서,
- [0559] i) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 또는
- [0560] ii) 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 전사물 또는 이의 단편 또는 변이체의 존재 또는 부재를 분석하는 단계를 포함하고,
- [0561] 여기서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드 전사물의 존재는 상기 포유동물의 중추신경계에서 악성 신생물을 나타내고, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드 전사물의 부재는 CNS의 악성 신생물의 부재를 나타내는, 방법.
- [0562] 108. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 검출이 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적으로 결합하는 항체를 사용하여 수행되는, 방법.
- [0563] 109. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 항체가 검출가능한 모이어티에 결합되는, 방법.
- [0564] 110. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 검출가능한 모이어티가 형광단, 효소 또는 방사성 트레이서로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 방법.
- [0565] 111. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 상기 검출이 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드에 특이적으로 결합할 수 있는 펩티드에 대한 분자 프로브 또는 항체의 결합을 검출함으로써 달성되는, 방법.
- [0566] 112. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 샘플이 뇌 조직 샘플인, 방법.
- [0567] 113. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 샘플이 뇌 종양 조직 샘플인, 방법.
- [0568] 114. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 샘플이 혈액 샘플인, 방법.
- [0569] 115. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 검출이 상기 항목 중의 어느 하나에 정의된 바와 같이 수행되는, 방법.

- [0570] 116. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 대상체가 인간 등의 포유동물인, 방법 또는 조성물.
- [0571] 117. 중추신경계에서 악성 종양의 치료용 의약을 제조하기 위한, 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 특이적으로 결합하는 항체를 포함하는 조성물의 용도.
- [0572] 118. 포유동물에서 종양 연관 혈관신생을 억제하는 방법으로서, 상기 방법은 상기 항목 중의 어느 하나에 따르는 치료학적 유효량의 항-인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체를 상기 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.
- [0573] 119. 리보솜 불활성화 단백질에 공유 결합된 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 특이적 항체를 포함하는 항체-약물 접합체.
- [0574] 120. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 리보솜 불활성화 단백질이 시가(shiga) 및 시가-형 독소; 타입 I 리보솜 불활성화 단백질, 예를 들면, 트리코산틴 및 루핀; 타입 II 리보솜 불활성화 단백질, 리신, 아글루티닌 및 아브린; 및 사포린으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 항체-약물 접합체.
- [0575] 121. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 리보솜 불활성화 단백질이 사포린인, 항체-약물 접합체.
- [0576] 122. 상기 항목 중의 어느 하나에 있어서, 상기 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛이 인테그린 $\alpha 10\beta 1$ 헤테로이량체의 일부로서 존재하는, 조성물, 제제, 방법, 용도 또는 항체-약물 접합체.
- [0577] **실시예**
- [0578] **실시예 1: 교아종 뇌 종양으로부터 단리된 세포 상에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 발현**
- [0579] 룬드 대학 병원의 외과적 생검으로서 채취된 뇌 종양 조직 샘플로부터 수득한 환자 재료로부터 유래하는 세포주를 10% FBS 및 1% 펜 스트렙(Pen Strep)이 보충된 DMEM 배지에서 37℃로 5% CO₂와 함께 배양했다. 세포를 70 내지 90% 컨플루언스로 성장시켰다. 세포를 PBS(0.1M, pH 7.4)에서 세척하고, 트립신 처리 후, 특수 현미경 슬라이드(Ibidi, Germany)의 하부로 이동시켰다. 세포를 고정화 전에 50 내지 100% 컨플루언스로 성장시키고, 이어서 면역형광 표지화를 수행했다.
- [0580] 세포의 면역형광 표지화는 하기 프로토콜에 따라 이루어졌다:
- [0581] 1. 세포 배지를 제거/흡인시켰다. 세포를 10 내지 20분 동안 냉각(<10℃) 4% PFA에서 고정시켰다.
- [0582] 2. 세포를 2×5분 동안 PBS(0.1M, pH 7.4)에서 세정했다.
- [0583] 3. 세포를 차단 용액, 트리톤-X 100(0.02%)를 함유하는 PBS에서 20분 동안 배양했다.
- [0584] 4. 세포를 트리톤-X 100(0.001%)(0.1-0.001%*) 및 소 혈청 알부민(BSA)(1%)을 함유하는 PBS(0.1M, pH 7.4)에서 20분 동안 배양했다.
- [0585] 5. 세포를 일차 항체, 트리톤-X 100(0.001%)(0.1-0.001%*) 및 소 혈청 알부민(PBS)(1%)를 함유하는 PBS(0.1M, pH 7.4)에서 희석시킨 1 μ g/ml $\alpha 10$ Mab(1-2 μ g)에서 90분 동안 배양했다.
- [0586] 6. 세포를 2×10분 동안 PBS(pH 7.4)에서 세정하고, 이어서 트리톤-X 100(0.001%)(0.1-0.001%) 및 소 혈청 알부민(BSA)(1%)를 함유하는 PBS(0.1M, pH 7.4)로 희석시킨 이차 항체(1:150)(염소에서 제조된 a-마우스 AlexaFluor 488 및 a-라빗 AlexaFluor 568, Invitrogen, USA)로 30분 동안 배양했다.
- [0587] 7. 세포를 1+2×7분 동안 PBS(0.1M, pH 7.4)에서 세정했다.
- [0588] 8. 세포를 >10분 동안 DAPI(0.1 μ M, PBS 중)에서 배양했다.
- [0589] 여기에 사용된 바와 같이, 도립 현미경을 통한 분석에는 어떠한 마운팅도 요구되지 않았다.
- [0590] 영상화 및 분석을 위해 공초점 현미경이 사용되었다.
- [0591] 결론적으로, 인테그린 $\alpha 10$ (mAb 365, (WO 99/51639))에 대해 지시된 항체를 사용함으로써, 놀랍게도, 인테그린 $\alpha 10$ 이 교아종(신경교종 등급 IV, 교아종 다형태), 가장 적극적 형태의 신경교종으로부터 유래하는 교아종 세포 상에서 특이적으로 및 강력하게 발현되는 것으로 밝혀졌다(도 2).
- [0592] **실시예 2: 면역형광에 의해 가시화된 교아종 환자로부터의 뇌 종양 조직에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 발현**
- [0593] 뇌 종양 조직 샘플은 룬드 대학 병원의 환자로부터 외과적 생검으로서 채취했다.

- [0594] 조직을 5 μ m(MICROM HM 360 마이크로톰) 절단하고, SuperFrost Plus 슬라이드(Menzel-Glaser, GmbH) 상에 수집했다. 절편은 직접 또는 아세톤으로 고정한 후(-20℃에서 100%, 10분 동안, 하기 참조) 면역표지화에 사용했다.
- [0595] 동결 건조된 조직을 티슈텍(TissueTek)(Sakura, Jpn)에 매립했다. 절편, 10 μ m(MICROM HM 500 OM 크리오스타트에서 이루어짐)을 SuperFrost Plus 슬라이드 상에 수집했다. 절편은, 아세톤으로 고정한 후(-20℃에서 100%, 10분 동안, 하기 참조), 면역표지화에 사용했다.
- [0596] 항원 회복 후, 하기 프로토콜에 따랐다:
- [0597] 1. PBS에서 5분간 실온에서 세정/완충시킨다.
- [0598] 2. 1% BSA를 함유하는 PBS로 20분 동안 실온에서 차단시킨다.
- [0599] 3. PBS(PBS-트리톤 X100)에서 5분간 실온에서 세정한다.
- [0600] 4. 절편을 0.03% H₂O₂(PBS 중)와 함께 10분 동안 실온에서 배양한다(내인성 퍼옥시다제 활성을 퀀칭시킴).
- [0601] 5. PBS에서 5분×2로 실온에서 세정한다.
- [0602] 6. 절편을 1% BSA 0.05% 트리톤 X100을 함유하는 PBS에서 희석시킨 일차 항체(α 10 PAb 1 μ g/ml(0.6-1.2 μ g/ml))로 배양한다 - 밤새(약 16 내지 18시간) 4℃에서.
- [0603] 7. PBS에서 5분×2(슬라이드/절편과 동일한 온도)에서 세정한다.
- [0604] 8. 접합된 이차 항체를 30분(a-래빗)간 실온에서 적용한다(1% BSA(0.05%) 트리톤 X100을 함유하는 PBS에서 희석시킴).
- [0605] 9. PBS에서 5분×2로 실온에서 세정한다.
- [0606] 10. DAB/0.03% H₂O₂ 용액에서 1-10분간 실온에서 배양/반응시킨다.
- [0607] 11. PBS에서 5분×2로 실온에서 세정한다.
- [0608] 면역표지된 절편의 카운터 염색:
- [0609] 1. 헤마톡실린(Mayers)로 2분간 실온에서 배양한다.
- [0610] 2. PBS에서 3분간 실온에서 세정한다.
- [0611] 3. PBS로 2분간 실온에서 세척한다.
- [0612] 마운팅:
- [0613] 하기 중의 침적을 통해 절편을 탈수시킨다:
- [0614] 1. 각 농도에서 2분 동안 에탄올 70%, 96%, 100% ×2.
- [0615] 2. 크실렌 ≥3분 ×2.
- [0616] 3. 슬라이드를 Pertex[®](Histolab, Sweden)에 마운팅하고, 유리 슬라이드(22×30-50mm)로 커버 슬립한다.
- [0617] 분석 및 문서화: 명시야 현미경은 특히 얇은 파라핀 절편(5 μ m)에서 세포 관계로 전체 표지화 분포의 양호한 검출을 제공한다.
- [0618] 장치: 10×/0.3 및 20×/0.5 플랜 아포크로메이트 대물렌즈를 사용한 레이카 Leica DMRE 현미경. 디지털 영상(1360×1024 px)은 레이카 DCF500 CCD-카메라 및 이미지 취득 소프트웨어 LAS(Leica Application Suite) v4.4를 사용하여 수득했다.
- [0619] 결론적으로, 인테그린 α 10 서브유닛에 대해 지시된 폴리클로날 항체를 사용함으로써, 놀랍게도, 인테그린 α 10 서브유닛이 룬드 대학 병원의 환자로부터의 외과적 생검으로 수집된 중앙 조직 샘플에서 교아종 세포 상에서 특이적으로 및 강력하게 발현되는 것으로 밝혀졌다.
- [0620] 실시예 3: 면역조직화학에 의해 가시화된 영향을 받지 않는 뇌 조직에서의 발현과 비교하여 교아종 환자의 뇌 중앙 조직에서 인테그린 α 10 서브유닛의 발현

- [0621] 영향을 받지 않은 영역 및 악성 뇌 조직을 갖는 영역(2개의 독립적 병리학자에 의해 진단됨)으로부터 환자 뇌 조직 샘플은 룬드 대학 병원의 환자로부터 외과적 생검으로 채취했다.
- [0622]파라핀 절편을 탈파라핀화시키고, 표준 프로토콜에 따라 크실렌, 이어서 에탄올 시리즈 및 물에 슬라이드의 침적을 통해 탈수시켰다.
- [0623]파라핀 절편을 아세톤에서 고정시킨 후, PBS에서 5분×2로 세정했다. 파라핀 절편은 슬라이드를 산성 완충된 용액-시트레이트 완충제(10mM 나트륨 시트레이트, 0.05% 트윈 20, pH 6.0)에 침적시키고 열 처리함으로써 항원 회수를 위해 처리했다. 항원 회수 후, 하기 프로토콜에 따랐다:
- [0624]1. PBS에서 5분간 실온에서 세정/완충시킨다.
- [0625]2. 1% BSA를 함유하는 PBS로 20분 동안 실온에서 차단시킨다.
- [0626]3. PBS(PBS-트리톤 X100)으로 5분간 실온에서 세정한다.
- [0627]4. 절편을 1% BSA 0.05% 트리톤 X100을 함유하는 PBS에서 희석시킨 일차 항체(α 10 PAb $1\mu\text{g}/\text{ml}$ (0.6-1.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$))로 배양한다 - 밤새(약 16 내지 18시간) 4℃에서.
- [0628]5. PBS에서 5분×2로 실온에서 세정한다.
- [0629]6. 절편을 1% BSA 0.05% 트리톤 X100을 함유하는 PBS에서 희석시킨 일차 항체(α 10 PAb $1\mu\text{g}/\text{ml}$ (0.6-1.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$))로 배양한다 - 밤새(약 16 내지 18시간) 4℃에서.
- [0630]7. PBS에서 5분×2(슬라이드/절편과 동일한 온도)에서 세정한다.
- [0631]8. 접합된 이차 항체를 30분(a-레빗)간 실온에서 적용한다(1% BSA(0.05%) 트리톤 X100을 함유하는 PBS에서 희석 시킴).
- [0632]9. PBS에서 5분×2로 실온에서 세정한다.
- [0633]10. DAB/0.03% H_2O_2 용액에서 1-10분간 실온에서 배양/반응시킨다.
- [0634]11. PBS에서 5분×2로 실온에서 세정한다.
- [0635]면역표지된 절편의 카운터 염색:
- [0636]1. 헤마톡실린(Mayers)로 2분간 실온에서 배양한다.
- [0637]2. PBS에서 3분간 실온에서 세정한다.
- [0638]3. PBS로 2분간 실온에서 세척한다.
- [0639]마운팅:
- [0640]하기 중의 침적을 통해 절편을 탈수시킨다:
- [0641]1. 각 농도에서 2분 동안 에탄올 70%, 96%, 100% ×2.
- [0642]2. 크실렌 ≥3분 ×2.
- [0643]3. 슬라이드를 Pertex[®](Histolab, Sweden)에 마운팅하고, 유리 슬라이드(22×30-50mm)로 커버 슬립한다.
- [0644]분석 및 문서화: 명시야 현미경은 특히 얇은 파라핀 절편(5 μm)에서 세포 관계로 전체 표지화 분포의 양호한 검출을 제공한다.
- [0645]장치: 10×/0.3 및 20×/0.5 플렌 아포크로메이트 대물렌즈를 사용한 레이카 Leica DMRE 현미경. 디지털 영상(1360×1024 px)은 레이카 DCF500 CCD-카메라 및 이미지 취득 소프트웨어 LAS(Leica Application Suite) v4.4를 사용하여 수득했다.
- [0646]도 4A는 영향을 받지 않은 뇌 형태를 갖는 환자 샘플의 일부를 나타내고, 도 4B는 악성 뇌 조직(교아종 다형태)를 갖는 동일한 샘플의 또 다른 부분을 나타낸다. 결론적으로, 인테그린 α 10 서브유닛에 대해 지시된 폴리클로날 항체를 사용함으로써[참조: Camper et al (1998) J Biol Chem. 273(32):20383-9], 인테그린 α 10 서브유닛은 교아종 세포 상에서 특이적으로 및 강력하게 발현되는 반면, 인테그린 α 10 서브유닛의 무시할만한 발현

은 형태학적으로 영향을 받지 않은 뇌 조직에서 관찰되는 것으로 밝혀졌다.

- [0647] **실시예 4: 상이한 등급의 신경교종을 갖는 환자로부터의 뇌 종양 조직 샘플에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 발현**
- [0648] 룬드 대학 병원으로부터 외과적 생검 또는 사후로서 채취한 뇌 종양 조직으로 이루어진 환자 재료를 사용했다.
- [0649] 조직을 5 μ m(MICROM HM 360 마이크로톰)로 절단하고, SuperFrost Plus 슬라이드(Menzel-Glaser, GmbH) 상에 수집했다. 절편은 직접 또는 아세톤으로 고정화시킨 후(-20℃에서 100%, 10분 동안, 하기 참조) 면역표지화에 사용했다.
- [0650] 동결 건조된 조직을 티슈텍(TissueTek)(Sakura, Jpn)에 매립했다. 절편, 10 μ m(MICROM HM 500 OM 크리오스타트에서 이루어짐)을 SuperFrost Plus 슬라이드 상에 수집했다. 절편은, 아세톤으로 고정한 후(-20℃에서 100%, 10분 동안, 하기 참조), 면역표지화에 사용했다.
- [0651] 1. 동결-절편(새롭게 절단 또는 깊은 동결로부터): 37℃에서 약 20분 동안 절편을 공기-건조시키고 절편을 실온에 도달하게 한다.
- [0652] 2. PBS에서 > 5분×2로 세정한다.
- [0653] 3. 아세톤에서 절편의 고정화 후, PBS에서 5분×2로 세정한다.
- [0654] 4. 절편 주위에 실리콘 장벽("PAP 펜")을 적용한다.
- [0655] 5. 0.05%(0.01-0.001) 트리톤 X-100 및 1% BSA를 함유하는 PBS에서 30분 동안 실온에서 배양/차단한다.
- [0656] 6. PBS에서 1×2분간 세정한다.
- [0657] 7. $\alpha 10$ Pab 1.2 μ g/ml(0.6-1.2 μ g/ml)(0.05% 트리톤X-100 및 1% BSA를 함유하는 PBS에서 희석시킴)와 함께, 16 내지 18시간 동안 4 내지 8℃에서 다른 항원에 대해 제조된 항체와 혼합된 일차 항체("각테일"로서)로 배양한다(특이성 및 최적 작업 희석에 대해 새롭게 개별적으로 평가됨).
- [0658] 8. 동시 형광 가시화를 위해, 각각 일차 및 이차 항체의 2개 에피토프를 혼합물, "각테일"로서 적용한다.
- [0659] 9. PBS에서 1분간, 이어서 2×5분간 세정한다.
- [0660] 10. 절편을 1:150으로 희석시킨 혼합물(일차 항체의 상이한 숙주 동물에 대해)로서 형광단 접합된 이차 Ab/Ab(하기 참조)와 함께 30 내지 45분간 실온에서 배양한다.
- [0661] 복수 표지화를 위한 이차 항체(고도 친화성 정제된, 주로 Fab2 항체)를 래빗, 마우스 또는 염소 IgG'에 대해 또는 닭 IgY에 대해 당나귀 또는 염소에서 제조했다(Jackson, USA or Invitrogen, USA). 1% BSA를 함유하는 PBS에서 희석시킨다. 동시 형광 가시화를 위해, 일차 및 이차 항체의 2개 에피토프를 혼합물, "각테일"로서 적용한다.
- [0662] 11. PBS-트리톤 X-100에서 2분 동안 세정한다.
- [0663] 12. PBS에서 1×5분간 세정한다.
- [0664] 13. 15분 동안, PBS에서 희석시킨 기관(핵) 염색 DAPI(0.1 μ M)에서 배양한다.
- [0665] 14. PBS에서 2×5분간 세정한다.
- [0666] 15. "항-페이드 용액"에서 마운팅 및 커버 슬라이딩한다: ProLong Gold (Invitrogen, USA).
- [0667] 분석 - 면역형광-공초점 레이저 주사 현미경:
- [0668] 공초점 현미경은 고해상도, 표지의 신호 대 노이즈 비율, 및 특정 파장 길이 신호 검출을 제공했다. 공초점 현미경 화상의 유일한 분석은 구조적 국제화, 세포외/세포내 국제화, 및 표지의 공-국제화(Z-스택 광학 절편화 및 3-D 재구성을 통해)를 해결할 수 있다.
- [0669] 장치:
- [0670] 시료는, 305 내지 633nm 사이의 여기 및 420 내지 650nm의 방사 검출을 위해 레이저를 사용하는, Zeiss LSM 510 META 공초점 현미경에서 조사했다. 화상은, 3개의 면역형광 채널, 하나의 채널 및 하나의 명시야 DIC 채널을 갖는, 20×/0.8 Plan Apochromate 및 40×/1.3 오일 침지 Plan Apochromate 대물렌즈로 취득했다.

- [0671] 연속 공초점 면의 Z-스택(DIC 없음)은, 최대 해상도를 위해 1024×1024 px 프레임 사이즈(픽셀 폭 $0.22\mu\text{m}$) 또는 "줌"(소면적 주사) 및 Nyquist 광학 샘플링 주파수(픽셀 폭 $0.115\mu\text{m}$)를 갖는 $40\times/1.3$ 대물렌즈로 수득했다. 연속 공초점 면 사이의 단계 크기는 Nyquist 광학 샘플링 주파수($0.48\mu\text{m}$)에 따랐다.
- [0672] 결론적으로, 인테그린 $\alpha 10$ 에 대해 지시된 항체를 사용함으로써[참조: Camper et al (1998) J Biol Chem. 273(32):20383-9], 놀랍게도, 인테그린 $\alpha 10$ 은 정상세포종 등급 II(소수의 세포에서), 정상세포종 등급 III, 정상세포종 등급 IV로서도 공지된 교아종 다형태, 뇌 종양 조직 샘플로 이루어진 환자 재료의 세포 상에서 특이적으로 발현된다(도 5A 내지 5C). 흥미롭게도, 인테그린 $\alpha 10$ 의 발현은 등급에 따라 증가하고, 정상세포종 등급 III에서 강력하게 발현된다. 정상세포종의 모든 등급에서 혈액 혈관 또는 혈액 충전 영역에서 세포의 양성 염색에 주의한다(도 5D).
- [0673] **실시예 5: 면역조직화학에 의해 가시화된 신경아세포종 및 수아세포종으로부터의 환자 종양 조직 샘플에서 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 발현**
- [0674] 룬드 대학 및 옅살라 대학 병원으로부터 외과적 샘플로서 채취한 신경아세포종 및 수아세포종 조직 시료로 이루어진 환자 재료를 사용했다. 파라핀 절편을 표준 프로토콜에 따라 크실렌, 이어서 에탄올 시리즈 및 물 중에 슬라이드의 침적을 통해 탈파라핀화하고, 재수화했다. 파라핀 절편을 아세토에서 후-고정시키고, PBS에서 $5\text{분} \times 2$ 로 세정했다. 파라핀 절편은 슬라이드를 산성 완충된 용액-시트레이트 완충제(10mM 나트륨 시트레이트, 0.05% 트윈 20, pH 6.0)에 침적시키고 열 처리함으로써 항원 회수를 위해 처리했다. 항원 회수 후, 하기 프로토콜에 따랐다:
- [0675] 1. PBS에서 5분간 실온에서 세정/완충시킨다.
- [0676] 2. 1% BSA를 함유하는 PBS로 20분 동안 실온에서 차단시킨다.
- [0677] 3. PBS(PBS-트리톤 X100)으로 5분간 실온에서 세정한다.
- [0678] 4. 절편을 $0.03\% \text{H}_2\text{O}_2$ (PBS 중)으로 10분 동안 실온에서 배양한다(내인성 퍼옥시다제 활성을 퀘칭시킴).
- [0679] 5. PBS에서 $5\text{분} \times 2$ 로 실온에서 세정한다.
- [0680] 6. 절편을 1% BSA 0.05% 트리톤 X100을 함유하는 PBS에서 희석시킨 일차 항체($\alpha 10$ PAb $1\mu\text{g}/\text{ml}$ ($0.6\text{--}1.2\mu\text{g}/\text{ml}$))로 밤새(약 16 내지 18시간) 4°C 에서 배양한다.
- [0681] 7. PBS에서 $5\text{분} \times 2$ (슬라이드/절편과 동일한 온도)에서 세정한다.
- [0682] 8. 접합된 이차 항체를 30분(a-레빗)간 실온에서 적용한다(1% BSA(0.05%) 트리톤 X100을 함유하는 PBS에서 희석시킴).
- [0683] 9. PBS에서 $5\text{분} \times 2$ 로 실온에서 세정한다.
- [0684] 10. DAB/ $0.03\% \text{H}_2\text{O}_2$ 용액에서 1-10분간 실온에서 배양/반응시킨다.
- [0685] 11. PBS에서 $5\text{분} \times 2$ 로 실온에서 세정한다.
- [0686] 면역표지된 절편의 카운터 염색:
- [0687] 1. 헤마톡실린(Mayers)로 2분간 실온에서 배양한다.
- [0688] 2. PBS에서 3분간 실온에서 세정한다.
- [0689] 3. PBS로 2분간 실온에서 세척한다.
- [0690] 마운팅:
- [0691] 하기 중의 침적을 통해 절편을 탈수시킨다:
- [0692] 1. 각 농도에서 2분 동안 에탄올 70%, 96%, $100\% \times 2$.
- [0693] 2. 크실렌 $\geq 3\text{분} \times 2$.
- [0694] 3. 슬라이드를 Pertex[®](Histolab, Sweden)에 마운팅하고, 유리 슬라이드($22 \times 30\text{--}50\text{mm}$)로 커버 슬립한다.
- [0695] 장치: $10\times/0.3$ 및 $20\times/0.5$ Plan Apochromate 30 대물렌즈를 사용한 라이카 DMRE 현미경. 디지털 화상($1360 \times$

1024 px)는 Leica DCF500 CCD-카메라 및 화상 취득 소프트웨어 LAS(Leica Application Suite) v4.4로 취득했다.

[0696] 분석 및 문서화: 명시야 현미경은 특히 얇은 파라핀 절편(5 μ m)에서 세포 관계로 전체 표지화 세포의 양호한 검출을 제공한다.

[0697] 결론적으로, 본 발명자들은 인테그린 α 10 서브유닛은 신경아세포종 및 수아세포종으로부터의 환자 종양 조직 샘플 상에서 특이적으로 및 강력하게 발현되는 것을 밝혀냈다(도 6).

[0698] **실시예 6: 정량적 PCR에 의한 환자로부터의 뇌 종양에서 α 10 RNA 발현의 분석**

[0699] 룬드 대학 병원의 환자로부터 외과적 생검으로 채취한 뇌 종양 조직 샘플의 정량적 PCR은 인테그린 α 10 서브유닛의 검출을 위한 프라이머를 사용하여 수행했다. 뇌 암 cDNA 어레이(OriGene Technologies Inc.)는 상이한 뇌 종양으로부터 환자 조직 재료에서 차동 유전자 발현 분석 및 유전자 발현의 검증에 사용했다. 각 어레이의 cDNA는 병리학자 검증 조직의 고품질 전체 RNA로부터 합성하고, 정규화하고, 2개 연속 정량 qPCR 분석물 중의 β -액틴으로 검증하고, 임상 정보와 함께 분석했다. 인테그린 α 10 서브유닛의 실시간 PCR 검출은 유전자 특이적 프라이머 및 TaqMan 프로브(유전자 발현 검정 HS00174623_m1, Life Technology)을 사용하여 수행하고, 제조업자에 의해 권장된 바와 같이 작동시켰다. 사용된 검출 시스템은 ICycler(Bio-Rad)이었다. 뇌 암 조직 인테그린 α 10 서브유닛 발현을 건강한 뇌 조직에 대해 정규화하고, 인테그린 α 10 서브유닛의 상대적 정량화 값을 계산했다. 도 7은 2회 작동에 대한 평균 상대 정량화 값을 나타낸다. RQ는 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 로서 정의되고, 여기서 $\Delta\Delta Ct$ 는 ΔCt 종양 샘플 - ΔCt 정상 뇌 조직이고, ΔCt 는 $Ct_{ITGA10} - Ct_{\beta\text{-actin}}$ 으로부터 수득한다.

[0700] 도 7에서 보는 바와 같이, 인테그린 α 10 서브유닛은, 놀랍게도, 정상세포종, 미분화 성상세포종, 원섬유 성상세포종, 교아종 다형태, 뇌의 혈관세포종, 수막, 혈관중성 혈관종, 비전형 수막종, 섬유아세포 수막종, 수막표피성 수막종, 미소포낭성 수막종, 분비성 수막종, 회돌기성상세포종, 미분화 회돌기성상세포종, 회돌기교종 및 미분화 회돌기교종을 포함하는 몇몇 뇌 종양에서 검출되었다.

[0701] **실시예 7: 인테그린 α 10 서브유닛 및 기타 마커의 공-발현의 분석**

[0702] 종양은 불균질적이고, 다수의 상이한 세포 타입으로 이루어진다. 신경교종(GBM)에서 인테그린 α 10 서브유닛 발현에 양성의 상이한 타입의 세포를 나타내기 위해, 상이한 세포 타입을 전형적으로 및 특이적으로 면역표지하는 몇몇 마커를 룬드 대학 병원의 외과적 생검 또는 사후로 채취된 뇌 종양 교아종 조직 샘플에 사용했다.

[0703] 샘플 제조:

[0704] 신선한 동결 조직을 티슈텍(Sakura, Jpn)에 매립시켰다. 절편, 10 μ m(MICROM HM 500 OM 크리오스타트에서 이루어짐)을 SuperFrost Plus 슬라이드 상에 수집했다. 절편은, 아세톤으로 고정한 후(-20 $^{\circ}$ C에서 100%, 10분 동안), 면역표지화에 사용했다.

[0705] 동결-절편(신선하게 절단 또는 심 동결로부터)을 37 $^{\circ}$ C에서 약 20분 동안 공기-건조시켰다. 절편이 실온에 도달하는 경우, 이들을 PBS에서 2회 5분 동안 세정했다. 절편을 아세톤에서 후-고정시킨 다음, PBS(5분 $\times$ 2)에서 2회 세정했다. 절편 주위에 실리콘 장벽("PAP 펜")을 적용했다. 절편은 0.05%(0.01-0.001) 트리톤 X-100 및 1% BSA를 함유하는 PBS에서 30분 동안 실온에서 배양한 다음, PBS에서 1고2분으로 세정했다. 절편을, α 10 Pab 1.2 μ g/ml(0.6-1.2 μ g/ml)(0.05% 트리톤X-100 및 1% BSA를 함유하는 PBS에서 희석시킴)와 함께, 16 내지 18시간 동안 4 내지 8 $^{\circ}$ C에서 다른 항원에 대해 제조된 항체와 혼합된 일차 항체로 배양한다(특이성 및 최적 작업 희석에 대해 1차 개별적으로 평가됨). 동시 형광 가시화를 위해, 2개 에피토프, 각각 일차 및 이차 항체를 혼합물("각테일")로서 적용한다. 절편을 PBS에서 1분간, 이어서 2 $\times$ 5분간 세정하고, 1:150으로 희석시킨 혼합물에서 형광단 접합된 이차 Ab/Ab와 함께 30 내지 45분간 실온에서 배양한다.

[0706] 복수 표지화를 위한 이차 항체(고도 친화성 정제된, 주로 Fab2 항체)를 래빗, 마우스 또는 염소 IgG'에 대해 또는 닭 IgY에 대해 당나귀 또는 염소에서 제조했다(Jackson, USA or Invitrogen, USA). 1% BSA를 함유하는 PBS에서 희석시킨다. 2개 에피토프의 동시 형광 가시화를 위해, 일차 및 이차 항체를 혼합물, "각테일"로서 적용한다. 절편을 PBS-트리톤 X-100에서 2분 동안 세정하고, PBS에서 1 $\times$ 5분간 세정한다. 절편을, 15분 동안, PBS에서 희석시킨 기관(핵) 염색 DAPI(0.1 μ M)에서 배양하고, PBS에서 2 $\times$ 5분간 세정했다. 절편을 "항-페이드 용액"에서 마운팅 및 커버 슬리핑한다: ProLong Gold (Invitrogen, USA).

[0707] 본 연구에 사용된 항체

IGT #	항원	숙주 종	공급업자	제품 번호
#EXT28	EGFRvIII monoclonal	마우스 mAb	Biorbyt	orb47907
#524	Nestin	염소 pAb	R&D Systems	
#384b	Nestin	마우스 mAb	Chemicon	MAB5326
#521	PSA-NCAM	마우스 IgM	Millipore	#MAB5324
#526	GFAP	염소 pAb IgG	Abcam	ab53554
#EXT16	CD140b (PDGFRb)	마우스 mAb	Abcam	ab69506
#EXT13	CD31 (PECAM-1)	염소 pAb	Santa Cruz biotechnology	sc-1505
#540	CD45	마우스 mAb	BD Pharmingen	555480
#EXT18	CD68	마우스 mAb	Dako	M0718
#EXT26	CD163 monoclonal	마우스 mAb	Abcam	ab17051
#EXT27	hMMR/CD206 polyclonal	염소 IgG	R&D systems	AF2534

[0708]

[0709] 분석:

[0710] 분석은 공초점 레이저 주사 현미경으로 수행했다. 공초점 현미경은 고해상도, 표지화의 신호 대 노이즈 비율, 및 특정 파장 길이 신호 검출을 제공했다. 공초점 현미경 화상의 유일한 분석은 구조적 국제화, 세포외/세포내 국제화, 및 표지의 공-국제화(Z-스택 광학 절편화 및 3-D 재구성을 통해)를 해결할 수 있다.

[0711] 시료는, 305 내지 633nm 사이의 여기 및 420 내지 650nm의 방사 검출을 위해 레이저를 사용하는, Zeiss LSM 510 META 공초점 현미경에서 조사했다. 화상은, 3개의 면역형광 채널, 하나의 DAPI 채널 및 하나의 명시야 DIC 채널을 갖는, 20×/0.8 Plan Apochromate 및 40×/1.3 오일 침지 Plan Apochromate 대물렌즈로 취득했다.

[0712] 연속 공초점 면의 Z-스택(DIC 없음)은, 최대 해상도를 위해 1024×1024 px 프레임 사이즈(픽셀 폭 0.22μm) 또는 "줄"(소면적 주사) 및 Nyquist 광학 샘플링 주파수(픽셀 폭 0.115μm)를 갖는 40×/1.3 대물렌즈로 취득했다. 연속 공초점 면 사이의 단계 크기는 Nyquist 광학 샘플링 주파수(0.48μm)에 따라왔다.

[0713] 상이한 마커와의 인테그린 α10 공존의 정량적 분석은 디지털화 화상 데이터를 사용하여 수행했다. 데이터는 상이한 표지화를 나타내는 단일 채널로부터 분석했다. 목적하는 영역(ROI)는 세포 핵의 동정을 통해 먼저 동정했다. 핵 주변의 1마이크로미터 부분을 마커의 공-발현의 분석에 사용했다. 양성 염색에 대한 역치 값은 경험이 풍부한 현미경 작동자에 의한 시각 검사로 측정하고, 5%로 설정했다.

[0714] 결과: 하기 표 1은 인테그린 α10 서브유닛과의 마커 공-발현에 대한 발현 패턴을 나타낸다. 항원에 대해 지시된 사용 항체는 좌측 컬럼에 제시되어 있다. 항원(면역 표현형)을 발현할 것으로 예상되는 상이한 세포 타입은 중간 컬럼에 제시되어 있다. 인테그린 α10과 각 마커의 공-발현 정도는 우측 컬럼에 제시되어 있다.

표 1

[0715]

마커 매트릭스

세포 마커	이 마커를 발현할 것으로 예상되는 세포	인테그린 α10과의 중첩 표지화 정도
EGFRvIII	악성 세포	71-100%
네스틴	줄기 세포/전구 세포 신경 전구 세포 악성 세포	1-10%
PSA-NCAM	악성 세포	1-10%
GFAP	성상세포 전구 세포 악성 세포	11-30
PDGFRb (CD140b)	주피 세포 전구 세포 악성 세포	1-10%

PECAM-1 (CD31)	내피 세포 전구 세포 악성 세포	1-10%
CD45	T-세포, B-세포, NK-세포, 수지상 세포, 마크로파지, 단핵구를 포함하는 조혈 세포 악성 세포	31-70%
CD68	마크로파지 소교세포 악성 세포	71-100%
CD163	마크로파지 소교세포 악성 세포	11-30%
CD206	마크로파지 소교세포 악성 세포	11-30%

[0716] CD163, CD206 및 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 공-발현 및 공-국재화는 도 8에 제시되어 있고, EGFRvIII 및 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 공-발현 및 공-국재화는 도 9에 제시되어 있다.

[0717] **실시예 8: 이동 검정**

[0718] 악성 세포는 확산 및 전이하는 이동에 의존한다. 인테그린 $\alpha 10$ 이 이러한 세포 프로세스에 중요한지를 해명하기 위해, 이동 검정을 수행한다.

[0719] 이동 검정은 사이토셀렉트 세포 이동 검정 키트(CytoSelect Cell Migration Assay kit)(Cell Biolabs, US)를 사용하여 수행한다. 이는, 화학유인 매체로 충전된 상부 구획으로부터 하부 구획으로 세포를 이동하게 하는 2-챔버 시스템이다. 챔버는 활성적으로 이동하는 세포만을 통과하게 하는 막으로 분리시킨다. 예를 들면, 일차 배양물 또는 확립된 세포주로부터 수득된 신경교종 세포(GBM)를 아쿠타제를 사용하여 수거하고, 태소 혈청(FCS) 부재하에 배지에 현탁시키고, CytoSelect 삼입체의 상부 구획으로 이동시킨다. 이동 검정은 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 대한 모노클로날 비접합된 및/또는 항체-약물-접합체(ADC) 항체 또는 IgG 대조군 항체를 사용하여 수행한다. 37°C에서 24 내지 48시간 동안 배양한 후, 삼입체를 수집하고, 하부 표면에 부착하는 세포를 고정시키고, 염색하고, 정량화한다.

[0720] 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 대한 항체와 함께 배양한 신경교종 세포는 감소된 이동능을 나타낸다.

[0721] **실시예 9: 아포토시스의 분석 - 세포 형태 및 유세포 계측**

[0722] 세포는 생존하기 위해 세포외 매트릭스에 대한 인테그린 접착에 의존적이다. 이들 인테그린-매트릭스 결합이 파괴되는 경우, 세포는 아포토시스로 들어가게 된다. 인테그린 $\alpha 10$ 결합이 파괴될 때에 아포토시스의 유도가 발생하는지를 해명하기 위해, 아포토시스 검정을 수행한다.

[0723] 신경교종 세포(GBM)를 6-웰 플레이트에서 배양하고, 아포토시스 측정을 위해 밤새 항온처리한다. 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 대한 비접합된 또는 ADC 모노클로날 항체, 또는 IgG 대조군 항체를 1일 후에 첨가한다. 형태 변화는 도립 현미경을 사용하여 관찰하고, 세포는 초기 및 후기 아포토시스를 관찰하기 위해 72시간 처리 후의 유세포 계측 분석을 위해 수거한다. 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛 항체에 의해 유도된 아포토시스 정도는 상업적으로 이용가능한 아포토시스 검출 키트, 예를 들면, 7-AAD를 사용한 FITC 아넥신 V 아포토시스 검출 키트(Biolegend)로 측정하고, 데이터는 유세포 계측에 의해 분석한다. 유세포 계측 분석에서, 아넥신 V-FITC 단일 양성 세포는 초기 아포토시스 세포를 나타낸다. 아넥신 V-FITC 및 7-AAD(7-아미노-액티노마이신 D) 이중 양성 염색 세포는 후기 아포토시스 세포를 나타낸다. 7-AAD에 대한 양성 염색은 단지 세포의 괴사 모집단을 나타낸다.

[0724] 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 대한 항체와 함께 항온처리한 신경교종 세포는 증강된 아포토시스를 나타낸다.

[0725] **실시예 10: 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 대한 모노클로날 항체로 처리한 신경교종 세포(GBM)의 구 형성능**

[0726] 세포 모집단의 자가-재생능 및 따라서 이종이식편 이식할 때에 생체내에서 종양을 유도하는 이들의 능력을 측정하는 통상의 시험관내 검정은 구 형성 검정이다.

- [0727] 인간 신경교종 세포 배양물(HGCC) 바이오뱅크(Uppsala University)로부터의 신경교종 세포주(GBM)을 이 검정에 사용했고, 이들 세포는 지에 등[참조: Xie et al., 2015 (EBioMedicine. 15;2(10):1351-63)]에 기재된 외과적 샘플로부터 수집된 뇌 종양 조직 샘플로부터 수득된 환자 재료로부터 유래한다.
- [0728] 세포는, 50× B27, 100× N2, 1% Pen Strep, bFGF(10ng/ml) 및 EGF(10ng/ml)가 보충된 DMEM/F12 w/Glutamax 및 신경기초 배지(1:1)에서 37℃로 5% CO₂와 함께 배양한다. 구 형성능을 평가하기 위해, 세포를 아쿠타제로 처리하고, 수집하고 4분 동안 300×g으로 원심분리한 다음, 배지에 재현탁시킨다. 검정은 96-웰 플레이트에서 수행하고, 5000 세포를 웰당 파종한다. 세포를 다양한 농도의 인테그린 α10 서브유닛에 대한 모노클로날 항체 또는 IgG 대조군 항체로 처리했다. 모든 처리는 3중으로 수행했다. 37℃에서 5% CO₂와 함께 항온처리 7일 후, 각 웰의 현미경 화상을 촬영하고, 100μm의 직경에 도달한 구체를 계수했다.
- [0729] 결론적으로, 인테그린 α10 서브유닛에 대한 모노클로날 항체를 사용함으로써, 신경교종 세포는 무처리 세포와 비교하여 감소된 구 형성능을 나타낸다. 이러한 효과는 IgG 대조군 항체로 처리한 세포에서 관찰되지 않았다(도 10).
- [0730] **실시예 11: 인테그린 α10 서브유닛에 대한 항체로 처리된 신경교종 세포(GBM)의 생존율 및 성장**
- [0731] 암의 특징 중의 하나는 악성 세포에서 지속된 증식성 신호이다. 항-인테그린 α10 서브유닛 항체가 신경교종 세포 생존율 및 증식을 억제할 수 있는지를 해명하기 위해, WST-1(Roche, DE) 및 XTT 등의 비색 세포 생존율 검정을 수행했다. 비색 세포 생존율 검정은, 대사적 활성 세포에서 착색 포르마잔 화합물로 환원되는 테트라졸리움 염을 포함한다. 따라서, 포르마잔 염료의 양은 생존 세포의 수와 상관한다.
- [0732] 세포 생존율 검정을 위해, 일차 배양으로부터 수득된 신경교종 세포를 아쿠타제로 처리하고, 수집하고 4분 동안 300×g으로 원심분리하고, 이어서 배지에 재현탁시켰다. 몇몇 신경교종(GBM) 세포주를 사용했다. 룬드 대학으로부터의 하나를 10% FBS 및 1% Pen Strpe이 보충된 DMEM 배지에서 배양하고, HGCC 세포주를 50× B27, 100× N2, 1% Pen Strep, bFGF(10ng/ml) 및 EGF(10ng/ml)이 보충된 DMEM/F12 w/Glutamax 및 신경기초 배지(1:1)에서 37℃에서 5% CO₂와 함께 배양했다. 웰당 5000 세포의 밀도를 사용하고, HGCC 세포의 우수한 플라스틱 접착을 위해 96-웰 플레이트를 라미닌(Cultrex® Mouse Laminin I, R&D systems)으로 코팅했다. 다음 날, 상이한 농도의 인테그린 α10 서브유닛에 대한 모노클로날 항체를 첨가했다. 세포는 또한 인테그린 α10 서브유닛에 대한 비접합된 모노클로날 항체, 및 우수한 시험관내 모델 시스템인 사포린과 접합된 이차 항체(ATSBio, US)의 조합물로 처리했다. 대조군으로서, 대조군 항체 뿐만 아니라 무처리 세포를 사용했다. 모든 처리는 삼중으로 수행했다. 세포를 37℃에서 5% CO₂와 함께 72시간 동안 추가로 배양했다. 세포 생존율은 10 내지 50μl 테트라졸리움 염 시약을 각 웰에 첨가한 다음 37℃에서 1 내지 4시간 동안 항온처리하여 평가했다. 플레이트를 온화하게 진탕시키고, 샘플의 흡광도는 450 내지 500nm의 파장에서 분광광도계(SpectraMax i3)를 사용하여 측정했다.
- [0733] 도 11에서 볼 수 있는 바와 같이, 단독으로 인테그린 α10 서브유닛에 대한 비접합된 모노클로날 항체를 사용한 처리는 무처리 신경교종(GBM) 세포와 비교하여 세포 생존율 및/또는 증식을 현저히 감소시켰다. 도 12는, 대조군 항체와 비교하여, 사포린과 접합된 이차 항체와 조합하여 인테그린 α10 서브유닛에 대한 모노클로날 항체로 처리한 신경교종(GBM) 세포의 감소된 생존 및/또는 성장을 나타낸다.
- [0734] **실시예 12: 중추신경계(CNS)에서 악성종양의 치료를 위한 후보 표적으로서 인테그린 α10β1의 기능적 평가를 위한 생체내 뮌 모델.**
- [0735] 항암제로서 항-인테그린 α10 항체를 포함하는 비접합된 인테그린 α10 항체 또는 접합된 인테그린 α10 항체(항체 약물 접합체, ADC)의 항종양 효과를 입증하기 위해, 면역결핍된 마우스의 정위 동소성 뇌 종양 이종이식편 모델을 사용한다. 인간 종양 세포를 면역-결핍된 마우스의 뇌에 이식한다. 암 세포를 동소에 주입하는 방법은 본질적으로 문헌[참조: Joo KM et al. 2013, Cell Rep. 3, 260-73]에 기재되어 있다.
- [0736] 상이한 용량의 인테그린 α10에 대한 비접합된/ADC 모노클로날 항체 또는 대조군 항체를 악성 세포 이식시에 신생물의 도입후 상이한 시점에서 모델 동물에게 투여한다. 항체는 정맥내, 종양내 또는 뇌실내 주사에 의해 도입하다. 인테그린 α10 특이적 항체의 치료 효과는 항-인테그린 α10 처리된 동물을 대조군 항체로 처리된 동물과 비교하여 평가한다.
- [0737] 시약의 치료 가치의 평가는 생존 뿐만 아니라 기관, 세포 및 분자 분석을 기초로 하여 복수의 병리학적 비교에 의해 수행한다. 병리학적 특징 및 마커의 예는 이하와 같다:

- [0738] - 종양 크기
- [0739] - 종양 성장율
- [0740] - 형태적, 분자 및 조직병리학적 특징
- [0741] - 침윤
- [0742] - 악성 마커의 유전자 발현
- [0743] - 세포 주기 상태
- [0744] - 아포토시스
- [0745] 본 실험의 한 가지 목표는 독성 반응을 유발하거나 유도하지 않고서 시약의 최대 유효 용량을 결정하는 것이다. 보다 상세한 실험 계획을 함유하는, 생체내 전략적 설정의 주요 및 일반적 단계는 하기에 소개되어 있다:
- [0746] 상세 실험 계획
- [0747] 일반적으로, 숙주 동물에서 개시일(0일)로부터, 즉, 정상 이식편 숙주 내로 신생물 세포의 주사로부터 완전 발달 종양까지 신경교종의 발달은 선택된 이종이식편 모델에 따라 약 2 내지 20주이다. 연구는 3개의 상이한 단계로 세분된다:
- [0748] 1. 개시
- [0749] 2. 진행
- [0750] 3. 종료
- [0751] 단계 1, 개시:
- [0752] 악성 세포의 주사 전에, 하기 단계를 0일에 수행한다.
- [0753] 이식을 위한 세포의 제조:
- [0754] a) 종양 세포주 또는
- [0755] b) 일차 악성 세포 현탁액을 수득하기 위한 종양 해리
- [0756] 마우스 뇌 내로 동소 이식을 위해, 정위 장치를 제조업자의 지시에 따라 제조한다.
- [0757] 수술 절차:
- [0758] 적어도 5마리 동물을 각 주입 조건 및 각 시점에 대해 사용한다.
- [0759] a) 수술전 동물 준비(동물의 마취, 세정, 고정)
- [0760] b) 수술전 세포 준비(세포 세척 및 계수)
- [0761] c) 절차 관리(마취 및 수술 절차의 유지)
- [0762] d) 세포의 주입
- [0763] e) 동물의 관리 및 모니터링
- [0764] 단계 2, 진행:
- [0765] 실험 동물은 처리 섭생을 기초로 하여 4개 그룹으로 세분한다.
- [0766] 그룹은 다음과 같다:
- [0767] 그룹 1: 무처리 그룹. 항체로 처리하지 않음.
- [0768] 그룹 2: 대조군 그룹. 대조군 항체로 처리.
- [0769] 그룹 3: ITGA10 group. 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛에 대한 비접합된/ADC 항체로 처리.
- [0770] 단계 3, 종료:
- [0771] 동물은 확립된 프로토콜에 따라 희생시키고, 뇌 종양은 형태학적, 분자 및 조직병리학적 특징, 침윤, 악성 마커

의 유전자 발현 데이터, 세포 사이클 상태 및 아폽토시스에 관한 모든 필수 정보를 수득하기 위해 단리한다.

[0772] 실시예 13: 서열의 개요

[0773] 서열번호 1: 인간 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛

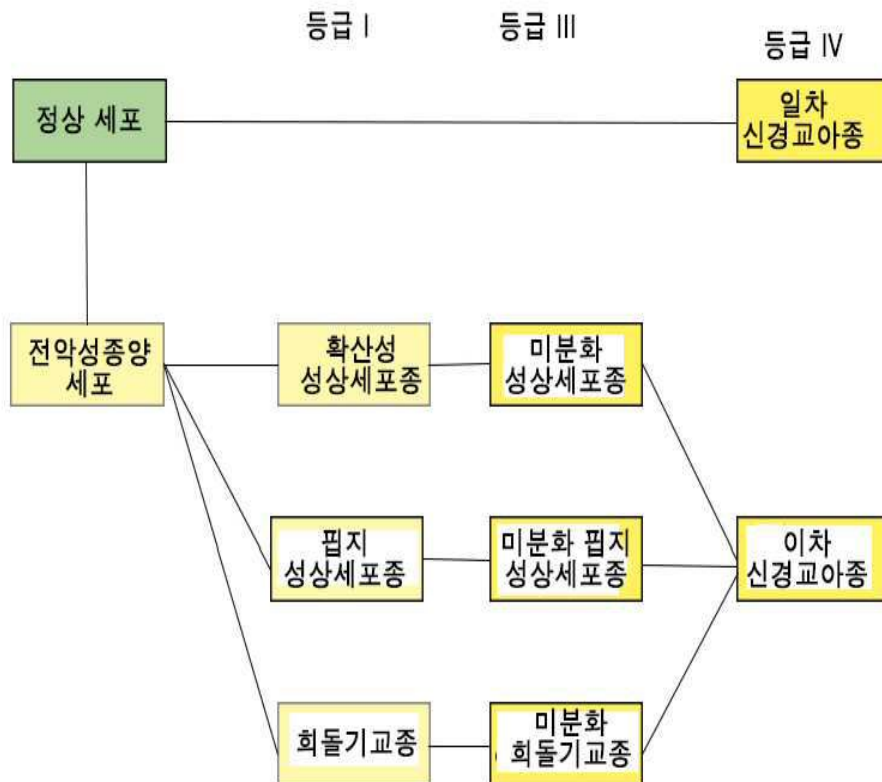
[0774] 서열번호 2: 인간 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 세포외 도메인

[0775] 서열번호 3: 인간 인테그린 $\alpha 10$ 서브유닛의 I-도메인

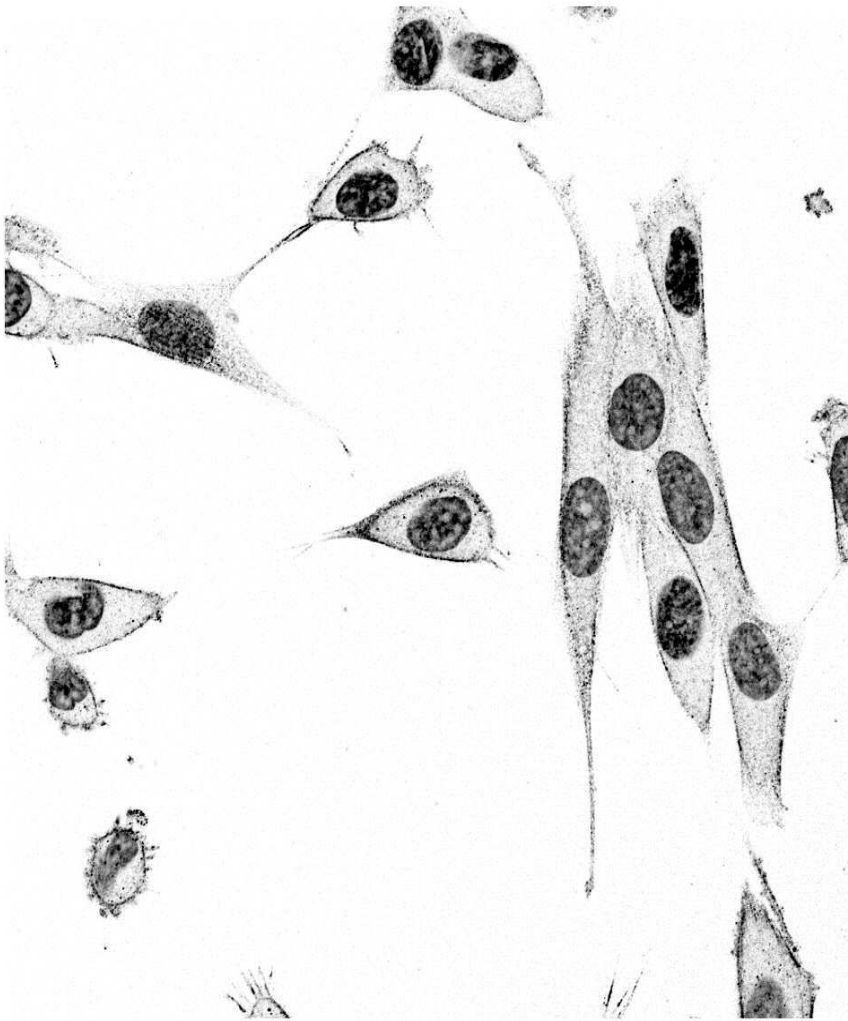
[0776] 서열번호 4: 호모 사피엔스 인테그린 서브유닛 $\alpha 10$ 전구체, mRNA, 완전 cds

도면

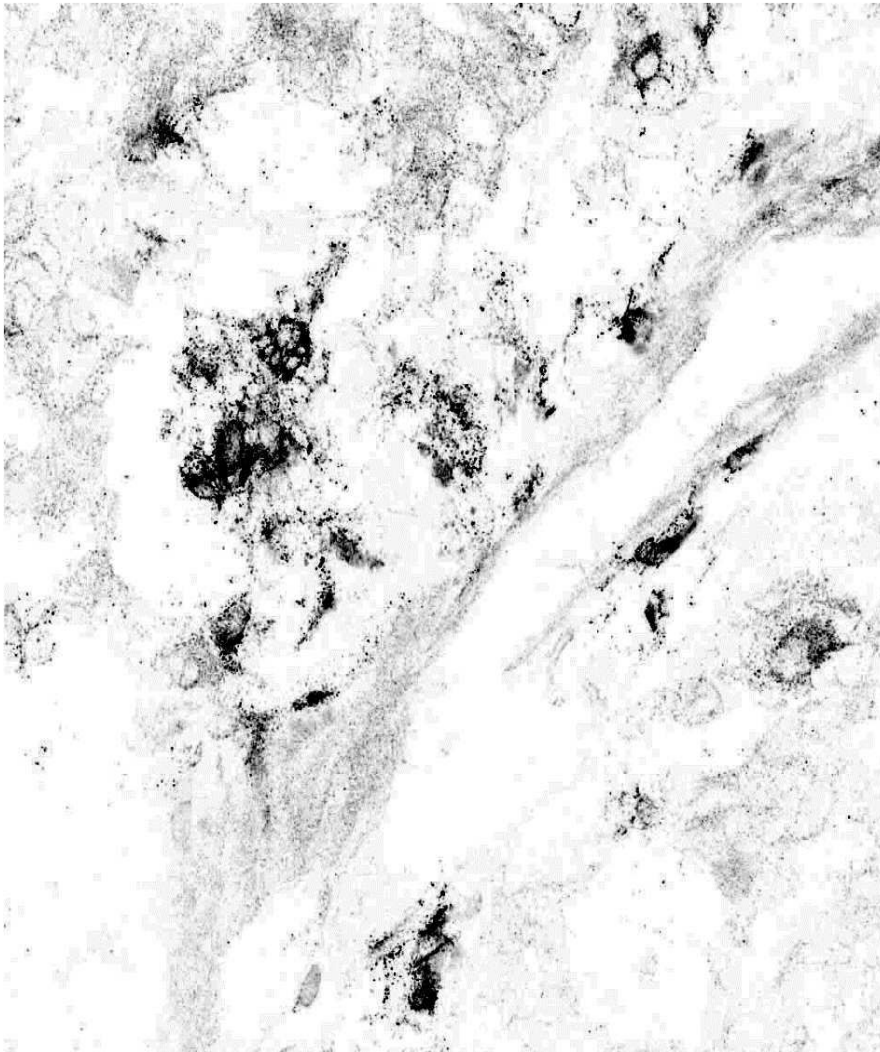
도면1



도면2

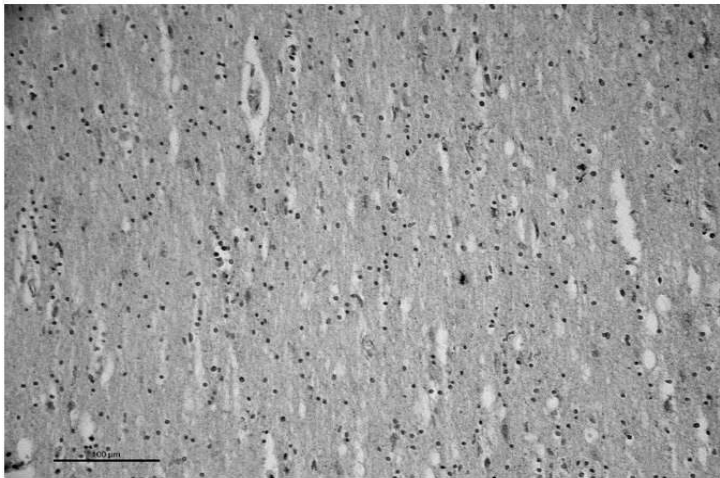


도면3

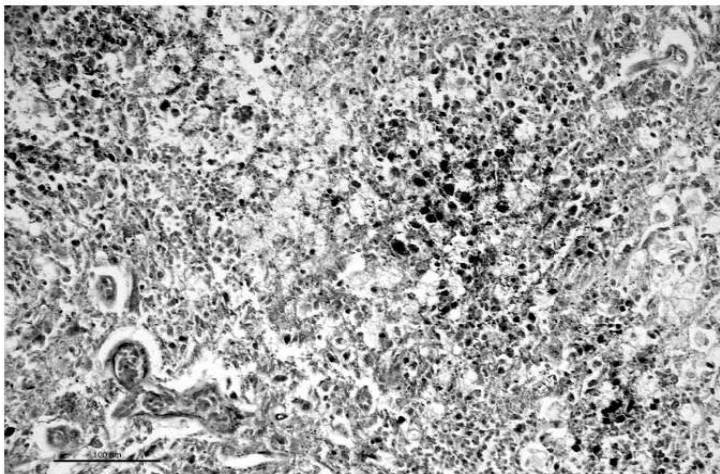


도면4

A

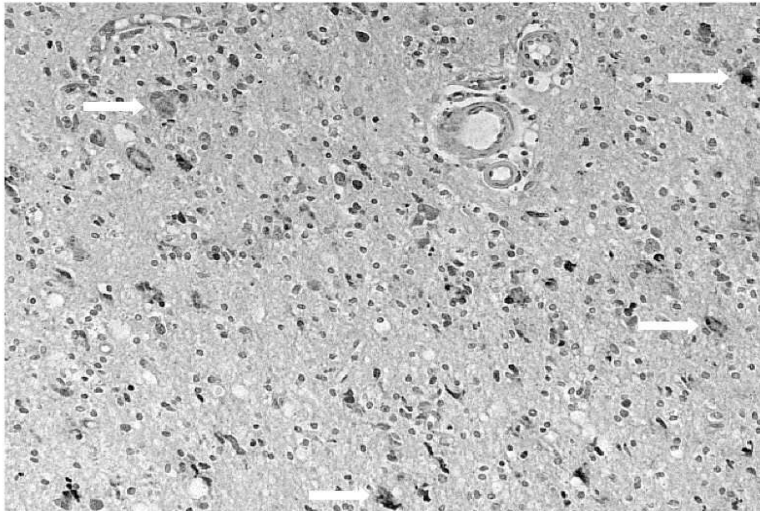


B

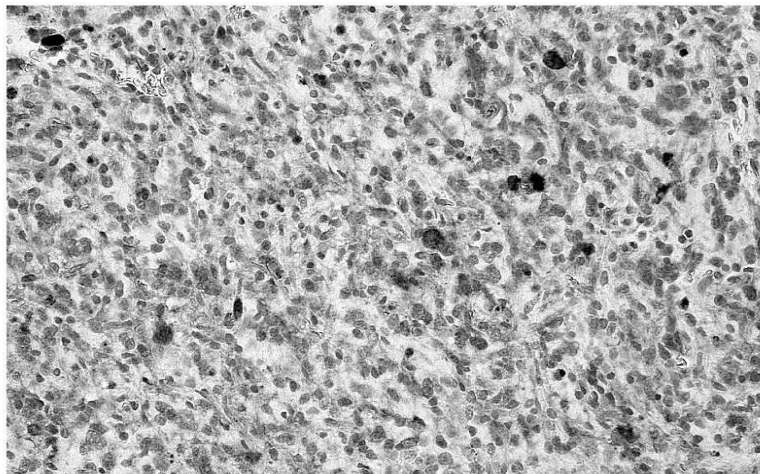


도면5a

A

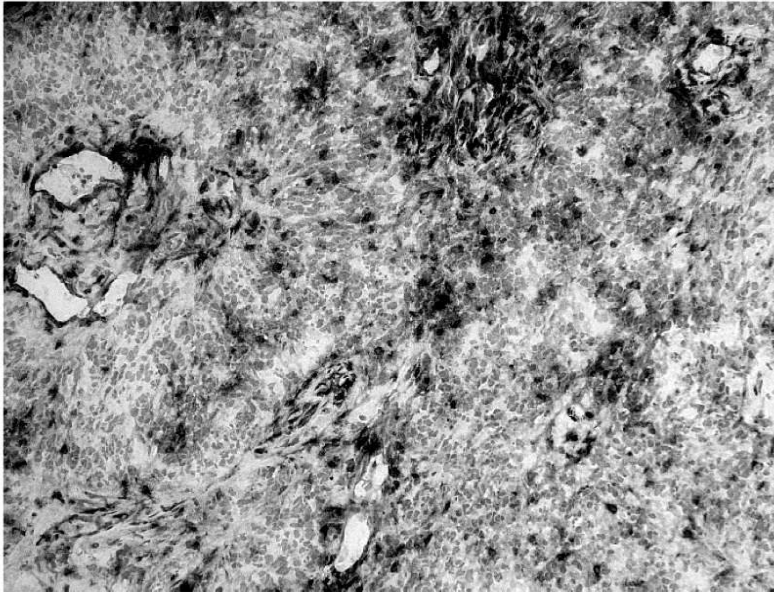


B

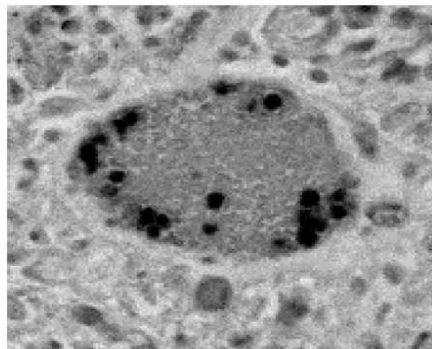


도면5b

C

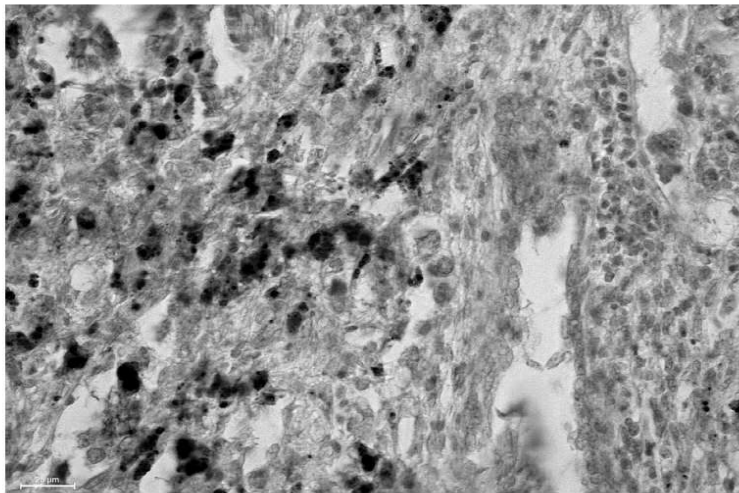


D

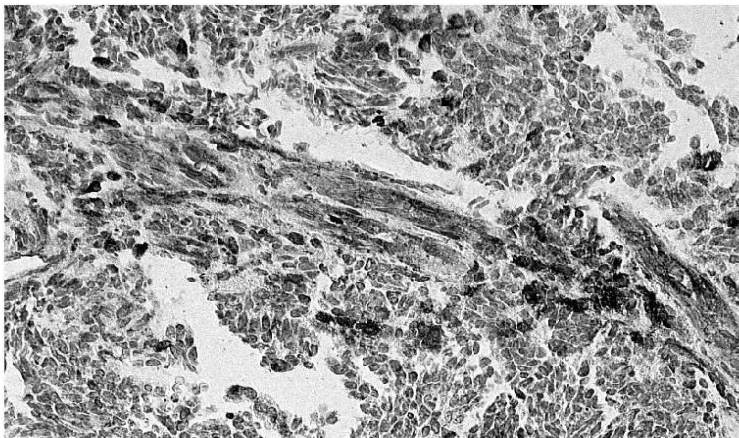


도면6

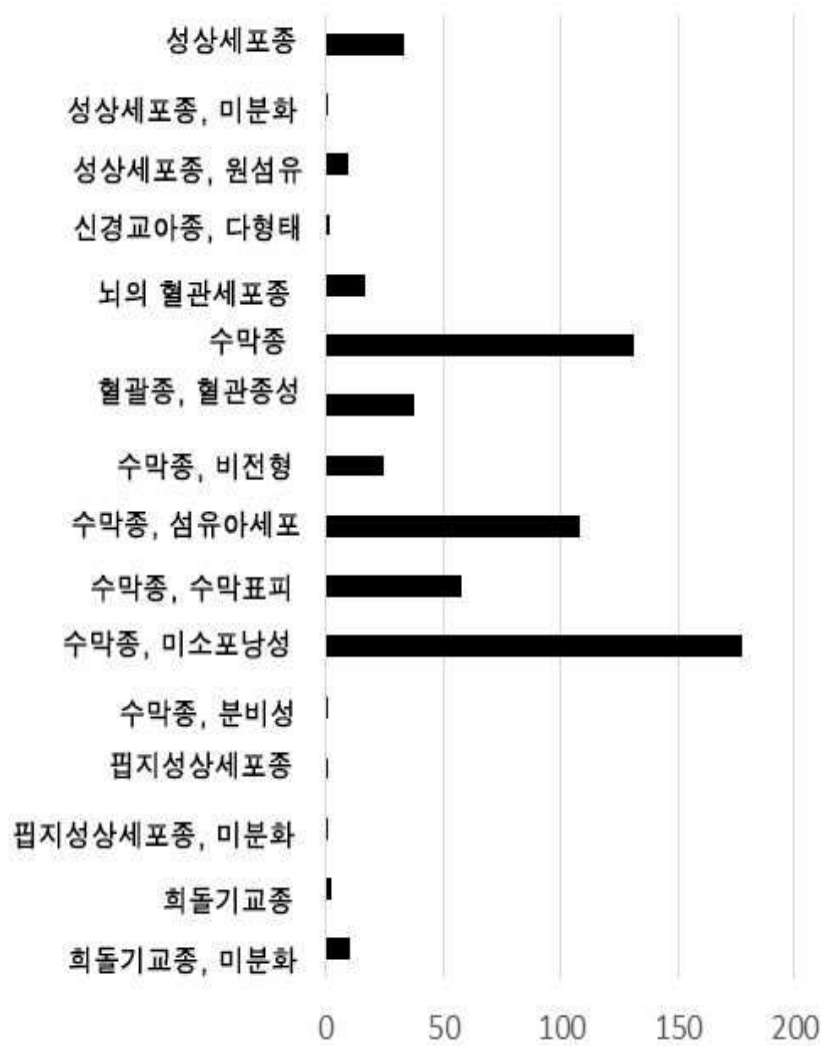
A



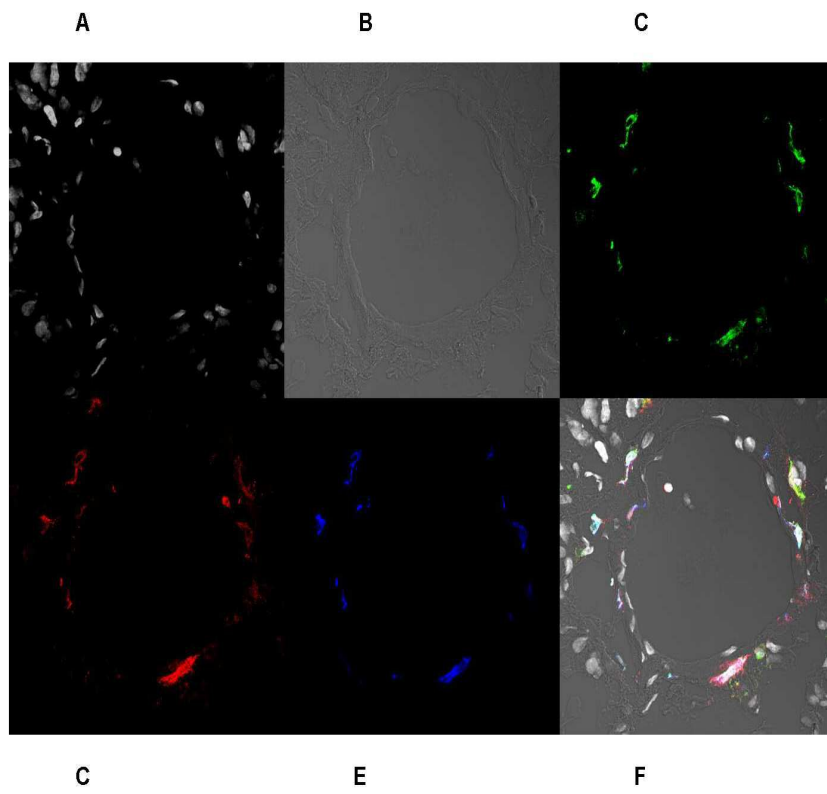
B



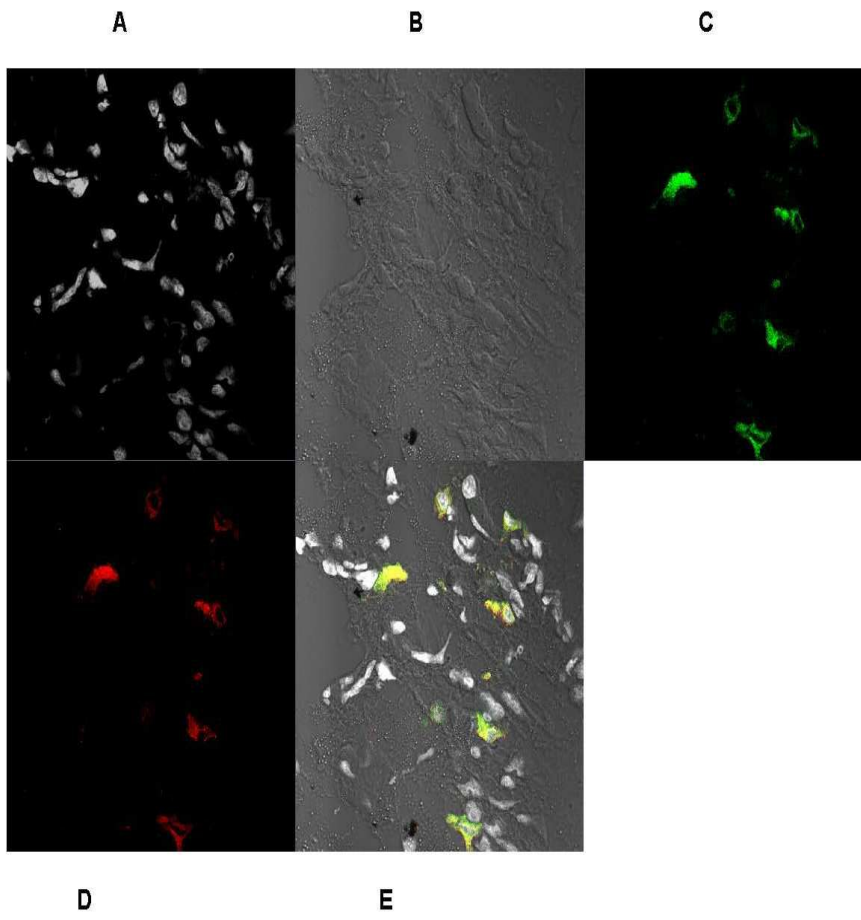
도면7



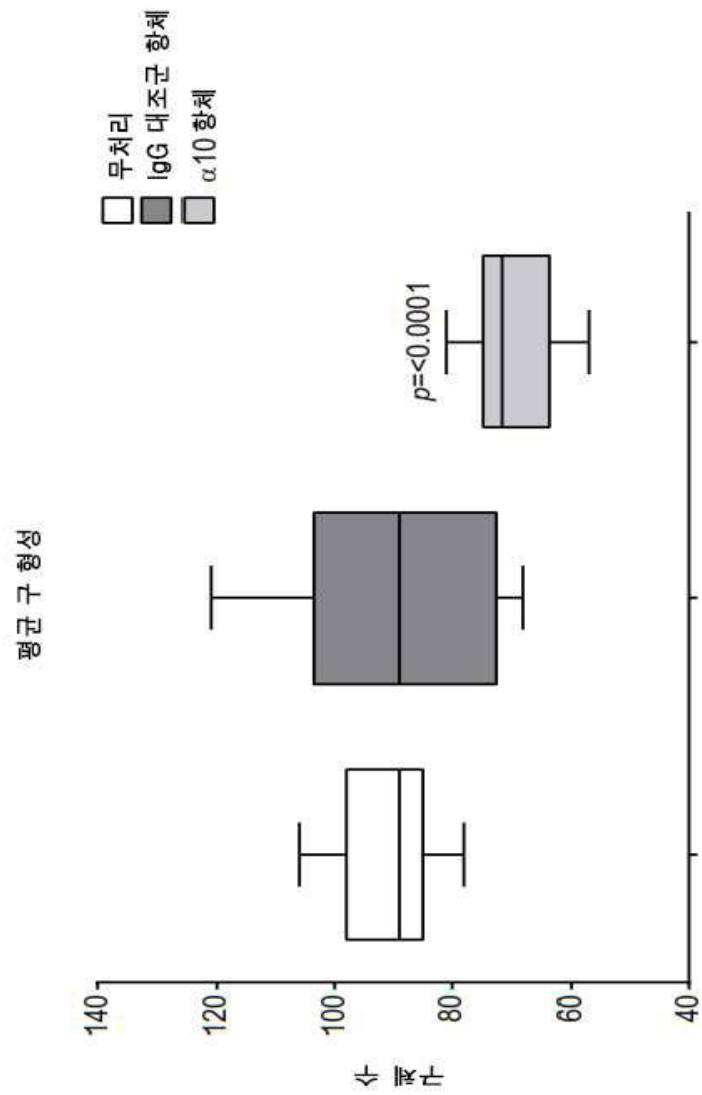
도면8



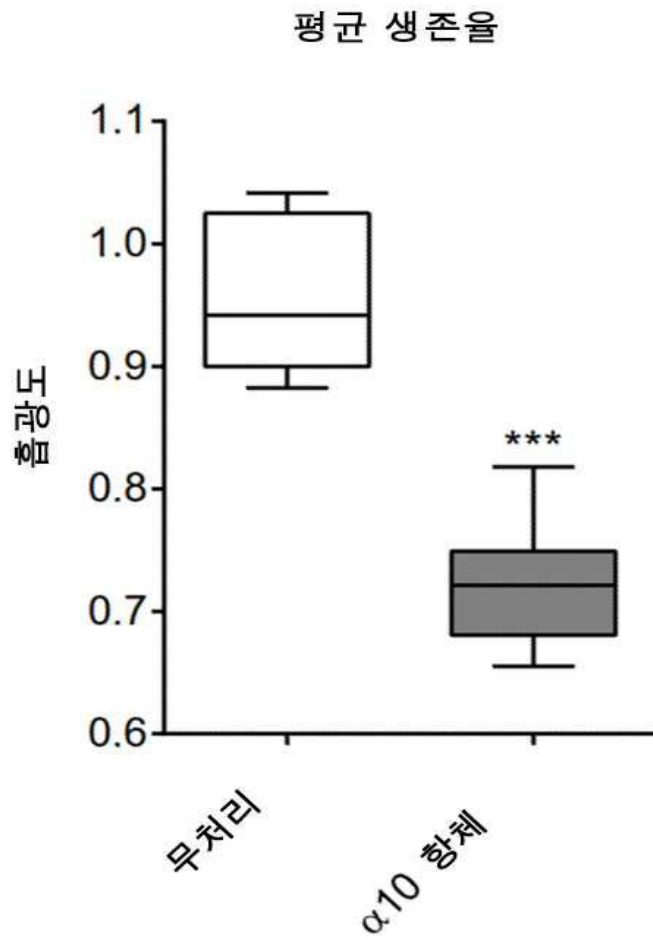
도면9



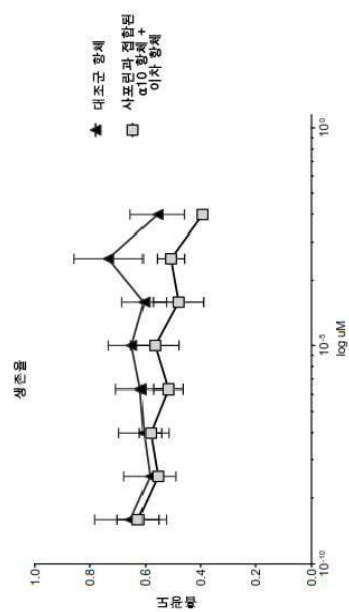
도면10



도면11



도면12



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Xintela AB

<120> Detection and treatment of malignant tumours in the CNS

<130> IPA170747-DK

<150> SE 1550168-7

<151> 2015-02-16

<160> 4

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1167

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1167)

<223> Human integrin alpha 10 full length polypeptide

<400> 1

Met Glu Leu Pro Phe Val Thr His Leu Phe Leu Pro Leu Val Phe Leu

1 5 10 15

Thr Gly Leu Cys Ser Pro Phe Asn Leu Asp Glu His His Pro Arg Leu

20 25 30

Phe Pro Gly Pro Pro Glu Ala Glu Phe Gly Tyr Ser Val Leu Gln His

35 40 45

Val Gly Gly Gly Gln Arg Trp Met Leu Val Gly Ala Pro Trp Asp Gly

50 55 60

Pro Ser Gly Asp Arg Arg Gly Asp Val Tyr Arg Cys Pro Val Gly Gly

65 70 75 80

Ala His Asn Ala Pro Cys Ala Lys Gly His Leu Gly Asp Tyr Gln Leu

85 90 95

Gly Asn Ser Ser His Pro Ala Val Asn Met His Leu Gly Met Ser Leu

100 105 110

Leu Glu Thr Asp Gly Asp Gly Gly Phe Met Ala Cys Ala Pro Leu Trp

115	120	125	
Ser Arg Ala Cys Gly Ser Ser Val Phe Ser Ser Gly Ile Cys Ala Arg			
130	135	140	
Val Asp Ala Ser Phe Gln Pro Gln Gly Ser Leu Ala Pro Thr Ala Gln			
145	150	155	160
Arg Cys Pro Thr Tyr Met Asp Val Val Ile Val Leu Asp Gly Ser Asn			
165	170	175	
Ser Ile Tyr Pro Trp Ser Glu Val Gln Thr Phe Leu Arg Arg Leu Val			
180	185	190	
Gly Lys Leu Phe Ile Asp Pro Glu Gln Ile Gln Val Gly Leu Val Gln			
195	200	205	
Tyr Gly Glu Ser Pro Val His Glu Trp Ser Leu Gly Asp Phe Arg Thr			
210	215	220	
Lys Glu Glu Val Val Arg Ala Ala Lys Asn Leu Ser Arg Arg Glu Gly			
225	230	235	240
Arg Glu Thr Lys Thr Ala Gln Ala Ile Met Val Ala Cys Thr Glu Gly			
245	250	255	
Phe Ser Gln Ser His Gly Gly Arg Pro Glu Ala Ala Arg Leu Leu Val			
260	265	270	
Val Val Thr Asp Gly Glu Ser His Asp Gly Glu Glu Leu Pro Ala Ala			
275	280	285	
Leu Lys Ala Cys Glu Ala Gly Arg Val Thr Arg Tyr Gly Ile Ala Val			
290	295	300	
Leu Gly His Tyr Leu Arg Arg Gln Arg Asp Pro Ser Ser Phe Leu Arg			
305	310	315	320
Glu Ile Arg Thr Ile Ala Ser Asp Pro Asp Glu Arg Phe Phe Phe Asn			
325	330	335	
Val Thr Asp Glu Ala Ala Leu Thr Asp Ile Val Asp Ala Leu Gly Asp			
340	345	350	
Arg Ile Phe Gly Leu Glu Gly Ser His Ala Glu Asn Glu Ser Ser Phe			
355	360	365	

Gly Leu Glu Met Ser Gln Ile Gly Phe Ser Thr His Arg Leu Lys Asp
370 375 380

Gly Ile Leu Phe Gly Met Val Gly Ala Tyr Asp Trp Gly Gly Ser Val
385 390 395 400

Leu Trp Leu Glu Gly Gly His Arg Leu Phe Pro Pro Arg Met Ala Leu
405 410 415

Glu Asp Glu Phe Pro Pro Ala Leu Gln Asn His Ala Ala Tyr Leu Gly
420 425 430

Tyr Ser Val Ser Ser Met Leu Leu Arg Gly Gly Arg Arg Leu Phe Leu
435 440 445

Ser Gly Ala Pro Arg Phe Arg His Arg Gly Lys Val Ile Ala Phe Gln
450 455 460

Leu Lys Lys Asp Gly Ala Val Arg Val Ala Gln Ser Leu Gln Gly Glu
465 470 475 480

Gln Ile Gly Ser Tyr Phe Gly Ser Glu Leu Cys Pro Leu Asp Thr Asp
485 490 495

Arg Asp Gly Thr Thr Asp Val Leu Leu Val Ala Ala Pro Met Phe Leu
500 505 510

Gly Pro Gln Asn Lys Glu Thr Gly Arg Val Tyr Val Tyr Leu Val Gly
515 520 525

Gln Gln Ser Leu Leu Thr Leu Gln Gly Thr Leu Gln Pro Glu Pro Pro
530 535 540

Gln Asp Ala Arg Phe Gly Phe Ala Met Gly Ala Leu Pro Asp Leu Asn
545 550 555 560

Gln Asp Gly Phe Ala Asp Val Ala Val Gly Ala Pro Leu Glu Asp Gly
565 570 575

His Gln Gly Ala Leu Tyr Leu Tyr His Gly Thr Gln Ser Gly Val Arg
580 585 590

Pro His Pro Ala Gln Arg Ile Ala Ala Ala Ser Met Pro His Ala Leu
595 600 605

Ser Tyr Phe Gly Arg Ser Val Asp Gly Arg Leu Asp Leu Asp Gly Asp

610 615 620
 Asp Leu Val Asp Val Ala Val Gly Ala Gln Gly Ala Ala Ile Leu Leu
 625 630 635 640
 Ser Ser Arg Pro Ile Val His Leu Thr Pro Ser Leu Glu Val Thr Pro
 645 650 655

 Gln Ala Ile Ser Val Val Gln Arg Asp Cys Arg Arg Arg Gly Gln Glu
 660 665 670
 Ala Val Cys Leu Thr Ala Ala Leu Cys Phe Gln Val Thr Ser Arg Thr
 675 680 685
 Pro Gly Arg Trp Asp His Gln Phe Tyr Met Arg Phe Thr Ala Ser Leu
 690 695 700
 Asp Glu Trp Thr Ala Gly Ala Arg Ala Ala Phe Asp Gly Ser Gly Gln
 705 710 715 720

 Arg Leu Ser Pro Arg Arg Leu Arg Leu Ser Val Gly Asn Val Thr Cys
 725 730 735
 Glu Gln Leu His Phe His Val Leu Asp Thr Ser Asp Tyr Leu Arg Pro
 740 745 750
 Val Ala Leu Thr Val Thr Phe Ala Leu Asp Asn Thr Thr Lys Pro Gly
 755 760 765
 Pro Val Leu Asn Glu Gly Ser Pro Thr Ser Ile Gln Lys Leu Val Pro
 770 775 780

 Phe Ser Lys Asp Cys Gly Pro Asp Asn Glu Cys Val Thr Asp Leu Val
 785 790 795 800
 Leu Gln Val Asn Met Asp Ile Arg Gly Ser Arg Lys Ala Pro Phe Val
 805 810 815
 Val Arg Gly Gly Arg Arg Lys Val Leu Val Ser Thr Thr Leu Glu Asn
 820 825 830
 Arg Lys Glu Asn Ala Tyr Asn Thr Ser Leu Ser Ile Ile Phe Ser Arg
 835 840 845

 Asn Leu His Leu Ala Ser Leu Thr Pro Gln Arg Glu Ser Pro Ile Lys
 850 855 860

Val Glu Cys Ala Ala Pro Ser Ala His Ala Arg Leu Cys Ser Val Gly
 865 870 875 880
 His Pro Val Phe Gln Thr Gly Ala Lys Val Thr Phe Leu Leu Glu Phe
 885 890 895
 Glu Phe Ser Cys Ser Ser Leu Leu Ser Gln Val Phe Gly Lys Leu Thr
 900 905 910

Ala Ser Ser Asp Ser Leu Glu Arg Asn Gly Thr Leu Gln Glu Asn Thr
 915 920 925
 Ala Gln Thr Ser Ala Tyr Ile Gln Tyr Glu Pro His Leu Leu Phe Ser
 930 935 940
 Ser Glu Ser Thr Leu His Arg Tyr Glu Val His Pro Tyr Gly Thr Leu
 945 950 955 960
 Pro Val Gly Pro Gly Pro Glu Phe Lys Thr Thr Leu Arg Val Gln Asn
 965 970 975

Leu Gly Cys Tyr Val Val Ser Gly Leu Ile Ile Ser Ala Leu Leu Pro
 980 985 990
 Ala Val Ala His Gly Gly Asn Tyr Phe Leu Ser Leu Ser Gln Val Ile
 995 1000 1005
 Thr Asn Asn Ala Ser Cys Ile Val Gln Asn Leu Thr Glu Pro Pro
 1010 1015 1020
 Gly Pro Pro Val His Pro Glu Glu Leu Gln His Thr Asn Arg Leu
 1025 1030 1035

Asn Gly Ser Asn Thr Gln Cys Gln Val Val Arg Cys His Leu Gly
 1040 1045 1050
 Gln Leu Ala Lys Gly Thr Glu Val Ser Val Gly Leu Leu Arg Leu
 1055 1060 1065
 Val His Asn Glu Phe Phe Arg Arg Ala Lys Phe Lys Ser Leu Thr
 1070 1075 1080
 Val Val Ser Thr Phe Glu Leu Gly Thr Glu Glu Gly Ser Val Leu
 1085 1090 1095

Gln Leu Thr Glu Ala Ser Arg Trp Ser Glu Ser Leu Leu Glu Val

1100 1105 1110
 Val Gln Thr Arg Pro Ile Leu Ile Ser Leu Trp Ile Leu Ile Gly
 1115 1120 1125
 Ser Val Leu Gly Gly Leu Leu Leu Leu Ala Leu Leu Val Phe Cys
 1130 1135 1140
 Leu Trp Lys Leu Gly Phe Phe Ala His Lys Lys Ile Pro Glu Glu
 1145 1150 1155

 Glu Lys Arg Glu Glu Lys Leu Glu Gln
 1160 1165
 <210> 2
 <211> 1100
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1100)
 <223> Extracellular domain of human integrin alpha 10
 <400> 2
 Phe Asn Leu Asp Glu His His Pro Arg Leu Phe Pro Gly Pro Pro Glu
 1 5 10 15
 Ala Glu Phe Gly Tyr Ser Val Leu Gln His Val Gly Gly Gly Gln Arg
 20 25 30

 Trp Met Leu Val Gly Ala Pro Trp Asp Gly Pro Ser Gly Asp Arg Arg
 35 40 45
 Gly Asp Val Tyr Arg Cys Pro Val Gly Gly Ala His Asn Ala Pro Cys
 50 55 60
 Ala Lys Gly His Leu Gly Asp Tyr Gln Leu Gly Asn Ser Ser His Pro
 65 70 75 80
 Ala Val Asn Met His Leu Gly Met Ser Leu Leu Glu Thr Asp Gly Asp
 85 90 95

 Gly Gly Phe Met Ala Cys Ala Pro Leu Trp Ser Arg Ala Cys Gly Ser
 100 105 110
 Ser Val Phe Ser Ser Gly Ile Cys Ala Arg Val Asp Ala Ser Phe Gln

115	120	125	
Pro Gln Gly Ser Leu Ala	Pro Thr Ala Gln Arg Cys	Pro Thr Tyr Met	
130	135	140	
Asp Val Val Ile Val Leu	Asp Gly Ser Asn Ser Ile Tyr	Pro Trp Ser	
145	150	155	160
Glu Val Gln Thr Phe Leu	Arg Arg Leu Val Gly Lys Leu Phe	Ile Asp	
165	170	175	
Pro Glu Gln Ile Gln Val	Gly Leu Val Gln Tyr Gly Glu Ser	Pro Val	
180	185	190	
His Glu Trp Ser Leu Gly	Asp Phe Arg Thr Lys Glu Glu Val Val	Arg	
195	200	205	
Ala Ala Lys Asn Leu Ser	Arg Arg Glu Gly Arg Glu Thr Lys Thr	Ala	
210	215	220	
Gln Ala Ile Met Val Ala	Cys Thr Glu Gly Phe Ser Gln Ser His	Gly	
225	230	235	240
Gly Arg Pro Glu Ala Ala	Arg Leu Leu Val Val Val Thr Asp Gly Glu		
245	250	255	
Ser His Asp Gly Glu Glu	Leu Pro Ala Ala Leu Lys Ala Cys Glu	Ala	
260	265	270	
Gly Arg Val Thr Arg Tyr	Gly Ile Ala Val Leu Gly His Tyr Leu	Arg	
275	280	285	
Arg Gln Arg Asp Pro Ser	Ser Phe Leu Arg Glu Ile Arg Thr Ile	Ala	
290	295	300	
Ser Asp Pro Asp Glu Arg	Phe Phe Phe Asn Val Thr Asp Glu Ala Ala		
305	310	315	320
Leu Thr Asp Ile Val Asp	Ala Leu Gly Asp Arg Ile Phe Gly Leu Glu		
325	330	335	
Gly Ser His Ala Glu Asn	Glu Ser Ser Phe Gly Leu Glu Met Ser	Gln	
340	345	350	
Ile Gly Phe Ser Thr His	Arg Leu Lys Asp Gly Ile Leu Phe Gly	Met	
355	360	365	

Val Gly Ala Tyr Asp Trp Gly Gly Ser Val Leu Trp Leu Glu Gly Gly
370 375 380

His Arg Leu Phe Pro Pro Arg Met Ala Leu Glu Asp Glu Phe Pro Pro
385 390 395 400

Ala Leu Gln Asn His Ala Ala Tyr Leu Gly Tyr Ser Val Ser Ser Met
405 410 415

Leu Leu Arg Gly Gly Arg Arg Leu Phe Leu Ser Gly Ala Pro Arg Phe
420 425 430

Arg His Arg Gly Lys Val Ile Ala Phe Gln Leu Lys Lys Asp Gly Ala
435 440 445

Val Arg Val Ala Gln Ser Leu Gln Gly Glu Gln Ile Gly Ser Tyr Phe
450 455 460

Gly Ser Glu Leu Cys Pro Leu Asp Thr Asp Arg Asp Gly Thr Thr Asp
465 470 475 480

Val Leu Leu Val Ala Ala Pro Met Phe Leu Gly Pro Gln Asn Lys Glu
485 490 495

Thr Gly Arg Val Tyr Val Tyr Leu Val Gly Gln Gln Ser Leu Leu Thr
500 505 510

Leu Gln Gly Thr Leu Gln Pro Glu Pro Pro Gln Asp Ala Arg Phe Gly
515 520 525

Phe Ala Met Gly Ala Leu Pro Asp Leu Asn Gln Asp Gly Phe Ala Asp
530 535 540

Val Ala Val Gly Ala Pro Leu Glu Asp Gly His Gln Gly Ala Leu Tyr
545 550 555 560

Leu Tyr His Gly Thr Gln Ser Gly Val Arg Pro His Pro Ala Gln Arg
565 570 575

Ile Ala Ala Ala Ser Met Pro His Ala Leu Ser Tyr Phe Gly Arg Ser
580 585 590

Val Asp Gly Arg Leu Asp Leu Asp Gly Asp Asp Leu Val Asp Val Ala
595 600 605

Val Gly Ala Gln Gly Ala Ala Ile Leu Leu Ser Ser Arg Pro Ile Val

610	615	620	
His Leu Thr Pro Ser Leu Glu Val Thr Pro Gln Ala Ile Ser Val Val			
625	630	635	640
Gln Arg Asp Cys Arg Arg Arg Gly Gln Glu Ala Val Cys Leu Thr Ala			
	645	650	655
Ala Leu Cys Phe Gln Val Thr Ser Arg Thr Pro Gly Arg Trp Asp His			
	660	665	670
Gln Phe Tyr Met Arg Phe Thr Ala Ser Leu Asp Glu Trp Thr Ala Gly			
	675	680	685
Ala Arg Ala Ala Phe Asp Gly Ser Gly Gln Arg Leu Ser Pro Arg Arg			
	690	695	700
Leu Arg Leu Ser Val Gly Asn Val Thr Cys Glu Gln Leu His Phe His			
705	710	715	720
Val Leu Asp Thr Ser Asp Tyr Leu Arg Pro Val Ala Leu Thr Val Thr			
	725	730	735
Phe Ala Leu Asp Asn Thr Thr Lys Pro Gly Pro Val Leu Asn Glu Gly			
	740	745	750
Ser Pro Thr Ser Ile Gln Lys Leu Val Pro Phe Ser Lys Asp Cys Gly			
	755	760	765
Pro Asp Asn Glu Cys Val Thr Asp Leu Val Leu Gln Val Asn Met Asp			
	770	775	780
Ile Arg Gly Ser Arg Lys Ala Pro Phe Val Val Arg Gly Gly Arg Arg			
785	790	795	800
Lys Val Leu Val Ser Thr Thr Leu Glu Asn Arg Lys Glu Asn Ala Tyr			
	805	810	815
Asn Thr Ser Leu Ser Leu Ile Phe Ser Arg Asn Leu His Leu Ala Ser			
	820	825	830
Leu Thr Pro Gln Arg Glu Ser Pro Ile Lys Val Glu Cys Ala Ala Pro			
	835	840	845
Ser Ala His Ala Arg Leu Cys Ser Val Gly His Pro Val Phe Gln Thr			
	850	855	860

Gly Ala Lys Val Thr Phe Leu Leu Glu Phe Glu Phe Ser Cys Ser Ser
 865 870 875 880
 Leu Leu Ser Gln Val Phe Val Lys Leu Thr Ala Ser Ser Asp Ser Leu
 885 890 895
 Glu Arg Asn Gly Thr Leu Gln Asp Asn Thr Ala Gln Thr Ser Ala Tyr
 900 905 910
 Ile Gln Tyr Glu Pro His Leu Leu Phe Ser Ser Glu Ser Thr Leu His
 915 920 925

 Arg Tyr Glu Val His Pro Tyr Gly Thr Leu Pro Val Gly Pro Gly Pro
 930 935 940
 Glu Phe Lys Thr Thr Leu Arg Val Gln Asn Leu Gly Cys Tyr Val Val
 945 950 955 960
 Ser Gly Leu Ile Ile Ser Ala Leu Leu Pro Ala Val Ala His Gly Gly
 965 970 975
 Asn Tyr Phe Leu Ser Leu Ser Gln Val Ile Thr Asn Asn Ala Ser Cys
 980 985 990

 Ile Val Gln Asn Leu Thr Glu Pro Pro Gly Pro Pro Val His Pro Glu
 995 1000 1005
 Glu Leu Gln His Thr Asn Arg Leu Asn Gly Ser Asn Thr Gln Cys
 1010 1015 1020
 Gln Val Val Arg Cys His Leu Gly Gln Leu Ala Lys Gly Thr Glu
 1025 1030 1035
 Val Ser Val Gly Leu Leu Arg Leu Val His Asn Glu Phe Phe Arg
 1040 1045 1050

 Arg Ala Lys Phe Lys Ser Leu Thr Val Val Ser Thr Phe Glu Leu
 1055 1060 1065
 Gly Thr Glu Glu Gly Ser Val Leu Gln Leu Thr Glu Ala Ser Arg
 1070 1075 1080
 Trp Ser Glu Ser Leu Leu Glu Val Val Gln Thr Arg Pro Ile Leu
 1085 1090 1095
 Ile Ser
 1100

<210> 3

<211> 198

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(198)

<223> I-domain of human integrin alpha 10

<400> 3

Cys Pro Thr Tyr Met Asp Val Val Ile Val Leu Asp Gly Ser Asn Ser

1 5 10 15

Ile Tyr Pro Trp Ser Glu Val Gln Thr Phe Leu Arg Arg Leu Val Gly

20 25 30

Lys Leu Phe Ile Asp Pro Glu Gln Ile Gln Val Gly Leu Val Gln Tyr

35 40 45

Gly Glu Ser Pro Val His Glu Trp Ser Leu Gly Asp Phe Arg Thr Lys

50 55 60

Glu Glu Val Val Arg Ala Ala Lys Asn Leu Ser Arg Arg Glu Gly Arg

65 70 75 80

Glu Thr Lys Thr Ala Gln Ala Ile Met Val Ala Cys Thr Glu Gly Phe

85 90 95

Ser Gln Ser His Gly Gly Arg Pro Glu Ala Ala Arg Leu Leu Val Val

100 105 110

Val Thr Asp Gly Glu Ser His Asp Gly Glu Glu Leu Pro Ala Ala Leu

115 120 125

Lys Ala Cys Glu Ala Gly Arg Val Thr Arg Tyr Gly Ile Ala Val Leu

130 135 140

Gly His Tyr Leu Arg Arg Gln Arg Asp Pro Ser Ser Phe Leu Arg Glu

145 150 155 160

Ile Arg Thr Ile Ala Ser Asp Pro Asp Glu Arg Phe Phe Phe Asn Val

165 170 175

Thr Asp Glu Ala Ala Leu Thr Asp Ile Val Asp Ala Leu Gly Asp Arg

180 185 190

Ile Phe Gly Leu Glu Gly

195

<210> 4

<211> 4644

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(4644)

<223> Homo sapiens integrin subunit alpha 10 precursor, mRNA, complete
cds

<400> 4

atggaactcc ccttcgtcac tcacctgttc ttgcccttgg tgttcctgac aggtctctgc 60

tcccccttta acctggatga acatcaccca cgcctattcc cagggccacc agaagctgaa 120

tttgataca gtgtcttaca acatgttggg ggtggacagc gatggatgct ggtgggcgcc 180

ccctgggatg ggccttcagg cgaccggagg ggggacgttt atcgtgccc ttagggggg 240

gcccacaatg ccccatgtgc caagggccac ttaggtgact accaactggg aaattcatct 300

catcctgctg tgaatatgca cctgggggatg tctctgttag agacagatgg tgatggggga 360

ttcatggcct gtgccccctc ctggctctgt gcttgtggca gctctgtctt cagttctggg 420

atatgtgccc gtgtggatgc ttatttccag cctcagggaa gcctggcacc cactgcccac 480

cgctgcccac catacatgga tgttgcatt gtcttggatg gctccaacag catctacccc 540

tggcttgaag ttcagacctt cctacgaaga ctggtaggga aactgtttat tgaccagaa 600

cagatacagg tgggactggt acagtatggg gagagccctg tacatgagtg gtccctggga 660

gatttccgaa cgaaggaaga agtggtgaga gcagcaaga acctcagtcg gcgggagggg 720

cgagaaacaa agactgcccc agcaataatg gtggcctgca cagaagggtt cagtcagtcc 780

catgggggcc gacccgaggc tgccaggcta ctggtggttg tctactgatg agagtcccat 840

gatggagagg agcttctcgc agcactaaag gcctgtgagg ctggaagagt gacacgctat 900

gggattgcag tcttgggtca ctacctccgg cggcagcgag atcccagctc ttctctgaga 960

gaaattagaa ctattgccag tgatccagat gagcgattct tcttcaatgt cacagatgag 1020

gctgctctga ctgacattgt ggatgcacta ggagatcgga tttttggcct tgaagggtcc 1080

catgcagaaa acgaaagctc ctttgggctg gaaatgtctc agattggttt ctccactcat 1140

cggctaaagg atgggattct ttttgggatg gtgggggcct atgactgggg aggtctctgtg 1200

ctatggcttg aaggaggcca ccgccttttc cccccacgaa tggcactgga agacgagttc	1260
ccccctgcac tgcagaacca tgcagcctac ctgggttact ctgtttcttc catgcttttg	1320
cggggtggac gccgcctgtt tctctctggg gctcctcgat ttagacatcg aggaaaagtc	1380
atcgcttcc agcttaagaa agatggggct gtgagggttg ccagagcct ccagggggag	1440
cagattggtt catacttttg cagtgagctc tgcccatgg atacagatag ggatggaaca	1500
actgatgtct tacttgtggc tgccccatg ttcctgggac ccagaacaa ggaaacagga	1560
cgtgtttatg tgtatctggt aggccagcag tccttgctga cctccaagg aacacttcag	1620
ccagaacccc ccaggatgc tcggtttggc ttgccatgg gagctcttcc tgatctgaac	1680
caagatggtt ttgctgatgt ggctgtgggg gcgcctctgg aagatgggca ccaggagca	1740
ctgtacctgt accatggaac ccagagtga gtcaggcccc atcctgcca gaggattgct	1800
gtgcctcca tgccacatgc cctcagctac ttggccgaa gtgtggatgg tcggctagat	1860
ctggatggag atgatctggt cgatgtggct gtgggtgccc agggggcagc catcctgctc	1920
agctccccgc ccattgtcca tctgaccca tctactggagg tgacccaca ggccatcagt	1980
gtggttcaga gggactgtag gcggcgaggc caagaagcag tctgtctgac tgcagccctt	2040
tgcttccaag tgacctccc tactcctggt cgctgggac accaattcta catgaggttc	2100
accgcatcac tggatgaatg gactgctggg gcacgtgcag catttgatgg ctctggccag	2160
aggttgtccc ctcgaggct ccggctcagt gtggggaatg tctactgtga gcagctacac	2220
ttccatgtgc tggatacatc agattacctc cgccagtggt ccttgactgt gacctttgcc	2280
ttggacaata ctacaaagcc agggcctgtg ctgaatgagg gctcaccac ctctatacaa	2340
aagctggtcc ccttctcaaa ggattgtggc cctgacaatg aatgtgtcac agacctggtg	2400
cttcaagtga atatggacat cagaggctcc aggaaggccc catttgtggt tcgaggtggc	2460
cggcgaaaag tgctggtatc tacaactctg gagaacagaa aggaaaatgc ttacaatacg	2520
agcctgagta tcatcttctc tagaaacctc cacctggcca gtctcactcc tcagagagag	2580
agccaataa aggtggaatg tgccgccct tctgctcatg cccggctctg cagtgtgggg	2640
catcctgtct tcagactgg agccaagggtg acctttctgc tagagtttga gtttagctgc	2700
tcctctctcc tgagccaggt ctttgggaag ctgactgcca gcagtgcag cctggagaga	2760
aatggcacc ttcaagaaaa cacagcccag acctcagcct acatccaata tgagccccac	2820
ctcctgttct ctagtgcagc tacctgcac cgctatgagg ttcaccata tgggaccctc	2880
ccagtgggtc ctggcccaga attcaaaacc actctcaggg ttcagaacct aggctgctat	2940
gtggtcagtg gcctcatcat ctacgccctc cttccagctg tggcccatgg gggcaattac	3000
ttcctatcac tgtctcaagt catcactaac aatgcaagct gcatagtga gaacctgact	3060

gaacccccag gccacactgt gcatccagag gagcttcaac acacaaacag actgaatggg	3120
agcaatactc agtgtcaggt ggtgaggtgc caccttgggc agctggcaaa ggggactgag	3180
gtctctgttg gactattgag gctggttcac aatgaatfff tccgaagagc caagttcaag	3240
tccctgacgg tggtcagcac ctttgagctg ggaaccgaag agggcagtg cctacagctg	3300
actgaagcct cccgttggag tgagagcctc ttggaggtgg ttcagaccg gcctatcctc	3360
atctccctgt ggatcctcat aggcagtgct ctgggagggt tgctcctgct tgctctcctt	3420
gtcttctgcc tgtggaagct tggcttcttt gcccataaga aaatccctga ggaagaaaaa	3480
agagaagaga agttggagca atgatgtggc cctgacaatg aatgtgtcac agacctggtg	3540
cttcaagtga atatggacat cagaggctcc aggaaggccc catttgtggt tcgaggtggc	3600
cggcggaag tgctggtatc tacaactctg gagaacagaa aggaaaatgc ttacaatacg	3660
agcctgagta tcattcttc tagaaacctc cacctggcca gtctcactcc tcagagagag	3720
agcccaataa aggtggaatg tgccgccct tctgctcatg cccggctctg cagtgtgggg	3780
catcctgtct tccagactgg agccaaggtg acctttctgc tagagtttga gtttagctgc	3840
tcctctctcc tgagccaggt ctttgggaag ctgactgcca gcagtgcag cctggagaga	3900
aatggcacc ttcaagaaaa cacagcccag acctcagcct acatccaata tgagccccac	3960
ctctgttct ctagtgagtc taccctgcac cgtatgagg ttcaccata tgggaccctc	4020
ccagtgggtc ctggcccaga attcaaaacc actctcaggg ttcagaacct aggtgctat	4080
gtggtcagtg gcctcatcat ctcagccctc ctccagctg tggcccatgg gggcaattac	4140
ttctatcac tgtctcaagt catcactaac aatgcaagct gcatagtga gaacctgact	4200
gaacccccag gccacactgt gcatccagag gagcttcaac acacaaacag actgaatggg	4260
agcaatactc agtgtcaggt ggtgaggtgc caccttgggc agctggcaaa ggggactgag	4320
gtctctgttg gactattgag gctggttcac aatgaatfff tccgaagagc caagttcaag	4380
tccctgacgg tggtcagcac ctttgagctg ggaaccgaag agggcagtg cctacagctg	4440
actgaagcct cccgttggag tgagagcctc ttggaggtgg ttcagaccg gcctatcctc	4500
atctccctgt ggatcctcat aggcagtgct ctgggagggt tgctcctgct tgctctcctt	4560
gtcttctgcc tgtggaagct tggcttcttt gcccataaga aaatccctga ggaagaaaaa	4620
agagaagaga agttggagca atga	4644