(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。Int. Cl. [7]
A61K 38/16

(11) 공개번호 특2003-0034153
(43) 공개일자 2003년05월01일

(21) 출원번호 10-2003-7002605
(22) 출원일자 2003년02월22일
번역문 제출일자 2003년02월22일
(86) 국제출원번호 PCT/US2001/26414
(87) 국제공개번호 WO 2002/17852
(86) 국제출원출원일자 2001년08월23일
(87) 국제공개일자 2002년03월07일

(81) 지정국 국내특허 : 아랍에미리트, 안티구아바부다, 알바니아, 아르메니아, 오스트리아, 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아-헤르체고비나, 바베이도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 벨리즈, 캐나다, 스위스, 중국, 쿠바, 체코, 독일, 덴마크, 도미니카연방, 알제리, 에스토니아, 스페인, 핀랜드, 영국, 그루지야, 헝가리, 이스라엘, 아이슬란드, 일본, 케냐, 키르기즈, 북한, 대한민국, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 라이베리아, 레소토, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 모로코, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아, 몽고, 말라위, 멕시코, 모잠비크, 노르웨이, 뉴질랜드, 폴란드, 포르투칼, 루마니아, 러시아, 수단, 스웨덴, 싱가포르, 슬로베니아, 슬로바키아, 타지키스탄, 투르크메니스탄, 터어키, 트리니다드토바고, 탄자니아, 우크라이나, 우간다, 미국, 우즈베키스탄, 베트남, 남아프리카,

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

EA 유라시아특허: 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르기즈, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크메니스탄,

EP 유럽특허: 오스트리아, 벨기에, 스위스, 사이프러스, 독일, 덴마크, 스페인, 핀랜드, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투칼, 스웨덴, 터어키,

OA OAPI특허: 부르키나파소, 베넹, 중앙아프리카, 콩고, 코트디브와르, 카메룬, 가봉, 기네, 기네비쏘, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고,

(30) 우선권주장
60/227,970 2000년08월25일 미국(US)
60/237,009 2000년09월29일 미국(US)
09/709,170 2000년11월10일 미국(US)

(71) 출원인 젠타 인코포레이티드
미국, 뉴저지 07922, 버클리 하이트, 오크 웨이 2

(72) 발명자 워렐,레이몬드피.주니어.
미국,뉴저지07922버클리하이트,오크웨이2

클렘,로버트이.
미국,뉴저지07922,버클리하이트,오크웨이2

핑게르트,호와드
미국,뉴저지07922,버클리하이트,오크웨이2

(74) 대리인 강명구

심사청구 : 없음

(54) ＢＣＬ-2 안티센스 올리고머를 이용한 ＢＣＬ-2 질환의치료 방법

요약

본 발명은 bcl-2 관련된 질환을 치료 및 예방하기 위한 bcl-2 안티센스 올리고머의 용도에 관한다. 이들 질환에는 암, 종양, 암종, 세포-증식성 관련된 질환이 포함된다. 본 발명의 한 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 고용량으로 투여한다. 또한, 본 발명은 bcl-2 관련된 질환, 특히 암을 예방 또는 치료하는 방법에 관하는데, 상기 방법은 단기간동안 bcl-2 안티센스 올리고머를 투여하는 것으로 구성된다. 본 발명은 암 치료약물에 대한 개체의 감수성을 증가시키기 위한 bcl-2 안티센스 올리고머의 용도에 관한다. 또한, 본 발명은 한가지이상의 bcl-2 안티센스 올리고머로 구성되는 제약학적 조성물에 관하는데, 상기 제약학적 조성물은 한가지이상의 암 치료약물을 함유할 수도 있다.

대표도

도 1

명세서

기술분야

1. 도입

본 발명은 bcl-2 관련된 질환을 치료 또는 예방하기 위한 bcl-2 안티센스 올리고머의 용도에 관한다. 이들 질환에는 암, 종양, 암종, 세포-증식성 관련된 질환이 포함된다. 본 발명의 한 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 고용량으로 투여된다. 또한, 본 발명은 bcl-2 관련된 질환, 특히 암을 예방 또는 치료하는 방법에 관하는데, 상기 방법은 단기간동안 bcl-2 안티센스 올리고머를 투여하는 것으로 구성된다. 본 발명은 암 치료약물에 대한 개체의 감수성을 증가시키기 위한 bcl-2 안티센스 올리고머의 용도에 관한다. 또한, 본 발명은 한가지이상의 bcl-2 안티센스 올리고머로 구성되는 제약학적 조성물에 관하는데, 상기 제약학적 조성물은 한가지이상의 암 치료약물을 함유할 수도 있다.

배경기술

2. 본 발명의 배경기술

전통적인 암 치료 방법은 특이성이 부족하다. 지금까지 개발된 대부분의 약물은 효소 경로를 차단하거나 또는 DNA와 임의로 상호작용하는 천연 산물이나 유도체이다. 게다가, 대부분의 암 치료 약물은 낮은 치료 지수로 인해 심각한 용량-제 한 독성을 동반한다. 가령, 환자에 투여된 대부분의 항-암 약물은 암세포 뿐만 아니라 정상 세포도 죽인다. 이런 해로운 효과로 인해, 암세포에 좀더 특이적인 효과를 보이는 치료약물이 필요하다.

종양유전자가 세포의 형질전환 및 암 상태의 유지에 관여하는 것으로 밝혀졌다. 특히, 이들 유전자의 전사를 교란시키거나 또는 이들의 단백질 산물의 효과를 저해하면 유익한 치료 결과를 얻을 수 있다. 많은 인체 암의 병인에서 종양유전자의 역할은 Bishop, 1987, 'Cellular Oncogenes and Retroviruses,' Science, 235:305-311에서 개설(槪說)한다. 다양한 유형의 인체 암에서, bcl-2(B 세포 림프종/백혈병-2) 유전자는 과다 발현되는데, 이런 과다 발현은 종양유발성(tumorigenicity)과 연관될 수 있다(Tsujimoto et al., 1985, 'Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma', Science 228:1440-1443). bcl-2 유전자는 세포 분화를 촉진하기보다는 세포 생존을 연장시킴으로써, 암의 병리 및 치료에 대한 저항성을 유도하는 것으로 생각된다.

사람 bcl-2 유전자는 특정 백혈병, 림프구 종양, 림프종, 신경모세포종 및 비인두, 전립선, 유방, 결장 암종의 병인에 관여한다(Croce et al., 1987, 'Moleuclar Basis Of Human B and T Cell Neoplasia,' in : Advance in Viral Oncology, 7:35-51, G. Klein(ed.), New York: Raven Press; Reed et al., 1991, 'Differential expression of bcl-2 protooncogene in neuroblastoma and other human tumor cell lines of neural origin', Cancer Res. 51:6529-38; Yunis et al., 1989, 'Bcl-2 and other genomic alterations in the prognosis of large- cell lymphomas' N. Engl. J. Med. 320:1047-54; Campos et al., 1993, 'High expression of bcl-2 protein in acute myeloid leukemia is associated with poor response to chemotherapy', Blood 81:3091-6; McDonnell et al., 1992, 'Expression of the protooncogene bcl-2 and its association with emergence of androgen-independent prostates cancer' Cancer Res

. 52:6940-4; Lu et al., 1993, 'Bcl-2 protooncogene expression in Epstein Barr Virus-Associated Nasopharyngeal Carcinoma', Int. J. Cancer 53:29-35; Bonner et al., 1993, 'bcl-2 protooncogene and the gastrointestinal mucosal epithelial tumor progression model as related to proposed morphologic and molecular sequences', Lab. Invest. 68:43A). bcl-2는 비-홉킨슨 림프종, 폐암, 유방암, 대장암, 전립선암, 직장암 및 급성과 만성 백혈병을 비롯한 다양한 종양에서 과다 발현되는 것으로 밝혀졌다(Reed 1995, 'Regulation of apoptosis by bcl-2 family proteins and its role in cancer and chemoresistance', Curr. Opin. Oncol. 7:541-6).

안티센스 올리고뉴클레오티드는 종양유전자 기능의 특이적인 파괴에 효과적인 치료 도구를 제공한다. 이들 짧은(일반적으로 30개이하의 염기) 단일-가닥 합성 DNA는 표적 유전자의 전구-mRNA(pre-mRNA)이나 mRNA에 상보적인 서열을 보유하고, 수소-결합 염기대합으로 하이브리드 이중나선을 형성한다. 이런 혼성화는 표적 mRNA 및 이에 인코드되는 단백질의 발현을 교란시키고, 따라서 하류의 상호작용과 신호전달을 간섭할 수 있다. 한 개의 mRNA에서 다수의 단백질 사본이 만들어지 기 때문에, mRNA의 저해는 예로써 효소의 활성 부위를 저해함으로써 단백질 수준에서 파괴를 유도하는 것보다는 좀더 효과적이고 특이적일 수 있다.

c-myc 종양유전자의 mRNA에 상보적인 합성 올리고디옥시뉴클레오티드는 c-myc 단백질의 생산을 특이적으로 저해하여 시험관내에서 사람 백혈병 세포의 성장을 중단시키는데 사용되고 있다(Holt et al., 1988, Mol. Cell Biol. 8:963-73; Wickstrom et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85:1028-32). 또한, 올리고디옥시뉴클레오티드는 사람 면역결핍 바이러스를 비롯한 레트로바이러스의 특이적인 저해물질로도 사용되고 있다(Zamecnik and Stephenson, 1978, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75:280-4; Zamecnik et al., 1986, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83:4143-6).

개별 암-관련된 유전자를 표적 및 저해하는 능력을 갖는 안티센스 올리고뉴클레오티드의 용도는 임상전 암 모델에서 가능성을 보였다. 이들 포스포로티오에이트 안티센스 올리고머는 시험관내에서 bcl-2 발현을 저해하고 림프종 이종이식편을 가진 생쥐 모델에서 종양을 제거하는 능력을 보였다. 일부 암의 화학요법에 대한 저항성은 bcl-2 종양유전자의 발현과 연관한다((Grover et al., 1996, 'Bcel-2 expression in malignant melanoma and its prognostic significance' 'Eur. J. Sur. Oncol. 22(4):347-9). bcl-2 안티센스 올리고머의 투여는 실험실 생쥐의 종양 이종이식편에서 bcl-2 단백질 수준을 선택적으로 감소시킬 수 있다(Jansen et al., 1998, 'bcl-2 antisense therapy chemosensitizes human melanoma in SCID mice' Nat. Med. 4(2):232-4). 이에 더하여, bcl-2 안티센스 올리고머의 투여는 실험실 생쥐의 종양 이종이식편이 화학약물에 좀더 민감하도록 유인할 수 있다(Jansen et al., 1998, 'bcl-2 antisense therapy chemosensitizes human melanoma in SCID mice', Nat. Med. 4(2):232-4). 생쥐에서, bcl-2 안티센스 올리고머의 전신 치료는 bcl-2 단백질을 감소시키고 아폽토시스를 강화시켰다. bcl-2 안티센스 단독 치료는 미미한 항종양 활성을 보이지만, DTIC(다카르바진)과 병용하는 경우에 강화된 항종양 활성이 관찰되었다. 13마리의 동물중 10마리에서, DTIC 치료와 복합된 bcl-2 안티센스 올리고머의 투여이후 악성 흑색종 이종이식편이 검출되지 않았다. 하지만, 이들 항종양 치료약물을 인체 암까지 확대하는 것은 여전히 해결되지 않고 있다.

생물, 약물, 복합 요법의 이용가능성 증가에도 불구하고, 많은 암 환자의 예후는 불량하다. 가령, DTIC가 전이성 흑색종을 치료하는데 통상적으로 사용되긴 하지만, 장기간동안 향상을 보이는 환자는 거의 없다. 실제로, 광범위한 III기 임상 실험에서 DTIC와 시스플라틴, 카르무스틴, 타목시펜을 병용하는 경우에 더 나아진 결과를 보이지 않았다(Chapman et al., 1999, 'Phase III multicenter randomized trial of the Dartmouth regimen versus dacarbazine in patients with metastatic melanoma', J. Clin. Oncol. 17(9):2745-51).

3. 본 발명의 요약

본 발명은 bcl-2 안티센스 올리고머로 구성되는 제약학적 조성물 및 bcl-2 관련된 질환을 치료하는 방법에 관한다. 본 발명은 bcl-2 관련된 질환, 특히 암의 치료를 위하여 고용량으로 환자에 투여된 bcl-2 안티센스 올리고머가 낮은 독성, 높은 내약성, 생존기간 연장등을 비롯한 현저한 치료 반응을 결과한다는 본 발명자들의 발견에 부분적으로 기초한다. 본 발명자들은 짧은 기간, 즉 14일 미만동안 고용량으로 환자에 투여된 bcl-2 안티센스 올리고머 역시 암 환자의 치료에서 현저한 치료 반응을 결과한다는 것을 발견하였다. 이들 치료 섭생에는 한가지이상의 암 요법과 복합적으로 짧은 기간동안 고용량의 bcl-2 안티센스 올리고머를 투여하는 것이 포함된다. 놀랍게도, bcl-2 안티센스 올리고머의 짧은 투여와 복합되는 감소된 용량의 한가지이상 암 치료약물 역시 암 환자의 치료에서 현저한 치료 반응을 보였다. 따라서, 본 발명의 치료 섭생은 암을 치료하는데 효과적인 방법을 제시하는데, 상기 방법은 지속기간과 독성을 감소시키고, 따라서 내약성을 향상시킨다.

한 구체예에서, 본 발명은 bcl-2 관련된 질환을 치료하는 방법 및 고용량의 bcl-2 안티센스로 구성되는 단위 약형의 제약학적 조성물을 제시하는데, 상기 제약학적 조성물에서 bcl-2 안티센스 올리고머 효과량은 10 내지 50㎎/kg/day의 용량을 달성하는데 효과적인 용량이다. 이런 구체예에서, 상기 제약학적 조성물의 bcl-2 안티센스 올리고머 효과량은 최소 30nM(나노몰) 순환 수준의 bcl-2 안티센스 올리고머를 달성하는데 효과적인 용량이다. 한 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머의 순환 수준은 대략 1 내지 10 μM(마이크로몰)이다. 다른 구체예에서, 적어도 30nM 순환 수준의 bcl-2 안티센스 올리고머는 bcl-2 안티센스 올리고머 투여후 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10시간에 달성된다.

다른 구체예에서, 적어도 30nM 순환 수준의 bcl-2 안티센스 올리고머는 36 내지 48시간, 바람직하게는 24 내지 35시간, 좀더 바람직하게는 12 내지 24시간, 가장 바람직하게는 12시간이내에 달성된다.

다른 구체예에서, 본 발명은 bcl-2 관련된 질환을 치료하는 방법 및 짧은 기간, 다시 말하면 14일 미만으로 투여되는 bcl-2 안티센스 올리고머로 구성되는 제약학적 조성물을 제시하는데, 이런 짧은 치료 사이클 기간동안 투여되는 bcl-2 안티센스 올리고머 효과량은 대략 0.01 내지 50mg/kg/day이다. 다른 구체예에서, 이런 짧은 치료 사이클 기간동안 전달되는 bcl-2 안티센스 올리고머 효과량은 최소 30nM 순환 수준의 bcl-2 안티센스 올리고머를 달성하는데 효과적인 용량이다. 다른 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머의 순환 수준은 1 내지 10μM(마이크로몰)이다.

다른 구체예에서, 본 발명은 bcl-2 관련된 질환을 치료하는 방법 및 한가지이상의 암 치료약물과 병용하여 짧은 기간, 다시 말하면 14일 미만으로 투여되는 bcl-2 안티센스 올리고머로 구성되는 제약학적 조성물을 제시하는데, 상기 암 치료약물은 bcl-2 안티센스 올리고머에 앞서, 후속으로 또는 동시에 투여된다. 이런 짧은 치료 프로토콜 기간동안 투여되는 bcl-2 안티센스 올리고머 효과량은 대략 0.01 내지 50mg/kg/day이다. bcl-2 안티센스 올리고머와 병용 투여되는 암 치료약물의 효과량은 표준 용량 또는 감소된 용량으로 투여될 수 있다. 이런 구체예에서, 상기 제약학적 조성물의 bcl-2 안티센스 올리고머 효과량은 적어도 30nM(나노몰) 순환 수준의 bcl-2 안티센스 올리고머를 달성하는데 효과적인 용량이다. 특정 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머의 이런 순환 수준은 36 내지 48시간, 바람직 하게는 24 내지 35시간, 가장 바람직하게는 24시간이내에 달성된다.

본 발명에서, bcl-2 관련된 질환에는 종양, 암, 암종, 세포-증식성 질환이 포함된다.

본 발명에서, 짧은 기간에는 14일 미만, 예를 들면 2 내지 13일, 바람직하게는 3 내지 9일, 4 내지 7일, 또는 5 내지 6일의 bcl-2 투여 기간이 포함된다.

본 발명에서, 짧은 기간동안 투여되는 bcl-2 안티센스 올리고머의 용량은 0.01 내지 50 mg/kg/day, 바람직하게는 4 내지 9 mg/kg/day, 좀더 바람직하게는 5 내지 7 mg/kg/day이다.

또한, 본 발명에는 본 발명의 방법에 따라 투여되는 한가지이상 bcl-2 안티센스 올리고머의 효과량으로 구성되는 제약학적 조성물이 포함된다. 상기 제약학적 조성물은 제약학적으로 수용가능한 담체와 혼합된 0.01 내지 50mg/kg/day, 바람직하게는 4 내지 9 mg/kg/day, 좀더 바람직하게는 5 내지 7mg/kg/day 용량의 bcl-2 안티센스 올리고머를 함유한다. 다른 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물은 한가지이상의 추가적인 암 치료약물을 함유한다. 상기 제약학적 조성물은 치료 프로토콜동안 연속 주입, 1회 이상 거환(bolus) 투여 또는 1회 이상 투여로 전달되는 형태로 만들 수 있다.

본 발명에서, bcl-2 안티센스 올리고머로 구성되는 본 발명의 제약학적 조성물은 암 치료약물로 구성되는 제약학적 조성물과 별개로 투여할 수 있다.

본 발명의 이런 측면은 하기의 도면 및 상세한 설명을 참고하면 더욱 명확해진다.

3.1. 정의

본원에서, 'bcl-2 관련된 질환'은 bcl-2 유전자의 조절이 관련된 질환을 의미하는데, 여기에는 bcl-2 유전자를 발현하는 세포와 관련된 질환이 포함된다. 이런 질환에는 bcl-2 유전자나 bcl-2 관련된 유전자를 발현하는 세포 혹은 조직과 관련된 질환 및 bcl-2 유전자를 더 이상 발현하지 않지만 정상적으로는 발현하는 세포 혹은 조직과 관련된 질환이 포함된다. bcl-관련된 질환에는 세포 증식성 질환 및 bcl-2 유전자나 bcl-2 관련된 유전자를 발현하는 세포에 의해 영향을 받는 세포나 조직의 병리가 포함된다.

본원에서 '암'은 발암성 물질이 건강한 세포의 비정상적 세포로의 전환 및 이후 이들 비정상적 세포에 의한 인접 세포의 침입과 림프절이나 혈액에 의한 이들 비정상적 세포의 지역 림프절 및/또는 원거리로의 확산, 다시 말하면 전이를 초래하는 질환 상태를 의미한다.

본원에서, '종양' 또는 '성장'은 증가된 조직 종괴(tissue mass)를 의미하는데, 이는 좀더 빨라진 세포 분열 및/또는 좀더 느려진 세포 사멸 속도의 결과로 좀더 많은 수의 세포를 보유한다. 종양은 악성 또는 양성 암일 수 있다.

본원에서, '암 치료'는 암 세포의 복제를 저해하거나, 암의 확산을 저해하거나, 종양 크기를 감소시키거나, 신체에서 암세포의 수를 감소시키거나 또는 암에 의해 초래된 질환 증상을 완화시키는 것을 의미한다. 치료는 사망률 및/또는 질병률의 감소, 또는 신체에서 악성 세포의 수적 감소로 나타나는 질병 부담률(disease burden)의 감소가 존재하는 경우에 효과가 있는 것으로 간주된다.

본원에서, '암 치료'는 암의 질환 발병이나 재발을 예방하는 것을 의미한다. 이와 같이, 전이, 종양 성장 혹은 암 증식을 방해, 저해 또는 간섭하는 치료는 예방 활성을 갖는다.

본원에서, '안티센스 올리고머'는 안티센스 올리고뉴클레오티드, 이의 유사체 또는 유도체를 의미하는데, 여기에는 표적 서열의 뉴클레오티드 서열과 왓슨-크리크(Watson-Crick) 수소결합 상호작용을 통하여 폴리뉴클레오티드 표적 서열을 인식하는 화학종이 포함된다. 표적 서열은 RNA이나 DNA이고, 단일-가닥이나 이중-가닥이다. 표적 분자에는 전구-mRNA, mRNA, DNA가 포함되지만, 이들에 국한되지 않는다.

본원에서, 'bcl-2 유전자 발현'은 bcl-2 전구-mRNA, bcl-2 mRNA 및/또는 bcl-2 단백질을 생산하는 bcl-2 유전자의 전사를 의미한다.

본원에서, '유도체'는 본 발명에 따른 제약학적 조성물에 상응하는 임의의 제약학적으로 수용가능한 동소체, 유사체 또는 단편을 의미한다.

본원에서, '치료약물'은 질환 치료를 촉진하는 임의의 분자, 화합물 또는 치료요법을 의미한다. 이와 같이, 암 치료약물은 종양 또는 암의 치료를 촉진하는 분자, 화합물 또는 치료 프로토콜이다. 치료 프로토콜에는 방사선 요법, 식이 요법, 물리 요법, 심리 요법이 포함되지만, 이들에 국한되지 않는다.

본원에서, '항-암 약물', '항-종양 약물' 또는 '암 치료약물'은 종양 또는 암의 치료를 촉진하는 분자, 화합물 또는 치료요법을 의미한다.

본원에서, '저용량' 또는 '감소된 용량'은 정상적인 투여 범위, 다시 말하면 Physicians' Desk Reference, 54 th Edition(2000)에서 권고한 표준 용량 미만의 용량을 의미한다. 이런 용량은 인체에서 세포 증식을 저해하거나, 완화 효과를 보이거나 또는 표준 암 치료와 비교하여 좀더 적은 부작용을 결과할 수 있다. 특정 치료 약물에 이용되는 정상적인 용량 범위 및 특정 질환에 활용되는 표준 암 치료방법은 Physicians' Desk Reference, 54 th Edition (2000) 또는 Cancer: Principles amp; Practice of Oncology, DeVita, Jr. Hellman and Rosenberg(eds) 2nd edition, Philadelphia, PA:J.B. Lippincott Co., 1985에서 확인할 수 있다.

본원에서, '감소된 독성'은 Physicians' Desk Reference, 54 th Edition (2000) 또는 Cancer: Principles amp; Practice of Oncology, DeVita, Jr. Hellman and Rosenberg(eds) 2nd edition, Philadelphia, PA:J.B. Lippincott Co., 1985에서 밝힌 바와 같은 표준 치료 프로토콜과 제형을 비롯한 다른 치료 프로토콜 및 제형과 비교하여 좀더 짧은 기간 및/또는 좀더 적은 용량에서 안티센스 올리고뉴클레오티드와 암 치료약물의 투여와 관련하여 관찰되는 감소된 부작용과 독성을 의미한다.

본원에서, '치료 사이클' 또는 '사이클'은 단일 치료약물 또는 일련의 약물이 투여되는 기간을 의미한다. 한 구체예에서, 표준 용량의 암 치료약물과 고용량의 bcl-2 안티센스 올리고머를 병용하는 경우에 적합한 치료 사이클 기간은 14일 미만이다. 본 발명은 적어도 1회의 치료 사이클, 바람직하게는 1회보다 더 많은 사이클을 의도한다. 일부 경우, 예를 들면 1회 치료 사이클이후에 현저한 치료 효 과가 달성되는 경우에는 1회 치료 사이클이 바람직할 수 있다.

본원에서, '제약학적으로 수용가능한 담체'는 활성 성분의 생물학적 활성 효과를 방해하지 않는 운반 매체를 의미한다.

본원에서, '제약학적으로 수용가능한'은 연방 정부나 주 정부의 감독 기관에 의해 승인되거나 또는 동물, 특히 사람에게 적용되는 미국 약전이나 다른 공인된 약전에 기재된 것을 의미한다.

본원에서, '담체'는 치료약물과 함께 투여되는 희석제, 어쥬번트, 부형제 또는 액체를 의미한다. 이런 담체는 멸균 액체, 예를 들면 수중 식염수; 석유, 동물, 식물 또는 합성 기원의 오일을 비롯한 오일, 예를 들면 땅콩 기름, 대두유, 미네랄 오일, 참깨 오일 등일 수 있다. 식염수는 제약학적 조성물을 정맥내 투여하는 경우에 적합한 담체이다. 식염수, 수성 덱스트로스, 글리세롤 용액은 특히 주사 용액용 액체 담체로도 이용할 수 있다. 적합한 제약학적 부형제에는 전분, 글루코오스, 락토오스, 슈크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 백악, 실리카겔, 소디움 스테아레이트, 글리세롤 모노스테아레이트, 활석, 염화나트륨, 건조된 탈지유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등이 포함된다. 원하는 경우, 담체는 소량의 적심제(wet agent) 또는 에멀젼화제를 함유할 수도 있다. 이들 조성물은 용액, 현탁액, 에멀젼, 정제, 알약, 캡슐, 분말, 지속-방출 제형 등의 형태를 취할 수 있다. 조성물은 트라이글리세리드와 같은 통상적인 결합제와 담체로 좌약 형태로 만들 수 있다. 적합한 제약학적 담체의 예는 Remington's Pharmaceutical Sociences by E.W. Martin에서 기술한다. 적합한 제약학적 담체의 예는 다양한 양 이온성 지질인데, 여기에는 N-(1(2,3-다이올레일옥시)프로필)-N,N,N-트라이메틸암모늄 클로라이드(DOTMA)와 다이올레실포스포티딜에탄올아민(DOPE)이 포함되지만 이들에 국한되지 않는다. 리포좀 역시 본 발명에 따른 안티센스 올리고머의 담체로 적합하다. 이런 조성물은 환자에 적합한 투여 형태를 제공하는 적량의 담체와 함께 치료요법적 효과량의 화합물을 함유한다.

본원에서, '제약학적으로 수용가능한 염'은 무기와 유기의 산과 염기를 비롯하여 제약학적으로 수용가능한 비-독성 산과 염기로부터 유래된 염을 의미한다. 제약학적으로 수용가능한 염에는 유리 아미노기와 형성된 염, 예를 들면 염산, 인산, 아세트산, 옥살산, 주석산 등으로부터 유래된 염 및 유리 카복실기와 형성된 염, 예를 들면 나트륨, 칼륨, 암모늄, 칼슘, 수산화 제2철, 아이소프로필아민, 트라이에틸아민, 2-에틸아미노 에탄올, 히스티딘, 프로케인 등으로부터 유래된 염이 포함된다.

도면의 간단한 설명

4. 도면의 간단한 설명

도 1: 환자 #12의 흑색종 생검에서 bcl-2 안티센스 올리고머로 5일간 치료한 이후 bcl-2 하향조절.

도 2: (a) bcl-2 안티센스 올리고머 치료 이전과 (b) bcl-2 안티센스 올리고머 + DTIC 치료이후 환자 #12(왼쪽 다리)의 종양 생검에서 TUNEL 염색.

도 3: 6.5 mg/kg/day의 bcl-2 안티센스 올리고머 + DTIC의 3회 사이클 이전과 이후 환자 #12 골반 부위의 (a) 피부 전이와 (b) CT-스캔.

발명의 상세한 설명

5. 본 발명의 상세한 설명

본 발명은 bcl-2 관련된 질환, 특히 암을 예방 또는 치료하기 위한 bcl-2 안티센스 올리고머를 함유하는 조성물 및 이를 이용하는 방법을 제시한다. 또한, 본 발명은 bcl-2 안티센스를 함유하는 제약학적 조성물 및 약물 전달과 치료 섭생을 비롯한 예방과 치료 약물에서 이들을 이용하는 방법을 제시한다.

본 발명은 단독으로 또는 다른 치료약물과 병용된 bcl-2 안티센스 올리고머의 짧은 치료 사이클이 환자에서 예상치 못한 강력한 완화 효과를 보인다는 발견에 부분적으로 기초한다. 이런 짧은 치료 섭생은 간편함, 감소된 심리적 충격, 치료 프로토콜에 대한 보다 나은 순응도와 같은 사람 개체에 추가적인 이점을 제공한다. 다른 발견은 다음과 같다: (1) bcl-2 안티센스 올리고머와 병용되는 치료 약물의 짧은 치료 사이클과 감소된 용량; (2) 다른 치료약물과 함께 또는 이런 치료약물 없이 적어도 한가지의 bcl-2 안티센스 올리고머를 함유하는 제약학적 조성물에 대한 단순해진 전달 형태; (3) 다양한 암에 대한 임상적으로 현저한 치료 섭생. 따라서, 짧은 치료 사이클동안 투여된 bcl-2 안티센스 올리고머가 bcl-2 관련된 질환을 가진 환자에서 현저한 치료 반응을 보인다는 발견은 향상되고 효과적인 제약학적 조성물, 치료 과정, 전달 형태를 제공한다.

또한, 본 발명은 단독으로 또는 다른 치료약물과 병용된 고용량의 bcl-2 안티센스 올리고머가 표준 암 치료약물과 비교하여 예상치 않게 적은 부작용을 비롯한 감소된 독성을 보이고 환자에서 완화 효과를 갖는다는 발견에도 부분적으로 기 초한다. 고용량의 bcl-2 안티센스 올리고머를 포함하는 치료 섭생은 사람 개체에게 추가적인 이익, 예를 들면 좀더 짧아진 치료 사이클, 좀더 적은 치료약물 또는 향상된 효능을 제공한다.

한 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 bcl-2 관련된 질환을 예방 또는 치료하기 위하여 짧은 치료 사이클동안 사람에게 투여된다. 다른 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 bcl-2 관련된 질환을 예방 또는 치료하기 위하여 고용량으로 사람에게 투여된다. bcl-2 안티센스 올리고머는 병든 조직에 영향을 줄뿐만 아니라 bcl-2 유전자를 정상적으로 발현하는 세포를 보유하는 조직을 비롯한 정상적인 조직을 보호 또는 치료할 수 있다. 이에 더하여, bcl-2 안티센스 올리고머는 bcl-2 유전자를 발현하지는 못하는 병든 조직에 의해 약화된 정상적인 조직을 보호 또는 치료할 수 있다.

특정 구체예에서, 본 발명은 bcl-2 관련된 질환을 예방 또는 치료하기 위한 복합 요법의 활용을 제시한다. 이런 복합 요법에는 질환의 예방 또는 치료를 촉진하는 한가지이상 분자, 화합물 또는 치료요법의 이용이 포함된다. 의도된 치료요법의 예에는 생물학적, 화학적, 치료요법적 처리(예, 방사선 치료)가 포함된다.

다른 특정 구체예에서, 본 발명은 암을 예방 또는 치료하기 위하여 한가지이상의 암 치료약물과 함께 사람에게 투여되는 bcl-2 안티센스 올리고머를 제시한다. 이런 암 치료약물에는 항-암 활성을 가진 한가지이상의 분자, 화합물 또는 치료요법이 포함된다. 의도된 암 치료의 예에는 생물학적, 화학적, 치료요법적 처리(예, 방사선 치료)가 포함된다.

또 다른 구체예에서, 본 발명은 암을 예방 또는 치료하기 위하여 감소된 용량의 한가지이상 암 치료약물과 함께 사람에게 투여되는 bcl-2 안티센스 올리고머를 제시한다. 이런 치료에는 고용량, 표준 용량, 저용량의 한가지이상 bcl-2 안티센스 올리고머가 사용될 수 있고, 치료 사이클은 장기 또는 단기일 수 있다. 특정 구체예에서, 본 발명은 암을 예방 또는 치료하기 위하여 감소된 용량의 한가지이상 암 치료약물과 함께 사람에게 투여되는 고용량의 bcl-2 안티센스 올리고머를 제시한다.

5.1. bcl-2 안티센스 올리고머

본 발명은 한가지이상 bcl-2 안티센스 올리고머, 이의 유도체, 유사체, 단편, 하이브리드 또는 협동작용물(congener)의 용도를 의도한다. 본원에서, '유도체'는 본 발명에 따른 제약학적 조성물에 상응하는 임의의 제약학적으로 수용가능한 동소체, 유사체 또는 단편을 의미한다. 본 발명에 사용하기 적합한 안티센스 올리고머에는 5 내지 10, 10 내지 20, 20 내지 50, 50 내지 75, 또는 75 내지 100개 염기, 바람직하게는 10 내지 40개 염기; 좀더 바람직하게는 15 내지 25개 염기; 가장 바람직하게는 18개 염기 크기의 뉴클레오티드 올리고머가 포함된다. 표적 서열은 RNA이나 DNA이고, 단일-가닥이나 이중-가닥이다. 표적 분자에는 전구-mRNA, mRNA, DNA가 포함되지만, 이들에 국한되지 않는다. 한 구체예에서, 표적 분자는 mRNA이다. 적절한 구체예에서, 표적 분자는 bcl-2 전구-mRNA이나 mRNA이다. 특정 구체예에서, 안티센스 올리고머는 bcl-2 전구-mRNA이나 mRNA의 일부분과 혼성화된다. 바람직하게는, 안티센스 올리고머는 bcl-2 전구-mRNA이나 mRNA의 전사 개시 부위, 공여자 절단접합 부위, 수용자 절단접합 부위, 전송 부위 또는 분해 부위에서 선택된다.

몇몇 bcl-2 안티센스 올리고머는 이미 다양한 결과로써 평가받았다(참조, SEQ. ID. NOS:1-17, U.S. Patent No. 5,831,066). 본 발명에 사용할 수 있는 bcl-2 안티센스 올리고머의 예는 U.S. 특허 출원 08/217,082(U.S. 특허 5,734,033); U.S. 특허 출원 08/465,485(U.S. 특허 5,831,066); U.S. 특허 출원 09/080,285(U.S. 특허 6,041,181)에서 상세하게 기술한다.

한 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 bcl-2 전구-mRNA이나 mRNA의 일부분 또는 bcl-2와 관련된 전구-mRNA이나 mRNA의 일부분과 실질적으로 상보적이다. 바람직하게는, bcl-2 안티센스 올리고머는 전구-mRNA 코딩 가닥의 번역-개시 부위의 일부분과 혼성화된다. 좀더 바람직하게는, bcl-2 안티센스 올리고머는 사람 bcl-2 유전자의 번역-개시 부위를 포함하는 전구-mRNA 코딩 가닥의 일부분과 혼성화된다. 가장 바람직하게는, bcl-2 안티센스 올리고머는 bcl-2 전구-mRNA이나 mRNA의 AUG 개시 서열에 상보적인 TAC 서열을 포함한다.

다른 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 사람 bcl-2 유전자에 대한 전구-mRNA 코딩 가닥의 스플라이스 공여자 부위의 일부분과 혼성화된다. 바람직하게는, 이런 뉴클레오티드는 bcl-2 유전자의 GT 스플라이스 공여자 서열에 상보적인 CA 서열을 포함하고, 또한 상기 스플라이스 공여자 부위와 측면에서 접하는 bcl-2 유전자 코딩 가닥의 일부분과 혼성화되는 5 내지 50개, 특히 10 내지 20개 염기로 구성되는 측부를 포함한다.

또 다른 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 전구 사람 bcl-2 유전자에 대한 전구-mRNA 코딩 가닥의 스플라이스 수용자 부위의 일부분과 혼성화된다. 바람직하게는, 이런 뉴클레오티드는 bcl-2 유전자의 AG 스플라이스 수용자 서열에 상보적인 TC 서열을 포함하고, 또한 상기 스플라이스 수용자 부위와 측면에서 접하는 bcl-2 유전자 코딩 가닥의 일부분과 혼성화되는 5 내지 50개, 특히 10 내지 20개 염기로 구성되는 측부를 포함한다. 다른 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 절단접합, 전송 또는 분해에 관여하는 전구-mRNA이나 mRNA의 일부분과 혼성화된다.

당업자가 인지하는 바와 같이, 본 발명에 사용하기 적합한 안티센스 올리고머는 bcl-2 전구-mRNA이나 mRNA의 다른 부분과 실질적으로 상동하고 하이브리드를 형성할 수 있다. 또한, 번역되지 않은 유전자의 전사체에서는 일반적으로 생성되는 않는 bcl-2 전구-mRNA이나 mRNA 서열의 일부분과 혼성화되는 안티센스 올리고머는 치료 특이성을 유지하는데 적합하다.

서열 bcl-2 안티센스 올리고머 서열의 설계는 bcl-2 유전자, bcl-2 전구-mRNA, bcl-2 mRNA, bcl-2 관련된 뉴클레오티드 서열에 대한 서열 상동성 정도 또는 이런 서열과의 혼성화와 상관없이, 임상적 효능의 경험적 검증과 평가로 결정할 수 있다. 당업자가 인지하는 바와 같이, 예로써 적절한 구체예의 안티센스 올리고머와 비교하여 좀더 낮은 서열 상동성, 좀더 많거나 좀더 적은 변형된 뉴클레오티드, 또는 좀더 길거나 좀더 짧은 길이를 갖지만 임상적 치료에서 반응을 보이는 bcl-2 안티센스 올리고머 역시 본 발명의 범주에 속한다.

안티센스 올리고머는 RNA, DNA 또는 이들의 유도체일 수 있다. 안티센스 올 리고머의 생체이용효율, 대사, 반감기 등과 같은 올리고머의 약동학적 파라미터에 영향을 줄 수 있다. 이와 같이, 본 발명은 세포 흡수를 향상시키거나, 뉴클레아제에 대한 저항성을 강화시키거나, 표적 서열에 대한 결합을 향상시키거나 또는 표적 서열의 절단이나 분해를 증가시키는 안티센스 올리고머 유도체를 의도한다. 안티센스 올리고머는 예로써 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트로 구성되는 염기를 포함할 수 있다. 대안으로, 안티센스 올리고머는 포스포다이에스터, 포스포로티오에이트 및/또는 메티로스포네이트 뉴클레오티드의 조합을 보유하는 혼성 올리고머일 수 있다. 이런 올리고머는 2-O'-알킬이

나 2-O'-할로 당 변형, 골격 변형(예, 메틸포스포네이트, 포스포로다이티오에이트, 포스포르다이티오에이트, 포름아세탈, 3-티오포름아세탈, 설폰, 설파메이트, 니트록사이드 골격, 모폴리노 유도체, 펩티드 핵산(PNA)), 또는 염기 성분이 변형된 유도체를 포함하나 이들에 국한되지 않은 변형을 보유할 수 있다(Egholm, et al., 1992, Peptide Nucleic Acids (PNA)-Olgonucleotide Analogues With An Achiral Peptide Backbone). 다른 구체예에서, 안티센스 올리고머는 올리고뉴클레오티드와 이의 유도체의 공액체로 구성된다(Goodchild, 1990, 'Conjugates of oligonucleotides and modified oligonucleotides: a review of their synthesis and properties', Bioconjug. Chem. 1(3):165-87).

생체내 치료에서 bcl-2 안티센스 올리고머의 포스포로티오에이트 유도체는 분해에 대한 좀더 높은 저항성으로 인해 적합하다. 한 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 포스포로티오에이트 염기를 보유하는 하이브리드 올리고머이다. 다 른 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 적어도 한 개의 포스포로티오에이트 결합을 보유한다. 다른 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 적어도 3개의 포스포로티오에이트 결합을 보유한다. 또 다른 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 완전히 포스포로티오에이트 결합으로 구성된다. 올리고뉴클레오티드 유도체를 만드는 방법은 당 분야에 공지되어 있다(참조: Stein et al., 1988, Nucl. Acids Res. 16:3209-21(phosphorothisoate); Blake et al., 1985, Biochemistry 24:6132-38 (methylphosphonate); Morvan et al., 1986 Nucl. Acids Res. 14:5019-32(alpha deoxynucleotides); Monia et al., 1993, 'Evaluation of 2'-modified oligonucleotides containing 2' deoxy gaps as antisense inhibitors of gene expression', J. Biol. Chem. 268:1451-22(2'-O-methyl-ribonucleosides); asseline et al., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3297-3301(acridine); Knore et al., 1985, Biochemie 67:783-9; Vlassov et al., 1986, Nucl. Acids Res. 14:4065-76(N-2-chlorocethylamine and phenazine); Webb et al., 1986 Nucl. Acids Res. 14:7661-74(5-methyl-N ^{4} -N ^{4} -ethanocytosine); Boutorin et al., 1984, FEBS Letters 172:43-6(Fe-ethylenediamine tetraacetic acid(EDTA) and analogues); Chi-Hong et al., 1986, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83:7147-51(5-glycylamido-1 10-o-phenanthroline); and Chu et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:963-7(diethylenetriaamine-pentaacetic acid(DTPA)derivatives).

치료 사이클동안 투여되는 bcl-2 안티센스 올리고머의 효과량은 대략 0.01 내지 0.1, 0.1 내지 1, 또는 1 내지 10mg/kg/day이다. 투여되는 bcl-2 안티센스 올리고머의 용량은 투여 모드에 따라 달라질 수 있다. 가령, bcl-2 안티센스 올리고머의 정맥내 투여는 bcl-2 안티센스 올리고머를 포함하는 제약학적 조성물을 함유하는 국소 이식물에서 기인한 체내 총량(full body dose)보다 훨씬 더 많은 체내 총량을 결과할 가능성이 높다. 한 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 0.01 내지 10 mg/kg/day, 좀더 바람직하게는 4 내지 9 mg/kg/day, 가장 바람직하게는 5 내지 7 mg/kg/day의 용량으로 피하 투여된다. 다른 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 0.01 내지 10 mg/kg/day, 좀더 바람직하게는 4 내지 9 mg/kg/day, 가장 바람직하게는 5 내지 7 mg/kg/day의 용량으로 정맥내 투여된다. 또 다른 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 0.01 내지 10 mg/kg/day, 바람직하게는 0.01 내지 0.1, 좀더 바람직하게는 1 내지 5 mg/kg/day의 용량으로 국소 투여된다. 당업자가 인지하는 바와 같이, 국소 투여는 좀더 낮은 체내 총량을 유도할 수 있다. 가령, 근육내 투여, 안구내 주사 또는 이식과 같은 국소 투여는 국소적으로 높은 농도의 bcl-2 안티센스 올리고머를 유도할 수 있지만, 전체 체중에 비하여 상대적으로 낮은 용량을 제공한다. 따라서, 이런 경우에 bcl-2 안티센스 올리고머의 국소 투여는 대략 0.01 내지 5 mg/kg/day의 체내 중량이 결과되도록 의도한다.

다른 구체예에서, 치료 사이클동안 대략 10 내지 20, 20 내지 30, 또는 30 내지 50 mg/kg/day의 특히 높은 용량의 bcl-2 안티센스 올리고머가 투여된다.

특정 bcl-2 안티센스 올리고머의 효과량은 암 종류, 질환 상태나 단계, 올리고머의 독성, 암 세포에 의한 올리고머의 흡수율 및 안티센스 올리고머가 투여되는 개체의 체중, 연령, 건강을 비롯한 다른 인자에 의해서도 달라질 수 있다. 작용이나 생물학적 활성을 간섭할 수 있는 다양한 생체내 인자로 인하여, bcl-2 안티센스 올리고머의 효과량은 각 개체별로 상이할 수 있다.

다른 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 적어도 30nM(나노몰) 순환 혈장 농도의 bcl-2 안티센스 올리고머를 결과하는 용량으로 투여된다. 투여 모드에 따라, 좀더 높거나 또는 좀더 낮은 혈장 농도의 bcl-2 안티센스 올리고머가 적합할 수 있다. 가령, 적어도 30nM 혈장 농도의 bcl-2 안티센스 올리고머는 예로써 정맥내, 피하, 근육내, 조절 방출 및 경구 투여 방법과 관련하여 적합할 수 있다. 다른 예에서, 예로써 종양내 투여, 안구내 투여 또는 이식과 같은 국소 투여 방법을 활용하는 경우에는 상대적으로 낮은 순환 혈장 수준의 bcl-2 안티센스 올리고머가 바람직한데, 이는 그럼에도 불구하고 국소적으로 높고 임상적으로 효과적인 농도의 bcl-2 안티센스 올리고머를 유도할 수 있다.

또 다른 구체예에서, 적어도 30nM(나노몰) 순환 혈장 농도의 bcl-2 안티센스 올리고머는 bcl-2 안티센스 올리고머 투여후 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10시간에 달성된다. 또 다른 구체예에서, 적어도 30nM 순환 혈장 농도의 bcl-2 안티센스 올리고머는 대략 36 내지 48시간, 바람직하게는 24 내지 35시간, 좀더 바람직하게는 12 내지 24시간, 가장 바람직하게는 12시간이내에 달성된다.

특정 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머의 용량은 고용량이다. 한 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머의 순환 혈장 농도는 적어도 30nM이다. 다른 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머의 순환 수준은 1μM 내지 10μM이다. 또 다른 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머의 순환 수준은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10μM이다. 또 다른 구체

예에서, 1μM 내지 10μM 순환 수준의 bcl-2 안티센스 올리고머는 대략 36 내지 48시간, 바람직하게는 24 내지 35시간, 좀더 바람직하게는 12 내지 24시간, 가장 바람직하게는 12시간이내에 달성된다.

고용량은 사이클당 여러 번의 투여로 달성할 수 있다. 대안으로, 고용량은 단일 거환 투여로 달성할 수도 있다. 고용량의 단일 투여는 일시적으로 30nM보다 더 높은 순환 혈장 수준의 bcl-2 안티센스 올리고머를 유도할 수 있다. 게다가, 특히 높은 용량의 bcl-2 안티센스 올리고머의 단일 투여는 12시간이내, 심지어 1시간이내에 1 내지 10 μM 순환 혈장 농도의 bcl-2 안티센스 올리고머를 유도할 수 있다.

이에 더하여, bcl-2 안티센스 올리고머의 용량은 사용된 특정 bcl-2 안티센스 올리고머에 따라 변화될 수 있다. 이용되는 용량은 특정 bcl-2 안티센스 올리고머의 안전성, 국소화, 세포 흡수, 독성과 같은 고려 사항의 균형을 반영할 가능성이 높다. 가령, 화학적으로 변형된 bcl-2 안티센스 올리고머는 분해에 좀더 높은 저항성을 보이거나, 표적 핵산에 좀더 높은 친화성을 보이거나 또는 세포 혹은 세포핵에 의한 증가된 흡수를 보일 수 있다; 이들 모두 저용량의 이용을 가능하게 한다. 다른 구체예에서, 화학적으로 변형된 bcl-2 안티센스 올리고머는 다른 안티센스 올리고머보다 낮은 독성을 보이고, 따라서 고용량으로 사용할 수 있다. 이와 같이, 임의의 bcl-2 안티센스 올리고머에서 적절한 투여량은 상대적으로 높거나 낮을 수 있다. 적량은 당업자에 의해 자명하고, 본 발명은 특정 종류의 bcl-2 안티 센스 올리고머에 대한 최적 치료 스케줄의 지속 평가를 의도한다. 일일 용량은 1회이상의 치료로 투여할 수 있다.

bcl-2 안티센스 올리고머의 효과량을 결정하는데 고려되는 다른 인자에는 올리고머를 다른 치료약물과 병용 투여할 것인 지가 포함된다. 이런 경우에, 다른 치료약물의 상대적 독성은 bcl-2 안티센스 올리고머의 저용량 이용을 암시할 수 있다. 대안으로, 고용량의 bcl-2 안티센스 올리고머 치료와 감소된 용량의 치료약물과의 병용 요법이 가능하다. 가령, 10, 20, 30, 40 또는 50 mg/kg/day의 bcl-2 안티센스 올리고머에서 환자 치료는 암 치료약물에 대한 개체의 감수성을 더욱 증가시킬 수 있다. 이런 경우에, 특히 높은 용량의 bcl-2 안티센스 올리고머는 예로써 훨씬 짧아진 방사선 요법 스케줄과 복합된다. 다른 예에서, 특히 높은 용량의 bcl-2 안티센스 올리고머는 암 치료약물 효능의 현저한 강화를 유도한다.

또한, 특히 높은 용량의 bcl-2 안티센스 올리고머는 bcl-2 안티센스 올리고머 및/또는 암 치료약물의 치료요법적 효과량의 투여 기간을 단축시켜, 치료 사이클의 길이를 14일보다 훨씬 짧게 할 수 있다.

한 구체예에서, bcl-2 mRNA의 첫 6개 코돈에 상보적이고 개별 표적 RNA와 혼성화되는 5'-TCTCCCAGCGTGCGCCAT-3' 서열의 18-염기 포스포로티오에이트 bcl-2 안티센스 올리고머는 2주미만의 짧은 치료동안 투여된다.

한 구체예에서, G3139는 0.01 내지 10 mg/kg/day의 용량으로 2 내지 30일 동안 투여된다. 특정 구체예에서, G3139는 0.01 내지 1, 1 내지 2, 3 내지 4, 5 내지 6, 6 내지 7, 7 내지 8, 또는 9 내지 10 mg/kg/day; 좀더 바람직하게는 4 내지 9 mg/kg/day; 가장 바람직하게는 5 내지 7 mg/kg/day의 용량으로 2 내지 3, 4 내지 5, 6 내지 7, 8 내지 9, 10 내지 11, 또는 12 내지 13일 동안 투여된다. 다른 구체예에서, G3139는 3 내지 9일 동안 상기 용량으로 투여된다. 또 다른 구체예에서, G3139는 4 내지 7일 동안 상기 용량으로 투여된다. 적절한 구체예에서, G3139는 5 내지 6일 동안 상기 용량으로 투여된다. 가장 적절한 구체예에서, G3139는 5 내지 6일 동안 5 내지 6 mg/kg/day의 용량으로 투여된다. 본 발명은 사용된 특정 bcl-2 안티센스 올리고머에 따라, 특정 투여 모드에 따라, 또는 bcl-2 안티센스 올리고머가 복합 요법 예를 들면 암 치료약물과의 복합 요법의 일부로 투여되는 지에 따라 적합한 다른 치료 섭생을 의도한다. 일일 용량은 1회이상의 치료로 투여할 수 있다.

다른 구체예에서, G3139는 대략 10 내지 50 mg/kg/day의 특히 높은 용량으로 투여된다. 특정 구체예에서, G3139는 대략 10 내지 15, 16 내지 20, 21 내지 25, 26 내지 30, 31 내지 35, 36 내지 40, 41 내지 45, 또는 46 내지 50 mg/kg/day의 특히 높은 용량으로 투여된다. 다른 구체예에서, G3139는 1 내지 10일 동안 상기 용량으로 투여된다. 또 다른 구체예에서, G3139는 2 내지 7일 동안 상기 용량으로 투여된다. 또 다른 구체예에서, G3139는 3 내지 4일 동안 상기 용량으로 투여된다. 적절한 구체예에서, G3139는 최소 1일 동안 26 내지 30, 31 내지 35, 36 내지 40, 41 내지 45, 또는 46 내지 50 mg/kg/day의 용량으로 투여된다. 본 발명은 사용된 특정 bcl-2 안티센스 올리고머에 따라, 특정 투여 모드에 따라, 또는 bcl-2 안티센스 올리고머가 복합 요법 예를 들면 암 치료약물과의 복합 요법의 일부로 투여되는 지에 따라 적합한 다른 치료 섭생을 의도한다. 일일 용량은 1회이상의 치료로 투여할 수 있다.

5.2 암 치료약물

본 발명은 암을 예방 또는 치료하는 방법에 관하는데, 상기 방법은 고용량의 올리고머를 비롯한 치료요법적 효과량의 bcl-2안티센스 올리고머를 이런 치료를 필요로 사람에게 투여하는 것으로 구성된다. 또한, 본 발명은 짧은 기간동안 bcl-2 안티센스 올리고머의 투여에 관한다. 정상적인 비-암세포는 특정 세포형에 특징적인 빈도로 분열된다. 세포가 암 상태로 변화되면 무제한적인 세포 증식과 감소된 세포 사멸이 초래되고, 따라서 무절제한 세포 분열이나 세포 성장은 암 세포형의 인증(hallmark)이 된다. 암 종류의 예에는 비-홉킨슨 림프종, 홉킨슨 림프종, 백혈병(예, 급성 림프성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 만성 림프성 백혈병, 다발성 골수종), 결장암종, 직장암종, 췌장

암, 유방암, 난소암, 전립선암, 신세포암종, 간암, 담관암종, 융모막암종, 자궁경부암, 고환암, 폐암, 방광암종, 흑색종, 두경부암, 뇌암, 원발부위 불명의 암, 신생물, 말초신경계 암, 중추신경계 암, 종양(예, 섬유육종, 점맥육종, 지방육종, 육골육종, 골육종, 척삭종, 맥관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피육종, 활막종, 중피종, 유잉 종양, 평활근육종, 횡문근육종, 편평세포암종, 기저세포암종, 선암종, 외분비 한선 암종, 지방 분비샘 암종, 유두암종, 유두선암종, 낭선암종, 수질암종, 기관지암종, 정낭피종, 태생 암종, 윌름 종양, 소세포 폐암종, 상피암종, 교세포종, 성상세포종, 속질모세포종, 두개내인종, 상의세포종, 송과체종, 혈관아세포종, 청신경초종, 희돌 기교종, 수막종, 신경아세포종, 망막아세포종), 중쇄 질환, 전이, 또는 무절제하거나 비정상적인 세포 성장으로 특징지어지는 임의의 질환이 포함되지만 이들에 국한되지 않는다.

적절한 구체예에서, 본 발명은 암을 예방 또는 치료하기 위한 복합 요법의 이용에 관한다. 가령, 전립선암은 파클리탁셀, 도세탁셀, 미톡산트론 및/또는 안드로겐 수용체 길항물질(예, 플루타마이드)과 함께 bcl-2 안티센스 올리고머를 함유하는 제약학적 조성물로 치료할 수 있다. 다른 예로써, 유방암은 도세탁셀, 파클리탁셀, 시스플라틴, 5-플루오르우라실, 독소루비신 및/또는 VP-16(에토포시드)과 함께 bcl-2 안티센스 올리고머를 함유하는 제약학적 조성물로 치료할 수 있다.

다른 예로써, 백혈병은 플루다라빈, 시토신, 아라비노시드, 젬투주맵(MYLOTARG), 다우노루비신, 메토트렉세이트, 빈크리스틴, 6-머캡토퓨린, 이다루비신, 미톡산트론, 에토포시드, 아스파라기나제, 프레드니손 및/또는 사이클로포스파마이드와 함께 bcl-2 안티센스 올리고머를 함유하는 제약학적 조성물로 치료할 수 있다. 다른 예로써, 골수종은 덱사메타손과 함께 bcl-2 안티센스 올리고머를 함유하는 제약학적 조성물로 치료할 수 있다. 다른 예로써, 흑색종은 다카바진과 함께 bcl-2 안티센스 올리고머를 함유하는 제약학적 조성물로 치료할 수 있다. 예로서, 폐암은 파클리탁셀, 도세탁셀, 에토포시드 및/또는 시스플라틴과 함께 bcl-2 안티센스 올리고머를 함유하는 제약학적 조성물로 치료할 수 있다. 다른 예로써, 비-홉킨슨 림프종은 사이클로포스파마이드, CHOP, 에토포시드, 블레오마이신, 미톡산트론 및/또는 시스플라틴과 함께 bcl-2 안티센스 올리고머를 함유하는 제약학적 조성물로 치료할 수 있다. 다른 예로써, 췌장암은 젬시타빈과 함께 bcl-2 안티센스 올리고머를 함유하는 제약학적 조성물로 치료할 수 있다. 이들 복합 요법은 암 또는 암의 재발을 예방하는 데에도 활용할 수 있다.

복합 요법에는 bcl-2 안티센스 올리고머의 투여이외에 암의 예방이나 치료를 촉진하는 한가지이상의 분자, 화합물 또는 치료요법 역시 포함되는데, 여기에는 화학약물, 면역약물, 암 백신, 항-혈관형성 약물, 사이토킨, 호르몬 요법, 유전자 요법, 방사선 요법이 포함되지만 이들에 국한되지 않는다.

한 구체예에서, 암 환자를 치료하기 위하여 bcl-2 안티센스 올리고머이외에 한가지이상의 화학약물이 추가로 투여된다. 본원에서 의도하는 화학약물의 예에는 시토신 아라비노시드, 탁소이드(예, 파클리탁셀, 도세탁셀), 항-투블린 약물(예, 파클리탁셀, 도세탁셀, 에포틸론 B, 또는 이들의 유사체), 시스플라틴, 카보플라틴, 아드리아마이신, 테노포시드, 미토잔트론, 2-클로로디옥시아데노신, 알킬화제(예, 사이클로포스파마이드, 메클로레타민, 티오에파, 클로람부실, 멜팔란, 카르무스틴(BSNU), 로무스틴(CCNU), 사이클로토스파마이드, 부설판, 다이브롬만니톨, 스트렙토조토신, 미토마이신 C, 시스-클로로다이아민 플라티늄(Ⅱ)(DDP) 시스플라틴, 티오-테파), 항생제(예, 닥티노마이신(액티노마이신), 블레오마이신, 미트라마이신, 안트라마이신), 항대사물질(예, 메토트렉세이트, 6-멀캡토퓨린, 6-티오구아닌, 시타라빈, 5-플루오르우라실, 플루다라빈, 젬시타빈, 다카바진, 테모졸라마이드), 아스파라기나제, BCG(*Bacillus Calmette and Guerin*), 디프테리아 독소, 헥사메틸멜라민, 수산화요소, LYSODREN , 뉴클레오시드 유사체, 식물 알칼로이드(예, 탁 솔, 파클리탁셀, 캠프토테신, 토포테칸, 이리노테칸(CAMPTOSAR, CPT-11), 빈크리스틴, 빈카 알킬로이드(예, 빈블라스틴)), 포도필로톡신(에피도포필로톡신, VP-16(에토포시드), VM-26(테니포시드)과 같은 유도체 포함), 시토칼라신 B, 그라미디신 D, 에티듐 브로마이드, 이메틴, 미토마이신, 프로카바진, 메클로로에타민, 안트라사이클린(예, 다우노루비신(다우노마이신), 독소루비신, 독소루비신 리포소말), 다이하이드록시안트라신디온, 미톡산트론, 미트라마이신, 액티노마이신 D, 프로케인, 테트라케인, 리도케인, 프로프라놀롤, 푸로마이신, 항-유사분열물질, 아브린, 리신 A, 슈도모나스 엑소톡신, 신경 성장 인자, 혈소판 유래된 성장 인자, 조직 플라스미노겐 활성자, 알데스레우킨, 알루타민, 아나스트로질, 바이칼루타마이드, 바이아오마이신, 부설판, 카페시타빈, 카보플레인, 클로라부실, 클라드리빈, 실아라빈, 다실리노마이신, 에스트라무신, 플록서라이드, 감시타빈, 고세레인, 이다루비신, 이토스파마이드, 라우프롤리드 아세테이트, 레바미솔, 로무슬린, 메클로에타민, 마제스트롤, 아세테이트, 머캡토퓨리노, 메스나, 미톨란, 페가스페르가세, 펜토슬라틴, 피카마이신, 리욱슬맵, 캠파트-1, 스트래플로조신, 티오구아닌, 트레티노인, 비노렐빈, 이들의 제약학적으로 수용가능한 염, 단편, 조직 구성원, 유도체가 포함되지만 이들에 국한되지 않는다. 한가지 이상의 화학약물(예, FLAG, CHOP)을 함유하는 조성물 역시 본 발명에 포함된다. FLAG에는 플루다라빈, 시토신 아라비노시드(Ara-C), G-CSF가 포함된다. CHOP에는 사이클로포스파마이드, 빈크리스틴, 독소루비신, 프레드니손이 포함된다.

한 구체예에서, 상기 화학약물은 200 내지 4000 ㎎/㎡/cycle 용량의 다카바 진이다. 적절한 구체예에서, 상기 용량은 700 내지 1000 ㎎/㎡/cycle이다. 다른 구체예에서, 상기 화학약물은 25 내지 50 ㎎/㎡/cycle 용량의 플루다라빈이다. 다른 구체예에서, 상기 화학약물은 200 내지 2000 ㎎/㎡/cycle 용량의 시토신 아라비노시드(Ara-C)이다. 다른 구체예에서, 상기 화학약물은 1.5 내지 7.5 mg/kg/cycle 용량의 도세탁셀이다. 다른 구체예에서, 상기 화학약물은 5 내지 15 mg/kg/cycle 용량의 파클리탁셀이다. 다른 구체예에서, 상기 화학약물은 5 내지 20 mg/kg/cycle 용량의 시스

플라틴이다. 다른 구체예에서, 상기 화학약물은 5 내지 20 mg/kg/cycle 용량의 5-플루오르우라실이다. 다른 구체예에서, 상기 화학약물은 2 내지 8 mg/kg/cycle 용량의 독소루비신이다. 다른 구체예에서, 상기 화학약물은 40 내지 160 mg/kg/cycle 용량의 에피포도필로톡신이다. 다른 구체예에서, 상기 화학약물은 50 내지 200 mg/kg/cycle 용량의 사이클로포스파마이드이다. 다른 구체예에서, 상기 화학약물은 50 내지 75, 75 내지 100, 100 내지 125, 또는 125 내지 150 mg/㎡/cycle 용량의 이리노테칸이다. 다른 구체예에서, 상기 화학약물은 3.7 내지 5.4, 5.5 내지 7.4, 7.5 내지 11, 또는 11 내지 18.5 mg/㎡/cycle 용량의 빈블라스틴이다. 다른 구체예에서, 상기 화학약물은 0.7 내지 1.4, 또는 1.5 내지 2 mg/㎡/cycle 용량의 빈크리스틴이다. 다른 구체예에서, 상기 화학약물은 3.3 내지 5, 5 내지 10, 10 내지 100, 또는 100 내지 1000 mg/㎡/cycle 용량의 메토트렉세이트이다.

적절한 구체예에서, 본 발명은 bcl-2 안티센스 올리고머 치료 섭생의 일부로 투여되는 저용량 화학약물의 이용에 관한다. 가령, bcl-2 안티센스 올리고머로 초 기 치료하여 후속 투여되는 화학약물에 대한 종양의 감수성을 증가시키는데, 상기 화학약물의 용량은 bcl-2 안티센스 올리고머가 투여되지 않는 경우의 용량에 근접하거나 또는 이보다 적다. 한 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머와 저용량(예, 6 내지 60 mg/㎡/day 이하) 도세탁셀이 암 환자에 투여된다. 다른 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머와 저용량(예, 10 내지 135 mg/㎡/day 이하) 파클리탁셀이 암 환자에 투여된다. 다른 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머와 저용량(예, 2.5 내지 25 mg/㎡/day 이후) 플루다라빈이 암 환자에 투여된다. 다른 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머와 저용량(예, 0.5 내지 1.5 g/㎡/day 이하) 시토신 아라비노시드(Ara-C)가 암 환자에 투여된다.

따라서, 본 발명은 암의 예방 또는 치료를 위하여 저용량 화학약물에 앞서, 후속으로 또는 동시에 투여되는 한가지이상 bcl-2 안티센스 올리고머의 이용을 의도한다.

한 구체예에서, 상기 화학약물은 5 내지 10, 10 내지 20, 20 내지 40, 또는 40 내지 75 mg/㎡/cycle 용량의 시스플라틴, 예를 들면 PLATINOL 또는 PLATINOLAQ-(Bristol Myers)이다. 다른 구체예에서, 7.5 내지 75 mg/㎡/cycle 용량의 시스플라틴이 난소암 환자에게 투여된다. 다른 구체예에서, 5 내지 50 mg/㎡/cycle 용량의 시스플라틴이 방광암 환자에게 투여된다.

다른 구체예에서, 상기 화학약물은 2 내지 4, 4 내지 8, 8 내지 16, 16 내지 35, 또는 35 내지 75 mg/㎡/cycle 용량의 카보플라틴, 예를 들면 PARAPLATIM (Bristol Myers)이다. 다른 구체예에서, 7.5 내지 75 mg/㎡/cycle 용량의 카보플 라틴이 난소암 환자에게 투여된다. 다른 구체예에서, 5 내지 50 mg/㎡/cycle 용량의 카보플라틴이 방광암 환자에게 투여된다. 다른 구체예에서, 2 내지 20 mg/㎡/cycle 용량의 카보플라틴이 고환암 환자에게 투여된다.

다른 구체예에서, 상기 화학약물은 0.25 내지 0.5, 0.5 내지 1, 1 내지 2, 2 내지 5, 5 내지 10, 10 내지 20, 또는 20 내지 40 mg/kg/cycle 용량의 사이클로포스파마이드, 예를 들면 CYTOXAN (Bristol Myers Squibb)이다. 다른 구체예에서, 4 내지 40 mg/kg/cycle 용량의 사이클로포스파마이드가 악성 암 환자에게 투여된다. 다른 구체예에서, 0.25 내지 2.5 mg/kg/cycle 용량의 사이클로포스파마이드가 비-악성 암 환자에게 투여된다.

한 구체예에서, 상기 화학약물은 0.5 내지 1, 1 내지 4, 4 내지 10, 10 내지 25, 25 내지 50, 또는 50 내지 100 mg/㎡/cycle 용량의 시타라빈, 예를 들면 CYTOSAR-U(Pharmacia amp; Upjohn)이다. 다른 구체예에서, 10 내지 100 mg/㎡/cycle 용량의 시타라빈이 급성 백혈병 환자에게 투여된다. 다른 구체예에서, 0.5 내지 5 mg/㎡/cycle 용량의 시타라빈이 수막백혈병 환자에게 투여된다. 다른 구체예에서, 5 내지 50 mg/㎡/cycle 용량의 시타라빈 리포좀, 예를 들면 DEPOCYT(Chiron Corp.)이 암 환자에게 투여된다.

다른 구체예에서, 화학약물은 15 내지 250 mg/㎡/cycle 용량 또는 0.2 내지 2 mg/㎡/cycle 용량의 다카바진, 예를 들면 DTIC 또는 DTIC-DOME(Bayer Corp.)이다. 다른 구체예에서, 15 내지 150 mg/㎡/cycle 용량의 다카바진은 홉킨슨병 환자에게 투여된다. 다른 구체예에서, 0.2 내지 2 mg/kg/cycle 용량의 다카바진은 악 성 흑색종 환자에게 투여된다.

다른 구체예에서, 상기 화학약물은 0.1 내지 0.2, 0.2 내지 0.4, 0.4 내지 0.8, 또는 0.8 내지 1.5 mg/㎡/cycle 용량의 토포테칸, 예를 들면 HYCAMTIN (SmithKline Beecham)이다.

다른 구체예에서, 상기 화학약물은 5 내지 10, 10 내지 25, 또는 2 내지 50 mg/㎡/cycle 용량의 이리노테칸, 예를 들면 CAMPTOSAR (Pharmacia amp; Upjohn)이다.

다른 구체예에서, 상기 화학약물은 2.5 내지 5, 5 내지 10, 10 내지 15, 또는 15 내지 25 mg/㎡/cycle 용량의 플루다라빈, 예를 들면 FLUDARA(Berlex Laboratories)이다.

다른 구체예에서, 상기 화학약물은 200 내지 2000 mg/㎡/cycle 용량의 시토신 아라비노시드(Ara-C)이다.

다른 구체예에서, 상기 화학약물은 6 내지 10, 10 내지 30, 또는 30 내지 60 mg/㎡/cycle 용량의 도세탁셀, 예를 들면 TAXOTERE(Rhone Poulenc Rorer)이다.

다른 구체예에서, 상기 화학약물은 10 내지 20, 20 내지 40, 40 내지 70, 또는 70 내지 135 mg/kg/cycle 용량의 파클리탁셀, 예를 들면 TAXOL (Bristol Myers Squibb)이다.

다른 구체예에서, 상기 화학약물은 0.5 내지 5 mg/kg/cycle 용량의 5-플루오르우라실이다.

다른 구체예에서, 상기 화학약물은 2 내지 4, 4 내지 8, 8 내지 15, 15 내지 30, 또는 30 내지 60 mg/kg/cycle 용량의 독소루비신, 예를 들면 ADRIAMYCIN (Pharmacia amp; Upjohn) DOXIL (Alza), RUBEX(Bristol Myers Squibb)이다.

다른 구체예에서, 상기 화학약물은 3.5 내지 7, 7 내지 15, 15 내지 24, 또는 25 내지 50 mg/㎡/cycle 용량의 에토포시드, 예를 들면 VEPESID(Pharmacia amp; Upjohn)이다. 다른 구체예에서, 5 내지 50 mg/㎡/cycle 용량의 에토포시드는 고환암 환자에게 투여된다. 다른 구체예에서, 3.5 내지 35 mg/㎡/cycle 용량의 에토포시드가 소세포 폐암 환자에게 투여된다.

다른 구체예에서, 상기 화학약물은 0.3 내지 0.5, 0.5 내지 1, 1 내지 2, 2 내지 3, 또는 3 내지 3.7 mg/㎡/cycle 용량의 빈블라스틴, 예를 들면 VELBAN (Eli Lilly)이다.

다른 구체예에서, 상기 화학약물은 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 또는 0.7 mg/㎡/cycle 용량의 빈크리스틴, 예를 들면 ONCOVIN(Eli Lilly)이다.

다른 구체예에서, 상기 화학약물은 0.2 내지 0.9, 1 내지 5, 5 내지 10, 또는 10 내지 20 용량의 메토트렉세이트이다.

다른 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 한가지이상의 치료약물, 예를 들면 리툭산, 리툭시맵, 캠패트-1, 겜투주맵 또는 트라스투주맵을 포함하나 이들에 국한되지 않는 항생제 및 면역조절제와 병용 투여된다.

다른 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 안지오스타틴, 탈리도미드, 크린겔 5, 엔도스타틴, 세르핀(serine Protease Inhibitor) 항-트롬빈, 피브리넥틴의 29 kDa N-말단과 40 kDa C-말단 단백분해 단편, 프롤락틴의 16 kDa 단백분해 단편, 혈소판 인자-4의 7.8 kDa 단백분해 단편, 혈소판 인자-4의 단편에 상응하는 13-아 미노산 펩티드(Maione et al., 1990, Cancer Res. 51:2077-2083), 콜라겐 I의 단편에 상응하는 14-아미노산 펩티드(Tolma et al., 1993 J. Cell Biol. 122:497-511), 트롬보스폰딘 I의 단편에 상응하는 19-아미노산 펩티드(Tolsma et al., 1993 J. Cell Biol. 122:497-511), SPARC의 단편에 상응하는 20-아미노산 펩티드(Sage et al., 1995, J. Cell. Biochem. 57:1329-1334), 이의 제약학적으로 수용가능한 염, 단편, 조직 구성원 또는 유도체가 포함되는 한가지이상의 항-혈관형성 약물과 함께 투여된다.

혈관형성을 저해하고 라미닌, 피브로넥틴, 프로콜라겐, EGF에 상응하는 다른 펩티드 역시 기술되었다(참조: Cao, 1998, Prog. Mol. Subcell. Biol. 20:161-176). RGD 단백질에 결합하는 특정 인테그린을 차단하는(즉, 펩티드 모티프 Arg-Gly-Asp를 보유하는) 단클론 항체와 환형 펜타펩티드는 항-혈관신생 활성을 갖는 것으로 확인되었다(Brooks et al. 1994, Science 264:569-571; Hammes et al., 1996, Nature Medicine 2:529-533). 게다가, 수용체 길항물질에 의한 유로키나제 플라스미노겐 활성자의 저해는 혈관형성, 종양 성장, 전이를 저해한다(Min et al., 1996, Cancer Res. 56:2428-33; Crowley et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5021-25). 이런 항-혈관형성 약물의 이용 역시 본 발명에서 의도한다.

다른 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 방사선 요법과 복합적으로 투여된다.

다른 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 한가지이상의 사이토킨과 병용으로 투여되는데, 여기에는 림포카인, 종양 괴사 인자, 종양 괴사 인자-유사 사이 토킨, 림포톡신-α, 림포톡신-β, 인터페론-α, 인터페론-β, 대식세포 염증성 단백질, 과립성 백혈구 콜로니 자극 인자, 인터루킨(인터루킨-1, 인터루킨-2, 인터루킨-6, 인터루킨-12, 인터루킨-15, 인터루킨-18 포함), OX40, CD27, CD30, CD40이나 CD137 리간드, Fas-Fas 리간드, 4-1BBL, 내피 단핵구 활성화 단백질, 이의 제약학적으로 수용가능한 염, 단편, 조직 구성원 또는 유도체가 포함되지만 이들에 국한되지 않는다.

다른 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 암 백신과 병용 투여된다. 암 백신의 예에는 자가유래 세포나 조직, 비-자가유래 세포나 조직, 암태아성 항원, 알파-페토프로테인, 인체 융모막 성선자극호르몬, BCG 생균 백신, 멜라닌세포 계열 단백질(예, gp100, MART-1/MelanA, TRP-1(gp75)), 티로시나제, 폭넓게 공유된 종양-특이적 항원(예, BAGE, GAGE-1, GAGE-2, MAGE-1, MAGE-3, N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라제-V, p15), 종양-특이적인 돌연변

이된 항원(β-카테닌, MUM-1, CDK4), 비흑색종 항원(예, HER-1/neu(유방과 난소 암종), 사람 파필로마바이러스E6, E7(자궁경부암종), MUC-1(유방, 난소, 췌장 암종))이 포함되지만 이들에 국한되지 않는다. T 세포에 의해 인식되는 사람 종양 항원은 Robbins and Kawakami, 1996, Curr. Opin. Immunol. 8:628-36을 참조한다. 암 백신은 정제된 제형일 수도 있고 아닐 수도 있다.

다른 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 호르몬 치료와 복합적으로 사용된다. 호르몬 치료에는 호르몬 작용물질, 호르몬 길항물질(예, 플루타마이드, 타목시펜, 레우프로라이드 아세테이트(LUPRON)), 스테로이드(예, 덱사메타손, 레티 노이드, 베타메타손, 코티솔, 코티손, 프레드니손, 디하이드로테스토스테론, 글루코티코이드, 미네랄로코티코이드, 에스트로겐, 테스토스테론, 프로제스틴)가 포함된다.

다른 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 암 치료에서 유전자 요법 프로그램과 복합적으로 사용된다.

한 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 암을 치료하기 위하여 한가지이상의 암 치료약물과 함께 짧은 치료 사이클동안 암 환자에게 투여된다. 한 구체예에서, 상기 치료 사이클은 2 내지 13일이다. 다른 구체예에서, 상기 치료 사이클은 3 내지 9일이다. 다른 구체예에서, 치료 사이클은 4 내지 7일이다. 다른 구체예에서, 상기 치료 사이클은 5 내지 6일이다. 암 치료약물의 치료 기간은 사용된 특정 암 치료약물에 따라 달라질 수 있다. 또한, 본 발명은 불연속 투여 또는 수회의 부분 투여로 분할되는 일일 분량을 의도한다. 특정 암 치료약물에 적합한 치료 기간은 당업자에게 자명하고, 본 발명은 각 암 치료약물에 대한 최적 치료 스케줄의 지속적인 평가를 의도한다.

본 발명에서 단일 치료약물이나 치료서열은 적어도 1회 사이클, 바람직하게는 1회보다 많은 사이클로 투여된다. 적절한 구체예에서, 사이클은 14일보다 짧다. 한 구체예에서, 1회 사이클의 길이는 10-13일이다. 적절한 구체예에서, 1회 사이클의 길이는 7-9일이다. 가장 적절한 구체예에서, 1회 사이클의 길이는 5-6일이다. 1회 사이클에 적합한 기간, 전체 사이클 회수, 사이클간 간격은 당업자에게 자명하다. 본 발명은 각 bcl-2 안티센스 올리고머와 암 치료약물에 대한 최적 치 료 스케줄의 지속적인 평가를 의도한다.

5.3 제약학적 조성물

본 발명은 bcl-2 안티센스 올리고머와 제약학적으로 수용가능한 담체로 구성되는 제약학적 조성물을 제시한다. 적합한 제약학적 담체에는 제약학적 조성물의 생물학적 활성의 효능을 방해하지 않는 화학적으로 불활성의 비독성 조성물이 포함된다. 적합한 제약학적 담체의 예에는 식염수, 글리세롤 용액, 에탄올, N-(1(2,3-다이올레일옥시)프로필)-N,N,N-트라이메틸암모늄 클로라이드(DOTMA), 다이올레실포스포티딜에탄올아민(DOPE), 리포좀이 포함되지만 이들에 국한되지 않는다. 이런 조성물은 환자에 적합한 투여 형태를 제공하기 위하여 적량의 담체와 함께 치료요법적 효과량의 화합물을 함유해야 한다. 가령, 경구 투여는 위장관내에서 안티센스 올리고머를 분해로부터 보호하기 위하여 장용성 코팅을 필요로 한다. 다른 구체예에서, 안티센스 올리고머는 안티센스 올리고머를 분해 효소로부터 보호하고 순환계에서 전달을 용이하게 하며 막을 통과하여 세포내 위치로의 전달을 달성하는 리포좀 제형으로 투여할 수 있다.

다른 구체예에서, 제약학적 조성물은 bcl-2 안티센스 올리고머, 한가지이상의 치료약물, 제약학적으로 수용가능한 담체로 구성된다. 특정 구체예에서, 제약학적 조성물은 bcl-2 안티센스 올리고머, 한가지이상의 암 치료약물, 제약학적으로 수용가능한 담체로 구성된다.

한 구체예에서, 제약학적 조성물은 다른 치료약물과 함께 또는 다른 치료약물 없이, 효과량의 bcl-2 안티센스 올리고머와 제약학적으로 수용가능한 담체로 구 성된다.

한 구체예에서, 제약학적 조성물은 0.01 내지 0.1, 0.1 내지 1, 1 내지 5, 또는 6 내지 10 mg/kg/day; 바람직하게는 4 내지 9 mg/kg/day; 좀더 바람직하게는 5 내지 7 mg/kg/day 용량의 bcl-2 안티센스 올리고머와 제약학적으로 수용가능한 담체로 구성된다. 특정 안티센스 올리고머의 실제 투여량은 여러 인자, 예를 들면 암 종류, 체내의 정상 세포에 대한 안티센스 올리고머의 독성, 암 세포에 의한 안티센스 올리고머의 흡수율 및 안티센스 올리고머가 투여되는 개체의 체중과 연령에 의해서 달라질 수 있다. 안티센스 올리고머의 작용이나 생물학적 활성을 간섭할 수 있는 다양한 생체내 인자로 인하여, bcl-2 안티센스 올리고머의 효과량은 각 개체별로 상이할 수 있다.

한 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물은 대략 10 내지 50 mg/kg/day의 특히 높은 용량으로 bcl-2 안티센스 올리고머를 함유한다. 특정 구체예에서, 치료 사이클동안 11 내지 15, 16 내지 20, 21 내지 25, 26 내지 30, 31 내지 35, 36 내지 40, 41 내지 45, 또는 46 내지 50 mg/kg/day mg/kg/day의 특히 높은 용량으로 bcl-2 안티센스 올리고머가 투여된다.

적합한 효과량의 선택은 당분야에 공지된 여러 인자를 고려하여 당업자가 결정할 수 있다(예, 임상 실험을 통하여). 이런 인자에는 특정 형태의 안티센스 올리고머, 생체이용효율, 대사, 반감기 등과 같은 올리고머의 약동학적 파라미터

가 포함되는데, 이런 파라미터는 제약학적 조성물의 승인을 받기 위하여 활용되는 개발 과정동안 확립된다. 용량을 고려하는데 있어 추가적인 인자에는 치료할 질환, 환자에서 달성되는 이익, 환자의 체중, 환자의 면역 상태, 투여 루트, 안티센스 올리고머 또는 복합 요법 약물의 투여가 단기, 장기 또는 부수적인 약물 치료인 지의 여부 및 투여된 제약학적 약물의 효능에 영향을 주는 당업자에게 공지된 다른 인자가 포함된다.

본 발명의 조성물은 중성이나 염 형태로 만들 수 있다. 제약학적으로 수용가능한 염에는 유리 아미노기와 형성된 염, 예를 들면 염산, 인산, 아세트산, 옥살산, 주석산 등으로부터 유래된 염 및 유리 카복실기와 형성된 염, 예를 들면 나트륨, 칼륨, 암모늄, 칼슘, 수산화 제2철, 아이소프로필아민, 트라이에탈아민, 2-에탈아미노 에탄올, 히스티딘, 프로케인 등으로부터 유래된 염이 포함된다.

적절한 구체예에서, 조성물은 통상적인 과정에 따라 사람에 피하 주사 또는 정맥내 투여에 적합한 제약학적 조성물로 만들어진다. 전형적으로, 피하 주사 또는 정맥내 투여를 위한 조성물은 멸균 등장성 수성 완충액에 용해된 용액이다. 필요한 경우, 조성물은 용해 보조제 및 주사 부위의 통증을 완화시키기는 리도케인과 같은 국소 마취제를 함유할 수도 있다. 일반적으로, 성분은 개별적으로 또는 단위 약형으로 함께 혼합된다, 예를 들면 활성 성분의 함량을 지시하는 앰플이나 작은 봉지와 같은 밀봉된 용기에서 건조 동결된 분말이나 무수 농축액으로 제공된다. 조성물이 주입으로 투여되는 경우에는 제약학적 등급의 멸균수, 식염수 또는 다른 적합한 희석제를 보유하는 주입 병, 가방 또는 다른 수용가능한 용기로 투여할 수 있다. 조성물이 주사로 투여되는 경우에는 투여에 앞서 성분들이 혼합될 수 있는 주사용 멸균수 또는 식염수의 앰플로 제공할 수 있다.

5.4 투여 모드

본 발명에 따른 제약학적 조성물의 투여에는 경구, 정맥내 주입, 피하 주사, 근육내, 국소, 데포(depo) 주사, 이식, 시간-방출 모드, 공동내, 비강내, 흡입, 종양내, 안구내, 조절 방출이 포함되지만 이들에 국한되지 않는다. 본 발명의 제약학적 조성물은 장관외, 경점막(예, 입), 비강, 직장, 질내, 설하, 점막하 또는 경피로 투여될 수도 있다. 가급적, 투여는 장관외, 다시 말하면 소화관이 아닌 다른 루트, 예를 들면 정맥내, 피하, 근육내, 복강내, 안와내, 낭내, 척수강내, 흉골내, 심방내, 피내 투여가 된다. 당업자는 투여 모드를 선택하는데 있어 고려해야 하는 이점과 단점을 인지할 수 있다. 다중 투여 모드 역시 본 발명에 포함된다. 가령, bcl-2 안티센스 올리고머는 피하 주사로 투여되고, 반면 병용 치료약물은 정맥내 주입으로 투여된다. 또한, 다른 치료약물과 함께 또는 이런 치료약물 없이 한 종류 이상의 bcl-2 안티센스 올리고머의 투여는 동시에(즉, 동시 투여) 또는 순차적으로 진행될 수 있다. 가령, 종양에 대한 감수성을 증가시키기 위하여 bcl-2 안티센스 올리고머가 먼저 투여되고, 후속으로 암 치료약물이 투여되거나 또는 방사선 요법이 실시된다. 다른 구체예에서, 다른 치료약물과 함께 또는 이런 치료약물 없이 한 종류 이상의 bcl-2 안티센스 올리고머의 투여 기간은 중복될 수 있다. 가령, bcl-2 안티센스 올리고머는 7일동안 투여되고, 두 번째 치료약물은 bcl-2 안티센스 올리고머의 치료 5일째부터 투여되기 시작하여 7일간의 bcl-2 안티센스 올리고머 치료가 끝난 이후에도 계속 투여된다.

경구 투여에 적합한 제약학적 조성물은 예로써 캡슐이나 정제; 분말이나 과 립; 용액, 시럽 또는 현탁액(수성 또는 비-수성 액체에 용해됨); 식용 거품이나 휩(whip); 또는 에멀젼으로 제공할 수 있다. 정제 또는 경젤라틴 캡슐은 예로써 락토오스, 전분이나 이의 유도체, 마그네슘 스테아레이트, 소디움 사카린, 셀룰로오스, 마그네슘 카보네이트, 스테아르산 또는 이들의 염을 함유할 수 있다. 연젤라틴 캡슐은 예로써 식물 오일, 왁스, 지방, 반-고체 또는 액체 폴리올 등을 함유할 수 있다. 용액과 시럽은 예로써 물, 폴리올, 당을 함유할 수 있다.

경구 투여용 활성 성분은 분해를 지연시키거나 또는 위장관에서 활성 성분의 흡수에 영향을 주는 물질(예, 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 다이스테아레이트)로 피복하거나 또는 이들과 혼합할 수 있다. 따라서, 가령 여러 시간동안 활성 성분의 지속 방출을 달성하고, 필요한 경우 활성 성분이 위장관내에서 분해되지 않도록 보호할 수 있다. 위장관에서 다양한 pH와 효소 조건을 고려하여, 경구 투여용 제약학적 조성물은 특정 위장관 위치에서 활성 성분의 방출을 용이하게 하는 형태로 만들 수 있다.

장관외 투여에 적합한 제약학적 조성물에는 수성과 비-수성 멸균 주사 용액이나 현탁액이 포함되지만 이들에 국한되지 않는데, 이들은 조성물이 수용체의 혈액과 실질적으로 등장성이 되도록 하는 항산화제, 완충액, 정균제, 용질을 함유할 수 있다. 이런 조성물에 존재할 수 있는 다른 성분에는 예로써 물, 알코올, 폴리올, 글리세린, 식물 오일이 포함된다. 장관외 투여에 적합한 조성물은 단일-분량이나 다중-분량 용기, 예를 들면 밀봉된 앰플과 바이알로 제공하고, 사용하기 직전에 멸균 액체 담체, 예를 들면 주사용 멸균 식염수의 첨가를 필요로 하는 동결-건 조된 상태로 저장할 수 있다. 즉시 주사 용액과 현탁액은 멸균 분말, 과립, 정제로부터 만들 수 있다. 이런 조성물은 환자에 적합한 투여 형태를 제공하기 위한 적량의 담체와 함께 치료요법적 효과량의 bcl-2 안티센스 올리고머 또는 다른 치료약물을 함유해야 한다. 이런 제형은 투여 모드에 적합해야 한다.

경피 투여에 적합한 제약학적 조성물은 장기간동안 상피와 지속적으로 접촉하는 개별 패치로 제공할 수 있다. 국소 투여에 적합한 제약학적 조성물은 예로써 연고, 크림, 현탁액, 로션, 분말, 용액, 파스트, 젤, 스프레이, 에어로졸 또는

오일로 제공할 수 있다. 피부, 입, 눈 또는 다른 외면 조직에 대한 국소 투여에는 가급적 국소 연고 또는 크림이 사용된다. 연고 형태에서 활성 성분은 파라핀계 또는 물-혼화성 연고 기제와 함께 사용할 수 있다. 대안으로, 활성 성분은 수중유 기체 또는 유중수 기제로 크림 형태로 만들 수 있다.

눈에 대한 국소 투여에 적합한 제약학적 조성물에는 예로써 아이 드롭 또는 주사 조성물이 포함된다. 이들 조성물에서, 활성 성분은 적합한 담체에 분해 또는 부유시킬 수 있는데, 이런 담체에는 카복시메틸셀룰로오스를 함유하는 또는 함유하지 않는 수성 용매가 포함된다. 입에 대한 국소 투여에 적합한 제약학적 조성물에는 예로써 마름모꼴 정제, 파스텔, 구강청정제가 포함된다.

비강 투여에 적합한 제약학적 조성물은 고체 담체, 예를 들면 분말(바람직하게는, 20 내지 500 마이크론 범위의 입자 크기 보유)을 함유할 수 있다. 분말은 코로 들이마시는 방식, 다시 말하면 코에 근접하여 위치하는 용기로부터 코를 통한 급속 흡입으로 투여할 수 있다. 대안으로, 비강 투여에 적합한 조성물은 액체 담 체, 예를 들면 비분무액(nasal spray) 또는 점비액(nasal drop)을 함유할 수 있다. 이들 조성물은 활성 성분의 수성이나 지성 용액을 함유할 수 있다. 흡입 투여용 조성물은 사전결정된 적량의 활성 성분을 제공하도록 구성될 수 있는 가압된 에어로졸, 흡입치료기 또는 가스주입기를 포함하나 이들에 국한되지 않는 특별히 개조된 장치로 공급할 수 있다.

직장 투여에 적합한 제약학적 조성물은 좌약이나 관장제로 제공할 수 있다. 질 투여에 적합한 제약학적 조성물은 예로써 페서리, 탐폰, 크림, 겔, 파스트, 거품 또는 스프레이 제형으로 제공할 수 있다.

한 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물은 조절-방출 시스템으로 전달된다. 가령, 제약학적 조성물은 정맥내 주입, 이식가능한 삼투압 펌프, 경피 패치, 리포좀, 또는 다른 투여 모드를 이용하여 투여할 수 있다. 한 구체예에서, 펌프를 사용할 수 있다(참조: Langer, 1990, Science 249:1527-33; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201; Buchwald et al., 1980, Surgery 88:507; Saudek et al., 1989, N. Eng. J. Med. 321:574). 다른 구체예에서, 화합물은 소포, 특히 리포좀으로 전달할 수 있다(참조: Langer, Science 249:1527-33(1990); Treat et al., 1989, in Liposomes in the Therapy of Infections Disease and Cancer, Lopez-Berestein and Fidler(eds.), Liss New York, pp. 353-65; Lopez-Berestein, ibid., pp. 317-27 International Patent Publication No. WO 91/04014; U.S. Patent No. 4,704,355). 다른 구체예에서, 중합성 물질을 사용할 수 있다(참조: Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise(eds.), CRC Press: Boca Raton, Florida, 1974; Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance,, Smolen and Ball (eds.), Wiley: New York(1984); Ranger and Peppas, 1953, J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61; Levy et al., 1985, Science 228:190; During et al., 1989, ann. Neurol. 25:351; Howard et al., 1989, J. Neurosurg. 71:105).

다른 구체예에서, 조절 방출 시스템은 표적 인근에 위치시킬 수 있다. 가령, 마이크로펌프는 조절된 분량을 뇌에 직접 전달하고, 따라서 전신 분량 중에서 일부만 필요로 한다(참조: Goodson, 1984, in Medical Applications of Controlled Release, vol. 2, pp. 115-138).

한 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물은 치료를 필요로 하는 부위에 국소적으로 본 발명에 따른 제약학적 조성물을 투여하는 것이 바람직할 수 있다; 이는 예로써 수술동안 국소 주입, 국소 도포(예, 수술후 상처용 부직포(Wound Dressing)와 함께), 주사, 카테터, 좌약, 이식물로 달성할 수 있다. 이식물은 실라스틱 막과 같은 막 또는 섬유를 비롯하여 다공성, 비-다공성 또는 아교질 물질로 구성될 수 있다.

일반적으로, 좌약은 0.5 내지 10wt% 범위로 활성 성분을 함유한다. 경구 제형은 10 내지 95wt%의 활성 성분을 함유한다.

bcl-2 안티센스 올리고머는 한가지이상 치료약물의 투여 이전에, 투여 동안 및/또는 투여 이후에 투여될 수 있다. 한 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머는 bcl-2의 발현을 감소시키기 위하여 먼저 투여할 수 있는데, 이는 후속 투여되는 암 치료약물에 대한 종양의 감수성을 증가시킨다. 다른 구체예에서, bc-2 안티센스 올리고머는 bcl-2의 종양 발현을 감소시키기 위하여 암 치료약물의 투여이후에 투여할 수 있는데, 이는 암 치료약물에 대한 종양 저항성을 차단하여 이에 대한 반응의 퇴보 또는 최소화를 예방한다. 다른 구체예에서, bcl-2 안티센스 올리고머와 한가지이상 치료약물의 투여간에 중복되는 기간이 존재할 수 있다.

또한, 본 발명은 암 치료약물과 함께, bcl-2 관련된 질환으로부터 보호하거나 또는 이런 질환을 치료하기 위한 효과량의 bcl-2 올리고머로 구성되는 제약학적 키트를 제시한다. 한 구체예에서, 효과량의 bcl-2 올리고머와 제약학적으로 수용가능한 담체는 단일 분량 바이알이나 다른 용기에 포장할 수 있다. 특정 구체예에서, bcl-2 올리고머는 G3139(SEQ. ID. NO.:17)로 구성된다. 상기 키트는 본 발명에 따른 제약학적 조성물의 한가지이상 활성 성분으로 채워진 하나 또는 복수의 용기를 보유한다.

이런 용기와 관련하여, 약품이나 생물학적 제제의 제조, 이용 또는 판매를 감독하는 정부 기관에서 규정한 형태로 만

들어야 하며, 인체 투여를 위한 제조, 이용 또는 판매용으로 승인을 받아야 한다.

본 발명은 다음의 무제한적 실시예를 참고하면 좀더 명확하게 이해할 수 있지만, 이런 실시예는 설명하기 위한 것으로 본 발명을 제한하지 않는다.

실시예

6. 실시예 1: bcl-2 안티센스는 악성 흑색종을 화학 감작화시킨다

본 실시예는 진행된 악성 종양 환자의 치료에서 bcl-2 안티센스 올리고머의 성공적인 이용을 예시한다. 본 연구에서, bcl-2 안티센스 올리고머 치료를 받은 환자중 6명은 화학약물과 함께, 7일동안 5.3 또는 6.5 mg/kg/day의 올리고머를 전신 투여받았다. 본 실시예에서 이런 발견은 bcl-2 안티센스 올리고머가 짧은 기간동안 고용량으로 투여되는 경우에 이런 치료가 공통 독성 기준에서 저독성을 보이고 종양내에서 bcl-2를 감소시키며 아폽토시스를 촉진하고 실재적인 종양 반응과 연장된 환자 생존을 유도한다는 것을 증명한다. 반응 환자중에는 표준 항암 약물 치료동안 병이 진행된 '치료 저항성 암' 환자도 몇명 있었는데, 단독으로 사용된 데카바진과 같은 표준 약물의 치료에서는 거의 효과를 보이지 않았다. 대조적으로, bcl-2 안티센스와 다카바진의 복합 요법은 예상치 못한 지속적인 반응과 연장된 생존을 결과하였다. 게다가, 5명의 환자에서 짧은 기간동안 고용량을 이용한 추적 연구에서 bcl-2 안티센스 올리고머를 5일동안 7 mg/kg/day으로 전신 투여하는 경우에 만족스런 내약성이 확인되었다. 따라서, 상기 결과는 짧은 기간동안 고용량의 bcl-2 안티센스 올리고머 투여가 흑색종에 대한 안전하고 효과적인 요법임을 시사한다. 본 연구에서 밝힌 연구방법은 다른 유형의 암을 치료하는데 적용가능한 전략을 제공한다.

6.1 재료와 방법

측정가능한 질환을 갖고 피부 전이가 생검에서 용이하게 얻어 지며 웨스턴 블랏팅에서 bcl-2에 대하여 초기 양성 반응을 보인 14명의 IV기 전이 흑색종 환자가 I/II기 단계적 용량 확대 연구에 참여하였다(표 1). 환자는 정상적인 신장, 간, 조혈 기능을 보이고 연구에 참여하기 전 4주동안 화학요법 또는 면역요법을 전 혀 받지 않았다.

bcl-2 안티센스 올리고머(5'-TCTCCCAGCGTGCGCCAT-3')는 중심 정맥 라인을 통하여 이동 주입 펌프(Sims Deltec Inc., St. Paul, MN, USA)로 14일동안 연속 정맥내 주입(CIV)으로 투여하였다. DTIC는 별개의 말초 정맥 라인을 이용하여 14-일 bcl-2 안티센스 올리고머 요법동안 5일째부터 9일째까지 5일동안 1시간 주입으로 200mg/㎡/day 분량을 투여하였다. 치료 사이클은 월단위로 반복하였다. 단계적 용량 확대는 0.6 mg/kg/day에서 시작하여 1.3, 1.7, 2.1, 3.1, 4.1, 5.3, 6.5 mg/kg/day BCL-2 ASO까지 지속한다. 임의의 분량 수준에서 적어도 3명의 환자에서 안전성이 확립되면, 새로운 환자 군은 좀더 높은 용량 수준에 들어갔다(Waters et al., 2000, J. Clin. Oncol. 18(9):1812-23). 28일 사이클을 반복하고, 환자간 단계적 용량 확대는 2주간의 관찰 기간이후에 안정된 또는 반응하는 환자에서 실시한다.

대안적 루트와 스케줄로 임상적 경험을 얻기 위하여, 5.3 또는 6.5 mg/kg/day으로 치료한 피험자에서 6명의 환자는 정맥내 주입으로 첫 번째 치료 사이클을 받았고, 이후 후속 단계에서는 bcl-2 안티센스 올리고머의 피하(SC) 투여로 전환하였다. SC 루트로 치료한 이들 환자들은 5일째 1시간 주입으로 제공된 DTIC 800 mg/㎡와 함께, 1일에서 7일까지 일일 2회 SC 주사로 투여되는 동일한 일일 총량을 섭취하였다.

항종양 효과는 칼리퍼 측정 및 피부 전이된 환자의 상세한 사진-기록을 활용하여 매 치료 사이클후 평가하였다; 내장 전이는 컴퓨터 단층촬영 스캔으로 상세히 기록하고 추적하였다. 종양 반응의 분류에는 WHO 기준을 활용하는데, 이는 적어도 4주동안 지속되는 연속 기록을 필요로 한다. 완전 반응은 검출가능한 전이의 소멸로 정의하였다. 부분 반응은 측정가능한 전이의 50%이상 감소로 정의하였다. 환자가 하나의 장기에서 다수의 전이를 보이는 경우에는 기저수준에서 최소 5개의 표적 병변을 기록하고 추적하여 반응을 측정하였다. 측정가능한 질환에서 25% 이상의 새로운 전이 병변의 출현은 진행성 질환으로 정의하였다. 이에 더하여, 표적 병변 직경이 25%이상에서 50% 이하까지 줄어드는 상태는 경미한 반응으로 정의하였다. 모든 다른 상태는 안정한 질환으로 정의하였다. 생존 기간은 상기 프로토콜의 첫 번째 치료시점부터 평가하였다.

독성은 공통 독성 기준으로 계산하고, 약물 투여동안 매일, 이후 사이클간 매주 모니터하였다. 치료 사이클간 2주 이내에 해결되지 않는 모든 치료-관련된 III 또는 IV 등급 독성은 용량-제한 독성으로 간주하였다. bcl-2 ASO가 2주간 정맥내 주입된 환자에서 치료전 0시, 이후 2, 3, 5, 6, 10일째 BLC-2 안티센스 올리고머를 약동학을 측정하기 위하여 혈장 시료를 채취하였다; 복부에 피하 거환 주사로 bcl-2 안티센스 올리고머를 섭취한 환자에서 12시간 약동학 프로필을 측정하였다. bcl-2 안티센스 올리고머 혈장 수준은 HPLC를 이용하여 Pharmanalyt, Baden, Austria로 분석하였다(Chen et al., 1997, J. chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl. 692:43-51).

흑색종 전이의 bcl-2 발현과 아폽토시스율은 각각 웨스턴 블랏팅과 TUNEL 방법으로 평가하였다(Jansen et al., 1998, Nat. Med. 4(2):232-4). 기저수준과 비 교하여 20% 이하의 bcl-2 감소는 기술적 한계로 인하여 유의한 것으로 간주하지 않았다. 생검된 종양은 반응의 측정에 이용된 표적 병변과 유사한 크기, 위치, 임상적 특징에 기초하여 선별하였다. 피부 흑색종 전이의 절단 생검은 DTIC 투여에 앞서 기준시점과 5일째에, 각 BCL-2 안티센스 올리고머 분량 수준에서 실시하였다; 추가적인 생검은 최대 14일째까지 수득하여, bcl-2 안티센스 올리고머와 DTIC 병용 치료의 효과를 기록하였다. 각 환자에서 용량 수준당 총 2-4개의 종양 생검을 조사하였다. 또한, 웨스턴 블랏과 TUNEL 분석에 사용된 종양 생검의 일부는 통상의 조직병리학으로 평가하여 일관된 종양 세포 함량을 담보하고 생검 시료에서 비-종양 세포의 교란 효과를 제한하였다.

6.2 결과

총 14명의 환자가 전술한 2가지 치료 섭생(I.V. 또는 S.C.)에 따라, DTIC와 함께 bcl-2 안티센스 올리고머(0.6 내지 6.5 mg/kg/day) 치료를 받았다.

bcl-2 안티센스 올리고머 항정-상태 혈장 수준은 연속 정맥내 주입 1일후에 관찰되었고 투여량에 따라 선형으로 증가하였다. >1.7 mg/kg/day의 bcl-2 안티센스 올리고머는 동물 모델(Raynaud et al., 1997, J. Pharmacol. Exp. Ther. 281:420-7)에서 생물활성을 보이는 것으로 확인된 혈장 수준인 1μg/μℓ에서 지속적인 항정-상태 혈장 수준을 유도하였다. 6.5 mg/kg/day에서 6.47 μg/㎖ +/-SD=2.51μg/㎖의 평균 항정 상태 혈장 수준은 24시간후에 도달하였다. 일일 2회 투여된 SC 거환 주사의 bcl-2 안티센스 올리고머 혈장 수준은 12시간 시점에서 벨-형이었다. 8.6 μg/㎖ +/-SD=1.26μg/㎖의 피크 농도는 12시간 간격으로 투여되는 3.25 mg/kg 분량의 SC 주사후 3 내지 4시간후에 관찰되었다. 피하 주사간 12시간의 기간중 90%에서, 혈장 수준은 생물 활성과 연관하여 1 mg/㎖ 표적 혈장 수준을 초과하였다. 다중 치료 사이클을 받은 환자의 약동학 특성에서는 어떤 변화도 관찰되지 않았다; 동시 DTIC 치료는 항정-상태 bcl-2 안티센스 올리고머 혈장 수준에 영향을 주지 않았다.

기저수준에서, 피하 흑색종 전이의 bcl-2 단백질 발현(Selzer et al., 1998, 8(3):197-203; Cerroni et al., 1995, Am. J. Dermatopathol. 17:7-11)은 본 연구에 참가한 14명의 환자 모두에서 웨스턴 블랏팅에 의해 확인되었다; 비교 병변의 연속 생검은 bcl-2 안티센스 올리고머 투여동안 bcl-2 단백질 수준에서 감소를 보였다(표 1). 10번 환자에서, 연속 종양 섭생은 생검 조직에서 흑색종의 결핍으로 인해 웨스턴 블랏팅 평가를 하지 않았다. bcl-2 안티센스 올리고머의 14일 연속 주입으로 치료한 환자에서 bcl-2 단백질의 최대 감소는 5일째에 관찰되었고, 이후 14일째까지 추가적인 감소는 없었다. 1 μg/㎖를 초과하는 bcl-2 안티센스 올리고머 혈장 수준을 보이는 평가가능한 환자중에서 83%(12명중 10명의 환자)가 bcl-2 발현의 분명한 감소를 보였다(표 1). > 1.7 mg/kg/day 용량의 BCL-2 안티센스 올리고머의 치료 사이클은 5일째까지 40%의 bcl-2 단백질 평균 감소를 보였다.

5일간의 bcl-2 안티센스 올리고머 치료이후 종양 견본에서 아폽토시스 세포의 증가는 TUNEL 염색으로 관찰하였다(0.85%, +/-SD=0.47%; 내지 3.17%, +/-SD=1.16%)(도 2B). 하지만, 아폽토시스 자극물질(DTIC)을 첨가한 이후에 채취된 생검에서 아폽토시스 세포 사멸의 급격한 증가가 관찰되었다(도 2C, 19.4% +/- SD=4.2%). bcl-2 안티센스 올리고머와 DTIC의 복합 요법은 용량-제한 독성없이 최대 6.5 mg/kg/day까지 내약성이었다(표 2).

혈액학적 비정상은 경등도 또는 중등도(I-III 등급, 표 2)이고, 치료 사이클간에 단일 약물 DTIC에 전형적인 최저값의 패턴을 따랐다. 환자들은 열성 호중구감소증 또는 다른 주요 임상적 혈액학적 독성을 전혀 경험하지 않았다. 수혈을 필요로 하는 II-III 등급 빈혈증은 연구동안 2명의 환자에서 관찰되었지만, 기저수준의 빈혈증은 선행 치료에 의해 이들 환자 모두에서 나타났다. II-III 등급 림프구 감소증이 일반적으로 관찰되긴 했지만, 일부 환자에서는 반복 사이클이 1년이상 지속되었음에도 불구하고 특이한 바이러스나 진균 감염과 같은 임상적 후유증, 또는 면역억제에 대한 다른 임상적 증거가 나타나지 않았다. 부분적 트롬보플라스틴 시간의 일시적인 II-III 등급 연장은 임상적 출혈(bleeding)없이 3명의 환자에서 관찰되었다.

비-혈액학적 부작용은 표 2의 하단에 기입한다. 4.1 mg/kg/day 이상의 bcl-2 안티센스 올리고머 용량은 대부분의 환자에서 일시적인 열병과 연관하였다. 열은 일반적으로 치료 2-3일째 38°C까지 도달하는데, 자발적으로 또는 아세트아미노펜을 투여하여 해결하고 안티센스 올리고머 투여를 지속한다. 4.1 내지 6.5 mg/kg/day의 용량 수준에서, 트랜스아미나제 및/또는 빌리루빈의 일시적인 II-III 등급 상급은 4명의 환자에서 관찰되었다; 하지만, bcl-2 안티센스 올리고머의 인과관계가 모든 환자에서 확립된 것은 아니었는데, 그 이유는 2명의 환자에서 각각 간염과 알코올중독증이 있어 DTIC 이후 일시적인 간 기능 비정상이 관찰되었고, 이는 실험적 변화를 초래할 수 있기 때문이다. 간 기능 비정상은 전형적으로 치료 사이클간 1주일이내에 해소되었고, 임상적으로 유의하거나 또는 용량을 제한하는 것으로 간주되지 않았다. 피부 부작용으로 일시적인 II 등급 두드러기를 경험한 1명의 환자를 제외한 모든 환자에서 일시적인 I 등급 발진과 두드러기가 나타났다; 이들 피부 반응은 항-히스타민제에 반응하였고 후속적인 치료를 방해하지 않았다. 누적된 독성은 관찰되지 않았다. 일부 환자는 예정된 치료 스케줄의 변화없이 최대 10회의 치료 사이클로 치료하였다.

독성이 단계적 용량 확대 실험의 주요 종점(endpoint)이긴 하지만, 전신 흑색종 요법의 치료 실패이후에 본 연구에 참가한 12명의 환자에서 관찰되는 반응을 비롯하여 14명의 IV 단계 흑색종 환자중 6명(43%, 표 1)에서 항종양 활성이 분명하였다. 1년이상 지속되는 질환의 연장된 안정화와 함께 1 CR, 2PR, 2 MR이 나타났다(표 1). 또한, 본 연구 참가에 앞서 진행됐던 질환의 안정화와 함께 다른 2명의 환자에서 임상적 항종양 활성이 관찰되었다. 골반 림프절과 선행 식피술 부위에서 기저수준에서 5 ㎝이상의 다루기 힘든 전이 질환을 보였던 12번 환자는 2회 치료 사이클이후 급속한 반응과 4회 사이클이후 완전 반응을 보였다(표 1, 도 3). 4회 치료 사이클이후, 앞서 신생물에 양성을 보였던 피부 부위의 생검은 흑색종 없이 섬유증만을 보였다(병리학적 완전 반응). 2번과 3번 환자는 1년이상 병의 진행없는 생존으로 표적 병변의 부분적인 반응을 보였다. 본 연구의 시작시점에서, 2번과 3번 환자는 카보플라틴 + 인터페론(환자 2) 및 DTIC + IL-2(환자 3)의 선행 치료에도 불구하고 진행성 전이를 보였었다. 5번과 9번 환자는 DTIC + 인터페론 또 는 인터페론 단독으로 전신 치료했음에도 불구하고 진행성 전이 질환을 가진 상태로 본 연구에 참가하였는데, bcl-2 안티센스 + DTIC 요법에 경미한 반응을 보였다. 측정된 평균 생존 기간은 모든 환자에서 적어도 1년을 초과하였다.

6.3 결론

본 리포트는 암 환자에서 화학요법과 복합된 안티센스 약물 치료의 안전성과 가능성을 예증한다. bcl-2 안티센스 올리고머 치료는 내약성이고 종양에서 표적 단백질을 감소시키며 아폽토시스를 촉진하고 다른 요법의 치료 실패이후 본 연구에 참가한 환자에서 연장된 생존과 실재적인 종양 반응을 유도하였다(표 1).

본 연구의 일차 목적은 DTIC 요법과 복합된 bcl-2 안티센스 올리고머의 독성을 측정하는 것이다. 비-혈액학적 부작용(표 2)과 관련하여, 최대 3.1 mg/kg/day의 bcl-2 안티센스 올리고머 수준까지 DTIC 요법 단독에서 보고되는 부작용이 본 연구에서는 전혀 관찰되지 않았다. DTIC와 병용되는 4.1 mg/kg/day 용량 이상의 bcl-2 안티센스 올리고머에서, 트랜스아미나제 및/또는 빌리루빈의 일시적인 Ⅱ-Ⅲ 등급 상승이 관찰되었다(표 2). 본 연구에서, 간 기능 비정상은 용량을 제한하지도 임상적 후유증과 연관하지도 않았다. αPTT의 비-용량-제한 변화는 일일 5.3 mg/kg 용량 이상의 bcl-2 안티센스 올리고머에서 관찰되었다.

본 연구에서 가장 빈번한 혈액학적 부작용으로 림프구 감소증이 관찰되었다. 림프구 감소증은 임상적으로 유의하지 않았고, 1년이상동안 치료 사이클을 받은 환자에서 특이한 감염은 없었다. 대조적으로, 다중 포스포로티오에이트 안티센스 약물에서는 일정 수준의 혈소판 감소증이 관찰되었는데, 이의 독성은 NHL 환자의 bcl-2 안티센스 올리고머 연구에서 약량-제한적이었다(Waters et al., 2000, J. Clin. Oncol. 18(9):1812-23). 본 연구에서 bcl-2 안티센스 올리고머와 화학요법을 병용하는 경우에 DTIC이후 일시적인 골수-억제가 발생하고 항정-상태 혈장 수준이 NHL 연구에서 보고된 수준을 초과하긴 했지만, 용량-제한 혈소판 감소증은 관찰되지 않았다. 요약하면, 이들 환자군에서 DTIC와 bcl-2 안티센스 올리고머간 중복되거나 누적된 약량-제한 독성은 관찰되지 않았다.

이런 데이터는 생물학적으로 적절한 항정-상태 혈장 수준(>1 ug/㎖)이 대략 2 mg/kg/day 용량의 bcl-2 안티센스 올리고머에서 용이하게 달성되고, DTIC 화학요법과의 복합에서 최대 내약성 용량에 도달하지 않는다는 것을 입증한다.

본 실험에서 조사한 치료 섭생에 대한 최근의 추적 조사에서, 5일이상 주입(7 mg/kg/day)으로 정맥내 투여된 bcl-2 안티센스 올리고머는 각 21일 사이클로 DTIC 1000 mg/㎡이전에 피험자(5명의 환자)에게 투여되었고 만족스런 내약성을 보였다.

따라서, 이런 결과는 bcl-2 안티센스 올리고머가 임상적 환경에서 암을 치료하는 항암 약물과 병용으로 안전하게 투여될 수 있다는 것을 시사한다. 상기 결과는 연속 피하 주입으로 14일간 주입하는 경우에만 생물학적 활성과 임상 반응을 보였던 기존의 공개된 데이터(Waters et al., 2000, J. Clin. Oncol. 18(9):1812-23)와 상이한데, 그 이유는 본원에서 밝힌 결과에서는 다중 루트(정맥내 주입, 다중 일일 피하 주사) 및 5-7일간의 짧은 투여 스케줄 역시 G3139의 생물학적 활성과 임상 반응을 유도할 수 있기 때문이다. 반응 환자에서, 초기 항종양 활성은 2-3회 사이클내에 관찰되었다. 대부분의 환자는 DTIC-포함 요법의 치료 실패이후 또는 전이 흑색종에 대한 다른 표준 치료이후에 전이가 진행된 상태로 본 연구에 참가하였다. 그럼에도 불구하고, 항종양 반응이 14명의 환자중 6명(43%)에서 관찰되었고, 2명의 다른 환자에서는 병의 안정화가 관찰되었다. 모든 환자의 평균 생존 기간은 12개월을 초과하였다. 이들 초기 결과는 1차 전신 요법의 치료 실패이후 흑색종이 진행된 환자에서 관찰되는 미미한 반응률과 4 내지 5개월의 평균 생존 기간과 대조된다.

표 1 : 연구 개요

환자 번호	연령/성	1차 진단 날짜	흑색종 전이	종양 단계	선행 치료	BCL-2 ASO (㎎/kg/d)	최대% BCL-2 감소	반응	생존기간 (Months)
1*	49/F	8/95	LNN, 피부	Ⅳ	DTIC, IF, RT, HEP	0.6	0	PD	6,6
2*	41/F	3/95	피부	Ⅳ	CP, IFN-α, RTHEP	0.6-6.5	40	PR	20,5
3*	69/M	6/94	LNN, 피부	Ⅳ	DTIC, IL-2, GM-CSF	0.6-6.5	40	PR	12,3+
4	42/M	5/98	LNN, 피부	Ⅳ	DTIC, IFN-α	0.6-4.1	35	MR	13,7
5	63/F	1/92	피부	Ⅳ	DTIC, IFN-α	3.1-4.1	20	MR	5,1
6	56/M	8/96	폐, 피부	Ⅳ	DTIC, IFN-α	3.1-5.3	60	PD	2,4
7	61/F	5/97	폐, 간, 피부	Ⅳ	DTIC, FOT	4.1	20	PD	7,1
8*	60/F	3/95	피부	Ⅳ	IFN-α,RT	5.3-6.5	60	Stable	15,3+
9*	75/F	6/98	LNN, 피부	Ⅳ	IFN-α	5.3-6.5	60	MR	15,3+
10	44/F	4/86	LNN, 피부	Ⅳ	IFN-α	6.5	N.A.	PD	14,4+
11	63/M	4/97	폐, 피부	Ⅳ	IFN-α, CP, CIS	6.5	0	PD	12,5+
12*	90/F	7/94	LNN, 피부	Ⅳ	None	6.5	70	CR	12,5+
13*	67/M	6/96	폐, 피부	Ⅳ	None	6.5	0	PD	1,1
14	76/M	4/99	폐, 피부	Ⅳ	IFN-α	6.5	40	Stable	7,8

CP=카보플라틴; CIS=시스플라틴; FOT=포테무스틴; HEP=고열성 말단 관류; IFN=인터페론-α; NA=적용할 수 없음; RT=방사선 요법. 총 47 사이클의 bcl-2 ASO + DTIC를 투여한다.

* 초기 정맥내 치료 사이클이후 5.3과 6.5 ㎎/kg/day의 용량으로 bcl-2 ASO를 피하 투여받은 환자.

+ 관찰 기간의 지속

표 2 : 치료동안 부작용

공통 독성 기준 등급 환자 번호					
	0	1	2	3	4
혈액학적 부작용					
빈혈증	12			2	
백혈구 감소증	7	2	3	2	
호중구 감소증	10	2	2		

림프구 감소증	1	1	7	5	
혈소판 감소증	8	4	2		
응고	3	8	2	1	
비-혈액학적 부작용					
심혈관	14				
폐	14				
신장	14				
위장관	9	5			
간(SGOT, 빌리루빈)	1	7	2	4	
신경 부작용(두통)	11	3			
피부 부작용	9	4	1		
열병	7	1	6		

부작용은 bcl-2 ASO 요법에 대한 인과관계와 무관하게 기재한다.

7. 실시예 2: 호르몬-저항성 전립선암 환자에서 G3139(bcl-2 안티센스 올리고머)와 도세탁셀의 I기 약동학적, 생물학적 상관 연구

본 실시예는 안드로겐 절제 요법과 세포독성 화학요법에 저항하는 호르몬-저 항성 전립선암 환자의 치료에 bcl-2 안티센스 올리고머의 성공적인 이용을 예시한다. bcl-2 안티센스 올리고머는 화학약물과 함께 5일동안 5 내지 7 mg/kg/day으로 전신 투여하였다. 본 연구는 bcl-2 안티센스 올리고머와 화학약물 치료를 받은 2명의 환자가 치료에 대한 반응을 보인다는 것을 보고한다. 본 실시예에 보고된 발견은 bcl-2 안티센스 올리고머가 짧은 기간동안 고용량으로 투여되는 경우에 이런 치료가 낮은 독성 및 실재적인 임상 반응을 보인다는 것을 입증한다. 본 연구에 제시된 연구방법은 다른 유형의 암을 치료하는데 적용가능한 전략을 제공한다.

7.1 재료와 방법

본 연구에서, 6일간의 각 치료 사이클에서 5일동안은 G3139를 연속 정맥내 주입으로 투여하고, 6일째에는 도세탁셀을 투여하였다. 과정은 매 21일마다 반복하였다. 11명의 호르몬-저항성 전립선암 환자는 5 mg/kg/day G3139 + 60 mg/㎡ 도세탁셀 내지 7 mg/kg/day G3139 + 75 mg/㎡ 도세탁셀 범위의 3가지 용량 수준으로 치료를 받았다.

7.2 결과

주요 독성은 도세탁셀 단독과 유사하였다. 강하게 사전 치료를 받은 1명은 연장된(>5일) 단순 4등급 호중구 감소증을 보였다. 다른 독성으로는 3명의 환자에서 1 등급 구내염과 1명의 환자에서 2 등급 열성 호중구 감소증이 나타났다. 예비 약동학적 결과(HPLC)는 5 mg/kg/day 용량 수준에서 3.09 ㎍/㎖의 G3139 항정-상태 혈장 농도를 입증한다. 예비 유세포 분석과 웨스턴 블랏 분석에서는 도세탁셀 치료에 앞서, 말초혈 단핵구 세포에서 6일째까지 bcl-2 단백질의 > 50% 감소를 나타 낸다. 전립선-특이적 항원과 증상 반응은 치료 사이클에 좀더 오래 저항하는 전립선-특이적 항원의 9배 감소를 비롯하여 3명의 평가가능한 환자중 2명에서 관찰되었다.

7.3 결론

G3139는 도세탁셀과 안전하게 병용 투여할 수 있는데, 이들 결과에서 보는 바와 같이, 이런 병용은 암의 치료에서 현저한 치료 효과를 보인다. 이런 결과는 연속 피하 주입으로 14일간 주입하는 경우에만 생물학적 활성과 임상 반응을 보였던 기존의 공개된 데이터(Waters et al., 2000, J. Clin. Oncol. 18(9):1812-23)와 상이한데, 그 이유는 본원에서 밝힌 결과에서는 대안적 루트(정맥내)에 의한 좀더 짧은 투여 스케줄(5일) 역시 G3139의 생물학적 활성과 임상 반응을 유도할 수 있기 때문이다. G3139 치료는 말초혈 단핵구 세포에서 bcl-2 단백질의 효과적인 하향조절에서 확인된 바와 같이 투여 5일이내에 생물학적 활성을 나타내고, 호르몬-저항성 전립선암 환자에서 예비 항종양 활성을 촉진한다.

8. 실시예 3: 저항성 또는 재발성 급성 백혈병에서 GENESENSE ™ (G3139), bcl-2 안티센스의 임상 I기 실험

본 실시예는 급성 백혈병 환자의 치료에서 bcl-2 안티센스 올리고머의 성공적인 이용을 예시한다. bcl-2 안티센스 올리고머는 2가지 화학약물과 함께 10일동안 4 mg/kg/day으로 전신 투여하였다. 본 연구는 bcl-2 안티센스 올리고머와 화학약물 치료를 받은 10명의 환자중 5명이 치료에 대한 반응을 보인다는 것을 보고한 다. 게다가, 백혈병이나 다른 암의 치료에 통상적으로 사용되는 표준 용량보다 적은 용량으로 플루다라빈과 시토신 아라비노시드를 투여한 환자에서도 반응이 관찰되었다. 본 실시예에서 보고된 발견은 bcl-2 안티센스 올리고머를 짧은 기간동안 투여하는 경우에 실재적인 임상 반응이 달성된다는 것을 입증한다.

8.1. 재료와 방법

G3139(4 mg/kg/day)는 치료 사이클의 1-10일째 환자(총 10명의 환자)에게 투여하고, 플루다라빈(15 mg/㎡의 감소된 용량으로 시작), 시토신 아라비노시드(Ara-C)(1000 mg/㎡의 감소된 용량의 시작), G-CSF(FLAG)는 치료 사이클의 6-10일째 투여하고 후속 피험자에서 단계적으로 확대시킨다. 정상 FLAG 복합 섭생에는 본 연구에 사용되는 용량보다 2배 더 많은 용량의 플루다라빈과 Ara-C가 포함된다.

Pts 연령/성	Dx amp; Status Pre-G3139	Time to REL(m) [1]	이전 섭생	이전 HDAC [2]	반응	질환 상태(d) [3]
69/F	PRIMARY REF ALL	NA [4]	1	No	CR [5]	NED [8] (53)
55/F	PRIMARY REF ALL	NA	3	Yes	CR	REL(142)
57/F	2 nd REL AML	12	2	Yes	CR	NED(111)
23/M	1 st REL AML	3	1	Yes	PR [6]	REL(83)
61/F	1 st REL AML	7	1	No	PR	NED(76)
54/M	primary REF AML	NA	1	No	NR [7]	REF
61/F	1 st REL AML	6	2	No	NR	REF
73/F	2 nd REL AML	8	2	Yes	NR	REF
39/M	2 nd REL AML	3	2	Yes	NR	REF
55/F	2 nd REL AML	6	3	Yes	NR	REF

[1] (m), CR로부터 개월수; [2] 고용량 Ara-C; *3* (d), G3139 시작으로부터 개월수; [4] NA, not applicable; 5CR, 완전 반응; 6PR, 부분 반응; 7NR, 반응 없음; 8NED, 질 병 증거 없음; REF, 저항성; REL, 재발성.

8.2 결과

치료-관련된 열병, 메스꺼움, 저칼슘혈증, 저인산혈증, 체액 저류는 용량-제한적이지 않았다. 혈액학적 부작용은 예상한 바와 동일하였다. 적절한 표적 수준(1μg/㎖)을 초과하는 항정 상태 G3139 혈장 수준은 24시간후에 달성되었다. 3명의 환자는 완전 반응을 달성하고 2차 치료 과정을 받았다; 2명은 53일째와 111일째까지 질환의 증거가 나타나지 않았다. 2명의 환자는 호중구 감소증과 혈소판 감소증을 지속적으로 보이긴 했지만 52일과 55일째까지 질환의 증거가 나타나지 않았다; 이들중 1명은 76일째까지 질환의 증거가 나타나지 않았다. 5명의 반응자중 3명은 사전에 고용량 Ara-C 치료를 받았는데, 선행 치료 섭생에 사용된 용량보다 낮은 용량에서 본 연구에서 밝힌 바와 같은 Ara-C 복합 프로그램에 대한 주요 반응은 예상치 못한 것이었다.

8.3. 결론

이런 결과는 G3139가 급성 백혈병에 대한 다중-사이클 유도 섭생의 부가물로서 적합하다는 것을 시사하는데, 이는 본 연구에서 사전에 고용량 Ara-C 치료를 받은 저항성 급성 백혈병 환자를 비롯하여 50% 반응률을 나타냈다. 또한, bcl-2 안티센스 치료와 복합적으로 정상보다 낮은 용량 수준의 플루다라빈과 Ara-C를 사용하는 경우에도 주요 반응이 관찰되었다.

모든 참고문헌은 여기에 순전히 참고로 한다.

당업자는 전술한 본 발명에 따른 구체예로부터 다양한 개변이 본 발명의 범주에 속한다는 것을 인지할 것이다. 따라서, 본 발명은 전술한 특정 구체예에 한정되지 않으며, 하기의 특허청구범위에 의해서만 한정된다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.
사람에서 암을 치료 또는 예방하는 방법에 있어서, 이런 치료가 필요한 사람에게 2 내지 13일 기간동안 1회이상의 치료 사이클로 0.01 내지 50 mg/kg/day의 용량의 bcl-2 안티센스 올리고뉴클레오티드를 투여하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 2.
제 1 항에 있어서, bcl-2 안티센스 올리고뉴클레오티드는 3 내지 9일동안 투여하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 3.
제 1 항에 있어서, bcl-2 안티센스 올리고뉴클레오티드는 4 내지 7일동안 투여하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4.
제 1 항 내지 3 항중 어느 한 항에 있어서, 4 내지 9 mg/kg/day의 bcl-2 안티센스 올리고뉴클레오티드를 투여하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5.
제 1 항 내지 3 항중 어느 한 항에 있어서, 5 내지 7 mg/kg/day의 bcl-2 안티센스 올리고뉴클레오티드를 투여하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 6.
제 1 항에 있어서, 한가지이상의 암 치료약물을 추가로 투여하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7.
제 6 항에 있어서, 암 치료약물의 투여는 bcl-2 안티센스 올리고뉴클레오티드의 투여를 후행하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 8.
제 6 항에 있어서, 암 치료약물의 투여는 bcl-2 안티센스 올리고뉴클레오티드의 투여를 선행하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 9.
제 6 항에 있어서, 암 치료약물은 bcl-2 안티센스 올리고뉴클레오티드와 동시에 투여하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 10.
제 6 항에 있어서, 암 치료약물은 화학약물, 방사선요법, 면역요법, 암 백신, 항-혈관형성 약물, 사이토킨, 유전자요법 또는 호르몬제인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 11.
제 10 항에 있어서, 암 치료약물은 화학약물이고, 상기 화학약물은 다카바진, 도세탁셀, 파클리탁셀, 시스플라틴, 5-플루오르우라실, 독소루비신, 에토포시드, 사이클로포스파마이드, 플루다라빈, 이리노테칸 또는 시토신 아라비노시드(Ara-C)인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 12.
제 6 항 또는 10 항에 있어서, 암 치료약물은 감소된 용량으로 투여되는 것 을 특징으로 하는 방법.

청구항 13.
제 1 항 내지 3 항 또는 6 항중 어느 한 항에 있어서, 투여는 경구, 정맥내 주입, 피하 주사, 근육내 주사, 국소, 데포(depo) 주사, 이식, 시간-방출 모드, 공동내, 비강내, 흡입, 종양내 또는 안구내 투여인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 14.
제 1 항 내지 3 항 또는 6 항중 어느 한 항에 있어서, 암은 조혈계, 피부, 뼈와 연조직, 생식기계, 비뇨생식기계, 유방, 내분비계, 뇌, 중추신경계, 말초신경계, 폐, 호흡기, 흉부, 위장과 소화관, 림프절, 췌장, 간담도계의 암, 또는 원발부위 불명의 암인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 15.

제 1 항 내지 3 항 또는 6 항중 어느 한 항에 있어서, 암은 비-홉킨슨 림프종, 홉킨슨 림프종, 백혈병, 결장암종, 직장암종, 췌장암, 유방암, 난소암, 전립선암, 신세포암종, 간암, 담관암종, 융모막암종, 자궁경부암, 고환암, 폐암, 방광암종, 흑색종, 두경부암 또는 뇌암인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 16.
제 1 항 내지 3 항 또는 6 항중 어느 한 항에 있어서, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 10 내지 35개의 염기이고, bcl-2 유전자를 인코드하는 전구-mRNA이나 mRNA에 상보적인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 17.
제 16 항에 있어서, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 적어도 2개의 포스포로티오에이트 결합을 보유하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 18.
제 17 항에 있어서, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 서열 TCTCCCAGCGTGCGCCAT(SEQ. ID. NO.:17)로 구성되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 19.
사람에서 암을 예방 또는 치료하는 방법에 있어서, 상기 방법은 이런 치료 또는 예방이 필요한 사람에게 1회이상의 치료 사이클동안 한가지이상의 화학약물 및 0.01 내지 50 mg/kg/day 용량의 bcl-2 안티센스 올리고뉴클레오티드를 투여하는 것으로 구성되고, 상기 화학약물은 다카바진, 도세탁셀, 파클리탁셀, 시스플라틴, 5-플루오르우라실, 독소루비신, 에토포시드, 사이클로포스파마이드, 플루다라빈, 이리노테칸 또는 시토신 아라비노시드(Ara-C)이며 감소된 용량으로 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 20.
제 19 항에 있어서, 암 치료약물은 파클리탁셀이고, 용량은 10 내지 135 mg/㎡/cycle인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 21.
제 19 항에 있어서, 암 치료약물은 도세탁셀이고, 용량은 6 내지 60 mg/㎡/cycle인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 22.
제 19 항에 있어서, 암 치료약물은 플루다라빈이고, 용량은 2.5 내지 25 mg/㎡/cycle인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 23.
제 19 항에 있어서, 암 치료약물은 이리노테칸이고, 용량은 5 내지 50 mg/㎡/cycle인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 24.
0.01 내지 50 mg/kg/day 용량의 bcl-2 안티센스 올리고뉴클레오티드 및 제약학적으로 수용가능한 담체로 구성되는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 25.
10 내지 50 mg/kg/day 용량의 bcl-2 안티센스 올리고뉴클레오티드 및 제약학적으로 수용가능한 담체로 구성되는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 26.
제 24 항 또는 25 항에 있어서, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 10 내지 35개의 염기이고, bcl-2 유전자를 인코드하는 전구-mRNA이나 mRNA에 상보적인 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 27.
제 26 항에 있어서, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 적어도 2개의 포스포로티오에이트 결합을 보유하는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 28.
제 27 항에 있어서, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 서열 TCTCCCAGCGTGCGCCAT(SEQ. ID. NO.:17)로 구성되는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 29.

감소된 용량의 암 치료약물과 함께 0.01 내지 50 mg/kg/day 용량의 bcl-2 안티센스 올리고뉴클레오티드 및 제약학적으로 수용가능한 담체로 구성되는 제약학적 조성물에 있어서, 상기 치료약물은 다카바진, 도세탁셀, 파클리탁셀, 시스플라틴, 5-플루오르우라실, 독소루비신, 에토포시드, 사이클로포스파마이드, 플루다라빈, 이리노테칸 또는 시토신 아라비노시드(Ara-C)인 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 30.
감소된 용량의 암 치료약물과 함께 10 내지 50 mg/kg/day 용량의 bcl-2 안티센스 올리고뉴클레오티드 및 제약학적으로 수용가능한 담체로 구성되는 제약학적 조성물에 있어서, 상기 치료약물은 다카바진, 도세탁셀, 파클리탁셀, 시스플라틴, 5-플루오르우라실, 독소루비신, 에토포시드, 사이클로포스파마이드, 플루다라빈, 이리노테칸 또는 시토신 아라비노시드(Ara-C)인 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

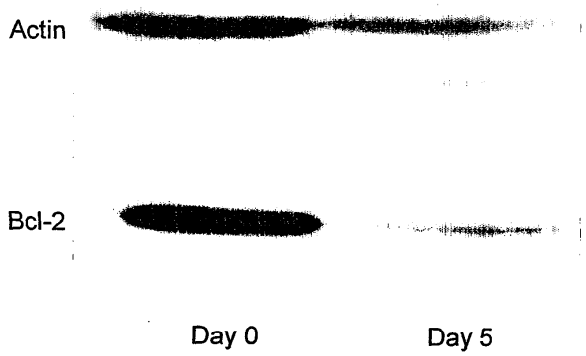
청구항 31.
제 29 항 또는 30 항에 있어서, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 10 내지 35개의 염기이고, bcl-2 유전자를 인코드하는 전구-mRNA이나 mRNA에 상보적인 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 32.
제 31 항에 있어서, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 적어도 2개의 포스포로티오에이트 결합을 보유하는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

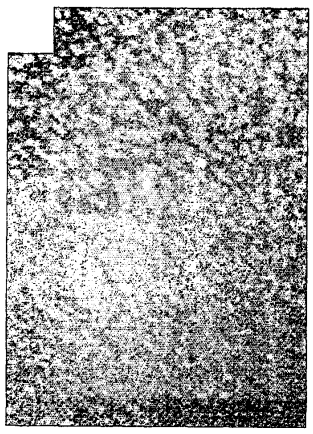
청구항 33.
제 32 항에 있어서, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 서열 TCTCCCAGCGTGCGCCAT(SEQ. ID. NO.:17)로 구성되는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

도면

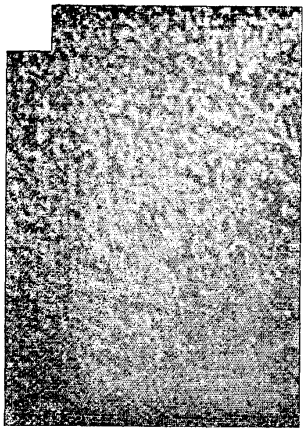
도면1



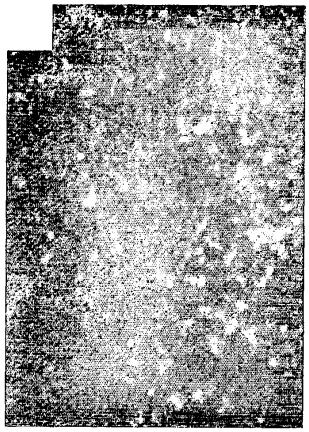
도면2a



도면2b

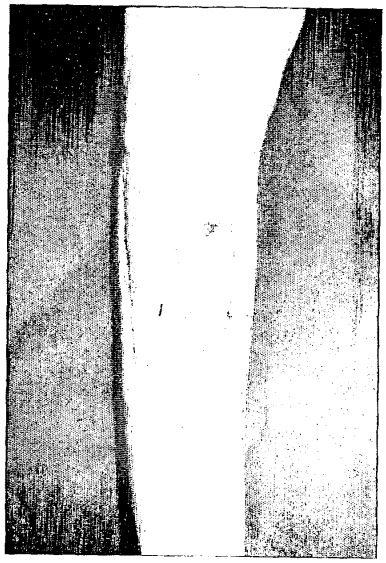


도면2c

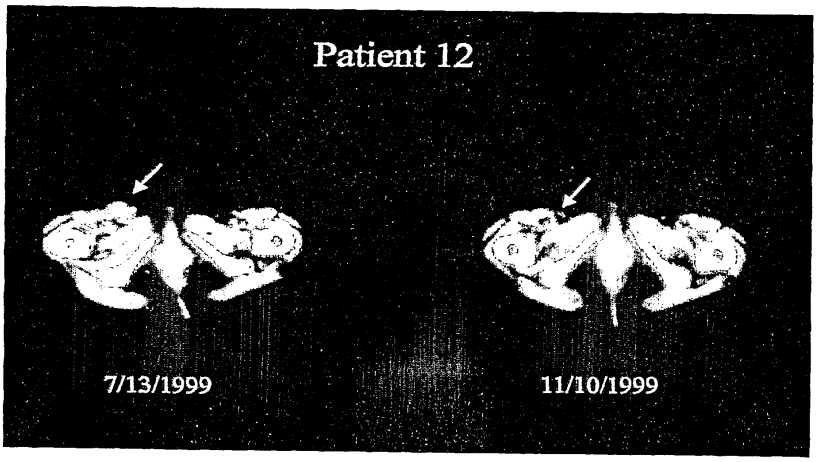


도면3a

도면3b



도면3c



SEQUENCE LISTING

<110> Warrell, Raymond

Klem, Robert

Fingert, Howard

<120> METHODS OF TREATMENT OF A BCL-2 DISORDER USING BCL-2 ANTISENSE OLIGOMERS

<130> 10412-033-228

<140> To be assigned

<141> 2001-08-24

<150> 09/709,170

<151> 2000-11-10

<150> 60/237,009

<151> 2000-09-29

<160> 29

<170> PatentIn version 3.0

<210> 1

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

cagcgtgcgc catccttccc 20

<210> 2

<211> 35

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 2

cttttcctct gggaaggatg gcgcacgctg ggaga 35

<210> 3

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 3

gatgcaccta cccagcctcc 20

<210> 4

<211> 33

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 4

acggggtacg gaggctgggt aggtgcatct ggt 33

<210> 5

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 5

acaaaggcat cctgcagttg 20

<210> 6

<211> 36

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 6

ccccccaactg caggatgcct ttgtggaact gtacgg 36

<210> 7

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 7

gggaaggatg gcgcacgctg 20

<210> 8

<211> 17

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 8

cgcgtgcgac cctcttg 17

<210> 9

<211> 17

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 9

taccgcgtgc gaccctc 17

<210> 10

<211> 17

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 10

tcctaccgcg tgcgacc 17

<210> 11

<211> 17

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 11

ccttcctacc gcgtgcg 17

<210> 12

<211> 17

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 12

gacccttcct accgcgt 17

<210> 13

<211> 17

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 13

ggagaccctt cctaccg 17

<210> 14

<211> 15

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 14

gcggcggcag cgcgg 15

<210> 15

<211> 15

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 15

cggcggggcg acgga 15

<210> 16

<211> 16

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 16

cgggagcgcg gcgggc 16

<210> 17

<211> 18

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 17

tctcccagcg tgcgccat 18

<210> 18

<211> 18

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 18

tgcactcacg ctcggcct 18

<210> 19

<211> 5086

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 19

gcgcccgccc ctccgcgccg cctgcccgcc cgcccgccgc gctcccgccc gccgctctcc 60

gtggccccgc cgcgctgccg ccgccgccgc tgccagcgaa ggtgccgggg ctccgggccc 120

tccctgccgg cggccgtcag cgctcggagc gaactgcgcg acgggaggtc cgggaggcga 180

ccgtagtcgc gccgccgcgc aggaccagga ggaggagaaa gggtgcgcag cccggaggcg 240

gggtgcgccg gtggggtgca gcggaagagg gggtccaggg gggagaactt cgtagcagtc 300

atccttttta ggaaaagagg gaaaaaataa aaccctcccc caccacctcc ttctccccac 360

ccctcgccgc accacacaca gcgcgggctt ctagcgctcg gcaccggcgg gccaggcgcg 420

tcctgccttc atttatccag cagcttttcg gaaaatgcat ttgctgttcg gagtttaatc 480

agaagacgat tcctgcctcc gtccccggct ccttcatcgt cccatctccc ctgtctctct 540

cctggggagg cgtgaagcgg tcccgtggat agagattcat gcctgtgtcc gcgcgtgtgt 600

gcgcgcgtat aaattgccga gaaggggaaa acatcacagg acttctgcga ataccggact 660

gaaaattgta attcatctgc cgccgccgct gccaaaaaaa aactcgagct cttgagatct 720

ccggttggga ttcctgcgga ttgacatttc tgtgaagcag aagtctggga atcgatctgg 780

aaatcctcct aatttttact ccctctcccc ccgactcctg attcattggg aagtttcaaa 840

tcagctataa ctggagagtg ctgaagattg atgggatcgt tgccttatgc atttgttttg 900

gttttacaaa aaggaaactt gacagaggat catgctgtac ttaaaaaata caagtaagtc 960

tcgcacagga aattggttta atgtaacttt caatggaaac ctttgagatt ttttacttaa 1020

agtgcattcg agtaaattta atttccaggc agcttaatac attgttttta gccgtgttac 1080

ttgtagtgtg tatgccctgc tttcactcag tgtgtacagg gaaacgcacc tgatttttta 1140

cttattagtt tgtttttct ttaacctttc agcatcacag aggaagtaga ctgatattaa 1200

caatacttac taataataac gtgcctcatg aaataaagat ccgaaaggaa ttggaataaa 1260

aatttcctgc gtctcatgcc aagagggaaa caccagaatc aagtgttccg cgtgattgaa 1320

gacacccccct cgtccaagaa tgcaaagcac atccaataaa atagctggat tataactcct 1380

cttctttctc tgggggccgt ggggtgggag ctggggcgag aggtgccgtt ggcccccgtt 1440

gcttttcctc tgggaaggat ggcgcacgct gggagaacgg ggtacgacaa ccgggagata 1500

gtgatgaagt acatccatta taagctgtcg cagaggggct acgagtggga tgcgggagat 1560

gtgggcgccg cgccccgggg ggccgccccc gcaccgggca tcttctcctc ccagcccggg 1620

cacacgcccc atccagccgc atcccgcgac ccggtcgcca ggacctcgcc gctgcagacc 1680

ccggctgccc ccggcgccgc cgcggggcct gcgctcagcc cggtgccacc tgtggtccac 1740

ctggccctcc gccaagccgg cgacgacttc tcccgccgct accgcggcga cttcgccgag 1800

atgtccagcc agctgcacct gacgcccttc accgcgcggg gacgctttgc cacggtggtg 1860

gaggagctct tcagggacgg ggtgaactgg gggaggattg tggccttctt tgagttcggt 1920

ggggtcatgt gtgtggagag cgtcaaccgg gagatgtcgc ccctggtgga caacatcgcc 1980

ctgtggatga ctgagtacct gaaccggcac ctgcacacct ggatccagga taacggaggc 2040

tgggatgcct ttgtggaact gtacggcccc agcatgcggc ctctgtttga tttctcctgg 2100

ctgtctctga agactctgct cagtttggcc ctggtgggag cttgcatcac cctgggtgcc 2160

tatctgagcc acaagtgaag tcaacatgcc tgccccaaac aaatatgcaa aaggttcact 2220

aaagcagtag aaataatatg cattgtcagt gatgtaccat gaaacaaagc tgcaggctgt 2280

ttaagaaaaa ataacacaca tataaacatc acacacacag acagacacac acacacacaa 2340

caattaacag tcttcaggca aaacgtcgaa tcagctattt actgccaaag ggaaatatca 2400

tttatttttt acattattaa gaaaaaagat ttatttattt aagacagtcc catcaaaact 2460

ccgtctttgg aaatccgacc actaattgcc aaacaccgct tcgtgtggct ccacctggat 2520

gttctgtgcc tgtaaacata gattcgcttt ccatgttgtt ggccggatca ccatctgaag 2580

agcagacgga tggaaaaagg acctgatcat tggggaagct ggctttctgg ctgctggagg 2640

ctggggagaa ggtgttcatt cacttgcatt tctttgccct gggggcgtga tattaacaga 2700

gggagggttc ccgtgggggg aagtccatgc ctccctggcc tgaagaagag actctttgca 2760

tatgactcac atgatgcata cctggtggga ggaaaagagt tgggaacttc agatggacct 2820

agtacccact gagatttcca cgccgaagga cagcgatggg aaaaatgccc ttaaatcata 2880

ggaaagtatt tttttaagct accaattgtg ccgagaaaag cattttagca atttatacaa 2940

tatcatccag taccttaaac cctgattgtg tatattcata tattttggat acgcaccccc 3000

caactcccaa tactggctct gtctgagtaa gaaacagaat cctctggaac ttgaggaagt 3060

gaacatttcg gtgacttccg atcaggaagg ctagagttac ccagagcatc aggccgccac 3120

aagtgcctgc ttttaggaga ccgaagtccg cagaacctac ctgtgtccca gcttggaggc 3180

ctggtcctgg aactgagccg ggccctcact ggcctcctcc agggatgatc aacagggtag 3240

tgtggtctcc gaatgtctgg aagctgatgg atggagctca gaattccact gtcaagaaag 3300

agcagtagag gggtgtggct gggcctgtca ccctggggcc ctccaggtag gcccgttttc 3360

acgtggagca taggagccac gacccttctt aagacatgta tcactgtaga gggaaggaac 3420

agaggccctg ggccttccta tcagaaggac atggtgaagg ctgggaacgt gaggagaggc 3480

aatggccacg gcccattttg gctgtagcac atggcacgtt ggctgtgtgg ccttggccac 3540

ctgtgagttt aaagcaaggc tttaaatgac tttggagagg gtcacaaatc ctaaaagaag 3600

cattgaagtg aggtgtcatg gattaattga cccctgtcta tggaattaca tgtaaaacat 3660

tatcttgtca ctgtagtttg gttttatttg aaaacctgac aaaaaaaaag ttccaggtgt 3720

ggaatatggg ggttatctgt acatcctggg gcattaaaaa aaaatcaatg gtggggaact 3780

ataaagaagt aacaaaagaa gtgacatctt cagcaaataa actaggaaat ttttttttct 3840

tccagtttag aatcagcctt gaaacattga tggaataact ctgtggcatt attgcattat 3900

ataccattta tctgtattaa ctttggaatg tactctgttc aatgtttaat gctgtggttg 3960

atatttcgaa agctgcttta aaaaaataca tgcatctcag cgtttttttg tttttaattg 4020

tatttagtta tggcctatac actatttgtg agcaaaggtg atcgttttct gtttgagatt 4080

tttatctctt gattcttcaa aagcattctg agaaggtgag ataagccctg agtctcagct 4140

acctaagaaa aacctggatg tcactggcca ctgaggagct ttgtttcaac caagtcatgt 4200

gcatttccac gtcaacagaa ttgtttattg tgacagttat atctgttgtc cctttgacct 4260

tgtttcttga aggtttcctc gtccctgggc aattccgcat ttaattcatg gtattcagga 4320

ttacatgcat gtttggttaa acccatgaga ttcattcagt taaaaatcca gatggcgaat 4380

gaccagcaga ttcaaatcta tggtggtttg acctttagag agttgcttta cgtggcctgt 4440

ttcaacacag acccacccag agccctcctg ccctccttcc gcgggggctt tctcatggct 4500

gtccttcagg gtcttcctga aatgcagtgg tcgttacgct ccaccaagaa agcaggaaac 4560

ctgtggtatg aagccagacc tccccggcgg gcctcaggga acagaatgat cagacctttg 4620

aatgattcta atttttaagc aaaatattat tttatgaaag gtttacattg tcaaagtgat 4680

gaatatggaa tatccaatcc tgtgctgcta tcctgccaaa atcattttaa tggagtcagt 4740

ttgcagtatg ctccacgtgg taagatcctc caagctgctt tagaagtaac aatgaagaac 4800

gtggacgttt ttaatataaa gcctgttttg tcttttgttg ttgttcaaac gggattcaca 4860

gagtatttga aaaatgtata tatattaaga ggtcacgggg gctaattgct agctggctgc 4920

cttttgctgt ggggttttgt tacctggttt taataacagt aaatgtgccc agcctcttgg 4980

ccccagaact gtacagtatt gtggctgcac ttgctctaag agtagttgat gttgcatttt 5040

ccttattgtt aaaaacatgt tagaagcaat gaatgtatat aaaagc 5086

<210> 20

<211> 717

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 20

atggcgcacg ctgggagaac ggggtacgac aaccgggaga tagtgatgaa gtacatccat 60

tataagctgt cgcagagggg ctacgagtgg gatgcgggag atgtgggcgc cgcgcccccg 120

ggggccgccc ccgcaccggg catcttctcc tcccagcccg ggcacacgcc ccatccagcc 180

gcatcccgcg acccggtcgc caggacctcg ccgctgcaga ccccggctgc ccccggcgcc 240

gccgcggggc ctgcgctcag cccggtgcca cctgtggtcc acctggccct ccgccaagcc 300

ggcgacgact tctcccgccg ctaccgcggc gacttcgccg agatgtccag ccagctgcac 360

ctgacgccct tcaccgcgcg gggacgcttt gccacggtgg tggaggagct cttcagggac 420

ggggtgaact gggggaggat tgtggccttc tttgagttcg gtggggtcat gtgtgtggag 480

agcgtcaacc gggagatgtc gcccctggtg gacaacatcg ccctgtggat gactgagtac 540

ctgaaccggc acctgcacac ctggatccag gataacggag gctgggatgc ctttgtggaa 600

ctgtacggcc ccagcatgcg gcctctgttt gatttctcct ggctgtctct gaagactctg 660

ctcagtttgg ccctggtggg agcttgcatc accctgggtg cctatctgag ccacaag 717

<210> 21

<211> 239

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

Met Ala His Ala Gly Arg Thr Gly Tyr Asp Asn Arg Glu Ile Val Met
1 5 10 15

Lys Tyr Ile His Tyr Lys Leu Ser Gln Arg Gly Tyr Glu Trp Asp Ala
20 25 30

Gly Asp Val Gly Ala Ala Pro Pro Gly Ala Ala Pro Ala Pro Gly Ile
35 40 45

Phe Ser Ser Gln Pro Gly His Thr Pro His Pro Ala Ala Ser Arg Asp
50 55 60

Pro Val Ala Arg Thr Ser Pro Leu Gln Thr Pro Ala Ala Pro Gly Ala
65 70 75 80

Ala Ala Gly Pro Ala Leu Ser Pro Val Pro Pro Val Val His Leu Ala
85 90 95

Leu Arg Gln Ala Gly Asp Asp Phe Ser Arg Arg Tyr Arg Gly Asp Phe
100 105 110

Ala Glu Met Ser Ser Gln Leu His Leu Thr Pro Phe Thr Ala Arg Gly
115 120 125

Arg Phe Ala Thr Val Val Glu Glu Leu Phe Arg Asp Gly Val Asn Trp
130 135 140
Gly Arg Ile Val Ala Phe Phe Glu Phe Gly Gly Val Met Cys Val Glu
145 150 155 160
Ser Val Asn Arg Glu Met Ser Pro Leu Val Asp Asn Ile Ala Leu Trp
165 170 175
Met Thr Glu Tyr Leu Asn Arg His Leu His Thr Trp Ile Gln Asp Asn
180 185 190
Gly Gly Trp Asp Ala Phe Val Glu Leu Tyr Gly Pro Ser Met Arg Pro
195 200 205
Leu Phe Asp Phe Ser Trp Leu Ser Leu Lys Thr Leu Leu Ser Leu Ala
210 215 220
Leu Val Gly Ala Cys Ile Thr Leu Gly Ala Tyr Leu Ser His Lys
225 230 235

<210> 22
<211> 615
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 22

atggcgcacg ctgggagaac ggggtacgac aaccgggaga tagtgatgaa gtacatccat 60
tataagctgt cgcagagggg ctacgagtgg gatgcgggag atgtgggcgc cgcgcccccg 120
ggggccgccc ccgcaccggg catcttctcc tcccagcccg ggcacacgcc ccatccagcc 180
gcatcccgcg acccggtcgc caggacctcg ccgctgcaga ccccggctgc ccccggcgcc 240
gccgcggggc ctgcgctcag cccggtgcca cctgtggtcc acctggccct ccgccaagcc 300
ggcgacgact tctcccgccg ctaccgcggc gacttcgccg agatgtccag ccagctgcac 360
ctgacgccct tcaccgcgcg gggacgcttt gccacggtgg tggaggagct cttcagggac 420
ggggtgaact gggggaggat tgtggccttc tttgagttcg gtggggtcat gtgtgtggag 480
agcgtcaacc gggagatgtc gcccctggtg gacaacatcg ccctgtggat gactgagtac 540
ctgaaccggc acctgcacac ctggatccag gataacggag gctgggtagg tgcatctggt 600
gatgtgagtc tgggc 615

<210> 23
<211> 205
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 23

Met Ala His Ala Gly Arg Thr Gly Tyr Asp Asn Arg Glu Ile Val Met
1 5 10 15

Lys Tyr Ile His Tyr Lys Leu Ser Gln Arg Gly Tyr Glu Trp Asp Ala
20 25 30

Gly Asp Val Gly Ala Ala Pro Pro Gly Ala Ala Pro Ala Pro Gly Ile
35 40 45

Phe Ser Ser Gln Pro Gly His Thr Pro His Pro Ala Ala Ser Arg Asp
50 55 60

Pro Val Ala Arg Thr Ser Pro Leu Gln Thr Pro Ala Ala Pro Gly Ala
65 70 75 80

Ala Ala Gly Pro Ala Leu Ser Pro Val Pro Pro Val Val His Leu Ala
85 90 95

Leu Arg Gln Ala Gly Asp Asp Phe Ser Arg Arg Tyr Arg Gly Asp Phe
100 105 110

Ala Glu Met Ser Ser Gln Leu His Leu Thr Pro Phe Thr Ala Arg Gly
115 120 125

Arg Phe Ala Thr Val Val Glu Glu Leu Phe Arg Asp Gly Val Asn Trp
130 135 140

Gly Arg Ile Val Ala Phe Phe Glu Phe Gly Gly Val Met Cys Val Glu
145 150 155 160

Ser Val Asn Arg Glu Met Ser Pro Leu Val Asp Asn Ile Ala Leu Trp
165 170 175

Met Thr Glu Tyr Leu Asn Arg His Leu His Thr Trp Ile Gln Asp Asn
180 185 190

Gly Gly Trp Val Gly Ala Ser Gly Asp Val Ser Leu Gly
195 200 205

<210> 24

<211> 18

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 24

tctcccagcg tgcgccat 18

<210> 25

<211> 17

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 25

tgcactcacc tcggcct 17

<210> 26

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 26

gcgcggcggg cgggcgggca 20

<210> 27

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 27

gggcggaggc cggccggcgg 20

<210> 28

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 28

agcggcggcg gcggcagcgc 20

<210> 29

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 29

gggccgggaa gggcgcccgc 20