(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0126005
(43) 공개일자 2020년11월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/06 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)
A61P 25/02 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/065 (2013.01)
A61K 39/39516 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-7030277(분할)
(22) 출원일자(국제) 2013년02월28일
심사청구일자 2020년10월21일
(62) 원출원 특허 10-2014-7027130
원출원일자(국제) 2013년02월28일
심사청구일자 2018년02월26일
(85) 번역문제출일자 2020년10월21일
(86) 국제출원번호 PCT/US2013/028350
(87) 국제공개번호 WO 2013/130826
국제공개일자 2013년09월06일
(30) 우선권주장
61/605,117 2012년02월29일 미국(US)

(71) 출원인
박스알타 인코퍼레이티드
미국, 일리노이즈 60015, 배녹번, 1200 레이크사이드 드라이브
박스앨타 게엠베하
스위스 8152 글라트파르크 (오프피콘) 투르가우에르슈트라쎄 130
(72) 발명자
쿠에리 패트릭
독일 데-40468 뒤셀도르프 스퍼링스베크 36
체코바 네베나
독일 데-40474 뒤셀도르프 우에르딩거 슈트라쎄 12
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 류현경

전체 청구항 수 : 총 9 항

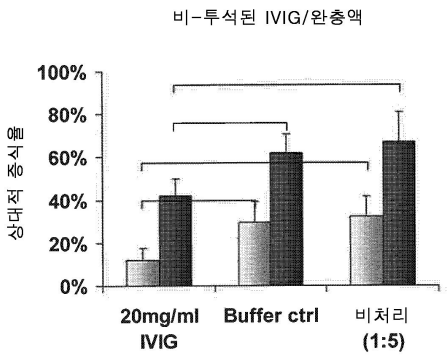
(54) 발명의 명칭 **말초 신경의 IgG 자극된 재수초화**

(57) 요 약

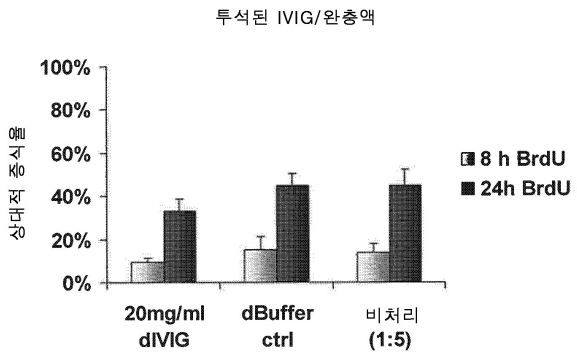
본 발명은 슈반 세포의 성숙, 분화 및 미엘린 생성을 촉진하는 폴리클로날 IgG의 능력을 발견한 것에 기초한다. 폴리클로날 IgG의 투여를 제공하여 포유동물에서 면역-매개되거나 감염-매개되지 않은 비-특발적 탈수초성 말초 신경병증을 치료하는 방법이 제공된다. 본 발명으로 치료가능한 탈수초성 말초 신경병증의 유형은 말초 신경 외상 및 독소-유도된 말초 신경병증을 포함한다. 대안적으로, 폴리클로날 IgG의 조성물은 말초 신경 세포에 직접적으로 적용되어 성숙, 수초화 상태로의 분화 및 미엘린 발현을 유도하거나 세포 생존을 촉진할 수 있다.

대 표 도

도 1A



도 1B



(52) CPC특허분류
A61K 45/06 (2013.01)
A61P 25/02 (2018.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
A61K 2300/00 (2013.01)
(72) 발명자
아르퉁 한스-페터
독일 데-40593 뒤셀도르프 피츠너슈트라쎄 7
헤르만 코리나
오스트리아 아-1050 비엔나 안첸그루버가쎄 5
라이페르트 비르기트 마리아
오스트리아 아-2232 도이치-바그람 하이네가쎄 2
슈바르츠 한스-페터
오스트리아 아-1180 비엔나 바이마러 슈트라쎄 76
에를리히 하르트무트
오스트리아 아-1180 비엔나 닥터 하인리히-마이에르 슈트라쎄 20/1
벵크 세바스티안
오스트리아 아-1060 비엔나 애기디가쎄 10/18

명 세 서

청구범위

청구항 1

독소-유도된 탈수초성 말초 신경병증을 치료하기 위한 제약 조성물로서,

상기 말초 신경병증으로 진단된 포유동물에 대한 치료학적 유효량의 폴리클로날 IgG를 포함하고, 상기 폴리클로날 IgG가 전신 투여 또는 국소 투여되는, 제약 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 포유동물이 사람인, 제약 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 소염제가 상기 폴리클로날 IgG와 함께 상기 포유동물에게 공동 투여되는, 제약 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 소염제가 부신피질자극 호르몬, 코르티코스테로이드, 인터페론, 글라티라머 아세테이트 또는 비-스테로이드성 소염 약물인, 제약 조성물.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 폴리클로날 IgG가 매주 투여되는, 제약 조성물.

청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 폴리클로날 IgG가 격주로 투여되는, 제약 조성물.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 폴리클로날 IgG가 매달 투여되는, 제약 조성물.

청구항 8

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 폴리클로날 IgG가 상기 포유동물에게 환자의 체중 kg 당 0.05 내지 5 g의 용량으로 투여되는, 제약 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 폴리클로날 IgG가 상기 포유동물에게 환자의 체중 kg 당 0.5 내지 2 g의 용량으로 투여되는, 제약 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] [관련 출원의 상호 참조]

[0002] 본원은 2012년 2월 29일자로 출원된 미국 가특허출원 제61/605,117호 (이의 내용이 모든 점에서 전부 참조로 본원에 포함됨)를 우선권으로 주장한다.

[0003] [기술분야]

[0004] 본 발명은 말초 신경의 IgG 자극된 재수초화에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0005] 말초 신경병증은, 중추 신경계 (central nervous system , CNS)(즉, 뇌 및 척수)와 신체의 모든 다른 부분 사이의 신호들을 전달하는 신경절과 뉴런의 네트워크인 말초 신경계 (peripheral nervous system, PNS)에 손상을 가하는 장애의 징후이다. PNS의 뉴런은, 예를 들어, 수초화, 가속화된 신경 전도, 신경 발달 및 재생, 영양 지지, 신경 세포외 매트릭스 생성 및 신경근육 시냅스 활성 조절을 위해 슈반 세포들에 의존한다. 이들 슈반 세포들은 운동 및 감각 뉴런의 엑손 주위의 단백질 및 지질-농축 수초를 둘러쌈으로써 전기적 절연을 제공한다. 미엘린의 중요한 역할을 감안할 때, 말초 엑손의 탈수초화가 길랭-바레 증후군 (Guillain-Barre syndrome, GBS), 만성적 탈수초성 다발신경병증 (chronic demyelinating polyneuropathy, CIDP) 및 다초점 운동 신경병증 (multifocal motor neuropathy, MMN)과 같은 급성 및 만성 말초 신경병증 및 독소, 약물 또는 당뇨병과 같은 전신 질환에 의해 유발되는 다른 말초 신경 병리의 특징이라는 것은 놀라운 것이 아니다.

[0006] 말초 신경병증은 신호 전달을 왜곡하여 신경병증의 기원 및 병든 신경의 유형 또는 수에 따라 다양한 증상들을 일으킬 수 있다. 예를 들어, 증상은 장애가 환부로부터 CNS로 감각 정보를 전달하는 감각 신경 섬유 또는 CNS로부터 근육으로 자극 및 코디네이트 (coordinate) 운동 활성을 전달하는 운동 신경 섬유 또는 이둘 모두에 영향을 끼치는지의 여부에 의존적일 수 있다. 말초 신경병증은 하나의 신경 섬유에 대한 손상이 연루된 단일신경병증 또는 다수의 신경 손상이 연루된 다발신경병증; 증상이 갑자기 나타나고 빠르게 진행하며 느리게 소산되는 급성 신경병증 또는 증상이 감지하기 힘들게 시작하고 느리게 진행하는 만성 신경병증으로 구분될 수 있다. 오늘날 100개 이상의 상이한 유형의 말초 신경병증이 확인되었다. 말초 신경병증의 임상적 진단은 피험자의 임상 병력, 신체 검사, 근전도검사 (electromyography, EMG) 및 신경 전도 조사 (nerve conduction studies, NCS), 자율신경 시험, 신경 생체 검사 등에 기초하여 수행될 수 있다.

[0007] 말초 신경병증에 대한 최근의 치료들은, 가능한 한, 근본적인 병태를 겨냥하며, 종종 소염제, 통증 조절, 기계적인 원조 및/또는 수술적 중재 등과 같은 대증 치료와 함께 사용된다. 또한, 신체는 PNS의 손상 또는 부상에 반응하는 자기 재생 능력을 보유한다. PNS 손상 후, 원위 신경 스텀프들(stumps)의 왈러 변성 (Wallerian degeneration)이 일어나고, 미엘린의 슈반 세포 변성, 세포외 미엘린의 포식작용 및 추가의 미엘린 제거를 위한 대식세포의 동원(recruitment)이 뒤따른다. 슈반 세포는 탈분화하고, 증식하며, 액손 재생을 증진시키고 재분화하며, 미엘린을 생성하는 이의 능력에 의해 병리학적 상태에 적응할 수 있다 [참조: Bhatheja 등 (2006) Int. J. Biochem. Cell Biol. 38(12):1995-9]. 복구 과정에서, 슈반 세포는 엑손 재생을 자극하고 유도하며, 이에 따라 엑손을 빠르게 증식하고, 분거 밴드 (Bunger's band)라 알려진 액손의 재생 튜브를 형성하여 재신경지배를 표적함으로써, 액손에 성장할 길을 제공한다 [참조: Burstyn-Cohen 등 (1998) J. Neurosci 18(21): 8875-8885]. (미엘린 제거 및 액손 재생에 대한 재생 메커니즘이 결여된 CNS와는 대조적으로) PNS에서는 기능적 신경 재생이 일반적으로 관찰될 수 있으나, PNS에서의 기능적 신경 재생이 종종 제한적이거나 장기간에 걸쳐 손상된다. 따라서, PNS에 대한 신규한 복구 증진 접근법이 필요하다.

[0008] CNS에 대한 최근의 연구 결과, 중추 신경계의 수초화 아교 세포인 올리고덴드로사이트(oligodendrocyte)에 대한 IgM의 직접적 효과가 입증되었다. 예를 들어, 올리고덴드로사이트에 대한 올리고덴드로사이트-반응적 IgMκ 항체들의 표적화가 CNS 재수초화를 증진시키는 것으로 밝혀졌다 [Asakura 등, 1998]. 다른 연구에서는, 풀링된 사람 IgM 분자로 탈수초화 질환을 갖는 비-면역의 독소-유도된 모델을 치료한 결과 CNS에서 상당히 향상된 올리고덴드로사이트 분화가 일어난다는 것을 밝혀내었다 [Bieber 등, 2000; Bieber 등, 2002; Warrington 등, 2007]. 올리고덴드로사이트 상의 IgM에 대한 Fc 수용체, 이들의 전구체 세포 및 CNS에서의 미엘린의 발견은 가능한 리간드-수용체 상호작용에 대한 추가의 증거들을 제공한다 (Nakahara 등, 2003).

[0009] 이들 올리고덴드로사이트-IgM 연구로부터 얻은 지식이 비록 CNS 복구에 대해서는 의미가 있었으나 (올리고덴드로사이트를 포함하지 않는) PNS의 재생 능력을 끌어내지는 못한다. 보다 관련된 연구들에서, 사람 IVIG의 투여가 PNS-특이적인 탈수초화 길랭-바레 증후군 (Guillain-Barre syndrome, GBS)을 모의하는 EAN(autoimmune neuritis, 자가면역 신경염) 래트 모델에서 질환의 지속 기간을 단축시키는 것으로 밝혀졌다 (Lin 등, 2007). 그 효과는 IVIG의 면역조절 역할 및 가능하게는 소염 및 이차적인 방관자 (bystander) 액손 손실 감소 능력에 기인하는 것으로 가정되었다. 체액 면역계에 대한 별개의 연구에서, B-세포 녹아웃 JHD 마우스는 PNS 손상 후 대식세포 유입, 미엘린 제거 및 액손 재생에서 상당한 지체를 나타내었다. 나이브 (naive) WT 마우스로부터의 항체 또는 항-PNS 미엘린 항체의 수동적 전달을 통해 신속한 미엘린 잔해의 제거가 회복되었으며, 이는 대식세포 가담 및 포식작용 활성을 증진시키는데 있어 내인성 항체의 역할을 입증한다 (Vargas 등, 2010). 정맥내 면역글로불린 (intravenous immunoglobulins, IVIG)의 투여를 이용한 임상 시험 결과, GBS, 만성적 탈수초성 다발신경병증 (chronic demyelinating polyneuropathy, CIDP) 및 다초점 운동 신경병증 (multifocal motor neuropathy, MMN)에 대해 포지티브 효과를 나타내었으며, 이들 자가면역 또는 면역-매개된 신경병증 각각의 치

료는 IVIG의 면역조절 역할을 통해 달성되었을 것으로 추정된다.

[0010] 슈반 세포에 대한 폴리클로날 IgG의 효과는 지금껏 거의 밝혀진바 없었다. 따라서, 슈반 세포의 재생 기능이 탈수초화 말초 신경병증에서 어떻게 치료목적으로 활용될 수 있는지에 대한 의문이 남아 있었다. 본 발명에 의한 슈반 세포 성숙, 분화 및 미엘린 생성을 유도하는 외인성 폴리클로날 IgG의 능력 발견은, 모든 탈수초성 말초 신경병증의 치료에 대해 시료운 접근법을 제공하는, 중요한 메커니즘 설명이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

[0011] 본 발명의 하나의 양상에서, 탈수초성 말초 신경병증으로 진단된 포유동물에게 치료학적 유효량의 폴리클로날 IgG를 투여함으로써, 포유동물에서 면역-매개되거나 감염-매개된 신경병증이 아닌 탈수초성 말초 신경병증을 치료하는 방법이 제공된다. 본 발명의 일부 양태에서, 치료되는 탈수초성 말초 신경병증은 길랭-바레 증후군, 만성적 탈수초성 다발신경병증 또는 다초점 운동 신경병증이 아니다. 본 발명의 다른 양태에서, 탈수초성 말초 신경병증은 비-특발적 신경병증이다. 본 발명에 의해 치료가능한 탈수초성 말초 신경병증은 외상-유도된 신경병증, 독소-유도된 신경병증, 유전된 신경병증 및 대사 질환에 의해 유도된 신경병증, 예를 들어, 당뇨 신경병증 중에서 선택될 수 있다.

[0012] 본 발명의 또 다른 양상에서, 말초 신경 외상을 갖는 포유동물에게 치료학적 유효량의 폴리클로날 IgG를 투여함으로써, 말초 신경 외상을 치료하는 방법이 제공된다.

[0013] 본 발명의 또 다른 양상에서, 독소-유도된 말초 신경병증으로 진단된 포유동물에게 치료학적 유효량의 폴리클로날 IgG를 투여함으로써, 감염-매개된 신경병증이 아닌 독소-유도된 말초 신경병증을 치료하는 방법이 제공된다.

[0014] 본원에서 기술되는 탈수초성 말초 신경병증을 치료하기 위해, 본 발명의 폴리클로날 IgG는 국소적으로 또는 전신적으로 투여될 수 있다. 폴리클로날 IgG의 국소 투여는 근육내 또는 피부내로 수행될 수 있다. 폴리클로날 IgG의 전신 투여는 비강내, 피하, 경구, 동맥내 또는 정맥내로 수행될 수 있다. 본 발명의 일부 양태에서, 소염제가 폴리클로날 IgG와 함께 포유동물에게 투여된다. 소염제는 부신피질자극 호르몬, 코르티코스테로이드, 인터페론, 글라티라머 아세테이트 또는 비-스테로이드성 소염 약물 중에서 선택될 수 있다.

[0015] 본 발명의 폴리클로날 IgG는 환자의 체중 kg 당 약 0.05 내지 5 g 또는 약 0.5 내지 2 g의 용량으로 매주, 격주 또는 매달 투여될 수 있다.

[0016] 본 발명의 추가의 양상에서, 슈반 세포에 의한 말초 신경 세포의 수초화를 촉진하기에 충분한 양의 폴리클로날 IgG와 슈반 세포를 접촉시킴으로써, 슈반 세포에 의한 말초 신경 세포의 수초화를 촉진하는 방법이 제공된다.

[0017] 본 발명의 또 다른 양상에서, 미성숙 슈반 세포의 분화를 유도하기에 충분한 양의 폴리클로날 IgG와 미성숙 슈반 세포를 접촉시킴으로써, 미성숙 슈반 세포의 수초화 상태로의 분화를 촉진하는 방법이 제공된다.

[0018] 또 다른 양상에서, MBP 유전자를 상향조절하기에 충분한 양의 폴리클로날 IgG와 슈반 세포를 접촉시키는 것을 포함하여, 슈반 세포에 의한 미엘린의 생성을 촉진하는 방법이 제공된다.

[0019] 본 발명의 추가의 양상에서, 배양 중인 엑손들을 포함하는 포유동물 신경 조직을 유효량의 슈반 세포 및 유효량의 폴리클로날 IgG와 접촉시키는 것을 포함하며, 이로써 슈반 세포와 폴리클로날 IgG의 접촉이 MBP 유전자의 상향조절을 유도하여, 엑손을 포함하는 포유동물 신경 조직을 배양하는 방법이 제공된다.

[0020] 본 발명의 또 다른 양상에서, 신경 세포를 말초 신경 손상 부위에 이식하고; 상기 신경 세포를 슈반 세포 및 폴리클로날 IgG를 포함하는 조성물과 접촉시키는 것을 포함하는, 포유동물에서 말초 신경 손상을 치료하는 방법이 제공된다.

[0021] 본원에서 기술되는 방법에서, 폴리클로날 IgG는 근육내, 피부내, 피하, 협측, 경구, 비강내, 동맥내 또는 정맥내와 같은 하나 이상의 투여 경로를 통해 이의 치료가 필요한 개체에게 투여될 수 있다. 개체는 사람 또는 사육 동물일 수 있다. 일부 양태에서, 폴리클로날 IgG는 풀링된 사람 혈청으로부터 유도된다.

[0022] 일부 양태에서, 폴리클로날 IgG는 소염제와 함께 이러한 치료가 필요한 포유동물에게 공동-투여된다. 소염제는

부신피질자극 호르몬, 코르티코스테로이드, 인터페론, 글라티라머 아세테이트 또는 비-스테로이드성 소염 약물 중에서 선택될 수 있다.

[0023] 본 발명의 또 다른 양상에서, 약제학적으로 허용되는 담체 및 유효량의 폴리클로날 IgG를 포함하는 비-특발적인 탈수초성 말초 신경병증을 치료하기 위한 약제학적 조성물이 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0024] 첨부되는 도면들에서 도시되는 특정한 예시적 양태를 참조하여 본 발명이 보다 상세히 기술된다. 이들 도면들은 본 발명의 일부를 구성한다. 그러나, 첨부된 도면들은 본 발명의 예시적 양태들을 설명하는 것으로서, 이들의 범위를 제한하는 것이 아니다.

도 1은, BrdU 삽입 분석(assay)으로 측정된, 비투석된 IVIG/완충액 제제 (도 1A) 및 투석된 IVIG/완충액 제제 (도 1B)에 노출된 미성숙 슈반 세포의 2일 후의 상대적 증식율을 도시한다. 이들 상대적 증식율은 세포 증식 동안 세포 DNA로 삽입된 5-브로모-2'-데옥시우리딘 (BrdU)에 대해 포지티브한 세포들의 수에 기초하였다.

도 2는, Ki-67 분석으로 측정된, 비투석된 IVIG/완충액 제제 (도 2A) 및 투석된 IVIG/완충액 제제 (도 2B)에 노출된 미성숙 슈반 세포의 2일 후의 상대적 증식율을 도시한다. 이들 상대적 증식율은 세포 증식 동안 Ki-67 발현에 대해 포지티브한 세포들의 수에 기초하였다.

도 3은 투석된 IVIG/완충액 제제에 노출된 미성숙 슈반 세포에서 1일 및 3일 시점에서의 P0 (도 3A) 및 MBP (도 3B) 유전자 발현 수준을 도시한다.

도 4는 투석된 IVIG/완충액 제제에 노출된 p57kip2 억제된 슈반 세포에서 7일 시점 (9일 억제)에서의 P0 (도 4A) 및 MBP (도 4B) 유전자 발현 수준(level)을 도시한다.

도 5는 (p57kip2 억제 부재 하의) 대조군의 트랜스펙션된 슈반 세포와 비교하여 p57kip2 억제된 슈반 세포에서의 CD64 Fc 수용체의 발현 수준을 도시한다. 어떠한 그룹의 슈반 세포도 IVIG/완충액 제제에 노출되지 않았다.

도 6은 20 mg의 투석된 IVIG/완충액 제제로의 자극 후 p57kip2 억제된 슈반 세포 (도 6B) 및 대조군의 트랜스펙션된 세포 (도 6A)의 형광 이미지를 도시한다. 세포 과정의 위치 추적 및 길이는 형광 이미지에 겹쳐진 화살표로 표시된다.

도 7은 투석된 IVIG/완충액 제제로의 자극 3일 후 (5일 억제) p57kip2 억제된 슈반 세포 및 대조군의 트랜스펙션된 세포에 대한 세포 증식 길이의 그래프 (도 7A), 20 mg의 IVIG로 자극된 p57kip2 억제된 슈반 세포의 형광 이미지 (도 7B), 완충액으로 자극된 p57kip2 억제된 슈반 세포의 형광 이미지 (도 7C), 20 mg의 IVIG로 처리된 대조군의 트랜스펙션된 세포의 형광 이미지 (도 7D), 및 완충액으로 처리된 대조군의 트랜스펙션된 세포의 형광 이미지 (도 7E)를 도시한다.

도 8은 투석된 IVIG/완충액 제제로의 자극 7일 후 (9일 억제) p57kip2 억제된 슈반 세포 및 대조군의 트랜스펙션된 세포에 대한 세포 증식 길이의 그래프 (도 8A), 20 mg의 IVIG로 자극된 p57kip2 억제된 슈반 세포의 형광 이미지 (도 8B), 완충액으로 자극된 p57kip2 억제된 슈반 세포의 형광 이미지 (도 8C), 20 mg의 IVIG로 처리된 대조군의 트랜스펙션된 세포의 형광 이미지 (도 8D), 및 완충액으로 처리된 대조군의 트랜스펙션된 세포의 형광 이미지 (도 8E)를 도시한다.

도 9는 PNS 뉴런 (래트 후근 신경절)의 공배양을 확립하고 슈반 세포를 수초화하기 위한 과정에 대한 흐름도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0025] 슈반 세포 항상성, 성숙, 분화 및 미엘린 생성을 촉진하기 위한 폴리클로날 IgG 능력의 발견을 자연 슈반 세포의 재생 능력을 촉진함으로써 다양한 기원의 탈수초성 말초 신경병증, 예를 들어, 독소-유도된 신경병증, 당뇨 신경병증, 외상-유도된 신경병증을 치료하는데 적용할 수 있다. 부가물(adjunct)로서 또는 탈수초성 말초 신경병증에 대한 기존 치료 요법 또는 대증 치료의 존재의 대체로서 폴리클로날 IgG의 투여가 고려된다. 또한, 본 발명은 말초 신경 재수초화를 수행하기 위한 실험실 세팅에 사용될 수 있다. 본원에 기술된 발견에 기초하여, 폴리클로날 IgG는 신경 이식, 세포 배양, 예를 들어, 슈반 세포 분화 유도, 전구체 세포 운명 (cell fate) 측정, 미엘린 유전자 조절 또는 단백질 발현에 적용되고, 말초 신경을 위협하거나 이를 수반하는 외과 기술에 대한 전처리 또는 수술후 보호 요법으로서 적용될 수 있다.

[0027] *I. 정의*

[0028] 용어 "비-특발적"은 근본적인 원인이 밝혀진 장애를 지칭한다.

[0029] 본원에서 사용되는 용어 "말초 신경병증"은, 뇌 및 척수의 신경절 및 신경을 제외한, 말초 신경계에 영향을 주는 장애를 지칭한다. "말초 신경병증"은 운동, 감각, 감각운동 또는 자율 신경 기능이상 중 하나 또는 조합으로 나타날 수 있다. 말초 신경병증에 의해 보여지는 형태의 다양성은 다수의 상이한 원인에 기인될 수 있다. 예를 들어, 말초 신경병증은 일반적으로 전신 질환으로부터 얻어지거나 발생하거나, 독성 제제에 의해 유발될 수 있다. 예로는 당뇨병성 말초 신경병증, 원위 감각운동 신경병증, 또는 자율신경 신경병증(예를 들어, 위장관의 감소된 운동 또는 방광의 이완)을 포함하나, 이로 제한되지 않는다. 전신 질환과 연관된 말초 신경병증의 예는 포스트-폴리오 증후군 또는 AIDS-연관 신경병증을 포함하고; 유전적 말초 신경병증의 예는 사르코-마리-투쓰 (Charcot-Marie-Tooth) 질환, 무베타지질단백혈증, 탄지에르 (Tangier) 질환, 이염색성 백질디스트로피 (Metachromatic leukodystrophy), 파브리 (Fabry) 질환, 및 데제린-솟타 증후군 (Dejerine-Sottas syndrome)을 포함하고; 독성 제제에 의해 유발되는 말초 신경병증의 예는 빈크리스틴, 시스플라틴, 메토트렉세이트, 또는 3'-아지도-3'-데옥시티미딘과 같은 화학요법제로의 치료에 의해 야기되는 것들을 포함한다.

[0030] 말초 신경병증 중 하나의 종류는 "탈수초성 말초 신경병증"이다. 본원에서 사용되는 "탈수초성 말초 신경병증"은 신경으로부터 미엘린, 지질-농축 초 포위물 (sheath surrounding) 및 절연 신경 섬유의 파괴 또는 제거와 연관된 광범위한 부류의 말초 신경병증을 기술한다. 탈수초성 말초 신경병증 질환의 비제한적 예는 당뇨병성 말초 신경병증, 원위 감각운동 신경병증, 또는 자율신경 신경병증, 예를 들어, 위장관의 감소된 운동 또는 방광의 이완을 포함한다. 탈수초성 말초 신경병증에 대한 추가의 예 및 기술은 상세한 설명의 단락 II에서 찾을 수 있다.

[0031] 본원에서 사용되는 "면역-매개된" 장애는 신체 면역계의 이상 활성으로부터 초래되는 병태를 지칭한다. "면역-매개된" 장애의 서브세트는 자가면역 질환 (면역계가 신체를 공격), 면역-컴플렉스 장애, 이식후 거부를 수반하는 장애, 염증 질환 및 알러지를 포함하나, 이로 제한되지 않는다.

[0032] "감염-매개된" 말초 신경병증은 바이러스, 세균 또는 진균 감염의 결과로서 생긴 말초 신경계의 기능이상을 지칭한다.

[0033] "외상-유도된 말초 신경병증" 또는 "외상성 말초 신경병증"은 신체 쇼크, 손상 또는 "신체적 외상"에 의해 야기되는 말초 신경계의 기능이상을 지칭한다. 신체적 외상, 예를 들어, 싸움, 차량 사고, 낙하 및 스포츠-관련 활동으로부터의 신체적 외상은 신경이 부분적으로 또는 완전히 절단되거나 으스러지거나 압박되거나 이완되도록 (streched) 할 수 있고, 때때로 너무 격렬해서 신경절 또는 척수로부터 부분적으로 또는 완전히 떨어져 탈수화가 초래된다. 또한, 외상-유도된 말초 신경병증은, 예를 들어, 전기 쇼크, 저체온증 등의 결과로 생길 수 있다.

[0034] "독소" 또는 "화학적으로 유도된" 말초 신경병증은 독소 (예: 화학적 제제)에 의해 유발되는 말초 신경계의 기능이상을 지칭한다. 말초 신경병증을 일으키는 독소는 일반적으로 3개의 그룹으로 나뉠 수 있다: 약물 및 의약; 산업용 화학물질; 및 환경 독소. 말초 신경병증을 야기시킬 수 있는 독소의 비제한적 예는 상세한 설명의 단락 II에서 후술된다.

[0035] 본원에서 사용되는 "소염제"는 영향받은 혈관 및/또는 인접 조직의 염증을 감소시키는 임의의 제제를 포함한다. 소염제의 비제한적 예는 스테로이드 (예: 글루코코르티코이드 및 코르티코스테로이드), 면역 선택적 소염 유도체들 (immune selective anti-inflammatory derivatives, ImSAIDs), 냉각제, 약초 보완제 [예: 데블스 클로우 (devil's claw), 히솝 (hyssop), 생강, 강황, 아니카 몬타나 (arnica Montana) 및 윌로우 수피 (willow bark) (알리사일릴산 (alicylilc acid) 포함], 및 소염 효과를 갖는 식품 (예: 석류, 녹차, 야채, 오메가-3 지방산을 포함하는 식품, 너트, 종자, 및 엑스트라-버진 올리브유)이다. 구체적으로, 프로스타글란딘 2 (prostaglandin 2, PGE2)는 전구-염증성 화합물이고, PGE1 및 PGE3은 소염 화합물이다. 따라서, PGE2를 감소시키거나 PGE1 및 PGE3을 증가시키는 제제가 또한 소염제로서 작용할 수 있다. 소염제의 추가의 비제한적 예는 하기 "병용 요법"에 관한 단락 VI에서 찾을 수 있다.

[0036] 본원에서 사용되는 "미성숙 슈반 세포"는 슈반 세포 계통에서의 특정 단계를 지칭한다. 슈반 세포 계통에서 제1 단계는, 많은 엑손과 연관되고 신경 성장 인자 수용체 (nerve growth factor receptor, NGF-R), 성장-연관

단백질 43(growth-associated protein 43)(GAP-32) 및 신경 세포 부착 분자 N-CAM 및 L1을 발현하는 증식 세포인, 슈반 세포 전구체를 제공한다. 후속의 "수임된" 슈반 세포가 미성숙 슈반 세포로 알려져 있으며; 이는 점진적으로 보다 적은 엑손과 연관되며, 이미 주목된 마커에 추가하여, S-100 단백질을 발현한다 (이 단계부터 모든 슈반 세포는 S-100을 발현한다). 수임된 슈반 세포는, 수개의 엑손과 연관되고 이전의 마커에 추가하여 갈락토세레브로사이드 (galactocerebroside, GalC)를 발현하는 비수초화 슈반 세포, 또는 수초화 슈반 세포로 발달한다. 수초화 슈반 세포는 억제된 cAMP-유도성 Pou-도메인 전사 인자 (suppressed cAMP-inducible Pou-domain transcription factor, SCIP)의 일시적 발현으로 특징지어지는 증식성 "프리수초화" 단계에 이어서 "프로수초화" GalC-포지티브 단계를 통해 진행하고, 이 과정에서 단일 엑손과 관련되게 된다. 성숙 수초화 슈반 세포로의 최종 분화는, GalC 및 미엘린 단백질 발현의 상향조절과 함께, NGF-R, GAP-43, N-CAM 및 L1 발현의 하향조절, 및 생체내에서 미엘린의 합성 및 동화를 수반한다.

[0037] 본원에서 사용되는 용어 "IgG"는 IgG 면역글로불린의 조성물을 지칭한다. 면역글로불린의 IgG 부류는 이름이 제시하는 바와 같이 γ (감마) 중쇄(heavy chain)의 존재로 특징지어진다. 예시적인 전체 IgG 면역글로불린 구조는 사량체를 포함한다. 각각의 사량체는 2개의 동일한 쌍의 폴리펩타이드 쇄들을 포함하고, 각각의 쌍은 하나의 "경쇄" (약 25 kDa) 및 하나의 "중쇄" (약 50 내지 70 kDa)를 갖는다. 각각의 쇄의 N-말단은 항원 인식에 주로 책임이 있는 약 100 내지 110개 이상의 아미노산의 가변 영역을 규정한다. 용어 가변 경쇄 (V_L) 및 가변 중쇄 (V_H)는 각각 이들 경쇄 및 중쇄를 지칭한다.

[0038] "면역글로불린" 또는 "항체"는 특정 항원과 면역학적으로 반응하는 폴리펩타이드이다. 본원에서 사용되는 용어 "면역글로불린"은 다양한 동종(isotype)의 온전한 분자 및 항원-결합 능력을 갖는 단편(예를 들어, Fab', $F(ab')_2$, Fab, Fv 및 rIgG)을 포함한다 [참조: Pierce Catalog and Handbook, 1994-1995 (Pierce Chemical Co., Rockford, Ill.); Kuby, J., Immunology, 3.sup.rd Ed., W.H. Freeman & Co., New York (1998)]. 상기 용어는 또한 재조합 단일쇄 Fv 단편 (scFv)을 포함한다. 상기 용어는 또한 이가(bivalent) 또는 이특이적(bispecific) 분자, 디아바디(diabodies), 트리아바디(triabodies) 및 테트라바디(tetrabodies)를 포함한다. 이가 및 이특이적 분자는 문헌 [참조: Kostelny 등 (1992) J. Immunol. 148:1547, Pack and Pluckthun (1992) Biochemistry 31:1579, Hollinger 등, 1993, supra, Gruber 등 (1994) J. Immunol. :5368, Zhu 등 (1997) Protein Sci 6:781, Hu 등 (1996) Cancer Res. 56:3055, Adams 등 (1993) Cancer Res. 53:4026, 및 McCartney, 등 (1995) Protein Eng. 8:301]에 기재되어 있다.

[0039] 본원에서 사용되는 용어 "폴리클로날 IgG"는 다수의 B-세포들로부터 유도되고 상이한 특이성 및 에피토프 친화성을 갖는 IgG 면역글로불린들의 이질(heterogeneous) 집단을 지칭한다. 폴리클로날 항체를 제조하는 방법은 당업자에게 알려져 있다 [참조: Harlow & Lane, 1988, Antibodies: A Laboratory Manual. (Cold Spring Harbor Press)]. 본 발명의 폴리클로날 IgG는 병원성 장애에 대해 미리스크리닝된 상이한 포유동물 개체들로부터 풀링된 혈장으로부터 추출될 수 있다. 일부 양태에서, 본 발명의 폴리클로날 IgG는 100개 초과의 개체, 200개 초과의 개체, 300개 초과의 개체, 400개 초과의 개체, 500개 초과의 개체, 600개 초과의 개체, 700개 초과의 개체, 800개 초과의 개체, 900개 초과의 개체, 1000개 초과의 개체, 1100개 초과의 개체, 1200개 초과의 개체, 1300개 초과의 개체, 1400개 초과의 개체, 1500개 초과의 개체, 1600개 초과의 개체, 1700개 초과의 개체, 1800개 초과의 개체, 1900개 초과의 개체, 또는 2000개 초과의 개체를 대표한다.

[0040] 단백질 또는 펩타이드를 지칭할 때 항체에 "특이적으로 (또는 선택적으로) 결합하는" 또는 "특징적으로 (또는 선택적으로) 면역반응하는"은 단백질 및 다른 생물제제의 이질 집단에서 단백질의 존재를 결정하는 결합 반응을 지칭한다. 따라서, 지시된 면역분석 조건하에서, 특정 항체는 배경(background)의 적어도 2배 이상, 보다 전형적으로는 배경의 10 내지 100배 초과로 특정 단백질 서열에 결합한다. 단백질에 특이적으로 결합하는 리간드 (예: 항체)는 일반적으로 적어도 10^3 M^{-1} 또는 10^4 M^{-1}, 때때로 10^5 M^{-1} 또는 10^6 M^{-1}, 달리 10^6 M^{-1} 또는 10^7 M^{-1}, 바람직하게는 10^8 M^{-1} 내지 10^9 M^{-1}, 더욱 바람직하게는 약 10^{10} M^{-1} 내지 10^{11} M^{-1} 이상의 연관 상수를 갖는다. 다양한 면역분석 포맷을 이용하여 특정 단백질과 특이적으로 면역반응하는 항체들을 선별할 수 있다. 예를 들어, 고상(solid-phase) ELISA 면역분석이 단백질과 특이적으로 면역반응하는 모노클로날 항체들을 선별하는데 통상적으로 이용된다. 특이적 면역반응성을 측정하는데 이용될 수 있는 면역분석 포맷 및 조건의 기술에 대해, 예를 들어, 문헌 [Harlow and Lane (1988) Antibodies, A Laboesratory Manual, Cold Spring Harbor Publications, New York]을 참조한다.

[0041] 용어 "폴리펩타이드", "펩타이드" 및 "단백질"은 아미노산 잔기의 중합체를 지칭하기 위해 본원에서 상호교환적

으로 사용된다. 상기 용어는 천연 발생 아미노산 중합체 및 비-천연 발생 아미노산 중합체뿐만 아니라 하나 이상의 아미노산 잔기가 상응하는 천연 발생 아미노산의 인위적 화학적 모사체인 아미노산 중합체에 적용된다.

[0042] 용어 "아미노산"은 천연 발생 아미노산, 합성 아미노산, 및 천연 발생 아미노산과 유사한 방식으로 기능하는 아미노산 동족체 및 아미노산 모사체를 지칭한다. 천연 발생 아미노산은 유전자 코드에 의해 암호화되는 아미노산 및 추후 변형되는 아미노산(예를 들어, 하이드록시프롤린, γ-카복시글루타메이트 및 O-포스포세린)이다. 아미노산 동족체는 천연 발생 아미노산과 동일한 기본 화학 구조, 즉, 수소, 카복실 그룹, 아미노 그룹 및 R 그룹에 결합된 탄소를 갖는 화합물, 예를 들어, 호모세린, 노르루이신, 메티오닌 술폭사이드, 메티오닌 메틸 술포늄을 지칭한다. 이러한 동족체는 변형된 R 그룹 (예: 노르루이신) 또는 변형된 펩타이드 골격을 가지나 천연 발생 아미노산과 동일한 기본 화학 구조를 보유한다. 아미노산 모사체는 아미노산의 일반적 화학 구조와는 상이한 구조를 가지나 천연 발생 아미노산과 유사하게 기능하는 화학적 화합물을 지칭한다.

[0043] 본원에서 아미노산은 이들의 일반적으로 알려진 3문자 기호로 나타내거나 IUPAC-IUB 생화학 명명 위원회(IUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commission)에 의해 권장되는 1문자 기호로 나타낼 수 있다. 마찬가지로, 뉴클레오타이드도 이에 대해 일반적으로 인정되는 1-문자 코드로 나타낼 수 있다.

[0044] 본원에서 사용되는 "미엘린 염기성 단백질" (Myelin basic protein, MBP)은, 수초의 총 단백질 함량의 약 30%를 포함하는 미엘린의 주요 단백질 성분인 단백질 및 이의 유전자를 지칭한다. MBP는 MS에서 주요한 표적 자가항원으로 밝혀졌으며, MBP와 반응적인 T 세포들이 이의 병인에 주요한 역할을 한다 [참조: Schwartz, R S, "Autoimmunity and Autoimmune Diseases" in Paul, Fundamental Immunology, 3rd Ed. Raven Press, New York, 1993, pp. 1033 1097; Brown and McFarlin 1981. Lab Invest 45, pp. 278 284; Lehmann 등 1992. Nature 358, pp. 155 157; Martin 등 1992. Ann Rev Immunol 10, pp. 153 187; Sprent 1994. Cell 76, pp. 315 322; Su and Sriram. 1991. J of Neuroimmunol 34, pp. 181 190; 및 Weimbs 및 Stoffel. 1992. Biochemistry 31, pp. 12289 12296].

[0045] 용어 "액손"은 신체에서 신호를 전도하는데 책임이 있는 신경 세포의 신장된 섬유를 지칭한다.

[0046] 본원에서 상호교환적으로 사용되는 용어 "개체", "피험자" 및 "환자"는 쥐, 원숭이, 사람, 포유류 사육 동물, 포유류 스포츠 동물 및 포유류 애완동물을 포함하나, 이로 제한되지 않는다. 바람직한 양태에서, 개체는 사람이다.

[0047] 용어 "용량" 및 "투여량"은 본원에서 상호교환적으로 사용된다. 용량은 각각의 투여시 개체에게 제공되는 활성 약물의 양을 지칭한다. 상기 용량은 투여 횟수; 개체의 크기 및 내성; 병태의 중증도; 부작용 위험; 및 투여 경로를 포함하는 다수의 인자들에 따라 달라질 것이다. 당업자는 상기 용량이 상기 인자들에 따라 또는 치료 과정에 기초하여 변형될 수 있다는 것을 인식할 것이다. 용어 "투여 형태"는 약제의 특정 포멧을 지칭하고, 투여 경로에 의존한다. 예를 들어, 투여 형태는 액체, 예를 들어, 주사용 식염수 용액일 수 있다.

[0048] "치료학적으로 유효한" 양 또는 용량 또는 "충분한/효과적인" 양 또는 용량은 투여시 효과를 갖는 용량이다. 정확한 용량은 치료 목적에 의존적일 것이며, 공지된 기술을 이용하여 당업자에 의해 확인될 수 있을 것이다 [참조: Lieberman, *Pharmaceutical Dosage Forms* (vols. 1-3, 1992); Lloyd, *The Art, Science 및 Technology of Pharmaceutical Compounding* (1999); Pickar, *Dosage Calculations* (1999); 및 *Remington: The Science 및 Practice of Pharmacy*, 20th Edition, 2003, Gennaro, Ed., Lippincott, Williams & Wilkins].

[0049] 용어 "치료" 또는 "요법"은 일반적으로 목적하는 생리학적 효과를 얻는 것을 의미한다. 상기 효과는 질환 또는 이의 병태 또는 증상을 완전히 또는 부분적으로 방지한다는 면에서 예방적이고/이거나, 손상, 질환 또는 병태를 부분적 또는 완전한 치유하고/하거나 손상, 질환 또는 병태에 기인하는 악영향을 개선한다는 면에서 치료적일 수 있으며 질환 또는 병태의 발병을 저지하거나 퇴행을 일으키는 것을 포함한다. 또한, 치료는, 만약에 일어난다면, 손상의 영향을 경감시키기 위한 예방적 사용을 포함할 수 있다. 예를 들어, 하나의 양상에서, 본 발명은 말초 신경계에 관련된 수술 전에 손상을 완화시키기 위해 미리-투여하는 것을 포함한다. 또한, 치료는 발병의 지연, 증상의 완화, 환자 생존의 개선, 생존 시간 및 생존율의 증가 등을 나타낼 수 있다. 치료의 효과는 치료를 받지 않은 개체 또는 개체들의 풀과 비교될 수 있다.

[0050] 본원에서 사용되는 "대조군"은 실험 그룹과 비교하기 위한 통상적으로 공지된 참조물을 지칭한다. 당업자는 주어진 상황에서 어떠한 대조군이 유익한지 및 대조군 값과의 비교에 기초하여 데이터를 어떻게 분석할지를 알 수 있을 것이다. 또한, 대조군은 데이터의 유의성을 알아내는데도 유익하다. 예를 들어, 주어진 파라미터에 대한 값이 대조군에서 매우 다양한 경우, 시험 샘플에서의 변화는 유의한 것으로 여겨지지 않을 것이다.

[0051] 본 발명을 더욱 상세히 기술하기 전, 본원에서 기술되는 특정 양태가 당연히 변할 수 있기 때문에 본 발명이 이로 제한되지 않는다는 것을 알아야 할 것이다. 또한, 본 발명의 범위는 첨부되는 특허청구범위에 의해서만 제한될 것이기 때문에, 본원에서 사용되는 용어는 단지 특정 양태를 설명하기 위한 것이지 이를 제한하려는 것이 아니라는 것을 알아야 할 것이다.

[0052] 범위의 값이 제공되는 경우, 그 범위의 상한과 하한 사이의 각각의 개재 값 (달리 문맥이 분명히 지시하지 않는 한 하한 단위의 1/10까지) 및 그 기술된 범위 내의 임의의 다른 기술되거나 개재된 값이 본 발명 내에 포함된다. 이들의 보다 적은 범위의 상한 및 하한이 독립적으로 이러한 적은 범위에 포함될 수 있으며, 또한 그 기술된 범위 내의 임의의 특별히 배제된 한계에 따라서 본 발명에 포함된다. 기술된 범위가 한계 중 하나 또는 둘 모두를 포함하는 경우, 또한 그 포함된 한계 중 하나 또는 둘 모두를 배제시키는 범위가 본 발명에 포함된다.

[0053] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야의 기술자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 비록 본원에서 기술되는 것과 유사하거나 동일한 임의의 방법 및 물질이 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 대표적인 실례가 되는 방법 및 물질이 기술된다.

[0054] 본원에 인용되는 모든 공개문 및 특허는, 각각의 개별 공개문 또는 특허가 참조로 포함되는 것으로 구체적이고 개별적으로 지시되고 공개문이 인용되는 것과 관련된 방법 및/또는 물질을 기술하기 위해 참조로 본원에 포함되는 것과 같이, 참조로 본원에 포함된다. 임의의 공개문의 인용은 출원일 전의 기술에 대한 것이며, 이러한 공개문이 앞선 발명이라는 이유로 본 발명이 이러한 공개문에 앞설 수 있는 권리가 없다는 것을 인정하는 것으로 간주되지 말아야 한다. 또한, 제시된 공개일은 독립적으로 확인될 필요가 있을 수 있는 실제 공개일과는 다를 수 있다.

[0055] 본원에서 사용되는 단수 형태("a", "an" 및 "the")는 문맥이 달리 명확히 지시하지 않는 한 복수의 지시물을 포함한다는 것을 주목한다. 또한, 특허청구범위는 임의의 선택적 요소를 배제시키도록 작성될 수 있다는 것에 주목한다. 이러한 것으로서, 이러한 기술은 청구되는 요소의 인용과 관련하여 "오로지", "단지" 등과 같은 배제적 용어의 사용 또는 "네가티브" 제한의 사용에 대한 선행적 근거로서 사용하고자 한다.

[0056] 당업자에게 있어 이러한 기술을 읽으므로써 명백해지는 바와 같이, 본원에 기술되고 실례가 되는 개별 양태 각각은 본 발명의 범위 및 취지를 벗어나지 않으면서 다른 수개의 양태 중 임의의 양태의 특징들로부터 쉽게 구분되거나 이와 조합될 수 있는 구분된 성분들 및 특징들을 갖는다. 임의의 인용된 방법은 인용된 사건의 순 또는 논리적으로 가능한 임의의 다른 순으로 수행될 수 있다.

[0058] **II. 탈수초성 말초 신경병증**

[0059] 본 발명은 폴리클로날 IgG가 슈반 세포 성숙, 분화 및 미엘린 생성의 자극을 통해 슈반 세포의 재생 능력을 통제할 수 있다는 발견에 기초한다. 이러한 방식으로, 본 발명은 이러한 장애들에 대한 광범위한 치료를 제공하도록 탈수초성 말초 신경병증에 대한 통일된 메커니즘을 표적으로 삼는다. 예를 들어, 본 발명은 신체 외상, 독성 제제 및 당뇨병에 의해 유발되는 탈수초성 말초 신경병증을 표적으로 삼는다.

[0060] 본원에서 기술되는 폴리클로날 IgG 조성물에 의해 치료가능한 탈수초성 장애는, 예를 들어, 유전적으로 획득되거나 전신 질환으로부터 발병하거나 독소 또는 외상에 의해 유발되는 말초 신경병증을 포함한다.

[0061] 유전적 탈수초화 신경병증 (또한 유전적 신경병증으로도 알려짐)이 가장 일반적인 유전된 신경학적 질환 중의 하나이다. 유전적 탈수초화 신경병증은 4개의 주요 서브카테고리로 분류된다: 1) 운동 및 감각 신경병증, 2) 감각 신경병증, 3) 운동 신경병증 및 4) 감각 및 자율신경 신경병증. 구체적으로, 탈수초화 유전적 신경병증은 종종 현저히 감소된 신경 전도 및 속도 및 말초 신경의 만성적 분절 탈수초화를 갖는 점진적 신경병증이다 [참조: Gabreels-Festen 등, "Hereditary demyelinating motor and sensory neuropathy," Brain Pathol. 3(2):135-146 (1993)]. 유전적 탈수초화 신경병증의 일반적 부류에 대한 예는 당뇨 말초 신경병증, 원위 감각 운동 신경병증 또는 자율신경 신경병증, 예를 들어, 위장관의 감소된 운동 또는 방광의 이완을 포함하나, 이로 제한되지 않는다. 유전적 말초 신경병증의 예는 사르코-마리-투쓰 질환, 무베타지질단백혈증, 탄지에르 질환, 이염색성 백질디스트로피, 파브리 질환 및 데제린-솟타 증후군을 포함한다.

[0062] 전신 탈수초성 말초 신경병증은 전신 통증의 부작용으로서 생겨난다. 전신 질환과 연관된 말초 신경병증의 비

제한적 예는 포스트-폴리오 증후군 및 AIDS-연관된 신경병증을 포함한다. 또한, 하기의 비제한적 전신 질환은 말초 신경병증 증상을 가질 수 있다: 암, 영양실조, 알콜중독, 당뇨병, AIDS, 라임 (Lyme) 질환, 류마티스 관절염, 만성 신부전, 자가면역 장애, 갑상선기능저하증 및 바이러스 감염 (예: 간염).

[0063] 독소-유도된 탈수초성 말초 신경병증은 신경독성 제제(예를 들어, 약제학적 제제, 생물학적 제제) 및 화학적 노출에의 노출에 의해 야기된다. 말초 신경병증을 일으키는 독소의 예는 화학요법제 (예: 빈크리스틴, 파클리탁셀, 시스플라틴, 메토트렉세이트 또는 3'-아지도-3'-데옥시티미딘), 납, 수은, 탈륨, 유기 용매, 농약, 이황화탄소, 비소, 아크릴아미드, 디프테리아 독소, 알콜, 항-HIV 약물 (예: 디다노신 및 잘시타빈), 항-결핵 의약 (예: 이소니아지드 및 에타무브톨), 항미생물 의약 (예: 답손, 메트로니다졸, 클로로퀸 및 클로암페니콜), 정신질환 의약 (예: 리튬), 방사선, 및 아미오다론, 아우로티오글루코즈, 페니토인, 탈리도미드, 콜히친, 시메티딘, 디술피람, 하이드랄라진 및 고 수준의 비타민 B6와 같은 약을 포함하나, 이로 제한되지 않는다. 말초 신경병증을 일으킬 수 있는 추가의 독성 제제가 하기에 열거된다.

[0064] 외상-유도된 탈수초성 말초 신경병증은 상술되는 바와 같이 신체 쇼크, 손상 또는 신체 외상에 의해 유발된다.

[0065] 따라서, 말초 신경병증의 원인은, 예를 들어, 당뇨 합병증; 외상; 약물 및 의약, 산업용 화학물질 및 환경 독소를 포함하나, 이로 제한되지 않는 독소; 자가면역 반응; 영양 결핍;부터 혈관 및 대사 장애까지 다양하다. 예를 들어, 탈수초성 말초 신경병증은 골경화 골수종, 모노클로날 단백질-연관된 말초 신경병증, 유전적 운동 및 감각 말초 신경병증 유형 1 및 유형 3, 및 압박 마비에 대한 유전적 감수성의 결과로서 발생할 수 있다.

[0066] 유사하게, 또한 탈수초성 말초 신경병증의 증상은, 예를 들어, 병든 신경의 유형에 따라 다양하다. 예를 들어, 탈수초화 장애를 갖는 사람 환자는 탈수초화 장애의 하나 이상의 증상(예를 들어, 이로 제한됨이 없이, 손상된 시력, 저림, 사지 허약, 떨림 또는 경련, 열 불내성, 언어 장애, 실금(incontinence), 현기증, 또는 손상된 고유감각 (예: 균형, 협조, 팔다리 위치의 감각))을 가질 수 있다. 탈수초화 장애의 가족력 (예: 탈수초화 장애에 대한 유전적 소인)을 갖거나 상술된 탈수초화 장애의 약하거나 부정기적인 증상을 나타내는 사람 (예: 사람 환자)은, 방법 상, 탈수초화 장애 발병 위험이 있는 것으로 간주될 수 있다.

[0067] 구체적으로, 탈수초성 말초 신경병증에 의해 유발되는 감각 신경 손상은, 감각 신경이 보다 광범위하고 보다 고도로 특수화된 범위의 기능을 갖기 때문에, 더욱 복잡한 범위의 증상을 일으킬 수 있다. 미엘린에 에워싸인 보다 큰 감각 섬유 (나선형으로 둘러싸이고 많은 신경들을 절연시키는 지질-농축 막 폴드)는 진동, 광 촉감 및 위치 감각을 기억한다. 큰 감각 섬유의 손상은 진동 및 촉감을 느끼는 능력을 저하시킴으로써, 특히 손 및 발에서 일반적인 저림 감각을 야기시킨다. 많은 환자들은 촉감만으로는 작은 물체의 형태를 인식하지 못하고 상이한 모양을 구별할 수 없다. 감각 섬유에 대한 이러한 손상은 (운동 신경 손상이 그러할 수 있는 바와 같이) 반사신경의 상실에 기여할 수 있다. 위치 감각의 상실은 종종 개체가 걷기 또는 단추 채우기와 같은 복잡한 움직임을 조정할 수 없게 하거나 눈을 감았을 때 균형을 유지할 수 없게 한다. 신경병증 통증은 조절이 어려우며, 정서적 행복 및 삶의 총체적 질에 심각하게 영향을 끼칠 수 있다.

[0068] 수초가 없는 보다 작은 감각 섬유는 통증 및 온도 감각을 전달한다. 이들 섬유의 손상은 통증 또는 온도 변화를 느끼는 능력을 방해할 수 있다. 개체는 자상을 입었거나 상처가 감염되고 있다는 것을 느낄 수 없다. 다른 개체들은 임박한 심장 마비 또는 다른 급성 병태를 경고하는 통증을 감지할 수 없다. (통증 감각의 상실은 당뇨병을 앓는 개체에게는 특히 심각한 문제로서 이러한 집단에서 높은 비율의 다리 절단에 기여한다.) 또한, 피부의 통증 수용체가 과다감작화되어 정상적으로는 통증이 없는 자극에 대해 심각한 통증을 느낀다 (무해 자극 통증).

[0069] 자율신경 손상의 증상은 다양하며, 어떤 기관 또는 선(gland)이 병에 걸렸는가에 의존적이다. 자율신경 기능이상은 생명을 위협하게 될 수 있으며, 호흡이 손상되거나 심장이 불규칙적으로 고동치기 시작하는 경우에 긴급한 의gkrwjr 보살핌이 필요할 수 있다. 자율신경 손상의 일반적 증상은 정상적으로 땀을 흘리지 못하여 열 불내성을 일으킬 수 있고; 방광 조절을 상실하여 감염 또는 실금을 일으킬 수 있고; 안정한 혈압 수준을 유지하도록 혈관을 확장하거나 수축하는 근육을 조절하지 못하는 것을 포함한다. 혈압 조절의 상실은 현기증, 어지러움 또는 심지어 개체가 자리에서 갑자기 일어설 때의 실신 (체위 또는 기립성 저혈압으로도 알려진 병태)을 일으킬 수 있다.

[0070] 위장 증상은 빈번히 자율신경 신경병증을 동반한다. 장 근육 수축을 조절하는 신경이 종종 제대로 작동되지 않아 설사, 변비 또는 실금을 일으킨다. 또한, 개체는 특정 자율신경이 병에 걸리는 경우 먹거나 삼키는데 곤란을 겪을 수 있다.

[0071] 또한, 본 발명의 폴리클로날 IgG 조성물은 당뇨병, 즉 제I형 및 제II형 당뇨병의 합병증으로서 발병되는 탈수초성 말초 신경병증을 치료하는데 사용될 수 있다. 말초 신경병증은 당뇨병의 주요 합병증 중의 하나이다. 신경 전도 속도의 감소 및 허혈에 의해 야기된 전도 실패에 대한 증가된 내성은 당뇨병 환자 및 이 질환의 동물 모델에서 감지되는 가장 초기의 변화에 속한다. 초미세 구조 연구는 미소혈관계에서뿐만 아니라 액손 및 슈반 세포(Schwann Cells, SC)에서의 변화 (예를 들어, 엑손 구경의 감소 및 분절 탈수초화)를 입증하였으며, 이들 모두 독립적으로 발병되는 것으로 보인다. 일부 연구에서는 사람 당뇨 신경병증에서 관측되는 말초 신경에서의 점진적 섬유 상실이 적어도 부분적으로 지연된 신경 변성 및 손상된 신경 재생 때문일 수 있다고 결론지었다. 뉴로트로핀의 결여뿐만 아니라 대사 및 미세혈관 이상도 당뇨 신경병증의 발병기전에 책임이 있는 것으로 간주되었다. 당뇨병에서 혈관 변화는 주로 허혈 및 신경내막 저산소증으로 이루어진다. 이들 혈관 이상의 기초를 이루는 메커니즘은, 신경 혈류의 신경 조절에 있어 결과로 일어나는 손상 및 신경에서 프로스타사이클린 및 산화질소의 감소된 생성과 함께, 신경속혈관의 교감신경 말단에서의 퇴행적 변화를 포함한다.

[0072] 당뇨 신경병증의 2개의 구분된 임상 징후는 아픔을 수반하는 대칭적 다발신경병증을 겪는 환자에 의해 나타내어지는 징후 및 무감각의 아프지 않은 발을 갖는 환자에 의해 나타내어지는 징후이다. 아프지 않은 신경병증이 우세적 장애이며, 수개의 연구에 따라, 신경 변성의 정도를 반영하는 것으로 보인다. 다른 한편, 아픔이 있는 증상은 소수의 형태학적 이상과 연관된다. 또한, 아픔이 있는 증후군이 변성과는 반대로 신경 재생을 반영할 수 있다고 제시되었으나, 수개의 보고는 신경 재생이 당뇨병에서 손상된다는 것을 제시한다. 또한, 당뇨병 설치류의 말초 감각 신경에서의 수개의 기능 지수의 분석은 증가보다는 감소된 기능을 제시한다. 예를 들어, 실험적 당뇨병은 시간이 흐름에 따라 통각저하로 변하는 초기의 열적 통각과민, 기계적 통각과민, 열 및 촉각 무해자극통증, 증가된 C 섬유 활성 및 오피오이드에 대한 감소된 민감성을 포함한 수개의 통각 반응들을 유발한다. 이와 관련하여, 기계적 통각과민은 C 섬유의 지속적인 역치상 기계적 자극 후 증가된 파이어링(firing)으로부터 생길 수 있다.

[0073] 항산화제, 혈관확장제 및 뉴로트로핀의 요법이 당뇨병 신경에서 일부 기능적 및 대사적 이상을 역전시킬 수 있으나, 이들은 단지 비정상적 통증 지각을 부분적으로 개선할 뿐이므로, 다른 경로가 역할을 한다는 것을 제시한다. 본 발명은 당뇨 신경병증 치료를 위한 슈반 세포의 치유 능력을 촉진할 수 있다.

[0074] 또한, 본 발명의 폴리클로날 IgG 조성물은 외상으로부터 발병되는 탈수초성 말초 신경병증을 치료하는데 사용될 수 있다. "외상-유도된" 신경병증은 외적 신체 부상으로부터의 신경계에 대한 손상을 지칭한다. 부상 또는 돌발적 외상, 예를 들어 전쟁, 자동차 사고, 낙하 및 스포츠-관련 활동으로부터의 부상 또는 돌발적 외상은 신경을 부분적으로나 완전히 위험하게 하거나, 찌부러뜨리거나, 압박시키거나, 극도로 긴장시키고, 때때로 너무 강력하여 신경을 척수로부터 부분적으로나 완전히 분리시키고 탈수초화를 일으킨다. 또한, 덜 극적인 외상도 심각한 신경 손상을 일으킬 수 있다.

[0075] 또한, 본 발명의 폴리클로날 IgG 조성물은 독성 제제에 의해 유발되는 말초 신경병증을 치료하는데 사용될 수 있다. 말초 신경병증을 생성하는 독소는 일반적으로 3개의 그룹으로 분류될 수 있다: 약물 및 의약; 산업용 화학물질; 및 환경 독소. 본원에서 사용되는 용어 "독성 제제"는 화학 작용을 통해 말초 신경계의 하나 이상의 성분의 정상적 기능을 손상시키는 임의의 물질로 정의된다. 상기 정의는 공기 매개되거나, 식품 또는 약물의 오염물로서 섭취되거나, 치료 요법의 일부로서 의도적으로 투여되는 제제를 포함한다.

[0076] 말초 신경병증을 일으킬 수 있는 독성 제제는, 이로 제한됨이 없이, 3'-아지도-3'-데옥시티미딘, 아세타졸라미드, 아크릴아미드, 아드리아마이신, 알콜, 알릴 클로라이드, 알미트린, 아미트립틸린, 아미오다론, 암포테리신, 비소, 아우로티오글루코즈, 카바메이트, 이황화탄소, 일산화탄소, 카보플라틴, 클로람페니콜, 클로로퀸, 콜레스티라민, 시메티딘, 시스플라틴, 시스-백금, 클리오퀴놀, 콜레스티폴, 콜히친, 콜리스틴, 사이클로세린, 시타라빈, 답손, 디클로로펜옥시아세트산, 디다노신; 디데옥시시티딘, 디데옥시이노신, 디데옥시티미딘, 디메틸아미노프로피오니트릴, 디술피람, 도세탁셀, 독소루비신, 에탐부톨, 에티온아미드, 에틸렌 옥사이드, FK506 (타크롤리무스), 글루테티미드, 금, 헥사카본, 헥산, 호르몬 피임제, 헥사메틸로멜라민, 하이드랄라진, 하이드록시클로로퀸, 이미프라민, 인도메타신, 무기 납, 무기 수은, 이소니아지드, 리튬, 메틸수은, 메트포르민, 메토트렉세이트, 메틸브로마이드, 메틸하이드라진, 메트로니다졸, 미소니다졸, 메틸 N-부틸 케톤, 니트로푸란토인, 질소 머스타드, 산화질소, 오가노포스페이트, 오스폴로트, 파클리탁셀, 페니실린, 퍼헥실린, 퍼헥실린 말레에이트, 페니토인, 백금, 폴리클로르화된 비페닐, 프리미돈, 프로카인아미드, 프로카바진, 피리독신, 심바스타틴, 시안화나트륨, 스트렙토마이신, 술폰아미드, 수라민, 타목시펜, 탈리도미드, 탈륨, 톨루엔, 트리암테렌, 트리메틸틴, 트리오르토크레실 포스페이트, L-트립토판, 바코르 (vacor), 빈카 알칼로이드, 빈크리스틴, 빈데신, 비타민 A의 대량 투여, 비타민 D의 대량 투여, 잘시타민, 지멜딘; 산업용 제제, 특히 용매; 중금속; 및 흡입 본

드 또는 기타 독성 화합물을 포함한다.

[0077] 또한, 본 발명의 폴리클로날 IgG 조성물은 암 치료를 위한 화학독소의 투여로부터 발생하는 탈수초성 말초 신경병증을 치료하는데 사용될 수 있다. 말초 신경병증을 일으키는 것으로 알려진 화학독소에는 빈크리스틴, 빈블라스틴, 시스플라틴, 파클리탁셀, 프로카바진, 디데옥시이노신, 시타라빈, 알파 인터페론 및 5-플루오로우라실이 있다 [참조: Macdonald, Neurologic Clinics 9: 955-967 (1991)].

[0079] **III. 탈수초성 말초 신경병증의 진단 및 모티터링**

[0080] 탈수초성 말초 신경병증의 진단은 당업계에 공지된 하나 이상의 방법을 이용하여 내과의사 또는 임상의에 의해 수행될 수 있다. 신경학적 조사는 전형적으로 환자의 내력 (환자의 증상, 작업 환경, 사회적 습관, 임의의 독소에의 노출, 알콜 중독 병력, HIV 또는 다른 감염 질환 위험 및 신경학적 질환의 가족력을 포함)을 입수하고, 신경병적 장애의 원인을 확인할 수 있는 시험을 수행하며, 신경 손상의 정도, 부위 및 유형을 알아내기 위한 시험을 수행하는 것을 필요로 한다.

[0081] 일반적인 신체 검사 및 관련 시험은 신경 손상을 일으키는 전신 질환의 존재를 밝힐 수 있다. 혈액 검사는 당뇨병, 비타민 결여, 간 또는 신장 기능이상, 다른 대사 장애 및 비정상적 면역계 활성의 징후를 감지할 수 있다. 뇌 및 척수를 둘러싸는 뇌척수액의 검사는 신경병증과 연관된 비정상적 항체들을 밝힐 수 있다. 더욱 특수화된 시험은 다른 혈액 또는 심혈관 질환, 연결 조직 장애 또는 악성 종양을 밝힐 수 있다. 근육 세기 시험 및 크램프 (cramp) 또는 근섬유다발수축의 증거는 운동 섬유 개입을 나타낸다. 진동, 광 촉감, 체위, 온도 및 통증을 인식하는 환자의 능력 평가는 감각 신경 손상을 밝히며, 작은 또는 큰 감각 신경 섬유가 병에 걸렸는지의 여부를 나타낼 수 있다.

[0082] 신경학적 검사, 신체 검사, 환자 내력 및 임의의 이전의 스크리닝 또는 시험 결과에 기초하여, 신경병증의 특성 및 정도를 알아내는 것을 돕는 추가의 시험이 주문될 수 있다. 말초 신경병증의 진단시 도움이 되는 예시적 기술은 컴퓨터 단층촬영 스캔, 자기 공명 이미지화, 근전도 검사, 신경 전도 속도, 신경 생검 또는 피부 생검을 포함한다. 말초 신경병증의 진단시 유용한 기구는 미국 특허 번호 7,854,703에 기술되어 있는 것을 포함하나, 이로 제한되지 않는다.

[0083] *컴퓨터 단층촬영 또는 CT 스캔*은 기관, 골 및 조직의 신속하고 선명한 이차원적 이미지를 생성하는데 사용되는 비침습적이고 통증이 없는 과정이다. X-선이 다양한 각도에서 신체를 통과하고, 컴퓨터화된 스캐너에 의해 검출된다. 데이터는 처리되어 신체 또는 기관의 내부 구조에 대한 횡단면 이미지 또는 "슬라이스"로서 디스플레이된다. 신경학적 CT 스캔은 골 및 혈관 불규칙성, 특정 뇌 종양 및 낭종, 추간판 헤르니아 디스크, 뇌염, 척추관 협착증 (척추관 좁힘) 및 기타 장애를 검출할 수 있다.

[0084] *자기 공명 이미지화 (Magnetic resonance imaging, MRI)*는 근육의 질 및 크기를 조사하고, 근육 조직의 임의의 지방 대체를 검출하며, 신경 섬유가 지속적 압박 손상을 갖는지의 여부를 측정할 수 있다. MRI 장비는 신체 주위에 강력한 자기장을 만든다. 이어서, 라디오파가 신체를 통과하여 신체 내의 상이한 각도에서 검출될 수 있는 공명 신호를 유발한다. 컴퓨터는 이러한 공명을 스캔된 부위의 삼차원 사진 또는 이차원 "슬라이스"로 프로세싱한다.

[0085] 근전도 검사 (*Electromyography, EMG*)는 근육이 휴식 상태에 있을 때 및 수축되었을 때 존재하는 전기적 활성량을 비교하기 위해 근육으로 미세 바늘을 삽입하는 것을 포함한다. EMG 시험은 근육과 신경 장애 사이의 구별을 도울 수 있다.

[0086] 신경 전도 속도 (*Nerve conduction velocity, NCV*) 시험은 큰 신경 섬유의 손상 정도를 정확히 측정할 수 있어 증상이 수초 또는 엑손의 변성에 의해 야기되었는지의 여부를 밝힌다. 이러한 시험 동안, 프로브는 신경 섬유를 전기적으로 자극하며, 스스로 전기적 자극을 발생시킴으로써 반응한다. 신경 경로를 따라 추가로 배치되는 전극은 엑손을 따라 자극 전달 속도를 측정한다. 느린 전달 속도 및 자극 차단은 수초에 대한 손상을 나타내는 한편, 자극 세기의 감소는 엑손 변성의 징후이다.

[0087] *신경 생체 검사*는 가장 빈번하게는 신경 조직 샘플을 하퇴로부터 떼어내고 조사하는 것을 포함한다. 비록 이러한 시험이 신경 손상 정도에 대한 중요한 정보를 제공할 수는 있지만, 이는 수행하기 어렵고 그자체가 신경병성 부작용을 야기시킬 수 있는 침습적 절차이다.

[0088] *피부 생검*은 의사가 얇은 피부 샘플을 떼어내어 신경 섬유 말단을 조사하는 시험이다. NCV와는 달리, 피부 생

검은 작은 섬유에 존재하는 손상을 밝힐 수 있다; 통상의 신경 생검과는 반대로, 피부 생검은 덜 침습적이고, 보다 적은 수의 부작용을 가지며, 수행하기가 보다 쉽다.

[0089] 탈수초화 또는 재수초화에 대해 개체를 모니터링하는 방법은 당업계에 알려져 있다. 본원에서 정의되는 바와 같이, 재수초화를 위해 피험자 (예: 사람 환자)를 모니터링하는 것은 변화, 예를 들어, 재수초화를 나타내는 하나 이상의 파라미터의 개선에 대해 피험자를 평가하는 것을 의미하며, 예를 들어, 탈수초화 장애의 하나 이상의 증상의 개선을 모니터링할 수 있다. 이러한 증상은 본원에서 기술되는 탈수초화 장애의 증상 중 임의의 것을 포함한다. 또한, 재수초화는 피험자에서 미엘린의 상태를 직접적으로 측정하는 것을 포함하는 방법에 의해 모니터링될 수 있고, 예를 들어, 자기 공명 이미지화 (MRI)를 이용하여 백질 질량을 측정하거나 자기 공명 분광학 (magnetic resonance spectroscopy, MRS) 뇌 스캔을 이용하여 미엘린 섬유의 두께를 측정할 수 있다.

[0090] 일부 양태에서, 상기 평가는 폴리클로날 IgG의 투여 후, 바람직하게는 제1 투여 후 적어도 1시간, 예를 들어, 적어도 2, 4, 6, 8, 12, 24, 또는 48시간, 또는 적어도 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일, 10일, 11,일, 12일, 13일, 14일, 15일, 16일, 17일, 18일, 19일, 또는 20일 이상, 또는 적어도 1주, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 7주, 8주, 9주, 10주, 12주, 13주, 14주, 15주, 16주, 17주, 18주, 19주, 20주 이상, 또는 이들의 임의의 조합으로 수행된다. 피험자는 하기 기간 중 하나 이상에서 평가될 수 있다: 치료 시작 전; 치료 동안; 또는 하나 이상의 치료 요소가 투여된 후. 평가는 추가의 치료가 필요한지를 평가하는 것, 예를 들어, 투여량 및 횟수 또는 치료기간이 변경되어야 하는지를 평가하는 것을 포함할 수 있다. 또한, 평가는 선택된 치료 양상을 추가하거나 중단할 필요를 평가하는 것, 예를 들어, 본원에서 기술되는 탈수초화 장애에 대한 치료 중 임의의 것을 추가하거나 중단하는 것을 포함할 수 있다. 예를 들어, 폴리클로날 IgG의 연속 투여는 필요한 경우 하나 이상의 추가의 치료제와 함께 수행될 수 있다. 바람직한 양태에서, 미리선택된 평가 결과가 얻어지는 경우, 추가의 단계가 취해지며, 예를 들어, 피험자에게 또 다른 치료제가 투여되거나 또 다른 평가 또는 시험이 수행된다. 재수초화 수준은 환자 보호를 결정, 예를 들어, 치료 과정을 선별 또는 변형, 또는 치료를 변상하기 위한 제3자를 결정하는데 사용될 수 있다.

[0091] 일부 양태에서, 재수초화에 대해 피험자 (예: 사람 환자)을 모니터링하는 것은 또한, 예를 들어, 자기 공명 이미지화 (MRI) 스캔, 양전자 방출 단층촬영 (PET) 스캔, 확산-가중 이미지화 (Diffusion-Weighted Imaging) (DW-I 또는 DW-MRI), 확산 텐서 이미지화 (Diffusion Tensor Imaging), 척수조영술, 자화 전달 (Magnetization Transfer)을 이용하여 염증 병변 (즉, 경화)의 크기 또는 수의 감소를 모니터링하는 것을 포함할 수 있다. 일부 양태에서, 재수초화에 대해 피험자를 모니터링하는 것은, 예를 들어, (i) 미엘린의 얇은 단편과 같은 비정상적 단백질, (ii) 증가된 수준 또는 특정 유형의 림프구 및/또는 (iii) 비정상적 수준의 면역글로불린 (IgG) 분자를 검출하는 것을 포함할 수 있다. 다른 양태에서, 재수초화에 대해 피험자를 모니터링하는 것은 피험자의 신경심리학 (예: 기억, 연산, 주의, 판단 및 추론과 같은 다양한 능력의 상태)의 변화를 평가하는 것을 포함할 수 있다. 일부 양태에서, 재수초화에 대해 피험자 (예: 사람 환자)를 모니터링하는 것은 질환 진행 동안 액손 손상이 일어날 때 증가되는 미엘린 염기성 단백질-유사 물질 (MBP-유사 물질)의 수준 감소에 대해 환자의 소변을 시험하는 것을 포함할 수 있다. 일부 양태에서, 탈수초화 장애가 피험자의 눈 또는 시력을 해치는 경우, 재수초화에 대해 피험자를 모니터링하는 것은, 예를 들어, 색맹의 개선에 대해 시험하는 것을 포함할 수 있다.

[0092] 본원에는, 예를 들어, 피험자가 탈수초화 장애에 대한 치료, 예를 들어, 폴리클로날 IgG를 투여하는 것과 같이 피험자에서 재수초화를 증가시키기 위한 치료에 반응하는지의 여부를 측정하기 위해 피험자를 평가하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 피험자에서 미엘린의 수준 또는 상태에 대한 참조값 (예: 투여전 값)을 제공하고, 임의로, 피험자에게 재수초화를 증가시키는 의약 (예: 폴리클로날 IgG)를 투여하는 것을 포함한다. 의약이 투여되는 양태에서, 상기 방법은 또한 피험자에서 미엘린의 수준 또는 상태 (예: 재수초화 요법 투여 후 미엘린의 수준 또는 상태)에 대한 투여후 값을 제공하고, 투여후 값을 참조값과 비교하여 피험자를 평가, 예를 들어, 피험자가 요법에 반응하는지의 여부를 측정하는 것을 포함한다. 투여후 값 (즉, 재수초화 요법 실시후 피험자에서의 미엘린의 상태 또는 수준에 상응하는 값)은, 예를 들어, 본원에 기술되는 평가 방법 중 임의의 것에 의해 측정될 수 있다. 또한, 참조값 (즉, 재수초화 요법으로 치료하기 전 피험자에서의 미엘린의 상태 또는 수준)도, 예를 들어, 본원에 기술되는 평가 방법 중 임의의 것에 의해 측정될 수 있다.

[0093] 일부 양태에서, 피험자가 반응한다는 결정은 보다 짧은 치료 기간 (요법에 반응하지 않은 피험자에 대해 권장되는 치료보다 짧은 기간 또는 탈수초화 장애에 대한 기존 요법에서 통용되는 것보다 짧은 기간)이 피험자에게 실시될 수 있고/실시되어야 하고/실시될 것이고/실시된다는 것을 나타내며, 임의로, 그 요법은 입력된다.

[0094] 일부 양태에서, 피험자가 반응한다는 결정은 보다 짧은 치료 기간 (탈수초화 장애에 대한 기존 치료, 예를

들어, 본원에 기술되는 탈수초화 장애에 대한 치료 중 임의의 치료로 통용되는 것보다 짧은 기간)이 피험자를 위해 금기된다는 것을 나타내며, 임의로, 그 요법은 입력된다.

[0095] 일부 양태에서, 투여후 값을 참조값과 비교하는 것은, 재수초화 요법 (예: 폴리클로날 IgG)의 투여를 개시 후 제1 시점 (예: 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14일 또는 그 이상의 일 (예: 3, 4, 5, 6, 8주 또는 그 이상의 주 (예: 3, 4, 6, 12개월 또는 그 이상의 개월)에 피험자에서 미엘린의 투여후 수준을 측정하고; 제1 시점 이전인 제2 시점 (제2 시점은 재수초화 요법 (예: 폴리클로날 IgG)의 실시를 개시 전 또는 약 1, 2, 3, 4 또는 5일 이내이다)에 피험자에서 미엘린의 상태 또는 수준에 대한 참조값을 측정하며; 피험자의 미엘린의 투여후 수준과 참조값을 비교하는 것을 포함하며, 피험자에서 미엘린의 증가된 수준 (예를 들어, 투여후 값 수준과 참조값 간에 약 60%, 약 50%, 약 40%, 약 30%, 약 20%, 약 10%, 약 5%, 약 2%, 또는 약 1% 이하의 수준 차이)은 피험자가 반응한다는 것을 나타낸다.

[0096] 일부 양태에서, 환자가 요법에 반응하는지의 여부에 대한 결정은 재수초화를 나타내는 하나 이상의 파라미터에서의 변화, 개선을 평가함으로써 수행되며, 예를 들어, 탈수초화 장애의 하나 이상의 증상의 개선을 모니터링할 수 있다. 이러한 증상은 본원에 기술되는 탈수초화 장애의 증상 중 임의의 증상을 포함한다. 또한, 재수초화는 피험자에서 미엘린의 상태를 직접적으로 측정하는 것을 포함하는 방법에 의해 모니터링될 수 있으며, 예를 들어, 자기 공명 영상화 (MRI)를 이용하여 백질 질량을 측정하거나 자기 공명 분광학 (MRS) 뇌 스캔을 이용하여 미엘린 섬유의 두께를 측정하거나, 본원에 기술된 임의의 다른 직접적 측정을 이용할 수 있다.

[0097] 또 다른 양태에서, 환자가 요법에 반응하는지의 여부에 대한 결정은 하기를 포함하나, 이로 제한되지 않는 본원에 기술된 임의의 다른 평가 또는 표시에 의해 평가될 수 있다: 환자에 존재하는 염증 병변 (즉, 경화)의 크기 또는 수 감소에 대해 환자를 모니터링; 예를 들어, (i) 림프구의 증가된 수준 또는 특정 유형 및/또는 (ii) 면역글로불린 (IgG) 분자의 비정상적 수준의 존재 또는 양의 감소에 대해 환자의 신경내막액을 모니터링; 신경심리학 (예: 기억, 연산, 주의, 판단 및 추리와 같은 다양한 능력의 상태)의 포지티브 변화에 대해 환자를 모니터링; 및/또는 미엘린 염기성 단백질-유사 물질 (MBP-유사 물질) 수준 감소에 대해 환자의 소변을 모니터링.

[0098] 일부 양태에서, 재수초화 요법 (예를 들어, 폴리클로날 IgG로의 요법과 같이 피험자에서 재수초화를 유도하는 요법) 후 탈수초화 장애 또는 다른 상술된 징후의 하나 이상의 증상에 있어 적어도 5% (예; 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%) 개선이 환자를 요법에 반응하는 것으로 분류하기에 충분하다.

[0100] **IV. 폴리클로날 IgG의 제제**

[0101] 본 발명에 따른 면역글로불린 제제는 임의의 적합한 출발 물질로부터 제조될 수 있다. 예를 들어, 면역글로불린 제제는 공여자의 혈청 또는 모노클로날 또는 재조합 면역글로불린으로부터 제조될 수 있다. 전형적인 예에서, 혈액은 건강한 공여자로부터 수집된다. 통상적으로, 혈액은 면역글로불린 제제가 투여되는 피험자와 동일한 동물의 종으로부터 수집된다 (전형적으로 "동종" 면역글로불린이라 지칭된다). 면역글로불린은 하나 이상의 적합한 절차, 예를 들어, 콘 (Cohn) 분획화, 초원심분리, 전기영동 프리파레이션, 이온 교환 크로마토그래피, 친화성 크로마토그래피, 면역친화성 크로마토그래피, 폴리에틸렌 글리콜 분획화, 알콜 분획화, 나노여과, 한외여과/투석여과 등에 의해 혈액으로부터 분리되고 정제된다 [참조: Cohn 등, J. Am. Chem. Soc. 68:459-75 (1946); Oncley 등, J. Am. Chem. Soc. 71:541-50 (1949); Barundern 등, Vox Sang. 7:157-74 (1962); Koblet 등, Vox Sang. 13:93-102 (1967); Teschner 등 Vox Sang (92):42-55 (2007); Hoppe 등 Munch Med Wochensc시간 (34): 1749-1752 (1967), Falksveden (Swedish Patent No. 348942); Tanaka 등, Braz J Med Biol Res (33)37-30 (2000); Lebing 등, Vox Sang (84):193-201 (2003); U.S. Pat. Nos. 5,122,373 및 5,177,194; PCT/US2010/036470; 및 PCT/US2011/038247; 이들의 기술이 본원에 참조로 포함됨].

[0102] 혈장-유도된 생성물 중에 존재하는 다양한 바이러스 오염물을 불활성화시키기 위해, 정화된 PptG 여과물을 용매 (solvent) 계면활성제(detergent) (S/D) 처리할 수 있다. 혈장 유도된 분획물의 계면활성제 처리 방법은 당업계에 공지되어 있다. 검토를 위해 문헌 [Pelletier JP 등, Best Pract Res Clin Haematol. 2006;19(1):205-42] 을 참조한다. 일반적으로, 본원에 제공된 방법과 함께 임의의 표준 S/D 처리가 이용될 수 있다.

[0103] IgG를 더욱 정제하고 농축하기 위해서, 양이온 교환 및/또는 음이온 교환 크로마토그래피가 이용될 수 있다. 이온 교환 크로마토그래피를 이용한 IgG의 정제 및 농축 방법은 당업계에 널리 알려져 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 5,886,154는 분획 II+III 침전물을 낮은 pH (약 3.8 내지 4.5)에서 추출한 후, 카프릴산을 사용하여

IgG를 침전시키고, 마지막으로 2개의 음이온 교환 크로마토그래피를 수행하는 방법을 기술한다. 미국 특허 번호 6,069,236은 알콜 침전에 전혀 의존하지 않는 크로마토그래피 IgG 정제 계획을 기술한다. PCT 공개 번호 WO 2005/073252는 분획 II+III 침전물의 추출, 카프릴산 처리, PEG 처리 및 단일 음이온 교환 크로마토그래피 단계를 포함하는 IgG 정제 방법을 기술한다. 미국 특허 번호 7,186,410은 분획 I+II+III 또는 분획 II 침전물의 추출 후 알칼리성 pH에서 수행되는 단일 음이온 교환 단계를 포함하는 IgG 정제 방법을 기술한다. 미국 특허 번호 7,553,938은 분획 I+II+III 또는 분획 II+III 침전물의 추출, 카프릴레이트 처리 및 1 또는 2개의 음이온 교환 크로마토그래피 단계를 포함하는 방법을 기술한다. 미국 특허 번호 6,093,324는 약 6.0 내지 약 6.6의 pH에서 수행되는 거대공성 음이온 교환 수지의 사용을 포함하는 정제 방법을 기술한다. 미국 특허 번호 6,835,379는 알콜 분획화 부재 하에서 양이온 교환 크로마토그래피에 의존하는 정제 방법을 기술한다. 상기 공개문들의 기술은 모든 점에서 전부 본원에 참조로 포함된다.

[0104] 본원에서 제공되는 IgG 조성물의 바이러스 부하(load)를 감소시키기 위해서, 조성물은 적합한 나노여과 디바이스를 사용하여 나노여과된다. 특정 양태에서, 나노여과 디바이스는 약 15 nm 내지 약 200 nm의 평균 공극 크기를 가질 것이다. 이러한 사용에 적합한 나노필터의 예는, 이로 제한됨이 없이, DVD, DV 50, DV 20 (Pall), 비레솔브 (Viresolve) NFP, 비레솔브 NFR (Millipore), 플라노바 (Planova) 15N, 20N, 35N 및 75N (Planova)을 포함한다. 특정 양태에서, 나노필터는 약 15 nm 내지 약 72 nm, 또는 약 19 nm 내지 약 35 nm, 또는 약 15 nm, 19nm, 35nm 또는 72 nm의 평균 공극 크기를 가질 수 있다. 바람직한 양태에서, 나노필터는 Asahi PLANOVA 35N 필터 또는 이의 등가물과 같이 약 35 nm의 평균 공극 크기를 가질 것이다. 특정 양태에서, 음이온 교환 단계로부터 회수되는 IgG 조성물은 30 nm 내지 40 nm, 바람직하게는 35±2 nm의 공극 크기를 갖는 나노필터를 사용하여 나노여과된다. 또 다른 바람직한 양태에서, 나노필터는 Asahi PLANOVA 20N 필터 (19±2 nm) 또는 이의 등가물과 같이 약 19 또는 20 nm의 평균 공극 크기를 가질 것이다. 특정 양태에서, 음이온 교환 단계로부터 회수되는 IgG 조성물은 15 nm 내지 25 nm, 바람직하게는 19±2 nm의 공극 크기를 갖는 나노필터를 사용하여 나노여과된다.

[0105] 특정 양태에서, 면역글로불린은 당업자에 널리 알려진 알콜 분획화 및/또는 이온 교환 및 친화성 크로마토그래피에 의해 생성되는 감마 글로불린-포함 생성물로부터 제조된다. 정제된 콘 분획 II가 일반적으로 사용된다. 출발 콘 분획 II 페이스트는 전형적으로 약 95% IgG이며, 4개의 IgG 서브타입으로 구성된다. 상이한 서브타입들이 이들이 수득되는 풀링된 사람 혈장에서 발견되는 것과 대략적으로 동일한 비율로 분획 II에 존재한다. 분획 II는 투여가능한 생성물로 제형화하기 전에 추가로 정제된다. 예를 들어, 분획 II 페이스트는 냉각 및 정제된 알콜 수용액에 용해되고 침전 및 여과를 통해 불순물이 제거될 수 있다. 최종 여과 후, 면역글로불린 현탁액은 투석되거나 한외여과되어(예를 들어, 100,000 달톤 이하의 공칭 분자량 한계를 갖는 한외여과 막을 사용하여) 알콜을 제거시킬 수 있다. 상기 용액은 목적하는 단백질 농도가 수득되도록 농축되거나 희석될 수 있고, 당업자에게 널리 알려진 기술로 추가로 정제될 수 있다.

[0106] 제조 단계는 특정 이소타입 또는 서브타입의 면역글로불린을 농축시키는데 이용될 수 있다. 예를 들어, 단백질 A, 단백질 G 또는 단백질 H 세파로즈 크로마토그래피가 IgG 또는 특정한 IgG 서브타입을 위한 면역글로불린의 혼합물을 농축시키는데 이용될 수 있다 [참조: Harlow and Lane, Using Antibodies, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1999); Harlow and Lane, Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1988); U.S. Pat. No. 5,180,810].

[0107] 또한, 시판되는 폴리클로날 면역글로불린이 사용될 수 있다. 이러한 시판되는 폴리클로날 면역글로불린은, 이로 제한됨이 없이, Kiovig® 10% IVIG (Baxter Healthcare); Gammagard Liquid® 10% IVIG (Baxter Healthcare); Gammagard S/D® (Baxter Healthcare); 5% 용액 중 1 mg/mL 미만의 IgA를 갖는 Gammagard S/D® (Baxter Healthcare); Gamunex®-C, 10% (Grifols USA); Flebogamma®, 5% 및 10% DIF (Grifols USA); Privigen® 10% 용액 (CSL Behring); Carimune ® NF 또는 Sandoglobulin® (CSL Behring); 및 Hizentra® 20% 액체 (CSL Behring); Octagam®, 5% 및 10% IVIG (Octapharma AG); Gammanorm® 16.5% SCIG (Octapharma AG)를 포함한다. 본 발명의 방법에 사용하는데 있어 면역글로불린 제제의 시판원이 중요하지 않다.

[0108] 대체적 접근은 항원-결합 능력을 갖는 항체의 단편, 예를 들어, Fab', $F(ab')_2$, Fab, Fv 및 rIgG를 사용하는 것이다 [참조: Pierce Catalog and Handbook, 1994-1995 (Pierce Chemical Co., Rockford, Ill.); Kuby, J., Immunology, 3.sup.rd Ed., W.H. Freeman & Co., New York (1998)]. 본 발명의 폴리클로날 IgG 조성물은 하나의 면역글로불린 이소타입의 단편, 예를 들어, IgG를 포함하거나 상이한 이소타입 (예: IgA, IgD, IgE, IgG 및/또는 IgM)의 면역글로불린 단편들의 혼합물을 포함할 수 있다. 또한, Fc 제제는 IgG 면역글로불린 이소타입으

로부터의 단편을 주로 포함하거나 소량의 다른 서브타입을 포함할 수 있다(적어도 60%, 적어도 75%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%) . 예를 들어, Fc 제제는 적어도 약 75%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 99% IgG 단편을 포함할 수 있다. 또한, 플로클로날 IgG 제제는 단일 IgG 서브타입 또는 2개 이상의 IgG 서브타입의 혼합물을 포함할 수 있다. 적합한 IgG 서브타입은 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4를 포함한다. 특정 양태에서, 폴리클로날 IgG 제제는 IgG1 단편을 포함한다.

[0109] 면역글로불린은 Fab, F(ab') 및/또는 $F(ab')_2$ 단편을 수득하기 위해 제조 동안 임의의 적합한 시간에 절단될 수 있다. 절단에 적합한 효소는, 예를 들어, 파파인, 펩신 또는 플라스민이다 [참조: Harlow and Lane, Using Antibodies, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1999); Plan and Makula, Vox Sanguinis 28:157-75 (1975)]. 절단 후, Fc 부분은, 예를 들어, 친화성 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피, 겔 여과 등에 의해 Fab, F(ab') 및/또는 $F(ab')_2$ 단편으로부터 분리될 수 있다. 구체적인 예시에서, 면역글로불린은 Fab 단편으로부터 Fc 단편을 분리하기 위해 파파인으로 분해된다. 이어서, 분해 혼합물을 양이온 교환 크로마토그래피하여 Fab 단편으로부터 Fc 단편을 분리한다.

[0110] 또한, 면역글로불린 단편은 모노클로날 항체를 발현하는 하이브리도마 또는 다른 배양 시스템으로부터 제조될 수 있다 [참조: Kohler and Milstein, Nature 256:495-97 (1975); Hagiwara and Yuasa, Hum. Antibodies Hybridomas 4:15-19 (1993); Kozbor 등, Immunology Today 4:72 (1983); Cole 등, in Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96 (1985)]. 사람 모노클로날 항체는, 예를 들어, 사람 하이브리도마로부터 수득되거나 [참조: Cote 등, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:2026-30 (1983)] 시험관내에서 사람 B 세포를 EBV 바이러스로 형질전환시켜 수득될 수 있다 (Cole 등, 상기 참조). 하이브리도마로부터 생성되는 모노클로날 항체는 정제될 수 있고, Fc 단편은 본원에서 기술되거나 당업자에게 공지되어 있는 바와 같이 Fab, F(ab') 및/또는 $F(ab')_2$ 단편으로부터 분리될 수 있다.

[0111] 또한, IgG 단편은, 예를 들어, 진핵세포 배양 시스템으로부터 재조합적으로 생성될 수 있다. 예를 들어, 단일쇄 Fv 단편 (scFv)은 Fv 단편을 암호화하는 DNA 서열을 포함하는 벡터로 트랜스펙션된 차이니즈 햄스터 난소 (Chinese hamster ovary, CHO) 세포에 의해 재조합적으로 생성될 수 있다. 이러한 재조합 포유동물 세포를 생성하는 방법은, 예를 들어, 문헌 [Sambrook and Russell, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 3rd ed. (Cold Spring Harbor Laboratory Press (New York) 2001) and Ausubel 등, Short Protocols in Molecular Biology, 4th ed. (John Wiley & Sons, Inc. (New York) 1999)]에 기술되어 있고 당업자에게 공지되어 있다. 또한, 재조합 면역글로불린 단편은 다른 포유동물 세포주, 예를 들어, 베이비 햄스터 신장 (baby hamster kidney, BHK) 세포에서 생성될 수 있다. 또한, 재조합 단백질을 생성하기 위해 재조합 세포를 배양하는 방법도 당업계에 공지되어 있다.

[0112] 재조합 면역글로불린 IgG 단편을 발현시키기 위해 다양한 다른 발현 시스템을 사용할 수 있다. 이들은 목적하는 IgG 단편을 암호화하는 발현 카세트로 트랜스펙션되거나 형질전환된 곤충 세포 시스템 및 미생물, 예를 들어, 효모 또는 박테리아를 포함하나, 이로 제한되지 않는다. 특정 양태에서, 미생물은 임의로 포유동물 또는 사람 IgG 단편의 당화 패턴을 생성하도록 조작될 수 있다.

[0113] 특정 양태에서, 본 발명에 따른 방법에 사용하기에 안전한 면역글로불린 제제 제공을 위해 추가의 제조 단계가 이용될 수 있다. 이러한 단계는, 예를 들어, 용매/계면활성제로의 처리, 저온살균 및 멸균을 포함할 수 있다. 폴리클로날 IgG 제제의 안정성을 보장하기 위한 추가의 제조 단계가 이용될 수 있다. 이러한 제조 단계는, 예를 들어, 효소 가수분해, 환원 및 알킬화를 통한 화학적 변형, 술폰화, B-프로피올락톤으로 처리, 낮은 pH에서의 처리 등을 포함할 수 있다. 또한, 적합한 방법에 대한 기술은, 예를 들어, 문헌 [U.S. Pat. Nos. 4,608,254; 4,687,664; 4,640,834; 4,814,277; 5,864,016; 5,639,730 및 5,770,199; Romer 등, Vox Sang. 42:62-73 (1982); Romer 등, Vox Sang. 42:74-80 (1990); 및 Rutter, J. Neurosurg. Psychiat. 57 (Suppl.):2-5 (1994), 이들의 기술이 본원에 참조로 포함됨]에서 찾을 수 있다.

[0115] ***V. 약제학적 조성물 및 투여량***

[0116] 본원에서 기술되는 바와 같은 폴리클로날 IgG의 투여가 탈수초성 말초 신경병증에 대한 유효한 치료학적 요법인 개체는 바람직하게는 사람이나 임의의 포유동물일 수 있다. 따라서, 당업자라면 용이하게 알 수 있는 바와 같이, 본 발명의 방법 및 약제학적 조성물은, 가축(예를 들어, 고양이 또는 소), 사육 동물(예를 들어, 소, 말, 염소, 양 및 돼지), 야생 동물 (야생 또는 동물원의 야생 동물), 연구용 동물(예를 들어, 수의학적 이용을 위한

마우스, 래트, 토끼, 염소, 양, 돼지, 개, 고양이 등)을 포함하나, 이로 제한되지 않는 임의의 포유동물에게 투여하기에 특히 적합하다.

[0117] 본 발명의 폴리클로날 IgG를 포함하는 약제학적 조성물은 당업계에 공지된 다양한 방법으로 투여될 수 있다. 투여 경로 및/또는 방식은 목적하는 결과에 따라 다르나, 전형적으로 정맥내, 근육내, 비강, 복강내, 동맥내 또는 피하 투여일 것이다. 약제학적 조성물은 정맥내, 근육내, 피하, 장관외, 척추 또는 표피 투여에(예를 들어, 주사 또는 주입에 의한) 적합한, 허용되는 담체를 포함할 수 있다.

[0118] 본 발명의 폴리클로날 IgG는 예방학적 및/또는 치료학적 처리를 위해 국소 또는 전신 투여에 유용하다. 예시적인 투여 방식은, 이로 제한됨이 없이, 경피, 피하, 동맥내, 정맥내, 비강, 근육내, 직장, 협측 및 경구 투여를 포함한다. 약제학적 조성물은 투여 방법에 따라 다양한 단위 투여 형태로 투여될 수 있다. 예를 들어, 단위 투여 형태는 산제, 정제, 환제, 캡슐제, 좌제, 앰플 및 로젠지를 포함한다. 적합한 유효 투여량이 단일 또는 다수의 단위 용량으로 사용되는 투여 형태와 일치하도록 활성 성분이 유효량을 구성하는 것만이 필요하다. 정확한 개별 투여량 및 1일 투여량은 물론 의사 또는 수의사의 지시 하에 표준 의학적 원칙에 따라 결정될 것이다. 본 발명의 약제학적 폴리클로날 IgG 면역글로불린 조성물은, 경구 투여되는 경우, 바람직하게는 소화로부터 보호된다. 이는 전형적으로 항체를 산성 및 효소적 가수분해에 내성이도록 하는 조성물과 복합체를 형성하거나 항체를 비히클, 특히 리포좀과 같은 적합하게 저항성인 담체에 패키징함으로써 달성된다 [참조: Langer, Science 249:1527-1533 (1990); Treat 등, in Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, pp. 353-365 (1989); Lopez-Berestein, ibid., pp. 317-327; 일반적으로 같은 문헌에서 참조]. 소화로부터 단백질을 보호하는 수단은 당업계에 널리 알려져 있다.

[0119] 본 발명의 약제학적 조성물은 특히 비경구 투여, 예를 들어, 정맥내 투여 또는 기관의 체강 또는 루멘으로의 투여에 특히 유용하다. 투여용 조성물은 일반적으로 약제학적으로 허용되는 담체, 바람직하게는 수성 담체와 함께 폴리클로날 IgG의 조성물을 포함할 것이다. 다양한 수성 담체, 예를 들어, 완충된 식염수 등이 사용될 수 있다.

[0120] 정제, 당의정, 캡슐 및 환제로의 제형화에 적응되는 활성 화합물을 포함하는 약제학적 조성물 (예: 과립물)에 사용될 수 있는 희석제는 하기를 포함한다: (a) 충전제 및 증량제, 예를 들어, 전분, 슈가, 만니톨 및 규산; (b) 결합제, 예를 들어, 카복시메틸 셀룰로즈 및 다른 셀룰로즈 유도체, 알기네이트, 젤라틴 및 폴리비닐 피롤리돈; (c) 보습제, 예를 들어, 글리세롤; (d) 붕해제, 예를 들어, 한천 (agar-agar), 탄산칼슘 및 중탄산나트륨; (e) 용해 지연제, 예를 들어, 파라핀; (f) 재흡수 가속화제, 예를 들어, 4급 암모늄 화합물; (g) 표면 활성제, 예를 들어, 세틸 알콜, 글리세롤 모노스테아레이트; (g) 흡착성 담체, 예를 들어, 카올린 및 벤토나이트; (i) 윤활제, 예를 들어, 활석, 칼슘 및 마그네슘 스테아레이트 및 고체 폴리에틸렌 글리콜. 좌제로 형성되도록 적응되는 약제학적 조성물에 사용되는 희석제는, 예를 들어, 통상의 수용성 희석제, 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜 및 지방 (예: 코코아 오일 및 고급 에스테르 (예: C_{16}-지방산을 갖는 C_{14}-알콜) 또는 이들 희석제의 혼합물일 수 있다.

[0121] 본 발명의 약제학적 조성물은 멸균되고 일반적으로 바람직하지 못한 물질이 포함되지 않는다. 비경구 투여를 위해, 용액 및 현탁액은 멸균되어야 하며, 예를 들어, 물 또는 땅콩 기름은 앰플에 포함되어야 하고, 적합한 경우, 혈액-등장성이어야 한다. 이들 조성물은 통상의 널리 공지된 멸균 기술로 멸균될 수 있다. 조성물은 생리학적 조건에 근접하는데 필요한 약제학적으로 허용되는 보조 물질, 예를 들어, pH 조절 및 완충 제제, 독성 조절제 등, 예를 들어, 나트륨 아세테이트, 염화나트륨, 염화칼륨, 염화칼슘, 나트륨 락테이트 등을 포함할 수 있다. 이들 제제 중의 폴리클로날 IgG의 농도는 광범위하게 다양할 수 있고, 선택되는 투여의 특정 방식 및 환자의 필요에 따라 주로 유체 부피, 점도, 환자의 체중 등에 기초하여 선택될 것이다.

[0122] 조성물의 적당한 유동성은, 예를 들어, 레시틴과 같은 코팅물을 사용하거나, 분산물의 경우엔 필요한 입자 크기를 유지하거나, 계면활성제를 사용하여 유지시킬 수 있다. 일부 경우, 조성물 중에 등장화제, 예를 들어, 슈크로즈와 같은 슈가, 만니톨 또는 소르비톨과 같은 폴리알콜 및 염화나트륨을 포함하는 것이 바람직하다. 또한, 니코틴아미드, L-프롤린, L-글리신 또는 L-이소루이신과 같은 안정화제도 사용될 수 있다. 주사가능한 조성물의 장기간 흡수는 조성물 중에 흡수를 지연시키는 제제, 예를 들어, 알루미늄 모노스테아레이트 또는 젤라틴을 포함시킴으로써 달성할 수 있다.

[0123] 현탁물인 약제학적 조성물은 통상의 희석제, 예를 들어, 액체 희석제, 예를 들어, 물, 에틸 알콜, 프로필렌 글리콜, 표면 활성제 (예: 에톡실화된 이소스테아릴 알콜, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 및 소르비탄 에스테르), 미세

결정성 셀룰로즈, 알루미늄 메타하이드록사이드, 벤토나이트, 한천 및 트라가칸트 또는 이들의 혼합물을 포함할 수 있다.

[0124] 또한, 약제학적 조성물은 착색제, 보존제, 향료 및 향미 첨가제 (예: 페퍼민트유 및 유칼리유), 및 감미제 (예: 사카린 및 아스파탐)을 포함할 수 있다.

[0125] 약제학적 조성물은 일반적으로 총 조성물에 대해 0.5 내지 90중량%의 활성 성분을 포함할 것이다.

[0126] 모노클로날 항체에 추가하여, 약제학적 조성물 및 의약은 또한 다른 약제학적으로 활성인 화합물, 예를 들어, 스테로이드, 소염제 등을 포함할 수 있다.

[0127] 본 발명의 의약 중의 임의의 희석제는 약제학적 조성물과 관련하여 상술된 것들 중 임의의 것일 수 있다. 이러한 의약은 단일 희석제로서 분자량이 200 미만인 용매를 포함할 수 있다.

[0128] 본 발명의 약제학적 조성물은 당업계에 널리 공지되고 통상적으로 실시되는 방법에 따라 제조될 수 있다 [참조: Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, Mack Publishing Co., 20th ed., 2000; 및 *Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems*, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978]. 약제학적 조성물은 바람직하게는 GMP 조건 하에 제조된다. 전형적으로, 면역글로불린 제제의 치료학적 유효 용량(effective dose) 또는 효과적인 용량이 본 발명의 조성물에 사용된다. 약제학적 조성물은 당업자에게 공지된 통상의 방법에 의해 투여 형태로 제형화될 수 있다. 투여 요법은 최적의 목적하는 반응 (예: 치료학적 반응)을 제공하도록 조절된다. 예를 들어, 단일 볼루스 (bolus)가 투여될 수 있거나, 수개로 나눠진 용량이 시간이 경과에 따라 투여될 수 있거나, 그 용량은 치료학적 상황의 긴급에 의해 지시되는 바와 같이 비례적으로 감소되거나 증가될 수 있다. 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위한 투여 단위 형태로 비경구 조성물을 제형화하는 것이 유리할 수 있다. 본원에서 사용되는 투여 단위 형태는 치료되는 피험자를 위해 단위 투여량으로 적합한 물리적으로 구분된 단위를 지칭한다; 각각의 단위는 필요한 약제학적 담체와 함께 목적하는 치료학적 효과를 얻도록 계산된 활성 화합물의 예정량을 포함한다.

[0129] 실제 투여량 수준은 특정 환자에 대한 목적하는 치료학적 반응을 이 환자에대해 독성 없이 수득하기에 효과적인 활성 성분의 양을 수득하도록 변화될 수 있다. 의사는 목적하는 치료학적 효과를 달성하는데 필요한 양보다 적은 수준에서 약제학적 조성물의 용량을 개시하고 목적하는 효과가 달성될 때까지 그 투여량을 점진적으로 증가시킬 수 있다. 일반적으로, 유효 용량은 치료되는 특정 질환 또는 병태, 이의 중증도, 환자의 생리학적 상태, 투여되는 다른 의약 및 치료가 예방적인지 또는 치료적인지의 여부를 포함한 많은 상이한 요인에 따라 상이하다.

[0130] 폴리클로날 IgG 조성물은 다수 경우에 대해 투여될 수 있다. 단일 투여량 사이의 간격은 매일, 매주, 격주, 3주마다, 4주마다, 매달 또는 매년일 수 있다. 또한, 간격은 환자에서 치료 과정을 측정함으로써 지시되는 바와 같이 불규칙적일 수 있다. 투여량 및 횟수는 환자에서 항체의 반감기에 따라 달라질 수 있다.

[0131] 달리, 폴리클로날 IgG는 조절 방출 시스템으로 전달될 수 있다. 예를 들어, 폴리클로날 면역글로불린은 정맥내 주입, 이식가능한 삼투 펌프, 경피 패치, 리포좀 또는 다른 투여 방식을 이용하여 투여될 수 있다. 하나의 양태에서, 펌프가 사용될 수 있다 [참조: Langer, supra; Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201 (1987); Buchwald 등, Surgery 88:507 (1980); Saudek 등, N. Engl. J. Med. 321:574 (1989)]. 또 다른 양태에서, 중합체 물질이 사용될 수 있다 [참조: Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Fla. (1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984); Ranger and Peppas, J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61 (1983); see also Levy 등, Science 228:190 (1985); During 등, Ann. Neurol. 25:351 (1989); Howard 등, J. Neurosurg. 71:105 (1989)]. 또 다른 양태에서, 조절 방출 시스템은 치료학적 표적물, 즉 말초 신경계의 손상 부위에 인접하게 위치됨으로써 단지 전신 용량의 일부만을 필요로 할 수 있다 [참조: Goodson, in Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp. 115-138 (1984)]. 다른 조절 방출 시스템은 랑거 (Langer)에 의한 리뷰 [Science 249:1527-1533 (1990)]에서 논의된다.

[0132] 폴리클로날 IgG 면역글로불린 제제의 경우, 정맥내 면역글로불린 (IVIG)이 일반적으로 사용된다. IVIG 제제는 주사에 의한 투여를 위해 고안된다. 폴리클로날 IgG 제제는 치료학적 유효 용량을 위한 부피를 상당히 감소시키는 예외적으로 높은 면역글로불린 농도 (예: 일부 양태에서 10% w/v, 다른 양태에서 15% w/v, 또 다른 양태에서 20% w/v, 추가의 양태에서 25% w/v 이하)를 달성하였으므로, 본 발명의 조성물은 환자에게 정맥내 투여뿐만

아니라 피하 및/또는 근육내 투여하는데 특히 유리하다.

[0133] 용어 "유효량(effective amount)"은 (예를 들어, 말초 신경 외상, 독소-유도된 말초 신경병증 등을 치료하기 위해) 피험자에서 치료되는 의학적 병태를 개선하거나 치료하는 폴리클로날 IgG 제제의 양을 지칭한다. 피험자에게 투여되는 유효량은 연령, 체중, 질환 중증도, 투여 방식 (예: 정맥 대 피하) 및 치료에 대한 반응에서의 개별차를 고려하여 의사에 의해 결정될 수 있다.

[0134] 투여 스케쥴은 순환 반감기 및 사용되는 제형에 따라 달라질 수 있다. 조성물은 치료학적 유효량으로 투여 제형에 적합한 방식으로 투여된다. 투여에 필요한 활성 성분의 정확한 양은 의사의 판단에 의존적이며, 각각의 개체에 특유하다.

[0135] 적합한 용량의 폴리클로날 IgG는 환자에게 매주, 격주로, 3주마다, 4주마다 또는 매달 투여될 수 있으며, 용량은 약 0.050 내지 5 g/환자 체중 kg, 약 0.095 내지 4.7 g/환자 체중 kg, 약 0.140 내지 4.4 g/환자 체중 kg, 약 0.185 내지 4.1 g/환자 체중 kg, 약 0.230 내지 3.8 g/환자 체중 kg, 약 0.275 내지 3.5 g/환자 체중 kg, 약 0.320 내지 3.2 g/환자 체중 kg, 약 0.365 내지 2.9 g/환자 체중 kg, 약 0.410 내지 2.6 g/환자 체중 kg, 약 0.455 내지 2.3 g/환자 체중 kg, 약 0.500 내지 2.0 g/환자 체중 kg의 범위이다.

[0136] 대체적 양태에서, 본 발명의 폴리클로날 IgG 조성물은 피험자에게 매주, 격주로, 3주마다, 4주마다 또는 매달 약 0.05 내지 4.9 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 4.8 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 4.7 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 4.6 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 4.5 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 4.4 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 4.3 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 4.2 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 4.1 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 4.0 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 3.9 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 3.8 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 3.7 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 3.6 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 3.5 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 3.4 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 3.3 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 3.2 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 3.1 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 3.0 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 2.9 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 2.8 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 2.7 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 2.6 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 2.5 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 2.4 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 2.3 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 2.2 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 2.1 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 2.0 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 1.9 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 1.8 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 1.7 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 1.6 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 1.5 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 1.4 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 1.3 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 1.2 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 1.1 g/환자 체중 kg, 약 0.05 내지 1.0 g/환자 체중 kg의 용량으로 투여된다. IgG 제제로 치료되는 질환과 익숙한 임상의는 당업계에 공지된 기준에 따라 환자에게 적합한 용량을 결정할 수 있다.

[0137] 다른 양태에서, IVIG 제품은 피험자에게 매번 약 0.2 g/환자 체중 kg 내지 약 4 g/환자 체중 kg의 범위내에서 투여될 수 있으며, 투여 횟수는 1주에 2회, 1주에 1회, 1개월에 2회, 1개월에 1회 또는 격월에 1회의 범위일 수 있다. IVIG에 대한 하나의 예시적 용량 범위는 약 0.1 내지 약 1 또는 약 0.2 내지 약 0.8 g/환자 체중 kg이고, 전형적으로 1개월에 2회 또는 1개월에 1회의 횟수로 투여된다. 예를 들어, IVIG는 일부 환자에게 1개월에 2회의 스케쥴에 따라 0.2, 0.4, 0.6 또는 0.8 g/환자 체중 kg의 용량으로 투여된다. 다른 경우, IVIG는 1개월에 1회 스케쥴에 따라 0.2, 0.4, 0.6 또는 0.8 g/환자 체중 kg의 용량으로 투여된다.

[0138] 탈수초성 말초 신경병증에 대한 IVIG 치료 기간은 다양할 수 있다; 이는 짧게는 3 또는 6개월이거나 길게는 18개월, 2년, 5년, 또는 10년일 수 있다. 일부의 경우, IVIG 치료는 남은 환자 수명 동안 지속될 수 있다. IVIG 치료의 유효성은 투여의 전체 과정 동안 특정 시간 기간 후, 예를 들어, 18개월의 치료 계획 동안 3개월마다 또는 6개월마다 평가될 수 있다. 다른 경우, 유효성은 보다 긴 치료 과정 동안 9개월마다 또는 12개월마다 평가될 수 있다. 투여 스케쥴 (용량 및 횟수)는 임의의 후속적 투여에 따라 조절될 수 있다.

[0139] 정맥내 투여에 대해, 폴리클로날 IgG는 30분 동안 0.5 mL/kg/시간 (0.8 mg/kg/분)의 예시적인 초기 주입 속도로 투여되지만, 예시적인 유지 주입 속도는 30분마다, 허용되는 경우, 5 mL/kg/시간 (8 mg/kg/분)까지 그 속도를 증가시킬 수 있다. 주입 시간은 용량, 주입 속도 및 내성에 따라 달라질 수 있다.

[0140] 40 kg 이상의 체중을 갖는 개체에 대한 피하 투여에 대해, 예시적인 초기 주입 속도는 20 mL/시간/부위로 30 mL/부위이나 예시적인 유지 주입 속도는 20-30 mL/시간/부위로 30 mL/부위이다. 40 kg 미만의 체중을 갖는 개체에 대한 피하 투여에 대해, 예시적인 초기 주입 속도는 15 mL/시간/부위로 20-30 mL/부위이나 예시적인 유지 주입 속도는 15-20 mL/시간/부위로 20 mL/부위이다. 주입 시간은 용량, 주입 속도 및 내성에 따라 달라질 수

있다.

[0141] 본 발명에 따라, 치료 과정을 완성하는데 필요한 시간은 의사에 의해 결정될 수 있고, 짧게는 1일부터 1개월 초과의 범위일 수 있다. 특정 양태에서, 치료 과정은 1 내지 6개월일 수 있다.

[0142] 비경구로 투여가능한 조성물을 제조하는 방법은 당업자에게 공지되어 있거나 분명할 것이며 [Remington's Pharmaceutical Science, 15th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1980)]와 같은 공개문에서 더욱 상세히 기술된다.

[0144] **VI. 병용 요법**

[0145] 일부 양태에서, 폴리클로날 IgG는 또 다른 치료제, 예를 들어, 탈수초화 장애 (예: 본원에 기술되는 임의의 탈수초화 장애)에 대한 또 다른 치료와 병용 요법으로 피험자에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 병용 요법은 탈수초화 장애를 갖거나 이를 발병시킬 위험이 있는 피험자에게 치료학적 이익을 제공하는 하나 이상의 추가의 제제를 투여하는 것을 포함할 수 있다. 일부 양태에서, 상기 폴리클로날 IgG 및 하나 이상의 추가 제제는 동시에 투여된다. 다른 양태에서, 폴리클로날 IgG 투여가 먼저 투여되고 하나 이상의 추가 제제가 그 다음 투여된다. 일부 양태에서는, 하나 이상의 추가 제제가 먼저 투여되고 폴리클로날 IgG가 그 다음 투여된다. 폴리클로날 IgG는 이전에 또는 현재 투여되는 요법을 대체하거나 이를 증대시킬 수 있다. 예를 들어, 폴리클로날 IgG로의 치료시, 하나 이상의 추가 제제의 투여를 멈추거나 감소시킬 수 있다 (예를 들어, 저수준으로 투여될 수 있다). 다른 양태에서, 이전 요법의 투여는 유지된다. 일부 양태에서, 이전 요법은 폴리클로날 IgG 수준이 치료 효과를 제공하기에 충분한 수준에 도달할 때까지 유지될 것이다. 두 요법이 함께 투여될 수 있다.

[0146] 일부 양태에서, 폴리클로날 IgG는 또한 탈수초화 장애에 대한 제1 요법, 예를 들어, 인터페론 베타 1a (Avonex), 인터페론 베타 1b (Rebif), 글라티라머 아세테이트 (Copaxone), 미톡산트론 (Novantrone), 아자티프린 (Imuran), 사이클로포스파미드 (Cytoxan 또는 Neosar), 사이클로스포린 (Sandimmune), 메토트렉세이트, 클라드리빈 (Leustatin), 메틸프레드니손 (Depo-Medrol 또는 Solu-Medrol), 프레드니손 (Deltasone), 프레드니소론 (Delta-Cortef), 데옥사메타손 (Medrol 또는 Decadron), 아드레노-코르티코트로픽 호르몬 (ACTH) 또는 코르티코트로핀 (Acthar)으로 처리된 개체에게 투여될 수 있다. 일부 양태에서, 사람에게 폴리클로날 IgG가 투여되는 경우, 제1 요법은 중지된다. 다른 양태에서, 제1의 미리-선정된 결과, 예를 들어, 탈수초화 장애의 하나 이상의 증상, 예를 들어 본원에 기술된 탈수초화 장애의 증상 중 임의의 증상의 개선 (예: 증가된 재수초화)이 사람에서 모니터링된다. 일부 양태에서, 제1의 미리-선정된 결과가 관측되는 경우, 폴리클로날 IgG로의 치료는 감소되거나 중지된다. 이어서, 일부 양태에서, 폴리클로날 IgG로의 치료가 중지된 후 제2의 미리-선정된 결과, 예를 들어, 탈수초화 장애의 증상의 악화가 사람에서 모니터링된다. 제2의 미리-선정된 결과가 관측되는 경우, 사람에 대한 폴리클로날 IgG의 투여가 부활 또는 증가되거나, 제1 요법의 투여가 부활되거나, 사람에게 폴리클로날 IgG 또는 증가량의 폴리클로날 IgG와 제1 치료 요법 모두가 투여된다.

[0147] 하나의 양태에서, 탈수초화 장애에 대해 제1 요법을 받은 후 폴리클로날 IgG로 치료되는 사람은 제1 요법을 동일 또는 감소된 양으로 받는다. 또 다른 양태에서, 제1 요법으로의 치료가 얼마간 폴리클로날 IgG로의 치료와 겹치나 제1 요법으로의 치료는 나중에 중지된다.

[0148] 본 발명의 일부 양태에서, 치료학적 유효량의 폴리클로날 IgG는 이를 필요로 하는 환자에게 소염제와 함께 공동-투여된다. 소염제는 신체 메커니즘에 작용함으로써 염증을 감소시키는 널리 알려진 부류의 약제이다 [참조: Stedman's Medical Dictionary 26 e., Williams and Wilkins, (1995); Physicians Desk Reference 51 ed, Medical Economics, (1997)].

[0149] 본 발명의 방법에 유용한 소염제는 비-스테로이드성 소염제 (Non-steroidal Anti-Inflammatory Agents, NSAIDS)를 포함한다. NSAIDS는 전형적으로 프로스타글란딘을 합성하는 신체의 능력을 억제한다. 프로스타글란딘은 호르몬-유사 화학물질의 일 부류로서, 이중 일부는 세포 손상에 반응하여 생성된다. 사람에게 투여하는 위한 것으로 승인된 특정 NSAIDS는 나프록센 나트륨, 디클로페낙, 술린닥, 옥사프로진, 디플루니살, 아스피린, 피록시캄, 인도메토신, 에토돌락, 이부프로펜, 페노프로펜, 케토프로펜, 메페남산, 나부메톤, 톨메틴 나트륨 및 케토롤락 트로메타민을 포함한다.

[0150] 본 발명의 방법에 유용한 다른 소염제는 살리실레이트, 예를 들어, 살리실산, 아세틸 살리실산, 콜린 살리실레이트, 마그네슘 살리실레이트, 나트륨 살리실레이트, 올살라진 및 살살레이트를 포함한다.

[0151] 본 발명의 방법에 유용한 다른 소염제는 사이클로옥시게나제 (COX) 억제제를 포함한다. COX는 아라키도네이트의 프로스타글란딘 H2 (PGH2)로의 전환을 촉매한다; COX 억제제는 이러한 반응을 억제한다. COX는 또한 프로스타글란딘 H 합성효소 또는 PGH 합성효소로도 알려져 있다. 2개의 Cox 유전자인 Cox-1 및 Cox-2가 수개의 종들로부터 분리되었다. COX-2는 대부분의 조직에서 엄격하게 조절되고, 통상적으로 단지 염증, 류마티스 관절염, 골관절염, 신장 질환 및 골다공증과 같은 이상 상태에서만 유도된다. COX-1은 혈소판 및 신장 기능 및 인터 항상성을 유지하도록 구성적으로 발현되는 것으로 믿어진다. 본 발명의 방법에 유용한 전형적인 COX 억제제는 에토돌락, 셀레브렉스, 멜록시캄, 피록시캄, 니멜술리드, 나부메톤 및 로페콕시브를 포함한다.

[0152] 본 발명의 방법에서 투여하기 위해 중합체에 포함될 수 있는 바람직한 소염제는 하기를 포함한다: 이소닉신, 암톨레틴 구아실, 프로글루메타신, 피케토프로펜, 디페나미졸, 에피리졸, 아파존, 페프라존, 모라존, 페닐부타존, 피페부존, 프로피페나존, 라미페나존, 티아졸리노부타존, 아스피린, 베노이일레이트 (Benoiylate), 칼슘 아세틸살리실레이트, 에테르살레이트, 이미다졸 살리실레이트, 리신 아세틸살리실레이트, 모르폴린 살리실레이트, 1-나프틸 살리실레이트, 페닐 아세틸살리실레이트, 암피록시캄, 드록시캄, S-아데노실메티오닌, 아믹세틴, 벤지다민, 부콜롬,디펜피라미드, 에모르파존, 구아이아줄렌, 나부네톤, 니메술리드, 프로쿠아존, 수퍼옥사이드 디스무타제 및 테니답.

[0153] 본 발명의 방법에서 투여하기 위해 중합체에 부가될 수 있는 소염제는 하기를 포함한다: 에토페나메이트, 탈니플루메이트, 테로페나메이트, 아세메타신, 알클로페낙, 부펙사막, 신메타신, 클로피락, 펠비낙, 펜클로즈산, 펜티아작, 이부페낙, 인도메타신, 이소페졸락, 이속세팍, 로나졸락, 메티아진산, 모페졸락, 옥사메타신, 피라졸락, 술린닥, 티아라미드, 톨메틴, 트로페신, 조메피락, 부마디존, 부티부펜, 펜부펜, 젠부신 클리다낙, 케토롤락, 티노리딘, 베녹사프로펜, 베르모프로펜, 부클록스산, 페노프로펜, 플루녹사프로펜, 플루르비프로펜, 트부프로펜, 트부프록삼, 인도프로펜, 케토프로펜, 록소프로펜, 나프록센, 옥사프로진, 피르프로펜, 프라노프로펜, 프로드즈닉산 (Prodznic Acid), 수프로펜, 티아프로펜산, 잘토프로펜, 벤즈피페릴론, 모페부타존, 옥시펜부타존, 숙시부존, 아세타미노살롤, 파르살미드, 페닐 살리실레이트, 살라세타미드, 살리실술프르산, 이속시칸, 로멕시캄, 피록시캄, 테녹시캄, 엡실론-아세타미도카프로산, 벤다작, 알파-비사볼롤, 파라닐린, 페리속살 및 질루이톤.

[0154] 본 발명의 방법에서 투여하기 위한 중합체 골격에 삽입될 수 있는 소염제는 하기를 포함한다: 엔페남산, 아세클로페낙, 글루카메타신, 알미노프로펜, 카이프로펜, 지노프로펜, 살살레이트, 3-아미노-4-하이드록시부티르산, 디타졸, 페프라디놀 및 옥사세프롤.

[0155] 본원에서 기술되는 바와 같은 화학식 I의 중합체의 골격에 삽입될 수 있는 적합한 오르토 작용기를 갖는 소염제는 하기를 포함한다: 플루페남산, 메클로페남산, 메페남산, 니플룸산, 톨페남산, 암페낙, 브롬페낙, 디클로페낙 나트륨, 에토돌락, 브로모살리게닌, 디플루니살, 펜도살, 게티티스산, 글리콜 살리실레이트, 살리실산, 메살라민, 올살라진, 살리실라미드 O-아세트산, 술파살라진.

[0156] 상품명으로 본원에서 언급되는 임의의 소염제에 대해, 이 상품명의 제품 또는 이 제품으로부터 소염 활성을 갖는 활성 성분이 사용될 수 있다는 것을 알 수 있을 것이다. 추가로, 중합체 골격에 삽입하기 위해 본원에서 확인되는 바람직한 제제는 또한 바람직하게는 중합체에 부가되거나 중합체 매트릭스에 삽입될 수 있다. 중합체에 부가될 수 있는 바람직한 제제는 또한 바람직하게는 중합체 매트릭스에 삽입될 수 있다.

[0157] **실시예**

[0158] 본 발명을 분명히 하기 위해 하기에 실시예가 제공된다. 이들 실시예는 본 발명을 임의의 특정 적용 또는 작업 이론에 구속시키려는 것이 아니다.

[0160] ***실시예 1: 슈반 세포에 대한 IVIG 효과 조사***

[0161] 다양한 분자 및 세포 가변물을 통해 입증되는 슈만 세포 항상성, 분화 및 성숙에 대한 사람 혈청-유도된 폴리클로날 면역글로불린의 직접적 효과를 3개의 모델: 1) 일차 래트 슈반 세포 배양 모델; 2) p57kip2 억제된 슈반 세포 모델; 및 3) PNS 뉴런과 수초화 슈반 세포의 공동-배양물을 사용하여 조사하였다.

[0162] **1.1. 래트 슈반 세포 모델 1의 제조**

[0163] 이 모델에서는, 신생 래트의 좌골 신경으로부터 분리된 나이브 일차 슈반 세포 (SC)들을 배양하였다. 이러한 단계에서, SC는 미성숙이며, 분화 과정이 개시되지 않았다. 배양 중, 이들은 이들의 분화 프로그램에 따라 진

행하지 않고, 증식은 하나 미성숙한 상태로 남아 있으며, 아마도 내재적 분화 억제제의 존재에 기인할 것이다 (Heinen 등, 2008a).

[0164] **1.2. p57kip2 억제된 슈반 세포 모델 2의 제조**

[0165] 본 발명자들은 수초화 아교 세포 분화, 성숙 및 수초화에 대한 새로운 내재적 억제제로서 p57kip2 유전자를 확인하였다. p57kip2 유전자의 장기간 shRNA 의존적 억제가 일차 SC 분화를 액손 접촉으로부터 떼어놓는다는 것이 입증되었다. 이는 세포 주기 이탈, 변형된 SC 형태 및 유도된 미엘린 발현으로 밝혀졌다 (Kury 등, 2002; Heinen 등, 2008a; Heinen 등, 2008b). 이러한 이차 모델에서, p57kip2 억제된 SC는 대조군의 트랜스펙션된 세포, 즉 비-분화 세포와의 비교에 사용되었다. 이러한 배양 시스템은 시험관내에서 액손의 부재 하에 정량적으로 SC 분화 및 성숙을 관측하는 특별한 기회를 제공한다.

[0166] ***1.3. PNS 뉴런과 수초화 슈반 세포의 공동-배양물 - 모델 3의 제조***

[0167] 이 모델에서는, 수초화 뉴런/SC 공동-배양물을 생성하였다. 배양 제제는 PNS의 미성숙 감각 뉴런 및 슈반 세포 전구체 둘다를 포함하는 배아 위스타 (Wister) 래트 또는 C57/BL6 마우스 배근 신경절로부터 생성하였다. 이러한 공동-배양물은 생체내 상황을 자극하며, 최종 감싸기/수초화 과정 및 이러한 복잡한 상호작용이 면역글로불린 투여에 의해 영향을 받을 수 있는지의 여부를 연구할 수 있는 가능성을 제공한다. 공동-배양 조건 및 제제의 최적화는 발명자의 실험실에서 이용되는 확립된 프로토콜 또는 문헌 [Paivalainen 등, (2008)]에 공개된 프로토콜을 일부 변형하여 수행하였다. IVIG 자극은 투석된 IGIV/완충액 제제로 수초화 과정 개시와 동시에 수행하였다. IGIV/완충액 투석은 보충물 없이 세포 배양 배지에 대해 수행하였다. 모든 실험은 20 mg/ml의 단일 IGIV 농도로 수행하였다. 자극 기간은 투석된 IGIV/완충액을 가한지 3일 및 6일 후 수초화 동역학 (절간 형성)을 분석하여 측정하였다.

[0168] **1.4. 세포 형태**

[0169] 세포 형태는 모델 1 (배양 중의 래트 SC)에 대해서는 10 mg/ml 및 20 mg/ml의 IVIG를 사용하는 자극으로 9일 이하 동안 조사하고 모델 2 (p57kip2-억제된 SC)에 대해서는 7일 (트랜스펙션 9일) 이하 동안 조사하였다. 실험은 비-투석된 IGIV 및 완충액 제제 및 투석된 IGIV 및 완충액 제제 모두로 수행하였다. IVIG 및 완충액 투석은 보충물 없이 세포 배양 배지에 대해 수행하였다. 모든 모델 2 실험은 일 농도의 투석된 IGIV (20 mg/ml)로 수행하였다. 또한, 모델 2에서, 투석된 IVIG로 자극한지 3일 및 7일 후 세포 돌출 길이를 재어 세포 성장 및 분화 동역학을 측정하였다.

[0170] **1.5. 세포 죽음/증식**

[0171] 세포 죽음/증식을 비-투석된 IVIG/완충액 제제 및 투석된 IVIG/완충액 제제로 자극시킨지 2일 후 모델 1에서 조사하였다. IVIG/완충액 투석은 보충물 없이 세포 배양 배지에 대해 수행하였다. 모든 실험들은 단일 농도의 IVIG (20 mg/ml)로 수행하였다. 세포 증식 측정을 위해 2가지 분석을 이용하였다: Ki-67 항원에 대한 면역세포화학 염색 및 BrdU에 대한 면역세포화학 염색. Ki-67 항원은 증식에 대한 세포성 마커로서 사용되는 핵 단백질이다. BrdU (브로모데옥시우리딘)은 증식 세포를 표지하기 위해 사용되는 티미딘의 뉴클레오타이드 동족체이다. 카스파제-3에 대한 면역세포화학 분석을 아폽토시스 마커로서 이용하였다. 카스파제-3은 아폽토시스 세포에서 활성화되는 프로테아제이므로 세포 죽음 마커로서 사용된다. 세포들을 8시간 및 24시간의 2개의 상이한 BrdU-펄스 기간 후 고정시켰다.

[0172] **1.6. 유전자 발현**

[0173] 비-투석된 IVIG/완충액 제제 및 투석된 IVIG/완충액 제제 모두를 사용하여 9일 이하의 자극에 노출된 모델 1 (배양 중의 래트 SC - 단락 1.1) 및 7일 (트랜스펙션 9일) 이하의 자극에 노출된 모델 2 (p57kip2-억제된 SC - 단락 1.2)에서 유전자 발현을 분석하였다. 투석된 SYNAGIS 제제를 나이브 SC (모델 1)에 대한 IgG1 대조군으로 사용하였다. IVIG/완충액/SYNAGIS 투석을 보충물 없이 세포 배양 배지에 대해 수행하였다. 모든 실험은 단일 농도의 IVIG (20 mg/ml)로 수행하였다. 미엘린 유전자 (P_0, MBP) 및 Fc 수용체 (CD64, CD32 및 CD16)의 전사를 실시간 RT-PCR을 이용하여 측정하였다.

[0175] ***실시예 2: 슈반 세포는 IVIG와의 인큐베이션에 반응한다***

[0176] **2.1. 형태**

[0177] IVIG 처리가 슈반 세포 형태에 영향을 끼치는 가를 관측하였다. 10 mg/ml IVIG의 존재 및 더욱 높은 농도인 20 mg/ml IVIG의 존재 하에서 배양된 SC는 더욱 큰 세포체 및 핵을 갖는 것으로 나타났다. 이것이 SC 모양 및 세포골격 또는 부착 특성 (상이한 세포 밀도로부터의 결과)에 대한 직접적 영향인지 또는 아마도 세포 표면 상의 IVIG 결합 부위(들)과 연관되는 별개의 세포 표면 변화를 반영하는지의 여부는 현재 분명하지 않다.

[0178] 상당히 가속된 세포 돌출부 성장이 모델 2 (p57kip2 억제)를 사용한 IGIV로의 자극에서 나타났다. 이러한 효과는 분화 과정의 초기 단계에서만 관측되었으며, 이는 슈반 세포들의 분화 동역학에 대한 IVIG 효과를 나타낸다. 설명하자면, 세포 돌출부의 성장은 억제된 p57kip2 수준에 의존적인 것으로 밝혀진 성숙 파라미터이다. 다른 한편, TRITC 컨주게이션된 팔로이딘 염색으로 측정시, IVIG 자극 후 액틴 필라멘트 어셈블리 및 구조에 대해 어떠한 영향도 관측되지 않았다.

[0179] **2.2. 세포 죽음/증식 (모델 1)**

[0180] 비-투석된 IVIG (20 mg/ml)로의 자극 후, 나이브 SC의 증식율은 증식 마커 BrdU 및 Ki-67를 이용한 분석으로 측정시 상당히 감소되었다. 도 1 및 2를 참조한다. 증식율에 대한 IVIG-의존적 효과는 IVIG 투석으로 감소되었으나, 그 후에도 통계학적으로 유의하였다. 현재, IVIG로의 처리 후 카스파제-3에 대한 네가티브 염색에 기초하는 아폽토시스 유도 증거가 없다.

[0181] **2.3. 유전자 발현**

[0182] 비-투석된 IVIG/완충액 제제 및 투석된 IVIG/완충액 제제로의 비-트랜스펙션된 SC (모델 1)의 자극은 처리한지 처음 3일 내에 P_0의 약한 상향조절 및 MBP 유전자의 강한 상향조절을 이끌었으나, 보다 긴 인큐베이션 기간 후에는 그렇지 않았다. p57kip2 억제된 세포 (모델 2)를 비-투석된 IVIG/완충액 제제 및 투석된 IVIG/완충액 제제로 자극시켜도 미엘린 유전자 발현에 대해 유사한 결과가 나왔다. 두 미엘린 유전자 모두의 발현 및 상향조절은 대조군의 트랜스펙션된 세포에서 보다 p57kip2-억제된 세포에서 상당히 강력하였다. Fc 수용체의 유전자 조절에 대한 관측은, 슈반 세포가 CD64 및 CD32를 발현하고 p57kip2에 대한 장기간 억제가 이들 유전자를 상당히 상향조절한다는 것을 보였다. 미성숙 SC에서 검출가능한 수준의 CD64 Fc 수용체 발현이 있었다. 분화하는 슈반 세포에서 (내재적 억제제 p57kip2의 억제시) CD64 수준이 IVIG 자극으로 상당히 증가되었다.

[0183] 중요하게도, 모노클로날 IgG1 대조군들 [시나기스 (Synagis), 아바스틴 (Avastin) 및 헤르셉틴 (Herceptin)]은 미엘린 유전자 발현에 어떠한 유의적 효과도 나타내지 않았다. 비-투석된 IVIG/완충액 제제 및 투석된 IVIG/완충액 제제로의 p57kip2 억제제 세포 (모델 2)의 자극도 유사한 정도로 미엘린 유전자 발현을 유도하였다. 다시, MBP 발현은 IVIG 자극시 강력하게 유도된 반면, PO 발현은 상기한 처리에 의해 약하게 유도되었다. 미엘린 유전자 유도는 7일의 자극 기간 동안 관측될 수 있었으므로 초기 상에 제한되지 않았다는 것에 주목한다. 또한, p57kip2 유전자의 발현은 슈반 세포 분화의 내재적 억제제를 암호화하는 것으로 밝혀졌으며, 대조군의 트랜스펙션된 (비-분화) 세포에서 상당히 저하되었다.

[0184] 모든 공지된 Fcɣ 수용체의 유전자 조절에 대한 관측은, 슈반 세포들이 CD64 Fc 수용체를 발현한다는 것을 보였다. 분화하는 슈반 세포 (모델 2)에서, CD64 수준은 대조군의 트랜스펙션된 (비-분화) 세포에 비해 상당이 증가되었다. IVIG 자극에 반응한 CD64 수용체 발현 조절은 관측되지 않았다. 주목할 만 것으로서, 수행된 모든 유전자 발현 시험에서 비-투석된 완충액 대조군의 영향이 관측되지 않았다. 그러나, 이러한 영향은 투석 후 감소되었다. 따라서, 추가의 유전자 발현 분석은 단지 투석된 IVIG 제제로만 수행되었다.

[0185] **2.4. 발견의 요약**

[0186] 처음 18개월의 조사에서, 분화 과정의 초기 단계에서 세포 돌출부의 가속 성장이 동반되는 변형된 세포 형태와 함께 일차적 SC가 IVIG 인큐베이션에 반응한다는 것이 밝혀졌다. 또한, IVIG와의 인큐베이션은 세포 생존에는 영향을 끼치지 않으면서 슈반 세포 증식을 감소시키는 것을 밝혀졌다. 또한, 2가지의 주요 미엘린 유전자인 P_0 및 MBP의 발현이 IVIG로의 자극 후 미성숙 및 분화하는 SC에서 유도되었다. 자료는 일차적 래트 슈반 세포가 CD64 Fc 수용체를 발현하고 분화하는 슈반 세포에서 (내재적 억제제인 p57kip2의 억제시) CD64 수준이 IVIG 노출과 함께 상당히 증가되었다는 것을 보였다. 또한, 상기 입증은 분화하는 SC에서 Fc 수용체 (특히, CD64)의 상향 조절에 대한 강력한 암시를 제공한다. 또한, 슈반 세포 표면 상의 사람 IVIG의 특이적 결합이 밝혀졌다.

[0187] 이러한 발견들은 SC가 면역 적격(competence)을 나타낼 수 있다는 가설을 지지한다. 세포 돌출부의 가속 성장과 함께 아폽토시스 및 미엘린 유전자 유도에 대한 징후 없이 감소된 증식율은, 미성숙 SC에서의 분화 과정이 IVIG에 의해 촉진된다는 것을 제시한다. 이것이, 슈반 세포가 면역글로불린에 반응할 뿐만 아니라 면역글로불

린에 특이적으로 결합되고 IVIG 자극이 슈반 세포 전구체 성숙을 촉진할 수 있다는 것을 입증하는 제1의 시험관내 결과이다.

[0189] ***실시예 3: 유전자 발현***

[0190] 분화 (p57kip2 억제된 세포, 모델 2) 및 비-분화 (대조군의 억제된 세포, 모델 2) 슈반 세포 유전자 발현에 대한 IVIG 의존적 영향을 더욱 조사하기 위해서, 유전자칩 어레이 분석 (Miltenyi Biotec (Germany)에 의해 수행됨)을 위한 4개의 독립적 실험으로부터의 16개의 RNA 샘플을 수집하였다. 샘플 확인은 MBP, P_0, p57kip2 및 CD64 유전자의 발현 수준을 측정함으로써 수행되었다.

[0191] 통계학적 및 기능적 분석이 수행되었다. IVIG 처리시 유의하게 상향조절되거나 하향조절되는 것으로 확인된 유전자가 표 1 및 2에 제공된다. 앞으로의 목표는 추가의 유전자를 확인하고 얻어진 결과를 확인하는 것이다.

표 1

[0192] 비분화 슈반 세포 (+/- IVIG)의 비교

처리 후 상향 조절된 유전자 (유전자 서열명)	처리 후 하향 조절된 유전자 (유전자 서열명)
Tyrp1	RGD1562551
Tyrp1	Ctnna2
Col24a1	Olr832
Fat3	Phgr1
Tmem72	RGD1566220
Tesc	Nedd9
Il18	Slc12a3
Mt1a	Arhgef9
Slc40a1	Gckr
Asgr1	TC636329
LOC678704	A_64_P023581
TC609365	Ptprr
Bcl6b	Olr749
A_64_P063062	Nebl
Npas2	RGD1562545
Gpx2	Hes5
Matn1	Mpzl2
A_64_P022503	Ezr
Fbxo32	Cryab
Pls1	Fcgr2b
A_64_P094596	
A_64_P025678	
Olig1	
Sox2	
Plp1	

표 2

[0193] 분화 슈반 세포 (+/- IVIG)의 비교

처리 후 상향 조절된 유전자 (유전자 서열명)	처리 후 하향 조절된 유전자 (유전자 서열명)
ENSRNOT00000064975	XM_346212
Zfp334	XR_009266
Mmp25	LOC688695
A_64_P117674	Ak311
A_64_P151655	A_64_P163956
A_44_P386999	

Olig1	
Sox10	
Hes5	

[0194] 단백질 수준에서 관측된 미엘린 유전자 발현 (특히, P_0 및 MBP) 유도를 확인하기 위해서, 투석된 IVIG/완충액으로 처리 후 p57kip2 억제된 세포 대 대조군의 억제된 세포 (모델 2)에 대한 웨스턴-블롯 분석을 수행하였다. 본 발명자들은 IVIG 처리 후 분화하는 슈반 세포에서 P_0 의 단백질 수준이 증가되고 보다 적게 MBP의 단백질 수준이 증가된다는 것을 입증할 수 있었다.

[0196] ***실시예 4: 면역-관련 단백질***

[0197] 슈반 세포 표면에 대한 직접적 IVIG 결합을 확인하는 것이 중요하였다. 항-사람 Fab-특이적 $F(ab)'_2$ 및 항-사람 Fcɣ-특이적 $F(ab)'_2$ 항체들을 적용함으로써 IVIG 중의 사람 면역글로불린이 슈반 세포 표면에 특이적으로 결합된다는 것이 밝혀졌다. 배양 중의 살아있는 슈반 세포를 IVIG로 자극하고, 세척하고, 고정시킨 후, 사람 Fab 단편, 사람 Fcɣ 단편 또는 두 에피토프 모두에 대해 이중-염색으로 각기 염색하였다. 특이적 표면 결합이 세포들의 핵주변 영역 내에 국소화될 수 있었다. 이들 결합 연구는 IVIG 및 IgG1 대조군 [아바스틴 (Avastin) 및 헤르셉틴 (Herceptin)]을 사용한 나이브 슈반 세포 (모델 1) 및 IVIG를 사용한 분화하는 슈반 세포 (모델 2)로 수행되었다. CD64 수용체 단백질이 슈반 세포 표면 상에도 발현되는지를 조사하기 위해, 2개의 항-CD64 항체들로 염색 실험을 개시하였다.

[0198] CD64 수용체 단백질이 슈반 세포 표면 상에서도 발현되는지를 알아내기 위해, 2개의 항-CD64 항체들을 사용한 염색 실험을 수행하였다. 하나의 항-CD64 항체가 슈반 세포 상의 래트 CD64 수용체에 특이적으로 결합하는 것을 나타났으며 흩어진 수용체 염색이 비-분화 세포의 세포 표면 상에 분포되었다. 대조적으로, 분화하는 세포 상의 수용체 염색은 핵주위 영역 보다 세포체에 집중되었다. 검출된 CD64 신호는 IVIG 결합 신호와 일치하지 않았다 (면역학적 염색과 비교됨).

[0200] ***실시예 5: 절간(internode) 형성***

[0201] 시험관내 수초화 모델 (모델 3)의 효능 및 재생산성을 개선하기 위해서, DRG 배양물 유도된 C57/BL6 마우스 배아를 사용하는 다수의 실험 개선 단계들을 수행하고 확립하였다. 마지막으로, 문헌 [Paivalainen 등 (2008)]에 따른 프로토콜을 변형하였으며 이를 액손/슈반 세포 상호작용에 대한 IVIG 적용 효과를 연구하는데 사용할 수 있다. IVIG 자극 (20 mg/ml)은 투석된 IGIV/완충액 제제를 사용한 수초화 과정 개시와 동시에 수행되었다.

[0202] 수초화를 개시한 지 7일에 최적 분석 시점을 결정하기 위해, 통계학적으로 유의한 수의 IVIG 자극 실험 (n=9)을 수행하였다. 수초의 생성 (절간 형성)을 조절하는 면역글로불린 처리능을 평가하기 위해서, IVIG 처리된 공동-배양물의 절간의 갯수 (공동-배양물 중의 핵의 총수로 표준화)를 대조군 공동-배양물에서의 절간의 갯수와 비교하였다. 비록 약간 증가된 절간 밀도 경향이 관측되었으나, 처리후 미엘린 분절 형성에 있어 통계학적으로 유의한 차이는 감지되지 않았다.

[0204] ***실시예 6: 생체내 신경 복구 패러다임***

[0205] **6.1. 요약**

[0206] 일차적 래트 슈반 세포 배양물을 토대로 한 시험관내 발견을 생체내 패러다임으로 해독하기 위해서, 소위 "신경 재생 기간" 동안 IVIG 또는 대조 완충액으로 처리된 다 자란 래트에서 만성적 말초 신경 병변을 유도하였다. 좌골 신경을 절개하고, 신경 말단의 봉합적 재결찰을 통해 3개월의 기간 동안 신경 재생을 방지하였다. 이러한 변성 기간 후, 신경을 결찰시켜(ligated) 재생되게 하고, IVIG 또는 완충액을 투여하였다 (복강내 주사). 동물을 희생시킬 때까지 또 다른 3개월 동안 신경을 재생시켰다.

[0207] 슈반 세포에 대한 상술된 외과적 접근법은 IVIG 자극이 손상된 말초 신경의 활성을 복구할 수 있는지를 알아내는데 이용되었다. 3개월의 재생 (및 IVIG/완충액 처리) 기간 동안, 다수의 기능 시험들을 살아있는 래트에 대

해 수행하였다. 그 후 동물들을 희생시키고, 좌골 신경을 절개한 후, 고정시키고, 슈반 세포/미엘린 및 액손 반응을 기술하기 위한 형태학적 및 면역조직화학적 차후 분석을 위해 포매하였다(embedded). 기능 분석으로부터 예비적 결과를 수득하였다. 이들 예비적 발견은 2개의 그룹 (IVIG 대 완충액 처리된 동물) 간에 차이가 존재한다는 것을 나타낸다. 구체적으로, IVIG 처리된 동물은 완충액 처리된 동물에 비해 더욱 길고 넓은 발자국 면적 (발과 마루 사이의 접촉 구역)을 나타내었다. 또한, 이들 발자국 면적은 처리 기간 동안 점진적으로 증가되었으며, 이는 증가된 착지압 (걸음을 걷기 위해 다리에 의해 사용되는 힘 또는 발이 표면에 가하는 압력에 상응)을 수반하였다. 종합적으로, 이러한 처음의 예비적 데이터는 IVIG 처리된 동물들의 걸음걸이의 정상화가 빨라지고 다리 사용시 힘이 증가된다는 것을 제시한다.

[0208] **6.2. 방법**

[0209] 슈반 세포 생존에 대한 IVIG 의존적 효과가 조사되었다. 구체적으로, 기존에 확립된 만성적인 말초 신경의 탈신경 모델 (Fu and Gordon; J Neurosci 1995)을 사용하여 신경제거된 신경 분절에서의 재수초화 및 액손 재생뿐만 아니라 증식을 생체내에서 연구하였다. 이러한 생체내 모델은 많은 사람 신경 병리에서 관측된 것과 유사한 신경 병태를 특별히 포함한다. 또한, 이러한 생체내 모델은 단지 변성이 진행할 때만 재생 사건에 초점을 맞추는 이점을 제공한다 (즉, 면역 반응들이 일시적으로 배제된다).

[0210] 이러한 목적을 위해, 24마리의 다 자란 루이스 래트의 좌골 신경을 횡절단하고 신경 말단의 봉합 재결찰에 의해 신경 재생을 방지하였다. 이러한 셋업은 장기간에 결쳐 손상되고 신경제거된 신경 분절을 생성한다. 신경 횡절단 후 3개월의 기간 동안 재생이 방지되었다. 이러한 기간 동안에는 동물들에 대해 어떠한 기능 시험도 수행하지 않았다.

[0211] 3개월의 변성 후, 24마리의 래트 모두를 근위 신경 분절을 원위 신경 분절에 봉합하는 지연식 좌골 신경 결찰 (문합, anastomosis)에 노출시켜 신경 재생이 일어나게 하였다. 이러한 장기간에 걸친 셋업에서 전체 재생 능력이 급성 신경 병변과 비교하여 상당히 감소되었다는 것에 주목한다. 이러한 처음 3개월의 기간 동안, 액손 및 미엘린 변성 과정이 완성되었다.

[0212] 제1 세트의 실험 (연구 1)에서, IVIG 적용 후 항-약물 항체 (anti-drug antibodies, ADA)의 생성 및 사람 IgG 혈장 수준을 ELISA 시험을 이용하여 건강한 래트 (손상되지 않은 신경)에서 연구하였다. 이어서, IVIG에 대한 ADA를 손상되고 처리된 동물에서 이차 판독물로서 연구 2 (하기 참조)에서 모니터링하였다.

[0213] 제2 세트의 실험 (연구 2)에서, 만성적 말초 신경 병변을 갖는 루이스 래트를 신경 결찰 (3개월의 재생 기간) 후 1g IVIG/kg 체중 (고용량 처리)으로 처리하였다. IVIG 적용은 재생 단계의 처음 1개월에는 매주 1회씩 다음 2개월에는 격주에 1회씩 복강내 주사로 수행하였다. 신경 병변을 갖는 대조군 래트에 IVIG 제제 완충액 주사액을 투여하였다. 대조군의 완충액 처리된 동물 그룹 및 IVIG 처리된 동물 그룹은 각각 12마리의 다 자란 암컷 래트를 포함하였다. IVIG 처리 기간 동안, ADA를 모니터링하고 사람 IgG의 반감기를 측정하기 위해서 꼬리 정맥으로부터 혈액 샘플을 수집하였다 (연구 1 참조). 혈장 샘플을 처리 전 격주마다 수집하였다.

[0214] **6.2. 결과**

[0215] 신경 말단의 결찰 후 표적 기관의 기능 회복 정도를 시험하기 위해서, 주 단위 세트의 기능 평가 시험을 수행하였다. 감각 기능은 통증 자극을 적용한 후 네 번째 및 다섯 번째 발가락의 움츠림 반응을 시험하여 평가하였다 (겸자로 꼬집기 시험). 근섬유의 근육 세기 및 재생을 다리 펼침 시험으로 분석하였다. 이들 2개의 기능 시험 및 동물의 체중 (건강 및 웰빙 파라미터) 모니터링을 매주 수행하였다. 또한, 매주 동물들의 발자국 및 보행 트랙을 모니터링하여 (즉, "고양이 걸음 분석") 좌골 신경의 기능 회복을 평가하였다.

[0216] 연구가 끝났을 때, 21마리의 동물이 남았다: 완충액 대조 주사액이 투여된 10마리 동물 및 IVIG로 처리된 11마리 동물. 모든 래트를 희생시키고, 추가의 분석을 위해 재생 말초 신경 분절 및 반대측 건강한 대조군 신경을 수집하였다. 이러한 목적을 위해, 동물들을 3개의 그룹으로 분류하였다:

[0217] 그룹 I은 4마리의 완충액 처리된 동물 및 4마리의 IVIG 처리된 동물로 구성되었다. 이들 동물들의 (건강한 및 횡절단된) 좌골 신경 분절들이 전자 현미경 (EM) 분석될 것이다. 액손 밀도를 측정 (따라서 재생 효율을 측정)하는 것과는 별개로, 이는 또한 재수초화 효능을 측정하기 위해 g-비율 계산 (액손 및 이의 수초의 직경으로 나눈 액손의 직경)을 포함할 것이다. 이러한 분석은 현재 진행중이다. 이들 동물들의 기능 평가 데이터 (고양이 걸음 데이터, 꼬집기-시험 및 다리 펼침 행동)를 측정하였으며 예비적 결과가 후술된다.

[0218] 그룹 II는 3마리의 완충액 처리된 동물 및 4마리의 IVIG 처리된 동물로 구성된다. 이들 동물들의 (건강한 및

횡절단된) 좌골 신경 분절들이 세포 재분화 및 재생 정도를 측정하기 위해 액손, 미엘린 및 아교세포 마커에 대한 면역조직화학 염색 (IHC)에 사용될 것이다. 신경들은 현재 처리되어 연구중이다. 이들 동물들의 기능 평가 데이터 (고양이 걸음 데이터, 꼬집기-시험 및 다리 펼침 행동)를 측정하였으며, 예비적 결과가 후술된다.

[0219] 그룹 III는 3마리의 완충액 처리된 동물 및 3마리의 IVIG 처리된 동물로 구성된다. 이들 동물들의 횡절단된 좌골 신경 분절들은 문합이 수행되지 않았으므로 어떠한 해부학적 재생 조짐도 나타내지 않았다. 이들 동물들의 기능 평가 데이터는 총체적 분석에 포함되지 않을 것이다.

[0220] 고양이 걸음 데이터의 예비적 평가는 2개의 그룹 (IVIG 처리된 동물 대 완충액 처리된 동물) 간에 차이가 존재한다는 것을 나타낸다. IVIG 처리된 동물들은 완충액 처리된 동물들과 비교하여 더욱 길고 넓은 발자국 면적 (발과 마루 사이의 접촉 구역)을 나타내었다. 또한, 이들 발자국 면적은 처리 기간 동안 점진적으로 증가되었으며, 이는 증가된 착지압 (걸음을 걷기 위해 다리에 의해 사용되는 힘 또는 발이 표면에 가하는 압력에 상응)을 수반하였다. 종합적으로, 이러한 데이터는 IVIG 처리된 동물들의 걸음걸이의 정상화가 빨라지고 다리 사용시 힘이 증가된다는 것을 제시한다.

[0222] ***실시예 7: IVIG 작용의 기초를 이루는 메커니즘을 알아내기 위한 보충 연구***

[0223] IVIG 작용의 기초를 이루는 메커니즘 및 IVIG가 세포 성숙을 촉진하는 메커니즘을 더욱 잘 이해하기 위해서, 자극된 슈반 세포에 대한 정밀한 분자/세포 조사를 수행할 것이다.

[0224] 상기에서 요약되는 바와 같이 (5.1 참조), IVIG 처리에 노출된 비-분화 및 분화 슈반 세포에 대해 GeneChip 분석을 수행하고 분석하였다. 새로인 발견된 상향조절 및 하향조절된 유전자에 기초하여 (표 1 및 2), 선택된 유전자에 대한 정량적 실시간 RT-PCR로 추가의 확인 실험을 수행할 것이다. 필요하고 적용가능한 경우, 항체들을 사용한 추가의 확인 (웨스턴-블롯, 면역학적 염색 및 ELISA)을 수행할 것이다. 이는 면역 적격과 관련된 유전자에 대해서는 특히 흥미로울 것이다. 흥미롭게도, 이러한 발현 분석은 어떤 세포 과정이 가장 IVIG에 민감한가를 이해하기 위해 분석될 뿐만 아니라 필시 IVIG 의존적 반응을 모니터링하고 정량하는데 사용될 수 있는 추가의 마커 유전자를 규정하는데 도움이 될 것이다.

[0225] 적합한 시험관내 수초화 분석 (모델 3)을 확립한 후, 통계학적으로 유의한 수의 IVIG 자극 실험을 수행할 것이다. 활성 시간 윈도우 및 면역글로불린 처리가 수초 생성 (절간 형성)을 조절할 수 있는 범위가 평가될 것이다.

[0226] Cy3 컨주게이션된 항-사람 Fab 항체를 사용하여, 슈반 세포 표면에 대한 IVIG의 특이적 결합을 측정할 수 있다. 이것이 CD64 Fc 수용체와의 상호작용 때문인지 또는 슈반 세포-특이적 에피토프가 Fab-매개된 결합에 의해 인지되기 때문인지가 밝혀져야 한다. 이러한 목적을 위해, 슈반 세포 (모델 1)가 파파인-분해된 IVIG의 Fc 및 F(ab)2 분획물과 접촉되거나 슈반 세포 상의 결합된 IVIG가 제자리에서 파파인으로 분해될 것이다. 또한, Cy3 컨주게이션된 항-사람 Fab 항체와 조합된 FITC-컨주게이션된 항-사람 Fc 항체의 적용은 파파인 민감성 염색을 초래할 것으로 예상된다. CD64가 또한 슈반 세포 표면 상에 수용체 단백질로서 발현되는 지를 알아내기 위해 2개의 항-CD64 항체들이 비-분화 및 분화 (모델 2) 슈반 세포 상에 적용될 것이다. IVIG 결합이 실제로 이러한 Fc 수용체에 의해 매개되는 경우, CD64 신호가 IVIG 결합 (면역학적 염색)과 일치할 것으로 예상될 것이다. 또한, 이를 위해, CD64 단백질 수준의 증가가 분화 과정의 결과로서 관측될 수 있는지가 조사될 것이다 (웨스턴-블롯).

[0227] Fc-수용체 관여에 대한 기능적 증거를 제공하기 위해서, 췌장 티로신 키나제 (Syk) 및 포스파티딜이노시톨-3-키나제 (PI3K)를 방해하는 3-(1-메틸-1H-인돌-3-일-메틸렌)-2-옥소-2,3-디하이드로-1H-인돌-5-설폰아미드 또는 Ly294002와 같은 약리학적 억제제가 나이브 슈반 세포 (모델 1)의 IVIG 자극 전에 각각 적용될 것이다. 이는 이들 Fc-의존적 신호표시 성분이 MBP (또는 1.에서 확인된 적합한 마커 유전자) 유도에 관련되는지를 나타낼 것이다. 또한, 분해된 IVIG는 Fc 및/또는 Fab 분획물이 IVIG 특이적 유전자 (MBP 및 유전자 발현 분석에서 확인된 다른 마커 유전자) 조절에 책임이 있는지를 밝히기 위해 배양된 슈반 세포 (모델 1)를 자극하는데 사용될 것이다. 마지막으로, 슈반 세포 (모델 1)에서 CD64 발현의 shRNA-매개된 억제는 IVIG 결합이 CD64 의존적인지의 여부 및 MBP (또는 유전자 발현 분석에서 확인된 다른 마커 유전자) 발현의 IVIG 의존적 유도에 책임이 있는지의 여부를 확인하는데 사용될 수 있다.

[0228] 표준 슈반 세포 배양 (유지 및 분화) 조건은 높은 우태 혈청 농도 (10% 이하 용적)가 특징이다. 따라서, 혈청 중에 존재하는 면역글로불린이 IVIG-의존적 슈반 세포 반응을 감소시킨다는 것을 생각할 수 있다. 이를 시험하

기 위해, 혈청 농도는 세포의 생존 및 분화, IVIG로의 슈반 세포 자극 및 MBP 발현 수준 (모델 1 및 2) 및 형태학적 파라미터의 측정 (모델 2)을 확인하기에 필요한 하한으로 감소될 것이다.

[0229] 본 발명자들의 최근 조사에서는 슈반 세포 분화가 제스테 (zeste) 동족체 2 (EZH2; Heinen 등, 개정)의 히스톤 메틸트랜스퍼라제 인핸서에 결정적으로 의존적이라는 것을 밝혀내었다. EZH2 활성 억제시, 배양된 슈반 세포는 신경 병리에서 관측되는 것과 유사한 탈분화 반응을 보인다. 앞으로의 조사의 일부로서, 이러한 탈분화 슈반 세포는 슈반 세포 마커 및 미엘린 유전자의 발현을 측정하기 위해 IVIG로 자극될 것이다. 후자는 대조군 수준 이하로 하향조절되는 것으로 밝혀졌다. 면역글로불린 처리가 (모델 2에서 보여지는 바와 같이, 즉, 억제 유전자 p57kip2의 억제시) 분화/성숙 반응을 촉진할 뿐만 아니라 (미엘린 유전자 발현 수준의 정상화와 같이) 탈분화 과정을 방해할 수 있는지를 밝히는 것은 흥미로울 것이다.

[0230] 상기 발명은 이해를 명확히 하고자 도면 및 예시를 들어 다소 상세히 기술되었으나, 본 발명의 교시에 비추어 첨부된 특허청구범위의 취지 및 범위를 벗어나지 않으면서 이에 특정한 변화 및 변형을 가할 수 있다는 것이 당업자에게 자명하다.

[0232] **참조 문헌**

[0233] Arnson, Y., Shoenfeld, Y., Amital, H. (2009). Intravenous immunoglobulin therapy for autoimmune Diseases. Autoimmunity 42(6), 553-60.

[0234] Asakura, K., Miller, D.J., Pease, L.R. and Rodriguez, M. (1998). Targeting of IgMkappa antibodies to oligodendrocytes promotes CNS remyelination. J. Neurosci. 18, 7700-7708.

[0235] Bhatheja, K. and Field, J. (2006). Schwann cells: origins and role in axonal maintenance and regeneration. Int. J. Biochem. 세포 Biol. 38(12):1995-9.

[0236] Bieber, A., Asakura,K., Warrington, A., Kaveri, S.V., and Rodriguez, M. (2000). Antibody-mediated remyelination: relevance to multiple sclerosis. Mult. Scler. 6 Suppl 2, S1-S5.

[0237] Bieber, A.J., Warrington, A., Asakura, K., Ciric, B., Kaveri, S.V., Pease, L.R., and Rodriguez,M. (2002). Human antibodies accelerate the rate of remyelination following lysolecithin-induced demyelination in mice. Glia 37, 241-249.

[0238] Burstyn-Cohen, T., Frumkin, A., Xu, Y. T., Scherer, S. S., and Klar, A. (1998). Accumulation of F-spondin in injured peripheral nerve promotes the outgrowth of sensory axons. J. Neurosci.,18(21), 8875-8885.

[0239] Fu, S.Y. and Gordon, T. (1995a). Contributing factors to poor functional recovery after delayed nerve repair: Prolonged axotomy. J. Neurosci.,15(5), 3876-3885.

[0240] Fu, S.Y. and Gordon, T. (1995b). Contributing factors to poor functional recovery after delayed nerve repair: Prolonged denervation. J. Neurosci.,15(5), 3886-3895.

[0241] Heinen, A., Kremer, D., Hartung, H.P., and Kury P. (2008a). p57(kip2)'s role beyond Schwann cell cycle control. Cell Cycle 7, 2781-2786.

[0242] Heinen, A., Kremer, D., Gottle, P., Kruse, F., Hasse, B., Lehmann, H., Hartung, H.P., and Kury, P. (2008b). The cyclin-dependent kinase inhibitor p57kip2 is a negative regulator of Schwann cell differentiation and in vitro myelination. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A 105, 8748-8753.

[0243] Kury, P., Greiner-Petter, R., Cornely, C., Jurgens, T. and Muller, H.W. (2002). Mammalian Achaete Scute Homolog 2 Is Expressed in the Adult Sciatic Nerve and Regulates the Expression of Krox24, Mob-1, CXCR4, and p57kip2 in Schwann Cells. J. Neurosci. 22, 7586-7595.

[0244] Lin, H.H., Spies, J.M., Lu, J.L. and Pollard, J.D. (2007), Effective treatment of experimental autoimmune neuritis with human immunoglobulin. J. Neurol Sci.;256:61-7.

[0245] Nakahara, J., Seiwa, C., Shibuya, A., Aiso,S. and Asou, H. (2003). Expression of Fc receptor for immunoglobulin M in oligodendrocytes and myelin of mouse central nervous system. Neurosci. Lett. 337,

73-76.

[0246] Negi, V. S., Elluru, S., Siberil, S. Graff-Dubois, S., Mouthon, L., Kazatchkine, M.D., Lacroix-Desmazes, S., Bayry, J. and Kaveri, S.V. (2007). Intravenous immunoglobulin: an update on the clinical use and mechanisms of action. J. Clin. Immunol. 27:233.

[0247] Paivalainen, S., Nissinen, M., Honkanen, H., Lahti, O., Kangas, S.M., Peltonen, J., Peltonen, S. and Heapea, A.M. (2008). Myelination in mouse dorsal root ganglion/Schwann cocultures. Mol. Cell. Neurosci. 37, 568-578.

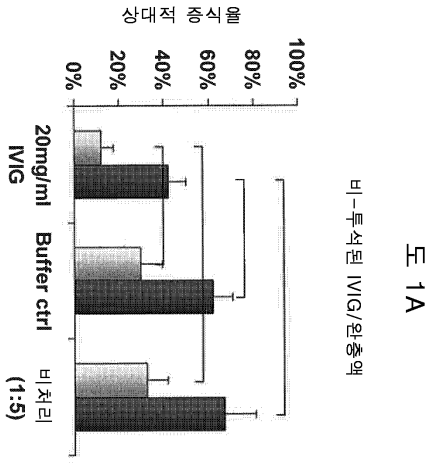
[0248] Handbook of Development Neurotoxicology eds. Slikker 등 (1998), Academic Press, San Diego.

[0249] Vargas, M.E., Watanabe, J., Singh, S.J., Robinson, W.H. and Barres, B.A. (2010). Endogenous antibodies promote rapid myelin clearance and effective axon regeneration after nerve injury. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A 107 (26), 11993-11998.

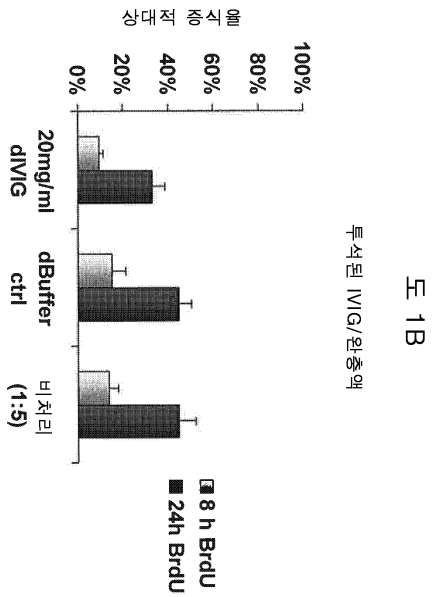
[0250] Warrington, A.E., Bieber, A.J., Ciric, B., Pease, L.R., Van, K., V, and Rodriguez, M. (2007). A recombinant human IgM promotes myelin repair after a single, very low dose. J. Neurosci. Res. 85, 967-976.

도면

도면1

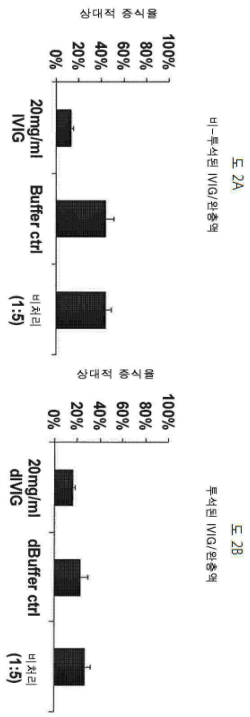


도 1A



도 1B

도면2



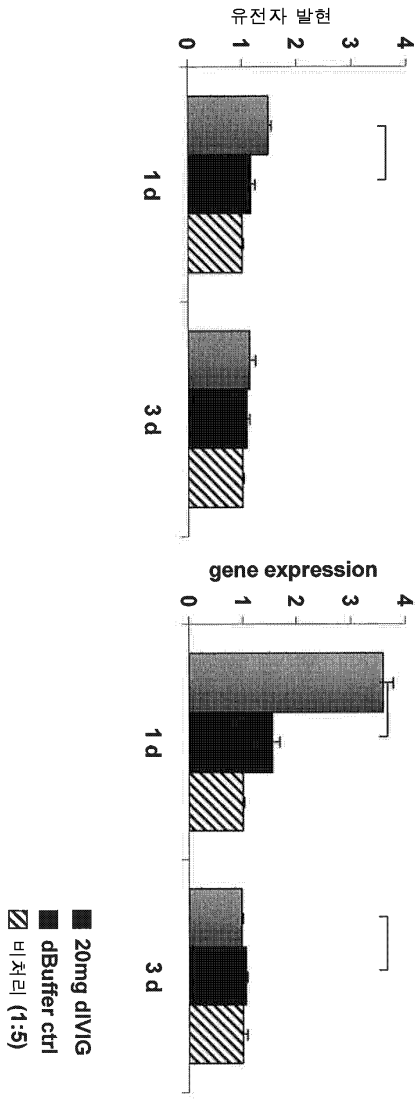
도 2A

비-투석된 IVIG/완충액

도 2B

투석된 IVIG/완충액

도면3



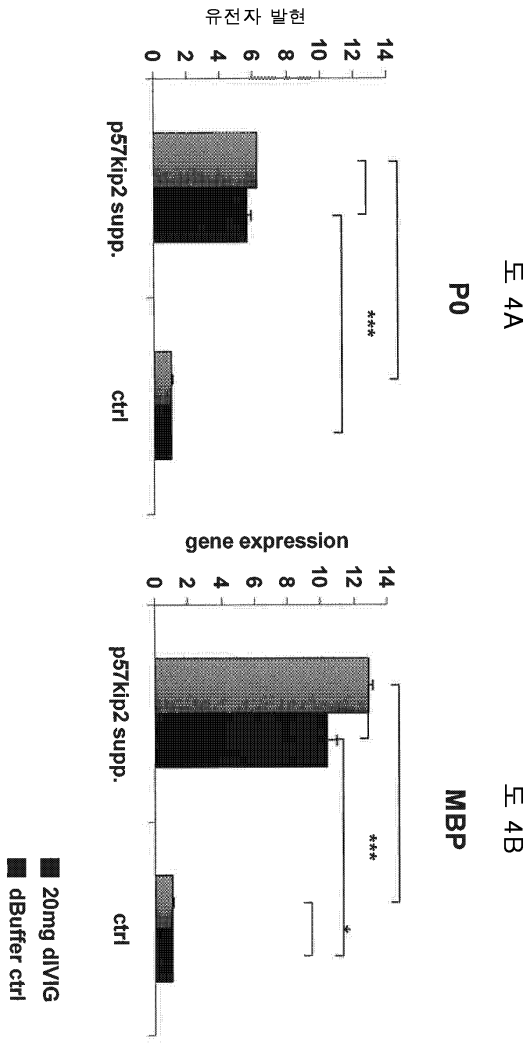
도 3A

P0

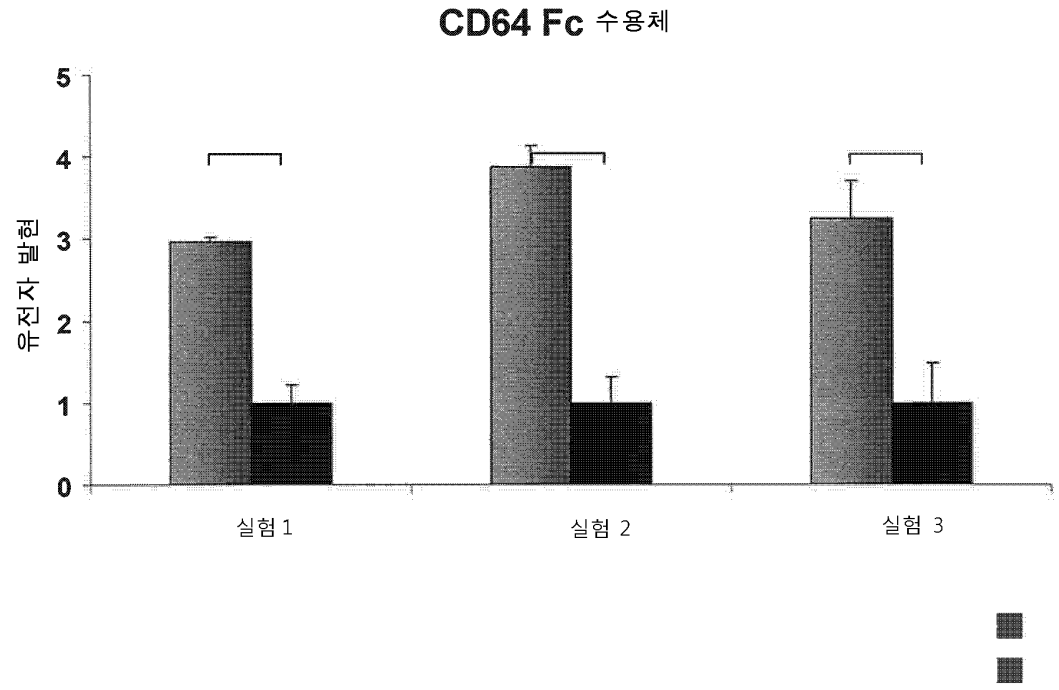
도 3B

MBP

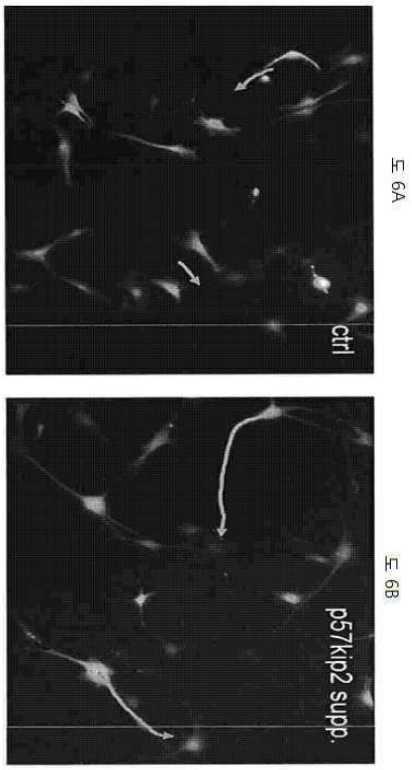
도면4


유전자 발현
0
2
4
6
8
10
12
14
p57kip2 supp.
ctrl
***
도 4A
P0
gene expression
0
2
4
6
8
10
12
14
p57kip2 supp.
ctrl
***
*
도 4B
MBP
20mg dIVIG
dBuffer ctrl

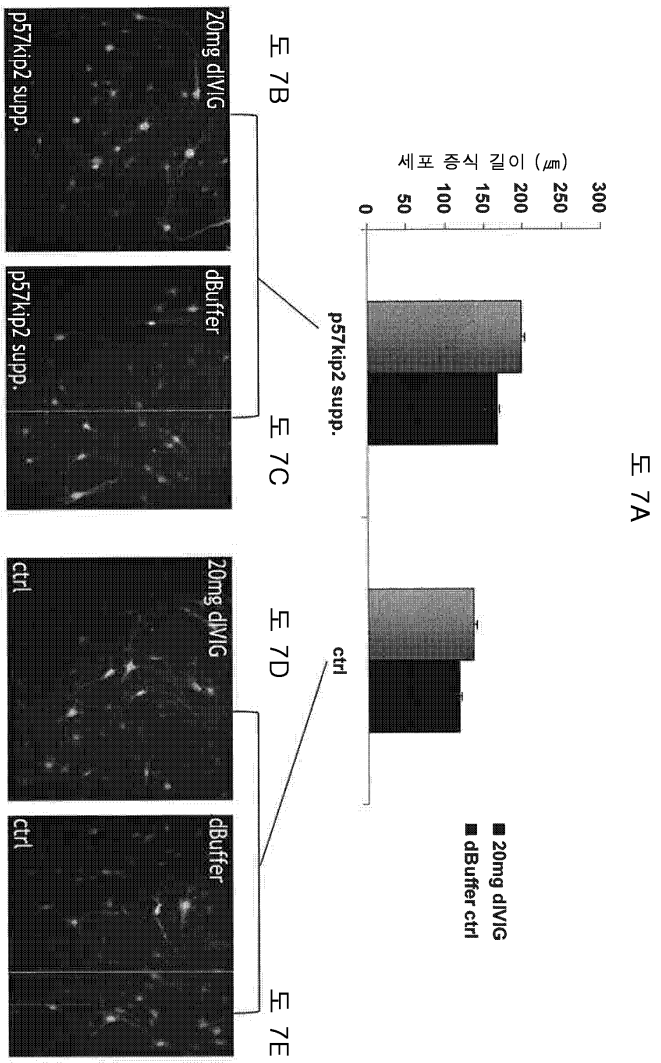
도면5


CD64 Fc 수용체
유전자 발현
5
4
3
2
1
0
실험 1
실험 2
실험 3

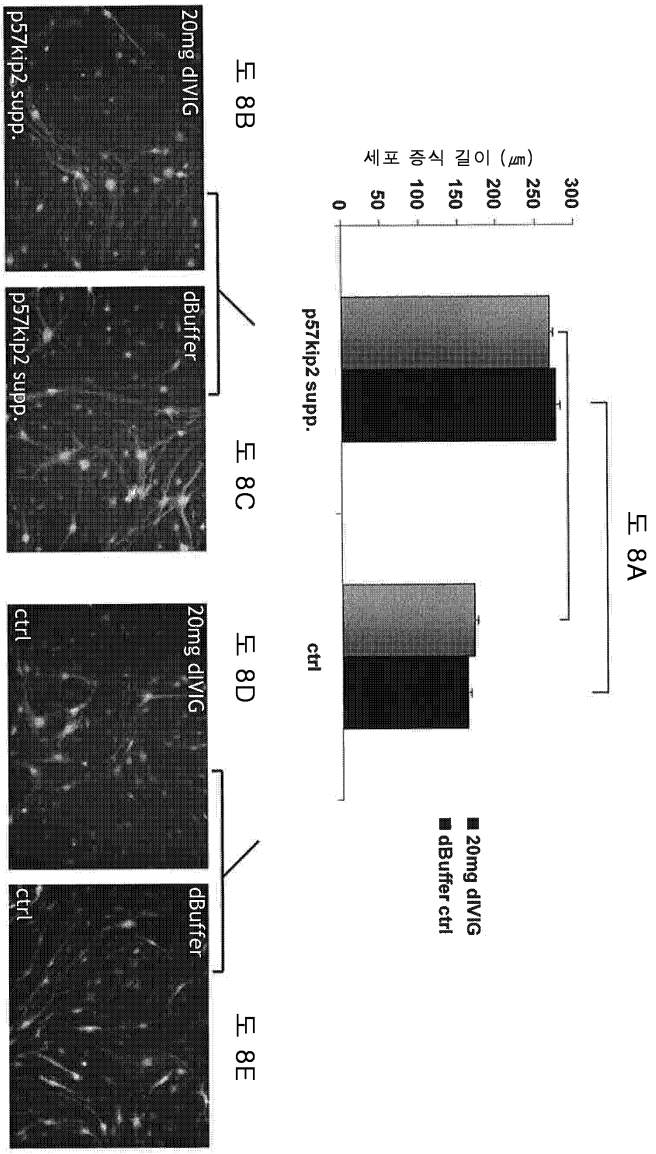
도면6


ctrl
도 6A
p57kip2 supp.
도 6B

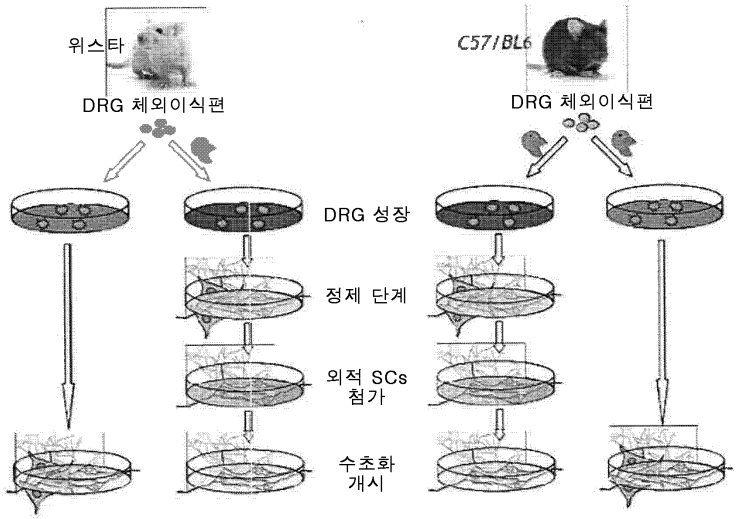
도면7


20mg dIVIG
p57kip2 supp.
dBuffer
p57kip2 supp.
20mg dIVIG
ctrl
dBuffer
ctrl
세포 증식 길이 (㎛)
0
50
100
150
200
250
300
p57kip2 supp.
ctrl
20mg dIVIG
dBuffer ctrl
도 7B
도 7C
도 7D
도 7E
도 7A

도면8


20mg dIVIG
p57kip2 supp.
도 8B
dBuffer
p57kip2 supp.
도 8C
20mg dIVIG
ctrl
도 8D
dBuffer
ctrl
도 8E
세포 증식 길이 (㎛)
0
50
100
150
200
250
300
p57kip2 supp.
ctrl
도 8A
20mg dIVIG
dBuffer ctrl

도면9


위스타
DRG 체외이식편
C57/BL6
DRG 체외이식편
DRG 성장
정제 단계
외적 SCs 첨가
수초화 개시