



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년10월27일

(11) 등록번호 10-2460465

(24) 등록일자 2022년10월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 33/06 (2006.01) A61K 33/08 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01) A61K 47/02 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 33/06 (2013.01)

A61K 33/08 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-7033323

(22) 출원일자(국제) 2015년04월29일

심사청구일자 2020년04월29일

(85) 번역문제출일자 2016년11월28일

(65) 공개번호 10-2016-0145820

(43) 공개일자 2016년12월20일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2015/059337

(87) 국제공개번호 WO 2015/165964

국제공개일자 2015년11월05일

(30) 우선권주장

61/985,710 2014년04월29일 미국(US)

14166355.9 2014년04월29일

유럽특허청(EPO)(EP)

(56) 선행기술조사문헌

JP2002502802 A*

W02011120924 A1*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

어드밴티지 테라퓨틱스, 인코포레이티드

미국 플로리다 포트 로더데일 노스 4200 뉴 리버
드라이브 이스트 215 (우:33301)

(72) 발명자

만들러, 마르쿠스

오스트리아 비엔나 칼-파카스-가쎄 22 (우: 1030)
아피리스 아게 (내)

슈네베르거, 악힘

오스트리아 비엔나 칼-파카스-가쎄 22 (우: 1030)
아피리스 아게 (내)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인 남앤남

전체 청구항 수 : 총 33 항

심사관 : 양웅철

(54) 발명의 명칭 알츠하이머병 (AD) 의 치료 및 예방

(57) 요약

AD를 치료하기 위한 방법이 기재되고, 여기서 알루미늄 염을 포함하는 면역 자극성 약학적 조성물이 AD를 지니거나 AD 발생 위험이 있는 환자에 유효량으로 투여된다.

(52) CPC특허분류

A61K 39/0007 (2013.01)

A61K 47/02 (2013.01)

A61K 9/0019 (2013.01)

A61K 2039/55505 (2013.01)

A61K 2039/6081 (2013.01)

(72) 발명자

마트너, 프랭크

오스트리아 비엔나 칼-파카스-가쎄 22 (우: 1030)

아피리스 아게 (내)

슈미트, 발터

오스트리아 비엔나 칼-파카스-가쎄 22 (우: 1030)

아피리스 아게 (내)

명세서

청구범위

청구항 1

유효 성분으로서 알루미늄 염을 포함하는, 알츠하이머병 (AD)을 치료하기 위한 면역 자극성 약학적 조성물로서, 알루미늄 염은 AD를 지니거나 AD 발생 위험이 있는 환자에 투여 용량 당 적어도 1.2 mg (Al_2O_3 당량으로서 제공됨)의 양으로 투여되며, 알루미늄 염이 알루미늄 옥시하이드록사이드인 조성물.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

제 1항에 있어서, 알루미늄 염이 상기 면역 자극성 약학적 조성물 내의 단일 유효 성분으로서 투여되는 조성물.

청구항 5

제 1항에 있어서, 면역 자극성 약학적 조성물이 안정화제, 세척제, 항산화제, 일가 또는 이가 금속 이온에 대한 착화제, 탄수화물 또는 완충제 물질을 포함하는 조성물.

청구항 6

제 1항에 있어서, 면역 자극성 약학적 조성물이 액체이고, 5 내지 9의 pH를 갖는 조성물.

청구항 7

제 6항에 있어서, 면역 자극성 약학적 조성물이 액체이고, 6 내지 7.5의 pH를 갖는 조성물.

청구항 8

제 1항에 있어서, 알루미늄 염이 Alhydrogel인 조성물.

청구항 9

삭제

청구항 10

제 1항에 있어서, 알루미늄 염이 Alhydrogel이고, 유효량이 적용 당, 1.5 내지 4 mg의 Alhydrogel인 조성물.

청구항 11

제 10항에 있어서, 적용이 동일한 주입 부위에 2중 또는 3중 주입인 조성물.

청구항 12

제 11항에 있어서, 동일한 주입 부위가 피부의 1 cm^2 내에 있는 것으로 정의되는 조성물.

청구항 13

제 10항에 있어서, 알루미늄 염이 2회 또는 3회 용량으로 2일 내에 최소 1.2 mg의 적어도 1회 용량의 양으로 환자에 투여되는 조성물.

청구항 14

제 1항에 있어서, 알루미늄 염이 적어도 1.5 mg의 양으로 매달 적어도 1회 환자에 투여되는 조성물.

청구항 15

제 1항에 있어서, 알루미늄 염이 적어도 3개월의 지속기간 동안 적어도 1.5 mg의 양으로 매달 적어도 1회 환자에 투여되는 조성물.

청구항 16

제 1항에 있어서, 알루미늄 염이 적어도 1년의 지속기간 동안, 적어도 1.5 mg의 양으로 매달 적어도 1회 환자에 투여되는 조성물.

청구항 17

제 1항에 있어서, 알루미늄 염이 적어도 3개월의 지속기간 동안, 적어도 1.8 mg의 양으로 매달 적어도 1회 환자에 투여되는 조성물.

청구항 18

제 1항에 있어서, 알루미늄 염이 적어도 1개월의 지속기간 동안, 2.0 mg의 양으로 매달 적어도 2회 환자에 투여되는 조성물.

청구항 19

제 1항에 있어서, 알루미늄 염이 적어도 1개월의 지속기간 동안, 1.5 내지 2.5 mg의 양으로 매달 적어도 4회 환자에 투여되는 조성물.

청구항 20

제 1항에 있어서, 알루미늄 염이 동일한 주입 부위에, 1.5 내지 2.5 mg의 양으로 1주일 내에 적어도 2회 환자에 투여되는 조성물.

청구항 21

제 1항에 있어서, 알루미늄 염이 1.2 mg 내지 5.0 mg의 양으로 AD 환자에 투여되는 조성물.

청구항 22

제 1항에 있어서, 상기 조성물은 티오메르살, 세척제, 항산화제, 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA), 당, 당알콜, 글리세롤, TRIS 또는 포스페이트 완충제 물질을 추가로 함유하는 조성물.

청구항 23

제 1항에 있어서, 알루미늄 염이 4 내지 10의 pH를 지닌 현탁액으로 환자에 투여되는 조성물.

청구항 24

제 1항에 있어서, 알루미늄 염이 등장성 현탁액으로 환자에 투여되는 조성물.

청구항 25

제 1항에 있어서, 알루미늄 염이 AD 환자에 피하, 결절내, 피내, 또는 근내 투여되는 조성물.

청구항 26

제 1항에 있어서, 알루미늄 염이 적어도 2개월 동안 매달 적어도 1회 AD 환자에 투여되는 조성물.

청구항 27

제 1항에 있어서, 알루미늄 염이 적어도 6개월 동안 매달 적어도 1회 AD 환자에 투여되는 조성물.

청구항 28

제 1항에 있어서, 알루미늄 염이 적어도 6개월 동안 한 달에 적어도 2회 AD 환자에 투여되는 조성물.

청구항 29

제 1항에 있어서, 알루미늄 염이 AD 환자의 왼쪽 상완 및 오른쪽 상완에 교대적으로 피하 투여되는 조성물.

청구항 30

제 1항에 있어서, 알루미늄 염이 적어도 2년 동안 적어도 매달 AD 환자에 투여되는 조성물.

청구항 31

제 1항에 있어서, 알루미늄 염이 주사기에 의해 AD 환자에 투여되는 조성물.

청구항 32

제 1항에 있어서, 알루미늄 염이 적어도 1.8 mg의 양으로 AD 환자에 투여되는 조성물.

청구항 33

제 1항에 있어서, 알루미늄 염이 0.1 내지 10 ml의 적용 부피의 액체 형태로 AD 환자에 투여되는 조성물.

청구항 34

제 1항에 있어서, 상기 조성물에 설페이트, 니트레이트, 또는 클로라이드 음이온이 없는 조성물.

청구항 35

제 1항에 있어서, 상기 조성물이 20 ppm 미만의 중금속 함량을 갖는 조성물.

청구항 36

제 1항에 있어서, 상기 조성물이 알루미늄 옥시하이드록사이드의 현탁액이고 2 μm 내지 10 μm 의 입자 크기 분포를 지니며, 상기 입자가 응집물인 조성물.

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

발명의 설명

발명의 내용

- [0001] 본 발명은 β -아밀로이드 침착과 관련된 치매, 바람직하게는 알츠하이머병 (AD)의 치료 및 예방을 위한 수단 및 방법에 관한 것이다.
- [0002] 다양한 치매는 β -아밀로이드 침착을 초래하는 아밀로이드- β 폴리펩티드 ($A\beta$)의 이상 축적을 특징으로 한다. β -아밀로이드의 가장 두드러진 형태는 AD이다. 다른 예는 비제환적으로 루이소체 치매 및 다운증후군의 치매를 포함한다.
- [0003] AD는 현재 전세계적으로 2천 8백만 명의 사람들에게 영향을 미치는 가장 일반적인 신경퇴행성 질병이다. 이것은 전형적으로 다른 인지-, 거동- 및 신경정신병의 변화와 관련된 특징적인 기억상실 장애로 제시된다. AD는 세포 내 및 세포의 아밀로이드 침착물의 비정상적인 축적을 특징으로 하며 - 이는 광범위한 별아교세포증 및 소교세포증 뿐만 아니라 이영양성 뉴런 및 뉴런 손실과 밀접하게 관련되어 있다. 이러한 아밀로이드 침착물은 신경계

의 다양한 세포 유형에서 발현되는 아밀로이드 전구물질 단백질 (APP; gi:112927)에서 유래된 A β -펩티드 A β 40 및 A β 42로 주로 구성된다. A β 펩티드는 AD의 발병기전 및 진행에 직접 관여하는 것으로 여겨진다.

[0004] 신경원섬유 매듭(NFT)은 아밀로이드 침착물 외에도 Alois Alzheimer에 의해 처음 기재된 AD의 두 번째 특징인 신경병리학적 특징을 구현한다. 이러한 병변은 해마, 편도 결합 피질, 및 특정 피질하 핵에서 발생한다. NFT는 뉴런의 세포질에 위치하고 과인산화된 tau 단백질을 포함한다. Tau는 정상 상태에서 미세관의 어셈블리 및 안정성을 촉진하는 축삭, 미세관 결합 단백질이다. Tau의 과인산화는 미세관 결합의 손실 및 미세관의 후속 분해를 초래하며, 이는 다시 축삭 이동 및 후속 축삭의 장애 및 신경퇴행을 초래한다. 과인산화 및 매듭 형성이 AD의 원인인지 결과인지는 아직 분명하지 않다.

[0005] 아밀로이드 및 Tau/과인산화된 Tau 병리학 외에, 신경염증은 AD에서 신경퇴행을 일으키는 병태생리학적 변화의 세 번째 필수 핵심요소로 간주될 수 있다. AD의 신경염증성 표현형은 영향을 받은 뇌 영역에서 미세아교세포 및 별아교세포의 강력하고 광범위한 활성화를 특징으로 하며, 이로 인해 전염증성 사이토카인, 세포 부착 분자 및 케모카인의 내인성 발현이 초래된다. 이러한 변화는 아밀로이드 및 Tau/과인산화된 Tau 및 이들의 매개체에 의해 유발되는 진행성 독성과 관련된 사건에 대한 신경교세포 반응 때문인 것으로 생각된다.

[0006] AD 및 관련 질환에 대한 한 가지 가능한 치료 전략은 A β 또는 Tau/과인산화된 Tau와 같은 신경독성 작용제의 축적을 예방 또는 감소시키기 위한 면역요법에 기초 할 수 있다고 현재 여겨진다.

[0007] Tau/과인산화된 Tau를 표적으로 하는 다양한 능동적 및 수동적 치료 전략은 Tau/과인산화된 Tau 침착의 감소 및 동물 모델에서의 연관된 신경병리학적 변화를 초래하지만, 인간 AD 환자에서 긍정적인 데이터는 아직까지 이용 가능하지 않다. 매우 대조적으로, 가장 최근의 과거에 상당한 수의 임상 시험 실패가 있었다: 결과 "아밀로이드- β 를 표적으로 하는 두 개의 모노클로날 항체 - 파피뉴주맙 및 솔라네주맙의 3상 임상 시험으로부터 산발적 질병의 치매 단계에서 아밀로이드- β 에 대한 면역학적 공격은 임상적 이점이 거의 없는 것으로 나타났다" (Aisen et al., Nat. Rev. Drug Disc.12 (2013), 324-325, Mullard, Nat. Rev. Drug Disc. 11 (2012), 657- 660). 또한 "두 개의 선도적인 γ -세크레타제 억제제인 세마가세스타트(semagacestat)[...] 및 아바가세스타트(avagacestat)의 임상적 실패"를 포함하여, "항염증성 약물, 세크레타제 억제제 및 조절제, 호르몬 요법, 스타틴 및 기타 약물과 같은" 가설에 근거한 후보 질환 조절인자의 다른 연구도 실망스러웠다" (Aisen et al., 2013; Mullard, 2012). 해설자들은 AD 임상 시험의 이러한 불충분한 임상 결과를 "메만틴의 승인 이후, 실질적인 성공이 없는 알츠하이머병 치료 시험의 '잃어버린 10년'의 정점"으로서 언급하였다 (Aisen et al., 2013). 이 개발 과정에서, US-FDA는 또한 AD에 대한 새로운 치료제를 승인하는 규칙을 개정하고 PET (양전자 방출 단층촬영) 스캔을 이용한 방사선학적 바이오마커와 같은 AD 특이적 바이오마커의 사용을 권장했다 (Kozauer et al., N. Engl. J. Med. 368 (2013), 1170-1171).

[0008] WO 94/16327 A1은 "아밀로이드 단백질 이온 채널"을 포함하는 치료제를 개시한다. 그러나, WO 94/16327 A1의 아밀로이드 단백질 이온 채널의 이러한 개념은 더 이상 추진되지 않았고 결국 과학적 도전과제가 되었다 (Sokolov et al., J. Gen. Physiol. 128 (2006), 637-647; commentary by Eliezer, J. Gen. Physiol. 128 (2006), 631-633).

[0009] 또한, WO 94/16327 A1의 교시는 Al-이온과 생체내 잠재적인 A β -이온 채널의 활성 상호작용을 암시하며, 이에 의해 이들 채널을 억제한다. 따라서, 알루미늄이 이러한 작업을 충분히 충족하기 위해서는, 화합물이 제안된 농도로 활성 부위인 뇌에 도달해야 한다. 인간의 뇌에서, 정상 수준의 알루미늄은 0.25 내지 0.75 mg/습윤 중량 kg의 범위이며, 회색질 (주로 AD에서 영향을 받은 인지 기능 조절에 관여한다)은 백색질에서 발견되는 농도의 약 2배를 포함한다 (The EFSA Journal (2008) 754, 24-88; Annex to the EFSA Journal (2008) 754, 1-34 opinion "Safety of aluminium from dietary intake"). 연령이 증가함에 따라, 인간의 뇌 조직에서 알루미늄 농도가 더욱 증가할 수 있음은 명백하다. 유사하게, 몇몇 연구는 또한 AD 환자에서 유래된 뇌가 건강한 대조 뇌보다 높은 Al-수준을 보임을 나타낸다 (Yokel, NeuroToxicology 21 (2000), 813-828에서 검토됨). 따라서, 제안된 치료적 활성 Al 농도는 건강한 뇌 및 병이 있는 뇌에 이미 존재한다 (WO 94/16327 A1, 청구항 12항에 기재된 의도된 용도-제형의 범위 내 : 0.01-10mg/kg). 또한, 비경구 및 경구 섭취 후 뇌에서의 Al의 생체이용률은 능동적으로 조절되는 매우 효율적인 유입/유출 메커니즘에 의존하여 낮게 유지되고, 제안된 치료적 대뇌 농도에 도달하기 위해서는 높은 말초 용량이 필요하다. 따라서, 말초 Al의 추가 증가가 잠재적인 독성 효과 없이 직접적이고 치료학적으로 유리한 효과를 발휘하기 위해 요구되는 추가적인 대뇌 Al 수준을 유도할 것이라는 수궁할 만한 과학적 근거가 없다.

[0010] 또한, 본 출원의 도 7 및 도 8은 국소 도포된 알루미늄-옥시하이드록사이드가 대뇌 A β 수준을 유의하게 변화시

키지 않으며 알츠하이머병에 대한 APP-유전자이식 모델(Tg2576)에서 인지 저하를 현저하게 감소시킬 수 있음을 기재한다. 이는 이러한 AD 모델에서 알루미늄-옥시하이드록사이드에 의해 발휘된 유익한 기능적 효과의 근간이 되는 APP/A β 독립적 메커니즘을 의미한다.

- [0011] WO 99/27944 A1은 본질적으로 A β 에 대한 면역원성 반응을 유도하는데 효과적인 작용제의 존재에 기반한 AD 백신을 개시한다. WO 2011/120924 A1은 본질적으로 바이러스-유사 입자에 결합된 A β 1-6 펩티드에 기반한 A β 백신을 나타낸다. WO 2006/005707 A2, WO 2009/149486 A2 및 WO 2009/149485 A2는 AD의 예방 및 치료용 백신에 사용하기 위한 A β 미토포프 펩티드를 개시한다.
- [0012] 문헌[Heneka et al. (Nature, 493 (7434) (2012) : 674-678)]은 아밀로이드- β 응집을 감소시키기 위해 NLRP3의 억제에 의한 AD의 치료를 제안한다. 문헌[Aimanianda et al. (TIPS, 30 (6) (2009) : 287-295)]은 알류이 NLRP3을 활성화시킴을 개시한다.
- [0013] 문헌[Magga et al. (J. Cell. Mol. Med. 16 (2012) : 1060-1073)]은 골수 줄기 세포로부터 단핵구 세포의 생성 및 AD에서의 이들의 치료적 용도를 보고한다. 문헌[Lebson et al. (Cell Transp. Cogn. Com. Com. 17 (2008) : 470/471)]은 AD APP + PS1 유전자이식 마우스에서의 단핵구 유전자 요법을 개시한다. WO 2012/055981 A1은 아밀로이드 침착의 예방 또는 감소를 위해 "내독소가 없는 TLR4 효능제"의 사용을 제안한다. 문헌[Malm et al. (GLIA 58 (2010) : 889-900)]은 AD에서 단핵구 세포의 역할 및 치료 가능성을 검토한다.
- [0014] WO 2009/105641 A1은 아밀로이드증의 치료를 위한 M-CSF의 용도를 개시한다. 문헌[Boissonneault et al. (Brain 132 (4) (2008) : 1078-1092)]은 AD에서 아밀로이드 침착 및 인지 장애에 대한 M-CSF의 효과를 보고한다. 문헌[Luo et al. (Neuroscience letters 367 (2) (2013) : 210-172)]은 손상된 뉴런에서 콜로니-자극 인자 1 수용체 (CSF1R) 신호전달이 보호 및 생존을 용이하게 한다는 것을 개시한다.
- [0015] 따라서, 지금까지 인간 환자에서 진행성 신경퇴행 및 연관된 인지 저하를 막기 위한 이용가능한 효과적인, 질병 개선 치료법은 없었다. AD에 이용될 수 있는 치료법은 3개의 아세틸콜린 에스테라제 억제제 (AChEI) 및 1개의 N-메틸-D-아스파르테이트 (NMDA) 길항제를 포함한다. 그 효과는 사실상 미비하고 단지 대중적인 것이다 (예컨대, 문헌[Corbett et al., Nat. Rev. Drug Discov. 11 (2012), 833-846]을 참조하라). 따라서, 질병-개선 약물에 대한 높은 의학적 요구가 있다.
- [0016] 본 발명의 목적은 AD 치료 및 예방을 위한 수단과 방법을 제공하여 질병에 걸린 환자의 상태가 추가로 발생하지 않거나 심지어 개선된다는 의미에서 AD 치료를 가능하게 하는 것이다. 또 다른 목적은 AD를 갖거나 AD 발생 위험이 있는 사람에서 AD의 발생을 예방하기 위한 수단 및 방법을 제공하는 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명의 목적은 MRI (자기 공명 영상) 또는 방출 단층촬영 기반 기술을 사용한 뇌 이미징 기법에 의해 측정된 바와 같이, 적어도 하나의 중요한 바이오마커와 관련하여 입증된 바와 같은 효과적인 AD 치료를 제공하는 것이다.
- [0017] 따라서, 본 발명은 AD의 치료를 위한 방법을 제공하고, 여기서 알루미늄 염을 포함하는 면역 자극성 약학적 조성물이 AD를 지니거나 AD 발생 위험이 있는 환자에 유효량으로 투여된다.
- [0018] 본 발명의 과정에서, 놀랍게도 그와 같은 알루미늄 염은 AD 환자에서 실질적인 질병 개선 효과를 제공하는데 효과적인 것이 임상 시험에서 입증되어 지금까지 AD 약물치료를 위한 임의의 임상 시험에서 지금까지 보이지 않았던 임상 효능을 나타내는 것으로 밝혀졌다. 따라서, 본 발명은 이 질병에 대한 획기적인 기술을 제공한다. 최초로, AD 환자에서 현저한 질병 개선 효과가 검출될 수 있었다. 더욱이, 본 발명은 또한 AD 약물치료를 위한 다른 임상 시험, 특히 AD 면역요법 분야에서 보고된 현저한 부작용 없이 효과적인 것으로 판명되었다.
- [0019] 보다 특히, 본 발명은 (오른쪽) 해마의 부피에 대한 MRI 스캔과 관련하여 AD 환자에서 통계적으로 유의한 질병 개선 효과를 달성하였다. 더욱이, 최초로, 본 발명을 위해 수행된 임상 시험 중에 임상적 바이오마커와 방사선학적 바이오마커의 상관관계가 나타났다. 구조적 MRI는 가장 최근의 과학 문헌(Risacher et al., Annu. Rev. Clin. Psychol. 9 (2013), 621-648; Vermuri et al., Neurology 73 (2009), 287-293 and 294-301; Weiner et al., Alzh. Dement. 9 (2013), e111-94; Frisoni et al., Nat. Rev. Neurol. 6 (2010), 67-77; Fox et al., Arch. Neurol. 57 (2000), 339-344)에서 중요한 바이오마커로서 강조되었다.
- [0020] MRI는 단면적 집단별 식별 및 단면적으로 일반적 인지 및 기능적 상태와의 더 나은 상관관계를 가져오는데 큰 힘을 제공한다. MRI는 시험된 다양한 CSF 바이오마커보다 더욱 양호한 임상적으로 정의된 질병 단계를 반영한다 (Vermuri et al., Neurology 73 (2009), 287-293 and 294-301). 수많은 연구는, 임상 전환 전 2년까지, MCI에서 가능한 AD (MCI-전환기)로 전환될 환자에서, 내측 및 외측 측두엽 피질, 두정엽 및 전두엽의 피질 두께 감소

뿐만 아니라, 해마 및 내후각 피질(EC) 부피의 현저한 감소를 입증하였다 (Risacher et al., 2013).

- [0021] 따라서, 이러한 바이오마커는 본 발명에 대해 수행된 임상 시험 과정에서 표준 임상 파라미터 (AD 환자의 기능 및 인지 기능 모니터링)와 병행하여 조사되었다.
- [0022] 본 발명의 경우, 일반적인 AD 환자의 발생 (점진적 인지, 기능 및 행동 저하)에 비해 AD 환자의 발생에 있어 유의한 개선이 이루어질 수 있어 AD의 질병-개선 치료제의 제공에 대한 오랜 염원을 충족시킬 수 있다.
- [0023] 따라서, 본 발명의 주제는 β -아밀로이드 침착과 관련된 치매, 바람직하게는 AD의 치료 및 예방에서 알루미늄 염의 이용이며, 여기서 유효량의 상기 알루미늄 염은 β -아밀로이드 침착으로 고통받거나 β -아밀로이드 침착의 발생 위험이 있는 환자, 바람직하게는 AD, 루이소체 치매 및 다운증후군의 치매, 특히 AD를 지니거나 발생 위험이 있는 환자에 투여된다.
- [0024] 알루미늄 염은 백신에서 애쥬번트로서 오랫동안 사용되어 왔지만, 수 년 동안 이러한 염의 약학적 사용은 대부분 2개의 현탁액 제조물, 즉 항원이 백신 제조물에 흡착된 Alhydrogel (알루미늄-옥시하이드록사이드) 및 AdjuPhos (알루미늄하이드록시포스페이트)로 축소되어 왔다 (문헌[E. B. Lindblad (2004) Vaccine 22, 3658-3668; E. B. Lindblad (2004) Immunology and Cell Biology 82, 497-505; R. K. Gupta (1998) Adv. Drug Delivery Rev. 32, 155-172]에서 검토됨).
- [0025] 이의 오랜 사용에도 불구하고, 애쥬번트로서 Alhydrogel의 작용 방식은 잘 알려져 있지 않다. Alhydrogel이 주입 부위에 데포(depot)를 형성한다는 초기 가설은 단지 여러 방면의 이야기 중 하나인 것으로 밝혀졌다 (문헌 [C. Exley, P. Siesjo, H. Eriksson (2010) Trends Immunol. 31, 103-109; S. L. Hem, H. HogenEsch (2007) Expert Rev. Vaccines 6, 685-698; P. Marrack, A. S. McKee, M. W. Munks (2009) Nature Rev. Immunol. 9, 287-293; S. G. Reed, M. T. Orr, C. B. Fox (2013) Nat. Med. 19, 1597-1608]에서 검토됨).
- [0026] 인간에서 사용되는 알루미늄 애쥬번트의 주요 제시형태는 알루미늄 하이드록사이드(또는 알루미늄 옥시하이드록사이드) 및 알루미늄 포스페이트이다. 둘 모두의 제시형태는 현탁액이 형성되는 알칼리성 조건에 용해성 알루미늄 염 (역사적으로 포타슘 알룸, 즉 $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ 가 종종 사용됨)을 노출시킴으로써 일반적으로 제조된다. X-선 결정학 및 IR 분광학에 의한 특성규명은 알루미늄 하이드록사이드의 경우 베마이트(boehmite)-유사 구조 (알루미늄 옥시하이드록사이드) 및 알루미늄 포스페이트의 경우 알루미늄 하이드록시포스페이트에 상응하는 무정형 구조를 나타내었다.
- [0027] 그러므로, 본 발명에 따른 바람직한 알루미늄 염은 일반식 $Me_a^+ Al_b^{3+} An^{c-} \cdot nH_2O$ 를 갖고, 여기서
- [0028] Me^+ 는 Na^+ , K^+ , Li^+ , Rb^+ , Cs^+ 또는 NH_4^+ 이고;
- [0029] An 은 PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , $O(OH)^{3-}$, O_2^- 또는 OH^- 이고;
- [0030] a 는 0, 1, 2, 또는 3이고;
- [0031] b 는 1 또는 2이고;
- [0032] c 는 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6이고;
- [0033] n 은 0 내지 48이다.
- [0034] 그러한 알루미늄 염의 바람직한 예는 알루미늄 하이드록사이드, 알루미늄 옥시하이드록사이드, 알루미늄 포스페이트, 알루미늄 셀레이트, 또는 임의의 종류의 "알룸" (여기서 "알룸"은 일반적으로, "전통적 알룸", 화학식 $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ 를 갖는 수화된 포타슘 알루미늄 셀레이트 (포타슘 알룸), 및 - 더욱 일반적으로 화학식 $AAI(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ 를 갖는 이중 셀레이트 염 (이 때 A는 포타슘 또는 암모늄과 같은 일가 양이온이다)을 포함하는, 화학적 화합물의 부류를 나타낸다)과 같이 인간 용도로 및 인간 용도를 위해 연구, 조사 및 입증된 것들이다.
- [0035] 본 발명에 따른 알루미늄 염의 가장 바람직한 구체예는 알루미늄 하이드록사이드, 알루미늄 옥시하이드록사이드, 알루미늄 포스페이트, 또는 알루미늄 셀레이트로부터 선택되며, 특히 본 발명의 과정에서 광범하게 조사된 알루미늄 옥시하이드록사이드인데, 그 이유는 이것이 인간 용도에 바람직한 애쥬번트이기 때문

이다 (다양한 백신에서 Alhydrogel 애쥬번트로서).

- [0036] 본 발명에 따른 알루미늄 염은 본 발명에 따른 질병-개선 효과를 달성하기 위해 다른 물질과 혼합될 수 있다. 그러나, 본 발명에 따른 알루미늄 염이 단백질 결합 능력 (또한 단백질의 pI 및 약학적 제조물의 pH에 의존적임)도 지니므로, 단백질 또는 폴리펩티드가 환자에 투여되는 약학적 제조물에 존재하는 경우 알루미늄 염 농도는 증가되어야 한다.
- [0037] 예를 들어, 알루미늄 포스페이트 (Adju-Phos)는 라이소자임 (pI 11.0)에 1.4 ± 0.1 의 최대 결합 능력(pH 7.4에서 mg 단백질/mg 알루미늄) ; 알루미늄 옥시하이드록사이드 (Alhydrogel)는 오브알부민 (pI 4.6)에 1.6 ± 0.1 및 BSA (pI 4.9)에 2.2 ± 0.1 의 최대 결합 능력을 지닌다 (Jones et al., JBC 280, (2005), 13406-13414). 그러한 단백질에 결합된 알루미늄 염을 설명하기 위해서는, 단일 유효 성분으로서 또는 - 적어도 약학적 제조물 중 단백질 또는 폴리펩티드의 부재 하에 알루미늄 염을 함유한 제조물에서보다 더 많은 알루미늄 염이 그러한 혼합된 약학적 제조물에 제공되어야 한다. 예를 들어, 본 발명에 따른 약학적 조성물이 2 mg 알루미늄 염, 특히 알루미늄 옥시하이드록사이드 용량의 유효성을 제공해야 하고, 알루미늄 염에 결합하는 특정 양의 단백질 또는 폴리펩티드를 함유한다면, 2 mg의 "유리" 알루미늄 염을 제공하기 위해서는 그러한 단백질에 결합하는 알루미늄 염 부분과 동등한 양이 약학적 제조물에 추가로 포함되어야 한다.
- [0038] 따라서, 약학적 제조물에 함유된 본 발명에 따른 알루미늄 염을 투여하는 것이 바람직하고, 여기서 제조물은 알루미늄 염, 특히 알루미늄 옥시하이드록사이드를 단일 유효 성분으로서 함유한다.
- [0039] 본 발명의 가장 바람직한 구체예는 AD 환자에 알루미늄 옥시하이드록사이드 (특히 Alhydrogel로서)의 효과적인 투여를 포함한다.
- [0040] 알루미늄 옥시하이드록사이드 제조물은 ~pH 11의 pH에서 영전점을 갖는 반면, 알루미늄 하이드록시포스페이트는 pH 4만큼 낮은 영전점을 가질 수 있다 (포스페이트 함량에 따라). 따라서, 알루미늄 옥시하이드록사이드 및 알루미늄 하이드록시포스페이트는 중성 pH에서 반대되는 표면 전하를 지니고, 후자는 음으로 하전된다. 그러나, 표면 전하는 정확한 완충제 조성에 따라 변할 수 있다고 언급되어야 하고, 특히 포스페이트 이온은 알루미늄 옥시하이드록사이드의 표면 전하를 낮추는 능력이 있다.
- [0041] 알루미늄 옥시하이드록사이드의 경우, 제조물에는 설페이트, 니트레이트 또는 클로라이드와 같은 음이온이 없고 특정 중금속 함량은 20 ppm 미만이다. 알루미늄 옥시하이드록사이드의 현탁액은 ~2nm x 4.5 nm x 10nm의 더 작은 섬유로 구성된 응집물인, 2 μ m 내지 약 10 μ m의 입자 크기 분포를 지닌다.
- [0042] 이러한 가장 바람직한 구체예에 따르면, 본 발명은 유럽 약전 등급 (알루미늄-옥시하이드록사이드, monograph 1664)의 사용, 보다 특히 EP 준수에 대해 시험된 Brenntag Biosector에 의해 제조된 제품(2% Alhydrogel)에 관한 것이다. Alhydrogel은 세 가지로 이용가능하다: Alhydrogel 1.3%; Alhydrogel 2% 및 Alhydrogel "85". Alhydrogel 2%가 알루미늄 하이드록사이드 겔에 대한 국제 표준 제조물로서 채택되었다. 본 발명에 따른 약학적 제조물은 적합한 완충제, 바람직하게는 등장성 포스페이트 완충제 (1mM 내지 100 mM)에, 바람직하게는 ≥ 1.0 mg/ml Alhydrogel의 농도 (Al_2O_3 당량으로서 제공됨; 이러한 계량 (" Al_2O_3 당량"으로서 Al)이 본 발명에서 일반적으로 이용됨; 따라서, 본 출원에 언급된 모든 용량 및 양은, 이들이 알루미늄 염과 관련이 있는 한 (특히 이들이 알루미늄 옥시하이드록사이드와 관련이 있는 한) Al_2O_3 당량 (알루미늄 옥시하이드록사이드 (Alhydrogel)의)을 나타낸다), 더욱 더 바람직하게는 ≥ 1.5 mg/ml Alhydrogel의 농도 (Al_2O_3 당량으로서 제공됨), 가장 바람직하게는 ≥ 2.0 mg/ml Alhydrogel의 농도 (Al_2O_3 당량으로서 제공됨)로 무균적으로 제형화된다. Alhydrogel의 경우 알루미늄 염의 양은 제조업체에 의해 언급된 강도와 일치하는 Al_2O_3 당량으로서 제공된다 (즉, 2% Alhydrogel은 2% Al_2O_3 , 즉, 20 mg/mL와 같다). 이러한 농도는 개개의 분자 질량 (20 mg/mL Al_2O_3 (Mw 101,96)_10.6 mg/mL 알루미늄 (분자 질량 26,98)에 상응함)을 이용함에 의해 개개의 알루미늄 농도로 직접 전환될 수 있다. 사용된 염에 따라서 이 값은 상이한 알루미늄 염의 필요한 양/농도로 용이하게 전환될 수 있다 (이러한 값은 단지 알루미늄 (염)의 양에만 기초하고 다른 측면, 예를 들어 Alhydrogel의 미립자 특성의 기여도는 고려하지 않음이 명백하다).
- [0043] 종종 알룸으로도 언급되는 Alhydrogel 2%는 알루미늄 옥시하이드록사이드 습윤 겔 현탁액이다.
- [0044] 본 발명의 가장 바람직한 구체예에서, AD 환자에 투여되는 알루미늄 염은 알루미늄 옥시하이드록사이드 현탁액, 바람직하게는 유럽 약전 등급 알루미늄-옥시하이드록사이드 (monograph 1664), 특히 Alhydrogel이다. 알루미늄

옥시하이드록사이드는 AD 및 다른 치매의 치료를 위한 의약 제품에 대한 EMEA 가이드라인에 정의된 대로, AD 개선 효과를 달성하기에 효과적인 양으로 투여된다 (Document Ref. CPMP/EWP/553/95 Rev.1 of 24 July 2008). 따라서, 본 발명에 의해 제공된 AD 개선 효과를 달성하는데 적합한 본 발명에 따른 알루미늄 염 제형, 특히 알루미늄-옥시하이드록사이드 제형에 대한 임의의 투여 절차 또는 투여 요법이 본 발명에 적용된다. 용어 "유효량"은 또한, 경우에 따라, 아밀로이드성 단백질과 관련된 생리 효과 또는 장애를 억제하거나, 아밀로이드성 생성 또는 침착을 억제하거나, AD를 억제하는데 필요한 화합물의 양으로 정의되었다.

[0045] 비록 본 발명에 따른 제조물을 느린 주입에 의해 전달할 수 있지만, 투여에 바람직한 전략은, 예를 들어 피하 주입에 의해 용량을 투여하는 것이다. 따라서, 바람직하게는, 알루미늄 염, 바람직하게는 알루미늄 옥시하이드록사이드의 투여 용량은 AD 환자에 대해 적어도 1.2 mg이다. 환자에 투여되는 양의 바람직한 범위는 1.2 mg 내지 5.0 mg의 알루미늄 염, 바람직하게는 알루미늄 옥시하이드록사이드의 양이다. 알루미늄 염, 바람직하게는 알루미늄 옥시하이드록사이드 투여의 AD 개선 효과는 적어도 1.5 mg의 양에서 훨씬 더 분명하다. 또 다른 바람직한 구체예에 따르면, 알루미늄 염, 바람직하게는 알루미늄 옥시하이드록사이드는 1.5 mg 내지 5.0 mg, 바람직하게는 1.5 내지 3.0 mg, 특히 1.5 내지 2.5 mg의 양으로 AD 환자에 투여된다. 또 다른 바람직한 구체예는 AD 환자에 1.6 mg 내지 2.5 mg, 바람직하게는 1.8 내지 2.2 mg, 특히 1.9 내지 2.0 mg의 양의 알루미늄 염, 바람직하게는 알루미늄 옥시하이드록사이드의 투여를 포함한다.

[0046] 또 다른 바람직한 구체예에 따르면, 알루미늄 염, 바람직하게는 알루미늄 옥시하이드록사이드는 2.2 mg 또는 그 초과 양으로 투여된다. 이 양은 US 일반 생물 제품 표준 (U.S.C. 21 CFR 610.15 (2013 년 4월 1일 기준))에 명시된 것보다 훨씬 높다. 알루미늄 염, 바람직하게는 알루미늄 옥시하이드록사이드의 그러한 바람직한 높은 범위는, 즉, 한 투여 용량에 대해 i.a. 2.2 내지 10 mg, 2.2 내지 8 mg, 2.2 내지 5 mg, 및 2.2 내지 4 mg이다.

[0047] 바람직하게는, 알루미늄 염은 투여 용량에 이용되는 단일 유효 물질이다. 그러나, 본 발명에 따른 알루미늄 염 제조물은 특정 임상 효과는 없지만 투여되는 투여 형태에 유용한 다양한 보조 물질을, 투여 목적, 보관 목적, 또는 다른 목적으로 함유할 수 있다. 바람직한 구체예에 따르면, 본 발명에 따라 이용된 알루미늄 염 제조물, 바람직하게는 알루미늄 옥시하이드록사이드 제조물은 약학적으로 허용되는 담체, 희석제 또는 부형제, 예를 들어 주입용 물을 함유한다. 바람직하게는, 알루미늄 염 제조물, 특히 알루미늄 옥시하이드록사이드 제조물은, 본 발명에 따라 하나 이상의 안정화제, 특히 티오메르살, 세척제, 항산화제, 일가 또는 이가 금속 이온에 대한 착화제, 특히 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA), 당, 당 알콜, 글리세롤, 및/또는 완충제 물질, 특히 TRIS 또는 포스페이트 완충제 물질을 추가로 함유한다. 이것은 물론 그러한 보조 물질의 혼합물도 포함한다.

[0048] 환자에 투여되는 투여 형태는 임의의 편리한 부피로, 바람직하게는 예컨대 0.1 내지 10 ml, 더욱 바람직하게는 0.2 내지 5 ml, 특히 0.4 내지 3 ml의 부피를 지닌 주입용 현탁액으로서 제공될 수 있다. 특히 바람직한 부피는 0.5, 1, 1.5 및 2 ml이다. 본 발명에 따른 약학적 제조물은 유럽 및/또는 US 약전에 의해 요구되고 정의되는 의약품 제조관리 기준 (GMP)에 따라 생산된다.

[0049] 바람직한 구체예에 따르면, 알루미늄 염, 바람직하게는 알루미늄 옥시하이드록사이드는 4 내지 10, 바람직하게는 5 내지 9, 더욱 바람직하게는 6 내지 8, 특히 7.0 내지 7.5의 pH를 지닌 현탁액으로 환자에 투여된다. 바람직하게는, 현탁액은 등장성 현탁액이다.

[0050] 바람직하게는, 알루미늄 염은 AD 환자에 대해 가능한 한 편리하지만 AD 개선 효과를 달성하기에 여전히 효과적인 경로에 의해 투여된다. 알루미늄 염, 바람직하게는 알루미늄 옥시하이드록사이드의 가장 효과적인 치료 경로는, 본 발명에 따르면, 피하, 결절내, 피내, 또는 근내 투여, 특히 피하 투여이다. 피하 투여는 진피와 표피 바로 아래 피부층인 피하 조직에, 특히 피하 조직의 지방 조직에 볼루스(bolus)로서 수행된다.

[0051] 투여 요법은 여러 파라미터, 특히 인지 및 기능적 성능 및 바이오마커, 특히 해마 부피에 관한 구조적 MRI에 의해 측정된 바와 같이, 치료 성공에 의존하여, 각각의 AD 환자에 대해 개별적으로 최적화될 수 있다 (하기 참조). 본 발명에 대해 수행된 임상 시험의 과정 중에, 알루미늄 염, 바람직하게는 알루미늄 옥시하이드록사이드의 AD 환자로의 적어도 매달 투여는 AD를 개선하는데 성공적인 것으로 입증되었다. 오래 지속되는 치료 효과를 달성하기 위해서, 그러한 적어도 매달 투여는 최소 3개월, 특히 최소 6개월 동안 계속되어야 한다.

[0052] 알루미늄 염, 바람직하게는 알루미늄 옥시하이드록사이드의 투여는 또한, 본 발명에 따르면, 한 달에 적어도 2 회 수행될 수 있고 (예를 들어 격주 또는 매주); 또한 그러한 투여 요법에서, 알루미늄 염, 바람직하게는 알루미늄 옥시하이드록사이드는 적어도 3개월, 바람직하게는 적어도 6개월, 더욱 바람직하게는 적어도 12개월, 특히 적어도 24개월의 기간 동안 AD 환자에 투여되어야 한다.

- [0053] 바람직한 구체예에 따르면, 알루미늄 염, 바람직하게는 알루미늄 옥시하이드록사이드는 AD 환자의 상완(의 외부 영역)에, 바람직하게는 왼쪽 및 오른쪽 상완에 번갈아 피하 투여된다 (즉, 오른쪽(또는 왼쪽) 상완에 첫 번째 용량 및 왼쪽(오른쪽 팔)에 두 번째 용량 투여, 등등). 피하 투여를 위한 다른 편리한(또는 대안적인) 부위는 허리의 바로 위 및 아래 (바로 배꼽 주위 영역 (2-인치 원) 제외), 엉덩이 상부, 바람직하게는 엉덩이 뼈 바로 뒤, 허벅지 앞, 바깥 쪽 중간, 허벅지 위에서 4 인치 아래에서 무릎 4 인치 위 등이다.
- [0054] 대안적으로, 투여되는 용량은 또한 동시에(동일한 의사 날짜에; 적어도 같은 날에) AD 환자에 투여되는 2개 (또는 그 초과)의 분할된 용량으로 나뉠 수 있다. 예를 들어, 2 mg의 용량은 1.8 및 0.2 mg, 1.7 및 0.3 mg, 1.5 및 0.5 mg, 1.34 및 0.76 mg, 1.0 및 1.0 mg, 1.05 및 0.95 mg, 1.0, 0.5 및 0.5 mg, 0.6, 0.6 및 0.7 mg, 0.2, 0.5, 및 1.3 mg, 0.5, 0.5, 0.5 및 0.5 mg, 0.2, 0.3, 0.5 및 1.0 mg, 등의 분할된 용량으로 나뉠 수 있다. 분할된 용량은 다른 투여 부위 또는, 바람직하게는 동일한 투여 부위에 투여될 수 있다. "동일한 투여 부위"는 10 cm²의 피부 면적 내, 바람직하게는 5 cm²의 피부 면적 내, 특히 1 cm²의 피부 면적 내에 있다. 바람직한 분할된 용량은 0.8 내지 5.0 mg, 바람직하게는 1.0 내지 3.0, 특히 1.0 내지 1.5 mg의 알루미늄 염, 바람직하게는 알루미늄 옥시하이드록사이드를 함유한다.
- [0055] 매우 오래 지속되는 AD 개선 효과를 달성하기 위해, 본 발명에 따른 치료는 1년 넘게 수행된다. 본 발명의 바람직한 구체예에 따르면, 알루미늄 염은 적어도 2년, 바람직하게는 적어도 4년, 특히 적어도 8년 동안 AD 환자에 적어도 매달 투여된다.
- [0056] 알루미늄 염, 바람직하게는 알루미늄 옥시하이드록사이드의 투여는, 본 발명에 따르면, 임의의 적합한 투여 장치에 의해 수행될 수 있다. 편의상, 알루미늄 염 용량, 바람직하게는 알루미늄 옥시하이드록사이드 용량은 주입 장치, 특히 주사기에 의해 AD 환자에 투여된다. 본 발명에서 사용되는 약학적 제조물은 임의의 적합한 형태로 제공될 수 있다. 바람직하게는, 이들은 저장 안정성 형태로 제공된다. 저장 안정성은 살균, 안정화제 첨가, 동결, 동결 건조 등과 같은 다양한 수단에 의해 보장될 수 있다. 바람직하게는, 이러한 수단의 조합을 이용하여 그러한 제조물의 저장 안정성을 향상시킨다. 알루미늄-염 작용제, 예컨대 알루미늄 옥시하이드록사이드가 동결되거나 동결건조될 때, 처리 동안 애췌번트 입자의 응집이 관찰될 수 있다. 그러한 제형, 특히 알루미늄 옥시하이드록사이드 (Alhydrogel) 제형을 빠른 속도로 또는 충분한 양의 트레할로스와 같은 유리 형성 부형제의 첨가에 의해 냉각시킴에 의해, Alhydrogel의 응집은 방지되거나 최소화될 수 있다. 완충제 염의 동결-농도는 그러한 알루미늄 작용제의 표면 화학 및 결정도에서의 변형을 유도하고, 이는 차례로 응집을 조장한다고 제안되었다. 이러한 Alhydrogel 입자의 상기 변형 및 결과적인 응집은 완충제 이온의 선택을 통해 배제되거나 최소화되거나, 동결 동안 유리 상태를 빠르게 형성함으로써 동역학적으로 억제될 수 있다 (예컨대 [Clausi et al., J Pharm Sci. 2008 Jun; 97 (6) : 2049-61]을 참조하라).
- [0057] 본 발명에 따라 AD 환자에 이용되는 약학적 조성물은 적합한 컨테이너로 제작되고 (및 완성되고), 예를 들어 밀봉된 바이알, 앰플, 카트리지, 유연성 백(종종 다층화 플라스틱으로 제작됨), 유리 또는 폴리프로필렌 병 또는, 바람직하게는, 주사기, 특히 미리 충전된 (즉시 사용가능 또는 재구성 준비가 됨) 주사기로 판매된다.
- [0058] 본 발명의 바람직한 구체예에 따르면, 알루미늄 염, 바람직하게는 알루미늄 옥시하이드록사이드는 적어도 1.8 mg의 양으로 AD 환자에 투여된다.
- [0059] 본 발명에 따른 알루미늄 염 제조물, 바람직하게는 알루미늄 옥시하이드록사이드 제조물이 투여되는 바람직한 환자는 "경증 인지 장애를 갖는 환자" (MCI)로도 종종 언급되는 환자를 포함하는, 초기 단계 환자인 AD 환자에 투여된다. MCI의 개념은 아직 치매의 기준을 충족하지 못한 알츠하이머병 (AD)의 초기 임상 징후를 지닌 환자를 포함시키기 위해 1990년대에 개발되었다. MCI의 기억상실 변형은 다음의 특징이 있다: 바람직하게는 정보제공자에 의해 취득된 기억 호소증상(memory complaints); 학습 능력 (예를 들어, 산문 상기, 단어 목록)을 활용한 하나 이상의 신경심리 검사에서 낮은 인지 성능에 의해 색인화된, 연령에 따른 기억 장애; 보존된 일반적 인지 기능 (예를 들어, 30점 중 24점 또는 보다 높은 미니-정신 상태 조사 점수); 온전한 일상 생활의 활동; 및 치매 없음. 기억상실 MCI를 가진 모든 환자의 약 2/3는 AD의 병리학적 특징을 지니고 5년 이내에 알츠하이머 치매의 임상 증후군이 발생하는 반면, 나머지 1/3는 진행되지 않거나 매우 느리게 진행되는 인지 장애의 원인을 갖는다 (예를 들어, 우울증 또는 노화-관련 인지 장애). 2007년에 개발된 AD에 대해 제안된 새로운 진단 기준 (Dubois et al., Lancet Neurol. 6 (2007), 734-746)은 환자가 다음 중 4개의 마커 중 적어도 하나에 양성이면 질병이 MCI 단계로 인지될 수 있다고 제안하였다: MRI 상에서 내측 측두 위축; 18F-플루오로데옥시글루코스 PET 상에서 측두엽 피질 대사저하; 뇌척수액 마커 (tau, 아밀로이드-β42 또는 포스포-tau)의 이상; 및 PET를 이용한 아밀로이드 이미징 상에서의 양성. 이러한 환자 집단이 본 발명에 따라 치료되는 AD 환자에 포함될 뿐만 아니라, 본

발명에 따른 치료 방법이 특히 효과적인, 특히 바람직한 환자의 그룹이다. 이것은 US-FDA (Aisen et al., 2013; Kozauer et al., 2013)가 채택한 AD 임상 시험의 개정된 기준과 일치한다. 따라서, 비교적 높은 MMSE (미니-정신 상태 조사 또는 Folstein 검사) 점수에 의해 정의된 바와 같이, AD 초기 상태의 환자를 치료하는 것이 바람직하다. 바람직하게는, 본 발명에 따라 치료되는 AD 환자는 23 내지 30 (30이 최대이다), 바람직하게는 24 내지 30, 더욱 바람직하게는 25 내지 29, 특히 26 내지 29의 MMSE 점수를 갖는 환자이다. 다른 바람직한 환자 그룹은 27점 이상 (정상 인지를 나타냄), 25 내지 27 (정상 약간 아래의 인지) 또는 19 내지 24 (경증 점수 인지 장애)의 환자이다.

[0060] 초기 단계 AD 환자는 또한 다른 점수, 바람직하게는 ADAS-cog 등과 같이 (효과적으로 치료되는) AD 집단을 제한하기 위해 인지 및 기능적 파라미터 (및 수치적 한계)를 조합시킨 점수에 의해 선택될 수 있다.

[0061] 본 발명은 질병을 개선하는 AD 치료를 처음으로 제공한다. 본 발명에 따른 치료의 유효성은 약물 허가 기관, 특히 EMEA 및 US-FDA에 의해 요구되는 파라미터에 의해 입증된다. 예를 들어, AD 치료를 위한 EMEA 가이드라인은 인지 및 기능적 도메인을 반영하는 일차 종말점을 필요로 한다. 따라서, 조합된 (중합) 점수가 본 발명의 임상 평가에 이용된다. 이러한 중합 점수는 2개의 확립된 점수를 조합시킨 것인데, 하나는 인지 기능 (ADCS-cog (알츠하이머병 평가 척도-인지 부척도))에 대한 것이고 하나는 기능적 능력 (ADCS-ADL (알츠하이머병 공동 연구 - 일상 생활의 활동 목록))에 대한 것이다. 채택된 ADAS-cog는 인지 기능을 평가하는 항목을 조합시킨다. 채택된 ADCS-ADL은 기능적 능력에 민감한 항목을 포함한다. 인지 기술은 질병의 시작으로 감소할 것으로 예상되고 기본적인 기능을 수행하는 능력은 질병의 후반기에 감소할 것으로 예상된다. 조합된 일차 결과 (본 발명에 따른 중합 점수)는 채택된 ADAS-cog 및 채택된 ADCS-ADL 둘 모두를 조합하여 인지 및 기본적인 기능 저하에 민감한 중합 점수를 생성한다. 다음 방정식은 조합된 일차 결과, 즉 조합된 중합점수를 도출하기 위해 사용된다 :

[0062] 본 발명에 따른 조합된 중합점수는 다음과 같다:

[0063]
$$= 1.67 * \text{단어 상기} + 1.35 * \text{배향} + 1.42 * \text{단어 인식} + 0.55 * \text{상기 지시} + 0.81 * \text{음성 언어} + 1.01 * \text{단어 찾기} + 5.42 * \text{ONB} + 0.15 * \text{VPAL} + 0.19 * \text{범주 유창성} + 0.28 * \text{소지품} + 0.35 * \text{쇼핑} + 0.23 * \text{취미} + 0.38 * \text{음료} + 0.37 * \text{식사} + 0.23 * \text{현재 사건} + 0.26 * \text{TV} + 0.33 * \text{약속 이행} + 0.37 * \text{여행} + 0.33 * \text{단독} + 0.35 * \text{기기} + 0.49 * \text{의복} + 0.36 * \text{읽기} + 0.62 * \text{전화} + 0.33 * \text{쓰기}$$

[0064] 더욱이, AD 바이오마커는 AD 발생에 특징적이 본 발명에서 관찰되었다. EMEA 및 FDA 기준은 MRI, 내후각 또는 (파라-) 해마 피질의 위축과 같은 새로운 기법을 권장한다. 본 발명에 의해, PET (양전자 방출 단층촬영)-MRI가 이용되었다. 보다 특히, 오른쪽 해마의 부피 (말로 표현하기 어려운 자료의 학습 및 기억에 중요함)는 본 발명에 따라 치료 성공에 대한 중요한 AD 바이오마커로서 이용된다.

[0065] 본 발명에 따르면, AD 환자에서의 정상적인 감소 발생에 비해, 적어도 30% (점수 감소에 의해 계산됨), 바람직하게는 적어도 50%, 특히 적어도 70%만큼의 인지 및/또는 기능적 감소 (약 1년의 치료 기간 동안)에 의해 측정될 수 있는 AD 치료에서의 임상 효과가 관찰될 수 있다. 바람직하게는, 인지 및 기능적 파라미터는 본질적으로 치료 동안 변하지 않은 채로 유지된다. 이는 특히 가장 초기 단계 환자 (EMEA 및 FDA의 가이드라인에 의해 제안되고 권장된 대로), 예를 들어 23 이상, 바람직하게는 24 이상, 더욱 바람직하게는 25 이상, 특히 26 이상의 MMSE를 지닌 AD 환자를 포함한 환자에서 본 발명에 의해 달성될 수 있다. 그러한 환자의 경우, 본 발명에 따른 치료 동안 중합 점수 변화는 18개월 후 여전히 초기 점수 주위에 있다. 이는 EMEA에 의해 요구되는 "질병 개선 효과"에 대한 최소 요건을 현저하게 초과한 것이다 ("규제 관점으로부터, 인지 및 기능적 평가 도구에 의해 측정된 질병의 진행이 감소하거나 느려진 경우 그리고 이러한 결과가 근본적인 질병 과정에 대한 효과와 관련된 경우, 의약 제품은 질병을 개선하는 것으로 간주될 수 있고"; "약리학적 치료가 근본적인 병리학적 또는 병태생리학적 질병 과정을 지연시킬 때 그리고 이것이 치매 상태의 임상 징후 및 증상의 개선을 수반할 때 질병 개선 효과가 고려될 것이다").

[0066] 본 발명은 하기 실시예 및 도면에 의해 추가로 설명되지만, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0067] 도 1은 2 mg 및 1 mg 알루미늄 옥시하이드록사이드 치료를 받은 모든 환자에 대한 (부분적인) 채택된 ADL 변화 및 채택된 ADAS-cog 변화로 구성된 중합 점수에서의 변화에 관한 본 발명에 따른 임상 시험의 결과를 도시한다.

[0068] 도 2는 두 그룹 모두의 환자의 경증 집단(경증 집단은 24점 이상의 기준선 MMSE 점수에 의해 정의된다)의 비교를 나타내며, 이는 이러한 효과가 초기 질병 단계의 환자 코호트에서 가장 분명함을 나타낸다.

[0069] 도 3은 역사적 대조군에 비해 1 mg 및 2 mg 알루미늄 옥시하이드록사이드 그룹에 대한 채택된 ADAS-cog (ADAS-cog 항목만; 최소 제곱 평균)에 의해 입증된 바와 같은 2 mg 및 1 mg 알루미늄 그룹에서 명백한 질병 진행의 둔

화를 도시한다 (p-값: 1 mg vs. HC-ADNI, NS; HC: <0.0001; 2 mg vs. HC-ADNI, NS; HC: <0.0001).

- [0070] 도 4는 경증 집단(경증 집단은 24점 이상의 기준선 MMSE 점수에 의해 정의된다)의 환자의 2 mg 및 1 mg 알루미늄 옥시하이드록사이드 치료 그룹에 대한 오른쪽 해마의 부피 성장(mm³으로)을 도시하며, 이는 이러한 효과가 초기 질병 단계에 있는 환자의 코호트에서 가장 분명함을 나타낸다.
- [0071] 도 5는 간병인에 의한 삶의 질-알츠하이머 병(QOL-AD)을 나타낸다. 간병인은 이들 환자의 QOL에 대한 설문으로서 평가를 완료하였다. 평가는, 1점은 불량 및 4점은 양호인 4점 척도로 평가된, 13개 항목으로 구성되었다. 결과는 혼합 모델로부터의 최소 제곱 평균을 사용하여 시간 경과에 따른 변화로 도시된다.
- [0072] 도 6은 Tg2576 동물 모델에서 시험된 마우스의 면역 반응을 나타낸다: Tg2576-마우스에 30 µg 순 펩티드, 알룸으로 제형화된 KLH 또는 알룸만을 함유하는 컨쥬게이트-백신을 4주 간격으로 6회 s.c. 주입하였다. 사용된 알룸 용량은 2mg/ml로 동일하였다. 백신접종 유도된 Ab는 회생시 취해진 혈장 샘플에서 측정되었다 (SeqID 1 (n=10), SeqID 2 (n=8), KLH-알룸 (n=10) 및 알룸 단독 (n=8)). 샘플을 특정 펩티드에 대한 IgG Ab의 농도에 대해 분석하였다. 도시된 값은 OD max/2 (405nm에서) + SEM로서 계산된 역가이다. 개개의 면역화 펩티드 (SeqID 1: 항 SeqID 1; SeqID 2: 항 SeqID 2, KLH-알룸: 항 KLH, 알룸: 항 AD02)에 대한 IgG 반응; B) 면역화 후 인간 Aβ 1-40/42에 대한 반응성. SeqID 1 (n=10) 및 SeqID 2 (n=8) 처리된 동물은 항 Aβ 40/42 반응성을 나타내고, KLH-알룸 및 알룸 단독으로 처리된 동물은 배경 이상의 반응성을 나타내지 않았다. 이러한 검정에 대한 배경은 1/100으로 설정되며, 이는 A+B에서 검은 선 및 별표로 표시된다.
- [0073] 도 7은 시험된 마우스의 기억 및 학습을 도시한다: KLH/알룸 (n=9) 또는 SeqID 1-KLH-알룸 (n=10)-, SeqID 2-KLH-알룸 (n=7)-컨쥬게이트 백신 또는 알룸 단독 (n=8)의 주입을 매달 6회 받은 Tg2576 마우스 (n≤10/그룹)의 그룹. 나이브(naive) wt 동물 (n = 20)을 공포 조건부 실험(CFC)에 대한 양성 대조군으로 사용하였다. 상황(contextual) 학습 및 기억은 CFC 시험의 끝에 부동(freezing) 시간의 %를 이용하여 CFC-분석에 의해 평가되었다. 묘사된 파라미터는 동물들이 CFC 시험 패러다임의 2일에 대표적인 2분 기간 동안 99% 움직이지 않는 시간의 %이다. *.p<0.05; **.p<0.01.
- [0074] 도 8은 시험된 동물에서 아밀로이드 부하를 도시한다: KLH/알룸 (n=9) 또는 SeqID 1 (n=10)-, SeqID 2 (n=7)-컨쥬게이트 백신 또는 알룸 단독 (n=8)의 주입을 매달 6회 받은 Tg2576 마우스 (n≤10/그룹)의 그룹. 모든 제형의 알룸 용량은 2mg/ml로 동일하였다. 뇌를 6차 면역화의 8주 후에 분리하였다. 아밀로이드 침착물에 의해 덮인 상대적 총 뇌 면적의 정량(분석된 전체 조직의 %)은 Aβ 특이적 mAb 3A5를 사용한 면역-형광 염색에 기반한다. 대조군 (A, C) 및 SeqID 1- (B, D) 면역된 마우스의 피질 (A, B) 및 치상회 (C, D)의 대표적인 소구역이 도시된다. E) SeqID 1-KLH 알룸 + SeqID 2-KLH 알룸은 KLH-알룸 대조군에 비해 아밀로이드 침착물에 의해 덮인 상대 면적을 현저하게 감소시킨다 (확산 및 조밀 코어드(cored) 아밀로이드; *.p<0.05, **.p<0.01). Aβ 침착에서의 사소하지만 중요하지 않은 감소가 알룸 단독으로 처리된 동물 vs. KLH-알룸 처리된 동물에서 검출 가능하다. (ns) C의 화살촉은 대뇌 혈관에서 비특이적인 형광을 나타낸다. 스케일 바: 200 µM; 10x 배율로 찍은 사진.
- [0075] **실시예:**
- [0076] 1. AD 임상 시험의 발췌 (AFF006; Eudract: 2009-016504-22)
- [0077] **재료 및 방법:**
- [0078] 본 발명을 뒷받침하는 데이터는 초기 AD 환자에서의 무작위화된 임상 시험으로부터 도출된다. 연구 (AFF006; Eudract: 2009-016504-22)에서 초기 AD 환자는 5개 치료 아암으로 무작위화된다. 2개 연구 아암의 환자는 1 mg 알루미늄 또는 2 mg 알루미늄을 수용하였다. 합계하여, 99명의 초기 AD 환자가 2개의 연구 아암에 등록되었다. 주어진 환자의 참여는 18개월 동안 지속되었다.
- [0079] **연구 설계:**
- [0080] AFF006은 무작위화, 플라시보-제어된, 병행 그룹, 이중 맹검, 다기관 2상 연구로서 수행되었고, 프로토콜에 정의된 대로, 초기 AD를 지닌 환자에서 i.a. 알루미늄 (상당한 용량)의 반복된 s.c. 투여의 안전성 및 관용성 뿐만 아니라 임상적 및 면역학적 활성을 평가하였다. 이는 오스트리아, 프랑스, 독일, 슬로바키아, 체코 및 크로아티아의 총 6개국에서 수행되었다.
- [0081] 임상 시험은 10번의 정기 외래 방문 및 6번의 전화 면담으로 구성되었다. 치료 시작하기 4주 전까지 임상 시험을 위한 환자의 적합성을 확인하고 환자의 기준선 특성을 확립하기 위해 스크리닝 방문 (방문 1)을 수행하였다.

스크리닝 후, 적합한 환자를 무작위로 치료 그룹에 배정하였다. 0주차에 무작위화 후, 환자는 1 또는 2 mg의 알루미늄에 의한 6회 주입을 수용하였다. 주입은 조사자에 의해 0, 4, 8, 12, 40 및 65주 (방문 2, 3, 4, 5, 7 및 9)에 s.c. 적용되었다.

[0082] 방문 2, 3, 4, 5, 6, 7 및 9에 백신에 대한 가능한 국소 및 전신 반응 및 활력 징후(혈압, 심박수, 호흡 수 및 체온)을 평가하였다. 또한, 신체적 및 신경학적 조사를 수행하였다. 효능 파라미터는 방문 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10에 평가되었다. 최종 방문(방문 10)은 연구 약물의 마지막 투여 (방문 9) 12주 후에 수행되었다. 조기 중단 방문 (EDV)은 환자가 임상 시험을 중단했을 때 수행되었다.

[0083] 연구 집단

[0084] 초기 AD를 지닌 환자에서 연구를 수행하였다. 진단은 다음 기준에 의해 정의되었다:

[0085] - NINCDS/ADRDA 기준에 의해 정의된 알츠하이머병 가능성 (1)

[0086] - MMSE 점수 ≥ 20 (2)

[0087] - 해마 손상이 환자의 에피소드 기억을 손상시킴을 나타내는, 전체 회상 ≤ 40 또는 자유 회상 ≤ 17 의 자유 및 단서 선택적 상기 시험 (FCSRT) 결과의 결과 (3)

[0088] - 환자 뇌의 중앙에서 관측된 MRI의 결과는 진단 AD, 특히 내측 측두엽 위축의 존재와 일치하여야 한다 (Scheltens 점수 ≥ 2) (4)

[0089] 다른 내/제외 기준 적용 (예컨대, 서면 동의서, 50-80세, 면역억제 약물 치료 (제외)).

[0090] 연구 약물의 투여

[0091] 연구 방문 2, 3, 4, 5, 7 및 9 동안, 환자는 조사자에 의해 연구 약물을 투여받았다, 전체적으로: 65주 치료 기간 동안 6회 주입. 주입은 팔꿈치에서 약 8-10 cm 위의 상완의 외부 표면에 적용되었다. 실제 부위에 대한 전체 조건은 손상되지 않은 지역 림프절 부위의 존재였다. 양 상완의 유출 림프절 부위가 손상되었다면, 서해부 림프절에 가까운 허벅지에 주입하였다. 6회 주입 동안 2개의 교대적 주입 부위 (예컨대, 좌우 상완, 왼쪽 상완 및 왼쪽 허벅지)가 사용되었다.

[0092] 주입은 피하 조직 (s.c.)에 적용되었다. 각 주입 전에 신중한 흡인에 의해 도관내 적용을 피하기 위한 특별한 주의를 기울였다. 모든 투여는 임상 구역에서 수행되었다.

[0093] 부피-기반 형태계측법

[0094] 해마 (좌우) 및 전체 측뇌실 ROI는 부피 측정을 위한 아틀라스를 생성하기 위해 해부학적 MRI 템플릿 상에 묘사되었다. 각 대상체에 대한 해마 및 측뇌실의 부피는 아틀라스 표지의 비선형 등록으로부터 유래된 변형을 개개의 대상체 스캔 및 대상체-특이적 이미지 정보에 결합하는 완전-자동화 방법을 이용하여 결정되었다 (Collins et al., J. Comput. Assist. Tomogr., 18: 192-205, 1994). 후-처리 QC 검토에 실패한 측뇌실 및 해마 분할은 수동으로 교정되었다. 총 두개내 부피 (TIV)는 전-처리 동안 생성된 뇌 마스크로부터 추정되었으며, 각 대상체의 평균 TIV (TIV_{avg})는 방문을 통해 추정된 TIV를 평균하여 결정되었다. 표준화 인자 ($TIV_{템플릿}/TIV_{avg_대상체}$)는 머리 크기의 차이를 설명하기 위해 각 대상체에 대한 해마 및 심실 부피를 표준화하기 위해 사용되었다.

[0095] 안전성 평가:

[0096] 안전성 평가에는 다음이 포함되었다:

[0097] - 부작용 (AE) 및 심각한 부작용 (SAE) (AE로 인해 중단한 환자의 수; 중단 이유)

[0098] - 실험실 평가: 혈액학, 생화학, 응고, 혈청학, 소변 검사, APP 교차 반응

[0099] - 활력 징후 (혈압, 심박수, 호흡 수 및 체온)

[0100] - 신체적 및 신경학적 조사

[0101] 효능 평가:

[0102] 일차 효능 변수는 채택된 ADAS-cog에 의해 측정된 인지능의 기준선 (CFB), 채택된 ADCS-ADL에 의해 측정된 기능의 CFB 및 조합된 종합점수에 의해 측정된 인지 및 기능에서의 CFB의 조합으로부터의 변화이다:

- [0103] 1. 공동-일차: 채택된 ADAS-cog;
- [0104] 2. 공동-일차: 채택된 ADCS-ADL;
- [0105] 3. 조합된 일차 결과: 종합 점수.
- [0106] ADAS-cog 및 채택된 ADAS-cog에 포함된 다른 항목은 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9 및 10 또는 EDV에 측정되었다. ADCS-ADL은 방문 2, 5, 6, 7, 8, 9 및 10 또는 EDV에 측정되었다. 조합된 일차 결과에 기여하는 항목은 방문 2, 5, 6, 7, 8, 9 및 10 또는 EDV에 측정되었다.
- [0107] 일차 효능 결과는 모두 0 내지 100의 범위이다. 각 채택된 규모 및 종합점수의 경우, 낮은 점수는 더 나은 성능을 나타낸다. 그러나, 규모에 포함된 일부 항목은 방향이 반대일 수 있고, 즉, 높은 점수가 더 나은 성능을 나타낸다. 종합점수를 계산하기 전에, 반대 방향으로 점수매겨진 기여 항목을 반대로 한다. 항목에 대한 가능한 최대 값에서 관찰된 값을 빼서 항목의 점수를 반대로 한다. 이는 항목의 눈금을 반대로 하여, 이제 낮은 점수가 더 나은 성능을 나타내게 된다. 채택된 ADAS-cog 및 조합된 종합점수에 포함된 하기 항목들은 역점수를 필요로 한다: 구두 PAL, NTB 범주 유창성 및 CogState ONB.
- [0108] **이차 효능 결과:**
- [0109] 삶의 질 (QOL) 간병인
- [0110] QOL 간병인은 간병인의 관점에서 환자의 QOL 등급을 구체적으로 언도록 고안된 간단한 13-문항의 설문지이다. 질문은 친구 및 가족과의 관계, 재정에 관한 염려, 신체 상태, 기분 및 전반적인 삶의 질 평가를 다루고 있다. 모든 항목은, 1점은 불량 및 4점은 양호인 4점 척도로 평가된다. 총 점수는 모든 항목의 합계이며, 이의 범위는 13 내지 52일 수 있다. QOL 간병인 값은 기준선으로부터의 변화로서 본원에 제시된다. 결과는 방문 1, 6, 8 및 10에서 측정되었다.
- [0111] **통계적 분석**
- [0112] 기준선 데이터
- [0113] 대상체는 스크리닝 단계(방문 1) 동안 기록된 인구통계학적 정보 및 기준선 특징을 사용하여 기술되었다.
- [0114] 평가된 인구통계학적 정보는 연령, 성별, 인종 그룹, 흡연 습관, 교육 수준, 신장 및 체중이었다. 대상체 인구 통계는 안전성, ITT 및 프로토콜 당 집단(Per Protocol population)에 대한 치료에 의해 요약되었다.
- [0115] 일차 효능 분석
- [0116] 일차, 이차 및 연구 효능 결과는 그룹 간의 변화를 시간 경과에 따라 비교함으로써 분석되었다. 효능 분석은 아래 기술된 혼합 모델을 활용하였다. 혼합 모델 분석은 매 방문시 모든 효능 결과 점수에서 3개 백신 및 2개 알루미늄 그룹 간에 기준선으로부터 추정된 변화를 비교하였다. 모델은 각 효능 종말점에 대한 별도의 반복 측정 중단 모델을 사용하였다. 이러한 분석은 치료 그룹 간에 추정된 CFB 값에 차이가 있는지 여부를 평가하였다.
- [0117] SAS® PROC MIXED는 반복 측정 (MMRM)에 의해 혼합된 모델을, 반응 변수로서 각각의 효능 결과 (예컨대, 채택된 ADAS-cog)의 CFB 및 다음 공변량 및 고정 효과에 피팅시키기 위해 이용되었다.
- [0118] · 나이 (공변량);
- [0119] · 교육 수준 (고정 효과는 ≤12세, >12세의 카테고리로 나뉨);
- [0120] · 성별 (고정 효과);
- [0121] · 효능 파라미터의 기준선 시험 점수 (공변량);
- [0122] · 센터 (고정 효과);
- [0123] · 치료 (고정 효과);
- [0124] · APOEε4 상태 (고정 효과, 양성 또는 음성).
- [0125] · AChE 억제제의 사용 (고정 효과, 약물치료로 결정됨);
- [0126] · 시간 (공변량, 시간은 방문의 관점에서 정의될 것임);

[0127] · 시간과 치료 상호작용 (시간 * 치료);

[0128] 모델에 대한 공분산 구조는 1차 이질적 자기회귀분석 (ARH [1])이었다. 최소 제곱 평균은 연구의 각 방문시에 추정되었다. 특정 방문에서의 LS 평균은 특정 치료가 시행되었을 때 그 시점 (방문)에서의 효능 결과의 예상된 CFB로서 해석되었다. 최소 제곱 평균 및 표준 오차는 각 방문에서 혼합 모델로부터 추정되었으며 다양한 그룹에 대해 도시된다.

[0129] 채택된 ADAS-cog는 인지 기능을 평가하는 항목을 조합시킨다. 채택된 ADCS-ADL은 기능적 능력에 민감한 항목을 포함한다. 인지 기술은 질병의 시작으로 감소할 것으로 예상되고 기본적인 기능을 수행하는 능력은 질병의 후반기에 감소할 것으로 예상된다. 조합된 일차 결과 (본원에서 "종합 점수"로 언급됨)는 채택된 ADAS-cog 및 채택된 ADCS-ADL 둘 모두를 조합하여, 인지 및 기본적인 기능의 저하에 민감한 종합 점수를 생성한다. 하기 방정식은 조합된 일차 결과, 즉 조합된 종합 점수를 도출하기 위해 이용된다:

[0130] 조합된 종합 점수:

[0131] = 1.67*단어 상기 + 1.35*배향 + 1.42*단어 인식 + 0.55*상기 지시 + 0.81*음성 언어 + 1.01*단어 찾기 + 5.42*ONB + 0.15*VPAL + 0.19*범주 유창성 + 0.28*소지품 + 0.35*쇼핑 + 0.23*취미 + 0.38*음료 + 0.37*식사 + 0.23*현재 사건 + 0.26*TV + 0.33*약속 이행 + 0.37*여행 + 0.33*단독 + 0.35*기기 + 0.49*의복 + 0.36*읽기 + 0.62*전화 + 0.33*쓰기

[0132] 조합된 종합 점수에 대한 각 항목의 기여도 퍼센트는 하기 표 1에서 볼 수 있다:

항목	기여도 퍼센트
ADAS-cog 단어 상기	16.6
ADAS-cog 배향	10.8
ADAS-cog 단어 인식	17.0
ADAS-cog 상기 지시	2.8
ADAS-cog 음성 언어	4.1
ADAS-cog 단어 찾기	5.1
CogState 원-백 메모리(One-Back Memory)	8.5
NTB VPAL	8.5
NTB 범주 유창성	8.5
ADCS-ADL 소지품	0.8
ADCS-ADL 쇼핑	1.4
ADCS-ADL 취미	0.7
ADCS-ADL 음료	1.1
ADCS-ADL 식사	1.5
ADCS-ADL 현재 사건	0.7
ADCS-ADL TV	0.8
ADCS-ADL 약속 이행	1.0
ADCS-ADL 여행	1.5
ADCS-ADL 단독	1.0
ADCS-ADL 기기	1.4
ADCS-ADL 의복	1.5
ADCS-ADL 읽기	0.7
ADCS-ADL 전화	3.1
ADCS-ADL 쓰기	1.0

[0133]

[0134] **결과**

[0135] AFF006은 인구통계학적 데이터 (표 2) 및 연구 그룹의 기준선 특징을 나타내는 데이터 (표 3)에 기반하여 초기 AD 환자를 연상시키는 연구 집단을 모집하였다.

[0136] 국소 반응의 빈도 및 강도 둘 모두는 투여된 알루미늄 용량에 의존적이다 (표 4). 그러한 국소 반응 (LR)은 선천적 면역 반응의 활성화 척도로서 작용한다.

[0137] 2 mg 알루미늄 그룹을 질병의 진행을 알리는 파라미터에 관해 유리하게 심지어 1 mg 알루미늄 그룹 (다른 그룹)과 비교한다 (도 1). 두 그룹 모두의 환자의 경증 집단의 비교는 이러한 효과가 초기 질병 단계에 있는 환자의 코호트에서 가장 분명함을 나타내었다 (도 2). 18개월에 걸친 질병 진행의 둔화는 채택된 ADAS-cog로 예시된, 2mg 알루미늄 그룹에서 특히 명백하다 (도 3).

- [0138] 수득된 결과를 공용 데이터세트와 비교하였다. 확인된 역사적인 데이터세트는 ADNI 1 경증 AD 코호트 (관찰 연구), ADCS 호모 시스템인 임상으로부터의 경증 플라시보 환자 (HC, MMSE $\geq$ 20) 및 로페콕시브(Rofecoxib) 및 나프록센(Naproxen)의 ADCS NSAID 연구로부터의 플라시보 그룹 (NS, MMSE $\geq$ 20)이었다. 이러한 3개의 코호트는 조합되어 역사적인 대조군 (HC-ADNI, NS, HC)을 생성하였다. 데이터 점수는 6개월에 344명의 환자, 12개월에 317명의 환자 및 18개월에 226명의 환자에 대해 이용가능하였다. ADNI 임상만이 6, 12 및 24개월에 평가를 수행하였으므로, 18개월 값은 직선에 귀속되었다. NS 연구는 단지 12개월이었으므로, 18개월의 데이터는 본 연구로부터 이용할 수 없었다.
- [0139] 비록 채택된 ADAS-cog가 NTB 및 CogState Battery로부터의 항목으로 보완된 ADAS-Cog의 일부 항목을 사용했지만, 이러한 항목이 모든 역사적인 연구에 사용가능한 것은 아니었다. 따라서, ADAS-cog 항목에 대해 채택된 ADAS-cog와 동일한 가중치를 사용하지만, NTB 및 CogState 항목은 포함하지 않는 채택된 ADAS-Cog 2가 생성되었다 (1.67 * 단어 상기 + 1.35 * 배향 + 1.42 * 단어 인식 + 0.55 * 상기 지시 + 0.81 * 음성 언어 + 1.01 * 단어 찾기).
- [0140] 채택된 ADAS-cog2는 AFF006 연구로부터 1 및 2 mg 알루미늄 옥시하이드록사이드 처리된 그룹보다 역사적인 대조군에서 실질적으로 더 큰 감소를 나타낸다 (도 3). P-값은 다음과 같았다: 1 mg vs. HC-ADNI, NS, HC: <0.0001 ; 2 mg vs. HC-ADNI, NS, HC: <0.0001 .
- [0141] 또한 MRI 데이터는 2 mg 그룹 환자에 대해 통계적으로 유의한 질병 개선 효과 및 해마 부피와 임상 종말점의 상관관계 (예컨대, 우측 해마와 adapADAS: $p = 0.0006$ 또는 종합 점수: $p = 0.0095$)를 나타낸다 (도 4). 본 조사는 방사선허적 바이오마커 (본 경우에는 MRI)에 의한 임상 데이터의 동시 발생을 처음으로 제공하였음이 구체적으로 언급되어야 한다.
- [0142] 도 4는 본 발명에 따라 치료된 환자가 18개월의 기간 동안 해마 부피의 AD 관련 감소를 거의 나타내지 않은 반면, 연간 AD 환자의 뇌 위축율은 매년 3 내지 6%의 범위를 나타낸다 (Risacher et al., 2013, 표 2, 건강한 노인 개체에서의 비율은 일반적으로 0.5 내지 2.2의 범위이다 (또한 Risacher et al.의 표 2를 참조하라)).
- [0143] 도 5는 본 발명에 따라 치료된 환자의 간병인이 1mg 알룸 및 다른 그룹에 비해 2mg 투여 후 18개월의 기간 동안 환자의 QOL이 유의하게 개선된 것으로 평가하였음을 나타낸다.
- [0144] 표 2: 환자 집단 및 배치

환자 배치	1mg	2mg
	(N=48)	(N=51)
대상체의 수 n (%)		
완료	41 (85.4%)	45 (88.2%)
중단	7 (14.6%)	6 (11.8%)
P-값 ¹		
연구로부터 중단 이유:		
사망	2 (4.2%)	0 (0.0%)
부작용	0 (0.0%)	0 (0.0%)
대상체에 의한 중단	4 (8.3%)	5 (9.8%)
추적조사에서 빠짐	0 (0.0%)	0 (0.0%)
기타	1 (2.1%)	1 (2.0%)

[0145]

[0146] 표 3: 인구통계 - 인종, 성별, 교육, 연령

인구통계학	1mg	2mg
	(N=48)	(N=51)
인종		
아시아인/태평양 섬 주민	0 (0.0%)	1 (2.0%)
백인	48 (100.0%)	50 (98.0%)
성별		
남성	28 (58.3%)	19 (37.3%)
여성	20 (41.7%)	32 (62.7%)
P-값 ¹		
교육 연수		
평균 (SD)	12.3 (4.03)	11.8 (3.18)
중간값	12	11
(Q1, Q3)	(9.0, 15.0)	(10.0, 13.0)
최소, 최대	8, 26	6, 22

[0147]

P-값 ¹		
연령 (세)		
n	48	51
평균 (SD)	70.3 (6.56)	68.9 (8.36)
중간값	71	69
(Q1, Q3)	(65.0, 75.5)	(64.0, 77.0)
최소, 최대	57, 80	50, 80
P-값 ¹		
체중 (kg)		
n	48	51
평균 (SD)	70.45 (10.375)	67.62 (13.700)
중간값	70.5	65
(Q1, Q3)	(64.00, 77.70)	(57.00, 78.00)
최소, 최대	47.5, 101.0	45.0, 100.0
P-값 ¹		
BMI (kg/m ²)		
n	48	51
평균 (SD)	24.66 (2.903)	24.81 (3.627)
중간값	24.8	24.2
(Q1, Q3)	(22.95, 26.15)	(22.30, 27.30)
최소, 최대	17.8, 31.2	18.2, 35.4
P-값 ¹		

[0148]

[0149] 표 4: 국소 반응의 부작용 요약

MedDRA 기관계 분류	1mg	2mg
바람직한 기간	(N=48)	(N=51)
보고된 부작용을 지닌 대상체의 수	31 (64.6%)	42 (82.4%)
고유 사건의 수	96	162
일반적 질병 및 투여 부위 상태	31(64.6%), 209	42(82.4%), 487
주입 부위 홍반	26 (54.2%), 64	37(72.5%), 143
주입 부위 부기	13 (27.1%), 27	26 (51.0%), 86
주입 부위 온감각	18 (37.5%), 31	25 (49.0%), 67

[0150]

주입 부위 경화	13 (27.1%), 32	14 (27.5%), 34
주입 부위 동통	14 (29.2%), 41	31 (60.8%), 99
주입 부위 가려움	4 (8.3%), 5	10 (19.6%), 17
주입 부위 결절	4 (8.3%), 5	11 (21.6%), 31
주입 부위 과민성	2 (4.2%), 2	4 (7.8%), 9
주입 부위 혈종	2 (4.2%), 2	1 (2.0%), 1
주입 부위 변색	0 (0.0%), 0	0 (0.0%), 0
주입 부위 염증	0 (0.0%), 0	0 (0.0%), 0
주입 부위 반응	0 (0.0%), 0	0 (0.0%), 0
피로	0 (0.0%), 0	0 (0.0%), 0
열감	0 (0.0%), 0	0 (0.0%), 0
체온저하	0 (0.0%), 0	0 (0.0%), 0
주입 부위 두드러기	0 (0.0%), 0	0 (0.0%), 0
발열	0 (0.0%), 0	0 (0.0%), 0
조사: 촉진성 림프절	0 (0.0%), 0	0 (0.0%), 0
조사: 체온 증가	0 (0.0%), 0	0 (0.0%), 0
혈액 및 림프계 장애: 림프절병증	0 (0.0%), 0	1 (2.0%), 1
위장 장애: 설염	0 (0.0%), 0	1 (2.0%), 1
위장 장애: 구역	0 (0.0%), 0	0 (0.0%), 0
위장 장애: 구토	0 (0.0%), 0	0 (0.0%), 0
신경계 장애: 착각	0 (0.0%), 0	0 (0.0%), 0
신경계 장애: 어지럼증	0 (0.0%), 0	0 (0.0%), 0
심장 장애: 청색증	0 (0.0%), 0	0 (0.0%), 0
감염(Infections and Infestations): 농포성 발진	0 (0.0%), 0	0 (0.0%), 0
근골격 및 결합 조직 장애: 팔다리의 통증	0 (0.0%), 0	1 (2.0%), 1
정신 질환: 긴장	0 (0.0%), 0	0 (0.0%), 0
혈관 질환: 혈종	0 (0.0%), 0	0 (0.0%), 0

[0151]

[0152]

2. KLH-알루미늄 및 알루미늄 단독과 비교하여 2개의 A β 표적화 백신 SeqID 1-KLH-알루미늄 및 SeqID 2-KLH 알루미늄의 면역원성

[0153]

SeqID:

[0154]

SeqID 1: SWEFRTC

[0155]

SeqID 2: SEFKHGC

[0156]

동물 실험:

[0157]

모든 동물 실험은 Tg2576 마우스 (Taconic Farms, USA, 129S6 / SvEvTac)를 사용하여 오스트리아 동물 실험법 (TVG2012)에 따라 수행되었다. 일반적인 건강 상태는 개정된 Smith Kline Beecham, Harwell, Imperial College, Royal London Hospital, 표현형 평가 (SHIRPA) 일차 관측 스크린에 의해 조사되었다(Rogers DC et al. (1999) Behav Brain Res 105: 207-217.). 마우스에 매달 간격으로 6회 s.c. 주입하였다. 혈액을 일정한 간격으로 취하여, 혈장을 준비하고, 추후 사용까지 저장하였다. 연구 끝에, 마우스를 희생시키고, 뇌를 수집하고, 반구를 분리하였다. 한 반구를 4% 파라포름알데하이드 (PFA, Sigma Aldrich, USA)에 고정시키고, 탈수시키고, 파라핀-임베딩시켰다. 뇌 조직을 슬라이딩 마이크로톰 (Leitz, Germany)을 사용하여 7 μ M으로 절단하고, 섹션을 Superfrost Plus Slides (Menzel, Germany)에 탑재시켰다.

[0158]

ELISA에 의한 역가 결정:

[0159]

표준 효소-결합 면역흡수 검정 (ELISA) 기술을 사용하여 혈장 및 CSF에서 백신-유도된 항체의 수준을 측정하였다 (Mandler M et al. (2012) J Alzheimers Dis 28 : 783-794). 사용된 기질은 인간 (BACHEM, CH) A β 1-40/42 (5 μ g/ml), KLH (1 μ g/ml) 및 펩티드-소형 알부민 (BSA) 컨쥬게이트 (SeqID 1 및 SeqID 2, 1 μ M)를 포함한다. 광학 밀도(OD)는 마이크로웰 판독기 (Tecan, CH)를 사용하여 405nm에서 측정되었다. ODmax/2를 계산하였다.

[0160]

거동 시험:

[0161]

인지 장애를 분석하기 위해서, 면역된 Tg2576 동물을 AnyMaze 소프트웨어 (Stoelting Co., USA)를 사용하여 분

석되는, 공포 조건부 실험(CFC, Comery TA et al. (2005) J Neurosci 25 : 8898-8902)으로 처리하였다. CFC의 경우, 1일차에 마우스를 컨디셔닝 챔버 (AFFiRiS AG, Austria)에 넣고, 2분 동안 익숙해지게 하고, 2분 간격으로 3회의 0.8mA 발-충격 및 30초 휴식을 갖게 하였다. 2일차에 상황 학습을 평가하기 위해, 동물을 챔버로 재입장시키고, 5분 동안 모니터링하였다. 분석을 위한 시간틀로서 s120-240가 선택되었다 (부동 시간 = 호흡을 제외하고 움직임 없음). 1일차의 처음 2분은 기준선-부동으로서 간주되어 2일 값으로부터 차감되었다.

[0162] 대뇌 Aβ의 분석:

[0163] 면역형광 (IF) 분석은 종래에 기재된 바와 같이 수행되었다 (Mandler M et al. (2012) J Alzheimers Dis 28 : 783-794). Aβ- 특이적 IF-염색을 위해, 면역화된 Tg2576의 뇌 섹션을 mAb 3A5 (AFFiRiS AG, Austria)를 사용한 아밀로이드 부하의 분석을 위해 처리하였다. 사용된 모든 이차 시약은 Vector Labs (USA)으로부터 입수하였다. IF의 경우, 섹션을 탑재하고, DAPI-함유 VECTASHIELD-HardSet Mounting Medium을 사용하여 대조염색하였다. MIRAX-SCAN (Carl Zeiss AG, 독일)을 사용하여 섹션을 조사하였다. 동물에서의 AD-유사 병리학은 반자동 지역 인식 프로그램을 사용하여 아밀로이드 침착물에 의해 점유된 상대적인 대뇌 면적을 측정함으로써 평가되었다 (eDefiniens Architect XD; www.definiens.com, Mandler M. et al (2015) PLoS ONE 10(1): e0115237.). 분석을 위해 3개의 슬라이드/동물 및 5개 이하의 개별 섹션/슬라이드가 평가되었다. 조직 인공물 또는 이상 염색을 지닌 섹션은 제외되었다. Aβ- 양성 혈관의 수를 평가하기 위해, 3A5 염색된 섹션 (피질 및 해마를 덮는 3개 슬라이드/동물 및 슬라이드 당 5개 이하의 개별 섹션)을 분석하였다. Aβ-양성 혈관은 해마에서 뿐만 아니라 피질의 하위-영역에서 수동으로 계수되었다. mm² 당 양성 혈관의 수를 결정하였다.

[0164] 참고문헌:

Rogers et al., Behav Brain Res 105 (1999): 207-217.
Mandler et al., PLoS ONE 10(1) (2015): e0115237.
doi:10.1371/journal.pone.0115237.
Mandler et al., J Alzheimers Dis 28: 783-794.
Comery et al., J Neurosci 25 (2005): 8898-8902.

[0166] 결과:

[0167] KLH-알루미늄 및 알루미늄 (알루미늄-옥시하이드록사이드) 단독에 비해 2개의 Aβ 표적화 백신 SeqID 1-KLH-알루미늄 및 SeqID 2-KLH 알루미늄의 면역원성을 시험하기 위해, Tg2576-마우스에 30 μg 순 펩티드, 동등한 용량의 알루미늄으로 제형화된 KLH 또는 알루미늄 단독을 함유하는 컨쥬게이트-백신을 4주 간격으로 6회 s.c. 주입하였다. 사용된 알루미늄 용량은 2mg/ml로 동일하였다. 백신접종 유도된 Ab는 희생시 취해진 혈장 샘플에서 측정되었다 (SeqID 1 (n=10), SeqID 2 (n=8), KLH-알루미늄 (n=10) 및 알루미늄 단독 (n=8)). 3개 모두의 백신은 면역화에 사용된 펩티드에 대해 강력하고 유사한 IgG 역가를 유도하였다 (도 6A). 알루미늄 단독은 배경 이상의 신호를 유도하지 못했다 (도 6A). 둘 모두의 Aβ 표적화 백신, SeqID 1-KLH-알루미늄 및 SeqID 2-KLH-알루미늄은 인간 Aβ에 대한 Ab를 유도한 반면, KLH-알루미늄 백신 및 알루미늄 단독은 처리된 동물에서 배경 이상의 신호를 유도하지 못했다 (도 6B).

[0168] Aβ 표적화 백신 (SeqID 1- + SeqID 2-KLH-알루미늄) 및 비 Aβ 특이적 백신 (KLH-알루미늄)에 비해 인지 기능에 대한 알루미늄-옥시하이드록사이드 단독 (알루미늄)의 효과를 평가하기 위해, 본 발명자들은 Tg2576-마우스에서 상황 기억 및 학습을 분석하는 공포 조건부 실험 (CFC)을 적용시켰다. 예상대로, CFC는 SeqID 1- 및 SeqID 2-처리된 마우스가 Aβ 침착의 이러한 AD 모델에서 KLH-알루미늄을 수용한 대조 동물보다 양호함을 입증하였다 (따라서 Aβ 특이적 면역 반응을 유도하지 않음)(도 7). 흥미롭게도, 알루미늄만을 수용한 동물 (KLH 또는 Aβ에 대해 각각 활성 면역 반응을 나타내는 컨쥬게이트 없음)은 Aβ-특이적 항체의 부재 하에 이러한 AD 모델에서 Aβ 표적화 백신으로 검출가능한 것과 유사한 효과를 나타내었다.

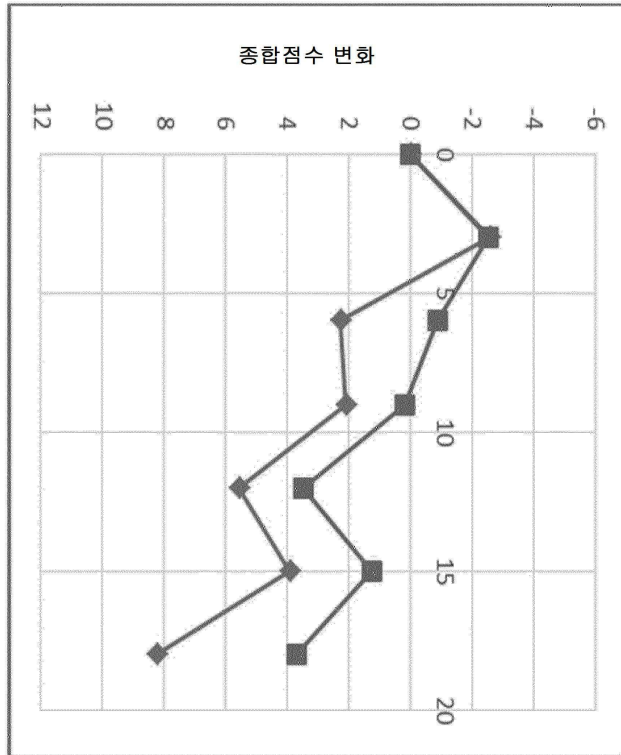
[0169] 알루미늄이 대뇌 아밀로이드 부하에도 유의한 영향을 미치는 지를 시험하기 위해, CFC를 진행하고 있는 동물을 후속하여 14개월에 희생시켰다. 이들의 뇌는 모노클로날 항체 3A5를 사용한 IF-염색에 의해 확산 및 조밀-코어드 플라크에 대해 평가되었다. KLH/알루미늄-주입된 대조군의 피질 뿐만 아니라 해마 섹션은 수많은 아밀로이드 플라크로 덮였다 (도 8A+C). 반대로, SeqID 1- 및 SeqID 2-면역된 Tg2576-마우스의 개별 뇌 영역은 침착물을 현저하게 덜 함유하였다 (도 8B+D 및 E, p<0.05 및 데이터는 도시되지 않음). 중요하게는, 알루미늄만을 사용한 Tg2576 동물의 치료는 이러한 AD 모델에서 KLH-알루미늄 처리된 동물과 비교하여 아밀로이드 침착을 유의하게 변화시키지 않았다 (도 8E).

[0170] 또한, 도 7 및 도 8은 국소 적용된 알루미늄-옥시하이드록사이드가 대뇌 Aβ 수준을 유의하게 변화시키지 않음

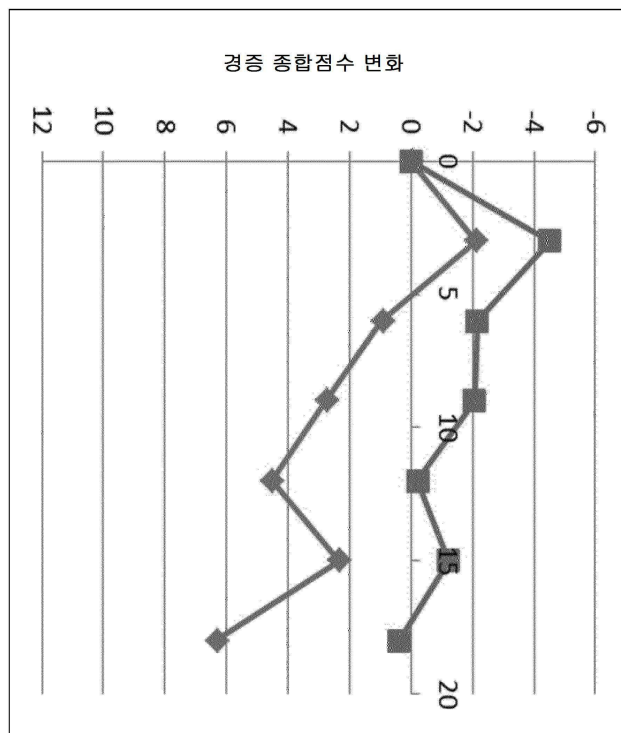
며 알츠하이머병에 대한 APP-유전자이식 모델(Tg2576)에서 인지 저하를 현저하게 감소시킬 수 있음을 나타낸다. 이는 이러한 AD 모델에서 알루미늄-옥시하이드록사이드에 의해 발휘된 유익한 기능적 효과의 근간이 되는 APP/A β 독립적 메커니즘을 암시하며, "아밀로이드 채널 가설"의 과학적 타당성의 결여를 추가로 입증한다.

도면

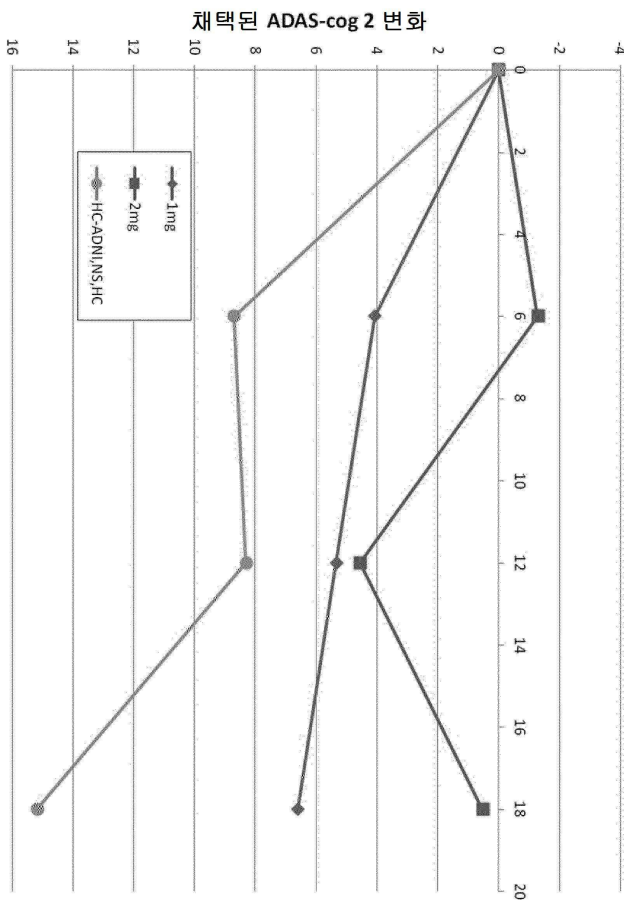
도면1



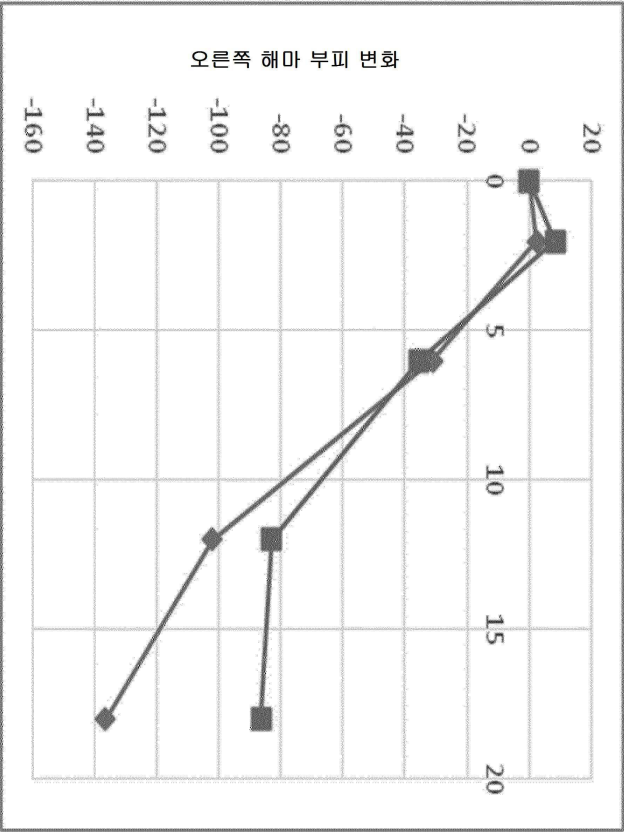
도면2



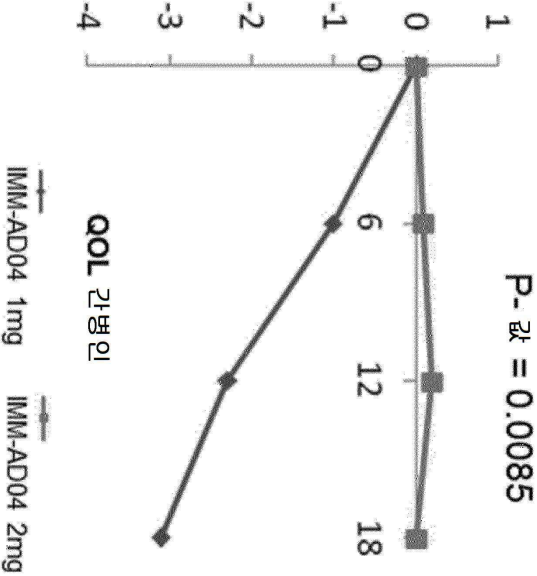
도면3



도면4

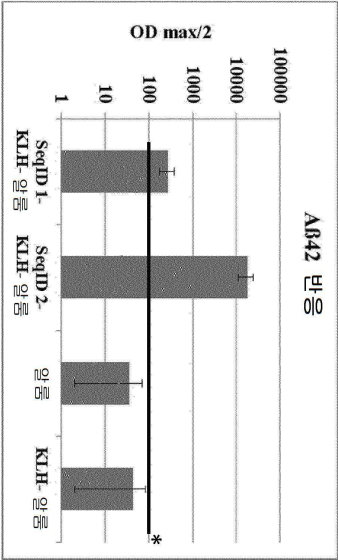


도면5

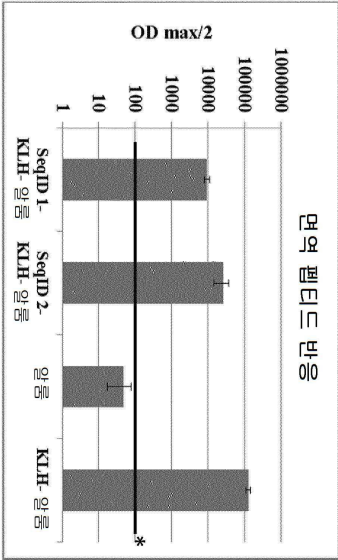


도면6

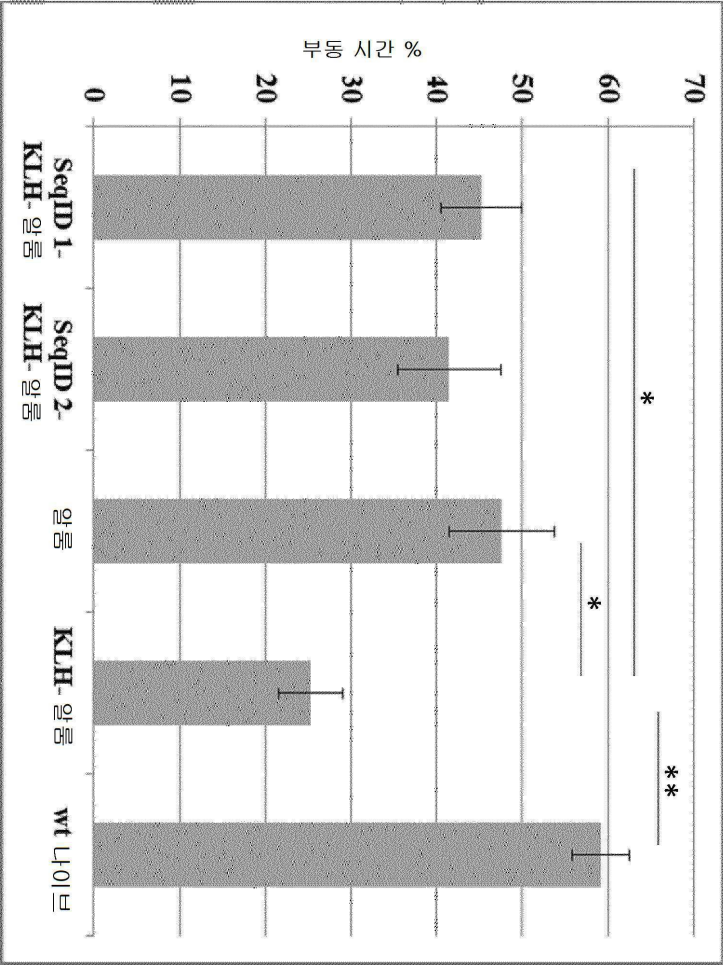
도 6 B



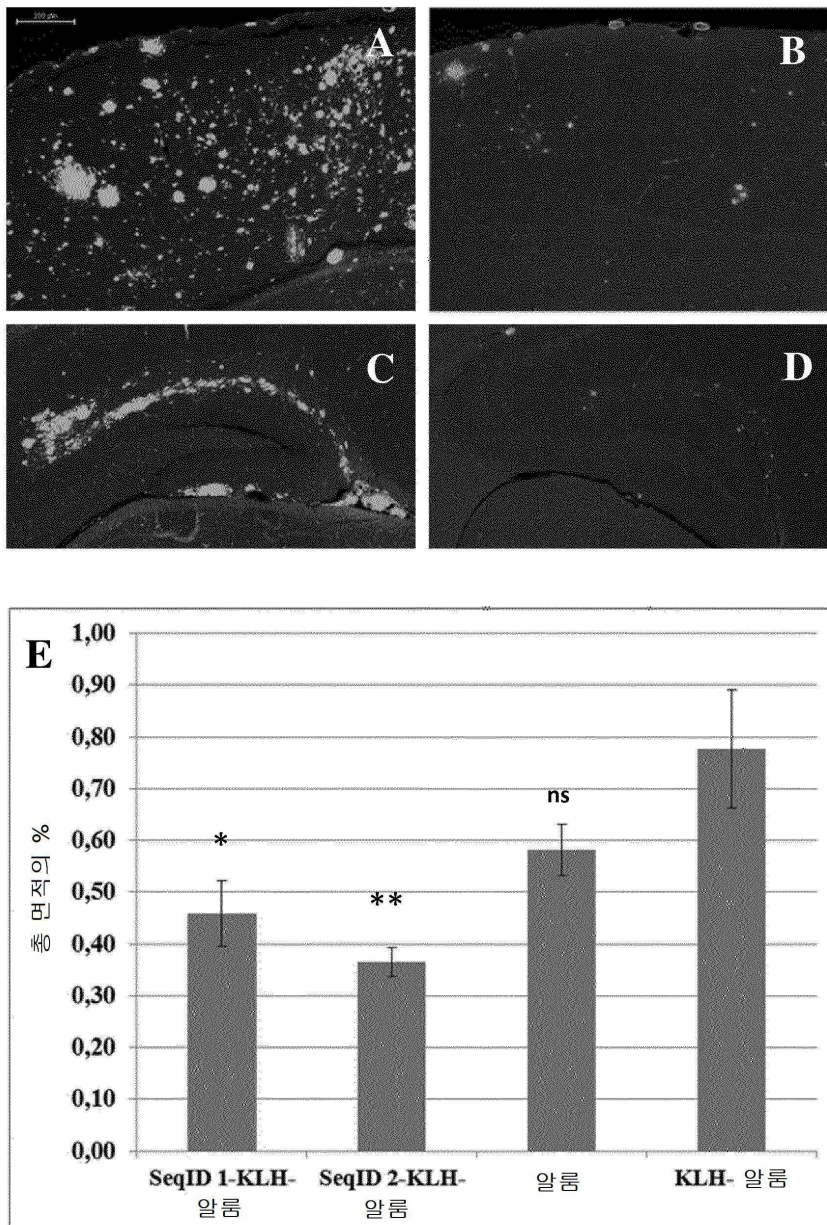
도 6 A



도면7



도면8



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> AFFiRiS AG

<120> Treatment and prevention of Alzheimer's Disease (AD)

<130> R 67344

<150> US61/985710

<151> 2014-04-29

<150> EP14166355.9

<151> 2014-04-29

<160> 2

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 7

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> artificially created peptide sequence

<400> 1

Ser Trp Glu Phe Arg Thr Cys

1 5

<210> 2

<211> 7

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223>

artificially made peptide

<400> 2

Ser Glu Phe Lys His Gly Cys

1 5