



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년11월10일
(11) 등록번호 10-2176962
(24) 등록일자 2020년11월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
C07K 16/24 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 39/395 (2013.01)
C07K 16/24 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-7023489
(22) 출원일자(국제) 2014년01월31일
심사청구일자 2019년01월15일
(85) 번역문제출일자 2015년08월28일
(65) 공개번호 10-2015-0113135
(43) 공개일자 2015년10월07일
(86) 국제출원번호 PCT/US2014/014107
(87) 국제공개번호 WO 2014/121053
국제공개일자 2014년08월07일
(30) 우선권주장
61/759,108 2013년01월31일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
W02012031099 A2*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
백시넥스 인코포레이티드
미국 뉴욕 로체스터 마운트 호프 애브뉴 1895 (우: 14620)
(72) 발명자
저더러 모리스
미국 14534 뉴욕주 피츠포드 우드랜드 로드 44
요시다 마사루
일본 658-0065 효고 고베 미카게야마테 히가시나다-구 1-2-10-408
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
유미특허법인

전체 청구항 수 : 총 18 항

심사관 : 정혜진

(54) 발명의 명칭 **면역글로불린 A 수준을 증가시키기 위한 방법**

(57) 요약

면역글로불린 A (IgA) 수준을 이의 결핍을 갖는 대상체에서 증가시키기 위한 방법으로서, 상기 방법은 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체와 같은, CXCL13 활성을 억제하는 체제를 상기 대상체에게 투여하는 단계에 의한 방법이 본원에 제공된다. 또한, IgA에 대해 결핍인 대상체에게 염증성 장애를 치료하는 방법으로서, CXCL13 활성을 억제하는 체제를 상기 대상체에게 투여하는 단계에 의한 방법이 제공된다.

(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)

A61K 2039/545 (2013.01)

C07K 2317/24 (2013.01)

C07K 2317/56 (2013.01)

C07K 2317/565 (2013.01)

(72) 발명자

야마모토 코지

일본 079-8415 홋카이도 아사히카와 시티 나가야마
5-조 20-조메 2-1

스미스 어니스트 에스.

미국 14519 뉴욕 온타리오 보스턴 로드 328

명세서

청구범위

청구항 1

CXCL13 에 특이적으로 결합하는 유효량의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는,

대상체에서 분비성 면역글로불린 A (IgA) 수준을 증가시키고 점막에서 감염성 세균의 수준을 감소시킴으로써, 세균성 감염을 치료하기 위한 조성물로서,

상기 대상체는 상기 점막의 세균성 감염에 대해 2차적인, 분비성 IgA 결핍을 가지는 대상체이며,

상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은,

(a) 서열번호 10의 세 개의 상보성 결정 영역(CDR) 을 가지는 가변 중쇄 (VH) 도메인 및 서열번호 15의 세 개의 CDR 을 가지는 가변 경쇄 (VL) 도메인;

(b) 서열번호 14의 세 개의 CDR 을 가지는 VH 및 서열번호 19의 세 개의 CDR 을 가지는 VL; 또는

(c) 서열번호 14의 세 개의 CDR 을 가지는 VH 및 서열번호 21의 세 개의 CDR 을 가지는 VL을 포함하고,

상기 항체 또는 이의 단편은 CXCL13 활성을 억제하는 것인, 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 세균성 감염이 헬리오박터(*Helicobacter*) 감염인, 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 헬리오박터가 헬리오박터 필로리(*Helicobacter pylori*), 헬리오박터 헤일만니(*Helicobacter heilmannii*), 및 헬리오박터 수이스(*Helicobacter suis*)로 이루어진 군으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 수준이 증가되는 상기 분비성 IgA 가 위(gastric) IgA인, 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 단편이 키메라(chimeric), 인간, 또는 인간화 된 것인, 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, CXCL13 에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편이 서열번호 10 또는 14에 기재된 아미노산 서열과 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 가변 중쇄 (VH) 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, CXCL13 에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편이 서열번호 14에 기재된 서열을 갖는 VH 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 8

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, CXCL13 에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편이 서열번호 15, 19, 또는 21에 기재된 아미노산 서열과 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 가변 경쇄 (VL) 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서, CXCL13 에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편이 서열번호 19에 기재된 서열을 갖는 VL 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 10

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, CXCL13 에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편이 서열번호 14 에 기재된 서열을 갖는 VH 도메인 및 서열번호 19에 기재된 서열을 갖는 VL 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 11

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, CXCL13 에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편이, 다음을 포함하는 것인, 조성물:

하기 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 VH 도메인:

- a) 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1;
- b) 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및
- c) 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 및

하기 CDR을 포함하는 VL도메인:

- a) 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1;
- b) 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및
- c) 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3.

청구항 12

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 CXCL13과 CXCL13 수용체와의 상호작용을 억제하는 것인, 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 CXCL13 수용체가 CXCR5인, 조성물.

청구항 14

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 CXCR5 수용체 내재화 (internalization)를 억제하는 것인, 조성물.

청구항 15

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 약제학적으로 수용가능한 담체와 함께 투여되는 것인, 조성물.

청구항 16

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 동물인, 조성물.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 동물이 포유류인, 조성물.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 포유류가 인간인, 조성물.

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] EFS-Web을 통하여 텍스트 파일로 제출된 서열 목록에 대한 언급

[0002] 서열 목록의 공식적인 복사본은, 2014년 1월 20일에 만들어진 35.3 킬로바이트 크기의, 441418SEQLIST.TXT의 파일명을 갖는, ASCII 포맷의(formatted) 서열 목록으로서, EFS-Web을 통하여 전자식으로 제출되며, 본원과 함께 출원된다. 상기 ASCII 포맷의 문서에 포함된 서열 목록은 본원의 일부이며 그 전체가 참조로서 본원에 포함된다.

[0003] 기술 분야

[0004] 본 발명은 일반적으로 면역글로불린 A (IgA)의 결핍을 갖고 있는 대상체에서 이의 수준을 증가시키는 것에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 면역글로불린은 가변 도메인(variable domain)과 불변 도메인(constant domain)으로 구성된 중쇄 및 경쇄로 이루어진, 구조적으로 관련된 단백질 군(group)이다. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역(variable regions)은 완전한 분자의 분자 특이성(molecular specificity)을 결정한다. 면역글로불린은 이들의 중쇄의 불변 영역의 동일성(identity)을 기준으로 IgG, IgM, IgE, IgD, 또는 IgA로 분류된다. 면역글로불린 A (IgA)는 이의 중쇄에 알파(α) 불변 영역을 포함한다.

[0006] IgA는 기도, 위장관, 및 비뇨생식관의 점막 내층(mucosal linings)을 따라 위치하는 형질세포에 의해 생성된다. IgA 분자는 침해 병원체(invading pathogens)에 결합하여 점막층으로 침투하여 숙주의 내부 조직과 혈류에 들어가는 이들의 능력을 약화시킨다. 일반적으로, 하기 문헌을 참조한다: J. G. Nedrud et al., "Adjuvants and the Mucosal Immune System", Topics in Vaccine Adjuvant Research, (Spiggs, D. E., Koff, W. C., Eds.) CRC Press, Boca Raton, Fla. (1990). IgA는 식세포성 백혈구의 세포 표면 위에 있는 수용체에 결합함으로써 침해 병원체의 항체-의존성 세포-매개된 사멸이 용이하도록 한다. IgA는 또한 알레르기성 물질에 결합할 수 있어, 알레르겐(allergen)이 IgE에 결합하거나 지연형 과민증(delayed type hypersensitivity)의 원인이 되는 T 세포 활성화를 방지할 수 있다.

[0007] IgA 결핍은 예를 들어, 특정 약물에 노출시 또는 다양한 감염에 대한 반응으로 일시적으로, 또는 선천성 IgA 결핍을 갖는 환자에서와 같이 영구적으로 나타날 수 있다.

[0008] IgA 생성이 적은 대상체는 IgA 수준이 정상인 대상체보다, 다양한 염증성 장애, 예로서 자가면역 장애 및 알레르기에 걸리기 쉬운 것으로 알려져 있다. 따라서, 총 IgA 또는 항원-특이적 IgA의 수준을 증가시킴으로써 염증성 장애를 치료하거나 방지할 수 있다.

발명의 내용

[0009] 발명의 간단한 요약

[0010] 본원에서는 항-CXCL13 항체와 같이, CXCL13 활성을 억제하는 제제(agent)을 투여함으로써 면역글로불린 A (IgA) 결핍을 갖는 대상체에서 이의 수준을 증가시키기 위한 방법이 제공된다. 아울러, CXCL13 활성을 억제하는 제제를 대상체에게 투여함으로써 IgA에 대해 결핍인 대상체에서 염증성 장애를 치료하는 방법이 제공된다. IgA 결핍은 유전적으로 결정된 영구적인 결핍일 수 있거나 감염 또는 약물에 대한 노출에 따른 2차적인 결핍일 수 있다. CXCL13 억제제를 투여함으로써 자가면역 장애와 같은 염증성 장애가 발달하는 것을 방지할 수 있거나, 활성 염증성 장애를 치료할 수 있다.

[0011] 다음과 같은 구현예가 본 발명에 포함된다.

[0012] 1. 면역글로불린 A (IgA) 수준을 이의 결핍을 갖는 대상체에서 증가시키기 위한 방법으로서, 상기 방법은 상기 대상체에게 CXCL13 활성을 억제하는 제제의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[0013] 2. 상기 구현예 1에 있어서, 상기 IgA 결핍은 감염 또는 약물에 대한 노출에 따른 2차적인 결핍인 방법.

[0014] 3. 상기 구현예 2에 있어서, 상기 감염은 점막 감염(mucosal infection)인 방법.

[0015] 4. 상기 구현예 2 또는 3에 있어서, 상기 감염은 세균성 감염인 방법.

[0016] 5. 상기 구현예 4에 있어서, 상기 세균성 감염은 헬리오박터(*Helicobacter*) 감염인 방법.

[0017] 6. 상기 구현예 5에 있어서, 상기 헬리오박터는 헬리오박터 필로리(*Helicobacter pylori*), 헬리오박터 헤일만니이(*Helicobacter heilmannii*), 및 헬리오박터 수이스(*Helicobacter suis*)로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

[0018] 7. 상기 구현예 6에 있어서, 상기 헬리오박터는 *H. 수이스(suis)*인 방법.

[0019] 8. 상기 구현예 1에 있어서, 상기 IgA 결핍은 1차 IgA 결핍(primary IgA deficiency)인 방법.

[0020] 9. 면역글로불린 A (IgA) 결핍을 갖는 대상체에게 염증성 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 상기 대상체에게 CXCL13 활성을 억제하는 제제의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[0021] 10. 상기 구현예 9에 있어서, 상기 염증성 장애는 점막 감염에 의해 유발되는 것인 방법.

[0022] 11. 상기 구현예 9 또는 10에 있어서, 상기 염증성 장애는 세균성 감염에 의해 유발되는 것인 방법.

- [0023] 12. 상기 구현예 11에 있어서, 상기 방법은 상기 대상체에서 상기 세균성 감염의 부담(burden)을 감소시키는 것인 방법.
- [0024] 13. 상기 구현예 11 또는 12에 있어서, 상기 세균성 감염은 헬리오박터(*Helicobacter*) 감염인 방법.
- [0025] 14. 상기 구현예 13에 있어서, 상기 헬리오박터는 헬리오박터 필로리(*Helicobacter pylori*), 헬리오박터 헤일만니(*Helicobacter heilmannii*), 및 헬리오박터 수이스(*Helicobacter suis*)로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.
- [0026] 15. 상기 구현예 14에 있어서, 상기 헬리오박터는 *H. 수이스(suis)*인 방법.
- [0027] 16. 상기 구현예 10 내지 15 중 어느 하나에 있어서, 상기 점막 감염은 위점막 감염(gastric mucosal infection)인 방법.
- [0028] 17. 상기 구현예 9 내지 16 중 어느 하나에 있어서, 상기 염증성 장애는 MALT 림프종인 방법.
- [0029] 18. 상기 구현예 17에 있어서, 상기 MALT 림프종은 위(gastric) MALT 림프종인 방법.
- [0030] 19. 상기 구현예 9 내지 16 중 어느 하나에 있어서, 상기 염증성 장애는 위 또는 십이지장 궤양인 방법.
- [0031] 20. 상기 구현예 9에 있어서, 상기 염증성 장애는 자가면역 장애인 방법.
- [0032] 21. 상기 구현예 20에 있어서, 상기 자가면역 장애는 류마티스 관절염(rheumatoid arthritis), 전신성 홍반성 낭창(systemic lupus erythematosus), 그레이브스 병(Graves disease), 1형 당뇨병(Type 1 diabetes), 중증 근 무력증(myasthenia gravis), 및 복강부전증(ceeliac sprue)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.
- [0033] 22. 상기 구현예 1 내지 21 중 어느 하나에 있어서, 분비성 IgA 수준은 CXCL13 활성을 억제하는 상기 제제의 투여시 상기 대상체에서 증가되는 방법.
- [0034] 23. 상기 구현예 22에 있어서, 위(gastric) IgA 수준은 CXCL13 활성을 억제하는 상기 제제 투여시 상기 대상체에서 증가되는 방법.
- [0035] 24. 상기 구현예 1 내지 23 중 어느 하나에 있어서, 상기 방법은 상기 대상체의 점막 조직에서 IgA 항체 반응을 증가시키는, 방법.
- [0036] 25. 상기 구현예 1 내지 24 중 어느 하나에 있어서, 상기 제제는 CXCR5에 특이적으로 결합하는 결합 분자인 방법.
- [0037] 26. 상기 구현예 1 내지 24 중 어느 하나에 있어서, 상기 제제는 CXCL13에 특이적으로 결합하는 결합 분자인 방법.
- [0038] 27. 상기 구현예 1 내지 26 중 어느 하나에 있어서, 상기 결합 분자는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 것인 방법.
- [0039] 28. 상기 구현예 27에 있어서, 상기 항체는 키메라(chimeric), 인간, 또는 인간화된 것인 방법.
- [0040] 29. 상기 구현예 27 또는 28에 있어서, 상기 항체는 CXCL13에 특이적으로 결합하고 서열 식별 번호: 10 또는 14에 기재된 아미노산 서열과 적어도 90%의 서열 동일성(sequence identity)을 갖는 가변 중쇄 (VH) 도메인을 포함하는 것인 방법.
- [0041] 30. 상기 구현예 29에 있어서, CXCL13에 특이적으로 결합하는 상기 항체는 서열 식별 번호: 14에 기재된 서열을 갖는 VH 도메인을 포함하는 것인 방법.
- [0042] 31. 상기 구현예 27 내지 30 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 CXCL13에 특이적으로 결합하고 서열 식별 번호: 15, 19 또는 21에 기재된 아미노산 서열과 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 가변 경쇄(VL) 도메인을 포함하는 것인 방법.
- [0043] 32. 상기 구현예 31에 있어서, CXCL13에 특이적으로 결합하는 상기 항체는 서열 식별 번호: 19에 기재된 서열을 갖는 VL 도메인을 포함하는 것인 방법.
- [0044] 33. 상기 구현예 32에 있어서, CXCL13에 특이적으로 결합하는 상기 항체는 서열 식별 번호: 14에 기재된 서열을 갖는 VH 도메인과 서열 식별 번호: 19에 기재된 서열을 갖는 VL 도메인을 포함하는 것인 방법.

- [0045] 34. 상기 구현예 27 또는 28에 있어서, 상기 항체는 CXCL13에 특이적으로 결합하며 하기 상보성 결정 영역(CDR) 중 적어도 하나를 갖는 VH 도메인을 포함하는 것인 방법:
- [0046] a) 서열 식별 번호: 11에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 CDR1;
- [0047] b) 서열 식별 번호: 12에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 CDR2; 및
- [0048] c) 서열 식별 번호: 13에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 CDR3.
- [0049] 35. 상기 구현예 34에 있어서, CXCL13에 특이적으로 결합하는 상기 항체는 서열 식별 번호: 11에 기재된 서열을 갖는 CDR1, 서열 식별 번호: 12에 기재된 서열을 갖는 CDR2, 및 서열 식별 번호: 13에 기재된 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 VH 도메인을 포함하는 것인 방법.
- [0050] 36. 상기 구현예 27, 28, 34, 및 35 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 CXCL13에 특이적으로 결합하고 하기 상보성 결정 영역(CDR) 중 적어도 하나를 갖는 VL 도메인을 포함하는 것인 방법:
- [0051] a) 서열 식별 번호: 20에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 CDR1;
- [0052] b) 서열 식별 번호: 17에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 CDR2; 및
- [0053] c) 서열 식별 번호: 18에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 CDR3.
- [0054] 37. 상기 구현예 36에 있어서, CXCL13에 특이적으로 결합하는 상기 항체는 서열 식별 번호: 20에 기재된 서열을 갖는 CDR1, 서열 식별 번호: 17에 기재된 서열을 갖는 CDR2, 및 서열 식별 번호: 18에 기재된 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 VL 도메인을 포함하는 것인 방법.
- [0055] 38. 상기 구현예 27 또는 28에 있어서, 상기 항체는 MAb 5261, MAb 5378, MAb 5080, MAb 1476, 및 MAb 3D2로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.
- [0056] 39. 상기 구현예 38에 있어서, 상기 항체는 mAb 5378인 방법.
- [0057] 40. 상기 구현예 1 내지 24 중 어느 하나에 있어서, 상기 제제는 CXCR5의 가용성 형태인 방법.
- [0058] 41. 상기 구현예 1 내지 40 중 어느 하나에 있어서, 상기 제제는 CXCL13과 CXCL13 수용체와의 상호작용을 억제하는 것인 방법.
- [0059] 42. 상기 구현예 41에 있어서, 상기 CXCL13 수용체는 CXCR5인 방법.
- [0060] 43. 상기 구현예 1 내지 42 중 어느 하나에 있어서, 상기 제제는 CXCR5 수용체 내재화(internalization)를 억제하는 방법.
- [0061] 44. 상기 구현예 1 내지 43 중 어느 하나에 있어서, 상기 제제는 약제학적으로 수용가능한 담체와 함께 투여되는 방법.
- [0062] 45. 상기 구현예 1 내지 44 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 동물인 방법.
- [0063] 46. 상기 구현예 45에 있어서, 상기 동물은 포유류인 방법.
- [0064] 47. 상기 구현예 46에 있어서, 상기 포유류는 인간인 방법.

도면의 간단한 설명

- [0065] 도 1은 실시간 정량적 PCR에 의해 결정된 바와 같은 항-CXCL13 항체 또는 이소형 대조군 항체(isotype control antibody)로 처리된 *H. 수이스* 감염된 마우스의 위점막 중 *H. 수이스* 특이적 16S 리보솜 RNA의 수준을 나타낸다.
- 도 2a 및 2b는 이소형 대조용 또는 항-CXCL13 항체 처리 후 *H. 수이스* 감염된 마우스의 위에서의 TGF- β (도 2a) 및 IL-6(도 2b) mRNA의 발현을 나타낸다.
- 도 3a 및 3b는 항-CXCL13 항체 또는 이소형 대조군 항체로 처리된 *H. 수이스* 감염된 마우스의 항-*H. 수이스* IgG(도 3a) 및 IgA(도 3b)의 혈청 수준을 나타낸다.
- 도 4a 및 4b는 항-CXCL13 항체 또는 이소형 대조군 항체로 처리된 *H. 수이스* 감염된 마우스의 위액(gastric juice) 중 항-*H. 수이스* IgG(도 4a) 및 IgA(도 4b)의 혈청 수준을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0066] 본원에서 입증되는 바와 같이, CXCL13 활성을 억제하는 제제 (예를 들면, 항-CXCL13 항체 또는 이의 결합 단편)은 위 감염에 대한 동물 모델 (즉, 헬리코박터 세균에 감염된 마우스)에서 세균 부하량(bacterial load)을 감소시키고 점막 조직 중 감염성 제제(infective agent)에 대해 특이적인 면역글로불린 A (IgA)의 수준을 증가시킬 수 있다 (참조: Nobutani et al.(2010)). 항-CXCL13 항체를 투여함으로써 TGF-β와 IL-6의 발현 수준이 또한 증가되었는데, 이는 감염되지 않은 마우스의 위에서 IgA 수준의 상향조절(upregulation)에 관여한다. 그러므로, CXCL13 활성을 억제하는 제제는 또한 IgA 결핍 대상체에서 IgA의 수준을 일반적으로 상향조절하는데 유용하다.
- [0067] 용어 "면역글로불린 A" 또는 "IgA"는 이의 중쇄에 알파(α) 불변 영역을 갖는 면역글로불린을 지칭한다. 용어 "면역글로불린 A" 또는 "IgA"는 단량체 IgA (즉, 단일 분자) 및 중합체 IgA (1개 이상의 분자로 구성)을 포괄하며, 비제한적으로 이량체 IgA (2개의 분자로 구성) 및 삼량체 IgA (3개의 분자로 구성)를 포함한다. IgA 단량체는 이들의 중쇄 불변 영역에서 J 쇠에 의해 중합체 (예를 들면, 이량체)로 함께 결합된다. IgA 중합체내 J 쇠의 존재는 IgA 중합체가 상피 세포에 의해 생성되는 단백질인 분비 성분(secretory component)에 부착하도록 한다.
- [0068] 용어 "면역글로불린 A" 또는 "IgA"는 IgA의 2종의 서브클래스(subclass)인, IgA1과 IgA2 둘 다를 지칭한다. IgA1의 경쇄는 이의 중쇄에 공유결합에 의해 결합된다. 그러나, IgA2의 경쇄는 이황화 결합을 통하여 서로 결합되고 이의 중쇄에는 비-공유결합성 상호작용에 의해 결합된다. IgA1은 혈청중에 우세하게 존재하는데, 여기서 이들중 대부분은 단량체로 존재한다. 분비 림프조직은 비-분비 림프조직보다 더 많은 IgA2를 생성한다.
- [0069] IgA는 또한 이의 위치를 기준으로 분류될 수 있다. 용어 "면역글로불린 A" 또는 "IgA"는 혈청 IgA (즉, 혈청에서 발견되는 것)와 분비 IgA (이는 점막 분비물 (예를 들어, 눈물, 타액, 초유, 땀, 및 비뇨생식관, 위장관, 전립선 및 호흡기 상피조직으로부터의 분비물)에서 발견된다) 둘 다 지칭한다. 분비 IgA는 일반적으로 J 쇠에 의해 결합되어 있으며 분비 성분을 포함하는 이량체 또는 삼량체로 존재한다. 분비 IgA의 분비 성분은 면역글로불린이 위장관 환경에서 발견되는 것들과 같은 단백분해 효소에 의해 분해되는 것으로부터 보호한다. 용어 "분비 면역글로불린 A" 및 "분비 IgA"는 점막 분비물에서 발견되는 IgA를 지칭한다. 따라서, 용어 "분비 IgA" 및 "분비 면역글로불린 A"는 IgA, 단량체를 연결하는 J 쇠, 및 분비 성분의 중합체를 지칭할 수 있다.
- [0070] 비처리 B 세포는 초기에는 이들의 표면에서 IgM 및/또는 IgD를 발현시키며, 일단 활성화된 다음, 초기에 생성된 항체들은 주로 IgM 이소형으로 구성된다. 이들 활성화된 B 세포가 특이적인 신호화 분자와 마주치게 될 경우, 이들 B 세포는 "클래스 변환(class switch)"을 수행하여, IgG, IgA, 또는 IgE 수용체를 발현시키는 세포로 분화시킬 수 있다. 클래스 변환 수행 중, 면역글로불린 중쇄의 불변 영역은 변화되지만 가변 영역은 변화되지 않아, 항원성 특이성은 동일하게 남게 된다.
- [0071] 다수의 연구에서는 형질전환 성장 인자-베타 (TGF-β)가 IgA 클래스 변환을 유도하고 인터류킨-6 (IL-6)은 IgA 합성을 자극하는 것으로 나타났다 (Sonoda et al. (1989) *J Exp Med* 170:1415-1420; Beagley et al. (1989) *J Exp Med* 169:2133-2148, 이들 각각은 본원에서 그 전체가 참조로서 포함된다). 임의의 이론이나 작동 메커니즘으로 얽매이지 않고, CXCL13 활성을 억제하는 제제는 TGF-β와 IL-6의 수준을 증가시킴으로써 IgA 수준을 증가시키는 것으로 생각된다.
- [0072] 본원에서 입증되는 바와 같이, CXCL13 활성이 억제되면 TGF-β와 IL-6의 발현 수준과 IgA의 수준이 증가하게 되고, 따라서, IgA 결핍을 갖는 대상체에서 IgA 수준을 증가시키는데 유용하다. 본원에서 사용되는 바와 같은, "IgA 결핍"은 대조군 대상체와 비교한 바 면역글로불린 A의 감소된 수준을 지칭한다. IgA 결핍을 갖는 대상체는 적합한 대조군 대상체와 비교하여, 혈청 IgA의 감소된 수준과 분비 IgA의 감소된 수준, 또는 둘다를 경험할 수 있다. 그런 대상체는 모든 분비물과 모든 점막 표면에서 또는 1종 이상의 점막 표면에서만 및/또는 분비물에서 분비 IgA의 감소된 수준을 가질 수 있다. 일부 구현예에서, IgA 결핍을 갖는 대상체가 적합한 대조군과 비교하여 위의 IgA의 감소된 수준을 갖는다.
- [0073] 일부 구현예로, IgA 결핍을 갖는 대상체가 대조군 대상체보다 약 95%, 약 90%, 약 85%, 약 80%, 약 75%, 약 70%, 약 65%, 약 60%, 약 55%, 약 50%, 약 45%, 약 40%, 약 35%, 약 30%, 약 25%, 약 20%, 약 15%, 약 10%, 또는 더 적은 IgA (혈청, 분비, 또는 전체)를 갖는다.
- [0074] 당해 분야의 숙련가는 IgA 결핍을 갖는 것으로 판단되는 대상체와 비교하기에 적합한 대조군 대상체를 선택하는 방법을 알고 있을 것이다. 적합한 대조군 대상체의 비-제한적 예는 건강한 대상체로 존재하는 대상체, 활성 감

염 (예를 들면, 점막 감염) 또는 염증성 장애를 갖지 않는 또는 갖지 않는 것으로 판단되는 대상체, 및 IgA 결핍에 대해 유전적 소인 또는 가족력을 갖지 않는 대상체를 포함한다.

- [0075] 상기 대상체가 혈청 IgA 결핍을 갖는, 그러한 구현예에서, IgA의 혈청 수준은 약 0.1 g/L 미만, 약 0.09 g/L 미만, 약 0.08 g/L 미만, 약 0.07 g/L 미만, 약 0.06 g/L 미만, 약 0.05 g/L 미만, 약 0.04 g/L 미만, 약 0.03 g/L 미만, 약 0.02 g/L 미만, 약 0.01 g/L 미만이거나, 또는 더 적다.
- [0076] 용어 "IgA 결핍"이 대조군 대상체와 비교하여 감소된 수준의 IgA를 갖는 모든 대상체를 포함하는 한편, IgA 결핍을 갖는 수많은 대상체는 달리 정상 수준의 IgM과 IgG를 갖는다.
- [0077] IgA 결핍은 1차적(유전적) 또는 2차적(후천적)일 수 있다. 1차적 IgA 결핍은 유전적으로 결정되며 대부분의 형태인 선택적 IgA 결핍과 같이, 주로 선천성이다. 선택적 IgA 결핍은 면역결핍에 대해 Pan-American Group for Immunodeficiency and the European Society에 의해 4세 이상인 대상체에서 정상적인 IgM 및 IgG 수준을 가지며 혈청 IgA 수준이 0.07 g/L 미만인 것으로 정의되어 있다 (Notarangelo *et al.* (2009) *J Allergy Clin Immunol* 124:1161-1178, 본원에서 그 전체가 참조로서 포함된다).
- [0078] 면역 시스템을 억제하는 특정 감염 또는 타입의 약물 또는 기타 체제가 2차적인 IgA 결핍을 일으킬 수 있으며, 이는 일반적으로 일시적이다. 예를 들어, 면역억제제인, D-페니실라민(penicillamine), 술폰살라진(sulfasalazine), 아우로티오글루코오스(aurothioglucose), 펜클로페낙(fenclofenac), 금(gold), 카프토프릴(captopril), 조니아미드(zonisamide), 페니토인(phenytoin), 발프로산(valproic acid), 티록신(thyroxine), 클로로퀸(chloroquine), 카라바마제핀(carbamazepine), 히단토인(hydantoin), 레바미솔(levamisole), 이부프로펜(ibuprofen), 살리실산(salicylic acid), 벤젠(benzene), 및 사이클로스포린(cyclosporin) A에 노출되면 일시적인 IgA 결핍이 일어날 수 있으며, 이는 상기 약물의 제거(clearance)시 해결된다. 2차적인 IgA 결핍을 일으킬 수 있는 감염의 비-제한적 예로 루벨라(rubella), 사이토메갈로바이러스(cytomegaloviruses), 톡소플라스마 곤디(*Toxoplasma gondii*), 및 엡스타인-바 바이러스(Epstein-Barr virus)가 포함된다.
- [0079] 일부 구현예로, 대상체가 점막 감염에 대해 2차적인 IgA 결핍을 갖는다. 이들 구현예 중 일부에서, 상기 점막 감염이 세균성 감염이다. 특정의 구현예로, 2차적인 IgA 결핍을 일으키는 상기 세균성 감염이 *H. 필로리(pylori)*, *H. 헤일만나이(heilmannii)*, 또는 *H. 수이스(suis)*와 같은 헬리오박터(*Helibacter*) 감염이다.
- [0080] 본원에 개시된 방법의 일부 구현예로, CXCL13 활성을 억제하는 체제를 IgA가 결핍인 대상체에 투여하면 총 IgA (혈청 및 분비)가 증가하게 된다. 다른 구현예로, CXCL13 억제제를 투여하면 분비 IgA가 증가된다. 특정 구현예로, CXCL13 억제제를 투여한 대상체가 IgA의 위(gastric) 수준에서의 증가를 경험한다. 대상체가 감염성 체제에 의해 공격받는 그러한 구현예에서, CXCL13 억제제를 투여하여 감염성 체제에 대해 특이적인 IgA의 수준을 증가시킬 수 있으며, 일부 구현예에서 감염성 체제의 제거를 증가시킬 수 있다.
- [0081] 특정 구현예로, CXCL13 활성을 억제하는 체제를 투여하여 혈청, 분비, 또는 총 IgA 수준을 대상체에서 약 1%, 약 2%, 약 3%, 약 4%, 약 5%, 약 10%, 약 15%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 약 100%, 또는 그 이상 증가시킨다.
- [0082] CXCL13 활성의 억제체가 IgA 수준을 증가시킬 수 있음을 고려하여, CXCL13 활성을 억제하는 체제가 IgA가 결핍인 대상체에서 염증성 장애를 치료하는데 사용될 수 있다. 염증성 장애는 염증, 조직 파괴, 또는 이들의 조합으로 특징된다. "항-염증 활성"에 의해 염증이 감소되거나 방지된다. "염증성 질병" 또는 "염증성 장애"은 임의의 염증성 면역-매개 과정을 포함하며 여기서 면역 반응의 개시 사건(initiating event) 또는 표적은 예를 들면, 동종항원(alloantigen), 이종항원(xenoantigen), 바이러스성 항원, 세균성 항원을 포함한 비-자가 항원(들), 자가 항원, 미지의 항원, 또는 알레르겐을 포함한다. 일부 구현예로, 염증성 장애가 감염성 장애이다. 하나의 구현예로, 염증성 장애가 점막 감염 (예를 들면, 세균, 바이러스)과 관련있고/있거나 이에 의해 유발된다. 일부 구현예로, 염증성 질병이 세균성 감염, 예를 들면, 이. 콜라이 또는 헬리코박터 감염, 예를 들면, *H. 필로리(pylori)*, *H. (헤일만나이(heilmannii))*, *H. 아시노니키스(acinonychis)*, *H. 안세리스(anseris)*, *H. 아우라티(aurati)*, *H. 바쿨리포르미스(baculiformis)*, *H. 빌리스(bilis)*, *H. (비조제로니(bizozeronii))*, *H. 브란타에(brantae)*, *H. 칸다텐시스(candadensis)*, *H. 카니스(canis)*, *H. 콜레스이스투스(cholecystus)*, *H. 시나에디(cinaedi)*, *H. 시노가스트리쿠스(cynogastricus)*, *H. 에쿠오룸(equorum)*, *H. 펠리스(felis)*, *H. 페넬리아에(fenelliae)*, *H. 간마니(ganmani)*, *H. 헤파티쿠스(hepaticus)*, *H. 메소크리세토토룸(mesocricetorum)*, *H. 마르모타에(marmotae)*, *H. 무리다룸(muridarum)*, *H. 무스텔라에(mustelae)*, *H. 파메텐시스(pametensis)*, *H. 풀로룸(pullorum)*, *H. 라피니(rappini)*, *H. 로덴티움(rodentium)*, *H. 살로모니스(salomonis)*, *H. 수이스(suis)*, *H.*

트로곤툼(*trogontum*), *H. 티플로니우스(typhlonius)*, 및 *H. 윙하멘시스(winghamensis)* 감염과 관련있고/있거나 이에 의해 유발된다. 특정 구현예로, 헬리코박터 감염이 *H. 필로리(pylori)*, *H. 헤일만니이(heimmannii)*, 또는 *H. 수이스(suis)* 감염이다.

[0083] 추가의 구현예로, 헬리코박터-관련 염증성 질병이 MALT 림프종 (예를 들면, 위의 MALT 림프종), 위암 (예를 들면, 식도암 또는 위암), 위 또는 십이지장 궤양, 위염 (위 내층의 염증), 또는 위 병변(gastric lesion; 예를 들어 다음 문헌: Chen *et al.*, *J Clin Pathol* 55(2):133-7 (2002); Genta *et al.*, *Hum Pathol* 24(6):577-83 (1993); Okiyama *et al.*, *Pathol Int* 55(7):398-404 (2005)을 참조)이다.

[0084] 일부 구현예로, CXCL13 활성을 억제하는 제제를 투여하여 대상체에서 감염성 제제 (예를 들면, 세균)의 부담을 감소시킨다. 이러한 구현예 중 일부에서, 항-CXCL13 제제를 투여하여 점막에서 감염성 제제 (예를 들면, 세균)의 부담을 감소시키고 이러한 구현예 중 일부에서, 적어도 1종의 점막 분비물에서 감염성 제제 (예를 들면, 세균)의 수준이 감소된다. 이러한 구현예 중 일부에서, 항-CXCL13 제제를 감염을 갖고 있는 대상체에게 투여하여 감염성 제제 (예를 들면, 세균)의 수준을 대상체에서 적어도 1% 만큼, 적어도 5% 만큼, 적어도 10% 만큼, 적어도 15% 만큼, 적어도 20% 만큼, 적어도 25% 만큼, 적어도 30% 만큼, 적어도 35% 만큼, 적어도 40% 만큼, 적어도 45% 만큼, 적어도 50% 만큼, 적어도 55% 만큼, 적어도 60% 만큼, 적어도 65% 만큼, 적어도 70% 만큼, 적어도 75% 만큼, 적어도 80% 만큼, 적어도 85% 만큼, 적어도 90% 만큼, 적어도 95% 만큼, 적어도 96% 만큼, 적어도 97% 만큼, 적어도 98% 만큼, 적어도 99% 만큼, 또는 그 이상 감소시킨다.

[0085] IgA 결핍을 갖는 대상체에게 CXCL13 억제제가 투여되는 구현예 중 일부에서, CXCL13 억제제가 상기 대상체의 점막 조직에서 IgA 항체 반응을 증가시킨다. 이러한 구현예에서, 항원-특이적 IgA 수준 (예를 들면, 감염성 제제를 특이적으로 인지하는 IgA)이 증가하는데, 일부 구현예에서, 감염성 제제의 더욱 효율적인 제거가 일어난다. 용어 "염증성 장애(inflammatory disorder)" 또는 "염증성 질병(inflammatory disease)"은 알레르겐에 대한 알레르기성 반응을 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아니다. 알레르기성 반응은 면역글로불린 E(IgE)에 의해 매개된다. IgA는 알레르기성 제제과 결합할 수 있어, 알레르겐이 IgE와 결합하거나 지연형 과민증에 관여하는 T 세포가 활성화되는 것을 방지한다. 그러므로, IgA 수준을 증가시키는, CXCL13 활성을 억제하는 제제를 투여하는 것은 비제한적으로, 특정 식품, 약물, 곤충 쏘임(insect stings), 화분(pollen), 라텍스, 및 식물 독소를 포함하는 다양한 알레르겐에 대한 반응으로, 천식, 알레르기성 비염, 알레르기성 부비동염, 접촉성 피부염, 습진, 두드러기, 호흡장애, 구토, 복부팽창, 및 설사를 치료하는데 사용될 수 있다.

[0086] 아울러, 본 발명의 목적에 있어서, 용어 "염증성 질병(들)"에 본원에서 "자가면역 장애(들)"으로도 언급되는 "자가면역 질병(들)"이 포함되지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "자가면역성(autoimmunity)"은 일반적으로 "자가" 항원을 포함하는 염증성 면역-매개 과정을 포함하는 것으로 이해된다. 자가면역 질병에서, 자가 항원(들)은 숙주 면역 반응을 촉발시킨다.

[0087] 일부 구현예로, 염증성 장애는 감염성 제제의 제거(clearing)를 방지할 수 있거나 비제한적으로, 류마티스 관절염, 전신성 홍반성 낭창, 그레이브스 병, 1형 당뇨병, 중증 근무력증, 쇼그렌 증후군(Sjogren syndrome), 다발성 경화증(multiple sclerosis), 또는 복강부전증을 포함한, 자가면역 질병에 참여할 수 있는, 유전적으로 결정된 선택적 IgA-결핍의 결과이다 (Wang *et al.* (2011) *Mol Med* 17(11-12):1383-1396, 이는 본원에서 그 전체가 참조로서 포함된다). 일부 구현예로, 염증성 질병이 B 세포-매개된 염증성 질병이다. 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "B 세포-매개된 염증성 질병"은 본원에 기재된 바와 같은 염증성 질병이며, 여기서 상기 질병의 발병, 진행, 또는 발병과 진행 둘다는 주로 B 세포의 활성화에 따른다. B 세포-매개된 염증성 질병의 비-제한 예로 자가항체의 생성으로 특징되는 것들이 있다.

[0088] "B 세포"는 골수내에서 자라는 림프구이며, 비처리 B 세포, 메모리(memory) B 세포, 또는 이펙터(effector) B 세포(형질세포)를 포함한다. 본원에서 B 세포는 정상 또는 비-악성 B 세포일 수 있다.

[0089] 본원에서 "B-세포 표면 마커" 또는 "B-세포 표면 항원"은 B 세포의 표면에 발현된 항원이며 이는 여기에 결합하는 길항제(antagonist)에 의해 표적화될 수 있다. 일례의 B-세포 표면 마커로는 예를 들어, CD10, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD37, CD40, CD53, CD72, CD73, CD74, CDw75, CDw76, CD77, CDw78, CD79a, CD79b, CD80, CD81, CD82, CD83, CDw84, CD85 및 CD86과 CXCR5가 있다. 특정의 B-세포 표면 마커는 포유류의 다른 비-B-세포 조직과 비교하여 B 세포에서 우세하게 발현되며 전구체 B 세포 및 성숙 B 세포 둘다에서 발현될 수 있다. 본원에서 바람직한 B-세포 표면 마커는 CD19와 CXCR5이다. 본 발명의 목적에 있어서, 용어 "염증성 질병(들)"은 "자가면역 질병(들)"을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

- [0090] 본원에 개시되는 방법에 따라서, CXCL13 활성을 억제하는 제제가 IgA 결핍을 갖는 대상체에게 투여된다. 특정의 구현예로, 제제가 염증성 장애의 치료를 위하여 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다.
- [0091] 일부 구현예로, 치료(treatment)는 대상체에게 CXCL13 활성을 억제하는 제제 (예를 들면, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자)을 적용 또는 투여, 또는 대상체로부터 단리된 조직 또는 세포주에 상기 제제를 적용 또는 투여하는 것을 포함하며, 여기서 상기 대상체는 염증성 장애, 염증성 장애의 증상, 또는 염증성 장애로의 소인(predisposition)을 갖고 있다. 다른 구현예로, 치료에는 대상체에게 CXCL13 활성을 억제하는 제제 (예를 들면, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자)를 포함하는 약제학적 조성물의 적용 또는 투여, 또는 염증성 장애, 염증성 장애의 증상, 또는 염증성 장애로의 소인을 가지고 있는 대상체로부터 단리된 조직 또는 세포주에 상기 제제를 포함하는 약제학적 조성물을 적용 또는 투여하는 것이 또한 포함된다.
- [0092] 본 발명의 방법에 따라서, CXCL13 활성을 억제하는 제제 (예를 들면, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자) 중 적어도 1종을 사용하여 IgA 결핍 및/또는 염증성 장애의 치료 또는 방지에 대한 긍정적인 치료 반응(positive therapeutic response)을 촉진시킨다. 염증성 질병에 대한 "긍정적인 치료 반응"이란 투여된 제제의, 항-염증 활성, 항-혈관생성 활성, 항-세포사멸 활성 등과 관련한 장애에서의 개선, 및/또는 상기 질병과 관련한 증상의 개선이 포함된다. 즉, 항-증식 효과인, CXCL13-발현 세포의 추가적인 증식의 방지, 비제한적으로, 염증성 사이토카인, 접착 분자, 프로테아제, 면역글로불린 (CXCL13 포함 세포가 B 세포인 경우), 이들의 조합 등의 감소된 분비를 포함한 염증 반응에서의 감소, 항-염증 단백질의 증가된 생성, 자가반응성 세포의 수에서의 감소, 면역 내성에서의 증가, 자가반응성 세포 생존의 억제, 사포사멸에서의 감소, 상피세포 이동에서의 감소, 자발적 단핵구 이동에서의 증가, 이소성 림프여포(ectopic lymphoid follicles)의 수에서의 감소, 영향을 받은 조직에 존재하는 B 세포의 수에서의 감소, 영향받은 조직으로의 B 세포의 이동에서의 감소, CXCL13-발현 세포의 자극에 의해 매개되는 증상 중 하나 이상에서의 감소(reduction) 및/또는 하락(decrease)이 관찰될 수 있다. 감염성 질병에 대한 "긍정적인 치료 반응"에는 감염성 제제, 예를 들면, 세균의 제거 및 그런 감염과 관련한 장애 증상에서의 개선이 포함된다.
- [0093] 그러한 긍정적인 치료 반응은 투여 경로로 제한되지 않으며 공여체, 공여체 조직(예를 들어 기관 관류와 같은), 숙주, 이들의 임의의 조합 등으로의 투여를 포함할 수 있다. 임상적 반응은 ELISA, RIA, 크로마토그래피 등으로 검출가능한 변화를 포함하여, 이로 제한하지 않고, 자기공명 영상(MRI) 스캔, x-방사선영상, 컴퓨터 단층촬영(CT) 스캔, 유세포분석기 또는 형광-활성화 세포 분류기(FACS) 분석법, 조직학, 육안병리학(gross pathology), 및 혈액 화학과 같은 스크리닝 기술을 사용하여 평가할 수 있다. 이러한 긍정적인 치료 반응 외에, CXCL13 활성을 억제하는 제제 (예를 들면, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자)을 사용한 치료를 시행중인 대상체는 염증성 장애와 관련있는 증상에서의 개선의 유의한 효과를 경험할 수 있다.
- [0094] 본원에서 사용되는 바와 같은, 용어 "치료하다(treat)" 또는 "치료(treatment)"는 치료적 처치(therapeutic treatment) 및 예방적 또는 방지적 조치(measure)를 둘다 지칭하며, 여기서 목표는 염증성 장애의 진행과 같은, 바람직하지 못한 생리학적 변화 또는 장애의 악화의 방지 또는 둔화(경감), 또는 이의 재발을 방지하는 것이다. 유의한 또는 바람직한 임상적 결과로는 검출가능하거나 검출불가능든지, 증상의 완화, 질병의 정도의 축소(diminishment), 질병의 안정화된 (즉, 악화되지 않는) 상태, 질병 진행의 지연 또는 둔화, 질병 상태의 개선(amelioration) 또는 일시적 완화(palliation), 및 차도(remission)를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. "치료"는 또한 치료를 받지 않을 경우 기대되는 생존률과 비교하여 연장되는 생존률을 의미할 수 있다. 치료를 필요로 하는 것들에는 병태(condition) 또는 장애에 이미 있는 것들 뿐만 아니라 병태 또는 장애에 걸리기 쉬운 것들 또는 병태 또는 장애가 방지되어야 하는 것들이 포함된다.
- [0095] "대상체(subject)" 또는 "개인(individual)" 또는 "동물" 또는 "환자" 또는 "포유류"는 진단, 예후, 또는 치료에 필요한, 임의의 대상체, 특히 포유동물 대상체를 의미한다. 포유동물 대상체에는 인간, 가축 동물, 농장 동물, 및 동물원, 스포츠, 또는 애완동물, 예로서, 개, 고양이, 기니아 피그, 토끼, 래트, 마우스, 말, 소 등이 있다.
- [0096] 본원에서 사용되는 바와 같은, "CXCL13 활성을 억제하는 제제의 투여로부터 이익을 얻는 대상체" 및 "치료를 필요로 하는 동물"과 같은 문구에는 치료를 위하여 CXCL13 활성을 억제하는 제제 (예를 들면, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체)의 투여로부터 이득, 즉, 염증성 장애의 완화 또는 방지를 얻는, 포유동물 대상체와 같은 대상체가 포함된다. 본원에서 더욱 상세하게 설명되는 바와 같이, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체는 비접합 형태로 사용될 수 있거나 예를 들어, 약물, 프로드럭, 또는 동위원소에 접합될 수 있다.
- [0097] 본원에 개시되는 방법은 CXCL13 활성을 억제하는 제제를 이용한다. CXCL13 (달리 항상성 B 세포-유인 케모카인

1(BCA-1) 또는 ANGIE, BLC, BLR1L, ANGIE2, 또는 Scyb13로 알려져 있음)은 2차 림프 기관 (예를 들면, 비장, 림프절, 및 페이에르판(Peyer's patch)에서 여포 수상상 세포(FDCs) 및 대식세포에 의해 구성적으로 발현된다. 다음 문헌을 참조한다: Gunn *et al.*, *Nature* 391:799-803 (1998) and Carlsen *et al.*, *Blood* 104(10):3021-3027 (2004). CXCL13은 주로 G-단백질-커플링된 CXCR5 수용체 (버킷(Burkitt) 림프종 수용체 1)을 통하여 작용한다. CXCR5는 예를 들면, 성숙형 B 림프구, CD4+ 여포 헬퍼 T 세포(Thf 세포), CD8+ T 세포의 마이너 서브세트, 및 활성화된 편도선 트렉(Treg) 세포에서 발현된다. 다음 문헌을 참조한다: Legler *et al.*, *J. Exp. Med.* 187:655-660 (1998); Forster *et al.*, *Blood* 84:830-840 (1994); Fazilleau *et al.*, *Immunity* 30:324-335 (2009); Ansel *et al.*, *J. Exp. Med.* 190:1123-1134 (1999); Lim *et al.*, *J. Clin. Invest.* 114(11):1640-1649 (2004); and R. Forster, Chapter in Academic Press Cytokine Reference, Aug. 2000.

[0098] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "CXCL13" 및 "CXCL13 폴리펩타이드"는 상호교환적으로 사용된다. 특정의 구현예에서, CXCL13은 전체-크기의 CXCL13 또는 이의 단편, 또는 CXCL13 가변체 폴리펩타이드를 포함할 수 있으며, 이때 CXCL13의 단편 또는 CXCL13 가변체 폴리펩타이드는 전체-크기의 CXCL13의 기능 특성의 일부 또는 모두를 보유한다. 인간 CXCL13 폴리뉴클레오티드와 폴리펩타이드 서열(각각 서열 식별 번호:1 및 2)이 기재되어 있으며 이에 대해 예를 들어, 다음 문헌을 참조한다: Legler, *et. al.*, *J. Exp. Med.* 187(4):655-660 (1998). 마우스 CXCL13 폴리뉴클레오티드와 폴리펩타이드 서열(각각 서열 식별 번호:3 및 4)이 기재되어 있으며 이에 대해 예를 들어, 다음 문헌을 참조한다: Gunn, *et. al.*, *Nature* 391(6669):799-803 (1998). 또한, 사이노몰거스(*cynomolgus*) 원숭이 CXCL13 폴리펩타이드 서열은 서열 식별 번호: 5에 나타낸 바와 같이 기재되어 있다.

[0099] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "CXCR5" 및 "CXCR5 폴리펩타이드"는 상호교환적으로 사용된다. 특정의 구현예에서, CXCR5는 전체-크기의 CXCR5 또는 이의 단편, 또는 CXCR5 가변체 폴리펩타이드를 포함할 수 있으며, 이때 CXCR5의 단편 또는 CXCR5 가변체 폴리펩타이드는 전체-크기의 CXCR5의 기능 특성의 일부 또는 모두를 보유한다. 용어 "CXCR5" 및 "CXCR5 폴리펩타이드"는 또한 CXCR5의 가용성 형태를 포함한다. 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "CXCR5의 가용성 형태"는 세포질막에 결합하지 않은 CXCR5의 형태이다. 전장 CXCR5는 7개의 막관통 수용체이다. 따라서, CXCR5의 가용성 형태의 비-제한적 예에 필수적으로 세포의 도메인 (예를 들면, 약 첫번째 60개의 아미노산)으로 구성된 CXCR5의 단편이 포함된다. 인간 CXCR5 폴리뉴클레오티드와 폴리펩타이드 서열은 당해 분야에 공지되어 있으며 본원에서 각각 서열 식별 번호: 6 및 7로 제공된다. 쥐의 CXCR5 폴리뉴클레오티드와 폴리펩타이드 서열은 당해 분야에 공지되어 있으며 본원에서 각각 서열 식별 번호: 8 및 9로 제공된다.

[0100] CXCL13 활성을 억제하는데 유용한 제제에는 소분자, 폴리펩타이드, 및 폴리뉴클레오티드가 포함된다. 특정의 구현예에서, 상기 제제는 CXCL13이 이의 수용체에 결합하는 것을 차단한다. 일부 구현예에서, 상기 제제가 CXCL13과 CXCR5간의 상호작용을 차단한다. 특정 구현예로, 상기 제제가 CXCL13 또는 CXCR5에 특이적으로 결합하는 특이적 결합 분자이다. 이러한 구현예 중 일부에서, 상기 제제는 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. 다른 구현예로, 상기 제제가 CXCR5의 가용성 형태이다.

[0101] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "폴리펩타이드"는 단일 "폴리펩타이드" 뿐만 아니라 다수의 "폴리펩타이드"를 포괄하는 것이며, 아미드 결합 (펩타이드 결합으로도 알려져 있음)에 의해 선형으로 연결된 단량체(아미노산)로 구성된 분자를 지칭한다. 용어 "폴리펩타이드"는 2개 이상의 아미노산의 임의의 사슬(chain) 또는 사슬들을 지칭하며, 특정 길이의 산물을 지칭하는 것은 아니다. 따라서, 펩타이드, 디펩타이드, 트리펩타이드, 올리고펩타이드, "단백질", "아미노산 사슬", 또는 2개 이상의 아미노산의 사슬 또는 사슬들을 지칭하기 위하여 사용되는 임의의 다른 용어가 "폴리펩타이드"의 정의내에 포함되며, 용어 "폴리펩타이드"는 이러한 용어들 대신, 또는 이들 중 임의의 것들과 상호교환적으로 사용될 수 있다. 또한, 용어 "폴리펩타이드"는 비제한적으로, 당화, 아세틸화, 인산화, 아미드화, 알려진 보호/차단기에 의한 유도체화, 단백질 분해에 의한 절단, 또는 비-천연 아미노산에 의한 변형을 포함한, 폴리펩타이드의 발현 후 변형 산물을 지칭하기 위함이다. 폴리펩타이드는 천연 생물원으로부터 유래되거나 재조합 기술에 의해 제조될 수 있지만, 반드시 지정된 핵산 서열로부터 번역되는 것은 아니다. 화학적 합성을 포함한, 임의의 방식으로 생성될 수 있다.

[0102] 본원에 개시되는 방법에 유용한 폴리펩타이드는 크기가 아미노산 약 3개 이상, 5개 이상, 10개 이상, 20개 이상, 25개 이상, 50개 이상, 75개 이상, 100개 이상, 200개 이상, 500개 이상, 1,000개 이상, 또는 2,000개 이상일 수 있다. 폴리펩타이드는 구획된 3차 구조를 반드시 갖는 것은 아니지만 이러한 구조를 가질 수 있다. 구획된 3차 구조를 갖는 폴리펩타이드를 폴딩된 것이라 지칭하며, 구획된 3차 구조를 가지지 않고 여러가지 다른 구조를 가질 수 있는 것을 폴딩되지 않은 것이라 지칭한다. 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 당단백질은 아미노산 잔기, 예를 들어 세린 잔기 또는 아스파라긴 잔기의 산소-함유 또는 질소-함유 측쇄를 통하여 단백질

에 부착된 1개 이상의 탄수화물 모이어티(moiety)가 커플링된 단백질을 지칭한다.

[0103] "단리된" 폴리펩타이드 또는 이의 단편, 가변체, 또는 유도체는 이의 천연 환경에 없는 폴리펩타이드를 지칭한다. 특정한 정제 수준이 요구되는 것은 아니다. 예를 들어, 단리된 폴리펩타이드는 천연 또는 자연 환경으로부터 회수될 수 있다. 숙주 세포에서 발현된 재조합적으로 제조된 폴리펩타이드 및 단백질은, 임의의 적합한 기법에 의해 단리, 분획화 또는 부분적으로 또는 실질적으로 정제되어진 천연 또는 재조합 폴리펩타이드와 같이, 본 발명의 목적에 따라 단리된 것으로 간주된다.

[0104] 또한, 폴리펩타이드의 단편, 유도체, 유사체, 또는 가변체, 및 이들의 임의의 조합이 본원에 개시된 방법에 유용한 폴리펩타이드로 포함된다. 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체 또는 항체 폴리펩타이드를 언급할 때 용어 "단편", "가변체", "유도체", 및 "유사체"는 대응하는 항체 또는 항체 폴리펩타이드의 항원-결합 특성 중 적어도 일부를 보유하는 임의의 폴리펩타이드를 포함한다. 폴리펩타이드의 단편은 본원의 어느곳에서나 논의되는 특이적인 항체 단편 외에, 단백질 분해 단편 뿐만 아니라 결실 단편을 포함한다. 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체의 가변체에는 상기한 바와 같은 단편, 및 아미노산 치환, 결실, 또는 삽입으로 인하여 아미노산 서열이 변화된 폴리펩타이드가 포함된다. 가변체는 천연 또는 비-천연일 수 있다. 비-천연 가변체는 당해-공지되어 있는 돌연변이 유발 기법으로 제조할 수 있다. 가변체 폴리펩타이드는 보존적 또는 비-보존적 아미노산 치환, 결실, 또는 부가를 포함할 수 있다. 가변체 폴리펩타이드는 또한 본원에서 "폴리펩타이드 유사체"로도 언급될 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같은 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체 또는 항체 폴리펩타이드의 "유도체"는 기능성 측쇄기의 반응에 의해 화학적으로 유도체화된 잔기를 1개 이상 갖는 당해 폴리펩타이드를 지칭한다. 또한, 20종의 표준 아미노산의 천연 아미노산 유도체를 1개 이상 함유하는 펩타이드도 "유도체"로 포함된다. 예를 들어, 4-하이드록시프롤린은 프롤린을 대체할 수 있으며; 5-하이드록시라이신은 라이신을 대체할 수 있고; 3-메틸히스티딘은 히스티딘을 대체할 수 있으며; 호모세린은 세린을 대체할 수 있고; 오르니틴은 라이신을 대체할 수 있다. 항-CXCL13 및 항-CXCR5 항체와 항체 폴리펩타이드의 유도체는 기준 항체(reference antibody) 또는 항체 폴리펩타이드에서는 발견되지 않는 추가적인 특징을 나타내도록 변형된 폴리펩타이드를 포함할 수 있다.

[0105] 폴리펩타이드의 문맥에서, "선형 서열" 또는 "서열"은 아미노에서 카르복실 말단 방향으로 폴리펩타이드에서의 아미노산의 순서로, 이때, 서열에서 서로 이웃하고 있는 잔기는 폴리펩타이드의 1차 구조에서 인접하고 있다.

[0106] 용어 "폴리뉴클레오티드"는 1개의 핵산 뿐만 아니라 복수의 핵산을 포함하며, 단리된 핵산 분자 또는 작제물, 예를 들면, 메신저 RNA (mRNA) 또는 플라스미드 DNA (pDNA)를 지칭한다. 폴리뉴클레오티드는 통상적인 포스포디에스테르 결합 또는 비-통상적인 결합 (예를 들면, 펩타이드 핵산(PNA)에서 발견되는 것과 같은 아미드 결합)을 포함할 수 있다. 용어 "핵산"은 폴리뉴클레오티드에 존재하는 임의의 1개 이상의 핵산 절편, 예를 들면, DNA 또는 RNA 단편을 지칭한다. "단리된" 핵산 또는 폴리뉴클레오티드는 이의 천연 환경으로부터 회수된 핵산 분자, DNA 또는 RNA를 의도한다. 예를 들어, 벡터에 포함된, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자, 예컨대, 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 코딩하는 재조합 폴리뉴클레오티드는 본 발명의 목적에 따라 단리된 것으로 간주된다. 단리된 폴리뉴클레오티드에 대한 추가적인 예로는 이중 숙주 세포에 유지되는 재조합 폴리뉴클레오티드 또는 용액 중의 (부분적으로 또는 실질적으로) 정제된 폴리뉴클레오티드가 있다. 단리된 RNA 분자는 본 발명의 폴리뉴클레오티드의 생체내 또는 시험관내 RNA 전사체를 포함한다. 본 발명에 따르는 단리된 폴리뉴클레오티드 또는 핵산은 합성에 의해 제조된 상기한 분자를 추가로 포함한다. 또한, 폴리뉴클레오티드 또는 핵산은 프로모터, 리보솜 결합부위, 또는 전사 종결인자와 같은 조절 인자이거나 이를 포함할 수 있다.

[0107] 본원에서 사용되는 바와 같은, "코딩 영역(coding region)"은 아미노산으로 번역되는 코돈으로 이루어진 핵산 부분이다. "정지 코돈(stop codon)"(TAG, TGA, 또는 TAA)은 아미노산으로 번역되지 않지만, 코딩 영역의 일부로 간주될 수 있으며, 임의의 측면 서열, 예를 들어, 프로모터, 리보솜 결합부위, 전사 종결인자, 인트론 등은 코딩 영역의 일부가 아니다. 본원에 개시되는 방법에서 유용한 코딩 영역 2개 이상이 하나의 폴리뉴클레오티드 작제물에, 예를 들어 하나의 벡터 상에, 또는 별개의 폴리뉴클레오티드 작제물에, 예를 들어, 별개의(상이한) 벡터 상에 존재할 수 있다. 아울러, 임의의 벡터가 하나의 코딩 영역을 함유할 수 있거나, 2개 이상의 코딩 영역을 포함할 수 있는데, 예를 들면, 하나의 벡터가 면역글로불린 중쇄 가변 영역과 면역글로불린 경쇄 가변 영역을 단리하여 코딩할 수 있다. 또한, 본 발명에 개시된 방법에서 유용한 벡터, 폴리뉴클레오티드, 또는 핵산은 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체 또는 이의 단편, 가변체, 또는 유도체를 코딩하는 핵산에 융합되어 있거나 융합되어 있지 않은 이중 코딩 영역을 코딩할 수 있다. 이중 코딩 영역은 분비 신호 펩타이드 또는 이중 기능성 도메인과 같은 특수 인자 또는 모티프(motif)를 비제한적으로 포함한다.

[0108] 특정의 구현예에서, 본원에 개시되는 방법에서 유용한 폴리뉴클레오티드 또는 핵산은 DNA이다. DNA의 경우, 폴

리펩타이드를 코딩하는 핵산을 포함하는 폴리뉴클레오티드는 일반적으로 1개 이상의 코딩 영역과 작동가능하게 조합된 프로모터 및/또는 기타 전사 또는 번역 조절 인자를 포함할 수 있다. 작동가능한 조합(operable association)은 유전자 산물, 예를 들어, 폴리펩타이드에 대한 코딩 영역이 유전자 산물의 발현이 조절 서열(들)의 영향 또는 제어하에 있도록 하는 방식으로 1개 이상의 조절 서열과 조합되어 있을 때이다. 프로모터 기능의 도입으로 바람직한 유전자 산물을 코딩하는 mRNA가 전사되고 2개의 DNA 단편들 간의 결합 특성이 유전자 산물의 발현을 지시하는 발현 조절 서열의 능력이나 DNA 주형이 전사시키는 능력을 방해하지 않는다면, 2개의 DNA 단편 (예, 폴리펩타이드 코딩 영역 및 이와 조합된 프로모터)은 "작동가능하게 조합된" 것이다. 따라서, 프로모터 영역은 프로모터가 핵산의 전사를 수행할 수 있을 때 폴리펩타이드를 코딩하는 핵산과 작동가능하게 조합된 것이다. 상기 프로모터는 미리 정해진 세포에서만 DNA의 실질적인 전사를 지시하는 세포-특이적 프로모터일 수 있다. 기타 전사 조절 인자들, 프로모터 외에, 예를 들어, 인핸서, 작동인자(operator), 억제인자, 및 전사 종결 신호가 세포-특이적 전사를 지시하도록 폴리뉴클레오티드와 작동가능하게 조합될 수 있다. 적합한 프로모터와 기타 전사 조절 영역들이 본원에 개시되어 있다.

[0109] 다양한 전사 조절 영역들이 당해 분야의 숙련가에게 공지되어 있다. 이러한 것들로는, 비제한적으로, 척추동물 세포에서 작동하는 전사 조절 영역, 예컨대, 비제한적으로, 사이토크로마바이러스(cytomegalovirus)(인트론-A와 연결된, 최초기 프로모터), 시미안 바이러스(simian virus) 40(초기 프로모터), 및 레트로바이러스(retrovirus)(예로서, Rous 사르코마 바이러스)로부터의 프로모터와 인핸서 절편들이 있다. 기타 전사 조절 영역으로는 액틴, 열 쇼크 단백질, 소 성장 호르몬 및 토끼 β-글로불린, 뿐만 아니라 진핵 세포에서 유전자 발현을 조절할 수 있는 기타 서열이 있다. 추가의 적합한 전사 조절 영역으로는 조직-특이적 프로모터와 인핸서 뿐만 아니라 림포카인-유도성 프로모터 (예를 들면, 인터페론 또는 인터류킨에 의해 유도될 수 있는 프로모터)가 있다.

[0110] 유사하게, 다양한 전사 조절 인자가 당해 분야의 숙련가에게 공지되어 있다. 이들로는 리보솜 결합 부위, 번역 개시 및 종결 코돈, 및 피코르나바이러스(picornavirus)로부터 유래하는 인자 (특히, 내부 리보솜 도입 부위, 또는 IRES, 이는 CITE 서열로도 지칭됨)가 있으나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0111] 다른 구현예로, 본원에 개시되는 방법에서 유용한 폴리뉴클레오티드가 RNA, 예를 들어, 메신저 RNA(mRNA)의 형태의 RNA이다.

[0112] 본원에 개시되는 방법에서 유용한 폴리뉴클레오티드 및 핵산 코딩 영역은 본 발명의 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된 폴리펩타이드의 분비를 지시하는, 분비 또는 신호 펩타이드를 코딩하는 추가의 코딩 영역과 조합될 수 있다. 신호 가설에 따르면, 포유동물의 세포에 의해 분비되는 단백질은 조절(rough)의 소포체를 가로질러 성장하는 단백질 사슬이 일단 유출되면 성숙 단백질로부터 절단되는 신호 펩타이드 또는 분비 리더 서열을 갖는다. 당해 분야의 숙련가들은 척추동물 세포에 의해 분비되는 폴리펩타이드가 일반적으로 폴리펩타이드의 N-말단에 융합된 신호 펩타이드를 가지며, 이는 상기 폴리펩타이드의 분비된 또는 "성숙" 형태를 생성하도록 완전한 또는 "전장(full-length)" 폴리펩타이드로부터 절단된다는 것을 인지하고 있다. 특정의 구현예에서, 천연 신호 펩타이드, 예를 들어, 면역글로불린 중쇄 또는 경쇄 신호 펩타이드가 사용되거나, 또는 이와 작동가능하게 조합된 폴리펩타이드의 분비를 지시하는 능력을 보유하는 서열의 기능성 유도체가 사용된다. 대안적으로, 이종성 포유동물 신호 펩타이드, 또는 이의 기능성 유도체가 사용될 수 있다. 예를 들어, 야생형 리더 서열이 인간 조직 플라스미노겐 활성인자(TPA) 또는 마우스 β-글루쿠로니다제의 리더 서열로 치환될 수 있다.

[0113] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "발현"은 유전자가 생화학 제제, 예를 들면, 폴리펩타이드를 생성하는 공정을 지칭한다. 상기 공정은 비제한적으로, 유전자 녹다운(knockdown) 뿐만 아니라 일시적 발현 및 안정한 발현 둘다를 포함하여, 세포내에서 유전자의 기능성 존재의 임의의 징후(manifestation)를 포함한다. 이는 비제한적으로 유전자의 메신저 RNA (mRNA)로의 전사, 및 그러한 mRNA의 폴리펩타이드(들)로의 번역을 포함한다. 최종의 바람직한 산물이 생화학 제제일 경우, 발현은 당해 생화학 제제과 임의의 전구체의 생성을 포함한다. 유전자의 발현으로 "유전자 산물"이 생성된다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 유전자 산물은 핵산, 예를 들면, 유전자의 전사에 의해 생성되는 메신저 RNA, 또는 전사물로부터 번역되는 폴리펩타이드일 수 있다. 본원에 기재되는 유전자 산물에는 추가로 전사후 변형, 예를 들어, 폴리아데닐화시킨 핵산, 또는 번역후 변형, 예를 들어, 메틸화, 당화, 지질의 부가, 다른 단백질 서브유닛과의 조합, 단백질 분해에 의한 절단 등을 시킨 폴리펩타이드가 포함된다.

[0114] "결합 분자" 또는 "항원 결합 분자"는 광의의 의미로 항원 결정기(antigen determinant)에 특이적으로 결합하는 분자를 지칭한다. 하나의 구현예로, 결합 분자가 CXCL13(BCA-1이라고도 함)에 특이적으로 결합한다. 다른 구현

예로, 결합 분자가 CXCR5에 특이적으로 결합한다. 또 다른 구현예로, 본원에 개시되는 방법에서 유용한 결합 분자가 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 예를 들면, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체이다. 다른 구현예로, 결합 분자가 항체 분자의 중쇄 또는 경쇄 CDR 중 적어도 1개를 포함한다. 또 다른 구현예로, 결합 분자가 1개 이상의 항체 분자로부터의 CDR을 적어도 2개 포함한다. 다른 구현예로, 결합 분자가 1개 이상의 항체 분자로부터의 CDR을 적어도 3개 포함한다. 다른 구현예로, 결합 분자가 1개 이상의 항체 분자로부터의 CDR을 적어도 4개 포함한다. 또 다른 구현예로, 결합 분자가 1개 이상의 항체 분자로부터의 CDR을 적어도 5개 포함한다. 다른 구현예로, 결합 분자가 1개 이상의 항체 분자로부터의 CDR을 적어도 6개 포함한다. 특정의 구현예로, 상기 CDR 중 1개 이상이 MAb 5261, MAb 5378, MAb 5080, MAb 1476, 또는 3D2이다.

[0115] 일부 구현예에서, 본원에 개시되는 방법이 특정의 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체, 또는 이의 항원-결합 단편, 가변체, 또는 유도체를 수반한다. 천연 항체와 같이 전체 크기의 항체에 대해 특별하게 언급하지 않는 한, 용어 "항-CXCL13 항체" 및 "항-CXCR5 항체"는 전체 크기의 항체 뿐만 아니라 그러한 항체의 항원-결합 단편, 가변체, 유사체, 또는 유도체, 예를 들면, 천연 항체 또는 면역글로불린 분자 또는 항체 분자와 유사한 방식으로 항원에 결합하는 조각된 항체 분자 또는 단편을 포괄한다.

[0116] 본원에서 사용되는 바와 같은 "인간" 또는 "완전한 인간" 항체는 인간 면역글로불린의 아미노산 서열을 갖는 항체를 포함하며 인간 면역글로불린 라이브러리로부터 또는 1개 이상의 인간 면역글로불린에 대한 형질전환 동물로부터 단리된 항체를 포함하고 진술한 바와 같이, 예를 들어, Kucherlapati 등의 미국 특허 제5,939,598호에 기재된 바와 같이, 내인성 면역글로불린을 발현시키지 않는 것이다. "인간" 또는 "완전한 인간" 항체는 또한 적어도 중쇄의 가변 도메인, 또는 적어도 중쇄와 경쇄의 가변 도메인을 포함하는 항체를 포함하며, 여기서 상기 가변 도메인(들)은 인간 면역글로불린 가변 도메인(들)의 아미노산 서열을 갖는다.

[0117] "인간" 또는 "완전한 인간" 항체는 또한 상기 기재된 바와 같이, 공지의 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체 분자 (예를 들면, VH 영역 및/또는 VL 영역)의 가변체 (유도체를 포함함)를 포함하는, 또는 이들로 필수적으로 이루어진, 또는 이루어진 "인간" 또는 "완전한 인간" 항체를 포함하며, 상기 항체 또는 이의 단편은 CXCL13 또는 CXCR5 폴리펩타이드 또는 이의 단편 또는 가변체에 면역특이적으로 결합한다. 당해 분야의 숙련가에게 알려져 있는 표준 기법을 사용하여 비제한적으로, 부위-지시된 돌연변이 유발 및 아미노산을 치환시키는 PCR-매개된 돌연변이 유발을 포함하여, 인간 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체를 코딩하는 뉴클레오티드 서열에 돌연변이를 도입시킬 수 있다. 바람직하게는, 상기 가변체 (유도체를 포함함)가 기준 VH 영역, VHCDR1, VHCDR2, VHCDR3, VL 영역, VLCDR1, VLCDR2, 또는 VLCDR3에 대해, 아미노산 50개 미만의 치환, 아미노산 40개 미만의 치환, 아미노산 30개 미만의 치환, 아미노산 25개 미만의 치환, 아미노산 20개 미만의 치환, 아미노산 15개 미만의 치환, 아미노산 10개 미만의 치환, 아미노산 5개 미만의 치환, 아미노산 4개 미만의 치환, 아미노산 3개 미만의 치환, 또는 아미노산 2개 미만의 치환을 코딩한다.

[0118] 특정의 구현예에서, 아미노산 치환이 하기에서 추가로 논의되는 보존적인 아미노산 치환이다. 대안적으로, 돌연변이는 포화 돌연변이 유발에 의해서와 같이, 모든 코딩 서열을 따라 또는 코딩 서열의 일부를 따라 랜덤하게 도입될 수 있으며, 생성된 돌연변이체는 활성 (예를 들어, CXCL13 또는 CXCR5 폴리펩타이드, 예로서 인간, 쥐, 또는 인간과 쥐 둘다의 CXCL13 또는 CXCR5에 결합할 수 있는 능력)을 보유하는 돌연변이체를 동정하기 위한 생물학적 활성에 대해 스크리닝할 수 있다. "인간" 또는 "완전한 인간" 항체의 그러한 가변체 (또는 이의 유도체)를 "최적화된" 또는 "항원 결합용으로 최적화된" 인간 또는 완전한 인간 항체로도 지칭할 수 있으며 항원에 대해 향상된 친화성을 갖는 항체를 포함할 수 있다.

[0119] 용어 "항체" 및 "면역글로불린"은 본원에서 상호교환적으로 사용된다. 항체 또는 면역글로불린은 적어도 중쇄의 가변 도메인을 포함하며, 통상적으로 적어도 중쇄와 경쇄의 가변 도메인을 포함한다. 척추동물계에서의 기본적인 면역글로불린 구조는 상대적으로 잘 해명되어 있다. 예를 들어, 다음 문헌을 참조한다: Harlow et al. (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* (2nd ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press).

[0120] 하기에서 더욱 상세하게 논의되는 바와 같이, 용어 "면역글로불린"은 생화학적으로 구별될 수 있는 매우 다양한 유형의 폴리펩타이드를 포함한다. 당해 분야의 숙련가는 중쇄가 서브클래스(subclass) (예를 들면, $\gamma 1 - \gamma 4$) 중에서 일부의 서브클래스를 갖는 감마, 뮤, 알파, 델타, 또는 엡실론, ($\gamma, \mu, \alpha, \delta, \epsilon$)으로 분류된다는 것을 알 것이다. 이는 항체의 "클래스(class)"를 각각 IgG, IgM, IgA, IgD, 또는 IgE로 결정하는 상기 사슬의 특성이다. 면역글로불린 서브클래스(이소형), 예를 들면, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 등은 특성이 잘 밝혀져 있으며 기능적인 전문성을 부여하는 것으로 알려져 있다. 이들 클래스 각각 및 이소형의 변형된 형태들로 본 개시내용에 비추어 당해 분야의 숙련가에게 용이하게 인지될 수 있으며, 따라서, 본 발명의 범주내에 있다. 모든

면역글로불린 클래스의 용도가 본원에서 개시되는 방법의 범주내에 있음이 명백하지만, 이후의 논의는 일반적으로 면역글로불린 분자의 IgG 클래스에 관한 것이다. IgG와 관련하여, 표준 면역글로불린 분자는 분자량이 대략 23,000 달톤인 2개의 동일한 경쇄 폴리펩타이드와, 분자량이 대략 53,000 내지 70,000 달톤인 2개의 동일한 중쇄 폴리펩타이드를 포함한다. 상기 4개의 쇠는 전형적으로 이황화 결합에 의해 "Y" 구조로 결합되며, 여기서 경쇄는 "Y"의 입(벌어진 부분)에서 시작하여 가변 영역을 통하여 이어지는 중쇄에 덧붙여 있다.

[0121] 경쇄는 카파 또는 람다(κ , λ)로 분류된다. 각각의 중쇄 클래스는 카파 또는 람다 경쇄 중 하나와 결합될 수 있다. 일반적으로, 경쇄와 중쇄는 서로 공유결합에 의해 결합되며, 2개의 중쇄의 "꼬리" 부분은 면역글로불린이 하이브리도마, B-세포 또는 유전자 조작된 숙주 세포에 의해 생성될 때 공유결합성 이황화 연결기 또는 비-공유결합성 연결기에 의해 서로 결합된다. 중쇄에서, 아미노산 서열은 Y 구조의 포크 끝(forked end)의 N-말단에서 각 쇠의 하부의 C-말단으로 이어진다.

[0122] 경쇄 및 중쇄 둘다 구조 및 기능적 상동성(homology) 영역으로 나뉘어진다. 용어 "불변" 및 "가변"은 기능적으로 사용된다. 이와 관련하여, 경쇄 (VL 또는 VK) 부분과 중쇄 (VH) 부분 둘 다의 가변 도메인이 항원 인지와 특이성을 결정하는 것으로 인식될 것이다. 역으로, 경쇄 (CL)와 중쇄 (CH1, CH2 또는 CH3)의 불변 영역은 분비, 태반을 통한 이동성(transplacental mobility), Fc 수용체 결합, 보체 결합 등과 같은 중요한 생물학적 특성을 부여한다. 관례상, 불변 영역 도메인은 이들이 항원 결합 부위 또는 항체의 아미노-말단으로부터 더 멀어질수록 번호가 높아진다. N-말단 부분이 가변 영역이며 불변 영역은 C-말단 부분에 있고; CH3 및 CL 도메인은 실제로 각각 중쇄와 경쇄의 카르복시-말단을 포함한다.

[0123] 본원에 기술되는 바와 같이, 가변 영역은 항체가 항원의 에피토프를 선택적으로 인지하여 특이적으로 결합할 수 있도록 한다. 즉, 항체의, VL 도메인과 VH 도메인, 또는 이들 가변 도메인 내의 상보성 결정 영역(CDR)의 서브 세트는 조합하여 3차 항원 결합 부위를 구획하는 가변 영역을 형성한다. 이런 4차 항체 구조는 Y의 각 팔 끝에 존재하는 항원 결합 부위를 형성한다. 더욱 상세하게, 항원 결합 부위는 각각의 VH 및 VL 쇠에 있는 3개의 CDR에 의해 구획된다. 일부 예로서, 예를 들어, 카멜리드(camelid) 종으로부터 유래하거나 카멜리드 면역글로불린을 기초로 조작된 특성의 면역글로불린 분자에서, 완전한 면역글로불린 분자는 경쇄없이 중쇄로만 구성될 수 있다. 예를 들어, 다음 문헌을 참조한다: Hamers-Casterman *et al.*, *Nature* 363:446-448 (1993).

[0124] 천연 항체에서, 각각의 항원 결합 영역에 존재하는 6개의 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"는 짧고, 비-인접한 아미노산 서열들로, 항체가 수계 환경에서 이의 3차 구조를 취하면서 항원 결합 영역을 형성하도록 특이적으로 배치된다. "프레임워크" 영역으로 지칭되는, 항원 결합 영역내의 나머지 아미노산들은 분자간 가변성을 거의 나타내지 않는다. 프레임워크 영역은 대개 β -시트 구조를 취하며 CDR는 상기 β -시트 구조를 연결하는 루프(loop)를 형성하고, 일부 경우에는 그 구조의 일부를 형성한다. 따라서, 프레임워크 영역은 쇠간의, 비-공유결합성 상호작용에 의해 올바른 배향으로 CDR를 배치하는 스캐폴드를 형성하는 역할을 한다. 배치된 CDR에 의해 형성된 항원 결합 영역은 면역반응성 항원에 있는 에피토프에 대해 상보성인 표면을 구획한다. 이러한 상보성 표면은 항체가 이의 동족 에피토프와 비-공유결합적으로 결합하는 것을 촉진한다. 각각, CDR와 프레임워크 영역을 포함하는 아미노산들은 정확하게 규명되어 있기 때문에, 당해 분야의 숙련가에 의해 임의의 제시된 중쇄 또는 경쇄 가변 도메인에 대해 용이하게 동정될 수 있다 (하기 참조).

[0125] 당해 기술분야에서 사용되고/되거나 채택되는 용어에 대해 2개 이상의 정의가 존재하는 경우, 본원에서 사용되는 용어의 정의는 명확하게 반대로 언급되지 않는 한 이러한 의미들을 모두 포함하는 것으로 하고자 한다. 구체적인 예는 중쇄 및 경쇄 폴리펩타이드 둘다의 가변 영역내에서 발견되는 비-인접하는 항원 조합 부위들을 설명하는데 용어 "상보성 결정 영역"("CDR")를 사용하는 것이다. 이러한 특정 영역은 문헌: Kabat *et al.* (1983) U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of Proteins of Immunological Interest" 및 Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)에 설명되어 있으며, 이 문헌은 본원에서 참조로서 포함되고, 여기에서의 정의에는 서로에 대해 비교시 아미노산 잔기의 중복(overlapping) 또는 서브세트가 포함된다. 그럼에도 불구하고, 항체 또는 이의 가변체의 CDR을 지칭하기 위한 정의를 적용하는 것은 본원에서 정의되고 사용되는 바와 같은 용어의 범주내에 있는 것으로 되어야 한다. 상기 인용된 참고문헌 각각에 의해 정의된 바와 같은 CDR을 포괄하는 적절한 아미노산 잔기가 비교용으로 하기 표 1에 기재되어 있다. 특성의 CDR을 포괄하는 정확한 잔기 번호는 CDR의 서열 및 크기에 따라서 변화될 수 있다. 당해 분야의 숙련가는 항체의 가변 영역 아미노산 서열을 고려하여 잔기가 특정 CDR을 포함하는지에 대해 일상적으로 결정할 수 있다.

[0126] 표 1. CDR 정의¹

	카밧(Kabat)	초티아(Chothia)
VH CDR1	31-35	26-32
VH CDR2	50-65	52-58
VH CDR3	95-102	95-102
VL CDR1	24-34	26-32
VL CDR2	50-56	50-52
VL CDR3	89-97	91-96

[0127]

[0128] ¹표 1에서 모든 CDR 정의에서의 넘버링은 Kabat 등에 의해 설명되는 넘버링 협약에 따른다(하기 참조).

[0129] 또한, 카밧(Kabat) 등은 임의의 항체에 적용가능한 가변 도메인 서열에 대한 넘버링(numbering) 시스템을 규정하였다. 당해 분야의 숙련가는 서열 자체 외에 임의의 실험 데이터에 의존하지 않고도, 임의의 가변 도메인 서열에 이러한 "카밧(Kabat) 넘버링" 시스템을 자명하게 부여할 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같은, "카밧(Kabat) 넘버링"은 문헌: Kabat *et al.* (1983) U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequence of Proteins of Immunological Interest."에 설명된 넘버링 시스템을 지칭한다. 달리 명시되지 않는 한, 본 발명의 항-CXCL13 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 가변체, 또는 유도체에서 특정 아미노산 잔기 위치의 넘버링에 대한 언급은 카밧(Kabat) 넘버링 시스템에 따른다.

[0130] 본원에 개시되는 방법에서 유용한 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 가변체, 또는 유도체에는 폴리클로날, 모노클로날, 다중특이적, 인간, 인간화된, 영장류화된, 또는 키메라 항체, 단일쇄 항체, 에피토프-결합 단편, 예를 들면, Fab, Fab' 및 F(ab')₂, Fd, Fvs, 단일쇄 Fvs(scFv), 이황화-연결된 Fvs(sdFv), VL 또는 VH 도메인 중 하나를 포함하는 단편, Fab 발현 라이브러리에 의해 제조된 단편, 및 항-전유제제형(idiotypic) (항-Id) 항체 (예를 들어, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체에 대한 항-Id 항체를 포함)가 포함되지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. ScFv 분자는 당해 분야에 공지되어 있으며 예를 들면, 미국 특허 제5,892,019호에 기재되어 있다. 본원에 개시되는 방법에 사용되는 면역글로불린 또는 항체 분자는 임의의 타입 (예를 들면, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA, 및 IgY), 클래스 (예를 들면, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, 및 IgA2 등), 또는 면역글로불린 분자의 서브클래스일 수 있다.

[0131] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "중쇄 부분"은 면역글로불린 중쇄로부터 유래되는 아미노산 서열을 포함한다. 중쇄 부분을 포함하는 폴리펩타이드는 다음 중 적어도 하나를 포함한다: CH1 도메인, 힌지 (예를 들면, 상부, 중간, 및/또는 하부 힌지 영역) 도메인, CH2 도메인, CH3 도메인, 또는 이들의 가변체 또는 단편. 예를 들어, 본원에 개시되는 방법에서 사용하기 위한 결합 폴리펩타이드는 CH1 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬; CH1 도메인, 힌지 도메인의 적어도 일부분, 및 CH2 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬; CH1 도메인과 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬; CH1 도메인, 힌지 도메인의 적어도 일부분, 및 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬, 또는 CH1 도메인, 힌지 도메인의 적어도 일부분, CH2 도메인, 및 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬을 포함할 수 있다. 다른 구현예로, 본원에 개시되는 방법에서 유용한 폴리펩타이드가 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬을 포함한다. 아울러, 본원에 개시되는 방법에서 사용하기 위한 결합 폴리펩타이드가 CH2 도메인의 적어도 일부분 (예를 들면, CH2 도메인 모두 또는 일부)을 갖지 않을 수 있다. 상기 설명되는 바와 같이, 당해 분야의 숙련가는 이러한 도메인들 (예를 들면, 중쇄 부분)이 천연 면역글로불린 분자로부터의 아미노산 서열에서 변화시키는 것과 같이 이들을 변형시킬 수 있음을 알 것이다.

[0132] 본원에 개시되는 특정의 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체, 또는 이들의 항원-결합 단편, 가변체, 또는 유도체에서, 다량체(multimer)의 폴리펩타이드 사슬 중 하나의 중쇄 부분은 당해 다량체의 제2의 폴리펩타이드 사슬 상의 중쇄 부분과 동일하다. 대안적으로, 본원에 개시되는 방법에서 유용한 중쇄 부분-함유 다량체는 동일하지 않다. 예를 들어, 각각의 단량체는 예로서, 이중특이적 항체를 형성하는, 상이한 표적 결합 부위를 포함할 수 있다.

[0133] 본원에 개시되는 방법에서 사용하기 위한 결합 분자의 중쇄 부분은 상이한 면역글로불린 분자로부터 유래될 수 있다. 예를 들면, 폴리펩타이드의 중쇄 부분이 IgG1 분자로부터 유래되는 CH1 도메인과 IgG3 분자로부터 유래되는 힌지 영역을 포함할 수 있다. 다른 예로, 중쇄 부분이 부분적으로, IgG1 분자로부터, 그리고, 부분적으로, IgG3 분자로부터 유래되는 힌지 영역을 포함할 수 있다. 또 다른 예로, 중쇄 부분이 부분적으로, IgG1 분자로부터, 그리고, 부분적으로, IgG4 분자로부터 유래되는 키메라 힌지를 포함할 수 있다.

- [0134] 본원에서 사용되는 바와 같은, 용어 "경쇄 부분"은 번역글로불린 경쇄, 예를 들어, 카파 또는 람다 경쇄로부터 유래되는 아미노산 서열을 포함한다. 바람직하게는, 경쇄 부분이 VL 또는 CL 도메인 중 적어도 하나를 포함한다.
- [0135] 본원에 개시되는 방법에서 유용한 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체, 또는 이의 항원-결합 단편, 가변체, 또는 유도체는 항원의 에피토프(들) 또는 부분(들), 예컨대, 인지하거나 특이적으로 결합하는 본원에 개시된 표적 폴리펩타이드 (예를 들면, CXCL13 또는 CXCR5)의 관점에서 기술되거나 명시될 수 있다. 항체의 항원 결합 영역과 특이적으로 상호작용하는 표적 폴리펩타이드의 부분이 "에피토프" 또는 "항원 결정기"이다. 표적 폴리펩타이드는 하나의 에피토프를 포함하지만, 전형적으로 적어도 2개의 에피토프를 포함하며, 항원의 크기, 구조, 및 타입에 따라서 임의의 갯수의 에피토프를 포함할 수 있다. 또한, 표적 폴리펩타이드 상의 "에피토프"가 비-폴리펩타이드 요소일 수 있거나 이를 포함할 수 있으며, 예컨대, 에피토프가 탄수화물 측쇄를 포함할 수 있다.
- [0136] 항체에 대한 최소 크기의 펩타이드 또는 폴리펩타이드 에피토프는 약 4개 내지 5개의 아미노산인 것으로 생각된다. 바람직하게는, 펩타이드 또는 폴리펩타이드 에피토프가 적어도 7개, 더욱 바람직하게는 적어도 9개, 가장 바람직하게는 약 15 내지 약 30개의 아미노산을 함유한다. CDR이 이의 3차 형태에서 항원성 펩타이드 또는 폴리펩타이드를 인지할 수 있기 때문에, 에피토프를 포함하는 아미노산은 인접할 필요가 없으며, 일부 경우에는, 심지어 동일한 펩타이드 사슬에 있지 않을 수 있다. 본원에 개시되는 방법에서 유용한 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체에 의해 인지되는 펩타이드 또는 폴리펩타이드 에피토프는 CXCL13 또는 CXCR5의, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 더욱 바람직하게는 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 15개, 적어도 20개, 적어도 25개, 또는 약 15개 내지 약 30개의 인접 또는 비-인접 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0137] "특이적으로 결합한다"는 것은 일반적으로 항체가 이의 항원 결합 영역을 통하여 에피토프에 결합하며, 상기 결합은 항원 결합 영역과 에피토프 간에 일부 상보성을 수반함을 의미한다. 이러한 정의에 따라, 항체는 랜덤한, 관련없는 에피토프에 결합하기 보다는 이의 항원 결합 영역을 통하여, 해당 에피토프에 더욱 용이하게 결합할 때 에피토프에 "특이적으로 결합한다"라고 한다. 용어 "특이성"은 특정 항체가 특정 에피토프에 결합하는 상대적인 친화성을 정량하기 위하여 본원에서 사용된다. 예컨대, 항체 "A"가 제시된 에피토프에 대해 항체 "B"보다 더 높은 친화성을 갖는다고 판단할 수 있거나, 항체 "A"가 관련있는 에피토프 "D"에 대해 갖는 것보다 더 높은 친화성을 갖고 에피토프 "C"에 결합할 수 있다고 할 수 있다.
- [0138] "우선적으로 결합한다"는 것은 항체가 관련있는, 유사한, 상동성, 또는 유사한 에피토프에 결합하는 것보다 더욱 용이하게 에피토프에 특이적으로 결합한다는 것을 의미한다. 따라서, 제시된 에피토프에 "우선적으로 결합하는" 항체는 그러한 항체가 관련있는 에피토프와 교차-반응할 수 있더라도, 관련있는 에피토프보다는 당해 에피토프에 더 잘 결합할 것이다.
- [0139] 비-제한적인 예로서, 항체가 제2 에피토프에 대한 항체의 해리 상수(K_D) 보다 낮은 K_D 로 제1 에피토프에 결합한다면 항체가 제1 에피토프에 우선적으로 결합하는 것으로 간주할 수 있다. 다른 비-제한적인 예로서, 항체가 제2 에피토프에 대한 항체의 K_D 보다 적어도 1 자릿수로 더 적은 K_D 로 제1 에피토프에 결합한다면 항체가 제1 항원에 우선적으로 결합하는 것으로 간주할 수 있다. 다른 비-제한적인 예로, 항체가 제2 에피토프에 대한 항체의 K_D 보다 적어도 2 자릿수로 더 적은 K_D 로 제1 에피토프에 결합한다면 항체가 제1 에피토프에 우선적으로 결합하는 것으로 간주할 수 있다.
- [0140] 다른 비-제한적인 예로, 항체가 제2 에피토프에 대한 항체의 오프율(off rate, $k(\text{off})$) 보다 낮은 $k(\text{off})$ 로 제1 에피토프에 결합한다면 항체가 제1 에피토프에 우선적으로 결합하는 것으로 간주할 수 있다. 다른 비-제한적인 예로서, 항체가 제2 에피토프에 대한 항체의 $k(\text{off})$ 보다 적어도 1 자릿수로 더 적은 $k(\text{off})$ 로 제1 에피토프에 결합한다면 항체가 제1 에피토프에 우선적으로 결합하는 것으로 간주할 수 있다. 다른 비-제한적인 예로, 항체가 제2 에피토프에 대한 항체의 $k(\text{off})$ 보다 적어도 2 자릿수로 더 적은 $k(\text{off})$ 로 제1 에피토프에 결합한다면 항체가 제1 에피토프에 우선적으로 결합하는 것으로 간주할 수 있다. 본원에 개시되는 방법에서 유용한 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 가변체, 또는 유도체는 본원에 개시되어 있는 표적 폴리펩타이드 (예를 들면, CXCL13 또는 CXCR5, 예로서, 인간, 쥐, 또는 인간과 쥐의 CXCL13 또는 CXCR5 둘다) 또는 이들의 단편 또는 가변체에 5×10^{-2} 초⁻¹, 10^{-2} 초⁻¹, 또는 5×10^{-3} 초⁻¹ 이하인 오프율($k(\text{off})$)로 결합한다고 말할 수 있다. 특정 구현예로, $k(\text{off})$ 가 약 3×10^{-2} 이하이며, 예를 들면, 항체가 3D2이고 CXCL13이 인간 또는 마우스이다. 세부적인 구현예로, $k(\text{off})$ 가 약 3×10^{-3} 이하이며, 예를 들면, 항체가 MAb5261이고 CXCL13이 인간 또는 마우스이다. 다른 구

현예로, k(off)가 약 4×10^{-3} 이하이며, 예를 들면, 항체가 MAb5378이고 CXCL13이 인간 또는 마우스이다. 하나의 구현예로, 본원에 개시되는 방법에서 유용한 항체는 본원에 개시되는 표적 폴리펩타이드 본원에 개시되어 있는 표적 폴리펩타이드 (예를 들면, CXCL13, 예로서, 인간, 쥐, 또는 인간과 쥐의 CXCL13 둘다) 또는 이들의 단편 또는 가변체에 $5 \times 10^{-4} \text{ 초}^{-1}$, 10^{-4} 초^{-1} , $5 \times 10^{-5} \text{ 초}^{-1}$, 또는 10^{-5} 초^{-1} , $5 \times 10^{-6} \text{ 초}^{-1}$, 10^{-6} 초^{-1} , $5 \times 10^{-7} \text{ 초}^{-1}$, 또는 10^{-7} 초^{-1} 이하인 오프율 (off rate) (k(off))로 결합한다고 말할 수 있다.

[0141] 본원에 개시되는 방법에서 유용한 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 가변체, 또는 유도체는 본원에 개시되어 있는 표적 폴리펩타이드 (예를 들면, CXCL13 또는 CXCR5, 예로서, 인간, 쥐, 또는 인간과 쥐의 CXCL13 또는 CXCR5 둘다) 또는 이들의 단편 또는 가변체에 $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ 초}^{-1}$, $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ 초}^{-1}$, $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ 초}^{-1}$, $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ 초}^{-1}$, $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ 초}^{-1}$, $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ 초}^{-1}$, $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ 초}^{-1}$ 또는 $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ 초}^{-1}$ 이상인 온율 (on rate) (k(on))로 결합한다고 말할 수 있다. 특정 구현예로, k(on)이 약 5×10^5 이상이고, 예를 들어, 항체가 3D2이고 CXCL13이 인간이거나; k(on)이 약 1×10^5 이상이고, 예를 들어, 항체가 3D2이고 CXCL13이 마우스이다. 다른 구현예로, k(on)이 약 1×10^6 이상이고, 예를 들어, 항체가 MAb5261이고 CXCL13이 인간 또는 마우스이다. 다른 구현예로, k(on)이 약 1×10^6 이상이고, 예를 들어, 항체가 MAb5378이고 CXCL13이 인간 또는 마우스이다. 하나의 구현예로, 본원에 개시되는 방법에서 유용한 항체가 본원에 개시되어 있는 표적 폴리펩타이드 (예를 들면, CXCL13, 예로서, 인간, 쥐, 또는 인간과 쥐의 CXCL13 둘다) 또는 이들의 단편 또는 가변체에 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ 초}^{-1}$, $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ 초}^{-1}$, $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ 초}^{-1}$, 또는 $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ 초}^{-1}$ 이상인 온율(k(on))로 결합한다고 말할 수 있다.

[0142] 에피토프에 대한 기준 항체의 결합을 어느 정도 차단하는 정도로 에피토프에 우선적으로 결합하는 경우, 항체는 기준 항체, 예를 들면, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체가 제시된 에피토프에 결합하는 것을 경쟁적으로 억제한다고 한다. 경쟁적 억제는 당해 분야에 공지되어 있는 임의의 방법으로, 예를 들면, 경쟁 ELISA 검정법으로 측정할 수 있다. 기준 항체가 제시된 에피토프에 결합하는 것을 항체가 적어도 90%, 적어도 80%, 적어도 70%, 적어도 60%, 또는 적어도 50% 까지 경쟁적으로 억제한다고 말할 수 있다.

[0143] 본원에서 사용되는 바와 같은, 용어 "친화성"은 면역글로불린 분자의 CDR을 갖는 각각의 에피토프의 결합 강도의 척도로 지칭된다. 예를 들어, 하기 문헌을 참조한다: Harlow *et al.* (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed.) 27-28 페이지. 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "결합활성(avidity)"은 면역글로불린 집단과 항원 간의 복합체의 전체적인 안정성, 즉, 면역글로불린 혼합물과 항원의 기능적 조합 강도를 지칭하는 것이다. 예를 들어, 문헌: Harlow, 29 내지 34 페이지를 참조한다. 결합활성은 특이적인 에피토프를 갖는 집단에서 각각의 면역글로불린 분자의 친화성과, 또한 면역글로불린과 항원의 결합가(valency) 둘다와 관련있다. 예컨대, 2가 모노클로날 항체와, 중합체와 같이, 반복성이 높은 에피토프 구조를 갖는 항원 간의 상호작용은 결합강도가 높은 것 중 하나이다.

[0144] 본원에 개시되는 방법에서 유용한 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 가변체, 또는 유도체가 또한 이들의 교차-반응성의 관점에서 설명되거나 명시될 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "교차-반응성(cross-reactivity)"은 하나의 항원에 대해 특이적인, 제2의 항원과 반응할 수 있는 항체의 능력을 지칭하는 것으로; 2개의 상이한 항원 제제 간의 관련성의 척도이다. 따라서, 항체가 이의 형성을 유도한 것이 아닌 다른 에피토프에 결합한다면, 항체가 교차-반응성인 것이다. 교차 반응성 에피토프는 일반적으로 유도성 에피토프와 동일한 상보적인 구조적 특징을 다수 포함하며, 일부 경우에는, 원래의 것보다 실제로 더 잘 맞을 수 있다.

[0145] 예를 들어, 특정 항체는 어느 정도의 교차 반응성을 갖는데, 이들은 관련있지만, 동일하지 않은 에피토프, 예컨대, 기준 에피토프와 적어도 95%, 적어도 90%, 적어도 85%, 적어도 80%, 적어도 75%, 적어도 70%, 적어도 65%, 적어도 60%, 적어도 55%, 및 적어도 50%의 동일성(identity)(당해 분야에 공지되어 있으며 본원에 설명되어 있는 방법을 사용하여 계산됨)을 갖는 에피토프와 결합한다. 항체가 기준 에피토프와 95% 미만, 90% 미만, 85% 미만, 80% 미만, 75% 미만, 70% 미만, 65% 미만, 60% 미만, 55% 미만, 및 50% 미만의 동일성 (당해 분야에 공지되어 있으며 본원에 설명되어 있는 방법을 사용하여 계산됨)을 갖는 에피토프와 결합하지 않을 경우 항체는 교차-반응성을 거의 또는 전혀 갖지 않는다고 말할 수 있다. 항체가 당해 에피토프의 임의의 다른 유사체, 오르쏘로그(ortholog), 또는 상동체와 결합하지 않을 경우, 항체는 특정 에피토프에 대해 "특이성이 높은" 것으로 간주될 수 있다.

- [0146] 본원에 개시되는 방법에서 유용한 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자, 예컨대 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 가변체 또는 유도체가 또한 폴리펩타이드, 예를 들어, CXCL13 또는 CXCR5, 예로서 인간, 쥐, 또는 인간과 쥐의 CXCL13 또는 CXCR5 둘다에 대한 이들의 결합 친화성의 관점에서 설명되거나 명시될 수 있다. 특정의 구현예로, 본원에 개시되는 방법에서 유용한 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 결합 친화성은 해리 상수 또는 Kd가 $5 \times 10^{-2} \text{ M}$, 10^{-2} M , $5 \times 10^{-3} \text{ M}$, 10^{-3} M , $5 \times 10^{-4} \text{ M}$, 10^{-4} M , $5 \times 10^{-5} \text{ M}$, 10^{-5} M , $5 \times 10^{-6} \text{ M}$, 10^{-6} M , $5 \times 10^{-7} \text{ M}$, 10^{-7} M , $5 \times 10^{-8} \text{ M}$, 10^{-8} M , $5 \times 10^{-9} \text{ M}$, 10^{-9} M , $5 \times 10^{-10} \text{ M}$, 10^{-10} M , $5 \times 10^{-11} \text{ M}$, 10^{-11} M , $5 \times 10^{-12} \text{ M}$, 10^{-12} M , $5 \times 10^{-13} \text{ M}$, 10^{-13} M , $5 \times 10^{-14} \text{ M}$, 10^{-14} M , $5 \times 10^{-15} \text{ M}$, 또는 10^{-15} M 보다 작거나 크지 않은 것들을 포함한다. 하나의 구현예로, 본원에 개시되는 방법에서 유용한, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자, 예컨대, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CXCL13 또는 CXCR5에 약 $5 \times 10^{-9} \text{ M}$ 내지 약 $5 \times 10^{-10} \text{ M}$ 미만의 Kd로 결합하며, 여기서, 항체는 예를 들어 MAb5261이고 Kd는 약 $5 \times 10^{-9} \text{ M}$ 이하이다. 다른 구현예로, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자, 예컨대, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 쥐의 CXCL13 또는 CXCR5에 약 $5 \times 10^{-7} \text{ M}$ 내지 약 $9 \times 10^{-9} \text{ M}$ 미만의 Kd로 결합하며, 여기서, 항체는 예를 들어 MAb5261이고 Kd는 약 $8 \times 10^{-9} \text{ M}$ 이하이다.
- [0147] 본원에 개시되는 방법에서 유용한 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 가변체 또는 유도체는 "다중특이적", 예컨대, 이중특이적, 삼중특이적, 또는 더 큰 다중특이성일 수 있으며, 이는 동시에 1개 이상의 상이한 항원 (예를 들면, 단백질)에 존재하는 2개 이상의 상이한 에피토프를 인지하여 결합하는 것을 의미한다. 따라서, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체가 "단일특이적"이거나 또는 "다중특이적", 예를 들어, "이중특이적"이라는 것은, 결합 폴리펩타이드가 반응하는 상이한 에피토프의 수를 지칭하는 것이다. 다중특이적 항체는 본원에 기재되는 표적 폴리펩타이드의 상이한 에피토프에 대해 특이적일 수 있거나 표적 펩타이드 뿐만 아니라 이중성 폴리펩타이드 또는 고휘형 지지 제제과 같은, 이중성 에피토프에 대해서도 특이적일 수 있다.
- [0148] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "결합가(valency)"는 결합 폴리펩타이드 또는 CXCL13 또는 CXCR5 결합 분자, 예를 들면, 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 존재하는 잠재적인 결합 영역, 예컨대 항원 결합 영역의 수를 지칭한다. 각각의 결합 영역은 하나의 에피토프에 특이적으로 결합한다. 결합 폴리펩타이드 또는 CXCL13 또는 CXCR5 결합 분자가 결합 영역을 1개 이상 포함할 때, 각각의 결합 영역은 "2가 단일특이적"으로 명명된, 2개의 결합 영역이 있는 항체의 경우, 동일한 에피토프에, 또는 "2가 이중특이적"으로 명명된 2개의 결합 영역이 있는 항체의 경우, 상이한 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있다. 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 또한 각각의 특이성에 대해 이중특이적이고 2가일 수 있다 ("이중특이적 4가 항체로 명명됨). 다른 구현예로, 4가 미니바디(minibody) 또는 도메인이 결실된 항체가 제조될 수 있다.
- [0149] 이중특이적 2가 항체, 및 이들의 제조 방법이 예를 들면, 미국 특허 제5,731,168호; 제5,807,706호; 제5,821,333호; 미국 특허 공개 공보 제 2003/020734호 및 제2002/0155537호에 기재되어 있으며, 이들의 모든 개시내용은 본원에서 참조로서 포함된다. 이중특이적 4가 항체와 이들의 제조 방법이 예를 들면, WO 02/096948 및 WO 00/44788에 기재되어 있으며, 이들의 모든 개시내용은 본원에서 참조로서 포함된다. 일반적으로, PCT 공보 WO 93/17715; WO 92/08802; WO 91/00360; WO 92/05793; Tutt *et al.*, *J. Immunol.* 147:60-69 (1991); 미국 특허 제4,474,893호; 제4,714,681호; 제4,925,648호; 제5,573,920호; 제5,601,819호; Kostelny *et al.*, *J. Immunol.* 148: 1547-1553 (1992)를 참조한다.
- [0150] 진술한 바와 같이, 다양한 면역글로불린 클래스의 불변 영역의 서브유닛 구조와 3차 구조는 잘 알려져 있다. 본원에서 사용되는 바와 같은, 용어 "VH 도메인"은 면역글로불린 중쇄의 아미노 말단 가변 도메인을 포함하며 용어 "CH1 도메인"은 면역글로불린 중쇄의 제1 (대부분 아미노 말단) 불변 영역 도메인을 포함한다. CH1 도메인은 VH 도메인에 인접하여 있으며 면역글로불린 중쇄 분자의 힌지 영역에 대해 아미노 말단이다.
- [0151] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "CH2 도메인"은 통상의 넘버링 도식을 사용할 때 항체의 약 244번 잔기에서 360번 잔기까지 연장되는 중쇄 분자 부분 (Kabat 넘버링 시스템에서 244번 잔기에서 360번까지; 및 EU 넘버링 시스템에서는 231번 잔기에서 340번; Kabat 등 참조)을 포함한다. CH2 도메인은 다른 도메인과 밀접하게 쌍을 이루지 않는 독특한 것이다. 오히려, 2개의 N-연결된 분지형 탄수화물 쇄가 손상되지 않은 천연 IgG 분자의 2개의 CH2 도메인 사이에 개재되어 있다. CH3 도메인은 CH2 도메인에서부터 IgG 분자의 C-말단까지 연장되며 대략 108개의 잔기를 포함한다.
- [0152] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "힌지 영역(hinge region)"은 CH1 도메인을 CH2 도메인에 연결하는 중쇄 분자의 부분을 포함한다. 이러한 힌지 영역은 대략 25개의 잔기를 포함하며 유연하므로, 2개의 N-말단 항원 결합

영역이 독립적으로 움직일 수 있도록 한다. 힌지 영역은 3개의 별개의 도메인: 상위, 중위, 및 하위 힌지 도메인으로 다시 나눌 수 있다 (Roux *et al.*, *J. Immunol.* 161:4083 (1998)).

- [0153] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "이황화 결합"은 2개의 황 원자 사이에 형성된 공유결합을 포함한다. 아미노산 시스테인은 이황화 결합을 형성하거나 제2 티올기와 가교될 수 있는 티올기를 포함한다. 대부분의 천연 IgG 분자에서, CH1과 CL 영역은 이황화 결합에 의해 연결되며 2개의 중쇄는 Kabat 넘버링 시스템을 사용할 때 239번 및 242번에 대응하는 위치에서 2개의 이황화 결합에 의해 연결된다 (EU 넘버링 시스템의 경우, 226번 또는 229번 위치).
- [0154] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "키메라 항체(chimeric antibody)"는 면역반응성 영역 또는 부위가 제1 종(species)으로부터 획득되거나 유래하고 불변 영역 (온전한, 부분적인 또는 본 발명에 따라 변형될 수 있다)는 제2 종으로부터 획득되는, 임의의 항체를 의미한다. 특정의 구현예로, 표적 결합 영역 또는 부위가 비-인간 근원 (예를 들면, 마우스 또는 영장류)이고 불변 영역은 인간 (예를 들면, 모노클로날 항체 (MAB) 1476)이다.
- [0155] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "조작된 항체"는 중쇄 또는 경쇄 중 하나 또는 둘다에서 가변 도메인이 특이성이 공지되어 있는 항체로부터의 CDR 1개 이상을 적어도 부분적으로 치환함으로써, 필요에 따라, 부분적인 프레임워크 영역 치환 및 서열 변동에 의해 변화된 항체를 지칭한다. CDR가 프레임워크 영역이 유래하는 항체와 동일한 클래스 또는 심지어는 서브클래스의 항체로부터 유래될 수 있지만, CDR은 상이한 클래스의 항체로부터, 바람직하게는 상이한 종으로부터 유래된 항체로부터 유래될 수 있다. 특이성이 공지된 비-인간 항체로부터의 "공여체" CDR 1개 이상이 인간의 중쇄 또는 경쇄 프레임워크 영역으로 그래프트되어 있는 조작된 항체를 "인간화된 항체"라 지칭한다. 가변 도메인 중 하나가 다른 것에 항원 결합할 수 있는 능력을 전달하기 위하여 반드시 CDR 모두가 공여체 가변 도메인으로부터의 완전한 CDR로 대체할 필요는 없을 수 있다. 오히려, 표적 결합 부위의 활성을 유지하는데 필수적인 그러한 잔기들을 전달하는 것만이 필요할 수 있다. 특정의 구현예로, 인간화된 항체가 공여체 가변 중쇄 도메인으로부터 1, 2 또는 3개의 CDR을 포함한다. 다른 구현예로, 인간화된 항체가 공여체 가변 경쇄 도메인으로부터 1, 2 또는 3개의 CDR을 포함한다.
- [0156] 인간화된 항체의, 중쇄 또는 경쇄, 또는 둘다의 가변 도메인 내에 있는 프레임워크 영역이 인간 기원의 잔기만을 포함할 수 있으며, 이러한 경우 인간화된 항체의 이들 프레임워크 영역을 "완전 인간 프레임워크 영역"이라 지칭한다는 것이 또한 인지되어 있다. 대안적으로, 공여체 가변 도메인의 프레임워크 영역(들)의 잔기 1개 이상이 필요에 따라 적절한 결합을 유지하거나 CXCL13 또는 CXCR5 항원으로서의 결합을 향상시키기 위하여 인간화된 항체의, 중쇄 또는 경쇄, 또는 둘다의 가변 도메인 중 인간 프레임워크 영역(들)의 대응하는 위치내에서 조작될 수 있다. 따라서, 이런 방식으로 조작된 인간 프레임워크 영역은 인간과 공여체 프레임워크 잔기의 혼합물을 포함하게 되며, "부분적 인간 프레임워크 영역"이라 지칭된다.
- [0157] 예컨대, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체의 인간화는 Winter와 동료들의 방법 (Jones *et al.*, *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, *Nature* 332:323-327 (1988); Verhoeven *et al.*, *Science* 239:1534-1536 (1988), 이들 각각은 본원에서 그 전체가 참조로서 포함된다)에 따라서, 설치류 또는 돌연변이 설치류 CDR 또는 CDR 서열로 인간 항-CXCL13 항체의 대응하는 서열을 치환함으로써, 필수적으로 수행될 수 있다. 미국 특허 제 5,225,539호; 제5,585,089호; 제5,693,761호; 제5,693,762호; 및 제5,859,205호도 참조하며, 이들은 본원에서 참조로서 포함된다. 획득된 인간화된 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체는 인간화된 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 가변 도메인의 완전 인간 프레임워크 영역내에 설치류 또는 돌연변이 설치류 CDR을 적어도 1개 포함하게 된다. 어떤 경우에는, 인간화된 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체의 1개 이상의 가변 도메인 중 프레임워크 영역내에 있는 잔기가 대응하는 비-인간 (예컨대, 설치류) 잔기로 대체되며 (예를 들어, 미국 특허 제5,585,089호; 제5,693,761호; 제5,693,762호; 및 제6,180,370호를 참조하며, 이들 각각은 본원에서 그 전체가 참조로서 포함된다), 이 경우 획득된 인간화된 항-CXCL13 항체는 중쇄 및/또는 경쇄의 가변 도메인 내에 부분적으로 인간 프레임워크 영역을 포함하게 된다.
- [0158] 더욱이, 인간화된 항체는 수여체 항체 또는 공여체 항체에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이들 변형은 항체 성능 (예를 들면, 바람직한 친화성을 얻기 위하여)을 추가로 개선한다. 일반적으로, 인간화된 항체는 적어도 1개 및 전형적으로는 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함하게 되며, 이때 모든 또는 실질적으로 모든 CDR은 비-인간 면역글로불린의 것들에 대응하고 모든 또는 실질적으로 모든 프레임워크 영역은 인간 면역글로불린 서열의 것들에 대응한다. 또한, 인간화된 항체는 임의로 적어도 일부의 면역글로불린 불변 영역(Fc), 전형적으로는 인간 면역글로불린의 불변 영역을 포함하게 된다. 추가의 세부사항에 대해서는 문헌: Jones *et al.*, *Nature* 331:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, *Nature* 332:323-329 (1988); 및 Presta, *Curr. Op.*

Struct. Biol. 2:593-596 (1992)을 참조하며; 이들 문헌은 본원에서 참조로서 포함된다. 따라서, 그러한 "인간화된" 항체는 온전한 인간 가변 도메인 보다는 실질적으로 적은 부분이 비-인간 종으로부터의 대응하는 서열로 치환된 항체를 포함할 수 있다. 실제로, 인간화된 항체는 전형적으로 CDR 잔기의 일부 또는 모두와 가능하게는 일부 프레임워크 잔기가 설치류 항체중의 유사한 부위로부터의 잔기로 치환된 인간 항체이다. 예를 들면, 미국 특허 제5,225,539호; 제5,585,089호; 제5,693,761호; 제5,693,762호; 및 제5,859,205호를 참조한다. 또한, 미국 특허 제6,180,370호, 및 국제공보 제WO 01/27160호를 참조하며, 여기에는 인간화된 항체와 미리 결정된 항원에 대한 친화성이 개선된 인간화된 항체의 제조 기법이 개시되어 있다.

[0159] CXCL13과 결합하는 상업화된 항체, 예컨대 래트 항-마우스 MAb 470(R & D Systems)와 마우스 항-인간 MAb 801(R & D Systems)이 당해 기술 분야에 개시되어 있다. 또한, 쥐의 항-CXCL13 항체가 미국 특허 공개 공보 제2008 0227704 A1에 개시되어 있으며, 이 문헌은 그 전체가 본원에서 참조로서 포함된다. 모노클로날 항-CXCL13 항체 MAb 5261, MAb 5378, MAb 5080, MAb 1476, 및 3D2가 국제 특허 출원 공보 제WO 2012/031099호에 개시되어 있으며, 이 문헌은 그 전체가 본원에서 참조로서 포함된다.

[0160] 모노클로날 항체 5261는 서열 식별 번호: 14에 기재되어 있는 서열을 갖는 가변 중쇄(VH) 도메인과 서열 식별 번호: 19에 기재되어 있는 서열을 갖는 가변 경쇄(VL) 도메인을 포함한다. MAb 5261는 이의 중쇄 내에 인간 Ig 감마1-F 알로타입(allo type) 불변 영역과 이의 경쇄 내에 인간 카파 불변 영역을 포함한다. 모노클로날 항체 5378은 서열 식별 번호: 14에 기재되어 있는 서열을 갖는 가변 중쇄(VH) 도메인과 서열 식별 번호: 19에 기재되어 있는 서열을 갖는 가변 경쇄(VL) 도메인을 포함한다. MAb 5378은 이의 중쇄 내에 쥐의 IgG2a 불변 영역과 이의 경쇄 내에 쥐의 카파 불변 영역을 포함한다. MAb 5080은 서열 식별 번호: 14에 기재되어 있는 서열을 갖는 VH 도메인과 서열 식별 번호: 21에 기재되어 있는 서열을 갖는 VL 도메인을 포함한다. MAb 5080은 이의 중쇄내에 인간 IgG1 불변 영역과 이의 경쇄내에 인간 카파 불변 영역을 포함한다. 모노클로날 항체 1476은 서열 식별 번호: 10에 기재되어 있는 서열을 갖는 VH 도메인과 서열 식별 번호: 15에 기재되어 있는 서열을 갖는 VL 도메인을 포함한다. MAb 1476은 이의 중쇄내에 인간 IgG1 불변 영역과 이의 경쇄내에 인간 카파 불변 영역을 포함한다. 모노클로날 항체 3D2는 서열 식별 번호: 10에 기재되어 있는 서열을 갖는 VH 도메인과 서열 식별 번호: 15에 기재되어 있는 서열을 갖는 VL 도메인을 포함한다. MAb 3D2는 이의 중쇄내에 쥐의 IgG1 불변 영역과 이의 경쇄내에 쥐의 카파 불변 영역을 포함한다.

[0161] 일부 구현예에서, 본원에 개시되는 방법이 MAb 5261, MAb 5378, MAb 5080, MAb 1476, 또는 3D2 항-CXCL13 모노클로날 항체들을 이용한다.

[0162] 일부 구현예에서, 본원에 개시되는 방법에서 사용되는 항체가 항-CXCL13 항체 또는 CXCL13에 결합하는 이의 항원-결합 단편, 가변체, 또는 유도체를 포함한다. 특정 구현예에서, 항-CXCL13 항체가 인간, 영장류, 쥐, 또는 인간과 쥐 둘다의 CXCL13에 결합한다. 특정 구현예에서, 본원에 개시되는 방법에서 유용한 항-CXCL13 항체가 인간화된 것이다. 다른 구현예에서, 항-CXCL13 항체가 CXCL13이 이의 수용체, 예컨대 CXCR5에 결합하는 것을 차단한다. 특정 구현예로, 본원에서 개시되는 방법에 유용한 항-CXCL13 항체가 MAb 5261, MAb 5378, MAb 5080, MAb 1476, 또는 3D2, 또는 이들의 항원-결합 단편, 가변체, 또는 유도체이다. 하나의 구현예로, 본원에서 개시되는 방법이 기준 항체, 예컨대, MAb 5261, MAb 5378, MAb 5080, MAb 1476, 또는 3D2와 동일한 CXCL13 또는 CXCR5 에피토프에 특이적으로 결합하는, 단리된 결합 분자, 예컨대, 이의 항체 또는 항원 결합 단편, 가변체, 및 유도체를 이용한다. 다른 구현예로, 본원에서 개시되는 방법이 CXCL13에 특이적으로 결합하고, 기준 항체, 예컨대, MAb 5261, MAb 5378, MAb 5080, MAb 1476, 또는 3D2가 CXCL13, 예컨대 인간, 영장류, 쥐, 또는 인간과 쥐 둘다의 CXCL13에 특이적으로 결합하는 것을 경쟁적으로 억제하는 단리된 결합 분자, 예컨대 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다.

[0163] 특정 구현예에서, 본원에 개시되는 방법에서 유용한 결합 분자가 기준 항-CXCL13 항체 분자에 대한 아미노산 서열의 적어도 약 80%, 약 85%, 약 88%, 약 89%, 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 또는 약 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는다. 추가적인 구현예에서, 결합 분자가 기준 항체와 적어도 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 공유한다. 특정 구현예로, 기준 항체가 MAb 5261, MAb 5378, MAb 5080, MAb 1476, 또는 3D2이다.

[0164] 다른 구현예로, 본원에 개시되는 방법이 면역글로불린 중쇄 가변 도메인 (VH 도메인)을 포함하거나, 이로 필수적으로 이루어지거나, 이로 이루어진 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 이용하며, 여기서, 상기 VH 도메인의 CDR 중 적어도 하나는 서열 식별 번호: 10 또는 14의 CDR1, CDR2 또는 CDR3과 적어도 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 동일한 아미노산 서열을 갖는다.

- [0165] 다른 구현예로, 본원에 개시되는 방법이 면역글로불린 중쇄 가변 도메인 (VH 도메인)을 포함하거나, 이로 필수적으로 이루어지거나, 이로 이루어진 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 이용하며, 여기서, 상기 VH 도메인의 CDR 중 적어도 하나는 서열 식별 번호: 11, 12 또는 13과 적어도 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 동일한 아미노산 서열을 갖는다.
- [0166] 다른 구현예로, 본원에 개시되는 방법이 면역글로불린 중쇄 가변 도메인 (VH 도메인)을 포함하거나, 이로 필수적으로 이루어지거나, 이로 이루어진 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 이용하며, 여기서, 상기 VH 도메인은 서열 식별 번호: 10 또는 14와 적어도 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 동일한 아미노산 서열을 갖는다.
- [0167] 다른 구현예로, 본원에 개시되는 방법이 면역글로불린 중쇄 가변 도메인 (VH 도메인)을 포함하거나, 이로 필수적으로 이루어지거나, 이로 이루어진 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 이용하며, 여기서, 상기 VH 도메인의 CDR 중 적어도 하나는 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개의 보존적 아미노산 치환을 제외하고, 서열 식별 번호: 10 또는 14의 CDR1, CDR2 또는 CDR3과 동일한 아미노산 서열을 갖는다.
- [0168] 다른 구현예로, 본원에 개시되는 방법이 면역글로불린 중쇄 가변 도메인 (VH 도메인)을 포함하거나, 이로 필수적으로 이루어지거나, 이로 이루어진 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 이용하며, 여기서, 상기 VH 도메인의 CDR 중 적어도 하나는 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개의 보존적 아미노산 치환을 제외하고, 서열 식별 번호: 11, 12 또는 13과 동일한 아미노산 서열을 갖는다.
- [0169] 다른 구현예로, 본원에 개시되는 방법이 면역글로불린 경쇄 가변 도메인 (VL 도메인)을 포함하거나, 이로 필수적으로 이루어지거나, 이로 이루어진 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 이용하며, 여기서, 상기 VL 도메인의 CDR 중 적어도 하나는 서열 식별 번호: 15, 19 또는 21의 CDR1, CDR2 또는 CDR3과 적어도 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 동일한 아미노산 서열을 갖는다.
- [0170] 다른 구현예로, 본원에 개시되는 방법이 면역글로불린 경쇄 가변 도메인 (VL 도메인)을 포함하거나, 이로 필수적으로 이루어지거나, 이로 이루어진 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 이용하며, 여기서, 상기 VL 도메인의 CDR 중 적어도 하나는 서열 식별 번호: 16, 17, 18 또는 20과 적어도 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 동일한 아미노산 서열을 갖는다.
- [0171] 다른 구현예로, 본원에 개시되는 방법이 면역글로불린 경쇄 가변 도메인 (VL 도메인)을 포함하거나, 이로 필수적으로 이루어지거나, 이로 이루어진 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 이용하며, 여기서, 상기 VL 도메인은 서열 식별 번호: 15, 19 또는 21과 적어도 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 동일한 아미노산 서열을 갖는다.
- [0172] 다른 구현예로, 본원에 개시되는 방법이 면역글로불린 경쇄 가변 도메인 (VL 도메인)을 포함하거나, 이로 필수적으로 이루어지거나, 이로 이루어진 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 이용하며, 여기서, 상기 VL 도메인의 CDR 중 적어도 하나는 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개의 보존적 아미노산 치환을 제외하고, 서열 식별 번호: 15, 19 또는 21의 CDR1, CDR2 또는 CDR3과 동일한 아미노산 서열을 갖는다.
- [0173] 다른 구현예로, 본원에 개시되는 방법이 면역글로불린 경쇄 가변 도메인 (VL 도메인)을 포함하거나, 이로 필수적으로 이루어지거나, 이로 이루어진 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 이용하며, 여기서, 상기 VL 도메인의 CDR 중 적어도 하나는 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개의 보존적 아미노산 치환을 제외하고, 서열 식별 번호: 16, 17, 18 또는 20과 동일한 아미노산 서열을 갖는다.
- [0174] 추가의 구현예로, 본원에 개시되는 방법이 서열 식별 번호: 15, 19 또는 21과 적어도 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나, 이로 필수적으로 이루어지거나, 이로 이루어진 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 이용하며, 여기서 코딩된 VL 도메인을 포함하는 항-CXCL13 항체는 CXCL13에 특이적으로 또는 우선적으로 결합한다.
- [0175] 특정 구현예로, 본원에 개시되는 방법이 서열 식별 번호: 14에 개시되어 있는 아미노산 서열을 갖는 VH 도메인; 및 서열 식별 번호: 19에 개시되어 있는 아미노산 서열을 갖는 VL 도메인을 포함하거나, 이로 필수적으로 이루어지거나, 이로 이루어진 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 이용한다. 이러한 구현예 중 일부에서, 상기 항체는 이의 중쇄 내에 인간 IgG1 불변 영역과 이의 경쇄 내에 인간 카파 불변 영역을 포함한다.
- [0176] 특정 구현예로, 본원에 개시되는 방법이 서열 식별 번호: 11에 개시되어 있는 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열

식별 번호: 12에 개시되어 있는 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 및 서열 식별 번호: 13에 개시되어 있는 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 VH 도메인; 및 서열 식별 번호: 20에 개시되어 있는 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열 식별 번호: 17에 개시되어 있는 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 및 서열 식별 번호: 18에 개시되어 있는 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 VL 도메인을 포함하거나, 이로 필수적으로 이루어지거나, 이로 이루어진 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 이용한다. 이러한 구현예 중 일부에서, 상기 항체는 이의 중쇄 내에 인간 IgG1 불변 영역과 이의 경쇄 내에 인간 카파 불변 영역을 포함한다.

[0177] 기준 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체의 적합한 생물학적으로 활성인 가변체가 본원에 개시되는 방법에 사용될 수 있다. 그러한 가변체는 부모(parent) 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체의 바람직한 결합 특성을 보유할 것이다. 항체 가변체의 제조 방법은 일반적으로 당해 분야에서 입수할 수 있다.

[0178] 돌연변이유발 및 뉴클레오티드 서열 변형 방법들이 당해 분야에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 다음 문헌: Walker and Gaastra, eds. (1983) *Techniques in Molecular Biology* (MacMillan Publishing Company, New York); Kunkel, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:488-492 (1985); Kunkel *et al.*, *Methods Enzymol.* 154:367-382 (1987); Sambrook *et al.* (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor, N.Y.); 미국 특허 제4,873,192호; 및 본원에 인용된 참고문헌을 참조하며; 이들은 본원에서 참조로서 포함된다. 당해 폴리펩타이드의 생물학적 활성에 영향을 주지 않는 적합한 아미노산 치환에 대한 안내는 문헌: *Atlas of Protein Sequence and Structure* (Natl. Biomed. Res. Found., Washington, D.C.), pp. 345-352(이의 전문은 본원에서 참조로서 포함된다)의 Dayhoff 등(1978)의 모델에서 찾아볼 수 있다. 상기 Dayhoff 등의 모델은 적합한 보존적 아미노산 치환을 결정하기 위하여 Point Accepted Mutation(PAM) 아미노산 유사성 매트릭스(PAM250 매트릭스)를 사용한다. 아미노산 하나를 유사한 특성을 갖는 다른 것으로 교환하는 것과 같은, 보존적 치환이 바람직할 수 있다. Dayhoff 등의 모델의 PAM250 매트릭스에 의해 교시되는 바와 같은 보존적 아미노산 치환의 예로 Gly↔Ala, Val↔Ile↔Leu, Asp↔Glu, Lys↔Arg, Asn↔Gln, and Phe↔Trp↔Tyr가 있으나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0179] 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자의 가변체, 예컨대, 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 당해 폴리펩타이드를 작제하는데 있어서, 가변체가 바람직한 특성, 예컨대, CXCL13 또는 CXCR5, 예를 들면, 인간, 영장류, 쥐, 또는 인간과 쥐 둘다의 CXCL13 또는 CXCR5에 특이적으로 결합할 수 있는 특성을 계속 보유하도록 변형시킨다. 명백하게는, 가변체 폴리펩타이드를 코딩하는 DNA에서 이루어진 임의의 돌연변이는 관독 프레임 바깥의 서열에 위치하여서는 안되며 바람직하게는 제2 mRNA 구조를 생성할 수 있는 상보적 영역을 생성하여서는 안될 것이다. 예컨대, 유럽 특허 제EP0075444 B1을 참조한다.

[0180] 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자, 예컨대 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 결합 특이성을 측정하는 방법으로 표준 경쟁적 결합 검정법, T 세포 또는 B 세포에 의한 면역글로불린 분비를 모니터링하기 위한 검정법, T 세포 증식 검정법, 세포사멸 검정법, ELISA 검정법 등이 있으나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 예컨대, WO 93/14125; Shi *et al.*, *Immunity* 13:633-642 (2000); Kumanogoh *et al.*, *J Immunol* 169:1175-1181 (2002); Watanabe *et al.*, *J Immunol* 167:4321-4328 (2001); Wang *et al.*, *Blood* 97:3498-3504 (2001); 및 Giraudon *et al.*, *J Immunol* 172(2):1246-1255 (2004)에 개시되어 있는 그러한 검정법을 참조하며, 이들 문헌은 모두 본원에서 참조로서 포함된다.

[0181] 다양한 면역 세포 (예로서, B 세포, 여포상 헬퍼 T 세포, 및 최근-활성화된 T 세포)에서 발견되는, 이의 수용체인 CXCR5를 통하여, CXCL13은 면역 시스템 항상성의 유지, 림프성 기관형성(lymphoid organogenesis), 백혈구 트래피킹(leukocyte trafficking) 및 화학주성 이동(chemotactic migration) 뿐만 아니라 제2 림프 조직 (예로서, 배중심(germinal center))의 발달에 있어서 필수적인 세포내 변화를 유발한다. 따라서, "항-CXCL15 활성화" 또는 "CXCR5 차단 활성화"은 CXCL13과 관련된 다음 활성화: CXCL13과 이의 수용체간의 상호작용의 차단, B 세포의 억제 및 염증이 생긴 조직으로 여포상 B-헬퍼 T 세포 이동, 배중심 형성의 억제 (예를 들면, 자가면역 장애의 경우), 제2 또는 이소성 림프성 여포의 억제; 암세포 증식 및 종양학적 질병에서의 확산 능력의 억제 중 하나 이상을 조절하는 활성화; 또는 CXCL13-발현 세포와 관련된 임의의 다른 활성을 유발할 수 있다. 항-CXCL13 활성화는 또한 CXCL13 발현과 관련된 장애, 비제한적인 예로서, 특정 타입의 자가면역 장애 (예로서, 다발성 경화증, 관절염 (예, 류마티스 관절염), 만성 위염, 위의 림프종, 이식거부 반응, 쇼그렌 증후군(Sjogren's Syndrome: SS), 전신성 홍반성 낭창(SLE), C형 간염 바이러스 감염에서의 활성형의 혼성 한랭 글로불린혈증(active mixed cryoglobulinemia)(MC) 혈관염, 소아기 괴루근염 및 중증 근무력증) 및 특정 암 (예, 버킷 림프종, 비-호지킨 림프종, MALT 림프종 (예, 위의 MALT 림프종), 암종 (예, 대장, 전립선, 유방, 위, 식도 및 췌장), 및 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 뿐만 아니라 헬리코박터 감염 유발된 염증성 장애 등의 기타 염증성 장애

에, 예컨대 위염, 궤양 및 위 점막 병변의 발생 또는 심화도를 감소시키는데 기여할 수 있다.

[0182] 기준 폴리펩타이드의 불변 영역, CDR, VH 도메인, 또는 VL 도메인을 포함한, 임의의 특정 폴리펩타이드가 다른 폴리펩타이드와 적어도 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 심지어 약 100% 동일한지에 대해 본원에서 논의되는 경우, 동일성 %는 비제한적인 예로서, BESTFIT 프로그램 (Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, Wis. 53711)과 같은 당해 기술 분야에 알려져 있는 방법 및 컴퓨터 프로그램/소프트웨어를 사용하여 결정할 수 있다. BESTFIT는 Smith와 Waterman의 국지적 상동성 알고리즘(1981)(Adv. Appl. Math. 2:482-489)을 사용하여, 2개의 서열간의 최상의 상동성 절편을 찾아낸다. 특정 서열이 본 발명에 따르는 기준 서열과 예를 들어, 95% 동일한지 결정하기 위하여 BESTFIT 또는 임의의 다른 서열 정렬 프로그램을 사용할 때, 당연히, 동일성 %가 기준 폴리펩타이드 서열의 전장에 대해 계산되고 기준 서열에서 아미노산 총 수에 대해 최대 5%로 상동성 갭을 허용하도록, 파라미터를 설정한다.

[0183] 본 발명의 목적에 있어서, 퍼센트 서열 동일성은 갭 오픈 패널티 12, 갭 연장 패널티 2, BLOSUM 매트릭스 62의 어파인 갭 검색(affine gap search)을 이용한 Smith-Waterman 상동성 검색 알고리즘으로 결정할 수 있다. Smith-Waterman 상동성 검색 알고리즘은 스미스 및 워터맨(Smith and Waterman) (1981)(Adv. Appl. Math. 2:482-489)에 기재되어 있다. 예컨대, 가변체는 기준 항-CXCL13 항체 (예로서, MAb 5261, MAb 5378, MAb 5080, MAb 1476, 또는 3D2) 또는 항-CXCR5 항체와 적게는 1 내지 15개의 아미노산 잔기, 적게는 1 내지 10개의 아미노산 잔기, 예로서, 6 내지 10개, 적게는 5개, 적게는 4개, 3개, 2개, 또는 심지어 1개의 아미노산 잔기가 상이할 수 있다.

[0184] CXCL13 또는 CXCR5에 특이적으로 결합하며 바람직한 CXCL13 차단 활성을 보유할 수 있는 폴리펩타이드의 정확한 화학 구조는 여러가지 인자에 따른다. 이온화될 수 있는 아미노 및 카르복실기가 분자에 존재하기 때문에, 특정 폴리펩타이드를 산성 또는 염기성 염, 또는 중성 형태로 수득할 수 있다. 적합한 환경 조건에 놓여있을 때 이들의 생물학적 활성을 보유하는 그러한 모든 제제가 본원에서 사용되는 바와 같은 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체의 정의에 포함된다. 아울러, 폴리펩타이드의 1차 아미노산 서열은 당 모이어티를 사용한 유도체화(당화)에 의해서 또는 지질, 인산염, 아세틸기 등과 같은 기타 보조 분자에 의해 증가될 수 있다. 또한, 사카라이드와의 결합에 의해서도 증가될 수 있다. 그러한 증가의 특정 측면은 생성 숙주의 번역후 프로세싱을 통하여 수행되며; 기타 그러한 변형은 시험관내로 도입될 수 있다. 임의의 경우, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체의 바람직한 특성이 파괴되지 않는 한 본원에서 사용되는 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체의 정의에 그러한 변형이 포함된다. 그러한 변형이 다양한 검정법에서 폴리펩타이드의 활성을 증가시키거나 소멸시킴으로써 활성에 정량적 또는 정성적으로 영향을 줄 지에 대해 예측된다. 또한, 쇠 중 각각의 아미노산 잔기는 산화, 환원, 또는 기타 유도체화에 의해 변형될 수 있으며, 폴리펩타이드를 절단시켜 활성을 보유하는 단편을 수득할 수 있다. 바람직한 특성(예컨대, CXCL13 또는 CXCR5에 대한 결합 특이성, 결합 친화성, 및/또는 CXCL13 차단 활성)을 파괴하지 않는 그러한 변형은 본원에서 사용되는 당해 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체의 정의로부터 상기 폴리펩타이드 서열을 배제하지 않는다.

[0185] 당해 분야에서는 폴리펩타이드 가변체의 제조 및 용도에 대한 실질적인 지침을 제공한다. 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자, 예컨대, 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제조하는데 있어서, 당해 분야의 숙련가는 천연 단백질의 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열에 대한 변형으로 본 발명의 방법에서 사용되는 약제학적 조성물의 치료적 활성 성분으로 사용하기에 적합한 가변체가 생성되는지에 대해 용이하게 결정할 수 있다.

[0186] 기준 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체의 불변 영역을 여러가지 방식으로 돌연변이시켜 효과기(effector) 기능을 변형시킬 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 제6,737,056 B1호 및 미국 특허 공개 공보 제2004/0132101 A1을 참조하며, 여기에는 Fc 수용체로의 항체 결합을 최적화시키는 Fc 돌연변이가 개시되어 있다.

[0187] 특정의 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체에서, Fc 부분을 당해 분야에 알려져 있는 기법을 사용하여 돌연변이시켜 작동인자 기능을 감소시킬 수 있다. 예컨대, 불변 영역 도메인의 결실 또는 불활성화(점 돌연변이 또는 기타 수단을 통하여)시키면 순환하는 변형된 항체의 Fc 수용체 결합을 감소시켜 이에 의해 중앙 국지화(tumor localization)가 증가될 수 있다. 다른 경우에, 본 발명과 일치하는 불변 영역 변형이 보체 결합을 완화시켜 결합된 세포독소의 혈청 반감기와 비특이적 조합을 감소시킬 수 있다. 불변 영역의 또 다른 변형을 사용하여 증가된 항원 특이성 또는 항체 유연성에 기인하여 국소화 향상을 가능케 하는 이황화 결합 또는 올리고사카라이드 모이어티를 변형시킬 수 있다. 중앙 국지화, 생물분배(biodistribution) 및 혈청 반감기와 같은, 변형에 대해

수득된 생리학적 프로파일, 생체이용성 및 기타 생화학저 효과를 용이하게 측정할 수 있으며, 과도한 실험없이도 잘 알려져 있는 면역학적 기법을 이용하여 정량할 수 있다.

- [0188] 일반적으로, 본원에 개시되는 방법에서 유용한 CXCR5 결합 분자는 CXCR5 수용체를 활성화시키지 않는다 (즉, 수용체의 효능제가 아니다).
- [0189] "보존적인 아미노산 치환"은 아미노산 잔기가 유사한 전하를 갖는 측쇄가 있는 아미노산 잔기로 대체되는 것이다. 유사한 전하를 갖는 측쇄가 있는 아미노산 잔기 패밀리는 당해 분야에 명시되어 있다. 이들 패밀리는, 염기성 측쇄 (예로서, 라이신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄 (예로서, 아스파르트산, 글루탐산), 비하전된 극성 측쇄 (예로서, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 타이로신, 시스테인), 비극성 측쇄 (예로서, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-분지된 측쇄 (예로서, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄 (예로서, 타이로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)을 포함한다. 대안적으로, 모든 또는 일부의 코딩 서열을 따라, 포화 돌연변이유발에 의해서와 같이 돌연변이를 랜덤하게 도입시킬 수 있으며, 생성되는 돌연변이체는 생물학적 활성에 대해 스크리닝하여, 활성 (예로서, CXCL13 또는 CXCR5에 대한 결합 특이성, 결합 친화성, 및/또는 CXCL13 차단 활성)을 보유하는 돌연변이체를 스크리닝할 수 있다.
- [0190] 예컨대, 항체 분자의 프레임워크 영역에만 또는 CDR 영역에만 돌연변이를 도입시킬 수 있다. 도입된 돌연변이는 침묵 또는 중성 미스센스 돌연변이(neutral missense mutation), 즉, 항원에 결합할 수 있는 항체의 능력에 전혀 또는 거의 영향을 주지 않을 수 있다. 이러한 타입의 돌연변이는 코돈 사용을 최적화하거나, 하이브리도마의 항체 생성을 증진시키는데 유용할 수 있다. 대안적으로, 비-중성 미스센스 돌연변이는 항원에 결합할 수 있는 항체의 능력을 변형시킬 수 있다. 대부분의 침묵 및 중성의 미스센스 돌연변이의 위치는 프레임워크 영역내일 가능성이 있는 반면, 대부분의 비-중성 미스센스 돌연변이는 절대적인 요구조건은 아니지만, CDR내일 수 있다. 당해 분야의 숙련가는 항원 결합 활성에서의 변형 또는 결합 활성에서의 변화가 없는 것 (예, 항원 결합 활성에서의 개선 또는 항체 특이성에서의 변화)과 같은 바람직한 특성을 갖는 돌연변이체 분자를 디자인하고 테스트할 수 있을 것이다. 돌연변이 유발 후, 코딩된 단백질을 통상적으로 발현시킬 수 있으며 코딩된 단백질의 기능적 및/또는 생물학적 활성 (예, CXCL13 또는 CXCR5 폴리펩타이드의 에피토프 중 적어도 하나와 면역특이적으로 결합할 수 있는 능력)을 본원에 기재되는 기법을 사용하거나 당해 분야에 공지되어 있는 기법을 통상적으로 개량하여 측정할 수 있다.
- [0191] 특정의 구현예로, 본원에 개시되는 방법에서 유용한 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체가 기준 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체와 비교하여 최적화된 상보성 결정 영역(CDR)을 적어도 하나 포함한다. "최적화된 CDR"은 최적화된 CDR을 포함하는 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체에 부여되는 지속되거나 또는 개선된 결합 친화성 및/또는 항-CXCL13 활성을 기준으로 선택된 서열로 CDR이 변형되고 최적화되었다는 것이다.
- [0192] 본원의 도처에서 더욱 상세하게 논의되는 바와 같이, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자, 또는 가용성 CXCR5를 추가로 N- 또는 C-말단에서 이중성 폴리펩타이드에 재조합식으로 융합시키거나 폴리펩타이드 또는 기타 조성물에 화학적으로 접합 (공유결합 및 비-공유결합적 접합을 포함)시킬 수 있다. 예컨대, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체 또는 가용성 CXCR5는 검출 검정법에서 표지물로 유용한 분자 및 이중성 폴리펩타이드, 약물, 방사성 핵종 또는 독소와 같은 효과기(effector) 분자에 재조합적으로 융합 또는 접합시킬 수 있다. 예를 들어, PCT 공보 WO 92/08495; WO 91/14438; WO 89/12624; 미국 특허 제5,314,995호; 및 EP 396,387을 참조한다.
- [0193] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "연결된", "융합된", 또는 "융합"은 상호교환적으로 사용된다. 이들 용어들은 화학적 접합 또는 재조합적 수단을 포함한 어떠한 수단에 의해서 2개 이상의 요소나 성분을 함께 연결하는 것을 지칭한다. "프레임내(in-frame) 융합"이란 원래의 개방형 관독 프레임(ORF)의 정확한 번역 관독 프레임을 유지하는 방식으로, 2개 이상의 폴리뉴클레오티드 ORF를 연결하여 연속적으로 더 긴 ORF를 형성시키는 것을 지칭한다. 따라서, 재조합 융합 단백질은 원래의 ORF에 의해 코딩된 폴리펩타이드에 대응하는 절편 2개 이상을 함유하는 단일 단백질이다 (절편은 통상적으로 자연에서 그렇게 연결되지 않는다). 즉, 관독 프레임이 융합된 절편을 통하여 연속적으로 만들어지지만, 절편들은 예컨대, 프레임내 링커 서열에 의해 물리적으로 또는 공간적으로 단리될 수 있다. 예를 들어, 면역글로불린 가변 영역의 CDR을 코딩하는 폴리뉴클레오티드가 프레임내에 융합될 수 있지만, "융합된" CDR가 연속적인 폴리펩타이드의 일부로 동시에 번역되는 한, 면역글로불린 프레임워크 영역 또는 추가의 CDR 영역 중 적어도 하나를 코딩하는 폴리뉴클레오티드에 의해 단리될 수 있다.
- [0194] 본원에 개시되는 방법에서 유용한 항-CXCL13 또는 CXCR5 항체는 변형된 유도체, 즉, 공유결합성 부착이 항체가 CXCL13 또는 CXCR5에 결합하는 것을 방지하지 않도록 항체에 임의의 타입의 분자를 공유결합적으로 부착시킴으

로써 변형시킨 유도체를 포함할 수 있다. 예컨대, 비제한적으로, 상기 항체 유도체는 예를 들어, 당화, 아세틸화, 페길화(pegylation), 인산화, 아마이드화, 공지된 보호/차단기에 의한 유도체화, 단백질분해성 절단, 세포 리간드 또는 기타 단백질로의 연결 등에 의해 변형된 항체를 포함한다. 임의의 다수의 화학적 변형은 비제한적으로, 특이적인 화학적 절단, 아세틸화, 포르밀화 등을 포함한, 공지된 기법에 의해 수행될 수 있다. 또한, 상기 유도체가 비-고전적인 아미노산을 1개 이상 함유할 수 있다.

[0195] 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자, 예컨대 항체, 또는 이의 항원-결합 단편, 가변체, 또는 유도체는 펩타이드 결합 또는 변형된 펩타이드 결합에 의해 서로 연결되는 아미노산, 즉, 펩타이드 이소스테르(peptide isostere)로 구성될 수 있으며, 20개의 유전자-코딩된 아미노산을 제외한 다른 아미노산을 포함할 수 있다. 예컨대, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체는 번역후 프로세싱, 또는 당해 분야에 숙지되어 있는 화학적 변형 기법에 의해 변형시킬 수 있다. 그러한 변형은 기본 텍스트에 잘 기재되어 있으며 전공 논문, 뿐만 아니라 수많은 연구 논문에 상세하게 기재되어 있다. 변형은 펩타이드 주쇄, 아미노산 측쇄 및 아미노 또는 카르복실 말단, 또는 탄수화물과 같은 모이어티(moiety)를 포함한, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자의 어느 곳에서도 일어날 수 있다. 동일한 타입의 변형이 제시된 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자내의 여러 부위에서 동일하거나 다양한 정도로 존재할 수 있음을 인지할 것이다. 또한, 제시된 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자가 여러가지 타입의 변형을 포함할 수 있다. 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자가 예를 들어, 유비퀴틴화(ubiquitination)의 결과로 분지될 수 있으며, 이들은 분지가 있거나 없는, 환형일 수 있다. 환형, 분지형, 및 분지된 환형 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자는 번역후 천연 프로세스로부터 발생될 수 있거나 합성적 방법에 의해 제조될 수 있다. 변형은 아세틸화, 아실화, ADP-리보실화, 아마이드화, 플라빈(flavin)의 공유결합성 부착, 헴 모이어티(heme moiety)의 공유결합성 부착, 뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드 유도체의 공유결합성 부착, 지질 또는 지질 유도체의 공유결합성 부착, 포스파티딜이노시톨의 공유결합성 부착, 교차-결합, 환화, 이황화 결합 형성, 탈메틸화, 공유결합성 교차-연결의 형성, 시스템인의 형성, 피로글루타메이트의 형성, 포르밀화, 감마-카르복실화, 당화, GPI 앵커 형성, 수산화(hydroxylation), 요오드화, 메틸화, 미리스토일화, 산화, 페길화, 단백질분해성 프로세싱, 인산화, 프레닐화, 라세미화, 셀레노일화, 황산화(sulfation), 단백질에 수송(transfer)-RNA 매개된 아미노산 부가, 예컨대 아르키닐화, 및 유비퀴틴화를 포함한다 (예를 들어, 다음 문헌을 참조한다: Proteins--Structure and Molecular Properties, T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, NY; 2nd ed. (1993); Johnson, ed. (1983) Posttranslational Covalent Modification of Proteins (Academic Press, NY), pgs. 1-12; Seifter *et al.*, *Meth. Enzymol.* 182:626-646 (1990); Rattan *et al.*, *Ann. NY Acad. Sci.* 663:48-62 (1992)).

[0196] 본원에 개시되는 방법은 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체, 또는 이의 항원-결합 단편, 가변체, 또는 유도체와, 이중성 폴리펩타이드를 포함하는 융합 단백질의 용도를 포괄한다. 항체가 융합되어 있는 상기 이중성 폴리펩타이드는 기능적으로 유용하거나 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 폴리펩타이드 발현 세포를 표적화하는데 유용하다.

[0197] 하나의 구현예로, 본원에 개시되는 방법에서 유용한 융합 단백질이 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체의 VH 도메인 중 임의의 1개 이상의 아미노산 서열 또는 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체의 VL 도메인 중 임의의 1개 이상의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드, 또는 이의 단편 또는 가변체, 및 이중성 폴리펩타이드 서열을 포함하거나, 이로 필수적으로 이루어지거나, 이로 이루어져 있다.

[0198] 다른 구현예로, 본원에 개시되는 치료 방법에서 사용하기 위한 융합 단백질이 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체의 VH 도메인의 CDR, 또는 이의 단편, 가변체, 또는 유도체의 아미노산 중 임의의 1개, 2개, 3개의 아미노산 서열 및/또는 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체의 VL 도메인의 CDR, 또는 이의 단편, 가변체, 또는 유도체 중 임의의 1개, 2개, 3개의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드, 또는 이의 단편 또는 가변체, 및 이중성 폴리펩타이드 서열을 포함하거나, 필수적으로 이루어지거나, 이루어져 있다. 일부 구현예에 있어서, 상기 융합 단백질의 VH 및 VL 도메인이 CXCL13 또는 CXCR5의 에피토프 중 적어도 하나에 특이적으로 결합하는 단일 근원의 항체 (또는 scFv 또는 Fab 단편)에 대응한다. 일부 구현예에서, 상기 VH 도메인 또는 VL 도메인의 CDR(s) 중 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 또는 그 이상이 단일 근원의 항체 (또는 scFv 또는 Fab 단편)에 대응한다.

[0199] 문헌에 보고된 융합 단백질의 예로, T 세포 수용체(Gascoigne *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:2936-2940 (1987)); CD4 (Capon *et al.*, *Nature* 337:525-531 (1989); Traunecker *et al.*, *Nature* 339:68-70 (1989); Zettmeissl *et al.*, *DNA Cell Biol. USA* 9:347-353 (1990); 및 Byrn *et al.*, *Nature* 344:667-670(1990)); L-셀렉틴 (퀴소 수용체: homing receptor) (Watson *et al.*, *J. Cell. Biol.* 110:2221-2229 (1990); 및 Watson *et al.*, *Nature* 349:164-167 (1991)); CD44 (Aruffo *et al.*, *Cell* 61:1303-1313 (1990)); CD28 and B7 (Linsley *et al.*, *J. Exp. Med.* 173:721-730 (1991)); CTLA-4 (Lisley *et al.*, *J. Exp. Med.* 174:561-569 (1991)); CD22 (Stamenkovic *et al.*, *Cell* 66:1133-1144 (1991)); TNF 수용체 (Ashkenazi *et*

al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:10535-10539 (1991); Lesslauer *et al.*, *Eur. J. Immunol.* 27:2883-2886 (1991); 및 Peppel *et al.*, *J. Exp. Med.* 174:1483-1489 (1991)); 및 IgE 수용체 a (Ridgway and Gorman, *J. Cell. Biol.* Vol. 115, Abstract No. 1448 (1991))의 융합들을 포함한다.

- [0200] 본원의 도처에서 논의되는 바와 같이, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자, 예컨대 항체, 또는 이의 항원-결합 단편, 가변체, 또는 유도체를 이중성 폴리펩타이드에 융합시켜 폴리펩타이드의 생체내 반감기를 증가시키거나, 당해 분야에 공지된 방법을 사용하여 면역결정법에 사용할 수 있다. 예컨대, 하나의 구현예로, PEG를 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체에 접합시켜 이들의 생체내 반감기를 증가시킬 수 있다. 다음 문헌: Leong *et al.*, *Cytokine* 16:106 (2001); *Adv. in Drug Deliv. Rev.* 54:531 (2002); or Weir *et al.*, *Biochem. Soc. Transactions* 30:512 (2002)을 참조한다.
- [0201] 아울러, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자, 예컨대 항체, 또는 이들의 항원-결합 단편, 가변체, 또는 유도체를 이들의 정제 또는 검출을 용이하게 하는 펩타이드와 같은 마커 서열에 융합시킬 수 있다. 특정 구현예로, 상기 마커 아미노산 서열은 상업적으로 입수가능한 다수의 것들 중에서도, pQE 벡터(QIAGEN, Inc., 9259 Eton Avenue, Chatsworth, Calif., 91311)에 제공된 태그(tag)와 같은 헥사-히스티딘 펩타이드이다. 예컨대, 문헌: Gentz *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:821-824 (1989)에 기재된 바와 같이, 헥사-히스티딘은 융합 단백질의 용이한 정제를 제공한다. 정제에 유용한 다른 펩타이드 태그로는, 인플루엔자 헤마글루티닌 단백질로부터 유래하는 에피토프에 대응하는 "HA" 태그 (Wilson *et al.*, *Cell* 37:767 (1984)) 및 "flag" 태그가 있으나, 이들로 제한되는 것은 아니다.
- [0202] 융합 단백질은 당해 분야에 숙지되어 있는 방법을 사용하여 제조할 수 있다 (예컨대, 미국 특허 제5,116,964호 및 제5,225,538호를 참조). 융합이 이루어지는 정확한 부위는 융합 단백질의 분비 또는 결합 특성을 최적화하기 위해 실험을 통해 선택할 수 있다. 이어서, 융합 단백질을 코딩하는 DNA를 발현용 숙주 세포에 형질감염시킨다.
- [0203] 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자, 예컨대, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편, 가변체, 또는 유도체가 비-접합 형태로 사용될 수 있거나, 예를 들어, 분자의 치료 특성을 향상시키기 위해서, 표적 검출을 용이하게 하기 위해서, 또는 환자에서의 영상화 또는 치료를 위하여, 다양한 분자 중 적어도 하나에 접합시킬 수 있다. 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자, 예컨대, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편, 가변체, 또는 유도체는 정제 전 또는 후, 또는 정제 수행시 표지 또는 접합시킬 수 있다.
- [0204] 특히, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체, 또는 이의 항원-결합 단편, 가변체, 또는 유도체를 치료제, 프로드럭, 펩타이드, 단백질, 효소, 바이러스, 지질, 생물학적 반응 변형제, 약제학적 제제, 또는 PEG에 접합시킬 수 있다.
- [0205] 당해 분야의 숙련가는 또한 접합체를 접합시키고자하는 선택된 제제에 따라 다양한 기법을 사용하여 조립할 수 있음을 인지할 것이다. 예컨대, 결합하는 폴리펩타이드를 바이오틴 N-하이드록시숙신이미드 에스테르와 같은 바이오틴의 활성화된 에스테르와 반응시킴으로서 바이오틴과의 접합체를 제조한다. 유사하게, 형광성 마커와의 접합체는 커플링제, 예를 들면, 본원에 나열되는 것들의 존재하에서 또는 이소티오시아네이트, 바람직하게는 플루오레세인-이소티오시아네이트와의 반응에 의해 제조할 수 있다. 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체, 또는 이의 항원-결합 단편, 가변체, 또는 유도체의 접합체를 유사한 방식으로 제조한다.
- [0206] 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자, 예컨대, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편, 가변체, 또는 유도체를 세포독소, 치료성 제제 또는 방사성 금속 이온과 같은 치료 모이어티에 접합시킬 수 있다. 세포독소 또는 세포독성 제제는 세포에 유해한 임의의 제제를 포함한다.
- [0207] 항체, 예컨대, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 가변체, 또는 유도체에 다양한 모이어티를 접합시키는 기법들은 잘 알려져 있으며, 예컨대, 다음 문헌: Amon *et al.* (1985) "Monoclonal Antibodies for Immunotargeting of Drugs in Cancer Therapy," in *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, ed. Reisfeld *et al.* (Alan R. Liss, Inc.), pp. 243-56; Hellstrom *et al.* (1987) "Antibodies for Drug Delivery," in *Controlled Drug Delivery*, ed. Robinson *et al.* (2nd ed.; Marcel Dekker, Inc.), pp. 623-53; Thorpe (1985) "Antibody Carriers of Cytotoxic Agents in Cancer Therapy: A Review," in *Monoclonal Antibodies '84: Biological and Clinical Applications*, ed. Pinchera *et al.*, pp. 475-506; "Analysis, Results, and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody in Cancer Therapy," in *Monoclonal Antibodies for Cancer Detection and Therapy*, ed. Baldwin *et al.*, Academic Press, pp. 303-16 (1985); and Thorpe *et al.*, *Immunol. Rev.* 62:119-58 (1982)을 참조한다.
- [0208] CXCL13 활성을 억제하는 제제 (예컨대, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자)의 제조 방법 및 이를 필요로 하는

대상체에 투여하는 방법은 당해 분야의 숙련자에게 잘 알려져 있거나 용이하게 결정할 수 있다. CXCL13 활성을 억제하는 제제 (예컨대, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자)의 투여 경로는 예컨대, 구강, 비경구, 흡입 또는 국소일 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 비경구는 예컨대, 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 피하, 직장, 또는 질 투여를 포함한다. 이들 모든 형태의 투여는 본 발명의 범위내인 것으로 명백히 인지되지만, 투여 형태의 예는 주사용, 특히 정맥내 또는 동맥내 주사용 용액, 또는 드립(drip) 용액일 수 있다. 통상적으로, 주사에 적합한 약제학적 조성물은 완충제 (예, 아세테이트, 포스페이트 또는 시트레이트 완충제), 계면활성제 (예, 폴리소르베이트), 선택적으로 안정제 (예, 인간 알부민) 등을 포함할 수 있다. 그러나, 본원의 기법과 상용가능한 다른 방법에 있어서, CXCL13 활성을 억제하는 제제 (예, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자)을 직접 유해한 세포 집단 부위로 운반하여, 병에 걸린 조직이 치료제에 노출되는 것을 높일 수 있다.

[0209] 본원에서 논의되는 바와 같이, CXCL13 활성을 억제하는 제제 (예, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자)은 염증성 장애의 생체내 치료를 위해서 및 IgA의 수준을 증가시키기 위하여 약제학적 유효량으로 투여될 수 있다. 이와 관련하여, CXCL13 활성을 억제하는 제제를, 활성 제제의 투여가 용이하도록 하고 이의 활성을 증진시키기 위하여 조절할 수 있음을 인지할 것이다. 특정의 구현예로, 본 발명에 따르는 약제학적 조성물이 약제학적으로 수용가능한, 비-독성, 멸균 담체, 예로서 생리 식염수, 비-독성 완충제, 보존제 등을 포함한다. 본원의 목적에 있어서, CXCL13 활성을 억제하는 제제 (예, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자)의 약제학적 유효량은 표적에 대해 유효한 결합을 달성하고 이로인한 효과, 예컨대 장애 또는 질병의 증상을 완화시키거나 제제 또는 세포를 검출하기에 충분한 양을 의미하는 것이다.

[0210] 본 발명에서 사용되는 약제학적 조성물은 예를 들어, 이온 교환제, 알루미늄, 알루미늄 스테아레이트, 레시틴, 혈청 단백질, 예로서 인간 혈청 단백질, 완충제 제제, 예로서 포스페이트, 글리신, 소르브산, 칼륨 소르베이트, 포화 식물성 지방산의 부분적 글리세라이드 혼합물, 물, 염 또는 전해질, 예로서 프로타민 술페이트, 인산수소 이나트륨, 인산수소칼륨, 염화나트륨, 아연 염, 콜로이드형 실리카, 마그네슘 트리실리케이트, 폴리비닐 피롤리돈, 셀룰로오스계 제제, 폴리에틸렌 글리콜, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스, 폴리아크릴레이트, 왁스, 폴리에틸렌-폴리옥시프로필렌-블록 중합체, 폴리에틸렌 글리콜, 및 양모지(wool fat)을 포함한, 약제학적으로 수용가능한 담체를 포함한다.

[0211] 비경구 투여용 제제는 멸균 수성 또는 비-수성 용액, 현탁액, 및 에멀전을 포함한다. 비-수성 용매의 예로 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 오일, 및 에틸 올레에이트와 같은 주사용 유기 에스테르가 있다. 수성 담체는 염수 및 완충된 매질을 포함한, 예를 들어, 물, 알코올성/수성 용액, 에멀전 또는 현탁액을 포함한다. 본 발명에서, 약제학적으로 수용가능한 담체는 0.01-0.1M, 예를 들면, 0.05M 인산염 완충제 또는 0.8% 염수를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 통상의 다른 비경구 비히클로는, 인산나트륨 용액, 링거 텍스트로오스(Ringer's dextrose), 텍스트로오스 및 염화나트륨, 젖산 링거액, 또는 고정된 오일을 포함한다. 정맥내 비히클로는 유체 및 영양 보충제, 전해질 보충제, 예로서 링거 텍스트로오스를 기본으로 하는 것들 등을 포함한다. 예를 들어, 항미생물제, 항산화제, 킬레이트화제, 및 불활성 가스 등과 같은 보존제와 기타 첨가제가 또한 존재할 수 있다.

[0212] 보다 구체적으로, 주사용으로 적합한 약제학적 조성물은 멸균 수성 용액 (수용성일 경우) 또는 분산액 및 멸균 주사용 용액 또는 분산액의 즉석 제조용 멸균 분말을 포함한다. 그러한 경우, 상기 조성물은 멸균성이어야 하며 주사성이 용이한 정도로 유동적이어야 한다. 제조 및 보관 조건하에서 안정하여야 하며, 바람직하게는 세균 및 진균과 같은 미생물의 오염 활동에 대해 보호되는 것이어야 한다. 담체는, 예컨대 물, 에탄올, 폴리올 (예로서, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 및 이들의 적합한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 적절한 유동성은 예컨대, 레시틴과 같은 코팅을 사용함으로써, 분산액의 경우 요구되는 입자 크기를 유지함으로써, 그리고 계면활성제를 사용함으로써 유지될 수 있다. 본원에 개시되는 치료 방법에 사용하기에 적합한 제형은 문헌: Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co.) 16th ed. (1980)에 기재되어 있다.

[0213] 미생물 활동의 방지는 다양한 항균 및 항진균제, 예컨대, 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 아스코르브산, 티메로살 등에 의해 달성할 수 있다. 특정의 경우, 등장성 제제, 예를 들어, 당, 폴리알코올, 예로서 만니톨, 솔비톨, 또는 염화나트륨을 조성물에 포함시키는 것이 바람직할 수 있다. 주사용 조성물의 연장된 흡수는 흡수를 지연시키는 제제, 예를 들면, 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴을 조성물에 포함시킴으로써 일어날 수 있다.

[0214] 임의의 경우, 멸균 주사용액은 활성 화합물 (예로서, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체, 또는 이의 항원-결합 단편, 가변체, 또는 유도체, 그 자체 또는 다른 활성 제제과의 조합)을 적절한 용매 중에 필요한 양으로, 본원

에 열거된 성분 중 하나 또는 성분들의 조합과 함께 혼입하고, 필요에 따라, 후속적으로 여과 멸균시킴으로써 제조할 수 있다. 일반적으로, 분산액은 활성 화합물을 멸균 비히클 (이는 기본적인 분산 매질과 상기 열거된 것들로부터 필요한 다른 성분을 포함한다)에 혼입시킴으로써 제조된다. 멸균 주사용액을 제조하기 위한 멸균 분말의 경우, 바람직한 제조 방법은 진공 건조법 및 동결-건조법으로, 이 방법은 활성 성분 플러스 전술한 이의 멸균-여과된 용액으로부터의 임의의 추가의 바람직한 성분을 산출해 낸다. 당해 분야에 공지된 방법에 따라서, 주사용 제제를 가공하고, 앰플, 백, 병, 주사기 또는 바이알과 같은 용기에 충전한 다음, 무균 조건하에서 밀봉시킨다. 아울러, 상기 제제는 미국 특허 출원 번호 제09/259,337호에 기재되어 있는 것들과 같은 키트의 형태로 포장되어 판매될 수 있다. 그러한 제조 물품에는, 관련 조성물이 장애 또는 질병을 앓고 있거나, 그러한 성향이 있는 대상체를 치료하는데 유용하다는 것을 표시하는 라벨 또는 패키지 삽입물을 갖는 것이 바람직할 것이다.

[0215] 비경구 제형은 1회 볼러스 투여량, 주입 또는 부하 볼러스 투여량(loading bolus dose) 후 유지 투여량일 수 있다. 이들 조성물은 특정 고정된 또는 가변적인 간격으로, 예컨대 하루 1회 또는 "필요에 따른" 기준으로 투여할 수 있다.

[0216] 본 발명에서 사용되는 특정의 약제학적 조성물은 예로서, 캡슐제, 정제, 수성 현탁제 또는 용액제를 포함한, 허용될 수 있는 투약형으로 경구적으로 투여될 수 있다. 또한, 특정의 약제학적 조성물은 코 에어로졸 또는 흡입에 의해 투여될 수 있다. 그러한 조성물은 생체이용성을 증진시키기 위하여 벤질 알코올 또는 기타 적합한 보존제, 흡수 촉진제, 및/또는 기타 통상의 가용화제 또는 분산제를 사용하여, 염수 중의 용액으로 제조될 수 있다.

[0217] 담체 제제과 조합하여 단일 투약형(single dosage form)을 제조할 수 있는 CXCL13 활성을 억제하는 제제 (예로서, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자)의 양은 치료되는 숙주 및 특정 투여 방식에 따라 달라질 것이다. 본 조성물은 1회 투여량, 다회 투여량으로 또는 주입시 정해진 기간에 걸쳐 투여할 수 있다. 또한, 투약 요법(dosage regimen)은 바람직한 최적 반응 (예로서, 치료적 또는 예방적 반응)을 제공하도록 조절될 수 있다.

[0218] 본 개시내용의 범주와 일치하여, CXCL13 활성을 억제하는 제제 (예, 항-CXCL13 항체, 또는 이의 항원-결합 단편, 가변체, 또는 유도체)을 인간 또는 다른 동물에게 전술한 치료 방법에 따라서 치료 효과를 생성하기에 충분한 양으로 투여할 수 있다. CXCL13 활성을 억제하는 제제 (예, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 항체, 또는 이의 항원-결합 단편, 가변체, 또는 유도체)을 그러한 인간 또는 다른 동물에게 통상의 약제학적으로 수용가능한 담체 또는 희석제와 공지의 기법에 따라서 활성 제제를 조합하여 제조된 통상의 투약형으로 투여할 수 있다. 당해 분야의 숙련가는 약제학적으로 수용가능한 담체 또는 희석제의 형태와 특성이 조합될 활성 성분의 양, 투여 경로 및 기타 잘 알려져 있는 변수에 의해 지정된다는 것을 인지할 것이다. 아울러, 당해 분야의 숙련가는 CXCL13 활성을 억제하는 제제 (예, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자) 중 1종 이상을 포함하는 각테일이 특히 효과적임을 입증할 수 있다는 것도 인지할 것이다.

[0219] "치료학적으로 유효한 투여량 또는 양" 또는 "유효량"은 치료할 질병을 갖고 있는 환자의 치료에 있어서 투여시 긍정적인 치료 반응을 일으키는, CXCL13 활성을 억제하는 제제 (예, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자)의 양을 의미한다.

[0220] 염증성 장애의 치료를 위해서 및 IgA의 수준을 증가시키기 위한 CXCL13 활성을 억제하는 제제의 치료학적 유효 투여량은 투여 수단, 표적 부위, 환자의 생리학적 상태, 환자가 인간인가 동물인가의 여부, 투여되는 다른 약제, 및 치료가 예방용인가 치료용인가의 여부를 포함한, 수많은 다양한 인자에 따라서 변화된다. 통상적으로, 환자가 인간이지만, 형질전환 동물을 포함한 비-인간 동물도 치료될 수 있다. 치료 용량은 당해 분야의 숙련가에게 알려져 있는 통상의 방법을 사용하여 적정하여 안전성과 효과를 최적화할 수 있다.

[0221] CXCL13 활성을 억제하는 제제 (예, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자) 적어도 1종의 투여할 양은 본 발명의 개시내용에 비추어 과도한 실험없이 당해 분야의 숙련가에 의해 용이하게 결정된다. 투여 방식 및 CXCL13 활성을 억제하는 제제 (예, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자) 적어도 1종의 각각의 양에 영향을 주는 인자로, 질병의 심화도, 질병의 병력, 및 치료를 받는 대상체의 연령, 키, 체중, 건강, 및 신체 상태를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 마찬가지로, CXCL13 활성을 억제하는 제제 (예, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자)의 투여할 양은 투여 방식 및 대상체가 이들 제제를 1회 투여받는지 다회 투여받는지에 따른다.

[0222] 일부 구현예로, CXCL13 활성을 억제하는 제제 (예, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자)의 투여되는 복용량(dosage)의 범위는 약 0.1 mg/kg, 약 0.2 mg/kg, 약 0.3 mg/kg, 약 0.4 mg/kg, 약 0.5 mg/kg, 약 0.6 mg/kg, 약 0.7 mg/kg, 약 0.8 mg/kg, 약 0.9 mg/kg, 약 1 mg/kg, 약 1.5 mg/kg, 약 2 mg/kg, 약 2.5 mg/kg, 약 3

mg/kg, 약 3.5 mg/kg, 약 4 mg/kg, 약 4.5 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 5.5 mg/kg, 약 6 mg/kg, 약 6.5 mg/kg, 약 7 mg/kg, 약 7.5 mg/kg, 약 8 mg/kg, 약 8.5 mg/kg, 약 9 mg/kg, 약 9.5 mg/kg, 및 약 10 mg/kg를 포함하여, 약 0.1 mg/kg 내지 약 100 mg/kg이지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 특정 구현예에서, 투여되는 복용량의 범위가 약 1 mg/kg 내지 약 10 mg/kg이다. 세부적인 구현예로, 약 4 mg/kg 내지 약 5 mg/kg의 CXCL13 활성을 억제하는 제제 (예, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자)을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여한다. 이러한 구현예들 중 일부에서, 상기 제제를 복강내 주사를 통하여 투여한다.

[0223] 본 발명은 또한 염증성 장애를 치료하고 IgA 수준을 증가시키기 위한 제제의 제조 있어서 CXCL13 활성을 억제하는 제제 (예, 항-CXCL13 또는 항-CXCR5 결합 분자)의 용도를 제공한다.

[0224] 본 발명의 실시는, 달리 표시되지 않는 한, 세포 생물학, 세포 배양, 분자 생물학, 형질전환 생물학, 미생물학, 재조합 DNA 및 면역학 등의, 당해 분야의 기술내에 있는 통상의 기술을 이용할 것이다. 그러한 기법은 문헌에 충분히 설명되어 있다. 예를 들어, 다음 문헌: Sambrook *et al.*, ed. (1989) *Molecular Cloning A Laboratory Manual* (2nd ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press); Sambrook *et al.*, ed. (1992) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, (Cold Springs Harbor Laboratory, NY); D. N. Glover ed., (1985) *DNA Cloning*, Volumes I and II; Gait, ed. (1984) *Oligonucleotide Synthesis*; Mullis *et al.* U.S. Pat. No. 4,683,195; Hames and Higgins, eds. (1984) *Nucleic Acid Hybridization*; Hames and Higgins, eds. (1984) *Transcription And Translation*; Freshney (1987) *Culture Of Animal Cells* (Alan R. Liss, Inc.); Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press) (1986); Perbal (1984) *A Practical Guide To Molecular Cloning*; the treatise, *Methods In Enzymology* (Academic Press, Inc., N.Y.); Miller and Calos eds. (1987) *Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells*, (Cold Spring Harbor Laboratory); Wu *et al.*, eds., *Methods In Enzymology*, Vols. 154 and 155; Mayer and Walker, eds. (1987) *Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology* (Academic Press, London); Weir and Blackwell, eds., (1986) *Handbook Of Experimental Immunology*, Volumes I-IV; *Manipulating the Mouse Embryo*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., (1986); and in Ausubel *et al.* (1989) *Current Protocols in Molecular Biology* (John Wiley and Sons, Baltimore, Md.)을 참조한다.

[0225] 항체 조작의 일반적인 원리는 문헌: Borrebaeck, ed. (1995) *Antibody Engineering* (2nd ed.; Oxford Univ. Press)에 기술되어 있다. 단백질 조작의 일반적인 원리는 문헌: Rickwood *et al.*, eds. (1995) *Protein Engineering, A Practical Approach* (IRL Press at Oxford Univ. Press, Oxford, Eng.) 에 기술되어 있다. 항체 및 항체-합텐(hapten) 결합에 대한 일반적인 원리는 문헌: Nisonoff (1984) *Molecular Immunology* (2nd ed.; Sinauer Associates, Sunderland, Mass.); 및 Steward (1984) *Antibodies, Their Structure and Function* (Chapman and Hall, New York, N.Y.)에 기술되어 있다. 또한, 당해 분야에 알려져 있으나 상세하게 기술되어 있지 않은, 면역학에 있어서의 표준 방법은 일반적으로 문헌: *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons, New York; Stites *et al.*, eds. (1994) *Basic and Clinical Immunology* (8th ed; Appleton & Lange, Norwalk, Conn.) 및 Mishell and Shiigi (eds) (1980) *Selected Methods in Cellular Immunology* (W.H. Freeman and Co., NY)에 따른다.

[0226] 면역학의 일반적인 원칙이 기재되어 있는 표준 참조 문헌으로는 다음과 같은 것들이 있다: *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons, New York; Klein (1982) J., *Immunology: The Science of Self-Nonself Discrimination* (John Wiley & Sons, NY); Kennett *et al.*, eds. (1980) *Monoclonal Antibodies, Hybridoma: A New Dimension in Biological Analyses* (Plenum Press, NY); Campbell (1984) "Monoclonal Antibody Technology" in *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology*, ed. Burden *et al.*, (Elsevier, Amsterdam); Goldsby *et al.*, eds. (2000) *Kuby Immunology* (4th ed.; H. Freeman & Co.); Roitt *et al.* (2001) *Immunology* (6th ed.; London: Mosby); Abbas *et al.* (2005) *Cellular and Molecular Immunology* (5th ed.; Elsevier Health Sciences Division); Kontermann and Dubel (2001) *Antibody Engineering* (Springer Verlag); Sambrook and Russell (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Press); Lewin (2003) *Genes VIII* (Prentice Hall 2003); Harlow and Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Press); Dieffenbach and Dveksler (2003) *PCR Primer* (Cold Spring Harbor Press).

[0227] 용어 "a" 또는 "an" 실체는 해당 실체 1개 이상을 지칭함을 알아야 하며; 예컨대, "항-CXCL13 항체"는 1개 이상의 항-CXCL13 항체를 표시하는 것으로 이해된다. 그와 같이, 용어 "a"(또는 "an"), "1개 이상", 및 "적어도

1개"는 본원에서 상호교환적으로 사용될 수 있다.

- [0228] 본원에서 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어는 동일한 의미를 갖는다. 사용되는 숫자 (예컨대, 양, 온도 등)에 있어서 정확도를 위하여 노력하였지만, 일부 실험상의 오차와 편차가 고려되어야 한다.
- [0229] 본 명세서 및 특허청구의 범위를 통하여, 단어 "포함하다(comprise)", "포함하다(comprises)", 및 "포함하는(comprising)"은 맥락에 달리 요구되는 경우를 제외하고, 비-배타적인 의미로 사용된다.
- [0230] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "약"은, 값(value)에 대해서 언급될 때, 명시된 양으로부터 일부 구현예에서는 ±50%, 일부 구현예에서는 ±20%, 일부 구현예에서는 ±10%, 일부 구현예에서는 ±5%, 일부 구현예에서는 ±1%, 일부 구현예에서는 ±0.5%, 및 일부 구현예에서는 ±0.1%의 변화량을 포괄하는 것을 의미하며, 그러한 변화량은 개시된 방법을 수행하거나 개시된 조성물을 사용함에 있어서 적합한 것이다.
- [0231] 값의 범위가 제공되는 경우, 각 보간(intervening) 값은 문맥에 달리 명확하게 표시되지 않는 한, 그 범위와 임의의 다른 표시된 값 또는 표시된 범위에 있는 사이 값의 상한치와 하한치 사이에서, 하한치 유니트(unit)의 10분의 1까지 본 발명 내에 포함되는 것으로 이해되어야 한다. 더 작은 범위에 독립적으로 포함될 수 있는 이러한 작은 범위의 상한치와 하한치도 본 발명 내에 포함되며, 표시된 범위에서 명시적으로 배제되는 임의의 제한치에도 적용된다. 표시된 범위가 제한치 중 하나 또는 둘다를 포함하는 경우, 제한치에 포함된 것들 중 하나 또는 둘다를 배제하는 범위도 본 발명에 포함된다.
- [0232] 하기 실시예는 예시하기 위한 것으로 제공되며, 제한하고자 하는 것은 아니다.
- [0233] 실험
- [0234] 실시예 1. 헬리코박터(*Helicobacter*) 감염에 대한 마우스 모델에서 항-CXCL13 항체의 평가
- [0235] **쥐의 헬리코박터 감염 모델.** H. 헤일만니이 및 H. 필로리와 같은 헬리오박터 종은 환자에서 위의 MALT 림프종을 유발한다. 헬리오박터 유발된 위의 림프 여포의 마우스 모델은 문헌: Nobutani et al. (2010) *FEMS Immunol Med Microbiol* 60:156-164에 기술되어 있으며, 이 문헌은 그 전체가 본원에 참조로서 포함된다. 본원에서는 Nobutani 등의 마우스 모델을 사용하여 해당 조직에서, 세균의 역가(titer)를 의미하는, 감염성 부담(burden)을 감소시키는데 있어서 항-CXCL13 항체의 효과를 테스트하였다. C57BL/6J 마우스 (n=5)를 *H. 수이스*로 경구적으로 감염시켰다. 감염 후 1주째에 시작하여, 마우스에게 이소형 항체 대조물 (MAb 2510) 또는 항-CXCL13 항체 (MAb 5378) 중 하나를 12주 동안 매주 0.6 mg 씩 i.p. 투여하였다.
- [0236] *H. 수이스* 감염시킨지 12주 후, 마우스를 희생시켰다. *H. 수이스* 감염의 상대적 수준의 척도로서 *H. 수이스* 특이적인 16s rRNA 유전자의 발현에 대해 PCR로 마우스로부터의 위 샘플을 평가하였다. 상기 *H. 수이스* 특이적인 16s rRNA 유전자 PCR 프라이머를 하기에 나타낸다:

F: 5'-TTGGGAGGCTTTGTCTTTCCA-3' (서열 식별 번호: 22)
R: 5'-GATTAGCTCTGCCTCGCGGCT-3' (서열 식별 번호: 23)
- [0237]
- [0238] PCR 증폭 반응에는 1 유니트의 Taq DNA 중합체라제(TOYOBO, Osaka, Japan)를 함유하는 1x 반응 완충액 [20 mM Tris/HCl (pH8.0), 100 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 1mM DTT, 0.5% Tween-20, 0.5% Nonidet P40, 및 50% 글리세롤]; 10 nmol의 각각의 데옥시뉴클레오타이드 트리포스페이트; 10 pmol의 각각의 올리고뉴클레오타이드 프라이머; 및 원래(original)의 샘플을 대략 20 내지 100 ng/μl의 DNA 농도를 사용하여 1:10 희석시켜 제조된, 희석된 DNA 1 μl가 50 μl의 최종 용적으로 포함된다. 16s rRNA 반응에 대한 사이클링 조건은 94°C에서 30초, 56°C에서 30초, 및 72°C에서 30초로 이루어진 사이클 35회이다.
- [0239] **항-CXCL13 항체는 헬리코박터 감염된 마우스의 역가를 감소시킨다.** 항-CXCL13 항체 또는 이소형 대조군 항체로 처리된 *H. 수이스* 감염된 마우스의 위 점막에서 *H. 수이스*의 상대적인 수를 실시간 정량적 PCR에 의해 측정하였다. 도 1의 이들 결과는 항-CXCL13 항체로 처리된 감염된 마우스의 위에서 *H. 수이스*의 역가가 감소되는 것을 보여준다.
- [0240] **항-CXCL13 항체는 *H. 수이스*로 감염된 마우스의 위 림프 여포에서 TGF-β 및 IL-6를 유발한다.** 이소형 대조물 또는 항-CXCL13 항체(MAb 5378)로 처리한 후 *H. 수이스*로 감염된 마우스의 위 점막에서 TGF-β와 IL-6 mRNA의 mRNA 발현 수준을 역전사 PCR로 측정하였다. 위의 점막층과 점막 아래층을 근육층과 장막으로부터 회수한 다음, 1 ml의 TRIZOL 시약(Invitrogen)으로 균질화시켰다. RNA를 상기 균질물로부터 제조사의 지침에 따라서 추출하였다. RNA를 고성능 cDNA 역전사 키트(Applied Biosystems, Foster City, CA)를 제조사의 프로토콜에 따라 사용

하여 역전사 반응을 수행하고, Power SYBR Green PCR Master Mix(Applied Biosystems)을 사용하여 제조사의 지침에 따라 정량적 PCR을 수행하였다. RNA 발현 수준을 상대적으로 비교하기 위하여, 정량적 PCR로부터의 데이터를 내인성 대조물로서 β -액틴 cDNA의 양으로 정규화하였다. 정량적 PCR용으로 사용되는 특이적인 프라이머 쌍(Hokkaido System Science Co. Ltd., Sapporo, Japan)은 하기와 같다:

TGF- β 센스 5'-TCTTGGTCCAGATCACAACCTTCA-3'(서열 식별 번호: 24)

TGF- β 안티센스 5'-CACTGATACGCCTGAGTGR-3'(서열 식별 번호: 25)

IL-6 센스 5'-GTGAGCGCTGAATCGAAA-3'(서열 식별 번호: 26)

IL-6 안티센스 5'-GAGGATACCACTCCCAACAGACC-3'(서열 식별 번호: 27)

β -액틴 센스 5'-ATCACTGACGCTGATTGCAC-3'(서열 식별 번호: 28)

β -액틴 안티센스 5'-AAGGCCAACCGTGAAAAGAT-3'(서열 식별 번호: 29)

[0241]

[0242]

정량적 실시간 PCR은 위의 점막층과 점막 아래층을 1 ml의 TRIZOL 시약(Invitrogen)으로 균질화시키고 제조사의 지시에 따라서 상기 균질물로부터 RNA를 추출하는 것이 포함된다. 이어서, RNA는 고성능 cDNA 역전사 키트(Applied Biosystems, Foster City, CA)를 제조사의 지침에 따라 사용하여 역전사 반응을 수행하고, Power SYBR Green PCR Master Mix(Applied Biosystems, Foster City, CA)와 ABI Prism 7500 실시간 PCR 시스템(Applied Biosystems, Foster City, CA)을 사용하여 제조사의 지침에 따라 정량적 실시간 PCR을 수행하였다. RNA 발현 수준을 상대적으로 비교하기 위하여, 실시간 PCR로부터의 데이터를 내인성 대조물로서 β -액틴 cDNA의 양으로 정규화하였다.

[0243]

도 2a와 2b는 각각, 이소형 대조물 또는 항-CXCL13 항체(MAb 5378) 처리 후 *H. 수이스* 감염된 마우스의 위에서의 TGF- β 와 IL-6 mRNA의 발현을 나타낸다. 이들 결과는 이소형 대조물로 처리된 마우스와 감염시키지 않은 마우스와 비교하여 항-CXCL13 항체로 처리한 *H. 수이스* 감염된 마우스에서 TGF- β 와 IL-6 mRNA 둘다 발현이 확실하게 증가하였음을 보여준다. 흥미롭게도, 감염시키지 않은 마우스의 위에서의 TGF- β 와 IL-6의 발현 수준도 항-CXCL13 항체(MAb 5378)로 처리함으로써 크게 유발되었다(데이터는 나타나 있지 않음).

[0244]

TGF- β 와 IL-6가 IgA의 발현을 증가시킬 수 있기 때문에, 이들 결과는 *H. 수이스* 특이적인 IgA가 *H. 수이스* 감염된 마우스의 위에서 항-CXCL13 항체 처리에 의해 상승조절될 수 있음을 제시하는 것이다. 따라서, *H. 수이스* 감염된 마우스를 항-CXCL13 항체로 처리함으로써 TGF- β 와 IL-6 의존적 경로의 활성화를 통하여 *H. 수이스* 특이적인 IgA의 유발을 경유하여 *H. 수이스*가 콜로니화되는 것을 억제할 수 있을 것이다.

[0245]

항-CXCL13 항체로 처리하여 헬리코박터 감염된 마우스의 위의 림프 여포에서 IgA 분비를 증가시킨다. *H. 수이스* 감염시키고 3개월 후 마우스의 위를 절제하여 대만부(greater curvature)에서 개복하였다. 감염시키지 않은 야생형 마우스, 이소형 대조물 및 항-CXCL13 항체(MAb 5378) 처리된 마우스로부터의 위 샘플을 IgA와 액틴(데이터는 나타나 있지 않음)에 대해 면역형광제 염색하면 대조물 처리와 비교하여 항-CXCL13 항체로 처리된 *H. 수이스* 감염된 마우스의 위의 림프 여포에서 IgA 분비가 증가되는 것으로 나타났다.

[0246]

***H. 수이스* 감염 후 마우스의 혈청과 위액 중 항-*H. 수이스* 특이적인 IgG와 IgA의 수준.** 혈청과 위액에서 *H. 수이스* 특이적인 IgG를 검출하기 위하여, 위액을 16,000 x g로 5분간 4°C에서 원심단리시키고, 생성된 상등액을 수집하였다. 15,000 x g로 10분간 4°C에서 원심단리시켜 혈액으로부터 혈청을 단리시켰다. 96개-웰 플레이트를 4°C에서 100 μ g/ml H. 필로리 용해물을 함유하는 중탄산염 용액(pH 9.6) 100 μ l로 밤새 코팅시키고, 1시간 동안 37°C에서 PBS 중 1.5%(wt/vol) BSA를 첨가하여 차단시켰다. 각각 1:200 및 1:15로 희석시킨, 혈청과 위액을 플레이트에 첨가한 다음, 0.2%(wt/vol) BSA와 항-마우스 IgA를 함유하는 PBST에 1:5,000으로 희석시킨 HRP-접합된 염소의 항-마우스 IgG 항체(Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) 100 μ l를 첨가하였다. o-페닐렌디아민 기질을 첨가하여 결합된 항체를 검출하고, 490 nm에서의 흡광도 측정을 수행하였다.

[0247]

H. 수이스 감염된 마우스의 혈청과 위액에서 항-*H. 수이스* 특이적인 IgG와 IgA의 수준을 측정하였다. 도 3a 및 4a는 항-*H. 수이스* 특이적인 IgG는 *H. 수이스* 감염에 의해 혈청과 위액에서 유도되지만, 항-CXCL13 항체(MAb 5378) 및 이소형 대조군 항체 처리된 마우스의 혈청 또는 위액에서 항-*H. 수이스* 특이적인 IgG의 수준은 차이가 없음을 보여준다. 도 3b 및 4b는 항-*H. 수이스* 특이적인 IgA가 *H. 수이스* 감염에 의해 혈청과 위액에서 유도됨을 보여준다. 항-CXCL13 항체 및 이소형 대조군 항체 처리된 마우스의 혈청에서 항-*H. 수이스* 특이적인 IgA의 수준에서는 확실한 차이가 없는 반면, 항-*H. 수이스* 특이적인 IgA의 수준은 이소형 대조군 항체 처리된 마우스와 비교하여 항-CXCL13 항체의 위액에서 훨씬 더 높음을 보여준다. 이러한 결과들은 감염된 조직의 염증성 세포

에 의해 생성되는 CXCL13의 억제로 감염성 제제에 대해 특이적인 IgA가 증가되며 이는 세균성 감염의 제거가 향상된 것과 관련있음을 입증한다.

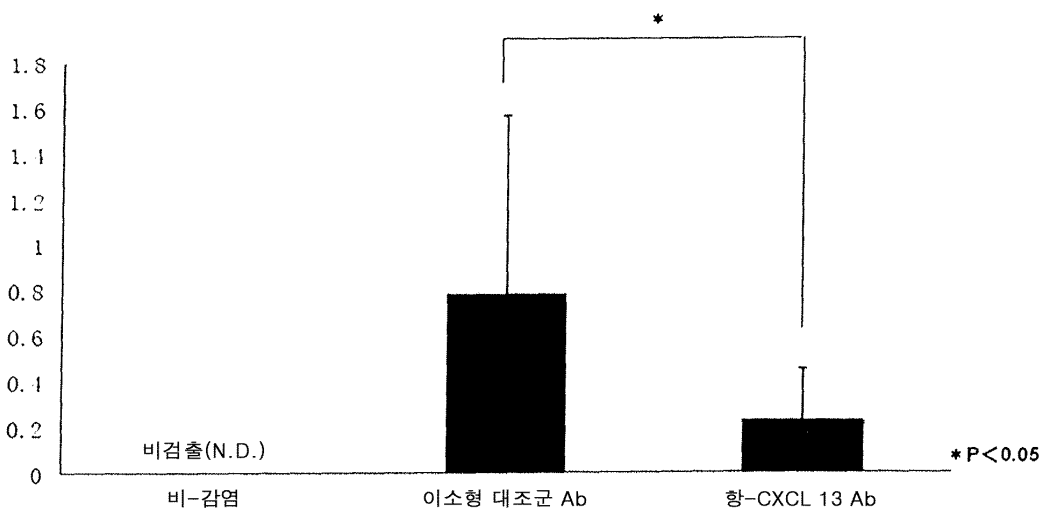
[0248] 구체적인 구현예의 전술한 설명은 본 발명의 일반적인 특성을 충분히 밝힘으로써, 당해 기술 수준 내의 지식을 적용하여, 과도한 실험없이도, 본 발명의 일반적인 개념으로부터 벗어나지 않고, 제3자가 상기한 구체적인 구현예와 같은 다양한 적용 분야에 대해 용이하게 변형시키고/시키거나 적용시킬 수 있을 것이다. 따라서, 이러한 적용 및 변형은 본원에 제시된 교시 내용과 지침을 기본으로, 개시된 구현예의 등가물의 의미와 범위에 포함시키고자 한다. 본원의 표현 또는 용어는, 본 명세서의 용어 또는 표현이 교시 내용과 지침에 비추어 당해 기술 분야의 숙련자에게 이해되도록, 설명하기 위한 목적일 뿐 제한하고자 함이 아님을 알아야 한다.

[0249] 전술한 설명과 연관된 도면에 제시된 기술의 잇점을 갖는 본 발명이 속한 기술 분야의 숙련자에게 본원에 기재된 본 발명의 다양한 변형 및 기타 구현예들이 떠오를 것이다. 따라서, 본 발명은 개시되는 세부적인 구현예들로 제한되지 않으며 그러한 변형 및 다른 구현예들도 첨부되는 특허청구의 범위의 범주내에 포함시키는 것으로 이해되어야 한다. 본원에서 특정 용어가 사용되지만, 이들은 포괄적이고 설명적인 의미로만 사용되는 것이지 제한의 목적이 아니다.

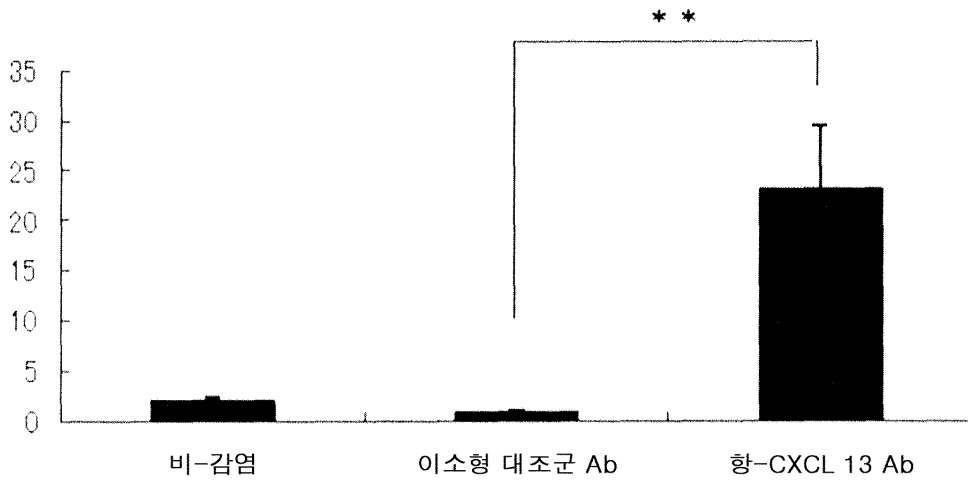
[0250] 본원에서 언급된 모든 공보와 특허 출원은 본 발명이 속한 기술 분야의 숙련자의 수준의 지표이다. 모든 공보와 특허 출원은 본원에서 각각의 공보 또는 특허 출원을 참조로서 포함되는 것이라고 세부적이고 개별적으로 표시하는 것과 동일한 정도로 참조로서 포함된다.

도면

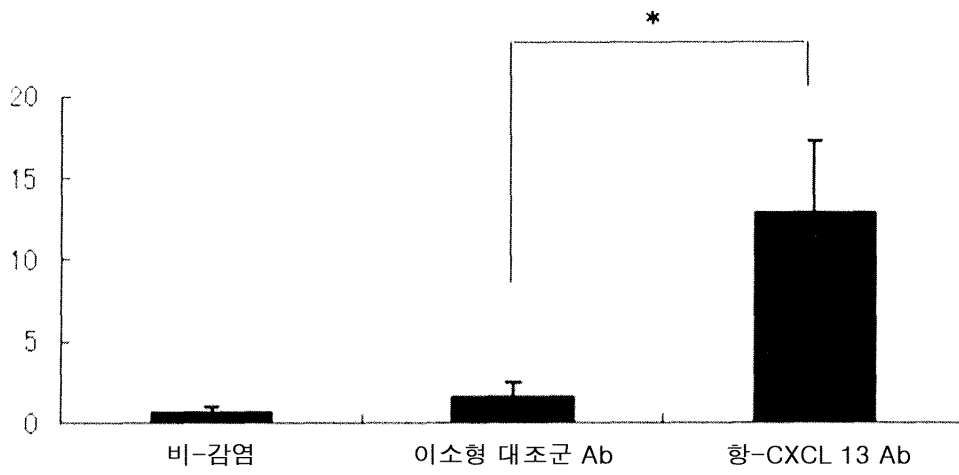
도면1



도면2a

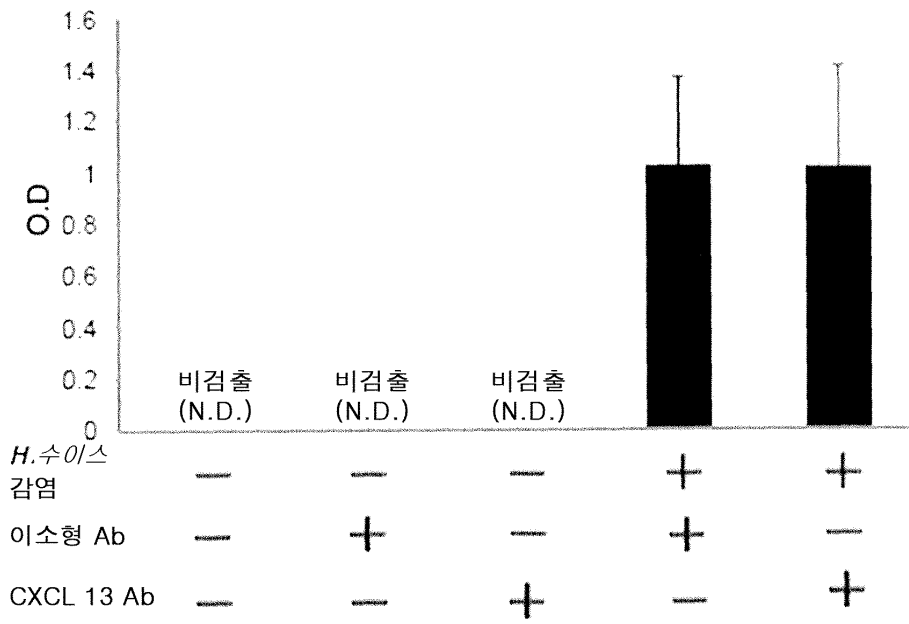


도면2b

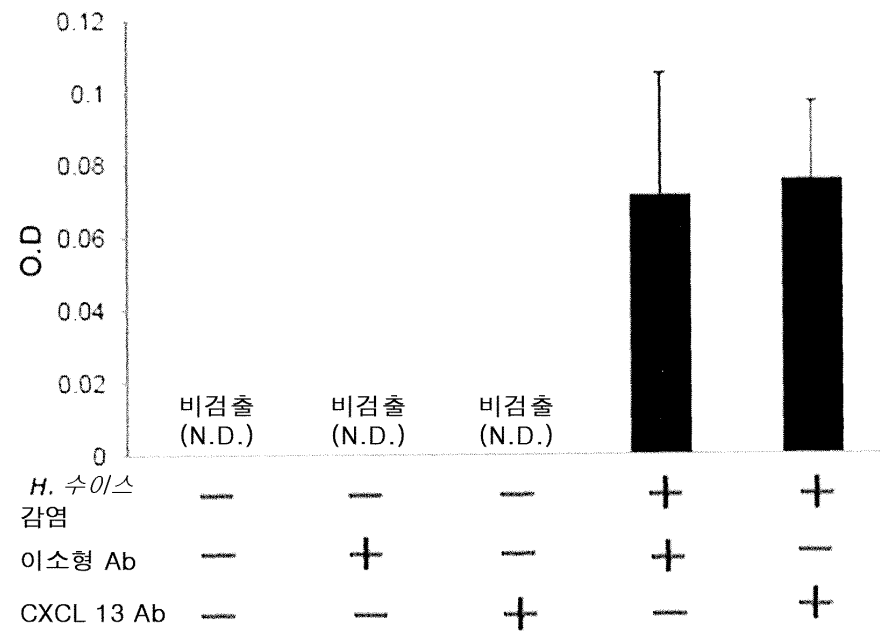


* P<0.05
** P<0.01

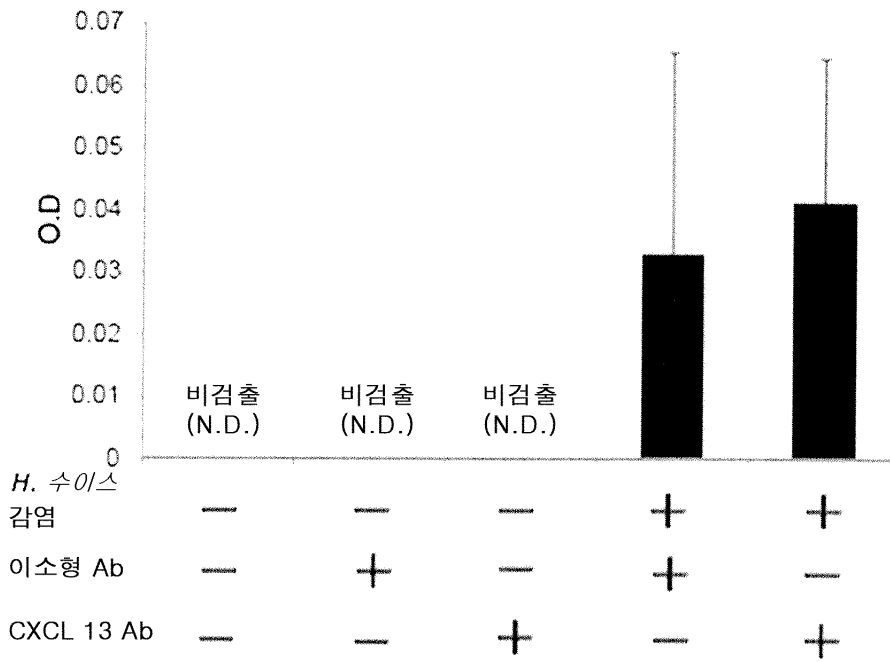
도면3a



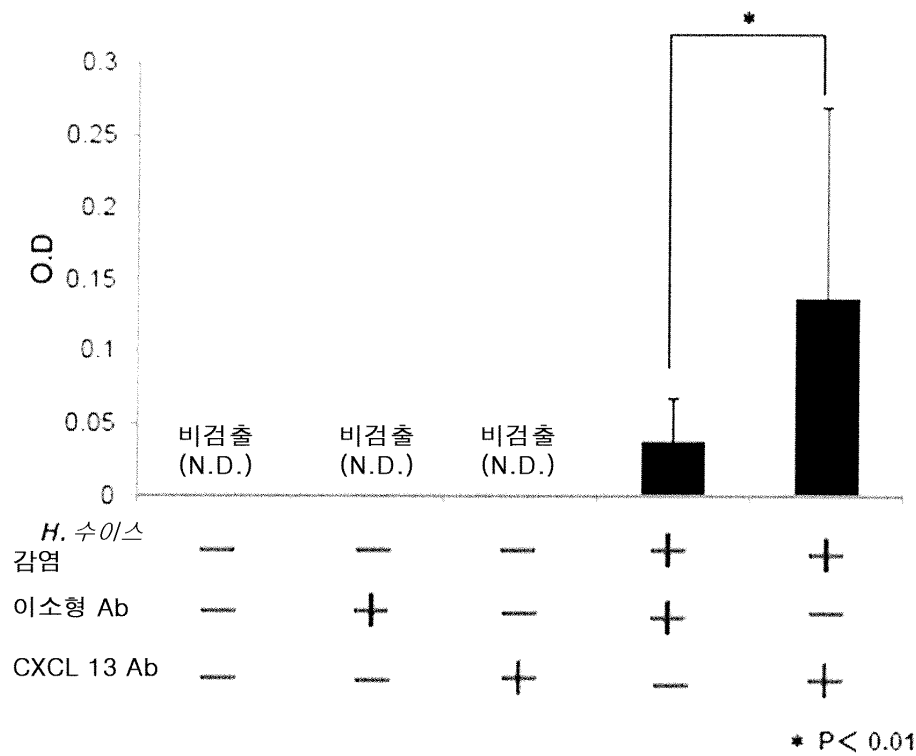
도면3b



도면4a



도면4b



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Zauderer, Maurice

Yoshida, Masaru

Yamamoto, Koji

Smith, Ernest S.

<120> Methods for Increasing Immunoglobulin A Levels

<130> 50827-441418

<150> 61/759,108

<151> 2013-01-31

<160> 29

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 1201

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (79)...(408)

<400> 1

gagaagatgt ttgaaaaaac tgactctgct aatgagcctg gactcagagc tcaagtctga 60
actctacctc cagacaga atg aag ttc atc tcg aca tct ctg ctt ctc atg 111

Met Lys Phe Ile Ser Thr Ser Leu Leu Leu Met

1 5 10

ctg ctg gtc agc agc ctc tct cca gtc caa ggt gtt ctg gag gtc tat 159

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

15 20 25

tac aca agc ttg agg tgt aga tgt gtc caa gag agc tca gtc ttt atc 207

Tyr Thr Ser Leu Arg Cys Arg Cys Val Gln Glu Ser Ser Val Phe Ile

30 35 40

cct aga cgc ttc att gat cga att caa atc ttg ccc cgt ggg aat ggt 255

Pro Arg Arg Phe Ile Asp Arg Ile Gln Ile Leu Pro Arg Gly Asn Gly

45 50 55

tgt cca aga aaa gaa atc ata gtc tgg aag aag aac aag tca att gtg 303
 Cys Pro Arg Lys Glu Ile Ile Val Trp Lys Lys Asn Lys Ser Ile Val
 60 65 70 75

tgt gtg gac cct caa gct gaa tgg ata caa aga atg atg gaa gta ttg 351
 Cys Val Asp Pro Gln Ala Glu Trp Ile Gln Arg Met Met Glu Val Leu
 80 85 90

aga aaa aga agt tct tca act cta cca gtt cca gtg ttt aag aga aag 399
 Arg Lys Arg Ser Ser Ser Thr Leu Pro Val Pro Val Phe Lys Arg Lys
 95 100 105

att ccc tga tgetgatatt tccactaaga acacctgcat tcttcctta 448
 Ile Pro

tccttctct ggattttagt tttgtgctta gttaaatctt ttccaggaaa aagaacttcc 508
 ccatacaaat aagcatgaga ctatgtaaaa ataaccttgc agaagctgat ggggcaaact 568
 caagcttctt cactcacagc accctatata cacttggagt ttgcattctt attcatcagg 628

gaggaaagt tctttgaaaa tagttattca gttataagta atacaggatt attttgatta 688
 tatacttgtt gtttaatgtt taaaatttct tagaaaacaa tggaatgaga atttaagcct 748
 caaatttgaa catgtggctt gaattaagaa gaaaattatg gcatatatta aaagcaggct 808
 tctatgaaag acicaaaaag ctgcctggga ggcagatgga acttgagcct gtcaagaggc 868
 aaaggaatcc atgtagtaga tatectctgc ttaaaaactc actacggagg agaattaagt 928
 cctactttta aagaatttct ttataaaatt tactgtctaa gattaatagc attcgaagat 988
 ccccagactt catagaatac tcagggaaag catttaaagg gtgatgtaca catgtatcct 1048
 ttcacacatt tgccttgaca aacttcttct actcacatct ttttactga ctttttttgt 1108

ggggggcggg gccgggggga ctctggtatc taattcttta atgattccta taaatetaat 1168
 gacattcaat aaagttgagc aaacatttta ctt 1201

<210> 2

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Lys Phe Ile Ser Thr Ser Leu Leu Leu Met Leu Leu Val Ser Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Arg Cys Val Gln Glu Ser Ser Val Phe Ile Pro Arg Arg Phe Ile

35 40 45

Asp Arg Ile Gln Ile Leu Pro Arg Gly Asn Gly Cys Pro Arg Lys Glu

50 55 60

Ile Ile Val Trp Lys Lys Asn Lys Ser Ile Val Cys Val Asp Pro Gln

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Thr Leu Pro Val Pro Val Phe Lys Arg Lys Ile Pro

100 105

<210> 3

<211> 1162

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (33)...(362)

<400> 3

gagctaaagg ttgaactcca cctccaggca ga atg agg ctc agc aca gca acg 53

Met Arg Leu Ser Thr Ala Thr

1 5

ctg ctt ctc ctc ctg gcc agc tgc ctc tct cca ggc cac ggt att ctg 101

Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ser Cys Leu Ser Pro Gly His Gly Ile Leu

10 15 20

gaa gcc cat tac aca aac tta aaa tgt agg tgt tct gga gtg att tca 149
 Glu Ala His Tyr Thr Asn Leu Lys Cys Arg Cys Ser Gly Val Ile Ser
 25 30 35

act gtt gtc ggt cta aac atc ata gat cgg att caa gtt acg ccc cct 197
 Thr Val Val Gly Leu Asn Ile Ile Asp Arg Ile Gln Val Thr Pro Pro
 40 45 50 55

ggg aat ggc tgc ccc aaa act gaa gtt gtg atc tgg acc aag atg aag 245
 Gly Asn Gly Cys Pro Lys Thr Glu Val Val Ile Trp Thr Lys Met Lys
 60 65 70

aaa gtt ata tgt gtg aat cct cgt gcc aaa tgg tta caa aga tta tta 293
 Lys Val Ile Cys Val Asn Pro Arg Ala Lys Trp Leu Gln Arg Leu Leu
 75 80 85

aga cat gtc caa agc aaa agt ctg tct tca act ccc caa gct cca gtg 341
 Arg His Val Gln Ser Lys Ser Leu Ser Ser Thr Pro Gln Ala Pro Val
 90 95 100

agt aag aga aga gct gcc tga agccactatc atctcaaaag acacacctgc 392
 Ser Lys Arg Arg Ala Ala
 105

acctttttt ttatccctgc tctgaatfff agatatgttc ttagttaaag aatttccaag 452
 aaaataactc ccctctacaa acaaacatga ctgtaggtaa aacaaagcaa aaacaacaa 512
 gcaaacaaac aaactaaaaa aaaccaatc ctgcaggagc tgagaggaa tgctcaagct 572
 ccgttgcata cccaaccac atccttgttc cttagaagaa gctatttgag aacaggcatt 632
 tagtgacaac ccacttcaga tgcatgtggt aatagatctg ttgtttaatg ttaactatc 692
 ctagattgtc gaggaatgaa aaacctacat gtcaaagtg aacttgtagc tcgtactaac 752
 aagaggtttg cgagatggac ttcagttatt ttgcaccctt gtaaaacgca ggcttccaaa 812
 atagtctcca gaaggttctt gggaagctgg tgcaatgcca tcatgaggtg gtgcaaagca 872

ggctcctttt agagaaaagc ttcttggggg aaacagtcct actttgaaag gttgcttgta 932
 taagatttat tgtcttgcat taaaaccagt aacaattgaa agatcctcag cttaaaggtc 992
 caggctcttc agcagtatac aaatatattc ctttgactg tgaccctgat gatctatttt 1052
 tattattcat atctttcaca cagacaaaat accagcctct tgtatcagat tctttaatgt 1112
 ttctattca tctgggtgca ttcaataaat gtaatcaaat gttttgctta 1162

<210> 4

<211> 109

<212> PRT

<213> *Mus musculus*

<400> 4

Met Arg Leu Ser Thr Ala Thr Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ser Cys Leu

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

65	70	75	80
Lys	Trp	Leu	Gln
Arg	Leu	Leu	Arg
His	Val	Gln	Ser
Lys	Ser	Leu	Ser
85	90	95	
Ser	Thr	Pro	Gln
Ala	Pro	Val	Ser
Lys	Arg	Arg	Ala
Ala			
100	105		

<210> 5

<211> 82

<212> PRT

<213> *Macaca fascicularis*

<400> 5

Val Leu Glu Val Tyr Tyr Thr His Leu Arg Cys Arg Cys Val Gln Glu
 1 5 10 15
 Ser Ser Val Phe Ile Pro Arg Arg Phe Ile Asp Arg Ile Gln Ile Ser

165	170	175	
ttc ctc ctt gcc ttg cca gag att ctc ttc gcc aaa gtc agc caa ggc	755		
Phe Leu Leu Ala Leu Pro Glu Ile Leu Phe Ala Lys Val Ser Gln Gly			
180	185	190	
cat cac aac aac tcc ctg cca cgt tgc acc ttc tcc caa gag aac caa	803		
His His Asn Asn Ser Leu Pro Arg Cys Thr Phe Ser Gln Glu Asn Gln			
195	200	205	
gca gaa acg cat gcc tgg ttc acc tcc cga ttc ctc tac cat gtg gcg	851		
Ala Glu Thr His Ala Trp Phe Thr Ser Arg Phe Leu Tyr His Val Ala			
210	215	220	225
gga ttc ctg ctg ccc atg ctg gtg atg ggc tgg tgc tac gtg ggg gta	899		
Gly Phe Leu Leu Pro Met Leu Val Met Gly Trp Cys Tyr Val Gly Val			
230	235	240	
gtg cac agg ttg cgc cag gcc cag cgg cgc cct cag cgg cag aag gca	947		
Val His Arg Leu Arg Gln Ala Gln Arg Arg Pro Gln Arg Gln Lys Ala			
245	250	255	
gtc agg gtg gcc atc ctg gtg aca agc atc ttc ttc ctc tgc tgg tca	995		
Val Arg Val Ala Ile Leu Val Thr Ser Ile Phe Phe Leu Cys Trp Ser			
260	265	270	
ccc tac cac atc gtc atc ttc ctg gac acc ctg gcg agg ctg aag gcc	1043		
Pro Tyr His Ile Val Ile Phe Leu Asp Thr Leu Ala Arg Leu Lys Ala			
275	280	285	
gtg gac aat acc tgc aag ctg aat ggc tct ctc ccc gtg gcc atc acc	1091		
Val Asp Asn Thr Cys Lys Leu Asn Gly Ser Leu Pro Val Ala Ile Thr			

aacagcgctg ggtccacccc atgtcaccgg atcctgggtg gtctgcaggc agggctgact 1995

 ctaggtgccc ttggaggcca gccagtgacc tgaggaagcg tgaaggcca gaagcaagaa 2055
 agaaaccca cagaggggaag aaaagagctt tcttcccga cccaaggag ggagatggat 2115
 caatcaaacc cggcgggtccc ctccgccagg cgagatgggg tgggtggag aactcctagg 2175
 gtggctgggt ccaggggatg ggagttgtg ggcattgatg gggaaggagg ctggcttgtc 2235
 ccctctcac tccttccca taagetatag acccgaggaa actcagagtc ggaacggaga 2295
 aaggtggact ggaaggggcc cgtgggagtc atctcaacca tcccctcctg ggcatcacct 2355
 taggcagga agtgaagaa acacactgag gcaggaagt cccagggccc caggaagccg 2415
 tgccctgccc ccgtgaggat gtcactcaga tggaaccgca ggaagctgct ccgtgcttgt 2475

 ttgctcacct ggggtgtggg aggcccgctc gcagttctg ggtgctcctt accacctccc 2535
 cagccttga tcaggtgggg agtcaggac cctgcccctt gteccactca agccaagcag 2595
 ccaagctcct tgggaggccc cactggggaa ataacagctg tggctcacgt gagagtgtct 2655
 tcacggcagg acaacgagga agccctaaga cgtccccttt ttctctgagt atctctcgc 2715
 aagctgggta atcgatgggg gagtctgaag cagatgcaaa gaggcaagag gctggatttt 2775
 gaattttctt ttaataaaa aggcacctat aaaacaggtc aatacgtac aggcagcaca 2835
 gagaccccc gaacaagcct aaaaattgtt tcaaaataaa aaccaagaag atgtcttcac 2895
 atattgt 2902

<210> 7

<211> 372

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

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

 50 55 60
 Gly Val Ile Gly Asn Val Leu Val Leu Val Ile Leu Glu Arg His Arg

Ala Val Phe Met Pro Val Ala Tyr Ser Leu Ile Phe Leu Leu Gly Met
 55 60 65

atg gga aac atc ctg gtg ctg gta atc ctg gag agg cac cgg cac act 295
 Met Gly Asn Ile Leu Val Leu Val Ile Leu Glu Arg His Arg His Thr
 70 75 80

cgg agc tca acc gag acc ttc ctg ttc cac ctc gca gta gcc gac ctt 343
 Arg Ser Ser Thr Glu Thr Phe Leu Phe His Leu Ala Val Ala Asp Leu
 85 90 95 100

ctc tta gtc ttc atc ctg cct ttt gca gtg gct gag ggc tct gtg ggt 391
 Leu Leu Val Phe Ile Leu Pro Phe Ala Val Ala Glu Gly Ser Val Gly
 105 110 115

tgg gtc cta ggg acc ttc ctc tgc aaa act gtg atc gct ctg cac aag 439
 Trp Val Leu Gly Thr Phe Leu Cys Lys Thr Val Ile Ala Leu His Lys
 120 125 130

atc aat ttc tac tgc agc agc ctg ctg ctg gcc tgt ata gct gta gac 487
 Ile Asn Phe Tyr Cys Ser Ser Leu Leu Leu Ala Cys Ile Ala Val Asp
 135 140 145

cgg tac cta gcc atc gtc cat gct gtt cac gcc tac cgc cgc cgt cga 535

Arg Tyr Leu Ala Ile Val His Ala Val His Ala Tyr Arg Arg Arg Arg
 150 155 160

ctc ctc tcc atc cac atc acc tgc acg gcc att tgg ctg gcc ggc ttc 583
 Leu Leu Ser Ile His Ile Thr Cys Thr Ala Ile Trp Leu Ala Gly Phe
 165 170 175 180

ctg ttc gcc tta ccg gaa ctc ctc ttt gcc aag gtt ggc caa cct cat 631

Leu Phe Ala Leu Pro Glu Leu Leu Phe Ala Lys Val Gly Gln Pro His
 185 190 195

 aac aac gac tcc tta cca cag tgc acc ttc tcc cag gaa aac gaa gcg 679
 Asn Asn Asp Ser Leu Pro Gln Cys Thr Phe Ser Gln Glu Asn Glu Ala
 200 205 210

 gaa act aga gcc tgg ttc acc tcc cgt ttc ctc tac cac atc ggg ggc 727
 Glu Thr Arg Ala Trp Phe Thr Ser Arg Phe Leu Tyr His Ile Gly Gly
 215 220 225

 ttc cta cta ccg atg ctt gtg atg gga tgg tgt tac gtg ggc gtg gtc 775
 Phe Leu Leu Pro Met Leu Val Met Gly Trp Cys Tyr Val Gly Val Val
 230 235 240

 cac agg cta ctg cag gcc cag cgg cgc cct cag cgg cag aag gcg gtc 823
 His Arg Leu Leu Gln Ala Gln Arg Arg Pro Gln Arg Gln Lys Ala Val
 245 250 255 260

 agg gtg gcc att tta gtg aca agc att ttc ttc ctc tgc tgg tgc ccc 871
 Arg Val Ala Ile Leu Val Thr Ser Ile Phe Phe Leu Cys Trp Ser Pro
 265 270 275

 tac cac att gtc atc ttc cta gat aca ctg gag agg ctg aag gct gtg 919

 Tyr His Ile Val Ile Phe Leu Asp Thr Leu Glu Arg Leu Lys Ala Val
 280 285 290

 aat agc agc tgc gag ctg agt ggc tat ctc tct gtg gcc atc acc ttg 967
 Asn Ser Ser Cys Glu Leu Ser Gly Tyr Leu Ser Val Ala Ile Thr Leu
 295 300 305

 tgt gaa ttc ctg ggc ctg gca cac tgc tgt ctc aat ccc atg ctc tac 1015

ccaatgggga aggaagccaa cttgctggg gaaagcaaga tagcaaagtg gtcctagcct 2048
 cgagagaggg gacacctagc taagagaatg acgacagagg ttctgtctt cattaggcag 2108
 aggcaatata agaagccaac ctgggcaggc aagtcctcaa accccaggaa ggcagtacc 2168
 tgcccctggg aggttaccac tcacatggaa ccagaggaag ctgctccatg catacatagg 2228
 ggaagttagc aggcaattct gagctcggct tcctcccagc caccgatctg ggggcgtggg 2288
 ggtaggaagc agagttgect agtaccactc aagccaaccg tacaagctcc ctgggggatc 2348
 cactgggga aaccaatgct atagcttcag agactgtatc ctcttgcag aaccgtgaag 2408
 acacctgggg accccctttt ctgctcccag catccaacaa ccagctggga agaggcaaac 2468

cgggcacaga aataaaaatg caagagatgg ctttttgaa ttttctctt ttaataaaaa 2528
 ggcacctata aaacaggtca atacaggcag agacccccgg aacaagccta aaaagtgtt 2588
 caaaataaaa acaggaagat gtcttc 2614

<210> 9

<211> 374

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 9

Met Asn Tyr Pro Leu Thr Leu Asp Met Gly Ser Ile Thr Tyr Asn Met

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Leu Gln Asp Ser Asn Phe Cys Ser Thr Val Glu Gly Pro Leu Leu

35 40 45

Thr Ser Phe Lys Ala Val Phe Met Pro Val Ala Tyr Ser Leu Ile Phe

50 55 60

Leu Leu Gly Met Met Gly Asn Ile Leu Val Leu Val Ile Leu Glu Arg

65 70 75 80

His Arg His Thr Arg Ser Ser Thr Glu Thr Phe Leu Phe His Leu Ala

85 90 95

Val Ala Asp Leu Leu Val Phe Ile Leu Pro Phe Ala Val Ala Glu

100 105 110

Gly Ser Val Gly Trp Val Leu Gly Thr Phe Leu Cys Lys Thr Val Ile

115 120 125

Ala Leu His Lys Ile Asn Phe Tyr Cys Ser Ser Leu Leu Leu Ala Cys
 130 135 140

Ile Ala Val Asp Arg Tyr Leu Ala Ile Val His Ala Val His Ala Tyr
 145 150 155 160

Arg Arg Arg Arg Leu Leu Ser Ile His Ile Thr Cys Thr Ala Ile Trp
 165 170 175

Leu Ala Gly Phe Leu Phe Ala Leu Pro Glu Leu Leu Phe Ala Lys Val
 180 185 190

Gly Gln Pro His Asn Asn Asp Ser Leu Pro Gln Cys Thr Phe Ser Gln
 195 200 205

Glu Asn Glu Ala Glu Thr Arg Ala Trp Phe Thr Ser Arg Phe Leu Tyr
 210 215 220

His Ile Gly Gly Phe Leu Leu Pro Met Leu Val Met Gly Trp Cys Tyr
 225 230 235 240

Val Gly Val Val His Arg Leu Leu Gln Ala Gln Arg Arg Pro Gln Arg
 245 250 255

Gln Lys Ala Val Arg Val Ala Ile Leu Val Thr Ser Ile Phe Phe Leu
 260 265 270

Cys Trp Ser Pro Tyr His Ile Val Ile Phe Leu Asp Thr Leu Glu Arg
 275 280 285

Leu Lys Ala Val Asn Ser Ser Cys Glu Leu Ser Gly Tyr Leu Ser Val
 290 295 300

Ala Ile Thr Leu Cys Glu Phe Leu Gly Leu Ala His Cys Cys Leu Asn
 305 310 315 320

Pro Met Leu Tyr Thr Phe Ala Gly Val Lys Phe Arg Ser Asp Leu Ser
 325 330 335

Arg Leu Leu Thr Lys Leu Gly Cys Ala Gly Pro Ala Ser Leu Cys Gln
 340 345 350

Leu Phe Pro Asn Trp Arg Lys Ser Ser Leu Ser Glu Ser Glu Asn Ala
 355 360 365

Thr Ser Leu Thr Thr Phe

370

<210> 10

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> H1609; VH domain of 3D2 antibody

<400> 10

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Arg Arg Tyr Asn Pro Ala

 50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Glu Thr Ser Lys Asn Gln Val

65 70 75 80

Phe Leu Lys Ile Ala Asn Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

 85 90 95

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

 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

 115 120

<210> 11

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> H1609-CDR1

<400> 11

Thr Phe Gly Met Gly Val Gly

1 5

<210> 12

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> H1609-CDR2

<400> 12

His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Arg Arg Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 13

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> H1609-CDR3

<400> 13

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

1 5 10

<210> 14

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> H5188/H2177; VH domain from MAb 5378 and 5261

<400> 14

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 Phe Ser Leu Ser Thr Phe

20 25 30

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

35 40 45

Trp Ile Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Arg Arg Tyr Asn Pro Ala

50 55 60

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> L0293-CDR1

<400> 16

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Ser Gly Ile Ser Phe Met His

1 5 10 15

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> L0293-CDR2

<400> 17

Arg Ala Ser Asp Leu Glu Ser

1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> L0293-CDR3

<400> 18

Gln Gln Ser Asn Lys Asp Pro Trp Thr

1 5

<210> 19

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> L5153/L5140; VL domains from MAb 5378 and 5261

<400> 19

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Met
 20 25 30
 Gly Ile Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Phe Arg Ala Ser Asp Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
 85 90 95
 Lys Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 20

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> L5153-CDR1

<400> 20

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Met Gly Ile Ser Phe Met His
 1 5 10 15

<210> 21

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> L5055; VL domain of MAb 5080

<400> 21

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Ser
 20 25 30

Gly Ile Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

tcttgggtcca gatcacaact tca	23
<210> 25	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> TGF-beta antisense primer	
<400> 25	
cactgatagc cctgagtgr	19
<210> 26	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> IL-6 sense primer	
<400> 26	
gtgagcgctg aatcgaaa	18
<210> 27	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> IL-6 antisense primer	
<400> 27	
gaggatacca ctccaacag acc	23
<210> 28	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> beta-actin sense primer	
<400> 28	
atcactgacg ctgattgcac	20

<210> 29

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> beta-actin antisense primer

<400> 29

aaggccaacc gtgaaaagat

20