

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl.⁶
A61K 39/395

(45) 공고일자 2003년08월02일

(11) 등록번호 10-0372958

(24) 등록일자 2003년02월07일

(21) 출원번호	10-1998-0709153	(65) 공개번호	특2000-0011003
(22) 출원일자	1998년11월13일	(43) 공개일자	2000년02월25일
번역문제출일자	1998년11월13일		
(86) 국제출원번호	PCT/IB1996/00461	(87) 국제공개번호	WO 1997/42973
(86) 국제출원일자	1996년05월15일	(87) 국제공개일자	1997년11월20일
(81) 지정국	국내특허 : 아일랜드 알바니아 오스트레일리아 바베이도스 불가리아 브라질 캐나다 중국 체코 에스토니아 그루지야 헝가리 아이슬란드 일본 북한 대한민국 AP ARIPO특허 : 케냐 레소토 말라위 수단 스와질랜드 케냐 EA 유라시아특허 : 아르메니아 아제르바이잔 벨라루스 키르기즈 EP 유럽특허 : 오스트리아 벨기에 스위스 독일 덴마크 스페인 핀란드 프랑스 영국 그리스 이탈리아 룩셈부르크 모나코 네덜란드 포르투갈 오스트리아 스위스 독일 덴마크 스페인 핀란드 영국		

(73) 특허권자	알타렉스, 코포레이션
(72) 발명자	캐나다 티6지 2011 알버타 에드몬톤 8625-112 스트리트슈트 300 캠퍼스타워 마디알라칸, 라구패디 캐나다 티6이 2에스1 알버타 에드몬톤 9741-89 애브뉴 노우자임, 안토인, 에이. 캐나다 티6엠 2케이4 알버타 에드몬톤 월킨 로드 58 바움, 리차드, 피. 독일 데-60590 프랑크푸르트 테오도르-슈테른-카이7누클레아르메디친우니베 어지태트스클리니쿰 슐데스, 버지트 캐나다 티6이 2에이치7 알버타 에드몬톤 10611-84 애브뉴아파트먼트 102 남상선
(74) 대리인	남상선

심사관 : 한형미

(54) 면역반응을개시시키기위해다중에피토프항원의입체형태를변화시키기위한방법및조성물

명세서

기술분야

<1> 본 발명은 체내 면역 반응을 개시 및/또는 증강시키기 위한 방법 및 조성물에 관한 것이다.

배경기술

<2> 모든 척추 동물은 면역계를 갖고 있다. 감염성 미생물, 독소, 바이러스 또는 그 밖의 외래 거대 분자에 대한 척추 동물의 방어 능력은 면역성으로 일컬어진다. 면역성은 고도로 특이적이며, 이러한 면역성은 면역 반응의 중요한 특징이다. 면역계의 많은 반응은 침입하는 생물체 및 이들에 의해 생성된 독성 분자의 파괴 및 제거를 개시시킨다. 본래 이들 면역 반응의 본질은 파괴적이기 때문에, 반응은 숙주 자체의 분자가 아닌 외래 분자에 정확하게 제한될 필요가 있다. 외래 분자와 자체 분자를 구별하는 능력은 면역계의 또 다른 중요한 특징이다.

<3> 당 분야에는 자연 면역 및 획득 면역 또는 특이 면역이 구별되어 있다. 자연 면역은 방어 기전으로 이루어지는데, 이들 기전은 미생물 또는 외래 거대분자에 노출되기 전에 활성화되고, 이러한 노출에 의해 증강되지 않으며, 몸체에 외래인 대부분의 물질을 구별하지 못한다. 자연 면역의 이펙터는 피부 또는 점막과 같은 물리적 장벽, 대식구 또는 호중구와 같은 식세포, 자연 킬러 세포라 명명되는 1종의 림프구 클래스 및 보체계이다. 보체는 특이적인 보체-고정 항체에 의해 합성되는 특정 박테리아성 및 그 밖의 세포에 대해 파괴적인 혈청 단백질 복합체이며, 이것의 활성화는 단백질가수분해적 절단을 유도하며, 2개 이상의 경로 중의 하나 또는 나머지 경로 다음에 일어날 수 있는 일련의 상호작용에 의해 초래된다.

<4> 척추 동물에 있어서, 자연 및 특이 면역의 기전은 외래 침입체를 제거하기 위해 숙주 방어계인 면역계에서 함께 작용한다. 미생물, 암 세포, 기생균 및 바이러스 감염된 세포 뿐만 아니라, 또한 면역계는 동일한 중(동종 이식편) 또는 상이한 중(이종 이식편)의 유전적으로 상이한 개체로부터 피검체에 이식된 세포 또는 조직을 인식 및 제거한다.

- <5> 획득 또는 특이 면역은 외래 물질에 노출되어 유도 또는 자극되는 방어 기전을 포함한다. 특이 면역의 기전이 외래 물질에 대한 방어에 관여하게 되는 사건은 면역 반응으로 명명된다. 척추 동물은 항체 반응 또는 제액성 면역, 및 세포 매개성 반응 또는 세포성 면역의 크게 2가지 클래스의 면역 반응을 갖는다. 체액성 면역은 B 림프구에 의해 제공되며, 증식 및 분화후에 이 B 림프구는 혈액 및 림프액을 순환하는 항체(또한 면역글로불린으로 공지된 단백질)를 생성시킨다. 이들 항체는 이들을 유도시켰던 항원에 특이적으로 결합한다. 항체에 의한 결합은 표적 세포에 있는 수용체에 결합하는 물질의 능력을 차단함으로써 바이러스와 같은 외래 물질을 불활성화시킨다. 체액성 반응은 주로 박테리아 및 바이러스 감염의 세포외 단계에 대해 방어한다. 체액성 반응에 있어서, 혈청은 단독으로 반응을 전달할 수 있으며, 반응의 이펙터는 항체라 명명되는 가용성 단백질 분자이다.
- <6> 면역 반응의 제 2 클래스인 세포성 면역은 다른 숙주 세포의 표면에 있는 외래 항원과 반응하는 T 림프구와 같은 특수화된 세포의 생성을 포함한다. 세포성 면역 반응은 특히 진균류, 기생균, 세포내 바이러스 감염, 암 세포 및 그 밖의 외래 물질에 대해 효과적이다. 실제로, 대다수의 T 림프구는 면역에서 조절 기능을 하는데, 그 밖의 백혈구 반응을 증강 또는 억제하는 기능을 한다. 헬퍼 T 세포 및 서프्रेस어 T 세포로 각각 명명되는 이들 세포는 조절 세포로 총칭된다. 세포독성 TT 세포로 명명되는 그 밖의 T 림프구는 바이러스 감염된 세포를 치사시킨다. T 세포 및 B 림프구는 감염에 대한 방어에 직접 관여하며, 이펙터 세포라 총칭된다.
- <7> 면역 반응의 시기는 특정 림프구가 외래 항원을 인식하는 인식 단계, 특정 림프구가 외래 항원에 대해 반응하는 활성화 단계, 및 항원 활성화된 림프구가 항원을 제거하는데 필요한 작용을 매개하는 이펙터 단계로 세분된다. 림프구는 특이한 면역 반응을 매개하고 유도하는데 특수화된 면역세포이다. T 세포 및 B 세포는 이들이 항원에 의해 자극된 후에만 형태학적으로 구별된다.
- <8> 면역계는 숙주가 정상적 구성요소가 아닌 거대 분자의 표면 특징을 인식할 수 있도록 진화해 왔다. 앞서 언급한 바와 같이, 면역계에 의해 인식되는(즉, 항체에 의해 결합되는) 외래 분자는 이 자체로서 반응을 유도할 수 있는 가에 관계없이 "항원"이라 명명되며, 항체가 결합하는 항원의 부분은 "항원 결정기" 또는 "에피토프"라 명명된다. 일부 항원, 예를 들어 난소암 또는 유방암 항원과 같은 종양 관련 항원은 다중 항체 결합 부위를 갖는다. 이들 항원은 "다중-에피토프" 항원이라 명명된다. 항원이 폴리펩티드인 경우, 에피토프를 선형(즉, 폴리펩티드 사슬을 따라 반복된 아미노산의 연속 서열로 구성됨) 또는 비선형(즉, 폴리펩티드 사슬의 폴딩의 결과로서 근접 위치된 아미노산으로 구성됨)으로 분류하는 것이 일반적이다. 비선형 에피토프는 또한 "입체형태적(couformational)"이라 명명되는데, 그 이유는 이들이 폴리펩티드 사슬의 폴딩을 통해 특수한 입체형태, 즉, 독특한 3차원 형태로 나타나기 때문이다. 항체-항원 결합의 고도의 특이적 성질로 인해, 항원 또는 동일한 항원에 있는 다양한 에피토프를 구별하는 1차적 수단은 항체 결합 특성에 의한 것이다.
- <9> 마주치는 광범위한 다양성을 갖는 에피토프에 대처하기 위해, 포유동물 개체의 면역계는 약 2×10^{12} 개의 매우 많은 림프구의 레퍼토리를 함유한다. 레퍼토리의 각각의 림프구 클론은 1종의 에피토프에 특이적인 표면 수용체를 함유한다. 포유동물 면역계가 10^8 개 이상의 서로다른 항원 결정기를 구별할 수 있다고 추정된다. 심지어 단일 항원 결정기는 일반적으로 각각의 클론이 결정기에 대한 고유 특성 친화력을 갖는 항원 결합 부위를 생성시키는 다수의 클론을 활성화시킬 것이다. 각각이 서로다른 B 세포 클론에 의해 생성된 수 많은 항체 중의 생성을 자극하는 항원은 다중클론성 반응을 일으키는 것으로 여겨진다. 단지 수 개의 클론이 반응하는 경우, 반응은 올리고클론성으로 일컬어지며, 전체 반응이 1개의 B 또는 T 세포에 의해 이루어지는 경우, 반응은 단클론성으로 일컬어진다. 대부분의 항원에 대한 반응은 다중클론성이다.
- <10> 외래 항원에 대한 최초 또는 1차 면역 반응은 면역계가 이 항원에 대해 재반응하는 능력을 증강시킨다. 특이 면역의 이러한 특징은 면역 기억 또는 2차 면역반응이라 명명된다. 2차 면역 반응은 종종 1차 면역 보다 효과적이다.
- <11> 항원의 통상적인 정의는 척추동물 숙주에서 특이적 항체를 생성하거나 물질과 반응하는 림프구의 특이적 집단을 발생시킬 수 있는 물질이다. 과학에서 흔히 발생하듯이, 이러한 정의가 정확하지만 완전한 것은 아닌 것으로 현재 알려져 있다. 예를 들어, 일부 질환이 숙주 면역 반응을 억제 또는 불활성화시키는 것으로 현재 알려져 있다. 이들 질환하에서, 종양 항원은 항체를 유도하거나 특이적 림프구를 발생시키지 못한다. 따라서, 모든 항원이 인체 면역 반응을 유도할 수 있는 것은 아니다.
- <12> 정의가 불충분한 것은 면역 반응의 2 부분 면을 중심으로 설명된다: 면역 반응의 1 단계는 외래 물질의 존재를 인식하는 것이며; 2 단계는 반응의 복합 정렬 또는 캐스케이드, 즉, 반응하는 것이다. 상기 제시된 종양 항원의 경우, 면역계는 외래 항원의 존재를 인식할 수 있지만, 반응할 수 없다. 또 다른 예의 경우, 자기와 비자기를 구별하는 면역계의 능력 부족은 다수의 자기면역 질병에 원인이 있는 것으로 여겨진다. 다시말해, 이는 반응이 아닌 인식의 불충분이다.
- <13> 따라서, 본원에 사용된 바와 같이, 항원이 면역계에 의해 인식될 수 있는 경우, 항원성인 것으로 일컬어진다. 또한 면역계가 항원에 대한 활성화 반응을 일으킬 수 있는 경우, 면역원성이라 일컬어진다. 면역원성인 항원은 일반적으로 분자량이 5000 달톤 이상인 거대 분자(예를 들어, 단백질, 핵산, 탄수화물 및 지질)이다. 헤파탄 및 작은 항원성 분자와 같은 보다 작은 비면역원성 분자는 충분한 크기의 담체 분자와 관련된 경우에 면역 반응을 자극할 수 있다.
- <14> 체액성 면역의 이펙터인 항체는 혈장 세포에 의해 분비되며, 혈액중 가장 풍부한 성분이다. 혈장 세포는 비교적 짧은 수명을 갖는 것으로 여겨지는 성숙 말기 세포이다. 이들은 항원이 인체 면역계에 유입되어, 복잡한 일련의 세포 상호작용을 통해 B 림프구를 활성화시키는 경우에 생성된다. 그후, B 림프구가 증식 및 분화되어 혈장 세포를 형성시킨다. 각각의 B 림프구는 단일 특이성을 갖는 항체 분자를 생성시키도록 자체 DNA에 의해 프로그래밍되어 있다. B 림프구는 이 분자의 2가지 특수 형태를 생성시키는데, 하나는 전형적으로 항원을 B 세포에 결합시키기 위한 막 수용체로서 세포막의 외부 표면에 고정되어 있으며, 나머지 하나는 분비된다.

- <15> 항체(또한 면역글로불린으로 공지되어 있음)는 단백질이다. 이들은 2가지 주 기능을 갖는다. 첫 번째는 외래 항원을 인식(결합)하는 것이다. 두 번째는 면역계의 다른 요소를 동원하여 외래 물질을 파괴시키는 것이다.
- <16> 항체의 항원 인식 구조물은 가변 도메인이며, 항원 결합을 담당한다. 항체의 제 2 기능인 면역계 가동화 구조물은 불변 도메인이며, 이들 영역은 증식 및 분화를 위한 B 세포의 자극, 보체 세포 용해 시스템의 활성화, 옵소닌화, 침입체의 식균을 위한 대식구의 유인을 포함하는 다양한 이펙터 기능으로 채워져 있다. 상이한 이소타입을 갖는 항체는 상이한 불변 도메인을 가지므로, 상이한 이펙터 기능을 갖는다. 가장 잘 연구된 이소타입은 IgG 및 IgM 이다.
- <17> 항체 자체는 구조에 따라 클래스(예를 들어, IgG) 및 서브클래스(예를 들어, IgG1)로 분류되는 올리고머 분자이다. IgG 분자는 체액성 면역 반응의 가장 분요한 성분이며, 이황화물 결합에 의해 "Y" 형상으로 결합된 2개의 중(장)쇄 및 2개의 경(단)쇄로 구성된다. 분자는 2개의 가변 영역을 갖는다 ("Y"의 팔에 있음). 가변 영역은 상이한 항원에 반응하여 특정 개체에 의해 생성된 특정 서브클래스의 항체가 불변 영역이 아닌 가변 영역에서는 달라질 것이기 때문에 이렇게 명명된다. 가변 영역 자체는 비교적 불변체인 프레임워크 및 특정 에피토프에 대한 특이성을 항체에 부여하는 과가변 루프의 둘 모두로 구성된다. 상호작용에 직접 참여하는 항체의 부분은 "항원 결합 부위" 또는 "파라토프"라 명명된다. 특정 항체에 의해 결합된 항원은 "동족(cognate) 항원"이라 명명된다.
- <18> 한 동물의 항체는 또 다른 동물의 면역계에 의해 외래 항원으로 여겨질 것이므로, 면역 반응을 유도할 것이다. 생성된 항체의 일부는 면역화 항체의 가변 영역의 특이한 에피토프(유전자형)에 대해 특이적일 것이므로, 항-유전자형 항체라 명명된다. 이들은 종종 면역화 항체에 동족인 항원의 특성과 유사한 면역학적 특성을 갖는다. 한편, 항-유전자형 항체는 면역화 항원의 불변 영역에 있는 에피토프와 결합한다.
- <19> 상기 언급한 바와 같이, 세포 매개성 면역을 조절하는 세포는 T 림프구라 명명되는 림프구의 1가지 클래스이다. 이들은 궁극적으로는 B 림프구와 동일한 간세포로부터 발생하지만, 이들은 흥선이 중요한 역할을 하는 매우 상이한 발생 경로의 다음에 일어난다. T 림프구는 이들이 항원을 인식하는 방법이 B 세포와 조금 다르다고 하더라도 항원 특이적 표면 수용체를 또한 발현시킨다. T 세포는 특이적 이펙터 기능(세포독성 T 림프구 또는 "CTL")을 갖는 부류 및 조절 기능을 갖는 부류의 2가지 작용성 카테고리 존재한다. 조절 T 세포는 B 세포로부터 혈장 세포를 발생시키는데 필요하다. T 헬퍼 세포(TH)는 면역 반응의 항원 특이적 상황 조절을 일컫는다. 면역 반응은 또한 활성 항원 특이적인 하향 조절을 거칠 수 있다. 동물 및 조절 배양물을 사용한 연구로부터의 방대한 증거는 이러한 억제 조절을 제공하는 서프래서 T 세포 집단(TS)의 존재를 설명한다.
- <20> 개체내의 림프구는 외래 항원에 특이적으로 반응하지만, 일반적으로 개체에 선천적인 잠재적 항원성 물질에 대해서는 비반응성이다. 면역학적 비반응성은 내성으로 명명된다. 자가 내성은 잠재적 자가 인식 림프구가 자가 항원과 접촉하여, 자가 항원에 포지티브하게 반응할 수 있는 단계로 발생하지 않는 경우에 획득된다.
- <21> 면역계는 항원 공격에 대한 반응이 주로 세포성 반응(TH1 경로)일지 주로 체액성 반응(TH2 경로)일지를 결정하는 2가지 시토카인 매개된 조절 경로를 갖는다. 세포성 경로는 인터루킨-2(IL-2) 또는 인터페론- γ 의 T 헬퍼 세포 생성을 특징으로 한다. 이 경로는 지연형 과민성(DTH) 반응인 세포독성 T 세포의 발생 및 대식구 활성화를 매개한다. TH2 반응은 인터루킨-4(IL-4) 및 인터루킨-10(IL-10)과 같은 다양한 시토카인의 T 세포에 의한 생성을 촉진한다. 이 반응은 특이적 항체가 고역가로 생성됨으로써 확인된다.
- <22> 세포 매개성 또는 체액성 면역 반응 중의 하나가 우세해지는 경향은 교차 조절의 결과인 것으로 믿어진다. 따라서, TH1 세포는 예를 들어, 인터페론- γ 의 분비에 의해 TH2 반응의 유도를 억제할 것이다. 반대로, TH2-세포는 IL-4 및 IL-10과 같은 시토카인을 생성함으로써 TH1-반응의 생성을 억제할 수 있다.
- <23> TH2 반응은 실제로 특정 질병의 상태를 악화시킬 수 있다. 면역화 항원의 소량 주입이 세포 매개성 면역을 나타내는 지연형 과민성 반응을 우선적으로 유도하는 반면에, 보다 다량의 항원이 높은 항체 역가에 의해 나타나는 보다 뚜렷한 체액성 면역 반응을 일으킨다는 것은 당분야에 널리 공지되어 있다. 그러나, 이 방법에 의해 높은 IgG 반응을 회피하고, 높은 장기적 세포성 반응을 달성하는 것은 어려우며, 항원에 따라서는 적은 용량이 충분히 강력한 CMI 반응을 유용하도록 유도하는데 불충분할 수 있다.
- <24> 보통, 면역 반응은 B 및 T 림프구를 특징으로 하는 이펙터 기전으로 진행된다. 그러나, 대부분의 면역 반응 도중에, B 또는 T 림프구가 우세한 역할을 하며, 개개의 그 밖의 유형의 림프구의 실질적인 참여는 거의 없다. 이펙터 기전이 B 세포 및 항체를 통해 우세하게 매개되는 면역 반응은 체액성 면역 반응이다. T 세포가 더욱 중요한 이펙터 기능을 매개하는 이러한 반응은 세포 매개성 또는 세포성 면역 반응이다.
- <25> 상기 언급한 바와 같이, 체액성 면역을 조절하는 세포는 B 세포라 명명되는 림프구의 클래스이다. B 림프구의 각각의 클론은 하나의 B 림프구에 대해 하나의 독특한 에피토프를 갖는 항원 수용체로서 기능하는 막 면역글로불린(막 Ig, 표면 결합된 항체 분자)을 발현시킨다. 이들 막 Ig 분자는 B 세포 특이성의 유일한 공급원이다. 막 Ig에 상보적인 에피토프를 함유하는 항원은 항원 수용체에 결합할 것이다. 또한 이러한 항원은 항체의 동족 항원으로 명명된다. 항원 수용체(막 Ig)로의 결합은 B 림프구의 분화 및 클론성 증식을 일으킬 것이다. 이것의 자손중의 일부는 B 림프구를 초기에 항원에 결합시키는 막 Ig에 에피토프 특이성 면에서 상응하는 항체의 합성에서 특수화되는 성숙 혈장 세포로 분화될 것이다.
- <26> 항체에 항원이 결합하는 것은 가역적이다. 이는 수소성 및 수소 결합, 반데르 발스 힘 및 이온성 상호작용을 포함하는 다수의 비교적 약한 비공유력의 조합에 의해 매개된다. 이들 약한 힘은 항원 분자가 이것의 원자의 일부를 항체의 표면에 있는 상보적인 함요에 합치시키기엔 충분한 정도로 근접해 있는 경우에만 효과적이다. 4개 사슬 항체 단위의 상보적인 영역은 2개의 동일한 항원 결합 부위이며, 항원에 있

는 대응 영역은 항원 결정기이다. 많은 항원성 거대분자는 많은 다양한 항원 결정기를 갖는다.

- <27> 수 년간, 생존하는 약독된 백신이 인플루엔자 및 소아마비와 같은 바이러스 감염에 대한 면역을 유도하기 위해 사용되어 왔다. 이들 제제형을 백신접종된 개체의 미미한 무증상 감염을 유발하는 살아있는 비리온을 함유한다. 이러한 감염도중에, 바이러스 벡터는 특정 숙주 세포에 유입하여, 바이러스 특이적 단백질의 합성을 코딩할 것이다. 이러한 내인적으로 생성된 항원성 단백질은 보다 작은 펩티드로 가공되고, MHC 클래스 I 및 II 항원의 환경에서 제공되며, 이로써 TH1 세포를 보충하고, 세포 매개성 면역 반응을 유도한다.
- <28> 종양 세포는 특정 세포 표면 항원("종양 관련 항원")을 발현시킨다. 종양 관련 항원은 암 환자의 혈청 및 조직에 존재하는 항원이다. 또한 많은 이러한 항원은 건강한 개체의 배아 조직에서 발현되고, 낮은 수준으로 조직 및 혈청에서 발현된다. 많은 조직 관련된 항원은 당단백질, 당지질 또는 유코다당류이다. 대부분의 종양 항원은 분화된 세포에 의해 생성된다. 이들은 분화된 정상 세포 보다 종양 세포에 의해 훨씬 다량으로 생성된다. 인체 면역계는 종양 항원을 고유 항원으로 인식하여 반응하지 않는다 ("자가 내성"). 자가 내성으로 유도되는 기전은 일부만이 이해되어 있지만, 이것이 면역계의 발생 도중에 주로 확립된 것임이 현재 명백하다. 비성숙 B 세포 또는 T 세포가 이들의 항원 특이적 수용체를 통해 중요한 단계에서(예를 들어, 세포 표면에 있는 이들 수용체를 발현시킨 직후이지만 성숙되기 전) 자극되는 경우, 이들은 활성화되기 보다는 치사되도록 유도된다. 이 단계는 B 세포에 대한 골수 및 T 세포에 대한 흉선에서 일어난다. 따라서, 내성은 발현되지 않는 항원이 아니라 이들 환경에서 발현되는 자가 항원에 대해 유도될 것이다. 정상 개체는 일부 자가 항원을 인식할 수 있는 성숙 B 세포를 갖지만, 이들 B 세포는 활성화되지 않는 것으로 밝혀져 왔다. 적합한 T 헬퍼 세포(TH)는 없는 것으로 여겨진다.
- <29> 항원을 갖는 종양에 대하여, 면역 반응이 종양을 파괴할 수 없는 이유에 관하여 4가지 이상의 이론이 존재한다: 1) 종양을 인식할 수 있는 B 세포 또는 세포 독성 T 림프구(CTL)가 없음, 2) 종양을 인식할 수 있는 TH 세포가 없음, 3) TS 세포가 TH 세포 전에 활성화되어, B 세포 및 CTL 활성화를 억제함; 및 4) 종양 증식을 조절하는 유전자가 발생때부터 존재할 수 있어서, 숙주가 유전자 생성물을 "외래"로 취급하지 않음.
- <30> 기존 해법
- <31> 종양 항원이 종양에 대해 충분한 선택성을 갖는 것으로 여겨지는 경우(즉, 종양 항원이 부재하거나 이들의 정상적인 세포 대응물에 대해 소량으로만 존재함), 종양 항원은 면역치료제에 대한 가능한 표적으로 작용할 수 있다.
- <32> 많은 이러한 선택적 종양 항원은 사실상 탄수화물 또는 당단백질(유신)이다. 예를 들어, 대부분의 아데노암종 세포는 유신을 풍부하게 발현 및 분비시킨다. 이것은 부분적으로는 암 세포에서의 글리코실화의 결함에 기인한다. 암종 세포 표면 유신은 면역 이펙터 기전이 종양 세포 표면, 즉, 종양 항원에 근접하는 것을 물리적으로 차단한다. 즉, 숙주는 종양 항원을 인식하지 못한다.
- <33> 많은 질병에 있어서, 원인성 병원체 또는 독소(예를 들어, 인플루엔자, 소아마비 및 광견병 바이러스; 폐렴쌍구균 박테리아; 디프테리아 및 파상풍 독소)는 병원체 또는 독소에 결합하여 이들의 파괴 불활성화를 유포시키는 항체를 통한 체액성 면역의 기전에 의해 세포외 유체 중에서 효율적으로 표적화 및 중화될 수 있다. 이들 경우, 아마도 TH2에 의해 매개되는 체액성 면역 반응을 유도하는 제제형에 의한 백신접종은 일반적으로 방어에 충분하다. 한편, 많은 세포내 감염, 바이러스 감염으로부터의 회복 및 암 세포의 표적 치사에 대해, 침입체에 대해 생물체를 보호하는 것은 세포 매개성 면역이다.
- <34> 면역치료법의 3가지 클래스가 현재 연구 중에 있다: 1) 수동 면역치료법, 2) 항원에 의한 활성화 면역치료법 및 3) 항체에 의한 활성화 면역치료법. 공교롭게도, 각각의 방법은 한정된 성공을 거두어 왔다. 그러나, 면역치료법은 암의 특정 단계에서는 피리미딘 또는 퓨린 유사체와 같은 항증식 화학치료제 보다 바람직하다. 유사체는 세포 성장 주기 동안에 사용된 빌딩 블록(building block)으로서의 피리미딘 및 퓨린과 경합한다. 유사체는 성장이 비주기성이거나 휴지성인 경우에는 효과적이지 않다. 대다수의 미소전이 세포는 비주기성이거나 휴지성인 것으로 여겨진다. 면역치료법의 세포독성 효과는 세포 주기와 무관하게 작용한다.
- <35> "수동 면역치료법"은 항체를 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 항체 치료법은 환자가 항체의 공급원이 아니기 때문에 통상 수동임을 특징으로 한다. 수동이란 용어는 오해의 소지가 있는데, 그 이유는 환자가 고유 항원과 교차반응하는 면역 반응을 자극할 수 있는 항-유전자형 2차 항체를 생성시킬 수 있기 때문이다. "능동 면역치료법"은 백신 형태의 항원을 환자에게 투여하여, 방어적 면역 반응을 유도하는 것이다. 또한 시토키인 및 공동자극성(co-stimulatory) 분자를 발현시키는 유전자로 트랜스펙팅된 유전적으로 변형된 종양 세포 백신이 종양 특이적 면역 반응의 불충분함을 완화시키기 위해 사용되어 왔다.
- <36> 1. 수동 면역치료법 (항체에 의한)
- <37> 종양 항원은 항체가 결합할 수 있는 반응 부위로서 작용할 수 있다. 수 많은 항체가 종양 항원에 대해 유도되어 왔다.
- <38> 통상적인 이펙터 방법에는 보체 의존성 세포용해("CDC"), 항체 의존성 세포성 세포독성("ADCC") 및 식균작용(표적 세포가 면역글로불린으로 피복된 후에 세망내피계 시스템에 의한 제거)이 있다.
- <39> CDC, ADCC 및 오프소닌화를 개시시키기 위해서는 비교적 다량의 항체가 필요하다. 또한, 사람 항체의 공급원은 관심있는 종양을 이미 앓고있는 사람에게 한정되는데, 단지 취할 수 있는 항체의 생성을 개시시키기 위해 사람에게 질병을 도입시키는 것은 비윤리적이다. 이러한 난점의 결과로서, 마우스 항체와 같은 사람 이외의 기원을 갖는 항체가 사용되어 왔다.
- <40> 마우스 항체가 사람에게 투여되면, 이들은 "외래"로 인식되기 때문에 1차 항체 분자의 마우스 특이적 및 마우스 이소타입 특이적 부분에 대해 유도된 사람 항-마우스 항체 반응("HAMA")을 유도할 수 있다. 이러한 면역 반응은 마우스와 사람의 면역글로불린의 불변 영역에 있는 주요 아미노산 서열의 차이로

인해 일어난다. HAMA의 IgG 및 IgM 서브클래스가 둘다 검출되어 왔다. IgG 반응이 더 늦게 일어나고, 전형적인 IgM 반응 보다 장기적이며, 혈장 사혈에 의한 제거에 대해 더욱 내성이 있다.

- <41> 그러나, 임상적으로 HAMA는 1) 마우스 항체의 후속 투여에 대한 과민성 또는 혈청병 유사 반응의 위험을 증가시키고, 2) 항체와 복합체를 형성하고, 몸체로부터의 제거를 증가시키고, 종양 편채화를 감소시키고, 간 및 비장으로의 흡수를 증강시키고/거나 치료제로부터 종양을 은폐시킴으로써 후속 주입된 마우스 항체의 면역 치료 효과를 간섭할 수 있으며, 3) 면역진단제를 간섭하고, 이로써 질병의 진행 및 치료의 경과를 모니터링하는 것을 방해할 수 있다.
- <42> 다양한 임상 실험에서 항체는 고형 종양에 대한 치료제로서 사용되어 왔다. 반응의 일관된 패턴 또는 향상된 생존은 아직 나타나지 않았다. 대조적으로, 항체 치료는 더욱 자주 B 세포 또는 T 세포 림프종 또는 백혈병의 완전하고 장기적인 완화를 유도해 왔다. 고형 종양 부전에 대한 설명은 항원 불균일성 및 주입된 항체로의 상피 세포의 불충분한 접근 뿐만 아니라 보체 또는 이펙터 세포와 같은 2차 이펙터 분자를 포함한다.
- <43> 수동 면역의 일례로서, 치유 수술을 받고 명백한 잔여 종양이 없는 듀크의 단계 C 결장직장암에 걸린 환자의 최소 잔여 질병을 표적하기 위해, 마우스 단클론성 항체인 17-1A(이소타입 IgG2a)이 사용되었다. 치료에 의해 생존율이 향상되었고, 재발율이 감소되었지만, 결과는 단독 화학치료법 또는 방사선과의 조합된 경우의 치료에 비해 덜 유리하였다.
- <44> 17-1A에 대한 표적 항원이 막으로부터 흘러나오지 않으며, 혈청에서 검출가능하지 않음을 인지하는 것이 중요하다. [참조: Riethmüller, et al., "Randomized trial of monoclonal antibody for adjuvant therapy of resected Dukes' C colorectal carcinoma", *Lancet*, 343:1177-83 (1994)]
- <45> II. 종양 항원에 의한 능동 특이 면역치료법 ("ASI")
- <46> ASI는 항원에 대해 특이적인 면역 반응을 능동적으로 유도하기 위해 적당한 방식으로 제시되는 규정된 항원에 의한 면역화로서 정의된다. 암의 경우, ASI는 종양 항원을 공격하기 위해 인체 면역 반응 (체액성 및 세포성 둘 모두)을 유도하려 한다.
- <47> 체액성 반응 및 CDC, ADCC 및 식균작용(표적 세포가 면역글로불린으로 피복된 후에 세망내피계 시스템에 의한 제거)의 통상적인 이펙터 방법은 앞서 논의되었다.
- <48> 지난 5년 동안, T 림프구의 특이적 항원 수용체에 의해 인식되는 분자 복합체를 특성화하는데 상당한 진보가 이루어져 왔다. 클래스 I 주요 조직적합성 복합체("MHC") 분자의 결정 구조는 추정 펩티드 결합 그루브 뿐만 아니라 이 펩티드 그루브의 실제 존재를 밝혀내었다. 식균작용후, 세포내에서 합성된 단백질은 세포성 효소에 의해 펩티드로 분해되고, 소포체로 수송되고, 여기에서, 클래스 I MHC 분자의 중쇄와 조합된다. 이러한 펩티드-MHC 복합체는 β 2-마이크로글로불린의 첨가에 의해 안정화되며, 세포 표면에 수송되어, 여기에서, CTL의 수용체에 의해 인식될 수 있다. 이론적으로, 항원성 펩티드는 종양 세포에 의해 특이적으로 발현되는 암의 세포내 단백질로부터 유도될 수 있다. [참조: Van Der Bruggen, Pierre, "The Long-Standing Quest for Tumor Rejection Antigens," *Clinical Immunology and Immunopathology*, 71; 3:248-252 (1994)]
- <49> III. 항체에 의한 능동 특이 면역치료법
- <50> 한 동물로부터의 특이적 항체가 적당한 제 2 동물에 면역원으로 주입되는 경우, 주입된 항체는 면역 반응(예를 들어, 주입된 항체에 대해 생성된 항체 --"항-항체")을 유도할 것이다. 이들 항-항체 중의 일부는 주입된 항체의 가변 도메인의 독특한 에피토프(이디오프)에 대해 특이적일 것이다. 이들 에피토프는 1차 항체의 유전자형으로 총괄하여 공지되어 있으며, 이들 에피토프에 결합하는 2차 (항-) 항체는 항-유전자형 항체로서 공지되어 있다. 항체의 가변 부분에 존재하는 모든 이디오프가 항체의 유전자형으로 명명된다. 항원의 에피토프와 결합하는 1차 항체의 주입이 항-유전자형 항체의 생성을 유도할 수 있기 때문에, 유전자형은 혈청학적으로 규정된다. 1차 항체와 항-유전자형 항체 사이의 결합이 1차 항체가 유도되는 항원에 의해 억제되는 경우, 유전자형은 결합 부위 또는 에피토프와 관련된다. 그 밖의 2차 항체는 주입된 항체의 불변 도메인의 에피토프에 특이적일 것이며, 항-이소타입 항체로서 공지되어 있다. 본원에서 사용되는 항-유전자형, 항-유전자형 항체, 에피토프 또는 에피토프성은 기술분야에서 인정되는 의미로 사용된다.
- <51> "네트워크(network)" 이론은 면역 반응 도중 초기에 생성된 항체가 생물체가 내성이 없는 독특한 신규 에피토프를 함유할 것이고, 이로써 1차 항체(Ab1)의 유전자형에 대해 유도된 2차 항체(Ab2)의 생성을 유도할 것이다. 마찬가지로, 이들 2차 항체는 3차 항체(Ab3) 등의 생성을 유도하는 유전자형을 가질 것이다.
- <52> $Ab_1 \rightarrow Ab_2 \rightarrow Ab_3$
- <53> 또한 네트워크 이론은 이들 2차 항체(Ab2)의 일부가 고유 항원의 보체의 보체인 결합 부위를 가질 것이고, 이로써 고유 항원의 "내부 이미지"를 재생시킬 것임을 암시한다. 바꿔말하면, 항-유전자형 항체는 대응 항원일 수 있다.
- <54> 암 면역치료법에 대한 통상적인 방법은 항-종양 항체, 즉, 종양 세포에 있는 에피토프를 인식하는 항체를 환자에게 투여하는 것이었다. 그러나, "네트워크" 이론의 발달은 연구자들에게 외인적으로 생성된 항-유전자형 항체, 즉, 항-종양 항체의 유전자형에 대해 생성된 항체의 직접적인 투여를 암시했다. 이러한 방법은 코프로우스키 등(Koprowski, et al.)의 미국 특허 제 5,053,224호에 기재되어 있다. 코프로우스키는 환자의 신체가 항-유전자형 항체 뿐만 아니라 고유 종양 에피토프도 인식하는 항-항체를 생성할 것이라고 가정한다.
- <55> 항-유전자형 항체에는 네 가지 타입이 있다. 알파 타입은 1차 항체의 파라토프와 떨어진 위치에 있는 에피토프와 결합한다. 베타 타입은 파라토프가 항상 고유 항원의 에피토프를 모방하는 항체이다. 감

마 타입은 항원 결합을 간섭하도록 1차 항체의 파라토프에 충분히 근접한 위치에서 결합한다. 엡실론 타입은 불변 도메인 항원 구조를 모방하는 유전자형 결정기를 인식한다. 더욱이, 항-유전자형 항체는 중쇄 특이적이거나 경쇄 특이적일 수 있다.

- <56> 1) 숙주에 의한 Ab2 생성을 유도하는 항원으로 작용하는 Ab1의 투여; 및 2) 종양 항원을 기능적으로 모방하는 Ab2의 투여라는 2가지 치료적 적용이 네트워크 이론으로부터 도출되었다.
- <57> 단클론성 항체 0C125의 F(Ab')₂ 단편의 반복 정맥내 적용에 의한 난소암 환자의 능동 면역는 일부 환자에서 현저한 항-유전자형 항체(Ab2) 반응을 유도하는 것으로 보고되었다. 예비 결과는 Ab2 혈청 농도가 높은 환자가 Ab2 혈청 농도가 낮거나 전혀 검출되지 않은 환자에 비해 생존율이 보다 양호함을 암시하였다. [참조: Wagner, U. et al., "Clinical Course of Patients with Ovarian Carcinomas After Induction of Anti-idiotypic Antibodies Against a Tumor-Associated Antigen," *Tumor Diagnostic & Therapie*, 11:1-4, (1990)].
- <58> 사람 항-유전자형 단클론성 항체(Ab2)는 동물에서 항-종양 세포성 반응을 유도하는 것으로 밝혀져 왔으며, 전이성 결장직장암에 걸린 환자중의 생존율을 연장시키는 것으로 여겨진다. [참조; Durrant, L.G. et al., "Enhanced Cell-Mediated Tumor Killing in Patients Immunized with Human Monoclonal Anti-Idiotypic Antibody 105AD7," *Cancer Research*, 54:4837-4840 (1994)]. 또한, 암의 면역치료를 위해 항-유전자형 항체(Ab2)를 사용하는 것은 바타카리야-채터예(Bhattacharya-Chatterje) 등의 문헌[Cancer Immunol. Immunother. 38:75-82(1994)]에 검토되어 있다.

발명의 상세한 설명

- <59> 백신은 특이 면역의 유도를 통해 질병을 예방, 치료 또는 완화시키기 위해 동물 또는 사람에게 투여되는 제제형이다. 예방적 백신은 장래의 감염에 대한 더욱 효과적인 방어를 위해 면역계를 준비 또는 프라이밍시킬 목적으로 건강한 개체에게 투여된다. 감염 또는 침입의 경우, 백신접종된 개체의 면역계는 2차 면역 반응을 유도할 수 있으며, 각각의 병원체를 더욱 신속하게 인식 및 제거할 수 있다. 치료적 백신은 자체가 면역 반응을 불충분하게 효율적인 면역 반응을 유도하거나 전혀 반응하지 못하는 면역계를 자극 또는 변조시킬 목적으로 환자에게 투여된다. 예방적 또는 치료적 백신을 디자인하는 경우, 1선(first-line) 방어를 제공하거나 신속한 회복을 가장 잘 초래할 수 있는 면역 반응의 타입을 유도하는 제제형을 선택하는 것이 중요하다.
- <60> 면역 반응을 개시시키는 제 1 단계는 종양 항원을 외래 항원으로서의 숙주인식을 발생시키는 것이다. 예를 들어, CA125 발현이 난소암과 관련되어 있다고 하더라도, 환자의 면역계는 이를 외래로 인식하지 못한다. 본 발명은 가용성 항원을 본 발명의 조성물과 접촉시키고, 조성물중의 결합제를 가용성 항원과 반응시키는 것을 포함한다. 본 발명에 따르면, 항원을 결합제와 결합시키면 항원의 숙주 인식이 발생된다. 차례로, 숙주 인식의 발생은 항원에 대한 면역 반응을 개시시킨다.
- <61> 본 발명은 결합제를 다중 에피토프성 종양 관련 항원의 미리 결정된 에피토프에 결합시키면 숙주 면역계가 인식하여 전에는 인식하지 못한 항원에 대한 면역 반응을 개시할 수 있는 방식으로 항원을 변화시킨다는 발견을 포함한다. 본 발명의 1가지 구체예에 있어서, 결합제는 가용성 종양 관련 항원에 결합하여, 숙주 면역계가 항원에 대한 반응을 발생하도록 만든다. 예를 들어, 본 발명은 43.13 에피토프에서 난소암 항원 CA 125에 특이적으로 결합하는 항체 결합제인 B43.13으로 예시된다. B43.13이 CA 125 항원에 결합하면, 항원의 입체형태가 변하거나 항원이 숙주 면역계에 의해 인식되는 항원으로 다르게 프로세싱 및/또는 전달된다. 그 밖의 예로는 위장암과 관련된 위장 항원인 CA19.9에 특이적으로 결합하는 결합제 및 유방암과 관련된 항원인 CA15.3에 특이적으로 결합하는 결합제가 있지만, 이들에 제한되는 것은 아니다.
- <62> 본 발명에 따르면, 결합제(들) 및 이러한 결합제를 포함하는 조성물이 제공되는데, 여기에서, 결합제는 미리 결정된 가용성 항원에 선택적으로 결합하고, 이러한 결합의 결과로서 항원에 있는 상이한 에피토프가 제공되며, 이 상이한 에피토프는 항원을 생성시켰던 세포를 억제 또는 치사시키는 면역 반응을 일으킨다.
- <63> 본 발명의 바람직한 구체예에 있어서, 미리 결정된 종양 관련 항원에 특이적으로 결합하는 미리 결정된 항체를 포함하는 조성물은 종양에 의해 생성된 가용성 항원과 결합시키기 위해 사용된다. 가용성 항원이 결합되면, 면역계는 항원을 "외래"로 인식하여, 항원 또는 항원에 결합된 결합제에 대한 면역 반응을 일으킨다. 면역원성으로 제조될 수 있는 항원은 면역 반응을 유도 또는 활성화시키는데 잠재적으로 유용하며, 이는 치료적 및 가능하게는 예방적 잇점을 생성시킨다.
- <64> 다중 에피토프성인 종양 관련 항원을 갖는 것이 특징일 수 있는 질병에 대해, 본 발명은 가용성 항원을 다중 에피토프성 종양 관련 항원에 있는 단일 에피토프에 특이적으로 결합시키는 결합제와 접촉시키는 것을 포함한다.
- <65> 결합제는 임상적으로 중요한 임의의 항원에 대해 유도될 수 있지만, 바람직하게는 종양 관련 항원(tumor-associated antigen: TAA)에 대해 유도된다. TAA의 경우, 암에는 폐, 결장, 직장, 유방, 난소, 전립선, 두부, 목, 뼈, 면역계 또는 그밖의 해부학적 위치가 있을 수 있지만, 이들에 제한되는 것은 아니다. 피검체는 사람 또는 동물 피검체일 수 있다. 예시적인 종양 및 종양 마커는 미국 특허 제 5,075,218 호에 열거되어 있다.
- <66> 본 발명의 방법은 가용성 다중 에피토프성 TAA를 생성시키는 임의의 암과 관련된다. 본원에 사용된 용어인 가용성은 체액, 즉, 혈액, 혈청, 복수, 타액 등에서 검출가능한 항원을 나타내기 위해 사용된다. 본 발명에 따르면, 바람직한 종양은 표면 항원 또는 세포내 항원과는 반대로 예컨대 혈류로 방출되는 종양 항원과 같은 가용성 종양 항원을 방출시키는 종양; 다중 에피토프성 종양 관련 항원, 바람직하게는 탄수화물 또는 당단백질 (예를 들어, 유신) 특성을 갖는 항원을 나타내는 종양; 및 건강한 대조체에 정상적으로 존재하는 농도 이상으로 환자 체액에서 발견될 수 있으며, 이러한 고 수준이 환자에 대한 양호하

지 못한 예후를 의미하여 면역 반응을 개시시키지 않는 종양이다. 당 분야의 숙련자에게는 널리 공지된 바와 같이, TAA의 농도가 질병의 재발의 전조가 되는 농도를 초과하는 지를 결정하는 1가지 방법은 환자의 TAA 농도를 건강한 대조체의 농도와 비교하는 것이다. TAA 농도가 건강한 대조체 보다 높은 경우, 환자의 농도는 질병의 양호하지 못한 예후의 전조가 된다.

<67> 본원에 사용된 용어 결합제(binding agent: BA)는 면역학적 쌍의 한 일원, 예를 들어 종양 항원 상에서 발견되는 단일 에피토프에 결합할 수 있는 결합 부분을 의미한다. 전형적인 결합제에는 단클론성 항체("Mab"), 키메라 단클론성 항체("C-Mab"), 유전적으로 조작된 단클론성 항체("G-Mab"), 단클론성 항체의 단편("F(Ab)₂", "F(Ab)" 및 "Dab"를 포함하지만, 이에 제한되지 않음), 단클론성 항체의 반응성 부분을 나타내는 단일 사슬("SC-Mab"), 종양 결합 펩티드, 이들중 이펙터 기능을 매개하는 분자에 결합되는 것들, 및 이들의 모방체가 있다. 항체는 다클론성 항체 또는 단클론성 항체일 수 있다. 피검체가 사람 환자인 경우, 항체는 마우스, 래트, 염소, 양, 토끼 또는 그 밖의 적당한 실험용 동물과 같은 항원에 대해 유용한 면역 반응을 일으킬 수 있는 동물을 면역화시킴으로써 획득될 수 있다. 단클론성 항체의 경우, 면역화된 동물의 항체 생성 세포를 "불멸성" 또는 "불멸화된" 사람 또는 동물 세포와 융합시켜 항체를 생성시키는 하이브리도마가 획득될 수 있다. 원하는 경우, 1종 이상의 면역글로불린 사슬을 코드화하는 유전자를 클로닝하여 항체를 상이한 숙주 세포에서 생성시킬 수 있으며, 원하는 경우, 유전자를 돌연변이시켜 서열을 변화시키고, 이로써 생성된 항체의 면역학적 특성을 변화시킨다. 단편 또는 결합제의 단편은 펩신, 파파인 등을 사용하는 결합제의 단백질 가수분해와 같은 통상적인 기법 또는 원하는 단편을 코드화하는 DNA를 클로닝시키고 다양한 숙주에서 발현시키는 재조합 DNA 기법에 의해 획득될 수 있다. 앞서 언급한 물질을 예를 들어 자외선에 의해 조사시키면, 유사한 조건하에서 다중 에피토프성 항원에 대한 면역 반응이 증강될 것이다. 본 발명의 1가지 바람직한 구체예에 있어서, CDC 또는 ADCC를 매개하는 이펙터 기능은 필요하지 않다.

<68> 본 발명의 1가지 구체예에 있어서, 난소 종양 관련 항원의 적합한 조성물은 CA 125 항원과 결합하는 결합제를 함유한다. 본 발명의 또 다른 구체예에 있어서, 위장 암에 대한 적합한 조성물은 CA 19.9 항원과 결합하는 결합제를 함유한다. 본 발명의 또 다른 구체예에 있어서, 유방 암에 적합한 조성물은 CA 15.3 항원과 결합하는 결합제를 함유한다. 다양한 결합제, 항체, 항원, 및 항체를 제조, 단리 및 사용하는 방법은 미국 특허 제 4,471,057호(코프로우스키) 및 미국 특허 제 5,075,218호(제트(Jette) 등)에 기재되어 있으며, 두 특허는 본원에 참고문헌으로 포함되어 있다. 또한, 이들 항체 중의 다수의 항체는 센토코르(Centocor), 아보트 라보라토리스(Abbott Laboratories), 코미사리아트 아 레네르기 아토믹(Commissariat a l'Energie Atomique), 호프만-라로체, 인코포레이티드(Hoffman-LaRoche, Inc.), 소린 바이오메디카(Sorin Biomedica) 및 후지레비오(FujiRebio)로부터 상업적으로 구입이 가능하다.

<69> 본 발명에 따른 결합제를 포함하는 모든 조성물은 생체내 면역 반응을 개시시키기 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 조성물은 1가지 이상의 보조제, 1가지 이상의 담체, 1가지 이상의 부형제, 1가지 이상의 안정제, 1가지 이상의 이미징제 및/또는 생리학적으로 허용되는 식염을 포함할 수 있다. 일반적으로, 보조제는 더욱 현저한 면역 반응을 유도하기 위해 면역원과 혼합된 물질이다. 보조제가 없는 대조 백신접종은 체액성 면역 반응을 일으켰다. 또한 본 발명의 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있다. 약제학적으로 허용되는 담체에는 식염, 멸균수, 포스페이트 완충된 식염 등이 있다. 환자에게 투여하기에 적합한 그 밖의 완충제, 분산제 및 비활성이고 비독성인 물질이 본 발명의 조성물에 포함될 수 있다. 본 발명의 조성물은 투여에 적합한 용액일 수 있으며, 전형적으로 멸균성이고, 바람직하지 못한 미립성 물질이 없다. 본 발명의 조성물은 통상적인 멸균 기법에 의해 멸균될 수 있다.

<70> 본 발명의 방법에 따르면, 결합제는 종양 관련 항원과 접촉하여 결합해야 하며, 환자에게 임의의 면역학적으로 적당한 경로에 의해 투여될 수 있다. 예를 들어, 결합제는 정맥내, 피하, 복막내, 피부내, 근내 또는 림프관내 경로에 의해 용액, 정제 또는 에어로솔 형태로 환자에게 투여될 수 있다. 또한 리포솜, 생분해성 미소구체, 미셀 등이 담체, 비히클 또는 전달 시스템으로 사용될 수 있다. 또한, 당분야에 널리 공지된 체외 과정을 이용하여, 환자로부터의 혈액 또는 혈청을 환자로부터 분리하고; 임의로, 환자의 혈액 중의 항원을 정제하는 것이 바람직할 수 있고; 그런 다음, 혈액 또는 혈청은 본 발명에 따른 결합제를 포함하는 조성물과 혼합될 수 있으며; 처리된 혈액 또는 혈청은 환자에게 귀환될 수 있다. 임상학자는 투여의 보다 효과적인 경로를 결정하는 데에 이들 상이한 경로와 관련된 항-유전자형 및 항-이소타입 반응을 비교할 수 있다. 본 발명은 결합제를 환자에게 도입시키는 임의의 특정 방법에 제한되지 않아야 한다.

<71> 본 발명에 따르면, BA-항원 상호작용은 하기 2가지 반응을 발생시키기 위해 환자의 면역계에 잔여 에피토프를 효율적으로 제공한다: 1) 주입된 항체에 의해 억제되거나 억제되지 않을 수 있는 사람 항-종양 항체 또는 주입된 BA와 반응성인 에피토프와 상이한 에피토프에 결합하는 항체에 의해 확실히 억제될 수 있는 사람 항-종양 항체를 생성시키는 체액성 반응; 및 2) 항원 특이적 세포독성 T 세포의 생성을 초래하는 세포 매개성 반응.

<72> 본 발명의 결합제는 관심있는 다중 에피토프성 종양 항원과 결합하며, 생성되는 면역원성 쌍은 항원에 있는 또 다른 에피토프에 대한 면역 반응을 프라이밍 또는 개시시키기 위해 사용될 수 있다. 본원의 다른 부분에서 상세히 언급된 바와 같이, 결합제와 다중 에피토프성 항원 간의 결합은 항원에 있는 또 다른 이전에 인식가능하지 않은 에피토프에 대한 접근을 제공하기에 충분하도록 항원의 형태(conformation)를 변화시킨다. 면역계의 작용체에 의해 한번 인식된, 이전에는 인식가능하지 않은 에피토프는 전체 항원에 대한 면역 반응을 초래하는 면역계 캐스케이드를 개시시킨다.

<73> 본 발명의 구체예에 따르면, 체액이 내인성이고 가용성인 다중 에피토프성 항원을 갖는 암 환자는 내인성이고 가용성인 항원의 단일 에피토프에 대해 유도된 외인성 결합제를 주입함으로써 치료된다. 결합후, 항원은 입체형태가 변화되거나 다르게 프로세싱 및/또는 전달되어, 항원에 있는 상이한 에피토프가 환자의 면역계에 제공된다. 제공되면, 환자의 면역계는 체액성, 세포성 또는 조합된 체액성/세포성 반응이 개시되고, 발달되어, 종양 치사 및/또는 정지를 초래한다. 본 발명의 성공의 증거는 향상된 생존 시간으로서 실시예에 나타난다.

<74> 이에 국한시키고 하는 것은 아니지만, 본 발명의 방법에 대한 작용의 기전은 본 발명에 따른 결

합제에 의해 결합된 가용성 항원의 부분에서의 입체형태 변화를 포함하는 것으로 믿어진다. 또한 항원을 항원에 있는 제 1 에피토프에 대해 유도된 결합제와 결합시키는 것은 제 2 에피토프를 제공 또는 활성화 하는데 충분하도록 항원의 입체형태를 변화시키는 것으로 믿어진다. 환자의 면역계가 반응할 수 있는 것은 이러한 제 2 에피토프이다. 대안적으로, 결합제-항원 상호작용은 제 2 에피토프를 활성화시키는 방식으로 면역계에 대해 특이 대사 프로세싱 또는 전달을 초래할 수 있다.

<75>

용량

<76>

본 발명의 방법에 따르면, 결합제를 포함하는 조성물은 미리 결정된 종양 관련 항원을 인식하고 결합하기에 충분한 양으로 투여될 수 있다. 본 발명의 바람직한 구체예에 있어서, 용량은 TAA에 대해 면역 반응을 발생 또는 유도시키기에 충분하다. 결합제의 면역학적으로 또는 치료적으로 유효하거나 허용되는 양은 미리 결정된 항원과 체내 또는 체외에서 결합하기에 충분한 양이고, 항원에 대한 면역 반응을 유도시킬 수 있어야 한다. 반응은 신규하게 접근가능한 에피토프를 함유하고 제공하는 종양 세포를 억제 또는 치사시켜, 항원을 생성시키는 질병 또는 질환을 호전시키거나 완쾌시킨다. 면역 반응은 체액성 반응, 세포 매개성 반응 또는 둘 모두의 형태를 취할 수 있다. 본 발명의 바람직한 구체예에 있어서, 단클론성 항체의 용량은 ADCC 또는 CDC를 유도하는데 필요한 용량 미만이다.

<77>

조성물 중의 결합제 또는 활성제의 농도 또는 용량은 예를 들어, 약 0.01 중량% 미만에서 약 15 내지 20 중량% 까지 광범위하게 변할 수 있다. 상기 언급한 바와 같이, 본 발명의 조성물은 항원에 대한 면역 반응을 자극시키기에 충분한 양으로 투여된다. 이러한 사용에 효과적인 양은 부분적으로는 병세 및 환자 면역계의 상태에 좌우될 것이다. 일반적으로, 본 발명의 조성물은 체중 1kg 당 0.1 μ g 내지 약 2mg 이상의 결합제, 보다 보편적으로는 체중 1kg 당 약 1 μ g 내지 약 200 μ g의 용량을 포함할 것이다. 농도는 일반적으로 0.5% 이상일 것이며, 임의의 양이 투여의 특정 모드에 따라 유체 부피, 점도, 항원성 등을 주로 기초로 하여 선택될 수 있다.

<78>

투여는 1회 이상일 수 있고, 바람직하게는 연장된 기간에 걸쳐 3회일 수 있다. 본 발명의 조성물이 병세가 중증인 즉, 생명이 위태로운 또는 잠재적으로 생명이 위태로운 환자에 대해 사용될 수 있기 때문에, 원하는 경우 과량의 결합제가 투여될 수 있다. 본 발명의 조성물의 주입을 위한 희석 기법을 포함하여, 약제학적 조성물을 투여하기 위한 방법 및 프로토콜은 널리 공지되어 있거나 당분야의 숙련자에게는 명백할 것이다. 이들 방법 및 프로토콜의 일부는 문헌[Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Co. (1982)]에 기재되어 있다.

<79>

결합제는 그 밖의 결합제와 조합된 형태로 투여될 수 있거나 예를 들어, 화학치료제와 같은 그 밖의 처리 프로토콜 또는 작용제와 조합된 형태로 투여될 수 있다.

<80>

본 발명의 결합제의 효용성은 체내 또는 체외에서 모니터링될 수 있다. 체액성 반응은 통상적인 면역검정에 의해 체외에서 모니터링될 수 있는데, 여기에서, 반응의 항-종양 활성은 보체 매개된 세포성 세포독성 및/또는 항체 의존성 세포 세포독성(ADCC) 검정에 의해 측정될 수 있다. 검정 방법론은 널리 공지되어 있으며, 문헌[*Handbook of Experimental Immunology*, Vol. 2, Blackwell Scientific Publications, Oxford (1986)]에 기재되어 있다. 그 밖의 검정법은 환자 또는 조직내 항원 수준을 측정하는 것에 관한 것일 수 있다. 세포 매개성 면역는 지연형 과민성 반응의 발달 또는 이들 제한되지는 않지만, 피부 테스트 반응 프로토콜, 림프구 자극 검정법, 표준 방사선 방출 검정을 이용하거나, 제한 희석 검정법에 의해, 또는 표준 ELISA 검정법을 이용하여 IL-2의 혈장 수준을 측정함으로써 종양 세포에 대한 피검체의 림프구의 독성 측정하는 것을 포함하여, 당분야의 숙련자에게 공지된 체내 또는 체외 수단의 발달에 의해 생체내 모니터링될 수 있다.

<81>

실시에

<82>

실시에 1 단일 에피토프에 대한 항체의 주입에 의한 항원에 존재하는 다중 에피토프에 대한 항체 반응의 발생의 실험적 증명

<83>

80% 이상의 상피 난소 암에 대해 발현된 암 항원 CA125는 본 발명을 입증하기 위한 예로 사용된다.

<84>

CA 125는 특히 OC125, M11, B43.13, B27.1과 같은 상이한 항체에 의해 인식되는 다중 에피토프를 갖는다. 본 발명에 있어서, MAAb-B43.13은 B27.1 에피토프의 인식을 포함하는 CA125 특이적 면역 반응을 일으키기 위해 사용되었다.

<85>

방법: 활성 질병에 걸린 86명의 난소 암 환자를 CA125에 대한 항체의 존재에 대해 시험하였다. MAAb-B43.13의 주입 전에 CA125에 대한 항체를 갖는 환자는 없었다. 환자에게 다양한 시점에서 2mg의 MAAb-B43.13을 주입하였다 (일부 환자에 대해서는 표 1을 참조). 이들 환자로부터의 혈청을 CA125에 결합하는 이들의 능력에 의해 사람 항-CA125 항체의 존재에 대해 분석하였다 [참고문헌: R.Madiyalakan et al, *Hybridoma*, 14:199-203 1995]. 이러한 항-CA125 항체를 유사한 항체를 억제하는 이들의 능력에 의해 B43.13 에피토프 또는 B27.1 에피토프에 대해 추가로 분류하였다. 분류를 위한 이론적 근거는 이들 환자 중의 항-CA125 항체가 하기 2가지 경로에 의해 생성될 것이라는 사실로부터 나온다:

<86>

1) 항-CA125 항체가 상기 언급된 네트워크 이론에 의해 제시된 방식으로 생성되는 경우, 경로는 Ab1 \rightarrow Ab2 \rightarrow Ab3 을 따를 것이다. 이러한 체계를 따르는 경우, MAAb-B43.13(Ab1)은 MAAb-B43.13(Ab2)에 대한 항-유전자형을 생성시키고, 이는 MAAb-B43.13(Ab3; 또는 항-CA125 항체)에 대한 항-유전자형을 생성시킬 것이다. 또한, 이 경로하에 생성된 Ab3 항체는 B43.13 에피토프가 존재하는 유일한 에피토프이기 때문에 MAAb-B43.13에 의해서만 결합되고 억제될 것이다.

<87>

2) 항-CA125 항체가 본 발명에 의해 제시된 방식으로 생성되는 경우, 경로는 Ab1 + 가용성 항원 \rightarrow Ab3' 를 따를 것이다. 이러한 체계를 따르는 경우, MAAb-B43.13(Ab1)은 CA125 혈청 항원과 결합하고, 이는 항-CA125 항체(Ab3')를 생성시킬 것이다. 또한, 이 경로하에 생성된 Ab3' 항체는 상기 언급한 바와 같이 CA125가 다중 에피토프성이고, B43.13과 B27.1 에피토프가 독특하기 때문에 B27.1 항체에 의해 결합되

고 억제될 것이다. 또한, Ab3'는 항-MAb-B43.13 항체에 결합하지 않을 것이다.

<88> 따라서, 환자 혈청이 MAb-B43.13 만에 의해 억제가능한 CA125 항체를 함유한 경우, Ab3을 함유하는 것으로 분류하였으며, MAb-B27.1에 의해 억제가능한 혈청은 Ab3'으로 분류하였다.

<89> 결과

<90> 14명의 환자가 MAb-B43.13 주입에 반응하여 이들 혈청에서 항-CA125 항체를 발생시켰다 (표 1). 이들 14명의 환자 중 10명은 Ab3'를 가졌고, 2명의 환자만이 혈청중에 Ab3 항체를 가졌다. 또한 2명의 환자는 두 항체를 모두 가졌다. 혈청중의 Ab3의 존재는 또한 이들 항체가 정제된 토끼 항-MAb-B43.13 항체에 결합하는 능력에 의해 확인되었다. 항-CA125 항체를 갖지만 MAb-B43.13 또는 MAb B27.1에 의해 억제불가능한 2명의 환자(#2 및 #7)가 있었으며, 이는 이들 환자가 CA125에 대한 항체를 가질 수 있어, B43.13 또는 B27.1 이외의 에피토프를 인식함을 암시한다.

<91> 이들 결과는 단일 에피토프(B43.13)에 대한 항체가 환자에게 주입되는 경우, 항원에 존재하는 상이한 에피토프를 인식하는 전체 항원에 대한 항체 반응이 발생함을 명백히 나타낸다. 일부 환자내의 Ab3의 존재는 경로 I을 통한 B43.13 에피토프 또는 유전자형 유도에 대한 항체의 불충분한 결합으로 인한 CA125에 있는 B43.13 에피토프의 과량 존재 가능성에 의해 설명될 수 있다. 그럼에도 불구하고, 반응의 우세한 기전은 경로 II를 통한 것으로 여겨진다. 바꿔말하면, 가용성 다중 에피토프성 항원에 대한 단클론성 항체를 작용성 면역계를 갖는 환자에게 주입하면 항원에 대한 항체가 생성되며, 여기에서, 생성된 항체는 상이한 에피토프에 대한 항체에 의해 억제된다.

<92>

표 1: MAb-B43.1301 주입된 환자내의 항-CA125 항체의 특징화

환자	주입 #	주입후 경과 일수	항-CA125 Ab 수준	항-MAb-B 43.13(Ab 2) [†]	억제율(%)*			분류
					CA125 10000 U/mL	B43.13 단일 사슬 10 μ g/mL	B27.1 F(ab') ^{**} 1 μ g/mL	
1	3	0	14.8	+	62.3	42.6	5.8	Ab3
2	1	185	9.5	-	21.6	-46.9	-86.9	Ab3'
3	3	86	25.4	+	80.2	84.4	-0.5	Ab3
	3	207	48.7	+	91.4	94.0	-9.1	Ab3
	4	144	79.7	+	77.1	93.0	3.5	Ab3
	4	270	30.9	+	79.2	83.0	-55.8	Ab3
	4	309	16.7	+	77.0	83.0	-55.8	Ab3
4	5	134	64.1	+	89.1	83.3	-37.3	Ab3
	2	15	23.6	-	62.3	-84.8	-101.9	Ab3'
	2	41	21.6	-	56.9	20.2	-7.0	Ab3'
	2	76	23.1	-	63.6	29.4	4.5	Ab3'
5	3	28	11.1	-	24.2	4.7	11.1	Ab3'
	1	16	15.5	+	74.8	78.3	39.9	Ab3'/Ab3
6	3	0	10.3	+	54.0	60.2	22.7	Ab3'/Ab3
7			14.9	-	29.7	-70.2	-358.9	Ab3'
8	1	7	59.1	-	77.1	87.1	34.9	Ab3'
	1	17	46.9	-	78.4	86.5	40.7	Ab3'
9	3	112	9.2	-	-66.4	16.0	20.2	Ab3'
	3	166	8.5	-	-18.4	42.5	56.5	Ab3'
10	3	0	41.5	-	30.8	39.2	20.0	Ab3'
11	5	134	8.8	-	19.0	24.4	3.5	Ab3'
	6	134	8.7	-	18.0	39.0	46.0	Ab3'
	9	26	13.4	-	54.5	19.3	11.1	Ab3'
	9	65	13.3	-	56.1	24.4	3.7	Ab3'
	10	40	9.4	-	61.4	37.0	33.4	Ab3'
12	2	14	10.6	-	24.5	-54.4	19.9	Ab3'
13	1	15	11.5	-	30.8	47.4	55.8	Ab3'
14	2	17	10.1	-	30.3	-51.2	1.2	Ab3'

* 중요한 것으로 간주되기 위해서는, 억제율이 10% 이상이어야 함
** 단일 사슬 MA b-B43.13 및 F(ab')MA b-B27.1은 항체의 Fc 부분으로 인한 비특이적 억제 및 HAMA로 인한 교차반응성을 피하기 위한 억제 실험에 사용되었음.
† 항-MA b-B43.13(Ab2)는 MA bB43.13이 주입된 토끼로부터 정제되었음.

<94>

실시예 2

<95>

약제학적 실험에 있어서, 혈액 샘플을 MA b-B43.13 주입 전 및 주입 후 선택된 간격으로 CA125 수준에 대해 분석하였다. 주입 전에 상승된 CA125 수준을 갖는 환자의 경우, MA b-B43.13 주입 직후에 순환성 CA125 수준의 현저한 강하를 관찰할 수 있었다 (표 2). 이는 결합체가 체내에 도입된 경우 순환성 CA125와 상호작용하여 제거한다는 것을 명백히 입증하였다.

<96>

표 2: MA b-B43.13 주입 후의 CA125 제거

<97>

환자 # (CA 125 수준은 U/mL로 나타남)

	002	003	004	006	007	008	010
MAb 주입후 시간(분)							
0	760	68	65	72	90	269	431
30	210	2	7	21	16	47	141
60	144	3	0	22	16	60	79
240	240	0	0	11	15	52	97
1440	277	5	3	6	23	59	96
2880	404	-	5	1	23	67	93
4320	429	-	7	-	-	-	-

<99>

또한, 항체와 복합체화된 항원은 면역계에 대해 효율적으로 제공되며, 보다 양호한 항원 특이적 체액성 및 세포성 반응을 일으킨다. 이는 실시예 3 및 4에 나타나는 하기 실험에 의해 입증되었다.

<100>

실시예 3

<101>

Balb/c 마우스를 전체 3회 주입을 위해 3주 마다 PBS 중의 10 μ g의 MAb-B43.13로 정맥내; PBS 중의 10,000 단위의 CA125로 정맥내; 또는 PBS 중의 10 μ g의 MAb-B43.13 및 10,000 단위의 CA125로 정맥내 면역화시켰다. B43.13/CA125 주입에서의 비는 표 2에 주어진 약물동력학 데이터를 기초로 하여 결정된 바와 같이 상승된 CA125 수준을 갖는 환자에서 관찰된 데이터와 유사하였다. 마우스 혈청을 항-CA125 항체 수준에 대해 분석한 경우, 항원-항체 복합체가 주입된 마우스가 최고 역가를 가졌다. 이들 balb/c 마우스에서의 항-유전자형 유도는 도 1에 그래프로 도시되어 있다. 이는 결합제-항원 상호작용이 결합제 또는 항원만에 의한 상호작용과 비교해 볼때 보다 양호한 항원 특이적 체액성 반응을 초래함을 뒷받침한다.

<102>

실시예 4

<103>

유사하게, 보다 양호한 세포성 면역 반응은 결합제가 T 세포에 대한 항원과 관련되어 제공된 경우에 관찰되었다. 따라서, 마우스 복강으로부터 분리된 대식구를 MAb-B43.13 단독; CA125 단독, MAb-B43.13-CA125 복합체; 또는 대조 MAb-CA125로 자극시켰고, CA125 특이적 마우스 T 세포(CA125가 주입된 마우스로부터 분리됨)에 제공하였다. [³H]-티미딘 흡수에 의해 모니터링된 바와 같은 T 세포의 증식이 일어난 경우, 최적 자극 지수가 항체-항원 복합체로 자극된 대식구에서 관찰되었다(도 2).

<104>

실시예 5

<105>

실시예 1의 결론은 MAb-B43.13이 주입된 환자에서의 혈청 CA125 수준과 사람 항-CA125 항체 생성 간의 상관관계를 밝혀냄으로써 추가로 뒷받침되었다. 결과는 표 3에 나타나며, 이는 결합제와 상호작용하기 위해 항원이 혈청내에 존재해야 하며, 이러한 상호작용이 항원 특이적 체액성 반응을 유도한다는 결론을 뒷받침한다.

<106>

표 3: MAb-B43.13이 주입된 환자에서의 혈청 CA125 수준 및 항체 수준간의 상관관계.

사전 주입 혈청 CA125 수준	항-CA125 항체 역가(포지티브 수/전체 환자)
<100 U/mL	3/29
>100 U/mL	15/46

<108>

실시예 6

<109>

항체 주입의 결과로서 다중 에피토프성 항체 반응을 유도하는데 있어 혈청 항원의 역할은 토끼 실험에서 추가로 확인되었다. 임의의 혈청 CA125를 함유하지 않는 토끼에 MAb B43.13이 주입된 경우, B27.1에 의해 억제가능하지 않은 항-CA125 항체를 생성시켰다. 대조적으로, 혈청 항원 CA125 수준이 높은 난소 암 환자는 MAb-b43.13 주입에 반응하여 B27.1에 의해 억제가능한 항-CA125 항체를 생성시킨다.

<110>

실시예 7 항체 주입에 의한 항원 특이적 항-종양 반응의 유도 실험적 증명

<111>

사람 항-CA125 항체는 항체 의존성 세포 세포독성("ADCC")를 통해 종양 세포 용해를 유발한다. 주입된 MAb-B43.13이 그 자체로 ADCC 및/또는 보체 의존성 세포 용해("CDC") 매개성 난소 종양 세포의 용해를 유발하지 않는다고 하더라도, MAb-B43.13가 주입된 환자에서 항-CA125 항체가 생성되면 종양 세포 용해가 초래된다(도3 참조). 이를 표지된 난소 종양 세포를 이펙터 세포 및 MAb-B43.13이 주입된 6명의 환자의 혈청과 인큐베이팅시킴으로써 ⁵¹크롬 방출 측정법으로 실험하였다. 이는 결합제의 주입이 항원과의 상호작용을 유발하고 특이적 체액성 반응을 유발하여, ADCC를 통한 종양 세포 용해를 초래하는 항-CA125 항체를 생성시킨다는 결론을 뒷받침한다. 결과는 항체의 주입 후의 항원 특이적 항-종양 반응의 발생을 명백히 입증하였다.

<112>

실시예 8 MAb-B43.13가 주입된 환자에서의 CA125 특이적 세포독성 T-림프구의 발생.

<113> 유사하게 CA125를 함유하는 암 환자에게 결합제를 주입하면 항원 특이적 CTL이 유도된다. Mab-B43.13가 주입된 8명의 환자로부터의 말초혈 단핵 세포(PBMC)를 크롬 방출 검정법에서 CA125 포지티브 또는 CA125 네거티브 난소 종양 세포에 대한 세포독성에 대해 시험하였다. 결과는 표 4에 나타났다. 용해의 특이성은 이러한 용해를 억제하는 Mab-B43.13의 능력 뿐만 아니라 CA125 네거티브 종양 세포를 치사시키는 능력이 없음에 의해 확인되었다. Mab-B43.13가 투여된 8명의 환자중에 4명 이상의 환자(#5 내지 #8)가 이들 혈액중에 CA125 특이적 세포독성 T 림프구(CTL)를 갖는 것으로 측정되었다. CA125 특이적 CTL의 생성은 환자내의 난소 종양 세포를 치사시키는 것으로 여겨진다.

<114> 표 4: Mab-B43.13을 함유하는 백신이 주입된 환자내의 세포독성

환자 ID	샘플		용해(%)			Mab-B43.13(5 μ g)에 의한 억제율(%)	CA125+ve & CA125-ve 세포 간의 차이(%)
	주입 회수	주입 후 일수	CAOV-4	SK-OV-3	K562		
1	2	17	2.0	0.0	3.7	ND*	무의미함
2	2	0	9.8	7.5	33.5	ND	31
3	3	0	22.8	20.4	64.3	ND	12
4	3	0	25.8	20.2	44.5	4.7	28
5	3	0	65.1	45.4	80.7	ND	43
6	3	0	23.1	20.0	42.0	19.2	16
	3	6	7.4	5.2	10.2	53.0	42
7	4	355	10.3	3.1	18.9	ND	23
8	10	425	25.5	18.2	39.2	15.4	40

*ND = 충분한 림프구의 부족으로 인해 수행되지 않음
결과는 3별로 수행된 1가지 실험의 평균임

<116> 실시예 9

<117> 항-CA125 항체 매개된 ADCC 기전 또는 CA125 특이적 CTL을 통한 종양 치사는 Mab-B43.13이 주입된 환자에서의 생존율을 증가시킨다. 고수준의 혈청 CA125가 양호하지 못한 예후 지시제로 제시되어 왔고 하더라도, 이들은 이러한 환자에서 항-CA125 항체의 주입과 함께 유리한 효과를 갖는 것으로 보인다. 예를 들어, CA125 수준이 100 단위/mL인 경우, CA125에 대한 면역 반응은 20% 이상 증가하며, 이로써 이들 환자의 평균 생존율은 39.1개월 내지 54.5개월로 증가되었다 (표 5). 따라서, 상승된 수준의 다중 에피토프성 가용성 항원을 함유하는 환자에게 결합제를 주입하면 항원 특이적 체액성 및 세포성 반응이 초래되며, 이는 종양 치사를 유도하여, 생존율을 향상시킨다.

<118> 표 5: 혈청 CA125 수준, 사람 항-CA125(Ab₁) 반응 및 Mab-B43.13이 주입된 환자에서의 생존율 간의 상관관계

사전주입 혈청 CA125 수준	사람 항-CA125 반응을 갖는 환자 (%)	평균 생존 개월수
<100 U/mL	10.3%	39.1
>100 U/mL	32.6%	54.5

<120> 실시예 10

<121> 전이성 질병에 걸린 것으로 진단된 1명의 체장 암 환자에게 항-CA19.9 항체를 포함하는 조성물로 반복 주입하였다. 환자는 그 밖의 치료를 받지 않았으며, 최초 진단 후 22개월 (수술 및 주입 후 19개월) 동안 생존하였다. 이는 최초 진단 후 6개월 생존의 현재 생존 기간 추정치와 비교된다.

<122> 실시예 11

<123> 당분야의 숙련자는 투여 용량이 상이한 환경을 기초로 하여 광범위하게 변할 수 있음을 인식할 것이다. 다음은 예비 용량 가이드라인을 제공한다.

<124> 2mg 용량의 Mab-B43.13으로 10회 이하 주입되었던 100명 이상의 환자의 회고분석은 이들 환자중의 일부가 a) 예상외로 긴 생존 시간을 특징으로 하는 이들 질병의 드문 경과 및 b) 유의할 정도가 아닌 부반응 또는 독성을 경험하였음을 나타내었다.

<125> 면역학적 실험을 Mab-B43.13 작용의 체내 기전을 이해하고 평가하기 위해 수행하였다. 이들 실험은 2mg 용량의 Mab-B43.13이 주입된 환자에서의 항-유전자형 유도의 정도가 주입 회수 또는 이들 질병의 임상적 단계와 무관함을 나타내었다. 그러나, 항-유전자형 유도는 환자의 혈청에 존재하는 순환성 CA125의 수준에 좌우된다. 추가의 실험은 측정가능한 CA125를 갖는 환자에게 Mab-B43.13을 주입하면 항원-항체 복합체의 형성이 초래되어, 항원 에피토프 제공 및 종양에 대한 항원 특이적 체액성 반응과 세포성 반응이 유도된다.

<126> 이들 실험은 유효량은 면역계에 대한 모든 가능한 순환성 CA125 항원을 최적 전달 및 제공하기에

단지 충분한 항체를 필요로 함을 나타낸다. 체외 실험은 1ng의 MAb-B43.13이 10 단위의 CA125와 결합할 수 있음을 나타내었다. 체중 1kg 당 40mL의 혈장을 가정하는 경우, 60kg 환자에게 2mg의 MAb-B43.13을 주입하면 혈청중 8333U/ml의 CA125와 결합할 수 있다. 현재까지 시험된 모든 난소암 환자가 이들 혈청중 8333U/ml에 훨씬 못미치는 양의 CA125를 가졌기 때문에, 2mg의 MAb-B43.13의 주입은 필요한 면역 반응을 유도시키기에 충분하다. 또한, 질병의 면역신도그래프 입체형태를 위해 방사성표지된 MAb-B43.13이 투여된 환자의 경우, 이미징(imaging) 결과는 높은 혈청 CA125에도 불구하고 우수하였으며, 이는 특이적 중앙 흡수를 위한 과량의 MAb-B43.13가 존재함을 암시한다.

<127> 또한, 선택된 간격에서의 다회 주입은 환자에게 최적 잇점을 제공하는 것으로 보이며, 그 이유는 CA125가 질병의 경과 동안에 생성되기 때문이다.

<128> 최종적으로, 회고 분석은 2mg 용량이 치료적 효능을 가지는 것으로 보임을 나타내었는데, 어떠한 환자(>100)도 심각한 부작용 또는 부반응을 발달시키지 않았다. 전체 HAMA 반응이 항-유전자형 유도의 표시인 경우, 2mg 용량은 원하는 치료적 잇점을 생성시키기 위해 항-유전자형 항체의 현저한 수준을 생성시킨다. 선택된 간격에서의 2mg의 MAb-B43.13의 다회 주입은 어떠한 이소타입 HAMA 유도된 독성을 유발함이 없이 원하는 치료적 수준으로 항-유전자형 항체를 유지시키는 것으로 여겨진다.

<129> 따라서, MAb-B43.13의 유효량 또는 치료적으로 허용되는 양의 범위는 2mg이지만, 이에 제한되는 것은 아니다.

도면의 간단한 설명

<130> 도 1은 그 밖의 조성물과 비교해 볼때 마우스를 본 발명의 조성물로 면역시킨 후에 수득되는 우월한 결과를 도시하는 도면이다.

<131> 도 2는 그 밖의 조성물과 비교해 볼때 본 발명의 조성물에 의해 유발된 우월한 대식구 자극을 도시하는 도면이다.

<132> 도 3은 본 발명의 조성물을 투여함으로써 유발된 종양 세포 용해를 도시하는 도면이다.

산업상 이용가능성

<133> 본 발명에 따른 결합제를 포함하는 조성물은 면역원성 또는 치료적 양의 1종의 이상의 본 발명의 결합제를 함유하는 조성물이 특히 유용하다. 면역원성 또는 치료적 양은 숙주에서 체액성, 세포성 또는 조합된 체액성 및 세포성 특성의 면역 반응을 자극하는 양이다. 숙주 면역 반응은 결합제가 결합하는 에피토프와는 상이한 종양 관련 항원에 있는 에피토프에 대해 증가된 활성을 포함한다. 본 발명의 조성물은 악성 종양의 발달에 대한 위험에 있는 피검체 또는 악성 종양의 진단을 보이는 피검체에게 항-종양 백신으로서 투여된다. 이들 조성물은 면역 반응을 유도하는 약제학적 조성물로 제조하기 위해 사용될 수 있다.

(57) 청구의 범위

청구항 1

숙주 혈청에 존재하는 다중 에피토프성 생체내 항원상의 제 1 에피토프에 대해 특이적인 결합제를 포함하는 치료 조성물로서, 항원 자체는 효과적인 숙주 면역 반응을 유도하지 않으나, 조성물중에 존재하는 결합제가 방사성 표지되지 않고 항원상의 제 1 에피토프에 특이적으로 결합하여 결합제/항원 쌍을 형성시킴으로써, 효과적인 숙주 면역 반응이 항원상의 제 2 에피토프에 대해서 유도되는 치료 조성물에 있어서, 항원이 CA125이고, 결합제가 유린 단클론성 항체 B43.13인 난소암 치료 조성물.

청구항 2

숙주 혈청에 존재하는 다중 에피토프성 생체내 항원상의 에피토프에 대해 특이적인 결합제를 포함하는 치료 조성물로서, 항원 자체는 효과적인 숙주 면역 반응을 유도하지 않으나, 결합제가 방사성 표지되지 않고 숙주 체중 1kg 당 0.14g 내지 2mg의 양으로 조성물중에 존재하고 항원상의 에피토프에 특이적으로 결합하여 결합제/항원 쌍을 형성시킴으로써, 효과적인 숙주 면역 반응이 항원에 대해서 유도되는 치료 조성물에 있어서, 항원이 CA125이고, 결합제가 유린 단클론성 항체 B43.13인 난소암 치료 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서, 숙주 면역 반응이 세포성과 체액성 면역 반응, 체액성 면역 반응 및 세포성 면역 반응으로 이루어진 군으로부터 선택됨을 특징으로 하는 난소암 치료 조성물.

청구항 4

제 2항에 있어서, 숙주 면역 반응이 세포성과 체액성 면역 반응, 체액성 면역 반응 및 세포성 면역 반응으로 이루어진 군으로부터 선택됨을 특징으로 하는 난소암 치료 조성물.

청구항 5

제 1항에 있어서, 숙주 혈청중의 CA125의 수준이 100U/ml를 초과함을 특징으로 하는 난소암 치료 조성물.

청구항 6

제 2항에 있어서, 숙주 혈청중의 CA125의 수준이 100U/ml를 초과함을 특징으로 하는 난소암 치료 조성물.

청구항 7

제 1항에 있어서, 결합제가 숙주의 체중 1kg 당 0.1 μ g 내지 2mg의 양으로 조성물중에 존재함을 특징으로 하는 난소암 치료 조성물.

청구항 8

제 1항에 있어서, 결합제가 숙주의 체중 1kg 당 1 내지 200 μ g의 양으로 조성물중에 존재함을 특징으로 하는 난소암 치료 조성물.

청구항 9

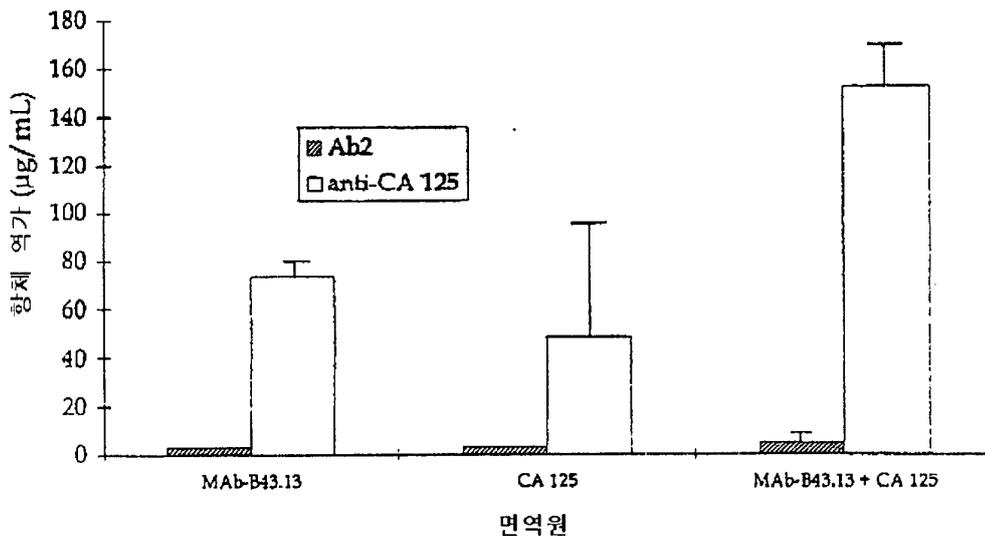
제 2항에 있어서, 결합제가 숙주의 체중 1kg 당 1 내지 200 μ g의 양으로 조성물중에 존재함을 특징으로 하는 난소암 치료 조성물.

청구항 10

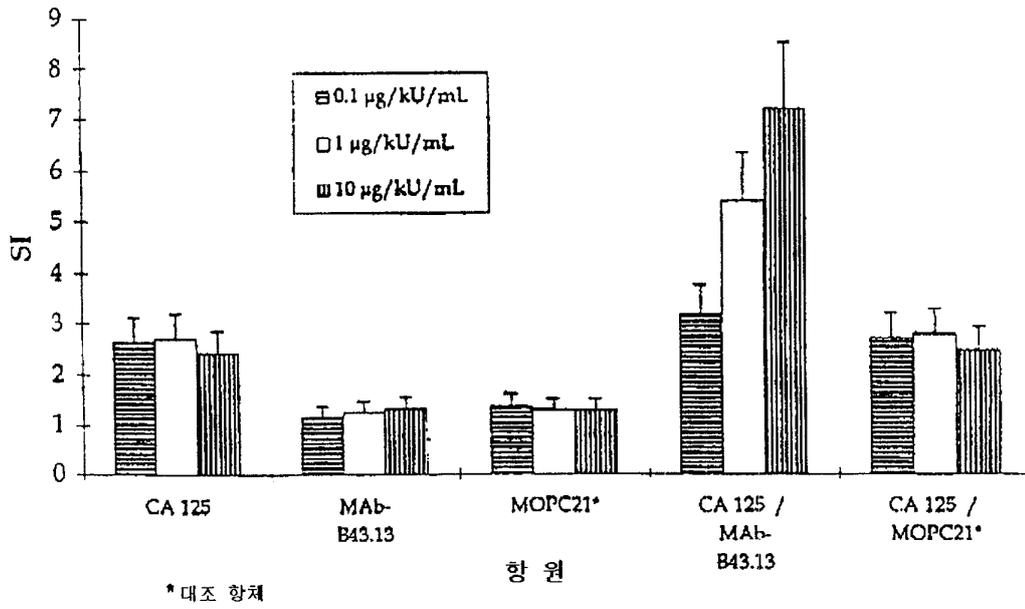
제 1항, 제 9항 중 어느 한 항에 있어서, 1가지 이상의 보조제, 1가지 이상의 담체, 1가지 이상의 부형제, 1가지 이상의 안정제, 1가지 이상의 이미징화제, 1가지 이상의 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 생리학적으로 허용되는 식염을 추가로 포함함을 특징으로 하는 난소암 치료 조성물.

요약

본 발명은 결합 시약을 가용성 항원과 접촉시켜 면역 반응을 개시 및/또는 증강시키기 위한 방법 및 조성물에 관한 것으로서, 결합 시약-항원 쌍은 항원에 대한 면역 반응을 발생시킨다.

대표도**도1****도면****도면1**

도면2



도면3

