



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0077946
(43) 공개일자 2014년06월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/53 (2006.01) G01N 33/68 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) A61K 38/19 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-7011916(분할)
(22) 출원일자(국제) 2006년10월05일
심사청구일자 2014년05월30일
(62) 원출원 특허 10-2008-7011124
원출원일자(국제) 2006년10월05일
심사청구일자 2011년10월05일
(85) 번역문제출일자 2014년04월30일
(86) 국제출원번호 PCT/US2006/038756
(87) 국제공개번호 WO 2007/142667
국제공개일자 2007년12월13일
(30) 우선권주장
60/725,625 2005년10월13일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
휴먼 게놈 사이언시즈, 인코포레이티드
미국 델라웨어주 19808 뉴캐슬 월밍턴 스위트 400
센터빌 로드 2711
(72) 발명자
체브리어 마크
미국 메릴랜드주 21146 세버나 파크 싸우스웨이
113
프리에무쓰 윌리엄
미국 메릴랜드주 20882 가이더스버그 에섹스 뷰
드라이브 22321
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
장훈

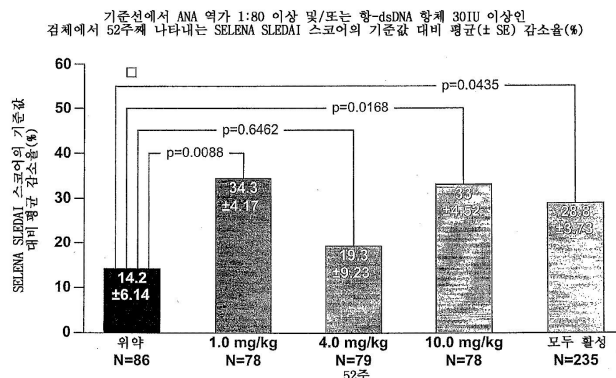
전체 청구항 수 : 총 56 항

(54) 발명의 명칭 자가항체 양성 질환 환자의 치료에 유용한 방법 및 조성물

(57) 요약

본 발명은 자가항체 양성 질환이 있는 환자의 치료에 유용한 방법 및 조성물에 관한 것이다. 구체적 양태에서, 본 발명은 뉴트로킨-알파 길항물질과 같은 면역조절제의 치료학적 유효량을 투여함을 포함하여, 혈장 또는 혈청 중에 항-dsDNA 항체 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 환자를 치료하는 방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 환자에게 투여되는 코르티코스테로이드의 빈도 및/또는 함량을 감소시키는 방법도 제공한다. 바람직한 양태에서, 환자는 전신홍반루푸스 환자이다. 또한, 루푸스 환자가 의약 치료제에 반응하는지를 측정하는 방법도 제공한다.

대표도



(72) 발명자

즈훙 즈헨샤오

미국 메릴랜드주 20878 노쓰 포토맥 #204 매러턴 테라스 9619

오텐헤이머 다니엘

미국 메릴랜드주 20850 록크빌 크로스 헤븐 코트 10206

퍼킨스 멜리사 디

미국 메릴랜드주 20874 저먼타운 포터필드 웨이 18809

(30) 우선권주장

60/725,626	2005년10월13일	미국(US)
60/725,627	2005년10월13일	미국(US)
60/725,628	2005년10월13일	미국(US)
60/725,629	2005년10월13일	미국(US)
60/735,963	2005년11월14일	미국(US)
60/735,964	2005년11월14일	미국(US)
60/735,967	2005년11월14일	미국(US)
60/735,987	2005년11월14일	미국(US)
60/735,988	2005년11월14일	미국(US)
60/776,658	2006년02월27일	미국(US)
60/776,659	2006년02월27일	미국(US)
60/776,660	2006년02월27일	미국(US)
60/776,664	2006년02월27일	미국(US)
60/776,665	2006년02월27일	미국(US)
60/781,387	2006년03월13일	미국(US)
60/787,557	2006년03월31일	미국(US)
60/797,351	2006년05월04일	미국(US)
60/797,360	2006년05월04일	미국(US)
60/814,869	2006년06월20일	미국(US)
60/814,870	2006년06월20일	미국(US)
60/815,558	2006년06월22일	미국(US)
60/815,559	2006년06월22일	미국(US)
60/815,827	2006년06월23일	미국(US)
60/834,150	2006년07월31일	미국(US)
60/834,152	2006년07월31일	미국(US)

특허청구의 범위

청구항 1

뉴트로킨-알파의 길항물질에 의한 치료 후보로서 자가면역 질환을 가진 환자를 동정하는 방법으로서,

(a) 자가면역 질환을 가진 환자로부터 혈장 또는 혈청 샘플을 수득하는 단계,

(b) 상기 샘플을 시험하여, 상기 샘플 중의 ANA 역가 및 항-dsDNA 항체의 수준을 측정하는 단계를 포함하고, 이때 상기 샘플 중의 ANA 역가가 1:80 이상이거나 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상인 환자를 뉴트로킨-알파의 길항물질에 의한 치료 후보로서 동정하고,

상기 뉴트로킨-알파의 길항물질이

(i) 항-뉴트로킨-알파 항체,

(ii) TACI (서열번호 6)의 뉴트로킨-알파 결합 도메인을 포함하는 단백질,

(iii) BCMA (서열번호 8)의 뉴트로킨-알파 결합 도메인을 포함하는 단백질,

(iv) BAFF-R (서열번호 10)의 뉴트로킨-알파 결합 도메인을 포함하는 단백질,

(v) 서열번호 26의 아미노산 잔기 2 내지 70과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 단백질 및

(vi) 서열번호 23, 서열번호 24 및 서열번호 25로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 뉴트로킨-알파-결합 펩타이드 또는 폴리펩타이드

로부터 선택됨을 특징으로 하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, (c) 혈장 또는 혈청 중의 ANA 역가가 1:80 이상이거나 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상인 것으로 측정된 환자에게 뉴트로킨-알파의 길항물질을 투여하는 단계를 추가로 포함함을 특징으로 하는 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질을 항-CD20 항체와 병용 투여함을 특징으로 하는 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 환자의 혈장 또는 혈청 중의 ANA 역가가 1:80 이상이고 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상임을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질이 항-뉴트로킨-알파 항체임을 특징으로 하는 방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질이 TACI(서열번호 6)의 뉴트로킨-알파 결합 도메인을 포함하는 단백질임을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질이 BCMA(서열번호 8)의 뉴트로킨-알파 결합 도메인을 포함하는 단백질임을 특징으로 하는 방법.

청구항 8

제1항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질이 BAFF-R(서열번호 10)의 뉴트로킨-알파 결합 도메인을 포함하는 단백질 또는 서열번호 26의 아미노산 잔기 2 내지 70과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 단백질을 특징으로 하는 방법.

청구항 9

제1항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질이 서열번호 23, 서열번호 24 및 서열번호 25로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 뉴트로킨-알파-결합 펩타이드 또는 폴리펩타이드임을 특징으로 하는 방법.

청구항 10

제2항에 있어서, 자가면역 질환이 전신홍반루푸스(SLE)임을 특징으로 하는 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질을 항-CD20 항체와 병용 투여함을 특징으로 하는 방법.

청구항 12

제1항에 있어서, 자가면역 질환이 류마티스성 관절염, 쇼그렌 증후군, 피부경화증, 다발성근염, 피부근염, 펠티(Felty) 증후군, 혼합결합조직질환, 레이노(Raynaud) 증후군 또는 소아만성관절염임을 특징으로 하는 방법.

청구항 13

제5항에 있어서, 항체가

- (a) 서열번호 13의 VH 도메인 및 VL 도메인;
- (b) 서열번호 14의 VH 도메인 및 VL 도메인;
- (c) 서열번호 15의 VH 도메인 및 VL 도메인;
- (d) 서열번호 16의 VH 도메인 및 VL 도메인;
- (e) 서열번호 17의 VH 도메인 및 VL 도메인;
- (f) 서열번호 18의 VH 도메인 및 VL 도메인;
- (g) 서열번호 19의 VH 도메인 및 서열번호 20의 VL 도메인; 및
- (h) 서열번호 21의 VH 도메인 및 서열번호 22의 VL 도메인

으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 VH 및 VL 도메인 세트의 아미노산 서열을 포함함을 특징으로 하는 방법.

청구항 14

뉴트로킨-알파의 길항물질에 의한 치료 후보로서 전신홍반루푸스를 가진 환자를 동정하는 방법으로서,

- (a) 전신홍반루푸스를 가진 환자로부터 혈장 또는 혈청 샘플을 수득하는 단계,
- (b) 상기 샘플을 시험하여, 상기 샘플 중의 ANA 역가 및 항-dsDNA 항체의 수준을 측정하는 단계를 포함하고, 이때 상기 샘플 중의 ANA 역가가 1:80 이상이거나 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상인 경우에 그 환자를 뉴트로킨-알파의 길항물질에 의한 치료 후보로서 동정하고,

상기 뉴트로킨-알파의 길항물질이

- (i) 항-뉴트로킨-알파 항체,
- (ii) TACI (서열번호 6)의 뉴트로킨-알파 결합 도메인을 포함하는 단백질,
- (iii) BCMA (서열번호 8)의 뉴트로킨-알파 결합 도메인을 포함하는 단백질,
- (iv) BAFF-R (서열번호 10)의 뉴트로킨-알파 결합 도메인을 포함하는 단백질,
- (v) 서열번호 26의 아미노산 잔기 2 내지 70과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 단백질 및
- (vi) 서열번호 23, 서열번호 24 및 서열번호 25로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 뉴트로킨-알파-결합 펩타이드 또는 폴리펩타이드

로부터 선택됨을 특징으로 하는 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, (c) 혈장 또는 혈청 중의 ANA 역가가 1:80 이상이거나 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상인 것으로 측정된 환자에게 뉴트로킨-알파의 길항물질을 투여하는 단계를 추가로 포함함을 특징으로 하는 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질을 항-CD20 항체와 병용 투여함을 특징으로 하는 방법.

청구항 17

제14항에 있어서, 환자가

- (a) SELENA SLEDAI 스코어 6 이상;
- (b) 혈장 또는 혈청 중의 C3 보체 인자의 저하된 수준;
- (c) 혈장 또는 혈청 중의 C4 보체 인자의 저하된 수준;
- (d) 프레드니손 7.5mg/일 이상을 투여받고 있는 환자; 및
- (e) 루푸스 관련 증후군의 치료를 위해 면역억제제 요법을 받고 있거나 또는 예전에 받았던 적이 있는 환자로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 적어도 하나의 특징을 보유함을 판정함을 포함하는 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 환자의 SELENA SLEDAI 스코어가 6 이상임을 판정함을 포함하는 방법.

청구항 19

제17항에 있어서, 환자의 혈장 또는 혈청 중에 C3 보체 인자가 90mg/dl 미만임을 판정함을 포함하는 방법.

청구항 20

제17항에 있어서, 환자의 혈장 또는 혈청 중에 C4 보체 인자가 16mg/dl 미만임을 판정함을 포함하는 방법.

청구항 21

제17항에 있어서, 환자가 7.5mg/일 이상의 프레드니손을 투여받고 있음을 판정함을 포함하는 방법.

청구항 22

제17항에 있어서, 환자가 루푸스 관련 증후군의 치료를 위해 면역억제제 요법을 받고 있거나 예전에 받았던 적이 있음을 판정함을 포함하는 방법.

청구항 23

제17항에 있어서, 판정이 환자의 의료 기록을 기초로 수행됨을 특징으로 하는 방법.

청구항 24

제17항에 있어서, 판정이 실험실 검사를 기초로 수행됨을 특징으로 하는 방법.

청구항 25

제14항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질이 항-뉴트로킨-알파 항체임을 특징으로 하는 방법.

청구항 26

제14항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질이 TACI(서열번호 6)의 뉴트로킨-알파 결합 도메인을 포함하는 단백질임을 특징으로 하는 방법.

청구항 27

제14항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질이 BCMA(서열번호 8)의 뉴트로킨-알파 결합 도메인을 포함하는 단백질을 특징으로 하는 방법.

청구항 28

제14항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질이 BAFF-R (서열번호 10)의 뉴트로킨-알파 결합 도메인을 포함하는 단백질 또는 서열번호 26의 아미노산 잔기 2 내지 70과 적어도 95% 동일한 아미노산을 포함하는 단백질을 특징으로 하는 방법.

청구항 29

제14항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질이 서열번호 23, 서열번호 24 및 서열번호 25로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 뉴트로킨-알파-결합 펩타이드 또는 폴리펩타이드임을 특징으로 하는 방법.

청구항 30

전신홍반루프스를 가진 환자에게 투여되는 코르티코스테로이드의 빈도 또는 용량을 감소시키는 방법으로서,

(a) 전신홍반루프스를 가진 환자로서 코르티코스테로이드가 1차 빈도 또는 용량으로 투여되고 있는 환자를 제공하는 단계;

(b) 상기 환자에게 뉴트로킨-알파의 길항물질의 치료학적 유효량을 투여하는 단계로서, 이때 상기 뉴트로킨-알파의 길항물질이

(i) 항-뉴트로킨-알파 항체,

(ii) TACI (서열번호 6)의 뉴트로킨-알파 결합 도메인을 포함하는 단백질,

(iii) BCMA (서열번호 8)의 뉴트로킨-알파 결합 도메인을 포함하는 단백질,

(iv) BAFF-R (서열번호 10)의 뉴트로킨-알파 결합 도메인을 포함하는 단백질,

(v) 서열번호 26의 아미노산 잔기 2 내지 70과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 단백질 및

(vi) 서열번호 23, 서열번호 24 및 서열번호 25로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 뉴트로킨-알파-결합 펩타이드 또는 폴리펩타이드

로부터 선택되는 단계; 및

(c) 상기 환자에게 코르티코스테로이드를 상기 1차 빈도 또는 용량보다 낮은 수준의 2차 빈도 또는 용량으로 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 31

제30항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질을 투여하기 전에, 환자가

(a) ANA 역가 1:80 이상;

(b) 혈장 또는 혈청 중의 항-dsDNA 항체 30IU/ml 이상;

(c) SELENA SLEDAI 스코어 6 이상;

(d) 혈장 또는 혈청 중의 C3 보체 인자의 저하된 수준;

(e) 혈장 또는 혈청 중의 C4 보체 인자의 저하된 수준;

(f) 프레드니손 7.5mg/일 이상을 투여받고 있는 환자; 및

(g) 루프스 관련 증후군의 치료를 위해 면역억제제 요법을 받고 있거나 또는 예전에 받았던 적이 있는 환자로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 적어도 하나의 특징을 보유함을 판정함을 포함하는 방법.

청구항 32

제31항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질을 투여하기 전에, 환자의 ANA 역가가 1:80 이상임을 판정함을 포함하는 방법.

청구항 33

제31항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질을 투여하기 전에, 환자의 혈장 또는 혈청 중의 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상임을 판정함을 포함하는 방법.

청구항 34

제31항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질을 투여하기 전에, 환자의 혈장 또는 혈청 중의 ANA 역가가 1:80 이상이고 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상임을 판정함을 포함하는 방법.

청구항 35

제31항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질을 투여하기 전에, 환자의 SELENA SLEDAI 스코어가 6 이상임을 판정함을 포함하는 방법.

청구항 36

제31항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질을 투여하기 전에, 환자의 혈장 또는 혈청 중의 C3 보체 인자가 90mg/dl 미만임을 판정함을 포함하는 방법.

청구항 37

제31항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질을 투여하기 전에, 환자의 혈장 또는 혈청 중의 C4 보체 인자가 16mg/dl 미만임을 판정함을 포함하는 방법.

청구항 38

제31항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질을 투여하기 전에, 환자가 7.5mg/일 이상의 프레드니손을 투여받고 있음을 판정함을 포함하는 방법.

청구항 39

제31항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질을 투여하기 전에, 환자가 루푸스 관련 증후군의 치료를 위해 면역억제제 요법을 받고 있거나 예전에 받았던 적이 있음을 판정함을 포함하는 방법.

청구항 40

제31항에 있어서, 판정이 환자의 의료 기록을 기초로 수행됨을 특징으로 하는 방법.

청구항 41

제31항에 있어서, 판정이 실험실 검사를 기초로 수행됨을 특징으로 하는 방법.

청구항 42

제30항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질이 항-뉴트로킨-알파 항체임을 특징으로 하는 방법.

청구항 43

제30항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질이 TACI(서열번호 6)의 뉴트로킨-알파 결합 도메인을 포함하는 단백질임을 특징으로 하는 방법.

청구항 44

제30항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질이 BCMA(서열번호 8)의 뉴트로킨-알파 결합 도메인을 포함하는 단백질임을 특징으로 하는 방법.

청구항 45

제30항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질이 BAFF-R (서열번호 10)의 뉴트로킨-알파 결합 도메인을 포함하는 단백질 또는 서열번호 26의 아미노산 잔기 2 내지 70과 적어도 95% 동일한 아미노산을 포함하는 단백질을 특징으로 하는 방법.

청구항 46

제30항에 있어서, 뉴트로킨-알파의 길항물질이 서열번호 23, 서열번호 24 및 서열번호 25로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 뉴트로킨-알파-결합 펩타이드 또는 폴리펩타이드임을 특징으로 하는 방법.

청구항 47

제30항에 있어서, 코르티코스테로이드가 프레드니손, 프레드니솔론, 하이드로코르티손, 메틸프레드니솔론 및 벡사메타손으로 이루어진 그룹 중에서 선택됨을 특징으로 하는 방법.

청구항 48

제30항에 있어서, 코르티코스테로이드가 프레드니손임을 특징으로 하는 방법.

청구항 49

제48항에 있어서, 환자에게 투여된 프레드니손의 용량이 7.5mg/일 이하로 적어도 25% 감소됨을 특징으로 하는 방법.

청구항 50

제14항에 있어서, 환자의 혈장 또는 혈청 중의 ANA 역가가 1:80 이상이고 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상임을 특징으로 하는 방법.

청구항 51

제25항에 있어서, 항체가

- (a) 서열번호 13의 VH 도메인 및 VL 도메인;
- (b) 서열번호 14의 VH 도메인 및 VL 도메인;
- (c) 서열번호 15의 VH 도메인 및 VL 도메인;
- (d) 서열번호 16의 VH 도메인 및 VL 도메인;
- (e) 서열번호 17의 VH 도메인 및 VL 도메인;
- (f) 서열번호 18의 VH 도메인 및 VL 도메인;
- (g) 서열번호 19의 VH 도메인 및 서열번호 20의 VL 도메인; 및
- (h) 서열번호 21의 VH 도메인 및 서열번호 22의 VL 도메인

으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 VH 및 VL 도메인 세트의 아미노산 서열을 포함함을 특징으로 하는 방법.

청구항 52

제42항에 있어서, 항체가

- (a) 서열번호 13의 VH 도메인 및 VL 도메인;
- (b) 서열번호 14의 VH 도메인 및 VL 도메인;
- (c) 서열번호 15의 VH 도메인 및 VL 도메인;
- (d) 서열번호 16의 VH 도메인 및 VL 도메인;

- (e) 서열번호 17의 VH 도메인 및 VL 도메인;
- (f) 서열번호 18의 VH 도메인 및 VL 도메인;
- (g) 서열번호 19의 VH 도메인 및 서열번호 20의 VL 도메인; 및
- (h) 서열번호 21의 VH 도메인 및 서열번호 22의 VL 도메인

으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 VH 및 VL 도메인 세트의 아미노산 서열을 포함함을 특징으로 하는 방법.

청구항 53

제17항에 있어서, 환자가 혈장 또는 혈청 중에 C3 보체 인자의 저하된 수준 및 C4 보체 인자의 저하된 수준을 나타냄을 판정함을 포함하는 방법.

청구항 54

제53항에 있어서, 환자의 혈장 또는 혈청 중에 C3 보체 인자가 90mg/dL 미만이고, 환자의 혈장 또는 혈청 중에 C4 보체 인자가 16mg/dL 미만임을 특징으로 하는 방법.

청구항 55

제33항에 있어서, 환자가 혈장 또는 혈청 중에 C3 보체 인자의 저하된 수준 및 C4 보체 인자의 저하된 수준을 나타냄을 판정함을 포함하는 방법.

청구항 56

제55항에 있어서, 환자의 혈장 또는 혈청 중에 C3 보체 인자가 90mg/dL 미만이고, 환자의 혈장 또는 혈청 중에 C4 보체 인자가 16mg/dL 미만임을 특징으로 하는 방법.

명세서

기술 분야

[0001] 본 출원은 면역조절제를 이용한 치료 시 더욱 유리할 것 같은 자가면역 질환 환자의 특별한 소그룹을 확인하기 위한 것이다.

배경 기술

[0002] 뉴트로킨-알파(neutrokin-alpha) 단백질(서열번호 2)은 APRIL(서열번호 4, 28.7%), TNF α (16.2%) 및 림포톡신- α (LT- α) (14.1%)와 아미노산 서열 동일성을 공유하는 TNF과 리간드의 일원이다(Moore et al., (1999) Science 285: 260-263). 뉴트로킨-알파는 과학잡지와 특허문헌에 B 림프구 자극인자(BLyS), B 세포 활성화 인자(BAFF), TNF- 및 ApoL 관련 백혈구 발현 리간드-1(TALL-1)을 비롯한 다양한 이름으로 공지되어 있다(Moore, et al., (1999) Science 285: 260--263; Schneider et al., (1999) J. Exp. Med. 189: 1747-1756; and Khare et al., (2000) Proc.Natl.Acad.Sci. 97: 3370-3375). 뉴트로킨-알파의 공식 명칭은 종양괴사인자(리간드) 상위계열 일원 13B(TNFSF13b)이다. 전장(full length)의 뉴트로킨-알파 유전자는 아미노산 47과 73 사이에 막관통 경유 도메인과 이어서 타입 II 막 결합 단백질의 특징인 비소수성 서열을 갖는 285개 아미노산 폴리펩타이드를 암호화한다. TNF과의 다른 일원들처럼, 뉴트로킨-알파는 삼량체 단백질로서 작용한다. 세포 표면에서 뉴트로킨-알파의 발현시, 세포의 영역이 134번 아미노산에서 절단되어 생물학적 활성인 삼량체를 방출한다.

[0003] 뉴트로킨-알파는 종양괴사인자 수용체 상위계열(Tumor Necrosis Factor Receptor Super Family) 유래의 3가지 다른 수용체에 결합하는 것으로 알려져 있다. 이러한 수용체들은 막관통 액티베이터(activator) 및 CAML 인터랙터(interactor) (TACI, GenBank 수탁번호 AAC51790, 서열번호 6), B 세포 활성화 인자 수용체, B 세포 성숙 항원(BCMA, GenBank 수탁번호 NP_001183, 서열번호 8) 및 (BAFF-R, GenBank 수탁번호 NP_443177, 서열번호 10)이다(Gross, et al., (2000) Nature 404:995-999; Thompson et al., (2001) Science 293:2108-2111; and Yan et al., (2000) Nature Immunol. 1:252-256). 이러한 수용체들의 발현은 주로 B 림프구에 제한되어 있다(Moore, et al., (1999) Science 285:260-263). 뉴트로킨-알파 효과의 대부분은 BAFF-R에 의해 매개되는 것으로 생각되

고 있는데, 그 이유는 B 세포 구획의 결합이 TACI 또는 BCMA 결손 마우스에서는 분명하지 않지만 뉴트로킨-알파 발현 또는 BAFF-R 발현에 결합이 있는 마우스에서는 뚜렷하기 때문이다(Schieman, et al., (2001) Science 292:2111-2114; Gross et al., (2001) Immunity 15:289-302; and Yan et al., (2000) Nature Immunol. 1:252-256).

[0004] 뉴트로킨-알파 단백질이 시험관내 및 생체내에서 분석되었을 때, 뉴트로킨-알파는 B 세포 증식, 분화 및 생존을 촉진하는 것으로 밝혀졌다. 또한, 뉴트로킨-알파는 또한 T 세포에 약간의 영향을 미치는 것으로 밝혀졌다(MacKay et al., (1999) J. Exp. Med. 190:1697-1710; Huard et al., (2001) J. Immunol. 167:6225-6231; Huard et al., (2004) Int. Immunol. 16:467-475; Ng et al., (2004) J. Immunol. 173:807-817). 뉴트로킨-알파를 유전자전이에 의해 과발현하도록 유전자조작된 마우스는 말초 B 세포의 수를 증가시켰고, 혈청 면역글로불린 농도를 증가시켰다. 또한, 뉴트로킨-알파 유전자전이된(transgenic) 마우스는 자가항체의 발생을 수반하는 사람 전신홍반루푸스 및 사구체신염에서 관찰되는 것과 유사한 자가면역 표현형을 제공했다(Moore, et al., (1999) Science 285:260-263; MacKay, et al., (1999) J. Exp. Med. 192:129-135). 이후의 연구들도 전신홍반루푸스, 류마티스성관절염 및 쇼그렌증후군과 같은 자가면역 질환 환자에서 혈청 및/또는 혈액 중의 뉴트로킨-알파 농도가 상향조절되었음을 보여주었다(Cheema et al., (2001) Arthritis Rheum. 44:1313-1319; Groom et al., (2002) J. Clin. Invest. 109:59-68; Mariette et al., (2003) Ann. Rheum. Dis 62:168-171). 따라서, 뉴트로킨-알파의 길항물질이 자가면역 질환의 치료에 치료 잠재성이 있음은 과학계의 일반적인 믿음이다.

[0005] 전신홍반루푸스(SLE 또는 "루푸스")는 이의 증상들이 극히 이질적인 자가면역 질환이다. 현재, SLE 환자를 진단하는 기준은 다음과 같은 11가지 기준을 포함한다; (1) 뺨나비발진, (2) 원반모양발진, (3) 광민감도, (4) 경구 궤양, (5) 관절염, (6) 장막염, (7) 신장 장애, (8) 신경 질환, (9) 혈액학적 장애, (10) 면역학적 장애 및 (11) 항핵 항체의 존재. 이러한 기준들은 본원에 전문이 참고인용되는 문헌[Tan et al., (1982) Arthritis Rheum. 25:1271-1277; and Hochberg et al., Arthritis Rheum. (1997) 40:1725]에 더 상세하게 설명되어 있다. 이러한 11가지 기준 중에서 임의의 4가지 기준을 보유하는 사람은 SLE로 진단될 수 있다. 따라서, 임상적으로 SLE 진단을 받은 개체는 중복되지 않는 증상이 있을 수 있다. 더욱이, 루푸스의 많은 증상들은 다른 질환의 증상과 중복된다. 예를 들어, 류마티스성관절염, 다발성근염-피부근염, 전신경화증(또는 전신피부경화증), 쇼그렌 증후군 및 다양한 형태의 혈관염은, 항핵 항체 및 항-dsDNA 항체를 비롯한 자가항체의 존재, 관절 통증 및 부종, 피부 발진, 및 기관 침범 등 중에서 하나 이상의 특징을 포함하는 루푸스와 증후군을 공유한다. 따라서, 실제로 루푸스 환자와 다른 유사 질환 환자의 정확한 진단에는 종종 어려움이 있다. 루푸스 질환의 진단에 어려움을 초래하는 또 다른 요인에는 이 질환이 빠르게 발달하지 않고, 차라리 시간을 두고 증상을 환자에게 축적시킨다는 사실이 포함된다. 또한, SLE는 환자마다 다양한 활성을 가진 질환이다. 때로, 이 질환은 정지성이고, 다른 경우에는 증상의 수 및/또는 중증도가 증가하여 "발작" 반응을 나타내는 환자도 있다. 마지막으로, 루푸스를 확정적으로 진단하는 실험실 검사는 전혀 없다. 따라서, 당해 기술분야에서는 특정 증상을 보유한 루푸스 환자의 소그룹을 확정할 수 있고, 이러한 소그룹의 환자와 이 소그룹의 환자에게 더욱 유리할 것 같은 치료법 사이에 상호관계를 만들어주는 것이 과제로 남아있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 발명의 개요

[0007] 임상 제2상 시험에서, 뉴트로킨-알파 단백질을 중화시키는 항체를 0일, 14일, 28일째 및 그 다음 52주째까지 4주에 한번씩 IV 주입물로 제공한 루푸스 환자의 치료법이, 혈장 또는 혈청 중에 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 환자의 소그룹에서 루푸스와 관련된 증상을 유의적으로 경감시킨다는 것을 발견했다(실시예 1 참조). 놀랍게도, 질환 활성을 측정하는 임상 종말점의 통계적으로 유의적인 개선(예컨대, 이하에 더 상세히 설명되는 SELENA SLEDAI 스코어의 감소)은 임상 시험에 등록된 모든 환자 집단이 아닌, 소그룹의 환자에서만 수득되었다. 즉, 본 발명은 뉴트로킨-알파의 길항물질과 같은 면역조절제를 이용한 치료에 더 잘 반응할 것 같은 환자의 소그룹을 동정하는 것에 관한 것이다.

[0008] 따라서, 일 양태에서, 본 발명은 면역조절제의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하여, 혈장 또는 혈청 중에 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 환자의 치료 방법을 제공한다. 상기 면역조절제는 이하에 더 상세하게 설명될 것이다. 구체적인 양태에 따르면, 면역조절제는 뉴트로킨-알파의 길항물질로서, 예컨대 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질 또는 이의 단편

이나 변이체, 뉴트로킨-알파 수용체에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 펩타이드 또는 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체(예, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 우성 음성 형태)가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 뉴트로킨-알파의 또 다른 길항물질에는 뉴트로킨-알파의 소분자 길항물질, 뉴트로킨-알파 펩타이드 모방체, 뉴트로킨-알파를 표적으로 하는 안티센스 RNA 및 짧은 간섭 RNA(siRNA), APRIL을 표적으로 하는 안티센스 RNA 및 짧은 간섭 RNA(siRNA), 뉴트로킨-알파의 수용체 및/또는 APRIL의 수용체를 표적으로 하는 안티센스 RNA 및 짧은 간섭 RNA(siRNA)가 있다. 뉴트로킨-알파 수용체에는, 예컨대 막관통 액티베이터 및 CAML 인터랙터(TACI, GenBank 수탁번호 AAC51790, 서열번호 6), B 세포 활성화 인자 수용체, B 세포 성숙 항원(BCMA, GenBank 수탁번호 NP_001183, 서열번호 8) 및 (BAFF-R, GenBank 수탁번호 NP_443177, 서열번호 10)이 있다.

[0009] 다른 양태에서, 본 발명은 면역조절제의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하여, 혈장 또는 혈청 중에 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 자가면역 질환 환자의 치료 방법을 제공한다. 혈장 또는 혈청 중에 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 환자를 동정할 수 있는 자가면역 질환의 예에는 전신홍반루푸스(SLE), 류마티스성 관절염, 쇼그렌(Sjogren) 증후군, 피부경화증, 다발성근염-피부근염, 펠티(Felty) 증후군, 혼합결합조직질환, 레이노(Raynaud) 증후군, 소아만성관절염, 사구체신염, 특발 혈소판감소 자색반병 및 IgA 신병증이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.

[0010] 구체적 양태에서, 본 발명은 면역조절제의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하여, 혈장 또는 혈청 중에 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 쇼그렌 증후군 환자의 치료 방법을 제공한다. 다른 구체적 양태에서, 본 발명은 뉴트로킨-알파의 길항물질을 치료학적 유효량으로 투여하는 것을 포함하여, 혈장 또는 혈청 중에 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 쇼그렌 증후군 환자의 치료 방법을 제공한다.

[0011] 구체적 양태에서, 본 발명은 면역조절제의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하여, 혈장 또는 혈청 중에 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 류마티스성 관절염 환자의 치료 방법을 제공한다. 다른 구체적 양태에서, 본 발명은 뉴트로킨-알파의 길항물질을 치료학적 유효량으로 투여하는 것을 포함하여, 혈장 또는 혈청 중에 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 류마티스성 관절염 환자의 치료 방법을 제공한다.

[0012] 구체적 양태에서, 본 발명은 면역조절제의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하여, 혈장 또는 혈청 중에 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 전신홍반루푸스(SLE) 환자의 치료 방법을 제공한다. 다른 구체적 양태에서, 본 발명은 뉴트로킨-알파의 길항물질을 치료학적 유효량으로 투여하는 것을 포함하여, 혈장 또는 혈청 중에 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 전신홍반루푸스(SLE) 환자의 치료 방법을 제공한다. 구체적 양태에서, 루푸스 환자는 미국 류마티스학회(ACR) 기준에 따라 SLE의 임상 진단을 받은 환자이다(예를 들면, Tan et al., Arthritis Rheum. 25: 1271-7, (1982); 및 Hochberg et al., Arthritis Rheum. 40: 1725(1997), 전문이 참고인용됨).

[0013] 또한, 본 발명은 면역조절제를 투여하기 전에, 환자가 혈장 또는 혈청 중의 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인지를 측정하는 단계를 포함하는 환자의 치료 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 뉴트로킨-알파의 길항물질을 투여하기 전에, 환자가 혈장 또는 혈청 중의 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인지를 측정하는 단계를 포함하는 환자의 치료 방법을 제공한다.

[0014] 다른 양태에서, 본 발명은 면역조절제를 투여하기 전에, 환자가 다음과 같은 특징 중 하나 이상의 특징을 보유하는지를 측정하는 단계를 포함하는, 루푸스 환자의 치료방법을 제공한다: 미국 류마티스 학회(ACR) 기준에 따른 SLE 임상 기준을 보유한 자(예컨대, Tan et al., Arthritis Rheum. 25: 1271-7, (1982); 및 Hochberg et al., Arthritis Rheum. 40: 1725(1997)); SELENA SLEDAI 스코어 ≥ 6 ; 자신의 혈장 또는 혈청 중의 저하된 C4 보체 수준; 자신의 혈장 또는 혈청 중의 저하된 C3 보체 수준; 1:80 이상의 ANA 역가; 자신의 혈장 또는 혈청 중에 항-dsDNA 항체 30IU/ml 이상; 루푸스 관련 증후군을 치료하기 위해 프레드니손 또는 다른 코르티코스테로이드를 매일 7.5mg 이상 투여받는 자; 및/또는 루푸스 관련 증후군의 치료를 위해 면역억제제 요법을 받고 있거나 이전에 받았던 자. 구체적 양태에서, 측정은 환자의 의료 기록의 평가를 바탕으로 해서 의료 종사자가 실시한다. 다른 구체적 양태에서, 측정은 실험실의 검사 결과를 바탕으로 해서 의료 종사자가 실시한다. 구체적 양태에서, 측정은 루푸스에 대한 환자의 과거 의약 치료(면역조절제를 이용한 의약 치료 포함)가 있다면, 이 치료로부터 수득된 실험실 검사 결과를 바탕으로 하여, 본 명세서에 기술된 면역조절제(예컨대, 뉴트로킨-알파의 길항물질)의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하는 의약 치료를 개시하기 전에 의료 종사자에 의해

실시된다.

- [0015] 다른 양태에서, 본 발명은 면역조절제의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하여, 혈장 또는 혈청 중에 항-dsDNA 항체 30IU/ml 이상 및/또는 ANA 역가 1:80 이상인 환자에게 투여되는 코르티코스테로이드의 빈도 및/또는 용량을 감소시키는 방법을 제공한다.
- [0016] 구체적 양태로서, 본 발명은 면역조절제의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하여, 혈장 또는 혈청 중에 항-dsDNA 항체 30IU/ml 이상 및/또는 ANA 역가 1:80 이상인 쇼그렌 증후군 환자에게 투여되는 코르티코스테로이드의 빈도 및/또는 용량을 감소시키는 방법을 제공한다. 다른 구체적 양태에서, 본 발명은 뉴트로킨-알파 길항물질의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하여, 혈장 또는 혈청 중에 항-dsDNA 항체 30IU/ml 이상 및/또는 ANA 역가 1:80 이상인 쇼그렌 증후군 환자에게 투여되는 코르티코스테로이드의 빈도 및/또는 용량을 감소시키는 방법을 제공한다.
- [0017] 구체적 양태에서, 본 발명은 면역조절제의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하여, 혈장 또는 혈청 중에 항-dsDNA 항체 30IU/ml 이상 및/또는 ANA 역가 1:80 이상인 류마티스성 관절염 환자에게 투여되는 코르티코스테로이드의 빈도 및/또는 용량을 감소시키는 방법을 제공한다. 다른 구체적 양태에서, 본 발명은 뉴트로킨-알파 길항물질의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하여, 혈장 또는 혈청 중에 항-dsDNA 항체 30IU/ml 이상 및/또는 ANA 역가 1:80 이상인 류마티스성 관절염 환자에게 투여되는 코르티코스테로이드의 빈도 및/또는 용량을 감소시키는 방법을 제공한다.
- [0018] 구체적 양태에서, 본 발명은 면역조절제의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하여, 혈장 또는 혈청 중에 항-dsDNA 항체 30IU/ml 이상 및/또는 ANA 역가 1:80 이상인 전신홍반루푸스(SLE) 환자에게 투여되는 코르티코스테로이드의 빈도 및/또는 용량을 감소시키는 방법을 제공한다. 또 다른 구체적 양태에서, 본 발명은 뉴트로킨-알파 길항물질의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하여, 혈장 또는 혈청 중에 항-dsDNA 항체 30IU/ml 이상 및/또는 ANA 역가 1:80 이상인 전신홍반루푸스(SLE) 환자에게 투여되는 코르티코스테로이드의 빈도 및/또는 용량을 감소시키는 방법을 제공한다. 구체적 양태에서, 루푸스 환자는 미국 류마티스학회(ACR) 기준에 따라 SLE의 임상 진단을 받은 환자이다(예를 들면, Tan et al., Arthritis Rheum. 25: 1271-7, (1982); 및 Hochberg et al., Arthritis Rheum. 40: 1725(1997), 전문이 참고인용됨).
- [0019] 또 다른 양태로서, 본 발명은 혈장 또는 혈청 중에 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 환자에게 투여되는 코르티코스테로이드의 용량을 7.5mg/일 이하로 25% 이상 감소시키는 방법을 제공한다. 구체적 양태에서, 코르티코스테로이드는 프레드니손, 프레드니솔론, 하이드로코르티손, 메틸프레드니솔론 및 텍사메타손으로 이루어진 그룹 중에서 선택된다. 또 다른 구체적 양태로서, 코르티코스테로이드는 프레드니손이다. 다른 양태로서, 본 발명은 항-뉴트로킨-알파 항체의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하여 자가면역 질환 환자에게 투여되는 코르티코스테로이드의 빈도 및/또는 용량을 감소시키는 방법을 제공한다.
- [0020] 류마티스성 관절염 환자에게 뉴트로킨-알파 단백질을 중화시키는 항체를 0일, 14일, 28일과 그 다음 24주째까지 4주마다 IV 주입으로서 투여하여 치료하는 다른 임상 제2상 시험(실시예 3)에서, 치료는 DAS28 스코어가 5.1보다 큰 환자, 이전에 항-TNF 항체를 투여받은 적이 없는 환자, 및/또는 뉴트로킨-알파 단백질을 중화시키는 항체를 이용한 치료를 개시하기 전에 혈장 및/또는 혈청 중에 류마티스성 인자를 보유한 환자의 류마티스성 관절염과 관련 있는 증후군을 경감시킬 가능성이 더욱 크다. 뉴트로킨-알파 단백질을 중화시키는 항체를 이용한 치료에 반응할 가능성이 더 큰 것으로 보이는 류마티스성 관절염 환자 또는 추가 아군으로는, 남성 환자, 혈장 및/또는 혈청에 항-CCP(cyclic citrullinated peptide) 항체를 보유한 환자, 뉴트로킨-알파 단백질을 중화시키는 항체와 동반하여 메토틱렉세이트를 투여받은 환자, 과거 메토틱렉세이트 치료의 실패를 경험한 환자, 및/또는 과거 메토틱렉세이트 치료 및 적어도 하나의 다른 DMARD 치료의 실패를 경험한 환자가 포함된다.
- [0021] 다른 양태로서, 본 발명은 의약 치료제의 투여 전에 환자의 SELENA SLEDAI, BILAG 및 PGA 스코어를 측정하고; 의약 치료제를 투여하고; 의약 치료제의 투여 후에 환자의 SELENA SLEDAI, BILAG 및 PGA 스코어를 측정하는 것을 포함하여, 루푸스 환자가 의약 치료제에 반응하는지를 측정하는 방법을 제공한다. 이 방법에서, 환자는 의약 치료제의 투여 후에 측정된 환자의 SELENA SLEDAI 스코어가 의약 치료제의 투여 전에 SELENA SLEDAI 스코어보다 4 포인트 이상 적은 경우; 의약 치료제를 투여한 후에 측정된 환자의 BILAG 지수 스코어가 의약 치료제를 투여하기 전에 측정된 BILAG 스코어와 비교했을 때 새로운 BILAG A 기관 영역 스코어 또는 2개의 새로운 BILAG B 기관 영역 스코어를 포함하지 않는 경우; 의약 치료제를 투여한 후에 측정된 PGA 스코어가 의약 치료제를 투여하기 전에 측정된 PGA 스코어보다 <0.3 포인트 더 높은 경우에, 의약 치료제에 반응한 것으로서 간주할 수 있다.

[0022] 따라서, 일 양태에서, 본 발명은 면역조절제를 투여하기 전에, 류마티스성 관절염 환자가 다음과 같은 특징 중 하나 이상의 특징을 보유하고 있는지를 측정하는 단계를 포함하는, 류마티스성 관절염 환자의 치료 방법을 제공한다: 과거 항-TNF 요법, 예컨대 인플릭시마브(Infliximab, Remicade™ Centocor, Inc.로도 알려져 있음), 아다리무마브(Humira®, Abbott Laboratories 제품) 또는 에타너셉트(Enbrel®)을 투여받은 적이 없는 환자; 혈장 및/또는 혈청에 류마티스성 인자를 보유하는 환자; 혈장 및/또는 혈청에 측정가능한 항-CCP(cyclic citrullinated peptide) 항체를 보유한 환자; 혈장 및/또는 혈청에 상승한 CRP(C reactive protein) 수준을 보유한 환자; 과거 1 이상의 질환 조절 항류마티스약물 치료에 실패한 경험이 있는 환자; 높은 조절된 질환 활성 스코어(DAS28)를 보유한 환자; 종창성 및 압통 관절을 보유한 환자; 조조경직을 앓고 있는 환자; 적혈구침강속도(ESR)가 증가된 환자 및/또는 남성 환자.

[0023] 다른 양태로서, 본 발명은 치료학적 유효량의 항체, 약 5mM 내지 약 50mM 함량의 완충액, 약 150mM 내지 약 500mM 함량의 NaCl, 약 0.003% 내지 약 0.05% 함량의 계면활성제를 포유하고 pH 약 5.5 내지 약 6.5 사이인 수성 약제학적 제형을 제공한다. 구체적 양태에서, 상기 제형 중의 항체는 IgG1/람다 동종형(isotype)을 보유하는 항체이다. 또 다른 양태에서, 상기 제형 중의 항체는 IgG1/람다 동종형을 보유하는 사람 항체이다. 상기 제형 중의 완충액은 10mM 히스티딘 또는 구연산나트륨이며, 상기 제형 중의 계면활성제는 0.01% w/v 함량의 폴리소르베이트 80이며, 상기 제형 중의 NaCl은 약 150mM의 농도로 존재하고, 제형의 pH 6.0인 것이다. 다른 구체적 양태에서, 상기 조성물은 약 2 내지 8℃의 온도에서 적어도 1년 동안 안정한 것이다. 다른 양태에서, 상기 조성물 중의 항체는 100mg/ml의 함량으로 존재한다.

[0024] 구체적 양태에서, 본 발명은 IgG1/λ 항체 100mg/ml, L-히스티딘 0.74mg/ml, L-히스티딘 모노하이드로클로라이드 1.1mg/ml, NaCl 8.8mg/ml 및 폴리소르베이트 80 0.1mg/ml을 함유하고 pH가 6.0인 수성 약제학적 조성물을 제공한다.

과제의 해결 수단

[0025] 정의

[0026] 일 관점에서, 본 발명은 일반적으로 면역조절제의 치료학적 유효량을 투여하여 자가항체 양성 질환 환자를 치료하는 방법에 관한 것이다. 자가항체 양성 질환 환자는 혈장 또는 혈청 또는 활액과 같은 하나 이상의 생물학적 유체 샘플에서 검출할 수 있는 자가항체 역가를 가진 환자이다.

[0027] 본 명세서에 사용된 "면역조절제"란 언급은 면역계를 자극 또는 억제할 수 있는 약제학적 화합물의 일반적인 부류를 의미한다. 본 명세서의 실제 실시예에서는 루푸스 환자의 아군의 치료에 성공적으로 사용된 길항작용성 항-뉴트로킨-알파 항체를 예시한다. 즉, "면역조절제"란 용어는 구체적으로 뉴트로킨-알파의 길항물질로서 작용할 수 있는 약제학적 화합물 또는 분자를 포함시키고자 한 것이다. 뉴트로킨-알파의 길항물질에는 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질 또는 이의 단편 또는 변이체, 뉴트로킨-알파 수용체에 결합하는 항체 또는 이의 항원결합 단편, 및 뉴트로킨-알파 결합 펩타이드 또는 폴리펩타이드가 포함되나, 이에 국한되는 것은 아니다. 뉴트로킨-알파 수용체에는, 예컨대 막관통 액티베이터 및 CAML 인터랙터(TACI, GenBank 수탁번호 AAC51790), BAFF-R(GenBank 수탁번호 NP_443177), 및 B 세포 성숙 항원(BCMA, GenBank 수탁번호 NP_001183)이 있다. 특히 유용한 뉴트로킨-알파 수용체 형태에는 세포의 영역의 가용성 형태가 포함된다. 뉴트로킨-알파 수용체 또는 이의 단편이나 변이체 및 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드는 융합 단백질로서, 예컨대 Fc 또는 사람 혈청 알부민(HSA) 융합 단백질로서 사용될 수 있다. 또 다른 뉴트로킨-알파 길항물질에는 뉴트로킨-알파 소분자 길항물질, 뉴트로킨-알파 펩타이드 모방체, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체(예, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 우성 음성 형태)가 포함된다. 이러한 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체는 뉴트로킨-알파 기능과 길항작용할 수 있는 것으로서, 예컨대 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 동종 또는 이종 다량체화를 방해하는 작용을 할 수 있다. 대안적으로, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체는 이들을 함유하는 폴리펩타이드가 TACI, BCMA 및 BAFF-R과 같은 뉴트로킨-알파 수용체에 결합하고/하거나 그 수용체를 통한 시그널링을 방해할 것이다. 뉴트로킨-알파의 또 다른 길항물질에는 뉴트로킨-알파의 소분자 길항물질, 뉴트로킨-알파 펩타이드 모방체, 뉴트로킨-알파를 표적으로 하는 안티센스 RNA 및 짧은 간섭 RNA(siRNA), APRIL을 표적으로 하는 안티센스 RNA 및 짧은 간섭 RNA(siRNA), 뉴트로킨-알파의 수용체 및/또는 APRIL의 수용체를 표적으로 하는 안티센스 RNA 및 짧은 간섭 RNA(siRNA)가 있다. 뉴트로킨-알파의 길항물질에 대해서는 이하에 더욱 상세히 설명될 것이다.

- [0028] 항-뉴트로킨-알파 항체는 면역글로불린 분비와 같은 B 세포 활성화 및/또는 B 세포 수를 저하시켜 작용하는 것으로 생각된다. 따라서, "면역조절제"란 용어는 구체적으로 B 세포 조절제, 특히 B 세포 활성화(예, B 세포 증식, 분화, 생존 또는 면역글로불린 분비) 및/또는 B 세포 수를 직접 또는 간접적으로 억제하거나 감소시키는 약제학적 분자 및 화합물을 포함시키고자 한 것이다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 관련하여 사용할 수 있는 B 세포 조절제는 총 B 세포, 활성화된 B 세포, 비감작(naive) B 세포, 기억 B 세포, 혈장 B 세포 및 형질세포양(plasmacytoid) B 세포, CD19+ B 세포 및/또는 CD20+ B 세포의 활성화 또는 수를 감소시키는 제제이다.
- [0029] 면역계는 상호작용성 세포와 사이토킨의 복잡한 망상구조이다. 예를 들어, 항원 제공 세포(APC, 예컨대 대식세포 및 수지상 세포) 및 T 세포, 구체적으로 CD4+ T 헬퍼(Th) 세포는 증식 및 항체(특정 질환 환경에서의 자가항체 포함) 분비를 위한 B 세포 활성화 역할을 한다. 즉, APC 또는 Th 세포 수 또는 활성을 감소시키거나 또는 억제하여 B 세포 활성을 억제하는 것이 가능하다. 이와 마찬가지로, Th1 및 Th2 반응과 같은 여러 종류의 면역 반응이 존재하는 것으로 알려져 있다. 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 면역조절제는 다른 종류보다 한 종류의 면역반응을 촉진할 수 있고, 이로써 자가항체 양성 질환 환자의 치료에 유리한 영향을 미친다. 따라서, 가장 광범위한 의미에서, "면역조절제"란 용어는 선천적 및/또는 후천적 면역계의 일부인 세포, 세포 표면 분자(예, 세포 표면 시그널링 분자) 및 사이토킨을 비롯하여 면역계의 하나 이상의 세포, 세포 표면 분자(예, 세포 표면 시그널링 분자) 및/또는 사이토킨의 활성화 또는 함량을 자극 또는 억제하는 약제학적 분자 또는 화합물을 포함시키고자 한 것이다. 이러한 면역계의 세포에는 B 세포, T 세포, 수지상 세포, 단핵구, 대식세포, 호중구, 호산구, 호염기구, 비만 세포 및 천연 킬러(NK) 세포 등이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 면역조절제에 의해 자극 또는 억제될 수 있는 면역계 세포 표면 상의 세포 표면 분자에는 CD20과 같은 CD 항원이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 면역계에 중요한 사이토킨에는 뉴트로킨-알파, APRIL 및 CD40L 등을 비롯한 TNF 리간드 상위 계열의 일원이 포함되나, 이에 국한되는 것은 아니다.
- [0030] **발명의 상세한 설명**
- [0031] 전신홍반루푸스 환자의 임상 제2상 시험에서, 본 발명자들은 뉴트로킨-알파 단백질을 중화시키는 항체를 0일, 14일, 28일 및 그 다음 52주까지 4주마다 IV 주입물로서 투여한 치료가, 혈장이나 혈청 중에 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 환자에서 루푸스와 관련된 증상을 유의적으로 경감시켰음을 발견했다(실시예 1 참조).
- [0032] 따라서, 본 발명의 특정 양태는 혈장이나 혈청 중에 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 전신홍반루푸스 환자를 뉴트로킨-알파의 항체 길항물질로 치료하는 방법을 제공한다. 하지만, 당업자라면, 항체 분자가 뉴트로킨-알파의 길항물질로서 작용할 수 있는 다양한 분자 중의 하나일뿐이라는 것을 잘 알고 있을 것이다. 따라서, 본 발명의 다른 구체적 양태는 혈장이나 혈청 중에 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 전신홍반루푸스 환자를 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료하는 방법을 제공한다.
- [0033] 뉴트로킨-알파 길항물질에는 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질 또는 이의 단편이나 변이체, 뉴트로킨-알파 수용체에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 뉴트로킨-알파 결합 펩타이드 또는 폴리펩타이드를 함유하는 조성물이 포함되나, 이에 국한되는 것은 아니다. 뉴트로킨-알파 수용체에는 예컨대 막관통 액티베이터 및 CAML 인터랙터(TACI, GenBank 수탁번호 AAC51790), BAFF-R(GenBank 수탁번호 NP_443177), 및 B 세포 성숙 항원(BCMA, GenBank 수탁번호 NP_001183)이 있다. 특히 유용한 뉴트로킨-알파 수용체 형태에는 뉴트로킨-알파에 결합할 수 있는 세포의 영역의 가용성 형태가 포함된다. 뉴트로킨-알파 수용체 또는 이의 단편이나 변이체 및 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드는 융합 단백질로서, 예컨대 Fc 또는 사람 혈청 알부민(HSA) 융합 단백질로서 사용될 수 있다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. TACI-Fc 단백질의 일 예는 IgG1 면역글로불린 분자의 Fc 영역에 융합된 서열번호 10의 아미노산 1 내지 70이다. 경우에 따라, BAFF-R의 아미노산 20(발린)은 아스파라긴으로 치환되고, BAFF-R의 아미노산 27(류신)은 프롤린으로 치환된다. 서열번호 26은 이러한 2가지 아미노산 변화를 보유하는 BAFF-R의 아미노산 1-70을 나타낸다.
- [0034] 또 다른 뉴트로킨-알파 길항물질에는 뉴트로킨-알파 소분자 길항물질, 뉴트로킨-알파 펩타이드 모방체, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체(예, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 우성 음성 형태)가 포함된다. 이러한 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체는 뉴트로킨-알파 기능과 길항작용할 수 있는 것으로서, 예컨대 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 동종 또는 이종 다량체화를 방해하는 작용을 할 수 있다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 작용하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다. 대안

적으로, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체는 이들을 함유하는 폴리펩타이드가 TACI, BCMA 및 BAFF-R과 같은 뉴트로킨-알파 수용체에 결합하고/하거나 그 수용체를 통한 시그널링을 방해할 것이다. 뉴트로킨-알파의 또 다른 길항물질에는 뉴트로킨-알파의 소분자 길항물질, 뉴트로킨-알파 펩타이드 모방체, 뉴트로킨-알파를 표적으로 하는 안티센스 RNA 및 짧은 간섭 RNA(siRNA), APRIL을 표적으로 하는 안티센스 RNA 및 짧은 간섭 RNA(siRNA), 뉴트로킨-알파의 수용체 및/또는 APRIL의 수용체를 표적으로 하는 안티센스 RNA 및 짧은 간섭 RNA(siRNA)가 있다. 뉴트로킨-알파의 길항물질에 대해서는 이하에 더욱 상세히 설명될 것이다.

[0035] 이와 마찬가지로, 당업자는 다른 면역조절제, 예컨대 특히 B 세포 활성 또는 수를 조절할 수 있는 분자가 본 발명에 유용하게 사용될 수 있음을 잘 알고 있을 것이다. 구체적 양태로서, 본 발명의 방법에 관련하여 사용할 수 있는 B 세포 조절제는 B 세포 활성(예, B 세포 증식, 분화, 생존 또는 면역글로불린 분비) 및/또는 B 세포 수를 직접 또는 간접적으로 억제하거나 감소시키는 제제이다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 관련하여 사용할 수 있는 B 세포 조절제는 총 B 세포, 활성화된 B 세포, 비감작 B 세포, 기억 B 세포, 혈장 B 세포 및 형질세포 양 B 세포, CD19+ B 세포 및/또는 CD20+ B 세포의 활성 또는 수를 감소시키는 제제이다. 본 발명에 사용될 수 있는 면역조절 분자 및 B 세포 조절 분자는 당업자에게 공지되어 있고, 이하에 더 상세하게 설명된다.

[0036] 다른 양태로서, 본 발명은 뉴트로킨-알파의 항체 길항물질의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하여, "활성" 전신홍반루푸스(SLE 또는 "루푸스")를 보유한 전신홍반루푸스 환자의 아군에 속하는 환자의 치료 방법을 제공한다. 구체적 양태로서, 본 발명은 뉴트로킨-알파의 항체 길항물질의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하여, 루푸스 진단을 받은 적이 있고 활성 루푸스를 보유하는 환자의 치료 방법을 제공한다. 본 발명은 뉴트로킨-알파의 항체 길항물질의 치료학적 유효량을 투여하기 전에 환자가 "활성 루푸스"를 보유하고 있는지를 측정하는 단계를 포함하여, 활성 전신홍반루푸스(SLE 또는 "루푸스") 질환을 보유하는 전신홍반루푸스 환자의 아군에 속하는 환자의 치료 방법을 제공한다. 구체적 양태로서, 본 발명은 뉴트로킨-알파의 항체 길항물질의 치료학적 유효량을 투여하기 전에 활성 루푸스를 보유하고 환자가 과거에 루푸스 진단을 받은 적이 있는지를 측정하는 단계를 포함하여, 과거에 루푸스 진단을 받은 적이 있고 활성 루푸스를 보유하는 환자의 치료 방법을 제공한다.

[0037] 다른 양태로서, 본 발명은 뉴트로킨-알파의 길항물질 또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하여, "활성" 전신홍반루푸스(SLE 또는 "루푸스") 질환을 보유한 전신홍반루푸스 환자의 아군에 속하는 환자의 치료 방법을 제공한다. 구체적 양태로서, 본 발명은 뉴트로킨-알파의 길항물질 또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하여, 루푸스 진단을 받은 적이 있고 활성 루푸스를 보유하는 환자의 치료 방법을 제공한다. 본 발명은 뉴트로킨-알파의 길항물질 또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제의 치료학적 유효량을 투여하기 전에 환자가 "활성 루푸스"를 보유하고 있는지를 측정하는 단계를 포함하여, 활성 전신홍반루푸스(SLE 또는 "루푸스") 질환을 보유하는 전신홍반루푸스 환자의 아군에 속하는 환자의 치료 방법을 제공한다. 구체적 양태로서, 본 발명은 뉴트로킨-알파의 길항물질 또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제의 치료학적 유효량을 투여하기 전에 활성 루푸스를 보유하고 환자가 과거에 루푸스 진단을 받은 적이 있는지를 측정하는 단계를 포함하여, 과거에 루푸스 진단을 받은 적이 있고 활성 루푸스를 보유하는 환자의 치료 방법을 제공한다.

[0038] 구체적 양태에서, 활성 루푸스를 보유하는 환자는 미국 류마티스학회(ACR) 기준에 따라 SLE의 임상 진단을 받은 환자로서 정의된다(예를 들면, Tan et al., Arthritis Rheum. 25: 1271-7, (1982); 및 Hochberg et al., Arthritis Rheum. 40: 1725(1997), 전문이 참고인용됨).

[0039] 구체적 양태에서, 활성 루푸스를 보유하는 환자는 SELENA SLEDAI 스코어가 4 이상인 환자로서 정의된다. SELENA SLEDAI는 홍반루푸스 국립 평가 시험에 에스트로겐 안전성을 포함하는 것으로서, 전신홍반루푸스 질환 활성 지수(Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index, as modified by the Safety of Estrogen in Lupus Erythematosus National Assessment trial)를 나타낸다. SELENA SLEDAI 스코어는 당업계에 공지된 기술과 방법을 이용하여 임상시험자/의사가 통상적으로 측정하는 값이다[예컨대, Bombardier, et al., Arthritis Rheum. Jun;35(6):630-40, 1992; and Strand, et al., J Rheumatol. Feb;26(2):490-7, 1999 참조, 둘 다 전문이 본 발명에 참고인용됨]. 간략히 설명하면, SELENA SLEDAI 스코어는 9가지 기관계를 따라 나타나는 24가지 카테고리의 SLE 질환 활성을 고찰하여 측정한다. 일부 기관계 스코어의 질환은 다른 기관계의 질환보다 훨씬 더 심하게 가중된다. 구체적으로, 중추신경계와 혈관의 SLE 질환 활성 측정값은, 존재한다면, 8포인트로 지정되고, 신장 및 근골격계 SLE 질환 활성 측정값은, 존재한다면, 4포인트로 지정되며, 장막, 피부 및 면역학적 SLE 질환 활성 측정값은, 존재한다면, 2포인트로 지정되며, 구성적 혈액학적 SLE 질환 활성 측정값은, 존재한다면, 1포인트로

지정된다. 이론적 최대 SELENA SLEDAI 스코어는 105이지만, 실제 45보다 큰 스코어를 가진 환자는 거의 없다.

[0040] 표준 SELENA SLEDAI 스코어링 시스템에서, 4포인트는 검체의 단백뇨가 0.5g/24시간보다 많이 최근 또는 신규 증가된 경우에 지정된다. 환언하면, 어떤 24시간 소변 샘플에서 수득된 단백뇨 값이 그 환자의 24시간 직전의 소변 샘플에서 측정된 값보다 0.5g 넘게 큰 경우, 이 SELENA SLEDAI 스케일 측면에서 단백뇨에 4 포인트가 지정될 것이다. 이것은 일반적으로 ">0.5 g/24시간"인 단백뇨의 증가 또는 신규 개시로서 설명되고 있다. 따라서, 표준 SELENA SLEDAI 스코어링 시스템 하에, 단백뇨의 기준값이 4포인트로 지정된 검체는 금일 24시간 소변 샘플의 단백뇨 값이 환자의 24시간 직전의 소변 샘플에서 측정된 단백뇨 값보다 0.5g 이하라면 향후 방문에서 향상된 SELENA SLEDAI를 보유할 것이다. 환언하면, 환자는 안정한 단백뇨 또는 단백뇨 증가가 $\leq 0.5\text{g}/24\text{시간}$ 인 상황에서도 단백뇨의 총 스코어로부터 추론되어 4 포인트로 지정될 수 있다. SELENA SLEDAI 단백뇨 스코어링 규칙의 변형은 실시예 2에 설명된다. 실시예 2에서, 단백뇨 스코어링은 현재 24시간 소변 샘플에서 측정된 단백뇨가 24시간 직전에 환자의 소변 샘플에서 측정된 단백뇨 값보다 0.5g이 넘게 낮지 않다면 계속해서 4포인트로 지정되도록 변형되었다. 또한, $>0.5\text{g}/24\text{시간}$ 인 단백뇨의 증가 또는 단백뇨의 새로운 개시가 있다면 4포인트로 지정된다. 본 명세서에서, SELENA SLEDAI 스케일을 말할 때에는 표준 SELENA SLEDAI 스케일에 따라서 단백뇨 스코어링이 수행될 수 있다. 환자의 SELENA SLEDAI 스코어 측정 시 단백뇨의 스코어링은 실시예 2에 기술된 단백뇨 스코어링 시스템에 따라 수행되는 것이 바람직하다.

[0041] 다른 구체적 양태에서, 활성 루푸스 환자는 SELENA SLEDAI 스코어가 ≥ 5 인 환자로서 정의된다. 또 다른 구체적 양태에서, 활성 루푸스 환자는 SELENA SLEDAI 스코어가 ≥ 6 인 환자로서 정의된다. 또 다른 구체적 양태에서, 활성 루푸스 환자는 SELENA SLEDAI 스코어가 ≥ 7 인 환자로서 정의된다. 다른 구체적 양태에서, 활성 루푸스 환자는 SELENA SLEDAI 스코어가 ≥ 8 인 환자로서 정의된다. 다른 구체적 양태에서, 활성 루푸스 환자는 SELENA SLEDAI 스코어가 ≥ 9 인 환자로서 정의된다. 또 다른 구체적 양태에서, 활성 루푸스 환자는 SELENA SLEDAI 스코어가 ≥ 10 인 환자로서 정의된다. 또 다른 구체적 양태에서, 활성 루푸스 환자는 SELENA SLEDAI 스코어가 ≥ 11 인 환자로서 정의된다. 또 다른 구체적 양태에서, 활성 루푸스 환자는 SELENA SLEDAI 스코어가 ≥ 11 인 환자로서 정의된다. 또 다른 구체적 양태에서, 활성 루푸스 환자는 SELENA SLEDAI 스코어가 ≥ 12 인 환자로서 정의된다.

[0042] 다른 양태에서, 활성 루푸스 환자는 자신의 혈장 또는 혈청에 항-dsDNA 항체를 보유하는 환자로서 정의된다. 항-dsDNA 항체 역가, 농도 또는 수준은 임상시험가/의사가 당업계에 공지된 기술과 방법을 통해 통상적으로 측정할 수 있다. 항-dsDNA 항체 역가, 농도 또는 수준을 측정하는 분석법의 일 예는 고정된 dsDNA에 대한 항-dsDNA 항체의 특이적 결합을 기초로 하는 효소-결합된 면역흡착분석법(ELISA)이다(예컨대, Halbert, et al., J Lab Clin Med. 97: 97-111(1981) 참조). 항-dsDNA 항체 역가, 농도 또는 수준을 측정하는 분석법의 다른 일 예는 크리티디아 루실리에(*Crithidia luciliae*) 세포의 dsDNA에 대한 항-dsDNA 항체의 특이적 결합을 기초로 하는 간접 면역형광 분석법이다(예컨대, Whiteside, et al., Am J Clin Pathol. 72: 829-35(1979) 참조). 항-dsDNA 항체 역가, 농도 또는 수준을 측정하는 분석법의 또 다른 예는 방사능표지된 dsDNA에 대한 항-dsDNA 항체의 특이적 결합, 및 그 다음 항-dsDNA 항체-방사능표지된 dsDNA 복합체의 침전을 기초로 하는 파르(Farr) 분석법이다(예컨대, Davis, et al., Am J Clin Pathol., 67: 374-8, (1977) 참조). 구체적 양태에서, 활성 루푸스 환자는 자신의 혈장 또는 혈청에 항-dsDNA 항체가 30국제단위(International Unit; IU)/ml 이상인 환자로서 정의되며, 여기서 국제단위(IU)는 세계보건기구의 항-dsDNA 항체 참조물질 제조를 기준으로 한다(예컨대, Feltkamp, et al., Ann.Rheum.Dis., 47: 740-746(1988) 참조). 본 단락에 인용된 모든 참조문헌은 그 전문이 본 발명에 참고 인용된다.

[0043] 다른 구체적 양태에서, 활성 루푸스 환자는 자신의 혈장 또는 혈청에 항-dsDNA 항체를 40IU/ml 이상 보유하는 환자로서 정의된다. 또 다른 구체적 양태에서, 활성 루푸스 환자는 자신의 혈장 또는 혈청에 항-dsDNA 항체를 50IU/ml 이상 보유하는 환자로서 정의된다. 또 다른 구체적 양태에서, 활성 루푸스 환자는 자신의 혈장 또는 혈청에 항-dsDNA 항체를 60IU/ml 이상 보유하는 환자로서 정의된다. 또 다른 구체적 양태에서, 활성 루푸스 환자는 자신의 혈장 또는 혈청에 항-dsDNA 항체를 75IU/ml 이상 보유하는 환자로서 정의된다. 또 다른 구체적 양태에서, 활성 루푸스 환자는 자신의 혈장 또는 혈청에 항-dsDNA 항체를 100IU/ml 이상 보유하는 환자로서 정의된다. 또 다른 구체적 양태에서, 활성 루푸스 환자는 자신의 혈장 또는 혈청에 항-dsDNA 항체를 125IU/ml 이상 보유하는 환자로서 정의된다. 또 다른 구체적 양태에서, 활성 루푸스 환자는 자신의 혈장 또는 혈청에 항-dsDNA 항체를 150IU/ml 이상 보유하는 환자로서 정의된다. 또 다른 구체적 양태에서, 활성 루푸스 환자는 자신의 혈장 또는 혈청에 항-dsDNA 항체를 200IU/ml 이상 보유하는 환자로서 정의된다. 또 다른 구체적 양태에서, 활성 루푸스 환자는 자신의 혈장 또는 혈청에 항-dsDNA 항체를 300IU/ml 이상 보유하는 환자로서 정의된다.

[0044] 다른 구체적 양태에서, 활성 루푸스 환자는 자신의 혈장 또는 혈청에 항핵 항체(ANA+)를 보유한 환자로서 정의

된다. 항핵 항체 역가는 임상시험가/의사에 의하여 당업계에 공지된 기술과 방법을 통해 통상적으로 측정될 수 있다. 항핵 항체 역가를 측정하는 분석법의 일 예는 HEp-2 사람 상피 세포에 대한 항핵 항체의 특이적 결합을 기초로 하는 간접 면역형광 분석법이다(예컨대, Osborn, et al., Arthritis Rheum., 27: 1286-9(1984) 참조). 다른 분석법의 예로서, 항핵 항체 농도 또는 수준은 고정된 ANA 항원, 예컨대 dsDNA, Ro/SS-A, La/SS-B, Sm, RNP에 대한 ANA의 특이적 결합을 기초로 하는 ELISA를 이용하여 측정할 수 있다(예컨대, Fenger, et al., Clin Chem., 50: 2141-7, (2004) 참조). ANA 시험은 문헌[Kavanaugh et al., Archives of Pathology & Laboratory Medicine (2000) 124:71-81 and Greidinger, EL and Hoffman, RW, Laboratory Medicine (2003) 34:113-117]에 더 상세하게 설명되어 있다. 본 단락에 인용된 모든 참조문헌은 그 전문이 본 발명에 참고 인용된다.

[0045] 바람직한 구체적 양태에서, 활성 루푸스 환자는 ANA 역가가 1:80 이상인 환자로서 정의된다(즉, 환자의 혈장 또는 혈청의 희석률이 80 이상일 때 양성 ANA 시험이 수득되는 환자). 예를 들어, 1:160, 1:320 및 1: 640의 역가가 1:80의 역가보다 큰 값이다. 다른 바람직한 양태에서, 활성 루푸스 환자는 ANA 역가가 1:160 이상인 환자로서 정의된다. 또 다른 바람직한 양태에서, 활성 루푸스 환자는 ANA 역가가 1:320 이상인 환자로서 정의된다. 또 다른 바람직한 양태에서, 활성 루푸스 환자는 ANA 역가가 1:640 이상인 환자로서 정의된다. 구체적 양태에서, ANA 역가는 HEp-2 세포 상의 간접 면역형광법을 이용하여 측정한다. 다른 구체적 양태에서, ANA 역가는 항-dsDNA ELISA 분석법을 이용하여 측정한다.

[0046] 다른 양태에서, 활성 루푸스 환자는 검출가능한 자가항체, 예컨대 항-Ro/SS-A 항체, 항-La/SS-B 항체, 항-RNA 항체, 항-카디오리핀(항-인지질), 항-dsDNA 항체, 항-Sm 항체를 비롯하여 이에 국한되지 않는 항체를 보유한 환자로서 정의된다. 자가항체 역가, 농도 또는 수준은 임상시험가/의사에 의하여 당업계에 공지된 기술 및 방법에 따라 통상적으로 측정될 수 있다.

[0047] 다른 양태에서, 활성 루푸스 환자는 자신의 혈장 또는 혈청에 C3 및/또는 C4 보체의 수준이 저하된 환자로서 정의된다. 당업자라면 C3 및/또는 C4의 정상 수준은 C3 및/또는 C4를 측정하는데 사용되는 분석법에 따라 달라질 수 있다는 것을 잘 알고 있을 것이다. 따라서, 혈장 또는 혈청 C3 보체의 정상 수준은 약 90mg/dl(밀리그램/데시리터) 내지 약 180mg/dl 사이일 수 있다. 다른 구체적 양태에서, 혈장 또는 혈청 C3 보체의 정상 수준은 약 88mg/dl(밀리그램/데시리터) 내지 약 206mg/dl 범위 또는 약 88mg/dl 내지 약 252mg/dl 범위일 수 있다. 혈장 또는 혈청 C4 보체의 정상 수준은 약 16mg/dl(밀리그램/데시리터) 내지 약 47mg/dl 사이일 수 있다. 다른 구체적 양태에서, 혈장 또는 혈청 C4 보체의 정상 수준은 약 12mg/dl(밀리그램/데시리터) 내지 약 72mg/dl 범위 또는 약 13mg/dl 내지 약 75mg/dl 범위일 수 있다. 구체적 양태에서, 혈장 또는 혈청 C3 보체의 저하된 수준은 90mg/dl 미만으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 혈장 또는 혈청 C3 보체의 저하된 수준은 88mg/dl 미만으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 혈장 또는 혈청 C3 보체의 저하된 수준은 85mg/dl 미만으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 혈장 또는 혈청 C3 보체의 저하된 수준은 80mg/dl 미만으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 혈장 또는 혈청 C3 보체의 저하된 수준은 75mg/dl 미만으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 혈장 또는 혈청 C4 보체의 저하된 수준은 16mg/dl 미만으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 혈장 또는 혈청 C4 보체의 저하된 수준은 15mg/dl 미만으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 혈장 또는 혈청 C4 보체의 저하된 수준은 14mg/dl 미만으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 혈장 또는 혈청 C4 보체의 저하된 수준은 13mg/dl 미만으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 혈장 또는 혈청 C4 보체의 저하된 수준은 12mg/dl 미만으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 혈장 또는 혈청 C4 보체의 저하된 수준은 11mg/dl 미만으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 혈장 또는 혈청 C4 보체의 저하된 수준은 10mg/dl 미만으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 혈장 또는 혈청 C4 보체의 저하된 수준은 9mg/dl 미만으로서 정의된다. 보체 수준은 당업계에 공지된 기술 및 방법, 예컨대 방사상 면역확산 분석법을 이용하여 임상시험가/의사에 의해 통상적으로 측정될 수 있다.

[0048] 다른 양태에서, 활성 루푸스 환자는 다음과 같은 특징 중 하나 이상의 특징을 보유하는 환자로서 정의된다: 미국 류마티스학회(ACR) 기준에 따른 SLE 임상 진단(예컨대, Tan et al., Arthritis Rheum. 25: 1271-7(1982); 및 Hochberg et al., Arthritis Rheum. 40: 1725(1997)); SELENA SLEDAI 스코어 ≥ 6 ; 자신의 혈장 또는 혈청 중의 저하된 C4 보체 수준; 자신의 혈장 또는 혈청 중의 저하된 C3 보체 수준; ANA 역가 1:80 이상; 자신의 혈장 또는 혈청 중의 항-dsDNA 항체 30IU/ml 이상; 루푸스 관련 증후군을 치료하기 위해 프레드니손 또는 다른 코르티코스테로이드 7.5mg/일 이상을 투여받은 자; 및/또는 루푸스 관련 증후군의 치료를 위해 면역억제제 요법을 받고 있거나 과거에 받은 적이 있는 자.

[0049] 다른 양태에서, 활성 루푸스 환자는 다음과 같은 특징 중 하나 이상의 특징을 보유하는 환자로서 정의된다: 미국 류마티스학회(ACR) 기준에 따른 SLE 임상 진단; SELENA SLEDAI 스코어 ≥ 8 ; 자신의 혈장 또는 혈청 중의 저하된 C4 보체 수준; 자신의 혈장 또는 혈청 중의 저하된 C3 보체 수준; ANA 역가 1:80 이상; 자신의 혈장 또는

혈청 중의 항-dsDNA 항체 30IU/ml 이상; 루푸스 관련 증후군을 치료하기 위해 프레드니손 또는 다른 코르티코스테로이드 40mg/일 이상을 투여받은 자; 및/또는 루푸스 관련 증후군의 치료를 위해 면역억제제 요법을 받고 있거나 과거에 받은 적이 있는 자.

[0050] 다발성 질환 활성 지수는 당업계의 임상시험가/의사에게 잘 알려져 있고 류마티스 질환 활성, 예컨대 SLE 질환 활성 등의 정도를 측정하는데 사용될 수 있다(예컨대, Strand, et al., J Rheumatol., 26: 490-7(1999)). 일 양태에서는 SELENA SLEDAI가 질환 활성 지수(DAI)로서 사용된다(예컨대, Bombardier, et al., Arthritis Rheum. 35: 630-40, (1992)). 다른 양태에서는 SLE 발적 지수가 DAI로서 사용된다(예컨대, Petri, et al., Lupus, 8: 685-91, (1999) 참조). 또 다른 양태에서는 SLICC/ACR(Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index)가 DAI로서 사용된다(예컨대, Gladman, et al., Arthritis Rheum., 39:363-9, (1996)). 또 다른 양태에서는 PGA(Physician's Global assessment)가 DAI로서 사용된다. PGA는 0 내지 3의 범위로 측정되는 시각상사척도로서, 0은 질환 활성이 없음, 1은 약한 질환 활성, 2는 중간 질환 활성, 3은 심한 질환 활성이며, DAI로서 사용된다. 또 다른 양태에서는 SF-36(Medical Outcomes Survey Short Form 36)이 DAI로서 사용된다. SF-36은 관찰 그룹 조사는 물론 무작위 시험에서 HRQOL(health-related quality of life)의 모든 영역에 미치는 SLE의 영향을 반영하는 것으로 밝혀져 있는 일반적인 HRQOL 기구이다(Cook, et al., J. Rheumatol, 27:1892-1895, (2000); Thumboo, et al., J Rheumatol., 26:97-102, (1999); Thumboo, et al., J Rheumatol, 27:1414-1420, (2000); Ware JE, et al, Med Care, 30:473-483, (1992); Smolen JS, et al, J Rheumatol, 26:504-507, (1999); Gladman, et al, Lupus, 5:190-195, (1996); Alonso J, et al, Qual Life Res., 13:283-298, 2004; and Gladman et al, J Rheumatol, 27:377-9, (1995), 각 문헌 모두 전문이 참고 인용된다).

[0051] 다른 양태에서는 EQ-5D(EuroQol 기구로도 알려져 있음)가 DAI로서 사용된다. EQ-5D는 일반적인 건강 관련 삶의 질의 척도이다. 이 기구는 서술적인 건강 상태 분류 시스템을 함유할 뿐만 아니라 주어진 건강 상태에 관련하여 바람직한 값을 반영하는 복합 스코어 또는 지수를 수득할 수 있는, 간단한 자기기입설문지로 사용하고자 한 것이다. EQ-5D 서술 시스템은 5가지 차원, 즉 이동도, 자가치료, 일상 활동, 통증/불쾌 및 불안/우울로 이루어진다. 각 차원은 다음과 같은 3가지 레벨로 이루어진다: "건강 문제 없음", "중간 건강 문제" 및 "최대 건강 문제"(예컨대, Health Policy, 1990 Dec; 16(3):199-208, 참고 인용됨).

[0052] 다른 양태에서는 FACIT(Functional Assessment of Chronic Illness Therapy) 측정 시스템의 FACIT-F(Functional Assessment for Chronic Illness Therapy-Fatigue) 하위척도(subscale)가 DAI로서 사용된다. FACIT-F 하위척도는 4가지 기본 QOL 영역: 신체적 안녕, 사회적/가족적 안녕, 감정적 안녕, 및 기능적 안녕으로 분류되는 일반적 질문들의 27개 항목 편집물이다. 이 측정 도구는 에너지 수준, 무관심 및 활동의 시작 또는 마침 능력에 대한 환자의 반응을 수집한다(예컨대, Yellen, S.B., et al., Journal of Pain and Symptom Management, 13:63-74, (1997); Cella, D., et al., 94(2):528-538, (2002); and Cella, D., et al., Journal of Pain & Symptom Management, 24 (6):547-561(2002) 참조, 각각 전문이 본 발명에 참고 인용됨).

[0053] 또 다른 양태에서는 질환 활성 스코어(DAS28)가 DAI로서 사용된다. DAS28은 류마티스 질환 활성을 평가하기 위해 류마티스학자들에 의해 사용되는 표준 도구이다. 이 측정 도구는 접촉에 예민한 관절의 수(TEN), 종창 관절 수(SW), 적혈구 침강 속도(ESR) 및 질환 활성의 환자 평가(VAS; mm)에 대한 평가를 바탕으로 한 지수 스코어를 계산한다(예컨대, Van der Heijde D.M.F.M., et al., J. Rheumatol, 20:579-8, (1993); Prevoo M.L.L., et al., Arthritis Rheum, 38:44-8, (1995) 참조, 각각 전문이 참고 인용됨).

[0054] 또 다른 양태에서는 BILAG(British Isles Lupus Assessment Group)가 DAI로서 사용된다(예컨대, Isenberg, et al., Rheumatology, 44:902-6, (2005); Gordon, et al., Rheumatology, 42(11): 1372-9, (2003); Isenberg, et al., Lupus, 9(9):651-4, (2000); Hay et al., Q J Med., 86:447-58, (1993); 및 BLIPS™ 버전3.0 소프트웨어 프로그램 사용자 가이드, 2004.4.4 발매, ADS-Limathon Ltd. 참조, 각각 전문이 참고 인용됨). BILAG 지수는 루푸스를 앓고 있는 것으로 알려진 8개의 신체 기관/계통을 포함하며, 임상적 특징이 과거 측정과 비교했을 때, 새로운 것인지, 악화되었는지, 동일한 지 또는 호전되었는지의 여부에 따라서 스코어가 매겨진다. 8개의 신체 기관/계통 각각에서 SLE 질환 증상의 중증도는 A, B, C, D 또는 E 스코어로 매기는데, A가 가장 심한 중증도가다(예컨대, 상기 Hay 문헌 참조). BILAG 지수는 질환 중증도 및 치료 효과를 평가하는 복합 스코어를 제공한다. 이 복합 스코어는 루푸스에 걸린 8개 신체 기관/계통 각각의 기여도를 합산한 것이다. BILAG 또는 당업계에 공지된 다른 척도를 사용하면, 치료는 기관/계통의 특정 아군에 질환 증상을 보유하는 루푸스 환자를 표적으로 할 수 있다.

- [0055] 따라서, 구체적 양태에서 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 SELENA SLEDAI 스코어가 감소했다면, 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 SELENA SLEDAI 스코어가, 면역조절제를 이용한 환자의 치료를 시작하기 직전에 측정된 SELENA SLEDAI 스코어인, 동일 환자의 기준 SELENA SLEDAI 스코어와 비교했을 때 감소했다면, 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 SELENA SLEDAI 스코어가 4포인트 이상 감소했다면, 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 SELENA SLEDAI 스코어가, 면역조절제를 이용한 환자의 치료를 시작하기 직전에 측정된 SELENA SLEDAI 스코어인, 동일 환자의 기준 SELENA SLEDAI 스코어와 비교했을 때 4포인트 이상 감소했다면, 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다.
- [0056] 또 다른 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 PGA(Physician's Global Assessment)로 측정된 질환 활성의 악화를 경험한 적이 없다면, 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, PGA 스코어가 감소하거나, 안정하게 유지되거나 또는 0.3포인트 미만으로 증가했다면 이 환자는 질환 활성의 악화를 경험한 적이 없는 것이다. 구체적 양태에서, PGA 스코어가 면역조절제를 이용한 환자의 치료를 시작하기 직전에 측정된 SELENA SLEDAI 스코어인, 동일 환자의 기준 PGA 스코어로부터 감소하거나, 안정하게 유지되거나 또는 0.3포인트 미만으로 증가했다면 이 환자는 질환 활성의 악화를 경험한 적이 없는 것이다.
- [0057] 다른 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 BILAG(British Isles Lupus Assessment Group) 질환 활성 지수로 측정된, 질환 활성의 악화를 경험한 적이 없다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 환자가 새로운 BILAG A 기관 영역 스코어 또는 2개의 새로운 BILAG B 기관 영역 스코어를 획득하지 않았다면, 그 환자는 질환 활성의 악화를 경험하지 않은 것이다. 구체적 양태에서, 환자가 면역조절제를 이용한 치료를 개시하기 직전에 측정된 BILAG 평가인 환자의 기준 BILAG 평가 이후 새로운 BILAG A 기관 영역 스코어 또는 2개의 새로운 BILAG B 기관 영역 스코어를 획득하지 않았다면 그 환자는 질환 활성의 악화를 경험하지 않은 것이다.
- [0058] 다른 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 기준 SELENA SLEDAI 스코어, PGA 스코어 및 BILAG 평가와 각각 비교했을 때, SELENA SLEDAI 스코어가 감소하고, PGA 스코어의 실질적인 악화를 경험하지 않고, BILAG 질환 활성 지수로 측정된 질환 활성의 악화를 경험하지 않았다면, 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 기준 SELENA SLEDAI 스코어, PGA 스코어 및 BILAG 평가와 각각 비교했을 때, SELENA SLEDAI 스코어가 4포인트 이상 감소하고, PGA 스코어가 0.30 포인트 이하로 증가하고, 새로운 BILAG A 기관 영역 스코어 또는 2개의 새로운 BILAG B 기관 영역 스코어를 획득하지 못했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다.
- [0059] 다른 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 프레드니손 용량이 감소되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 프레드니손 용량이, 면역조절제로 치료를 개시하기 직전에 처방된 프레드니손 용량인, 이 환자의 기준 프레드니손 용량에 비해 감소되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 프레드니손 용량이 25% 이상 감소되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 프레드니손 용량이 25% 이상 내지 7.5mg/일 이하로 감소되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 프레드니손 용량이 이 환자의 기준 프레드니손 용량으로부터 25% 이상 내지 7.5mg/일 이하로 감소되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 프레드니손 용량이 50% 이상 감소되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 다른 구체적 양태에서, 당업계에 공지

되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 프레드니손 용량이 50% 이상 내지 7.5mg/일 이하로 감소되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 프레드니손 용량이 이 환자의 기준 프레드니손 용량으로부터 50% 이상 내지 7.5mg/일 이하로 감소되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다.

[0060] 루푸스 환자의 치료에 대한 반응의 질적 측정을 위해 다른 척도를 사용할 수도 있다. 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 SF-36 건강 조사 스코어가 향상되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 SF-36 건강 조사 스코어가 기준 SF-36 건강 조사 스코어에 비해 향상되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다.

[0061] 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 EQ-5D 스코어가 향상되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 EQ-5D 스코어가 기준 EQ-5D 스코어에 비해 향상되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다.

[0062] 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 FACIT-F 스코어로 확인되는 바와 같이 환자가 피로 감소를 나타낸다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 기준 FACIT-F 스코어와 비교되는 환자의 FACIT-F 스코어로 확인되는 바와 같이 환자가 피로 감소를 나타낸다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다.

[0063] 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 DAS28 스코어가 향상되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 DAS28 스코어가 기준 DAS28 스코어에 비해 향상되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다.

[0064] 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 발적 빈도 및/또는 지속기간이 감소했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 발적 빈도 및/또는 지속기간이, 면역조절제로 치료하기 전의 발적 빈도 및/또는 지속기간에 비해 감소했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 또 다른 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 발적 중증도가 감소했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 발적 중증도가, 면역조절제로 치료하기 전의 발적 중증도에 비해 감소했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. SLE 발적 지수는 루푸스 증상(발적)의 악화 빈도 및 중증도를 측정하는 것이다. 발적은 "약한 또는 중간" 또는 "심한"으로 분류된다. 약한 또는 중간 발적은 다음 중 하나 이상의 특징을 수반한다: SELENA SLEDAI 스코어의 3포인트 이상의 변화; 새로운/악화된 원반형, 광민감성, 심재성 피부 혈관염 또는 수포 루푸스; 비인두 궤양; 흉막염; 심장막염; 관절염; 열병(SLE); 프레드니손의 증가(0.5mg/kg/일을 넘지는 않는다); 질환 활성을 위한 NSAID 또는 플라케닐의 첨가; 및 PGA 스코어의 1.0이 넘는 증가(2.5를 넘지는 않는다). 심한 발적은 다음 중 하나 이상의 특징을 수반한다: 12가 넘는 SELENA SLEDAI 스코어의 변화; 새로운/악화된 CNS-SLE; 혈관염; 신염; 근육염; $Plt < 60,000$; 헴 빈혈($< 7\%$ 또는 $Hb > 3\%$ 의 감소); 프레드니손 용량의 이배화; 프레드니손 0.5mg/kg/일 초과 증가; 사이토산 처방; 아자티오프린 처방; 메토트렉세이트 처방; 입원(SLE) 및 PGA 스코어의 2.5 초과 증가. 다른 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 SLE 발적 지수로 측정된 환자의 발적 빈도 및/또는 중증도가 감소했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 SLE 발적 지수로 측정되는 발적 빈도 및/또는 중증도가 이 환자의 과거 발적 빈도 및/또는 중증도에 비해 감소했다면 치료

에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 또 다른 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 SLE 발적 지수의 변형 버전으로 측정되는 환자의 발적 빈도 및/또는 중증도가 감소했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 SLE 발적 지수의 변형 버전으로 측정되는 발적 빈도 및/또는 중증도가 이 환자의 과거 발적 빈도 및/또는 중증도에 비해 감소했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. SLE 발적 지수의 변형 버전은 SELENA SLEDAI 스코어 변화에 의해서만 촉발된 심한 발적은 배제된다.

[0065]

따라서, 구체적 양태에서, 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA를 비롯하여, 이에 국한되지 않는 뉴트로킨-알파의 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이의 SELENA SLEDAI 스코어가 감소되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파의 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 SELENA SLEDAI 스코어가, 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료를 개시하기 직전에 측정한 SELENA SLEDAI 스코어인 자신의 기준 SELENA SLEDAI 스코어에 비해 감소되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파의 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 SELENA SLEDAI 스코어가 4포인트 이상 감소되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파의 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 SELENA SLEDAI 스코어가, 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료를 개시하기 직전에 측정한 SELENA SLEDAI 스코어인 자신의 기준 SELENA SLEDAI 스코어에 비해 4포인트 이상 감소했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티바디(peptibody)이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다.

[0066]

다른 구체적 양태에서, 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA를 비롯하여, 이에 국한되지 않는 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받고 있는 루푸스 환자는 PGA(Physician's Global Assessment)로 측정된 질환 활성의 악화를 경험한 적이 없다면, 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, PGA 스코어가 감소하거나, 안정하게 유지되거나 또는 0.3포인트 미만으로 증가했다면 이 환자는 질환 활성의 악화를 경험한 적이 없는 것이다. 구체적 양태에서, PGA 스코어가 면역조절제를 이용한 환자의 치료를 시작하기 직전에 측정한 SELENA SLEDAI 스코어인, 동일 환자의 기준 PGA 스코어로부터 감소하거나, 안정하게 유지되거나 또는 0.3포인트 미만으로 증가했다면 이 환자는 질환 활성의 악화를 경험한 적이 없는 것이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티바디이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다.

[0067]

다른 구체적 양태에서, 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA를 비롯하여, 이에 국한되지 않는 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받고 있는 루푸스 환자는 BILAG(British Isles Lupus Assessment Group) 질환 활성 지수로 측정된, 질환 활성의 악화를 경험한 적이 없다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 환자가 새로운 BILAG A 기관 영역 스코어 또는 2개의 새로운 BILAG B 기관 영역 스코어를 획득하지 않았다면, 그 환자는 질환 활성의 악화를 경험하지 않은 것이다. 구체적 양태에서, 환자가 뉴트로킨-알파 길항물질로의 치료를 개시하기 직전에 측정한 BILAG 스코어인 환자의 기준 BILAG 평가 이후 새로운 BILAG A 기관 영역 스코어 또는 2개의

새로운 BILAG B 기관 영역 스코어를 획득하지 않았다면 그 환자는 질환 활성의 악화를 경험하지 않은 것이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티바이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다.

[0068]

다른 구체적 양태에서, 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA를 비롯하여, 이에 국한되지 않는 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받고 있는 루푸스 환자는 이 환자의 기준 SELENA SLEDAI 스코어, PGA 스코어 및 BILAG 스코어와 각각 비교했을 때, 자신의 SELENA SLEDAI 스코어가 감소하고, 자신의 PGA 스코어의 실질적인 악화를 경험하지 않고, BILAG 질환 활성 지수로 측정된 질환 활성의 악화를 경험하지 않았다면, 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 기준 SELENA SLEDAI 스코어, PGA 스코어 및 BILAG 스코어와 각각 비교했을 때, 자신의 SELENA SLEDAI 스코어가 4포인트 이상 감소하고, 자신의 PGA 스코어가 0.30 포인트 이하로 증가하고, 새로운 BILAG A 기관 영역 스코어 또는 2개의 새로운 BILAG B 기관 영역 스코어를 획득하지 못했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티바이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다.

[0069]

다른 구체적 양태에서, 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA를 비롯하여, 이에 국한되지 않는 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받고 있는 루푸스 환자는 이 환자의 프레드니손 용량이 감소되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 프레드니손 용량이, 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료를 개시하기 직전에 처방된 프레드니손 용량인, 이 환자의 기준 프레드니손 용량에 비해 감소되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 프레드니손 용량이 25% 이상 감소되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 프레드니손 용량이 25% 이상 내지 7.5mg/일 이하로 감소되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 프레드니손 용량이 이 환자의 기준 프레드니손 용량으로부터 25% 이상 내지 7.5mg/일 이하로 감소되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 프레드니손 용량이 50% 이상 감소되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 프레드니손 용량이 50% 이상 내지 7.5mg/일 이하로 감소되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 프레드니손 용량이 이 환자의 기준 프레드니손 용량으로부터 50% 이상 내지 7.5mg/일 이하로 감소되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티바이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다.

[0070]

루푸스 환자의 치료에 대한 반응의 질적 측정을 위해 다른 척도를 사용할 수도 있다. 구체적 양태에서, 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편,

뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA를 비롯하여, 이에 국한되지 않는 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받고 있는 루푸스 환자는 이 환자의 SF-36 건강 조사 스코어가 향상되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA를 비롯하여, 이에 국한되지 않는 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받고 있는 루푸스 환자는 이 환자의 SF-36 건강 조사 스코어가 자신의 기준 SF-36 건강 조사 스코어에 비해 향상되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티바이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다.

[0071] 구체적 양태에서, 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA를 비롯하여, 이에 국한되지 않는 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받고 있는 루푸스 환자는 이 환자의 EQ-5D 스코어가 향상되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA를 비롯하여, 이에 국한되지 않는 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 EQ-5D 스코어가 자신의 기준 EQ-5D 스코어에 비해 향상되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티바이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다.

[0072] 구체적 양태에서, 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA를 비롯하여, 이에 국한되지 않는 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 FACIT-F 스코어로 확인되는 바와 같이 환자가 피로 감소를 나타낸다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA를 비롯하여, 이에 국한되지 않는 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 기준 FACIT-F 스코어와 비교되는 환자의 FACIT-F 스코어로 확인되는 바와 같이 환자가 피로 감소를 나타낸다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티바이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다.

[0073] 구체적 양태에서, 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 항체 또는 siRNA를 비롯하여, 이에 국한되지 않는 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 DAS28 스코어가 향상되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 항체 또는 siRNA를 비롯하여, 이에 국한되지 않는 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 DAS28 스코어가 자신의 기준 DAS28 스코어에 비해 향상되었다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티바디이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다.

[0074] 또 다른 구체적 양태에서, 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 항체 또는 siRNA를 비롯하여, 이에 국한되지 않는 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 발적 빈도 및/또는 지속기간이 감소했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 발적 빈도 및/또는 지속기간이, 면역조절제로 치료하기 전의 발적 빈도 및/또는 지속기간에 비해 감소했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 또 다른 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 발적 중증도가 감소했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 발적 중증도가, 면역조절제로 치료하기 전의 발적 중증도에 비해 감소했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. SLE 발적 지수는 루푸스 증상(발적)의 악화 빈도 및 중증도를 측정하는 것이다. 발적은 "약한 또는 중간" 또는 "심한"으로 분류된다. 약한 또는 중간 발적은 다음 중 하나 이상의 특징을 수반한다: SELENA SLEDAI 스코어의 3포인트 이상의 변화; 새로운/악화된 원반형, 광민감성, 심재성 피부 혈관염 또는 수포 루푸스; 비인두 궤양; 흉막염; 심장막염; 관절염; 열병(SLE); 프레드니손의 증가(0.5mg/kg/일을 넘지는 않는다); 질환 활성을 위한 NSAID 또는 플라케닐(plaquenil)의 첨가; 및 PGA 스코어의 1.0이 넘는 증가(2.5를 넘지는 않는다). 심한 발적은 다음 중 하나 이상의 특징을 수반한다: 12가 넘는 SELENA SLEDAI 스코어의 변화; 새로운/악화된 CNS-SLE; 혈관염; 신염; 근육염; $Plt < 60,000$; 헴 빈혈($< 7\%$ 또는 $Hb > 3\%$ 의 감소); 프레드니손 용량의 이배화; 프레드니손 0.5mg/kg/일 초과 증가; 사이토톡산 처방; 아자티오프린 처방; 메토트렉세이트 처방; 입원(SLE) 및 PGA 스코어의 2.5 초과 증가. 다른 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 SLE 발적 지수로 측정된 환자의 발적 빈도 및/또는 중증도가 감소했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 SLE 발적 지수로 측정되는 발적 빈도 및/또는 중증도가 이 환자의 과거 발적 빈도 및/또는 중증도에 비해 감소했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 또 다른 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 SLE 발적 지수의 변형 버전으로 측정되는 환자의 발적 빈도 및/또는 중증도가 감소했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 다른 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 SLE 발적 지수의 변형 버전으로 측정되는 발적 빈도 및/또는 중증도가 이 환자의 과거 발적 빈도 및/또는 중증도에 비해 감소했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. SLE 발적 지수의 변형 버전은 SELENA SLEDAI 스코어 변화에 의해서만 촉발된 심한 발적은 배제된다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트

로킨-알파 펩티바디이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다.

[0075] 전술한 질환 활성 지수들(예, SELENA SLEDAI, PGA, BILAG, SLE 발적 지수, SF-36 건강 조사 스코어, EQ-5D, FACIT-F, DAS28)은 루푸스 환자의 상태를 평가하는데 개별적으로 또는 함께 사용될 수 있다. 또한, 이러한 질환 활성 지수로 측정된 환자 건강의 개선은, 이 환자의 과거 질환 활성 지수 스코어 측정값 1 이상에 관련해서, 뉴트로킨-알파 길항물질이나 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제, 예컨대 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA 등(이에 국한되지 않는다)으로 치료를 개시한 후 일정 시기에 평가할 수도 있다. 또한, 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 질환 활성 스코어가 과거 측정값에 비해 향상된 스코어를 유지한다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 1 이상의 질환 활성 지수 스코어는 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제로 치료를 개시하기 전과 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제로 치료를 개시한 후, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12주째, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12개월째, 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12년째에 평가한다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티바디이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다.

[0076] 구체적 양태에서, 하나 이상의 기관/계통에서 질환 증상을 나타내는 루푸스 환자는 뉴트로킨-알파 길항물질 및/또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제, 예컨대 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA 등(이에 국한되지 않는다)으로 치료된다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티바디이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다. 구체적 양태에서, 점막피부 및/또는 근골격계 계통을 포함 또는 포함하지 않는 하나 이상의 내부 기관 계통에 질환 증상을 나타내는 루푸스 환자는 뉴트로킨-알파 길항물질 및/또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제로 치료된다. 구체적 양태에서, 점막피부 및/또는 근골격계 계통을 포함하지 않는 하나 이상의 내부 기관 계통에 질환 증상을 나타내는 루푸스 환자는 뉴트로킨-알파 길항물질 및/또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제로 치료된다. 루푸스에서, 점막피부 및/또는 근골격계 계통에 연루된 질환 증상에는 원반모양 발진, 빨발진 또는 다른 피부 발진, 점막 궤양, 지방층염, 피부 혈관염, 피부 혈전증, 손발가락 경색증, 손발가락 혈전증, 탈모증, 손발톱주위 홍반, 동창, 선상출혈, 근육염, 다발성관절염, 건염, 관절통 및 근육통이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 루푸스의 경우에, 루푸스에 의해 영향을 받을 수 있는 내기관계에는 신경계, 순환계, 호흡계, 비뇨기/배설계, 소화계 및 눈이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 신경계의 루푸스 질환 증상에는 무균수막염, 뇌혈관염, 탈수초성 증후군, 척수병증, 급성혼돈상태, 정신병, 급성염증성탈수초다발성근신경병증, 단발신경병증, 두개골신경병증, 신경총병증, 다발신경병증, 발작 장애, 간질지속상태, 혈관염이 원인이 아닌 뇌혈관 질환, 인지 기능이상, 운동장애, 자율신경장애, 소뇌조화운동불능, 두통, 편두통, 기분장애 및 불안장애가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 순환계의 루푸스 질환 증상에는 심근염, 심부전, 부정맥, 신생성 판막 기능이상, 장막염, 심장눌림증, 호흡곤란을 동반한 흉막삼출, 폐출혈, 폐혈관염, 사이질폐포염, 사이질폐렴, 수축성폐증후군, 대동맥 및 관상동맥혈관염이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 소화계의 루푸스 질환 증상에는 복막염, 복부장막염, 복수, 루푸스 장염, 루푸스 결장염, 흡수장애, 단백소실장자병증, 간염, 장거짓 막힘, 급성췌장염 및 급성췌장염이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 눈에 관련된 루푸스 질환 증상에는 안와 염증, 각막염, 앞포도막염, 뒤포도막염, 망막혈관염, 상공막염, 공막염, 망막/맥락막 혈관막힘 질환, 큐토이드 바디스(cutoid bodies), 시각신경염 및 앞허혈시각신경병증이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.

[0077] 또한, 뉴트로킨-알파 길항물질 및/또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제, 예컨대

항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA 등(이에 국한되지 않는다)으로 치료 시에 환자의 반응은 치료 개시 후 1 이상의 간격마다 생물표지(biomarker)를 평가하고, 이 환자의 생물표지 평가를 이 환자의 기준값 및/또는 동일한 생물표지(들)에 대한 과거 측정값과 비교하여 모니터링할 수 있다. 평가될 수 있는 생물표지에는 면역글로불린 수준(예, 총 혈청 면역글로불린, 뿐만 아니라 혈청 IgM, IgG, IgA 및/또는 IgE 수준), 자가항체 수준(예, 항-dsDNA 항체, 항-CCP 항체, 항-Ro/SS-A 항체, 항-La/SS-B 항체, 항-RNP 항체, 항-카디오리핀(항-인지질) 항체 및 항-Sm 항체 수준뿐만 아니라 ANA 역가), B 세포수(예, 총 B 세포 수, 활성화된 B 세포수, 비감작 B 세포 수, 기억 B 세포수, 혈장 B 세포수 및 형질세포양 B 세포 수, 총 CD19+ B 세포 및/또는 CD20+ B 세포), C4 보체 수준, C3 보체 수준이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 구체적인 양태에서, 생물표지 측정값은 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제로의 치료를 개시하기 전 및/또는 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제로 치료를 개시한 후, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12주째, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12개월째, 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12년째에 평가한다. 구체적인 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적인 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적인 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적인 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티마이드이다. 구체적인 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다.

[0078] 구체적인 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 및/또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제, 예컨대 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA 등(이에 국한되지 않는다)으로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 면역글로불린(예, 총 혈청 면역글로불린 뿐만 아니라 혈청 IgM, IgG, IgA 및/또는 IgE 수준) 수준이 이 환자의 면역글로불린 기준 측정값에 비해 감소했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적인 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적인 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적인 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적인 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티마이드이다. 구체적인 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다. 구체적인 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 면역글로불린(예, 총 혈청 면역글로불린 뿐만 아니라 혈청 IgM, IgG, IgA 및/또는 IgE 수준) 수준이 이 환자의 과거 면역글로불린 측정값 중 하나 이상에 비해 감소했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적인 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 면역글로불린(예, 총 혈청 면역글로불린 뿐만 아니라 혈청 IgM, IgG, IgA 및/또는 IgE 수준) 수준이 이 환자의 과거 면역글로불린 측정값 중 하나 이상에 비해 감소된 수준을 유지한다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적인 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 면역글로불린(예, 총 혈청 면역글로불린 뿐만 아니라 혈청 IgM, IgG, IgA 및/또는 IgE 수준) 수준이 정상 수준을 달성한다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다.

[0079] 구체적인 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 및/또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제, 예컨대 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA 등(이에 국한되지 않는다)으로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 자가항체(예, 항-dsDNA 항체, 항-CCP 항체, 항-Ro/SS-A 항체, 항-La/SS-B 항체, 항-RNP 항체, 항-카디오리핀(항-인지질) 항체 및 항-Sm 항체 수준뿐만 아니라 ANA 역가) 수준이 이 환자의 자가항체 기준 측정값에 비해 감소했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적인 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적인 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적인 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적인 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티마이드이다. 구체적인 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다.

로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티바디이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 자가항체(예, 항-dsDNA 항체, 항-CCP 항체, 항-Ro/SS-A 항체, 항-La/SS-B 항체, 항-RNP 항체, 항-카디오리핀(항-인지질) 항체 및 항-Sm 항체 수준뿐 아니라 ANA 역가) 수준이 이 환자의 과거 자가항체 측정값 중 하나 이상에 비해 감소했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 자가항체(예, 항-dsDNA 항체, 항-CCP 항체, 항-Ro/SS-A 항체, 항-La/SS-B 항체, 항-RNP 항체, 항-카디오리핀(항-인지질) 항체 및 항-Sm 항체 수준뿐 아니라 ANA 역가) 수준이 이 환자의 과거 자가항체 측정값 중 하나 이상에 비해 감소된 수준을 유지한다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 자가항체(예, 항-dsDNA 항체, 항-CCP 항체, 항-Ro/SS-A 항체, 항-La/SS-B 항체, 항-RNP 항체, 항-카디오리핀(항-인지질) 항체 및 항-Sm 항체 수준뿐 아니라 ANA 역가) 수준이 정상 수준을 달성한다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, IgG 동종형의 자가항체가 측정된다.

[0080] 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 및/또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제, 예컨대 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA 등(이에 국한되지 않는다)으로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 B 세포 수(예, 총 B 세포 수, 활성화된 B 세포 수, 비감작 B 세포 수, 혈장 B 세포 수 및 형질세포양 B 세포 수, 총 CD19+ B 세포 수 및/또는 CD20+ B 세포 수)가 이 환자의 기준 B 세포 수 측정값에 비해 감소했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티바디이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 B 세포 수(예, 총 B 세포 수, 활성화된 B 세포 수, 비감작 B 세포 수, 혈장 B 세포 수 및 형질세포양 B 세포 수, 총 CD19+ B 세포 수 및/또는 CD20+ B 세포 수)가 이 환자의 과거 B 세포 수 측정값 중 하나 이상에 비해 감소했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 B 세포 수(예, 총 B 세포 수, 활성화된 B 세포 수, 비감작 B 세포 수, 혈장 B 세포 수 및 형질세포양 B 세포 수, 총 CD19+ B 세포 수 및/또는 CD20+ B 세포 수)가 이 환자의 과거 B 세포 수 측정값 중 하나 이상에 비해 감소된 수준을 유지한다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자가 정상 B 세포 수(예, 총 B 세포 수, 활성화된 B 세포 수, 비감작 B 세포 수, 혈장 B 세포 수 및 형질세포양 B 세포 수, 총 CD19+ B 세포 수 및/또는 CD20+ B 세포 수)를 달성한다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다.

[0081] 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 및/또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제, 예컨대 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA 등(이에 국한되지 않는다)으로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 혈청 보체 인자 C4 수준이 이 환자의 기준 C4 측정값에 비해 증가했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티바디이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 C4 수준이 이 환자의 과거 C4 측정값 중 하나 이상에 비해 증가했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구

체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 C4 수준이 이 환자의 과거 C4 측정값 중 하나 이상에 비해 증가된 수준을 유지한다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자가 정상 C4 수준을 달성한다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다.

[0082] 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 및/또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제, 예컨대 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA 등(이에 국한되지 않는다)으로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 혈청 보체 인자 C3 수준이 이 환자의 기준 C3 측정값에 비해 증가했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티바이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 C3 수준이 이 환자의 과거 C3 측정값 중 하나 이상에 비해 증가했다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자의 C3 수준이 이 환자의 과거 C3 측정값 중 하나 이상에 비해 증가된 수준을 유지한다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제로 치료 중이거나 치료받은 적이 있는 루푸스 환자는 이 환자가 정상 C3 수준을 달성한다면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다.

[0083] 구체적 양태에서, 본 발명은 뉴트로킨-알파 길항물질 및/또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제, 예컨대 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA 등(이에 국한되지 않는다)의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하여, 과거에 하나 이상의 면역억제제로 치료받은 적이 있는 환자를 치료하는 방법을 제공한다. 구체적 양태에서, 본 발명은 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하여, 과거에 하나 이상의 면역억제제로 치료받은 적이 있고 과거에 전신홍반루푸스(루푸스) 진단을 받은 적이 있는 환자를 치료하는 방법을 제공한다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티바이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다. 구체적 양태에서, 과거에 환자를 치료했던 면역억제제는 아자티오프린(예, IMURAN™), 사이클로포스파미드(예, Cytosan®, Neosar®, CTX), 칼시뉴린 억제제, 예컨대 FK506, 테크롤리무스 또는 사이클로스포린(예, PROGRAF®) 및/또는 CELLCEPT®(마이코페놀레이트 모테필, 이의 활성 대사산물은 마이코페놀산이다)이다.

[0084] 현재, 루푸스 및 다른 자가면역 질환에 대한 대부분의 치료법은 다양한 염증성 경로를 비특이적으로 차단하는 약물을 이용한다. 아마도 이 치료법에서 사용된 약물 중에서 가장 위험한 약물은 코르티코스테로이드이다. 프레드니손과 같은 코르티코스테로이드는 질환 증상을 억제하는데 필수적이지만, 감염을 유도하는 완전 면역억제, 골절을 유도하는 골다공증 및 조기발병 심장기능상실 및 협심증을 유도하는 죽상동맥경화증과 같은 다양한 부작용을 환자 건강에 미친다. 임상 시험에서 본 발명자들은 뉴트로킨-알파 단백질을 중화시키는 항체를 이용한 치료가 0일, 14일, 28일 및 그 후 52주까지 4주마다 IV 주입으로 투여되면, 루푸스 환자의 질환 증상을 경감시키는데 필수적인 코르티코스테로이드 프레드니손의 투약량을 감소시키는데 효과적임을 발견했다. 구체적으로, 항-뉴트로킨-알파 항체를 이용한 치료는 치료 기간의 마지막 3개월 동안의 프레드니손 감소량의 사용과 관련이 있는 것으로 보였다. 기준선에서 항-dsDNA가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 환자에서, 항-뉴트로킨-알파 항체를 투여받은 검체는 더 큰 백분율이 이들의 프레드니손 용량을 감소시켰지만, 위약 치료를 받은

검체는 더 많은 수가 프레드니손 용량을 7.5mg/일이 넘게 증가시켰다.

[0085]

따라서, 일 양태에서, 본 발명은 뉴트로킨-알파 길항물질 및/또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제, 예컨대 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA 등(이에 국한되지 않는다)을 치료학적 유효량으로 투여하는 것을 포함하여, 환자에게 투여되는 코르티코스테로이드 함량 및/또는 코르티코스테로이드 치료의 빈도를 감소시키는 방법을 제공한다. 구체적 양태에서, 코르티코스테로이드는 프레드니손, 프레드니솔론, 하이드로코르티손, 메틸 프레드니솔론 또는 텍사메타손이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티마이드이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다. 구체적 양태에서, 코르티코스테로이드 치료량이 감소된 환자는 염증을 앓고 있는 환자이다. 다른 구체적 양태에서, 코르티코스테로이드 치료량이 감소된 환자는 자가면역 질환을 앓고 있는 환자, 예컨대 류마티스관절염, 루푸스, 쇼그렌 증후군 또는 다른 자가면역 질환, 예컨대 본 명세서에 열거된 질환 등을 앓고 있는 환자이다.

[0086]

따라서, 구체적 양태에서, 본 발명은 뉴트로킨-알파 길항물질 및/또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제, 예컨대 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA 등(이에 국한되지 않는다)을 치료학적 유효량으로 투여하는 것을 포함하여, 전신홍반루푸스(루푸스) 환자에게 투여되는 코르티코스테로이드 함량 및/또는 코르티코스테로이드 치료의 빈도를 감소시키는 방법을 제공한다. 또 다른 구체적 양태에서, 본 발명은 뉴트로킨-알파 길항물질 및/또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제, 예컨대 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA 등(이에 국한되지 않는다)을 치료학적 유효량으로 투여하는 것을 포함하여, 전신홍반루푸스(루푸스) 환자에게 투여되는 프레드니손의 함량 및/또는 프레드니손 치료의 빈도를 감소시키는 방법을 제공한다. 이러한 정황에서, "치료학적 유효량"이란, 코르티코스테로이드가 일반적으로 처방되는 질환 증상을 경감시키는데 필수적인 코르티코스테로이드를 감소시키는 함량을 의미한다. 이러한 증상들은 이러한 증상의 중증도를 감소시키는데 효과적인 항체/조성물 함량을 측정하는 방법과 마찬가지로 임상시험가/의사에게 공지되어 있다. 바람직한 양태에 따르면, 환자에게 투여되는 본 발명에 따른 항체의 투약량은 환자의 체중 1kg당 0.1mg 내지 100mg 사이이다. 더 바람직하게는, 환자에게 투여되는 투약량은 환자 체중 1kg당 0.1mg 내지 20mg 사이이다. 가장 바람직한 양태에 따르면, 환자에게 투여되는 투약량은 1, 4, 10 또는 20mg/kg이다.

[0087]

구체적 양태에서, 환자에게 투여되는 코르티코스테로이드(예, 프레드니손)의 함량은 과거 높은 용량에서부터 ≤ 80mg/일로 감소되면서, 동시에 동일 환자에게 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제, 예컨대 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA 등(이에 국한되지 않는다)의 투여를 포함하는 치료 방법이 수반된다. 구체적 양태에서, 환자에게 투여되는 코르티코스테로이드(예, 프레드니손)의 함량은 과거 높은 용량에서부터 ≤ 40mg/일로 저하되면서, 동시에 동일 환자에게 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제의 투여를 포함하는 치료 방법이 수반된다. 구체적 양태에서, 환자에게 투여되는 코르티코스테로이드(예, 프레드니손)의 함량은 과거 높은 용량에서부터 20mg/일 미만으로 저하되면서, 동시에 동일 환자에게 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제의 투여를 포함하는 치료 방법이 수반된다. 구체적 양태에서, 환자에게 투여되는 코르

티코스테로이드(예, 프레드니손)의 함량은 과거 높은 용량에서부터 $\leq 10\text{mg/일}$ 로 감소되면서, 동시에 동일 환자에게 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제의 투여를 포함하는 치료 방법이 수반된다. 구체적 양태에서, 환자에게 투여되는 코르티코스테로이드(예, 프레드니손)의 함량은 과거 높은 용량에서부터 $\leq 8\text{mg/일}$ 로 저하되면서, 동시에 동일 환자에게 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제의 투여를 포함하는 치료 방법이 수반된다. 구체적 양태에서, 환자에게 투여되는 코르티코스테로이드(예, 프레드니손)의 함량은 과거 높은 용량에서부터 $\leq 6\text{mg/일}$ 로 저하되면서, 동시에 동일 환자에게 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제의 투여를 포함하는 치료 방법이 수반된다. 구체적 양태에서, 환자에게 투여되는 코르티코스테로이드(예, 프레드니손)의 함량은 과거 높은 용량에서부터 $\leq 4\text{mg/일}$ 로 저하되면서, 동시에 동일 환자에게 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제의 투여를 포함하는 치료 방법이 수반된다. 구체적 양태에서, 환자에게 투여되는 코르티코스테로이드(예, 프레드니손)의 함량은 과거 높은 용량에서부터 $\leq 2\text{mg/일}$ 미만으로 저하되면서, 동시에 동일 환자에게 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제의 투여를 포함하는 치료 방법이 수반된다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티바이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다.

[0088] 구체적 양태에서, 환자에게 투여되는 코르티코스테로이드(예, 프레드니손)의 함량은 과거 높은 용량에서부터 $\leq 7.5\text{mg/일}$ 로 저하되면서, 동시에 동일 환자에게 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제의 투여를 포함하는 치료 방법이 수반된다. 구체적 양태에서, 환자에게 투여되는 코르티코스테로이드(예, 프레드니손)의 함량은 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제의 투여를 포함하는 치료 방법을 개시하기 전에 환자에게 처방되었던 프레드니손 용량과 비교했을 때 궁극적으로 25% 이상 저하되면서, 동시에 그 환자에게 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제의 투여를 포함하는 치료 방법이 수반된다. 구체적 양태에서, 환자에게 투여되는 코르티코스테로이드(예, 프레드니손)의 함량은 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제의 투여를 포함하는 치료 방법을 개시하기 전에 환자에게 처방되었던 프레드니손 용량과 비교했을 때 궁극적으로 50% 이상 저하되면서, 동시에 그 환자에게 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제의 투여를 포함하는 치료 방법이 수반된다. 구체적 양태에서, 환자에게 투여되는 코르티코스테로이드(예, 프레드니손)의 함량은 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제의 투여를 포함하는 치료 방법을 개시하기 전에 환자에게 처방되었던 프레드니손 용량과 비교했을 때 궁극적으로 25% 이상 내지 $\leq 7.5\text{mg/일}$ 로 저하되면서, 동시에 그 환자에게 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제의 투여를 포함하는 치료 방법이 수반된다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제의 투여를 포함하는 치료 방법을 개시하기 전에 환자에게 처방되었던 프레드니손 용량과 비교했을 때 궁극적으로 50% 이상 내지 $\leq 7.5\text{mg/일}$ 로 저하되면서, 동시에 그 환자에게 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제의 투여를 포함하는 치료 방법이 수반된다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티바이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다.

[0089] 구체적 양태에서, 환자에게 코르티코스테로이드(예, 프레드니손) 치료법이 일시적 또는 영구적으로 제외되고, 동시에 그 환자에게 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 다른 면역조절제의 투여를 포함하는 치료 방법이 수반된다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티바이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다.

[0090] 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제는 류마티스성 관절염(RA)의 임상 진단을 받은 환자를 치료하는데 사용된다. 구체적 양태에서, 치료받은 류마티스성 관절염 환자는 B 세포 악성종양이 없는 환자이다. 더욱이, 류마티스성 관절염 환자는 경우에 따라 RA 치료에 이용되는 임의의 1종 이상의 제제, 예컨대 살리실레이트; 비스테로이드성 항염증약, 예컨대 인도메타신, 페닐부타존, 페닐아세트산 유도체(예, 이부프로펜 및 페노프로펜), 나프탈렌 아세트산(나프록센), 파이로알칸산(토메텐), 인돌아세트산(설린단), 할로겐화된 안트라닐산(메크로페나메이트 소듐), 피록시카, 조메피락 및 디플루니살; 항말라리아제, 예컨대 클로로퀸; 금염; 페니실라민; 또는 면역억제제, 예컨대 메토트렉세이트 또는 코르티코스테로이드로 이러한 약물에 공지된 투약량 또는 감소된 투약량으로 추가 치료된다. 하지만, 류마티스성

관절염 환자는 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제로만 치료되는 것이 바람직하다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 캡티바이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다. 이러한 면역조절제들은 당업자라면 쉽게 측정할 수 있는, 이하에 기술되는 투약 스케줄에 따라 RA 환자에게 투여된다. 1차 반응은 파울러스 지수(Paulus et al. Arthritis Rheum. 33: 477-484(1990)), 즉, 조조경직, 동통성 및 염증성 관절의 수, 적혈구침강속도(ESR)의 개선, 및 환자와 의사에 의해 평가된 5포인트 스케일의 질환 중증도 중에서 2포인트 이상의 개선으로 측정한다. 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제의 투여는 전술한 바와 같이 치료된 환자의 RA 증후군의 하나 이상을 경감시킬 것이다.

[0091] 류마티스성 관절염 환자에게 뉴트로킨-알파 단백질을 중화시키는 항체를 0일, 14일, 28일과 그 다음 24주까지 4주마다 IV 주입으로서 투여하여 치료하는 임상 제2상 시험(실시예 3)에서, 치료는 DAS28 스코어가 5.1보다 큰 환자, 이전에 항-TNF 치료를 받은 적이 없는 환자, 및/또는 뉴트로킨-알파 단백질을 중화시키는 항체를 이용한 치료를 개시하기 전에 혈장 및/또는 혈청 중에 류마티스성 인자를 보유한 환자의 류마티스성 관절염과 관련 있는 증후군을 경감시킬 가능성이 더욱 크다. 뉴트로킨-알파 단백질을 중화시키는 항체를 이용한 치료에 반응할 가능성이 더 큰 것으로 보이는 추가 아군으로는, 남성 환자, 혈장 및/또는 혈청 중에 항-CCP(cyclic citrullinated peptide) 항체를 보유한 환자, 뉴트로킨-알파 단백질을 중화시키는 항체와 동반하여 메토티렉세이트를 투여받은 환자, 과거 메토티렉세이트 치료의 실패를 경험한 환자, 및/또는 과거 메토티렉세이트 치료 및 적어도 하나의 다른 DMARD 치료의 실패를 경험한 환자가 포함된다.

[0092] 따라서, 본 발명은 다음과 같은 특징 중 하나 이상의 특징을 보유하고 있는 류마티스성 관절염 환자를 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제로 치료하는 방법을 제공한다: 과거 항-TNF 요법, 예컨대 인플릭시마브(Infliximab, Remicade™ Centocor, Inc.로도 알려져 있음), 아다리무마브(Humira®, Abbott Laboratories 제품) 또는 에타너셉트(Enbrel®)를 투여받은 적이 없는 환자; 자신의 혈장 및/또는 혈청에 류마티스성 인자를 보유하는 환자; 자신의 혈장 및/또는 혈청에 측정가능한 항-CCP(cyclic citrullinated peptide) 항체를 보유한 환자; 자신의 혈장 및/또는 혈청에 상승한 항-CRP(C reactive protein) 수준을 보유한 환자; 과거 1 이상의 질환 조절 항류마티스약물 치료에 실패한 경험이 있는 환자; 높은 조절된 질환 활성 스코어(DAS28)를 보유한 환자; 종창성 및 압통 관절을 보유한 환자; 조조경직을 앓고 있는 환자; 적혈구침강속도(ESR)가 증가된 환자 및/또는 남성 환자. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 캡티바이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능을 하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다. 구체적 양태에서, 류마티스성 관절염 환자는 자신의 혈장 및/또는 혈청에 류마티스성 인자가 12IU/ml 이상인 환자이다. 구체적 양태에서, 상승된 CRP 수준은 1리터당 적어도 1.5mg으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 상승된 CRP수준은 1리터당 적어도 5mg으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 상승된 CRP 수준은 1리터당 적어도 6mg으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 상승된 CRP 수준은 1리터당 적어도 9mg으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 상승된 CRP 수준은 1리터당 적어도 10mg으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 상승된 CRP 수준은 1리터당 적어도 20mg으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 류마티스성 관절염 환자는 자신의 혈장 및/또는 혈청에 항-CCP 항체를 10유닛 이상 보유한다. 구체적 양태에서, 류마티스성 관절염 환자는 자신의 혈장 및/또는 혈청에 항-CCP 항체를 20유닛 이상 보유한다. 구체적 양태에서, 환자는 과거에 메토티렉세이트, 아미노퀴놀론, 설파살라진 및 레플루노미드를 비롯한, 이에 국한되지 않는 1종 이상의 DMARD에 의한 치료 실패를 경험한 환자이다. 구체적 양태에서, 환자는 과거에 메토티렉세이트 치료 실패를 경험한 환자이다. 구체적 양태에서, 환자는 DAS28 스코어가 5.1 초과인 환자이다. 구체적 양태에서, 환자는 6개 이상의 종창 관절과 8개 이상의 압통 관절을 보유한다. 구체적 양태에서, 환자는 28mm/hr보다 큰 ESR을 보유한다. 구체적 양태에서, 환자는 적어도 45분 동안 조조경직으로 고통받는다. 구체적 양태에서, 환자는 적어도 1시간 동안 조조 경직으로 고통받는다. 구체적 양태에서, 환자는 적어도 1시간 30분 동안 조조경직으로 고통받는다. 구체적 양태에서, 환자는 적어도 2시간 동안 조조경직으로 고통받는다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 캡티바이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능을 하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다.

[0093] 따라서, 본 발명은 뉴트로킨-알파 길항물질 및/또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제, 예컨대 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA 등(이에 국한되지 않는다)으로 류마티스성 관절염 환자를 치료하는 방법으로서, 상기 류마티스성 관절염 환자는 다음과 같은 특징 중 하나 이상의 특징을 보유하는 환자인 방법을 제공한다: 과거 항-TNF 요법, 예컨대 인플릭시마브(Infliximab, Remicade™ Centocor, Inc.로도 알려져 있음), 아다리무마브(Humira®, Abbott Laboratories 제품) 또는 에타너셉트(Enbrel®)을 투여받은 적이 없는 환자; 자신의 혈장 및/또는 혈청 중에 류마티스성 인자를 보유하는 환자; 자신의 혈장 및/또는 혈청 중에 측정가능한 항-CCP(cyclic citrullinated peptide) 항체를 보유한 환자; 자신의 혈장 및/또는 혈청 중에 상승한 항-CRP(C reactive protein) 수준을 보유한 환자; 과거 1 이상의 질환 조절 항류마티스약물 치료에 실패한 경험이 있는 환자; 높은 조절된 질환 활성 스코어(DAS28)를 보유한 환자; 종창성 및 압통 관절을 보유한 환자; 조조경직을 앓고 있는 환자; 적혈구침강속도(ESR)가 증가된 환자 및/또는 남성 환자. 구체적 양태에서, 류마티스성 관절염 환자는 자신의 혈장 및/또는 혈청에 류마티스성 인자가 12IU/ml 이상인 환자이다. 구체적 양태에서, 상승된 CRP 수준은 1리터당 적어도 1.5mg으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 상승된 CRP 수준은 1리터당 적어도 5mg으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 상승된 CRP 수준은 1리터당 적어도 6mg으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 상승된 CRP 수준은 1리터당 적어도 9mg으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 상승된 CRP 수준은 1리터당 적어도 10mg으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 상승된 CRP 수준은 1리터당 적어도 20mg으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 류마티스성 관절염 환자는 자신의 혈장 및/또는 혈청에 항-CCP 항체를 10유닛 이상 보유한다. 구체적 양태에서, 류마티스성 관절염 환자는 자신의 혈장 및/또는 혈청에 항-CCP 항체를 20유닛 이상 보유한다. 구체적 양태에서, 환자는 과거에 메토타렉세이트, 아미노퀴놀론, 설파살라진 및 레플루노미드를 비롯한, 이에 국한되지 않는 1종 이상의 DMARD에 의한 치료 실패를 경험한 환자이다. 구체적 양태에서, 환자는 과거에 메토타렉세이트 치료 실패를 경험한 환자이다. 구체적 양태에서, 환자는 DAS28 스코어가 5.1 초과인 환자이다. 구체적 양태에서, 환자는 6개 이상의 종창 관절과 8개 이상의 압통 관절을 보유한다. 구체적 양태에서, 환자는 28mm/hr보다 큰 ESR을 보유한다. 구체적 양태에서, 환자는 적어도 45분 동안 조조경직으로 고통받는다. 구체적 양태에서, 환자는 적어도 1시간 동안 조조경직으로 고통받는다. 구체적 양태에서, 환자는 적어도 1시간 30분 동안 조조경직으로 고통받는다. 구체적 양태에서, 환자는 적어도 2시간 동안 조조경직으로 고통받는다.

[0094] 또 다른 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 및/또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제, 예컨대 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA 등(이에 국한되지 않는다)으로 치료중이거나 치료받은 적이 있는 류마티스성 관절염 환자는 ACR20 반응을 완수하면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. ACR20은 류마티스성 관절염의 치료에 대한 환자의 반응을 평가하는, 미국류마티스학회(ACR)에서 개발된 지수이다. ACR20 반응은 압통 관절 수 및 종창성 관절 수의 20% 이상의 감소, 뿐만 아니라 5가지 다른 증후군 또는 질환 증상(즉, 환자 동통 평가, 환자 전반적 평가, 의사의 전반적 평가, 환자 자가평가 무능, 급성기 반응물[ESR 또는 CRP])의 측정 중 3가지 측정에서 20% 이상의 개선으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티마이드이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다.

[0095] 또 다른 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 및/또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제, 예컨대 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질 또는 이의 단편이나 변이체, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA 등(이에 국한되지 않는다)으로 치료중이거나 치료받은 적이 있는 류마티스성 관절염 환자는 ACR50 반응을 완수하면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. ACR50은 류마티스성 관절염의 치료에 대한 환자의 반응을 평가하는, 미국류마티스학회(ACR)에서 개발된 지수이다. ACR50 반응은 압통 관절 수 및 종

창성 관절 수의 50% 이상의 감소, 뿐만 아니라 5가지 다른 증후군 또는 질환 증상(즉, 환자 동통 평가, 환자 전반적 평가, 의사의 전반적 평가, 환자 자가평가 무능, 급성기 반응물[ESR 또는 CRP])의 측정 중 3가지 측정에서 50% 이상의 개선으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티마이드이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다.

[0096] 또 다른 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질 및/또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제, 예컨대 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 또는 이의 단편 또는 변이체, 항-뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 또는 BAFF-R) 항체 또는 이의 항원결합 단편, 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체, 및 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA, BAFF-R 또는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 다른 수용체를 표적으로 하는 안티센스 또는 siRNA 등(이에 국한되지 않는다)으로 치료중이거나 치료받은 적이 있는 류마티스성 관절염 환자는 ACR70 반응을 완수하면 치료에 반응성인/반응성이었던 것으로 간주한다. ACR70은 류마티스성 관절염의 치료에 대한 환자의 반응을 평가하는, 미국류마티스학회(ACR)에서 개발된 지수이다. ACR70 반응은 압통 관절 수 및 종창성 관절 수의 70% 이상의 감소, 뿐만 아니라 5가지 다른 증후군 또는 질환 증상(즉, 환자 동통 평가, 환자 전반적 평가, 의사의 전반적 평가, 환자 자가평가 무능, 급성기 반응물[ESR 또는 CRP])의 측정 중 3가지 측정에서 70% 이상의 개선으로서 정의된다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티마이드이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 기능하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다.

[0097] 면역조절제

[0098] 본 발명은 혈장이나 혈청 중에 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 환자를 면역조절제로 치료하는 방법을 제공한다. 본 명세서에 사용된 "면역조절제"의 의미는 앞에서 논한 바와 같다. 구체적 양태에서, 면역조절제는 뉴트로킨-알파의 길항물질이다. "길항물질"이란 용어는 뉴트로킨-알파의 시험관내 및/또는 생체내 기능적 및/또는 생물학적 작용(예, B 세포의 분화, 증식 및/또는 생존의 자극; B 세포에 의한 Ig생산의 자극; 및 뉴트로킨-알파 수용체에 대한 결합)을 억제 또는 반작용할 수 있는 제제를 의미한다. 이러한 억제제는 길항물질과 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드 사이의 직접적인 물리적 접촉에 의해 또는 접촉 없이 일어날 수 있다(예컨대, 길항물질은 뉴트로킨-알파 활성을 감소시키기 위하여 그 활성의 상류 효과인자(effector)를 조절할 수 있다. B 세포 활성을 억제하는 뉴트로킨-알파 길항물질의 능력을 검사하는 분석법은 본 명세서에 기술되어 있다. 뉴트로킨-알파 길항물질에는 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합단편, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질 또는 이의 단편이나 변이체, 뉴트로킨-알파 수용체 또는 이의 항원결합단편에 결합하는 항체, 뉴트로킨-알파 결합 펩타이드 또는 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체(예, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 우성 음성 형태)가 포함되나, 이에 국한되는 것은 아니다. 뉴트로킨-알파의 또 다른 길항물질에는 뉴트로킨-알파의 소분자 길항물질, 뉴트로킨-알파 펩타이드 모방체, 뉴트로킨-알파를 표적으로 하는 안티센스 RNA 및 짧은 간섭 RNA(siRNA), APRIL을 표적으로 하는 안티센스 RNA 및 짧은 간섭 RNA(siRNA), 뉴트로킨-알파의 수용체 및/또는 APRIL의 수용체를 표적으로 하는 안티센스 RNA 및 짧은 간섭 RNA(siRNA)가 있다. 이들 각각에 대해서는 이하에 더 상세히 설명될 것이다.

[0099] 뉴트로킨-알파 길항물질

[0100] A. 뉴트로킨-알파 및 APRIL 폴리펩타이드

[0101] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 뉴트로킨-알파 길항물질은 뉴트로킨-알파 또는 APRIL 폴리펩타이드, 단편 또는 변이체이다. 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드, APRIL 폴리펩타이드 및 이들의 단편과 변이체는 이하에 더 상세하게 설명될 것이다. 뉴트로킨-알파 단백질(서열번호 2)은 APRIL(서열번호 4: GenBank 수탁번호 AF046888; PCT 국제공개번호 WO97/33902; Hahne, M., et al., J Exp Med.(1998) 188(6): 1185-90), TNF α 및 림포톡신- α (LT- α)와 아미노산 서열 동일성을 공유하는 TNF과 리간드의 일원이다(Moore et al., 1999). 전장의

뉴트로킨-알파 유전자는 잔기 1 내지 46 사이의 세포내 도메인, 타입 II 막 결합 단백질의 특징적인 비소수성 서열이 선행하는 아미노산 47과 73 사이에 막관통 경유 도메인, 및 잔기 74와 285 사이에 세포외 도메인을 보유하는 285개 아미노산 폴리펩타이드를 암호화한다. TNF과의 다른 일원들처럼, 뉴트로킨-알파는 아미노산 134에서 절단되어 생물학적 활성의 삼량체를 방출한다. 구조적 특성분석 결과, TNF과 리간드는 서열 다양성을 나타내지만, 높은 구조적 상동성을 나타내는 것으로 밝혀졌다. TNF과 리간드의 다른 일원들처럼 뉴트로킨-알파 단백질은 TNF계 펩티드 형태를 형성하는 2층 β -샌드위치이다. 뉴트로킨-알파 단백질은 전체 구조와 치수면에서 다른 TNF과 리간드와 유사하다. 하지만, 뉴트로킨-알파 수용체 결합 영역은 다른 사이토킨에서 관찰되는 것보다 더욱 현저한 홈(groove)이다[Oren, et al.(2002), Nature Structural Biology 9: 288-292]. 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드는 예컨대, 본 명세서에 전문이 참고인용되는 국제공개번호 WO 98/18921, WO 00/50597, WO 02/1820 및 WO 03/033658에 더 상세하게 설명되어 있다.

[0102] 전술한 바와 같이, 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드의 기능은 B 세포 증식, 분화, 생존 및 Ig 분비를 자극하는 것이다. 즉, 본 발명의 방법에서 뉴트로킨-알파의 순수 형태는 이용되지 않을 것이다. 하지만, 뉴트로킨-알파 천연 형태는 B 세포와 근접하여, B 세포 활성을 억제할 수 있는 다른 제제(예, 세포독성 잔기 또는 단백질)를 유도하는 표적화제로서 사용될 수 있다(예컨대, WO 00/033658의 실시예 12 및 13 참조, 여기서 방사능표지된 뉴트로킨-알파는 기원이 주로 B 세포인 뉴트로킨-알파 수용체를 발현하는 세포를 표적으로 하여 사멸시키는데 사용된다). 대안적으로, 하나 이상의 뉴트로킨-알파 수용체에 결합하지만 시그널링(signalling)을 유도하지 않는 뉴트로킨-알파의 단편이나 변이체도 뉴트로킨-알파 길항물질로서 사용될 수 있다. 또한, 뉴트로킨-알파가 안정한 단독삼량체 또는 이중삼량체를 형성하거나 유지하는 능력에 영향을 미치는 뉴트로킨-알파 단편이나 변이체도 본 발명의 방법에서 뉴트로킨-알파 길항물질로서 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드에는 서열번호 2의 뉴트로킨-알파 단백질의 폴리펩타이드 단편이나 변이체가 있다. 폴리펩타이드 단편이나 변이체는 "독립성(free-standing)"이거나, 또는 그 단편이 일부분 또는 영역을 형성하는, 가장 바람직하게는 단일 연속 영역으로서, 더 큰 폴리펩타이드 내에 포함될 수 있다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드는 뉴트로킨-알파의 추정 세포외 도메인(서열번호 2의 아미노산 잔기 73-285) 및 뉴트로킨 알파의 가용성 단편(서열번호 2의 아미노산 잔기 134-285)을 포함하거나 또는 그것으로 이루어진 폴리펩타이드 단편을 포함한다. 다른 양태에 따르면, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 폴리펩타이드 단편 또는 변이체는 앞서 설명한 천연 뉴트로킨-알파의 폴리펩타이드 단편들과 적어도 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 폴리펩타이드 단편 또는 변이체를 포함하거나, 또는 그것으로 이루어질 수 있다.

[0103] 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드 변이체에는 펩타이드 모방체가 포함된다. 모방체는 단백질 2차 구조의 구성요소들을 모방하는 펩타이드 함유 분자이다[예컨대, Johnson et al., "Peptide Turn Mimetics" in BIOTECHNOLOGY AND PHARMACY, Pezzuto et al., Eds., Chapman and Hall, New York(1993), 참고인용됨]. 펩타이드 모방체의 사용을 뒷받침하는 이론적 근거는, 단백질의 펩타이드 주쇄는 주로 아미노산 측쇄가 항체와 항원의 상호작용과 같은 분자 상호작용을 촉진하도록 배향되어 존재한다는 것이다. 펩타이드 모방체는 천연 분자와 유사한 분자 상호작용을 허용할 것으로 생각된다. 이러한 원리는 본 명세서에 개시된 표적 펩타이드들의 많은 천연 성질을 보유하지만 변경된 특징, 특히 개선된 특징을 보유하는 제2세대 분자를 가공하는데 사용될 수 있다.

[0104] APRIL(서열번호 4)은 뉴트로킨-알파(서열번호 2: GenBank 수탁번호 NM_006573; Moore et al.,(1999) Science 285: 260-263; Schneider et al.,(1999) J.Exp.Med. 189: 1747-1756; and Khare et al.,(2000) Proc.Natl.Acad Sci. 97: 3370-3375), TNF α 및 림포톡신- α (LT- α)와 아미노산 서열 동일성을 공유하는 TNF과 리간드의 일원이다(Moore et al., 1999). 전장(full length)의 APRIL 유전자는 잔기 1 내지 28 사이의 세포내 도메인, 잔기 29 내지 49 사이의 막관통 경유 도메인, 및 잔기 50과 250 사이의 세포외 도메인을 보유하는 250개 아미노산 폴리펩타이드를 암호화한다. TNF과의 다른 일원들처럼, APRIL은 삼량체 단백질로서 기능을 한다. 세포 표면에서 APRIL의 발현시, 세포외 도메인은 아미노산 105에서 절단되어 생물학적 활성 삼량체를 방출한다.

[0105] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 폴리펩타이드에는 서열번호 4의 APRIL 단백질의 폴리펩타이드 단편 또는 변이체가 있다. 폴리펩타이드 단편은 "독립성(free-standing)"이거나, 또는 그 단편이 일부분 또는 영역을 형성하는, 가장 바람직하게는 단일 연속 영역으로서, 더 큰 폴리펩타이드 내에 포함될 수 있다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 폴리펩타이드는 APRIL의 추정 세포외 도메인(서열번호 4의 아미노산 잔기 50-250) 및 APRIL의 가용성 단편(서열번호 4의 아미노산 잔기 105-250)을 포함하거나 또는 그것으로 이루어진 폴리펩타이드 단편을 포함한다. 다른 양태에 따르면, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는

폴리펩타이드 단편 또는 변이체는 앞서 설명한 천연 APRIL의 폴리펩타이드 단편들과 적어도 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 폴리펩타이드 단편 또는 변이체를 포함하거나, 또는 그것으로 이루어질 수 있다.

[0106] 다른 양태에 따르면, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 폴리펩타이드에는 펩타이드 모방체가 포함된다. 모방체는 단백질 2차 구조의 구성요소들을 모방하는 펩타이드 함유 분자이다[예컨대, Johnson et al., "Peptide Turn Mimetics" in BIOTECHNOLOGY AND PHARMACY, Pezzuto et al., Eds., Chapman and Hall, New York(1993), 참고인용됨]. 펩타이드 모방체의 사용을 뒷받침하는 이론적 근거는, 단백질의 펩타이드 주쇄는 주로 아미노산 측쇄가 항체와 항원의 상호작용과 같은 분자 상호작용을 촉진하도록 배향되어 존재한다는 것이다. 펩타이드 모방체는 천연 분자와 유사한 분자 상호작용을 허용할 것으로 생각된다. 이러한 원리는 본 명세서에 개시된 표적 펩타이드들의 많은 천연 성질을 보유하지만 변경된 특징, 특히 개선된 특징을 보유하는 제2 세대 분자를 가공하는데 사용될 수 있다.

[0107] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 및 APRIL 폴리펩타이드는 융합 단백질(펩타이드 결합을 통해 이중성 단백질 서열(다른 단백질의 서열)에 결합된 폴리펩타이드를 함유)과 같은 변형된 형태로 발현되거나 합성될 수 있고, 분비 시그널뿐만 아니라 다른 이중 기능성 영역을 포함할 수도 있다. 이러한 융합 단백질은 뉴트로킨-알파 또는 APRIL 폴리뉴클레오타이드와, 서로에서 바람직한 아미노산 서열을 암호화하는 바람직한 핵산 서열을, 당업계에 공지된 방법에 따라 적당한 리딩프레임으로 결합(ligation)시킨 다음, 당업계에 공지된 방법에 따라 융합 단백질 산물을 발현시킴으로써 제조할 수 있다. 또는, 이러한 융합 단백질은 펩타이드 합성기의 사용 등과 같은 단백질 합성 기술로 제조할 수도 있다. 따라서, 예를 들어, 정제 동안이나 이후 취급과 보관 동안에 숙주 세포의 안정성 및 지속성을 향상시키기 위해, 추가 아미노산, 특히 하전을 띠는 아미노산의 영역을 폴리펩타이드의 N-말단에 첨가할 수도 있다. 또한, 정제의 용이성을 위해 폴리펩타이드에 펩타이드 잔기를 첨가할 수도 있다. 이러한 영역은 폴리펩타이드의 최종 제조 전에 제거될 수 있다. 무엇보다도, 분비 또는 배출을 유발시키고, 안정성을 향상시키며 정제를 촉진하는 펩타이드 잔기의 첨가는 당업계에서는 익숙하고 통상적인 기술이다.

[0108] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 바람직한 뉴트로킨-알파 또는 APRIL 융합 단백질은 단백질의 안정화 및 정제에 유용한, 면역글로불린 유래의 이중성 영역을 포함한다. 예를 들어, EP-A-0 464 533(캐나다 대응특허 2045869) 및 WO 00/024782는 다른 사람 단백질 또는 이의 일부와 함께 면역글로불린 분자의 불변부의 다양한 부분을 함유하는 융합 단백질을 개시한다. 뉴트로킨-알파 면역글로불린 융합 단백질에 대해서는 전문이 본원에 참고인용되는 문헌[Yu et al., (2000) Nat Immunol 1: 252-256]에 기술되어 있다. APRIL 면역글로불린 융합 단백질은 전문이 참고인용된 PCT 공개번호 WO 01/087977에 기술되어 있다. 대부분의 경우에, 융합 단백질 중의 Fc 부분은 치료와 진단 시에 사용하기에 매우 유리하며, 결과적으로 약동학적 성질을 향상시킨다(EP-A 0232 262). 한편, 몇몇 용도에서는 여기에 기술된 유리한 방법에 따라 융합 단백질을 발현, 검출 및 정제한 후, Fc 부분을 제거하는 것이 바람직할 수 있다. 이러한 경우는, Fc 부분이 치료 및 진단 시에 방해물인 것으로 입증된 경우, 예컨대 융합 단백질이 면역화용 항원으로서 사용되어야 하는 경우이다. 약물 개발 시, 예컨대 hIL-5와 같은 사람 단백질은 hIL-5의 길항물질을 동정하는 고처리량 선별 분석법을 위해 Fc 부분과 융합되었다[D. Bennett et al., J.Molecular Recognition 8: 52-58(1995) and K.Johanson et al., J.Biol.Chem. 270: 9459-9471(1995)].

[0109] 당업자라면 잘 알고 있듯이, 그리고 앞에서 논한 바와 같이, 뉴트로킨-알파 및 APRIL 폴리펩타이드는 다른 폴리펩타이드 서열에 융합될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드는 면역글로불린(IgA, IgE, IgG, IgM)의 불변 도메인, 또는 이의 일부(CH1, CH2, CH3 또는 이의 임의의 조합 및 이의 부분들), 또는 알부민(재조합 사람 알부민 또는 이의 단편이나 변이체도 포함하며, 이에 국한되지 않는다; 미국 특허 5,876,969(1999.3.2), EP 특허 0 413 622 및 미국 특허 5,766,883(1998.6.16) 참조; 본원에 전문이 참고인용됨)과 융합될 수 있고, 결과적으로 키메라성 폴리펩타이드가 된다.

[0110] 이러한 융합 단백질은 정제를 촉진하고 보관수명을 연장시킬 수 있으며, 생체내에서 반감기를 증가시킬 수 있다. 이것은 사람 CD4-폴리펩타이드의 처음 두 도메인과 포유동물 면역글로불린의 중쇄 또는 경쇄의 불변부의 다양한 도메인으로 이루어진 키메라성 단백질에서 확인되었다[예컨대, EP 394,827; Traunecker et al., Nature, 331: 84-86(1988)]. 상피 장벽을 따라 면역계로 전달되는 항원의 증가는 IgG 또는 Fc 단편과 같은 FcRn 결합 파트너에 접합된 항원(예, 인슐린)에서 입증되었다(예컨대, PCT 공개번호 WO 96/22024 및 WO 99/04813 참조). 또한, IgG 부분의 이항화 결합으로 인해 이항화 결합된 이량체 구조를 보유하는 IgG 융합 단백질은 단량체성 폴리펩타이드 또는 이의 단편들보다 다른 분자를 결합 및 중화시키는데 더욱 효과적인 것으로 밝혀졌다(예컨대, Fountoulakis et al., J.Biochem., 270: 3958-3964(1995)).

- [0111] 성숙 형태에서 아미노산 585개를 보유하는 단백질인 사람 혈청 알부민(HSA 또는 HA)(서열번호 11)은 혈청 삼투압의 상당 부분에 책임이 있고, 내인성 및 외인성 리간드의 운반체로서 기능을 한다. 현재, 임상용 HA는 사람 혈액에서 추출하여 생산한다. 미생물에서 재조합 HA(rHA)의 생산에 대해서는 EP 330 451 및 EP 361 991에 개시되어 있다.
- [0112] 운반체 분자로서 알부민의 역할 및 이의 불활성 성질은 생체내 폴리펩타이드의 운반체 및 트랜스포터(transporter)로서 사용하기에 바람직한 성질이다. 다양한 단백질의 운반체로서 알부민 융합 단백질의 성분으로서의 알부민의 사용은 WO 93/15199, WO 93/15200 및 EP 413 622에 제안된 바 있다. 폴리펩타이드와의 융합물을 위한 HA의 N-말단 단편의 사용에 대해서도 제안된 바 있다(EP 399 666). 치료 단백질과 알부민의 융합은 HA를 암호화하는 DNA 또는 이의 단편을 치료 단백질을 암호화하는 DNA에 결합시키는 유전자 조작에 의해 수행될 수 있다. 그 다음, 이와 같이 융합된 뉴클레오타이드 서열을 적당한 플라스미드에, 융합 폴리펩타이드를 발현할 수 있도록 배치하여, 이를 이용하여 적당한 숙주를 형질전환 또는 형질감염시킨다. 그 후, 발현은 시험관내에서, 예컨대 원핵생물 또는 진핵생물 세포로부터 수행하거나, 또는 생체내에서, 예컨대 돌연변이 유기체로부터 수행할 수 있다.
- [0113] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 적어도 뉴트로킨-알과 폴리펩타이드의 단편 또는 변이체와 적어도 사람 혈청 알부민의 단편 또는 변이체를 포함하는 것으로서, 이들은 서로 바람직하게는 유전자 융합(즉, 뉴트로킨-알과의 전부 또는 일부를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드와 알부민의 전부 또는 일부를 암호화하는 폴리펩타이드가 프레임내(in-frame) 결합되어 있는 핵산의 해독에 의해 알부민 융합 단백질이 생산된다) 또는 화학적 접합에 의해 결합되어 있다. 뉴트로킨-알과 폴리펩타이드 및 알부민 단백질은, 일단 알부민 융합 단백질의 일부가 되면, 알부민 융합 단백질의 "일부", "영역" 또는 "잔기"로 불릴 수 있다(예, "뉴트로킨-알과 일부" 또는 "알부민 단백질 일부").
- [0114] 일 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 뉴트로킨-알과 폴리펩타이드 및 혈청 알부민 단백질을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 뉴트로킨-알과의 단편과 혈청 알부민 단백질을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 뉴트로킨-알과의 변이체와 혈청 알부민 단백질을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 바람직한 양태에 따르면, 알부민 융합 단백질의 혈청 알부민 단백질 성분은 혈청 알부민의 성숙 부분이다.
- [0115] 또 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 뉴트로킨-알과 폴리펩타이드와 혈청 알부민의 생물학적 활성 및/또는 치료적 활성 단편을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 또 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 뉴트로킨-알과 폴리펩타이드와 혈청 알부민의 생물학적 활성 및/또는 치료적 활성 변이체를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 바람직한 양태에 따르면, 알부민 융합 단백질의 뉴트로킨-알과 일부는 전장의 뉴트로킨-알과 폴리펩타이드이다. 또 다른 바람직한 양태에 따르면, 알부민 융합 단백질의 뉴트로킨-알과 단백질 일부는 뉴트로킨-알과 폴리펩타이드의 성숙 가용성 도메인이다.
- [0116] 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 뉴트로킨-알과의 단편 또는 변이체와 혈청 알부민의 생물학적 활성 및/또는 치료적 활성 단편 또는 변이체를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 바람직한 양태에 따르면, 본 발명은 뉴트로킨-알과 폴리펩타이드의 성숙 일부와 혈청 알부민의 성숙 일부를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 알부민 융합 단백질을 제공한다(재조합 사람 혈청 알부민 또는 이의 단편이나 변이체를 포함하고, 이에 국한되지 않는다; 예컨대 미국 특허 5,876,969(1999.3.2), EP 특허 0 413 622 및 미국 특허 5,766,883(1998.6.16) 참조, 전문이 본원에 참고인용됨). 바람직한 양태에서, 뉴트로킨-알과 폴리펩타이드(이의 단편 또는 변이체 포함)는 사람 혈청 알부민의 성숙 형태(즉, EP 특허 0 322 094의 도 1 및 2에 제시된 바와 같은 사람 혈청 알부민의 아미노산 1 내지 585)와 융합된다. 또 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 항체(이의 단편이나 변이체 포함)는 사람 혈청 알부민의 아미노산 잔기 1-x를 포함하거나 또는 이들로 이루어진 폴리펩타이드 단편(여기서, x는 1 내지 585 사이의 정수이고 알부민 단편은 사람 혈청 알부민 활성을 보유하는 것이다)과 융합된다. 다른 바람직한 양태에 따르면, 뉴트로킨-알과 폴리펩타이드(이의 단편이나 변이체 포함)는 사람 혈청 알부민의 아미노산 잔기 1-z(여기서, z는 369 내지 419 사이의 정수이다; 전문이 본 발명에 참고인용된 미국 특허 5,766,883 참조)를 포함하거나 또는 이들로 이루어진 폴리펩타이드 단편과 융합된다. 뉴트로킨-알과 폴리펩타이드(이의 단편 또는 변이체 포함)는 이중 단백질의 N- 또는 C-말단 단부(예, 면역글로불린의 Fc 폴리펩타이드 또는 사람 혈청 알부민 폴리펩타이드에 융합될 수 있다).
- [0117] 바람직한 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질에 사용되는 사람 혈청 알부민 단백질

은 서열번호 11을 기준으로 하여 다음과 같은 세트의 점돌연변이를 하나 또는 두 개 함유한다: Leu-407에서 Ala로, Leu-408에서 Val, Val-409에서 Ala으로, Arg-410에서 Ala으로; 또는 Arg-410에서 A로, Lys-413에서 Gln으로, Lys-414에서 Gln으로(예컨대, 본원에 전문이 참고인용되는 국제공개번호 WO 95/23857 참조). 더욱 더 바람직한 양태에서, 전술한 세트의 점돌연변이 중 하나 또는 두 개를 함유하는, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 효모 Yap3p 단백질분해성 절단에 대해 향상된 안정성/내성을 보유하여, 효모 숙주 세포에서 발현된 재조합 알부민 융합 단백질의 생산을 증가시켰다.

[0118] 바람직하게는, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 N 말단 일부로서 HA, 및 C 말단 일부로서 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드를 함유한다. 대안적으로, C 말단 일부로서 HA를 함유하고 N 말단 일부로서 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드를 함유하는 알부민 융합 단백질도 사용될 수 있다.

[0119] 다른 양태에 따르면, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 알부민의 N 말단과 C 말단에 모두 융합된 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드를 보유한다. 구체적 양태에서, N 말단과 C 말단에 융합된 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드는 동일하다. 다른 양태에서, N 말단과 C 말단에 융합된 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드는 상이하다. 다른 양태에서, 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드는 알부민의 N 말단 또는 C 말단에 융합되고, 그 나머지 말단에 이중성 폴리펩타이드가 융합된다.

[0120] 또한, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 잔기 사이에 물리적 분리도가 더 커지도록, 융합된 일부들 사이에 링커 펩타이드를 포함하기도 한다. 이러한 링커 펩타이드는 유연성이거나 더욱 강성이 되도록 하는 아미노산으로 이루어질 수 있다.

[0121] 일반적으로, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 하나의 HA 유래의 영역과 하나의 뉴트로킨-알파 영역을 보유할 수 있다. 하지만, 각 단백질의 다수의 영역을, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질의 제조에 사용할 수도 있다. 이와 유사하게, 하나보다 많은 단백질을 이용하여 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질을 제조할 수 있다. 예를 들어, 단백질은 HA의 N 말단 단부와 C 말단 단부에 모두 융합될 수 있다. 이러한 배열에서, 단백질 일부는 동일하거나 상이한 단백질 분자일 수 있다. 이러한 이기능성 알부민 융합 단백질의 구조는 X-HA-Y 또는 Y-HA-X로 나타낼 수 있다.

[0122] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 단백질 또는 이의 단편이나 변이체는 세포독소(예컨대, 세포증식억제제(cytostatic) 또는 살세포성(cytocidal) 제제)에 접합될 수 있다. 세포독소 또는 세포독성제는 세포에 유해한 임의의 제제를 포함한다. 그 예에는 파클리탁솔, 사이토칼라신 B, 그라미시딘 D, 에티디움 브로마이드, 에메틴, 미토마이신, 에토포사이드, 테노포사이드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜치신, 독소루비신, 다우노루비신, 디하이드록시 안트라신 디온, 미토잔트론, 미트라마이신, 액티노마이신 D, 1-테하이드로 테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤 및 퓨로마이신, 및 이의 유사체 또는 동족체가 포함된다.

[0123] 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 단백질 또는 이의 단편이나 변이체는 독소에 접합될 수 있다.

[0124] "독소"란 내인성 세포독성 효과기 시스템에 결합하여 활성화시키는 1종 이상의 화합물, 방사능동위원소, 홀로톡신(holotoxin), 변형 독소, 독소의 촉매적 서브유닛, 또는 제한된 조건 하에서 세포 사멸을 유발하는 세포 표면 위나 안에 보통 존재하지 않는 임의의 분자 또는 효소를 의미한다. 사용될 수 있는 독소에는, 당업계에 공지된 방사능동위원소, 화합물, 예컨대 고유 또는 유도된 내인성 세포독성 효과기 시스템에 결합하는 항체(또는 이의 일부를 함유하는 보체 고정), 티미딘 키나제, 엔도뉴클레아제, RNase, 알파 독소, 리신, 에이브린, 슈도모나스(*Pseudomonas*) 외독소 A, 디프테리아 독소, 사포린, 모모르딘, 젤로닌, 미국자리공(pokeweed) 항바이러스 단백질, 알파-사르신 및 콜레라 독소 등이 포함되나, 이에 국한되는 것은 아니다. 또한, "독소"는 세포증식억제제 또는 살세포성제, 치료제 또는 방사능활성 금속 이온, 예컨대 알파-방사체, 구체적으로 ²¹³Bi 또는 다른 방사능 동위원소, 예컨대 ¹⁰³Pd, ¹³³Xe, ¹³¹I, ⁶⁸Ge, ⁵⁷Co, ⁶⁵Zn, ⁸⁵Sr, ³²P, ³⁵S, ⁹⁰Y, ¹⁵³Sm, ¹⁵³Gd, ¹⁶⁹Yb, ⁵¹Cr, ⁵⁴Mn, ⁷⁵Se, ¹¹³Sn, ⁹⁰이트륨, ¹¹⁷주석, ¹⁸⁶레늄, ¹⁶⁶홀름 및 ¹⁸⁸레늄 등을 포함한다.

[0125] 또 다른 예에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 폴리펩타이드는 면역글로불린(IgA, IgE, IgG, IgM)의 불변 도메인, 또는 이의 일부(CH1, CH2, CH3 또는 이의 임의의 조합 및 이의 일부들), 또는 알부민(예컨대 재조합 사람 알부민 또는 이의 단편이나 변이체 포함, 이에 국한되지 않는다; 예컨대 미국 특허 5,876,969(1999.3.2), EP 특허 0 413 622 및 미국 특허 5,766,883(1998.6.16), 전문이 참고인용됨)과

융합되어, 키메라성 폴리펩타이드를 생산한다.

[0126] 이러한 융합 단백질은 정제를 촉진하고 보관수명을 연장시킬 수 있으며, 생체내에서 반감기를 증가시킬 수 있다. 이것은 사람 CD4-폴리펩타이드의 처음 두 도메인과 포유동물 면역글로불린의 중쇄 또는 경쇄의 불변부의 다양한 도메인으로 이루어진 키메라성 단백질에서 확인되었다[예컨대, EP 394,827; Traunecker et al., Nature, 331: 84-86(1988)]. 상피 장벽을 따라 면역계로 전달되는 항원의 증가는 IgG 또는 Fc 단편과 같은 FcRn 결합 파트너에 접합된 항원 (예: 인슐린)에서 입증되었다 (참조: PCT 공개번호 WO 96/22024 및 WO 99/04813). 또한, IgG 부분의 이황화 결합으로 인해 이황화 결합된 이량체 구조를 보유하는 IgG 융합 단백질은 단량체성 폴리펩타이드 또는 이의 단편들보다 다른 분자를 결합 및 중화시키는데 더욱 효과적인 것으로 밝혀졌다(예컨대, Fountoulakis et al., J.Biochem., 270: 3958-3964(1995)).

[0127] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 적어도 APRIL 폴리펩타이드의 단편 또는 변이체와 적어도 사람 혈청 알부민의 단편 또는 변이체를 포함하는 것으로서, 이들은 서로 바람직하게는 유전자 융합(즉, APRIL의 전부 또는 일부를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드와 알부민의 전부 또는 일부를 암호화하는 폴리펩타이드가 프레임내(in-frame) 결합되어 있는 핵산의 해독에 의해 알부민 융합 단백질이 생산된다) 또는 화학적 접합에 의해 결합되어 있다. APRIL 폴리펩타이드 및 알부민 단백질은, 일단 알부민 융합 단백질의 일부가 되면, 알부민 융합 단백질의 "일부", "영역" 또는 "잔기(moiety)"로 불릴 수 있다(예, "APRIL 일부" 또는 "알부민 단백질 일부").

[0128] 일 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 APRIL 폴리펩타이드 및 혈청 알부민 단백질을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 APRIL의 단편과 혈청 알부민 단백질을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 APRIL의 변이체와 혈청 알부민 단백질을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 바람직한 양태에 따르면, 알부민 융합 단백질의 혈청 알부민 단백질 성분은 혈청 알부민의 성숙 부분이다.

[0129] 또 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 APRIL 폴리펩타이드와 혈청 알부민의 생물학적 활성 및/또는 치료적 활성 단편을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 또 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 APRIL 폴리펩타이드와 혈청 알부민의 생물학적 활성 및/또는 치료적 활성 변이체를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 바람직한 양태에 따르면, 알부민 융합 단백질의 APRIL 일부는 전장의 APRIL 폴리펩타이드이다. 또 다른 바람직한 양태에 따르면, 알부민 융합 단백질의 APRIL 일부는 APRIL 폴리펩타이드의 성숙 가용성 도메인이다.

[0130] 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 APRIL의 단편 또는 변이체와 혈청 알부민의 생물학적 활성 및/또는 치료학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 바람직한 양태에 따르면, 본 발명은 APRIL 폴리펩타이드의 성숙 일부와 혈청 알부민의 성숙 일부를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 알부민 융합 단백질을 제공한다.

[0131] 또 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 APRIL의 단편 또는 변이체와 혈청 알부민의 생물학적 활성 및/또는 치료학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 바람직한 양태에 따르면, 본 발명은 APRIL 폴리펩타이드의 성숙 일부와 혈청 알부민의 성숙 일부를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 알부민 융합 단백질을 제공한다(재조합 사람 혈청 알부민 또는 이의 단편이나 변이체를 포함하고, 이에 국한되지 않는다; 예컨대 미국 특허 5,876,969(1999.3.2), EP 특허 0 413 622 및 미국 특허 5,766,883(1998.6.16) 참조, 전문이 본원에 참고인용됨). 바람직한 양태에서, APRIL 폴리펩타이드(이의 단편 또는 변이체 포함)는 사람 혈청 알부민의 성숙 형태(즉, EP 특허 0 322 094의 도 1 및 2에 제시된 바와 같은 사람 혈청 알부민의 아미노산 1 내지 585)와 융합된다. 또 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 항체(이의 단편이나 변이체 포함)는 사람 혈청 알부민의 아미노산 잔기 1-x를 포함하거나 또는 이들로 이루어진 폴리펩타이드 단편(여기서, x는 1 내지 585 사이의 정수이고 알부민 단편은 사람 혈청 알부민 활성을 보유하는 것이다)과 융합된다. 다른 바람직한 양태에 따르면, APRIL 폴리펩타이드(이의 단편이나 변이체 포함)는 사람 혈청 알부민의 아미노산 잔기 1-z(여기서, z는 369 내지 419 사이의 정수이다; 전문이 본 발명에 참고인용된 미국 특허 5,766,883 참조)를 포함하거나 또는 이들로 이루어진 폴리펩타이드 단편과 융합된다. APRIL 폴리펩타이드(이의 단편 또는 변이체 포함)는 이종 단백질의 N- 또는 C-말단 단부(예, 면역글로불린의 Fc 폴리펩타이드 또는 사람 혈청 알부민 폴리펩타이드에 융합될 수 있다).

[0132] 바람직한 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질에 사용되는 사람 혈청 알부민 단백질

은 서열번호 11을 기준으로 하여 다음과 같은 세트의 점돌연변이를 하나 또는 두 개 함유한다: Leu-407에서 Ala로, Leu-408에서 Val, Val-409에서 Ala으로, Arg-410에서 Ala으로; 또는 Arg-410에서 A로, Lys-413에서 Gln으로, Lys-414에서 Gln으로(예컨대, 본원에 전문이 참고인용되는 국제공개번호 WO 95/23857 참조). 더욱 더 바람직한 양태에서, 전술한 세트의 점돌연변이 중 하나 또는 두 개를 함유하는, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 효모 Yap3p 단백질분해성 절단에 대해 향상된 안정성/내성을 보유하여, 효모 숙주 세포에서 발현된 재조합 알부민 융합 단백질의 생산을 증가시켰다.

[0133] 바람직하게는, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 N 말단 일부로서 HA, 및 C 말단 일부로서 APRIL 폴리펩타이드를 함유한다. 대안적으로, C 말단 일부로서 HA를 함유하고 N 말단 일부로서 APRIL 폴리펩타이드를 함유하는 알부민 융합 단백질도 사용될 수 있다.

[0134] 다른 양태에 따르면, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 알부민의 N 말단과 C 말단에 모두 융합된 APRIL 폴리펩타이드를 보유한다. 구체적 양태에서, N 말단과 C 말단에 융합된 APRIL 폴리펩타이드는 동일하다. 다른 양태에서, N 말단과 C 말단에 융합된 APRIL 폴리펩타이드는 상이하다. 다른 양태에서, APRIL 폴리펩타이드는 알부민의 N 말단 또는 C 말단에 융합되고, 그 나머지 말단에 이중성 폴리펩타이드가 융합된다.

[0135] 또한, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 잔기 사이에 물리적 분리도가 더 커지도록, 융합된 일부들 사이에 링커 펩타이드를 포함하기도 한다. 이러한 링커 펩타이드는 유연성이거나 더욱 강성이 되도록 하는 아미노산으로 이루어질 수 있다.

[0136] 일반적으로, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 하나의 HA 유래의 영역과 하나의 APRIL 영역을 보유할 수 있다. 하지만, 각 단백질의 다수의 영역을, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질의 제조에 사용할 수도 있다. 이와 유사하게, 하나보다 많은 단백질을 이용하여 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질을 제조할 수 있다. 예를 들어, 단백질은 HA의 N 말단 단부와 C 말단 단부에 모두 융합될 수 있다. 이러한 배열에서, 단백질 일부는 동일하거나 상이한 단백질 분자일 수 있다. 이러한 이기능성 알부민 융합 단백질의 구조는 X-HA-Y 또는 Y-HA-X로 나타낼 수 있다.

[0137] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 단백질 또는 이의 단편이나 변이체는 세포독소(예컨대, 세포증식억제성 또는 살세포성 제제)에 접합될 수 있다. 세포독소 또는 세포독성제는 세포에 유해한 임의의 제제를 포함한다. 그 예에는 파클리탁솔, 사이토칼라신 B, 그라미시딘 D, 에티디움 브로마이드, 에메틴, 미토마이신, 에토포사이드, 테노포사이드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜치신, 독소루비신, 다우노루비신, 디하이드록시안트라신 디온, 미토잔트론, 미트라마이신, 액티노마이신 D, 1-테하이드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤 및 퓨로마이신, 및 이의 유사체 또는 동족체가 포함된다.

[0138] 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 단백질 또는 이의 단편이나 변이체는 독소에 접합될 수 있다.

[0139] "독소"란 내인성 세포독성 효과기 시스템에 결합하여 활성화시키는 1종 이상의 화합물, 방사능동위원소, 홀로톡신(holotoxin), 변형 독소, 독소의 촉매적 서브유닛, 또는 제한된 조건 하에서 세포 사멸을 유발하는 세포 표면 위나 안에 보통 존재하지 않는 임의의 분자 또는 효소를 의미한다. 사용될 수 있는 독소에는, 당업계에 공지된 방사능동위원소, 화합물, 예컨대 고유 또는 유도된 내인성 세포독성 효과기 시스템에 결합하는 항체(또는 이의 일부를 함유하는 보체 고정), 티미딘 키나제, 엔도뉴클레아제, RNase, 알파 독소, 리신, 에이브린, 슈도모나스(*Pseudomonas*) 외독소 A, 디프테리아 독소, 사포린, 모모르딘, 젤로닌, 미국자리공(pokeweed) 항바이러스 단백질, 알파-사르신 및 콜레라 독소 등이 포함되나, 이에 국한되는 것은 아니다. 또한, "독소"는 세포증식억제제 또는 살세포성제, 치료제 또는 방사능활성 금속 이온, 예컨대 알파-방사체, 구체적으로 ^{213}Bi 또는 다른 방사능 동위원소, 예컨대 ^{103}Pd , ^{133}Xe , ^{131}I , ^{68}Ge , ^{57}Co , ^{65}Zn , ^{85}Sr , ^{32}P , ^{35}S , ^{90}Y , ^{153}Sm , ^{153}Gd , ^{169}Yb , ^{51}Cr , ^{54}Mn , ^{75}Se , ^{113}Sn , $^{90}\text{이트륨}$, $^{117}\text{주석}$, $^{186}\text{레늄}$, $^{166}\text{홀름}$ 및 $^{188}\text{레늄}$ 등을 포함한다.

[0140] 단백질 공학은 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 폴리펩타이드를 생산하기 위해 뉴트로킨-알파 및 APRIL 폴리펩타이드의 특징을 변경시키는데 이용될 수 있다. 당업자에게 공지된 재조합 DNA 기술은 새로운 돌연변이 단백질 또는 "하나 또는 복수의 아미노산 치환, 결실, 첨가 또는 융합 단백질을 포함하는 뮤테인"을 제조하는데 사용될 수 있다. 이와 같이 변형된 폴리펩타이드는 예컨대, 활성 증가, 활성 감소 또는 안정성 증가 등을 나타낼 수 있다. 또한, 이 폴리펩타이드는 적어도 일정한 정제 및 보관 조건 하에서 대응하는 천연 폴리펩타이드보다 가용성이 우수하고 더 높은 수율로 정제될 수 있다. 예를 들어, 분비형 단백질의 세포외 도메인 또는 성숙 형태(들)를

포함하는 많은 단백질들은, 생물학적 기능의 실질적인 손실 없이 N 말단 또는 C 말단으로부터 하나 이상의 아미노산이 결실될 수 있는 것으로 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Ron et al., J.Biol.Chem., 268: 2984-2988(1993)]에는 아미노 말단의 아미노산 잔기 중에서 3개, 8개 또는 27개가 결실되었더라도 해파린 결합 활성을 보유하는, 변형된 KGF 단백질이 보고되어 있다.

[0141] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 및 APRIL 폴리펩타이드는 단량체 또는 다량체(즉, 이량체, 삼량체, 사량체 및 그 이상의 다량체)일 수 있다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 및 APRIL 폴리펩타이드는 동종체(homomer) 또는 이종체(heteromer)일 수 있다. 뉴트로킨-알파 동종체는 오로지 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드(본 명세서에 기술된 바와 같은 뉴트로킨-알파 단편, 변이체 및 융합 단백질 포함)만을 함유하는 다량체를 의미한다. 이러한 동종체는 아미노산 서열이 동일하거나 상이한 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드를 함유할 수 있다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드는 뉴트로킨-알파 동종이량체(예, 아미노산 서열이 동일하거나 상이한 2개의 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드 함유) 또는 뉴트로킨-알파 동종삼량체(예컨대, 아미노산 서열이 동일하거나 상이한 3개의 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드 함유)이다. 바람직한 양태에 따르면, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드는 뉴트로킨-알파의 동종삼량체이다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드는 적어도 동종이량체, 적어도 동종삼량체 또는 적어도 동종사량체이다. APRIL 동종체는 APRIL 폴리펩타이드(본 명세서에 기술된 APRIL 단편, 변이체 및 융합 단백질 포함)만을 함유하는 다량체를 의미한다. 이러한 동종체는 아미노산 서열이 동일하거나 상이한 APRIL 폴리펩타이드를 함유할 수 있다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 폴리펩타이드는 APRIL 동종이량체(예, 아미노산 서열이 동일하거나 상이한 2개의 APRIL 폴리펩타이드 함유) 또는 APRIL 동종삼량체(예컨대, 아미노산 서열이 동일하거나 상이한 3개의 APRIL 폴리펩타이드 함유)이다. 바람직한 양태에 따르면, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 폴리펩타이드는 APRIL의 동종삼량체이다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 폴리펩타이드는 적어도 동종이량체, 적어도 동종삼량체 또는 적어도 동종사량체이다.

[0142] 이종체성 뉴트로킨-알파는 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드 외에, 이종성 폴리펩타이드(즉, 다른 단백질의 폴리펩타이드)를 함유하는 다량체를 의미한다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드는 이종이량체, 이종삼량체, 또는 이종사량체이다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드는 적어도 이종이량체, 적어도 이종삼량체 또는 적어도 이종사량체인 다량체이다. 이종체성 APRIL은 APRIL 폴리펩타이드 외에, 이종성 폴리펩타이드(즉, 다른 단백질의 폴리펩타이드)를 함유하는 다량체를 의미한다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 폴리펩타이드는 이종이량체, 이종삼량체 또는 이종사량체이다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 폴리펩타이드는 적어도 이종이량체, 적어도 이종삼량체 또는 적어도 이종사량체인 다량체이다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드는 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드와 APRIL 폴리펩타이드 또는 이의 단편이나 변이체를 함께 포함하는 이종이량체이다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드는 하나의 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드(단편 또는 변이체도 포함)와 2개의 APRIL 폴리펩타이드(단편 또는 변이체도 포함)를 포함하는 이종삼량체이다. 다른 구체예에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드는 2개의 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드(단편 또는 변이체도 포함)와 하나의 APRIL 폴리펩타이드(단편 또는 변이체도 포함)를 포함하는 이종삼량체이다.

[0143] 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드는 다량체의 각 단백질 성분이 뉴트로킨-알파의 성숙 형태(예, 서열번호 2의 아미노산 잔기 134-285) 또는 이의 단편이나 변이체를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 동종체성, 특히 동종삼량체성 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드이다. 다른 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드는 2개의 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드와 하나의 APRIL 폴리펩타이드를 함유하는 이종삼량체 또는 하나의 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드와 2개의 APRIL 폴리펩타이드를 함유하는 이종삼량체와 같은 이종체성, 특히 이종삼량체성 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드이며, 여기서 뉴트로킨-알파 이종체의 각 단백질 성분은 뉴트로킨-알파의 성숙 세포의 가용성 일부(예, 서열번호 2의 아미노산 잔기 134-285) 또는 이의 단편이나 변이체, 또는 APRIL의 성숙 세포의 가용성 일부(예, 서열번호 4의 아미노산 잔기 105-250) 또는 이의 단편이나 변이체를 포함하거나, 또는 이들 중 어느 하나로 이루어진다.

[0144] 추가 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 폴리펩타이드는 동종체성, 특히 동종삼량체성 APRIL 폴리펩타이드이며, 여기서 다량체의 각 단백질 성분은 APRIL의 성숙 형태(예, 서열번호 4의 아미노산 잔기 105-250) 또는 이의 단편이나 변이체를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 다른 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 폴리펩타이드는 2개의 APRIL 폴리펩타이드와 하나의 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드를

함유하는 이중삼량체 또는 하나의 APRIL 폴리펩타이드와 2개의 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드를 함유하는 이중삼량체와 같은 이중체성, 특히 이중삼량체성 APRIL 폴리펩타이드이며, 여기서 APRIL 이중체의 각 단백질 성분은 APRIL의 성숙 세포외 가용성 일부(예, 서열번호 4의 아미노산 잔기 105-250) 또는 이의 단편이나 변이체, 또는 뉴트로킨-알파의 성숙 세포외 가용성 일부(예, 서열번호 2의 아미노산 잔기 134-285) 또는 이의 단편이나 변이체를 포함하거나, 또는 이들 중 어느 하나로 이루어진다.

[0145] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 다량체는 소수성, 친수성, 이온성 및/또는 공유 결합의 결과일 수 있고/있거나 리포솜 등에 의해 간접적으로 결합될 수 있다. 따라서, 일 양태에서, 동종이량체 또는 동종삼량체와 같은 다량체는 폴리펩타이드가 용액에서 서로 접촉할 때 형성된다. 다른 양태에서, 이중삼량체 또는 이중사량체와 같은 이중다량체는 폴리펩타이드들이 용액에서 서로 접촉할 때 형성된다. 다른 양태에서, 다량체는 뉴트로킨-알파폴리펩타이드와 및/또는 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드 사이의 공유 결합에 의해 형성된다. 다른 양태에서, 다량체는 APRIL 폴리펩타이드와 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 사이의 공유 결합에 의해 형성된다. 이러한 공유 결합은 폴리펩타이드 서열(예컨대, 뉴트로킨-알파의 경우에는 서열번호 2에 기술된 것 또는 APRIL의 경우에는 서열번호 4에 기술된 것)에 함유된 하나 이상의 아미노산 잔기를 수반할 수 있다. 일 예로서, 공유 결합은 천연(즉, 자연 발생) 폴리펩타이드 내에서 상호작용하는, 폴리펩타이드 서열 내에 위치한 시스테인 잔기 사이의 가교이다. 다른 예에서, 공유 결합은 화학적 또는 재조합 조작의 결과이다. 대안적으로, 이러한 공유 결합은 뉴트로킨-알파 또는 APRIL 융합 단백질 내의 이중성 폴리펩타이드 서열에 함유된 하나 이상의 아미노산 잔기를 수반한다(예컨대, 미국 특허 5,478,925 참조). 구체예에서, 공유 결합은 뉴트로킨-알파-Fc 융합 단백질(본 명세서에 기술된 것)에 함유된 이중성 서열 사이에서 이루어진다. 구체예에서, 공유 결합은 APRIL-Fc 융합 단백질(본 명세서에 기술된 것)에 함유된 이중성 서열 사이에서 이루어진다. 다른 구체예에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 융합 단백질의 공유 결합은 공유 결합된 다량체, 예컨대 오세테오프로테제린(예컨대, 국제공개번호 WO 98/49305, 전문이 본원에 참고인용됨)을 형성할 수 있는 다른 TNF과 리간드/수용체 일원 유래의 이중성 폴리펩타이드 서열 사이에서 이루어진다. 다른 구체예에서, 2 이상의 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드 및/또는 APRIL 폴리펩타이드는 합성 링커(예컨대, 펩타이드, 탄수화물 또는 가용성 중합체 링커)를 통해 결합된다. 그 예에는, 미국 특허 5,073,627(본원에 참고인용됨)에 기술된 펩타이드 링커가 있다. 펩타이드 링커에 의해 분리된 복수의 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드 및/또는 APRIL 폴리펩타이드를 함유하는 단백질은 통상적인 재조합 DNA 기술을 사용하여 생산할 수 있다.

[0146] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 길항물질은 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 우성 음성 형태이다. 구체적으로, 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL의 우성 음성 형태를 비롯한 변이체는 예컨대, 국제특허공개번호 WO 06/034106, WO 05/113598, WO 04/089982, WO 04/081043 및 WO 03/057856, 및 미국 특허 공개번호 US20060014248, US20050221443, US20050130892, US20050048626, US2005003480 및 US20030166559에 기술되어 있다. 이러한 각 문헌은 본 발명에 전문이 참고인용되었다. 이러한 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체는 예를 들어 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 동종 또는 이종 다량체화를 방해함으로써, 뉴트로킨-알파 기능에 길항작용을 할 수 있다. 이러한 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 폴리펩타이드 변이체는 이들을 함유하는 폴리펩타이드가 TACI, BCMA 및 BAFF-R과 같은 뉴트로킨-알파 수용체에 결합 및/또는 이를 통한 시그널링을 수행하지 못하도록 할 수 있다.

[0147] 다른 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 문헌[Gao et al., (2006) Biotechnol. Lett. 28: 1649-54; 전문이 본원에 참고인용됨]에 기술된 뉴트로킨-알파 단백질 변이체이다.

[0148] 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 길항물질은 Δ BAFF(서열번호 12)이다.

[0149] B. 항-뉴트로킨-알파 항체

[0150] 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체 또는 이의 항원결합 단편이다. 항-뉴트로킨-알파 항체 및 이의 단편은, 예컨대 문헌[PCT 공개번호 WO01/087977, WO 03/016468, WO 01/60397, WO 02/02641 및 WO 03/55979; 미국 공개번호 2005/0070694 및 2005/0255532; 및 Cao et al., (2005) Immunol Lett 101: 87-94; Ch' en et al., (2005) Cell Immunol 236: 78-85; Liu et al., (2005) Acta Biochim Biophys Sin(Shanghai) 37: 415-420; Schneider et al., (1999) J Exp Med 189: 1747-1756; Sun et al., (2006) Hybridoma 25: 80-85; Sun et al., (2006) Hybridoma 25: 238-242]에 기술되어 있고; 이하에 더 상세히 설명된다. 전술한 각 문헌들은 본원에 전문이 참고인용되었다.

- [0151] 본 명세서에 사용된 "항체"란 용어는, 면역글로불린 분자 및 면역글로불린 분자의 면역학적 활성 일부, 즉 항원에 면역특이적으로 결합하는 항원결합 부위를 함유하는 분자를 의미한다. 따라서, 항체란 용어는 전 항체 분자 뿐만 아니라 항체 단편, 및 항체와 항체 단편의 변이체(유도체 포함)도 포함한다. 본 발명에서 "항체"란 용어로 설명되는 분자의 예에는 일본쇄 Fv(scFv), Fab 단편, Fab' 단편, F(ab')₂, 이황화 결합된 Fv(sdFv), Fv, 및 VL 또는 VH 도메인을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 단편이 포함되나, 이에 국한되는 것은 아니다. 본 명세서에 사용된 "일본쇄 Fv" 또는 "scFv"란 용어는 항체의 VH 도메인에 결합된 항체의 VL 도메인을 함유하는 폴리펩타이드를 의미한다. 특정 항원(예, 뉴트로킨-알파)에 면역특이적으로 결합하는 항체는 다른 항원과 교차 반응성을 나타낼 수 있다. 특정 항원에 면역특이적으로 결합하는 항체는 다른 항원과 교차반응하지 않는 것이 바람직하다. 특정 항원에 면역특이적으로 결합하는 항체는 면역분석법 또는 당업자에게 공지된 다른 기술, 예컨대 2006년 7월 31일에 출원된 미국 특허출원 60/834,152(본원에 전문이 참고인용됨)에 기술된 면역분석법 등으로 동정할 수 있다.
- [0152] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체에는 모노클로날, 다특이성, 사람 또는 키메라 항체, 단일쇄 항체, Fab 단편, F(ab') 단편, 항이디오타입(항-Id) 항체 및 이들 중 임의의 에피토프 결합 단편이 포함되나, 이에 국한되는 것은 아니다. 본 발명의 면역글로불린 분자는 면역글로불린 분자의 임의의 타입(예, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 클래스(예, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 및 IgA₂) 또는 서브클래스일 수 있다.
- [0153] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 또한 항체의 다량체 형태를 포함할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 항체 이량체, 삼량체 또는 그 이상의 다량체성 면역글로불린 분자의 다량체 형태일 수 있다. 전체 면역글로불린 분자 또는 F(ab')₂ 단편의 이량체는 4가인 반면, Fab 단편 또는 scFv 분자의 이량체는 2가이다. 항체 다량체 내의 각 단량체는 동일하거나 상이할 수 있고, 즉 이 다량체는 이종체성 또는 동종체성 항체 다량체일 수 있다. 예를 들어, 다량체 내의 각 항체는 동일하거나 상이한 결합 특이성을 보유할 수 있다. 항체의 다량체화는 항체의 자연 응집을 통해 또는 당업계에 공지된 화학적 또는 재조합적 결합 기술을 통해 수행될 수 있다. 예를 들어, 정제된 항체 제조물(예, 정제된 IgG1 분자)의 일부 비율은 자발적으로 항체 동종이량체, 또는 그 이상의 항체 다량체를 함유하는 단백질 응집체를 형성한다. 대안적으로, 항체 동종이량체는 당업계에 공지된 화학적 결합 기술을 통해 형성될 수 있다. 예를 들어, 이중작용기성 가교제, 예컨대 SMCC[석신이미딜 4-(말레이미도메틸)사이클로헥산-1-카르복실레이트] 및 SATA[N-석신이미딜 S-아세틸티오-아세테이트](예컨대, Pierce Biotechnology, Inc., (Rockford, IL)에서 입수용이함)(이에 국한되지 않는다)를 이용하여 항체 다량체를 제조할 수 있다. 항체 동종이량체를 제조하는 프로토콜의 일 예는 문헌[Ghetie et al., Proceedings of the National Academy of Sciences USA(1997) 94: 7509-7514, 전문이 본원에 참고인용됨]에 제시되어 있다. 항체 동종이량체는 펩신으로의 분해를 통해 Fab'2 동종이량체로 변환될 수 있다. 항체 동종이량체를 형성하는 다른 방법으로는, 문헌[Zhao and Kohler, The Journal of Immunology(2002) 25: 396-404, 본원에 전문이 참고인용됨]에 기술된 자기결합성(autophilic) T15 펩타이드의 사용을 통한 방법이 있다.
- [0154] 또는, 항체는 재조합 DNA 기술을 통해 다량체화를 수행할 수 있다. IgM 및 IgA는 자연적으로 J 사슬 폴리펩타이드와의 상호작용을 통해 항체 다량체를 형성한다. 비IgA 또는 비IgM 분자, 예컨대 IgG 분자는 IgA 또는 IgM의 J 사슬 상호작용 도메인을 함유하도록 조작되어, 비IgA 또는 비IgM 분자에 더 높은 수의 다량체를 형성하는 능력을 부여할 수 있다(예컨대, Chintalacheruvu et al., (2001) Clinical Immunology 101: 21-31, 및 Frigerio et al., (2000) Plant Physiology 123: 1483-94; 이 두 문헌 모두 전문이 참고인용됨). 또한, ScFv 이량체는 당업계에 공지된 재조합 기술을 통해 제조할 수 있다: scFv 이량체를 작제하는 방법의 일 예는 문헌[Goel et al., (2000) Cancer Research 60: 6964-6971; 전문이 참고인용됨]에 제시되어 있다. 항체 다량체는 당업계에 공지된 적당한 임의의 방법, 예컨대 크기배제크로마토그래피(이에 국한되지 않는다)를 이용하여 정제할 수 있다.
- [0155] 본 명세서에 특별히 한정되지 않는 한, 항체에 의한 특이적 결합 또는 면역특이적 결합은, 항체가 표적 항원에는 결합하지만, 표적 항원 이외의 다른 단백질, 예컨대 동일한 과의 단백질에 속하는 다른 단백질(예, TNF과의 다른 리간드)에는 유의적으로 결합(즉, 교차반응)하지 않는다는 것을 의미한다. 표적 항원에 결합하고 다른 단백질과 교차반응하지 않는 항체는 반드시 모든 조건에서 상기 다른 단백질에 결합하지 않는 항체일 필요는 없다; 오히려, 표적 항원 특이적 항체는 다른 단백질에 결합하는 능력에 비해, 표적 항원에 우선적으로 결합하여, 적어도 하나의 분석 타입 또는 처리 타입에서 사용하기에 적합하며, 즉 낮은 배경값을 제공하거나 처리에 부적당한 부작용을 초래하지 않는 것일 수 있다. 항체에 의해 결합되어진, 단백질의 일부는 에피토프로서 알려져 있다는 것은 공지된 사실이다. 에피토프는 선형(즉, 단백질 서열에서 연속적인 아미노산 잔기로 이루어진)이거나 또는 입체형태적(즉, 단백질의 1차 구조에서는 인접하지 않지만 단백질의 2차, 3차 또는 4차 구조에서는

함께 구성되는 하나 이상의 아미노산 잔기로 이루어진)일 수 있다. 표적항원 특이적 항체가 표적 항원의 에피토프에 결합한다면, 표적 항원에 특이적으로 결합하는 항체는 표적 항원의 단편 및/또는 표적 항원의 변이체(예컨대, 표적 항원과 적어도 90% 동일한 단백질)에는, 이 표적 항원 단편이나 변이체에 소정의 표적 항원 특이적 항체가 결합하는 에피토프의 존재 여부에 따라서, 결합하거나 결합하지 않을 수 있다. 이와 마찬가지로, 표적 항원 특이적 항체는, 이 항체에 의해 인식되는 에피토프가 오르토로그(orthologue)에 존재하는지의 여부에 따라서 표적 항원(이의 단편 포함)의 종 오르토로그에 결합할 수 있다. 또한, 표적 항원 특이적 항체는 표적 항원 융합 단백질과 같은 표적 항원의 변형된 형태에 결합할 수 있다. 항체가 표적 항원 융합 단백질에 결합하는 경우에, 그 결합이 특이성이 있도록, 융합 단백질의 표적 항원 잔기와 항체를 접촉 결합시켜야만 한다.

[0156] 임의의 특정 표적 항원에 특이적으로 결합하는 항체는, 예컨대 면역분석법 또는 당업자에게 공지된 다른 기술, 예컨대 2006년 7월 31일에 출원된 미국 특허출원 60/834,152(본원에 전문이 참고인용됨)에 기술된 면역분석법 등으로 동정할 수 있다. 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 뉴트로킨-알파에 "특이성"일 수 있지만, 반드시 필수조건은 아니다. 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항-뉴트로킨-알파 항체는 이들의 교차반응성으로 설명되거나 구체화될 수 있다. 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드의 임의의 다른 유사체, 오르토로그(ortholog) 또는 동족체(homolog)에 결합하지 않는 항체는 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. 구체적인 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 APRIL과 교차반응한다. 구체적인 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 사람 단백질의 쥐, 래트 및/또는 래빗 동족체, 및 이의 대응하는 에피토프와 교차반응한다.

[0157] 구체적인 양태에서, 서열번호 2의 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드, 폴리펩타이드 단편 또는 변이체, 및/또는 뉴트로킨-알파 에피토프에 결합하는 항체(특이적 항체-항원 결합을 분석하기 위해 당업계에 공지된 면역분석법으로 측정했을 때)는 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. 구체적인 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 다른 폴리펩타이드 서열에 융합된 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드에 결합할 수 있다. 예를 들어, 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드는 면역글로불린(IgA, IgE, IgG, IgM)의 불변 도메인, 또는 이의 일부(CH1, CH2, CH3 또는 이의 임의의 조합 및 이의 일부들), 또는 알부민(재조합 사람 알부민 또는 이의 단편이나 변이체도 포함하며, 이에 국한되지 않는다; 미국 특허 5,876,969(1999.3.2), EP 특허 0 413 622 및 미국 특허 5,766,883(1998.6.16) 참조, 전문이 참고인용됨)과 융합하여 키메라성 폴리펩타이드를 생성할 수 있다. 이러한 융합 단백질은 정제를 용이하게 하고, 생체내 반감기를 증가시킬 수 있다. 이것은 사람 CD4-폴리펩타이드의 처음 두 도메인과 포유동물 면역글로불린의 중쇄 또는 경쇄의 불변부의 다양한 도메인으로 이루어진 키메라성 단백질에서 확인되었다[예컨대, EP 394,827; Traunecker et al., Nature, 331: 84-86(1988)]. 상피 장벽을 따라 면역계로 전달되는 항원의 증가는 IgG 또는 Fc 단편과 같은 FcRn 결합 파트너에 접합된 항원(예, 인슐린)에서 입증되었다(예컨대, PCT 공개번호 WO 96/22024 및 WO 99/04813 참조). 또한, IgG 일부의 이항화 결합으로 인해 이항화 결합된 이량체 구조를 보유하는 IgG 융합 단백질은 단량체성 폴리펩타이드 또는 이의 단편들보다 다른 분자를 결합 및 중화시키는데 더욱 효과적인 것으로 밝혀졌다(예컨대, Fountoulakis et al., J.Biochem., 270: 3958-3964(1995)).

[0158] 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드의 랜덤 돌연변이유발, 오류유발(error-prone) PCR, 랜덤 뉴클레오타이드 삽입 또는 재조합 전의 다른 방법에 의해 제조된 돌연변이 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드에 결합한다. 다른 양태에 따르면, 본 발명의 방법에서 사용될 수 있는 항체는 1 이상의 이중성 분자의 하나 이상의 성분, 모티프, 섹션, 파트, 도메인, 단편 등과 재조합된, 뉴트로킨-알파의 하나 이상의 성분, 모티프, 섹션, 파트, 도메인, 단편 등에 결합한다. 바람직한 양태에 따르면, 이중성 분자는 예컨대 TNF-알파, 림포톡신-알파(LT-알파, TNF-베타라고도 알려져 있음), LT-베타(복합 이중삼량체 LT-알파2-베타에서 발견되는), OPGL, FasL, CD27L, CD30L, CD40L, 4-1BBL, DcR3, OX40L, TNF-감마(국제공개번호 WO 96/14328), AIM-I(국제공개번호 WO 97/33899), AIM-II(국제공개번호 WO 97/34911), APRIL(J.Exp.Med. 188(6): 1185-1190), 엔도킨-알파(국제공개번호 WO 98/07880), OPG, OX40 및 신경성장인자(NGF), 및 Fas, CD30, CD27, CD40 및 4 IBB의 가용성 형태, TR2(국제공개번호 WO 96/34095), DR3(국제공개번호 WO 97/30693), DR4(국제공개번호 WO 98/32856), TR5(국제공개번호 WO 98/30693), TR6(국제공개번호 WO 98/30694), TR7(국제공개번호 WO 98/41629), TRANK, TR9(국제공개번호 WO 98/56892), TR10(국제공개번호 WO 98/41629), 312C2(국제공개번호 WO 98/06842), TR12, CAD 및 v-FLIP 이다. 다른 양태에 따르면, 이중성 분자는 TNF과의 임의의 일원이다.

[0159] 구체적인 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 동중체성, 특히 동중삼량체성 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드에 결합한다. 다른 구체적인 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 2개의 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드와 하나의 APRIL 폴리펩타이드를 함유하는 이중삼량체 또는 하나의 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드와 2개의 APRIL 폴리펩타이드를 함유하는 이중삼량체와 같은 이중체성, 특히 이중삼량체성 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드

드에 결합한다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 다량체의 각 단백질 성분이 뉴트로킨-알파의 성숙 형태(예, 서열번호 2의 아미노산 잔기 134-285)로 이루어진, 동중체성, 특히 동중삼량체성 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드에 결합한다. 다른 특이적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 2개의 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드와 하나의 APRIL 폴리펩타이드를 함유하는 이중삼량체 또는 하나의 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드와 2개의 APRIL 폴리펩타이드를 함유하는 이중삼량체와 같은 이중체성, 특히 이중삼량체성 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드에 결합하고, 여기서 뉴트로킨-알파 이중삼량체의 각 단백질 성분은 뉴트로킨-알파의 성숙 세포의 가용성 일부(예, 서열번호 2의 아미노산 잔기 134-285) 또는 APRIL의 성숙 세포의 가용성 일부(예, 서열번호 4의 아미노산 잔기 105-250)로 이루어진다.

[0160] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 뉴트로킨-알파 다량체성 단백질의 형태적 에피토프에 결합한다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 뉴트로킨-알파 다량체성, 특히 삼량체성 단백질의 형태적 에피토프에 결합한다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 이중성 폴리펩타이드와 뉴트로킨-알파의 병치 시 나타나는, 뉴트로킨-알파 이중삼량체(예, APRIL 폴리펩타이드와)를 형성할 때 존재하거나 또는 뉴트로킨-알파와 이중성 폴리펩타이드 사이의 융합 단백질에 존재할 수 있을 것 같은 형태적 에피토프에 결합한다.

[0161] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체에는, 폴리클로날, 모노클로날, 다특이성, 사람, 사람화된 또는 키메라성 항체, 단일쇄 항체, Fab 단편, F(ab') 단편, Fab 발현 라이브러리에 의해 생성된 단편, 항이디오타입(항-Id) 항체(예컨대, 항-뉴트로킨-알파 항체에 대한 항-id 항체 포함), 및 상기 임의의 에피토프 결합 단편이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 바람직한 양태에서, 면역글로불린은 IgG1 또는 IgG4 동종형이다. 면역글로불린은 중쇄 및 경쇄를 보유할 수 있다. IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY 중쇄의 어레이는 카파 또는 람다 형태의 경쇄와 쌍을 이룰 수 있다.

[0162] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 뉴트로킨-알파 결합 항체 단편이고, 그 예에는 Fab, Fab' 및 F(ab')₂, Fd, 일본쇄 Fvs(scFv), 단일쇄 항체, 이항화 결합된 Fvs(sdFv) 및 VL 또는 VH 도메인을 함유하는 단편이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 단일쇄 항체를 함유하는 뉴트로킨-알파 결합 항체 단편은 가변부(들)를 단독으로 함유하거나, 또는 힌지(hinge) 영역, CH1, CH2 및 CH3 도메인 중 일부 또는 전체를 함께 함유할 수 있다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 결합 단편은 힌지 영역, CH1, CH2 및 CH3 도메인과 가변 영역(들)의 임의의 조합을 포함한다. 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 새와 포유동물을 비롯한 임의의 동물 기원에서 유래될 수 있다. 항체는 사람, 쥐(예, 마우스와 래트), 당나귀, 썬 래빗 (ship rabbit), 염소, 기니아피그, 낙타, 말 또는 닭 유래인 것이 바람직하다. 본 명세서에 사용된 "사람" 항체에는 사람 면역글로불린의 아미노산 서열을 갖는 항체가 포함되고, 사람 면역글로불린 라이브러리에서 분리되거나 또는 하나 이상의 사람 면역글로불린에 대해 유전자전이성이고 내인성 면역글로불린을 발현하지 않는 동물(전문이 본 발명에 참고인용되는 미국 특허 5,939,598(Kucherlapati et al.) 등에 기술되어 있음)에서 유래되는 항체가 있다.

[0163] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 일특이성, 이특이성, 삼특이성 또는 그 이상의 다특이성일 수 있다. 다특이성 항체는 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드의 여러 에피토프에 대해 특이성이거나 또는 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드는 물론 이중성 에피토프, 예컨대 이중성 폴리펩타이드 또는 고형 지지체 물질에 대해 특이성일 수 있다 [예컨대, PCT 공개 WO 93/17715; WO 92/08802; WO 91/00360; WO 92/05793; Tutt, et al., J.Immunol. 147: 60-69(1991); 미국 특허 4,474,893; 4,714,681; 4,925,648; 5,573,920; 5,601,819; Kostelny et al., J.Immunol. 148: 1547-1553(1992)].

[0164] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드에 대한 결합 친화성으로 설명되거나 특정화될 수 있다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 해리상수 또는 K_D 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M 또는 10^{-12} M 이하로, 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드 또는 이의 단편이나 변이체에 결합한다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 상기 각각 언급된 값 사이의 상기 범위 중 어느 한 범위 내인 해리 상수 또는 K_D 로, 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드에 결합한다.

[0165] 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드와 수용체/리간드 상호작용을 부분적으로 또는 완전히 붕괴시키는 뉴트로킨-알파 항체는 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. 또한, 리간드 결합을 방해하지 않지만 수용체 활성화를 방해하는 뉴트로킨-알파 특이적 항체도 포함된다. 수용체 활성화(즉, 시그널링)는 본 명세서에 기술되거나, 또는 당업계에 공지된 기술에 의해 측정될 수 있다. 예를 들어, 수용체 활성화는 전사 인자 NF-AT, AP-1, MAPK8/JNK 및/또는 NF-

카파B(이단적 NF-카파B 시그널링 경로 포함)의 활성화를 당업계에 공지된 기술을 이용하여 검출하고/하거나, 면역침전법 및 그 다음 웨스턴 블롯 분석에 의한 수용체 또는 이의 기질의 인산화(예, 티로신 또는 세린/트레오닌)를 검출하여 측정할 수 있다.

[0166] 상기 뉴트로킨-알파 항체는 당업계에 공지된 방법을 이용하여 제조할 수 있다. 예컨대, PCT 공개 WO 96/40281; U.S. 특허 5,811,097; Deng et al., Blood 92(6):1981-1988 (1998); Chen et al., Cancer Res.58(16):3668-3678 (1998); Harrop et al., J. Immunol.161(4):1786-1794 (1998); Zhu et al., Cancer Res.58(15):3209-3214 (1998); Yoon et al., J. Immunol.160(7):3170-3179 (1998); Prat et al., J. Cell. Sci. 111(Pt2):237-247 (1998); Pitard et al., J. Immunol. Methods 205(2): 177-190 (1997); Liautard et al., Cytokine 9(4):233-241 (1997); Carlson et al., J. Biol. Chem.272(17): 11295-11301 (1997); Taryman et al., Neuron 14(4):755-762 (1995); Muller et al., Structure 6(9): 1153-1167 (1998); Bartunek et al., Cytokine 8(1): 14-20 (1996)을 참고한다(이 문헌들 모두 전문이 본 발명에 참고인용되었다).

[0167] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 항체(항체 단편 또는 변이체를 포함하거나 또는 이들로 이루어진 분자 포함)는 뉴트로킨-알파 또는 뉴트로킨-알파의 단편이나 변이체에 특이적으로 결합한다. 구체적으로, 이하 표 1에 언급된 서열번호 13 내지 18 중 어느 하나의 아미노산 서열을 갖는 일본쇄 Fv(scFv)와 같은 항체는 본 발명의 방법에 사용될 수 있다.

표 1

뉴트로킨 알파에 면역특이적으로 결합하는 scFv

클론 ID	scFv 서열번호	VL의 AA	VL CDR1의 AAf	VL CDR2의 AA	VL CDR3의 AA	VH 의 AA	VH CDR1의 AA	VH CDR2의 AA	VH CDR3의 AA
I006D08	13	141 - 249	163 - 173	189 - 195	228 - 238	1 - 123	26 - 35	50 - 66	99 - 112
I050B11	14	143 - 251	166 - 177	193 - 199	232 - 240	1 - 125	26 - 35	50 - 66	99 - 114
I050A12	15	142 - 250	164 - 174	190 - 196	229 - 239	1 - 124	26 - 35	50 - 66	99 - 113
I050B11-15	16	143 - 251	166 - 177	193 - 199	232 - 240	1 - 125	26 - 35	50 - 66	99 - 114
I116A01	17	141 - 249	163 - 173	189 - 195	228 - 238	1 - 123	26 - 35	50 - 66	99 - 112
I026C04-K	18	142 - 250	164 - 176	192 - 198	231 - 239	1 - 125	26 - 35	50 - 66	99 - 114

[0168]

[0169] 본 발명의 일 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 뉴트로킨-알파에 결합하고, 표 1에 언급된 VH 도메인 중 어느 하나 및/또는 표 1에 언급된 VL 도메인 중 어느 하나의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드를 포함한다. 바람직한 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 표 1에 언급된 동일한 scFv 유래의 VH 도메인 및 VL 도메인의 아미노산 서열을 포함한다. 대안적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 표 1에 언급된 다른 scFv 유래의 VH 도메인과 VL 도메인의 아미노산 서열을 포함한다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 뉴트로킨-알파에 특이적으로 결합하고, 표 1에 언급된 VH CDR 중 어느 하나, 둘, 셋 또는 그 이상의 아미노산 서열 및/또는 표 1에 언급된 VL CDR 중 어느 하나, 둘, 셋 또는 그 이상의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드를 포함한다. 바람직한 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 표 1에 언급된 동일한 scFv 유래의 VH CDR과 VL CDR의 아미노산 서열을 포함한다. 대안적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 표 1에 언급된 다른 scFv 유래의 VH CDR과 VL CDR의 아미노산 서열을 포함한다. 뉴트로킨-알파에 면역특이적으로 결합하는, 표 1에 언급된 scFv의 항체 단편이나 변이체를 포함하거나, 또는 scFv의 항체 단편이나 변이체로 이루어진 분자도 본 발명의 방법에 사용될 수 있다.

[0170] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항-뉴트로킨-알파 항체는 표 1에 기술된 서열번호 13의 VH 및 VL 도메인을 포함한다. 다른 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 표 1에 기술된 바와 같은 서열번호 13의 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3 및 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 영역을 포함한다.

[0171] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항-뉴트로킨 알파 항체는 표 1에 기술된 서열번호 14의 VH 및 VL 도메인을 포함한다. 다른 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 표 1에 기술된 바와 같은 서열번호 13의 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3 및 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 영역을 포함한다.

[0172] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항-뉴트로킨 알파 항체는 표 1에 기술된 서열번호 13의 VH 및 VL 도메인을 포함한다. 다른 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 표 1에 기술된 바와 같은 서열번호 14의 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3 및 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 영역을 포함한다.

[0173] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항-뉴트로킨 알파 항체는 표 1에 기술된 서열번호 15의 VH 및 VL 도메인을 포함한다. 다른 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 표 1에 기술된 바와

같은 서열번호 15의 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3 및 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 영역을 포함한다.

- [0174] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항-뉴트로킨 알파 항체는 표 1에 기술된 서열번호 16의 VH 및 VL 도메인을 포함한다. 다른 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 표 1에 기술된 바와 같은 서열번호 16의 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3 및 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 영역을 포함한다.
- [0175] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항-뉴트로킨 알파 항체는 표 1에 기술된 서열번호 17의 VH 및 VL 도메인을 포함한다. 다른 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 표 1에 기술된 바와 같은 서열번호 17의 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3 및 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 영역을 포함한다.
- [0176] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항-뉴트로킨 알파 항체는 표 1에 기술된 서열번호 18의 VH 및 VL 도메인을 포함한다. 다른 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 표 1에 기술된 바와 같은 서열번호 18의 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3 및 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 영역을 포함한다.
- [0177] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항-뉴트로킨-알파 항체는 미국 특허공개번호 20050186637 등에 기술된 중화성 항-뉴트로킨-알파항체인, 15C10의 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함한다. 15C10의 VH 도메인의 아미노산 서열은 서열번호 19에 제시된다. 15C10의 VL 도메인의 아미노산 서열은 서열번호 20에 제시된다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항-뉴트로킨-알파 항체는 15C10의 항원 결합 단편 또는 변이체이다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 15C10의 사람화된 변형이다. 다른 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체에는 15C10의 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3 및 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3 영역이 포함된다.
- [0178] 다른 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항-뉴트로킨-알파 항체는 국제특허공개번호 WO 03/0164468(전문이 참고인용됨)에 기술된 4A5-3.1.1-B4 항-뉴트로킨-알파 항체의 VH 및 VL 도메인을 포함한다. 뉴트로킨-알파는 WO 03/0164468에서는 hTNFSF13b로 불리고 있다. 4A5-3.1.1-B4의 VH 도메인의 아미노산 서열은 서열번호 21에 제시되어 있다. 4A5-3.1.1-B4의 VL 도메인의 아미노산 서열은 서열번호 22에 제시되어 있다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항-뉴트로킨-알파 항체는 4A5-3.1.1-B4의 항원결합단편 또는 변이체이다. 다른 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 4A5-3.1.1-B4의 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3 및 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3 영역을 포함한다.
- [0179] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 항체는 세포에서 발현된 천연 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드에 특이적으로 결합한다.
- [0180] C. 뉴트로킨-알파 결합 폴리펩타이드
- [0181] 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 결합물질은 뉴트로킨-알파 결합 펩타이드 또는 폴리펩타이드이다. 뉴트로킨-알파 결합 펩타이드 또는 폴리펩타이드는 국제특허공개번호 WO05/005462, WO05/000351, WO02/092620, WO02/16412, WO02/02641 및 WO02/16411, 및 미국특허공개번호 US2006135430, US2006084608, US2003194743, US20030195156 및 US2003091565 (전문이 본 발명에 참고인용됨)에 기술되어 있다. 뉴트로킨-알파 결합 펩타이드 또는 폴리펩타이드는 예컨대 전문이 본 발명에 참고인용된 문헌[Sun et al., (2006) Biochem. Biophys. Res. Commun. 346: 1158-1162]에 기술되어 있다. 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 결합 펩타이드는 사상 파아지 (filamentous phage)의 외피 단백질과 융합에 의해 표시된 랜덤 펩타이드 서열로부터 동정된 짧은 폴리펩타이드를 포함한다. 파아지 디스플레이 펩타이드 라이브러리 기술에 대해서는 문헌[Scott et al. (1990), Science 249: 386; Devlin et al. (1990), Science 249: 404; 미국특허 5,223,409(1993.6.29); 미국특허 5,733,731 (1998.3.31); 미국특허 5,498,530(1996.3.12); 미국특허 5,432,018(1995.3.11); 미국특허 5,338,665(1994.8.16); 미국특허 5,922,545(1999.3.13); WO 96/40987(1996.12.19 공개); 및 WO 98/15833(1998.4.16 공개)(모두 전문이 참고인용됨)에 논의되어 있다. 펩타이드를 발현하는 파아지는 고정된 뉴트로킨-알파 표적 펩타이드에 대한 친화성 정제 단계를 연속 수행한 뒤, 재전파시켜 분리한다. 뉴트로킨-알파에 가장 높은 결합성을 나타내는 후보들을 서열분석하여, 각 결합 펩타이드의 동일성을 측정할 수 있다. 각각 동정된 뉴트로킨-알파 결합 펩타이드는 그 다음 "매개체(vehicle)"에 부착시켜, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 뉴트로킨-알파 결합 펩타이드를 추가로 생산할 수 있다. "매개체"란 용어는 뉴트로킨-알파 결합 펩타이드의 분해를 방지하고/하거나 반감기를 증가시키거나, 독성을 감소시키거나, 면역원성을 저하시키거나 또는 그 펩타이드의 생물학적 활성을 증가시키는 분자를 의미한다. 매개체의 예에는 Fc 도메인 및 이의 변이체("펩티바디"가 바람직하다); 선형 중합체(예, 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 예컨대 5kD, 20kD 및 30kD PEG, 폴리리신, 텍스트란

등); 분지쇄 중합체(예컨대, 미국특허 4,289,872, Denkenwalter et al., 1981.9.15; 5,229,490, Tam, 1993.7.20; WO 93/21259, Frechet et al., 1993.10.28 공개); 지질; 콜레스테롤 그룹(예, 스테로이드); 탄수화물 또는 올리고사카라이드(예, 텍스트란); 구제(salvage) 수용체에 결합하는 임의의 천연 또는 합성 단백질, 폴리펩타이드 또는 펩타이드; 알부민, 예컨대 재조합 사람 알부민 또는 이의 단편이나 변이체(예컨대, 미국 특허 5,875,969, 1999.3.2; EP 특허 0 413 622, 및 미국특허 5,766,883(1998.6.16))(이에 국한되는 것은 아니다); 및 류신_지퍼 도메인, 및 이러한 다른 단백질 및 단백질 단편이 있다. 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알과 결합 폴리펩타이드는 N 말단, C 말단 또는 한 아미노산 잔기의 측쇄를 통해 펩타이드에 부착된 1 이상의 매개체의 존재를 필요로 한다. 또한, 복수의 매개체가 사용될 수도 있으며; 그 예로는 각 말단에 Fc 또는 한 말단에 Fc와 다른 말단이나 측쇄에 PEG 그룹이 사용될 수 있다. 뉴트로킨-알과 결합 펩타이드에 바람직한 매개체는 Fc 도메인이다. Fc 도메인은 펩타이드의 N 말단이나 C 말단에 또는 N 말단과 C 말단 모두에 융합될 수 있다. N 말단에 대한 융합이 바람직하다.

[0182] 앞에서 지정한 바와 같이, Fc 변이체는 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알과 결합 펩타이드에 적당한 매개체이다. 천연 Fc는 구제 수용체에 대한 결합이 유지되기만 한다면 Fc 변이체로 다양하게 변형될 수 있다: 예컨대 WO 97/34631 및 WO 96/32478 참조. 이러한 Fc 변이체에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알과 결합 펩타이드에 필요로 되지 않는 구조적 특징 또는 기능적 활성을 제공하는, 천연 Fc의 하나 이상의 부위를 제거할 수 있다. 이러한 부위는, 예컨대 잔기 치환이나 결실에 의해, 그 부위에 잔기의 삽입에 의해, 또는 그 부위를 함유하는 일부의 절두에 의해 제거할 수 있다. 또한, 삽입되거나 치환된 잔기는 변경된 아미노산, 예컨대 펩티도미메틱 또는 D-아미노산일 수 있다. Fc 변이체는 많은 이유들로 인해 바람직하며, 그 중 몇 가지 이유는 이하에 설명된다. Fc 변이체의 예는 다음과 같은 분자 및 서열을 포함한다:

[0183] 1. 이황화 결합 형성에 관여하는 부위가 제거된다. 이러한 제거는 본 발명의 분자를 생산하는데 사용된 숙주 세포에 존재하는 다른 시스테인 함유 단백질과의 반응을 피할 수 있다. 이를 위해, N 말단에 있는 시스테인 함유 분절이 절두될 수 있고, 또는 시스테인 잔기가 결실되거나, 다른 아미노산(예, 알라닌, 세틸)으로 치환될 수 있다. 시스테인 잔기가 제거된 경우라도, 일본쇄 Fc 도메인은 비공유적으로 함께 유지되는 이량체 Fc 도메인을 여전히 형성할 수 있다.

[0184] 2. 천연 Fc가 선택된 숙주 세포와 더욱 용화성이 되게 변형된다. 예를 들어, 프롤린 이미노펩티다제와 같은 이.콜리(E.coli)의 분해 효소에 의해 인식될 수 있는, 전형적인 천연 Fc의 N 말단 부근에 있는 PA 서열이 제거될 수 있다. 또한, 특히 분자가 이.콜리와 같은 세균 세포에서 재조합 발현되는 경우에는 N 말단 메티오닌 잔기를 첨가할 수도 있다.

[0185] 3. 천연 Fc의 N 말단 일부가, 선택된 숙주 세포에서 발현될 때 N 말단 불균질성(heterogeneity)을 방지하기 위해 제거된다. 이를 위해, N 말단에 처음 20개 아미노산 잔기 중 임의의 잔기를 결실시킬 수 있다.

[0186] 4. 하나 이상의 글리코실화 부위가 제거된다. 일반적으로 글리코실화된 잔기(예, 아스파라긴)는 세포용해 반응을 부여할 수 있다. 이러한 잔기는 결실되거나 또는 비글리코실화된 잔기(예, 알라닌)로 치환될 수 있다.

[0187] 5. C1q 결합 부위와 같은 보체와의 상호작용에 관여하는 부위가 제거된다. 예를 들어, 사람 IgG1의 EKK 서열을 결실시키거나 치환시킬 수 있다. 보체 점증은 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 분자에는 유리하지 않을 수 있고, 따라서 이러한 Fc 변이체로 피할 수 있다.

[0188] 6. 구제 수용체 이외에 다른 Fc 수용체에 대한 결합에 영향을 미치는 부위가 제거된다. 천연 Fc는 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알과 결합 펩타이드 융합 분자에 필요하지 않은, 특정 백혈구 세포와 상호작용하는 부위를 보유할 수 있고, 따라서 이 부위는 제거될 수 있다.

[0189] 7. ADCC 부위가 제거된다. ADCC 부위는 당업계에 공지되어 있다: IgG1의 ADCC 부위에 관해서는 문헌[Molec. Immunol. 29(5): 633-9(1992)]을 참조한다. 이러한 부위도 역시 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 융합 분자에는 필요한 것이 아닌 바, 제거될 수 있다.

[0190] 8. 천연 Fc가 사람을 제외한 동물 항체에서 유래되는 경우, 천연 Fc는 사람화될 수 있다. 보통, 천연 Fc를 사람화하기 위해, 사람을 제외한 동물의 천연 Fc 중에서 선택된 잔기를, 사람의 천연 Fc에서 보통 발견되는 잔기로 치환시킨다. 항체 사람화 기술은 당업계에 공지되어 있다.

[0191] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알과 결합 펩타이드의 다른 매개체는 구제 수용체에 결합할 수 있는, 단백질, 폴리펩타이드, 펩타이드, 항체, 항체 단편 또는 소분자(예, 펩티도미메틱 화합물)일 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 5,739,277에 기술된 폴리펩타이드를 매개체로서 사용할 수 있다. 또한, 구제 수용체에 결합

하는 펩타이드는 파아지 디스플레이 또는 RNA-펩타이드 스크리닝으로 선택할 수도 있다. 이러한 구체 수용체 결합 화합물도 역시 "매개체"의 의미 내에 포함되며, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알과 결합 펩타이드에 사용될 수 있다. 이러한 매개체는 반감기 증가(예컨대, 프로테아제에 의해 인식되는 서열을 제거하여) 및 면역원성 감소(예컨대, 항체 사람화에서 밝혀진 것처럼 비면역원성 서열을 권장하여)를 위해 선택되어야 한다.

[0192] 앞에서 언급한 바와 같이, 중합체 매개체도 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알과 결합 펩타이드에 사용될 수 있다. 매개체로서 유용한 화학 잔기를 부착시키는 다양한 방법이 현재 이용가능하며, 예컨대, PCT 국제공개번호 WO 96/11953(전문이 본 발명에 참고인용됨)을 참고한다. 이 PCT 공개특허는 특히 단백질의 N 말단에 대한 수용성 중합체의 선택적 부착에 대해 개시한다.

[0193] 구체적 양태에서, 바람직한 중합체 매개체는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)이다. PEG 그룹은 임의의 사용하기 좋은 분자량인 것이며, 선형 또는 분지형일 수 있다. PEG의 평균분자량은 바람직하게는 약 2킬로달톤("kD") 내지 약 100kD 범위, 더욱 바람직하게는 약 5kD 내지 약 50kD 범위, 가장 바람직하게는 약 5kD 내지 약 10kD 범위이다. PEG 그룹은 일반적으로 본 발명의 화합물 상의 반응성 기(예, 알데하이드, 아미노 또는 에스테르 기)에 대한 PEG 잔기 상의 반응성 기(예, 알데하이드, 아미노, 티올 또는 에스테르 기)를 통한 아실화 또는 환원적 알킬화에 의해, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알과 결합 펩타이드에 부착될 것이다.

[0194] 합성 펩타이드의 PEG화에 유용한 전략은 용액 내에서 공액 결합 (conjugate linkage)의 형성을 통해, 서로 상호 반응성인 특정 작용기를 각각 보유하는 펩타이드와 PEG 잔기를 혼합하는 것으로 이루어진다. 펩타이드는 통상적인 고상 합성법으로 쉽게 제조할 수 있다. 펩타이드는 특정 부위에서 적당한 작용기에 의해 "사전활성화"된다. PEG 잔기와 반응시키기 전에 전구체는 정제하여 완전하게 특성을 분석한다. PEG와 펩타이드의 결합은 보통 수성 상에서 일어나며, 역상 분석용 HPLC에 의해 쉽게 모니터링될 수 있다. PEG화된 펩타이드는 정제용 HPLC에 의해 쉽게 정제될 수 있고 분석용 HPLC, 아미노산 분석 및 레이저 탈착 질량 분광법으로 특성을 분석할 수 있다.

[0195] 폴리사카라이드 중합체는 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알과 결합 펩타이드에 사용될 수 있는 수용성 중합체의 다른 종류이다. 텍스트란은 글루코스의 각 서브유닛이 주로 α1-6 결합에 의해 결합되어 있는 다당류 중합체이다. 텍스트란 자체는 많은 분자량 범위에서 이용가능하며, 약 1kD 내지 약 70kD 범위의 분자량인 것을 쉽게 이용할 수 있다. 텍스트란은 본 발명의 방법에 단독 매개체로서 또는 다른 매개체(예, Fc)와 함께 사용될 수 있는 뉴트로킨-알과 결합 펩타이드에 사용하기에 적당한 수용성 중합체이다. 예컨대, WO 96/11953 및 WO 96/05309 참조. 치료용 또는 진단용 면역글로불린에 접합된 텍스트란의 용도는 이미 보고되어 있다(예컨대, 전문이 참고인용되는 유럽특허공개번호 0 315 456 참고). 텍스트란이 본 발명에 따른 매개체로서 사용될 때, 약 1kD 내지 약 20kD 사이의 텍스트란이 바람직하다.

[0196] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알과 결합 펩타이드는 경우에 따라 "링커"를 포함한다. 이 링커는 존재하는 경우에, 주로 스페이서로서 작용하기 때문에, 그 화학적 구조는 중요하지 않다. 링커는 펩타이드 결합에 의해 함께 연결된 아미노산으로 구성된 것이 바람직하다. 따라서, 바람직한 양태에 따르면, 링커는 펩타이드 결합에 의해 연결된 1 내지 30개의 아미노산으로 구성되며, 여기서 아미노산은 20개의 자연발생의 아미노산 중에서 선택된다. 이러한 아미노산 중 일부는 당업자라면 잘 알고 있듯이, 글리코실화될 수 있다. 더욱 바람직한 양태에 따르면, 1 내지 20개의 아미노산은 글리신, 알라닌, 프롤린, 아스파라긴, 글루타민 및 리신 중에서 선택된다. 더욱 더 바람직하게는, 링커는 대부분 입체 방해성이 아닌 아미노산, 예컨대 글리신 및 알라닌 등으로 이루어진다. 따라서, 바람직한 링커는 폴리글리신(특히, (Gly)₄, (Gly)₅), 폴리(Gly-Ala) 및 폴리알라닌이다. 바람직한 링커는 5개보다 많은 아미노산을 함유하는 아미노산 링커이며, 적당한 링커는 글리신, 알라닌, 프롤린, 아스파라긴, 글루타민, 리신, 트레오닌, 세린 또는 아스파테이트 중에서 선택되는 약 500개 이하의 아미노산을 보유하는 것이다. 아미노산 약 20개 내지 50개를 보유하는 링커가 가장 바람직하다.

[0197] 비펩타이드성 링커도 역시 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알과 결합 펩타이드에 유용하다. 예를 들어, --NH--(CH₂)_n--C(O)--(여기서, n은 2 내지 20)와 같은 알킬 링커가 사용될 수 있다. 이러한 알킬 링커는 임의의 비입체장애성 기, 예컨대 저급 알킬(예, C₁ 내지 C₆), 저급 아실, 할로젠(예, Cl, Br), CN, NH₂, 페닐 등으로 추가 치환될 수 있다.

[0198] 바람직한 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알과 결합 펩타이드에는 서열번호 23의 아미노산 서열, 서열번호 24의 아미노산 서열 또는 서열번호 25의 아미노산 서열이 포함된다. 특히 바람직한 양태에 따르면, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알과 결합 펩타이드는 서열번호 23의 아미노산 서열(AMG

623; AGP3 펩티바디)이다.

[0199] 뉴트로킨-알파 수용체

[0200] 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 뉴트로킨-알파 수용체 단백질 또는 이의 단편이나 변이체이다. 뉴트로킨-알파 수용체에는, 예컨대 막관통 액티베이터 및 CAML 인터랙터(TACI, GenBank 수탁번호 AAC51790, 서열번호 6), B 세포 활성화 인자 수용체(BAFF-R, GenBank 수탁번호 NP_443177, 서열번호 10), B 세포 성숙 항원(BCMA, GenBank 수탁번호 NP_001183, 서열번호 8)이 있다. 뉴트로킨-알파 수용체 단백질, 이의 단편 및 변이체, 뿐만 아니라 이에 대한 항체는, 예컨대 PCT 공개번호 WO03/014294, WO02/066516, WO02/024909 WO03/014294, WO03/024991, WO02/094852 및 WO04/011611 및 미국 특허공개번호 US20030148445, US20030099990, US2005070689, US2005043516 및 US2003012783에 기술되어 있고, 이하에 더 상세히 설명될 것이다. 전술한 문헌들은 각각 전문이 참고인용되었다.

[0201] D. 뉴트로킨-알파 수용체, TACI

[0202] 이하에 설명되는 것과 같은 TACI 폴리펩타이드는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 길항물질로서 작용하며 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. TR17로도 알려진 TACI는 293개 아미노산 잔기(서열번호 6)로 이루어진 단백질이며, 추론된 분자량이 약 31.8kDa이다. TACI를 암호화하는 cDNA의 뉴클레오타이드 서열은 서열번호 5에 제시되어 있다. 약 1부터 약 165까지의 예상 아미노산은 세포외 도메인(서열번호 6)을 구성하고; 약 166부터 약 186까지의 아미노산은 막관통 도메인(서열번호 6)을 구성하며; 약 187부터 약 293까지의 아미노산은 세포내 도메인(서열번호 6)을 구성한다.

[0203] 따라서, 일 양태에서 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 TACI 단백질은 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하거나, 그 아미노산 서열로 이루어진 분리된 폴리펩타이드, 또는 서열번호 6의 일부, 예컨대 TACI 세포외 도메인(서열번호 6의 아미노산 1 내지 165를 포함) 및/또는 TACI 시스테인 풍부 도메인(서열번호 6의 아미노산 33 내지 104 포함)을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 폴리펩타이드; 뿐만 아니라 전술한 폴리펩타이드와 적어도 80% 동일한, 더욱 바람직하게는 적어도 90% 또는 95% 동일한, 더욱 더 바람직하게는 적어도 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 폴리펩타이드이다.

[0204] 다른 양태에 따르면, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 TACI 단백질은 서열번호 6의 아미노산 1 내지 154를 함유하는 분리된 폴리펩타이드, 뿐만 아니라 전술한 폴리펩타이드와 적어도 80% 동일한, 더욱 바람직하게는 적어도 90% 또는 95% 동일한, 더욱 더 바람직하게는 적어도 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 폴리펩타이드이다.

[0205] TACI 폴리펩타이드의 참조 아미노산 서열과 적어도 예컨대 95% "동일한" 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드란, 이 폴리펩타이드의 아미노산 서열이 TACI 수용체의 참조 아미노산 중 각 100개 아미노산당 5개 이하의 아미노산 변경을 포함할 수 있는 것을 제외하고는 그 폴리펩타이드 서열이 참조 서열과 동일하다는 것을 의미한다. 환언하면, 참조 아미노산 서열과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드를 수득하기 위해서는, 참조 서열의 아미노산 잔기 중 5% 이하를 결실시키거나 다른 아미노산으로 치환하거나, 또는 참조 서열의 총 아미노산 잔기 중 5% 이하에 해당하는 많은 아미노산을 참조 서열에 삽입할 수도 있다. 이러한 참조 서열의 변경은 이 참조 아미노산 서열의 아미노 말단이나 카르복시 말단 위치, 또는 양 말단 위치 사이의 임의의 위치에서, 참조 서열 내의 잔기들 중에 개별적으로 산재하거나 또는 참조 서열 내에 1 이상의 인접 그룹으로서 산재하여 나타날 수 있다.

[0206] TACI의 폴리펩타이드 단편은 서열번호 6에 함유된 아미노산 서열을 포함하거나, 또는 이 서열로 이루어진 폴리펩타이드를 포함한다. 폴리펩타이드 단편은 "독립성(free-standing)"이거나, 또는 그 단편이 일부분 또는 영역을 형성하는, 가장 바람직하게는 단일 연속 영역으로서, 더 큰 폴리펩타이드 내에 포함될 수 있다. 다른 양태에서, 폴리펩타이드 단편은 하나 이상의 TACI 도메인을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 바람직한 폴리펩타이드 단편은 다음과 같은 그룹 중에서 선택되는 일원을 포함한다: (a) TACI 세포외 도메인(서열번호 6의 약 1부터 약 165까지의 아미노산 잔기를 구성하는 것으로 추정됨)을 포함하거나 또는 이 도메인으로 이루어진 폴리펩타이드; (b) TACI 시스테인 풍부 도메인(서열번호 6의 약 33부터 약 104까지의 아미노산 잔기를 구성하는 것으로 추정됨)을 포함하거나 또는 이 도메인으로 이루어진 폴리펩타이드; (c) TACI 막관통 도메인(서열번호 6의 약 166부터 약 186까지의 아미노산 잔기를 구성하는 것으로 추정됨)을 포함하거나 또는 이 도메인으로 이루어진 폴

리펩타이드; (b) TACI 세포내 도메인(서열번호 6의 약 187부터 약 293까지의 아미노산 잔기를 구성하는 것으로 추정됨)을 포함하거나 또는 이 도메인으로 이루어진 폴리펩타이드; 또는 (c) 폴리펩타이드 (a) 내지 (d)의 임의의 조합.

[0207] TACI의 세포외 시스템 풍부 모티프는 TACI와 이의 리간드, 뉴트로킨-알파 및 APRIL 사이의 상호작용에 중요하다. 따라서, 바람직한 양태에 따르면, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 TACI 폴리펩타이드 단편은 서열번호 6의 아미노산 잔기 33 내지 66 및/또는 70 내지 104를 포함하거나, 그것으로 이루어진다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 TACI 폴리펩타이드는 세포외 시스템 풍부 모티프(서열번호 6의 잔기 33 내지 66 및 잔기 70 내지 104)를 하나 또는 둘 모두 포함하거나, 그것으로 이루어진다. 또한, 이러한 시스템 풍부 모티프 중 하나 또는 둘 모두의 폴리펩타이드 서열과 적어도 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 폴리펩타이드 서열을 포함하거나, 이 서열로 이루어진 단백질도 바람직하다.

[0208] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 TACI 단백질의 다른 단편은 TACI의 구조적 또는 기능적 속성을 특징으로 하는 단편이다. 이러한 단편은 미국 특허 6,969,519에 논의된 바와 같은, 완전한(즉, 전장) TACI(서열번호 6)의 알파 나선 영역 및 알파 나선 형성 영역("알파 영역"), 베타 시트 영역 및 베타 시트 형성 영역("베타 영역"), 턴(turn) 영역 및 턴 형성 영역("턴 영역"), 코일 영역 및 코일 형성 영역("코일 영역"), 친수성 영역, 소수성 영역, 알파 양쪽친화성 영역, 베타 양친매성 영역, 표면 형성 영역, 및 높은 항원 지수 영역(즉, 제임슨-볼프 프로그래밍의 디폴트 파라미터를 이용하여 확인된, 항원 지수가 1.5 이상인 4개 이상의 인접 아미노산을 함유하는 영역)을 함유하는 아미노산 잔기를 포함한다. 바람직한 특정 영역에는 가니어-랍슨(Garnier-Robson) 추정 알파 영역, 베타 영역, 턴 영역 및 코일 영역; 초-패스만(Chou-Fasman) 추정 알파 영역, 베타 영역 및 턴 영역; 카이트-두리틀(Kyte-Doolittle) 추정 친수성 영역; 호프-우즈(Hopp-Woods) 추정 소수성 영역; 아이젠버그 알파 및 베타 양친매성 영역; 에미니(Emini) 표면형성 영역; 및 제임슨-울프(Jameson-Wolf) 고 항원성 지수 영역(각 컴퓨터 프로그램의 디폴트 파라미터를 이용하여 추정됨)이 포함되지만, 이에 국한되는 것은 아니다.

[0209] 본 발명의 방법에 사용하기 위한 TACI 폴리펩타이드는 융합 단백질(펩타이드 결합을 통해 이종성 단백질 서열(다른 단백질의)에 연결된 폴리펩타이드 함유)과 같은 변형 형태로 발현될 수 있고, 분비 시그널뿐만 아니라 추가 이종성 기능 영역을 포함할 수 있다. 또는, 이러한 융합 단백질은 단백질 합성 기술, 예컨대 펩타이드 합성 기술을 이용하여 제조할 수 있다. 따라서, 정제 또는 후속 취급과 보관 동안에 숙주 세포에서의 안정성과 지속성을 향상시키기 위해, 폴리펩타이드의 N 말단에 추가 아미노산 영역, 구체적으로 하전을 띠는 아미노산을 첨가할 수 있다. 또한, 정제를 용이하게 하기 위해 펩타이드 잔기를 폴리펩타이드에 첨가할 수도 있다. 이러한 영역들은 폴리펩타이드의 최종 제조 전에 제거될 수 있다. 분비 또는 배출을 유도하고 안정성을 향상시키며 정제를 용이하게 하기 위한, 폴리펩타이드에 펩타이드 잔기의 첨가는 당업계에서 일반적이고 통상적인 기술이다.

[0210] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 바람직한 TACI 융합 단백질은 단백질을 가용화하기에 유용한 면역글로불린 유래의 이종성 영역을 포함한다. 예를 들어, EP-A-0 464 533(캐나다 대응특허 2045869) 및 WO 00/024782는 다른 사람 단백질 또는 이의 일부분과 함께 면역글로불린 분자의 불변 영역의 다양한 일부를 함유하는 융합 단백질을 개시한다. TACI 면역글로불린 융합 단백질은 모두 전문이 참고인용된 문헌, 예컨대 PCT 공개번호 WO 01/60397, WO 01/81417, WO 01/087977 및 WO 02/94852; 미국 공개특허번호 US 2003103986 및 US 2006034852 및 Gross et al., (2000) Nature 404: 995-999 및 Yu, et al., (2000) Nat Immunol 1: 252-256에 기술되어 있다. 대부분의 경우에, 융합 단백질 중의 Fc 부분은 치료 및 진단에 사용하기에 매우 유리하며, 결과적으로 약동학적 성질을 향상시킨다(EP-A 0232 262). 한편, 몇몇 용도에서는 여기에 기술된 유리한 방법에 따라 융합 단백질을 발현, 검출 및 정제한 후, Fc 부분을 제거하는 것이 바람직할 수 있다. 이러한 경우는, Fc 부분이 치료 및 진단 시에 방해물인 것으로 입증된 경우, 예컨대 융합 단백질이 면역화용 항원으로서 사용되어야 하는 경우이다. 약물 개발 시, 예컨대 hIL-5 수용체와 같은 사람 단백질은 hIL-5의 길항물질을 동정하는 고처리량 선별 분석법을 위해 Fc 일부와 융합되었다[D. Bennett et al., J.Molecular Recognition 8: 52-58(1995) and K.Johanson et al., J.Biol.Chem. 270: 9459-9471(1995) 참조]. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 TACI-Fc 융합 단백질은 아타시셉트(TACI-Ig)이다.

[0211] 당업자라면 잘 알고 있듯이, 그리고 앞에서 논한 바와 같이, TACI 폴리펩타이드는 다른 폴리펩타이드 서열에 융합될 수 있다. 예를 들어, TACI 폴리펩타이드는 면역글로불린(IgA, IgE, IgG, IgM)의 불변 도메인, 또는 이의 일부(CH1, CH2, CH3 또는 이의 임의의 조합 및 이의 부분들), 또는 알부민(재조합 사람 알부민 또는 이의 단편이나 변이체도 포함하며, 이에 국한되지 않는다; 미국 특허 5,876,969(1999.3.2), EP 특허 0 413 622 및 미국 특허 5,766,883(1998.6.16) 참조; 본원에 전문이 참고인용됨)과 융합될 수 있고, 결과적으로 키메라성 폴리펩타

이드가 된다.

- [0212] 이러한 융합 단백질은 정제를 촉진하고 보관수명을 연장시킬 수 있으며, 생체내에서 반감기를 증가시킬 수 있다. 이것은 사람 CD4-폴리펩타이드의 처음 두 도메인과 포유동물 면역글로불린의 중쇄 또는 경쇄의 불변부의 다양한 도메인으로 이루어진 키메라성 단백질에서 확인되었다[예컨대, EP 394,827; Traunecker et al., Nature, 331: 84-86(1988)]. 상피 장벽을 따라 면역계로 전달되는 항원의 증가는 IgG 또는 Fc 단편과 같은 FcRn 결합 파트너에 접합된 항원(예, 인슐린)에서 입증되었다(예컨대, PCT 공개번호 WO 96/22024 및 WO 99/04813 참조). 또한, IgG 부분의 이황화 결합으로 인해 이황화 결합된 이량체 구조를 보유하는 IgG 융합 단백질은 단량체성 폴리펩타이드 또는 이의 단편들보다 다른 분자를 결합 및 중화시키는데 더욱 효과적인 것으로 밝혀졌다(예컨대, Fountoulakis et al., J.Biochem., 270: 3958-3964(1995)).
- [0213] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 적어도 TACI 폴리펩타이드의 단편 또는 변이체와 적어도 사람 혈청 알부민의 단편 또는 변이체를 포함하는 것으로서, 이들은 서로 바람직하게는 유전자 융합(즉, TACI의 전부 또는 일부를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드와 알부민의 전부 또는 일부를 암호화하는 폴리펩타이드가 프레임내 결합되어 있는 핵산의 해독에 의해 알부민 융합 단백질이 생산된다) 또는 화학적 접합에 의해 결합되어 있다. TACI 폴리펩타이드 및 알부민 단백질은, 일단 알부민 융합 단백질의 일부가 되면, 알부민 융합 단백질의 "일부", "영역" 또는 "잔기"로 불릴 수 있다(예, "TACI 일부" 또는 "알부민 단백질 일부").
- [0214] 일 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 TACI 폴리펩타이드 및 혈청 알부민 단백질을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 TACI의 단편과 혈청 알부민 단백질을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 TACI의 변이체와 혈청 알부민 단백질을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 바람직한 양태에 따르면, 알부민 융합 단백질의 혈청 알부민 단백질 성분은 혈청 알부민의 성숙 부분이다.
- [0215] 또 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 TACI 폴리펩타이드와 혈청 알부민의 생물학적 활성 및/또는 치료적 활성 단편을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 또 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 TACI 폴리펩타이드와 혈청 알부민의 생물학적 활성 및/또는 치료적 활성 변이체를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 바람직한 양태에 따르면, 알부민 융합 단백질의 TACI 일부는 전장의 TACI 폴리펩타이드이다. 또 다른 바람직한 양태에 따르면, 알부민 융합 단백질의 TACI 단백질 일부는 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드의 성숙 가용성 도메인이다.
- [0216] 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 TACI의 단편 또는 변이체와 혈청 알부민의 생물학적 활성 및/또는 치료적 활성 단편 또는 변이체를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 바람직한 양태에 따르면, 본 발명은 TACI 폴리펩타이드의 성숙 일부와 혈청 알부민의 성숙 일부를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 알부민 융합 단백질을 제공한다(제조할 사람 혈청 알부민 또는 이의 단편이나 변이체를 포함하고, 이에 국한되지 않는다; 예컨대 미국 특허 5,876,969(1999.3.2), EP 특허 0 413 622 및 미국 특허 5,766,883(1998.6.16) 참조, 전문이 본원에 참고인용됨). 바람직한 양태에서, TACI 폴리펩타이드(이의 단편 또는 변이체 포함)는 사람 혈청 알부민의 성숙 형태(즉, EP 특허 0 322 094의 도 1 및 2에 제시된 바와 같은 사람 혈청 알부민의 아미노산 1 내지 585)와 융합된다. 또 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 항체(이의 단편이나 변이체 포함)는 사람 혈청 알부민의 아미노산 잔기 1-x를 포함하거나 또는 이들로 이루어진 폴리펩타이드 단편(여기서, x는 1 내지 585 사이의 정수이고 알부민 단편은 사람 혈청 알부민 활성을 보유하는 것이다)과 융합된다. 다른 바람직한 양태에 따르면, TACI 폴리펩타이드(이의 단편이나 변이체 포함)는 사람 혈청 알부민의 아미노산 잔기 1-z(여기서, z는 369 내지 419 사이의 정수이다; 전문이 본 발명에 참고인용됨 미국 특허 5,766,883 참조)를 포함하거나 또는 이들로 이루어진 폴리펩타이드 단편과 융합된다. TACI 폴리펩타이드(이의 단편 또는 변이체 포함)는 이중 단백질의 N- 또는 C-말단 단부(예, 면역글로불린의 Fc 폴리펩타이드 또는 사람 혈청 알부민 폴리펩타이드에 융합될 수 있다).
- [0217] 바람직한 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질에 사용되는 사람 혈청 알부민 단백질은 서열번호 11을 기준으로 하여 다음과 같은 세트의 점돌연변이를 하나 또는 두 개 함유한다: Leu-407에서 Ala로, Leu-408에서 Val, Val-409에서 Ala으로, Arg-410에서 Ala으로; 또는 Arg-410에서 A로, Lys-413에서 Gln으로, Lys-414에서 Gln으로(예컨대, 본원에 전문이 참고인용되는 국제공개번호 WO 95/23857 참조). 더욱 더 바람직한 양태에서, 전술한 세트의 점돌연변이 중 하나 또는 두 개를 함유하는, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 효모 Yap3p 단백질분해성 절단에 대해 향상된 안정성/내성을 보유하여, 효모 숙주 세포에서

발현된 제조합 알부민 융합 단백질의 생산을 증가시켰다.

- [0218] 바람직하게는, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 N 말단 일부로서 HA, 및 C 말단 일부로서 TACI 폴리펩타이드를 함유한다. 대안적으로, C 말단 일부로서 HA를 함유하고 N 말단 일부로서 TACI 폴리펩타이드를 함유하는 알부민 융합 단백질도 사용될 수 있다.
- [0219] 다른 양태에 따르면, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 알부민의 N 말단과 C 말단에 모두 융합된 TACI 폴리펩타이드를 보유한다. 구체적 양태에서, N 말단과 C 말단에 융합된 TACI 폴리펩타이드는 동일하다. 다른 양태에서, N 말단과 C 말단에 융합된 TACI 폴리펩타이드는 상이하다. 다른 양태에서, TACI 폴리펩타이드는 알부민의 N 말단 또는 C 말단에 융합되고, 그 나머지 말단에 이중성 폴리펩타이드가 융합된다.
- [0220] 또한, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 잔기 사이에 물리적 분리도가 더 커지도록, 융합된 일부들 사이에 링커 펩타이드를 포함하기도 한다. 이러한 링커 펩타이드는 유연성이거나 더욱 강성이 되도록 하는 아미노산으로 이루어질 수 있다.
- [0221] 일반적으로, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 하나의 HA 유래의 영역과 하나의 TACI 영역을 보유할 수 있다. 하지만, 각 단백질의 다수의 영역을, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질의 제조에 사용할 수도 있다. 이와 유사하게, 하나보다 많은 단백질을 이용하여 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질을 제조할 수 있다. 예를 들어, 단백질은 HA의 N 말단 단부와 C 말단 단부에 모두 융합될 수 있다. 이러한 배열에서, 단백질 일부는 동일하거나 상이한 단백질 분자일 수 있다. 이러한 이기능성 알부민 융합 단백질의 구조는 X-HA-Y 또는 Y-HA-X로 나타낼 수 있다.
- [0222] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 TACI 단백질 또는 이의 단편이나 변이체는 세포독소(예컨대, 세포증식억제성 또는 살세포성 제제)에 접합될 수 있다. 세포독소 또는 세포독성제는 세포에 유해한 임의의 제제를 포함한다. 그 예에는 파클리탁솔, 사이토chal라신 B, 그라미시딘 D, 에티디움 브로마이드, 에메틴, 미토마이신, 에토포사이드, 테노포사이드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜치신, 독소루비신, 다우노루비신, 디하이드록시 안트라신 디온, 미토잔트론, 미트라마이신, 액티노마이신 D, 1-테하이드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤 및 퓨로마이신, 및 이의 유사체 또는 동족체가 포함된다.
- [0223] 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 TACI 단백질 또는 이의 단편이나 변이체는 독소에 접합될 수 있다.
- [0224] "독소"란 내인성 세포독성 효과기 시스템에 결합하여 활성화시키는 1종 이상의 화합물, 방사능동위원소, 홀로톡신(holotoxin), 변형 독소, 독소의 촉매적 서브유닛, 또는 제한된 조건 하에서 세포 사멸을 유발하는 세포 표면 위나 안에 보통 존재하지 않는 임의의 분자 또는 효소를 의미한다. 사용될 수 있는 독소에는, 당업계에 공지된 방사능동위원소, 화합물, 예컨대 고유 또는 유도된 내인성 세포독성 효과기 시스템에 결합하는 항체(또는 이의 일부를 함유하는 보체 고정), 티미딘 키나제, 엔도뉴클레아제, RNAse, 알파 독소, 리신, 에이브린, 슈도모나스(*Pseudomonas*) 외독소 A, 디프테리아 독소, 사포린, 모모르딘, 젤로닌, 미국자리공(pokeweed) 항바이러스 단백질, 알파-사르신 및 콜레라 독소 등이 포함되나, 이에 국한되는 것은 아니다. 또한, "독소"는 세포증식억제제 또는 살세포성제, 치료제 또는 방사능활성 금속 이온, 예컨대 알파-방사체, 구체적으로 ^{213}Bi 또는 다른 방사능 동위원소, 예컨대 ^{103}Pd , ^{133}Xe , ^{131}I , ^{68}Ge , ^{57}Co , ^{65}Zn , ^{85}Sr , ^{32}P , ^{35}S , ^{90}Y , ^{153}Sm , ^{153}Gd , ^{169}Yb , ^{51}Cr , ^{54}Mn , ^{75}Se , ^{113}Sn , ^{90}Sr , ^{117}Ag , ^{186}Re , ^{166}Ho 및 ^{188}Re 등을 포함한다.
- [0225] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 TACI 폴리펩타이드의 특징을 개량 또는 변경시키기 위해 단백질 공학을 이용할 수 있다. 당업자에게 공지된 재조합 DNA 기술은 새로운 돌연변이 단백질 또는 "하나 또는 복수의 아미노산 치환, 결실, 첨가 또는 융합 단백질을 포함하는 뮤테인"을 제조하는데 사용될 수 있다. 이와 같이 변형된 폴리펩타이드는 예컨대, 활성 증가, 활성 감소 또는 안정성 증가 등을 나타낼 수 있다. 또한, 이 폴리펩타이드는 적어도 일정한 정제 및 보관 조건 하에서 대응하는 천연 폴리펩타이드보다 가용성이 우수하고 더 높은 수율로 정제될 수 있다.
- [0226] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 TACI 단백질은 단량체 또는 다량체(즉, 이량체, 삼량체, 사량체 및 그 이상의 다량체)일 수 있다. 구체적 양태에서, 본 발명의 폴리펩타이드는 단량체, 이량체, 삼량체 또는 사량체이다. 또 다른 양태에서, 본 발명의 다량체는 적어도 이량체, 적어도 삼량체 또는 적어도 사량체이다. TNF과의 단백질 중 특정 일원은 삼량체 형태로 존재하는 것으로 생각되고 있다(Beutler and Hufel, Science 265: 667, 1994;

Banner et al., Cell 73: 431, 1993). 따라서, 삼량체성 TACI는 증강된 생물학적 활성의 장점을 제공할 수 있다.

[0227] 구체적 양태에서, 다량체는 동종체 또는 이종체일 수 있다. 본 명세서에 사용된, 동종체란 용어는 TACI 단백질(본 명세서에 기술된 TACI 단편, 변이체 및 융합 단백질 포함)만을 함유하는 다량체를 의미한다. 이러한 동종체는 폴리펩타이드 서열이 동일하거나 상이한 TACI 단백질을 함유할 수 있다. 구체적 양태에서, 동종체는 동일한 폴리펩타이드 서열을 갖는 TACI 단백질만을 함유하는 다량체이다. 다른 구체적 양태에서, 동종체는 다른 폴리펩타이드 서열을 갖는 TACI 단백질을 함유하는 다량체이다.

[0228] 본 명세서에 사용된, 이종체란 용어는 TACI 단백질 외에 이종성 단백질(즉, TACI 유전자에 의해 암호화된 폴리펩타이드 서열에 대응하지 않는 폴리펩타이드 서열만을 함유하는 단백질)을 함유하는 다량체를 의미한다. 다량체는 소수성, 친수성, 이온성 및/또는 공유 결합의 결과일 수 있고/있거나 리포솜 형성 등에 의해 간접적으로 결합될 수도 있다. 따라서, 일 양태에서, 동종이량체 또는 동종삼량체, 이종삼량체 또는 이종사량체와 같은 다량체는 단백질들이 용액에서 서로 접촉할 때 형성된다. 다른 양태에서, 다량체는 TACI 단백질을 보유하는 공유 결합 및/또는 TACI 단백질 사이의 공유 결합에 의해 형성된다. 이러한 공유 결합은 단백질의 폴리펩타이드 서열에 함유된 하나 이상의 아미노산 잔기를 수반할 수 있다. 일 예로서, 공유 결합은 천연(즉, 자연발생) 폴리펩타이드 내에서 상호작용하는, 단백질의 폴리펩타이드 서열 내에 위치한 시스테인 잔기 사이의 가교이다. 다른 예에서, 공유 결합은 화학적 또는 재조합 조작의 결과이다.

[0229] 대안적으로, 이러한 공유 결합은 TACI 융합 단백질 내의 이종성 폴리펩타이드 서열에 함유된 하나 이상의 아미노산 잔기를 수반한다. 일 예에서, 공유 결합은 융합 단백질(예컨대, 전문이 참고인용된 미국 특허번호 5,478,925 참조)에 함유된 이종성 서열 사이에서 이루어진다. 구체예에서, 공유 결합은 TACI-Fc 융합 단백질(본 명세서에 기술된 것)에 함유된 이종성 서열 사이에서 이루어진다. 다른 구체예에서, 융합 단백질의 공유 결합은 공유 결합된 다량체, 예컨대 오세테오프로테제린(예컨대, 국제공개번호 WO 98/49305, 전문이 본원에 참고인용됨)을 형성할 수 있는 다른 TNF과 리간드/수용체 일원 유래의 이종성 폴리펩타이드 서열 사이에서 이루어진다. 다른 구체예에서, 2 이상의 TACI 폴리펩타이드는 합성 링커(예컨대, 펩타이드, 탄수화물 또는 가용성 중합체 링커)를 통해 결합된다. 그 예에는, 미국 특허 5,073,627(본원에 참고인용됨)에 기술된 펩타이드 링커가 있다. 펩타이드 링커에 의해 복수의 TACI 폴리펩타이드가 분리되어 있는 단백질은 통상적인 재조합 DNA 기술을 사용하여 생산할 수 있다.

[0230] 구체적 양태에서, TACI 폴리펩타이드, 폴리펩타이드 단편, 서열번호 6의 변이체 및/또는 TACI 폴리펩타이드 에피토프에 결합하는 항체(당업계에 공지된, 특이적 항체-항원 결합을 분석하는 면역분석법으로 측정)는 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. 항-TACI 항체 및 이의 단편은, 예컨대 문헌[PCT 공개번호 WO04/011611, WO01/087977, WO 01/60397 및 WO 02/66516; 미국 특허공개번호 2005043516 및 2003012783; 및 Ch'en et al., (2005) Cell Immunol 236: 78-85; Liu et al., (2003) *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi* 19: 168-169]에 기술되어 있다. 전술한 각 문헌들은 본원에 전문이 참고인용되었다. 항체에는 폴리클로날, 모노클로날, 다특이성, 사람, 사람화된 또는 키메라 항체, 단일쇄 항체, Fab 단편, F(ab') 단편, Fab 발현 라이브러리에 의해 생산된 단편, 항이디오타입(항-Id) 항체(예컨대, 항-TACI 항체에 대한 항Id 항체를 포함하여) 및 이들 중 임의의 에피토프 결합 단편이 포함되나, 이에 국한되는 것은 아니다. 본 명세서에 사용된 "항체"란 용어는 면역글로불린 분자 및 면역글로불린 분자의 면역학적 활성 일부, 즉 면역특이적으로 항원에 결합하는 항원결합부위를 함유하는 분자를 의미한다. 면역글로불린 분자는 면역글로불린 분자의 임의의 타입(예, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 클래스(예, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 및 IgA₂) 또는 서브클래스일 수 있다. 구체적 양태에서, 면역글로불린 분자는 IgG1이다. 다른 구체적 양태에서, 면역글로불린 분자는 IgG4이다.

[0231] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 TACI 결합 항체 단편에는 Fab, Fab' 및 F(ab')₂, Fd, 일본쇄 Fvs(scFv), 단일쇄 항체, 이황화 결합된 Fvs(sdFv) 및 VL 또는 VH 도메인을 함유하는 단편이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 단일쇄 항체를 함유하는 항원 결합 항체 단편은 가변부(들)를 단독으로 함유하거나, 또는 힌지(hinge) 영역, CH1, CH2 및 CH3 도메인 중 일부 또는 전체를 함께 함유할 수 있다. 또한, 힌지 영역, CH1, CH2 및 CH3 도메인과 가변부(들)의 임의의 조합을 함유하는 항원 결합 단편도 포함된다. 항체는 새 및 포유동물을 비롯한 임의의 동물 기원에서 유래되는 것일 수 있다. 항체는 사람, 쥐(예, 마우스와 래트), 당나귀, 사슴 래빗(ship rabbit), 염소, 기니아피그, 낙타, 말 또는 닭 유래인 것이 바람직하다. 본 명세서에 사용된 "사람" 항체에는 사람 면역글로불린의 아미노산 서열을 갖는 항체가 포함되고, 사람 면역글로불린 라이브러리에서 분리되거나 또는 하나 이상의 사람 면역글로불린에 대해 유전자전이성이고 내인성 면역글로불린을 발현하지 않는 동물(전문이

본 발명에 참고인용되는 미국 특허 5,939,598(Kucherlapati et al.) 등에 기술되어 있음)에서 유래되는 항체가 있다.

- [0232] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항-TACI 항체는 일특이성, 이특이성, 삼특이성 또는 그 이상의 다특이성일 수 있다. 다특이성 항체는 TACI 폴리펩타이드의 여러 에피토프에 대해 특이성이거나 또는 TACI 폴리펩타이드는 물론 이중성 에피토프, 예컨대 이중성 폴리펩타이드 또는 고휘형 지지체 물질에 대해 특이성일 수 있다[예컨대, PCT 공개 WO 93/17715; WO 92/08802; WO 91/00360; WO 92/05793; Tutt, et al., J.Immunol. 147: 60-69(1991); 미국 특허 4,474,893; 4,714,681; 4,925,648; 5,573,920; 5,601,819; Kostelny et al., J.Immunol. 148: 1547-1553(1992), 모두 본 발명에 전문이 참고인용됨].
- [0233] TACI 항체는 교차 반응성에 의해 설명되거나 특정화될 수 있다. TACI 폴리펩타이드의 임의의 다른 유사체, 오르토로그(ortholog) 또는 동족체(homolog)에 결합하지 않는 항체는 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. 구체적 양태에서, TACI 항체는 사람 TACI 단백질의 쥐, 래트 및/또는 래트의 동족체, 및 이의 대응하는 에피토프와 교차 반응한다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항-TACI 항체는 TACI뿐만 아니라 BCMA 및 BAFF-R에도 결합한다.
- [0234] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 TACI 항체는 TACI 폴리펩타이드에 대한 결합 친화성으로 설명되거나 특정화될 수 있다. 바람직한 결합 친화성은 해리상수 또는 Kd가 $5 \times 10^{-9} \text{ M}$, 10^{-9} M , $5 \times 10^{-10} \text{ M}$, 10^{-10} M , $5 \times 10^{-11} \text{ M}$, 10^{-11} M , $5 \times 10^{-12} \text{ M}$ 또는 10^{-12} M 이하인 것을 포함한다.
- [0235] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 TACI 항체는 TACI 폴리펩타이드의 효능물질(agonist) 또는 길항물질로서 작용할 수 있다. 예를 들어, TACI 폴리펩타이드와 수용체/리간드 상호작용을 부분적으로 또는 완전히 봉쇄시키는 TACI 항체가 포함된다. 또한, 리간드 결합을 방해하지 않지만 수용체 활성화를 방해하는 수용체 특이적 항체도 포함된다. 수용체 활성화(즉, 시그널링)는 본 명세서에 기술되거나, 또는 당업계에 공지된 기술에 의해 측정될 수 있다. 예를 들어, 수용체 활성화는 전사 인자 NF-AT, AP-1, 및/또는 NF-카파B의 활성화를 당업계에 공지된 기술을 이용하여 검출하고/하거나, 면역침전법 및 그 다음 웨스턴 블롯 분석에 의한 수용체 또는 이의 기질의 인산화(예, 티로신 또는 세린/트레오닌)를 검출하여 측정할 수 있다.
- [0236] 구체적 양태에서, 리간드 결합 및 수용체 활성화를 모두 방해하는 수용체-특이적 TACI 항체, 및 수용체-리간드 복합체는 인식하고, 바람직하게는 비결합된 수용체 또는 미결합된 리간드는 특이적으로 인식하지 못하는 TACI 항체도 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. 상기 TACI 항체는 당업계에 공지된 방법을 이용하여 제조할 수 있다. 예컨대, PCT 공개 WO 96/40281; U.S. 특허 5,811,097; Deng et al, Blood 92(6):1981-1988 (1998); Chen et al., Cancer Res.58(16):3668-3678 (1998); Harrop et al., J. Immunol.161(4):1786-1794 (1998); Zhu et al., Cancer Res.58(15):3209-3214 (1998); Yoon et al., J. Immunol.160(7):3170-3179 (1998); Prat et al., J. Cell. Sci. 111(Pt2):237-247 (1998); Pitard et al., J. Immunol. Methods 205(2): 177-190 (1997); Liautard et al., Cytokine 9(4):233-241 (1997); Carlson et al., J. Biol. Chem.272(17): 11295-11301 (1997); Taryman et al., Neuron 14(4):755-762 (1995); Muller et al., Structure 6(9): 1153-1167 (1998); Bartunek et al., Cytokine 8(1): 14-20 (1996)을 참고한다(이 문헌들 모두 전문이 본 발명에 참고인용되었다).
- [0237] E. 뉴트로킨-알파 수용체, BCMA
- [0238] 이하에 설명되는 것과 같은 BCMA 폴리펩타이드는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 길항물질로서 작용하며, 역시 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. TR18로도 알려진 BCMA는 184개 아미노산 잔기(서열번호 8)의 단백질이며, 추론된 분자량이 약 20.1kDa이다. BCMA를 암호화하는 cDNA의 뉴클레오타이드 서열은 서열번호 7에 제시되어 있다. 약 1부터 약 54까지의 예상 아미노산은 세포외 도메인(서열번호 8)을 구성하고; 약 55부터 약 80까지의 아미노산은 막관통 도메인(서열번호 8)을 구성하며; 약 81부터 약 184까지의 아미노산은 세포내 도메인(서열번호 8)을 구성한다.
- [0239] 따라서, 일 양태에서 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 BCMA 단백질은 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하거나, 그 아미노산 서열로 이루어진 분리된 폴리펩타이드, 또는 서열번호 8의 일부, 예컨대 BCMA 세포외 도메인(서열번호 8의 아미노산 8 내지 41을 포함) 및/또는 BCMA 시스테인 풍부 도메인(서열번호 8의 아미노산 8 내지 41 포함)을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 폴리펩타이드; 뿐만 아니라 전술한 폴리펩타이드와 적어도 80% 동일한, 더욱 바람직하게는 적어도 90% 또는 95% 동일한, 더욱 더 바람직하게는 적어도 96%, 97%, 98%, 99% 또

는 100% 동일한 폴리펩타이드이다.

- [0240] BCMA 폴리펩타이드의 참조 아미노산 서열과 적어도 예컨대 95% "동일한" 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드란, 이 폴리펩타이드의 아미노산 서열이 BCMA 수용체의 참조 아미노산 중 각 100개 아미노산당 5개 이하의 아미노산 변경을 포함할 수 있는 것을 제외하고는 그 폴리펩타이드 서열이 참조 서열과 동일하다는 것을 의미한다. 환언하면, 참조 아미노산 서열과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드를 수득하기 위해서는, 참조 서열의 아미노산 잔기 중 5% 이하를 결실시키거나 다른 아미노산으로 치환하거나, 또는 참조 서열의 총 아미노산 잔기 중 5% 이하에 해당하는 많은 아미노산을 참조 서열에 삽입할 수도 있다. 이러한 참조 서열의 변경은 이 참조 아미노산 서열의 아미노 말단이나 카르복시 말단 위치, 또는 양 말단 위치 사이의 임의의 위치에서, 참조 서열 내의 잔기들 중에 개별적으로 산재하거나 또는 참조 서열 내에 1 이상의 인접 그룹으로서 산재하여 나타날 수 있다.
- [0241] BCMA의 폴리펩타이드 단편은 서열번호 8에 함유된 아미노산 서열을 포함하거나, 또는 이 서열로 이루어진 폴리펩타이드를 포함한다. 폴리펩타이드 단편은 "독립성(free-standing)"이거나, 또는 그 단편이 일부분 또는 영역을 형성하는, 가장 바람직하게는 단일 연속 영역으로서, 더 큰 폴리펩타이드 내에 포함될 수 있다. 다른 양태에서, 폴리펩타이드 단편은 하나 이상의 BCMA 도메인을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 바람직한 폴리펩타이드 단편은 다음과 같은 그룹 중에서 선택되는 일원을 포함한다: (a) BCMA 세포의 도메인(서열번호 8의 약 1부터 약 54까지의 아미노산 잔기를 구성하는 것으로 추정됨)을 포함하거나 또는 이 도메인으로 이루어진 폴리펩타이드; (b) BCMA 시스테인 풍부 도메인(서열번호 8의 약 8부터 약 41까지의 아미노산 잔기를 구성하는 것으로 추정됨)을 포함하거나 또는 이 도메인으로 이루어진 폴리펩타이드; (c) BCMA 막관통 도메인(서열번호 8의 약 55부터 약 80까지의 아미노산 잔기를 구성하는 것으로 추정됨)을 포함하거나 또는 이 도메인으로 이루어진 폴리펩타이드; (b) BCMA 세포내 도메인(서열번호 8의 약 81부터 약 184까지의 아미노산 잔기를 구성하는 것으로 추정됨)을 포함하거나 또는 이 도메인으로 이루어진 폴리펩타이드; 또는 (e) 폴리펩타이드 (a) 내지 (d)의 임의의 조합.
- [0242] BCMA의 세포의 시스테인 풍부 모티프는 BCMA와 이의 리간드, 뉴트로킨-알파 및 APRIL 사이의 상호작용에 중요하다. 따라서, 바람직한 양태에 따르면, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 BCMA 폴리펩타이드 단편은 서열번호 8의 아미노산 잔기 8 내지 41을 포함하거나, 그것으로 이루어진다. 또한, 이러한 시스테인 풍부 모티프 중 하나 또는 둘 모두의 폴리펩타이드 서열과 적어도 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 폴리펩타이드 서열을 포함하거나, 이 서열로 이루어진 단백질도 바람직하다.
- [0243] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 BCMA 단백질의 다른 단편은 BCMA의 구조적 또는 기능적 속성을 특징으로 하는 단편이다. 이러한 단편은 미국 특허출원 10/786,176에 논의된 바와 같은, 완전한(즉, 전장) BCMA(서열번호 8)의 알파 나선 영역 및 알파 나선 형성 영역("알파 영역"), 베타 시트 영역 및 베타 시트 형성 영역("베타 영역"), 턴(turn) 영역 및 턴 형성 영역("턴 영역"), 코일 영역 및 코일 형성 영역("코일 영역"), 친수성 영역, 소수성 영역, 알파 양쪽친화성 영역, 베타 양친매성 영역, 표면 형성 영역, 및 높은 항원 지수 영역(즉, 제임슨-볼프프로그래프의 디폴트 파라미터를 이용하여 확인된, 항원 지수가 1.5 이상인 4개 이상의 인접 아미노산을 함유하는 영역)을 함유하는 아미노산 잔기를 포함한다. 바람직한 특정 영역에는 가니어-랍슨(Garnier-Robson) 추정 알파 영역, 베타 영역, 턴 영역 및 코일 영역; 초-패스만(Chou-Fasman) 추정 알파 영역, 베타 영역 및 턴 영역; 카이트-두리틀(Kyte-Doolittle) 추정 친수성 영역; 호프-우즈(Hopp-Woods) 추정 소수성 영역; 아이젠버그 알파 및 베타 양친매성 영역; 에미니(Emini) 표면형성 영역; 및 제임슨-울프(Jameson-Wolf) 고 항원성 지수 영역(각 컴퓨터 프로그램의 디폴트 파라미터를 이용하여 추정됨)이 포함되지만, 이에 국한되는 것은 아니다.
- [0244] 본 발명의 방법에 사용하기 위한 BCMA 폴리펩타이드는 융합 단백질(펩타이드 결합을 통해 이중성 단백질 서열(다른 단백질의)에 연결된 폴리펩타이드 함유)과 같은 변형 형태로 발현될 수 있고, 분비 시그널뿐만 아니라 추가 이중성 기능 영역을 포함할 수 있다. 또는, 이러한 융합 단백질은 단백질 합성 기술, 예컨대 펩타이드 합성 기술을 이용하여 제조할 수 있다. 따라서, 정제 또는 후속 취급과 보관 동안에 숙주 세포에서의 안정성과 지속성을 향상시키기 위해, 폴리펩타이드의 N 말단에 추가 아미노산 영역, 구체적으로 하전을 띠는 아미노산을 첨가할 수 있다. 또한, 정제를 용이하게 하기 위해 펩타이드 잔기를 폴리펩타이드에 첨가할 수도 있다. 이러한 영역들은 폴리펩타이드의 최종 제조 전에 제거될 수 있다. 분비 또는 배출을 유도하고 안정성을 향상시키며 정제를 용이하게 하기 위한, 폴리펩타이드에 펩타이드 잔기의 첨가는 당업계에서 일반적이고 통상적인 기술이다.
- [0245] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 바람직한 BCMA 융합 단백질은 단백질을 가용화하기에 유용한 면역글로불린 유래의 이중성 영역을 포함한다. 예를 들어, EP-A-0 464 533(캐나다 대응특허 2045869) 및 WO 00/024782는 다른

사람 단백질 또는 이의 일부분과 함께 면역글로불린 분자의 불변 영역의 다양한 일부를 함유하는 융합 단백질을 개시한다. BCMA 면역글로불린 융합 단백질은 모두 전문이 참고인용된 문헌, 예컨대 PCT 공개번호 WO 01/087977, WO 01/60397 및 WO 01/24811, 및 Gross et al.,(2000) Nature 404: 995-999, Thompson, et al.,(2000) J Exp Med 192: 129-135, 및 Yu, et al.,(2000) Nat Immunol 1: 252-256에 기술되어 있다. 대부분의 경우에, 융합 단백질 중의 Fc 부분은 치료 및 진단에 사용하기에 매우 유리하며, 결과적으로 약동학적 성질을 향상시킨다(EP-A 0232 262). 한편, 몇몇 용도에서는 여기에 기술된 유리한 방법에 따라 융합 단백질을 발현, 검출 및 정제한 후, Fc 부분을 제거하는 것이 바람직할 수 있다. 이러한 경우는, Fc 부분이 치료 및 진단 시에 방해물인 것으로 입증된 경우, 예컨대 융합 단백질이 면역화용 항원으로서 사용되어야 하는 경우이다. 약물 개발 시, 예컨대 hIL-5 수용체와 같은 사람 단백질은 hIL-5의 길항물질을 동정하는 고처리량 선별 분석법을 위해 Fc 일부와 융합되었다 [D. Bennett et al., J.Molecular Recognition 8: 52-58(1995) and K.Johanson et al., J.Biol.Chem. 270: 9459-9471(1995) 참조].

[0246] 당업자라면 잘 알고 있듯이, 그리고 앞에서 논한 바와 같이, BCMA 폴리펩타이드는 다른 폴리펩타이드 서열에 융합될 수 있다. 예를 들어, BCMA 폴리펩타이드는 면역글로불린(IgA, IgE, IgG, IgM)의 불변 도메인, 또는 이의 일부(CH1, CH2, CH3 또는 이의 임의의 조합 및 이의 부분들), 또는 알부민(재조합 사람 알부민 또는 이의 단편이나 변이체도 포함하며, 이에 국한되지 않는다; 미국 특허 5,876,969(1999.3.2), EP 특허 0 413 622 및 미국 특허 5,766,883(1998.6.16) 참조; 본원에 전문이 참고인용됨)과 융합될 수 있고, 결과적으로 키메라성 폴리펩타이드가 된다.

[0247] 이러한 융합 단백질은 정제를 촉진하고 보관수명을 연장시킬 수 있으며, 생체내에서 반감기를 증가시킬 수 있다. 이것은 사람 CD4-폴리펩타이드의 처음 두 도메인과 포유동물 면역글로불린의 중쇄 또는 경쇄의 불변부의 다양한 도메인으로 이루어진 키메라성 단백질에서 확인되었다[예컨대, EP 394,827; Traunecker et al., Nature, 331: 84-86(1988)]. 상피 장벽을 따라 면역계로 전달되는 항원의 증가는 IgG 또는 Fc 단편과 같은 FcRn 결합 파트너에 접합된 항원(예, 인슐린)에서 입증되었다(예컨대, PCT 공개번호 WO 96/22024 및 WO 99/04813 참조). 또한, IgG 부분의 이황화 결합으로 인해 이황화 결합된 이량체 구조를 보유하는 IgG 융합 단백질은 단량체성 폴리펩타이드 또는 이의 단편들보다 다른 분자를 결합 및 중화시키는데 더욱 효과적인 것으로 밝혀졌다(예컨대, Fountoulakis et al., J.Biochem., 270: 3958-3964(1995)).

[0248] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 적어도 BCMA 폴리펩타이드의 단편 또는 변이체와 적어도 사람 혈청 알부민의 단편 또는 변이체를 포함하는 것으로서, 이들은 서로 바람직하게는 유전자 융합(즉, BCMA의 전부 또는 일부를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드와 알부민의 전부 또는 일부를 암호화하는 폴리펩타이드가 프레임내 결합되어 있는 핵산의 해독에 의해 알부민 융합 단백질이 생산된다) 또는 화학적 접합에 의해 결합되어 있다. BCMA 폴리펩타이드 및 알부민 단백질은, 일단 알부민 융합 단백질의 일부가 되면, 알부민 융합 단백질의 "일부", "영역" 또는 "잔기"로 불릴 수 있다(예, "BCMA 일부" 또는 "알부민 단백질 일부").

[0249] 일 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 BCMA 폴리펩타이드 및 혈청 알부민 단백질을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 BCMA의 단편과 혈청 알부민 단백질을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 BCMA의 변이체와 혈청 알부민 단백질을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 바람직한 양태에 따르면, 알부민 융합 단백질의 혈청 알부민 단백질 성분은 혈청 알부민의 성숙 부분이다.

[0250] 또 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 BCMA 폴리펩타이드와 혈청 알부민의 생물학적 활성 및/또는 치료적 활성 단편을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 또 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 BCMA 폴리펩타이드와 혈청 알부민의 생물학적 활성 및/또는 치료적 활성 변이체를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 바람직한 양태에 따르면, 알부민 융합 단백질의 BCMA 일부는 전장의 BCMA 폴리펩타이드이다. 또 다른 바람직한 양태에 따르면, 알부민 융합 단백질의 BCMA 단백질 일부는 BCMA 폴리펩타이드의 성숙 가용성 도메인이다.

[0251] 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 BCMA의 단편 또는 변이체와 혈청 알부민의 생물학적 활성 및/또는 치료적 활성 단편 또는 변이체를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 바람직한 양태에 따르면, 본 발명은 BCMA 폴리펩타이드의 성숙 일부와 혈청 알부민의 성숙 일부를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 알부민 융합 단백질을 제공한다.

[0252] 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 BCMA의 단편 또는 변이체와 혈청 알부

민의 생물학적 활성 및/또는 치료학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 바람직한 양태에 따르면, 본 발명은 BCMA 폴리펩타이드의 성숙 일부와 혈청 알부민의 성숙 일부를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 알부민 융합 단백질을 제공한다(제조합 사람 혈청 알부민 또는 이의 단편이나 변이체를 포함하고, 이에 국한되지 않는다; 예컨대 미국 특허 5,876,969(1999.3.2), EP 특허 0 413 622 및 미국 특허 5,766,883(1998.6.16) 참조, 전문이 본원에 참고인용됨). 바람직한 양태에서, BCMA 폴리펩타이드(이의 단편 또는 변이체 포함)는 사람 혈청 알부민의 성숙 형태(즉, EP 특허 0 322 094의 도 1 및 2에 제시된 바와 같은 사람 혈청 알부민의 아미노산 1 내지 585)와 융합된다. 또 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 항체(이의 단편이나 변이체 포함)는 사람 혈청 알부민의 아미노산 잔기 1-x를 포함하거나 또는 이들로 이루어진 폴리펩타이드 단편(여기서, x는 1 내지 585 사이의 정수이고 알부민 단편은 사람 혈청 알부민 활성을 보유하는 것이다)과 융합된다. 다른 바람직한 양태에 따르면, BCMA 폴리펩타이드(이의 단편이나 변이체 포함)는 사람 혈청 알부민의 아미노산 잔기 1-z(여기서, z는 369 내지 419 사이의 정수이다; 전문이 본 발명에 참고인용된 미국 특허 5,766,883 참조)를 포함하거나 또는 이들로 이루어진 폴리펩타이드 단편과 융합된다. BCMA 폴리펩타이드(이의 단편 또는 변이체 포함)는 이중 단백질의 N- 또는 C-말단 단부(예, 면역글로불린의 Fc 폴리펩타이드 또는 사람 혈청 알부민 폴리펩타이드에 융합될 수 있다).

[0253] 바람직한 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질에 사용되는 사람 혈청 알부민 단백질은 서열번호 11을 기준으로 하여 다음과 같은 세트의 점돌연변이를 하나 또는 두 개 함유한다: Leu-407에서 Ala로, Leu-408에서 Val, Val-409에서 Ala으로, Arg-410에서 Ala으로; 또는 Arg-410에서 A로, Lys-413에서 Gln으로, Lys-414에서 Gln으로(예컨대, 본원에 전문이 참고인용되는 국제공개번호 WO 95/23857 참조). 더욱 더 바람직한 양태에서, 전술한 세트의 점돌연변이 중 하나 또는 두 개를 함유하는, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 효모 Yap3p 단백질해성 절단에 대해 향상된 안정성/내성을 보유하여, 효모 숙주 세포에서 발현된 제조합 알부민 융합 단백질의 생산을 증가시켰다.

[0254] 바람직하게는, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 N 말단 일부로서 HA, 및 C 말단 일부로서 BCMA 폴리펩타이드를 함유한다. 대안적으로, C 말단 일부로서 HA를 함유하고 N 말단 일부로서 BCMA 폴리펩타이드를 함유하는 알부민 융합 단백질도 사용될 수 있다.

[0255] 다른 양태에 따르면, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 알부민의 N 말단과 C 말단에 모두 융합된 BCMA 폴리펩타이드를 보유한다. 구체적 양태에서, N 말단과 C 말단에 융합된 BCMA 폴리펩타이드는 동일하다. 다른 양태에서, N 말단과 C 말단에 융합된 BCMA 폴리펩타이드는 상이하다. 다른 양태에서, BCMA 폴리펩타이드는 알부민의 N 말단 또는 C 말단에 융합되고, 그 나머지 말단에 이중성 폴리펩타이드가 융합된다.

[0256] 또한, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 잔기 사이에 물리적 분리도가 더 커지도록, 융합된 일부들 사이에 링커 펩타이드를 포함하기도 한다. 이러한 링커 펩타이드는 유연성이거나 더욱 강성이 되도록 하는 아미노산으로 이루어질 수 있다.

[0257] 일반적으로, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 하나의 HA 유래의 영역과 하나의 BCMA 영역을 보유할 수 있다. 하지만, 각 단백질의 다수의 영역을, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질의 제조에 사용할 수도 있다. 이와 유사하게, 하나보다 많은 단백질을 이용하여 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질을 제조할 수 있다. 예를 들어, 단백질은 HA의 N 말단 단부와 C 말단 단부에 모두 융합될 수 있다. 이러한 배열에서, 단백질 일부는 동일하거나 상이한 단백질 분자일 수 있다. 이러한 이기능성 알부민 융합 단백질의 구조는 X-HA-Y 또는 Y-HA-X로 나타낼 수 있다.

[0258] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 BCMA 단백질 또는 이의 단편이나 변이체는 세포독소(예컨대, 세포중식억제성 또는 살세포성 제제)에 접합될 수 있다. 세포독소 또는 세포독성제는 세포에 유해한 임의의 제제를 포함한다. 그 예에는 파클리탁솔, 사이토chal라신 B, 그라미시딘 D, 에티디움 브로마이드, 에메틴, 미토마이신, 에토포사이드, 테노포사이드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜치신, 독소루비신, 다우노루비신, 디하이드록시 안트라신 디온, 미토잔트론, 미트라마이신, 액티노마이신 D, 1-테하이드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤 및 퓨로마이신, 및 이의 유사체 또는 동족체가 포함된다.

[0259] 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 BCMA 단백질 또는 이의 단편이나 변이체는 독소에 접합될 수 있다.

[0260] "독소"란 내인성 세포독성 효과기 시스템에 결합하여 활성화시키는 1종 이상의 화합물, 방사능동위원소, 홀로톡

신(holotoxin), 변형 독소, 독소의 촉매적 서브유닛, 또는 제한된 조건 하에서 세포 사멸을 유발하는 세포 표면 위나 안에 보통 존재하지 않는 임의의 분자 또는 효소를 의미한다. 사용될 수 있는 독소에는, 당업계에 공지된 방사능동위원소, 화합물, 예컨대 고유 또는 유도된 내인성 세포독성 효과기 시스템에 결합하는 항체(또는 이의 일부를 함유하는 보체 고정), 티미딘 키나제, 엔도뉴클레아제, RNase, 알파 독소, 리신, 에이브린, 슈도모나스(*Pseudomonas*) 외독소 A, 디프테리아 독소, 사포린, 모모르딘, 젤로닌, 미국자리공(pokeweed) 항바이러스 단백질, 알파-사르신 및 콜레라 독소 등이 포함되나, 이에 국한되는 것은 아니다. 또한, "독소"는 세포증식억제제 또는 살세포성제, 치료제 또는 방사능활성 금속 이온, 예컨대 알파-방사체, 구체적으로 ^{213}Bi 또는 다른 방사능 동위원소, 예컨대 ^{103}Pd , ^{133}Xe , ^{131}I , ^{68}Ge , ^{57}Co , ^{65}Zn , ^{85}Sr , ^{32}P , ^{35}S , ^{90}Y , ^{153}Sm , ^{153}Gd , ^{169}Yb , ^{51}Cr , ^{54}Mn , ^{75}Se , ^{113}Sn , $^{90}\text{이트륨}$, $^{117}\text{주석}$, $^{186}\text{레늄}$, $^{166}\text{홀름}$ 및 $^{188}\text{레늄}$ 등을 포함한다.

[0261] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 BCMA 폴리펩타이드의 특징을 개량 또는 변경시키기 위해 단백질 공학을 이용할 수 있다. 당업자에게 공지된 재조합 DNA 기술은 새로운 돌연변이 단백질 또는 "하나 또는 복수의 아미노산 치환, 결실, 첨가 또는 융합 단백질을 포함하는 뮤테인"을 제조하는데 사용될 수 있다. 이와 같이 변형된 폴리펩타이드는 예컨대, 활성 증가, 활성 감소 또는 안정성 증가 등을 나타낼 수 있다. 또한, 이 폴리펩타이드는 적어도 일정한 정제 및 보관 조건 하에서 대응하는 천연 폴리펩타이드보다 가용성이 우수하고 더 높은 수율로 정제될 수 있다. 본 발명의 또 다른 양태에서, BCMA 폴리펩타이드 돌연변이체는 "우성 음성"일 수 있다. 이를 위해, TNF 보존적 도메인의 전체 또는 일부가 결실된 돌연변이체와 같은 결손형 BCMA 폴리펩타이드가 BCMA의 활성을 저하시키는데 사용될 수 있다. 비기능성 BCMA 폴리펩타이드를 조립하여, 결합은 할 수 있지만 시그널 형질도 입은 할 수 없는 수용체(예, 다량체)를 형성할 수 있다.

[0262] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 BCMA 단백질은 단량체 또는 다량체(즉, 이량체, 삼량체, 사량체 및 그 이상의 다량체)일 수 있다. 구체적 양태에서, 본 발명의 폴리펩타이드는 단량체, 이량체, 삼량체 또는 사량체이다. 또 다른 양태에서, 본 발명의 다량체는 적어도 이량체, 적어도 삼량체 또는 적어도 사량체이다. TNF과의 단백질 중 특정 일원은 삼량체 형태로 존재하는 것으로 생각되고 있다(Beutler and Hufel, Science 265: 667, 1994; Banner et al., Cell 73: 431, 1993). 따라서, 삼량체성 BCMA는 증강된 생물학적 활성의 장점을 제공할 수 있다.

[0263] 구체적 양태에서, 다량체는 동종체 또는 이종체일 수 있다. 본 명세서에 사용된, 동종체란 용어는 BCMA 단백질(본 명세서에 기술된 BCMA 단편, 변이체 및 융합 단백질 포함)만을 함유하는 다량체를 의미한다. 이러한 동종체는 폴리펩타이드 서열이 동일하거나 상이한 BCMA 단백질을 함유할 수 있다. 구체적 양태에서, 동종체는 동일한 폴리펩타이드 서열을 갖는 BCMA 단백질만을 함유하는 다량체이다. 다른 구체적 양태에서, 동종체는 다른 폴리펩타이드 서열을 갖는 BCMA 단백질을 함유하는 다량체이다.

[0264] 본 명세서에 사용된, 이종체란 용어는 BCMA 단백질 외에 이종성 단백질(즉, BCMA 유전자에 의해 암호화된 폴리펩타이드 서열에 대응하지 않는 폴리펩타이드 서열만을 함유하는 단백질)을 함유하는 다량체를 의미한다. 다량체는 소수성, 친수성, 이온성 및/또는 공유 결합의 결과일 수 있고/있거나 리포솜 형성 등에 의해 간접적으로 결합될 수도 있다. 따라서, 일 양태에서, 동종이량체 또는 동종삼량체, 이종삼량체 또는 이종사량체와 같은 다량체는 단백질들이 용액에서 서로 접촉할 때 형성된다. 다른 양태에서, 다량체는 BCMA 단백질을 보유하는 공유 결합 및/또는 BCMA 단백질 사이의 공유 결합에 의해 형성된다. 이러한 공유 결합은 단백질의 폴리펩타이드 서열에 함유된 하나 이상의 아미노산 잔기를 수반할 수 있다. 일 예로서, 공유 결합은 천연(즉, 자연발생) 폴리펩타이드 내에서 상호작용하는, 단백질의 폴리펩타이드 서열 내에 위치한 시스테인 잔기 사이의 가교이다. 다른 예에서, 공유 결합은 화학적 또는 재조합 조작의 결과이다.

[0265] 대안적으로, 이러한 공유 결합은 BCMA 융합 단백질 내의 이종성 폴리펩타이드 서열에 함유된 하나 이상의 아미노산 잔기를 수반한다. 일 예에서, 공유 결합은 융합 단백질(예컨대, 전문이 참고인용된 미국 특허번호 5,478,925 참조)에 함유된 이종성 서열 사이에서 이루어진다. 구체예에서, 공유 결합은 BCMA-Fc 융합 단백질(본 명세서에 기술된 것)에 함유된 이종성 서열 사이에서 이루어진다. 다른 구체예에서, 융합 단백질의 공유 결합은 공유 결합된 다량체, 예컨대 오세테오프로테제틴(예컨대, 국제공개번호 WO 98/49305, 전문이 본원에 참고인용됨)을 형성할 수 있는 다른 TNF과 리간드/수용체 일원 유래의 이종성 폴리펩타이드 서열 사이에서 이루어진다. 다른 구체예에서, 2 이상의 BCMA 폴리펩타이드는 합성 링커(예컨대, 펩타이드, 탄수화물 또는 가용성 중합체 링커)를 통해 결합된다. 그 예에는, 미국 특허 5,073,627(본원에 참고인용됨)에 기술된 펩타이드 링커가 있다. 펩타이드 링커에 의해 복수의 BCMA 폴리펩타이드가 분리되어 있는 단백질은 통상적인 재조합 DNA 기술을

사용하여 생산할 수 있다.

- [0266] 구체적 양태에서, BCMA 폴리펩타이드, 폴리펩타이드 단편, 서열번호 8의 변이체 및/또는 BCMA 폴리펩타이드 에피토프에 결합하는 항체(당업계에 공지된, 특이적 항체-항원 결합을 분석하는 면역분석법으로 측정)는 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. 항-BCMA 항체 및 이의 단편은, 예컨대 문헌[PCT 공개번호 WO01/087977, WO 01/60397 및 WO 02/66516; 및 Ch' en et al., (2005) Cell Immunol 236: 78-85]에 기술되어 있다. 전술한 각 문헌들은 본원에 전문이 참고인용되었다. 항체에는 폴리클로날, 모노클로날, 다특이성, 사람, 사람화된 또는 키메라 항체, 단일쇄 항체, Fab 단편, F(ab') 단편, Fab 발현 라이브러리에 의해 생산된 단편, 항이디오타입(항-Id) 항체(예컨대, 항-BCMA 항체에 대한 항Id 항체를 포함하여) 및 이들 중 임의의 에피토프 결합 단편이 포함되나, 이에 국한되는 것은 아니다. 본 명세서에 사용된 "항체"란 용어는 면역글로불린 분자 및 면역글로불린 분자의 면역학적 활성 일부, 즉 면역특이적으로 항원에 결합하는 항원결합부위를 함유하는 분자를 의미한다. 면역글로불린 분자는 면역글로불린 분자의 임의의 타입(예, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 클래스(예, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 및 IgA₂) 또는 서브클래스일 수 있다. 구체적 양태에서, 면역글로불린 분자는 IgG1이다. 다른 구체적 양태에서, 면역글로불린 분자는 IgG4이다.
- [0267] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 BCMA 결합 항체 단편에는 Fab, Fab' 및 F(ab')₂, Fd, 일본쇄 Fvs(scFv), 단일쇄 항체, 이황화 결합된 Fvs(sdFv) 및 VL 또는 VH 도메인을 함유하는 단편이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 단일쇄 항체를 함유하는 항원 결합 항체 단편은 가변부(들)를 단독으로 함유하거나, 또는 힌지(hinge) 영역, CH1, CH2 및 CH3 도메인 중 일부 또는 전체를 함께 함유할 수 있다. 또한, 힌지 영역, CH1, CH2 및 CH3 도메인과 가변부(들)의 임의의 조합을 함유하는 항원 결합 단편도 포함된다. 항체는 새 및 포유동물을 비롯한 임의의 동물 기원에서 유래되는 것일 수 있다. 항체는 사람, 쥐(예, 마우스와 래트), 당나귀, ship rabbit, 염소, 기니아피그, 낙타, 말 또는 닭 유래인 것이 바람직하다. 본 명세서에 사용된 "사람" 항체에는 사람 면역글로불린의 아미노산 서열을 갖는 항체가 포함되고, 사람 면역글로불린 라이브러리에서 분리되거나 또는 하나 이상의 사람 면역글로불린에 대해 유전자전이성이고 내인성 면역글로불린을 발현하지 않는 동물(전문이 본 발명에 참고인용되는 미국 특허 5,939,598(Kucherlapati et al.) 등에 기술되어 있음)에서 유래되는 항체가 있다.
- [0268] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항-BCMA 항체는 일특이성, 이특이성, 삼특이성 또는 그 이상의 다특이성일 수 있다. 다특이성 항체는 BCMA 폴리펩타이드의 여러 에피토프에 대해 특이성이거나 또는 BCMA 폴리펩타이드는 물론 이종성 에피토프, 예컨대 이종성 폴리펩타이드 또는 고형 지지체 물질에 대해 특이성일 수 있다[예컨대, PCT 공개 WO 93/17715; WO 92/08802; WO 91/00360; WO 92/05793; Tutt, et al., J.Immunol. 147: 60-69(1991); 미국 특허 4,474,893; 4,714,681; 4,925,648; 5,573,920; 5,601,819; Kostelny et al., J.Immunol. 148: 1547-1553(1992), 모두 본 발명에 전문이 참고인용됨].
- [0269] BCMA 항체는 교차 반응성에 의해 설명되거나 특정화될 수 있다. BCMA 폴리펩타이드의 임의의 다른 유사체, 오르토로그(ortholog) 또는 동족체(homolog)에 결합하지 않는 항체는 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. 구체적 양태에서, BCMA 항체는 사람 BCMA 단백질의 쥐, 래트 및/또는 래트의 동족체, 및 이의 대응하는 에피토프와 교차 반응한다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항-BCMA 항체는 BCMA뿐만 아니라 TACI 및 BAFF-R에도 결합한다.
- [0270] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 BCMA 항체는 BCMA 폴리펩타이드에 대한 결합 친화성으로 설명되거나 특정화될 수 있다. 바람직한 결합 친화성은 해리상수 또는 Kd가 $5 \times 10^{-9} \text{M}$, 10^{-9}M , $5 \times 10^{-10} \text{M}$, 10^{-10}M , $5 \times 10^{-11} \text{M}$, 10^{-11}M , $5 \times 10^{-12} \text{M}$ 또는 10^{-12}M 이하인 것을 포함한다.
- [0271] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 BCMA 항체는 BCMA 폴리펩타이드의 효능물질 또는 길항물질로서 작용할 수 있다. 예를 들어, BCMA 폴리펩타이드와 수용체/리간드 상호작용을 부분적으로 또는 완전히 붕괴시키는 BCMA 항체가 포함된다. 또한, 리간드 결합을 방해하지 않지만 수용체 활성화를 방해하는 수용체 특이적 항체도 포함된다. 수용체 활성화(즉, 시그널링)는 본 명세서에 기술되거나, 또는 당업계에 공지된 기술에 의해 측정될 수 있다. 예를 들어, 수용체 활성화는 전사 인자 NF-AT, AP-1, 및/또는 NF-카파B의 활성화를 당업계에 공지된 기술을 이용하여 검출하고/하거나, 면역침전법 및 그 다음 웨스턴 블롯 분석에 의한 수용체 또는 이의 기질의 인산화(예, 티로신 또는 세린/트레오닌)를 검출하여 측정할 수 있다.
- [0272] 구체적 양태에서, 리간드 결합 및 수용체 활성화를 모두 방해하는 수용체-특이적 BCMA 항체, 및 수용체-리간드 복합체는 인식하고, 바람직하게는 비결합된 수용체 또는 미결합된 리간드는 특이적으로 인식하지 못하는 BCMA

항체도 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. 상기 BCMA 항체는 당업계에 공지된 방법을 이용하여 제조할 수 있다. 예컨대, PCT 공개 WO 96/40281; U.S. 특허 5,811,097; Deng et al., Blood 92(6):1981-1988 (1998); Chen et al., Cancer Res.58(16):3668-3678 (1998); Harrop et al., J. Immunol.161(4):1786-1794 (1998); Zhu et al., Cancer Res.58(15):3209-3214 (1998); Yoon et al., J. Immunol.160(7):3170-3179 (1998); Prat et al., J. Cell. Sci. 111(Pt2):237-247 (1998); Pitard et al., J. Immunol. Methods 205(2): 177-190 (1997); Liautard et al., Cytokine 9(4):233-241 (1997); Carlson et al., J. Biol. Chem.272(17): 11295-11301 (1997); Taryman et al., Neuron 14(4):755-762 (1995); Muller et al., Structure 6(9): 1153-1167 (1998); Bartunek et al., Cytokine 8(1): 14-20 (1996)을 참고한다(이 문헌들 모두 전문이 본 발명에 참고인용되었다).

[0273] F. 뉴트로킨-알파 수용체, BAFF-R

[0274] 이하에 설명되는 것과 같은 BAFF-R 폴리펩타이드는 뉴트로킨-알파 및/또는 APRIL 길항물질로서 작용하며, 역시 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. TR21로도 알려진 BAFF-R는 184개 아미노산 잔기(서열번호 10)의 단백질이며, 추론된 분자량이 약 18.9kDa이다. BAFF-R를 암호화하는 cDNA의 뉴클레오타이드 서열은 서열번호 9에 제시되어 있다. 약 1부터 약 81까지의 예상 아미노산은 세포외 도메인(서열번호 10)을 구성하고; 약 82부터 약 101까지의 아미노산은 막관통 도메인(서열번호 10)을 구성하며; 약 102부터 약 184까지의 아미노산은 세포내 도메인(서열번호 10)을 구성한다.

[0275] 따라서, 일 양태에서 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 BAFF-R 단백질은 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하거나, 그 아미노산 서열로 이루어진 분리된 폴리펩타이드, 또는 서열번호 10의 일부, 예컨대 BAFF-R 세포외 도메인(서열번호 10의 아미노산 1 내지 81을 포함) 및/또는 BAFF-R 시스테인 풍부 도메인(서열번호 10의 아미노산 19 내지 35 포함)을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 폴리펩타이드; 뿐만 아니라 전술한 폴리펩타이드와 적어도 80% 동일한, 더욱 바람직하게는 적어도 90% 또는 95% 동일한, 더욱 더 바람직하게는 적어도 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 폴리펩타이드이다.

[0276] 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 BAFF-R 단백질은 서열번호 10의 아미노산 1 내지 70 및/또는 서열번호 26의 아미노산 서열을 함유하는 분리된 폴리펩타이드이다. 서열번호 26은 BAFF-R의 아미노산 20(발린)이 아스파라긴으로 치환되고 BAFF-R의 아미노산 27(류신)이 프롤린으로 치환된 BAFF-R의 아미노산 1 내지 70을 나타낸다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 BAFF-R 단백질은 서열번호 26의 아미노산 2 내지 70을 함유하는 분리된 폴리펩타이드이다. 또한, 전술한 폴리펩타이드와 적어도 80% 동일한, 더욱 바람직하게는 적어도 90% 또는 95% 동일한, 더욱 더 바람직하게는 적어도 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 폴리펩타이드도 본 발명의 방법에 사용될 수 있다.

[0277] BAFF-R 폴리펩타이드의 참조 아미노산 서열과 적어도 예컨대 95% "동일한" 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드란, 이 폴리펩타이드의 아미노산 서열이 BAFF-R 수용체의 참조 아미노산 중 각 100개 아미노산당 5개 이하의 아미노산 변경을 포함할 수 있는 것을 제외하고는 그 폴리펩타이드 서열이 참조 서열과 동일하다는 것을 의미한다. 환언하면, 참조 아미노산 서열과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드를 수득하기 위해서는, 참조 서열의 아미노산 잔기 중 5% 이하를 결실시키거나 다른 아미노산으로 치환하거나, 또는 참조 서열의 총 아미노산 잔기 중 5% 이하에 해당하는 많은 아미노산을 참조 서열에 삽입할 수도 있다. 이러한 참조 서열의 변경은 이 참조 아미노산 서열의 아미노 말단이나 카르복시 말단 위치, 또는 양 말단 위치 사이의 임의의 위치에서, 참조 서열 내의 잔기들 중에 개별적으로 산재하거나 또는 참조 서열 내에 1 이상의 인접 그룹으로서 산재하여 나타날 수 있다.

[0278] BAFF-R의 폴리펩타이드 단편은 서열번호 10에 함유된 아미노산 서열을 포함하거나, 또는 이 서열로 이루어진 폴리펩타이드를 포함한다. 폴리펩타이드 단편은 "독립성(free-standing)"이거나, 또는 그 단편이 일부분 또는 영역을 형성하는, 가장 바람직하게는 단일 연속 영역으로서, 더 큰 폴리펩타이드 내에 포함될 수 있다. 다른 양태에서, 폴리펩타이드 단편은 하나 이상의 BAFF-R 도메인을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 바람직한 폴리펩타이드 단편은 다음과 같은 그룹 중에서 선택되는 일원을 포함한다: (a) BAFF-R 세포외 도메인(서열번호 10의 약 1부터 약 81까지의 아미노산 잔기를 구성하는 것으로 추정됨)을 포함하거나 또는 이 도메인으로 이루어진 폴리펩타이드; (b) BAFF-R 시스테인 풍부 도메인(서열번호 10의 약 19부터 약 35까지의 아미노산 잔기를 구성하는 것으로 추정됨)을 포함하거나 또는 이 도메인으로 이루어진 폴리펩타이드; (c) BAFF-R 막관통 도메인(서열번호 10의 약 82부터 약 101까지의 아미노산 잔기를 구성하는 것으로 추정됨)을 포함하거나 또는 이 도메인으로 이루

어진 폴리펩타이드; (b) BAFF-R 세포내 도메인(서열번호 10의 약 102부터 약 184까지의 아미노산 잔기를 구성하는 것으로 추정됨)을 포함하거나 또는 이 도메인으로 이루어진 폴리펩타이드; 또는 (e) 폴리펩타이드 (a) 내지 (d)의 임의의 조합.

[0279] BAFF-R의 세포외 시스테인 풍부 모티프는 BAFF-R와 이의 리간드, 뉴트로킨-알파 및 APRIL 사이의 상호작용에 중요하다. 따라서, 바람직한 양태에 따르면, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 BAFF-R 폴리펩타이드 단편은 서열번호 10의 아미노산 잔기 19 내지 35를 포함하거나, 그것으로 이루어진다. 또한, 이러한 시스테인 풍부 모티프 중 하나 또는 둘 모두의 폴리펩타이드 서열과 적어도 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 폴리펩타이드 서열을 포함하거나, 이 서열로 이루어진 단백질도 바람직하다.

[0280] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 BAFF-R 단백질의 다른 단편은 BAFF-R의 구조적 또는 기능적 속성을 특징으로 하는 단편이다. 이러한 단편은 미국 특허출원 7,112,410에 논의된 바와 같은, 완전한(즉, 전장) BAFF-R(서열번호 10)의 알파 나선 영역 및 알파 나선 형성 영역("알파 영역"), 베타 시트 영역 및 베타 시트 형성 영역("베타 영역"), 턴(turn) 영역 및 턴 형성 영역("턴 영역"), 코일 영역 및 코일 형성 영역("코일 영역"), 친수성 영역, 소수성 영역, 알파 양쪽친화성 영역, 베타 양친매성 영역, 표면 형성 영역, 및 높은 항원 지수 영역(즉, 제임슨-볼프 프로그램의 디폴트 파라미터를 이용하여 확인된, 항원 지수가 1.5 이상인 4개 이상의 인접 아미노산을 함유하는 영역)을 함유하는 아미노산 잔기를 포함한다. 바람직한 특정 영역에는 가니어-랍슨(Garnier-Robson) 추정 알파 영역, 베타 영역, 턴 영역 및 코일 영역; 초-패스만(Chou-Fasman) 추정 알파 영역, 베타 영역 및 턴 영역; 카이트-두리틀(Kyte-Doolittle) 추정 친수성 영역; 호프-우즈(Hopp-Woods) 추정 소수성 영역; 아이젠버그 알파 및 베타 양친매성 영역; 에미니(Emini) 표면형성 영역; 및 제임슨-울프(Jameson-Wolf) 고 항원성 지수 영역(각 컴퓨터 프로그램의 디폴트 파라미터를 이용하여 추정됨)이 포함되지만, 이에 국한되는 것은 아니다.

[0281] 본 발명의 방법에 사용하기 위한 BAFF-R 폴리펩타이드는 융합 단백질(펩타이드 결합을 통해 이종성 단백질 서열(다른 단백질의)에 연결된 폴리펩타이드 함유)과 같은 변형 형태로 발현될 수 있고, 분비 시그널뿐만 아니라 추가 이종성 기능 영역을 포함할 수 있다. 또는, 이러한 융합 단백질은 단백질 합성 기술, 예컨대 펩타이드 합성기를 이용하여 제조할 수 있다. 따라서, 정제 또는 후속 취급과 보관 동안에 숙주 세포에서의 안정성과 지속성을 향상시키기 위해, 폴리펩타이드의 N 말단에 추가 아미노산 영역, 구체적으로 하전을 띠는 아미노산을 첨가할 수 있다. 또한, 정제를 용이하게 하기 위해 펩타이드 잔기를 폴리펩타이드에 첨가할 수도 있다. 이러한 영역들은 폴리펩타이드의 최종 제조 전에 제거될 수 있다. 분비 또는 배출을 유도하고 안정성을 향상시키며 정제를 용이하게 하기 위한, 폴리펩타이드에 펩타이드 잔기의 첨가는 당업계에서 일반적이고 통상적인 기술이다.

[0282] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 바람직한 BAFF-R 융합 단백질은 단백질을 가용화하기에 유용한 면역글로불린 유래의 이종성 영역을 포함한다. 예를 들어, EP-A-O 464 533(캐나다 대응특허 2045869) 및 WO 00/024782는 다른 사람 단백질 또는 이의 일부분과 함께 면역글로불린 분자의 불변 영역의 다양한 일부를 함유하는 융합 단백질을 개시한다. BAFF-R 면역글로불린 융합 단백질은 모두 전문이 참고인용된 문헌, 예컨대 Pelletier et al., (2003) J Biol Chem 278: 33127-33133 및 Carter, et al., (2005) Arthritis Rheum 52: 3943-3954에 기술되어 있다. 대부분의 경우에, 융합 단백질 중의 Fc 부분은 치료 및 진단에 사용하기에 매우 유리하며, 결과적으로 약동학적 성질을 향상시킨다(EP-A 0232 262). 한편, 몇몇 용도에서는 여기에 기술된 유리한 방법에 따라 융합 단백질을 발현, 검출 및 정제한 후, Fc 부분을 제거하는 것이 바람직할 수 있다. 이러한 경우는, Fc 부분이 치료 및 진단 시에 방해물인 것으로 입증된 경우, 예컨대 융합 단백질이 면역화용 항원으로서 사용되어야 하는 경우이다. 약물 개발 시, 예컨대 hIL-5 수용체와 같은 사람 단백질은 hIL-5의 길항물질을 동정하는 고처리량 선별 분석법을 위해 Fc 일부와 융합되었다[D. Bennett et al., J.Molecular Recognition 8: 52-58(1995) and K.Johanson et al., J.Biol.Chem. 270: 9459-9471(1995) 참조]. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 BAFF-R-Fc 융합 단백질은 BR3-Fc이다.

[0283] 당업자라면 잘 알고 있듯이, 그리고 앞에서 논한 바와 같이, BAFF-R 폴리펩타이드는 다른 폴리펩타이드 서열에 융합될 수 있다. 예를 들어, BAFF-R 폴리펩타이드는 면역글로불린(IgA, IgE, IgG, IgM)의 불변 도메인, 또는 이의 일부(CH1, CH2, CH3 또는 이의 임의의 조합 및 이의 부분들), 또는 알부민(제조합 사람 알부민 또는 이의 단편이나 변이체도 포함하며, 이에 국한되지 않는다; 미국 특허 5,876,969(1999.3.2), EP 특허 0 413 622 및 미국 특허 5,766,883(1998.6.16) 참조; 본원에 전문이 참고인용됨)과 융합될 수 있고, 결과적으로 키메라성 폴리펩타이드가 된다.

[0284] 이러한 융합 단백질은 정제를 촉진하고 보관수명을 연장시킬 수 있으며, 생체내에서 반감기를 증가시킬 수 있다. 이것은 사람 CD4-폴리펩타이드의 처음 두 도메인과 포유동물 면역글로불린의 중쇄 또는 경쇄의 불변부의

다양한 도메인으로 이루어진 키메라성 단백질에서 확인되었다[예컨대, EP 394,827; Traunecker et al., Nature, 331: 84-86(1988)]. 상피 장벽을 따라 면역계로 전달되는 항원의 증가는 IgG 또는 Fc 단편과 같은 FcRn 결합 파트너에 접합된 항원(예, 인슐린)에서 입증되었다(예컨대, PCT 공개번호 WO 96/22024 및 WO 99/04813 참조). 또한, IgG 부분의 이항화 결합으로 인해 이항화 결합된 이량체 구조를 보유하는 IgG 융합 단백질은 단량체성 폴리펩타이드 또는 이의 단편들보다 다른 분자를 결합 및 중화시키는데 더욱 효과적인 것으로 밝혀졌다(예컨대, Fountoulakis et al., J.Biochem., 270: 3958-3964(1995)).

[0285] BAFF-R-Fc 단백질의 일 예는 IgG1 면역글로불린 분자의 Fc 영역에 융합된 서열번호 10의 아미노산 1-70이다. 경우에 따라, BAFF-R의 아미노산 20(발린)은 아스파라긴으로 치환되고, BAFF-R의 아미노산 27(류신)은 프롤린으로 치환된다. 서열번호 26은 이러한 2가지 아미노산 변화를 보유하는 BAFF-R의 아미노산 1-70을 나타낸 것이다.

[0286] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 적어도 BAFF-R 폴리펩타이드의 단편 또는 변이체와 적어도 사람 혈청 알부민의 단편 또는 변이체를 포함하는 것으로서, 이들은 서로 바람직하게는 유전자 융합(즉, BAFF-R의 전부 또는 일부를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드와 알부민의 전부 또는 일부를 암호화하는 폴리펩타이드가 프레임내 결합되어 있는 핵산의 해독에 의해 알부민 융합 단백질이 생산된다) 또는 화학적 접합에 의해 결합되어 있다. BAFF-R 폴리펩타이드 및 알부민 단백질은, 일단 알부민 융합 단백질의 일부가 되면, 알부민 융합 단백질의 "일부", "영역" 또는 "잔기"로 불릴 수 있다(예, "BAFF-R 일부" 또는 "알부민 단백질 일부").

[0287] 일 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 BAFF-R 폴리펩타이드 및 혈청 알부민 단백질을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 BAFF-R의 단편과 혈청 알부민 단백질을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 BAFF-R의 변이체와 혈청 알부민 단백질을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 바람직한 양태에 따르면, 알부민 융합 단백질의 혈청 알부민 단백질 성분은 혈청 알부민의 성숙 부분이다.

[0288] 또 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 BAFF-R 폴리펩타이드와 혈청 알부민의 생물학적 활성 및/또는 치료적 활성 단편을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 또 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 BAFF-R 폴리펩타이드와 혈청 알부민의 생물학적 활성 및/또는 치료적 활성 변이체를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 바람직한 양태에 따르면, 알부민 융합 단백질의 BAFF-R 일부는 전장의 BAFF-R 폴리펩타이드이다. 또 다른 바람직한 양태에 따르면, 알부민 융합 단백질의 BAFF-R 단백질 일부는 BAFF-R 폴리펩타이드의 성숙 가용성 도메인이다.

[0289] 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 BAFF-R의 단편 또는 변이체와 혈청 알부민의 생물학적 활성 및/또는 치료적 활성 단편 또는 변이체를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 바람직한 양태에 따르면, 본 발명은 BAFF-R 폴리펩타이드의 성숙 일부와 혈청 알부민의 성숙 일부를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 알부민 융합 단백질을 제공한다.

[0290] 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 BAFF-R의 단편 또는 변이체와 혈청 알부민의 생물학적 활성 및/또는 치료적 활성 단편 또는 변이체를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 바람직한 양태에 따르면, 본 발명은 BAFF-R 폴리펩타이드의 성숙 일부와 혈청 알부민의 성숙 일부를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 알부민 융합 단백질을 제공한다(제조할 사람 혈청 알부민 또는 이의 단편이나 변이체를 포함하고, 이에 국한되지 않는다; 예컨대 미국 특허 5,876,969(1999.3.2), EP 특허 0 413 622 및 미국 특허 5,766,883(1998.6.16) 참조, 전문이 본원에 참고인용됨). 바람직한 양태에서, BAFF-R 폴리펩타이드(이의 단편 또는 변이체 포함)는 사람 혈청 알부민의 성숙 형태(즉, EP 특허 0 322 094의 도 1 및 2에 제시된 바와 같은 사람 혈청 알부민의 아미노산 1 내지 585)와 융합된다. 또 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 항체(이의 단편이나 변이체 포함)는 사람 혈청 알부민의 아미노산 잔기 1-x를 포함하거나 또는 이들로 이루어진 폴리펩타이드 단편(여기서, x는 1 내지 585 사이의 정수이고 알부민 단편은 사람 혈청 알부민 활성을 보유하는 것이다)과 융합된다. 다른 바람직한 양태에 따르면, BAFF-R 폴리펩타이드(이의 단편이나 변이체 포함)는 사람 혈청 알부민의 아미노산 잔기 1-z(여기서, z는 369 내지 419 사이의 정수이다; 전문이 본 발명에 참고인용된 미국 특허 5,766,883 참조)를 포함하거나 또는 이들로 이루어진 폴리펩타이드 단편과 융합된다. BAFF-R 폴리펩타이드(이의 단편 또는 변이체 포함)는 이종 단백질의 N- 또는 C-말단 단부(예, 면역글로불린의 Fc 폴리펩타이드 또는 사람 혈청 알부민 폴리펩타이드에 융합될 수 있다).

[0291] 바람직한 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질에 사용되는 사람 혈청 알부민 단백질은 서열번호 11을 기준으로 하여 다음과 같은 세트의 점돌연변이를 하나 또는 두 개 함유한다: Leu-407에서 Ala

로, Leu-408에서 Val, Val-409에서 Ala으로, Arg-410에서 Ala으로; 또는 Arg-410에서 A로, Lys-413에서 Gln으로, Lys-414에서 Gln으로(예컨대, 본원에 전문이 참고인용되는 국제공개번호 WO 95/23857 참조). 더욱 더 바람직한 양태에서, 전술한 세트의 점돌연변이 중 하나 또는 두 개를 함유하는, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 효모 Yap3p 단백질해성 절단에 대해 향상된 안정성/내성을 보유하여, 효모 숙주 세포에서 발현된 재조합 알부민 융합 단백질의 생산을 증가시켰다.

[0292] 바람직하게는, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 N 말단 일부로서 HA, 및 C 말단 일부로서 BAFF-R 폴리펩타이드를 함유한다. 대안적으로, C 말단 일부로서 HA를 함유하고 N 말단 일부로서 BAFF-R 폴리펩타이드를 함유하는 알부민 융합 단백질도 사용될 수 있다.

[0293] 다른 양태에 따르면, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 알부민의 N 말단과 C 말단에 모두 융합된 BAFF-R 폴리펩타이드를 보유한다. 구체적 양태에서, N 말단과 C 말단에 융합된 BAFF-R 폴리펩타이드는 동일하다. 다른 양태에서, N 말단과 C 말단에 융합된 BAFF-R 폴리펩타이드는 상이하다. 다른 양태에서, BAFF-R 폴리펩타이드는 알부민의 N 말단 또는 C 말단에 융합되고, 그 나머지 말단에 이중성 폴리펩타이드가 융합된다.

[0294] 또한, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 잔기 사이에 물리적 분리도가 더 커지도록, 융합된 일부들 사이에 링커 펩타이드를 포함하기도 한다. 이러한 링커 펩타이드는 유연성이거나 더욱 강성이 되도록 하는 아미노산으로 이루어질 수 있다.

[0295] 일반적으로, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질은 하나의 HA 유래의 영역과 하나의 BAFF-R 영역을 보유할 수 있다. 하지만, 각 단백질의 다수의 영역을, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질의 제조에 사용할 수도 있다. 이와 유사하게, 하나보다 많은 단백질을 이용하여 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 알부민 융합 단백질을 제조할 수 있다. 예를 들어, 단백질은 HA의 N 말단 단부와 C 말단 단부에 모두 융합될 수 있다. 이러한 배열에서, 단백질 일부는 동일하거나 상이한 단백질 분자일 수 있다. 이러한 이기능성 알부민 융합 단백질의 구조는 X-HA-Y 또는 Y-HA-X로 나타낼 수 있다.

[0296] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 BAFF-R 단백질 또는 이의 단편이나 변이체는 세포독소(예컨대, 세포증식억제성 또는 살세포성 제제)에 접합될 수 있다. 세포독소 또는 세포독성제는 세포에 유해한 임의의 제제를 포함한다. 그 예에는 파클리탁솔, 사이토칼라신 B, 그라미시딘 D, 에티디움 브로마이드, 에메틴, 미토마이신, 에토포사이드, 테노포사이드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜치신, 독소루비신, 다우노루비신, 디하이드록시안트라신 디온, 미토잔트론, 미트라마이신, 액티노마이신 D, 1-데하이드로테스토스테론, 글루코코르티코이드 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤 및 퓨로마이신, 및 이의 유사체 또는 동족체가 포함된다.

[0297] 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 BAFF-R 단백질 또는 이의 단편이나 변이체는 독소에 접합될 수 있다.

[0298] "독소"란 내인성 세포독성 효과기 시스템에 결합하여 활성화시키는 1종 이상의 화합물, 방사능동위원소, 홀로톡신(holotoxin), 변형 독소, 독소의 촉매적 서브유닛, 또는 제한된 조건 하에서 세포 사멸을 유발하는 세포 표면 위나 안에 보통 존재하지 않는 임의의 분자 또는 효소를 의미한다. 사용될 수 있는 독소에는, 당업계에 공지된 방사능동위원소, 화합물, 예컨대 고유 또는 유도된 내인성 세포독성 효과기 시스템에 결합하는 항체(또는 이의 일부를 함유하는 보체 고정), 티미딘 키나제, 엔도뉴클레아제, RNase, 알파 독소, 리신, 에이브린, 슈도모나스(*Pseudomonas*) 외독소 A, 디프테리아 독소, 사포린, 모모르딘, 젤로닌, 미국자리공(pokeweed) 항바이러스 단백질, 알파-사르신 및 콜레라 독소 등이 포함되나, 이에 국한되는 것은 아니다. 또한, "독소"는 세포증식억제제 또는 살세포성제, 치료제 또는 방사능활성 금속 이온, 예컨대 알파-방사체, 구체적으로 ^{213}Bi 또는 다른 방사능 동위원소, 예컨대 ^{103}Pd , ^{133}Xe , ^{131}I , ^{68}Ge , ^{57}Co , ^{65}Zn , ^{85}Sr , ^{32}P , ^{35}S , ^{90}Y , ^{153}Sm , ^{153}Gd , ^{169}Yb , ^{51}Cr , ^{54}Mn , ^{75}Se , ^{113}Sn , ^{90}It , $^{117}\text{주석}$, $^{186}\text{레늄}$, $^{166}\text{홀름}$ 및 $^{188}\text{레늄}$ 등을 포함한다.

[0299] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 BAFF-R 폴리펩타이드의 특징을 개량 또는 변경시키기 위해 단백질 공학을 이용할 수 있다. 당업자에게 공지된 재조합 DNA 기술은 새로운 돌연변이 단백질 또는 "하나 또는 복수의 아미노산 치환, 결실, 첨가 또는 융합 단백질을 포함하는 유전자"를 제조하는데 사용될 수 있다. 이와 같이 변형된 폴리펩타이드는 예컨대, 활성 증가, 활성 감소 또는 안정성 증가 등을 나타낼 수 있다. 또한, 이 폴리펩타이드는 적어도 일정한 정제 및 보관 조건 하에서 대응하는 천연 폴리펩타이드보다 가용성이 우수하고 더 높은 수율로 정제될 수 있다. 본 발명의 또 다른 양태에서, BAFF-R 폴리펩타이드 돌연변이체는 "우성 음성"일 수 있다. 이를 위해, TNF 보존적 도메인의 전체 또는 일부가 결실된 돌연변이체와 같은 결손형 BAFF-R 폴리펩타이드가 BAFF-

R의 활성을 저하시키는데 사용될 수 있다. 비기능성 BAFF-R 폴리펩타이드를 조립하여, 결합은 할 수 있지만 시그널 형질도입은 할 수 없는 수용체(예, 다량체)를 형성할 수 있다.

[0300] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 BAFF-R 단백질은 단량체 또는 다량체(즉, 이량체, 삼량체, 사량체 및 그 이상의 다량체)일 수 있다. 구체적 양태에서, 본 발명의 폴리펩타이드는 단량체, 이량체, 삼량체 또는 사량체이다. 또 다른 양태에서, 본 발명의 다량체는 적어도 이량체, 적어도 삼량체 또는 적어도 사량체이다. TNF과의 단백질 중 특정 일원은 삼량체 형태로 존재하는 것으로 생각되고 있다(Beutler and Huffel, Science 265: 667, 1994; Banner et al., Cell 73: 431, 1993). 따라서, 삼량체성 BAFF-R는 증강된 생물학적 활성의 장점을 제공할 수 있다.

[0301] 구체적 양태에서, 다량체는 동종체 또는 이종체일 수 있다. 본 명세서에 사용된, 동종체란 용어는 BAFF-R 단백질(본 명세서에 기술된 BAFF-R 단편, 변이체 및 융합 단백질 포함)만을 함유하는 다량체를 의미한다. 이러한 동종체는 폴리펩타이드 서열이 동일하거나 상이한 BAFF-R 단백질을 함유할 수 있다. 구체적 양태에서, 동종체는 동일한 폴리펩타이드 서열을 갖는 BAFF-R 단백질을 함유하는 다량체이다. 다른 구체적 양태에서, 동종체는 다른 폴리펩타이드 서열을 갖는 BAFF-R 단백질을 함유하는 다량체이다.

[0302] 본 명세서에 사용된, 이종체란 용어는 BAFF-R 단백질 외에 이종성 단백질(즉, BAFF-R 유전자에 의해 암호화된 폴리펩타이드 서열에 대응하지 않는 폴리펩타이드 서열만을 함유하는 단백질)을 함유하는 다량체를 의미한다. 다량체는 소수성, 친수성, 이온성 및/또는 공유 결합의 결과일 수 있고/있거나 리포솜 형성 등에 의해 간접적으로 결합될 수도 있다. 따라서, 일 양태에서, 동종이량체 또는 동종삼량체, 이종삼량체 또는 이종사량체와 같은 다량체는 단백질들이 용액에서 서로 접촉할 때 형성된다. 다른 양태에서, 다량체는 BAFF-R 단백질을 보유하는 공유 결합 및/또는 BAFF-R 단백질 사이의 공유 결합에 의해 형성된다. 이러한 공유 결합은 단백질의 폴리펩타이드 서열에 함유된 하나 이상의 아미노산 잔기를 수반할 수 있다. 일 예로서, 공유 결합은 천연(즉, 자연발생) 폴리펩타이드 내에서 상호작용하는, 단백질의 폴리펩타이드 서열 내에 위치한 시스테인 잔기 사이의 가교이다. 다른 예에서, 공유 결합은 화학적 또는 재조합 조작의 결과이다.

[0303] 대안적으로, 이러한 공유 결합은 BAFF-R 융합 단백질 내의 이종성 폴리펩타이드 서열에 함유된 하나 이상의 아미노산 잔기를 수반한다. 일 예에서, 공유 결합은 융합 단백질(예컨대, 전문이 참고인용된 미국 특허번호 5,478,925 참조)에 함유된 이종성 서열 사이에서 이루어진다. 구체예에서, 공유 결합은 BAFF-R-Fc 융합 단백질(본 명세서에 기술된 것)에 함유된 이종성 서열 사이에서 이루어진다. 다른 구체예에서, 융합 단백질의 공유 결합은 공유 결합된 다량체, 예컨대 오세테오프로테제린(예컨대, 국제공개번호 WO 98/49305, 전문이 본원에 참고 인용됨)을 형성할 수 있는 다른 TNF과 리간드/수용체 일원 유래의 이종성 폴리펩타이드 서열 사이에서 이루어진다. 다른 구체예에서, 2 이상의 BAFF-R 폴리펩타이드는 합성 링커(예컨대, 펩타이드, 탄수화물 또는 가용성 중합체 링커)를 통해 결합된다. 그 예에는, 미국 특허 5,073,627(본원에 참고인용됨)에 기술된 펩타이드 링커가 있다. 펩타이드 링커에 의해 복수의 BAFF-R 폴리펩타이드가 분리되어 있는 단백질은 통상적인 재조합 DNA 기술을 사용하여 생산할 수 있다.

[0304] 구체적 양태에서, BAFF-R 폴리펩타이드, 폴리펩타이드 단편, 서열번호 10의 변이체 및/또는 BAFF-R 폴리펩타이드 에피토프에 결합하는 항체(당업계에 공지된, 특이적 항체-항원 결합을 분석하는 면역분석법으로 측정)는 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. 항-BAFF-R 항체 및 이의 단편은, 예컨대 문헌[Lee, et al.(2006) Synthetic anti-BR3 antibodies that mimic BAFF binding and target both human and murine B cells Blood(Blood First Edition Paper, 2006.7.13에 온라인으로 사전공개됨) Vol.0, No.2006, pp. 200603011; 및 Ch'en et al., (2005) Cell Immunol 236: 78-85; Nakamura et al.,(2005) Virchows Arch 447: 53-60, and Carter, et al.,(2005) Arthritis Rheum 52: 3943-3954]에 기술되어 있다. 전술한 각 문헌들은 본원에 전문이 참고인용되었다. 항체에는 폴리클로날, 모노클로날, 다특이성, 사람, 사람화된 또는 키메라 항체, 단일쇄 항체, Fab 단편, F(ab') 단편, Fab 발현 라이브러리에 의해 생산된 단편, 항이디오타입(항-Id) 항체(예컨대, 항-BAFF-R 항체에 대한 항Id 항체를 포함하여) 및 이들 중 임의의 에피토프 결합 단편이 포함되나, 이에 국한되는 것은 아니다. 본 명세서에 사용된 "항체"란 용어는 면역글로불린 분자 및 면역글로불린 분자의 면역학적 활성 일부, 즉 면역 특이적으로 항원에 결합하는 항원결합부위를 함유하는 분자를 의미한다. 면역글로불린 분자는 면역글로불린 분자의 임의의 타입(예, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 클래스(예, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 및 IgA₂) 또는 서브클래스일 수 있다. 구체적 양태에서, 면역글로불린 분자는 IgG1이다. 다른 구체적 양태에서, 면역글로불린 분자는 IgG4이다.

[0305] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 BAFF-R 결합 항체 단편에는 Fab, Fab' 및 F(ab')₂, Fd, 일본쇄 Fvs(scFv),

단일쇄 항체, 이항화 결합된 Fvs(sdFv) 및 VL 또는 VH 도메인을 함유하는 단편이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 단일쇄 항체를 함유하는 항원 결합 항체 단편은 가변부(들)를 단독으로 함유하거나, 또는 힌지(hinge) 영역, CH1, CH2 및 CH3 도메인 중 일부 또는 전체를 함께 함유할 수 있다. 또한, 힌지 영역, CH1, CH2 및 CH3 도메인과 가변부(들)의 임의의 조합을 함유하는 항원 결합 단편도 포함된다. 항체는 새 및 포유동물을 비롯한 임의의 동물 기원에서 유래되는 것일 수 있다. 항체는 사람, 쥐(예, 마우스와 래트), 당나귀, sheep 래빗, 염소, 기니아피그, 낙타, 말 또는 닭 유래인 것이 바람직하다. 본 명세서에 사용된 "사람" 항체에는 사람 면역글로불린의 아미노산 서열을 갖는 항체가 포함되고, 사람 면역글로불린 라이브러리에서 분리되거나 또는 하나 이상의 사람 면역글로불린에 대해 유전자전이성이고 내인성 면역글로불린을 발현하지 않는 동물(전문이 본 발명에 참고 인용되는 미국 특허 5,939,598(Kucherlapati et al.) 등에 기술되어 있음)에서 유래되는 항체가 있다.

[0306] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항-BAFF-R 항체는 일특이성, 이특이성, 삼특이성 또는 그 이상의 다특이성일 수 있다. 다특이성 항체는 BAFF-R 폴리펩타이드의 여러 에피토프에 대해 특이성이거나 또는 BAFF-R 폴리펩타이드는 물론 이중성 에피토프, 예컨대 이중성 폴리펩타이드 또는 고휘형 지지체 물질에 대해 특이성일 수 있다[예컨대, PCT 공개 WO 93/17715; WO 92/08802; WO 91/00360; WO 92/05793; Tutt, et al., J.Immunol. 147: 60-69(1991); 미국 특허 4,474,893; 4,714,681; 4,925,648; 5,573,920; 5,601,819; Kostelny et al., J.Immunol. 148: 1547-1553(1992), 모두 본 발명에 전문이 참고인용됨].

[0307] BAFF-R 항체는 교차 반응성에 의해 설명되거나 특정화될 수 있다. BAFF-R 폴리펩타이드의 임의의 다른 유사체, 오르토로그(ortholog) 또는 동족체(homolog)에 결합하지 않는 항체는 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. 구체적인 양태에서, BAFF-R 항체는 사람 BAFF-R 단백질의 쥐, 래트 및/또는 래빗의 동족체, 및 이의 대응하는 에피토프와 교차반응한다. 구체적인 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항-BAFF-R 항체는 BAFF-R뿐만 아니라 TACI 및 BCMA에도 결합한다.

[0308] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 BAFF-R 항체는 BAFF-R 폴리펩타이드에 대한 결합 친화성으로 설명되거나 특정화될 수 있다. 바람직한 결합 친화성은 해리상수 또는 Kd가 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M 또는 10^{-12} M 이하인 것을 포함한다.

[0309] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 BAFF-R 항체는 BAFF-R 폴리펩타이드의 효능물질 또는 길항물질로서 작용할 수 있다. 예를 들어, BAFF-R 폴리펩타이드와 수용체/리간드 상호작용을 부분적으로 또는 완전히 붕괴시키는 BAFF-R 항체가 포함된다. 또한, 리간드 결합을 방해하지 않지만 수용체 활성화를 방해하는 수용체 특이적 항체도 포함된다. 수용체 활성화(즉, 시그널링)는 본 명세서에 기술되거나, 또는 당업계에 공지된 기술에 의해 측정될 수 있다. 예를 들어, 수용체 활성화는 전사 인자 NF-AT, AP-1, 및/또는 NF-카파B의 활성화를 당업계에 공지된 기술을 이용하여 검출하고/하거나, 면역침전법 및 그 다음 웨스턴 블롯 분석에 의한 수용체 또는 이의 기질의 인산화(예, 티로신 또는 세린/트레오닌)를 검출하여 측정할 수 있다.

[0310] 구체적인 양태에서, 리간드 결합 및 수용체 활성화를 모두 방해하는 수용체-특이적 BAFF-R 항체, 및 수용체-리간드 복합체는 인식하고, 바람직하게는 비결합된 수용체 또는 미결합된 리간드는 특이적으로 인식하지 못하는 BAFF-R 항체도 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. 상기 BAFF-R 항체는 당업계에 공지된 방법을 이용하여 제조할 수 있다. 예컨대, PCT 공개 WO 96/40281; U.S. 특허 5,811,097; Deng et al, Blood 92(6):1981-1988 (1998); Chen et al., Cancer Res.58(16):3668-3678 (1998); Harrop et al., J. Immunol.161(4):1786-1794 (1998); Zhu et al., Cancer Res.58(15):3209-3214 (1998); Yoon et al., J. Immunol.160(7):3170-3179 (1998); Prat et al., J. Cell. Sci. 111(Pt2):237-247 (1998); Pitard et al., J. Immunol. Methods 205(2): 177-190 (1997); Liautard et al., Cytokine 9(4):233-241 (1997); Carlson et al., J. Biol. Chem.272(17): 11295-11301 (1997); Taryman et al., Neuron 14(4):755-762 (1995); Muller et al., Structure 6(9): 1153-1167 (1998); Bartunek et al., Cytokine 8(1): 14-20 (1996)을 참고한다(이 문헌들 모두 전문이 본 발명에 참고인용되었다).

[0311] G. 항-APRIL 항체

[0312] 구체적인 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-APRIL 항체 또는 이의 항원결합단편이다. 항-APRIL 항체 및 이의 단편에 대해서는, 예컨대 PCT 공개번호 WO 01/087977, WO 99/12965, WO 01/60397 및 WO 02/094192; 미국 특허 6,506,882; 미국 특허 공개번호 2003/0166864, 2002.10.11; 및 Ch'en, et al., (2005) Cell Immunol 236:

78-85에 기술되어 있고, 이하에 더 상세히 설명되고 있다. 전술한 각 문헌들은 전문이 참고인용되었다.

- [0313] 구체적 양태에서, 서열번호 4의 APRIL 폴리펩타이드, 폴리펩타이드 단편 또는 변이체, 및/또는 APRIL 에피토프 (특이적 항체-항원 결합 분석에 대해 당업계에 공지된 면역분석법을 사용하여 측정된)는 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 다른 폴리펩타이드 서열에 융합된 APRIL 폴리펩타이드에 결합할 수 있다. 예를 들어, APRIL 폴리펩타이드는 면역글로불린(IgA, IgE, IgG, IgM)의 불변 도메인, 또는 이의 일부(CH1, CH2, CH3 또는 이의 임의의 조합 및 이의 부분들), 또는 알부민(재조합 사람 알부민 또는 이의 단편이나 변이체도 포함하며, 이에 국한되지 않는다; 미국 특허 5,876,969(1999.3.2), EP 특허 0 413 622 및 미국 특허 5,766,883(1998.6.16) 참조; 본원에 전문이 참고인용됨)과 융합될 수 있고, 결과적으로 키메라성 폴리펩타이드가 된다. 이러한 융합 단백질은 정제를 촉진하고 생체내에서 반감기를 증가시킬 수 있다. 이것은 사람 CD4-폴리펩타이드의 처음 두 도메인과 포유동물 면역글로불린의 중쇄 또는 경쇄의 불변부의 다양한 도메인으로 이루어진 키메라성 단백질에서 확인되었다[예컨대, EP 394,827; Traunecker et al., Nature, 331: 84-86(1988)]. 상피 장벽을 따라 면역계로 전달되는 항원의 증가는 IgG 또는 Fc 단편과 같은 FcRn 결합 파트너에 접합된 항원(예, 인슐린)에서 입증되었다(예컨대, PCT 공개번호 WO 96/22024 및 WO 99/04813 참조). 또한, IgG 부분의 이황화 결합으로 인해 이황화 결합된 이량체 구조를 보유하는 IgG 융합 단백질은 단량체성 폴리펩타이드 또는 이의 단편들보다 다른 분자를 결합 및 중화시키는데 더욱 효과적인 것으로 밝혀졌다(예컨대, Fountoulakis et al., J.Biochem., 270: 3958-3964(1995)).
- [0314] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 동중체성, 특히 동중삼량체성 APRIL 폴리펩타이드에 결합한다. 다른 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 2개의 APRIL 폴리펩타이드와 하나의 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드를 함유하는 이중삼량체 또는 하나의 APRIL 폴리펩타이드와 2개의 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드를 함유하는 이중삼량체와 같은 이중체성, 특히 이중삼량체성 APRIL 폴리펩타이드에 결합한다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 다량체의 각 단백질 성분이 APRIL의 성숙 형태(예, 서열번호 4의 아미노산 잔기 105-250)로 이루어진, 동중체성, 특히 동중삼량체성 APRIL 폴리펩타이드에 결합한다. 다른 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 2개의 APRIL 폴리펩타이드와 하나의 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드를 함유하는 이중삼량체 또는 하나의 APRIL 폴리펩타이드와 2개의 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드를 함유하는 이중삼량체와 같은 이중체성, 특히 이중삼량체성 APRIL 폴리펩타이드에 결합하고, 여기서 APRIL 이중체의 각 단백질 성분은 APRIL의 성숙 세포외 가용성 일부(예, 서열번호 4의 아미노산 잔기 105-250) 또는 뉴트로킨-알파의 성숙 세포외 가용성 일부(예, 서열번호 2의 아미노산 잔기 134-285)로 이루어진다.
- [0315] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 APRIL 단량체성 단백질의 형태적 에피토프에 결합한다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 APRIL 다량체성, 특히 삼량체성 단백질의 형태적 에피토프에 결합한다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 이중성 폴리펩타이드와 APRIL의 병치 시 나타나는, APRIL이 이중삼량체(예, 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드)를 형성할 때 또는 APRIL과 이중성 폴리펩타이드의 융합 단백질에 존재할 수 있을 것 같은 형태적 에피토프에 결합한다.
- [0316] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체에는, 폴리클로날, 모노클로날, 다특이성, 사람, 사람화된 또는 키메라성 항체, 단일쇄 항체, Fab 단편, F(ab') 단편, Fab 발현 라이브러리에 의해 생성된 단편, 항이디오타입(항-Id) 항체(예컨대, 항-뉴트로킨-알파 항체에 대한 항-id 항체 포함), 및 상기 임의의 에피토프 결합 단편이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 본 명세서에 사용된 "항체"란 용어는 면역글로불린 분자 및 면역글로불린 분자의 면역학적 활성 일부, 즉 항원에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 부위를 함유하는 분자를 의미한다. 본 발명의 면역글로불린 분자는 면역글로불린 분자의 임의의 형태(예, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 및 클래스(예, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 서브클래스일 수 있다. 바람직한 양태에서, 면역글로불린은 IgG1 또는 IgG4 동중형이다. 면역글로불린은 중쇄 및 경쇄를 보유할 수 있다. IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY 중쇄의 어레이는 카파 또는 람다 형태의 경쇄와 쌍을 이룰 수 있다.
- [0317] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 APRIL 결합 항체 단편이고, 그 예에는 Fab, Fab' 및 F(ab')₂, Fd, 일본쇄 Fv(scFv), 단일쇄 항체, 이황화 결합된 Fv(sdFv) 및 VL 또는 VH 도메인을 함유하는 단편이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 단일쇄 항체를 함유하는 APRIL 결합 항체 단편은 가변부(들)를 단독으로 함유하거나, 또는 힌지(hinge) 영역, CH1, CH2 및 CH3 도메인 중 일부 또는 전체를 함께 함유할 수 있다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 결합 단편은 힌지 영역, CH1, CH2 및 CH3 도메인과 가변 영역(들)의 임의의 조합을 포함한다. 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 새와 포유동물을 비롯한 임의의 동물 기원에서 유래될 수 있다. 항체는 사람, 쥐(예, 마우스와 래트), 당나귀, 썬 래빗, 염소, 기니아피그, 낙타, 말 또는 닭 유래인 것이 바람직하다. 본 명세서에 사용된 "사람" 항체에는 사람 면역글로불린의 아미노산

서열을 갖는 항체가 포함되고, 사람 면역글로불린 라이브러리에서 분리되거나 또는 하나 이상의 사람 면역글로불린에 대해 유전자전이성이고 내인성 면역글로불린을 발현하지 않는 동물(전문이 본 발명에 참고인용되는 미국 특허 5,939,598(Kucherlapati et al.) 등에 기술되어 있음)에서 유래되는 항체가 있다.

[0318] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 일특이성, 이특이성, 삼특이성 또는 그 이상의 다특이성일 수 있다. 다특이성 항체는 APRIL 폴리펩타이드의 여러 에피토프에 대해 특이성이거나 또는 APRIL 폴리펩타이드는 물론 이중성 에피토프, 예컨대 이중성 폴리펩타이드 또는 고향 지지체 물질에 대해 특이성일 수 있다[예컨대, PCT 공개 WO 93/17715; WO 92/08802; WO 91/00360; WO 92/05793; Tutt, et al., J.Immunol. 147: 60-69(1991); 미국 특허 4,474,893; 4,714,681; 4,925,648; 5,573,920; 5,601,819; Kostelny et al., J.Immunol. 148: 1547-1553(1992)].

[0319] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항-APRIL 항체는 교차 반응성에 의거하여 설명되거나 특정화될 수 있다. APRIL 폴리펩타이드의 임의의 다른 유사체, 오르토로그 또는 동족체에 결합하지 않는 항체는 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 뉴트로킨-알파와 교차반응한다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 사람 단백질의 쥐, 래트 및/또는 래빗 동족체 및 이의 대응하는 에피토프와 교차반응한다.

[0320] 또한, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 APRIL 폴리펩타이드에 대한 결합 친화성에 의거하여 설명되거나 특정화될 수 있다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 해리상수 또는 K_D $5 \times 10^{-9} M$, $10^{-9} M$, $5 \times 10^{-10} M$, $10^{-10} M$, $5 \times 10^{-11} M$, $10^{-11} M$, $5 \times 10^{-12} M$ 또는 $10^{-12} M$ 이하로, APRIL 폴리펩타이드 또는 이의 단편이나 변이체에 결합한다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항체는 상기 각각 언급된 값 사이인 상기 범위 중 어느 한 범위 내인 해리 상수 또는 K_D 로, APRIL 폴리펩타이드에 결합한다.

[0321] APRIL 폴리펩타이드와 수용체/리간드 상호작용을 부분적으로 또는 완전히 봉쇄시키는 APRIL 항체가 포함된다. 또한, 리간드 결합을 방해하지 않지만 수용체 활성화를 방해하는 APRIL-특이적 항체도 포함된다. 수용체 활성화(즉, 시그널링)는 본 명세서에 기술되거나, 또는 당업계에 공지된 기술에 의해 측정될 수 있다. 예를 들어, 수용체 활성화는 전사 인자 NF-AT, AP-1 및/또는 NF- κ B의 활성화를 당업계에 공지된 기술을 이용하여 검출하고/하거나, 면역침전법 및 그 다음 웨스턴 블롯 분석에 의한 수용체 또는 이의 기질의 인산화(예, 티로신 또는 세린/트레오닌)를 검출하여 측정할 수 있다.

[0322] 구체적 양태에서, 리간드 결합 및 수용체 활성화를 모두 방해하는 수용체-특이적 APRIL 특이적 항체, 및 수용체-리간드 복합체는 인식하고, 바람직하게는 비결합된 수용체 또는 미결합된 리간드는 특이적으로 인식하지 못하는 APRIL 항체도 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. 상기 APRIL 항체는 당업계에 공지된 방법을 이용하여 제조할 수 있다. 예컨대, PCT 공개 WO 96/40281; U.S. 특허 5,811,097; Deng et al, Blood 92(6):1981-1988 (1998); Chen et al., Cancer Res.58(16):3668-3678 (1998); Harrop et al., J. Immunol.161(4):1786-1794 (1998); Zhu et al., Cancer Res.58(15):3209-3214 (1998); Yoon et al., J. Immunol.160(7):3170-3179 (1998); Prat et al., J. Cell. Sci. 111(Pt2):237-247 (1998); Pitard et al., J. Immunol. Methods 205(2):177-190 (1997); Liautard et al., Cytokine 9(4):233-241 (1997); Carlson et al., J. Biol. Chem.272(17):11295-11301 (1997); Taryman et al., Neuron 14(4):755-762 (1995); Muller et al., Structure 6(9): 1153-1167 (1998); Bartunek et al., Cytokine 8(1): 14-20 (1996)을 참고한다(이 문헌들 모두 전문이 본 발명에 참고인용되었다).

[0323] H. APRIL 결합 폴리펩타이드

[0324] 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 APRIL 결합 펩타이드 또는 폴리펩타이드이다. APRIL 결합 펩타이드 또는 폴리펩타이드는 국제특허공개번호 WO01/87977, WO01/87979, 및 미국특허공개번호 US2002081296 및 US2002086018(전문이 본 발명에 참고인용됨)에 기술되어 있다. 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 결합 펩타이드는 사상 파아지의 외피 단백질과 융합에 의해 표시된 랜덤 펩타이드 서열로부터 동정된 짧은 폴리펩타이드를 포함한다. 파아지 디스플레이 펩타이드 라이브러리 기술에 대해서는 문헌[Scott et al. (1990), Science 249: 386; Devlin et al. (1990), Science 249: 404; 미국특허 5,223,409(1993.6.29); 미국특허 5,733,731(1998.3.31); 미국특허 5,498,530(1996.3.12); 미국특허 5,432,018(1995.7.11); 미국특허 5,338,665(1994.8.16); 미국특허 5,922,545(1999.3.13); WO 96/40987(1996.12.19 공개); 및 WO

98/15833(1998.4.16 공개)(모두 전문이 참고인용됨)에 논의되어 있다. 펩타이드를 발현하는 파아지는 고정된 APRIL 표적 펩타이드에 대한 친화성 정제 단계를 연속 수행한 뒤, 재전파시켜 분리한다. APRIL에 가장 높은 결합성을 나타내는 후보들을 서열분석하여, 각 결합 펩타이드의 동일성을 측정할 수 있다. 각각 동정된 APRIL 결합 펩타이드는 그 다음 "매개체(vehicle)"에 부착시켜, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 APRIL 결합 펩타이드를 추가로 생산할 수 있다. "매개체"란 용어는 APRIL 결합 펩타이드의 분해를 방지하고/하거나 반감기를 증가시키거나, 독성을 감소시키거나, 면역원성을 저하시키거나 또는 그 펩타이드의 생물학적 활성을 증가시키는 분자를 의미한다. 매개체의 예에는 Fc 도메인 및 이의 변이체("펩티바디"가 바람직하다); 선형 중합체(예, 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 예컨대 5kD, 20kD 및 30kD PEG, 폴리리신, 텍스트란 등); 분지쇄 중합체(예컨대, 미국특허 4,289,872, Denkenwalter et al., 1981.9.15; 5,229,490, Tam, 1993.7.20; WO 93/21259, Frechet et al., 1993.10.28 공개); 지질; 콜레스테롤 그룹(예, 스테로이드); 탄수화물 또는 올리고사카라이드(예, 텍스트란); 구제(salvage) 수용체에 결합하는 임의의 천연 또는 합성 단백질, 폴리펩타이드 또는 펩타이드; 알부민, 예컨대 재조합 사람 알부민 또는 이의 단편이나 변이체(예컨대, 미국 특허 5,876,969, 1999.3.2; EP 특허 0 413 622, 및 미국특허 5,766,883(1998.6.16))(이에 국한되는 것은 아니다); 및 류신_지퍼 도메인, 및 이러한 다른 단백질 및 단백질 단편이 있다. 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 결합 폴리펩타이드는 N 말단, C 말단 또는 한 아미노산 잔기의 측쇄를 통해 펩타이드에 부착된 1 이상의 매개체의 존재를 필요로 한다. 또한, 복수의 매개체가 사용될 수도 있으며; 그 예로는 각 말단에 Fc 또는 한 말단에 Fc와 다른 말단이나 측쇄에 PEG 그룹이 사용될 수 있다. APRIL 결합 펩타이드에 바람직한 매개체는 Fc 도메인이다. Fc 도메인은 펩타이드의 N 말단이나 C 말단에 또는 N 말단과 C 말단 모두에 융합될 수 있다. N 말단에 대한 융합이 바람직하다.

- [0325] 앞에서 지정한 바와 같이, Fc 변이체는 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 결합 펩타이드에 적당한 매개체이다. 천연 Fc는 구제 수용체에 대한 결합이 유지되지만 한다면 Fc 변이체로 다양하게 변형될 수 있다: 예컨대 WO 97/34631 및 WO 96/32478 참조. 이러한 Fc 변이체에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 결합 펩타이드에 필요로 되지 않는 구조적 특징 또는 기능적 활성을 제공하는, 천연 Fc의 하나 이상의 부위를 제거할 수 있다. 이러한 부위는, 예컨대 잔기 치환이나 결실에 의해, 그 부위에 잔기의 삽입에 의해, 또는 그 부위를 함유하는 일부의 절두에 의해 제거할 수 있다. 또한, 삽입되거나 치환된 잔기는 변경된 아미노산, 예컨대 펩티도미메틱 또는 D-아미노산일 수 있다. Fc 변이체는 많은 이유들로 인해 바람직하며, 그 중 몇 가지 이유는 이하에 설명된다. Fc 변이체의 예는 다음과 같은 분자 및 서열을 포함한다:
- [0326] 1. 이황화 결합 형성에 관여하는 부위가 제거된다. 이러한 제거는 본 발명의 분자를 생산하는데 사용된 숙주 세포에 존재하는 다른 시스테인 함유 단백질과의 반응을 피할 수 있다. 이를 위해, N 말단에 있는 시스테인 함유 분절이 절두될 수 있고, 또는 시스테인 잔기가 결실되거나, 다른 아미노산(예, 알라닌, 세릴)으로 치환될 수 있다. 시스테인 잔기가 제거된 경우라도, 일본쇄 Fc 도메인은 비공유적으로 함께 유지되는 이량체 Fc 도메인을 여전히 형성할 수 있다.
- [0327] 2. 천연 Fc가 선택된 숙주 세포와 더욱 용화성이 되게 변형된다. 예를 들어, 프롤린 이미노펩티다제와 같은 이.콜리(E.coli)의 분해 효소에 의해 인식될 수 있는, 전형적인 천연 Fc의 N 말단 부근에 있는 PA 서열이 제거될 수 있다. 또한, 특히 분자가 이.콜리와 같은 세균 세포에서 재조합 발현되는 경우에는 N 말단 메티오닌 잔기를 첨가할 수도 있다.
- [0328] 3. 천연 Fc의 N 말단 일부가, 선택된 숙주 세포에서 발현될 때 N 말단 불균질성(heterogeneity)을 방지하기 위해 제거된다. 이를 위해, N 말단에 처음 20개 아미노산 잔기 중 임의의 잔기를 결실시킬 수 있다.
- [0329] 4. 하나 이상의 글리코실화 부위가 제거된다. 일반적으로 글리코실화된 잔기(예, 아스파라긴)는 세포용해 반응을 부여할 수 있다. 이러한 잔기는 결실되거나 또는 비글리코실화된 잔기(예, 알라닌)로 치환될 수 있다.
- [0330] 5. C1q 결합 부위와 같은 보체와의 상호작용에 관여하는 부위가 제거된다. 예를 들어, 사람 IgG1의 EKK 서열을 결실시키거나 치환시킬 수 있다. 보체 점증은 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 분자에는 유리하지 않을 수 있고, 따라서 이러한 Fc 변이체로 피할 수 있다.
- [0331] 6. 구제 수용체 이외에 다른 Fc 수용체에 대한 결합에 영향을 미치는 부위가 제거된다. 천연 Fc는 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 결합 펩타이드 융합 분자에 필요하지 않은, 특정 백혈구 세포와 상호작용하는 부위를 보유할 수 있고, 따라서 이 부위는 제거될 수 있다.
- [0332] 7. ADCC 부위가 제거된다. ADCC 부위는 당업계에 공지되어 있다: IgG1의 ADCC 부위에 관해서는 문헌[Molec. Immunol. 29(5): 633-9(1992)]을 참조한다. 이러한 부위도 역시 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 융합 분자에

는 필요한 것이 아닌 바, 제거될 수 있다.

- [0333] 8. 천연 Fc가 사람을 제외한 동물 항체에서 유래되는 경우, 천연 Fc는 사람화될 수 있다. 보통, 천연 Fc를 사람화하기 위해, 사람을 제외한 동물의 천연 Fc 중에서 선택된 잔기를, 사람의 천연 Fc에서 보통 발견되는 잔기로 치환시킨다. 항체 사람화 기술은 당업계에 공지되어 있다.
- [0334] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 결합 펩타이드의 다른 매개체는 구체 수용체에 결합할 수 있는, 단백질, 폴리펩타이드, 펩타이드, 항체, 항체 단편 또는 소분자(예, 펩티도미메틱 화합물)일 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 5,739,277에 기술된 폴리펩타이드를 매개체로서 사용할 수 있다. 또한, 구체 수용체에 결합하는 펩타이드는 과아지 디스플레이 또는 RNA-펩타이드 스크리닝으로 선택할 수도 있다. 이러한 구체 수용체 결합 화합물도 역시 "매개체"의 의미 내에 포함되며, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 결합 펩타이드에 사용될 수 있다. 이러한 매개체는 반감기 증가(예컨대, 프로테아제에 의해 인식되는 서열을 제거하여) 및 면역원성 감소(예컨대, 항체 사람화에서 밝혀진 것처럼 비면역원성 서열을 권장하여)를 위해 선택되어야 한다.
- [0335] 앞에서 언급한 바와 같이, 중합체 매개체도 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 결합 펩타이드에 사용될 수 있다. 매개체로서 유용한 화학 잔기를 부착시키는 다양한 방법이 현재 이용가능하며, 예컨대, PCT 국제공개번호 WO 96/11953(전문이 본 발명에 참고인용됨)을 참고한다. 이 PCT 공개특허는 특히 단백질의 N 말단에 대한 수용성 중합체의 선택적 부착에 대해 개시한다.
- [0336] 구체적 양태에서, 바람직한 중합체 매개체는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)이다. PEG 그룹은 임의의 사용하기 좋은 분자량인 것이며, 선형 또는 분지형일 수 있다. PEG의 평균분자량은 바람직하게는 약 2킬로달톤("kD") 내지 약 100kD 범위, 더욱 바람직하게는 약 5kD 내지 약 50kD 범위, 가장 바람직하게는 약 5kD 내지 약 10kD 범위이다. PEG 그룹은 일반적으로 본 발명의 화합물 상의 반응성 기(예, 알데하이드, 아미노 또는 에스테르 기)에 대한 PEG 잔기 상의 반응성 기(예, 알데하이드, 아미노, 티올 또는 에스테르 기)를 통한 아실화 또는 환원적 알킬화에 의해, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 결합 펩타이드에 부착될 것이다.
- [0337] 합성 펩타이드의 PEG화에 유용한 전략은 용액 내에서 공액 결합의 형성을 통해, 서로 상호 반응성인 특정 작용기를 각각 보유하는 펩타이드와 PEG 잔기를 혼합하는 것으로 이루어진다. 펩타이드는 통상적인 고상 합성법으로 쉽게 제조할 수 있다. 펩타이드는 특정 부위에서 적당한 작용기에 의해 "사전활성화"된다. PEG 잔기와 반응시키기 전에 전구체는 정제하여 완전하게 특성을 분석한다. PEG와 펩타이드의 결합은 보통 수성상에서 일어나며, 역상 분석용 HPLC에 의해 쉽게 모니터링될 수 있다. PEG화된 펩타이드는 정제용 HPLC에 의해 쉽게 정제될 수 있고 분석용 HPLC, 아미노산 분석 및 레이저 탈착 질량 분광법으로 특성을 분석할 수 있다.
- [0338] 폴리사카라이드 중합체는 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 결합 펩타이드에 사용될 수 있는 수용성 중합체의 다른 종류이다. 텍스트란은 글루코스의 각 서브유닛이 주로 α 1-6 결합에 의해 결합되어 있는 다당류 중합체이다. 텍스트란 자체는 많은 분자량 범위에서 이용가능하며, 약 1kD 내지 약 70kD 범위의 분자량인 것을 쉽게 이용할 수 있다. 텍스트란은 본 발명의 방법에 단독 매개체로서 또는 다른 매개체(예, Fc)와 함께 사용될 수 있는 APRIL 결합 펩타이드에 사용하기에 적당한 수용성 중합체이다. 예컨대, WO 96/11953 및 WO 96/05309 참조. 치료용 또는 진단용 면역글로불린에 접합된 텍스트란의 용도는 이미 보고되어 있다(예컨대, 전문이 참고인용되는 유럽특허공개번호 0 315 456 참고). 텍스트란이 본 발명에 따른 매개체로서 사용될 때, 약 1kD 내지 약 20kD 사이의 텍스트란이 바람직하다.
- [0339] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 결합 펩타이드는 경우에 따라 "링커"를 포함한다. 이 링커는 존재하는 경우에, 주로 스페이서로서 작용하기 때문에, 그 화학적 구조는 중요하지 않다. 링커는 펩타이드 결합에 의해 함께 연결된 아미노산으로 구성된 것이 바람직하다. 따라서, 바람직한 양태에 따르면, 링커는 펩타이드 결합에 의해 연결된 1 내지 30개의 아미노산으로 구성되며, 여기서 아미노산은 20개의 자연발생의 아미노산 중에서 선택된다. 이러한 아미노산 중 일부는 당업자라면 잘 알고 있듯이, 글리코실화될 수 있다. 더욱 바람직한 양태에 따르면, 1 내지 20개의 아미노산은 글리신, 알라닌, 프롤린, 아스파라긴, 글루타민 및 리신 중에서 선택된다. 더욱 더 바람직하게는, 링커는 대부분 입체 방해성이 아닌 아미노산, 예컨대 글리신 및 알라닌 등으로 이루어진다. 따라서, 바람직한 링커는 폴리글리신(특히, (Gly)₄, (Gly)₅), 폴리(Gly-Ala) 및 폴리알라닌이다. 바람직한 링커는 5개보다 많은 아미노산을 함유하는 아미노산 링커이며, 적당한 링커는 글리신, 알라닌, 프롤린, 아스파라긴, 글루타민, 리신, 트레오닌, 세린 또는 아스파테이트 중에서 선택되는 약 500개 이하의 아미노산을 보유하는 것이다. 아미노산 약 20개 내지 50개를 보유하는 링커가 가장 바람직하다.
- [0340] 비펩타이드성 링커도 역시 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 APRIL 결합 펩타이드에 유용하다. 예를 들어, --

$\text{NH}-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(\text{O})-$ (여기서, n 은 2 내지 20)와 같은 알킬 링커가 사용될 수 있다. 이러한 알킬 링커는 임의의 비입체방향성 기, 예컨대 저급 알킬(예, C_1 내지 C_6), 저급 아실, 할로젠(예, Cl , Br), CN , NH_2 , 페닐 등으로 치환될 수 있다.

[0341] I. 안티센스 및 siRNA

[0342] 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 뉴트로킨-알파, APRIL 또는 뉴트로킨-알파의 수용체(예, TACI, BCMA 및 BAFF-R)를 표적으로 하는 안티센스 RNA, 촉매적 RNA(리보자임) 또는 짧은 간섭 RNA(siRNA)이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R에 대해 지향성인 안티센스 분자는 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. 안티센스 기술은 안티센스 DNA 또는 RNA를 통해 또는 삼중 나선 형성을 통해 유전자 발현을 조절하는데 사용될 수 있다. 안티센스 기술에 대해서는 문헌[Okano, J. Neurochem. 56: 560 (1991); "Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression, CRC Press, Boca Raton, FL (1988)]에 논의된 바 있다. 삼중 나선 형성은, 예컨대 문헌[Lee et al., Nucleic Acids Research 6: 3073 (1979); Cooney et al., Science 241: 456 (1988); and Dervan et al., Science 251: 1360 (1991)]에 논의되어 있다. 이 방법들은 상보성 DNA 또는 RNA에 대한 폴리뉴클레오타이드의 결합을 기초로 한다. 예를 들어, 본 발명의 폴리뉴클레오타이드의 세포외 도메인을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드의 5' 암호성 일부는 염기쌍 길이가 약 10 내지 40개인 안티센스 RNA 올리고뉴클레오타이드를 설계하는데 사용될 수 있다. DNA 올리고뉴클레오타이드는 전사에 관여하는 유전자 영역에 상보성이도록 설계되어, 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R의 전사 및 생산을 방해한다. 안티센스 RNA 올리고뉴클레오타이드는 생체 내에서 mRNA에 하이브리드화하여, mRNA 분자가 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R 폴리펩타이드로 해독되는 것을 차단한다. 또한, 전술한 올리고뉴클레오타이드는 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R의 생산을 억제하기 위해 안티센스 RNA 또는 DNA가 생체 내에서 발현되도록 세포로 전달될 수도 있다.

[0343] 일 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R 안티센스 핵산은 외인성 서열로부터 전사에 의해 세포내 생산된다. 예를 들어, 벡터 또는 이의 일부는 전사되어, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 안티센스 핵산(RNA)을 생산한다. 이러한 벡터는 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R 안티센스 핵산을 암호화하는 서열을 함유할 것이다. 이러한 벡터는 전사되어 원하는 안티센스 RNA를 생산할 수만 있다면, 에피솜으로 유지될 수도 있고, 또는 염색체에 통합될 수도 있다. 이러한 벡터는 당업계의 표준 방법인 재조합 DNA 기술에 의해 작제될 수 있다. 벡터는 척추동물 세포에서 복제 및 발현에 사용된, 당업계에 공지된 플라스미드, 바이러스 등일 수 있다. 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R 또는 이의 단편들을 암호화하는 서열의 발현은 척추동물에서, 바람직하게는 사람 세포에서 작용하는, 당업계에 공지된 임의의 프로모터일 수 있다. 이러한 프로모터는 유도형 또는 구성형일 수 있다. 이러한 프로모터에는 SV40 초기 프로모터 영역(Brenn et al., Nature 29: 304-310(1981)), 루스 육종 바이러스의 3' 장말단 반복체에 함유된 프로모터(Wagner et al., Proc.Natl.Acad.Sci. U.S.A. 78: 1441-1445(1981)), 메탈로티오네인 유전자의 조절 서열(Brinster, et al., Nature 296: 39-42(1982)) 등이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.

[0344] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 안티센스 핵산은 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R 유전자의 RNA 전사체 중 적어도 일부에 상보적인 서열을 함유한다. 하지만, 절대적인 상보성이 바람직하기는 하지만, 반드시 필요한 것은 아니다. 본 명세서에 언급된 "RNA의 적어도 일부에 상보적인" 서열은 RNA와 하이브리드할 수 있을 정도로 충분한 상보성을 보유하여 안정한 이분체를 형성하는 서열을 의미하며; 따라서 이중 가닥의 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R 안티센스 핵산인 경우에는 이분체 DNA의 단일 가닥만이 검사되거나, 또는 삼분체 형성이 분석되기도 한다. 하이브리드화하는 능력은 안티센스 핵산의 길이 및 상보성 정도에 따라 달라질 것이다. 일반적으로, 하이브리드화 핵산이 많을수록, 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R RNA와 더 많은 염기 부정합을 함유할 수 있지만, 여전히 안정한 이분체를 형성할 수 있다(또는 경우에 따라 삼분체). 당업자는 하이브리드화된 복합체의 용점을 측정하는 표준 절차를 이용하여 허용되는 부정합도를 확인할 수 있다.

[0345] 메신저 RNA의 5' 말단에 상보성인 올리고뉴클레오타이드, 예컨대 AUG 개시 코돈을 비롯한 그 이하의 5' 미해독 서열은 해독을 억제하는데 있어서 가장 효과적으로 작용할 수 있다. 하지만, mRNA의 3' 미해독 서열에 상보적인 서열도 mRNA의 해독을 억제하는데 있어서 효과적인 것으로 밝혀져 있다[일반적으로, Wagner, R., 1994, Nature 372: 333-335]. 따라서, 뉴트로킨-알파(서열번호 1), APRIL(서열번호 3), TACI(서열번호 5), BCMA(서열번호 7) 또는 BAFF-R(서열번호 9)의 5' 또는 3' 미해독, 비암호 영역에 상보적인 올리고뉴클레오타이드는 내인성 뉴트로

킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R mRNA의 해독을 억제하는 안티센스 시도에 사용될 수 있다. mRNA의 5' 미해독 영역에 상보적인 올리고뉴클레오타이드는 AUG 개시 코돈의 보체를 포함해야 한다. mRNA 암호 영역에 상보적인 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 해독 억제제로서 덜 효과적이지만, 본 발명의 방법에 따라 사용될 수 있다. 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R mRNA의 5'-, 3'- 또는 암호 영역에 하이브리드하도록 설계되었는지의 여부에 따라서, 안티센스 핵산은 길이가 6개 이상인 뉴클레오타이드이어야 하며, 바람직하게는 길이가 6개 내지 약 50개의 뉴클레오타이드 범위인 것이 좋다. 구체적 예에서, 올리고뉴클레오타이드는 뉴클레오타이드 10개 이상, 17개 이상, 25개 이상, 또는 50개 이상이다.

[0346] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 폴리뉴클레오타이드는 DNA 또는 RNA 또는 이의 키메라성 혼합물 또는 유도체 또는 변형된 버전, 단일 가닥 또는 이중 가닥일 수 있다. 올리고뉴클레오타이드는 염기 잔기, 당 잔기 또는 포스페이트 주쇄가, 예컨대 분자의 안정성, 하이브리드화 등을 향상시키기 위해 변형될 수 있다. 올리고뉴클레오타이드는 다른 부속 기, 예컨대 펩타이드(예컨대, 생체내의 숙주 세포 수용체를 표적화하기 위한), 또는 세포막을 통한 수송을 촉진하는 제제(예컨대, Letsinger et al., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86: 6553-6556; Lemaitre et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 84: 648-652(1987); PCT 공개번호 W088/09810, 1988.12.15. 공개) 또는 혈액-뇌 장벽을 통한 수송을 촉진하는 제제(예컨대, PCT 공개번호 W089/10134, 1988.4.25. 공개), 또는 하이브리드화 유발 절단 제제(예컨대, Krol et al., BioTechniques 6: 958-976(1988)) 또는 삽입성 제제(예컨대, Zon, Pharm. Res. 5: 539-549(1988))를 포함할 수 있다. 이를 위해, 올리고뉴클레오타이드는 다른 분자, 예컨대 펩타이드, 하이브리드화 유발 가교제, 수송제, 하이브리드화 유발 절단 제제 등에 접합될 수 있다.

[0347] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 적어도 하나의 변형된 염기 부를 포함할 수 있으며, 그 예는 5-플루오로우라실, 5-브로모우라실, 5-클로로우라실, 5-요오도우라실, 하이포잔틴, 잔틴, 4-아세틸사이토신, 5-(카르복시하이드록시메틸) 우라실, 5-카르복시메틸아미노메틸-2-티오우리딘, 5-카르복시메틸아미노메틸우라실, 디하이드로우라실, 베타-D-갈락토실케오신, 이노신, N6-이소펜테닐아데닌, 1-메틸구아닌, 1-메틸이노신, 2,2-디메틸구아닌, 2-메틸아데닌, 2-메틸구아닌, 3-메틸사이토신, 5-메틸사이토신, N6-아데닌, 7-메틸구아닌, 5-메틸아미노메틸우라실, 5-메톡시아미노메틸-2-티오우라실, 베타-D-만노실케오신, 5-메톡시카르복시메틸우라실, 5-메톡시우라실, 2-메틸티오-N6-이소펜테닐아데닌, 우라실-5-옥시아세트산(v), 위부톡소신(wybutoxosine), 슈도우라실, 케오신, 2-티오사이토신, 5-메틸-2-티오우라실, 2-티오우라실, 4-티오우라실, 5-메틸우라실, 우라실-5-옥시아세트산 메틸에스테르, 우라실-5-옥시아세트산(v), 5-메틸-2-티오우라실, 3-(3-아미노-3-N-2-카르복시프로필)우라실, (acp3)w, 및 2,6-디아미노퓨린을 포함하는 그룹 중에서 선택되지만, 이에 국한되는 것은 아니다.

[0348] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 또한 아라비노스, 2-플루오로아라비노스, 자일룰로스 및 핵소우즈를 포함하는 그룹(이에 국한되는 것은 아니다) 중에서 선택되는 적어도 하나의 변형된 당 잔기를 포함할 수 있다.

[0349] 또 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포아미도티오에이트, 포스포아미데이트, 포스포다미데이트, 메틸포스포네이트, 알킬포스포트리에스테르 및 포름아세탈 또는 이의 유사체를 포함하는 그룹(이에 국한되는 것은 아니다) 중에서 선택되는 적어도 하나의 변형된 포스페이트 백본을 포함한다.

[0350] 또 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 알파 아노머(anomer)형 올리고뉴클레오타이드이다. 알파 아노머형 올리고뉴클레오타이드는 일반 베타 유닛과 달리, 가닥이 서로 평행한 상보성 RNA와 특이적인 이중 가닥 하이브리드를 형성한다(Gautier et al., Nucl. Acids Res. 15: 6625-6641(1987)). 이 올리고뉴클레오타이드는 2-O-메틸리보뉴클레오타이드(Inoue et al., Nucl. Acids Res 15: 6131-6148(1987)) 또는 키메라형 RNA-DNA 유사체(Inoue et al., FEBS Lett. 215: 327-330(1997))이다.

[0351] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 폴리뉴클레오타이드는 당업계에 공지된 표준 방법, 예컨대 자동 DNA 합성기(예컨대, 바이오서치, 어플라이드 바이오시스템스 등의 시판품)를 사용하여 합성할 수 있다. 일 예로서, 포스포로티오에이트 올리고뉴클레오타이드는 스타인 등의 방법으로 합성할 수 있고(Nucl. Acids Res. 16: 3209(1988)), 메틸포스포네이트 올리고뉴클레오타이드는 조절된 소공 유리 중합체 지지체를 사용하여 제조할 수 있다(Sarin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85: 7448-7451(1988)).

[0352] 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R 암호 영역 서열에 상보적인 안티센스 뉴클레오타이드가 사용될 수 있지만, 전사된 미해독 영역에 상보적인 뉴클레오타이드가 본 발명의 방법에 사용하기에 가장 바람직하다.

[0353] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파 길항물질은 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R에 대해 지향성인 촉매적 RNA 또는 리보자임(예컨대, PCT 국제공개번호 WO 90/11364, 1990.10.4 공개; Sarver et al., Science 247: 1222-1225(1990))도 포함한다. 부위 특이적 인식 서열에서 mRNA를 절단하는 리보자임이 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R mRNA를 파괴하는데 사용될 수 있지만, 본 발명이 방법에 사용하기에 바람직한 리보자임은 해머헤드 리보자임이다. 해머헤드 리보자임은 표적 mRNA와 상보적 염기쌍을 형성하는 인접 영역이 규정하는 위치에서 mRNA를 절단한다. 유일한 필요 조건은, 표적 mRNA가 2개의 염기, 즉 5'-UG-3' 서열을 갖는 것이다. 해머헤드 리보자임의 작제와 생산은 당업계에 공지되어 있고, 문헌[Haseloff and Gerlach, Nature 334: 585-591(1988)]에 더 상세히 기술되어 있다. 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R의 뉴클레오타이드 서열 내에는 다수의 잠재적인 해머헤드 리보자임 절단 부위가 존재한다. 이 리보자임은, 효율 증가 및 비기능성 mRNA 전사체의 세포내 축적을 최소화하기 위하여, 절단 인식 부위가 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R mRNA의 5' 단부 부근에 위치하도록 조작되는 것이 바람직하다.

[0354] 안티센스 시도에서처럼, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 리보자임은 변형된 올리고뉴클레오타이드(예컨대, 안정성, 표적화 등의 향상을 위해)로 구성될 수 있고, 생체 내에서 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R을 발현하는 세포로 전달되어야 한다. 리보자임을 암호화하는 DNA 작제물은 안티센스 암호화 DNA의 도입에 대해 전술한 바와 같은 방식으로 세포 내로 도입될 수 있다. 바람직한 전달 방법은 polIII 또는 polII 프로모터와 같은 강한 구성형 프로모터의 조절 하에 리보자임을 "암호화하는" DNA 작제물의 사용을 수반하여, 형질감염된 세포는 내인성 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R 메신저 RNA를 파괴하고 해독을 억제하기에 충분한 함량의 리보자임을 생산할 것이다. 안티센스 분자와 달리 리보자임은 촉매성인 바, 더 소량의 세포내 농도가 효능을 위해 사용될 수 있다.

[0355] 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R에 대해 지향성인 짧은 간섭 RNA는 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. siRNA 기술은 세포 RISC(RNA-induced silencing complex)의 유도를 통해 유전자 발현을 조절하는데 사용될 수 있다. siRNA 기술은 예컨대, 문헌[Hamilton AJ and Baulcombe DC. Science. 1999 Oct 29;286(5441):950-2; Elbashir SM, et al. Nature. 2001 May 24;411(6836):494-8 and Hanon, Gregory J. and Rossi, John J. Nature 431, 371-378 (2004)]에서 논의되고 있다. 이 방법들은 세포 내로 짧은 이중 가닥 RNA(일반적으로 20 내지 25개 뉴클레오타이드)의 도입을 기초로 한다. 이중 가닥 RNA는 풀려져, 각 가닥이 분리된다. 이 RNA의 단일 가닥이 그 후 RISC 내로 통합된다. RISC는 그 다음 서열 특이적 mRNA 절단을 유도하여, 해독 억제를 초래한다. 예를 들어, 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드의 암호성 부위는 길이가 약 20 내지 25개 뉴클레오타이드인 siRNA 올리고뉴클레오타이드를 설계하는데 사용될 수 있다. 약 25 내지 25개의 뉴클레오타이드 단편, 약 9개 뉴클레오타이드의 스페이서, 및 선택된 뉴클레오타이드 단편의 역보체를 보유하는 DNA 올리고뉴클레오타이드를 설계한다. 이 작제물로부터 생산된 RNA 전사체는 헤어핀 루프를 형성하기 위해 그 자체에 폴딩할 것으로 생각된다. 헤어핀 루프 RNA를 세포로 전달 시, Rnase, Dicer에 의한 프로세싱이 초래되어, 짧은 이중 가닥 siRNA가 수득된다. 이 siRNA의 가닥을 RISC 이펙터 복합체에 통합시키면 siRNA에 의해 표적화된 mRNA가 절단되어, 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R의 생산이 억제된다.

[0356] 일 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R siRNA 핵산은 외인성 서열로부터 전사에 의하여 세포내에서 생산된다. 예를 들어, 벡터 또는 이의 일부가 전사되어, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 siRNA가 생산된다. 이러한 벡터는 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R siRNA 핵산을 암호화하는 서열을 함유할 수 있다. 이러한 벡터는 당업계에 표준 방법인 재조합 DNA 기술로 작제할 수 있다. 벡터는 척추동물 세포에서의 복제 및 발현에 사용되는, 당업계에 공지된 플라스미드, 바이러스 등일 수 있다. 뉴트로킨-알파, APRIL, TACI, BCMA 또는 BAFF-R siRNA를 암호화하는 서열의 전사는 일반적으로 소핵 RNA(snRNA)의 전사를 유도하는 RNA 폴리머라제 III 프로모터(예, U6 또는 H1)를 사용하여 통상 수행된다.

[0357] B 세포 조절인자

[0358] 뉴트로킨-알파 및 APRIL의 수용체 외에도, B 림프구는 B 세포에게 세포의 미세환경에 대해 정보를 주고 B 세포 기능 및 생존을 양성 및 음성적으로 조절하는 막관통 시그널로서 작용하는 기능을 하는 다양한 세포 표면 분자를 발현한다. 이 수용체 중에서, 치료적 중재를 위한 촉망받는 표적으로서 CD19, CD20 및 CD22가 동정되었다.

[0359] CD20은 칼슘 채널로서 복합체에서 작용하는 내재 막 단백질이다. CD20 칼슘 채널의 억제제는 Ca^{2+} 항상성 및 세포 주기 진행을 붕괴시킨다. 구체적 양태에서, 항-CD20 항체는 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. 바람직한 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항-CD20 항체는 Rituxan (rituximab)이다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항-CD20 항체는 TRU-015이다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항-CD20 항체는 오크렐리주마브(PRO70769)이다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항-CD20 항체는 IMMU-106 이다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항-CD20 항체는 HuMax-CD20이다.

[0360] CD22는 B 림프구를 비롯한 다양한 세포에서 발견되는 시알산 결합 단백질의 siglec 계열의 일원이다. 다양한 시스 및 트랜스 탄수화물 리간드와 CD22의 상호작용은 B 세포 발생, 증식 및 활성화의 다양한 단계를 조절한다. 구체적 양태에서, 항CD22 항체는 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 항CD22 항체는 에프라투주마브(epratuzumab)이다.

[0361] 다른 면역조절제

[0362] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법은 다음과 같은 약물 중 하나 이상을 가지고 수행될 수 있다: CellCept (mycophenolate mofetil; MMF), Orencia (abatacept; CTLA4-Ig), Riquent™ (abetimus sodium; LJP 394), Prestara™ (praserone), Edratide (TV-4710), Actemra (tocilizumab; atilizumab), VX-702, TRX 1, IPP-201101, ABR-215757, 스펅고신-1-포스페이트-1 (S1P1) 효능물질, HuMax-Inflam™(MDX 018), MEDI-545 (MDX-1103/1333), RhuDex, 데옥시스퍼구알린(Deoxyspergualin), ENBREL™(Etanercept), 항TNF 항체, 항인터페론 항체.

[0363] 환자 집단

[0364] 본 명세서에 기술된 바와 같이, 뉴트로킨-알파 단백질을 중화시키는 항체를 이용하여 루푸스 환자를 치료한 임상 시험의 데이터는 ANA 역가가 1:80 이상이고, 및/또는 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상인 환자에서 루푸스와 관련된 증상을 유의적으로 경감시켰다(실시예 1). 놀랍게도, 질환 활성을 측정하는 임상 종말점에서 통계적으로 유의적인 개선(예컨대, 이하에 더 상세히 설명되는 SELENA SLEDAI 스코어의 감소)은 임상 시험에 등록한 모든 환자 집단이 아닌, 일부 환자에서만 획득되었다. 즉, 본 발명은 뉴트로킨-알파의 길항물질과 같은 면역조절제를 이용한 치료에 더 잘 반응할 것 같은 환자의 소그룹을 동정하는 것에 관한 것이다.

[0365] 또한, 본 명세서에 기술된 바와 같이, 전신홍반루푸스(SLE)는 환자가 보유할 수 있는 광범한 성질의 증후군과 루푸스와 관련된 많은 증후군들이 다른 많은 자가면역 질환들에서도 관찰된다는 사실로 인해 정확하게 진단하기가 어려운 극히 이질적인 질환이다. 따라서, 본 발명의 일 양태는 질환 진단에 상관없이 뉴트로킨-알파의 길항물질 또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하여, 혈장 또는 혈청에 존재하는 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 환자의 치료 방법을 제공한다. 본 발명의 다른 양태는 질환 진단에 상관없이 뉴트로킨-알파의 길항물질 또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제의 치료학적 유효량을 투여하는 단계를 포함하고, 추가로 면역조절제를 투여하기 전에 혈장 또는 혈청에 존재하는 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상 및/또는 ANA 역가가 1:80 이상인 환자를 측정하는 단계를 포함하여, 혈장 또는 혈청에 존재하는 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 환자의 치료 방법을 제공한다.

[0366] 또 다른 양태에서, 혈장 또는 혈청에 존재하는 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 환자는 SLE가 아닌 자가면역 질환 환자이다. 또 다른 양태에서, 혈장 또는 혈청에 존재하는 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 환자는 류마티스성 관절염 환자이다. 또 다른 양태에서, 혈장 또는 혈청에 존재하는 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 환자는 쇼그렌 증후군 환자이다. 또 다른 양태에서, 혈장 또는 혈청에 존재하는 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 환자는 피부경화증 환자이다. 또 다른 양태에서, 혈장 또는 혈청에 존재하는 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 환자는 다발성근염-피부근염 환자이다. 또 다른 양태에서, 혈장 또는 혈청에 존재하는 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 환자는 펠티 증후군 환자이다. 또 다른 양태에서, 혈장 또는 혈청에 존재하는 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역

가가 1:80 이상인 환자는 혼합결합조직질환 환자이다. 또 다른 양태에서, 혈장 또는 혈청에 존재하는 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 환자는 레이노 증후군 환자이다. 또 다른 양태에서, 혈장 또는 혈청에 존재하는 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 환자는 소아만성 관절염 환자이다.

[0367] 더욱이, 전신흡반투푸스 및 류마티스성 관절염을 보유한 환자(실시에 1 및 3 참조)를 치료하기 위해 뉴트로킨-알파 단백질을 중화시키는 항체를 이용한 임상 제2상 시험 모두에서, 기준선에서 자가항체 양성 질환을 보유한 환자가 치료에 반응할 가능성이 더 큰 것으로 관찰되었음을 유의한다. 본 명세서에 기술된 바와 같이, 기준선에서 항-dsDNA가 30IU/ml 이상이고/이거나 ANA 역가가 1:80 이상인 SLE 환자는 ANA 역가가 1:80 미만이고 항-dsDNA 항체가 30IU/ml 미만인 SLE 환자보다 더 강한 반응을 단체로 보여주었다. 이와 마찬가지로, 류마티스성 관절염에서도 기준선에서 류마티스성 인자[RF] 또는 항-CCP[cyclic citrullinated peptide] 항체 양성인 환자는 기준선에서 류마티스성 인자[RF] 또는 항-CCP 항체 양성이 아닌 류마티스성 관절염 환자보다 더 강한 반응을 단체로 보여준 것으로 확인되었다.

[0368] 따라서, 본 발명의 다른 관점으로서, 질환 진단에 상관없이 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하여, 기준선에서 류마티스성 인자[RF] 및/또는 항-CCP 항체 양성인 환자의 치료 방법이 제공된다. 본 발명의 다른 양태는 질환 진단에 상관없이 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제의 치료학적 유효량을 투여하는 단계를 포함하고, 추가로 면역조절제를 투여하기 전에 기준선에서 류마티스성 관절염[RF] 및/또는 항-CCP 항체 양성인 환자를 측정하는 단계를 포함하는, 기준선에서 류마티스성 인자[RF] 및/또는 항-CCP 항체 양성인 환자의 치료 방법을 제공한다. 구체적인 양태에서, 환자의 혈장 및/또는 혈청에서 류마티스성 인자가 $\geq 12\text{IU/ml}$ 이면 그 환자는 류마티스성 인자 양성인 것으로 간주한다. 구체적인 양태에서, 환자의 혈장 및/또는 혈청에서 항-CCP 항체가 ≥ 10 유닛이면, 그 환자는 항-CCP 항체 양성인 것으로 간주한다.

[0369] 본 발명의 다른 관점으로서, 질환 진단에 상관없이 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하여, 기준선에서 자가항체 양성인 환자의 치료 방법이 제공된다. 본 발명은 다른 양태로서, 질환 진단에 상관없이 뉴트로킨-알파 길항물질 또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제의 치료학적 유효량을 투여하는 단계, 및 추가로 면역조절제를 투여하기 전에 기준선에서 자가항체 양성인 환자를 측정하는 단계를 포함하여, 기준선에서 자가항체 양성인 환자의 치료 방법을 제공한다.

[0370] 면역조절제의 제조

[0371] 본 발명에 사용될 수 있는 면역조절제의 제조 및/또는 분리 방법은 관련업계의 당업자에게 공지되어 있다. 이하에서는 본질적으로 단백질성 면역조절제(예, 항-뉴트로킨-알파 항체, 뉴트로킨-알파 결합 펩타이드 및 폴리펩타이드, 뉴트로킨-알파 수용체 단백질 및 전술한 폴리펩타이드들의 단편 및 변이체)의 제조에 이용할 수 있는 방법을 간략히 검토했다.

[0372] 일 양태에서, 면역조절성 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드가 벡터(예, 클로닝 또는 발현 벡터)에 삽입된다. 이 벡터는 예컨대 파아지, 플라스미드, 바이러스 또는 레트로바이러스 벡터일 수 있다. 레트로바이러스 벡터는 복제 수형성 또는 복제 결손성일 수 있다. 복제 결손성인 경우에, 바이러스 전파는 일반적으로 상보성 숙주 세포에서만 일어날 것이다. 면역조절성 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는, 숙주에서 전파하기 위해 선별 마커를 함유하는 벡터에 결합될 수 있다. 숙주 세포에 벡터 작제물의 도입은 인산칼슘 형질감염, DEAE-텍스트란 매개 형질감염, 양이온성 지질 매개의 형질감염, 전기침투, 형질도입, 감염 또는 다른 방법을 비롯한, 이에 국한되지 않는 당업계에 공지된 기술로 실시할 수 있다. 이러한 방법들은 많은 표준 실험 매뉴얼, 예컨대 [Davis et al., Basic Methods in Molecular Biology(1986)]에 기술되어 있다.

[0373] 일반적으로, 재조합 발현 벡터는 복제 오리진과 숙주 세포의 형질전환을 허용하는 선별 마커, 예컨대 이.콜리의 앰피실린 내성 유전자 및 에스.세레비지에 TRP1 유전자, 및 하류 구조 서열의 전사를 유도하는 고 발현 유전자 유래의 프로모터를 포함할 것이다. 이러한 프로모터는 특히 3-포스포글리세레이트 키나제(PGK), α -인자, 산 포스파타제 또는 열충격 단백질과 같은 해당 효소를 암호화하는 오페론으로부터 유도될 수 있다. 이중성 구조 서열은 해독 개시 및 종결 서열과, 바람직하게는 주변세포질 공간 또는 세포외 배지 내로 해독된 단백질의 분비를 유도할 수 있는 리더 서열과 적당한 상으로 조립된다. 경우에 따라, 이중성 서열은 발현된 재조합 산물의 안정

화 또는 간단한 정제 등과 같은 바람직한 특징을 부여하는 N-말단 동정 펩타이드를 포함하는 융합 단백질을 암호화할 수 있다.

[0374] 일 양태에서, 번역조절 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 적당한 이중성 조절 인자(예, 프로모터 또는 인핸서)와 작동가능하게 결합되며, 그 조절 인자의 몇 가지 예를 들면, 파아지 램다 PL 프로모터, 이.콜리 lac, trp, phoA 및 tac 프로모터, SV40 초기 및 후기 프로모터, 및 레트로바이러스 LTR의 프로모터 등이 있다. 다른 적당한 프로모터도 당업자에게 공지되어 있다.

[0375] 발현 벡터는 시사한 바와 같이, 적어도 하나의 선별 마커를 포함하는 것이 바람직하다. 이러한 마커는 디하이드로폴레이트 리덕타제, G418 또는 진핵생물 세포 배양물을 위한 네오마이신 내성, 및 이.콜리 및 다른 세균에서의 배양을 위한 테트라사이클린, 카나마이신 또는 암피실린 내성 유전자를 포함한다. 적당한 숙주의 대표적인 예에는 이.콜리, 스트렙토마이세스 및 살모넬라 티피뮤리움 세포 등과 같은 세균 세포; 효모 세포(예, 사카로마이세스 세레비지에 또는 피치아 파스토리스(ATCC 수탁번호 201178))와 같은 진균 세포; 드로소필라 S2 및 스포둡테라 Sf9 세포와 같은 곤충 세포; CHO, COS, 293 및 보웬스 흑색종 세포와 같은 동물 세포; 및 식물 세포 등이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 전술한 숙주 세포들의 적당한 배양 배지 및 조건은 당업계에 공지되어 있다.

[0376] 숙주 세포는 고등 진핵생물 세포, 예컨대 포유동물 세포(예, 사람 유래의세포), 또는 하등 진핵생물 세포, 예컨대 효모 세포일 수 있고, 또는 숙주 세포는 원핵생물 세포, 예컨대 세균 세포일 수 있다. 숙주 균주는 삽입된 유전자 서열의 발현을 조절하거나, 또는 바람직한 특정 방식에 따라 유전자 산물을 변형 및 가공하는 것으로 선택될 수 있다. 특정 프로모터로부터의 발현은 특정 유도인자의 존재 하에서 상승될 수 있고; 따라서 유전자 조작된 폴리펩타이드의 발현은 제어될 수 있다. 더욱이, 다른 숙주 세포는 단백질의 해독 및 해독후 가공 및 변형(예, 인산화, 절단)에 특이적인 기작 및 특징을 보유한다. 적당한 세포주는 발현된 이중 단백질의 원하는 변형 및 가공을 보장하는 것으로 선택할 수 있다. 숙주 세포에서 발현에 적당한 벡터 및 프로모터의 선택은 공지된 절차이며, 발현 벡터 작제의 필수 기술, 숙주 내로 벡터의 도입 및 숙주 내에서의 발현은 당업계에 통상적인 기술이다.

[0377] 세균용으로 유용한 발현 벡터는 기능성 프로모터와 작동가능한 리딩 프레임 상으로, 적당한 해독 개시 및 종결 시그널과 함께 원하는 단백질을 암호화하는 구조 DNA 서열을 삽입하여 작제한다. 이러한 벡터는 하나 이상의 표현형적 선별 마커와 벡터의 유지를 보장하고, 필요하다면 숙주 내에서 증폭을 수행하도록 복제 오리진을 포함할 것이다. 형질전환에 적당한 원핵생물 숙주에는 이.콜리, 바실러스 서브틸리스, 살모넬라 티피뮤리움, 및 슈도모나스 속, 스트렙토마이세스 속 및 스태필로코커스 속의 다양한 종들이 있으며, 선택 사항으로 다른 숙주들도 이용될 수 있다. 이에 국한되지 않는 대표적인 예로서, 세균용으로 유용한 발현 벡터는 공지된 클로닝 벡터 pBR322(ATCC 37017)의 유전자 성분을 포함하는 시판용 플라스미드 유래의 세균 복제 기원과 선별 마커를 포함할 수 있다. 이러한 시판용 벡터에는, 예컨대 pKK223-3(파마시아 파인 케미컬즈; 스웨덴 옴살라 소재) 및 GEM1(프로메가 바이오텍; 미국 미시간 매디슨 소재)이 있다. pBR322 "백본" 구역은 적당한 프로모터와 발현될 구조 서열과 조합된다. 세균에서 사용하기에 바람직한 벡터 중에는, pHE4-5(ATCC 수탁번호 209311; 및 이의 변이체), pQE70, pQE60 및 pQE-9(QIAGEN Inc.(상기 설명 참조)에서 입수용이함); pBS 벡터, Phagescript 벡터, Bluescript 벡터, pNH8A, pNH16a, pNH18A, pNH46A(Stratagene에서 입수용이함); 및 ptrc99a, pKK223-3, pKK233-3, pDR540, pRIT5(Pharmacia에서 입수용이함)가 있다. 효모계에서 사용하기에 바람직한 발현 벡터에는, pYES2, pYD1, pTEF1/Z대, pYES2/GS, pPICZ, pGAPZ, pGAPZalpha, pPIC9, pPIC3.5, pHIL-D2, pHIL-S1, pPIC3.5K, pPIC9K 및 PA0815(모두 인비트로젠(캘리포니아 칼스배드 소재)에서 입수용이함)가 있다. 바람직한 진핵생물 벡터 중에는 스트라타진에서 입수용이한 pWLNEO, pSV2CAT, pOG44, pXT1 및 pSG; 및 pSVK3, pBPV, pMSG 및 pSVL(파마시아에서 입수용이함)이 있다. 다른 적당한 벡터도 당업자라면 잘 알고 있을 것이다.

[0378] 적당한 숙주 균주의 형질전환 및 이 숙주 균주의 적당한 세포 밀도로의 증식 후, 선택된 프로모터를 적당한 수단(예컨대, 온도 이동 또는 화학적 유도)으로 유도하고 세포를 추가 기간 동안 배양한다. 세포는 일반적으로 원심분리로 수거하고, 물리적 또는 화학적 수단으로 붕괴한 뒤, 수득되는 추출물을 추가 정제를 위해 보관한다.

[0379] 단백질의 발현에 이용된 미생물 세포는 임의의 편리한 방법으로, 예컨대 동결-해동 순환, 초음파처리, 기계적 붕괴 또는 세포용해제의 사용 등으로 붕괴시킬 수 있으며, 이러한 방법들은 당업자에게 공지되어 있다.

[0380] 일 양태에서, 효모 피치아 파스토리스는 진핵생물계에서 뉴트로킨-알파 단백질을 발현시키는데 사용된다. 피치아 파스토리스는 유일한 탄소원으로서 메탄올을 대사할 수 있는 메탄올자화 효모이다. 메탄올 대사 경로의 주요 단계는 O2를 이용한 메탄올의 포름알데하이드로의 산화이다. 이 반응은 효소 알콜 옥시다제에 의해 촉진된다.

유일한 탄소원으로서 메탄올을 대사하기 위하여, 피치아 파스토리스는 다량의 알콜 옥시다제를 생산해야만 하는데, 그 이유는 부분적으로 O₂에 대한 알콜 옥시다제의 친화성이 비교적 낮기 때문이다. 결과적으로, 주요 탄소원으로서 메탄올에 의존하는 성장 배지에서, 두 알콜 옥시다제 유전자 중 하나(AOX1)의 프로모터 영역은 높은 활성을 갖고 있다. 메탄올의 존재 하에서 AOX1 유전자로부터 생산된 알콜 옥시다제는 피치아 파스토리스 중의 총 가용성 단백질 중 약 30% 이하를 차지한다[Ellis, S.B. et al., Mol.Cell.Biol. 5: 1111-21(1985); Koutz, P.J. et al., Yeast 5: 167-77(1989); Tschopp, J.F., et al., Nucl.Acids Res.15: 3859-76(1987)]. 따라서, AOX1 조절 서열 전체 또는 일부의 전사 조절 하에 이중성 암호 서열은 메탄올의 존재 하에 성장된 피치아 효모에서 특히 높은 농도로 발현된다.

- [0381] 일 예에서, 플라스미드 벡터 pPIC9K는 본질적으로 문헌["Pichia Protocols: Methods in Molecular Biology," D.R. Higgins and J. Cregg, eds. The Humana Press, Totowa, NJ, 1998]에 기술된 바와 같은 피치아 효모계에서, 본 명세서에 기술된 바와 같은 면역조절 단백질 또는 이의 일부를 암호화하는 DNA를 발현시키는데 사용된다. 이 발현 벡터는 다중클로닝부위의 상류에 위치한 피치아 파스토리스 알칼리 포스파타제(PHO) 분비 시그널 펩타이드(즉, 리더)에 결합된 강한 AOX1 프로모터로 인해 면역조절성 단백질을 발현 및 분비한다.
- [0382] 이러한 pPIC9K 대신에 다른 많은 효모 벡터가 사용될 수도 있으며, 그 예로는 제안된 발현 작제물이 전사, 해독, 분비(필요한 경우) 등을 위해 적당히 위치한 시그널, 예컨대 필요한 경우 프레임내 AUG 등을 구비하기만 한다면, 당업자라면 즉시 알 수 있는, pYES2, pYD1, pTEF1/Zeo, pYES2/GS, pPICZ, pGAPZ, pGAPZalpha, pPIC9, pPIC3.5, pHIL-D2, pHIL-S1, pPIC3.5K, 및 PA0815 등이 사용될 수 있다.
- [0383] 일 양태에서, 이중성 암호 서열의 고농도의 발현은 본 발명의 이중성 폴리뉴클레오타이드를 pGAPZ 또는 pGAPZalpha와 같은 발현 벡터에 클로닝하고, 메탄올의 부재 하에 효모 배양물을 증식시킴으로써 달성할 수 있다.
- [0384] 면역조절성 단백질을 암호화하는 DNA의 고등 진핵생물에 의한 전사는 벡터에 인핸서 서열을 삽입함으로써 증가된다. 인핸서는 전사를 증가시키기 위해 프로모터에 작용하는 보통 약 10 내지 300bp인 DNA의 시스작용성 인자이다. 그 예에는 복제 오리진의 후위에 bp 100 내지 270의 SV40 인핸서, 사이토메갈로바이러스 초기 프로모터 인핸서, 복제 오리진의 후위에 폴리오마 인핸서 및 아데노바이러스 인핸서가 있다.
- [0385] 다양한 포유동물 세포 배양물계도 재조합 단백질을 발현시키는데 사용될 수 있다. 포유동물 발현계의 예에는 원숭이 신장 섬유아세포의 COS-7 세포주(Gluzman, Cell 23: 175(1981)), 및 적합한 벡터를 발현할 수 있는 다른 세포주, 예컨대 C127, 3T3, CHO, HeLa 및 BHK 세포주가 있다. 포유동물 발현 벡터는 복제 오리진, 적당한 프로모터와 인핸서, 및 추가로 임의의 필수 리보솜 결합 부위, 폴리아데닐화 부위, 스플라이스 공여체 및 수용체 부위, 전사 종결 서열, 및 5' 인접 비전사 서열을 포함할 것이다. SV40 스플라이스 유래의 DNA 서열 및 폴리아데닐화 부위는 필요한 비전사 유전자 인자를 제공하는데 사용될 수 있다.
- [0386] 구체적 양태에서, 면역조절성 단백질의 일부, 예컨대 뉴트로킨-알파 수용체의 세포외 도메인(예, TACI, BCMA 및 BAFF-F)을 발현하도록 설계된 작제물이 사용된다. 당업자라면, 그러한 발현 작제물을 생성하도록 폴리뉴클레오타이드 프라이머를 설계하기 위해 각각 서열번호 5 및 서열번호 6, 각각 서열번호 7 및 서열번호 8, 또는 각각 서열번호 9 및 서열번호 10으로 제공되는 폴리뉴클레오타이드 및 폴리펩타이드 서열을 사용할 수 있을 것이다.
- [0387] 숙주 세포는 면역조절성 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 발현시키기 위해 사용된다. 이러한 숙주 세포에는 척추동물 기원, 특히 포유동물 기원의 1차, 2차 및 무한증식성 숙주 세포가 있다. 몇몇 경우에, 숙주 세포는 내인성 유전자물질(예, 뉴트로킨-알파 암호 서열)을 결실 또는 치환시키기 위해 및/또는 유전자 물질(예, 이중성 폴리뉴클레오타이드 서열)을 포함하도록 유전자조작될 수 있다. 예를 들어, 상동성 재조합을 통해 내인성 폴리뉴클레오타이드 서열과 이중성 조절 영역(예, 프로모터 및/또는 인핸서)을 작동가능하게 결합시키기 위하여 당업계에 공지된 기술을 사용할 수 있다[예컨대, 미국 특허 5,641,670, 1997. 6. 24 특허허여됨; 국제공개번호 WO 96/29411, 1996.9.26 공개; 국제공개번호 WO 94/12650, 1994.8.4 공개; Koller et al., Proc.Natl.Acad.Sci. USA 86: 8932-8935(1989); 및 Zijlstra et al., Nature 342: 435-438(1989), 모든 전문이 참고인용됨].
- [0388] 본 명세서에 기술된 숙주 세포는 면역조절성 단백질을 생산하기 위해 통상적인 방법으로 사용될 수 있다. 또는, 무세포 해독 시스템을 이용하여, 본 발명의 DNA 작제물 유래의 RNA를 통해 면역조절성 폴리펩타이드를 생산할 수도 있다.
- [0389] 필요한 경우, 프레임 AUG는 변형된 형태, 예컨대 융합 단백질(이중성 단백질 서열(다른 단백질의)에 펩타이드

결합을 통해 결합된 폴리펩타이드를 포함)로 발현되거나 또는 합성될 수 있고, 분비 시그널뿐만 아니라 추가 이중성 기능 영역을 포함할 수 있다. 이러한 융합 단백질은 면역조절성 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드와 필요한 아미노산 서열을 암호화하는 필요한 핵산 서열을 서로 적당한 리딩 프레임 내에서 당업계에 공지된 방법으로 결합시키고, 이 융합 단백질 산물을 당업계에 공지된 방법으로 발현시켜 제조할 수 있다. 또는, 이러한 융합 단백질은 단백질 합성 기술, 예컨대 펩타이드 합성기를 이용하여 제조할 수 있다. 따라서, 정제 동안이나 이후 취급 및 보관 동안에 숙주 세포에서의 안정성 및 지속성을 증가시키기 위하여, 상기 폴리펩타이드의 N 말단에는 추가 아미노산, 특히 하전을 띤 아미노산의 영역이 첨가될 수 있다. 또한, 정제를 촉진하기 위하여 펩타이드 잔기가 상기 폴리펩타이드에 첨가될 수 있다. 이러한 영역들은 폴리펩타이드의 최종 제조 전에 제거될 수 있다. 특히, 분비 또는 배출을 위해, 안정성 향상을 위해 및 정제 촉진을 위해 펩타이드 잔기를 폴리펩타이드를 첨가하는 것은 당업계에 익숙하고 통상적인 기술이다.

[0390] 일 양태에서, 면역조절성 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 면역조절성 단백질을 원핵생물 또는 진핵생물 세포의 특정 구역에 국제화하도록 유도하고/하거나 면역조절성 단백질이 원핵생물 세포 또는 진핵생물 세포로부터 분비되도록 유도하는 시그널 서열에 융합될 수 있다. 예를 들어, 이.콜리에서 주변세포질 공간으로 단백질의 발현을 유도하고자 하는 경우가 있을 수 있다. 폴리펩타이드가 세균의 주변세포질 공간으로 발현되도록 유도하기 위해서 본 발명의 폴리펩타이드가 융합될 수 있는 시그널 서열 또는 단백질(또는 이의 단편)의 예에는 pelB 시그널 서열, 말토스 결합 단백질(MBP) 시그널 서열, MBP, ompA 시그널 서열, 주변세포질 이.콜리 열불안정성 장독소 B 서브유닛의 시그널 서열, 및 알칼리 포스파타제의 시그널 서열이 있지만, 이에 국한되는 것은 아니다. 단백질의 국제화를 유도하는 융합 단백질의 작제를 위한 시판 벡터는 여러 가지가 있으며, 그 예에는 뉴잉글랜드 바이오랩스에서 입수용이한 pMAL 계열의 벡터(특히 pMAL-p 계열)가 있다. 구체적 양태에서, 면역조절성 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 pelB 펩타이드 리아제 시그널 서열에 융합되어, 그램음성균에서 그러한 폴리펩타이드의 발현 및 정제 효율을 증가시킬 수 있다[미국 특허 5,576,195 및 5,846,818, 모두 전문이 참고인용됨].

[0391] 포유동물 세포에서 분비를 유도하기 위해 면역조절성 단백질에 융합될 수 있는 시그널 펩타이드의 예에는 MPIF-1 시그널 서열(GenBank 수탁번호 AAB51134의 아미노산 1-21), 스타니오크칼신(stanniocalcin) 시그널 서열(MLQNSAVLLLLVISASA, 서열번호 27) 및 콘센서스 시그널 서열(MPTWAWWFLVLLALWAPARG, 서열번호 28)이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 바콜로바이러스 발현계와 함께 사용될 수 있는 적당한 시그널 서열은 gp67 시그널 서열(GenBank 수탁번호 AAA72529의 아미노산 1-19)이다.

[0392] 바람직한 융합 단백질은 단백질을 안정화 및 정제하는데 유용한, 면역글로불린 유래의 이중성 영역을 포함한다. 예를 들어, EP-A-0 464 533(캐나다 대응특허 2045869)은 면역글로불린 분자의 불변부의 다양한 일부와 함께 다른 사람 단백질 또는 이의 부분을 포함하는 융합 단백질을 개시한다. 많은 경우에, 융합 단백질의 Fc 부분은 치료 및 진단용으로 특히 유익하여, 약동학적 성질의 향상(EP-A 0232262) 등을 초래한다. 한편, 일부 용도에서는 융합 단백질이 기술된 유리한 방법으로 발현, 검출 및 정제된 후에는 Fc 부분을 결실시킬 수 있는 것이 바람직할 수도 있다. 이러한 경우는, Fc 일부가 치료 및 진단에 사용하는데 방해물인 것으로 확인된 경우, 예컨대 융합 단백질이 예방접종용 항원으로서 사용되어야 하는 경우이다. 약물 개발 시, 예를 들어 hIL-5와 같은 사람 단백질은 hIL-5의 길항물질을 동정하는 고처리량 선별 분석을 위해 Fc 일부와 융합되었다[D.Bennett et al., J.Molecular Recognition 8: 52-58(1995) 및 K.Johanson et al., J.Biol.Chem. 270: 9459-9471(1995)].

[0393] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 면역조절성 단백질에는 자연 정제된 산물, 화학 합성 절차의 산물 및 세균, 효모, 고등식물, 곤충 및 포유동물 세포 등을 비롯한 원핵생물 또는 진핵생물 숙주에서 재조합 기술에 의해 생산된 산물이 있다. 재조합 생산 절차에 사용된 숙주에 따라서, 면역조절성 단백질은 글리코실화되거나 글리코실화되지 않을 수 있다. 또한, 면역조절성 단백질은 몇몇 경우에는 숙주 매개 과정의 결과로서, 변형된 메티오닌 잔기를 처음에 포함할 수 있다.

[0394] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 면역조절성 단백질은 당업계에 공지된 기술을 사용하여 화학적으로 합성될 수 있다(예, Creighton, 1983, Proteins: Structures and Molecular Principles, W.H. Freeman & Co., N.Y., and Hunkapiller, M., et al., 1984, Nature 310: 105-111). 예를 들어, 면역조절성 단백질의 단편에 대응하는 펩타이드는 펩타이드 합성기를 이용하여 합성할 수 있다. 또한, 바람직하다면, 비고전적 아미노산 또는 화학적 아미노산 유사체는 면역조절성 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열에 치환 또는 첨가반응으로서 도입시킬 수도 있다. 비고전적 아미노산에는, 일반 아미노산의 D-이성질체, 2,4-디아미노부티르산, α-아미노 이소부티르산, 4-아미노부티르산, Abu, 2-아미노 부티르산, g-Abu, e-Ahx, 6-아미노 핵산산, Aib, 2-아미노 이소부티르산, 3-아미노 프로피온산, 오르니틴, 노르류신, 노르발린, 하이드록시프롤린, 사르코신, 시트룰린, 호모시트룰

린, 시스테인산, t-부틸글리신, t-부틸알라닌, 페닐글리신, 사이클로헥실알라닌, b-알라닌, 플루오로-아미노산, 디자인어 아미노산, 예컨대 b-메틸 아미노산, Ca-메틸 아미노산, Na-메틸 아미노산, 및 일반적인 아미노산 유사체가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 또한, 아미노산은 D형(우선성) 또는 L형(좌선성)일 수 있다.

[0395] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 면역조절성 단백질은 해독 동안이나 해독 후에, 글리코실화, 아세틸화, 포스포릴화, 아미드화, 공지된 보호기/차단기에 의한 유도체화, 단백질분해성 절단, 항체 분자 또는 다른 세포 리간드에 결합 등에 의해 다양하게 변형될 수 있다. 다양한 화학적 변형은 모두 공지된 기술, 예컨대 시아노젠 브로마이드에 의한 화학적 절단, 트립신, 키모트립신, 파파인, V8 프로테아제, NaBH_4 , 아세틸화, 포르밀화, 산화, 환원, 투니카마이신의 존재 하에 대사적 합성 등(이에 국한되지 않는다)으로 수행할 수 있다.

[0396] 또 다른 해독후 변형에는 예컨대, N-결합 또는 O-결합된 탄수화물 사슬, N 말단 또는 C 말단 단부의 가공, 아미노산 백본에 화학 잔기의 부착, N-결합 또는 O-결합된 탄수화물 사슬의 화학적 변형 및 원핵생물 숙주 세포 발현의 결과로서 N-말단 메티오닌 잔기의 첨가 또는 결실이 있다. 또한, 폴리펩타이드는 단백질의 검출 및 분리를 위한, 검출성 표지, 예컨대 효소적, 형광성, 방사능동위원소 또는 친화성 표지로 변형시킬 수도 있다.

[0397] 적당한 효소의 예에는 양고추냉이 퍼옥시다제, 알칼리 포스파타제, 베타-갈락토시다제, 글루코스 옥시다제 또는 아세틸콜린에스터라제가 있으며; 적당한 보결분자단 복합체의 예에는 스트렙타비딘/비오틴 및 아비딘/비오틴이 있고; 적당한 형광 물질의 예에는 비오틴, 움벨리페론, 플루오레세인, 플루오레세인 이소티오시아네이트, 로다민, 디클로로트리아지닐아민 플루오레세인, 단실 클로라이드 또는 파이크에리트린이 있으며; 발광성 물질의 예에는 루미놀이 있고; 생체발광성 물질의 예에는 루시페라제, 루시페린 및 애쿼린(aequorin)이 있으며; 적당한 방사능 물질의 예에는 방사능 금속 이온, 예컨대 알파 방출체(예, ^{213}Bi), 또는 다른 방사능동위원소, 예컨대 요오드(^{131}I , ^{125}I , ^{123}I , ^{121}I), 탄소(^{14}C), 황(^{35}S), 삼중수소(^3H), 인듐($^{115\text{m}}\text{In}$, $^{113\text{m}}\text{In}$, ^{112}In , ^{111}In), 및 테크네튬(^{99}Tc , $^{99\text{m}}\text{Tc}$), 티타늄(^{201}Ti), 갈륨(^{68}Ga , ^{67}Ga), 팔라듐(^{103}Pd), 몰리브덴(^{99}Mo), 제논(^{133}Xe), 불소(^{18}F), ^{153}Sm , ^{177}Lu , ^{159}Gd , ^{149}Pm , ^{140}La , ^{175}Yb , ^{166}Ho , ^{90}Y , ^{47}Sc , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{142}Pr , ^{105}Rh , ^{97}Ru , ^{68}Ge , ^{57}Co , ^{65}Zn , ^{85}Sr , ^{32}P , ^{153}Gd , ^{169}Yb , ^{51}Cr , ^{54}Mn , ^{75}Se , ^{113}Sn 및 ^{117}Sn 이 있다.

[0398] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 면역조절성 단백질은 유로퓸(Europium)으로 표지화될 수 있다. 예를 들어, 면역조절성 단백질(예, 뉴트로킨-알파의 길항물질)은 DELFIA Eu 표지화 키트(카탈로그 # 1244-302, Perkin Elmer Life Sciences, 매사추세츠 보스턴 소재)를 제조업체의 지시에 따라서 사용하여 유로퓸으로 표지화할 수 있다.

[0399] 구체적 양태에서, 면역조절성 단백질은 예컨대 방사능금속 이온, 예컨대 ^{111}In , ^{177}Lu , ^{90}Y , ^{166}Ho 및 ^{153}Sm (이에 국한되지 않는다)을 폴리펩타이드에 접합시키는데 유용한 거대환식 킬레이트제에 부착된다. 바람직한 양태에서, 면역조절성 단백질에 부착된 거대환식 킬레이트제와 결합된 방사능금속 이온은 ^{111}In 이다. 다른 바람직한 양태에서, 면역조절성 단백질에 부착된 거대환식 킬레이트제와 결합된 방사능금속 이온은 ^{90}Y 이다. 구체적 양태에서, 거대환식 킬레이트제는 1,4,7,10,테트라아자사이클로도데칸-N,N',N'',N'''-테트라아세트산(DOTA)이다. 다른 구체적 양태에서, DOTA는 링커 분자를 통해 면역조절성 단백질에 부착된다. DOTA를 폴리펩타이드에 접합시키는데 유용한 링커 분자의 예는 당업계에 공지되어 있다[전문이 참고인용된 문헌, DeNardo et al., Clin Cancer Res. 4(10):2483-90, 1998; Peterson et al., Bioconjug. Chem. 10(4):553-7, 1999; 및 Zimmerman et al, Nucl. Med. Biol. 26(8):943-50, 1999 참조]. 또한, 미국 특허 5,652,361 및 5,756,065는 항체에 접합될 수 있는 킬레이트제, 이의 제조방법 및 사용방법을 개시하고 있으며, 이 역시 전문이 참고인용되었다. 미국 특허 5,652,361 및 5,756,065는 항체에 킬레이트제를 접합시키는 것에 초점을 맞추고 있으나, 당업자라면 여기에 개시된 방법을 이용하여 다른 폴리펩타이드에도 킬레이트제를 쉽게 접합시킬 수 있을 것이다.

[0400] 일 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 면역조절성 단백질은 비오틴으로 표지화될 수 있다.

[0401] 또한, 화학적으로 변형된 면역조절성 단백질의 유도체로서, 폴리펩타이드의 가용성, 안정성 및 생체내 또는 시험관내 순환 시간의 증가, 또는 면역원성의 감소(예컨대, 미국 특허 4,179,337 참조) 등의 추가 장점을 제공할 수 있는 유도체도 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. 유도체화를 위한 화학 잔기는 수용성 중합체, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜, 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜 공중합체, 카르복시메틸셀룰로스, 텍스트란, 폴리비닐 알콜 등 중에서 선택될 수 있다. 또한, 폴리펩타이드는 분자 내의 임의의 위치 또는 분자 내의 소정의 위치에서 변형될

수 있고, 1, 2, 3 또는 그 이상의 화학 잔기가 부착되어 있을 수 있다.

- [0402] 중합체는 임의의 분자량일 수 있고, 분지형 또는 선형일 수 있다. 폴리에틸렌 글리콜인 경우, 바람직한 분자량은 취급 및 제조 용이성 측면에서 약 1kDa 내지 약 100kDa 사이이다("약"이란 용어는 폴리에틸렌 글리콜의 제조물에 일부 분자가 언급한 분자량보다 더 크거나 약간 작을 수 있음을 나타낸다). 다른 크기도, 원하는 치료 프로필(예, 원하는 지속적인 방출 기간, 존재한다면 생물학적 활성에 미치는 영향, 취급 용이성, 항원성의 정도 또는 결실 및 폴리에틸렌 글리콜이 치료 단백질 또는 유사체에 미치는 공지된 다른 임의의 효과)에 따라 사용될 수 있다. 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜은 평균분자량이 약 200, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500, 8000, 8500, 9000, 9500, 10,000, 10,500, 11,000, 11,500, 12,000, 12,500, 13,000, 13,500, 14,000, 14,500, 15,000, 15,500, 16,000, 16,500, 17,000, 17,500, 18,000, 18,500, 19,000, 19,500, 20,000, 25,000, 30,000, 35,000, 40,000, 50,000, 55,000, 60,000, 65,000, 70,000, 75,000, 80,000, 85,000, 90,000, 95,000 또는 100,000 kDa일 수 있다.
- [0403] 앞에서 지정한 바와 같이, 폴리에틸렌 글리콜은 분지형 구조일 수 있다. 분지형 폴리에틸렌 글리콜은 전문이 참고인용된 문헌[미국 특허 5,643,575; Morpurgo et al., Appl. Biochem. Biotechnol. 56:59-72 (1996); Vorobjev et al., Nucleosides Nucleotides 18:2745-2750 (1999); 및 Caliceti et al., Bioconjug. Chem. 10:638-646 (1999)]에 기술되어 있다.
- [0404] 폴리에틸렌 글리콜 분자(또는 다른 화학 잔기)는 단백질의 기능성 또는 항원성 도메인에 미치는 효과를 고려하여 단백질에 부착되어야 한다. 당업자가 이용할 수 있는 부착 방법은 다수가 있으며, 예컨대, 본 발명에 참고인용된 EP 0 401 384(G-CSF에 대한 PEG의 결합), 및 문헌[Malik et al., Exp.Hematol. 20: 1028-1035(1992)(트레실 클로라이드를 이용한 GM-CSF의 peg화)]을 참조할 수 있다. 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜은 유리 아미노 기 또는 카르복시 기와 같은 반응성 기를 통해 아미노산 잔기에 공유 결합될 수 있다. 반응성 기는 활성화된 폴리에틸렌 글리콜이 결합될 수 있는 기이다. 유리 아미노 기를 보유한 아미노산 잔기는 예컨대 리신 잔기 및 N-말단 아미노산 잔기를 포함할 수 있고; 유리 카르복시 기를 보유하는 잔기는 아스파르트산 잔기, 글루탐산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 또한, 폴리에틸렌 글리콜 분자를 부착시키기 위한 반응성 기로서, 설프하이드릴 기를 사용할 수도 있다. 아미노 기, 예컨대 N-말단 또는 리신 기에 부착시키는 것이 치료 목적에 바람직하다.
- [0405] 앞에서 암시한 바와 같이, 폴리에틸렌 글리콜은 다수의 아미노산 잔기 중 임의의 잔기에 대한 결합을 통해 단백질에 부착될 수 있다. 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜은 리신, 히스티딘, 아스파르트산, 글루탐산 또는 시스테인 잔기에 대한 공유 결합을 통해 단백질에 결합될 수 있다. 폴리에틸렌 글리콜을 단백질의 특정 아미노산 잔기(예, 리신, 히스티딘, 아스파르트산, 글루탐산 또는 시스테인) 또는 단백질의 1종보다 많은 아미노산 잔기(예, 리신, 히스티딘, 아스파르트산, 글루탐산, 시스테인 및 이의 배합물)에 부착시키기 위해, 1 이상의 반응 화학을 이용할 수 있다.
- [0406] 특히, N 말단이 화학적으로 변형된 단백질을 필요로 할 수 있다. 일 예로서, 폴리에틸렌 글리콜을 사용하는 경우, 다양한 폴리에틸렌 글리콜 분자(분자량, 분지화도 등), 반응 혼합물에 존재하는 단백질(또는 펩타이드)에 대한 폴리에틸렌 글리콜 분자의 비율, 수행되는 peg화 반응의 종류, 및 선택된 N 말단 peg화된 단백질의 수득 방법으로부터 선택될 수 있다. N 말단 peg화된 제조물의 수득 방법(즉, 필요한 경우, 다른 단일 peg화된 부로부터 상기 부의 분리)은 peg화된 단백질 분자의 집단으로부터 N 말단 peg화된 물질의 정제에 의해 수행될 수 있다. N 말단 변형에서 화학적으로 변형된 선택적 단백질은 특정 단백질의 유도체화에서 이용할 수 있는 여러 종류의 1차 아미노 기(리신 대 N 말단)의 상이한 반응성을 이용하는 환원적 알킬화에 의해 수행될 수 있다. 적당한 반응 조건 하에서 카르보닐 기 함유 중합체 이용 시, N 말단에서 실질적으로 선택적인 단백질의 유도체화가 수득된다.
- [0407] 앞에서 지정한 바와 같이, 본 발명의 단백질의 peg화는 임의의 다양한 방법에 의해 수행될 수 있다. 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜은 직접 또는 중재 링커를 통해 단백질에 부착될 수 있다. 단백질에 폴리에틸렌 글리콜을 부착시키는 무링커 시스템은 각각 전문이 참고인용된 문헌[Delgado et al., Crit. Rev. Thera. Drug Carrier Sys. 9:249-304 (1992); Francis et al., Intern. J. of Hematol. 68:1-18 (1998); 미국 특허 4,002,531; 미국 특허 5,349,052; WO 95/06058; 및 WO 98/32466]에 설명되어 있다.
- [0408] 폴리에틸렌 글리콜을 중재 링커 없이 단백질의 아미노산 잔기에 직접 부착시키는 1가지 시스템은, 트레실클로라이드($\text{ClSO}_2\text{CH}_2\text{CF}_3$)를 이용하여 모노에톡시 폴리에틸렌 글리콜(MPEG)을 변형시켜 생산한 트레실화된 MPEG를 이용한다. 트레실화된 MPEG와 단백질의 반응 시, 폴리에틸렌 글리콜은 단백질의 아민 기에 직접 부착한다. 즉, 본

발명은 2,2,2-트리플루오로에탄 설포닐 기를 보유하는 폴리에틸렌 글리콜 분자와 본 발명의 단백질을 반응시켜 생산한 단백질-폴리에틸렌 글리콜 접합체를 포함한다.

[0409] 또한, 폴리에틸렌 글리콜은 다른 많은 중재 링커를 이용하여 단백질에 부착시킬 수 있다. 예를 들어, 전문이 참고인용된 미국 특허 5,612,460은 폴리에틸렌 글리콜을 단백질에 연결시키는 우레탄 링커를 개시한다. 폴리에틸렌 글리콜이 링커에 의해 단백질에 부착되어 있는 단백질-폴리에틸렌 글리콜 접합체는 또한 MPEG-석신이미딜석시네이트, 1,1'-카르보닐디이미다졸, MPEG-2,4,5-트리클로로페닐카보네이트, MPEG-p-니트로페놀카보네이트 및 다양한 MPEG-석시네이트 유도체와 같은 화합물과 단백질을 반응시켜 생산할 수도 있다. 단백질에 폴리에틸렌 글리콜을 부착시키기 위한 많은 다른 폴리에틸렌 글리콜 유도체 및 반응 화학은 전문이 참고인용된 WO 98/32466에 개시되어 있다. 본 명세서에 제시된 반응 화학을 이용하여 생산한 peg화된 단백질 산물은 본 발명의 범주에 포함된다.

[0410] 또한, 본 발명의 각 단백질에 부착된 폴리에틸렌 글리콜 부의 수는 다양할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 peg화된 단백질은 평균 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 17, 20개 또는 그 이상의 폴리에틸렌 글리콜 분자에 결합될 수 있다. 이와 마찬가지로, 평균 치환 정도는 단백질 1분자당 1-3, 2-4, 3-5, 4-6, 5-7, 6-8, 7-9, 8-10, 9-11, 10-12, 11-13, 12-14, 13-15, 14-16, 15-17, 16-18, 17-19, 또는 18-20개 범위의 폴리에틸렌 글리콜 부와 같은 범위일 수 있다. 치환 정도를 측정하는 방법은 예컨대 문헌[Delgado et al., Crit. Rev. Thera. Drug Carrier Sys. 9:249-304 (1992)]에 논의되어 있다.

[0411] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 면역조절성 단백질은 공지된 방법으로 회수 및 정제될 수 있는데, 그 예에는 황산암모늄 또는 에탄올 침전, 산 추출, 음이온 또는 양이온 교환 크로마토그래피, 포스포셀룰로스 크로마토그래피, 소수성 상호작용 크로마토그래피, 친화성 크로마토그래피, 하이드록시아파타이트 크로마토그래피 및 렉틴 크로마토그래피가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 정제에는 고성능 액체 크로마토그래피("HPLC")가 가장 바람직하다.

[0412] 제형 및 투여

[0413] 본 발명은 뉴트로킨-알파 길항물질과 같은 면역조절제를 함유하는 약제학적 조성물의 유효량을 검체에게 투여하는, 치료, 억제 및 예방 방법을 제공한다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 항체이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 TACI-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 BAFF-R-Fc 단백질이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 항-뉴트로킨-알파 펩티바디이다. 구체적 양태에서, 뉴트로킨-알파 길항물질은 우성 음성으로서 작용하는 뉴트로킨-알파 단백질 단편 또는 변이체이다. 바람직한 양태에서, 면역조절제는 실질적으로 정제된다(예컨대, 효과를 제한하거나 불필요한 부작용을 나타내는 물질이 실질적으로 없다). 검체는 바람직하게는 동물, 예컨대 소, 돼지, 말, 닭, 고양이, 개 등과 같은 동물(이에 국한되지 않는다), 바람직하게는 포유동물, 가장 바람직하게는 사람이다.

[0414] 면역조절제는 각 환자의 임상 상태(특히 면역조절제만을 이용한 치료 시의 부작용), 면역조절제를 함유하는 조성물의 전달 부위, 투여 방법, 투여 스케줄, 및 의료인에게 공지된 다른 요인을 고려하여, 양호한 진료 지침서와 일치하는 방식으로 제형화 및 용량화할 수 있다. 따라서, 본 명세서에서 목적을 위한 면역조절제의 "치료학적 유효량"도 이러한 요인을 고려하여 결정한다.

[0415] 다양한 전달 시스템이 공지되어 있고, 면역조절제를 함유하는 약제학적 조성물을 투여하는데 이용될 수 있으며, 그 예로는 리포솜, 마이크로입자, 마이크로캡슐 중의 캡슐화, 화합물을 발현할 수 있는 재조합 세포, 수용체 매개의 세포내이입(예컨대, Wu and Wu, J.Biol.Chem. 262: 4429-4432(1987)), 레트로바이러스 또는 다른 바이러스의 일부로서 핵산의 작제 등이 있다. 투여 방법에는, 피내, 근육내, 복강내, 정맥내, 피하, 비내, 경막외 및 경구 경로가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 면역조절제를 함유하는 약제학적 조성물은 임의의 편리한 경로, 예컨대 주입 또는 일시 주사를 통해, 상피 또는 점막피부 내층(예, 경구 점막, 직장 및 장 점막 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있고, 다른 생물학적 활성제와 함께 투여될 수 있다. 투여는 전신 또는 국소 투여일 수 있다. 또한, 면역조절제를 함유하는 약제학적 조성물은 심실내 및 경막내 주사를 비롯한 임의의 적당한 경로를 통해 중추신경계 내로 도입시키는 것이 바람직할 수 있고; 심실내 주사는 저장기, 예컨대 Ommaya 저장기 등에 부착된, 심실내 카테터에 의해 용이하게 수행될 수 있다. 폐 투여도 예컨대 흡입기 또는 분무기의 사용, 및 에어로졸화제와의 배합을 통해 이용될 수 있다.

[0416] 구체적 양태에서, 본 발명은 치료제(예, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기수로된 면역조절제)의 약제학

적 제형에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 본래 단백질성인 치료제(예, 단백질 및 항체)의 약제학적 제형에 관한 것이다. 본 발명의 약제학적 제형은 치료제가 이의 물리적, 화학적 및 생물학적 활성을 유지하도록 조제된다. 본 발명의 약제학적 제형은 적당한 온도에서 보관될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 약제학적 제형은 2 내지 8℃, -40℃ 또는 -80℃에서 보관될 수 있다. 구체적 양태에서, 안정한 제형은 2년 동안에 치료제의 약 1% 미만의 응집이 관찰되는 것, 2년 동안에 치료제의 약 1% 미만의 산화가 관찰되는 것, 및/또는 2년 동안에 치료제의 약 4% 미만의 탈아미드화가 관찰되는 것이다. 본 발명의 약제학적 제형에 존재하는 치료제의 양은 예컨대 바람직한 용량 부피 및 투여 방식(들)을 고려하여 결정한다. 본 발명의 일 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형에 존재하는 치료제의 농도는 약 1-160 mg/ml, 약 10-155 mg/ml, 약 20-150 mg/ml, 약 30-145 mg/ml, 약 40-140 mg/ml, 약 50-135 mg/ml, 약 60-130 mg/ml, 약 70-125 mg/ml, 약 80-120 mg/ml, 약 90-115 mg/ml, 약 95-110 mg/ml, 약 100-105 mg/ml, 또는 약 100 mg/ml 이다. 이와 같이 언급된 농도의 중간에 해당하는 범위, 예컨대 약 11 내지 154mg/ml도 본 발명의 일부인 것으로 간주되어야 한다. 예를 들어, 상기 언급된 임의의 값의 조합을 상한 및/또는 하한으로 이용한 값의 범위도 포함되는 것으로 간주되어야 한다. 여기서, "약"은 상기 구체적으로 언급된 범위, 및 이 범위의 상한 및/또는 하한에서 수(5,4,3,2, 또는 1)mg/ml 크거나 작은 범위를 포함한다.

[0417] 본 발명의 수성 약제학적 제형은 pH 완충 용액을 포함한다. 본 발명의 일 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형에 사용된 완충액은 pH가 약 5 내지 약 7 범위인 것이다. 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형에 사용된 완충액은 pH 범위가 약 5.5 내지 약 6.5 사이이다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형에 사용된 완충액은 pH 범위가 약 5.8 내지 약 6.2 사이이다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형에 사용된 완충액은 pH가 약 6.0이다. 상기 언급된 pH의 중간인 범위도 역시 본 발명의 일부로 간주되어야 한다. 예를 들어, 상기 언급된 임의의 값을 상한 및/또는 하한으로서 조합한 값의 범위도 포함되는 것으로 가정되어야 한다. 여기서, "약"은 구체적으로 언급된 범위, 및 상기 범위의 상한 및/또는 하한에서 0.5, 0.4, 0.3, 0.2 또는 0.1 pH 단위만큼 더 크거나 더 작은 범위를 포함한다. 바람직한 범위 내에서 pH를 조절하는 완충액의 예에는 아세트이트(예, 아세트산나트륨), 석시네이트(예, 석신산나트륨), 글루코네이트, 히스티딘, 시트레이트, 트리스, 포스페이트, 글리실글리신 및 다른 유기산 완충액이 있다. 다른 예시적 완충액은 약제학적으로 허용되는 것이며, 이하에 구체화되는 것과 같은 적당한 산, 염기 및 이의 염으로부터 제조될 수 있다.

[0418] 약제학적으로 허용되는 산에는 제형화되는 농도 및 방식에서 비독성인 무기 및 유기 산이 포함된다. 예를 들어, 적당한 무기 산에는 염산, 과염소산, 브롬화수소산, 요오드화수소산, 질산, 황산, 설폰산, 설펜산, 설파닐산, 인산, 탄산 등이 있다. 적당한 유기 산에는 직쇄 및 분지쇄 알킬, 방향족, 고리형, 고리지방족, 아릴지방족, 헤테로고리, 포화, 불포화, 일카르복시, 이카르복시 및 삼카르복시, 예컨대 포름산, 아세트산, 2-하이드록시아세트산, 트리플루오로아세트산, 페닐아세트산, 트리메틸아세트산, t-부틸 아세트산, 안트라닐산, 프로판산, 2-하이드록시프로판산, 2-옥소프로판산, 프로판디산, 사이클로헥탄프로피온산, 사이클로헥탄 프로피온산, 3-페닐프로피온산, 부탄산, 부탄디산, 벤조산, 3-(4-하이드록시벤조일)벤조산, 2-아세톡시-벤조산, 아스코르브산, 신남산, 라우릴 황산, 스테아르산, 뮌콘산, 만델산, 석신산, 엠본산, 푸마르산, 말산, 말레산, 하이드록시말레산, 말론산, 젖산, 구연산, 타르타르산, 글리콜산, 글리콘산, 글루콘산, 피루브산, 글리옥살산, 옥살산, 메실산, 석신산, 살리실산, 프탈산, 팔모산, 팔메산, 티오시안산, 메탄설폰산, 데탄설폰산, 1,2-에탄설폰산, 2-하이드록시에탄설폰산, 벤젠설폰산, 4-클로로벤젠설폰산, 나프탈렌-2-설폰산, p-톨루엔설폰산, 캄페설폰산, 4-메틸비사이클로[2.2.2]-옥트-2-엔-1-카르복시산, 글루코헵톤산, 4,4'-메틸렌비스-3-(하이드록시-2-엔-1-카르복시산), 하이드록시나프토산 등이 있다.

[0419] 약제학적으로 허용되는 염기에는 조제되는 농도 및 방식에서 비독성인 무기 및 유기 염기가 있다. 예를 들어, 적당한 염기에는 무기 염기 형성 금속, 예컨대 리튬, 나트륨, 칼륨, 마그네슘, 칼슘, 암모늄, 철, 아연, 구리, 망간, 알루미늄, N-메틸글루카민, 모르폴린, 피페리딘 등으로 형성된 것, 및 유기 비독성 염기, 예컨대 1차, 2차 및 3차 아민, 치환된 아민, 고리형 아민 및 염기성 이온 교환 수지[예, $N(R')_4^+$ (여기서, R'는 독립적으로 H 또는 C₁₋₄ 알킬, 예컨대 암모늄, 트리스)], 예컨대 이소프로필아민, 트리메틸아민, 디에틸아민, 트리에틸아민, 트리프로필아민, 에탄올아민, 2-디에틸아미노에탄올, 트리메타민, 디사이클로헥실아민, 리신, 아르기닌, 히스티딘, 카페인, 프로카인, 하이드라바민, 콜린, 베타인, 에틸렌디아민, 글루코사민, 메틸글루카민, 테오브로민, 퓨린, 피페라진, 피페리딘, N-에틸피페리딘, 폴리아민 수지 등이 있다. 특히, 바람직한 비독성 유기 염기는 이소프로필아민, 디에틸아민, 에탄올아민, 트리메타민, 디사이클로헥실아민, 콜린 및 카페인이다.

[0420] 본 발명에 사용할 수 있는 다른 약제학적으로 허용되는 산 및 염기에는 아미노산, 예컨대 히스티딘, 글리신, 페

닐알라닌, 아스파르트산, 글루탐산, 리신 및 아스파라긴으로부터 유래된 것이 있다.

- [0421] 약제학적으로 허용되는 완충액에는 전술한 산 및 염기의 산 및 염기 부가 염에서 유래된 것이 있다. 본 발명의 일 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형의 완충액은 석시네이트, 히스티딘, 구연산염 및/또는 인산염이다. 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형의 완충액은 히스티딘이다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형의 완충액은 구연산염이다.
- [0422] 본 발명의 다른 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형에 존재하는 완충액 농도는 약 5 내지 50mM, 약 5 내지 20mM, 약 5 내지 15mM, 또는 약 10mM이다. 언급된 농도의 중간 범위, 예컨대 약 6 내지 48mM도 본 발명의 일부인 것으로 간주되어야 한다. 예를 들어, 상기 언급된 값의 임의의 조합을 상한 및/또는 하한으로서 이용하는 값의 범위도 포함되는 것으로 간주되어야 한다. 여기서, "약"은 구체적으로 언급된 범위는 물론, 이 범위의 상한 및/또는 하한에서 수mM(5,4,3,2 또는 1mM) 정도 크거나 작은 범위도 포함한다.
- [0423] 계면활성제도 본 발명의 약제학적 제형에 첨가될 수 있다. 계면활성제의 예에는 비이온성 계면활성제, 예컨대 폴리소르베이트(예, 폴리소르베이트 20 또는 80) 또는 폴록사머(예, 폴록사머 188)가 있다. 다른 약제학적으로 허용되는 계면활성제도 당업계에 공지되어 있는 바, 사용될 수 있다. 구체적 양태에서 계면활성제의 양은 치료제의 응집(예컨대, 진탕 또는 운반 시 일어나는)을 감소시키고, 본 발명의 약제학적 제형에서 일어나는 미립자물의 형성을 최소화하고/하거나 치료제의 비특이적 흡착을 감소시키기에 충분한 양으로 첨가된다. 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 폴리소르베이트인 계면활성제를 포함한다.
- [0424] 일 양태에서, 본 발명이 약제학적 제형은 계면활성제 폴리소르베이트 20을 함유한다. 바람직한 일 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 적어도 0.007% 내지 약 0.07% 사이의 폴리소르베이트 20을 함유한다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 약 0.01% 내지 약 0.05%의 폴리소르베이트 20을 함유한다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 약 0.01% 내지 약 0.03% 사이의 폴리소르베이트 20을 함유한다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형에서 발견되는 폴리소르베이트 20은 약 0.01%이다. 여기서, "약"은 구체적으로 언급된 범위는 물론, 폴리소르베이트 20의 백분율이 0.007% 이상인 한, 상기 범위의 상한 및/또는 하한에서 0.01%, 0.009%, 0.008%, 0.007%, 0.006% 또는 0.005% 정도 크거나 작은 범위를 포함한다.
- [0425] 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 계면활성제 폴리소르베이트 80을 함유한다. 바람직한 일 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 약 0.0015% 내지 약 0.07% 사이의 폴리소르베이트 80을 함유한다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 약 0.003% 내지 약 0.05%의 폴리소르베이트 80을 함유한다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 약 0.005% 내지 약 0.03% 사이의 폴리소르베이트 80을 함유한다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 약 0.01% 내지 약 0.03%의 폴리소르베이트 80을 함유한다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형에서 발견되는 폴리소르베이트 80은 약 0.01%이다. 여기서, "약"은 구체적으로 언급된 범위는 물론, 폴리소르베이트 80의 백분율이 0.0015% 이상인 한, 상기 범위의 상한 및/또는 하한에서 0.01%, 0.009%, 0.008%, 0.007%, 0.006% 또는 0.005% 정도 크거나 작은 범위를 포함한다.
- [0426] 또한, 본 발명이 약제학적 제형에는 장성 조절제(tonicity modifier)가 첨가될 수 있다. 유용한 장성 조절제에는 염 및 아미노산이 있다. 본 발명의 약제학적 제형에 적합하고 약제학적으로 허용되는 염에는 염화나트륨, 석신산나트륨, 황산나트륨, 염화칼륨, 염화마그네슘, 황산마그네슘 및 염화칼슘이 있다. 본 발명의 약제학적 제형에 사용하기에 바람직한 염은 NaCl 및 MgCl₂ 이다. NaCl은 탈아미드화 및 응집으로부터 제제를 보호하여 치료제의 안정성을 향상시킬 수 있다. 바람직한 일 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 NaCl을 함유한다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 약 150 내지 약 500mM NaCl을 함유한다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 약 150mM NaCl을 함유한다. 여기서, "약"은 구체적으로 언급된 범위는 물론, 이 범위의 상한 및/또는 하한에서 1, 2, 3, 4, 5, 10, 25 또는 50mM 정도 크거나 작은 범위도 포함한다. 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 등장성이다. 등장성이란, 본 발명의 약제학적 제형이 사람 혈액과 삼투압이 거의 동일한 것을 의미한다. 등장성 제형은 일반적으로 삼투압이 약 250 내지 약 350mOsm, 바람직하게는 약 290 내지 약 310mOsm이다. 여기서, "약"은 구체적으로 언급된 범위는 물론, 이 범위의 상한 및/또는 하한에서 수 mOsm(5,4,3,2 또는 1mOsm) 정도 크거나 작은 범위도 포함한다. 등장성은 예컨대 증기압 또는 얼음동결점 삼투압계를 이용하여 측정할 수 있다.
- [0427] 일 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 전술한 제제(즉, 치료제, 완충액, 계면활성제 및 장성 조절제)를 포함하고, 1 이상의 보존제, 예컨대 벤질 알콜, 페놀, m-크레졸, 클로로부탄올 및 벤즈에토늄 Cl은 거의 함유하지 않는다. 다른 양태에서는 본 발명의 약제학적 제형, 특히 이 제형이 다회용량 제형인 경우에는 보존제를 포함할

수도 있다. 1 이상의 다른 약제학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 안정제, 예컨대 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed.(1980)]에 기술된 것 등도, 제형의 바람직한 특징에 크게 악영향을 미치지 않는 한, 본 발명이 약제학적 제형에 첨가될 수 있다. 허용성 담체, 부형제 또는 안정제는 사용되는 투약량 및 농도에서 수용체에게 비독성이며, 그 예에는 다른 완충제; 보조용매; 아스코르브산 및 메티오닌을 비롯한 항산화제; EDTA와 같은 킬레이트제; 금속 착물(예, Zn-단백질 복합체); 생체분해성 중합체, 예컨대 폴리에스테르; 보존제; 동결방지제; 동결건조보호제; 팽화제 등이 포함된다. 적당한 동결방지제의 예에는 폴리올, 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 소혈청 알부민(BSA), 글루탐산, 다른 아미노산 등이 있다. 다른 적당한 동결방지제에는 당 및 당알콜, 예컨대 슈크로스, 만노스, 트레할로스, 글루코스, 소르비톨, 및 만니톨 등이 있다. 적당한 동결건조보호제에는 슈크로스, 트레할로스, 락토스 및 말토스 등을 비롯한 당이 포함될 수 있다. 적당한 팽화제에는 만니톨, 글리신 및 소르비톨 등이 포함된다.

[0428] 구체적 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 동결방지제를 포함하지 않는다. 또 다른 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 슈크로스를 포함하지 않는다.

[0429] 단백질 제형을 안정시키는데 일반적으로 사용되는 EDTA도 본 발명의 약제학적 제형에 첨가될 수 있다. 킬레이트제로서 EDTA는 설파하이드릴 기의 금속 촉매된 산화를 억제하여, 이황화 결합 응집물의 형성을 감소시킨다. EDTA의 바람직한 농도는 약 0.01% 내지 약 0.2% 사이이다.

[0430] 본 발명의 약제학적 제형은 또한 치료받는 특정 증상을 위해 필요한 경우 1종 이상의 다른 치료제, 바람직하게는 본 발명의 약제학적 제형에 존재하는 치료제에 악영향을 미치지 않는 상보성 활성을 보유한 치료제와 배합될 수도 있다. 이러한 배합물은 추가 치료제가 면역조절제와 혼합물로서 조제된 것으로 생각할 수 있다. 또한, 배합물은 추가 치료제가 독립적으로 조제되지만, 면역조절제와 동시 또는 중복 투여되는 것으로 생각할 수 있다. 이러한 추가 치료제는 의도한 목적에 효과적인 양으로 적당히 함께 존재한다. 본 발명의 제형과 배합될 수 있는 다른 치료제에 대해서는 이하에 더 상세히 설명될 것이다.

[0431] 본 발명은 바람직한 양태로서, 10mM 히스티딘 완충액, 150mM NaCl 및 0.01% 폴리소르베이트 80, pH 6.0($\pm$ 0.5)을 함유하거나 또는 이들로 이루어진 약제학적 제형을 제공한다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 약 1mg/ml 내지 약 160mg/ml 함량의 항체, 바람직하게는 약 80mg/ml 내지 약 120mg/ml 함량의 항체, 10mM 히스티딘 완충액, 150mM NaCl 및 0.01% 폴리소르베이트 80, pH 6.0($\pm$ 0.5)을 함유하거나 또는 이들로 이루어진다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 정맥내 투여용으로 약 1mg/ml 내지 약 160mg/ml 함량의 항체, 바람직하게는 약 80mg/ml 내지 약 120mg/ml 함량의 항체, 10mM 히스티딘 완충액, 150mM NaCl 및 0.01% 폴리소르베이트 80, pH 6.0($\pm$ 0.5)을 함유하거나 또는 이들로 이루어진 제형이다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 피하 투여용으로 약 1mg/ml 내지 약 160mg/ml 함량의 항체, 바람직하게는 약 80mg/ml 내지 약 120mg/ml 함량의 항체, 10mM 히스티딘 완충액, 150mM NaCl 및 0.01% 폴리소르베이트 80, pH 6.0($\pm$ 0.5)을 함유하거나 또는 이들로 이루어진 제형이다. 여기서, "약"은 구체적으로 언급된 범위는 물론, 이 범위의 상한 및/또는 하한에서 수mg/ml(5, 4, 3, 2 또는 1mg/ml) 정도 크거나 작은 범위를 포함한다.

[0432] 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 100mg/ml의 항체, 10mM 히스티딘 완충액, 150mM NaCl 및 0.01% 폴리소르베이트 80, pH 6.0($\pm$ 0.5)을 함유하거나 또는 이들로 이루어진 제형이다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 정맥내 투여용으로 100mg/ml의 항체, 10mM 히스티딘 완충액, 150mM NaCl 및 0.01% 폴리소르베이트 80, pH 6.0($\pm$ 0.5)을 함유하거나 또는 이들로 이루어진 제형이다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 피하 투여용으로 100mg/ml의 항체, 10mM 히스티딘 완충액, 150mM NaCl 및 0.01% 폴리소르베이트 80, pH 6.0($\pm$ 0.5)을 함유하거나 또는 이들로 이루어진 제형이다.

[0433] 본 발명은 바람직한 양태로서, 0.74mg/ml L-히스티딘, 1.1mg/ml L-히스티딘 모노하이드로클로라이드, 8.8mg/ml NaCl 및 0.1mg/ml 폴리소르베이트 80, pH 6.0($\pm$ 0.5)를 함유하거나 또는 이들로 이루어진 약제학적 제형을 제공한다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 약 1mg/ml 내지 약 160mg/ml, 바람직하게는 약 80mg/ml 내지 약 120mg/ml의 항체, 0.74mg/ml L-히스티딘, 1.1mg/ml L-히스티딘 모노하이드로클로라이드, 8.8mg/ml NaCl 및 0.1mg/ml 폴리소르베이트 80, pH 6.0($\pm$ 0.5)을 함유하거나 또는 이들로 이루어진 약제학적 제형이다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 정맥내 투여용으로 약 1mg/ml 내지 약 160mg/ml, 바람직하게는 약 80mg/ml 내지 약 120mg/ml의 항체, 0.74mg/ml L-히스티딘, 1.1mg/ml L-히스티딘 모노하이드로클로라이드, 8.8mg/ml NaCl 및 0.1mg/ml 폴리소르베이트 80, pH 6.0($\pm$ 0.5)을 함유하거나 또는 이들로 이루어진 약제학적 제형이다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 피하 투여용으로 약 1mg/ml 내지 약 160mg/ml, 바람직하게는 약 80mg/ml 내지 약 120mg/ml의 항체, 0.74mg/ml L-히스티딘,

1.1mg/ml L-히스티딘 모노하이드로클로라이드, 8.8mg/ml NaCl 및 0.1mg/ml 폴리소르베이트 80, pH 6.0(± 0.5)을 함유하거나 또는 이들로 이루어진 약제학적 제형이다. 여기서, "약"은 구체적으로 언급된 범위는 물론, 이 범위의 상한 및/또는 하한에서 수mg/ml(5, 4, 3, 2 또는 1mg/ml) 더 크거나 더 작은 범위를 포함한다.

[0434] 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 100mg/ml의 항체, 0.74mg/ml L-히스티딘, 1.1mg/ml L-히스티딘 모노하이드로클로라이드, 8.8mg/ml NaCl 및 0.1mg/ml 폴리소르베이트 80, pH 6.0(± 0.5)을 함유하거나 또는 이들로 이루어진 약제학적 제형이다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 정맥내 투여용으로 100mg/ml의 항체, 0.74mg/ml L-히스티딘, 1.1mg/ml L-히스티딘 모노하이드로클로라이드, 8.8mg/ml NaCl 및 0.1mg/ml 폴리소르베이트 80, pH 6.0(± 0.5)을 함유하거나 또는 이들로 이루어진 약제학적 제형이다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 피하 투여용으로 100mg/ml의 항체, 0.74mg/ml L-히스티딘, 1.1mg/ml L-히스티딘 모노하이드로클로라이드, 8.8mg/ml NaCl 및 0.1mg/ml 폴리소르베이트 80, pH 6.0(± 0.5)을 함유하거나 또는 이들로 이루어진 약제학적 제형이다.

[0435] 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형에 포함된 항체는 모노클로날 항체이다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형에 포함된 항체는 IgG 항체이다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형에 포함된 항체는 IgG1 항체이다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형에 포함된 항체는 IgG1/ λ 항체이다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형에 포함된 항체는 사람 또는 사람화된 항체이다.

[0436] 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 2 내지 8℃에서 적어도 6개월 동안 안정하다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 2 내지 8℃에서 적어도 9개월 동안 안정하다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 2 내지 8℃에서 적어도 1년 동안 안정하다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 2 내지 8℃에서 적어도 1.5년 동안 안정하다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 2 내지 8℃에서 적어도 2년 동안 안정하다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 2 내지 8℃에서 적어도 3년 동안 안정하다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 2 내지 8℃에서 적어도 4년 동안 안정하다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 2 내지 8℃에서 적어도 5년 동안 안정하다.

[0437] 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형에 포함된 항체는 반복된 동결-해동 사이클 동안 유의적인 안정성을 나타낼 수 있고, 이러한 처리 후에는 해동된 다음에도 안정성을 유지할 수 있다. 일반적으로, 동결되는 제형은 급속 동결, 예컨대 액체 질소에서 동결된다. 해동은 일정 온도 범위, 예컨대 약 0℃ 내지 약 25℃ 범위에서(저속 해동); 또는 약 26℃ 내지 40℃ 범위에서(고속 해동) 수행된다. 여기서, "약"은 구체적으로 언급된 범위는 물론, 이 범위의 상한 및/또는 하한에서 수℃(5, 4, 3, 2 또는 1℃) 정도 더 크거나 또는 더 작은 범위도 포함한다. 급속 해동의 예는 본 발명의 약제학적 제형을 37℃ 수조에서 해동시키는 것이다. 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형에 포함된 항체는 1회 이상의 동결-해동 사이클 동안 안정하다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형에 포함된 항체는 2회 이상의 동결-해동 사이클 동안 안정하다. 또 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형에 존재하는 항체는 3회 이상의 동결-해동 사이클 동안 안정하다. 또 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형에 존재하는 항체는 4회 이상의 동결-해동 사이클 동안 안정하다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형에 존재하는 항체는 5회 이상의 동결-해동 사이클 동안 안정하다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형에 존재하는 항체는 10회 이상의 동결-해동 사이클 동안 안정하다.

[0438] 안정성을 유지하기 위해 본 발명의 약제학적 제형을 동결-해동하는 최적의 방식을 결정할 필요가 있거나, 또는 특정 동결-해동 사이클로 처리되는 항체에 최대 안정성을 제공하는 본 발명의 약제학적 제형을 동결할 필요가 있는 경우가 있다. 따라서, 본 발명의 일 양태에서는 이러한 파라미터가 평가된다. 예를 들어, 본 발명의 약제학적 제형은 다양한 조합의 급속 동결, 저속 동결, 급속 해동 또는 저속 해동과 같은 다양한 동결-해동 조건 하에 안정성에 대해 분석되어, 분해 산물이 최소(예컨대, 안정성이 가장 큰)인 절차를 측정할 수 있다.

[0439] 농도 연구에서는, IgG1/ λ 항체가 10mM 히스티딘 완충액, 150mM NaCl 및 0.01% 폴리소르베이트 80, pH 6.0을 함유하는 본 발명의 약제학적 제형에서 순도(SEC-HPLC로 측정 시) 및 응집(미립자가 전혀 관찰되지 않았다)(테이터는 제시 안됨)에 유해 영향을 미침이 없이 적어도 160mg/ml 이하로 농축될 수 있다는 것을 확인했다. 또한, 농도와 함께 점도의 증가가 관찰되었다. 점도가 증가할수록 투여가 곤란할 가능성이 증가한다. 본 연구에서는, 점도가 7.75cP 미만인 샘플이 30G 1/2 인치 주사바늘을 통해 10초 이내에 쉽게 주입될 수 있다는 것을 발견했다. 표 X에서 확인되듯이, 160mg/ml의 IgG1/ λ 항체 농도에서도 약제학적 제형의 점도는 7.75cP 이하였고, 따라서 주사기를 통해 쉽게 주입된다.

[0440] [표 X]

IgG1/ 항체 농도의 함수로서의 점도

농도(mg/ml)	점도(cP)
0.0	0.93
18.9	0.97
35.5	1.13
65.7	1.48
79.2	1.80
89.4	1.96
104.0	2.38
113.2	2.68
122.2	3.15
128.0	3.43
136.5	3.89
144.1	4.58
161.7	6.74

[0441]

[0442]

생체내 투여 시 사용될 제형은 무균성인 것이 가장 바람직하다. 이것은 제형의 제조 전이나 제조 후에 살균 여과막을 통해 여과함으로써 쉽게 달성된다.

[0443]

바람직한 양태에서, 본 발명의 항체는 10mM 구연산나트륨, 1.9% 글리신, 0.5% 슈크로스, 0.01% 폴리소르베이트 80, pH 6.5(± 0.3)에 조제된다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 항체는 10mM 구연산나트륨, 1.9% 글리신, 0.5% 슈크로스, 0.01% 폴리소르베이트 80, pH 6.5(± 0.3)에 정맥내 투여용으로 조제된다.

[0444]

바람직한 양태에서, 본 발명의 항체는 10mM 구연산나트륨, 8% 슈크로스, 0.04%(w/v) 폴리소르베이트 80, pH 6.5(± 0.3)에 조제된다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 항체는 10mM 구연산나트륨, 8% 슈크로스, 0.04% 폴리소르베이트 80(pH 6.5)에 정맥내 투여용으로 조제된다. 다른 바람직한 양태에서, 본 발명의 항체는 10mM 구연산나트륨, 8% 슈크로스, 0.04%(w/v) 폴리소르베이트 80(pH 6.5)에 피하 투여용으로 조제된다.

[0445]

일반적으로, 제형은 뉴트로킨-알과 길항물질 또는 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제를 액체 담체 또는 미분 고형 담체 또는 이의 혼합물과 균일하고 철저하게 접촉시켜 제조한다. 그 다음, 필요하다면 산물은 원하는 제형으로 성형한다. 담체는 비경구 담체인 것이 바람직하고, 특히 수용체의 혈액과 등장성인 용액인 것이 더욱 바람직하다. 이러한 담체 매개체의 예에는 물, 식염수, 링거액 및 텍스트로스 용액이 있다. 고정 오일 및 에틸 올레이트와 같은 비수성 매개체도 리포솜과 마찬가지로 본 발명에 유용하다.

[0446]

담체는 등장성 및 화학적 안정성을 향상시키는 물질과 같은 첨가제를 소량 함유하는 것이 적당하다. 이러한 물질은 이용되는 투약량 및 농도에서 수용체에게 비독성이고, 그 예에는 인산염, 구연산염, 석시네이트, 아세트산 및 다른 유기산 또는 이의 염과 같은 완충액; 아스코르브산과 같은 항산화제; 저부자량(약 10개 잔기 미만) 폴리펩타이드, 예컨대 폴리알르기닌 또는 트리펩타이드; 혈청 알부민, 젤라틴 또는 글루탐산, 아스파르트산 또는 아르기닌과 같은 아미노산; 당당류, 이당류 및 기타 탄수화물, 예컨대 셀룰로스 또는 이의 유도체, 글루코스, 만노스, 슈크로스 또는 텍스트린; EDTA와 같은 킬레이트제; 만니톨 또는 소르비톨과 같은 당알콜; 나트륨과 같은 반대이온; 크레졸, 페놀, 클로로부탄올, 벤질 알콜 및 파라벤과 같은 보존제 및/또는 폴리소르베이트, 폴록사머 또는 PEG와 같은 비이온성 계면활성제가 있다.

[0447]

면역조절성 폴리펩타이드를 함유하는 조성물은 일반적으로 이러한 매개체에 약 0.001mg/ml 내지 100mg/ml 또는 0.1mg/ml 내지 100mg/ml, 바람직하게는 1 내지 10mg/ml 또는 1 내지 10mg/ml의 농도와, 약 3 내지 10의 pH, 또는 3 내지 8의 pH, 더욱 바람직하게는 5 내지 8의 pH, 가장 바람직하게는 6 내지 7의 pH로 조제된다. 전술한 부형제, 담체 또는 안정제 중 특정 성분의 사용이 폴리펩타이드 염을 형성시킬 수 있다는 것은 말할 나위도 없다.

[0448]

치료적 투여에 사용될 조성물은 무균성인 것이 가장 바람직하다. 살균은 살균 여과막(예, 0.2 미크론 막)을 통해 여과하여 쉽게 달성된다. 치료 조성물은 일반적으로 무균 접근포트를 구비한 용기, 예컨대 피하 주사 바늘이 꽂힐 수 있는 마개가 있는 정맥내 용액 팩 또는 바이엘에 넣는다.

[0449]

본 발명의 방법에 사용할 수 있는 면역조절제를 함유하는 약제학적 조성물은 통상 단위 용량 용기 또는 다회 용량 용기, 예컨대 밀봉 앰플 또는 바이엘에 수용액으로서 또는 복원될 수 있는 동결건조 제형으로서 보관될 수 있다. 동결건조된 제형의 일 예로서, 10ml 바이엘에 5ml 멸균 여과된 1%(w/v) 뉴트로킨-알과 폴리펩타이드 수용

액을 주입하고, 그 혼합물을 동결건조한다. 주입 용액은 동결건조된 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드를 정균성 주사 용수를 이용하여 복원시켜 제조한다.

[0450] 또는, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 면역조절제를 함유하는 약제학적 조성물은 단일 용량 용기에 동결건조된 형태로 보관된다. 주입 용액은 주사용 무균 담체를 이용하여 복원시킨다.

[0451] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 면역조절제는 뉴트로킨-알파 또는 항-CD20 항체의 방사능표지된 형태와 가은 방사능표지된 폴리펩타이드이다. 이러한 방사능표지된 분자를 함유하는 약제학적 조성물은 방사선방호제(radioprotectant) 및 혈장 증량제, 예컨대 아스코르브산 나트륨, 젠트란-40 및 글리세롤을 포함할 수 있다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 조성물은 10.0mM 구연산나트륨, 140.0mM 염화나트륨, 8.7mM HEPES, 4%(w/v) 아스코르브산나트륨, 3.3%(w/v) 젠트란-40에 조제된 뉴트로킨-알파 폴리펩타이드의 요오드화된 형태 또는 이의 단편이나 변이체를 포함한다.

[0452] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 조성물은 서열번호 2의 아미노산 잔기 134-285의 요오드화된 형태 1mg/ml 이상, 10.0mM 구연산나트륨, 140.0mM 염화나트륨, 8.7mM HEPES, 4%(w/v) 아스코르브산나트륨, 3.3%(w/v) 젠트란-40을 포함한다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 조성물은 서열번호 2의 아미노산 잔기 134-285의 요오드화된 형태 2mg/ml 이상, 10.0mM 구연산나트륨, 140.0mM 염화나트륨, 8.7mM HEPES, 4%(w/v) 아스코르브산나트륨, 3.3%(w/v) 젠트란-40을 포함한다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 조성물은 서열번호 2의 아미노산 잔기 134-285의 요오드화된 형태 3mg/ml 이상, 10.0mM 구연산나트륨, 140.0mM 염화나트륨, 8.7mM HEPES, 4%(w/v) 아스코르브산나트륨, 3.3%(w/v) 젠트란-40을 포함한다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 조성물은 서열번호 2의 아미노산 잔기 134-285의 요오드화된 형태 4mg/ml 이상, 10.0mM 구연산나트륨, 140.0mM 염화나트륨, 8.7mM HEPES, 4%(w/v) 아스코르브산나트륨, 3.3%(w/v) 젠트란-40을 포함한다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 조성물은 서열번호 2의 아미노산 잔기 134-285의 요오드화된 형태 4.6mg/ml 이상, 10.0mM 구연산나트륨, 140.0mM 염화나트륨, 8.7mM HEPES, 4%(w/v) 아스코르브산나트륨, 3.3%(w/v) 젠트란-40을 포함한다.

[0453] 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 조성물은 서열번호 2의 아미노산 잔기 134-285의 요오드화된 형태 약 0.1mg/ml 내지 20mg/ml 사이, 10.0mM 구연산나트륨, 140.0mM 염화나트륨, 8.7mM HEPES, 4%(w/v) 아스코르브산나트륨, 3.3%(w/v) 젠트란-40을 포함한다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 조성물은 서열번호 2의 아미노산 잔기 134-285의 요오드화된 형태 1mg/ml 내지 10mg/ml 사이, 10.0mM 구연산나트륨, 140.0mM 염화나트륨, 8.7mM HEPES, 4%(w/v) 아스코르브산나트륨, 3.3%(w/v) 젠트란-40을 포함한다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 조성물은 서열번호 2의 아미노산 잔기 134-285의 요오드화된 형태 2mg/ml 내지 8mg/ml 사이, 10.0mM 구연산나트륨, 140.0mM 염화나트륨, 8.7mM HEPES, 4%(w/v) 아스코르브산나트륨, 3.3%(w/v) 젠트란-40을 포함한다. 구체적 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 조성물은 서열번호 2의 아미노산 잔기 134-285의 요오드화된 형태 3mg/ml 내지 6mg/ml 사이, 10.0mM 구연산나트륨, 140.0mM 염화나트륨, 8.7mM HEPES, 4%(w/v) 아스코르브산나트륨, 3.3%(w/v) 젠트란-40을 포함한다.

[0454] 바람직한 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 조성물은 항-뉴트로킨0알파 항체를 포함한다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 조성물은 뉴트로킨-알파에 특이적으로 결합하는 항체를 포함한다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 조성물은 길항작용성 항-뉴트로킨-알파 항체를 포함한다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 조성물은 뉴트로킨-알파에 특이적으로 결합하고 뉴트로킨-알파 생물학적 활성을 중화시키는 항체를 포함한다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 조성물은 적어도 서열번호 2의 아미노산 134 내지 285를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 암호화된, 세포 배양물로부터 정제된 재조합 뉴트로킨-알파 단백질에 결합하는 항-뉴트로킨-알파 항체를 포함한다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 조성물은 적어도 서열번호 2의 아미노산 134 내지 285를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 암호화된, 세포 배양물로부터 정제된 재조합 뉴트로킨-알파 단백질에 결합하는, 뉴트로킨-알파에 특이적으로 결합하는 항체를 포함한다.

[0455] 면역조절제를 함유하는 약제학적 조성물은 경구, 직장, 비경구, 피하, 수조내, 질내, 복강내, 국소적으로(산제, 연고, 드립제 또는 경피 패치 등으로), 협측 또는 경구 또는 경비 스프레이(예컨대, 증기 또는 분말의 흡입을 통해)로서 투여될 수 있다.

[0456] 본 명세서에 사용된 "비경구"란 용어는 정맥내, 근육내, 복강내, 흉골내, 피하 및 관절내 주사 및 주입을 포함하는 투여 방식을 의미한다.

- [0457] 바람직한 양태에서, 면역조절제를 함유하는 조성물은 피하 투여된다.
- [0458] 다른 바람직한 양태에서, 면역조절제를 함유하는 조성물은 정맥내 투여된다.
- [0459] 또한, 면역조절제를 함유하는 조성물은 지속 방출 시스템으로 투여될 수도 있다. 지속 방출 조성물의 적당한 예에는 적당한 중합체 물질(예컨대, 필름이나 마이크로캡슐과 같은 성형 물품 형태의 반투과성 중합체 매트릭스), 적당한 소수성 물질(예컨대, 허용성 오일 중의 에멀전으로서) 또는 이온 교환 수지 및 난용성 유도체(예컨대, 난용성 염)가 포함된다.
- [0460] 지속 방출 매트릭스에는 폴리락타이드(미국 특허 3,773,919, EP 58,481), L-글루탐산과 감마-에틸-L-글루타메이트의 공중합체(Sidman, U. et al., Biopolymers 22: 547-556(1983)), 폴리(2-하이드록시에틸 메타크릴레이트)(R.Langer et al., J.Biomed.Mater.Res. 15: 167-277(1981), 및 R.Langer, Chem.Tech. 12: 98-105(1982)), 에틸렌 비닐 아세테이트(R.Langer et al., 상기 동문헌 참조) 또는 폴리-D-(-)-3-하이드록시부티르산(EP 133,988)이 포함된다.
- [0461] 구체적 양태에서, 면역조절제를 함유하는 조성물은 생체분해성 중합성 약물 전달 시스템(예컨대, 전문이 참고인 용되는, 미국 특허 4,938,763; 5,278,201; 5,278,202; 5,324,519; 5,340,849; 및 5,487,897, 및 국제공개번호 WO 01/35929, WO 00/24374 및 WO 00/06117에 기술되어 있다)으로 조제된다. 구체적 양태에서, 면역조절제를 함유하는 조성물은 ATRIGEL Biodegradable System(Atrix Laboratories, Inc.(콜로라도 포트 콜린스 소재))를 사용하여 조제된다. 다른 구체적 양태에서, 면역조절제를 함유하는 조성물은 ProLease 지속 방출 시스템(Alkermes, Inc.(매사추세츠 캠브리지 소재))로부터 이용할 수 있는 지속 방출 시스템을 사용하여 조제한다.
- [0462] 약제학적 제형에 사용될 수 있는 생체분해성 중합체의 예에는 폴리락타이드, 폴리글리콜라이드, 폴리카프로락톤, 폴리안하이드라이드, 폴리아미드, 폴리우레탄, 폴리에스테르아미드, 폴리오르토에스테르, 폴리디옥사논, 폴리아세탈, 폴리케탈, 폴리카보네이트, 폴리오르토카보네이트, 폴리포스파젠, 폴리하이드록시부티레이트, 폴리하이드록시발러레이트, 폴리알킬렌 옥살레이트, 폴리알킬렌 석시네이트, 폴리(말산), 폴리(아미노산), 폴리(메틸 비닐 에테르), 폴리(말레익 안하이드라이드), 폴리비닐피롤리돈, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리하이드록시셀룰로스, 키틴, 키토산 및 이러한 물질들의 공중합체, 삼원공중합체 또는 배합물 또는 혼합물이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 바람직한 중합체는 결정도가 적고 소수성이 더 큰 것이다. 이러한 중합체 및 공중합체는 생체화합성 용매에, 수소 결합도도 높은 고결정성 중합체(예, 폴리글리콜라이드 및 키틴)보다 가용성이 크다. 필요한 가용성 파라미터를 보유하는 바람직한 물질은 가용성을 높이기 위해 무정형 영역이 더욱 큰, 폴리락타이드, 폴리카프로락톤 및 이들과 글리콜라이드의 공중합체이다. 바람직한 구체적 양태에서, 면역조절제를 함유하는 조성물의 조제에 사용될 수 있는 생체분해성 중합체는 폴리(락타이드-코-글리콜라이드)이다. 필요한 약물 방출 프로필을 획득하기 위하여, 분자량, 소수성 및 락타이드/글리콜라이드 비와 같은 중합체 성질을 변형시킬 수 있다(예컨대, Ravivarapu et al., Journal of Pharmaceutical Sciences 89: 732-741(2000) 참조, 전문이 참고인용됨).
- [0463] 또한, 생체분해성 중합체의 용매는 비독성, 수산화성 및 그렇지 않다면 생체화합성이어야 하는 것이 바람직하다. 이러한 용매의 예에는 N-메틸-2-피롤리돈, 2-피롤리돈, C2 내지 C6 알칸올, C1 내지 C15 알콜, 디올, 트리올 및 테트라올, 예컨대 에탄올, 글리세린 프로필렌 글리콜, 부탄올; C3 내지 C15 알킬 케톤, 예컨대 아세톤, 디에틸 케톤 및 메틸 에틸 케톤; C3 내지 C15 에스테르, 예컨대 메틸 아세테이트, 에틸 아세테이트, 에틸 락테이트; 알킬 케톤, 예컨대 메틸 에틸 케톤, C1 내지 C15 아미드, 예컨대 디메틸포름아미드, 디메틸아세트아미드 및 카프로락탐; C3 내지 C20 에테르, 예컨대 테트라하이드로푸란 또는 솔케탈; 트윈스, 트리아세틴, 프로필렌 카보네이트, 데실메틸설폭사이드, 디메틸 설폭사이드, 올레산, 1-도데실아자사이클로헥탄-2-온이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 다른 바람직한 용매는 벤질 알콜, 벤질 벤조에이트, 디프로필렌 글리콜, 트리부티린, 에틸 올레이트, 글리세린, 글리코푸랄, 이소프로필 미리스테이트, 이소프로필 팔미테이트, 올레산, 폴리에틸렌 글리콜, 프로필렌 카보네이트 및 트리에틸 시트레이트이다. 용해능과 상용성으로 인해 가장 바람직한 용매는 N-메틸 2-피롤리돈, 2-피롤리돈, 디메틸 설폭사이드, 트리아세틴 및 프로필렌 카보네이트이다.
- [0464] 또한, 면역조절제 및 생체분해성 중합체를 함유하는 제형 조성물은 추가로 방출 속도 조절제 및/또는 소공형성제를 포함할 수 있다. 방출 속도 조절제의 예에는 지방산, 트리글리세라이드, 다른 유사 소수성 화합물, 유기 용매, 가소화 화합물 및 친수성 화합물이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 적당한 방출 속도 조절제에는 예컨대 모노-, 디- 및 트리카르복시산, 예컨대 2-에톡시에틸 아세테이트, 메틸 아세테이트, 에틸 아세테이트, 디에틸 프탈레이트, 디메틸 프탈레이트, 디부틸 프탈레이트, 디메틸 아디페이트, 디메틸 석시네이트, 디메틸 옥살레이트, 디메틸 시트레이트, 트리에틸 시트레이트, 아세틸 트리부틸 시트레이트, 아세틸 트리에틸 시트레이트,

글리세롤 트리아세테이트, 디(n-부틸) 세베케이트 등; 폴리하이드록시 알콜, 예컨대 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린, 소르비톨 등; 지방산; 글리세롤의 트리에스테르, 예컨대 트리글리세라이드, 에폭시화된 대두유 및 다른 에폭시화된 식물유; 스테롤, 예컨대 콜레스테롤; 알콜, 예컨대 C₆ 내지 C₁₂ 알칸올, 2-에폭시에탄올 등이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 방출 속도 조절제는 단독으로 또는 다른 제제와 함께 사용될 수 있다. 방출 속도 조절제의 적당한 배합물에는 글리세린/프로필렌 글리콜, 소르비톨/글리세린, 에틸렌 옥사이드/프로필렌 옥사이드, 부틸렌 글리콜/아디프산 등이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 바람직한 방출 속도 조절제에는 디메틸 시트레이트, 트리에틸 시트레이트, 에틸 헵타노에이트, 글리세린 및 헥산디올이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 중합체 조성물에 사용될 수 있는 적당한 소공형성제에는 슈크로스 및 텍스트로스와 같은 당, 염화나트륨 및 탄산나트륨과 같은 염, 하이드록실프로필셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스, 폴리에틸렌 글리콜 및 폴리비닐피롤리돈과 같은 중합체가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 일정한 소공 크기를 제공하는, 염이나 당과 같은 고체 결정이 바람직하다.

- [0465] 구체적 양태에서, 면역조절제를 함유하는 조성물은 BEMATM BioErodible Mucoadhesive System, MCATM Mucocutaneous Absorption System, SMPTM Solvent MicroParticle System, 또는 BCPTM Biocompatible Polymer System(Atrix Laboratories, Inc.; 콜로라도 포트 콜린스 소재)을 사용하여 조제된다.
- [0466] 지속 방출 조성물은 또한 리포솜에 포획된 조성물을 포함한다(일반적으로, Langer, Science 249:1527-1533 (1990); Treat et al., in Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, pp. 317 -327 and 353-365 (1989) 참조). 리포솜은 공지된 방법으로 제조할 수 있다: DE 3,218,121; Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 82:3688-3692 (1985); Hwang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 77:4030-4034 (1980); EP 52,322; EP 36,676; EP 88,046; EP 143,949; EP 142,641; 일본특허출원 83-118008; 미국특허번호 4,485,045 및 4,544,545; 및 EP 102,324. 통상적으로, 리포솜은 지질 함량이 약 30mol% 콜레스테롤보다 많고 최적의 면역조절 요법을 위해 선택 비율이 조정되는, 작은(약 200 내지 800옹스트롬) 단층형이다.
- [0467] 다른 양태에서, 지속 방출 조성물은 당업계에 공지된 결정 제형을 포함한다.
- [0468] 또 다른 양태에서, 면역조절제를 함유하는 조성물은 펌프에 의해 전달된다(Langer, 상기 동문헌 참조; Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201 (1987); Buchwald et al., Surgery 88:507 (1980); Saudek et al., N. Engl. J. Med. 321:574 (1989) 참조).
- [0469] 다른 조절 방출 시스템은 Langer(Science 249: 1527-1533(1990))의 논문에 논의되어 있다.
- [0470] 비경구 투여용으로, 일 양태에서 면역조절제는 일반적으로 원하는 정도의 순도와 단위 투약 주사가능 형태(용액, 현탁액 또는 에멀전)인 면역조절제와 약제학적으로 허용되는 담체, 즉 사용되는 투약량 및 농도에서 수용체에게 비독성이며 제형의 다른 성분과 상용성인 담체와 혼합하여 조제한다. 예를 들어, 활성 성분이 면역조절성 단백질일 때, 제형은 산화제 및 기타 폴리펩타이드에 유해한 것으로 알려진 화합물을 포함하지 않는 것이 바람직하다.
- [0471] 구체적 양태에서, 약제학적 화합물 또는 조성물의 투여는 치료를 요하는 부위에 실시하는 것이 바람직하다. 따라서, 이는 수술 동안의 국부 주입, 국소 적용, 예컨대 수술 후 상처 드레싱과 함께, 주입에 의해, 카테터를 이용하여, 좌약을 이용하여 또는 임플란트를 이용하여 달성할 수 있으며, 여기서 임플란트는 시알라스틱 막과 같은 막 또는 섬유를 비롯한 다공성, 비다공성 또는 젤라틴성 물질인 것이다. 본 발명의 단백질, 예컨대 항체를 투여할 때에는 이 단백질이 흡수되지 않는 물질을 사용해야 한다.
- [0472] 다른 양태에서, 면역조절제는 소포, 특히 리포솜을 통해 전달될 수 있다(Langer, Science 249:1527-1533 (1990); Treat et al., in Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, pp. 353- 365 (1989); Lopez-Berestein, 상기 동문헌 참조, pp. 317-327; 일반적으로 동문헌 참조).
- [0473] 또 다른 양태에서, 면역조절제는 조절 방출 시스템에서 전달될 수 있다. 일 양태에서, 펌프가 사용될 수 있다 [Langer, 상기 동문헌 참조; Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201 (1987); Buchwald et al., Surgery 88:507 (1980); Saudek et al., N. Engl. J. Med. 321:574 (1989) 참조]. 다른 양태에서, 중합체 물질이 사용될 수 있다(Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC Press, Boca Raton, Florida (1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984); Ranger and Peppas, J., Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61

(1983) 참조; 또한 Levy et al., Science 228:190 (1985); During et al., Ann. Neurol. 25:351 (1989); Howard et al., J.Neurosurg. 71:105 (1989) 참조). 또 다른 양태에서, 조절 방출 시스템은 치료 표적 가까이, 즉 뇌에 배치될 수 있고, 결과적으로 전신 용량의 일부만이 필요할 수 있다(예컨대, Goodson, in Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp. 115-138 (1984) 참조).

[0474] 다른 조절 방출 시스템은 Langer(Science 249:1527-1533 (1990))의 논문에 논의되어 있다.

[0475] 본 발명의 화합물이 단백질을 암호화하는 핵산인 구체적 양태에서, 핵산은 이를 적당한 핵산 발현 벡터의 일부로서 작제하고, 이 작제물을 투여하여 세포내 성분이 되게 함으로써, 예컨대 레트로바이러스 벡터를 이용하여 (미국 특허 4,980,286 참조) 또는 직접 주입에 의해, 또는 마이크로입자 충돌을 이용하여(예컨대, 유전자총; Biolistic, Dupont), 또는 지질 또는 세포 표면 수용체 또는 형질감염제를 코팅하여, 또는 핵으로 유입되는 것으로 알려진 호메오박스 유사 펩타이드(Joliot et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:1864-1868 (1991) 참조)에 결합시켜 투여하는 방법 등으로 생체내 투여되어 그로부터 암호화된 단백질의 발현이 촉진될 수 있다. 또는, 핵산은 상동성 재조합에 의해 세포내 도입되고 발현을 위해 숙주 세포 DNA 내에 혼입될 수 있다.

[0476] 또한, 본 발명은 약제학적 조성물을 제공한다. 이러한 조성물은 치료학적 유효량의 화합물과 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 구체적 양태에서, "약제학적으로 허용되는"이란 용어는 동물, 특히 사람용으로 연방 정부 또는 주 정부의 규제청의 승인을 받거나 또는 미국 약전 또는 다른 널리 인정을 받은 약전에 등재된 것을 의미한다. "담체"란 용어는 치료제와 함께 투여되는 희석제, 보조제, 부형제 또는 매개체를 의미한다. 이러한 약제학적 담체는 물 및 오일과 같은 무균 액체, 예컨대 페트롤륨, 동물, 식물 또는 합성 기원인 것, 구체적으로 땅콩유, 대두유, 광유, 참깨유 등이 있다. 물은 약제학적 조성물이 정맥내로 투여될 때 바람직한 담체이다. 식염수 용액 및 텍스트로스 및 글리세롤 수용액도 액체 담체로서, 특히 주사용 용액의 담체로서 이용될 수 있다. 적당한 약제학적 부형제에는 전분, 글루코스, 락토스, 슈크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 초크, 실리카겔, 소듐 스테아레이트, 글리세롤 모노스테아레이트, 탈크, 염화나트륨, 탈지분유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등이 있다. 조성물은 필요하다면, 추가로 소량의 흡습제, 유화제 또는 pH 완충제를 함유할 수도 있다. 이러한 조성물은 용액, 현탁액, 에멀전, 정제, 환제, 캡슐, 분말, 지속 방출 제형 등의 형태일 수 있다. 조성물은 트리글리세라이드와 같은 통상적인 결합제 및 담체에 의해 좌약으로서 조제될 수도 있다. 경구 제형은 의약 등급의 만니톨, 락토스, 전분, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 사카린, 셀룰로스, 탄산마그네슘 등의 표준 담체를 포함할 수 있다. 적당한 약제학적 담체의 예는 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences", E.W. Martin]에 기술되어 있다. 이러한 조성물은 치료학적 유효량의 화합물을, 바람직하게는 정제된 형태로서, 환자에게 적당한 투여 형태를 제공하기에 적당한 양의 담체와 함께 함유할 것이다. 제형은 투여 방식에 적합해야 한다.

[0477] 바람직한 양태에서, 조성물은 사람에게 정맥내 투여하기에 적당한 약제학적 조성물로서 통상적인 절차에 따라 조제된다. 일반적으로, 정맥내 투여용 조성물은 멸균 등장성 수성 완충액 중의 용액이다. 필요한 경우, 조성물은 추가로 용해제 및 주사 부위의 통증 완화를 위한 국부 마취제, 예컨대 리그노카인을 포함할 수도 있다. 일반적으로, 이러한 성분들은 별도로 공급되거나 또는 활성제의 함량이 표시된 앰플 또는 사세트(sachett)와 같은 밀봉 용기에서 단위 투약 형태, 예컨대 무수 동결건조 분말 또는 무수 농축물에 함께 혼합되어 공급된다. 조성물이 주입으로 투여되어야만 하는 경우, 조성물은 멸균 의약 등급의 물 또는 식염수를 함유한 주입병에 조제된다. 조성물이 주입에 의해 투여될 때, 투여 전에 성분들이 혼합될 수 있도록 주입용 멸균수 또는 식염수 앰플이 제공될 수 있다.

[0478] 면역조절제는 중성 또는 염 형태로 조제될 수 있다. 약제학적으로 허용되는 염에는 염산, 인산, 옥살산, 타르타르산 등에서 유래된 것과 같은 음이온으로 형성된 염, 및 나트륨, 칼륨, 암모늄, 칼슘, 수산화제2철, 이소프로필아민, 트리에틸아민, 2-에틸아미노 에탄올, 히스티딘, 프로카인 등에서 유래된 것과 같은 양이온으로 형성된 염이 있다.

[0479] 본 명세서에 기술된 본 발명의 방법에 효과적인 면역조절제의 양은 표준 임상 기술로 측정할 수 있다. 또한, 경우에 따라 시험관내 분석을 이용하여 최적 투약 범위를 확인할 수도 있다. 제형에 이용되어야 하는 정확한 용량은 또한 투여 경로, 질환 또는 장애의 중증도에 따라 달라질 것이며, 각 환자의 상황과 의사의 판단에 따라 결정되어야 한다. 유효 용량은 시험관내 또는 동물 모델 시험 시스템에서 유래된 용량 반응곡선 그래프에 의거하여 추정될 수 있다.

[0480] 항체의 경우에, 환자에게 투여되는 투약량은 통상적으로 환자의 체중의 0.1mg/kg 내지 100mg/kg이다. 바람직하게는, 환자에게 투여되는 투약량은 환자의 체중의 0.1mg/kg 내지 20mg/kg이고, 보다 바람직하게는 환자의 체중

의 1mg/kg 내지 10mg/kg이다. 바람직한 양태에서, 1, 4, 10 또는 20mg/kg의 투약량은 환자에게 정맥내로 투여된다. 일반적으로, 사람 항체는, 외래 폴리펩타이드에 대한 면역 반응으로 인하여, 다른 종으로부터의 항체보다 사람 체내에서 반감기가 더 길다. 따라서, 사람 항체를 더 적은 투약량으로, 덜 자주 투여하는 것이 종종 가능하다. 또한, 본 발명의 항체의 투약량 및 빈도는 예를 들어 지질화와 같은 변형에 의해 항체의 섭취 및 조직 침투 (예컨대, 뇌 속으로)를 증가시킴으로써 감소될 수 있다.

[0481] 일반적인 제안으로서, 비경구 투여되는 폴리펩타이드의 용량당 총 약제학적 유효량은, 앞에서 언급한 바와 같이 치료 재량이지만, 환자의 체중당 약 $1\mu\text{g/kg/일}$ 내지 10mg/kg/일 범위일 것이다. 더 바람직하게는, 이 용량은 0.01mg/kg/일 이상이며, 가장 바람직하게는 사람의 경우 약 0.01 내지 1mg/kg/일 사이이다.

[0482] 다른 양태에서, 폴리펩타이드는 사람의 경우 0.0001 내지 0.045mg/kg/일 사이의 용량, 0.0045 내지 0.045mg/kg/일 사이의 용량, 더 바람직하게는 약 $45\mu\text{g/kg/일}$ 의 용량으로, 마우스의 경우 약 3mg/kg/일 의 용량으로 투여된다.

[0483] 연속 투여되는 경우, 폴리펩타이드는 일반적으로 약 $1\mu\text{g/kg/hr}$ 내지 약 $50\mu\text{g/kg/hr}$ 의 용량 속도로, 하루에 1 내지 4회 주입으로, 또는 연속 피하 주입으로(예컨대, 미니펌프를 이용하여) 투여한다. 정맥내 백 용액도 이용될 수 있다.

[0484] 변화를 관찰하는데 필요한 치료 기간 및 치료 후에 반응이 일어나기까지의 시간 간격은 원하는 효과에 따라 달라지는 것으로 나타난다.

[0485] 면역조절제를 함유하는 조성물은 연속 주입, 1일당 다회 분할 주입(예컨대, 1일 3회 이상, 또는 1일 2회), 1일 1회 주입, 또는 간헐적 분할 주입(예컨대 1일 2회, 1일 1회, 2일 1회, 1주 2회, 매주, 2주, 1개월, 2개월 및 4개월마다)으로서 투여될 수 있다. 연속 제공되는 경우, 폴리펩타이드는 통상 1회 1 내지 4회 주입으로 또는 연속 피하 주입(예컨대 미니펌프 이용)으로서, 약 0.001 내지 $10\mu\text{g/kg/hr}$ 내지 약 $50\mu\text{g/kg/hr}$ 의 용량 속도로 투여된다.

[0486] 투여될 면역조절제를 함유하는 조성물의 유효 투약량은 생물학적 반감기, 생체이용률 및 독성과 같은 매개변수를 다루는 당업자에게 공지된 절차를 통해 측정될 수 있다. 이러한 측정은 당업자에게는 숙련된 것이며, 특히 본 명세서에 제공된 상세한 설명에 의거하여 충분히 실시할 수 있는 것이다.

[0487] 또한, 유기체에 면역조절제의 노출은 치료적 및/또는 약리학적 유효 투여 방법의 결정에 중요한 역할을 할 수 있다. 비교적 낮은 용량의 면역조절제를 비교적 장기간 동안 반복 투여하는 것과 같은 투여 방법의 변화는, 비교적 높은 용량의 면역조절제를 비교적 단기간 동안 반복 투여하여 달성되는 것과 치료적 및/또는 약리학적으로 구별되는 효과를 나타낼 수 있다.

[0488] 프라이리히(Freireich, E.J., et al., Cancer Chemotherapy Reports 50(4): 219-44(1966))에 의해 제공된, 등가 표면적 투약량 변환 계수를 사용하면, 당업자는 주어진 실험계에서 면역조절제의 사용으로부터 수득된 데이터를, 다른 실험계에서 1회 용량당 투여될 면역조절제의 약제학적 유효량의 정확한 추정값으로 편리하게 변환시킬 수 있다. 예를 들어, 마우스에서 면역조절제를 투여하여 수득한 실험 데이터는 프라이리히 등이 제공한 변환 계수를 통해 래트, 원숭이, 개 및 사람에게 필요한 뉴트로킨-알파의 약제학적 유효량의 정확한 추정값으로 변환될 수 있다. 다음의 변환 표(표 III)는 프라이리히 등에 의해 제공된 데이터를 정리한 것이다. 표 III은 한 종에서 수득된 용량(mg/kg)을 표에 제시된 다른 종에 등가의 표면적 용량(mg/kg)으로 변환시키는데 사용되는 대략적 계수이다.

[0489] [표 III]

등가 표면적 투약량 변환 계수

		--변환 동물종--			
	마우스	래트	원숭이	개	사람
--초기 동물종--	(20g)	(150g)	(3.5kg)	(8kg)	(60kg)
마우스	1	1/2	1/4	1/6	1/12
래트	2	1	1/2	1/4	1/7
원숭이	4	2	1	3/5	1/3
개	6	4	5/3	1	1/2
사람	12	7	3	2	1

[0490]

- [0491] 따라서, 예를 들어, 표 III에 제시된 변환 계수를 사용하면 마우스의 50mg/kg 용량은 원숭이에서의 적정 용량 12.5mg/kg $[(50\text{mg/kg}) \times (1/4) = 12.5 \text{ mg/kg}]$ 으로 변환된다. 다른 예로서, 마우스에서 0.02, 0.08, 0.8, 2 및 8mg/kg의 용량은 각각 사람에서의 유효 용량 1.667 $\mu\text{g/kg}$, 6.67 $\mu\text{g/kg}$, 66.7 $\mu\text{g/kg}$, 166.7 $\mu\text{g/kg}$ 및 0.667mg/kg의 유효 용량과 동등하다.
- [0492] 특정 양태에서는 방사능표지된 형태의 뉴트로킨-알파 또는 항-뉴트로킨-알파 항체가 투여된다. 투여되는 방사능 정 투약량은 실질적으로 다양할 수 있다. 방사능표지된 뉴트로킨-알파 또는 항-뉴트로킨-알파 항체 조성물은 체중 70kg당 약 0.1 내지 약 100mCi의 용량으로 투여될 수 있다. 다른 양태에서, 방사능표지된 뉴트로킨-알파 또는 항-뉴트로킨-알파 항체 조성물은 체중 70kg당 약 0.1 내지 약 50mCi의 용량으로 투여될 수 있다. 다른 양태에서, 방사능표지된 뉴트로킨-알파 또는 항-뉴트로킨-알파 항체 조성물은 체중 70kg당 약 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 100mCi의 용량으로 투여될 수 있다.
- [0493] 방사능표지된 뉴트로킨-알파 또는 항-뉴트로킨-알파 항체 조성물은 약 0.1 내지 약 10mCi/kg(체중)의 용량으로 투여될 수 있다. 다른 양태에서, 방사능표지된 뉴트로킨-알파 또는 항-뉴트로킨-알파 항체 조성물은 약 0.25 내지 약 5mCi/kg(체중)의 용량으로 투여될 수 있다. 구체적 양태에서, 방사능표지된 뉴트로킨-알파 또는 항-뉴트로킨-알파 항체 조성물은 약 0.35, 0.70, 1.35, 1.70, 2.0, 2.5 또는 3.0mCi/kg의 용량으로 투여될 수 있다.
- [0494] 방사능표지된 뉴트로킨-알파 또는 항-뉴트로킨-알파 항체 조성물은 약 1 내지 약 50mCi/m²의 용량으로 투여될 수 있다. 다른 양태에서, 방사능표지된 뉴트로킨-알파 또는 항-뉴트로킨-알파 항체 조성물은 약 10 내지 약 30mCi/m²의 용량으로 투여될 수 있다. 구체적 양태에서, 방사능표지된 뉴트로킨-알파 또는 항-뉴트로킨-알파 항체 조성물은 약 10, 15, 20, 25 또는 30mCi/m²의 용량으로 투여될 수 있다.
- [0495] 방사능표지된 뉴트로킨-알파 또는 항-뉴트로킨-알파 항체 조성물에 뉴트로킨-알파 단백질, 뉴트로킨-알파SV 단백질, 항-뉴트로킨-알파 항체 및/또는 항-뉴트로킨-알파SV 항체의 총 농도는 또한 예컨대 약 1 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1mg/kg 범위로 다양할 수 있다. 구체적 양태에서, 방사능표지된 뉴트로킨-알파 또는 항-뉴트로킨-알파 항체 조성물에 뉴트로킨-알파 단백질, 뉴트로킨-알파SV 단백질, 항-뉴트로킨-알파 항체 및/또는 항-뉴트로킨-알파SV 항체의 총 농도는 약 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100 $\mu\text{g/kg}$ 일 수 있다.
- [0496] 예를 들어, 림프종은 방사선민감 종양인 것으로 공지되어 있다. 면역진단 영상촬영을 위해, 복합체의 추적 표지 화가 사용될 수 있으며, 보통 뉴트로킨-알파 단백질 1 내지 20mg은 약 1 내지 60mCi의 방사성동위원소로 표지화된다. 용량은 영상촬영을 위해 사용된 동위원소마다 다소 달라질 수 있으며, ^{99m}Tc의 경우에는 상기 범위의 상한 값 부근의 함량, 바람직하게는 40 내지 60mCi가 사용될 수 있고, ¹¹¹In의 경우에는 상기 범위의 하한값 부근의 함량, 바람직하게는 1 내지 20mCi가 사용될 수 있다. 영상촬영을 위해, 뉴트로킨-알파 복합체는 약 1 내지 약 30mg이 검체에게 제공될 수 있다. 방사선면역치료 목적인 경우, 뉴트로킨-알파 복합체는 투여된 전신 용량이 약 1100cGy 이하, 바람직하게는 500cGy 이하가 되기에 충분한 함량으로 검체에게 투여한다. 검체에게 투여되는 뉴트로킨-알파 단백질, 예컨대 뉴트로킨-알파 단백질, 뉴트로킨-알파 접합체 및 뉴트로킨-알파 복합체의 총 함량은 1.0 $\mu\text{g/kg}$ 내지 1.0mg/kg(환자 체중) 범위일 수 있다. 다른 양태에서, 검체에게 투여되는 뉴트로킨-알파 단백질의 총 함량은 20 $\mu\text{g/kg}$ 내지 100 $\mu\text{g/kg}$ (환자 체중) 범위일 수 있다.
- [0497] 사람의 전신에 약 500cGy를 제공하는 방사능의 양은 ¹³¹I 약 825mCi인 것으로 추정된다. 투여되는 방사능의 양은 부분적으로는 선택된 동위원소에 따라 달라진다. ⁹⁰Y 요법 시, 약 1 내지 약 200mCi의 방사능이 적당한 것으로 생각되며, 바람직한 양은 1 내지 150mCi, 가장 바람직한 양은 1 내지 100mCi(예, 60mCi)이다. 투여된 방사능의 양으로부터 조직 용량을 추정하는 바람직한 방법은 추적 용량으로 영상촬영 또는 다른 약동학적 방법을 수행하여, 예상 방사선량측정의 추정값을 획득하는 것이다. 개체에게 투여할 방사선의 약의 적당한 투약량을 측정하기 위해서는, 각 기관이 수용하는 방사선의 양을 이 기관의 최대 허용량과 비교하여 생각할 필요가 있다. 이러한 정보는 당업자에게는 잘 알려져 있다[예컨대, 전문이 참고인용되는 Emami et al., International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics 21:109-22 (1991); and Meredith, Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals 17:83-99 (2002) 참조].
- [0498] 전신에 제공되는 용량이 예컨대, 200 내지 600cGy(또는 그 이상) 범위인 "고용량" 프로토콜은 골수 대체 프로토콜의 지원을 필요로 할 수 있는데, 그 이유는 골수가 독성으로 인해 방사선량이 제한되어야 하는 조직이기 때문이다.

- [0499] 구체적 양태에서, 환자는 조성물(예컨대, 당업계에 뉴트로킨-알파 또는 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제에 특이적으로 결합하는 항체)의 복수 투여를 받는다. 복수 투여의 1군은 사이클로 지칭되기도 한다. 1 사이클은 예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 또는 그 이상의 투여를 포함할 수 있다. 모든 투여 시마다 용량은 고정되거나, 초기 약물 적재를 위해 및/또는 환자간 체중, 체표면적, 질환 활성, 질환 반응도, 약물 내성, 회복 시간, PK 매개변수 및/또는 약리학적 반응(들)의 차이를 고려하여 변동될 수 있다.
- [0500] 주어진 사이클에서 투여 사이의 시간은 고정되거나, 환자간 질환 활성, 질환 반응도, 약물 내성, 회복 시간, PK 매개변수 및/또는 약리학적 반응(들)의 차이를 고려하여 변동될 수 있다. 구체적 양태에서, 환자는 초기 적재 용량을 후속 투여에서 제공되는 양의 2배로 투여 받는다. 다른 양태에서, 투여 사이의 시간은 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7일(1주) 또는 그 이상일 수 있다. 구체적 양태에서, 투여 사이의 시간은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8주 이상일 수 있다. 환자는 또한 복수 사이클의 치료를 받을 수도 있다. 1보다 많은 사이클이 필요하다면, 치료 사이클 사이의 시간은 고정되거나, 환자간 질환 활성, 질환 반응도, 약물 내성, 회복 시간, PK 매개변수 및/또는 약리학적 반응(들)의 차이를 고려하여 변동될 수 있다. 구체적 양태에서, 사이클 사이 시간은 1, 2, 3, 4, 5, 6 주 이상일 수 있다. 구체적 양태에서, 사이클 사이 시간은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12개월 이상일 수 있다. 구체적 양태에서, 사이클 사이 시간은 1, 2, 3, 4, 5년 이상일 수 있다. 구체적 양태에서, 환자는 초회 일시 투여 후, 1회 또는 복수의 사이클 처리를 받는다.
- [0501] 일 양태에서, 초회 일시 투여는 환자에게 정맥내 투여되는 뉴트로킨-알파의 항체 길항물질을 2mg/kg 이상의 용량으로 포함한다. 일 양태에서, 초회 일시 투여는 환자에게 정맥내 투여되는 뉴트로킨-알파의 항체 길항물질을 5mg/kg 이상의 용량으로 포함한다. 일 양태에서, 초회 일시 투여는 환자에게 정맥내 투여되는 뉴트로킨-알파의 항체 길항물질을 10mg/kg 이상의 용량으로 포함한다. 일 양태에서, 초회 일시 투여는 환자에게 정맥내 투여되는 뉴트로킨-알파의 항체 길항물질을 15mg/kg 이상의 용량으로 포함한다. 일 양태에서, 초회 일시 투여는 환자에게 정맥내 투여되는 뉴트로킨-알파의 항체 길항물질을 20mg/kg 이상의 용량으로 포함한다.
- [0502] 다른 구체적 양태에서, 초회 일시 주사는 항-CD20 항체를 포함한다.
- [0503] 다른 구체적 양태에서, 초회 일시 주사는 B 세포 고갈제(depleting agent)를 포함한다.
- [0504] 또한, 본 발명은 약제학적 조성물의 1 이상의 성분이 충전된 1 이상의 용기를 포함하는 약제학적 팩 또는 키트를 제공한다. 경우에 따라, 이러한 용기(들)에는, 사람 투여용의 제조, 사용 또는 판매에 대해 정부 관리청의 승인을 나타내는, 의약 또는 생물학적 제품의 제조, 사용 또는 판매를 규제하는 상기 관리청이 규정한 형태의 고지서가 경우에 따라 부착될 수 있다.
- [0505] 면역조절제는 단독으로 또는 다른 치료제와 함께 투여될 수 있으며, 다른 투여제로는 1종 이상의 다른 면역조절제, 화학치료제, 항생제, 항바이러스제, 스테로이드성 및 비스테로이드성 소염제, 통상적인 면역치료제 및 사이토킨이 포함되지만, 이에 국한되는 것은 아니다. 배합물은 혼합물로서, 별도로지만 동시에 또는 병행하여 동시에 투여하거나, 또는 연속적으로 투여할 수 있다. 이것은 배합된 제제가 치료제 혼합물로서 함께 투여되는 제형, 및 배합된 제제가 각각이지만 동시에 투여되는, 예컨대 동일 개체에게 다른 정맥내 라인을 통해 투여되는 절차를 포함한다. "배합" 투여는 추가로 화합물 또는 제제 중 하나를 처음에 제공한 뒤, 다시 제공하는 분리 투여도 포함한다.
- [0506] 이하에서는, 다른 화합물과 함께 투여될 수 있는 면역조절제를 개시한다. 특정 경우에, 다른 화합물도 역시 면역조절제이다. 이하의 설명은 2 이상의 다른 면역조절제가 본 발명의 방법과 관련하여 각각 함께 투여될 수 있다는 것을 구체적으로 설명하기 위한 것이다. 예를 들어, 구체적으로 설명되듯이, 항-뉴트로킨-알파 항체는 본 발명의 방법과 관련하여 항-CD20 항체와 함께 사용될 수 있다.
- [0507] 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 통상적인 비특이적 면역억제제에는, 스테로이드, 사이클로스포린, 사이클로스포린 유사체, 사이클로포스파미드, 사이클로포스파미드 IV, 메틸프레드니솔론, 프레드니솔론, 아자티오프린, FK-506, 15-데옥시스페구알린, 및 반응하는 T 세포의 기능을 억제하여 작용하는 다른 면역억제제가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 다른 면역억제제에는 프레드니솔론, 메토포렉세이트, 탈리도마이드, 메톡살렌, 라파마이신, 레플루노마이드, 미조리빈(BREDININ™), 브레퀴나(brequinar), 데옥시스페구알린 및 아자스피린(SKF 105685)이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.
- [0508] 구체적 양태에서, 면역조절제는 면역억제제와 함께 투여된다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 면역억제성 제제에는 ORTHOCLONE OKT® 3 (muromonab-CD3), SANDIMUNE™, NEORAL™, SANGDYA™(사이클로스포린), PROGRAF® (FK506, 테크롤리무스), CELLCEPT®(마이코페놀레이트 모테필, 이의 활성 대사산물은 마이코페놀산이다),

IMURAN™ (아자티오프린), 글루코르티코스테로이드, 부신피질 스테로이드, 예컨대 DELTASONE™ (프레드니손) 및 HYDELTRASOL™ (프레드니솔론), FOLEX™ 및 MEXATE™(메토틱세이트), OXSORALEN-ULTRA™(메톡살렌) 및 RAPAMUNE™ (시롤리무스)가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 구체적 양태에서, 면역억제제는 기관 또는 골수 이식의 거부를 예방하는데 사용될 수 있다.

[0509] 다른 양태에서, 면역조절제는 스테로이드 요법과 함께 투여된다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 스테로이드는, 경구용 코르티코스테로이드, 프레드니손 및 메틸프레드니솔론(예, IV 메틸프레드니솔론)이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 구체적 양태에서, 면역조절제는 프레드니손과 함께 투여된다. 또 다른 구체적 양태에서, 면역조절제는 프레드니손 및 면역억제제와 함께 투여된다. 면역조절제 및 프레드니손과 함께 투여될 수 있는 면역억제제는 본 명세서에 기술된 것이며, 그 예에는 아자티오프린, 사이클로포스파미드 및 사이클로포스파미드 IV가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 다른 구체적 양태에서, 면역조절제는 메틸프레드니솔론과 함께 투여된다. 다른 구체적 양태에서, 면역조절제는 메틸프레드니솔론 및 면역억제제와 함께 투여된다. 면역조절제 및 메틸프레드니솔론과 함께 투여될 수 있는 면역억제제는 본 명세서에 기술된 것이며, 그 예에는 아자티오프린, 사이클로포스파미드 및 사이클로포스파미드 IV가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.

[0510] 바람직한 양태에서, 면역조절제는 항말라리아제와 함께 투여된다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 항말라리아제에는 하이드록시클로로퀸(예, PLAQUENIL™), 클로로퀸 및/또는 퀴나크린에 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.

[0511] 바람직한 양태에서, 면역조절제는 NSAID와 함께 투여된다.

[0512] 비배타적 양태에서, 면역조절제는 다음 약물 중 1, 2, 3, 4, 5, 10 또는 그 이상과 함께 투여된다: NRD-101(Hoechst Marion Roussel), 디클로페낙(diclofenac) (Dimethaid), 옥사프로진 칼륨(oxaprozin potassium)(Monsanto), 메카세르민(mecasermin) (Chiron), T-614 (Toyama), 페메트렉세드 이나트륨(pemetrexed disodium) (Eli Lilly), 아트렐루톤(atreleuton) (Abbott), 발데코시브(valdecocixib) (Monsanto), 엘테낙(eltenac)(Byk Gulden), 캄파스(campath), AGM-1470(Takeda), CDP-571(Celltech Chiroscience), CM-101(CarboMed), ML-3000(Merckle), CB-2431(KS Biomedix), CBF-BS2(KS Biomedix), IL-IRa 유전자 요법 (Valentis), JTE-522 (Japan Tobacco), 파클리탁셀(paclitaxel) (Angiotech), DW-166HC (Dong Wha), 다부펠론 메실레이트(darbufelone mesylate) (Warner- Lambert), 가용성 TNF 수용체 1(synergen; Amgen), IPR-6001(Institute for Pharmaceutical Research), 트로케이드(trocade) (Hof6nan-La Roche), EF-5 (Scotia Pharmaceuticals), BIIL-284 (Boehringer Ingelheim), BIIF-1149 (Boehringer Ingelheim), LeukoVax(Inflammatics), MK-663 (Merck), ST-1482 (Sigma-Tau), 및 부티소코트 프로피오네이트(butixocort propionate) (WarnerLambert).

[0513] 일 양태에서, 면역조절제는 다음 약물 중 하나 이상과 함께 투여된다: 인플릭시마브(Infliximab)(별칭, Remicade™ Centocor, Inc.), 트로케이드(Trocade) (Roche, RO- 32-3555), 레피우노마이드(Lefunomide)(별칭, Arava™, Hoechst Marion Roussel), Kineret™(IL-1 수용체 길항물질, 별칭 Anakinra, Amgen, Inc.), SCIO-469 (p38 키나제 억제제, Scios, Inc), Humira® (아다리무마브(adalimumab), Abbott Laboratories) 및/또는 ASLERA™ (프라스테론(prasterone), 테하이드로에피안트로스테론, GL701; Genelabs Technologies Inc).

[0514] 다른 양태에서, 면역조절제는 다음 약물 중 1, 2, 3, 4, 5 또는 그 이상과 함께 투여된다: 메토틱세이트, 설파살라진, 소듐 아우로티오말레이트, 아우라노핀, 사이클로스포린, 페니실라민, 아자티오프린, 항말라리아약(예, 본 명세서에 기술된 것), 사이클로포스파미드, 클로람부실, 금, ENBREL™(에타너셉트), 항TNF 항체, LJP 394(La Jolla - Pharmaceutical Company, San Diego, -California) 및 프레드니솔론.

[0515] 다른 양태에서, 면역조절제는 항말라리아제, 메토틱세이트, 항TNF 항체, ENBREL™ 및/또는 서프라살라진과 함께 투여된다. 일 양태에서, 면역조절제는 메토틱세이트와 함께 투여된다. 다른 양태에서, 면역조절제는 항TNF 항체와 함께 투여된다. 다른 양태에서, 면역조절제는 메토틱세이트 및 항TNF 항체와 함께 투여된다. 다른 양태에서, 면역조절제는 서프라살라진과 함께 투여된다. 다른 구체적 양태에서, 면역조절제는 메토틱세이트, 항TNF 항체 및 설프라살라진과 함께 투여된다. 다른 양태에서, 면역조절제는 ENBREL™과 함께 투여된다. 다른 양태에서, 면역조절제는 ENBREL™ 및 메토틱세이트와 함께 투여된다. 다른 양태에서, 면역조절제는 ENBREL™, 메토틱세이트 및 서프라살라진과 함께 투여된다. 다른 양태에서, 면역조절제는 ENBREL™ 및 서프라살라진과 함께 투여된다. 다른 양태에서, 하나 이상의 항말라리아제는 전술한 배합물 중 하나와 함께 투여된다. 구체적 양태에서, 면역조절제는 항말라리아제(예, 하이드록시클로로퀸), ENBREL™, 메토틱세이트 및 설프라살라진과 함께 투여된다. 다른 구체적 양태에서, 면역조절제는 항말라리아제(예, 하이드록시클로로퀸), 설파살라진, 항

TNF 항체 및 메토크렉세이트와 함께 투여된다.

- [0516] 또 다른 양태에서, 면역조절제는 단독으로 또는 1종 이상의 정맥내 면역글로불린 제제와 함께 투여된다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 정맥내 면역글로불린 제제에는 GAMMARTTM, IVEEGAMTM, SANDOGLOBULINTM, GAMMAGARD S/DTM 및 GAMIMUNETM이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 구체적인 양태에서, 면역조절제는 이식 치료법(예, 골수 이식)에서 정맥내 면역글로불린 제제와 함께 투여된다.
- [0517] 또 다른 양태에서, 면역조절제는 단독으로 또는 항염증제와 함께 투여된다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 항염증제에는 글루코코르티코이드 및 비스테로이드성 항염증제, 아미노아릴카르복시산 유도체, 아릴아세트산 유도체, 아릴부티르산 유도체, 아릴카르복시산, 아릴프로피온산 유도체, 피라졸, 피라졸론, 살리실산 유도체, 티아진카르복사미드, e-아세트아미도카프로산, S-아테노실메티오닌, 3-아미노-4-하이드록시부티르산, 아믹세트린, 벤다작, 벤지다민, 부콜로메, 디펜피라미드, 디타졸, 에모파존, 구아아아줄렌, 나부메톤, 니메실라이드, 오르코테인, 옥사세프롤, 파라닐린, 페리속살, 피콕심, 프로쿠아존, 프록사줄 및 테니답이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.
- [0518] 구체적인 양태에서, 면역조절제는 단독으로 또는 항CD4 항체와 함께 투여된다. 일 양태에서, 면역조절제와 항CD4 항체의 공동투여는 류마티스성 관절염 치료 시 사용될 수 있다. 일 양태에서, 면역조절제와 항CD4 항체의 공동투여는 전신홍반루푸스의 치료에 사용될 수 있다.
- [0519] 구체적인 양태에서, 면역조절제는 단독으로 또는 항IL-15 항체와 함께 투여된다. 일 양태에서, 면역조절제와 항IL-15 항체의 공동투여는 류마티스성 관절염의 치료에 사용될 수 있다. 일 양태에서, 면역조절제와 항IL-15 항체의 공동투여는 전신홍반루푸스의 치료에 사용될 수 있다.
- [0520] 구체적인 양태에서, 면역조절제는 단독으로 또는 CTLA4-Ig 및 LEA29Y와 함께 투여된다. 일 양태에서, 면역조절제와 CTLA4-Ig 및 LEA29Y의 공동투여는 류마티스성 관절염의 치료에 사용될 수 있다. 일 양태에서, 면역조절제와 CTLA4-Ig 및 LEA29Y의 공동투여는 전신홍반루푸스의 치료에 사용될 수 있다.
- [0521] 구체적인 양태에서, 면역조절제는 단독으로 또는 항IL-6 수용체 항체와 함께 투여된다. 일 양태에서, 면역조절제와 항IL-6 수용체 항체의 공동투여는 류마티스성 관절염의 치료에 사용될 수 있다. 일 양태에서, 면역조절제와 항IL-6 수용체 항체의 공동투여는 전신홍반루푸스의 치료에 사용될 수 있다.
- [0522] 구체적인 양태에서, 면역조절제는 단독으로 또는 항C-5(보체 성분) 항체와 함께 투여된다. 일 양태에서, 면역조절제와 항C-5 항체의 공동투여는 류마티스성 관절염의 치료에 사용될 수 있다. 일 양태에서, 면역조절제와 항C-5 항체의 공동투여는 전신홍반루푸스의 치료에 사용될 수 있다.
- [0523] 구체적인 양태에서, 면역조절제는 단독으로 또는 보체 연쇄반응 억제제와 함께 투여된다. 보체 연쇄반응 억제제에는 항프로퍼딘 항체(Gliatech); TP-10, 재조합 가용성 타입 I 보체 수용체(AVANT Immunotheragenetics Inc.); 펙셀리즈마브, 보체 C5 억제제(Alexion Pharmaceuticals Inc.); 및 5G1.1[보체 성분 C5의 이의 전염증성 성분으로의 절단을 방지하는 모노클로날 항체]가 포함되나, 이에 국한되는 것은 아니다. 일 양태에서, 면역조절제와 보체연쇄반응 억제제의 공동투여는 염증, 류마티스성 관절염 및/또는 전신홍반루푸스의 치료에 사용될 수 있다.
- [0524] 다른 양태에서, 면역조절제는 화학치료제와 함께 투여된다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 화학치료제에는 항생제 유도체(예, 독소루비신, 블레오마이신, 다우노루비신 및 닥티노마이신); 항에스트로겐(예, 마톡시펜); 항대사산물(예, 플루오로우라실, 5-FU, 메토크렉세이트, 플록수리딘, 인터페론 알파-2b, 글루탐산, 플리카마이신, 머캅토프린 및 6-티오구아닌); 세포독성제(예, 카무스틴, BCNU, 로무스틴, CCNU, 사이토신 아라비노사이드, 사이클로포스파미드, 에스트라무스틴, 하이드록시우레아, 프로카바진, 미토마이신, 부선판, 시스플라틴 및 빈크리스틴 설페이트); 호르몬(예, 메드록시프로게스테론, 에스트라무스틴 포스페이트 나트륨, 에티닐 에스트라디올, 에스트라이올, 메제스트롤 아세테이트, 메틸테스토스테론, 디에틸stil베스트롤 디포스페이트, 클로로트리아니센 및 테스토라톤); 질소 머스타드 유도체(예, 메팔렌, 클로람부실, 메클로레타민(질소 머스타드) 및 티오테파); 스테로이드 및 배합물(예, 베타메타손 소듐 포스페이트); 및 기타 제제(예, 디카바진, 아스파라기나제, 미토탄, 빈크리스틴 설페이트, 빈블루스틴 설페이트 및 에토포사이드)가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.
- [0525] 구체적인 양태에서, 면역조절제는 CHOP(사이클로포스파미드, 옥소루비신, 빈크리스틴 및 프레드니손)과 함께 또는 CHOP 성분 중 하나 이상과 함께 투여된다. 일 양태에서, 면역조절제는 항-CD20 항체, 예컨대 사람 모노클로날 항-CD20 항체와 함께 투여된다. 다른 양태에서, 면역조절제는 항-CD20 항체 및 CHOP와 함께 또는 항-CD20 항체

와 CHOP의 하나 이상의 성분, 구체적으로 사이클로포스파미드 및/또는 프레드니손과 함께 투여된다. 구체적 양태에서, 면역조절제는 리툭시마브와 함께 투여된다. 다른 양태에서, 면역조절제는 리툭시마브 및 CHOP와 함께, 또는 리툭시마브 및 CHOP의 하나 이상의 성분, 구체적으로 사이클로포스파미드 및/또는 프레드니손과 함께 투여된다. 구체적 양태에서, 면역조절제는 토시투모마브(항-CD20 항체, Coulter Pharmaceuticals 제품, 캘리포니아 샌프란시스코 소재)와 함께 투여된다. 또 다른 양태에서, 면역조절제는 토시투모마브 및 CHOP와 함께, 또는 토시투모마브 및 CHOP의 하나 이상의 성분, 구체적으로 사이클로포스파미드 및/또는 프레드니손과 함께 투여된다. 토시투모마브는 경우에 따라 ¹³¹I와 결합될 수 있다. 항-CD20 항체는 경우에 따라 방사선동위원소, 독소 또는 세포독성 프로드럭과 결합될 수 있다.

[0526] 다른 구체적 양태에서, 면역조절제는 ZevalinTM과 함께 투여된다. 추가 양태에서, 면역조절제는 ZevalinTM 및 CHOP와 함께, 또는 ZevalinTM 및 CHOP의 하나 이상의 성분, 구체적으로 사이클로포스파미드 및/또는 프레드니손과 함께 투여된다. ZevalinTM은 하나 이상의 방사선동위원소와 결합될 수 있다. 특히 바람직한 동위원소는 ⁹⁰Y 및 ¹¹¹In이다.

[0527] 다른 양태에서, 면역조절제는 리툭시마브(RituxanTM) 및/또는 이브리투모마브 티옥세탄(ZevalinTM, 예 (In-111) 이브리투모마브 티옥세탄 또는 (Y-90) 이브리투모마브 티옥세탄)과 함께 투여된다. 구체적 양태에서, 면역조절제는 비호지킨 림프종의 치료를 위해 리툭시마브 및/또는 이브리투모마브 티옥세탄과 함께 투여된다.

[0528] 구체적 양태에서, 면역조절제는 질환 발작 후, 예컨대 루푸스 발작 후에 항-CD20 투여가 보조되는, 만성 치료제로서 투여된다.

[0529] 다른 양태에서, 면역조절제는 이마티니브 메실레이트(Gleevec®: 4-[(4-메틸-1-피페라지닐)메틸]-N-[4-메틸-3[[4-(3-피리디닐)-2-피리미디닐]아미노]-페닐]벤자미드 메탄설포네이트)와 함께 투여된다.

[0530] 다른 양태에서, 면역조절제는 보테조미브(VelcadeTM [(1R)-3-메틸-1-[[[(2S)-1-옥소-3-페닐-2-[(피라지닐카르보닐)아미노]프로필]아미노]부틸]보론산)와 함께 투여도니다.

[0531] 다른 양태에서, 면역조절제는 알렘투주마브(Campath®)와 함께 투여된다.

[0532] 다른 양태에서, 면역조절제는 플루다라빈 포스페이트(Fludara®: 9H-퓨린-6-아민, 2-플루오로-9-(5-O-포스포노-β-D-아라비노푸라노실)(2-플루오로-아라-AMP))와 함께 투여된다.

[0533] 면역조절제는 다발성 골수종의 치료에 유용한 1 이상의 치료제와 함께 투여될 수 있으며, 다발성 골수종 치료제의 예에는 알킬화제, 안트라사이클린, 카무스틴(DTI-015, BCNU, BiCNU, Gliadel Wafer®), 사이클로포스파미드(Cytoxan®, Neosar®, CTX), 텍사메타손(Decadron®), 독소루비신(Adriamycin®, Doxil®, Rubex®), 멜팔란(L-PAM, Alkeran®, 페닐알라닌 머스타드), 프레드니손, 탈리도미드 및 빈크리스틴(Oncovorin®, Onco TCS®, VCR, Leurocristine®)이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.

[0534] 면역조절제와 함께 투여될 수 있는, 다발성 골수종의 치료에 유용한 치료제의 바람직한 배합물에는, 사이클로포스파미드 + 프레드니손, 멜팔란 + 프레드니손(MP), 빈크리스틴 + 아드리아마이신 + 텍사메타손(VAD), 빈크리스틴 + 카무스틴 + 멜팔란 + 사이클로포스파미드 + 프레드니손(VBMCP; M2 프로토콜), 및 빈크리스틴 + 멜팔란 + 사이클로포스파미드 + 프레드니손과 교대로 투여되는 빈크리스틴 + 카무스틴 + 독소루비신 + 프레드니손(VMCP/VBAP)이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.

[0535] 면역조절제는 비호지킨 림프종의 치료에 유용한 1 이상의 치료제, 예컨대 2-클로로데옥시아테노신, 아미포스틴(Ethyol®, Ethiofos®, WR-272), 백사로텐(Targretin®, Targretin gel®, Targretin oral®, LGD 1069), 블레오마이신(Blenoxane®), 부설판(Busulfex®, Myleran®), 카보플라틴(Paraplatin®, CBDCA), 카무스틴(DTI-015, BCNU, BiCNU, Gliadel Wafer®), 클로람부실(Leukeran®), 시스플라틴(Platinol®, CDDP), 클라드리빈(2-CdA, Leustatin®), 사이클로포스파미드(Cytoxan®, Neosar®, CTX), 사이타라빈(Cytosar-U®, ara-C, 사이토신 아라비노사이드, DepoCyt®), 다카바진(DTIC), 다우노루비신(Daunomycin, DaunoXome®, Daunorubicin®, Cerubidine®), 데니루킨 디프티옥스(Ontak®), 텍사메타손(Decadron®), 돌라세트론(Anzemet®), 독소라비신(Adriamycin®, Doxil®, Rubex®), 에리트로포이에틴(EPO®, Epogen®, Procrit®), 에토포사이드 포스페이트(Etopophos®), 에토포사이드(VP-16, Vepesid®), 플루다라빈(Fludara®, FAMP), 그라니세트론(Kytril®), 하이드로코르티손, 이다루비신(Idamycin®, DMDR, IDA), 이포스파미드(IFEX®), 인터페론 알파(Alfaferone®, Alpha-IF®), 인터페론 알파 2a(Intron A®), 메클로레타민(질소 머스타드, HN₂, Mustargen®), 멜팔란(L-PAM,

Alkeran®, 페닐알라닌 머스타드), Methotrexate® (MTX, Mexate®, Folex®), 메틸프레드니솔론(Solumedrol®), 미톡산트론(Novantrone®, DHAD), 온단세트론(Zofran®), 펜토스타틴(Nipent®), 2-테옥시코포르마이신), 퍼포스파미드(4-하이드로퍼옥시사이클로포스파미드, 4-HC), 프레드니손, 프로카바진(Matulane®), Rituximab (Rituxan®, 항-CD20 MAb), 티오테파(트리에틸렌티오포스파오라미드, Thioplex®), 토포테칸(Hycamtin®, SK&F- 104864, NSC-609699, Evotopin®), 빈블라스틴(Velban®, VLB), 빈크리스틴(Oncovin®, Onco TCS®, VCR, Leurocristine®) 및 빈데신(Eldisine®, Fildesin®)이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.

[0536]

면역조절제와 함께 투여될 수 있는, 비호지킨 림프종의 치료에 유용한 치료제의 바람직한 배합물에는 Adriamycin® + 블레녹산 + 빈블라스틴 + 다카바진(ABVD), 항이디오타입 요법(BsAb) + 인터페론 알파, 항이디오타입 요법(BsAb) + 클로람부실, 항이디오타입 요법(BsAb) + 인터루킨-2, BCNU (카무스틴) + 에토포사이드 + Ara-C(사이타라빈) + 멜팔렌(BEAM), 블레오마이신 + 에토포사이드 + 아드리아마이신®+ 사이클로포스파미드 + 빈크리스틴 + 프로카바진 + 프레드니손(BEACOPP), 브리오스타틴 + 빈크리스틴, 사이클로포스파미드 + BCNU(Carmustine) + VP-16 (Etoposide) (CBV), 사이클로포스파미드 + 빈크리스틴 + 프레드니손(CVP), 사이클로포스파미드 + Adriamycin (하이드록시다우노마이신) + 빈크리스틴(Oncovorin) + 프레드니손(CHOP), 사이클로포스파미드 + Novantrone® (Mitoxantrone) + 빈크리스틴(Oncovorin) + 프레드니손(CNOP), 사이클로포스파미드 + 옥소루비신 + 테니포사이드 + 프레드니손, 사이클로포스파미드 + Adriamycin® (하이드록시다우노마이신) + 빈크리스틴(Oncovorin) + 프레드니손 + 리툭시마브(CHOP + Rituximab), 사이클로포스파미드 + 독소루비신 + 테니포사이드 + 프레드니손 + 인터페론 알파, 사이타라빈 + 블레오마이신 + 빈크리스틴 + 메토크세이트 (Cytarabine), 텍사메타손 + 사이타라빈 + 시스플라틴 (DHAP), 텍사메타손 + 이포스파미드 + 시스플라틴 + 에토포사이드 (DICE), 독소루비신 + 빈블라스틴 + 메클로레타민 + 빈크리스틴 + 블레오마이신 + 에토포사이드 + 프레드니손 (Stanford V), 에토포사이드 + 빈블라스틴 + 아드리아마이신(EVA), 에토포사이드 + 메틸프레드니손 + 사이타라빈 + 시스플라틴 (ESHAP), 에토포사이드 + 프레드니손 + 이포스파미드 + 시스플라틴 (EPIC), 플루다라빈, 미톡산트론 + 텍사메타손 (FMD), 플루다라빈, 텍사메타손, 사이타라빈 (ara-C), + 시스플라틴 (Platinol®) (FIuDAp), 이포스파미드 + 시스플라틴 + 에토포사이드 (ICE), 메클로레타민 + 온코빈® (빈크리스틴) + 프로카바진 + 프레드니손 (MOPP), 메스나 + 이포스파미드 + 이다루비신 + 에토포사이드 (MIZE), 류코보린 구조와 함께 메토크세이트 + 블레오마이신 + 아드리아마이신 + 사이클로포스파미드 + 온코보린 + 텍사메타손 (m-BACOD), 프레드니손 + 메토크세이트 + 아드리아마이신 + 사이클로포스파미드 + 에토포사이드 (ProMACE), 티오테파 + 부셀판 + 사이클로포스파미드, 티오테파 + 부셀판 + 멜팔렌, 토포테칸 + 파클리탁셀, 및 빈크리스틴 (온코빈®) + 아드리아마이신® + 텍사메타손 (VAD)이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.

[0537]

면역조절제와 함께 투여될 수 있는, 비호지킨 림프종의 치료에 유용한 치료제의 다른 예에는 A007(4-4'-디하이드록시벤조페논-2,4-디니트로페닐하이드라존), AG-2034(AG-2024, AG-2032, GARFT[글리신아미드 리보뉴클레오사이드 트랜스포미라제] 억제제), 알데스류킨(IL-2, Proleukin®), 알렘투주마브(Campath®), 알리트레티노인(Panretin®, LGN-1057), 알트레타민(Hexalen®, 헥사메틸멜라민, Hexastat®), 아미노캄토테신(9-AC, 9-아미노캄토테신, NSC 603071), 항CD19/CD3 MAb (항CD19/CD3 scFv, 항NHL MAb), 항이디오타입 요법(BsAb), 아라비노실구아닌(Ara-G, GW506U78), 삼산화비소(Trisenox®, ATO), B43-제니스테인(항CD19 Ab/제니스테인 접합체), B7 항체 접합체, 베타틴(Beta-LT), BlyS 길항물질, 브리오스타틴-1 (Bryostatins®, BMY-45618, NSC-339555), CHML(세포친화성 비균질 분자 지질), 클로파라빈(클로로-플루오로-araA), 다클리주마브(Zenapax®), 텡시팩타이드(FR901228, FK228), 돌라스타틴-10(DOLA-10, NSC-376128), 에피루비신(Ellence®, EPI, 4' 에피-독소라비신), 에프라투주마브(Lymphocide®, 사람화된 항CD22, HAT), Fly3/flk2 리간드(Mobista®), G3139(Genasense®, GentaAnticodex®, Bcl-2 안티센스), Hu1D10(항HLA-DR MAb, SMART 1D10), HumaLYM(항-CD20 MAb), 이브리투모마브 티옥세탄(Zevalin®), 인터페론 감마(감마-인터페론, Gamma 100®, Gamma-EF), 이리노테칸(Camptosar®, CPT-11, Topotecan®, CoptoCPT-1), ISIS-2053, ISIS-3521 (PKC-알파 안티센스), Lmb-2 면역독소(항CD25 재조합 면역독소, 항-Tac(Fv)-PE38), Leuvectorin® (사이토펙틴 + IL-2 유전자, IL-2 유전자 요법), Lym-1 (131-LLYM-1), 림프종 백신(Genitope), 넬라라빈(화학물 506, U78), 뉴진 화학물(Oncomyc-NG®, Resten-NG®, myc 안티센스), NovoMAb-G2 scFv(NovoMAb-G2 IgM), O6-벤질구아닌(BG, Procept®), 옥살리플라틴(Eloxatine®, Eloxatin®), 파클리탁셀 (Paxene®, Taxol®), 파클리탁셀-DHA (Taxoprexin®), 펠테신(BCX-34, PNP 억제제), 레베카마이신과 레베카마이신 유사체, SCH-66336, 소부족산(MST-16, Perazolin®), SU5416 (Semaxanib®, VEGF 억제제), TER-286, 탈리도마이드, TNP-470(AGM-1470), 토시투모마브(Bexxar®), 발스포다(PSC 833), 박시드(B-세포 림프종 DNA 백신), 비노렐빈(Navelbine®), WF10(대식세포 조절인자) 및 XR-9576 (XR- 9351, P-당단백질/MDR 억제제)가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.

- [0538] 면역조절제는 급성 림프성 백혈병의 치료에 유용한 1종 이상의 치료제, 예컨대 암사크린, 카보플라틴(Paraplatin®, CBDCA), 카무스틴(DTI-015, BCNU, BiCNU, Gliadel Wafer®), 콜레칼리페롤, 사이클로포스파미드(Cytoxan®, Neosar®, CTX), 사이타라빈(Cytosar-U®, ara-C, 사이토신 아라비노사이드, DepoCyt®), 다우노루비신(다우노마이신, DaunoXome®, 다우노루비신®, Cerubidine®), 텍사메타손(Decadron®), 독소루비신(아드리아마이신®, Doxil®, Rubex®), 에토포사이드(VP-16, Vepesid®), 필그라스탐(Neupogen®, G-CSF, Leukine®), 플루다라빈(Fludara®, FAMP), 이다루비신(Idamycin®, DMDR, IDA), 이포스파미드(IFEX®), 이마티니브 메실레이트(STI-571, Imatinib®, Glivec®, Gleevec®, Ab1 타이로신 키나제 억제제), 인터페론 감마(감마-인터페론, Gamma 100®, Gamma-IF), L-아스파라기나제(Elspar®, Crastinin®, Asparaginase medac®, Kidrolase®), 머캅토프린(6-머캅토프린, 6-MP), 메토티렉세이트(MTX, Mexate®, Folex®), 미톡산트론(Novantrone®, DHAD), 페가스파가제(Oncospar®), 프레드니손, 레틴산, 테니포사이드(VM-26, Vumon®), 티오구아닌(6-티오구아닌, 6-TG), 토포테칸(Hycamtin®, SK&F-104864, NSC-609699, Evotopin®), 트레티노인(레틴-A®, Atragen®, ATRA, Vesanoid®) 및 빈크리스틴(Oncovorin®, Onco TCS®, VCR, Leurocristine®)이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.
- [0539] 면역조절제와 함께 투여될 수 있는, 급성 림프성 백혈병 치료에 유용한 치료제의 다른 예에는 아미노캅토테신(9-AC, 9-아미노캅토테신, NSC 603071), 아미노프테린, 안나마이신 Annarnycin (AR-522, 안나마이신 LF, Aronex®), 아라비노실구아닌(Ara-G, GW506U78, Nelzarabine®), 삼산화비소(Trisenox®, ATO, Atrivex®), B43-제니스테인(항CD19 Ab/제니스테인 접합체), B43-PAP(항CD19 Ab/억제물 항바이러스 단백질 접합체), 코다이세핀, CS-682, 데시타빈(5-아자-2'-데옥시시티딘), 돌라스타틴-10(DOLA-10, NSC-376128), G3139(Genasense®, GentaAnticode®, Bcl-2 안티센스), 이로플루벤(MGI-114, 이보플반, 아실플벤 유사체), MS-209, 페닐부티레이트, 퀴닌, TNP-470(AGM-1470, 푸마질린), 트리메트렉세이트(Neutrexin®), 트록사시타빈(BCH-204, BCH-4556, Troxatyl®), UCN-01(7-하이드록시스타우로스포린), WHI-P 131 및 WT1 백신이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.
- [0540] 면역조절제와 함께 투여될 수 있는, 급성 림프성 백혈병의 치료에 유용한 치료제의 바람직한 배합물에는, 카보플라틴 + 미톡산트론, 카무스틴 + 사이클로포스파미드 + 에토포사이드, 사이타라빈 + 다우노루비신, 사이타라빈 + 독소루비신, 사이타라빈 + 이다루비신, 사이타라빈 + 인터페론 감마, 사이타라빈 + L-아스파라기나제, 사이타라빈 + 미톡산트론, 사이타라빈 + 플루다라빈 및 미톡산트론, 에토포사이드 + 사이타라빈, 에토포사이드 + 이포스파미드, 에토포사이드 + 미톡산트론, 이포스파미드 + 에토포사이드 + 미톡산트론, 이포스파미드 + 테니포사이드, 메토티렉세이트 + 머캅토프린, 메토티렉세이트 + 머캅토프린 + 빈크리스틴 + 프레드니손, 페닐부티레이트 + 사이타라빈, 페닐부티레이트 + 에토포사이드, 페닐부티레이트 + 토포테칸, 페닐부티레이트 + 트레티노인, 퀴닌 + 독소루비신, 퀴닌 + 미톡산트론 + 사이타라빈, 티오구아닌 + 사이타라빈 + 암사크린, 티오구아닌 + 에토포사이드 + 이다루비신, 티오구아닌 + 레틴산 + 콜레칼리페롤, 빈크리스틴 + 프레드니손, 빈크리스틴 + 프레드니손 및 L-아스파라기나제, 빈크리스틴 + 텍사메타손/프레드니손 + 아스파라기나제 + 다우노루비신/독소루비신, 빈크리스틴 + 텍사메타손/프레드니손 + 아스파라기나제 + 다우노루비신/독소루비신 + 필그라스탐, 빈크리스틴 + 텍사메타손/프레드니손 + 아스파라기나제 + 다우노루비신/독소루비신 + 사이클로포스파미드 + 메토티렉세이트, 및 빈크리스틴 + 텍사메타손/프레드니손 + 아스파라기나제 + 다우노루비신/독소루비신 + 사이클로포스파미드 + 메토티렉세이트 + 필그라스탐이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.
- [0541] 면역조절제는 만성 림프성 백혈병의 치료에 유용한 1 이상의 치료제, 예컨대, 클로람부실(Leukeran®), 클라리빈(2-CdA, Leustatin®), 사이클로포스파미드(Cytoxan®, Neosar®, CTX), 사이타라빈(Cytosar-U®, ara-C, 사이토신 아라비노사이드, DepoCyt®, 사이타라빈 옥포스페이트, ara-CMP), 독소루비신(아드리아마이신®, Doxil®, Rubex®), 플루다라빈(Fludara®, FAMP), 펜토스타틴(Nipent®, 2-데옥시코포마이신), 프레드니손 및 빈크리스틴(Oncovorin®, Onco TCS®, VCR, Leurocristine®) 등(이에 국한되지 않는다)과 함께 투여될 수 있다.
- [0542] 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 만성 림프성 백혈병의 치료에 유용한 치료제의 다른 예에는 알렘투주마브(Campath®), 아미노캅토테신(9-AC, 9-아미노캅토테신, NSC 603071), 아미노프테린, 안나마이신(AR-522, 안나마이신 LF, Aronex®), 아라비노실구아닌(Ara-G, GW506U78, Nelzarabine®, 화합물 506U78), 삼산화비소(Trisenox®, ATO, Atrivex®), 브리오스타틴-1(Bryostatine®, BMJ-45618, NSC-339555), CS-682, 돌라스타틴-10(DOLA-IO, NSC-376128), 필그라스탐(Neupogen®, G-CSF, 류킨), 플루보피리돌(NSC-649890, HMR-1275), G3139(Genasense®, GentaAnticode®, Bcl-2 안티센스), 이로플벤(MGI-114, 이보플반, 아실플벤 유사체), MS-209, 페닐부티레이트, Rituximab®(Rituxan®, 항-CD20 MAb), 탈리도마이드, 테오픈린, TNP-470(AGM-1470, 푸

마질린), UCN-01(7-하이드록시스타우로스포린) 및 WHI-P131이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.

- [0543] 면역조절제와 함께 투여될 수 있는, 만성 림프성 백혈병의 치료에 유용한 치료제의 바람직한 배합물에는 플루다라빈 + 프레드니손 및 사이클로포스파미드 + 독소루비신 + 빈크리스틴 + 프레드니손(CHOP)가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.
- [0544] 다른 양태에서, 면역조절제는 사이토킨과 함께 투여된다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 사이토킨에는 GM-CSF, G-CSF, IL2, IL3, IL4, IL5, IL6, IL7, IL10, IL12, IL13, IL15, 항CD40, CD40L, IFN-알파, IFN-베타, IFN-감마, TNF-알파, 및 TNF-베타가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 다른 양태에서, 면역조절제는 임의의 인터루킨, 예컨대 IL-1알파, IL-1베타, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21 및 IL-22(이에 국한되지 않는다)와 함께 투여될 수 있다. 바람직한 양태에서, 면역조절제는 IL4 및 IL10과 함께 투여된다. IL4 및 IL10은 모두 본 발명자들에 의해 뉴트로킨-알파 매개의 B 세포 증식을 증가시키는 것으로 확인되었다.
- [0545] 시험관내에서, IFN 감마 및 IL-10은 각각 본 발명자들에 의해 단핵구 및 대식세포에서 뉴트로킨-알파의 세포 표면 발현을 증가시키는 반면 (대식세포는 1차 단핵구를 20ng/mL의 M-CSF와 12 내지 15일 동안 배양함으로써 수득되었다), IL-4 처리는 단핵구 및 대식세포에서 뉴트로킨-알파의 세포 표면 발현을 감소시키는 것으로 확인되었다. IL-10과 함께 투여된 IL-4는 IL-10에 의해 유도된 뉴트로킨-알파의 세포 표면 발현을 완전히 억제했다. IFN-감마와 함께 투여된 IL-4는 뉴트로킨-알파의 세포 표면 발현을 증가시켰다. IFN-감마와 IL-10을 이용한 대식세포의 처리는 처리되지 않은 대식세포에 비해 배양액 내로 방출된 가용성(활성) 뉴트로킨-알파를 3배 증가시켰다.
- [0546] 다른 양태에서, 면역조절제는 케모킨과 함께 투여된다. 다른 양태에서, 면역조절제는 케모킨 베타-8, 케모킨 베타-1 및/또는 대식세포 염증성 단백질-4와 함께 투여된다. 바람직한 양태에서, 면역조절제는 케모킨 베타-8과 투여된다.
- [0547] 다른 양태에서, 면역조절제는 IL-4 길항물질과 함께 투여된다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 IL-4 길항물질에는, 가용성 IL-4 수용체 폴리펩타이드의 다량체 형태인 용해인 IL-4 수용체 폴리펩타이드; IL-4에 의해 유도된 생물학적 시그널을 형질도입함이 없이 IL-4 수용체에 결합하는 항IL-4 수용체 항체. IL-4의 하나 이상의 IL-4 수용체에 대한 결합을 차단하는 항IL-4 항체, 및 IL-4 수용체에 결합하지만 IL-4에 의해 유도되는 생물학적 시그널을 형질도입시키지 않는 IL-4의 mutein이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 본 방법에 따라 이용되는 항체는 모노클로날 항체(이의 단편, 예컨대 본 명세서에 설명된 것)인 것이 바람직하다.
- [0548] 다른 양태에서, 면역조절제는 조혈성장인자와 함께 투여된다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 조혈성장인자에는 LEUKINE™(SARGRAMOSTIM™) 및 NEUPOGEN™(FILGRASTIM™)이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.
- [0549] 다른 양태에서, 면역조절제는 섬유아세포 성장인자와 함께 투여된다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 섬유아세포 성장인자에는 FGF-1, FGF-2, FGF-3, FGF-4, FGF-5, FGF-6, FGF-7, FGF-8, FGF-9, FGF-10, FGF-11, FGF-12, FGF-13, FGF-14, 및 FGF-15가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.
- [0550] 다른 양태에서, 면역조절제는 항고혈압제와 함께 투여된다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 항고혈압제에는, 칼슘 채널 차단제, 예컨대 니페디핀(ADALAT™, PROCARDIA™); 말초 혈관확장제, 예컨대 하이드랄라진(APRESOLINE™); 메타-아드레날린 차단제, 예컨대 프로프라놀롤(INDERAL™); 알파/베타 아드레날린 차단제, 예컨대 라벨롤(NORMODYNE™, TRANDATE™); 안지오텐신 II의 생성을 억제하는 제제, 예컨대 카토프릴(CAPOTEN™); 안지오텐신 II의 활성을 직접 억제하는 제제, 예컨대 로사탄(COZAAR™); 및 티아자이드 이뇨제, 예컨대 하이드로클로로티아자이드(HYDRODIURIL™, ESIDREX™)가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.
- [0551] 면역조절제는 단독으로 또는 다른 보조제와 함께 투여될 수 있다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 보조제에는 명반, 명반 + 테옥시콜레이트(ImmunoAg), MTP-PE (Biocine Corp.), QS21 (Genentech, Inc.), BCG 및 MPL이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 구체적 양태에서, 면역조절제는 명반과 함께 투여된다. 다른 구체적 양태에서, 면역조절제는 QS-21과 함께 투여된다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 다른 보조제에는 모노포스포릴 지질 면역조절물질, AdjuVax 100a, QS-21, QS-18, CRL1005, 알루미늄 염, MF-59, 및 바이로솜성 보조제 기술이 포함되지만, 이에 국한되는 것은 아니다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 백신에는 MMR(홍역, 볼거리, 풍진), 마마, 수두, 과상풍/디프테리아, A형 간염, B형 rskdua, 헤모필러스 인플루엔자 B, 백일해, 폐렴, 인플루엔자, 라임병, 로타바이러스, 콜레라, 황열병, 일본 뇌염, 소아마비, 광견병, 장티푸스 및 백일해에 대한 백신 및/또는 PNEUMO VAX-23™이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 다른 구체적 양태에서, 면역조절제는

PNEUMOVAX-23™과 함께 사용된다.

- [0552] 일 양태에서, 면역조절제는 TNF 계열의 다른 일원과 함께 투여된다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 TNF, TNF 관련 또는 TNF 유사 분자에는, TNF-알파의 가용성 형태, 림포톡신-알파(LT-알파, 별칭 TNF-베타), LT-베타 (복합 헤테로삼량체 LT-알파2-베타에서 발견), OPGL, FasL, CD27L, CD30L, CD40L, 4-1BBL, DcR3, OX40L, TNF-감마(국제공개번호 WO 96/14328), TRAIL/AIM-I(국제공개번호 WO 97/33899), LIGHT/ABVI-II(국제공개번호 WO 97/34911), APRIL(J. Exp. Med. 188(6):1185-1190), 엔도킨-알파(국제공개번호 WO 98/07880), FASTR/TR6 (국제공개번호 WO 98/30694), 오스테오프로테그린(OPG), 및 뉴트로킨-알파(국제공개번호 WO 98/18921), OX40, 및 신경성장인자(NGF), 및 Fas, CD30, CD27, CD40 및 4-1BB의 가용성 형태, TR2 (국제공개번호 WO 96/34095), DR3 (국제공개번호 WO 97/33904), TRAIL-R1/DR4 (국제공개번호 WO 98/32856), TRAIL-R3, TR5 (국제공개번호 WO 98/30693), TR6 (국제공개번호 WO 98/30694), TRAIL-R2/TR7 (국제공개번호 WO 98/41629), TRANK, TR9 (국제공개번호 WO 98/56892), TRAIL-R4/TR10 (국제공개번호 WO 98/54202), 312C2 (국제공개번호 WO 98/06842), 및 TR12가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.
- [0553] 다른 양태에서, 면역조절제는 하나 이상의 뉴트로킨-알파 수용체(예, TACI, BCMA 및 BAFF-R)와 함께 투여된다. 바람직한 양태에서, 뉴트로킨-알파 수용체는 가용성이다. 다른 바람직한 양태에서, 뉴트로킨-알파 수용체는 IgG 분자의 Fc 영역과 같은 면역글로불린 분자의 Fc 영역에 융합된다. 예를 들어, TACI의 아미노산 1-154(GenBank 수탁번호 AAC51790), BCMA의 아미노산 1-48(GenBank 수탁번호 NP_001183 또는 BAFF-R의 아미노산 1 내지 81(GenBank 수탁번호 NP_443177)은 IgG 분자의 Fc 영역에 융합될 수 있고, 당업계에 공지되고/되거나 본 명세서에 기술된 다른 면역조절제와 함께 사용될 수 있다. 다른 양태에서, 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 BAFF-R-Fc 단백질은 IgG1 면역글로불린 분자의 Fc 영역에 융합된 서열번호 10의 아미노산 1 내지 70이다. 경우에 따라, BAFF-R의 아미노산 20(발린)은 아스파라긴으로 치환되고, BAFF-R의 아미노산 27(류신)은 프롤린으로 치환된다.
- [0554] 바람직한 양태에서, 면역조절제는 항CD40L 항체 및/또는 항CD40 항체와 함께 투여된다.
- [0555] 다른 양태에서, 면역조절제는 단독으로 또는 항혈관형성제(들)와 함께 투여된다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 항혈관형성제에는 안지오프로테아제(Entremed, Rockville, MD), 트로포닌-1(Boston Life Sciences, Boston, MA), 항침습 인자, 레틴산 및 이의 유도체, 파클리탁셀(Taxol), 수라민, 메탈로프로테이나제-1의 조직 억제제, VEGI, 플라스미노겐 액티베이터 억제제-1, 플라스미노겐 액티베이터 억제제-2, 및 더 경량의 "d 그룹" 전이금속의 다양한 형태가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.
- [0556] 경량의 "d 그룹" 전이 금속에는, 예컨대 바나듐, 몰리브덴, 텅스텐, 티탄, 니오븀 및 탄탈 종이 있다. 이러한 전이 금속 중은 전이 금속 착물을 형성할 수 있다. 전술한 전이 금속 중의 적당한 착물에는 옥소 전이 금속 착물이 있다.
- [0557] 바나듐 착물의 대표적인 예에는 옥소 바나듐 착물, 예컨대 바나데이트 및 바나딜 착물이 있다. 적당한 바나데이트 착물에는 메타바나데이트 및 오르토바나데이트 착물, 예컨대 암모늄 메타바나데이트, 소듐 메타바나데이트 및 소듐 오르토바나데이트가 있다. 적당한 바나딜 착물에는 예컨대 바나딜 아세틸아세토네이트 및 바나딜 설페이트, 예컨대 바나딜 설페이트 수화물, 예컨대 바나딜 설페이트 일수화물 및 삼수화물이 있다.
- [0558] 또한, 텅스텐 및 몰리브덴 착물의 대표적인 예에는 옥소 착물이 있다. 적당한 옥소 텅스텐 착물에는 텅스테이트 및 텅스텐 옥사이드 착물이 있다. 적당한 텅스테이트 착물에는 암모늄 텅스테이트, 칼슘 텅스테이트, 소듐 텅스테이트 이수화물 및 텅스텐산이 있다. 적당한 텅스텐 옥사이드에는 텅스텐(IV) 옥사이드 및 텅스텐(VI) 옥사이드가 있다. 적당한 옥소 몰리브덴 착물에는 몰리브데이트, 몰리브덴 옥사이드 및 몰리브데닐 착물이 있다. 적당한 몰리브데이트 착물에는 암모늄 몰리브데이트 및 이의 수화물, 소듐 몰리브데이트 및 이의 수화물, 및 포타슘 몰리브데이트 및 이의 수화물이 있다. 적당한 몰리브덴 옥사이드에는 몰리브덴(VI) 옥사이드, 몰리브덴(VI) 옥사이드, 및 몰리브덴산이 있다. 적당한 몰리브데닐 착물에는, 예컨대 몰리브데닐 아세틸아세토네이트가 있다. 다른 적당한 텅스텐 및 몰리브덴 착물에는 글리세롤, 타르타르산 및 당 등에서 유래된 하이드록소 유도체가 있다.
- [0559] 다른 다양한 항혈관형성 인자도 본 발명에 사용될 수 있다. 대표적인 예에는, 혈소판 인자 4; 프로타민 설페이트; 설페이트화된 키틴 유도체(퀸크랩 껍데기에서 제조)(Murata et al., Cancer Res. 51:22-26, 1991); 설페이트화된 다당류 펩티도글리칸 복합체(SP-PG)(이 화합물의 기능은 에스트로겐 및 타목시펜 시트레이트와 같은 스테로이드의 존재에 의해 증가될 수 있다); 스타우로스포린; 바탕질 대사의 조절물질, 예컨대 프롤린 유사체, 시스하이드록시프롤린, d,L-3,4-데하이드로프롤린, 티아프롤린, 알파,알파-디피리딜, 아미노프로피오니트릴 푸

마레이트; 4-프로필-5-(4-피리디닐)-2(3H)-옥사졸론; 메토티렉세이트; 미톡산트론; 헤파린; 인터페론; 2-마크로 글로불린-혈청; ChIMP-3(Pavloff et al., J. Bio. Chem. 267:17321-17326, 1992); 키모스타틴(Tomkinson et al., Biochem J. 286:475-480, 1992); 사이클로렉스트린 테트라데카설페이트; 에포네마이신; 캄토테신; 푸마질 린(Ingber et al., Nature 348:555-557, 1990); 골드 소듐 티오말레이트("GST"; Matsubara and Ziff, J. Clin. Invest. 79:1440-1446, 1987); 항콜라게나제-혈청; 알파2-항플라즈민(Holmes et al., J. Biol. Chem. 262(4):1659-1664, 1987); 비산트렌(National Cancer Institute); 로벤자리트 디소듐 (N-(2)-카르복시페닐-4-클로로안트로닐산 이나트륨 또는 "CCA" (Takeuchi et al., Agents Actions 36:312-316, 1992); 및 메탈로프로 테이나제 억제제, 예컨대 BB94가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.

[0560] 또한, 본 발명에서 이용될 수 있는 다른 항혈관형성 인자에는 탈리도마이드(Celgene, Warren, NJ); 혈관형성억 제성 스테로이드; AGM-1470 (H. Brem and J. Folkman J Pediatr. Surg. 28:445-51 (1993)); 인테그린 알파 v 베타 3 길항물질(C. Storgard et al., J Clin. Invest. 103:47-54 (1999)); 카르복시아미놀미다졸; 카르복시아 미도트리아졸(CAI)(National Cancer Institute, Bethesda, MD); 콘브레타스타틴 A-4(CA4P)(OXIGENE, Boston, MA); 스쿠알라민(Magainin Pharmaceuticals, Plymouth Meeting, PA); TNP-470(Tap Pharmaceuticals, Deerfield, IL); ZD-0101 AstraZeneca (London, UK); APRA (CT2584); 베네핀, 바이로스타틴-1(SC339555); CGP-41251 (PKC 412); CM101; 텍스라족산(ICRF187); DMXAA; 엔도스타틴; 플라보프리디올; 제네스테인; GTE; ImmTher; 이레사(ZD1839); 옥트레오타이드(소마토스타틴); 판레틴; 페나실라민; 포토포인트; PI-88; 프리노마스 테트(AG-3340) 펠리틴; 수라디스타(FCE26644); 타목시펜(Nolvadex); 타자로텐; 테트라티오몰리브데이트; 젤로다 (카펙시타빈); 및 5-플루오로우라실이 있다.

[0561] 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 항혈관형성제는 다양한 기전을 통해 작용할 수 있는데, 구체적으로 세포의 바탕질의 단백질 분해 억제, 내피세포-세포외 바탕질 부착 분자의 기능 억제, 성장인자와 같은 혈관형성 유도인자의 기능에 대한 길항작용, 및 증식성 내피세포에서 발현되는 인테그린 수용체의 억제 등이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 세포외 바탕질 단백질 분해를 방해하고 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 항혈관형성 억제제의 예에는 AG-3340(Agouron, La Jolla, CA), BAY-12-9566 (Bayer, West Haven, CT), BMS-275291 (Bristol Myers Squibb, Princeton, NJ), CGS-27032A (Novartis, East Hanover, NJ), 마리마스테트(Marimastat)(British Biotech, Oxford, UK), 및 메타스테트(Metastat)(Aeterna, St-Foy, Quebec)가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 내피 세포-세포외 바탕질 부착 분자의 기능을 억제하여 작용하며 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 항혈 관형성 억제제의 예에는 EMD-121974(Merck KgaA Darmstadt, Germany) 및 비탁신 (Ixsys, La Jolla, CA/Medimmune, Gaithersburg, MD)이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 혈관형성 유도체에 직접 길항작용하거나 억제하여 작용하고 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 항혈관형성제의 예에는 안지오자임(Ribozyme, Boulder, CO), 항VEGF 항체(Genentech, S. San Francisco, CA), PTK-787/ZK-225846 (Novartis, Basel, Switzerland), SU-101(Sugen, S. San Francisco, CA), SU-5416 (Sugen/Pharmacia Upjohn, Bridgewater, NJ) 및 SU-6668(Sugen)이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 다른 항혈관형성제는 혈관형성을 간접적으로 억제하는 작용을 한다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는, 혈관형성의 간접적 억제제의 예에는 IM-862(Cytran, Kirkland, WA), 인터페론-알파, IL-12(Roche, Nutley, NJ) 및 펜토산 폴리설페이트(Georgetown University, Washington, DC)가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.

[0562] 구체적 양태에서, 항혈관형성제와 병용되는 면역조절제는 본 명세서에 기술된 자가면역질환과 같은 자가면역 질환의 치료, 예방 및/또는 경감에 사용될 수 있다.

[0563] 구체적 양태에서, 항혈관형성제와 병용되는 면역조절제는 관절염의 치료, 예방 및/또는 경감에 사용될 수 있다. 더 구체적인 양태에서, 구체적 양태에서, 항혈관형성제와 병용되는 면역조절제는 류마티스성 관절염의 치료, 예방 및/또는 경감에 사용될 수 있다.

[0564] 다른 양태에서, 면역조절제는 항응고제와 함께 투여된다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 항응고제에는 헤파린, 와파린 및 아스피린이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 구체적 양태에서, 면역조절제는 헤파린 및/또는 와파린과 함께 투여된다. 다른 구체적 양태에서, 면역조절제는 와파린과 함께 투여된다. 다른 구체적 양태에서, 면역조절제는 아스피린과 함께 투여된다. 다른 구체적 양태에서, 면역조절제는 헤파린 및 아스피린과 함께 투여된다.

[0565] 다른 양태에서, 면역조절제는 항카디オリ핀 항체의 생산을 억제하는 제제와 함께 투여된다. 구체적 양태에서, 면역조절제는 인지질 결합 혈장 단백질 베타 2-당단백질 I(b2GPI)을 결합시키는 항카디オリ핀 항체의 능력을 차단 및/또는 감소시키는 제제와 함께 투여된다.

- [0566] 특정 양태에서, 면역조절제는 항레트로바이러스제, 뉴클레오사이드 역전사효소 억제제, 비뉴클레오사이드 역전사효소 억제제 및/또는 프로테아제 억제제와 함께 투여된다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 뉴클레오사이드 역전사효소 억제제에는 RETROVIR™(지도부딘/AZT), VIDEX™(디다노신/ddI), HIVID™(잘시타빈/ddC), ZERIT™(스타부딘/d4T), EPIVIR™(라미부딘/3TC) 및 COMBIVIR™(지도부딘/라미부딘)이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 비뉴클레오사이드 역전사효소 억제제에는 VIRAMUNE™(네비라핀), RESCRIPTOR™(텔라비르딘), 및 SUSTIVA™(에파비렌즈)가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 프로테아제 억제제에는 CPJXTVAN™(인디나비르), NORVIR™(리토나비르), INVIRASE™(사퀴나비르), 및 VIRACEPT™(넬피나비르)가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.
- [0567] 특정 양태에서, 면역조절제는 항레트로바이러스제, 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 역전사효소(NRTI), 비뉴클레오사이드 역전사효소 억제제(NNRTI) 및/또는 프로테아제 억제제(PI)와 함께 투여된다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 NRTI에는 RETROVIR™(지도부딘/AZT), VIDEX™(디다노신/ddI), HIVID™(잘시타빈/ddC), ZERIT™(스타부딘/d4T), EPIVIR™(라미부딘/3TC), 및 COMBIVIR™(지도부딘/라미부딘)이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 NNRTI에는 VIRAMUNE™(네비라핀), RESCRIPTOR™(텔라비르딘), 및 SUSTIVA™(에파비렌즈)가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 프로테아제 억제제에는 CRIXIVAN™(인디나비르), NORVIR™(리토나비르), INVIRASE™(사퀴나비르) 및 VIRACEPT™(넬피나비르)가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.
- [0568] 또 다른 NRTI에는 LODENOSINE™(F-ddA; 산 안정성 아테노신 NRTI; Triangle/Abbott; COVIRACIL™(엠티리시타빈/FTC; 구조적으로 라미부딘(3TC)과 관련이 있지만, 시험관내 활성이 3 내지 10배 더 크다; Triangle/Abbott); dOTC (BCH-10652, 이 역시 구조적으로 라미부딘과 관련이 있으나, 상당한 비율의 라미부딘 내성 분리물에 대하여 활성을 유지한다; Biochem Pharma); 아테포비르(항HIV 치료용으로 FDA의 승인을 받지 못함; Gilead Sciences); PREVEON®(아테포비르 디포복실, 아테포비르의 활성 프로드럭; 이의 활성 형태는 PME-pp이다); TENOFOVIR™(비스-POC PMPA, a PMPA 프로드럭; Gilead); DAPD/DXG(DAPD의 활성 대사산물; Triangle/Abbott); D-D4FC(3TC와 관련이 있고, AZT/3TC 내성 바이러스에 대한 활성이 있음); GW420867X (Glaxo Wellcome); ZIAGEN™(아바카비르/159U89; Glaxo Wellcome Inc.); CS-87(3'-아지도-2',3'-디데옥시우리딘; WO 99/66936); 및 β -L-FD4C 및 β -L-FddC의 S-아실-2-티오에틸(SATE) 보유 프로드럭 형태(WO 98/17281)가 있다.
- [0569] 또 다른 NNRTI에는 COACTINON™(에미비린/MKC-442, HEPT 그룹의 강력한 NNRTI; Triangle/Abbott); CAPRAVIRINE™(AG-1549/S-1153, K103N 돌연변이를 함유하는 바이러스에 대해 활성이 있는 차세대 NNRTI; Agouron); PNU-142721(이의 선조인 텔라비르딘보다 활성이 20 내지 50배 크고 K103N 돌연변이체에 대해 활성을 나타낸다; Pharmacia & Upjohn); DPC-961 및 DPC-963(에파비렌즈의 차세대 유도체로서, K103N 돌연변이 바이러스에 대해 활성을 나타내도록 디자인됨); GW-420867X (HBY097보다 25배 이상 활성이 크고 K103N 돌연변이체에 대해 활성을 나타낸다; Glaxo Wellcome); CALANOLIDE A(라텍스 나무 유래의 자연발생의 제제; Y181C 및 K103N 돌연변이를 함유하는 바이러스에 대해 활성을 나타낸다); 및 프로폴리스(WO 99/49830)가 있다.
- [0570] 다른 프로테아제 억제제에는 LOPINAVIR™(ABT378/r; Abbott Laboratories); BMS-232632 (아자펩타이드; Bristol-Myers Squibb); TIPRANAVIR™(PNU-140690, a 비펩타이드성 디하이드로피론; Pharmacia & Upjohn); PD-178390(비펩타이드성 디하이드로피론; Parke-Davis); BMS 232632 (아자펩타이드; Bristol-Myers Squibb); L-756,423 (인디나비르 유사체; Merck); DMP-450 (고리형 우레아 화합물; Avid & DuPont); AG-1776(프로테아제 억제제 내성 바이러스에 대해 시험관내 활성이 있는 펩티도미메틱; Agouron); VX-175/GW-433908 (암프레나비르의 포스페이트 프로드럭; Vertex & Glaxo Wellcome); CGP61755(Ciba); 및 AGENERASE™(암프레나비르; Glaxo Wellcome Inc.)가 있다.
- [0571] 또 다른 항레트로바이러스제에는 융합 억제제/gp41 결합제가 있다. 융합 억제제/gp41 결합제에는 T-20(휴지 상태에서 gp41에 결합하여, 융합생성 상태로의 형질전환을 방해하는 HIV gp41 막관통 단백질 엑토도메인의 643-678 잔기의 펩타이드; Trimeris) 및 T-1249(차세대 융합 억제제; Trimeris)가 있다.
- [0572] 또 다른 항레트로바이러스제에는 융합억제제/케모킨 수용체 길항물질이 있다. 융합억제제/케모킨 수용체 길항물질에는 CXCR4 길항물질, 예컨대 AMD 3100(비사이클람), SDF-1 및 이의 유사체, 및 ALX40 4C(양이온성 펩타이드), T22(18개 아미노산 펩타이드; Trimeris) 및 T22 유사체 T134 및 T140; CCR5 길항물질, 예컨대 RANTES(9-68), AOP-RANTES, NNY-RANTES 및 TAK-779; 및 CCR5/CXCR4 길항물질, 예컨대 NSC 651016(디스타마이신 유사체)이 있다. 또한, CCR2B, CCR3, 및 CCR6 길항물질도 있다. 케모킨 수용체 효능물질, 예컨대 RANTES, SDF-1, MIP-1 α , MEP-1 β 등도 융합을 억제할 수 있다.

- [0573] 또 다른 항레트로바이러스제에는 인테그라제 억제제가 있다. 인테그라제 억제제에는 디카페오일퀸(DFQA)산; L-치코르산(디카페오일타르타르(DCTA) 산); 퀴날리자린(QLC) 및 관련 안트라퀴논; ZINTEVIR™ (AR 177, 진정한 인테그라제 억제제이기 보다는 아마도 세포 표면에서 작용하는 올리고뉴클레오타이드; Arondex); 및 나프톨(예컨대 WO 98/50347에 개시된 것)이 있다.
- [0574] 다른 항레트로바이러스제에는 하이드록시우레아 유사 화합물, 예컨대 BCX-34 (퓨린 뉴클레오사이드 포스포릴라제 억제제; Biocryst); 리보뉴클레오타이드 리덕타제 억제제, 예컨대 DIDOX™ (Molecules for Health); 이노신 모노포스페이트 데하이드로게나제(IMPDH) 억제제, 예컨대 VX-497(Vertex); 및 마이코플산, 예컨대 셀셉트(마이코페놀레이트 모페틸; Roche)가 있다.
- [0575] 또 다른 항레트로바이러스제에는 바이러스 인테그라제 억제제, 바이러스 게놈 핵전위 억제제, 예컨대 아틸렌 비스(메틸케톤) 화합물; AOP-RANTES, NNY-RANTES, RANTES-IgG 융합 단백질, RANTES와 글리코사미노글리칸(GAG)의 복합체, 및 AMD-3100과 같은 HIV 침입 억제제; 디티안 화합물과 같은 뉴클레오캡시드 아연 핑거 억제제; HIV Tat 및 Rev의 표적; 및 ABT-378과 같은 파마코인헨서(pharmacoenhancers)가 있다.
- [0576] 다른 항레트로바이러스 치료제와 보조 치료제에는 MIP-1 α , MIP-1 β , SDF-1 α , IL-2, PROLEUKIN™ (알데스류킨/L2-7001; Chiron), IL-4, IL-8, IL-10, IL-12, 및 IL-13과 같은 사이토킨 및 림포킨; IFN- α 2a와 같은 인터페론; TNF, NFkB, GM-CSF, M-CSF, 및 IL-10의 길항물질; 면역 활성화 조절제, 예컨대 사이클로스포린 및 프레드니손; 백신, 예컨대 Remune™ (HIV Immunogen), APL 400-003 (Apollon), 재조합체 gp120 및 단편, 2가(B/E) 재조합체 엔벨로프 당단백질, rgp120CM235, MN rgp120, SF-2 rgp120, gp120/가용성 CD4 복합체, 델타 JR-FL 단백질, 불연속 gp120 C3/C4 도메인 유래의 분지형 합성 펩타이드, 융합 적격 면역원 및 Gag, Pol, Nef, 및 Tat 백신; 유전자계 요법, 예컨대 유전자 억제인자 요소(GSEs; WO 98/54366), 및 인트라킨(새로 합성된 CCR5의 표면 발현을 차단하기 위해 ER을 표적으로 하는 유전자 변형 CC 케모킨(Yang et al., PNAS 94: 11567-72 (1997); Chen et al., Nat. Med. 3:1110-16 (1997)); 항체, 예컨대 항CXCR4 항체 12G5, 항CCR5 항체 2D7, 5C7, PA8, PA9, PA10, PA11, PA12, 및 PA14, 항CD4 항체 Q4120 및 RPA-T4, 항CCR3 항체 7B11, 항gp120 항체 17b, 48d, 447-52D, 257-D, 268-D 및 50.1, 항Tat 항체, 항TNF- α 항체, 및 모노클로날 항체 33 A; 아틸 하이드로카본(AH) 수용체 효능물질 및 길항물질, 예컨대 TCDD, 3,3',4,4',5-펜타클로로비페닐, 3,3',4,4'-테트라클로로비페닐, 및 α -나프토폴라본(WO 98/30213); 및 항산화제, 예컨대 γ -L-글루타밀-L-시스테인 에틸 에스테르(γ -GCE; WO 99/56764)가 있다.
- [0577] 다른 양태에서, 면역조절제는 항기회감염제와 함께 투여될 수 있다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 항기회감염제에는 TRIMETHOPRIM-SULFAMETHOXAZOLE™, DAPSONE™, PENTAMIDINE™, ATOVAQUONE™, ISONIAZID™, RIFAMPIN™, PYRAZINAMIDE™, ETHAMBUTOL™, RIFABUTIN™, CLARITHROMYCIN™, AZITHROMYCIN™, GANCICLOVIR™, FOSCARNET™, CIDOFOVIR™, FLUCONAZOLE™, ITRACONAZOLE™, KETOCONAZOLE™, ACYCLOVIR™, FAMCICLOVIR™, PYRIMETHAMINE™, LEUCOVORIN™, NEUPOGEN™ (필그라스탐/G-CSF), 및 LEUKINE™ (사그라모스탐/GM-CSF)이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 구체적인 양태에서, 면역조절제는 TRIMETHOPRIM-SULFAMETHOXAZOLE™, DAPSONE™, PENTAMIDINE™, 및/또는 ATOVAQUONE™와 함께 임의의 조합으로 사용되어, 기회성 뉴모시스티스 카르니 폐렴 감염을 예방적 치료, 예방 및/또는 진단할 수 있다. 다른 구체적인 양태에서, 면역조절제는 ISONIAZID™, RIFAMPIN™, PYRAZINAMIDE™, 및/또는 ETHAMBUTOL™과 임의의 조합으로 사용되어, 기회성 마이코박테리움 아비움(Mycobacterium avium) 복합 감염을 예방적 치료, 예방 및/또는 진단할 수 있다. 다른 구체적인 양태에서, 면역조절제는 RIFABUTIN™, CLARITHROMYCIN™, 및/또는 AZITHROMYCIN™과 임의의 조합으로 사용되어 기회성 마이코박테리움 튜베르쿨로시스(Mycobacterium tuberculosis) 감염을 예방적 치료, 예방 및/또는 진단할 수 있다. 다른 구체적인 양태에서, 면역조절제는 GANCICLOVIR™, FOSCARNET™, 및/또는 CIDOFOVIR™과 임의의 조합으로 사용되어, 기회성 사이토메갈로바이러스 감염을 예방적 치료, 예방 및/또는 진단할 수 있다. 다른 구체적인 양태에서, 면역조절제는 FLUCONAZOLE™, ITRACONAZOLE™, 및/또는 KETOCONAZOLE™ 과 임의의 조합으로 사용되어 기회성 진균 감염을 예방적 치료, 예방 및/또는 진단할 수 있다. 다른 구체적인 양태에서, 면역조절제는 ACYCLOVIR™ 및/또는 FAMCICLOVIR™ 과 임의의 조합으로 사용되어, 기회성 단순헤르페스 바이러스 I형 및/또는 II형 감염을 예방적 치료, 예방 및/또는 진단할 수 있다. 다른 구체적인 양태에서, 면역조절제는 PYRIMETHAMINE™ 및/또는 LEUCOVORIN™과 임의의 조합으로 사용되어 기회성 톡소플라즈마 곤디(Toxoplasma gondii) 감염을 예방적 치료, 예방 및/또는 진단할 수 있다. 다른 구체적인 양태에서, 면역조절제는 LEUCOVORIN™ 및/또는 NEUPOGEN™과 임의의 조합으로 사용되어 기회성 세균 감염을 예방적 치료, 예방 및/또는 진단할 수 있다.
- [0578] 또 다른 양태에서, 면역조절제는 항바이러스제와 함께 투여된다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 항바이러스

제에는 아사이클로비르, 리바비린, 아만타딘 및 레만티딘이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.

[0579] 또 다른 양태에서, 면역조절제는 항생제와 함께 투여된다. 면역조절제와 함께 투여될 수 있는 항생제에는 아목실린, 아미노글리코사이드, 베타-락탐(글리코펩타이드), 베타-락타메이스, 클린다마이신, 클로람페니콜, 세팔로스포린, 시프로플록사신, 시프로플록사신, 에리트로마이신, 플루오로퀴놀론, 마크롤라이드, 메트로니다졸, 페니실린, 퀴놀론, 리팜핀, 스트렙토마이신, 설프아미드, 테트라사이클린, 트리메토프림, 트리메토프림-설프아미드, 및 반코마이신이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.

[0580] 또한, 면역조절제는 단독으로 또는 다른 치료 방법, 예컨대 방사선요법(이에 국한되지 않는다)과 함께 투여될 수 있다. 이러한 병용 요법은 연속적으로 및/또는 동시에 수행될 수 있다.

[0581] **키트**

[0582] 또한, 본 발명은 약제학적 조성물의 1 이상의 성분이 충전된 1 이상의 용기를 포함하는 약제학적 팩 또는 키트를 제공한다. 경우에 따라, 이러한 용기(들)에는, 사람 투여용의 제조, 사용 또는 판매에 대해 정부 관리청의 승인을 나타내는, 의약 또는 생물학적 제품의 제조, 사용 또는 판매를 규제하는 상기 관리청이 규정한 형태의 고지서가 경우에 따라 부착될 수 있다. 또한, 본 발명의 폴리펩타이드는 다른 치료제 화합물과 함께 이용될 수 있다. 구체적 양태에서, 키트는 ANA 역가가 1:80 이상이고/이거나 혈장 또는 혈청 중의 항-dsDNA 항체가 30IU 이상인 환자에 투여되는 사람용 제조, 사용 또는 판매에 대해 정부 관리청의 승인을 나타내는, 의약 또는 생물학적 제품의 제조, 사용 또는 판매를 규제하는 상기 관리청이 규정한 형태의 고지서가 경우에 따라 부착될 수 있다.

발명의 효과

[0583] 본원 발명은 자가면역 질환과 관련된 수많은 혈청학적 마커 중에서 ANA 역가 및 항-dsDNA 항체가 뉴트로킨-알파 길항제의 치료에 특히 적합한 자가면역질환 환자의 소그룹을 한정할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0584] 이하 도면은 본 발명의 양태를 설명하는 것이며, 청구의 범위에 의해 한정되는 본 발명의 범주를 제한하기 위한 것이 아니다.

도 1은 기준에서 ANA 역가가 1:80 이상 및/또는 항-dsDNA 항체 30IU/ml 이상인 환자의 52주째 SELENA SLEDAI의 평균 감소율을 도시한 것이다. P값은 t검정으로 측정했다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0585] 본 발명을 전반적으로 설명했지만, 더 손쉬운 이해를 위해 같은 내용을 실시예로서 나타낸 것이며, 이는 예시적인 것으로서, 제한적 의미로 생각되지 않아야 한다.

[0586] **실시예 1: 전신홍반루푸스(SLE) 치료를 위해 뉴트로킨-알파 단백질을 중화시키는 항체(벨리무마브)의 사용을 검사하는 임상 시험 결과 정리**

[0587] 예상되는 무작위 이중맹검 위약 대조 연구로, 뉴트로킨-알파 단백질을 중화시키고 SLE 표준 케어 요법에 첨가되는 항체인 벨리무마브를 검사했다. 선별 시 SELENA SLEDAI 스코어 4 이상 및 측정가능한 자가항체의 이력이 있는, ACR 기준(Tan et al., Arthritis Rheum. 25:1271-7, (1982); and Hochberg et al., Arthritis Rheum. 40:1725, (1997))에 따라 SLE를 보유한 449명의 검체에게 투약했다.

[0588] 시험 제제(1, 4, 10mg/kg 벨리무마브) 또는 위약은 52주 동안 0일, 14일, 28일, 그 다음 28일마다 정맥내로 투여했다. 25주 치료를 끝낸 검체에게는 추가 24주간 시험을 계속할 수 있는 선택권을 부여했다. 벨리무마브는 10mM 구연산나트륨, 1.9% 글리신, 0.5% 슈크로스, 0.01%(w/v) 폴리소르베이트 80, pH 6.5(±0.3)로 조제했다. 위약 용량을 투약 받는 검체에게는 벨리무마브 없이 제형(10mM 구연산나트륨, 1.9% 글리신, 0.5% 슈크로스, 0.01%(w/v) 폴리소르베이트 80, pH 6.5(±0.3))을 공급했다. 효능은 SELENA SLEDAI(SS), SLE 발적 지수, 의사의 전반적 평가(PGA)를 이용하여 1 내지 2개월마다 평가했다. BILAG 및 SF-36 질환 활성 스코어도 정기적으로 평가했다. 소정의 1차 효능 종점은 24주째 SS 스코어의 감소율과 SLE 발적 지수로 정의되는 52주 동안에 발적

나타나는 시기였다. 생물 마커에는 ANA, 항-dsDNA 항체(Ab), C3/C4, Ig 동종형 및 말초 B 세포 FACS가 포함되었다. B 세포는 4색 FACS로 1 내지 2개월마다 분석했다(CD19, CD20, CD27, CD69, CD38, CD138 및 CD45). 같은 방문 중에 항-dsDNA Ab를 비롯한 혈청 자가항체, Ig 동종형, 총 단백질 및 알부민 농도를 측정했다. 우도비(카이제곱), 윌콕슨 검정 또는 t 검정을 이용하여 생물 마커들의 변화를 분석했다.

[0589] 본 검사에서 검체들의 평균 연령은 42세였고; 이 검체들의 평균 SLE 존속 기간은 8.8년이였다. 이 검체들에서 질환 활성의 기준값은 비교적 높아서, SS 스코어가 8포인트 이상인 검체(평균 SS 스코어: 9.6)가 약 67%였다. 본 검사에 등록된 검체의 93%는 여성이었다. 이 검체들의 70%는 백인이었고; 24%는 미국 흑인이었으며; 3%는 아시아계; 18%는 라틴아메리카계였다(카테고리 중복). ANA 양성 이력이 있었던 검체는 98%였고, 검사 시작 시 ANA+인 검체는 71.5%였다(선별/0일째 ANA 역가 1:80 이상 및/또는 항-dsDNA Ab 30IU/ml 이상). 검사 시작 시, 항-dsDNA 역가가 30IU/ml 이상인 검체는 50% 였다. 기준선에서 사용된 SLE를 위한 가장 일반적인 병용 약물은 다음과 같다: 스테로이드(검체의 약 70%), 아미노퀴놀린(예, 항말라리아제)(70%), COX-2 억제제(28%), COX-1 억제제(26%), 아자티오프린(20%), 메토평렉세이트(16%) 및 마이코페놀레이트 모페틸(16%). 활성 검체와 위약 검체는 각각 34%와 42%가 기준선에서 임상적으로 유의적인 용량의 전신 코르티코스테로이드(프레드니손 또는 7.5mg/kg 초과 용량에 해당하는 프레드니손으로 나타냄)를 투약 받았다. 치료 그룹을 따라 기준선 특징이나 종결 속도에 큰 차이는 없었다(81% 종결).

[0590] 1차 효능 종점은 통계적 유의성에는 미치지 못했지만, SS 스코어는 ANA+ 검체에서 52주째 유의적으로 29% 정도 감소했다($p=0.0435$, 도 1 참조). SLE 발적은 24주를 기준선으로 하여 24 내지 52주 동안 벨리무마브 검체에서 감소했다(log rank $p=0.036$). 복합 수치적 BILAG 스코어(BILAG 복합 스코어는 기관계 등급을 다음과 같이 수치 스코어로 변환시켜 계산했다: A=9, B=3, C=1, D=0, E=0)에서 유의적인 차이는 ANA+ 검체에서 관찰되지 않았지만, 8개 각 기관 도메인의 스코어 분석에서 두 기관 도메인의 스코어는 증가량이 더 적었고(근골격계, $p<0.008$; 신경계, $p<0.038$), 3개 기관 도메인의 스코어는 증가량이 더 적은 경향이 52주째 벨리무마브 처리된 검체에서 관찰되었다. PGA 스코어는 16주($p=0.016$) 정도부터 52주($p<0.002$, 모두 활성 vs. 위약)까지 향상되었다. 향상은 위약 vs. 벨리무마브 처리군에서 프레드니손의 증가(7.5mg/일 초과로 증가, 약 15% vs. 약 7%)에도 불구하고 나타났다. ANA+ 검체에서, 프레드니손의 7.5mg/일 이하의 저용량에서 7.5mg/일 초과 용량으로의 증가 빈도의 유의적인 감소는 이르면 8주 정도에 관찰되었다(8 내지 12주 동안과 32주 내지 40주 동안 $p<0.05$). 효능에서 용량 반응은 관찰되지 않았는데, 모든 용량이 동일한 활성을 나타낸다는 것을 암시한다. 모든 벨리무마브 그룹 vs. 위약 그룹에서 부작용(AE), AE 중증도, 감염 또는 실험실 독성을 비롯한 안정성에 임상적으로 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. 벨리무마브 검체 중에 더 적은 수에서 흉막염이 관찰된 반면(3.3% vs. 8%, $p<0.05$), 더 많은 수에서 두드러기가 관찰되었다(4% vs. 0%, $p<0.05$). 주입 반응은 보기 어려웠고, 심각한 사례는 1건만이 보고되었다. 벨리무마브에 대한 면역원성은 한 검체에서 관찰되었다(1mg/kg).

[0591] 표 IX에서 볼 수 있듯이, 52주째 ANA+ 검체 분석 결과, BILAG 지수(3번 줄) 및 PGA(4번 줄)로 측정했을 때 위약 군에 비해 질환의 유의적인 안정성이 나타났다. 또한, 이 연구에서 치료 그룹간의 반응 속도도, SS 스코어로 측정된 전반적 질환 활성의 치수를 PGA 질환 활성 지수로 평가된 환자의 전반적 상태의 치수 및 BILAG 스케일로 측정된 특정 기관 시스템의 질환 치수와 조합한, 복합 반응 종점(1번 줄)을 사용하여 분석했다. SELENA SLEDAI 스코어의 4포인트 이상 감소, PGA 스코어의 0.3포인트 미만 증가로 정의되는 PGA 스코어의 악화 부재, 및 새로운 BILAG A 기관 영역 스코어 또는 2개의 새로운 BILAG B 기관 영역 스코어 부재로 정의되는 임의의 특정 기관계에서 악화 부재를 나타낸다면, 환자는 복합 종점에서 치료에 반응적인 것으로 채점되었다. 전술한 복합 종점을 이용한 ANA+ 검체의 분석은 벨리무마브에 대해 유의적인 반응을 나타냈다($p=0.0058$).

[0592] 또한, ANA+ 검체에서 PGA 및 SF-36 PCS(Physical Component Score)의 유의적 향상은 치료 초기에 관찰되었다. 기준선 PGA 대비 평균 변화율(%)은 ANA+ 위약 처리된 검체에 비해 벨리무마브 처리된 ANA+ 검체에서 이르면 4주 정도에 유의적인 향상($p<0.05$)을 나타냈다. 또한, 8주, 16주, 48주 및 52주에도 ANA+ 위약 처리된 검체에 비해 벨리무마브 처리된 ANA+ 검체에서 유의적으로 향상된 PGA 스코어의 평균 변화율 값을 나타냈다(8주, 16주 및 48주째 $p<0.05$; 52주째 $p<0.01$). 또한, 평균 SF-36 PCS 역시, 12주, 24주, 48주 및 52주째 ANA+ 위약 처리된 검체에 비해 벨리무마브 처리된 ANA+ 검체에서 삶의 질에 유의적 향상을 보여주었다(각 시간마다 $p<0.05$).

[0593] 본 검사 과정 중에 벨리무마브 처리된 검체에서는 CD19+ B 세포(8주 내지 52주 동안 실시된 각 측정마다 $p<0.01$), 활성화된 B 세포(CD20+/CD69+; 8주 내지 52주 동안 실시된 각 측정마다 $p<0.01$), 비감작 B 세포(CD20+/CD27-; 8주 내지 52주 동안 실시된 각 측정마다 $p<0.01$), 및 형질세포양 B 세포(CD20+/CD138+; 16주 내지 52주 동안 실시된 각 측정마다 $p<0.01$)를 비롯한 B 세포 수의 유의적 감소(기준선 대비 중간 변화율(%)로 나타냄)가 관찰되었다. 24주째 B 세포 수의 측정에서는, 벨리무마브(모두 복합 처리됨)가 위약 처리된 검체에 비

해 24주 정도에 B 세포를 유의적으로 감소시켰음이 확인되었다. 24주째, 세포 수의 유의적 감소(기준선 대비 중간 변화율(%); $p<0.0001$)는 CD19+ B 세포, 비감작 B 세포(CD20+/CD27-), 활성화된 B 세포(CD20+/CD69+), 및 형질세포양 B 세포(CD20+/CD138+)에서 관찰되었다. 벨리무마브(모든 처리 조합 시)는 52주째 B 세포수(중간값)를 유의적으로 감소시켰다. 52주째, CD20+ B 세포의 중간 변화율(%)은 모든 처리군에서 54%*였고, 이르면 8주째 유의적인 감소가 관찰되었다($p<0.0001$). 52주째, 형질세포양 B 세포(CD20+/CD138+)의 중간 변화율은 조합된 모든 처리군에서 62%*였다. 그리고, 활성화된 B 세포(CD20+/CD69+ B 세포)에서 중간 변화율은 52주째 70%*였다(* 모두 $p<0.002$). 52주째, CD19+ B 세포 및 비감작 B 세포(CD20+/CD27-)는 유의적으로 감소한 반면, 기억 세포 집단은 유지되었다. 이에 반해, 혈장 세포(CD20-/CD138+)는 52주째 벨리무마브 처리된 검체에서 기준선(2.7%) 대비 72.5% 증가한 반면, 위약/표준 케어군에서는 30.6% 증가했다($p=0.02$). 또한, 벨리무마브에 의해 유도된 B 세포수의 감소는 76주까지 계속되었다. 76주째, CD20+ B 세포의 중간 변화율은 조합된 모든 처리군에서 61%였다. 76주째, 형질세포양 B 세포(CD20+/CD138+)의 중간 변화율은 조합된 모든 처리군에서 60%였다. 그리고, 76주째 활성화된 B 세포(CD20+/CD69+ B 세포)의 중간 변화율은 조합된 모든 처리군에서 84%였다. 실험 시작 시, 항-dsDNA 역가가 30IU/ml 이상인 검체 중에서, 항-dsDNA 역가의 유의적인 감소(기준선 대비 중간 변화율로서 나타냄)는 위약 처리된 검체 대비 벨리무마브 처리된 검체에서 이르면 4주째 관찰되었다(4 내지 12주 동안 수행된 각 측정마다 $p<0.01$; 16주 내지 24주 동안 수행된 각 측정마다 $p<0.03$; 32주 내지 52주 동안 수행된 각 측정마다 $p<0.01$). 벨리무마브는 52주째 항-dsDNA Ab를 30% 정도 감소시킨데 반해($p<0.002$, 기준선 양성), 위약에서는 9% 정도 감소시켰다. 이러한 효과는 항-dsDNA Ab의 28% 감소를 보인 76주째 측정 시에도 지속되었다. 벨리무마브에 의해 유도된 혈청 IgG, IgA, IgE 및 IgM 수준(기준선 대비 중간 변화율로서 나타냄)의 유의적 감소는 위약 처리된 대조군에 비해 벨리무마브 처리된 검체에서 이르면 8주 정도에 분명하게 나타났다($p<0.0001$). 52주째, 혈청 IgG, IgA, IgE 및 IgM은 감소했다(각각 10%, 14%, 34% 및 29%). 이러한 감소는 76주까지 지속되었다(각각 12%, 15%, 35% 및 34%). 더욱이, 기준선에서 Ig 동종형 수준이 상승되어 있는 검체의 경우, 벨리무마브를 투여 받은 검체의 41%(52/128, $p=0.0014$)는 정상 Ig 동종형 수준으로 복원된 반면, 대조용 검체는 16%(7/45)만이 정상화되었다. 기준선에서 C4 보체 수준이 낮은 환자 중에서, 벨리무마브 처리 그룹($p\leq 0.01$)은 4 내지 52주 동안 수행된 각 측정마다 C4 보체 수준(기준선 대비 중간 변화율)의 유의적인 증가를 나타냈다. 52주째, 벨리무마브 처리된 그룹에서 C4는 33%($p=0.0126$, 낮은 기준선 C4) 정도 증가했다. 또한, 벨리무마브 효과는 지속되어, 벨리브마브 처리 그룹에서 76주째 C4는 46%까지 증가했다. 52주째, 벨리무마브를 투약 받은 항-dsDNA+ 검체의 14.5%(24/165)는 음성으로 전환된 반면, 위약 그룹은 3.5%(2/58)가 음성으로 전환되었다($p=0.012$). 76주째, 벨리무마브를 투약 받은 항-dsDNA+ 검체 3명이 추가로 음성으로 전환되었다.

[0594] 벨리무마브는 내성이 충분하고 대생물활성(bioactivity)이 유의적인 것으로 증명되었다. 벨리무마브는 PGA 스코어를 개선시켰고, B 세포 수를 감소시켰으며, C4는 증가시키고, 항-dsDNA는 감소시키고, Ig 동종형 수준은 감소/정상화시켰다. 벨리무마브는 6개월 후 발적 개시를 지연시켰다. 시험 시작 시에 ANA 양성인 검체에서 SS 스코어는 52주째 유의적으로 개선되었다. 마지막으로, 복합 반응 중점은 ANA+ 검체가 벨리무마브 치료에 유의적인 반응을 나타냄을 밝혀냈다(표 IX 참조).

[0595] [표 IX]

52 주째 ANA+ 검체의 반응 속도

	위약	1.0 mg/kg	4.0 mg/kg	10.0 mg/kg	모두 활성	P-값 ^a
	N=86	N=78	N=79	N=78	N=235	
1 반응 속도(SELENA SLEDAI 감소가 4 이상이고 BILAG 지수에 의한 악화가 없으며(새로운 BILAG A 기관 도메인 스코어가 없거나 2 개의 새로운 BILAG B 기관 도메인 스코어가 없음), PGA 에 의한 악화가 없는(0.3 포인트 미만의 증가) 검체의 %)	25 (29.1%)	38 (48.7%)	34 (43.0%)	36 (46.2%)	108 (46.0%)	0.0058
2 SELENA SLEDAI 감소가 4 이상인 검체의 %	34 (39.5%)	41 (52.6%)	38 (48.1%)	37 (47.4%)	116 (49.4%)	0.1169
3 BILAG 지수에 의한 악화가 없는(새로운 BILAG A 기관 도메인 스코어가 없거나 2 개의 새로운 BILAG B 기관 도메인 스코어가 없음) 검체의 %	70 (81.4%)	69 (88.5%)	75 (94.9%)	71 (91.0%)	215 (91.5%)	0.0152
4 PGA 에 의한 악화가 없는(0.3 포인트 미만의 증가) 검체의 %	66 (76.7%)	70 (89.7%)	70 (88.6%)	72 (92.3%)	212 (90.2%)	0.0027

^a 복합 모두 활성 vs. 위약 사이의 쌍대비교를 위한 우도비 검사의 P-값

[0596]

[0597] 실시예 2: SELENA SLEDAI를 위한 단백뇨 채점

[0598] 신장 기능이상은 종종 전신홍반루푸스와 관련이 있다. 당업자는 신장 기능을 평가하는데 사용할 수 있는 다양한 표준 기법, 예컨대 말기 신장 질환으로의 진행, 지속적인 혈청 크레아티닌의 배가, 크레아티닌 청소율, 이오타라메이트(iothalamate) 청소율, 1회 소변 샘플의 단백질 농도 및 24시간 소변 샘플의 단백질 농도 등을 잘 알고 있을 것이다.

[0599] "24시간 소변 샘플"로부터 계산된 단백뇨의 변화는 SELENA SLEDAI에서 채점된 카테고리 중의 하나이다. 단백뇨 측정법은 당업계에 공지된 임의의 방법으로 수행할 수 있다. 구체적 양태로서, 1회 소변 표본을 수거한 뒤, 단백질 양 및/또는 크레아티닌 청소율을 측정한다[예컨대, Lemann et al., Clin Chem., 33: 297-9, 1987, and Schwab, et al., Arch Intern Med., May; 147(5): 943,4-1987]. 구체적 양태에서, 소변은 24시간 동안 수거되고, 이의 단백질 양 및/또는 크레아티닌 청소율이 측정된다. 구체적 양태에서, 1회 소변 표본이 수집되고, 단백질 양 대 크레아티닌 청소 양의 비가 측정되며, 이 비가 24시간 소변 샘플 중의 단백질 양을 추정하는데 사용된다(예컨대, Ruggenti, et al., BMJ. 316(7130): 504-9, 1998). 따라서, 이 실시예에서 "24시간 소변 샘플"은 24시간 소변 샘플에 의거한 소변 중의 단백질 함량(g) 또는 24시간 소변 샘플 중의 단백질 함량(g)의 추정값을 의미할 수 있다. 24시간 소변 샘플 중의 단백질 함량(g)의 추정값은 예컨대 1회 소변 표본 중의 단백질 함량 대 1회 소변 샘플 중의 크레아티닌 청소량의 비를 기초로 할 수 있다.

[0600] 표준 SELENA SLEDAI 채점 시스템에서, 새로 단백뇨 개시를 나타내거나 또는 직전 24시간 소변 샘플에서 측정된 단백뇨 값보다 적어도 0.5g 이상 많은, 현재 24시간 소변 샘플의 단백뇨 값을 초래하는 단백뇨의 최근 증가를 나타내는 환자는 공개된 SELENA SLEDAI 스케일[예컨대 Bombardier et al., Arthritis Rheum. Jun; 35(6): 630-40, 1992]에 따르면 단백뇨 스코어 4가 될 것이다. 따라서, 표준 SELENA SLEDAI 채점 시스템 하에서 단백뇨가 기준선에서 4 포인트인 검체는 단백뇨가 24시간 소변 샘플에서 0.5g이 넘게 계속 증가하지 않는다면 향후 방문 중에 개선된 SELENA SLEDAI를 보유하는 것이다(즉, 환자는 안정한 단백뇨 또는 ≤0.5g/24의 증가에도 불구하고 총 스코어로부터 추론된 4 포인트를 보유할 것이다).

[0601] SELENA SLEDAI 단백뇨 채점 규칙에 대한 변형은 이하에 설명된다. 표준 SELENA SLEDAI 채점 시스템에서처럼, 새로운 단백뇨 개시, 또는 현재 24시간 소변 샘플의 단백뇨 값이 직전 24시간 소변 샘플에서 측정된 단백뇨 값보다 적어도 0.5g 이상 높은 단백뇨의 최근 증가를 보이는 환자는 단백뇨 스코어가 4가 될 것이다. 또한, 환자의 단백뇨 값이 개선되지 않는다면(즉, 현재 24시간 소변 샘플의 단백뇨가 직전 24시간 소변 샘플에서 측정된 단백뇨 값에 비해 0.5g 이상 감소되지 않았다면), 환자의 단백뇨 스코어는 계속 4가 될 것이다. 하지만, 환자의 단백뇨 값이 개선되었다면(즉, 현재 24시간 소변 샘플의 단백뇨가 직전 24시간 소변 샘플에서 측정된 단백뇨 값에 비해 0.5g 이상 감소되었다면), 환자의 단백뇨 스코어는 0이 될 것이다.

[0602] 구체적 양태에서, 이전 단백질 측정은 현재 측정 전 26주 이내에 획득된 24시간 소변 샘플에서 수행되었다.

[0603] **실시예 3: 류마티스성 관절염(RA)를 치료하기 위해 뉴트로킨-알파 단백질을 중화시키는 항체(벨리무마브)의 사용을 검사하는 임상 실험 결과의 정리**

[0604] 제2상 멀티센터 무작위 이중맹검 위약 대조 연구는 RA 검체에 대해 수행했다. 검체는 무작위로 4가지 치료 그룹(위약, 1mg/kg, 4mg/kg 및 10mg/kg)으로 나누었다. 벨리무마브 또는 위약은 0일, 14일 및 28일째, 그 다음 24주 동안 28일마다, 그 다음 경우에 따라 24주 연장 기간 동안 1m 4 및 10mg/kg의 용량으로 투여했다. 벨리무마브는 10mM 구연산나트륨, 1.9% 글리신, 0.5% 슈크로스, 0.01%(w/v) 폴리소르베이트 80, pH 6.5(± 0.3)로 조제했다. 위약 용량을 투약 받는 검체에게는 벨리무마브 없이 제형(10mM 구연산나트륨, 1.9% 글리신, 0.5% 슈크로스, 0.01%(w/v) 폴리소르베이트 80, pH 6.5(± 0.3))을 공급했다. 총 283명의 검체가 본 연구에 참가했다. 벨리무마브는 본 연구의 24주 치료기 동안 1, 4 또는 10mg/kg의 용량으로 214명의 검체에게 투여했다. 69명의 검체에게는 위약을 투여했다.

[0605] 1mg/kg($p=0.0097$) 치료 그룹은 물론 복합된 모든 활성 치료 그룹($p=0.0213$)에서 통계적으로 우수한 ACR20 반응이 획득되었다. ACR20은 류마티스성 관절염의 치료에 대한 환자의 반응을 평가하는, 미국류마티스학회(ACR)에서 개발된 지수이다. ACR20 반응은 압통 관절 수 및 종창성 관절 수의 20% 이상의 감소, 뿐만 아니라 5가지 다른 증후군 또는 질환 증상(즉, 환자 동통 평가, 환자 전반적 평가, 의사의 전반적 평가, 환자 자가평가 무능, 급성기 반응물[ESR 또는 CRP])의 측정 중 3가지 측정에서 20% 이상의 개선으로서 정의된다. 더욱이, 1mg/kg 치료 그룹에 대한 결과는 본페로니 폐시험 절차(Bonferroni-closed procedure)($p<0.0166$)를 이용할 때 복수 비교를 위한 조정 하에 통계적 유의성을 유지했다. SLE 검체에서와 같이, 벨리무마브는 자가항체 양성 질환 검체(류마티스성 인자[RF] 또는 항-고리형 시트룰린화된 펩타이드[CCP])뿐만 아니라 기준선에서 C 반응성 단백질(CRP) 양성인 검체에서의 개선된 ACR20 반응과 관련이 있었다. 생물학적 활성으로서, CD20+ B 세포, 비감작 B 세포, 활성화된 B 세포 및 RF의 통계학적으로 유의적인 감소; 치료 처음 1개월 내에 증가되었고 연속 치료 동안 서서히 감소된 기억 세포 등이 관찰되었다. 벨리무마브는 모든 용량에서 양호한 내성을 나타냈다. 본 연구에서 효능, 안전성 또는 생물표지에 대한 용량 반응 관계는 분명하지 않았다. 본 연구의 연장 기간 동안의 연속 치료에서도 양호한 내성을 나타냈다. ACR20 반응은 48주째에 약 40%로 증가했다. 생물표지에 미치는 효과는 연속 치료에 의해 증가되거나 지속된 반면, 기억 세포는 기준선 수준쪽으로 계속 감소했다. 본 연구에서 혈청 농도는 제1상 데이터틀 기초로 할 때 예상되는 범위 이내였고, 병행 약물(즉, 메토타렉세이트, 레플루노마이드 또는 하이드록시클로로퀸)은 벨리무마브 노출에 유의적인 영향을 미치지 않았다.

[0606] **실시예 4: 뉴트로킨-알파는 2가지 독립된 시그널링 경로를 통해 B 세포 수명을 연장시킨다.**

[0607] BLys(B 림프구 자극인자), BAFF, TALL-1, THANK, TNFSF13B 및 zTNF4로도 불리는 뉴트로킨-알파는 휴지기 말초 B 림프구(Rolink, A.G., and Melchers, F.(2002). Curr Opin Immunol 14, 266-275)의 생존에 필수적이다. 비감작 B 세포 항상성에서 뉴트로킨-알파의 중요성은, 표적 유전자 결실이나 가용성 데코이(decoy) 수용체 도입으로 만들어진 뉴트로킨-알파 결손 마우스가 주요 성숙 말초 B 세포 집단인 변연대 및 난포 B 세포의 놀라운 결손을 보유한다는 발견에 의해 가장 잘 증명되어 있다(Gross, J.A., et al.(2001). Immunity 15, 289-302; Schiemann, B., et al.,(2001). Science 293, 2111-2114). 이에 반해, 돌연변이유전자로부터 뉴트로킨-알파의 이소성(ectopic) 발현은 골수의 T 세포, B1 세포, 초기(T1) 전이성 말초 B 세포, 또는 발달성 B 세포에 영향을 미침이 없이 난포 및 변연대 말초 구역 B 세포를 현저하게 증식시킨다(Mackay, F., et al.(2003). Annu rev Immunol 21, 231-264). 또한, 뉴트로킨-알파는 다수의 B 세포 종양의 유지에 필요하며, 조절손상된 뉴트로킨-알파 자극은 자가반응성 B 세포를 결실로부터 구원하여 자가항체의 생산을 촉진한다(Kalled, S.L.(2005). Immunol Rev 204, 43-54). 따라서, 뉴트로킨-알파는 정상 B 세포는 물론 병원성 B 세포의 항상성에 중요한 역할을 한다. 이 실시예는 뉴트로킨-알파가 B 세포 생존을 촉진하는 기전을 이해하기 위해 수행된 실험의 결과를 상세히 설명한다.

[0608] **실험 절차**

[0609] 마우스: 폴 로스만 컬럼비아 유니버시티(뉴욕주 뉴욕시 소재)의 Pim-1^{+/-} 2^{+/-} 스톡으로부터 Pim-1^{+/-}/2^{+/-}, Pim-1^{-/-}

$^{-/-}/2^{+/+}$, $\text{Pim-1}^{+/+}/2^{-/-}$ 및 $\text{Pim-1}^{-/-}/2^{-/-}$ 마우스를 수득했다. C57BL/6(B6) 마우스는 잭슨 레보레이토리즈(메인주 하버 소재) 또는 내셔널 캔서 인스티튜트 프로덕션 프로그램, NCI-Fredrick(매릴랜드주 프레드릭 소재)에서 수득했다. 동물은 동물보호 및 사용 협회 지침에 따라서 유니버시티 오브 펜실베이니아, 하버드 메디칼 스쿨 또는 유니버시티 오브 매사추세츠 메디칼 스쿨에서 사육 및 유지시켰다.

[0610] B 세포 정제: 비장 B 세포는 비장세포의 항-thy1.2 및 보체 처리, 그 다음 단계별 퍼콜 구배를 이용한 휴지기 B 세포의 정제, 및 60 내지 70% 계면에서의 세포 수거를 통해 수득했다. 일부 실험에서, CD23^{+} B 세포는 비오틴화된 항CD23 항체(BD Biosciences-Pharmingen, San Diego CA) 및 스트렙타비딘 코팅된 마이크로비드(Miltenyi Biotec, Auburn CA)를 이용한, 비장세포 현탁액의 양성 선택 및 자성 분리를 통해 수득했다. CD23^{+} B 세포는 생체내 환경적 활성화로 CD23이 상실되는 바, 퍼콜에서 크기 선택으로 수득되지 않았다. 항체와 퍼콜에 의해 준비된 B 세포는 $>90\%$ B220^{+} 인 반면, CD23^{+} B 세포는 순도가 $>95\%$ 였다.

[0611] 세포 배양: 정제된 B 세포 또는 CD23^{+} B 세포는 2-머캅토에탄올, MEM 비필수 아미노산, 글루타민, 페니실린 및 스트렙토마이신이 보충된 RPMI-1640(완전 배지, CM)에서 배양했다. B 세포 생존 및 다른 분석을 위해, 휴먼 케놈 사이언시스(매릴랜드 록빌 소재)에서 제조된 ow조합 사람 뉴트로킨-알파는 50 내지 100ng/ml의 농도로 사용했다. FLAG 태그화된 사람 뉴트로킨-알파는 랜돌프 노엘 박사(다트머스 메디칼 스쿨)로부터 입수했다. 쥐 뉴트로킨-알파는 알렉시스 바이어케미컬스(캘리포니아 샌디에고 소재)에서 구입하고, 사람 인터페론 알파($\text{IFN}\alpha$)는 PBL 바이오메디컬(뉴저지 피스카타웨이 소재)에서 구입했다. 라파마이신은 50nM의 최종 농도로 사용했고, 메탄올에 용해한 스톱을 배양물에 첨가했다. 라파마이신을 사용한 실험의 대조용 B 세포는 매개체 대조군으로서 메탄올로 처리했다. 동역학적 분석을 위해, B 세포는 제조하여 4°C에서 하룻밤 동안 냉장 보관했다. 샘플당 $5-6 \times 10^6$ 정제된 B 세포를, 5 $\mu\text{g/ml}$ 모노클로날 항-FLAG M2 항체(시그마)로 코팅하고 세척한 후, PBS 중의 1% BSA로 차단시킨 다음, 세척 및 세포 첨가하기 1시간 전에 FLAS-표지된 사람 뉴트로킨-알파 2 $\mu\text{g/}$ 웰을 첨가하여 코팅시킨 24웰 평판 위에 침전시켰다. 자극 처리되지 않은 대조용 B 세포는 항FLAG 항체만으로 처리된 웰 위에 침전시켰다. 또한, B 세포는 동역학적 분석 완충액(헹크스 평형염용액 + 2% BSA)에 첨가된 항-쥐 IgM(5 $\mu\text{g/ml}$), 항-CD40(0.5 $\mu\text{g/ml}$) 또는 제조합 사람 뉴트로킨-알파 100ng/ml과 항온배양하여 활성화시켰다.

[0612] 항체 및 웨스턴 블롯팅: 마우스 항-Pim2(1D12), Pim 1(19F7), 염소 항액틴(1-19), 항마우스 Ig, 항래빗 Ig 및 항염소 Ig을 HRP에 커플링시킨 항체는 산타 크루즈 바이오테크놀로지(캘리포니아 산타크루즈 소재)에서 입수했다. 래빗 항포스포세린 473Akt, 포스포트레오닌 389 p70 S6 키나제, 포스포트레오닌 24/32 FKHR/FKRL1, 포스포GSK3 $_{\alpha/\beta}$, GSK, p70S6K, FKHR 및 Akt는 셀 시그널링(매사추세츠 비버리 소재)에서 구입했다. 래빗 항마우스 McI-1은 록랜드(매사추세츠 윌밍턴 소재)에서 구입했다. 전세포 용해물은 B 세포를 빙냉 PBS로 세척하고, 프로테아제 억제제(minitab, 로쉬, 인디애나주 인디애나폴리스 소재) 및 포스파타제 억제제 콕테일 I 및 II(시그마)가 보충된 RIPA(150mM NaCl, 1% NP-40, 0.5% 소듐 데옥시콜레이트, 0.1% SDS, 50mM Tris pH 8.0)에 용해시켜 제조했다. 단백질 10 내지 50 μg 을 4 내지 12% NuPage 비스-트리스 폴리아크릴아미드 겔(인비트로젠, 캘리포니아 칼스배드 소재) 위에서 분리시키고 니트로셀룰로스로 전이시켰다. 블롯을 3% BSA(시그마, IgG 제거), 0.2% Tween-20을 PBS에 용해한 용액으로 차단시키고, 동일한 완충액에 용해시킨 1차 항체와 4°C에서 하룻밤 동안 항온배양했다. 블롯은 PBS-0.2% Tween-20으로 세척하고, HRP 접합된 2차 항체와 항온배양한 뒤, ECLplus(아머삼 바이오사이언스, 뉴저지 피스카타웨이 소재)로 발색시켰다. 그 다음, 재탐침을 위해, 1% SDS 및 100 μM β -머캅토에탄올이 보충된 PBS에서 65°C에서 20분 동안 항온배양하여 블롯을 박리시켰다. 그 다음, 블롯을 세척하고 앞서와 같이 차단시켰다.

[0613] 생존율 검정법: 5×10^6 /ml의 B 세포를 24웰 조직배양접시 중의 CM에 넣고 37°C에서 배양했다. B 세포에 rhu뉴트로킨-알파 50 내지 100ng/ml, 라파마이신 50nM, 사람 $\text{IFN}\alpha$ 200U 또는 이 시약들의 혼합물을 보충적으로 첨가했다. 시험 보충물과 함께 배양하기 1시간 전에 50nM 라파마이신 및 매개체로 B 세포를 전처리했고, 배양 48시간 후에 새로운 라파마이신을 첨가했다. 생존율은 트립판 블루 배제 시험으로 생육 세포를 계수하여 매일 모니터링하고, 각 측정은 3반복으로 수행했다.

[0614] **결과**

[0615] 뉴트로킨-알파가 B 세포 생존을 촉진하는 기전에 대한 연구 결과, 뉴트로킨-알파가 B 세포의 Akt/mTOR 경로를

활성화시키는 것으로 드러났다. 정제된 B 세포를 사전가스화된 배지에서 37℃ 하에 100ng/ml 재조합 사람 또는 쥐 뉴트로킨-알파 또는 항-Ig(양성 대조군)로 0분, 5분, 20분, 60분 또는 120분 동안 자극했다. 냉각된 샘플로부터 용해물을 제조하고 웨스턴 블롯으로 분석했다. 이와 같이 재조합 뉴트로킨-알파를 이용한 1차 B 세포의 자극은, Akt의 세린 473과 트레오닌 308 잔기의 증가된 인산화로 측정되는 것처럼 Akt 경로를 활성화시킨다. 정제된 B 세포를 평판에 결합된 FLAG 표지된 뉴트로킨-알파, 가용성 뉴트로킨-알파(100ng/ml) 또는 0.5μg/ml 항-CD40(양성 대조군)으로 자극한 추가 실험은 Akt 기질인 GSKβ 및 포크헤드 전사 인자 FOXO1 및 FOXO3a의 인산화에 의해 알 수 있듯이, Akt 자체가 활성화되었음을 보여주었다. mTOR은 Akt의 주요 하위 효과인자이다. 뉴트로킨-알파 자극에 이어, 1차 B 세포에서 mTOR의 활성화는 mTOR 기질인 p70 S6 키나제 및 해독 억제제 4E-BP1의 인산화에 의해서도 확인되었다. 인산화 패턴은 웨스턴 블롯팅으로 조사되었다.

[0616] 라파마이신은 mTOR의 강력한 억제제이며 B 세포 증식과 분화의 강력한 억제인자이다. 정상 공여체 유래의 작은 휴지기 B 세포를, 100ng/ml rhu뉴트로킨-알파, 매개체 또는 50mM 라파마이신(배양 전 B 세포의 전처리에 사용하고, 개시 시 배양물에 직접 첨가하며, 2일마다 재첨가했다)의 존재 또는 부재 하에 4일 동안 배양했다. 생육 세포를 4일째 측정했다. 총 B 세포 또는 CD23+ B 세포와 뉴트로킨-알파 및 라파마이신의 공동배양은 4일 후 배양물에 존재하는 생육 세포의 수로 측정되는 것처럼 뉴트로킨-알파 매개의 생존을 증가를 방해하지 않았다. 이러한 결과는 뉴트로킨-알파 처리된 B 세포에서 다른 생존 경로가 활성 상태일 수 있음을 암시했다.

[0617] Pim은 조혈 세포에서 다양한 활성인자에 의해 유도된, 라파마이신 내성 아포토시스를 차단할 수 있는 3가지 세린/트레오닌 키나제 그룹이다(Fox, C.J., et al., (2002). Genes Dev 17, 1841-1854 and Fox, C.J., et al. (2005) J.Exp.Med 201, 259-266). 웨스턴 블롯에 의해 확인되듯이, 100ng/ml rhu뉴트로킨-알파 처리 2일 후, 1차 B 세포는 Pim1 및 Pim2 발현을 상향조절한다.

[0618] 뉴트로킨-알파 매개의 B 세포 생존에 Pim1 및 2의 연루성을 시험하기 위해 야생형 또는 Pim1^{-/-}2^{-/-} 이형접합체, Pim1^{-/-}2^{-/-} 이중 결손형 또는 Pim2 결손형(Pim1^{+/-}2^{-/-}) 공여체 유래의 CD23⁺ B 세포를, 매개체, 100ng/ml rhu뉴트로킨-알파의 존재 및 50nM 라파마이신의 존재 또는 부재 하의 CM에서 4일 동안 배양했다. 생육성은 트립판 블루 배제법으로 매일 측정했다. 흥미롭게도, Pim1 및 Pim2 이중 결손형 마우스 유래의 B 세포(Pim1^{-/-}2^{-/-} B 세포)는 뉴트로킨-알파에 노출되었을 때 생존을 증가를 나타냈다. 이러한 결과는 mTOR 및 Pim1과 2가 각각 뉴트로킨-알파의 세포 생존 촉진에 매개하는 상이한 시그널링 경로에 작용한다면 설명될 수 있다. 2가지 분리된 경로가 연루되었다는 이론을 시험하기 위해, Pim1^{-/-}2^{-/-} B 세포에서 뉴트로킨-알파 매개의 생존에 라파마이신이 미치는 효과를 검사했다. 라파마이신의 첨가는 Pim1^{-/-}2^{-/-} B 세포에서 B 세포 생존을 증가시키는 뉴트로킨-알파의 능력을 파괴했다. 추가 연구에서는 Pim2 기능만이 결손성인 Pim1^{+/-}2^{-/-} B 세포가 Pim1^{-/-}2^{-/-} B 세포만큼 라파마이신에 민감한 것으로 확인되었고, 이것은 Pim1이 B 세포 생존에 뉴트로킨-알파가 미치는 영향에 필수적임을 시사한다. 이를 종합해보면, 상기 데이터들은 뉴트로킨-알파 매개의 생존을 중재하는 작용을 하는 2가지 독립적인 경로가 있고, 어느 한 경로만이라도 상기 뉴트로킨-알파의 활성화에 충분하다는 것을 보여준다.

[0619] 추가 실험은, 말초 B 세포 및 T 세포 항상성을 촉진하는데 있어서 일 역할을 하는 Bcl-2계 일원인 Mcl-1의 발현이 B 세포 생존율의 효과적 증가에 필요하다는 것을 시사했다(아포토시스 유도 차단)(데이터는 미제시).

[0620] 따라서, akt/mTOR 경로의 억제제(예, 라파마이신) 및 Pim 2 경로의 억제제를 함유하는 조성물은 뉴트로킨-알파 길항물질에 의해 유도되는 효과를 모방하기 위해 사용될 수 있다. 즉, Akt/mTOR 경로의 억제제(예, 라파마이신) 및 Pim 2 경로의 억제제를 함유하는 조성물은 B 세포 생존을 억제하거나 본 명세서에 개시된 질환 또는 장애 중 1 이상을 치료하기 위해 뉴트로킨-알파의 길항물질로서 사용될 수 있다. 예를 들어, Akt/mTOR 경로의 억제제(예, 라파마이신) 및 Pim 2 경로의 억제제를 함유하는 조성물은 B 세포 수명을 감소시키기 위해 사용될 수 있다. 또한, Akt/mTOR 경로의 억제제(예, 라파마이신) 및 Pim 2 경로의 억제제를 함유하는 조성물은 자가면역 질환을 치료하는데 사용될 수 있다. 구체적 양태에서, Akt/mTOR 경로의 억제제(예, 라파마이신) 및 Pim 2 경로의 억제제를 함유하는 조성물은 B 세포 매개의 자가면역 질환을 치료하는데 사용될 수 있다. 다른 구체적 양태에서, Akt/mTOR 경로의 억제제(예, 라파마이신) 및 Pim 2 경로의 억제제를 함유하는 조성물은 자가항체가 우세한 자가면역 질환의 치료에 사용될 수 있다. 구체적 양태에서, Akt/mTOR 경로의 억제제(예, 라파마이신) 및 Pim 2 경로의 억제제를 함유하는 조성물은 류마티스관절염, 전신홍반루푸스, 다발성 경화증, 중증근무력증, 쇼그렌 증후군, 타입 1 당뇨병, 특발혈소판감소자색반병, 길리안-바레 증후군, 하시모토 갑상선염 또는 그레이브스병의 치료에 사용될 수 있다.

[0621] 또한, 억제제 Mc1-1을 함유하는 조성물은 뉴트로킨-알파 길항물질에 의해 유도된 효과를 모방하기 위해 사용될 수 있다. 따라서, Mc1-1의 억제제를 함유하는 조성물은 B 세포 생존을 억제하거나 또는 본 명세서에 개시된 1 이상의 질환 또는 장애를 치료하기 위해 뉴트로킨-알파의 길항물질로서 사용될 수 있다. 예를 들어, Mc1-1의 억제제를 함유하는 조성물은 B 세포 수명을 감소시키기 위해 사용될 수 있다. 또한, Mc1-1의 억제제를 함유하는 조성물은 자가면역 질환을 치료하는데 사용될 수 있다. 구체적인 양태에서, Mc1-1의 억제제를 함유하는 조성물은 B 세포 매개의 자가면역 질환을 치료하는데 사용될 수 있다. 다른 구체적인 양태에서, Mc1-1의 억제제를 함유하는 조성물은 자가항체가 우세한 자가면역 질환의 치료에 사용될 수 있다. 구체적인 양태에서, Mc1-1의 억제제를 함유하는 조성물은 류마티스성 관절염, 전신홍반루푸스, 다발성 경화증, 중증근무력증, 쇼그렌 증후군, 타입 1 당뇨병, 특발혈소판감소자색반병, 길리안-바레 증후군, 하시모토 갑상선염 또는 그레이브스병의 치료에 사용될 수 있다.

[0622] 실시예 5: 항체 제형의 특성 분석

[0623] 10mM 히스티딘 완충액과 10mM 구연산염 완충액에 조제된 1mg/ml IgG1/λ 항체의 시차주사열량계를 이용한 분석으로, 각 제형에서의 항체의 열안정성을 평가했다. 본 연구에 사용된 구체적인 항체는, 뉴트로킨-알파에 특이적이고 뉴트로킨-알파 활성을 중화시킬 수 있는 IgG1/λ 항체이다. 이 분석 결과, pH 범위가 6.0 내지 7.5 사이인 두 완충액에서 용점이 가장 높았고, 용점이 높을수록 일반적으로 열안정성이 더 높은 것을 시사한다. 구연산염 완충액의 용점은 이 pH 범위의 히스티딘 완충액보다 약 2℃ 더 높았고, 이는 구연산염 완충액이 더욱 안정한 항체 제형을 제공할 수 있다는 것을 암시한다. 하지만, 항체의 열 가역성은 구연산염 완충액보다 히스티딘 완충액에서 더 높았다. 이것은 항체가 용점이 더 낮음에도 불구하고 구연산염에서보다 히스티딘에서 더 높은 생물리적 안정성을 나타낸다는 것을 암시한다. 이는 항체 제형들의 안정성 연구를 통해 확인되었는데, 2 내지 8℃에서 18개월 동안 보관했을 때, 10mM 히스티딘은 10mM 구연산염보다 더 적은 응집성을 초래한다는 것을 발견했다. 안정성 연구 동안, 두 완충액의 완충능은 pH 반복 측정으로 평가했다. 항체에 더 큰 생물리적 안정성을 제공하는 것 외에도, 히스티딘은 pH 6.0 내지 6.5에서 pH 6.5 내지 7.0 범위의 구연산염보다 더 큰 완충능을 제공하는 것으로 보인다. 18개월의 안정성 연구에서, 히스티딘 제형은 검사된 모든 온도(2 내지 8℃, 25℃ 및 40℃)에서 경시적으로 안정된 pH를 유지했다. 이에 반해, 구연산염 제형은 고온에서 더 다양한 변동을 나타냈다.

[0624] 실시예 6: 항체 제형의 장기 안정성 연구

[0625] 항체 제형의 보존수명을 측정하기 위해, 10mM 히스티딘, 150mM NaCl, 0.01%(w/v) 폴리소르베이트 80, pH 6.0에서 100mg/ml 항체의 장기 안정성 연구를 수행했다. 본 연구에 사용한 특정 항체는 뉴트로킨-알파에 특이적이고 뉴트로킨-알파 활성을 중화시킬 수 있는 IgG1/λ 항체이다. 5ml 유리 바이알에 2ml 일정량을 -80℃, 2 내지 8℃, 25℃ 및 40℃에서 24개월 동안 세워서 보관했다. 대조군으로서 샘플을 -80℃에 보관하고, 보존 수명을 측정하기 위해 2 내지 8℃에 보관하며, 일어날 수 있는 모든 가능한 분해 경로를 모니터링하기 위해 가속 조건(25℃ 내지 40℃)에서 보관했다. 24개월 동안 정기적으로 샘플을 여러 검정법, 예컨대 육안 조사, pH, 농도, SDS-PAGE, SEC-HPLC, 이온 교환 HPLC(IE-HPLC), 생물검정법, 모세관 등전초점법(cIEF), 펩타이드 맵핑, RP-HPLC 및 ISOQUANT^R으로 분석했다.

[0626] 2 내지 8℃ 및 -80℃에서 24개월 동안 보관한 샘플의 SEC-HPLC, IE-HPLC 및 RP-HPLC 분석은 3가지 방법 모두 육안적으로 비슷했고, 약간의 차이만이 관찰되었다. 2 내지 8℃ 샘플은 SEC-HPLC 순도가 1개월당 약 0.03%의 속도로 감소했고, 초기 용출성 IE-HPLC 피크의 증가(대부분 탈아미드화로 인해)가 1개월당 약 0.14%의 속도로 나타났다(데이터는 미제시). 2 내지 8℃ 샘플은 보관 24개월 후 항체의 응집(<1%), 탈아미드화(약 4%) 및 산화(1%) 면에서 약간의 변화만을 보여주었다. 하지만, 유의적 분해는 가속 조건 하에 보관된 샘플의 모든 검정법에서 관찰되었다. 가속 조건 하에서 SEC-HPLC에 의해 관찰된 분해는 응집 및 단편화를 모두 포함했다. IE-HPLC 검정법은 가속 조건에서의 보관이 초기 용출 피크를 증가시킨다는 것을 보여주었다. 탈아미드화 및 단편화는 25℃에서의 펩타이드 맵핑에 의해 관찰되었고; 탈아미드화, 산화, 단편화 및 아스파테이트의 이소아스파테이트로의 재배열은 40℃에서 관찰되었다. 따라서, 본 발명의 약제학적 제형에서 IgG1/λ 항체 100mg/ml은 24개월 이상의 보관 기간 동안 2 내지 8℃에서 안정하다.

[0627] 실시예 7: 뉴트로킨-알파-뉴트로킨-알파 수용체 상호작용의 억제를 검사하기 위한 시험관내 분석

[0628] 다음은 화합물이 뉴트로킨-알파의 길항물질로서 작용하는지를 검사하는데 사용할 수 있는 분석법을 설명한 것이다. 구체적으로, 이 분석법은 IM9 세포 상의 동족 수용체에 대한 가용성 뉴트로킨-알파의 결합을 억제하는 화합물의 능력을 측정한다.

[0629] 비오틴화된 뉴트로킨-알파의 제조

[0630] 사람 또는 마우스 뉴트로킨-알파 100 μ g을 슬라이드-어-라이저(slide-a-lyzer) 카세트(Pierce)를 이용하여 50mM 중탄산나트륨(탄산수소나트륨) pH 8.5에 대해 4℃에서 하룻밤 동안 투석했다. 다음날, NHS-비오틴(Pierce)을 13.3mg/ml가 되게 DMSO에 용해했다. 이것을 그 다음 20:1의 비오틴:뉴트로킨-알파의 몰비로 뉴트로킨-알파에 첨가하고, 혼합한 뒤, 얼음 위에서 2시간 동안 항온배양했다. 비오틴화된 뉴트로킨-알파는 그 다음 슬라이드-어-라이저 카세트를 이용하여 4℃에서 하룻밤 동안 멸균 PBS(시그마)내로 다시 투석했다. 비오틴화된 뉴트로킨-알파의 생물학적 활성은 수용체 결합 억제 분석을 이용하여 확인했다(이하 참조).

[0631] IM9 세포의 유지

[0632] IM9 세포는 뉴트로킨-알파 수용체를 발현하는 사람 B 림프구 세포주이다. IM9 세포는 4mM L-글루타민, 10% FCS, 10U 페니실린, 100g/ml 스트렙토마이신(모든 시약은 시그마 제품)이 보충된 RPMI-1640에서 유지시킬 수 있다. 이 세포를 동결 스톱으로부터 해동한 뒤, 배양물에서 5일 후 밀도가 4 내지 8 x 10⁵/ml가 되었을 때 분석에 사용할 수 있다.

[0633] 수용체 결합 억제 분석

[0634] 바닥이 편평한 96웰 평판(Costar)을 PBS 중의 폴리-L-리신(시그마) 1:10 희석물 1웰당 100 μ l씩으로 실온에서 1시간 동안 코팅시켰다. 그 다음, 평판을 물로 2회 세척하고, 공기 건조한 뒤, 4℃에서 하룻밤 동안 방치했다. 그 후, IM9 세포(RPMI-1640 배양 배지에 10⁶/ml) 100 μ l를 각 웰에 첨가했다. 그 다음, 평판을 3200rpm으로 5분간 원심분리하여 세포 펠렛을 수득했다. 배지를 조심스럽게 흡인제거하고 각 웰에 MPBS(3% Marvel 차단 용액 함유 PBS) 200 μ l를 첨가했다. 그 다음, 평판을 실온에서 1시간 동안 차단시켰다.

[0635] 다른 96웰 평판에서, MPBS 중의 비오틴화된 뉴트로킨-알파(162.5ng/ml) 10 μ l를 25ng/ml의 최종 농도가 되도록 각 웰에 첨가했다. 각 시험 화합물 55 μ l를 각 웰에 첨가했다. 각 웰의 최종 부피는 65 μ l이다. 시험 화합물도 MPBS에 희석하는 것이 바람직하다. 평판을 그 다음 실온에서 30분 동안 항온배양했다.

[0636] IM9 코팅된 평판은 PBS로 2회 세척하고, 톡톡 두드리 건조한 뒤, 즉시 파아지/비오틴화된 뉴트로킨-알파 혼합물 50 μ l를 첨가하고, 실온에서 1시간 동안 항온배양했다. 평판을 PBST로 3회, PBS로 3회 세척하고 톡톡 두드리 건조한 뒤, 스트렙타비딘-텔피아(Wallac) 50 μ l를 제조업자의 분석 완충액에 1:1000 희석율로 각 웰에 첨가했다. 평판을 그 다음 실온에서 1시간 동안 항온배양하고, 텔피아 세척 용액(Wallac)에 6회 세척했다. 평판을 톡톡 두드리 건조한 후, 텔피아 증강 용액(Wallac) 100 μ l/웰을 첨가했다. 평판은 미셀 형성을 조장하기 위해 부드럽게 톡톡 두드리고, 실온에서 10분 동안 항온배양한 후, 6520nm에서 Wallac 1420 작업대에서 형광도 판독을 수행했다.

[0637] 이 분석을 포함하는 적당한 대조군은 이 분석법에서 비오틴화된 뉴트로킨-알파의 이의 수용체에 대한 최대 결합을 입증하는 바이오 뉴트로킨-알파 단독 샘플과 이 분석법의 배경 시그널을 입증하는, 바이오 뉴트로킨-알파를 함유하지 않는 샘플을 포함한다. 또 다른 유용한 대조군은 뉴트로킨-알파 비특이적, 또는 "무관련"시험 화합물, 즉 시험 화합물과 구조적으로 유사하나, 어느 한 뉴트로킨-알파 또는 뉴트로킨-알파의 수용체 중 하나와 상호작용하지 않는 것으로 생각되는 화합물이다. 시험 화합물이 IgG1 동종형의 항-뉴트로킨-알파 항체였다면, 적당한 "무관련" 대조군은 뉴트로킨-알파 또는 이의 수용체 중 하나에 특이적이지 않은 다른 IgG1 항체일 것이다.

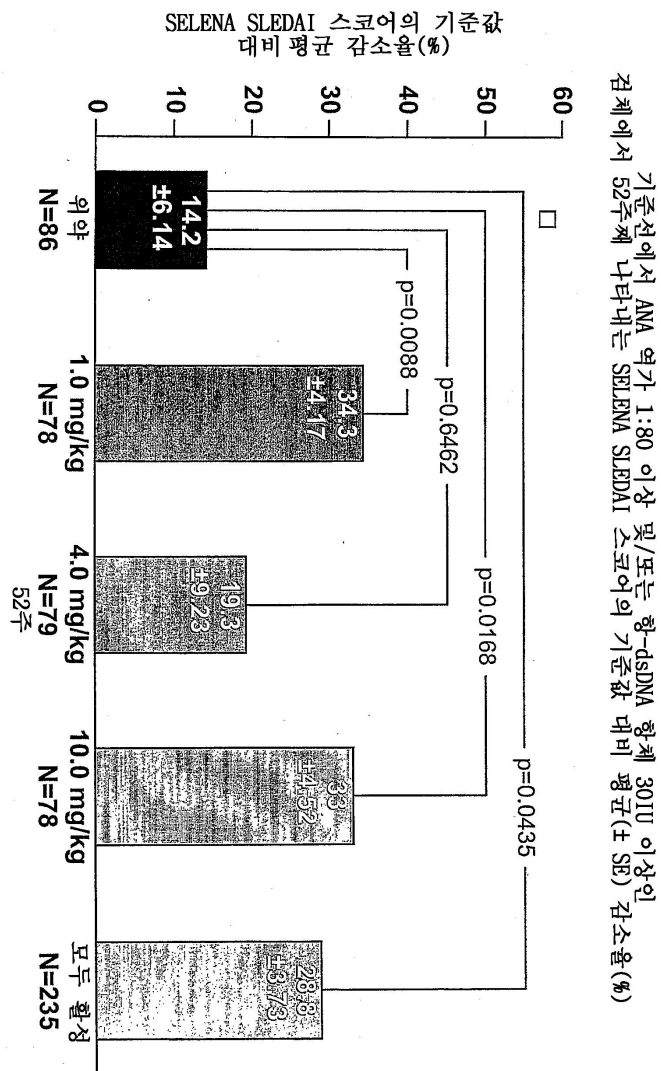
[0638] 실시예 8: 뉴트로킨-알파 길항물질 분자의 시험관내 선별을 위한 사람 B 세포 증식 분석

- [0639] 추정상의 뉴트로킨-알파 길항물질의 효과를 평가하기 위한 1가지 생물검정법은, 각각 3X 스톡 시약으로서 제조된 뉴트로킨-알파, 반응체 세포 및 추정상의 길항물질을 동일 부피로 혼합하여 96웰 판에서 3반복으로 수행했다.
- [0640] B 림프구는 사람 편도에서 MACS(항-CD3 결손형)로 정제하고, 세척한 뒤, 완전 배지(CM)(100U/ml 페니실린, 100 μ g/ml 스트렙토마이신, 4mM 글루타민, 5×10^{-5} M 베타-머캅토에탄올을 함유하는 10% FBS 첨가된 RPMI 1640)에 3×10^6 세포/ml의 농도로 재현탁시켰다. 스타필로코커스 아우레우스 Cowan I(SAC, CalBiochem)을 3X 농도(3X = 스톡의 1:33,333 희석물)로 세포에 첨가했다.
- [0641] 한편, 잠재 길항물질의 8회 연속 희석물(3배)은 희석된 길항물질이 이 분석에서 시험될 최종 농도의 3X가 되도록 CM으로 제조했다. 예를 들어, 항체는 통상 10 μ g/ml의 최종 농도에서부터 시작하여, 약 1.5ng/ml까지 저하된 농도에서 시험되었다.
- [0642] 사람 r뉴트로킨-알파는 CM에 3X 농도(3X = 300ng/ml, 30ng/ml, 3ng/ml)로 제조했다. 잠재 길항물질은 여러 농도의 뉴트로킨-알파에 통상적으로 시험하여 뜻밖의 낮은 친화성 또는 길항물질 농도로 인한 거짓 음성을 없앴다.
- [0643] 희석된 길항물질 50 μ l와 희석된 뉴트로킨-알파 50 μ l를 그 다음 세포 혼합물 50 μ l를 함유하는 웰에 첨가한다.
- [0644] 세포를 그 다음 최대 가습실에서 72시간(37°C, 5% CO₂) 동안 항온배양했다. 72시간 후, 세포에 0.5 μ Ci/웰 ³H-티미딘(6.7Ci/mmol)을 보충하고, 추가 24시간 동안 항온배양했다. 평판을 Tomtec Cell Harvester를 이용하여 수거하고 필터를 TopCount 신틸레이션 계수기(Packard)에서 계수했다.
- [0645] 이 분석을 포함하는 적당한 대조군은 이 분석의 최대 ³H-티미딘 혼입량을 입증하기 위해 길항물질을 전혀 첨가하지 않은 샘플 및 이 분석의 배경 시그널을 입증하기 위해 뉴트로킨-알파를 함유하지 않은 샘플을 포함한다. 또 다른 유용한 대조군은 뉴트로킨-알파 비특이적, 또는 "무관련" 시험 화합물, 즉 시험 화합물과 구조적으로 유사하나, 어느 한 뉴트로킨-알파 또는 뉴트로킨-알파의 수용체 중 하나와 상호작용하지 않는 것으로 생각되는 화합물이다. 시험 화합물이 IgG1 동종형의 항-뉴트로킨-알파 항체였다면, 적당한 "무관련" 대조군은 뉴트로킨-알파 또는 이의 수용체 중 하나에 특이적이지 않은 다른 IgG1 항체일 것이다.
- [0646] 당업자라면, 이 분석에 실시될 수 있는 변형, 예컨대 사용되는 시약이나 단계의 순서 등을 잘 알고 있을 것이다. 구체적 예로서, B 세포는 SAC 대신에 항-IgM으로 프라이밍될 수 있다. 또한, 당업자라면 뉴트로킨-알파의 길항물질로서 작용하는 화합물의 능력을 시험하기 위해 사용될 수 있는 다른 분석법도 잘 알고 있을 것이다.
- [0647] **실시예 9: 뉴트로킨-알파 길항물질 분자를 시험관내 선별하기 위한 쥐 B 세포 증식 분석**
- [0648] 잠재 뉴트로킨-알파 길항물질이 뉴트로킨-알파 매개의 B 세포 증식을 억제하는지를 측정하기 위해, 쥐 비장세포 증식 분석을 수행할 수 있다. 간략히 설명하면, 쥐 비장세포는 비장을 25g 니들과 10ml 완전 배지(CM)(100U/ml 페니실린, 100 μ g/ml 스트렙토마이신, 4mM 글루타민, 5×10^{-5} M 베타-머캅토에탄올을 함유하는 10% FBS 첨가된 RPMI 1640)를 이용하여 플러싱함으로써 분리했다. 세포를 100 미크론 나일론막을 통해 통과시켜 세포 찌꺼기를 제거했다. 세포 현탁액을 그 다음 실온에서 400xg로 25분 동안 피콜 분리했다(하나의 15ml 원추형 튜브/비장; 3ml 피콜, 10ml 세포 현탁액/비장; 피콜 1083, 시그마 제품). 회수한 세포를 완전 배지로 3회 세척하고, 계수했다. 회수한 세포를 그 다음 3X 농도의 SAC를 함유하는 완전 배지에 3×10^6 세포/ml의 농도로 희석했다(3X = 스톡의 1:33,333 희석물; 스톡은 스타필로코커스 아우레우스(Cowan I 균주)(Calbiochem 제품)) 10% 현탁액이다).
- [0649] 각 항체마다, 30 μ g/ml, 3.0 μ g/ml, 0.3 μ g/ml 농도의 항체 희석물을 96웰 평판의 각 웰에 3반복으로 50 μ l씩 분할 주입했다. 항체 무함유 배지(필요한 경우 사람 동종형 대조군(시판품))는 음성 대조군으로서 사용했다.
- [0650] 뉴트로킨-알파 단백질은 완전 배지에 300ng/ml, 90ng/ml 및 30ng/ml의 농도로 희석한다. 각 뉴트로킨-알파 희석물을 50마이크로리터씩 평판의 항체 희석물 시리즈에 첨가한다. 항체와 뉴트로킨-알파 희석물을 함유하는 평판을 그 다음 37°C, 5% CO₂에서 30분 동안 항온배양하고, 그 다음 모든 웰에 SAC를 함유하는 비장세포 현탁액을 50마이크로리터씩 첨가했다. 평판을 그 다음 72시간(37°C, 5% CO₂)동안 항온배양한다.

- [0651] 72시간 후, 각 웰에 $0.5 \mu\text{Ci } ^3\text{H}$ -티미딘($6.7\text{Ci}/\text{mM}$; 아머샴)을 함유하는 완전 배지 $50\mu\text{l}$ 를 보충하고, 세포를 추가 20 내지 24시간 동안 항온배양했다(37°C , $5\% \text{CO}_2$). 항온배양한 후, 세포를 Tomtec Cell Harvester를 이용하여 수거하고 필터를 TopCount 신틸레이션 계수기(Packard)에서 계수했다.
- [0652] 당업자라면, 이 분석에 실시될 수 있는 변형, 예컨대 사용되는 시약이나 단계의 순서 등을 잘 알고 있을 것이다. 구체적 예로서, B 세포는 SAC 대신에 항-IgM으로 프라이밍될 수 있다. 또한, 당업자라면 뉴트로킨-알파의 길항물질로서 작용하는 화합물의 능력을 시험하기 위해 사용될 수 있는 다른 분석법도 잘 알고 있을 것이다.
- [0653] 이상의 설명과 실시예에 구체적으로 기술된 것과 다르게 본 발명이 실행될 수도 있음은 자명한 것이다. 본 발명의 수많은 변형과 변화는 상기 교시에 비추어 가능할 것이며, 따라서 첨부되는 청구 범위의 범주에 속하는 것이다.
- [0654] 본 명세서에 인용된 모든 공개 문헌(특허, 특허출원, 저널 기사, 실험 매뉴얼, 서적 또는 다른 문서)들의 전문이 본 발명에 참고인용되었다.
- [0655] 또한, 컴퓨터 형식과 서면 형식으로 본 명세서와 함께 제출되는 서열목록도 그 전체가 참고인용되었다. 또한, 다음 각 미국 특허 가출원 및 특허출원과 국제특허출원의 전문이 본 발명에 참고인용된다: 미국 특허 가출원 60/725,625, 출원일 2005.10.13; 60/735,967, 출원일 2005.11.14; 60/776,664, 출원일 2006.2.27; 60/781,387, 출원일 2006.3.13; 60/787,557, 출원일 2006.3.31; 60/797,360, 출원일 2006.5.4; 60/814,870, 출원일 2006.6.20; 60/815,558, 출원일 2006.6.22; 60/815,827, 출원일 2006.6.23; 60/834,150, 출원일 2006.7.31; 60/725,626, 출원일 2005.10.13; 60/735,988, 출원일 2005.11.14; 60/776,665, 출원일 2006.2.27; 60/797,351, 출원일 2006.5.4; 60/814,869, 출원일 2006.6.20; 60/815,559, 출원일 2006.6.22; 60/834,152, 출원일 2006.7.31; 60/725,627, 출원일 2005.10.13; 60/735,964, 출원일 2005.11.14; 60/776,658, 출원일 2006.2.27; 60/725,629, 출원일 2005.10.13; 60/735,963, 출원일 2005.11.14; 60/776,660, 출원일 2006.2.27; 60/725,628, 출원일 2005.10.13; 60/735,987, 출원일 2005.11.14; 60/776,659, 출원일 2006.2.27; 60/543,261 출원일 2004.2.11, 60/580,387 출원일 2004.6.18, 60/617,191 출원일 2004.10.12, 60/368,548 출원일 2002.4.1, 60/336,726 출원일 2001.12.7, 60/331,478 출원일 2001.11.16, 60/330,835 출원일 2001.10.31, 60/329,747 출원일 2001.10.18, 및 60/329,508 출원일 2001.10.17, 60/225,628 출원일 2000.8.15, 60/227,008 출원일 2000.8.23, 60/234,338 출원일 2000.9.22, 60/240,806 출원일 2000.10.17, 60/250,020 출원일 2000.11.30, 60/276,248 출원일 2001.3.6, 60/293,499 출원일 2001.5.25, 60/296,122 출원일 2001.6.7, 60/304,809 출원일 2001.7.13, 60/122,388 출원일 1999.3.2, 60/124,097 출원일 1999.3.12, 60/126,599 출원일 2000.3.26, 60/127,598 출원일 1999.4.2, 60/130,412 출원일 1999.4.16, 60/130,696 출원일 1999.4.23, 60/131,278 출원일 1999.4.27, 60/131,673 출원일 1999.4.29, 60/136,784 출원일 1999.5.28, 60/142,659 출원일 1999.7.6, 60/145,824 출원일 1999.7.27, 60/167,239 출원일 1999.11.24, 60/168,624 출원일 1999.12.3, 60/171,108 출원일 1999.12.16, 60/171,626 출원일 1999.12.23, 60/176,015 출원일 2000.1.14 및 60/036,100 출원일 1997.1.14; 미국 특허 출원 11/054,539 출원일 2005.2.10, 10/739,042 출원일 2003.12.19, 10/735,865 출원일 2003.12.16, 10/270,487 출원일 2002.10.16, 09/929,493, 출원일 2001.8.14, 09/588,947 출원일 2000.6.8, 09/589,285 출원일 2000.6.8, 09/589,286 출원일 2000.6.8, 09/589,287 출원일 2000.6.8, 09/589,288 출원일 2000.6.8, 09/507,968 출원일 2000.2.22, 09/255,794 출원일 1999.2.23, 및 09/005,874 출원일 1998.1.12; 및 국제특허출원 PCT/US01/25549 출원일 2001.8.15, PCT/US00/04336, 출원일 2000.2.20, 및 PCT/US96/17957, 출원일 1996.10.25.

도면

도면1



서열 목록

<110> Human Genome Sciences, Inc.

<120> Methods and compositions for use in treatment of patients
with autoantibody positive diseases

<130> PF620PCT

<150> US 60/725,625

<151> 2005-10-13

<150> US 60/725,626

<151> 2005-10-13

<150> US 60/725,627

<151> 2005-10-13

<150> US 60/725,628
<151> 2005-10-13
<150> US 60/725,629
<151> 2005-10-13
<150> US 60/735,987
<151> 2005-11-14
<150> US 60/735,963
<151> 2005-11-14
<150> US 60/735,964
<151> 2005-11-14
<150> US 60/735,967

<151> 2005-11-14
<150> US 60/735,988
<151> 2005-11-14
<150> US 60/776,664
<151> 2006-02-27
<150> US 60/776,665
<151> 2006-02-27
<150> US 60/776,658
<151> 2006-02-27
<150> US 60/776,659
<151> 2006-02-27
<150> US 60/776,660
<151> 2006-02-27
<150> US 60/781,387
<151> 2006-03-13
<150> US 60/787,557
<151> 2006-03-31
<150> US 60/797,351
<151> 2006-05-04
<150> US 60/797,360
<151> 2006-05-04
<150> US 60/814,869
<151> 2006-06-20
<150> US 60/814,870

<151> 2006-06-20

<150>

> US 60/815,558

<151> 2006-06-22

<150> US 60/815,559

<151> 2006-06-22

<150> US 60/815,827

<151> 2006-06-23

<150> US 60/834,150

<151> 2006-07-31

<150> US 60/834,152

<151> 2006-07-31

<160> 28

<170> KopatentIn 1.71

<210> 1

<211> 1100

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (147)..(1001)

<400> 1

```

aaattcagga taactctcct gaggggtgag ccaagccctg ccatgtagtg cacgcaggac    60
atcaacaaac acagataaca ggaaatgac cattccctgt ggtcacttat tctaaaggcc    120
ccaaccttca aagttcaagt agtgat atg gat gac tcc aca gaa agg gag cag    173

```

Met Asp Asp Ser Thr Glu Arg Glu Gln

1 5

```

tca cgc ctt act tct tgc ctt aag aaa aga gaa gaa atg aaa ctg aag    221

```

Ser Arg Leu Thr Ser Cys Leu Lys Lys Arg Glu Glu Met Lys Leu Lys

10 15 20 25

```

gag tgt gtt tcc atc ctc cca cgg aag gaa agc ccc tct gtc cga tcc    269

```

Glu Cys Val Ser Ile Leu Pro Arg Lys Glu Ser Pro Ser Val Arg Ser

30 35 40

tcc aaa gac gga aag ctg ctg gct gca acc ttg ctg ctg gca ctg ctg	317
Ser Lys Asp Gly Lys Leu Leu Ala Ala Thr Leu Leu Leu Ala Leu Leu	
45 50 55	
tct tgc tgc ctc acg gtg gtg tct ttc tac cag gtg gcc gcc ctg caa	365
Ser Cys Cys Leu Thr Val Val Ser Phe Tyr Gln Val Ala Ala Leu Gln	
60 65 70	
ggg gac ctg gcc agc ctc cgg gca gag ctg cag ggc cac cac gcg gag	413
Gly Asp Leu Ala Ser Leu Arg Ala Glu Leu Gln Gly His His Ala Glu	
75 80 85	
aag ctg cca gca gga gca gga gcc ccc aag gcc ggc ctg gag gaa gct	461
Lys Leu Pro Ala Gly Ala Gly Ala Pro Lys Ala Gly Leu Glu Glu Ala	
90 95 100 105	
cca gct gtc acc gcg gga ctg aaa atc ttt gaa cca cca gct cca gga	509
Pro Ala Val Thr Ala Gly Leu Lys Ile Phe Glu Pro Pro Ala Pro Gly	
110 115 120	
gaa ggc aac tcc agt cag aac agc aga aat aag cgt gcc gtt cag ggt	557
Glu Gly Asn Ser Ser Gln Asn Ser Arg Asn Lys Arg Ala Val Gln Gly	
125 130 135	
cca gaa gaa aca gtc act caa gac tgc ttg caa ctg att gca gac agt	605
Pro Glu Glu Thr Val Thr Gln Asp Cys Leu Gln Leu Ile Ala Asp Ser	
140 145 150	
gaa aca cca act ata caa aaa gga tct tac aca ttt gtt cca tgg ctt	653
Glu Thr Pro Thr Ile Gln Lys Gly Ser Tyr Thr Phe Val Pro Trp Leu	
155 160 165	
ctc agc ttt aaa agg gga agt gcc cta gaa gaa aaa gag aat aaa ata	701
Leu Ser Phe Lys Arg Gly Ser Ala Leu Glu Glu Lys Glu Asn Lys Ile	
170 175 180 185	
ttg gtc aaa gaa act ggt tac ttt ttt ata tat ggt cag gtt tta tat	749
Leu Val Lys Glu Thr Gly Tyr Phe Phe Ile Tyr Gly Gln Val Leu Tyr	
190 195 200	
act gat aag acc tac gcc atg gga cat cta att cag agg aag aag gtc	797

Thr Asp Lys Thr Tyr Ala Met Gly His Leu Ile Gln Arg Lys Lys Val
205 210 215
cat gtc ttt ggg gat gaa ttg agt ctg gtg act ttg ttt cga tgt att 845
His Val Phe Gly Asp Glu Leu Ser Leu Val Thr Leu Phe Arg Cys Ile
220 225 230
caa aat atg cct gaa aca cta ccc aat aat tcc tgc tat tca gct ggc 893
Gln Asn Met Pro Glu Thr Leu Pro Asn Asn Ser Cys Tyr Ser Ala Gly
235 240 245

att gca aaa ctg gaa gaa gga gat gaa ctc caa ctt gca ata cca aga 941
Ile Ala Lys Leu Glu Glu Gly Asp Glu Leu Gln Leu Ala Ile Pro Arg
250 255 260 265
gaa aat gca caa ata tca ctg gat gga gat gtc aca ttt ttt ggt gca 989
Glu Asn Ala Gln Ile Ser Leu Asp Gly Asp Val Thr Phe Phe Gly Ala
270 275 280
ttg aaa ctg ctg tgacctactt acaccatgtc tgtagctatt ttctccctt 1041

Leu Lys Leu Leu
285
tctctgtacc tctaagaaga aagaatctaa ctgaaaatac caaaaaaaaa aaaaaaaaa 1100
<210> 2
<211> 285
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 2
Met Asp Asp Ser Thr Glu Arg Glu Gln Ser Arg Leu Thr Ser Cys Leu
1 5 10 15
Lys Lys Arg Glu Glu Met Lys Leu Lys Glu Cys Val Ser Ile Leu Pro
20 25 30
Arg Lys Glu Ser Pro Ser Val Arg Ser Ser Lys Asp Gly Lys Leu Leu
35 40 45
Ala Ala Thr Leu Leu Leu Ala Leu Leu Ser Cys Cys Leu Thr Val Val
50 55 60
Ser Phe Tyr Gln Val Ala Ala Leu Gln Gly Asp Leu Ala Ser Leu Arg

65						70								75								80	
Ala	Glu	Leu	Gln	Gly	Gly	His	His	Ala	Glu	Lys	Leu	Pro	Ala	Gly	Ala	Gly							
					85								90								95		
Ala	Pro	Lys	Ala	Gly	Leu	Glu	Glu	Ala	Pro	Ala	Val	Thr	Ala	Gly	Leu								
					100								105								110		
Lys	Ile	Phe	Glu	Pro	Pro	Ala	Pro	Gly	Glu	Gly	Asn	Ser	Ser	Gln	Asn								
					115								120								125		
Ser	Arg	Asn	Lys	Arg	Ala	Val	Gln	Gly	Pro	Glu	Glu	Thr	Val	Thr	Gln								
					130								135								140		
Asp	Cys	Leu	Gln	Leu	Ile	Ala	Asp	Ser	Glu	Thr	Pro	Thr	Ile	Gln	Lys								
					145								150								155		
Gly	Ser	Tyr	Thr	Phe	Val	Pro	Trp	Leu	Leu	Ser	Phe	Lys	Arg	Gly	Ser								
					165								170								175		
Ala	Leu	Glu	Glu	Lys	Glu	Asn	Lys	Ile	Leu	Val	Lys	Glu	Thr	Gly	Tyr								
					180								185								190		
Phe	Phe	Ile	Tyr	Gly	Gln	Val	Leu	Tyr	Thr	Asp	Lys	Thr	Tyr	Ala	Met								
					195								200								205		
Gly	His	Leu	Ile	Gln	Arg	Lys	Lys	Val	His	Val	Phe	Gly	Asp	Glu	Leu								
					210								215								220		
Ser	Leu	Val	Thr	Leu	Phe	Arg	Cys	Ile	Gln	Asn	Met	Pro	Glu	Thr	Leu								
					225								230								235		
Pro	Asn	Asn	Ser	Cys	Tyr	Ser	Ala	Gly	Ile	Ala	Lys	Leu	Glu	Glu	Gly								
					245								250								255		
Asp	Glu	Leu	Gln	Leu	Ala	Ile	Pro	Arg	Glu	Asn	Ala	Gln	Ile	Ser	Leu								
					260								265								270		
Asp	Gly	Asp	Val	Thr	Phe	Phe	Gly	Ala	Leu	Lys	Leu	Leu											
					275								280								285		

 $\langle 210 \rangle$ 3

<211> 1717

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (282)..(1034)

<400> 3

```

acctctgtcc ttagagggga ctggaaccta attctcctga gcctgagggg gggaggagg 60
tctcaagaca acgtgtccc caccagggag tgccaggagc actaacagta cccttagatt 120
gctttccicc tccctccttt tttattttca agttcctttt tatttctcct tgcgtaacaa 180
ccttttccc ttctgcacca ctgcccgtac ccttaccgc gccgccacct ccttctaca 240
ccactcttga aaccacagct gttggcaggg tccccagct c atg cca gcc tca tct 296

```

Met Pro Ala Ser Ser

1 5

```

cct ttc ttg cta gcc ccc aaa ggg cct cca ggc aac atg ggg ggc cca 344
Pro Phe Leu Leu Ala Pro Lys Gly Pro Pro Gly Asn Met Gly Gly Pro

```

10 15 20

```

gtc aga gag ccg gca ctc tca gtt gcc ctc tgg ttg agt tgg ggg gca 392
Val Arg Glu Pro Ala Leu Ser Val Ala Leu Trp Leu Ser Trp Gly Ala

```

25 30 35

```

gct ctg ggg gcc gtg gct tgt gcc atg gct ctg ctg acc caa caa aca 440

```

Ala Leu Gly Ala Val Ala Cys Ala Met Ala Leu Leu Thr Gln Gln Thr

40 45 50

```

gag ctg cag agc ctc agg aga gag gtg agc cgg ctg cag agg aca gga 488
Glu Leu Gln Ser Leu Arg Arg Glu Val Ser Arg Leu Gln Arg Thr Gly

```

55 60 65

```

ggc ccc tcc cag aat ggg gaa ggg tat ccc tgg cag agt ctc ccg gag 536
Gly Pro Ser Gln Asn Gly Glu Gly Tyr Pro Trp Gln Ser Leu Pro Glu

```

70 75 80 85

```

cag agt tcc gat gcc ctg gaa gcc tgg gag aat ggg gag aga tcc cgg 584
Gln Ser Ser Asp Ala Leu Glu Ala Trp Glu Asn Gly Glu Arg Ser Arg

```

90 95 100

```

aaa agg aga gca gtg ctc acc caa aaa cag aag aag cag cac tct gtc 632
Lys Arg Arg Ala Val Leu Thr Gln Lys Gln Lys Lys Gln His Ser Val

```

105 110 115

ctg cac ctg gtt ccc att aac gcc acc tcc aag gat gac tcc gat gtg 680

Leu His Leu Val Pro Ile Asn Ala Thr Ser Lys Asp Asp Ser Asp Val
120 125 130

aca gag gtg atg tgg caa cca gct ctt agg cgt ggg aga ggc cta cag 728
Thr Glu Val Met Trp Gln Pro Ala Leu Arg Arg Gly Arg Gly Leu Gln
135 140 145

gcc caa gga tat ggt gtc cga atc cag gat gct gga gtt tat ctg ctg 776
Ala Gln Gly Tyr Gly Val Arg Ile Gln Asp Ala Gly Val Tyr Leu Leu
150 155 160 165

tat agc cag gtc ctg ttt caa gac gtg act ttc acc atg ggt cag gtg 824
Tyr Ser Gln Val Leu Phe Gln Asp Val Thr Phe Thr Met Gly Gln Val
170 175 180

gtg tct cga gaa ggc caa gga agg cag gag act cta ttc cga tgt ata 872
Val Ser Arg Glu Gly Gln Gly Arg Gln Glu Thr Leu Phe Arg Cys Ile
185 190 195

aga agt atg ccc tcc cac ccg gac cgg gcc tac aac agc tgc tat agc 920

Arg Ser Met Pro Ser His Pro Asp Arg Ala Tyr Asn Ser Cys Tyr Ser
200 205 210

gca ggt gtc ttc cat tta cac caa ggg gat att ctg agt gtc ata att 968
Ala Gly Val Phe His Leu His Gln Gly Asp Ile Leu Ser Val Ile Ile
215 220 225

ccc cgg gca agg gcg aaa ctt aac ctc tct cca cat gga acc ttc ctg 1016
Pro Arg Ala Arg Ala Lys Leu Asn Leu Ser Pro His Gly Thr Phe Leu
230 235 240 245

ggg ttt gtg aaa ctg tga ttgtgttata aaaagtggct ccagcttgg 1064
Gly Phe Val Lys Leu
250

aagaccaggg tgggtacata ctggagacag ccaagagctg agtatataaa ggagagggaa 1124
tgtgcaggaa cagaggcgtc ttcttgggtt tggctccccg ttctcactt ttcccttttc 1184
attccacccc cctagacttt gattttacgg atatcttget tctgttcccc atggagctcc 1244
gaattcttgc gtgtgtgtag atgaggggcg ggggacgggc gccaggcatt gtccagacct 1304

ggtcggggcc cactggaagc atccagaaca gcaccacat ctagcgccg ctctagagga 1364

tcctcgagg ggccaagct tacgcgtgca tgcgacgtca tagctctctc cctatagtga 1424

gtcgtattat aagctagctt gggatctttg tgaaggaacc ttacttctgt ggtgtgacat 1484

aattggacaa actacctaca gagatttaaa gctctaaggt aaatataaaa tttttaagtg 1544

tataatgtgt taaactagct gcatatgctt gctgcttgag agtttgctt actgagtatg 1604

attatgaaaa tattatacac aggagctagt gatctatgtt ggtttttagat caagccaagg 1664

tcattcaggc ctcagctcaa gctgtcatga tcatatcagc atacaattgt gag 1717

<210> 4

<211> 250

<212>

PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Pro Ala Ser Ser Pro Phe Leu Leu Ala Pro Lys Gly Pro Pro Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Trp Gly Ala Ala Leu Gly Ala Val Ala Cys Ala Met Ala Leu

35 40 45

Leu Thr Gln Gln Thr Glu Leu Gln Ser Leu Arg Arg Glu Val Ser Arg

50 55 60

Leu Gln Arg Thr Gly Gly Pro Ser Gln Asn Gly Glu Gly Tyr Pro Trp

65 70 75 80

Gln Ser Leu Pro Glu Gln Ser Ser Asp Ala Leu Glu Ala Trp Glu Asn

85 90 95

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

100 105 110

Lys Gln His Ser Val Leu His Leu Val Pro Ile Asn Ala Thr Ser Lys

115 120 125

Asp Asp Ser Asp Val Thr Glu Val Met Trp Gln Pro Ala Leu Arg Arg

130 135 140

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

145 150 155 160
 Gly Val Tyr Leu Leu Tyr Ser Gln Val Leu Phe Gln Asp Val Thr Phe
 165 170 175
 Thr Met Gly Gln Val Val Ser Arg Glu Gly Gln Gly Arg Gln Glu Thr

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

245 250

<210> 5

<211> 882

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(882)

<400> 5

atg agt ggc ctg ggc cgg agc agg cga ggt ggc cgg agc cgt gtg gac 48
 Met Ser Gly Leu Gly Arg Ser Arg Arg Gly Gly Arg Ser Arg Val Asp
 1 5 10 15
 cag gag gag cgc ttt cca cag ggc ctg tgg acg ggg gtg gct atg aga 96
 Gln Glu Glu Arg Phe Pro Gln Gly Leu Trp Thr Gly Val Ala Met Arg

 20 25 30
 tcc tgc ccc gaa gag cag tac tgg gat cct ctg ctg ggt acc tgc atg 144
 Ser Cys Pro Glu Glu Gln Tyr Trp Asp Pro Leu Leu Gly Thr Cys Met
 35 40 45
 tcc tgc aaa acc att tgc aac cat cag agc cag cgc acc tgt gca gcc 192
 Ser Cys Lys Thr Ile Cys Asn His Gln Ser Gln Arg Thr Cys Ala Ala

50	55	60	
ttc tgc agg tca ctc agc tgc cgc aag gag caa ggc aag ttc tat gac			240
Phe Cys Arg Ser Leu Ser Cys Arg Lys Glu Gln Gly Lys Phe Tyr Asp			
65	70	75	80
cat ctc ctg agg gac tgc atc agc tgt gcc tcc atc tgt gga cag cac			288
His Leu Leu Arg Asp Cys Ile Ser Cys Ala Ser Ile Cys Gly Gln His			
85	90	95	
cct aag caa tgt gca tac ttc tgt gag aac aag ctc agg agc cca gtg			336
Pro Lys Gln Cys Ala Tyr Phe Cys Glu Asn Lys Leu Arg Ser Pro Val			
100	105	110	
aac ctt cca cca gag ctc agg aga cag cgg agt gga gaa gtt gaa aac			384
Asn Leu Pro Pro Glu Leu Arg Arg Gln Arg Ser Gly Glu Val Glu Asn			
115	120	125	
aat tca gac aac tcg gga agg tac caa gga ttg gag cac aga ggc tca			432
Asn Ser Asp Asn Ser Gly Arg Tyr Gln Gly Leu Glu His Arg Gly Ser			
130	135	140	
gaa gca agt cca gct ctc ccg ggg ctg aag ctg agt gca gat cag gtg			480
Glu Ala Ser Pro Ala Leu Pro Gly Leu Lys Leu Ser Ala Asp Gln Val			
145	150	155	160
gcc ctg gtc tac agc acg ctg ggg ctc tgc ctg tgt gcc gtc ctc tgc			528
Ala Leu Val Tyr Ser Thr Leu Gly Leu Cys Leu Cys Ala Val Leu Cys			
165	170	175	
tgc ttc ctg gtg gcg gtg gcc tgc ttc ctc aag aag agg ggg gat ccc			576
Cys Phe Leu Val Ala Val Ala Cys Phe Leu Lys Lys Arg Gly Asp Pro			
180	185	190	
tgc tcc tgc cag ccc cgc tca agg ccc cgt caa agt ccg gcc aag tct			624
Cys Ser Cys Gln Pro Arg Ser Arg Pro Arg Gln Ser Pro Ala Lys Ser			
195	200	205	
tcc cag gat cac gcg atg gaa gcc ggc agc cct gtg agc aca tcc ccc			672
Ser Gln Asp His Ala Met Glu Ala Gly Ser Pro Val Ser Thr Ser Pro			
210	215	220	

gag cca gtg gag acc tgc agc ttc tgc ttc cct gag tgc agg gcg ccc 720

Glu Pro Val Glu Thr Cys Ser Phe Cys Phe Pro Glu Cys Arg Ala Pro
 225 230 235 240
 acg cag gag agc gca gtc acg cct ggg acc ccc gac ccc act tgt gct 768
 Thr Gln Glu Ser Ala Val Thr Pro Gly Thr Pro Asp Pro Thr Cys Ala
 245 250 255
 gga agg tgg ggg tgc cac acc agg acc aca gtc ctg cag cct tgc cca 816
 Gly Arg Trp Gly Cys His Thr Arg Thr Thr Val Leu Gln Pro Cys Pro
 260 265 270
 cac atc cca gac agt ggc ctt ggc att gtg tgt gtg cct gcc cag gag 864
 His Ile Pro Asp Ser Gly Leu Gly Ile Val Cys Val Pro Ala Gln Glu
 275 280 285
 ggg ggc cca ggt gca taa 882
 Gly Gly Pro Gly Ala
 290

<210> 6
 <211> 293
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 6

Met Ser Gly Leu Gly Arg Ser Arg Arg Gly Gly Arg Ser Arg Val Asp

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

65 70 75 80
 His Leu Leu Arg Asp Cys Ile Ser Cys Ala Ser Ile Cys Gly Gln His

85	90	95	
Pro Lys Gln Cys Ala Tyr Phe Cys Glu Asn Lys Leu Arg Ser Pro Val			
100	105	110	
Asn Leu Pro Pro Glu Leu Arg Arg Gln Arg Ser Gly Glu Val Glu Asn			
115	120	125	
Asn Ser Asp Asn Ser Gly Arg Tyr Gln Gly Leu Glu His Arg Gly Ser			
130	135	140	
Glu Ala Ser Pro Ala Leu Pro Gly Leu Lys Leu Ser Ala Asp Gln Val			
145	150	155	160
Ala Leu Val Tyr Ser Thr Leu Gly Leu Cys Leu Cys Ala Val Leu Cys			
165	170	175	
Cys Phe Leu Val Ala Val Ala Cys Phe Leu Lys Lys Arg Gly Asp Pro			
180	185	190	
Cys Ser Cys Gln Pro Arg Ser Arg Pro Arg Gln Ser Pro Ala Lys Ser			
195	200	205	
Ser Gln Asp His Ala Met Glu Ala Gly Ser Pro Val Ser Thr Ser Pro			
210	215	220	
Glu Pro Val Glu Thr Cys Ser Phe Cys Phe Pro Glu Cys Arg Ala Pro			
225	230	235	240
Thr Gln Glu Ser Ala Val Thr Pro Gly Thr Pro Asp Pro Thr Cys Ala			
245	250	255	
Gly Arg Trp Gly Cys His Thr Arg Thr Thr Val Leu Gln Pro Cys Pro			
260	265	270	
His Ile Pro Asp Ser Gly Leu Gly Ile Val Cys Val Pro Ala Gln Glu			
275	280	285	
Gly Gly Pro Gly Ala			
290			

<210> 7

<211> 834

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (67)..(621)

<400> 7

ttgtaagata ttacttgtcc ttccaggtcg ttctttctgt agtcaccttg ttttcttttt	60
gtgac atg ttg cag atg gct ggg cag tgc tcc caa aat gaa tat ttt	108
Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe	
1 5 10	
gac agt ttg ttg cat gct tgc ata cct tgt caa ctt cga tgt tct tct	156
Asp Ser Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser	
15 20 25 30	
aat act cct cct cta aca tgt cag cgt tat tgt aat gca agt gtg acc	204
Asn Thr Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr	
35 40 45	
aat tca gtg aaa gga acg aat gcg att ctc tgg acc tgt ttg gga ctg	252
Asn Ser Val Lys Gly Thr Asn Ala Ile Leu Trp Thr Cys Leu Gly Leu	
50 55 60	
agc tta ata att tct ttg gca gtt ttc gtg cta atg ttt ttg cta agg	300
Ser Leu Ile Ile Ser Leu Ala Val Phe Val Leu Met Phe Leu Leu Arg	
65 70 75	
aag ata agc tct gaa cca tta aag gac gag ttt aaa aac aca gga tca	348
Lys Ile Ser Ser Glu Pro Leu Lys Asp Glu Phe Lys Asn Thr Gly Ser	
80 85 90	
ggt ctc ctg ggc atg gct aac att gac ctg gaa aag agc agg act ggt	396
Gly Leu Leu Gly Met Ala Asn Ile Asp Leu Glu Lys Ser Arg Thr Gly	
95 100 105 110	
gat gaa att att ctt ccg aga ggc ctc gag tac acg gtg gaa gaa tgc	444
Asp Glu Ile Ile Leu Pro Arg Gly Leu Glu Tyr Thr Val Glu Glu Cys	
115 120 125	
acc tgt gaa gac tgc atc aag agc aaa ccg aag gtc gac tct gac cat	492
Thr Cys Glu Asp Cys Ile Lys Ser Lys Pro Lys Val Asp Ser Asp His	
130 135 140	

tgc ttt cca ctc cca gct atg gag gaa ggc gca acc att ctt gtc acc 540
 Cys Phe Pro Leu Pro Ala Met Glu Glu Gly Ala Thr Ile Leu Val Thr
 145 150 155
 acg aaa acg aat gac tat tgc aag agc ctg cca gct gct ttg agt gct 588
 Thr Lys Thr Asn Asp Tyr Cys Lys Ser Leu Pro Ala Ala Leu Ser Ala
 160 165 170
 acg gag ata gag aaa tca att tct gct agg taa ttaaccattt cgactcgagc 641
 Thr Glu Ile Glu Lys Ser Ile Ser Ala Arg
 175 180
 agtgccactt taaaaatctt ttgtcagaat agatgatgtg tcagatctct ttaggatgac 701
 tgtatatttc agttgccgat acagcttttt gtctcttaac tgtggaaact ctttatgtta 761
 gatatatattc tctaggttac tgttgggagc ttaatggttag aaacttcctt ggtttctatg 821
 attaaagtct ttt 834

<210> 8

<211> 184

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser
 1 5 10 15
 Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr
 20 25 30
 Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser
 35 40 45
 Val Lys Gly Thr Asn Ala Ile Leu Trp Thr Cys Leu Gly Leu Ser Leu
 50 55 60
 Ile Ile Ser Leu Ala Val Phe Val Leu Met Phe Leu Leu Arg Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Ser Glu Pro Leu Lys Asp Glu Phe Lys Asn Thr Gly Ser Gly Leu
 85 90 95
 Leu Gly Met Ala Asn Ile Asp Leu Glu Lys Ser Arg Thr Gly Asp Glu
 100 105 110

Ile Ile Leu Pro Arg Gly Leu Glu Tyr Thr Val Glu Glu Cys Thr Cys
 115 120 125

Glu Asp Cys Ile Lys Ser Lys Pro Lys Val Asp Ser Asp His Cys Phe
 130 135 140

Pro Leu Pro Ala Met Glu Glu Gly Ala Thr Ile Leu Val Thr Thr Lys
 145 150 155 160

Thr Asn Asp Tyr Cys Lys Ser Leu Pro Ala Ala Leu Ser Ala Thr Glu
 165 170 175

Ile Glu Lys Ser Ile Ser Ala Arg
 180

<210> 9

<211> 899

<212> DNA

<213>

> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (6)..(560)

<400> 9

gcacc atg agg cga ggg ccc cgg agc ctg cgg ggc agg gac gcg cca gcc 50
 Met Arg Arg Gly Pro Arg Ser Leu Arg Gly Arg Asp Ala Pro Ala
 1 5 10 15

ccc acg ccc tgc gtc ccg gcc gag tgc ttc gac ctg ctg gtc cgc cac 98
 Pro Thr Pro Cys Val Pro Ala Glu Cys Phe Asp Leu Leu Val Arg His
 20 25 30

tgc gtg gcc tgc ggg ctc ctg cgc acg ccg cgg ccg aaa ccg gcc ggg 146
 Cys Val Ala Cys Gly Leu Leu Arg Thr Pro Arg Pro Lys Pro Ala Gly
 35 40 45

gcc agc agc cct gcg ccc agg acg gcg ctg cag ccg cag gag tcg gtg 194
 Ala Ser Ser Pro Ala Pro Arg Thr Ala Leu Gln Pro Gln Glu Ser Val
 50 55 60

ggc gcg ggg gcc ggc gag gcg gcg ctg ccc ctg ccc ggg ctg ctc ttt 242

Gly Ala Gly Ala Gly Glu Ala Ala Leu Pro Leu Pro Gly Leu Leu Phe

65	70	75	
ggc gcc ccc gcg ctg ctg ggc ctg gca ctg gtc ctg gcg ctg gtc ctg	290		
Gly Ala Pro Ala Leu Leu Gly Leu Ala Leu Val Leu Ala Leu Val Leu			
80	85	90	95
gtg ggt ctg gtg agc tgg agg cgg cga cag cgg cgg ctt cgc ggc gcg	338		
Val Gly Leu Val Ser Trp Arg Arg Arg Gln Arg Arg Leu Arg Gly Ala			
100	105	110	
tcc tcc gca gag gcc ccc gac gga gac aag gac gcc cca gag ccc ctg	386		

Ser Ser Ala Glu Ala Pro Asp Gly Asp Lys Asp Ala Pro Glu Pro Leu	
115	120
gac aag gtc atc att ctg tct ccg gga atc tct gat gcc aca gct cct	434
Asp Lys Val Ile Ile Leu Ser Pro Gly Ile Ser Asp Ala Thr Ala Pro	
130	135
gcc tgg cct cct cct ggg gaa gac cca gga acc acc cca cct ggc cac	482
Ala Trp Pro Pro Pro Gly Glu Asp Pro Gly Thr Thr Pro Pro Gly His	
145	150
155	

agt gtc cct gtg cca gcc aca gag ctg ggc tcc act gaa ctg gtg acc	530
Ser Val Pro Val Pro Ala Thr Glu Leu Gly Ser Thr Glu Leu Val Thr	
160	165
170	175
acc aag acg gcc ggc cct gag caa caa tag caggagaccg gcaggaggtg	580
Thr Lys Thr Ala Gly Pro Glu Gln Gln	

180	
gcccctgccc tcctctgga cccccagcca ggggcttga aatcaaattc agctcttcac	640
tccagcatgc acatgccctc ttcttgggac caggctaacc ctgcagaage acagacacta	700

cagaccacag cattcagccc ccatggagtt tgggtgtgctt gcctttggct tcagacctca	760
ccatctttga cagcccttga aggttggtage ccagctctg ttctgtgcc ttcaaaaggc	820
tggggcacta tgagtaaaag accgctttta aaatggggaa ggcaccatta agccaaaatg	880
aatctgaaaa aagacaaaa	899

<210> 10

<211> 184

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Met Arg Arg Gly Pro Arg Ser Leu Arg Gly Arg Asp Ala Pro Ala Pro
1 5 10 15

Thr Pro Cys Val Pro Ala Glu Cys Phe Asp Leu Leu Val Arg His Cys
20 25 30

Val Ala Cys Gly Leu Leu Arg Thr Pro Arg Pro Lys Pro Ala Gly Ala
35 40 45

Ser Ser Pro Ala Pro Arg Thr Ala Leu Gln Pro Gln Glu Ser Val Gly
50 55 60

Ala Gly Ala Gly Glu Ala Ala Leu Pro Leu Pro Gly Leu Leu Phe Gly
65 70 75 80

Ala Pro Ala Leu Leu Gly Leu Ala Leu Val Leu Ala Leu Val Leu Val
85 90 95

Gly Leu Val Ser Trp Arg Arg Arg Gln Arg Arg Leu Arg Gly Ala Ser
100 105 110

Ser Ala Glu Ala Pro Asp Gly Asp Lys Asp Ala Pro Glu Pro Leu Asp
115 120 125

Lys Val Ile Ile Leu Ser Pro Gly Ile Ser Asp Ala Thr Ala Pro Ala
130 135 140

Trp Pro Pro Pro Gly Glu Asp Pro Gly Thr Thr Pro Pro Gly His Ser
145 150 155 160

Val Pro Val Pro Ala Thr Glu Leu Gly Ser Thr Glu Leu Val Thr Thr
165 170 175

Lys Thr Ala Gly Pro Glu Gln Gln
180

<210> 11

<211> 585

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp

245	250	255
Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser		
260	265	270
Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His		
275	280	285
Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser		
290	295	300
Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala		
305	310	315
Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg		
325	330	335
Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr		
340	345	350
Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu		
355	360	365
Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro		
370	375	380
Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu		
385	390	395
Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro		
405	410	415
Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys		
420	425	430
Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys		
435	440	445
Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His		
450	455	460
Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser		
465	470	475
Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr		
485	490	495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510
Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525
Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540
Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560
Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575
Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 12

<211

> 266

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Met Asp Asp Ser Thr Glu Arg Glu Gln Ser Arg Leu Thr Ser Cys Leu
1 5 10 15
Lys Lys Arg Glu Glu Met Lys Leu Lys Glu Cys Val Ser Ile Leu Pro
20 25 30
Arg Lys Glu Ser Pro Ser Val Arg Ser Ser Lys Asp Gly Lys Leu Leu
35 40 45
Ala Ala Thr Leu Leu Leu Ala Leu Leu Ser Cys Cys Leu Thr Val Val
50 55 60
Ser Phe Tyr Gln Val Ala Ala Leu Gln Gly Asp Leu Ala Ser Leu Arg
65 70 75 80
Ala Glu Leu Gln Gly His His Ala Glu Lys Leu Pro Ala Gly Ala Gly
85 90 95
Ala Pro Lys Ala Gly Leu Glu Glu Ala Pro Ala Val Thr Ala Gly Leu
100 105 110

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

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

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

245	250	255
Val Thr Phe Phe Gly Ala Leu Lys Leu Leu		
260	265	

<210> 13

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> OTHER INFORMATION: I006D08 scFv

<400> 13

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Arg Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Asn Asn Asn
20 25 30

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

<210> 14

<211> 251

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> OTHER INFORMATION: I050B11 scFv

<400> 14

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Glu Leu Arg Ser Leu Lys Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Glu Thr

130 135 140

Thr Leu Thr Gln Ser Pro Asp Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg

145 150 155 160

Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Arg Gly Trp Val

165 170 175

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

180 185 190

Gly Thr Ser Arg Arg Ala Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser

195 200 205

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

210 215 220

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ala Thr Ser Pro Arg Thr
 225 230 235 240
 Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg
 245 250

<210> 15

<211> 250

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> OTHER INFORMATION: I050A12 scFv

<400> 15

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Ser His Tyr
 20 25 30

Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Thr Phe Asn Ala Val Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Ala Thr Ile Thr Ala Asp Gly Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Thr Ala Pro Tyr Asp Leu Leu Thr His Tyr Phe His Tyr Phe Asp
 100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
 115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu
 130 135 140

Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Thr Leu Gly Gln Thr Val Arg
 145 150 155 160

Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Pro Ser Trp Tyr

165 170 175
Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr Pro Lys Asn
180 185 190
Ile Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly
195 200 205

Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala
210 215 220
Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Ala Ser Ser Gly Asn His Tyr Val Phe
225 230 235 240
Ala Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
245 250

<210> 16

<211> 251

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> OTHER INFORMATION: I050B11-15 scFv

<400> 16

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

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

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

Val Ala Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Glu Thr
130 135 140
Thr Leu Thr Gln Ser Pro Asp Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg
145 150 155 160
Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Arg Gly Trp Val
165 170 175
Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Met Tyr
180 185 190
Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
195 200 205
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu
210 215 220
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ala Thr Ser Pro Arg Thr
225 230 235 240
Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg
245 250

<210> 17

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> OTHER INFORMATION: I116A01 scFv

<400> 17

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

50 55 60

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

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

 Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn
 195 200 205
 Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp
 210 215 220
 Tyr Tyr Cys Ser Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His Trp Val Phe Gly
 225 230 235 240
 Gly Gly Thr Glu Leu Thr Val Leu Gly
 245

<210> 18

<211> 250

<212> PRT

<213>

> Artificial

<220>

<223> OTHER INFORMATION: I026C04-K scFv

<400> 18

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1			5						10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gly	Gly	Ser	Phe	Asn	Lys	His
			20						25					30	
Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Arg	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
			35						40					45	
Gly	Gly	Ile	Leu	Pro	Met	Tyr	Gly	Thr	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
			50						55					60	
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Lys	Leu	Thr	Asn	Thr	Val	Tyr
65									70					75	80
Met	Asp	Leu	Ser	Arg	Leu	Arg	Tyr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
									85					90	95
Ala	Arg	Glu	Leu	Gly	Leu	Ser	Ile	Val	Gly	Ala	Thr	Thr	Gly	Ala	Leu
									100					105	110
Asp	Met	Trp	Gly	Lys	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly
									115					120	125
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	Gln	Ser	Val
									130					135	140
Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Ala	Ala	Pro	Gly	Gln	Lys	Val	Thr
145									150					155	160
Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Ser	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Asn	Asn	Tyr	Val	Ser
									165					170	175
Trp	Tyr	Gln	Gln	Ile	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Glu
									180					185	190
Asn	Asn	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Lys
									195					200	205
Ser	Gly	Ala	Ser	Ala	Thr	Leu	Asp	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln	Thr	Gly	Asp
									210					215	220
Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Thr	Trp	His	Ser	Ser	Gln	Val	Val	Phe
225									230					235	240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

245 250

<210> 19

<211> 120

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 19

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Tyr Ile Ile Pro Arg Asn Thr Tyr Thr Thr Phe Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Asn Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg His Tyr Gly Gly Gly Tyr Trp Phe Phe Asp Val Trp Gly Ala

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 20

<211> 113

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 20

Glu Leu Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Gly Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr

20 25 30

Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
 50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Tyr
 65 70 75 80

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

Asp Asp Pro Met Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

Arg

<210> 21

<211> 123

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
 20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Phe Asp Tyr
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 22

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Ser Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105

<210> 23

<211> 293

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> OTHER INFORMATION: Neutrokine-alpha inhibitory peptibody

<400> 23

Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys

1 5 10 15

Asp Pro Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala

20 25 30

Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr His Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp

35 40 45

Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Gly Gly Gly
50 55 60

Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
65 70 75 80

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
85 90 95

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
100 105 110

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
115 120 125

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
130 135 140

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
145 150 155 160

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
165 170 175

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
180 185 190

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
195 200 205

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
210 215 220

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
225 230 235 240

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
245 250 255

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
260 265 270

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
275 280 285

Leu Ser Pro Gly Lys

290

<210> 24

<211> 293

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> OTHER INFORMATION: Neutrokin- α inhibitory peptibody

<400> 24

Met Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys

1 5 10 15
His Gly Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala

20 25 30
Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr His Met Phe His Asp Cys Lys Trp

35 40 45
Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys His Gly Leu Gly Gly Gly Gly

50 55 60
Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu

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

85 90 95
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val

100 105 110
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val

115 120 125
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser

130 135 140
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu

145 150 155 160
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala

165 170 175
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro

180 185 190

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln

195 200 205
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
210 215 220
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
225 230 235 240
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
245 250 255
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser

260 265 270
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
275 280 285
Leu Ser Pro Gly Lys
290

<210> 25

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> OTHER INFORMATION: Neutrokin- α binding peptide

<400> 25

Gly Gln Met Gly Trp Arg Trp Asp Pro Leu Thr Lys Met Trp Leu Gly
1 5 10 15
Thr Ser

<210> 26

<211> 70

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> OTHER INFORMATION: Amino acids 1-70 of BAFF-R (SEQ ID NO:10) with V20N & L27P amino acid substitutions

<400> 26

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

<210> 27

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> SIGNAL

<222> (1)..(17)

<400> 27

Met Leu Gln Asn Ser Ala Val Leu Leu Leu Leu Val Ile Ser Ala Ser
 1 5 10 15
 Ala

<210>

28

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> OTHER INFORMATION: consensus signal sequence

<220>

<221> SIGNAL

<222> (1)..(22)

<400> 28

Met Pro Thr Trp Ala Trp Trp Leu Phe Leu Val Leu Leu Leu Ala Leu
 1 5 10 15

Trp Ala Pro Ala Arg Gly

20