



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년04월26일
(11) 등록번호 10-1615420
(24) 등록일자 2016년04월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) G01N 33/53 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-7013288
(22) 출원일자(국제) 2011년12월16일
심사청구일자 2013년05월24일
(85) 번역문제출일자 2013년05월24일
(65) 공개번호 10-2013-0082508
(43) 공개일자 2013년07월19일
(86) 국제출원번호 PCT/US2011/065410
(87) 국제공개번호 WO 2012/083132
국제공개일자 2012년06월21일
(30) 우선권주장
61/459,760 2010년12월16일 미국(US)
(뒷면에 계속)
(56) 선행기술조사문헌
W02005062967 A2*
US20030152956 A1
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
제넨테크, 인크.
미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우스샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
(72) 발명자
애론, 조세프 알.
미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내
에릭슨, 리차드 더블유.
미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이귀동, 위혜숙

전체 청구항 수 : 총 85 항

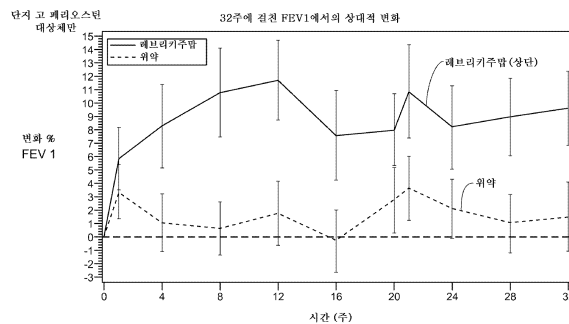
심사관 : 김승오

(54) 발명의 명칭 TH2 억제에 관한 진단 및 치료

(57) 요약

천식을 포함하나 이에 제한되지는 않는 TH2 억제와 관련된 장애를 진단하고 치료하는 방법이 제공된다. 또한, TH2 경로 억제제인 특정의 치료제로의 치료를 위해 환자를 선택하거나 확인하는 방법이 제공된다.

대표도



(72) 발명자

프리머, 미셸

미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 디엔
에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내

헤이즌, 메레디쓰

미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 디엔
에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내

지아, 귀쿠안

미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 디엔
에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내

매튜스, 존 지.

미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 디엔
에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내

푸트남, 웬디

미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 디엔
에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내

스치렌스, 헬린

미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 디엔
에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내

쟁, 야난

미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 디엔
에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내

(30) 우선권주장

61/465,425 2011년03월18일 미국(US)

61/484,650 2011년05월10일 미국(US)

61/557,295 2011년11월08일 미국(US)

61/574,485 2011년08월02일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

총 페리오스틴에 결합하는 항체를 포함하는, 천식 환자를 TH2 경로 억제제로의 치유적 치료에 대한 가능성이 있는 반응자 및 비-반응자로 계층화/분류하기 위해 천식 환자로부터 수득된 생물학적 샘플에서의 총 페리오스틴을 검출하기 위한 키트.

청구항 2

제1항에 있어서, 항체가 (i) 서열 1의 초가변 영역 (HVR) 서열 및 서열 2의 HVR 서열 또는 (ii) 서열 3의 HVR 서열 및 서열 4의 HVR 서열을 포함하는 것인 키트.

청구항 3

제2항에 있어서, 항체가 서열 1 및 서열 2의 서열을 포함하는 것인 키트.

청구항 4

제2항에 있어서, 항체가 서열 3 및 서열 4의 서열을 포함하는 것인 키트.

청구항 5

제1항에 있어서, 항체가 모노클로날 항체인 키트.

청구항 6

제1항에 있어서, 항체가 키메라 항체인 키트.

청구항 7

제1항에 있어서, 항체가 서열 1의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열을 포함하는 것인 키트.

청구항 8

제1항에 있어서, 항체가 서열 2의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL) 서열을 포함하는 것인 키트.

청구항 9

제1항에 있어서, 항체가 서열 1에 기재된 서열과 95% 이상 상동성의 VH 서열 및 서열 2에 기재된 서열과 95% 이상 상동성의 VL 서열을 포함하는 것인 키트.

청구항 10

제1항에 있어서, 항체가 서열 3의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열을 포함하는 것인 키트.

청구항 11

제1항에 있어서, 항체가 서열 4의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL) 서열을 포함하는 것인 키트.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 Fv, Fab, Fab', scFv, 디아바디 또는 F(ab')₂ 단편인 키트.

청구항 13

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 항체인 키트.

청구항 14

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 표지 또는 모이어티에 접합되어 있는 키트.

청구항 15

제14항에 있어서, 모이어티가 비오틴인 키트.

청구항 16

제14항에 있어서, 모이어티가 Ru(bpy)인 키트.

청구항 17

제1항에 있어서, (i) 서열 1의 HVR 서열 및 서열 2의 HVR 서열을 포함하는 제1 항-페리오스틴 항체 및 (ii) 서열 3의 HVR 서열 및 서열 4의 HVR 서열을 포함하는 제2 항-페리오스틴 항체를 포함하는 것인 키트.

청구항 18

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 총 페리오스틴이

- a) 천식 환자로부터 수득된 샘플에서의 총 페리오스틴의 양을 결정하는 단계;
- b) 단계 a)에서 결정된 총 페리오스틴의 양을 기준량과 비교하는 단계; 및
- c) 단계 b)에서 얻은 비교에 기반하여 상기 환자를 반응자 또는 비-반응자의 카테고리로 계층화하는 단계를 포함하는 호산구성 염증 진단 검정 (EIDA)를 이용하여 검출되는 것인 키트.

청구항 19

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 총 페리오스틴이 혈청 페리오스틴이고, 이 페리오스틴이 면역검정을 이용하여 측정되는 것인 키트.

청구항 20

제19항에 있어서, 면역검정이 샌드위치 면역검정인 키트.

청구항 21

제20항에 있어서, 샌드위치 면역검정이 일렉시스® 분석기에 의해 수행되는 것인 키트.

청구항 22

제18항에 있어서, 단계 a)에서 E4 검정을 이용하는 경우에 반응자에 대한 기준량이 23ng/ml 이상인 키트.

청구항 23

제18항에 있어서, 단계 a)에서 일렉시스® 페리오스틴 검정을 이용하는 경우에 반응자에 대한 기준량이 50ng/ml 이상인 키트.

청구항 24

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 중등도 내지 중증 천식을 앓고 있는 것인 키트.

청구항 25

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 천식 또는 호흡기 장애가 코르티코스테로이드로 제어되지 않는 것인 키트.

청구항 26

제25항에 있어서, 코르티코스테로이드가 흡입용 코르티코스테로이드인 키트.

청구항 27

제26항에 있어서, 흡입용 코르티코스테로이드가 큐바르®, 플미코르트®, 심비코르트®, 에어로비드®, 플로벤트®, 플로나제®, 애드베어® 또는 아즈마코르트®인 키트.

청구항 28

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 또한 제2 제어제로 치료받고 있는 것인 키트.

청구항 29

제28항에 있어서, 제2 제어제가 장기 작용 기관지 확장제 (LABD)인 키트.

청구항 30

제29항에 있어서, LABD가 LABA, LTRA, LAMA, 테오필린 또는 OCS인 키트.

청구항 31

제30항에 있어서, LABD가 심비코르트®, 애드베어®, 브로바나®, 포라딜®, 퍼포로미스트™ 또는 세레벨트®인 키트.

청구항 32

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, TH2 경로 억제제가 표적 ITK, BTK, IL-9, IL-5, IL-13, IL-4, OX40L, TSLP, IL-25, IL-33, IgE, IL-9 수용체, IL-5 수용체, IL-4수용체 알파, IL-13수용체알파1, IL-13수용체알파2, OX40, TSLP-R, IL-7R알파 (TSLP에 대한 보조수용체), IL17RB (IL-25에 대한 수용체), ST2 (IL-33에 대한 수용체), CCR3, CCR4, CRTH2, Fc엡실론RI, Fc엡실론RII/CD23 (IgE에 대한 수용체), Flap, Syk 키나제 또는 TLR9를 억제하거나; 또는 CCR3, IL5, IL3 또는 GM-CSF의 다중-시토카인 억제제인 키트.

청구항 33

제32항에 있어서, TH2 경로 억제제가 MEDI-528, 메폴리주맵, 레실리주맵, IMA-026, IMA-638 (또는 안루킨주맵), 트랄로키누맵, AER-001, ABT-308, 줄레어, QGE-031, MEDI-4212, MEDI-563 (또는 벤랄리주맵), AMG-317, R-1671, AMG-853, AP768, AP-761, MLN6095, ACT129968, GSK2190915, R-343, PF3526299, AMG-761, QAX-935 또는 TPI-ASM8인 키트.

청구항 34

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, TH2 경로 억제제가 항-IL13/IL4 경로 억제제 또는 항 IgE 결합제인 키트.

청구항 35

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, TH2 경로 억제제가 항-IL-13 항체인 키트.

청구항 36

제35항에 있어서, 항-IL-13 항체가 서열 9를 포함하는 VH 및 서열 10을 포함하는 VL을 포함하는 항체, HVRH1, HVRH2, HVRH3, HVRL1, HVRL2 및 HVRL3을 포함하며 여기서 각각의 HVR이 서열 11, 서열 12, 서열 13, 서열 14, 서열 15 및 서열 16의 아미노산 서열을 갖는 것인 항-IL13 항체, 또는 레브리키주맵인 키트.

청구항 37

제35항에 있어서, 항-IL-13 항체가 IL-4에도 또한 결합하는 이중특이적 항체인 키트.

청구항 38

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, TH2 경로 억제제가 항-IgE 항체인 키트.

청구항 39

제38항에 있어서, 항-IgE 항체가 (i) 졸레어® 항체; (ii) 가변 중쇄 및 가변 경쇄를 포함하며, 여기서 가변 중쇄는 서열 24이고 가변 경쇄는 서열 25인 항-M1' 항체, 또는 (iii) 가변 중쇄 및 가변 경쇄를 포함하며, 여기서 가변 중쇄는 HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3을 추가로 포함하고 가변 경쇄는 HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3을 추가로 포함하고: (a) HVR-H1은 서열 24의 잔기 26-35 [GFTFSDYGIA]이고; (b) HVR-H2는 서열 24의 잔기 49-66 [AFISDLAYTIYYADTVTG]이고; (c) HVR-H3은 서열 24의 잔기 97-106 [ARDNWDAMDY]이고; (d) HVR-L1은 서열 25의 잔기 24-39 [RSSQSLVHNNANTYLH]이고; (e) HVR-L2는 서열 25의 잔기 55-61 [KVSNRFS]이고; (f) HVR-L3은 서열 25의 잔기 94-102 [SQNTLVPWT]인 항-M1' 항체인 키트.

청구항 40

총 페리오스틴에 결합하는 항체를 포함하는, 천식 환자 또는 호흡기 장애를 앓는 환자로부터 수득된 생물학적 샘플에서의 총 페리오스틴을 측정하기 위한 키트.

청구항 41

제40항에 있어서, 키트는 천식 환자를 TH2 경로 억제제로의 치유적 치료에 대한 가능성이 있는 반응자 및 비-반응자로 계층화/분류하기 위해 사용됨을 설명하는 정보를 함유하는 포장 삽입물을 포함하는 키트.

청구항 42

제40항에 있어서, 항체가 (i) 서열 1의 초가변 영역 (HVR) 서열 및 서열 2의 HVR 서열 또는 (ii) 서열 3의 HVR 서열 및 서열 4의 HVR 서열을 포함하는 것인 키트.

청구항 43

제42항에 있어서, 항체가 서열 1 및 서열 2의 서열을 포함하는 것인 키트.

청구항 44

제42항에 있어서, 항체가 서열 3 및 서열 4의 서열을 포함하는 것인 키트.

청구항 45

제40항에 있어서, 항체가 모노클로날 항체인 키트.

청구항 46

제40항에 있어서, 항체가 키메라 항체인 키트.

청구항 47

제40항에 있어서, 항체가 서열 1의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열을 포함하는 것인 키트.

청구항 48

제40항에 있어서, 항체가 서열 2의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL) 서열을 포함하는 것인 키트.

청구항 49

제40항에 있어서, 항체가 서열 1에 기재된 서열과 95% 이상 상동성의 VH 서열 및 서열 2에 기재된 서열과 95% 이상 상동성의 VL 서열을 포함하는 것인 키트.

청구항 50

제40항에 있어서, 항체가 서열 3의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%,

98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열을 포함하는 것인 키트.

청구항 51

제40항에 있어서, 항체가 서열 4의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL) 서열을 포함하는 것인 키트.

청구항 52

제40항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 Fv, Fab, Fab', scFv, 디아바디 또는 F(ab')₂ 단편인 키트.

청구항 53

제40항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 항체인 키트.

청구항 54

제40항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 표지 또는 모이어티에 접합되어 있는 키트.

청구항 55

제54항에 있어서, 모이어티가 비오틴인 키트.

청구항 56

제54항에 있어서, 모이어티가 Ru(bpy)₃인 키트.

청구항 57

제40항에 있어서, (i) 서열 1의 HVR 서열 및 서열 2의 HVR 서열을 포함하는 제1 항-페리오스틴 항체 및 (ii) 서열 3의 HVR 서열 및 서열 4의 HVR 서열을 포함하는 제2 항-페리오스틴 항체를 포함하는 것인 키트.

청구항 58

(1) 환자로부터 취득된 혈청 샘플에서의 총 페리오스틴의 수준을 결정하기 위한 총 페리오스틴에 결합하는 항체; 및

(2) 혈청 샘플에서 총 페리오스틴 및 임의로 TARC 및 MCP-4로부터 선택된 하나 이상의 단백질의 발현 수준을 측정하는 것에 대한 설명서로서, 상기 단백질 중 어느 하나, 이들의 조합 또는 이들 모두의 상승된 발현 수준이 천식 아형을 나타내는 것인 설명서

를 포함하는, 환자에서 천식 아형을 진단하기 위한 키트.

청구항 59

제58항에 있어서, 천식 환자 또는 호흡기 장애 환자가 호산구성 염증 양성 (EIP) 또는 호산구성 염증 음성 (EIN)인지의 여부를 결정하는 것에 대한 포장 삽입물을 추가로 포함하는 키트.

청구항 60

제59항에 있어서, 천식 환자가 TH2 경로 억제제에 반응할 가능성이 있는지의 여부를 결정하는 것에 대한 포장 삽입물을 추가로 포함하는 키트.

청구항 61

제59항에 있어서, 키트는 천식 환자를 TH2 경로 억제제로의 치유적 치료에 대한 가능성이 있는 반응자 및 비-반응자로 계층화/분류하기 위해 사용됨을 설명하는 정보를 함유하는 포장 삽입물을 추가로 포함하는 키트.

청구항 62

제40항 또는 제58항에 있어서, 생물학적 샘플을 수용하기 위한 빈 용기를 추가로 포함하는 키트.

청구항 63

제58항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 총 페리오스틴 수준을 결정하기 위한 면역검정에서 사용하기 위한 2종의 항-페리오스틴 항체를 포함하는 키트.

청구항 64

제63항에 있어서, (i) 서열 1의 HVR 서열 및 서열 2의 HVR 서열을 포함하는 제1 항-페리오스틴 항체 및 (ii) 서열 3의 HVR 서열 및 서열 4의 HVR 서열을 포함하는 제2 항-페리오스틴 항체를 포함하는 것인 키트.

청구항 65

제63항에 있어서,

(i) 서열 1의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열 및 서열 2의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL) 서열을 포함하는 제1 항-페리오스틴 항체; 및

(ii) 서열 3의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열 및 서열 4의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL) 서열을 포함하는 제2 항-페리오스틴 항체

를 포함하는 키트.

청구항 66

(i) 서열 1의 초가변 영역 (HVR) 서열 및 서열 2의 HVR 서열 또는 (ii) 서열 3의 HVR 서열 및 서열 4의 HVR 서열을 포함하는, 총 페리오스틴을 검출할 수 있는 항-페리오스틴 항체.

청구항 67

제66항에 있어서, 서열 1의 HVR 서열 및 서열 2의 HVR 서열을 포함하는 항-페리오스틴 항체.

청구항 68

제67항에 있어서, 서열 1 및 서열 2의 서열을 포함하는 항체.

청구항 69

제66항에 있어서, 서열 3의 HVR 서열 및 서열 4의 HVR 서열을 포함하는 항-페리오스틴 항체.

청구항 70

제69항에 있어서, 서열 3 및 서열 4의 서열을 포함하는 항체.

청구항 71

제66항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 인간 페리오스틴 이소형 1 내지 4에 결합할 수 있는 항-페리오스틴 항체.

청구항 72

제71항에 있어서, 모노클로날 항체인 항-페리오스틴 항체.

청구항 73

제71항에 있어서, 키메라 항체인 항-페리오스틴 항체.

청구항 74

서열 1의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열 및 서열 2의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL) 서열을 포함하는, 총 페리오스틴을 검출할 수 있는 항-페리오스틴 항체.

청구항 75

제74항에 있어서, 서열 1에 기재된 서열과 95% 이상 상동성의 VH 서열 및 서열 2에 기재된 서열과 95% 이상 상동성의 VL 서열을 포함하는 항체.

청구항 76

서열 3의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열 및 서열 4의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL) 서열을 포함하는, 총 페리오스틴을 검출할 수 있는 항-페리오스틴 항체.

청구항 77

제66항 내지 제70항 및 제74항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, Fv, Fab, Fab', scFv, 디아바디 또는 F(ab')₂ 단편인 항체.

청구항 78

제66항 내지 제70항 및 제74항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 항체인 항체.

청구항 79

제66항 내지 제70항 및 제74항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, 표지 또는 모이어티에 접합되어 있는 항체.

청구항 80

제79항에 있어서, 모이어티가 비오틴인 항체.

청구항 81

제79항에 있어서, 표지 또는 모이어티가 Ru(bpy)₃인 항체.

청구항 82

(i) 서열 1의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열 및 서열 2의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL) 서열을 포함하는 제1 항-페리오스틴 항체; 및

(ii) 서열 3의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열 및 서열 4의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL) 서열을 포함하는 제2 항-페리오스틴 항체

의 사용을 포함하는 총 페리오스틴 검정.

청구항 83

제82항에 있어서, 제1 항-페리오스틴 항체가 서열 1의 HVR 서열 및 서열 2의 HVR 서열을 포함하고, 제2 항-페리오스틴 항체가 서열 3의 HVR 서열 및 서열 4의 HVR 서열을 포함하는 것인, 총 페리오스틴 검정.

청구항 84

제66항 내지 제70항 및 제74항 내지 제76항 중 어느 한 항에 따른 항-페리오스틴 항체를 포함하는 조성물.

청구항 85

제84항에 있어서, (i) 제1 항-페리오스틴 항체가 서열 1의 HVR 서열 및 서열 2의 HVR 서열을 포함하고, (ii) 제2 항-페리오스틴 항체가 서열 3의 HVR 서열 및 서열 4의 HVR 서열을 포함하는 것인 조성물.

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

청구항 108

삭제

청구항 109

삭제

청구항 110

삭제

청구항 111

삭제

청구항 112

삭제

청구항 113

삭제

청구항 114

삭제

청구항 115

삭제

청구항 116

삭제

청구항 117

삭제

청구항 118

삭제

청구항 119

삭제

청구항 120

삭제

청구항 121

삭제

청구항 122

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본원은 2010년 12월 16일자로 출원된 미국 가출원 번호 61/459,760, 2011년 3월 18일자로 출원된 미국 가출원 번호 61/465,425, 2011년 5월 10일자로 출원된 미국 가출원 번호 61/484,650, 2011년 8월 2일자로 출원된 미국 가출원 번호 61/574,485, 및 2011년 11월 8일자로 출원된 미국 가출원 번호 61/557,295를 우선권 주장하며, 이들 모두는 그의 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0003] 서열 목록

[0004] 본원은 EFS-웹을 통해 ASCII 포맷으로 제출된 서열 목록을 함유하며, 그의 전문이 본원에 참조로 포함된다. 2011년 11월 17일자로 생성된 상기 ASCII 카피는 P4569R1WO_PCTSequenceListing.txt로 명명되며 크기는 73,118 바이트이다.

[0005] 분야

[0006] 천식을 포함하나 이에 제한되지는 않는 TH2 억제와 관련된 장애를 진단하고 치료하는 방법이 제공된다. 또한, TH2 경로 억제제인 특정 치료제로의 치료를 위해 환자를 선택하거나 확인하는 방법이 제공된다.

배경 기술

[0007] 천식은 전 세계적으로 발생률이 증가하고 있는 복합 질환이다. 다른 사례 중에서, 호산구성 염증이 천식 환자의 기도에서 보고되었다. 질환의 병태생리학은 가변성 기류 폐쇄, 기도 염증, 점액 과다분비 및 상피하 섬유증을 특징으로 한다. 임상적으로, 환자는 기침, 천명 및 숨가쁨을 나타낼 수 있다. 수많은 환자가 현재 이용가능한 요법으로 충분히 치료받고 있지만, 천식을 앓는 일부 환자는 현재 요법의 이용에도 불구하고 지속성 질환을 갖는다.

[0008] 과다한 약물이 시장에서 또는 천식을 치료하기 위한 개발에서 존재한다. 천식 요법을 위한 다수의 표적 중 하나는 IL-13이다. IL-13은 활성화 T 세포, NKT 세포, 호염기구, 호산구 및 비만 세포에 의해 생산된 다면발현성 TH2 시토킨이고, 이는 전임상 모델에서 천식의 발병기전에 강하게 연관되어 왔다. 문헌에서의 IL-13, IL-4와 천식 사이의 수많은 연결점에도 불구하고, 수많은 IL13 및/또는 IL4 길항제 요법은 임상에서 실망스러운 결과를 가졌다. 현재, 어떠한 IL-13 또는 IL-4 길항제 요법도 천식에서의 사용에 대해 승인받지 않았다. 추가로, 중

등도 내지 중증 천식 환자는 우수한 대체 치료 옵션이 계속 부족하다. 따라서, 천식을 치료하기 위한 보다 우수한 요법, 및 천식 환자를 치료하는 방법을 이해하기 위한 향상된 방법을 확인할 필요가 있다.

[0009] 특허 출원 및 공보를 비롯한 본원에 인용된 모든 참고문헌은 임의의 목적을 위해 그의 전문이 참조로 포함된다.

발명의 내용

[0010] 본원은 TH2 경로를 억제하기 위한 치료제 및 그의 보다 우수한 사용 방법을 제공한다. 본원은 또한, 임의로 TH2 경로 길항제로 질환을 치료하는데 이용하기 위한 보다 우수한 질환 진단 방법을 제공한다.

[0011] 본원에 제공된 바와 같은 치료 및 진단 방법은 천식, 호산구성 장애, 호흡기 장애, IL-13 매개된 장애 및/또는 IgE-매개된 장애, 또는 그 장애와 연관된 증상을 앓는 환자에게 적용될 수 있다. 천식으로 진단된 환자를 포함하여 천식-유사 증상을 앓는 환자는 본원에 제공된 방법에 따라 치료받을 수 있다.

[0012] 한 실시양태에 따르면, 본원에 제공된 방법에 따라 치료받는 환자는 천식, 호산구성 장애, 호흡기 장애, IL-13 매개된 장애 및/또는 IgE-매개된 장애, 또는 그 장애와 연관된 증상을 앓으며, 암 또는 신생물을 갖지 않는다. 또 다른 실시양태에 따르면, 본원에 제공된 방법에 따라 치료받는 환자는 천식, 호산구성 장애, 호흡기 장애, IL-13 매개된 장애 및/또는 IgE-매개된 장애, 또는 그 장애와 연관된 증상을 앓으며, 12세 이상, 18세 이상 또는 19세 이상, 또는 12-17세 사이 또는 18-75세 사이이다.

[0013] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 TH2 경로 억제제로 치료받는 환자는 또한 1, 2, 3종 또는 그 초과 치료제로 치료받는다. 한 실시양태에서, 환자는 천식 환자이다. 한 실시양태에 따르면, 환자는 TH2 경로 억제제 및 1, 2, 3종 또는 그 초과 치료제로 치료받으며, 여기서 TH2 억제제 이외의 1종 이상의 치료제는 코르티코스테로이드, 류코트리엔 길항제, LABA, 코르티코스테로이드/LABA 조합 조성물, 테오필린, 크로몰린 나트륨, 네도크로밀 나트륨, 오말리주맙, LAMA, MABA, 5-리폭시게나제 활성화 단백질 (FLAP) 억제제 또는 효소 PDE-4 억제제이다. 본 발명의 한 측면에 따르면, TH2 경로 억제제는 EIP 스테이터스(status)로 진단된 천식 환자에게 투여되며, 여기서 진단은 EIP 스테이터스를 결정하기 위한 EID 검정의 이용 (단독으로 또는 다른 검정과 조합하여)을 포함한다. 한 추가 실시양태에서, 천식 환자는 치료 전에 코르티코스테로이드로 제어되지 않는다. 또 다른 실시양태에서, 천식 환자는 또한 제2 제어제로 치료받고 있다. 한 실시양태에서, 제2 제어제는 코르티코스테로이드, LABA 또는 류코트리엔 길항제이다. 추가 실시양태에서, 천식 환자는 중등도 내지 중증 천식을 앓고 있다. 따라서, 한 실시양태에서, TH2 경로 억제제로 치료받는 환자는 TH2 경로 억제제로의 치료 전에 코르티코스테로이드로 제어되지 않는 중등도 내지 중증 천식 환자이고, 이어서 TH2 경로 억제제 및 1, 2, 3종 또는 그 초과 제어제로 치료받는다. 한 실시양태에서, 제어제 중 적어도 1종은 코르티코스테로이드이다. 추가 실시양태에서, 이러한 환자는 TH2 경로 억제제, 코르티코스테로이드 및 또 다른 제어제로 치료받는다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 경도 천식을 앓고 있지만 코르티코스테로이드로 치료받지 않고 있다. 치료제가 TH2 억제제와 비교시 다양한 치료 사이클을 가질 수 있고, 결과적으로 환자의 치료의 일부로서 TH2 억제제와 비교하여 다양한 시간에 투여될 수 있음을 이해하여야 한다. 따라서, 한 실시양태에 따르면, 본 발명에 따른 치료 방법은 환자에게 TH2 경로 억제제를 투여하는 단계, 및 임의로 적어도 1, 2 또는 3종의 추가 치료제를 투여하는 단계를 포함한다. 한 실시양태에서, TH2 경로 억제제는 또 다른 치료제를 함유하는 조성물 중에 존재한다. 또 다른 실시양태에서, TH2 경로 억제제는 또 다른 치료제를 함유하는 조성물 중에 존재하지 않는다.

[0014] 또 다른 실시양태에 따르면, 본 발명은 서열 9를 포함하는 VH 및 서열 10을 포함하는 VL을 포함하는 항-IL-13 항체, 또는 HVRH1, HVRH2, HVRH3, HVRL1, HVRL2 및 HVRL3을 포함하며 각각의 HVR이 서열 11, 서열 12, 서열 13, 서열 14, 서열 15 및 서열 16의 아미노산 서열을 갖는 것인 항-IL13 항체를 균일 용량으로 투여하는 것을 포함하는, 천식을 치료하는 방법을 포함한다. 한 실시양태에서, 서열 9를 포함하는 VH 및 서열 10을 포함하는 VL을 포함하는 항-IL13 항체는 125-1000 mg의 균일 용량 (즉, 체중 의존성이 아님)으로, 피하 주사에 의해 또는 정맥내 주사에 의해, 매 2주마다, 매 3주마다 및 매 4주마다로부터 선택된 시간의 빈도로 투여된다. 한 실시양태에서, HVRH1, HVRH2, HVRH3, HVRL1, HVRL2 및 HVRL3을 포함하며 각각의 HVR이 서열 11, 서열 12, 서열 13, 서열 14, 서열 15 및 서열 16의 아미노산 서열을 갖는 것인 항-IL13 항체는 125-1000 mg의 균일 용량 (즉, 체중 의존성이 아님)으로, 피하 주사에 의해 또는 정맥내 주사에 의해, 매 2주마다, 매 3주마다 및 매 4주마다로부터 선택된 시간의 빈도로 투여된다. 한 실시양태에서, 항-IL13 항체는 레브리키주맙이고, 이는 125-1000 mg의 균일 용량 (즉, 체중 의존성이 아님)으로, 피하 주사에 의해 또는 정맥내 주사에 의해, 매 2주마다, 매 3주마다 및 매 4주마다로부터 선택된 시간의 빈도로 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 EIP 스테이터스를 결정하기 위한 총 페리오스틴 검정을 이용하여 EIP 스테이터스를 갖는 것으로 진단된다.

- [0015] 또 다른 실시양태에 따르면, 서열 9를 포함하는 VH 및 서열 10을 포함하는 VL을 포함하는 항체는 천식을 치료하기 위해 시간이 지남에 따라 환자의 악화 속도를 감소시키거나 또는 FEV1을 향상시키기에 충분한 치료 유효량으로 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열 9를 포함하는 VH 및 서열 10을 포함하는 VL을 포함하는 항-IL-13 항체, 또는 HVRH1, HVRH2, HVRH3, HVRL1, HVRL2 및 HVRL3을 포함하며 각각의 HVR이 서열 11, 서열 12, 서열 13, 서열 14, 서열 15 및 서열 16의 아미노산 서열을 갖는 것인 항-IL13 항체를 37.5 mg의 균일 용량(즉, 체중 의존성이 아님) 또는 125 mg의 균일 용량 또는 250 mg의 균일 용량으로 투여하는 것을 포함하는, 천식을 치료하는 방법을 포함한다. 특정 실시양태에서, 용량은 기간 동안 매 4주마다 1회 피하 주사에 의해 투여된다. 특정 실시양태에서, 기간은 6개월, 1년, 2년, 5년, 10년, 15년, 20년 또는 환자의 평생이다. 특정 실시양태에서, 천식은 중증 천식이고, 환자는 흡입용 코르티코스테로이드 + 제2 제어제 의약으로 불충분하게 제어되거나 제어되지 않는다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 EIP 스테이티스를 결정하기 위한 총 페리오스틴 검정을 이용하여 EIP 스테이티스를 갖는 것으로 진단되고, 환자는 상기 기재된 바와 같은 항-IL13 항체로의 치료를 위해 선택된다. 또 다른 실시양태에서, 방법은 EIP 스테이티스를 결정하기 위한 총 페리오스틴 검정을 이용하여 EIP 스테이티스를 갖는 것으로 이전에 진단된 천식 환자를 상기 기재된 바와 같은 항-IL13 항체로 치료하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 천식 환자는 18세 이상이다. 한 실시양태에서, 천식 환자는 12 내지 17세이고, 항-IL13은 250 mg의 균일 용량 또는 125 mg의 균일 용량으로 투여된다. 한 실시양태에서, 천식 환자는 6 내지 11세이고, 항-IL13 항체는 125 mg의 균일 용량 또는 62.5 mg의 균일 용량으로 투여된다.
- [0016] 본 발명은 페리오스틴 검정을 제공한다. 한 실시양태에서, 페리오스틴 검정은 총 페리오스틴 검정이다. 또 다른 실시양태에서, 총 페리오스틴 검정은 환자로부터 수득된 생물학적 샘플에서의 총 페리오스틴에 결합하는 본 발명의 항-페리오스틴 항체 중 하나 이상의 사용을 포함한다. 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 생물학적 샘플은 전혈로부터 수득된 혈청이다. 한 실시양태에서, 생물학적 샘플은 천식 환자로부터 수득된다. 추가 실시양태에서, 천식 환자는 중등도 내지 중증 천식 환자이다. 추가 실시양태에서, 중등도 내지 중증 천식 환자는 코르티코스테로이드로 제어되지 않고, 임의로 1, 2, 3종 또는 그 초과 제어제로 치료받고 있다.
- [0017] 본원에 개시된 항-페리오스틴 검정 및 항체 검정은 페리오스틴이 상승되는 다른 질환, 예컨대 특발성 폐 섬유증(IPF), 비특이적 간질성 폐렴(NSIP) 및 암에 대해 사용될 수 있다.
- [0018] 본 발명은 총 페리오스틴의 상승된 수준을 나타내는 환자에서 천식 또는 호흡기 장애를 치료하는데 사용하기 위한 TH2 경로 억제제인 치료제를 제공한다. 한 실시양태에서, TH2 경로에서의 억제를 위한 표적은 IL-9, IL-5, IL-13, IL-4, OX40L, TSLP, IL-25, IL-33 및 IgE; 및 수용체, 예컨대: IL-9 수용체, IL-5 수용체, IL-4수용체 알파, IL-13수용체알파1 및 IL-13수용체알파2, OX40, TSLP-R, IL-7R알파 (TSLP에 대한 보조수용체), IL17RB (IL-25에 대한 수용체), ST2 (IL-33에 대한 수용체), CCR3, CCR4, CRTH2, FcεβRI 및 FcεβRII/CD23 (IgE에 대한 수용체)으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 방법에 따라 치료받을 환자는 경도 내지 중증 천식, 임의로 중등도 내지 중증 천식을 앓고 있으며, 그의 천식은 코르티코스테로이드로 제어되지 않는다. 추가 실시양태에서, 코르티코스테로이드로 제어되지 않는 중등도 내지 중증 천식 환자에서의 총 페리오스틴의 혈청 수준은 E4 검정에서 20ng/ml, 21 ng/ml, 22 ng/ml, 23 ng/ml, 24ng/ml 또는 25ng/ml 초과이다. 추가 실시양태에서, 치료받을 환자는 CEA, TARC (CCL17) 및 MCP-4 (CCL13) mRNA 또는 단백질 중 임의의 하나, 이들의 조합 또는 이들 모두의 상승된 발현 수준을 추가로 갖는다. 추가 실시양태에서, 치료받을 환자는 본원에 기재된 바와 같이 페리오스틴의 상승된 발현 수준을 가질 뿐만 아니라, 21 ppb 초과 또는 35 ppb 초과 FE_{NO} 수준을 갖는다.
- [0019] 본 발명은 총 페리오스틴의 상승된 수준을 나타내는 천식 또는 호흡기 장애를 앓는 환자의 치료를 위한 의약의 제조에서의 TH2 유발된 천식 경로 표적에 결합하는 치료제의 용도를 제공하며, 여기서 표적은 IL-9, IL-5, IL-13, IL-4, OX40L, TSLP, IL-25, IL-33 및 IgE; 및 수용체, 예컨대: IL-9 수용체, IL-5 수용체, IL-4수용체 알파, IL-13수용체알파1 및 IL-13수용체알파2, OX40, TSLP-R, IL-7R알파 (TSLP에 대한 보조수용체), IL17RB (IL-25에 대한 수용체), ST2 (IL-33에 대한 수용체), CCR3, CCR4, CRTH2, FcεβRI 또는 FcεβRII/CD23 (IgE에 대한 수용체)이다. 한 실시양태에서, 환자는 EIP이다. 한 실시양태에 따르면, 환자는 본 발명에 따른 검정을 이용하여 EIP를 갖는 것으로 결정되었다. 또 다른 실시양태에서, 검정은 총 페리오스틴 검정이다. 또 다른 실시양태에서, 검정은 환자로부터 수득된 생물학적 샘플에서의 총 페리오스틴의 수준을 측정한다. 한 실시양태에서, 검정은 환자로부터 수득된 혈청 샘플에서의 총 페리오스틴 단백질의 수준을 측정한다.
- [0020] 본 발명은
- [0021] (1) 환자로부터 수득된 혈청 샘플에서의 총 페리오스틴의 수준, 및 임의로 TARC 및 MCP-4로부터 선택된 하나 이

상의 단백질에 대한 단백질 발현 수준을 결정하는 것; 및

- [0022] (2) 혈청 샘플에서 총 페리오스틴 및 임의로 TARC 및 MCP-4 단백질의 발현 수준을 측정하는 것에 대한 설명서로서, 상기 단백질 중 임의의 하나, 이들의 조합 또는 이들 모두의 상승된 발현 수준이 천식 아형을 나타내는 것인 설명서
- [0023] 를 포함하는, 환자에서 천식 아형을 진단하기 위한 키트 또는 제조품을 포함한다.
- [0024] 또 다른 실시양태에서, TH2 경로 억제제로의 치료에 반응성일 가능성이 있는 천식 환자 또는 호흡기 장애 환자를 확인하는 방법이 제공된다. 특정 실시양태에서, 방법은 호산구성 염증 진단 검정 (EIDA)을 이용하여 환자가 호산구성 염증 양성 (EIP)인지의 여부를 결정하는 것을 포함하며, 여기서 EIP 스테이터스는 환자가 TH2 경로 억제제로의 치료에 반응성일 가능성이 있다는 것을 나타낸다.
- [0025] 또 다른 실시양태에서, 중증 악화를 겪을 가능성이 있는 천식 환자 또는 호흡기 장애 환자를 확인하는 방법이 제공된다. 특정 실시양태에서, 방법은 EIDA를 이용하여 환자가 EIP인지의 여부를 결정하는 것을 포함하며, 여기서 EIP 스테이터스는 환자가 중증 악화에서의 증가를 겪을 가능성이 있다는 것을 나타낸다.
- [0026] 또 다른 실시양태에서, TH2 경로 억제제로의 치료에 반응성일 가능성이 보다 낮은 천식 환자 또는 호흡기 장애 환자를 확인하는 방법이 제공된다. 특정 실시양태에서, 방법은 EIDA를 이용하여 환자가 호산구성 염증 음성 (EIN)인지의 여부를 결정하는 것을 포함하며, 여기서 EIN 스테이터스는 환자가 TH2 경로 억제제로의 치료에 반응성일 가능성이 보다 낮다는 것을 나타낸다.
- [0027] 또 다른 실시양태에서, TH2 경로 억제제로 치료받을 천식 환자를 모니터링하는 방법이 제공된다. 특정 실시양태에서, 방법은 EIDA를 이용하여 환자가 EIP 또는 EIN인지의 여부를 결정하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 방법은 TH2 경로 억제제에 대한 치료 요법을 결정하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, EIP의 결정은 TH2 경로 억제제로의 요법을 계속함을 나타내고, EIN의 결정은 TH2 경로 억제제로의 요법을 중단함을 나타낸다.
- [0028] 특정 실시양태에서, 상기 기재된 방법에 사용되는 EIDA는 (a) 천식 환자로부터 취득된 샘플에서의 총 페리오스틴의 양을 결정하는 단계; (b) 단계 (a)에서 결정된 총 페리오스틴의 양을 기준량과 비교하는 단계; 및 (c) 단계 (b)에서 얻은 비교에 기반하여 상기 환자를 반응자 또는 비-반응자의 카테고리로 계층화하는 단계를 포함한다. 특정 실시양태에서, 총 페리오스틴은 혈청 페리오스틴이고, 이 페리오스틴은 면역검정을 이용하여 측정된다. 특정 실시양태에서, 면역검정은 샌드위치 면역검정이다. 특정 실시양태에서, 샌드위치 면역검정은 일렉시스(Elecsys)® 분석기 (로슈 다이아그노스틱스 게엠베하(Roche Diagnostics GmbH)에 의해 수행된다. 특정 실시양태에서, 샌드위치 면역검정은 E4 검정이다. 한 실시양태에서, 단계 (a)에서 E4 검정을 이용하는 경우에 EIP에 대한 기준량은 23 ng/ml 이상이다. 한 실시양태에서, 단계 (a)에서 일렉시스® 분석기를 이용하는 경우에 EIP에 대한 기준량은 50 ng/ml 이상이다. 한 실시양태에서, 단계 (a)에서 E4 검정을 이용하는 경우에 EIN에 대한 기준량은 21 ng/ml 이하이다. 한 실시양태에서, 단계 (a)에서 일렉시스® 분석기를 이용하는 경우에 EIN에 대한 기준량은 48 ng/ml 이하이다.
- [0029] 특정 실시양태에서, 상기 기재된 방법에 따른 환자는 중등도 내지 중증 천식을 앓고 있다. 특정 실시양태에서, 천식 또는 호흡기 장애는 코르티코스테로이드로 제어되지 않는다. 특정 실시양태에서, 코르티코스테로이드는 흡입용 코르티코스테로이드이다. 특정 실시양태에서, 흡입용 코르티코스테로이드는 큐바르(Qvar)®, 풀미코르트(Pulmicort)®, 심비코르트(Symbicort)®, 에어로비드(Aerobid)®, 플로벤트(Flovent)®, 플로나제(Flonase)®, 애드베어(Advair)® 또는 아즈마코르트(Azmacort)®이다. 한 실시양태에서, 환자는 또한 제2 제어제로 치료받고 있다. 특정 실시양태에서, 제2 제어제는 장기 작용 기관지 확장제 (LABD)이다. 특정 실시양태에서, LABD는 장기-작용 베타-2 효능제 (LABA), 류코트리엔 수용체 길항제 (LTRA), 장기-작용 무스카린성 길항제 (LAMA), 테오필린 또는 경구 코르티코스테로이드 (OCS)이다. 특정 실시양태에서, LABD는 심비코르트®, 애드베어®, 브로마나(Brovana)®, 포라딜(Foradil)®, 퍼포로미스트(Perforomist)™ 또는 세레벤트(Serevent)®이다.
- [0030] 특정 실시양태에서, 상기 방법에 따른 TH2 경로 억제제는 표적 ITK, BTK, IL-9 (예를 들어, MEDI-528), IL-5 (예를 들어, 메폴리주맵, CAS 번호 196078-29-2; 레실리주맵), IL-13 (예를 들어, IMA-026, IMA-638 (또한 안루킨주맵으로 지칭됨, INN 번호 910649-32-0); QAX-576; IL4/IL13 트랩), 트랄로키누맵 (또한 CAT-354로 지칭됨, CAS 번호 1044515-88-9); AER-001, ABT-308 (또한 인간화 13C5.5 항체로 지칭됨), IL-4 (예를 들어, AER-001, IL4/IL13 트랩), OX40L, TSLP, IL-25, IL-33 및 IgE (예를 들어, 졸레이(XOLAIR), QGE-031; MEDI-4212);

및 수용체, 예컨대: IL-9 수용체, IL-5 수용체 (예를 들어, MEDI-563 (벤랄리주맵, CAS 번호 1044511-01-4), IL-4수용체 알파 (예를 들어, AMG-317, AIR-645), IL-13수용체알파1 (예를 들어, R-1671) 및 IL-13수용체알파2, OX40, TSLP-R, IL-7R알파 (TSLP에 대한 보조수용체), IL17RB (IL-25에 대한 수용체), ST2 (IL-33에 대한 수용체), CCR3, CCR4, CRTH2 (예를 들어, AMG-853, AP768, AP-761, MLN6095, ACT129968), Fc엡실론RI, Fc엡실론RII/CD23 (IgE에 대한 수용체), Flap (예를 들어, GSK2190915), Syk 키나제 (R-343, PF3526299); CCR4 (AMG-761), TLR9 (QAX-935)를 억제하거나, 또는 CCR3, IL5, IL3, GM-CSF의 다중-시토카인 억제제 (예를 들어, TPI ASM8)이다. 특정 실시양태에서, TH2 경로 억제제는 항-IL13/IL4 경로 억제제 또는 항 IgE 결합제이다. 특정 실시양태에서, TH2 경로 억제제는 항- 항-IL-13 항체이다. 특정 실시양태에서, 항-IL-13 항체는 서열 9를 포함하는 VH 및 서열 10을 포함하는 VL을 포함하는 항체, HVRH1, HVRH2, HVRH3, HVRL1, HVRL2 및 HVRL3을 포함하며 각각의 HVR이 서열 11, 서열 12, 서열 13, 서열 14, 서열 15 및 서열 16의 아미노산 서열을 갖는 것인 항-IL13 항체, 또는 레브리키주맵이다. 특정 실시양태에서, 항-IL-13 항체는 IL-4에도 또한 결합하는 이중특이적 항체이다. 특정 실시양태에서, TH2 경로 억제제는 항-IgE 항체이다. 특정 실시양태에서, 항-IgE 항체는 (i) 졸레어® 항체; (ii) 가변 중쇄 및 가변 경쇄를 포함하며, 여기서 가변 중쇄는 서열 24이고 가변 경쇄는 서열 25인 항-M1' 항체 또는 (iii) 가변 중쇄 및 가변 경쇄를 포함하며, 여기서 가변 중쇄는 HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3을 추가로 포함하고 가변 경쇄는 HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3을 추가로 포함하고: (a) HVR-H1은 서열 24의 잔기 26-35, [GFTFSDYGIA]이고; (b) HVR-H2는 서열 24의 잔기 49-66, [AFISDLAYTIYYADTVTG]이고; (c) HVR-H3은 서열 24의 잔기 97-106, [ARDNWDAMDY]이고; (d) HVR-L1은 서열 25의 잔기 24-39, [RSSQSLVHNNANTYLH]이고; (e) HVR-L2는 서열 25의 잔기 55-61, [KVSNRFS]이고; (f) HVR-L3은 서열 25의 잔기 94-102, [SQNTLVPTWT]인 항-M1' 항체이다.

[0031] 또 다른 측면에서, 천식 환자를 TH2 경로 억제제로의 치유적 치료에 대한 가능성이 있는 반응자 및 비-반응자로 계층화/분류하기 위해 천식 환자로부터 취득된 샘플에서의 총 페리오스틴을 검출하기 위한 키트의 용도가 제공된다. 특정 실시양태에서, 총 페리오스틴은 EIDA를 이용하여 검출되고, 이 EIDA는 (a) 천식 환자로부터 취득된 샘플에서의 총 페리오스틴의 양을 결정하는 단계; (b) 단계 (a)에서 결정된 총 페리오스틴의 양을 기준량과 비교하는 단계; 및 (c) 단계 (b)에서 얻은 비교에 기반하여 상기 환자를 반응자 또는 비-반응자의 카테고리로 계층화하는 단계를 포함한다. 특정 실시양태에서, 총 페리오스틴은 혈청 페리오스틴이고, 이 페리오스틴은 면역검정을 이용하여 측정된다. 특정 실시양태에서, 면역검정은 샌드위치 면역검정이다. 특정 실시양태에서, 샌드위치 면역검정은 일렉시스® 분석기 (로슈 다이아그노스틱스 게엠베하)에 의해 수행된다. 특정 실시양태에서, 샌드위치 면역검정은 E4 검정이다. 한 실시양태에서, 단계 (a)에서 E4 검정을 이용하는 경우에 EIP에 대한 기준량은 23 ng/ml 이상이다. 한 실시양태에서, 단계 (a)에서 일렉시스® 분석기를 이용하는 경우에 EIP에 대한 기준량은 50 ng/ml 이상이다.

[0032] 특정 실시양태에서, 상기 단락에 기재된 용도에 따른 환자는 중등도 내지 중증 천식을 앓고 있다. 특정 실시양태에서, 천식 또는 호흡기 장애는 코르티코스테로이드로 제어되지 않는다. 특정 실시양태에서, 코르티코스테로이드는 흡입용 코르티코스테로이드이다. 특정 실시양태에서, 흡입용 코르티코스테로이드는 큐바르®, 풀미코르트®, 심비코르트®, 에어로비드®, 플로벤트®, 플로나제®, 애드베어® 또는 아즈마코르트®이다. 한 실시양태에서, 환자는 또한 제2 제어제로 치료받고 있다. 특정 실시양태에서, 제2 제어제는 장기 작용 기관지 확장제 (LABD)이다. 특정 실시양태에서, LABD는 장기-작용 베타-2 효능제 (LABA), 류코트리엔 수용체 길항제 (LTRA), 장기-작용 무스카린성 길항제 (LAMA), 테오필린 또는 경구 코르티코스테로이드 (OCS)이다. 특정 실시양태에서, LABD는 심비코르트®, 애드베어®, 브로바나®, 포라달®, 퍼포포미스트™ 또는 세레벤트®이다.

[0033] 특정 실시양태에서, 상기 용도에 따른 TH2 경로 억제제는 표적 ITK, BTK, IL-9 (예를 들어, MEDI-528), IL-5 (예를 들어, 메폴리주맵, CAS 번호 196078-29-2; 레실리주맵), IL-13 (예를 들어, IMA-026, IMA-638 (또한 안루킨주맵으로 지칭됨, INN 번호 910649-32-0); QAX-576; IL4/IL13 트랩), 트랄로키누맵 (또한 CAT-354로 지칭됨, CAS 번호 1044515-88-9); AER-001, ABT-308 (또한 인간화 13C5.5 항체로 지칭됨), IL-4 (예를 들어, AER-001, IL4/IL13 트랩), OX40L, TSLP, IL-25, IL-33 및 IgE (예를 들어, 졸레어, QGE-031; MEDI-4212); 및 수용체, 예컨대: IL-9 수용체, IL-5 수용체 (예를 들어, MEDI-563 (벤랄리주맵, CAS 번호 1044511-01-4), IL-4수용체 알파 (예를 들어, AMG-317, AIR-645), IL-13수용체알파1 (예를 들어, R-1671) 및 IL-13수용체알파2, OX40, TSLP-R, IL-7R알파 (TSLP에 대한 보조수용체), IL17RB (IL-25에 대한 수용체), ST2 (IL-33에 대한 수용체), CCR3, CCR4, CRTH2 (예를 들어, AMG-853, AP768, AP-761, MLN6095, ACT129968), Fc엡실론RI, Fc엡실론RII/CD23 (IgE에 대한 수용체), Flap (예를 들어, GSK2190915), Syk 키나제 (R-343, PF3526299); CCR4 (AMG-761), TLR9 (QAX-935)를 억제하거나, 또는 CCR3, IL5, IL3, GM-CSF의 다중-시토카인 억제제 (예를 들어, TPI ASM8)이다. 특정 실시양태에서, TH2 경로 억제제는 항-IL13/IL4 경로 억제제 또는 항 IgE 결합제이다. 특정

실시양태에서, TH2 경로 억제제는 항- 항-IL-13 항체이다. 특정 실시양태에서, 항-IL-13 항체는 서열 9를 포함하는 VH 및 서열 10을 포함하는 VL을 포함하는 항체, HVRH1, HVRH2, HVRH3, HVRL1, HVRL2 및 HVRL3을 포함하며 각각의 HVR이 서열 11, 서열 12, 서열 13, 서열 14, 서열 15 및 서열 16의 아미노산 서열을 갖는 것인 항-IL13 항체, 또는 레브리키주맙이다. 특정 실시양태에서, 항-IL-13 항체는 IL-4에도 또한 결합하는 이중특이적 항체이다. 특정 실시양태에서, TH2 경로 억제제는 항-IgE 항체이다. 특정 실시양태에서, 항-IgE 항체는 (i) 졸레어® 항체; (ii) 가변 중쇄 및 가변 경쇄를 포함하며, 여기서 가변 중쇄는 서열 24이고 가변 경쇄는 서열 25인 항-M1' 항체 또는 (iii) 가변 중쇄 및 가변 경쇄를 포함하며, 여기서 가변 중쇄는 HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3을 추가로 포함하고 가변 경쇄는 HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3을 추가로 포함하고: (a) HVR-H1은 서열 24의 잔기 26-35, [GFTFSYDYGIA]이고; (b) HVR-H2는 서열 24의 잔기 49-66, [AFISDLAYTIYYADTVTG]이고; (c) HVR-H3은 서열 24의 잔기 97-106, [ARDNWDAMDY]이고; (d) HVR-L1은 서열 25의 잔기 24-39, [RSSQSLVHNNANTYLH]이고; (e) HVR-L2는 서열 25의 잔기 55-61, [KVSNRFS]이고; (f) HVR-L3은 서열 25의 잔기 94-102, [SQNTLVPWT]인 항-M1' 항체이다.

[0034] 또 다른 측면에서, 천식 환자 또는 호흡기 장애를 앓는 환자로부터 획득된 생물학적 샘플에서의 총 페리오스틴을 측정하기 위한 키트가 제공되며, 여기서 키트는 총 페리오스틴 또는 그의 일부를 코딩하는 제2 핵산 분자에 혼성화되는 제1 핵산 분자를 포함하거나, 또는 키트는 총 페리오스틴에 결합하는 항체를 포함한다. 특정 실시양태에서, 키트는 상기 제공된 용도를 설명하는 정보를 함유하는 포장 삽입물을 포함한다.

[0035] 또 다른 측면에서, 환자에서 천식 아형을 진단하기 위한 키트가 제공되고, 키트는 (1) 환자로부터 획득된 혈청 샘플에서의 총 페리오스틴의 수준, 및 임의로 TARC 및 MCP-4로부터 선택된 하나 이상의 단백질에 대한 혈청 샘플에서의 단백질 발현 수준을 결정하는 것; 및 (2) 혈청 샘플에서 총 페리오스틴 및 임의로 TARC 및 MCP-4의 수준을 측정하는 것에 대한 설명서로서, 상기 단백질 중 임의의 하나, 이들의 조합 또는 이들 모두의 상승된 발현 수준이 천식 아형을 나타내는 것인 설명서를 포함한다. 특정 실시양태에서, 키트는 천식 환자 또는 호흡기 장애 환자가 EIP 또는 EIN인지의 여부를 결정하는 것에 대한 포장 삽입물을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 키트는 천식 환자가 TH2 경로 억제제에 반응할 가능성이 있는지의 여부를 결정하는 것에 대한 포장 삽입물을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 키트는 상기 제공된 용도 중 임의의 것을 설명하는 정보를 함유하는 포장 삽입물을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 키트는 생물학적 샘플을 수용하기 위한 빈 용기를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 키트는 총 페리오스틴 수준을 결정하기 위한 면역검정에 사용하기 위한 2종의 항-페리오스틴 항체를 포함한다.

[0036] 또 다른 측면에서, 천식 또는 호흡기 장애를 앓는 환자에게 HVRH1, HVRH2, HVRH3, HVRL1, HVRL2 및 HVRL3을 포함하며 각각의 HVR이 서열 11, 서열 12, 서열 13, 서열 14, 서열 15 및 서열 16의 아미노산 서열을 갖는 것인 항-IL-13 항체를 매 2-8주마다 125-500mg의 균일 용량으로 투여하는 것을 포함하는, 천식 또는 호흡기 장애를 치료하는 방법이 제공된다. 특정 실시양태에서, 환자는 중등도 내지 중증 천식을 앓고 있다. 특정 실시양태에서, 천식 또는 호흡기 장애는 코르티코스테로이드로 제어되지 않는다. 특정 실시양태에서, 천식 또는 호흡기 장애는 흡입용 코르티코스테로이드로 제어되지 않는다. 특정 실시양태에서, 천식 또는 호흡기 장애는 500 mcg 이상의 플루티카손 프로피오네이트 (FP)의 총 1일 용량으로 제어되지 않는다. 특정 실시양태에서, 코르티코스테로이드는 큐바르®, 풀미코르트®, 심비코르트®, 에어로비드®, 플로벤트®, 플로나제®, 애드베어®, 아즈마코르트®인 흡입용 코르티코스테로이드이다. 특정 실시양태에서, 환자는 제2 제어제로 치료받고 있다. 특정 실시양태에서, 환자는 항-IL13 항체로의 치료 동안 코르티코스테로이드, 임의로 흡입용 코르티코스테로이드로 계속 치료받고 있다. 특정 실시양태에서, 환자는 항-IL-13 항체로의 치료 동안 제2 제어제로 계속 치료받고 있다. 특정 실시양태에서, 제2 제어제는 장기 작용 기관지 확장제이다. 특정 실시양태에서, 장기 작용 기관지 확장제는 LABA, LTRA, LAMA, 테오필린 또는 OCS이다. 특정 실시양태에서, 환자는 EIP인 것으로 결정되었다. 특정 실시양태에서, 환자는 상기 기재된 키트를 사용하여 EIP인 것으로 결정되었다. 특정 실시양태에서, 환자는 상기 기재된 바와 같은 방법을 이용하여 EIP인 것으로 결정되었다. 특정 실시양태에서, 환자는 매 4주마다 125 mg 또는 250mg의 균일 용량을 투여받는다. 특정 실시양태에서, 환자는 18세 이상이거나, 또는 환자는 12-17세 또는 12세 이상이거나, 또는 환자는 6-11세 또는 6세 이상이다.

[0037] 특정 실시양태에서, 항-IL-13 항체는 피하로 투여된다. 특정 실시양태에서, 항-IL-13 항체는 예비충전된 시린지 또는 자동주사기 장치를 사용하여 투여된다. 특정 실시양태에서, 상기 방법에 따라 치료받을 천식 환자는 18세 이상이고, ≥ 50 ng/ml의 혈청 페리오스틴을 가지며, 흡입용 코르티코스테로이드 및 제2 제어제 의약으로 제어되지 않는다. 특정 실시양태에서, 혈청 페리오스틴은 면역검정을 이용하여 측정되고, 이 면역검정은 일렉시스® 페리오스틴 검정 및 E4 검정으로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 혈청 페리오스틴은 상기 기재된 바

와 같은 키트를 사용하여 측정된다. 특정 실시양태에서, 항-IL-13 항체는 서열 9를 포함하는 VH 및 서열 10을 포함하는 VL을 포함하는 항체이다. 특정 실시양태에서, 항-IL-13 항체는 레브리키주맵이다. 특정 실시양태에서, 상기 기재된 방법에 따라 치료받을 천식 환자는 12세 이상이고, 흡입용 코르티코스테로이드 및 제2 제어제 의약으로 제어되지 않는다.

[0038] 또 다른 측면에서, 환자에게 치료 유효량의 레브리키주맵을 투여하는 것을 포함하는, 천식 또는 호흡기 질환을 치료하는 방법이 제공된다. 특정 실시양태에서, 치료는 레브리키주맵으로의 치료 전과 비교하여 5% 초과 FEV1의 상대적 향상을 일으킨다. 특정 실시양태에서, FEV1의 상대적 향상은 레브리키주맵으로의 치료 전과 비교하여 8% 초과이다. 특정 실시양태에서, 치료는 중증 악화에서의 감소를 일으킨다.

[0039] 또 다른 측면에서, EIP로 진단된 환자에게 TH2 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하는, 천식 또는 호흡기 질환을 앓는 환자를 치료하는 방법이 제공된다. 특정 실시양태에서, 방법은 환자를 총 페리오스틴 검정을 이용하여 EIP로 진단하는 단계를 포함한다. 특정 실시양태에서, 방법은 환자가 EIP인 것으로 결정되는 경우에 환자를 TH2 경로 억제제로 재치료하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 환자로부터의 혈청은 환자가 EIP 인지의 여부를 결정하는데 사용된다.

[0040] 특정 실시양태에서, 상기 방법에 따라 결정되는 EIP 스테이터스는 (a) 환자로부터 획득된 샘플에서 총 페리오스틴의 양을 결정하는 단계; (b) 단계 (a)에서 결정된 총 페리오스틴의 양을 기준량과 비교하는 단계; 및 (c) 단계 (b)에서 얻은 비교에 기반하여 상기 환자를 반응자 또는 비-반응자의 카테고리로 계층화하는 단계를 포함하는 EIDA를 이용한다. 특정 실시양태에서, 총 페리오스틴은 혈청 페리오스틴이고, 이 페리오스틴은 면역검정을 이용하여 측정된다. 특정 실시양태에서, 면역검정은 샌드위치 면역검정이다. 특정 실시양태에서, 샌드위치 면역검정은 일렉시스® 분석기 (로슈 다이아그노스틱스 게엠베하)에 의해 수행된다. 특정 실시양태에서, 샌드위치 면역검정은 E4 검정이다. 한 실시양태에서, 단계 (a)에서 E4 검정을 이용하는 경우에 EIP에 대한 기준량은 23 ng/ml 이상이다. 한 실시양태에서, 단계 (a)에서 일렉시스® 분석기를 이용하는 경우에 EIP에 대한 기준량은 50 ng/ml 이상이다.

[0041] 특정 실시양태에서, 상기 기재된 방법에 따른 환자는 중등도 내지 중증 천식을 앓고 있다. 특정 실시양태에서, 천식 또는 호흡기 장애는 코르티코스테로이드로 제어되지 않는다. 특정 실시양태에서, 코르티코스테로이드는 흡입용 코르티코스테로이드이다. 특정 실시양태에서, 흡입용 코르티코스테로이드는 큐바르®, 플미코르트®, 심비코르트®, 에어로비드®, 플로벤트®, 플로나제®, 애드베어® 또는 아즈마코르트®이다. 한 실시양태에서, 환자는 또한 제2 제어제로 치료받고 있다. 특정 실시양태에서, 제2 제어제는 장기 작용 기관지 확장제 (LABD)이다. 특정 실시양태에서, LABD는 장기-작용 베타-2 효능제 (LABA), 류코트리엔 수용체 길항제 (LTRA), 장기-작용 무스카린성 길항제 (LAMA), 테오필린 또는 경구 코르티코스테로이드 (OCS)이다. 특정 실시양태에서, LABD는 심비코르트®, 애드베어®, 브로바나®, 포라달®, 퍼포로미스트™ 또는 세레벤트®이다.

[0042] 특정 실시양태에서, 상기 방법에 따른 TH2 경로 억제제는 표적 ITK, BTK, IL-9 (예를 들어, MEDI-528), IL-5 (예를 들어, 메폴리주맵, CAS 번호 196078-29-2; 레실리주맵), IL-13 (예를 들어, IMA-026, IMA-638 (또한 안루킨주맵으로 지칭됨, INN 번호 910649-32-0); QAX-576; IL4/IL13 트랩), 트랄로키주맵 (또한 CAT-354로 지칭됨, CAS 번호 1044515-88-9); AER-001, ABT-308 (또한 인간화 13C5.5 항체로 지칭됨), IL-4 (예를 들어, AER-001, IL4/IL13 트랩), OX40L, TSLP, IL-25, IL-33 및 IgE (예를 들어, 졸레이®, QGE-031; MEDI-4212); 및 수용체, 예컨대: IL-9 수용체, IL-5 수용체 (예를 들어, MEDI-563 (벤칼리주맵, CAS 번호 1044511-01-4), IL-4 수용체 알파 (예를 들어, AMG-317, AIR-645), IL-13수용체알파1 (예를 들어, R-1671) 및 IL-13수용체알파2, OX40, TSLP-R, IL-7R알파 (TSLP에 대한 보조수용체), IL17RB (IL-25에 대한 수용체), ST2 (IL-33에 대한 수용체), CCR3, CCR4, CRTH2 (예를 들어, AMG-853, AP768, AP-761, MLN6095, ACT129968), FcγRI, FcγRII/CD23 (IgE에 대한 수용체), Flap (예를 들어, GSK2190915), Syk 키나제 (R-343, PF3526299); CCR4 (AMG-761), TLR9 (QAX-935)를 억제하거나, 또는 CCR3, IL5, IL3, GM-CSF의 다중-시토카인 억제제 (예를 들어, TPI ASM8)이다. 특정 실시양태에서, TH2 경로 억제제는 항-IL13/IL4 경로 억제제 또는 항 IgE 결합체이다. 특정 실시양태에서, TH2 경로 억제제는 항-항-IL-13 항체이다. 특정 실시양태에서, 항-IL-13 항체는 서열 9를 포함하는 VH 및 서열 10을 포함하는 VL을 포함하는 항체, HVRH1, HVRH2, HVRH3, HVRL1, HVRL2 및 HVRL3을 포함하며 각각의 HVR이 서열 11, 서열 12, 서열 13, 서열 14, 서열 15 및 서열 16의 아미노산 서열을 갖는 것인 항-IL13 항체, 또는 레브리키주맵이다. 특정 실시양태에서, 항-IL-13 항체는 IL-4에도 또한 결합하는 이중특이적 항체이다.

[0043] 특정 실시양태에서, TH2 경로 억제제는 항-IgE 항체이다. 특정 실시양태에서, 항-IgE 항체는 (i) 졸레이® 항

체; (ii) 가변 중쇄 및 가변 경쇄를 포함하며, 여기서 가변 중쇄는 서열 24이고 가변 경쇄는 서열 25인 항-M1' 항체 또는 (iii) 가변 중쇄 및 가변 경쇄를 포함하며, 여기서 가변 중쇄는 HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3을 추가로 포함하고 가변 경쇄는 HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3을 추가로 포함하고: (a) HVR-H1은 서열 24의 잔기 26-35, [GFTFSDYGLA]이고; (b) HVR-H2는 서열 24의 잔기 49-66, [AFISDLAYTIYYADTVTG]이고; (c) HVR-H3은 서열 24의 잔기 97-106, [ARDNWDAMDY]이고; (d) HVR-L1은 서열 25의 잔기 24-39, [RSSQSLVHNNANTYLH]이고; (e) HVR-L2는 서열 25의 잔기 55-61, [KVSNRFS]이고; (f) HVR-L3은 서열 25의 잔기 94-102, [SQNTLVPTW]인 항-M1' 항체이다.

[0044] 또 다른 측면에서, 레브리키주맵으로의 천식의 치료와 연관된 환자에서의 유해 사례를 평가하기 위한 방법이 제공된다. 특정 실시양태에서, 방법은 악화, 지역사회 획득 폐렴, 아나필락시스, 근골격 통증, 근골격 장애, 결합 조직 통증 또는 결합 조직 장애인 사례의 수 및/또는 중증도를 모니터링하는 단계를 포함한다. 특정 실시양태에서, 근골격 또는 결합 조직 장애는 관절통, 요통, 사지에서의 통증, 근육통, 경부 통증, 관절염, 골 발생 이상, 윤활낭염, 늑연골염, 외골증, 측복통, 근골격 흉통, 근골격 통증, 하악에서의 통증 또는 건염이다.

[0045] 또 다른 측면에서, 항-페리오스틴 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 항-페리오스틴 항체는 서열 1의 HVR 서열 및 서열 2의 HVR 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항-페리오스틴 항체는 서열 1 및 서열 2의 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항-페리오스틴 항체는 서열 3의 HVR 서열 및 서열 4의 HVR 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항-페리오스틴 항체는 서열 3 및 서열 4의 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 상기 항-페리오스틴 항체의 사용을 포함하는 총 페리오스틴 검정이 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0046] 도 1은 실시예 1에 기재된 알레르겐 투여 시행의 개략도를 제공한다.

도 2는 스크리닝에서의 (a) 및 제13주째의 (b) 투여 후 FEV1에서의 알레르겐-유도된 변화를 보여준다. FEV1을 알레르겐 투여 후 처음 90분 동안 매 10분마다, 이어서 2-8시간 동안 매 시간마다 측정하였다. 오차 막대는 평균의 표준 오차를 나타낸다.

도 3은 IgE, CCL13 (MCP-4) 및 CCL17 (TARC)의 혈청 수준을 보여준다. 혈청 수준을 위약-치료된 환자 (a) 및 레브리키주맵-치료된 환자 (b)에서 시간의 흐름에 따라 투여전 수준 %로 나타내었다. 선은 개별 환자를 나타내며; 군 중앙값은 제시되지 않았다. 화살표는 제0, 4, 8 및 12주 (제0, 28, 56 및 84일)째의 투여를 제시한다. (c) IgE, CCL13 및 CCL17의 기준선 수준과 비교하여 개별 환자에서 제13주째의 이들 마커에서의 감소.

도 4는 고-바이오마커 및 저-바이오마커 환자 하위군에서의 후기 천식 반응 (LAR)의 레브리키주맵-유도된 억제 를 보여준다. 데이터를 제13주째의 LAR의 AUC (곡선하 면적)에서의 위약-보정된 평균 감소로 나타내었다 (n=5 내지 8명의 활성 환자/군).

도 5는 실시예 2에 기재된 천식 시행의 개략도를 제공한다.

도 6은 실시예 2의 천식 시행에 참여하는 환자의 기준선 특성을 제공한다.

도 7은 실시예 2의 천식 시행으로부터의 결과를 제공한다.

도 8은 모든 효능 평가가능한 대상체에 대한 (a) 및 단지 고 페리오스틴 대상체에 대한 (b) 실시예 2의 천식 시행으로부터의 FEV1 결과를 제공한다.

도 9는 실시예 2의 천식 시행으로부터의 악화에서의 감소 비율을 제공한다.

도 10은 실시예 2의 천식 시행으로부터의 FEV₀의 변화 퍼센트를 제공한다.

도 11은 실시예 2의 천식 시행으로부터의 안전성 결과를 제공한다.

도 12는 실시예 3에 기재된 천식 시행의 개략도이다.

도 13은 실시예 5에 기재된 바와 같은 천식 관찰 연구의 개략도를 제공한다.

도 14는 실시예 5에 기재된 바와 같은, BOBCAT 코호트에서의 다중 방문에 걸친 혈청 페리오스틴 수준 사이의 대상체-내 상관관계를 보여준다. (a) 방문 1과 방문 2 사이의 상관관계; (b) 방문 1과 방문 3 사이의 상관관계; (c) 방문 2와 방문 3 사이의 상관관계; (d) 방문 1과 모든 방문에 걸친 평균 혈청 페리오스틴 수준 사이의 상관관계; (e) 방문 2와 모든 방문에 걸친 평균 혈청 페리오스틴 수준 사이의 상관관계; 및 (f) 방문 3과 모든 방문에 걸친 평균 혈청 페리오스틴 수준 사이의 상관관계.

도 15는 실시예 5에 기재된 바와 같이, FE_{NO} 가 기도 호산구성 염증 (BOBCAT 코호트)에 따른 고-용량 ICS로 제어되지 않는 중등도-내지-중증 천식을 구별한다는 것을 보여준다. (a) > 3% 객담 호산구를 갖는 천식은 < 3% 객담 호산구를 갖는 천식과 비교하여 유의하게 상승된 FE_{NO} 를 가졌다 (윌콕슨(Wilcoxon) 순위-합계 검정에 의하면 $p < 0.001$). (b) > 22 호산구/mm² 총 기관지 조직을 갖는 천식은 < 22 호산구/mm² 총 기관지 조직을 갖는 천식과 비교하여 상승된 FE_{NO} 에 대한 경향을 가졌다 (윌콕슨 순위-합계 검정에 의하면 $p = 0.07$). (c) 복합 기도 호산구 점수 (0 = 객담 호산구 < 3% 및 조직 ("Bx") 호산구 < 22/mm²; 1 = 객담 호산구 > 3% 또는 조직 호산구 > 22/mm² 중 어느 하나 (배타적); 2 = 객담 호산구 > 3% 및 조직 호산구 > 22/mm² 둘 다)는 증가하는 복합 기도 호산구 점수에 따라 증가하는 FE_{NO} 수준에 대한 강한 양성 경향을 입증하였다 (로지스틱 회귀에 의하면 $p = 0.001$). 혈청 페리오스틴 스테이터스는 범례에서와 같이 지정된다. (d) 혈청 페리오스틴 및 FE_{NO} 는 상승된 객담 또는 조직 호산구를 갖는 대부분의 대상체에서 둘 다 상승되었지만, 대상체의 하위세트는 단지 페리오스틴 또는 FE_{NO} 의 상승만을 가졌다. 상승된 객담 및 조직 호산구가 결핍된 대부분의 대상체는 저 혈청 페리오스틴 및 저 FE_{NO} 를 나타내었다. (e) 복합 기도 호산구 스테이터스에 대한 혈청 페리오스틴, FE_{NO} , 혈액 호산구 및 혈청 IgE의 민감도 및 특이성의 수신자 작동 특성 (ROC) 곡선 분석. AUC = 곡선하 면적.

도 16은 실시예 3에 기재된 천식 시행에서 어떠한 치료 실패도 갖지 않은 환자의 백분율을 제공한다.

도 17은 실시예 3 및 실시예 5에 기재된 임상 시험으로부터 수득된 샘플에 대해 실시예 4 검정 (E4 검정) 또는 일렉시스® 페리오스틴 검정 (실시예 7)과 유사한 검정으로 측정시 혈청 페리오스틴 수준 사이의 비교를 보여준다.

도 18은 실시예 2에 기재된 바와 같은, 저-페리오스틴 환자에서의 (a) 및 고-페리오스틴 환자에서의 (b) 혈청 페리오스틴 약력학을 보여준다.

도 19는 실시예 2에 기재된 바와 같은, 위약 및 레브리키주맵-치료된 환자에서의 시간의 흐름에 따른 중앙값 페리오스틴 수준에서의 변화 퍼센트를 보여준다.

도 20은 실시예 6에 기재된 바와 같은, 실시예 2에 기재된 제II상 연구 (a) 및 실시예 3에 기재된 제II상 연구 (b)에서의 개체에 대한 제12주째의 FEV1에서의 변화 %와 체중 사이의 상관관계를 보여준다.

도 21은 실시예 6에 기재된 바와 같은, 다양한 수준 초과와 항정-상태 최저 농도를 갖는 환자의 예측된 비율을 보여준다.

도 22는 실시예 6에 기재된 바와 같은, 실시예 2 연구의 경우에 (a) 및 실시예 3 연구의 경우에 (b) 시간의 흐름에 따른 혈청 CCL17 (TARC) 수준에 대한 레브리키주맵의 효과를 보여준다.

도 23은 실시예 6에 기재된 바와 같은, 각각의 제3상 용량, 매 4주마다 250 mg, 매 4주마다 125 mg 및 매 4주마다 37.5 mg에서의 시뮬레이션된 집단 PK 프로파일을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0047] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 전문 학술 용어는 본 발명이 속한 분야의 당업자가 통상적으로 이해하는 바와 동일한 의미를 갖는다. 문헌 [Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 2nd ed., J. Wiley & Sons (New York, N.Y. 1994), 및 March, Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure 4th ed., John Wiley & Sons (New York, N.Y. 1992)]은 당업자에게 본원에 사용된 수많은 용어에 대한 일반적인 지침을 제공한다.

[0048] 특정 정의

[0049] 본 명세서를 설명하려는 목적을 위해, 하기 정의가 적용될 것이고, 적절한 경우에는 언제라도, 단수형으로 사용된 용어는 또한 복수형도 포함할 것이고, 그 반대의 경우도 마찬가지이다. 하기 기재된 임의의 정의가 본원에 참조로 포함된 임의의 문헌과 모순되는 경우에는 하기 기재된 정의가 우선한다.

[0050] 본 명세서 및 첨부된 특허청구범위에서 사용된 바와 같이, 단수 형태는 문맥이 달리 명백하게 지시하지 않는 한 복수의 지시대상을 포함한다. 따라서, 예를 들어 "단백질" 또는 "항체"에 대한 언급은 각각 복수의 단백질 또는 항체를 포함하고; "세포"에 대한 언급은 세포의 혼합물 등을 포함한다.

- [0051] 본원에 사용된 용어 "총 페리오스틴"은 적어도 페리오스틴의 이소형 1, 2, 3 및 4를 지칭한다. 인간 페리오스틴 이소형 1, 2, 3 및 4는 하기 아미노산 서열을 포함하는 것으로 당업계에 공지되어 있다: NCBI 데이터베이스에 따라 각각 NP_006466.2 (서열 19); NP_001129406.1 (서열 20), NP_001129407.1 (서열 21) 및 NP_001129408.1 (서열 22). 추가로, 본 출원인은 페리오스틴의 추가의 형태를 검출하였다. 이 신규 이소형은 본원에서 "이소형 5"로 지칭되며, 부분적으로 서열결정되었다. 이소형 5는 서열 23의 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 페리오스틴의 이소형은 인간 페리오스틴이다. 추가 실시양태에서, 용어 총 페리오스틴은 이소형 1-4 뿐만 아니라 인간 페리오스틴의 이소형 5를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 총 페리오스틴은 총 혈청 페리오스틴 또는 총 혈장 페리오스틴 (즉, 각각 전혈로부터 수득된 혈청 샘플 또는 전혈로부터 수득된 혈장 샘플로부터의 총 페리오스틴, 전혈은 환자로부터 수득됨)이다.
- [0052] 용어 "총 페리오스틴 검정"은 생물학적 샘플에서의 총 페리오스틴의 수준을 측정하는 검정을 지칭한다. 한 실시양태에서, 총 페리오스틴 수준은 항-페리오스틴 항체를 이용하여 측정된다. 또 다른 실시양태에서, 항-페리오스틴 항체는 본원에 기재된 항-페리오스틴 항체이다. 또 다른 예에서, 총 페리오스틴 수준은 페리오스틴 이소형 1-4를 코딩하는 mRNA에 대해 안티센스인 하나 이상의 핵산 서열을 이용하여 측정된다. 또 다른 예에서, 총 페리오스틴 검정은 실시예 4에 기재된 검정 ("실시예 4 검정" 또는 "E4 검정")이다. 한 실시양태에서, 총 페리오스틴 검정은 (1) 생물학적 샘플에서 페리오스틴에 결합하는, 서열 1 및 서열 2를 포함하는 항체 ("25D4" 항체) 및/또는 서열 3 및 서열 4를 포함하는 항체 ("23B9" 항체); (2) 생물학적 샘플에서 페리오스틴에 결합하는, 가변 영역 서열 1 및 서열 2의 서열을 포함하는 항체 및/또는 서열 3 및 서열 4의 가변 영역 서열을 포함하는 항체; (3) 생물학적 샘플에서 페리오스틴에 결합하는, 서열 1 및 서열 2의 HVR 서열을 포함하는 항체 및/또는 서열 3 및 서열 4의 HVR 서열을 포함하는 항체; (4) 서열 1 및 서열 2의 HVR 서열과 95% 이상 동일한 HVR 서열을 포함하는 항체 및/또는 서열 3 및 서열 4의 HVR 서열과 95% 이상 동일한 HVR 서열을 포함하는 항체의 사용을 포함한다.
- [0053] 본원에 사용된 "호산구성 염증 진단 검정" (약어 "EIDA")은 환자로부터의 생물학적 샘플에서의 호산구성 염증 마커의 수준을 측정함으로써 체내의 호산구성 염증 또는 체내의 TH2 경로 염증을 갖는 환자를 진단하는 검정이며, 여기서 마커는 페리오스틴 mRNA 수준 또는 페리오스틴 단백질 수준, iNOS mRNA 수준 또는 iNOS 단백질 수준 또는 FE_{NO} 수준 또는 CCL26 mRNA 또는 CCL26 단백질 수준, 세르핀B2 mRNA 수준 또는 세르핀B2 단백질 수준, 세르핀B4 mRNA 수준 또는 세르핀B4 단백질 수준, CST1 mRNA 수준 또는 CST1 단백질 수준, CST2 mRNA 수준 또는 CST2 단백질 수준, CST4 mRNA 수준 또는 CST4 단백질 수준으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 총 페리오스틴 혈청 또는 혈장 수준이 측정된다. 검정의 고도로 효과적인 예는 하기 실시예 4에 기재된 예 (또한 E4 검정으로 지칭됨), 또는 생물학적 샘플에서의 총 페리오스틴의 혈청 또는 혈장 수준을 측정하는 다른 페리오스틴 검정을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 2종 이상의 검정이 환자에서 호산구성 염증을 진단하기 위해 수행될 수 있다. 한 실시양태에서, EID 검정은 FE_{NO} 검정과 조합된 총 페리오스틴 검정을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, EID 검정은 하기 마커 중 임의의 하나 또는 이들의 조합의 수준을 측정하는 검정과 조합된 총 페리오스틴 검정 +/- FE_{NO} 수준 검정을 포함한다: CST1, CST2, CCL26, CLCA1, PRR4, PRB4, 세르핀B2, CEACAM5, iNOS, 세르핀B4, CST4 및 세르핀B10.
- [0054] 용어 "페리오스틴 항체" 또는 "항-페리오스틴 항체"는 페리오스틴의 이소형에 결합하는 항체를 지칭한다. 한 실시양태에서, 페리오스틴은 인간 페리오스틴이다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 1 및 서열 2의 서열을 포함하거나 ("25D4" 항체), 또는 서열 3 및 서열 4의 서열을 포함한다 ("23B9" 항체). 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 1 및 서열 2의 가변 영역 서열을 포함하거나, 또는 서열 3 및 서열 4의 가변 영역 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 1 및 서열 2의 HVR 서열 또는 서열 3 및 서열 4의 HVR 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 1 및 서열 2의 HVR 서열과 95% 이상 동일한 HVR 서열을 포함하고/거나, 항체는 서열 3 및 서열 4의 HVR 서열과 95% 이상 동일한 HVR 서열을 포함한다.
- [0055] 호산구성 염증 양성 (EIP) 환자 또는 스테이티스는, 환자로부터의 혈청 또는 혈장 샘플을 각각 E4 검정 (실시예 4)을 이용하여 혈청 또는 혈장 페리오스틴 수준에 대하여 시험했을 경우에 20ng/ml 이상의 총 혈청 페리오스틴 수준 (호산구성 양성)을 가질 환자를 지칭한다. 한 실시양태에 따르면, EIP인 환자의 총 페리오스틴 수준은 혈청 또는 혈장 중 21ng/ml 이상, 22ng/ml 이상, 23ng/ml 이상, 24ng/ml 이상, 25ng/ml 이상, 26ng/ml 이상, 27ng/ml 이상, 28ng/ml 이상, 29ng/ml 이상, 30ng/ml 이상, 31ng/ml 이상, 32ng/ml 이상, 33ng/ml 이상, 34ng/ml 이상, 35ng/ml 이상, 36ng/ml 이상, 37ng/ml 이상, 38ng/ml 이상, 39ng/ml 이상, 40ng/ml 이상, 41ng/ml 이상, 42ng/ml 이상, 43ng/ml 이상, 44ng/ml 이상, 45ng/ml 이상, 46ng/ml 이상, 47ng/ml 이상,

48ng/ml 이상, 49ng/ml 이상, 50ng/ml 이상, 51ng/ml 이상, 52ng/ml 이상, 53ng/ml 이상, 54ng/ml 이상, 55ng/ml 이상, 56ng/ml 이상, 57ng/ml 이상, 58ng/ml 이상, 59ng/ml 이상, 60ng/ml 이상, 61ng/ml 이상, 62ng/ml 이상, 63ng/ml 이상, 64ng/ml 이상, 65ng/ml 이상, 66ng/ml 이상, 67ng/ml 이상, 68ng/ml 이상, 69ng/ml 이상 및 70ng/ml 이상으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. EIP 스테이터스가 환자의 상태를 나타내며, 스테이터스를 결정하는데 이용된 검정의 유형에 의존적이지 않다는 것을 이해하여야 한다. 따라서, 다른 페리오스틴 검정, 예컨대 실시예 7에 제시된 일렉시스® 페리오스틴 검정을 비롯한 다른 호산구성 염증 진단 검정이 호산구성 염증 양성 스테이터스를 시험하는데 이용되거나 또는 이용되기 위해 개발될 수 있다.

[0056] 호산구성 염증 음성 (EIN) 환자 또는 스테이터스는, 환자로부터의 혈청 또는 혈장 샘플을 각각 E4 검정을 이용하여 혈청 또는 혈장 페리오스틴 수준에 대하여 시험했을 경우에 20ng/ml 미만의 총 혈청 페리오스틴 수준을 가질 환자를 지칭한다. EIN 스테이터스가 환자의 상태를 나타내며, 스테이터스를 결정하는데 이용된 검정의 유형에 의존적이지 않다는 것을 이해하여야 한다. 따라서, 다른 페리오스틴 검정, 예컨대 실시예 7에 제시된 일렉시스® 페리오스틴 검정을 비롯한 다른 호산구성 염증 진단 검정이 호산구성 염증 음성 스테이터스를 시험하는데 이용되거나 또는 이용되기 위해 개발될 수 있다.

[0057] 본원에 사용된 용어 "생물학적 샘플"은 혈액, 혈청, 혈장, 객담, 조직 생검 (예를 들어, 폐 샘플), 및 비강 먼봉채취물 또는 비강 폴립을 비롯한 비강 샘플을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0058] FE_{NO} 검정은 FE_{NO} (호기 산화질소) 수준을 측정하는 검정을 지칭한다. 이러한 수준은, 예를 들어 2005년에 미국 흉부 학회 (ATS)에 의해 공개된 지침에 따라 소형 휴대용 장치 니옥스 미노(NIOX MINO; 에어로크린(Aerocrine), 스웨덴 솔나)를 사용하여 평가될 수 있다. FE_{NO}는 다른 유사한 방식, 예를 들어 FeNO 또는 FENO로 나타내어질 수 있으며, 모든 이러한 유사한 변형이 동일한 의미를 갖는다는 것을 이해하여야 한다.

[0059] 본원에 제공된 방법에 따라 시험되거나 치료받을 환자의 연령은 모든 연령을 포함한다. 한 실시양태에서, 연령은 18+세이다. 또 다른 실시양태에서, 연령은 12+세이다. 또 다른 실시양태에서, 연령은 2+세이다. 한 실시양태에서, 연령은 18-75세, 12-75세 또는 2-75세이다.

[0060] 천식은 가변성 및 재발성 증상, 가역성 기류 폐쇄 (예를 들어, 기관지확장제에 의함) 및 기저 염증과 연관될 수 있거나 연관되지 않을 수 있는 기관지 과민반응을 특징으로 한다. 천식의 예는 아스피린 민감성/악화된 천식, 아토피성 천식, 중증 천식, 경도 천식, 중등도 내지 중증 천식, 코르티코스테로이드 미경험 천식, 만성 천식, 코르티코스테로이드 내성 천식, 코르티코스테로이드 불응성 천식, 새로 진단된 치료받지 않은 천식, 흡연으로 인한 천식, 코르티코스테로이드로 제어되지 않는 천식, 및 문헌 [J Allergy Clin Immunol (2010) 126(5):926-938]에 언급된 바와 같은 다른 천식을 포함한다.

[0061] 호산구성 장애는, 체내에서의 호산구의 국부 또는 전신성 수준 또는 활성으로 인해 비정형 증상이 나타날 수 있는, 과잉 호산구 수와 연관된 장애를 의미한다. 과잉 호산구 수 또는 활성과 연관된 장애는 천식 (아스피린 민감성 천식 포함), 아토피성 천식, 아토피성 피부염, 알레르기성 비염 (계절성 알레르기성 비염 포함), 비-알레르기성 비염, 천식, 중증 천식, 만성 호산구성 폐렴, 알레르기성 기관지폐 아스페르길루스증, 복강 질환, 처크-스트라우스 증후군 (결절성 동맥주위염 + 아토피), 호산구성 근육통 증후군, 과호산구성 증후군, 간헐성 혈관부종을 비롯한 부종성 반응, 연중 감염 (여기서 호산구는 보호적 역할을 가질 수 있음), 온코세르카성 피부염 및 호산구-연관된 위장 장애, 예컨대 호산구성 식도염, 호산구성 위염, 호산구성 위장염, 호산구성 장염 및 호산구성 결장염 (이에 제한되지 않음), 비강 미세폴립증 및 폴립증, 아스피린 불내성 천식 및 폐쇄성 수면 무호흡을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 호산구-유도된 분비 생성물은 또한 만성 천식, 크론병, 경피증 및 심내막 심근 섬유증과 같은 상태에서 나타나는 중앙 및 섬유화 반응에서의 혈관신생 및 결합 조직 형성의 촉진과 연관되어 왔다 (문헌 [Munitz A, Levi-Schaffer F. Allergy 2004; 59: 268-75, Adamko et al. Allergy 2005; 60: 13-22, Oldhoff, et al. Allergy 2005; 60: 693-6]). 다른 예는 암 (예를 들어, 교모세포종 (예컨대, 다형성 교모세포종), 비-호지킨 림프종 (NHL)), 아토피성 피부염, 알레르기성 비염, 천식, 섬유증, 염증성 장 질환, 폐 섬유증 (특발성 폐 섬유증 (IPF) 및 경화증에 대해 속발성인 폐 섬유증 포함), COPD, 간 섬유증을 포함한다.

[0062] IL-13 매개된 장애는 체내에서의 IL-13의 국부 및/또는 전신성 수준 또는 활성으로 인해 비정형 증상이 나타날 수 있는, 과잉 IL-13 수준 또는 활성과 연관된 장애를 의미한다. IL-13 매개된 장애의 예는 암 (예를 들어, 비-호지킨 림프종, 교모세포종), 아토피성 피부염, 알레르기성 비염, 천식, 섬유증, 염증성 장 질환 (예를 들어, 크론병), 폐 염증성 장애 (예를 들어, 폐 섬유증, 예컨대 IPF), COPD, 간 섬유증을 포함한다.

[0063] IL-4 매개된 장애는 체내에서의 IL4의 국부 및/또는 전신성 수준 또는 활성으로 인해 비정형 증상이 나타날 수

있는, 과잉 IL4 수준 또는 활성화와 연관된 장애를 의미한다. IL4 매개된 장애의 예는 암 (예를 들어, 비-호지킨 림프종, 교모세포종), 아토피성 피부염, 알레르기성 비염, 천식, 섬유증, 염증성 장 질환 (예를 들어, 크론병), 폐 염증성 장애 (예를 들어, 폐 섬유증, 예컨대 IPF), COPD, 간 섬유증을 포함한다.

[0064] IL-5 매개된 장애는 체내에서의 IL5의 국부 및/또는 전신성 수준 또는 활성화로 인해 비정형 증상이 나타날 수 있는, 과잉 IL5 수준 또는 활성화와 연관된 장애를 의미한다. IL5 매개된 장애의 예는 암 (예를 들어, 비-호지킨 림프종, 교모세포종), 아토피성 피부염, 알레르기성 비염, 천식, 섬유증, 염증성 장 질환 (예를 들어, 크론병), 폐 염증성 장애 (예를 들어, 폐 섬유증, 예컨대 IPF), COPD, 간 섬유증을 포함한다.

[0065] IL-9 매개된 장애는 체내에서의 IL9의 국부 및/또는 전신성 수준 또는 활성화로 인해 비정형 증상이 나타날 수 있는, 과잉 IL9 수준 또는 활성화와 연관된 장애를 의미한다. IL9 매개된 장애의 예는 암 (예를 들어, 비-호지킨 림프종, 교모세포종), 아토피성 피부염, 알레르기성 비염, 천식, 섬유증, 염증성 장 질환 (예를 들어, 크론병), 폐 염증성 장애 (예를 들어, 폐 섬유증, 예컨대 IPF), COPD, 간 섬유증을 포함한다.

[0066] TSLP 매개된 장애는 체내에서의 TSLP의 국부 및/또는 전신성 수준 또는 활성화로 인해 비정형 증상이 나타날 수 있는, 과잉 TSLP 수준 또는 활성화와 연관된 장애를 의미한다. TSLP 매개된 장애의 예는 암 (예를 들어, 비-호지킨 림프종, 교모세포종), 아토피성 피부염, 알레르기성 비염, 천식, 섬유증, 염증성 장 질환 (예를 들어, 크론병), 폐 염증성 장애 (예를 들어, 폐 섬유증, 예컨대 IPF), COPD, 간 섬유증을 포함한다.

[0067] IgE-매개된 장애는 체내에서의 IgE의 국부 및/또는 전신성 수준으로 인해 비정형 증상이 나타날 수 있는, 과잉 IgE 수준 또는 활성화와 연관된 장애를 의미한다. 이러한 장애는 천식, 아토피성 피부염, 알레르기성 비염, 섬유증 (예를 들어, 폐 섬유증, 예컨대 IPF)을 포함한다.

[0068] 천식-유사 증상은 숨가쁨, 기침 (객담 생산 및/또는 객담 특질 및/또는 기침 빈도에서의 변화), 천명, 흉부 압박감, 기관지수축, 및 상기 증상 중 하나의 결과인 것으로 여겨지는 야간 각성으로 이루어진 군으로부터 선택된 증상 또는 이들 증상의 조합을 포함한다 (문헌 [Juniper et al. (2000) Am. J. Respir. Crit. Care Med., 162(4), 1330-1334.]).

[0069] 용어 "호흡기 장애"는 천식 (예를 들어, (예를 들어, 예를 들어 보다 어린 소아에서 예를 들어 호흡기 세포융합 바이러스 (RSV)로의 감염으로 인한) 알레르기성 및 비-알레르기성 천식); 기관지염 (예를 들어, 만성 기관지염); 만성 폐쇄성 폐 질환 (COPD) (예를 들어, 기종 (예를 들어, 담배-유발된 기종)); 기도 염증, 호산구증가증, 섬유증 및 과다 점액 생산을 수반하는 상태, 예를 들어 만성 섬유증, 폐 섬유증 및 알레르기성 비염을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 기도 염증, 과다 기도 분비 및 기도 폐쇄를 특징으로 할 수 있는 질환의 예는 천식, 만성 기관지염, 기관지확장증 및 만성 섬유증을 포함한다.

[0070] 악화 (통상적으로 천식 발작 또는 급성 천식으로 지칭됨)는 숨가쁨, 기침 (객담 생산 및/또는 객담 특질 및/또는 기침 빈도에서의 변화), 천명, 흉부 압박감, 상기 증상 중 하나의 결과인 것으로 여겨지는 야간 각성, 또는 이들 증상의 조합에서의 신규 에피소드 또는 진행성 증가이다. 악화는 종종 호기 기류 (PEF 또는 FEV1)에서의 감소를 특징으로 한다. 그러나, 악화로부터의 회복까지 또는 회복 동안에는 PEF 가변성의 증가를 유도할 수 있을지라도, 이는 통상적으로 악화 동안에는 증가하지 않는다. 악화의 중증도는 정도 내지 생명-위협의 범위이며, 증상 및 폐 기능 둘 다를 기반으로 평가될 수 있다. 본원에 기재된 바와 같은 중증 천식 악화는 천식 치료를 위한 후속 입원, 고 코르티코스테로이드 사용 (예를 들어, 총 1일 코르티코스테로이드 용량을 4배로 하는 것 또는 3일 연속 이상 동안 FP 500 마이크로그램 또는 등가물 이상의 총 1일 용량) 또는 경구/비경구 코르티코스테로이드 사용 중 임의의 하나 또는 이들의 조합을 초래하는 악화를 포함한다.

[0071] TH2 경로 억제제는 TH2 경로를 억제하는 작용제이다.

[0072] TH2 경로 억제제의 예는 ITK, BTK, IL-9 (예를 들어, MEDI-528), IL-5 (예를 들어, 메폴리주맙, CAS 번호 196078-29-2; 레실리주맙), IL-13 (예를 들어, IMA-026, IMA-638 (또한 안루킨주맙으로 지칭됨, INN 번호 910649-32-0); QAX-576; IL4/IL13 트랩), 트랄로키누맙 (또한 CAT-354로 지칭됨, CAS 번호 1044515-88-9); AER-001, ABT-308 (또한 인간화 13C5.5 항체로 지칭됨), IL-4 (예를 들어, AER-001, IL4/IL13 트랩), OX40L, TSLP, IL-25, IL-33 및 IgE (예를 들어, 졸레어, QGE-031; MEDI-4212); 및 수용체, 예컨대: IL-9 수용체, IL-5 수용체 (예를 들어, MEDI-563 (벤랄리주맙, CAS 번호 1044511-01-4), IL-4수용체 알파 (예를 들어, AMG-317, AIR-645), IL-13수용체알파1 (예를 들어, R-1671) 및 IL-13수용체알파2, OX40, TSLP-R, IL-7R알파 (TSLP에 대한 보조수용체), IL17RB (IL-25에 대한 수용체), ST2 (IL-33에 대한 수용체), CCR3, CCR4, CRTH2 (예를 들어, AMG-853, AP768, AP-761, MLN6095, ACT129968), Fc엡실론RI, Fc엡실론RII/CD23 (IgE에 대한 수용체), Flap (예

를 들어, GSK2190915), Syk 키나제 (R-343, PF3526299); CCR4 (AMG-761), TLR9 (QAX-935)로 이루어진 군으로부터 선택된 표적 중 임의의 하나의 활성의 억제제, 및 CCR3, IL5, IL3, GM-CSF의 다중-시토카인 억제제 (예를 들어, TPI ASM8)를 포함한다. 상기 언급된 표적의 억제제의 예는, 예를 들어 WO2008/086395; WO2006/085938; US 7,615,213; US 7,501,121; WO2006/085938; WO 2007/080174; US 7,807,788; WO2005007699; WO2007036745; WO2009/009775; WO2007/082068; WO2010/073119; WO2007/045477; WO2008/134724; US2009/0047277; 및 WO2008/127,271에 개시되어 있다.

[0073] 본원에 제공된 치료제는 본원에서 상기 확인된 표적에 결합할 수 있는 작용제, 예컨대 폴리펩티드(들) (예를 들어, 항체, 이뮤노어드헤신 또는 펩티마디), 단백질에 결합할 수 있는 압타머 또는 소분자, 또는 본원에서 확인된 표적을 코딩하는 핵산 분자에 결합할 수 있는 핵산 분자 (즉, siRNA)를 포함한다.

[0074] "항-IL13/IL4 경로 억제제"는 IL-13 및/또는 IL-4 신호전달을 억제하는 치료제를 지칭한다. 항-IL13/IL4 경로 억제제의 예는 IL13 및/또는 IL4와 그의 수용체(들)의 상호작용의 억제제를 포함하고, 이러한 억제제는 항-IL13 결합제, 항-IL4 결합제, 항-IL3/IL4 이중특이적 결합제, 항-IL4수용체알파 결합제, 항-IL13수용체알파1 결합제 및 항-IL13 수용체알파2 결합제를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. IL13, IL4, IL-13R알파1, IL-13R알파2 또는 IL-4R알파에 결합할 수 있는 단일 도메인 항체 (IL13에 결합하는 단일 도메인 및 IL4에 결합하는 단일 도메인을 갖는 이중특이적 항체 포함)가 특히 억제제로서 포함된다. 하나 초과의 표적에 결합할 수 있는 분자가 포함된다는 것을 이해하여야 한다.

[0075] "항-IL4 결합제"는 인간 IL-4에 결합하는 작용제를 지칭한다. 이러한 결합제는 소분자, 압타머 또는 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 이러한 폴리펩티드는 이뮤노어드헤신, 항체, 펩티마디 및 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리펩티드(들)를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 한 실시양태에 따르면, 결합제는 1 uM 내지 1 pM의 친화도로 인간 IL-4 서열에 결합한다. 항-IL4 결합제의 구체적인 예는 가용성 IL-4수용체 알파 (예를 들어, 인간 Fc 영역에 융합된 IL4수용체의 세포외 도메인), 항-IL4 항체 및 가용성 IL13수용체알파1 (예를 들어, 인간 Fc 영역에 융합된 IL13수용체알파1의 세포외 도메인)을 포함할 수 있다.

[0076] "항-IL4수용체알파 결합제"는 인간 IL4 수용체알파에 결합하는 작용제를 지칭한다. 이러한 결합제는 소분자, 압타머 또는 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 이러한 폴리펩티드는 이뮤노어드헤신, 항체, 펩티마디 및 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리펩티드(들)를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 한 실시양태에 따르면, 결합제는 1 uM 내지 1 pM의 친화도로 인간 IL-4 수용체 알파 서열에 결합한다. 항-IL4 수용체알파 결합제의 구체적인 예는 항-IL4 수용체 알파 항체를 포함할 수 있다.

[0077] "항-IL13 결합제"는 인간 IL13에 결합하는 작용제를 지칭한다. 이러한 결합제는 소분자, 압타머 또는 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 이러한 폴리펩티드는 이뮤노어드헤신, 항체, 펩티마디 및 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리펩티드(들)를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 한 실시양태에 따르면, 결합제는 1 uM 내지 1 pM의 친화도로 인간 IL-13 서열에 결합한다. 항-IL13 결합제의 구체적인 예는 항-IL13 항체, 인간 Fc에 융합된 가용성 IL13수용체알파2, 인간 Fc에 융합된 가용성 IL4수용체알파, 인간 Fc에 융합된 가용성 IL13 수용체알파를 포함할 수 있다. 한 실시양태에 따르면, 항-IL13 항체는 (1) 서열 11의 아미노산 서열을 포함하는 HVRH1; (2) 서열 12의 아미노산 서열을 포함하는 HVRH2; (3) 서열 13의 아미노산 서열을 포함하는 HVRH3; (4) 서열 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVRL1; (5) 서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVRL2; (6) 서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVRL3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항-IL-13 항체는 서열 9의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인 및 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다. 한 실시양태에 따르면, 항체는 IgG1 항체이다. 또 다른 실시양태에 따르면, 항체는 IgG4 항체이다. 한 실시양태에 따르면, IgG4 항체는 그의 불변 도메인에 S228P 돌연변이를 포함한다.

[0078] "항-IL13수용체알파1 결합제"는 인간 IL13 수용체알파1에 특이적으로 결합하는 작용제를 지칭한다. 이러한 결합제는 소분자, 압타머 또는 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 이러한 폴리펩티드는 이뮤노어드헤신, 항체, 펩티마디 및 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리펩티드(들)를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 한 실시양태에 따르면, 결합제는 1 uM 내지 1 pM의 친화도로 인간 IL-13 수용체 알파1 서열에 결합한다. 항-IL13 수용체알파1 결합제의 구체적인 예는 항-IL13 수용체 알파1 항체를 포함할 수 있다.

[0079] "항-IL13수용체알파2 결합제"는 인간 IL13 수용체알파2에 특이적으로 결합하는 작용제를 지칭한다. 이러한 결합제는 소분자, 압타머 또는 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 이러한 폴리펩티드는 이뮤노어드헤신, 항체, 펩티마디 및 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리펩티드(들)를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 한 실시양태에 따르면, 결합제는 1 uM 내지 1 pM의 친화도로 인간 IL-13 수용체 알파2 서열에 결합한다. 항-

IL13 수용체알파2 결합체의 구체적인 예는 항-IL13 수용체 알파2 항체를 포함될 수 있다.

- [0080] "항 IgE 결합제"는 인간 IgE에 특이적으로 결합하는 작용제를 지칭한다. 이러한 결합제는 소분자, 압타머 또는 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 이러한 폴리펩티드는 이뮤노어드헤신, 항체, 펩티바디 및 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리펩티드(들)를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 한 실시양태에 따르면, 항-IgE 항체는 서열 17의 아미노산 서열을 포함하는 VL 서열 및 서열 18의 아미노산 서열을 포함하는 VH 서열을 포함한다.
- [0081] "항-M1' 결합제"는 B 세포 상의 표면 발현된 IgE의 막 근접 M1' 영역에 특이적으로 결합하는 작용제를 지칭한다. 이러한 결합제는 소분자, 압타머 또는 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 이러한 폴리펩티드는 이뮤노어드헤신, 항체, 펩티바디 및 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리펩티드(들)를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 한 실시양태에 따르면, 항-IgE 항체는 WO2008/116149에 기재된 항체 또는 그의 변이체를 포함한다. 또 다른 실시양태에 따르면, 항-M1' 항체는 서열 24인 가변 중쇄 및 서열 25인 가변 경쇄를 포함한다. 또 다른 실시양태에 따르면, 항-IgE/M1' 항체는 가변 중쇄 및 가변 경쇄를 포함하며, 여기서 가변 중쇄는 HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3을 추가로 포함하고 가변 경쇄는 HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3을 추가로 포함하고: (a) HVR-H1은 서열 24의 잔기 26-35, [GFTFSDYGIA]이고; (b) HVR-H2는 서열 24의 잔기 49-66, [AFISDLAYTIYYADTVTG]이고; (c) HVR-H3은 서열 24의 잔기 97-106, [ARDNWDAMDY]이고; (d) HVR-L1은 서열 25의 잔기 24-39, [RSSQSLVHNNANTYLH]이고; (e) HVR-L2는 서열 25의 잔기 55-61, [KVSNRFS]이고; (f) HVR-L3은 서열 25의 잔기 94-102, [SQNTLVPWT]이다.
- [0082] 용어 "소분자"는 50 달톤 내지 2500 달톤의 분자량을 갖는 유기 분자를 지칭한다.
- [0083] 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되며, 구체적으로 예를 들어 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 폴리에피토프 특이성을 갖는 항체, 단일 쇄 항체, 다중-특이적 항체 및 항체의 단편을 포괄한다. 이러한 항체는 키메라, 인간화, 인간 및 합성일 수 있다. 이러한 항체 및 이를 생성하는 방법은 하기에 보다 상세하게 기재되어 있다.
- [0084] 용어 "제어되지 않는" 또는 "제어할 수 없는"은 질환의 증상을 최소화하기 위한 치료 요법의 불충분함을 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "제어되지 않는" 및 "불충분하게 제어된"은 상호교환적으로 사용될 수 있고, 동일한 상태를 지칭하도록 의도된다. 환자의 제어 스테이터스는 환자의 임상 병력, 치료에 대한 반응성 및 처방된 현재 치료의 수준을 비롯한 다수의 인자에 기반하여 담당의에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 의사는 FEV1 <75% 예측 또는 개인 최대치, 지난 2-4주 동안의 SABA에 대한 필요의 빈도 (예를 들어, 매주 2회 용량 이상), 지난 2-4주 동안의 야간 각성/증상 (예를 들어, 매주 2일 밤 이하), 지난 2-4주 동안의 활동 상의 제한, 지난 2-4주 동안의 주간 증상과 같은 인자를 고려할 수 있다.
- [0085] 용어 "치료제"는 질환을 치료하는데 사용되는 임의의 작용제를 지칭한다.
- [0086] 용어 "제어제" 또는 "예방제"는 천식 염증을 제어하는데 사용되는 임의의 치료제를 지칭한다. 제어제의 예는 코르티코스테로이드, 류코트리엔 수용체 길항제 (예를 들어, 류코트리엔의 합성 또는 활성을 억제함, 예컨대 몬테루카스트, 질류톤, 프란루카스트, 자피르루카스트), LABA, 코르티코스테로이드/LABA 조합 조성물, 테오필린 (아미노필린 포함), 크로몰린 나트륨, 네도크로밀 나트륨, 오말리주맙, LAMA, MABA (예를 들어, 이관능성 무스카린성 길항제-베타2 효능제), 5-리폭시게나제 활성화 단백질 (FLAP) 억제제, 및 효소 PDE-4 억제제 (예를 들어, 로플루밀라스트)를 포함한다. "제2 제어제"는 전형적으로 제1 제어제와 동일하지 않은 제어제를 지칭한다.
- [0087] 용어 "코르티코스테로이드 스페어링" 또는 "CS"는 또 다른 치료제의 투여로 인한 질환의 치료를 위해 코르티코스테로이드를 투여받는 환자에서 질환을 치료하기 위해 사용된 코르티코스테로이드의 빈도 및/또는 양에서의 감소, 또는 그의 제거를 의미한다. "CS 작용제"는 코르티코스테로이드를 투여받는 환자에서 CS를 유발할 수 있는 치료제를 지칭한다.
- [0088] 용어 "코르티코스테로이드"는 플루티카손 (플루티카손 프로피오네이트 (FP) 포함), 베클로메타손, 부테소니드, 시클레소니드, 모메타손, 플루니솔리드, 베타메타손과 트리암시놀론을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. "흡입용 코르티코스테로이드"는 흡입에 의한 전달에 적합한 코르티코스테로이드를 의미한다. 예시적인 흡입용 코르티코스테로이드는 플루티카손, 베클로메타손 디프로피오네이트, 부테노시드, 모메타손 푸로에이트, 시클레소니드, 플루니솔리드, 트리암시놀론 아세토니드 및 현재 이용가능하거나 미래에 이용가능하게 될 임의의 다른 코르티코스테로이드이다. 흡입될 수 있고 장기-작용 베타2-효능제와 조합되는 코르티코스테로이드의 예는 부테소

니드/포르모테롤 및 플루티카손/살메테롤을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

- [0089] 코르티코스테로이드/LABA 조합 약물의 예는 플루티카손 푸로에이트/빌란테롤 트리페네테이트 및 인다카테롤/모메타손을 포함한다.
- [0090] 용어 "LABA"는 장기-작용 베타-2 효능제를 의미하며, 이 효능제는 예를 들어 살메테롤, 포르모테롤, 밤부테롤, 알부테롤, 인다카테롤, 아르포르모테롤 및 클렌부테롤을 포함한다.
- [0091] 용어 "LAMA"는 장기-작용 무스카린성 길항제를 의미하며, 이 효능제는 티오토로품을 포함한다.
- [0092] LABA/LAMA 조합물의 예는 올로다테롤 티오토로품 (베링거 잉겔하임(Boehringer Ingelheim) 및 인다카테롤 글리코피로늄 (노파르티스(Novartis))을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0093] 용어 "SABA"는 단기-작용 베타-2 효능제를 의미하며, 이 효능제는 살부타몰, 레보살부타몰, 페노테롤, 테르부탈린, 피르부테롤, 프로카테롤, 비톨테롤, 리미테롤, 카부테롤, 툴로부테롤 및 레프로테롤을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0094] 류코트리엔 수용체 길항제 (때때로 류카스트로 지칭됨) (LTRA)는 류코트리엔을 억제하는 약물이다. 류코트리엔 억제제의 예는 몬테루카스트, 질류톤, 프란루카스트 및 자피르루카스트를 포함한다.
- [0095] 용어 "FEV1"은 강제 호기의 제1초에 내선 공기의 부피를 지칭한다. 이는 기도 폐쇄의 척도이다. FEV1에서의 20% 감소를 유도하는데 필요한 메타콜린의 유발 농도 (PC20)는 기도 과민반응의 척도이다. FEV1은 다른 유사한 방식, 예를 들어 FEV₁로 기재될 수 있으며, 모든 이러한 유사한 변형이 동일한 의미를 갖는다는 것을 이해하여야 한다.
- [0096] 용어 "FEV1에서의 상대적 변화" = (치료 제12주째의 FEV1 - 치료 시작 전의 FEV1) / FEV1.
- [0097] 용어 "경도 천식"은 일반적으로 주 2회 미만의 증상 또는 악화, 월 2회 미만의 야간 증상을 경험하는 환자를 지칭하며, 악화 사이에 무증상이다. 필요한 경우에, 경도, 간헐성 천식은 종종 하기: 흡입용 기관지확장제 (단기-작용 흡입용 베타2-효능제); 공지된 유발인자의 회피; 연간 인플루엔자 예방접종; 매 6 내지 10년마다의 폐렴 구균 예방접종, 및 일부 경우에, 흡입용 베타2-효능제, 크로몰린, 또는 확인된 유발인자에 대한 노출 전의 네도크로밀로 치료된다. 환자가 단기-작용 베타2-효능제에 대한 증가하는 필요를 갖는 경우에 (예를 들어, 급성 악화에 대해 1일에 3 내지 4회 초과와 단기-작용 베타2-효능제를 사용하거나, 또는 증상에 대해 매월 1개 초과와 캐니스터를 사용함), 환자는 요법에서의 증강을 필요로 할 수 있다.
- [0098] 용어 "중등도 천식"은 일반적으로 환자가 주 2회 초과와 악화를 경험하고, 악화가 수면 및 활동에 영향을 미치고; 환자가 월 2회 초과와 천식으로 인한 야간 각성을 갖고; 환자가 매일 또는 격일의 단기-작용 흡입용 베타2-효능제를 필요로 하는 만성 천식 증상을 가지며; 환자의 치료전 예측된 기준선 PEF 또는 FEV1이 60 내지 80 퍼센트이고, PEF 가변성이 20 내지 30 퍼센트인 천식을 지칭한다.
- [0099] 용어 "중증 천식"은 일반적으로 환자가 거의 계속적인 증상, 빈번한 악화, 천식으로 인한 빈번한 야간 각성, 제한된 활동, 예측된 60 퍼센트 미만의 PEF 또는 FEV1 기준선, 및 20 내지 30 퍼센트의 PEF 가변성을 갖는 것인 천식을 지칭한다.
- [0100] 구급 의약의 예는 알부테롤, 벤토린 등을 포함한다.
- [0101] "내성"은 치료제로의 치료 후에 임상적으로 유의한 향상을 거의 또는 전혀 나타내지 않는 질환을 지칭한다. 예를 들어, 고용량 ICS로의 치료 (예를 들어, 천식이 제어되지 않고 남아있거나 또는 FEV1이 향상되지 않는 경우에 확립하기 위해 총 1일 코르티코스테로이드 용량을 4배로 하는 것 또는 3일 연속 이상 동안 FP 500 마이크로그램 (또는 등가물) 이상의 총 1일 용량, 또는 2주 동안의 전신성 코르티코스테로이드 시행)를 필요로 하는 천식은 종종 중증 불응성 천식으로 간주된다.
- [0102] 본원에 제공된 바와 같은 치료제는 비경구, 피하, 복강내, 폐내 및 비강내를 비롯한 임의의 적합한 수단에 의해 투여될 수 있다. 비경구 주입은 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내 또는 피하 투여를 포함한다. 한 실시양태에서, 치료제는 흡입된다. 또 다른 실시양태에 따르면, 투약은 주사, 예를 들어 정맥내 또는 피하 주사에 의해 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 치료제는 (예를 들어, 예비충전되거나 되지 않은) 시린지 또는 자동주사기를 사용하여 투여된다.
- [0103] 질환의 예방 또는 치료를 위해, 치료제의 적절한 투여량은 치료받을 질환의 유형, 질환의 중증도 및 경과, 치료

제가 예방 또는 치료 목적을 위해 투여되는지의 여부, 선행 요법, 환자의 임상 병력 및 치료제에 대한 반응, 및 담당의의 판단에 따라 달라질 수 있다. 치료제는 적합하게는 환자에게 1회 또는 일련의 치료에 걸쳐 투여된다. 치료제 조성물은 우수한 의료 행위에 부합하는 방식으로 제제화, 투약 및 투여될 것이다. 이와 관련하여 고려할 인자는 치료받을 특정한 장애, 치료받을 특정한 포유동물, 개별 환자의 임상적 상태, 장애의 원인, 작용제의 전달 부위, 투여 방법, 투여 스케줄링, 및 진료의에게 공지된 다른 인자를 포함한다.

[0104] 호산구성 질환 (천식 포함)에 대한, 및 TH2 요법을 이용하여 다른 질환을 치료하기 위한, 레브리키주맵에 대한 투약: 레브리키주맵은 0.1 mg/kg 내지 100 mg/kg 환자 체중으로 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 환자에게 투여되는 투여량은 0.1 mg/kg 내지 20 mg/kg 환자 체중이다. 또 다른 실시양태에서, 용량은 1 mg/kg 내지 10 mg/kg 환자 체중이다.

[0105] 대안적 실시양태에서, 레브리키주맵은 균일 용량으로 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 레브리키주맵은 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 7주, 8주, 9주, 10주, 11주, 12주, 13주, 14주, 15주, 16주, 1개월, 2개월, 3개월 또는 4개월로 이루어진 군으로부터 선택된 시간의 빈도로, 피하 주사에 의해 또는 정맥내 주사에 의해, 125-1000mg 균일 용량 (즉, 체중 의존성이 아님)으로 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 환자가 과체중인 경우에, 레브리키주맵은 예를 들어 매월 3회의 빈도로 125-250mg 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 레브리키주맵은 매 4주마다 125mg, 250mg 또는 500mg의 균일 용량으로 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 레브리키주맵은 >40 kg인 환자에서 매 4주마다 37.5mg, 125mg, 250mg 또는 500mg의 균일 용량으로 투여된다.

[0106] 한 실시양태에서, 환자는 18세 이상이다. 한 실시양태에서, 천식 환자는 12 내지 17세이고, 레브리키주맵은 250 mg의 균일 용량 또는 125 mg의 균일 용량으로 투여된다. 한 실시양태에서, 천식 환자는 6 내지 11세이고, 레브리키주맵은 125 mg의 균일 용량으로 투여된다.

[0107] "환자 반응" 또는 "반응" (및 그의 문법적 변형)은 (1) 질환 진행의 어느 정도까지의 억제, 예컨대 지연 및 완전한 정지; (2) 질환 에피소드 및/또는 증상의 수에서의 감소; (3) 병변 크기에서의 감소; (4) 인접한 말초 기관 및/또는 조직으로의 질환 세포 침윤의 억제 (즉, 감소, 지연 또는 완전한 정지); (5) 질환 확산의 억제 (즉, 감소, 지연 또는 완전한 정지); (6) 질환 병변의 퇴행 또는 제거를 일으킬 수 있으나 그래야 하는 것은 아닌, 자가면역 반응의 감소; (7) 장애와 연관된 하나 이상의 증상의 어느 정도까지의 경감; (8) 치료 후 질환이 없는 표출 기간에서의 증가; 및/또는 (9) 치료 후 주어진 시점에서의 사망률의 감소를 포함하나 이에 제한되지는 않는, 환자에 대한 이익을 나타내는 임의의 종점을 이용하여 평가될 수 있다.

[0108] "친화도"는 분자 (예를 들어, 항체)의 단일 결합 부위와 그의 결합 파트너 (예를 들어, 항원) 사이의 비공유 상호작용의 총합의 강도를 지칭한다. 달리 나타내지 않는 한, 본원에 사용된 "결합 친화도"는 결합 쌍의 구성원들 (예를 들어, 항체 및 항원 결합 아암) 사이의 1:1 상호작용을 반영하는 내재성 결합 친화도를 지칭한다. 분자 X의 그의 파트너 Y에 대한 친화도는 일반적으로 해리 상수 (K_d)로 나타내어질 수 있다. 친화도는 본원에 기재된 방법을 비롯한 당업계에 공지된 통상의 방법에 의해 측정할 수 있다. 결합 친화도를 측정하기 위한 구체적인 예시적 및 대표적 실시양태가 하기 기재되어 있다.

[0109] "친화도 성숙" 항체는 항원에 대한 항체의 친화도에서의 향상을 일으키는 변형을 보유하지 않는 모 항체와 비교하여 하나 이상의 초가변 영역 (HVR)에서 하나 이상의 변형을 갖는 항체를 지칭한다.

[0110] 용어 "항-표적 항체" 및 "표적에 결합하는 항체"는 항체가 표적을 표적화함에 있어 진단제 및/또는 치료제로서 유용하도록 충분한 친화도로 표적에 결합할 수 있는 항체를 지칭한다. 한 실시양태에서, 관련되지 않은 비-표적 단백질에 대한 항-표적 항체의 결합의 정도는, 예를 들어 방사성면역검정 (RIA) 또는 비아코어(biacore) 검정에 의해 측정시 표적에 대한 상기 항체의 결합의 약 10% 미만이다. 특정 실시양태에서, 표적에 결합하는 항체는 $\leq 1 \mu M$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0.1 \text{ nM}$, $\leq 0.01 \text{ nM}$, 또는 $\leq 0.001 \text{ nM}$ (예를 들어, 10^{-8} M 이하, 예를 들어 10^{-8} M 내지 10^{-13} M , 예를 들어 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수 (K_d)를 갖는다. 특정 실시양태에서, 항-표적 항체는 다양한 종 사이에서 보존되어 있는 표적의 에피토프에 결합한다.

[0111] 본원에서 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되며, 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 다중특이적 항체 (예를 들어, 이중특이적 항체), 및 바람직한 항원-결합 활성을 나타내는 한 항체 단편을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다양한 항체 구조를 포함한다.

[0112] "항체 단편"은 무손상 항체가 결합하는 항원에 결합하는 무손상 항체의 일부를 포함하는, 무손상 항체 이외의 분자를 지칭한다. 항체 단편의 예는 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; 디아바디; 선형 항체; 단일-쇄 항체

분자 (예를 들어, scFv); 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

- [0113] 참조 항체로서 "동일한 에피토프에 결합하는 항체"는 경쟁 검정에서 참조 항체가 그의 항원에 결합하는 것을 50% 이상 차단하는 항체, 및 반대로 경쟁 검정에서 항체가 그의 항원에 결합하는 것을 50% 이상 차단하는 참조 항체를 지칭한다. 예시적인 경쟁 검정이 본원에 제공되어 있다.
- [0114] 본원의 목적을 위해 "수용자 인간 프레임워크"는 하기 정의된 바와 같이 인간 이뮤노글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크로부터 유래된 경쇄 가변 도메인 (VL) 프레임워크 또는 중쇄 가변 도메인 (VH) 프레임워크의 아미노산 서열을 포함하는 프레임워크이다. 인간 이뮤노글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크"로부터 유래된" 수용자 인간 프레임워크는 그의 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있거나, 또는 아미노산 서열 변화를 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 아미노산 변화의 수는 10개 이하, 9개 이하, 8개 이하, 7개 이하, 6개 이하, 5개 이하, 4개 이하, 3개 이하, 또는 2개 이하이다. 일부 실시양태에서, VL 수용자 인간 프레임워크는 VL 인간 이뮤노글로불린 프레임워크 서열 또는 인간 컨센서스 프레임워크 서열과 서열이 동일하다.
- [0115] 용어 "키메라" 항체는 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정한 공급원 또는 종으로부터 유래되고, 반면에 중쇄 및/또는 경쇄의 나머지가 상이한 공급원 또는 종으로부터 유래된 항체를 지칭한다.
- [0116] 항체의 "부류"는 그의 중쇄에 의해 보유된 불변 도메인 또는 불변 영역의 유형을 지칭한다. 5개의 주요 부류의 항체: IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM이 존재하고, 이들 중 몇 개는 하위부류 (이소형), 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2로 추가로 나눌 수 있다. 상이한 부류의 이뮤노글로불린에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 α , δ , ϵ , γ 및 μ 로 지칭된다.
- [0117] 본원에 사용된 용어 "세포독성제"는 세포 기능을 억제 또는 저해하고/거나 세포 사멸 또는 파괴를 유발하는 물질을 지칭한다. 세포독성제는 방사성 동위원소 (예를 들어, At211, I131, I125, Y90, Re186, Re188, Sm153, Bi212, P32, Pb212, 및 Lu의 방사성 동위원소); 화학요법제 또는 약물 (예를 들어, 메토틱렉세이트, 아드리아미신, 빈카 알칼로이드 (빈크리스틴, 빈블라스틴, 에토포시드), 독소루비신, 멜팔란, 미토마이신 C, 클로람부실, 다우노루비신 또는 다른 삽입제); 성장 억제제; 효소 및 그의 단편, 예컨대 뉴클레오티드분해 효소; 항생제; 독소, 예컨대 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 소분자 독소 또는 효소 활성 독소 (그의 단편 및/또는 변이체 포함); 및 하기 개시된 다양한 항종양제 또는 항암제를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0118] "이펙터 기능"은 항체 이소형에 따라 달라지는, 항체의 Fc 영역에 기인하는 생물학적 활성을 지칭한다. 항체 이펙터 기능의 예는 C1q 결합성 및 보체 의존성 세포독성 (CDC); Fc 수용체 결합; 항체-의존성 세포-매개된 세포독성 (ADCC); 식세포작용; 세포 표면 수용체 (예를 들어, B 세포 수용체)의 하향 조절; 및 B 세포 활성화를 포함한다.
- [0119] 작용제, 예를 들어 제약 제제의 "유효량"은 필요한 투여량으로 필요한 기간 동안 바람직한 치료 또는 예방 결과를 달성하는데 효과적인 양을 지칭한다.
- [0120] 본원에서 용어 "Fc 영역"은 불변 영역의 적어도 일부를 함유하는 이뮤노글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의하는데 사용된다. 상기 용어는 천연 서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 Cys226으로부터, 또는 Pro230으로부터 중쇄의 카르복실-말단으로 연장된다. 그러나, Fc 영역의 C-말단 리신 (Lys447)은 존재할 수 있거나 존재하지 않을 수 있다. 본원에 달리 명시되지 않는 한, Fc 영역 또는 불변 영역 내의 아미노산 잔기의 넘버링은 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991]에 기재된 바와 같이 EU 인덱스로도 또한 지칭되는 EU 넘버링 시스템에 따른다.
- [0121] "프레임워크" 또는 "FR"은 초가변 영역 (HVR) 잔기 이외의 가변 도메인 잔기를 지칭한다. 가변 도메인의 FR은 일반적으로 4개의 FR 도메인: FR1, FR2, FR3 및 FR4로 구성된다. 따라서, HVR 및 FR 서열은 일반적으로 VH (또는 VL)에서 하기 순서로 나타난다: FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.
- [0122] 용어 "전장 항체", "무손상 항체" 및 "전체 항체"는 천연 항체 구조와 실질적으로 유사한 구조를 갖거나 또는 본원에 정의된 바와 같은 Fc 영역을 함유하는 중쇄를 갖는 항체를 지칭하기 위해 본원에서 상호교환적으로 사용된다.
- [0123] 용어 "숙주 세포", "숙주 세포주" 및 "숙주 세포 배양물"은 상호교환적으로 사용되며, 외인성 핵산이 도입된 세포 (이러한 세포의 자손 포함)를 지칭한다. 숙주 세포는 "형질전환체" 및 "형질전환된 세포"를 포함하며, 이는

1차 형질전환된 세포 및 계대배양 횟수와 관계없이 그로부터 유래된 자손을 포함한다. 자손은 모 세포와 핵산 함량이 완전히 동일하지 않을 수 있으나, 돌연변이를 함유할 수 있다. 본래 형질전환된 세포에 대해 스크리닝 또는 선택시에 동일한 기능 또는 생물학적 활성을 갖는 돌연변이체 자손이 본원에 포함된다.

- [0124] "인간 항체"는 인간 또는 인간 세포에 의해 생산된 항체의 아미노산 서열에 상응하는 아미노산 서열을 보유하거나, 또는 인간 항체 레퍼토리 또는 다른 인간 항체-코딩 서열을 이용하여 비-인간 공급원으로부터 유래된 항체이다. 인간 항체의 상기 정의에서 비-인간 항원-결합 잔기를 포함하는 인간화 항체는 명확하게 배제된다.
- [0125] "인간 컨센서스 프레임워크"는 인간 이뮤노글로불린 VL 또는 VH 프레임워크 서열의 선택에서 가장 흔히 발생하는 아미노산 잔기를 나타내는 프레임워크이다. 일반적으로, 인간 이뮤노글로불린 VL 또는 VH 서열의 선택은 가변 도메인 서열의 하위군으로부터 이루어진다. 일반적으로, 서열의 하위군은 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3]에서와 같은 하위군이다. 한 실시양태에서, VL의 경우에 하위군은 상기 문헌 [Kabat et al.]에서와 같은 하위군 카파 I이다. 한 실시양태에서, VH의 경우에 하위군은 상기 문헌 [Kabat et al.]에서와 같은 하위군 III이다.
- [0126] "인간화" 항체는 비-인간 HVR로부터의 아미노산 잔기 및 인간 FR로부터의 아미노산 잔기를 포함하는 키메라 항체를 지칭한다. 특정 실시양태에서, 인간화 항체는 적어도 1개, 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이고, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 HVR (예를 들어, CDR)은 비-인간 항체의 것에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR은 인간 항체의 것에 상응한다. 인간화 항체는 임의로 인간 항체로부터 유래된 항체 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 항체, 예를 들어 비-인간 항체의 "인간화 형태"는 인간화를 겪은 항체를 지칭한다.
- [0127] 본원에 사용된 용어 "초가변 영역" 또는 "HVR"은 서열이 초가변성이고/거나 구조적으로 한정된 루프 ("초가변 루프")를 형성하는 항체 가변 도메인의 각각의 영역을 지칭한다. 일반적으로, 천연 4-쇄 항체는 6개의 HVR; VH 내의 3개 (H1, H2, H3) 및 VL 내의 3개 (L1, L2, L3)를 포함한다. HVR은 일반적으로 초가변 루프로부터의 및/또는 "상보성 결정 영역" (CDR)으로부터의 아미노산 잔기를 포함하며, 후자는 전형적으로 서열 가변성이 가장 높고/거나 항원 인식과 관련된다. 본원에 사용된 HVR 영역은 위치 24-36 (HVRL1의 경우), 46-56 (HVRL2의 경우), 89-97 (HVRL3의 경우), 26-35B (HVRH1의 경우), 47-65 (HVRH2의 경우) 및 93-102 (HVRH3의 경우) 내에 위치한 임의의 번호의 잔기를 포함한다.
- [0128] "면역접합체"는 세포독성제를 포함하나 이에 제한되지는 않는 하나 이상의 이종 분자(들)에 접합된 항체이다.
- [0129] "개체" 또는 "대상체"는 포유동물이다. 포유동물은 가축 (예를 들어, 소, 양, 고양이, 개 및 말), 영장류 (예를 들어, 인간 및 비-인간 영장류, 예컨대 원숭이), 토끼 및 설치류 (예를 들어, 마우스 및 래트)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 특정 실시양태에서, 개체 또는 대상체는 인간이다.
- [0130] "단리된" 항체는 그의 자연 환경의 성분으로부터 분리된 것이다. 일부 실시양태에서, 항체를 예를 들어 전기영동 (예를 들어, SDS-PAGE, 등전 포커싱 (IEF), 모세관 전기영동) 또는 크로마토그래피 (예를 들어, 이온 교환 또는 역상 HPLC)에 의한 측정시 95% 또는 99% 초과 순도로 정제한다. 항체 순도의 평가를 위한 방법의 검토를 위해서는, 예를 들어 문헌 [Flatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007)]을 참조한다.
- [0131] "단리된" 핵산은 그의 자연 환경의 성분으로부터 분리된 핵산 분자를 지칭한다. 단리된 핵산은 핵산 분자를 통상적으로 함유하는 세포에 함유되는 핵산 분자를 포함하지만, 핵산 분자는 염색체외에 또는 그의 천연 염색체 위치와 상이한 염색체 위치에 존재한다.
- [0132] "항-표적 항체를 코딩하는 단리된 핵산"은 항체 중쇄 및 경쇄 (또는 그의 단편)를 코딩하는 하나 이상의 핵산 분자 (단일 벡터 또는 별도의 벡터 내의 이러한 핵산 분자(들) 및 숙주 세포에서 하나 이상의 위치에 존재하는 이러한 핵산 분자(들) 포함)를 지칭한다.
- [0133] 본원에 사용된 용어 "모노클로날 항체"는 실질적으로 균질한 항체의 집단으로부터 수득된 항체를 지칭하고, 즉, 이러한 집단을 구성하는 개별 항체는 일반적으로 소량으로 존재하는, 예를 들어 자연 발생 돌연변이를 함유하거나 모노클로날 항체 제제의 생산 동안 생성되는 가능한 변이체 항체를 제외하고는 동일하고/거나, 동일한 에피토프에 결합한다. 전형적으로 상이한 결정기 (에피토프)에 대해 지시된 상이한 항체를 포함하는 폴리클로날 항체 제제와는 반대로, 모노클로날 항체 제제의 각각의 모노클로날 항체는 항원 상의 단일 결정기에 대해 지시된다. 따라서, 수식구 "모노클로날"은 항체의 실질적으로 균질한 집단으로부터 얻은 항체의 특성을 나타내고, 임의의 특정한 방법에 의한 항체의 생산을 필요로 하는 것으로 해석되지 않아야 한다. 예를 들어, 본원에 제공된

방법에 따라 사용될 모노클로날 항체는 하이브리도마 방법, 재조합 DNA 방법, 과지-디스플레이 방법, 및 인간 이뮤노글로불린 로커스의 전부 또는 일부를 함유하는 트랜스제닉 동물을 이용하는 방법을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다양한 기술에 의해 제조될 수 있으며, 이러한 방법 및 모노클로날 항체를 제조하기 위한 다른 예시적인 방법이 본원에 기재되어 있다.

- [0134] "네이키드 항체"는 이중 모이어티 (예를 들어, 세포독성 모이어티) 또는 방사성표지에 접합되지 않은 항체를 지칭한다. 네이키드 항체는 제약 제제로 존재할 수 있다.
- [0135] "천연 항체"는 다양한 구조를 갖는 자연 발생 이뮤노글로불린 분자를 지칭한다. 예를 들어, 천연 IgG 항체는 디슬피드-결합된 2개의 동일한 경쇄 및 2개의 동일한 중쇄로 이루어진 약 150,000 달톤의 이종사량체 당단백질이다. N-말단으로부터 C-말단으로, 각각의 중쇄는 가변 영역 (VH) (또한 가변 중쇄 도메인 또는 중쇄 가변 도메인으로 지칭됨)에 이어 3개의 불변 도메인 (CH1, CH2 및 CH3)을 갖는다. 유사하게, N-말단으로부터 C-말단으로, 각각의 경쇄는 가변 영역 (VL) (또한 가변 경쇄 도메인 또는 경쇄 가변 도메인으로 지칭됨)에 이어 불변 경쇄 (CL) 도메인을 갖는다. 항체의 경쇄는 그의 불변 도메인의 아미노산 서열을 기초로 하여, 카파 (κ) 및 람다 (λ)로 지칭되는 2개의 유형 중 하나로 할당될 수 있다.
- [0136] 용어 "포장 삽입물"은 적응증, 용법, 투여량, 투여, 조합 요법, 금기사항, 및/또는 이러한 치료 제품의 사용에 대한 경고에 대한 정보를 함유하는, 치료 제품의 상업용 패키지에 통상적으로 포함되는 지침서를 지칭하는데 사용된다. 용어 "포장 삽입물"은 또한 의도된 용도, 시험 원리, 시약의 제조 및 취급, 시편 수집 및 제조, 검정 및 검정 절차의 보정, 성능 및 정밀도 데이터, 예컨대 검정의 감도 및 특이성에 대한 정보를 함유하는, 진단 제품의 상업용 패키지에 통상적으로 포함되는 지침서를 지칭하는데 사용된다.
- [0137] 참조 폴리펩티드 서열에 대한 "아미노산 서열 동일성 퍼센트(%)"는 서열을 정렬시키고 필요한 경우에는 최대 서열 동일성 퍼센트 달성을 위해 갭을 도입한 후 임의의 보존적 치환을 서열 동일성의 일부로 간주하지 않으면서 참조 폴리펩티드 서열 내의 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열 내의 아미노산 잔기의 백분율로서 정의된다. 아미노산 서열 동일성 퍼센트를 결정하는 목적을 위한 정렬은 당업계 기술 범위 내의 다양한 방식, 예를 들어 공개적으로 이용가능한 컴퓨터 소프트웨어, 예컨대 BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 메갈린(Megalign) (DNASTAR) 소프트웨어를 이용하여 달성할 수 있다. 당업자는 비교할 전장 서열에 대한 최대 정렬을 달성하는데 필요한 임의의 알고리즘을 포함하여 서열 정렬에 적절한 파라미터를 결정할 수 있다. 그러나, 본원의 목적상, 아미노산 서열 동일성 % 값은 서열 비교 컴퓨터 프로그램 ALIGN-2를 이용하여 생성된다. ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램은 제네펜크, 인크.(Genentech, Inc.) 소유이고, 소스 코드는 미국 저작권청 (20559 워싱턴 디.씨.)에 사용자 문서로 제출되어 있고, 미국 저작권 등록 번호 TXU510087 하에 등록되어 있다. ALIGN-2 프로그램은 제네펜크, 인크. (캘리포니아주 사우스 샌프란시스코)로부터 공개적으로 이용가능하거나, 소스 코드로부터 컴파일링될 수 있다. ALIGN-2 프로그램은 디지털 UNIX V4.0D를 비롯한 UNIX 운영 시스템에서 사용되도록 컴파일링되어야 한다. 모든 서열 비교 파라미터는 ALIGN-2 프로그램에 의해 설정되어 있으며 변하지 않는다.
- [0138] ALIGN-2가 아미노산 서열 비교를 위해 사용되는 상황에서, 주어진 아미노산 서열 B에, 주어진 아미노산 서열 B와, 또는 주어진 아미노산 서열 B에 대한 주어진 아미노산 서열 A의 아미노산 서열 동일성 % (이는 다르게는 주어진 아미노산 서열 B에, 주어진 아미노산 서열 B와, 또는 주어진 아미노산 서열 B에 대한 특정 아미노산 서열 동일성 %를 갖거나 또는 이를 포함하는 주어진 아미노산 서열 A라는 어구로 기재될 수 있음)는 하기와 같이 계산된다:
- [0139] X/Y 의 분율 $\times 100$ (여기서, X는 서열 정렬 프로그램 ALIGN-2에 의한 A 및 B의 프로그램 정렬시에 상기 프로그램에 의해 동일한 매치로 스코어링된 아미노산 잔기의 개수이고, Y는 B의 아미노산 잔기의 총 개수임). 아미노산 서열 A의 길이가 아미노산 서열 B의 길이와 동일하지 않은 경우에는 B에 대한 A의 아미노산 서열 동일성 %가 A에 대한 B의 아미노산 서열 동일성 %와 동일하지 않을 것임을 인지할 것이다. 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 아미노산 서열 동일성 % 값은 ALIGN-2 컴퓨터 프로그램을 이용하여 상기 단락에 기재한 바와 같이 수득한다.
- [0140] 용어 "제약 제제"는 그 안에 함유된 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적이도록 하는 형태로 존재하며, 제제가 투여될 대상체에게 허용되지 않는 독성인 추가의 성분을 함유하지 않는 제제를 지칭한다.
- [0141] "제약상 허용되는 담체"는 대상체에게 비독성인, 활성 성분 이외의 제약 제제 내의 성분을 지칭한다. 제약상 허용되는 담체는 완충제, 부형제, 안정화제 또는 보존제를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0142] 본원에 사용된 용어 "표적"은 달리 나타내지 않는 한, 영양류 (예를 들어, 인간) 및 설치류 (예를 들어, 마우스

및 래트)와 같은 포유동물을 비롯한 임의의 척추동물 공급원으로부터의 임의의 천연 분자를 지칭한다. 상기 용어는 "전장" 비프로세싱된 표적 뿐만 아니라 세포에서의 프로세싱으로부터 생성된 임의의 형태의 표적을 포함한다. 상기 용어는 또한 표적의 자연 발생 변이체, 예를 들어 스플라이스 변이체 또는 대립유전자 변이체를 포함한다.

[0143] 본원에 사용된 "치료" (및 "치료하다" 또는 "치료하는"과 같은 그의 문법적 변형)는 치료받을 개체의 자연적 과정을 변경시키려는 임상적 개입을 지칭하고, 임상 병리상태의 예방을 위해 또는 그 과정 동안 수행될 수 있다. 바람직한 치료 효과는 질환의 발생 또는 재발 예방, 증상의 완화, 질환의 임의의 직접 또는 간접적인 병리학적 결과의 축소, 전이의 예방, 질환 진행 속도의 감소, 질환 상태의 개선 또는 호전, 및 차도 또는 향상된 예후를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 항체는 질환의 발생을 지연시키거나 또는 질환의 진행을 느리게 하기 위해 사용된다.

[0144] 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항체의 항원에 대한 결합에 관여하는 항체 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 지칭한다. 천연 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인 (각각 VH 및 VL)은 일반적으로 유사한 구조를 갖고, 각각의 도메인은 4개의 보존된 프레임워크 영역 (FR) 및 3개의 초가변 영역 (HVR)을 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Kindt et al. Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007)] 참조). 단일 VH 또는 VL 도메인은 항원-결합 특이성을 부여하기에 충분할 수 있다. 추가로, 특정한 항원에 결합하는 항체는 각각 상보성 VL 또는 VH 도메인의 라이브리리를 스크리닝하기 위해 항원에 결합하는 항체로부터의 VH 또는 VL 도메인을 사용하여 단리할 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Portolano et al., J. Immunol. 150:880-887 (1993); Clarkson et al., Nature 352:624-628 (1991)]을 참조한다.

[0145] 본원에 사용된 용어 "백터"는 그 백터가 연결된 또 다른 핵산을 증식시킬 수 있는 핵산 분자를 지칭한다. 상기 용어는 자기-복제 핵산 구조로서의 백터 뿐만 아니라 백터가 그 내부로 도입된 숙주 세포의 게놈 내로 혼입된 백터를 포함한다. 특정 백터는 그 백터가 작동가능하게 연결된 핵산의 발현을 지시할 수 있다. 이러한 백터는 본원에서 "발현 백터"로 지칭된다.

[0146] 조성물 및 방법

[0147] 한 측면에서, 본 발명은 부분적으로 신규한 진단 검정 및 보다 우수한 치료 방법을 기반으로 한다. 특정 실시양태에서, 페리오스틴에 결합하는 항체가 제공된다. 본 발명의 항체는, 예를 들어 천식 및 다른 질환의 진단 또는 치료에 유용하다.

[0148] 예시적인 항체

[0149] 항-페리오스틴 항체

[0150] 한 측면에서, 본 발명은 페리오스틴에 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 특정 실시양태에서, 인간 페리오스틴의 이소형 1-4에 우수한 친화도로 결합할 수 있는 항-페리오스틴 항체가 제공된다.

[0151] 한 실시양태에서, 항체는 서열 1 및 서열 2의 서열을 포함하거나 ("25D4" 항체), 또는 서열 3 및 서열 4의 서열을 포함한다 ("23B9" 항체). 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 1 및 서열 2의 가변 영역 서열을 포함하거나, 또는 서열 3 및 서열 4의 가변 영역 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 1 및 서열 2의 HVR 서열 또는 서열 3 및 서열 4의 HVR 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 1 및 서열 2의 HVR 서열과 95% 이상 동일한 HVR 서열을 포함하고/거나, 항체는 서열 3 및 서열 4의 HVR 서열과 95% 이상 동일한 HVR 서열을 포함한다.

[0152] 임의의 상기 실시양태에서, 항-페리오스틴 항체는 인간화될 수 있다. 한 실시양태에서, 항-페리오스틴 항체는 임의의 상기 실시양태에서와 같이 HVR을 포함하고, 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어 인간 이뮤노글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크를 추가로 포함한다.

[0153] 또 다른 측면에서, 항-페리오스틴 항체는 서열 1의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 대해 치환 (예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 함유하지만, 그 서열을 포함하는 항-페리오스틴 항체는 페리오스틴에 결합하는 능력을 유지한다. 특정 실시양태에서, 서열 1에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실되어 있다. 특정 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역에서 (즉, FR에서) 발생한다. 임의로, 항-페리오스틴 항체는 서열 1에서의 VH 서열 (그 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다.

다.

[0154] 또 다른 측면에서, 서열 2의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하는 항-페리오스틴 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 대해 치환 (예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 함유하지만, 그 서열을 포함하는 항-페리오스틴 항체는 페리오스틴에 결합하는 능력을 유지한다. 특정 실시양태에서, 서열 2에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실되어 있다. 특정 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역에서 (즉, FR에서) 발생한다. 임의로, 항-페리오스틴 항체는 서열 2에서의 VL 서열 (그 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다.

[0155] 또 다른 측면에서, 항-페리오스틴 항체는 서열 3의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 대해 치환 (예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 함유하지만, 그 서열을 포함하는 항-페리오스틴 항체는 페리오스틴에 결합하는 능력을 유지한다. 특정 실시양태에서, 서열 3에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실되어 있다. 특정 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역에서 (즉, FR에서) 발생한다. 임의로, 항-페리오스틴 항체는 서열 3에서의 VH 서열 (그 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다.

[0156] 또 다른 측면에서, 서열 4의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하는 항-페리오스틴 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 대해 치환 (예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 함유하지만, 그 서열을 포함하는 항-페리오스틴 항체는 페리오스틴에 결합하는 능력을 유지한다. 특정 실시양태에서, 서열 4에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실되어 있다. 특정 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역에서 (즉, FR에서) 발생한다. 임의로, 항-페리오스틴 항체는 서열 4에서의 VL 서열 (그 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다.

[0157] 또 다른 측면에서, 항-페리오스틴 항체가 제공되며, 여기서 항체는 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VH 및 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VL을 포함한다.

[0158] 추가 측면에서, 본 발명은 본원에 제공된 항-페리오스틴 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체를 제공한다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 서열 1의 VH 서열 및 서열 2의 VL 서열을 포함하는 항-페리오스틴 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 서열 3의 VH 서열 및 서열 4의 VL 서열을 포함하는 항-페리오스틴 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다.

[0159] 본 발명의 추가 측면에서, 임의의 상기 실시양태에 따른 항-페리오스틴 항체는 키메라, 인간화 또는 인간 항체를 포함하는 모노클로날 항체이다. 한 실시양태에서, 항-페리오스틴 항체는 항체 단편, 예를 들어 Fv, Fab, Fab', scFv, 디아바디 또는 F(ab')₂ 단편이다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 전장 항체, 예를 들어 무손상 IgG1 또는 IgG4 항체, 또는 본원에 정의된 바와 같은 다른 항체 부류 또는 이소형이다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 이중특이적 항체이다.

[0160] 추가 측면에서, 임의의 상기 실시양태에 따른 항-페리오스틴 항체는 하기 섹션 1-7에 기재된 바와 같은 임의의 특징을 단독으로 또는 조합하여 포함할 수 있다:

[0161] 항-IL13 항체

[0162] 한 측면에서, 본 발명은 인간 IL-13에 결합하는 단리된 항체를 제공한다.

[0163] 한 실시양태에서, 항-IL13 항체는 서열 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; 서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 서열 11의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; 서열 12의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 서열 13의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0164] 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 9 및 서열 10의 가변 영역 서열을 포함한다.

[0165] 임의의 상기 실시양태에서, 항-IL-13 항체는 인간화될 수 있다. 한 실시양태에서, 항-IL-13 항체는 임의의 상기 실시양태에서와 같이 HVR을 포함하고, 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어 인간 이뮤노글로불린 프레임워크

또는 인간 컨센서스 프레임워크를 추가로 포함한다.

- [0166] 또 다른 측면에서, 항-IL-13 항체는 서열 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 대해 치환 (예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 함유하지만, 그 서열을 포함하는 항-IL-13 항체는 인간 IL-13에 결합하는 능력을 유지한다. 특정 실시양태에서, 서열 9에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 변경 삽입 및/또는 결실되어 있다. 특정 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역에서 (즉, FR에서) 발생한다. 임의로, 항-IL13 항체는 서열 9에서의 VH 서열 (그 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다.
- [0167] 또 다른 측면에서, 서열 10의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하는 항-IL-13 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 대해 치환 (예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 함유하지만, 그 서열을 포함하는 항-IL-13 항체는 IL-13에 결합하는 능력을 유지한다. 특정 실시양태에서, 서열 10에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실되어 있다. 특정 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역에서 (즉, FR에서) 발생한다. 임의로, 항-IL-13 항체는 서열 10에서의 VL 서열 (그 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다.
- [0168] 또 다른 실시양태에서, 항-IL-13 항체는 서열 10의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 VL 영역, 및 서열 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 VH 영역을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항-IL-13 항체는 아미노산 서열 14를 포함하는 HVR-L1; 아미노산 서열 15를 포함하는 HVR-L2; 아미노산 서열 16을 포함하는 HVR-L3; 아미노산 서열 11을 포함하는 HVR-H1; 아미노산 서열 12를 포함하는 HVR-H2; 및 아미노산 서열 13을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.
- [0169] 또 다른 측면에서, 항-IL-13 항체가 제공되며, 여기서 항체는 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VH 및 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VL을 포함한다.
- [0170] 추가 측면에서, 본 발명은 본원에 제공된 항-IL-13 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체를 제공한다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 서열 9의 VH 서열 및 서열 10의 VL 서열을 포함하는 항-IL-13 항체와 동일한 에피토프에 결합하거나 또는 상기 항-IL-13 항체에 의해 경쟁적으로 억제될 수 있는 항체가 제공된다.
- [0171] 본 발명의 추가 측면에서, 임의의 상기 실시양태에 따른 항-IL-13 항체는 키메라, 인간화 또는 인간 항체를 포함하는 모노클로날 항체일 수 있다. 한 실시양태에서, 항-IL13 항체는 항체 단편, 예를 들어 Fv, Fab, Fab', scFv, 디아바디 또는 F(ab')₂ 단편이다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 전장 항체, 예를 들어 무손상 IgG1 또는 IgG4 항체, 또는 본원에 정의된 바와 같은 다른 항체 부류 또는 이소형이다. 또 다른 실시양태에 따르면, 항체는 이중특이적 항체이다. 한 실시양태에서, 이중특이적 항체는 HVR을 포함하거나, 상기 기재된 VH 및 VL 영역을 포함한다.
- [0172] 추가 측면에서, 임의의 상기 실시양태에 따른 항-IL-13 항체는 하기 섹션 1-7에 기재된 바와 같은 임의의 특성을 단독으로 또는 조합하여 포함할 수 있다:
- [0173] 1. 항체 친화도
- [0174] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0.1 \text{ nM}$, $\leq 0.01 \text{ nM}$, 또는 $\leq 0.001 \text{ nM}$ (예를 들어, 10^{-8} M 이하, 예를 들어 10^{-8} M 내지 10^{-13} M , 예를 들어 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수 (Kd)를 갖는다.
- [0175] 한 실시양태에서, Kd는 하기 검정에서 기재된 바와 같이 관심 항체의 Fab 버전 및 그의 항원을 사용하여 수행된 방사성표지된 항원 결합 검정 (RIA)에 의해 측정된다. 항원에 대한 Fab의 용액 결합 친화도는 비표지 항원의 적정 시리즈의 존재 하에 Fab를 최소 농도의 (125I)-표지 항원과 평형화시킨 다음, 결합된 항원을 항-Fab 항체-코팅된 플레이트로 포획함으로써 측정된다 (예를 들어, 문헌 [Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881(1999)] 참조). 검정 조건을 확립하기 위해, 마이크로타이터(MICROTITER)® 멀티-웰 플레이트 (써모 사이언티픽(Thermo Scientific))를 50 mM 탄산나트륨 (pH 9.6) 중의 5 $\mu\text{g/ml}$ 의 포획 항-Fab 항체 (카펠 랩스(Cappel Labs))로 밤새 코팅한 후, PBS 중의 2% (w/v) 소 혈청 알부민으로 2 내지 5시간 동안 실온 (대략 23°C)에서 차단한다. 비-흡착 플레이트 (눈크(Nunc) #269620)에서는 100 pM 또는 26 pM [125I]-항원을 관심 Fab의 연속 희석물과 혼합

한다 (예를 들어, 문헌 [Presta et al., Cancer Res. 57:4593-4599 (1997)]의 항-VEGF 항체, Fab-12의 평가와 일치함). 이어서, 관심 Fab를 밤새 인큐베이션하지만, 평형에 도달하는 것을 확실하게 하기 위해 더 오랜 시간 (예를 들어, 약 65시간) 동안 계속 인큐베이션할 수 있다. 이후에, 혼합물을 포획 플레이트로 옮겨 실온에서 (예를 들어, 1시간 동안) 인큐베이션한다. 이어서, 용액을 제거하고, 플레이트를 PBS 중의 0.1% 폴리소르베이트 20 (트윈(TWEEN)-20®)으로 8회 세척한다. 플레이트를 건조시킬 때, 150 μ l/웰의 섬광체 (마이크로신티-20(MICROSCINT-20)™; 팩커드(Packard))를 첨가하고, 플레이트를 탑카운트(TOPCOUNT)™ 감마 계수기 (팩커드)로 10분 동안 계수한다. 최대 결합의 20% 이하를 제공하는 각 Fab의 농도를 선택하여 경쟁적 결합 검정에 사용한다.

[0176] 또 다른 실시양태에 따르면, Kd는 약 10의 반응 단위 (RU)로 고정화된 항원 CM5 칩을 사용하여 25℃에서 비아코어®-2000 또는 비아코어®-3000 (비아코어, 인크., 뉴저지주 피스카타웨이)을 사용하는 표면 플라즈몬 공명 검정을 사용하여 측정된다. 간략하게, 카르복시메틸화 텍스트란 바이오센서 칩 (CM5, 비아코어, 인크.)을 공급업체의 지침에 따라 N-에틸-N'-(3-디메틸아미노프로필)-카르보디이미드 히드로클로라이드 (EDC) 및 N-히드록시숙신이미드 (NHS)로 활성화시킨다. 항원을 10 mM 아세트산나트륨 (pH 4.8)을 사용하여 5 μ g/ml (약 0.2 μ M)로 희석한 후에 커플링된 단백질 대략 10 반응 단위 (RU)가 달성되도록 5 μ l/분의 유량으로 주입한다. 항원의 주입 후, 1 M 에탄올아민을 주입하여 미반응 기를 차단한다. 동역학적 측정을 위해, Fab의 2배 연속 희석물 (0.78 nM 내지 500 nM)을 대략 25 μ l/분의 유량으로 25℃에서 0.05% 폴리소르베이트 20 (트윈-20™) 계면활성제를 함유하는 PBS (PBST) 내에 주입한다. 간단한 일-대-일 랭뮤어(Langmuir) 결합 모델 (비아코어® 평가 소프트웨어 버전 3.2)을 이용하여 회합 및 해리 센서그램을 동시에 피팅시켜 회합률 (kon) 및 해리율 (koff)를 계산한다. 평형 해리 상수 (Kd)는 koff/kon의 비로 계산한다. 예를 들어, 문헌 [Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999)]를 참조한다. 회합률이 상기 표면 플라즈몬 공명 검정에 의해 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 을 초과하면, 분광측정계, 예컨대 흐름-정지가 장착된 분광광도계 (아비브 인스트루먼트(Aviv Instruments)) 또는 교반 큐벳이 구비된 8000-시리즈 SLM-아민코(SLM-AMINCO)™ 분광광도계 (써모스펙트로닉(ThermoSpectronic))에서 측정된 바와 같이, 회합률은 25℃에서 증가하는 농도의 항원의 존재 하에 PBS (pH 7.2) 중 20 nM 항체 (Fab 형태)의 형광 방출 강도 (여기 = 295 nm, 방출 = 340 nm, 16 nm 대역투과)에서의 증가 또는 감소를 측정하는 형광 쉐칭 기술을 이용하여 결정할 수 있다.

[0177] 2. 항체 단편

[0178] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 항체 단편이다. 항체 단편은 Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv 및 scFv 단편, 및 하기 기재된 다른 단편을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 특정 항체 단편의 검토를 위해서는, 예를 들어 문헌 [Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003)]을 참조한다. scFv 단편의 검토를 위해서는, 예를 들어 문헌 [Pluckthuen, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994)]을 참조하고; 또한 WO 93/16185; 및 미국 특허 번호 5,571,894 및 5,587,458을 참조한다. 셀비지 수용체 결합 에피토프 잔기를 포함하고 증가된 생체내 반감기를 갖는 Fab 및 F(ab')₂ 단편의 논의에 대해서는, 미국 특허 번호 5,869,046을 참조한다.

[0179] 디아바디는 2가 또는 이중특이적일 수 있는 2개의 항원-결합 부위를 갖는 항체 단편이다. 예를 들어, EP 404,097; WO 1993/01161; 문헌 [Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003); 및 Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993)]을 참조한다. 트리아바디 및 테트라바디는 또한 문헌 [Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003)]에 기재되어 있다.

[0180] 단일-도메인 항체는 항체의 중쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부 또는 경쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부를 포함하는 항체 단편이다. 특정 실시양태에서, 단일-도메인 항체는 인간 단일-도메인 항체이다 (도만티스, 인크.(Domantis, Inc.), 매사추세츠주 윌섬; 예를 들어 미국 특허 번호 6,248,516 B1 참조).

[0181] 항체 단편은 본원에 기재된 바와 같은 무손상 항체의 단백질분해적 소화 뿐만 아니라 재조합 숙주 세포 (예를 들어, 이. 콜라이(E. coli) 또는 파지)에 의한 생산을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다양한 기술에 의해 제조될 수 있다.

[0182] 3. 키메라 및 인간화 항체

[0183] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 키메라 항체이다. 특정 키메라 항체는 예를 들어 미국 특허 번호 4,816,567; 및 문헌 [Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)]에 기재되어 있다. 한 예에서, 키메라 항체는 비-인간 가변 영역 (예를 들어, 마우스, 래트, 햄스터, 토끼 또는 비-인간 영장류,

예컨대 원숭이로부터 유래된 가변 영역) 및 인간 불변 영역을 포함한다. 추가의 예에서, 키메라 항체는 부류 또는 하위부류가 모 항체의 것으로부터 변화된 "부류 스위칭" 항체이다. 키메라 항체는 그의 항원-결합 단편을 포함한다.

[0184] 특정 실시양태에서, 키메라 항체는 인간화 항체이다. 전형적으로, 비-인간 항체는 모 비-인간 항체의 특이성 및 친화도를 유지하면서 인간에 대한 면역원성이 감소하도록 인간화된다. 일반적으로, 인간화 항체는 HVR, 예를 들어 CDR (또는 그의 일부)이 비-인간 항체로부터 유래되고, FR (또는 그의 일부)이 인간 항체 서열로부터 유래된 하나 이상의 가변 도메인을 포함한다. 인간화 항체는 또한 임의로 인간 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 것이다. 일부 실시양태에서, 인간화 항체의 일부 FR 잔기는, 예를 들어 항체 특이성 또는 친화도를 복원하거나 또는 향상시키기 위해, 비-인간 항체 (예를 들어, HVR 잔기가 유래된 항체)로부터의 상응하는 잔기로 치환된다.

[0185] 인간화 항체 및 그의 제조 방법은 예를 들어 문헌 [Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)]에 검토되어 있고, 예를 들어 문헌 [Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); Queen et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86:10029-10033 (1989)]; 미국 특허 번호 5,821,337, 7,527,791, 6,982,321, 및 7,087,409; [Kashmiri et al., Methods 36:25-34 (2005)] (SDR (a-CDR) 그래프팅 기재); [Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498 (1991)] ("리서페이징" 기재); [Dall'Acqua et al., Methods 36:43-60 (2005)] ("FR 서플링" 기재); 및 [Osbourn et al., Methods 36:61-68 (2005) 및 Klimka et al., Br. J. Cancer, 83:252-260 (2000)] (FR 서플링에 대한 "안내 선택" 접근법 기재)에 추가로 기재되어 있다.

[0186] 인간화에 사용될 수 있는 인간 프레임워크 영역은 "최적-피트" 방법을 이용하여 선택된 프레임워크 영역 (예를 들어, 문헌 [Sims et al. J. Immunol. 151:2296 (1993)] 참조); 경쇄 또는 중쇄 가변 영역의 특정한 하위군의 인간 항체의 컨센서스 서열로부터 유래된 프레임워크 영역 (예를 들어, 문헌 [Carter et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992); 및 Presta et al. J. Immunol., 151:2623 (1993)] 참조); 인간 성숙 (체세포 돌연변이된) 프레임워크 영역 또는 인간 배선 프레임워크 영역 (예를 들어, 문헌 [Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)] 참조); 및 스크리닝 FR 라이브러리로부터 유래된 프레임워크 영역 (예를 들어, 문헌 [Baca et al., J. Biol. Chem. 272:10678-10684 (1997) 및 Rosok et al., J. Biol. Chem. 271:22611-22618 (1996)] 참조)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0187] 4. 인간 항체

[0188] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 인간 항체이다. 인간 항체는 당업계에 공지된 다양한 기술을 이용하여 생산될 수 있다. 인간 항체는 일반적으로 문헌 [van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5:368-74 (2001) 및 Lonberg, Curr. Opin. Immunol. 20:450-459 (2008)]에 기재되어 있다.

[0189] 인간 항체는 항원 투여에 반응하여 무손상 인간 항체 또는 인간 가변 영역을 갖는 무손상 항체를 생산하도록 변형된 트랜스제닉 동물에게 면역원을 투여하여 제조할 수 있다. 이러한 동물은 전형적으로 내인성 이뮤노글로불린 로커스를 대체하거나 또는 염색체외에 존재하거나 또는 동물의 염색체로 무작위적으로 통합된 인간 이뮤노글로불린 로커스의 전부 또는 일부를 함유한다. 이러한 트랜스제닉 마우스에서, 내인성 이뮤노글로불린 로커스는 일반적으로 불활성화된다. 트랜스제닉 동물로부터 인간 항체를 수득하는 방법의 검토를 위해서는, 문헌 [Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125 (2005)]을 참조한다. 또한, 예를 들어 미국 특허 번호 6,075,181 및 6,150,584 (제노마우스(XENOMOUSE)TM 기술 기재); 미국 특허 번호 5,770,429 (휴맵(HUMAB)[®] 기술 기재); 미국 특허 번호 7,041,870 (K-M 마우스(K-M MOUSE)[®] 기술 기재), 및 미국 특허 출원 공보 번호 US 2007/0061900 (벨로시마우스(VELOCIMOUSE)[®] 기술 기재)을 참조한다. 이러한 동물에 의해 생성된 무손상 항체로부터의 인간 가변 영역은 예를 들어 상이한 인간 불변 영역과 조합하여 추가로 변형될 수 있다.

[0190] 인간 항체는 또한 하이브리도마-기반 방법에 의해 제조될 수 있다. 인간 모노클로날 항체의 생산을 위한 인간 골수종 및 마우스-인간 이종골수종 세포주가 기재되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Kozbor J. Immunol., 133: 3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 및 Boerner et al., J. Immunol., 147: 86 (1991)] 참조). 인간 B-세포 하이브리도마 기술을 통해 생성된 인간 항체는 또한 문헌 [Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006)]에 기재되어 있다. 추가의 방법은, 예를 들어 미국 특허 번호 7,189,826 (하이브리도마 세포주로부터의 모노클로날 인간 IgM 항체의 생산 기재) 및 문헌 [Ni, Xiandai Mianyixue, 26(4):265-268 (2006)] (인간-인간 하이브리도마 기재)에 기재된 것을 포함한다. 인간 하이브리도마 기술 (트리오마(Trioma) 기술)은 또한 문헌 [Vollmers and Brandlein, Histology and Histopathology, 20(3):927-937 (2005) 및 Vollmers and

Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27(3):185-91 (2005)]에 기재되어 있다.

[0191] 인간 항체는 또한 인간-유래된 파지 디스플레이 라이브러리로부터 선택된 Fv 클론 가변 도메인 서열을 단리하여 생성될 수 있다. 이어서, 이러한 가변 도메인 서열은 원하는 인간 불변 도메인과 조합될 수 있다. 항체 라이브러리로부터 인간 항체를 선택하기 위한 기술은 하기 기재되어 있다.

[0192] 5. 라이브러리-유래된 항체

[0193] 본 발명의 항체는 바람직한 활성 또는 활성들을 갖는 항체에 대해 조합 라이브러리를 스크리닝하여 단리될 수 있다. 예를 들어, 파지 디스플레이 라이브러리를 생성하고, 바람직한 결합 특성을 보유하는 항체에 대해 이러한 라이브러리를 스크리닝하는 다양한 방법이 당업계에 공지되어 있다. 이러한 방법은 예를 들어 문헌 [Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001)]에 검토되어 있고, 예를 들어 문헌 [McCafferty et al., Nature 348:552-554; Clackson et al., Nature 352: 624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1992); Marks and Bradbury, in Methods in Molecular Biology 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472 (2004); 및 Lee et al., J. Immunol. Methods 284(1-2): 119-132(2004)]에 추가로 기재되어 있다.

[0194] 특정 파지 디스플레이 방법에서, VH 및 VL 유전자의 레퍼토리는 개별적으로 폴리머라제 연쇄 반응 (PCR)에 의해 클로닝되고, 파지 라이브러리에 무작위적으로 재조합되며, 이는 이어서 문헌 [Winter et al., Ann. Rev. Immunol., 12: 433-455 (1994)]에 기재된 바와 같이 항원-결합 파지에 대해 스크리닝될 수 있다. 파지는 전형적으로 항체 단편을 단일-쇄 Fv (scFv) 단편 또는 Fab 단편으로 디스플레이한다. 면역화된 공급원으로부터의 라이브러리는 하이브리도마를 구축할 필요 없이 면역원에 대한 고-친화도 항체를 제공한다. 다르게는, 문헌 [Griffiths et al., EMBO J, 12: 725-734 (1993)]에 기재된 바와 같이 나이트 레퍼토리를 클로닝 (예를 들어, 인간으로부터)하여, 어떠한 면역화도 없이 광범위한 비-자기 및 또한 자기 항원에 대한 항체의 단일 공급원을 제공할 수 있다. 최종적으로, 문헌 [Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992)]에 기재된 바와 같이, 줄기 세포로부터의 재배열되지 않은 V-유전자 절편을 클로닝하고, 고도로 가변성인 CDR3 영역을 코딩하고 시험관내 재배열이 달성되도록 무작위 서열을 함유하는 PCR 프라이머를 사용함으로써, 나이트 라이브러리를 또한 합성적으로 제조할 수 있다. 인간 항체 파지 라이브러리를 기재하는 특허 공보는, 예를 들어 미국 특허 번호 5,750,373 및 미국 특허 공보 번호 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936 및 2009/0002360을 포함한다.

[0195] 인간 항체 라이브러리로부터 단리된 항체 또는 항체 단편은 본원에서 인간 항체 또는 인간 항체 단편으로 간주된다.

[0196] 6. 다중특이적 항체

[0197] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 다중특이적 항체, 예를 들어 이중특이적 항체이다. 다중특이적 항체는 적어도 2개의 상이한 부위에 대해 결합 특이성을 갖는 모노클로날 항체이다. 특정 실시양태에서, 결합 특이성 중 하나는 IL-13에 대한 것이며, 다른 것은 임의의 다른 항원에 대한 것이다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 항체는 IL-13의 2개의 상이한 에피토프에 결합할 수 있다. 이중특이적 항체는 또한 세포에 세포독성제를 위치시키는데 사용될 수 있다. 이중특이적 항체는 전장 항체 또는 항체 단편으로서 제조될 수 있다.

[0198] 다중특이적 항체를 제조하기 위한 기술은 상이한 특이성을 갖는 2개의 이뮤노글로불린 중쇄-경쇄 쌍의 제조합 공발현 (문헌 [Milstein and Cuello, Nature 305: 537 (1983)], WO 93/08829, 및 [Traunecker et al., EMBO J. 10: 3655 (1991)] 참조), 및 "노브-인-홀(knob-in-hole)" 조작 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,731,168 참조)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 다중-특이적 항체는 또한, 항체 Fc-이중이량체 분자를 제조하기 위해 정전기적 스테어링 효과를 조작하는 것 (WO 2009/089004A1); 2개 이상의 항체 또는 단편을 가교시키는 것 (예를 들어, 미국 특허 번호 4,676,980, 및 문헌 [Brennan et al., Science, 229: 81 (1985)] 참조); 이중-특이적 항체를 생산하기 위해 류신 지퍼를 이용하는 것 (예를 들어, 문헌 [Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992)]); 이중특이적 항체 단편을 제조하기 위해 "디아바디" 기술을 이용하는 것 (예를 들어, 문헌 [Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)] 참조); 및 단일-쇄 Fv (sFv) 이량체를 이용하는 것 (예를 들어, 문헌 [Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994)] 참조); 및 예

를 들어 문헌 [Tutt et al. J. Immunol. 147: 60 (1991)]에 기재된 바와 같이 삼중특이적 항체를 제조하는 것에 의해 제조될 수 있다.

[0199] "옥토퍼스 항체"를 포함하여, 3개 이상의 기능적 항원 결합 부위를 갖는 조작된 항체가 또한 본원에 포함된다 (예를 들어, US 2006/0025576A1 참조).

[0200] 본원의 항체 또는 단편은 또한 IL-13 뿐만 아니라 또 다른 상이한 항원에 결합하는 항원 결합 부위를 포함하는 "이중 작용 Fab" 또는 "DAF"를 포함한다 (예를 들어, US 2008/0069820 참조).

[0201] 7. 항체 변이체

[0202] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체의 아미노산 서열 변이체가 고려된다. 예를 들어, 항체의 결합 친화도 및/또는 다른 생물학적 특성을 향상시키는 것이 바람직할 수 있다. 항체의 아미노산 서열 변이체는 항체를 코딩하는 뉴클레오타이드 서열에 적절한 변형을 도입함으로써, 또는 펩티드 합성에 의해 제조할 수 있다. 이러한 변형은 예를 들어 항체의 아미노산 서열 내 잔기의 결실 및/또는 삽입 및/또는 치환을 포함한다. 최종 구축물이 바람직한 특성, 예를 들어 항원-결합을 보유하는 한, 최종 구축물에 도달하기 위해 결실, 삽입 및 치환의 임의의 조합이 이루어질 수 있다.

[0203] 치환, 삽입 및 결실 변이체

[0204] 특정 실시양태에서, 1개 이상의 아미노산 치환을 갖는 항체 변이체가 제공된다. 치환 돌연변이유발을 위한 관심 부위는 HVR 및 FR을 포함한다. 보존적 치환은 하기 표 1에 "보존적 치환"의 표제 하에 제시된다. 보다 실질적인 변화는 표 1에 "예시적인 치환"의 표제 하에, 및 아미노산 측쇄 부류에 관하여 하기 추가로 기재된 바와 같이 제공된다. 아미노산 치환은 관심 항체에 도입될 수 있고, 생성물은 바람직한 활성, 예를 들어 유지/향상된 항원 결합, 감소된 면역원성 또는 향상된 ADCC 또는 CDC에 대해 스크리닝될 수 있다.

[0205] <표 1>

원래 잔기	예시적 치환	보존적 치환
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 노르류신	Leu
Leu (L)	노르류신; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 노르류신	Leu

[0206]

[0207] 아미노산은 공통 측쇄 특성에 따라 분류될 수 있다:

[0208] (1) 소수성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

[0209] (2) 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

- [0210] (3) 산성: Asp, Glu;
- [0211] (4) 염기성: His, Lys, Arg;
- [0212] (5) 쇠 배향에 영향을 미치는 잔기: Gly, Pro;
- [0213] (6) 방향족: Trp, Tyr, Phe.
- [0214] 비-보존적 치환은 이들 부류 중의 하나의 구성원을 또 다른 부류로 교환하는 것을 수반할 것이다.
- [0215] 치환 변이체의 하나의 유형은 모 항체 (예를 들어, 인간화 또는 인간 항체)의 하나 이상의 추가변 영역 잔기를 치환하는 것을 포함한다. 일반적으로, 추가 연구를 위해 선택된 생성된 변이체(들)는 모 항체에 비해 특정 생물학적 특성 (예를 들어, 상승된 친화도, 감소된 면역원성)의 변형 (예를 들어, 향상)을 가질 것이고/거나 모 항체의 특정 생물학적 특성을 실질적으로 유지할 것이다. 예시적인 치환 변이체는 예를 들어 본원에 기재된 것과 같은 파지 디스플레이-기반 친화도 성숙 기술을 이용하여 편리하게 생성될 수 있는 친화도 성숙 항체이다. 간략하게, 하나 이상의 HVR 잔기가 돌연변이되고, 변이체 항체가 파지 상에 디스플레이되고, 특정한 생물학적 활성 (예를 들어, 결합 친화도)에 대해 스크리닝된다.
- [0216] 변경 (예를 들어, 치환)은 예를 들어 항체 친화도를 향상시키기 위해 HVR에서 이루어질 수 있다. 이러한 변경은 HVR "핫스팟", 즉 체성 성숙 과정 동안 높은 빈도로 돌연변이를 겪은 코돈에 의해 코딩된 잔기 (예를 들어, 문헌 [Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)] 참조), 및/또는 SDR (a-CDR)에서 이루어질 수 있고, 생성된 변이체 VH 또는 VL은 결합 친화도에 대해 시험된다. 2차 라이브러리로부터의 구축 및 재선택에 의한 친화도 성숙은, 예를 들어 문헌 [Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001))]에 기재되어 있다. 친화도 성숙의 일부 실시양태에서, 다양성은 임의의 다양한 방법 (예를 들어, 오류-유발 PCR, 쇠 서폴링, 또는 올리고뉴클레오타이드-유도된 돌연변이유발)에 의한 성숙을 위해 선택된 가변 유전자로 도입된다. 이어서, 2차 항체를 생성한다. 이어서, 라이브러리를 스크리닝하여 바람직한 친화도를 갖는 임의의 항체 변이체를 확인한다. 다양성을 도입하는 다른 방법은 HVR-지시된 접근법과 연관되며, 여기서 여러 HVR 잔기 (예를 들어, 한 번에 4-6개의 잔기)가 무작위화된다. 항원 결합과 연관된 HVR 잔기는, 예를 들어 알려진 스캐닝 돌연변이유발 또는 모델링을 이용하여 구체적으로 확인될 수 있다. 특히, CDR-H3 및 CDR-L3이 종종 표적화된다.
- [0217] 특정 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 이러한 변경이 항원에 결합하는 항체의 능력을 실질적으로 감소시키지 않는 한, 하나 이상의 HVR 내에서 일어날 수 있다. 예를 들어, 결합 친화도를 실질적으로 감소시키지 않는 보존적 변경 (예를 들어, 본원에 제공된 바와 같은 보존적 치환)이 HVR에서 이루어질 수 있다. 이러한 변경은 HVR "핫스팟" 또는 SDR의 외부에 있을 수 있다. 상기 제공된 변이체 VH 및 VL 서열의 특정 실시양태에서, 각각의 HVR은 변경되지 않거나, 또는 1, 2 또는 3개 이하의 아미노산 치환을 함유한다.
- [0218] 문헌 [Cunningham and Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085]에 기재된 바와 같이, 돌연변이유발을 위해 표적화될 수 있는 항체의 잔기 또는 영역의 확인에 유용한 방법은 "알라닌 스캐닝 돌연변이유발"이라고 지칭된다. 이 방법에서, 잔기 또는 표적 잔기들의 군 (예를 들어, 하전된 잔기, 예컨대 arg, asp, his, lys 및 glu)이 확인되고, 중성 또는 음으로 하전된 아미노산 (예를 들어, 알라닌 또는 폴리알라닌)으로 대체되어 항체와 항원과의 상호작용에 영향을 미치는지의 여부를 결정한다. 추가의 치환은 초기 치환에 대한 기능적 감수성을 입증하는 아미노산 위치에 도입될 수 있다. 다르게는 또는 추가로, 항체와 항원 사이의 접촉점을 확인하기 위해 항원-항체 복합체의 결정 구조를 분석할 수 있다. 이러한 접촉 잔기 및 이웃하는 잔기는 치환을 위한 후보로서 표적화되거나 제거될 수 있다. 변이체는 이들이 바람직한 특성을 함유하는지의 여부를 결정하기 위해 스크리닝될 수 있다.
- [0219] 아미노산 서열 삽입은 길이가 1개의 잔기 내지 100개 이상의 잔기를 함유하는 폴리펩티드의 범위인 아미노- 및/또는 카르복실-말단 융합, 뿐만 아니라 단일 또는 다수의 아미노산 잔기의 서열내 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 예는 N-말단 메티오닌 잔기를 갖는 항체를 포함한다. 항체 분자의 다른 삽입 변이체는 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 효소 (예를 들어, ADEPT의 경우) 또는 폴리펩티드가 상기 항체의 N- 또는 C-말단에 융합된 것을 포함한다.
- [0220] 글리코실화 변이체
- [0221] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 항체가 글리코실화되는 정도를 증가시키거나 감소시키도록 변경된다. 항체에 대한 글리코실화 부위의 부가 또는 결실은 하나 이상의 글리코실화 부위가 생성되거나 제거되도록 아미

노산 서열을 변경함으로써 편리하게 달성될 수 있다.

- [0222] 항체가 Fc 영역을 포함하는 경우에, 이에 부착되어 있는 탄수화물이 변경될 수 있다. 포유동물 세포에 의해 생산된 천연 항체는 전형적으로 Fc 영역의 CH2 도메인의 Asn297에 대한 N-연결에 의해 일반적으로 부착되어 있는 분지형 이중안테나 올리고사카라이드를 포함한다. 예를 들어, 문헌 [Wright et al. TIBTECH 15:26-32 (1997)]을 참조한다. 올리고사카라이드는 다양한 탄수화물, 예를 들어 만노스, N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc), 갈락토스 및 시알산 뿐만 아니라 이중안테나 올리고사카라이드 구조의 "줄기" 내의 GlcNAc에 부착되어 있는 푸코스를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체 내의 올리고사카라이드의 변형은 특정의 향상된 특성을 갖는 항체 변이체를 생성하기 위해 이루어질 수 있다.
- [0223] 한 실시양태에서, Fc 영역에 (직접 또는 간접적으로) 부착되어 있는 푸코스가 결핍된 탄수화물 구조를 갖는 항체 변이체가 제공된다. 예를 들어, 이러한 항체에서 푸코스의 양은 1% 내지 80%, 1% 내지 65%, 5% 내지 65% 또는 20% 내지 40%일 수 있다. 푸코스의 양은, 예를 들어 WO 2008/077546에 기재된 바와 같이 MALDI-TOF 질량 분광측정법에 의해 측정된 Asn 297에 부착되어 있는 모든 당구조물 (예를 들어, 복합체, 하이브리드 및 고 만노스 구조물)의 합에 비해 Asn297에서 당 쇄 내의 푸코스의 평균적인 양을 계산하여 결정된다. Asn297은 Fc 영역의 약 위치 297 (Fc 영역 잔기의 Eu 넘버링)에 위치한 아스파라긴 잔기를 나타내지만; Asn297은 또한 항체의 부차적 서열 변이에 의해 위치 297의 약 ± 3 아미노산 상류 또는 하류, 즉 위치 294 및 300 사이에 위치할 수 있다. 이러한 푸코실화 변이체는 향상된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 공보 번호 US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621 (교와 핫코 고교 캄파니, 리미티드(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd))를 참조한다. "탈푸코실화" 또는 "푸코스-결핍" 항체 변이체와 관련된 공보의 예는 US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; 문헌 [Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004)]을 포함한다. 탈푸코실화 항체를 생산할 수 있는 세포주의 예는 단백질 푸코실화가 결핍된 Lec13 CHO 세포 (문헌 [Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986)]; 미국 특허 출원 번호 US 2003/0157108 A1 (Presta, L); 및 WO 2004/056312 A1 (Adams et al.), 특히 실시예 11), 및 녹아웃 세포주, 예컨대 알파-1,6-푸코실트랜스퍼라제 유전자, FUT8, 녹아웃 CHO 세포 (예를 들어, 문헌 [Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006)]; 및 WO2003/085107 참조)를 포함한다.
- [0224] 이등분된 올리고사카라이드를 갖는 항체 변이체가 추가로 제공되며, 예를 들어 항체의 Fc 영역에 부착되어 있는 이중안테나 올리고사카라이드가 GlcNAc에 의해 이등분된다. 이러한 항체 변이체는 감소된 푸코실화 및/또는 향상된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 이러한 항체 변이체의 예는, 예를 들어 WO 2003/011878 (Jean-Mairet et al.); 미국 특허 번호 6,602,684 (Umana et al.); 및 US 2005/0123546 (Umana et al.)에 기재되어 있다. Fc 영역에 부착되어 있는 올리고사카라이드 내에 적어도 1개의 갈락토스 잔기를 갖는 항체 변이체가 또한 제공된다. 이러한 항체 변이체는 향상된 CDC 기능을 가질 수 있다. 이러한 항체 변이체는, 예를 들어 WO 1997/30087 (Patel et al.); WO 1998/58964 (Raju, S.); 및 WO 1999/22764 (Raju, S.)에 기재되어 있다.
- [0225] Fc 영역 변이체
- [0226] 특정 실시양태에서, 1개 이상의 아미노산 변형이 본원에 제공된 항체의 Fc 영역에 도입되어 Fc 영역 변이체를 생성할 수 있다. Fc 영역 변이체는 1개 이상의 아미노산 위치에서 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함하는 인간 Fc 영역 서열 (예를 들어, 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 Fc 영역)을 포함할 수 있다.
- [0227] 특정 실시양태에서, 본 발명은 모든 이펙터 기능은 아니지만 몇몇 이펙터 기능을 보유하는 항체 변이체를 고려하며, 이는 상기 변이체를 생체내 항체의 반감기가 중요하지만 특정 이펙터 기능 (예컨대, 보체 및 ADCC)이 불필요하거나 해로운 적용에 대한 바람직한 후보가 되게 한다. 시험관내 및/또는 생체내 세포독성 검정을 수행하여 CDC 및/또는 ADCC 활성의 감소/고갈을 확인할 수 있다. 예를 들어, 항체가 Fc γ R 결합이 결핍되어 있지만 (따라서, ADCC 활성이 결핍될 가능성이 있음) FcRn 결합 능력은 유지하는 것을 확인하기 위해 Fc 수용체 (FcR) 결합 검정을 수행할 수 있다. ADCC를 매개하는 1차 세포인 NK 세포는 단지 FcRIII만을 발현하고, 반면에 단핵구는 FcRI, FcRII 및 FcRIII를 발현한다. 조혈 세포 상의 FcR 발현은 문헌 [Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991)]의 464면 상의 표 3에 요약되어 있다. 관심 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위한 시험관내 검정의 비제한적 예는 미국 특허 번호 5,500,362 (예를 들어, 문헌 [Hellstrom, I. et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986)] 참조) 및 문헌 [Hellstrom, I et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA

82:1499-1502 (1985)]; 5,821,337 (예를 들어, 문헌 [Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987)] 참조)에 기재되어 있다. 다르게는, 비-방사성 검정 방법이 이용될 수 있다 (예를 들어, 유동 세포측정법을 위한 악티(ACTI)TM 비-방사성 세포독성 검정 (셀테크놀로지, 인크.(CellTechnology, Inc.), 캘리포니아주 마운틴 뷰); 및 사이토톡스(CytoTox) 96® 비-방사성 세포독성 검정 (프로메가(Promega), 위스콘신주 매디슨) 참조). 이러한 검정에 유용한 이펙터 세포는 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 및 자연 킬러 (NK) 세포를 포함한다. 다르게는 또는 추가로, 관심 분자의 ADCC 활성은 생체내에서, 예를 들어 문헌 [Clynes et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95:652-656 (1998)]에 개시된 바와 같은 동물 모델에서 평가될 수 있다. C1q 결합 검정은 또한, 항체가 C1q에 결합할 수 없고, 따라서 CDC 활성이 결핍된다는 것을 확인하기 위해 수행될 수 있다. 예를 들어, WO 2006/029879 및 WO 2005/100402에서의 C1q 및 C3c 결합 ELISA를 참조한다. 보체 활성화를 평가하기 위해, CDC 검정이 수행될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996); Cragg, M.S. et al., Blood 101:1045-1052 (2003); 및 Cragg, M.S. and M.J. Glennie, Blood 103:2738-2743 (2004)] 참조). FcRn 결합 및 생체내 청소율/반감기 결정은 또한 당업계에서 공지된 방법을 이용하여 수행될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Petkova, S.B. et al., Int'l. Immunol. 18(12):1759-1769 (2006)] 참조).

- [0228] 감소된 이펙터 기능을 갖는 항체는 Fc 영역 잔기 238, 265, 269, 270, 297, 327 및 329 중 1개 이상의 치환을 갖는 것을 포함한다 (미국 특허 번호 6,737,056). 이러한 Fc 돌연변이체는 아미노산 위치 265, 269, 270, 297 및 327 중 2개 이상에 치환을 갖는 Fc 돌연변이체 (잔기 265 및 297의 알라닌으로의 치환을 갖는, 소위 "DANA" Fc 돌연변이체 포함)를 포함한다 (미국 특허 번호 7,332,581).
- [0229] FcR에 대해 향상되거나 감소된 결합을 갖는 특정 항체 변이체가 기재되어 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 6,737,056; WO 2004/056312, 및 문헌 [Shields et al., J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001)] 참조).
- [0230] 특정 실시양태에서, 항체 변이체는 ADCC를 향상시키는 1개 이상의 아미노산 치환, 예를 들어 Fc 영역의 위치 298, 333 및/또는 334 (잔기의 EU 넘버링)에서의 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다.
- [0231] 일부 실시양태에서, 예를 들어 미국 특허 번호 6,194,551, WO 99/51642, 및 문헌 [Idusogie et al. J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000)]에 기재된 바와 같이, 변경된 (즉, 향상된 또는 감소된) C1q 결합 및/또는 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 일으키는 변경들이 Fc 영역에서 이루어진다.
- [0232] 증가된 반감기, 및 모체 IgG를 태아에게 전달하는 것을 담당하는 신생아 Fc 수용체 (FcRn) (문헌 [Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976) 및 Kim et al., J. Immunol. 24:249 (1994)]에 대한 향상된 결합을 갖는 항체가 US2005/0014934A1 (Hinton et al.)에 기재되어 있다. 이들 항체는 FcRn에 대한 Fc 영역의 결합을 향상시키는 1개 이상의 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다. 이러한 Fc 변이체는 Fc 영역 잔기: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 또는 434 중 1개 이상에서의 치환, 예를 들어 Fc 영역 잔기 434의 치환을 갖는 것을 포함한다 (미국 특허 번호 7,371,826).
- [0233] Fc 영역 변이체의 다른 예에 관해서는 또한 문헌 [Duncan & Winter, Nature 322:738-40 (1988)]; 미국 특허 번호 5,648,260; 미국 특허 번호 5,624,821; 및 WO 94/29351을 참조한다.
- [0234] 시스테인 조작된 항체 변이체
- [0235] 특정 실시양태에서, 항체의 1개 이상의 잔기가 시스테인 잔기로 치환된 시스테인 조작된 항체, 예를 들어 "티오 MAb"를 제조하는 것이 바람직할 수 있다. 특정한 실시양태에서, 이와 같이 치환된 잔기는 항체의 접근가능한 부위에서 발생한다. 이들 잔기를 시스테인으로 치환함으로써 반응성 티올기가 항체의 접근가능한 부위에 배치되게 되고, 이것을 이용하여 항체를 본원에 추가로 기재된 바와 같이 다른 모이어티, 예컨대 약물 모이어티 또는 링커-약물 모이어티에 접합시켜 면역접합체를 생성할 수 있다. 특정 실시양태에서, 하기 잔기 중 임의의 하나 이상은 시스테인으로 치환될 수 있다: 경쇄의 V205 (카바트 넘버링); 중쇄의 A118 (EU 넘버링); 및 중쇄 Fc 영역의 S400 (EU 넘버링). 시스테인 조작된 항체는, 예를 들어 미국 특허 번호 7,521,541에 기재된 바와 같이 생성될 수 있다.
- [0236] 항체 유도체
- [0237] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 당업계에 공지되고 용이하게 입수가 가능한 추가의 비단백질성 모이어티를 함유하도록 추가로 변형될 수 있다. 항체의 유도체화에 적합한 모이어티는 수용성 중합체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 수용성 중합체의 비제한적 예는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜의 공중합체, 카르복시메틸셀룰로스, 덱스트란, 폴리비닐 알콜, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리-1,3-디옥솔란, 폴리-

1,3,6-트리옥산, 에틸렌/말레산 무수물 공중합체, 폴리아미노산 (단독중합체 또는 랜덤 공중합체), 및 텍스트란 또는 폴리(n-비닐 피롤리돈)폴리에틸렌 글리콜, 프로프로필렌 글리콜 단독중합체, 폴리프로필렌 옥시드/에틸렌 옥시드 공중합체, 폴리옥시에틸화 폴리올 (예를 들어, 글리세롤), 폴리비닐 알콜, 및 그의 혼합물을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 폴리에틸렌 글리콜 프로피온알데히드는 물에서의 안정성으로 인해 제조에 이점을 가질 수 있다. 중합체는 임의의 분자량을 가질 수 있고, 분지형 또는 비분지형일 수 있다. 항체에 부착되어 있는 중합체의 수는 달라질 수 있고, 1개를 초과하는 중합체가 부착되어 있는 경우에, 이들은 동일하거나 상이한 분자일 수 있다. 일반적으로, 유도체화에 사용되는 중합체의 수 및/또는 유형은 향상될 항체의 특정한 특성 또는 기능, 항체 유도체가 규정된 조건 하에 요법에서 사용될 것인지의 여부 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는 고려사항을 기반으로 결정될 수 있다.

[0238] 또 다른 실시양태에서, 항체, 및 방사선에 대한 노출에 의해 선택적으로 가열될 수 있는 비단백질성 모이어티의 접합체가 제공된다. 한 실시양태에서, 비단백질성 모이어티는 탄소 나노튜브이다 (문헌 [Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005)]). 방사선은 임의의 파장일 수 있고, 통상적인 세포에는 해를 끼치지 않지만 항체-비단백질성 모이어티에 근접한 세포는 사멸시키는 온도로 비단백질성 모이어티를 가열하는 파장을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0239] 제조합 방법 및 조성물

[0240] 항체는 제조합 방법 및 조성물을 이용하여, 예를 들어 미국 특허 번호 4,816,567에 기재된 바와 같이 생산할 수 있다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 항-페리오스틴 항체를 코딩하는 단리된 핵산이 제공된다. 이러한 핵산은 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열 및/또는 VH를 포함하는 아미노산 서열 (예를 들어, 항체의 경쇄 및/또는 중쇄)을 코딩할 수 있다. 추가 실시양태에서, 이러한 핵산을 포함하는 하나 이상의 벡터 (예를 들어, 발현 벡터)가 제공된다. 추가 실시양태에서, 이러한 핵산을 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 한 이러한 실시양태에서, 숙주 세포는 (1) 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열 및 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터, 또는 (2) 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 포함하는 제1 벡터 및 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 포함하는 제2 벡터를 포함한다 (예를 들어, 이들로 형질감염됨). 한 실시양태에서, 숙주 세포는 진핵, 예를 들어 차이니스 햄스터 난소 (CHO) 세포 또는 림프성 세포 (예를 들어, Y0, NS0, Sp20 세포)이다. 한 실시양태에서, 상기 제공된 바와 같은 항체를 코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 항체의 발현에 적합한 조건 하에 배양하는 것, 및 임의로 숙주 세포 (또는 숙주 세포 배양 배지)로부터 항체를 회수하는 것을 포함하는, 항-페리오스틴 항체를 제조하는 방법이 제공된다.

[0241] 항-페리오스틴 항체의 제조합 생산을 위해, 예를 들어 상기 기재된 바와 같은 항체를 코딩하는 핵산을 단리하고, 추가의 클로닝 및/또는 숙주 세포에서의 발현을 위해 하나 이상의 벡터에 삽입한다. 이러한 핵산은 통상적인 절차를 이용하여 (예를 들어, 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 사용함으로써) 용이하게 단리하고 서열결정할 수 있다.

[0242] 항체-코딩 벡터의 클로닝 또는 발현에 적합한 숙주 세포는 본원에 기재된 원핵 또는 진핵 세포를 포함한다. 예를 들어, 특히 글리코실화 및 Fc 이펙터 기능이 필요하지 않을 경우에, 항체는 박테리아에서 생산될 수 있다. 박테리아에서의 항체 단편 및 폴리펩티드의 발현에 대해서는, 예를 들어 미국 특허 번호 5,648,237, 5,789,199 및 5,840,523을 참조한다 (또한, 이. 콜라이에서의 항체 단편의 발현이 기재되어 있는 문헌 [Charlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254] 참조). 발현 후에, 가용성 분획에서 박테리아 세포 페이스트로부터 항체를 단리할 수 있고, 추가로 정제할 수 있다.

[0243] 원핵생물 뿐만 아니라, 진핵 미생물, 예컨대 글리코실화 경로가 "인간화"되어 항체를 부분 또는 완전 인간 글리코실화 패턴으로 생산되게 하는, 진균 및 효모 균주를 비롯한 사상 진균 또는 효모가 항체-코딩 벡터에 적합한 클로닝 또는 발현 숙주이다. 문헌 [Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004), 및 Li et al., Nat. Biotech. 24:210-215 (2006)]을 참조한다.

[0244] 글리코실화 항체의 발현에 적합한 숙주 세포는 또한 다세포 유기체 (무척추동물 및 척추동물)로부터 유래된다. 무척추동물 세포의 예는 식물 및 곤충 세포를 포함한다. 곤충 세포와 함께, 특히 스포도프테라 프루기페르다 (Spodoptera frugiperda) 세포의 형질감염을 위해 사용될 수 있는 다수의 바콜로바이러스 균주가 확인되었다.

[0245] 식물 세포 배양물을 또한 숙주로서 이용할 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 5,959,177, 6,040,498, 6,420,548, 7,125,978 및 6,417,429 (트랜스제닉 식물에서 항체를 생산하기 위한 플랜티바디스(PLANTIBODIES)™ 기술을 기재함)를 참조한다.

- [0246] 척추동물 세포를 또한 숙주로서 이용할 수 있다. 예를 들어, 현탁액 중에서 성장시키는데 적합화된 포유동물 세포주가 유용할 수 있다. 유용한 포유동물 숙주 세포주의 다른 예는 SV40 (COS-7)에 의해 형질전환된 원숭이 신장 CV1 세포주; 인간 배아 신장 세포주 (293 또는 예를 들어 문헌 [Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)]에 기재된 바와 같은 293 세포); 새끼 햄스터 신장 세포 (BHK); 마우스 세르톨리 세포 (예를 들어, 문헌 [Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)]에 기재된 바와 같은 TM4 세포); 원숭이 신장 세포 (CV1); 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포 (VERO-76); 인간 자궁경부 암종 세포 (HELA); 개 신장 세포 (MDCK); 버팔로 래트 간 세포 (BRL 3A); 인간 폐 세포 (W138); 인간 간 세포 (Hep G2); 마우스 유방 종양 (MMT 060562); 예를 들어 문헌 [Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982)]에 기재된 바와 같은 TRI 세포; MRC 5 세포; 및 FS4 세포이다. 다른 유용한 포유동물 숙주 세포주는 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포, 예컨대 DHFR- CHO 세포 (문헌 [Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)]); 및 골수종 세포주, 예컨대 Y0, NS0 및 Sp2/0을 포함한다. 항체 생산에 적합한 특정 포유동물 숙주 세포주의 검토를 위해서는, 예를 들어 문헌 [Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003)]을 참조한다.
- [0247] 검정
- [0248] 본원에 제공된 항-페리오스틴 항체는 당업계에서 공지된 다양한 검정에 의해 확인되거나, 스크리닝되거나, 또는 그의 물리적/화학적 특성 및/또는 생물학적 활성에 대해 특성화될 수 있다.
- [0249] 결합 검정 및 기타 검정
- [0250] 한 측면에서, 본 발명의 항체는 예를 들어 ELISA, 웨스턴 블롯 등과 같은 공지된 방법에 의해 그의 항원 결합 활성에 대해 시험된다.
- [0251] 또 다른 측면에서, 경쟁 검정은 IL13 또는 페리오스틴 각각에 대한 결합에 대해 IL-13 또는 페리오스틴과 경쟁하는 항체를 확인하는데 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 이러한 경쟁 항체는 레브리키주맵 또는 본원에 특정된 또 다른 항-IL13 항체 또는 본원에 특정된 항-페리오스틴 항체에 의해 결합되는 동일한 에피토프 (예를 들어, 선형 또는 입체형태적 에피토프)에 결합한다. 항체가 결합하는 에피토프를 맵핑하는 예시적인 방법의 상세내용은 문헌 [Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," in Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ)]에 제공되어 있다.
- [0252] 예시적인 경쟁 검정에서, 고정화된 페리오스틴을 페리오스틴에 결합하는 제1 표지된 항체 (예를 들어, 25D4) 및 페리오스틴에 대한 결합에 대해 제1 항체와 경쟁하는 그의 능력에 대해 시험되는 제2 비표지된 항체를 포함하는 용액 중에서 인큐베이션한다. 제2 항체는 하이브리도마 상청액에 존재할 수 있다. 대조군으로서, 고정화된 페리오스틴을 제1 표지된 항체를 포함하지만 제2 비표지된 항체를 포함하지 않는 용액 중에서 인큐베이션한다. 페리오스틴에 대한 제1 항체의 결합을 허용하는 조건 하에 인큐베이션한 후, 잉여량의 미결합 항체를 제거하고, 고정화된 페리오스틴과 회합된 표지의 양을 측정한다. 고정화된 페리오스틴과 회합된 표지의 양이 대조 샘플에 비해 시험 샘플에서 실질적으로 감소된 경우에, 이는 제2 항체가 페리오스틴에 대한 결합에 대해 제1 항체와 경쟁하고 있다는 것을 나타낸다. 문헌 [Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)]을 참조한다.
- [0253] 활성 검정
- [0254] 한 측면에서, 생물학적 활성을 갖는 그의 항-IL-13 항체를 확인하기 위한 검정이 제공된다. 생물학적 활성은 예를 들어 천식에서의 활성을 포함할 수 있다. 이러한 생물학적 활성을 생체내 및/또는 시험관내에서 갖는 항체가 또한 제공된다.
- [0255] 특정 실시양태에서, 본 발명의 항체는 이러한 생물학적 활성에 대해 시험된다.
- [0256] 면역접합체
- [0257] 본 발명은 또한 하나 이상의 세포독성제, 예컨대 화학요법제 또는 약물, 성장 억제제, 독소 (예를 들어, 단백질 독소, 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 효소 활성 독소 또는 그의 단편) 또는 방사성 동위원소에 접합된 항-페리오스틴 항체를 포함하는 면역접합체를 제공한다.
- [0258] 한 실시양태에서, 면역접합체는 항체가 메이탄시노이드 (미국 특허 번호 5,208,020, 5,416,064 및 유럽 특허 EP 0 425 235 B1 참조); 아우리스타틴, 예컨대 모노메틸아우리스타틴 약물 모이어티 DE 및 DF (MMAE 및 MMAF) (미국 특허 번호 5,635,483 및 5,780,588, 및 7,498,298 참조); 둘라스타틴; 칼리케아미신 또는 그의 유도체 (미

국 특허 번호 5,712,374, 5,714,586, 5,739,116, 5,767,285, 5,770,701, 5,770,710, 5,773,001 및 5,877,296; 문헌 [Hinman et al., Cancer Res. 53:3336-3342 (1993); 및 Lode et al., Cancer Res. 58:2925-2928 (1998)] 참조); 안트라시클린, 예컨대 다우노마이신 또는 독소루비신 (문헌 [Kratz et al., Current Med. Chem. 13:477-523 (2006); Jeffrey et al., Bioorganic & Med. Chem. Letters 16:358-362 (2006); Torgov et al., Bioconj. Chem. 16:717-721 (2005); Nagy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:829-834 (2000); Dubowchik et al., Bioorg. & Med. Chem. Letters 12:1529-1532 (2002); King et al., J. Med. Chem. 45:4336-4343 (2002)]; 및 미국 특허 번호 6,630,579 참조); 메토크세이트; 빈데신; 탁산, 예컨대 도세탁셀, 파클리탁셀, 라로탁셀, 테세탁셀 및 오르타탁셀; 트리코테센; 및 CC1065를 포함하나 이에 제한되지는 않는 하나 이상의 약물에 접합되는 항체-약물 접합체 (ADC)이다.

[0259] 또 다른 실시양태에서, 면역접합체는 디프테리아 A 쇄, 디프테리아 독소의 비결합 활성 단편, 외독소 A 쇄 (슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*)로부터 유래됨), 리신 A 쇄, 아브린 A 쇄, 모데신 A 쇄, 알파-사르신, 알레우리테스 포르디이(*Aleurites fordii*) 단백질, 디안틴 단백질, 피토라카 아메리카나(*Phytolaca americana*) 단백질 (PAPI, PAPII 및 PAP-S), 모모르디카 카란티아(*Momordica charantia*) 억제제, 쿠르신, 크로틴, 사파오나리아 오피시날리스(*Sapaonaria officinalis*) 억제제, 겔로닌, 미토겔린, 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신 및 트리코테센을 포함하나 이에 제한되지는 않는 효소 활성 독소 또는 그의 단편에 접합된 본원에 기재된 바와 같은 항체를 포함한다.

[0260] 또 다른 실시양태에서, 면역접합체는 방사성접합체를 형성하기 위해 방사성 원자에 접합된 본원에 기재된 바와 같은 항체를 포함한다. 다양한 방사성 동위원소가 방사성접합체의 생산을 위해 이용가능하다. 예는 At211, I131, I125, Y90, Re186, Re188, Sm153, Bi212, P32, Pb212, 및 Lu의 방사성 동위원소를 포함한다. 방사성접합체가 검출용으로 사용되는 경우에, 이는 신티그래피 연구를 위한 방사성 원자, 예를 들어 tc99m 또는 I123을 포함할 수 있거나, 또는 핵 자기 공명 (NMR) 영상화 (자기 공명 영상화, mri로도 또한 공지됨)용 스핀 표지, 예컨대 다시 아이오딘-123, 아이오딘-131, 인듐-111, 플루오린-19, 탄소-13, 질소-15, 산소-17, 가돌리늄, 망가니즈 또는 철을 포함할 수 있다.

[0261] 항체 및 세포독성제의 접합체는 다양한 이관능성 단백질 커플링제, 예컨대 N-숙신이미달-3-(2-피리딜디티오) 프로피오네이트 (SPDP), 숙신이미달-4-(N-말레이미도메틸) 시클로헥산-1-카복실레이트 (SMCC), 이미노티올란 (IT), 이미도에스테르의 이관능성 유도체 (예컨대, 디메틸 아디프이미데이트 HCl), 활성 에스테르 (예컨대, 디숙신이미달 수베레이트), 알데히드 (예컨대, 글루타르알데히드), 비스-아지도 화합물 (예컨대, 비스 (p-아지도 벤조일) 헥사디아민), 비스-디아조늄 유도체 (예컨대, 비스-(p-디아조늄벤조일)-에틸렌디아민), 디이소시아네이트 (예컨대, 톨루엔 2,6-디이소시아네이트) 및 비스-활성 플루오린 화합물 (예컨대, 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠)을 사용하여 제조할 수 있다. 예를 들어, 리신 면역독소는 문헌 [Vitetta et al., Science 238:1098 (1987)]에 기재된 바와 같이 제조될 수 있다. 탄소-14-표지된 1-이소티오시아네이트벤젠-3-메틸디에틸렌 트리아민펜타아세트산 (MX-DTPA)은 항체에 대한 방사성뉴클레오타이드의 접합을 위한 예시적인 킬레이트화제이다. WO94/11026을 참조한다. 링커는 세포에서 세포독성 약물의 방출을 용이하게 하는 "절단가능한 링커"일 수 있다. 예를 들어, 산-불안정성 링커, 펩티다제-감수성 링커, 광분해성 링커, 디메틸 링커 또는 디술폰드-함유 링커 (문헌 [Chari et al., Cancer Res. 52:127-131 (1992)]; 미국 특허 번호 5,208,020)가 사용될 수 있다.

[0262] 본원의 면역접합체 또는 ADC는 상업적으로 입수가능한 (예를 들어, 피어스 바이오테크놀로지, 인크.(Pierce Biotechnology, Inc.; 미국 일리노이주 록포트)로부터의), BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, 술폰-EMCS, 술폰-GMBS, 술폰-KMUS, 술폰-MBS, 술폰-SIAB, 술폰-SMCC 및 술폰-SMPB, 및 SVSB (숙신이미달-(4-비닐술폰)벤조에이트)를 포함하나 이에 제한되지는 않는 가교-링커 시약을 사용하여 제조된 이러한 접합체를 명백하게 고려하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0263] 진단 및 검출을 위한 방법 및 조성물

[0264] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 임의의 항-페리오스틴 항체는 생물학적 샘플에서 페리오스틴의 존재를 검출하는데 유용하다. 본원에 사용된 용어 "검출하는"은 정량적 또는 정성적 검출을 포함한다. 특정 실시양태에서, 생물학적 샘플은 세포 또는 조직, 예컨대 혈청, 혈장, 비강 면봉채취물 및 객담을 포함한다.

[0265] 한 실시양태에서, 진단 또는 검출 방법에 사용하기 위한 항-페리오스틴 항체가 제공된다. 추가 측면에서, 생물학적 샘플에서 페리오스틴의 존재를 검출하는 방법이 제공된다. 특정 실시양태에서, 방법은 페리오스틴에 대한 항-페리오스틴 항체의 결합을 허용하는 조건 하에 생물학적 샘플을 본원에 기재된 바와 같은 항-페리오스틴 항체와 접촉시키는 것, 및 항-페리오스틴 항체와 페리오스틴 사이에 복합체가 형성되는지의 여부를 검출하는 것을

포함한다. 이러한 방법은 시험관내 또는 생체내 방법일 수 있다. 한 실시양태에서, 예를 들어 페리오스틴이 환자의 선택을 위한 바이오마커인 경우에, 항-페리오스틴 항체는 항-I3 항체, 또는 임의의 다른 TH2 경로 억제제로의 요법에 적절한 대상체를 선택하는데 사용된다.

[0266] 본 발명의 항체를 사용하여 진단될 수 있는 예시적인 장애가 본원에 제공되어 있다.

[0267] 특정 실시양태에서, 표지된 항-페리오스틴 항체가 제공된다. 표지는 직접적으로 검출되는 표지 또는 모이어티 (예컨대, 형광, 발색, 전자-밀집, 화학발광 및 방사성 표지) 뿐만 아니라 간접적으로, 예를 들어 효소적 반응 또는 분자 상호작용을 통해 검출되는 모이어티, 예컨대 효소 또는 리간드를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 예시적인 표지는 방사성동위원소 ^{32}P , ^{14}C , ^{125}I , ^3H 및 ^{131}I , 형광단, 예컨대 희토류 킬레이트 또는 플루오레세인 및 그의 유도체, 로다민 및 그의 유도체, 단실, 움벨리페론, 또는 루시페라제, 예를 들어 반딧불이 루시페라제 및 박테리아 루시페라제 (미국 특허 번호 4,737,456), 루시페린, 2,3-디히드로프탈라진디온, 양고추냉이 퍼옥시다제 (HRP), 알칼리성 포스파타제, β -갈락토시다제, 글루코아밀라제, 리소자임, 사카라이드 옥시다제, 예를 들어 글루코스 옥시다제, 갈락토스 옥시다제, 및 글루코스-6-포스페이트 데히드로게나제, 염료 전구체를 산화시키기 위해 과산화수소를 사용하는 효소, 예컨대 HRP, 락토퍼옥시다제, 또는 마이크로퍼옥시다제와 커플링된 헤테로시클릭 옥시다제, 예컨대 우라카제 및 크산틴 옥시다제, 비오틴/아비딘, 스핀 표지, 박테리오파지 표지, 안정한 자유 라디칼 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0268] 제약 제제

[0269] 본원에 기재된 바와 같은 항-IL-13 항체 또는 다른 TH2 경로 억제제의 제약 제제는 바람직한 정도의 순도를 갖는 이러한 항체 또는 분자를 하나 이상의 임의적인 제약상 허용되는 담체 (문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)])와 혼합하여 동결건조된 제제 또는 수용액의 형태로 제조된다. 제약상 허용되는 담체는 일반적으로 사용되는 투여량 및 농도에서 수용자에게 비독성이며, 완충제, 예컨대 포스페이트, 시트레이트, 및 다른 유기 산; 항산화제, 예컨대 아스코르브산 및 메티오닌; 보존제 (예컨대, 옥타데실 디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알콜; 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 시클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량 (약 10개 미만의 잔기) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴 또는 이뮤노글로불린; 친수성 중합체, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신; 모노사카라이드, 디사카라이드 및 다른 탄수화물, 예컨대 글루코스, 만노스 또는 텍스트린; 킬레이트화제, 예컨대 EDTA; 당, 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염-형성 반대-이온, 예컨대 나트륨; 금속 착체 (예를 들어, Zn-단백질 착체); 및/또는 비-이온성 계면활성제, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 본원에서 예시적인 제약상 허용되는 담체는 간질성 약물 분산액 작용제, 예컨대 가용성 중성-활성 히알루로니다제 당단백질 (sHASEGP), 예를 들어 인간 가용성 PH-20 히알루로니다제 당단백질, 예컨대 rHuPH20 (힐레넥스(HYLENEX)®, 백스터 인터내셔널, 인크.(Baxter International, Inc.))을 추가로 포함한다. rHuPH20을 비롯한, 특정의 예시적인 sHASEGP 및 사용 방법은 미국 특허 공보 번호 2005/0260186 및 2006/0104968에 기재되어 있다. 한 측면에서, sHASEGP는 하나 이상의 추가의 글리코사미노글리카나제, 예컨대 콘드로이티나제와 조합된다.

[0270] 예시적인 동결건조 항체 제제는 미국 특허 번호 6,267,958에 기재되어 있다. 수성 항체 제제는 미국 특허 번호 6,171,586 및 W02006/044908에 기재된 것을 포함하고, 후자의 제제는 히스티딘-아세테이트 완충제를 포함한다.

[0271] 본원의 제제는 또한 치료반을 특정한 적응증에 필요한 하나 초과와 활성 성분, 바람직하게는 서로 유해한 영향을 미치지 않는 보완적 활성을 갖는 것을 함유할 수 있다. 예를 들어, 제어제를 TH2 경로 억제제와 함께 추가로 제공하는 것이 바람직할 수 있다. 이러한 활성 성분은 의도된 목적에 유효한 양으로 조합되어 적합하게 존재한다.

[0272] 활성 성분은, 예를 들어 콜로이드성 약물 전달 시스템 (예를 들어, 리포솜, 알부민 마이크로구체, 마이크로에멀전, 나노-입자 및 나노캡슐)에서 또는 마크로에멀전에서 코아세르베이션 기술 또는 계면 중합에 의해 제조되는 마이크로캡슐, 예를 들어 각각 히드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐 내에 봉입될 수 있다. 이러한 기술은 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)]에 개시되어 있다.

[0273] 지속-방출 제제가 제조될 수 있다. 지속-방출 제제의 적합한 예는 항체를 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스를 포함하고, 이 매트릭스는 성형품, 예를 들어 필름 또는 마이크로캡슐의 형태로 존재한다.

- [0274] 생체내 투여에 사용될 제제는 일반적으로 멸균된다. 멸균은, 예를 들어 멸균 여과 막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성할 수 있다.
- [0275] 치료 방법 및 조성물
- [0276] 호산구성 염증은 알레르기성 및 비-알레르기성 둘 다의 다양한 질병 (문헌 [Gonlugur (2006) Immunol. Invest. 35(1):29-45])과 연관된다. 염증은 손상에 대한 살아있는 조직의 회복성 반응이다. 염증 반응의 특성은 조직 자체에서 생산된 특정 화학물질로 인한 손상된 조직에서의 백혈구의 축적이다. 호산구 백혈구는 폭넓게 다양한 상태, 예컨대 알레르기성 장애, 기생충 감염 및 신생물성 질환에서 축적된다 (문헌 [Kudlacz et al., (2002) Inflammation 26: 111-119]). 면역계의 성분인 호산구 백혈구는 점막 표면의 방어적 성분이다. 이들은 항원 뿐만 아니라 기생충, 화학물질 및 외상에도 반응한다.
- [0277] 조직 호산구증가증은 아토피성 피부염에서 뿐만 아니라 피부 질환, 예컨대 습진, 천포창, 급성 두드러기 및 독성 표피 괴사증에서 발생한다 (문헌 [Rzany et al., 1996]). 호산구는 IgE-매개된 알레르기성 피부 반응에서 조직에, 및 비어있는 과립 단백질에 축적된다 (문헌 [Nielsen et al., 2001]). 비만 세포와 조합된 호산구는 관절 염증을 유발할 가능성이 있다 (문헌 [Miossec et al., 1997]). 호산구성 염증은 때때로 관절 외상을 수반한다. 활액 호산구증가증은 질환, 예컨대 류마티스 관절염, 기생충성 질환, 과호산구성 증후군, 라임병 및 알레르기성 과정, 뿐만 아니라 혈관질환 및 관절조영술과 연관될 수 있다 (문헌 [Atanes et al., 1996]). 호산구성 염증은 마찬가지로 골에 영향을 미칠 수 있다 (문헌 [Yetiser et al., 2002]). 호산구성 근육 질환의 예는 호산구성 근주위염, 호산구성 다발근염 및 국소 호산구성 근염을 포함한다 (문헌 [Lakhanpal et al., 1988]). 골격근에 영향을 미치는 호산구성 염증은 기생충 감염 또는 약물 또는 과호산구증가증 중 일부 전신성 장애 (예를 들어, 특발성 과호산구성 증후군 및 호산구증가증-근육통 증후군)의 특징과 연관될 수 있다. 호산구는 자가 면역 항체에 의해 인식된 에피토프에 대한 염증 반응에 참여한다 (문헌 [Engineer et al., 2001]). 결합 조직 질환은 호중구성, 호산구성 또는 림프구성 혈관 염증으로 이어질 수 있다 (문헌 [Chen et al., 1996]). 조직 및 말초 혈액 호산구증가증은 활성 류마티스성 질환에서 발생할 수 있다. 결합 조직 질환의 일종인 강직성 척추염에서의 혈청 ECP 수준의 상승은 호산구가 또한 기본적인 과정에 관련된다는 것을 시사한다 (문헌 [Feltelius et al., 1987]). 베게너 육아종증은 드물게 폐 결절, 흉막 삼출 및 말초 혈액 호산구증가증을 나타낼 수 있다 (문헌 [Krupsky et al., 1993]).
- [0278] 적어도 400/mm³의 말초 혈액 호산구증가증은 전신 경화증의 사례의 7%, 국부화된 경피증의 사례의 31% 및 호산구성 근막염의 사례의 61%에서 발생할 수 있다 (문헌 [Falanga and Medsger, 1987]). 경피증은 마이스너 및 아우어바흐 신경총과 밀접하게 닮은 염증 과정을 일으키며, 위장계에서 비만 세포 및 호산구 백혈구로 구성된다. 경피증에서 발생시, 호산구-유도된 신경독소는 위장 운동 기능장애에 기여할 수 있다 (문헌 [de Schryver Kecskemeti and Clouse, 1989]).
- [0279] 호산구는 국부화된 (문헌 [Varga and Kahari, 1997]) 또는 전신성 (문헌 [Bouros et al., 2002]) 결합 조직 증식을 수반할 수 있다. 이들은 섬유모세포에서 프로테오글리칸 분해를 억제함으로써 섬유증을 일으킬 수 있고 (문헌 [Hernnas et al., 1992]), 섬유모세포는 GM-CSF를 분비함으로써 호산구 생존을 매개한다 (문헌 [Vancheri et al., 1989]). 호산구는 비강 (문헌 [Bacher et al., 2001]), 기관지 (문헌 [Arguelles and Blanco, 1983]) 및 위장 폴립 조직 ([Assarian and Sundareson, 1985])에서 발견될 수 있다. 마찬가지로, 호산구는 염증성 가성종양 (근섬유모세포 종양)에 국부화될 수 있다. 호산구는 종종 안구 부위에서 염증성 가성 종양을 수반하고, 이 경우에 상태는 혈관부종 또는 알레르기성 비결막염을 모방할 수 있다 (문헌 [Li et al., 1992]).
- [0280] 호산구성 염증은 (예를 들어, 수술 또는 손상의 결과로서) 조직 외상에서 발견될 수 있다. 호산구성 염증은 또한 심혈관 질병 (예를 들어, 호산구성 심근염, 호산구성 관상 동맥염, 허혈성 심장 질환, 급성 심근경색, 심장 파열)과 연관될 수 있다. 괴사성 염증 과정은 또한 호산구성 염증 (다발근염, 관상 동맥 박리, 신경-베체트병의 괴사성 병변, 치매, 뇌경색)을 포함할 수 있다.
- [0281] 환자에서의 총 혈청 페리오스틴 수준을 측정하는 것에 의한 TH2 경로 억제제로의 치료에 대한 반응이 예상되는 (또는 그에 반응성일) 호산구성 염증 양성 (EIP) 환자를 확인하는 방법이 본원에 제공된다.
- [0282] 또한, 호산구성 염증 양성 환자에게 TH2 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 환자는 환자에서의 총 혈청 페리오스틴 수준을 측정함으로써 EIP인 것으로 진단된 것인, 천식, 호산구성 장애, IL-13 매개된 장애, IL4 매개된 장애, IL9 매개된 장애, IL5 매개된 장애, IL33 매개된 장애, IL25 매개된 장애, TSLP 매개된 장애,

IgE-매개된 장애 또는 천식-유사 증상을 치료하는 방법이 본원에 제공된다.

- [0283] 특정 실시양태에서, 호산구성 염증 양성 환자에게 레브리키주맵을 투여하는 것을 포함하는, 천식, 호산구성 장애, IL-13 매개된 장애, IL-4 매개된 장애 또는 IgE-매개된 장애를 치료하는 방법이 제공된다.
- [0284] 특정 실시양태에서, 천식, 호산구성 장애, IL-13 매개된 장애, IL-4 매개된 장애 또는 IgE-매개된 장애를 앓는 환자에게 매 4주마다 125-500mg의 균일 용량의 레브리키주맵을 투여하는 것을 포함하는, 상기 장애를 치료하는 방법이 제공된다.
- [0285] 또한, 천식 환자에게 치료 유효량의 레브리키주맵을 투여하는 것을 포함하는 천식 (또는 호흡기 질환)의 치료 방법이며, 여기서 치료는 5% 초과 FEV1에서의 상대적 변화를 일으키는 것인 치료 방법이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, FEV1은 6%, 7%, 8%, 9% 또는 10% 초과 FEV1이다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 총 페리오스틴 검정을 이용하여 EIP로 진단되었다. 또 다른 실시양태에서, 천식 환자는 총 혈청 페리오스틴 검정으로 진단되었다.
- [0286] 특정 실시양태에서, 천식 환자에게 치료 유효량의 레브리키주맵을 투여하는 것을 포함하는 천식 (또는 호흡기 질환)의 치료 방법이며, 여기서 치료는 35% 초과 (다른 실시양태에서, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51% 초과, 85% 이하; 또 다른 실시양태에서, 환자는 EIP로 진단됨)의 악화 속도에서의 감소를 일으키는 것인 치료 방법이 제공된다.
- [0287] 특정 실시양태에서, 천식 환자에게 치료 유효량의 레브리키주맵을 투여하는 것을 포함하는 천식 (또는 호흡기 질환)의 치료 방법이며, 여기서 치료는 야간 각성에서의 감소를 일으키는 것인 치료 방법이 제공된다. 한 실시양태에서, 환자는 환자에서의 총 혈청 페리오스틴 수준을 측정함으로써 진단된다. 또 다른 실시양태에서, 환자의 천식은 코르티코스테로이드로 제어되지 않는다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 EIP로 진단된다.
- [0288] 또한, 천식 환자에게 치료 유효량의 레브리키주맵을 투여하는 것을 포함하는 천식 (또는 호흡기 질환)의 치료 방법이며, 여기서 치료는 천식 제어에서의 향상을 일으키는 것인 치료 방법이 제공된다. 한 실시양태에서, 환자는 환자에서의 총 혈청 페리오스틴 수준을 측정함으로써 진단된다. 또 다른 실시양태에서, 천식은 코르티코스테로이드 치료로 제어되지 않는다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 EIP로 진단된다.
- [0289] 천식 환자에게 치료 유효량의 레브리키주맵을 투여하는 것을 포함하는 천식 (또는 호흡기 질환)의 치료 방법이며, 여기서 치료는 폐에서의 염종의 감소를 일으키는 것인 치료 방법이 제공된다. 한 실시양태에서, 환자는 환자에서의 총 혈청 페리오스틴 수준을 측정함으로써 진단된다. 또 다른 실시양태에서, 천식은 코르티코스테로이드 치료로 제어될 수 없다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 EIP로 진단된다.
- [0290] 특정 실시양태에서, 호산구성 장애를 앓고 코르티코스테로이드로 치료받고 있는 천식 환자에게 치료 유효량의 레브리키주맵을 투여하는 것을 포함하는, 상기 천식 환자에서의 호산구성 장애의 치료 방법이며, 여기서 치료는 상기 질환을 치료하는데 이용된 코르티코스테로이드 치료의 감소 또는 제거 (양 또는 빈도)를 일으키는 것인 치료 방법이 제공된다. 한 실시양태에서, 환자는 환자에서의 총 혈청 페리오스틴 수준을 측정함으로써 진단된다. 또 다른 실시양태에서, 환자의 천식은 코르티코스테로이드로 제어될 수 없다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 치료 전에 EIP를 갖는 것으로 진단된다.
- [0291] 또한, 천식 (또는 호흡기 질환)을 앓는 환자를 총 페리오스틴 검정을 이용하여 EIP로 진단하는 것, 상기 천식 환자에게 치료 유효량의 TH2 경로 억제제를 투여하는 것, 환자 EIP 스테이터스를 진단하는 것, 및 스테이터스가 EIP인 경우에 환자를 TH2 경로 억제제로 재치료하는 것을 포함하는, 상기 환자를 치료하는 방법이 제공된다. 상기 진단은 총 페리오스틴 검정을 단독으로 또는 FE_{N0} 수준과 조합하여, 및 임의로 CST1, CST2, CCL26, CLCA1, PRR4, PRB4, 세르핀B2, CEACAM5, iNOS, 세르핀B4, CST4 및 세르핀B10으로부터 선택된 다른 바이오마커와 조합하여 이용함으로써 이루어진다. 추가 실시양태에서, 치료받을 환자는 본원에 기재된 바와 같이 페리오스틴의 상승된 발현 수준을 가질 뿐만 아니라 21 ppb 초과 FE_{N0} 수준을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 치료받을 환자는 본원에 기재된 바와 같이 페리오스틴의 상승된 발현 수준을 가질 뿐만 아니라 35 ppb 초과 FE_{N0} 수준을 갖는다.
- [0292] 특정 실시양태에서, 환자에서의 총 페리오스틴 수준을 측정하는 단계 및 환자가 EIN임을 결정하는 단계를 포함하는, 호산구성 염증 음성 (EIN)인 환자를 확인하는 방법이 제공된다.
- [0293] 본원에 제공된 임의의 TH2 경로 억제제는 본원에 기재된 치료 방법, 특히 천식에 사용될 수 있다. 한 실시양태

에서, 천식 환자는 코르티코스테로이드로 치료받고 있으며, 본원에 기재된 페리오스틴 검정을 이용하여 TH2 경로 억제체에 반응성인 것으로 진단되었다. 추가 실시양태에서, 천식 환자는 중등도 내지 중증 천식을 앓고 있다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 경도 천식을 앓고 있지만 코르티코스테로이드로 치료받지 않고 있다.

[0294] 본 발명의 항체 (및 임의의 추가의 치료제)는 비경구, 폐내 및 비강내를 포함하여 임의의 적합한 수단에 의해 투여될 수 있고, 원하는 경우에 국부 치료를 위해 병변내 투여될 수 있다. 비경구 주입은 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내 또는 피하 투여를 포함한다. 투여는 임의의 적합한 경로, 예를 들어 부분적으로는 투여가 단기적인지 장기적인지에 따라 정맥내 또는 피하 주사와 같은 주사에 의해 수행될 수 있다. 단일 투여 또는 다양한 시점에 걸친 다중 투여, 볼루스 투여 및 펄스 주입을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다양한 투여 스케줄이 본원에서 고려된다.

[0295] 본 발명의 항체는 우수한 의료 행위에 부합하는 방식으로 제제화, 투약 및 투여될 것이다. 이와 관련하여 고려할 인자는 치료받을 특정한 장애, 치료받을 특정한 포유동물, 개별 환자의 임상적 상태, 장애의 원인, 작용제의 전달 부위, 투여 방법, 투여 스케줄링, 및 진료의에게 공지된 다른 인자를 포함한다. 항체는 반드시 그럴 필요는 없지만, 임의로 해당 장애를 예방하거나 치료하는데 현재 사용되는 하나 이상의 작용제와 함께 제제화된다. 이러한 다른 작용제의 유효량은 제제 내에 존재하는 항체의 양, 장애 또는 치료의 유형, 및 상기 논의된 다른 인자에 따라 달라진다. 이는 일반적으로 상기 기재된 바와 동일한 투여량 및 투여 경로로, 또는 본원에 기재된 투여량의 약 1 내지 99%로, 또는 실험적으로/임상적으로 적절한 것으로 결정된 임의의 투여량 및 경로에 의해 사용된다.

[0296] 질환의 예방 또는 치료를 위해, 본 발명의 항체의 적절한 투여량 (단독으로, 또는 하나 이상의 다른 추가의 치료제와 조합하여 사용되는 경우)은 치료받을 질환의 유형, 항체의 유형, 질환의 중증도 및 경과, 항체가 예방 또는 치료 목적으로 투여되는지의 여부, 선행 요법, 환자의 임상 병력 및 항체에 대한 반응, 및 담당의의 판단에 의존할 것이다. 항체는 적합하게는 환자에게 1회 또는 일련의 치료에 걸쳐 투여된다. 질환의 유형 및 중증도에 따라, 예를 들어 1회 이상의 개별 투여에 의해서든지 연속 주입에 의해서든지 상관없이, 약 1 $\mu\text{g/kg}$ 내지 15 mg/kg (예를 들어, 0.1 mg/kg -10 mg/kg)의 항체가 환자에게 투여하기 위한 초기 후보 투여량일 수 있다. 하나의 전형적인 1일 투여량은 상기 언급된 인자에 따라 약 1 $\mu\text{g/kg}$ 내지 100 mg/kg 이상의 범위일 수 있다. 수일 이상에 걸친 반복 투여의 경우에, 치료는 일반적으로 상태에 따라 질환 증상의 바람직한 저해가 일어날 때까지 지속될 것이다. 한 예시적인 항체 투여량은 약 0.05 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 범위일 것이다. 따라서, 약 0.5 mg/kg , 2.0 mg/kg , 4.0 mg/kg 또는 10 mg/kg (또는 그의 임의의 조합) 중 하나 이상의 용량이 환자에게 투여될 수 있다. 이러한 용량은 간헐적으로, 예를 들어 매주 또는 매 3주마다 투여될 수 있다 (예를 들어, 약 2회 내지 약 20회, 또는 예를 들어 약 6회 용량의 항체가 환자에게 제공되도록 투여됨). 그러나, 다른 투여 요법이 유용할 수 있다. 상기 요법의 진행은 통상의 기술 및 검정에 의해 쉽게 모니터링된다.

[0297] 특정 실시양태에서, 본 발명의 항체는 37.5 mg 의 균일 용량 (즉, 체중 의존성이 아님), 또는 125 mg 의 균일 용량, 또는 250 mg 의 균일 용량으로 투여된다. 특정 실시양태에서, 용량은 기간 동안 매 4주마다 1회 피하 주사에 의해 투여된다. 특정 실시양태에서, 기간은 6개월, 1년, 2년, 5년, 10년, 15년, 20년 또는 환자의 평생이다. 특정 실시양태에서, 천식은 중증 천식이고 환자는 흡입용 코르티코스테로이드 + 제2 제어제 의약으로 불충분하게 제어되거나 제어되지 않는다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 EIP 스테이티스를 결정하기 위한 총 페리오스틴 검정을 이용하여 EIP 스테이티스를 갖는 것으로 진단되고, 환자는 상기 기재된 바와 같은 항-IL13 항체로의 치료를 위해 선택된다. 또 다른 실시양태에서, 방법은 EIP 스테이티스를 결정하기 위한 총 페리오스틴 검정을 이용하여 EIP 스테이티스를 갖는 것으로 이전에 진단된 천식 환자를 상기 기재된 바와 같은 항-IL13 항체로 치료하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 천식 환자는 18세 이상이다. 한 실시양태에서, 천식 환자는 12 내지 17세이고, 항-IL13은 250 mg 의 균일 용량 또는 125 mg 의 균일 용량으로 투여된다. 한 실시양태에서, 천식 환자는 6 내지 11세이고, 항-IL13 항체는 125 mg 의 균일 용량으로 투여된다.

[0298] 임의의 상기 제제 또는 치료 방법은 항-표적 항체 또는 항-페리오스틴 항체를 대신하여 또는 이에 더하여 본 발명의 면역접합체를 사용하여 수행될 수 있는 것으로 이해된다.

[0299] 제조품

[0300] 본 발명의 또 다른 측면에서, 상기 기재된 장애의 치료, 예방 및/또는 진단에 유용한 물질을 함유하는 제조품이 제공된다. 제조품은 용기, 및 용기 상에 있거나 용기와 결합된 라벨 또는 포장 삽입물을 포함한다. 적합한 용기는 예를 들어 병, 바이알, 시린지, IV 용액 백 등을 포함한다. 용기는 다양한 물질, 예컨대 유리 또는 플라스틱으로부터 형성될 수 있다. 용기는 조성물 자체를 수용하거나 또는 상기 조성물을 상태의 치료, 예방 및/또

는 진단에 유효한 또 다른 조성물과 조합하여 수용하며, 멸균 접근 포트를 가질 수 있다 (예를 들어, 용기는 정맥주사액 백 또는 피하 주사 바늘로 뚫을 수 있는 마개를 갖는 바이알일 수 있음). 조성물 내의 적어도 하나의 활성제는 본 발명의 항체이다. 라벨 또는 포장 삽입물은 조성물이 선택된 상태를 치료하는데 사용된다는 것을 나타낸다. 또한, 제조품은 (a) 그 내부에, 본 발명의 항체를 포함하는 조성물을 함유하는 제1 용기; 및 (b) 그 내부에, 추가의 세포독성제 또는 다른 치료제를 포함하는 조성물을 함유하는 제2 용기를 포함할 수 있다. 본 발명의 이러한 실시양태에서의 제조품은, 조성물이 특정한 상태를 치료하기 위해 사용될 수 있음을 나타내는 포장 삽입물을 추가로 포함할 수 있다. 다르게는 또는 추가로, 제조품은 제약상 허용되는 완충제, 예컨대 정박테리아 주사용수 (BWF1), 인산염-완충 염수, 링거액 및 텍스트로스 용액을 포함하는 제2 (또는 제3) 용기를 추가로 포함할 수 있다. 이는 다른 완충제, 희석제, 필터, 바늘 및 시린지를 포함하여, 상업적 및 사용자 관점에서 바람직한 다른 물질을 추가로 포함할 수 있다.

[0301] 임의의 상기 제조품은 항-표적 항체 또는 항-페리오스틴 항체를 대신하여 또는 이에 더하여 본 발명의 면역접합체를 포함할 수 있는 것으로 이해된다

[0302] 실시예

[0303] 실시예 1 - 알레르겐 투여 임상 연구

[0304] 제II상 무작위, 이중-맹검, 위약-대조 연구; 5 mg/kg 레브리키주맙:위약 (1:1 비) 12주 동안 피하로 4주 1회. 시행 설계의 고수준 개요는 표 2 및 도 1에 있다. 1차 결과 측정은 제13주째에 알레르겐-유도된 후기 천식 반응 (LAR)이었다. 환자는 스크리닝 주기 동안 및 제13주째에 알레르겐 투여에 이어서 18-24시간 후에 메타콜린 투여를 제공받았다. 혈청 바이오마커를 또한 평가하여 IL13 경로 억제를 입증하고, 레브리키주맙으로부터의 증가된 이익을 갖는 환자를 확인하였다.

[0305] <표 2>

설계	알레르겐 투여에 대한 기도 과민반응에 대한 MILR1444A 대 위약의 효과를 평가하기 위한 무작위, 이중-맹검, 위약 대조, 다중 용량 연구
집단	18-55세의 경도 천식 환자
샘플 크기	24 (코호트 당 12)
연구 지속기간	12주 (및 4개월 추적)
스케줄, 용량	피하 제제 (SQ), 4주 1회, (1회의 활성 용량 수준 5mg/kg)
1° 종점	LAR AUC (알레르겐 투여)
2° 종점	PC20 (알레르겐 투여), FEV1, PC20 (메타콜린 투여)

[0306]

[0307] 연구에 포함된 환자는 경도 천식, 18-55세였고, (a) 집먼지 진드기, 고양이 비듬 또는 돼지풀에 대한 스크리닝에서의 양성 피부 검사 (음성 대조군에 비해 > 또는 = 3mm); (b) 예측된 1초에서의 강제 종료 부피 (FEV1) > 또는 = 70%; 및 (c) 알레르겐 투여 후 5-30분 내의 FEV1에서의 초기 천식 반응의 > 또는 = 20% 감소, 및 투여 후 2-8시간 내의 FEV1에서의 후기 천식 반응 (LAR)의 > 또는 = 15% 감소를 가졌다.

[0308] 28명의 환자가 1차 종점의 분석에 포함되었다 (n=16 위약, 12 레브리키주맙). 제13주째에, 레브리키주맙은 LAR을 억제하였다. 레브리키주맙-치료된 환자에서 알레르겐 투여 2-8시간 후의 FEV1의 평균 AUC (곡선하 면적) (LAR)는 위약에 비해 48%만큼 감소되었고 (26.3% 대 50.5%; 95% CI: -19% 내지 90%), 제13주째에 초기 반응 (EAR)에는 어떠한 영향도 미치지 않았다. 알레르겐 투여-후 0-2시간의 FEV1의 평균 AUC 및 FEV1에서의 최대 감소는 레브리키주맙군 및 위약군 (파라미터 둘 다에 대해 27.5% 대 26.4%; 표 3)에서 유사하였다. 또한, 도 2를 참조한다. 메타콜린에 대한 기도 과민반응에 대해 레브리키주맙군과 위약군 사이의 어떠한 유의차도 관찰되지 않았다. 레브리키주맙군에서의 메타콜린 배가 용량의 산술 평균은 위약군에서의 그것보다 0.33 배가 용량만큼 더 높았고 (1.58 대 1.25, 95% CI -0.64 내지 1.3), 이는 임상적으로 의미있는 억제로 간주되지 않았다.

[0309] <표 3>

	스크리닝			제13주		
	PB N=16	LB N=12	(LB- PB)/PB	PB N=16	LB N=12	(LB-PB)/PB
초기 천식 반응						
FEV1에서의 최대 감소 %	30.3	38.0	25.4	25.5	29.6	16.1
AUC FEV1 (투여 후 0-2시간), %FEV1 x 시간	34.1	39.9	17.0	26.4	27.5	4.2
후기 천식 반응						
FEV1에서의 최대 감소 %	24.8	30.8	24.2	16.4	13.8	-15.9
AUC FEV1 (투여 후 2-8시간, %FEV1 x 시간)	73.8	77.0	4.3	50.5	26.3	-47.9

[0310]

[0311] 레브리키주맵 치료는 각각 혈청 IgE, MCP-4/CCL13 및 TARC/CCL17에서 24%, 25% 및 26%의 평균 위약-조정된 감소로 ($P<0.01$) Th2 염증의 마커에 대한 전신성 효과를 명백하게 발휘하였다. 도 3a 및 3b를 참조한다. 혈청 페리오스틴 수준은 치료 후에 약간 감소되었다 (5-10%). 혈청 IL-13 수준은 치료 후에 대부분 검출 수준 미만 ($<150\text{pg/ml}$)이었다. 도 3c는 IgE, CCL13 및 CCL17의 기준선 수준과 비교하여 개별 환자에서의 제13주째의 이들 마커에서의 감소를 보여준다. 일반적으로, 페리오스틴, YKL-40, CEA 및 혈액 호산구 수준은 레브리키주맵 치료 후에 유의하게 변화하지 않았다 (데이터는 제시되지 않음).

[0312] 말초 혈액 호산구, 혈청 IgE 또는 혈청 페리오스틴의 중앙값 초과 기준선 수준을 갖는 대상체는 중앙값 미만의 이들 바이오마커의 기준선 수준을 갖는 대상체에 비해 LAR에서 보다 큰 위약-조정된 레브리키주맵 의존성 감소를 나타내었다. 도 4를 참조한다.

[0313] 환자를 기준선에서의 바이오마커: 혈청 IgE, CCL13, CCL17, CEA, 페리오스틴, YKL-40 및 말초 혈액 호산구의 중앙값보다 더 높거나 더 낮은 수준을 갖는 것을 기반으로 "고-바이오마커" 또는 "저-바이오마커"로 분류하였다. 도 4에 도시된 바와 같이, 혈청 IgE, 호산구 및 페리오스틴에 대한 결과는 상승된 (중앙값과 비교하여) 기준선 혈청 IgE, 페리오스틴, 또는 증가된 말초 혈액 호산구를 갖는 환자가 (예를 들어, 레브리키주맵에 의한) IL13 차단에 반응할 가능성이 보다 높다는 것을 나타내었다.

[0314] 결론적으로, 연구는 그의 1차 종점에 직면하였다: 평균 후기 AUC에서의 48% 감소 (90% CI [-19%, 90%]). 레브리키주맵은 위약과 비교하여 LAR을 유의하게 감소시켰다. 어떠한 안전성 신호도 안전성 데이터에서 보이지 않았다. IL-13의 치료적 차단은, 특히 기도 TH2 염증의 상승된 마커를 갖는 환자에서 알레르기성 천식을 위한 유효한 치료일 수 있다.

[0315] 실시예 2 - 천식 환자 임상 연구 I

[0316] 무작위, 이중-맹검, 위약-대조 연구를 수행하여, ICS로의 만성 요법 동안 불충분하게 제어되거나 제어되지 않은 채로 남아있는 천식을 앓는 환자에서 레브리키주맵의 효과를 평가하였다. 환자는 흡입용 코르티코스테로이드 (ICS)를 포함하며 LABA도 또한 포함할 수 있는 그의 관리-표준 요법을 계속하였다. 상기 2-아암 연구에서, 환자를 6개월 동안 레브리키주맵 또는 위약을 제공받도록 무작위로 배정하였다. 14-20일의 준비 기간 (방문 1 내지 방문 3) 동안, 환자는 ICS에 대한 순응 및 그의 연구 전반에 걸쳐 매일 모니터링에 필요한 장비를 사용하는 능력을 입증해야 했다. 환자를 이어서 연구 적격성에 대해 평가하였고, IL-13 특정 대용물 스테이티스 (하기 추가로 기재됨), LABA 사용, 및 연구 부위에 기반한 계층화로 연구 약물 (레브리키주맵 또는 위약)에 무작위로

배정하였다 (1:1). 제1 SC를 무작위 배정 24시간 내 (연구 제1일, 즉, 무작위 배정 당일, 제1 연구 약물 투여 일자에 상관없이)에 투여하였다. 연구 약물의 투여를 다음 20주 동안 매 4주마다 1회 반복하였다 (24-주 치료 기간을 제공하는 총 6회의 연구 약물 용량을 위해). 레브리키주맙의 효능의 척도를 치료 기간 동안 평가하였다.

[0317] 연구 약물을 하기 시점: 제1일 및 제4, 8, 12, 16 및 20주째에 피하 (SC) 주사에 의해 선택된 환자에게 투여하였다. 레브리키주맙의 각각의 용량은 250 mg이었다. 각각의 위약 용량은 레브리키주맙을 함유하지 않는 동일한 유체 2 mL였다. SC 주사를 팔, 대퇴부 또는 복부에 투여하였다. 상기 시행 설계의 개략도는 도 5에서 볼 수 있다.

[0318] 모든 (대략 200명) 환자가 무작위 배정 (제1일) 후 24주 동안 치료 및 추적된 후에 1차 분석을 수행하였다. 안전성을 연구 전반에 걸쳐 평가하였다. 연구 약물의 최종 용량 (제20주) 후에, 환자를 추가로 12주 동안 모니터링하였다; 최종 용량 후 처음 4주는 (24-주) 치료 기간의 일부로 간주하였고, 최종 8주는 추적 기간을 구성하였다. 치료 기간의 최종 4주와 함께 8-주 추적 기간은 최종 용량 후에 3-4 반감기 동안의 환자의 모니터링을 허용하였다. 따라서, 환자는 일반적으로 총 대략 34주 동안 연구에 참여하였다. 도 5를 참조한다. 효능 평가가 가능한 환자 (n= 180)를 (1) 표적 집단의 핵심 특성과 관계가 없고, (2) 기준선 FEV1이 그로부터 치료 효과를 측정하기에 신뢰불가능하다는 2가지 이유로 대상체를 배제하려는 의사 결정 목적을 위해 정의하였다. 상기 시행에 참여하는 환자의 기준선 특성에 대해서는 도 6을 참조한다.

[0319] <표 4>

설계	레브리키주맙 대 위약의 효능 및 안전성을 평가하기 위한 1:1 무작위, 이중-맹검, 위약-대조 연구
집단	흡입용 코르티코스테로이드 (ICS)로 충분히 제어되지 않는 천식을 앓는 18-65세의 환자
샘플 크기	대략 218
연구 지속기간	2주의 스크리닝 기간, 24주의 치료 기간, 8주의 안전성 추적 기간
용량	250 mg, 매28일, 총 6회 용량
1° 종점	기준선에서 제12주까지 FEV1에서의 상대적 변화
2° 종점	기준선에서 제24주까지 FEV1에서의 상대적 변화, 기준선에서 제12주까지 FEV1에서의 상대적 변화 또는 IL-13 특정 대용물 양성 스테이타스를 갖는 환자, 24-주 기간 동안의 천식 악화 속도.

[0320]

[0321] 핵심 포함 기준은 하기를 포함하였다: 방문 1-3에 연구 특이적 폐 기능 검사 (PFT) 매뉴얼에 따라 폐활량측정법을 수행하는 능력; 어떠한 임상적으로 유의한 이상의 증거도 없는 방문 1의 12개월 내의 흉부 방사선사진; 방문 1-3 사이의 일지 완성 및 PEF 측정에 대한 순응에 의해 측정된 바와 같은 연구 자료를 완성하는 능력; 모든 하기 기준에 대해 선택된 제어되지 않는 천식:

- [0322] - > 12개월의 천식의 진단
- [0323] - 방문 1 또는 2에서의 기관지확장제 반응
- [0324] - 방문 1 및 3에서의 예측된 기관지확장제-전 FEV1 $\geq 40\%$ 및 $\leq 80\%$
- [0325] - 방문 1 전에 연속 6개월 이상 동안 $\geq 200 \mu\text{g}$ 및 $\leq 1000 \mu\text{g}$ 총 1일 용량의 플루티카손 프로피오네이트 (FP) 또는 등가물의 ICS 사용
- [0326] - ICS 순응에도 불구하고 방문 3 천식 제어 설문지 (ACQ) s 점수 ≥ 1.5 .

[0327] 핵심 배제 기준은 하기를 포함하였다:

[0328] 의학적 상태:

- [0329] - 방문 1 내지 3의 천식 악화, 유의한 기류 폐쇄 또는 호흡기 감염
- [0330] - 공지된 악성종양, 또는 잠재적 악성종양에 대한 현재 평가
- [0331] - HIV 감염을 포함하나 이에 제한되지는 않는 공지된 면역결핍

- [0332] - 활성 감염을 비롯한 천식 이외의 이미 존재하는 폐 질환
- [0333] - 제어되지 않는 임상적으로 유의한 의학적 질환
- [0334] 노출:
- [0335] - 연간 >10 팩의 평생 흡연 경력을 갖는 현재 흡연자 또는 이전 흡연자
- [0336] - 금지된 수반 의약 (ICS 이외의 스테로이드, SABA 이외의 단기-작용 기관지확장제, 면역조절제)
- [0337] - 임신 또는 고도로 효과적인 피임을 이용할 의향이 없음
- [0338] 폐 자체에서 IL-13을 측정하는 것은 실시상의 어려움이 있으므로, 말초 혈액에서의 호산구 및 IgE 수준을 대용물 척도로 이용하였고, "IL-13 특징 대용물"로 표시하였다. IL-13 특징 대용물-양성 환자를 총 IgE >100 IU/mL 및 혈액 호산구 $\geq 0.14 \times 10^9$ 개 세포/L를 갖는 환자로서 정의하였고, 반면에 IL-13 특징 대용물-음성 환자는 총 IgE ≤ 100 IU/mL 또는 혈액 호산구 $< 0.14 \times 10^9$ 개 세포/L를 가졌다. IL-13 특징 대용물에 대해 환자의 스테이더스를 결정한 IgE 및 호산구 수준의 기준은 기관지 상피에서의 IL-13 유도된 유전자 발현 (IL-13 특징) 이 말초 혈액 IgE 및 호산구와 상호연관된 천식을 앓는 환자로부터 확립되었다 (문헌 [Corren et al., N Engl J Med 365:1088-1098]).
- [0339] 레브리키주맵의 효능은 폐 기능을 비롯한 천식 활성의 다중 척도 (즉, FEV1, 피크 유량에서의 가변성을 비롯한 피크 유량, 선택된 중심에서의 메타콜린에 대한 반응, 분획 배출된 산화질소 [FE_{NO}]), 및 질환 활성 또는 제어의 척도 (즉, 환자-보고된 결과 [PRO], 구급 의약의 사용, 악화의 속도)를 이용하여 평가하였다. FEV1에서의 변화는 1차 결과였다. 약리학 분석을 위한 레브리키주맵으로의 치료 후 하기 마커: TARC (CCL17), MCP-4 (CCL13) 및 IgE.
- [0340] 1차 효능 결과 척도:
- [0341] 1차 효능 결과 척도는 기준선에서 제12주까지 기관지확장제-전 FEV1에서의 상대적 변화 (부피)였다.
- [0342] 2차 효능 결과 척도
- [0343] 2차 효능 결과 척도는 하기와 같았다: 기준선에서 제24주까지의 기관지확장제-전 FEV1에서의 상대적 변화 (부피); IL-13 특징 대용물 양성 스테이더스를 갖는 환자의 경우에 기준선에서 제12주까지의 기관지확장제-전 FEV1에서의 상대적 변화 (부피); 기준선에서 제12주까지의 천식 제어 설문지 (ACQ) 점수에서의 변화; 기준선에서 제12주까지의 천식 제어 일지 (ACDD)에 의해 측정시 천식 증상 점수에서의 변화; 기준선에서 제12주까지의 아침 기관지확장제-전 피크 유량 값에서의 변화; 24-주 치료 기간 동안 천식 악화의 속도; 24-주 치료 기간 동안 중증 천식 악화의 속도; 기준선에서 제12주까지의 구급 의약 사용 (구급 의약 또는 분무된 구급 의약의 1일당 퍼프의 수에 의해 측정됨)에서의 변화.
- [0344] 탐색적 척도:
- [0345] 하기 탐색적 결과 척도를 평가하였다: 기준선에서 제12주까지의 ACDD에 의해 측정시, 천식이 잘 제어되는 1주당 일수에서의 변화; 기준선에서 제12주까지의 천식으로 인한 야간 각성의 주간 빈도에서의 변화; 기준선에서 제12주까지의 FE_{NO} 수준에서의 변화.
- [0346] 초기 관찰
- [0347] 부족하게 제어된 천식을 앓는 환자의 본 연구에서, 레브리키주맵 치료는 1차 결과 변수인 기관지확장제-전 FEV1에서의 통계적으로 유의한 향상과 연관되었다. FEV1에서의 향상은 치료의 개시 후에 곧 발생하였고, 이는 IL-13 억제제가 상대적으로 빠르게 기류의 측정에 영향을 주었다는 것을 나타낸다. 레브리키주맵 치료가 일렉시스® 페리오스틴 검정을 이용하여 프로토콜-정의된 및 중증 악화에서의 통계적으로 유의한 감소를 유도하지 않았을지라도 (하기 기재됨, 분석에 기여하기에 이용불가능한 값으로 인함), 특히 고 페리오스틴 환자의 경우에 중증 악화의 속도에서의 감소를 향한 경향이 관찰되었다. 그러나, 하기 기재된 바와 같은 E4 검정을 이용하여, 레브리키주맵 치료는 프로토콜-정의된 및 중증 악화에서의 통계적으로 유의한 감소로 이어졌다 (고 페리오스틴 하위군에서 84% (95% CI 14%, 97%, p=0.03)). 또한, 하기를 참조한다. 추가로, FE_{NO} 하위군 분석은 중증 악화에서의 통계적으로 유의한 감소를 달성하였다 (p=0.04). 레브리키주맵 치료는 ACQ5의 증상-단독 버전 (구급 SABA 사용과 FEV1을 배제함) 또는 일지 척도에 의해 측정시 천식 증상을 향상시키지 않았다.

- [0348] 혈청 Th2 케모카인, CCL13 및 CCL17, 및 IgE에서의 감소는 기도에서 측정된 임상적 영향을 기초로 하는 레브리키주맵-매개된 생물학적 효과를 뒷받침한다. 혈액 호산구 카운트에서의 약간의 증가는 호산구-유인성 케모카인의 억제에 이은 혈액에서 폐 구획으로의 호산구의 전반적으로 감소된 트래핑과 일치한다. 레브리키주맵이 FE_{NO}를 감소시켰다는 발견은 상기 제안과 일치한다. 그러나, 레브리키주맵은 호산구성 염증을 수정하기보다는 (이는 또한 FE_{NO}에도 영향을 주는 것으로 여겨짐) IL-13 차단을 통해 산화질소 신타제 발현을 간접적으로 억제함으로써 FE_{NO}를 감소시켰을 수 있다.
- [0349] 본 연구에 대한 환자 적격성 기준은 400 µg의 알부테롤 (방문 전 적어도 4시간 동안 SABA 사용이 없고 적어도 12시간 동안 LABA 사용이 없음)에 대해 적어도 12%의 가역성을 요구하였다. 이는 환자가 폐 기능에서 적어도 10%의 전반적인 상대적 변화를 기대하는 경우에 "이동하기 위한 공간"을 가졌음을 보증하기 위한 것이었다. 상기 단순 임상 시험은 선택되지 않은, 보다 일반적인 천식 환자 집단에 대해 이들 데이터를 일반화하는 능력을 제한할 수 있다. 사실상, 환자 부적격에 대한 가장 흔한 이유는 상기 시험의 실패였다 (스크리닝에 실패한 환자 263명 중 92명에서).
- [0350] 본 연구에서, 본 발명자들은 먼저 높은 혈청 IgE와 높은 혈액 호산구 카운트의 조합이 폐에서의 IL-13 관련 유전자의 증가된 발현을 갖는 환자를 확인하기 위한 대용물 (IL-13 특징 대용물, 또는 고 Th2)임을 가정하였다. 데이터는 여전히 치료 할당에 감춰져 있었고, 본 발명자들은 혈청 페리오스틴 수준에 기반한 분화를 이용하는 통계적 분석 계획을 작성하였다. 하기 보다 상세하게 기재된 바와 같이, 이 하위군 분석은 유의한 상호작용 검정 뿐만 아니라 FEV1에서의 보다 강건한 증가 및 FENO에서의 보다 큰 감소 둘 다로 관찰된 바와 같이, 레브리키주맵 치료의 유효성이 저-페리오스틴 환자에 비해 고-페리오스틴 환자에서 증진되었음을 보여주었다. 이들 발견은 미리 특정된 마커인 혈청 페리오스틴이 잠재적으로 레브리키주맵 치료에 대해 보다 반응성일 수 있는 천식 환자를 선택하는데 사용될 수 있음을 시사하였다.
- [0351] 연구에 참여하는 환자의 기준선 특성이 도 6에 도시되어 있다. 숫자는 달리 나타내지 않는 한 평균 (SD)을 지칭한다. 고 페리오스틴은 하기 기재된 E4 검정에 따라 23ng/ml 초과인 기준선 페리오스틴을 갖는 환자를 지칭한다. 저 페리오스틴은 하기 기재된 E4 검정에 따라 23ng/ml 미만의 기준선 페리오스틴을 갖는 환자를 지칭한다.
- [0352] 치료된 환자에 대해 제12주 및 제24주째의 FEV1에서의 상대적 변화 (리터) (95% 신뢰 구간)가 도 7에 도시되어 있다. IL-13 특징 양성 환자와 비교시, 페리오스틴 양성 환자는 FEV1에서의 보다 높은 상대적 변화를 경험하였다.
- [0353] 도 7은 모든 참가자에 대해 기준선에서 제12주까지의 FEV1에서의 위약 보정된 상대적 변화가 5.9% (95% CI 0.9%, 10.9%, p=0.2)였고, 고 페리오스틴 하위군에 대해서는 10% (95% CI 2.5%, 17.5%, p=0.01)였음을 보여준다. 모든 참가자에 대해 기준선에서 제24주까지의 FEV1에서의 위약 보정된 상대적 변화는 4.8% (95% CI 0.3%, 9.3%, p=0.04)였고, 고 페리오스틴 하위군에 대해서는 6.1% (95% CI -1.4%, 13.6%, p=0.11)였다. 도 8은 모든 효능 평가가능한 대상체에 대해 (a) 및 단지 고 페리오스틴 대상체에 대해 (b) 치료 기간 (32주) 전체에 걸쳐 FEV1에서의 상대적 변화를 보여준다. 32주의 치료에서 레브리키주맵의 효능은 약해지지 않았고, 이는 레브리키주맵이 투여되는 빈도를 감소시키는 것이 가능할 수 있음을 시사한다.
- [0354] 본 발명자들은 또한 기도 재형성에 대한 탐색적 결과 및 간접 대용물로서 기관지확장제-후 FEV1에 대한 레브리키주맵 치료의 효과를 검사하였다. 제20주째의 기관지확장제-후 FEV1에서의 변화를 100mcg 알부테롤의 4회 흡입 후에 측정하였다. 연구 약물 투여 전에 기준선에서, 평균 기관지확장제-후 FEV1은 각각 위약군 및 레브리키주맵 군에서 2.50 리터 (0.71) 및 2.54 리터 (0.73)였다. 이는 두 군 모두에서 예측된 77.9%에 상응하였다. 기관지확장제-후 FEV1에서의 전체 위약-보정된 변화는 4.9% (95% CI 0.2% 내지 9.6%; p=0.04)였다. 고 페리오스틴 군에서, 레브리키주맵 치료는 제20주째의 기관지확장제-후 FEV1을 증가시켰다 (8.5%; 95% CI 1.1% 내지 16%; p=0.03). 저 페리오스틴 군에서는 기관지확장제-후 FEV1에서의 향상의 어떠한 증거도 없었다 (1.8%; 95% CI -4.1 내지 7.7; p=0.55). 또한, 레브리키주맵은 고 페리오스틴 군에서 절대적 기관지확장제-후 FEV1을 증가시켰다 (170 ml; 95% CI 10 내지 320 ml). 본 발명자들은 레브리키주맵이 증가된 Th2 기도 염증의 증거 (고 페리오스틴)를 갖는 제어되지 않는 천식 환자에서의 기관지확장제-후 FEV1을 향상시켰다고 결론지었다. 상기 데이터에 기반하여, 레브리키주맵은 천식에서 기도 재형성을 감소시키는 잠재력을 가질 수 있다.
- [0355] 도 9는 치료 제24주째에 관찰된 악화 속도 및 중증 악화 속도를 보여준다. 악화 속도는 위약과 비교하여 레브리키주맵 치료된 모든 참가자에서 37%만큼 감소되었고 (95% CI -22%, 67%, p=0.17), 고 페리오스틴 하위군에서

61%만큼 감소되었다 (95% CI -6%, 86%, $p=0.07$). 중증 악화 속도는 모든 참가자에 대해 51%만큼 감소되었고 (95% CI -33%, 82%, $p=0.16$), 고 페리오스틴 하위군에서 84%만큼 감소되었다 (95% CI 14%, 97%, $p=0.03$). 본 발명자들은 또한 제32주, 추적 기간의 종료, ITT 집단에서의 레브리키주맙 최종 용량 후 제12주째에 중증 악화 속도를 검사하였다. 표 10에 도시된 바와 같이, 제32주째에 모든 환자에 걸쳐 중증 악화 속도는 위약과 비교하여 레브리키주맙 치료된 환자에서 50%만큼 유의하게 감소되었다 ($p=0.03$). 중증 악화의 속도는 레브리키주맙으로 치료된 고-페리오스틴 환자에서 최하위였으나 (0.13); 위약으로부터의 속도 감소는 하위분석에서 통계적 유의성에 도달하지 않았다. 본 발명자들은 레브리키주맙이 ICS에 의해 불충분하게 제어되는 환자에서 중증 악화를 감소시킴에 있어 유의한 이익을 갖는다고 결론지었다. 중증 악화에서의 최대 감소는 치료 전에 높은 페리오스틴 수준을 갖는 환자에서 보였다. 사례를 포착하기 위한 관찰의 지속시간은 24주와 비교하여 상기 종점 및 32-주 관찰에 대한 연구를 작동시킴에 있어 중요하며, 대략 200명의 대상체에서 적어도 50%의 감소를 검출하는데 필요할 수 있다.

[0356] <표 10> 32주, 최종 용량-후 제12주째의 중증 악화 속도.

군*	레브리키주맙, 중증 악화 속도	위약, 중증 악화 속도	속도 감소 (95% CI) p-값
모든 환자 (n=218)	0.17	0.34	50% (9, 72) $p=0.03$
고-페리오스틴 (n=110)	0.13	0.32	61% (-1, 85) $p=0.06$
저-페리오스틴 (n=101)	0.23	0.40	43% (-30, 75) $p=0.18$

[0357]

레브리키주맙은 그의 1차 종점에 직면하였고, 중증 악화를 감소시킴에 있어 매우 효과적이었다. 데이터는 환자의 페리오스틴 스테이터스가 악화 사례 및 보다 적은 정도로 FEV1의 예후일 수 있음을 시사한다. 데이터는 레브리키주맙 치료에 대한 반응을 결정하기 위한 페리오스틴 수준의 예측 값을 뒷받침한다. 예를 들어, E4 검정을 이용하여, 20ng/ml 미만의 혈청 또는 혈장 페리오스틴 수준을 갖는 환자는 레브리키주맙으로부터 이익을 얻을 가능성이 보다 낮고, 반면에 20ng/ml 초과 혈청 또는 혈장 페리오스틴 수준을 갖는 환자는 레브리키주맙으로부터 이익을 얻을 가능성이 보다 높다. 추가로, (E4 검정에 의해 결정시) 23ng/ml 초과 혈청 또는 혈장 페리오스틴 수준을 갖는 환자는 레브리키주맙 치료로부터 이익을 얻을 가능성이 보다 더 높다.

[0358]

환자 보고된 결과: ACQ 및 미나-AQLQ는 치료군 사이에 일관된 차이를 나타내지 않았다. 여러 방문 후에, ACDD 데이터는 잘 제어된 날, 천식 증상, 야간 각성 및 구급 의약 사용 (모두 레브리키주맙 치료를 선호함)에서의 치료군 사이의 평균 점수에서 약간의 차이를 나타내었다. ACDD 데이터에서의 모든 종점 (잘 제어된 날, 천식 증상, 야간 각성 및 구급 의약 사용)에 대해, 모든 대상체와 비교하여 고 페리오스틴 대상체에서 보다 큰 위약 보정된 치료 효과가 있었으나; 제12주째에 치료군 사이의 어떠한 차이도 통계적으로 유의하지 않았다.

[0359]

폐 기능: 기준선으로부터의 폐 기능 (PEF)에서의 향상이 모든 레브리키주맙 치료된 대상체에서 대부분의 시점에 대해, 및 고 페리오스틴 레브리키주맙 치료된 대상체에 대해 모든 시점에 관찰되었다. 위약 치료된 대상체는 모든 시점에서 기준선으로부터 감소하였다.

[0360]

폐 염증: FE_{NO}는 연구 전체에 걸쳐 레브리키주맙 치료된 대상체 및 고 페리오스틴 하위세트 내의 대상체 둘 다의 경우에 감소하였고 (향상됨), 반면에 위약 치료된 대상체는 FE_{NO}가 증가하였다 (악화됨). 제12주째의 FE_{NO}에서의 변화 퍼센트는 레브리키주맙 치료된 대상체 (n=83)의 경우에 20.1% 대 위약-치료된 대상체 (n=86)의 경우에 15%였다 [$p<0.01$]. 제12주째의 FE_{NO}에서의 변화 퍼센트는 레브리키주맙 치료된 대상체의 경우에 -24.2% 대 위약-치료된 대상체 (n=44)의 경우에 17.5%였다 [$p<0.01$]. 제12주째의 치료군 사이의 차이는 통계적으로 유의하였다. 도 10을 참조한다. 사후 분석에서, 높은 기준선 FE_{NO}는 또한 위약과 비교하여 FEV1을 향상시킴에 있어서의 효능 및 보다 낮은 중증 악화 속도와 연관되었다. 그러나, 본 발명자들은 기준선 FE_{NO}가 시행 페리오스틴보다 준비 동안 보다 큰 환자내 가변성 (19.8% 대 5.0%)을 보였다는 것에 주목하였다.

[0361]

[0362] 본 발명자들은 또한 데이터를 검사하여, 저-페리오스틴 및 고-FENO 둘 다인 환자가 고-페리오스틴 환자와 동일한 정도로 레브리키주맵 치료로부터 이익을 얻었는지의 여부를 결정하였다. 기준선에서, 본 발명자들은 FENO와 혈청 페리오스틴 사이의 중등도의 상관관계를 관찰하였다 ($r_s = 0.31$, $P < 0.001$; 매칭 데이터를 갖는 $N=210$). 중앙값 컷오프를 이용하여, 페리오스틴 및 FENO 스테이터스는 일반적으로 그러나 불완전하게 중첩되었다 (표 11). 표 11에 제시된 데이터에 대해, 페리오스틴 컷-오프는 하기 기재된 E4 검정을 이용하여 25 ng/mL였고, FENO 컷-오프는 당업계에 공지된 표준 방법론을 이용하여 측정시 21 ppb였다. 혼합 페리오스틴 및 FENO 스테이터스에 기반한 FEV1의 평가는, 제12주째의 레브리키주맵의 위약-보정된 효과가 페리오스틴 및 FENO 둘 다의 높은 수준을 갖는 군에서 가장 컷음을 밝혔다 (표 12). 대조적으로, 저-페리오스틴/고-FENO 군에서의 관찰된 치료 이익은 미미하였다 (2.3%, $P=0.73$). 따라서, FENO는 레브리키주맵으로부터 이익을 얻는 저-페리오스틴 환자의 하위세트를 확인시키는 것으로 보이지는 않는다. 레브리키주맵 치료에 대한 반응을 위한 페리오스틴 및 FENO의 상대적 예측값은 추가로 연구할 가치가 있다.

[0363] <표 11> 기준선 페리오스틴 및 FENO 스테이터스에 따른 환자의 분포.

		FENO 스테이터스	
		저	고
페리오스틴 스테이터스	저	62	39
	고	42	67

[0364]

[0365] 피서 정확 검정 (단측)에 의하면 $p=0.0004$

[0366] <표 12> ITT 환자에서의 제12주째의 기준선 FEV1로부터의 평균 상대적 변화. 프로토콜-정의된 진입 기준에 부합한 모든 환자에 대한 FENO 또는 페리오스틴의 중앙값 기준선 수준을 이용하여 표에 기재된 하위세트를 정의하였다 (고 = 중앙값 이상; 저 = 중앙값 미만).

	모든 대상체 (n=218)	저-페리오스틴 저-FENO (n=62)	저-페리오스틴 고-FENO (n=39)	고-페리오스틴 저-FENO (n=42)	고-페리오스틴 고-FENO (n=67)
레브리키주맵	9.8%	2.6%	9.1%	8.6%	16.7%
위약	4.3%	1.5%	6.8%	6.3%	5.4%
편차	5.5%	1.1%	2.3%	2.3%	11.2%
(95% CI)	(0.8%, 10.2%)	(-4.5%, 6.6%)	(-10.7%, 15.2%)	(-9.3%, 13.9%)	(1.9%, 20.5%)

[0367]

[0368] 레브리키주맵의 약동학 특성은 이전 연구에서 보인 것들과 유사하였다. 대상체의 체중은 레브리키주맵의 약동학에 영향을 주었다.

[0369] 여러 마커를 혈청 페리오스틴 수준에 대한 대안 뿐만 아니라 또는 대안으로서 상기 치료 이익의 관점에서 예측값을 제공하는 그의 능력에 대해 평가하였다. 그 마커는 CEA, IgE, TARC (CCL17) 및 MCP-4 (CCL13)를 포함하였다.

[0370] 또한, 본 발명자들은 천식을 앓는 고-페리오스틴 환자에서의 과잉 혈청 페리오스틴이 IL-13의 효과로 인한 것이라는 가설을 세웠다. 따라서, 본 발명자들은 제어되지 않는 천식을 앓는 위약 및 레브리키주맵-치료된 환자 둘 다에서의 총 전신성 페리오스틴 수준에 대한 IL-13의 상대적 기여를 평가하기 위해 노력하였다. 이들 실험을 위해, 본 발명자들은 실시예 7에 기재된 일렉시스® 페리오스틴 검정을 이용하여 혈청 페리오스틴을 측정하였다. 도 18 및 19에 도시된 바와 같이, 본 발명자들은 기준선에서 저-페리오스틴인 대부분 (>90%)의 환자가 연구의 아암 둘 다에서 낮은 채로 남아있었고 (도 18a), 반면에 위약으로 치료된 고-페리오스틴 환자의 72% 및 레브리키주맵으로 치료된 40%가 제12주째에 고-페리오스틴으로 남아있었다는 것을 발견하였다 (도 18b). 본 발명자들은 ICS에도 불구하고 제어되지 않는 천식을 앓는 성인에서 고-페리오스틴 환자가 위약과 비교시 레

브리키주맵 치료에 대해 혈청 페리오스틴 수준에서의 유의한 감소를 나타냈지만, 저-페리오스틴 환자는 레브리키주맵에 대한 반응에서 어떠한 유의한 감소도 나타내지 않았다고 결론지었다. 이들 발견은 제어되지 않는 천식 환자에서 과잉 혈청 페리오스틴은 IL-13의 활성화로 인한 것이며, 레브리키주맵을 사용한 IL-13의 억제가 혈청 페리오스틴 수준을 감소시킨다는 것을 시사한다.

[0371] 4명의 레브리키주맵-치료된 환자는 심각한 유해 사례 (SAE) (천식 악화 [n=2], 지역사회 획득 폐렴, 및 자동차 사고와 관련된 외상성 기흉)를 경험하였다. 6명의 위약 환자는 7건의 SAE (천식 악화 [n=2], 두통, 경막외마취 후의 뇌척수액 누출, 대상포진, 대상 헤르페스, 급성 화농성 수막염, 및 통증 의약 중독)를 경험하였다. 상기 시행으로부터의 안전성 결과에 대해서는 도 11을 참조한다.

[0372] AE의 전체적 빈도는 치료 아암 둘 다에서 유사하였고 (레브리키주맵, 74.5%; 위약, 78.6%), 심각한 AE의 빈도도 마찬가지였다 (레브리키주맵, 3.8%; 위약, 5.4%) (표 9). 근골격 사례는 레브리키주맵에서 보다 흔하였다 (레브리키주맵, 13.2%; 위약, 5.4%; P=0.045) (표 9). 12명의 위약-치료된 환자 및 13명의 레브리키주맵-치료된 환자를 비롯하여 25명의 환자 (11.5%)가 연구를 조기에 중지하였다.

[0373] <표 9>

근골격 또는 결합 조직 장애의 유형	적어도 하나의 사례를 보고한 참여자의 수 (%)		
	위약 (n=112)	레브리키주맵 (n=106)	전체 (n=218)
관절통	2 (1.8)	3 (2.8)	5 (2.3)
요통	2 (1.8)	1 (0.9)	3 (1.4)
사지에서의 통증	1 (0.9)	2 (1.9)	3 (1.4)
근육통	0	2 (1.9)	2 (0.9)
경부 통증	2 (1.8)	0	2 (0.9)
관절염	0	1 (0.9)	1 (0.5)
골 발생 이상	1 (0.9)	0	1 (0.5)
윤활낭염	0	1 (0.9)	1 (0.5)
늑연골염	0	1 (0.9)	1 (0.5)
외골증	0	1 (0.9)	1 (0.5)
측복통	0	1 (0.9)	1 (0.5)
근골격 흉통	0	1 (0.9)	1 (0.5)
근골격 통증	0	1 (0.9)	1 (0.5)
하악에서의 통증	1 (0.9)	0	1 (0.5)
건염	0	1 (0.9)	1 (0.5)
근골격 및 결합 조직 장애 (전체)	6 (5.4)	14 (13.2)	20 (9.2)

[0374]

[0375] 실시예 3 - 천식 환자 연구 II (용량 범위 연구)

[0376] 무작위, 이중-맹검, 위약 대조, 4-아암, 용량-범위 연구를 수행하여, 흡입용 코르티코스테로이드를 사용하지 않은 천식을 앓는 환자에서 레브리키주맵의 용량과 효능, 안전성 및 내약성의 관점에서의 반응 사이의 관계를 추가로 평가하였다. 상기 시행의 개략적 설계에 대해서는 도 12를 참조한다. 선택된 환자는 준비 기간 동안 입증된 질환 안정성으로 예측된 적어도 15%의 기관지확장제 반응 및 $\geq 60\%$ 및 $\leq 85\%$ 의 기관지확장제-전 FEV1을 가졌다. 이전에 ICS로 관리된, 연구를 위해 선택된 환자는 제1 연구 방문 (방문 1) 전에 최소 30일 동안 ICS를 제공받을 수 없었다. 연구는 어떠한 휴약 기간도 갖지 않았고; 환자는 연구에 적격이게 되는 유일한 목적을 위해 코르티코스테로이드를 중단하지는 않았다.

[0377] 방문 1에서의 제1 연구-관련된 절차는 대략 2-주 준비 기간을 시작하였다. 준비 기간 동안 (방문 1-3), 천식

제어 (천식 제어 설문지 [ACQ] 점수에 의해 측정된 바와 같음) 및 폐 기능을 평가하였다. 환자의 천식을 피부 찌름 시험, 및 IgE 및 말초 혈액 호산구를 비롯한 적당한 바이오마커로 추가로 특성화하였다. IgE 및 호산구 수준을 이용하여 환자를 그의 IL-13 특징 대용물 스테이더스를 기반으로 하여 분류하였다. 준비 기간의 끝에, 적절한 환자를 SC 투여를 통해 레브리키주맵의 3개의 용량 중 하나 (500 mg, 250 mg 또는 125 mg) 또는 위약을 제공받도록 무작위로 배정하였다 (1:1:1:1). 연구 약물을 12-주 치료 기간 동안 4회 투여하였다. 연구 약물의 최종 용량 후에, 환자를 추가로 8-주 추적 기간 동안 모니터링하였다. 따라서, 대부분의 환자는 방문 1 후에 총 대략 22주 동안 연구에 참여했으며, 이 시간 동안 간헐적 PK 샘플을 수득하였다. 70명의 대상체가 강도높은 PK 샘플링을 완료할 때까지, 연구 및 추적 기간 동안 수득된 추가의 PK 샘플 뿐만 아니라 마지막 연구 약물 투여 16주 후의 추가의 PK 샘플을 사용하여 강도높은 PK 샘플링을 수행하였다. 따라서, 강도높은 PK 샘플링 군 내의 환자의 경우에는 연구 참여가 방문 1 대략 26주 후까지 지속되었다. 안전성을 연구 전체에 걸쳐 평가하였고, 치료 실패에 대한 미리 특정된 역치를 정의하여, 환자가 임상적으로 유의한 악화를 갖는 경우에 환자가 연구 약물을 중단하고 표준 요법을 재개할 수 있도록 하였다.

[0378] 초기 관찰

[0379] 효능: 모든 레브리키주맵 치료된 대상체에 대해 기준선에서 12주까지의 FEV1에서의 위약 보정된 상대적 변화는 4.1% (95% CI-0.4, 8.6%; $p = 0.075$) 향상이었다. 12주 치료 기간 전체에 걸쳐, 모든 레브리키주맵 치료된 환자의 치료 실패의 추정된 위험은 위약 치료된 환자보다 75% 더 낮았다 (HR 0.25, 95% CI: 0.11, 0.78; $p = 0.001$). 이들 결과는 임상적으로 및 통계적으로 유의한 것으로 간주되었다. 용량 반응의 어떠한 증거도 없었다 (도 16 참조).

[0380] 안전성: 주사 부위 반응 (각각 레브리키주맵 대 위약, 23% 대 6%)을 제외하고는 레브리키주맵 치료된 환자 및 위약 치료된 환자 사이에 어떠한 임상적으로 유의한 불균형도 없었다.

[0381] 실시예 4 - 페리오스틴 검정 (E4 검정)

[0382] 매우 민감한 (감도 1.88ng/ml) 페리오스틴 포획 ELISA 검정이 하기 기재되어 있다. 항체는 페리오스틴 이소형 1-4를 nM 친화도로 인식한다 (서열 5-8).

[0383] 정제된 모노클로날 항체 25D4 (코트(Coat) 항체, 서열 1 및 2, 하이브리도마 또는 CHO 세포주로부터 발현됨) 80 μ L를 인산염 완충 염수로 2 μ g/mL의 최종 농도로 희석하였다. 마이크로타이터 플레이트를 밤새 커버를 덮어 2-8°C에서 웰당 코트 항체 100 μ L로 코팅하였다. 플레이트를 실온에서 세척 완충제의 사이클당 웰당 400 μ L 세척 완충제 (PBS/0.05% 트윈 (폴리소르베이트 20))로 3회 세척하였다. 웰당 200 μ L의 차단 완충제를 플레이트에 첨가하였다. 커버를 덮은 플레이트를 실온에서 진탕시키면서 1.5시간 동안 인큐베이션하였다.

[0384] rhu페리오스틴 표준 곡선을 제조하였다 (rhu페리오스틴의 표준 스톡 = 검정 희석제 (PBS/0.5% 소 혈청 알부민 (BSA)/0.05% 폴리소르베이트 20/0.05% 프로클린300(ProClin300), pH 7.4) 중 rhu페리오스틴 이소형 1, 알앤디 시스템즈(R&D systems) #3548-F2, 5.25ng/ml). 표준 곡선 희석제 = PBS/0.5%BSA/0.05% 폴리소르베이트 20, 0.05% 프로클린300, pH 7.4. 예를 들어:

표준 농도 (pg/mL)	절차
600	80 μ L rhu페리오스틴, 검정 회석제 중 5.25ng/ml + 620 μ L 표준 곡선 회석제
300	300 μ L 600 pg/mL rhu페리오스틴 + 300 μ L 표준 곡선 회석제
150	300 μ L 300 pg/mL rhu페리오스틴 + 300 μ L 표준 곡선 회석제
75	300 μ L 150 pg/mL rhu페리오스틴 + 300 μ L 표준 곡선 회석제
37.5	300 μ L 75 pg/mL rhu페리오스틴 + 300 μ L 표준 곡선 회석제
18.75	300 μ L 37.5 pg/mL rhu페리오스틴 + 300 μ L 표준 곡선 회석제
9.38	300 μ L 18.75 pg/mL rhu페리오스틴 + 300 μ L 표준 곡선 회석제
0	표준 곡선 회석제

[0385]

[0386]

대조군 및 샘플을 제조하였다. 3개의 대조군: 스파이크 소스 대조군 (rhu페리오스틴 전장, 이소형 1, 알앤디 시스템즈 #3548-F2), 노말 매트릭스(Normal Matrix) 대조군 (정상 인간 혈청 풀, 바이오리클라메이션, 인크.(Bioreclamation, Inc.)), 하이 매트릭스(High Matrix) 대조군 (정상 인간 혈청 풀, + 100ng/ml rhu페리오스틴 스파이크).

[0387]

예를 들어:

[0388]

10 μ L 대조군 (또는 샘플) 혈청 + 1.99 mL 샘플/대조군 회석제 = 1:200

[0389]

300 μ L 1:200 회석물 + 300 μ L 샘플/대조군 회석제 = 1:400

[0390]

300 μ L 1:400 회석물 + 300 μ L 샘플/대조군 회석제 = 1:800

[0391]

300 μ L 1:800 회석물 + 300 μ L 샘플/대조군 회석제 = 1:1600

[0392]

각각의 회석은 1별로 실행하였다.

[0393]

정상 인간 혈청 풀을 사용하여 매트릭스 대조군을 구축하였다. 스파이킹되지 않은 풀링된 인간 혈청을 노말 대조군으로 사용하였다. 상기 기재된 바와 같이 풀링된 혈청 내로 100 ng/mL rhuPOSTN을 스파이킹함으로써 하이 대조군을 생성하였다. 모든 플레이트 상에서 각각의 대조군을 위한 4개의 회석물에 대해 평균, 표준 편차 (SD) 및 분산 계수 % (CV, 퍼센트로 나타내어짐)를 계산하였다. CV는 반복의 평균에 관하여 반복 측정에서의 분산의 규모를 수량화한다. $CV\% = 100 * (SD / \text{평균})$. 모든 플레이트에 걸쳐 이들 평균 농도를 평가하여 플레이트간 정밀도를 결정하였다. 이어서, 상기 대조군 표를 이용하여 노말 및 하이 대조군 통과/실패 기준을 정의하였고, 각각의 대조군에 대해 허용가능한 분산을 평균 농도의 $\pm 20\%$ 로 설정하였다.

[0394]

플레이트를 사이클당 웰당 세척 완충제 (PBS/0.05% 폴리소르베이트 20) 400 μ L로 3회 세척하였다. 회석된 표준물 (2벌 웰), 대조군 (모든 4개의 회석물), 및 샘플 (모든 4개의 회석물)을 플레이트에 웰당 100 μ L로 첨가하였다. 커버를 덮은 플레이트를 실온에서 진탕시키면서 2시간 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 80 μ L 검출 MAb 스톡 I (비오티닐화 뮤린 항-인간 페리오스틴, MAb 23B9, 검정 회석제 중 7.5ug/ml)을 검정 회석제로 12 mL로 회석하였다 = 50 ng/mL. 사이클당 웰당 세척 완충제 400 μ L로 플레이트를 4회 세척하였다. 회석된 검출 MAb를 플레이트에 웰당 100 μ L 첨가하였다. 커버를 덮은 플레이트를 실온에서 1시간 동안 진탕시키면서 인큐베이션하였다. 80 μ L 스트렙타비딘-HRP 스톡 I (암텍스(AMDEX) 스트렙타비딘-HRP, 지이 헬스케어(GE Healthcare) #RPN4401, 대략 1mg/ml)을 검정 회석제 = 1:12k로 12 mL까지 검정 회석제 중에 1:80 회석하였다. 플레이트를 사이클당 웰당 세척 완충제 400 μ L로 4회 세척하였다. 회석된 스트렙타비딘-HRP를 플레이트에 웰

당 100 μ L 첨가하였다. 커버를 덮은 플레이트를 실온에서 45분 동안 진탕시키면서 인큐베이션하였다. 키르케가드 앤드 페리(Kirkegaard and Perry) (KPL) 2-단계 TMB 시약을 실온으로 가져오고; 합하지 않았다. 플레이트를 사이클당 웰당 세척 완충제 400 μ L로 4회 세척하였다. 동일한 부피의 KPL TMB 기질 성분을 혼합하고, 플레이트에 웰당 100 μ L 첨가하였다. 플레이트를 20분 동안 실온에서 진탕시키면서 인큐베이션하였다. 1 M 인산을 플레이트에 웰당 100 μ L 첨가하였다. 플레이트를 450 nm 판독 파장 및 650 nm 참조 파장을 이용하여 판독하였다. 본 검정 또는 상기 검정과 유사한 검정은 실시예 3에 기재된 임상 시험에 사용되었다.

[0395] 이소형 1 (총 페리오스틴이 아님)에 대한 항체를 이용하는 페리오스틴 검정을 유사한 항체 포획 포맷을 이용하여 다양한 천식 환자 샘플 상에서 시험하였다. 예비 결과는 페리오스틴 이소형 1이 TH2 염증에 대한 마커로서 총 페리오스틴만큼 강건하지 않다는 것을 나타낸다.

[0396] 실시예 5 - 천식 환자 관찰 연구 (BOBCAT)

[0397] 본 발명자들은 이전에 건강한 지원자 및 천식 지원자에서 조사 목적으로 수행된 기관지경검사 동안 수집된 기도 조직 은행 (캘리포니아 대학교 샌프란시스코 캠퍼스 (UCSF) 소재)에 저장되어 있는 생물학적 샘플의 연구에 기반한 특정 바이오마커 발견을 보고하였다. 예를 들어, 국제 공보 번호 W02009/124090을 참조한다. 중등도-내지-중증 천식의 큰 코호트에서 이들 발견을 검증하고 이들을 다수의 임상 장소에 걸쳐 일반화시키기 위해, 본 발명자들은 고용량의 ICS ($> 1000 \mu$ g/일 플루티카손 DPI 또는 등가물) 상의 제어되지 않는 중등도-내지-중증 천식 (ACQ > 1.50 및 40-80% 사이의 FEV1)의 다중-센터 3-방문 관찰 연구 ("BOBCAT")를 유발된 객담, 기관지내 생검 및 말초 혈액의 수집과 함께 수행하였다. 본 발명자들은 59명의 대상체로부터 매칭된 혈액 및 기도 데이터를 획득하였다 (도 13에서의 연구 개관 참조). 연구의 세부사항은 하기 제공되어 있다.

[0398] BOBCAT (코르티코스테로이드-불응성 천식에서의 바이오마커의 기관지경검사 탐색적 조사)는 대략 60개의 중등도 내지 중증 천식에서의 매칭된 기도 및 혈액 샘플을 수집하기 위해 미국, 캐나다 및 영국에서 수행된 다중-센터 연구였다. 포함 기준은 장기-작용 베타 효능제를 사용하거나 사용하지 않으면서 제어되지 않은 (이전 연도에 2회 이상의 악화, 또는 고용량 ICS (1일 당 $> 1000 \mu$ g 플루티카손 또는 등가물)의 안정적 투여 요법 (> 6 주) 상에 있는 동안 천식 제어 설문지 (ACQ) (문헌 [Juniper, E.F., et al., Respir Med 100, 616-621 (2006)]) 상의 > 1.50 의 점수에 의해 정의된 바와 같음) 중등도 내지 중증 천식의 진단 (40-80% 사이의 예측된 FEV1, 뿐만 아니라 단기-작용 기관지확장제에 의한 기도 폐쇄의 $> 12\%$ 의 가역성 또는 < 8 mg/ml의 메타콜린 민감성 (PC20)의 과거 5년 내의 증거에 의해 확인됨)을 요구하였다. 허용된 수반 의약품 또한 류코트리엔 수용체 길항제 및 경구 코르티코스테로이드를 포함하였다. BOBCAT 연구 개략도는 도 13에 도시되어 있다.

[0399] FE_{NO}, 기관지경검사, BAL, 유발된 객담, 및 호산구 카운트를 위한 면역조직화학을 이전에 기재된 바와 같이 수행하였다 (문헌 [Woodruff, P.G., et al., Am J Respir Crit Care Med 180, 388-395 (2009); Boushey, H.A., et al., N Engl J Med 352, 1519-1528 (2005); Brightling, C.E., et al., Thorax 58, 528-532 (2003); Lemiere, et al., J Allergy Clin Immunol 118, 1033-1039 (2006)]). 모든 조사 프로토콜은 적절한 제도적 검토 보드에 의해 승인되었고, 등록 전에 모든 대상체로부터 사전 동의가 획득되었다. 환자 인구통계 및 폐 기능 데이터는 하기 표 5에 요약되어 있다.

[0400] <표 5> BOBCAT 인구통계 및 임상 데이터.

	UCSF 건강한 대조군	UCSF 코호트 1 경도-중등도 천식, ICS 없음	UCSF 코호트 2 중등도 천식, ICS 투여	UCSF 코호트 3 중등도 천식, ICS 투여	레스터 건강한 대조군	레스터 중등도- 중증 천식, ICS 투여	BOBCAT 중등도-중증 천식, ICS 투여
대상체 수	13	15	24	23	10	27	67
연령	35 ± 11	35 ± 14	36 ± 11	43 ± 14	33 ± 18	36 ± 11	46 ± 12
성별 (남:여)	7:6	8:7	7:17	10:13	4:6	18:9	32:35
FEV1 (예측 %)	99 ± 15	85 ± 12	84 ± 14	75 ± 19	99 ± 12	79 ± 18	60 ± 11
ACQ 점수	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.7 ± 0.8
일일 ICS 용량 (μg FPI 당가물*)	0	0	250	N.D.	0	500 (50- 1500)**	≥ 1000***

N.D., 결정되지 않음

값은 평균 ± SD 또는 중앙값 (범위)으로 나타냄

* FPI, 플루티카손 디프로피오네이트. 플루티카손:부테소니드의 당량비 = 1:1.6

** 이들 중, 6명의 대상체는 또한 4-20 mg 프레드니솔론 당가물/일의 전신성 코르티코스테로이드를 투여받음

*** 이들 중, 7명의 대상체는 또한 5-40 mg 프레드니솔론 당가물/일의 전신성 코르티코스테로이드를 투여받음

[0401]

[0402]

본 발명자들은 객담 호산구에 대해 3% (문헌 [Green, R.H., et al., Lancet 360, 1715-1721 (2002); Haldar, P., et al., N Engl J Med 360, 973-984 (2009)]) 및 22개 호산구/mm² 총 생검 면적 (문헌 [Miranda, C., A. et al., J Allergy Clin Immunol 113, 101-108 (2004); Silkoff, P.E., et al., J Allergy Clin Immunol 116, 1249-1255 (2005)])의 이전 연구와 일치하는 미리 특정된 컷오프 값을 이용하였다. 최대 5주에 걸친 3회의 방문에 걸쳐 개별 대상체 내에서 매우 안정적이었다 (데이터는 제시되지 않음). 평균 페리오스틴 수준은 객담 또는 조직 호산구 측정에 의해 정의된 바와 같은 "저 호산구" 대상체와 비교하여 "고 호산구"에서 유의하게 더 높았다 (데이터는 제시되지 않음). 객담 및 조직 호산구가 증가하는 호산구 점수와 함께 증가하는 혈청 페리오스틴에 대한 고도로 유의한 경향을 나타내는데 있어서, 둘 다 그렇지 않은 경우에 0, 둘 중 하나가 그러한 경우에 1, 또는 둘 다 그러한 경우에 2의 복합 점수에 의해 대상체를 계층화하였다. 추가로, 모든 코호트에 걸쳐 비-호산구성 천식은 상기 기재된 E4 검정을 이용하여 25 ng/ml 미만의 혈청 페리오스틴 수준을 일관되게 가졌다. 25 ng/ml 혈청 페리오스틴을 컷오프로 이용하여, BOBCAT에서의 "저-호산구" 및 "고-호산구" 대상체는 93%의 양성 예측치로 효과적으로 구별되었다 (표 6). 조직 호중구 카운트는 조직 호산구 및 혈청 페리오스틴 수준과 양성적으로 상호연관되었다 (데이터는 제시되지 않음). 종합적으로, 이들 데이터는 혈청 페리오스틴이 스테로이드 치료에도 불구하고 중등도-내지-중증 천식에서 지속되는 기도 호산구증가증의 전신성 바이오마커임을 보여준다.

[0403]

<표 6> BOBCAT에서의 혈청 페리오스틴 (N=57) 및 FE_{NO} (N=56)의 컷오프 값 대 복합 기도 호산구 스테이터스에 대한 분할표

검정	기도 표현형	혈청 페리오스틴 ≥ 25 ng/ml		FE _{NO} ≥ 35 ppb	
		저 호산구	고 호산구	저 호산구	고 호산구
검정 결과	-	11	19	12	26
	+	2	25	1	17
민감도		0.57		0.40	
특이성		0.85		0.92	
PPV		0.93		0.94	
NPV		0.37		0.32	
p-값		0.011		0.042	

저 호산구: 객담 호산구 $< 3\%$ 및 생검 호산구 $< 22/\text{mm}^2$
 고 호산구: 객담 호산구 $> 3\%$ 또는 생검 호산구 $> 22/\text{mm}^2$
 PPV, 양성 예측치
 NPV, 음성 예측치
 p-값은 폐서의 정확 검정 (양측)임

[0404]

[0405]

천식 바이오마커로서의 혈청 페리오스틴 대 분획 배출된 산화질소 (FE_{NO}), 말초 혈액 호산구, 혈청 IgE 및 혈청 YKL-40의 비교

[0406]

최근 몇 년 동안, 천식 중증도 및 기도 염증의 다른 비-침습성 바이오마커가 기재되어 왔다. 특히 관심있는 4개의 마커는 분획 배출된 산화질소 (FE_{NO}), 염증이 생긴 기관지 점막에서 효소 iNOS (유도성 산화질소 신타제)의 작용에 의해 생산된 배출된 기체 (문헌 [Pavord, I.D. et al., J Asthma 45, 523-531 (2008)]); 말초 혈액 호산구; 혈청 IgE; 및 YKL-40, 말초 혈액에서 검출가능한 키티나제-유사 단백질 (문헌 [Chupp, G.L., et al., N Engl J Med 357, 2016-2027 (2007)])이다. 본 발명자들은 본 발명자들의 천식 코호트에서 이들 바이오마커를 측정하고, 기도 호산구증가증 및 다른 바이오마커와 비교하였다.

[0407]

페리오스틴, FE_{NO}, IgE 또는 혈액 호산구 중 어떠한 것도 BOBCAT에서 ACQ, FEV1, 연령, 성별, 또는 체질량 지수 (BMI)와 유의하게 상호연관되지 않았다. BOBCAT에서, FE_{NO}가 보다 높은 수준으로 변할지라도 (데이터는 제시되지 않음) FE_{NO} 수준은 혈청 페리오스틴 수준과 마찬가지로 일반적으로 다수의 방문에 걸쳐 일관되었고, 반면에 혈액 호산구는 상당히 보다 가변적이었다 (방문 1 및 3 사이의 혈청 페리오스틴에 대한 $r^2=0.65$ 와 비교시 방문 1 및 3 사이의 혈액 호산구에 대한 $r^2=0.18$, 제시되지 않음). 도 14 a-f에 도시된 바와 같이, 방문 1, 2 및 3에서의 혈청 페리오스틴 수준은 BOBCAT에서 서로 및 모든 방문에 걸친 평균 페리오스틴 수준과 고도로 상호연관되었다.

[0408]

표 6에 제시된 바와 같이 객담 및 생검 호산구 스테이터스에 대해 계층화하였을 때, FE_{NO} 수준은 비호산구성 천식과 비교하여 호산구성 천식에서 유의하게 더 높았다. 그러나, FE_{NO} 및 페리오스틴이 둘 다 "저-호산구" 대상체에 대해 일관되게 낮은 값을 나타내는 고도의 특이성을 가진 반면, FE_{NO}는 조직 호산구증가증을 앓는 보다 적은 대상체를 검출하였고, 사용된 각각의 측정법에 따라 "저-호산구" 및 "고-호산구" 대상체 사이에 보다 큰 중첩을 나타내었다 (도 15a-d). 본 발명자들은 연령, 성별, BMI, 혈액 호산구, 혈청 IgE, FE_{NO} 및 혈청 페리오스틴을 포함하는 로지스틱 회귀 모델을 피팅하였고 (표 7), 페리오스틴이 복합 기도 호산구 스테이터스의 가장 유의한 단일 예측인자임을 발견하였다 ($p=0.007$).

[0409] <표 7> BOBCAT 연구 (N=59)에서의 바이오마커 대 호산구 스테이터스의 로지스틱 회귀 모델.

	추정	표준 오차	z-점수	p-값
연령	-0.0396	0.039	-1.015	0.31
성별 (남성)	-0.2031	0.889	-0.229	0.82
체질량 지수	-0.1004	0.066	-1.527	0.13
혈액 호산구	1.7482	3.621	0.483	0.63
혈청 IgE	-0.0002	0.001	-0.100	0.92
FE _{NO}	0.0476	0.038	1.238	0.22
혈청 페리오스틴	0.2491	0.092	2.719	0.007

[0410]

[0411] 이전에 기재된 바와 같은 35 ppb의 컷오프 값을 이용하여 (문헌 [Dweik, R.A., et al., Am J Respir Crit Care Med 181, 1033-1041 (2010)]), FE_{NO}는 25 ng/ml의 페리오스틴 컷오프와 비슷한 특이성으로 그러나 보다 낮은 감도로 "저-호산구" 및 "고-호산구" 천식을 구별하였다 (표 6). 말초 혈액 호산구는 "고-호산구" 천식에서 보다 높은 경향이 있었으나, 통계적 유의성에는 도달하지 않았다 (데이터는 제시되지 않음). 각각의 마커의 상대적 성능을 지속적인 근거로 평가하기 위해, 본 발명자들은 페리오스틴, FE_{NO}, 혈액 호산구 및 혈청 IgE 대 복합 기도 호산구 스테이터스의 수신자 작동 특성 (ROC) 분석을 수행하였고, 페리오스틴이 FE_{NO}에 대해 호의적으로 거동하며 (각각 0.84 및 0.79의 AUC), 반면에 혈액 호산구 및 혈청 IgE는 실질적으로 보다 덜 우수하게 거동한다는 것을 발견하였다 (도 15e).

[0412]

YKL-40은 어떠한 코호트에서의 기도 또는 말초 호산구증가증의 어떠한 측정으로도 페리오스틴과의 유의한 상관관계를 보여주지 않았다 (데이터는 제시되지 않음). 배출된 및 혈액 바이오마커 수준의 이들 발견과 일치하게, 본 발명자들은 페리오스틴의 기관지 상피 유전자 발현 수준 및 NOS2 (iNOS를 코딩하는 유전자)가 서로 및 IL-13 및 IL-5의 기관지 점막 발현 수준과 유의하게 상호연관된 반면에, CHI3L1 (YKL-40을 코딩하는 유전자)의 발현은 페리오스틴, IL-13 또는 IL-5 중 어느 것과도 상호연관되지 않았다는 것을 발견하였다 (표 8). 종합적으로, 이들 데이터는 말초 혈액 페리오스틴이 중증도의 범위 및 스테로이드 치료에 걸쳐 천식에서 FE_{NO}, 혈액 호산구, 혈청 IgE 또는 YKL-40보다 더 신뢰할만한 기도 Th2/호산구성 염증의 지표임을 시사한다.

[0413]

<표 8> 바이오마커 및 Th2 시토카인을 코딩하는 유전자의 발현 수준 사이의 상관관계 매트릭스.

	POSTN_210809_s_at	NOS2_210037_s_at	CHI3L1_209395_at
IL-13	0.42 (0.014)	0.37 (0.029)	-0.23 (0.198)
IL-5	0.42 (0.013)	0.34 (0.048)	-0.13 (0.450)
POSTN_210809_s_at	-	0.72 (<0.001)	-0.24 (0.136)
NOS2_210037_s_at	-	-	-0.34 (0.027)

값은 스피어맨의 순위 상관관계 (p-값)로 주어짐

IL-13 및 IL-5 발현 수준은 기관지내 생검으로부터 qPCR에 의해 결정됨

페리오스틴 (POSTN_210809_s_at), NOS2 (NOS2_210037_s_at), 및 YKL-40을 코딩하는 유전자인 CHI3L1 (CHI3L1_209395_at)은 문헌 [Truyen, E., L. et al. *Thorax* 61, 202-208 (2006)]에 기재된 기관지 상피 마이크로레이로부터 결정됨.

[0414]

[0415] 논의

[0416]

천식이 전통적으로 Th2-유발된 염증(1)에 의해 매개된 알레르기성 질환으로 간주되는 반면에, 병리생리학적 이질성(3-8)의 신생 증거가 있다. 본 발명자들은 최근, 스테로이드 치료 상에 있지 않은 경도-내지-중등도 천식에서, 단지 약 절반의 대상체가 그의 기도에서 Th2 염증의 증거를 갖는다는 것을 보여주었다. "고-Th2" 하위세트는 알레르기, 호산구성 기도 염증, 기관지 섬유증의 상승된 마커 및 ICS에 대한 감도에 의해 구별된다(13). Th2 시토카인 IL-4, IL-5 및 IL-13의 길항체가 천식 치료제로서 활발한 개발 하에 있기 때문에(35-37), 이들 표적화 요법으로부터 이익을 얻을 가능성이 있는 천식을 확인하는 것이 중요해질 것이다. 기관지경검사, 유발된

객담 샘플링 및 배출된 기체의 측정이 기도에서 염증성 경로의 직접 특성화를 가능하게 하지만, 이들 양식은 시간이 걸리고/거나, 비싸고/거나, 침습적이고/거나, 1차 진료 환경에서 널리 이용가능하지 않을 수 있다. 추가로, 검정 절차는 기도 샘플을 분석하기 위한 장비가 갖추진 상대적으로 소수의 센터에 걸쳐 표준화되어 있지 않으며, 이는 다중-센터 임상 시험의 시행을 도전적으로 만든다. 따라서, 표적화 요법을 위해 기도에서 Th2-유발된 호산구성 염증의 증거를 갖는 환자를 선택하기 위해, 접근가능한 검정 플랫폼 상에서 널리 이용가능한 Th2-유발된 호산구성 기도 염증의 비침습성 바이오마커를 개발하는 것은 유익할 것이다. 이 필요를 충족시키기 위해, 본 발명자들은 천식 기도 샘플에서의 유전자 발현 프로파일링을 이용하여, Th2-유발된 호산구성 기도 염증의 임상적으로 유용한 말초 바이오마커의 발견 및 특성화를 가능하게 하였다.

[0417] 페리오스틴은 배양된 기관지 상피 세포(21, 38) 및 기관지 섬유모세포(39)에서 그의 발현이 재조합 IL-4 및 IL-13에 의해 상향조절되는, 섬유증과 연관된 분화된 기질세포 단백질이다. 이것은 생체내에서 천식의 마우스 모델(40), 천식의 레서스 모델 (미공개 데이터)에서, 및 인간 천식의 기관지 상피 세포(21) 및 상피하 기관지 층(39)에서 상승된 수준으로 발현된다. 인간 천식에서, 페리오스틴 발현 수준은 상피하 섬유증의 지표인 망상 기저막 두께와 상호연관된다(23). 페리오스틴은 또한 아스피린-민감성 천식과 연관된 비강 폴립에서(41,42) 및 IL-13 의존성 방식으로 호산구성 식도염을 앓는 환자의 식도 상피에서(43) 과다발현되고, 따라서 Th2-유발된 질환 과정에서 호산구의 조직 침윤에 있어 역할을 할 수 있다(44). 상승된 페리오스틴 발현이 또한 여러 유형의 상피 유래된 암에서 관찰되었고(45-49), 가용성 페리오스틴의 상승된 수준이 일부 암 환자의 혈청에서 보고되었다(24-26, 45, 46). 천식 또는 다른 상태에서의 페리오스틴의 국부 및 전신성 발현이 IL-13의 직접 또는 간접 작용으로 인한 것인지는 아직까지 명백하지 않으며, IL-13의 치료적 차단 전후에 페리오스틴 발현을 비교하는 평가에 의해 가장 잘 다루어질 것이다.

[0418] 페리오스틴은 비-천식 대상체의 말초 혈액에서 상당한 전신성 농도로 검출되지만, ICS 치료 상에 있지 않을 때 천식의 하위세트의 말초 혈액에서 상승된다. 상당한 이질성을 갖더라도, 기관지 상피에서의 그의 발현은 ICS 치료에 의해 저해되고(13, 21), 그의 전신성 수준은 일반적으로 ICS 상에 있지 않은 천식과 비교하여 ICS 상에서 상대적으로 잘 제어된 중등도 천식에서 일반적으로 보다 낮다. ICS가 주로 기도에서 국부적으로 그의 효과를 발휘하고 전신성 페리오스틴 수준 (본 발명자들이 이전에 보여준 바와 같음, 예를 들어 국제 특허 공보 번호 W02009/124090 참조)이 ICS 치료를 받은 후에 천식에서 억제되므로, 천식에서 전신성 페리오스틴의 실질적 분획은 기도에서 기원하며 따라서 전신성 페리오스틴 수준에서의 10-20%의 차이는 기도 염증에 관하여 임상적으로 유의한 것으로 결론지을 수 있다.

[0419] FE_{N0}는 기도 염증과 연관되고, 다양한 중증도의 천식에서 ICS 반응성을 예측한다(11, 34). 그러나, FE_{N0} 수준은 중증, 스테로이드-의존성 천식에서의 기도 호산구증가증을 신뢰가능하게 반영하지 않고, FE_{N0}에 관하여 객담과 점막 호산구 정량화 사이의 불일치가 있다 (29, 50). 객담 호산구 카운트를 저해하기 위해 ICS 치료를 적정하는 것은 중증 천식 악화의 속도를 감소시키지만(12), FE_{N0} 수준에 대해 ICS 치료를 적정하는 것은 그렇지 않다(51). 혈청 YKL-40은 천식성 기도 염증의 마커로서 기재되어 있으나, 그의 수준은 Th2 염증의 척도, 예컨대 IgE 또는 호산구와 상호연관되지 않았다(33). 따라서, 본 연구에서 본 발명자들은 페리오스틴 및 NOS2의 기관지 상피 유전자 발현 수준이 기관지 IL-13 및 IL-5 발현과 상호연관되었으나 CHI3L1은 그렇지 않았다는 것을 발견하였다 (표 8). 본 발명자들이 기관지 또는 전신성 호산구증가증과 혈청 페리오스틴 수준 사이에서 상대적으로 강한 양성 상관관계를 관찰한 반면에, 호산구증가증과 FE_{N0} 사이의 상관관계는 보다 약했고, 본 발명자들은 연구된 천식에서 혈청 YKL-40과 호산구성 염증 사이에서 상관관계를 관찰하는데 실패하였다. 객담 및 혈액 호산구 카운트 및 FE_{N0}는 알레르겐 노출, 악화 및 스테로이드 치료에 따라 달라지는 유의한 일시적 가변성에 의해 지배된다(50, 52, 53). 순환성 페리오스틴의 반감기가 현재 알려져 있지 않은 반면에, 페리오스틴이 혈액 중에서 상대적으로 장기-생존하면, 전신성 페리오스틴 수준이 연장된 기간에 걸쳐 총 기도 Th2 염증의 통합을 반영할 수 있다. 이 가능성과 일치하도록, 본 발명자들은 최고 5주의 과정에 걸쳐 3회의 측정에서 혈청 페리오스틴에서의 대상체내 가변성이 상대적으로 거의 없는 것을 관찰하였다 (데이터는 제시되지 않음). 미래의 연구는 보다 장기간에 걸쳐 혈청 페리오스틴, 기도 호산구증가증, FE_{N0}, 및 Th2 염증의 다른 후보 바이오마커에서의 종적인 대상체내 가변성을 비교를 통해 평가하는 것을 지향하여야 한다.

[0420] 대증 요법 (예를 들어, β -효능제)으로 잘 제어되지 않는 기관지 천식에 대한 관리 표준은 흡입용 코르티코스테로이드 (ICS)이다. 기도에서의 IL-13의 상승된 수준을 갖는 경도-내지-중등도 천식환자(19), 및 식도 조직에서의 IL-13의 상승된 발현 수준을 갖는 호산구성 식도염 환자(43)에서, ICS 치료는 병든 조직에서 IL-13 및 IL-13-유도된 유전자의 수준을 실질적으로 감소시킨다. ICS 치료 1주 후 천식환자의 기도 상피 및 배양된 기관지

상피 세포에서, 본 발명자들은 코르티코스테로이드 치료가 Th2 특징 유전자의 IL-13-유도된 발현 수준을 실질적으로 감소시킨다는 것을 보여주었다(13, 21). 이 하향조절은 IL-13 수준의 ICS-매개된 감소, 표적 유전자 발현의 ICS-매개된 저하, 또는 둘의 조합의 결과일 수 있다. ICS 치료에 대해 불응성인 중증의 천식환자에서는, 유사한 분획의 대상체 (대략 40%)가 검출가능한 객담 IL-13 수준 내지 경도, ICS-미경험 천식환자에서 관찰된 수준을 갖는 것으로 밝혀졌고(19), 이는 본 발명자들이 기재한 기관지 상피 Th2 특징을 갖는 대상체의 비율과 비슷하다(13). 유사한 관찰이 BAL에서의 IL-4 및 IL-5 발현 세포의 스테로이드-불응성 천식(54) 및 기관지 생검 및 객담에서의 호산구성 염증(8)에서 지속적으로 보고되었다. 이들 관찰은, Th2-유발된 호산구성 염증이 중등도 천식에서 ICS 치료에 의해 저해될지라도, 이는 스테로이드 치료에 의해 불완전하게 제어된 중증 천식의 하위 세트에서 다시 나타난다는 것을 시사한다. 추가의 합병증은 처방된 ICS 요법에 대한 불완전한 유착에 의해 발생되며, 이는 일부 중증 천식에서의 불량한 제어에 기반할 수 있다. 따라서, 미래의 연구는 제어된 및 제어되지 않은 천식에서의 ICS 치료 스테이터스, ICS 용량, 내재성 스테로이드 민감성, 및 ICS 요법에 대한 유착의 맥락에서 혈액 페리오스틴 수준을 평가하는 것을 지향하여야 한다.

[0421] 현재, 본원에 기재된 것들을 비롯하여, IL-13 및 천식에서 Th2 염증을 유발하는 관련 인자를 표적화하는 임상 개발 중인 다수의 생물학적 치료제가 있다(35-37). 이들 치료가 적당한 분자 병리상태를 갖는 환자에게 표적화되는 것이 중요하며, 달리 중요한 치료 효과가 과소평가될 수 있고; 항-IL5 요법의 연구가 이 점을 강조한다(14, 15, 55). 본 발명자들의 발견은 스테로이드-미경험 경도-내지-중등도 천식환자 중 대략 절반이 그의 기도에서 Th2 경로의 활성을 나타낼 수 있고, 유사한 분획의 중등도-내지-중증, 스테로이드-불응성 천식환자가 상기 경로의 활성을 나타낸다는 것을 시사한다. 따라서, 본원에 기재된 바와 같이, 그의 기도에서 Th2 유발된 염증을 가질 가능성이 있는 천식환자를 확인하는 바이오마커는 이들 실험적인 표적화 요법에 반응할 가능성이 가장 높은 환자의 확인 및 선택에 도움을 줄 수 있다.

[0422] 참고문헌 (실시예 5)

1. Galli, S.J., M. Tsai and A.M. Piliponsky, The development of allergic inflammation. *Nature* **454**, 445-454 (2008)
2. Haldar, P. and I.D. Pavord, Noneosinophilic asthma: a distinct clinical and pathologic phenotype. *J Allergy Clin Immunol* **119**, 1043-1052; quiz 1053-1044 (2007)
3. Anderson, G.P., Endotyping asthma: new insights into key pathogenic mechanisms in a complex, heterogeneous disease. *Lancet* **372**, 1107-1119 (2008)
4. Moore, W.C., D.A. Meyers, S.E. Wenzel, W.G. Teague, H. Li, X. Li, R. D'Agostino, Jr., M. Castro, D. Curran-Everett, A.M. Fitzpatrick, B. Gaston, N.N. Jarjour, R. Sorkness, W.J. Calhoun, K.F. Chung, S.A. Comhair, R.A. Dweik, E. Israel, S.P. Peters, W.W. Busse, S.C. Erzurum and E.R. Bleecker, Identification of asthma phenotypes using cluster analysis in the Severe Asthma Research Program. *Am J Respir Crit Care Med* **181**, 315-323 (2010)
5. Siddiqui, S. and C.E. Brightling, Airways disease: phenotyping heterogeneity using measures of airway inflammation. *Allergy Asthma Clin Immunol* **3**, 60-69 (2007)
6. Simpson, J.L., R. Scott, M.J. Boyle and P.G. Gibson, Inflammatory subtypes in asthma: assessment and identification using induced sputum. *Respirology* **11**, 54-61 (2006)
7. Wardlaw, A.J., M. Silverman, R. Siva, I.D. Pavord and R. Green, Multi-dimensional phenotyping: towards a new taxonomy for airway disease. *Clin Exp Allergy* **35**, 1254-1262 (2005)
8. Wenzel, S.E., S.J. Szefler, D.Y. Leung, S.I. Sloan, M.D. Rex and R.J. Martin, Bronchoscopic evaluation of severe asthma. Persistent inflammation associated with high dose glucocorticoids. *Am J Respir Crit Care Med* **156**, 737-743 (1997)
9. Fahy, J.V., Eosinophilic and neutrophilic inflammation in asthma: insights from clinical studies. *Proc Am Thorac Soc* **6**, 256-259 (2009)
10. Fahy, J.V., Identifying clinical phenotypes of asthma: steps in the right direction. *Am J Respir Crit Care Med* **181**, 296-297 (2010)

[0423]

11. Cowan, D.C., J.O. Cowan, R. Palmay, A. Williamson and D.R. Taylor, Effects of steroid therapy on inflammatory cell subtypes in asthma. *Thorax* **65**, 384-390 (2010)
12. Green, R.H., C.E. Brightling, S. McKenna, B. Hargadon, D. Parker, P. Bradding, A.J. Wardlaw and I.D. Pavord, Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: a randomised controlled trial. *Lancet* **360**, 1715-1721 (2002)
13. Woodruff, P.G., B. Modrek, D.F. Choy, G. Jia, A.R. Abbas, A. Ellwanger, L.L. Koth, J.R. Arron and J.V. Fahy, T-helper type 2-driven inflammation defines major subphenotypes of asthma. *Am J Respir Crit Care Med* **180**, 388-395 (2009)
14. Haldar, P., C.E. Brightling, B. Hargadon, S. Gupta, W. Monteiro, A. Sousa, R.P. Marshall, P. Bradding, R.H. Green, A.J. Wardlaw and I.D. Pavord, Mepolizumab and exacerbations of refractory eosinophilic asthma. *N Engl J Med* **360**, 973-984 (2009)
15. Nair, P., M.M. Pizzichini, M. Kjarsgaard, M.D. Inman, A. Efthimiadis, E. Pizzichini, F.E. Hargreave and P.M. O'Byrne, Mepolizumab for prednisone-dependent asthma with sputum eosinophilia. *N Engl J Med* **360**, 985-993 (2009)
16. Hershey, G.K., IL-13 receptors and signaling pathways: an evolving web. *J Allergy Clin Immunol* **111**, 677-690; quiz 691 (2003)
17. Berry, M.A., D. Parker, N. Neale, L. Woodman, A. Morgan, P. Monk, P. Bradding, A.J. Wardlaw, I.D. Pavord and C.E. Brightling, Sputum and bronchial submucosal IL-13 expression in asthma and eosinophilic bronchitis. *J Allergy Clin Immunol* **114**, 1106-1109 (2004)
18. Humbert, M., S.R. Durham, P. Kimmitt, N. Powell, B. Assoufi, R. Pfister, G. Menz, A.B. Kay and C.J. Corrigan, Elevated expression of messenger ribonucleic acid encoding IL-13 in the bronchial mucosa of atopic and nonatopic subjects with asthma. *J Allergy Clin Immunol* **99**, 657-665 (1997)
19. Saha, S.K., M.A. Berry, D. Parker, S. Siddiqui, A. Morgan, R. May, P. Monk, P. Bradding, A.J. Wardlaw, I.D. Pavord and C.E. Brightling, Increased sputum and bronchial biopsy IL-13 expression in severe asthma. *J Allergy Clin Immunol* **121**, 685-691 (2008)
20. Truyen, E., L. Coteur, E. Dilissen, L. Overbergh, L.J. Dupont, J.L. Ceuppens and D.M. Bullens, Evaluation of airway inflammation by quantitative Th1/Th2 cytokine mRNA measurement in sputum of asthma patients. *Thorax* **61**, 202-208 (2006)
21. Woodruff, P.G., H.A. Boushey, G.M. Dolganov, C.S. Barker, Y.H. Yang, S. Donnelly, A. Ellwanger, S.S. Sidhu, T.P. Dao-Pick, C. Pantoja, D.J. Erle, K.R. Yamamoto and J.V. Fahy, Genome-wide profiling identifies epithelial cell genes associated with asthma and with treatment response to corticosteroids. *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**, 15858-15863 (2007)
22. Winpenny, J.P., L.L. Marsey and D.W. Sexton, The CLCA gene family: putative therapeutic target for respiratory diseases. *Inflamm Allergy Drug Targets* **8**, 146-160 (2009)
23. Sidhu, S.S., S. Yuan, A.L. Innes, S. Kerr, P.G. Woodruff, L. Hou, S.J. Muller and J.V. Fahy, Roles of epithelial cell-derived periostin in TGF- β activation, collagen production, and collagen gel elasticity in asthma. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2010)
24. Sasaki, H., M. Dai, D. Auclair, I. Fukai, M. Kiriya, Y. Yamakawa, Y. Fujii and L.B. Chen, Serum level of the periostin, a homologue of an insect cell adhesion molecule, as a prognostic marker in nonsmall cell lung carcinomas. *Cancer* **92**, 843-848 (2001)
25. Sasaki, H., K.M. Lo, L.B. Chen, D. Auclair, Y. Nakashima, S. Moriyama, I. Fukai, C. Tam, M. Loda and Y. Fujii, Expression of Periostin, homologous with an insect cell

[0424]

- adhesion molecule, as a prognostic marker in non-small cell lung cancers. *Jpn J Cancer Res* **92**, 869-873 (2001)
26. Sasaki, H., C.Y. Yu, M. Dai, C. Tam, M. Loda, D. Auclair, L.B. Chen and A. Elias, Elevated serum periostin levels in patients with bone metastases from breast but not lung cancer. *Breast Cancer Res Treat* **77**, 245-252 (2003)
27. Gibson, P.G., Inflammatory phenotypes in adult asthma: clinical applications. *Clin Respir J* **3**, 198-206 (2009)
28. Chanez, P., S.E. Wenzel, G.P. Anderson, J.M. Anto, E.H. Bel, L.P. Boulet, C.E. Brightling, W.W. Busse, M. Castro, B. Dahlen, S.E. Dahlen, L.M. Fabbri, S.T. Holgate, M. Humbert, M. Gaga, G.F. Joos, B. Levy, K.F. Rabe, P.J. Sterk, S.J. Wilson and I. Vachier, Severe asthma in adults: what are the important questions? *J Allergy Clin Immunol* **119**, 1337-1348 (2007)
29. Lemiere, C., P. Ernst, R. Olivenstein, Y. Yamauchi, K. Govindaraju, M.S. Ludwig, J.G. Martin and Q. Hamid, Airway inflammation assessed by invasive and noninvasive means in severe asthma: eosinophilic and noneosinophilic phenotypes. *J Allergy Clin Immunol* **118**, 1033-1039 (2006)
30. Miranda, C., A. Busacker, S. Balzar, J. Trudeau and S.E. Wenzel, Distinguishing severe asthma phenotypes: role of age at onset and eosinophilic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* **113**, 101-108 (2004)
31. Silkoff, P.E., A.M. Lent, A.A. Busacker, R.K. Katial, S. Balzar, M. Strand and S.E. Wenzel, Exhaled nitric oxide identifies the persistent eosinophilic phenotype in severe refractory asthma. *J Allergy Clin Immunol* **116**, 1249-1255 (2005)
32. Pavord, I.D. and D. Shaw, The use of exhaled nitric oxide in the management of asthma. *J Asthma* **45**, 523-531 (2008)
33. Chupp, G.L., C.G. Lee, N. Jarjour, Y.M. Shim, C.T. Holm, S. He, J.D. Dziura, J. Reed, A.J. Coyle, P. Kiener, M. Cullen, M. Grandsaigne, M.C. Dombret, M. Aubier, M. Pretolani and J.A. Elias, A chitinase-like protein in the lung and circulation of patients with severe asthma. *N Engl J Med* **357**, 2016-2027 (2007)
34. Dweik, R.A., R.L. Sorkness, S. Wenzel, J. Hammel, D. Curran-Everett, S.A. Comhair, E. Bleeker, W. Busse, W.J. Calhoun, M. Castro, K.F. Chung, E. Israel, N. Jarjour, W. Moore, S. Peters, G. Teague, B. Gaston and S.C. Erzurum, Use of exhaled nitric oxide measurement to identify a reactive, at-risk phenotype among patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* **181**, 1033-1041 (2010)
35. Barnes, P.J., The cytokine network in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *J Clin Invest* **118**, 3546-3556 (2008)
36. Holgate, S.T. and R. Polosa, Treatment strategies for allergy and asthma. *Nat Rev Immunol* **8**, 218-230 (2008)
37. Walsh, G.M., Emerging drugs for asthma. *Expert Opin Emerg Drugs* **13**, 643-653 (2008)
38. Yuyama, N., D.E. Davies, M. Akaiwa, K. Matsui, Y. Hamasaki, Y. Suminami, N.L. Yoshida, M. Maeda, A. Pandit, J.L. Lordan, Y. Kamogawa, K. Arima, F. Nagumo, M. Sugimachi, A. Berger, I. Richards, S.L. Roberds, T. Yamashita, F. Kishi, H. Kato, K. Arai, K. Ohshima, J. Tadano, N. Hamasaki, S. Miyatake, Y. Sugita, S.T. Holgate and K. Izuhara, Analysis of novel disease-related genes in bronchial asthma. *Cytokine* **19**, 287-296 (2002)
39. Takayama, G., K. Arima, T. Kanaji, S. Toda, H. Tanaka, S. Shoji, A.N. McKenzie, H. Nagai, T. Hotokebuchi and K. Izuhara, Periostin: a novel component of subepithelial fibrosis of bronchial asthma downstream of IL-4 and IL-13 signals. *J Allergy Clin Immunol* **118**, 98-104 (2006)

40. Hayashi, N., T. Yoshimoto, K. Izuhara, K. Matsui, T. Tanaka and K. Nakanishi, T helper 1 cells stimulated with ovalbumin and IL-18 induce airway hyperresponsiveness and lung fibrosis by IFN-gamma and IL-13 production. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**, 14765-14770 (2007)
41. Plager, D.A., J.C. Kahl, Y.W. Asmann, A.E. Nilson, J.F. Pallanch, O. Friedman and H. Kita, Gene transcription changes in asthmatic chronic rhinosinusitis with nasal polyps and comparison to those in atopic dermatitis. *PLoS One* **5**, e11450 (2010)
42. Stankovic, K.M., H. Goldsztein, D.D. Reh, M.P. Platt and R. Metson, Gene expression profiling of nasal polyps associated with chronic sinusitis and aspirin-sensitive asthma. *Laryngoscope* **118**, 881-889 (2008)
43. Blanchard, C., M.K. Mingler, M. Vicario, J.P. Abonia, Y.Y. Wu, T.X. Lu, M.H. Collins, P.E. Putnam, S.I. Wells and M.E. Rothenberg, IL-13 involvement in eosinophilic esophagitis: transcriptome analysis and reversibility with glucocorticoids. *J Allergy Clin Immunol* **120**, 1292-1300 (2007)
44. Blanchard, C., M.K. Mingler, M. McBride, P.E. Putnam, M.H. Collins, G. Chang, K. Stringer, J.P. Abonia, J.D. Molkenstein and M.E. Rothenberg, Periostin facilitates eosinophil tissue infiltration in allergic lung and esophageal responses. *Mucosal Immunol* **1**, 289-296 (2008)
45. Baril, P., R. Gangeswaran, P.C. Mahon, K. Caulee, H.M. Kocher, T. Harada, M. Zhu, H. Kalthoff, T. Crnogorac-Jurcevic and N.R. Lemoine, Periostin promotes invasiveness and resistance of pancreatic cancer cells to hypoxia-induced cell death: role of the beta4 integrin and the PI3k pathway. *Oncogene* **26**, 2082-2094 (2007)
46. Ben, Q.W., Z. Zhao, S.F. Ge, J. Zhou, F. Yuan and Y.Z. Yuan, Circulating levels of periostin may help identify patients with more aggressive colorectal cancer. *Int J Oncol* **34**, 821-828 (2009)
47. Kudo, Y., I. Ogawa, S. Kitajima, M. Kitagawa, H. Kawai, P.M. Gaffney, M. Miyauchi and T. Takata, Periostin promotes invasion and anchorage-independent growth in the metastatic process of head and neck cancer. *Cancer Res* **66**, 6928-6935 (2006)
48. Puglisi, F., C. Puppini, E. Pegolo, C. Andretta, G. Pascoletti, F. D'Aurizio, M. Pandolfi, G. Fasola, A. Piga, G. Damante and C. Di Loreto, Expression of periostin in human breast cancer. *J Clin Pathol* **61**, 494-498 (2008)
49. Siriwardena, B.S., Y. Kudo, I. Ogawa, M. Kitagawa, S. Kitajima, H. Hatano, W.M. Tilakaratne, M. Miyauchi and T. Takata, Periostin is frequently overexpressed and enhances invasion and angiogenesis in oral cancer. *Br J Cancer* **95**, 1396-1403 (2006)
50. Nair, P., M. Kjarsgaard, S. Armstrong, A. Efthimiadis, P.M. O'Byrne and F.E. Hargreave, Nitric oxide in exhaled breath is poorly correlated to sputum eosinophils in patients with prednisone-dependent asthma. *J Allergy Clin Immunol* (2010)
51. Shaw, D.E., M.A. Berry, M. Thomas, R.H. Green, C.E. Brightling, A.J. Wardlaw and I.D. Pavord, The use of exhaled nitric oxide to guide asthma management: a randomized controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* **176**, 231-237 (2007)
52. Pavord, I.D., P.K. Jeffery, Y. Qiu, J. Zhu, D. Parker, A. Carlsheimer, I. Naya and N.C. Barnes, Airway inflammation in patients with asthma with high-fixed or low-fixed plus as-needed budesonide/formoterol. *J Allergy Clin Immunol* **123**, 1083-1089, 1089 e1081-1087 (2009)
53. D'Silva, L., R.J. Cook, C.J. Allen, F.E. Hargreave and K. Parameswaran, Changing pattern of sputum cell counts during successive exacerbations of airway disease. *Respir Med* **101**, 2217-2220 (2007)

[0426]

54. Leung, D.Y., R.J. Martin, S.J. Szefer, E.R. Sher, S. Ying, A.B. Kay and Q. Hamid, Dysregulation of interleukin 4, interleukin 5, and interferon gamma gene expression in steroid-resistant asthma. *J Exp Med* **181**, 33-40 (1995)
55. Flood-Page, P., C. Swenson, I. Faiferman, J. Matthews, M. Williams, L. Brannick, D. Robinson, S. Wenzel, W. Busse, T.T. Hansel and N.C. Barnes, A study to evaluate safety and efficacy of mepolizumab in patients with moderate persistent asthma. *Am J Respir Crit Care Med* **176**, 1062-1071 (2007).

[0427]

[0428] 실시예 6 - 천식 환자 연구 III (안전성, 내약성 및 효능을 평가하기 위함)

[0429]

연구는 ICS (500 내지 2000 μ g/일 플루티카손 프로피오네이트 건조 분말 흡입기 [DPI] 또는 등가물) + 제2 제어제 의약, 예컨대 장기-작용 β -효능제 (LABA), 류코트리엔 수용체 길항제 (LTRA), 장기 작용 무스카린성 길항제 (LAMA) 또는 테오필린으로의 매일 요법에 불구하고 제어되지 않고 남아있는 중증 천식을 앓는 환자에서의 레브리키주맙의 무작위, 다중센터, 이중-맹검, 위약-대조, 평행-군 연구일 것이다. 본 연구는 또한 (일렉시스® 검정에 의해 측정시) 혈청 페리오스틴 ≥ 50 ng/mL의 기준선 수준의 진단상 값을 평가할 것이다. ICS 및 제2 제어제 의약을 포함해야만 하는 그의 관리 표준 요법을 계속하는 동안, 환자는 52-주 위약-대조 기간 동안 3회 용량의 레브리키주맙 또는 위약 중 하나에 무작위로 할당될 것이다.

[0430]

스크리닝 기간으로도 또한 지칭되는 2-주 준비 기간 동안 (방문 1 내지 방문 3), 환자는 그의 현재 천식 요법에 대한 순응, 및 연구 전체에 걸친 월간 임상 방문에 필요한 장비를 사용하는 그의 능력, 뿐만 아니라 그의 관리 표준 의약에 의해 제공되는 천식 제어의 정도에 대해 평가될 것이다. 천식 제어 설문지 (ACQ-5) 점수 ≥ 1.5

및 제어되지 않는 (야간 각성 ≥ 1 회/주, 증상 >2 일/주, SABA 사용 > 2 일/주, 및/또는 일상적 활동에 대한 방해) 천식의 하나 이상의 증상을 보고하는 환자는 제어되지 않는 것으로 간주될 것이다. 제어제 의약에 대한 유착에도 불구하고 방문 1 또는 2 및 방문 3에서 제어되지 않고 남아있는 환자는 참여하기에 적격일 것이다. 스크리닝 기간은 유착 데이터가 완전하지 않은 경우에 및 방문 3에서 ACQ-5가 < 1.5 인 환자의 경우에, 연구자의 이 환자와의 경험이 이 주가 그의 질환에 대해 예외적이었음을 시사하는 경우에 1주만큼 연장될 수 있다. 환자는 추가로 2회까지 선택된 이유에 대한 재스크리닝에 대해 적격일 수 있다.

[0431] 준비 (스크리닝) 기간의 끝에, 적격인 환자는 연구 약물 (위약 또는 레브리키주맙 매월 37.5 mg SC, 매월 125 mg SC, 또는 매 4주마다 250 mg SC)에 무작위로 배정될 것이다 (1:1:1:1). 무작위화는 일렉시스® 검정을 이용하여 측정시 기준선 혈청 페리오스틴 (< 42 ng/mL, ≥ 42 내지 < 50 ng/mL, ≥ 50 내지 < 58 ng/mL, ≥ 58 ng/mL), 지난 12개월 내의 천식 악화의 병력 (0, 1-2, ≥ 3 개의 사례), 기준선 천식 의약 (ICS 용량 ≥ 1000 μ g/일의 플루티카손 프로피오네이트 DPI 또는 등가물 + LABA [예, 아니오]), 및 지리적 영역 (미국/캐나다, 유럽, 아시아, 지구의 나머지)에 의해 계층화될 것이다. 환자는 그의 관리표준 요법의 안정적 용량을 계속할 것이며, 이는 52주 동안 이중-맹검 연구 치료를 제공받는 것 뿐만 아니라 ICS (500 내지 2000 μ g/일의 플루티카손 프로피오네이트 DPI 또는 등가물) 및 제2 제어제 의약을 포함해야만 한다.

[0432] 연구 치료의 제1 SC 주사는 무작위화와 동일한 날 (방문 3 [제1일])에 일어날 것이며, 투약은 52-주 위약 대조 기간에 걸쳐 매 4주마다 1회 (총 13회의 연구 치료 용량을 위해) 반복될 것이다. 안전성, 효능 및 환자 보고된 결과 (PRO) 척도가 52주 위약-대조 기간 전체에 걸쳐 평가될 것이다. 1차 효능 중점은 천식 악화의 속도이며, 52-주 위약-대조 기간에 걸쳐 평가될 것이다.

[0433] 52-주 위약-대조 기간을 완료한 환자 (즉, 연구 치료를 조기에 중지하지 않은 환자)는 52-주 활성-치료 연장을 계속할 것이다.

[0434] 52-주 활성-치료 연장 연구를 계속하는 모든 환자는 매 4주마다 125 mg 또는 250 mg의 용량으로 이중 맹검 SC 레브리키주맙을 제공받을 것이다. 52-주 위약 대조 기간 동안 125 mg 또는 250 mg 레브리키주맙을 제공받도록 할당된 환자는 그의 할당된 레브리키주맙 용량 상에 남아있을 것이다. 52-주 위약 대조 기간 동안 매 4주마다 위약 또는 레브리키주맙 37.5 mg을 SC로 제공받도록 할당된 환자는 52-주 활성-치료 연장 동안 매 4주마다 SC 레브리키주맙 125 mg 또는 250 mg에 1:1 비로 무작위화될 것이며, 무작위화는 기준선 페리오스틴 수준 및 치료 전 할당에 의해 계층화된다.

[0435] 52-주 활성-치료 연장의 제76주째에, 각각의 환자는 3회의 가장 최근 방문 (제68, 72 및 76주)으로부터의 데이터를 이용하여 천식 제어에 대해 평가될 것이다. 천식 증상이 연속 12주 동안 제어되고 (각각의 평가에서 ACQ 5 ≤ 0.75) 활성-치료 연장의 처음 절반 (제52-76주) 내에 어떠한 악화도 갖지 않은 환자는 레브리키주맙 요법을 중지하고 추적 기간에 진입할 것이다. 추적 동안, 환자는 연구 약물의 마지막 용량 후 24주 동안 안전성에 대해 추적될 것이다. 제76주째에 증후성으로 남아있거나 (ACQ-5 > 0.75) 또는 활성-치료 연장의 처음 절반 (제52-76주) 동안 악화 사례를 경험한 환자는 추가로 28주 동안 레브리키주맙 치료를 계속할 것이다. 안전성, 효능 및 PRO 척도는 52-주 활성-치료 연장 전체에 걸쳐 평가될 것이다.

[0436] 추적 기간에, 모든 환자는 프로토콜에서 또는 연구 치료로부터의 조기 중단 사례에서 계획된 바와 같이, 연구 치료의 마지막 용량 후 24주 동안 (약물의 > 5 반감기) 이것이 일어날 수 있을 때라면 언제든지 안전성에 대해 추적될 것이다. 방문 23 (제76주)을 통해 연구를 완료하였고, 잘 제어되고, 연구 치료를 중단한 환자의 경우에, 방문 23은 안전성 추적 방문 1을 대체할 것이다. 방문 30 (제104주)을 통해 전체 연구를 완료한 환자의 경우에, 방문 30은 안전성 추적 방문 1을 대체할 것이다. 이들 경우 둘 다에서, 추적 기간 중의 다음 방문은 제12주째의 안전성 추적 방문 2일 것이다. 다른 모든 환자의 경우에, 제1 추적 방문은 안전성 추적 기간의 제4주째의 (연구 치료의 마지막 용량 대략 4주 후) 안전성 추적 방문 1일 것이다.

[0437] 52-주 위약-대조 기간, 52-주 활성-치료 연장 및 안전성 추적 기간을 포함하여, 방문 3 (제1일)에서의 무작위화로부터의 연구에서의 총 참여는 124주만큼 길어질 수 있다.

[0438] 대략 1400명의 환자 (페리오스틴 군 [고 페리오스틴 ≥ 50 ng/mL, 저 페리오스틴 < 50 ng/mL] 당 치료군 [SC 레브리키주맙 250 mg, 125 mg, 37.5 mg 또는 위약] 당 175명의 환자)는 전세계적으로 위치한 대략 250개의 장소에서 연구에 등록될 것이다. 최소 650명의 환자가 고 페리오스틴 군 (≥ 50 ng/mL)에 등록될 것이다. ICS 플루티카손 ≥ 1000 μ g/일 DPI 또는 등가물 + LABA 상에 있는 최소 대략 450명의 환자가 등록될 것이다.

[0439] 핵심 포함 기준은 하기를 포함한다: 스크리닝 ≥ 12 개월 전의 천식 진단; 기관지확장제 반응/가역성: 환자는 스

크리닝 기간 동안 단기-작용 β -효능제 (예를 들어, 알부테롤 또는 살부타몰)의 4 퍼프에 반응하여 기관지확장제 반응 $\geq 12\%$ 를 가져야 함; 방문 2 및 방문 3 둘 다에서의 예측된 기관지확장제-전 FEV1 40%-80%; 스크리닝 전 ≥ 6 개월 동안 > 500 (예를 들어, 500 내지 2000) μg 의 플루티카손 프로피오네이트 DPI 또는 등가물 (총 1일 용량)의 ICS 상에 있음; 스크리닝 전 6개월 동안 제2 제어제 의약 (예를 들어, 처방된 투약 범위 내의 LABA, LAMA, LTRA 또는 테오필린); 스크리닝 기간 동안 (즉, 방문 1 [제-14일] 또는 방문 2 [제-7일]) 및 무작위화 시점 (방문 3 [제1일]) 둘 다에 입증된 제어되지 않는 천식, 하기와 같이 정의됨: ACQ-5 스코어 ≥ 1.5 및 [National Heart, Lung, and Blood Institute 및 National Asthma Education and Prevention Program Expert Panel Report 3 (2007) 및 Global Initiative for Asthma (2010) guidelines]에 기반하여 제어되지 않는 것인 하기 천식 증상 중 적어도 하나:

[0440] · 증상 > 2 일/주

[0441] · 야간 각성 ≥ 1 회/주

[0442] · 구급 의약으로서의 SABA의 사용 > 2 일/주

[0443] · 정상적인 일상적 활동에 대한 방해;

[0444] 다른 폐 질환의 부재를 확인하는 방문 1 전 12개월 내에 취득된 흉부 X선 또는 컴퓨터 단층촬영 (CT) 스캔 또는 스크리닝 기간 동안의 흉부 X선; 및 스크리닝 기간 동안 $\geq 70\%$ 의 제어제 의약에 대한 입증된 유착 (유착은 환자가 그의 피크 유량 측정 장치에 기록시 스크리닝 기간 (방문 1 내지 방문 3) 동안 일수의 $\geq 70\%$ 에 그의 천식 제어제 요법을 수행하는 것에 긍정적으로 반응하는 것으로서 정의됨).

[0445] 핵심 배제 기준은 하기를 포함한다: 생물학적 작용제에 대한 중증 알레르기 반응 또는 아나필락시스성 반응, 또는 레브리키주맵 주사의 임의의 성분에 대한 공지된 과민증의 병력; 방문 1 전 3개월 내에 매일 또는 격일 경구 코르티코스테로이드 유지 요법으로 정의된 유지 경구 코르티코스테로이드 요법; 급성 악화 사례를 비롯한 임의의 이유로 전신성 (경구, 정맥내 (IV) 또는 근육내 (IM)) 코르티코스테로이드를 요구한, 스크리닝 전 4주 동안 (방문 1) 또는 스크리닝 동안 임의의 시점의 천식 악화; 하기 중 임의의 것을 요구하는 감염의 주요 에피소드:

[0446] 1. 스크리닝 (방문 1) 전 4주 내의 > 24 시간 동안의 입원

[0447] 2. 스크리닝 (방문 1) 4주 내의 IV 항생제로의 치료

[0448] 3. 스크리닝 (방문 1) 전 2주 내의 경구 항생제;

[0449] 방문 1 전 6개월 내의 활성 기생충 감염; 스크리닝 전 12개월 내의 치료를 요구하는 결핵 (치료를 완료한 후 12개월 내에 어떠한 재발도 없이 결핵이 치료된 환자는 허용됨); HIV 감염을 포함하나 이에 제한되지는 않는 공지된 면역결핍; 면역조절 요법의 현재의 사용; 공지된 현재의 악성종양 또는 잠재적 악성종양에 대한 현재의 평가; 활성 간염 B/C 또는 불안정한 간 질환의 증거; 스크리닝 전 6개월 내의 활성 기생충 감염; 정상 상한의 ≥ 2.0 의 AST/ALT 상승; 만성 섬유증, 만성 폐쇄성 폐 질환 및/또는 천식 이외의 다른 임상적으로 유의한 폐 질환의 병력; 현재 흡연자 또는 연간 >10 팩의 흡연 경력; 스크리닝 전 6개월 동안 임의의 시점에 생물학 요법의 이용; 연구의 지속기간 동안 고도로 효과적인 피임 방법을 이용할 의향이 없거나 또는 임신중이거나 수유중인 생식 잠재력이 있는 여성 환자; 다른 불안정한 의학적 질환; 체질량 지수 $>38 \text{ kg/m}^2$; 체중 $<40 \text{ kg}$.

[0450] 제III상 투약 근거

[0451] 인구 PK 분석

[0452] 예비 인구 PK 모델이 성인 환자에서의 레브리키주맵의 PK 프로파일을 설명하기 위해 개발되었다. 상기 기재된 연구에서의 333명의 레브리키주맵-치료된 환자로부터의 총 4914개의 혈청 농도-시간 샘플을 사용하여 모델을 개발하였다. 각각의 연구에서 관찰된 평균 PK 프로파일과 병력 데이터로부터 예측된 프로파일 사이의 우수한 일치에 의해 증명된 바와 같이, 연구에 걸쳐 어떠한 명백한 차이도 관찰되지 않았다.

[0453] 1차 흡수 및 배설 동역학을 갖는 2-구획 모델은 혈청 레브리키주맵 농도-시간 데이터를 충분히 설명하였다. 구조적 모델 파라미터는 SC 투여 후의 청소율 (CL), 중심 구획의 분포 부피 (V_1), 주변 구획의 부피 (V_2), 구획간 청소율 (Q), 뿐만 아니라 1차 흡수율 (K_a) 및 생체이용률 (F)을 포함하였다. V_2 와 Q를 제외하고는 (이들은 모평균 값에 고정되었음), 모든 파라미터는 로그 정규 분포인 것으로 가정되었다.

[0454] 모평균 CL 및 V_1 은 각각 0.18 L/일 및 3.7 L인 것으로 추정되었다. 모평균 생체이용률은 76%로 추정되었다. PK 파라미터의 개체간 가변성은 15% 내지 27%의 범위로 보통이었다. 체중은 레브리키주맙의 CL 및 분포 부피에 대해 유의한 공변량인 것으로 밝혀졌고, 보다 높은 중량은 보다 높은 청소율 및 보다 높은 분포 부피와 연관되었다. 대략 19%의 CL에서의 개체간 가변성 및 11%의 V_1 에서의 개체간 가변성은 체중에 의해 설명되었다. 추정된 집단 PK 파라미터가 표 13에 요약되어 있다. 집단 PK 분석은 레브리키주맙의 PK 특성이 IgG 모노클로날 항체의 전형적인 PK 특성과 일치한다는 것을 나타내었다.

[0455] PK 파라미터에 대한 페리오스틴의 효과를, 실시예 2 연구에서 및 실시예 3 연구에서 중앙값 초과 및 미만의 기준선 페리오스틴 수준을 갖는 환자 사이의 PK 파라미터의 개별 사후 추정을 비교함으로써 평가하였다. 편차는 CL ($p=0.54$, 0.11), V_1 ($p=0.83$, 0.79) 및 F ($p=0.74$, 0.37)에 대한 연구 둘 다에서 유의하지 않았다 ($p > 0.05$).

[0456] <표 13> 레브리키주맙 집단 PK 파라미터.

파라미터 설명	집단 평균 추정치 (SE %)	개체간 가변성 (SE %)
청소율, CL (L/일)	0.176 (3.2%)	24.5% (23.3%)
CL 에 미치는 BW 의 효과	0.864 (10.6%)	
중심 구획에서의 분포 부피, V_1 (L)	3.74 (3.4%)	24.6% (39.6%)
V_1 에 미치는 BW 의 효과	0.890 (12.1%)	
주변 구획에서의 분포 부피, V_2 (L)	2.01 (4.9%)	
V_2 에 미치는 BW 의 효과	0.316 (34.8%)	
분포 청소율, Q (L/일)	0.443 (10.2%)	
1 차 흡수율, K_a (1/일)	0.213 (5.0%)	26.9% (39.4%)
생체이용률, F (%)	75.6 (3.7%)	14.9% (70.9%)
비례 잔차 오차	13.6% (3.6%)	
가산성 잔차 오차 ($\mu\text{g/mL}$)	442 (15.6%)	

BW=체중; CL=청소율; PK=약동학; Q=구획간 청소율; SE=표준 오차; V_1 =중심 구획의 분포 부피; V_2 =주변 구획의 분포 부피.
주: BW 효과는 역함수 $TVP_i = \theta_1 * (BW_i / BW_{Ref})^{\theta_2}$ 로서 모델링되었고, 이에 대하여 TVP 는 PK 파라미터의 전형적인 값이고; BW_i 는 i 번째 개체의 체중을 지칭하고, BW_{Ref} 는 집단 PK 모델에 포함된 모든 환자의 중앙값 체중인 참조 체중을 지칭하고 (82 kg), θ_1 은 PK 파라미터의 집단 평균 추정치를 지칭하며, θ_2 는 PK 파라미터에 미치는 체중의 효과를 지칭한다.

[0457]

[0458] 균일 투약에 대한 근거

[0459] 상기 기재된 제II상 연구에서 균일 투약을 이용하였다. 레브리키주맙의 PK 프로파일에 대한 체중의 효과로 인해, 보다 무거운 환자는 일반적으로 보다 낮은 약물 노출을 가졌다. 그러나, 레브리키주맙으로 치료된 개별 환자에서 체중과 기준선에서 제12주까지의 FEV1에서의 비례적 변화 사이에 어떠한 상관관계도 발견되지 않았고, 이는 노출에 대한 체중의 효과가 효능에 영향을 주지 않았다는 것을 나타낸다 (도 20 참조). 추가로, 이들 연구로부터의 데이터는 시험된 체중 범위 내에서 (53-135 kg) 균일 투약에 대해 어떠한 안전성 우려도 나타내지 않았다.

[0460] 레브리키주맙에 대한 노출의 전반적 가변성에 미치는 균일 투약의 영향을 평가하기 위해, 집단 PK 시뮬레이션을 수행하여 균일 투약 및 등가의 체중-기반 (즉, mg/kg) 투약 요법을 비교하였고, 체중 분포는 상기 기재된 제II상 연구에서 보인 것과 유사하다고 가정하였다. 다양한 수준 초과와 항정-상태 최저 농도를 갖는 환자의 예측된 비율은 균일 및 체중-기반 투약 요법 사이에 유사하였고 (도 21 참조), 이는 체중에 기반하여 투약하는 것에 대한 어떠한 확실한 이익도 없음을 시사한다. 결과적으로, 개별화된 체중-기반 투약과 비교하여 투약 오류의 위험 및 작업 복잡성 (예를 들어, 약물 제조)을 감소시킨다는 이익으로 인해, 제III상 연구에 대해 균일 투약이 선택되었다.

[0461] 표적 농도에 대한 근거

[0462] 제II상 데이터를 이용한 노출-반응 분석을 수행하여 제III상 연구를 위한 용량 선택을 통지하기 위한 표적 레브리키주맙 농도를 유도하였다. 상기 기재된 제II상 연구 둘 다에서, 레브리키주맙으로 치료된 개별 환자에서 기준선으로부터의 FEV1에서의 위약-보정된 변화와 제12주째의 혈청 최저 약물 농도 (데이터는 제시되지 않음) 사이에는 어떠한 명백한 상관관계도 발견되지 않았고, 이는 FEV1에 대한 레브리키주맙의 효과가 연구 둘 다에서 시험된 노출 범위에서 포화되었음을 시사한다. 추가로, PD 바이오마커 (FeNO, IgE, CCL17 및 CCL13)에서의 변

화와 제II상 연구에서의 혈청 최저 약물 농도 사이의 상관관계의 평가는 연구 둘 다에서 치료 기간 동안 이들 PD 반응의 포화를 시사하였다. 결과는 고 페리오스틴 군에서 유사하였다. 이들 결과에 기반하여, 연구 둘 다에서 관찰된 $C_{\text{최저, 제12주}}$ 범위의 보다 낮은 저점을 포괄하도록 10 $\mu\text{g/mL}$ 의 표적 혈청 항정-상태 최저 농도를 제안하였다 (5-95 백분위수: 실시예 2 연구에서 9.6-50 $\mu\text{g/mL}$; 실시예 3 연구에서 9.4-73 $\mu\text{g/mL}$). 추가로, 문헌에서의 이용가능한 데이터에 기반하여 가정된 레브리키주맙의 혈청-대-폐 분배 (1:500) 및 폐에서의 IL-13 수준으로 인해, 천식 환자에서 IL 13을 중화시키도록 폐에서의 충분히 높은 약물 수준을 유지하기 위해 10 $\mu\text{g/mL}$ 의 혈청 농도가 예상된다. 따라서, 제III상에서의 유효 용량이 >10 $\mu\text{g/mL}$ 의 혈청 항정-상태 최저 농도를 유지할 것으로 예상된다.

[0463] 제III상에서 부분적 유효 용량을 선택하기 위해, 실시예 2 및 실시예 3 연구 둘 다에서 관찰된 $C_{\text{최저, 제12주}}$ 범위와 중첩되지 않음을 보증하도록 5 $\mu\text{g/mL}$ 의 보다 낮은 표적 정상 상태 최저 농도를 제안하였고, 여기서 효능이 관찰되었다. 추가로, 연구 둘 다에서, >5 $\mu\text{g/mL}$ 의 평균 혈청 레브리키주맙 농도에서, 혈청 CCL17 (TARC) 수준에 대한 레브리키주맙의 효과는 약물 세척 동안 기준선으로 되돌아갔다 (도 22 참조; (a) 실시예 2 연구, (b) 실시예 3 연구). 혈청 CCL17 (TARC)에 대한 레브리키주맙의 효과가 직접적으로 효능과 상호연관되지 않았을지라도, 이 바이오마커의 회복은 이 농도에서 특정 생물학적 경로에서의 IL-13 활성의 부최적 저해를 시사한다. 따라서, 부분적 유효 용량은 <5 $\mu\text{g/mL}$ 의 혈청 항정-상태 최저 농도를 유지하도록 제안된다.

[0464] 제안된 제III상 용량에 대한 근거

[0465] 상기 기재된 바와 같은 실시예 3 연구에서의 명백한 용량 반응의 결핍 (즉, 용량 125 mg, 250 mg 및 500 mg이 동등하게 유효한 것으로 보임)으로 인해, 제III상 용량은 유효 및 부분적 유효 용량 수준을 둘 다 포함하여 레브리키주맙의 용량 반응을 입증하도록 선택되었다. 상기 목적을 충족시키기 위해, 제III상 프로그램에 대한 레브리키주맙의 제안된 용량은 매 4주마다 (q4wk) SC 주사에 의해 제공되는 250 mg, 125 mg 및 37.5 mg을 포함한다. 도 23은 체중 분포가 제II상 연구에서 보인 것과 유사하다는 가정 하에 이들 용량에서 시뮬레이션된 집단 PK 프로파일을 보여준다.

[0466] 250 mg (1-mL SC 주사 2회) q4wk의 최고 용량이 제III상에서 임상 효능을 입증하기 위해 예상된다. 이는 제II상 개념 증명 연구 (실시예 2)에서 연구된 유일한 투약 요법이며, 치료를 위해 의도된 환자 집단에서 천식이 ICS 요법에도 불구하고 제어되지 않은 환자에서의 중증 천식 악화 속도를 감소시킴에 있어 효능을 보여주었다. 실시예 2 환자는 또 다른 제어제와 함께 또는 이것 없이 ICS로의 치료에도 불구하고 제어되지 않는 천식을 앓았고, ≥ 500 $\mu\text{g/일}$ 의 ICS 상에 있는 실시예 2에서의 환자 중 $\geq 90\%$ 는 또한 LABA 의약을 복용하고 있었다. 상기 투약 요법에서, 거의 모든 (99%) 환자는 집단 PK 시뮬레이션에 기반하여 10 $\mu\text{g/mL}$ 의 표적 $C_{\text{최저, ss}}$ 를 달성할 것으로 예상되며 (표 14 참조), 이는 최대 효능이 예상된다는 것을 의미한다. 따라서, 제II상에서 보인 임상 효능을 복제하기 위해 상기 용량이 시험될 것이다.

[0467] <표 14> 제III상에 대해 제안된 용량에서 표적 초과와 항정-상태 최저 농도를 갖는 환자의 예측된 백분율.

용량 (매 4 주 mg)	표적 항정-상태 최저 농도	
	>5 $\mu\text{g/mL}$	>10 $\mu\text{g/mL}$
250	100%	99%
125	99%	78%
37.5	28%	0.6%

[0468]

[0469] 125 mg (1-mL SC 주사 1회) q4wk의 중간 용량이 제II상 용량-범위 연구 (실시예 3)에서 125 및 250 mg q4wk에서 관찰된 유사한 규모의 FEV1 향상에 기반하여 제안된다. 악화 종점에 대해 중증 천식을 앓는 환자 집단에서 동일한 용량-반응 관계가 참으로 유지된다고 예상하는 것이 합리적이며, 따라서 125 mg 용량이 제III상에서 효능을 보여줄 것으로 예상된다. 상기 예상은 집단 PK 시뮬레이션에 의해 추가로 뒷받침되며, 이는 환자 중 대부분 (78%)이 상기 투약 요법으로 10 $\mu\text{g/mL}$ 의 표적 $C_{\text{최저, ss}}$ 를 달성할 것임을 시사한다 (표 14 참조).

[0470] 37.5 mg (0.3-mL SC 주사 1회) q4wk의 용량은 용량-반응 관계를 확립하는데 중요한 레브리키주맙의 부분적 유효 또는 임상적 무효 용량을 입증하기 위해 제안된다. 이 투약 요법은 하기 고려사항을 고려하여 선택된다:

[0471] · 환자 중 대부분 (72%)에서 5 $\mu\text{g/mL}$ 미만 및 거의 모든 (99%) 환자에서 10 $\mu\text{g/mL}$ 미만의 $C_{\text{최저, ss}}$ 를 유지하는 능력 (표 14 참조)

- [0472] · 중간 용량으로부터의 합리적 (3.3-배) 분리
- [0473] · 차별적 임상 반응을 입증하기 위한, 중간 용량을 이용한 레브리키주맵에 대한 혈청 노출의 시뮬레이션된 범위에서의 최소 중첩 (표 14 참조)
- [0474] · 가능한 투약 오류를 감소시키기 위한 편리한 주입 부피 (0.1 mL의 배수)
- [0475] 상기 제III상 시험의 다양한 결과 척도가 하기 기재되어 있다.
- [0476] 결과 척도
- [0477] 각각의 하기 종점은 고 페리오스틴 및 저 페리오스틴 환자에서 개별적으로 평가될 것이다. 시행은 250 mg 레브리키주맵 군을 위약군과 비교하였을 때 1차 종점이 고-페리오스틴 군에서 충족되는 경우에 양성으로 간주될 것이다.
- [0478] 1차 효능 결과 척도
- [0479] 1차 효능 결과 척도는 52-주 위약-대조 기간 동안 천식 악화의 속도이다. 이 시행을 위해, 천식 악화는 전신성 코르티코스테로이드로의 치료 또는 입원으로 이어지는 신규 또는 증가된 천식 증상 (예를 들어, 천명, 기침, 호흡곤란 또는 흉부 압박감, 또는 이들 증상으로 인한 야간 각성 포함)으로 정의될 것이다. 여기서, 전신성 코르티코스테로이드로의 치료는 ≥ 3 일 동안 경구 (즉, OCS) 또는 비경구 코르티코스테로이드로의 치료, 또는 1회 이상의 용량의 비경구 (IV 또는 IM) 코르티코스테로이드를 사용하는 응급실 방문으로 정의된다.
- [0480] 2차 효능 결과 척도
- [0481] 제52주째의 2차 효능 결과 척도는 하기와 같다: 기준선에서 제52주까지의 기관지확장제-전 FEV₁에서의 상대적 변화; 52-주 치료 기간 동안 제1 천식 악화까지의 시간; 기준선에서 제52주까지의 산화질소 (FE_{NO})의 분획 배설에서의 변화; 기준선에서 제52주까지의 천식 삶의 질 설문지의 표준화된 버전의 전체 점수 (AQLQ(S))에 의해 평가된 천식-특이적 건강-관련 삶의 질에서의 변화; 기준선에서 제52주까지의 구급 의약 사용에서의 변화 (구급 의약 또는 분무된 구급 의약 (즉, SABA)의 1일 당 퍼프의 개수에 의해 측정됨); 52-주 위약-대조 기간 동안 긴급 천식-관련 건강 관리 이용 (즉, 입원, 응급실 방문, 및 급성 진료시설 방문)의 비율.
- [0482] 탐색적 결과 척도
- [0483] 탐색적 결과 척도는 하기를 포함할 것이다: 52-주 위약-대조 기간 동안 프로토콜-정의된 천식 악화를 경험하지 않은 환자의 비율; 기준선에서 제52주까지의 아침 기관지확장제-후 피크 유량 값 (L/분)에서의 변화; 기준선에서 제52주까지의 기관지확장제-후 FEV₁에서의 변화; 52-주 위약-대조 기간 동안 기관지확장제-전 FEV₁에서의 150-mL 향상까지의 시간; 제4주 내지 제52주에 걸쳐 평균을 낸 기준선으로부터의 기관지확장제-전 FEV₁에서의 상대적 변화 (리터); 기준선에서 제52주까지의 강제 폐활량에서의 상대적 변화; 전신성 코르티코스테로이드로의 치료를 요구하는, 스크리닝 기간 (방문 1-3) 동안 최고치의 $<60\%$ 의 PEF 또는 FEV₁을 생성하는 악화로 정의되는, 폐 기능 감소와 연관된 악화의 속도; 기준선에서 제52주까지의 작업 생산성 및 활동 장애-천식 설문지 (WPAI-천식)에 의해 평가시 작업, 학교 및 활동 장애에서의 변화; 기준선에서 제52주까지의 천식 제어 설문지-5 (ACQ-5) 점수에서의 변화; 기준선에서 제52주까지의 천식 증상 유용성 지수 (ASUI)에 의해 측정시 천식 증상에서의 변화; 기준선에서 제52주까지의 EQ-5D에 의해 평가시 건강 유용성에서의 변화; 기준선에서 제52주까지의 치료 유효성의 전반적 평가 (GETE)에서의 변화.
- [0484] 이들 탐색적 결과 척도는 또한 52-주 활성-치료 연장 및 24-주 추적 기간 동안 평가될 수 있다. 추가의 탐색적 결과 척도는 > 52 주 동안 레브리키주맵에 노출된 환자에서의 유해 사례의 빈도 및 중증도; 52-주 활성-치료 연장 또는 24-주 추적 기간 동안의 인터류킨-13 (IL-13)/천식-관련 PD 바이오마커에서의 변화; 및 52-주 활성-치료 연장 또는 24-주 추적 기간 동안의 혈청 레브리키주맵 농도를 포함할 수 있다.
- [0485] 환자-보고된 결과
- [0486] 천식 삶의 질 설문지 - 표준화된 (AQLQ(S))
- [0487] AQLQ(S)는 환자의 천식-특이적 건강-관련 삶의 질을 평가하는데 이용될 것이다 (Juniper 2005). 설문지는 활동 제한, 증상, 감정 기능, 및 환경적 자극을 비롯한 4개의 도메인을 함유한다. AQLQ(S)는 본 연구 집단에서 사용하기 위해 유효성이 확인되었다. AQLQ(S)는 2주의 리콜 설명서를 갖는다. AQLQ(S)는 다른 모든 비-PRO 평가

전에 및 환자가 그 평가 동안 임의의 질환 상태 정보 또는 연구 약물을 제공받기 전에 환자에게 제공될 것이다.

- [0488] 작업, 생산성, 및 활동 장애-천식 (WPAI-천식)
- [0489] 작업, 학교에서, 및 활동에서의 장애를 평가하기 위해, WPAI-천식 설문지가 제공될 것이다 (문헌 [Reilly et al. 1993, 1996]). 설문지 항목은 WPAI-알레르기 특이적 (WPAI-AS) 설문지로부터 모든 경우의 용어 알레르기를 천식으로 치환하여 적합화시켰다. WPAI-AS는 다른 모든 비-PRO 평가 전에 및 환자가 그 평가 동안 임의의 질환 상태 정보 또는 연구 약물을 제공받기 전에 환자에게 제공될 것이다.
- [0490] 유로-QOL(Euro-QOL) 5D 설문지 (EQ-5D)
- [0491] EQ-5D는 건강 상태에 대한 단일 지수 값을 제공하는 일반적 선호도-기반 건강-관련 삶의 질 설문지이다 (The EuroQol Group 1990). EQ-5D는 환자에 의한 자기-완성을 위해 설계되어 있다. Eq-5D는 다른 모든 비-PRO 평가 전에 및 환자가 그 평가 동안 임의의 질환-상태 정보 또는 연구 약물을 제공받기 전에 환자에게 제공될 것이다.
- [0492] 천식 증상 유용성 지수 (ASUI)
- [0493] ASUI (Revicki 1998)는 기침, 천명, 숨가쁨 및 야간 각성을 측정하는 천식 특이적 증상 설문지이다. ASUI는 다른 모든 비-PRO 평가 전에 및 환자가 그 평가 동안 임의의 질환-상태 정보 또는 연구 약물을 제공받기 전에 환자에게 제공될 것이다.
- [0494] 실시예 7 - 일렉시스® 페리오스틴 검정
- [0495] 페리오스틴의 정량적 검출을 자동화된 로슈 코바스(cobas) e601 일렉시스® 분석기 (로슈 다이아그노스틱스 게엠베하)에서 평가하였다. 분석물 페리오스틴이 페리오스틴 상의 2개의 상이한 에피토프에 결합하는 2종의 모노클로날 항체 사이에 끼인 샌드위치 포맷으로 시험을 수행하였다. 하나의 항체는 비오틴화되어 있고, 스트렙타비딘-코팅된 자기 비드에 면역 복합체의 포획을 가능하게 한다. 제2 항체는 결합된 면역 복합체의 전압 의존성 전기화학적 발광 검출을 허용하는 신호전달 모이어티로서의 복합 루테늄 양이온을 보유한다.
- [0496] 상세하게, 시약을 하기와 같이 사용하였다:
- [0497] -비드 (M): 스트렙타비딘-코팅된 자기 마이크로입자 0.72 mg/mL; 보존제.
- [0498] -시약 1 (R1): 항-페리오스틴-항체~비오틴:
- [0499] 이 정제된 마우스 모노클로날-항체는 실시예 4에 따른 코팅 항체 25D4에 상응하며, 비오틴닐화 형태로 사용됨 >1.0 mg/L; 트리스(TRIS) 완충제 >100 mmol/L, pH 7.0; 보존제.
- [0500] -시약 2 (R2): 항-페리오스틴-항체~Ru(bpy):
- [0501] 이 정제된 마우스 모노클로날 항-페리오스틴 항체는 실시예 4에 따른 검출 항체 23B9에 상응하며, 표지된 형태로 사용됨 ((트리스(2,2'-비피리딜)루테늄(II)-복합체 (Ru(bpy)) 복합체)로 표지됨 >1.0 mg/L; 트리스 완충제 >100 mmol/L, pH 7.0; 보존제.
- [0502] 면역검정을 2회의 인큐베이션을 이용하여 수행하였다. 20 μ L의 샘플 중 페리오스틴 및 비오틴닐화 모노클로날 항-페리오스틴 항체 (R1)를 약 9분 동안 제1 인큐베이션하여 복합체를 형성하였다. 제2 인큐베이션 단계에서 추가로 9분 동안 루테닐화 모노클로날 항-페리오스틴 항체 (R2) 및 스트렙타비딘-코팅된 마이크로입자 (M)를 제1 인큐베이션의 바이알에 첨가하여, 3-원 샌드위치 복합체가 형성되고 비오틴과 스트렙타비딘의 상호작용을 통해 고체 상 (마이크로입자)에 결합되게 하였다.
- [0503] 마이크로입자가 백금 전극의 표면 상에 자기적으로 포획된 경우에, 반응 혼합물은 측정 세포 내로 흡입되었다. 미결합 물질을 세척하고, 세포를 트리프로필아민을 함유하는 시약인 프로셀(ProCell)로 플러싱하였다. 전극에 전압을 적용한 다음, 화학발광 방출을 유도하여 광전자증배관에 의해 측정하였다.
- [0504] 결과를 2-점 보정 및 시약 바코드를 통해 제공된 마스터 곡선에 의해 생성된 기기-특이적 보정 곡선을 통해 결정하였다. 캘리브레이터 1은 유리 분석물이고, 반면에 캘리브레이터 2는 완충된 매트릭스 중 50 ng/mL 재조합 인간 페리오스틴을 함유하였다. 보정을 검증하기 위해, 대략 30 및 80 ng/mL 페리오스틴을 갖는 2개의 대조군을 사용하였다.
- [0505] 실시예 8 - E4 검정과 일렉시스® 페리오스틴 검정의 비교

[0506] 페리오스틴 수준을 E4 검정 (실시예 4) 및 일렉시스® 페리오스틴 검정 (실시예 7)과 유사한 방법을 이용하여 실시예 2 및 실시예 3 각각에 기재된 임상 시험으로부터의 환자 혈청 샘플에서 측정하였다. 시행 둘 다로부터의 샘플로부터의 결과는 페리오스틴 값이 중첩되었음을 보여주었다. 가변성 및 확산은 검정에 걸쳐 비슷하였다. 일반적으로, 중앙값에서, 일렉시스® 검정 결과는 전형적으로 E4 검정 결과보다 2배 이상 더 높았다. 도 17을 참조한다 (즉, 중앙값은 일렉시스® 페리오스틴 검정에 대해 50-51ng/ml 였고, 중앙값은 E4 검정에 대해 23ng/ml 였음).

[0507] 상기 본 발명이 이해를 명확하게 하고자 하는 목적으로 예시 및 실시예로서 어느 정도 상세하게 기재되었지만, 상기 설명 및 실시예가 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 본원에 인용된 모든 특허 및 과학 문헌의 개시내용은 그의 전문이 명백하게 참조로 포함된다.

[0508] 서열 목록 키

서열 번호	서열
1	QVHLQQSGAELAKPGASVHMSCKASGYTFTTYWMHWKQRPQGLE WIGYINPNTGYADYNQKFRDKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSTVYF CARRRTGTSYFDYWGQGTTLTVSSKTTPPSV
2	QTVLSQSPAILASPGKVTMTCRASSVTYMHWYQQKPGSSPKPWIFA TSNLASGVPARFSGSGSTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPLTFG AGTK
3	QVQLQQSGAELARPGASVKLSCASGYSTHYWMQVWKQRPQGLE WIGAINPGDGDTRYTQRLKKGKATLTADKSSSTAYMELSSASEDSAVYY CAREGEGNSAMDYWGQGTSTVTVSSAKTTPPSV
4	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTKASQNVGSSVAWFQQKPGQSPKTLI YSASYRDSGVPRFTGSGSGTDFLTITNVQSEDLTDYFCLQYGYTPYTF GGGTR
5	MIPFLPMFSL LLLLVNPN ANNHYDKILA HSRIRGRDQG PNVCALQQIL GTKKKYFSTCKNWKKSICG QKTTVLYECC PGYMRMEGMK GCPAVLPIDH VYGTLGIVGA TTTQRYSDAS KLREEIEGKG SFTYFAPSNE AWDNLDSIR RGLSNVNV LLNALHSHMI NKRMLTKDLKNGMIIPSMYN NLGLFINHY NGVVTNVCAR IHGNGQIATN GVVHVIVDRVL TQIGTSIQDF IEAEDDLSSF RAAAITSDIL EALGRDGHFT LFAPTNEAFE KLPRGVLERI MGDKVASEALMKYHILNTLQ CSESIMGGAV FETLEGNTIE IGCDGDSITV NGIKMVNKKD IVTNNGVIHLIDQVLPDSA KQVIELAGKQ QTTFTDLVAQ LGLASALRPD GEYTLAPVN NAFSDDTLSDMQRLKLILQ NHILKVKVGL NELYNGQILE TIGGKQLRVF VYRTAVCIEN SCMEKSGKQGRNGAIHIFRE IIPAEKSLH EKLKQDKRFS TFLSLEAAD LKELLTQPGD WTLFVPTNDAFKGMTSEEKE ILIRDKNALQ NIILYHLTPG VFIGKGFEPG VTNLIKTTQG SKIFLKEVNDTLLVNLKSK ESDIMTTNGV IHVVDKLLYP ADTPVGNDQL LEILNKLIK YQIKFVRGST FKEIPVTYVY TKIITKVVEP KIKVIEGSLQ PIKTEGPTL TKVKIEGEPE FRLIKEGETTIEVIHGEPI KKYTKIIDGV PVEITEKETR EERIITGPEI KYTRISTGGG ETEETLKLKLQEEVTKVTKF IEGGDGHLFE DEEIKRLIQG DTPVRKIQAN KKVQGSRRRL REGRSQ
6	MIPFLPMFSL LLLLVNPN ANNHYDKILA HSRIRGRDQG PNVCALQQIL GTKKKYFSTCKNWKKSICG QKTTVLYECC PGYMRMEGMK GCPAVLPIDH VYGTLGIVGA TTTQRYSDAS KLREEIEGKG SFTYFAPSNE AWDNLDSIR RGLSNVNV LLNALHSHMI NKRMLTKDLKNGMIIPSMYN NLGLFINHY NGVVTNVCAR IHGNGQIATN GVVHVIVDRVL TQIGTSIQDF IEAEDDLSSF RAAAITSDIL EALGRDGHFT LFAPTNEAFE KLPRGVLERI MGDKVASEALMKYHILNTLQ CSESIMGGAV FETLEGNTIE IGCDGDSITV NGIKMVNKKD IVTNNGVIHLIDQVLPDSA KQVIELAGKQ QTTFTDLVAQ LGLASALRPD GEYTLAPVN NAFSDDTLSDMQRLKLILQ NHILKVKVGL NELYNGQILE TIGGKQLRVF VYRTAVCIEN SCMEKSGKQGRNGAIHIFRE IIPAEKSLH EKLKQDKRFS TFLSLEAAD LKELLTQPGD WTLFVPTNDAFKGMTSEEKE ILIRDKNALQ NIILYHLTPG VFIGKGFEPG VTNLIKTTQG SKIFLKEVNDTLLVNLKSK ESDIMTTNGV IHVVDKLLYP ADTPVGNDQL LEILNKLIK YQIKFVRGSTFKEIPVTYVY PIKKYTKII DGVVPVEITEK ETREREITG PEIKYTRIST GGGETEETLK KLQEEVTKV TKFIEGGDGH LFEDEEIKRL LQGDTPVRKL QANKKVQGSRRRL REGRSQ
7	MIPFLPMFSL LLLLVNPN ANNHYDKILA HSRIRGRDQG PNVCALQQIL GTKKKYFSTCKNWKKSICG QKTTVLYECC PGYMRMEGMK GCPAVLPIDH VYGTLGIVGA TTTQRYSDAS KLREEIEGKG SFTYFAPSNE AWDNLDSIR RGLSNVNV LLNALHSHMI NKRMLTKDLKNGMIIPSMYN NLGLFINHY NGVVTNVCAR IHGNGQIATN GVVHVIVDRVL TQIGTSIQDF IEAEDDLSSF RAAAITSDIL EALGRDGHFT LFAPTNEAFE KLPRGVLERI MGDKVASEALMKYHILNTLQ CSESIMGGAV FETLEGNTIE IGCDGDSITV NGIKMVNKKD IVTNNGVIHLIDQVLPDSA KQVIELAGKQ QTTFTDLVAQ LGLASALRPD GEYTLAPVN NAFSDDTLSDMQRLKLILQ NHILKVKVGL NELYNGQILE TIGGKQLRVF VYRTAVCIEN SCMEKSGKQGRNGAIHIFRE IIPAEKSLH EKLKQDKRFS TFLSLEAAD LKELLTQPGD WTLFVPTNDAFKGMTSEEKE ILIRDKNALQ NIILYHLTPG VFIGKGFEPG VTNLIKTTQG SKIFLKEVNDTLLVNLKSK ESDIMTTNGV IHVVDKLLYP ADTPVGNDQL LEILNKLIK YQIKFVRGSTFKEIPVTYVY PTLTKVKIEG EPEFRLIKEG ETTEVIHGE PIKKYTKII DGVVPVEITEK ETREEREITG PEIKYTRIST GGGETEETLK KLQEDTPVR

[0509]

	KLQANKKVQG SRRRLREGRSQ
8	MIPFLPMFSL LLLLVNPN ANNHYDKILA HSRIRGRDQG PNVCALQQIL GTKKYFSTCKNWKKSICG QKTTVLYECC PGYMRMEGMK GCPAVLPIDH VYGTGLVGA TTQRYSDAS KLREEIEGKG SFTYFAPSNE AWDNLSDIR RGLSNVNE LLNALHSHMI NKRMLTKDLKNGMIIPSMYN NLGLFINHYP NGVVTVNCAR IHGNQIATN GVVHVIDRVL TQIGTSIQDF IEAEDDLSSF RAAATSDIL EALGRDGHFT LFAPTNEAFE KLPRGVLERI MGDKVASEALMKYHILNTLQ CSESIMGGAV FETLEGNTIE IGCDGDSITV NGIKMVNKKD IVTNGVIHLIDQVLIPDSA KQVIELAGKQ QTTFTDLVAQ LGLASALRPD GEYTLAPVN NAFSDDTLSMDQRLKLLQ NHILKVKVGL NELYNGQILE TIGGKQLRVF VYRTAVCIEN SCMEKGSQQRNGAIHIFRE IHKPAEKSLH EKLQDKRFS TFLSLEAAD LKELLTQPGD WTLFVPTNDAFKGMTSEEK ILIRDKNALQ NIILYHLTPG VFIGKGFEPG VTNLIKTTQG SKIFLKEVNDTLLVNELKSK ESDIMTTNGV IHHVVDKLLY PADTPVGNDQL LEILNKLIKY IQIKFVRGST FKEIPVTYK PIKKYTKII DGVPEITEK ETRERIITG PEIKYTRIST GGGETEETLKKLLQEDTPVR KLQANKKVQG SRRRLREGRS Q
9	VTLRESGPALVKPTQILTLCTVSGFSLAYSVNWIRQPPGKALEWLAMI WGDGKIVYNSALKSRILTISKDTSKNQVLTMTNMDPVDATATYYCAGD GYYPYAMDNDWQGSGLVTYSS
10	DIVMTQSPDSLVSIGERATINCRASKSVDSYNSFMHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPRFSGSGSGTDFTLTISSLAEDVAVYYCQQNNED PRTFGGGTKVEIK
11	AYSVNW
12	MIWGDGKIVYNSALKS
13	DGYYPYAMDND
14	RASKSVDSYNSFMH
15	LASNLES
16	QQNNEDPRT
17	Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val
18	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ser Ile Thr Tyr Asp Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Val Lys Gly Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Phe Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Ser His Tyr Phe Gly His Trp His Phe Ala Val Trp Gly Gln Gly
19	MIPFLPMFSL LLLLVNPN ANNHYDKILAHSRIRGRDQG PNVCALQQILGTKKKYFSTCKNWKKSICGQKTTVLYE CCPGYMRMEGMK GCPAVLPIDH VYGTGLGIVGATTTQR YSDASKLREEIEGKG SFTYFAPSNE AWDNLSDIRRGLES NVNVELLNALHSHMINKRMLTKDLKNGMIIPSMYNNLG LFINHPNGVVTVNCARIIHGNQIATNGVVHVIDRVLTI GTSIQDFIEAEDDLSSFRAAATSDILEALGRDGHFTLFAP TNEAFEKLPRGVLERIMGDKVASEALMKYHILNTLQCSE SIMGGAVFETLEGNTIEIGCDGDSITVNGIKMVNKKDIVT NNGVIHLIDQVLIPDSAKQVIELAGKQTTFTDLVAQLG LASALRPDGEYTLAPVNNAFSDDTLSMDQRLKLLQN HILKVKVGLNELYNGQILETIGGKQLRVFVYRTAVCIEN SCMEKGSQQRNGAIHIFREIHKPAEKSLHEKLKQDKRFS TFLSLEAADLKELLTQPGDWTLFVPTNDAFKGMTSEEK EILIRDKNALQNIILYHLTPGVFIGKGFEPGVNTNLIKTTQG SKIFLKEVNDTLLVNELKSKESDIMTTNGVIHVDKLLY PADTPVGNDQLLEILNKLIKYIQIKFVRGSTFKEIPVTYVT

[0510]

	TKIITKVVEPKIKVIEGSLQPIIKTEGPTLTKVKIEGEPEFR LIKEGETITEVIHGEPIIKKYTKIIDGVPVEITEKETREERII TGPEIKYTRISTGGGETEETLKKLLQEEVTKVTKFIEGGD GHLFEDEEIKRLLQGDTPVRKQLQANKKVQGSRRRLREG RSQ
20	MIPFLPMFSLLLLLIVNPNANNHYDKILAHSRIRGRDQG PNVCALQQILGTTKKYFSTCKNWKKSICGQKTTVLYE CCPGYMRMEGMKGCPAVLPIDHVGTLGIVGATTTQR YSDASKLREEIEGKGSFTYFAPSNEAWNLDSDIRRGLES NVNVELLNALHSHMINKRMLTKDLKNGMIIPSMYNNLG LFINHYPNGVVTVNCARIIHGNQIATNGVVHVIDRVLTQI GTSIQDFIEAEDDLSSFRAAAITSDILEALGRDGHFTLFAP TNEAFEKLPRGVLERIMGDKVASEALMKYHILNTLQCSE SIMGGAVFETLEGNTIEIGCDGDSITVNGIKMVNKKDIVT NNGVIHLIDQVLIPDSAKQVIELAGKQQTTFDLVAQLG LASALRPDGEYTLAPVNNAFSDDTLSMDQRLKLILQN HILKVKVGLNELYNGQILETIGGKQLRVFVYRTAVCIEN SCMEKGSKQGRNGAIHIFREIHKPAEKSLEHEKQDKRFS TFLSLLEAADLKELLTQPGDWTLFVPTNDAFKGMTSEEK EILIRDKNALQNIILYHLTPGVFIGKGFEPGVTNILKTTQG SKIFLKEVNDTLLVNELKSKESDIMTTNGVIHVVDKLLY PADTPVGNDQLEILNKLIYIYQIKFVRGSTFKEIPVTVY KPIIKKYTKIIDGVPVEITEKETREERIITGPEIKYTRISTGG GETEETLKKLLQEEVTKVTKFIEGGDGHLFEDEEIKRLLQ GDTPVRKQLQANKKVQGSRRRLREGRSQ
21	MIPFLPMFSLLLLLIVNPNANNHYDKILAHSRIRGRDQG PNVCALQQILGTTKKYFSTCKNWKKSICGQKTTVLYE CCPGYMRMEGMKGCPAVLPIDHVGTLGIVGATTTQR YSDASKLREEIEGKGSFTYFAPSNEAWNLDSDIRRGLES NVNVELLNALHSHMINKRMLTKDLKNGMIIPSMYNNLG LFINHYPNGVVTVNCARIIHGNQIATNGVVHVIDRVLTQI GTSIQDFIEAEDDLSSFRAAAITSDILEALGRDGHFTLFAP TNEAFEKLPRGVLERIMGDKVASEALMKYHILNTLQCSE SIMGGAVFETLEGNTIEIGCDGDSITVNGIKMVNKKDIVT NNGVIHLIDQVLIPDSAKQVIELAGKQQTTFDLVAQLG LASALRPDGEYTLAPVNNAFSDDTLSMDQRLKLILQN HILKVKVGLNELYNGQILETIGGKQLRVFVYRTAVCIEN SCMEKGSKQGRNGAIHIFREIHKPAEKSLEHEKQDKRFS TFLSLLEAADLKELLTQPGDWTLFVPTNDAFKGMTSEEK EILIRDKNALQNIILYHLTPGVFIGKGFEPGVTNILKTTQG SKIFLKEVNDTLLVNELKSKESDIMTTNGVIHVVDKLLY PADTPVGNDQLEILNKLIYIYQIKFVRGSTFKEIPVTVYR PTLTKVKIEGEPEFRLIKEGETITEVIHGEPIIKKYTKIIDG VPVEITEKETREERIITGPEIKYTRISTGGGETEETLKKLL QEDTPVRKQLQANKKVQGSRRRLREGRSQ
22	MIPFLPMFSLLLLLIVNPNANNHYDKILAHSRIRGRDQG PNVCALQQILGTTKKYFSTCKNWKKSICGQKTTVLYE CCPGYMRMEGMKGCPAVLPIDHVGTLGIVGATTTQR YSDASKLREEIEGKGSFTYFAPSNEAWNLDSDIRRGLES NVNVELLNALHSHMINKRMLTKDLKNGMIIPSMYNNLG LFINHYPNGVVTVNCARIIHGNQIATNGVVHVIDRVLTQI GTSIQDFIEAEDDLSSFRAAAITSDILEALGRDGHFTLFAP TNEAFEKLPRGVLERIMGDKVASEALMKYHILNTLQCSE SIMGGAVFETLEGNTIEIGCDGDSITVNGIKMVNKKDIVT NNGVIHLIDQVLIPDSAKQVIELAGKQQTTFDLVAQLG LASALRPDGEYTLAPVNNAFSDDTLSMDQRLKLILQN HILKVKVGLNELYNGQILETIGGKQLRVFVYRTAVCIEN SCMEKGSKQGRNGAIHIFREIHKPAEKSLEHEKQDKR FSTFLSLLEAADLKELLTQPGDWTLFVPTNDAFKGMTSE

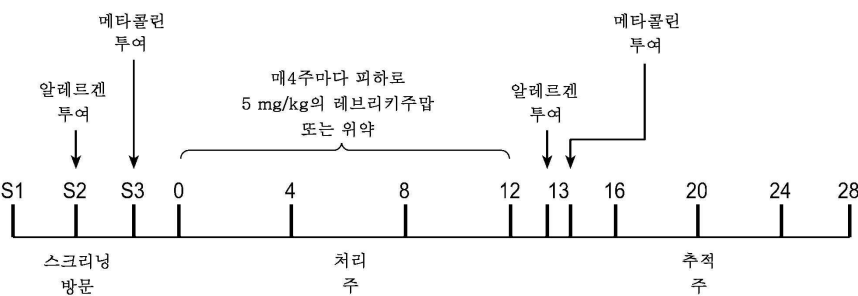
[0511]

	EKEILIRDKNALQNIILYHLTPGVFIGKGFEPGVTNILKTT QGSKIFLKEVNDTLLVNELKSKESDIMTTNGVIHVVDKL LYPADTPVGNDQLEILNKLKIYQIKFVRGSTFKEIPVTV YKPIIKKYTKIIDGVPVEITEKETREERJITGPEIKYTRISTG GGETEETLKKLLQEDTPVRKLQANKKVQGSRRRLREGR SQ
23	MIPFLPMFSLLLLLIVNPINANNHYDKILAHSRIRGRDQG PNVCALQQILGTTKKKYFSTCKNWKYSICGQKTTVLYE CCPGYMRMEGMKGCPAVLPIDHVVYGLGIVGATTTQR YSDASKLREEIEGKGSFTYFAPSNEAWDNLSDIRRGLES NVNVELLNALHSHMINKRMLTKDLKNGMIIPSMYNNLG LFINHYPNGVVTVNCARIHGNQIATNGVVHVIDRVLTQI GTSIQDFIEAEDDLSSFRAAAITSDILEALGRDGHFTLFAP TNEAFEKLPRGVLERIMGDKVASEALMKYHILNTLQCSE SIMGGAVFETLEGNTIEIGCDGDSITVNGIKMVNKKDIVT NNGVIHLIDQVLIPDSAKQVIELAGKQQTTFDLVAQLG LASALRPDGEYTLAPVNNAFSDDTLSMDQRLKLILQN HILKVKVLNELYNGQILETIGGKQLRVFVYRTAVCIEN SCMEKGSQGRNGAIHIFREIIPAEKSLHEKLGQDKRFS TFLSLEAADLKELLTQPGDWTFLVPTNDAFKGMTSEEK EILIRDKNALQNIILYHLTPGVFIGKGFEPGVTNILKTTQ SKIFLKEVNDTLLVNELKSKESDIMTTNGVIHVVDKLLY PADTPVGNDQLEILNKLKIYQIKFVRGSTFKEIPVTVYS PEIKYTRISTGGGETEETLKKLLQE
24	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGIWVR QAPGKGLEWVAFISDLAYTIYYADVTGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDNWDAMDYWGQGLTV TVSS
25	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQSLVHNNANTYLH WYQQKPGKAPKLLIYKVSNRFGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCSQNTLVPWTFGQGTKVEIK

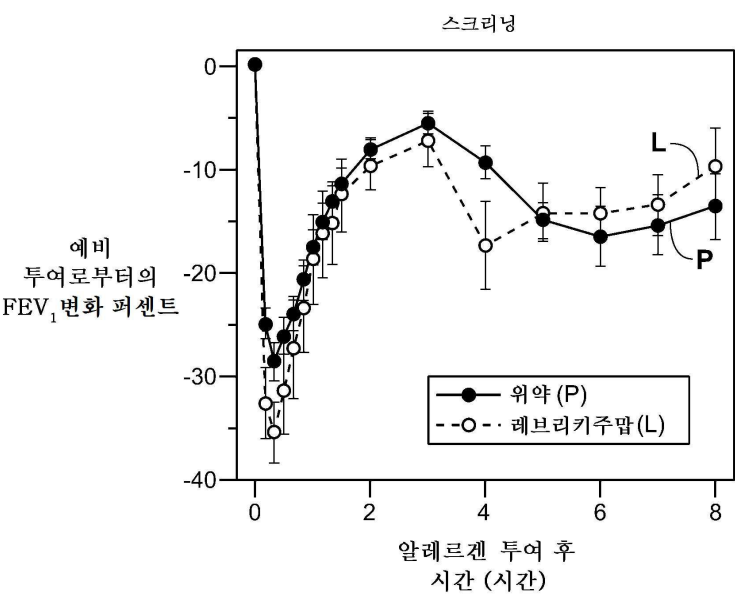
[0512]

도면

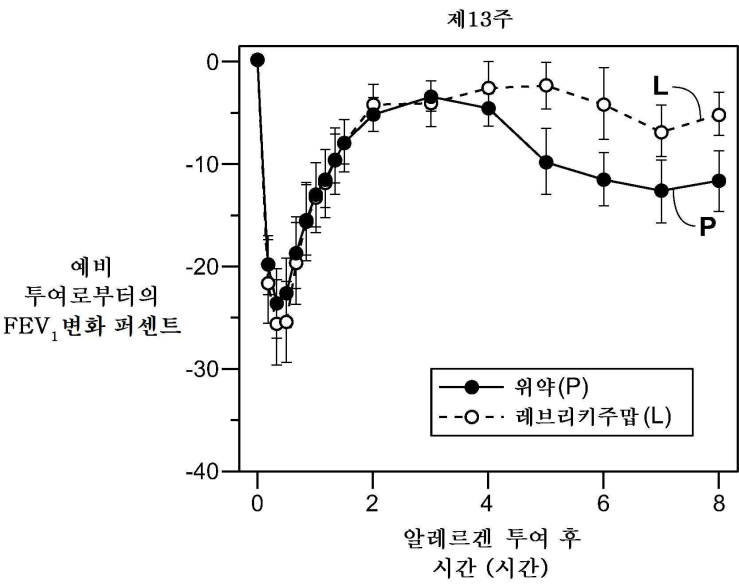
도면1



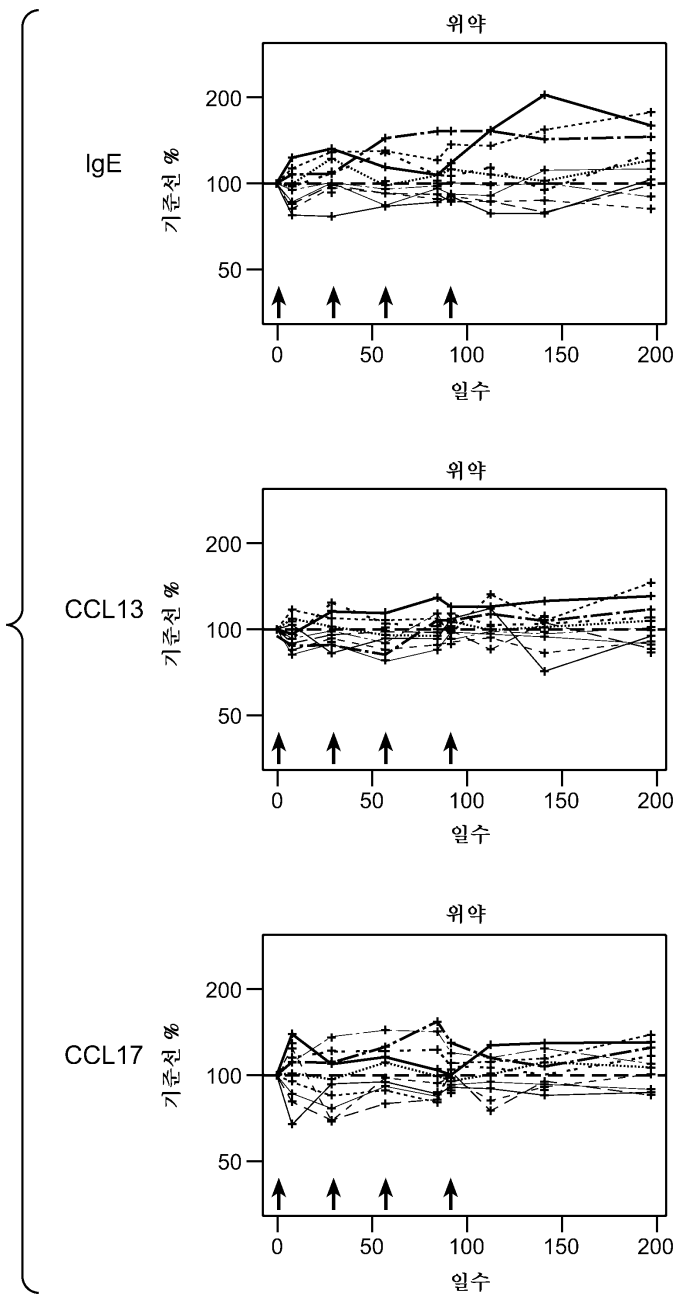
도면2a



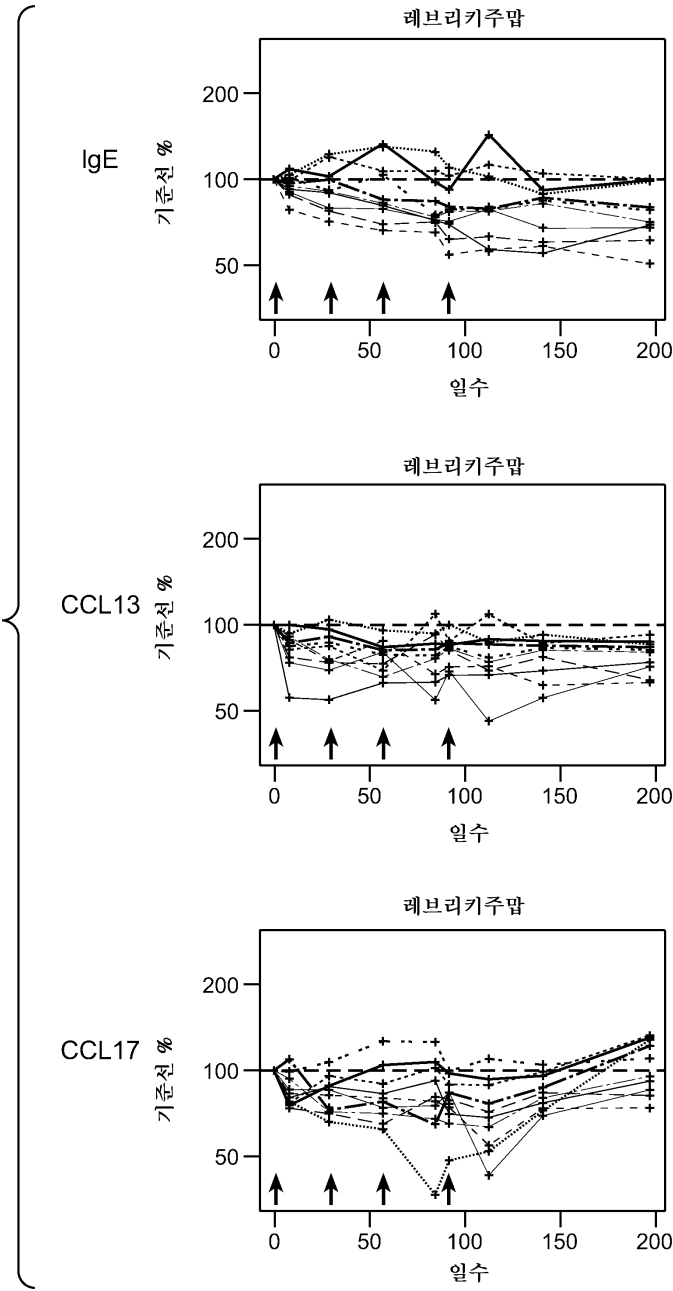
도면2b



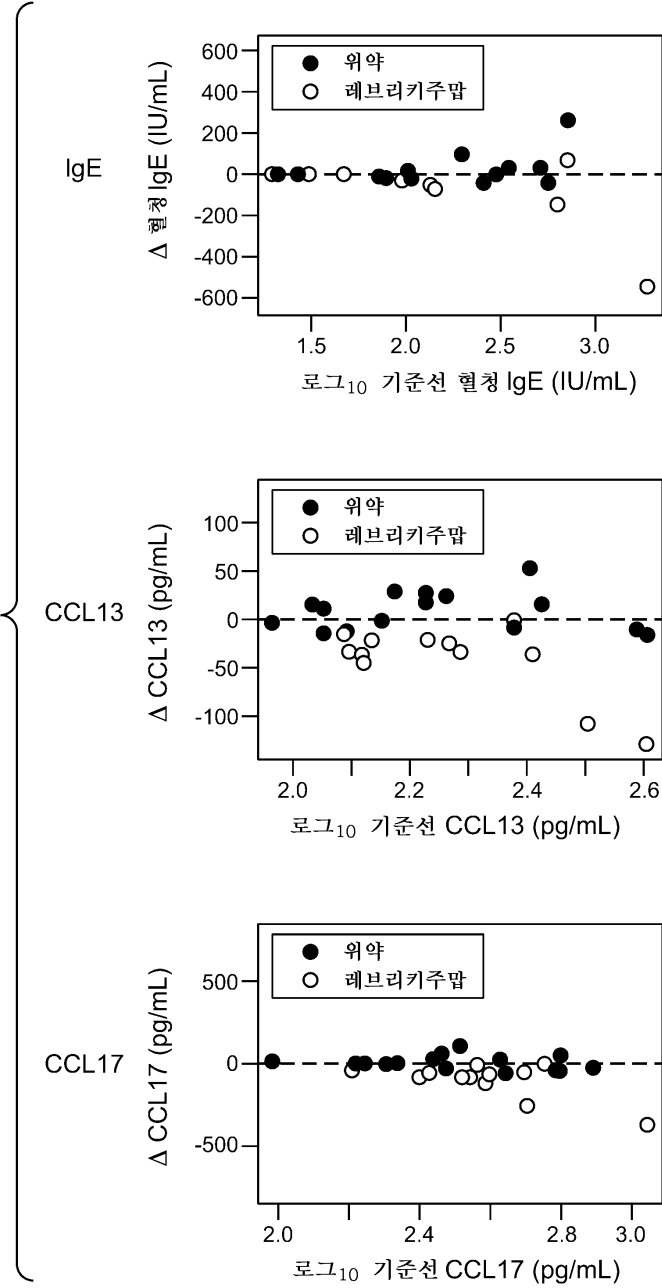
도면3a



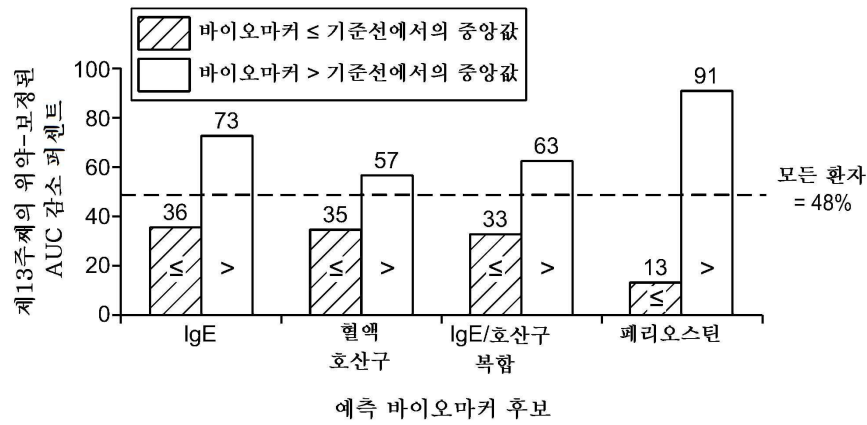
도면3b



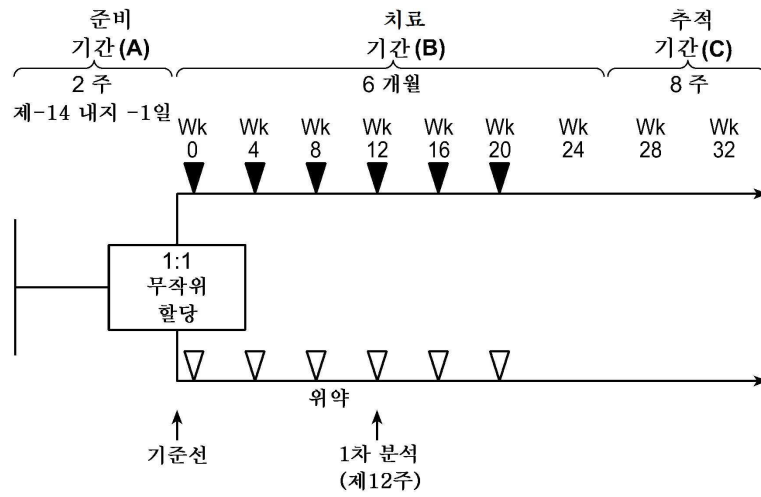
도면3c



도면4



도면5



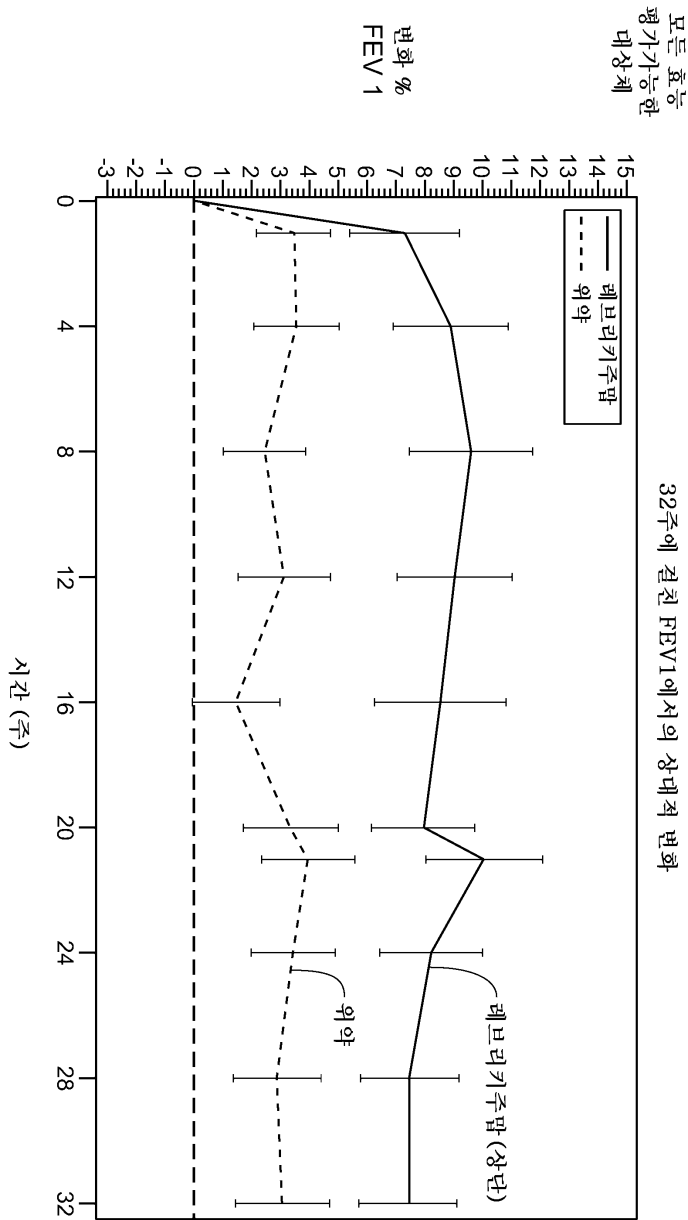
도면6

	레브리키주말 (N = 88)	위약 (N = 92)
연령 (세)	45 (11)	44 (13)
성별 (여성)	61%	65%
인종 (백인)	86%	86%
IL-13 특정 대용물 양성	57%	50%
IgE 증양값	173	211
호산구	0.2 (0.2)	0.3 (0.2)
고 페리옥스틴	41%	51%
체중	87 (20)	85 (19)
FEV1 예측 %	65 (11)	67 (10)
LABA 사용 (예)	77.3%	80.4%
고용량 ICS (≥500 mcg FP)	51%	63%
흡연 무경험자	81%	86%
피부 시험 (양성)	86% (n=59)	88% (n=60)
ACQ	2.5 (0.9)	2.6 (0.9)
FeNO	30.0 (24.7)	29.3 (27.6)
흡진 (예)	6.8%	18.5%
알레르기성 비염 (예)	76%	75%
가역성 %	22.0 (18.3)	18.1 (11.7)

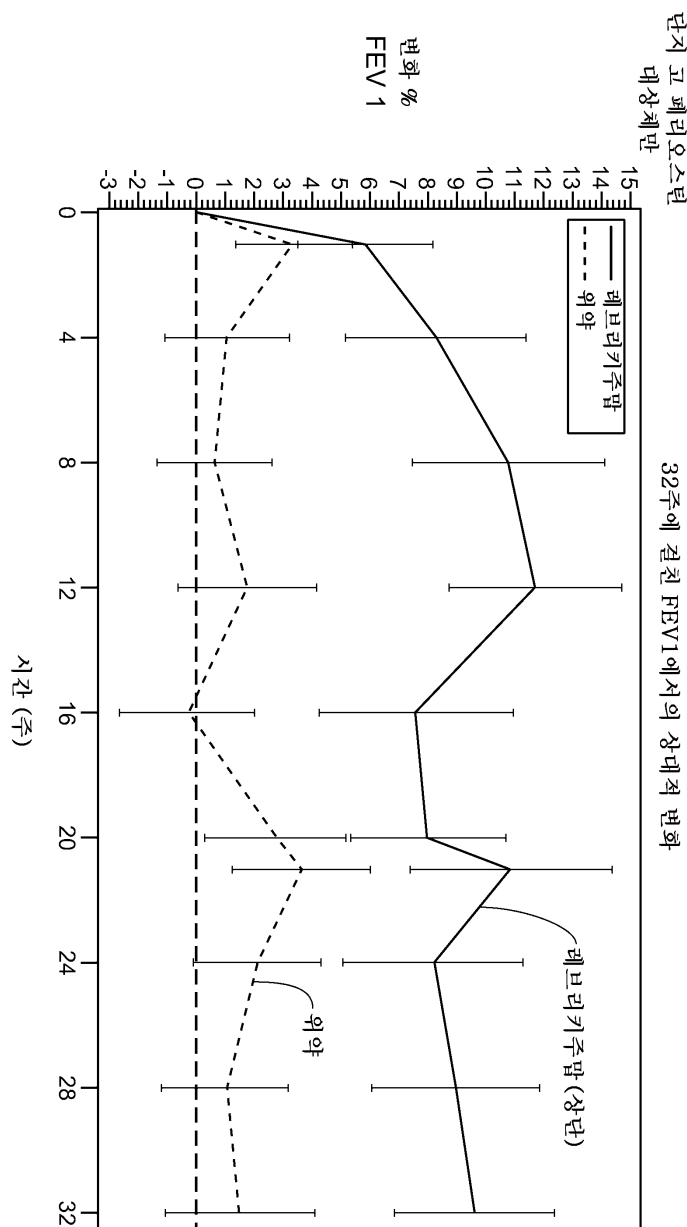
도면 7

시간	12주 (95% CI)				24주 (95% CI)			
	치료군	레브리키주말	위약	레브리키주말- 위약	레브리키주말	위약	레브리키주말- 위약	
모든 대상체 N = 180		9.1%	3.2%	5.9% (0.9%, 10.9%)	8.2%	3.5%	4.8% (0.3%, 9.3%)	
IL-13 특정 + N = 96		9.0%	2.8%	6.2% (-0.2%, 12.6%)	9.2%	2.4%	6.8% (0.5%, 13.1%)	
IL-13 특정 + N = 84		9.1%	3.5%	5.6% (-2.4%, 13.5%)	7.0%	4.5%	2.5% (-4.4%, 9.3%)	
고 페리 오 스티 (≥ 중앙값) N = 83		11.8%	1.8%	10.0% (2.5%, 17.5%)	8.2%	2.2%	6.1% (-1.4%, 13.6%)	
저 페리 오 스티 (< 중앙값) N = 97		7.2%	4.6%	2.5% (-4.1%, 9.2%)	8.3%	4.8%	3.5% (-2.2%, 9.1%)	

도면8a



도면8b

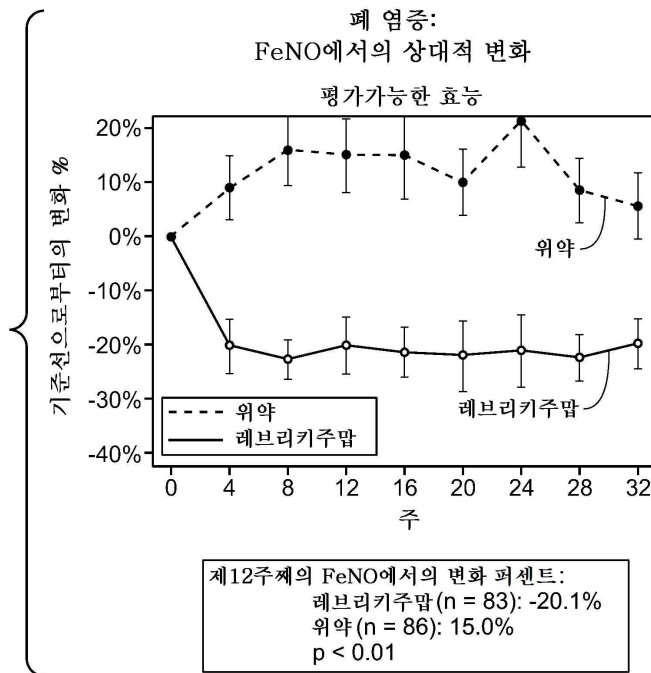


도면9

군	24주에 걸친 악화에서의 속도 감소 (95% CI) p 값	24주에 걸친 중증 악화에서의 속도 감소 (95% CI) p 값
모든 환자 (n = 180)	37% (-22%, 67%) p = 0.17	51% (-33%, 82%) p = 0.16
고 페리오스틴* (n = 83)	61% (-6%, 86%) p = 0.07	84% (14%, 97%) p = 0.03
저 페리오스틴* (n = 97)	25% (-73%, 68%) p = 0.50	9% (-228%, 75%) p = 0.89

* 모든 대상체에서의 중앙값 페리오스틴 이상으로 정의됨

도면10

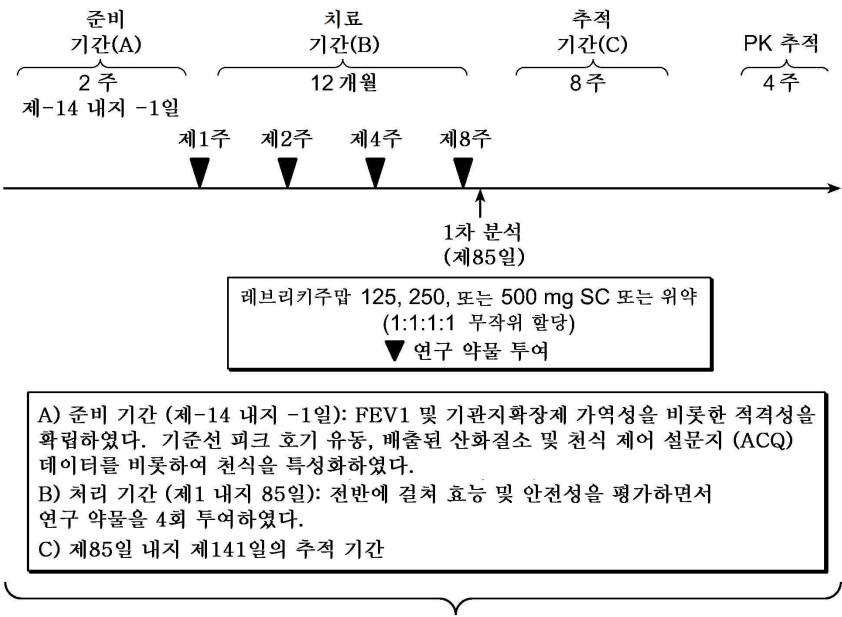


도면11

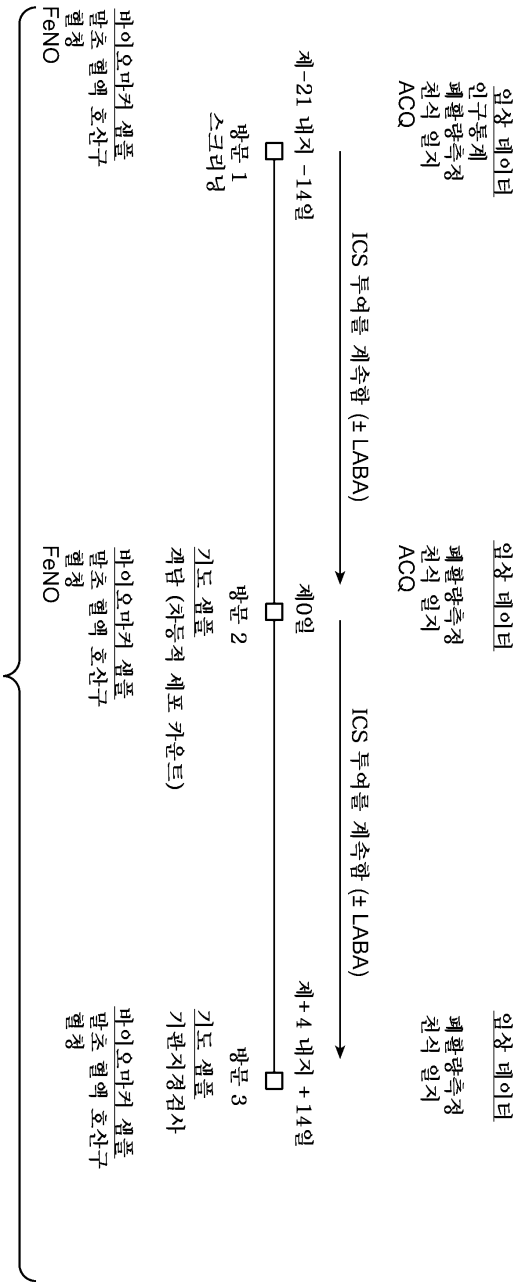
	레브리키주맙 n = 106	위약 n = 112	전체 n = 218
임의의 유해 사례	79 (74.5%)	87 (77.7%)	166 (76.1%)
모든 SAE	4 (3.8%)	6 (5.4%)	10 (4.6%)
연구 약물과 관련된 SAE	0	0	0
AE로 인한 중단	5 (4.7%)	3 (2.7%)	8 (3.7%)
경도 AE	58 (54.7%)	66 (58.9%)	124 (56.9%)
경도 관련 AE	12 (11.3%)	11 (9.8%)	23 (10.6%)
중등도 AE	51 (48.1%)	58 (51.8%)	109 (50.0%)
중등도 관련 AE	9 (8.5%)	7 (6.3%)	16 (7.3%)
중증 AE	15 (14.2%)	20 (17.9%)	35 (16.1%)
중증 관련 AE	5 (4.7%)	3 (2.7%)	8 (3.7%)
사망	0	0	0
임신	0	0	0
악성종양	0	1	1

¹n = 적어도 하나의 사례를 갖는 대상체의 수

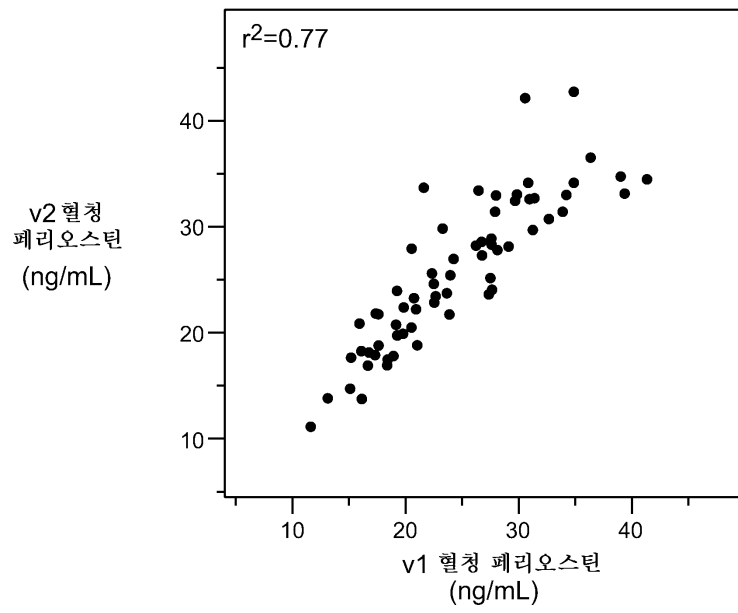
도면12



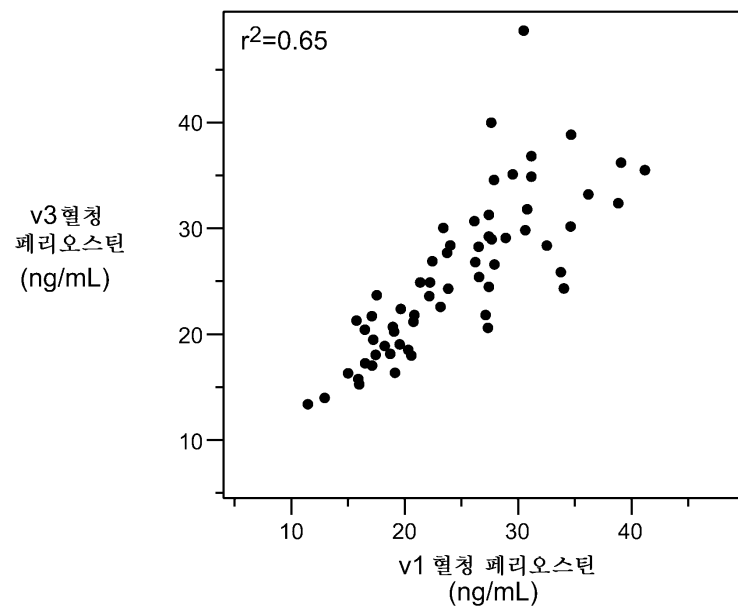
도면13



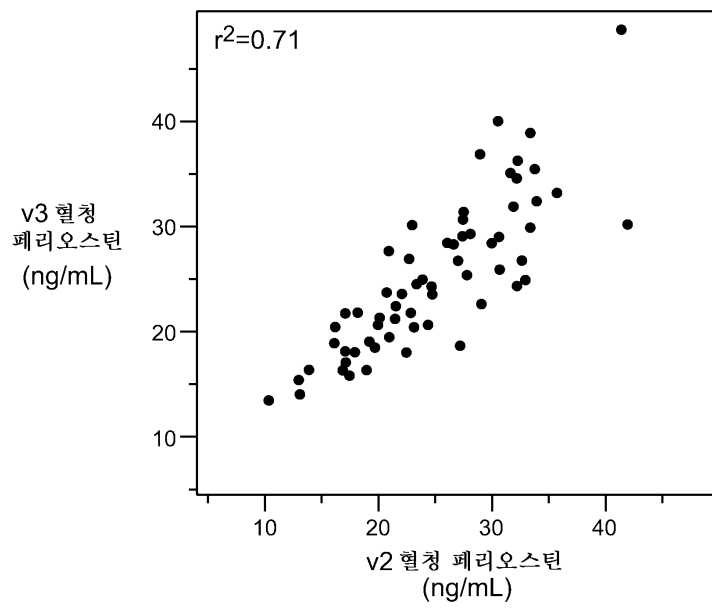
도면14a



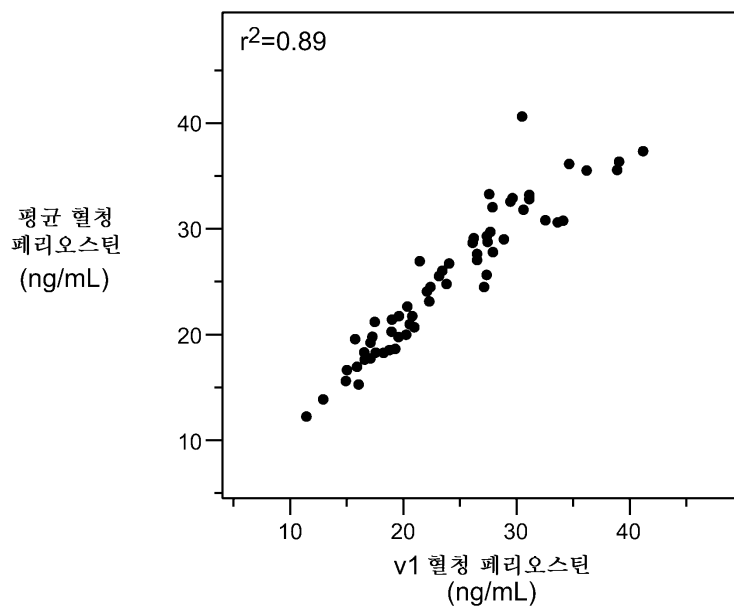
도면14b



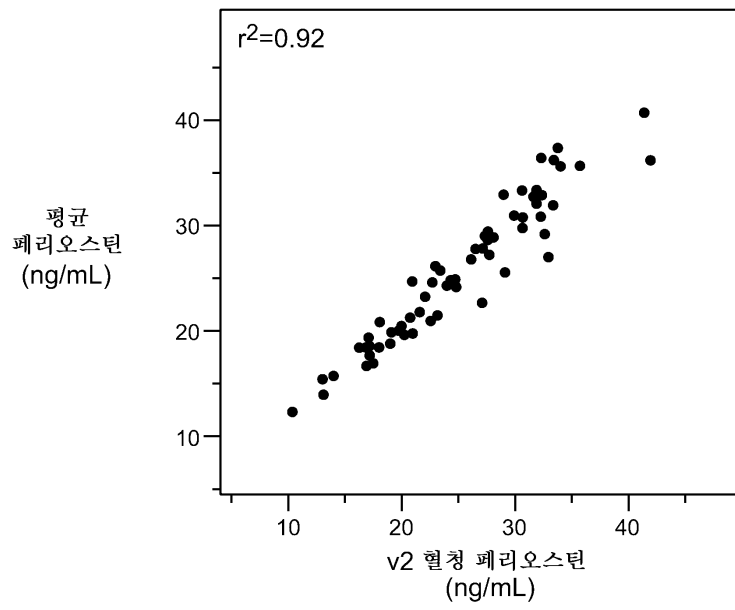
도면14c



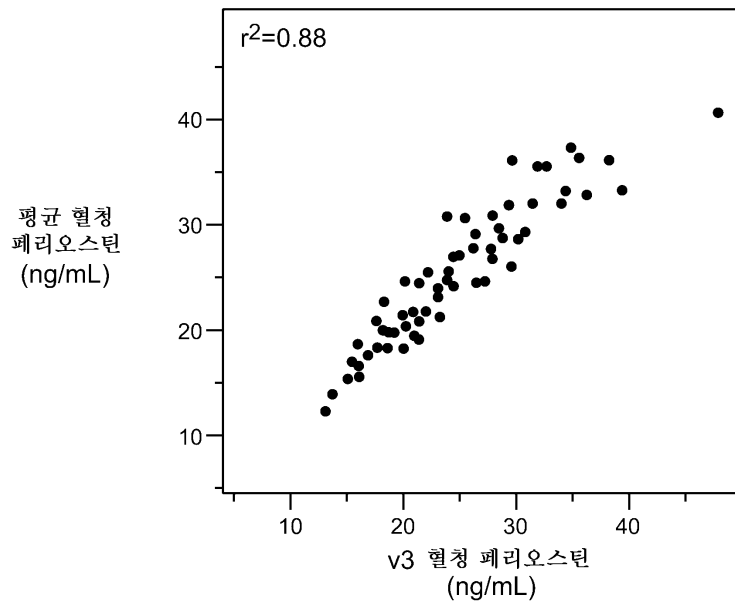
도면14d



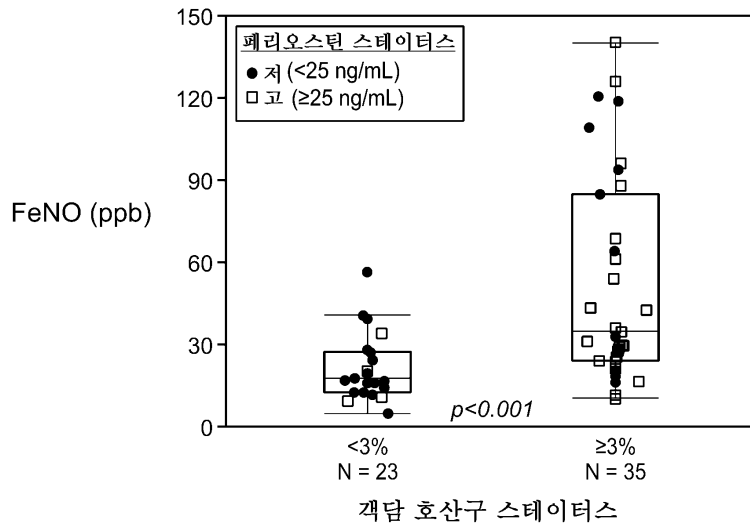
도면14e



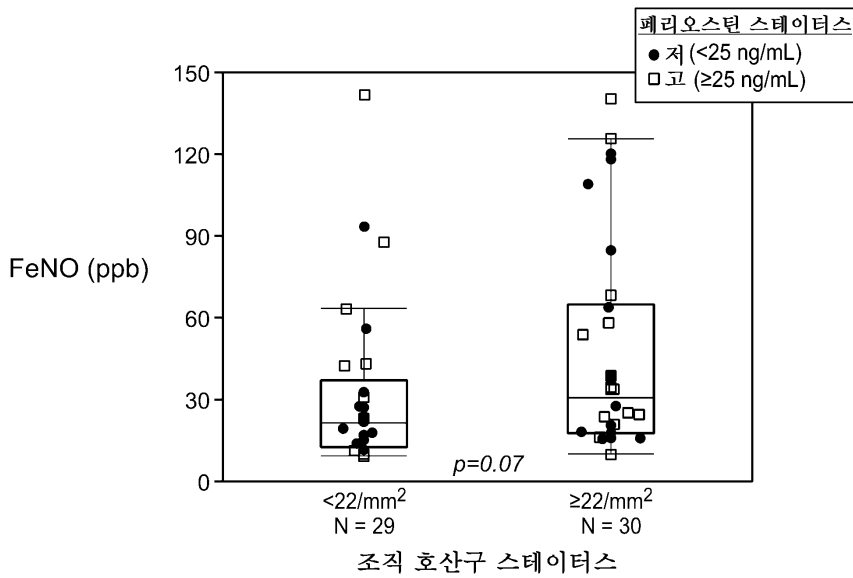
도면14f



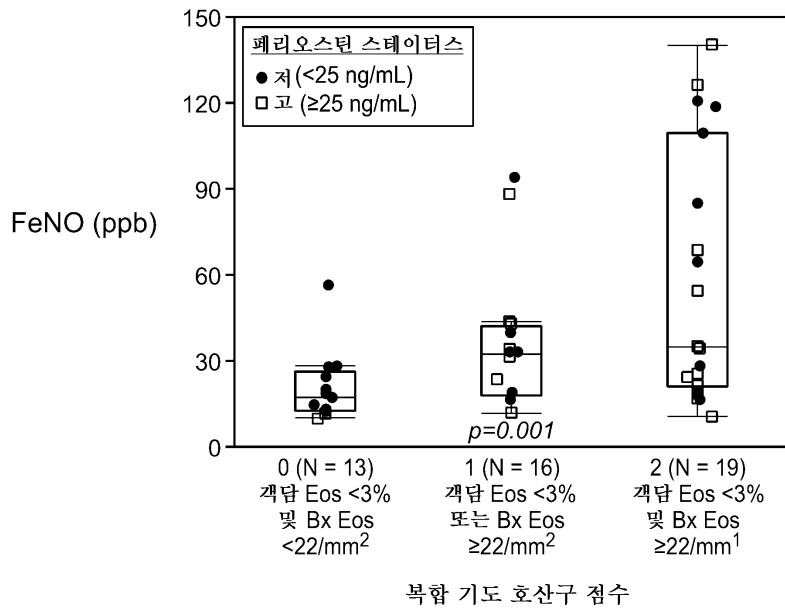
도면15a



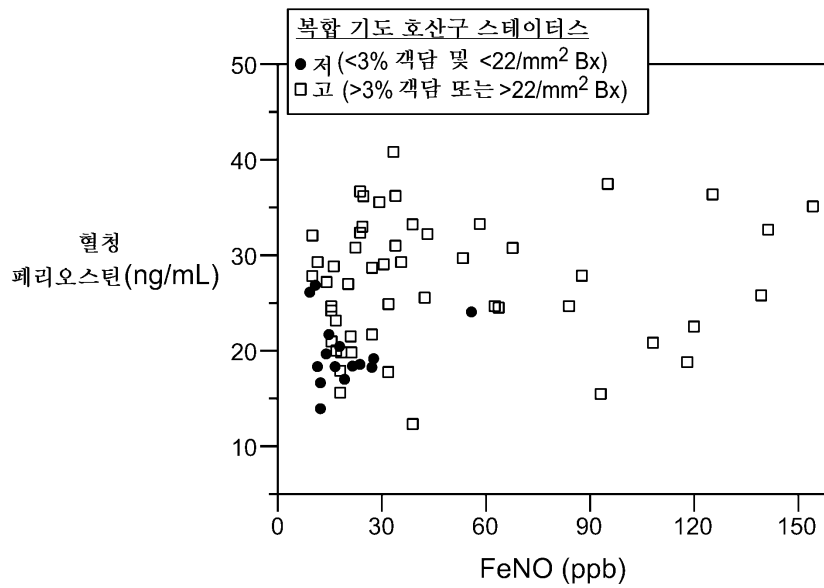
도면15b



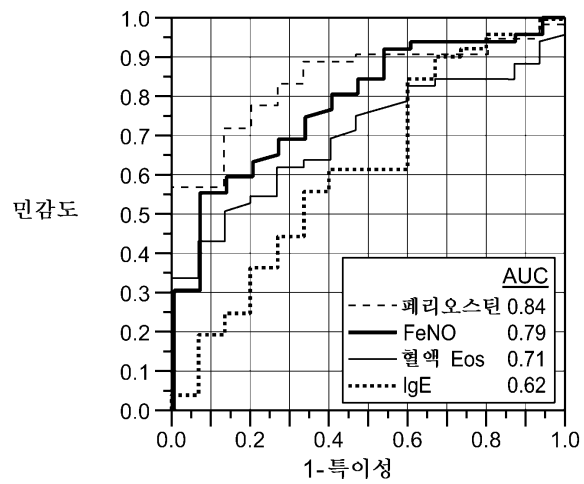
도면15c



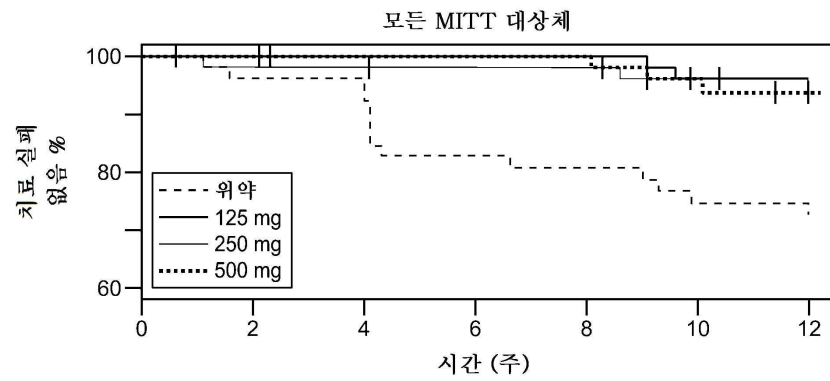
도면15d



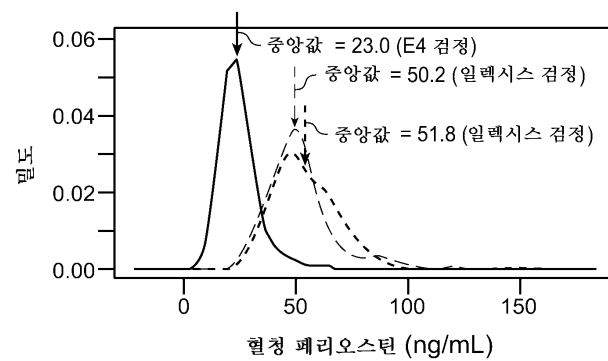
도면15e



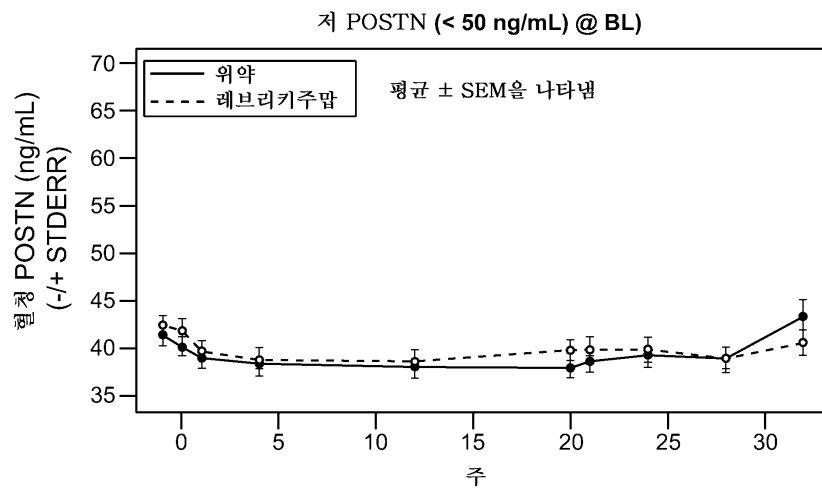
도면16



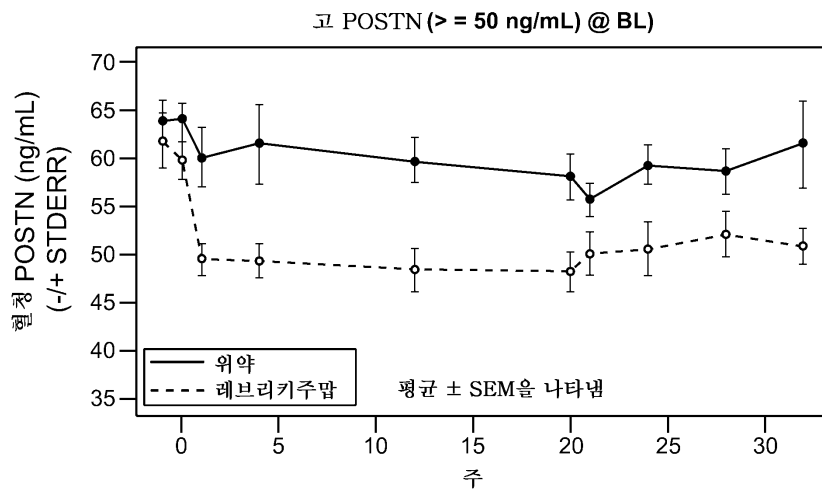
도면17



도면18a



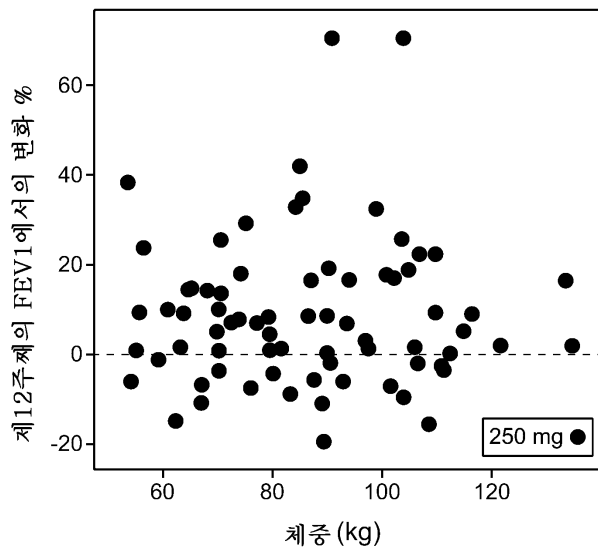
도면18b



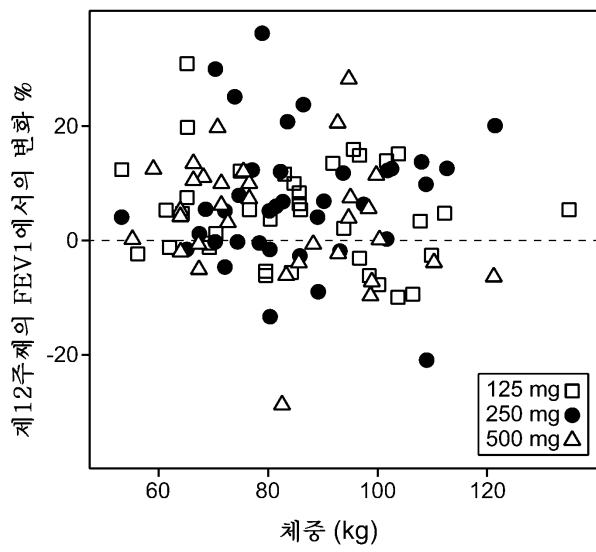
도면19

		위약	레브리키주맙	Δ	p-값
1 주	저-페리오스틴	-2.3%	-5.9%	-3.6%	0.2
	고-페리오스틴	-8.1%	-14.9%	-6.8%	0.0006
	전체	-5.4%	-9.8%	-4.4%	0.003
		위약	레브리키주맙	Δ	p-값
4 주	저-페리오스틴	-4.0%	-6.5%	-2.5%	0.6
	고-페리오스틴	-7.1%	-17.2%	-10.1%	<0.0001
	전체	-4.9%	-10.5%	-5.6%	0.005
		위약	레브리키주맙	Δ	p-값
12 주	저-페리오스틴	-4.9%	-7.1%	-2.2%	0.6
	고-페리오스틴	-3.9%	-19.2%	-15.3%	<0.0001
	전체	-4.6%	-12.3%	-7.7%	0.0006
		위약	레브리키주맙	Δ	p-값
24 주	저-페리오스틴	-2.6%	-6.7%	-4.1%	0.2
	고-페리오스틴	-6.0%	-16.5%	-10.5%	0.0003
	전체	-4.6%	-10.7%	-6.1%	0.002
		위약	레브리키주맙	Δ	p-값
32 주	저-페리오스틴	+0.3%	-3.0%	-3.3%	0.02
	고-페리오스틴	-7.4%	-14.1%	-6.7%	0.009
	전체	-2.2%	-8.9%	-6.7%	0.005

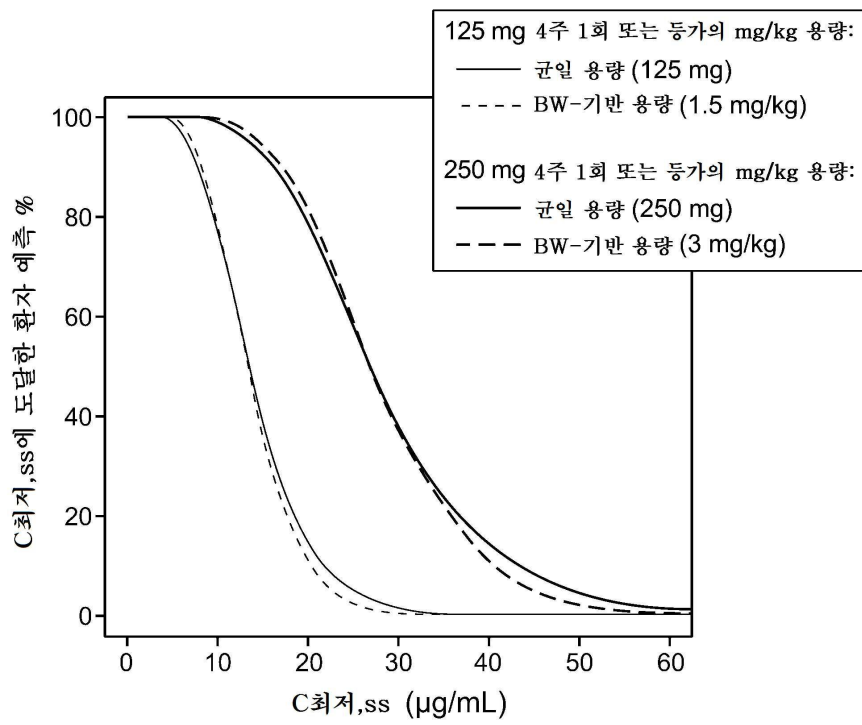
도면20a



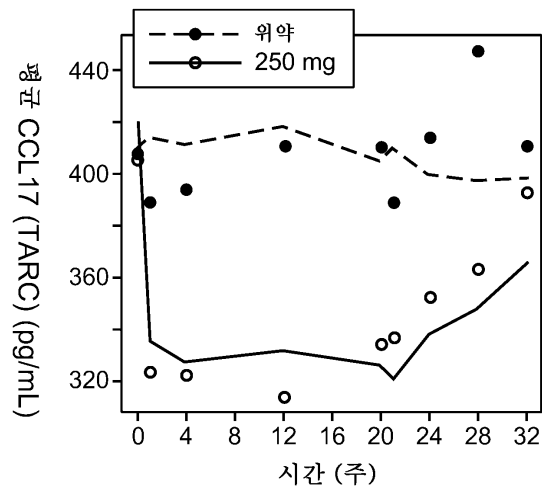
도면20b



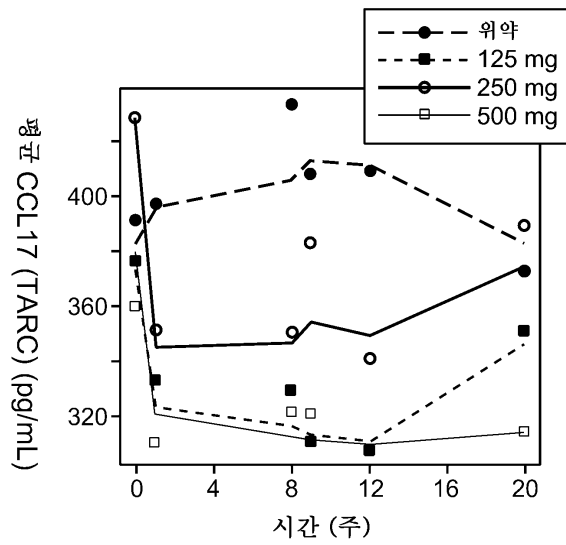
도면21



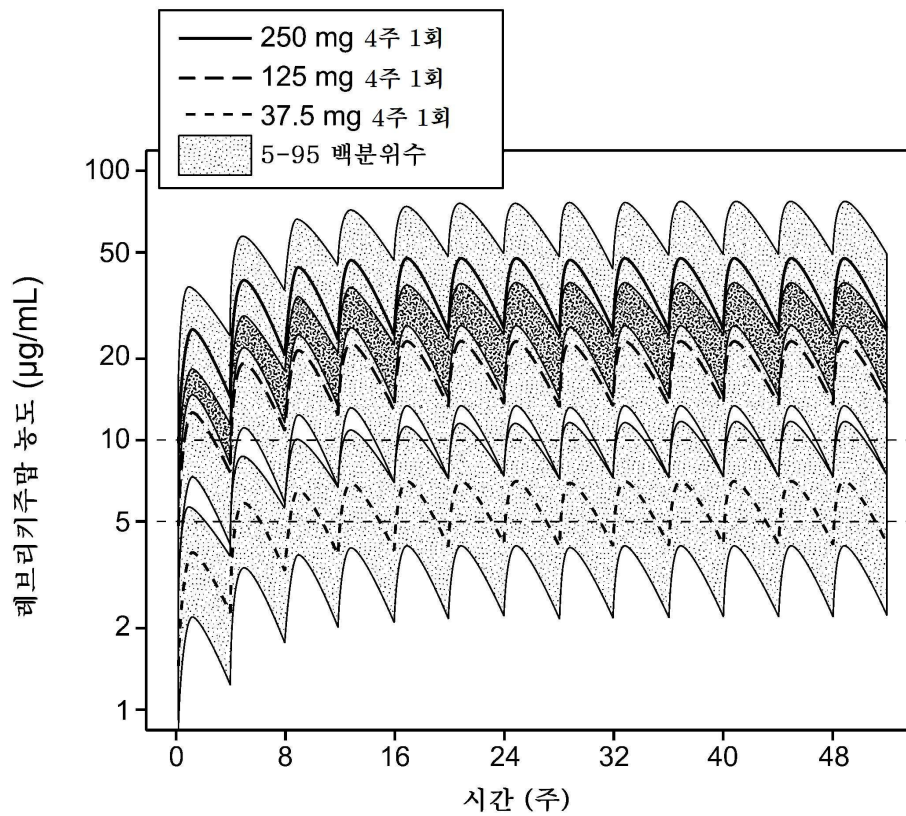
도면22a



도면22b



도면23



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> GENENTECH, INC. ET AL.
 <120> DIAGNOSIS AND TREATMENTS RELATING TO TH2 INHIBITION
 <130> P4569R1-WO
 <140><141><150> 61/557,295
 <151> 2011-11-08
 <150> 61/574,485
 <151> 2011-08-02
 <150> 61/484,650
 <151> 2011-05-10
 <150> 61/465,425
 <151> 2011-03-18
 <150> 61/459,760
 <151> 2010-12-16
 <160> 25
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 1

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Asn Thr Gly Tyr Ala Asp Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Arg Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Thr Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val

115 120 125

<210> 2

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 2

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Thr Tyr Met

20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Phe
35 40 45

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

<210> 3

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 3

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

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val

115 120 125

<210> 4

<211> 103

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 4

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Ser Ser

20 25 30

Val Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Thr Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Leu Thr Asp Tyr Phe Cys Leu Gln Tyr Gly Thr Tyr Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg

100

<210> 5

<211> 836

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Met Ile Pro Phe Leu Pro Met Phe Ser Leu Leu Leu Leu Ile Val

1 5 10 15

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

20 25 30

Arg Ile Arg Gly Arg Asp Gln Gly Pro Asn Val Cys Ala Leu Gln Gln
 35 40 45
 Ile Leu Gly Thr Lys Lys Lys Tyr Phe Ser Thr Cys Lys Asn Trp Tyr
 50 55 60
 Lys Lys Ser Ile Cys Gly Gln Lys Thr Thr Val Leu Tyr Glu Cys Cys
 65 70 75 80
 Pro Gly Tyr Met Arg Met Glu Gly Met Lys Gly Cys Pro Ala Val Leu
 85 90 95
 Pro Ile Asp His Val Tyr Gly Thr Leu Gly Ile Val Gly Ala Thr Thr
 100 105 110
 Thr Gln Arg Tyr Ser Asp Ala Ser Lys Leu Arg Glu Glu Ile Glu Gly
 115 120 125
 Lys Gly Ser Phe Thr Tyr Phe Ala Pro Ser Asn Glu Ala Trp Asp Asn
 130 135 140
 Leu Asp Ser Asp Ile Arg Arg Gly Leu Glu Ser Asn Val Asn Val Glu
 145 150 155 160
 Leu Leu Asn Ala Leu His Ser His Met Ile Asn Lys Arg Met Leu Thr
 165 170 175
 Lys Asp Leu Lys Asn Gly Met Ile Ile Pro Ser Met Tyr Asn Asn Leu
 180 185 190
 Gly Leu Phe Ile Asn His Tyr Pro Asn Gly Val Val Thr Val Asn Cys
 195 200 205
 Ala Arg Ile Ile His Gly Asn Gln Ile Ala Thr Asn Gly Val Val His
 210 215 220
 Val Ile Asp Arg Val Leu Thr Gln Ile Gly Thr Ser Ile Gln Asp Phe
 225 230 235 240
 Ile Glu Ala Glu Asp Asp Leu Ser Ser Phe Arg Ala Ala Ala Ile Thr
 245 250 255
 Ser Asp Ile Leu Glu Ala Leu Gly Arg Asp Gly His Phe Thr Leu Phe
 260 265 270
 Ala Pro Thr Asn Glu Ala Phe Glu Lys Leu Pro Arg Gly Val Leu Glu

275 280 285
 Arg Ile Met Gly Asp Lys Val Ala Ser Glu Ala Leu Met Lys Tyr His
 290 295 300
 Ile Leu Asn Thr Leu Gln Cys Ser Glu Ser Ile Met Gly Gly Ala Val

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

 370 375 380
 Thr Asp Leu Val Ala Gln Leu Gly Leu Ala Ser Ala Leu Arg Pro Asp
 385 390 395 400
 Gly Glu Tyr Thr Leu Leu Ala Pro Val Asn Asn Ala Phe Ser Asp Asp
 405 410 415
 Thr Leu Ser Met Asp Gln Arg Leu Leu Lys Leu Ile Leu Gln Asn His
 420 425 430
 Ile Leu Lys Val Lys Val Gly Leu Asn Glu Leu Tyr Asn Gly Gln Ile

 435 440 445
 Leu Glu Thr Ile Gly Gly Lys Gln Leu Arg Val Phe Val Tyr Arg Thr
 450 455 460
 Ala Val Cys Ile Glu Asn Ser Cys Met Glu Lys Gly Ser Lys Gln Gly
 465 470 475 480
 Arg Asn Gly Ala Ile His Ile Phe Arg Glu Ile Ile Lys Pro Ala Glu
 485 490 495
 Lys Ser Leu His Glu Lys Leu Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ser Thr Phe

 500 505 510
 Leu Ser Leu Leu Glu Ala Ala Asp Leu Lys Glu Leu Leu Thr Gln Pro
 515 520 525

Gly Asp Trp Thr Leu Phe Val Pro Thr Asn Asp Ala Phe Lys Gly Met
530 535 540

Thr Ser Glu Glu Lys Glu Ile Leu Ile Arg Asp Lys Asn Ala Leu Gln
545 550 555 560

Asn Ile Ile Leu Tyr His Leu Thr Pro Gly Val Phe Ile Gly Lys Gly
565 570 575

Phe Glu Pro Gly Val Thr Asn Ile Leu Lys Thr Thr Gln Gly Ser Lys
580 585 590

Ile Phe Leu Lys Glu Val Asn Asp Thr Leu Leu Val Asn Glu Leu Lys
595 600 605

Ser Lys Glu Ser Asp Ile Met Thr Thr Asn Gly Val Ile His Val Val
610 615 620

Asp Lys Leu Leu Tyr Pro Ala Asp Thr Pro Val Gly Asn Asp Gln Leu
625 630 635 640

Leu Glu Ile Leu Asn Lys Leu Ile Lys Tyr Ile Gln Ile Lys Phe Val
645 650 655

Arg Gly Ser Thr Phe Lys Glu Ile Pro Val Thr Val Tyr Thr Thr Lys
660 665 670

Ile Ile Thr Lys Val Val Glu Pro Lys Ile Lys Val Ile Glu Gly Ser
675 680 685

Leu Gln Pro Ile Ile Lys Thr Glu Gly Pro Thr Leu Thr Lys Val Lys
690 695 700

Ile Glu Gly Glu Pro Glu Phe Arg Leu Ile Lys Glu Gly Glu Thr Ile
705 710 715 720

Thr Glu Val Ile His Gly Glu Pro Ile Ile Lys Lys Tyr Thr Lys Ile
725 730 735

Ile Asp Gly Val Pro Val Glu Ile Thr Glu Lys Glu Thr Arg Glu Glu
740 745 750

Arg Ile Ile Thr Gly Pro Glu Ile Lys Tyr Thr Arg Ile Ser Thr Gly
755 760 765

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

770 775 780
 Thr Lys Val Thr Lys Phe Ile Glu Gly Gly Asp Gly His Leu Phe Glu
 785 790 795 800
 Asp Glu Glu Ile Lys Arg Leu Leu Gln Gly Asp Thr Pro Val Arg Lys
 805 810 815
 Leu Gln Ala Asn Lys Lys Val Gln Gly Ser Arg Arg Arg Leu Arg Glu

820 825 830
 Gly Arg Ser Gln
 835

<210> 6

<211> 779

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

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

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

Thr Gln Arg Tyr Ser Asp Ala Ser Lys Leu Arg Glu Glu Ile Glu Gly
 115 120 125
 Lys Gly Ser Phe Thr Tyr Phe Ala Pro Ser Asn Glu Ala Trp Asp Asn
 130 135 140

Leu Asp Ser Asp Ile Arg Arg Gly Leu Glu Ser Asn Val Asn Val Glu
 145 150 155 160
 Leu Leu Asn Ala Leu His Ser His Met Ile Asn Lys Arg Met Leu Thr
 165 170 175

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

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

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

 Ser Ala Lys Gln Val Ile Glu Leu Ala Gly Lys Gln Gln Thr Thr Phe
 370 375 380
 Thr Asp Leu Val Ala Gln Leu Gly Leu Ala Ser Ala Leu Arg Pro Asp

385 390 395 400
 Gly Glu Tyr Thr Leu Leu Ala Pro Val Asn Asn Ala Phe Ser Asp Asp
 405 410 415
 Thr Leu Ser Met Asp Gln Arg Leu Leu Lys Leu Ile Leu Gln Asn His
 420 425 430

 Ile Leu Lys Val Lys Val Gly Leu Asn Glu Leu Tyr Asn Gly Gln Ile
 435 440 445
 Leu Glu Thr Ile Gly Gly Lys Gln Leu Arg Val Phe Val Tyr Arg Thr
 450 455 460
 Ala Val Cys Ile Glu Asn Ser Cys Met Glu Lys Gly Ser Lys Gln Gly
 465 470 475 480
 Arg Asn Gly Ala Ile His Ile Phe Arg Glu Ile Ile Lys Pro Ala Glu
 485 490 495

 Lys Ser Leu His Glu Lys Leu Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ser Thr Phe
 500 505 510
 Leu Ser Leu Leu Glu Ala Ala Asp Leu Lys Glu Leu Leu Thr Gln Pro
 515 520 525
 Gly Asp Trp Thr Leu Phe Val Pro Thr Asn Asp Ala Phe Lys Gly Met
 530 535 540
 Thr Ser Glu Glu Lys Glu Ile Leu Ile Arg Asp Lys Asn Ala Leu Gln
 545 550 555 560

 Asn Ile Ile Leu Tyr His Leu Thr Pro Gly Val Phe Ile Gly Lys Gly
 565 570 575
 Phe Glu Pro Gly Val Thr Asn Ile Leu Lys Thr Thr Gln Gly Ser Lys
 580 585 590
 Ile Phe Leu Lys Glu Val Asn Asp Thr Leu Leu Val Asn Glu Leu Lys
 595 600 605
 Ser Lys Glu Ser Asp Ile Met Thr Thr Asn Gly Val Ile His Val Val
 610 615 620

 Asp Lys Leu Leu Tyr Pro Ala Asp Thr Pro Val Gly Asn Asp Gln Leu
 625 630 635 640

Leu Glu Ile Leu Asn Lys Leu Ile Lys Tyr Ile Gln Ile Lys Phe Val
 645 650 655
 Arg Gly Ser Thr Phe Lys Glu Ile Pro Val Thr Val Tyr Lys Pro Ile
 660 665 670
 Ile Lys Lys Tyr Thr Lys Ile Ile Asp Gly Val Pro Val Glu Ile Thr
 675 680 685

 Glu Lys Glu Thr Arg Glu Glu Arg Ile Ile Thr Gly Pro Glu Ile Lys
 690 695 700
 Tyr Thr Arg Ile Ser Thr Gly Gly Gly Glu Thr Glu Glu Thr Leu Lys
 705 710 715 720
 Lys Leu Leu Gln Glu Glu Val Thr Lys Val Thr Lys Phe Ile Glu Gly
 725 730 735
 Gly Asp Gly His Leu Phe Glu Asp Glu Glu Ile Lys Arg Leu Leu Gln
 740 745 750

 Gly Asp Thr Pro Val Arg Lys Leu Gln Ala Asn Lys Lys Val Gln Gly
 755 760 765
 Ser Arg Arg Arg Leu Arg Glu Gly Arg Ser Gln
 770 775
 <210> 7
 <211> 781
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 7
 Met Ile Pro Phe Leu Pro Met Phe Ser Leu Leu Leu Leu Ile Val
 1 5 10 15
 Asn Pro Ile Asn Ala Asn Asn His Tyr Asp Lys Ile Leu Ala His Ser
 20 25 30

 Arg Ile Arg Gly Arg Asp Gln Gly Pro Asn Val Cys Ala Leu Gln Gln
 35 40 45
 Ile Leu Gly Thr Lys Lys Lys Tyr Phe Ser Thr Cys Lys Asn Trp Tyr
 50 55 60
 Lys Lys Ser Ile Cys Gly Gln Lys Thr Thr Val Leu Tyr Glu Cys Cys

65						70						75						80
Pro	Gly	Tyr	Met	Arg	Met	Glu	Gly	Met	Lys	Gly	Cys	Pro	Ala	Val	Leu			
					85						90						95	
Pro	Ile	Asp	His	Val	Tyr	Gly	Thr	Leu	Gly	Ile	Val	Gly	Ala	Thr	Thr			
					100						105						110	
Thr	Gln	Arg	Tyr	Ser	Asp	Ala	Ser	Lys	Leu	Arg	Glu	Glu	Ile	Glu	Gly			
					115						120						125	
Lys	Gly	Ser	Phe	Thr	Tyr	Phe	Ala	Pro	Ser	Asn	Glu	Ala	Trp	Asp	Asn			
					130						135						140	
Leu	Asp	Ser	Asp	Ile	Arg	Arg	Gly	Leu	Glu	Ser	Asn	Val	Asn	Val	Glu			
					145						150						155	
															160			
Leu	Leu	Asn	Ala	Leu	His	Ser	His	Met	Ile	Asn	Lys	Arg	Met	Leu	Thr			
					165						170						175	
Lys	Asp	Leu	Lys	Asn	Gly	Met	Ile	Ile	Pro	Ser	Met	Tyr	Asn	Asn	Leu			
					180						185						190	
Gly	Leu	Phe	Ile	Asn	His	Tyr	Pro	Asn	Gly	Val	Val	Thr	Val	Asn	Cys			
					195						200						205	
Ala	Arg	Ile	Ile	His	Gly	Asn	Gln	Ile	Ala	Thr	Asn	Gly	Val	Val	His			
					210						215						220	
Val	Ile	Asp	Arg	Val	Leu	Thr	Gln	Ile	Gly	Thr	Ser	Ile	Gln	Asp	Phe			
					225						230						235	
															240			
Ile	Glu	Ala	Glu	Asp	Asp	Leu	Ser	Ser	Phe	Arg	Ala	Ala	Ala	Ile	Thr			
					245						250						255	
Ser	Asp	Ile	Leu	Glu	Ala	Leu	Gly	Arg	Asp	Gly	His	Phe	Thr	Leu	Phe			
					260						265						270	
Ala	Pro	Thr	Asn	Glu	Ala	Phe	Glu	Lys	Leu	Pro	Arg	Gly	Val	Leu	Glu			
					275						280						285	
Arg	Ile	Met	Gly	Asp	Lys	Val	Ala	Ser	Glu	Ala	Leu	Met	Lys	Tyr	His			
					290						295						300	
Ile	Leu	Asn	Thr	Leu	Gln	Cys	Ser	Glu	Ser	Ile	Met	Gly	Gly	Ala	Val			
					305						310						315	
															320			

Phe Glu Thr Leu Glu Gly Asn Thr Ile Glu Ile Gly Cys Asp Gly Asp
 325 330 335
 Ser Ile Thr Val Asn Gly Ile Lys Met Val Asn Lys Lys Asp Ile Val
 340 345 350

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

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

 Arg Asn Gly Ala Ile His Ile Phe Arg Glu Ile Ile Lys Pro Ala Glu
 485 490 495
 Lys Ser Leu His Glu Lys Leu Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ser Thr Phe
 500 505 510
 Leu Ser Leu Leu Glu Ala Ala Asp Leu Lys Glu Leu Leu Thr Gln Pro
 515 520 525
 Gly Asp Trp Thr Leu Phe Val Pro Thr Asn Asp Ala Phe Lys Gly Met
 530 535 540

 Thr Ser Glu Glu Lys Glu Ile Leu Ile Arg Asp Lys Asn Ala Leu Gln
 545 550 555 560
 Asn Ile Ile Leu Tyr His Leu Thr Pro Gly Val Phe Ile Gly Lys Gly

565	570	575	
Phe Glu Pro Gly Val Thr Asn Ile Leu Lys Thr Thr Gln Gly Ser Lys			
580	585	590	
Ile Phe Leu Lys Glu Val Asn Asp Thr Leu Leu Val Asn Glu Leu Lys			
595	600	605	
Ser Lys Glu Ser Asp Ile Met Thr Thr Asn Gly Val Ile His Val Val			
610	615	620	
Asp Lys Leu Leu Tyr Pro Ala Asp Thr Pro Val Gly Asn Asp Gln Leu			
625	630	635	640
Leu Glu Ile Leu Asn Lys Leu Ile Lys Tyr Ile Gln Ile Lys Phe Val			
645	650	655	
Arg Gly Ser Thr Phe Lys Glu Ile Pro Val Thr Val Tyr Arg Pro Thr			
660	665	670	
Leu Thr Lys Val Lys Ile Glu Gly Glu Pro Glu Phe Arg Leu Ile Lys			
675	680	685	
Glu Gly Glu Thr Ile Thr Glu Val Ile His Gly Glu Pro Ile Ile Lys			
690	695	700	
Lys Tyr Thr Lys Ile Ile Asp Gly Val Pro Val Glu Ile Thr Glu Lys			
705	710	715	720
Glu Thr Arg Glu Glu Arg Ile Ile Thr Gly Pro Glu Ile Lys Tyr Thr			
725	730	735	
Arg Ile Ser Thr Gly Gly Gly Glu Thr Glu Glu Thr Leu Lys Lys Leu			
740	745	750	
Leu Gln Glu Asp Thr Pro Val Arg Lys Leu Gln Ala Asn Lys Lys Val			
755	760	765	
Gln Gly Ser Arg Arg Arg Leu Arg Glu Gly Arg Ser Gln			
770	775	780	

<210> 8

<211> 751

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Met Ile Pro Phe Leu Pro Met Phe Ser Leu Leu Leu Leu Leu Ile Val
1 5 10 15

Asn Pro Ile Asn Ala Asn Asn His Tyr Asp Lys Ile Leu Ala His Ser
20 25 30

Arg Ile Arg Gly Arg Asp Gln Gly Pro Asn Val Cys Ala Leu Gln Gln
35 40 45

Ile Leu Gly Thr Lys Lys Lys Tyr Phe Ser Thr Cys Lys Asn Trp Tyr
50 55 60

Lys Lys Ser Ile Cys Gly Gln Lys Thr Thr Val Leu Tyr Glu Cys Cys
65 70 75 80

Pro Gly Tyr Met Arg Met Glu Gly Met Lys Gly Cys Pro Ala Val Leu
85 90 95

Pro Ile Asp His Val Tyr Gly Thr Leu Gly Ile Val Gly Ala Thr Thr
100 105 110

Thr Gln Arg Tyr Ser Asp Ala Ser Lys Leu Arg Glu Glu Ile Glu Gly
115 120 125

Lys Gly Ser Phe Thr Tyr Phe Ala Pro Ser Asn Glu Ala Trp Asp Asn
130 135 140

Leu Asp Ser Asp Ile Arg Arg Gly Leu Glu Ser Asn Val Asn Val Glu
145 150 155 160

Leu Leu Asn Ala Leu His Ser His Met Ile Asn Lys Arg Met Leu Thr
165 170 175

Lys Asp Leu Lys Asn Gly Met Ile Ile Pro Ser Met Tyr Asn Asn Leu
180 185 190

Gly Leu Phe Ile Asn His Tyr Pro Asn Gly Val Val Thr Val Asn Cys
195 200 205

Ala Arg Ile Ile His Gly Asn Gln Ile Ala Thr Asn Gly Val Val His
210 215 220

Val Ile Asp Arg Val Leu Thr Gln Ile Gly Thr Ser Ile Gln Asp Phe
225 230 235 240

Ile Glu Ala Glu Asp Asp Leu Ser Ser Phe Arg Ala Ala Ala Ile Thr

245 250 255
 Ser Asp Ile Leu Glu Ala Leu Gly Arg Asp Gly His Phe Thr Leu Phe
 260 265 270

Ala Pro Thr Asn Glu Ala Phe Glu Lys Leu Pro Arg Gly Val Leu Glu
 275 280 285

Arg Ile Met Gly Asp Lys Val Ala Ser Glu Ala Leu Met Lys Tyr His
 290 295 300

Ile Leu Asn Thr Leu Gln Cys Ser Glu Ser Ile Met Gly Gly Ala Val
 305 310 315 320

Phe Glu Thr Leu Glu Gly Asn Thr Ile Glu Ile Gly Cys Asp Gly Asp
 325 330 335

Ser Ile Thr Val Asn Gly Ile Lys Met Val Asn Lys Lys Asp Ile Val
 340 345 350

Thr Asn Asn Gly Val Ile His Leu Ile Asp Gln Val Leu Ile Pro Asp
 355 360 365

Ser Ala Lys Gln Val Ile Glu Leu Ala Gly Lys Gln Gln Thr Thr Phe
 370 375 380

Thr Asp Leu Val Ala Gln Leu Gly Leu Ala Ser Ala Leu Arg Pro Asp
 385 390 395 400

Gly Glu Tyr Thr Leu Leu Ala Pro Val Asn Asn Ala Phe Ser Asp Asp
 405 410 415

Thr Leu Ser Met Asp Gln Arg Leu Leu Lys Leu Ile Leu Gln Asn His
 420 425 430

Ile Leu Lys Val Lys Val Gly Leu Asn Glu Leu Tyr Asn Gly Gln Ile
 435 440 445

Leu Glu Thr Ile Gly Gly Lys Gln Leu Arg Val Phe Val Tyr Arg Thr
 450 455 460

Ala Val Cys Ile Glu Asn Ser Cys Met Glu Lys Gly Ser Lys Gln Gly
 465 470 475 480

Arg Asn Gly Ala Ile His Ile Phe Arg Glu Ile Ile Lys Pro Ala Glu
 485 490 495

Lys Ser Leu His Glu Lys Leu Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ser Thr Phe
 500 505 510
 Leu Ser Leu Leu Glu Ala Ala Asp Leu Lys Glu Leu Leu Thr Gln Pro
 515 520 525

 Gly Asp Trp Thr Leu Phe Val Pro Thr Asn Asp Ala Phe Lys Gly Met
 530 535 540
 Thr Ser Glu Glu Lys Glu Ile Leu Ile Arg Asp Lys Asn Ala Leu Gln
 545 550 555 560
 Asn Ile Ile Leu Tyr His Leu Thr Pro Gly Val Phe Ile Gly Lys Gly
 565 570 575
 Phe Glu Pro Gly Val Thr Asn Ile Leu Lys Thr Thr Gln Gly Ser Lys
 580 585 590

 Ile Phe Leu Lys Glu Val Asn Asp Thr Leu Leu Val Asn Glu Leu Lys
 595 600 605
 Ser Lys Glu Ser Asp Ile Met Thr Thr Asn Gly Val Ile His Val Val
 610 615 620
 Asp Lys Leu Leu Tyr Pro Ala Asp Thr Pro Val Gly Asn Asp Gln Leu
 625 630 635 640
 Leu Glu Ile Leu Asn Lys Leu Ile Lys Tyr Ile Gln Ile Lys Phe Val
 645 650 655

 Arg Gly Ser Thr Phe Lys Glu Ile Pro Val Thr Val Tyr Lys Pro Ile
 660 665 670
 Ile Lys Lys Tyr Thr Lys Ile Ile Asp Gly Val Pro Val Glu Ile Thr
 675 680 685
 Glu Lys Glu Thr Arg Glu Glu Arg Ile Ile Thr Gly Pro Glu Ile Lys
 690 695 700
 Tyr Thr Arg Ile Ser Thr Gly Gly Gly Glu Thr Glu Glu Thr Leu Lys
 705 710 715 720

 Lys Leu Leu Gln Glu Asp Thr Pro Val Arg Lys Leu Gln Ala Asn Lys
 725 730 735
 Lys Val Gln Gly Ser Arg Arg Arg Leu Arg Glu Gly Arg Ser Gln

740 745 750

<210> 9

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 9

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

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

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

Met Ile Trp Gly Asp Gly Lys Ile Val Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser
50 55 60

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

Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly
85 90 95

Asp Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ala Met Asp Asn Trp Gly Gln Gly Ser Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 10

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 10

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

1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys 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 Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

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

<210> 11

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 11

Ala Tyr Ser Val Asn Trp

1 5

<210> 12

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 12

Met Ile Trp Gly Asp Gly Lys Ile Val Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 13

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 13

Asp Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ala Met Asp Asn

1 5 10

<210> 14

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 14

Arg Ala Ser Lys Ser Val Asp Ser Tyr Gly Asn Ser Phe Met His

1 5 10 15

<210> 15

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 15

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 16

Gln Gln Asn Asn Glu Asp Pro Arg Thr

1 5

<210> 17

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

 polypeptide

<400> 17

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

 35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

 100 105 110

Thr Val

<210> 18

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

 polypeptide

<400> 18

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gln Gly

<210> 19

<211> 836

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

Met Ile Pro Phe Leu Pro Met Phe Ser Leu Leu Leu Leu Ile Val

1 5 10 15

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

20 25 30

Arg Ile Arg Gly Arg Asp Gln Gly Pro Asn Val Cys Ala Leu Gln Gln

35 40 45

Ile Leu Gly Thr Lys Lys Lys Tyr Phe Ser Thr Cys Lys Asn Trp Tyr

50 55 60

Lys Lys Ser Ile Cys Gly Gln Lys Thr Thr Val Leu Tyr Glu Cys Cys

65 70 75 80

Pro Gly Tyr Met Arg Met Glu Gly Met Lys Gly Cys Pro Ala Val Leu

85 90 95

Pro Ile Asp His Val Tyr Gly Thr Leu Gly Ile Val Gly Ala Thr Thr
100 105 110

Thr Gln Arg Tyr Ser Asp Ala Ser Lys Leu Arg Glu Glu Ile Glu Gly
115 120 125

Lys Gly Ser Phe Thr Tyr Phe Ala Pro Ser Asn Glu Ala Trp Asp Asn
130 135 140

Leu Asp Ser Asp Ile Arg Arg Gly Leu Glu Ser Asn Val Asn Val Glu
145 150 155 160

Leu Leu Asn Ala Leu His Ser His Met Ile Asn Lys Arg Met Leu Thr
165 170 175

Lys Asp Leu Lys Asn Gly Met Ile Ile Pro Ser Met Tyr Asn Asn Leu
180 185 190

Gly Leu Phe Ile Asn His Tyr Pro Asn Gly Val Val Thr Val Asn Cys
195 200 205

Ala Arg Ile Ile His Gly Asn Gln Ile Ala Thr Asn Gly Val Val His
210 215 220

Val Ile Asp Arg Val Leu Thr Gln Ile Gly Thr Ser Ile Gln Asp Phe
225 230 235 240

Ile Glu Ala Glu Asp Asp Leu Ser Ser Phe Arg Ala Ala Ala Ile Thr
245 250 255

Ser Asp Ile Leu Glu Ala Leu Gly Arg Asp Gly His Phe Thr Leu Phe
260 265 270

Ala Pro Thr Asn Glu Ala Phe Glu Lys Leu Pro Arg Gly Val Leu Glu
275 280 285

Arg Ile Met Gly Asp Lys Val Ala Ser Glu Ala Leu Met Lys Tyr His
290 295 300

Ile Leu Asn Thr Leu Gln Cys Ser Glu Ser Ile Met Gly Gly Ala Val
305 310 315 320

Phe Glu Thr Leu Glu Gly Asn Thr Ile Glu Ile Gly Cys Asp Gly Asp
325 330 335

Ser Ile Thr Val Asn Gly Ile Lys Met Val Asn Lys Lys Asp Ile Val

340	345	350
Thr Asn Asn Gly Val Ile His Leu Ile Asp Gln Val Leu Ile Pro Asp		
355	360	365
Ser Ala Lys Gln Val Ile Glu Leu Ala Gly Lys Gln Gln Thr Thr Phe		
370	375	380
Thr Asp Leu Val Ala Gln Leu Gly Leu Ala Ser Ala Leu Arg Pro Asp		
385	390	395
Gly Glu Tyr Thr Leu Leu Ala Pro Val Asn Asn Ala Phe Ser Asp Asp		
405	410	415
Thr Leu Ser Met Asp Gln Arg Leu Leu Lys Leu Ile Leu Gln Asn His		
420	425	430
Ile Leu Lys Val Lys Val Gly Leu Asn Glu Leu Tyr Asn Gly Gln Ile		
435	440	445
Leu Glu Thr Ile Gly Gly Lys Gln Leu Arg Val Phe Val Tyr Arg Thr		
450	455	460
Ala Val Cys Ile Glu Asn Ser Cys Met Glu Lys Gly Ser Lys Gln Gly		
465	470	475
Arg Asn Gly Ala Ile His Ile Phe Arg Glu Ile Ile Lys Pro Ala Glu		
485	490	495
Lys Ser Leu His Glu Lys Leu Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ser Thr Phe		
500	505	510
Leu Ser Leu Leu Glu Ala Ala Asp Leu Lys Glu Leu Leu Thr Gln Pro		
515	520	525
Gly Asp Trp Thr Leu Phe Val Pro Thr Asn Asp Ala Phe Lys Gly Met		
530	535	540
Thr Ser Glu Glu Lys Glu Ile Leu Ile Arg Asp Lys Asn Ala Leu Gln		
545	550	555
Asn Ile Ile Leu Tyr His Leu Thr Pro Gly Val Phe Ile Gly Lys Gly		
565	570	575
Phe Glu Pro Gly Val Thr Asn Ile Leu Lys Thr Thr Gln Gly Ser Lys		
580	585	590

Ile Phe Leu Lys Glu Val Asn Asp Thr Leu Leu Val Asn Glu Leu Lys
595 600 605

Ser Lys Glu Ser Asp Ile Met Thr Thr Asn Gly Val Ile His Val Val
610 615 620

Asp Lys Leu Leu Tyr Pro Ala Asp Thr Pro Val Gly Asn Asp Gln Leu
625 630 635 640

Leu Glu Ile Leu Asn Lys Leu Ile Lys Tyr Ile Gln Ile Lys Phe Val
645 650 655

Arg Gly Ser Thr Phe Lys Glu Ile Pro Val Thr Val Tyr Thr Thr Lys
660 665 670

Ile Ile Thr Lys Val Val Glu Pro Lys Ile Lys Val Ile Glu Gly Ser
675 680 685

Leu Gln Pro Ile Ile Lys Thr Glu Gly Pro Thr Leu Thr Lys Val Lys
690 695 700

Ile Glu Gly Glu Pro Glu Phe Arg Leu Ile Lys Glu Gly Glu Thr Ile
705 710 715 720

Thr Glu Val Ile His Gly Glu Pro Ile Ile Lys Lys Tyr Thr Lys Ile
725 730 735

Ile Asp Gly Val Pro Val Glu Ile Thr Glu Lys Glu Thr Arg Glu Glu
740 745 750

Arg Ile Ile Thr Gly Pro Glu Ile Lys Tyr Thr Arg Ile Ser Thr Gly
755 760 765

Gly Gly Glu Thr Glu Glu Thr Leu Lys Lys Leu Leu Gln Glu Glu Val
770 775 780

Thr Lys Val Thr Lys Phe Ile Glu Gly Gly Asp Gly His Leu Phe Glu
785 790 795 800

Asp Glu Glu Ile Lys Arg Leu Leu Gln Gly Asp Thr Pro Val Arg Lys
805 810 815

Leu Gln Ala Asn Lys Lys Val Gln Gly Ser Arg Arg Arg Leu Arg Glu
820 825 830

Gly Arg Ser Gln

835

<210> 20

<211> 779

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 20

Met Ile Pro Phe Leu Pro Met Phe Ser Leu Leu Leu Leu Ile Val

1 5 10 15

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

20 25 30

Arg Ile Arg Gly Arg Asp Gln Gly Pro Asn Val Cys Ala Leu Gln Gln

35 40 45

Ile Leu Gly Thr Lys Lys Lys Tyr Phe Ser Thr Cys Lys Asn Trp Tyr

50 55 60

Lys Lys Ser Ile Cys Gly Gln Lys Thr Thr Val Leu Tyr Glu Cys Cys

65 70 75 80

Pro Gly Tyr Met Arg Met Glu Gly Met Lys Gly Cys Pro Ala Val Leu

85 90 95

Pro Ile Asp His Val Tyr Gly Thr Leu Gly Ile Val Gly Ala Thr Thr

100 105 110

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

115 120 125

Lys Gly Ser Phe Thr Tyr Phe Ala Pro Ser Asn Glu Ala Trp Asp Asn

130 135 140

Leu Asp Ser Asp Ile Arg Arg Gly Leu Glu Ser Asn Val Asn Val Glu

145 150 155 160

Leu Leu Asn Ala Leu His Ser His Met Ile Asn Lys Arg Met Leu Thr

165 170 175

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

180 185 190

Gly Leu Phe Ile Asn His Tyr Pro Asn Gly Val Val Thr Val Asn Cys

195 200 205

Ala Arg Ile Ile His Gly Asn Gln Ile Ala Thr Asn Gly Val Val His

210 215 220

Val Ile Asp Arg Val Leu Thr Gln Ile Gly Thr Ser Ile Gln Asp Phe

225 230 235 240

Ile Glu Ala Glu Asp Asp Leu Ser Ser Phe Arg Ala Ala Ala Ile Thr

245 250 255

Ser Asp Ile Leu Glu Ala Leu Gly Arg Asp Gly His Phe Thr Leu Phe

260 265 270

Ala Pro Thr Asn Glu Ala Phe Glu Lys Leu Pro Arg Gly Val Leu Glu

275 280 285

Arg Ile Met Gly Asp Lys Val Ala Ser Glu Ala Leu Met Lys Tyr His

290 295 300

Ile Leu Asn Thr Leu Gln Cys Ser Glu Ser Ile Met Gly Gly Ala Val

305 310 315 320

Phe Glu Thr Leu Glu Gly Asn Thr Ile Glu Ile Gly Cys Asp Gly Asp

325 330 335

Ser Ile Thr Val Asn Gly Ile Lys Met Val Asn Lys Lys Asp Ile Val

340 345 350

Thr Asn Asn Gly Val Ile His Leu Ile Asp Gln Val Leu Ile Pro Asp

355 360 365

Ser Ala Lys Gln Val Ile Glu Leu Ala Gly Lys Gln Gln Thr Thr Phe

370 375 380

Thr Asp Leu Val Ala Gln Leu Gly Leu Ala Ser Ala Leu Arg Pro Asp

385 390 395 400

Gly Glu Tyr Thr Leu Leu Ala Pro Val Asn Asn Ala Phe Ser Asp Asp

405 410 415

Thr Leu Ser Met Asp Gln Arg Leu Leu Lys Leu Ile Leu Gln Asn His

420 425 430

Ile Leu Lys Val Lys Val Gly Leu Asn Glu Leu Tyr Asn Gly Gln Ile

435 440 445

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

450 455 460
 Ala Val Cys Ile Glu Asn Ser Cys Met Glu Lys Gly Ser Lys Gln Gly

 465 470 475 480
 Arg Asn Gly Ala Ile His Ile Phe Arg Glu Ile Ile Lys Pro Ala Glu

 485 490 495
 Lys Ser Leu His Glu Lys Leu Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ser Thr Phe

 500 505 510
 Leu Ser Leu Leu Glu Ala Ala Asp Leu Lys Glu Leu Leu Thr Gln Pro

 515 520 525
 Gly Asp Trp Thr Leu Phe Val Pro Thr Asn Asp Ala Phe Lys Gly Met

 530 535 540
 Thr Ser Glu Glu Lys Glu Ile Leu Ile Arg Asp Lys Asn Ala Leu Gln
 545 550 555 560
 Asn Ile Ile Leu Tyr His Leu Thr Pro Gly Val Phe Ile Gly Lys Gly

 565 570 575
 Phe Glu Pro Gly Val Thr Asn Ile Leu Lys Thr Thr Gln Gly Ser Lys

 580 585 590
 Ile Phe Leu Lys Glu Val Asn Asp Thr Leu Leu Val Asn Glu Leu Lys

 595 600 605
 Ser Lys Glu Ser Asp Ile Met Thr Thr Asn Gly Val Ile His Val Val
 610 615 620
 Asp Lys Leu Leu Tyr Pro Ala Asp Thr Pro Val Gly Asn Asp Gln Leu
 625 630 635 640
 Leu Glu Ile Leu Asn Lys Leu Ile Lys Tyr Ile Gln Ile Lys Phe Val

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

 660 665 670
 Ile Lys Lys Tyr Thr Lys Ile Ile Asp Gly Val Pro Val Glu Ile Thr
 675 680 685
 Glu Lys Glu Thr Arg Glu Glu Arg Ile Ile Thr Gly Pro Glu Ile Lys

 690 695 700

Tyr Thr Arg Ile Ser Thr Gly Gly Gly Glu Thr Glu Glu Thr Leu Lys
 705 710 715 720
 Lys Leu Leu Gln Glu Glu Val Thr Lys Val Thr Lys Phe Ile Glu Gly

725 730 735
 Gly Asp Gly His Leu Phe Glu Asp Glu Glu Ile Lys Arg Leu Leu Gln
 740 745 750

Gly Asp Thr Pro Val Arg Lys Leu Gln Ala Asn Lys Lys Val Gln Gly
 755 760 765

Ser Arg Arg Arg Leu Arg Glu Gly Arg Ser Gln
 770 775

<210> 21

<211> 781

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

Met Ile Pro Phe Leu Pro Met Phe Ser Leu Leu Leu Leu Ile Val

1 5 10 15
 Asn Pro Ile Asn Ala Asn Asn His Tyr Asp Lys Ile Leu Ala His Ser

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

35 40 45
 Ile Leu Gly Thr Lys Lys Lys Tyr Phe Ser Thr Cys Lys Asn Trp Tyr

50 55 60
 Lys Lys Ser Ile Cys Gly Gln Lys Thr Thr Val Leu Tyr Glu Cys Cys

65 70 75 80
 Pro Gly Tyr Met Arg Met Glu Gly Met Lys Gly Cys Pro Ala Val Leu

85 90 95
 Pro Ile Asp His Val Tyr Gly Thr Leu Gly Ile Val Gly Ala Thr Thr

100 105 110
 Thr Gln Arg Tyr Ser Asp Ala Ser Lys Leu Arg Glu Glu Ile Glu Gly

115 120 125

Lys Gly Ser Phe Thr Tyr Phe Ala Pro Ser Asn Glu Ala Trp Asp Asn

130 135 140

Leu Asp Ser Asp Ile Arg Arg Gly Leu Glu Ser Asn Val Asn Val Glu

145 150 155 160

Leu Leu Asn Ala Leu His Ser His Met Ile Asn Lys Arg Met Leu Thr

165 170 175

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

180 185 190

Gly Leu Phe Ile Asn His Tyr Pro Asn Gly Val Val Thr Val Asn Cys

195 200 205

Ala Arg Ile Ile His Gly Asn Gln Ile Ala Thr Asn Gly Val Val His

210 215 220

Val Ile Asp Arg Val Leu Thr Gln Ile Gly Thr Ser Ile Gln Asp Phe

225 230 235 240

Ile Glu Ala Glu Asp Asp Leu Ser Ser Phe Arg Ala Ala Ala Ile Thr

245 250 255

Ser Asp Ile Leu Glu Ala Leu Gly Arg Asp Gly His Phe Thr Leu Phe

260 265 270

Ala Pro Thr Asn Glu Ala Phe Glu Lys Leu Pro Arg Gly Val Leu Glu

275 280 285

Arg Ile Met Gly Asp Lys Val Ala Ser Glu Ala Leu Met Lys Tyr His

290 295 300

Ile Leu Asn Thr Leu Gln Cys Ser Glu Ser Ile Met Gly Gly Ala Val

305 310 315 320

Phe Glu Thr Leu Glu Gly Asn Thr Ile Glu Ile Gly Cys Asp Gly Asp

325 330 335

Ser Ile Thr Val Asn Gly Ile Lys Met Val Asn Lys Lys Asp Ile Val

340 345 350

Thr Asn Asn Gly Val Ile His Leu Ile Asp Gln Val Leu Ile Pro Asp

355 360 365

Ser Ala Lys Gln Val Ile Glu Leu Ala Gly Lys Gln Gln Thr Thr Phe

370 375 380
 Thr Asp Leu Val Ala Gln Leu Gly Leu Ala Ser Ala Leu Arg Pro Asp

 385 390 395 400
 Gly Glu Tyr Thr Leu Leu Ala Pro Val Asn Asn Ala Phe Ser Asp Asp

 405 410 415
 Thr Leu Ser Met Asp Gln Arg Leu Leu Lys Leu Ile Leu Gln Asn His

 420 425 430
 Ile Leu Lys Val Lys Val Gly Leu Asn Glu Leu Tyr Asn Gly Gln Ile

 435 440 445
 Leu Glu Thr Ile Gly Gly Lys Gln Leu Arg Val Phe Val Tyr Arg Thr

 450 455 460
 Ala Val Cys Ile Glu Asn Ser Cys Met Glu Lys Gly Ser Lys Gln Gly
 465 470 475 480
 Arg Asn Gly Ala Ile His Ile Phe Arg Glu Ile Ile Lys Pro Ala Glu

 485 490 495
 Lys Ser Leu His Glu Lys Leu Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ser Thr Phe

 500 505 510
 Leu Ser Leu Leu Glu Ala Ala Asp Leu Lys Glu Leu Leu Thr Gln Pro

 515 520 525
 Gly Asp Trp Thr Leu Phe Val Pro Thr Asn Asp Ala Phe Lys Gly Met

 530 535 540
 Thr Ser Glu Glu Lys Glu Ile Leu Ile Arg Asp Lys Asn Ala Leu Gln
 545 550 555 560
 Asn Ile Ile Leu Tyr His Leu Thr Pro Gly Val Phe Ile Gly Lys Gly

 565 570 575
 Phe Glu Pro Gly Val Thr Asn Ile Leu Lys Thr Thr Gln Gly Ser Lys

 580 585 590
 Ile Phe Leu Lys Glu Val Asn Asp Thr Leu Leu Val Asn Glu Leu Lys

 595 600 605
 Ser Lys Glu Ser Asp Ile Met Thr Thr Asn Gly Val Ile His Val Val

 610 615 620

Asp Lys Leu Leu Tyr Pro Ala Asp Thr Pro Val Gly Asn Asp Gln Leu
 625 630 635 640
 Leu Glu Ile Leu Asn Lys Leu Ile Lys Tyr Ile Gln Ile Lys Phe Val

645 650 655
 Arg Gly Ser Thr Phe Lys Glu Ile Pro Val Thr Val Tyr Arg Pro Thr
 660 665 670

Leu Thr Lys Val Lys Ile Glu Gly Glu Pro Glu Phe Arg Leu Ile Lys
 675 680 685

Glu Gly Glu Thr Ile Thr Glu Val Ile His Gly Glu Pro Ile Ile Lys
 690 695 700

Lys Tyr Thr Lys Ile Ile Asp Gly Val Pro Val Glu Ile Thr Glu Lys

705 710 715 720
 Glu Thr Arg Glu Glu Arg Ile Ile Thr Gly Pro Glu Ile Lys Tyr Thr
 725 730 735

Arg Ile Ser Thr Gly Gly Gly Glu Thr Glu Glu Thr Leu Lys Lys Leu
 740 745 750

Leu Gln Glu Asp Thr Pro Val Arg Lys Leu Gln Ala Asn Lys Lys Val
 755 760 765

Gln Gly Ser Arg Arg Arg Leu Arg Glu Gly Arg Ser Gln

770 775 780

<210> 22

<211> 751

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

Met Ile Pro Phe Leu Pro Met Phe Ser Leu Leu Leu Leu Ile Val

1 5 10 15

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

20 25 30

Arg Ile Arg Gly Arg Asp Gln Gly Pro Asn Val Cys Ala Leu Gln Gln

35 40 45

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

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

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

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

290	295	300	
Ile Leu Asn Thr	Leu Gln Cys Ser Glu Ser	Ile Met Gly Gly Ala Val	
305	310	315	320
Phe Glu Thr Leu	Glu Gly Asn Thr Ile Glu Ile Gly Cys Asp Gly Asp		
	325	330	335
Ser Ile Thr Val	Asn Gly Ile Lys Met Val Asn Lys Lys Asp Ile Val		
	340	345	350
Thr Asn Asn Gly Val	Ile His Leu Ile Asp Gln Val Leu Ile Pro Asp		
	355	360	365
Ser Ala Lys Gln Val	Ile Glu Leu Ala Gly Lys Gln Gln Thr Thr Phe		
	370	375	380
Thr Asp Leu Val	Ala Gln Leu Gly Leu Ala Ser Ala Leu Arg Pro Asp		
385	390	395	400
Gly Glu Tyr Thr	Leu Leu Ala Pro Val Asn Asn Ala Phe Ser Asp Asp		
	405	410	415
Thr Leu Ser Met	Asp Gln Arg Leu Leu Lys Leu Ile Leu Gln Asn His		
	420	425	430
Ile Leu Lys Val	Lys Val Gly Leu Asn Glu Leu Tyr Asn Gly Gln Ile		
	435	440	445
Leu Glu Thr Ile	Gly Gly Lys Gln Leu Arg Val Phe Val Tyr Arg Thr		
	450	455	460
Ala Val Cys Ile	Glu Asn Ser Cys Met Glu Lys Gly Ser Lys Gln Gly		
465	470	475	480
Arg Asn Gly Ala	Ile His Ile Phe Arg Glu Ile Ile Lys Pro Ala Glu		
	485	490	495
Lys Ser Leu His	Glu Lys Leu Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ser Thr Phe		
	500	505	510
Leu Ser Leu Leu	Glu Ala Ala Asp Leu Lys Glu Leu Leu Thr Gln Pro		
	515	520	525
Gly Asp Trp Thr	Leu Phe Val Pro Thr Asn Asp Ala Phe Lys Gly Met		
	530	535	540

Thr Ser Glu Glu Lys Glu Ile Leu Ile Arg Asp Lys Asn Ala Leu Gln
545 550 555 560

Asn Ile Ile Leu Tyr His Leu Thr Pro Gly Val Phe Ile Gly Lys Gly
565 570 575

Phe Glu Pro Gly Val Thr Asn Ile Leu Lys Thr Thr Gln Gly Ser Lys
580 585 590

Ile Phe Leu Lys Glu Val Asn Asp Thr Leu Leu Val Asn Glu Leu Lys
595 600 605

Ser Lys Glu Ser Asp Ile Met Thr Thr Asn Gly Val Ile His Val Val
610 615 620

Asp Lys Leu Leu Tyr Pro Ala Asp Thr Pro Val Gly Asn Asp Gln Leu
625 630 635 640

Leu Glu Ile Leu Asn Lys Leu Ile Lys Tyr Ile Gln Ile Lys Phe Val
645 650 655

Arg Gly Ser Thr Phe Lys Glu Ile Pro Val Thr Val Tyr Lys Pro Ile
660 665 670

Ile Lys Lys Tyr Thr Lys Ile Ile Asp Gly Val Pro Val Glu Ile Thr
675 680 685

Glu Lys Glu Thr Arg Glu Glu Arg Ile Ile Thr Gly Pro Glu Ile Lys
690 695 700

Tyr Thr Arg Ile Ser Thr Gly Gly Gly Glu Thr Glu Glu Thr Leu Lys
705 710 715 720

Lys Leu Leu Gln Glu Asp Thr Pro Val Arg Lys Leu Gln Ala Asn Lys
725 730 735

Lys Val Gln Gly Ser Arg Arg Arg Leu Arg Glu Gly Arg Ser Gln
740 745 750

<210> 23

<211> 695

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

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

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

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

 370 375 380
 Thr Asp Leu Val Ala Gln Leu Gly Leu Ala Ser Ala Leu Arg Pro Asp
 385 390 395 400
 Gly Glu Tyr Thr Leu Leu Ala Pro Val Asn Asn Ala Phe Ser Asp Asp
 405 410 415
 Thr Leu Ser Met Asp Gln Arg Leu Leu Lys Leu Ile Leu Gln Asn His
 420 425 430
 Ile Leu Lys Val Lys Val Gly Leu Asn Glu Leu Tyr Asn Gly Gln Ile

 435 440 445
 Leu Glu Thr Ile Gly Gly Lys Gln Leu Arg Val Phe Val Tyr Arg Thr
 450 455 460
 Ala Val Cys Ile Glu Asn Ser Cys Met Glu Lys Gly Ser Lys Gln Gly
 465 470 475 480
 Arg Asn Gly Ala Ile His Ile Phe Arg Glu Ile Ile Lys Pro Ala Glu
 485 490 495

Lys Ser Leu His Glu Lys Leu Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ser Thr Phe

500 505 510

Leu Ser Leu Leu Glu Ala Ala Asp Leu Lys Glu Leu Leu Thr Gln Pro

515 520 525

Gly Asp Trp Thr Leu Phe Val Pro Thr Asn Asp Ala Phe Lys Gly Met

530 535 540

Thr Ser Glu Glu Lys Glu Ile Leu Ile Arg Asp Lys Asn Ala Leu Gln

545 550 555 560

Asn Ile Ile Leu Tyr His Leu Thr Pro Gly Val Phe Ile Gly Lys Gly

565 570 575

Phe Glu Pro Gly Val Thr Asn Ile Leu Lys Thr Thr Gln Gly Ser Lys

580 585 590

Ile Phe Leu Lys Glu Val Asn Asp Thr Leu Leu Val Asn Glu Leu Lys

595 600 605

Ser Lys Glu Ser Asp Ile Met Thr Thr Asn Gly Val Ile His Val Val

610 615 620

Asp Lys Leu Leu Tyr Pro Ala Asp Thr Pro Val Gly Asn Asp Gln Leu

625 630 635 640

Leu Glu Ile Leu Asn Lys Leu Ile Lys Tyr Ile Gln Ile Lys Phe Val

645 650 655

Arg Gly Ser Thr Phe Lys Glu Ile Pro Val Thr Val Tyr Ser Pro Glu

660 665 670

Ile Lys Tyr Thr Arg Ile Ser Thr Gly Gly Gly Glu Thr Glu Glu Thr

675 680 685

Leu Lys Lys Leu Leu Gln Glu

690 695

<210> 24

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 24

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Phe Ile Ser Asp Leu Ala Tyr Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Asn Trp Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 25

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 25

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Asn

20 25 30

Asn Ala Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala

35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

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