

최신평특허동향 - 항체이용 기술



리앤리국제특허법률사무소 이한영 변리사

I. 항체이용 기술의 개요

항체가 외부에서 침입한 항원 또는 내부의 이상 발현된 항원에 대해 인체를 보호하기 위하여 인간의 면역체계에서 생산, 분비되는 혈장 단백질을 의미한다면, 항체이용 기술은 이 항체를 이용하여 각종 질환 등의 진단 및 치료를 위해 항체의 효능, 인체 적합성을 향상시키기 위한 기술 및 이로부터 개발된 항체 자체, 그리고 그러한 항체를 외부에서 대량으로 생산하기 위한 모든 기술을 포괄하는 개념으로 볼 수 있다.

항체이용 기술은 크게 진단용 항체, 항체제작 및 개량 기술, 항체생산 기술 및 치료용 항체로 분류할 수 있다. 또한, 진단용 항체는 암, 면역성 질환 및 바이러스성 질환으로 구분하고, 항체 제작 및 개량기술은 인간화 항체 제작기술(CDR-Grafting, CDR-Walking 및 Deimmunization), 인간항체 제작기술(Display 및 Transgenic mouse 이용기술) 및 항체효능향상 기술(Immunoconjugate, Fc-engineering, Molecular evolution 및 Affinity maturation)로 구분하며, 항체생산 기술은 세포배양 및 형질전환 동·식물 이용 기술로 구분하고, 치료용 항체는 키메라 항체, 인간화 항체, 인간항체 및 임상 3상으로 구분한다. 이러한 항체이용 기술의 산업동향 및 시장동향은 다음 (표 1)과 같이 요약될 수 있다.

표 1: 항체이용 기술의 산업동향 및 시장동향

대분류	중분류	산업동향 및 시장동향
진단용 항체		암, 면역성 질환, 바이러스성 질환의 진단, 임신 및 배란기 진단, 마약검사용 등에 적용. 현재 150 가지 이상의 단일클론 항체들이 미국 FDA에서 진단시약으로 허가받았으며, 우리나라에서도 B형 간염진단, 혈액형 검사, 임신진단, 백혈병 진단을 위한 시약들이 개발되어 산업화되고 있음.
항체제작 및 개량 기술	인간화 항체	1988년 영국의 Winter 박사에 의해 개발된 CDR-Grafting 기술이 최초의 인간화 항체제작 기술. 인간화 항체의 친화력 향상을 위한 CDR-Walking 기술과 면역원성 감소를 위한 Deimmunization 기술의 개발로 인간화 항체의 문제점을 상당부분 개선.
	인간항체	단일클론 인간항체는 인체에서 유래한 항체서열을 가지고 있어 인체 투여시 면역원성이 거의 없을 것으로 예상되므로 치료용으로 이상적인 형태임. 현재 Display 기술과 Transgenic mouse 이 용기술을 통해 인간 단일클론 항체를 제작하고 있음.
	항체효능 향상기술	제작된 항체의 낮거나 부적절한 친화도, toxin 등과의 결합 또는 ADCC 효율제고를 통한 효능향상 등을 위해 Immunoconjugate, Fc-engineering, Molecular evolution, Affinity maturation 등의 기술이 사용되고 있음.
항체생산 기술	세포배양	항체 생산에 가장 많이 사용되는 방법. 유전자 증폭을 이용한 세포주 선별법에 의해 생산세포주의 생산성을 높이는 방법이 주로 사용되고 있음.
	형질전환 동·식물	초기 설비투자비가 적게 소요되고, 비교적 경제적으로 항체를 대량 생산할 수 있다는 장점을 가지고 있음. 초기 set-up 기간이 길다는 단점이 있고, 인허가문제 등의 해결부담이 남아 있음.
치료용 항체	키메라 항체	가변영역으로 mouse 유래의 항체서열을, 불변영역으로 인간유래 항체서열을 사용하여 제작됨. Reopro, Remicade, Rituxan, Zevalin, Erbitux가 FDA의 승인을 받아 시판중임.
	인간화 항체	CDR-Grafting, CDR-Walking 및 Deimmunization 기술에 의해 인간화 항체의 제작 및 개량이 이루어지고 있음. Herceptin, Synagis, Zenapax, Mylotarg, Campath, Enbrel, Xolair, Raptiva가 FDA의 승인을 받아 시판중임.
	인간항체	Display 기술에 의해 제작된 Humira가 FDA의 승인을 받은 현재까지 유일한 인간항체.
	임상3상항체	난소암 치료제 OvaRex가 임상 3상단계 진행중

II. 핵심분야별 기술발전 추이

1. 항체제작 및 개량 기술

(1) 인간화 항체

초기의 마우스에서 제작된 단일클론 항체는 HAMA (human anti-mouse antibody) 반응을 유발하여, 반복 투여시 치료효과가 급감하는 치명적인 단점이 있었는데, 항원과의 결합부위인 V영역에는 마우스 유전자를 사용하고, 항체로서의 기능을 나타내는 C영역에는 특정 isotype의 사람 유전자를 사용하여 키메라 항체를 제작하는 기술이 개발되었다. 그러나, HAMA와 유사한 HACA(human anti-chimeric antibody) 반응을 유발함으로써, 치료용으

로 반복 사용하기에는 여전히 문제를 가지고 있었다. 이후, 마우스 단일클론 항체의 CDR과 인간항체의 FR영역을 재조합시켜 항체를 만드는 CDR-Grafting 기술을 통해 제작된 인간화 항체는 면역원성의 문제가 상당부분 해결되어, 어느 정도의 반복적 투여가 가능하며, MRC사(USP5,225,539), Celltech사(USP5,859,205), Schering사(USP6,451,982) 등이 이 기술을 사용하여 치료용 항체를 개발하고 있다.

CDR의 구조에 영향을 주는 FR 영역의 몇몇 아미노산을 마우스 항체의 것으로 치환시킴으로써, 보다 높은 친화력을 가진 인간화 항체를 제작하는 기술인 CDR-walking은 PDL사(USP5,585,089; USP5,693,762; USP6,350,861), BTG International사(USP6,548,640), Genentech

사(USP6,639,055), Merck사(USP5,558,864) 등이 특허권을 가지고 있으며, CDR-walking 기술을 이용하여 인간화 항체를 제작하고 있다. 그러나, 이러한 기술로 개발된 인간화 항체는 마우스 유래의 서열을 10% 내외로 가지므로, 면역원성을 나타낼 가능성이 여전히 남아 있다.

Deimmunization은 이러한 인간화 항체의 면역원성을 제거하기 위하여 개발된 기술로서, T 세포의 에피토프 매핑을 통하여 각 가변영역에서 CDR과 관련된 에피토프의 위치와 이 서열내에서 중요한 잔기를 파악하고, 치환될 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변영역과 경쇄 가변영역을 고안한 다음, 생성된 항체를 생화학적 및 생물학적 방법으로 분석함으로써 최적의 항체를 선택하는 기술이다. 대표적으로 독일 Merck KGaA의 자회사인 Biovation 사(US2003/0153043)가 단일클론 항체의 면역원성을 감소시키기 위하여 이 기술을 적용하고 있다.

(2) 인간항체

인간항체는 100% 인간유래의 항체서열을 가지고 있어 면역원성에 관한 문제를 완전하게 해결할 수 있어, 이상적인 치료용 항체의 형태로 평가되고 있다. 이러한 인간항체를 제작하기 위하여, 파지 디스플레이(phage display) 기술, 리보솜 디스플레이(ribosome display) 기술 및 형질전환 마우스 이용기술 등이 사용되고 있다.

파지 디스플레이는 인간항체 라이브러리(human antibody library)를 제작하여 항체절편(Fab, ScFv)의 형태로 박테리오파지의 표면에 발현시킨 다음, 특정 항원에 대한 항체클론들을 선별하는 기술로서, MRC사와 CAT사(USP5,969,108; USP6,172,197; 2004/0157214; USP5,885,793; USP6,593,081), Affymax Technologies N.V.(USP5,427,908; USP5,580,717), Bioinvent사(USP6,027,930) 등에 의해 개선·발전되고 있다.

스위스 Zurich 대학의 Plückthun 교수 그룹은 항체제작을 위해 충분한 항체 라이브러리의 확보를 가능케하는 리보솜 디스플레이 기술을 개발하였고, (USP6,348,315; USP6,589,741), Morphosys사는 리간드에 결합하는 단백질을 in vivo상에서 선별하는 방법(USP5,514,548)을 개발하였다. 그리고, 이와 관련된 기술들이 개발되고 있다(USP6,6,20,587; US2002/0076692).

디스플레이 기술 외에도, 마우스의 Ig germline 유전자를 불활성화시키고 그 대신에 사람의 Ig germline 유전자를 이식한 형질전환 마우스를 제작한 다음, 이를 이용하여 인간항체를 제작하는 기술이 개발되었다. 형질전환에 의한 인간항체의 제작은 Abgenix, Inc. (USP5,939,598; USP6,673,986; USP6,114,598; USP6,162,963; USP6,657,103; USP6,075,181; USP6,150,584; US2004/0093622)와 GenPharm International사(USP5,569,825; USP5,545,806; USP5,661,016; USP5,633,425; USP5,877,397)에 의해 주도되고 있다.

(3) 항체효능향상 기술

면역원성에 관한 문제는 전술한 인간화항체 및 인간항체 제작기술로 상당부분 해결되었지만, 항체의 특성면에서는 여전히 개선의 여지가 있다. 이를 해결하기 위한 방편으로, Immunoconjugate, Fc-engineering, Molecular evolution, Affinity maturation 등과 같은 방법이 고안되었다.

면역접합체(immunoconjugate)란 항체에 화학물질(chemicals), 독소(toxin) 및 방사성핵종(radionuclide)을 결합시킨 것으로, 환원제에 의해 끊어지는 S-S결합(disulfide bond), 또는 아미드 결합(amide bond) 혹은 티오에테르 결합(thioether bond)과 같이 환원제의 영향을 받지 않는 결합을 통한 두 물질의 결합에 의해 제작된다. 따라서, Immunoconjugate 관련 특허는 대부분 그 링커 기술에 해당되며, 안정되면서 목적에 맞는 치료 효과를 가지는 링커의 개발이 주요 발명을 이루고 있고, NeoRx Corporation(USP4,981,979), Immunomedics, Inc.(USP5,541,297; USP5,601,825; USP5,443,953), Eli Lilly(USP5,643,573) 등에 의해 개발·발전되고 있다. 특히, Seattle Genetics사(US2003/0096743)는 Immunoconjugate 기술을 제품에 적용시켜 활발하게 기술 및 제품을 개발하고 있다. 이 기술을 사용하여 완성된 치료용 항체로는 Zevalin(방사성 동위원소 결합항체) 및 Mylotarg(화학적 제제 결합 항체)가 있으며, 현재 임상단계에 있는 것으로는 Bexxar, Cotara, SGN-15 등이 있다.

Fc-engineering은 항체의 Fc부위를 point mutation, 당화(glycosylation) 등의 방법을 통해 구조적 변화를 일으키

는 기술로서, 항체의 인체내 효능향상을 목적으로 크게 두 가지 기술이 대두되고 있는데, 글리코엔지니어링(glycoengineering)을 통해 Fc 영역에 붙는 당의 종류를 조절함으로써 항체의 치료효과를 향상시키는 기술과 Fc 영역의 아미노산 조성을 변화시켜 항체의 인체내 치료 효능을 향상시키는 기술이 그것이다. 전자의 기술은 Glycart Biotechnology AG사(USP6,602,684; US2004/0072290)와 일본의 Kyowa Hakko Kogyo사(US2003/0115614) 등이 개발·응용에 참여하고 있으며, 후자의 기술은 Genentech 사(USP6,194,551), Xencor사(US2004/0110226; US2004/0132101) 등이 개발·응용에 참여하고 있다.

Molecular evolution은 DNA random shuffling을 포함하는 항체의 친화도 등을 높일 수 있는 모든 기술을 포함하는데, 본 기술은 Maxygen사와 AME사(USP5,763,192; USP5,723,323; USP5,976,862)의 주도하에 개발·응용되고 있다.

한편, Affinity maturation은 분리된 항체클론(antibody clone)들의 CDR 및 FR의 잔기를 변이시킨 후, 디스플레이 기술을 사용하여 항원에 대한 친화력이 보다 높은 인간항체클론들을 다시 선별하는 기술로서, 디스플레이 기술에 의해 제작된 인간항체의 낮은 항원 결합력을 증가시키기 위하여 개발된 것이다. The Trustees of Columbus University in the City of New York(USP6,218,149), The Reagents of the University of California(USP5,977,322), Genentech사(USP5,994,511; US2003/0120044; US2004/0162413) 등이 이 기술의 개발·응용에 참여하고 있다.

2. 치료용 항체

(1) 키메라 항체

Centocor사와 Eli Lilly사에 의해 개발된 ReoPro는 비인간 항원 결합부위와 인간 불변영역으로 구성된 혈소판-특이적 키메라 항체로서, GPIIb/IIIa 수용체에 결합하여 리간드와 수용체 사이의 결합을 방해하고 혈소판의 응집(platelet aggregation)을 방지함으로써, 관상동맥성형술 중에 혈전의 생성을 방지하는 효과를 가져, 이를 치료용으로 이용하게 되었다(USP5,336,618; USP5,387,413;

USP5,440,020; USP5,770,198; USP5,976,532; USP5,877,006). 중요한 염증반응 전달자인 혈관내 또는 세포막표면의 TNF- α 에 결합하여 그 활성을 중화시킴으로써, 류머티스 관절염이나 Crohn's 병을 치료하는 효과를 가진 항-TNF- α 항체인 Remicade 역시 키메라 항체로서 Centocor사에 의해 개발되었다(US2003/0187231). 이 외에, CD20 항원에 대하여 특이적으로 결합하는 치료용 항체인 anti-CD20 antibody인 Rituxan, 암세포의 표면에 존재하는 EGF 수용체에 결합하여 암세포의 성장을 저해함으로써 암세포의 사멸을 유발하는 항-EGFR 항체인 Erbitux(USP4,943,533) 등이 있다.

(2) 인간화 항체

HER-2/neu 단백질에 결합하여 암세포의 성장을 억제하는 유방암 치료제인 Herceptin은 Genentech사에 의해 개발되었고(US2002/0192211), 유아의 폐렴 및 세기관지염의 주요원인이 되는 RSV의 표면에 존재하는 단백질에 결합하여 RSV를 중화시키는 항체로, CDR-Grafting 기술을 사용하여 제작된 인간화 항체인 Synagis는 MedImmune사에 의해 개발되었다(USP6,656,467; US2004/0131609). Zenapax는 Protein Design Labs에 의해 개발되어 1997년 FDA 승인을 받은 신장이식 거부반응 억제제로, IL-2 수용체의 α 서브유닛(CD25)에 결합하여 IL-2 수용체와 IL-2 사이의 결합을 방해함으로써, 관해유도요법(induction therapy)에 사용되는 이식 거부반응 억제효과를 가지는 인간화 항체이다(USP5,530,101; USP5,585,089; USP6,013,256). 골수성 백혈병 세포에서 발현되는 당단백질 CD33 항원에 특이적으로 결합하는 항체에 항종양 항생제인 칼리키마이신(calicheamicin)을 접합시킨 재조합 인간화 항체로서, 기존의 면역억제제인 OKT3의 인간화 항체인 Mylotarg는 Wyeth-Ayerst Research사와 Celltech사에 의해 개발되었다(USP5,773,001; USP5,877,296). Campath는 Millenium Pharmaceuticals사와 Schering AG사에 의해 2001년 FDA의 승인을 받은 B 세포 만성 림프구 백혈병(B-CLL) 치료제로, 악성 림프구의 CAMPATH-1(CDw52) 항원에 결합하여 세포를 용해시킴으로써, 혈액, 골수 및 다른 기관에서 악성 림프구를 제거하는 인간화 항체이다(USP6,120,766; USP5,846,

표 2: 치료용 항체 제품1

제 품	개발 및 판매회사	용 도	FDA 승인
ReoPro	Centocor, Inc./Eli Lilly	PTCA 후 혈관 재협착 예방	1994
Remicade	Centocor, Inc.	Crohn's 병과 관절염 치료	1998
Rituxan	Genentech, Inc.	비호지킨성 림프종 치료	1997
Zevalin	Biogen Idec	비호지킨성 림프종 치료	2002
Erbitux	Imclone	직장결장암 치료	2003
Herceptin	Genentech, Inc.	유방암 치료	1998
Synagis	MedImmune	RSV 감염 예방	1998
Zenapax	Hoffmann-La Roche/PDL	신장이식 거부반응 억제	1997
Mylotarg	Wyeth-Ayerst	면역 억제	2000
Campath	Millenium Pharm./Schering AG	B 세포 만성 림프구 백혈병 치료	2001
Enbrel	Immunex/Wyeth-Ayerst	관절염 치료	1998
Xolair	Tanox/ Novartis/Genentech	천식	2003
Raptiva	Xoma/ Genentech	건선	2003
Humira	CAT/ Abott	관절염 치료	2002

534; USP6,569,430). 이 외에, 류머티스 관절염 치료제인 Enbrel(USP5,605,690; USP6,036,978), 천식치료제인 Xolair(USP6,685,937) 및 건선(psoriasis) 치료용 항체인 Raptiva(USP6,037,454; USP6,703,018) 등이 대표적인 치료용 인간화 항체이다.

(3) 인간항체

Humira는 Cambridge Antibody Technology(CAT)사와 Abott사에 의해 2002년 FDA의 승인을 받은 관절염 치료제로, 인간에서 유래한 중쇄 및 경쇄의 가변영역과 인간 IgG1K 로 구성된 최초의 인간항체이고, TNF에 결합하여 류머티스 관절염을 치료하는 효과를 나타낸다(USP6,090,382; USP6,258,562; USP6,509,015; US2003/0092059; US2003/0219438).

(4) 임상3상 항체

OvaRex는 Altarex사에 의해 개발되어 현재 임상 3상 중에 있는 난소암 치료용 항체이다. 난소암 환자의 경우, 암세포에서 CA125의 발현이 현저하게 증가한다. 이러한 CA125에 특이적으로 결합하여 치료대상의 면역반응을 유발·증폭시킴으로써 난소암을 치료하도록 고안된 마우

스 단일클론 항체가 OvaRex이다(USP6,241,985; USP6,086,873; US2001/0036457).

상술한 치료용 항체 제품들을 아래에 표로 정리하였다(참조: 표 2).

III. 항체이용 기술의 시장전망

개발 초기의 치료용 항체 제품은 암이나 면역 질환 치료제에 집중되어 있었으나, 최근에 개발된 제품은 관절염, 천식, 심혈관 질환 등으로 다양하게 그 범위를 넓혀나가고 있다. 치료용 항체는 항암분야의 경우 전체 항암제의 25%, 면역질환 분야의 경우 전체 시장의 35%를 차지할 것으로 전망되며, 현재의 시장 규모는 2000년 22억 달러에서 연간 17 내지 19%의 성장율을 가지면서, 2010년 140억 달러 이상이 될 것으로 예상된다. 또한, 휴먼게놈 프로젝트가 완료되고, 포스트게놈 연구를 통해 수많은 질병 관련 유전자들이 규명됨에 따라, 치료용 항체 및 진단용 항체 시장은 엄청난 규모로 확대될 것으로 전망되고 있다. ㉞