(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년04월16일
(11) 등록번호 10-2101478
(24) 등록일자 2020년04월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/10 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
C12N 5/071 (2010.01)
(21) 출원번호 10-2014-7006215
(22) 출원일자(국제) 2012년08월09일
심사청구일자 2017년08월09일
(85) 번역문제출일자 2014년03월07일
(65) 공개번호 10-2014-0067027
(43) 공개일자 2014년06월03일
(86) 국제출원번호 PCT/US2012/050146
(87) 국제공개번호 WO 2013/023059
국제공개일자 2013년02월14일
(30) 우선권주장
61/522,009 2011년08월10일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
US05962672 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
란케나우 인스티튜트 포 메디칼 리서치
미국 19096 펜실베니아주 위니우드 이스트 란카스터 애버뉴 100
(72) 발명자
로리-클레인텁 리사
미국 19002 펜실베니아주 앰블러 헨드릭스 스트리트 232
맨딕-나약 라우라
미국 19462 펜실베니아주 플리마우스 미팅 홀리 코트 907
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김태홍, 김진희

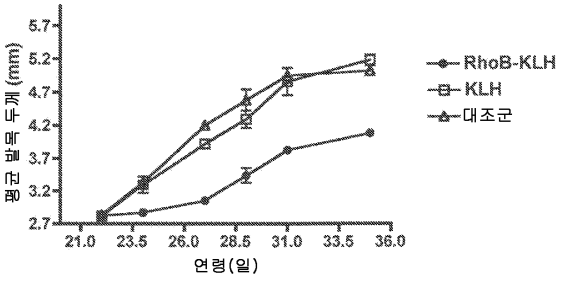
전체 청구항 수 : 총 13 항 심사관 : 김지윤

(54) 발명의 명칭 **자가면역 및 염증성 질환의 치료를 위한 방법 및 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 자가면역 및 염증성 질환의 치료를 위한 조성물 및 방법에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

프렌더가스트 조지 씨.

미국 19072 펜실베니아주 펜 밸리 라이터스 밀 로드 112

두하다웨이 제임스

미국 19809 델라웨어주 윌밍턴 벨폰트 애비뉴 800

명 세 서

청구범위

청구항 1

항-RhoB 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 포함하는, 염증성 또는 자가면역 질환을 치료하기 위한 조성물로서,

상기 항-RhoB 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 항-RhoB 항체 7F7 또는 항-RhoB 항체 9G5의 모든 6개 CDR 도메인을 포함하고, 상기 항-RhoB 항체 7F7은 서열번호 10 및 12를 포함하는 단클론 항체이고, 상기 항-RhoB 9G5는 서열번호 14 및 16을 포함하는 단클론 항체인 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 항-RhoB 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열번호 10 및 12를 포함하는 단클론 항체 또는 서열번호 14 및 16을 포함하는 단클론 항체인 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 약학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함하는 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 염증성 또는 자가면역 질환은 류마티스 관절염인 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 염증성 또는 자가면역 질환은 제I형 당뇨병, 루프스, 또는 중증 근무력증인 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 항염증제를 추가로 포함하는 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 면역억제제를 추가로 포함하는 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 염증성 또는 자가면역 질환은 적어도 부분적으로 자기항체 매개되는 것인 조성물.

청구항 9

RhoB에 대해 면역학적으로 특이적인 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편으로서,

상기 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 항-RhoB 항체 7F7 또는 항-RhoB 항체 9G5의 모든 6개 CDR 도메인을 포함하고, 상기 항-RhoB 항체 7F7은 서열번호 10 및 12를 포함하는 단클론 항체이고, 상기 항-RhoB 9G5는 서열번호 14 및 16을 포함하는 단클론 항체인, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열번호 10 및 12를 포함하는 단클론 항체 또는 서열번호 14 및 16을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 11

서열 번호 1의 서열로 이루어진 단리된 펩티드.

청구항 12

담체 단백질에 작동가능하게 연결된 제11항의 펩티드를 포함하는 접합체.

청구항 13

항-RhoB 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 포함하는, 혈청 내 면역글로불린의 증가된 농도와 관련된 병태 또는 장애를 치료하기 위한 조성물로서,

상기 항-RhoB 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 항-RhoB 항체 7F7 또는 항-RhoB 항체 9G5의 모든 6개 CDR 도메인을 포함하고, 상기 항-RhoB 항체 7F7은 서열번호 10 및 12를 포함하는 단클론 항체이고, 상기 항-RhoB 9G5는 서열번호 14 및 16을 포함하는 단클론 항체이고, 상기 병태 또는 장애는 고감마글로불린혈증 또는 의미불명 단클론성 감마병증(monoclonal gammopathy of undetermined significance)인 조성물.

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 출원은 35 U.S.C. §119(e) 하에서 미국 가 특허 출원 번호 제61/522,009호(2011년 8월 10일 출원)의 우선권을 주장한다. 상기 출원은 본원에 참고 인용된다.

[0002] **발명의 분야**

[0003] 본 출원은 일반적으로 자가면역 및 염증성 질환 분야에 관한 것이다. 구체적으로는, 본 발명은 병적 측면에서 자가면역 및/또는 염증성 요소를 갖는 질환의 치료를 위한 신규 조성물 및 방법을 제공한다.

배 경 기 술

[0004] 자가면역 질환은 유기체가 자신의 구성 요소를 "자신"으로 인지하는 데 실패하여, 이로 인해 자신의 세포 및 조직에 대해 면역 반응을 일으키게 되었을 때 발생한다. 다시 말해, 몸이 실제로 자신의 세포를 공격하는 것이다. 면역계는 신체의 어떤 부분을 병원체로서 오인하고 이를 공격하게 된다. 자가면역 질환의 현행 치료는 통상 비정상 면역 반응의 손상을 감소시키는 비질환 변성 항염증제에 의한 면역억제 및/또는 대증요법을 포함한다. 하지만, 자가면역 장애와 관련된 병적 측면의 개시를 억제하고/하거나 지연시키는 방법 및 조성물이 필요한 실정이다.

발명의 내용

[0005] 본 발명의 일 측면에 따르면, 병적 측면에서 자가면역 및/또는 염증성 요소를 갖는 자가면역 및/또는 염증성 질환 및/또는 질환의 개시의 억제, 치료, 및/또는 예방을 필요로 하는 환자에서 병적 측면에서 자가면역 및/또는 염증성 요소를 갖는 자가면역 및/또는 염증성 질환 및/또는 질환의 개시를 억제, 치료, 및/또는 예방하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 하나 이상의 RhoB 억제제의 투여를 포함한다. 특정 구체예에서, RhoB 억제제는 RhoB 또는 이의 펩티드 단편에 면역학적으로 특이적인 항체 또는 항체 단편이다. 특정 구체예에서, RhoB 억제제는 항체, 항체 단편, 펩티드 단편 또는 항체의 CDR 영역 및 CDR에 의해 인식되는 에피토프의 화학적 또는 생물학적 모사체의 구조적으로 관련되거나 유래된 소분자이다. 특정 구체예에서, RhoB 억제제는 RhoB 펩티드이다. 특정 구체예에서, 상기 방법은 하나 이상의 RhoB 펩티드 및/또는 RhoB 또는 이의 펩티드 단편에 면역학적으로 특이적인 항체 또는 항체 단편 및 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 조성물의 투여를 포함한다. 특정 구체예에서, 상기 방법은 하나 이상의 RhoB 억제제(예, RhoB 또는 이의 펩티드 단편에 면역학적으로 특이적인 항체 또는 항체 단편)와 하나 이상의 항염증제 및/또는 면역억제제의 동시 및/또는 순차 투여를 추가로 포함한다.

[0006] 염증성 또는 자가면역 질환의 억제, 치료, 및/또는 예방을 위한 조성물이 또한 제공된다. 상기 조성물은 하나 이상의 RhoB 억제제 및 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 담체를 포함한다. 특정 구체예에서, RhoB 억제제는 RhoB 또는 이의 펩티드 단편에 면역학적으로 특이적인 항체 또는 항체 단편이다. 특정 구체예에서, RhoB 억제제는 RhoB 펩티드이다. 또다른 구체예에서, 상기 조성물은 하나 이상의 항염증성 화합물 및/또는 하나 이상의 면역억제성 제제(immunosuppressive agent)를 추가로 포함한다.

[0007] 본 발명은 또한 항-RhoB 항체, (예를 들어 항체 발생을 위한) RhoB 펩티드, 또는 항체, 항체 단편, 펩티드 단편 또는 항체의 CDR 영역 및 CDR에 의해 인식되는 에피토프의 화학적 또는 생물학적 모사체의 구조적으로 관련되거나 유래된 소분자, 및 이를 포함하는 조성물을 제공한다.

[0008] 본 발명의 일 측면에 따르면, 혈청 내 면역글로불린 농도 증가와 관련된 병태 또는 장애(예, 고감마글로불린혈증 또는 의미불명 단클론 감마병증(monoclonal gammopathy of undetermined significance))의 억제, 치료, 및/또는 예방을 필요로 하는 환자에서 혈청 내 면역글로불린 농도 증가와 관련된 병태 또는 장애(예, 고감마글로불린혈증 또는 의미불명 단클론 감마병증)를 억제, 치료, 및/또는 예방하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 본원에 기술된 하나 이상의 RhoB 억제제의 투여를 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0009] 도 1은 항-RhoB-펩티드 혈청, 항-KLH 혈청, 또는 담체 단독으로 치료된 K/BxN 마우스의 시간에 따른 평균 발목 두께의 그래프이다.

도 2a는 항-RhoB-펩티드 혈청, 항-KLH 혈청, 또는 담체 단독으로 치료된 K/BxN 마우스로부터의 혈청 항-글루코스-6-포스페이트 이소머라제(GPI) Ig의 역가 그래프이다. 도 2b는 항-RhoB-펩티드 혈청, 항-KLH 혈청, 또는 담체 단독으로 치료된 K/BxN 마우스의 10^5 세포 당 항-GPI 분비 세포 수의 그래프이다.

도 3에는 인간 RhoB(서열 번호 3)의 아미노산 서열을 제공한다. 밑줄친 서열은 펩티드 1(서열 번호 1)이다.

도 4에는 하이브리도마 또는 이의 서브클론으로부터의 대조군 항체 또는 항-RhoB 항체의 존재 또는 부재 하에서 지질다당류(LPS)의 자극시 또는 이의 비자극시 IgM 분비의 그래프를 제공한다.

도 5에는 RhoA(서열 번호 4) 및 RhoB(서열 번호 3)의 서열 정렬을 제공한다. 밑줄친 서열 및 박스친 서열은 RhoB 항체의 항원을 나타낸다.

도 6a에는 관절염의 개시 이전(21일 연령) 항-RhoB 단클론 항체 9G5 또는 7F7 또는 대조군 Ig로 치료된 K/BxN 마우스의 뒷 발목 두께 ± SEM의 그래프를 제공한다. 도 6b 및 6c에는 각각 항-GPI 자기항체 역가 및 마우스의 항-GPI 항체 분비 세포(ASC)의 수의 그래프를 제공한다.

도 7a에는 4주 연령에서 관절염의 개시 후 항-RhoB 단클론 항체 9G5 또는 대조군 Ig로 치료된 K/BxN 마우스의 장시간 과정에 따른 뒷 발목 두께 ± SEM의 그래프를 제공한다. 도 7b에는 4주 연령에서 관절염의 개시 후 항-RhoB 단클론 항체 9G5 또는 7F7 또는 대조군 Ig로 치료된 K/BxN 마우스의 보다 단시간의 과정에 따른 뒷 발목 두께 ± SEM의 그래프를 제공한다.

도 8a에는 관절염에 걸린 RhoB KO 마우스(RhoB KO KRN.g7)의 뒷 발목 두께 ± SEM의 그래프를 제공한다. 도 8b에는 0일에 KRN B6.g7 또는 RhoB KO KRN B6.g7 마우스로부터 혈청 전달을 수용한 미치료 C57BL/6 마우스의 뒷 발목 두께 ± SEM의 그래프를 제공한다. 도 8c에는 0일에 관절염에 걸린 K/BxN 마우스로부터 혈청 전달을 수용한 미치료 야생형 또는 RhoB KO C57BL/6 마우스의 뒷 발목 두께 ± SEM의 그래프를 제공한다.

도 9a에는 7F7의 경쇄의 뉴클레오티드(서열 번호 9) 및 아미노산(서열 번호 10) 서열을 제공한다. 도 9b에는 7F7의 중쇄의 뉴클레오티드(서열 번호 11) 및 아미노산(서열 번호 12) 서열을 제공한다. 수직선은 도메인 사이의 경계를 나타낸다. 볼드체 - 가변 영역 (V); 밑줄친 부분 - 결합 영역 (J); 이탈릭체 - 다양성 영역 (D); FWR - 골격 영역; CDR - 상보성 결정 영역.

도 10a에는 9G5의 경쇄의 뉴클레오티드(서열 번호 13) 및 아미노산(서열 번호 14) 서열을 제공한다. 도 10b에는 9G5의 중쇄의 뉴클레오티드 (서열 번호 15) 및 아미노산 (서열 번호 16) 서열을 제공한다. 수직선은 도메인 사이의 경계를 나타낸다. 볼드체 - 가변 영역 (V); 밑줄친 부분 - 결합 영역 (J); 이탈릭체 - 다양성 영역 (D); FWR - 골격 영역; CDR - 상보성 결정 영역.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0010] RhoB에 대해 작용하는 단클론 항체를 생성하는 안정한 하이브리도마를 생성하고 유지하는 것은 어려운 일이다. 하이브리도마를 수득하려는 동안, 가장 적절한 하이브리도마는 죽거나 또는 항-RhoB 항체의 분비를 중지하는 것으로 관찰되었다. 이러한 관찰은 RhoB에 대한 항체가 B 세포에서 항체 생성을 억제할 수 있다는 가설로 이어지게 되었다. 여기서, RhoB에 대한 항체는 자극된 쥐과동물 B 세포로부터 면역글로불린의 분비를 억제할 수 있는 것으로 제시된다. 더하여, 여기서 RhoB에 대한 항체는 자기항체-주도된 류마티스 관절염(RA) 동물 모델에서 관절염의 개시를 지연시키고 이의 과정을 약화시키는 것으로 제시된다. 항체 생성을 차단하거나 또는 약화시키는 요법은 자기항체 생성의 결과인 질환 또는 질환 증상에 이로울 것이다.

[0011] 항-RhoB 항체의 투여는 질환 치료에 대한 비표적 측면에도 불구하고 용인되는 다른 항체 기반 요법과 유사할 수 있다. 비제한적 예는 항체 요법 항-TNF(인플릭시맙, 아달리무맙, 에타네르셉트), 항-CD20(리툭시맙), 및 항-BLyS(벨리무맙)를 포함한다. 이러한 요법은 일반적으로 염증을 둔화시키거나 또는 B 세포 또는 B 세포 작용을 근절한다. 이러한 요법을 용인하기 어려운 환자의 경우, 항-RhoB 항체는 또다른 치료적 옵션을 제공한다.

[0012] RhoB 항체의 투여는 독성 또는 부작용이 적거나 없을 수 있다. 특히, 유전적으로 RhoB가 부족한 마우스는 정상이며 항원 자극 또는 IgG 기억 형성에 반응하는 B 세포의 결핍을 비롯한 명백한 면역 결핍이 부족하다. RhoB 결핍 마우스가 정상적인 IgG 항체 반응을 생성하는 반면, 약하게 감소된 IgM 이차 반응을 나타낸다. 따라서, 항-RhoB 기법은 자가면역 항체의 생성에서 비정상적인 B 세포 작용을 지연시키는 것으로 보이지만, 이것은 표준(canonical) 항원 시험 후에도 정상 B 세포 작용에 지장을 주지 않는다. 특히, RhoB는 짧은 반감기를 갖는 스트레스 반응 단백질이어서, 특이적 항체 차단에 의해 기능적으로 저하될 뿐만 아니라 빠르게 격감된다.

[0013] RhoB는 세포내 단백질이다. 이론에 얽매이고자 하는 것은 아니지만, 항-RhoB 항체는 Fc 수용체를 통해 세포에 진입할 수 있다. 따라서, 이것은 Fc 수용체를 발현하는 세포만이 항-RhoB 항체 요법에 민감할 수 있기 때문에 독성 또는 부작용이 감소된다. 유사하게, 독성은 또한 현재 임상적으로 사용되는 비표적 면역조절제, 예컨대 덱사메타손, 프레드니손, 또는 탈리도마이드보다 낮아야 한다.

[0014] 본 발명은 항-RhoB 항체 요법을 개시하지만, RhoB(예, RhoB 활성 및/또는 발현)의 다른 억제제는 적소에 또는 항-RhoB 항체와 공조하여 사용될 수 있다. 예를 들면, RhoB 발현을 억제하는 핵산 분자, 예컨대 siRNA 및 안티센스 분자가 사용될 수 있다. 마이크로-RNA-21은 RhoB 발현을 감소시키는 것으로 확인된 바 있다(Sabatel et al. PLoS One (2011) 6:e16979). 추가적으로, 본원에서 확인된 RhoB 펩티드 서열 또는 RhoB 상의 상응한 에피토프와 상호작용하는 펩티드 서열 또는 CDR을 기초로 하는 구조적으로 관련된 소분자는 또한 특히 적절한 전달계에 연결될 경우 RhoB 활성의 억제제로서 작용할 수 있다.

[0015] RhoB의 항체 매개 분열은 B 세포와 관련된 염증성 세포 반응을 지연, 억제, 및/또는 둔화시킨다. 상기 언급된 바와 같이, RhoB에 대한 항체는 자기항체 생성 및/또는 분비의 결과인 질환 또는 질환 증상을 완화시키는 데 사용될 수 있다. 하지만, (예컨대, 거대분자(예, IgG 분자의 가변 영역)의 세포내 전달계를 통해 전달되는) 특이적 RhoB 표적 요법은 B 세포에 의해 체계화되는 세포내 염증성 신호를 저지하거나 또는 재유도하도록 고안될 수 있다. 이러한 방식으로, 항-RhoB 요법은 심혈관성 질환(CVD), 암, 당뇨병 또는 염증성 조직 환경에 의해 직접 또는 간접 지지될 수 있는 다른 주요 질환의 발병 원인이 되는 것으로 여겨지는 만성 염증의 원인이 되는 세포 유형, 예컨대 중간엽 세포(내피 세포, 근섬유아세포, 평활근 세포, 단핵구/대식세포)에 작용한다.

[0016] CVD에 있어서, 임상 전 연구에서는 RhoB가 스타틴에 의해 조절된다는 것이 확인되었고 스타틴의 "비콜레스테롤저하" 효과는 항염증성 작용에서 기인할 수 있다는 임상적 증거가 존재한다. 따라서, 항-RhoB 요법은 죽상동맥경화증을 제한하는 데 사용되거나 또는 새로운 치료적 옵션으로서 스타틴 또는 다른 항염증성 치료법과 조합될 수 있다. 다른 염증성 조직 환경에서, 항-RhoB는 또한 섬유아세포의 염증성 반응을 억제할 수 있다. 따라서, 항-RhoB 요법은, 예를 들어 피부, 간 또는 심장에서 조직 흉터의 원인이 되는 섬유증 반응을 둔화시킬 수 있다.

[0017] 당뇨병과 관련하여, 자기항체는 T 세포 유발 질환의 활성이 필요하다는 것이 확인되었다(Harbers et al. (2007) J. Clin. Invest., 117:1361-1369). 따라서, (예를 들어, 자기항체를 감소시키거나 억제함으로써) 자기항체가 T 세포의 활성을 막는 접근법의 개발은 자가면역 질환을 예방하거나 치료한다. 특히, CD20에 특이적인 항체는 B 세포의 서브세트를 고갈시킴으로써 당뇨병의 개시를 감소시킬 수 있다는 것이 입증된 바 있다(Hu et al. (2007) J. Clin. Invest., 117:3857-3867). 당뇨병 이외에도, 다른 자가면역 질환의 항체 매개 치료가 입증되었다. 예를 들면, 스핑고신 1-포스페이트 수용체에 대한 항체는 마우스 모델에서 대장염을 감소시키는 것으로 확인되었다(Liao et al. (2009) FASEB J., 23:1786-96).

[0018] 상기 언급된 바와 같이, 본 발명은 자가면역 질환 및/또는 염증성 질환을 억제, 치료, 및/또는 예방하는 조성물 및 방법을 제공한다. 특정 구체예에서, 본 발명의 방법에 의해 치료하고자 하는 자가면역 질환 또는 염증성 질환은 B 세포가 질환의 병리생리 및/또는 증상에 연관되는 것이다. 이러한 자가면역 질환 및 염증성 질환은 또한 B 세포 매개 자가면역 질환 또는 염증성 질환으로서 지칭될 수도 있다. B 세포는 여러 가지의 자가면역 또는 염증성 질환의 병리생리에서 역할을 하는 것과 연관되어 있다(예, 문헌[Browning, J.L. (2006) Nat. Rev. Drug Discov., 5:564-576] 참조).

[0019] 본원에 사용된 용어 "자가면역 질환"은 개체 내 자가면역 반응(자가항원 또는 자기항원에 대하여 작용하는 면역반응)의 존재를 지칭한다. 자가면역 질환은 획득(adaptive) 면역계가 자기 항원에 대해 반응하고 세포 및 조직 손상을 매개하도록 하는 자체 내성의 고장(breakdown)에서 기인된 질환을 포함한다. 특정 구체예에서, 자가면역 질환은 적어도 부분적으로는 체액성 면역 반응의 결과로서 특징지어진다.

[0020] 자가면역 질환의 예는, 비제한적 예로서, 급성 파종성 뇌척수염(ADEM), 급성 괴사성 출혈성 백질뇌염, 애디슨병, 무감마글로불린혈증, 알레르기 천식, 알레르기 비염, 원형 탈모증, 아밀로이드증, 강직성 척추염, 항체 매개 이식 거부반응, 항-GBM/항-TBM 신염, 항인지질항체 증후군(APS), 자가면역 혈관부종, 자가면역 재생불량성 빈혈, 자가면역 자율신경이상증, 자가면역 간염, 자가면역 고지혈증, 자가면역 면역결핍증, 자가면역 내이 질환(AIED), 자가면역 심근염, 자가면역 췌장염, 자가면역 당뇨망막병증, 자가면역 혈소판감소성자반병(ATP), 자가면역 갑상선 질환, 자가면역 두드러기, 액손 및 뉴런 신경장애, 발로병(Balo disease), 베체트병, 유천포창, 심근증, 캐슬맨병, 소아 지방변증, 샤가스병, 만성 피로 증후군, 만성 염증성 탈수초성 다발성 신경병증(CIDP), 만성 재발성 다초점 골수염(CRMO), 처그-스트라우스 증후군, 반흔성 유천포창/양성 점막 유천포창, 크론병, 코간 증후군, 한랭응집소병, 선천성 심장 차단, 콕사키(coxsackie) 심근염, 크레스트(CREST) 질환, 본

태성 혼합 한냉글로불린혈증(essential mixed cryoglobulinemia), 탈수초성 신경장애(demyelinating neuropathies), 포진성 피부염, 피부근염, 데빅병(시속신경수염), 원판상 루프스, 드레슬러 증후군(Dressler's syndrome), 자궁내막증, 호산성 근막염, 결절성 홍반, 실험적 알레르기성 뇌척수염, 에반스 증후군, 섬유근육통, 섬유성 폐포염, 거대 세포 동맥염(측두동맥염), 사구체신염, 굿패스쳐 증후군, 다발성맥관염 육아종증(GPA: granulomatosis with polyangiitis), 그레이브스병, 귈랑-바레 증후군, 하시모토 뇌염, 하시모노 갑상선염, 용혈성 빈혈, 헤노흐-쇤라인 자반병, 임신포진, 저감마글로부민혈증, 고감마글로불린혈증, 특발성 혈소판감소성자반병(ITP), IgA 신장병, IgG4 관련 경화성 질환, 면역조절 지질단백질, 포함체 근육염, 염증성 장 질환, 인슐린 의존형 당뇨병(제1형), 간질성 방광염, 소아 관절염, 소아 당뇨병, 가와사키 증후군, 이튼 람베르트 증후군, 백혈구파쇄성맥관염, 편평태선, 경화성태선, 목질결막염, 선상 IgA 질환(LAD), 루프스(SLE), 라임병, 메니에르병, 현미경 다발성맥관염, 혼합 결합 조직병(MCTD), 의미불명 단클론성 감마병증(MGUS), 잠식성각막궤양, 뮈샤 하버만 병, 다발성 경화증, 중증 근무력증, 근염, 기면증, 시속신경수염(데빅병), 호중구감소증, 안구반흔성 유천포창, 시신경염, 재발성 류마티즘, PANDAS(연쇄구균 감염 관련 소아기 자가면역성 신경정신과적 질환), 방종양성 소뇌 변성, 발작성 야간혈색소 요증(PNH), 안면편측 위축증, 파소네지(Parsonnage)-터너 증후군, 중간부 포도막염(pars planitis)(주변부 포도막염), 천포창, 말초신경병증, 정맥주위 뇌척수염(perivenous encephalomyelitis), 악성 빈혈, POEMS 증후군, 결절성다발성동맥염, 제I형, 제II형, 및 제III형 자가면역 다산성(polyglandular) 증후군, 다발성근육통 류마티즘, 다발성근염, 심근경색후증후군, 심막절개술후증후군, 프로게스테론 피부염, 원발담즙성간경변, 일차성 경화성 담관염, 건선, 건선성 관절염, 특발성 폐섬유증, 괴저성 농피증, 순수적혈구 무형성증, 레이노 현상, 반사성교감신경성이영양증, 라이터 증후군, 재발성 다발 연골염, 하지불안증후군, 후복막섬유증, 류마티스성 열, 류마티스 관절염, 유육종증, 시미트 증후군, 공막염, 강피증, 쇼그렌 증후군, 정자 및 고환 자가면역, 전신근강직 증후군(stiff person syndrome), 아급성세균성심내막염(SBE), 수작 증후군(Susac's syndrome), 교감성 안염, 타까야수동맥염, 측두동맥염/거대 세포 동맥염, 혈소판감소성자반병(TTP), 톨로사-헌트 증후군(Tolosa-Hunt syndrome), 횡단척수염, 궤양성 대장염, 미분화 결합 조직 질환(UCTD), 포도막염, 맥관염, 수포성 피부염(vesiculobullous dermatosis), 백반, 발덴슈트롬 마크로글로불린혈증(WM), 및 베게너 육아종증(다발성맥관염 육아종증(GPA))을 포함한다.

[0021] 특정 구체예에서, 자가면역 질환은 류마티스 관절염, 제1형 당뇨병, 전신 홍반성 루프스(루프스 또는 SLE), 중증 근무력증, 다발성 경화증, 강피증, 애디슨병, 유천포창, 심상성 천포창, 귈랑-바레 증후군, 쇼그렌 증후군, 피부근염, 혈전성 혈소판감소성자반병, 고감마글로불린혈증, 의미불명 단클론성 감마병증(MGUS), 발덴슈트롬 마크로글로불린혈증(WM), 만성 염증성 탈수초성 다발성근신경증(CIDP), 하시모토 뇌병증(HE), 하시모토 갑상선염, 그레이브스병, 베게너 육아종증, 및 항체 매개 이식 거부반응(예, 신장 이식과 같은 조직 이상의 경우)로 이루어진 군에서 선택된다. 특정 구체예에서, 자가면역 질환은 제1형 당뇨병, 루프스, 또는 류마티스 관절염이다.

[0022] 본원에 사용된 "염증성 질환"이란 염증에서 기인하거나 염증에서 발생하거나 염증을 유도하는 질환을 지칭한다. 용어 "염증성 질환"은 또한 비정상적인 조직 손상 및 세포사를 초래하는 대식세포, 과립구, 및/또는 T-림프구에 의한 과도한 반응에 의해 유발되는 조절이상(dysregulated) 염증성 반응을 지칭할 수도 있다. 특정 구체예에서, 염증성 질환은 항체 매개 염증성 과정을 포함한다. "염증성 질환"은 급성 또는 만성 염증성 병태일 수 있고 감염 또는 비감염성 원인에서 발생할 수 있다. 염증성 질환은, 비제한적 예로서, 죽상동맥경화증, 동맥경화증, 자가면역 장애, 다발성 경화증, 전신 홍반성 루프스, 다발성근육통 류마티즘(PMR), 통풍 관절염, 퇴행성 관절염, 건염, 활액낭염, 건선, 낭포성 섬유증, 관절골염, 류마티스 관절염, 염증성 관절염, 쇼그렌 증후군, 거대 세포 동맥염, 진행성전신성경화증(강피증), 강직성 척추염, 다발성근염, 피부근염, 천포창, 유천포창, 당뇨병(예, 제I형), 중증 근무력증, 하시모토 갑상선염, 그레이브스병, 굿패스쳐 질환, 혼합 결합 조직병, 경화성담관염, 염증성 장 질환, 크론병, 궤양성 대장염, 악성 빈혈, 염증성 피부병, 통상성 간질성 폐렴(UIP), 석면병, 규폐증, 기관지 확장증, 베릴륨중독, 활석증, 진폐증, 유육종증, 박리성간질성폐렴, 임파구성 간질성 폐렴, 거대 세포 간질성 폐렴, 세포 간질성 폐렴, 외인성 알레르기성 폐포염, 베게너 육아종증 및 맥관염 관련 형태(측두동맥염 및 결절성다발성동맥염), 염증성 피부병, 간염, 지연형 과민 반응(예, 옻중독), 폐렴, 기도 염증, 성인 호흡 장애 증후군(ARDS), 뇌염, 즉시성 과민 반응, 천식, 건초열, 알레르기, 급성 아나필락시스, 류마티스성 열, 사구체신염, 신우신염, 봉와직염, 방광염, 만성 담낭염, 국소 빈혈(허혈성 손상), 동종이식 거부반응, 숙주대이식편 거부반응, 맹장염, 동맥염, 안검염, 세기관지염, 기관지염, 자궁경관염, 담관염, 융모양막염, 결막염, 누선염, 피부근염, 심장내막염, 자궁내막염, 장염, 전장염, 상과염, 부고환염, 근막염, 결합조직염, 위염, 위장염, 치은염, 회장염, 홍채염, 후두염, 척수염, 심근염, 신염, 제염, 난소염, 고환염, 골염, 이염, 췌장염, 이하선염, 심낭염, 인두염, 늑막염, 정맥염, 간질성폐렴, 직장항문염, 전립선염, 비염, 난관염, 부비강염, 구내염, 활액막염, 고환염, 편도염, 요도염, 방광 감염(urocystitis), 포도막염, 질염, 맥관염, 음문염, 및 외음질염,

혈관염, 만성 기관지염, 골수염, 시신경염, 측두동맥염, 횡단척수염, 뇌사성 근막염, 및 뇌사성 전장염을 포함한다. 특정 구체예에서, 염증성 질환은 죽상동맥경화증, 동맥경화증, 자가면역 장애, 다발성 경화증, 전신 홍반성 루프스, 류마티스 관절염, 염증성 관절염, 및 심근염으로 이루어진 군에서 선택된다.

[0023] 본 발명은 또한 혈청 내 증가된 수준의 특정 면역글로불린과 관련된 병태 또는 장애, 예컨대 고감마글로불린혈증 또는 의미불명 단클론성 감마병증을 억제, 치료, 및/또는 예방하는 조성물 및 방법을 포함한다.

[0024] 본 발명의 또다른 구체예에서, Rho B 억제제, 예컨대 항-RhoB 항체는 개체에 투여되어 항체 분비에 의해 지속되는 암을 치료한다. 특정 구체예에서, 암은 혈액 종양, 예컨대 다발성 골수종이다. 또다른 구체예에서, 암은 고형 종양이다. 이론에 얽매이고자 하는 것은 아니지만, 항체 분비는 지원성 염증성 과정에 기여할 수 있다. 임상전 연구에서 RhoB는 염증성 종양 미세환경에서 항체 침착에 의존하는 것으로 입증된 바 있는 악성 진행에 필수적인 종양 혈관신생 및 신생림프관형성(lymphangiogenesis)을 지원하는 것을 확인하였다. 따라서, 항-RhoB는 치료 후 원발성 종양의 진행을 제한함으로써 재발을 예방하고 병의 차도를 연장시키는데 사용될 수 있다. 항-RhoB 요법은 또한 개체에게 투여하여 특정 유형의 암과 관련된 항체 매개 부종양 증후군을 치료할 수 있다. 비제한적 예로는 전신근강직 증후군, 안간대 간대성 근경련증(예, 유방암 내), 주변 뇌척수염, 및 당뇨망막병증(예, 폐암 내)을 포함한다.

[0025] 본 발명의 방법은 또한 자가면역 및/또는 염증성 질환을 치료하기 위해 하나 이상의 다른 제제의 투여를 포함한다. 이론에 얽매이고자 하는 것은 아니지만, 항-RhoB 항체의 투여는 자가면역 항체의 생성을 둔화시킨다. 따라서, 이러한 기술은 자가면역 질환 치료에 대한 질환 특이적 접근법을 대체하지 않는다.

[0026] 특정 구체예에서, 상기 방법은 하나 이상의 면역억제제를 투여하는 단계를 포함한다. 본원에 사용된 용어 "면역억제제" 및 "면역억제성 제제"는 면역 반응 또는 이와 관련된 증상을 억제하는 화합물 또는 조성물을 포함한다. 면역억제제는, 비제한적 예로서 퓨린 유사체(예, 아자티오프린), 메토트렉사트, 시클로스포린(예, 시클로스포린 A), 시클로포스파미드, 레플루노미드, 미코페놀레이트(미코페놀레이트 모페틸), 스테로이드(예, 글루코코티코이드, 코티코스테로이드), 메틸프레드니손, 프레드니손, 비스테로이드성 항염증성 약물(NSAID), 클로로퀸, 히드록시클로로퀸, 클로람부실, CD20 길항제(예, 리툭시맙, 오크렐리주맙, 벨투주맙 또는 오파투무맙), 아바타셉트, TNF 길항제(예, 인플릭시맙, 아달리무맙, 에타네르셉트), 마크로리드(예, 피메크롤리무스, 타크롤리무스(FK506), 및 시롤리무스), 디히드로에피안드로스테론, 레날리도미드, CD40 길항제(예, 항-CD40L 항체), 아베티무스 나트륨, BLys 길항제(예, 항-BLyS(예, 벨리무맙)), 다크티노마이신, 부실라민, 페니실라민, 레플루노미드, 머캅토퓨린, 피리미딘 유사체(예, 시토신 아라비노시드), 미조리빈, 알킬화제(예, 질소 머스타드, 페닐알라닌 머스타드, 부슬판, 및 시클로포스파미드), 엽산 길항제(예, 아미노프테린 및 메토트렉사트), 항생제(예, 라파마이신, 악티노마이신 D, 미토마이신 C, 퓨라마이신, 및 클로람페니콜), 인간 IgG, 항림프구 글로불린(ALG), 항체(예, 항-CD3(OKT3), 항-CD4(OKT4), 항-CD5, 항-CD7, 항-IL-2 수용체(예, 다클리주맙 및 바실릭시맙), 항-알파/베타 TCR, 항-ICAM-1, 무로노납-CD3, 항-IL-12, 알레무투주맙 및 면역독소에 대한 항체), 1-메틸트립토판, 및 이의 유도체 및 유사체를 포함한다. 특정 구체예에서, 면역억제제는 메토트렉사트, 히드록시클로로퀸, CD20 길항제(예, 리툭시맙, 오크렐리주맙, 벨투주맙 또는 오파투무맙), 아바타셉트, TNF 길항제(예, 인플릭시맙, 아달리무맙, 에타네르셉트), 시롤리무스, 및 BLyS 길항제(예, 항-BLyS(예, 벨리무맙))로 이루어진 군에서 선택된다. 특정 구체예에서, 면역억제제는 CD20 길항제, TNF 길항제, 또는 BLyS 길항제이다.

[0027] 특정 구체예에서, 본 발명의 방법은 하나 이상의 항염증제를 투여하는 단계를 포함한다. 본원에 사용된 "항염증제"란 염증성 질환 또는 이와 관련된 증상의 치료를 위한 화합물을 지칭한다. 항염증제는, 비제한적 예로서, 비스테로이드성 항염증성 약물(NSAID; 예, 아스피린, 이부프로펜, 나프록센, 메틸 살리실레이트, 디플루니살, 인도메타신, 설린닥, 디클로페낙, 케토프로펜, 케토롤락, 카프로펜, 페노프로펜, 메페남산, 피록시캄, 멜록시캄, 메토트렉사트, 셀레콕십, 발데콕십, 파레콕십, 에토리콕십, 및 니메설리드), 코티코스테로이드(예, 프레드니손, 베타메타손, 부데소니드, 코르티손, 덱사메타손, 히드로코르티손, 메틸프레드니솔론, 프레드니솔론, 트람시놀론, 및 플루티카손), 라파마이신(예, 문헌[Migita et al., Clin. Exp. Immunol. (1997) 108:199-203]; [Migita et al., Clin. Exp. Immunol. (1996) 104:86-91]; [Foroncewicz et al., Transpl. Int. (2005) 18:366-368] 참조), 고밀도 지질단백질(HDL) 및 HDL-콜레스테롤 상승 화합물(예, 문헌[Birjmohun et al. (2007) Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 27:1153-1158]; [Nieland et al. (2007) J. Lipid Res., 48:1832-1845]; 항염증제로서 로지글리타존의 용도를 개시한 [Bloedon et al. (2008) J. Lipid Res., Samaha et al. (2006) Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 26:1413-1414], [Duffy et al. (2005) Curr. Opin. Cardiol., 20:301-306] 참조), rho-키나아제 억제제(예, 문헌[Hu, E. (2006) Rec. Patents Cardiovasc. Drug Discov., 1:249-263] 참조), 항말라리아제(예, 히드록시클로로퀸 및 클로로퀸), 아세트아미노펜, 글루코코티코

이드, 스테로이드, 베타-작용제, 항콜린제, 메틸 크산틴, 금 주입(예, 나트륨 오로티오말레이트), 설파살라진, 페니실라민, 항혈관형성제, 댑손, 소랄렌, 항바이러스제, 스타틴(예, 문헌[Paraskevas et al. (2007) Curr. Pharm. Des., 13:3622-36]; [Paraskevas, K.I. (2008) Clin. Rheumatol. 27:281-287] 참조), 및 항생제(예, 테트라시클린)를 포함한다. 특정 구체예에서, 항염증제는 스타틴 또는 고밀도 지질단백질(HDL) 및 HDL-콜레스테롤 상승 화합물이다.

[0028] 본 발명의 또다른 측면에 따르면, RhoB 펩티드가 제공된다. 특정 구체예에서, RhoB 펩티드는 서열 번호 3의 연속 아미노산을 10개 이상 포함한다. 특정 구체예에서, RhoB 펩티드는 RhoB의 C-말단 절반(98개 아미노산)을 포함한다. 특정 구체예에서, RhoB 펩티드는 VANKKDLRSDEHVRTELARMKQEPVRTDDGRAMAVRIQAYDYLECSAKTKEGVREVFETATRAALQKRYGSQNGCINCCKVL(서열 번호 5), KDLRSDEHVRTELARMKQEPVRTDDGRAMAVRIQAYDYLECSAKTKEGVREVFETATRAAL(서열 번호 6), SDEHVRTELARMKQEPVRTDDGRAMAVRIQAYDYLECSAKTKEGVREVFETATRAALQKRYGSQNGCINCCKVL(서열 번호 7), DDGRAMAVRIQAY(서열 번호 2), RTDDGRAMAVRIQAYDYLE(서열 번호 1), 및 AVRIQAYDYLE(서열 번호 8)(예, 도 5 참조)로 이루어진 군에서 선택된다. RhoB 펩티드는 펩티드의 N-말단 및/또는 C-말단에서 상기 확인된 서열보다 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 또는 그 이상의 아미노산, 특히 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 아미노산이 더 길거나 짧을 수 있다. 또다른 구체예에서, 본 발명의 펩티드는 서열 번호 3 (또는 서열 번호 1, 2, 5-8)과 적어도 90%, 95%, 97%, 99%, 또는 100%의 상동성 또는 동일성을 갖는다.

[0029] 본 발명의 펩티드는 공지된 방법에 따라 각종 방식으로 제조될 수 있다. 본 발명의 펩티드는 화학적 펩티드 합성(예, 고체상 합성)에 의해 제조될 수 있다. 펩티드를 코딩하는 핵산 분자의 유효성은 또한 당업계에 공지된 시험관내 발현 방법 및 세포 불포함 발현 시스템을 사용하여 단백질의 생성을 가능하게 한다. 시험관내 전사 및 번역 시스템은, 예를 들면 Promega Biotech(미국 위스콘신주 매디슨 소재) 또는 Gibco-BRL(미국 메릴랜드주 게이더스버그 소재)에서 구입가능하다. 펩티드는 또한 적당한 원핵세포계 또는 진핵세포계 내 발현에 의해 생성될 수 있다. 예를 들면, 펩티드를 코딩하는 DNA 분자의 일부 또는 전부는 박테리아 세포, 예컨대 이. 콜리 내 발현에 적합한 플라스미드 벡터에 삽입될 수 있다. 이러한 벡터는 숙주 세포 내 DNA 발현을 허용하는 방식으로 배치된 숙주 세포에서 DNA의 발현에 필요한 조절 요소를 포함한다. 발현에 필요한 이러한 조절 요소는 프로모터 서열, 전사 개시 서열 및 경우에 따라 인핸서 서열을 포함한다. 재조합 원핵세포계 또는 진핵세포계 내 유전자 발현에 의해 생성되는 펩티드는 당업계에 공지된 방법에 따라 정제될 수 있다.

[0030] 전술된 방법에 의해 제조된 본 발명의 펩티드는 표준 절차에 따라 분석될 수 있다. 예를 들면, 그러한 단백질은 공지된 방법에 따라 아미노산 서열 분석을 실시할 수 있다.

[0031] 본 발명의 펩티드는 담체 단백질(예, 거대분자 담체)에 접합될 수 있다. 예를 들면, 펩티드는 생체 내 면역 목적에 사용될 수 있다. 동물이 유리 펩티드로 면역화될 수 있지만, 항-펩티드 항체 역가는 펩티드를 담체에 커플링함으로써 증대될 수 있다. 담체의 예는, 비제한적 예로서, KLH(키홀 림펫 헤모시아닌), GST(글루타티온-S-전이효소), BSA(소 혈청 알부민), cBSA(양이온화된 소 혈청 알부민), OVA(난백알부민), LPH(리물루스 투구게 헤모시아닌), 및 TT(파상풍 톡소이드)를 포함한다.

[0032] 본 발명은 또한 RhoB(예, 서열 번호 3)에 면역학적으로 특이적인 항체 또는 항체 단편을 포함한다. 본 발명은 또한 상기 제시된 아미노산 서열에 면역학적으로 특이적인 항체 또는 항체 단편을 포함한다. 특정 구체예에서, 펩티드는 서열 번호 1, 2, 5, 6, 7, 또는 8과 적어도 90%, 95%, 97%, 99%, 또는 100%의 상동성 또는 동일성을 갖는다. 펩티드는 펩티드의 N-말단 및/또는 C-말단에서 상기 확인된 서열보다 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 또는 그 이상의 아미노산, 특히 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 아미노산이 더 길거나 더 짧을 수 있다. 또다른 구체예에서, 본 발명의 펩티드는 서열 번호 3과 적어도 90%, 95%, 97%, 99%, 또는 100%의 상동성 또는 동일성을 갖는다.

[0033] 본 발명의 항체 분자는 당업계에 공지된 각종 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 다클론 및 단클론 항체는 문헌[Current Protocols in Molecular Biology, Ausubel et al. eds]에 기술된 바와 같이 제조될 수 있다. 항체는 화학적 가교결합성, 혼성 하이브리도마 기법에 의해 그리고 숙주 세포, 예컨대 박테리아 또는 이스트 세포에서 발현되는 재조합 항체 단편의 발현에 의해 제조될 수 있다.

[0034] 특정 구체예에서, 항체 또는 항체 단편은 서열 번호 1 또는 서열 번호 8에 면역학적으로 특이적이다. 특정 구체예에서, 항체는 단클론 항체, 항체 쌍, 또는 항체 군이다. 특정 구체예에서, 항체는 서열 번호 10 및 12를 포함하는 단클론 항체이다. 특정 구체예에서, 항체는 서열 번호 14 및 16을 포함하는 단클론 항체이다.

[0035] 항체는 천연 발생 항체일 수 있거나 또는 합성 또는 변성된 항체(예, 재조합 생성된 항체; 키메라 항체; 이중특이적 항체; 인간화된 항체; 카멜리드 항체 등)일 수 있다. 항체는 하나 이상의 정제 태그를 포함할 수 있다. 특정 구체예에서, 골격 항체는 항체 단편이다. 항체 단편은, 비제한적 예로서 단일 도메인(Dab; 예컨대, 단일 가변 경쇄 또는 중쇄 도메인), Fab, Fab', $F(ab')_2$, 및 F(v)를 비롯한 면역글로불린 단편; 및 비제한적 예로서 scFv, $scFv_2$, scFv-Fc, 미니바디, 디아바디, 트리아바디, 및 테트라바디를 비롯한 (예컨대, 링커를 통한) 상기 면역글로불린 단편의 융합체를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 항체는 또한 하나 이상의 항체 또는 항체 단편을 포함하는 단백질(예, 융합 단백질)일 수 있다. 본 발명의 특정 구체예에서, 항체는 Fc 영역을 포함한다.

[0036] 본 발명의 항체 및 항체 단편은 항-RhoB 단클론 항체 7F7 및 9G5 유래의 도메인을 하나 이상 포함할 수 있다. 예를 들면, 항체 또는 항체 단편은 항-RhoB 단클론 항체 7F7 및 9G5 유래의 CDR 도메인을 적어도 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 또는 6개 모두 포함할 수 있다(도 9 및 10 참조). 특정 구체예에서, 항체 또는 항체 단편은 CDR3 도메인 중 적어도 1개 또는 둘다를 포함한다. 특정 구체예에서, 항체 또는 항체 단편의 도메인은 항-RhoB 단클론 항체 7F7 또는 9G5에 존재하는 도메인과 적어도 90%, 95%, 97%, 99%, 또는 100%의 상동성 또는 동일성을 갖는다. 도메인은 도메인의 N-말단 및/또는 C-말단에서 도 9 및 10에 도시된 도메인보다 약 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 아미노산, 특히 1개 또는 2개의 아미노산이 더 길거나 또는 더 짧을 수 있다.

[0037] 항체는 또한 면역글로불린을 모사한 합성 단백질일 수 있다. 비제한적 예로서, Affibody® 분자(Affibody, 스웨덴 브롬마 소재), 다핀(darpin)(안키린 반복 단백질로 고안됨; 문헌[Kawe et al. (2006) J. Biol. Chem., 281:40252-40263]), 및 펩타바디(peptabody)(문헌[Terskikh et al. (1997) PNAS 94:1663-1668])를 포함한다.

[0038] 본 발명의 항체는 추가로 변성될 수 있다. 예를 들면, 항체는 인간화될 수 있다. 특정 구체예에서, 혼성 항체(또는 이의 일부)는 항체 또는 항체 단편 구성체의 골격에 삽입된다. 예를 들면, 본 발명의 항체의 가변 경쇄 도메인 및/또는 가변 중쇄 도메인은 또다른 항체 구성체에 삽입될 수 있다. 항체를 재조합 생성하는 방법은 당업계에 잘 공지되어 있다. 실제로, 특정 항체 및 항체 단편 구성체의 상용 벡터가 이용가능하다.

[0039] 본 발명의 항체는 또한 다른 성분에 접합/연결될 수 있다. 예를 들면, 항체는 하나 이상의 검출가능 제제, 이미지화 제제, 조영제, 면역억제제, 또는 항염증제에 작동가능하게 연결(예컨대, 경우에 따라 링커를 통해 공유결합적으로 연결)될 수 있다. 본 발명의 항체는 또한 하나 이상의 정제 태그(예, His-태그)를 포함할 수 있다.

[0040] 본 발명은 또한 RhoB 억제제 또는 항체를 포함하는 조성물을 포함한다. 특정 구체예에서, 상기 조성물은 본 발명의 하나 이상의 항체 또는 항체 단편 및 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 담체를 포함한다.

[0041] 본 발명의 항체 분자는 당업계에 공지된 각종 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 항체는 화학적 가교결합성, 혼성 하이브리도마 기법에 의해 그리고 숙주 세포, 예컨대 포유류 세포, 박테리아 또는 이스트 세포 내 발현되는 재조합 항체 또는 항체 단편의 발현에 의해 제조될 수 있다. 본 발명의 일 구체예에서, 항체 분자는 숙주 세포 내 재조합 항체 또는 항체 단편의 발현에 의해 생성된다. 항체를 코딩하는 핵산 분자는 발현 벡터에 삽입되고 숙주 세포에 도입될 수 있다. 이후 생성된 항체 분자는 발현 시스템으로부터 단리 및 정제된다. 항체는 경우에 따라 항체가 정제될 수 있는 정제 태그를 포함한다.

[0042] 본 발명의 항체 분자의 순도는 비제한적 예로서 ELISA, 면역조직화학법, 이온 교환 크로마토그래피, 친화성 크로마토그래피, 고정화 금속 친화성 크로마토그래피(IMAC), 크기 배제 크로마토그래피, 폴리아크릴아미드 겔 전기영동(PAGE), 웨스턴 블로팅, 표면 플라스몬 공명 및 질량 분광법을 포함한 당업자에게 공지된 표준 방법을 사용하여 평가될 수 있다.

[0043] 본 발명은 또한 단클론 RhoB 항체를 분비하는 하이브리도마를 포함한다. 현재, RhoB 하이브리도마는 (평균적으로) 서서히 성장하며 다른 하이브리도마와 비교하였을 때 더 적은 양의 항체를 생성한다. 이러한 가능한 제한을 피하기 위해 몇몇 접근법을 취할 수 있다. 예를 들면, 항-RhoB 항체의 뉴클레오티드 서열은 하이브리도마로부터 클로닝될 수 있고 이후 항-RhoB 항체는 분자 생물학적 접근을 통해 생성될 수 있다. 또다른 구체예에서, RhoB 비의존성 분비 하이브리도마가 개발될 수 있거나 또는 하이브리도마 배양 조건은 항체 생성을 최대화하도록 수정될 수 있다.

[0044] 본 발명은 또한 소분자 또는 RhoB 억제제인 다른 분자 실재, 예컨대 소형 핵산, 펩티드, 탄수화물 등을 확인하는 방법을 포함한다. 특정 구체예에서, 본 발명의 RhoB 항체 또는 이의 단편(특히, CDR 영역) 또는 상응한 에피토프는 유사한 생물학적 활성을 갖는 RhoB 억제제를 고안하는 데 사용될 수 있다.

[0045] 정의

[0046] 화합물 또는 약학 조성물의 "치료적 유효량"이란 특정 장애 또는 질환의 증상을 예방, 억제, 치료, 또는 경감하기에 유효한 양을 말한다. 본원에서 염증성 장애의 치료는 염증성 장애, 이의 증상, 또는 이에 대한 소인을 치유, 완화, 및/또는 예방하는 것을 지칭할 수 있다.

[0047] "약학적으로 허용가능한"은 연방 정부 또는 주 정부의 관리 기관이 승인한 것 또는 동물, 더욱 구체적으로는 인간에게 사용하기 위한 미국 약전 또는 다른 일반적으로 알려진 약전에 나열된 것을 의미한다.

[0048] "담체"란 예를 들면 본 발명의 활성제와 투여되는 희석제, 보강제, 부형제, 보조제 또는 비히클을 지칭한다. 약학적으로 허용가능한 담체는 멸균 액체, 예컨대 석유, 동물성, 식물성 또는 합성 기원, 예컨대 땅콩유, 대두유, 광유, 세사미유 등의 것을 비롯한 오일 및 물일 수 있다. 물 또는 수성 식염 용액 및 수성 텍스트로스 및 글리세롤 용액은 바람직하게는 특히 주사액을 위한 담체로서 사용된다. 적당한 약학 담체는, 예를 들면 E.W. Martin의 문헌["Remington's Pharmaceutical Sciences"]에 기술되어 있다.

[0049] "항체" 또는 "항체 분자"는 특이적 항원에 결합되는 항체 및 이의 단편을 포함하는 임의의 면역글로불린이다. 본원에 사용된 항체 또는 항체 분자는 비손상 면역글로불린 분자, 면역글로불린 분자의 면역학적 활성 부분, 및 면역글로불린 분자의 면역학적 활성 부분의 융합체로 고려된다.

[0050] 본원에 사용된 용어 "면역학적으로 특이적인" 관심 단백질 또는 화합물의 하나 이상의 에피토프에 결합하지만, 항원성 생물학적 분자의 혼합 집단을 함유하는 샘플에서 실질적으로 다른 분자를 인식하고 이에 결합하지 않는 단백질/폴리펩티드, 특히 항체를 지칭한다.

[0051] 본원에 사용된 용어 "예방하다"란 병태 발생의 위험에 있는 개체에게 예방적 처치를 하여 개체에서 병태 발생의 가능성을 감소시키는 것을 말한다.

[0052] 본원에 사용된 용어 "치료하다"란 (예컨대, 하나 이상의 증상에서) 환자의 병태의 호전, 병태 진행의 지연 등을 비롯한 질환을 앓는 환자에게 유용한 임의 유형의 치료를 말한다.

[0053] 본원에 사용된 용어 "숙주", "개체", 및 "환자"란 인간을 비롯한 임의의 동물을 말한다.

[0054] 용어 "소간섭 RNA(siRNA)"란 짧은 (통상, 30개보다 짧은 길이의 뉴클레오티드, 특히 12~30개 또는 20~25개 길이의 뉴클레오티드) 이중 가닥 RNA 분자를 지칭한다. 통상, siRNA는 siRNA가 표적하는 유전자의 발현을 조절한다. siRNA 분자의 확인 및 합성 방법은 당업계에 공지되어 있다(예, 문헌[Ausubel et al. (2006) Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley and Sons, Inc] 참조). 본원에 사용된 용어 siRNA는 짧은 헤어핀 RNA 분자(shRNA)를 포함할 수 있다. 통상, shRNA 분자는 서열 중 하나가 유전자 표적에 상보적인 소형 루프 서열에 의해 분리되는 짧은 상보 서열로 이루어진다. shRNA 분자는 통상 엔도뉴클리아제에 의해 세포 내에서 siRNA로 가공된다. siRNA 분자에 대한 예시적 변성은 미국 출번 공개 번호 제20050032733호에 제공된다. siRNA 분자의 발현을 위한 발현 벡터는 바람직하게는 구성적일 수 있거나 또는 조절될 수 있는 강력한 프로모터를 사용한다. 그러한 프로모터는 당업계에 잘 공지되어 있고, 비제한적 예로서 RNA 폴리머라제 II 프로모터, T7 RNA 폴리머라제 프로모터, 및 RNA 폴리머라제 III 프로모터 U6 및 H1을 포함한다(예, 문헌[Myslinski et al. (2001) Nucl. Acids Res., 29:2502 09] 참조).

[0055] "안티센스 핵산 분자" 또는 "안티센스 올리고뉴클레오티드"는 선택된 서열(예, 번역 개시 부위 및/또는 스플라이싱 부위)에 표적화되어(상보성을 가져서) 관심 단백질의 발현을 억제시키는 핵산 분자(예, 단일 가닥 분자)를 포함한다. 그러한 안티센스 분자는 통상 약 15~약 50개 길이의 뉴클레오티드, 더욱 구체적으로는 약 15~약 30개 길이의 뉴클레오티드이고, 종종 mRNA 분자의 번역 출발 부위를 포괄한다. 역 배향으로 표적 핵산 분자의 전체 서열을 함유하는 안티센스 구성체가 또한 생성될 수 있다. 임의의 공지된 뉴클레오티드 서열에 표적화된 안티센스 올리고뉴클레오티드는 표준 방법에 따라 올리고뉴클레오티드 합성에 의해 제조될 수 있다.

[0056] 자가면역 및 염증성 질환 치료를 위한 요법 및 조성물

[0057] 전술된 바와 같이, 본 발명은 한 이상의 항-RhoB 항체(이의 단편 포함) 및 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 조성물을 포함한다. 상기 조성물은 하나 이상의 다른 항염증제 및/또는 하나 이상의 면역억제성 제제를 추가로 포함할 수 있다. 대안적으로, 하나 이상의 다른 항염증제 및/또는 하나 이상의 면역억제성 제제는 개별 조성물(들) 내에 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 담체와 함유될 수 있다. 하나 이상의 항-RhoB 항체를 포함하는 조성물(들) 및 하나 이상의 다른 항염증제 및/또는 하나 이상의 면역억제성 제제를 포함하는 조성물(들)은 키트 내에 함유될 수 있다. 그러한 조성물(들)은 염증성 또는 자가면역 질환의 치료를 위해 이를 필요로 하는 환자에게 치료적 유효량으로 환자에게 투여될 수 있다. 특정 구체예에서, 환자는 본 발명의 조성물

투여 후 염증성 또는 자가면역 질환에 대해 적어도 1회 모니터링하여 (예컨대, 류마티스 관절염, 관절 (예, 손 관절) 통증 및/또는 강직; 류마티스 결절의 존재; 및/또는 혈중 류마티스 요인 또는 류마티스 요인 항체 존재의 경우) 염증성 또는 자가면역 질환의 치료를 모니터링한다.

[0058] 본 발명의 조성물은 임의의 적당한 경로에 의해, 예컨대 (예, 국소 또는 전신 투여를 위한) 주사, 정맥내, 경구, 폐내, 비내 또는 다른 투여 방식에 의해 투여될 수 있다. 일반적으로, 조성물의 약학적으로 허용가능한 담체는 희석제, 보존제, 가용화제, 유화제, 보강제 및/또는 담체의 군에서 선택된다. 조성물은 다양한 완충제 내용물(예, 트리스 HCl, 아세테이트, 포스페이트), pH 및 이온 농도의 희석제; 및 첨가제, 예컨대 세정제 및 용해성 제제(예, Tween 80, Polysorbate 80), 산화방지제(예, 아스코르브산, 나트륨 메타비설피트), 보존제(예, 티머졸, 벤질 알콜) 및 팽화 물질(예, 락토즈, 만니톨)을 포함할 수 있다. 조성물은 또한 중합체 화합물의 미립자 조제물, 예컨대 폴리락트산, 폴리글리콜산 등 내에, 또는 리포솜 또는 나노입자 내에 혼입될 수 있다. 그러한 조성물은 물리적 상태, 안정성, 본 발명의 약학 조성물 성분의 생체 내 방출률, 및 생체 내 제거율에 영향을 미칠 수 있다. 예를 들어, 본원에 참고 인용된 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. (1990, Mack Publishing Co., Easton, PA 18042) pages 1435-1712]를 참조한다. 본 발명의 약학 조성물은, 예를 들어 액체 형태로 제조될 수 있거나, 또는 (예컨대, 동결건조된) 건조된 분말 형태일 수 있다.

[0059] 또다른 구체예에서, 본 발명의 약학 조성물은 예를 들어 정맥내 주입, 이식가능한 삼투압 펌프, 경피성 팻치, 리포솜, 또는 다른 투여 방식을 사용하여 방출 제어형 시스템으로 전달될 수 있다. 특정 구체예에서, 펌프가 사용될 수 있다(문헌[Langer, supra]; [Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. (1987) 14:201]; [Buchwald et al., Surgery (1980) 88:507]; [Saudek et al., N. Engl. J. Med. (1989) 321:574] 참조). 또다른 구체예에서, 중합체 재료가 사용될 수 있다(문헌[Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC Press: Boca Raton, Florida (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. (1983) 23:61] 참조; 또한 문헌 [Levy et al., Science (1985) 228:190]; [During et al., Ann. Neurol. (1989) 25:351]; [Howard et al., J. Neurosurg. (1989) 71:105] 참조). 또다른 구체예에서, 방출 제어형 시스템이 동물의 표적 조직 부근에 배치되어, 전신 용량의 일부만을 필요로 할 수 있다(예, 문헌[Goodson, in Medical Applications of Controlled Release, supra, (1984) vol. 2, pp. 115-138] 참조). 구체적으로는, 방출 제어형 장치는 부적절한 염증 부위 부근에서 동물 내에 도입될 수 있다. 다른 방출 제어형 시스템은 Langer의 리뷰에서 논의된다(문헌[Science (1990) 249:1527 1533]).

[0060] 본 발명의 방법은 자가면역 질환 또는 염증성 질환의 치료를 위한 하나 이상의 다른 처치 방법의 투여를 추가로 포함할 수 있다. 예를 들면, 자가면역 질환의 치료시, 항-RhoB 항체는 개체의 림프절의 방사선치료와 함께 또한 혈장분리교환법과 함께 동시 투여될 수 있다.

[0061] 또다른 구체예에서, 본 발명은 하나 이상의 RhoB 서열 펩티드(이의 서열 포함) 및 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 조성물을 포함한다. 조성물은 다른 제제(예, 하나 이상의 다른 항염증제 및/또는 하나 이상의 면역억제성 제제)를 추가로 포함하거나 또는 항-RhoB 항체에 대해 상기 기술된 바와 같이 키트 내에 또다른 조성물과 포함될 수 있다. 조성물은 항-RhoB 항체에 대해 상기 기술된 바(예컨대, 처치 방법)와 같이 개체에 전달될 수 있다.

[0062] 하기 실시예는 본 발명의 다양한 구체예를 예시하기 위해 제공된다. 본 실시예는 어떤 방식으로도 본 발명을 제한하려는 것이 아니다.

[0063] 실시예

[0064] **실시예 1**

[0065] RhoB-넉아웃 마우스를 RhoB-펩티드-KLH 또는 KLH(키홀 림펫 헤모시아닌)로 면역화시켰다. 구체적으로는, 0일에, RhoB-KO 마우스에 완전 프로이드 보강제(CFA) 중 RhoB-펩티드-KLH 또는 KLH를 접종하였다. 14일에, 불완전 프로이드 보강제(IFA) 중 RhoB-펩티드-KLH 또는 KLH를 보강 접종하였다. 마지막으로, 29일에, 인산완충식염수(PBS) 중 RhoB-펩티드-KLH 또는 KLH로 제2 보강 접종을 투여하였다. 10일 및 24일에 채혈하고 32일에 혈청을 채취하였다.

[0066] K/BxN TCR 트랜스제닉 마우스는 MHC 클래스 II 분자 Ag7에 의해 제시된, 글루코스-6-포스페이트 이소머라제(GPI)로부터 유래된 자기 펩티드에 반응성인 TCR을 발현하였다(문헌[Korganow et al. (1999) Immunity, 10:451-461]; [Kouskoff et al. (1996) Cell, 87:811-822]; [Matsumoto et al. (1999) Science, 286:1732-

1735]). K/BxN 마우스는 4~5주 연령에 자연적으로 관절염의 매우 공격적인 형태를 발생시켰다. K/BxN 마우스의 관절염은 이것이 만성, 진행성, 대칭성이며, 인간 관절염과 동일한 조직학적 특징을 제시한다는 점에서 인간 관절염을 모사하고 있었다. K/BxN 마우스가 겪는 관절염은 관절 특이적이며 발목 두께의 캘리퍼스 측정으로 이 관절염에 점수를 매기도록 하였다(문헌[Korganow et al. (1999) Immunity, 10:451-461]; [Ji et al. (2001) J. Exp. Med., 194:321-330]).

[0067] K/BxN 마우스(그룹 당 5마리의 마우스)를 1) 식염수, 2) 항-KLH 혈청, 또는 3) 항-RhoB-펩티드 혈청으로 치료하였다. 구체적으로는, 21일 연령 마우스에게 혈청(200 ㎕)을 복강내 투여하였다. 지표 관절염으로서 시간 흐름에 따라 평균 발목 두께를 측정하였다. 도 1에 도시된 바와 같이, RhoB 항-혈청은 관절염을 억제하였다.

[0068] K/BxN 마우스는 GPI에 대해 작용하는 관절염생성성 항체를 생성하고, 이는 GPI-특이적 면역글로불린을 발현하는 B 세포가 이식유전자-코딩된 TCR을 표시하는 GPI-반응성 T 세포로부터 수용되는 우선적 도움으로 인해 높은 역가에서 성장하였다. 상기에서와 같이, K/BxN 마우스(그룹 당 5마리의 마우스)를 1) 식염수, 2) 항-KLH 혈청, 또는 3) 항-RhoB-펩티드 혈청의 총 200 ㎕(100 ㎕ 식염수와 혼합된 100 ㎕의 혈청)(복강내)로 치료하였다. 도 2a 및 2b에 도시된 바와 같이, RhoB 항-혈청을 투여한 K/BxN 마우스의 혈청은 KLH 항-혈청 또는 담체 단독을 투여한 K/BxN 마우스와 비교하여 (효소 결합 면역흡착 분석법(ELISA)에 의해 확인하였을 때) 혈청 항-GPI Ig의 수준이 감소하였고 KLH 항-혈청 또는 담체 단독을 투여한 K/BxN 마우스와 비교하여 (효소 결합 면역흡착 스팟(ELISPOT)에 의해 확인하였을 때) 항-GPI 항체 분비 세포의 갯수가 감소하였다.

[0069] 상기 이외에, 또한 RhoB 항-혈청이 K/BxN 마우스에서 다른 시토카인에 영향을 미치는지 여부를 확인하였다. RhoB 항-혈청의 K/BxN 마우스에의 투여는 KLH 항-혈청 또는 담체 단독을 투여한 K/BxN 마우스와 비교하였을 때 IFNγ, TNFα, IL-6, IL-10, MCP-1, MIP-1α, MIP-1β, 또는 RANTES의 수준을 유의적으로 조절하지 않았다.

[0070] 마우스에서 비장세포를 단리하고 B 세포를 무한증식 골수 세포(Sp2/0)와 융합시켜 하이브리도마를 생성하였다. 48개의 샘플을 테스트하였다. 펩티드 1(RTDDGRAMAVRIQAYDYLE; 서열 번호 1; 인간 RhoB의 아미노산 140~158(GenBank 수탁 번호 CAA29968))에 대해 7개가 강한 양성을 형성하였고 펩티드 1 및 펩티드 2(DDGRAMAVRIQAY; 서열 번호 2; 인간 RhoB의 아미노산 142~154(GenBank 수탁 번호 CAA29968))에 대해 5개가 양성을 형성하였다.

[0071] 도 3에는 인간 RhoB의 아미노산 서열을 제공하였다. 밑줄친 곳은 펩티드 1이다. 이 서열을 포함한 펩티드 항원으로 백신 접종된 마우스를 두 세트의 항체로 나누었다. 상기 두 세트를 약간 상이하지만 중복된 에피토프에 의해 규정하는데: 한 세트의 항체의 결합은 Y156 인산화에 의해 영향을 받을 수 있고, 다른 세트의 항체는 그렇지 않을 것이다(156에서 티로신이 결핍된, 펩티드 1과 펩티드 2 사이에 구별된 상기 결과 참조). 두 세트의 항체는 전장 RhoB 단백질을 특이적으로 인식하였지만, 단 한 세트만이 조직 배양 내 또는 동물 내 B 세포에 의한 항체 분비를 차단하였다.

[0072] 도 4에는 기선(불활성화; 마름모형), 활성화된 적색 선(정사각형), 및 압축선(삼각형)과 비교하여 항-RhoB 하이브리도마 상청액(검정색)이 LPS 처리된 마우스의 B 세포에 의해 항체 분비를 억제한다는 것을 입증하는 ELISA 실험의 결과를 제공하였다. X 선은 활성화를 억제하지 않은 비특이적 대조군(IDO 항체)이다. 다른 선은 원래의 하이브리도마 유래의 항-RhoB 하이브리도마 서브클론으로부터 수득한 상청액을 나타내어, 억제의 중간 수준을 도시한다. 프로피듐 요오다이드(PI) 염색은 B 세포가 LPS에 반응하여 증식한다는 것을 입증하였다. IL6 비드 분석법을 사용한 분석으로 항-RhoB 하이브리도마가 IL6을 분비하지 않는 것을 확인하였다.

[0073] **실시예 2**

[0074] 관절염의 개시(21일 연령) 이전에 K/BxN 마우스를 500 ㎍의 항-RhoB 단클론 항체 9G5 또는 7F7로 또는 대조군 Ig로 치료하였다. 도 6a에는 항-RhoB 단클론 항체 9G5 및 7F7이 둘다 뒷 발목 두께에 제시된 바와 같이 관절염을 억제하는 것이 도시되었다. 도 6b 및 6c에는 항-GPI 자기항체 역가를 ELISA(도 6b)로 측정하고 항-GPI 항체 분비 세포(ASC)를 ELISpot 분석법(도 6c)으로 측정함으로써 항-RhoB 단클론 항체가 또한 자기항체 생성을 억제한다는 것을 도시하였다.

[0075] 관절염의 개시(4주 연령) 이후에 또한 K/BxN 마우스를 500 ㎍의 항-RhoB 단클론 항체 9G5 또는 7F7로 또는 대조군 Ig로 치료하였다. 도 7에 도시된 바와 같이, 항-RhoB 단클론 항체 9G5 및 7F7은 뒷 발목 두께에 의해 확인된 바와 같이 관절염의 진행을 억제하였다.

[0076] 상기 이외에, 또한 항-RhoB 단클론 항체가 K/BxN 마우스에서 다른 시토카인에 영향을 미치는지 여부를 확인하였다. 21일 연령의 K/BxN 마우스를 500 ㎍의 7F7 또는 대조군 Ig로 치료하였다. 6주 연령에서 관절 주변 림프절

(joint draining lymph node) 유래의 세포를 채집하고 PMA(50 ng/㎖) 중에서 이노마이신(500 ng/㎖)과 함께 밤새 배양하였다. 혈구계산 비드 분석법으로 배양 상청액에서 시토카인을 측정하였다. 항-RhoB 단클론 항체 7F7의 K/BxN 마우스에의 투여는 대조군 Ig를 투여한 K/BxN 마우스와 비교하였을 때 염증성 시토카인 IFNγ, TNFα, IL-17, IL-10, MCP-1, MIP-1α, MIP-1β, 및 RANTES 또는 B 세포 관련 시토카인 IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, 및 IL-13의 수준을 유의적으로 조절하지 않았다.

[0077] KRN.g7 배경에 교배함으로써 관절염에 걸린 RhoB 넉아웃(KO)(RhoB KO KRN.g7) 마우스를 생성하였다. KRN B6.g7 마우스는 KRN TCR tg 및 KRN T 세포 활성에 필요한 IAg7 MHC 클래스 II 분자를 둘다 발현하지만, 나머지 NOD 연관 유전자가 결핍된 C57BL/6 마우스이다(문헌[Kouskoff et al. (1996) Cell 87:811-822]). 도 8a에는 뒷 발목 두께에서 확인된 바와 같이 KRN.g7 마우스와 비교하였을 때 RhoB KO 마우스가 관절염이 감소된 것을 도시하였다. 도 8b에는 RhoB KO KRN.g7 마우스 유래의 혈청이 미치료 수용체로 전달될 경우 또한 관절염을 유발할 수 없다는 것이 확인되었다. 구체적으로는, KRN B6.g7 또는 RhoB KO KRN B6.g7 마우스 유래의 혈청을 0일에 미치료 C57BL/6 마우스 내에 양자(adoptively) 전달하였다. 하지만, 도 8c에는 관절염생성 K/BxN 혈청이 양자 전달될 경우 RhoB ko 마우스에서 관절염을 유발할 수 있음이 확인되었다. 관절염에 걸린 K/BxN 마우스 유래의 혈청을 0일에 미치료 야생형 또는 RhoB KO C57BL/6 마우스로 양자 전달하였다. 특히, 관찰된 관절염은 RhoB KO 마우스에서 더욱 중증이며 더 오래 지속되었다. 이론에 얽매이고자 하는 것은 아니지만, RhoB KO 마우스에서 관찰되는 관절염의 증가된 심각성은 자기항체를 없애는 마우스의 불능으로 인한 것일 수 있다. 실제로, 항-GPI 자기항체 역가는 KRN.g7 마우스와 비교하였을 때 RhoB KO KRN.g7 마우스에서 중간 정도로 증가하였지만, 항-GPI 항체 분비 세포(ASC)의 갯수는 두 마리의 마우스 사이에 유사하였다.

[0078] 추가적으로, 또한 시토카인이 RhoB KO 마우스에서 영향을 미치는지 여부를 확인하였다. 관절 주변 림프절 유래의 세포를 6주 연령에서 채집하고 PMA(50 ng/㎖) 중에서 이노마이신(500 ng/㎖)과 함께 밤새 배양하였다. 혈구계산 비드 분석법으로 배양 상청액에서 시토카인을 측정하였다. KRN.g7 마우스와 비교하였을 때, RhoB KO KRN.g7 마우스는 (RhoB KO KRN.g7 마우스에서 RANTES, MIP-1α, 및 MIP-1β가 약간 더 낮지만) 염증성 시토카인 IFNγ, TNFα, IL-17, IL-10, 및 MCP-1 또는 B 세포 관련 시토카인 IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, 및 IL-13의 수준을 유의적으로 조절하지 않았다. 이론에 얽매이고자 하는 것은 아니지만, 항-RhoB 항체를 투여한 마우스와 비교하였을 때 RhoB KO 마우스의 마우스 표현형의 유사성은 항-RhoB 항체가 RhoB와의 상호작용을 통해 이의 활성을 발휘하는 것으로 추가로 증명된다.

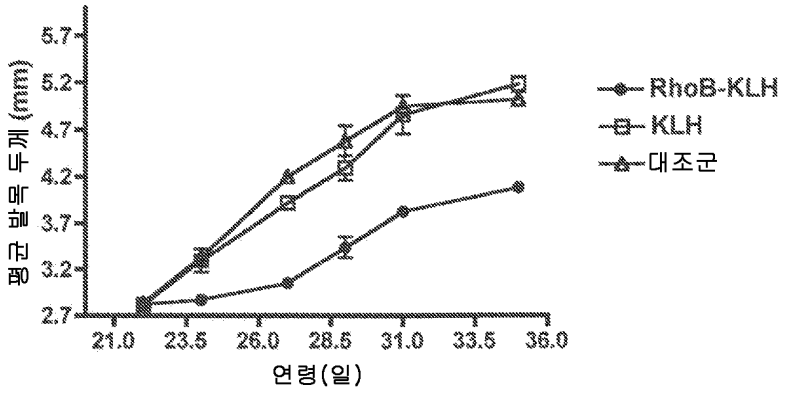
[0079] RhoB KO C57BL/6 마우스는 또한 정상 림프 집단을 소유한다. 구체적으로는, 야생형 및 RhoB KO C57BL/6 마우스 유래의 골수, 흉선, 비장, 림프절, 및 복강 내 림프 집단의 백분율을 유동 세포계측법으로 측정하였다. 야생형 및 RhoB KO C57BL/6 마우스 유래의 혈청 Ig 수준을 또한 ELISA로 측정하였다. 특히, 야생형과 RhoB KO C57BL/6 마우스 사이에서 림프 집단 또는 혈청 Ig 수준(IgM, IgG1, IgG2b, IgG2c, 및 IgG3)의 유의적인 차이를 관찰되지 않았다. 또한 RhoB-/-, RhoB+/-, 또는 RhoB+/+ C57BL/6 마우스를 0일에 명반 중 100 ㎍의 NP-KLH로 면역화시켰다. 0일, 5일, 14일, 및 21일에 혈청 샘플을 취하고 ELISA로 항-NP IgM 또는 IgG를 분석하였다. RhoB KO 마우스는 면역화에 대하여 정상 반응을 제시하였다.

[0080] 상기 명세서에는 본 발명에 존재하는 최신 기술을 더욱 완전하게 기술하기 위해 여러 공개 및 특허 문헌이 인용되었다. 이러한 인용 각각의 개시 내용은 본원에 참고 인용된다.

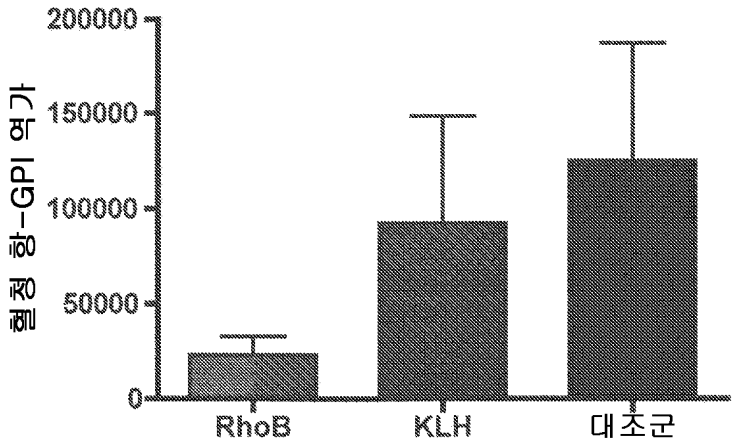
[0081] 본 발명을 특정한 바람직한 구체예로 상기 기술하고 특정하게 예시하였지만, 이는 본 발명을 그러한 구체예로 한정시키고자 하는 것이 아니다. 하기 청구범위에 제시되는 바와 같이, 본 발명의 범위 및 취지로부터 벗어나는 일 없이 여기에 다양한 변형을 실시할 수 있다.

도면

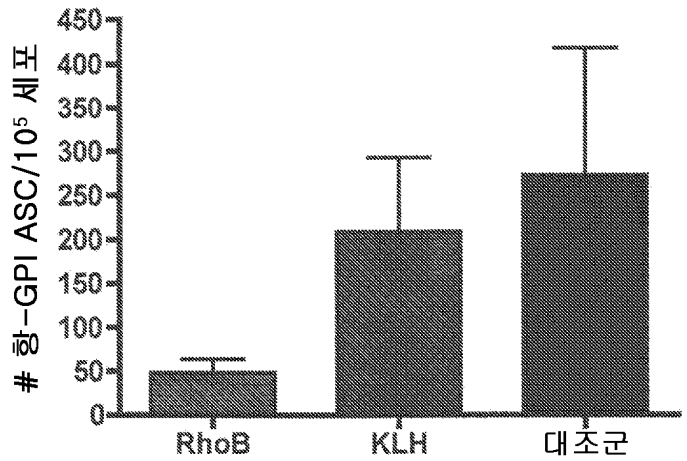
도면1



도면2a



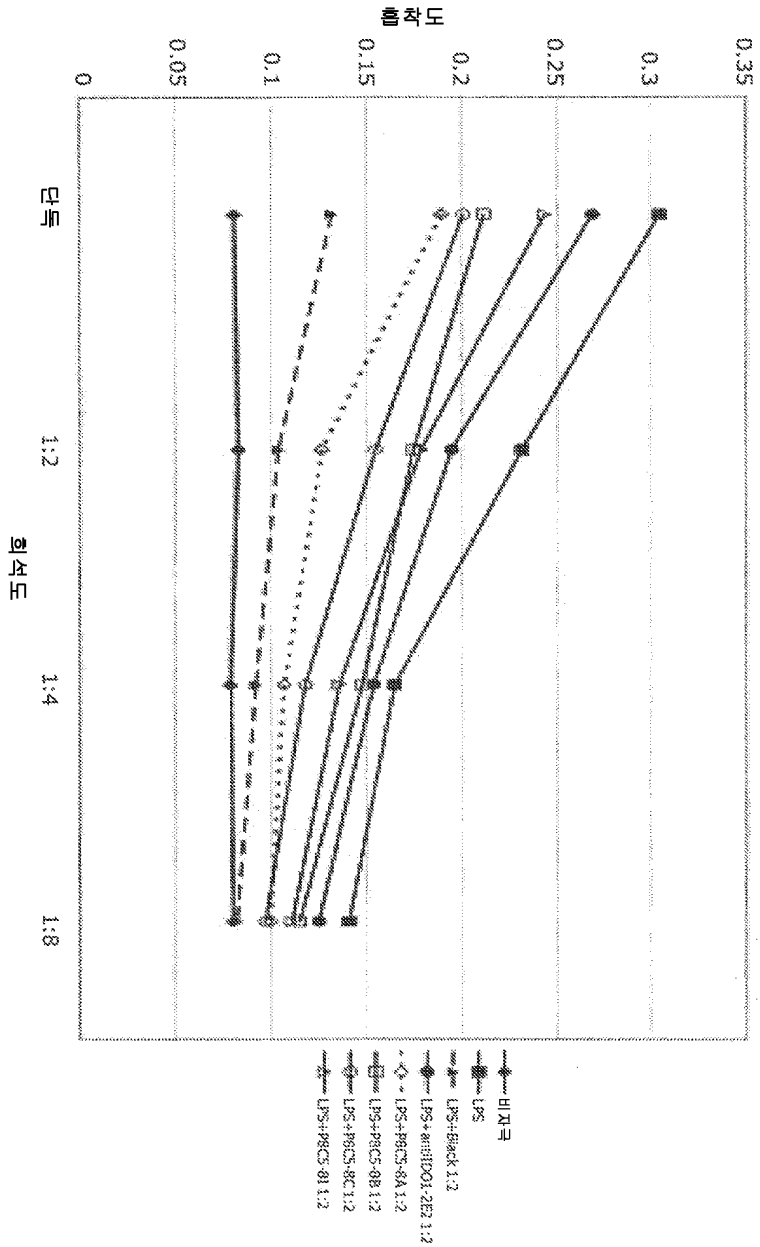
도면2b



도면3

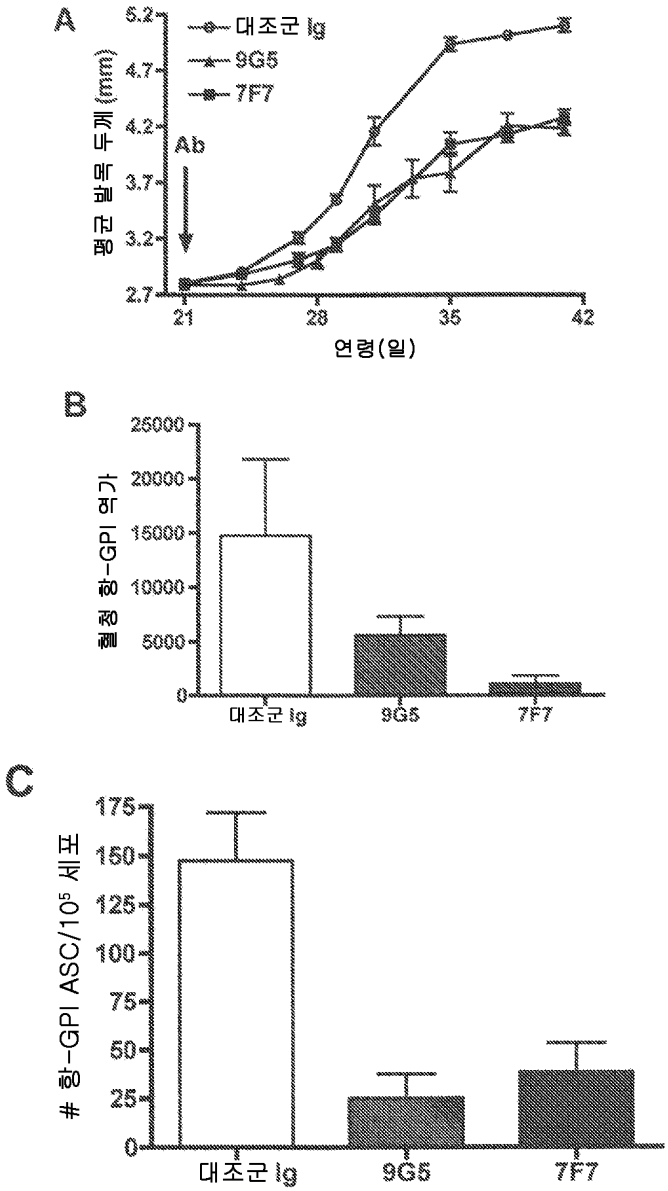
```
MAAIRKKLVV VGDGACGKTC LLIVFSKDEF PEVYVPTVFE NYVADIEVDG
KQVELALWDT AGQEDYDRLR PLSYPDTDVI LMCFSVDSPD SLENIPEKWV
PEVKHFCPNV PIILVANKKD LRSDEHVRTE LARMKQEPVR TDDGRAMAVR
IQAYDYLECS AKTKEGVREV FETATRAALQ KRYGSQNGCI NCCKVL
```

도면4

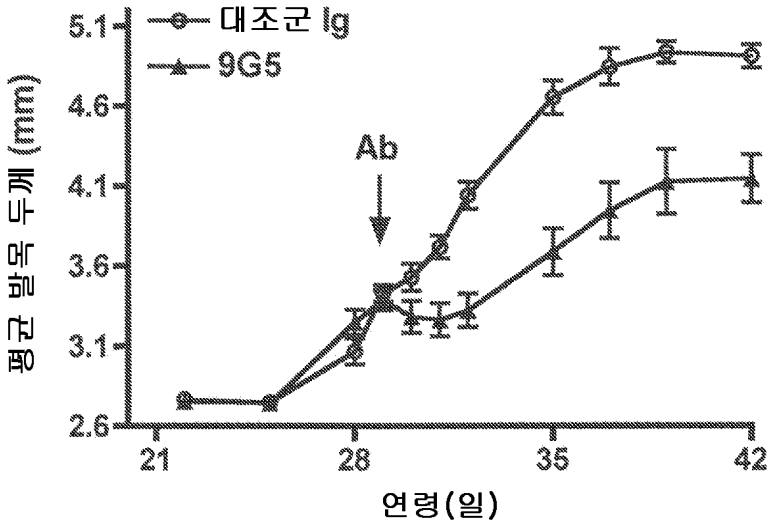


도면5

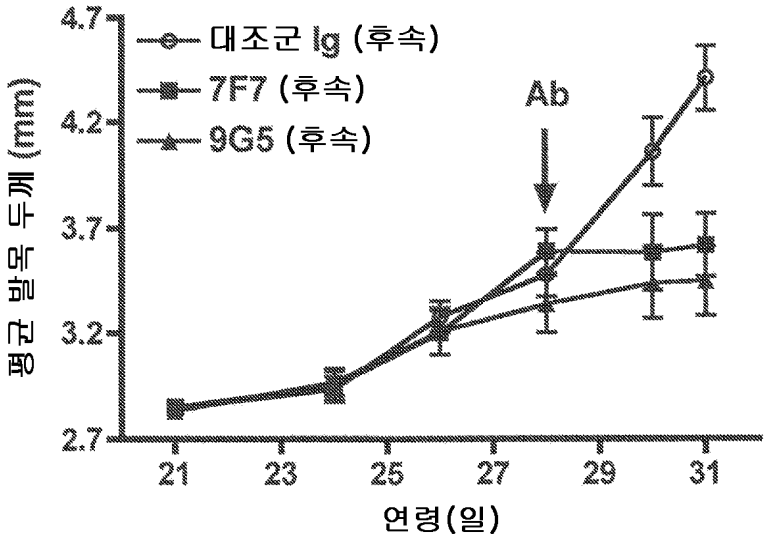
도면6


A
대조군 Ig
9G5
7F7
Ab
평균 발목 두께 (mm)
5.2
4.7
4.2
3.7
3.2
2.7
21
28
35
42
연령(일)
B
혈청 항-GPI 역가
25000
20000
15000
10000
5000
0
대조군 Ig
9G5
7F7
C
항-GPI ASC/10⁵ 세포
175
150
125
100
75
50
25
0
대조군 Ig
9G5
7F7

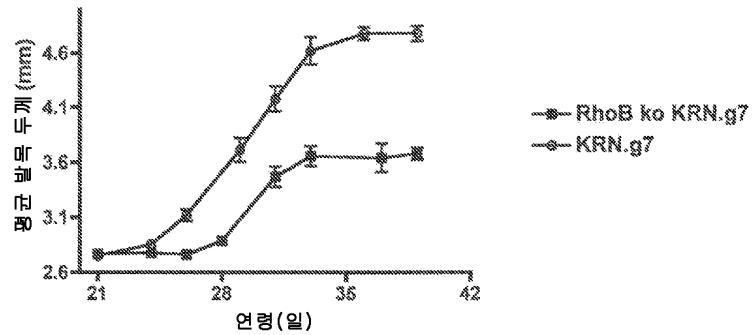
도면7a



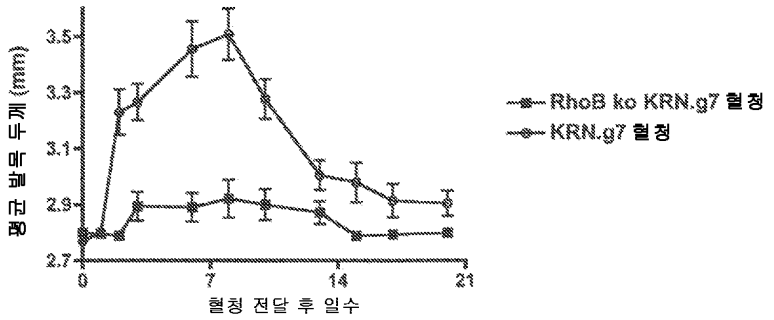
도면7b



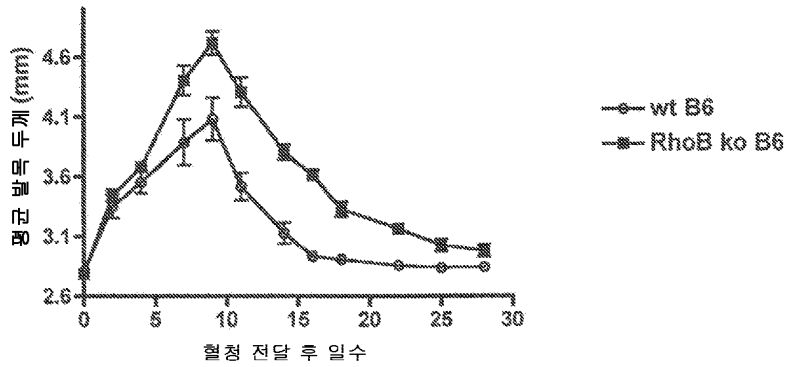
도면8a



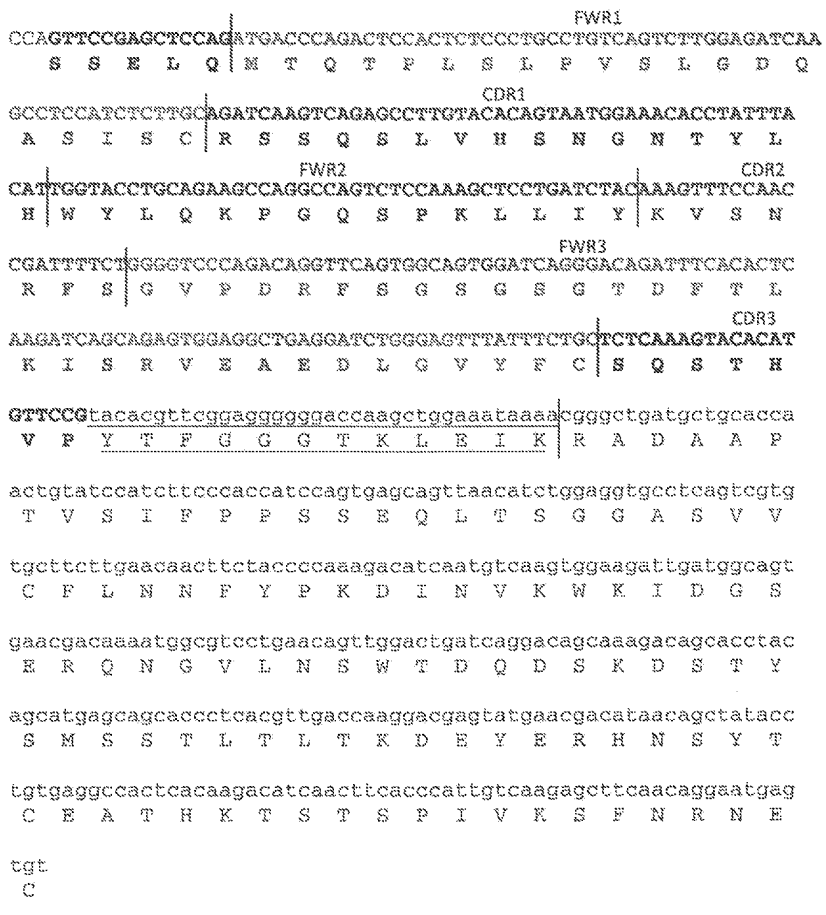
도면8b



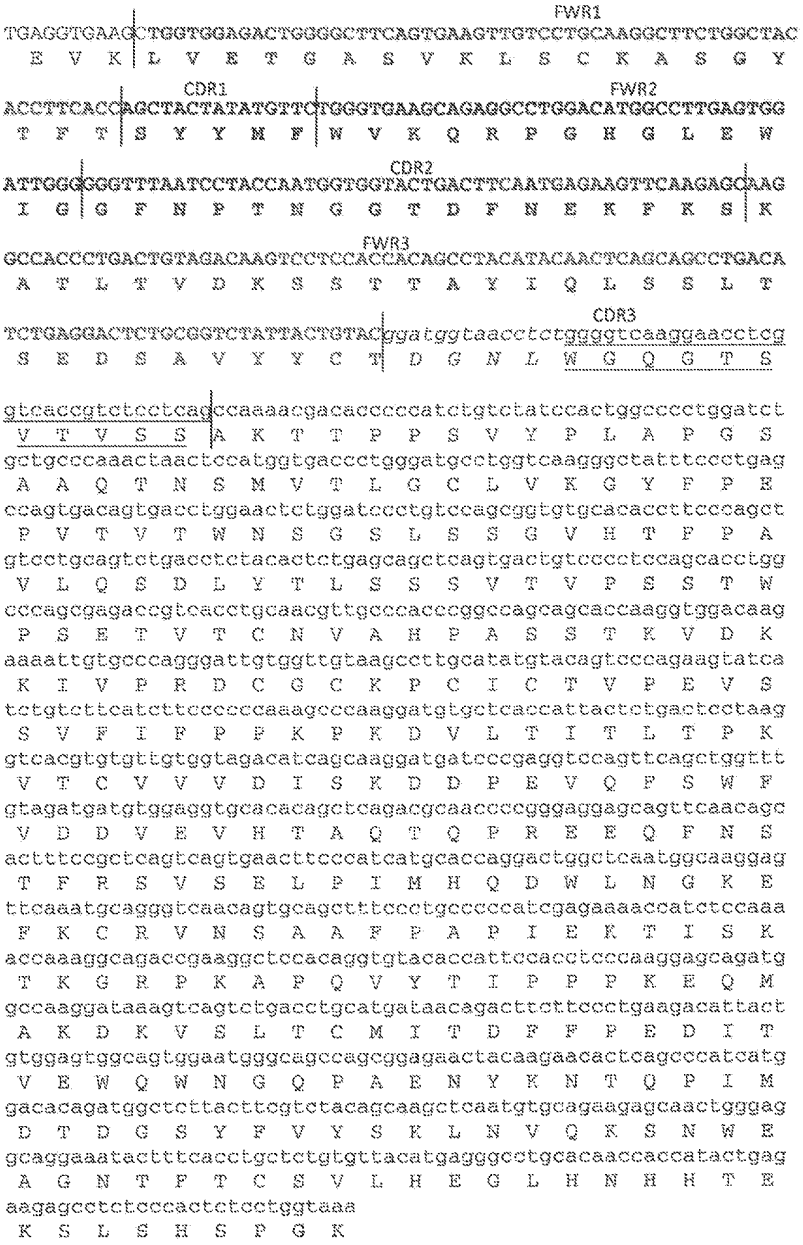
도면8c



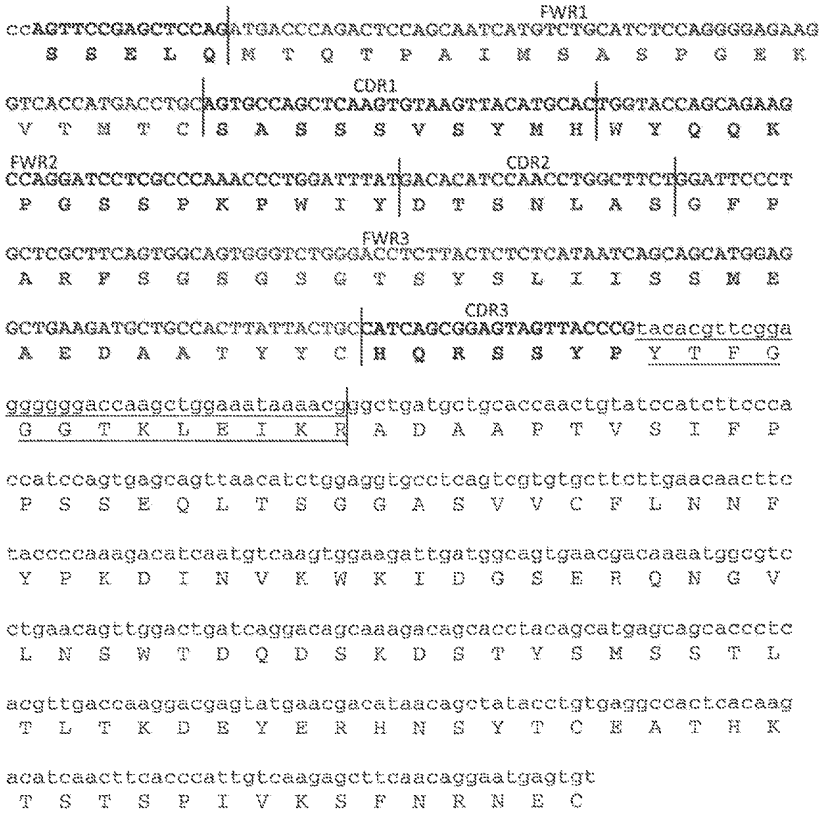
도면9a



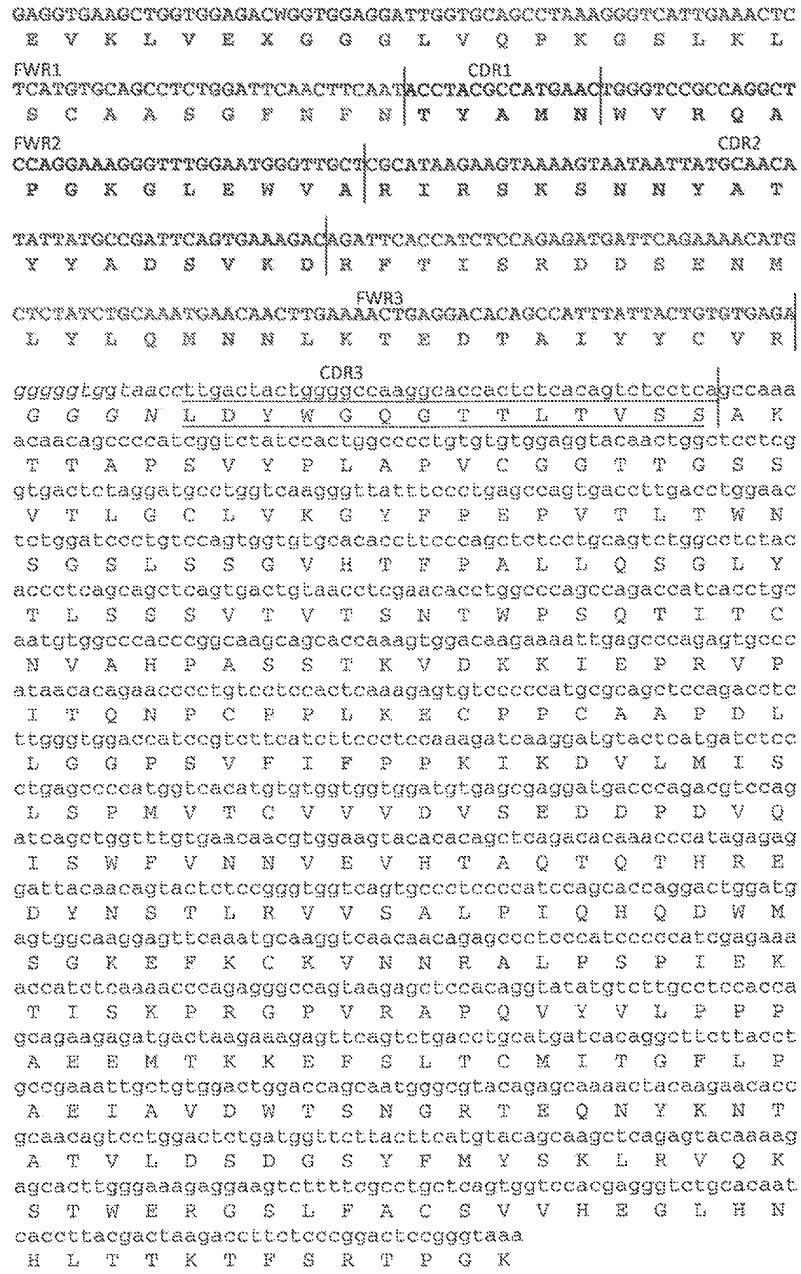
도면9b



도면10a


FWR1
ccAGTTCCGAGCTCCAGATGACCCAGACTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCCAGGGGAGAAG
S S E L Q M T Q T P A I M S A S P G E K
CDR1
GTCACCATGACCTGCAGTGCCAGCTCAAGTGTAAGTTACATGCACTGGTACCAGCAGAAG
V T M T C S A S S S V S Y M H W Y Q Q K
FWR2
CCAGGATCCTCGCCCAAACCCTGGATTTATGACACATCCAACCTGGCTTCTGGATTCCCT
P G S S P K P W I Y D T S N L A S G F P
CDR2
FWR3
GCTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCTTACTCTCTCATAATCAGCAGCATGGAG
A R F S G S G S G T S Y S L I I S S M E
CDR3
GCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCCATCAGCGGAGTAGTTACCCGtacacgttcgga
A E D A A T Y Y C H Q R S S Y P Y T F G
ggggggaccaagctggaaataaaacgggctgatgctgcaccaactgtatccatcttccca
G G T K L E I K R A D A A P T V S I F P
ccatccagtgagcagttaacatctggaggtgcctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttc
P S S E Q L T S G G A S V V C F L N N F
taccccaaagacatcaatgtcaagtggaagattgatggcagtgaacgacaaaatggcgtc
Y P K D I N V K W K I D G S E R Q N G V
ctgaacagttggactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctc
L N S W T D Q D S K D S T Y S M S S T L
acgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaag
T L T K D E Y E R H N S Y T C E A T H K
acatcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatgagtgt
T S T S P I V K S F N R N E C

도면10b



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Laury-Kleintop, Lisa

Mandik-Nayak, Laura

Prendergast, George C.

DuHadaway, James B.

<120> Methods and Compositions for the

Treatment of Autoimmune and Inflammatory Diseases

<130> 3882-P05298WO00

<140> PCT/US2012/050146

<141> 2012-08-09

<150> 61/522,009

<151> 2011-08-10

<160> 16

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<

223> Synthetic peptide

<400> 1

Arg Thr Asp Asp Gly Arg Ala Met Ala Val Arg Ile Gln Ala Tyr Asp

1 5 10 15

Tyr Leu Glu

<210> 2

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic peptide

<400> 2

Asp Asp Gly Arg Ala Met Ala Val Arg Ile Gln Ala Tyr

1 5 10

<210> 3

<211> 196

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Met Ala Ala Ile Arg Lys Lys Leu Val Val Val Gly Asp Gly Ala Cys

1 5 10 15

Gly Lys Thr Cys Leu Leu Ile Val Phe Ser Lys Asp Glu Phe Pro Glu

20 25 30

Val Tyr Val Pro Thr Val Phe Glu Asn Tyr Val Ala Asp Ile Glu Val

35 40 45

Asp Gly Lys Gln Val Glu Leu Ala Leu Trp Asp Thr Ala Gly Gln Glu

50 55 60

Asp Tyr Asp Arg Leu Arg Pro Leu Ser Tyr Pro Asp Thr Asp Val Ile

65 70 75 80

Leu Met Cys Phe Ser Val Asp Ser Pro Asp Ser Leu Glu Asn Ile Pro

85 90 95

Glu Lys Trp Val Pro Glu Val Lys His Phe Cys Pro Asn Val Pro Ile

100 105 110

Ile Leu Val Ala Asn Lys Lys Asp Leu Arg Ser Asp Glu His Val Arg

115 120 125

Thr Glu Leu Ala Arg Met Lys Gln Glu Pro Val Arg Thr Asp Asp Gly

130 135 140

Arg Ala Met Ala Val Arg Ile Gln Ala Tyr Asp Tyr Leu Glu Cys Ser

145 150 155 160

Ala Lys Thr Lys Glu Gly Val Arg Glu Val Phe Glu Thr Ala Thr Arg

165 170 175

Ala Ala Leu Gln Lys Arg Tyr Gly Ser Gln Asn Gly Cys Ile Asn Cys

180 185 190

Cys Lys Val Leu

195

<210> 4

<

211> 193

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Ala Ala Ile Arg Lys Lys Leu Val Ile Val Gly Asp Gly Ala Cys

1 5 10 15

Gly Lys Thr Cys Leu Leu Ile Val Phe Ser Lys Asp Gln Phe Pro Glu
20 25 30
Val Tyr Val Pro Thr Val Phe Glu Asn Tyr Val Ala Asp Ile Glu Val
35 40 45
Asp Gly Lys Gln Val Glu Leu Ala Leu Trp Asp Thr Ala Gly Gln Glu

50 55 60
Asp Tyr Asp Arg Leu Arg Pro Leu Ser Tyr Pro Asp Thr Asp Val Ile
65 70 75 80
Leu Met Cys Phe Ser Ile Asp Ser Pro Asp Ser Leu Glu Asn Ile Pro
85 90 95
Glu Lys Trp Thr Pro Glu Val Lys His Phe Cys Pro Asn Val Pro Ile
100 105 110
Ile Leu Val Gly Asn Lys Lys Asp Leu Arg Asn Asp Glu His Thr Arg

115 120 125
Arg Glu Leu Ala Lys Met Lys Gln Glu Pro Val Lys Pro Glu Glu Gly
130 135 140
Arg Asp Met Ala Asn Arg Ile Gly Ala Phe Gly Tyr Met Glu Cys Ser
145 150 155 160
Ala Lys Thr Lys Asp Gly Val Arg Glu Val Phe Glu Met Ala Thr Arg
165 170 175
Ala Ala Leu Gln Ala Arg Arg Gly Lys Lys Lys Ser Gly Cys Leu Ile

180 185 190
Leu

<210> 5
<211> 82
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic peptide
<400> 5
Val Ala Asn Lys Lys Asp Leu Arg Ser Asp Glu His Val Arg Thr Glu

1 5 10 15

Leu Ala Arg Met Lys Gln Glu Pro Val Arg Thr Asp Asp Gly Arg Ala

20 25 30

Met Ala Val Arg Ile Gln Ala Tyr Asp Tyr Leu Glu Cys Ser Ala Lys

35 40 45

Thr Lys Glu Gly Val Arg Glu Val Phe Glu Thr Ala Thr Arg Ala Ala

50 55 60

Leu Gln Lys Arg Tyr Gly Ser Gln Asn Gly Cys Ile Asn Cys Cys Lys

65 70 75 80

Val Leu

<210> 6

<211> 61

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic peptide

<400> 6

Lys Asp Leu Arg Ser Asp Glu His Val Arg Thr Glu Leu Ala Arg Met

1 5 10 15

Lys Gln Glu Pro Val Arg Thr Asp Asp Gly Arg Ala Met Ala Val Arg

20 25 30

Ile Gln Ala Tyr Asp Tyr Leu Glu Cys Ser Ala Lys Thr Lys Glu Gly

35 40 45

Val Arg Glu Val Phe Glu Thr Ala Thr Arg Ala Ala Leu

50 55 60

<210> 7

<211> 74

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<

223> Synthetic peptide

<400> 7

Ser Asp Glu His Val Arg Thr Glu Leu Ala Arg Met Lys Gln Glu Pro
1 5 10 15

Val Arg Thr Asp Asp Gly Arg Ala Met Ala Val Arg Ile Gln Ala Tyr
20 25 30

Asp Tyr Leu Glu Cys Ser Ala Lys Thr Lys Glu Gly Val Arg Glu Val
35 40 45

Phe Glu Thr Ala Thr Arg Ala Ala Leu Gln Lys Arg Tyr Gly Ser Gln
50 55 60

Asn Gly Cys Ile Asn Cys Cys Lys Val Leu
65 70

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic peptide

<400> 8

Ala Val Arg Ile Gln Ala Tyr Asp Tyr Leu Glu
1 5 10

<210> 9

<211> 665

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> light chain of 7F7

<400> 9

ccagttccga gctccagatg acccagactc cactctccct gcctgtcagt cttggagatc 60

aagcctccat ctcttgcaga tcaagtcaga gccttgtaca cagtaatgga aacacctatt 120

tacattggta cctgcagaag ccaggccagt ctccaaagct cctgatctac aaagtttcca 180

accgattttc tggggtccca gacaggttca gtggcagtgg atcagggaca gatttcacac 240

tcaagatcag cagagtggag gctgaggatc tgggagttta tttctgctct caaagtacac 300

atgttccgta cacgttcgga gggggggacca agctggaaat aaaacgggct gatgctgcac 360

caactgtatc catcttccca ccatccagtg agcagttaac atctggaggt gcctcagtcg 420

tgtgcttctt gaacaacttc taccccaaag acatcaatgt caagtggaag attgatggca 480

gtgaacgaca aaatggcgtc ctgaacagtt ggactgatca ggacagcaaa gacagcacct 540

acagcatgag cagcaccctc acgttgacca aggacgagta tgaacgacat aacagctata 600

cctgtgaggc cactcacaag acatcaactt cacccattgt caagagcttc aacaggaatg 660

agtgt 665

<210> 10

<211> 221

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> light chain of 7F7

<400> 10

Ser Ser Glu Leu Gln Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser
1 5 10 15

Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val
20 25 30

His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly
35 40 45

Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
65 70 75 80

Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser
85 90 95

Gln Ser Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu
100 105 110

Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser
115 120 125

Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn
130 135 140

Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser

145 150 155 160

Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys
165 170 175
Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu
180 185 190
Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser
195 200 205
Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210 215 220

<210>
11

<211> 1288

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> heavy chain of 7F7

<400> 11

tgaggtgaag ctggtggaga ctggggcttc agtgaagttg tcctgcaagg cttctggcta 60
caccttcacc agctactata tgttctgggt gaagcagagg cctggacatg gccttgagtg 120
gattgggggg tttaatccta ccaatggtgg tactgacttc aatgagaagt tcaagagcaa 180
ggccaccctg actgtagaca agtcctccac cacagcctac atacaactca gcagcctgac 240
atctgaggac tctgcggtct attactgtac ggatggtaac ctctggggtc aaggaacctc 300
ggtcaccgtc tcctcagcca aaacgacacc cccatctgtc tatccactgg cccctggatc 360

tgctgcccaa actaactcca tggtgaccct gggatgcctg gtcaagggct atttccctga 420
gccagtgaca gtgacctgga actctggatc cctgtccagc ggtgtgcaca ccttcccagc 480
tgtcctgcag tctgacctct acactctgag cagctcagtg actgtccct ccagcacctg 540
gcccagcgag accgtcacct gcaacgttgc ccacccggcc agcagcacca aggtggacaa 600
gaaaattgtg cccagggatt gtggttgtaa gccttgcata tgtacagtcc cagaagtatc 660
atctgtcttc atcttccccc caaagcccaa ggatgtgctc accattactc tgactcctaa 720
ggtcacgtgt gttgtggtag acatcagcaa ggatgatccc gaggtccagt tcagctggtt 780
tgtagatgat gtggaggtgc acacagctca gacgcaaccc cgggaggagc agttcaacag 840

cactttccgc tcagtcagtg aacttcccat catgcaccag gactggctca atggcaagga 900

gttcaaatgc agggtcaaca gtgcagcttt ccctgccccc atcgagaaaa ccatctccaa 960

aaccaaaggc agaccgaagg ctccacaggt gtacaccatt ccacctccca aggagcagat 1020

ggccaaggat aaagtcagtc tgacctgcat gataacagac ttcttccctg aagacattac 1080

tgtggagtgg cagtggaatg ggcagccagc ggagaactac aagaacactc agcccatcat 1140

ggacacagat ggctcttact tcgtctacag caagctcaat gtgcagaaga gcaactggga 1200

ggcaggaaat actttcacct gctctgtgtt acatgagggc ctgcacaacc accatactga 1260

gaagagcctc tcccactctc ctggtaaa 1288

<210> 12

<211> 429

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> heavy chain of 7F7

<400> 12

Glu Val Lys Leu Val Glu Thr Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys

1 5 10 15

Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met Phe Trp Val Lys Gln

20 25 30

Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile Gly Gly Phe Asn Pro Thr Asn

35 40 45

Gly Gly Thr Asp Phe Asn Glu Lys Phe Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr

50 55 60

Val Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr Ile Gln Leu Ser Ser Leu Thr

65 70 75 80

Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Asp Gly Asn Leu Trp Gly

85 90 95

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser

100 105 110

Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val

115 120 125

Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val

130 135 140

```
Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
145                 150                 155                 160
Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro
                165                 170                 175
Ser Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro

            180                 185                 190
Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly
        195                 200                 205
Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile
    210                 215                 220
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys
225                 230                 235                 240
Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln

                245                 250                 255
Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln
            260                 265                 270
Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu
        275                 280                 285
Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg
    290                 295                 300
Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

305                 310                 315                 320
Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro
                325                 330                 335
Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr
            340                 345                 350
Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln
        355                 360                 365
Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly

    370                 375                 380
Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu
```

385 390 395 400

Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn

405 410 415

His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys

420 425

<210> 13

<211> 647

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> light chain of 9G5

<400> 13

ccagttccga gctccagatg acccagactc cagcaatcat gtctgcatct ccaggggaga 60

aggtcaccat gacctgcagt gccagctcaa gtgtaagtta catgcactgg taccagcaga 120

agccaggatc ctcgcccaaa ccctggattt atgacacatc caacctggct tctggattcc 180

ctgctcgctt cagtggcagt gggtctggga cctcttactc tctcataatc agcagcatgg 240

aggctgaaga tgctgccact tattactgcc atcagcggag tagttacccg tacacgttcg 300

gaggggggac caagctggaa ataaaacggg ctgatgctgc accaactgta tccatcttcc 360

caccatccag tgagcagtta acatctggag gtgcctcagt cgtgtgcttc ttgaacaact 420

tctaccccaa agacatcaat gtcaagtgga agattgatgg cagtgaacga caaaatggcg 480

tcctgaacag ttggactgat caggacagca aagacagcac ctacagcatg agcagcaccc 540

tcacgttgac caaggacgag tatgaacgac ataacagcta tacctgtgag gccactcaca 600

agacatcaac ttcacccatt gtcaagagct tcaacaggaa tgagtgt 647

<210> 14

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> light chain of 9G5

<400> 14

Ser Ser Glu Leu Gln Met Thr Gln Thr Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser

1 5 10 15

Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser
20 25 30
Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp
35 40 45
Ile Tyr Asp Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Phe Pro Ala Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Ile Ile Ser Ser Met Glu
65 70 75 80

Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Arg Ser Ser Tyr Pro
85 90 95
Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala
100 105 110
Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser
115 120 125
Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp
130 135 140

Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val
145 150 155 160
Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met
165 170 175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser
180 185 190
Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210 215

<210> 15

<211> 1359

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> heavy chain of 9G5

<400> 15

gaggtgaagc tggtggagac wggtggagga ttggtgcagc ctaaagggtc attgaaactc 60

tcatgtgcag cctctggatt caacttcaat acctacgcca tgaactgggt ccgccaggct 120

ccaggaaagg gtttggaatg ggttgctcgc ataagaagta aaagtaataa ttatgcaaca 180

tattatgccg attcagtgaa agacagattc accatctcca gagatgattc agaaaacatg 240

ctctatctgc aaatgaacaa cttgaaaact gaggacacag ccatttatta ctgtgtgaga 300

ggggggtggta accttgacta ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc ctcagccaaa 360

acaacagccc catcggtcta tccactggcc cctgtgtgtg gaggtacaac tggctcctcg 420

gtgactctag gatgcctggt caagggttat ttccctgagc cagtgacctt gacctggaac 480

tctggatccc tgtccagtgg tgtgcacacc ttcccagctc tcctgcagtc tggcctctac 540

accctcagca gctcagtgac tgtaacctcg aacacctggc ccagccagac catcacctgc 600

aatgtggccc acccggcaag cagcaccaaa gtggacaaga aaattgagcc cagagtgccc 660

ataacacaga acccctgtcc tccactcaaa gagtgtcccc catgcgcagc tccagacctc 720

ttgggtggac catccgtctt catcttccct ccaaagatca aggatgtact catgatctcc 780

ctgagcccca tggtcacatg tgtggtggtg gatgtgagcg aggatgaccc agacgtccag 840

atcagctggt ttgtgaacaa cgtggaagta cacacagctc agacacaaac ccatagagag 900

gattacaaca gtactctccg ggtggtcagt gccctcccca tccagcacca ggactggatg 960

agtggcaagg agttcaaatg caaggtcaac aacagagccc tcccatcccc catcgagaaa 1020

accatctcaa aacccagagg gccagtaaga gctccacagg tatatgtctt gcctccacca 1080

gcagaagaga tgactaagaa agagttcagt ctgacctgca tgatcacagg cttcttacct 1140

gccgaaattg ctgtggactg gaccagcaat gggcgtacag agcaaaacta caagaacacc 1200

gcaacagtcc tggactctga tggttcttac ttcatgtaca gcaagctcag agtacaaaag 1260

agcacttggg aaagaggaag tcttttcgcc tgctcagtgg tccacgaggg tctgcacaat 1320

caccttacga ctaagacctt ctcccggact ccgggtaaa 1359

<210> 16

<211> 453

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> heavy chain of 9G5

<400> 16

Glu Val Lys Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly

```
 1               5                  10                  15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Phe Asn Thr Tyr
            20                  25                  30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Arg Ile Arg Ser Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
    50                  55                  60
Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Glu Asn Met
65                  70                  75                  80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Ile Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Val Arg Gly Gly Gly Asn Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110
Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro
        115                 120                 125
Leu Ala Pro Val Cys Gly Gly Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly
    130                 135                 140
Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn
145                 150                 155                 160

Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Leu Leu Gln
                165                 170                 175
Ser Gly Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Asn Thr
            180                 185                 190
Trp Pro Ser Gln Thr Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser
        195                 200                 205
Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Val Pro Ile Thr Gln Asn
    210                 215                 220

Pro Cys Pro Pro Leu Lys Glu Cys Pro Pro Cys Ala Ala Pro Asp Leu
225                 230                 235                 240
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val
                245                 250                 255
```

Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Met Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
260 265 270
Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val
275 280 285

Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser
290 295 300
Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met
305 310 315 320
Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Arg Ala Leu Pro Ser
325 330 335
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Pro Arg Gly Pro Val Arg Ala Pro
340 345 350

Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Ala Glu Glu Met Thr Lys Lys Glu
355 360 365
Phe Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Gly Phe Leu Pro Ala Glu Ile Ala
370 375 380
Val Asp Trp Thr Ser Asn Gly Arg Thr Glu Gln Asn Tyr Lys Asn Thr
385 390 395 400
Ala Thr Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu
405 410 415

Arg Val Gln Lys Ser Thr Trp Glu Arg Gly Ser Leu Phe Ala Cys Ser
420 425 430
Val Val His Glu Gly Leu His Asn His Leu Thr Thr Lys Thr Phe Ser
435 440 445
Arg Thr Pro Gly Lys
450