



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년03월14일

(11) 등록번호 10-2780485

(24) 등록일자 2025년03월07일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/24 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01) *A61P 11/06* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/244 (2013.01)
A61P 11/00 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7007290(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2017년11월30일
 심사청구일자 2024년04월03일
- (85) 번역문제출일자 2024년03월04일
- (65) 공개번호 10-2024-0033187
- (43) 공개일자 2024년03월12일
- (62) 원출원 특허 10-2019-7015123
 원출원일자(국제) 2017년11월30일
 심사청구일자 2020년11월27일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2017/064041
- (87) 국제공개번호 WO 2018/102597
 국제공개일자 2018년06월07일
- (30) 우선권주장
 62/428,634 2016년12월01일 미국(US)
 (뒷면에 계속)
- (56) 선행기술조사문헌
 US20090074793 A1

- (73) 특허권자
 리제너론 파아마슈티컬스, 인크.
 미국 뉴욕 10591-6707 테리타운 올드 소우 밀 리버
 로드 777
- (72) 발명자
 오렌고 제이미 엠.
 미국 뉴욕주 10591 테리타운 올드 소우 밀 리버
 로드 777 리제너론 파아마슈티컬스 인크. 내
 알린 진
 미국 뉴욕주 10591 테리타운 올드 소우 밀 리버
 로드 777 리제너론 파아마슈티컬스 인크. 내
 (뒷면에 계속)
- (74) 대리인
 장훈

전체 청구항 수 : 총 18 항

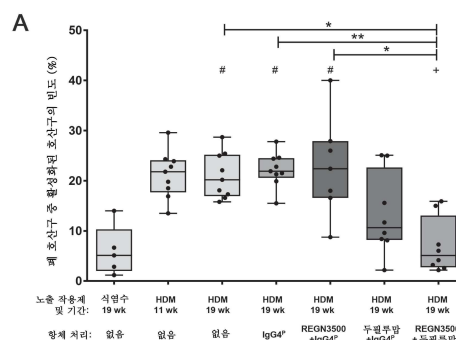
심사관 : 이동욱

(54) 발명의 명칭 **염증 질환의 치료 방법**

(57) 요약

본 발명은 IL-33 및 IL-4의 상승된 수준과 연관이 있거나 부분적으로는 이로 인한 염증성 질병 또는 질환, 특히 염증성 폐 장애를 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명의 방법은 하나 이상의 치료적 유효 용량의 IL-33 길항제를 단독으로 또는 하나 이상의 치료적 유효 용량의 IL-4R 길항제와 조합하여 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 본 발명의 방법은 증강된 IL-33-매개 신호전달 및 IL-4-매개 신호전달에 의해 부분적으로 매개되는 임의의 염증성 질병 또는 질환을 치료하기 위한 길항제의 용도를 포함한다.

대표도 - 도4a



(52) CPC특허분류

A61P 11/06 (2018.01)
C07K 16/2866 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/21 (2013.01)
C07K 2317/34 (2013.01)
C07K 2317/56 (2013.01)
C07K 2317/565 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)
C07K 2319/00 (2013.01)

(30) 우선권주장

62/473,738 2017년03월20일 미국(US)
62/567,318 2017년10월03일 미국(US)

(72) 발명자

머피 앤드류 제이.

미국 뉴욕주 10591 테리타운 올드 소우 밀 리버 로
드 777 리제너론 파아마슈티컬스 인크. 내

얀코폴로스 조지 디.

미국 뉴욕주 10591 테리타운 올드 소우 밀 리버 로
드 777 리제너론 파아마슈티컬스 인크. 내

명세서

청구범위

청구항 1

인터루킨-33(IL-33) 길항제 및 인터루킨-4 수용체(IL-4R) 길항제를 포함하는 약제학적 조성물로서, 상기 약제학적 조성물은

- (i) 대상체의 기도 또는 폐의 염증성 질병 또는 장애를 치료하거나,
- (ii) 대상체의 폐 섬유증 질병 또는 장애를 치료하거나,
- (iii) 대상체의 기도 또는 폐에서의 알레르기 반응을 예방하거나 이의 중증도를 감소시키기 위한 방법에 사용하기 위한 것이고,

상기 IL-33 길항제가 SEQ ID NO: 276, 278 및 280의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR)인 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR), 및 SEQ ID NO: 284, 286 및 288의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR)인 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR)을 포함하는 모노클론 항체이고,

상기 IL-4R 길항제가 SEQ ID NO: 339, 340 및 341의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 HCDR인 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 342, 343 및 344의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 LCDR인 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 LCVR을 포함하는 모노클론 항체인, 약제학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 기도 또는 폐의 염증성 질병 또는 장애가 천식, 만성 폐색성 폐질환(COPD), 천식 및 COPD 중복 증후군(ACOS; asthma and COPD overlap syndrome), 만성 기관지염, 기종(emphysema), 비용종을 동반하거나 동반하지 않는 만성 비부비동염, 과민성 폐렴 및 알레르기성 비염으로 구성된 군으로부터 선택되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 폐 섬유증 질병 또는 장애가 특발성 폐 섬유증, 급성 폐 손상 또는 급성 호흡 곤란과 연관된 섬유증, 규폐증, 방사선-유도 섬유증, 블레오마이신-유도 폐 섬유증, 석면-유도 폐 섬유증, 및 폐쇄 세기관지염 증후군(bronchiolitis obliterans syndrome)으로 구성된 군으로부터 선택되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 4

제2항에 있어서, 상기 염증성 질병 또는 장애가 천식인, 약제학적 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 천식이 바이러스 질병, 박테리아 감염, 알레르겐에의 노출, 화학물질 또는 화학물질 연기에의 노출, 또는 환경 자극원 또는 공기 오염물질에의 노출 중 하나 이상에 의해 악화되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 6

제4항에 있어서, 상기 천식이 호산구성 천식, 비-호산구성 천식, 스테로이드 내성 천식 또는 스테로이드 민감성 천식인, 약제학적 조성물.

청구항 7

제2항에 있어서, 상기 염증성 질병 또는 장애가 만성 폐색성 폐질환(COPD)인, 약제학적 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 만성 폐색성 폐질환이 천식, 바이러스 질병, 박테리아 감염, 알레르겐에의 노출, 화학물질 또는 화학물질 연기에의 노출, 또는 환경 자극원 또는 공기 오염물질에의 노출 중 하나 이상에 의해 악화되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 9

제7항에 있어서, 상기 만성 폐색성 폐질환이 담배 연기로 인한 것이거나, 이로 인해 부분적으로 악화되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 IL-33 길항제 및 상기 IL-4R 길항제가 상기 염증성 질병 또는 장애를 완화시키는 데 유용한 하나 이상의 추가의 치료제와 병용하기 위한 것인, 약제학적 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 하나 이상의 추가의 치료제가 비-스테로이드성 항-염증제(NSAID), 코티코스테로이드, 기관지 확장제, 항히스타민, 에피네프린, 충혈완화제, 흉선 기질상 림포포이에틴(TSLP; thymic stromal lymphopoietin) 길항제, IL-1 길항제, IL-8 길항제, IL-13 길항제, 상이한 IL-4 길항제, IL-4/IL-13 이중 길항제, IL-33/IL-13 이중 길항제, IL-5 길항제, IL-6 길항제, IL-12/23 길항제, IL-22 길항제, IL-25 길항제, IL-17 길항제, IL-31 길항제, TNF 저해제, IgE 저해제, 류코트리엔 저해제, 경구 PDE4 저해제, 메틸크산틴, 네도크로밀 소듐, 크로몰린 소듐, 장기간-작용성 베타 2 효능제(agonist)(LABA), 장기간-작용성 무스카린성 길항제(LAMA), 흡입 코티코스테로이드(ICS) 및 또 다른 IL-33 길항제로 구성된 군으로부터 선택되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 또 다른 IL-33 길항제가 IL-33에 대한 상이한 항체, 상이한 IL-33 수용체-기반 트랩(trap), ST2 항체, 가용성 ST2 수용체, ST2 이외의 IL-33 수용체에 대한 길항제, IL-1RAcP 길항제, 및 IL-33/ST2 복합체와 상호작용하는 항체로 구성된 군으로부터 선택되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 13

제1항에 있어서, 상기 IL-33 길항제 및 상기 IL-4R 길항제가 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하기 위해 개별 제제화되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 14

제1항에 있어서, 상기 IL-33 길항제 및 상기 IL-4R 길항제가 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하기 위해 공동-제제화되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 15

제1항에 있어서, 상기 IL-33 길항제 및 상기 IL-4R 길항제가 대상체에게 피하, 정맥내, 근육내 또는 비강내 투여하기 위한 것인, 약제학적 조성물.

청구항 16

제1항에 있어서, 상기 IL-33 길항제가 SEQ ID NO: 274의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 274의 아미노산 서열과 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 282의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 282의 아미노산 서열과 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 LCVR을 포함하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 17

제1항에 있어서, 상기 IL-4R 길항제가 SEQ ID NO: 337의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 337의 아미노산 서열과 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 338의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 338의 아미노산 서열과 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 LCVR을 포함하는 것인, 약제학적

조성물.

청구항 18

제1항에 있어서, 상기 IL-33 길항제가 SEQ ID NO: 274의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 282의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR을 포함하고, 상기 IL-4R 길항제가 SEQ ID NO: 337의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 338의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR을 포함하는 것인, 약제학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 본 발명은 치료적 유효량의 인터루킨-33(IL-33) 길항제를 단독으로 또는 인터루킨-4(IL-4) 길항제와 조합하여 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 염증 질환의 치료 방법에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 치료적 유효량의 인터루킨-33(IL-33) 항체를 단독으로 또는 인터루킨-4R(IL-4R) 항체와 조합하여 투여함으로써 염증성 또는 폐색성 폐질환 또는 장애를 치료하는 것에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 염증은 숙주에 의한 보호 반응으로서 개시되지만, 이러한 염증은 종종 전신 병리를 초래할 수 있다. 염증성 폐질환, 예컨대 천식, 알레르기 및 만성 폐색성 폐질환(COPD)은 선진국에서 증가하고 있으며, 의료 비용에 큰 결과를 초래한다. 몇몇 염증 세포 및 이들의 매개자는 이들 질병의 발병 및 진행에 참여한다. 소정의 경우, 이들 질병은 조직에 호산구, 호염기구, 비만 세포, CD4+ T 조력자 2(Th2) 세포, 그룹 2 선천적 림프모양 세포(ILC2), 인터루킨-4(IL-4) 및/또는 IL-13 유도 대식세포의 침윤, 뿐만 아니라 혈청 IgE의 상승 및 사이토카인 IL-4, IL-5, IL-9 및 IL-13의 증가를 특징으로 하는 유형 2 면역력의 결과를 반영한다.
- [0003] 염증성 폐질환에서 역할을 하는 것으로 여겨지는 하나의 사이토카인은 알레르겐, 바이러스 또는 흡연과 같은 공격에 반응하여 손상된 상피 조직에 의해 방출되는 전염증성 사이토카인인 인터루킨-33(IL-33)이다. IL-33은 T 조력자-2(Th2)-연관 사이토카인(예를 들어 IL-4)의 생성을 강력하게 이끌어내는 인터루킨-1(IL-1) 계통(family)의 구성원이다. IL-33은 섬유아세포, 비만 세포, 수지상 세포, 대식세포, 조골세포, 내피 세포 및 상피 세포를 포함한 광범위하게 다양한 세포 유형에 의해 발현된다. 인터루킨-33(IL-33)은 악세사리 단백질, IL-1RAcP("인터루킨-1 수용체 악세사리 단백질", 검토를 위해 예를 들어 문헌[Kakkar and Lee, *Nature Reviews - Drug Discovery* 7(10):827-840 (2008), Schmitz et al., *Immunity* 23:479-490 (2005); Liew et al., *Nature Reviews - Immunology* 10:103-110 (2010)]; US 2010/0260770; US 2009/0041718 참조)와 연합하는 톨-유사(toll-like)/인터루킨-1 수용체 슈퍼-계통 구성원인 ST2(이하 "종양원성 2의 억제"로 지칭됨)에 대한 리간드이다. IL-33에 의한 ST2/IL-1RAcP의 활성화 시, 신호전달 캐스케이드는 MyD88(골수 분화 인자 88) 및 TRAF6(TNF 수용체 연관 인자 6)과 같은 다운스트림 분자를 통해 촉발되어, 다른 것들 중에서도 NF κ B(핵 인자- κ B)의 활성화를 초래한다. IL-33 신호전달은 본원에 개시된 염증성 폐질환을 포함한 여러 가지 질병 및 장애에서 인자로서 연루되어 왔다. (문헌[Liew et al., *Nature Reviews - Immunology* 10:103-110(2010)]). IL-33 신호전달의 저해제는 예를 들어, US9,453,072; US8187596; US2013/17373761; US2014/0212412; US2014/0271658; US2014/0271642; US2014/0004107; WO2015/099175; WO2015/106080; WO2011/031600; WO2014/164959; WO2014/152195; WO2013/165894; WO2013/173761; EP1725261; EP1081592A1; 및 EP2850103A2에 기재되어 있다.
- [0004] 인터루킨-4(IL-4로서, B 세포 자극 인자 또는 BSF-1로도 공지되어 있음)는 또한, 알레르기 및 T 조력자 세포 유형 2(Th2) 분극화 염증 과정을 이끄는 주요 사이토카인으로서 연루되어 왔다. IL-4는 T 세포, 비만 세포, 과립구, 거핵구 및 적혈구의 성장 자극을 포함하여 광범위한 스펙트럼의 생물학적 활성을 갖는 것으로 나타났다. IL-4는 휴지기 B 세포에서 클래스 II 주 조직적합성 복합체 분자의 발현을 유도하고, 자극된 B 세포에 의한 IgE 및 IgG1 이소형의 분비를 증강시킨다. IL-4의 생물학적 활성은 IL-4에 대한 특이적인 세포 표면 수용체에 의해 매개된다. 인간 IL-4 수용체 알파(hIL-4R)(SEQ ID NO: 347)는 예를 들어, 미국 특허 5,599,905, 5,767,065 및 5,840,869에 기재되어 있다. hIL-4R에 대한 항체는 미국 특허 5,717,072, 7,186,809 및 7,605,237에 기재되어 있다. hIL-4R에 대한 항체의 사용 방법은 미국 특허 5,714,146; 5,985,280; 6,716,587 및 9,290,574 에 기재되어 있다.
- [0005] 폐의 염증성 질병의 치료를 위한 현재의 치료법은 예를 들어 천식 및 만성 폐색성 폐질환(COPD)을 앓고 있는 환

자에서 안전성 및 효능의 개선, 특히 악화를 감소시키는 유의한 여지를 남겨 둔다. 항-염증 약물과 기관지확장 약물의 수많은 흡입 조합의 이용 가능성에도 불구하고, 많은 환자들은 계속해서 악화를 경험한다. 이러한 악화는 전신 코티코스테로이드의 사용을 필요로 할 수 있으며, 이러한 코티코스테로이드는 이들의 광범위한 면역 중화능으로 인해 효과적이긴 하지만, 골 소실 및 감염을 포함한 바람직하지 못한 부작용의 부담이 있다. 몇몇 생물학적 치료법은 천식 및 COPD에 대한 후기 발병에서 존재하며, 이들 치료법 중 대부분은 단일 면역 매개자를 표적으로 한다. 그러나, 염증 환경의 복잡성으로 인해, 이들 작용제는 이들의 용도에서 제한을 받을 가능성이 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 이에, 본원에 기재된 것들과 같은 염증성 폐질환의 치료 및/또는 예방을 위한 치료법들의 신규 조합에 대해 충족되지 않은 필요성이 당업계에 존재한다.

과제의 해결 수단

[0007] 본 발명의 소정의 양태에 따르면, 염증성 질병 또는 장애, 또는 이러한 염증성 질병 또는 장애와 연관된 적어도 하나의 증상을 치료하기 위한 방법이 제공되며, 상기 방법은 하나 이상의 용량의 치료적 유효량의 인터루킨-33(IL-33) 길항제를 단독으로 또는 하나 이상의 용량의 치료적 유효량의 인터루킨-4(IL-4) 길항제와 조합하여 이를 필요로 하는 대상체에게, 또는 IL-33 길항제 및 IL-4 길항제를 포함하는 약제학적 조성물을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 일 실시형태에서, IL-4 길항제와 조합된 IL-33 길항제의 투여는 IL-33 길항제 단독 또는 IL-4 길항제 단독의 투여 시 관찰되는 치료 효능과 비교하여 증강된 치료 효능을 초래한다.

[0008] 소정의 실시형태에서, IL-33 길항제는 IL-33 신호전달 및/또는 IL-33과 세포 수용체(예를 들어 ST2) 또는 공동-수용체(예를 들어 IL-1RAcP) 또는 이들의 복합체 사이의 상호작용을 차단하거나, 약화시키거나 또는 그렇지 않다면 방해할 수 있는 임의의 작용제이다. 상기 중 임의의 IL-33 길항제는 IL-33의 적어도 하나의 생물학적 활성을 차단하거나 저해할 수 있다.

[0009] 소정의 실시형태에서, IL-33 길항제는 IL-33에 결합하거나 이와 상호작용하고 IL-33과 이의 수용체 ST2의 상호작용을 차단하고 ST2와 공동-수용체 IL-1RAcP의 상호작용을 방지하거나 저해하거나, 신호전달 복합체의 형성을 방지하는 항체이다. 일 실시형태에서, IL-33 길항제는 인간 IL-33에 특이적으로 결합하거나 이와 상호작용하는 모노클론 항체이다. 일 실시형태에서, IL-33 길항제는 인간 IL-33에 특이적으로 결합하거나 이와 상호작용하는 수용체-기반 트랩(trap)이다.

[0010] 일 실시형태에서, IL-4 길항제는 인터루킨-4 수용체(IL-4R) 길항제이다.

[0011] 일 실시형태에서, IL-4R 길항제는 IL-4R α 또는 IL-4R 리간드에 결합하거나 이와 상호작용하고, 유형 1 및/또는 유형 2 IL-4 수용체의 정상적인 생물학적 신호전달 기능을 저해하거나 약화시키는 임의의 작용제이다. 일 실시형태에서, IL-4R 길항제는 인간 IL-4R α 에 특이적으로 결합하는 모노클론 항체이다. 일 실시형태에서, IL-4R 길항제는 IL-4R α 에 결합하고 유형 I 또는 유형 II 수용체를 통한 IL-4-매개 및 IL-13-매개 신호전달을 둘 다 차단하는 모노클론 항체이다. 일 실시형태에서, 인간 IL-4R α 에 특이적으로 결합하고 IL-4-매개 및 IL-13-매개 신호전달을 둘 다 차단하는 모노클론 항체는 두필루맷(dupilumab) 또는 이의 생물학적 등가물(bioequivalent)이다. 일 실시형태에서, 염증 장애 또는 질환의 치료 방법은 SEQ ID NO: 274/282의 중쇄 가변 영역/경쇄 가변 영역(HCVR/LCVR) 아미노산 서열 쌍을 갖는 REGN3500과 SEQ ID NO: 337/338의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 갖는 두필루맷의 조합의 사용을 통해 달성된다.

[0012] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 의해 치료 가능한 염증성 질병 또는 장애는 천식, 만성 폐색성 폐질환(COPD), 천식 및 COPD 중복 증후군(ACOS; asthma and COPD overlap syndrome), 아토피 피부염, 비염, 알레르기 반응, 만성 기관지염, 기종(emphysema), 비염을 동반하거나 동반하지 않는 만성 비부비동염, 염증성 장질환, 크론병, 궤양성 대장염, 과민성 폐렴, 다발성 경화증, 관절염(골관절염, 류마티스 관절염 또는 건선성 관절염 포함), 알레르기성 비염, 섬유증, 호산구성 식도염, 혈관염, 두드러기, 처그-스트라우스 증후군(Churg Strauss syndrome), 염증 통증 및 건선으로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0013] 일 실시형태에서, 천식은 호산구성 천식이다.

- [0014] 일 실시형태에서, 천식은 비-호산구성 천식이다.
- [0015] 일 실시형태에서, 천식은 알레르기성 천식이다.
- [0016] 일 실시형태에서, 천식은 비-알레르기성 천식이다.
- [0017] 일 실시형태에서, 천식은 중증 불응성 천식이다.
- [0018] 일 실시형태에서, 천식은 스테로이드 내성 천식이다.
- [0019] 일 실시형태에서, 천식은 스테로이드 민감성 천식이다.
- [0020] 일 실시형태에서, 천식은 스테로이드 불응성 천식이다.
- [0021] 일 실시형태에서, 천식은 천식 악화이다.
- [0022] 일 실시형태에서, 염증성 질병 또는 장애는 중증도, 기간 또는 발생 빈도에서 완화되거나 감소되거나, 또는 염증성 질병 또는 장애와 연관된 적어도 하나의 증상은 중증도, 기간 또는 발생 빈도에서 완화되거나 감소된다.
- [0023] 일 실시형태에서, 치료적 유효량의 하나 이상의 용량의 IL-33 길항제를 단독으로 또는 하나 이상의 용량의 치료적 유효량의 IL-4R 길항제와 조합하여 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것은 하기 매개변수 중 임의의 하나 이상에 의해 측정된 바와 같이 증강된 치료 효능을 초래한다:
- [0024] a) 하기 중 하나 이상의 감소: 조직 시료 내 호산구, 활성화된 B 세포, 활성화된 CD8 T 세포의 빈도 또는 CD4/CD8 T 세포 비;
- [0025] b) 하기 중 하나 이상의 감소: 조직 시료 내 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 인터루킨-4(IL-4), 인터루킨-5(IL-5), 인터루킨-6(IL-6), 인터루킨-13(IL-13), 단핵구 화학주성 단백질-1(MCP-1) 또는 종양 괴사 인자 알파(TNF α) 수준; 또는
- [0026] c) 하기 중 하나 이상의 유전자 발현 수준의 감소: 조직 시료 내 *Il4*, *Il5*, *Il6*, *Il9*, *Il13*, *Il1r11*, *Il13ra2*, *tnf*, *Tgfb1*, *Ccl2*, *Ccl11*, *Ccl24*, *Col15a1* 또는 *Col24a1*.
- [0027] 일 실시형태에서, 치료적 유효량의 하나 이상의 용량의 IL-33 길항제를 단독으로 또는 하나 이상의 용량의 치료적 유효량의 IL-4R 길항제와 조합하여 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것은 하기 중 하나 이상에 의해 추가로 측정된 바와 같이 증강된 치료 효능을 초래한다:
- [0028] d) 혈청 IgE 수준의 감소;
- [0029] e) 폐에서 배상 세포 화생(goblet cell metaplasia)의 감소;
- [0030] f) 폐 경화의 개선; 또는
- [0031] g) 폐에서 상피-하(sub-epithelial) 섬유증의 저하.
- [0032] 일 실시형태에서, 조직 시료는 폐로부터 취득된다.
- [0033] 일 실시형태에서, 조직 시료는 간, 신장, 심장 또는 전혈로 구성된 군으로부터 선택된다. 소정의 실시형태에서, 혈액 세포, 혈청 또는 혈장은 상기 기재된 하나 이상의 매개변수를 측정하는 데 사용될 수 있다.
- [0034] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 의해 치료 가능한 만성 폐색성 폐질환은 하기 중 하나 이상에 의해 악화된다: 천식, 바이러스 질병, 박테리아 감염, 알레르겐에의 노출, 화학물질 또는 화학물질 연기에의 노출, 또는 환경 자극원 또는 공기 오염물질에의 노출.
- [0035] 관련된 실시형태에서, 본 발명의 방법에 의해 치료 가능한 천식은 하기 중 하나 이상에 의해 악화된다: 바이러스 질병, 박테리아 감염, 알레르겐에의 노출, 화학물질 또는 화학물질 연기에의 노출, 또는 환경 자극원 또는 공기 오염물질에의 노출.
- [0036] 소정의 실시형태에서, 본 발명의 방법에 의해 치료 가능한 천식은 호산구성 천식, 비-호산구성 천식, 스테로이드 내성 천식 및 스테로이드 민감성 천식으로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0037] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 의해 치료 가능한 만성 폐색성 폐질환은 부분적으로는 담배 연기로 인한 것이거나 이로 인해 악화된다.
- [0038] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 의해 치료 가능한 만성 폐색성 폐질환을 앓고 있는 환자는 호산구 수의 증

가를 나타낼 수 있거나 나타내지 않을 수 있다.

- [0039] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 의해 치료 가능한 천식 및 COPD 중복 증후군(ACOS)을 앓고 있는 환자는 호산구 수의 증가를 나타낼 수 있거나 나타내지 않을 수 있다.
- [0040] 본 발명의 제2 양태는 염증성 질병 또는 장애, 또는 염증성 질병 또는 장애의 적어도 하나의 증상을 완화시키기에 유용한 유효량의 하나 이상의 추가의 치료제를 치료적 유효량의 인터루킨-33(IL-33) 길항제, 예를 들어 IL-33 항체 또는 IL-33 트랩, 및 치료적 유효량의 인터루킨-4(IL-4) 길항제, 예를 들어 IL-4R 항체, 예컨대 두필루맵, 또는 이들의 치료적 등가물과 함께 투여함으로써, 염증성 질병 또는 장애, 또는 염증성 질병 또는 장애와 연관된 적어도 하나의 증상의 치료를 제공한다.
- [0041] 일 실시형태에서, 하나 이상의 추가의 치료제는 비-스테로이드성 항염증제(NSAID), 코티코스테로이드(예를 들어 흡입 코티코스테로이드 또는 ICS), 장기간-작용성 $\beta 2$ 아드레날린성 효능제(LABA), 장기간-작용성 무스카린성 길항제(LAMA), 기관지 확장제, 항히스타민, 에피네프린, 충혈완화제, 흉선 기질상 림포포이에틴(TSLP; thymic stromal lymphopoietin) 길항제, IL-1 길항제, IL-8 길항제, IL-13 길항제, 상이한 IL-4 길항제, IL-4/IL-13 이중 길항제, IL-33/IL-13 이중 길항제, IL-5 길항제, IL-6 길항제, IL-12/23 길항제, IL-22 길항제, IL-25 길항제, IL-17 길항제, IL-31 길항제, TNF 저해제, IgE 저해제, 류코트리엔 저해제, 경구 PDE4 저해제, 메틸크산틴, 네도크로밀 소듐, 크로몰린 소듐, 장기간-작용성 베타 2 효능제(agonist) 및 또 다른 IL-33 길항제(예를 들어 IL-33에 대한 상이한 항체, 상이한 IL-33 수용체-기반 트랩, ST2에 대한 항체 또는 가용성 ST2 수용체를 포함한 ST2 길항제, 또는 ST2 이외의 또 다른 IL-33 수용체에 대한 길항제, 또는 IL-1RAcP에 대한 항체를 포함한 IL-1RAcP 길항제, 또는 IL-33/ST2 복합체와 상호작용하는 항체)로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0042] 일부 실시형태에서, 본 발명은 예를 들어 흡입 코티코스테로이드(ICS) 및/또는 장기간-작용성 $\beta 2$ 아드레날린성 효능제(LABA) 및/또는 장기간-작용성 무스카린성 길항제(LAMA)를 포함한 백그라운드 치료법 외에도, IL-4R 길항제(예를 들어 두필루맵)와 IL-33 길항제(예를 들어 REGN3500)의 동시 투여를 포함하는, 중등도-내지-중증 만성 폐색성 폐질환(COPD)을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0043] 소정의 실시형태에서, 본 발명은 IL-33 길항제(예를 들어 REGN3500)와 조합된 IL-4R 길항제(예를 들어 두필루맵)를 이용하여 천식을 앓고 있는 환자를 치료하는 단계를 포함하는, "천식 조절 상실"(LOAC; loss of asthma control) 사례의 발병률을 감소시키는 방법을 제공한다. 소정의 실시형태에서, IL-33 길항제와 조합된 IL-4R 길항제의 병용은 IL-4R 길항제 단독 또는 IL-33 길항제 단독의 투여보다 더 효과적인 결과를 제공한다.
- [0044] 관련된 실시형태에서, IL-4R 길항제와 조합된 IL-33 길항제의 투여는 유형 1 면역 반응의 증가, 및/또는 질병 또는 질병이나 알레르기의 원인 물질에 의해 유발되는 유형 2 면역 반응의 감소를 초래한다.
- [0045] 본 발명의 제3 양태는 섬유증 질병 또는 장애, 또는 섬유증 질병 또는 장애와 연관된 적어도 하나의 증상을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 IL-33에 특이적으로 결합하는 IL-33 길항제(IL-33 항체 또는 IL-33 트랩)와 IL-4R α 에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 조합, 또는 IL-33 길항제 및 IL-4 α 길항제를 함유하는 약제학적 조성물을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하며, 여기서, 섬유증 질병 또는 장애는 중증도 또는 기간에서 완화되거나 감소되거나, 또는 섬유증 질병 또는 장애와 연관된 적어도 하나의 증상은 중증도, 기간 또는 발생 빈도에서 완화되거나 감소된다. 일 실시형태에서, IL-4R 길항제와 조합된 IL-33 길항제를 이용한 섬유증 질병의 치료는 섬유증 조직을 이의 정상 상태로 복구되도록 초래할 수 있다.
- [0046] 일 실시형태에서, 본 발명의 항-IL-33 및 IL-4R 길항제, 예컨대 본원에 기재된 IL-4R α 항체와 조합된 IL-33 항체 또는 IL-33 트랩을 투여함으로써 치료 가능한 섬유증 질병 또는 장애로는, 폐 섬유증(예를 들어 특발성 폐 섬유증, 블레오마이신-유도 폐 섬유증, 석면-유도 폐 섬유증 및 폐쇄 세기관지염 증후군(bronchiolitis obliterans syndrome)), 만성 천식, 급성 폐 손상 및 급성 호흡 곤란과 연관된 섬유증(예를 들어 박테리아성 폐렴-유도 섬유증, 외상-유도 섬유증, 바이러스성 폐렴-유도 섬유증, 인공호흡기-유도 섬유증, 비-폐 패혈증-유도 섬유증(non-pulmonary sepsis induced fibrosis) 및 흡인-유도 섬유증), 규폐증, 방사선-유도 섬유증, 만성 폐색성 폐질환(COPD로서, 직접 또는 간접 흡연에의 노출과 관련되거나 이에 의해 부분적으로 유발되거나 이로 인한 것일 수 있거나 그렇지 않을 수 있음), 경피증, 안구 섬유증, 피부 섬유증(예를 들어 경피증), 간 섬유증(예를 들어 간경변, 알코올-유도 간 섬유증, 비-알코올성 지방간염(NASH), 담도 손상, 원발성 담즙성 간경변, 감염-유도 또는 바이러스성-유도 간 섬유증, 자가면역 간염, 신장(신(renal)) 섬유증, 심장 섬유증, 아테롬성 동맥 경화증, 스텐트 재협착증 및 골수섬유증이 있다.
- [0047] 본 발명의 제4 양태는 알레르기 반응을 예방하거나 이의 중증도를 감소시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 하

나 이상의 용량의 치료적 유효량의 IL-33 길항제를 하나 이상의 용량의 치료적 유효량의 IL-4R 길항제와 조합하여 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하며, 여기서, 조합의 투여는 IL-33 길항제 단독 또는 IL-4R 길항제 단독의 투여 시 관찰되는 치료 효능과 비교하여, 알레르기 반응의 예방 또는 이의 중증도의 감소에 대한 증강된 치료 효능을 초래한다. IL-4R 길항제와 조합된 IL-33 길항제로 치료되는 대상체는 IL-33 길항제와 IL-4R 길항제의 조합 또는 이들 길항제를 포함하는 조성물의 투여 후, 알레르겐에 대해 감소된 민감성 또는 저하된 알레르기 반응을 나타낼 수 있거나, 알레르겐에 대해 임의의 민감성 또는 알레르기 반응 또는 아나필락시스 반응을 경험하지 않을 수 있다.

- [0048] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-33 길항제는 인간 IL-33에 결합하거나 이와 특이적으로 상호작용하는 모노클론 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. IL-33 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 IL-33과 ST2의 상호작용을 차단할 수 있거나, ST2 수용체에 대한 IL-33의 낮은 친화성 결합을 허용할 수 있다. 이로써, ST2는 IL-1RAcP와 상호작용하지 못하게 될 수 있다. 이와 같이, 본 발명의 IL-33 항체는 그 중에서도, IL-33-매개 신호전달을 저해하고, IL-33 활성 및/또는 신호전달에 의해 유발되거나 이와 관련된 질병 및 장애의 치료에 유용하다.
- [0049] 일 실시형태에서, IL-33 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 알레르겐-유도 폐 염증을 갖는 포유류에게 투여 시, T 세포 집단에서 하기: 호산구, CD4+ T 세포, B 세포, ST2+/CD4+ 세포 중 하나 이상의 빈도를 감소시키거나, 폐에서 CD4/CD8 T 세포 비를 감소시킨다.
- [0050] 일 실시형태에서, IL-33 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 알레르겐-유도 폐 염증을 갖는 포유류에게 투여 시, 폐에서 하기: IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-13, Ccl12, Ccl11, Ccl24 또는 MCP-1 중 하나 이상의 발현 수준을 감소시킨다.
- [0051] 일 실시형태에서, IL-33 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 알레르겐-유도 폐 염증을 갖는 포유류에게 투여 시, 폐에서 혈청 IgE 수준, 배상 세포 화생, 또는 상피 콜라겐 두께를 감소시킨다.
- [0052] 소정의 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 인간 IL-33에 특이적으로 결합하는 IL-33 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290 및 308로 구성된 군으로부터 선택되는 중쇄 가변 영역(HCVR) 아미노산 서열 내에 함유된 3개의 중쇄 CDR(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3)을 포함하고; SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298 및 316으로 구성된 군으로부터 선택되는 경쇄 가변 영역(LCVR) 아미노산 서열 내에 함유된 3개의 경쇄 CDR(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함한다.
- [0053] 소정의 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 인간 IL-33에 특이적으로 결합하는 IL-33 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290 및 308로 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 중쇄 가변 영역(HCVR)을 포함한다.
- [0054] 소정의 실시형태에 따르면, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 항-IL-33 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298 및 316으로 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 경쇄 가변 영역(LCVR)을 포함한다.
- [0055] 소정의 실시형태에 따르면, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 항-IL-33 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298 및 308/316으로 구성된 군으로부터 선택되는 HCVR 및 LCVR(HCVR/LCVR) 서열 쌍을 포함한다.
- [0056] 소정의 실시형태에 따르면, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 항-IL-33 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152, 168, 184, 200, 216, 232, 248, 264, 280, 296 및 314로 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 중쇄 CDR3(HCDR3) 도메인; 및 SEQ ID NO: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 144, 160, 176, 192, 208, 224, 240, 256, 272, 288, 304 및 322로 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 경쇄 CDR3(LCDR3) 도메인을 포함한다.
- [0057] 소정의 실시형태에 따르면, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 항-IL-33 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID

NO: 8/16, 24/32, 40/48, 56/64, 72/80, 88/96, 104/112, 120/128, 136/144, 152/160, 168/176, 184/192, 200/208, 216/224, 232/240, 248/256, 264/272, 280/288, 296/304 및 314/322로 구성된 군으로부터 선택되는 HCDR3/LCDR3 아미노산 서열 쌍을 포함한다.

[0058] 소정의 실시형태에 따르면, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 항-IL-33 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 196, 212, 228, 244, 260, 276, 292 및 310으로 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 중쇄 CDR1(HCDR1) 도메인; SEQ ID NO: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 278, 294 및 312로 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 중쇄 CDR2(HCDR2) 도메인; SEQ ID NO: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252, 268, 284, 300 및 318로 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 경쇄 CDR1(LCDR1) 도메인; 및 SEQ ID NO: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286, 302 및 320으로 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 경쇄 CDR2(LCDR2) 도메인을 추가로 포함한다.

[0059] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 소정의 비제한적이며 예시적인 항-IL-33 항체 및 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 4-6-8-12-14-16(예를 들어 H1M9559N); 20-22-24-28-30-32(예를 들어 H1M9566N); 36-38-40-44-46-48(예를 들어 H1M9568N); 52-54-56-60-62-64(예를 들어 H4H9629P); 68-70-72-76-78-80(예를 들어 H4H9633P); 84-86-88-92-94-96(예를 들어 H4H9640P); 100-102-104-108-110-112(예를 들어 H4H9659P); 116-118-120-124-126-128(예를 들어 H4H9660P); 132-134-136-140-142-144(예를 들어 H4H9662P); 148-150-152-156-158-160(예를 들어 H4H9663P); 164-166-168-172-174-176(예를 들어 H4H9664P); 180-182-184-188-190-192(예를 들어 H4H9665P); 196-198-200-204-206-208(예를 들어 H4H9666P); 212-214-216-220-222-224(예를 들어 H4H9667P); 228-230-232-236-238-240(예를 들어 H4H9670P); 244-246-248-252-254-256(예를 들어 H4H9671P); 260-262-264-268-270-272(예를 들어 H4H9672P); 276-278-280-284-286-288(예를 들어 H4H9675P); 292-294-296-300-302-304(예를 들어 H4H9676P); 및 310-312-314-318-320-322(H1M9565N)로 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 각각 갖는 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 도메인을 포함한다.

[0060] 소정의 실시형태에 따르면, 본 발명의 방법에 사용하기 위한, 예를 들어 염증 질환을 치료하기 위한 항-IL-33 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298 및 308/316으로 구성된 군으로부터 선택되는 중쇄 및 경쇄 가변 영역(HCVR/LCVR) 서열 내에 함유된 중쇄 및 경쇄 CDR 도메인을 포함한다. HCVR 및 LCVR 아미노산 서열 내의 CDR을 식별하기 위한 방법 및 기술은 당해 기술분야에 잘 공지되어 있으며, 본원에서 개시된 특정된 HCVR 및/또는 LCVR 아미노산 서열 내의 CDR을 식별하는 데 사용될 수 있다. CDR의 경계를 식별하는 데 사용될 수 있는 대표적인 통례는, 예컨대 Kabat 정의, Chothia 정의 및 AbM 정의를 포함한다. 일반적인 견지에서, Kabat 정의는 서열 다양성을 기반으로 하며, Chothia 정의는 구조적 루프 영역의 위치를 기반으로 하고, AbM 정의는 Kabat 및 Chothia 접근법 사이의 절충안이다. 예를 들어, 문헌[Kabat, "Sequences of Proteins of Immunological Interest," National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991); Al-Lazikani *et al.*, *J. Mol. Biol.* 273:927-948 (1997); 및 Martin *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:9268-9272 (1989)]를 참조한다. 항체 내의 CDR 서열을 식별하기 위한 공개 데이터베이스도 입수 가능하다.

[0061] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-33 항체 또는 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 274/282의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍의 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함한다.

[0062] 관련된 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-33 항체 또는 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 276-278-280-284-286-288의 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 도메인을 각각 포함한다.

[0063] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 인간 인터루킨-33(IL-33)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원-결합 단편은: (a) SEQ ID NO: 274의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역(HCVR); 및 (b) SEQ ID NO: 282의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역(LCVR)을 포함한다.

[0064] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-33 항체 또는 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 274/282의

HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다.

- [0065] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-33 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 수소/중수소 교환에 의해 결정된 바와 같이, SEQ ID NO: 349의 약 위치 1 내지 약 위치 12 범위의 아미노산 서열, 및/또는 SEQ ID NO: 349의 약 위치 50 내지 약 위치 94 범위의 아미노산 서열과 상호작용한다.
- [0066] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-33 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 수소/중수소 교환에 의해 결정된 바와 같이, SEQ ID NO: 348의 약 위치 112 내지 약 위치 123 범위의 아미노산 서열, 및/또는 SEQ ID NO: 348의 약 위치 161 내지 약 위치 205 범위의 아미노산 서열과 상호작용한다.
- [0067] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-33 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 수소/중수소 교환에 의해 결정된 바와 같이, SEQ ID NO: 350의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 351의 아미노산 서열 중 하나와 상호작용하거나, SEQ ID NO: 350 및 351 둘 다와 상호작용한다.
- [0068] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-33 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 274/282의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는 참조 항체와 IL-33으로의 결합에 대해 경쟁한다.
- [0069] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-33 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 274/282의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는 참조 항체와 IL-33 상의 동일한 에피토프에 결합한다.
- [0070] 제5 양태에서, 본 발명은 본 발명의 방법에 사용되는 항-IL-33 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 인코딩하는 핵산 분자를 제공한다. 본 발명의 핵산을 운반하는 재조합 발현 벡터 및 이러한 벡터가 도입된 숙주 세포도 본 발명에 포괄되며, 항체 생성을 허용하는 조건 하에서 숙주 세포를 배양함으로써 항체를 생성하고, 생성된 항체를 회수하는 방법도 포괄된다.
- [0071] 일 실시형태에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 1, 17, 33, 49, 65, 81, 97, 113, 129, 145, 161, 177, 193, 209, 225, 241, 257, 273, 289 및 307로 구성된 군으로부터 선택되는 핵산 서열 또는 이의 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 상동성을 갖는 실질적으로 동일한 서열에 의해 인코딩되는 HCVR을 포함하는, 인간 IL-33에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편을 사용하는 방법을 제공한다.
- [0072] 본 발명은 또한, SEQ ID NO: 9, 25, 41, 57, 73, 89, 105, 121, 137, 153, 169, 185, 201, 217, 233, 249, 265, 281, 297 및 315로 구성된 군으로부터 선택되는 핵산 서열 또는 이의 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 상동성을 갖는 실질적으로 동일한 서열에 의해 인코딩되는 LCVR을 포함하는, 인간 IL-33에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편을 사용하는 방법을 제공한다.
- [0073] 본 발명은 또한, SEQ ID NO: 7, 23, 39, 55, 71, 87, 103, 119, 135, 151, 167, 183, 199, 215, 231, 247, 263, 279, 295 및 313으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오타이드 서열 또는 이의 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 상동성을 갖는 실질적으로 동일한 서열에 의해 인코딩되는 HCDR3 도메인; 및 SEQ ID NO: 15, 31, 47, 63, 79, 95, 111, 127, 143, 159, 175, 191, 207, 223, 239, 255, 271, 287, 303 및 321로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오타이드 서열 또는 이의 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 상동성을 갖는 실질적으로 동일한 서열에 의해 인코딩되는 LCDR3 도메인을 포함하는, 인간 IL-33에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체의 항원-결합 단편을 사용하는 방법을 제공한다.
- [0074] 본 발명은 또한, SEQ ID NO: 3, 19, 35, 51, 67, 83, 99, 115, 131, 147, 163, 179, 195, 211, 227, 243, 259, 275, 291 및 309로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오타이드 서열 또는 이의 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 상동성을 갖는 실질적으로 동일한 서열에 의해 인코딩되는 HCDR1 도메인; SEQ ID NO: 5, 21, 37, 53, 69, 85, 101, 117, 133, 149, 165, 181, 197, 213, 229, 245, 261, 277, 293 및 311로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오타이드 서열 또는 이의 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 상동성을 갖는 실질적으로 동일한 서열에 의해 인코딩되는 HCDR2 도메인; SEQ ID NO: 11, 27, 43, 59, 75, 91, 107, 123, 139, 155, 171, 187, 203, 219, 235, 251, 267, 283, 299 및 317로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오타이드 서열 또는 이의 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 상동성을 갖는 실질적으로 동일한 서열에 의해 인코딩되는 LCDR1 도메인; 및 SEQ ID NO: 13, 29, 45, 61, 77, 93, 109, 125, 141, 157, 173, 189, 205, 221, 237, 253, 269, 285, 301 및 319로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오타이드 서열 또는 이의 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 상동성을 갖는 실질적으로 동일한 서열에 의해 인코딩되는 LCDR2 도메인을 추가로 포함하는, 인간 IL-33에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편을 사용하는 방법을 제공한다.

- [0075] 소정의 실시형태에 따르면, 본 발명의 방법은 SEQ ID NO: 1 및 9(예를 들어 H1M9559N), 17 및 25(예를 들어 H1M9566N), 33 및 41(예를 들어 H1M9568N), 49 및 57(예를 들어 H4H9629P), 65 및 73(예를 들어 H4H9633P), 81 및 89(예를 들어 H4H9640P), 97 및 105(예를 들어 H4H9659P), 113 및 121(예를 들어 H4H9660P), 129 및 137(예를 들어 H4H9662P), 145 및 153(예를 들어 H4H9663P), 161 및 169(예를 들어 H4H9664P), 177 및 185(예를 들어 H4H9665P), 193 및 201(예를 들어 H4H9666P), 209 및 217(예를 들어 H4H9667P), 225 및 233(예를 들어 H4H9670P), 241 및 249(예를 들어 H4H9671P), 257 및 265(예를 들어 H4H9672P), 273 및 281(예를 들어 H4H9675P), 289 및 297(예를 들어 H4H9676P), 또는 307 및 315(H1M9565N)의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 중쇄 및 경쇄 CDR 서열을 포함하는, 인간 IL-33에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편의 용도를 제공한다.
- [0076] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-33 길항제는 본원에 기재된 것들과 같은 IL-33 수용체-기반 트랩이다(도 1 참조).
- [0077] 일 실시형태에서, IL-33 수용체-기반 트랩은 다량체화 도메인(M)에 부착된 제1 IL-33 결합 도메인(D1)을 포함하며, 여기서, D1은 ST2 단백질의 IL-33-결합 부분을 포함한다.
- [0078] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-33 트랩은 D1 및/또는 M에 부착된 제2 IL-33 결합 도메인(D2)을 추가로 포함하며, 여기서, D2는 IL-1RAcP 단백질의 세포외 부분을 포함한다. 일 실시형태에서, D1은 M의 N-말단에 부착된다. 일 실시형태에서, D1은 M의 C-말단에 부착된다. 일 실시형태에서, D2는 M의 N-말단에 부착된다. 일 실시형태에서, D2는 M의 C-말단에 부착된다. 일 실시형태에서, D1은 D2의 N-말단에 부착되고, D2는 M의 N-말단에 부착된다.
- [0079] 일 실시형태에서, D1은 SEQ ID NO: 328 또는 329의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일 실시형태에서, D2는 SEQ ID NO: 330 또는 331의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0080] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-33 길항제는 제1 다량체화 도메인(M1)에 부착된 제1 IL-33 결합 도메인(D1), 및 제2 다량체화 도메인(M2)에 부착된 제2 IL-33 결합 도메인(D2)을 포함하고, 여기서, D1 및/또는 D2 도메인은 ST2 및 IL-1RAcP로 구성된 군으로부터 선택되는 수용체의 IL-33-결합 부분을 포함한다.
- [0081] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-33 길항제는 D1 또는 M1에 부착된 제3 IL-33 결합 도메인(D3)을 포함하고, 여기서, D3은 ST2 및 IL-1RAcP로 구성된 군으로부터 선택되는 수용체의 IL-33-결합 부분을 포함한다.
- [0082] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-33 길항제는 D2 또는 M2에 부착된 제4 IL-33 결합 도메인(D4)을 포함하고, 여기서, D4는 ST2 및 IL-1RAcP로 구성된 군으로부터 선택되는 수용체의 IL-33-결합 부분을 포함한다.
- [0083] 일 실시형태에서, D1은 M1의 N-말단에 부착되고, D2는 M2의 N-말단에 부착된다.
- [0084] 일 실시형태에서, D3은 D1의 N-말단에 부착된다.
- [0085] 일 실시형태에서, D3은 M1의 C-말단에 부착된다.
- [0086] 일 실시형태에서, D4는 D2의 N-말단에 부착된다.
- [0087] 일 실시형태에서, D4는 M2의 C-말단에 부착된다.
- [0088] 일 실시형태에서, D3은 D1의 N-말단에 부착되며 D1은 M1의 N-말단에 부착되고; D4는 D2의 N-말단에 부착되며 D2는 M2의 N-말단에 부착된다.
- [0089] 일 실시형태에서, D3은 D4와 동일하거나 실질적으로 동일하고, D1은 D2와 동일하거나 실질적으로 동일하다.
- [0090] 일 실시형태에서, D3 및 D4는 각각 ST2 단백질의 IL-33-결합 부분을 포함하고; D1 및 D2는 각각 IL-1RAcP 단백질의 세포외 부분을 포함한다.
- [0091] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-33 트랩은 SEQ ID NO: 323, 324, 325, 326 및 327로 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0092] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-4 길항제는 인터루킨-4 수용체(IL-4R) 길항제이다.
- [0093] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-4R 길항제는 IL-4R α 에 결합하고 IL-4 및/또는 IL-13과

유형 1 또는 유형 2 IL-4 수용체의 상호작용을 방지하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다.

- [0094] 관련된 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-4R 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 IL-4 및/또는 IL-13과 유형 1 및 유형 2 IL-4 수용체 둘 다의 상호작용을 방지한다.
- [0095] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-4R 길항제는 인간 IL-4R α 에 특이적으로 결합하는 모노클론 항체이다.
- [0096] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 인간 IL-4R α 에 특이적으로 결합하는 모노클론 항체는 두필루맵 또는 이의 생물학적 등가물이다.
- [0097] 소정의 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-4R 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:335 또는 SEQ ID NO: 337의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR)의 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR) 및 SEQ ID NO:336 또는 SEQ ID NO: 338의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR)의 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR)을 포함한다.
- [0098] 관련된 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-4R 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 3개의 HCDR(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3) 및 3개의 LCDR(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하며, 여기서, HCDR1은 SEQ ID NO: 339의 아미노산 서열을 포함하며; HCDR2는 SEQ ID NO:340의 아미노산 서열을 포함하고; HCDR3은 SEQ ID NO:341의 아미노산 서열을 포함하며; LCDR1은 SEQ ID NO:342의 아미노산 서열을 포함하며; LCDR2는 SEQ ID NO:343의 아미노산 서열을 포함하고; LCDR3은 SEQ ID NO:344의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0099] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-4R 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 335 또는 SEQ ID NO: 337의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR 및 SEQ ID NO: 336 또는 SEQ ID NO: 338의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR을 포함한다.
- [0100] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-4R 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 335/336 또는 SEQ ID NO: 337/338의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다.
- [0101] 관련된 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-4R 길항제는 두필루맵(SEQ ID NO: 337/338) 또는 이의 생물학적 등가물이다.
- [0102] 소정의 실시형태에서, IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제는 개별 제제에서 투여된다.
- [0103] 소정의 실시형태에서, IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제는 이를 필요로 하는 환자에게 투여되기 위해 공동-제제화된다.
- [0104] 소정의 실시형태에서, IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제는 대상체에게 피하, 정맥내, 근육내 또는 비강내 투여된다.
- [0105] 본 발명의 IL-33 및 IL-4R 항체는 전장일 수 있거나(예를 들어 IgG1 또는 IgG4 항체), 항원-결합 부분(예를 들어 Fab, F(ab')₂ 또는 scFv 단편)만 포함할 수 있고, 기능성에 영향을 주기 위해, 예를 들어 잔류 효과기 기능을 없애기 위해 변형될 수 있다(문헌[Reddy et al., 2000, J. Immunol. 164:1925-1933]).
- [0106] 일 실시형태에서, 인간 인터루킨-33 또는 인간 IL-4R에 특이적으로 결합하는 항체는 단리된 완전 인간 모노클론 항체이다.
- [0107] 제6 양태에서, 본 발명은 IL-33에 특이적으로 결합하는 재조합 인간 항체 또는 이의 단편, 또는 트랩, 또는 IL-4R에 특이적으로 결합하는 항체, 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 관련 양태에서, 본 발명은 항-IL-33 항체 또는 IL-33 트랩, 또는 IL-4R에 특이적으로 결합하는 항체와 하나 이상의 추가의 치료제의 조합인 조성물을 특징으로 한다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 추가의 치료제는, 유리하게는 IL-33 길항제 및/또는 IL-4R 길항제 중 어느 하나 또는 둘 다와 조합된 임의의 작용제이다. IL-33 길항제 및/또는 IL-4R 길항제와 유리하게 조합될 수 있는 예시적인 작용제로는 비제한적으로, IL-33 활성 및/또는 IL-4 활성을 저해하는 다른 작용제(다른 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 펩타이드 저해제, 저분자 길항제 등을 포함) 및/또는 IL-33, 또는 IL-4 또는 IL-4R에 직접적으로 결합하지는 않지만 IL-33 또는 IL-4 매개 신호전달을 방해하거나, 차단하거나 약화시키는 작용제가 있다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 추가의 치료제는 비-스테로이드성 항-염증제(NSAID), 코티코스테로이드(예를 들어 흡입 코티코스테로이드), 기관지 확장제, 항히스타민, 에피네프린, 충혈완화제, 흉선 기질상 림포포이에틴(TSLP) 길항제, IL-1 길항제, IL-8 길항제, IL-13 길항제, 상이한 IL-4 길항제, IL-4/IL-13 이중 길항제, IL-33/IL-13 이중 길항제, IL-5 길항제, IL-6 길항제, IL-12/23

길항제, IL-22 길항제, IL-25 길항제, IL-17 길항제, IL-31 길항제, TNF 저해제, IgE 저해제, 류코트리엔 저해제, 경구 PDE4 저해제, 메틸크산틴, 네도크로밀 소듐, 크로몰린 소듐, 장기간-작용성 베타 2 효능제(LABA), 장기간-작용성 무스카린성 길항제(LAMA), 흡입 코티코스테로이드(ICS) 및 또 다른 IL-33 또는 IL-4 길항제, 또는 IL-33 또는 IL-4 또는 IL-4R에 대한 상이한 항체, 및 또 다른 IL-33 길항제로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다.

[0108] 소정의 실시형태에서, 사이토카인 길항제는 사이토카인 자체, 또는 사이토카인에 대한 수용체, 또는 사이토카인과 이의 수용체(들)를 둘 다 포함하는 복합체와 상호작용하는 저분자 저해제(합성 또는 천연 유래), 또는 단백질(예를 들어 항체)일 수 있다. 본 발명의 항-IL-33 항체 및/또는 IL-4R 항체를 수반하는 추가의 병용 치료법 및 공동-제제는 본원에서 도처에 개시되어 있다.

[0109] 보다 다른 양태에서, 본 발명은 항-IL-33 길항제(예컨대 IL-33 항체 또는 IL-33 트랩), 및 IL-4R 항체 또는 본 발명의 하나 이상의 항체의 항원-결합 부분을 사용하여 IL-33, 및/또는 IL-4 신호전달 활성을 저해하기 위한 치료 방법을 제공하며, 여기서, 상기 치료 방법은 IL-33 항체 또는 IL-33 트랩을 단독으로 또는 IL-4R 항체 또는 본 발명의 하나 이상의 항체의 항원-결합 단편과 조합하여 포함하는 치료적 유효량의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 치료되는 장애는 IL-33 및/또는 IL-4 신호전달의 제거, 저해 또는 감소에 의해 개선되거나, 경감되거나, 저해되거나 예방되는 임의의 질병 또는 질환이다. 본 발명의 항-IL-33 및/또는 IL-4R 길항제는 함께 사용되는 경우, IL-33과 IL-33 결합 파트너 사이, 및 IL-4와 IL-4 결합 파트너 사이의 상호작용을 차단하거나 그렇지 않다면 IL-33 및 IL-4 둘 다의 신호전달 활성을 저해하는 작용을 할 수 있다. 일 실시형태에서, IL-4R 길항제는 IL-4R α 에 결합하고 이로써 유형 I 또는 유형 II 수용체를 통한 IL-4 및 IL-13 신호전달을 둘 다 방지하는 항체이다. 일 실시형태에서, IL-4R α 길항제는 두필루맵 또는 이의 생물학적 등가물이다. IL-4 및 IL-13 둘 다에 대한 두필루맵의 이중 차단 활성을 고려하면, 본 발명의 IL-33 길항제와 조합하여 사용될 때, 병용 치료 요법은, 염증 동안 발생할 수 있는 부분적으로 IL-4, IL-13 및 IL-33 신호전달 경로를 통한 신호전달로 인한 원치 않는 염증 활성의 증강된 저해를 초래할 것으로 여겨진다.

[0110] 일 실시형태에서, IL-33 길항제는 IL-33에 특이적으로 결합하고 IL-33과 이의 수용체 ST2(IL1RL1로도 공지되어 있음)의 상호작용을 차단하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다.

[0111] 일 실시형태에서, IL-33에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290 및 308로 구성된 군으로부터 선택되는 중쇄 가변 영역(HCVR) 아미노산 서열 내에 함유된 3개의 중쇄 CDR(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3)을 포함하고; SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 및 316으로 구성된 군으로부터 선택되는 경쇄 가변 영역(LCVR) 아미노산 서열 내에 함유된 3개의 경쇄 CDR(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함한다.

[0112] 일 실시형태에서, IL-33에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290 및 308로 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역(HCVR)을 포함한다.

[0113] 일 실시형태에서, IL-33에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298 및 316으로 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역(LCVR)을 포함한다.

[0114] 일 실시형태에서, IL-33에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 하기를 포함한다:

[0115] (a) SEQ ID NO: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 196, 212, 228, 244, 260, 276, 292 및 310으로 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖는 HCDR1 도메인;

[0116] (b) SEQ ID NO: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 278, 294 및 312로 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖는 HCDR2 도메인;

[0117] (c) SEQ ID NO: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152, 168, 184, 200, 216, 232, 248, 264, 280, 296 및 314로 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖는 HCDR3 도메인;

[0118] (d) SEQ ID NO: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252, 268, 284 및 318로 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖는 LCDR1 도메인;

[0119] (e) SEQ ID NO: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286

및 320으로 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖는 LCDR2 도메인;

[0120] (f) SEQ ID NO: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 144, 160, 176, 192, 208, 224, 240, 256, 272, 288 및 322로 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖는 LCDR3 도메인.

[0121] 일 실시형태에서, IL-33에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298 및 308/316으로 구성된 군으로부터 선택되는 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다.

[0122] 본 발명은 또한, 환자에서 IL-33 및/또는 IL-4 활성화 또는 신호전달과 관련되거나 이에 의해 유발되는 질병 또는 장애의 치료를 위한 약제의 제조에 있어서, IL-33 길항제 단독 또는 IL-4R 길항제와 조합된 IL-33 길항제의 용도를 포함한다. 일 실시형태에서, 환자에서 IL-33 활성화 및/또는 IL-4 활성화와 관련되거나 이에 의해 유발되는 질병 또는 장애는 염증성 질병 또는 장애이며, 여기서, 염증성 질병 또는 장애는 천식(호산구성 또는 비-호산구성), 만성 폐색성 폐질환(COPD), 천식 및 COPD 중복 증후군(ACOS), 아토피 피부염, 비염, 알레르기 반응, 만성 기관지염, 기종, 비염을 동반하거나 동반하지 않는 만성 비부비동염, 염증성 장질환, 크론병, 궤양성 대장염, 과민성 폐렴, 다발성 경화증, 관절염(골관절염, 류마티스 관절염 및 건선성 관절염 포함), 알레르기성 비염, 섬유증, 호산구성 식도염, 혈관염, 두드러기, 처그-스트라우스 증후군, 염증 통증, 및 건선으로 구성된 군으로부터 선택된다. 본 발명은 또한, 염증성 질병 또는 장애, 또는 염증성 질병 또는 장애의 적어도 하나의 증상의 치료에 사용하기 위한, 치료적 유효량의 IL-4R 길항제와 조합된 치료적 유효량의 IL-33 길항제를 포함하며, 여기서, IL-4R 길항제와 조합된 IL-33 길항제의 투여는 IL-33 길항제 단독 또는 IL-4R 길항제 단독의 투여 시 관찰되는 치료 효과와 비교하여 증강된 치료 효과를 초래한다. 본원에서 고찰된 방법들 중 임의의 방법은 또한, 이러한 방법과 연계하여 고찰된 질병, 장애 및/또는 증상을 치료하기 위해 또는 치료하기 위한, IL-33 및/또는 IL-4R 길항제(예를 들어 항체)의 용도를 포괄한다.

[0123] 다른 실시형태들은 하기의 상세한 설명의 검토로부터 명백해질 것이다.

발명의 효과

[0124] 본 발명은 염증성 또는 폐색성 폐질환 또는 장애를 치료한다.

도면의 간단한 설명

[0125] 도 1은 IL-33 길항제의 개별 구성성분의 서로에 비한 4개의 예시적인 배열을 보여준다. **패널 A**는 제1 IL-33-결합 도메인(D1)이 제1 다량체화 도메인(M1)의 N-말단에 부착되고 제2 IL-33-결합 도메인(D2)이 제2 다량체화 도메인(M2)의 N-말단에 부착된 배열을 보여준다. D1 및 D2가 상이한 IL-33 결합 단백질로부터 유래됨을 가리기 위해, D1은 백색 상자로서 보여지고 D2는 검정색 상자로서 보여진다. **패널 B**는 제1 IL-33-결합 도메인(D1)이 제1 다량체화 도메인(M1)의 N-말단에 부착되고 제2 IL-33-결합 도메인(D2)이 제2 다량체화 도메인(M2)의 C-말단에 부착된 배열을 보여준다. D1 및 D2가 상이한 IL-33 결합 단백질로부터 유래됨을 가리기 위해, D1은 백색 상자로서 보여지고 D2는 검정색 상자로서 보여진다. **패널 C** 및 **D**는 4개의 IL-33-결합 도메인, D1, D2, D3 및 D4를 포함하는 배열을 보여준다. 이들 배열에서, D3-D1-M1 및 D4-D2-M2는 나란히 부착되어 있으며, 여기서, D3은 D1의 N-말단에 부착되며 D1은 M1의 N-말단에 부착되고; D4는 D2의 N-말단에 부착되며 D2는 M2의 N-말단에 부착된다. **패널 C**에서, D3 및 D4는 서로 동일하거나 실질적으로 동일하고, D1 및 D2는 서로 동일하거나 실질적으로 동일하다. **패널 D**에서, D1 및 D4는 서로 동일하거나 실질적으로 동일하고, D3 및 D2는 서로 동일하거나 실질적으로 동일하다.

도 2는 HDM 노출이 IL-33-, IL-4-, 및 IL-4R α -삼중(triple) 인간화 및 야생형 마우스의 폐에서 활성화된 호산구의 유사한 증가를 유도함을 보여준다. 통계학적 유의성을 터키 다중 비교 검정(Tukey's multiple comparison test)과 함께 2-원 ANOVA(two-way ANOVA)에 의해 결정하였다. 통계학적으로 유의한 차이를 가리기 위해 하기 기호를 사용하였다: "*" 별표는 동일한 유전형의 식염수- 및 HDM-노출 마우스 사이에서의 비교를 표시하고; "&" 앰퍼샌드 기호는 마우스의 각각의 식염수- 또는 HDM-노출 야생형 그룹의 비교를 표시한다. 증가하는 수의 기호는 증가하는 유의성을 가리킨다: 1x=p $\leq$ 0.05; 2x=p $\leq$ 0.01; 3x=p $\leq$ 0.001; 4x=p $\leq$ 0.0001. 약어: WT = 야생형. 모든 마우스는 혼합된 C57BL/6NTac / 129S6SvEvTac 백그라운드였다.

도 3는 REGN3500과 두필루맙의 조합 투여가 상대(relative) 폐 중량에서 HDM 노출-유도 증가를 차단함을 보여준다. 상대 폐 중량은 체중(g)에 대한 폐 습식 중량(mg)의 비로서 표현된다. 통계학적 유의성을 던 다중 비교

사후 검정(Dunn's multiple comparison post hoc test)과 함께 크루스칼-왈리스 1-원 ANOVA(Kruskal-Wallis one-way ANOVA)에 의해 결정하였다. 통계학적으로 유의한 차이를 가리키기 위해 하기 기호를 사용하였다: "*" 별표는 모든 19-주 HDM-노출 그룹 사이에서의 비교를 표시하고; "#" 해시태그는 식염수-노출된 비처리 동물과 모든 다른 그룹의 비교를 표시한다. 증가하는 수의 기호는 증가하는 유의성을 가리킨다: $1x=p\leq 0.05$; $2x=p\leq 0.01$; $3x=p\leq 0.001$. 약어: wk = 주(week); IgG4^P = 이소형 대조군 항체, REGN1945.

도 4a 및 **4b**는 HDM 노출-유도 폐 호산구성 침윤에 미치는 REGN3500 및 두필루맵의 단독 및 조합의 효과를 보여 준다. 통계학적 유의성을 띤 다중 비교 사후 검정과 함께 크루스칼-왈리스 1-원 ANOVA에 의해 결정하였다. 통계학적으로 유의한 차이를 가리키기 위해 하기 기호를 사용하였다: "*" 별표는 모든 19-주 HDM-노출 그룹 사이에서의 비교를 표시하며; "#" 해시태그는 식염수-노출된 비처리 동물과 모든 다른 그룹의 비교를 표시하고; "+" 플러스 부호는 11-주 HDM-노출 비처리 동물과 모든 다른 그룹의 비교를 표시한다. 증가하는 수의 기호는 증가하는 유의성을 가리킨다: $1x=p\leq 0.05$; $2x=p\leq 0.01$; $3x=p\leq 0.001$; $4x=p\leq 0.0001$. 약어: wk = 주; IgG4^P = 이소형 대조군 항체, REGN1945.

도 5는 REGN3500이 단독으로 또는 두필루맵과 조합하여, ST2⁺ CD4⁺ T 세포에 의한 HDM 노출-유도 폐 침윤을 차단함을 보여준다. 통계학적 유의성을 띤 다중 비교 사후 검정과 함께 1-원 ANOVA에 의해 결정하였다. 통계학적으로 유의한 차이를 가리키기 위해 하기 기호를 사용하였다: "*" 별표는 모든 19-주 HDM-노출 그룹 사이에서의 비교를 표시하며; "#" 해시태그는 식염수-노출된 비처리 동물과 모든 다른 그룹의 비교를 표시하고; "+" 플러스 부호는 11-주 HDM-노출 비처리 동물과 모든 다른 그룹의 비교를 표시한다. 증가하는 수의 기호는 증가하는 유의성을 가리킨다: $1x=p\leq 0.05$; $2x=p\leq 0.01$; $3x=p\leq 0.001$; $4x=p\leq 0.0001$. 약어: wk = 주; IgG4^P = 이소형 대조군 항체, REGN1945.

도 6은 REGN3500과 두필루맵의 조합 투여가 호중구 침윤의 마커인 MPO 폐 단백질의 수준에서 HDM 노출-유도 증가를 차단함을 보여준다. 통계학적 유의성을 띤 다중 비교 사후 검정과 함께 크루스칼-왈리스 1-원 ANOVA에 의해 결정하였다. 통계학적으로 유의한 차이를 가리키기 위해 하기 기호를 사용하였다: "*" 별표는 모든 19-주 HDM-노출 그룹 사이에서의 비교를 표시하고; "#" 해시태그는 식염수-노출된 비처리 동물과 모든 다른 그룹의 비교를 표시한다. 증가하는 수의 기호는 증가하는 유의성을 가리킨다: $1x=p\leq 0.05$; $2x=p\leq 0.01$; $3x=p\leq 0.001$. 약어: wk = 주; IgG4^P = 이소형 대조군 항체, REGN1945.

도 7a 및 **7b**는 폐 IL-5 및 IL-6 단백질 수준에서 HDM 노출-유도 증가에 미치는 REGN3500 및 두필루맵의 단독 또는 조합의 효과를 보여준다. 폐(우측 폐의 앞(cranial)엽 및 중간엽)를 수합하고, IL-5(A) 및 IL-6(B) 단백질 수준을 다항목 면역검정법(multiplexed immunoassay)에 의해 측정하였다. 폐 조직 IL-5 및 IL-6 단백질 수준을 폐엽 1개 당 단백질 양(pg)으로서 표현한다. 통계학적 유의성을 띤 다중 비교 사후 검정과 함께 크루스칼-왈리스 1-원 ANOVA에 의해 결정하였다. 통계학적으로 유의한 차이를 가리키기 위해 하기 기호를 사용하였다: "*" 별표는 모든 19-주 HDM-노출 그룹 사이에서의 비교를 표시하고; "#" 해시태그는 식염수-노출된 비처리 동물과 모든 다른 그룹의 비교를 표시한다. 증가하는 수의 기호는 증가하는 유의성을 가리킨다: $1x=p\leq 0.05$; $2x=p\leq 0.01$; $3x=p\leq 0.001$. 약어: wk = 주; IgG4^P = 이소형 대조군 항체, REGN1945.

도 8은 REGN3500이 단독으로 또는 두필루맵과 조합하여 순환형(circulating) SAA 단백질 수준에서 HDM 노출-유도 증가를 차단함을 보여준다. 마지막 항체 주사 후 4일째에 심장 천자에 의해 전혈을 수합하고, 혈청을 분리하였다. 순환형 SAA 단백질 수준을 상업적으로 입수 가능한 ELISA 키트를 사용하여 측정하였다. 순환형 SAA 단백질 수준을 혈청 1 mL 당 SAA 단백질 양(μ g)으로서 표현한다. 통계학적 유의성을 띤 다중 비교 사후 검정과 함께 크루스칼-왈리스 1-원 ANOVA에 의해 결정하였다. 통계학적으로 유의한 차이를 가리키기 위해 하기 기호를 사용하였다: "*" 별표는 모든 19-주 HDM-노출 그룹 사이에서의 비교를 표시하고; "#" 해시태그는 식염수-노출된 비처리 동물과 모든 다른 그룹의 비교를 표시한다. 증가하는 수의 기호는 증가하는 유의성을 가리킨다: $1x=p\leq 0.05$; $2x=p\leq 0.01$; $3x=p\leq 0.001$. 약어: wk = 주; IgG4^P = 이소형 대조군 항체, REGN1945.

도 9는 순환형 IgE 단백질 수준이 HDM 노출에 반응하여 증가됨을 보여준다. 심장 천자에 의해 전혈을 수합하고, 혈청을 분리하였다. 순환형 IgE 단백질 수준을 상업적으로 입수 가능한 ELISA 키트를 사용하여 측정하였다. 순환형 IgE 단백질 수준을 혈청 1 mL 당 IgE 단백질 양(μ g)으로서 표현한다. 통계학적 유의성을 띤 다중 비교 사후 검정과 함께 크루스칼-왈리스 1-원 ANOVA에 의해 결정하였다. 통계학적으로 유의한 차이를 가리키기 위해 하기 기호를 사용하였다: "*" 별표는 모든 19-주 HDM-노출 그룹 사이에서의 비교를 표시하고; "#" 해시태그는 식염수-노출된 비처리 동물과 모든 다른 그룹의 비교를 표시한다. 증가하는 수의 기호는 증가하는 유의성을 가리킨다: $1x=p\leq 0.05$; $2x=p\leq 0.01$; $3x=p\leq 0.001$. 약어: wk = 주; IgG4^P = 이소형 대조군 항체, REGN1945.

해시태그는 식염수-노출된 비처리 동물과 모든 다른 그룹의 비교를 표시한다. 증가하는 수의 기호는 증가하는 유의성을 가리킨다: $1x=p \leq 0.05$; $2x=p \leq 0.01$; $3x=p \leq 0.001$. 약어: wk = 주; IgG4^P = 이소형 대조군 항체, REGN1945.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0126] 본 방법이 기재되기 전에, 본 발명은 기재된 특정한 방법 및 실험 조건으로 제한되지 않으며, 이러한 방법 및 조건이 다양할 수 있음을 이해해야 한다. 또한, 본원에 사용된 용어는 특정 실시형태만을 설명하기 위한 것이며, 본 발명의 범위가 첨부된 청구범위에 의해서만 제한되므로, 제한하려는 의도는 아니라는 것을 이해해야 한다.
- [0127] 다르게 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야의 당업자에 의해 보편적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 사용된 바와 같이 용어 "약"은 특정 열거된 수치에 관하여 사용될 때, 그 값이 열거된 값과 1% 이하만큼 다를 수 있음을 의미한다. 예를 들어, 본원에 사용된 바와 같이 표현 "약 100"은 99 및 101 및 그 사이의 모든 값(예를 들어 99.1, 99.2, 99.3, 99.4 등)을 포함한다.
- [0128] 본원에 기재된 것과 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 물질이 본 발명의 실행 또는 시험에 사용될 수 있지만, 바람직한 방법 및 물질은 이제 설명된다. 본 명세서에 언급된 모든 특허, 출원 및 비-특허 공개는 그 전문이 인용에 의해 본 명세서에 포함된다.
- [0129] **정의**
- [0130] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "인터루킨-33," "IL-33" 등은 인간 IL-33 단백질을 지칭하고, 270개 아미노산, 전장, 비가공 IL-33(예를 들어 SEQ ID NO: 348, 또는 UniProtKB 기탁 번호 095760 참조), 뿐만 아니라 세포 내에서의 가공으로 인한 임의의 형태의 IL-33(예를 들어 전장 단백질의 아미노산 잔기 112-270을 함유하는 SEQ ID NO: 349)을 포괄한다. 다른 가공된 형태의 IL-33은 Lefrancais 등에 기재되어 있다(문헌[Lefrancais, *et al.*, (2012), Proc. Natl. Acad. Sci. 109(5):1693-1678]). 상기 용어는 또한, IL-33의 천연 발생 변이체, 예를 들어 스플라이스 변이체(예를 들어 문헌[Hong, *et al.*, (2011), J. Biol. Chem. 286(22):20078-20086] 또는), 또는 대립유전자 변이체, 또는 임의의 다른 이소형의 IL-33, 예컨대 W02016/156440에 기재된 것을 포괄한다. 본원에서 단백질, 폴리펩타이드 및 단백질 단편에 대한 모든 언급은 비인간 종으로부터 유래된 것으로 분명하게 명시되지 않는 한, 각각의 단백질, 폴리펩타이드 또는 단백질 단편의 인간 버전을 지칭하고자 한다.
- [0131] 본원에 사용된 바와 같이 표현 "IL-33 길항제"는, IL-33 신호전달 및/또는 IL-33과 세포 표면 수용체(예를 들어 IL1RL1로도 공지되어 있는 ST2) 또는 공동-수용체(예를 들어 IL1-RAcP) 또는 이들의 복합체 사이의 상호작용을 차단하거나 약화시키거나 그렇지 않다면 방해할 수 있는 임의의 작용제를 의미한다. 예를 들어, "IL-33 저해제" 또는 "IL-33 차단제"로도 지칭되는 "IL-33 길항제"는 하기: (1) IL-33에 결합하거나 이와 상호작용하는 작용제; 또는 (2) IL-33 수용체(이하 "중양원성의 억제제" 또는 "ST2"로도 지칭되며; "IL1RL1"로도 공지됨)에 결합하거나 이와 상호작용하는 작용제; 또는 (3) IL-33 공동-수용체(인터루킨-1 수용체 억제사리 단백질, 또는 IL1-RAcP)에 결합하거나 이와 상호작용하는 작용제; 또는 (4) IL-33/ST2의 복합체에 결합하는 작용제; 또는 (5) ST2/IL-1RAcP에 결합하거나 이와 상호작용하는 작용제 중 임의의 작용제를 포함한다. 상기 중 임의의 길항제는 IL-33의 적어도 하나의 생물학적 활성, 예컨대 비제한적으로 IL-33이 이의 수용체/공동-수용체 복합체에 결합 시 발생하는 생물학적 신호전달 기능의 저해 또는 약화를 초래할 수 있다.
- [0132] 일 실시형태에서, "IL-33 길항제"는 IL-33에 특이적으로 결합하거나 이와 상호작용하고 IL-33이 ST2에 결합하는 것을 방지함으로써 ST2와 공동-수용체 IL-1RAcP의 상호작용을 방지하는 항체이다. 일 실시형태에서, "IL-33 길항제"는 ST2 또는 ST2/IL-1RAcP 복합체에 특이적으로 결합하고 IL-33이 ST2 또는 ST2/IL-1RAcP 수용체 복합체에 결합하는 것을 방지하는 항체이다. 일 실시형태에서, "IL-33 길항제"는 IL-33/ST2 복합체에 결합하고 그 후에 ST2와 IL-1RAcP 공동-수용체의 상호작용을 방지하는 항체이다. 일 실시형태에서, "IL-33 길항제"는 IL-33에 결합하고 ST2로의 낮은 친화성 결합을 허용할 수 있지만 이와 동시에 이러한 낮은 친화성 결합이 ST2와 공동-수용체 IL-1RAcP의 후속적인 상호작용을 방지할 수 있는 항체이다.
- [0133] "IL-33 길항제"는 또한, 가용성 ST2 수용체 또는 IL-33 수용체-기반 트랩, 예컨대 본원에 기재되고 US2014/0271642에 개시된 것들과 같은 작용제일 수 있다. IL-33-매개 신호전달을 차단하는 임의의 작용제는 "IL-33 길항제"로서 간주된다. "IL-33 길항제"는 작은 유기 분자, 단백질, 예컨대 항체 또는 이의 단편, 또는

가용성 IL-33 수용체-기반 트랩(본원에 기재된 바와 같음), 또는 핵산, 예컨대 안티센스 분자 또는 siRNA일 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이 "IL-33에 결합하는 항체" 또는 "항-IL-33 항체"는 인간 IL-33 단백질 또는 이의 생물학적 활성 단편(예를 들어 SEQ ID NO: 348, 349, 350 및 351 참조)에 결합하는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 포함한다.

[0134] 본원에 사용된 바와 같이 표현 "인터루킨-4 수용체" 또는 "IL-4R"은 SEQ ID NO: 347의 아미노산 서열을 갖는 인간 IL-4R α 수용체를 지칭한다.

[0135] 본원에 사용된 바와 같이 "IL-4R 길항제"(본원에서 "IL-4R 저해제," "IL-4R α 길항제," "IL-4R 차단제," "IL-4R α 차단제" 등으로도 지칭됨)는 IL-4R α 또는 IL-4R 리간드에 결합하거나 이와 상호작용하고 유형 1 및/또는 유형 2 IL-4 수용체의 정상적인 생물학적 신호전달 기능을 저해하거나 약화시키는 임의의 작용제이다. 유형 1 IL-4 수용체는 IL-4R α 사슬 및 γ c 사슬을 포함하는 이량체성 수용체이다. 유형 2 IL-4 수용체는 IL-4R α 사슬 및 IL-13R α 1 사슬을 포함하는 이량체성 수용체이다. 유형 1 IL-4 수용체는 IL-4와 상호작용하고 이에 의해 자극되는 한편, 유형 2 IL-4 수용체는 IL-4 및 IL-13 둘 다와 상호작용하고 이에 의해 자극된다. 따라서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 IL-4R 길항제는 IL-4-매개 신호전달, IL-13-매개 신호전달, 또는 IL-4 및 IL-13-매개 신호전달 둘 다를 차단함으로써 작용할 수 있다. 따라서, 본 발명의 IL-4R 길항제는 IL-4 및/또는 IL-13과 유형 1 또는 유형 2 수용체의 상호작용을 방지할 수 있다. IL-4R 길항제의 범주의 비제한적인 예로는, 저분자 IL-4R 저해제, 항-IL-4R 앵타머(aptamer), 펩타이드-기반 IL-4R 저해제(예를 들어 "펩티바디(peptibody)" 분자), "수용체-바디"(예를 들어 IL-4R 구성성분의 리간드-결합 도메인을 포함하는 조작된 분자), 및 인간 IL-4R α 에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체의 항원-결합 단편이 있다. 본원에 사용된 바와 같이 IL-4R 길항제는 또한, IL-4 및/또는 IL-13에 특이적으로 결합하는 항원-결합 단백질을 포함한다.

[0136] 본원에서 사용된 바와 같이 용어 "항체"는 특정 항원(예를 들어 IL-33 또는 IL-4R)에 특이적으로 결합하거나 이와 상호작용하는 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 임의의 항원-결합 분자 또는 분자 복합체를 의미한다. 용어 "항체"는 이황화 결합에 의해 상호연결된 4개의 폴리펩타이드 사슬인 2개의 중쇄(H) 및 2개의 경쇄(L)를 포함하는 면역글로불린 분자, 뿐만 아니라 이의 다량체(예를 들어 IgM)를 포함한다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역(본원에서 HCVR 또는 V_H로 약칭) 및 중쇄 불변 영역을 포함한다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인 C_H1, C_H2 및 C_H3를 포함한다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역(본원에서 LCVR 또는 V_L로 약칭) 및 경쇄 불변 영역을 포함한다. 경쇄 불변 영역은 1개의 도메인(C_L1)을 포함한다. V_H 및 V_L 영역은, 프레임워크 영역(FR)이라고 명명되는 보다 보존된 영역이 개재된(interspersed) 상보성 결정 영역(CDR)이라고 명명되는 초가변 영역으로 더 세분될 수 있다. 각각의 V_H 및 V_L은 아미노-말단부터 카르복시-말단까지 하기의 순서로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 본 발명의 상이한 실시형태에서, 항-IL-33 항체(또는 이의 항원-결합 단편), 또는 항-IL-4R 항체의 FR은 인간 생식계열 서열과 동일할 수 있거나, 천연적으로 또는 인위적으로 변형될 수 있다. 아미노산 공통(consensus) 서열은 2개 이상의 CDR의 병렬 분석을 기반으로 정의될 수 있다.

[0137] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "항체"는 완전(full) 항체 분자의 항원-결합 단편을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이 용어 항체의 "항원-결합 부분", 항체의 "항원-결합 단편" 등은 항원에 특이적으로 결합하여 복합체를 형성하는 천연적으로 발생하거나, 효소적으로 수득 가능하거나, 합성적이거나, 유전적으로 조작된 임의의 폴리펩타이드 또는 당단백질을 포함한다. 항체의 항원-결합 단편은 예를 들어, 단백질 분해 절단(proteolytic digestion)과 같은 임의의 적합한 표준 기술, 또는 항체 가변 및 선택적으로 불변 도메인을 인코딩하는 DNA의 조작 및 발현을 수반하는 재조합 유전공학 기술 사용하여 완전 항체 분자로부터 유래될 수 있다. 이러한 DNA는 공지되어 있고/있거나, 예를 들어 상업적인 출처인 DNA 라이브러리(예를 들어 파지-항체 라이브러리 포함)로부터 쉽게 입수 가능하거나, 합성될 수 있다. DNA는 시퀀싱되고, 예를 들어 하나 이상의 가변 및/또는 불변 도메인을 적합한 입체구조로 배열하거나, 코돈을 도입하거나, 시스템인 잔기를 생성하거나, 아미노산을 변형, 첨가 또는 결실시키는 등을 수행하기 위해 화학적으로 또는 분자생물학 기술에 의해 조작될 수 있다.

[0138] 항원-결합 단편의 비제한적인 예로는: (i) Fab 단편; (ii) F(ab')₂ 단편; (iii) Fd 단편; (iv) Fv 단편; (v) 단일 사슬 Fv(scFv) 분자; (vi) dAb 단편; 및 (vii) 항체의 초가변 영역을 모방하는 아미노산 잔기로 구성된 최소 인식 단위(unit)(예를 들어 CDR3 펩타이드와 같은 단리된 상보성 결정 영역(CDR)) 또는 구속형(constrained) FR3-CDR3-FR4 펩타이드가 있다. 도메인-특이적 항체, 단일 도메인 항체, 도메인-결실 항체, 키메라 항체, CDR-이식 항체, 디아바디, 트리바디, 테트라바디, 미니바디, 나노바디(예를 들어 1가 나노바디, 2가 나노바디 등), 소모듈형 면역억제(SMIP) 및 상어 가변 IgNAR 도메인과 같은 다른 조작된 분자가 또한, 본원에 사용된 바와 같

은 표현 "항원-결합 단편" 내에 포괄된다.

[0139] 항체의 항원-결합 단편은 전형적으로 적어도 하나의 가변 도메인을 포함할 것이다. 가변 도메인은 임의의 크기 또는 아미노산 조성을 가질 수 있고, 일반적으로 하나 이상의 프레임워크 서열에 인접하거나 이와 프레임을 맞춘 적어도 하나의 CDR을 포함할 것이다. V_L 도메인과 연합된 V_H 도메인을 갖는 항원-결합 단편에서, V_H 및 V_L 도메인은 서로에 비해 임의의 적합한 배열로 놓일 수 있다. 예를 들어, 가변 영역은 이량체일 수 있고 V_H - V_H , V_H - V_L 또는 V_L - V_L 이량체를 함유할 수 있다. 대안적으로, 항체의 항원-결합 단편은 단량체성 V_H 또는 V_L 도메인을 함유할 수 있다.

[0140] 소정의 실시형태에서, 항체의 항원-결합 단편은 적어도 하나의 불변 도메인에 공유 연결된 적어도 하나의 가변 도메인을 함유할 수 있다. 본 발명의 항체의 항원-결합 단편 내에서 확인될 수 있는 가변 및 불변 도메인의 비제한적인 예시적인 입체구조로는: (i) V_H - C_H1 ; (ii) V_H - C_H2 ; (iii) V_H - C_H3 ; (iv) V_H - C_H1 - C_H2 ; (v) V_H - C_H1 - C_H2 - C_H3 ; (vi) V_H - C_H2 - C_H3 ; (vii) V_H - C_L ; (viii) V_L - C_H1 ; (ix) V_L - C_H2 ; (x) V_L - C_H3 ; (xi) V_L - C_H1 - C_H2 ; (xii) V_L - C_H1 - C_H2 - C_H3 ; (xiii) V_L - C_H2 - C_H3 ; 및 (xiv) V_L - C_L 이 있다. 상기 열거된 임의의 예시적인 입체구조를 포함하는 가변 및 불변 도메인의 임의의 입체구조에서, 가변 및 불변 도메인은 서로 직접적으로 연결될 수 있거나 완전 또는 부분 힌지 또는 링커 영역에 의해 연결될 수 있다. 힌지 영역은 단일 폴리펩타이드 분자에서 인접한 가변 및/또는 불변 도메인 사이의 가요성 또는 반-가요성 연결을 초래하는, 적어도 2개(예를 들어 5, 10, 15, 20, 40 또는 60개 이상)의 아미노산으로 구성될 수 있다. 더욱이, 본 발명의 항체의 항원-결합 단편은 상기에 열거된 임의의 가변 및 불변 도메인 입체구조의 동종-이량체 또는 이종-이량체(또는 다른 다량체)를 서로간의 및/또는 하나 이상의 단량체성 V_H 또는 V_L 도메인의 비-공유 연합으로(예를 들어 이황화 결합(들)에 의해) 포함할 수 있다.

[0141] 완전 항체 분자와 마찬가지로, 항원-결합 단편은 단일특이적 또는 다중특이적(예컨대, 이중특이적)일 수 있다. 항체의 다중특이적 항원-결합 단편은 전형적으로 적어도 2개의 상이한 가변 도메인을 포함할 것이며, 여기서, 각각의 가변 도메인은 개별 항원에, 또는 동일한 항원 상의 상이한 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있다. 본원에 개시된 예시적인 이중특이적 항체 포맷을 포함한 임의의 다중특이적 항체 포맷은 본 발명의 항체의 항원-결합 단편의 맥락에서 사용하기 위해 당업계에서 이용 가능한 일상적인 기술을 사용하여 개조될 수 있다. 예를 들어, 본 발명은 하나의 팔(arm)이 IL-4R α 또는 이의 단편에 특이적인 면역글로불린, 또는 IL-33 또는 이의 단편에 특이적인 면역글로불린이고, 면역글로불린의 나머지 다른 팔이 제2 치료 표적에 특이적이거나 치료 모이어티에 공액된 이중특이적 항체를 사용하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 본 발명의 맥락에서 사용될 수 있는 예시적인 이중특이적 포맷으로는 비제한적으로 예를 들어, scFv-기반 또는 디아바디 이중특이적 포맷, IgG-scFv 융합, 이중 가변 도메인(DVD)-Ig, 퀴드로마(Quadroma), 구멍-내-돌출(knobs-into-holes), 공통적 경쇄(예를 들어 구멍-내-돌출을 갖는 공통적 경쇄 등), 크로스Mab(CrossMab), 크로스Fab, (시드) 바디, 류신 지퍼, 듀오바디, IgG1/IgG2, 이중 작용성 Fab(DAF)-IgG, 및 Mab² 이중특이적 포맷이 있다(예를 들어 전술한 포맷의 검토를 위해 문헌[Klein *et al.*, 2012, mAbs 4:6, 1-11] 및 상기 문헌에서 인용된 참조문헌 참조). 이중특이적 항체는 또한, 예를 들어 오르토고날(orthogonal) 화학 반응성을 갖는 비천연 아미노산이 부위-특이적 항체-올리고뉴클레오타이드 공액체를 발생시키는 데 사용되고 그 후에 정의된 조성, 원자가 및 기하학을 갖는 다량체성 복합체로 자가-조립되는, 펩타이드/핵산 공액을 사용하여 구축될 수 있다. (예를 들어 문헌[Kazane *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* [Epub: Dec. 4, 2012]] 참조).

[0142] 본 발명의 소정의 실시형태에서, 본 발명의 항-IL-33 및 IL-4R 항체는 인간 항체이다. 본원에 사용된 바와 같이 용어 "인간 항체"는 인간 생식계열 면역글로불린 서열로부터 유래된 가변 및 불변 영역을 갖는 항체를 포함하고자 한다. 본 발명의 인간 항체는 인간 생식계열 면역글로불린 서열에 의해 인코딩되지 않는 아미노산 잔기(예를 들어 시험관내에서 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이생성 또는 생체내 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를 예를 들어 CDR, 특히 CDR3에 포함시킬 수 있다. 그러나, 본원에 사용된 바와 같이 용어 "인간 항체"는 또 다른 포유류 종, 예컨대 마우스의 생식계열로부터 유래된 CDR 서열이 인간 프레임워크 서열 상에 이식되었던 항체는 포함하지 않고자 한다. 상기 용어는 비-인간 포유류에서 또는 비-인간 포유류의 세포에서 재조합적으로 생성된 항체를 포함한다. 이러한 용어는 인간 대상체로부터 단리되거나 발생된 항체를 포함하지 않고자 한다.

[0143] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체는 재조합 인간 항체일 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이 용어 "재조합 인간 항체"는, 숙주 세포 내로 형질감염된 재조합 발현 벡터를 사용하여 발현된 항체(하기에 추가로 기재됨), 재

조합, 조합적 항체 라이브러리로부터 단리된 항체(하기에 추가로 기재됨), 인간 면역글로불린 유전자에 대해 형질전환(transgenic)인 동물(예를 들어 마우스)로부터 단리된 항체(예를 들어 문헌[Taylor et al.(1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295] 참조) 또는 다른 DNA 서열로의 인간 면역글로불린 유전자 서열의 스플라이싱을 수반하는 임의의 다른 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 항체와 같이 재조합 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 모든 인간 항체를 포함하고자 한다. 이러한 재조합 인간 항체는 인간 생식계열 면역글로불린 서열로부터 유래된 가변 및 불변 영역을 갖는다. 그러나 소정의 실시형태에서, 이러한 재조합 인간 항체는 시험관내 돌연변이생성(또는 인간 IG 서열에 대한 형질전환 동물이 사용되는 경우, 생체내 체세포 돌연변이생성) 처리되고, 따라서 재조합 항체의 V_H 및 V_L 영역의 아미노산 서열은, 인간 생식계열 V_H 및 V_L 서열로부터 유래되고 이와 관련이 있는 한편 생체내 인간 항체 생식계열 레파토리 내에서 천연적으로 존재하지 않을 수 있는 서열이다.

[0144] 인간 항체는 흔히 이종성(heterogeneity)과 연관된 2가지 형태로 존재할 수 있다. 제1 형태에서, 면역글로불린 분자는 약 150~160 kDa의 안정한 4개 사슬 구축물을 포함하며, 이러한 분자 내에서 이량체는 사슬간 중쇄 이황화 결합에 의해 함께 고정된다. 제2 형태에서, 이량체는 사슬간 이황화 결합을 통해 연결되지 않고, 공유 결합된 경쇄 및 중쇄로 구성된 약 75~80 kDa의 분자(반(half)-항체)가 형성된다. 이들 형태는 친화성 정제 후에도 분리하기가 극히 어려웠다.

[0145] 다양한 온전한 IgG 이소형에서 제2 형태의 출현 빈도는 항체의 흔히 영역 이소형과 연관된 구조적 차이로 인한 것이지만 이로 한정되지 않는다. 인간 IgG4 힌지의 흔히 영역에서의 단일 아미노산 치환은 제2 형태(문헌 [Angal et al. (1993) Molecular Immunology 30:105])의 출현을, 인간 IgG1 힌지를 사용하여 전형적으로 관찰되는 수준까지 유의하게 감소시킬 수 있다. 본 발명은 요망되는 항체 형태의 수율을 개선하기 위해 예를 들어 생성 시에 바람직할 수 있는 하나 이상의 돌연변이를 흔히, C_H2 또는 C_H3 영역에 갖는 항체를 포괄한다.

[0146] 본 발명의 항체는 단리된 항체일 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이 "단리된 항체"는 이의 자연 환경의 적어도 하나의 구성성분으로부터 식별되고 분리 및/또는 회수된 항체를 의미한다. 예를 들어, 유기체의 적어도 하나의 구성성분으로부터, 또는 항체가 천연적으로 존재하거나 천연적으로 생성되는 조직 또는 세포로부터 분리되거나 제거된 항체는 본 발명의 목적을 위한 "단리된 항체"이다. 단리된 항체는 또한, 재조합 세포 내에서 *인시츄(in situ)* 항체를 포함한다. 단리된 항체는 적어도 하나의 정제 또는 단리 단계로 처리된 항체이다. 소정의 실시형태에 따르면, 단리된 항체에는 다른 세포 물질 및/또는 화학물질이 실질적으로 없을 수 있다.

[0147] 본 발명은 중화성 및/또는 차단성 항-IL-33 항체 및 IL-4R 항체를 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이 "중화성" 또는 "차단성" 항체는, 표적 분자, 예를 들어 IL-33 또는 IL-4R에의 결합이: (i) 표적 분자와 이의 수용체(IL-33 항체의 경우) 또는 이의 리간드(IL-4R 항체의 경우) 사이의 상호작용을 방해하며; 및/또는 (ii) 표적 분자의 적어도 하나의 생물학적 기능, 예를 들어 신호전달의 저해를 초래하는 항체를 지칭하고자 한다. IL-33 또는 IL-4R 중화성 또는 차단성 항체에 의해 유발되는 저해는, 이러한 저해가 적절한 검정법을 사용하여 검출 가능한 한 완전할 필요는 없다.

[0148] 본원에 개시된 항체는, 상기 항체가 유래된 상응하는 생식계열 서열과 비교하여 중쇄 및 경쇄 가변 도메인의 프레임워크 및/또는 CDR 영역에 하나 이상의 아미노산 치환, 삽입 및/또는 결실을 포함할 수 있다. 이러한 돌연변이는 본원에 개시된 아미노산 서열을, 예를 들어 공개된 항체 서열 데이터베이스로부터 입수 가능한 생식계열 서열과 비교함으로써 쉽게 확증될 수 있다. 본 발명은 본원에 개시된 임의의 아미노산 서열로부터 유래된 항체 및 이의 항원-결합 단편을 포함하고, 여기서, 하나 이상의 프레임워크 및/또는 CDR 영역 내의 하나 이상의 아미노산은, 항체가 유래된 생식계열 서열의 상응하는 잔기(들)로, 또는 또 다른 인간 생식계열 서열의 상응하는 잔기(들)로, 또는 상응하는 생식계열 잔기(들)의 보존적 아미노산 치환으로 돌연변이화된다(이러한 서열 변화는 본원에서 종합적으로 "생식계열 돌연변이"로 지칭됨). 당업자는 본원에 개시된 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열로 시작하여, 하나 이상의 개별적인 생식계열 돌연변이 또는 이의 조합을 포함하는 수많은 항체 및 항원-결합 단편을 용이하게 생성할 수 있다. 소정의 실시형태에서, V_H 및/또는 V_L 도메인 내의 모든 프레임워크 및/또는 CDR 잔기는, 항체가 유래된 원래의 생식계열 서열에서 확인되는 잔기로 역돌연변이화된다. 다른 실시형태에서, 단지 소정의 잔기만, 예를 들어 FR1의 처음 8개 아미노산 또는 FR4의 마지막 8개 아미노산 내에서 확인된 돌연변이화된 잔기만, 또는 CDR1, CDR2 또는 CDR3 내에서 확인된 돌연변이화된 잔기만 원래의 생식계열 서열로 역돌연변이화된다. 다른 실시형태에서, 하나 이상의 프레임워크 및/또는 CDR 잔기(들)는 상이한 생식계열 서열(예를 들어 항체가 원래 유래된 생식계열 서열과는 상이한 생식계열 서열)의 상응하는 잔기(들)로 돌연변이화된다. 더욱이, 본 발명의 항체는 2개 이상의 생식계열 돌연변이의 임의의 조합을 프레임워크 및/또는 CDR 영역 내에

함유할 수 있고, 예를 들어 소정의 개별 잔기는 특정 생식계열 서열의 상응하는 잔기로 돌연변이화되는 한편, 원래의 생식계열 서열과 상이한 소정의 다른 잔기는 유지되거나 상이한 생식계열 서열의 상응하는 잔기로 돌연변이화된다. 하나 이상의 생식계열 돌연변이를 함유하는 항체 및 항원-결합 단편은 일단 수득되면, 개선된 결합 특이성, 증가된 결합 친화성, 개선되거나 증강된 길항적 또는 효능적 생물학적 특성(경우에 따라), 감소된 면역원성 등과 같은 하나 이상의 요망되는 특성에 대해 쉽게 시험될 수 있다. 이러한 일반적인 방식으로 수득된 항체 및 항원-결합 단편은 본 발명 내에 포괄된다.

[0149] 본 발명은 또한, 하나 이상의 보존적 치환을 갖는 본원에 개시된 임의의 HCVR, LCVR 및/또는 CDR 아미노산 서열의 변이체를 포함하는 항체를 포함한다. 예를 들어, 본 발명은 본원에 개시된 임의의 HCVR, LCVR 및/또는 CDR 아미노산 서열에 비해 예를 들어 10개 이하, 8개 이하, 6개 이하 또는 4개 이하 등의 보존적 아미노산 치환을 갖는 HCVR, LCVR 및/또는 CDR 아미노산 서열을 갖는 항체를 포함한다.

[0150] 용어 "에피토프"는, 파라토프(paratope)로도 공지된 항체 분자의 가변 영역 내의 특이적인 항원-결합 부위와 상호작용하는 항원 결정기를 지칭한다. 단일 항원은 하나 초과에 에피토프를 가질 수 있다. 따라서, 상이한 항체는 하나의 항원 상의 상이한 영역에 결합할 수 있고 상이한 생물학적 효과를 가질 수 있다. 에피토프는 구조적(conformational) 또는 선형일 수 있다. 구조적 에피토프는 선형 폴리펩타이드 사슬의 상이한 분절(segment)로부터 공간적으로 병치된 아미노산에 의해 생성된다. 선형 에피토프는 폴리펩타이드 사슬에서 인접한 아미노산 잔기에 의해 생성된 에피토프이다. 소정의 환경에서, 에피토프는 항원 상에 당류, 포스포릴기 또는 설포닐기의 모이어티를 포함할 수 있다.

[0151] 핵산 또는 이의 단편을 지칭할 때 용어 "실질적인 동일성" 또는 "실질적으로 동일한"은, 적절한 뉴클레오타이드 삽입 또는 결실을 동반하여 또 다른 핵산(또는 이의 상보적 가닥)과 최적으로 정렬될 때, 하기에 고찰된 바와 같이 FASTA, BLAST 또는 Gap과 같은 임의의 잘 공지된 서열 동일성 알고리즘에 의해 측정된 바와 같이, 뉴클레오타이드 염기의 적어도 약 95%, 보다 바람직하게 적어도 약 96%, 97%, 98% 또는 99%에서 뉴클레오타이드 서열 동일성이 존재함을 가리킨다. 참조 핵산 분자와 실질적인 동일성을 갖는 핵산 분자는 소정의 경우에, 참조 핵산 분자에 의해 인코딩되는 폴리펩타이드와 동일하거나 실질적으로 유사한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드를 인코딩할 수 있다.

[0152] 폴리펩타이드에 적용된 바와 같이, 용어 "실질적인 유사성" 또는 "실질적으로 유사한"은, 2개의 펩타이드 서열이, 예컨대 디폴트 갭 중량을 사용하여 프로그램 GAP 또는 BESTFIT에 의해 최적으로 정렬될 때, 적어도 95%의 서열 동일성, 보다 더 바람직하게 적어도 98% 또는 99%의 서열 동일성을 공유함을 의미한다. 바람직하게는, 동일하지 않은 잔기 위치는 보존적 아미노산 치환에 의해 달라진다. "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 잔기가 유사한 화학적 특성(예를 들어 전하 또는 소수성)을 갖는 측쇄(R기)를 갖는 또 다른 아미노산 잔기로 치환되는 것이다. 일반적으로, 보존적 아미노산 치환은 단백질의 기능적 특성을 실질적으로 변화시키지 않을 것이다. 2개 이상의 아미노산 서열이 보존적 치환에 의해 서로 달라지는 경우, 서열 동일성의 백분율 또는 유사성의 정도는 치환의 보존적 성질을 보정하기 위해 상향 조정될 수 있다. 이러한 조정을 수행하기 위한 수단은 당업자에게 잘 공지되어 있다. 예를 들어, 본원에 참조로서 포함된 문헌[Pearson et al. (1994) Methods Mol. Biol. 24: 307-331]을 참조한다. 유사한 화학적 특성을 갖는 측쇄를 가진 아미노산 그룹의 예로는, (1) 지방족 측쇄: 글리신, 알라닌, 발린, 류신 및 이소류신; (2) 지방족-하이드록실 측쇄: 세린 및 트레오닌; (3) 아미드-함유 측쇄: 아스파라긴 및 글루타민; (4) 방향족 측쇄: 페닐알라닌, 티로신 및 트립토판; (5) 염기성 측쇄: 라이신, 아르기닌 및 히스티딘; (6) 산성 측쇄: 아스파테이트 및 글루타메이트, 및 (7) 황-함유 측쇄: 시스테인 및 메티오닌이 있다. 바람직한 보존적 아미노산 치환 그룹은: 발린-류신-이소류신, 페닐알라닌-티로신, 라이신-아르기닌, 알라닌-발린, 글루타메이트-아스파테이트 및 아스파라긴-글루타민이다. 대안적으로, 보존적 대체는 본원에 참조로서 포함된 문헌[Gonnet et al. (1992) Science 256: 1443-1445]에 개시된 PAM250 로그-유사 행렬에서 양성 값을 갖는 임의의 변화이다. "적당한 보존적(moderately conservative)" 대체는 PAM250 로그-유사 행렬에서 비-음성 값을 갖는 임의의 변화이다.

[0153] 서열 동일성으로도 지칭되는 폴리펩타이드에 대한 서열 유사성은 전형적으로 서열 분석 소프트웨어를 사용하여 측정된다. 단백질 분석 소프트웨어는 보존적 아미노산 치환을 포함한 다양한 치환, 결실 및 다른 변형에 할당된 유사성 측정값을 사용하여 유사한 서열을 매칭시킨다. 예를 들어, GCG 소프트웨어는 상이한 유기체 종으로부터의 상동성 폴리펩타이드와 같은 밀접하게 관련된 폴리펩타이드 사이의, 또는 야생형 단백질과 이의 뮤테인(mutein) 사이의 서열 상동성 또는 서열 동일성을 결정하기 위해 디폴트 매개변수와 함께 사용될 수 있는 Gap 및 Bestfit과 같은 프로그램을 포함한다. 예를 들어, GCG 버전 6.1을 참조한다. 폴리펩타이드 서열은 또한, 디폴트 또는 권장된 매개변수를 사용하는, GCG 버전 6.1의 프로그램인 FASTA를 사용하여 비교될 수 있다.

FASTA(예를 들어 FASTA2 및 FASTA3)는 쿼리 및 서치 서열(상기 Pearson(2000)) 사이의 최상의 중첩 영역의 정렬 및 서열 동일성 백분율을 제공한다. 본 발명의 서열을 상이한 유기체로부터의 매우 많은 서열을 포함하는 데이터베이스와 비교하는 경우 또 다른 바람직한 알고리즘은 다폴트 매개변수를 사용하는 컴퓨터 프로그램 BLAST, 특히 BLASTP 또는 TBLASTN이다. 예를 들어, 각각이 원용에 의해 본 명세서에 포함된 문헌[Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410 및 Altschul et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-402]를 참조한다.

[0154] 본원에 사용된 바와 같이 "질병 또는 장애"는 본 발명의 IL-33 및 IL-4 길항제로 치료 가능한 임의의 질환이다. 본원에 사용된 바와 같이 "염증성 질병 또는 장애"는, 병리가 전체적으로 또는 부분적으로, 예를 들어 면역계의 세포의 수의 변화, 이동 속도의 변화 또는 활성화의 변화로 인한 것인 질병, 장애 또는 병리학적 질환을 지칭한다. 면역계의 세포로는 예를 들어, T 세포, B 세포, 단핵구 또는 대식세포, 선천적 림프모양 세포, 항원 제시 세포(APC), 수지상 세포, 소교세포, NK 세포, 호중구, 호산구, 비만 세포, 또는 면역학과 특이적으로 연관된 임의의 다른 세포, 예를 들어 사이토카인-생성 내피 또는 상피 세포가 있다. 본원에 사용된 바와 같이 일 실시형태에서, "염증성 질병 또는 장애"는 천식(스테로이드 내성 천식, 스테로이드 민감성 천식, 호산구성 천식 또는 비-호산구성 천식 포함), 알레르기, 아나필락시스, 다발성 경화증, 염증성 장 장애(예를 들어 크론병 또는 궤양성 대장염), 만성 폐색성 폐질환(COPD로서, 직접 또는 간접 흡연에의 노출과 관련되거나, 이에 의해 부분적으로 유발되거나, 이로 인한 것일 수 있거나 아닐 수 있음), 천식 및 COPD 중복 증후군(ACOS), 호산구성 식도염, 만성 기관지염, 기종, 비용종을 동반하거나 동반하지 않는 만성 비부비동염, 루푸스, 아토피 피부염, 건선, 경피증 및 다른 섬유증 질병, 쇼그렌 증후군, 혈관염(베체트병, 거대 세포 동맥염, 헤노흐-쾨라인 자반증(Henoch-Schonlein purpura) 및 처그-스트라우스 증후군), 염증 통증 및 관절염으로 구성된 군으로부터 선택되는 면역 장애 또는 질환이다. 일 실시형태에서, 관절염은 류마티스 관절염, 골관절염, 및 건선성 관절염으로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0155] 일 실시형태에서, "염증성 질병 또는 장애"는 유형 1 반응 및/또는 유형 2 반응을 포함하는 면역 장애 또는 질환이다.

[0156] "유형 1 면역 반응"은 T 조력자 1(T_H1) 세포 및 T_H17 세포, 세포독성 T 세포, 그룹 1 및 그룹 3 선천적 림프모양 세포(ILC) 및 면역글로불린 M(IgM), IgA 및 특이적 IgG 항체 클래스 및 예를 들어 TNF, IL- 1β 및 IL-6를 포함한 사이토카인에 의해 정의된다. 이러한 효과기 반응은 박테리아, 바이러스, 진균류 및 원생동물을 포함한 많은 미생물에 대한 면역력을 매개한다. 유형 1 면역력의 요소는 또한, 중앙 면역 감시를 유지시키는 것을 돕는다.

[0157] "유형 2 면역 반응"은 CD4+ T 조력자 2(T_H2) 세포, 그룹 2 선천적 림프모양 세포(ILC), 호산구, 호염기구, 비만 세포, IL-4 및/또는 IL-13 활성화된 대식세포, IgE 항체 서브클래스, 및 예를 들어 IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, 흥선 기질상 림포포이에틴, IL-25 및 IL-33을 포함한 사이토카인을 특징으로 한다. 유형 2 면역력은 장벽 방어를 복돋음으로써 큰 세포의 기생충에 대한 보호를 제공한다. 유형 2 면역 반응의 요소는 또한, 대사 항상성을 유지하고 손상 후 조직 리모델링(remodeling)을 촉진하는 것을 돕는다. 이러한 유형의 반응은 또한, 알레르겐에 대한 반응에서 개시될 수 있다.

[0158] 본원에 사용된 바와 같이 어구 "IL-33-매개 신호전달을 저해하거나 약화시키다"는, 본원에 기재된 바와 같은 길항제, 예컨대 IL-33 항체 또는 IL-33 트랩의 부재 하에 IL-33이 이의 수용체 ST2 및 공동-수용체 IL-1RAcP를 통한 신호전달을 자극시키는 정도에 비해, 본원에 기재된 바와 같은 길항제, 예컨대 IL-33 항체 또는 IL-33 트랩의 존재 하에 IL-33이 ST2 및 IL-1RAcP를 통한 신호전달을 자극시키는 정도가 저하됨을 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같이 어구 "IL-4R-매개 신호전달을 저해하거나 약화시키다"는, 본원에 기재된 바와 같은 길항제, 예컨대 IL-4 또는 IL-4R 항체의 부재 하에 IL-4가 유형 1 및/또는 유형 2 IL-4 수용체를 통한 신호전달을 자극시키는 정도에 비해, 본원에 기재된 바와 같은 길항제, 예컨대 IL-4 또는 IL-4R 항체의 존재 하에 IL-4가 유형 1 및/또는 유형 2 IL-4 수용체를 통한 신호전달을 자극시키는 정도가 저하됨을 지칭한다. 저해의 정도를 알아보기 위해, 시료를 잠재적인 저해제/길항제로 처리하고, 저해제/길항제가 없는 대조군 시료와 비교한다. 대조군 시료, 즉, 길항제로 처리되지 않은 시료는 100%의 상대 활성값으로 할당된다. 대조군에 비한 활성값이 약 90%, 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25% 또는 20% 이하일 때, 저해가 달성된다. 저해에서 중점은 예를 들어 염증, 또는 세포 탈과립, 분비 또는 활성화, 예컨대 사이토카인의 방출의 지표(indicator)를 예정된 양 또는 백분율로 포함할 수 있다. ST2 및 IL-1RAcP를 통한 IL-33 신호전달의 저해는 당업자에게 공지된 것들과 같은 시험관내 검정법에서 IL-33 신호전달에 대해 검정함으로써 결정될 수 있다.

또한, *생체내* 검정법은, 분자가 IL-33의 길항제인지 결정하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, *생체내* 검정법은 인간 IL-33의 발현에 대해 동형접합성인 알레르겐-민감화된 동물에서 폐 염증에 미치는, IL-33에 대한 항체의 효과를 평가하는 데 사용될 수 있다. 알레르겐에 의한 동물의 민감화 후, 동물의 서브세트를 본 발명의 항-IL-33 항체 또는 음성 이소형 대조군 항체로 치료한다. 이후, 동물을 안락사시키고, 세포성 침윤물의 평가뿐만 아니라 사이토카인 측정(IL-4 및 IL-5)을 위해 폐를 수습한다. 길항제로서 효과적인 IL-33 항체는 폐에서 염증 세포의 감소를 향한 경향, 뿐만 아니라 IL-4 및 IL-5와 같은 사이토카인의 감소를 향한 경향을 나타내어야 한다. *시험관내* 또는 *생체내*에서 IL-4가 유형 1 및/또는 유형 2 수용체에 결합한 후 신호전달을 차단하는 IL-4R 길항제의 능력을 평가하기 위해 유사한 검정법을 수행할 수 있다. 더욱이, IL-33 길항제 단독, IL-4 또는 IL-4R 길항제 단독을 사용한 효과, 또는 IL-33 길항제와 IL-4 또는 IL-4R 길항제 둘 다의 조합을 함께 사용한 효과를 비교하기 위해 상기 주지된 검정법들 중 임의의 검정법을 변형시킬 수 있다.

[0159] 또 다른 양태에서, 본 발명은 인터루킨-4 수용체(IL-4R) 길항제를 포함하는 억제학적 조성물을 IL-33 길항제를 포함하는 억제학적 조성물과 조합하여 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 천식 또는 COPD의 발병이나 재발, 또는 천식 또는 COPD 악화를 감소시키는 방법을 제공한다. 본원에 사용된 바와 같이 표현 "천식 또는 COPD 악화"는 천식 또는 COPD의 하나 이상의 증상 또는 지표의 중증도 및/또는 빈도 및/또는 기간의 증가를 의미한다. "천식 또는 COPD 악화"는 또한, 천식 또는 COPD에 대한 치료적 개입(예를 들어 스테로이드 치료, 흡입 코티코스테로이드 치료, 입원 등)을 필요로 하고/거나 이에 의해 치료 가능한 대상체의 호흡기 건강에서 임의의 저하를 포함한다.

[0160] 천식 또는 COPD 악화의 "발병 또는 재발의 감소"는, 본 발명의 억제학적 조성물을 제공받은 대상체가 치료 전보다 치료 후에 더 적은 천식 또는 COPD 악화(즉, 적어도 하나의 더 적은 악화)를 경험하거나, 본 발명의 억제학적 조성물을 이용한 치료의 개시 후 적어도 4주(예를 들어 4, 6, 8, 12, 14주 이상) 동안 천식 또는 COPD 악화를 전혀 경험하지 않음을 의미한다. 대안적으로, 천식 또는 COPD 악화의 "발병 또는 재발의 감소"는, 본 발명의 억제학적 조성물의 투여 후, 대상체가 천식 또는 COPD 악화를 경험하는 가능성이 본 발명의 억제학적 조성물을 제공받지 않은 대상체와 비교하여 적어도 10%(예를 들어 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50% 이상)만큼 저하됨을 의미한다.

[0161] 본원에 사용된 바와 같이 "섬유증 질병 또는 장애"는 조직 또는 기관에서 과량의 섬유성 결합 조직을 수반하는 질환을 지칭한다. "섬유증"은 조직 손상에 대한 반응으로서 결합 조직에 의한 반흔 형성 및 세포외 기질의 과다생성을 포함하는 병리학적 과정을 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같이 본 발명의 항-IL-33 및 IL-4R 길항제를 투여함으로써 치료 가능한 예시적인 "섬유증 질병 또는 장애"로는, 폐 섬유증(예를 들어 특발성 폐 섬유증, 블레오마이신-유도 폐 섬유증, 석면-유도 폐 섬유증 및 폐쇄 세기관지염 증후군), 만성 천식, 급성 폐 손상 및 급성 호흡 곤란과 연관된 섬유증(예를 들어 박테리아성 폐렴-유도 섬유증, 외상-유도 섬유증, 바이러스성 폐렴-유도 섬유증, 인공호흡기-유도 섬유증, 비-폐 폐혈증-유도 섬유증 및 흡인-유도 섬유증), 규폐증, 방사선-유도 섬유증, 만성 폐색성 폐질환(COPD로서, 직접 또는 간접 흡연에의 노출과 관련되거나 이에 의해 부분적으로 유발되거나 이로 인한 것일 수 있거나 그렇지 않을 수 있음), 경피증, 안구 섬유증, 피부 섬유증(예를 들어 경피증), 간 섬유증(예를 들어 간경변, 알코올-유도 간 섬유증, 비-알코올성 지방간염(NASH), 담도 손상, 원발성 담즙성 간경변, 감염- 또는 바이러스성-유도 간 섬유증, 자가면역 간염, 신장(신) 섬유증, 심장 섬유증, 아테롬성 동맥경화증, 스텐트 재협착증, 및 골수섬유증이 있다. 천식 및 COPD가 일반적으로 염증 질환인 것으로 간주되는 한편, 각각은 또한 섬유증 장애의 특성을 나타내는 것으로 공지되어 있다.

[0162] 치료 또는 치료법, 예를 들어 IL-33 길항제(예를 들어 IL-33 또는 ST2 결합 길항제) 또는 IL-4 길항제를 포함하는 치료에 대한 환자의 "반응" 또는 환자의 "반응도"는 IL-33-매개 장애(예를 들어 천식, COPD, ACOS, 비용종, 또는 폐 섬유증, 예를 들어 특발성 폐 섬유증)에 대한 위험에 있거나 이를 갖는 환자에게 치료로부터 또는 이의 결과로서 부여되는 임상적 또는 치료적 이득을 지칭한다. 이러한 이득은 길항제를 이용한 치료로부터 또는 이의 결과로서 환자의 세포성 또는 생물학적 반응, 완전 반응, 부분 반응, 안정한 질병(진행 또는 재발이 없음), 또는 만기 재발(later relapse)을 갖는 반응을 포함할 수 있다. 당업자는 환자가 반응성인지 쉽게 결정할 수 있을 것이다. 예를 들어, IL-33 길항제 및/또는 IL-4 길항제를 포함하는 치료에 반응성인 천식 환자는 하기의 예시적인 증상 중 하나 이상에서 관찰 가능한 및/또는 측정 가능한 감소 또는 부재를 보여줄 수 있다: 재발되는 천명(wheezing), 기침, 호흡 곤란, 흉부 압박감(chest tightness), 야간에 발생하거나 악화되는 증상, 냉기, 운동 또는 알레르겐에의 노출에 의해 촉발되는 증상.

[0163] 더욱이, "증강된 치료 효능"은, IL-33 길항제 또는 IL-4R 길항제가 단독으로 사용될 때 달성되는 결과와 비교하는 경우, IL-33 길항제 + IL-4R 길항제의 조합을 이용한 치료가 질병 또는 장애의 적어도 하나의 증상의 뚜렷한

개선, 또는 본원에 측정된 바와 같이 생물학적 매개변수(예를 들어 폐 염증, 사이토카인 방출 등) 중 적어도 하나의 개선을 초래하는지 평가함으로써 결정될 수 있다. 본 출원에 기재된 바와 같이 효능의 임의의 생물학적 측정값은 치료 효능 또는 이의 증강을 결정하는 데 사용될 수 있다.

[0164] **IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제**

[0165] 본 발명의 방법은 치료적 유효량의 IL-33 길항제를 치료적 유효량의 IL-4R 길항제와 조합하여 염증성 질병 또는 장애를 앓고 있는 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0166] **IL-33 길항제**

[0167] 용어 "인간 인터루킨-33" 또는 "인간 IL-33" 또는 "hIL-33", 또는 "IL-33"은 270개 아미노산, 전장, 비가공 IL-33(예를 들어 SEQ ID NO: 348, 또는 UniProtKB 기탁 번호 O95760 참조) 또는 이의 생물학적 활성 단편, 뿐만 아니라 세포 내에서의 가공으로 인한 임의의 형태의 IL-33(예를 들어 전장 단백질의 아미노산 잔기 112~270을 함유하는 SEQ ID NO: 349 참조)을 지칭한다. 상기 용어는 또한, IL-33의 천연 발생 변이체, 예를 들어 스플라이스 변이체(예를 들어 문헌[Hong, *et. al.*, (2011), J. Biol. Chem. 286(22):20078-20086]), 또는 대립유전자 변이체, 또는 임의의 다른 이소형의 IL-33, 예컨대 W02016/156440에 기재된 산화된 또는 환원된 형태의 IL-33을 포괄한다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 의해 또는 본 발명의 IL-33 트랩에 의해 중화되거나, 저해되거나, 차단되거나, 무효화되거나, 약화되거나, 감소되거나 방해될 수 있는 IL-33의 활성으로는, IL-33 수용체-매개 신호전달의 저해 또는 IL-33-매개 염증의 저해가 있으나, 이들로 한정되는 것은 아니다.

[0168] 본원에 사용된 바와 같이 "IL-33 길항제"(본원에서 "IL-33 저해제" 또는 "IL-33 차단제" 등으로도 지칭됨)는 IL-33과 하나 이상의 이의 결합 파트너의 상호작용을 저해하고 이로써 IL-33-매개 신호전달을 저해할 수 있는 임의의 작용제이다. 예를 들어, "IL-33 길항제"는 IL-33, 또는 "중양원성의 억제제"("ST2")로 지칭되는 IL-33 수용체, 또는 "인터루킨-1 수용체 악세사리 단백질("IL-1RAcP")로 지칭되는 IL-33 공동-수용체, 또는 하기: IL-33/ST2, 또는 ST2/IL-1RAcP 중 임의의 복합체에 결합하고/거나 이와 상호작용할 수 있으며, 이로써 IL-33-매개 신호전달을 저해할 수 있다.

[0169] IL-33 길항제의 범주의 비제한적인 예로는, 저분자 IL-33 저해제, 또는 수용체 길항제, 또는 엄격한 조건 하에 IL-33, 또는 IL-33 수용체 또는 공동-수용체를 인코딩하는 핵산 서열에 혼성화하는 핵산(예를 들어 짧은 간섭 RNA(siRNA) 또는 Mali 등(문헌[Science. 339: 823-26, 2013])에 기재된 바와 같이 crRNA 및 tracrRNA 서열을 갖는 단일 가이드 RNA(sgRNA)를 포함한 주기적으로 간격을 띠고 분포하는 짧은 회문구조의 반복서열(clustered regularly interspaced short palindromic repeat) RNA(CRISPR-RNA 또는 crRNA), 상기 문헌은 그 전체가 원용에 의해 본 명세서에 포함됨)이 있다. 다른 IL-33 길항제는 IL-33 수용체(예를 들어 ST2)의 리간드-결합 부분을 포함하는 단백질, IL-33-결합 스캐폴드 분자(예를 들어 DARPs, HEAT 반복 단백질, ARM 반복 단백질, 테트라트릭로캡타이드 반복 단백질, 피브로넥틴-기반 스캐폴드 구축물, 및 천연 발생 반복 단백질을 기반으로 한 다른 스캐폴드 등(예를 들어 문헌[Boersma and Pluckthun, 2011, *Curr. Opin. Biotechnol.* 22:849-857] 및 상기 문헌에서 언급된 참조문헌을 참조), 및 항-IL-33 앵타머 또는 이의 일부를 포함한다.

[0170] **IL-33 항체**

[0171] 소정의 실시형태에 따르면, 본 발명의 맥락에서 사용될 수 있는 IL-33 길항제 또는 저해제는 인간 IL-33에 특이적으로 결합하는 항-IL-33 항체, 또는 항체의 항원-결합 단편이다. 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 예시적인 항-IL-33 항체에 대한 아미노산 서열 식별자는 표 1에 보여져 있고, 이들 IL-33 항체를 인코딩하는 핵산 서열 식별자는 표 2에 보여져 있다.

[0172] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 본원에 기재된 항-IL-33 항체는 US9,453,072에 개시되어 있으며, 이는 그 전체가 원용에 의해 포함된다.

[0173] 소정의 실시형태에 따르면, 본 발명의 방법에 사용되는 항-IL-33 항체는 IL-33에 특이적으로 결합한다. 용어 "특이적으로 결합한다" 등은, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 생리학적 조건 하에 항원과 복합체를 형성하며 이러한 복합체는 상대적으로 안정함을 의미한다. 항체가 항원에 특이적으로 결합하는지 결정하는 방법은 당업계에 잘 공지되어 있고, 예를 들어 평형 투석, 표면 플라즈몬 공명 등이 있다. 예를 들어, 본 발명의 맥락에서 사용되는 바와 같이 IL-33에 "특이적으로 결합하는" 항체는 표면 플라즈몬 공명 검정법에 의해 측정된 바와 같이, IL-33 또는 이의 생물학적 활성 부분에 약 1000 nM 미만, 약 500 nM 미만, 약 300 nM 미만, 약 200 nM 미만, 약 100 nM 미만, 약 90 nM 미만, 약 80 nM 미만, 약 70 nM 미만, 약 60 nM 미만, 약 50 nM 미만, 약 40 nM 미만, 약 30 nM 미만, 약 20 nM 미만, 약 10 nM 미만, 약 5 nM 미만, 약 4 nM 미만, 약 3 nM 미만, 약 2 nM 미

만, 약 1 nM 미만 또는 약 0.5 nM 미만의 K_D 로 결합하는 항체를 포함한다. 그러나, 인간 IL-33에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 다른 항원, 예컨대 다른(비-인간) 종으로부터의 IL- IL-33 분자에 대해 교차-반응성을 가질 수 있다.

[0174] 본 발명의 소정의 예시적인 실시형태에 따르면, IL-33 길항제는 미국 특허 9,453,072 및 본원에 개시된 표 1에 제시된 바와 같이 항-IL-33 항체의 임의의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR), 경쇄 가변 영역(LCVR) 및/또는 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 항-IL-33 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. 소정의 실시 형태에서, IL-33 길항제는 US9,453,072에 기재된 참조 항체의 결합 특징을 갖는 항-IL-33 항체이다. 소정의 예시적인 실시형태에서, 본 발명의 방법의 맥락에서 사용될 수 있는 항-IL-33 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 274의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR)의 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR) 및 SEQ ID NO: 282의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR)의 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR)을 포함한다. 소정의 실시형태에 따르면, 항-IL-33 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 3개의 HCDR(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3) 및 3개의 LCDR(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하며, 여기서, HCDR1은 SEQ ID NO: 276의 아미노산 서열을 포함하며; HCDR2는 SEQ ID NO: 278의 아미노산 서열을 포함하고; HCDR3은 SEQ ID NO: 280의 아미노산 서열을 포함하며; LCDR1은 SEQ ID NO: 284의 아미노산 서열을 포함하며; LCDR2는 SEQ ID NO: 286의 아미노산 서열을 포함하고; LCDR3은 SEQ ID NO: 288의 아미노산 서열을 포함한다. 보다 다른 실시형태에서, 항-IL-33 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 274를 포함하는 HCVR 및 SEQ ID NO: 282를 포함하는 LCVR을 포함한다.

[0175] 일 실시형태에서, IL-33 길항제는 REGN3500으로 지칭되는 IL-33 항체이며, 이러한 길항제는 SEQ ID NO: 274의 아미노산 서열을 갖는 HCVR 및 SEQ ID NO: 282의 아미노산 서열을 갖는 LCVR 및 SEQ ID NO: 276-278-280의 아미노산 서열을 각각 갖는 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR1-HCDR2-HCDR3) 및 SEQ ID NO: 284-286-288의 아미노산 서열을 갖는 각각 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR1-LCDR2-LCDR3)을 포함한다.

[0176] 본원에 기재된 방법에 사용될 수 있는 다른 항-IL-33 항체 및 이의 항원-결합 단편은 EP1725261, US8187596, WO2011031600, WO20151099175, WO2015106080(ANB020), US2016/0168242, WO2016/077381, WO2016/077366 또는 WO2016/156440에 개시되어 있으며, 이들은 각각 그 전문이 원용에 의해 본 명세서에 포함된다.

[0177] IL-33 트랩

[0178] 소정의 실시형태에 따르면, 본 발명의 맥락에서 사용될 수 있는 IL-33 길항제 또는 저해제는 본원에 기재된 것들과 같은 수용체-기반 IL-33 트랩이다.

[0179] 본원에 기재된 IL-33 트랩은, ST2로 지정된 IL-33 수용체 단백질의 IL-33 결합 부분을 포함하는 적어도 하나의 IL-33 결합 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, IL-33 트랩은 IL-1 수용체 악세사리 단백질 또는 IL-1RAcP로 지정된 IL-33 공동-수용체의 세포의 부분을 추가로 포함한다. IL-33 트랩은 또한, 트랩의 다양한 구성성분들을 서로 연결하는 작용을 하는 적어도 하나의 다량체화 구성성분을 함유할 수 있다. IL-33 트랩의 다양한 구성성분들은 하기에 기재되고 도 1에 제시된다.

[0180] 일 실시형태에서, 본원에 기재된 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-33 트랩은 US2014/0271642 및 WO2014/152195에 개시되어 있으며, 이들 전체가 원용에 의해 본 명세서에 포함된다.

[0181] 간략하게는, IL-33 트랩은 다량체화 도메인(M)에 부착된 제1 IL-33 결합 도메인(D1)을 포함한다. 소정의 실시 형태에서, 본 발명의 IL-33 길항제는 D1 및/또는 M에 부착된 제2 IL-33 결합 도메인(D2)을 포함한다. 소정의 실시형태에 따르면, D1은 ST2 단백질의 IL-33-결합 부분을 포함한다. 소정의 실시형태에 따르면, D2는 IL-1RAcP 단백질의 세포의 부분을 포함한다.

[0182] IL-33 트랩의 개별 구성성분은, IL-33에 결합할 수 있는 작용성 길항제 분자를 초래하는 여러 가지 방식으로 서로에 비해 배열될 수 있다. 예를 들어, D1 및/또는 D2는 M의 N-말단에 부착될 수 있다. 다른 실시형태에서, D1 및/또는 D2는 M의 C-말단에 부착된다. 보다 다른 실시형태에서, D1은 D2의 N-말단에 부착되고, D2는 M의 N-말단에 부착되어, 길항제 분자의 N-말단으로부터 C-말단까지 식 D1-D2-M으로 표시되는 인-라인 융합을 초래한다. 개별 구성성분의 다른 배향은 도 1에서 본원에서 도처에 개시된다.

[0183] 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-33 트랩의 비제한적인 예는 표 3a 및 3b에 제시되고, "hST2-hFc," "hST2-mFc," "hST2-hIL1RAcP-mFc," "hST2-hIL1RAcP-hFc" 및 "mST2-mIL1RAcP-mFc"로 지정된 IL-33 트랩을 포함한다. 이들은 SEQ ID NO: 323, 324, 325, 326 및 327에 각각 상응한다. 본 발명은 본원에 제시된 예시적인 임의의 IL-33 수용체-기반 트랩(예를 들어 SEQ ID NO: 323, 324, 325, 326 및 327)과 적어도 80%, 85%, 90%, 91%,

92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 갖는 IL-33 수용체-기반 트랩을 포함한다.

[0184] 표준 분자생물학 기술(예를 들어 재조합 DNA 기술)은 본 발명의 임의의 IL-33 트랩 또는 이의 변이체를 구축하는 데 사용될 수 있다.

[0185] 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-33 트랩은 적어도 하나의 IL-33 결합 도메인(이따금 본원에서 지정 "D," 또는 "D1," "D2" 등에 의해 지칭됨)을 포함한다. 소정의 실시형태에서, IL-33 결합 도메인은 ST2 단백질의 IL-33-결합 부분을 포함한다. ST2 단백질의 IL-33-결합 부분은 ST2 단백질의 세포외 도메인 중 모두 또는 일부를 포함하거나 이로 구성될 수 있다. 소정의 실시형태에서, ST2 단백질은 인간 ST2 단백질이다. 본원에 사용된 바와 같이 "인간 ST2 단백질"은 SEQ ID NO: 352로도 제시된 기탁 번호 NP_057316.3의 아미노산 1~556에 제시된 바와 같은 ST2 단백질을 지칭한다. 소정의 실시형태에서, ST2 단백질은 비-인간 종으로부터의 ST2 단백질(예를 들어 마우스 ST2, 원숭이 ST2 등)이다. ST2 단백질의 예시적인 IL-33-결합 부분은 본원에서 SEQ ID NO: 328의 아미노산 서열(인간 ST2의 세포외 도메인[NCBI 기탁 번호 NP_057316.3의 K19-S328]에 상응함)로서 제시된다. ST2 단백질의 IL-33-결합 부분의 다른 예는 본원에서 SEQ ID NO:329의 아미노산 서열(마우스 ST2의 세포외 도메인[NCBI 기탁 번호 P14719의 S27-R332]에 상응함)로서 제시된다.

[0186] 소정의 실시형태에서, IL-33 결합 도메인은 IL-1RAcP 단백질의 세포외 부분을 포함한다. 소정의 실시형태에서, IL-1RAcP 단백질은 인간 IL-1RAcP 단백질이다. 본원에 사용된 바와 같이 "인간 IL-1RAcP 단백질"은 SEQ ID NO:353의 아미노산 서열을 갖는 IL-1RAcP 단백질을 지칭한다. 소정의 실시형태에서, IL-1RAcP 단백질은 비-인간 종으로부터의 IL-1RAcP 단백질(예를 들어 마우스 IL-1RAcP, 원숭이 IL-1RAcP 등)이다. IL-1RAcP 단백질의 예시적인 세포외 부분은 본원에서 SEQ ID NO:330의 아미노산 서열(인간 IL-1RAcP의 세포외 도메인[NCBI 기탁 번호 Q9NPH3의 S21-E359]에 상응함)로서 제시된다. IL-1RAcP 단백질의 세포외 부분의 또 다른 예는 본원에서 SEQ ID NO:331의 아미노산 서열(마우스 IL-1RAcP의 세포외 도메인[NCBI 기탁 번호 Q61730의 S21-E359]에 상응함)로서 제시된다.

[0187] 본 발명은 본원에 제시된 임의의 예시적인 IL-33 결합 도메인 구성성분 아미노산 서열(예를 들어 SEQ ID NO: 328, 329, 330 및 331)에 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 갖는 D1 및/또는 D2 구성성분을 포함하는 IL-33 트랩을 포함한다.

[0188] 본 발명의 IL-33 길항제는 또한, 적어도 하나의 다량체화 도메인(이따금 본원에서 약어 "M," "M1," "M2" 등으로 지칭됨)을 포함한다. 일반적인 용어에서, 본 발명의 다량체화 도메인(들)은 IL-33 길항제의 다양한 구성성분들(예를 들어 IL-33-결합 도메인(들))을 서로 연결하는 작용을 한다. 본원에 사용된 바와 같이 "다량체화 도메인"은 동일하거나 유사한 구조 또는 구성의 제2 거대분자와 연합(공유 또는 비-공유)시키는 능력을 가진 임의의 거대분자이다. 예를 들어, 다량체화 도메인은 면역글로불린 C_H3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드일 수 있다. 다량체화 도메인의 비제한적인 예는 면역글로불린의 Fc 부분, 예를 들어 이소형 IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4, 뿐만 아니라 각각의 이소형 그룹 내의 임의의 알로형(allotype)으로부터 선택된 IgG의 Fc 도메인이다.

[0189] 본 발명의 IL-33 길항제에서 사용될 수 있는 비제한적인 예시적인 다량체화 도메인은 인간 IgG1 Fc(SEQ ID NO:332) 또는 마우스 IgG2a Fc(SEQ ID NO:333)를 포함한다. 본 발명은 본원에 제시된 임의의 예시적인 M 구성성분 아미노산 서열(예를 들어 SEQ ID NO:332 또는 333)에 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 갖는 M 구성성분을 포함하는 IL-33 길항제를 포함한다.

[0190] 소정의 실시형태에서, 본 발명의 IL-33 길항제는 2개의 다량체화 도메인 M1 및 M2를 포함하며, 여기서, M1 및 M2는 서로 동일하다. 예를 들어, M1은 특정 아미노산 서열을 갖는 Fc 도메인일 수 있고, M2는 M1과 동일한 아미노산 서열을 갖는 Fc 도메인이다.

[0191] 본 발명의 IL-33 길항제의 개별 구성성분(예를 들어 D1, D2, M 등)은 여러 가지 방식으로 서로에 비해 배열될 수 있다. 상기 주지된 모든 배열들의 비제한적인 예는 도 1에 도식적으로 예시된다.

[0192] 본 발명의 방법에 사용하기 위한 2개의 다량체화 도메인(M1 및 M2) 및 4개의 IL-33 결합 도메인(D1, D2, D3 및 D4)을 포함하는 IL-33 트랩의 비제한적인 예시적인 예는 또한, 도 1에서 배열 C 및 D로 제시된다.

[0193] 본 발명의 IL-33 트랩의 개별 구성성분(예를 들어 D1, D2, M1, M2 등)은 서로 직접적으로 부착될 수 있으며(예를 들어 D1 및/또는 D2는 M에 직접적으로 부착될 수 있는 등임); 대안적으로, 개별 구성성분은 링커 구성성분을 통해 서로 부착될 수 있다(예를 들어 D1 및/또는 D2는 개별 구성성분들 사이에 배향된 링커를 통해 M에 부착될

수 있으며; D1은 링커를 통해 D2에 부착될 수 있음; 등). 1개의 구성성분이 또 다른 구성성분에 "부착되는" 것으로 기재된 본원에 개시된 임의의 배열에서, 상기 부착은 링커를 통해서일 수 있다(구체적으로 이와 같이 지정되지 않더라도). 본원에 사용된 바와 같이 "링커"는 2개의 폴리펩타이드 구성성분들을 함께 접합시키는 임의의 분자이다.

[0194] 본 발명의 방법에 사용하기 위한 IL-33 트랩의 생물학적 특징은 US2014/0271642 및 W02014/152195에 기재되어 있으며, 이들은 그 전문이 원용에 의해 본 명세서에 포함된다.

[0195] 다른 IL-33 길항제

[0196] IL-33 및/또는 이의 수용체(ST2 및/또는 IL-1 RAcP)에 결합하고 리간드-수용체 상호작용을 차단하는 폴리펩타이드는 IL-33 길항제로서 간주되고, W02014/152195에 개시되어 있으며, 이는 그 전문이 원용에 의해 본 명세서에 포함된다. IL-33 길항제로서 작용할 수 있고 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 다른 작용제는 이뮤노어드헤신(immunoadhesin), 펩티마이드, 및 가용성 ST2 또는 이의 유도체; 항-IL-33 수용체 항체(예를 들어 항-ST2 항체, 예를 들어 AMG-282(Amgen) 또는 STLM15(Janssen) 또는 W02012/113813, W0 2013/173761, W0 2013/165894, US8,444,987 또는 US7,452,980에 기재된 임의의 항-ST2 항체를 포함하며, 이들은 각각 그 전문이 원용에 의해 본 명세서에 포함된다. 본 발명의 방법에 사용하기 위한 다른 IL-33 길항제는 ST2-Fc 단백질, 예컨대 W02013/173761 또는 W0 2013/165894에 기재된 것들을 포함하며, 이들은 각각 그 전문이 원용에 의해 본 명세서에 포함된다.

[0197] IL-4R 길항제

[0198] 본원에 사용된 바와 같이 "IL-4R 길항제"(본원에서 "IL-4R 저해제," "IL-4R α 길항제," "IL-4R 차단제," "IL-4R α 차단제" 등으로도 지칭됨)는 IL-4R α 또는 IL-4R 리간드에 결합하거나 이와 상호작용하고 유형 1 및/또는 유형 2 IL-4 수용체의 정상적인 생물학적 신호전달 기능을 저해하거나 약화시키는 임의의 작용제이다. 본원에 사용된 바와 같이 용어 "인간 IL-4R" 또는 "hIL-4R"은 SEQ ID NO: 347의 아미노산 서열을 갖는 IL-4R, 또는 이의 생물학적 활성 단편을 지칭한다. 유형 1 IL-4 수용체는 IL-4R α 사슬 및 γ c 사슬을 포함하는 이량체성 수용체이다. 유형 2 IL-4 수용체는 IL-4R α 사슬 및 IL-13R α 1 사슬을 포함하는 이량체성 수용체이다. 유형 1 IL-4 수용체는 IL-4와 상호작용하고 이에 의해 자극되는 한편, 유형 2 IL-4 수용체는 IL-4 및 IL-13 둘 다와 상호작용하고 이에 의해 자극된다. 따라서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 IL-4R 길항제는 IL-4-매개 신호전달, IL-13-매개 신호전달, 또는 IL-4 및 IL-13-매개 신호전달 둘 다를 차단함으로써 작용할 수 있다. 따라서, 본 발명의 IL-4R 길항제는 IL-4 및/또는 IL-13과 유형 1 또는 유형 2 수용체의 상호작용을 방지할 수 있다.

[0199] IL-4R 길항제의 범주의 비제한적인 예로는, 저분자 IL-4R 길항제, IL-4R 발현 또는 활성의 핵산-기반 저해제(예를 들어 siRNA 또는 안티센스), IL-4R과 특이적으로 상호작용하는 펩타이드-기반 분자(예를 들어 펩티마이드), "수용체-바디"(예를 들어 IL-4R 구성성분의 리간드-결합 도메인을 포함하는 조작된 분자), IL-4R-결합 스캐폴드 분자(예를 들어 DARPins, HEAT 반복 단백질, ARM 반복 단백질, 테트라트리코펩타이드 반복 단백질, 피브로넥틴-기반 스캐폴드 구축물, 및 천연 발생 반복 단백질을 기반으로 하는 다른 스캐폴드 등[예를 들어 문헌[Boersma and Pluckthun, 2011, *Curr. Opin. Biotechnol.* 22:849-857], 및 여기서 인용된 문헌 참조]), 및 항-IL-4R 앵타머 또는 이의 부분이 있다. 소정의 실시형태에 따르면, 본 발명의 맥락에서 사용될 수 있는 IL-4R 길항제는 인간 IL-4R에 특이적으로 결합하는 항-IL-4R 항체, 또는 항체의 항원-결합 단편이다.

[0200] 일 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 본원에 개시된 항-IL-4R 항체는 두필루맵이다(또한 미국 특허 7,605,237; 7,608,693 및 9,290,574 참조).

[0201] 항-IL-4R 항체

[0202] 본 발명의 소정의 예시적인 실시형태에 따르면, IL-4R 길항제는 IL-4R α에 특이적으로 결합하는 항-IL-4R α 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. 용어 "특이적으로 결합한다" 등은, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 생리학적 조건 하에 항원과 복합체를 형성하며 이러한 복합체는 상대적으로 안정함을 의미한다. 항체가 항원에 특이적으로 결합하는지 결정하는 방법은 당업계에 잘 공지되어 있고, 예를 들어 평형 투석, 표면 플라즈몬 공명 등이 있다. 예를 들어, 본 발명의 맥락에서 사용되는 바와 같이 IL-4R α에 "특이적으로 결합하는" 항체는 표면 플라즈몬 공명 검정법에서 측정된 바와 같이 IL-4R α 또는 이의 생물학적 활성 부분에 약 1000 nM 미만, 약 500 nM 미만, 약 300 nM 미만, 약 200 nM 미만, 약 100 nM 미만, 약 90 nM 미만, 약 80 nM 미만, 약 70 nM 미만, 약 60 nM 미만, 약 50 nM 미만, 약 40 nM 미만, 약 30 nM 미만, 약 20 nM 미만, 약 10 nM 미만, 약 5 nM 미만, 약 4 nM 미만, 약 3 nM 미만, 약 2 nM 미만, 약 1 nM 미만 또는 약 0.5 nM 미만의 K_D 로 결합하는 항체를 포함한

다. 그러나, 인간 IL-4R α 에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 다른(비-인간) 종으로부터의 다른 항원, 예컨대 IL-4R α 분자에 교차-반응성을 가질 수 있다.

[0203] 본 발명의 소정의 예시적인 실시형태에 따르면, IL-4R 길항제는 미국 특허 7,605,237 및 7,608,693에 제시된 바와 같은 항-IL-4R 항체의 임의의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR), 경쇄 가변 영역(LCVR) 및/또는 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 항-IL-4R α 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. 소정의 실시형태에서, IL-4R 길항제는 본원에서 두필루맵으로 지칭된 참조 항체의 결합 특징을 갖는 항-IL-4R 항체이다(US7,605,237 및 US7,608,693 참조). 소정의 예시적인 실시형태에서, 본 발명의 방법의 맥락에서 사용될 수 있는 항-IL-4R α 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 337의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR)의 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR) 및 SEQ ID NO: 338의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR)의 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR)을 포함한다. 소정의 실시형태에 따르면, 항-IL-4R α 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 3개의 HCDR(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3) 및 3개의 LCDR(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하며, 여기서, HCDR1은 SEQ ID NO: 339의 아미노산 서열을 포함하며; HCDR2는 SEQ ID NO:340의 아미노산 서열을 포함하고; HCDR3은 SEQ ID NO:341의 아미노산 서열을 포함하며; LCDR1은 SEQ ID NO:342의 아미노산 서열을 포함하며; LCDR2는 SEQ ID NO:343의 아미노산 서열을 포함하고; LCDR3은 SEQ ID NO:344의 아미노산 서열을 포함한다. 보다 다른 실시형태에서, 항-IL-4R 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 337을 포함하는 HCVR 및 SEQ ID NO: 338을 포함하는 LCVR을 포함한다. 보다 다른 실시형태에서, 항-IL-4R 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 335를 포함하는 HCVR 및 SEQ ID NO: 336을 포함하는 LCVR을 포함한다. 보다 다른 실시형태에서, 항-IL-4R 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 345로 제시된 바와 같은 중쇄(HC) 아미노산 서열 및 SEQ ID NO: 346으로 제시된 바와 같은 경쇄(LC) 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 예시적인 실시형태에 따르면, 본 발명의 방법은 당업계에서 두필루맵으로 지칭되고 공지된 항-IL-4R α 항체 또는 이의 생물학적 등가물의 용도를 포함한다. 두필루맵은 SEQ ID NO: 337의 아미노산 서열을 갖는 HCVR 및 SEQ ID NO: 338의 아미노산 서열을 갖는 LCVR 및 SEQ ID NO: 339-340-341의 아미노산 서열을 각각 갖는 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR1-HCDR2-HCDR3) 및 SEQ ID NO: 342-343-344의 아미노산 서열을 각각 갖는 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR1-LCDR2-LCDR3)을 포함한다.

[0204] 본 발명의 방법의 맥락에서 사용될 수 있는 다른 항-IL-4R α 항체는 예를 들어, AMG317(문헌[Corren *et al.*, 2010, *Am J Respir Crit Care Med.*, 181(8):788-796]), 또는 MEDI 9314, 또는 미국 특허 7,186,809, 미국 특허 7,605,237, 미국 특허 7,638,606, 미국 특허 8,092,804, 미국 특허 8,679,487 또는 미국 특허 8,877,189에 제시된 바와 같은 임의의 항-IL-4R α 항체로서 당업계에서 지칭되고 공지된 항체를 포함한다.

[0205] **항-IL-4 및/또는 항-IL-33 항체의 pH 의존적 특징**

[0206] 본 발명의 방법의 맥락에서 사용되는 항-IL-4R α 및 IL-33 항체는 pH-의존적 결합 특징을 가질 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 항-IL-4R α 항체 또는 항-IL-33 항체는 중성 pH와 비교하여 산성 pH에서 IL-4R α 또는 IL-33 각각으로의 감소된 결합을 나타낼 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 항-IL-4R α 항체 또는 본 발명의 항-IL-33 항체는 중성 pH와 비교하여 산성 pH에서 이의 항원으로의 증강된 결합을 나타낼 수 있다. 표현 "산성 pH"는 약 6.2 미만, 예를 들어 약 6.0, 5.95, 5.9, 5.85, 5.8, 5.75, 5.7, 5.65, 5.6, 5.55, 5.5, 5.45, 5.4, 5.35, 5.3, 5.25, 5.2, 5.15, 5.1, 5.05, 5.0 이하의 pH 값을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이 표현 "중성 pH"는 약 7.0 내지 약 7.4의 pH를 의미한다. 표현 "중성 pH"는 약 7.0, 7.05, 7.1, 7.15, 7.2, 7.25, 7.3, 7.35 및 7.4의 pH 값을 포함한다.

[0207] 소정의 경우, "중성 pH와 비교하여 산성 pH에서 IL-4R α 로의 감소된 결합", 또는 "중성 pH와 비교하여 산성 pH에서 IL-33으로의 감소된 결합"은, 중성 pH에서 IL-4R α 또는 IL-33 각각으로의 항체 결합의 K_D 값에 대한, 산성 pH에서 IL-4R α 또는 IL-33 각각으로의 항체 결합의 K_D 값의 비로서 표현된다(또는 그 반대임). 예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은, 이러한 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 약 3.0 이상의 산성/중성 K_D 비를 나타낸다면, 본 발명의 목적을 위해 "중성 pH와 비교하여 산성 pH에서 IL-4R α 로의 감소된 결합" 또는 "중성 pH와 비교하여 산성 pH에서 IL-33으로의 감소된 결합"을 나타내는 것으로 간주될 수 있다. 소정의 예시적인 실시형태에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편에 대한 산성/중성 K_D 비는 약 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5, 10.0, 10.5, 11.0, 11.5, 12.0, 12.5, 13.0, 13.5, 14.0, 14.5, 15.0, 20.0, 25.0, 30.0, 40.0, 50.0, 60.0, 70.0, 100.0 이상일 수 있다.

[0208] pH-의존적 결합 특징을 갖는 항체는 예를 들어, 중성 pH와 비교하여 산성 pH에서 특정 항원으로의 감소된(또는 증강된) 결합에 대해 항체 집단을 스크리닝함으로써 획득될 수 있다. 추가로, 아미노산 수준에서 항원-결합 도

메인의 변형은 pH-의존적 특징을 갖는 항체를 제공할 수 있다. 예를 들어, 항원-결합 도메인(예를 들어 CDR 내의)의 하나 이상의 아미노산을 히스티딘 잔기로 치환함으로써, 중성 pH에 비해 산성 pH에서 감소된 항원-결합을 갖는 항체가 수득될 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이 표현 "산성 pH"는 6.0 이하의 pH를 의미한다.

[0209] **병용 치료법에 사용되는 IL-33 및 IL-4R 길항제의 생물학적 효과**

[0210] 본 발명은 염증 질환을 치료하기 위한 IL-4R 길항제와 조합된 IL-33 길항제의 용도를 포함한다. 일 실시형태에서, 섬유증 및 폐 염증의 동물 모델에서 항-IL4R 항체와 조합된 항-IL-33 항체의 용도는, 각각의 항체가 단독 치료법으로서 단독으로 사용될 때 수득되는 결과와 비교하여, 증강된 효능을 나타낸다.

[0211] 예를 들어, 본원에 기재된 동물 모델(폐 염증 및 섬유증의 집먼지 쯔진드기(HDM) 모델로 지칭됨)에서, 폐에서 소정의 사이토카인의 수준은 유의하게 상승된다. 이는 IL-4, IL-5, IL-6, IL-1 β 및 MCP-1의 상승을 포함한다. 또한, 집먼지 쯔진드기 알레르겐의 투여 후, 마우스의 폐에서 IL-13 및 TNF α 의 증가된 수준에 대한 경향이 존재하였다. 그러나, 이러한 모델에서 시험되었을 때, IL-33 항체와 IL-4R 항체의 병용은 치료받은 마우스의 폐에서 사이토카인 IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, IL-1 β , MCP-1 및 TNF α 의 감소된 수준을 초래하였다. 항-IL-33과 항-IL-4R 항체의 조합으로 관찰된 폐 사이토카인 수준에 미치는 효과는, 실시예 4에 제시된 바와 같이 단독으로 사용되었을 때 개별 항체를 이용한 치료보다 컸다.

[0212] 또한, *I14*, *I113*, *I16*, *Ccl12*, *Tgfb1*, *I113ra2* 및 *Col24a1*을 포함한 사이토카인 유전자, 케모카인 유전자 및 콜라겐 유전자의 수준은 집먼지 마우스 알레르겐을 제공받은 마우스에서 상승되었다. 이러한 모델에서 *I15*, *I19*, *Ccl11*, *Ccl24*, *Tnf*, *I11r11* 및 *Col15a1*의 증가된 수준을 향하는 경향이 존재하였다. 항-IL-33 항체와 항-IL-4R 항체의 조합을 이용한 치료 시, 항체 단독으로 시도된 치료로 관찰된 수준과 비교하여, *I16*, *Ccl12*, *Ccl11* 및 *Ccl24*의 발현에서 유의한 감소가 존재하였다. 마우스가 항-IL-33 항체 + 항-IL-4R 항체로 치료받았을 때, 항체 단독으로 시도된 치료와 비교하여, 감소된 *I14*, *I15*, *I113*, *I19*, *Tnf*, *Tgfb1*, *I11r11*, *I113ra2*, *Col15a1* 및 *Col24a1*로 향하는 경향이 또한 존재하였다.

[0213] 항-IL-33 + 항-IL-4R 항체의 병용과 연관된 또 다른 생물학적 효과는, 집먼지 쯔진드기 모델에서 폐 세포 침윤물 상에서 분석을 수행하였을 때 관찰되었다. 실시예 4에 제시된 바와 같이, 호산구, 활성화된 B 세포, 활성화된 CD8 세포, ST2+CD4+ T 세포 및 CD4/CD8 T 세포 비(ratio)의 빈도는 집먼지 쯔진드기 알레르겐을 제공받은 마우스에서 유의하게 더 높았다. 집먼지 쯔진드기 알레르겐이 주어진 마우스의 폐에서 활성화된 CD4+ T 세포의 증가된 빈도를 향하는 경향이 또한 존재하였다. 항체가 단독으로 사용되었을 때 관찰된 것과 비교하여, 항-IL-33 항체 + 항-IL-4R 항체 둘 다로 치료받은 마우스에서 호산구, 활성화된 B 세포, 활성화된 CD8 세포, ST2+CD4+ T 세포 및 CD4/CD8 T 세포 비의 감소된 빈도를 향하는 경향이 또한 존재하였다.

[0214] 더욱이, 집먼지 쯔진드기 알레르겐을 제공받은 마우스는 또한, 이들 마우스의 폐에서 배상 세포 화생의 증가를 보여준다. 유사하게는, 이러한 마우스 모델에서 폐 경화(폐포 공간에서 고체 또는 액체 물질의 축적), 및 상피-하 섬유증(폐 상피 아래에서 과도한 간질(interstitial) 콜라겐 침착)의 증가가 또한 존재하였다. 항-IL-4R 항체와 조합된 항-IL-33 항체를 이용한 이들 마우스의 치료는, 2개 항체 중 어느 것이 단독으로 사용되었을 때 관찰된 결과와 비교하여, 배상 세포 화생 및 상피-하 콜라겐 두께의 감소, 및 폐 경화에서 유의한 감소를 초래하였다.

[0215] 집먼지 쯔진드기 알레르겐을 제공받는 마우스는 또한, IgE의 순환형 수준의 증가, 뿐만 아니라 집먼지 쯔진드기(HDM) 특이적 IgG1의 증가를 향한 경향을 나타내었다. 항-IL-33 항체 및 IL-4R 항체 둘 다의 투여는, 항체가 단독으로 사용되었을 때 관찰된 IgE 및 HDM-특이적 IgG1의 수준과 비교하여, 혈청 IgE 수준의 유의한 저하 및 HDM 특이적 IgG1의 저하를 향한 경향을 초래하였다.

[0216] 염증성 폐 장애 또는 질환을 치료하기 위해 병용 치료법으로서 사용하기 위한 본원에 기재된 항체와 같은 IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제는 IL-33-매개 신호전달 및 IL-4R-매개 신호전달을 저해하거나 약화시킬 수 있고, 이들 길항제는 본원에 기재된 HDM 모델에서 관찰된 하나 이상의 생물학적 특성, 예를 들어 (1) 알레르겐에 노출된 결과 포유류에서 상승되는 IL-4 또는 IL-5와 같은 사이토카인 수준의 감소; (2) 알레르겐(예를 들어 집먼지 쯔진드기(HDM))에 급성 또는 만성 노출되어 유발되는 폐 염증의 저해; (3) 알레르겐(예를 들어 집먼지 쯔진드기(HDM))에 급성 또는 만성 노출되어 유발되는 세포성 폐 침윤의 저하; (4) 복합 폐 총체적 병리(composite lung gross pathology)의 개선을 나타낼 수 있다.

[0217] IL-33-매개 신호전달 또는 IL-4R-매개 신호전달의 저해는 세포-기반 생물검정법에서 측정될 수 있고, 항-IL-33 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 항-IL-4R 항체 또는 이의 항원-결합 단편이, IL-33 수용체 또는 IL-4 수

용체를 발현하는 세포에서 생성되는 신호 및 IL-33 결합 또는 IL-4 결합에 반응하여 검출 가능한 신호를 생성하는 리포터 요소를 저해하거나 감소시킴을 의미한다. 예를 들어, 본 발명은 세포-기반 차단 생물검정법에서 측정된 바와 같이 인간 ST2를 발현하는 세포 또는 IL-4 수용체를 발현하는 세포에서 IL-33-매개 신호전달, 또는 IL-4 매개 신호전달을 각각 약 2 nM 미만, 약 1 nM 미만, 약 900 pM 미만, 약 800 pM 미만, 약 700 pM 미만, 약 600 pM 미만, 약 500 pM 미만, 약 400 pM 미만, 약 350 pM 미만, 약 300 pM 미만, 약 250 pM 미만, 약 200 pM 미만, 약 150 pM 미만, 약 100 pM 미만, 약 90 pM 미만, 약 80 pM 미만, 약 70 pM 미만, 약 60 pM 미만, 약 50 pM 미만, 약 40 pM 미만, 약 30 pM 미만, 약 20 pM 미만 또는 약 10 pM 미만의 IC₅₀ 으로 차단하는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 포함한다.

[0218] 본 발명의 항체는 상기 언급된 생물학적 효과들 또는 이들의 임의의 조합 중 하나 이상을 나타낼 수 있다. 본 발명의 항체의 다른 생물학적 효과는 본원에서의 작업예를 포함하는 본 개시내용의 검토로부터 당업자에게 자명해질 것이다. IL-4 길항제와 조합된 다른 IL-33 길항제의 용도는 유사한 효과를 나타낼 수 있다.

[0219] 약제학적 조성물 및 투여

[0220] 본 발명은 본 발명의 IL-33 길항제 및/또는 IL-4R 길항제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제는 개별 조성물에서 제제화될 수 있거나, 이들 길항제는 1개의 조성물에서 공동-제제화될 수 있다. 본 발명의 약제학적 조성물은 개선된 이전(transfer), 전달, 관용성 등을 제공하는 적합한 담체, 부형제 및 다른 작용제와 함께 제제화된다. 다수의 적절한 제제는 모든 제약 화학자가 알고 있는 처방집[Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA]에서 찾을 수 있다. 이들 제제는 예를 들어, 분말, 페이스트, 연고, 젤리, 왁스, 오일, 지질, 소포를 함유한 지질(양이온성 또는 음이온성)(예를 들어 LIPOFECTIN™, Life Technologies, Carlsbad, CA), DNA 공액체, 무수 흡수성 페이스트, 수-중-유 및 유-중-수에 멸균, 에멸전 카보왁스(다양한 분자량의 폴리에틸렌 글리콜), 반-고체 겔, 및 카보왁스를 함유한 반-고체 혼합물을 포함한다. 또한, 문헌[Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA(1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311]을 참조한다.

[0221] 환자에게 투여되는 항체의 용량은 환자의 연령 및 체격, 표적 질병, 상태, 투여 경로 등에 따라 달라질 수 있다. 바람직한 용량은 전형적으로 체중 또는 체표면적에 따라 계산된다. 본 발명의 항체가 성인 환자에서 IL-33 활성 및/또는 IL-4와 연관된 질환 또는 질병을 치료하는 데 사용되는 경우, 본 발명의 항체를 통상 약 0.01 내지 약 20 mg/kg체중, 보다 바람직하게는 약 0.02 내지 약 7, 약 0.03 내지 약 5, 또는 약 0.05 내지 약 3 mg/kg체중의 단일 용량으로 정맥내 투여하는 것이 유리할 수 있다. 질환의 중증도에 따라 치료의 빈도와 기간을 조정할 수 있다. 항-IL-33 항체를 투여하기에 효과적인 투약량 및 스케줄은 경험적으로 결정될 수 있으며; 예를 들어, 환자 진도는 주기적 평가에 의해 모니터링될 수 있고, 그에 따라 용량이 조정될 수 있다. 더욱이, 당업계에 잘 공지된 방법(예를 들어 문헌[Mordenti et al. 1991, *Pharmaceut. Res.* 8:1351])을 사용하여 투약량의 종간(interspecies) 스케일링을 수행할 수 있다.

[0222] 다양한 전달 시스템, 예를 들어 리포솜, 미세입자, 미세캡슐 내에서의 캡슐화, 돌연변이체 바이러스를 발현할 수 있는 제조합 세포, 수용체 매개 엔도사이토시스가 공지되어 있고, 본 발명의 약제학적 조성물을 투여하는데 사용될 수 있다(예를 들어 문헌[Wu et al. 1987, *J. Biol. Chem.* 262:4429-4432] 참조). 도입 방법으로는, 피내, 근육내, 복강내, 정맥내, 피하, 비강내, 경막외 및 경구 경로가 있으나, 이들로 한정되는 것은 아니다. 상기 조성물은 임의의 편리한 경로에 의해, 예를 들어 주입 또는 볼루스 주사에 의해, 상피 또는 점막 피부층(예를 들어 구강 점막, 직장 및 장 점막 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있고, 다른 생물학적 활성 작용제와 함께 투여될 수 있다. 투여는 전신적 또는 국소적일 수 있다.

[0223] 본 발명의 약제학적 조성물은 표준 바늘 및 주사기를 이용하여 피하로 또는 정맥내로 전달될 수 있다. 또한, 피하 전달과 관련하여, 펜 전달 장치는 본 발명의 약제학적 조성물을 전달하는 데 바로 적용된다. 이러한 펜 전달 장치는 재사용 가능하거나 일회용일 수 있다. 재사용 가능한 펜 전달 장치는 일반적으로 약제학적 조성물을 포함하는 교체 가능한 카트리지를 이용한다. 일단 카트리지 내의 모든 약제학적 조성물이 투여되고 카트리지가 비워지면, 빈 카트리지는 바로 폐기되고 약제학적 조성물을 함유하는 새로운 카트리지로 대체될 수 있다. 그 다음에, 펜 전달 장치는 재사용될 수 있다. 일회용 펜 전달 장치에는 교체 가능한 카트리지가 없다. 오히려, 일회용 펜 전달 장치는 장치 내의 저장조에 보유된 약제학적 조성물로 사전 충전된다. 일단 저장조가 약제학적 조성물을 비우면, 전체 장치는 폐기된다.

[0224] 다수의 재사용 가능한 펜 및 자동주사기 전달 장치가 본 발명의 약제학적 조성물의 피하 전달에 적용된다. 그 예로는 일부만 언급하자면 AUTOPEN™(Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK), DISETRONIC™ 펜(Disetronic

Medical Systems, Bergdorf, Switzerland), HUMALOG MIX 75/25TM 펜, HUMALOGTM 펜, HUMALIN 70/30TM 펜(Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN), NOVOPENTM I, II 및 III(Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), NOVOPEN JUNIORTM(Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), BDTM 펜(Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPENTM, OPTIPEN PROTM, OPTIPEN STARLETTM, 및 OPTICLIKTM(sanofi-aventis, Frankfurt, Germany)이 있으나, 이들로 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 약제학적 조성물의 전달에 적용되는 일회용 펜 전달 장치의 예로는 일부만 언급하자면 SOLOSTARTM 펜(sanofi-aventis), FLEXPENTM(Novo Nordisk), 및 KWIPENTM(Eli Lilly), SURECLICKTM 자동주사기(Amgen, Thousand Oaks, CA), PENLETTM(Haselmeier, Stuttgart, Germany), EPIPEN(Dey, L.P.), 및 HUMIRATM 펜(Abbott Labs, Abbott Park IL)이 있으나, 이들로 한정되는 것은 아니다.

[0225] 소정의 상황에서, 약제학적 조성물은 조절 방출 시스템으로 전달될 수 있다. 일 실시형태에서, 펌프가 사용될 수 있다(상기 Langer; 문헌[Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201] 참조). 또 다른 실시형태에서, 중합체 물질이 사용될 수 있다(문헌[Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise(eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Florida] 참조). 또한 다른 실시형태에서, 조절 방출 시스템은 조성물의 표적 근처에 배치될 수 있으며, 따라서 전신 용량의 일부만을 필요로 한다(예를 들어 문헌[Goodson, 1984, Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp. 115-138] 참조). 다른 조절 방출 시스템은 문헌[Langer, 1990, Science 249:1527-1533]에 의한 검토에서 고찰된다.

[0226] 주사 가능한 조제물은 정맥내, 피하, 피내 및 근육내 주사, 드립 주입 등을 위한 투약 형태를 포함할 수 있다. 이들 주사 가능한 조제물은 공개적으로 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 주사 가능한 조제물은 예컨대 상기 기재된 항체 또는 이의 염을 통상적으로 주사에 사용되는 멸균 수성 매질 또는 유성 매질에 용해시키거나, 현탁하거나, 에멀전화함으로써 제조될 수 있다. 주사용 수성 매질로는 예를 들어, 생리식염수, 포도당 및 다른 보조제를 포함하는 등장액 등이 있으며, 이는 알코올(예를 들어 에탄올), 폴리알코올(예를 들어 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜), 비이온성 계면활성제(예를 들어 폴리소르베이트 80, HCO-50(수소화된 피마자유의 폴리옥시에틸렌(50 몰) 부가물)) 등과 같은 적절한 용해제와 조합되어 사용될 수 있다. 유성 매질로는, 예를 들어 참기름, 대두유 등이 이용되고, 이러한 유성 매질은 벤질 벤조에이트, 벤질 알코올 등과 같은 용해제와 조합되어 사용될 수 있다. 이렇게 해서 제조된 주사액은 바람직하게는 적절한 앰플에 충전된다.

[0227] 유리하게는, 상기 기재된 경구 또는 비경구 용도를 위한 약제학적 조성물은 활성 성분의 용량에 적합한 단위 용량의 투약 형태 내에 제조된다. 단위 용량 내의 이러한 투약 형태로는 예를 들어, 정제, 알약, 캡슐, 주사액(앰플), 좌제 등이 있다. 함유되는 상기 언급된 길항제의 양은 일반적으로 단위 용량; 특히 주사액 형태 내에서 약 5 내지 약 500 mg/투약 형태이고, 상기 언급된 길항제는 다른 투약 형태에 대해서는 약 5 내지 약 100 mg 및 약 10 내지 약 250 mg으로 함유된다.

[0228] 투약량

[0229] 본 발명의 방법에 따라 대상체에게 투여되는 IL-33 및 IL-4R 길항제의 양은 일반적으로 치료적 유효량이다. 본원에 사용된 바와 같이 어구 "치료적 유효량"은, 조합되어 사용되는 경우, 본원에 기재된 바와 같이 하기 중 하나 이상의 유의한 변화를 초래하는 IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제의 양을 의미한다: (a) 염증의 예방; (b) 염증의 치료 또는 중증도의 감소; (c) 폐에서 하기: 호산구, 활성화된 B 세포, 활성화된 CD8 T 세포, 또는 CD4/CD8 T 세포 비 중 하나 이상의 빈도의 감소; (d) 폐에서 하기: 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 인터루킨-4(IL-4), 인터루킨-5(IL-5), 인터루킨-6(IL-6), 인터루킨-13(IL-13), 단백질 화학주성 단백질-1(MCP-1) 또는 종양 괴사 인자 알파(TNF α) 수준 중 하나 이상의 감소; (e) 폐에서 하기: *Il4*, *Il5*, *Il6*, *Il9*, *Il13*, *Il1r1l*, *Il13ra2*, *tnf*, *Tgfb1*, *Ccl2*, *Ccl11*, *Ccl24*, *Col15a1* 또는 *Col24a1* 중 하나 이상의 유전자 발현 수준의 감소; (f) 혈청 IgE 수준의 감소; (g) 폐에서 배상 세포 화생의 감소; 또는 (h) 폐 경화의 감소. IL-33 길항제 단독 또는 IL-4R 길항제 단독의 투여가 하나 이상의 상기 주지된 매개변수를 사용하여 측정된 바와 같이 긍정적인 치료 효과를 초래할 수 있는 한편, 조합에서 IL-33과 IL-4R 길항제의 사용은 IL-33 길항제 단독 또는 IL-4R 길항제 단독으로 시도된 단독치료법을 사용하여 관찰되는 것과 비교하여 임의의 하나 이상의 매개변수에서 유의한 개선(예를 들어 상가적 또는 상승적 효과)을 보여줄 것이다.

[0230] IL-33 길항제 또는 IL-4R 길항제의 경우, 치료적 유효량은 약 0.05 mg 내지 약 600 mg, 예를 들어 약 0.05 mg, 약 0.1 mg, 약 1.0 mg, 약 1.5 mg, 약 2.0 mg, 약 10 mg, 약 20 mg, 약 30 mg, 약 40 mg, 약 50 mg, 약 60 mg, 약 70 mg, 약 80 mg, 약 90 mg, 약 100 mg, 약 110 mg, 약 120 mg, 약 130 mg, 약 140 mg, 약 150 mg, 약 160 mg, 약 170 mg, 약 180 mg, 약 190 mg, 약 200 mg, 약 210 mg, 약 220 mg, 약 230 mg, 약 240 mg, 약 250

mg, 약 260 mg, 약 270 mg, 약 280 mg, 약 290 mg, 약 300 mg, 약 310 mg, 약 320 mg, 약 330 mg, 약 340 mg, 약 350 mg, 약 360 mg, 약 370 mg, 약 380 mg, 약 390 mg, 약 400 mg, 약 410 mg, 약 420 mg, 약 430 mg, 약 440 mg, 약 450 mg, 약 460 mg, 약 470 mg, 약 480 mg, 약 490 mg, 약 500 mg, 약 510 mg, 약 520 mg, 약 530 mg, 약 540 mg, 약 550 mg, 약 560 mg, 약 570 mg, 약 580 mg, 약 590 mg 또는 약 600 mg일 수 있다. 소정의 실시형태에서, 75 mg, 150 mg, 200 mg 또는 300 mg의 IL-4R 길항제가 IL-33 길항제와 조합하여 대상체에게 투여된다. 소정의 실시형태에서, 75 mg, 150 mg, 200 mg 또는 300 mg의 IL-33 길항제가 IL-4R 길항제와 조합하여 대상체에게 투여된다.

[0231] 개별 용량 내에 함유되는 IL-33 길항제 또는 IL-4R 길항제의 양은 환자 체중 1 킬로그램 당 항체의 밀리그램(즉, mg/kg)으로 표현될 수 있다. 예를 들어, IL-33 길항제 또는 IL-4R 길항제는 약 0.0001 mg/kg 내지 약 25 mg/kg 환자 체중의 용량으로 환자에게 투여될 수 있다. 소정의 실시형태에서, IL-4R 및 IL-33 길항제는 각각 약 0.1 mg/kg, 0.3 mg/kg, 1.0 mg/kg, 3.0 mg/kg 또는 10 mg/kg의 용량으로 투여될 수 있다.

[0232] IL-33 길항제와 IL-4R 길항제의 조합은 대상체에게 피하, 정맥내, 근육내 또는 비강내 투여될 수 있다. 이들 길항제는 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다.

[0233] 항체의 치료적 용도

[0234] 본 발명자들에 의해 수행된 마우스 모델 시스템을 사용한 실험은, 조합된 IL-33 및 IL-4R 길항작용에 의해 치료되며, 예방되며 및/또는 경감될 수 있는 다양한 질병 및 질환의 식별에 기여하였다. 예를 들어 폐 염증 및 섬유증의 집먼지 증진드기 모델에서, IL-33 항체와 IL-4R 항체의 조합을 이용한 치료는 각각의 항체가 단독치료법으로서 단독으로 사용되었을 때 획득되는 결과와 비교하여, 폐에서 사이토카인 수준의 감소, 폐에서 폐 세포 침윤물(호산구, 활성화된 B 세포, 활성화된 CD8 양성 세포, ST2+CD4+ T 세포 및 CD4/CD8 T 세포 비)의 감소, 뿐만 아니라 폐 경화 및 상피-하 섬유증의 개선을 초래하였다.

[0235] 본 발명의 항체는 그 중에서도, IL-33 발현 및 IL-4 발현, 신호전달 또는 활성화와 연관되거나 이에 의해 매개되거나, IL-33과 IL-33 수용체(예를 들어 ST2) 사이의 상호작용을 차단하거나 IL-4와 IL-4 수용체 사이의 상호작용을 차단하거나 또는 그렇지 않다면 IL-33 및 IL-4 활성화 및/또는 신호전달을 저해함으로써 치료 가능한 임의의 질병 또는 장애의 치료, 예방 및/또는 향상에 유용하다. 소정의 실시형태에서, IL-4R 길항제는 IL-4R α에 결합하거나 이와 상호작용하고 이로써 IL-4R 유형 1 및 유형 2 수용체를 통한 IL-4 및 IL-13 신호전달 경로를 둘 다 차단하는 항체이다. 이와 같이, IL-33 길항제와 조합된 이러한 이중 IL-4 및 IL-13 길항제의 사용은 모든 3개의 신호전달 경로에 의해 부분적으로 매개되는 염증 질환을 갖는 환자에게 투여된 경우 추가의 임상적 이득을 제공할 수 있다. 예를 들어, 본 발명은 천식(알레르기성 천식, 비-알레르기성 천식, 중증 불응성 천식, 천식 악화, 스테로이드 내성 또는 스테로이드 불응성 천식, 스테로이드 민감성 천식, 호산구성 천식 또는 비-호산구성 천식 등), 만성 폐색성 폐질환(COPD) 및 COPD 악화, 천식 및 COPD 중복 증후군(ACOS), 만성 기관지염, 기종, 과민성 폐렴, 아토피 피부염, 두드러기, 건선, 알레르기, 알레르기성 비염, 비염을 동반하거나 동반하지 않는 만성 비부비도염, 호산구성 식도염, 아나필락시스, 심혈관질환, 중추신경계질환, 통증(염증 통증 포함), 관절염(예를 들어 류마티스 관절염, 골관절염, 건선성 관절염 등), 거대 세포 동맥염, 혈관염(베체트 및 처그-스트라우스 증후군), 헤노흐-췌라인 자반증, 다발성 경화증, 염증성 장 장애(예를 들어 크론병 또는 궤양성 대장염), 루푸스, 쇼그렌 증후군 및 IL-33 및/또는 IL-4 신호전달에 의해 부분적으로 매개되는 다른 염증성 질병 또는 장애의 치료 방법을 제공한다.

[0236] 본 발명의 항체는 또한, 하나 이상의 섬유증 질병 또는 장애의 치료, 예방 및/또는 향상에 유용하다. 본 발명의 항-IL-33 및 IL-4R 길항제를 투여함으로써 치료 가능한 예시적인 섬유증 질병 또는 장애로는, 폐 섬유증(예를 들어 특발성 폐 섬유증, 블레오마이신-유도 폐 섬유증, 석면-유도 폐 섬유증, 및 폐쇄 세기관지염 증후군), 급성 폐 손상 및 급성 호흡 곤란과 연관된 섬유증(예를 들어 박테리아성 폐렴-유도 섬유증, 외상-유도 섬유증, 바이러스성 폐렴-유도 섬유증, 인공호흡기-유도 섬유증, 비-폐 폐혈증-유도 섬유증 및 흡인-유도 섬유증), 규폐증, 방사선-유도 섬유증, 경피증, 안구 섬유증, 피부 섬유증(예를 들어 경피증), 간 섬유증(예를 들어 간경변, 알코올-유도 간 섬유증, 비-알코올성 지방간염(NASH), 담도 손상, 원발성 담즙성 간경변, 감염- 또는 바이러스성-유도 간 섬유증, 자가면역 간염, 신장(신) 섬유증, 심장 섬유증, 아테롬성 동맥경화증, 스텐트 재협착증, 및 골수섬유증이 있다.

[0237] 본원에 기재된 치료 방법의 맥락에서, 항-IL-33 항체 및 IL-4R 항체는 하나 이상의 추가의 치료제(이의 예는 본원에서 도처에 기재되어 있음)와 함께(즉, 유일한 치료 요법으로서) 또는 조합하여 투여될 수 있다.

[0238] **병용 치료법**

[0239] 본 발명은 본원에 기재된 임의의 항-IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제를 하나 이상의 추가의 치료적 활성 구성성분과 조합하여 포함하는 조성물 및 치료 제제의 용도, 및 이러한 조합을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 치료 방법을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이 표현 "-와 조합하여"는, 추가의 치료제가 IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제를 포함하는 약제학적 조성물 이전에, 이후에 또는 동시에 투여됨을 의미한다. 용어 "-와 조합하여"는 또한, IL-4R 길항제와 IL-33 길항제 및 하나 이상의 추가의 치료제의 순차적 또는 동시적 투여를 포함한다. 본 발명은, 본 발명의 IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제가 하나 이상의 추가의 치료적 활성 구성성분(들)과 공동-제제화된, 약제학적 조성물을 포함한다.

[0240] 예를 들어, IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제를 포함하는 약제학적 조성물 "이전에" 투여되는 경우, 추가의 치료제는 IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제를 포함하는 약제학적 조성물의 투여되기 약 72시간, 약 60시간, 약 48시간, 약 36시간, 약 24시간, 약 12시간, 약 10시간, 약 8시간, 약 6시간, 약 4시간, 약 2시간, 약 1시간, 약 30분, 약 15분 또는 약 10분 이전에 투여될 수 있다. IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제를 포함하는 약제학적 조성물 "이후에" 투여되는 경우, 추가의 치료제는 IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제를 포함하는 약제학적 조성물의 투여 이후에 약 10분, 약 15분, 약 30분, 약 1시간, 약 2시간, 약 4시간, 약 6시간, 약 8시간, 약 10시간, 약 12시간, 약 24시간, 약 36시간, 약 48시간, 약 60시간 또는 약 72시간째에 투여될 수 있다. IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제를 포함하는 약제학적 조성물과 "동시에" 또는 함께 투여는, 추가의 치료제가 IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제를 포함하는 약제학적 조성물의 투여(이전에, 이후에 또는 동시에) 5분 미만 이내에 별개의 투약 형태로 대상체에게 투여되거나, 추가의 치료제, IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제를 둘 다 포함하는 단일 조합 투약 제제로서 대상체에게 투여됨을 의미한다.

[0241] 추가의 치료제는 예를 들어, 또 다른 IL-33 길항제, 또 다른 IL-4R 길항제, IL-1 길항제(예를 들어 US 6,927,044에 제시된 바와 같은 IL-1 길항제 포함), IL-6 길항제, IL-6R 길항제(예를 들어 US 7,582,298에 제시된 바와 같은 항-IL-6R 항체 포함), IL-13 길항제, TNF 길항제, IL-8 길항제, IL-9 길항제, IL-17 길항제, IL-5 길항제(예를 들어 메폴리주맵(mepolizumab), 또는 NUCALA®), IgE 길항제(예를 들어 오말리주맵(omalizumab) 또는 XOLAIR®), CD48 길항제, IL-31 길항제(예를 들어 US7,531,637에 제시된 것 포함), 흥선 기질상 림포포이에틴(TSLP) 길항제(예를 들어 US 2011/027468에 제시된 것 포함), 인터페론-감마(IFN γ), 항생제, 코티코스테로이드(흡입 코티코스테로이드, 또는 ICS 포함), 장기간-작용성 b2 아드레날린성 효능제(LABA), 장기간-작용성 무스카린성 길항제(LAMA), 타크롤리무스(tacrolimus), 피메크롤리무스(pimecrolimus), 사이클로스포린, 아자티오프린(azathioprine), 메토트렉세이트, 크로몰린 소듐, 프로테이나제 저해제, 항-히스타민 또는 이들의 조합일 수 있다.

[0242] **투여 요법**

[0243] 본 발명의 소정의 실시형태에 따르면, 다수의 용량의 IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제(또는 IL-33 길항제, IL-4R 길항제 및 본원에 언급된 임의의 추가의 치료적 활성제의 조합을 포함하는 약제학적 조성물)는 정해진 과정에 걸쳐 대상체에게 투여될 수 있다. 본 발명의 이러한 양태에 따른 방법은 본 발명의 다수의 용량의 IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제를 대상체에게 순차적으로 투여하는 단계를 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이 "순차적으로 투여하는"은, 각각의 용량의 IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제를 상이한 시점에서, 예를 들어 예정된 간격(예를 들어 시(hour), 일, 주 또는 개월)에 의해 분리된 상이한 일자(day)에 대상체에게 투여함을 의미한다. 본 발명은 단일 초기 용량의 IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제, 뒤이어 하나 이상의 2차 용량의 IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제, 및 선택적으로 뒤이어 하나 이상의 3차 용량의 IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제를 환자에게 순차적으로 투여하는 단계를 포함하는 방법을 포함한다.

[0244] 용어 "초기 용량," "2차 용량" 및 "3차 용량"은 본 발명의 IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제의 투여의 일시적인 순서를 지칭한다. 따라서, "초기 용량"은 치료 요법의 시작 시 투여되는 용량("기준 용량"이라고도 지칭됨)이며; "2차 용량"은 초기 용량 후 투여되는 용량이고; "3차 용량"은 2차 용량 후에 투여되는 용량이다. 초기, 2차 및 3차 용량이 모두 동일한 양의 IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제를 함유할 수 있으나, 일반적으로 투여 빈도의 측면에서 서로 상이할 수 있다. 그러나 소정의 실시형태에서, 초기, 2차 및/또는 3차 용량에 함유된 IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제의 양은 치료 과정 동안 서로 달라진다(예를 들어 적절하게 상향 또는 하향 조정됨). 소정의 실시형태에서, 2 이상(예를 들어 2, 3, 4 또는 5)의 용량은 치료 요법의 시작 시 "로딩 용량"으로서 투여되고, 뒤이어 더 적은 빈도를 기반으로 후속 용량(예를 들어 "유지 용량")이 투여된다.

[0245] 본 발명의 소정의 예시적인 실시형태에서, 각각의 2차 및/또는 3차 용량은 직전 용량 후 1 내지 26주(예를 들어

1, 1½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½, 15, 15½, 16, 16½, 17, 17½, 18, 18½, 19, 19½, 20, 20½, 21, 21½, 22, 22½, 23, 23½, 24, 24½, 25, 25½, 26, 26½ 이상)째에 투여된다. 본원에 사용된 바와 같이 어구 "직전 용량"은, 다수의 투여 순서에서, 순서에서 개입 용량 없이 바로 다음 용량의 투여 전에 환자에게 투여된 IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제의 용량을 의미한다.

[0246] 본 발명의 이러한 양태에 따른 방법은 임의의 수의 2차 및/또는 3차 용량의 IL-33 길항제 및 IL-4R 길항제를 환자에게 투여하는 단계를 포함할 수 있다.

[0247] 예를 들어 소정의 실시형태에서, 단지 1회의 2차 용량만이 환자에게 투여된다. 다른 실시형태에서, 2회 이상(예를 들어 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8회 이상)의 2차 용량이 환자에게 투여된다. 마찬가지로, 소정의 실시형태에서, 단지 1회의 3차 용량만이 환자에게 투여된다. 다른 실시형태에서, 2회 이상(예를 들어 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8회 이상)의 3차 용량이 환자에게 투여된다.

[0248] 다수의 2차 용량을 수반하는 실시형태에서, 각각의 2차 용량은 다른 2차 용량과 동일한 빈도로 투여될 수 있다. 예를 들어, 각각의 2차 용량은 직전 용량 후 1 내지 2주 또는 1 내지 2개월째에 환자에게 투여될 수 있다. 유사하게는, 다수의 3차 용량을 수반하는 실시형태에서, 각각의 3차 용량은 다른 3차 용량과 동일한 빈도로 투여될 수 있다. 예를 들어, 각각의 3차 용량은 직전 용량 후 2 내지 12주째에 환자에게 투여될 수 있다. 본 발명의 소정의 실시형태에서, 2차 및/또는 3차 용량이 환자에게 투여되는 빈도는 치료 요법의 과정 동안 달라질 수 있다. 투여 빈도는 또한, 임상 검사 후 개별 환자의 필요에 따라 의사가 치료하는 과정 동안 조정될 수 있다.

[0249] 본 발명은 2 내지 6회의 로딩 용량이 환자에게 제1 빈도(예를 들어 1주 1회, 2주 1회, 3주 1회, 1개월 1회, 2개월 1회 등)로 투여되고, 뒤이어 2회 이상의 유지 용량이 환자에게 이보다 적은 빈도를 기반으로 투여되는 투여 요법을 포함한다. 예를 들어 본 발명의 이러한 양태에 따르면, 로딩 용량이 1개월 1회의 빈도로 투여된다면, 그 후에 유지 용량은 6주마다 1회, 2개월마다 1회, 3개월마다 1회 등으로 환자에게 투여될 수 있다.

[0250] 실시예

[0251] 하기 실시예는 당업자에게 본 발명의 방법 및 조성물을 제조하고 사용하는 방법에 대한 완전한 개시 및 설명을 제공하기 위해 제시되고, 본 발명자가 그들의 발명으로 간주하는 발명의 범위를 제한하려는 것은 아니다. 사용된 숫자(예를 들어 양, 온도 등)의 측면에서 정확성을 보장하려고 노력하였지만, 일부 실험적 오차 및 편차가 고려되어야 한다. 다르게 지시되지 않는 한, 부(part)는 중량부이고, 분자량은 평균 분자량이며, 온도는 섭씨 온도이고, 압력은 대기압이거나 그 부근이다.

[0252] 실시예 1. 인간 IL-33에 대한 인간 항체의 발생

[0253] 인간 항-IL-33 항체를 미국 특허 번호 9,453,072에 기재된 바와 같이 발생시켰다. 표 1은 선택된 항-IL-33 항체 및 이들의 상응하는 항체 식별자의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 서열 쌍, 및 CDR 서열을 제시한다. 표 2는 선택된 항-IL-33 항체 및 이들의 상응하는 항체 식별자의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 서열 쌍, 및 CDR 서열을 인코딩하는 핵산 서열을 제시한다.

표 1

표 1: 아미노산 서열 식별자

항체 명칭	SEQ ID NO:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1M9559N	2	4	6	8	10	12	14	16
H1M9566N	18	20	22	24	26	28	30	32
H1M9568N	34	36	38	40	42	44	46	48
H4H9629P	50	52	54	56	58	60	62	64
H4H9633P	66	68	70	72	74	76	78	80
H4H9640P	82	84	86	88	90	92	94	96
H4H9659P	98	100	102	104	106	108	110	112
H4H9660P	114	116	118	120	122	124	126	128
H4H9662P	130	132	134	136	138	140	142	144
H4H9663P	146	148	150	152	154	156	158	160
H4H9664P	162	164	166	168	170	172	174	176
H4H9665P	178	180	182	184	186	188	190	192
H4H9666P	194	196	198	200	202	204	206	208
H4H9667P	210	212	214	216	218	220	222	224
H4H9670P	226	228	230	232	234	236	238	240
H4H9671P	242	244	246	248	250	252	254	256
H4H9672P	258	260	262	264	266	268	270	272
H4H9675P	274	276	278	280	282	284	286	288
H4H9676P	290	292	294	296	298	300	302	304
H1M9565N	308	310	312	314	316	318	320	322

[0254]

표 2

표 2: 핵산 서열 식별자

항체 명칭	SEQ ID NO:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1M9559N	1	3	5	7	9	11	13	15
H1M9566N	17	19	21	23	25	27	29	31
H1M9568N	33	35	37	39	41	43	45	47
H4H9629P	49	51	53	55	57	59	61	63
H4H9633P	65	67	69	71	73	75	77	79
H4H9640P	81	83	85	87	89	91	93	95
H4H9659P	97	99	101	103	105	107	109	111
H4H9660P	113	115	117	119	121	123	125	127
H4H9662P	129	131	133	135	137	139	141	143
H4H9663P	145	147	149	151	153	155	157	159
H4H9664P	161	163	165	167	169	171	173	175
H4H9665P	177	179	181	183	185	187	189	191
H4H9666P	193	195	197	199	201	203	205	207
H4H9667P	209	211	213	215	217	219	221	223
H4H9670P	225	227	229	231	233	235	237	239
H4H9671P	241	243	245	247	249	251	253	255
H4H9672P	257	259	261	263	265	267	269	271
H4H9675P	273	275	277	279	281	283	285	287
H4H9676P	289	291	293	295	297	299	301	303
H1M9565N	307	309	311	313	315	317	319	321

[0255]

[0256]

항체는 전형적으로, 본원에서 하기 명명법에 따라 지칭된다: Fc 접두사(예를 들어 "H1M" 또는 "H4H"), 뒤이어 수치 식별자(예를 들어 표 1에 제시된 바와 같이 "9559," "9566" 또는 "9629"), 뒤이어 "P" 또는 "N" 접미사. 따라서, 이러한 명명법에 따르면, 항체는 본원에서 예를 들어 "H1M9559N," "H1M9566N," "H4H9629P" 등으로서 지칭될 수 있다. 본원에서 사용된 항체 명칭 상의 H1M 및 H4H 접두사는 항체의 특정 Fc 영역 이소형을 가리킨다. 예를 들어, "H1M" 항체는 마우스 IgG1 Fc를 갖는 반면, "H4H" 항체는 인간 IgG4 Fc를 갖는다. 당업자가 이해하게 될 바와 같이, 특정 Fc 이소형을 갖는 항체는 상이한 Fc 이소형을 갖는 항체로 전환될 수 있지만(예를 들어 마우스 IgG1 Fc를 갖는 항체는 인간 IgG4를 가진 항체 등으로 전환될 수 있음), 임의의 경우에 표 1에 제시된 수치 식별자에 의해 가리켜진 가변 도메인(CDR 포함)은 동일하게 유지될 것이고, 결합 특성은 Fc 도메인의 성질과는 상관없이 동일하거나 실질적으로 유사할 것으로 예상된다.

[0257]

실시예 2: IL-33 길항제(IL-33 트랩)의 구축

[0258]

인간 항-IL-33 트랩을 미국 특허 공개 번호 2014/0271642에 기재된 바와 같이 발생시켰다. 표 3a는 IL-33 트랩의 다양한 구성성분에 대한 아미노산 서열 식별자의 요약을 제시하고, 표 3b는 상기 트랩의 전장 아미노산 서열을 제시한다.

[0259]

본 발명의 5개의 상이한 예시적인 IL-33 길항제를 표준 분자생물학 기술을 사용하여 구축하였다. 제1 IL-33 길항제(hST2-hFc, SEQ ID NO:323)는, C-말단에서, 인간 IgG1 Fc 영역(SEQ ID NO:332)의 N-말단에 융합된 인간 ST2(SEQ ID NO:328)의 가용성 세포외 영역으로 구성된다. 제2 IL-33 길항제(hST2-mFc, SEQ ID NO:324)는, C-말단에서, 마우스 IgG2a Fc 영역(SEQ ID NO:333)의 N-말단에 융합된 인간 ST2(SEQ ID NO:328)의 가용성 세포외 영역으로 구성된다. 제3 IL-33 길항제(hST2-hIL1RAcP-mFc, SEQ ID NO: 325)는 N-말단에서 인간 ST2(SEQ ID

NO:328), 뒤이어 인간 IL-1RAcP(SEQ ID NO:330)의 세포외 영역, 뒤이어 C-말단에서 마우스 IgG2a Fc(SEQ ID NO:333)를 갖는 인-라인 융합물로 구성된다. 제4 IL-33 길항제(mST2-mIL1RAcP-mFc, SEQ ID NO: 326)는 N-말단에서 마우스 ST2(SEQ ID NO:329), 뒤이어 마우스 IL-1RAcP(SEQ ID NO:331)의 세포외 영역, 뒤이어 C-말단에서 마우스 IgG2a Fc(SEQ ID NO:333)를 갖는 인-라인 융합물로 구성된다. 제5 IL-33 길항제(hST2-hIL1RAcP-hFc, SEQ ID NO:327)는 N-말단에서 SEQ ID NO: 328의 인간 ST2, 뒤이어 인간 IL-1RAcP(SEQ ID NO: 330)의 세포외 영역, 뒤이어 C-말단에서 인간 IgG1 Fc(SEQ ID NO: 332)를 갖는 인-라인 융합물로 구성된다. 표 3a는 상이한 IL-33 길항제 및 이들의 구성성분 파트의 요약 설명을 제시한다. 표 3b는 IL-33 길항제 및 이들의 구성성분 파트의 아미노산 서열을 제시한다.

표 3

표 3a: IL-33 길항제 및 구성성분 파트의 요약

IL-33 길항제	완전 길항제 분자의 아미노산 서열	D1 구성성분	D2 구성성분	M 구성성분
hST2-hFc	SEQ ID NO:323	인간 ST2 세포외 (SEQ ID NO:328)	부재	인간 IgG1 Fc (SEQ ID NO:332)
hST2-mFc	SEQ ID NO:324	인간 ST2 세포외 (SEQ ID NO:328)	부재	마우스 IgG2a Fc (SEQ ID NO:333)
hST2-hIL1RAcP-mFc	SEQ ID NO:325	인간 ST2 세포외 (SEQ ID NO:328)	인간 IL-1RAcP 세포외 (SEQ ID NO:330)	마우스 IgG2a Fc (SEQ ID NO:333)
mST2-mIL1RAcP-mFc	SEQ ID NO:326	마우스 ST2 세포외 (SEQ ID NO:329)	마우스 IL-1RAcP 세포외 (SEQ ID NO:331)	마우스 IgG2a Fc (SEQ ID NO:333)
hST2-hIL1RAcP-hFc	SEQ ID NO: 327	인간 ST2 세포외 (SEQ ID NO:328)	인간 IL-1RAcP 세포외 (SEQ ID NO:330)	인간 IgG1 Fc (SEQ ID NO:332)

[0260]

표 3b: 아미노산 서열

식별자	서열
SEQ ID NO:323 (hST2-hFc)	KFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKPSYTVDWYYSQTNKSIPTQERNRVFASGQLLK FLPAAVADSGIYTCIVRSPTFNRTGYANVTIYKKQSDCNVPDYLMYSTVSGSEKN SKIYCPIDLYNWTAPLEWFKNCQALQGSRYRAHKSFLVIDNVMTEADAGDYTC FIHNENGANYSVTATRSFTVKDEQGFSLFPVIGAPAQNEIKEVEIGKNANLTC SACFGKGTQFLAAVLWQLNGTKITDFGEPRIQEEGQNSFSNGLACLDMLRIADV KEEDLLLQYDCLALNLHGLRRHTVRLSRKNPIDHHSKTHTCPPCPAPPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVQLHQLDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF LYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO:324 (hST2-mFc)	KFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKPSYTVDWYYSQTNKSIPTQERNRVFASGQLLK FLPAAVADSGIYTCIVRSPTFNRTGYANVTIYKKQSDCNVPDYLMYSTVSGSEKN SKIYCPIDLYNWTAPLEWFKNCQALQGSRYRAHKSFLVIDNVMTEADAGDYTC FIHNENGANYSVTATRSFTVKDEQGFSLFPVIGAPAQNEIKEVEIGKNANLTC SACFGKGTQFLAAVLWQLNGTKITDFGEPRIQEEGQNSFSNGLACLDMLRIADV KEEDLLLQYDCLALNLHGLRRHTVRLSRKNPIDHHSERPGPTIKPCPPCKCPAPNLL GGPSVFIFPPKIKDVLMISSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFWVNNVEVHTAQ TQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGS VVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEP VLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
SEQ ID NO:325 (hST2- hIL1RAcP-mFc)	KFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKPSYTVDWYYSQTNKSIPTQERNRVFASGQLLK FLPAAVADSGIYTCIVRSPTFNRTGYANVTIYKKQSDCNVPDYLMYSTVSGSEKN SKIYCPIDLYNWTAPLEWFKNCQALQGSRYRAHKSFLVIDNVMTEADAGDYTC FIHNENGANYSVTATRSFTVKDEQGFSLFPVIGAPAQNEIKEVEIGKNANLTC SACFGKGTQFLAAVLWQLNGTKITDFGEPRIQEEGQNSFSNGLACLDMLRIADV KEEDLLLQYDCLALNLHGLRRHTVRLSRKNPIDHHSERCDWGLDTRMQIQVFE DEPARIKCPLFEHFLKFNYSTAHSAGLTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLENRISKE KDVLWFRPTLLNDTGNYTCMLRNTTYCSKVAFPLEVVQKDSFCNSPMKLPVHKLY IEYGIQRITCPNVDGYFPSSVKPTITWYMGCKYKIQNFNNVIPEGMNLISFLIALIS NNGNYTCVVTPENGRTFHLTRTLTVKVVGSPKNAVPPVIHSPNDHVVEKEPGEEL LIPCTVYFVSFLMDSRNEVWWTIDGKKPDDITIDVTINESISHSRTEDETRTQILSI KKVTSEDLKRSYVCHARSAKGEVAKAAKVQKQVPAPRYTVESGEPGPTIKPCPPCK CPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFWVNNVEV HTAQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPK GSVVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTE PVLDSGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
SEQ ID NO:326 (mST2- mIL1RAcP- mFc)	SKSSWGLENEALIVRCPRQGRSTYPVEWYYSQTNESIPTQKRNRIFVSRDLKFLP ARVEDSGIYACVIRSPNLNKTGYLNVTHHKKPPSCNIPDYLMYSTVSGSDKNFKIT CPTIDLYNWTAPVQWFKNCQALQEPFRFRAHRSYLFIDNVTHDDEGDYTCQFTHA ENGNTNYIVTATRSFTVEEKGFMSFPVITNPPYNHTMEVEIGKPASIACSACFGKGS HFLADVLWQINKTVVGNGFEARIQEEGRNESSNDMDCLTSVLRITGVTEKDLS LEYDCLALNLHGMIRHTIRLRKQPIDHRSERCDWGLDTRMQIQVFEDEPARIK CPLFEHFLKFNYSTAHSAGLTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLENRISKEKDVLWFR PTLLNDTGNYTCMLRNTTYCSKVAFPLEVVQKDSFCNSAMRFPVHKMYIEHGIH KITCPNVDGYFPSSVKPSVTWYKGCTEIVDFHNVLPFGMNLISFFIPLVSNNGNYTC VVTPYENGRLFHLTRTVTVKVVGSPKDALPPQIYSPNDRVVYEKEPGEELVIPCK VYFSFIMDSHNEVWWTIDGKKPDDVTVDITINESVSYSSTEDETRTQILSIKKVTP EHLRRNYVCHARNTKGEAEQAQAKVKQKQVIPRYTVESGEPGPTIKPCPPCKCPAP NLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFWVNNVEVHTAQ TQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGS VVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEP VLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK

[0261]

식별자	서열
SEQ ID NO:327 (hST2- hIL1RAcP-hFc)	LDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK KFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKPSYTVDWYYSQTNKSIPTQERNRVFASGQLLK FLPAAVADSGIYTCIVRSPTFNRTGYANVTIYKKQSDCNVPDYLMYSTVSGSEKN SKIYCPIDLYNWTAPLEWFKNCQALQGSRYRAHKSFLVIDNVMTEADAGDYTC FIHNENGANYSVTATRSFTVKDEQGFSLPVIGAPAQNEIKEVEIGKNANLTCSAC FGKGTQFLAAVLWQLNGTKITDFGEPRIQEEGQNSFSNGLACLDMLRIADV EEDLLLQYDCLALNLHGLRRHTVRLSRKNPIDHSSERCDDWGLDTMRQIQVFE DEPARIKCPLFEHFLKFNYSTAHSAGLTLIYWYTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEK DVLWFRPTLLNDTGNYTCMLRNTTYCSKVAFPLEVYVQKDSFCNSPMKLPVHKLY IEYGIQRITCPNVGDYFPSSVKPTITWYMGCKYQNFNNVIPEGMNLSFLIALISNN GNYTCVVYPENGRTFHLTRTLTVKVVGSPKNAVPPVIHSPNDHVVYEKEPGEEL LIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTIDGKKPDDITIDVTINESISHSRTEDETRTQILSIKK VTSEDLKRSYVCHARSAKGEVAKAAVKQKVPAPRYTVEDKTHCTPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO:328 (인간 ST2 세포외 도메인)	KFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKPSYTVDWYYSQTNKSIPTQERNRVFASGQLLK FLPAAVADSGIYTCIVRSPTFNRTGYANVTIYKKQSDCNVPDYLMYSTVSGSEKN SKIYCPIDLYNWTAPLEWFKNCQALQGSRYRAHKSFLVIDNVMTEADAGDYTC FIHNENGANYSVTATRSFTVKDEQGFSLPVIGAPAQNEIKEVEIGKNANLTCSAC FGKGTQFLAAVLWQLNGTKITDFGEPRIQEEGQNSFSNGLACLDMLRIADV EEDLLLQYDCLALNLHGLRRHTVRLSRKNPIDHSS
SEQ ID NO:329 (마우스 ST2 세포외 도메인)	SKSSWGLENEALIVRCPRQGRSTYPVEWYSDTNESIPTQKRNRIFVSRDLKFLP ARVEDSGIYACVIRSPNLNKTGYLNVTHKKPPSCNIPDYLMYSTVRGSDKNFKIT CPTIDLYNWTAPVQWFKNCALQEPRFRAHRSYLFIDNVTHDDEGDYTCQFTHA ENGNTYIVTATRSFTVEEKGFMSFVITNPPYNHTMEVEIGKPASACSACFGKGS HFLADVWQINKTVVGNFGEARIQEEEGRNESSNDMDCLTSVLRITGVTEKDL LEYDCLALNLHGMIRHTIRLRKQPIDHR
SEQ ID NO:330 (인간 IL1RAcP 세포외 도메인)	SERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKFNYSTAHSAGLTLIYWYTRQ DRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLWFRPTLLNDTGNYTCMLRNTTYCSKVAFPLEV VQKDSFCNSPMKLPVHKLYIEYGIQRITCPNVGDYFPSSVKPTITWYMGCKYQNF NNVIPEGMNLSFLIALISNNGNYTCVVYPENGRTFHLTRTLTVKVVGSPKNAVPP VIHSPNDHVVYEKEPGEELLIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTIDGKKPDDITIDVTIN ESISHSRTEDETRTQILSIKKVTSEDLKRSYVCHARSAKGEVAKAAVKQKVPAPR YTVE
SEQ ID NO:331 (마우스 IL1RAcP 세포외 도메인)	SERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKFNYSTAHSAGLTLIYWYTRQ DRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLWFRPTLLNDTGNYTCMLRNTTYCSKVAFPLEV VQKDSFCNSAMRFPVHKMYIEHGIHKITCPNVGDYFPSSVKPSVTWYKGCETIVD FHNVLPEGMNLSFFIPLVSNNGNYTCVVYPENGRLFHLTRTVTVKVVGSPKDAL PPQIYSPNDRVVYEKEPGEELVIPCKVYFSFIMDSHNEVWWTIDGKKPDDVTVDIT INESVSYSSTEDETRQILSIKKVTPEDLRRNYVCHARNTKGAEQAAKVKQKVIP PRYTVE
SEQ ID NO:332 (인간 IgG1 Fc)	DKTHCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
SEQ ID NO:333 (마우스 IgG2a Fc)	EPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPD VQISWFWNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNN KDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVE WTNNGKTELNYKNTEPVLDSGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLH NHHTTKSFSRTPGK

식별자	서열
SEQ ID NO:334 (<i>염. 파스시쿨라리 스(M. fascicularis)</i> IL- 33-6His)	SITGISPITESLASLSTYNDQSITFALEDESYEIYVEDLKKDKKKDKVLLSYYESQHP SSESGDGVGDKMLMVTLSPTKDFWLQANNKEHSVELHKCEKPLPDQAFFVLHNR SFNCVSFECKTDPGVFIGVDKNHLALIKVDYSENLSNENILFKLSEILEHHHHHH

실시예 3: IL-4R 길항제 항체

인간 항-IL-4R 항체를 미국 특허 7,608,693에 기재된 바와 같이 발생시켰다. 하기 실시예에 사용된 예시적인 IL-4R 항체는 마우스 IL-4R에 특이적인 마우스 항체이고, 하기 아미노산 서열을 가진다: SEQ ID NO: 335를 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR) 및 SEQ ID NO: 336을 포함하는 경쇄 가변 도메인(LCVR). 두필루타미라고 지칭되는 인간 항-IL-4R 항체는 인간 IL-4R α에 특이적으로 결합하고, SEQ ID NO: 337을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR)

및 SEQ ID NO: 338을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR), SEQ ID NO: 339를 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1(HCDR1), SEQ ID NO: 340을 포함하는 HCDR2, SEQ ID NO: 341을 포함하는 HCDR3, SEQ ID NO: 342를 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1(LCDR1), SEQ ID NO: 343을 포함하는 LCDR2 및 SEQ ID NO: 344를 포함하는 LCDR3을 포함한다. 두필루맵의 전장 중쇄는 SEQ ID NO: 345로서 제시되고, 전장 경쇄는 SEQ ID NO: 346으로서 제시된다.

실시예 4: 폐 염증에서 IL-33의 역할을 연구하기 위한 만성 집먼지 쯔진드기(HDM)-유도 섬유증 및 중증 폐 염증 모델 - 항-IL-33 항체, IL-4R 항체, 또는 둘 다의 조합의 효능의 비교.

만성 염증 기도 질병은 주로 알레르겐 또는 다른 병원체에의 반복된 노출로 인해 기도 염증의 재발되는 사건의 결과이다. 인간에서, 이러한 만성 공격은 면역 세포에 의한 폐 침윤, 증가된 사이토카인 생성, 점액 생성 및 콜라겐 침착을 포함하는 광범위한 병리를 유도한다(문헌[Hirota, (2013) Chest. Sep;144(3):1026-32.; Postma, (2015), N Engl J Med., Sep 24;373(13):1241-9]). 강렬한 기도 리모델링에 의해 수반되는 염증 사이토카인 및 면역 세포 침윤물에서 이러한 증가는 기도 협소화, 알레르겐 또는 병원체와 같은 흡입 촉발물에 대한 과민반응, 기도 폐색 및 폐 기능 상실을 초래한다.

관련 있는 생체내 모델에서 항-IL-33 저해의 효과를 결정하기 위해, 만성 집먼지 쯔진드기 추출물(HDM)-유도 섬유증 및 중증 폐 염증 및 리모델링 연구를, 마우스 IL-33 대신에 인간 IL-33의 발현에 동형접합성인 마우스에서 수행하였다(IL-33 HumIn 마우스; 미국 특허 공개 2015/0320021 및 2015/0320022 참조). 만성 HDM 추출물 노출은 중증 폐 염증을 유도하여, 유의한 세포 침윤물, 사이토카인 발현 및 리모델링을 초래하였다. 항-IL-33 항체, 항-마우스 IL-4R α 항체 또는 둘 다의 조합의 효능을 이러한 모델에서 비교하였다. 이 연구에서 사용되는 항-마우스 IL-4R α 항체는 M1M1875N으로 지정되고, SEQ ID NO: 335/336의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다. 이 연구에서 사용되는 항-IL-33 항체는 H4H9675P로 지정되고, SEQ ID NO: 274/282의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다.

IL-33 HumIn 마우스에게 20 μ L의 1X 포스페이트 완충 식염수(PBS)에 희석된 50 μ g 집먼지 쯔진드기 추출물(HDM; Greer, #XPB70D3A2.5), 또는 20 μ L의 1X PBS를 15주 동안 1주에 3일 동안 비강내 투여하였다. IL-33 HumIn 마우스의 제2 대조군에게 20 μ L의 1X PBS에 희석된 50 μ g HDM 추출물을 11주 동안 1주에 3일 동안 투여하여, 항체 치료의 시작 시 질병이 중증도를 평가하였다. HDM 시도(challenged) 마우스의 4개 그룹에게 HDM 시도의 11주 후 출발하여 25 mg/kg의 항-IL-33 항체 H4H9675P, 항-마우스 IL-4R α 항체 M1M1875N, 두 항체 모두의 조합, 또는 이소형 대조군 항체를 피하 주사하고, 그 후에 HDM 시도의 종료 시까지(4주간의 항체 처리) 1주에 2회 주사하였다. 연구 108일째에, 모든 마우스를 안락사시키고, 이들의 폐를 수합하였다. 마우스 그룹에 대한 실험 투약 및 치료 프로토콜을 표 4에 제시한다.

표 4

표 4: 마우스 그룹에 대한 실험 투약 및 치료 프로토콜

그룹	마우스	비강내 시도	비강내 시도의 길이	항체
1	IL-33 HumIn 마우스	1X PBS	15 주	없음
2	IL-33 HumIn 마우스	20 μ L 1X PBS 중 50 μ g HDM	11 주	없음
3	IL-33 HumIn 마우스	20 μ L 1X PBS 중 50 μ g HDM	15 주	없음
4	IL-33 HumIn 마우스	20 μ L 1X PBS 중 50 μ g HDM	15 주	이소형 대조군 항체
5	IL-33 HumIn 마우스	20 μ L 1X PBS 중 50 μ g HDM	15 주	항-IL-33 항체 (H4H9675P)
6	IL-33 HumIn 마우스	20 μ L 1X PBS 중 50 μ g HDM	15 주	항-IL-4R α 항체 (M1M1875N)
7	IL-33 HumIn 마우스	20 μ L 1X PBS 중 50 μ g HDM	15 주	항-IL-33(H4H9675P) 항체 + 항-IL-4R α (M1M1875N) 항체

[0271] **사이토카인 분석을 위한 폐 수합:**

[0272] 주요 매개자, 예컨대 원형(prototypic) 유형 2 사이토카인 IL-4, IL-5, 및 IL-13, 뿐만 아니라 유형 1 면역 반응의 특징을 더 많이 갖는 사이토카인, 예컨대 IL-1 β 또는 TNF α 의 상승된 폐 수준은 인간에서 폐질환의 발병에 연루되어 있다(문헌[Gandhi,(2016) Nat Rev Drug Discov Jan;15(1):35-50.; Barnes,(2008), Nat Rev Immunol, Mar;8(3):183-92]). 이들 염증성 사이토카인의 폐 수준을 본 연구에서 측정하였다.

[0273] 채혈 후, 각각의 마우스로부터 우측 폐의 앞엽 및 중간엽을 제거하고, 1X 홀트(Halt) 프로테아제 저해제 각테일(Thermo Scientific, #87786)이 보충된 조직 단백질 추출 시약(1X T-PER 시약; Pierce, #78510)의 용액을 함유한 튜브에 넣었다. 모든 추가 단계를 얼음 상에서 수행하였다. T-PER 시약(프로테아제 저해제 각테일을 함유함)의 부피를 각각의 시료에 대해 1:7(w/v) 조직 : T-PER 비를 매칭시키도록 조정하였다. 폐 시료를 TissueLyser II(Qiagen #85300)를 사용하여 기계적으로 분해하였다. 생성된 용해물을 펠렛 찌꺼기로 원심분리하였다. 가용성 단백질 추출물을 함유하는 상층액을 신선한 튜브로 옮기고, 추가 분석 시까지 4°C에 보관하였다.

[0274] 폐 단백질 추출물 내 총 단백질 함량을 Bradford 검정법을 사용하여 측정하였다. 상기 검정법에 대해, 10 μ L의 희석된 추출물 시료를 96웰 플레이트에 2벌 중복으로 평판배양하고, 200 μ L의 1X 염료 시약(Biorad, #500-0006)과 혼합하였다. 1X T-Per 시약 중 700 μ g/mL에서 출발하는 소 혈청 알부민(BSA; Sigma, #A7979)의 단계 희석액을 표준으로서 사용하여, 추출물의 단백질 농도를 결정하였다. 실온에서 5분 인큐베이션한 후, 595 nm에서의 흡광도를 Molecular Devices SpectraMax M5 플레이트 판독기 상에서 측정하였다. BSA 표준을 기준으로 총 폐 추출물 단백질 함량을 결정하기 위한 데이터 분석을 GraphPad Prism™ 소프트웨어를 사용하여 수행하였다.

[0275] 폐 단백질 추출물 내 사이토카인 농도를 전염증성 패널 1(마우스) 멀티플렉스 면역검정법 키트(MesoScale Discovery, # K15048G-2) 및 커스텀 마우스 6plex Multi-Spot® 면역검정법 키트(MesoScale Discovery, #K152A41-4)를 제조업체의 설명서에 따라 사용하여 측정하였다. 간략하게는, 50 μ L/웰의 캘리브레이터(calibrator) 및 시료(희석제 41에서 희석됨)를, 포착 항체로 사전-코팅된 플레이트에 첨가하고, 실온에서 700 rpm에서 2시간 동안 셰이킹(shaking)하면서 첨가하였다. 그 후에, 상기 플레이트를 0.05%(w/v) Tween-20을 함유하는 1X PBS로 3회 세척하고, 뒤이어 희석제 45에서 희석된 25 μ L의 검출 항체 용액을 첨가하였다. 실온에서 셰이킹하면서 2시간 인큐베이션한 후, 상기 플레이트를 3회 세척하고, 150 μ L의 2X 판독 완충제를 각각의 웰에 첨가하였다. 전기화학발광을 MSD Sceptor® 장비 상에서 즉시 판독하였다. 데이터 분석을 GraphPad Prism 소프트웨어를 사용하여 수행하였다.

[0276] 각각의 그룹 내 모든 마우스로부터의 총 폐 단백질 추출물 내의 각각의 사이토카인 농도를 Bradford 검정법에 의해 측정된 추출물의 총 단백질 함량으로 정규화시키고, 표 5에 제시된 바와 같이 각각의 그룹에 대해 총 폐 단백질 1 mg 당 사이토카인의 평균 pg(pg/mg 폐 단백질, $\pm$ SD)으로서 표현하였다.

[0277] **폐 사이토카인 분석:**

[0278] 표 5에 제시된 바와 같이, 이소형 대조군 항체를 이용한 치료와 함께 또는 없이 15주 동안 HDM을 제공받은 IL-33 HumIn 마우스의 폐에서 방출된 사이토카인 및 케모카인 IL-4, IL-5, IL-6, IL-1 β 및 MCP-1의 수준은 1X PBS 단독으로 시도된 IL-33 HumIn 마우스에서보다 유의하게 높았다. 유사하게는, 15주 동안 HDM을 제공받은 IL-33 HumIn 마우스의 폐에서 사이토카인 IL-13 및 TNF α 의 증가된 방출을 향한 경향이 존재하였다. 대조적으로, 만성 HDM 시도의 마지막 4주 동안 이소형 대조군 항체와 함께 HDM을 투여받은 IL-33 HumIn 마우스와 비교하여, 이러한 기간 동안 항-IL-33 항체와 항-마우스 IL-4R α 항체의 조합으로 치료받은 IL-33 HumIn 마우스의 폐에서 IL-6, IL-13 및 MCP-1의 수준에서 유의한 감소가 존재하였다. 만성 HDM 시도의 마지막 4주 동안 이소형 대조군 항체와 함께 HDM을 투여받은 IL-33 HumIn 마우스와 비교하여, 이러한 기간 동안 항-IL-33 항체와 항-마우스 IL-4R α 항체의 조합으로 치료받은 IL-33 HumIn 마우스의 폐에서 감소된 IL-4, IL-5, IL-1 β 및 TNF α 수준을 향한 경향이 존재하였다. 항-IL-33 항체와 항-마우스 IL-4R α 항체의 조합으로 관찰된 폐 사이토카인에 미치는 효과는 개별 항체 단독으로 시도된 치료보다 컸다.

표 5

표 5: 폐 단백질 추출물 내 사이토카인 농도

실험군	폐 단백질 추출물 내 평균 [IL-4] (pg/mg 폐 단백질) (±SD)	폐 단백질 추출물 내 평균 [IL-5] (pg/mg 폐 단백질) (±SD)	폐 단백질 추출물 내 평균 [IL- 13] (pg/mg 폐 단백질) (±SD)	폐 단백질 추출물 내 평균 [IL-6] (pg/mg 폐 단백질) (±SD)	폐 단백질 추출물 내 평균 [IL- 1β] (pg/mg 폐 단백질) (±SD)	폐 단백질 추출물 내 평균 [TNFα] (pg/mg 폐 단백질) (±SD)	폐 단백질 추출물 내 평균 [MCP- 1] (pg/mg 폐 단백질) (±SD)
1. 1X PBS 시도 (n=5)	0.13 (±0.17)	0.80 (±1.41)	ND	4.75 (±3.39)	1.97 (±1.67)	2.86 (±1.01)	4.12 (±1.12)
2. HDM 시도 11 주 (n=4)	5.71 (±3.76) *	7.31 (±3.67)	0.20 (±0.03)	293.1 (±139.3) *	181.8 (±131.0) *	17.39 (±8.90)	43.06 (±24.21)
3. HDM 시도 15 주 (n=4)	2.70 (±1.71)	5.13 (±3.20)	0.19 (±0.03)	308.3 (±390.1)	51.79 (±16.97)	15.38 (±8.11)	105.6 (±106.5) *
4. HDM 시도 15 주+ 이소형 대조군 항체 (n=4)	5.46 (±3.38) **	7.00 (±4.50) *	0.22 (±0.02)	395.0 (±270.1) **	162.3 (±166.5) **	19.57 (±14.81)	141.7 (±126.3) **
5. HDM 시도 15 주 + 항-IL-33 항체 (n=5)	1.15 (±1.38)	1.93 (±1.90)	0.20 (±0.02)	136.8 (±164.1)	122.9 (±194.1)	17.05 (±4.48) *	16.64 (±6.40)
6. HDM 시도 15 주 + 항- 마우스 IL- 4Rα 항체 (n=5)	2.88 (±2.43)	13.13 (±12.81) **	0.16 (±0.03)	18.24 (±12.43)	26.73 (±20.94)	7.85 (±4.89)	11.63 (±8.69)
7. HDM 시도 15 주 + 항-IL-33 + 항- 마우스 IL- 4Rα 항체 (n=5)	0.47 (±0.13)	0.73 (±0.37)	0.10 (±0.05) ††	7.46 (±2.52) †	3.722 (±1.59)	3.07 (±1.34)	4.62 (±1.27) ††

주지: 던 다중 비교 사후 검정과 함께 크루스칼-왈리스 1-원 ANOVA 에 의해 결정된 통계학적

유의성이 나타나 있다(*= p<0.05, **= p<0.01, 그룹 1: IL33 HumIn 마우스, 식염수 시도와 비교;

†p<0.05, ††p<0.01, 그룹 4: IL33 Humin 마우스, HDM 시도 15 주 + 이소형 대조군 항체와 비교). ND:

결정되지 않음.

[0279]

[0280]

유전자 발현 분석을 위한 폐 수합

[0281]

채혈 후, 각각의 마우스로부터의 우측 폐의 악세사리 엽을 제거하고, 400 □L의 RNA Later(Ambion, #AM7020)를 함유하는 튜브에 넣고, 가공 시까지 -20℃에 보관하였다. 조직을 TRIzol에서 균질화시키고, 상분리를 위해 클로로포름을 사용하였다. 총 RNA를 함유하는 수성상을 Microarrays Total RNA 단리 키트에 대한 MagMAX™-96(Life Technologies사에 의한 Ambion, #AM1839)을 제조업체의 사양에 따라 사용하여 정제하였다. 게놈 DNA를 상기 열거된 MagMAX 키트로부터 MagMAX™Turbo™DNase 완충제 및 TURBO DNase를 사용하여 제거하였다. mRNA(2.5 □g 이하)를 SuperScript® VILO™ Master Mix(Life Technologies사에 의한 Invitrogen, #11755500)를 사용하여 cDNA로 역전사시켰다. cDNA를 2 ng/□L로 희석시키고, 10 ng cDNA를 TaqMan® Gene Expression Master Mix(Life Technologies사에 의한 Applied Biosystems, #4369542) 및 관련 있는 프로브(Life

Technologies; 마우스 *B2m*: Mm00437762_m1; 마우스 *I14*: Mm00445259_m1; 마우스 *I15*: Mm00439646_m1; 마우스 *I113*: Mm00434204_m1; 마우스 *I19*: Mm00434305_m1; 마우스 *I16*: Mm00446190_m1; 마우스 *Cc12*: Mm00441242_m1; 마우스 *Cc111*: Mm00441238_m1 ; 마우스 *Cc124*: Mm00444701_m1; 마우스 *Tnf*: Mm00443258_m1; 마우스 *Tgfb1*: Mm01178820_m1; 마우스 *I11r11*: Mm00516117_m1; 마우스 *I113ra2*: Mm00515166_m1; 마우스 *Col15a1*: Mm00456584_m1; 마우스 *Col24a1*: Mm01323744_m1;)를 이용하여 ABI 7900HT 서열 검출 시스템(Applied Biosystems)을 사용하여 증폭시켰다. *B2m*을 내부 대조군 유전자로서 사용하여, 임의의 cDNA 인풋(input) 차이를 정규화하였다. 모든 시료의 정규화에 사용된 참조 그룹은 그룹 1 시료('1X PBS 시도')의 평균이었다. 각각의 유전자의 발현을 동일한 시료 내에서의 *B2m* 발현으로 정규화하고, 표 6에 제시된 바와 같이 참조 그룹(평균 $\pm$ SD)에서 이의 정규화된 발현에 비해 표현하였다.

[0282] **폐 유전자 발현 분석**

[0283] 표 6에 제시된 바와 같이, 이소형 대조군 항체를 이용한 치료와 함께 또는 없이 15주 동안 HDM을 제공받은 IL-33 HumIn 마우스의 폐에서 사이토카인, 케모카인 및 콜라겐 유전자 *I14*, *I113*, *I16*, *Cc12*, *Tgfb1*, *I113ra2* 및 *Col24a1*의 발현 수준은 1X PBS 단독으로 시도된 IL-33 HumIn 마우스와 비교하여 유의하게 증가되었다. 유사하게는, 15주 동안 HDM을 제공받은 IL-33 HumIn 마우스의 폐에서 유전자 *I15*, *I19*, *Cc111*, *Cc124*, *Tnf*, *I11r11* 및 *Col15a1*의 발현 증가를 향한 경향이 존재하였다.

[0284] 대조적으로, 만성 HDM 시도의 마지막 4주 동안 이소형 대조군 항체와 함께 HDM을 투여받은 IL-33 HumIn 마우스와 비교하여, 이러한 기간 동안 항-IL-33 항체와 항-마우스 IL-4R α 항체의 조합으로 치료받은 IL-33 HumIn 마우스의 폐에서 *I16*, *Cc12*, *Cc111* 및 *Cc124*의 발현 수준에서 유의한 감소가 존재하였다. 만성 HDM 시도의 마지막 4주 동안 이소형 대조군 항체와 함께 HDM을 투여받은 IL-33 HumIn 마우스와 비교하여, 이러한 기간 동안 항-IL-33 항체와 항-마우스 IL-4R α 항체의 조합으로 치료받은 마우스에서 감소된 *I14*, *I15*, *I113*, *I19*, *Tnf*, *Tgfb1*, *I11r11*, *I113ra2*, *Col15a1* 및 *Col24a1* 발현 수준을 향한 경향이 존재하였다. 항-IL-33 항체와 항-마우스 IL-4R α 항체의 조합으로 관찰된 유전자 발현에 미치는 효과는 개별 항체 단독으로 시도된 치료보다 컸다.

표 6

표 6: 마우스 폐에서 유전자 발현(TaqMan).

실험군	폐에서 평균 상대 <i>Il4</i> 발현 ($\pm$ SD)	폐에서 평균 상대 <i>Il5</i> 발현 ($\pm$ SD)	폐에서 평균 상대 <i>Il13</i> 발현 ($\pm$ SD)	폐에서 평균 상대 <i>Il9</i> 발현 ($\pm$ SD)	폐에서 평균 상대 <i>Il6</i> 발현 ($\pm$ SD)	폐에서 평균 상대 <i>Ccl2</i> 발현 ($\pm$ SD)	폐에서 평균 상대 <i>Ccl11</i> 발현 ($\pm$ SD)	폐에서 평균 상대 <i>Ccl24</i> 발현 ($\pm$ SD)
1. 1X PBS 시도 (n=5)	1.03 ($\pm$ 0.28)	1.54 ($\pm$ 1.61)	4.51 ($\pm$ 7.59)	15.91 ($\pm$ 34.81)	1.25 ($\pm$ 1.09)	1.20 ($\pm$ 0.93)	1.24 ($\pm$ 1.07)	1.05 ($\pm$ 0.33)
2. HDM 시도 11 주 (n=4)	12.78 ($\pm$ 8.45) *	7.13 ($\pm$ 3.49)	114.1 ($\pm$ 68.3) *	38.66 ($\pm$ 30.04)	9.12 ($\pm$ 1.65)	18.86 ($\pm$ 8.40)	13.36 ($\pm$ 5.05)	15.44 ($\pm$ 12.02)
3. HDM 시도 15 주 (n=4)	6.27 ($\pm$ 3.39)	4.20 ($\pm$ 1.51)	58.05 ($\pm$ 31.61)	30.63 ($\pm$ 20.54)	8.92 ($\pm$ 4.55)	22.61 ($\pm$ 13.37) *	8.65 ($\pm$ 3.20)	4.58 ($\pm$ 1.91)
4. HDM 시도 15 주+ 이소형 대조군 항체 (n=4)	10.98 ($\pm$ 5.46) *	5.50 ($\pm$ 3.16)	92.51 ($\pm$ 75.96) *	19.51 ($\pm$ 10.29)	13.80 ($\pm$ 6.98) **	24.53 ($\pm$ 9.13) **	12.14 ($\pm$ 7.82)	12.41 ($\pm$ 8.73)
5. HDM 시도 15 주 + 항-IL-33 항체 (n=5)	2.80 ($\pm$ 3.11)	1.74 ($\pm$ 1.11)	12.91 ($\pm$ 12.93)	0.00 ($\pm$ 0.00)	3.87 ($\pm$ 3.00)	5.20 ($\pm$ 2.44)	6.21 ($\pm$ 3.55)	1.45 ($\pm$ 2.09)
6. HDM 시도 15 주 + 항- 마우스 IL- 4R α 항체 (n=5)	1.87 ($\pm$ 1.03)	7.98 ($\pm$ 6.52)	69.56 ($\pm$ 66.86) *	63.50 ($\pm$ 92.04)	2.77 ($\pm$ 1.39)	2.97 ($\pm$ 1.86)	1.00 ($\pm$ 0.18)	0.44 ($\pm$ 0.34)
7. HDM 시도 15 주 + 항-IL-33 + 항- 마우스 IL- 4R α 항체 (n=5)	1.37 ($\pm$ 0.35)	1.56 ($\pm$ 0.97)	9.34 ($\pm$ 3.10)	0.57 ($\pm$ 1.27)	1.04 ($\pm$ 0.31) ^{††}	1.08 ($\pm$ 0.24) ^{†† §}	0.72 ($\pm$ 0.28) [†]	0.15 ($\pm$ 0.10) ^{††}

[0285]

표 6 계속: 마우스 폐에서 유전자 발현(TaqMan).

실험군	폐에서 평균 상대 <i>Tnf</i> 발현 (±SD)	폐에서 평균 상대 <i>Tgfb1</i> 발현 (±SD)	폐에서 평균 상대 <i>Il1rl1</i> 발현 (±SD)	폐에서 평균 상대 <i>Il13ra2</i> 발현 (±SD)	폐에서 평균 상대 <i>Col15a1</i> 발현 (±SD)	폐에서 평균 상대 <i>Col24a1</i> 발현 (±SD)
1. 1X PBS 시도 (n=5)	1.02 (±0.24)	1.00 (±0.11)	1.11 (±0.58)	1.59 (±1.96)	1.00 (±0.10)	1.02 (±0.16)
2. HDM 시도 11 주 (n=4)	1.45 (±0.41)	1.40 (±0.27)	3.03 (±0.88) *	48.43 (±34.21)	2.75 (±0.96)	24.55 (±7.97) **
3. HDM 시도 15 주 (n=4)	1.58 (±0.43)	1.32 (±0.33)	2.53 (±0.79) *	32.07 (±13.45)	3.00 (±1.22)	17.25 (±5.29) *
4. HDM 시도 15 주+ 이소형 대조군 항체 (n=4)	1.59 (±0.78)	1.37 (±0.12) *	3.45 (±1.48) *	52.02 (±40.63)	3.80 (±0.96) *	23.58 (±6.18) ***
5. HDM 시도 15 주 + 항-IL-33 항체 (n=5)	1.38 (±0.27)	1.22 (±0.24)	0.99 (±0.47)	13.54 (±12.25)	1.64 (±0.30)	10.58 (±5.42)
6. HDM 시도 15 주 + 항-마우스 IL-4Rα 항체 (n=5)	1.00 (±0.25)	1.13 (±0.20)	3.38 (±1.97)	1.89 (±0.59)	1.24 (±0.28)	7.08 (±4.56)
7. HDM 시도 15 주 + 항-IL-33 + 항-마우스 IL-4Rα 항체 (n=5)	0.68 (±0.08) §	1.09 (±0.12)	1.12 (±0.57)	1.89 (±0.27)	0.74 (±0.21) †† §	1.76 (±0.15) †

주지: 던 다중 비교 사후 검정과 함께 크루스칼-왈리스 1-원 ANOVA 에 의해 결정된 통계학적
유의성이 나타나 있다(*=p<0.05, **=p<0.01, 그룹 1: IL33 HumIn 마우스, 식염수 시도와 비교;
§p<0.05, §§p<0.01, 그룹 3: IL33 Humin 마우스, HDM 시도 15 주와 비교; †p<0.05, ††p<0.01, 그룹 4:
IL33 Humin 마우스, HDM 시도 15 주 + 이소형 대조군 항체와 비교).

폐 세포 침윤물 분석을 위한 폐 수합

면역 세포에 의한 폐 침윤은 천식 및 COPD를 포함한 다수의 기도 염증성 질병에서 관찰된다. 호중구성 폐 염증
은 천식 환자에서는 더 낮은 폐 기능 및 중증 조직 리모델링(문헌[Wenzel *et.al.*, (2012), Nat Med 18(5):716-
725]), 및 COPD 환자에서는 증가된 폐 손상과 연관이 있어 왔다(문헌[Meijer, *et.al.*, (2013), Expert Rev.
Clin. Immunol. 9(11):1055-1068]). 호산구성 폐 염증은 아토피 질병에서 통상적으로 확인되는 유형 2 염증의
특질이다(문헌[Jacobsen, *et.al.*, (2014), Clin. Exp., Allergy, 44(9):1119-1136]). 인간에서, 높은 CD4/CD8
비는 육아종성 폐질환 및 다른 만성 염증 질환 환자에서 관찰된다(문헌[Costabel, *et.al.*, (1997), Eur.
Respir. J. 10(12):2699-2700; Guo, *et.al.*, (2011), Ann. Clin. Biochem, 48(Pt4):344-351]). 유세포분석을
본 연구에 사용하여, HDM-노출 마우스의 폐에서 세포성 침윤의 수준을 결정하였다.

채혈 후, 각각의 마우스로부터의 우측 폐의 꼬리엽(caudal lobe)을 제거하고, 대략 2 내지 3 mm 크기의 정육면

체로 잘게 절단하고, 그 후에 Hank's Balanced Salt Solution(HBSS)(Gibco, #14025)에서 희석된 20 $\mu\text{g/mL}$ DNase(Roche, #10104159001) 및 0.7 U/mL Liberase TH(Roche, #05401151001)의 용액을 함유하는 튜브에 넣었으며, 상기 튜브를 37°C 수조에서 20분 동안 인큐베이션하고, 5분마다 보텍싱(vortex)하였다. 10 mM의 최종 농도에서 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA, Gibco, #15575)을 첨가함으로써, 반응을 중단시켰다. 후속적으로, 각각의 펠을 gentleMACS dissociator[®] (Miltenyi Biotec, #130-095-937)를 사용하여 해리시키고, 그 후에 70 μm 필터를 통해 여과하고, 원심분리하였다. 생성된 펠 펠렛을 1 mL의 1X 적혈구 용해 완충제(Sigma, #R7757)에 재현탁시켜, 적혈구를 제거하였다. 실온에서 3분 동안 인큐베이션한 후, 3 mL의 1X DMEM을 첨가하여 적혈구 용해 완충제를 비활성화시켰다. 그 후에, 세포 현탁액을 원심분리하고, 생성된 세포 펠렛을 5 mL의 MACS 완충제(autoMACS Running 완충제; Miltenyi Biotec, #130-091-221)에 재현탁시켰다. 재현탁된 시료를 70 μm 필터를 통해 여과하고, 1개 웰 당 1×10^6 개 세포를 96-웰 V-바닥 플레이트에 평판배양하였다. 그 후에, 세포를 원심분리하고, 펠렛을 1X PBS에서 세척하였다. 제2 원심분리 후, 세포 펠렛을 1X PBS에서 1:500으로 희석된 100 μL 의 LIVE/DEAD[®] Fixable Blue Dead Cell Stain(Life Technologies, # L23105)에 재현탁시켜 세포 생존력(viability)을 결정하고, 빛으로부터 보호하면서 실온에서 20분 동안 인큐베이션하였다. 1X PBS에서 1회 세척 후, 세포를 10 $\mu\text{g/mL}$ 의 정제된 래트 항-마우스 CD16/CD32 Fc Block(클론: 2.4G2; BD Biosciences, #553142)을 함유하는 MACS 완충제 용액에서 4°C에서 10분 동안 인큐베이션하였다. 그 후에, 세포를 MACS 완충제에서 희석된 적절한 2x 항체 혼합물(표 7에 기재됨)에서 빛으로부터 보호하면서 4°C에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 항체 인큐베이션 후, 세포를 MACS 완충제에서 2회 세척하고, BD CytoFix(BD Biosciences, #554655)에 재현탁시키고, 그 후에 빛으로부터 보호하면서 4°C에서 15분 동안 인큐베이션하였다. 후속해서, 세포를 세척하고, MACS 완충제에 재현탁시키고, 그 후에 유세포분석에 의한 세포 침윤물의 분석을 위해 BD FACS 튜브(BD Biosciences, #352235)로 옮겼다.

[0290]

CD4 및 CD8 T 세포를 살아 있는 CD45^+ , SSC^{Lo} , FSC^{Lo} , CD3^+ , CD19^- , CD4^+ , CD8^- 세포 및 살아 있는 CD45^+ , SSC^{Lo} , FSC^{Lo} , CD3^+ , CD19^- , CD4^- , CD8^+ 세포로서 각각 정의하였다. 활성화된 CD4 T 세포를 살아 있는 CD45^+ , SSC^{Lo} , FSC^{Lo} , CD3^+ , CD19^- , CD4^+ , CD8^- , 및 CD69^+ 세포로서 정의하였다. 활성화된 CD8 T 세포를 살아 있는 CD45^+ , SSC^{Lo} , FSC^{Lo} , CD3^+ , CD19^- , CD4^- , CD8^+ , 및 CD69^+ 세포로서 정의하였다. 활성화된 B 세포를 살아 있는 CD45^+ , SSC^{Lo} , FSC^{Lo} , CD3^- , CD19^+ , 및 CD69^+ 세포로서 정의하였다. ST2+ CD4+ T 세포를 살아 있는 CD45^+ , SSC^{Lo} , FSC^{Lo} , CD3^+ , CD19^- , ST2+ 및 CD4^+ 세포로서 정의하였다. 호산구를 살아 있는 CD45^+ , GR1^- , CD11c^{Lo} , $\text{SiglecF}^{\text{hi}}$ 로서 정의하였다. 폐포 대식세포를 살아 있는 CD45^+ , GR1^- , CD11c^{hi} , $\text{SiglecF}^{\text{hi}}$ 로서 정의하였다. 활성화된 세포에 대한 데이터를 부모 집단(CD4, $\pm$ SD) 내의 활성화된 세포(CD69^+)의 빈도로서 표현한다. ST2+ CD4+ T 세포에 대한 데이터를 T 세포(살아 있는 CD45^+ , SSC^{Lo} , FSC^{Lo} , CD3^+ 및 CD19^- 였던 세포로서 정의됨)의 빈도로서 표현한다. 호산구 및 폐포 대식세포에 대한 데이터를 살아 있는 세포의 빈도로서 표현한다. CD4/CD8 T 세포 비율, 살아 있는 집단 내에서 CD8 T 세포의 빈도에 대한 CD4 T 세포의 빈도의 비로서 계산한다. 모든 데이터를 표 8에 제시한다.

표 7

표 7: 유세포분석에 사용된 항체

항체	형광 색소	제조회사	카탈로그 번호	최종 희석율
CD45.2	PerCP-Cy5.5	eBioscience	45-0454	1/800
Siglec-F	BV 421	BD	562681	1/200
F4/80	APC	eBioscience	17-4801-82	1/200
Ly6G	BUV395	BD	563978	1/200
Ly6C	PE-Cy7	BD	560593	1/100
CD11c	PE	eBioscience	12-0114-82	1/200
CD11b	FITC	eBioscience	53-0112-82	1/200
CD19	BV650	BD	562701	1/400
CD3	PE-Cy7	BD	552774	1/200
CD4	BV421	BioLegend	100438	1/200
CD8	BUV 395	BD	563786	1/400
NKp46 (CD335)	FITC	eBioscience	11-3351	1/800
CD69	PE	eBioscience	12-0691	1/200
CD25	BV510	BioLegend	102042	1/200
ST2	APC	BioLegend	145306	1/200

[0291]

[0292]

폐 세포 침윤물 분석:

[0293]

표 8에 제시된 바와 같이, 이소형 대조군 항체를 이용한 치료와 함께 또는 없이 15주 동안 HDM을 제공받은 IL-33 HumIn 마우스의 폐에서 호산구, 활성화된 B 세포, 활성화된 CD8 세포, ST2+ Cd4+ T 세포의 빈도, 및 CD4/CD8 T 세포비는 1X PBS 단독으로 시도된 IL-33 HumIn 마우스에서보다 유의하게 높았다. 유사하게는, 15주 동안 HDM을 제공받은 IL-33 HumIn 마우스의 폐에서 활성화된 CD4 T 세포의 증가된 빈도를 향한 경향이 존재하였다. 이소형 대조군 항체 치료의 부재 또는 존재 하에 15주 동안 HDM을 제공받은 IL-33 HumIn 마우스의 폐에서 유세포분석에 의해 검출되는 폐포 대식세포의 저하된 빈도를 향한 경향이 존재하였다. 폐포 대식세포의 빈도는 만성 HDM 시도의 마지막 4주 동안 이소형 대조군 항체와 함께 HDM을 투여받은 IL-33 HumIn 마우스와 비교하여, 이러한 기간 동안 항-IL-33 항체와 항-마우스 IL-4R α 항체의 조합으로 치료받은 IL-33 HumIn 마우스의 폐에서 유의하게 증가되었다. 유사하게는, 만성 HDM 시도의 마지막 4주 동안 이소형 대조군 항체와 함께 HDM을 투여받은 IL-33 HumIn 마우스와 비교하여, 이러한 기간 동안 항-IL-33 항체와 항-마우스 IL-4R α 항체의 조합으로 치료받은 마우스의 폐에서 호산구, 활성화된 CD4 및 CD8 T 세포, 활성화된 B 세포, ST2+ CD4+ T 세포의 빈도, 뿐만 아니라 CD4/CD8 T 세포비의 감소를 향한 경향이 존재하였다. 항-IL-33 항체와 항-마우스 IL-4R α 항체의 조합에 대해 관찰된, 폐 내 호산구, 폐포 대식세포, 활성화된 CD8 T 세포, ST2+ CD4+ T 세포의 빈도, 및 CD4/CD8 비에 미치는 효과는 개별 항체 단독으로 시도된 치료보다 큰 효능을 향한 경향을 보여준다.

표 8

표 8: 유세포분석에 의해 결정된 바와 같은 폐 세포 침윤물의 빈도

실험군	살아 있는 집단 내 호산구의 평균 빈도 ($\pm$ SD)	살아 있는 집단 내 폐포 대식세포의 평균 빈도 ($\pm$ SD)	평균 CD4/CD8 T 세포 비 ($\pm$ SD)	CD4 T 세포 집단 내 활성화된 세포의 평균 빈도 ($\pm$ SD)	CD8 T 세포 집단 내 활성화된 세포의 평균 빈도 ($\pm$ SD)	B 세포 집단 내 활성화된 세포의 평균 빈도 ($\pm$ SD)	T 세포 집단 내 ST2+ CD4+ 세포의 평균 빈도 ($\pm$ SD)
1. 1X PBS 시도 (n=5)	1.45 ($\pm$ 0.92)	5.05 ($\pm$ 1.64)	3.00 ($\pm$ 1.48)	13.12 ($\pm$ 9.89)	3.26 ($\pm$ 1.64)	0.39 ($\pm$ 1.17)	3.25 ($\pm$ 4.15)
2. HDM 시도 11 주 (n=4)	17.08 ($\pm$ 3.94) *	2.34 ($\pm$ 0.93)	6.42 ($\pm$ 2.71)	49.95 ($\pm$ 8.76)	9.58 ($\pm$ 7.44)	4.67 ($\pm$ 1.47) **	32.60 ($\pm$ 12.23)
3. HDM 시도 15 주 (n=4)	15.40 ($\pm$ 3.99) *	4.92 ($\pm$ 1.55)	6.95 ($\pm$ 0.71) **	58.53 ($\pm$ 5.76)	15.68 ($\pm$ 3.03) *	3.70 ($\pm$ 1.44) *	37.33 ($\pm$ 8.98) *
4. HDM 시도 15 주+ 이소형 대조군 항체 (n=4)	15.00 ($\pm$ 3.35) *	2.33 ($\pm$ 1.60)	7.49 ($\pm$ 1.28) *	57.75 ($\pm$ 7.64)	14.59 ($\pm$ 3.82)	3.90 ($\pm$ 1.48) *	37.96 ($\pm$ 16.71) *
5. HDM 시도 15 주 + 항-IL-33 항체 (n=5)	8.51 ($\pm$ 7.52)	7.44 ($\pm$ 4.18)	4.03 ($\pm$ 1.28)	48.22 ($\pm$ 5.66)	13.86 ($\pm$ 5.21)	1.72 ($\pm$ 0.72)	19.24 ($\pm$ 5.72)
6. HDM 시도 15 주 + 항- 마우스 IL- 4R α 항체 (n=5)	12.30 ($\pm$ 7.83)	9.93 ($\pm$ 5.18)	5.56 ($\pm$ 2.22)	53.42 ($\pm$ 6.52)	13.11 ($\pm$ 6.26)	2.14 ($\pm$ 1.23)	35.01 ($\pm$ 9.83) *
7. HDM 시도 15 주 + 항-IL-33 + 항- 마우스 IL- 4R α 항체 (n=5)	3.78 ($\pm$ 1.60)	14.64 ($\pm$ 3.86) †	2.96 ($\pm$ 0.93)	42.52 ($\pm$ 9.79)	7.90 ($\pm$ 1.30)	1.74 ($\pm$ 0.91)	11.78 ($\pm$ 3.73)

주지: 던 다중 비교 사후 검정과 함께 크루스칼-왈리스 1-원 ANOVA 에 의해 결정된 통계학적
유의성이 나타나 있다(*= $p < 0.05$, **= $p < 0.01$, 그룹 1: IL33 HumIn 마우스, 식염수 시도와 비교;
† $p < 0.05$, 그룹 4: IL33 Humin 마우스, HDM 시도 15 주 + 이소형 대조군 항체와 비교).

[0294]

[0295]

조직병리학의 정량화를 위한 폐 수합:

[0296]

이러한 모델에서 관찰된 염증 패턴에는 HDM-노출 폐에서의 광범위하고 중증인 구조적 변화, 배상 세포 화생의 증거와 함께, 상피-하 콜라겐 침착의 증가 및 유의한 폐경화가 동반된다. 이들 병리는 폐기능의 저하 및 기도 과민반응성에 기여하는 인간 염증성 호흡기 질병의 공지된 특징이다(문헌[James,(2007) Eur Respir J., Jul;30(1):134-55; Jeong,(2007) Radiographics May-Jun;27(3):617-37]).

[0297]

채혈 후, 좌측 폐를 제거하고, 1X 포스페이트 완충 식염수 중 4%(w/v) 파라포름알데하이드(Boston Bioproducts, # BM-155)의 3 mL 용액을 함유하는 플레이트에 넣고, 실온에서 3일 동안 보관하였다. 그 후에, 폐 시료를 불꽃 건조(blot dry)하고, 조직학적 분석을 위해 70% 에탄올을 함유하는 튜브로 옮겼다. 시료를 파라핀 포매, 박절 및 과요오드산 시프(PAS) 또는 헤마톡실린 및 에오신(H&E) 염색을 위해 Histoserv, Inc(Germantown, MD)로 보

냈다.

[0298] 배상 세포 화생의 정량화:

[0299] 배상 세포 화생 및 점액 과다-분비는 천식, 만성 폐색성 폐질환 및 낭포성 섬유증을 포함한 많은 폐질환의 특징이다(문헌[Boucherat, (2013) Exp Lung Res. 2013 May-Jun;39(4-5):207-16]). 과량의 점액 생성은 인간에서 기도 폐색을 초래하고, 폐기능, 건강과 관련된 삶의 질, 악화, 입원 및 사망과 같은 몇몇 중요한 결과에 영향을 준다(문헌[Ramos, FL, *et.al.*, (2014), Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, Jan. 24; 9:139-150]). □PAS-양성 배상 세포 및 총 상피 세포를 밀리미터 길이의 1차 기관지에서 계수하였다. 배상 세포 화생을 표 9에 제시된 바와 같이 밀리미터의 기관지 상피 내 PAS-양성 세포의 빈도(% , $\pm$ SD)로서 표현한다.

[0300] 폐경화의 정량화:

[0301] "폐경화"는 폐포 공간에서 고체 또는 액체 물질의 축적으로서 정의된다. 폐경화는 본원에서 총체적 병리(gross pathology)의 측정으로서 사용되는 세포 침윤물, 과다형성 및 점액 생성의 조합을 반영할 가능성이 있는 화합물 중점이다. 결정체(crystal body)에 의해 점유된 폐 영역의 분획을 Movat 펜타크롬 염색 파라핀-포매 폐 절편(section) 상에서 ImageJ 소프트웨어(NIH, Bethesda, MD)를 사용하여 정량화하였다. 입자 분석 기능을 사용하여, 절편 내 총 폐 영역, 뿐만 아니라 절편 내 경화된 영역을 측정하였다. 경화된 폐 영역의 분획은 표 9에 제시된 바와 같이 두 측정 모두의 비에 의해 주어진다.

[0302] 상피-하 섬유증의 정량화

[0303] "상피-하 섬유증"은 폐 상피 아래에서 과도한 간질 콜라겐 침착으로서 정의된다(문헌[Redington, *et.al.*, (1997), Thorax, April; 52(4):310-312]). 증가된 상피-하 섬유증은 인간에서 천식과 특이적으로 연관된 것으로 보고되어 있다(문헌[Boulet, *et.al.*, (1997) Chest, July; 112(1):45-52; James, AL and Wenzel, S., (2007), Eur Respir J, July, 30(1):134-155]). 본 모델에서, 상피-하 섬유증을 Masson's 트리크롬 염색 파라핀-포매 폐 절편 상에서 HaLo 소프트웨어(Indica Labs, NM)를 사용하여 정량화하였다. '층 두께' 툴을 사용하여, 기관지 상피 아래의 콜라겐 층의 두께를 밀리미터의 1차 기관지에 걸쳐 약 30 μ m 간격을 두고 여러 번 기록하였다. 상피-하 섬유증을 표 9에 제시된 바와 같이 상피 아래의 콜라겐 층의 평균 두께(μ m, $\pm$ SD)로서 표현한다.

[0304] 폐 조직병리학의 분석:

[0305] 표 9에 제시된 바와 같이, 1X PBS 단독으로 시도된 IL-33 HumIn 마우스와 비교하여, 이소형 대조군 항체를 이용한 치료와 함께 또는 없이 15주 동안 HDM을 제공받은 IL-33 HumIn 마우스의 폐에서 배상 세포 화생의 증가를 향한 경향이 존재하였다. 유사하게는, 15주 동안 HDM을 제공받은 IL-33 HumIn 마우스에서 폐경화, 뿐만 아니라 상피-하 콜라겐 두께에서 유의한 증가가 존재하였다.

[0306] 대조적으로, 만성 HDM 시도의 마지막 4주 동안 이소형 대조군 항체와 함께 HDM을 투여받은 IL-33 HumIn 마우스와 비교하여, 이러한 기간 동안 항-IL-33 항체와 항-마우스 IL-4R α 항체의 조합으로 치료받은 IL-33 HumIn 마우스에서 배상 세포 화생 및 상피-하 콜라겐 두께의 감소, 및 폐경화에서 유의한 감소를 향한 경향이 존재하였다. 항-IL-33 항체와 항-마우스 IL-4R α 항체의 조합에 대해 관찰된 배상 세포 화생, 폐경화 및 상피-하 콜라겐 두께에 미치는 효과는 개별 항체 단독으로 시도된 치료보다 큰 효능을 향한 경향을 보여주었다.

표 9

표 9: 마우스 폐에서 조직병리학의 정량화

실험군	평균 배상 세포 화생 (% PAS-양성 세포)(±SD)	평균 폐경화 (%±SD)	평균 상피하 콜라겐 두께(μm)(±SD)
1. 1X PBS 시도(n=5)	32.94(±43.61)	6.97(±3.72)	25.90(±4.00)
2. HDM 시도 11 주(n=4)	59.98(±39.01)	70.70(±12.94)	81.76(±25.37) *
3. HDM 시도 15 주(n=4)	92.15(±10.16)	83.21(±3.65) **	82.12(±23.04) *
4. HDM 시도 15 주+ 이소형 대조군 항체(n=4)	81.60(±17.56)	84.16(±5.85) **	63.11(±11.87)
5. HDM 시도 15 주 + 항-IL- 33 항체(n=5)	39.22(±18.93)	58.82(±18.26)	70.99(±23.85)
6. HDM 시도 15 주 + 항- 마우스 IL-4Rα 항체(n=5)	79.82(±25.02)	57.79(±18.72)	57.62(±15.34)
7. HDM 시도 15 주 + 항-IL- 33 + 항-마우스 IL-4Rα 항체(n=5)	19.69(±8.80)	35.01(±20.68)	48.19(±18.58)

주지: 던 다중 비교 사후 검정과 함께 크루스칼-왈리스 1-원 ANOVA 에 의해 결정된 통계학적

유의성이 나타나 있다(**=p<0.01, 그룹 1: IL33 HumIn 마우스, 식염수 시도와 비교).

[0307]

[0308]

IgE 및 HDM-특이적 IgG1 수준 측정을 위한 혈청 수합:

[0309]

각각의 마우스에 대해 혈청 시료 내 총 IgE 농도를 결정하기 위해, 샌드위치 ELISA OPTeia 키트(BD Biosciences, #555248)를 제조업체의 설명서에 따라 사용하였다. 혈청 시료를 희석시키고, 96-웰 플레이트 상에 코팅된 항-IgE 포착 항체와 함께 인큐베이션하였다. 총 IgE를 비오틴화된 항-마우스 IgE 2차 항체에 의해 검출하였다. 정제된 호스래디쉬 퍼옥시다제(HRP)-표지 마우스 IgE를 표준으로서 사용하였다. 크로마젠 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(TMB)(BD OPTeia 기질 시약 세트, BD, #555214)을 사용하여 HRP 활성을 검출하였다. 그 후에, 1 M 황산의 정지 용액을 첨가하고, 450 nm에서의 흡광도를 Molecular Devices SpectraMax M5 플레이트 판독기 상에서 측정하였다. 데이터 분석을 Prism™ 소프트웨어를 사용하여 수행하였다. 각각의 실험군에 대해 혈청 내 순환형 IgE 수준의 평균 양을 표 10에 제시된 바와 같이 ng/mL(±SD)로서 표현한다.

[0310]

각각의 마우스로부터의 혈청 시료 내 HDM 특이적 IgG1 수준을 결정하기 위해, ELISA를 이용하였다. HDM(Greer, #XPB70D3A2.5) 코팅된 플레이트를 단계 희석된 마우스 혈청 시료와 함께 인큐베이션하고, 뒤이어 래트 항-마우스 IgG1-HRP 공액 항체(BD Biosciences, # 559626)와 함께 인큐베이션하였다. 모든 시료를 TMP 용액을 이용하여 발색시키고, 상기 기재된 바와 같이 분석하였다. 혈청 내 순환형 IgG1의 상대 수준을 역가 단위(측정된 OD에 백그라운드보다 2배 넘게 더 큰 OD450을 달성하는 데 필요한 희석 인자를 곱함으로써 역가 단위를 계산하였음)로서 표시하였다. 각각의 실험군에 대해 혈청 내 평균 순환형 HDM-특이적 IgG1 수준을 표 10에 제시된 바와 같이 역가 × 10⁶(±SD)으로서 표현한다.

[0311]

IgE 및 HDM-특이적 IgG1의 순환 수준의 분석

[0312]

표 10에 제시된 바와 같이, 1X PBS 단독으로 시도된 IL-33 HumIn 마우스에서 이소형 대조군 항체를 이용한 치료와 함께 또는 없이 15주 동안 HDM을 제공받은 IL-33 HumIn 마우스의 혈청 내 IgE의 순환형 수준에서 유의한 증가가 존재하였다. 유사하게는, 15주 동안 HDM을 제공받은 IL-33 HumIn 마우스의 혈청 내 순환형 HDM-특이적 IgG1의 증가된 수준을 향한 경향이 존재하였다. 대조적으로, 만성 HDM 시도의 마지막 4주 동안 이소형 대조군 항체와 함께 HDM을 투여받은 IL-33 HumIn 마우스와 비교하여, 이러한 기간 동안 항-IL-33 항체와 항-마우스 IL-4Rα 항체의 조합으로 치료받은 IL-33 HumIn 마우스의 혈청 내 IgE의 순환형 수준의 유의한 저하 및 HDM-특이적 IgG1의 순환형 수준에서 저하를 향한 경향이 존재하였다.

표 10

표 10: 마우스 혈청 내 IgE 및 HDM-특이적 IgG1의 순환형 수준.

실험군	평균 순환형 IgE 수준($\mu\text{g/mL}$)($\pm\text{SD}$)	평균 순환형 HDM-특이적 IgG1 수준(역가 $\times 10^6$)($\pm\text{SD}$)
1. 1X PBS 시도(n=5)	2.16(± 2.02)	ND
2. HDM 시도 11 주(n=4)	50.16(± 8.35)	1.18(± 0.15)
3. HDM 시도 15 주(n=4)	131.38(± 106.84) *	1.88(± 0.81)
4. HDM 시도 15 주 + 이소형 대조군 항체(n=4)	193.07(± 78.96) ***	1.62(± 0.62)
5. HDM 시도 15 주 + 항-IL- 33 항체(n=5)	45.74(± 45.74)	1.76(± 0.98)
6. HDM 시도 15 주 + 항- 마우스 IL-4R α 항체(n=5)	11.12(± 8.65)	0.99(± 0.56)
7. HDM 시도 15 주 + 항-IL- 33 + 항-마우스 IL-4R α 항체(n=5)	6.45(± 5.79) [†]	0.75(± 0.30)

주지: 던 다중 비교 사후 검정과 함께 크루스칼-왈리스 1-원 ANOVA에 의해 결정된 통계학적
유의성이 나타나 있다(*= $p < 0.05$, **= $p < 0.01$, ***= $p < 0.001$, 그룹 1: IL33 HumIn 마우스, 식염수
시도와 비교; [†] $p < 0.05$, 그룹 4: IL33 Humin 마우스, HDM 시도 15 주 + 이소형 대조군 항체와 비교).
ND: 결정되지 않음.

[0313]

[0314]

중증 혼합형 염증의 맥락에서 개시된(initiated) H4H9675P와 항-mIL-4R α 치료의 병용은 측정된 모든 염증 매개
변수를 개선하며, 이들 대부분의 매개변수를 기준선 수준까지 감소시킨다. 추가로, 복합적인(composite) 폐 총
체적 병리, 폐상 세포 화생, 폐 세포성 침윤 및 사이토카인 수준을 포함한 가장 유해한 종점들 중 일부에서 상
가적 효과가 관찰된다. 따라서, 2개 경로를 모두 동시에 차단하는 것은 중증 혼합형 염증 및 조직 병리의 맥락
에서 다수의 염증 매개자에 영향을 주고 다수의 매개변수를 기준선으로 정규화시키는 잠재성을 가진다.

[0315]

실시예 5: 수소 중수소 교환에 의한, IL33으로의 H4H9675P 결합의 에피토프 맵핑

[0316]

항-IL33 항체 H4H9675P에 의해 인지되는 인간 IL33의 에피토프를 결정하기 위해, 수소-중수소(H/D) 교환 연구를
인간 IL33과 공동-복합체를 형성한 항체에 대해 수행하였다. 실험을 위해, C-말단 헥사히스티딘 태그(SEQ ID
NO: 356)와 함께 발현된 재조합 인간 IL33을 사용하였다. H/D 교환 방법에 대한 일반적인 설명은 문헌[Ehring
et al. (1999) *Analytical Biochemistry* 267(2):252-259 및 Engen and Smith (2001) *Anal. Chem.* 73:256A-
265A]에 기재되어 있다. H/D 교환 실험을, 중수소 표지화를 위한 Leaptac HDX PAL 시스템, 시료 분해 및 로딩
을 위한 Waters Acquity M-클래스(Auxiliary 용매 매니저), 분석적 컬럼 구매를 위한 Waters Acquity M-클래스
(μ Binary 용매 매니저) 및 펄스 펄타이드 질량 측정을 위한 Synapt G2-Si 질량 분광계로 구성된 통합된 Waters
HDX/MS 플랫폼 상에서 수행하였다.

[0317]

표지화 용액을 pH 7.0(pH 6.6와 동등함)에서 D₂O 중 10 mM PBS 완충제에서 제조하였다. 중수소 표지화를 위해,
3.8 μL 의 hIL33-MMH(96 pmol/ μL), 또는 항체와 1:1 몰비로 사전 혼합된 hIL33-MMH를 다양한 시점(2분, 10분,
및 비중수소화된 대조군 = 0초)에 대해 56.2 μL D₂O 표지화 용액과 함께 인큐베이션하였다. 50 μL 의 시료를
pH 2.5에서 100 mM 포스페이트 완충제(켄치 완충제) 중 50 μL 의 사전-냉각된 0.2 M TCEP, 6 M 구아니딘 클로라
이드로 옮김으로써 중수소화를 켜고, 혼합된 시료를 1.0°C에서 2분 동안 인큐베이션하였다. 그 후에, 켜
친된 시료를 온라인 펩신/프로테아제 XIII 분해를 위해 Waters HDX Manager 내에 주사하였다. 분해된 펩타이드
를 0°C에서 ACQUITY UPLC BEH C18 1.7- μm , 2.1 $\times$ 5 mm VanGuard 프리-컬럼 상으로 트랩시키고, 5%-40% B(이
동상 A: 수(water) 중 0.1% 포름산, 이동상 B: 아세토니트릴 중 0.1% 포름산)의 9분 구배 분리를 사용하여
ACQUITY UPLC BEH C18 1.7- μm , 1.0 $\times$ 50 mm 컬럼으로 용출시켰다. 질량 분광계를 37 V의 콘 전압(cone
voltage), 0.5초의 스캔 시간, 및 50 내지 1700 Th의 질량/전하 범위에서 설정하였다.

[0318]

hIL33-MMH로부터의 펩타이드의 식별을 위해, 비중수소화된 시료로부터의 LC-MS^E 데이터를, 인간 IL33, 펩신 및
이들의 무작위화된 서열을 포함한 데이터베이스에 대해 Waters ProteinLynx Global Server(PLGS) 소프트웨어를

통해 처리하고 검색하였다. 식별된 펩타이드를 DynamX 소프트웨어로 가져와서 하기의 2가지 기준에 의해 필터링하였다: 1) 1개 아미노산 당 최소 생성물: 0.3 및 2) 복제 파일 임계 값: 3. 그 후에, DynamX 소프트웨어는 각각의 시점에 3번의 복제로 다수의 시점에서 체류 시간 및 높은 질량 정확도(< 10 ppm)를 기준으로 각각의 펩타이드의 중수소 흡수를 자동적으로 결정하였다.

[0319] MS^E 데이터 획득과 커플링된 온라인 펩신/프로테아제 XIII 컬럼을 사용하여, hIL33-MMH로부터의 총 68개의 펩타이드를, 95% 서열 커버리지를 표시하는 H4H9675P의 부재 또는 존재 하에 식별하였다. 11개의 펩타이드는 H4H9675P에 결합되었을 때 중수소 흡수(p-값 < 0.05와 함께 센트로이드 델타 값 > 0.4 달톤)를 유의하게 감소시켰고, 표 11에 열거되어 있다. 기록된 펩타이드 질량은 3개의 복제물로부터의 센트로이드 MH⁺ 질량의 평균값에 상응한다. SEQ ID NO: 349의 아미노산 1~12 및 50~94에 상응하는 이들 펩타이드는 H4H9675P의 결합에 의해 더 느린 중수소화 속도를 가졌다. 이들 식별된 잔기는 또한, Uniprot entry 095760(IL33_인간; 또한 SEQ ID NO: 348 참조)에 의해 정의된 바와 같이 인간 IL-33의 잔기 112~123 및 161~205에 상응한다. 이들 데이터는 항체 H4H9675P에 대한 IL-33에서 결합 영역을 적어도 부분적으로 정의하는 SEQ ID NO: 348의 아미노산 잔기 112~123 및 161~205 또는 SEQ ID NO: 349의 아미노산 잔기 1~12 및 50~94에 대한 지지를 제공한다.

표 11

표 11. H4H9675P로의 결합 시 유의한 감소된 중수소화를 갖는 인간 IL33 펩타이드

SEQ ID NO: 349를 기준으로 한 잔기 수	2 분 중수소화			10 분 중수소화		
	IL33 센트로이드 MH ⁺	IL33+H4H9675P 센트로이드 MH ⁺	Δ	IL33 센트로이드 MH ⁺	IL33+H4H9675P 센트로이드 MH ⁺	Δ
1-9	893.43±0.06	891.89±0.02	-1.54	893.60±0.03	892.00±0.08	-1.60
1-10	1023.15±0.06	1021.53±0.05	-1.62	1023.31±0.01	1021.69±0.03	-1.63
1-11	1186.18±0.06	1184.39±0.13	-1.80	1186.43±0.02	1184.61±0.03	-1.82
1-12	1300.27±0.07	1297.88±0.04	-2.39	1300.60±0.03	1298.65±0.01	-1.95
50-61	1458.12±0.06	1456.36±0.00	-1.75	1458.27±0.08	1456.34±0.01	-1.93
52-67	1791.16±0.12	1789.89±0.25	-1.27	1791.20±0.02	1790.27±0.02	-0.93
52-72	2353.80±0.12	2351.27±0.05	-2.53	2353.89±0.03	2351.95±0.10	-1.94
53-70	1945.19±0.10	1944.26±0.07	-0.93	1945.25±0.02	1944.84±0.03	-0.41
53-72	2189.95±0.13	2188.03±0.03	-1.92	2190.02±0.02	2188.58±0.04	-1.44
71-81	1253.89±0.07	1253.08±0.18	-0.81	1254.07±0.02	1253.52±0.16	-0.55
71-94	2815.35±0.05	2814.48±0.00	-0.87	2816.06±0.12	2815.10±0.12	-0.96

[0320]

[0321] 실시예 6: IL-33-, IL-4-, 및 IL-4R알파-인간화 마우스를 사용한 알레르겐-유도 폐 염증의 19-주 모델에서 IL-33 항체(REGN3500) 및 IL-4R 항체(두필루맵), 단독 또는 조합의 효과

[0322] IL-33 항체 단독, IL-4R 항체 단독, 또는 이들 2개 항체 모두의 조합의 효과를 상기 실시예 4에서, 마우스 IL-33(IL-33 HumIn 마우스; 미국 특허 공개 2015/0320021 및 2015/0320022 참조) 대신에 인간 IL-33의 발현에 동형접합성인 마우스를 사용하여 처음 시험하였다. 완전 인간 항-IL-33 항체(REGN3500), 및 항-마우스 IL-4R α 항체 또는 이들 2개 항체 모두의 조합을 이 모델에서 비교하였고, 그 결과를 실시예 4에 기재하였다.

[0323] 인간 항-IL-33 항체(REGN3500) 또는 인간 항-IL-4R 항체(두필루맵) 중 어느 것도 이들의 각각의 류린 표적 단백질에 결합하지 않기 때문에, 마우스 IL-33, IL-4, 및 IL-4R α의 엑토도메인이 상응하는 인간 서열(IL4ra^{hu/hu} I14^{hu/hu} I133^{hu/hu})로 대체된 유전자 조작 마우스를 발생시켰다. I14ra^{hu/hu} I14^{hu/hu} I133^{hu/hu} 마우스 계통(strain)을, HDM 노출-유도 폐 염증의 4-주 모델을 사용하여 REGN3500 및 두필루맵 투여의 효과를 연구하기 위한 툴로서 입증하였다. 이 모델에서, HDM-노출된 I14ra^{hu/hu} I14^{hu/hu} I133^{hu/hu} 마우스는 호산구성 폐 침윤의 평가에 의해 평가된 바와 같이 야생형 마우스와 유사한 면역 반응을 나타내었다.

[0324] 하기 기재된 연구를 수행하여, IL-33 및 IL-4/IL-13 경로의 동시적인 차단이 경로 단독의 차단보다 폐 염증에

더 큰 영향을 가질 수 있는지 결정하였다. 이 연구에서, $I14ra^{hu/hu} I14^{hu/hu} I133^{hu/hu}$ 마우스를 HDM 또는 식염수에 19주 동안 비강내(IN) 노출시켰다. 11주의 HDM 노출 후, $I14ra^{hu/hu} I14^{hu/hu} I133^{hu/hu}$ 마우스 대조군을 안락사시켜, 항체 치료의 시작 시 질병 중증도를 평가하였다. 19-주 HDM-노출 마우스에게 항체 치료를 제공하지 않거나, 또는 12주째로부터 19주째까지의 HDM 노출에서 총 8주 동안 및 16회 용량으로 2회-1주 피하(SC) 항체를 제공하였다. 하기 항체를 11 mg/kg의 최종 단백질 용량: (a) 11 mg/kg 이소형 대조군 항체, (b) 1 mg/kg REGN3500 + 10 mg/kg 이소형 대조군 항체, (c) 10 mg/kg 두필루맙 + 1 mg/kg 이소형 대조군 항체, 또는 (d) 1 mg/kg REGN3500 + 10 mg/kg 두필루맙으로 투여하였다. HDM-노출 마우스에 미치는 REGN3500 및 두필루맙 치료, 단독 또는 조합의 효과를 기도 염증의 하기 병리학적 마커에 대해 평가하였다:

[0325] - 총체적 병리(상대 폐 중량)

[0326] - 유형 1 염증 세포(호중구 마커 미엘로퍼옥시다제[MPO]의 폐 단백질 수준에 의해 정량화되는 호중구) 및 유형 2 염증 세포(유세포분석에 의해 정량화되는 총 및 활성화된 $[CD11c^{Hi}]$ 호산구, 및 $ST2^+ CD4^+ T$ 세포)에 의한 폐 조직 침윤

[0327] - 염증 사이토카인 폐 단백질 수준(면역검정법에 의해 정량화되는 인간 IL-4 및 마우스 IL-5, IL-6, IL-1 β , TNF α , IFN γ , GRO α , 및 MCP-1)

[0328] - 염증의 전신 마커, 혈청 아밀로이드 A[SAA] 단백질(면역검정법에 의해 정량화됨)의 순환형 수준.

[0329] 재료 및 방법

[0330] 시험 시스템

[0331] IL-33-, IL-4- 및 IL-4R α 엑토도메인-인간화 마우스

[0332] REGN3500 또는 두필루맙 중 어느 것도 마우스 IL-33 또는 마우스 IL-4R α 에 각각 결합하지 않는다. 따라서, REGN3500 및 두필루맙을 차례로 및 조합하여 시험하기 위해, 유전자 변형 마우스를 발생시켰으며, 이러한 마우스에서 마우스 IL-33, IL-4, 및 IL-4R α 의 엑토도메인을 상응하는 인간 서열($I14ra^{hu/hu} I14^{hu/hu} I133^{hu/hu}$)로 대체하였다. Regeneron Pharmaceuticals (문헌[Valenzuela, DM, *et al.* Nat Biotechnol.(2003), Jun;21(6):652-9, Poueymirou, WT, *et al.* Nat Biotechnol.(2007) Jan;25(1):91-9])에서 VelociGene® 기술을 사용하여 이전에 특징화된 IL-4/IL-4R α 엑토도메인-인간화 마우스 계통 $I14ra^{hu/hu} I14^{hu/hu}$ 를 이전에 특징화된 IL-33-인간화 계통 $I133^{hu/hu}$ 로 교차(crossing)시킴으로써, 이러한 삼중-인간화 마우스 계통을 발생시켰다.

[0333] 폐 염증 마우스 모델

[0334] 마우스 폐 염증 모델은 인간에서 실내 알레르기의 유의한 원인(문헌[Calderon, *et al.*, (2015), Respiratory allergy caused by house dust mites: What do we really know? J Allergy Clin Immunol. 2015 Jul;136(1):38-48])인 집먼지 진드기 알레르겐(문헌[Johnson, *et al.*; American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine; (2004) Feb 1;169(3):378-85])의 공급원 역할을 하는 HDM 추출물(예를 들어, 비강내(IN) 노출을 이용한다. HDM에의 만성 노출은 종종 폐 염증을 유도하며 이러한 염증은 유의한 폐 세포 침윤물, 사이토카인 발현, 및 리모델링을 초래하는 것으로 보고되어 있다. 특히, HDM에 만성적으로 노출된 마우스는 혼합 유형 1/유형 2 표현형의 폐 염증, 예컨대 유형 1 및 유형 2 염증 세포(각각 호중구 및 호산구)에 의한 조직 침윤, 증가된 혈청 IgE, 증가된 혈청 HDM-특이적 IgG1, 뿐만 아니라 IL-5 및 IL-13과 같은 유형 2 염증 사이토카인의 유도를 나타낸다(문헌[Johnson, *et al.*(2004), American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine; Feb 1;169(3):378-85; Johnson, *et al.*(2011). PloS ONE. Jan 20;6(1):e16175; Llop-Guevara, *et al.*,(2008), PloS ONE, Jun 11;3(6):e2426]).

[0335] 실험 디자인

[0336] 4-주 HDM 노출-유도 폐 염증 모델

[0337] 표 12에 가리켜진 유전형의 암컷 마우스를 1개 유전형 당 각각 2개 그룹으로 무작위로 나누었다. 식염수(20 μ L), 또는 20 μ L의 식염수 용액에 희석된 50 μ g HDM을 4주 동안 1주 당 3회 IN 투여하였다. 모든 마우스 계통은 혼합형 C57BL/6NTac / 129S6SvEvTac 백그라운드였다. 마지막 노출 후 4일째에 마우스를 안락사시키고, 폐를 수습하고, 호산구성 폐 침윤을 결정하였다.

표 12

표 12: 4-주 HDM 모델에 대한 실험 프로토콜

그룹	유전형	N	노출 시약	노출 기간(주)
A	야생형	3	20 μ L 식염수	4
B	야생형	5	50 μ g HDM	4
C	<i>Il33^{hu/hu}</i>	5	20 μ L 식염수	4
D	<i>Il33^{hu/hu}</i>	5	50 μ g HDM	4

E	<i>Il4ra^{hu/hu}</i>	5	20 μ L 식염수	4
F	<i>Il4ra^{hu/hu}</i>	5	50 μ g HDM	4
G	<i>Il4ra^{hu/hu} Il4^{hu/hu}</i>	5	20 μ L 식염수	4
H	<i>Il4ra^{hu/hu} Il4^{hu/hu}</i>	5	50 μ g HDM	4
I	<i>Il4ra^{hu/hu} Il4^{hu/hu} Il33^{hu/hu}</i>	4	20 μ L 식염수	4
J	<i>Il4ra^{hu/hu} Il4^{hu/hu} Il33^{hu/hu}</i>	5	50 μ g HDM	4

야생형 = C57BL/6NTac / 129S6SvEvTac

[0338]

[0339] 19-주 HDM 노출-유도 폐 염증 모델

[0340]

이 연구에 사용된 *Il4ra^{hu/hu}* *Il4^{hu/hu}* *Il33^{hu/hu}* 마우스는 혼합형 백그라운드 C57BL/6NTac(72%) / 129S6SvEvTac(28%)이었으며; 암컷 마우스를 7개의 별개의 그룹으로 무작위로 나누었다. 각각의 마우스 그룹에 대한 HDM 노출, 및 치료 또는 대조군 투약 프로토콜을 표 13에 제시한다. 식염수(20 μ L), 또는 20 μ L의 식염수 용액에 희석된 50 μ g HDM을 19주 동안 1주 당 3회 IN 투여하였다. 11주의 HDM 노출 후, *Il4ra^{hu/hu} Il4^{hu/hu} Il33^{hu/hu}* 마우스 대조군을 안락사시켜, 항체 치료 시작 시 질병 중증도를 평가하였다. 표 13에 가리켜진 바와 같이, 19-주 HDM-노출 마우스에게 항체 치료를 제공하지 않거나, 또는 12주째로부터 19주째까지의 HDM 노출에서 총 16회 항체 용량으로 2회-1주 피하(SC) 주사를 제공하였다. 간략하게는, 하기 항체를 11 mg/kg의 최종 단백질 용량: 11 mg/kg 이소형 대조군 항체(그룹 D), 1 mg/kg REGN3500 + 10 mg/kg 이소형 대조군 항체(그룹 E), 10 mg/kg 두필루맵 + 1 mg/kg 이소형 대조군 항체(그룹 F), 또는 1 mg/kg REGN3500 + 10 mg/kg 두필루맵(그룹 G)으로 투여하였다. 이 문헌의 목적을 위해, 이중 항체 치료군(D 내지 G)은 치료 항체(REGN3500 및/또는 두필루맵)에 의해서만 식별될 것이다. 연구 134일째에, 마지막 IN 노출 및 항체 주사 후 4일째에, 모든 마우스를 안락사시키고, 심장 천자를 통해 혈액을 수합하고, 분석을 위해 폐를 수합하였다.

표 13

표 13: 19-주 HDM 모델에 대한 실험 프로토콜

그룹	N	노출 시약	노출 기간(주)	항체 투여	항체 용량(mg/kg)
A	5	20 μ L 식염수	19	없음	없음
B	9	50 μ g HDM	11	없음	없음
C	9	50 μ g HDM	19	없음	없음
D	9	50 μ g HDM	19	IgG4 ^P 대조군	11
E	7	50 μ g HDM	19	REGN3500 + IgG4 ^P 대조군	1 + 10
F	8	50 μ g HDM	19	두필루맵 + IgG4 ^P 대조군	10 + 1
G	8	50 μ g HDM	19	REGN3500 + 두필루맵	1 + 10

IgG4^P 대조군 = 이소형-매칭 대조군 항체, REGN1945.

[0341]

[0342]

마우스 관리

[0343]

각각의 실험의 전체 기간 동안, 동물을 표준 조건 하에 Regeneron 동물 시설에서 사육된 채로 놔두었고, 연구에 참여시키기 전에 적어도 7일 동안 적응되도록 하였다. 모든 동물 실험을 Regeneron에서 동물 관리 및 사용 위원회에 대한 가이드라인에 따라 수행하였다.

[0344]

구체적인 절차

[0345]

상대 폐 중량 측정

[0346]

안락사를 시키기 전에, 종결(terminal) 체중 측정을 기록하였다. 채혈 후, 각각의 마우스로부터의 좌측 폐를 제거하고, 4% 파라포름알데하이드 용액을 함유하는 튜브에 넣었다. 각각의 마우스에 대한 좌측 폐의 습식 중량을 Mettler Toledo New Classic MS 스케일(scale) 상에서 기록하였다. 상대 폐 중량을 결정하기 위해, 폐 습식 중량을 체중으로 나눔으로써 체중(g)에 대한 폐 습식 중량(mg)의 비를 계산하였다.

[0347]

세포성 폐 침윤물의 분석

[0348]

채혈 후, 각각의 마우스로부터의 우측 폐의 꼬리엽을 제거하고, Hank's Balanced Salt Solution(HBSS)에서 희석된 20 μ g/mL DNase I 및 0.7 U/mL Liberase TH의 용액을 함유하는 튜브에 넣었으며, 대략 2 내지 3 mm 크기의 조각으로 절단하였다. 그 후에, 잘게 조각된 폐엽을 함유하는 튜브를 37°C 수조에서 20분 동안 인큐베이션하였다. 10 mM의 최종 농도에서 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA)을 첨가함으로써, 반응을 중단시켰다. 그 후에, 시료를 gentleMACS C 튜브로 옮겼다. 그 후에, 2 mL의 autoMACS 완충제를 첨가하고, 후속해서 시료를 gentleMACS™ dissociator(Miltenyi Biotec)를 사용하여 해리시켜 단일 세포 현탁액을 형성하였다. 그 후에, 상기 튜브를 원심분리하고, 생성된 펠렛을 4 mL의 1x 적혈구 용해 완충제에 재현탁시켜 적혈구를 용해시켰다. 실온에서 3분 동안 인큐베이션한 후, 2.5배 부피의 1x DPBS를 첨가하여 적혈구 용해 완충제를 비활성화시켰다. 그 후에, 세포 현탁액을 원심분리하고, 생성된 세포 펠렛을 1 mL의 DPBS에 재현탁시켰다. 재현탁된 시료를 각각 50 μ m 컵-유형 필터(filcon)를 통해 여과하고, 2 mL 딥(deep) 웰 플레이트로 옮겼다. 상기 플레이트를 400 x g에서 4분 동안 원심분리하고, 각각의 시료를 1 mL DPBS에 재현탁시켰다. 1개 웰 당 대략 1.5×10^6 개 세포를 96-웰 U-바닥 플레이트에 평판배양하였다. 그 후에, 세포를 원심분리하고, 세포 펠렛을 1X DPBS에서 1:500으로 희석된 100 μ L의 LIVE/DEAD Fixable Blue Dead Cell Stain에 재현탁시켜 세포 생존력을 결정하였다. 세포를 빛으로부터 보호하면서 실온에서 15분 동안 생존력 염료와 함께 인큐베이션하였다. 1X DPBS에서 1회 세척 후, 세포를 50 μ L의 autoMACS 완충제에 1:50으로 희석된 정제된 래트 항-마우스 CD16/CD32 Fc Block과 함께 4°C에서 15분 동안 인큐베이션하였다. 그 후에, 세포를 Brilliant Stain 완충제에서 희석된 적절한 2x 항체 혼합물(표 14에 기재됨)에서 빛으로부터 보호하면서 4°C에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 항체 인큐베이션 후, 세포를 autoMACS 완충제에서 2회 세척하고, 1X DPBS에서 1:4로 희석된 BD CytoFix에 재현탁시키고, 그 후에 빛으로부터 보호하면서 4°C에서 15분 동안 인큐베이션하였다. 후속해서, 세포를 세척하고, autoMACS 완충제에 재현탁

시켰다. 그 후에, 세포 현탁액을 AcroPrep Advance 96 Filter Plate 30-40 μm 를 통해 새로운 U-바닥 플레이트 내로 여과하였다. HTS 부착(BD Biosciences)을 사용하는 LSR Fortessa X-20 세포 분석기 상에서 시료 데이터를 획득하였다. FlowJo X Software(Tree Star, OR)를 사용하여 데이터 분석을 수행하고, GraphPad Prism™ (GraphPad Software, CA)을 사용하여 통계학적 분석을 수행하였다.

[0349] 호산구(총 및 활성화된)에 대한 게이팅 전략

[0350] 호산구를 온전한, 단일, 살아 있는 세포(낮은 LIVE/DEAD 생존력 염료 신호), CD45^+ , F4/80^+ , Ly6G^- , SiglecF^+ 로서 정의하였다. 호산구에 대한 데이터를 살아 있는 세포의 빈도로서 표현하였다. 호산구 집단 내에서, 활성화된 호산구를 온전한, 단일, 살아 있는 CD45^+ , F4/80^+ , Ly6G^- , SiglecF^+ , CD11c^{Hi} 로서 정의하고, 총 호산구의 빈도로서 표현하였다.

[0351] ST2^+ CD4^+ T 세포에 대한 게이팅 전략

[0352] ST2^+ CD4^+ T 세포를 온전한, 단일, 살아 있는 CD45^+ , CD3^+ , CD19^- , CD4^+ , CD8^- , ST2^+ 로서 정의하였다. ST2^+ CD4^+ T 세포에 대한 데이터를 CD4^+ T 세포(온전한, 단일, 살아 있는 CD45^+ , CD3^+ , CD19^- , CD4^+ , CD8^-)의 빈도로서 표현하였다.

표 14

표 14: 유세포분석에 사용되는 항체

항체	형광 색소	제조업체	카탈로그 번호	로트 번호	최종 희석율
혼합물 1: 총 호산구 및 활성화된 호산구					
CD45	Alexa Fluor 700	BioLegend	103128	B191240/ B211311	1/200
Siglec-F	BV421	BD	562681	4234913/ 6007723	1/200
F4/80	PE	BD	565410	5168713/ 5257914	1/500
Ly6G	BUV395	BD	563978	5156800/ 7103737	1/200
CD11c	PerCP-Cy5.5	BD	560584	5148566/7074758	1/200
혼합물 2: ST2^+ CD4^+ T 세포					
CD45	Alexa Fluor 700	BioLegend	103128	B211311	1/200
CD19	BUV737	BD	564296	6315651	1/200
ST2	PerCP-eFluor710	eBioscience	H6-9335-82	E17254-105	1/200
CD3	PE-Cy7	BD	552774	7074769	1/200
CD8	BUV395	BD	563786	6245983	1/200
CD4	BV786	BD	563331	7075503	1/200

[0354] 폐 단백질 수준의 결정

[0355] 채혈 후, 각각의 마우스로부터의 우측 폐의 앞엽 및 중간엽을 제거하고, 칭량하고, 프로테아제 저해제 칩테일이 보충된 조직 단백질 추출 시약(T-PER)의 용액을 함유하는 튜브에 넣었다. T-PER 부피에 대한 폐 조직 중량의 비율을 최종 1:8(w/v)로 달성하기 위해, 8 μL 의 T-PER 용액(프로테아제 저해제 칩테일 함유)을 조직 1 mg 당 첨가하였다. 폐 시료를 TissueLyser II를 사용하여 기계적으로 균질화하였다. 생성된 용해물을 펠렛 찌꺼기로 원심분리하였다. 가용성 단백질 추출물을 함유하는 상층액을 신선한 튜브로 옮기고, 추가 분석 시까지 4°C에 보관하였다. 사이토카인 및 MPO 농도를, 검사된 1개 엽 당 단백질의 총 양(각각 ng/폐엽 및 μg /폐엽)으로서 표현하였다.

[0356] 사이토카인 멀티플렉스 면역검정법

[0357] 멀티플렉스 면역검정법 키트(Custom 마우스 10-Plex, MSD)를 제조업체의 설명서에 따라 사용하여 폐 단백질 추출물 내 마우스 사이토카인(IL-5, IL-13, IL-6, IL-1 β , IL-12p70, TNF α , IFN γ , GRO α 및 MCP-1) 농도를 측정하였다. 간략하게는, 폐 균질물 시료를 희석시키고, 포착 항체로 사전-코팅된 플레이트 상에서 인큐베이션하였다. 제조업체에 의해 제공된 캘리브레이터 단백질을 표준으로서 사용하였다. 판독 완충제와 함께 인큐베이션된 태깅된 검출 항체에 의해 균질물 내 사이토카인을 검출하였다. 전기화학발광을 MSD Sceptor® 장비 상에서

즉시 판독하였다. 데이터 분석을 GraphPad Prism 소프트웨어를 사용하여 수행하였다. 각각의 검정법의 선형 범위 내에서 표준의 최저 농도를 각각의 사이토카인에 대한 검정법의 정량화 하한(LLOQ)으로서 정의하였다. 시험된 개별 사이토카인에 대한 LLOQ 값은 하기와 같았다: IFN γ = 0.2 pg/mL, IL-1 β = 1.6 pg/mL, IL-5 = 0.2 pg/mL, IL-6 = 1.4 pg/mL, IL-12p70 = 125.8 pg/mL, IL-13 = 24.4 pg/mL, GRO α : 0.5 pg/mL, MCP-1 = 9.8 pg/mL, TNF α = 2.4 pg/mL.

[0358] **인간 IL-4 ELISA**

[0359] 폐 단백질 추출물 내 인간 IL-4 농도를 샌드위치 ELISA 키트를 제조업체(인간 IL-4 Quantikine ELISA, R&D Systems)의 설명서에 따라 사용하여 측정하였다. 간략하게는, 폐 균질물을 희석시키고, 항-인간 IL-4 포착 항체로 사전-코팅된 96-웰 플레이트 상에서 인큐베이션하였다. 정제된 인간 IL-4를 표준으로서 사용하였다. 포착된 인간 IL-4를 HRP-공액 항-인간 IL-4 검출 항체를 사용하여 검출하였다. HRP 활성을 크로마젠 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(TMB)을 사용하여 검출하였다. 그 후에, 정지 용액을 첨가하고, 450 nm에서의 광학 밀도(OD₄₅₀)를 Molecular Devices SpectraMax M5 플레이트 판독기 상에서 측정하였다. 데이터 분석을 GraphPad Prism 소프트웨어를 사용하여 수행하였다. 검정법의 선형 범위 내에서 표준의 최저 농도를 검정법의 LLOQ = 31.25 pg/mL로서 정의하였다.

[0360] **MPO ELISA**

[0361] 폐 단백질 추출물 내 MPO 농도를 샌드위치 ELISA 키트를 제조업체(마우스 MPO ELISA 키트, Hycult Biotech)의 설명서에 따라 사용하여 측정하였다. 간략하게는, 폐 균질물을 희석시키고, 항-MPO 포착 항체로 사전-코팅된 96-웰 플레이트 상에서 인큐베이션하였다. 정제된 마우스 MPO를 표준으로서 사용하였다. 포착된 MPO를 비오틴화된 항-마우스 MPO 검출 항체를 사용하여 검출하였다. 비오틴화된 항-마우스 MPO를 정제된 HRP-공액 스트렙타비딘을 사용하여 검출하였다. HRP 활성을 크로마젠 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(TMB)을 사용하여 검출하였다. 그 후에, 정지 용액을 첨가하고, 450 nm에서의 광학 밀도(OD₄₅₀)를 Molecular Devices SpectraMax M5 플레이트 판독기 상에서 측정하였다. 데이터 분석을 GraphPad Prism 소프트웨어를 사용하여 수행하였다. 검정법의 선형 범위 내에서 표준의 최저 농도를 검정법의 LLOQ = 156.3 ng/mL로서 정의하였다.

[0362] **혈청 수합**

[0363] 연구 종료 시 전혈을 심장 천자에 의해 Microtainer 튜브 내로 수합하였다. 혈액을 실온에서 적어도 30분 동안 동요되지 않게 놔둠으로써 상기 혈액을 응고되게 하였다. 응고된 혈액 및 세포를 4℃에서 18,000 x g에서 10분 동안 원심분리함으로써 펠렛화하였다. 혈청으로 지정된 생성된 상층액을 깨끗한 폴리프로필렌 플레이트 내로 옮기고, 하기 기재된 바와 같이 순환형 항체 수준을 결정하는 데 사용하였다.

[0364] **ELISA에 의한 혈청 내 SAA 수준의 결정**

[0365] 각각의 마우스에 대한 혈청 시료 내 총 SAA 농도를 상업적인 면역검정법(Quantikine ELISA, R&D Systems)을 제조업체의 설명서에 따라 사용하여 결정하였다. 간략하게는, 혈청 시료를 희석시키고, 모노클론 항-마우스 SAA 포착 항체로 사전-코팅된 96-웰 플레이트 상에서 인큐베이션하였다. 제조합 마우스 SAA를 표준으로서 사용하였다. HRP-공액 폴리클로날 항-마우스 SAA 검출 항체를 사용하여, 포착된 SAA를 검출하였다. 비색(colorimetric) HRP 기질 TMB를 사용하여 HRP 활성을 검출하였다. 그 후에, 희석된 염산의 정지 용액을 첨가하고, OD₄₅₀을 Molecular Devices SpectraMax M5 플레이트 판독기 상에서 측정하였다. 각각의 시료에 대한 혈청 내 순환형 SAA의 농도를 ng/mL로서 결정하고, μ g/mL로서 도시하였다. 데이터 분석을 GraphPad Prism 소프트웨어를 사용하여 수행하였다. 검정법의 선형 범위 내에서 표준의 최저 농도를 검정법의 LLOQ = 31.2 ng/mL로서 정의하였다.

[0366] **ELISA에 의한 혈청 IgE 수준의 결정**

[0367] 각각의 마우스에 대한 혈청 시료 내 총 IgE 농도를 비색 샌드위치 ELISA OPTEDIA 키트를 제조업체의 설명서에 따라 사용하여 결정하였다. 간략하게는, 혈청 시료를 희석시키고, 항-IgE 포착 항체로 사전-코팅된 96-웰 플레이트 상에서 인큐베이션하였다. 정제된 마우스 IgE를 표준으로서 사용하였다. 포착된 IgE를 비오틴화된 항-마우스 IgE 검출 항체를 사용하여 검출하였다. 정제된 HRP-공액 스트렙타비딘을 사용하여, 비오틴화된 항-마우스 IgE를 검출하였다. TMB를 사용하여 HRP 활성을 검출하였다. 그 후에, 2 N 황산의 정지 용액을 첨가하고, OD₄₅₀을 Molecular Devices SpectraMax M5 플레이트 판독기 상에서 측정하였다. 각각의 시료에 대한 혈청 내 순환형 IgE의 농도를 μ g/mL로서 결정하였다. 데이터 분석을 GraphPad Prism 소프트웨어를 사용하여 수행하였다. 검

정법의 선형 범위 내에서 표준의 최저 농도를 검정법의 LLOQ = 78.15 ng/mL로서 정의하였다.

[0368] **ELISA에 의한 혈청 HDM-특이적 IgG1 수준의 결정**

[0369] 혈청 시료 내 HDM-특이적 IgG1의 수준을 결정하기 위해 비색 ELISA 검정법을 발달시켰다. 플레이트를 포스페이 트 완충 식염수(PBS) 중 4 µg/mL의 농도로 HDM으로 4℃에서 밤새 코팅시키고, 세척하고, PBS 중 0.5% BSA의 용 액으로 실온에서 1시간 동안 차단시키고, 단계 희석된 마우스 혈청 시료와 함께 인큐베이션하였다. 실온에서 1 시간 후, 플레이트를 세척하고, 래트 항-마우스 IgG1 HRP-공액 항체와 함께 실온에서 1시간 동안 인큐베이션함 으로써 상기 플레이트 상으로 포착된 IgG1 항체를 검출하였다. TMB를 사용하여 HRP 활성을 검출하였다. 그 후 에, 2 N 황산의 정지 용액을 첨가하고, OD₄₅₀을 Molecular Devices SpectraMax M5 플레이트 판독기 상에서 측정 하였다. 혈청 내 IgG1의 상대 수준을 역가 단위로서 표시하였다. 측정된 OD₄₅₀에 백그라운드 OD₄₅₀보다 2배 더 큰 OD₄₅₀ 판독을 달성하는 데 필요한 희석 인자를 곱함으로써, 역가 단위를 계산하였다. 데이터 분석을 GraphPad Prism 소프트웨어를 사용하여 수행하였다. 검정법에서 사용된 최저 희석 인자를 검정법의 LLOQ = 100 으로서 정의하였다.

[0370] **ELISA에 의한 인간 표적-특이적 IgG4 항체 수준의 결정**

[0371] 인간 IgG4 항체를 검출하기 위해 발달된 비색 샌드위치 ELISA를 사용하여 각각의 마우스에 대한 혈청 시료 내 인간 항체(REGN3500, 두필루맵, 또는 IgG4^P 이소형 대조군)의 농도를 결정하였다. 마이크로타이터 웰을 측정되 는 인간 항체에 특이적인 항원, 즉, REGN3500을 포착하기 위해 인간 IL-33(REGN3931), REGN668을 포착하기 위 해 인간 IL-4Rα(REGN560), REGN1945를 포착하기 위해 Natural Fel d 1로 PBS 중 2 µg/mL의 농도에서 4℃에서 밤새 코팅시켰다. 웰을 DPBS 중 0.05% Tween 20으로 4회 세척하고, DPBS 중 5% BSA 용액으로 실온에서 3시간 동안 차단시키고, 단계 희석된 마우스 혈청 시료 또는 단계 희석된 보정 표준과 함께 인큐베이션하였다. 정제 된 항체(REGN3500, REGN668, 및 IgG4^P 대조군 항체)를 혈청 내 각각의 항체 농도의 보정 및 정량화를 위한 표준 으로서 사용하였다. 실온에서 1시간 후, 플레이트를 7회 세척하고, 상기 플레이트 상으로 포착된 인간 IgG4를 비오틴화된 마우스 항-인간 IgG4-특이적 모노클론 항체를 사용하여 검출하고, 뒤이어 Poly HRP와 함께 인큐베이 션한 후, 스트렙타비딘을 공액시켰다. TMB 기질을 제조업체의 설명서에 따라 사용하여 HRP 활성을 검출하였다. 10분 후, Molecular Devices SpectraMax 멀티모드 플레이트 판독기를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였 다. 보정에 사용된 표준(REGN3500, REGN668, 또는 IgG4^P 대조군 항체)의 최저 농도(0.002 µg/mL)를 이러한 검 정법의 LLOQ로서 정의하였다. 데이터 분석을 GraphPad PrismTM(GraphPad Software, CA)을 사용하여 수행하였다. 각각의 시료에 대한 혈청 내 인간 항체의 농도를 µg/mL로서 표현하였다.

[0372] **통계학적 분석**

[0373] 통계학적 분석을 GraphPad Prism 버전 7.0(GraphPad Software, CA)을 사용하여 수행하였다.

[0374] **4-주 HDM 노출 모델에서 IL-33-, IL-4-, 및 IL-4Rα-인간화 마우스의 특징화로부터의 데이터의 통계학적 분석**

[0375] 2-원 변량 분석(two-way analysis of variance)(ANOVA), 뒤이어 다중 비교를 위한 터키 사후 검정에 의해 결과 를 해석하였다. p≤0.05일 때 차이는 통계학적으로 유의한 것으로 간주되었다.

[0376] **19-주 HDM 노출-유도 폐 염증 모델에서 REGN3500/두필루맵 치료로부터의 데이터의 통계학적 분석**

[0377] 데이터의 정규성을 샤피로-윌크 검정(Shapiro-Wilk test)을 사용하여 평가하였다. 데이터가 정규성 검정을 통 과하고 상이한 그룹의 표준 편차가 브라운-포시드 검정(Brown-Forsythe test)에 의해 평가된 바와 같이 서로 통 계학적으로 상이하지 않다면, 1-원 ANOVA, 뒤이어 다중 비교를 위한 터키 사후 검정에 의해 결과를 해석하였다. 데이터가 정규성 검정을 통과하는 데 실패하거나 표준 편차가 유의하게 상이하다면, 크루스칼-왈리스 검정, 뒤 이어 다중 비교를 위한 던 사후 검정을 사용하여 결과를 해석하였다. p≤0.05일 때 차이는 통계학적으로 유의 한 것으로 간주되었다.

[0378] **결과**

[0379] **IL-33-, IL-4-, 및 IL-4Rα 엑토도메인-인간화 마우스의 특징화**

[0380] 야생형, *I133*^{hu/hu}- 및 *I14ra*^{hu/hu}-단일 인간화, *I14ra*^{hu/hu} *I14*^{hu/hu}-이중 인간화, 및 *I14ra*^{hu/hu} *I14*^{hu/hu} *I133*^{hu/hu}-삼중 인간화 마우스를 4주 동안 1주에 3회 식염수 또는 HDM에 IN 노출시켰다. 마지막 노출 후 4일째에 마우스를 안

락사시키고, 폐를 수합하여, 높은 CD11c 발현에 의해 식별된 활성화된 호산구에 의한 폐 침윤을 평가하였다. 개별 마우스 데이터 및 통계학적 분석을 도 2에 제공한다. 삼중-인간화 $I14ra^{hu/hu}$ $I14^{hu/hu}$ $I133^{hu/hu}$ 마우스는 4 주간의 HDM 노출 후 폐 조직에서 활성화된 호산구의 빈도의 유의한 증가에 의해 가려져진 바와 같이, 야생형 마우스와 유사하게 HDM에 대해 강력한 반응을 보여주었다. $I14ra^{hu/hu}$ $I14^{hu/hu}$ $I133^{hu/hu}$ 및 야생형 마우스는 또한, HDM 노출의 부재(식염수-노출 대조군 마우스) 시 폐 조직에서 활성화된 호산구의 유사한 빈도를 보여주었다. HDM-노출 야생형 마우스를, $I14ra^{hu/hu}$ 단일 인간화 마우스를 제외한 임의의 시험된 인간화 마우스 계통으로부터의 HDM-노출 마우스와 비교할 때, 통계학적으로 유의한 차이가 관찰되지 않았다. $I14ra^{hu/hu}$ 마우스에서 활성화된 호산구성 폐 침윤의 백분율에서 통계학적으로 유의한 HDM 노출-유도 증가의 결여는, 마우스 IL-4가 인간 IL-4R α 수용체를 통해 신호전달하지 않는다는 사실로 인한 것일 가능성이 있다. 한편, 인간 IL-33은 무린 수용체 복합체(REGN3500-MX-16069)를 통해 신호전달하는 것으로 보인다. 추가로, 식염수-노출 야생형 마우스를 임의의 시험된 인간화 마우스 계통으로부터의 식염수-노출 마우스와 비교할 때 통계학적으로 유의한 차이가 관찰되지 않았다. 이들 발견은 HDM-노출-유도 폐 염증의 마우스 모델로서 사용하기 위한 $I14ra^{hu/hu}$ $I14^{hu/hu}$ $I133^{hu/hu}$ 마우스 계통을 입증한다.

[0381] 19-주 HDM-노출 마우스에서 REGN3500 및 두필루맵 치료의 효과

[0382] $I14ra^{hu/hu}$ $I14^{hu/hu}$ $I133^{hu/hu}$ 마우스를 11주 또는 19주 동안 1주에 3회 식염수 또는 HDM에 IN 노출시켰다. 19-주 HDM-노출 마우스의 4개 그룹은 12주째로부터 19주째까지 항체의 SC 주사를 2회-1주 제공받았으며; 모든 다른 그룹은 어떠한 치료도 제공받지 못하였다(없음, 밝은 회색 상자). 항체를 하기와 같이 11 mg/kg의 최종 단백질 용량: 11 mg/kg 이소형 대조군 항체, 1 mg/kg REGN3500 + 10 mg/kg 이소형 대조군 항체, 10 mg/kg 두필루맵 + 1 mg/kg 이소형 대조군 항체, 또는 1 mg/kg REGN3500 + 10 mg/kg 두필루맵으로 단독으로 또는 조합하여 투여하였다. 11주간의 노출 후 마우스의 1개 코호트를 안락사시켜, 항체 치료 시작 시 염증 프로파일을 결정하였다(11-주 노출 그룹). 다른 4개 코호트를 마지막 노출 및 항체 주사 후 4일째인 134일째(19-주 노출 그룹)에 안락사시켰다. 혈청 단리를 위해 전혈을 심장 천자에 의해 수합하고, 추가 분석을 위해 폐를 수합하였다. 다르게 유지되지 않는 한, 모든 그룹은 동일한 계통($I14ra^{hu/hu}$ $I14^{hu/hu}$ $I133^{hu/hu}$)의 마우스를 포함시켰다.

[0383] 총 폐 병리의 분석

[0384] 상대 폐 중량은 도 3에서 식염수-노출 대조군 마우스와 비교된 19-주 HDM-노출 마우스에서 유의하게 증가되었다. 이러한 증가는, 증가된 세포성 침윤, 콜라겐 침착, 근육 비대 및 점액 생성으로 인한 가능성이 있다. HDM-노출 마우스에서, REGN3500과 두필루맵의 조합 투여는 이소형 대조군 항체가 투여된 마우스와 비교하여 상대 폐 중량에서 HDM 노출-유도 증가를 유의하게 차단하였다(도 3). 감소된 상대 폐 중량을 향한 경향은 또한, REGN3500 단독이 투여된 HDM-노출 마우스에서도 관찰되었다.

[0385] 폐 세포 침윤물의 분석

[0386] 마지막 항체 주사 후 4일째에, 마우스 폐를 수합하고, 호산구의 유세포분석을 위해 우측 폐의 꼬리엽을 단일 세포 현탁액으로 해리시켰다. 호산구를 온전한, 단일, 살아 있는 CD45⁺, F4/80⁺, Ly6G⁺, SiglecF⁺로서 정의하고, 활성화된 호산구를 CD11c^{hi}로서 추가로 정의하였다. 활성화된 호산구에 의한 폐 침윤을 (A) 내 총 폐 호산구의 빈도(%)로서 보고하고, 전체 폐 호산구성 침윤을 살아 있는(온전한, 단일, 살아 있는) 세포 내 총 폐 호산구의 빈도(%)로서 보고하였다. 식염수-노출 대조군 마우스와 비교하여, 19주 동안 HDM에의 노출은 총 폐 호산구 및 활성화된 폐 호산구(도 4a 및 4b) 및 폐 ST2⁺ CD4⁺ T 세포(ST2⁺ CD4⁺ T 세포는 온전한, 단일, 살아 있는 CD45⁺, CD3⁺, CD19⁻, CD4⁺, CD8⁻, ST2⁺로서 정의되었고 CD4⁺ T 세포의 빈도로서 보고됨)(도 5)의 검출을 위한 유세포분석에 의해, 또는 호중구에 대한 마커로서 폐 MPO 단백질 수준(MPO 단백질 수준은 효소-연결 면역흡착 검정법에 의해 측정되었다. 폐 MPO 단백질 수준은 1개 폐엽 당 MPO 단백질 양(μ g)으로서 표현됨)(도 6)의 검출을 위한 면역검정법에 의해 평가된 바와 같이 세포성 폐 침윤을 유의하게 증가시켰다.

[0387] 항체 단독이 아니라 19-주 HDM-노출 마우스에서 REGN3500과 두필루맵의 조합 투여는 이소형 대조군 항체의 투여와 비교하여 활성화된 호산구에 의한 폐 침윤의 수준을 유의하게 감소시켰다. 주목할 만하게는, REGN3500과 두필루맵이 조합되어 투여된 마우스에서 활성화된 호산구에 의한 폐 침윤의 수준은 또한, 도 4a의 치료 시작에 상응하는 11-주 HDM 노출-유도 수준과 비교하여 유의하게 감소되었다. 항체 단독의 투여가 유의한 효과를 초래하

지 않은 한편, 활성화된 호산구에 의한 감소된 폐 침윤을 향한 경향은 두필루맵-투여 마우스에서 관찰되었다. REGN3500과 두필루맵을 조합하여 투여한 HDM-노출 마우스는 또한, 총 호산구에 의한 HDM-유도 폐 침윤에서 감소를 향한 경향을 보여주었다(도 4b).

[0388] REGN3500을 단독으로 또는 두필루맵과 조합하여 투여한 19-주 HDM-노출 마우스에서, $ST2^+ CD4^+$ T 세포에 의한 폐 침윤의 수준은 이소형 대조군-투여 마우스에서의 수준과 비교하고 치료 시작 시 11-주 HDM 노출-유도 수준과 비교하여 유의하게 감소되었다(도 5). 침윤의 유사한 차단(1.02배 내에서의 평균 빈도)은 REGN3500 단독 및 두필루맵과의 조합에서 관찰되었으며, 이는, 이러한 병리가 주로 IL-33에 의해 이끌어짐을 가리킨다.

[0389] 호산구성 침윤과 유사하게, REGN3500과 두필루맵의 조합 투여는 호중구성 폐 침윤을 차단하는 데 있어서 항체 단독보다 강한 효과를 보여주었다. 호중구성 침윤의 마커인 미엘로퍼옥시다제(MPO)의 폐 단백질 수준에서 HDM 노출-유도 증가는 이소형 대조군과 비교하여 REGN3500과 두필루맵의 조합 투여에 의해 유의하게 차단되었다(도 6). 항체 단독의 투여는 유의한 효과를 초래하지 않은 한편, 감소된 폐 MPO 단백질 수준을 향한 경향은 REGN3500-투여 마우스에서 관찰되었다.

[0390] 폐 조직 사이토카인 수준 분석

[0391] 폐 단백질 수준(총 단백질/엽)에 미치는 HDM 노출 및 항체 치료의 효과를 마우스 사이토카인 IL-5, IL-13, IL-6, IL-1 β , IL-12p70, TNF α , IFN γ , GRO α , 및 MCP-1, 및 인간 사이토카인 hIL-4에 대해 평가하였다.

[0392] 폐(우측 폐의 앞엽 및 중간엽)를 수합하고, 지시된 마우스 사이토카인의 단백질 수준을 다항목 면역검정법에 의해 측정하였다. 인간 IL-4 단백질 수준(hIL-4)을 상업적으로 입수 가능한 ELISA 키트를 사용하여 검출하였다. IL-5(도 7a) 및 IL-6(도 7b) 단백질 수준을 다항목 면역검정법에 의해 측정하였다. 폐 조직 사이토카인 단백질 수준을 1개 폐엽 당 단백질 양(pg)으로서 계산하였다. 폴스-컬러드 히트 맵(false-colored heat map)(본원에 제시되지 않음)을 발생시켜, 상대 사이토카인을 밝은 황색으로부터 어두운 청색 범위로 나타내었다. 각각의 별개의 사이토카인에 대한 최저 및 최고 기록된 평균 폐 단백질 수준을 각각 0%(밝은 황색) 및 100%(어두운 청색)로서 정의함으로써, 상대 폐 사이토카인 수준의 스케일을 만들었다. 상대 폐 사이토카인 단백질 수준(%)을 히트 맵에서 숫자 및 색상에 의해 표시하였다. 통계학적 유의성을 던 다중 비교 사후 검정과 함께 크루스칼-왈리스 1-원 ANOVA에 의해 결정하였다.

[0393] IL-12p70에 대한 결과는 모든 그룹에 대해 정량화 하한보다 낮았으며, 따라서 본원에서 보고되지 않는다.

[0394] 8개의 사이토카인(hIL-4, IL-5, IL-6, IL-13, IL-1 β , TNF α , GRO α , 및 MCP-1)은 식염수-노출 대조군 마우스와 비교하여 19-주 HDM 노출에 대한 반응에서 폐 단백질 수준의 유의한 증가를 보여주었다. IFN γ 만 식염수-노출 대조군 마우스와 비교하여 19-주 HDM 노출에 대한 반응에서 폐 단백질 수준에서 유의한 증가를 보여주지 않았으며, IFN γ 수준은 이소형 대조군 항체가 투여된 19-주 HDM-노출 마우스와 비교하여 치료 항체 투여에 의해 영향을 받지 않았다. 5개 사이토카인(hIL-4, IL-6, TNF α , GRO α , 및 MCP-1)의 폐 단백질 수준에서 HDM 노출-유도 증가는 이소형 대조군 항체-투여 마우스와 비교하여 REGN3500과 두필루맵의 조합 투여에 의해 유의하게 차단되었으나, 항체 단독의 투여에 의해서는 그렇지 않았다.

[0395] 또 다른 2개 HDM 노출-반응성 사이토카인(IL-5 및 IL-1 β)은 이소형 대조군 항체-투여 마우스와 비교하여 조합된 REGN3500과 두필루맵 치료에 의한 차단을 향한 경향을 보여주었으며, 이때 폐 단백질 수준은 83% 및 78% 감소되었다(도 7a 및 7b). 개별 항체의 투여는 IL-5 및 IL-1 β 수준의 감소에서 덜 두드러진 경향을 초래하였다.

[0396] 염증의 전신 마커인 SAA의 분석

[0397] 마지막 노출 및 항체 주사 후 4일째에, 전혈을 심장 천자에 의해 수합하고, 혈청을 분리하였다. 순환형 SAA 단백질 수준을 상업적으로 입수 가능한 ELISA 키트를 사용하여 측정하였다. 순환형 SAA 단백질 수준을 혈청 1 mL 당 SAA 단백질 양(μ g)으로서 표현한다. 염증 SAA의 전신 마커의 순환형 단백질 수준은 식염수-노출 대조군 마우스와 비교하여 19-주 HDM-노출 마우스에서 유의하게 증가되었다(도 8).

[0398] 순환형 SAA 수준에서 HDM 노출-유도 증가는 REGN3500을 단독으로 또는 두필루맵과 조합하여 투여한 마우스에서 유의하게 감소된 한편(도 8), 감소된 순환형 SAA 수준을 향한 경향은 두필루맵 단독이 투여된 마우스에서 관찰되었다.

[0399] HDM 노출 후, 체액성 알레르기 반응의 정량화

[0400] 마지막 노출 및 항체 주사 후 4일째에, 전혈을 심장 천자에 의해 수합하고, 혈청을 분리하였다. 순환형 IgE 단

백질 수준을 상업적으로 입수 가능한 ELISA 키트를 사용하여 측정하였다. 순환형 IgE 단백질 수준을 혈청 1 mL 당 IgE 단백질 양(μg)으로서 표현한다.

[0401] 체액성 알레르기 반응은 연구 종료 시(134일째), 순환형 IgE(도 9) 및 HDM-특이적 IgG1(표 15)의 수준에 의해 평가된 바와 같이 HDM-노출에 의해 유도되었다.

[0402] IgE의 순환형 단백질 수준은 식염수-노출 대조군 마우스와 비교하여 19-주 HDM-노출 마우스에서 유의하게 증가되었다(도 9). 순환형 HDM-특이적 IgG1에 대한 평균 역가는 식염수-노출 대조군 마우스에서 $1.14\text{E}+02$ 로부터 19 주 동안 HDM에 노출된 마우스에서 $1.37\text{E}+06$ 내지 $2.43\text{E}+06$ 범위의 수준까지 증가되었다(표 15). REGN3500, 두 필루맵, 또는 병용 치료의 통계학적으로 유의한 효과는 이들 종점 중 어디에서도 관찰되지 않았으나, 감소된 혈청 IgE 수준을 향한 경향은 REGN3500과 두 필루맵의 조합을 투여한 마우스에서 관찰되었다.

표 15

표 15: HDM-특이적 IgG1의 혈청 농도의 요약

혈청 내 HDM-특이적 IgG1(역가)	식염수 19 주	HDM 11 주	HDM 19 주				
			항체 없음	IgG4 ^P	REGN3500 + IgG4 ^P	두 필루맵 + IgG4 ^P	REGN3500 + 두 필루맵
평균	$1.14\text{E}+02$	$2.19\text{E}+06$	$2.43\text{E}+06$	$2.14\text{E}+06$	$1.47\text{E}+06$	$1.37\text{E}+06$	$1.21\text{E}+06$
SD	$6.15\text{E}+01$	$1.07\text{E}+06$	$9.81\text{E}+05$	$5.60\text{E}+05$	$1.17\text{E}+06$	$5.79\text{E}+05$	$5.29\text{E}+05$

[0403]

[0404] 인간 항체의 혈청 농도의 정량화

[0405] 인간 IgG4^P 항체(IgG4^P 이소형 대조군, REGN3500 및 두 필루맵)의 혈청 농도를 마지막 항체 투여 후 4일째인 연구의 종료 시(134일째), 표적-특이적 항-인간 IgG4 ELISA에 의해 결정하였다. 인간 IgG4 항체의 평균 농도를 표 16에 요약한다.

표 16

표 16: 연구 종료 시 인간 항체 혈청 수준

	혈청 항체 수준, 평균 $\pm$ SD($\mu\text{g/mL}$)						
	19 주 식염수	11 주 HDM	19 주 HDM	19 주 HDM IgG4 ^P (11 mg/kg)	19 주 HDM REGN3500 (1 mg/kg) + IgG4 ^P (10 mg/kg)	19 주 HDM 두 필루맵 (10 mg/kg) + IgG4 ^P (1 mg/kg)	19 주 HDM REGN3500 (1 mg/kg) + 두 필루맵 (10 mg/kg)
REGN3500	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	n/t	11.4 ± 10.1	n/t	12.7 ± 8.8
두 필루맵	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	n/t	n/t	8.0 ± 13.5	48.9 ± 27.9
IgG4 ^P	0.0 ± 0.0^a	<LLOQ	<LLOQ	54.5 ± 63.9	88.6 ± 76.0	0.1 ± 0.1	n/t

^a이 그룹에서 1 마리의 마우스는 LLOQ 보다 높은 혈청 IgG4^P 수준을 가졌으며, 따라서 본원에서는 반올림값이 보고된다.

[0406]

[0407] 요약

[0408] 식염수에만 노출된 대조군 마우스와 비교하여, 19주 동안 HDM에 노출된 마우스는 비처리된 채 방치되었을 때 또는 IgG4^P 이소형 대조군 항체의 투여 후, 14개의 측정된 병리학적 염증 마커 중 1개(폐 IFN γ 수준)를 제외한 모두에서 유의한 증가를 나타내었다.

[0409] REGN3500과 두 필루맵의 조합 투여는 이소형 대조군 항체와 비교하여 시험된 HDM 노출-반응성 종점 13개 중 10개 (상대 폐 중량, 활성화된 호산구, 호중구[MPO 수준] 및 ST2⁺ CD4⁺ T 세포에 의한 폐 침윤, 사이토카인 hIL-4,

IL-6, TNF α , GRO α 및 MCP-1의 폐 단백질 수준, 및 SAA의 혈청 수준)를 유의하게 차단하였다. 더욱이, 활성화된 호산구 및 ST2⁺ CD4⁺ T 세포에 의한 폐 침윤의 수준은, 항체 치료 시작에 상응하는 11-주 HDM-노출 마우스에서 관찰된 수준보다 낮은 수준까지 유의하게 감소되었다. 두필루맵 단독의 투여는 이러한 모델에서 13개의 시험된 HDM 노출-반응성 종점 중 어떠한 종점도 유의하게 차단하지 않은 한편, REGN3500 단독의 투여는 2개의 시험된 종점: ST2⁺ CD4⁺ T 세포 폐 침윤 및 순환형 SAA 수준을 유의하게 차단하였다. 이들 2개 종점에 대해, REGN3500 단독에 의해 매개된 차단은 두필루맵과 조합된 REGN3500에 의해 매개된 차단과 유사하였으며, 이는, 이들 병리학적 마커가 주로 IL-33에 의해 이끌어짐을 제안한다.

[0410] REGN3500과 두필루맵의 조합 투여는 통계학적 유의성에 도달하지 않으면서 또 다른 3개 HDM 노출-반응성 종점 (호산구에 의한 폐 침윤[총], 사이토카인 IL-5 및 IL-1 β 의 폐 단백질 수준, 및 IgE의 혈청 단백질 수준)에 대한 HDM 노출-유도 반응의 차단을 향하는 경향을 보여주었다. 이들 마커에 대해, REGN3500 또는 두필루맵을 이용한 개별 항체 치료는 일반적으로, 병용 치료보다 약한 감소를 초래하였다.

[0411] 모든 항체 치료군은 연구 종료 시 표적-특이적 인간 IgG4 항체에 대해 검출 가능한 혈청 수준과 연관이 있었다. 치료 항체를 단독으로 또는 조합하여 8주 동안 1주에 2회 투약한 마우스에서, REGN3500의 평균 혈청 농도는 각각 11.4 $\pm$ 10.1 및 12.7 $\pm$ 8.8 μ g/mL이었으며, 두필루맵의 평균 혈청 농도는 연구 종료 시 각각 8.0 $\pm$ 13.5 및 48.9 $\pm$ 27.9 μ g/mL이었다.

[0412] 결론적으로, *I14ra*^{hu/hu} *I14*^{hu/hu} *I133*^{hu/hu} 마우스를 사용한 19-주 HDM 노출-유도 폐 염증 모델에서 REGN3500과 두필루맵의 병용 치료는 항체 단독으로 시도된 치료와 비교하여, 시험된 폐 병리 및 염증 마커 중 거의 모두의 보다 뚜렷한 개선을 초래하였다.

[0413] 결론

[0414] *I14ra*^{hu/hu} *I14*^{hu/hu} *I133*^{hu/hu} 마우스를 사용한 19-주 HDM 노출-유도 폐 염증 모델에서 REGN3500과 두필루맵의 병용 치료는 항체 단독으로 시도된 치료와 비교하여, 시험된 폐 병리 및 염증 마커 중 거의 모두의 보다 뚜렷한 개선을 초래하였다.

[0415] 실시예 7: 중등도-내지-중증 COPD 환자에서 SAR440340/REGN3500 또는 두필루맵이 단독으로 사용되었을 때, 및 병용 치료법으로서 사용되었을 때의 평가

[0416] 연구 디자인

[0417] 이러한 연구는 중등도-내지-중증 만성 폐색성 폐질환(COPD) 환자에서 IL-33 모노클론 항체 (SAR440340/REGN3500), IL-4R 모노클론 항체(DUPIXENT®로도 공지된 두필루맵)가 각각 단독으로 또는 조합하여 사용될 때, 이들의 효능, 안전성 및 관용성을 평가하기 위한 무작위, 이중-맹검, 플라시보-조절, 병행-그룹, 24주 개념 입증 연구(proof-of-concept study)이다.

[0418] 총 832명의 대상체가 상기 연구에 참여할 것이다. 상기 연구는 4개의 암(arm)으로 구성될 것이며, 1개 암은 항-IL-33 모노클론 항체(SAR440340/REGN3500) 단독으로 피하(SC) 투여되는 환자이며; 제2 암은 항-IL-4R 모노클론 항체(두필루맵) 단독으로 피하 투여되는 환자이며; 제3 암은 SAR440340/REGN3500 및 두필루맵이 둘 다 피하로 공동투여되는 환자이고; 제4 암은 플라시보이다.

[0419] 제1 암의 환자는 24주 동안 2주마다 SAR440340/REGN3500의 2회 SC 주사를 제공받고 24주 동안 2주마다 두필루맵 플라시보를 1회 SC 주사로 공동투여받을 것이며; 제2 암의 환자는 24주 동안 2주마다 두필루맵의 1회 SC 주사를 제공받고 24주 동안 2주마다 SAR440340/REGN3500 플라시보를 2회 SC 주사로 공동투여받을 것이며; 제3 암의 환자는 24주 동안 2주마다 SAR440340/REGN3500의 2회 SC 주사를 제공받고 24주 동안 2주마다 두필루맵을 1회 SC 주사로 공동투여받을 것이고; 제4 암의 환자는 24주 동안 2주마다 SAR440340/REGN3500 및 두필루맵에 대해 각각 매칭되는 플라시보들을 2회 및 1회 SC 주사로 제공받을 것이다.

[0420] 연구 목적

[0421] 이 연구의 1차 목적은, 흡입 코티코스테로이드(ICS), 및/또는 장기간-작용성 β 2 아드레날린성 효능제(LABA) 및/또는 장기간-작용성 무스카린성 길항제(LAMA) 백그라운드 치료법(이중 또는 삼중 치료법)으로 치료받은 중등도-내지-중증 만성 폐색성 폐질환(COPD) 환자에서 24주에 걸친 인터루킨-33 항체(SAR440340/REGN3500), 인터루킨-4 수용체 모노클론 항체(두필루맵), 및 이들 둘 다의 공동투여가 호흡기 기능의 개선에 미치는 효과를, 기관지

확장제 후 1초간 노력성 호기량(FEV1)에 의해 평가된 바와 같이 결정하고 비교하는 것이다.

[0422] 2차 목적은 24주간의 치료에 걸친 COPD의 중등도-내지-중증 급성 악화(AECOPD)의 발병에 미치는 SAR440340/REGN3500, 두필루맵 및 이들 둘 다의 공동투여의 효과를 각각 플라시보와 비교하여 평가하는 것일 것이다.

[0423] 또 다른 2차 목적은 SAR440340/REGN3500, 두필루맵 및 이들 둘 다의 공동투여가 각각 24주간에 걸친 기관지확장제 전 FEV1; 24주간에 걸친 기준선으로부터 제1 중등도 또는 중증 AECOPD 사례까지의 기간; COPD의 임상적 증상의 평가; 안전성 및 관용성에 미치는 효과를 플라시보와 비교하여 평가하는 것이다.

[0424] 포함 기준

[0425] 연구에 대한 포함 기준은 하기와 같다: (1) 중등도-내지-중증 만성 폐색성 폐질환(COPD) 환자(기관지확장제 후 1초간 노력성 호기량(FEV1) 노력성 폐활량(FVC) < 70% 및 예측된 기관지확장제 후 FEV1% < 80%, 그러나 ≥ 30%); (2) 스크리닝 방문 1 및 방문 2/무작위화에서 COPD 평가 시험(CAT) 점수가 10 이상인 환자; (3) 만성 기관지염의 신호 및 증상의 보고된 이력을 가진 환자(만성 기침의 다른 원인(예를 들어 위식도 역류, 만성 비부비동염, 기관지확장증)을 가진 환자에서 스크리닝까지 1년 이내에 3개월 동안의 만성 생산성 기침(chronic productive cough)은 배제되었음); (4) 스크리닝 전 1년 이내에 2 이상의 중등도 악화 또는 1 이상의 중증 악화의 문서화된 이력을 가진 환자; (5) 방문 2/무작위화 전 3개월 동안 케어 백그라운드 치료법의 표준, 및 스크리닝 방문 1 전 적어도 1개월 동안 안정한 용량에서 이중 치료법: 장기간-작용성 b 효능제(LABA) + 장기간-작용성 무스카린성 길항제(LAMA) 또는 흡입 코티코스테로이드(ICS) + LABA 또는 ICS + LAMA; 또는 삼중 치료법: ICS + LABA + LAMA를 포함한 환자; (6) 작성된 고지에 입각한 동의서 상의 서명; 및 (7) 1년에 10갑 이상의 흡연 이력을 가진 현재 또는 과거의 흡연자.

[0426] 배제 기준

[0427] 연구에 대한 배제 기준은 하기와 같다: (1) 40세 이하 또는 75세 초과와 연령; (2) 체질량지수(BMI)가 16 미만인 환자; (3) 무작위화 전 6개월 이내에 COPD를 진단받은 환자; (4) 세계 천식 기구(GINA) 가이드라인에 따라 현재 천식의 진단; (5) COPD 이외의 유의한 폐질환(예를 들어 폐 섬유증, 유육종증, 간질성 폐질환, 폐 고혈압, 기관지확장증, 다발혈관염(polyangiitis)을 동반한 호산구 육아종증, 바이레벨 기도양압(Bilevel Positive Airway Pressure) 상에서 유의한 수면성 무호흡 등), 또는 상승된 말초 호산구 계수와 연관된 또 다른 진단 폐 또는 전신 질병; (6) α-1 항-트립신 부족의 진단; (7) 만성(> 15시간/일) 산소 서포트가 필요한 진전(advanced) COPD; (8) 스크리닝 전 4주 이내에 COPD 사례의 중등도 또는 중증 급성 악화를 가진 환자; (9) 스크리닝/방문 1 전 4주 이내에 또는 스크리닝 기간 동안 상기도 또는 하기도 감염을 경험한 환자; (10) 폐 절제술 또는 폐 부피 감소 수술의 과거 이력 또는 계획; (11) 생물학적 약물에 대해 전신성 과민 반응의 이력을 가진 환자.

[0428] 실시예 8. 중등도-내지-중증 천식 환자에서 SAR440340/REGN3500 또는 두필루맵이 단독으로 사용되었을 때, 및 병용 치료법으로서 사용되었을 때의 평가

[0429] 연구 디자인

[0430] 이러한 연구는 흡입 코티코스테로이드(ICS) + 장기간-작용성 β2 아드레날린성 효능제(LABA) 치료법에서 양호하게 조절되지 않는 중등도-내지-중증 천식 환자에서 SAR440340/REGN3500, 두필루맵(DUPIXENT®로도 공지됨), 및 SAR440340과 두필루맵의 공동투여의 효능, 안전성 및 관용성을 평가하기 위한 무작위, 이중-맹검, 플라시보-조절, 병행-그룹, 12주 개념 입증 연구이다.

[0431] 총 800명의 대상체가 이 연구에 참여할 것이다. 상기 연구는 4개의 암으로 구성될 것이며, 1개 암은 항-IL-33 모노클론 항체(SAR440340/REGN3500) 단독으로 피하(SC) 투여되는 환자이며; 제2 암은 항-IL-4R 모노클론 항체(두필루맵) 단독으로 피하 투여되는 환자이며; 제3 암은 SAR440340/REGN3500 및 두필루맵이 둘 다 피하로 공동 투여되는 환자이고; 제4 암은 플라시보이다.

[0432] 제1 암의 환자는 12주 동안 2주마다 2회 피하(SC) 주사로서 투여되는 SAR440340/REGN3500을 제공받고 12주 동안 2주마다 두필루맵 플라시보를 1회 SC 주사로 공동투여받을 것이며; 제2 암의 환자는 12주 동안 2주마다 1회 SC 주사로서 투여되는 두필루맵을 제공받고 12주 동안 2주마다 SAR440340/REGN3500 플라시보를 2회 SC 주사로 공동 투여받을 것이며; 제3 암의 환자는 12주 동안 2주마다 2회 SC 주사로서 투여되는 SAR440340/REGN3500을 제공받고 12주 동안 2주마다 두필루맵을 1회 SC 주사로 공동투여받을 것이고; 제4 암의 환자는 12주 동안 2주마다 2회

및 1회 SC 주사로서 투여되는 SAR440340/REGN3500 및 두필루맵에 대해 각각 매칭되는 플라시보들의 공동투여를 제공받을 것이다.

[0433] **연구 목적**

[0434] 1차 연구 목적은 "천식 조절 상실"(LOAC) 사례의 발생을 감소시키는 데 있어서 플라시보와 비교하여 두필루맵을 동반하거나 동반하지 않는 SAR440340/REGN3500의 효과를 평가하는 것이다.

[0435] 2차 연구 목적은 1초간 노력성 호기량(FEV1)에 미치는 SAR440340/REGN3500 및 SAR440340/REGN3500과 두필루맵의 공동투여의 효과를 플라시보와 비교하여 평가하며; FEV1에 미치는 SAR440340/REGN3500과 두필루맵의 공동투여의 효과를 SAR440340/REGN3500과 비교하고 두필루맵과 비교하여 평가하며; LOAC를 감소시키는 데 있어서 SAR440340/REGN3500과 두필루맵의 동시 투여의 효과를 SAR440340/REGN3500 단독 및 두필루맵 단독과 비교하여 평가하고; SAR440340/REGN3500 단독 및 이것과 두필루맵의 공동투여의 안전성 및 관용성을 평가하는 것일 것이다.

[0436] **포함 기준**

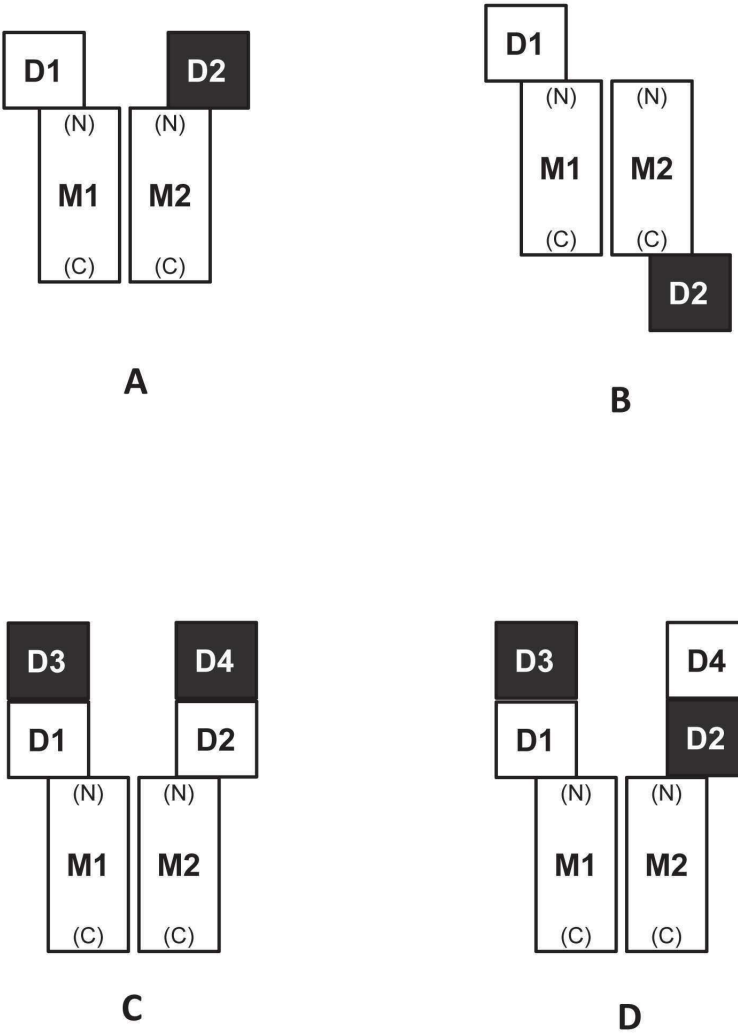
[0437] 연구에 대한 포함 기준은 하기와 같다: (1) 세계천식기구(GINA) 2016 가이드라인을 기반으로 적어도 12개월 동안 의사에 의해, 천식이 하기 기준에 따라 ICS/LABA 병용 치료법에서 부분적으로 조절되거나 조절되지 않는 천식을 진단받은 성인 환자(18세 이상): 방문 1 전에 1개월 이상 안정한 용량으로 적어도 3개월 동안 제2 조절제로서 장기간-작용성 베타-효능제(LABA)와 조합된 중간용량 내지 고용량 흡입 코티코스테로이드(ICS)(250 mcg 이상의 플루티카손 프로피오네이트 1일 2회(BID) 또는 최대 2000 mcg/일의 플루티카손 프로피오네이트 또는 임상적으로 유사한 등효(equipotent) ICS 일일 투약량)를 이용한 기존의 치료; (2) 방문 2/기준선에서 예측된 정상치의 50% 이상 내지 85% 이하의, 기관지확장제 전 1초 노력성 호기량(FEV1); (3) 스크리닝 동안 2 내지 4 퍼프(200 내지 400 mcg)의 알부테롤/살부타몰 또는 레발부테롤/레보살부타몰의 투여 후, FEV1에서 적어도 12% 및 200 mL의 가역성(환자에 의해 관용된다면 동일한 방문 동안 3회 이하의 기회가 최대 12 퍼프의 완화 약제(reliever medication)와 함께 허용됨); 방문 1/스크리닝 전 6개월 이내에 2회의 허용 가능한 폐활량 측정 평가, 또는 방문 1/스크리닝 전 12개월 이내에 메타콜린에 대한 기도 양압(positive airway) 과민반응성의 비교가 이러한 포함 기준을 충족하기 위해 허용 가능한 것으로 간주될 때, 기관지확장제 전 FEV1에서 20%의 가변성의 문서화된 이력; (4) 하기 사례들 중 임의의 사례를 방문 1 전 1년 이내에 적어도 1회 경험해야만 함: 악화되는 천식에 대한 전신 스테로이드(경구 또는 비경구)를 이용한 치료, 또는 악화되는 천식에 대한 입원 또는 응급 의료 시설 방문; (5) 작성된 고지에 입각한 동의서 상의 서명.

[0438] **배제 기준**

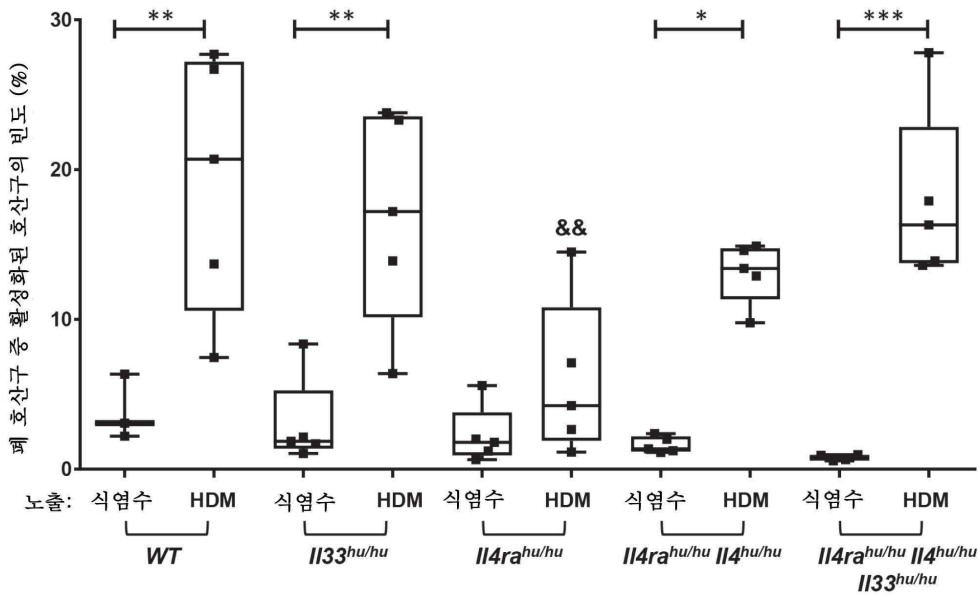
[0439] 연구에 대한 배제 기준은 하기와 같다: (1) 18세 미만 또는 70세 초과(즉, 스크리닝 방문 시 71세에 도달함)의 환자; (2) 체질량지수(BMI)가 16 미만인 환자; (3) 폐기능을 손상시킬 수 있는 만성 폐질환(예를 들어 만성 폐색성 폐질환[COPD], 또는 특발성 폐 섬유증[IPF]); (4) 생명을 위협하는 천식(즉, 삽관을 필요로 하는 중증 악화)의 이력; (5) IMP의 평가를 방해할 만한 공존 질환(co-morbid disease); (6) 이들의 스크리닝 방문 1 전에 4주 이내에 하기 사례 중 임의의 사례를 갖는 환자: 악화하는 천식에 대한 하나 이상의 전신(경구 및/또는 비경구) 스테로이드 버스트(burst)를 이용한 치료, 또는 악화하는 천식에 대한 입원 또는 응급 의료 시설 방문; (7) V2/무작위화 시 천식 조절 설문 5-질문 버전(ACQ-5) 점수가 1.25 미만 또는 3.0 초과. 스크리닝 기간 동안 4 이하의 ACQ-5가 허용 가능함; (8) 방문 1 전 130일 이내에 항-면역글로불린 E(IgE) 치료법(예를 들어 오말리주맵[Xolair®]), 또는 방문 1 전 2개월 또는 5 하프-라이프즈(5 half-lives) 이내 중 어느 것이 더 길든지 간에 염증성 질병 또는 자가면역 질병(예를 들어 류마티스 관절염, 염증성 장질환, 원발성 담즙성 간경변, 전신 루푸스 홍반, 다발성 경화증 등) 및 다른 질병을 치료하기 위한 임의의 다른 생물학적 치료법(항-IL5 mAb 포함) 또는 전신 면역억제제(예를 들어 메토트렉세이트); (9) 생물학적 약물에 대해 전신 과민 반응의 이력이 있는 환자; (10) 방문 1 전 2년 이내에 기관지 열성형술(bronchial thermoplasty) 중이거나 개시에 있거나, 스크리닝 기간 또는 무작위 치료 기간 동안 치료법을 시작하기로 계획되어 있는 환자; (11) 현재 흡연자, 또는 방문 1 전 6개월 이내에 금연; (12) 1년에 10갑 초과 흡연 이력을 가진 과거 흡연자.

도면

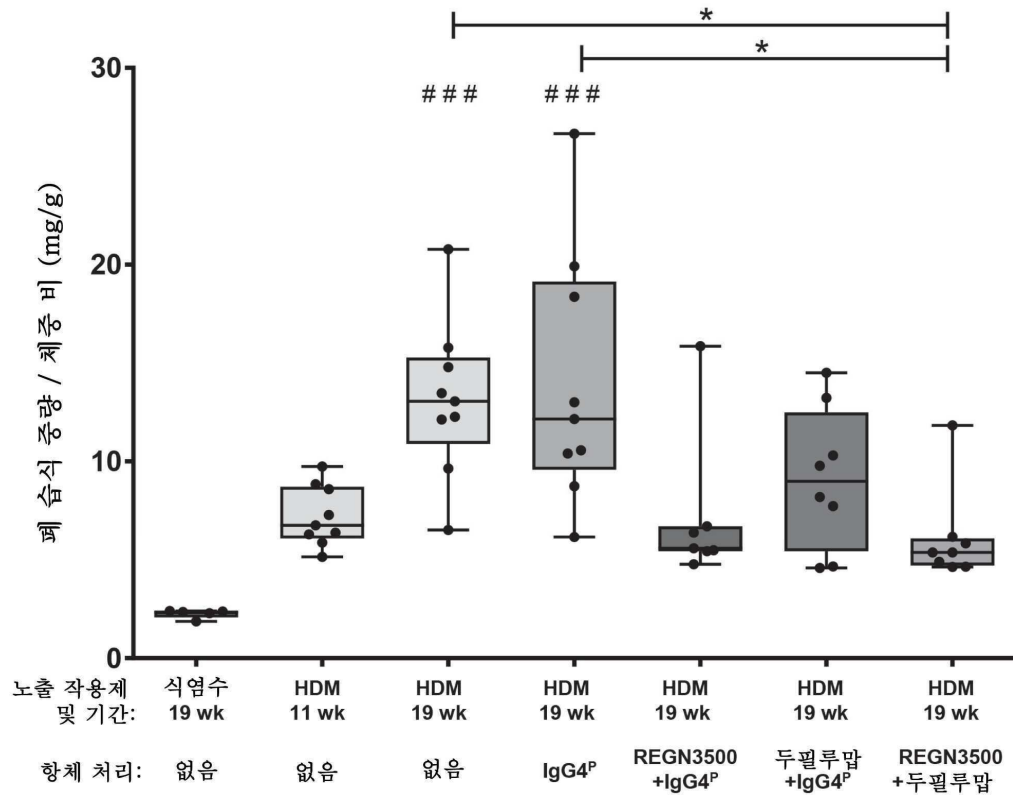
도면1



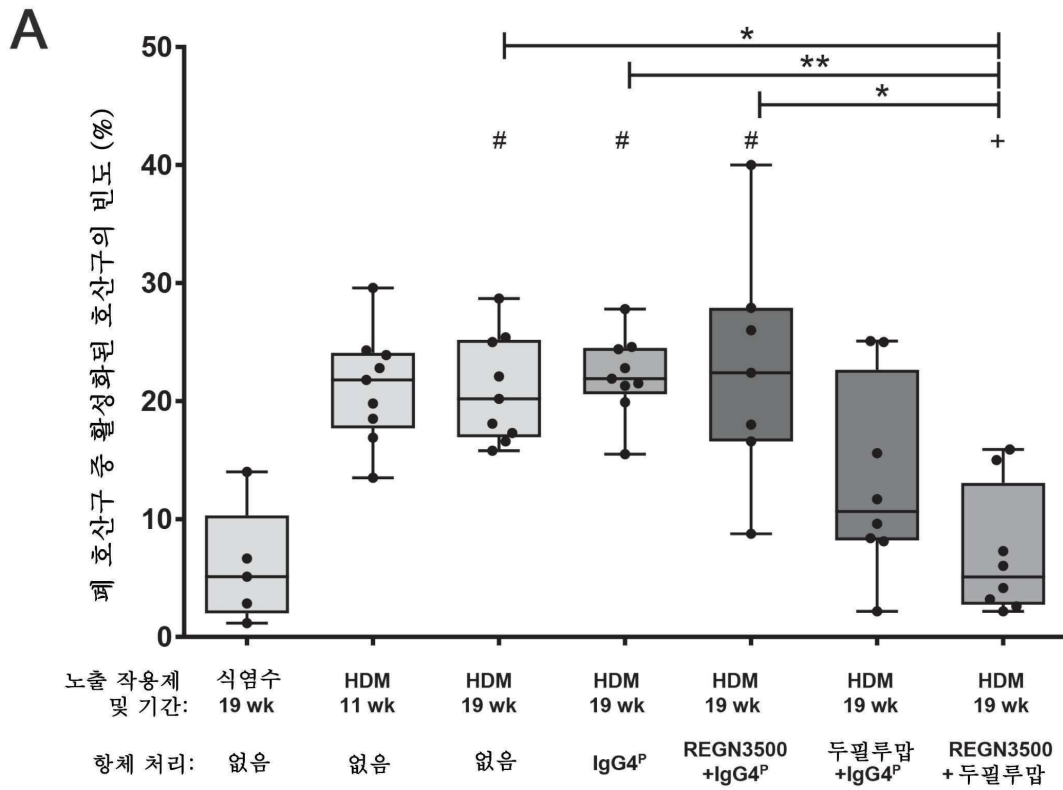
도면2



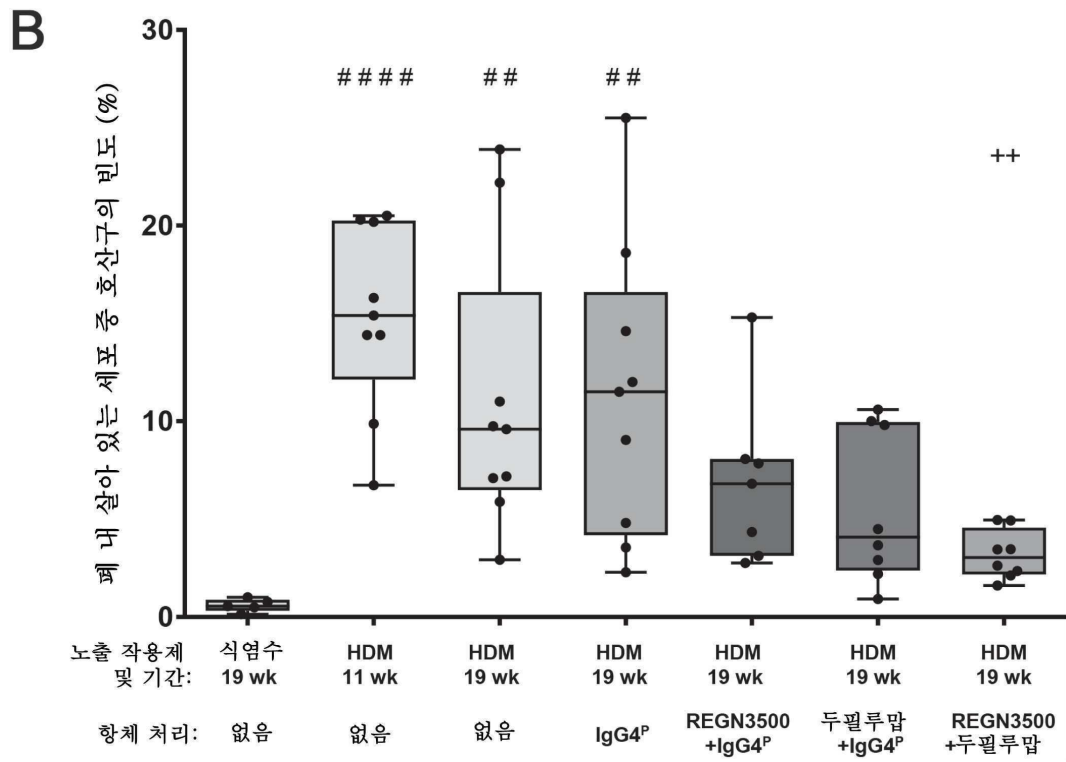
도면3



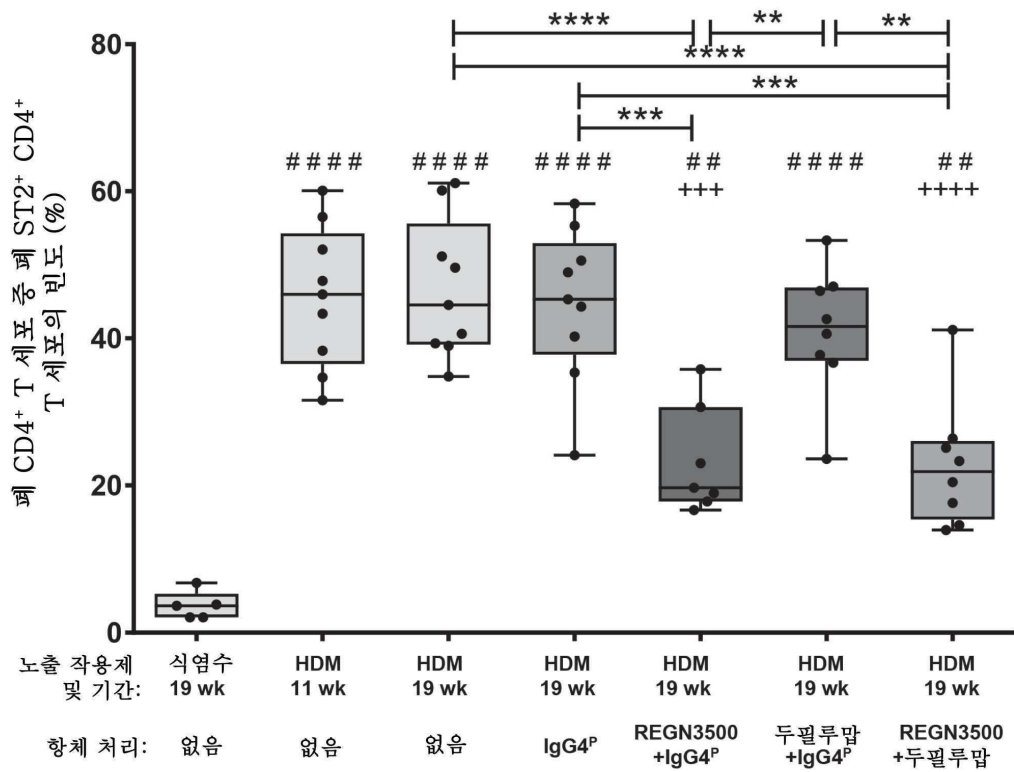
도면4a



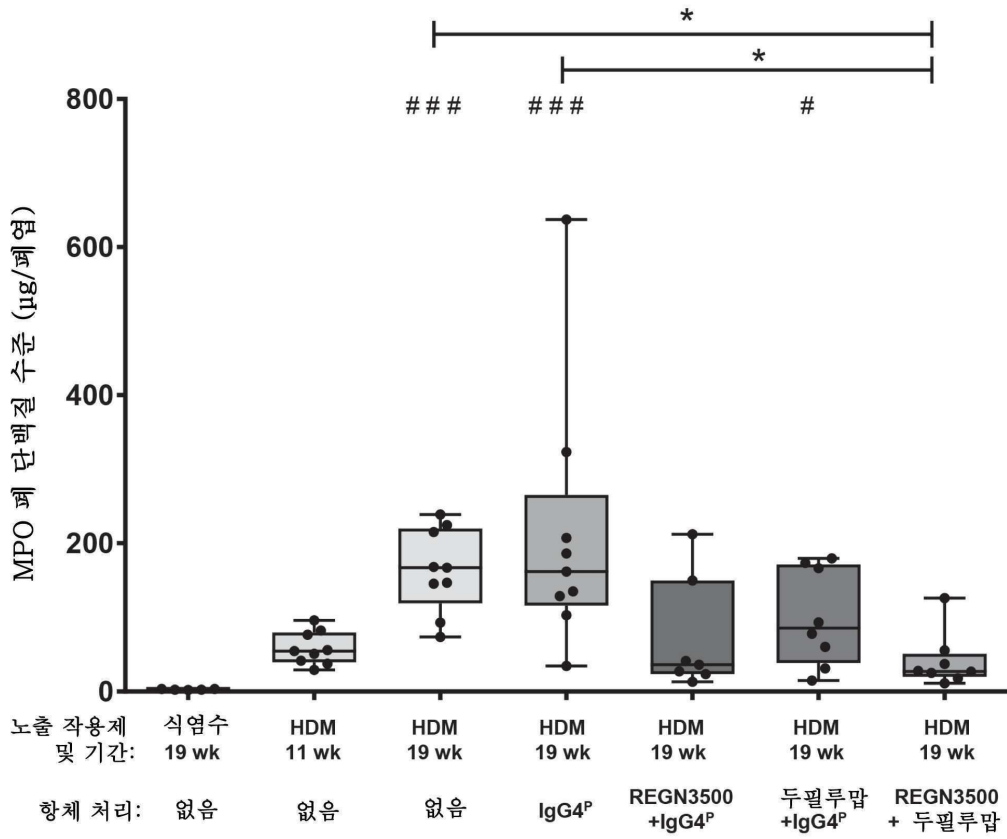
도면4b



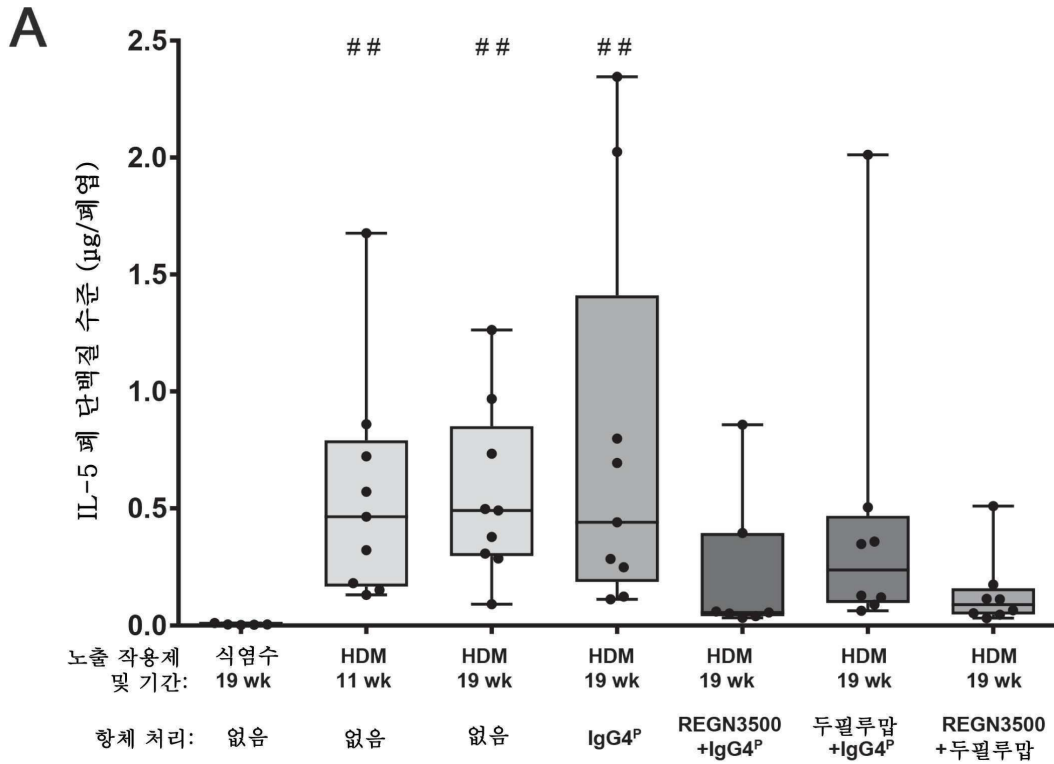
도면5



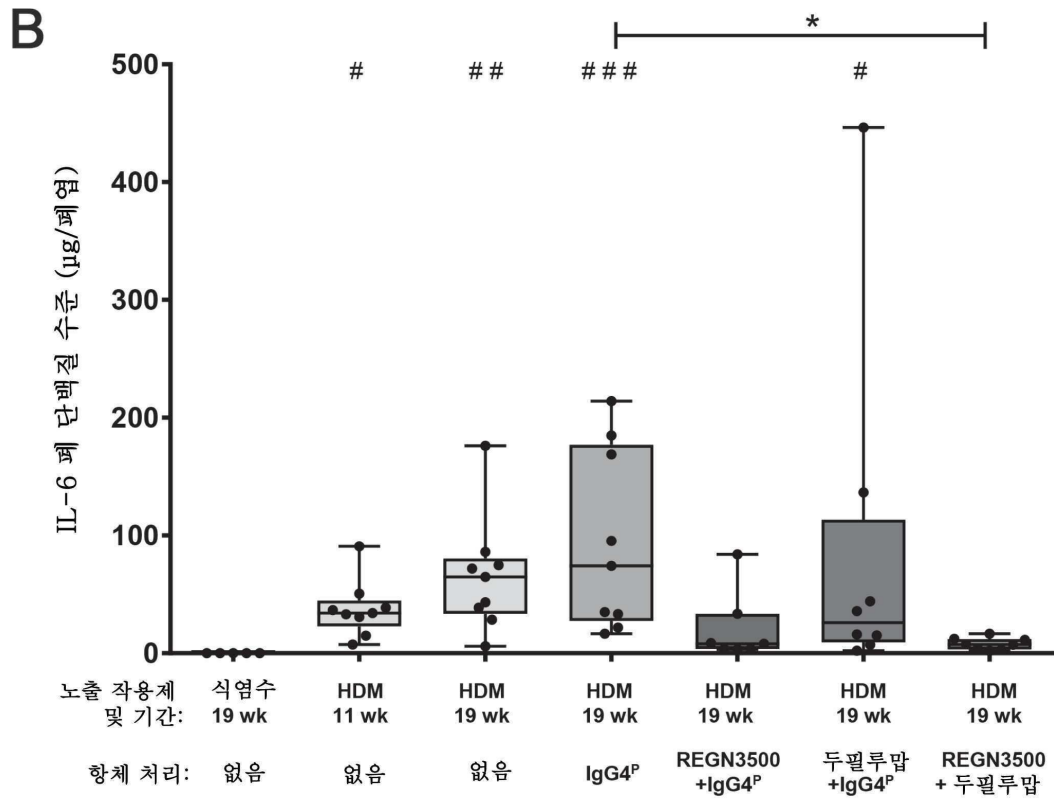
도면6



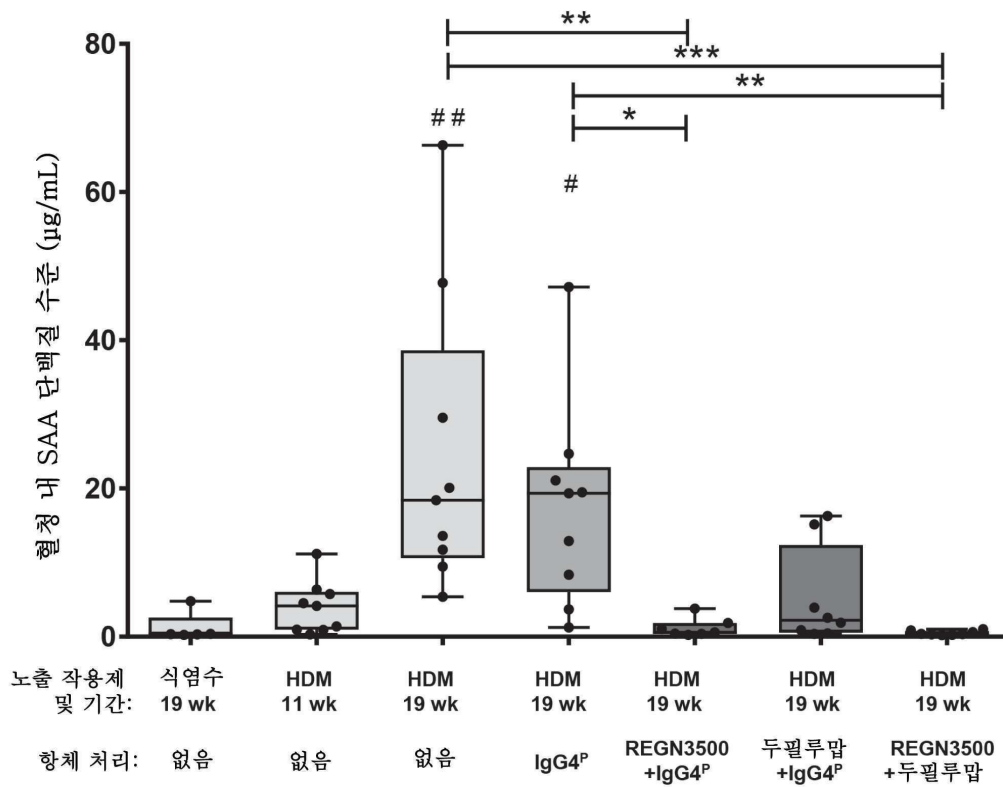
도면7a



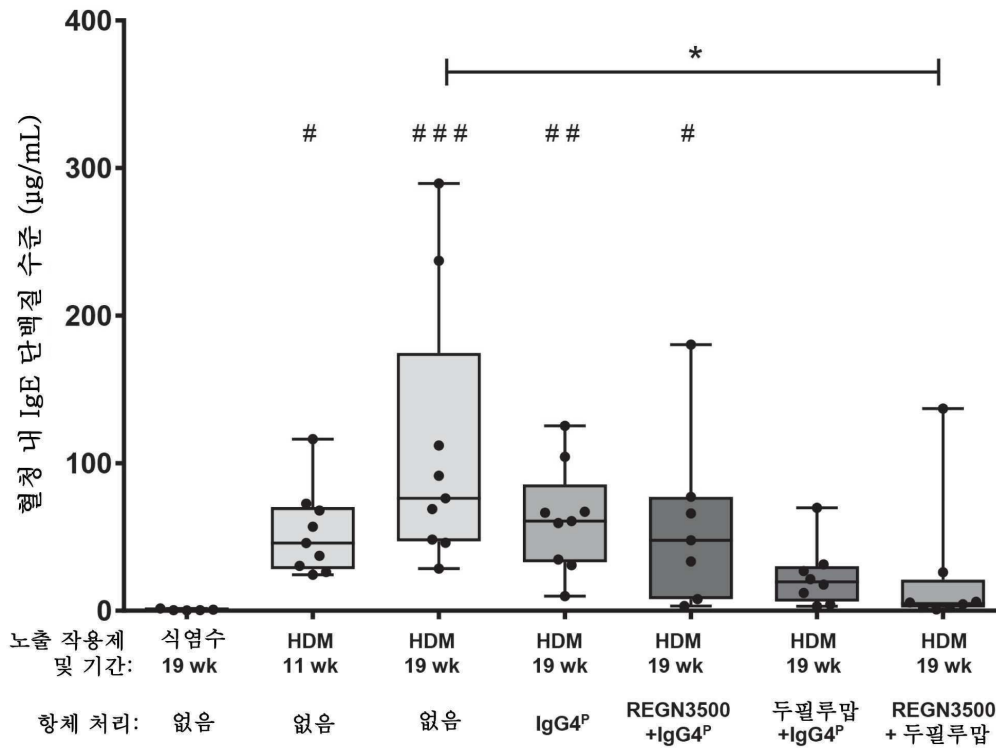
도면7b



도면8



도면9



서열 목록

<110> Regeneron Pharmaceuticals, Inc.

Jamie Orengo

Jeanne Allinne

Andrew Murphy

George Yancopoulos

<120> Methods of Treating Inflammatory Conditions

<130> 10142W001

<150> 62/428,634

<151> 2016-12-01

<150> 62/473,738

<151> 2017-03-30

<150> 62/567,318

<151> 2017-10-03

<160> 356

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 1

caggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgctcggatt caccttcagt agttatggca tgcattgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagaaa taaatactat 180

acagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatgg acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagagagg 300

tatatcagca gctattatgg ggggttcgac cctggggcc agggagccct ggtcacctgc 360

tcctca 366

<210> 2

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 2

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys Tyr Tyr Thr Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Arg Tyr Ile Ser Ser Tyr Tyr Gly Gly Phe Asp Pro Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Ala Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 3

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 3

ggattcacct tcagtagtta tggc

24

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 4

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1

5

<210> 5

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 5

atatggtatg atggaagaaa taaa

24

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 6

Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys

1 5

<210> 7

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 7

gcgagagaga ggtatatcag cagctattat ggggggttcg acccc 45

<210> 8

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 8

Ala Arg Glu Arg Tyr Ile Ser Ser Tyr Tyr Gly Gly Phe Asp Pro

1 5 10 15

<210> 9

<211>

321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 9

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtc gggatttagt agttggtag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaaggtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccattcac ttccggccct 300

gggaccaaac tggatatcaa g 321

<210> 10

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 10

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys

100 105

<210> 11

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 11

cagggtatta gtagttgg

18

<210> 12

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 12

Gln Gly Ile Ser Ser Trp

1 5

<210> 13

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 13

gctgcatcc

9

<210> 14

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 14

Ala Ala Ser

1

<210> 15

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 15

caacaggcta acagtttccc attcact

27

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 16

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Phe Thr

1 5

<210> 17

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 17

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggagac ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagtt attagtggta gtggaagtag cacagactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatt tccagagaca attccaggga cacgctgcat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaacgttc 300

tactacttct acggttttga cgtctggggc caagggacca cggtcacctg ctcctca 357

<210> 18

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 18

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Val Ile Ser Gly Ser Gly Ser Ser Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Arg Asp Thr Leu His

65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Thr Phe Tyr Tyr Phe Tyr Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 19

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 19

ggattcacct tcagcagcta tgcc 24

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 20

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 21

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 21

attagtggtg gtggaagtag caca 24

<210> 22

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 22

Ile Ser Gly Ser Gly Ser Ser Thr

1 5

<210> 23

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 23

gcgaaaacgt tctactactt ctacggtttg gacgtc 36

<210> 24

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 24

Ala Lys Thr Phe Tyr Tyr Phe Tyr Gly Leu Asp Val

1 5 10

<210> 25

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 25

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctttaagaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcgagtc gggcattagc aattatttag cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagtgc ctaaggctct aatctatgct gcatccactt tgcaatcagg ggtcccatct 180
cggttcagtg gcagtggatc tgggacagtt ttcactctca ccatcagcag cctgcagact 240
gaagatgttg caacttatta ctgtcaaaag tatagcagtg cccattcac tttcggccct 300
gggaccaaaag tggatatcaa a 321

<210> 26

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 26

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Arg

1	5	10	15
Asp	Arg	Val	Thr
Ile	Thr	Cys	Arg
Ala	Ser	Gln	Gly
Ile	Ser	Asn	Tyr
20	25	30	
Leu	Ala	Trp	Tyr
Gln	Gln	Lys	Pro
Gly	Lys	Val	Pro
Lys	Val	Leu	Ile
35	40	45	
Tyr	Ala	Ala	Ser
Thr	Leu	Gln	Ser
Gly	Val	Pro	Ser
Arg	Phe	Ser	Gly
50	55	60	
Ser	Gly	Ser	Gly
Thr	Val	Phe	Thr
Leu	Thr	Ile	Ser
Ser	Ser	Leu	Gln
Thr			

65	70	75	80
Glu	Asp	Val	Ala
Thr	Tyr	Tyr	Cys
Gln	Lys	Tyr	Ser
Ser	Ser	Ala	Pro
Phe			
85	90	95	
Thr	Phe	Gly	Pro
Gly	Thr	Lys	Val
Asp	Ile	Lys	
100	105		

<210> 27

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 27

cagggcatta gcaattat

18

<210> 28

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 28

Gln Gly Ile Ser Asn Tyr

1

5

<210> 29

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 29

gctgcatcc

9

<210> 30

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 30

Ala Ala Ser

1

<210> 31

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 31

caaaagtata gcagtgcccc attcact

27

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 32

Gln Lys Tyr Ser Ser Ala Pro Phe Thr

1 5

<210> 33

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 33

caggtgcttc tggtagctc tggggctgag gtgaagaagc ctggggccac agtgaaggtc 60

tcctgcaagg ctcttgatc cactttcacc ggctactata tgactgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagt gatgggatgg atcaacccta acaatggtgg cacaaactat 180

gcacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240

atggaattga gcaggctgag atctgacgac acggccgtat attactgtgc gagagagttg 300

cggtataact ggaagtcctg gggccaggga accctggtca ccgtctctc a 351

<210> 34

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 34

Gln Val Leu Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15
Thr Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Ser Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Leu Arg Tyr Asn Trp Lys Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110
Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 35

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 35

ggatccactt tcaccggcta ctat

24

<210> 36

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 36

Gly Ser Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr

1 5

<210> 37

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 37

atcaacccta acaatggtgg caca

24

<210> 38

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 38

Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr

1 5

<210> 39

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 39

gcgagagagt tgcggtataa ctggaagtcc

30

<210> 40

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

>

<223> Synthetic

<400> 40

Ala Arg Glu Leu Arg Tyr Asn Trp Lys Ser

1 5 10

<210> 41

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 41

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagtcacc 60
ctctcctgca gggccagtc gagtggtggc aggcctact tagcctggta ccaacagata 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tgacatccca 180
gacaggttca gtggcaatgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag tagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatgata attccctta tacttttggc 300

caggggacca ggctggagat caaa 324

<210> 42

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 42

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Val Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Arg Pro
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

100	105
<210> 43	
<211	
> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic	
<400> 43	
cagagtgttg gcaggcccta c	21
<210> 44	
<211> 7	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic	
<400> 44	
Gln Ser Val Gly Arg Pro Tyr	
1 5	
<210> 45	
<211> 9	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic	
<400> 45	
ggtgcatcc	9
<210> 46	
<211> 3	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic	
<400> 46	

Gly Ala Ser

1

<210> 47

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 47

cagcagtatg ataattcccc ttatact

27

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 48

Gln Gln Tyr Asp Asn Ser Pro Tyr Thr

1

5

<210> 49

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 49

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacaac ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttaga agctttgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggaatt ggtctcagat ctcaggacta gtggtggttag tacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gctcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaagccac 300

tatagcacca gctgggttcgg gggctttgac tactggggcc aggggaaccct ggtcactgtc 360

tcctca

366

<210> 50

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 50

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Phe

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Leu Val

35 40 45

Ser Asp Leu Arg Thr Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Ser His Tyr Ser Thr Ser Trp Phe Gly Gly Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 51

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 51

ggattcacct ttagaagctt tgcc

24

<210> 52

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 52

Gly Phe Thr Phe Arg Ser Phe Ala

1 5

<210> 53

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 53

ctcaggacta gtggtgtag taca

24

<210>

> 54

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 54

Leu Arg Thr Ser Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 55

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 55

gcgaaaagcc actatagcac cagctgggttc gggggctttg actac

45

<210> 56

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 56

Ala Lys Ser His Tyr Ser Thr Ser Trp Phe Gly Gly Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 57

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 57

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgctt ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc gggtttttagc agctggtag cctggtagtca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcaccaa cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccctctcac ttccggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 58

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 58

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Phe Ser Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Asn Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 59
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic

<400> 59
cagggtttta gcagctgg 18

<210> 60
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic

<400> 60
Gln Gly Phe Ser Ser Trp

1 5
<210> 61
<211> 9
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic

<400> 61
gctgcatcc 9

<210> 62

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 62

Ala Ala Ser

1

<210> 63

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 63

caacaggcta acagtttccc tctcact

27

<210> 64

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 64

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu Thr

1

5

<210> 65

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 65

gaggtgcagc tggctggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacgttttagc agctatgtca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggaagg ggctggagtg ggtctcaagt attagtggta atggtggttag cacaaactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240
ctggaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaatcactg 300
ggaactacca cgactttttt ggggtttgac tattggggcc agggaaccct ggtcacccgc 360
tcctca 366

<210> 66

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 66

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Val Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Gly Asn Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe

65 70 75 80

Leu Glu Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Ser Leu Gly Thr Thr Thr Thr Phe Leu Gly Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 67

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 67

ggattcacgt ttagcagcta tgtc

24

<210> 68

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 68

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Val

1 5

<210> 69

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 69

attagtggta atggtgtag caca

24

<210> 70

<211> 8

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 70

Ile Ser Gly Asn Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 71

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 71

gcgaaatcac tgggaactac cagactttt ttggggtttg actat 45

<210> 72

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 72

Ala Lys Ser Leu Gly Thr Thr Thr Thr Phe Leu Gly Phe Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 73

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 73

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc gggatttagc agctggtag cctggtagc gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
agggtcagcg gcagtggatc tgggacatat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccctctcac ttccggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 74

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 74

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Tyr Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 75

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 75

cagggtatta gcagctgg

18

<210> 76

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 76

Gln Gly Ile Ser Ser Trp

1	5	
<210> 77		
<211> 9		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic		
<400> 77		
gctgcatcc		9
<210> 78		
<211> 3		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic		
<400> 78		
Ala Ala Ser		
1		
<210> 79		
<211> 27		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic		
<400> 79		
caacaggcta acagtttccc tctcact		27
<210> 80		
<211> 9		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic		
<400> 80		
Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu Thr		

1 5

<210> 81

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 81

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctgggtgg ctccatcagt agttattact ggagctggat ccggcagccc 120

ccagggaagg gactggagtt gattgggtat atttattaca gtgggagcac caattataac 180

ccctccctca agagtcgagt caccatatct gtagacacgt ccaagaacca cttctccctg 240

aagctgagct ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtatatt actgtgcgag atcccagtat 300

accagtagtt ggtacggttc ttttgataac tggggccaag ggacaatggt caccgtctct 360

tca 363

<210> 82

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 82

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Leu Ile

35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn His Phe Ser Leu

65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Ser Gln Tyr Thr Ser Ser Trp Tyr Gly Ser Phe Asp Ile Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 83

<211> 24

<212> DNA

<213>

> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 83

ggtggctcca tcagtagtta ttac

24

<210> 84

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 84

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr

1 5

<210> 85

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 85

atttattaca gtgggagcac c

21

<210> 86

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 86

Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr

1 5

<210> 87

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 87

gcgagatccc agtataccag tagttggtac ggttcttttg atatc 45

<210> 88

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 88

Ala Arg Ser Gln Tyr Thr Ser Ser Trp Tyr Gly Ser Phe Asp Ile

1 5 10 15

<210> 89

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 89

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca gggatttagc acctggtag cctggtttca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccactt tacaaggtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggccagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgtggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210>

> 90

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 90

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Thr Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Gly Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Pro Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 91

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 91

cagggtatta gcacctgg

18

<210> 92

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 92

Gln Gly Ile Ser Thr Trp

1 5

<210> 93

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 93

gctgcatcc

9

<210> 94

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 94

Ala Ala Ser

1

<210> 95

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 95

caacaggcta acagtttccc gtggacg

27

<210> 96

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 96

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Trp Thr

1 5

<210> 97

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 97

caggttcagc tggatgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctctgggta cacctttaac agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagctccc acaatggtaa cagtcactat 180

gtacagaagt tcagggcag agtctccatg accacagaca catccacgag tacagcctac 240

atggaactga ggagcccttag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagacactcg 300

tataccacca gctggtacgg gggttttgac tattggggcc agggaaacct ggtcaccgtc 360

tcctca 366

<210> 98

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 98

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Ser Tyr

20 25 30
 Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Ser Ser His Asn Gly Asn Ser His Tyr Val Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Ser Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg His Ser Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 99

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 99

ggttacacct ttaacagcta tggc

24

<210> 100

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 100

Gly Tyr Thr Phe Asn Ser Tyr Gly

1 5

<210> 101

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 101

atcagctccc acaatggtaa cagt

24

<210> 102

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 102

Ile Ser Ser His Asn Gly Asn Ser

1 5

<210> 103

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 103

gcgagacact cgtataccac cagctgggtac gggggttttg actat

45

<210> 104

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 104

Ala Arg His Ser Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 105

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 105

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc gggtttttagc agctggtag cctggatatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctcagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggtcagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccctctcac ttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 106

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 106

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Phe Ser Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 107

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 107

cagggtttta gcagctgg

18

<210> 108

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 108

Gln Gly Phe Ser Ser Trp

1

5

<210> 109

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 109

gctgcatcc

9

<210> 110

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 110

Ala Ala Ser

1

<210> 111

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 111

caacaggcta acagtttccc tctcact 27

<210> 112

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 112

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 113

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 113

gaggtgcagc tggtaggagtc cgggggaggc ttggttcagc cggggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggaat caccttgagc agctatggca tgagctgggt cgcagggt 120

ccaggaagg gactggagtg ggtcgcatcc atttttggtg gtggtgggtg cccatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatg tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ttgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attattgtgc gaaagatcga 300

tacagtggga gctactacgg aggttttgac tactggggcc ggggaaccct ggtcaccgtc 360

tcctca 366

<210> 114

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 114

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Leu Ser Ser Tyr

20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Ser Ile Phe Gly Ser Gly Gly Gly Pro Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Met Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Asp Arg Tyr Ser Gly Ser Tyr Tyr Gly Gly Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 115

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 115

ggaatcacct tgagcagcta tggc

24

<210> 116

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 116

Gly Ile Thr Leu Ser Ser Tyr Gly

1 5

<210> 117

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 117

atttttggtg gtggtggtgg ccca 24

<210> 118

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 118

Ile Phe Gly Ser Gly Gly Gly Pro

1 5

<210> 119

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 119

gcgaaagatc gatacagtgg gagctactac ggaggttttg actac 45

<210> 120

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 120

Ala Lys Asp Arg Tyr Ser Gly Ser Tyr Tyr Gly Gly Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 121

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 121

gacatccaga tgaccagtc tccatcttc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc gggattacc agctggtag cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctacactcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaactgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaacattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccctctac tticggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 122

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 122

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Thr Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Thr Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

	50						55						60								
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro						
65						70							75					80			
Glu	His	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Ala	Asn	Ser	Phe	Pro	Pro						
					85							90					95				
Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys											

100 105

 $\langle 210 \rangle$ 123

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> Synthetic

<400> 123

cagggtatta ccagctgg 18

<210> 124

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> Synthetic

<400> 124

Gln Gly Ile Thr Ser Trp

1 5

<210> 125

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> Synthetic

<400> 125

gctgcatcc 9

<210> 126

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 126

Ala Ala Ser

1

<210> 127

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 127

caacaggcta acagtttccc tcctact

27

<210> 128

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 128

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Pro Thr

1

5

<210> 129

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 129

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctaagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agttatgcct tgacctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctctttt attagtggta gtggtggttag gccattctac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa catgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccatat attactgtgc gaagtccttg 300
tataaccacca gctggtacgg ggggttcgac tcttggggcc aggggaaccct ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 130

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 130

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ala Leu Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Phe Ile Ser Gly Ser Gly Gly Arg Pro Phe Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Met Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Ser Leu Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Ser Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 131

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic
 <400> 131
 ggattcacct ttagcagtta tgcc 24
 <210> 132
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic
 <400> 132
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
 1 5
 <210> 133
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic
 <400> 133
 attagtggta gtggtggtag gccca 24
 <210> 134
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic
 <400> 134
 Ile Ser Gly Ser Gly Gly Arg Pro
 1 5
 <210> 135
 <211> 45
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 135

gcgaagtcctc tgtataccac cagctgggtac ggggggttcg actcc 45

<210> 136

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 136

Ala Lys Ser Leu Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Ser

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 137

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 137

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtc ggggtgctgc agctgggttag cctgggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcgcct 240
 gaagattttg caacttatta ttgtcaacag tctaacagtt tccctttcac tctcggcct 300
 gggaccaag tggatatcaa a 321

<210> 138

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 138

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Val Val Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Ser Phe Pro Phe
85 90 95
Thr Leu Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 139

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 139

cagggtgtcg tcagctgg

18

<210> 140

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 140

Gln Gly Val Val Ser Trp

1 5

<210> 141

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 141

gctgcatcc

9

<210> 142

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 142

Ala Ala Ser

1

<210> 143

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 143

caacagtcta acagtttccc ttcc

24

<210> 144

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 144

Gln Gln Ser Asn Ser Phe Pro Phe

1

5

<210> 145

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 145

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgaa gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg ctcttgata caccitcacc ggccactata tgtactggat gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaacccta acagtgggtg caciaactat 180

gcacagaagt ttcaggacag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240

atggagctga gcaggctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagggaga 300

tatggcagta gctggtacgg ggggtttgag tactggggcc agggaaccct ggtcacctgc 360

tcctca 366

<210> 146

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 146

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly His

20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Arg Tyr Gly Ser Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Glu Tyr Trp

100	105	110	
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
115	120		
<210> 147			
<211> 24			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> Synthetic			
<400> 147			
ggatacacct tcaccggcca ctat			24
<210> 148			
<211> 8			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> Synthetic			
<400> 148			
Gly Tyr Thr Phe Thr Gly His Tyr			
1	5		
<210> 149			
<211> 24			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> Synthetic			
<400> 149			
atcaacccta acagtgtgg caca			24
<210> 150			
<211> 8			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220>			

<223> Synthetic

<400> 150

Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr

1 5

<210> 151

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 151

gcgagaggga gatatggcag tagctggtac ggggggtttg agtac 45

<210> 152

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 152

Ala Arg Gly Arg Tyr Gly Ser Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Glu Tyr

1 5 10 15

<210> 153

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 153

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgttggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtc gggattacc agctggtag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaacctcct gatctatgct gcagccagtt taaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacggat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagacttta caacttacta ttgtcaacag gcttacagtc tccctctcac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa a

321

<210> 154

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 154

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Thr Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ala Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Thr Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Tyr Ser Leu Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 155

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 155

cagggtatta ccagctgg

18

<210> 156

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 156

Gln Gly Ile Thr Ser Trp

1 5

<210> 157

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 157

gctgcagcc

9

<210> 158

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 158

Ala Ala Ala

1

<210> 159

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 159

caacaggctt acagtctccc tctcact

27

<210> 160

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 160

Gln Gln Ala Tyr Ser Leu Pro Leu Thr

1 5

<210> 161

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 161

caggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatggct tgcactgggt ccgccagtct 120

ccaggcaagg ggctggaatg ggtggcactt atatcatatg acggaagtaa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cagcgtgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag acctgaggac acggctggat atttctgtgc gaaatcccta 300

tatacaacca gctggtacgg gggctttgac tattggggcc aggggaaccct ggtcaccgtc 360

tcctca 366

<210> 162

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 162

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Gly Leu His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45
Ala Leu Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Gly Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Lys Ser Leu Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 163

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 163

ggattcacct tcagtagcta tggc 24

<210> 164

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 164

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1 5

<210> 165

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 165

atatcatatg acggaagtaa taaa

24

<210> 166

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 166

Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys

1 5

<210> 167

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 167

gcgaaatccc tatatacaac cagctggtac gggggctttg actat

45

<210> 168

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 168

Ala Lys Ser Leu Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 169

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 169

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc gggattaga agctggtag cctggatatca gcaaaaacca 120
gggaaagccc ctaacctcct gatctatgct gcgtccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccctccac tttcgccct 300
gggaccaag tggatatcaa a 321

<210> 170

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 170

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 171

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 171

cagggtatta gaagctgg

18

<210> 172

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 172

Gln Gly Ile Arg Ser Trp

1 5

<210> 173

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 173

gctgcgtcc

9

<210> 174

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 174

Ala Ala Ser

1

<210> 175

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 175

caacaggcta acagtttccc tcccact

27

<210> 176

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 176

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Pro Thr

1

5

<210> 177

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 177

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctgggtt caccttcagc aactatgcca tgacctgggt cgcaggct 120

ccaggaagg ggctggagtg ggtctcaact atcagtggca gtggtgataa cacatactac 180

gcagactccg tgcagggccg gttcaccatc tccagaggcc attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaacctacg 300

tatagcagaa gctggtacgg tgcttttgat ttctggggcc aagggacaat ggtcaccgtc 360

tcttca

366

<210> 178

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 178

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Thr Ile Ser Gly Ser Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Gln Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Gly His Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Pro Thr Tyr Ser Arg Ser Trp Tyr Gly Ala Phe Asp Phe Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 179

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 179

gggttcacct tcagcaacta tgcc

24

<210> 180

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 180

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala

1 5

<210> 181

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 181

atcagtggca gtggtgataa caca 24

<210> 182

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 182

Ile Ser Gly Ser Gly Asp Asn Thr

1 5

<210> 183

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 183

gcgaaaccta cgtatagcag aagctggtac ggtgcttttg atttc 45

<210> 184

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 184

Ala Lys Pro Thr Tyr Ser Arg Ser Trp Tyr Gly Ala Phe Asp Phe

1 5 10 15

<210> 185

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 185

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc gggatttagc agctggtag cctggtagc gcagaaaccg 120
gggaaagccc ctcaactcct gatctatgct gcatccagat tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttctggg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacaatt tccattcac ttctggccct 300
gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 186

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 186

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Trp Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65					70					75					80
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Ala	Asn	Asn	Phe	Pro	Phe
					85					90					95
Thr	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr	Lys	Val	Asp	Ile	Lys					
					100					105					

<210> 187

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> Synthetic

<400> 187

cagggtatta gcagctgg

18

<210> 188

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> Synthetic

<400> 188

Gln Gly Ile Ser Ser Trp

1 5

<210> 189

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> Synthetic

<400> 189

gctgcatcc

9

<210> 190

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 190

Ala Ala Ser

1

<210> 191

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 191

caacaggcta acaatttccc attcact

27

<210> 192

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 192

Gln Gln Ala Asn Asn Phe Pro Phe Thr

1

5

<210> 193

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 193

caggttcagc tggatgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggct 60

tcctgcaagg ctcttggtta cacctttacc agttatggta tcagctgggt ggcacaggcc 120

cctggacaag gccttgagtg gatgggatgg atccgcgctt acaatggta cacaactat 180

gcacagaagt ttcagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgaa caccgcctac 240

atggagctga ggaccctgaa ttctgacgat acggccgttt attactgtgc gagagatcga 300
 tatagtggga gcttccacgg taactttgac tactggggcc aggggaaccct ggtcaccgtc 360
 tcctca 366

<210> 194

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 194

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Arg Ala Tyr Asn Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Thr Leu Asn Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Arg Tyr Ser Gly Ser Phe His Gly Asn Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 195

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 195

ggttacacct ttaccagtta tggt

24

<210> 196

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 196

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly

1 5

<210> 197

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 197

atccgcgctt acaatgggta caca

24

<210> 198

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 198

Ile Arg Ala Tyr Asn Gly Tyr Thr

1 5

<210> 199

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 199

gcgagagatc gatatagtgg gagcttccac ggtaactttg actac 45

<210> 200

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 200

Ala Arg Asp Arg Tyr Ser Gly Ser Phe His Gly Asn Phe Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 201

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 201

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcgt ctgtaggaga cagagtgacc 60
atcacttgtc gggcgagtc gggatatttc agctggtag cctggatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaggtcct aatctatgct gcatccaatt tggaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt taccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 202

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 202

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Phe Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Leu Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 203

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 203

cagggtatatt tcagctgg

18

<210> 204

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 204

Gln Gly Ile Phe Ser Trp

1

5

<210> 205

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 205

gctgcatcc

9

<210> 206

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 206

Ala Ala Ser

1

<210> 207

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 207

caacaggcta acagtttacc gctcact

27

<210> 208

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 208

Gln Gln Ala Asn Ser Leu Pro Leu Thr

1

5

<210> 209

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 209

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt acctattcta tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggaagg gactggaata tggttcaact attaataata atggggatac cacatattat 180

gcagactctg tgaagggcag attcaccatc tccagagaca attccaagaa cagcgtgtat 240

cttcaactgg gcagcctgag acctgaggac atggctgtgt attactgtgc gagacagacg 300

tataccagca gctggtacgg ggggttcgac tcctggggcc aggggaaccct ggtcaccgtc 360

tcctca 366

<210> 210

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 210

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr

20 25 30

Ser Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val

35 40 45

Ser Thr Ile Asn Asn Asn Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Leu Gly Ser Leu Arg Pro Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gln Thr Tyr Thr Ser Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Ser Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115	120
<210> 211	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic	
<400> 211	
ggattcacct tcagtaccta ttct	24
<210> 212	
<211> 8	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic	
<400> 212	
Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ser	
1 5	
<210> 213	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic	
<400> 213	
attaataata atggggatac caca	24
<210> 214	
<211> 8	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic	
<400> 214	

Ile Asn Asn Asn Gly Asp Thr Thr

1 5

<210> 215

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 215

gcgagacaga cgtataccag cagctgggtac ggggggttcg actcc 45

<210> 216

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 216

Ala Arg Gln Thr Tyr Thr Ser Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Ser

1 5 10 15

<210> 217

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 217

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggcga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtc ggggtattacc agctgggttag cctgggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccaatt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcacgc gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcaccag cctgcagcct 240

gaggattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtc tccattcac ttteggccct 300

gggaccaaaag tggatatcaa a 321

<210> 218

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 218

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Thr Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Leu Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 219

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 219

cagggtatta ccagctgg

18

<210> 220

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 220

Gln Gly Ile Thr Ser Trp

1 5

<210> 221

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 221

gctgcatcc

9

<210> 222

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 222

Ala Ala Ser

1

<210> 223

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 223

caacaggcta acagtctccc attcact

27

<210> 224

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 224

Gln Gln Ala Asn Ser Leu Pro Phe Thr

1 5

<210> 225

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 225

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacccttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggcag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa ctgcgtgtat 240

ctgcaattga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaagacgctg 300

tatactacca gctggtacgg gggcttccag cactggggcc agggcaccct ggtcactgtc 360

tcctca 366

<210> 226

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 226

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Ser Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50

55

60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr

65

70

75

80

Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Lys Thr Leu Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Gln His Trp

100

105

110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 227

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 227

ggattcaccc ttagcagcta tgcc

24

<210> 228

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 228

Gly Phe Thr Leu Ser Ser Tyr Ala

1

5

<210> 229

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 229

attagtggtgta gtggtggcag caca 24

<210> 230

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 230

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 231

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 231

gcgaagacgc tgtatactac cagctggtac gggggcttcc agcac 45

<210> 232

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 232

Ala Lys Thr Leu Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Gln His

1 5 10 15

<210> 233

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 233

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctataggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc gggaaacagc agttggtag cctggtagca gcagaaacca 120
gggaaagtcc ctaagctcct gatctatgct gcgtcctctt tgcaaagtgg gttcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagtag cctgcagccc 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag actcacagtt tcccgtaggac ggtcggccaa 300
gggaccaagg tggaatcaa a 321

<210> 234

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 234

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Ile Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Phe Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr His Ser Phe Pro Trp
85 90 95
Thr Val Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 235

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 235

cagggaatca gcagttgg

18

<210> 236

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 236

Gln Gly Ile Ser Ser Trp

1 5

<210> 237

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 237

gctgcgtcc

9

<210> 238

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 238

Ala Ala Ser

1

<210> 239

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 239

caacagactc acagtttccc gtgg

24

<210> 240

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 240

Gln Gln Thr His Ser Phe Pro Trp

1

5

<210> 241

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 241

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacccttagg agctatttca tgacctgggt ccgccagggt 120

ccagggaagg ggctggaggg ggtctcagct attagtggca ttagtgggtg cacatactac 180

acagactccg ttaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat atttctgtgc gagaacggtg 300

tatagtagta gttactacgg gggcttccag cactggggcc agggcaccct ggtcaccgtc 360

tcctca

366

<210> 242

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 242

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Arg Ser Tyr

20 25 30

Phe Met Thr Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Gly Val

35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ile Ser Gly Gly Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Thr Val Tyr Ser Ser Ser Tyr Tyr Gly Gly Phe Gln His Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 243

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 243

ggattcaccc ttaggagcta tttc

24

<210> 244

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 244

Gly Phe Thr Leu Arg Ser Tyr Phe

1 5

<210> 245

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 245

attagtggca ttagtggtgg caca 24

<210> 246

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 246

Ile Ser Gly Ile Ser Gly Gly Thr

1 5

<210> 247

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 247

gcgagaacgg tgtatagtag tagttactac gggggcttcc agcac 45

<210> 248

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 248

Ala Arg Thr Val Tyr Ser Ser Ser Tyr Tyr Gly Gly Phe Gln His

1 5 10 15

<210> 249

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 249

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgtat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtc ggggtattagc agttgggttag cctgggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgtt gcatccagtt tacaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag actaacagtt tccctctcac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 250

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 250

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Val Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Val Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asn Ser Phe Pro Leu

	85	90	95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys			
	100	105	
<210> 251			
<211> 18			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> Synthetic			
<400> 251			
cagggtatta gcagttgg			18
<210> 252			
<211> 6			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> Synthetic			
<400> 252			
Gln Gly Ile Ser Ser Trp			
1	5		
<210> 253			
<211> 9			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> Synthetic			
<400> 253			
gttgcattcc			9
<210> 254			
<211> 3			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> Synthetic			

<400> 254

Val Ala Ser

1

<210> 255

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 255

caacagacta acagtttccc tctcact 27

<210> 256

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 256

Gln Gln Thr Asn Ser Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 257

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 257

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacccttagg agttatgtca tgtactgggt cgccagggt 120

ccaggaagg ggctggagg ggtctcaggt attagtggca gtagtgggtg cacatactac 180

acagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat atttctgtgc gagatcgggtg 300

tatagtacca cctggtacgg gggcttccag cactggggcc agggcacctt ggtcaccgtc 360

tcctca 366

<210> 258

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 258

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Arg Ser Tyr

20 25 30

Val Met Tyr Trp Val Arg Gln Gly Pro Gly Lys Gly Leu Glu Gly Val

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Gly Ser Ser Gly Gly Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Ser Val Tyr Ser Thr Thr Trp Tyr Gly Gly Phe Gln His Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 259

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 259

ggattcaccc ttaggagtta tgtc

24

<210> 260

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 260

Gly Phe Thr Leu Arg Ser Tyr Val

1 5

<210> 261

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 261

attagtgga gtagtggtgg caca 24

<210> 262

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 262

Ile Ser Gly Ser Ser Gly Gly Thr

1 5

<210> 263

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 263

gcgagatcgg tgtatagtac cacctggtac gggggcttcc agcac 45

<210> 264

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 264

Ala Arg Ser Val Tyr Ser Thr Thr Trp Tyr Gly Gly Phe Gln His

1 5 10 15

<210> 265

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 265

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgtat ctgtgggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc ggttattagc agttggtag cctggtatca gctgaaacca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt taaaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcgg cctgcagcct 240
gaagattttg cagtttacta ttgtcaacag actaacagtt tccctctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 266

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 266

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Val Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Val Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Leu Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asn Ser Phe Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 267

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 267

caggttatta gcagttgg

18

<210> 268

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 268

Gln Val Ile Ser Ser Trp

1 5

<210> 269

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 269

gctgcatcc

9

<210> 270

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 270

Ala Ala Ser

1

<210> 271

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 271

caacagacta acagtttccc tctcact

27

<210> 272

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 272

Gln Gln Thr Asn Ser Phe Pro Leu Thr

1

5

<210> 273

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 273

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaaac ttggaacagc ctgggggggtc ccttagactc 60

tcctgtacag cctctggatt cacctttagc agatctgcca tgaactgggt ccgccgggct 120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagga attagtggta gtgggtggtcg aacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa tacgctatat 240

ctgcaaatga acagcctgag cgccgaggac acggccgcat attactgtgc gaaagattcg 300

tatactacca gttaggtacgg aggtatggac gtctggggcc acgggaccac ggtcaccgtc 360

tcctca 366

<210> 274

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 274

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asn Leu Glu Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Ser

20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Arg Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Gly Ser Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Ser Ala Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Asp Ser Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Met Asp Val Trp

100 105 110

Gly His Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 275

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 275

ggattcacct ttagcagatc tgcc

24

<210> 276

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 276

Gly Phe Thr Phe Ser Arg Ser Ala

1 5

<210> 277

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 277

attagtggta gtggtggtcg aaca

24

<210> 278

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 278

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Arg Thr

1 5

<210> 279

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 279

gcgaaagatt cgtatactac cagttggtac ggaggtatgg acgtc 45

<210> 280

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 280

Ala Lys Asp Ser Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Met Asp Val

1 5 10 15

<210> 281

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 281

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcagagtc gggatatttc agctggtag cctggtagtca gcagaaacca 120
ggaaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcttccagtt tacaaagtgg ggtcccatca 180
agattcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaggattttg caatttacta ttgtcaacag gctaacagtg tcccgatcac cttcggccaa 300
gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 282

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 282

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Phe Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Val Pro Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 283

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 283

cagggtattt tcagctgg

18

<210> 284

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 284

Gln Gly Ile Phe Ser Trp

1 5

<210> 285

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 285

gctgcttcc

9

<210> 286

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 286

Ala Ala Ser

1

<210> 287

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 287

caacaggcta acagtgtccc gatcacc

27

<210> 288

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 288

Gln Gln Ala Asn Ser Val Pro Ile Thr

1 5

<210> 289

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 289

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgttcag cctctggatt caccttttagc agctatgccca tgaactgggt ccgccaggct 120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtcaccgct attagtggca gtggtggtgg cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa ctgctgtttt 240

ctgcaattga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaacaaacg 300

tataccagca gctggtacgg tggctttgat atctggggcc aggggacaat ggtcaccgtc 360

tcttca 366

<210> 290

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 290

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Thr Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Phe

65 70 75 80
 Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Gln Thr Tyr Thr Ser Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Ile Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 291

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 291

ggattcacct ttagcagcta tgcc 24

<210> 292

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 292

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 293

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 293

attagtggca gtggtggtgg caca 24

<210> 294

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 294

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr

1 5

<210> 295

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 295

gcgaacacaaa cgtataccag cagctgggtac ggtggccttg atatc 45

<210> 296

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 296

Ala Lys Gln Thr Tyr Thr Ser Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Ile

1 5 10 15

<210> 297

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 297

gacatccaga tgaccagtc gccatcttcc gtgtccgcgt ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtc gggttttagt tcctgggttag cctggtatca gcagatacca 120

gggaaagccc ccaagtcct gatctatgct gcatcaaggt tgcaaagtgg ggtcccatcc 180
 aggttccgcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaggattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgtcac tttcggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 298

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 298

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Phe Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Arg Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 299

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 299

cagggtttta gttcctgg	18
<210> 300	
<211> 6	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic	
<400> 300	
Gln Gly Phe Ser Ser Trp	
1 5	
<210> 301	
<211> 9	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic	
<400> 301	
gctgcatca	9
<210> 302	
<211> 3	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic	
<400> 302	
Ala Ala Ser	
1	
<210> 303	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic	
<400> 303	

caacaggcta acagtttccc gctcact

27

<210> 304

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 304

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 305

<211> 167

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 305

Ser Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Ser Leu Ala Ser Leu Ser

1 5 10 15

Thr Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser Tyr

20 25 30

Glu Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Lys Lys Lys Asp Lys Val

35 40 45

Leu Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser Ser Glu Ser Gly Asp

50 55 60

Gly Val Asp Gly Lys Met Leu Met Val Thr Leu Ser Pro Thr Lys Asp

65 70 75 80

Phe Trp Leu Gln Ala Asn Asn Lys Glu His Ser Val Glu Leu His Lys

85 90 95

Cys Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe Val Leu His Asn Arg

100 105 110

Ser Phe Asn Cys Val Ser Phe Glu Cys Lys Thr Asp Pro Gly Val Phe

115 120 125

Ile Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys Val Asp Tyr Ser

130

135

140

Glu Asn Leu Gly Ser Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu Ser Glu Ile Leu

145

150

155

160

Glu His His His His His His

165

<210> 306

<211> 167

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 306

Ser Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Ser Leu Ala Ser Leu Ser

1

5

10

15

Thr Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser Tyr

20

25

30

Glu Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Lys Lys Lys Asp Lys Val

35

40

45

Leu Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser Ser Glu Ser Gly Asp

50

55

60

Gly Val Asp Gly Lys Met Leu Met Val Thr Leu Ser Pro Thr Lys Asp

65

70

75

80

Phe Trp Leu Gln Ala Asn Asn Lys Glu His Ser Val Glu Leu His Lys

85

90

95

Cys Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe Val Leu His Asn Arg

100

105

110

Ser Phe Asn Cys Val Ser Phe Glu Cys Lys Thr Asp Pro Gly Val Phe

115

120

125

Ile Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys Val Asp Tyr Ser

130

135

140

Glu Asn Leu Gly Ser Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu Ser Glu Ile Leu

145 150 155 160

Glu His His His His His His

165

<210> 307

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 307

caggtcacct tgaaggagtc tggctctgtg ctggtgaaac ccacagagag cctcacgctg 60
acctgctccg tctctggatt ctactcagt aatgttagaa tgggtgtgag ctggatccgt 120
cagtcgccag ggaaggccct ggagtggctt gcacacattt tttcgaatga cgaaaaatcc 180
tacaccacat ctctgaagac caggctcacc atctccaagg acacctccag aagccaggtg 240

gtccttacca tgaccgacat ggaccctggg gacacagcca catattactg tgcacggata 300
cggaatttgg cctttaatta ctggggccag ggaacctggg tcaccgtctc ctca 354

<210> 308

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 308

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

1 5 10 15

Ser Leu Thr Leu Thr Cys Ser Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Val

20 25 30

Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Gly Lys Ala Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Thr Thr Ser

50 55 60

Leu Lys Thr Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Arg Ser Gln Val
65 70 75 80
Val Leu Thr Met Thr Asp Met Asp Pro Gly Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ile Arg Asn Leu Ala Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 309

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 309

ggattctcac tcagtaatgt tagaatgggt 30

<210> 310

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 310

Gly Phe Ser Leu Ser Asn Val Arg Met Gly

1 5 10

<210> 311

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 311

attttttcga atgacgaaaa a 21

<210> 312

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 312

Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys

1 5

<210> 313

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 313

gcacggatac ggaatttggc ctttaattac 30

<210>

314

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 314

Ala Arg Ile Arg Asn Leu Ala Phe Asn Tyr

1 5 10

<210> 315

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 315

gacttcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca gagtgtgtta cacaggtcca gcaataagaa ctacttagct 120
 tggatatcagc agaagccagg acagcctcct aacctgctca ttctactgggc atctaccgg 180
 gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatggtact 300
 ctatttactt tcggccctgg gaccaaagtg gatatcaaa 339

<210> 316

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 316

Asp Phe Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu His Arg

20 25 30

Ser Ser Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Pro Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Tyr Gly Thr Leu Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile

100 105 110

Lys

<210> 317

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 317

cagagtgtgt tacacaggtc cagcaataag aactac

36

<210> 318

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 318

Gln Ser Val Leu His Arg Ser Ser Asn Lys Asn Tyr

1

5

10

<210> 319

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 319

tgggcatct

9

<210> 320

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 320

Trp Ala Ser

1

<210> 321

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 321

cagcaatatt atgg tactct atttact

27

<210> 322

<211> 9

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 322

Gln Gln Tyr Tyr Gly Thr Leu Phe Thr

1 5

<210> 323

<211> 537

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> hST2-hFc

<400> 323

Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val

1 5 10 15

Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp Tyr Tyr

20 25 30

Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg Val Phe

35 40 45

Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Ala Val Ala Asp Ser

50 55 60

Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg Thr Gly

65 70 75 80

Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn Val Pro

85 90 95

Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn Ser Lys

100 105 110

Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Leu Glu

115 120 125

Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg Ala His

130 135 140

Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala Gly Asp

145 150 155 160

Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr Ser Val

165 170 175

Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe Ser Leu

180 185 190

Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu Val Glu

195 200 205

Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly Lys Gly

210 215 220

Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr Lys Ile

225 230 235 240

Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln Asn Gln

245 250 255

Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg Ile Ala

260 265 270

Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu Ala Leu

275 280 285

Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg Lys Asn

290 295 300

Pro Ile Asp His His Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

305 310 315 320

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

325 330 335

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

340 345 350
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

355 360 365
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

370 375 380
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

385 390 395 400
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

405 410 415
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln

420 425 430
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu

435 440 445
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro

450 455 460
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

465 470 475 480
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu

485 490 495
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

500 505 510
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

515 520 525
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

530 535

<210> 324

<211> 543

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> hST2-mFc

<400> 324

Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val

1 5 10 15
Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp Tyr Tyr
20 25 30
Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg Val Phe
35 40 45
Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Ala Val Ala Asp Ser
50 55 60
Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg Thr Gly

65 70 75 80
Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn Val Pro
85 90 95
Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn Ser Lys
100 105 110
Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Leu Glu
115 120 125
Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg Ala His

130 135 140
Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala Gly Asp
145 150 155 160
Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr Ser Val
165 170 175
Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe Ser Leu
180 185 190
Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu Val Glu

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

245 250 255
Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg Ile Ala

260 265 270
Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu Ala Leu

275 280 285
Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg Lys Asn

290 295 300
Pro Ile Asp His His Ser Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys

305 310 315 320
Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val

325 330 335
Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser

340 345 350
Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp

355 360 365
Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln

370 375 380
Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser

385 390 395 400
Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys

405 410 415
Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile

420 425 430
Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro

435 440 445
Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met

450 455 460
Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn

465 470 475 480
Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser

485 490 495

Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn
500 505 510

Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu
515 520 525

His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
530 535 540

<210> 325
<211> 884
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> hST2-hIL1RAcP-mFc
<400> 325

Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val
1 5 10 15

Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp Tyr Tyr
20 25 30

Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg Val Phe
35 40 45

Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Ala Val Ala Asp Ser
50 55 60

Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg Thr Gly
65 70 75 80

Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn Val Pro
85 90 95

Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn Ser Lys
100 105 110

Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Leu Glu
115 120 125

Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg Ala His
130 135 140

Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala Gly Asp

145 150 155 160
 Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr Ser Val
 165 170 175
 Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe Ser Leu
 180 185 190
 Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu Val Glu
 195 200 205
 Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly Lys Gly
 210 215 220

 Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr Lys Ile
 225 230 235 240
 Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln Asn Gln
 245 250 255
 Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg Ile Ala
 260 265 270
 Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu Ala Leu
 275 280 285

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

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

Asn Tyr Thr Cys Met Leu Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala
405 410 415

Phe Pro Leu Glu Val Val Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Pro Met
420 425 430

Lys Leu Pro Val His Lys Leu Tyr Ile Glu Tyr Gly Ile Gln Arg Ile
435 440 445

Thr Cys Pro Asn Val Asp Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Thr
450 455 460

Ile Thr Trp Tyr Met Gly Cys Tyr Lys Ile Gln Asn Phe Asn Asn Val
465 470 475 480

Ile Pro Glu Gly Met Asn Leu Ser Phe Leu Ile Ala Leu Ile Ser Asn
485 490 495

Asn Gly Asn Tyr Thr Cys Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Thr
500 505 510

Phe His Leu Thr Arg Thr Leu Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys
515 520 525

Asn Ala Val Pro Pro Val Ile His Ser Pro Asn Asp His Val Val Tyr
530 535 540

Glu Lys Glu Pro Gly Glu Glu Leu Leu Ile Pro Cys Thr Val Tyr Phe
545 550 555 560

Ser Phe Leu Met Asp Ser Arg Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly
565 570 575

Lys Lys Pro Asp Asp Ile Thr Ile Asp Val Thr Ile Asn Glu Ser Ile
580 585 590

Ser His Ser Arg Thr Glu Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile
595 600 605

Lys Lys Val Thr Ser Glu Asp Leu Lys Arg Ser Tyr Val Cys His Ala
610 615 620

Arg Ser Ala Lys Gly Glu Val Ala Lys Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys
625 630 635 640

Val Pro Ala Pro Arg Tyr Thr Val Glu Ser Gly Glu Pro Arg Gly Pro

645	650	655
Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu		
660	665	670
Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu		
675	680	685
Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser		
690	695	700
Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu		
705	710	715
Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr		
725	730	735
Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser		
740	745	750
Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro		
755	760	765
Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln		
770	775	780
Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val		
785	790	795
Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val		
805	810	815
Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu		
820	825	830
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg		
835	840	845
Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val		
850	855	860
Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg		
865	870	875
Thr Pro Gly Lys		

<210> 326

<211> 880

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> mST2-mIL1RAcP-mFc

<400> 326

Ser Lys Ser Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val Arg Cys

1 5 10 15

Pro Gln Arg Gly Arg Ser Thr Tyr Pro Val Glu Trp Tyr Tyr Ser Asp

20 25 30

Thr Asn Glu Ser Ile Pro Thr Gln Lys Arg Asn Arg Ile Phe Val Ser

35 40 45

Arg Asp Arg Leu Lys Phe Leu Pro Ala Arg Val Glu Asp Ser Gly Ile

50 55 60

Tyr Ala Cys Val Ile Arg Ser Pro Asn Leu Asn Lys Thr Gly Tyr Leu

65 70 75 80

Asn Val Thr Ile His Lys Lys Pro Pro Ser Cys Asn Ile Pro Asp Tyr

85 90 95

Leu Met Tyr Ser Thr Val Arg Gly Ser Asp Lys Asn Phe Lys Ile Thr

100 105 110

Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Val Gln Trp Phe

115 120 125

Lys Asn Cys Lys Ala Leu Gln Glu Pro Arg Phe Arg Ala His Arg Ser

130 135 140

Tyr Leu Phe Ile Asp Asn Val Thr His Asp Asp Glu Gly Asp Tyr Thr

145 150 155 160

Cys Gln Phe Thr His Ala Glu Asn Gly Thr Asn Tyr Ile Val Thr Ala

165 170 175

Thr Arg Ser Phe Thr Val Glu Glu Lys Gly Phe Ser Met Phe Pro Val

180 185 190

Ile Thr Asn Pro Pro Tyr Asn His Thr Met Glu Val Glu Ile Gly Lys

195	200	205	
Pro Ala Ser Ile Ala Cys Ser Ala Cys Phe Gly Lys Gly Ser His Phe			
210	215	220	
Leu Ala Asp Val Leu Trp Gln Ile Asn Lys Thr Val Val Gly Asn Phe			
225	230	235	240
Gly Glu Ala Arg Ile Gln Glu Glu Glu Gly Arg Asn Glu Ser Ser Ser			
245	250	255	
Asn Asp Met Asp Cys Leu Thr Ser Val Leu Arg Ile Thr Gly Val Thr			
260	265	270	
Glu Lys Asp Leu Ser Leu Glu Tyr Asp Cys Leu Ala Leu Asn Leu His			
275	280	285	
Gly Met Ile Arg His Thr Ile Arg Leu Arg Arg Lys Gln Pro Ile Asp			
290	295	300	
His Arg Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp Thr Met Arg Gln			
305	310	315	320
Ile Gln Val Phe Glu Asp Glu Pro Ala Arg Ile Lys Cys Pro Leu Phe			
325	330	335	
Glu His Phe Leu Lys Tyr Asn Tyr Ser Thr Ala His Ser Ser Gly Leu			
340	345	350	
Thr Leu Ile Trp Tyr Trp Thr Arg Gln Asp Arg Asp Leu Glu Glu Pro			
355	360	365	
Ile Asn Phe Arg Leu Pro Glu Asn Arg Ile Ser Lys Glu Lys Asp Val			
370	375	380	
Leu Trp Phe Arg Pro Thr Leu Leu Asn Asp Thr Gly Asn Tyr Thr Cys			
385	390	395	400
Met Leu Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala Phe Pro Leu Glu			
405	410	415	
Val Val Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Ala Met Arg Phe Pro Val			
420	425	430	
His Lys Met Tyr Ile Glu His Gly Ile His Lys Ile Thr Cys Pro Asn			
435	440	445	

Val Asp Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Ser Val Thr Trp Tyr
450 455 460

Lys Gly Cys Thr Glu Ile Val Asp Phe His Asn Val Leu Pro Glu Gly
465 470 475 480

Met Asn Leu Ser Phe Phe Ile Pro Leu Val Ser Asn Asn Gly Asn Tyr
485 490 495

Thr Cys Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Leu Phe His Leu Thr
500 505 510

Arg Thr Val Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys Asp Ala Leu Pro
515 520 525

Pro Gln Ile Tyr Ser Pro Asn Asp Arg Val Val Tyr Glu Lys Glu Pro
530 535 540

Gly Glu Glu Leu Val Ile Pro Cys Lys Val Tyr Phe Ser Phe Ile Met
545 550 555 560

Asp Ser His Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys Pro Asp
565 570 575

Asp Val Thr Val Asp Ile Thr Ile Asn Glu Ser Val Ser Tyr Ser Ser
580 585 590

Thr Glu Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile Lys Lys Val Thr
595 600 605

Pro Glu Asp Leu Arg Arg Asn Tyr Val Cys His Ala Arg Asn Thr Lys
610 615 620

Gly Glu Ala Glu Gln Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys Val Ile Pro Pro
625 630 635 640

Arg Tyr Thr Val Glu Ser Gly Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro
645 650 655

Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser
660 665 670

Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu
675 680 685

Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro

690 695 700
 Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala
 705 710 715 720
 Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val
 725 730 735

 Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe
 740 745 750
 Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr
 755 760 765
 Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu
 770 775 780
 Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys
 785 790 795 800

 Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn
 805 810 815
 Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp
 820 825 830
 Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys
 835 840 845
 Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly
 850 855 860

 Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
 865 870 875 880
 <210> 327
 <211> 876
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> hST2-hL1RAcP-hFc
 <400> 327
 Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val
 1 5 10 15

Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp Tyr Tyr
 20 25 30
 Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg Val Phe
 35 40 45
 Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Ala Val Ala Asp Ser
 50 55 60
 Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg Thr Gly
 65 70 75 80
 Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn Val Pro
 85 90 95
 Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn Ser Lys
 100 105 110
 Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Leu Glu
 115 120 125
 Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg Ala His
 130 135 140
 Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala Gly Asp
 145 150 155 160
 Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr Ser Val
 165 170 175
 Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe Ser Leu
 180 185 190
 Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu Val Glu
 195 200 205
 Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly Lys Gly
 210 215 220
 Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr Lys Ile
 225 230 235 240
 Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln Asn Gln
 245 250 255
 Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg Ile Ala

260 265 270
 Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu Ala Leu
 275 280 285
 Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg Lys Asn

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

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

420 425 430
 Lys Leu Pro Val His Lys Leu Tyr Ile Glu Tyr Gly Ile Gln Arg Ile
 435 440 445
 Thr Cys Pro Asn Val Asp Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Thr
 450 455 460
 Ile Thr Trp Tyr Met Gly Cys Tyr Lys Ile Gln Asn Phe Asn Asn Val
 465 470 475 480
 Ile Pro Glu Gly Met Asn Leu Ser Phe Leu Ile Ala Leu Ile Ser Asn

485 490 495
 Asn Gly Asn Tyr Thr Cys Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Thr
 500 505 510

Phe His Leu Thr Arg Thr Leu Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys
 515 520 525
 Asn Ala Val Pro Pro Val Ile His Ser Pro Asn Asp His Val Val Tyr
 530 535 540
 Glu Lys Glu Pro Gly Glu Glu Leu Leu Ile Pro Cys Thr Val Tyr Phe

 545 550 555 560
 Ser Phe Leu Met Asp Ser Arg Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly
 565 570 575
 Lys Lys Pro Asp Asp Ile Thr Ile Asp Val Thr Ile Asn Glu Ser Ile
 580 585 590
 Ser His Ser Arg Thr Glu Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile
 595 600 605
 Lys Lys Val Thr Ser Glu Asp Leu Lys Arg Ser Tyr Val Cys His Ala

 610 615 620
 Arg Ser Ala Lys Gly Glu Val Ala Lys Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys
 625 630 635 640
 Val Pro Ala Pro Arg Tyr Thr Val Glu Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 645 650 655
 Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 660 665 670
 Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val

 675 680 685
 Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 690 695 700
 Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 705 710 715 720
 Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 725 730 735
 Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val

 740 745 750
 Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala

755 760 765
 Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
 770 775 780
 Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 785 790 795 800
 Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro

805 810 815
 Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 820 825 830
 Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 835 840 845
 Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 850 855 860
 Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

865 870 875

<210> 328

<211> 310

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> human ST2 extracellular domain

<400> 328

Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val
 1 5 10 15
 Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp Tyr Tyr
 20 25 30
 Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg Val Phe
 35 40 45

Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Ala Val Ala Asp Ser
 50 55 60
 Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg Thr Gly
 65 70 75 80

Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn Val Pro
 85 90 95
 Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn Ser Lys
 100 105 110

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

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

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

 Pro Ile Asp His His Ser
 305 310
 <210> 329

<211> 306

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> mouse ST2 extracellular domain

<400> 329

Ser Lys Ser Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val Arg Cys

1 5 10 15

Pro Gln Arg Gly Arg Ser Thr Tyr Pro Val Glu Trp Tyr Tyr Ser Asp

20 25 30

Thr Asn Glu Ser Ile Pro Thr Gln Lys Arg Asn Arg Ile Phe Val Ser

35 40 45

Arg Asp Arg Leu Lys Phe Leu Pro Ala Arg Val Glu Asp Ser Gly Ile

50 55 60

Tyr Ala Cys Val Ile Arg Ser Pro Asn Leu Asn Lys Thr Gly Tyr Leu

65 70 75 80

Asn Val Thr Ile His Lys Lys Pro Pro Ser Cys Asn Ile Pro Asp Tyr

85 90 95

Leu Met Tyr Ser Thr Val Arg Gly Ser Asp Lys Asn Phe Lys Ile Thr

100 105 110

Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Val Gln Trp Phe

115 120 125

Lys Asn Cys Lys Ala Leu Gln Glu Pro Arg Phe Arg Ala His Arg Ser

130 135 140

Tyr Leu Phe Ile Asp Asn Val Thr His Asp Asp Glu Gly Asp Tyr Thr

145 150 155 160

Cys Gln Phe Thr His Ala Glu Asn Gly Thr Asn Tyr Ile Val Thr Ala

165 170 175

Thr Arg Ser Phe Thr Val Glu Glu Lys Gly Phe Ser Met Phe Pro Val

180 185 190

Ile Thr Asn Pro Pro Tyr Asn His Thr Met Glu Val Glu Ile Gly Lys

195 200 205

Pro Ala Ser Ile Ala Cys Ser Ala Cys Phe Gly Lys Gly Ser His Phe
210 215 220

Leu Ala Asp Val Leu Trp Gln Ile Asn Lys Thr Val Val Gly Asn Phe
225 230 235 240

Gly Glu Ala Arg Ile Gln Glu Glu Gly Arg Asn Glu Ser Ser Ser
245 250 255

Asn Asp Met Asp Cys Leu Thr Ser Val Leu Arg Ile Thr Gly Val Thr
260 265 270

Glu Lys Asp Leu Ser Leu Glu Tyr Asp Cys Leu Ala Leu Asn Leu His
275 280 285

Gly Met Ile Arg His Thr Ile Arg Leu Arg Arg Lys Gln Pro Ile Asp
290 295 300

His Arg

305

<210> 330

<211> 339

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> human IL1RAcP extracellular domain

<400> 330

Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp Thr Met Arg Gln Ile Gln
1 5 10 15

Val Phe Glu Asp Glu Pro Ala Arg Ile Lys Cys Pro Leu Phe Glu His
20 25 30

Phe Leu Lys Phe Asn Tyr Ser Thr Ala His Ser Ala Gly Leu Thr Leu
35 40 45

Ile Trp Tyr Trp Thr Arg Gln Asp Arg Asp Leu Glu Glu Pro Ile Asn
50 55 60

Phe Arg Leu Pro Glu Asn Arg Ile Ser Lys Glu Lys Asp Val Leu Trp
65 70 75 80

Phe Arg Pro Thr Leu Leu Asn Asp Thr Gly Asn Tyr Thr Cys Met Leu

85 90 95
Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala Phe Pro Leu Glu Val Val
100 105 110

Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Pro Met Lys Leu Pro Val His Lys
115 120 125

Leu Tyr Ile Glu Tyr Gly Ile Gln Arg Ile Thr Cys Pro Asn Val Asp
130 135 140

Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Thr Ile Thr Trp Tyr Met Gly
145 150 155 160

Cys Tyr Lys Ile Gln Asn Phe Asn Asn Val Ile Pro Glu Gly Met Asn
165 170 175

Leu Ser Phe Leu Ile Ala Leu Ile Ser Asn Asn Gly Asn Tyr Thr Cys
180 185 190

Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Thr Phe His Leu Thr Arg Thr
195 200 205

Leu Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys Asn Ala Val Pro Pro Val
210 215 220

Ile His Ser Pro Asn Asp His Val Val Tyr Glu Lys Glu Pro Gly Glu
225 230 235 240

Glu Leu Leu Ile Pro Cys Thr Val Tyr Phe Ser Phe Leu Met Asp Ser
245 250 255

Arg Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys Pro Asp Asp Ile
260 265 270

Thr Ile Asp Val Thr Ile Asn Glu Ser Ile Ser His Ser Arg Thr Glu
275 280 285

Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile Lys Lys Val Thr Ser Glu
290 295 300

Asp Leu Lys Arg Ser Tyr Val Cys His Ala Arg Ser Ala Lys Gly Glu
305 310 315 320

Val Ala Lys Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys Val Pro Ala Pro Arg Tyr
325 330 335

Thr Val Glu

<210> 331

<211> 339

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> mouse IL1RAcP extracellular domain

<400> 331

Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp Thr Met Arg Gln Ile Gln

1 5 10 15

Val Phe Glu Asp Glu Pro Ala Arg Ile Lys Cys Pro Leu Phe Glu His

20 25 30

Phe Leu Lys Tyr Asn Tyr Ser Thr Ala His Ser Ser Gly Leu Thr Leu

35 40 45

Ile Trp Tyr Trp Thr Arg Gln Asp Arg Asp Leu Glu Glu Pro Ile Asn

50 55 60

Phe Arg Leu Pro Glu Asn Arg Ile Ser Lys Glu Lys Asp Val Leu Trp

65 70 75 80

Phe Arg Pro Thr Leu Leu Asn Asp Thr Gly Asn Tyr Thr Cys Met Leu

85 90 95

Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala Phe Pro Leu Glu Val Val

100 105 110

Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Ala Met Arg Phe Pro Val His Lys

115 120 125

Met Tyr Ile Glu His Gly Ile His Lys Ile Thr Cys Pro Asn Val Asp

130 135 140

Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Ser Val Thr Trp Tyr Lys Gly

145 150 155 160

Cys Thr Glu Ile Val Asp Phe His Asn Val Leu Pro Glu Gly Met Asn

165 170 175

Leu Ser Phe Phe Ile Pro Leu Val Ser Asn Asn Gly Asn Tyr Thr Cys

180 185 190
Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Leu Phe His Leu Thr Arg Thr
195 200 205

Val Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys Asp Ala Leu Pro Pro Gln
210 215 220
Ile Tyr Ser Pro Asn Asp Arg Val Val Tyr Glu Lys Glu Pro Gly Glu
225 230 235 240
Glu Leu Val Ile Pro Cys Lys Val Tyr Phe Ser Phe Ile Met Asp Ser
245 250 255
His Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys Pro Asp Asp Val
260 265 270

Thr Val Asp Ile Thr Ile Asn Glu Ser Val Ser Tyr Ser Ser Thr Glu
275 280 285
Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile Lys Lys Val Thr Pro Glu
290 295 300
Asp Leu Arg Arg Asn Tyr Val Cys His Ala Arg Asn Thr Lys Gly Glu
305 310 315 320
Ala Glu Gln Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys Val Ile Pro Pro Arg Tyr
325 330 335

Thr Val Glu

<210> 332

<211> 227

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> human IgG1 Fc

<400> 332

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 333

<211> 233

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> mouse IgG2a Fc

<400> 333

Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro

1 5 10 15

Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys

20 25 30

Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val

35 40 45

Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe

50 55 60

Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu

65 70 75 80

Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His

85 90 95

Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys

100 105 110

Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser

115 120 125

Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met

130 135 140

Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro

145 150 155 160

Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn

165 170 175

Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met

180 185 190

Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser

195 200 205

Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr

210 215 220

Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys

225

<210> 334

<211> 167

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> M.fascicularis IL-33-6His

<400> 334

Ser Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Ser Leu Ala Ser Leu Ser

Thr Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser Tyr

20 25 30

Glu Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Lys Lys Lys Asp Lys Val

35 40 45

Leu Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser Ser Glu Ser Gly Asp

50 55 60

Gly Val Asp Gly Lys Met Leu Met Val Thr Leu Ser Pro Thr Lys Asp

Phe Trp Leu Gln Ala Asn Asn Lys Glu His Ser Val Glu Leu His Lys

85 90 95

Cys Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe Val Leu His Asn Arg

100 105 110

Ser Phe Asn Cys Val Ser Phe Glu Cys Lys Thr Asp Pro Gly Val Phe

Ile Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys Val Asp Tyr Ser

130 135 140

Glu Asn Leu Gly Ser Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu Ser Glu Ile Leu

Glu His His His His His

165

<210> 335

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCVR-mouse surrogate IL-4R Ab

<400> 335

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Arg Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Asn Ile His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Pro Asn Asn Gly Asp Asn Gly Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Arg Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Arg Leu Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 336

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LCVR-mouse surrogate IL-4R Ab

<400> 336

Asn Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr

20 25 30

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

Pro Val Glu Ala Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn
 85 90 95
 Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 337

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Dupilumab HCVR

<400> 337

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Glu Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr

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

85 90 95
 Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
 100 105 110
 Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser

115 120

<210> 338

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Dupilumab LCVR

<400> 338

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser

20 25 30

Ile Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Ser Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Phe Tyr Tyr Cys Met Gln Ala

85 90 95

Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 339

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Dupilumab HCDR1

<400> 339

Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr Ala

1 5

<210> 340

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Dupilumab HCDR2

<400> 340

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr

1 5

<210> 341

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Dupilumab HCDR3

<400> 341

Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu

1 5 10 15

Asp Val

<210> 342

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Dupilumab LCDR1

<400> 342

Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ile Gly Tyr Asn Tyr

1 5 10

<210> 343

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Dupilumab LCDR2

<400> 343

Leu Gly Ser

1

<210> 344

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Dupilumab LCDR3

<400> 344

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Tyr Thr

1

5

<210> 345

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Dupilumab heavy chain

<400> 345

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Glu Gln Pro Gly Gly

1

5

10

15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr

20

25

30

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

35

40

45

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50

55

60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65

70

75

80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu

100

105

110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
 115 120 125
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser
 130 135 140
 Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
 145 150 155 160
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 165 170 175
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 180 185 190
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys
 195 200 205
 Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu
 210 215 220
 Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu
 225 230 235 240
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270
 Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
 290 295 300
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser
 325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr

405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445
Ser Leu Gly

450

<210> 346

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Dupilumab light chain

<400> 346

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Ile Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Ser Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro

50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Phe Tyr Tyr Cys Met Gln Ala

85 90 95

Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 <210> 347
 <211> 207
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> human IL-4Ralpha
 <400> 347
 Met Lys Val Leu Gln Glu Pro Thr Cys Val Ser Asp Tyr Met Ser Ile
 1 5 10 15
 Ser Thr Cys Glu Trp Lys Met Asn Gly Pro Thr Asn Cys Ser Thr Glu
 20 25 30
 Leu Arg Leu Leu Tyr Gln Leu Val Phe Leu Leu Ser Glu Ala His Thr
 35 40 45
 Cys Ile Pro Glu Asn Asn Gly Gly Ala Gly Cys Val Cys His Leu Leu
 50 55 60
 Met Asp Asp Val Val Ser Ala Asp Asn Tyr Thr Leu Asp Leu Trp Ala

65 70 75 80

Gly Gln Gln Leu Leu Trp Lys Gly Ser Phe Lys Pro Ser Glu His Val

 85 90 95

Lys Pro Arg Ala Pro Gly Asn Leu Thr Val His Thr Asn Val Ser Asp

 100 105 110

Thr Leu Leu Leu Thr Trp Ser Asn Pro Tyr Pro Pro Asp Asn Tyr Leu

 115 120 125

Tyr Asn His Leu Thr Tyr Ala Val Asn Ile Trp Ser Glu Asn Asp Pro

 130 135 140

Ala Asp Phe Arg Ile Tyr Asn Val Thr Tyr Leu Glu Pro Ser Leu Arg

145 150 155 160

Ile Ala Ala Ser Thr Leu Lys Ser Gly Ile Ser Tyr Arg Ala Arg Val

 165 170 175

Arg Ala Trp Ala Gln Cys Tyr Asn Thr Thr Trp Ser Glu Trp Ser Pro

 180 185 190

Ser Thr Lys Trp His Asn Ser Tyr Arg Glu Pro Phe Glu Gln His

 195 200 205

<210> 348

<211> 270

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> hIL33_095760 (prior to proteolytic processing)

<400> 348

Met Lys Pro Lys Met Lys Tyr Ser Thr Asn Lys Ile Ser Thr Ala Lys

1 5 10 15

Trp Lys Asn Thr Ala Ser Lys Ala Leu Cys Phe Lys Leu Gly Lys Ser

 20 25 30

Gln Gln Lys Ala Lys Glu Val Cys Pro Met Tyr Phe Met Lys Leu Arg

 35 40 45

Ser Gly Leu Met Ile Lys Lys Glu Ala Cys Tyr Phe Arg Arg Glu Thr

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

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

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

 Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys Val Asp Ser Ser Glu
 245 250 255
 Asn Leu Cys Thr Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu Ser Glu Thr
 260 265 270

 <210> 349
 <211> 159
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>

<223> hIL33_mature_PEPTIDE (after proteolytic processing)

<400> 349

Ser Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Tyr Leu Ala Ser Leu Ser
1 5 10 15

Thr Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser Tyr
20 25 30

Glu Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Glu Lys Lys Asp Lys Val
35 40 45

Leu Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser Asn Glu Ser Gly Asp
50 55 60

Gly Val Asp Gly Lys Met Leu Met Val Thr Leu Ser Pro Thr Lys Asp
65 70 75 80

Phe Trp Leu His Ala Asn Asn Lys Glu His Ser Val Glu Leu His Lys
85 90 95

Cys Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe Val Leu His Asn Met
100 105 110

His Ser Asn Cys Val Ser Phe Glu Cys Lys Thr Asp Pro Gly Val Phe
115 120 125

Ile Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys Val Asp Ser Ser
130 135 140

Glu Asn Leu Cys Thr Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu Ser Glu Thr
145 150 155

<210> 350

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Amino Acid residues 1-12 of SEQ ID NO: 349; also
corresponds to residues 112-123 of SEQ ID NO: 348
(Uniprot 095760)

<400> 350

Ser Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Tyr Leu

1 5 10

<210> 351

<211> 87

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Amino Acid residues 50-94 of SEQ ID NO: 349; also
corresponds to residues 161-205 of SEQ ID NO: 348
(Uniprot 095760)

<400> 351

Ile Thr Glu Tyr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Tyr Asn Asp Gln Ser Ile

1 5 10 15

Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser Tyr Glu Ile Tyr Val Glu Asp Leu

20 25 30

Lys Lys Asp Glu Lys Lys Asp Lys Val Leu Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser

35 40 45

Gln His Pro Ser Asn Glu Ser Gly Asp Gly Val Asp Gly Lys Met Leu

50 55 60

Met Val Thr Leu Ser Pro Thr Lys Asp Phe Trp Leu His Ala Asn Asn

65 70 75 80

Lys Glu His Ser Val Glu Leu

85

<210> 352

<211> 556

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human ST2 (See GenBank accession number NP_057316)

<400> 352

Met Gly Phe Trp Ile Leu Ala Ile Leu Thr Ile Leu Met Tyr Ser Thr

1 5 10 15

Ala Ala Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu
20 25 30
Ile Val Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp
35 40 45
Tyr Tyr Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg
50 55 60
Val Phe Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Ala Val Ala
65 70 75 80
Asp Ser Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg
85 90 95
Thr Gly Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn
100 105 110
Val Pro Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn
115 120 125
Ser Lys Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro
130 135 140
Leu Glu Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg
145 150 155 160
Ala His Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala
165 170 175
Gly Asp Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr
180 185 190
Ser Val Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe
195 200 205
Ser Leu Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu
210 215 220
Val Glu Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly
225 230 235 240
Lys Gly Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr
245 250 255
Lys Ile Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln

260	265	270	
Asn Gln Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg			
275	280	285	
Ile Ala Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu			
290	295	300	
Ala Leu Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg			
305	310	315	320
Lys Asn Pro Ile Asp His His Ser Ile Tyr Cys Ile Ile Ala Val Cys			
325	330	335	
Ser Val Phe Leu Met Leu Ile Asn Val Leu Val Ile Ile Leu Lys Met			
340	345	350	
Phe Trp Ile Glu Ala Thr Leu Leu Trp Arg Asp Ile Ala Lys Pro Tyr			
355	360	365	
Lys Thr Arg Asn Asp Gly Lys Leu Tyr Asp Ala Tyr Val Val Tyr Pro			
370	375	380	
Arg Asn Tyr Lys Ser Ser Thr Asp Gly Ala Ser Arg Val Glu His Phe			
385	390	395	400
Val His Gln Ile Leu Pro Asp Val Leu Glu Asn Lys Cys Gly Tyr Thr			
405	410	415	
Leu Cys Ile Tyr Gly Arg Asp Met Leu Pro Gly Glu Asp Val Val Thr			
420	425	430	
Ala Val Glu Thr Asn Ile Arg Lys Ser Arg Arg His Ile Phe Ile Leu			
435	440	445	
Thr Pro Gln Ile Thr His Asn Lys Glu Phe Ala Tyr Glu Gln Glu Val			
450	455	460	
Ala Leu His Cys Ala Leu Ile Gln Asn Asp Ala Lys Val Ile Leu Ile			
465	470	475	480
Glu Met Glu Ala Leu Ser Glu Leu Asp Met Leu Gln Ala Glu Ala Leu			
485	490	495	
Gln Asp Ser Leu Gln His Leu Met Lys Val Gln Gly Thr Ile Lys Trp			
500	505	510	

Arg Glu Asp His Ile Ala Asn Lys Arg Ser Leu Asn Ser Lys Phe Trp

515 520 525
Lys His Val Arg Tyr Gln Met Pro Val Pro Ser Lys Ile Pro Arg Lys

530 535 540
Ala Ser Ser Leu Thr Pro Leu Ala Ala Gln Lys Gln

545 550 555

<210> 353

<211> 570

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IL-1RAcP (See GenBank accession number
Q9NPH3)

<400> 353

Met Thr Leu Leu Trp Cys Val Val Ser Leu Tyr Phe Tyr Gly Ile Leu

1 5 10 15
Gln Ser Asp Ala Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp Thr Met

20 25 30
Arg Gln Ile Gln Val Phe Glu Asp Glu Pro Ala Arg Ile Lys Cys Pro

35 40 45
Leu Phe Glu His Phe Leu Lys Phe Asn Tyr Ser Thr Ala His Ser Ala

50 55 60
Gly Leu Thr Leu Ile Trp Tyr Trp Thr Arg Gln Asp Arg Asp Leu Glu

65 70 75 80
Glu Pro Ile Asn Phe Arg Leu Pro Glu Asn Arg Ile Ser Lys Glu Lys

85 90 95
Asp Val Leu Trp Phe Arg Pro Thr Leu Leu Asn Asp Thr Gly Asn Tyr

100 105 110
Thr Cys Met Leu Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala Phe Pro

115 120 125
Leu Glu Val Val Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Pro Met Lys Leu

130	135	140	
Pro Val His Lys Leu Tyr Ile Glu Tyr Gly Ile Gln Arg Ile Thr Cys			
145	150	155	160
Pro Asn Val Asp Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Thr Ile Thr			
	165	170	175
Trp Tyr Met Gly Cys Tyr Lys Ile Gln Asn Phe Asn Asn Val Ile Pro			
	180	185	190
Glu Gly Met Asn Leu Ser Phe Leu Ile Ala Leu Ile Ser Asn Asn Gly			
	195	200	205
Asn Tyr Thr Cys Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Thr Phe His			
210	215	220	
Leu Thr Arg Thr Leu Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys Asn Ala			
225	230	235	240
Val Pro Pro Val Ile His Ser Pro Asn Asp His Val Val Tyr Glu Lys			
	245	250	255
Glu Pro Gly Glu Glu Leu Leu Ile Pro Cys Thr Val Tyr Phe Ser Phe			
	260	265	270
Leu Met Asp Ser Arg Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys			
275	280	285	
Pro Asp Asp Ile Thr Ile Asp Val Thr Ile Asn Glu Ser Ile Ser His			
290	295	300	
Ser Arg Thr Glu Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile Lys Lys			
305	310	315	320
Val Thr Ser Glu Asp Leu Lys Arg Ser Tyr Val Cys His Ala Arg Ser			
	325	330	335
Ala Lys Gly Glu Val Ala Lys Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys Val Pro			
340	345	350	
Ala Pro Arg Tyr Thr Val Glu Leu Ala Cys Gly Phe Gly Ala Thr Val			
355	360	365	
Leu Leu Val Val Ile Leu Ile Val Val Tyr His Val Tyr Trp Leu Glu			
370	375	380	

Met Val Leu Phe Tyr Arg Ala His Phe Gly Thr Asp Glu Thr Ile Leu

385 390 395 400

Asp Gly Lys Glu Tyr Asp Ile Tyr Val Ser Tyr Ala Arg Asn Ala Glu

405 410 415

Glu Glu Glu Phe Val Leu Leu Thr Leu Arg Gly Val Leu Glu Asn Glu

420 425 430

Phe Gly Tyr Lys Leu Cys Ile Phe Asp Arg Asp Ser Leu Pro Gly Gly

435 440 445

Ile Val Thr Asp Glu Thr Leu Ser Phe Ile Gln Lys Ser Arg Arg Leu

450 455 460

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

465 470 475 480

Leu Glu Leu Lys Ala Gly Leu Glu Asn Met Ala Ser Arg Gly Asn Ile

485 490 495

Asn Val Ile Leu Val Gln Tyr Lys Ala Val Lys Glu Thr Lys Val Lys

500 505 510

Glu Leu Lys Arg Ala Lys Thr Val Leu Thr Val Ile Lys Trp Lys Gly

515 520 525

Glu Lys Ser Lys Tyr Pro Gln Gly Arg Phe Trp Lys Gln Leu Gln Val

530 535 540

Ala Met Pro Val Lys Lys Ser Pro Arg Arg Ser Ser Ser Asp Glu Gln

545 550 555 560

Gly Leu Ser Tyr Ser Ser Leu Lys Asn Val

565 570

<210> 354

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HC OF H4H9675P

<

400> 354

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asn Leu Glu Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Ser
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Arg Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Ser Gly Ser Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Ser Ala Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Asp Ser Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Met Asp Val Trp
 100 105 110
 Gly His Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125

 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190

 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
 210 215 220
 Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245	250	255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp		
260	265	270
Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
275	280	285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
290	295	300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
305	310	315
		320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys		
325	330	335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr		
340	345	350
Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr		
355	360	365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu		
370	375	380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu		
385	390	395
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys		
405	410	415
Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu		
420	425	430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly		
435	440	445

Lys

<210> 355

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LC OF H4H9675P

<400> 355

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Phe Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Val Pro Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 356

<211> 166

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HUMAN IL-33 WITH HEXA-HIS TAG (AMINO ACIDS 112-270

OF GENBANK ACCESSION NO. 095760)

<400> 356

Met Ser Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Tyr Leu Ala Ser Leu

1 5 10 15
Ser Thr Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser

20 25 30
Tyr Glu Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Glu Lys Lys Asp Lys

35 40 45
Val Leu Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser Asn Glu Ser Gly

50 55 60
Asp Gly Val Asp Gly Lys Met Leu Met Val Thr Leu Ser Pro Thr Lys

65 70 75 80
Asp Phe Trp Leu His Ala Asn Asn Lys Glu His Ser Val Glu Leu His

85 90 95
Lys Cys Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe Val Leu His Asn

100 105 110
Met His Ser Asn Cys Val Ser Phe Glu Cys Lys Thr Asp Pro Gly Val

115 120 125
Phe Ile Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys Val Asp Ser

130 135 140
Ser Glu Asn Leu Cys Thr Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu Ser Glu Thr

145 150 155 160
His His His His His His

165