(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년10월01일
(11) 등록번호 10-2004554
(24) 등록일자 2019년07월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) *A61P 17/00* (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-7028813
(22) 출원일자(국제) 2012년04월02일
심사청구일자 2017년03월07일
(85) 번역문제출일자 2013년10월30일
(65) 공개번호 10-2014-0033036
(43) 공개일자 2014년03월17일
(86) 국제출원번호 PCT/US2012/031803
(87) 국제공개번호 WO 2012/135812
국제공개일자 2012년10월04일
(30) 우선권주장
61/470,538 2011년04월01일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
US20100221179 A1*
WO1995024917 A1*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
엑스바이오테크, 인크.
캐나다, 비씨 브이6이 2이9, 밴쿠버, 스윗 300, 1055 웨스트 해스팅스 스트릿
(72) 발명자
시마드, 존
미국, 텍사스 78744, 오스틴, 수트 100, #4, 비엘 디쥐, 8201 이스트 리버사이드 드라이브
(74) 대리인
손민

전체 청구항 수 : 총 5 항 심사관 : 김영수

(54) 발명의 명칭 **피부과학적 병리의 치료**

(57) 요 약

인간 대상체의 피부 염증을 약제학적으로 허용되는 담체, 및 IL-1α αα에 선택적으로 결합하는 제제의 치료학적 유효량을 포함하는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여함으로써 감소시킨다.

명 세 서

청구범위

청구항 1

항 IL-1α 항체를 포함하는, 심상성 건선(psoriasis vulgaris) 치료용 약제학적 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 항 IL-1α 항체는 단일클론 항체인 것을 특징으로 하는, 심상성 건선 치료용 약제학적 조성물.

청구항 3

제 2항에 있어서, 단일클론 항체는 IgG1인 것을 특징으로 하는, 심상성 건선 치료용 약제학적 조성물.

청구항 4

제 2항에 있어서, 단일클론 항체는 MABp1의 상보성 결정 영역 (complementarity determining region)을 포함하는 것을 특징으로 하는, 심상성 건선 치료용 약제학적 조성물.

청구항 5

제 2항에 있어서, 단일클론 항체는 MABp1인 것을 특징으로 하는, 심상성 건선 치료용 약제학적 조성물.

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원과의 상호참조

[0002] 본 출원은 2011년 4월 1일에 출원된 미국 가출원 번호 제61/470,538호로부터의 우선권을 주장한다.

[0003] 연방 지원 연구에 관한 진술

[0004] 해당사항 없음.

[0005] 기술분야

[0006] 본 발명은 대체로 의학, 피부과학, 및 면역학 분야에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 피부 염증을 감소시키고 심상성 건선(psoriasis vulgaris) 및 심상성 여드름(acne vulgaris)을 포함한 염증성 피부 질환을 치료하기 위한, 인터류킨-1α(IL-1α)에 특이적으로 결합하는 항체(Ab)의 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0007] 수 백만 명의 사람들이 염증성 피부 장애인 여드름, 장미증 및 건선에 걸려 있다. 통상 치명적이지는 않지만, 이러한 병태(condition)는 신체적 불편을 일으킬 수 있고 감정적 안정에 영향을 줄 수 있다. 현재, 코르티코스테로이드, 비타민 D 유사체, 콜 타르, 자외광, 레티노이드, 메토트렉세이트, 사이클로스포린, 하이드록시우레아, 항생제 및 생물학적 제제, 예컨대 TNF알파 억제제를 포함한 염증성 피부 장애를 위한 다수의 상이한 치료제가 존재한다. 이들 요법은 많은 환자에게 유용한 것으로 입증되어 있지만, 다수가 바람직하지 않은 부작용을 일으키며, 어느 것도 모든 상황에 대해 이상적이지는 않다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 피부과학적 병리의 치료를 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명은 IL-1α에 특이적으로 결합하는 mAb가 피부 염증을 감소시키는 데뿐만 아니라 심상성 건선 및 심상성 여드름을 포함한 염증성 피부 질환을 치료하는 데에도 유용하다는 발견에 기초한다. 이러한 발견은 건선성 피부에서 IL-1α 수준이 감소된다는 이전 보고서(예를 들어, 문헌[Bonifati et al., J Biol Regul Homeost Agents. 1997 Oct-Dec; 11(4):133-6]) 및 건선의 발생에서 원인 인자(causative agent)로서 아나킨라(IL-1 수용체 길항제)가 관여되었음을 보여주는 보고서(문헌[Gonzalez-Lopez et al., British Journal of Dermatology, 158:1146-1148, 2008])를 포함한 다수의 이유로 놀라운 일이었다.

[0010] 따라서, 본 발명은 인간 대상체에게서 피부 염증을 감소시키는 방법을 특징으로 한다. 이 방법은 약제학적으로 허용되는 담체, 및 대상체에게서 피부 염증을 감소시키기에 유효한 IL-1α에 선택적으로 결합하는 제제의 양을 포함하는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 제제는 항 IL-1α 항체, 예컨대 단일클론 항체(예를 들어, IgG1 이소형(isotype)의 것), MABp1의 상보성 결정 영역(complementarity determining region)을 포함하는 단일클론 항체, 또는 MABp1일 수 있다. 피부 염증은 심상성 여드름 및/또는 심상성 건선과 관련될 수 있다.

[0011] 예를 들어, 본 발명의 한 양태는 약제학적으로 허용되는 담체, 및 인간 대상체에게서 피부 염증(예를 들어, 발적, 부기, 백혈구 침윤 또는 병변 발생)의 증상을, 임의의 표준 피부과학적 시험에 의해 측정했을 때 적어도 약 10%(예를 들어, 적어도 8%, 9%, 10%, 15%, 17%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 100%) 감소시키기에 유효한 항 IL-1α Ab(또는 IL-1α에 특이적으로 및/또는 선택적으로 결합하는 기타 다른 제제)의 양을 포함하는 약제학적 조성물을 인간 대상체에게 투여함으로써 인간 대상체에게서 피부 염증을 감소시키는 방법을 특징으로 한다. 항 IL-1α Ab는 mAb, 예컨대 IgG1일 수 있다. 항 IL-1α Ab는 MABp1로 지정된 mAb이거나, 또는 MABp1의 하나 이상의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 mAb일 수 있다. 피부 염증은 여드름 또는 건선과 관련

될 수 있다. 약제학적 조성물은 대상체에게 주사에 의해, 피하, 정맥내, 근육내 또는 진피내 투여될 수 있다. 이 방법에서, 용량은 적어도 0.25mg/ml(예를 들어, 적어도 0.2mg/ml, 0.5mg/ml, 0.75mg/ml, 1mg/ml, 2mg/ml, 3mg/ml, 4mg/ml 또는 5mg/ml)일 수 있다.

[0012] 다른 양태에서, 본 발명은 대상체에게서 피부 염증을 치료하기 위한, IL-1α에 선택적으로 결합하는 제제의 용도, 및 IL-1α에 선택적으로 결합하는 제제를 포함하는, 대상체에게서 피부 염증을 치료하기 위한 약제학적 조성물을 포함한다. 전술한 내용에서, 제제는 항 IL-1α?항체, 예컨대 단일클론 항체(예를 들어, IgG1 이소형의 것), MABp1의 상보성 결정 영역을 포함하는 단일클론 항체, 또는 MABp1일 수 있으며, 피부 염증은 심상성 여드름 및/또는 심상성 건선과 관련될 수 있다.

[0013] 달리 정의하지 않는 한, 본 명세서에 사용된 모든 기술적 용어는 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 일반적으로 이해하는 바와 같은 의미를 갖는다. 일반적으로 이해되는 생물학 용어의 정의는 문헌[Rieger et al., Glossary of Genetics: Classical and Molecular, 5th edition, Springer-Verlag: New York, 1991]; 및 문헌[Lewin, Genes V, Oxford University Press: New York, 1994]에서 찾아볼 수 있다. 일반적으로 이해되는 의학 용어의 정의는 문헌[Stedman' s Medical Dictionary, 27th Edition, Lippincott, Williams & Wilkins, 2000]에서 찾아볼 수 있다.

[0014] 본 명세서에 사용된 바와 같이, "항체" 또는 "Ab"는 면역글로불린(Ig), 동일 또는 이종 Ig의 용액, 또는 Ig의 혼합물이다. "Ab"는 또한 Ig의 단편 및 조작된 변형체(engineered version), 예컨대 Fab, Fab' 및 F(ab')$_2$ 단편; 및 scFv, 이종접합체 Ab, 및 Ig 유도CDR을 이용하여 항원 특이성을 부여하는 유사한 인공 분자를 말할 수도 있다. "단일클론 항체" 또는 "mAb"는 특정 항원의 특정 에피토프와 면역반응을 할 수 있는 단지 1종의 항원 결합 부위만을 함유하는 하나의 클론성 B 세포주 또는 Ab 분자 집단으로 표현되는 Ab이다. "다클론 Ab"는 이종 Ab의 혼합물이다. 통상적으로, 다클론 Ab는 특정 항원을, 그 항원의 상이한 에피토프와 면역반응하는 상이한 Ab 중 적어도 일부와 결합시키는 무수히 많은 상이한 Ab 분자를 포함할 것이다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, 다클론 Ab는 둘 이상의 mAb의 혼합물일 수 있다.

[0015] Ab의 "항원 결합 부분"은 Ab의 Fab 부분의 가변 영역(variable region) 내에 함유되어 있으며, Ab에 항원 특이성을 부여하는 Ab의 일부분(즉, 통상적으로 Ab의 중쇄와 경쇄의 CDR에 의해 형성된 3차원 포켓)이다. "Fab 부분" 또는 "Fab 영역"은 파파인으로 소화된(papain-digested) Ig의 단백질 가수분해 단편인데, 이 단편은 그 Ig의 항원 결합 부분을 함유한다. "비 Fab 부분"은 Fab 부분 내가 아닌 Ab의 그 일부분, 예를 들어 "Fc 부분" 또는 "Fc 영역"이다. Ab의 "불변 영역(constant region)"은 가변 영역 외부에 있는 Ab의 그 일부분이다. 불변 영역 내에 일반적으로 포함되는 부분은 Ab의 "이펙터 부분"인데, 이 부분은 면역 반응을 촉진하는 기타 다른 면역계 성분의 결합을 담당하는 Ab의 일부분이다. 따라서, 예를 들어 보체 성분 또는 Fc 수용체에 (항원 결합 부분을 통하지 않고) 결합하는 Ab 상의 부위는 그 Ab의 이펙터 부분이다.

[0016] Ab와 같은 단백질 분자를 언급할 때, "정제된"은 그러한 분자들을 자연적으로 동반하는 성분들로부터 분리됨을 의미한다. 통상적으로, Ab 또는 단백질은 그것이 자연적으로 회합되어 있는 비 Ab 단백질 또는 기타 다른 자연 발생적 유기 분자들이 중량 기준으로 적어도 약 10%(예컨대, 9%, 10%, 20%, 30% 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99.9% 및 100%)가 없을 경우에 정제된 것이다. 순도는 임의의 적절한 방법, 예를 들어 컬럼 크로마토그래피, 폴리아크릴아미드 겔 전기영동 또는 HPLC 분석으로 측정될 수 있다. 화학적으로 합성된 단백질, 또는 자연적으로 발생하는 세포 유형 이외의 세포 유형에서 생산된 기타 다른 재조합 단백질은 "정제된" 것이다.

[0017] "~에 결합하다", "~에 결합한다" 또는 "~와 반응한다"는 한 분자가 샘플 내의 특정 제2 분자를 인식하고 그것에 부착하지만, 샘플 내의 기타 다른 분자를 실질적으로 인식하거나 그것에 부착하지는 않음을 의미한다. 일반적으로, 또 다른 분자에 "특이적으로 결합하는" Ab는 기타 다른 분자에 대해 약 10^5리터/몰, 10^6리터/몰, 10^7리터/몰, 10^8리터/몰, 10^9리터/몰, 10^{10}리터/몰, 10^{11}리터/몰 또는 10^{12}리터/몰 초과의 Kd를 갖는다. 제1 분자에 "선택적으로 결합하는" Ab는 제1 에피토프에서 제1 분자에 특이적으로 결합하지만, 제1 에피토프를 갖지 않는 기타 다른 분자에는 특이적으로 결합하지 않는다. 예를 들어, IL-1알파에 선택적으로 결합하는 Ab는 IL-1알파 상의 에피토프에 특이적으로 결합하지만, IL-1베타(이는 그 에피토프를 갖지 않음)에는 특이적으로 결합하지 않는다.

[0018] "치료학적 유효량"은 치료된 동물 또는 인간에게서 의학적으로 바람직한 효과(예를 들어, 질환 또는 질환의

증상의 개선 또는 예방)를 생성할 수 있는 양이다.

[0019] 본 명세서에 기술된 것들과 유사하거나 등가인 방법 및 재료가 본 발명의 실시 또는 시험에서 사용될 수 있지만, 적합한 방법 및 재료를 하기에 기술한다. 본 명세서에 언급된 모든 출원 및 간행물은 그들의 전문이 참고로 포함된다. 상충하는 경우에는, 정의를 포함한 본 명세서가 우선할 것이다. 게다가, 하기에 논의된 특정 실시형태는 단지 예시적이며 제한하고자 하는 것은 아니다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0020] 본 발명은 대상체에게서 피부과학적 병리의 하나 이상의 증상을 개선하는 것을 포함하는, 피부 염증을 감소시키기 위한 조성물 및 방법을 포함한다. 하기에 기술된 바람직한 실시형태는 이러한 조성물 및 방법의 응용(adaptation)을 설명한다. 그럼에도 불구하고, 이들 실시형태에 관한 설명으로부터, 본 발명의 다른 양태가 하기에 제공된 설명에 기초하여 이루어지고/이루어지거나 실시될 수 있다.

[0021] 일반적 방법론

[0022] 종래의 면역학적 및 분자 생물학적 기법을 수반하는 방법을 본 명세서에서 설명한다. 면역학적 방법(예를 들어, 항원-Ab 복합체의 검출 및 위치선정을 위한 검정, 면역침강, 면역블로팅 등)이 당업계에 일반적으로 알려져 있으며, 문헌[Current Protocols in Immunology, Coligan et al., ed., John Wiley & Sons, New York]과 같은 방법론 논문에 기술되어 있다. 분자 생물학 기법은 문헌[Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed., vol. 1-3, Sambrook et al., ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 2001]; 및 문헌[Current Protocols in Molecular Biology, Ausubel et al., ed., Greene Publishing and Wiley-Interscience, New York]과 같은 논문에 상세히 기술되어 있다. Ab 방법은 문헌[Handbook of Therapeutic Abs, Dubel, S., ed., Wiley-VCH, 2007]에 기술되어 있다. 의학적 치료의 일반적 방법은 문헌[McPhee 및 Papadakis, Current Medical Diagnosis and Treatment 2010, 49th Edition, McGraw-Hill Medical, 2010]; 및 문헌[Fauci et al., Harrison's Principles of Internal Medicine, 17th Edition, McGraw-Hill Professional, 2008]에 기술되어 있다. 피부과학에서의 방법은 문헌[James et al., Andrews' Diseases of the Skin: Clinical Dermatology - Expert Consult, 11th Ed., Saunders, 2011]; 및 문헌[Burns et al., Rook's Textbook of Dermatology, 8th Ed., Wiley-Blackwell, 2010]에 기술되어 있다.

[0023] 피부 염증의 치료

[0024] 본 명세서에 기술된 조성물 및 방법은 포유류 대상체에게서 염증의 적어도 하나의 특성(예를 들어, 병변의 수 또는 크기의 감소, 발적의 감소, 및 소양감의 감소)을 개선하기에 유효한 항 IL-1α Ab의 양을 포함하는 약제학적 조성물을 포유류 대상체에게 투여함으로써 포유류 대상체에게서 피부 염증(예를 들어, 장미증, 습진, 건선, 건조증, 피부염, 여드름, 괴저성농피증, 두드러기, 태선양 장애, 수포성 질환, 예컨대 수포성 유천포창, 피부혈관염 및 육아종 피부 질환과 관련됨)을 치료하는 데 유용하다. 포유류 대상체는 인간, 개, 고양이, 말, 소, 양, 염소 및 돼지를 포함한, 피부 염증을 앓고 있는 임의의 것일 수 있다. 인간 대상체는 남성, 여성, 성인, 소아, 노인(65세 이상), 및 기타 다른 질환을 갖는 인간들일 수 있다. 특히 바람직한 대상체는 기타 다른 항염증제 또는 항미생물제, 예컨대 레티노이드, 항생제, 스테로이드 또는 사이토카인 억제제, 예컨대 TNF알파 억제제에 의한 치료 후에 반응에 실패했거나 진행되고 있는 질환을 가진 인간들이다. 치료 항체의 사전 투여로 인해 인간 항인간 항체 반응을 발생시킨 대상체는 항 IL-1α Ab가 진성 인간 Ab(예를 들어, 인간 대상체에서 자연적으로 발현된 것), 예컨대 MABp1일 때 바람직하다. 항 IL-1α Ab에 의한 치료에 영향을 받기 쉬운 임의의 유형의 염증성 피부 질환이 표적이 될 수 있다. 항 IL-1α Ab 투여는 심상성 여드름 및 심상성 건선을 치료하는 데 특히 효과적인 것으로 여겨진다.

[0025] IL-1α를 표적으로 하는 항체 및 기타 다른 작용제

[0026] IL-1α에 특이적으로 결합하여 대상체에서 피부 염증 및/또는 염증성 피부 질환, 예컨대 심상성 여드름 또는 심상성 건선의 특성을 감소시키는 임의의 적합한 유형의 Ab가 본 발명에 사용될 수 있다. 예를 들어, 사용되는 항 IL-1α Ab는 mAb, 다클론 Ab, mAb의 혼합물, 또는 Ab 단편 또는 조작된 Ab 유사 분자, 예컨대 scFv일 수 있다. Ab의 Ka는 바람직하게 적어도 1 x $10^{9}M^{-1}$ 이상(예를 들어, 9 x $10^{10}M^{-1}$, 8 x $10^{10}M^{-1}$, 7 x $10^{10}M^{-1}$, 6 x $10^{10}M^{-1}$, 5 x $10^{10}M^{-1}$, 4 x $10^{10}M^{-1}$, 3 x $10^{10}M^{-1}$, 2 x $10^{10}M^{-1}$ 또는 1 x $10^{10}M^{-1}$ 초과)이다. 바람직한 실시형태에서, 본 발명은

(i) 인간 IL-1α에 대해 매우 높은 결합 친화도(예를 들어, 적어도 나노몰 또는 피코몰)를 나타내는 항원 결합 가변 영역 및 (ii) 불변 영역을 포함하는 완전한 인간 mAb를 이용한다. 인간 Ab는 바람직하게 IgG1이지만, 그것은 IgM, IgA 또는 IgE와 같은 상이한 이소형의 것 또는 IgG2, IgG3 또는 IgG4와 같은 서브클래스의 것일 수 있다. 특히 유용한 mAb의 한 예는 MABp1인데, 이는 2009년 6월 1일에 출원된 미국 특허 출원 일련 번호 제12/455,458호에 기술된 IL-1α?특이적 IgG1 mAb이다. 기타 다른 유용한 mAb는 MABp1의 CDR 중 적어도 하나, 그러나 바람직하게는 MABp1의 CDR 전부를 포함하는 것들이다.

[0027] 인간 IL-1α에 특이적인 Ig를 발현하는 B 림프구는 인간에게서 자연적으로 발생하므로, mAb를 발생시키기 위한 현재의 바람직한 방법은 먼저 대상체로부터 그러한 B 림프구를 분리한 다음, 배양액에서 연속적으로 복제될 수 있도록 그것을 불멸화하는 것이다. 인간 IL-1α에 특이적인 Ig를 발현하는 다수의 자연 발생적인 B 림프구가 부족한 대상체는 그러한 B 림프구의 수를 증가시키기 위해 하나 이상의 인간 IL-1α 항원으로 면역력을 갖게 할 수 있다. 인간 mAb는 인간 Ab 분비 세포(예를 들어, 인간의 형질 세포)를 불멸화함으로써 제조한다. 미국 특허 번호 제4,634,664호를 참조한다.

[0028] 예시적인 방법에서, 한 명 이상(예를 들어, 5명, 10명, 25명, 50명, 100명, 1000명 또는 그 초과)의 인간 대상체는 혈액 내에 그러한 인간 IL-1α 특이적 Ab가 존재하는지에 대해 검사를 받는다. 그런 다음, 원하는 Ab를 발현하는 대상체는 B 림프구 공여자로 이용될 수 있다. 한 가지 가능한 방법에서, 인간 IL-1α 특이적 Ab를 발현하는 B 림프구를 보유하는 인간 공여자로부터 말초 혈액을 획득한다. 그런 다음, 인간 IL-1α 특이적 Ig를 발현하는 B림프구를 선택하기 위하여, 예를 들어 세포 분류(예컨대, 형광 활성화 세포 분류(fluorescence activated cell sorting, "FACS") 또는 자기성 비드 세포 분류)에 의해 혈액 샘플로부터 그러한 B 림프구를 단리한다. 그런 다음, 이들 세포는 공지된 기법에 따라 바이러스에 의한 형질전환(예를 들어, EBV를 이용)으로, 또는 인간 골수종과 같은 또 다른 불멸화된 세포로 융합시켜 불멸화할 수 있다. 그런 다음, 인간 IL-1α에 특이적인 Ig를 발현하는 이러한 집단 내의 B 림프구를 한계 희석법(예를 들어, 인간 IL-1α에 특이적인 Ig에 대해 양성인 마이크로타이터 플레이트의 웰 내의 세포를 선택하여 계대배양하고, 원하는 클론성 주(clonal line)가 단리될 수 있을 때까지 그 과정을 반복함)으로 단리할 수 있다. 예를 들어, 문헌[Goding, MAbs: Principles and Practice, pp. 59-103, Academic Press, 1986]을 참조한다. 인간 IL-1α에 대해 적어도 나노몰 또는 피코몰의 결합 친화도를 갖는 Ig를 발현하는 클론성 세포주가 바람직하다. 이러한 클론성 세포주가 분비하는 mAb는 배양 배지 또는 체액(예를 들어, 복수)으로부터 솔트 컷(salt cut), 크기 배제, 이온 교환 분리 및 친화성 크로마토그래피와 같은 종래의 Ig 정제 절차로 정제할 수 있다.

[0029] 불멸화된 B 림프구를 시험관내 배양에서 mAb를 직접 생산하는 데 사용할 수 있지만, 특정한 경우에는 mAb를 생산하기 위해 이종 발현 시스템(heterologous expression system)을 사용하는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 출원 번호 제11/754,899호에 기술된 방법을 참조한다. 예를 들어, 인간 IL-1α에 특이적인 mAb를 암호화하는 유전자를 클로닝하여, 이종의 숙주 세포(예를 들어, CHO 세포, COS 세포, 골수종 세포 및 E. 콜라이(*E. coli*) 세포) 내 발현을 위한 발현 벡터(예를 들어, 플라스미드를 기초로 한 발현 벡터)로 도입시킬 수 있다. Ig는 중쇄(H) 및 경쇄(L)를 H_2L_2 배열로 포함하기 때문에, 각각을 암호화하는 유전자를 별도로 단리하여 상이한 벡터에서 발현시킬 수 있다.

[0030] 상이한 동물종으로부터 유래한 상이한 부분(예를 들어, 인간 Ig의 불변 영역에 융합된 마우스 Ig의 가변 영역)을 갖는 항원 결합 분자인 키메라 mAb(예를 들어, "인간화" mAb)는, 대상체가 항 Ab 반응을 발생시킬 가능성이 더 커서 일반적으로 덜 바람직하긴 하지만, 본 발명에 이용될 수 있다. 그러한 키메라 Ab는 당업계에 공지된 방법으로 제조할 수 있다. 예를 들어, 문헌[Morrison et al., Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA, 81:6851, 1984]; 문헌[Neuberger et al., Nature, 312:604, 1984]; 문헌[Takeda et al., Nature, 314:452, 1984]을 참조한다. 유사하게, Ab를 당업계에 공지된 방법으로 인간화할 수 있다. 예를 들어, 원하는 결합 특이성을 갖는 mAb가 다양한 판매회사에 의해 또는 미국 특허 번호 제5,693,762호, 제5,530,101호 또는 제5,585,089호에 기술된 바와 같이 인간화될 수 있다.

[0031] 본 명세서에 기술된 mAb는 VH 및 VL 도메인 셔플링(domain shuffling)(문헌[Marks et al. Bio/Technology 10:779-783, 1992]), 고도가변 영역(hypervariable region, HVR) 및/또는 골격 잔기(framework residue)의 무작위 돌연변이법(문헌[Barbas et al. Proc Nat. Acad. Sci. USA 91:3809-3813, 1994]; 문헌[Schier et al. Gene 169:147-155, 1995]; 문헌[Yelton et al. J. Immunol. 155:1994-2004, 1995]; 문헌[Jackson et al., J. Immunol. 154(7):3310-9, 1995]; 및 문헌[Hawkins et al, J. Mol. Biol. 226:889-896, 1992])과 같은 공지된 방법으로 그들의 결합 특이성을 향상시키거나 달리 변경하도록 친화도를 성숙시킬 수 있다. Ab의 아미노산 서열

변이형은 Ab를 암호화하는 뉴클레오티드 서열에 적절한 변화를 도입함으로써 제조할 수 있다. 게다가, mAb를 암호화하는 핵산 서열에 대한 변형을 특정 발현 시스템 내에서 mAb의 생산을 향상시키기 위해 (예를 들어, mAb의 아미노산 서열을 변화시키지 않고) 변경시킬 수 있다(예를 들어, 주어진 발현 시스템에 대한 인트론 제거 및/또는 코돈 최적화). 또한, 본 명세서에 기술된 mAb는 또 다른 단백질(예를 들어, 또 다른 mAb) 또는 비단백질 분자에 접합(conjugation)시켜 변형할 수 있다. 예를 들어, mAb는 폴리에틸렌 글리콜 또는 탄소 나노튜브와 같은 수용성 중합체에 접합될 수 있다(예컨대, 문헌[Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605, 2005] 참조). 미국 특허 출원 번호 제11/754,899호를 참조한다.

[0032] 바람직하게는, 최소한의 부작용으로 고역가의 인간 IL-1α 특이적 mAb가 대상체에게 투여될 수 있음을 보장하기 위하여, 본 발명의 mAb 조성물은 (임의의 부형제를 제외한) 순수 중량 기준으로 적어도 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99.9% 또는 그 초과이다. 본 발명의 mAb 조성물은 단일 유형의 mAb(즉, 단일 클론성 B 림프구주(lymphocyte line)로부터 생성된 mAb)만을 포함할 수 있거나, 또는 둘 이상(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 그 초과)의 상이한 유형의mAb의 혼합물을 포함할 수 있다.

[0033] 기능을 변형시키거나 향상시키기 위하여, 인간 IL-1α mAb는 세포독소와 같은 또 다른 분자와 접합될 수 있다. IL-1α를 발현하는 세포를 더 효과적으로 살해하기 위해, 인간 IL-1α 특이적 mAb를 하나 이상의 세포독소와 접합시킬 수 있다. 본 발명에 사용하기 위한 세포독소는 인간 IL-1α 특이적 mAb에 접합될 수 있는 임의의 세포독성제(예를 들어, 세포와 접촉한 후에 그 세포를 살해할 수 있는 분자)일 수 있다. 세포독소의 예에는, 제한 없이, 방사성핵종(예를 들어, ^{35}S, ^{14}C, ^{32}P, ^{125}I, ^{131}I, ^{90}Y, ^{89}Zr, ^{201}Tl, ^{186}Re, ^{188}Re, ^{57}Cu, ^{213}Bi 및 ^{211}At), 접합된 방사성핵종 및 화학요법제가 포함된다. 세포독소의 추가의 예에는 항대사물질(예를 들어, 5-플루오로우리실(5-FU), 메토트렉세이트(MTX), 플루다라빈 등), 항미소관제(예를 들어, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜히친, 탁산(예컨대, 파클리탁셀 및 도세탁셀) 등), 알킬화제(예를 들어, 사이클로파스파미드, 멜팔란, 비스클로로에틸니트로스우레아(bischloroethylnitrosurea, BCNU) 등), 백금제(예를 들어, 시스플라틴(cDDP라고도 함), 카르보플라틴, 옥살리플라틴, JM-216, CI-973 등), 안트라사이클린(예를 들어, 독소루비신, 다우노루비신 등), 항생제(예를 들어, 미토마이신-C), 토포이소머라제 저해제(예를 들어, 에토포시드, 테노포시드 및 캄프토테신), 또는 기타 다른 세포독성제, 예컨대 리신, 디프테리아 독소(DT), 슈도모나스 외독소(Pseudomonas exotoxin, PE) A, PE40, 아브린, 사포린, 아메리카 자리공(pokeweed) 바이러스 단백질, 브롬화 에티듐, 글루코코르티코이드, 탄저병 독소 등이 포함되지만 이에 한정되는 것은 아니다. 예를 들어, 미국 특허 번호 제5,932,188호를 참조한다.

[0034] 상기에 기술된 IL-1α 특이적 Ab가 본 발명에 사용하기에 바람직하지만, 일부 경우에는 IL-1α를 특이적으로 표적으로 하는 기타 다른 제제를 투여한 결과, 염증성 피부 질환의 특성의 개선으로 이어지는 한, 이러한 기타 다른 제제가 사용될 수 있다. 이러한 기타 다른 제제에는 항 IL-1α Ab, IL-1α에 결합하는 단백질 또는 펩티드의 생산을 일으키는 백신, 및 IL-1α를 특이적으로 표적으로 하는 유기 소분자가 포함될 수 있다. IL-1β를?특이적으로 표적으로 하는 기타 다른 제제에 특이적으로 결합하지 않는 것들이 바람직하다.

[0035] 약제학적 조성물 및 방법

[0036] 항 IL-1α Ab 조성물(및 IL-1α를 특이적으로 표적으로 하는 기타 다른 제제)은 약제학적으로 허용되는 담체(예를 들어, 멸균 식염수)로 동물 또는 인간에게 투여될 수 있는데, 이때 약제학적으로 허용되는 담체는 투여의 방식과 경로 및 표준 약제 업무(pharmaceutical practice)에 기초하여 선택된다. 약제학적으로 허용되는 담체뿐만 아니라 약제학적 제형의 목록은 이 분야의 표준 교재인 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences] 및 USP/NF에서 찾아볼 수 있다. 기타 다른 물질이 조성물에 첨가될 수 있으며, 조성물을 안정화하고/안정화하거나 보존하기 위해 및/또는 대상체에 대한 조성물의 투여를 용이하게 하기 위해 기타 다른 단계가 취해질 수 있다.

[0037] 예를 들어, Ab 조성물은 동결건조(문헌[Draber et al., J. Immunol. Methods. 181:37, 1995]; 및 PCT/US90/01383호 참조)되고/동결건조되거나; 나트륨 및 염화물 이온을 포함하는 용액 중에 용해되고/용해되거나; 하나 이상의 안정제, 예컨대 알부민, 글루코스, 말토스, 수크로스, 소르비톨, 폴리에틸렌글리콜 및 글리신을 포함하는 용액 중에 용해되고/용해되거나; 여과(예를 들어, 0.45마이크로미터 및/또는 0.2마이크로미터 필터를 사용); 베타-프로피오락톤과 접촉되고/접촉되거나; 살균제(예를 들어, 세제, 유기 용매 및 세제와 유기 용매의 혼합물)를 포함하는 용액 중에 용해될 수 있다.

[0038] Ab 조성물은 임의의 적합한 수법으로 동물 또는 인간에게 투여될 수 있다. 통상적으로, 그러한 투여는 비경구(예를 들어, 정맥내, 피하, 근육내 또는 복강내 도입)일 것이다. 조성물은 또한, 예를 들어 국소 적용으로 목표

부위(예를 들어, 피부)에 직접 투여될 수 있다. 기타 다른 전달 방법, 예를 들어 리포좀 전달 또는 조성물이 함침된 장치로부터의 확산이 당업계에 공지되어 있다. 조성물은 단일 볼루스(bolus), 다회 주사로, 또는 연속 주입으로(예를 들어, 정맥내 또는 복막 투석에 의해) 투여될 수 있다.

[0039] 치료학적 유효량은 치료된 동물 또는 인간에게서 의학적으로 바람직한 결과를 생성할 수 있는 양이다. 항 IL-1α Ab 조성물의 유효량은 피부 염증의 하나 이상의 증상의 개선에 의해 측정되는 바와 같이 환자에게서 임상적 효능을 나타내는 양이다. 의학 분야에서 잘 알려진 바와 같이, 임의의 한 동물 또는 인간에 대한 투여량은 대상체의 크기, 체표면적, 연령, 투여될 특정 조성물, 성별, 투여 시간 및 경로, 일반적인 건강상태, 및 동시에 투여되는 기타 다른 약물을 포함한 많은 인자에 좌우된다. 바람직한 용량은 약 0.1mg/kg 내지 5mg/kg 체중(예를 들어, 0.05mg/kg, 0.1mg/kg, 0.15mg/kg, 0.2mg/kg, 0.3mg/kg, 0.4mg/kg, 0.5mg/kg, 1mg/kg, 2mg/kg, 3mg/kg, 4mg/kg, 5mg/kg 또는 6mg/kg 체중)의 범위이다. 일부 경우에는, 피부 염증의 에피소드의 해결에 단일 용량이 효과적이다. 다른 경우에는, (피부 염증이 재발되는 경우) 반복적으로, 예를 들어 주2회, 매주, 격주, 매3주, 월2회, 매 3주에 1회, 매달, 격월, 또는 필요에 따라 용량이 제공될 수 있다.

[0040] 실시예

[0041] 실시예 1 - Xilonix™

[0042] Xilonix™는 안정화 등장 완충액(pH 6.4) 중 15mg/mL MABp1의 멸균 주사용 액체 제형이다. 각각의 10mL 제I형 붕규산염 유리 혈청 바이알은 5mL의 그 제형을 수용하고, 20mm Daikyo Flurotec 부틸 고무 마개 및 플립-오프 알루미늄 시일로 밀봉한다. 제품을 5±3℃에 보관하며, 실온으로 잠깐 벗어나는 것이 허용된다. 이 약물 제품의 정확한 조성은 하기에 나타나 있다:

표 1

[0043]

약물 제품(Xilonix™)의 조성			
성분	등급	제조업체	농도
MABp1 Ab	GMP	XBiotech	15mg/mL
제2인산나트륨	공정서	JT Baker	12mg/mL
시트르산 1수화물	공정서	JT Baker	2mg/mL
트레할로스,$2H_2O$(고순도 낮은 내독소)	공정서	Ferro-Pfanstiehl	60mg/mL
폴리소르베이트 80	공정서	JT Baker	0.2mg/mL
인산(pH 조정을 위한 것)	공정서	JT Baker	0.04mg/mL
주사용수	공정서	Microbix	q.s.

[0044] 투여 방법:

[0045] 적합한 시린지를 사용하여 약물(mAb)이 들어 있는 바이알(들)로부터 계산된 부피를 인출한다. 그런 다음, 약물을 대상체에 피하 주사한다.

[0046] 실시예 2 - 심상성 여드름의 치료.

[0047] 18세 연령의 남성이 팔, 등, 가슴 및 얼굴에 이환된 중간 정도 내지 중증도의 심상성 여드름을 보였다. 특히 등에 병변의 상당한 경결(induration)이 있었다. 이 환자는 이것을 급성 발생으로 기술하지만, 15세 연령 이후로 진행 중인 심상성 여드름 문제를 보고하였다. 국소용 레티노이드 및 코르티코스테로이드를 과거에 사용한 적이 있었으며, 어느 정도의 유효성이 있었다. 또한, 태닝 베드의 사용에 의한 제한된 UV 치료를 사용한 적이 있었는데, 그 결과는 제한적이었다. 환자에게 Xilonix™의 단회 3ml 피하 주사(MABp1; 15mg/ml)를 제공하였으며, 이는 0.6mg/kg의 용량을 나타낸다.

[0048] 환자를 주사 후 2시간 동안 관찰하였다. 약물에 대한 뚜렷한 주입 반응이나 유해 반응은 없었다. 24시간 후, 환자를 재평가하였다. 어깨 및 등 위의 큰 병변의 크기가 극적으로 감소되었다. 얼굴 병변의 감소된 염증성 침윤은 투약 전에 비하여 병변의 더 적은 발적 및 감소된 병변 크기에 의해 입증되었다. 이들 병변은 건조성(drying)인 것으로 보였다.

[0049] 72시간 후, 환자를 재검사하였다. 개선은 현저하였다. 대부분의 병변은 극적으로 더 적은 염증을 보였거나, 또는 다수가 전체적으로 뚜렷하지 않았다. 경결이 현저한 어깨 및 등 위의 병변은 분해되었으며, 단지 약간 변색

되고 터치에 대해 부드러웠다. 환자의 얼굴은 본질적으로 정상인 것으로 보였으며, 환자는 그의 피부 외관으로 매우 행복하다고 언급하였다. 주사 후 1주째에, 환자는 계속적인 개선을 나타내었으며, 모든 피부 부위가 눈에 띄는 병변이 없는 것으로 보였다.

[0050] 실시예 3 - 피하 주사용 MABp1의 제형.

[0051] T2-18C3은 안정화 등장 제형 완충액(pH 6.4±0.1) 중 100±5mg/mL MABp1의 멸균 액체 제형이다. 1.4±0.1mL의 이 제형을 20mm Daikyo Flurotec 부틸 고무 마개 및 플립-오프 알루미늄 시일로 밀봉된 2mL 제I형 붕규산염 유리 혈청 바이알 내에 수용하였다. 제품은 5±3℃에서 수직으로 세워서 보관하였으며, 실온으로 잠깐 벗어나는 것이 허용되었다. 이 약물 제품의 정확한 조성은 하기 표 2에 나타나 있다:

표 2

T2-18C3 약물 제품의 조성			
성분	등급	제조업체	농도
MABp1 항체	GMP	XBiotech USA Inc	100mg/mL
트레할로스.$2H_2O$	GMP, 고순도, 낮은 내독소	Ferro-Pfanstiehl (미국 소재)	60mg/mL
제2인산나트륨	GMP, EP, USP, JP	JT Baker(미국 소재)	12mg/mL
시트르산 1수화물	GMP, EP, USP, BP	JT Baker(미국 소재)	2mg/mL
폴리소르베이트 80	GMP, EP, NF, JP	JT Baker(미국 소재)	없음
주사용 멸균수	GMP, EP, USP	Microbix(캐나다 소재)	q.s.

[0052]

[0053] 실시예 4- 건선의 치료.

[0054] 5세에 진단된 제I형 심상성 건선의 이력을 가진 48세 연령의 남성을 T2-18C3으로 치료하였다. 이 환자는 심상성 건선의 양성 가족 이력을 갖는데, 그의 형제자매, 아버지 및 할머니가 마찬가지로 이환되었다. 그는 이전에 국소용 레티노이드 및 비타민 D3 조제품으로 치료하였는데, 이때 최소한의 개선이 있었다. UV 치료 및 국소용 스테로이드에 의한 이전의 치료는 효과를 나타내었다. T2-18C3의 투여 전에, 환자는 생물학적 제제에 의한 치료 이력이 없었다.

[0055] 이 환자에게 0일째에 하복부에 MABp1을 2회 피하 주사(총 160mg MABp1)로 투여하였다. 환자는 주사를 잘 참아냈으며, 합병증은 없었다. 환자의 등을 투여 후 17시간, 41시간, 5일, 6일 및 10일째에 평가하였다. 17시간째에, 병변과 관련된 발적에서의 약간의 개선이 관찰되었다. 41시간째에, 병변의 크기 및 발적에서의 명백하게 관찰가능한 감소와 함께 계속적인 개선이 주목되었다. 5일째까지, 병변의 상당한 분해가 관찰되었다. 이러한 개선은 6일째까지 계속되었다. 병변은 10일째까지 거의 완전히 분해되었다.

[0056] 실시예 5 - 건선의 치료.

[0057] 중간정도 내지 중증도의 판상형 건선을 가진 인간 대상체에서 True Human™ 단일클론 항체 RA-18C3(IL-1알파에 특이적임)의 비맹검 시험을 수행하였다. 시험 대상체는 총 3회의 주사를 위하여 0일째, 21일째 및 42일째에 피하 주사를 통해 200mg의 RA-18C3를 투여받는다. 각각의 대상체에 대해 상이한 시점에서 PASI(Psoriasis Area and Severity Index Assessment, 건선 부위 및 중증도 지수 평가) 점수를 획득하였다. 최초 5명의 평가가능한 대상체 전부는 56일째에 PASI 점수에서 감소(즉, 질환의 개선)를 나타내었다. 56일째에 최초 5명의 평가가능한 대상체의 PASI 점수의 평균 감소는 거의 50%였다.

[0058] 다른 실시형태

[0059] 본 발명은 상세한 설명과 함께 연계하여 기술되었지만, 전술된 설명은 첨부된 특허청구범위의 범주에 의해 정의되는 본 발명의 범주를 예시하고자 하는 것이며, 한정하고자 하는 것은 아니다. 다른 양태, 이점 및 수정사항은 하기의 특허청구범위의 범주 내에 있다.

【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위
【보정세부항목】 청구항 2
【변경전】
피부 염증
【변경후】
심상성 건선

【직권보정 2】
【보정항목】 청구범위
【보정세부항목】 청구항 5
【변경전】
피부 염증
【변경후】
심상성 건선

【직권보정 3】
【보정항목】 청구범위
【보정세부항목】 청구항 4
【변경전】
피부 염증
【변경후】
심상성 건선

【직권보정 4】
【보정항목】 청구범위
【보정세부항목】 청구항 3
【변경전】
피부 염증
【변경후】
심상성 건선