



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0065091  
(43) 공개일자 2022년05월19일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C12Q 1/6883 (2018.01) A61K 39/00 (2006.01)  
A61K 39/395 (2006.01) C07K 16/28 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
C12Q 1/6883 (2022.01)  
A61K 39/395 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2022-7015554(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2015년03월26일  
심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2016-7026095  
원출원일자(국제) 2015년03월26일  
심사청구일자 2020년03월26일
- (85) 번역문제출일자 2022년05월09일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2015/022762
- (87) 국제공개번호 WO 2015/148809  
국제공개일자 2015년10월01일
- (30) 우선권주장  
61/971,379 2014년03월27일 미국(US)

- (71) 출원인  
제넨테크, 인크.  
미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우  
쓰샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
- (72) 발명자  
헤크니, 제이슨 에이.  
미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디  
엔에이 웨이 1 제넨테크 인크. 내  
케어, 메리  
미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디  
엔에이 웨이 1 제넨테크 인크. 내  
튜, 가이크 웨이  
미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디  
엔에이 웨이 1 제넨테크 인크. 내
- (74) 대리인  
장덕순, 이귀동

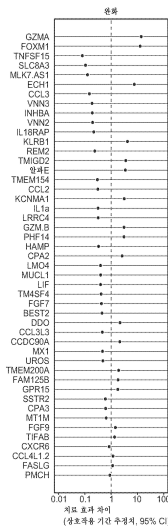
전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 발명의 명칭 **염증성 장 질환의 진단 및 치료 방법**

(57) 요약

항-베타7 인테그린 서브유닛 항체를 포함한 인테그린 베타7 길항제에 대한 반응성을 예측하는 바이오마커, 및 상  
기 바이오마커의 사용 방법이 제공된다. 추가로, 위장 염증성 장애, 예컨대 궤양성 결장염 및 크론병을 포함한  
염증성 장 질환의 치료 방법이 제공된다. 또한, 궤양성 결장염 및 크론병을 포함한 염증성 장 질환의 치료를 위  
한 상기 예측 바이오마커의 사용 방법이 제공된다.

대표도 - 도5



(52) CPC특허분류

**C07K 16/2842** (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/24 (2013.01)

C12Q 2600/106 (2013.01)

C12Q 2600/158 (2013.01)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

인테그린 베타7 길항제를 포함하는 요법에 대한 위장 염증성 장애를 앓고 있는 환자의 반응을 예측하는 방법.

### 발명의 설명

#### 기술 분야

- [0001] 관련 출원에 대한 상호 참조
- [0002] 본 출원은 2014년 3월 27일에 출원된 미국 가출원 번호 61/971,379를 우선권 주장하며, 상기 가출원은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.
- [0003] 서열 목록
- [0004] 본 출원은 EFS-웹을 통해 제출된 서열 목록을 함유하며, 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 2015년 3월 5일에 생성된 상기 ASCII 사본의 파일명은 P5817R1-WO\_SL.txt이고, 크기는 20,156 바이트이다.
- [0005] 분야
- [0006] 항-베타7 인테그린 서브유닛 항체를 포함한 인테그린 베타7 길항제에 대한 반응성을 예측하는 바이오마커, 및 상기 바이오마커의 사용 방법이 제공된다. 추가로, 위장 염증성 장애, 예컨대 궤양성 결장염 및 크론병을 포함한 염증성 장 질환의 치료 방법이 제공된다. 또한, 궤양성 결장염 및 크론병을 포함한 염증성 장 질환의 치료를 위한 상기 예측 바이오마커의 사용 방법이 제공된다.

#### 배경 기술

- [0007] 염증성 장 질환 (IBD)은 위장 (GI)관의 만성 염증성 자가면역 병태이고, 이는 임상적으로 궤양성 결장염 (UC) 또는 크론병 (CD)으로서 나타난다. CD는 전체 GI관의 임의의 부분에 영향을 미치는 잠재력을 갖는 만성 경벽성 염증성 질환이고, UC는 결장의 점막 염증이다. 두 병태는 임상적으로 일상의 활동에서의 곤란과 함께 빈번한 장 운동, 영양실조 및 탈수를 특징으로 한다. CD는 빈번하게 흡수장애, 협착 및 누공의 발생에 의해 합병증이 생기고, 반복적인 수술을 요구할 수 있다. UC는 덜 빈번하게 중증 혈성 설사 및 독성 거대결장증에 의해 합병증이 생길 수 있고, 또한 수술을 요구할 수 있다. 두 IBD 병태는 GI관의 악성종양에 대한 증가된 위험과 연관된다. IBD의 병인은 복잡적이며, 발병기전의 많은 측면이 불명확하게 남아 있다.
- [0008] 코르티코스테로이드를 사용한 통상적인 요법 및 면역조절제 요법 (예를 들어, 아자티오프린, 6 메르캅토피린 및 메토트렉세이트)이 부작용 및 불내성과 연관되고, 유지 요법 (스테로이드)에서의 증명된 이익을 보여주지 않았기 때문에, 중등도 내지 중증 IBD의 치료는 치료하는 의사에게 중요한 도전과제를 제시한다. 종양 괴사 인자 알파 (TNF- $\alpha$ )를 표적화하는 모노클로날 항체, 예컨대 인플릭시맵 (키메라 항체) 및 아달리무맵 (완전 인간 항체)은 현재 CD의 관리에 사용된다. 인플릭시맵은 또한 UC에서 효능을 보여주었고, 사용에 대해 승인받았다. 그러나, CD를 갖는 환자의 대략 10%-20%는 항 TNF 요법에 대한 1차 비반응자이고, CD 환자의 또 다른 ~20%-30%는 시간이 지남에 따라 반응을 상실한다 (Schnitzler et al., Gut 58:492-500 (2009)). 항 TNF와 연관된 다른 유해 사건 (AE)은 결핵을 포함한 박테리아 감염의 상승된 비율, 및 보다 드물게는 림프종 및 탈수초화를 포함한다 (Chang et al., Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatology 3:220 (2006); Hoentjen et al., World J. Gastroenterol. 15(17):2067 (2009)). 어떠한 현재 이용가능한 요법도 만성 질환을 갖는 IBD 환자의 20%-30% 초과에서 지속적인 완화를 달성하지 못한다 (Hanauer et al., Lancet 359:1541-49 (2002); Sandborn et al., N Engl J Med 353:1912-25 (2005)). 추가로, 대부분의 환자는 진정한 질환 변형과 상관관계가 있는 임상 결과인 지속적인 무스테로이드 완화 및 점막 치유를 달성하지 못한다. 따라서, 만성 용도에 대해 최적화된, IBD에서의 보다 표적화된 요법: 항 TNF 치료제에 반응하지 않거나 시간이 지남에 따라 반응을 상실하는 환자 (TNF 부적합 반응자 환자 또는 TNF-IR 환자)를 포함한 보다 많은 비율의 환자에서 장기간 합병증의 지속적인 완화, 특히 무스테로이드 완화 및 예방을 갖는 개선된 안전성 프로파일을 개발할 필요성이 있다.

- [0009] 인테그린은 백혈구 부착, 신호전달, 증식 및 이동을 포함한 다수의 세포 과정뿐만 아니라 유전자 조절에 있어서 일정 역할을 하는 알파/베타 이중이량체 세포 표면 당단백질 수용체이다 (Hynes, R. O., Cell, 1992, 69:11-25; 및 Hemler, M. E., Annu. Rev. Immunol., 1990, 8:365-368). 이들은 내피, 상피 및 세포의 매트릭스 단백질 상의 별개의 세포 부착 분자 (CAM)에 특이적으로 결합하는 2개의 이중이량체의 비-공유적으로 상호작용하는  $\alpha$  및  $\beta$  막횡단 서브유닛으로 구성된다. 이러한 방식으로, 인테그린은 고도로 조절되는 방식으로 혈액으로부터 거의 모든 조직 부위로의 백혈구의 동원을 보조하여 정상 조직 및 염증 부위로의 백혈구의 귀소에 있어서 일정 역할을 하는 조직-특이적 세포 부착 수용체로서 기능할 수 있다 (von Andrian et al., N Engl J Med 343:1020-34 (2000)). 면역계에서, 인테그린은 염증성 과정 동안 백혈구 트래핑, 부착 및 침윤에 관여한다 (Nakajima, H. et al., J. Exp. Med., 1994, 179:1145-1154). 인테그린의 차등 발현은 세포의 부착 특성을 조절하고, 상이한 인테그린은 상이한 염증성 반응에 관여한다 (Butcher, E. C. et al., Science, 1996, 272:60-66). 베타7 함유 인테그린 (즉, 알파4베타7 및 알파E베타7)은 주로 단핵구, 림프구, 호산구, 호염기구 및 대식세포 상에서 발현되지만, 호중구 상에서는 발현되지 않는다 (Elices, M. J. et al., Cell, 1990, 60:577-584).
- [0010]  $\alpha 4\beta 7$  인테그린은 장 점막 및 연관된 림프성 조직, 예컨대 소장에서의 파이어스 패치, 대장에서의 림프성 여포 및 장간막 림프절로의 세포의 이동에 중요한 백혈구-귀소 수용체이다. 장에서, 점막 내피에 대한 백혈구 회전 및 견고한 부착은 케모카인으로부터의 신호에 의해 개시되고, 점막 어드레신 세포 부착 분자 (MAdCAM)-1-연관된 시알릴 루이스 X를 통해 매개된다. 케모카인 신호전달은  $\alpha 4\beta 7$  인테그린을 낮은 MAdCAM-1 결합 친화도에서 높은 MAdCAM-1 결합 친화도로의 변화를 겪도록 유도한다. 이어서, 백혈구는 혈관 내피를 통한 기저 조직으로의 혈관외유출의 과정을 저지하고 시작한다. 이러한 혈관외유출 과정은 정상 면역 세포 재순환 상태 및 염증성 병태 둘 다에서 발생하는 것으로 여겨진다 (상기 문헌 [von Andrian et al.]). 침윤물 중  $\alpha 4\beta 7^+$  세포의 수 및 리간드 MAdCAM-1의 발현은 만성 염증의 부위에서, 예컨대 UC 또는 CD를 갖는 환자의 장관에서 보다 높다 (Briskin et al., Am J Pathol 151:97-110 (1997); Souza et al., Gut 45:856-63 (1999)).  $\alpha 4\beta 7$ 은 MAdCAM-1 및 혈관 세포 부착 분자 (VCAM)-1을 발현하는 고내피 세정맥에 우선적으로 결합할 뿐만 아니라 세포의 매트릭스 분자 피브로넥틴 단편 CS-1에 결합한다 (Chan et al., J Biol Chem 267:8366-70 (1992); Ruegg et al., J Cell Biol 17:179-89 (1992); Berlin et al., Cell 74:185-95 (1993)). 장 점막 혈관에서 구성적으로 발현되는 MAdCAM-1과 함께,  $\alpha 4\beta 7$  인테그린은 백혈구 장 향성에 있어서 선택적 역할을 하지만, 말초 조직 또는 CNS로의 백혈구의 귀소에 기여하는 것으로 보이지는 않는다. 대신에, 말초 림프성 트래핑은 VCAM-1과의  $\alpha 4\beta 1$  상호작용과 연관되었다 (Yednock et al., Nature 356:63-6 (1992); Rice et al., Neurology 64:1336-42 (2005)).
- [0011] T 림프구 상에서 배타적으로 발현되고 점막 조직과 연관되는  $\beta 7$  인테그린 패밀리의 또 다른 구성원은  $\alpha E\beta 7$  인테그린으로, 이는 달리 CD103으로 공지되어 있다.  $\alpha E\beta 7$  인테그린은 상피 세포 상의 E-카드헤린에 선택적으로 결합하고, 상피내 림프구 구획 내 점막 조직에서의 T 세포의 체류에 일정 역할을 하는 것으로 제안되었다 (Cepek et al., J Immunol 150:3459-70 (1993); Karecla et al. Eur J Immunol 25:852-6 (1995)). 고유관에서의  $\alpha E\beta 7^+$  세포는 스트레스를 받거나 감염된 상피 세포에 대해 세포독성을 나타내는 것으로 보고되었다 (Hadley et al., J Immunol 159:3748-56 (1997); Buri et al., J Pathol 206:178-85 (2005)).  $\alpha E\beta 7$ 의 발현은 CD에서 증가되고 (Elewaut et al., Acta Gastroenterol Belg 61:288-94 (1998); Oshitani et al., Int J Mol Med 12:715-9 (2003)), 항- $\alpha E\beta 7$  항체 치료는 마우스에서 실험적 결장염을 감소시키는 것으로 보고되었으며, 이는 IBD의 실험 모델에 있어서  $\alpha E\beta 7^+$  림프구에 대한 역할을 시사한다 (Ludviksson et al., J Immunol 162:4975-82 (1999)).
- [0012] 알파E베타7에 대한 모노클로날 항체의 투여는 보고에 따르면 IL-2<sup>-/-</sup> 마우스에서 면역화 유발된 결장염을 예방 및 개선하며, 이는 염증성 장 질환의 발병 및 유지가 알파E베타7을 발현하는 고유관 CD4<sup>+</sup> 림프구의 결장 국재화에 의존한다는 것을 시사한다 (Ludviksson et al., J Immunol. 1999, 162(8):4975-82). 항- $\alpha 4$  항체 (나탈리주맙)는 보고에 따르면 CD를 갖는 환자의 치료에서 효능을 가지며 (Sandborn et al., N Engl J Med 2005;353:1912-25), 항- $\alpha 4\beta 7$  항체 (MLN-02, MLN0002, 베둘리주맙)는 보고에 따르면 UC를 갖는 환자에서 효과적이다 (Feagan et al., N Engl J Med 2005;352:2499-507). 제2 항-알파4/베타7 항체 (AMG 181)는 또한 개발 중에 있으며 임상 시험이 최근에 시작되었다 (clinicaltrials(dot)gov 식별자, NCT01164904, 2012년 9월). 이들 연구 및 발견은 치료 표적으로서의  $\alpha 4\beta 7$ 을 검증하고,  $\alpha 4\beta 7$ 과 MAdCAM-1 사이의 상호작용이 IBD의 발병기전을 매개한다는 발상을 뒷받침한다. 따라서, 베타7 인테그린의 길항제는 IBD를 치료하는데 있어 치료제로서

큰 잠재력을 갖는다.

- [0013]  $\beta 7$  인테그린 서브유닛에 대해 표적화된 인간화 모노클로날 항체는 이전에 기재되었다. 예를 들어, 국제 특허 공개 번호 WO2006/026759를 참조한다. 하나의 이러한 항체인 rhuMAb 베타7 (에트롤리주맵)은 래트 항-마우스/인간 모노클로날 항체 FIB504로부터 유래된다 (Andrew et al., 1994). 이것은 인간 IgG1-중쇄 및  $\kappa 1$ -경쇄 프레임워크를 포함하도록 조작되었다. 국제 특허 공개 번호 WO2006/026759. 특정 투여 요법에 따른 인간 환자에 대한 에트롤리주맵의 투여는 이전에 기재되었다. 예를 들어, 국제 특허 공개 번호 WO/2012/135589를 참조한다.
- [0014] rhuMAb 베타7 (에트롤리주맵)은  $\alpha 4\beta 7$  (Holzmann et al., Cell 56:37-46 (1989); Hu et al., Proc Natl Acad Sci USA 89:8254-8 (1992)) 및  $\alpha E\beta 7$  (Cepek et al., J Immunol 150:3459-70 (1993))에 결합하며, 이들은 장 점막에서 각각 림프구 하위세트의 트래킹 및 체류를 조절한다. 임상 연구는 CD의 치료에 대한 항  $\alpha 4$  항체 (나탈리주맵)의 효능을 입증하였고 (Sandborn et al., N Engl J Med 353:1912-25 (2005)), UC (Feagan et al., N Engl J Med 352:2499-507 (2005), Feagan et al., N Engl J Med 369(8):699-710 (2013)) 및 또한 CD (Sandborn et al., N Engl J Med 369(8):711-721 (2013))의 치료에서의 항  $\alpha 4\beta 7$  항체 (LDP02/MLN02/MLN0002/베돌리주맵)에 대한 고무적인 결과가 보고되었다. 이들 발견은 잠재적 치료 표적으로서의  $\alpha 4\beta 7$ 를 검증하는 것을 돕고,  $\alpha 4\beta 7$ 과 점막 어드레신 세포 부착 분자 1 (MAdCAM 1) 사이의 상호작용이 염증성 장 질환 (IBD)의 발병기전에 기여한다는 가설을 뒷받침한다.
- [0015]  $\alpha 4$ 에 결합하고 그에 따라  $\alpha 4\beta 1$  및  $\alpha 4\beta 7$  둘 다에 결합하는 나탈리주맵과는 달리, rhuMAb 베타7은  $\alpha 4\beta 7$  및  $\alpha E\beta 7$ 의  $\beta 7$  서브유닛에 특이적으로 결합하고  $\alpha 4$  또는  $\beta 1$  인테그린 개별 서브유닛에는 결합하지 않는다. 이는 항체가 100 nM만큼 높은 농도에서도 혈관 세포 부착 분자 1 (VCAM 1)에 대한  $\alpha 4\beta 1 + \alpha 4\beta 7$ - 라모스(Ramos) 세포의 부착을 억제하는 능력이 없는 것에 의해 입증되었다. 중요하게, rhuMAb 베타7의 이러한 특성은 선택성을 나타낸다:  $\alpha 4\beta 1$ 을 발현하지만  $\beta 7$ 은 발현하지 않는 T 세포 하위세트는 rhuMAb 베타7에 의해 직접적으로 영향을 받지 않아야 한다.
- [0016] 백혈구 귀소에 대한 rhuMAb 베타7의 장-특이적 효과에 대한 뒷받침은 여러 생체내 비임상 연구로부터 비롯된다. CD45RB<sup>hi</sup> CD4<sup>+</sup> T 세포로 재구성된 중증 복합 면역결핍 (SCID) 마우스 (결장염의 동물 모델)에서, rhuMAb 베타7은 염증발생 결장으로의 방사성표지된 림프구 귀소를 차단하였지만 말초 림프성 기관인 비장으로의 귀소는 차단하지 않았다. 예를 들어, 국제 특허 공개 번호 WO2006/026759를 참조한다. 추가로, 래트-마우스 키메라 항-뮤린  $\beta 7$  (항  $\beta 7$ , muFIB504)은 다발성 경화증의 동물 모델인 실험적 자가면역 뇌염 (EAE)을 갖는 미엘린 염기성 단백질 T 세포 수용체 (MBP-TCR) 트랜스제닉 마우스에서 조직학적 중추 신경계 (CNS) 염증 정도를 감소시키거나 또는 질환 생존을 개선할 수 없었다. 상기 동일한 문헌을 참조한다. 추가로, 시노물구스 원숭이에서의 두 안 전성 연구에서, rhuMAb 베타7은 대체로 인간에서의 장-귀소 기억/이펙터 T 세포와 표현형적으로 유사한 하위세트인 CD45RA<sup>+</sup>  $\beta 7$ <sup>hi</sup> 말초 혈액 T 세포의 현저한 (대략 3- 내지 6배) 증가로 인한 말초 혈액 림프구 수의 중간 정도의 증가를 유도하였다. 예를 들어, 국제 특허 공개 번호 WO2009/140684; 문헌 [Stefanich et al., Br. J. Pharmacol. 162:1855-1870 (2011)]을 참조한다. 대조적으로, rhuMAb 베타7은 인간에서의 나이브 T 세포와 표현형적으로 유사한 하위세트인 CD45RA<sup>+</sup>  $\beta 7$  중간 말초 혈액 T 세포의 수에 대해 최소한의 효과를 갖거나 효과를 전혀 갖지 않았고, 인간에서의 말초 귀소 기억/이펙터 T 세포와 표현형적으로 유사한 하위세트인 CD45RA<sup>+</sup>  $\beta 7$ <sup>hi</sup> 말초 혈액 T 세포의 수에 대해 효과를 전혀 갖지 않았으며, 이는 장 귀소 림프구 하위집단에 대한 rhuMAb 베타7의 특이성을 확인시켜 준다. 국제 특허 공개 번호 WO2009/140684; 문헌 [Stefanich et al., Br. J. Pharmacol. 162:1855-1870 (2011)].
- [0017] 임상 연구가 CD의 치료에 대한 항- $\alpha 4$  항체 (나탈리주맵)의 효능을 입증하였고 (Sandborn et al., N Engl J Med 353:1912-25 (2005)), UC의 치료에서의 항- $\alpha 4\beta 7$  항체 (LDP02/MLN02/MLN0002/베돌리주맵)에 대한 고무적인 결과가 보고되었지만, 이들 장애의 치료에서의 추가적인 개선에 대한 필요성이 남아 있다. 예를 들어, 나탈리주맵 치료는 나탈리주맵 및 면역억제제를 사용한 병용 치료를 받은 크론병 (및 개별적으로, 다발성 경화증)을 갖는 환자에서의 진행성 다초점성 백질뇌병증 (PML)의 확인된 사례와 연관되었다. PML은 뇌에서의 폴리오마바 이러스 (JC 바이러스)의 재활성화 및 활성 바이러스 복제와 연관된 잠재적으로 치명적인 신경계 병태이다. 이것이 발병하면, 어떠한 공지된 개입도 PML을 확실히 예방하거나 또는 PML을 충분히 치료할 수 없다. 베돌리주맵 치료의 한 제한은 이것이 정맥내로 투여되어 환자에게 불편할 수 있고, 또한 바람직하지 않거나 유해한 사건, 예를 들어 주입 부위 반응과 연관될 수 있다는 것이다. 따라서, 위장 염증성 장애, 예컨대 IBD, 예를 들어 궤양성 결장염 및 크론병의 치료에 대한 개선된 치료 접근법뿐만 아니라 보다 바람직한 투여 요법에 대한 필



요성이 있다.

[0018] 치료 전에 환자가 특정한 치료제 또는 치료제 부류에 반응할 것인지 여부는 종종 알려져 있지 않다. 따라서, 일반적으로 IBD 환자 및 특히 UC 및 CD 환자가 치료를 찾는 과정에서, 특정한 환자에 유효한 치료제(들)에 관한 조사와 관련된 상당한 시행 착오가 있었다. 이러한 시행 착오는 종종, 가장 유효한 요법을 찾기 위해 환자에 대한 상당한 위험 및 불편을 수반한다. 따라서, 환자가 해당 치료에 반응할 것인지 결정하고, 이러한 결정을 IBD 환자를 위한 보다 유효한 치료 요법 내로 도입시키는데 보다 유효한 수단이 필요하다.

[0019] 따라서, 항-베타7 인테그린 서브유닛 항체를 포함한 다양한 IBD 치료제를 사용한 치료에 반응할 가능성이 가장 높은 환자를 객관적으로 확인하는데 사용될 수 있는 예측 진단 방법을 포함한 추가의 진단 방법을 갖는 것이 대단히 유리할 것이다. 따라서, 궤양성 결장염, 크론병뿐만 아니라 다른 염증성 장 장애와 연관되어 있으며 항-베타7 인테그린 서브유닛 항체를 사용한 치료에 대한 반응을 예측하는 신규 바이오마커를 확인할 필요성이 계속하여 존재한다. 추가로, 상기 연관성에 관한 통계학상 및 생물학상 유의하고 재현가능한 정보는, 항-베타7 인테그린 서브유닛 항체를 사용한 치료가 유의하게 이로울 것으로 예상되는 UC 또는 CD 환자, 예컨대 TNF-IR 환자의 특정 하위세트를 확인하기 위한 노력에서, 예를 들어 치료제가 임상 연구시 이러한 특정 UC 또는 CD 환자 하위집단에서 치료상 이롭거나 이로울 것으로 나타난 경우에, 통합 성분으로서 이용될 수 있다.

[0020] 본원에 기재된 본 발명은 특정의 상기 기재된 필요성을 충족시키며, 다른 이익을 제공한다.

[0021] 특허 출원 및 공개를 포함한 본원에 인용된 모든 참고문헌은 임의의 목적을 위해 그 전문이 참조로 포함된다.

### 발명의 내용

[0022] 본 발명의 방법은 적어도 부분적으로, 환자로부터 수득한 생물학적 샘플, 예를 들어 장 생검 또는 혈액 중 특정 유전자의 mRNA 발현 수준이 인테그린 베타7 길항제를 사용한 치료에 대한 위장 염증성 장애를 앓고 있는 환자의 반응성을 예측해준다는 발견을 기초로 한다.

[0023] 따라서, 한 측면에서, 인테그린 베타7 길항제를 포함하는 요법에 대한 위장 염증성 장애를 앓고 있는 환자의 반응을 예측하거나, 또는 그에 대한 위장 염증성 장애 환자의 반응성을 예측하는 방법이 제공된다. 특정 실시양태에서, 생물학적 샘플이 환자로부터 수득되고, mRNA 발현 수준이 측정된다. 일부 실시양태에서, 샘플 중 GZMA, KLRB1, FOXM1, CCDC90A, CCL4, CPA2, CXCR6, DDO, ECH1, FAM125B, FASLG, FGF9, GPR15, GZMB, KCNMA1, PHF14, TIFAB, TMEM200A, TMIGD2 및 SLC8A3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개 또는 적어도 4개의 고 발현 예측 유전자 ("HEPG")의 발현이 측정된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개 또는 적어도 4개의 HEPG는 GZMA, KLRB1, FOXM1, SLC8A3 및 ECH1로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 상기 확인된 것에 더하여 추가의 HEPG가 측정되며, 추가의 HEPG는 ITGAE이다. 한 실시양태에서, 생물학적 샘플은 조직 생검 샘플이다. 한 실시양태에서, 생검은 장 조직으로부터 수득된다. 조직 생검 샘플 또는 장 조직을 포함하는 특정의 이러한 실시양태에서, HEPG는 SLC8A3을 포함하지 않는다. 한 실시양태에서, 생물학적 샘플은 말초 전혈이다. 말초 혈액을 포함하는 특정의 이러한 실시양태에서, HEPG는 SLC8A3을 포함한다. 한 실시양태에서, 말초 전혈은 팍스젠(PAXgene) 튜브에 수집된다. 특정 실시양태에서, mRNA 발현 수준은 RNA 서열분석 방법, 마이크로어레이 또는 PCR 방법에 의해 측정된다. 한 실시양태에서, PCR 방법은 qPCR이다. 특정 실시양태에서, 측정은 GZMA, KLRB1, FOXM1, CCDC90A, CCL4L1.2, CPA2, CXCR6, DDO, ECH1, FAM125B, FASLG, FGF9, GPR15, GZMB, KCNMA1, PHF14, TIFAB, TMEM200A, TMIGD2 및 SLC8A3 mRNA 중 1개 이상을 증폭시키고, 임의로 추가로 ITGAE mRNA를 증폭시키고, 증폭된 mRNA를 검출하여, 증폭된 mRNA 수준을 측정하는 것을 포함한다. 특정 실시양태에서, mRNA 발현 수준은 참조 수준과 비교된다. 일부 실시양태에서, mRNA 발현 수준은 측정된 각각의 HEPG에 대한 참조 수준과 비교된다. 특정 실시양태에서, 각각의 참조 수준은 중앙값이다. 일부 실시양태에서, 샘플 중 GZMA, KLRB1, FOXM1, CCDC90A, CCL4, CPA2, CXCR6, DDO, ECH1, FAM125B, FASLG, FGF9, GPR15, GZMB, KCNMA1, PHF14, TIFAB, TMEM200A, TMIGD2 및 SLC8A3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개 또는 적어도 4개의 HEPG의 mRNA 발현 수준이 측정된 각각의 HEPG의 참조 값 (특정 실시양태에서 이는 각각의 참조 값에 대한 중앙값임)과 비교하여 상승된 경우에, 환자는 인테그린 베타7 길항제를 포함하는 요법에 대해 반응할 것으로 예측된다. 한 실시양태에서, 반응은 임상 완화이다. 한 실시양태에서, 반응은 점막 치유이다. 한 실시양태에서, 반응은 임상 반응이다. 특정 실시양태에서, 환자에서의 완화는, 절대 메이요 클리닉 점수(Mayo Clinic Score)  $\leq 2$ 이면서 개별 하위점수  $>1$ 은 없는 경우에 유도되는 것으로 결정되며, 이는 또한 임상 완화로 지칭된다. 특정 실시양태에서, 환자가 가요성 구불결장경검사에 의해 평가시 내시경검사 하위점수가 0 또는 1인 것으로 결정되는 경우에 점막 치유가 발생한 것으로 결정된다. 특정의 이러한 실시양태에서, 점막 치유를 경험한 환자는 내시경검사 하위점수가 0인 것으로 결정된다. 특정 실시양태에서, 임상 반응은 환자가 MCS에서

3점 감소 및 기준선으로부터의 30% 감소 및 직장 출혈 하위점수에서  $\geq 1$ 점 감소 또는 절대 직장 출혈 점수 0 또는 1을 경험한 경우에 발생한 것으로 결정된다.

[0024] 또 다른 측면에서, 위장 염증성 장애를 앓고 있는 환자가 인테그린 베타7 길항제를 포함하는 요법에 반응할 가능성이 있는지 확인하는 방법이 제공된다. 특정 실시양태에서, 방법은 다음을 포함한다: (a) 환자로부터의 생물학적 샘플 중 GZMA, KLRB1, FOXM1, CCDC90A, CCL4, CPA2, CXCR6, DDO, ECH1, FAM125B, FASLG, FGF9, GPR15, GZMB, KCNMA1, PHF14, TIFAB, TMEM200A, TMIGD2 및 SLC8A3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개 또는 적어도 4개의 HEPG의 mRNA 발현 수준을 측정하는 단계; (b) (a)에서 측정된 mRNA 발현 수준을 측정된 각각의 HEPG에 대한 참조 수준과 비교하는 단계; 및 (c) (a)에서 측정된 각각의 HEPG의 mRNA 발현 수준이 측정된 각각의 HEPG에 대한 참조 수준 초과인 경우에, 환자가 인테그린 베타7 길항제를 포함하는 요법에 반응할 가능성이 보다 많은 것으로 확인하는 단계. 일부 실시양태에서, 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개 또는 적어도 4개의 HEPG는 GZMA, KLRB1, FOXM1, SLC8A3 및 ECH1로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 상기 확인된 것에 더하여 추가의 HEPG가 측정되며, 추가의 HEPG는 ITGAE이다. 한 실시양태에서, 환자는 인간이다. 한 실시양태에서, 환자는 이전에 항-TNF 치료제로 치료되지 않았다. 한 실시양태에서, 위장 염증성 장애는 염증성 장 질환이다. 한 실시양태에서, 염증성 장 질환은 궤양성 결장염 또는 크론병이다. 한 실시양태에서, 염증성 장 질환은 궤양성 결장염이고, 반응은 임상 반응, 점막 치유 및 완화로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 환자에서의 완화는, 절대 메이요 클리닉 점수  $\leq 2$ 이면서 개별 하위점수  $>1$ 은 없는 경우에 유도되는 것으로 결정되며, 이는 또한 임상 완화로 지칭된다. 특정 실시양태에서, 환자가 가요성 구불결장경검사에 의해 평가시 내시경검사 하위점수가 0 또는 1인 것으로 결정되는 경우에 점막 치유가 발생한 것으로 결정된다. 특정 실시양태에서, 점막 치유를 경험한 환자는 내시경검사 하위점수가 0인 것으로 결정된다. 특정 실시양태에서, 임상 반응은 환자가 MCS에서 3점 감소 및 기준선으로부터의 30% 감소 및 직장 출혈 하위점수에서  $\geq 1$ 점 감소 또는 절대 직장 출혈 점수 0 또는 1을 경험한 경우에 발생한 것으로 결정된다.

[0025] 추가 측면에서, 위장 염증성 장애를 갖는 환자를 치료하는 방법이 제공된다. 특정 실시양태에서, 방법은 다음을 포함한다: (a) 환자로부터의 생물학적 샘플 중 GZMA, KLRB1, FOXM1, CCDC90A, CCL4, CPA2, CXCR6, DDO, ECH1, FAM125B, FASLG, FGF9, GPR15, GZMB, KCNMA1, PHF14, TIFAB, TMEM200A, TMIGD2 및 SLC8A3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개 또는 적어도 4개의 HEPG의 mRNA 발현 수준을 측정하는 단계; (b) (a)에서 측정된 각각의 HEPG의 mRNA 발현 수준을 측정된 각각의 HEPG에 대한 참조 수준과 비교하는 단계; (c) (a)에서 측정된 각각의 HEPG의 mRNA 발현 수준이 측정된 각각의 HEPG에 대한 각각의 참조 수준 초과인 경우에, 환자가 인테그린 베타7 길항제를 포함하는 요법에 반응할 가능성이 보다 많은 것으로 확인하는 단계; 및 (d) (a)에서 측정된 각각의 HEPG의 mRNA 발현 수준이 측정된 각각의 HEPG에 대한 각각의 참조 수준 초과인 경우에, 요법을 투여하여, 위장 염증성 장애를 치료하는 단계. 일부 실시양태에서, 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개 또는 적어도 4개의 HEPG는 GZMA, KLRB1, FOXM1, SLC8A3 및 ECH1로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 상기 확인된 것에 더하여 추가의 HEPG가 측정되며, 추가의 HEPG는 ITGAE이다. 한 실시양태에서, 인테그린 베타7 길항제 105 mg이 4주마다 1회 피하로 투여된다. 한 실시양태에서, 인테그린 베타7 길항제의 최초 용량 210 mg이 피하로 투여되고, 이어서 후속 용량으로서 인테그린 베타7 길항제의 각각의 후속 용량 210 mg이 최초 용량으로부터 각각 2, 4, 8 및 12주 후에 피하로 투여된다. 한 실시양태에서, 환자는 인간이다. 한 실시양태에서, 환자는 이전에 항-TNF 치료제로 치료되지 않았다. 한 실시양태에서, 위장 염증성 장애는 염증성 장 질환이다. 한 실시양태에서, 염증성 장 질환은 궤양성 결장염 또는 크론병이다. 한 실시양태에서, 염증성 장 질환은 궤양성 결장염이고, 반응은 임상 반응, 점막 치유 및 완화로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 환자에서의 완화는, 절대 메이요 클리닉 점수  $\leq 2$ 이면서 개별 하위점수  $>1$ 은 없는 경우에 유도되는 것으로 결정되며, 이는 또한 임상 완화로 지칭된다. 특정 실시양태에서, 환자가 가요성 구불결장경검사에 의해 평가시 내시경검사 하위점수가 0 또는 1인 것으로 결정되는 경우에 점막 치유가 발생한 것으로 결정된다. 특정 실시양태에서, 점막 치유를 경험한 환자는 내시경검사 하위점수가 0인 것으로 결정된다. 특정 실시양태에서, 임상 반응은 환자가 MCS에서 3점 감소 및 기준선으로부터의 30% 감소 및 직장 출혈 하위점수에서  $\geq 1$ 점 감소 또는 절대 직장 출혈 점수 0 또는 1을 경험한 경우에 발생한 것으로 결정된다.

[0026] 또 다른 측면에서, 인테그린 베타7 길항제를 포함하는 요법에 대한 위장 염증성 장애를 앓고 있는 환자의 반응을 예측하거나, 또는 그에 대한 위장 염증성 장애 환자의 반응성을 예측하는 방법이 제공되며, 여기서 샘플 중 SLC8A3, TNFSF15, BEST2, CCL2, CCL3, CCL3L1/3, CPA3, FGF7, HAMP, IL1A, IL18RAP, INHBA, LIF, LMO4, LRRC4, MLK7.AS1, MT1M, MUCL1, MX1, PMCH, REM2, SSTR2, TM4SF4, TMEM154, UROS, VNN2 및 VNN3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 적어도 3개의 저 발현 예측 유전자 ("LEPG")의 발현이 측정된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개, 적어도 2개 또는 적어도 3개의 LEPG는 SLC8A3, TNFSF15, BEST2, VNN2 및 CCL2로부터 선택

된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개, 적어도 2개 또는 적어도 3개의 LEPG는 SLC8A3, VNN2 및 TNFSF15로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 생물학적 샘플은 조직 생검 샘플이다. 한 실시양태에서, 생검은 장 조직으로부터 취득된다. 조직 생검 샘플 또는 장 조직을 포함하는 특성의 이러한 실시양태에서, LEPG는 SLC8A3을 포함한다. 한 실시양태에서, 생물학적 샘플은 말초 전혈이다. 말초 혈액을 포함하는 특성의 이러한 실시양태에서, LEPG는 SLC8A3을 포함하지 않는다. 한 실시양태에서, 말초 전혈은 파스젠 튜브에 수집된다. 특정 실시양태에서, mRNA 발현 수준은 RNA 서열분석 방법, 마이크로어레이 또는 PCR 방법에 의해 측정된다. 한 실시양태에서, PCR 방법은 qPCR이다. 특정 실시양태에서, 측정은 SLC8A3, TNFSF15, BEST2, CCL2, CCL3, CCL3L1/3, CPA3, FGF7, HAMP, IL1A, IL18RAP, INHBA, LIF, LMO4, LRRC4, MLK7.AS1, MT1M, MUCL1, MX1, PMCH, REM2, SSTR2, TM4SF4, TMEM154, UROS, VNN2, VNN3 mRNA 중 1개 이상을 증폭시키고, 증폭된 mRNA를 검출하여, 증폭된 mRNA 수준을 측정하는 것을 포함한다. 특정 실시양태에서, mRNA 발현 수준은 참조 수준과 비교된다. 일부 실시양태에서, mRNA 발현 수준은 측정된 각각의 LEPG에 대한 참조 수준과 비교된다. 특정 실시양태에서, 측정된 각각의 LEPG에 대한 참조 수준은 중앙값이다. 일부 실시양태에서, 샘플 중 SLC8A3, TNFSF15, BEST2, CCL2, CCL3, CCL3L1/3, CPA3, FGF7, HAMP, IL1A, IL18RAP, INHBA, LIF, LMO4, LRRC4, MLK7.AS1, MT1M, MUCL1, MX1, PMCH, REM2, SSTR2, TM4SF4, TMEM154, UROS, VNN2 및 VNN3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 적어도 3개의 LEPG의 mRNA 발현 수준이 측정된 각각의 LEPG의 참조 값 (특정 실시양태에서 이는 각각의 참조 값에 대한 중앙값임)과 비교하여 감소된 경우에, 환자는 인테그린 베타7 길항제를 포함하는 요법에 대해 반응할 것으로 예측된다. 한 실시양태에서, 반응은 임상 완화이다. 한 실시양태에서, 반응은 점막 치유이다. 한 실시양태에서, 반응은 임상 반응이다. 특정 실시양태에서, 환자에서의 완화는, 절대 메이요 클리닉 점수  $\leq 2$ 이면서 개별 하위점수  $>1$ 은 없는 경우에 유도되는 것으로 결정되며, 이는 또한 임상 완화로 지칭된다. 특정 실시양태에서, 환자가 가요성 구불결장경검사에 의해 평가시 내시경검사 하위점수가 0 또는 1인 것으로 결정되는 경우에 점막 치유가 발생한 것으로 결정된다. 특성의 이러한 실시양태에서, 점막 치유를 경험한 환자는 내시경검사 하위점수가 0인 것으로 결정된다. 특정 실시양태에서, 임상 반응은 환자가 MCS에서 3점 감소 및 기준선으로부터의 30% 감소 및 직장 출혈 하위점수에서  $\geq 1$ 점 감소 또는 절대 직장 출혈 점수 0 또는 1을 경험한 경우에 발생한 것으로 결정된다.

[0027] 또 다른 측면에서, 위장 염증성 장애를 앓고 있는 환자가 인테그린 베타7 길항제를 포함하는 요법에 반응할 가능성이 있는지 확인하는 방법이 제공된다. 특정 실시양태에서, 방법은 다음을 포함한다: (a) 환자로부터의 생물학적 샘플 중 SLC8A3, TNFSF15, BEST2, CCL2, CCL3, CCL3L1/3, CPA3, FGF7, HAMP, IL1A, IL18RAP, INHBA, LIF, LMO4, LRRC4, MLK7.AS1, MT1M, MUCL1, MX1, PMCH, REM2, SSTR2, TM4SF4, TMEM154, UROS, VNN2 및 VNN3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 적어도 3개의 LEPG의 mRNA 발현 수준을 측정하는 단계; (b) (a)에서 측정된 mRNA 발현 수준을 측정된 각각의 LEPG에 대한 참조 수준과 비교하는 단계; 및 (c) (a)에서 측정된 각각의 LEPG의 mRNA 발현 수준이 측정된 각각의 LEPG에 대한 참조 수준 미만인 경우에, 환자가 인테그린 베타7 길항제를 포함하는 요법에 반응할 가능성이 보다 많은 것으로 확인하는 단계. 일부 실시양태에서, 적어도 1개, 적어도 2개 또는 적어도 3개의 LEPG는 SLC8A3, TNFSF15, BEST2, VNN2 및 CCL2로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개, 적어도 2개 또는 적어도 3개의 LEPG는 SLC8A3, VNN2 및 TNFSF15로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 환자는 인간이다. 한 실시양태에서, 환자는 이전에 항-TNF 치료제로 치료되지 않았다. 한 실시양태에서, 위장 염증성 장애는 염증성 장 질환이다. 한 실시양태에서, 염증성 장 질환은 궤양성 결장염 또는 크론병이다. 한 실시양태에서, 염증성 장 질환은 궤양성 결장염이고, 반응은 임상 반응, 점막 치유 및 완하로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 환자에서의 완화는, 절대 메이요 클리닉 점수  $\leq 2$ 이면서 개별 하위점수  $>1$ 은 없는 경우에 유도되는 것으로 결정되며, 이는 또한 임상 완화로 지칭된다. 특정 실시양태에서, 환자가 가요성 구불결장경검사에 의해 평가시 내시경검사 하위점수가 0 또는 1인 것으로 결정되는 경우에 점막 치유가 발생한 것으로 결정된다. 특성의 이러한 실시양태에서, 점막 치유를 경험한 환자는 내시경검사 하위점수가 0인 것으로 결정된다. 특정 실시양태에서, 임상 반응은 환자가 MCS에서 3점 감소 및 기준선으로부터의 30% 감소 및 직장 출혈 하위점수에서  $\geq 1$ 점 감소 또는 절대 직장 출혈 점수 0 또는 1을 경험한 경우에 발생한 것으로 결정된다.

[0028] 추가 측면에서, 위장 염증성 장애를 갖는 환자를 치료하는 방법이 제공된다. 특정 실시양태에서, 방법은 다음을 포함한다: (a) 환자로부터의 생물학적 샘플 중 SLC8A3, TNFSF15, BEST2, CCL2, CCL3, CCL3L1/3, CPA3, FGF7, HAMP, IL1A, IL18RAP, INHBA, LIF, LMO4, LRRC4, MLK7.AS1, MT1M, MUCL1, MX1, PMCH, REM2, SSTR2, TM4SF4, TMEM154, UROS, VNN2 및 VNN3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 적어도 3개의 LEPG의 mRNA 발현 수준을 측정하는 단계; (b) (a)에서 측정된 각각의 LEPG의 mRNA 발현 수준을 측정된 각각의 LEPG에 대한 참조 수준과 비교하는 단계; (c) (a)에서 측정된 각각의 LEPG의 mRNA 발현 수준이 측정된 각각의 LEPG에 대한 참조 수준 미만인 경우에, 환자가 인테그린 베타7 길항제를 포함하는 요법에 반응할 가능성이 보다 많은



것으로 확인하는 단계; 및 (d) (a)에서 측정된 각각의 LEPG의 mRNA 발현 수준이 측정된 각각의 LEPG에 대한 각각의 참조 수준 미만인 경우에, 요법을 투여하여, 위장 염증성 장애를 치료하는 단계. 일부 실시양태에서, 적어도 1개, 적어도 2개 또는 적어도 3개의 LEPG는 SLC8A3, TNFSF15, BEST2, VNN2 및 CCL2로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개, 적어도 2개 또는 적어도 3개의 LEPG는 SLC8A3, VNN2 및 TNFSF15로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 인테그린 베타7 길항제 105 mg이 4주마다 1회 피하로 투여된다. 한 실시양태에서, 인테그린 베타7 길항제의 최초 용량 210 mg이 피하로 투여되고, 이어서 후속 용량으로서 인테그린 베타7 길항제의 각각의 후속 용량 210 mg이 최초 용량으로부터 각각 2, 4, 8 및 12주 후에 피하로 투여된다. 한 실시양태에서, 환자는 인간이다. 한 실시양태에서, 환자는 이전에 항-TNF 치료제로 치료되지 않았다. 한 실시양태에서, 위장 염증성 장애는 염증성 장 질환이다. 한 실시양태에서, 염증성 장 질환은 궤양성 결장염 또는 크론병이다. 한 실시양태에서, 염증성 장 질환은 궤양성 결장염이고, 반응은 임상 반응, 점막 치유 및 완화로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 환자에서의 완화는, 절대 메이요 클리닉 점수  $\leq 2$ 이면서 개별 하위점수  $>1$ 은 없는 경우에 유도되는 것으로 결정되며, 이는 또한 임상 완화로 지칭된다. 특정 실시양태에서, 환자가 가요성 구불결장경검사에 의해 평가시 내시경검사 하위점수가 0 또는 1인 것으로 결정되는 경우에 점막 치유가 발생한 것으로 결정된다. 특정의 이러한 실시양태에서, 점막 치유를 경험한 환자는 내시경검사 하위점수가 0인 것으로 결정된다. 특정 실시양태에서, 임상 반응은 환자가 MCS에서 3점 감소 및 기준선으로부터의 30% 감소 및 직장 출혈 하위점수에서  $\geq 1$ 점 감소 또는 절대 직장 출혈 점수 0 또는 1을 경험한 경우에 발생한 것으로 결정된다.

[0029]

또 다른 측면에서, 인테그린 베타7 길항제를 포함하는 요법에 대한 위장 염증성 장애를 앓고 있는 환자의 반응을 예측하거나, 또는 그에 대한 위장 염증성 장애 환자의 반응성을 예측하는 방법이 제공되며, 여기서 생물학적 샘플 중 GZMA, KLRB1, FOXM1, CCDC90A, CCL4, CPA2, CXCR6, DDO, ECH1, FAM125B, FASLG, FGF9, GPR15, GZMB, KCNMA1, PHF14, TIFAB, TMEM200A, TMIGD2 및 SLC8A3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개 또는 적어도 4개의 HEPG의 발현이 측정되고, 샘플 중 SLC8A3, TNFSF15, BEST2, CCL2, CCL3, CCL3L1/3, CPA3, FGF7, HAMP, IL1A, IL18RAP, INHBA, LIF, LMO4, LRRC4, MLK7.AS1, MT1M, MUCL1, MX1, PMCH, REM2, SSTR2, TM4SF4, TMEM154, UROS, VNN2 및 VNN3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 적어도 3개의 LEPG의 발현이 측정된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개 또는 적어도 4개의 HEPG는 GZMA, KLRB1, FOXM1, SLC8A3 및 ECH1로부터 선택되고, 적어도 1개, 적어도 2개 또는 적어도 3개의 LEPG는 SLC8A3, TNFSF15, BEST2, VNN2 및 CCL2로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개, 적어도 2개 또는 적어도 3개의 LEPG는 SLC8A3, VNN2 및 TNFSF15로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 각각의 HEPG의 mRNA 발현 수준은 측정된 각각의 HEPG에 대한 참조 수준과 비교되고, 각각의 LEPG의 mRNA 발현 수준은 측정된 각각의 LEPG에 대한 참조 수준과 비교된다. 일부 실시양태에서, 측정된 각각의 HEPG의 mRNA 발현 수준이 측정된 각각의 HEPG에 대한 각각의 참조 수준과 비교하여 상승된 경우 및 측정된 각각의 LEPG의 mRNA 발현 수준이 측정된 각각의 LEPG에 대한 각각의 참조 수준과 비교하여 감소된 경우에, 환자는 요법에 반응할 것으로 예측된다. 한 실시양태에서, 생물학적 샘플은 조직 생검 샘플이다. 한 실시양태에서, 생검은 장 조직으로부터 취득된다. 조직 생검 샘플 또는 장 조직을 포함하는 특정의 이러한 실시양태에서, HEPG는 SLC8A3을 포함하지 않고, LEPG는 SLC8A3을 포함한다. 한 실시양태에서, 생물학적 샘플은 말초 전혈이다. 말초 혈액을 포함하는 특정의 이러한 실시양태에서, HEPG는 SLC8A3을 포함하고, LEPG는 SLC8A3을 포함하지 않는다. 한 실시양태에서, 말초 전혈은 팩스젠 튜브에 수집된다. 특정 실시양태에서, mRNA 발현 수준은 RNA 서열분석 방법, 마이크로어레이 또는 PCR 방법에 의해 측정된다. 한 실시양태에서, PCR 방법은 qPCR이다. 특정 실시양태에서, 측정은 GZMA, KLRB1, FOXM1, CCDC90A, CCL4L1.2, CPA2, CXCR6, DDO, ECH1, FAM125B, FASLG, FGF9, GPR15, GZMB, KCNMA1, PHF14, TIFAB, TMEM200A, TMIGD2 및 SLC8A3 mRNA 중 1개 이상을 증폭시키고, 임의로 추가로 ITGAE mRNA를 증폭시키고, SLC8A3, TNFSF15, BEST2, CCL2, CCL3, CCL3L1/3, CPA3, FGF7, HAMP, IL1A, IL18RAP, INHBA, LIF, LMO4, LRRC4, MLK7.AS1, MT1M, MUCL1, MX1, PMCH, REM2, SSTR2, TM4SF4, TMEM154, UROS, VNN2, VNN3 mRNA 중 1개 이상을 증폭시키고, 증폭된 mRNA를 검출하여, 증폭된 mRNA 수준을 측정하는 것을 포함한다. 특정 실시양태에서, 측정된 각각의 유전자에 대한 mRNA 발현 수준은 측정된 유전자에 대한 참조 수준 (일부 실시양태에서 이는 중앙 수준임)과 비교된다. 한 실시양태에서, 반응은 임상 완화이다. 한 실시양태에서, 반응은 점막 치유이다. 한 실시양태에서, 반응은 임상 반응이다. 특정 실시양태에서, 환자에서의 완화는, 절대 메이요 클리닉 점수  $\leq 2$ 이면서 개별 하위점수  $>1$ 은 없는 경우에 유도되는 것으로 결정되며, 이는 또한 임상 완화로 지칭된다. 특정 실시양태에서, 환자가 가요성 구불결장경검사에 의해 평가시 내시경검사 하위점수가 0 또는 1인 것으로 결정되는 경우에 점막 치유가 발생한 것으로 결정된다. 특정의 이러한 실시양태에서, 점막 치유를 경험한 환자는 내시경검사 하위점수가 0인 것으로 결정된다. 특정 실시양태에서, 임상 반응은 환자가 MCS에서 3점 감소 및 기준선으로부터의 30% 감소 및 직장 출혈 하위점수에서  $\geq 1$ 점 감소 또는 절대 직장 출혈 점수 0 또는 1을 경험한 경우에 발생한 것으로 결정

된다.

[0030]

또 다른 측면에서, 위장 염증성 장애를 앓고 있는 환자가 인테그린 베타7 길항제를 포함하는 요법에 반응할 가능성이 있는지 확인하는 방법이 제공되며, 이는 다음을 포함한다: (a) 환자로부터의 생물학적 샘플 중 GZMA, KLRB1, FOXM1, CCDC90A, CCL4, CPA2, CXCR6, DDO, ECH1, FAM125B, FASLG, FGF9, GPR15, GZMB, KCNA1, PHF14, TIFAB, TMEM200A, TMIGD2 및 SLC8A3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개 또는 적어도 4개의 HEPG의 mRNA 발현 수준을 측정하는 단계; (b) (a)에서 측정된 mRNA 발현 수준을 측정된 각각의 HEPG에 대한 참조 수준과 비교하는 단계; 및 추가로 (c) 환자로부터의 생물학적 샘플 중 SLC8A3, TNFSF15, BEST2, CCL2, CCL3, CCL3L1/3, CPA3, FGF7, HAMP, IL1A, IL18RAP, INHBA, LIF, LMO4, LRRC4, MLK7.AS1, MT1M, MUCL1, MX1, PMCH, REM2, SSTR2, TM4SF4, TMEM154, UROS, VNN2 및 VNN3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 적어도 3개의 LEPG의 mRNA 발현 수준을 측정하는 단계; (d) (c)에서 측정된 mRNA 발현 수준을 측정된 각각의 LEPG에 대한 참조 수준과 비교하는 단계; 및 (e) (a)에서 측정된 각각의 HEPG의 mRNA 발현 수준이 측정된 각각의 HEPG에 대한 각각의 참조 수준 초과인 경우 및 (c)에서 측정된 각각의 LEPG의 mRNA 발현 수준이 측정된 각각의 LEPG에 대한 각각의 참조 수준 미만인 경우에, 환자가 인테그린 베타7 길항제를 포함하는 요법에 반응할 가능성이 보다 많은 것으로 확인하는 단계. 일부 실시양태에서, 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개 또는 적어도 4개의 HEPG는 GZMA, KLRB1, FOXM1, SLC8A3 및 ECH1로부터 선택되고, 적어도 1개, 적어도 2개 또는 적어도 3개의 LEPG는 SLC8A3, TNFSF15, BEST2, VNN2 및 CCL2로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개, 적어도 2개 또는 적어도 3개의 LEPG는 SLC8A3, VNN2 및 TNFSF15로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 상기 확인된 것에 더하여 추가의 HEPG가 측정되며, 추가의 HEPG는 ITGAE이다. 한 실시양태에서, 환자는 인간이다. 한 실시양태에서, 환자는 이전에 항-TNF 치료제로 치료되지 않았다. 한 실시양태에서, 위장 염증성 장애는 염증성 장 질환이다. 한 실시양태에서, 염증성 장 질환은 궤양성 결장염 또는 크론병이다. 한 실시양태에서, 염증성 장 질환은 궤양성 결장염이고, 반응은 임상 반응, 점막 치유 및 완화로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 환자에서의 완화는, 절대 메이요 클리닉 점수  $\leq 2$ 이면서 개별 하위점수  $>1$ 은 없는 경우에 유도되는 것으로 결정되며, 이는 또한 임상 완화로 지칭된다. 특정 실시양태에서, 환자가 가요성 구불결장경검사에 의해 평가시 내시경검사 하위점수가 0 또는 1인 것으로 결정되는 경우에 점막 치유가 발생한 것으로 결정된다. 특정의 이러한 실시양태에서, 점막 치유를 경험한 환자는 내시경검사 하위점수가 0인 것으로 결정된다. 특정 실시양태에서, 임상 반응은 환자가 MCS에서 3점 감소 및 기준선으로부터의 30% 감소 및 직장 출혈 하위점수에서  $\geq 1$ 점 감소 또는 절대 직장 출혈 점수 0 또는 1을 경험한 경우에 발생한 것으로 결정된다.

[0031]

또 다른 측면에서, 위장 염증성 장애를 갖는 환자를 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 방법은 다음을 포함한다: (a) 환자로부터의 생물학적 샘플 중 GZMA, KLRB1, FOXM1, CCDC90A, CCL4, CPA2, CXCR6, DDO, ECH1, FAM125B, FASLG, FGF9, GPR15, GZMB, KCNA1, PHF14, TIFAB, TMEM200A, TMIGD2 및 SLC8A3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개 또는 적어도 4개의 HEPG의 mRNA 발현 수준을 측정하는 단계; (b) (a)에서 측정된 각각의 HEPG에 대한 mRNA 발현 수준을 측정된 각각의 HEPG에 대한 참조 수준 ("HEPG 참조 수준")과 비교하는 단계; 및 추가로 (c) 환자로부터의 생물학적 샘플 중 SLC8A3, TNFSF15, BEST2, CCL2, CCL3, CCL3L1/3, CPA3, FGF7, HAMP, IL1A, IL18RAP, INHBA, LIF, LMO4, LRRC4, MLK7.AS1, MT1M, MUCL1, MX1, PMCH, REM2, SSTR2, TM4SF4, TMEM154, UROS, VNN2 및 VNN3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 적어도 3개의 LEPG의 mRNA 발현 수준을 측정하는 단계; (d) (c)에서 측정된 각각의 LEPG의 mRNA 발현 수준을 측정된 각각의 LEPG에 대한 참조 수준 ("LEPG 참조 수준")과 비교하는 단계; (e) (a)에서 측정된 각각의 HEPG의 mRNA 발현 수준이 HEPG 참조 수준 초과인 경우 및 (c)에서 측정된 각각의 LEPG의 mRNA 발현 수준이 LEPG 참조 수준 미만인 경우에, 환자가 인테그린 베타7 길항제를 포함하는 요법에 반응할 가능성이 보다 많은 것으로 확인하는 단계; 및 (f) (a)에서 측정된 각각의 HEPG의 mRNA 발현 수준이 HEPG 참조 수준 초과인 경우 및 (c)에서 측정된 각각의 LEPG의 mRNA 발현 수준이 LEPG 참조 수준 미만인 경우에, 요법을 투여하여, 위장 염증성 장애를 치료하는 단계. 일부 실시양태에서, 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개 또는 적어도 4개의 HEPG는 GZMA, KLRB1, FOXM1, SLC8A3 및 ECH1로부터 선택되고, 적어도 1개, 적어도 2개 또는 적어도 3개의 LEPG는 SLC8A3, TNFSF15, BEST2, VNN2 및 CCL2로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개, 적어도 2개 또는 적어도 3개의 LEPG는 SLC8A3, VNN2 및 TNFSF15로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 상기 확인된 것에 더하여 추가의 HEPG가 측정되며, 추가의 HEPG는 ITGAE이다. 한 실시양태에서, 인테그린 베타7 길항제 105 mg이 4주마다 1회 피하로 투여된다. 한 실시양태에서, 인테그린 베타7 길항제의 최초 용량 210 mg이 피하로 투여되고, 이어서 후속 용량으로서 인테그린 베타7 길항제의 각각 210 mg이 최초 용량으로부터 각각 2, 4, 8 및 12주 후에 피하로 투여된다. 한 실시양태에서, 환자는 인간이다. 한 실시양태에서, 환자는 이전에 항-TNF 치료제로 치료되지 않았다. 한 실시양태에서, 위장 염증성 장애는 염증성 장 질환이다. 한 실시양태에서, 염증성 장 질환은 궤양성 결장염 또는 크론병

이다. 한 실시양태에서, 염증성 장 질환은 궤양성 결장염이고, 반응은 임상 반응, 점막 치유 및 완화로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 환자에서의 완화는, 절대 메이요 클리닉 점수  $\leq 2$ 이면서 개별 하위점수  $>1$ 은 없는 경우에 유도되는 것으로 결정되며, 이는 또한 임상 완화로 지칭된다. 특정 실시양태에서, 환자가 가요성 구불결장경검사에 의해 평가시 내시경검사 하위점수가 0 또는 1인 것으로 결정되는 경우에 점막 치유가 발생한 것으로 결정된다. 특정의 이러한 실시양태에서, 점막 치유를 경험한 환자는 내시경검사 하위점수가 0인 것으로 결정된다. 특정 실시양태에서, 임상 반응은 환자가 MCS에서 3점 감소 및 기준선으로부터의 30% 감소 및 직장 출혈 하위점수에서  $\geq 1$ 점 감소 또는 절대 직장 출혈 점수 0 또는 1을 경험한 경우에 발생한 것으로 결정된다.

[0032] 또 다른 측면에서, 위장 염증성 장애를 갖는 환자를 치료하는데 사용하기 위한 인테그린 베타7 길항제가 제공된다. 특정 실시양태에서, GZMA, KLRB1, FOXM1, CCDC90A, CCL4L1.2, CPA2, CXCR6, DDO, ECH1, FAM125B, FASLG, FGF9, GPR15, GZMB, KCNMA1, PHF14, TIFAB, TMEM200A, TMIGD2 및 SLC8A3으로부터 선택된 적어도 1개의 유전자의 mRNA 발현 수준이 참조 수준 초과인 경우에, 환자는 치료되거나 치료를 위해 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 확인된 것에 더하여 추가의 유전자가 측정되며, 추가의 유전자는 ITGAE이다. 특정 실시양태에서, SLC8A3, TNFSF15, BEST2, CCL2, CCL3, CCL3L1/3, CPA3, FGF7, HAMP, IL1A, IL18RAP, INHBA, LIF, LMO4, LRRC4, MLK7.AS1, MT1M, MUCL1, MX1, PMCH, REM2, SSTR2, TM4SF4, TMEM154, UROS, VNN2 및 VNN3으로부터 선택된 적어도 1개의 유전자의 mRNA 발현 수준이 참조 수준 미만인 경우에, 환자는 치료되거나 치료를 위해 선택된다. 한 실시양태에서, 측정된 각각의 유전자에 대한 참조 수준은 중앙값이다. 한 실시양태에서, 인테그린 베타7 길항제는 환자를 치료하는데 사용하기 위한 것이며, 여기서 105 mg이 4주마다 1회 피하로 투여된다. 한 실시양태에서, 인테그린 베타7 길항제의 최초 용량 210 mg이 피하로 투여되고, 이어서 후속 용량으로서 인테그린 베타7 길항제의 각각 210 mg이 최초 용량으로부터 각각 2, 4, 8 및 12주 후에 피하로 투여된다.

[0033] 추가 측면에서, GZMA, KLRB1, FOXM1, CCDC90A, CCL4L1.2, CPA2, CXCR6, DDO, ECH1, FAM125B, FASLG, FGF9, GPR15, GZMB, KCNMA1, PHF14, TIFAB, TMEM200A, TMIGD2 및 SLC8A3으로부터 선택된 바이오마커에 특이적으로 결합하는 적어도 1종의 작용제의 시험관내 용도가 제공된다. 한 실시양태에서, 상기 확인된 것에 더하여 추가의 바이오마커에 결합하는 작용제가 측정되며, 추가의 바이오마커는 ITGAE이다. 특정 실시양태에서, 적어도 1종의 작용제는 위장 염증성 장애를 갖는 환자가 인테그린 베타7 길항제를 포함하는 요법에 반응할 가능성이 있는지 확인하거나 그러한 환자를 선택하는데 사용되며, 여기서 참조 수준 초과인 mRNA 발현 수준은 환자가 요법에 반응할 가능성이 보다 많다는 것을 확인시켜 주거나 그러한 경우를 선택하게 한다. 한 실시양태에서, 참조 수준은 중앙값이다. 특정 실시양태에서, 시험관내 용도는 키트를 포함한다.

[0034] 또 다른 측면에서, SLC8A3, TNFSF15, BEST2, CCL2, CCL3, CCL3L1/3, CPA3, FGF7, HAMP, IL1A, IL18RAP, INHBA, LIF, LMO4, LRRC4, MLK7.AS1, MT1M, MUCL1, MX1, PMCH, REM2, SSTR2, TM4SF4, TMEM154, UROS, VNN2 및 VNN3으로부터 선택된 바이오마커에 특이적으로 결합하는 적어도 1종의 작용제의 시험관내 용도가 제공된다. 특정 실시양태에서, 적어도 1종의 작용제는 위장 염증성 장애를 갖는 환자가 인테그린 베타7 길항제를 포함하는 요법에 반응할 가능성이 있는지 확인하거나 그러한 환자를 선택하는데 사용되며, 여기서 참조 수준 미만의 mRNA 발현 수준은 환자가 요법에 반응할 가능성이 보다 많다는 것을 확인시켜 주거나 그러한 경우를 선택하게 한다. 한 실시양태에서, 참조 수준은 중앙값이다. 특정 실시양태에서, 시험관내 용도는 키트를 포함한다.

[0035] 또 다른 측면에서, 환자에서 위장 염증성 장애를 치료하는 방법이 제공된다. 특정 실시양태에서, 환자로부터 수득된 생물학적 샘플이 특정 유전자 중 1개 이상을 상승된 mRNA 발현 수준으로 발현하는 것으로 결정된 경우에, 치료 유효량의 인테그린 베타7 길항제가 환자에게 투여된다. 일부 실시양태에서, 샘플은 중앙값과 비교하여 상승된 GZMA, KLRB1, FOXM1, CCDC90A, CCL4L1.2, CPA2, CXCR6, DDO, ECH1, FAM125B, FASLG, FGF9, GPR15, GZMB, KCNMA1, PHF14, TIFAB, TMEM200A, TMIGD2 또는 SLC8A3을 발현하는 것으로 결정되었다. 일부 실시양태에서, 샘플은 GZMA, KLRB1, FOXM1, CCDC90A, CCL4L1.2, CPA2, CXCR6, DDO, ECH1, FAM125B, FASLG, FGF9, GPR15, GZMB, KCNMA1, PHF14, TIFAB, TMEM200A, TMIGD2 및 SLC8A3 중 2개 또는 3개 또는 4개의 mRNA 수준을, 동일한 mRNA의 중앙 수준과 비교하여 상승되게 발현하는 것으로 결정되었다. 일부 실시양태에서, 샘플은 상기 확인된 것에 더하여 추가의 유전자를 상승된 mRNA 수준으로 발현하는 것으로 결정되었으며, 추가의 유전자는 ITGAE이다. 특정 실시양태에서, 환자는 생물학적 샘플 중 특정 유전자의 mRNA 발현 수준이 동일한 유전자 또는 유전자들의 중앙값과 비교하여 상승된 것을 기초로 치료를 위해 선택되었다. 한 실시양태에서, 생물학적 샘플은 조직 생검 샘플이다. 조직 생검을 포함하는 특정의 이러한 실시양태에서, SLC8A3의 발현은 결정되지 않았다. 한 실시양태에서, 생물학적 샘플은 말초 전혈이다. 말초 혈액을 포함하는 특정의 이러한 실시양태에서, SLC8A3의 상승된 발현이 결정되었다. 한 실시양태에서, 말초 전혈은 팍스젠 튜브에 수집된다. 특정 실시양태에서, mRNA 발현 수준은 RNA 서열분석 방법, 마이크로어레이 또는 PCR 방법에 의해 측정된다. 한



실시양태에서, PCR 방법은 qPCR이다. 특정 실시양태에서, 측정은 GZMA, KLRB1, FOXM1, CCDC90A, CCL4L1.2, CPA2, CXCR6, DDO, ECH1, FAM125B, FASLG, FGF9, GPR15, GZMB, KCNMA1, PHF14, TIFAB, TMEM200A, TMIGD2 및 SLC8A3 mRNA 중 1개 이상을 증폭시키고, 임의로 추가로 ITGAE mRNA를 증폭시키고, 증폭된 mRNA를 검출하여, 증폭된 mRNA 수준을 측정하는 것을 포함한다. 특정 실시양태에서, 인테그린 베타7 길항제의 투여는 하기 중 1개 이상을 유발한다: (1) MCS에서 3점 감소 및 기준선으로부터의 30% 감소 및 직장 출혈 하위점수에서  $\geq 1$  점 감소 또는 절대적 직장 출혈 점수 0 또는 1, (2) 내시경 하위점수 0 또는 1, (3) MCS  $\leq 2$  이면서 개별 하위점수  $> 1$  은 없음. 한 실시양태에서, 인테그린 베타7 길항제 105 mg이 4주마다 1회 피하로 투여된다. 한 실시양태에서, 인테그린 베타7 길항제의 최초 용량 210 mg이 피하로 투여되고, 이어서 후속 용량으로서 인테그린 베타7 길항제의 각각 210 mg이 최초 용량으로부터 각각 2, 4, 8 및 12주 후에 피하로 투여된다

[0036]

또 다른 측면에서, 환자에서 위장 염증성 장애를 치료하는 방법이 제공된다. 특정 실시양태에서, 환자로부터 수득된 생물학적 샘플이 특정 유전자 중 1개 이상을 감소된 mRNA 발현 수준으로 발현하는 것으로 결정된 경우에, 치료 유효량의 인테그린 베타7 길항제가 환자에게 투여된다. 일부 실시양태에서, 샘플은 중앙값과 비교하여 감소된 SLC8A3, TNFSF15, BEST2, CCL2, CCL3, CCL3L1/3, CPA3, FGF7, HAMP, IL1A, IL18RAP, INHBA, LIF, LMO4, LRRC4, MLK7.AS1, MT1M, MUCL1, MX1, PMCH, REM2, SSTR2, TM4SF4, TMEM154, UROS, VNN2 또는 VNN3 을 발현하는 것으로 결정되었다. 일부 실시양태에서, 샘플은 SLC8A3, TNFSF15, BEST2, CCL2, CCL3, CCL3L1/3, CPA3, FGF7, HAMP, IL1A, IL18RAP, INHBA, LIF, LMO4, LRRC4, MLK7.AS1, MT1M, MUCL1, MX1, PMCH, REM2, SSTR2, TM4SF4, TMEM154, UROS, VNN2 및 VNN3 중 2개 또는 3개의 mRNA 수준을, 동일한 mRNA의 중앙 수준과 비교하여 감소되게 발현하는 것으로 결정되었다. 특정 실시양태에서, 환자는 생물학적 샘플 중 특정 유전자의 mRNA 발현 수준이 동일한 유전자 또는 유전자들의 중앙값과 비교하여 감소된 것을 기초로 치료를 위해 선택되었다. 일부 실시양태에서, 환자는 SLC8A3, TNFSF15, BEST2, CCL2, CCL3, CCL3L1/3, CPA3, FGF7, HAMP, IL1A, IL18RAP, INHBA, LIF, LMO4, LRRC4, MLK7.AS1, MT1M, MUCL1, MX1, PMCH, REM2, SSTR2, TM4SF4, TMEM154, UROS, VNN2 또는 VNN3 발현이 중앙값과 비교하여 감소된 것을 기초로 치료를 위해 선택되었다. 일부 실시양태에서, 환자는 SLC8A3, TNFSF15, BEST2, CCL2, CCL3, CCL3L1/3, CPA3, FGF7, HAMP, IL1A, IL18RAP, INHBA, LIF, LMO4, LRRC4, MLK7.AS1, MT1M, MUCL1, MX1, PMCH, REM2, SSTR2, TM4SF4, TMEM154, UROS, VNN2 및 VNN3 중 2개 또는 3개의 mRNA 발현이 동일한 mRNA의 중앙값과 비교하여 감소된 것을 기초로 치료를 위해 선택되었다. 한 실시양태에서, 생물학적 샘플은 조직 생검 샘플이다. 조직 생검 샘플을 포함하는 특성의 이러한 실시양태에서, 방법은 참조 또는 중앙값과 비교하여 감소된 SLC8A3 발현을 포함한다. 한 실시양태에서, 생물학적 샘플은 말초 전혈이다. 말초 혈액을 포함하는 특성의 이러한 실시양태에서, SLC8A3 발현은 참조 또는 중앙값과 비교하여 감소되지 않는다. 한 실시양태에서, 말초 전혈은 팍스젠 튜브에 수집된다. 특정 실시양태에서, mRNA 발현 수준은 RNA 서열분석 방법, 마이크로어레이 또는 PCR 방법에 의해 측정된다. 한 실시양태에서, PCR 방법은 qPCR이다. 특정 실시양태에서, 측정은 SLC8A3, TNFSF15, BEST2, CCL2, CCL3, CCL3L1/3, CPA3, FGF7, HAMP, IL1A, IL18RAP, INHBA, LIF, LMO4, LRRC4, MLK7.AS1, MT1M, MUCL1, MX1, PMCH, REM2, SSTR2, TM4SF4, TMEM154, UROS, VNN2 및 VNN3 mRNA 중 1개 이상을 증폭시키고, 증폭된 mRNA를 검출하여, 증폭된 mRNA 수준을 측정하는 것을 포함한다. 특정 실시양태에서 인테그린 베타7 길항제의 투여는 하기 중 1개 이상을 유발한다: (1) MCS에서 3점 감소 및 기준선으로부터의 30% 감소 및 직장 출혈 하위점수에서  $\geq 1$  점 감소 또는 절대적 직장 출혈 점수 0 또는 1, (2) 내시경 하위점수 0 또는 1, (3) MCS  $\leq 2$  이면서 개별 하위점수  $> 1$  은 없음. 한 실시양태에서, 인테그린 베타7 길항제 105 mg이 4주마다 1회 피하로 투여된다. 한 실시양태에서, 인테그린 베타7 길항제의 최초 용량 210 mg이 피하로 투여되고, 이어서 후속 용량으로서 인테그린 베타7 길항제의 각각 210 mg 이 최초 용량으로부터 각각 2, 4, 8 및 12주 후에 피하로 투여된다.

[0037]

특정 상기 실시양태에서, 위장 염증성 장애는 염증성 장 질환이고, 특성의 이러한 실시양태에서, 염증성 장 질환은 궤양성 결장염 (UC) 또는 크론병 (CD)이고, 특성의 이러한 실시양태에서, 인테그린 베타7 길항제는 모노클로날 항-베타7 항체이다. 특성의 이러한 실시양태에서, 항-베타7 항체는 키메라 항체, 인간 항체 및 인간화 항체로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 항-베타7 항체는 항체 단편이다. 특정 실시양태에서, 항-베타7 항체는 6개의 추가 변 영역 (HVR)을 포함하며, 여기서

[0038]

(i) HVR-L1은 아미노산 서열 A1-A11을 포함하고, 여기서 A1-A11은 RASESVDTYLH (서열식별번호(SEQ ID NO): 1), RASESVDSLH (서열식별번호: 7), RASESVDTLLH (서열식별번호: 8) 또는 RASESVDDLH (서열식별번호: 9), 또는 서열식별번호: 1, 7, 8 또는 9의 변이체 (서열식별번호: 26)이고, 여기서 아미노산 A2는 A, G, S, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고/거나, 아미노산 A3은 S, G, I, K, N, P, Q, R 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고/거나, A4는 E, V, Q, A, D, G, H, I, K, L, N 및 R로 이루어진 군으로부터 선택되고/거나, 아미노산 A5는 S, Y, A, D, G, H, I, K, N, P, R, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고/거나, 아미노산 A6은 V, R, I, A,



G, K, L, M 및 Q로 이루어진 군으로부터 선택되고/거나, 아미노산 A7은 D, V, S, A, E, G, H, I, K, L, N, P, S 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고/거나, 아미노산 A8은 D, G, N, E, T, P 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고/거나, 아미노산 A9는 L, Y, I 및 M으로 이루어진 군으로부터 선택되고/거나, 아미노산 A10은 L, A, I, M 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고/거나, 아미노산 A11은 H, Y, F 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고;

- [0039] (ii) HVR-L2는 아미노산 서열 B1-B8을 포함하고, 여기서 B1-B8은 KYASQSSIS (서열식별번호: 2), RYASQSSIS (서열식별번호: 20) 또는 XaaYASQSSIS (서열식별번호: 21, 여기서 Xaa는 임의의 아미노산을 나타냄), 또는 서열식별번호: 2, 20 또는 21의 변이체 (서열식별번호: 27)이고, 여기서 아미노산 B1은 K, R, N, V, A, F, Q, H, P, I, L, Y 및 Xaa (여기서 Xaa는 임의의 아미노산을 나타냄)로 이루어진 군으로부터 선택되고/거나, 아미노산 B4는 S 및 D로 이루어진 군으로부터 선택되고/거나, 아미노산 B5는 Q 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고/거나, 아미노산 B6은 S, D, L 및 R로 이루어진 군으로부터 선택되고/거나, 아미노산 B7은 I, V, E 및 K로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0040] (iii) HVR-L3은 아미노산 서열 C1-C9를 포함하고, 여기서 C1-C9는 QQGNSLPNT (서열식별번호: 3), 또는 서열식별번호: 3의 변이체 (서열식별번호: 28)이고, 여기서 아미노산 C8은 N, V, W, Y, R, S, T, A, F, H, I, L 및 M으로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0041] (iv) HVR-H1은 아미노산 서열 D1-D10을 포함하고, 여기서 D1-D10은 GFFITNNYWG (서열식별번호: 4)이고;
- [0042] (v) HVR-H2는 아미노산 서열 E1-E17을 포함하고, 여기서 E1-E17은 GYISYSGSTSYNPSLKS (서열식별번호: 5), 또는 서열식별번호: 5의 변이체 (서열식별번호: 29)이고, 여기서 아미노산 E2는 Y, F, V 및 D로 이루어진 군으로부터 선택되고/거나, 아미노산 E6은 S 및 G로 이루어진 군으로부터 선택되고/거나, 아미노산 E10은 S 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고/거나, 아미노산 E12는 N, T, A 및 D로 이루어진 군으로부터 선택되고/거나, 아미노산 E13은 P, H, D 및 A로 이루어진 군으로부터 선택되고/거나, 아미노산 E15는 L 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고/거나, 아미노산 E17은 S 및 G로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0043] (vi) HVR-H3은 아미노산 서열 F2-F11을 포함하고, 여기서 F2-F11은 MTGSSGYFDF (서열식별번호: 6) 또는 RTGSSGYFDF (서열식별번호: 19)이거나; 또는 아미노산 서열 F1-F11을 포함하고, 여기서 F1-F11은 AMTGSSGYFDF (서열식별번호: 16), ARTGSSGYFDF (서열식별번호: 17) 또는 AQTGSSGYFDF (서열식별번호: 18), 또는 서열식별번호: 6, 16, 17, 18 또는 19의 변이체 (서열식별번호: 30)이고, 여기서 아미노산 F2는 R, M, A, E, G, Q, S이고/거나, 아미노산 F11은 F 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0044] 특정 실시양태에서, 항-베타7 항체는 3개의 중쇄 추가변 영역 (HVR-H1-H3) 서열 및 3개의 경쇄 추가변 영역 (HVR-L1-L3) 서열을 포함하며, 여기서
- [0045] (i) HVR-L1은 서열식별번호: 7, 서열식별번호: 8 또는 서열식별번호: 9를 포함하고;
- [0046] (ii) HVR-L2는 서열식별번호: 2를 포함하고;
- [0047] (iii) HVR-L3은 서열식별번호: 3을 포함하고;
- [0048] (iv) HVR-H1은 서열식별번호: 4를 포함하고;
- [0049] (v) HVR-H2는 서열식별번호: 5를 포함하고;
- [0050] (vi) HVR-H3은 서열식별번호: 6 또는 서열식별번호: 16 또는 서열식별번호: 17 또는 서열식별번호: 19를 포함한다.
- [0051] 특정 실시양태에서, 항-베타7 항체는 3개의 중쇄 추가변 영역 (HVR-H1-H3) 서열 및 3개의 경쇄 추가변 영역 (HVR-L1-L3) 서열을 포함하며, 여기서
- [0052] (i) HVR-L1은 서열식별번호: 9를 포함하고;
- [0053] (ii) HVR-L2는 서열식별번호: 2를 포함하고;
- [0054] (iii) HVR-L3은 서열식별번호: 3을 포함하고;
- [0055] (iv) HVR-H1은 서열식별번호: 4를 포함하고;
- [0056] (v) HVR-H2는 서열식별번호: 5를 포함하고;
- [0057] (vi) HVR-H3은 서열식별번호: 19를 포함한다. 특정 실시양태에서, 항-베타7 항체는 서열식별번호: 31의 아미노

산 서열을 포함하는 가변 경쇄 및 서열식별번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄를 포함한다.

[0058] 특정 실시양태에서 항-베타7 항체는 에트롤리주맙 (또한, rhuMAb 베타7로 지칭됨)이다.

### 도면의 간단한 설명

[0059] 도 1A 및 1B는 하기 컨센서스 서열 및 항-베�타7 서브유닛 항체 서열에 대한 가변 경쇄 및 중쇄의 서열의 정렬을 보여준다: 경쇄 인간 하위군 카파 I 컨센서스 서열 (도 1A, 서열식별번호: 12), 중쇄 인간 하위군 III 컨센서스 서열 (도 1B, 서열식별번호: 13), 래트 항-마우스 베타7 항체 (Fib504) 가변 경쇄 (도 1A, 서열식별번호: 10), 래트 항-마우스 베타7 항체 (Fib504) 가변 중쇄 (도 1B, 서열식별번호: 11), 및 인간화 항체 변이체: 인간화 hu504K 그라프트 가변 경쇄 (도 1A, 서열식별번호: 14), 인간화 hu504K 그라프트 가변 중쇄 (도 1B, 서열식별번호: 15), 변이체 hu504-5, hu504-16 및 hu504-32 (인간화 hu504K 그라프트로부터의 아미노산 변이가 도 1A에 나타나 있음) (경쇄) (출현 순서대로 각각 서열식별번호: 22-24) 및 변이체 hu504-5, hu504-16 및 hu504-32 (도 1B) (중쇄) (서열식별번호: 25).

도 2는 에트롤리주맙의 가변 경쇄 영역 (도 2A) (서열식별번호: 31) 및 가변 중쇄 영역 (도 2B) (서열식별번호: 32)을 보여준다.

도 3은 실시예 1에 기재된 바와 같은 II상 임상 연구를 위한 연구 개략도를 보여준다.

도 4는 실시예 1에 기재된 바와 같은 II상 개방 표지 확장 임상 연구에 대한 연구 개략도를 보여준다.

도 5는 실시예 2에 기재된 바와 같이 모든 환자에서의 병용 의약 및 이전 항-TNF 노출을 기초로 하여 치료 효과 차이 추정치에 대해 조정된, qPCR에 의해 측정된 바와 같은 나타내어진 차등 발현된 유전자의 오즈비를 보여준다. 완화를 풍부화시킨 유전자의 차등 발현이 보여진다.

도 6은 실시예 2에 기재된 바와 같이 항-TNF 나이브 환자에서의 병용 의약 및 이전 항-TNF 노출을 기초로 하여 치료 효과 차이 추정치에 대해 조정된, qPCR에 의해 측정된 바와 같은 나타내어진 차등 유전자의 오즈비를 보여준다. 완화를 풍부화시킨 유전자의 차등 발현이 보여진다.

도 7은 실시예 2에 기재된 바와 같은 선택된 유전자의 이원 클러스터링 (도 7A) 및 상관관계 (도 7B)를 보여주는 열지도이다.

도 8은 실시예 2에 기재된 바와 같이 장 생검 중 기준선 유전자 발현 수준 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있으며 위약 (흑색 막대), 100 mg/용량 에트롤리주맙 (점무늬 막대) 또는 300 mg/용량 에트롤리주맙 + 부하 용량 (LD) (줄무늬 막대)으로 치료된 환자의 비율 (백분율)을 보여준다. (도 8A) 그랜자임 A (GZMA) 유전자 발현에 의해 계층화된 환자의 비율; (도 8B) KLRB1 유전자 발현에 의해 계층화된 환자의 비율; (도 8C) FOXM1 유전자 발현에 의해 계층화된 환자의 비율; (도 8D) 인테그린 알파E (ITGAE) 유전자 발현에 의해 계층화된 환자의 비율. 패널의 좌측, 모든 환자; 패널의 우측, 이전에 중양 괴사 인자 (TNF) 활성의 임의의 길항제로 치료되지 않은 환자 (항-TNF 나이브).

도 9는 그랜자임 A (GZMA)의 기준선 발현의 중양 수준보다 더 높은 수준의 발현이 실시예 2에 기재된 바와 같은 에트롤리주맙 치료에 대한 반응성을 풍부화시켰다는 것을 보여준다. (도 9A) 제10주에 완화 상태에 있거나, 제10주에 점막 치유를 보였거나 또는 제10주에 임상 반응을 보인, 장 생검 중 기준선 GZMA 유전자 발현 수준 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있으며 위약 (흑색 막대), 100 mg/용량 에트롤리주맙 (점무늬 막대) 또는 300 mg/용량 에트롤리주맙 (줄무늬 막대)으로 치료된 TNF 길항제 나이브 환자의 비율 (백분율). (도 9B) 에트롤리주맙을 사용한 계속된 치료 후 4-6주에 임상 완화 상태에 있거나 (좌측) 또는 임상 반응을 보인 (우측), 장 생검 중 기준선 GZMA 유전자 발현 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있는 개방 표지 확장 연구로부터 TNF 활성의 길항제를 사용한 치료를 이전에 실패하였거나 그러한 치료에 부적합 반응 (TNF-IR)을 갖는 환자의 백분율. (도 9C) II상 에트롤리주맙 시험에 등록되어 있으며 TNF 길항제 나이브 (항-TNF 나이브) 또는 TNF-IR (항-TNF 실패)로 확인된 환자로부터 수득한 기준선 생검 조직 중 GAPDH 발현에 대한 상대 GZMA 유전자 발현, 흑색의 채워진 원형: 제10주에서의 비-완화자, 개방 원형: 제10주에서의 완화자, 점선은 중앙값을 나타냄. (도 9D) 위약군 내 TNF 길항제 나이브 환자 (좌측 패널) 및 TNF-IR 환자 (우측 패널)에 있어서 기준선, 제43일 및 제71일에서의 GZMA 가변성이 보여진다. 각각의 선은 시험된 각각의 시점에서의 단일 환자를 나타낸다.

도 10은 KLRB1의 기준선 발현의 중양 수준보다 더 높은 수준의 발현이 실시예 2에 기재된 바와 같은 에트롤리주

맵 치료에 대한 반응성을 풍부화시켰다는 것을 보여준다. (도 10A) 제10주에 완화 상태에 있거나, 제10주에 점막 치유를 보였거나 또는 제10주에 임상 반응을 보인, 장 생검 중 기준선 KLRB1 유전자 발현 수준 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있으며 위약 (흑색 막대), 100 mg/용량 에트롤리주맵 (점무늬 막대) 또는 300 mg/용량 에트롤리주맵 (줄무늬 막대)으로 치료된 TNF 길항제 나이브 환자의 비율 (백분율). (도 10B) 에트롤리주맵을 사용한 계속된 치료 후 4-6주에 임상 완화 상태에 있거나 (좌측) 또는 임상 반응을 보인 (우측), 장 생검 중 기준선 KLRB1 유전자 발현 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있는 개방 표지 확장 연구로부터의 TNF-IR 환자의 백분율. (도 10C) II상 에트롤리주맵 시험에 등록되어 있으며 TNF 길항제 나이브 (항-TNF 나이브) 또는 TNF-IR (항-TNF 실패)로 확인된 환자로부터 수득한 기준선 생검 조직 중 GAPDH 발현에 대한 상대 KLRB1 유전자 발현, 흑색의 채워진 원형: 제10주에서의 비-완화자, 개방 원형: 제10주에서의 완화자, 점선은 중앙값을 나타냄. (도 10D) 위약군 내 TNF 길항제 나이브 환자 (좌측 패널) 및 TNF-IR 환자 (우측 패널)에 있어서 기준선, 제43일 및 제71일에서의 KLRB1 가변성이 보여진다. 각각의 선은 시험된 각각의 시점에서의 단일 환자를 나타낸다.

도 11은 FOXM1의 기준선 발현의 중양 수준보다 더 높은 수준의 발현이 실시예 2에 기재된 바와 같은 에트롤리주맵 치료에 대한 반응성을 풍부화시켰다는 것을 보여준다. (도 11A) 제10주에 완화 상태에 있거나, 제10주에 점막 치유를 보였거나 또는 제10주에 임상 반응을 보인, 장 생검 중 기준선 FOXM1 유전자 발현 수준 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있으며 위약 (흑색 막대), 100 mg/용량 에트롤리주맵 (점무늬 막대) 또는 300 mg/용량 에트롤리주맵 (줄무늬 막대)으로 치료된 TNF 길항제 나이브 환자의 비율 (백분율). (도 11B) 에트롤리주맵을 사용한 계속된 치료 후 4-6주에 임상 완화 상태에 있거나 (좌측) 또는 임상 반응을 보인 (우측), 장 생검 중 기준선 FOXM1 유전자 발현 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있는 개방 표지 확장 연구로부터의 TNF-IR 환자의 백분율. (도 11C) II상 에트롤리주맵 시험에 등록되어 있으며 TNF 길항제 나이브 (항-TNF 나이브) 또는 TNF-IR (항-TNF 실패)로 확인된 환자로부터 수득한 기준선 생검 조직 중 GAPDH 발현에 대한 상대 FOXM1 유전자 발현, 흑색의 채워진 원형: 제10주에서의 비-완화자, 개방 원형: 제10주에서의 완화자, 점선은 중앙값을 나타냄. (도 11D) 위약군 내 TNF 길항제 나이브 환자 (좌측 패널) 및 TNF-IR 환자 (우측 패널)에 있어서 기준선, 제43일 및 제71일에서의 FOXM1 가변성이 보여진다. 각각의 선은 시험된 각각의 시점에서의 단일 환자를 나타낸다.

도 12는 ITGAE의 기준선 발현의 중양 수준보다 더 높은 수준의 발현이 실시예 2에 기재된 바와 같은 에트롤리주맵 치료에 대한 반응성을 풍부화시켰다는 것을 보여준다. (도 12A) 제10주에 완화 상태에 있거나, 제10주에 점막 치유를 보였거나 또는 제10주에 임상 반응을 보인, 장 생검 중 기준선 ITGAE 유전자 발현 수준 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있으며 위약 (흑색 막대), 100 mg/용량 에트롤리주맵 (점무늬 막대) 또는 300 mg/용량 에트롤리주맵 (줄무늬 막대)으로 치료된 TNF 길항제 나이브 환자의 비율 (백분율). (도 12B) 에트롤리주맵을 사용한 계속된 치료 후 4-6주에 임상 완화 상태에 있거나 (좌측) 또는 임상 반응을 보인 (우측), 장 생검 중 기준선 ITGAE 유전자 발현 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있는 개방 표지 확장 연구로부터의 TNF-IR 환자의 백분율. (도 12C) II상 에트롤리주맵 시험에 등록되어 있으며 TNF 길항제 나이브 (항-TNF 나이브) 또는 TNF-IR (항-TNF 실패)로 확인된 환자로부터 수득한 기준선 생검 조직 중 GAPDH 발현에 대한 상대 ITGAE 유전자 발현, 흑색의 채워진 원형: 제10주에서의 비-완화자, 개방 원형: 제10주에서의 완화자, 점선은 중앙값을 나타냄. (도 12D) 위약군 내 TNF 길항제 나이브 환자 (좌측 패널) 및 TNF-IR 환자 (우측 패널)에 있어서 기준선, 제43일 및 제71일에서의 ITGAE 가변성이 보여진다. 각각의 선은 시험된 각각의 시점에서의 단일 환자를 나타낸다.

도 13은 실시예 2에 기재된 바와 같이 장 생검 중 기준선 유전자 발현 수준 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있으며 위약 (흑색 막대), 100 mg/용량 에트롤리주맵 (점무늬 막대) 또는 300 mg/용량 에트롤리주맵 + LD (줄무늬 막대)로 치료된 환자의 비율 (백분율)을 보여준다. (도 13A) SLC8A3 유전자 발현에 의해 계층화된 환자의 비율; (도 13B) TNFSF15 유전자 발현에 의해 계층화된 환자의 비율; (도 13C) CCL2 유전자 발현에 의해 계층화된 환자의 비율; (도 13D) BEST2 유전자 발현에 의해 계층화된 환자의 비율.

도 14는 스크리닝 생검 조직 중 SLC8A3의 기준선 발현의 중양 수준보다 더 낮은 수준의 발현이 실시예 2에 기재된 바와 같은 에트롤리주맵 치료에 대한 반응성을 풍부화시켰다는 것을 보여준다. (도 14A) 제10주에 완화 상태에 있거나, 제10주에 점막 치유를 보였거나 또는 제10주에 임상 반응을 보인, 장 생검 중 기준선 SLC8A3 유전자 발현 수준 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있으며 위약 (흑색 막대), 100 mg/용량 에트롤리주맵 (점무늬 막대) 또는 300 mg/용량 에트롤리주맵 (줄무늬 막대)으로 치료된 TNF 길항제 나이브 환자의 비율 (백분율). (도 14B) 에트롤리주맵을 사용한 계속된 치료 후 4-6주에 임상 완화 상태에 있거

나 (좌측) 또는 임상 반응을 보인 (우측), 장 생검 중 기준선 SLC8A3 유전자 발현 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있는 개방 표지 확장 연구로부터의 TNF-IR 환자의 백분율. (도 14C) II상 에트롤리주맙 시험에 등록되어 있으며 TNF 길항제 나이브 (항-TNF 나이브) 또는 TNF-IR (항-TNF 실패)로 확인된 환자로부터 수득한 기준선 생검 조직 중 GAPDH 발현에 대한 상대 SLC8A3 유전자 발현, 흑색의 채워진 원형: 제10주에서의 비-완화자, 개방 원형: 제10주에서의 완화자, 점선은 중앙값을 나타냄. (도 14D) 위약군 내 TNF 길항제 나이브 환자 (좌측 패널) 및 TNF-IR 환자 (우측 패널)에 있어서 기준선, 제43일 및 제71일에서의 SLC8A3 가변성이 보여진다. 각각의 선은 시험된 각각의 시점에서의 단일 환자를 나타낸다.

도 15는 TNFSF15의 기준선 발현의 중양 수준보다 더 낮은 수준의 발현이 실시예 2에 기재된 바와 같은 에트롤리주맙 치료에 대한 반응성을 풍부화시켰다는 것을 보여준다. (도 15A) 제10주에 완화 상태에 있거나, 제10주에 점막 치유를 보였거나 또는 제10주에 임상 반응을 보인, 장 생검 중 기준선 TNFSF15 유전자 발현 수준 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있으며 위약 (흑색 막대), 100 mg/용량 에트롤리주맙 (점무늬 막대) 또는 300 mg/용량 에트롤리주맙 (줄무늬 막대)으로 치료된 TNF 길항제 나이브 환자의 비율 (백분율). (도 15B) 에트롤리주맙을 사용한 계속된 치료 후 4-6주에 임상 완화 상태에 있거나 (좌측) 또는 임상 반응을 보인 (우측), 장 생검 중 기준선 TNFSF15 유전자 발현 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있는 개방 표지 확장 연구로부터의 TNF-IR 환자의 백분율. (도 15C) II상 에트롤리주맙 시험에 등록되어 있으며 TNF 길항제 나이브 (항-TNF 나이브) 또는 TNF-IR (항-TNF 실패)로 확인된 환자로부터 수득한 기준선 생검 조직 중 GAPDH 발현에 대한 상대 TNFSF15 유전자 발현, 흑색의 채워진 원형: 제10주에서의 비-완화자, 개방 원형: 제10주에서의 완화자, 점선은 중앙값을 나타냄. (도 15D) 위약군 내 TNF 길항제 나이브 환자 (좌측 패널) 및 TNF-IR 환자 (우측 패널)에 있어서 기준선, 제43일 및 제71일에서의 TNFSF15 가변성이 보여진다. 각각의 선은 시험된 각각의 시점에서의 단일 환자를 나타낸다.

도 16은 CCL2의 기준선 발현의 중양 수준보다 더 낮은 수준의 발현이 실시예 2에 기재된 바와 같은 에트롤리주맙 치료에 대한 반응성을 풍부화시켰다는 것을 보여준다. (도 16A) 제10주에 완화 상태에 있거나, 제10주에 점막 치유를 보였거나 또는 제10주에 임상 반응을 보인, 장 생검 중 기준선 CCL2 유전자 발현 수준 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있으며 위약 (흑색 막대), 100 mg/용량 에트롤리주맙 (점무늬 막대) 또는 300 mg/용량 에트롤리주맙 (줄무늬 막대)으로 치료된 TNF 길항제 나이브 환자의 비율 (백분율). (도 16B) 에트롤리주맙을 사용한 계속된 치료 후 4-6주에 임상 완화 상태에 있거나 (좌측) 또는 임상 반응을 보인 (우측), 장 생검 중 기준선 CCL2 유전자 발현 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있는 개방 표지 확장 연구로부터의 TNF-IR 환자의 백분율. (도 16C) II상 에트롤리주맙 시험에 등록되어 있으며 TNF 길항제 나이브 (항-TNF 나이브) 또는 TNF-IR (항-TNF 실패)로 확인된 환자로부터 수득한 기준선 생검 조직 중 GAPDH 발현에 대한 상대 CCL2 유전자 발현, 흑색의 채워진 원형: 제10주에서의 비-완화자, 개방 원형: 제10주에서의 완화자, 점선은 중앙값을 나타냄. (도 16D) 위약군 내 TNF 길항제 나이브 환자 (좌측 패널) 및 TNF-IR 환자 (우측 패널)에 있어서 기준선, 제43일 및 제71일에서의 CCL2 가변성이 보여진다. 각각의 선은 시험된 각각의 시점에서의 단일 환자를 나타낸다.

도 17은 BEST2의 기준선 발현의 중양 수준보다 더 낮은 수준의 발현이 실시예 2에 기재된 바와 같은 에트롤리주맙 치료에 대한 반응성을 풍부화시켰다는 것을 보여준다. (도 17A) 제10주에 완화 상태에 있거나, 제10주에 점막 치유를 보였거나 또는 제10주에 임상 반응을 보인, 장 생검 중 기준선 BEST2 유전자 발현 수준 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있으며 위약 (흑색 막대), 100 mg/용량 에트롤리주맙 (점무늬 막대) 또는 300 mg/용량 에트롤리주맙 (줄무늬 막대)으로 치료된 TNF 길항제 나이브 환자의 비율 (백분율). (도 17B) 에트롤리주맙을 사용한 계속된 치료 후 4-6주에 임상 완화 상태에 있거나 (좌측) 또는 임상 반응을 보인 (우측), 장 생검 중 기준선 BEST2 유전자 발현 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있는 개방 표지 확장 연구로부터의 TNF-IR 환자의 백분율. (도 17C) II상 에트롤리주맙 시험에 등록되어 있으며 TNF 길항제 나이브 (항-TNF 나이브) 또는 TNF-IR (항-TNF 실패)로 확인된 환자로부터 수득한 기준선 생검 조직 중 GAPDH 발현에 대한 상대 BEST2 유전자 발현, 흑색의 채워진 원형: 제10주에서의 비-완화자, 개방 원형: 제10주에서의 완화자, 점선은 중앙값을 나타냄. (도 17D) 위약군 내 TNF 길항제 나이브 환자 (좌측 패널) 및 TNF-IR 환자 (우측 패널)에 있어서 기준선, 제43일 및 제71일에서의 BEST2 가변성이 보여진다. 각각의 선은 시험된 각각의 시점에서의 단일 환자를 나타낸다.

도 18은 다음을 보여준다: (도 18A) 실시예 2에 기재된 바와 같이, 제10주에 완화 상태에 있거나, 제10주에 점막 치유를 보였거나 또는 제10주에 임상 반응을 보인, 장 생검 중 기준선 ECH1 유전자 발현 수준 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있으며 위약 (흑색 막대), 100 mg/용량 에트롤리주맙 (점



무너 막대) 또는 300 mg/용량 에트롤리주맙 (줄무너 막대)으로 치료된 TNF 길항제 나이브 환자의 비율 (백분율). (도 18B) 에트롤리주맙을 사용한 계속된 치료 후 4-6주에 임상 완화 상태에 있거나 (좌측) 또는 임상 반응을 보인 (우측), 장 생검 중 기준선 ECH1 유전자 발현 (저, 중앙 미만 vs. 고, 중앙 또는 중앙 초과)에 의해 계층화되어 있는 개방 표지 확장 연구로부터의 TNF-IR 환자의 백분율. (도 18C) II상 에트롤리주맙 시험에 등록되어 있으며 TNF 길항제 나이브 (항-TNF 나이브) 또는 TNF-IR (항-TNF 실패)로 확인된 환자로부터 수득한 기준선 생검 조직 중 GAPDH 발현에 대한 상대 ECH1 유전자 발현, 흑색의 채워진 원형: 제10주에서의 비-완화자, 개방 원형: 제10주에서의 완화자, 점선은 중앙값을 나타냄. (도 18D) 위약군 내 TNF 길항제 나이브 환자 (좌측 패널) 및 TNF-IR 환자 (우측 패널)에 있어서 기준선, 제43일 및 제71일에서의 ECH1 가변성이 보여진다. 각각의 선은 시험된 각각의 시점에서의 단일 환자를 나타낸다.

도 19는 다음을 보여준다: (도 19A) 실시예 2에 기재된 바와 같이, 제10주에 완화 상태에 있거나, 제10주에 점막 치유를 보였거나 또는 제10주에 임상 반응을 보인, 장 생검 중 기준선 VNN2 유전자 발현 수준 (저, 중앙 미만 vs. 고, 중앙 또는 중앙 초과)에 의해 계층화되어 있으며 위약 (흑색 막대), 100 mg/용량 에트롤리주맙 (점무너 막대) 또는 300 mg/용량 에트롤리주맙 (줄무너 막대)으로 치료된 TNF 길항제 나이브 환자의 비율 (백분율). (도 19B) 에트롤리주맙을 사용한 계속된 치료 후 4-6주에 임상 완화 상태에 있거나 (좌측) 또는 임상 반응을 보인 (우측), 장 생검 중 기준선 VNN2 유전자 발현 (저, 중앙 미만 vs. 고, 중앙 또는 중앙 초과)에 의해 계층화되어 있는 개방 표지 확장 연구로부터의 TNF-IR 환자의 백분율. (도 19C) II상 에트롤리주맙 시험에 등록되어 있으며 TNF 길항제 나이브 (항-TNF 나이브) 또는 TNF-IR (항-TNF 실패)로 확인된 환자로부터 수득한 기준선 생검 조직 중 GAPDH 발현에 대한 상대 VNN2 유전자 발현, 흑색의 채워진 원형: 제10주에서의 비-완화자, 개방 원형: 제10주에서의 완화자, 점선은 중앙값을 나타냄. (도 19D) 위약군 내 TNF 길항제 나이브 환자 (좌측 패널) 및 TNF-IR 환자 (우측 패널)에 있어서 기준선, 제43일 및 제71일에서의 VNN2 가변성이 보여진다. 각각의 선은 시험된 각각의 시점에서의 단일 환자를 나타낸다.

도 20은 ITGAE의 기준선 말초 혈액 유전자 발현 (이 문맥에서 기준선은 스크린시의 값 및 제1일에서의 값의 평균을 의미함)의 중앙 수준보다 더 높은 수준의 발현이 실시예 2에 기재된 바와 같은 에트롤리주맙 치료에 대한 반응성을 풍부화시켰다는 것을 보여준다. (도 20A) 제10주에 완화 상태에 있거나, 제10주에 점막 치유를 보였거나 또는 제10주에 임상 반응을 보인, 기준선 말초 혈액 ITGAE 유전자 발현 수준 (저, 중앙 미만 vs. 고, 중앙 또는 중앙 초과)에 의해 계층화되어 있으며 위약 (흑색 막대), 100 mg/용량 에트롤리주맙 (점무너 막대) 또는 300 mg/용량 에트롤리주맙 (줄무너 막대)으로 치료된 TNF 길항제 나이브 환자의 비율 (백분율). (도 20B) 에트롤리주맙을 사용한 계속된 치료 후 4-6주에 임상 완화 상태에 있거나 (좌측) 또는 임상 반응을 보인 (우측), 기준선 말초 혈액 ITGAE 유전자 발현 (저, 중앙 미만 vs. 고, 중앙 또는 중앙 초과)에 의해 계층화되어 있는 개방 표지 확장 연구로부터의 TNF-IR 환자의 백분율. (도 20C) II상 에트롤리주맙 시험에 등록되어 있으며 TNF 길항제 나이브 (항-TNF 나이브) 또는 TNF-IR (항-TNF 실패)로 확인된 환자로부터 수득한 말초 혈액 중 GAPDH 발현에 대한 상대 ITGAE 유전자 발현, 흑색의 채워진 원형: 제10주에서의 비-완화자, 개방 원형: 제10주에서의 완화자, 점선은 중앙값을 나타냄. (도 20D) 위약군 내 TNF 길항제 나이브 환자 (좌측 패널) 및 TNF-IR 환자 (우측 패널)에 있어서 기준선, 제43일 및 제71일에서의 말초 혈액 중 ITGAE 유전자 발현 가변성이 보여진다. 각각의 선은 시험된 각각의 시점에서의 단일 환자를 나타낸다.

도 21은 ECH1의 기준선 말초 혈액 유전자 발현의 중앙 수준보다 더 높은 수준의 발현이 실시예 2에 기재된 바와 같은 에트롤리주맙 치료에 대한 반응성을 풍부화시켰다는 것을 보여준다. (도 21A) 제10주에 완화 상태에 있거나, 제10주에 점막 치유를 보였거나 또는 제10주에 임상 반응을 보인, 기준선 말초 혈액 ECH1 유전자 발현 수준 (저, 중앙 미만 vs. 고, 중앙 또는 중앙 초과)에 의해 계층화되어 있으며 위약 (흑색 막대), 100 mg/용량 에트롤리주맙 (점무너 막대) 또는 300 mg/용량 에트롤리주맙 (줄무너 막대)으로 치료된 TNF 길항제 나이브 환자의 비율 (백분율). (도 21B) 에트롤리주맙을 사용한 계속된 치료 후 4-6주에 임상 완화 상태에 있거나 (좌측) 또는 임상 반응을 보인 (우측), 기준선 ECH1 말초 혈액 유전자 발현 (저, 중앙 미만 vs. 고, 중앙 또는 중앙 초과)에 의해 계층화되어 있는 개방 표지 확장 연구로부터의 TNF-IR 환자의 백분율. (도 21C) II상 에트롤리주맙 시험에 등록되어 있으며 TNF 길항제 나이브 (항-TNF 나이브) 또는 TNF-IR (항-TNF 실패)로 확인된 환자로부터 수득한 기준선 생검 조직 중 GAPDH 발현에 대한 상대 ECH1 유전자 발현, 흑색의 채워진 원형: 제10주에서의 비-완화자, 개방 원형: 제10주에서의 완화자, 점선은 중앙값을 나타냄. (도 21D) 위약군 내 TNF 길항제 나이브 환자 (좌측 패널) 및 TNF-IR 환자 (우측 패널)에 있어서 기준선, 제43일 및 제71일에서의 말초 혈액 중 ECH1 유전자 발현 가변성이 보여진다. 각각의 선은 시험된 각각의 시점에서의 단일 환자를 나타낸다.

도 22는 다음을 보여준다: (도 22A) 실시예 2에 기재된 바와 같이, 제10주에 완화 상태에 있거나, 제10주에 점

막 치유를 보였거나 또는 제10주에 임상 반응을 보인, 기준선 말초 혈액 FOXM1 유전자 발현 수준 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있으며 위약 (흑색 막대), 100 mg/용량 에트롤리주맙 (점무늬 막대) 또는 300 mg/용량 에트롤리주맙 (줄무늬 막대)으로 치료된 TNF 길항제 나이브 환자의 비율 (백분율). (도 22B) 에트롤리주맙을 사용한 계속된 치료 후 4-6주에 임상 완화 상태에 있거나 (좌측) 또는 임상 반응을 보인 (우측), 말초 혈액 중 기준선 FOXM1 유전자 발현 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있는 개방 표지 확장 연구로부터의 TNF-IR 환자의 백분율. (도 22C) II상 에트롤리주맙 시험에 등록되어 있으며 TNF 길항제 나이브 (항-TNF 나이브) 또는 TNF-IR (항-TNF 실패)로 확인된 환자로부터 수득한 기준선 말초 혈액 중 GAPDH 발현에 대한 상대 FOXM1 유전자 발현, 흑색의 채워진 원형: 제10주에서의 비-완화자, 개방 원형: 제10주에서의 완화자, 점선은 중양값을 나타냄. (도 22D) 위약군 내 TNF 길항제 나이브 환자 (좌측 패널) 및 TNF-IR 환자 (우측 패널)에 있어서 기준선, 제43일 및 제71일에서의 말초 혈액 중 FOXM1 유전자 발현 가변성이 보여진다. 각각의 선은 시험된 각각의 시점에서의 단일 환자를 나타낸다.

도 23은 다음을 보여준다: (도 23A) 실시예 2에 기재된 바와 같이, 제10주에 완화 상태에 있거나, 제10주에 점막 치유를 보였거나 또는 제10주에 임상 반응을 보인, 기준선 말초 혈액 GZMA 유전자 발현 수준 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있으며 위약 (흑색 막대), 100 mg/용량 에트롤리주맙 (점무늬 막대) 또는 300 mg/용량 에트롤리주맙 (줄무늬 막대)으로 치료된 TNF 길항제 나이브 환자의 비율 (백분율). (도 23B) 에트롤리주맙을 사용한 계속된 치료 후 4-6주에 임상 완화 상태에 있거나 (좌측) 또는 임상 반응을 보인 (우측), 말초 혈액 중 기준선 GZMA 유전자 발현 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있는 개방 표지 확장 연구로부터의 TNF-IR 환자의 백분율. (도 23C) II상 에트롤리주맙 시험에 등록되어 있으며 TNF 길항제 나이브 (항-TNF 나이브) 또는 TNF-IR (항-TNF 실패)로 확인된 환자로부터 수득한 기준선 말초 혈액 샘플 중 GAPDH 발현에 대한 상대 GZMA 유전자 발현, 흑색의 채워진 원형: 제10주에서의 비-완화자, 개방 원형: 제10주에서의 완화자, 점선은 중양값을 나타냄. (도 23D) 위약군 내 TNF 길항제 나이브 환자 (좌측 패널) 및 TNF-IR 환자 (우측 패널)에 있어서 기준선, 제43일 및 제71일에서의 말초 혈액 중 GZMA 유전자 발현 가변성이 보여진다. 각각의 선은 시험된 각각의 시점에서의 단일 환자를 나타낸다.

도 24는 다음을 보여준다: (도 24A) 실시예 2에 기재된 바와 같이, 제10주에 완화 상태에 있거나, 제10주에 점막 치유를 보였거나 또는 제10주에 임상 반응을 보인, 기준선 말초 혈액 KLRB1 유전자 발현 수준 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있으며 위약 (흑색 막대), 100 mg/용량 에트롤리주맙 (점무늬 막대) 또는 300 mg/용량 에트롤리주맙 (줄무늬 막대)으로 치료된 TNF 길항제 나이브 환자의 비율 (백분율). (도 24B) 에트롤리주맙을 사용한 계속된 치료 후 4-6주에 임상 완화 상태에 있거나 (좌측) 또는 임상 반응을 보인 (우측), 말초 혈액 샘플 중 기준선 KLRB1 유전자 발현 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있는 개방 표지 확장 연구로부터의 TNF-IR 환자의 백분율. (도 24C) II상 에트롤리주맙 시험에 등록되어 있으며 TNF 길항제 나이브 (항-TNF 나이브) 또는 TNF-IR (항-TNF 실패)로 확인된 환자로부터 수득한 기준선 말초 혈액 샘플 중 GAPDH 발현에 대한 상대 KLRB1 유전자 발현, 흑색의 채워진 원형: 제10주에서의 비-완화자, 개방 원형: 제10주에서의 완화자, 점선은 중양값을 나타냄. (도 24D) 위약군 내 TNF 길항제 나이브 환자 (좌측 패널) 및 TNF-IR 환자 (우측 패널)에 있어서 기준선, 제43일 및 제71일에서의 말초 혈액 중 KLRB1 유전자 발현 가변성이 보여진다. 각각의 선은 시험된 각각의 시점에서의 단일 환자를 나타낸다.

도 25는 SLC8A3의 말초 혈액 유전자 발현의 중양 수준보다 더 높은 수준의 발현이 실시예 2에 기재된 바와 같은 에트롤리주맙 치료에 대한 반응성을 풍부화시켰다는 것을 보여준다. (도 25A) 제10주에 완화 상태에 있거나, 제10주에 점막 치유를 보였거나 또는 제10주에 임상 반응을 보인, 말초 혈액 중 기준선 SLC8A3 유전자 발현 수준 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있으며 위약 (흑색 막대), 100 mg/용량 에트롤리주맙 (점무늬 막대) 또는 300 mg/용량 에트롤리주맙 (줄무늬 막대)으로 치료된 TNF 길항제 나이브 환자의 비율 (백분율). (도 25B) 에트롤리주맙을 사용한 계속된 치료 후 4-6주에 임상 완화 상태에 있거나 (좌측) 또는 임상 반응을 보인 (우측), 말초 혈액 중 기준선 SLC8A3 유전자 발현 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있는 개방 표지 확장 연구로부터의 TNF-IR 환자의 백분율. (도 25C) II상 에트롤리주맙 시험에 등록되어 있으며 TNF 길항제 나이브 (항-TNF 나이브) 또는 TNF-IR (항-TNF 실패)로 확인된 환자에서의 GAPDH 발현에 대한 상대 SLC8A3 말초 혈액 유전자 발현, 흑색의 채워진 원형: 제10주에서의 비-완화자, 개방 원형: 제10주에서의 완화자, 점선은 중양값을 나타냄. (도 25D) 위약군 내 TNF 길항제 나이브 환자 (좌측 패널) 및 TNF-IR 환자 (우측 패널)에 있어서 기준선, 제43일 및 제71일에서의 말초 혈액 중 SLC8A3 유전자 발현 가변성이 보여진다. 각각의 선은 시험된 각각의 시점에서의 단일 환자를 나타낸다.

도 26은 TNFSF15의 기준선 말초 혈액 발현의 중양 수준보다 더 낮은 수준의 발현이 실시예 2에 기재된 바와 같

은 에트롤리주맵 치료에 대한 반응성을 풍부화시켰다는 것을 보여준다. (도 26A) 제10주에 완화 상태에 있거나, 제10주에 점막 치유를 보였거나 또는 제10주에 임상 반응을 보인, 말초 혈액 중 기준선 TNFSF15 유전자 발현 수준 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있으며 위약 (흑색 막대), 100 mg/용량 에트롤리주맵 (점무늬 막대) 또는 300 mg/용량 에트롤리주맵 (줄무늬 막대)으로 치료된 TNF 길항제 나이브 환자의 비율 (백분율). (도 26B) 에트롤리주맵을 사용한 계속된 치료 후 4-6주에 임상 완화 상태에 있거나 (좌측) 또는 임상 반응을 보인 (우측), 기준선 말초 혈액 TNFSF15 유전자 발현 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있는 개방 표지 확장 연구로부터의 TNF-IR 환자의 백분율. (도 26C) II상 에트롤리주맵 시험에 등록되어 있으며 TNF 길항제 나이브 (항-TNF 나이브) 또는 TNF-IR (항-TNF 실패)로 확인된 환자에서의 GAPDH 발현에 대한 상대 TNFSF15 말초 혈액 유전자 발현, 흑색의 채워진 원형: 제10주에서의 비-완화자, 개방 원형: 제10주에서의 완화자, 점선은 중양값을 나타냄. (도 26D) 위약군 내 TNF 길항제 나이브 환자 (좌측 패널) 및 TNF-IR 환자 (우측 패널)에 있어서 기준선, 제43일 및 제71일에서의 말초 혈액 중 TNFSF15 유전자 발현 가변성이 보여진다. 각각의 선은 시험된 각각의 시점에서의 단일 환자를 나타낸다.

도 27은 VNN2의 기준선 말초 혈액 유전자 발현의 중양 수준보다 더 낮은 수준의 발현이 실시예 2에 기재된 바와 같은 에트롤리주맵 치료에 대한 반응성을 풍부화시킨다는 것을 보여준다. (도 27A) 제10주에 완화 상태에 있거나, 제10주에 점막 치유를 보였거나 또는 제10주에 임상 반응을 보인, 말초 혈액 중 기준선 VNN2 유전자 발현 수준 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있으며 위약 (흑색 막대), 100 mg/용량 에트롤리주맵 (점무늬 막대) 또는 300 mg/용량 에트롤리주맵 (줄무늬 막대)으로 치료된 TNF 길항제 나이브 환자의 비율 (백분율). (도 27B) 에트롤리주맵을 사용한 계속된 치료 후 4-6주에 임상 완화 상태에 있거나 (좌측) 또는 임상 반응을 보인 (우측), 기준선 말초 혈액 VNN2 유전자 발현 (저, 중양 미만 vs. 고, 중양 또는 중양 초과)에 의해 계층화되어 있는 개방 표지 확장 연구로부터의 TNF-IR 환자의 백분율. (도 27C) II상 에트롤리주맵 시험에 등록되어 있으며 TNF 길항제 나이브 (항-TNF 나이브) 또는 TNF-IR (항-TNF 실패)로 확인된 환자에서의 GAPDH 발현에 대한 상대 말초 혈액 VNN2 유전자 발현, 흑색의 채워진 원형: 제10주에서의 비-완화자, 개방 원형: 제10주에서의 완화자, 점선은 중양값을 나타냄. (도 27D) 위약군 내 TNF 길항제 나이브 환자 (좌측 패널) 및 TNF-IR 환자 (우측 패널)에 있어서 기준선, 제43일 및 제71일에서의 말초 혈액 중 VNN2 유전자 발현 가변성이 보여진다. 각각의 선은 시험된 각각의 시점에서의 단일 환자를 나타낸다.

도 28은 실시예 2에 기재된 바와 같이, 건강한 대조군 (HC) (n=14), 궤양성 결장염 환자 (UC) (n=30) 및 크론병 환자 (CD) (n=60)로 구성된 코호트 1의 비치료 환자 샘플로부터의 생검 샘플 중 유전자 발현 수준을 보여준다. 이러한 관찰 코호트에서, 비염증발생 생검 샘플을 건강한 대조군 및 UC 환자로부터의 구불 결장, 건강한 대조군 및 CD 환자로부터의 상행 또는 하행 결장 및 회장으로 수집하였다. 활성 병변 질환 및 인접한 비염증발생 구역을 갖는 UC 및 CD 환자에서, 염증발생 및 비염증발생 생검 쌍을 취하였다. ITGAE (도 28A), GZMA (도 28B), VNN2 (도 28C), ECH1 (도 28D), KLRB1 (도 28E), SLC8A3 (도 28F), TNFSF15 (도 28G) 및 FOXM1 (도 28H)에 대하여 GAPDH에 대한 상대 유전자 발현이 보여진다. 통계적 차이는 이들 도면 상에 나타나지 않는다.

도 29는 실시예 2에 기재된 바와 같이, 건강한 대조군 (n=10) 및 궤양성 결장염 (UC)에 대해 절제를 겪은 환자 (n=32) 또는 크론병 (CD)에 대해 절제를 겪은 환자 (n=32)로 구성된 코호트 2의 비치료 환자 샘플로부터의 말초 혈액 중 유전자 발현 수준을 보여준다. GAPDH에 대한 상대 유전자 발현을 ITGAE (도 29A), GZMA (도 29B), VNN2 (도 29C), ECH1 (도 29D), KLRB1 (도 29E), SLC8A3 (도 29F), TNFSF15 (도 29G) 및 FOXM1 (도 29H)에 대하여 측정하였다. 만 휘트니(Mann Whitney)를 사용하여, \* =  $p < 0.05$ , \*\* =  $p < 0.01$ , \*\*\*\* =  $p < 0.0001$ .

도 30은 실시예 2에 기재된 바와 같이, 에트롤리주맵 II상 연구에서 바이오마커 계층화에 의한 장음와 상피 내 인테그린 알파E-양성 ( $\alpha E^+$ ) 세포에 대한 에트롤리주맵의 효과를 보여준다. 장음와 상피와 연관된  $\alpha E^+$  세포는 에트롤리주맵 II상 연구에 등록된 환자에서 에트롤리주맵 또는 위약으로 치료하기 전 및 후에 계수하였다. 기준선 결장 생검 qPCR 중양값은 환자를 그랜자임 A<sup>고</sup> (GZMA) 또는  $\alpha E^{\text{고}}$  (각각의 경우에, 고, 중양 또는 중양 초과)로서 또는 그랜자임 A<sup>저</sup> (GZMA) 또는  $\alpha E^{\text{저}}$  (각각의 경우에, 저, 중양 미만)로서 분류하기 위한 컷오프로서 사용되었다. 기준선 결장 생검 그랜자임 A (도 30A) 및  $\alpha E$  (도 30B) 유전자 발현 상태에 의한 장음와 상피 내  $\alpha E^+$  세포의 기준선 분포. 에트롤리주맵 (개방 원형) 또는 위약 (흑색의 채워진 삼각형)을 사용한 치료 전 및 후에 기준선 생검 그랜자임 A (도 30C) 및  $\alpha E$  유전자 (도 30D) 발현 수준에 의한 장음와 상피 내  $\alpha E^+$  세포의 변화. \*\* $p < 0.01$ . Scr=스크리닝.

도 31은 실시예 2에 기재된 바와 같이 UC 환자에서  $\alpha E^+$  T 세포에서의 증가된 그랜자임 A (GZMA) 유전자 발현을 보여준다. (도 31A) T 세포를 코호트 3의 비치료 환자 샘플로부터의 결장 생검으로부터 단리하고, CD4, CD8 및

인테그린  $\alpha E$ 의 표면 발현에 의해 분류 정제하였다. UC 환자로부터의 CD4+  $\alpha E$ + T 세포는 UC 환자로부터의 분류 정제된 CD4+  $\alpha E$ - T 세포 및 비-IBD 대조군 대상체로부터의 CD4+  $\alpha E$ + T 세포와 비교하여 그랜자임 A 유전자 발현을 증가시켰다. (도 31B) 그랜자임 A 및 인테그린  $\alpha E$ 의 유전자 발현은 UC 환자로부터 분류 정제된 CD4+  $\alpha E$ + T 세포에서 유의한 상관관계가 있었지만 그로부터 분류 정제된 CD8+  $\alpha E$ + T 세포에서는 그렇지 않았다. (도 31C) 그랜자임 A 및  $\alpha E$ 의 기준선 결장 조직 유전자 발현은 에트롤리주맙 II상 연구에서 유의한 상관관계가 있었다. 점선은 qPCR 중앙 컷오프를 나타낸다. (도 31D) 그랜자임 A의 유전자 발현은 에트롤리주맙 II상 연구로부터의 기준선 결장 생검에서 상피 및 고유관 내  $\alpha E$ + 세포의 수와 유의한 상관관계가 있었다. (도 31E) 코호트 3의 비치료 환자 샘플에서 UC 환자로부터의 결장 생검 샘플 중 그랜자임 A 및  $\alpha E$ 의 공동-면역형광 염색을 보여주는 대표적인 영상. \*P < 0.05. \*\*\*\*P < 0.0001.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0060] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 전문 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 기술자가 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 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 본원에 사용된 다수의 용어에 대한 일반적 지침을 제공한다.
- [0061] 특정 정의
- [0062] 본 명세서를 해석하려는 목적을 위해, 하기 정의가 적용될 것이고, 적절한 경우에는 언제라도, 단수형으로 사용된 용어는 또한 복수형도 포함할 것이고, 그 반대의 경우도 마찬가지이다. 하기 열거된 임의의 정의가 본원에 참조로 포함된 임의의 문헌과 상충되는 경우에는 하기 열거된 정의가 우선한다.
- [0063] 본 명세서 및 첨부된 청구범위에 사용된 바와 같이, 단수 형태는 문맥에서 달리 명백하게 지시되지 않는 한 복수 지시대상을 포함한다. 따라서, 예를 들어 "단백질"에 대한 언급은 복수의 단백질을 포함하고; "세포"에 대한 언급은 세포의 혼합물을 포함하는 등이다.
- [0064] 명세서 및 첨부된 청구범위에 제공된 범위는 종점 둘 다 및 종점 사이의 모든 지점을 포함한다. 따라서, 예를 들어 2.0 내지 3.0의 범위는 2.0, 3.0, 및 2.0과 3.0 사이의 모든 지점을 포함한다.
- [0065] "치료", "치료하는", 및 그의 문법적 변경은 치료할 개체 또는 세포의 자연적인 경과를 변경하려는 시도에서의 임상 개입을 지칭하고, 예방을 위해 또는 임상 병리상태의 과정 도중에 수행될 수 있다. 바람직한 치료 효과는 질환의 발병 또는 재발의 예방, 증상의 완화, 질환의 임의의 직접적 또는 간접적 병리학적 결과의 경감, 질환 진행 속도의 감소, 질환 상태의 호전 또는 완화, 및 예후의 완화 또는 개선을 포함한다.
- [0066] "치료 요법"은 제2 의약을 부가하거나 부가하지 않으면서, 투여량, 투여 빈도 또는 치료의 지속기간의 조합을 지칭한다.
- [0067] "유익 치료 요법"은 해당 치료를 받고 있는 환자에게 유익한 반응을 제공하게 될 치료 요법을 지칭한다.
- [0068] "치료 변형"은 투여량, 투여 빈도 또는 치료의 지속기간을 변화시키고/거나 제2 의약을 부가하는 것을 포함한, 치료 요법을 변화시키는 것을 지칭한다.
- [0069] "환자 반응" 또는 "환자 반응성"은 (1) 질환 진행의 어느 정도까지의 억제, 예컨대 지연 및 완전한 정지; (2) 질환 에피소드 및/또는 증상의 수의 감소; (3) 병변 크기의 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 그레야만 하는 것은 아닌, 자가면역, 면역 또는 염증성 반응의 감소; (7) 장애와 연관된 1종 이상의 증상의 어느 정도까지의 경감; (8) 치료 후 질환이 없는 표출 기간의 증가; 및/또는 (9) 치료 후 주어진 시점에서의 사망률의 감소를 포함하나 이에 제한되지는 않는, 환자에 대한 이익을 나타내는 임의의 종점을 사용하여 평가될 수 있다. 용어 "반응성"은 완전 반응 (CR) 및 부분 반응 (PR)을 포함한 측정가능한 반응을 지칭한다.
- [0070] "완전 반응" 또는 "CR"은 치료에 반응하여 염증의 모든 신호가 소멸된 것 또는 완화인 것으로 의도된다. 이는 항상 질환이 치유되었음을 의미하지는 않는다.
- [0071] "부분 반응" 또는 "PR"은 치료에 반응하여 염증 중증도의 적어도 50%가 감소된 것을 지칭한다.
- [0072] 인테그린 베타7 길항제를 사용한 치료에 대한 환자의 "유익한 반응" 및 유사한 단어는 항-베타7 인테그린 항체



와 같은 길항제를 사용한 치료로부터 또는 이러한 치료의 결과로서, 위장 염증성 장애에 걸릴 위험이 있거나 이러한 장애를 앓고 있는 환자에게 임상 또는 치료적 이익을 부여하는 것을 지칭한다. 상기 이익은 길항제를 사용한 치료로부터 또는 그의 결과로서의 세포성 또는 생물학적 반응, 완전 반응, 부분 반응, 안정 질환 (진행 또는 재발이 없음), 또는 환자의 후기 재발이 있는 반응을 포함한다.

[0073] 환자의 반응성이 치료 과정 동안 시간에 따라 감소되지 않는 경우에, "이러한 환자는 치료에 대한 반응성을 유지한다".

[0074] 본원에 사용된 "비-반응" 또는 "반응 결핍" 또는 유사한 어구는 인테그린 베타7 길항제를 사용한 치료에 대한 완전 반응, 부분 반응 또는 유의한 반응이 부재함을 의미한다.

[0075] 본원에 사용된 용어 "샘플" 또는 "시험 샘플"은, 예를 들어 물리적, 생화학적, 화학적 및/또는 생리학적 특징에 기초하여 특징화 및/또는 확인될 세포성 및/또는 다른 분자 엔티티를 함유하는 관심 대상체로부터 수득되거나 상기 대상체로부터 유래된 조성물을 지칭한다. 예를 들어, 어구 "질환 샘플" 및 그의 변형은 예상되는 관심 대상체로부터 수득된 임의의 샘플을 지칭하거나, 또는 특징화될 세포성 및/또는 분자 엔티티를 함유하는 것으로 공지되어 있다. 샘플은 관심 대상체의 조직 또는 대상체의 말초 혈액으로부터 수득될 수 있다. 예를 들어, 샘플은 생물학적 기원의 혈액 및 다른 액체 샘플 및 조직 샘플, 예컨대 생검 시편 또는 조직 배양물 또는 그로부터 유래된 세포로부터 수득될 수 있다. 조직 샘플의 공급원은 신선하고/거나 냉동되고/되거나 보존된 기관으로부터의 고체 조직 또는 조직 샘플 또는 생검 또는 흡인물; 혈액 또는 임의의 혈액 구성성분; 체액; 및 대상체의 임신 또는 발생 중 임의의 시점으로부터의 세포 또는 혈장일 수 있다. 용어 "샘플" 또는 "시험 샘플"은 공급 후에 시약으로 처리하거나 가용화하거나, 특정 성분, 예컨대 단백질 또는 폴리뉴클레오타이드를 풍부화시키거나 또는 절편화를 목적으로 반-고체 또는 고체 매트릭스 중에 포매시키는 것과 같은 임의의 방식으로 조작된 생물학적 샘플을 포함한다. 본원의 목적상, 조직 샘플의 "절편"은 조직 샘플의 단일 부분 또는 조각, 예를 들어 조직 샘플로부터 절단한 조직의 박편 또는 세포를 의미한다. 샘플은 전혈, 혈액-유래 세포, 혈청, 혈장, 림프액, 활액, 세포 추출물 및 그의 조합을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0076] 본원에 사용된 "참조 샘플"은 비교 목적으로 사용되는 임의의 샘플, 표준물, 또는 수준을 지칭한다. 한 실시양태에서, 참조 샘플은 동일한 대상체 또는 환자 신체의 건강하고/거나 질환에 걸리지 않은 부분 (예를 들어, 조직 또는 세포)으로부터 수득한다. 또 다른 실시양태에서, 참조 샘플은 동일한 대상체 또는 환자 신체의 비치료 조직 및/또는 세포로부터 수득한다. 또 다른 실시양태에서, 참조 샘플은 대상체 또는 환자가 아닌 개체의 신체의 건강하고/거나 질환에 걸리지 않은 부분 (예를 들어, 조직 또는 세포)으로부터 수득한다. 또 다른 실시양태에서, 참조 샘플은 대상체 또는 환자가 아닌 개체의 신체의 비치료 조직 및/또는 세포 부분으로부터 수득한다.

[0077] "베타7 인테그린 길항제" 또는 "베타7 길항제"는 1종 이상의 생물학적 활성을 억제하거나 또는 베타7 인테그린과 이와 연관된 분자 중 1종 이상과의 결합을 차단하는 임의의 분자를 지칭한다. 본 발명의 길항제를 사용하여 베타7 연관 효과의 1종 이상의 측면, 예를 들어 비제한적으로 알파4 인테그린 서브유닛과의 회합, 알파E 인테그린 서브유닛과의 회합, 알파4베타7 인테그린과 MAdCAM, VCAM-1 또는 피브로넥틴과의 결합, 및 알파E베타7 인테그린과 E-카드헤린과의 결합을 조정할 수 있다. 이들 효과는 베타7 서브유닛 또는 알파4베타7 또는 알파E베타7 이량체성 인테그린에 대한 리간드 결합을 붕괴시키는 것을 포함한, 생물학적으로 관련된 임의의 메카니즘에 의해 조정할 수 있고/있거나 알파 인테그린 서브유닛과 베타 인테그린 서브유닛 사이의 회합을 붕괴시켜 이량체성 인테그린의 형성이 억제되도록 함으로써 조절할 수 있다. 본 발명의 한 실시양태에서, 베타7 길항제는 항-베타7 인테그린 항체 (또는 항-베타7 항체)이다. 한 실시양태에서, 항-베타7 인테그린 항체는 인간화 항-베타7 인테그린 항체, 보다 특히 재조합 인간화 모노클로날 항-베타7 항체, 예를 들어 에트몰리주맙으로도 또한 지칭되는 rhuMAb 베타7이다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-베타7 항체는 베타7 서브유닛과 알파4 인테그린 서브유닛과의 결합, 알파E 인테그린 서브유닛과의 회합, 알파4베타7 인테그린과 MAdCAM, VCAM-1 또는 피브로넥틴과의 결합, 및 알파E베타7 인테그린과 E-카드헤린과의 결합을 억제 또는 차단하는 항-인테그린 베타7 길항성 항체이다.

[0078] "베타7 서브유닛" 또는 " $\beta 7$  서브유닛"은 인간  $\beta 7$  인테그린 서브유닛을 의미한다 (Erle et al., (1991) J. Biol. Chem. 266:11009-11016). 베타7 서브유닛은 알파4 인테그린 서브유닛, 예를 들어 인간  $\alpha 4$  서브유닛과 회합한다 (Kilger and Holzmann (1995) J. Mol. Biol. 73:347-354). 알파4베타7 인테그린은 보고에 따르면 성숙 림프구의 대부분, 뿐만 아니라 흉선세포, 골수 세포 및 비만 세포의 작은 집단 상에서 발현된다 (Kilshaw and Murrant (1991) Eur. J. Immunol. 21:2591-2597; Gurish et al., (1992) 149: 1964-1972; 및 Shaw, S. K. and Brenner, M. B. (1995) Semin. Immunol. 7:335). 베타7 서브유닛은 또한 알파E 서브유닛, 예를 들어 인간

알파E 인테그린 서브유닛과 회합한다 (Cepek, K. L. et al. (1993) J. Immunol. 150:3459). 알파E베타7 인테그린은 장내 상피 림프구 (iIEL) 상에서 발현된다 (상기 문헌 [Cepek, K. L. (1993)]).

- [0079] "알파E 서브유닛" 또는 "알파E 인테그린 서브유닛" 또는 " $\alpha$ E 서브유닛" 또는 " $\alpha$ E 인테그린 서브유닛" 또는 "CD103"은 상피내 림프구 상의 베타7 인테그린과 회합되는 것으로 밝혀진 인테그린 서브유닛을 의미하며, 이러한 알파E베타7 인테그린은 E-카드헤린을 발현하는 장 상피에 대한 iEL의 결합을 매개한다 (Cepek, K. L. et al. (1993) J. Immunol. 150:3459; Shaw, S. K. and Brenner, M. B. (1995) Semin. Immunol. 7:335).
- [0080] "MAdCAM" 또는 "MAdCAM-1"은 본 발명의 문맥에서 상호교환가능하게 사용되고, 이는 짧은 세포질성 꼬리, 막횡단 영역, 및 3개의 이뮤노글로불린-유사 도메인으로 구성된 세포외 서열을 포함하는 단일쇄 폴리펩티드인 단백질 접막 어드레신 세포 부착 분자-1을 지칭한다. 뮤린, 인간 및 마카크 MAdCAM-1에 대한 cDNA를 클로닝하였다 (Briskin, et al., (1993) Nature, 363:461-464; Shyjan et al., (1996) J. Immunol. 156:2851-2857).
- [0081] "VCAM-1" 또는 "혈관 세포 부착 분자-1" 또는 "CD106"은 활성화 내피 상에서 발현되고 내피-백혈구 상호작용, 예컨대 염증 동안 백혈구의 결합 및 이행에 있어서 중요한 알파4베타7 및 알파4베타1의 리간드를 지칭한다.
- [0082] "CD45"는 단백질 티로신 포스파타제 (PTP) 패밀리의 단백질을 지칭한다. PTP는 세포 성장, 분화, 유사분열 주기 및 종양원성 형질전환을 포함한 다양한 세포 과정을 조절하는 신호전달 분자인 것으로 공지되어 있다. 이러한 PTP는 세포의 도메인, 단일 막횡단 절편 및 2개의 직렬 세포질내 측쇄 도메인을 함유하므로, 수용체 유형 PTP에 속한다. 이러한 유전자는 조혈 세포에서 특이적으로 발현된다. 이러한 PTP는 T- 및 B-세포 항원 수용체 신호전달의 본질적 조절인자인 것으로 밝혀졌다. 이는 항원 수용체 복합체의 성분과의 직접적인 상호작용을 통해 기능하거나, 또는 항원 수용체 신호전달을 위해 요구되는 다양한 Src 패밀리 키나제를 활성화시킴으로써 기능한다. 이러한 PTP는 또한 JAK 키나제를 억제하므로, 시토킨 수용체 신호전달의 조절인자로서 기능한다. 별개의 이소형을 코딩하는 이러한 유전자의 4종의 대안적으로 스플라이싱된 전사체 변이체가 보고되었다 (Tchilian EZ, Beverley PC (2002). "CD45 in memory and disease." Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.) 50 (2): 85-93. Ishikawa H, Tsuyama N, Abroun S, et al. (2004). "Interleukin-6, CD45 and the src-kinases in myeloma cell proliferation." Leuk. Lymphoma 44 (9):1477-81).
- [0083] 다양한 이소형의 CD45가 존재한다: CD45RA, CD45RB, CD45RC, CD45RAB, CD45RAC, CD45RBC, CD45RO, CD45R (ABC). CD45는 또한 고도로 글리코실화된다. CD45R은 가장 긴 단백질이고, T 세포로부터 단리된 경우에 200 kDa로 이동한다. B 세포는 또한, 분자량이 220 kDa이 되게 하는 보다 무거운 글리코실화를 가져 명칭이 B220 (220 kDa의 B 세포 이소형)인 CD45R을 발현한다. B220 발현은 B 세포에 한정되지 않으며, 또한 활성화된 T 세포 상에서, 수지상 세포 및 다른 항원 제시 세포의 하위세트 상에서 발현될 수 있다. 문헌 [Stanton T, Boxall S, Bennett A, et al. (2004). "CD45 variant alleles: possibly increased frequency of a novel exon 4 CD45 polymorphism in HIV seropositive Ugandans." Immunogenetics 56 (2): 107-10].
- [0084] "장-귀소 림프구"는 장 림프절 및 조직으로는 선택적으로 귀소하지만, 말초 림프절 및 조직으로는 귀소하지 않는 특징을 지닌 림프구 하위군을 지칭한다. 이러한 림프구 하위군은 CD4, CD45RA 및 베타7의 조합을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다수 세포 표면 분자 조합의 고유한 발현 패턴을 특징으로 한다. 전형적으로, 말초 혈액 CD4<sup>+</sup> 림프구의 적어도 2종의 하위세트는 CD45RA 및 베타7의 마커를 기초로 하여 CD45RA<sup>+</sup>β7<sup>hi</sup> 및 CD45RA<sup>+</sup>β7<sup>lo</sup> CD4<sup>+</sup> 세포로 세분될 수 있다. CD45RA<sup>+</sup>β7<sup>lo</sup> CD4<sup>+</sup> 세포는 우선적으로 장 림프절 및 조직으로 귀소하고, 반면에 CD45RA<sup>+</sup>β7<sup>hi</sup> CD4<sup>+</sup> 세포는 우선적으로 말초 림프절 및 조직으로 귀소한다 (Rott et al. 1996; Rott et al. 1997; Williams et al. 1998; Rose et al. 1998; Williams and Butcher 1997; Butcher et al. 1999). 따라서, 장-귀소 림프구는 유동 세포측정법 검정에서 CD45RA<sup>+</sup>β7<sup>lo</sup> CD4<sup>+</sup>로서 확인된 특징적 림프구 하위군이다. 이러한 림프구 군을 확인하는 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다.
- [0085] 세포 표면 마커와 관련하여 본원에 사용된 바와 같은 부호 "+"는 세포 표면 마커의 양성 발현을 표시한다. 예를 들어, CD4<sup>+</sup> 림프구는 그의 세포 표면 상에 발현된 CD4를 갖는 림프구 군이다.
- [0086] 세포 표면 마커와 관련하여 본원에 사용된 바와 같은 부호 "-"는 세포 표면 마커의 음성 발현을 표시한다. 예를 들어, CD45RA<sup>+</sup> 림프구는 그의 세포 표면 상에 발현된 CD45RA를 갖지 않는 림프구 군이다.
- [0087] 바이오마커의 "양" 또는 "수준"은 관련 기술분야에 공지되고 본원에 개시된 방법, 예컨대 유동 세포측정법 분석 또는 qPCR을 사용하여 결정될 수 있다.

- [0088] "바이오마커의 양 또는 수준의 변화"는 바이오마커의 참조/비교자 양과 비교한 것이다. 특정 실시양태에서, 변화는 참조 또는 비교자 양에 대한 값의 함수로서 약 10% 초과, 또는 약 30% 초과, 또는 약 50% 초과, 또는 약 100% 초과, 또는 약 300% 초과이다. 예를 들어, 참조 또는 비교자 양은 치료 전의 바이오마커의 양일 수 있고, 보다 특히 기준선 또는 투여전 양일 수 있다.
- [0089] 본원에 사용된 어구 "와 본질적으로 동일한"은 관련 기술분야의 통상의 기술자가 변화를 상기 값 (예를 들어, 약물 표적 수용체를 포화시키는데 필요한 약물 혈청 수준)에 의해 측정된 생물학적 특징의 맥락 내에서 통계적으로 유의하거나 생물학적으로 의미있는 변화로 간주하지 않도록 하는 유의하지 않은 정도의 변화를 나타낸다. 예를 들어, 서로 약 2배 미만 상이하거나, 또는 약 3배 미만 상이하거나, 또는 약 4배 미만 상이한 수용체 포화에 필요한 혈청 약물 농도는 본질적으로 동일한 것으로 간주된다.
- [0090] "위장 염증성 장애"는 점막에서 염증 및/또는 궤양화를 야기하는 만성 장애 군이다. 이들 장애는, 예를 들어 염증성 장 질환 (예를 들어, 크론병, 궤양성 결장염, 불확정 결장염 및 감염성 결장염), 점막염 (예를 들어, 구강 점막염, 위장 점막염, 비장 점막염 및 직장염), 괴사성 소장결장염 및 식도염을 포함한다.
- [0091] "염증성 장 질환" 또는 "IBD"는 염증 및/또는 궤양화를 야기하는 장의 질환을 지칭하기 위해 본원에서 상호교환 가능하게 사용되고, 이는 비제한적으로 크론병 및 궤양성 결장염을 포함한다.
- [0092] "크론병 (CD)" 및 "궤양성 결장염 (UC)"은 병인이 공지되지 않은 만성 염증성 장 질환이다. 크론병은 궤양성 결장염과는 달리, 장의 어떠한 부분에도 영향을 미칠 수 있다. 크론병의 가장 두드러진 양상은 장 벽에 과립형의 적색을 띤 자주색 부종이 비대해지는 것이다. 염증이 발생함에 따라, 이들 육아종은 종종 자신의 국한성 경계를 상실하고 주위 조직과 통합된다. 설사 및 장 폐쇄가 우세한 임상 양상이다. 궤양성 결장염과 같이, 크론병의 과정은 연속성 또는 재발성, 정도 또는 중증일 수 있지만, 궤양성 결장염과 달리, 크론병은 관련 장 절편을 절제함으로써 치유될 수 없다. 크론병을 갖는 대부분의 환자는 일부 시점에서는 수술이 필요하지만, 후속 재발이 흔하기 때문에 연속적인 의학적 치료가 통상적이다.
- [0093] 크론병은 구강에서부터 항문까지의 소화관 중 임의의 부분에 관여할 수 있지만, 전형적으로는 회결장, 소장 또는 결장-항문직장 영역에서 나타난다. 조직병리학적으로, 상기 질환은 불연속적인 육아종증, 음와 농양, 열구 및 아프타성 궤양 징후가 나타난다. 염증성 침윤물은 림프구 (T 세포 및 B 세포 둘 다), 형질 세포, 대식세포 및 호중구로 이루어진 혼합 형태이다. IgM- 및 IgG-분비성 형질 세포, 대식세포 및 호중구에서의 불균형적 증가가 있다.
- [0094] 항염증 약물 술폰살라진 및 5-아미노살리실산 (5-ASA)은 경도의 활성 결장성 크론병을 치료하는데 유용하고, 상기 질환의 완화를 유지시키기 위한 시도로 통상적으로 처방되고 있다. 메트로니다졸 및 시프로플록사신은 술폰살라진과 효능 면에서 유사하고, 특히 항문주위 질환을 치료하기 위해 처방된다. 보다 중증의 경우에는, 코르티코스테로이드가 활성 약화를 치료하기 위해 처방되고, 이는 때때로 완화를 유지시킬 수 있다. 아자티오프린 및 6-메르캅토피린은 또한, 코르티코스테로이드의 만성 투여가 요구되는 환자에서 사용되었다. 또한, 이들 약물은 장기간 예방에 있어서 일정 역할을 할 수 있는 것으로 시사되었다. 불행하게도, 일부 환자에서는 작용이 발생하기 전에 매우 장기간 (6개월까지) 지연될 수 있다. 항설사 약물은 또한, 일부 환자에서 증상 완화를 제공할 수 있다. 영양 요법 또는 기본식은 환자의 영양 상태를 개선할 수 있고, 급성 질환의 증상 개선을 유도하지만, 지속적인 임상 완화는 유도하지 않는다. 항생제는 2차 소장 박테리아 과도성장을 치료하고 화농성 합병증을 치료하는데 사용된다.
- [0095] "궤양성 결장염 (UC)"은 대장을 침범한다. 질환 과정은 연속성 또는 재발성, 정도 또는 중증일 수 있다. 가장 초기 병변은 리버쿰 음와의 기저부에 농양이 형성되는 염증성 침윤이다. 이들 팽창되고 과열된 음와의 유착은 위에 가로놓인 점막을 그의 혈액 공급으로부터 분리시켜 궤양화를 유발하는 경향이 있다. 상기 질환의 증상은 경련, 하복부통, 직장 출혈, 및 희박한 대변 입자와 함께 혈액, 고름 및 점액으로 주로 이루어진 빈번하고 무른 배설물을 포함한다. 급성, 중증 또 만성, 끊임없는 궤양성 결장염에는 전체 결장절제술이 요구될 수 있다.
- [0096] UC의 임상 양상은 고도로 가변적이고, 그 발병은 잠행성이거나 돌연성일 수 있으며, 설사, 이급후증 및 재발성 직장 출혈을 포함할 수 있다. 전체 결장의 전격성 관여에 따라, 생명을 위협하는 응급 상황인 독성 거대결장증이 일어날 수 있다. 장의 징후는 관절염, 괴저성 농피증, 포도막염 및 결절성 홍반을 포함한다.
- [0097] UC를 위한 치료는 경도 사례인 경우에 술폰살라진 및 관련 살리실레이트-함유 약물을 포함하고, 중증 사례인 경우에 코르티코스테로이드 약물을 포함한다. 살리실레이트 또는 코르티코스테로이드를 국소 투여하는 것이 종종 유효한데, 특히 상기 질환이 말단부 장애 제한되고 전신 용도와 비교하여 부작용을 감소시키는 것과 연관되는

경우에 유효하다. 철 및 항설사제를 투여하는 것과 같은 지지 조치가 때때로 지시된다. 아자티오프린, 6-메르 캅토피린 및 메토타렉세이트가 때때로 또한, 난치성 코르티코스테로이드-의존성 사례에 사용하도록 처방된다.

[0098] "유효 투여량"은 목적하는 치료 또는 예방 결과 달성에 필요한 투여량에서 이러한 기간 동안 유효한 양을 지칭한다.

[0099] 본원에 사용된 용어 "환자"는 치료가 요망되는 임의의 단일 대상체를 지칭한다. 특정 실시양태에서, 본원에서 환자는 인간이다.

[0100] 본원에서 "대상체"는 전형적으로 인간이다. 특정 실시양태에서, 대상체는 비-인간 포유동물이다. 예시적인 비-인간 포유동물은 실험실 동물, 가축, 애완동물, 스포츠 동물 및 농장 동물, 예를 들어 마우스, 고양이, 개, 말 및 소를 포함한다. 전형적으로, 대상체는 치료, 예를 들어 위장 염증성 장애의 치료에 적격이다.

[0101] 용어 "항체" 및 "이뮤노글로불린"은 가장 넓은 의미에서 상호교환가능하게 사용되고, 이는 모노클로날 항체 (예를 들어, 전장 또는 무손상 모노클로날 항체), 폴리클로날 항체, 다가 항체, 다중특이적 항체 (예를 들어, 목적하는 생물학적 활성을 나타내는 한, 이중특이적 항체)를 포함하고, 이는 또한 특정의 항체 단편 (본원에 보다 상세하게 기재된 바와 같음)을 포함할 수 있다. 항체는 인간, 인간화 및/또는 친화도 성숙 항체일 수 있다.

[0102] "항체 단편"은 무손상 항체의 단지 일부분만을 포함하는데, 그 부분은 바람직하게는, 무손상 항체 내에 존재하는 경우에 그 부분과 통상적으로 연관된 기능들 중 적어도 1종의 기능, 전형적으로 대부분 또는 모든 기능을 보유하고 있다. 한 실시양태에서, 항체 단편은 무손상 항체의 항원 결합 부위를 포함하므로 항원에 결합하는 능력을 보유한다. 또 다른 실시양태에서, 항체 단편, 예를 들어 Fc 영역을 포함하는 항체 단편은, 무손상 항체 내에 존재하는 경우에 Fc 영역과 통상적으로 연관된 생물학적 기능들, 예를 들어 FcRn 결합, 항체 반감기 조정, ADCC 기능 및 보체 결합 중 적어도 1종의 기능을 보유하고 있다. 한 실시양태에서, 항체 단편은 무손상 항체와 실질적으로 유사한 생체내 반감기를 갖는 1가 항체이다. 예를 들어, 이러한 항체 단편은 단편에 생체내 안정성을 부여할 수 있는 Fc 서열에 연결된 항원 결합 아암을 포함할 수 있다.

[0103] 본원에 사용된 용어 "모노클로날 항체"는 실질적으로 동질적인 항체 집단으로부터 수득된 항체를 지칭하고, 즉, 이러한 집단을 포함하는 개별 항체는 미량으로 존재할 수 있는 가능한 자연 발생 돌연변이를 제외하고는 동일하다. 모노클로날 항체는 고도로 특이적이고, 단일 항원에 대해 지시된다. 추가로, 전형적으로 상이한 결정기 (에피토프)에 대해 지시된 상이한 항체를 포함하는 폴리클로날 항체 제제와는 달리, 각각의 모노클로날 항체는 항원 상의 단일 결정기에 대해 지시된다.

[0104] 본원에서 모노클로날 항체는 구체적으로 중쇄 및/또는 경쇄의 일부분이 특정한 종으로부터 유래되거나 특정한 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 상동이고,쇄(들)의 나머지 부분은 또 다른 종으로부터 유래되거나 또 다른 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 상동인 "키메라" 항체, 뿐만 아니라 목적하는 생물학적 활성을 나타내는 한 이러한 항체의 단편을 포함한다 (미국 특허 번호 4,816,567; 및 문헌 [Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)]).

[0105] 비-인간 (예를 들어, 무린) 항체의 "인간화" 형태는 비-인간 이뮤노글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 항체이다. 대부분의 부분에 대해, 인간화 항체는 인간 이뮤노글로불린 (수용자 항체)이며, 여기서 수용자의 초가변 영역으로부터의 잔기는 목적하는 특이성, 친화도 및 능력을 갖는 마우스, 래트, 토끼 또는 비인간 영장류와 같은 비-인간 종 (공여자 항체)의 초가변 영역으로부터의 잔기로 대체된다. 일부 경우에, 인간 이뮤노글로불린의 프레임워크 영역 (FR) 잔기는 상응하는 비-인간 잔기로 대체된다. 추가로, 인간화 항체는 수용자 항체 또는 공여자 항체에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이들 변형은 항체 성능을 추가로 정밀화하기 위해 이루어진다. 일반적으로, 인간화 항체는 적어도 1개, 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이며, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 초가변 루프는 비-인간 이뮤노글로불린의 것에 상응하고 모든 또는 실질적으로 모든 FR은 인간 이뮤노글로불린 서열의 것이다. 또한, 인간화 항체는 임의로 이뮤노글로불린 불변 영역 (Fc) 중 적어도 일부분, 전형적으로 인간 이뮤노글로불린의 적어도 일부분을 포함할 것이다. 추가의 상세내용에 대해서는, 문헌 [Jones et al., Nature 321:522-525 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); 및 Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992)]을 참조한다. 또한 하기 종설 논문 및 그에 인용된 참고문헌을 참조한다: [Vaswani and Hamilton, Ann. Allergy, Asthma & Immunol. 1:105-115 (1998); Harris, Biochem. Soc. Transactions 23:1035-1038 (1995); Hurle and Gross, Curr. Op. Biotech. 5:428-433 (1994)].

[0106] "인간 항체"는 인간에 의해 생산되고/거나 본원에 개시된 바와 같은 임의의 인간 항체 제조 기술을 사용하여 제



조된 항체에 상응하는 아미노산 서열을 포함하는 항체이다. 이러한 기술은 인간-유래 조합 라이브러리, 예컨대 파지 디스플레이 라이브러리를 스크리닝하는 기술 (예를 들어, 문헌 [Marks et al., J. Mol. Biol., 222: 581-597 (1991) 및 Hoogenboom et al., Nucl. Acids Res., 19: 4133-4137 (1991)] 참조); 인간 모노클로날 항체를 생산하기 위해 인간 골수종 및 마우스-인간 이종-골수종 세포주를 사용하는 기술 (예를 들어, 문헌 [Kozbor J. Immunol., 133: 3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 55-93 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 및 Boerner et al., J. Immunol., 147: 86 (1991)] 참조); 및 내인성 이뮤노글로불린 생산의 부재 하에 인간 항체의 완전한 레퍼토리를 생산할 수 있는 트랜스제닉 동물 (예를 들어, 마우스)에서 모노클로날 항체를 생성하는 기술 (예를 들어, 문헌 [Jakobovits et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 2551 (1993); Jakobovits et al., Nature, 362: 255 (1993); Bruggermann et al., Year in Immunol., 7: 33 (1993)] 참조)을 포함한다. 인간 항체의 이러한 정의는 비-인간 동물로부터의 항원-결합 잔기를 포함하는 인간화 항체는 명백하게 제외한다.

[0107] "단리된" 항체는 그의 자연 환경의 성분으로부터 확인되고 분리 및/또는 회수된 것이다. 항체의 자연 환경의 오염 성분은 상기 항체의 진단 또는 치료 용도를 방해하는 물질이고, 효소, 호르몬 및 다른 단백질성 또는 비단백질성 용질을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 항체는 (1) 로우리(Lowry) 방법으로 측정시에 폴리펩티드를 95 중량% 초과로, 및 종종 99 중량% 초과로, (2) 스피닝 컵 서열분석기를 사용함으로써 N-말단 또는 내부 아미노산 서열의 잔기를 적어도 15개 수득하는데 충분한 정도로, 또는 (3) 쿠마시 블루 또는 은 염색을 사용한 환원 또는 비-환원 조건 하에서의 SDS-PAGE에 의해 균일한 것으로 나타날 때까지 정제될 것이다. 단리된 항체는 재조합 세포 내의 계내 항체를 포함하는데, 이는 항체 자연 환경의 적어도 1종의 성분이 존재하지 않을 것이기 때문이다. 그러나, 통상적으로, 단리된 항체는 적어도 1회의 정제 단계에 의해 제조될 것이다.

[0108] 본원에 사용된 용어 "초가변 영역", "HVR" 또는 "HV"는 서열 내에서 초가변적이고/거나 구조적으로 한정된 루프를 형성하는 항체 가변 도메인의 영역을 지칭한다. 일반적으로, 항체는 6개의 초가변 영역을 포함하며; VH에 3개가 있고 (H1, H2, H3), VL에 3개가 있다 (L1, L2, L3). 다수의 초가변 영역 묘사가 사용되고 있으며 본원에 포괄된다. 카바트(Kabat) 상보성 결정 영역 (CDR)은 서열 가변성을 기초로 하며, 가장 통상적으로 사용된다 (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)). 코티아(Chothia)는 그 대신 구조적 루프의 위치를 지칭한다 (Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)). AbM 초가변 영역은 카바트 CDR과 코티아 구조적 루프 사이의 절충을 나타내고, 이는 옥스포드 몰레큘라(Oxford Molecular)의 AbM 항체 모델링 소프트웨어에 의해 사용되고 있다. "접촉" 초가변 영역은 이용가능한 복합체 결정 구조의 분석을 기초로 한 것이다. 각각의 이들 HVR로부터의 잔기가 하기 기재된다.

루프	카바트	AbM	코티아	접촉
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B (카바트 넘버링)
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35 (코티아 넘버링)
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

[0109]

[0110] 초가변 영역은 하기와 같은 "확장된 초가변 영역"을 포함할 수 있다: VL 내의 24-36 또는 24-34 (L1), 46-56 또는 49-56 또는 50-56 또는 52-56 (L2) 및 89-97 (L3), 및 VH 내의 26-35 (H1), 50-65 또는 49-65 (H2) 및 93-102, 94-102 또는 95-102 (H3). 가변 도메인 잔기는 각각의 상기 정의에 대해 상기 문헌 [Kabat et al.]에 따라 넘버링된다.

[0111] "프레임워크" 또는 "FR" 잔기는 본원에 정의된 바와 같은 초가변 영역 잔기 이외의 가변 도메인 잔기이다.

[0112] "인간 컨센서스 프레임워크"는 인간 이뮤노글로불린 VL 또는 VH 프레임워크 서열의 선택시 가장 흔히 발생하는 아미노산 잔기를 나타내는 프레임워크이다. 일반적으로, 인간 이뮤노글로불린 VL 또는 VH 서열의 선택은 가변 도메인 서열의 하위군으로부터 행한다. 일반적으로, 서열의 하위군은 문헌 [Kabat et al.]에서와 같은 하위군이다. 한 실시양태에서, VL의 경우 하위군은 문헌 [Kabat et al.]에서와 같은 하위군 카파 I이다. 한 실시양



태에서, VH의 경우 하위군은 문헌 [Kabat et al.]에서와 같은 하위군 III이다.

- [0113] "친화도 성숙" 항체는 변경(들)을 나타내지 않는 모 항체와 비교하여 항원에 대한 항체의 친화도를 개선하는, 그의 1개 이상의 CDR 내에서의 1개 이상의 변경(들)을 수반한 항체이다. 특정 실시양태에서, 친화도 성숙 항체는 표적 항원에 대해 나노몰 또는 심지어 피코몰의 친화도를 갖는다. 친화도 성숙 항체는 관련 기술분야에 공지된 절차에 의해 생산된다. 문헌 [Marks et al., Bio/Technology 10:779-783 (1992)]은 VH 및 VL 도메인 서플딩에 의한 친화도 성숙을 기재하고 있다. CDR 및/또는 프레임워크 잔기의 무작위 돌연변이유발은 문헌 [Barbas et al. Proc Nat. Acad. Sci, USA 91:3809-3813 (1994); Schier et al. Gene 169:147-155 (1996); Yelton et al. J. Immunol. 155:1994-2004 (1995); Jackson et al., J. Immunol. 154(7):3310-9 (1995); 및 Hawkins et al. J. Mol. Biol. 226:889-896 (1992)]에 기재되어 있다.
- [0114] 본원에 사용된 어구 "실질적으로 유사한" 또는 "실질적으로 동일한"은 관련 기술분야의 통상의 기술자가 두 수치 사이의 차이 상기 값에 의해 측정된 생물학적 특징의 맥락 내에서 생물학적 및/또는 통계적 유의성이 거의 또는 전혀 없다고 간주할 수 있을 정도로 두 수치 (일반적으로, 하나는 본 발명의 항체와 연관된 것이고, 다른 하나는 기준/비교 항체와 연관된 것임) 사이의 충분한 고도의 유사성을 의미한다.
- [0115] "결합 친화도"는 일반적으로, 분자 (예를 들어, 항체)의 단일 결합 부위와 그의 결합 파트너 (예를 들어, 항원) 사이의 비공유 상호작용의 총 합계의 강도를 지칭한다. 달리 나타내지 않는 한, 본원에 사용된 "결합 친화도"는 결합 쌍의 구성원들 (예를 들어, 항체 및 항원) 사이의 1:1 상호작용을 반영하는 내인성 결합 친화도를 지칭한다. 분자 X의 그의 파트너 Y에 대한 친화도는 일반적으로 해리 상수 (Kd)로 나타내어질 수 있다. 친화도는 본원에 기재된 것을 포함한, 관련 기술분야에 공지된 통상의 방법에 의해 측정될 수 있다. 저-친화도 항체는 일반적으로 항원에 서서히 결합하고 용이하게 해리되는 경향이 있는 반면, 고-친화도 항체는 일반적으로 항원에 보다 신속하게 결합하고 보다 오랫동안 결합된 상태를 유지하는 경향이 있다. 결합 친화도를 측정하는 다양한 방법이 관련 기술분야에 공지되어 있고, 이들 중 임의의 방법이 본 발명의 목적을 위해 사용될 수 있다.
- [0116] 항체 또는 이뮤노글로불린과 관련하여 용어 "가변"은 가변 도메인의 특정 부분이 항체마다 서열에서 광범위하게 상이하며, 각각의 특정한 항체의 그의 특정한 항원에 대한 결합 및 특이성에 사용된다는 사실을 지칭한다. 그러나, 가변성이 항체의 가변 도메인 전반에 걸쳐 고르게 분포되어 있는 것은 아니다. 이는 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 둘 다에서 초가변 영역으로 불리는 3개의 절편에 집중되어 있다. 가변 도메인의 보다 고도로 보존된 부분은 프레임워크 영역 (FR)으로 불린다. 천연 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인은 3개의 초가변 영역에 의해 연결되고 주로  $\beta$ -시트 형상을 채택하는 4개의 FR을 각각 포함하며, 상기 초가변 영역은 상기  $\beta$ -시트 구조를 연결하고 일부 경우에는 그의 일부를 형성하는 루프를 형성한다. 각각의 쇄 내의 초가변 영역은 FR에 의해 함께 근접하게 유지되고, 다른 쇄의 초가변 영역과 함께 항체의 항원-결합 부위의 형성에 기여한다 (문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)] 참조). 불변 도메인은 항원에 대한 항체 결합에 직접 관여하지는 않지만, 다양한 이펙터 기능, 예컨대 항체 의존성 세포 세포독성 (ADCC)에 있어서의 항체의 참여를 나타낸다.
- [0117] 항체를 파파인으로 소화시키면, "Fab" 단편으로 불리는, 각각 단일 항원-결합 부위를 갖는 2개의 동일한 항원-결합 단편 및 나머지 "Fc" 단편이 생성되며, 이러한 명칭은 그의 용이하게 결정화되는 능력을 반영한 것이다. 펩신 처리는 2개의 항원-결합 부위를 갖고 여전히 항원을 가교시킬 수 있는  $F(ab')_2$  단편을 생성한다.
- [0118] "Fv"는 완전한 항원-인식 및 항원-결합 부위를 함유하는 최소 항체 단편이다. 이러한 영역은 긴밀, 비-공유 회합된 1개의 중쇄 및 1개의 경쇄 가변 도메인의 이량체로 이루어진다. 이러한 형상에서 각각의 가변 도메인의 3개의 초가변 영역은 상호작용하여  $V_H$ - $V_L$  이량체 표면 상에서 항원-결합 부위를 한정한다. 총괄적으로, 6개의 초가변 영역은 항체에 항원-결합 특이성을 부여한다. 그러나, 심지어 단일 가변 도메인 (또는 항원에 특이적인 초가변 영역 3개만을 포함하는 Fv의 절반)은 전체 결합 부위보다 낮은 친화도로 항원을 인식하고 결합하는 능력을 갖는다.
- [0119] Fab 단편은 또한 경쇄의 불변 도메인 및 중쇄의 제1 불변 도메인 (CH1)을 함유한다. Fab' 단편은 항체 힌지 영역으로부터 1개 이상의 시스테인을 포함하는 중쇄 CH1 도메인의 카르복시 말단에서 말단에 수개의 잔기가 부가되었다는 점에서 Fab 단편과 상이하다. 본원에서, Fab'-SH는 불변 도메인의 시스테인 잔기(들)가 적어도 1개의 유리 티올 기를 보유하는 Fab'의 명칭이다.  $F(ab')_2$  항체 단편은 본래 그들 사이에 힌지 시스테인을 갖는 Fab' 단편의 쌍으로서 생산되었다. 항체 단편의 다른 화학적 커플링이 또한 공지되어 있다.
- [0120] 임의의 척추동물 중으로부터의 항체의 "경쇄"는 그의 불변 도메인의 아미노산 서열을 기준으로 카파 ( $\kappa$ ) 및 람

다 ( $\lambda$ )로 불리는 2개의 명백하게 구분되는 유형 중 하나로 할당될 수 있다.

- [0121] 중쇄 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라, 항체 (이뮤노글로불린)는 상이한 부류로 할당될 수 있다. 5종의 주요 부류의 이뮤노글로불린: IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM이 존재하고, 이들 중 몇몇은 하위부류 (이소형), 예를 들어 IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>, IgA<sub>1</sub> 및 IgA<sub>2</sub>로 추가로 분류될 수 있다. 상이한 부류의 이뮤노글로불린에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\gamma$  및  $\mu$ 로 불린다. 상이한 부류의 이뮤노글로불린의 서브유닛 구조 및 3차원 형상은 널리 공지되어 있고, 예를 들어 문헌 [Abbas et al. Cellular and Mol. Immunology, 4th ed. (W. B. Saunders, Co., 2000)]에 일반적으로 기재되어 있다. 항체는 항체와 1종 이상의 다른 단백질 또는 펩티드의 공유 또는 비-공유 회합에 의해 형성되는, 보다 큰 융합 분자의 일부일 수 있다.
- [0122] 용어 "전장 항체", "무손상 항체" 및 "전체 항체"는, 하기 정의된 바와 같은 항체 단편이 아닌, 실질적으로 무손상 형태인 항체를 지칭하기 위해 본원에서 상호교환가능하게 사용된다. 상기 용어는 특히 Fc 영역을 함유하는 중쇄를 갖는 항체를 지칭한다.
- [0123] 본원의 목적상 "네이키드 항체"는 세포독성 모이어티 또는 방사성표지에 접합되지 않은 항체이다.
- [0124] 용어 "Fc 영역"은 본원에서 천연 서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함하는, 이뮤노글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의하는데 사용된다. 이뮤노글로불린 중쇄의 Fc 영역의 경계는 달라질 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 일반적으로 위치 Cys226에서의 아미노산 잔기로부터, 또는 Pro230으로부터 그의 카르복실-말단까지의 범위로 정의된다. Fc 영역의 C-말단 리신 (EU 넘버링 시스템에 따른 잔기 447)은, 예를 들어 항체의 생산 또는 정제 동안 또는 항체의 중쇄를 코딩하는 핵산의 재조합적 조작에 의해 제거될 수 있다. 따라서, 무손상 항체의 조성물은 모든 K447 잔기가 제거된 항체 집단, K447 잔기가 제거되지 않은 항체 집단, 및 K447 잔기가 존재하는 항체와 존재하지 않는 항체의 혼합물을 갖는 항체 집단을 포함할 수 있다.
- [0125] 달리 나타내지 않는 한, 본원에서 이뮤노글로불린 중쇄 내의 잔기에 관한 넘버링은 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)] (명백히 본원에 참조로 포함됨)에서와 같은 EU 인덱스의 것이다. "카바트에서와 같은 EU 인덱스"는 인간 IgG1 EU 항체의 잔기 넘버링을 지칭한다.
- [0126] "기능적 Fc 영역"은 천연 서열 Fc 영역의 "이펙터 기능"을 갖는다. 예시적인 "이펙터 기능"은 C1q 결합; 보체 의존적 세포독성; Fc 수용체 결합; 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC); 식세포작용; 세포 표면 수용체 (예를 들어, B 세포 수용체; BCR)의 하향 조절 등을 포함한다. 이러한 이펙터 기능을 위해서는 일반적으로, Fc 영역이 결합 도메인 (예를 들어, 항체 가변 도메인)과 합해져야만 하고, 이는 예를 들어 본원에 개시된 바와 같은 다양한 검정을 사용하여 평가될 수 있다.
- [0127] "천연 서열 Fc 영역"은 자연에서 발견되는 Fc 영역의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 천연 서열 인간 Fc 영역은 천연 서열 인간 IgG1 Fc 영역 (비-A 및 A 동종이형); 천연 서열 인간 IgG2 Fc 영역; 천연 서열 인간 IgG3 Fc 영역; 및 천연 서열 인간 IgG4 Fc 영역, 뿐만 아니라 그의 자연 발생 변이체를 포함한다.
- [0128] "변이체 Fc 영역"은 적어도 1개의 아미노산 변형을 통해 천연 서열 Fc 영역과는 상이한 아미노산 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 변이체 Fc 영역은, 천연 서열 Fc 영역 또는 모 폴리펩티드의 Fc 영역과 비교하여 적어도 1개의 아미노산 치환, 예를 들어 천연 서열 Fc 영역 또는 모 폴리펩티드의 Fc 영역 내에 약 1 내지 약 10개의 아미노산 치환, 및 특정 실시양태에서 약 1 내지 약 5개의 아미노산 치환을 갖는다. 특정 실시양태에서, 본원에서의 변이체 Fc 영역은 천연 서열 Fc 영역 및/또는 모 폴리펩티드의 Fc 영역과의 적어도 약 80%의 상동성, 또는 그와의 적어도 약 90%의 상동성, 또는 그와의 적어도 약 95%의 상동성을 보유할 것이다.
- [0129] 중쇄의 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라, 무손상 항체는 상이한 "부류"로 할당될 수 있다. 5종의 주요 부류의 무손상 항체: IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM이 존재하고, 이들 중 몇몇은 "하위부류" (이소형), 예를 들어 IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>, IgA 및 IgA<sub>2</sub>로 추가로 분류될 수 있다. 상이한 부류의 항체에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\gamma$  및  $\mu$ 로 불린다. 상이한 부류의 이뮤노글로불린의 서브유닛 구조 및 3차원 형상은 널리 공지되어 있다.
- [0130] "항체-의존성 세포-매개 세포독성" 및 "ADCC"는 Fc 수용체 (FcR)를 발현하는 비특이적 세포독성 세포 (예를 들어, 자연 킬러 (NK) 세포, 호중구, 및 대식세포)가 표적 세포 상의 결합된 항체를 인식한 후에 이러한 표적 세포의 용해를 야기하는 세포-매개 반응을 지칭한다. ADCC를 매개하는 1차 세포인 NK 세포는 Fc $\gamma$ RIII만을 발현하는 반면, 단핵구는 Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RII 및 Fc $\gamma$ RIII를 발현한다. 조혈 세포 상에서의 FcR 발현은 문헌 [Ravetch

and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92 (1991)]의 464면의 표 3에 요약되어 있다. 관심 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위해, 시험관내 ADCC 검정, 예컨대 미국 특허 번호 5,500,362 또는 5,821,337에 기재된 검정을 수행할 수 있다. 이러한 검정에 유용한 이펙터 세포는 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 및 자연 킬러 (NK) 세포를 포함한다. 대안적으로 또는 추가적으로, 관심 분자의 ADCC 활성은 생체내에서, 예를 들어 문헌 [Clynes et al. *PNAS USA* 95:652-656 (1998)]에 기재된 바와 같은 동물 모델에서 평가할 수 있다.

[0131] "인간 이펙터 세포"는 1개 이상의 FcR을 발현하고 이펙터 기능을 수행하는 백혈구이다. 특정 실시양태에서, 상기 세포는 적어도 Fc $\gamma$ RIII를 발현하고 ADCC 이펙터 기능을 수행한다. ADCC를 매개하는 인간 백혈구의 예는 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC), 자연 킬러 (NK) 세포, 단핵구, 세포독성 T 세포 및 호중구를 포함한다. 이펙터 세포는 그의 천연 공급원, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 혈액 또는 PBMC로부터 단리될 수 있다.

[0132] 용어 "Fc 수용체" 또는 "FcR"은 항체의 Fc 영역에 결합하는 수용체를 기재하기 위해 사용된다. 특정 실시양태에서, FcR은 천연 서열 인간 FcR이다. 추가로, 바람직한 FcR은 IgG 항체 (감마 수용체)에 결합하는 것이고, Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RII 및 Fc $\gamma$ RIII 하위부류의 수용체 (이들 수용체의 대립유전자 변이체 및 대안적으로 스플라이싱된 형태를 포함함)를 포함한다. Fc $\gamma$ RII 수용체는 Fc $\gamma$ RIIA ("활성화 수용체") 및 Fc $\gamma$ RIIB ("억제 수용체")를 포함하고, 이들은 주로 세포질 도메인에서 상이한 유사한 아미노산 서열을 갖는다. 활성화 수용체 Fc $\gamma$ RIIA는 그의 세포질 도메인에 면역수용체 티로신-기재 활성화 모티프 (ITAM)를 함유한다. 억제 수용체 Fc $\gamma$ RIIB는 그의 세포질 도메인에 면역수용체 티로신-기재 억제 모티프 (ITIM)를 포함한다 (예를 들어, 문헌 [M. in Daeron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234 (1997)]의 검토 참조). FcR은 문헌 [Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92 (1991); Capel et al., *Immunomethods* 4:25-34 (1994); 및 de Haas et al., *J. Lab. Clin. Med.* 126:330-41 (1995)]에서 검토된다. 추후로 확인될 것들을 포함하여 다른 FcR이 본원의 용어 "FcR"에 포괄된다. 상기 용어는 또한, 모계 IgG를 태아에게 전이시키는 것을 담당하고 (문헌 [Guyer et al., *J. Immunol.* 117: 587 (1976) 및 Kim et al., *J. Immunol.* 24: 249 (1994)]), 이뮤노글로불린의 항상성을 조절하는 신생아 수용체 FcRn을 포함한다. 신생아 Fc 수용체 (FcRn)에 대한 결합이 개선되고 반감기가 증가된 항체가 WO00/42072 (Presta, L.) 및 US2005/0014934A1 (Hinton et al.)에 기재되어 있다. 이들 항체는 FcRn에 대한 Fc 영역의 결합을 개선하는 1개 이상의 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다. 예를 들어, Fc 영역은 위치 238, 250, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 314, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424, 428 또는 434 (잔기의 Eu 넘버링) 중 1개 이상에서 치환을 가질 수 있다. 특정 실시양태에서, FcRn 결합이 개선된 Fc 영역-포함 항체 변이체는 그의 Fc 영역의 위치 307, 380 및 434 (잔기의 Eu 넘버링) 중 1개, 2개 또는 3개에서 아미노산 치환을 포함한다.

[0133] "단일-쇄 Fv" 또는 "scFv" 항체 단편은 단일 폴리펩티드 쇠에 존재하는 항체의 V<sub>H</sub> 및 V<sub>L</sub> 도메인을 포함한다. 특정 실시양태에서, Fv 폴리펩티드는 scFv가 항원 결합을 위한 목적하는 구조를 형성할 수 있도록 하는, V<sub>H</sub> 및 V<sub>L</sub> 도메인 사이의 폴리펩티드 링커를 추가로 포함한다. scFv의 검토를 위해, 예를 들어 문헌 [Plueckthun in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)]을 참조한다. HER2 항체 scFv 단편은 WO93/16185; 및 미국 특허 번호 5,571,894 및 미국 특허 번호 5,587,458에 기재되어 있다.

[0134] 용어 "디아바디"는 2개의 항원-결합 부위를 갖는 소형 항체 단편을 지칭하며, 이들 단편은 동일한 폴리펩티드 쇠 내에 가변 경쇄 도메인 (V<sub>L</sub>)과 연결된 가변 중쇄 도메인 (V<sub>H</sub>)을 포함한다 (V<sub>H</sub> - V<sub>L</sub>). 동일한 쇠 상의 2개의 도메인 사이의 쌍형성을 허용하기에는 너무 짧은 링커를 사용함으로써, 도메인은 또 다른 쇠의 상보적 도메인과 쌍형성하도록 강제되어 2개의 항원-결합 부위가 생성된다. 디아바디는, 예를 들어 EP 404,097; WO 93/11161; 및 문헌 [Hollinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993)]에 보다 상세하게 기재되어 있다.

[0135] "친화도 성숙" 항체는 변경(들)을 나타내지 않는 모 항체와 비교하여 항원에 대한 항체의 친화도를 개선하는, 그의 1개 이상의 초가변 영역 내에서의 1개 이상의 변경을 갖는 항체이다. 특정 실시양태에서, 친화도 성숙 항체는 표적 항원에 대해 나노몰 또는 심지어 피코몰의 친화도를 갖는다. 친화도 성숙 항체는 관련 기술분야에 공지된 절차에 의해 생산된다. 문헌 [Marks et al. *Bio/Technology* 10:779-783 (1992)]은 V<sub>H</sub> 및 V<sub>L</sub> 도메인 서플링에 의한 친화도 성숙을 기재하고 있다. CDR 및/또는 프레임워크 잔기의 무작위 돌연변이유발이 하기 문헌에 기재되어 있다: [Barbas et al. *Proc Nat. Acad. Sci. USA* 91:3809-3813 (1994); Schier et al. *Gene* 169:147-155 (1995); Yelton et al. *J. Immunol.* 155:1994-2004 (1995); Jackson et al., *J. Immunol.* 154(7):3310-9 (1995); 및 Hawkins et al, *J. Mol. Biol.* 226:889-896 (1992)].

- [0136] "아미노산 서열 변이체" 항체는 본원에서 주요 종 항체와 상이한 아미노산 서열을 갖는 항체이다. 특정 실시양태에서, 아미노산 서열 변이체는 주요 종 항체와 적어도 약 70%의 상동성을 가질 것이거나, 또는 이들은 주요 종 항체와 적어도 약 80%, 또는 적어도 약 90% 상동일 것이다. 아미노산 서열 변이체는 주요 종 항체의 아미노산 서열 내의 또는 이러한 서열에 인접한 특정 위치에서 치환, 결실 및/또는 부가를 보유한다. 본원에서 아미노산 서열 변이체의 예는 산성 변이체 (예를 들어, 탈아미드화 항체 변이체), 염기성 변이체, 그의 1개 또는 2개의 경쇄 상에 아미노-말단 리더 연장부 (예를 들어, VHS-)를 갖는 항체, 그의 1개 또는 2개의 중쇄 상에 C-말단 리신 잔기를 갖는 항체 등을 포함하며, 중쇄 및/또는 경쇄의 아미노산 서열에 대한 변이의 조합을 포함한다. 본원에서 특히 관심을 갖는 항체 변이체는 1개 또는 2개의 경쇄 상에 아미노-말단 리더 연장부를 포함하고, 주요 종 항체에 비해 다른 아미노산 서열 및/또는 글리코실화 차이를 임의로 추가로 포함하는 항체이다.
- [0137] "글리코실화 변이체" 항체는 본원에서 그에 부착된 1개 이상의 탄수화물 모이어티가 주요 종 항체에 부착된 1개 이상의 탄수화물 모이어티와 상이한 항체이다. 본원의 글리코실화 변이체의 예는 그의 Fc 영역에 부착된, G0 올리고사카라이드 구조 대신에 G1 또는 G2 올리고사카라이드 구조를 갖는 항체, 그의 1개 또는 2개의 경쇄에 부착된 1개 또는 2개의 탄수화물 모이어티를 갖는 항체, 항체의 1개 또는 2개의 중쇄에 부착된 탄수화물이 전혀 없는 항체, 및 글리코실화 변경의 조합을 포함한다. 항체가 Fc 영역을 갖는 경우에, 올리고사카라이드 구조는, 예를 들어 잔기 299 (298, 잔기의 Eu 넘버링)에서 항체의 1개 또는 2개의 중쇄에 부착될 수 있다.
- [0138] 본원에 사용된 용어 "세포독성제"는 세포의 기능을 억제 또는 방지하고/거나 세포의 파괴를 야기하는 물질을 지칭한다. 상기 용어는 방사성 동위원소 (예를 들어,  $^{211}\text{At}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{188}\text{Re}$ ,  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{212}\text{Bi}$ ,  $^{32}\text{P}$  및 Lu의 방사성 동위원소), 화학요법제, 및 독소, 예컨대 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 소분자 독소 또는 효소 활성 독소 (그의 단편 및/또는 변이체 포함)를 포함한다.
- [0139] 용어 "시토카인"은 세포간 매개자로서 또 다른 세포에 대해 작용하는, 한 세포 집단에 의해 방출되는 단백질에 대한 일반 용어이다. 이러한 시토카인의 예는 림포카인, 모노카인 및 통상적인 폴리펩티드 호르몬이다. 시토카인에 포함되는 것은 성장 호르몬, 예컨대 인간 성장 호르몬, N-메티오닐 인간 성장 호르몬, 및 소 성장 호르몬; 부갑상선 호르몬; 티록신; 인슐린; 프로인슐린; 펄락신; 프로펄락신; 당단백질 호르몬, 예컨대 여포 자극 호르몬 (FSH), 갑상선 자극 호르몬 (TSH) 및 황체화 호르몬 (LH); 간 성장 인자; 섬유모세포 성장 인자; 프로락틴; 태반 락토겐; 종양 괴사 인자- $\alpha$  및  $-\beta$ ; 밀러-엘체 물질; 마우스 고나도트로핀-연관 펩티드; 인히빈; 액티빈; 혈관 내피 성장 인자; 인테그린; 트롬보포이에틴 (TPO); 신경 성장 인자, 예컨대 NGF- $\beta$ ; 혈소판-성장 인자; 형질전환 성장 인자 (TGF), 예컨대 TGF- $\alpha$  및 TGF- $\beta$ ; 인슐린-유사 성장 인자-I 및 -II; 에리트로포이에틴 (EPO); 골유도 인자; 인터페론, 예컨대 인터페론- $\alpha$ ,  $-\beta$  및  $-\gamma$ ; 콜로니 자극 인자 (CSF), 예컨대 대식세포-CSF (M-CSF); 과립구-대식세포-CSF (GM-CSF); 및 과립구-CSF (G-CSF); 인터류킨 (IL), 예컨대 IL-1, IL-1 $\alpha$ , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12; 종양 괴사 인자, 예컨대 TNF- $\alpha$  또는 TNF- $\beta$ ; 및 다른 폴리펩티드 인자 (LIF 및 kit 리간드 (KL) 포함)이다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 시토카인은 자연 공급원 또는 재조합 세포 배양물로부터의 단백질 및 천연 서열 시토카인의 생물학적 활성 증가물을 포함한다.
- [0140] 보조 요법에 대해 본원에 사용된 용어 "면역억제제"는 본원에서 치료할 대상체의 면역계를 억제하거나 차폐하는 작용을 하는 물질을 지칭한다. 이는 시토카인 생산을 억제하거나 자기-항원 발현을 하향-조절 또는 억제하거나 MHC 항원을 차폐하는 물질을 포함한다. 이러한 작용제의 예는 2-아미노-6-아릴-5-치환된 피리미딘 (미국 특허 번호 4,665,077 참조); 비스테로이드성 항염증 약물 (NSAID); 간시클로비르; 타크롤리무스; 글루코코르티코이드, 예컨대 코르티솔 또는 알도스테론; 항염증제, 예컨대 시클로옥시게나제 억제제; 5-리폭시게나제 억제제; 또는 류코트리엔 수용체 길항제; 퓨린 길항제, 예컨대 아자티오프린 또는 미코페놀레이트 모페틸 (MMF); 알킬화제, 예컨대 시클로포스파미드; 브로모크립틴; 다나졸; 답손; 글루타르알데히드 (이는 미국 특허 번호 4,120,649에 기재된 바와 같이, MHC 항원을 차폐함); MHC 항원 및 MHC 단편에 대한 항-이디오타입 항체; 시클로스포린; 6 메르캅토피린; 스테로이드, 예컨대 코르티코스테로이드 또는 글루코코르티코스테로이드 또는 글루코코르티코이드 유사체, 예를 들어 프레드니손, 메틸프레드니솔론 (솔루-메드롤(SOLU-MEDROL)® 메틸프레드니솔론 소듐 숙시네이트 포함) 및 덱사메타손; 디히드로폴레이트 리덕타제 억제제, 예컨대 메토포렉세이트 (경구 또는 피하); 항말라리아제, 예컨대 클로로퀸 및 히드록시클로로퀸; 술폰살라진; 레플루노미드; 시토카인 또는 시토카인 수용체 항체 또는 길항제 (항-인터페론-알파, -베타 또는 -감마 항체 포함), 항-종양 괴사 인자 (TNF)-알파 항체 (인플릭시맵 (레미케이드(REMICADE)®) 또는 아달리무맵), 항-TNF-알파 이뮤노어드헤신 (에타네르셉트), 항-TNF-베타 항체, 항-인터류킨-2 (IL-2) 항체 및 항-IL-2 수용체 항체; 및 항-인터류킨-6 (IL-6) 수용체 항체 및 길항제; 항-LFA-1 항체 (항-CD11a 및 항-CD18 항체 포함); 항-L3T4 항체; 이중 항립구구 글로불



린; 범-T 항체, 항-CD3 또는 항-CD4/CD4a 항체; LFA-3 결합 도메인을 함유하는 가용성 펩티드 (1990년 7월 26 일에 공개된 WO 90/08187); 스트렙토키나제; 형질전환 성장 인자-베타 (TGF-베타); 스트렙토도마제; 숙주로부터의 RNA 또는 DNA; FK506; RS-61443; 클로람부실; 데옥시스페르구알린; 라파마이신; T-세포 수용체 (Cohen et al., 미국 특허 번호 5,114,721); T-세포 수용체 단편 (Offner et al., Science, 251: 430-432 (1991); WO 90/11294; Ianeway, Nature, 341: 482 (1989); 및 WO 91/01133); BAFF 길항제, 예컨대 BAFF 또는 BR3 항체 또는 이뮤노어드헤신 및 zTNF4 길항제 (검토를 위해 문헌 [Mackay and Mackay, Trends Immunol., 23:113-5 (2002)] 참조; 및 또한 하기 정의 참조); T 세포 헬퍼 신호를 방해하는 생물학적 작용제, 예컨대 항-CD40 수용체 또는 항-CD40 리간드 (CD154), 예를 들어 CD40-CD40 리간드에 대한 차단 항체 (예를 들어, 문헌 [Durie et al., Science, 261: 1328-30 (1993); Mohan et al., J. Immunol., 154: 1470-80 (1995)]) 및 CTLA4-Ig (Finck et al., Science, 265: 1225-7 (1994)); 및 T 세포 수용체 항체 (EP 340,109), 예컨대 T10B9를 포함한다.

[0141] 본원에 사용된 용어 "개선하다" 또는 "개선"은 병태, 질환, 장애 또는 표현형, 예컨대 이상 또는 증상의 감소, 축소 또는 제거를 지칭한다.

[0142] 질환 또는 장애 (예를 들어, 염증성 장 질환, 예를 들어 궤양성 결장염 또는 크론병)의 "증상"은 대상체가 경험하고 질환을 나타내는 임의의 병적 현상, 또는 구조, 기능 또는 감각에서 정상을 벗어나는 것이다.

[0143] 표현 "치료 유효량"은 질환 또는 장애 (예를 들어, 염증성 장 질환, 예를 들어 궤양성 결장염 또는 크론병)를 예방하거나, 개선하거나 또는 치료하는데 효과적인 양을 지칭한다. 예를 들어, 항체의 "치료 유효량"은 특정된 질환 또는 장애를 예방하거나, 개선하거나 또는 치료하는데 효과적인 항체의 양을 지칭한다. 유사하게, 항체 및 제2 화합물의 조합의 "치료 유효량"은, 특정된 질환 또는 장애를 예방하거나, 개선하거나 또는 치료하는데 조합으로 효과적인 항체의 양 및 제2 화합물의 양을 지칭한다.

[0144] 용어 "2종의 화합물"의 조합"은 화합물이 서로 혼합물로 투여되어야 한다는 것을 의미하지는 않는 것으로 이해되어야 한다. 따라서, 이러한 조합을 사용하는 치료 또는 이러한 조합의 사용은 화합물의 혼합물 또는 화합물의 개별 투여를 포괄하며, 동일한 날 또는 상이한 날의 투여를 포함한다. 따라서, 용어 "조합"은 2종 이상의 화합물이 치료를 위해 개별적으로 또는 서로 혼합물로 사용된다는 것을 의미한다. 항체 및 제2 화합물이, 예를 들어 대상체에게 조합되어 투여되는 경우에, 항체는 항체 및 제2 화합물이 대상체에게 개별적으로 투여되든지 혼합물로 투여되든지, 제2 화합물이 또한 대상체 내에 존재하는 시점에 대상체 내에 존재한다. 특정 실시양태에서, 항체 이외의 화합물은 항체 전에 투여된다. 특정 실시양태에서, 항체 이외의 화합물은 항체 후에 투여된다.

[0145] 본원의 목적상, "중양 과사 인자-알파 (TNF-알파)"는 문헌 [Pennica et al., Nature, 312:721 (1984) 또는 Aggarwal et al., JBC, 260:2345 (1985)]에 기재된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 인간 TNF-알파 분자를 지칭한다.

[0146] 용어 "TNF-알파 억제제"는 본원에서 "항-TNF 치료제"와 상호교환가능하게 사용되고, 일반적으로 TNF-알파에 결합하여 그의 활성을 중화함으로써 TNF-알파의 생물학적 기능을 어느 정도까지 억제하는 작용제를 지칭한다. 본원에서 구체적으로 고려되는 TNF 억제제의 예는 에타네르셉트 (엔브렐(ENBREL)®), 인플릭시맵 (레미케이드®), 아달리무맵 (휴미라(HUMIRA)®), 골리무맵 (심포니(SIMPONI)™) 및 세툴리주맵 페골 (심지아(CIMZIA)®)이다.

[0147] "코르티코스테로이드"는 자연 발생 코르티코스테로이드의 효과를 모방하거나 증대시키는, 스테로이드의 일반적 화학 구조를 갖는 여러 합성 또는 자연 발생 물질 중 어느 하나를 지칭한다. 합성 코르티코스테로이드의 예는 프레드니손, 프레드니솔론 (메틸프레드니솔론 포함), 텍사메타손, 트리암시놀론 및 베타메타손을 포함한다.

[0148] "길항제"는 특정된 또는 특정된 단백질의 활성, 예컨대 리간드의 경우에는 1종 이상의 수용체에 대한 그의 결합, 또는 수용체의 경우에는 1종 이상의 리간드에 대한 그의 결합을 중화하거나, 차단하거나, 억제하거나, 없애거나, 감소시키거나, 또는 방해할 수 있는 분자를 지칭한다. 길항제는 항체 및 그의 항원-결합 단편, 단백질, 펩티드, 당단백질, 당펩티드, 당지질, 폴리사카라이드, 올리고사카라이드, 핵산, 생물유기 분자, 펩티드모방체, 약리학적 작용제 및 그의 대사물, 전사 및 번역 제어 서열 등을 포함한다. 길항제는 또한 단백질의 소분자 억제제, 및 단백질에 특이적으로 결합하여 그것이 그의 표적에 결합하는 것을 봉쇄하는 융합 단백질, 수용체 분자 및 유도체, 단백질의 길항제 변이체, 단백질에 대해 지시된 안티센스 분자, RNA 압타머, 및 단백질에 대한 리보자임을 포함한다.

[0149] "자기-주사 장치"는 치료제의 자기-투여, 예를 들어 환자 또는 가정 보호자에 의한 투여를 위한 의료 장치를 지칭한다. 자기-주사 장치는 자가주사기 장치 및 자기-투여를 위해 설계된 다른 장치를 포함한다.



- [0150] 본원에 사용된 "올리고뉴클레오타이드"는 길이가 적어도 약 7개의 뉴클레오타이드 및 약 250개 미만의 뉴클레오타이드인 짧은 단일 가닥 폴리뉴클레오타이드를 지칭한다. 올리고뉴클레오타이드는 합성될 수 있다. 용어 "올리고뉴클레오타이드" 및 "폴리뉴클레오타이드"는 상호 배타적이지 않다. 폴리뉴클레오타이드에 대한 상기 기재는 올리고뉴클레오타이드에 동일하고 완전하게 적용가능하다.
- [0151] 용어 "프라이머"는 핵산에 혼성화되고, 일반적으로 유리 3'-OH 기를 제공함으로써 상보성 핵산의 중합을 허용할 수 있는 단일 가닥 폴리뉴클레오타이드를 의미한다.
- [0152] 용어 "증폭"은 1개 이상의 카피의 참조 핵산 서열 또는 그의 상보체의 생산 과정을 지칭한다. 증폭은 선형 증폭 또는 지수 증폭 (예를 들어, PCR)일 수 있다. "카피"가 반드시 주형 서열에 대해 완벽한 서열 상보성 또는 동일성을 의미하는 것은 아니다. 예를 들어, 카피는 뉴클레오타이드 유사체, 예를 들어 테옥시이노신, 인위적인 서열 변경 (예컨대, 주형에 혼성화가능하지만 완전히 상보성이지는 않은 서열을 포함하는 프라이머를 통해 도입된 서열 변경), 및/또는 증폭 동안 발생하는 서열 오류를 포함할 수 있다.
- [0153] 용어 "검출"은 직접 및 간접 검출을 포함한 임의의 검출 수단을 포함한다.
- [0154] "상승된 발현" 또는 "상승된 수준"은 자가면역 질환, 예를 들어 IBD를 앓고 있지 않은 개체 또는 개체들과 같은 대조군 또는 참조 수준에 비해 또는 미리 확립된 역치 또는 컷-오프 값에 비해 또는 환자 및/또는 대상체 집단에 대한 중앙값에 비해 환자에서 mRNA 또는 단백질의 증가된 발현을 지칭한다.
- [0155] "낮은 발현" 또는 "낮은 발현 수준" 또는 "감소된 발현"은 자가면역 질환, 예를 들어 IBD를 앓고 있지 않은 개체 또는 개체들과 같은 대조군 또는 참조 수준에 비해 또는 미리 확립된 역치 또는 컷-오프 값에 비해 또는 환자 및/또는 대상체 집단에 대한 중앙값에 비해 환자에서 mRNA 또는 단백질의 감소된 발현을 지칭한다.
- [0156] 용어 "멀티플렉스-PCR"은 단일 반응에서 2개 이상의 DNA 서열을 증폭시키는 목적을 위해 1개 초과와 프라이머 세트를 사용하여 단일 공급원 (예를 들어, 환자)으로부터 수득한 핵산에 대해 수행되는 단일 PCR 반응을 지칭한다.
- [0157] 본원에 사용된 용어 "바이오마커"는 환자의 생물학적 샘플에서 검출될 수 있는 환자의 표현형의 지시자, 예를 들어 병리학적 상태 또는 치료제에 대한 반응성의 가능성을 지칭한다. 바이오마커는 DNA, RNA, 단백질, 탄수화물 또는 당지질-기체 분자 마커를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0158] 용어 "진단"은 분자 또는 병리학적 상태, 질환 또는 병태의 확인 또는 분류를 지칭하는 것으로 본원에 사용된다. 예를 들어, "진단"은 조직/기관 관여 (예를 들어, 염증성 장 질환)에 의한, 또는 다른 특색 (예를 들어, 치료, 예컨대 인테그린 베타7 길항제를 사용한 치료에 대한 반응성을 특징으로 하는 환자 하위집단)에 의한, 또는 분자 특색 (예를 들어, 특정한 유전자 또는 상기 유전자에 의해 코딩된 단백질 중 1개 또는 조합의 발현을 특징으로 하는 하위유형)에 의한, 특정한 유형의 위장 염증성 장애의 확인 또는 특정한 하위유형의 위장 염증성 장애의 분류를 지칭한다.
- [0159] 용어 "진단을 보조하는 것"은 특정한 유형의 증상 또는 병태의 존재 또는 특성에 관한 임상 결정을 보조하는 방법을 지칭하는 것으로 본원에 사용된다. 예를 들어, IBD의 진단을 보조하는 방법은 개체로부터의 생물학적 샘플에서 특정 유전자의 발현을 측정하는 것을 포함할 수 있다.
- [0160] 용어 "예후"는, 예를 들어 위장 염증성 장애의 재발, 급성악화 및 약물 내성을 포함한 질환 증상 가능성의 예측을 지칭하는 것으로 본원에 사용된다.
- [0161] 용어 "예측"은 환자가 약물 (치료제) 또는 약물 세트 또는 치료 요법에 대해 유리하게 또는 불리하게 반응할 가능성을 지칭하는 것으로 본원에 사용된다. 한 실시양태에서, 예측은 이러한 반응의 정도에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 예측은 환자가 치료, 예를 들어 특정한 치료제를 사용한 치료 후에 또는 질환의 재발 없이 특정 기간 동안 생존하거나 개선되는지의 여부 및/또는 그러할 확률과 관련이 있다. 본 발명의 예측 방법은 임의의 특정한 환자에 대한 가장 적절한 치료 방식을 선택하여 치료를 결정하는데 임상적으로 사용될 수 있다. 본 발명의 예측 방법은 환자가 치료 요법, 예컨대 주어진 치료 요법, 예를 들어 주어진 치료제 또는 조합의 투여, 수술적 개입, 스테로이드 치료 등에 유리하게 반응할 것인지의 여부 또는 치료 요법 후에 환자의 장기간 생존 또는 완화 또는 지속적 완화가 가능한지의 여부를 예측할 때 유용한 도구이다.
- [0162] "대조군 대상체"는 특정한 질환, 예를 들어 IBD를 갖는 것으로 진단되지 않았으며 그 질환과 연관된 임의의 징후 또는 증상을 앓고 있지 않은 건강한 대상체를 지칭한다.

- [0163] "상관관계가 있다" 또는 "상관관계가 있는"은 임의의 방식으로 제1 분석 또는 프로토콜의 성과 및/또는 결과를 제2 분석 또는 프로토콜의 성과 및/또는 결과와 비교하는 것을 의미한다. 예를 들어, 제2 프로토콜의 수행시에 제1 분석 또는 프로토콜의 결과를 사용할 수 있고/있거나 제1 분석 또는 프로토콜의 결과를 사용하여 제2 분석 또는 프로토콜을 수행해야 하는지의 여부를 결정할 수 있다. 유전자 발현 분석 또는 프로토콜의 실시양태와 관련하여, 유전자 발현 분석 또는 프로토콜의 결과를 사용하여 특정 치료 요법을 수행해야 하는지의 여부를 결정할 수 있다.
- [0164] 본원에 사용된 용어 "비교하는"은 개체 또는 환자로부터의 샘플 내 바이오마커의 수준을 본 명세서 곳곳에 명시된 바이오마커의 참조 수준과 비교하는 것을 지칭하는 것으로 본원에 사용된다. 본원에 사용된 "비교하는"은 통상적으로 상응하는 파라미터 또는 값의 비교를 지칭하며, 예를 들어 절대량은 절대 참조 양과 비교되고, 한편 농도는 참조 농도와 비교되거나, 샘플 내 바이오마커로부터 수득된 강도 신호는 참조 샘플로부터 수득된 동일한 유형의 강도 신호와 비교된다. 비교는 수동으로 수행될 수 있거나 컴퓨터 보조될 수 있다. 따라서, 비교는 (예를 들어, 본원에 개시된 시스템의) 컴퓨터 장치에 의해 수행될 수 있다. 개체 또는 환자로부터의 샘플에서 바이오마커의 측정 또는 검출된 수준의 값 및 참조 수준은 예를 들어 서로 비교될 수 있고, 상기 비교는 비교에 대한 알고리즘을 실행하는 컴퓨터 프로그램에 의해 자동으로 수행될 수 있다. 상기 평가를 수행하는 컴퓨터 프로그램은 적합한 출력 형식으로 목적하는 평가를 제공할 것이다. 컴퓨터 보조 비교를 위해, 측정량의 값은 컴퓨터 프로그램에 의해 데이터베이스에 저장된 적합한 참조에 상응하는 값과 비교될 수 있다. 컴퓨터 프로그램은 추가로 비교의 결과를 평가할 수 있으며, 즉 적합한 출력 형식으로 목적하는 평가를 자동으로 제공할 수 있다. 컴퓨터 보조 비교를 위해, 결정된 양의 값은 컴퓨터 프로그램에 의해 데이터베이스에 저장된 적합한 참조에 상응하는 값과 비교될 수 있다. 컴퓨터 프로그램은 추가로 비교의 결과를 평가할 수 있으며, 즉 적합한 출력 형식으로 목적하는 평가를 자동으로 제공할 수 있다.
- [0165] 본원에 사용된 어구 "치료를 권장하는"은 요법에 의해 적합하게 치료되거나 적합하게 치료되지 않는 환자를 확인하기 위해 환자의 샘플에서 GZMA, KLRB1, FOXM1, CCDC90A, CCL4L1.2, CPA2, CXCR6, DDO, ECH1, FAM125B, FASLG, FGF9, GPR15, GZMB, KCNMA1, PHF14, TIFAB, TMEM200A, TMIGD2, SLC8A3, TNFSF15, BEST2, CCL2, CCL3, CCL3L1/3, CPA3, FGF7, HAMP, IL1A, IL18RAP, INHBA, LIF, LMO4, LRRC4, MLK7.AS1, MT1M, MUCL1, MX1, PMCH, REM2, SSTR2, TM4SF4, TMEM154, UROS, VNN2, VNN3 mRNA 중 1개 이상의 수준 또는 존재에 관련하여 및 임의로 추가로 ITGAE mRNA의 수준 또는 존재에 관련하여 생성된 정보 또는 데이터를 사용하는 것을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 요법은 인테그린 베타7 길항제, 예를 들어 항-인테그린 베타7 항체, 예컨대 에트롤리주맙을 포함한다. 일부 실시양태에서, 어구 "치료/요법을 권장하는"은 투여될 유효량의 인테그린 베타7 길항제의 적응을 필요로 하는 환자의 확인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료를 권장하는 것은 투여될 양의 인테그린 베타7 길항제에 적응하도록 권장하는 것을 포함한다. 본원에 사용된 어구 "치료를 권장하는"은 또한 인테그린 베타7 길항제를 포함하는 요법에 반응할 가능성이 많은 또는 적은 것으로 확인되거나 선택된 환자에 대해 인테그린 베타7 길항제를 포함하는 요법을 제안하거나 선택하기 위해 생성된 정보 또는 데이터를 사용하는 것을 지칭할 수 있다. 사용되거나 생성된 정보 또는 데이터는 서면, 구술 또는 전자의 임의의 형태일 수 있다. 일부 실시양태에서, 생성된 정보 또는 데이터를 사용하는 것은 통신, 제시, 보고, 저장, 송신, 전달, 공급, 전송, 분배 또는 그의 조합을 포함한다. 일부 실시양태에서, 통신, 제시, 보고, 저장, 송신, 전달, 공급, 전송, 분배 또는 그의 조합은 컴퓨터 장치, 분석기 유닛 또는 그의 조합에 의해 수행된다. 일부 추가의 실시양태에서, 통신, 제시, 보고, 저장, 송신, 전달, 공급, 전송, 분배 또는 그의 조합은 실험실 또는 의료 전문가에 의해 수행된다. 일부 실시양태에서, 정보 또는 데이터는 GZMA, KLRB1, FOXM1, CCDC90A, CCL4L1.2, CPA2, CXCR6, DDO, ECH1, FAM125B, FASLG, FGF9, GPR15, GZMB, KCNMA1, PHF14, TIFAB, TMEM200A, TMIGD2, SLC8A3, TNFSF15, BEST2, CCL2, CCL3, CCL3L1/3, CPA3, FGF7, HAMP, IL1A, IL18RAP, INHBA, LIF, LMO4, LRRC4, MLK7.AS1, MT1M, MUCL1, MX1, PMCH, REM2, SSTR2, TM4SF4, TMEM154, UROS, VNN2, VNN3 mRNA 중 1개 이상 및 임의로 추가로 ITGAE mRNA 수준을 참조 수준과 비교하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 정보 또는 데이터는 확인된 mRNA 중 1개 이상이 샘플 중에 상승된 수준 또는 감소된 수준으로 존재함을 나타내는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 정보 또는 데이터는 환자가 에트롤리주맙과 같은 항-인테그린 베타7 항체를 포함한 인테그린 베타7 길항제를 포함하는 요법에 의해 적합하게 치료되거나 적합하게 치료되지 않음을 나타내는 것을 포함한다.
- [0166] "포장 삽입물"은 치료 제품 또는 의약의 상업용 패키지 내에 통상적으로 포함되어 있으며 적응증, 용법, 투여량, 투여, 금기, 포장 제품과 조합될 다른 치료 제품 및/또는 이러한 치료 제품 또는 의약의 사용에 관한 경고 등에 대한 정보를 함유하는 지침서를 지칭하는데 사용된다.
- [0167] "키트"는 적어도 1종의 시약, 예를 들어 IBD, 예를 들어 UC 또는 크론병의 치료를 위한 의약 또는 본 발명의 바

이오마커 유전자 또는 단백질을 특이적으로 검출하기 위한 프로브를 포함하는 임의의 제조품 (예를 들어, 패키지 또는 용기)이다. 특정 실시양태에서, 제조품은 본 발명의 방법을 수행하기 위한 유닛으로서 프로모션되거나, 배급되거나 또는 판매된다.

- [0168] "표적 청중"은, 마케팅 또는 광고에 의해서와 같이, 특히 특정한 용도, 치료 또는 적응증을 위한 특정한 의약이 프로모션되고 있거나 프로모션되도록 의도되는 일군의 사람들 또는 기관, 예컨대 개별 환자, 환자 집단, 신문, 의학 문헌 및 잡지의 구독자, 텔레비전 또는 인터넷 시청자, 라디오 또는 인터넷 청취자, 의사, 제약 회사 등이다.
- [0169] 용어 "혈청 샘플"은 개체로부터 수득한 임의의 혈청 샘플을 지칭한다. 포유동물로부터 혈청을 수득하기 위한 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다.
- [0170] 용어 "전혈"은 개체로부터 수득한 임의의 전혈 샘플을 지칭한다. 전형적으로, 전혈은 모든 혈액 성분, 예를 들어 세포 성분 및 혈장을 함유한다. 포유동물로부터 전혈을 수득하는 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다.
- [0171] 표현 "에 반응성이 아닌", "비-반응" 및 이들의 문법적 변형은 이전에 투여된 의약 (치료제) 중 1종 이상에 대한 대상체 또는 환자의 반응과 관련이 있으며, 이러한 의약(들)의 투여시에 치료를 받은 장애의 치료에 대한 임의의 또는 적절한 징후를 나타내지 않거나 의약(들)에 대해 임상적으로 허용되지 않는 높은 정도의 독성을 나타내거나 이러한 의약(들)의 최초 투여 후에 치료 징후를 유지하지 않는 대상체 또는 환자를 나타내며, 이와 관련하여 사용된 치료라는 단어는 본원에 정의된 바와 같이 사용된다. 어구 "반응성이 아닌"은 이전에 투여된 의약(들)에 대해 내성이 있고/있거나 불응성인 대상체에 관한 기재를 포함하고, 의약(들)을 투여받고 있는 동안에도 대상체 또는 환자가 진행된 상황 및 대상체 또는 환자가 더이상 반응성이 아니어서 이러한 의약(들)을 수반하는 요법을 완료한 후 이들이 12개월 이내 (예를 들어, 6개월 이내)에 진행된 상황을 포함한다. 따라서, 1종 이상의 의약에 대한 비-반응성은, 이것을 사용한 이전 또는 현행 치료 후에도 계속해서 활성 질환을 갖는 대상체를 포함한다. 예를 들어, 환자는 비-반응성인 의약(들)을 사용한 요법을 시작한지 약 1 내지 3개월 또는 3 내지 6개월 또는 6 내지 12개월 후에 활성 질환의 활성을 가질 수 있다. 이러한 반응성은 해당 장애 치료에 숙련된 임상가가 평가할 수 있다.
- [0172] 의약(들)에 대한 비-반응의 목적상, 1종 이상의 의약을 사용한 이전 또는 현행 치료로부터 "임상적으로 허용되지 않는 높은 수준의 독성"을 경험한 대상체는 경험이 풍부한 임상가에 의해 유의한 것으로 고려되는, 예를 들어 심각한 감염, 울혈성 심부전, 탈수초화 (다발성 경화증으로 이어짐), 심각한 파킨슨, 신경병리학적 사건, 고도의 자가면역, 암, 예컨대 자궁내막암, 비-호지킨 림프종, 유방암, 전립선암, 폐암, 난소암, 또는 흑색종, 결핵 (TB) 등과 같은 그와 연관된 1종 이상의 부정적 부작용 또는 유해 사건을 경험하게 된다.
- [0173] 특정 질환 또는 장애를 앓고 있는 환자에 대한 증가된 임상 이익 또는 특정한 치료제 또는 치료 요법에 대한 반응의 예측과 연관된 바이오마커의 "양" 또는 "수준"은 생물학적 샘플 중 검출가능한 수준이다. 이들은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되고 또한 본원에 개시된 방법에 의해 측정될 수 있다. 평가되는 바이오마커의 발현 수준 또는 양은 치료 또는 치료제에 대한 반응 또는 예측된 반응을 결정하기 위해 사용될 수 있다.
- [0174] 용어 "발현의 수준" 또는 "발현 수준"은 일반적으로 상호교환가능하게 사용되고, 일반적으로 생물학적 샘플 중 폴리뉴클레오티드 또는 아미노산 산물 또는 단백질의 양을 나타낸다. "발현"은 일반적으로 유전자-코딩 정보가, 세포 내에 존재하고 작동하는 구조로 전환되는 과정을 지칭한다. 따라서, 본원에 사용된 유전자의 "발현"은 폴리뉴클레오티드로의 전사, 단백질로의 번역 또는 심지어 단백질의 번역후 변형을 지칭할 수 있다. 전사된 폴리뉴클레오티드, 번역된 단백질 또는 번역후 변형된 단백질의 단편은 또한 이들이 대안적 스플라이싱에 의해 생성된 전사체 또는 분해된 전사체로부터 유래하든지 또는 예를 들어 단백질분해에 의한 단백질의 번역후 프로세싱으로부터 유래하든지 발현되는 것으로 여겨질 것이다. "발현된 유전자"는 mRNA로서 폴리뉴클레오티드로 전사되고, 이어서 단백질로 번역되는 것, 또한 RNA로 전사되지만 단백질로 번역되지 않는 것 (예를 들어, 운반 및 리보솜 RNA)을 포함한다.
- [0175] 다양한 추가의 용어가 본원에 정의되거나 또는 달리 특징화된다.
- [0176] 조성물 및 방법
- [0177] A. 베타7 인테그린 길항제
- [0178] 베타7 인테그린 길항제를 투여하는 것에 의해 대상체, 예를 들어 인간에서 위장 염증성 장애를 치료하는 방법이

제공된다. 잠재적 길항제의 예는 이뮤노글로불린과 베타7 인테그린의 융합체에 결합하는 올리고뉴클레오타이드, 특히 비제한적으로 폴리- 및 모노클로날 항체 및 항체 단편, 단일-쇄 항체, 항-이디오타입 항체, 및 이러한 항체 또는 단편의 키메라 또는 인간화 버전, 뿐만 아니라 인간 항체 및 항체 단편을 포함하는 항체를 포함한다. 대안적으로, 잠재적 길항제는 밀접하게 관련된 단백질, 예를 들어 리간드를 인식하지만 어떠한 영향력도 미치지 않음으로써, 베타7 인테그린의 작용을 경쟁적으로 억제하는 베타7 인테그린의 돌연변이 형태일 수 있다.

[0179] 또 다른 잠재적 베타7 인테그린 길항제는 안티센스 기술을 사용하여 제조된 안티센스 RNA 또는 DNA 구축물이며, 여기서, 예를 들어 안티센스 RNA 또는 DNA 분자가 표적화 mRNA에 혼성화되고 단백질 번역을 방지함으로써 mRNA의 번역을 직접적으로 차단하는 작용을 한다. 안티센스 기술을 사용하여 삼중-나선 형성 또는 안티센스 DNA 또는 RNA를 통해 유전자 발현을 제어할 수 있으며, 이러한 방법은 둘 다 폴리뉴클레오타이드의 DNA 또는 RNA에 대한 결합을 기초로 한다. 예를 들어, 본원의 베타7 인테그린을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열의 5' 코딩 부분을 사용하여, 길이가 약 10 내지 40개 염기 쌍인 안티센스 RNA 올리고뉴클레오타이드를 설계한다. DNA 올리고뉴클레오타이드는 전사에 관여하는 유전자의 영역에 대해 상보적이도록 설계됨으로써 (삼중 나선 -- 문헌 [Lee et al., Nucl. Acids Res., 6:3073 (1979); Cooney et al., Science, 241: 456 (1988); Dervan et al., Science, 251:1360 (1991)] 참조), 베타7 인테그린의 전사 및 생산을 방지한다. 안티센스 RNA 올리고뉴클레오타이드는 생체내에서 mRNA에 혼성화되고, 이러한 mRNA 분자가 베타7 인테그린 단백질로 번역되는 것을 차단한다 (안티센스 -- 문헌 [Okano, Neurochem., 56:560 (1991); Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression (CRC Press: Boca Raton, Fla., 1988)]). 상기 기재된 올리고뉴클레오타이드를 또한 세포에 전달하여, 안티센스 RNA 또는 DNA가 생체내에서 발현되어 PRO 폴리펩티드의 생산을 억제하도록 할 수 있다. 안티센스 DNA를 사용하는 경우에, 번역-개시 부위로부터 유래된 올리고데옥시리보뉴클레오타이드, 예를 들어 표적 유전자 뉴클레오타이드 서열의 약 -10 내지 +10 위치 사이가 전형적이다.

[0180] 다른 잠재적 길항제는 베타7 인테그린의 활성 부위, 리간드 또는 결합 분자 결합 부위에 결합함으로써 베타7 인테그린의 정상적인 생물학적 활성을 차단하는 소분자를 포함한다. 소분자의 예는 작은 펩티드 또는 펩티드-유사 분자, 전형적으로 가용성 펩티드, 및 합성 비-펩티딜 유기 또는 무기 화합물을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0181] 리보자임은 RNA의 특이적 절단을 촉매할 수 있는 효소적 RNA 분자이다. 리보자임은 상보적 표적 RNA에 대한 서열-특이적 혼성화에 이은 엔도뉴클레아제 절단에 의해 작용한다. 잠재적 RNA 표적 내의 특이적 리보자임 절단 부위는 공지된 기술에 의해 확인할 수 있다. 추가의 상세내용에 대해서는, 예를 들어 문헌 [Rossi, Current Biology, 4:469-471 (1994)] 및 PCT 공개 번호 WO 97/33551 (1997년 9월 18일에 공개됨)을 참조한다.

[0182] 전사 억제에 사용되는 삼중-나선 형성에 있어서의 핵산 분자는 단일-가닥이어야 하며, 데옥시뉴클레오타이드로 구성되어야 한다. 이들 올리고뉴클레오타이드의 염기 조성은 이것이 후그스틴 염기-쌍 형성 규칙을 통해 삼중-나선 형성을 촉진하도록 설계되며, 여기서 일반적으로 듀플렉스 중 한쪽 가닥에 상당한 크기의 퓨린 또는 피리미딘 스트레치가 필요하다. 추가의 상세내용에 대해서는, 예를 들어 PCT 공개 번호 WO 97/33551을 참조한다. 이들 소분자는 상기 논의된 스크리닝 검정 중 임의의 1종 이상 및/또는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지된 임의의 다른 스크리닝 기술에 의해 확인될 수 있다.

[0183] 길항제에 대한 스크리닝 검정은 본원에서 확인된 유전자에 의해 코딩된 베타7 인테그린과 결합하거나 이와 복합체를 형성하거나, 또는 그 밖에 상기 코딩된 폴리펩티드와 다른 세포성 단백질과의 상호작용을 방해하는 화합물을 확인하도록 설계된다. 이러한 스크리닝 검정은 화학적 라이브러리의 고처리량 스크리닝이 가능한 검정을 포함하여, 소분자 약물 후보를 확인하는데 특히 적합하다.

[0184] 검정은 관련 기술분야에 널리 특징화되어 있는 다양한 포맷, 예를 들어 단백질-단백질 결합 검정, 생화학적 스크리닝 검정, 면역검정 및 세포-기반 검정으로 수행될 수 있다.

[0185] B. 항-베타7 인테그린 항체

[0186] 한 실시양태에서, 베타7 인테그린 길항제는 항-베타7 항체이다. 예시적인 항체는 하기 기재된 바와 같은 폴리클로날, 모노클로날, 인간화, 인간, 이중특이적 및 이중접합체 항체 등을 포함한다.

[0187] 1. 폴리클로날 항체

[0188] 폴리클로날 항체는 일반적으로 관련 항원 및 아주반트의 다수회의 피하 (SC) 또는 복강내 (IP) 주사에 의해 동물에서 생성할 수 있다. 이관능성 또는 유도체화제, 예를 들어 말레이미도벤조일 술포숙신이미드 에스테르 (시스테인 잔기를 통한 접합), N-히드록시숙신이미드 (리신 잔기를 통한), 글루타르알데히드, 숙신산 무수물,



$\text{SOCl}_2$ , 또는  $\text{R}^1\text{N}=\text{C}=\text{NR}$  (여기서 R 및  $\text{R}^1$ 은 상이한 알킬 기임)을 사용하여, 면역화될 종에서 면역원성인 단백질, 예를 들어 키흔 림펫 해모시아닌, 혈청 알부민, 소 티로글로불린 또는 대두 트립신 억제제에 관련 항원을 접합시키는 것이 유용할 수 있다.

[0189] 예를 들어 단백질 또는 접합체 100  $\mu\text{g}$  또는 5  $\mu\text{g}$  (각각, 토끼 또는 마우스의 경우)을 3 부피의 프로인트 완전 아주반트와 합하고, 상기 용액을 여러 부위에 피내 주사함으로써, 동물을 항원, 면역원성 접합체 또는 유도체에 대해 면역화한다. 1개월 후에 프로인트 완전 아주반트 내의 펩티드 또는 접합체를 원래 양의 1/5 내지 1/10으로 다중 부위에 피하로 주사하여 동물을 부스팅시킨다. 7 내지 14일 후, 동물에서 채혈하여, 혈청을 항체 역가에 대해 검정한다. 역가가 정제기에 도달할 때까지 동물을 부스팅시킨다. 특정 실시양태에서, 동물을 동일한 항원의 접합체로 부스팅시키지만, 이것은 상이한 단백질에 접합되고/거나 상이한 가교 시약을 통해 접합된 것이다. 접합체는 또한 재조합 세포 배양에서 단백질 융합체로서 제조될 수 있다. 또한, 명반과 같은 응집제를 적당하게 사용하여 면역 반응을 증진시킨다.

[0190] 2. 모노클로날 항체

[0191] 모노클로날 항체를 문헌 [Kohler et al., Nature, 256:495 (1975)]에 최초로 기재된 하이브리도마 방법을 사용하여 제조할 수 있거나, 또는 재조합 DNA 방법 (예를 들어, 미국 특허 번호 4,816,567 참조)에 의해 제조할 수 있다.

[0192] 하이브리도마 방법에서는, 마우스 또는 다른 적절한 숙주 동물, 예컨대 햄스터를 상기한 바와 같이 면역화시켜서, 면역화에 사용된 단백질에 특이적으로 결합할 항체를 생산하거나 생산할 수 있는 림프구를 유발한다. 대안적으로, 림프구를 시험관내에서 면역화시킬 수 있다. 면역화 후에 림프구를 단리한 후에 적합한 융합제, 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜을 사용하여 골수종 세포주와 융합시켜 하이브리도마 세포를 형성한다 (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp. 59-103 (Academic Press, 1986)).

[0193] 이와 같이 제조된 하이브리도마 세포를 융합되지 않은 모 골수종 세포 (또한, 융합 파트너로도 지칭됨)의 성장 또는 생존을 억제하는 1종 이상의 물질을 함유하는 것이 바람직한 적합한 배양 배지에 시딩하여 성장시킨다. 예를 들어, 모 골수종 세포에 효소 하이포크산틴 구아닌 포스포리보실 트랜스퍼라제 (HGPRT 또는 HPRT)가 결여되어 있는 경우, 하이브리도마를 위한 선택 배양 배지는 전형적으로 HGPRT-결핍 세포의 성장을 방지하는 물질인 하이포크산틴, 아미노프테린 및 티미딘을 포함할 것이다 (HAT 배지).

[0194] 특정 실시양태에서, 융합 파트너 골수종 세포는 효율적으로 융합되고, 선택된 항체-생산 세포에 의한 항체의 안정한 고수준 생산을 지지하는 세포이며, 융합되지 않은 모 세포에 대해 선택하는 선택 배지에 감수성이 있는 것들이다. 특정 실시양태에서, 골수종 세포주는 뮌헨 골수종 세포주, 예컨대 소크 인스티튜트 셀 디스트리뷰션 센터(Salk Institute Cell Distribution Center, 미국 캘리포니아주 샌디에고)로부터 입수가 가능한 MOPC-21 및 MPC-11 마우스 종양으로부터 유래된 것, 및 SP-2 및 유도체, 예를 들어 아메리칸 타입 컬처 콜렉션(American Type Culture Collection, 미국 버지니아주 마나사스)로부터 입수가 가능한 X63-Ag8-653 세포이다. 인간 골수종 및 마우스-인간 이종골수종 세포주가 또한 인간 모노클로날 항체 생산에 대해 기재되었다 (Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984); 및 Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)).

[0195] 하이브리도마 세포가 성장되는 배양 배지를 항원에 대해 지시된 모노클로날 항체의 생산에 대해 검정한다. 특정 실시양태에서, 하이브리도마 세포에 의해 생산되는 모노클로날 항체의 결합 특이성을 면역침전 또는 시험관내 결합 검정, 예컨대 방사성면역검정 (RIA) 또는 효소-연결된 면역흡착 검정 (ELISA)에 의해 결정한다.

[0196] 모노클로날 항체의 결합 친화도는, 예를 들어 문헌 [Munson et al., Anal. Biochem., 107:220 (1980)]에 기재된 스캐차드 분석으로 결정할 수 있다. 일단 목적하는 특이성, 친화도 및/또는 활성을 갖는 항체를 생산하는 하이브리도마 세포가 확인되면, 희석 절차를 제한하여 서브클로닝하고 표준 방법으로 배양할 수 있다 (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp. 59-103 (Academic Press, 1986)). 이러한 목적에 적합한 배양 배지는, 예를 들어 D-MEM 또는 RPMI-1640 배지를 포함한다. 추가로, 예를 들어 하이브리도마 세포를 마우스에게 i.p. 주사함으로써 상기 하이브리도마 세포를 동물에서 복수 종양으로서 생체내 성장시킬 수 있다. 서브클론에 의해 분비된 모노클로날 항체는 통상적인 항체 정제 절차, 예를 들어 친화성 크로마토그래피 (예를 들어, 단백질 A 또는 단백질 G-세파로스의 사용) 또는 이온-교환 크로마토그래피, 히드록실아파타이트 크로마토그래피, 겔 전기영동, 투석 등에 의해 배양 배지, 복수액 또는 혈청으로부터 적당하게 분리된다.



- [0197] 모노클로날 항체를 코딩하는 DNA는 통상적인 절차를 사용하여 (예를 들어, 무린 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 사용함으로써) 용이하게 분리 및 서열분석된다. 하이브리도마 세포는 이러한 DNA의 공급원으로서의 역할을 한다. 일단 분리되면, DNA를 발현 벡터 내로 넣을 수 있고, 이후에 이를 달리 항체 단백질을 생산하지 않는 숙주 세포, 예컨대 이. 콜라이(*E. coli*) 세포, 원숭이 COS 세포, 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포 또는 골수종 세포 내로 형질감염시켜, 재조합 숙주 세포에서의 모노클로날 항체의 합성을 달성한다. 항체를 코딩하는 DNA의 박테리아에서의 재조합 발현에 대한 종설 논문은 문헌 [Skerra et al., Curr. Opinion in Immunol., 5:256-262 (1993) 및 Pluckthun, Immunol. Revs. 130:151-188 (1992)]을 포함한다.
- [0198] 추가 실시양태에서, 모노클로날 항체 또는 항체 단편을 문헌 [McCafferty et al., Nature, 348:552-554 (1990)]에 기재된 기술을 사용하여 생성된 항체 파지 라이브러리로부터 분리할 수 있다. 문헌 [Clackson et al., Nature, 352: 624-628 (1991) 및 Marks et al., J. Mol. Biol., 222: 581-597 (1991)]에는 파지 라이브러리를 사용하여 무린 및 인간 항체를 각각 분리시키는 방법이 기재되어 있다. 후속 공개 문헌에는 섀 셔플링 (Marks et al., Bio/Technology, 10:779-783 (1992))에 의한 고 친화도 (nM 범위) 인간 항체의 생산, 뿐만 아니라 매우 큰 파지 라이브러리를 구축하기 위한 전략으로서 조합 감염 및 생체내 재조합 (Waterhouse et al., Nuc. Acids. Res. 21:2265-2266 (1993))이 기재되어 있다. 따라서, 이러한 기술들은 모노클로날 항체의 분리를 위한 전통적인 모노클로날 항체 하이브리도마 기술에 대한 실행가능한 대안이다.
- [0199] 항체를 코딩하는 DNA는, 예를 들어 상동 무린 서열을 인간 중쇄 및 경쇄 불변 도메인 (CH 및 CL) 서열로 치환시키거나 (미국 특허 번호 4,816,567 및 문헌 [Morrison, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851 (1984)]), 또는 이뮤노글로불린 코딩 서열에 비-이뮤노글로불린 폴리펩티드 (이중 폴리펩티드)에 대한 코딩 서열의 전부 또는 일부를 융합시켜서 변형시킴으로써 키메라 또는 융합 항체 폴리펩티드를 생산할 수 있다. 비-이뮤노글로불린 폴리펩티드 서열은 항체의 불변 도메인을 치환시킬 수 있거나, 또는 이것이 항체의 하나의 항원-결합 부위의 가변 도메인을 치환시켜 항원에 대한 특이성을 갖는 하나의 항원-결합 부위 및 상이한 항원에 대한 특이성을 갖는 또 다른 항원-결합 부위를 포함하는 키메라 2가 항체를 생성시킨다.
- [0200] 예시적인 항-베타7 항체는 Fib504, Fib 21, 22, 27, 30 (Tidswell, M. J Immunol. 1997 Aug 1;159(3):1497-505) 또는 그의 인간화 유도체이다. Fib504의 인간화 항체는 미국 특허 공개 번호 20060093601 (미국 특허 번호 7,528,236으로 등록됨; 그의 내용은 전문이 참조로 포함됨)에 상세하게 개시되어 있다 (또한, 하기 논의 참조).
- [0201] 3. 인간 및 인간화 항체
- [0202] 본 발명의 항-베타7 인테그린 항체는 인간화 항체 또는 인간 항체를 추가로 포함할 수 있다. 비-인간 (예를 들어, 무린) 항체의 인간화 형태는 비-인간 이뮤노글로불린에서 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 이뮤노글로불린, 이뮤노글로불린 쇄 또는 그의 단편 (예컨대, Fv, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> 또는 항체의 다른 항원-결합 하위서열)이다. 인간화 항체는 인간 이뮤노글로불린 (수용자 항체)을 포함하며, 여기서 수용자의 상보성 결정 영역 (CDR)로부터의 잔기는 목적하는 특이성, 친화도 및 능력을 갖는 마우스, 래트 또는 토끼와 같은 비-인간 종 (공여자 항체)의 CDR로부터의 잔기로 대체된다. 일부 경우에, 인간 이뮤노글로불린의 Fv 프레임워크 잔기는 상응하는 비-인간 잔기로 대체된다. 또한, 인간화 항체는 수용자 항체 또는 도입된 CDR 또는 프레임워크 서열 어느 것에서도 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 일반적으로, 인간화 항체는 적어도 1개, 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이며, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역은 비-인간 이뮤노글로불린의 것에 상응하고 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역은 인간 이뮤노글로불린 컨센서스 서열의 것이다. 인간화 항체는 최적으로는 이뮤노글로불린 불변 영역 (Fc), 전형적으로 인간 이뮤노글로불린의 불변 영역의 적어도 일부분을 포함할 것이다 [Jones et al., Nature, 321:522-525 (1986); Riechmann et al., Nature, 332:323-329 (1988); 및 Presta, Curr. Op. Struct. Biol., 2:593-596 (1992)].
- [0203] 비-인간 항체를 인간화하는 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 일반적으로, 인간화 항체는 비-인간 공급원으로부터 도입된 1개 이상의 아미노산 잔기를 갖는다. 이들 비-인간 아미노산 잔기는 종종 "유입" 잔기라 지칭되고, 전형적으로는 "유입" 가변 도메인으로부터의 것이다. 인간화는 본질적으로, 인간 항체의 상응하는 서열을 설치류 CDR 또는 CDR 서열로 치환함으로써, 윈터(Winter) 및 동료들의 방법 [Jones et al., Nature, 321:522-525 (1986); Riechmann et al., Nature, 332:323-327 (1988); Verhoeyen et al., Science, 239:1534-1536 (1988)]에 따라 수행할 수 있다. 따라서, 이러한 "인간화" 항체는 무손상 인간 가변 도메인보다 실질적으로 더 적은 서열이 비-인간 종으로부터의 상응하는 서열로 치환된 키메라 항체 (미국 특허 번호

4,816,567)이다. 실제로, 전형적으로 인간화 항체는 일부 CDR 잔기 및 가능하게는 일부 FR 잔기가 설치류 항체의 유사한 부위로부터의 잔기로 치환된 인간 항체이다. 인간화 항체의 제조에 사용되는 인간 가변 도메인 경쇄 및 중쇄 둘 다의 선택은 항체가 인간 치료용으로 의도된 경우에 항원성 및 HAMA 반응 (인간 항-마우스 항체)을 감소시키는데 매우 중요하다. 소위 "최적-맞춤" 방법에 따라, 설치류 항체의 가변 도메인의 서열을 공지된 인간 가변 도메인 서열의 전체 라이브러리에 대해 스크리닝한다. 설치류의 서열에 가장 근접한 인간 V 도메인 서열을 확인하고, 그 내에 있는 인간 프레임워크 영역 (FR)을 인간화 항체에 대해 허용한다 (Sims et al., J. Immunol. 151:2296 (1993); Chothia et al., J. Mol. Biol., 196:901 (1987)). 또 다른 방법은 경쇄 또는 중쇄의 특정한 하위군의 모든 인간 항체의 컨센서스 서열로부터 유래된 특정한 프레임워크 영역을 사용한다. 동일한 프레임워크를 여러 상이한 인간화 항체에 사용할 수 있다 (Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992); Presta et al., J. Immunol. 151:2623 (1993)). 추가로, 항체가 항원에 대해 높은 결합 친화도를 보유하고 다른 유리한 생물학적 특성을 보유하도록 인간화하는 것이 중요하다. 이러한 목적을 달성하기 위해, 특정 실시양태에 따라, 인간화 항체는 모 서열 및 인간화 서열의 3차원 모델을 사용하는 모 서열 및 다양한 개념적 인간화 생성물의 분석 과정에 의해 제조된다. 3차원 이뮤노글로불린 모델은 통상적으로 입수가능하고, 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 친숙하다. 선택된 후보 이뮤노글로불린 서열의 가능한 3차원 형태 구조를 예시하고 디스플레이하는 컴퓨터 프로그램이 이용가능하다. 이들 디스플레이들의 정밀검사로 후보 이뮤노글로불린 서열의 기능화에 있어서 잔기들의 가능한 역할을 분석할 수 있으며, 즉, 자신의 항원에 결합하는 후보 이뮤노글로불린의 능력에 영향을 미치는 잔기를 분석할 수 있다. 이러한 방식으로, 목적하는 항체 특징, 예컨대 표적 항원(들)에 대한 증가된 친화도가 달성되도록 수용자 및 유입 서열로부터 FR 잔기들을 선택하고 조합시킬 수 있다. 일반적으로, 항원 결합에 대한 영향에는 초가변 영역 잔기가 직접적이고 가장 실질적으로 관여한다.

[0204] 다양한 형태의 인간화 항-베타7 인테그린 항체가 고려된다. 예를 들어 인간화 항체는 면역접합체를 생성하기 위해 1종 이상의 세포독성체(들)와 임의로 접합된 항체 단편, 예컨대 Fab일 수 있다. 대안적으로, 인간화 항체는 무손상 항체, 예컨대 무손상 IgG1 항체일 수 있다.

[0205] 예시적인 인간화 항-베�타7 항체는 인테그린 서브유닛  $\beta 7$ 에 대한 인간화 모노클로날 항체이고 래트 항-마우스/인간 모노클로날 항체 FIB504로부터 유래된 rhuMAb 베타7을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다 (Andrew et al., 1994 J Immunol 1994;153:3847-61). 그것은 인간 이뮤노글로불린 IgG1 중쇄 및  $\kappa 1$  경쇄 프레임워크를 포함하도록 조작되었고, 차이니즈 햄스터 난소 세포에 의해 생산된다. 이러한 항체는 위장관에서의 림프구 하위세트의 트래핑 및 체류를 조절하고, 염증성 장 질환 (IBD), 예컨대 대양성 결장염 (UC) 및 크론병 (CD)에 관여하는 2개의 인테그린인  $\alpha 4\beta 7$  (Holzmann et al. 1989 Cell, 1989;56:37-46; Hu et al., 1992, Proc Natl Acad Sci USA 1992;89:8254-8) 및  $\alpha E\beta 7$  (Cepek et al., 1993 J Immunol 1993;150:3459-70)에 결합한다. rhuMAb 베타7은  $\alpha 4\beta 7$ 과 그의 리간드 (점막 어드레신 세포 부착 분자-1 [MAdCAM-1], 혈관 세포 부착 분자 [VCAM]-1, 및 피브로넥틴) 사이의 세포성 상호작용, 뿐만 아니라  $\alpha E\beta 7$ 과 그의 리간드 (E-카드헤린) 사이의 상호작용의 강력한 시험관내 차단제이다. rhuMAb 베타7은 토끼, 시노물구스 원숭이 및 인간으로부터의 림프구 상의  $\beta 7$ 에 유사한 고친화도로 가역적으로 결합한다. 그것은 또한 마우스  $\beta 7$ 에 고친화도로 결합한다. rhuMAb 베타7 및 그의 변이체의 아미노산 서열, 뿐만 아니라 제조 및 사용은, 예를 들어 미국 특허 출원 공개 번호 20060093601 (미국 특허 번호 7,528,236으로 등록됨; 그 내용은 전문이 포함됨)에 상세하게 개시되어 있다.

[0206] 도 1A 및 1B는 하기에 대한 가변 경쇄 및 중쇄의 서열의 정렬을 도시한다: 경쇄 인간 하위군 카파 I 컨센서스 서열 (도 1A, 서열식별번호: 12), 중쇄 인간 하위군 III 컨센서스 서열 (도 1B, 서열식별번호: 13), 래트 항-마우스 베타7 항체 (Fib504) 가변 경쇄 (도 1A, 서열식별번호: 10), 래트 항-마우스 베타7 항체 (Fib504) 가변 중쇄 (도 1B, 서열식별번호: 11), 및 인간화 항체 변이체: 인간화 hu504K 그라프트 가변 경쇄 (도 1A, 서열식별번호: 14), 인간화 hu504K 그라프트 가변 중쇄 (도 1B, 서열식별번호: 15), 변이체 hu504-5, hu504-16 및 hu504-32 (인간화 hu504K 그라프트로부터의 아미노산 변이가 도 1A에 나타나 있음) (경쇄) (출현 순서대로 각각 서열식별번호: 22-24) 및 변이체 hu504-5, hu504-16 및 hu504-32 (도 1B) (중쇄) (서열식별번호: 25).

[0207] 4. 인간 항체

[0208] 인간화에 대한 대안으로서 인간 항체를 생성할 수 있다. 예를 들어, 면역화시, 내인성 이뮤노글로불린 생산의 부재 하에 인간 항체의 전체 레퍼토리를 생산할 수 있는 트랜스제닉 동물 (예를 들어, 마우스)을 생산하는 것이 현재 가능하다. 예를 들어, 키메라 및 배선 돌연변이 마우스에서 항체 중쇄 연결 영역 ( $J_H$ ) 유전자를 동형접합 결실시키면 내인성 항체의 생산이 완전히 억제된다는 것이 기재되었다. 인간 배선 이뮤노글로불린 유전자 어레

이를 이러한 배선 돌연변이체 마우스에게 전달하면, 항원 펩티드시에 인간 항체가 생산될 것이다. 예를 들어, 문헌 [Jakobovits et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:2551 (1993); Jakobovits et al., Nature, 362:255-258 (1993); Bruggemann et al., Year in Immuno. 7:33 (1993)]; 및 미국 특허 번호 5,545,806, 5,569,825, 5,591,669 (모두 젠팜(GenPharm)); 미국 특허 번호 5,545,807; 및 WO 97/17852를 참조한다.

[0209] 대안적으로, 파지 디스플레이 기술 (McCafferty et al., Nature 348:552-553 [1990])을 사용하여, 비면역화된 공여자로부터의 이뮤노글로불린 가변 (V) 도메인 유전자 레퍼토리오로부터 인간 항체 및 항체 단편을 시험관내에서 생산할 수 있다. 이러한 기술에 따라, 항체 V 도메인 유전자를 필라멘트형 박테리오파지, 예컨대 M13 또는 fd의 주요 또는 소수의 코트 단백질 유전자로 인-프레임으로 클로닝하고, 파지 입자의 표면 상에 기능적 항체 단편으로서 디스플레이한다. 필라멘트형 입자는 파지 게놈의 단일-가닥 DNA 카피를 함유하기 때문에, 항체의 기능적 특성을 기초로 한 선택에 의해 이러한 특성을 나타내는 항체를 코딩하는 유전자도 선택된다. 따라서, 파지는 B-세포의 특성의 일부를 모방한다. 파지 디스플레이는 다양한 포맷으로 수행될 수 있고, 예를 들어 문헌 [Johnson, Kevin S. and Chiswell, David J., Current Opinion in Structural Biology 3:564-571 (1993)]에서 검토된다. V-유전자 절편의 여러 공급원이 파지 디스플레이에 사용될 수 있다. 문헌 [Clackson et al., Nature, 352:624-628(1991)]에서는 면역화된 마우스의 비장으로부터 유래된 V 유전자의 소형 무작위 조합 라이브러리로부터 항-옥사졸론 항체의 다양한 어레이를 단리하였다. 비면역화된 인간 공여자로부터의 V 유전자의 레퍼토리가 구축될 수 있고, 항원 (자기-항원 포함)의 다양한 어레이에 대한 항체는 본질적으로 문헌 [Marks et al., J. Mol. Biol. 222:581-597 (1991), 또는 Griffith et al., EMBO J. 12:725-734 (1993)]에 기재된 기술에 따라 단리될 수 있다. 또한, 미국 특허 번호 5,565,332 및 5,573,905를 참조한다.

[0210] 상기 논의된 바와 같이, 인간 항체는 또한 시험관내 활성화된 B 세포에 의해 생성될 수 있다 (미국 특허 번호 5,567,610 및 5,229,275 참조).

## [0211] 5. 항체 단편

[0212] 특정 상황에서는, 전체 항체가 아닌 항체 단편을 사용하는 것이 유리하다. 단편의 크기가 작을수록 제거가 신속하고, 고형 종양에 대한 접근을 개선시킬 수 있다.

[0213] 항체 단편의 생산을 위하여 다양한 기술이 개발되어 왔다. 전통적으로, 이들 단편은 무손상 항체의 단백질분해적 소화를 통해 유래되었다 (예를 들어, 문헌 [Morimoto et al., Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24:107-117 (1992) 및 Brennan et al., Science, 229:81 (1985)] 참조). 그러나, 현재 이들 단편들은 재조합 숙주 세포에 의해 직접적으로 생산될 수 있다. 예를 들어, 상기 논의된 항체 파지 라이브러리로부터 항체 단편이 단리될 수 있다. 대안적으로, Fab'-SH 단편은 이. 콜라이로부터 직접 회수되고 화학적으로 커플링되어 F(ab')<sub>2</sub> 단편을 형성할 수 있다 (Carter et al., Bio/Technology 10:163-167 (1992)). 또 다른 접근법에 따라, F(ab')<sub>2</sub> 단편은 재조합 숙주 세포 배양물로부터 직접 단리될 수 있다. 항체 단편의 생산을 위한 다른 기술들이 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다. 다른 실시양태에서, 선택된 항체는 단일쇄 Fv 단편 (scFv)이다. WO 93/16185; 미국 특허 번호 5,571,894; 및 미국 특허 번호 5,587,458을 참조한다. 항체 단편은 또한 예를 들어 미국 특허 번호 5,641,870에 기재된 바와 같은 "선형 항체"일 수 있다. 이러한 선형 항체 단편은 단일특이적 또는 이중특이적일 수 있다.

## [0214] 6. 이중특이적 항체

[0215] 이중특이적 항체는 적어도 2개의 상이한 에피토프에 대해 결합 특이성을 갖는 항체이다. 예시적인 이중특이적 항체는 본원에 기재된 바와 같은 베타7 인테그린의 2개의 상이한 에피토프에 결합할 수 있다. 이러한 다른 항체는 TAT 결합 부위를 또 다른 단백질에 대한 결합 부위와 조합시킬 수 있다. 대안적으로, 항-베타7 인테그린 아암을, TAT-발현 세포에 대한 세포성 방어 메카니즘에 초점을 맞추고 국제화되도록, 백혈구 상의 촉발 분자, 예컨대 T-세포 수용체 분자 (예를 들어, CD3), 또는 IgG에 대한 Fc 수용체 (Fc.γ.R), 예를 들어 Fc.γRI (CD64), Fc.γRII (CD32) 및 Fc.γ.RIII (CD16)에 결합하는 아암과 조합시킬 수 있다. 또한, 이중특이적 항체를 사용하여 세포독성제를, TAT를 발현하는 세포에 국제화시킬 수도 있다. 이들 항체는 TAT-결합 아암, 및 세포독성제 (예를 들어, 사포린, 항인터페론-α, 빈카 알칼로이드, 리신 A 쇄, 메토크세이트 또는 방사성 동위원소 합텐)에 결합하는 아암을 포함한다. 이중특이적 항체는 전장 항체 또는 항체 단편 (예를 들어, F(ab')<sub>2</sub> 이중특이적 항체)으로 제조될 수 있다.

[0216] 이중특이적 항체의 제조 방법이 관련 기술분야에 공지되어 있다. 전통적인 전장 이중특이적 항체의 생산은 2개의 이뮤노글로불린 중쇄-경쇄 쌍을 공-발현시키는 것을 기초로 하며, 상기 2개의 쇄는 상이한 특이성을 갖는다

(Millstein et al., Nature 305:537-539 (1983)). 이뮤노글로불린 중쇄 및 경쇄의 무작위 배열로 인해, 이들 하이브리도마 (퀴드로마)는 10종의 상이한 항체 분자의 잠재적 혼합물을 생산하고, 이중 1종만이 올바른 이중특이적 구조를 갖는다. 통상적으로 친화성 크로마토그래피 단계에 의해 이루어지는 올바른 분자의 정제는 다소 번거롭고, 산물 수율이 낮다. 유사한 절차가 WO 93/08829, 및 문헌 [Traunecker et al., EMBO J. 10:3655-3659 (1991)]에 개시되어 있다.

[0217] 다른 접근법에 따르면, 목적하는 결합 특이성 (항체-항원 결합 부위)을 갖는 항체 가변 도메인이 이뮤노글로불린 불변 도메인 서열에 융합된다. 특정 실시양태에서, 융합은 적어도 하나의  $C_{H2}$  및  $C_{H3}$  영역을 포함하는 Ig 중쇄 불변 도메인에 의한다. 특정 실시양태에서, 경쇄 결합에 필요한 부위를 함유하는 제1 중쇄 불변 영역 ( $C_{H1}$ )이 융합체 중 적어도 1개에 존재한다. 이뮤노글로불린 중쇄 융합체 및 목적하는 경우에 이뮤노글로불린 경쇄를 코딩하는 DNA를 개별 발현 벡터 내로 삽입하고, 적합한 숙주 세포 내로 공-형질감염시킨다. 이는, 구축에 사용된 3종의 폴리펩티드 쇠의 동일하지 않은 비가 목적하는 이중특이적 항체의 최적 수율을 제공하는 실시양태에서 3종의 폴리펩티드 단편의 상호 비를 조정하는데 있어서 큰 유연성을 제공한다. 그러나, 동일한 비의 적어도 2종의 폴리펩티드 쇠의 발현이 고수율을 유도하거나 상기 비가 목적하는 쇠 조합의 수율에 유의한 영향을 갖지 않는 경우에는 단일 발현 벡터 내에 2종 또는 모든 3종의 폴리펩티드 쇠의 코딩 서열을 삽입하는 것이 가능하다.

[0218] 특정 실시양태에서, 이중특이적 항체는 한쪽 아암 내 제1 결합 특이성을 갖는 하이브리드 이뮤노글로불린 중쇄, 및 다른쪽 아암 내 하이브리드 이뮤노글로불린 중쇄-경쇄 쌍 (제2 결합 특이성 제공)으로 구성된다. 이중특이적 분자의 한쪽 절반에만 이뮤노글로불린 경쇄가 존재하는 것이 용이한 분리 방식을 제공하기 때문에, 이러한 비대칭 구조는 원치않는 이뮤노글로불린 쇠 조합으로부터의 목적하는 이중특이적 화합물의 분리를 용이하게 한다는 것이 발견되었다. 이러한 접근법이 WO 94/04690에 개시되어 있다. 이중특이적 항체를 생성하는 것에 관한 추가의 상세내용에 대해서는, 예를 들어 문헌 [Suresh et al., Methods in Enzymology 121:210 (1986)]을 참조한다.

[0219] 미국 특허 번호 5,731,168에 기재된 또 다른 접근법에 따라, 한 쌍의 항체 분자들 사이의 계면은 제조할 세포 배양물로부터 회수되는 이중이량체의 백분율을 최대화하도록 조작될 수 있다. 특정 실시양태에서, 계면은  $C_{H3}$  도메인의 적어도 일부를 포함한다. 이러한 방법에서, 제1 항체 분자의 계면로부터의 1개 이상의 작은 아미노산 측쇄가 보다 큰 측쇄 (예를 들어, 티로신 또는 트립토판)로 대체된다. 큰 아미노산 측쇄를 보다 작은 아미노산 측쇄 (예를 들어, 알라닌 또는 트레오닌)로 대체함으로써 큰 측쇄(들)에 대한 동일하거나 유사한 크기의 보상 "공동"이 제2 항체 분자의 계면 상에 생성된다. 이는 동종이량체와 같은 다른 원치않는 최종-산물에 비해 이중이량체의 수율을 증가시키는 메커니즘을 제공한다.

[0220] 이중특이적 항체는 가교된 또는 "이중접합체" 항체를 포함한다. 예를 들어, 이중접합체 내의 항체들 중 하나는 아비딘에 커플링되고, 다른 하나는 비오틴에 커플링될 수 있다. 이러한 항체는, 예를 들어 면역계 세포의 원치않는 세포로의 표적화 (미국 특허 번호 4,676,980) 및 HIV 감염의 치료 (WO 91/00360, WO 92/200373, 및 EP 03089)를 위해 제안되었다. 임의의 편리한 가교 방법을 사용하여 이중접합체 항체를 제조할 수 있다. 적합한 가교제가 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 수많은 가교 기술과 함께 미국 특허 번호 4,676,980에 개시되어 있다.

[0221] 항체 단편으로부터 이중특이적 항체를 생성시키는 기술이 또한 문헌에 기재되었다. 예를 들어, 화학적 연결을 사용하여 이중특이적 항체를 제조할 수 있다. 문헌 [Brennan et al., Science 229:81 (1985)]에는 무손상 항체를 단백질 분해적으로 절단하여  $F(ab')_2$  단편을 생성시키는 과정이 기재되어 있다. 이들 단편은 인접 디티올을 안정화시키고 분자간 디설피드 형성을 방지하기 위해 디티올 착화제인 아비산나트륨의 존재 하에 환원된다. 그 후 생성된  $Fab'$  단편을 티오니트로벤조에이트 (TNB) 유도체로 전환시킨다. 그 후  $Fab'$ -TNB 유도체 중 하나를 메르캅토에틸아민으로의 환원에 의해  $Fab'$ -티올로 재전환시키고 등몰량의 다른  $Fab'$ -TNB 유도체와 혼합하여 이중특이적 항체를 형성시킨다. 생산된 이중특이적 항체는 효소의 선택적 고정화를 위한 작용제로서 사용될 수 있다.

[0222] 최근의 진보는 이중특이적 항체를 형성하도록 화학적으로 커플링될 수 있는, 이. 콜라이로부터의  $Fab'$ -SH 단편의 직접 회수를 용이하게 하였다. 문헌 [Shalaby et al., J. Exp. Med. 175: 217-225 (1992)]에는 완전 인간화 이중특이적 항체  $F(ab')_2$  분자의 생산이 기재되어 있다. 각각의  $Fab'$  단편을 이. 콜라이로부터 개별적으로 분비시키고, 이중특이적 항체를 형성하도록 시험관내 유도 화학적 커플링을 실시하였다. 이와 같이 형성된 이



중특이적 항체는 ErbB2 수용체를 과다발현하는 세포 및 정상 인간 T 세포에 결합할 수 있을 뿐만 아니라, 인간 유방 종양 표적에 대한 인간 세포독성 림프구의 용해 활성을 촉발할 수도 있었다. 재조합 세포 배양물로부터 직접적으로 이중특이적 항체 단편을 제조 및 단리하기 위한 다양한 기술이 또한 기재되었다. 예를 들어, 류신 지퍼를 사용하여 이중특이적 항체가 생산되었다. 문헌 [Kostelny et al., J. Immunol. 148(5):1547-1553 (1992)]. Fos 및 Jun 단백질로부터의 류신 지퍼 펩티드가 2개의 상이한 항체의 Fab' 부분에 유전자 융합에 의해 연결되었다. 항체 동종이량체가 힌지 영역에서 환원되어 단량체가 형성된 후, 다시 산화되어 항체 이종이량체가 형성되었다. 이러한 방법은 항체 동종이량체의 생산에 또한 이용될 수 있다. 문헌 [Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993)]에 기재된 "디아바디" 기술은 이중특이적 항체 단편의 제조를 위한 대안적인 메커니즘을 제공한다. 이 단편은 동일한쇄 상의 2개의 도메인 사이의 쌍형성을 허용하기에는 너무 짧은 링커에 의해  $V_L$ 에 연결된  $V_H$ 를 포함한다. 따라서, 하나의 단편의  $V_H$  및  $V_L$  도메인을 또 다른 단편의 상보적  $V_L$  및  $V_H$  도메인과 쌍형성하도록 강제되어, 2개의 항원-결합 부위가 형성된다. 단일-쇄 Fv (sFv) 이량체를 사용하여 이중특이적 항체 단편을 제조하기 위한 또 다른 전략이 또한 보고되었다. 문헌 [Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994)]을 참조한다.

[0223] 2가를 초과하는 항체가 고려된다. 예를 들어, 삼중특이적 항체를 제조할 수 있다. 문헌 [Tutt et al., J. Immunol. 147:60 (1991)].

[0224] 7. 이중접합체 항체

[0225] 이중접합체 항체가 또한 본 발명의 범주 내에 있다. 이중접합체 항체는 2개의 공유 연결된 항체로 구성된다. 이러한 항체는 예를 들어 면역계 세포의 원치않는 세포로의 표적화 [미국 특허 번호 4,676,980] 및 HIV 감염의 치료 [WO 91/00360; WO 92/200373; EP 03089]를 위해 제안되었다. 항체는 가교제를 수반하는 것을 포함한, 합성 단백질 화학에 공지된 방법을 사용하여 시험관내 제조될 수 있는 것으로 고려된다. 예를 들어, 디설피드 교환 반응을 사용하거나 티오에테르 결합을 형성하여 면역독소를 구축할 수 있다. 이러한 목적에 적합한 시약의 예는 이미노티올레이트 및 메틸-4-메르캅토부티르이미데이트, 및 예를 들어 미국 특허 번호 4,676,980에 개시된 것을 포함한다.

[0226] 8. 다가 항체

[0227] 다가 항체는 항체가 결합하는 항원을 발현하는 세포에 의해 2가 항체보다 더 신속하게 내재화 (및/또는 이화)될 수 있다. 본 발명의 항체는 3개 이상의 항원 결합 부위를 갖는 다가 항체 (IgM 부류 이외의 것) (예를 들어 4가 항체)일 수 있고, 이는 항체의 폴리펩티드쇄를 코딩하는 핵산의 재조합 발현에 의해 용이하게 생성될 수 있다. 다가 항체는 이량체화 도메인 및 3개 이상의 항원 결합 부위를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 이량체화 도메인은 Fc 영역 또는 힌지 영역을 포함한다 (또는 이것으로 이루어진다). 이러한 시나리오에서, 항체는 Fc 영역, 및 Fc 영역의 아미노-말단에 3개 이상의 항원 결합 부위를 포함할 것이다. 특정 실시양태에서, 본원에서의 다가 항체는 3 내지 약 8개, 그러나 전형적으로 4개의 항원 결합 부위를 포함한다 (또는 이것으로 이루어진다). 다가 항체는 적어도 1개의 폴리펩티드쇄 (및 전형적으로 2개의 폴리펩티드쇄)를 포함하고, 여기서 상기 폴리펩티드쇄(들)는 2개 이상의 가변 도메인을 포함한다. 예를 들어, 폴리펩티드쇄(들)는  $VD1-(X1)_n-VD2-(X2)_n-Fc$  (여기서,  $VD1$ 은 제1 가변 도메인이고,  $VD2$ 는 제2 가변 도메인이고,  $Fc$ 는 Fc 영역의 1개 폴리펩티드쇄이고,  $X1$  및  $X2$ 는 아미노산 또는 폴리펩티드를 나타내고,  $n$ 은 0 또는 1임)을 포함할 수 있다. 예를 들어, 폴리펩티드쇄(들)는  $VH-CH1$ -가요성 링커- $VH-CH1-Fc$  영역쇄; 또는  $VH-CH1-VH-CH1-Fc$  영역쇄를 포함할 수 있다. 본원에서 다가 항체는 적어도 2개 (및 전형적으로 4개)의 경쇄 가변 도메인 폴리펩티드를 추가로 포함할 수 있다. 본원에서의 다가 항체는, 예를 들어 약 2 내지 약 8개의 경쇄 가변 도메인 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 본원에서 고려되는 경쇄 가변 도메인 폴리펩티드는 경쇄 가변 도메인을 포함하고, 임의로 CL 도메인을 추가로 포함한다.

[0228] 9. 이펙터 기능 조작

[0229] 본 발명의 항체를, 예를 들어 항체의 항원-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC) 및/또는 보체 의존성 세포독성 (CDC)이 증진되도록 이펙터 기능과 관련하여 변형시키는 것이 바람직할 수 있다. 이것은 항체의 Fc 영역에 1개 이상의 아미노산 치환을 도입함으로써 달성될 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 시스테인 잔기(들)를 Fc 영역 내에 도입하여, 이러한 영역 내에서의 쇠간 디설피드 결합 형성을 허용할 수 있다. 이와 같이 생성된 동종이량체 항체는 개선된 내재화 능력 및/또는 증가된 보체-매개 세포 사멸 및 항체-의존성 세포성 세포독성 (ADCC)을 가질 수 있다. 문헌 [Caron et al., J. Exp Med. 176:1191-1195 (1992) 및 Shopes, B. J. Immunol.



148:2918-2922 (1992)]을 참조한다. 항종양 활성이 증진된 동종이량체 항체는 문헌 [Wolff et al., Cancer Research 53:2560-2565 (1993)]에 기재된 바와 같이 이중이관능성 가교제를 사용하여 제조할 수 있다. 대안적으로, 이중 Fc 영역을 갖는 항체를 조작할 수 있고, 이에 의해 보체 용해 및 ADCC 능력이 증진될 수 있다. 문헌 [Stevenson et al., Anti-Cancer Drug Design 3:219-230 (1989)]을 참조한다. 항체의 혈청 반감기를 증가시키기 위해, 예를 들어 미국 특허 번호 5,739,277에 기재된 바와 같이 셀비지 수용체 결합 에피토프를 항체 (특히, 항체 단편) 내로 혼입시킬 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "셀비지 수용체 결합 에피토프"는 IgG 분자 (예를 들어, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> 또는 IgG<sub>4</sub>)의 생체내 혈청 반감기 증가를 담당하는 상기 IgG 분자의 Fc 영역의 에피토프를 지칭한다.

[0230] 10. 면역접합체

[0231] 본원의 방법에 사용된 길항제 또는 항체는 또 다른 작용제, 예를 들어 세포독성제 또는 시토킨에 임의로 접합된다.

[0232] 접합은 통상적으로, 공유 연결을 통해 달성될 것이며, 그의 정확한 성질은 인테그린 베타7 길항제 또는 항체 폴리펩티드 상의 연결 부위 및 표적화 분자에 의해 결정될 것이다. 전형적으로, 비-펩티드성 작용제는 화학적 변형에 의해 항체 상으로 도입된 그의 아미노산 측쇄, 탄수화물 쇄 또는 반응성 기를 통해 항-베타7 인테그린 항체와 접합시키는 링커를 부가함으로써 변형시킨다. 예를 들어, 약물은 리신 잔기의 ε-아미노 기를 통해, 유리 α-아미노 기를 통해, 시스테인 잔기로의 디설피드 교환에 의해, 또는 과아이오딘산을 사용하여 탄수화물 쇄 중의 1,2-디올을 산화시킴으로써 부착시켜, 쉬프(Schiff)-염기 연결을 통해 다양한 친핵체를 함유하는 약물의 부착을 허용할 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 4,256,833을 참조한다. 단백질 개질제는 아민-반응성 시약 (예를 들어, 반응성 에스테르, 이소티오시아네이트, 알데히드 및 술폰일 할라이드), 티올-반응성 시약 (예를 들어, 할로아세틸 유도체 및 말레이미드), 및 카르복실산-반응성 및 알데히드-반응성 시약을 포함한다. 인테그린 베타7 길항제 또는 항체 폴리펩티드는 이관능성 가교 시약을 사용함으로써 펩티드성 작용제에 공유 연결시킬 수 있다. 이중이관능성 시약이 보다 통상적으로 사용되고 있고, 이는 두가지 상이한 반응성 부분 (예를 들어, 아민-반응성 플러스 티올, 아이오도아세트아미드 또는 말레이미드)의 사용을 통해 두가지 상이한 단백질의 제어 커플링을 허용한다. 이러한 연결제의 사용은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 상기 문헌 [Brinkley] 및 미국 특허 번호 4,671,958을 참조한다. 펩티드성 링커를 또한 사용할 수 있다. 대안적으로, 항-베타7 인테그린 항체 폴리펩티드를, 융합 폴리펩티드의 제조를 통해 펩티드성 모이어티에 연결시킬 수 있다.

[0233] 추가의 이관능성 단백질 커플링제의 예는 N-숙신이미딜-3-(2-피리딜디티올)프로피오네이트 (SPDP), 숙신이미딜-4-(N-말레이미도메틸)시클로헥산-1-카르복실레이트, 이미노티올란 (IT), 이미도에스테르의 이관능성 유도체 (예컨대, 디메틸 아디피메이트 HCL), 활성 에스테르 (예컨대, 디숙신이미딜 수베레이트), 알데히드 (예컨대, 글루타르알데히드), 비스-아지도 화합물 (예컨대, 비스 (p-아지도벤조일)헥산디아민), 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 포함한다.

[0234] 11. 이뮤노리포솜

[0235] 본원에 기재된 항-베타7 인테그린 항체는 또한 이뮤노리포솜으로서 체제화될 수 있다. "리포솜"은 약물을 포유 동물에게 전달하는데 유용한, 다양한 유형의 지질, 인지질 및/또는 계면활성제로 구성된 작은 소포이다. 통상적으로, 리포솜의 성분들은 생물학적 막의 지질 배열과 유사한 이중층 형태로 배열되어 있다. 항체를 함유하는 리포솜은 문헌 [Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:3688 (1985); Hwang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4030 (1980)]; 미국 특허 번호 4,485,045 및 4,544,545; 및 W097/38731 (1997년 10월 23일에 공개됨)에 기재된 것과 같은 관련 기술분야에 공지된 방법에 의해 제조된다. 순환 시간이 증진된 리포솜은 미국 특허 번호 5,013,556에 개시되어 있다.

[0236] 특히 유용한 리포솜은 포스파티딜콜린, 콜레스테롤 및 PEG-유도체화 포스파티딜에탄올아민 (PEG-PE)을 포함하는 지질 조성물을 사용한 역상 증발 방법으로 생성될 수 있다. 한정된 기공 크기의 필터를 통해 리포솜을 압출하여 목적하는 직경을 갖는 리포솜을 생성한다.

[0237] 본 발명의 항체의 Fab' 단편은 디설피드 상호교환 반응을 통해 문헌 [Martin et al. J. Biol. Chem. 257: 286-288 (1982)]에 기재된 바와 같이 리포솜에 접합될 수 있다. 임의로, 화학요법제가 리포솜 내에 함유된다. 문헌 [Gabizon et al., J. National Cancer Inst. 81(19):1484 (1989)]을 참조한다.

- [0238] 12. 벡터, 숙주 세포 및 항체 생산을 위한 재조합 방법
- [0239] 또한, 본원에 기재된 항-베타7 항체 또는 폴리펩티드 작용제를 코딩하는 단리된 핵산, 이러한 핵산을 포함하는 벡터 및 숙주 세포, 및 이러한 항체의 생산을 위한 재조합 기술이 제공된다.
- [0240] 항체의 재조합 생산을 위해, 이를 코딩하는 핵산을 단리하여, 추가의 클로닝 (DNA의 증폭) 또는 발현을 위한 복제가 가능한 벡터 내로 삽입할 수 있다. 또 다른 실시양태에서는, 예를 들어 미국 특허 번호 5,204,244 (본원에 구체적으로 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 상동 재조합에 의해 항체를 생산할 수 있다. 통상적인 절차를 사용하여 (예를 들어, 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 사용함으로써), 모노클로날 항체를 코딩하는 DNA가 용이하게 단리되고 서열분석된다. 다수의 벡터가 이용가능하다. 벡터 성분은 일반적으로 하기 중 1종 이상을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다: 신호 서열, 복제 기점, 1종 이상의 마커 유전자, 인핸서 요소, 프로모터, 및 전사 종결 서열 (예를 들어, 1996년 7월 9일에 등록되고 본원에 구체적으로 참조로 포함된 미국 특허 번호 5,534,615에 기재됨).
- [0241] 본원에서 벡터에 DNA를 클로닝하거나 발현시키기에 적합한 숙주 세포는 상기 기재된 원핵생물, 효모 또는 고등 진핵생물 세포이다. 이러한 목적에 적합한 원핵생물은 유박테리아(eubacteria), 예컨대 그람-음성 또는 그람-양성 유기체, 예를 들어 엔테로박테리아세아에(Enterobacteriaceae), 예컨대 에스케리키아(Escherichia), 예를 들어 이. 콜라이, 엔테로박터(Enterobacter), 에르위니아(Erwinia), 클레브시엘라(Klebsiella), 프로테우스(Proteus), 살모넬라(Salmonella), 예를 들어 살모넬라 티피뮤리움(Salmonella typhimurium), 세라티아(Serratia), 예를 들어 세라티아 마르세스칸스(Serratia marcescans) 및 시겔라(Shigella), 뿐만 아니라 바실루스, 예컨대 비. 서브틸리스(B. subtilis) 및 비. 리케니포르미스(B. licheniformis) (예를 들어, 1989년 4월 12일에 공개된 DD 266,710에 개시된 비. 리케니포르미스 41P), 슈도모나스(Pseudomonas), 예컨대 피. 아에루기노사(P. aeruginosa) 및 스트렙토미세스(Streptomyces)를 포함한다. 한 이. 콜라이 클로닝 숙주는 이. 콜라이 294 (ATCC 31,446)이지만, 다른 균주, 예컨대 이. 콜라이 B, 이. 콜라이 X1776 (ATCC 31,537), 및 이. 콜라이 W3110 (ATCC 27,325)도 적합하다. 이들 예는 제한적이기보다는 예시적이다.
- [0242] 원핵생물뿐만 아니라, 진핵성 미생물, 예컨대 사상 진균 또는 효모가 항-베타7 인테그린 항체-코딩 벡터에 적합한 클로닝 또는 발현 숙주이다. 사카로미세스 세레비시아에(Saccharomyces cerevisiae) 또는 통상적인 제빵 효모는 하등 진핵 숙주 미생물 중에서 가장 통상적으로 사용된다. 그러나, 다수의 다른 속, 종 및 균주, 예컨대 쉬조사카로미세스 폼베(Schizosaccharomyces pombe); 클루이베로미세스(Kluyveromyces) 숙주, 예컨대 예를 들어 케이. 락티스(K. lactis), 케이. 프라길리스(K. fragilis) (ATCC 12,424), 케이. 불가리쿠스(K. bulgaricus) (ATCC 16,045), 케이. 위케라미이(K. wickerhamii) (ATCC 24,178), 케이. 왈티이(K. waltii) (ATCC 56,500), 케이. 드로소필라룸(K. drosophilum) (ATCC 36,906), 케이. 써모톨레란스(K. thermotolerans) 및 케이. 마르시아누스(K. marxianus); 야로위아(yarrowia) (EP 402,226); 피키아 파스토리스(Pichia pastoris) (EP 183,070); 칸디다(Candida); 트리코더마 레에시아(Trichoderma reesia) (EP 244,234); 뉴로스포라 크라사(Neurospora crassa); 슈와니오미세스(Schwanniomyces), 예컨대 슈와니오미세스 옥시덴탈리스(Schwanniomyces occidentalis); 및 사상 진균, 예컨대 예를 들어 뉴로스포라, 페니실리움(Penicillium), 톨리포클라디움(Tolypocladium) 및 아스페르길루스(Aspergillus) 숙주, 예컨대 에이. 니들란스(A. nidulans) 및 에이. 니거(A. niger)가 통상적으로 이용가능하고 본원에서 유용하다.
- [0243] 글리코실화 항-베타7 항체를 발현하기에 적합한 숙주 세포는 다세포 유기체로부터 유래한다. 무척추동물 세포의 예는 식물 및 곤충 세포를 포함한다. 스포도프테라 프루기페르다(Spodoptera frugiperda) (뽕기벌레), 아에데스 아에집티(Aedes aegypti) (모기), 아에데스 알보픽투스(Aedes albopictus) (모기), 드로소필라 멜라노가스터(Drosophila melanogaster) (과실파리), 및 봄빅스 모리(Bombyx mori)와 같은 숙주로부터의 수많은 바큇로 바이러스 균주 및 변이체, 및 상응하는 허용 곤충 숙주 세포가 확인되었다. 다양한 형질감염용 바이러스 균주, 예를 들어 아우토그라파 칼리포르니카(Autographa californica) NPV의 L-1 변이체 및 봄빅스 모리 NPV의 Bm-5 균주가 공중 이용가능하고, 이러한 바이러스들은, 특히 스포도프테라 프루기페르다 세포의 형질감염을 위해, 본 발명에 따라 본원에서 바이러스로 사용될 수 있다. 목화, 옥수수, 감자, 대두, 페튜니아, 토마토 및 담배의 식물 세포 배양물이 또한 숙주로서 이용될 수 있다.
- [0244] 그러나, 척추동물 세포가 가장 흥미롭고, 배양물 (조직 배양물)에서의 척추동물 세포의 증식은 통상적인 절차가 되어 있다. 유용한 포유동물 숙주 세포주의 예는 SV40에 의해 형질전환된 원숭이 신장 CV1 세포주 (COS-7, ATCC CRL 1651); 인간 배아 신장 세포주 (현탁액 배양물 중에서 성장시키기 위해 서브클로닝된 293 또는 293 세포, 문헌 [Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)]); 새끼 햄스터 신장 세포 (BHK, ATCC CCL 10); 차이니

즈 햄스터 난소 세포/-DHFR (CHO, Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)); 마우스 세르틀리 세포 (TM4, Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)); 원숭이 신장 세포 (CV1 ATCC CCL 70); 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포 (VERO-76, ATCC CRL-1587); 인간 자궁경부 암종 세포 (HELA, ATCC CCL 2); 개 신장 세포 (MDCK, ATCC CCL 34); 버팔로 래트 간 세포 (BRL 3A, ATCC CRL 1442); 인간 폐 세포 (W138, ATCC CCL 75); 인간 간 세포 (Hep G2, HB 8065); 마우스 유방 종양 (MMT 060562, ATCC CCL51); TRI 세포 (Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982)); MRC 5 세포; FS4 세포; 및 인간 간세포암 세포주 (Hep G2)이다.

[0245] 숙주 세포를 항-베타7 인테그린 항체 생산을 위해 상기 기재된 발현 또는 클로닝 벡터로 형질전환시키고, 프로모터를 유도하거나, 형질전환체를 선택하거나 또는 목적하는 서열을 코딩하는 유전자를 증폭시키기에 적절하도록 변형시킨 통상적인 영양 배지 중에서 배양한다.

[0246] 본 발명의 항-베타7 인테그린 항체를 생산하는데 사용된 숙주 세포는 다양한 배지 중에서 배양할 수 있다. 상업적으로 입수가능한 배지, 예컨대 햄 F10 (시그마(Sigma)), 최소 필수 배지 (MEM) (시그마), RPMI-1640 (시그마) 및 둘베코 변형 이글 배지 (DMEM) (시그마)가 숙주 세포의 배양에 적합하다. 또한, 문헌 [Ham et al., Meth. Enz. 58:44 (1979), Barnes et al., Anal. Biochem. 102:255 (1980)], 미국 특허 번호 4,767,704; 4,657,866; 4,927,762; 4,560,655; 또는 5,122,469; WO 90/03430; WO 87/00195; 또는 미국 특허 Re. 30,985에 기재된 임의의 배지가 숙주 세포용 배양 배지로 사용될 수 있다. 이들 배지 모두는 필요에 따라, 호르몬 및/또는 다른 성장 인자 (예컨대, 인슐린, 트랜스페린 또는 표피 성장 인자), 염 (예컨대, 염화나트륨, 칼슘, 마그네슘 및 포스페이트), 완충제 (예컨대, HEPES), 뉴클레오타이드 (예컨대, 아데노신 및 티미딘), 항생제 (예컨대, 겐타마이신(GENTAMYCIN)<sup>TM</sup> 약물), 미량 원소 (마이크로몰 범위의 최종 농도로 통상 존재하는 무기 화합물로서 정의됨), 및 글루코스 또는 등가 에너지원으로 보충시킬 수 있다. 임의의 다른 필요한 보충물이 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 적합한 농도로 또한 포함될 수 있다. 배양 조건, 예컨대 온도, pH 등은 발현에 선택된 숙주 세포와 함께 이전에 사용된 것들이고, 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다.

[0247] 제조할 기술을 사용하는 경우, 항체는 세포 내에서 생산되거나, 주변세포질 공간 내에서 생산되거나, 또는 배지 내로 직접 분비될 수 있다. 항체가 세포내에서 생산되는 경우에, 제1 단계로서 입자형 파편인 숙주 세포 또는 용해된 단편을, 예를 들어 원심분리 또는 한외여과에 의해 제거한다. 문헌 [Carter et al., Bio/Technology 10:163-167 (1992)]에는 이. 콜라이의 주변세포질 공간에 분비되는 항체를 분리하는 절차가 기재되어 있다. 간략하게, 세포 페이스트를 아세트산나트륨 (pH 3.5), EDTA 및 페닐메틸설포닐플루오라이드 (PMSF)의 존재 하에 약 30분에 걸쳐 해동시킨다. 세포 파편은 원심분리에 의해 제거할 수 있다. 항체가 배지 내로 분비되는 경우, 일반적으로 이러한 발현 시스템으로부터의 상청액을 상업적으로 입수가능한 단백질 농축 필터, 예를 들어 아미콘(Amicon) 또는 밀리포어 펠리콘(Millipore Pellicon) 한외여과 장치를 사용하여 먼저 농축한다. 단백질을 분해를 억제하기 위해 프로테아제 억제제, 예컨대 PMSF를 임의의 이전 단계에 포함시킬 수 있고, 우발적인 오염물의 성장을 방지하기 위해 항생제를 포함시킬 수 있다.

[0248] 세포로부터 제조된 항체 조성물은, 예를 들어 히드록실아파타이트 크로마토그래피, 겔 전기영동, 투석 및 친화성 크로마토그래피를 사용하여 정제할 수 있으며, 친화성 크로마토그래피가 전형적인 정제 기술이다. 친화성 리간드로서의 단백질 A의 적합성은 항체 내에 존재하는 임의의 이뮤노글로불린 Fc 도메인의 중 및 이소형에 따라 달라진다. 단백질 A는 인간  $\gamma 1$ ,  $\gamma 2$  또는  $\gamma 4$  중쇄 기반 항체를 정제하기 위해 사용될 수 있다 (Lindmark et al., J. Immunol. Meth. 62:1-13 (1983)). 단백질 G는 모든 마우스 이소형 및 인간  $\gamma 3$ 에 대해 권장된다 (Guss et al., EMBO J. 5:1567-1575 (1986)). 친화성 리간드가 부착되는 매트릭스는 가장 흔하게는 아가로스이지만, 다른 매트릭스도 이용가능하다. 기계적으로 안정한 매트릭스, 예컨대 제어된 기공 유리 또는 폴리(스티렌디비닐)벤젠은 아가로스로 달성할 수 있는 것보다 더 빠른 유량 및 더 짧은 가공 시간을 가능하게 한다. 항체가 C<sub>H3</sub> 도메인을 포함하는 경우에, 베이커본드(Bakerbond) ABX<sup>TM</sup> 수지 (J. T. Baker, Phillipsburg, N.J.)가 정제에 유용하다. 단백질을 정제하기 위한 다른 기술, 예를 들어 이온 교환 칼럼 상에서의 분획화, 에탄올 침전, 역상 HPLC, 실리카 상에서의 크로마토그래피, 헤파린 세파로스(SEPHAROSE)<sup>TM</sup> 상에서의 크로마토그래피, 음이온 또는 양이온 교환 수지 (예컨대 폴리아스파르트산 칼럼) 상에서의 크로마토그래피, 크로마토포커싱, SDS-PAGE 및 황산암모늄 침전이, 회수하고자 하는 항체에 따라 이용가능하다. 임의의 예비 정제 단계(들) 후에, 관심 항체 및 오염물을 포함하는 혼합물은 pH가 약 2.5-4.5인 용리 완충제를 사용하는, 전형적으로는 낮은 염 농도 (예를 들어, 약 0-0.25M 염)에서 수행되는 낮은 pH 소수성 상호작용 크로마토그래피에 적용될 수 있다.

[0249] C. 제약 제제

[0250] 본 발명의 치료제, 길항제 또는 항체를 포함하는 치료 제제는, 목적하는 순도를 갖는 항체를 임의의 생리학상



허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제 (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980))와 혼합하여, 수용액, 동결건조 또는 다른 건조 제제 형태로 저장하기 위해 제조된다. 허용가능한 담체, 부형제 또는 안정화제는 사용된 투여량 및 농도에서 수용자에게 무독성이고, 완충제, 예컨대 포스페이트, 시트레이트, 히스티딘 및 다른 유기 산; 항산화제, 예를 들어 아스코르브산 및 메티오닌; 보존제 (예컨대 옥타데실디메틸벤질 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-크레솔); 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, 예를 들어 글루코스, 만노스 또는 텍스트린; 킬레이트화제, 예컨대 EDTA; 당, 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염 형성 반대-이온, 예컨대 나트륨; 금속 착물 (예: Zn-단백질 착물); 및/또는 비이온성 계면활성제, 예컨대 트윈(TWEEN)<sup>TM</sup>, 플루로닉스(PLURONICS)<sup>TM</sup> 또는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)을 포함한다.

[0251] 본원에서의 제제는 또한 치료할 특정한 적응증에 필요한 경우에는 1종 초과와 활성 화합물, 전형적으로 서로 유해한 영향을 미치지 않는 보완적 활성을 갖는 화합물을 함유할 수 있다. 이러한 분자는 의도된 목적에 유효한 양으로 조합되어 적합하게 존재한다.

[0252] 활성 성분은 또한, 예를 들어 코아세르베이션 기술에 의해 또는 계면 중합에 의해 제조된 마이크로캡슐, 예를 들어 각각 히드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐 내에, 콜로이드성 약물 전달 시스템 (예를 들어, 리포솜, 알부민 마이크로구체, 마이크로에멀전, 나노-입자 및 나노캡슐) 내에, 또는 마크로에멀전 내에 포획될 수 있다. 이러한 기술은 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)]에 개시되어 있다.

[0253] 생체내 투여에 사용될 제제는 멸균되어야 한다. 이는 멸균 여과 막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성된다.

[0254] 지속-방출 제제를 제조할 수 있다. 지속-방출 제제의 적합한 예는 본 발명의 이뮤노글로불린을 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스를 포함하고, 이러한 매트릭스는 성형 물품, 예를 들어 필름 또는 마이크로캡슐의 형태이다. 지속-방출 매트릭스의 예는 폴리에스테르, 히드로겔 (예를 들어, 폴리(2-히드록시에틸-메타크릴레이트) 또는 폴리(비닐알콜)), 폴리락티드 (미국 특허 번호 3,773,919), L-글루탐산 및  $\gamma$  에틸-L-글루타메이트의 공중합체, 비-분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 락트산-글리콜산 공중합체, 예컨대 루프론 데포 (LUPRON DEPOT)<sup>TM</sup> (락트산-글리콜산 공중합체 및 류프롤리드 아세테이트로 구성된 주사가능한 마이크로구체), 및 폴리-D-(-)-3-히드록시부티르산을 포함한다. 중합체, 예컨대 에틸렌-비닐 아세테이트 및 락트산-글리콜산은 100일을 초과하여 분자를 방출할 수 있는 반면, 특정 히드로겔은 단백질을 보다 짧은 기간 동안 방출한다. 캡슐화된 이뮤노글로불린이 체내에 장시간 동안 잔존하는 경우에, 이들은 37°C에서 수분에 대한 노출의 결과로서 변성 또는 응집되어, 생물학적 활성이 상실될 수 있고 면역원성 상의 변화가 가능해진다. 관련 메카니즘에 따라 안정화를 위한 합리적인 전략이 고안될 수 있다. 예를 들어, 응집 메카니즘이 티오-디설피드 교환을 통한 분자간 S-S 결합 형성인 것으로 밝혀지는 경우에, 술포히드릴 잔기를 변형시키는 것, 산성 용액으로부터 동결 건조시키는 것, 수분 함량을 제어하는 것, 적절한 첨가제를 사용하는 것, 및 특정 중합체 매트릭스 조성물을 개발하는 것에 의해 안정화를 달성할 수 있다.

[0255] D. 투여

[0256] 의사 투여 치료는 중량-기반 투여를 위해 개별 대상체를 위한 적절한 용량을 결정할 수 있을 것이거나, 또는 단일 투여를 위해 라벨 상의 지시를 따를 것이다. 인테그린 베타7 길항제와 조합되어 투여되는 상업적으로 입수 가능한 제2 치료 화합물 및 다른 화합물에 대한 제조 및 투여 스케줄은 제조업체의 지침에 따라 이용되거나 또는 숙련된 진료의에 의해 경험적으로 결정될 수 있다.

[0257] 질환의 예방 또는 치료를 위해, 인테그린 베타7 길항제 및 비-고갈 항체와 조합되어 투여되는 임의의 제2 치료 화합물 또는 다른 화합물의 적절한 투여량은 치료할 위장 염증성 장애의 유형, 예를 들어 IBD, UC, CD, 질환의 중증도 및 경과, 인테그린 베타7 길항제 또는 조합이 예방 목적으로 투여되는지 또는 치료 목적으로 투여되는지의 여부, 이전 요법, 환자의 임상 병력 및 인테그린 베타7 길항제 또는 조합에 대한 환자의 반응, 및 담당의의 판단에 따라 달라질 것이다. 인테그린 베타7 길항제 또는 조합은 환자에게 1회 또는 보다 전형적으로 일련의 치료에 걸쳐 적합하게 투여된다. 특정 실시양태에서, 인테그린 베타7 길항제는 1개월 (4주), 또는 2개월, 3개월, 또는 6개월, 또는 12개월, 또는 18개월, 또는 24개월의 기간 동안, 또는 환자의 평생 동안 장기간으로 매주 1회, 또는 2주마다 1회, 또는 4주마다 1회, 또는 6주마다 1회, 또는 8주마다 1회 투여된다. 특정



실시양태에서, 치료는 환자에 의해 자기-투여된다.

- [0258] 질환의 유형 및 중증도에 따라, 예를 들어 1회 이상의 개별 투여에 의해서든 또는 연속 주입에 의해서든, 약 0.5 mg/kg 내지 4.0 mg/kg의 항-베타7 항체가 환자에게 투여하기 위한 최초 후보 투여량이다. 수일 이상에 걸친 반복 투여의 경우, 병태에 따라 질환 증상의 목적하는 억제이 일어날 때까지 치료를 지속한다. 그러나, 다른 투여 요법이 유용할 수 있다.
- [0259] 예를 들어, 특정 실시양태에서, 항-베타7 항체의 균일 용량이 환자에게 투여된다. 균일 용량은 중량에 상관없이 모든 환자에게 투여되는 항-베타7 항체의 특정한 양이다. 질환의 유형 및 중증도에 따라, 항-베타7 항체 약 50 mg 내지 450 mg의 균일 용량이 환자에게 투여되며, 이는 1회 이상의 개별 주사 또는 주입 또는 투여일 수 있다. 이러한 균일 용량은 정맥내로 또는 피하로 또는 본원에 기재된 바와 같은 다른 경로에 의해 투여될 수 있다. 특정 실시양태에서, 균일 용량은 50 mg, 또는 100 mg, 또는 105 mg, 또는 150 mg, 또는 200 mg, 또는 210 mg, 또는 300 mg, 또는 315 mg 또는 400 mg, 또는 420 mg, 또는 450 mg이다.
- [0260] 특정 실시양태에서, 항-베타7 항체의 최초 균일 부하 용량 후에 1회 이상의 항-베타7 항체의 균일 유지 용량이 이어진다. 부하 용량은 유지 용량보다 많은 항-베타7 항체의 양이다. 특정 실시양태에서, 부하 용량은 약 400 mg 내지 450 mg이고, 유지 용량은 약 50 mg 내지 350 mg이다. 특정 실시양태에서, 부하 용량은 400 mg, 또는 420 mg, 또는 430 mg, 또는 450 mg이다. 특정 실시양태에서, 유지 용량은 50 mg, 또는 100 mg, 또는 105 mg, 또는 150 mg, 또는 200 mg, 또는 210 mg, 또는 300 mg, 또는 315 mg 또는 350 mg이다.
- [0261] 전형적으로, 임상되는 요구되는 생물학적 효과를 제공하는 투여량(들)에 도달할 때까지 본 발명의 항체를 (단독으로 또는 제2 화합물과 조합하여) 투여할 것이다. 본 발명의 요법의 진행은 통상적인 기술 및 검정에 의해 용이하게 모니터링된다.
- [0262] 인테그린 베타7 길항제는 임의의 적합한 수단, 예컨대 비경구, 국소, 정맥내, 피하, 복강내, 폐내, 비강내 및/또는 병변내 투여에 의해 투여될 수 있다. 비경구 주입은 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내 또는 피하 투여를 포함한다. 경맥내 투여가 또한 고려된다 (예를 들어, 미국 특허 공개 번호 2002/0009444 (Grillo-Lopez) 참조). 추가로, 인테그린 베타7 길항제는 펄스 주입에 의해, 예를 들어 항체의 감소하는 용량으로 적합하게 투여될 수 있다. 특정 실시양태에서, 투여는 정맥내로 또는 피하로 제공된다. 각각의 노출은 동일한 또는 상이한 투여 수단을 사용하여 제공될 수 있다. 한 실시양태에서, 항-베타7 항체에 대한 각각의 노출은 피하 투여에 의한 것이다. 한 실시양태에서, 항-베타7 항체에 대한 제1 노출, 예를 들어 부하 용량은 정맥내 투여에 의한 것이고, 각각의 후속 노출은 피하 투여에 의한 것이다.
- [0263] 특정 실시양태에서, 항-베타7 항체는, 예를 들어 자기-주사 장치, 자가주사기 장치, 또는 자기-투여를 위해 설계된 다른 장치를 사용하여 투여된다. 자가주사기 장치를 포함한 다양한 자기-주사 장치는 관련 기술분야에 공지되어 있고, 상업적으로 입수가능하다. 예시적인 장치는 예비충전된 시린지 (예컨대, 벡톤 디킨슨(Becton Dickinson)으로부터의 BD 하이팩 SCF(BD HYPACK SCF)®, 레디필(READYFILL)™ 및 스테리필 SCF(STERIFILL SCF)™; 백스터(Baxter)로부터의 클리어샷(CLEARSHOT)™ 공중합체 예비충전된 시린지; 및 웨스트 파마슈티칼 서비스즈(West Pharmaceutical Services)로부터 입수가능한 다이코 세이코 크리스탈 제니트(Daikyo Seiko CRYSTAL ZENITH)® 예비충전된 시린지); 일회용 펜 주사 장치, 예컨대 벡톤 디킨슨으로부터의 BD 펜(BD Pen); 매우 예리한 미세바늘 장치 (예컨대, 벡톤 디킨슨으로부터의 인젝트-이즈(INJECT-EASE)™ 및 미세주입기 장치; 및 발레리타스(Valeritas)로부터 입수가능한 H-패치(H-PATCH)™), 뿐만 아니라 무바늘 주사 장치 (예컨대, 바이오젝트(Bioject)로부터 입수가능한 바이오젝터(BIOJECTOR)® 및 이젝트(IJECT)®; 및 메드트로닉(Medtronic)으로부터 입수가능한 소프-서터(SOF-SERTER)® 및 패치 장치)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 특정 실시양태에서, rhuMab 베타7은 2 ML (150 mg) rhuMab 베타7을 포함하는 예비충전된 시린지를 포함하는 제조 물품이다. 특정 실시양태에서, rhuMab 베타7은 1 ML (180 mg) rhuMab 베타7을 포함하는 예비충전된 시린지를 포함하는 제조 물품이다.
- [0264] 언급된 바와 같이, 인테그린 베타7 길항제는 단독으로 또는 적어도 제2 치료 화합물과 조합되어 투여될 수 있다. 이들 제2 치료 화합물은 일반적으로 동일한 투여량으로 상기 사용된 투여 경로로 사용되거나, 또는 상기 사용된 투여량의 약 1% 내지 99%로 사용된다. 이러한 제2 화합물이 사용되는 경우에, 이들은 특정 실시양태에서 인테그린 베타7 길항제가 존재하지 않는 경우보다 더 낮은 양으로 사용되어, 그에 의해 야기되는 부작용을 제거하거나 또는 감소시켰다.
- [0265] 또한 언급된 바와 같이 (예를 들어, 하기 참조), IBD, 예를 들어 궤양성 결장염 및 크론병의 치료를 위한 다양

한 적합한 제2 치료 화합물은 관련 기술분야에 공지되어 있고, 이러한 제2 치료 화합물을 위한 투여량 및 투여 방법도 마찬가지로 기재되었다.

- [0266] 인테그린 베타7 길항제 및 임의의 제2 치료 화합물의 투여는 동시에, 예를 들어 단일 조성물로서 또는 동일하거나 상이한 투여 경로를 사용하는 2종 이상의 별개의 조성물로서 수행될 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 투여는 임의의 순서로 순차적으로 수행될 수 있다. 특정 실시양태에서, 2종 이상의 조성물의 투여 사이에 수분 내지 수일에서 수주 내지 수개월 범위의 간격이 존재할 수 있다. 예를 들어, 인테그린 베타7 길항제가 먼저 투여되고, 이어서 제2 치료 화합물이 투여될 수 있다. 그러나, 동시 투여, 또는 인테그린 베타7 길항제 이전의 제2 치료 화합물의 투여도 또한 고려된다.
- [0267] 중등도-중증 활성 UC 대상체에 대한 표준 치료는 아미노살리실레이트, 경구 코르티코스테로이드, 6-메르캅토피린 (6-MP) 및/또는 아자티오프린의 표준 용량을 사용한 요법을 포함한다. 본원에 기재된 바와 같은 인테그린 베타7 길항제, 예를 들어 항-베타7 인테그린 항체를 사용한 요법은 이러한 대상체에 대한 표준 치료를 사용하여 달성된 것 보다 탁월한, 질환 완화의 개선 (질환의 신속한 제어 및/또는 연장된 완화), 및/또는 임상 반응의 개선을 가져다 줄 것이다.
- [0268] 한 실시양태에서, 염증성 장 질환 (IBD)을 갖는 인간 대상체에서의 IBD에 대한 본 발명의 치료는 이러한 대상체에게 유효량의 치료제, 예를 들어 항-베타7 인테그린 항체를 투여하는 것을 포함하고, 대상체에게 유효량의 제2 의약, 즉 면역억제제, 통증 제어제, 항설사제, 항생제 또는 그의 조합을 투여하는 것을 추가로 포함한다.
- [0269] 예시적 실시양태에서, 상기 제2 의약은 아미노살리실레이트, 경구 코르티코스테로이드, 6-메르캅토피린 (6-MP) 및 아자티오프린으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 또 다른 예시적 실시양태에서, 제2 의약은 또 다른 인테그린 베타7 길항제, 예를 들어 또 다른 항-베타7 인테그린 항체 또는 시토키인에 대한 항체이다.
- [0270] 이들 제2 의약 모두는 서로 조합하여 사용할 수 있거나 또는 그 자체를 제1 의약과 조합하여 사용할 수 있기 때문에, 본원에 사용된 바와 같은 표현 "제2 의약"은 이것이 각각 제1 의약 이외의 유일한 약물이라는 것을 의미하지 않는다. 따라서, 제2 의약이 1종의 의약일 필요는 없고, 1종 초과와 이러한 약물로 이루어지거나 이것을 포함할 수 있다.
- [0271] 본원에서의 조합 투여는 개별 제제 또는 단일 제약 제제를 사용한 공-투여, 및 어느 한 순서로의 연속 투여를 포함하고, 여기서 일반적으로 둘 다의 (또는 모든) 활성제가 그의 생물학적 활성을 동시에 발휘하는 데는 일정 기간이 존재한다.
- [0272] 제2 의약의 조합 투여는 별개의 제제 또는 단일 제약 제제를 사용한 공-투여 (공동 투여), 및 어느 한 순서로의 연속 투여를 포함하고, 여기서 일반적으로 둘 다의 (또는 모든) 활성제 (의약)가 그의 생물학적 활성을 동시에 발휘하는 데는 일정 기간이 존재한다.
- [0273] E. 치료 요법 설계
- [0274] 약물 개발은 복잡하고 비용이 많이 드는 과정이다. 신규 약물을 시장에 내놓는데 드는 비용은 800백만 달러 내지 1십억 달러인 것으로 추정된다. I상 임상 시험 중인 약물의 10% 미만이 승인 단계에 있다. 약물이 후기 단계에서 실패하는 두가지 주요 이유는 용량-농도 반응과 예측치 못한 안전성 사건 사이의 관계에 관한 이해 부족이다. 이러한 시나리오를 고려해 볼 때, 약물이 생체내에서 어떻게 수행되고 임상 치료 후보의 성공을 어떻게 도울 것인지 예측하는데 도움을 주는 가능한 도구를 갖는 것이 중요하다 (Lakshmi Kamath, Drug Discovery and Development; Modeling Success in PK/PD Testing Drug Discovery & Development (2006)).
- [0275] 약동학 (PK)은 약물의 흡수, 분포, 대사 및 제거 특성을 특징화한다. 약역학 (PD)은 투여된 약물에 대한 생리학 및 생물학적 반응을 규정한다. PK/PD 모델링은 이들 두가지 과정 사이의 수학적 및 이론적 연관성을 확립하고, 보다 우수한 약물 작용을 예측하는데 도움을 제공하였다. 통합형 PK/PD 모델링 및 시뮬레이션을 통한 컴퓨터-보조 시험 설계를 많은 약물 개발 프로그램에 도입하고 있고, 그 영향력은 점차적으로 커지고 있다 (Lakshmi Kamath, Drug Discovery and Development; Modeling Success in PK/PD Testing Drug Discovery & Development (2006)).
- [0276] PK/PD 시험은 전형적으로, 약물 개발 과정의 모든 단계에서 수행한다. 개발은 점차적으로 복잡해지고 시간 소모적이며 비용이 많이 들기 때문에, 개발 회사들은 시작시 결함이 있는 후보를 없애기 위해 PK/PD 데이터를 보다 잘 이용하고, 임상적으로 성공할 기회가 가장 높은 후보를 확인하고자 한다 (상기 문헌 [Lakshmi Kamath]).
- [0277] PK/PD 모델링 접근 방식은 바이오마커 반응, 약물 수준 및 투여 요법 사이의 관계를 결정하는데 유용한 것으로

증명되고 있다. 약물 후보의 PK/PD 프로파일 및 이에 대한 환자의 반응을 예측할 수 있는 능력은 임상 시험의 성공에 있어 중요하다. 분자 생물학 기술에 있어서의 최근의 진보 및 다양한 질환에 대한 표적의 보다 나은 이해력은 바이오마커를 약물의 치료적 효능의 우수한 임상 지표로서 검증해 주었다. 바이오마커 검정 (본원에 기재된 것 포함) 및 이러한 바이오마커 검정의 사용은 약물 후보에 대한 생물학적 반응을 확인하는 것을 돕는다. 일단 바이오마커가 임상적으로 검증되면, 시험 시뮬레이션을 효과적으로 모델링할 수 있다. 바이오마커는 언젠가 약물 개발에 있어서의 임상 결과를 대신할 수 있는 대용 상태를 달성할 수 있는 잠재력을 갖는다 (상기 문헌 [Lakshmi Kamath]).

[0278] 말초 혈액 중 바이오마커, 예컨대 본원에 기재된 바이오마커의 양은 인테그린 베타7 길항제를 사용한 치료에 대한 생물학적 반응을 확인하는데 사용될 수 있으므로, 후보 치료의 치료 효능에 대한 우수한 임상 지표로서 기능할 수 있다.

[0279] 약물 개발에 있어서 종래 PK/PD 모델링은 약물 용량 농도, 약물 노출 효과, 약물 반감기, 시간에 대한 약물 농도, 및 시간에 대한 약물 효과와 같은 파라미터를 규정한다. 보다 광범위하게 사용하는 경우에, 약물 모델링, 질환 모델링, 시험 모델링, 및 시장 모델링과 같은 정량적 기술이 전체 개발 과정을 뒷받침해줄 수 있으며, 이는 위험을 명쾌히 고려하고 지식을 보다 잘 이용함으로써 보다 우수한 결정을 유도하였다. 다양한 PK/PD 모델링 도구가 약물 개발 연구에 이용가능하며, 예를 들어 파르사이트, 인크.(Pharsight, Inc., 캘리포니아주 마운틴 뷰)에 의해 개발된 윈논린(WinNonlin) 및 지식기반 서버(Knowledgebase Server) (PKS)가 있다.

[0280] 일반적 바이오마커 기술

[0281] 달리 나타내지 않는 한, 본 발명의 실시는 분자 생물학 (재조합 기술 포함), 미생물학, 세포 생물학, 생화학 및 면역학의 통상적인 기술을 사용할 것이며, 이들은 관련 기술분야의 기술 범위 내에 있다. 이러한 기술은 문헌, 예를 들어 ["Molecular Cloning: A Laboratory Manual", second edition (Sambrook et al., 1989); "Oligonucleotide Synthesis" (M. J. Gait, ed., 1984); "Animal Cell Culture" (R. I. Freshney, ed., 1987); "Methods in Enzymology" (Academic Press, Inc.); "Current Protocols in Molecular Biology" (F. M. Ausubel et al., eds., 1987, and periodic updates); "PCR: The Polymerase Chain Reaction", (Mullis et al., eds., 1994)]에 충분히 설명되어 있다.

[0282] 본 발명에서 사용되는 프라이머, 올리고뉴클레오타이드 및 폴리뉴클레오타이드는 관련 기술분야에 공지된 표준 기술을 사용하여 생성될 수 있다.

[0283] UC 또는 크론병을 앓고 있는 환자를 포함한 IBD 환자의 특정 치료제에 대한 반응성을 예측하는 것과 연관된 유전자 발현 바이오마커가 본원에 제공된다. 유전자에 의해 코딩된 mRNA 또는 개별 단백질의 이러한 발현 수준은 IBD 치료제, UC 치료제 및/또는 크론병 치료제에 대한 반응성을 예측하기 위한 바이오마커를 구성한다. 따라서, 본원에 개시된 본 발명은 다양한 상황에서, 예를 들어 염증성 장 질환의 진단 및 요법에 관련된 방법 및 조성물에서 유용하다.

[0284] 유전자 발현 수준의 검출

[0285] 본원에 기재된 임의의 방법에 따라, 핵산은 게놈 DNA로부터 전사된 RNA, 또는 RNA 또는 mRNA로부터 생성된 cDNA 일 수 있다. 핵산은 척추동물, 예를 들어 포유동물로부터 유래될 수 있다. 핵산은 특정한 공급원으로부터 직접 수득되거나 공급원에서 발견되는 핵산의 카피일 경우에 상기 공급원으로부터 "유래된" 것으로 언급된다.

[0286] 핵산은 핵산의 카피, 예를 들어 증폭에 의해 생성된 카피를 포함한다. 증폭은 특정 경우에, 예를 들어 변이를 검출하기 위한 물질의 목적하는 양을 수득하기 위해 바람직할 수 있다. 이어서, 앰플리콘은 특정 유전자의 발현을 결정하기 위해 하기 기재된 것과 같은 변이 검출 방법에 적용될 수 있다.

[0287] mRNA 수준은 상업적으로 입수가능한 키트 및 시약의 사용을 포함하여, 관련 기술분야의 통상의 기술자에 널리 공지된 다양한 방법에 의해 측정되고 정량화될 수 있다. 이러한 하나의 방법은 폴리머라제 연쇄 반응 (PCR)이다. 정량적 사용을 위한 또 다른 방법은 실시간 정량적 PCR 또는 qPCR이다. 예를 들어, 문헌 ["PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications," (M.A. Innis et al., eds., Academic Press, Inc., 1990); "Current Protocols in Molecular Biology" (F. M. Ausubel et al., eds., 1987, and periodic updates); 및 "PCR: The Polymerase Chain Reaction", (Mullis et al., eds., 1994)]을 참조한다.

[0288] 마이크로어레이는 전형적으로 고-엄격도 조건 하에, 예를 들어 cDNA 또는 cRNA 샘플에 혼성화되기 위해 수천 개의 핵산 프로브의 어레이 시리즈를 사용하는 멀티플렉스 기술이다. 전형적으로 형광단-, 은- 또는 화학발광-표

지된 표적을 검출함으로써 프로브-표적 혼성화를 검출하고 정량화하여, 표적에서 핵산 서열의 상대 존재비를 결정한다. 전형적인 마이크로어레이에서, 프로브는 (에폭시-실란, 아미노-실란, 리신, 폴리아크릴아미드 또는 다른 것을 통해) 화학적 매트릭스에 대한 공유 결합에 의해 고체 표면에 부착된다. 고체 표면은, 예를 들어 유리, 규소 칩 또는 미세 비드이다. 예를 들어 아피메트릭스, 인크.(Affymetrix, Inc.) 및 일루미나, 인크.(Illumina, Inc.)에 의해 제조된 것을 포함한 다양한 마이크로어레이가 상업적으로 입수가 가능하다.

[0289] 생물학적 샘플은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 특정 방법을 사용하여 수득할 수 있다. 생물학적 샘플은 척추동물, 특히 포유동물로부터 수득할 수 있다. 특정 경우에, 생물학적 샘플은 활막 조직, 혈청 또는 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)이다. 이러한 신체 샘플을 스크리닝함으로써, 간단한 조기 진단이 췌장성 결장암 및 크론병과 같은 질환에 대해 이루어질 수 있다. 추가로, 요법의 진행은 표적 핵산 (또는 코딩된 폴리펩티드)의 발현 수준의 변화에 대해 상기 신체 샘플을 시험함으로써 보다 용이하게 모니터링할 수 있다.

[0290] 대상체, 또는 조직 또는 세포 샘플이 본원에 개시된 유전자 발현 서명 또는 특정 바이오마커의 상대적 수준을 포함하는지 결정한 후에, 유효량의 적절한 치료제가 대상체에서의 특정한 질환, 예를 들어 UC 또는 크론병을 치료하기 위해 대상체에게 투여될 수 있음이 고려된다. 본원에 기재된 다양한 병리학적 병태의 포유동물에서의 임상 진단이 숙련된 진료의에 의해 수행될 수 있다. 포유동물에서의 염증성 장 질환, 예를 들어 췌장성 결장암 및 크론병의 진단 또는 검출을 가능하게 하는 임상 진단 기술이 관련 기술분야에서 이용가능하다.

[0291] 키트

[0292] 본원에 기재되거나 제안된 용도에서 사용하기 위해, 키트 또는 제조 물품이 또한 제공된다. 상기 키트는 긴밀하게 닫힌 1개 이상의 용기 수단, 예컨대 바이알, 튜브 등을 수용하도록 구획화되는 담체 수단을 포함할 수 있고, 여기서 각각의 용기 수단은 방법에서 사용될 개별 요소 중 1개를 포함한다. 예를 들어, 용기 수단 중 1개는 검출가능하게 표지된 또는 검출가능하게 표지될 수 있는 프로브를 포함할 수 있다. 이러한 프로브는 유전자 발현 서명의 1개 이상의 유전자를 포함하는 폴리뉴클레오티드에 특이적인 폴리뉴클레오티드일 수 있다. 키트가 표적 핵산을 검출하기 위해 핵산 혼성화를 이용하는 경우에, 키트는 또한 표적 핵산 서열의 증폭을 위한 뉴클레오티드(들)를 함유하는 용기, 및/또는 효소, 형광 또는 방사성동위원소 표지와 같은 리포터 분자에 결합된, 아비딘 또는 스트렙타비딘과 같은 비오틴-결합 단백질과 같은 리포터 수단을 포함하는 용기를 가질 수 있다.

[0293] 키트는 전형적으로 상기 기재된 용기, 및 완충제, 희석제, 필터, 바늘, 시린지 및 사용 지침서를 갖는 포장 삽입물을 포함하는, 상업적 및 사용자 관점에서 바람직한 물질을 포함하는 1개 이상의 다른 용기를 포함할 것이다. 조성물이 특정 요법을 위해 또는 비-치료 용도로 사용되는지 나타내도록 라벨이 용기 상에 존재할 수 있고, 또한 상기 기재된 것과 같은 생체내 또는 시험관내 용도를 위한 지시를 나타낼 것이다. 키트 중 다른 임의적 성분은 1종 이상의 완충제 (예를 들어, 차단 완충제, 세척 완충제, 기질 완충제 등), 다른 시약, 예를 들어 효소 표지에 의해 화학적으로 변경되는 기질 (예를 들어, 발색제), 에피토프 복구 용액, 대조군 샘플 (양성 및/또는 음성 대조군), 대조군 슬라이드(들) 등을 포함한다.

[0294] 마케팅 방법

[0295] 본 발명은 또한 본원에 개시된 유전자 발현 서명 또는 혈청 바이오마커의 수준을 보이는 샘플이 수득된 특정한 질환, 예를 들어 UC 또는 크론병을 갖는 환자 또는 환자 집단을 치료하기 위한 치료제 또는 그의 제약 조성물의 사용을 표적 청중에게 프로모션하고/하거나 지시하고/하거나 명시하는 것을 포함하는, 치료제 또는 그의 제약상 허용되는 조성물을 마케팅하기 위한 방법을 포함한다.

[0296] 마케팅은 일반적으로 후원자가 확인되고 메시지가 제어되는 비-인적 매체를 통한 유료 커뮤니케이션이다. 본원의 목적에서 마케팅은 홍보, 대중 홍보, 간접 광고, 후원, 인수 및 판촉을 포함한다. 이러한 용어는 또한 본원에서 본 발명을 구입하거나 지지하거나 승인하는 유리한 패턴으로 설득하거나 정보를 제공하거나 프로모션하거나 동기부여하거나 또는 다르게는 행동을 변형시키기 위해 대중에게 호소하도록 설계된 인쇄 커뮤니케이션 매체들 중 임의의 것으로 나타나는, 후원받은 정보성 공시를 또한 포함한다.

[0297] 본원에서 진단 방법의 마케팅은 임의의 수단에 의해 달성할 수 있다. 이들 메시지를 전달하기 위해 사용되는 마케팅 매체의 예는 텔레비전, 라디오, 영화, 잡지, 신문, 인터넷, 및 방송 매체에서 나타나는 메시징인 광고방송을 포함한 광고판을 포함한다.

[0298] 사용된 마케팅의 유형은 많은 인자, 예를 들어 도달할 표적 청중의 특성, 예를 들어 병원, 보험 회사, 클리닉, 의사, 간호사 및 환자, 뿐만 아니라 비용 고려사항 및 의약 및 진단의 마케팅을 규제하는 관련 관할 법률 및 규정에 따라 달라질 수 있다. 마케팅은 서비스 상호작용 및/또는 다른 데이터, 예컨대 사용자 인구통계학 및 지



리적 위치에 의해 규정되는 사용자 특징화에 기초하여 개별화되거나 맞춤화될 수 있다.

- [0299] 상기 기재된 명세서 및 하기 실시예는 관련 기술분야의 통상의 기술자가 본 발명을 실시할 수 있도록 하는데 충분한 것으로 간주된다. 본원에 제시되고 기재된 것 이외에 본 발명의 다양한 변형이 상기 기재 및 하기 실시예로부터 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이고, 이는 첨부된 청구범위의 범주에 속할 것이다.
- [0300] 본 발명의 교시를 구체적 문제 또는 상황에 적용하는 것은 본원에 함유된 교시의 측면에서 관련 기술분야의 통상의 기술자의 능력 내에 있을 것으로 이해된다.
- [0301] 본 발명의 추가의 상세내용은 하기의 비제한적 실시예에 의해 예시된다. 본 명세서 내의 모든 인용문헌의 개시 내용은 명백히 본원에 참조로 포함된다.
- [0302] 실시예
- [0303] 실시예 1
- [0304] 중등도 내지 중증 궤양성 결장염 환자에서 rhuMAb 베타7 (에트롤리주맙)의 효능 및 안전성을 평가하기 위한 II상 무작위 이중-맹검 위약-대조 연구 및 개방 표지 확장 연구
- [0305] 임상 연구의 설명
- [0306] rhuMAb 베타7 (에트롤리주맙)의 설명
- [0307] rhuMAb 베타7 (에트롤리주맙)은 인간 IgG1 하위군 III  $V_H$ ,  $\kappa$  하위군-I  $V_L$  컨센서스 서열을 기초로 한 인간화 모노클로날 항체이며, 인테그린 이중이량체의  $\beta 7$  서브유닛에 대해 특이적으로 지시된다. 도 1A 및 B 참조. 이것은  $\alpha 4\beta 7$ 에 고친화도 (약 116 pM의  $K_d$ )로 및  $\alpha E\beta 7$ 에 고친화도 (약 1800 pM의  $K_d$ )로 결합하는 것으로 나타났다.
- [0308] 이 재조합 항체는 IgG1 항체를 대표하는 쇄간 및 쇄내 디설피드 결합에 의해 공유 연결된 2개의 중쇄 (446개 잔기) 및 2개의 경쇄 (214개 잔기)를 갖는다. 본원에 기재된 연구의 경우에, 이것은 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포에서 생산되었다. 무순상의 비-글리코실화 rhuMAb 베타7 분자의 분자 질량은 대략 144 kDa이었다. rhuMAb 베타7의 각각의 중쇄는 Asn297에 1개의 보존된 N 연결 글리코실화 부위를 갖는다. 이러한 부위에 존재하는 올리고사카라이드는 CHO 세포에서 발현된 재조합 항체에서 관찰된 것들을 대표하였으며, 우세한 글리코형태는 아시알로, 이중안테나 G0 및 G1 글리칸이었다. 2개의 G0 글리칸을 함유하고 C 말단 리신 잔기를 함유하지 않는 가장 우세한 rhuMAb 베타7 형태의 질량은 대략 147 kDa이었다.
- [0309] rhuMAb 베타7 약물 제품 및 위약은 제넨테크에 의해 제조되었다. 이들은 투명 내지 약간 유백색, 무색 내지 약간 황색의 수용액이었다. 용액은 둘 다 IV 및 SC 투여에 의도된 멸균 및 보존제-무함유 액체였다.
- [0310] 연구 설계
- [0311] 연구의 설명
- [0312] 이 II상 연구는 중등도 내지 중증 UC를 갖는 환자에서 위약과 비교하여 2개의 rhuMAb 베타7 용량 수준에 걸쳐 효능 및 안전성을 평가하기 위한 무작위 이중-맹검 위약-대조 다기관 연구였다. 1차 효능 종점은 제10주 (연구 약물의 최종 용량이 투여된 지 2주 후)에 평가하였으며, 2차 효능 종점은 제6주에 평가하였다.
- [0313] 환자는 제0주, 제4주 및 제8주에 rhuMAb 베타7 100 mg SC (균일 용량), 및 제0주에 420 mg SC (균일 부하 용량), 이어서 제2주, 제4주 및 제8주에 300 mg SC 또는 매칭 위약 SC의 용량 범위에 걸쳐 1:1:1 비로 무작위화하였다. 연구 개략도는 도 2에 도시된다. 연구는 0-35일의 스크리닝 기간, 10주의 이중-맹검 치료 기간, 18주의 안전성 추적 기간, 및 17개월 (무작위화 후 2년)의 진행성 다초점성 백질뇌병증 (PML) 추적 기간으로 나누었다.
- [0314] 상기 단락에 제공된 용량 값은 공칭 용량이다. II상 용량 투여는 150 mg/ml의 바이알 농도로 바이알 및 시린지를 사용하였다. 지속적인 정확한 용량 투여를 가능하게 하기 위해, 피하 (SC) 주사당 0.7 ml 부피를 선택하였다. 이에 따라, 공칭 100 mg 용량 부문에서 실제 약물 양은 105 mg (1 x 0.7 ml SC 주사)이고, 공칭 300 mg 용량에서는 315 mg (3 x 0.7 ml SC 주사)이었다. 420 mg의 실제 부하 용량은 420 mg (4 x 0.7 ml SC 주사)이었다. 모든 SC 주사를 복부 내로 투여하였다. 따라서, "100 mg"의 용량 및 "105 mg"의 용량은 본원에서 상호교환가능하게 사용된다. 추가로, "300 mg"의 용량 및 "315 mg"의 용량은 본원에서 상호교환가능하게 사용된다. 최종적으로, 본원의 특정 경우에서, 환자가 "300 mg 플러스 부하 용량 (LD)"을 투여받은 시험 부문은 약칭으로

서 편의상 "300 mg 용량"으로 지칭된다. 따라서, 문맥에서 달리 명백하지 않다면, "300 mg 플러스 부하 용량"은 "300 mg 용량"과 동등하다.

[0315] 자격을 갖기 위해, 환자는 미국 소화기병 학회 (ACG) 실시 가이드라인에 따라 진단된 최소 12주 지속기간의 UC를 가졌어야 한다; 즉, 조직병리학 보고에 의해 확증된 임상 및 내시경 증거, 이와 함께 내시경 점수  $\geq 2$ ; 직장 출혈 하위점수  $\geq 1$  (표 1 참조); 및 질환 활성의 내시경 증거인 항문 가장자리로부터의 최소 25 cm를 포함하여, 특정 경우에서 MCS  $\geq 5$  또는 특정 경우에서 MCS  $\geq 6$ 에 의해 입증된 바와 같은 중등도 내지 중증 질환의 증거. 이러한 연구에 대한 추가의 포함 및 배제 기준은 국제 특허 공개 번호 WO/2012/135589에서 제공된다.

[0316] <표 1>

[0317] 궤양성 결장염 활성의 평가를 위한 메이요 클리닉 점수화 시스템.

점수	평가 카테고리			
	대변 빈도 <sup>a</sup>	직장 출혈 <sup>b</sup>	내시경검사에 대한 소견	의사의 전반적 평가 <sup>c</sup>
0	이 환자에 대한 정상 횡수의 대변	혈액이 보이지 않음	정상 또는 불활성 질환	정상
1	정상보다 1 내지 2 회 많은 대변	절반 미만에서 대변과 함께 혈액 선조	경도 질환 (홍반, 감소된 혈관 패턴, 경도 취쇄성)	경도 질환
2	정상보다 3 내지 4 회 많은 대변	대부분에서 대변과 함께 분명한 혈액	중등도 질환 (현저한 홍반, 혈관 패턴의 결핍, 취쇄성, 미란)	중등도 질환
3	정상보다 5 회 이상 많은 대변	혈액이 단독으로 나옴	중증 질환 (자발적 출혈, 궤양화)	중증 질환
	하위점수: 0 내지 3	하위점수: 0 내지 3	하위점수: 0 내지 3	하위점수: 0 내지 3

[0318]

[0319] <sup>a</sup> 각각의 환자는 대변 빈도의 이상의 정도를 확립하기 위해 그 또는 그녀 자신의 대조군의 역할을 한다.

[0320] <sup>b</sup> 1일 출혈 점수는 그날의 가장 심한 출혈을 나타낸다.

[0321] <sup>c</sup> 의사의 전반적 평가는 3개의 다른 기준인 환자의 복부 불편 및 전반적 행복감의 1일 재수집, 및 다른 관찰, 예컨대 신체적 소견, 및 환자의 수행 상태를 확인한다.

[0322] 무작위화 전에, 환자는 UC에 대한 병용 의약의 안정한 용량을 투여받고 있는 중이어야 한다. 경구 5-아미노살리실산 (5-ASA) 및 면역억제제 (아자티오프린 [AZA], 6-메르캅토피리딘 [6-MP] 또는 메토타렉세이트) 용량은 제1일의 무작위화 전에 적어도 4주 동안 안정하게 유지되어야 한다. 국소 5-ASA 또는 코르티코스테로이드를 투여받고 있는 환자는 제1일의 무작위화 2주 전에 중단되어야 한다. 경구 코르티코스테로이드 용량은 제1일의 무작위화 전에 2주 동안 안정하게 유지되어야 한다. 고-용량 스테로이드를 투여받는 환자는 제1일의 무작위화 전에 2주 동안  $\leq 20$  mg/일로 용량 감소되어야 한다. 연구 치료 기간 동안 경구 코르티코스테로이드를 투여받는 환자의 경우에, 스테로이드의 점감은 2주 동안 1주일에 5 mg 프레드니손 또는 프레드니손 등가물의 비율로, 이어서 중단까지 1주일에 2.5 mg 프레드니손 또는 프레드니손 등가물의 비율로 제10주에 시작되어야 한다. 경구 면역억제제 (경구 코르티코스테로이드 이외의 것)를 투여받는 환자의 경우에, 면역억제제의 점감은 제8주에 시작되어야 하고, 환자는 제10주까지 면역억제제를 완전히 중단하여야 한다. 이전에 항-TNF 요법을 투여받은 환자는 제1일의 연구 약물을 투여받기 위한 무작위화 전에 최소 8주 동안 요법을 중단하여야 한다. 환자가 연구 동안 임의의 시점에서 지속적인 또는 증가하는 질환 활성을 경험한 경우, 스테로이드 및/또는 면역억제제 용량 증가 형태의 구조 요법이 연구자의 임상 판단에 따라 증가되거나 개시될 수 있다. 구조 요법을 필요로 하는 환자는 연구에 남도록 허용되었지만, 연구 치료를 중단하였고, 데이터 분석 동안 치료 실패를 경험한 것으로 분류되었다.

[0323] 환자는 이들이 적어도 1종의 항-TNF 작용제를 포함한 통상적인 요법에 반응하는데 실패했는지의 여부를 결정하기 위해 평가되었다. 본원에 사용된 바와 같이, 항-TNF 작용제 및 면역억제제에 대한 반응의 상실 및/또는 불내성은 하기를 의미한다. 항-TNF 작용제와 관련하여, 반응의 상실 및/또는 불내성은 활성 질환의 증상이 하기 중 하나 이상을 사용한 이전의 치료에도 불구하고 지속됨을 의미한다: (a) 인플릭시맵: 6주에 걸쳐 5 mg/kg IV, 3회 용량 및 제8주에 평가; (b) 아달리무맵: 제0주에 1회 160 mg SC 용량, 이어서 제2주에 1회 80 mg 용량 및 그 다음 제4주 및 제6주에 40 mg, 이와 함께 제8주에 평가; 또는 이전의 반응 후에 정기적으로 예정된 유지 투

여 동안 재발 활성 증상 (반응하였고 반응을 상실하지 않은 환자에서의 치료의 선택적 중단은 자격이 없음); 또는 적어도 1종의 항-TNF 항체에 대한 불내성의 병력 (주입-관련 반응 또는 주사-부위 반응, 감염, 율혈성 심부전, 탈수초화를 포함하나, 이에 배타적이거나 제한되지는 않음). 면역억제제와 관련하여, 반응의 상실 및/또는 불내성은 활성 질환의 증상이 적어도 8주 동안 1주일에 25 mg SC/근육내 (또는 나타낸 바와 같음)의 아자티오프린 ( $\geq 1.5$  mg/kg) 또는 등가 용량의 6-메르캅토피린 mg/kg ( $\geq 0.75$  mg/kg) 또는 메토트렉세이트 중 1종 이상을 사용한 이전 치료에도 불구하고 지속되는 것; 또는 적어도 1종의 면역억제제의 불내성의 병력 (체장염, 약물열, 발진, 오심/구토, 간 기능 검사 상승, 티오푸린 S-메틸트랜스퍼라제 유전자 돌연변이, 감염을 포함하나, 이에 배타적이지는 않음)을 의미한다.

[0324] 연구 치료에 대한 무작위화는 코르티코스테로이드를 사용한 병용 치료 (예/아니오), 면역억제제를 사용한 병용 치료 (예/아니오), 이전 항-TNF 노출 (예/아니오) (미국에서 무작위화된 환자 제외) 및 연구 장소에 의해 계층화하였다.

[0325] UC 질환 활성은 스크리닝 (및 이것이 기준선 MCS로 간주됨), 제6주 (제4주에서의 투여 2주 후) 및 제10주 (연구 약물의 최종 투여 2주 후)에서의 MCS를 사용하여 평가하였다. 결장의 생검을 이들 동일한 시점에 수행된 가요성 구불결장경검사동안 수득하였다. 부분적 MCS를 또한 연구 전반에 걸쳐 수집하였다. 환자 보고 결과 (PRO)는 또한 짧은 염증성 장 질환 설문지 (SIBDQ) 및 MCS를 사용하여 평가하였으며, 이는 제1일 및 제6주 및 제10주에 환자에 의해 완결되었다. 추가로, 질환 활성, 1일 증상 및 UC의 영향은 스크리닝으로부터 (대략 제1일의 7일 전에서 제1일까지) 및 제6주 및 제10주에서의 연구 방문의 적어도 7일 전에서 연구 방문까지 환자에 의해 매일 완결된 환자 다이어리에서 수집하였다. 혈청 및 분변 샘플을 또한 바이오마커 분석을 위해 수득하였다. 대변을 바이오마커의 측정을 위해 스크리닝 시 및 제6주, 제10주 및 제28주에 수득하였다. 측정을 위해 고려된 예시적인 바이오마커는 리포칼린, 칼프로텍틴 및 락토르페린을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 혈청 및 혈장을 탐색적 바이오마커의 측정을 위해 스크리닝 시, 제1일, 및 제4주, 제6주, 제10주, 제16주 및 제28주에 수득하였다.

[0326] 이 연구를 위한 1차 효능 종점은 임상 완화를 달성한 환자의 비율이었고, 제10주까지 MCS  $\leq$  2로의 절대적 감소와 함께 1점을 초과하는 개별 하위점수는 없는 것으로 정의된다. 추가의 2차 종점은 하기 기재된 바와 같은 연구 결과 척도에 열거되어 있다.

[0327] 결과 척도

[0328] 1차 효능 결과 척도

[0329] 1차 효능 결과 척도는 제10주에서의 임상 완화였다. 임상 완화는 MCS  $\leq$  2이면서 1점을 초과하는 개별 하위점수는 없는 것으로 정의된다 (표 1 참조).

[0330] 2차 효능 결과 척도

[0331] 이 연구를 위한 2차 효능 결과 척도는 (1) MCS에서 적어도 3점 감소 및 기준선으로부터의 30% 감소 및 직장 출혈 하위점수에서  $\geq$  1점 감소 또는 절대적 직장 출혈 점수 0 또는 1으로 정의되는 제6주 및 제10주에서의 임상 반응; (2) 제6주에서의 임상 완화 (상기 정의됨); 및 (3) 제6주 및 제10주에 내시경 점수 및 직장 출혈 점수 0에 대한 지시자였다.

[0332] 탐색적 결과 척도

[0333] 이 연구에 대한 탐색적 결과 척도는 반응 또는 완화를 달성한 환자에서 UC의 급성악화까지의 시간이었다. 이러한 결과 척도의 경우에, 급성악화는 3일의 연속 직장 출혈을 동반하는 부분적 MCS에서의 2점 증가, 및 가요성 구불결장경검사상에서의 내시경검사 점수 2로 정의된다.

[0334] 안전성 결과 척도

[0335] rhuMAb 베타7의 안전성 및 내약성은 하기 척도를 사용하여 평가하였다: (1) 유해 사건에 대한 미국 국립 암 연구소 공통 용어 기준 (NCI CTCAE) 버전 4.0에 따라 등급화된 유해 사건 및 심각한 유해 사건의 발생률; (2) 활력 징후 및 안전성 실험실 척도에서의 임상적으로 유의한 변화; (3) 유해 사건(들)으로 인한 중단; (4) 주사-부위 반응 및 과민증의 발생률 및 성질; (5) 감염성 합병증의 발생률; 및 (6) ATA의 발생률에 의해 측정된 면역원성.

[0336] 약동학적 결과 척도

[0337] 약동학적 결과 척도는 하기를 포함하였다: (1) 최초 및 최종 투여 후의  $C_{\max}$ ; (2) 최초 및 최종 투여 후의 최대 농도까지의 시간 ( $T_{\max}$ ); (3) 최종 투여 후의 투여 간격 내의 혈청 농도-시간 곡선 하 면적 (AUC); (4) 시점 0으로부터 마지막 검출가능한 관찰까지의 AUC ( $AUC_{\text{last}}$ ) 또는 무한대까지의 AUC ( $AUC_{\text{inf}}$ ); (5) 명백한 클리어런스 (CL/F); (6) 명백한 분포 부피 (V/F); 및 (7) 제거 반감기 ( $t_{1/2}$ ).

[0338] 실시예 2 - 예측 바이오마커 연구 및 분석

[0339] 에트롤리주맵으로 치료된 환자에서의 효능의 풍부화를 위한 예측 바이오마커의 선택을 위한 실험 설계

[0340] 에트롤리주맙 치료에 대한 반응을 예측하는 신규 바이오마커를 확인하기 위해, 본 발명자들은 먼저 RNA 서열분석 방법을 사용하여, 모든 에트롤리주맙 치료된 환자로부터의 결장 생검의 기준선 유전자 발현 프로파일을 확립하였다. TNF 길항제 나이브 에트롤리주맙 치료된 환자로부터의 기준선 생검을 사용하여, 완화를 겪은 에트롤리주맙-치료된 환자와 완화를 겪지 않은 에트롤리주맙-치료된 환자 사이의 차등 유전자 발현 프로파일을 확인하였다. 차등 발현된 유전자를 다른 IBD 데이터세트에서의 신호 강도, 생물학적 관련성 및 발현을 기초로 하여 추가로 선택한 다음, 하위군 분석을 위해 에트롤리주맙-치료된 환자 및 위약군으로부터의 결장 생검에서 정량적 폴리머라제 연쇄 반응을 사용하여 추가로 평가하였다.

[0341] 장 생검 조직의 수집 및 가공

[0342] 장 생검을 스크리닝 방문시 (치료하기 최대 4주 전) 및 에트롤리주맙 치료의 시작으로부터 6주 및 10주 후에 가요성 구불결장경검사/전체 결장내시경검사 동안 연구 참가자로부터 수집하였다. 생검을 항문 가장자리의 10-40cm 이내에 결장의 최대 염증발생 구역으로부터 취하였다. 궤양이 생긴 점막의 피사성 구역 내 생검 또는 이전에 결장 절제가 있었던 환자의 봉합사 부위에서의 생검은 피하였다. 생검을 조직 RNA 안정화 완충제 (RNA레이터(RNAlater), 퀴아젠(Qiagen), 카탈로그 번호 76104) 중에 넣고 운송을 위해 동결시키거나, 또는 저장 및 후속 가공을 위해 포르말린 중에 넣었다.

[0343] RNA 단리 및 서열분석

[0344] 수령시, 생검 샘플을 해동시키고, 티슈라이저(TissueLyzer) (쿼아젠, 카탈로그 번호 69989)를 사용하여 3mm 스틸 비드에 의해 균질화하고, RNA를 RN이지 미니(RNeasy Mini) 키트 (쿼아젠, 카탈로그 번호 74106)를 사용하여 제조업체의 지침에 따라 분리하였다. RNA 완전성을 애질런트(Agilent) RNA 6000 피코 키트(Pico Kit) (애질런트 테크놀로지스(Agilent Technologies), 카탈로그 번호 5067-1513)를 사용하여 애질런트 2100 바이오애널리저(Bioanalyzer)로 평가하였다. 낮은 RNA 품질 ( $RIN \leq 5$ )을 갖는 샘플은 분석에서 제외하였다. RNA를 퀀트-아이티(Quant-iT)<sup>TM</sup> RNA 검정 키트 (라이프 테크놀로지스 코퍼레이션(Life Technologies Corporation), 미국 캘리포니아주 칼스배드)를 사용하여 정량화하였다.

[0345] 고품질 총 RNA (250 ng)를 일루미나(Illumina) TruSeq RNA 샘플 제조 키트 v2 프로토콜 내로 투입하고, 베크만 쿨터 라이프 사이언시스(Beckman Coulter Life Sciences) 바이오맥(Biomek) 액체 취급 플랫폼과 함께 실행하였다. RNA 라이브러리를 애질런트 2200 테이프스테이션 하이 센서티버티(TapeStation High Sensitivity) D1K 테이프 및 일루미나 서열분석을 위한 KAPA 라이브러리 정량화 키트를 수반한 qPCR을 사용하여 평가하였다. 2nM의 라이브러리 (레인당 12개 샘플)를 클러스터 생성을 위해 로딩하고, 일루미나 HiSeq2000 서열분석 시스템 상에서 2 x 50 bp 판독물 길이 플러스 인덱스 판독물로 서열분석하였다. 필터 통과 판독물을 결정하고, fastq 파일을 일루미나 CASAVA v1.8에 의해 생성하였다.

[0346] 차등 발현된 유전자의 확인

[0347] RNA-서열분석 데이터의 가공 및 분석은 바이오컨덕터(Bioconductor) 프로젝트로부터의 패키지 (<http://bioconductor.org>)와 함께 R 프로그래밍 언어 (<http://www.r-project.org>)를 사용하여 수행하였다. 미가공 RNA-서열분석 판독물을 HTSeqGenie 바이오컨덕터 패키지를 사용하여 가공하였다. 간략하게, 판독물을 GSNAP 알고리즘 (Wu, T.D. et al., Bioinformatics (Oxford, England) 26, 873-881 (2010))을 사용하여 참조 인간 게놈 서열 (NCBI build 37)에 대해 정렬하였다. 엑손 내에 속한 고유하게 정렬된 판독물 쌍을 계수하여 개별 유전자에 대한 발현 수준의 평가를 제공하였다.

[0348] 차등 발현을 계산하기 위해, 본 발명자들은 DESeq2 바이오컨덕터 패키지를 사용하였으며 (Anders et al., Genome Biology (2010) vol. 11 (10) pp. R106), 이를 음이항 일반화 선형 모델에 피팅시켜 군 사이의 차이에 대한 log 배수 변화 및 p-값을 결정하였다. 본 발명자들은 이러한 패키지로부터의 디폴트 라이브러리 크기 추



정 방법을 사용하여 개체 사이의 서열분석 심도의 차이를 설명하였다. 본 발명자들의 최종 분석은 단지 TNF-나 이브 환자로부터의 샘플만을 포함하였다. 최종 일반화 모델은 환자가 제10주에 완화 상태에 있었는지의 여부, 및 서열분석 반응물의 기술적 측면에 대한 공변량 (서열분석 플레이트 및 레인), 및 메이요 임상 점수의 내시경 하위점수를 포함하였다. 본 발명자들의 통계적 분석을 위해, 본 발명자들은 공칭 (비-다중 검정 보정된) p-값을 사용하여 완화와 연관된 후보 유전자를 등급화하였다.

[0349] 정량적 폴리머라제 연쇄 반응에 의한 유전자 발현 분석

[0350] 상기 기재된 바와 같은 RNA레이터® 생검으로부터 단리된 RNA를 고성능 cDNA 역전사 키트 (라이프 테크놀로지스 코포레이션, 미국 캘리포니아주 칼스배드)를 사용하여 상보적 데옥시리보핵산으로 역전사시켰다. 유전자 발현 수준을 실시간 폴리머라제 연쇄 반응 (또한, 정량적 폴리머라제 연쇄 반응으로도 지칭됨)에 의해 평가하였다. 실시간 폴리머라제 연쇄 반응을 바이오마크(BioMark)™ HD 시스템 (플루이다임 코포레이션(Fluidigm Corporation), 미국 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코) 상에서 택맨 프리앰프 마스터 믹스(TaqMan PreAmp Master Mix) (라이프 테크놀로지스 코포레이션, 미국 캘리포니아주 칼스배드) 및 시약 (플루이다임)과 함께 각각의 유전자의 택맨 유전자 발현 검정 (모두 라이프 테크놀로지스 코포레이션 (미국 캘리포니아주 칼스배드)으로부터의 것)을 사용하여 제조업체의 지침에 따라 실행하였다. 표적 유전자 발현을  $\Delta Ct$  방법을 사용하여 GAPDH 발현에 대해 정규화하였다.

[0351] 통계적 분석

[0352] 통계적 검정을 적절한 경우 윌콕슨(Wilcoxon) 순위-합계 검정 또는 피셔(Fisher) 정확 검정을 사용하여 수행하였다. 다중 비교를 위한 조정은 수행하지 않았다. 샘플 중앙 컷오프를 사용하는 하위군 분석을 선택된 유전자에 대해 수행하였다. 유전자 발현의 종적 안정성을 위약이 투여된 환자에서 평가하였으며, 여기서 바이오마커-저 또는 바이오마커-고 분류의 일치율을 기준선, 제6주 및 제10주에 동일한 환자로부터 측정된 샘플로부터 결정하였다. 또한, 환자내 가변성을 기준선, 제6주 및 제10주에 동일한 환자로부터의 샘플의 표준 편차를 계산함으로써 평가하였다.

[0353] 결과

[0354] 상기 기재된 방법 및 분석 후에, RNA 서열 판독물을 사용하여, 에트롤리주맙 치료 후 완화를 겪은 환자를 에트롤리주맙 치료 후 완화를 겪지 않은 환자와 비교하여 그들 사이의 차등 발현된 유전자를 확인하였다. 이들 결과는 하기 표 2 및 3에 요약되어 있다. 표 2는 에트롤리주맙으로 치료 후 비-완화와 연관된 높은 기준선 발현을 갖는 차등 발현된 유전자를 제시한다. 표 3은 에트롤리주맙으로 치료 후 완화와 연관된 높은 기준선 발현을 갖는 차등 발현된 유전자를 제시한다. 상기 언급된 바와 같이, 차등 발현된 유전자는 TNF 길항제 나이브 환자로부터 획득된 기준선 결장 생검에서 확인하였다. 추가의 기준선 변수를 제어하기 위해 인종/민족, 성별, 기술적 배치 및 기준선 내시경검사 점수를 설명하는 일반화 선형 모델을 사용하였다.

[0355] <표 2> 에트롤리주맙 치료 후 비-완화와 연관된 높은 기준선 유전자 발현.

기호	유전자 명칭	Log2 배수 변화	p-값
VNN2	바닌 2	-0.922	1.96E-05
SSTR2	소마토스타틴 수용체 2	-0.89	3.93E-05
VNN3	바닌 3	-0.802	2.81E-04
LRRC4	류신 풍부 반복부 함유 4	-0.786	2.33E-04
REM2	RAS (RAD 및 GEM)-유사 GTP 결합 2	-0.745	7.91E-04
CCL4L1	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 4-유사 1	-0.739	8.28E-04
TM4SF4	막횡단 4 L 6 패밀리 구성원 4	-0.732	4.87E-04
HTR1B	5-히드록시트립타민 (세로토닌) 수용체 1B, G 단백질-커플링	-0.706	1.24E-03
CCL4L2	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 4-유사 2	-0.673	1.31E-03
SLC8A3	용질 담체 패밀리 8 (나트륨/칼슘 교환자), 구성원 3	-0.669	2.44E-03
CPA3	카르복시펩티다제 A3 (비만 세포)	-0.66	2.05E-03
CCL3	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 3	-0.657	2.88E-03
IL1A	인터류킨 1, 알파	-0.655	2.78E-03
SIGLECP3	시알산 결합 Ig-유사 렉틴 17, 위유전자	-0.654	1.86E-03
ALPK3	알파-키나제 3	-0.652	3.13E-03
MLK7-AS1	MLK7 안티센스 RNA 1 (비-단백질 코딩)	-0.649	2.43E-04
NCF1B	호중구 시토졸 인자 1B 위유전자	-0.649	3.39E-03
MIR146A	마이크로 RNA 146a	-0.647	2.79E-03
C17orf107	염색체 17 오픈 리딩 프레임 107	-0.643	1.79E-03
GALNTL6	UDP-N-아세틸-알파-D-갈락토사민:폴리펩티드 N- 아세틸갈락토사미닐트랜스퍼라제-유사 6	-0.642	2.40E-03
LOC100506801	비특정화 LOC100506801	-0.642	3.38E-03
ERV3-1	내인성 레트로바이러스 군 3, 구성원 1	-0.64	1.94E-03
CHRNE	콜린성 수용체, 니코틴산, 엡실론 (근육)	-0.637	1.96E-03
TMEM154	막횡단 단백질 154	-0.636	2.12E-03
TNFSF15	종양 괴사 인자 (리간드) 슈퍼패밀리, 구성원 15	-0.635	2.15E-03
C17orf103	염색체 17 오픈 리딩 프레임 103	-0.635	2.96E-03
QPCT	글루타미닐-펩티드 시클로트랜스퍼라제	-0.633	1.65E-04
LOC100507417	비특정화 LOC100507417	-0.628	5.96E-04
ZNF697	아연 핑거 단백질 697	-0.622	7.64E-04
DPEP2	디펩티다제 2	-0.622	1.94E-03
ADCYAP1	아데닐레이트 시클라제 활성화 폴리펩티드 1 (뇌하수체)	-0.614	3.54E-03
MUCL1	뮤신-유사 1	-0.582	3.22E-03

[0356]

HAMP	햄시딘 항미생물 펩티드	-0.582	3.81E-03
CCL3L3	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 3-유사 3	-0.576	1.97E-03
NINL	니네인-유사	-0.529	3.79E-03
AGA	아스파르틸글루코사미니다제	-0.472	9.12E-06
CTBS	키토비아제, 디-N-아세틸-	-0.444	3.20E-04
EHD1	EH-도메인 함유 1	-0.442	3.69E-03
LMO4	LIM 도메인 단독 4	-0.422	2.96E-03
TMEM120B	막횡단 단백질 120B	-0.389	2.30E-03
NBEAL2	뉴로베아킨-유사 2	-0.365	2.55E-03
DNASE1L1	데옥시리보뉴클레아제 I-유사 1	-0.322	1.32E-04
UROS	우로포르피리노겐 III 신타제	-0.321	1.32E-03

[0357]

[0358] <표 3> 에트롤리주맙 치료 후 완화와 연관된 높은 기준선 유전자 발현.

기호	유전자 명칭	Log2 배수 변화	p-값
TMEM200A	막횡단 단백질 200A	0.804	1.51E-04
GZMA	그랜자임 A (그랜자임 1, 세포독성 T-림프구-연관 세린 에스테라제 3)	0.789	1.11E-04
LOC728643	불균질 핵 리보핵단백질 A1 위유전자	0.747	6.18E-04
LINC00514	긴 유전자간 비-단백질 코딩 RNA 514	0.696	1.07E-03
CPA2	카르복시펩티다제 A2 (췌장)	0.67	4.81E-04
MT1M	메탈로티오네인 1M	0.652	2.69E-03
BEST2	베스트로핀 2	0.636	3.26E-03
HIST1H1B	히스톤 클러스터 1, H1b	0.626	3.49E-03
C17orf53	염색체 17 오픈 리딩 프레임 53	0.611	5.63E-04
ACTL8	액틴-유사 8	0.596	3.49E-03
SKA1	방추체 및 동원체 회합 복합체 서브유닛 1	0.582	2.13E-03
FOXM1	포크헤드 박스 M1	0.578	2.13E-04
ATP6V0E2	ATPase, H+ 수송 V0 서브유닛 e2	0.573	3.32E-04
TIFAB	포크헤드-연관 도메인을 갖는 TRAF-상호작용 단백질, 패밀리 구성원 B	0.555	1.84E-03
KIF18B	키네신 패밀리 구성원 18B	0.543	1.27E-03
CENPM	동원체 단백질 M	0.543	2.33E-03
KLRB1	킬러 세포 렉틴-유사 수용체 서브패밀리 B, 구성원 1	0.535	1.16E-03
BUB1	벤즈이미다졸 1 동족체에 의해 비억제되는 버딩 (효모)	0.534	1.87E-03
PLK1	폴로-유사 키나제 1	0.53	1.22E-03
PMCH	프로-멜라닌-농축 호르몬	0.528	1.47E-03
CCNB2	시클린 B2	0.519	2.92E-03

[0359]

ARHGAP11A	Rho GTPase 활성화 단백질 11A	0.511	6.44E-04
DIAPH3	디아파너스 동족체 3 (트로소필라)	0.51	3.72E-03
CDC20	세포 분열 주기 20 동족체 (에스. 세레비지아에)	0.505	2.75E-03
KIF4A	키네신 패밀리 구성원 4A	0.486	3.40E-03
LOC643733	카스파제 4, 아포토시스-관련 시스템인 펩티다제 위유전자	0.484	5.23E-04
KIF23	키네신 패밀리 구성원 23	0.482	2.48E-03
RNASEH2A	리보뉴클레아제 H2, 서브유닛 A	0.477	2.29E-04
CDK1	시클린-의존성 키나제 1	0.461	3.87E-03
BUB1B	벤즈이미다졸 1 동족체 베타에 의해 비억제되는 버딩 (효모)	0.458	3.60E-03
LOC100507424	비특정화 LOC100507424	0.456	2.69E-03
CXCR6	케모카인 (C-X-C 모티프) 수용체 6	0.455	9.94E-04
PSRC1	프롤린/세린-풍부한 코일드-코일 1	0.451	2.59E-03
LOC100507591	비특정화 LOC100507591	0.451	3.58E-03
ECH1	에노일 CoA 히드라타제 1, 피옥시솜	0.44	3.40E-03
SUV39H1	배리게이션 3-9 동족체 1의 억제자 (트로소필라)	0.438	3.68E-03
KCNMA1	칼륨 큰 전도도 칼슘-활성화된 채널, 서브패밀리 M, 알파 구성원 1	0.437	1.31E-03
NUDT1	뉴딕스 (뉴클레오시드 디포스페이트 연결 모이어티 X)-유형 모티프 1	0.436	1.66E-03
FAM54A	서열 유사성을 갖는 패밀리 54, 구성원 A	0.433	2.09E-03
WDR62	WD 반복 도메인 62	0.433	3.39E-03
DTYMK	테옥시티미딜레이트 키나제 (티미딜레이트 키나제)	0.424	2.79E-03
CHAF1A	염색질 조립 인자 1, 서브유닛 A (p150)	0.391	2.62E-03
ITGAE	인테그린, 알파 E (항원 CD103, 인간 점막 림프구 항원 1; 알파 폴리펩티드)	0.386	3.37E-04
DBF4	DBF4 동족체 (에스. 세레비지아에)	0.368	2.80E-03
PPIH	펩티딜프롤릴 이소머라제 H (시클로필린 H)	0.36	2.78E-03
POLD1	폴리머라제 (DNA 지정), 텔타 1, 족매 서브유닛	0.332	1.65E-03
PDCL3	포스두신-유사 3	0.321	1.03E-03
CCDC90A	코일드-코일 도메인 함유 90A	0.3	1.96E-03
PHF14	PHD 핑거 단백질 14	0.3	3.69E-03
SAE1	SUMO1 활성화 효소 서브유닛 1	0.292	2.91E-04
RUVBL2	RuvB-유사 2 (이. 콜라이)	0.291	4.30E-04
RPP30	리보뉴클레아제 P/MRP 30kDa 서브유닛	0.281	3.74E-03
MAD1L1	MAD1 유사분열 정지 결핍-유사 1 (효모)	0.275	1.97E-03
PTMA	프로티모신, 알파	0.268	2.23E-03
SNRPA	작은 핵 리보핵단백질 폴리펩티드 A	0.265	1.52E-03
ERCC3	절제 복구 교차-보완 절치류 복구 결핍, 상보군 3	0.171	2.21E-03
HNRNPUL1	불균질 핵 리보핵단백질 U-유사 1	0.162	1.66E-03

[0360]

[0361]

RNA 서열분석에 의한 차등 발현된 후보 유전자의 확인 후에, 본 발명자들은 다른 데이터세트에서의 신호 강도, 생물학적 관련성 및 발현 패턴을 기초로 한 추가의 분석을 위해 이들 유전자의 하위세트 (n=46)를 선택하였다. 이들 유전자에 대해, 모든 환자 (n=106)로부터의 기준선 생검 중 유전자 발현을 정량적 폴리머라제 연쇄 반응 (qPCR)에 의해 정량화하고, 풍부화를 중앙 컷오프 접근법을 사용하여 평가하였다. 이들 분석을 위해 실시예 1에 기재된 2개의 상이한 에트롤리주맙 용량 군을 합하였다. 도 5는 완화와 관련하여 나타난 유전자에 대한 모든 참가자에서의 치료 효과 차이의 오즈비를 제시한다. 도 5에서, 오즈비 1 (치료 효과 없음)은 박스의 중간에 점선으로 나타내어지고; 양성 치료 효과는 중앙의 우측에 나타내어지고; 음성 치료 효과는 중앙의 좌측에 나타내어진다. 따라서, 예를 들어, 중앙 수준보다 더 높은 수준의 그랜자임 A (GZMA) 및 FoxM1 발현 및 중앙 수준보다 더 낮은 수준의 TNFSF15 및 SLC8A3 조직 발현은 에트롤리주맙 치료 후 완화와 연관되었다. 도 5의 정성적 결과 및 그 밖의 것이 하기 표 4 및 표 5에 요약되어 있다.

[0362]

<표 4> 모든 참가자에서 에트롤리주맙 반응성과 연관된 중앙보다 더 높은 유전자 발현 수준 ("고 발현 예측 유



전자" 또는 "HEPG").

유전자 기호	임상 중점: 완화
GZMA	X
FOXMI	X
ECH1	X
KLRB1	X
TMIGD2	X
ITGAE	X
KCNMA1	X
GZMB	X
PHF14	X
CPA2	X
DDO	X
CCDC90A	X
TMEM200A	X
FAM125B	X
GPR15	X
FGF9	X
TIFAB	X
SLC8A3 (혈액)	X

[0363]

[0364]

<표 5> 모든 참가자에서 에트롤리주맙 반응성과 연관된 중앙보다 더 낮은 유전자 발현 수준 ("저 발현 예측 유전자" 또는 "LEPG").

유전자 기호	임상 중점: 완화
TNFSF15	X
SLC8A3 (조직)	X
MLK7.AS1	X
CCL3	X
VNN3	X
INHBA	X
VNN2	X
IL18RAP	X
REM2	X
TMEM154	X
CCL2	X
IL1A	X
LRRC4	X
HAMP	X
LMO4	X
MUCL1	X
LIF	X
TM4SF4	X
FGF7	X
BEST2	X
CCL3L3	X
MX1	X
UROS	X
SSTR2	X
CPA3	X
MT1M	X

[0365]

[0366]

도 6은 완화와 관련하여 나타낸 유전자에 대한 항-TNF 나이브 환자에서의 치료 효과 차이의 오즈비를 제시한다. 도 6에서, 오즈비 1 (치료 효과 없음)은 박스의 중간에 점선으로 나타내어지고; 양성 치료 효과는 중앙의 우측에 나타내어지고; 음성 치료 효과는 중앙의 좌측에 나타내어진다. 따라서, 예를 들어, 중앙 수준보다 더 높은 수준의 그랜자임 A (GZMA) 발현 및 중앙 수준보다 더 낮은 수준의 SLC8A3 발현은 에트롤리주맙 치료 후 완화와 연관되었다. 도 6의 정성적 결과 및 그 밖의 것이 하기 표 6 및 표 7에 요약되어 있다.

[0367]

<표 6> TNF-나이브 환자에서 에트롤리주맙 반응성과 연관된 중앙보다 더 높은 유전자 발현 수준 ("고 발현 예측 유전자" 또는 "HEPG").

유전자 기호	임상 종점: 완화
FASLG	X
CCL4	X
GZMA	X
FOXM1	X
ECH1	X
KLRB1	X
TMIGD2	X
ITGAE	X
KCNMA1	X
GZMB	X
PHF14	X
CPA2	X
DDO	X
TMEM200A	X
FAM125B	X
CXCR6	X
SLC8A3 (혈액)	X

[0368]

[0369]

<표 7> TNF-나이프 환자에서 에트롤리주맙 반응성과 연관된 중양보다 더 낮은 유전자 발현 수준 ("저 발현 예측 유전자" 또는 "LEPG").

유전자 기호	임상 중점: 완화
PMCH	X
TNFSF15	X
SLC8A3 (조직)	X
MLK7.AS1	X
CCL3	X
VNN3	X
INHBA	X
VNN2	X
IL18RAP	X
REM2	X
TMEM154	X
CCL2	X
IL1A	X
LRRC4	X
HAMP	X
LMO4	X
MUCL1	X
LIF	X
TM4SF4	X
FGF7	X
BEST2	X
CCL3L1/3	X
UROS	X
SSTR2	X
CPA3	X
MT1M	X

[0370]

[0371]

선택된 풍부화 유전자에 대한 기준선 유전자 발현을 사용하는 이원 클러스터링에 의해 본 발명자들은 2개의 별개의 환자 클러스터를 확인하였다. 도 7A에 제시된 바와 같이, T-세포 연관된 유전자 (인테그린 알파E, KLRB1, FOXM1, GZMA, TMEM200A)의 높은 발현 및 골수/호중구 유전자 (IL1A, VNN2, VNN3)의 낮은 발현을 갖는 환자는 완화를 겪을 가능성이 보다 많았다. 추가로, 도 7B는 완화자에서 기준선에서 보다 높은 유전자가 상관관계가 있는 경향이 있고 비-완화자에서 기준선에 보다 높은 유전자가 상관관계가 있는 경향이 있다는 것을 제시한다.

[0372]

다음에, 본 발명자들은 특정의 선택된 유전자에 대해 완화, 점막 치유 및 반응을 달성한 환자의 백분율을 분석하였다. 도 8은 모든 환자 (각각의 그래프의 좌측 절반) 및 항-TNF 나이브 환자 (그래프의 우측 절반)에서 중앙 수준보다 더 높은 수준의 유전자 발현이 에트롤리주맙으로 치료된 환자에서 완화를 풍부화시켰다는 것을 제시한다. 도 8에 제시된 바와 같이 높은 발현을 통해 완화를 풍부화시킨 유전자는 (A) 그랜자임 A, (B) KLRB1, (C) FOXM1 및 (D) 인테그린 알파 E이다. 도 8에 제시된 결과에 대해, 본 발명자들 또한 스크린시, 제43일 및 제71일에 개별 환자로부터 수득된 생검 중 그랜자임 A, KLRB1, FOXM1 및 알파E 각각의 유전자 발현 수준을 측정함으로써 연구의 위약 부분으로부터의 샘플 중 유전자 발현의 종적 안정성을 정성적으로 (즉, 중앙보다 더 높은, 중앙의 또는 중앙보다 더 낮은 유전자 발현) 평가하였다. 이들 샘플을 일치에 대해 쌍별 비교하고, 평균 일치율을 계산하였다. 위약 샘플 중 그랜자임 A에 대한 평균 일치율은 67%였고, KLRB1에 대한 평균 일치율은 71%였고, FOXM1에 대한 평균 일치율은 70%였고, 알파E에 대한 평균 일치율은 57%였다. 이론에 얽매이지 않으면서, 보다 높은 평균 일치율을 갖는 유전자가 보다 낮은 평균 일치율을 갖는 유전자보다 더 안정한 근본적 생물학 측면을 반영한다고 여겨지며, 따라서 이러한 일치 유전자는 궁극적으로 항-인테그린 베타7 길항제 반응성을 풍부화시키는 바이오마커로서 사용하기에 보다 강건한 것으로 증명될 수 있다.



- [0373] 그랜자임 A, KLRB1, FOXM1 및 알파E 각각에 대한 추가의 결과가 도 9-12에 각각 제시되어 있다. 도 9-12에 각각 제시된 바와 같이 및 상기 제시된 결과와 일치하게, 확인된 유전자 각각의 높은 기준선 발현은 완화에 의해 평가된 바와 같이 에트롤리주맙 반응성을 풍부화시켰다. 게다가, 도 9-12에서의 데이터는 GZMA, KLRB1, FOXM1 및 ITGAE 각각의 높은 기준선 발현이 점막 치유 및 임상 반응에 의해 평가된 바와 같이 에트롤리주맙 반응성을 풍부화시켰다는 것 (풍부화가 덜 현저하긴 하였지만)을 제시한다. 스크리닝 생검 중 기준선 발현을 검사하고 완화, 점막 치유 및 임상 반응에 의해 에트롤리주맙 반응성을 평가한, 추가의 유전자 ECH1에 대한 데이터가 도 18A-D에 제시되어 있다.
- [0374] 본 발명자들은 또한 특정 유전자의 스크리닝 생검 중 중양 수준 미만의 기준선 유전자 발현이 에트롤리주맙 치료에 대한 환자 반응성을 풍부화시켰다는 것을 관찰하였다. 도 13에 제시된 바와 같이, 모든 환자 (각각의 그래프의 좌측 절반) 및 항-TNF 나이브 환자 (그래프의 우측 절반)에서 나타난 유전자의 중양 수준보다 더 낮은 수준의 유전자 발현이 에트롤리주맙으로 치료된 환자에서의 완화를 풍부화시켰다. 도 13에 제시된 바와 같이 낮은 발현을 통해 완화를 풍부화시킨 유전자는 SLC8A3 (도 13A), TNFSF15 (도 13B), CCL2 (도 13C) 및 BEST2 (도 13D)이다. 도 13에 제시된 결과에 대해, 본 발명자들 또한 스크리닝, 제43일 및 제71일에 개별 환자로부터 취득된 생검 중 SLC8A3, TNFSF15, CCL2 및 BEST2 각각의 유전자 발현 수준을 측정함으로써 연구의 위약 부분으로부터의 샘플 중 유전자 발현의 종적 안정성을 정성적으로 (즉, 중양보다 더 높은, 중양의 또는 중양보다 더 낮은 유전자 발현) 평가하였다. 이들 샘플을 일치에 대해 쌍별 비교하고, 평균 일치율을 계산하였다. 위약 샘플 중 SLC8A3에 대한 평균 일치율은 66%였고, TNFSF15에 대한 평균 일치율은 75%였고, CCL2에 대한 평균 일치율은 70%였고, BEST2에 대한 평균 일치율은 63%였다. 상기 논의된 바와 같이 및 이론에 얽매이지 않으면서, 보다 높은 평균 일치율을 갖는 유전자가 보다 낮은 평균 일치율을 갖는 유전자보다 더 안정한 근본적 생물학 측면을 반영한다고 여겨지며, 따라서 이러한 일치 유전자는 궁극적으로 항-인테그린 베타7 길항제 반응성을 풍부화시키는 바이오마커로서 사용하기에 보다 강건한 것으로 증명될 수 있다.
- [0375] SLC8A3, TNFSF15, CCL2 및 BEST2 각각에 대한 추가의 결과가 도 14-17에 각각 제시되어 있다. 도 14-17에 각각 제시된 바와 같이 및 상기 제시된 결과와 일치하게, 확인된 유전자 각각의 낮은 기준선 발현은 완화에 의해 평가된 바와 같이 에트롤리주맙 반응성을 풍부화시켰다. 게다가, 도 14-17에서의 데이터는 SLC8A3, TNFSF15, CCL2 및 BEST2 각각의 낮은 기준선 발현이 점막 치유 및 임상 반응에 의해 평가된 바와 같이 에트롤리주맙 반응성을 풍부화시켰다는 것 (풍부화가 덜 현저하긴 하였지만)을 제시한다. 스크리닝 생검 중 기준선 발현을 검사하고 완화, 점막 치유 및 임상 반응에 의해 에트롤리주맙 반응성을 평가한, 추가의 유전자 VNN2에 대한 데이터가 도 19A-D에 제시되어 있다.
- [0376] 요약하면, 본 발명자들은 완화, 점막 치유 또는 임상 반응의 임상 종점에 의해 평가된 바와 같이 약물에 반응하지 않은 에트롤리주맙-치료된 환자와 동일한 임상 종점을 사용하여 약물에 반응한 상기 환자 사이의 차등 유전자 발현 패턴을 연구함으로써, 에트롤리주맙 반응 또는 비-반응과 연관된 중양 수준보다 더 높은 수준으로 발현된 수많은 유전자를 확인할 수 있었다는 것을 제시하였다. 추가의 분석을 통해 본 발명자들은 에트롤리주맙 반응성을 풍부화시킨 높은 기준선 발현 또는 낮은 기준선 발현을 갖는 수많은 유전자를 확인하였다. 특히, 본 발명자들은 그랜자임 A, KLRB1 및 FOXM1의 높은 기준선 발현이 완화, 점막 치유 및 임상 반응에 의해 평가된 바와 같이 에트롤리주맙 반응성을 풍부화시켰다는 것을 결정하였다. 각각의 이들 유전자는 시험의 위약 부문에서 환자로부터의 3개의 종적 생검 중 대략 70% 일치율을 입증하였다. 여기서 보고된 결과는 기준선에서의 높은 알파 E 발현 및 높은 기준선 발현을 갖는 특성의 추가의 유전자가 에트롤리주맙 반응성을 풍부화시켰다는 본 발명자들의 이전 보고된 소견 (예를 들어, WO 2014/055824 참조)을 확증 및 확장시켜준다.
- [0377] 여기서 보고된 연구에서, 본 발명자들은 또한, 특히, SLC8A3 (조식 생검 중) 및 TNFSF15의 낮은 기준선 발현이 완화, 점막 치유 및 임상 반응에 의해 평가된 바와 같이 에트롤리주맙 반응성을 풍부화시켰다는 것을 결정하였다. 각각의 이들 유전자는 또한 시험의 위약 부문에서 환자로부터의 3개의 종적 생검 중 대략 70% 일치율을 입증하였다.
- [0378] 말초 혈액 유전자 발현 분석
- [0379] 비치료 환자 샘플 코호트
- [0380] 코호트 1: 회결장내시경검사 동안 회장 및 결장 생검 샘플을 UC 환자 (n=30), CD 환자 (n=67) 및 비-IBD 건강한 대조군 (n=14)으로부터 취하였다. 생검은 내시경의학자에 의해 염증발생 또는 비염증발생으로 판단되는 구역으로부터 취하였다. RNA를 상기 상술한 바와 같이 생검 샘플로부터 분리하였다. 코호트 2: 말초 혈액 샘플을 UC에 대해 장 절제를 겪은 환자 (n=31) 또는 CD에 대해 장 절제를 겪은 환자 (n=32)로부터 팩스젠 RNA 튜브에 수

집하였다. 추가의 팩스젠 샘플을 정상인 건강한 대조군 (n=10)으로부터 수집하였다. 코호트 3: 결장 생검을 UC 환자 (n=13) 및 건강한 대조군 (n=8) 둘 다의 결장의 염증발생 및 비염증발생 구역 둘 다로부터 취하고, RNA 레이터 내에 넣은 다음, 상기 상술한 바와 같이 RNA를 단리하거나, 포르말린 처리하거나, 또는 하기 상술한 바와 같이 세포 분류를 위해 즉시 가공하였다.

[0381] 말초 혈액 RNA의 수집 및 가공

[0382] 에트몰리주맵 2상 연구 샘플에서, 총 RNA를 동결된 팩스젠 혈액 튜브로부터 킹피셔(KingFisher)<sup>TM</sup> (써모 사이언티픽(Thermo Scientific)) 자기 입자 분리기 상에서 자동화 단리에 의해 단리하였다. 간략하게, 튜브를 실온에서 16시간 동안 해동시켰다. 원심분리하고 세척하여 백혈구 펠릿을 수집한 후에, 세포를 구아니디늄-함유 완충제 중에 용해시켰다. 유기 추출을 수행한 후에, 킹피셔<sup>TM</sup> 실행을 위해 제제 중에 결합 완충제 및 자기 비드를 첨가하였다. 절차는 마이크로RNA의 보유를 위해 최적화되었고, 자기 비드로부터의 용리 전에 DNase 처리 단계 및 세정을 포함하였다. 총 RNA 샘플의 순도 및 양은 나노드롭(NanoDrop) ND-1000 UV 분광광도계를 사용하여 260 및 280 nm에서의 흡광도 판독에 의해 결정하였다. 총 RNA의 완전성을 나노 어세이(Nano Assay) 및 캘리퍼랩칩(Caliper LabChip) 시스템을 사용하여 애질런트 바이오애널리저 2100 마이크로유체 전기영동에 의해 정성 분석하였다. 코호트 2의 비치료 환자 샘플로부터의 말초 혈액 샘플 (상기 기재됨)에서, RNA를 팩스젠 혈액 RNA 키트 IVD (퀴아젠)를 사용하여 제조업체의 지침에 따라 단리하였다. RNA를 나노드롭 분광광도계를 사용하여 정량화하고, RNA 완전성을 애질런트 2100 바이오애널리저 상에서 RNA 6000 피코 키트 (애질런트 테크놀로지스)를 사용하여 평가하였다.

[0383] 결장 생검으로부터의 세포 단리

[0384] 경도 내지 중증 활성 UC 환자의 코호트 3의 비치료 환자 샘플로부터 수집한 결장 생검 (상기 기재됨)을 이전에 공개된 방법을 사용하여 단세포 현탁액으로 가공하였다. 간략하게, 단핵 세포를 5mM 1,4-디티오프레이톨과 함께 인큐베이션하여 추출하고, 이어서 1.5mg/ml 콜라게나제 VIII 및 0.05mg/ml DNase I을 사용하여 소화시켰다 (모든 시약은 시그마 (미국 미주리주 세인트 루이스)로부터의 것임). 세포 현탁액을 라이브/데드(Live/Dead)<sup>®</sup> 염색 (라이프 테크놀로지스 코포레이션, 미국 캘리포니아주 칼스배드), CD45 PeCy5, TCR  $\alpha\beta$  PeCy7, CD8  $\alpha$  APC Cy7,  $\alpha$ E 인테그린 (CD103) FITC,  $\beta$ 7 인테그린 APC (모두 바이오레전드(Biolegend) (영국 런던)로부터의 것임) 및 CD8  $\beta$  PE (벤크만 쿨터 (미국 캘리포니아주 브레아))로 염색하였다. TCR  $\alpha\beta$ +, CD4+ 또는 CD8+ T 세포를 그의  $\alpha$ E 및  $\beta$ 7 인테그린 발현을 기초로 하여  $\beta$ -메르캅토에탄올을 함유하는 RLT 완충제 (퀴아젠, 독일 힐텐)로 직접 분류하고, 이로부터 RNA를 피코퓨어(PicoPure) RNA 단리 키트를 사용하여 제조업체의 프로토콜 (라이프 테크놀로지스 코포레이션, 미국 캘리포니아주 칼스배드)에 따라 단리하였다. 분류된 집단의 순도를 평가하여 샘플이  $\geq 85\%$  순도를 갖는다는 것을 보장하였다.

[0385] 정량적 폴리머라제 연쇄 반응에 의한 유전자 발현 분석

[0386] 상기 기재된 바와 같이 팩스젠 튜브 및 분류된 세포로부터 단리된 RNA를 고성능 cDNA 역전사 키트 (라이프 테크놀로지스 코포레이션, 미국 캘리포니아주 칼스배드)를 사용하여 상보적 데옥시리보핵산으로 역전사시켰다. 유전자 발현 수준을 실시간 폴리머라제 연쇄 반응 (또한, 정량적 폴리머라제 연쇄 반응으로도 지칭됨)에 의해 평가하였다. 실시간 폴리머라제 연쇄 반응을 바이오마크<sup>TM</sup> HD 시스템 (플루이다임 코포레이션, 미국 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코) 상에서 택맨 프리엠프 마스터 믹스 (라이프 테크놀로지스 코포레이션, 미국 캘리포니아주 칼스배드) 및 시약 (플루이다임)과 함께 각각의 유전자의 택맨 유전자 발현 검정 (모두 라이프 테크놀로지스 코포레이션 (미국 캘리포니아주 칼스배드)으로부터의 것)을 사용하여 제조업체의 지침에 따라 실행하였다. 표적 유전자 발현을  $\Delta$ Ct 방법을 사용하여 GAPDH 발현에 대해 정규화하였다.

[0387] 면역조직화학 및 세포 정량화

[0388] 에트몰리주맵 II상 연구로부터의 포르말린-고정된 조직 샘플을 파라핀 블록에 포매시키고, 염색을 위해 4  $\mu$ M 절편으로 절단하였다. 염색을 항-인테그린  $\alpha$ E 항체 (EPR4166; 압캠 피엘씨(Abcam plc), 미국 매사추세츠주 캄브리지)를 사용하여 벤치마크(Benchmark) XT (벤타나 메디칼 시스템즈, 인크.(Ventana Medical Systems, Inc.), 미국 애리조나주 투산) 자동염색기 상에서 수행하고, 3,3'-디아미노벤지딘으로 발색시키고, 헤마톡실린으로 대조염색하였다. 전체 슬라이드 영상을 올림푸스 나노주머(Olympus Nanozoomer) 자동화 슬라이드 스캐닝 플랫폼 (하마마츠 포토닉스 가부시기가이샤(Hamamatsu Photonics K.K.), 미국 뉴저지주 브리지워터)에 의해 200x 최종 배율에서 취득하였다. 스캐닝된 슬라이드를 MATLAB<sup>®</sup> 소프트웨어 패키지 (버전 R2012a; 더 매스웍스, 인크.(The MathWorks, Inc.), 미국 매사추세츠주 나티크)에서 24-비트 RGB 영상으로 분석하였다. 총

세포, αE+ 세포, 및 음와 상피와 연관된 αE+ 세포를 계수하였다. 음와 상피 구역은, 개별 세포 핵을 절편화한 다음에 그의 총 구역의  $\geq 25\%$ 가 3,3'-디아미노벤지딘과 공동국재화된 경우에 면역조직화학 양성으로 점수화하는, 서포트 벡터 머신 및 유전자 프로그래밍의 조합을 사용하여 확인하였다.

[0389] 코호트 3의 비치료 환자 샘플 (상기 기재됨)에서의 이중 면역형광 연구는 37°C에서 60분 동안 인큐베이션한 상기 상술한 바와 같은 항-인테그린 αE 항체 및 항-그랜자임 A 폴리클로날 염소 IgG (알앤디 시스템즈(R&D Systems), 미국 미네소타주 미네아폴리스) 둘 다를 사용하여 포르말린 고정된 파라핀 포매된 조직 샘플에서 수행하였다. 항-염소 옴니맵(Omnimap)-HRP를 검출로서 사용하고, DAPI 및 헤마톡실린-II를 사용하여 절편을 대조 염색하였다 (벤타나 메디칼 시스템즈, 인크., 미국 애리조나주 투산).

[0390] 통계적 분석

[0391] 통계적 검정을 적절한 경우 윌콕슨 순위-합계 검정 또는 피셔 정확 검정을 사용하여 수행하였다. 다중 비교를 위한 조정은 수행하지 않았다. 선택된 유전자에 대해 샘플 중앙 컷오프를 사용하여 하위군 분석을 수행하였다. 연구의 위약 부문으로 무작위화된 환자에서 유전자 발현의 종적 안정성을 평가하였다.

[0392] 결과

[0393] 상기 기재된 방법 및 분석 후에, 에트롤리주맙에 대한 반응의 예측을 위해 말초 혈액 RNA 샘플 중 기준선 유전자 발현을 평가하였다. 본 발명자들은 모든 환자 (n=107)로부터의 기준선 및 제1일 말초 혈액 샘플을 분석하였다. 유전자 발현을 정량적 폴리머라제 연쇄 반응 (qPCR)에 의해 정량화하고, 풍부화를 중앙 컷오프 접근법을 사용하여 평가하였다. 이들 분석을 위해 실시예 1에 기재된 2개의 상이한 에트롤리주맙 용량 군을 합하였다.

[0394] 본 발명자들은 기준선 말초 혈액 유전자 발현 수준 (저, 중앙 미만 vs. 고, 중앙 또는 중앙 초과)에 의해 계층화된 환자에서 완화, 점막 치유 및 반응을 달성한 환자의 백분율을 분석하였다. 도 20A-D는 모든 환자에서 중앙 수준 및 중앙 수준보다 더 높은 수준의 ITGAE 유전자 발현이 에트롤리주맙으로 치료된 환자에서의 완화를 풍부화시켰다는 것을 제시한다. 본 발명자들은 또한 도 21A-D에 제시된 바와 같이 높은 (중앙 또는 중앙 초과) 기준선 말초 혈액 ECH1 발현을 갖는 환자에서 완화의 풍부화를 관찰하였다. 말초 혈액 유전자 발현을 또한 FOXM1 (도 22A-D), GZMA (도 23A-D) 및 KLRB1 (도 24A-D)에 대해 평가하였다. 도 25A-D에 제시된 바와 같이, 높은 수준의 SLC8A3 말초 혈액 유전자 발현을 갖는 환자는 스크리닝 생검 유전자 발현에서 관찰된 결과와 대조적으로, 에트롤리주맙 치료에 반응하여 완화를 증가시켰다 (도 14A-D).

[0395] SLC8A3 유전자는 세포에서 칼슘 항상성을 유지하기 위해 나트륨 및 칼슘의 양방향 스위칭을 위한 막 수송자로서 기능하는 나트륨/칼슘 교환 단백질인 NCX3을 코딩한다. NCX3은 인간 대식세포 및 근섬유모세포 상에서 발현된다. 단핵구/대식세포 계열의 조직 세포와 순환 세포 사이의 관계가 완전히 이해되지는 않지만, 이론에 얽매이지 않으면서, 생검 조직 중 낮은 단핵구/대식세포 세포 수는 높은 수준의 순환 단핵구/대식세포를 나타내는 것일 수 있다. 그러한 경우에, 낮은 SLC8A3 유전자 발현에 의해 나타내어지는 바와 같은 낮은 조직 단핵구/대식세포 함량을 갖는 환자는 높은 SLC8A3 유전자 발현에 의해 나타내어지는 바와 같은 높은 순환 단핵구/대식세포 함량을 갖는 환자와 주로 중첩될 수 있다. 따라서, 조직 중 SLC8A3 유전자 발현의 낮은 수준 및 말초 혈액 중 SLC8A3 유전자 발현의 높은 수준은 관계가 있고, 그 관계는 조직 중 낮은 수준 발현 (도 14A-D) 및 말초 혈액 중 높은 수준 발현 (도 25A-D)이 각각 에트롤리주맙 치료에 대한 반응성을 어떻게 예측할 수 있는지 설명해준다.

[0396] 본 발명자들은 또한 특정 유전자의 중앙 수준 미만의 기준선 말초 혈액 유전자 발현이 에트롤리주맙 치료에 대한 환자 반응성을 풍부화시켰다는 것을 관찰하였다. 도 26A-D에 제시된 바와 같이, 중앙 수준보다 더 낮은 수준의 TNFSF15 유전자 발현이 에트롤리주맙으로 치료된 환자에서의 완화를 풍부화시켰다. 본 발명자들은 또한 도 27A-D에 제시된 바와 같이 중앙 수준보다 더 낮은 수준의 VNN2 유전자 발현이 에트롤리주맙에 반응하여 완화를 풍부화시켰다는 것을 발견하였다.

[0397] 다음에, 본 발명자들은 상기 기재된 바와 같은 비치료 환자로부터 수득된 점막 생검 중 유전자 발현에 대한 염증의 효과를 평가하였다. 회장 및 결장 생검 샘플을 CD 환자, UC 환자 또는 비-IBD 건강한 대조군 대상체로부터 수집하였다. 생검을 비-IBD 대조군 및 UC 환자의 구불 결장 및 비-IBD 대조군 및 CD 환자의 결장 및 회장으로로부터 취하였다. 비염증발생 생검을 내시경의학자에 의한 판단으로 정상 점막으로부터 취하였으며; 염증성 질환이 분명한 경우에, 추가의 생검을 염증발생 구역으로부터 취하였다. 도 28A에 제시된 바와 같이, ITGAE 유전자 발현은 비-IBD 및 IBD 환자 둘 다에서 결장 생검과 비교하여 회장 생검에서 더 높다. 그러나, IBD 환자에서는 염증발생 및 비염증발생 결장 생검 사이에 또는 염증발생 및 비염증발생 회장 생검 사이에 어떠한 유의차도

존재하지 않았다. 유사하게, GZMA (도 28B), KLRB1 (도 28E) 및 TNFSF15 (도 28G)는 결장 생검과 비교하여 회장 생검에서 더 높은 발현을 가졌고, 염증발생 및 비염증발생 결장 또는 회장 생검 사이에 차이가 없었다. VNN2 (도 28C)는 결장보다 회장에서 더 높았고, 또한 CD 환자의 비염증발생 회장과 비교하여 염증발생 회장에서 증가하였다. 최종적으로, ECH1 (도 28D)은 CD 환자로부터의 비염증발생 결장 생검과 비교하여 염증발생 결장에서 더 낮았다.

[0398] 말초 혈액 유전자 발현을 코호트 2의 비치료 환자 샘플에서 평가하였다. 도 29A에 제시된 바와 같이, 건강한 대조군 대상체와 비교하여 UC 환자에서 더 낮은 수준의 ITGAE 말초 혈액 유전자 발현이 관찰되었다. 건강한 대조군 대상체와 비교하여 CD 환자에서 더 높은 수준의 GZMA (도 29B) 및 ECH1 (도 29D) 말초 혈액 유전자 발현이 발견되었다. VNN2 (도 29C) 및 FOXM1 (도 29H) 유전자 발현 수준은 건강한 대조군 대상체와 비교하여 UC 및 CD 환자 둘 다에서 더 높았다.

[0399] 기준선에서, 음와 상피 내  $\alpha E^+$  세포의 수는 그랜자임 A<sup>지</sup> 및  $\alpha E^{\text{지}}$  환자와 비교하여 그랜자임 A<sup>고</sup> 및  $\alpha E^{\text{고}}$  환자 둘 다에서 유의하게 더 높았다 (각각 도 30A-B). 각각 도 30C-D에 제시된 바와 같이, 에트롤리주맙 치료는 그랜자임 A<sup>고</sup> 및  $\alpha E^{\text{고}}$  환자에서 제10주에 음와 상피 내  $\alpha E^+$  세포의 수를 유의하게 감소시킨 반면에, 에트롤리주맙 치료 후 그랜자임 A<sup>지</sup> 및  $\alpha E^{\text{지}}$  환자에서 음와 상피 내  $\alpha E^+$  세포의 유의한 감소는 존재하지 않았다.

[0400] 코호트 3의 비치료 UC 환자로부터의 결장 생검으로부터 단리된, 유동 세포측정법에 의해 분류된 CD4+ $\alpha E^+$  T 세포에서, 그랜자임 A 유전자 발현은 CD4+ $\alpha E^-$  T 세포와 비교하여 유의하게 상향조절되었으며; CD4+ $\alpha E^+$  세포에서 그랜자임 A의 수준은 비-IBD 대조군과 비교하여 UC 환자에서 또한 유의하게 더 높았다 (도 31A). 그랜자임 A 유전자 발현은 UC 환자로부터의 CD8+ $\alpha E^+$  세포에서가 아니라 분류된 CD4+ $\alpha E^+$  세포에서  $\alpha E$  발현과 양의 상관관계가 있었다 (도 31B). 코호트 3의 비치료 환자 샘플로부터의 데이터와 일치하게, 그랜자임 A 및  $\alpha E$ 의 유전자 발현은 에트롤리주맙 II상 연구 집단으로부터의 기준선 결장 생검에서 유의한 양의 상관관계가 있었다 (도 31C). 이들 관찰과 일치하게, 그랜자임 A의 결장 생검 유전자 발현은 에트롤리주맙 II상 연구에 등록된 환자로부터의 결장 생검에서 음와 상피 및 고유관 내  $\alpha E^+$  세포의 수와 유의한 상관관계가 있었다 (도 31D). 이중 면역형광 분석은 그랜자임 A 염색이 결장 조직에서  $\alpha E^+$  세포의 하위세트로 제한되었다는 것을 제시하였다 (도 31E). 이들 데이터는  $\alpha E^+$  세포가 UC 환자의 결장에서 그랜자임 A의 공급원일 수 있다는 것을 시사한다.

[0401] 요약하면, 본 발명자들은 ITGAE, ECH1 및 SLC8A3의 높은 기준선 말초 혈액 발현이 완화, 점막 치유 및 임상 반응에 의해 평가된 바와 같이 에트롤리주맙 반응성을 풍부화시켰다는 것을 제시하였다. 여기서 보고된 결과는 기준선에서의 높은  $\alpha E^+$  발현 및 높은 기준선 발현을 갖는 특성의 추가의 유전자가 에트롤리주맙 반응성을 풍부화시켰다는 본 발명자들의 이전 보고된 소견을 확증 및 확장시켜준다. 본 발명자들은 또한, 특히, VNN2 및 TNFSF15의 낮은 기준선 말초 혈액 발현이 완화, 점막 치유 및 임상 반응에 의해 평가된 바와 같이 에트롤리주맙 반응성을 풍부화시켰다는 것을 결정하였다. 본 발명자들은 독립적 코호트에서 이들 유전자의 말초 혈액 유전자 발현을 평가하였고, 이들이 IBD 환자로부터의 샘플 중 일부 변화를 갖는 건강한 대조군과 중첩된다는 것을 발견하였다.

[0402] 본 발명자들은 또한 비치료 환자 코호트에서 본원에 기재된 유전자의 생검 유전자 발현을 평가하였으며, 유전자 발현이 일부 경우에 회장에서 상승하지만 (ITGAE, GZMA, KLRB1, TNFSF15), CD 또는 UC 환자로부터의 염증발생 샘플에서는 상이하다는 것을 발견하였다. VNN2는 회장에서 유전자 발현이 상승하였고, 또한 비염증발생 생검에 비해 염증발생 생검에서 증가하였다. ECH1은 비염증발생 결장과 비교하여 염증발생 결장에서 더 낮았다. ITGAE 및 GZMA의 중첩에 대한 추가의 연구는, ITGAE 및 GZMA가 생검에서 상관관계가 있다는 것, GZMA 발현이  $\alpha E^+$ -CD4+ T 세포와 비교하여 분류된  $\alpha E^+$ -CD4+ T 세포에서 더 높았다는 것, 및 면역형광에 의해  $\alpha E^+$  세포의 하위 세트가 그랜자임 A를 공-발현시켰다는 것을 제시하였다.

[0403] 요약하면, 본원에 기재된 유전자의 발현 수준은 개별적으로 또는 조합으로, 베타7 인테그린 서브유닛을 표적화하는 치료제 (에트롤리주맙 포함)를 사용하는 치료로부터 이익을 얻을 가능성이 가장 많은 IBD 환자, 예컨대 UC 및 크론병 환자를 확인하는 예측 바이오마커로서 사용하기 위한 잠재력을 제시한다. 바이오마커는 수많은 방법에 의해, 예를 들어 qPCR에 의해 측정될 수 있고, 다양한 조직 샘플, 예를 들어 장 생검 또는 말초 혈액이 측정을 위해 사용될 수 있다.



카바이트# 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35

HVR1

hukl D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q S I S N Y L A W  
Fib504 D V V M T Q S P A T L S V T P G E R I S L S C R A S E S V D T Y L H W  
504K 그래프트 D I Q M T Q S P S L S A S V G D R V T I T C R A S E S V D T Y L H W  
hu504-5  
hu504-16 S L  
hu504-32 D L

카바이트# 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75

HVR2

hukl Y Q Q K P G K A P K L L I Y A A S S L E S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I  
Fib504 Y Q Q K P N E S P R L L I K Y A S Q S I S G I P S R F S G S G S G T D F T L S I  
504K 그래프트 Y Q Q K P G K A P K L L I K Y A S Q S I S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I

카바이트# 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 a 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107 108

HVR3

hukl S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q Y N S L P W T F G Q G T K V E I K R (SEQ ID NO.:12)  
Fib504 N G V E L E D L S I Y Y C Q Q G N S L P N T F F G A G T K L E L K R (SEQ ID NO.:10)  
504K 그래프트 S L Q P E D F A T Y Y C Q Q G N S L P N T F F G Q G T K V E I K R (SEQ ID NO.:14)

도면  
도면1i

도 1A

카바트# 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42

humIII E V Q L V E S G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S S Y A M S W V R Q A P G  
Fib504 E V Q L I Q E S G P G L V K P S Q S L S L T C S V T G F F I T N N Y W G W I R K F G G  
504K-그라프트 V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F F I T N N Y W G W V R Q A P G

HVR1

카바트# 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 a 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 a

HVR2

humIII K G L E W V S V I S G D G G S T Y Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N  
Fib504 N K M E W M G Y I S Y S G S T S Y N P S L K S R I S I T R D T S K N Q F F I Q I N  
504K-그라프트 K G L E W V G Y I S Y S G S T S Y N P S L K S R F T I S A D T S K N T A Y L Q M N  
hu504-5  
hu504-16  
hu504-32 R  
R F

카바트# b c 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 a k 101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113

HVR3

humIII S L R A E D T A V Y Y C A R G M T G S S G Y F D Y W G Q G T L V T V S S (SEQ.ID NO.13)  
Fib504 S V T T E D T A T Y Y C A M T G S S G Y F D F W G P G T M V T V S S (SEQ.ID NO.11)  
504K-그라프트 L R A E D T A V Y Y C A M T G S S G Y F D F W G Q G T L V T V S S (SEQ.ID NO.15)

도면1ii

도 1B

도면2

```

1      10      20      30      40      50      60
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESVDDLHWYQQKPGKAPKLLIKYASQSIISGVPS
      70      80      90      100
RFSGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQQGNSLPNTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO.:31)

```

도 2A

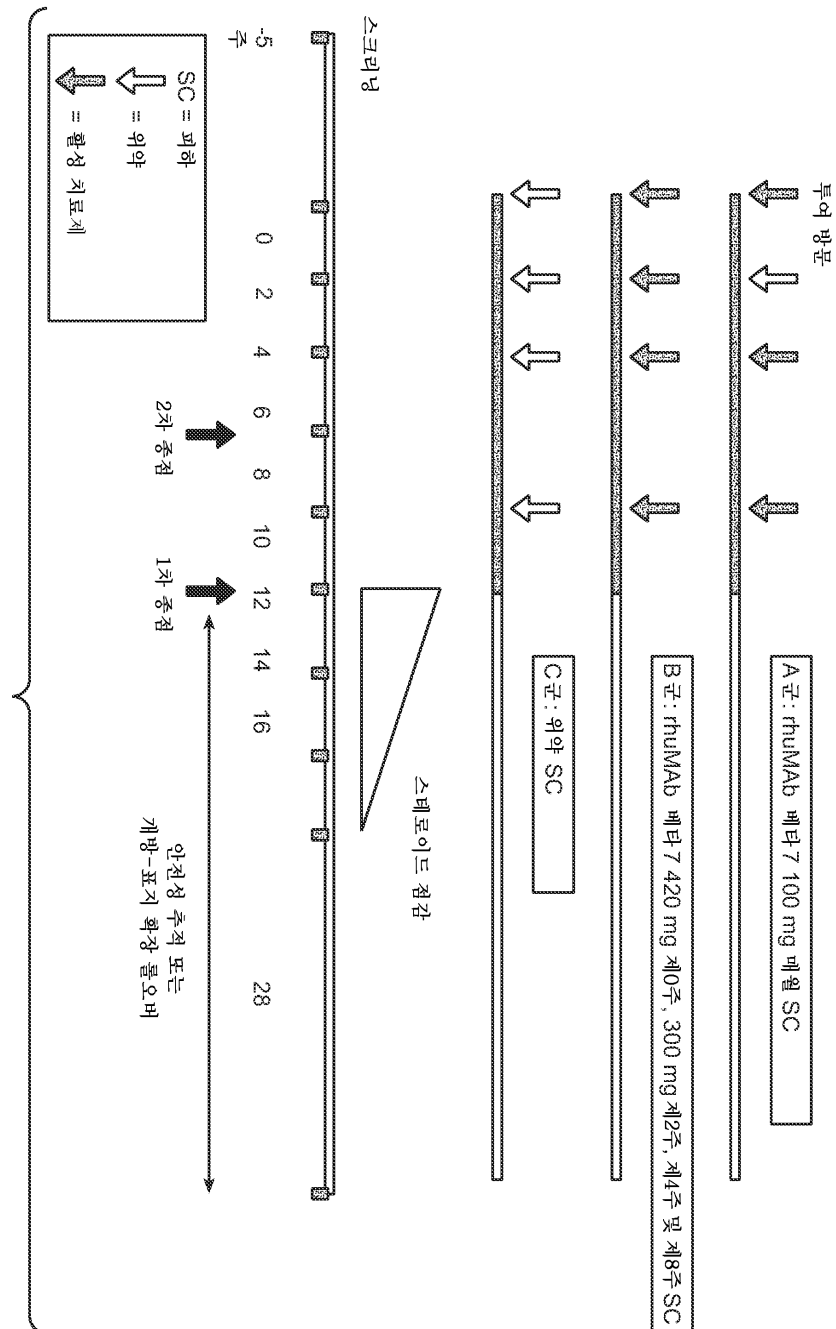
```

1      10      20      30      40      50      60
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFFITNNYWGVRQAPGKGLEWVGYISYSGSTSYN
      70      80      90      100      110
PSLKSRFTISRDTSKNTFYLMNSLR AEDTAVYYCARTGSSGYFD FWDGQGT LVT VSS
                                                    (SEQ ID NO.:32)

```

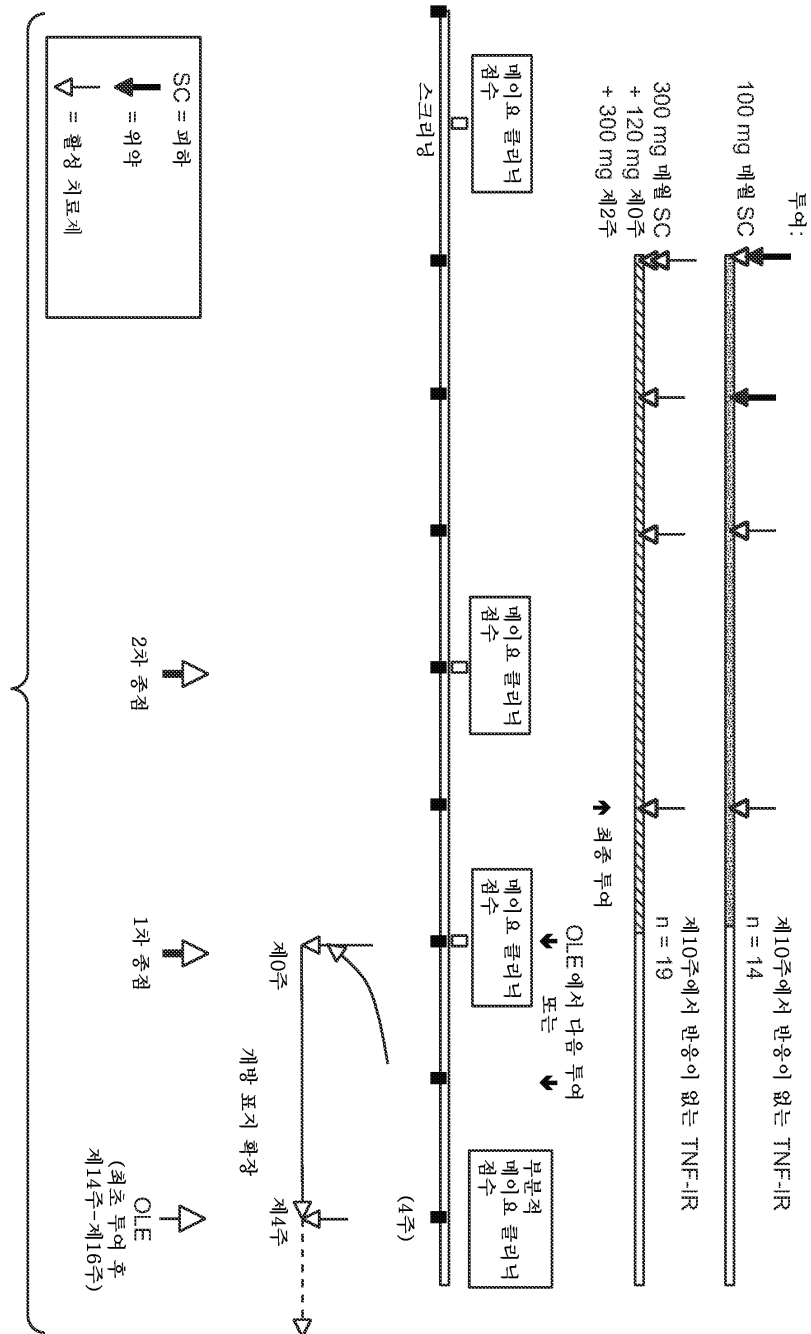
도 2B

도면3

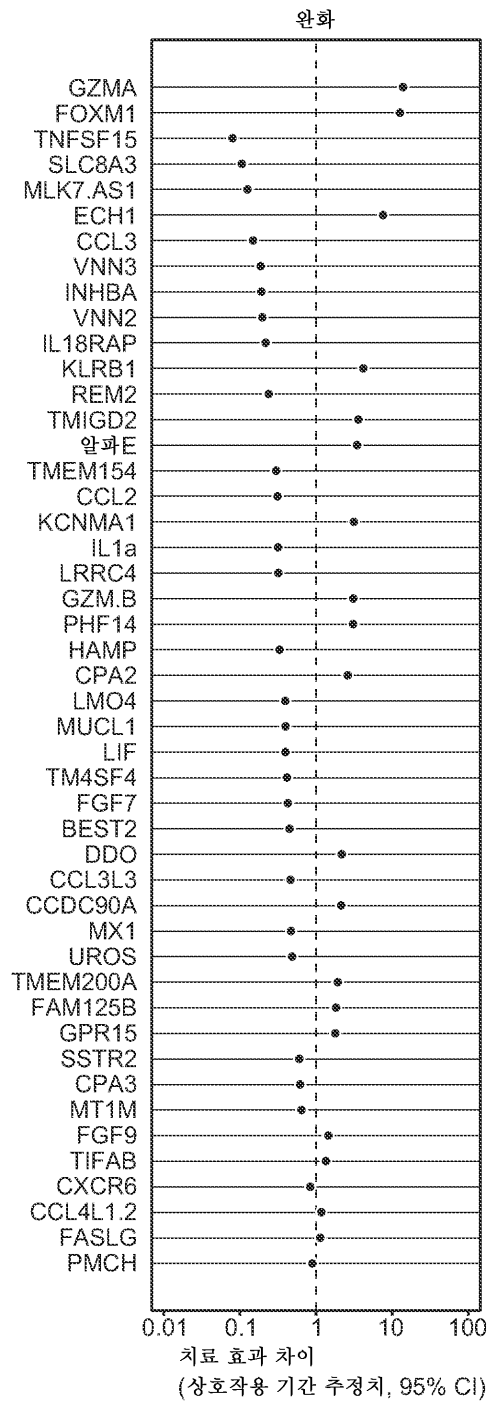




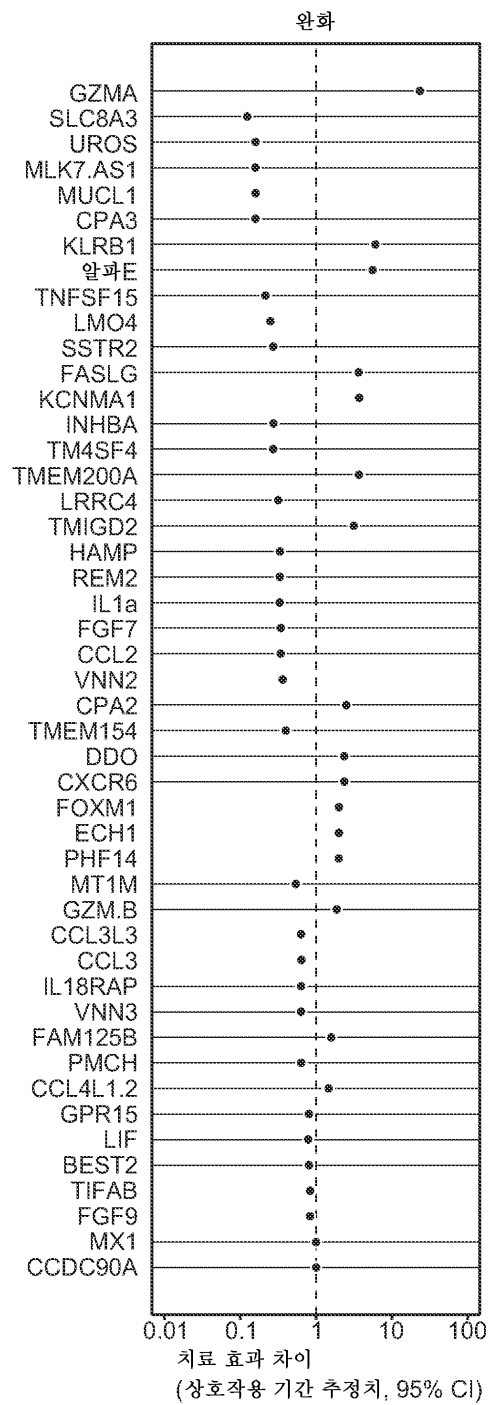
도면4



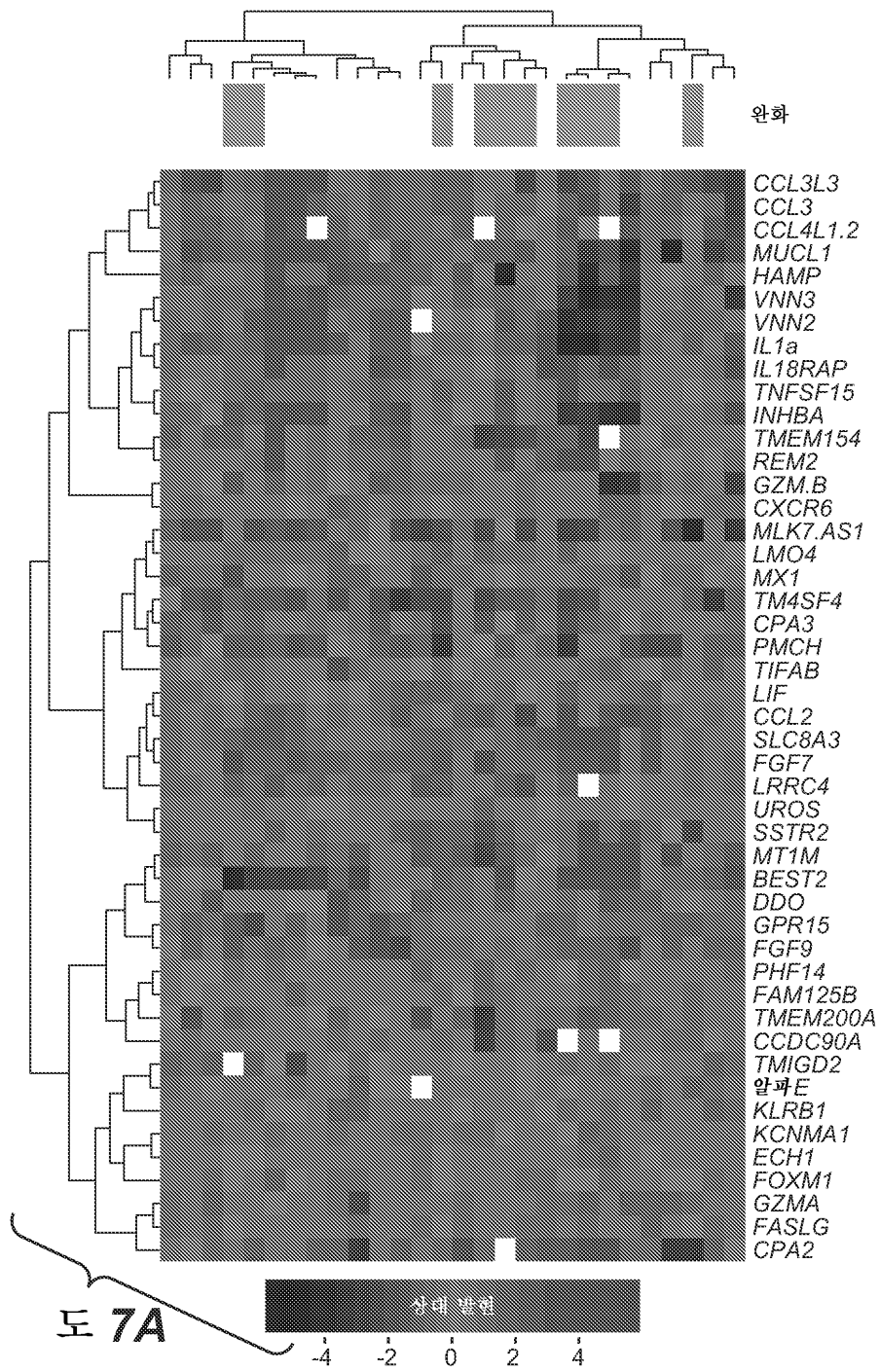
도면5



도면6

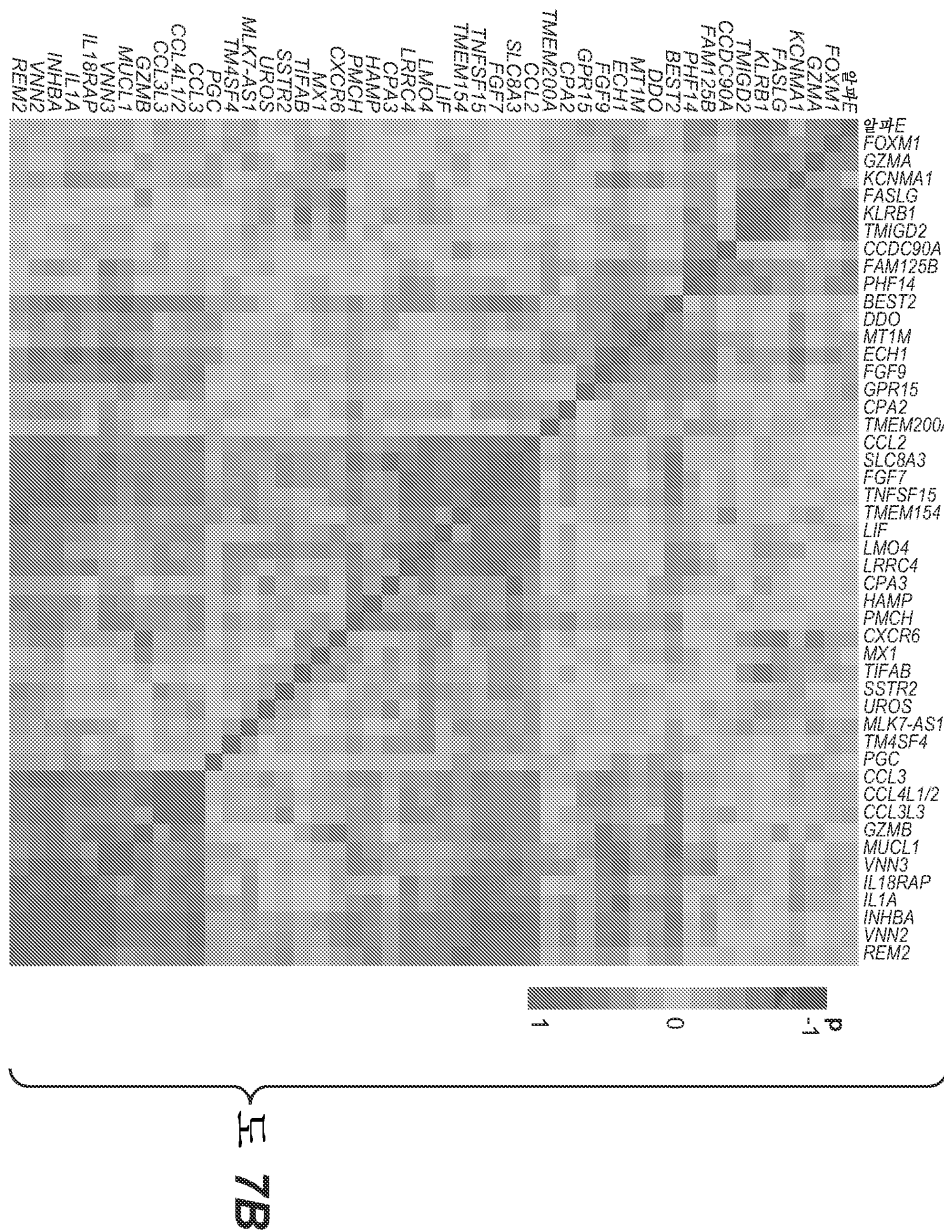


도면7i

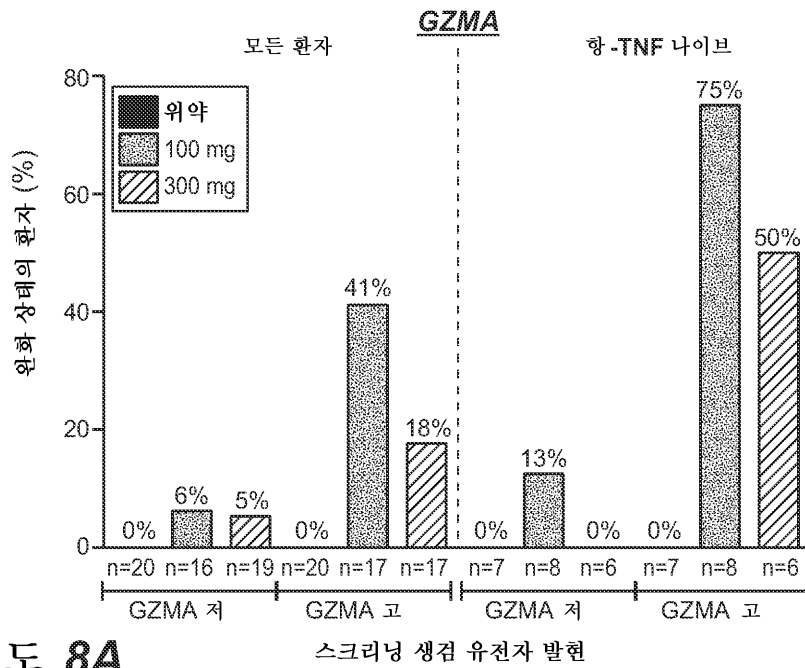




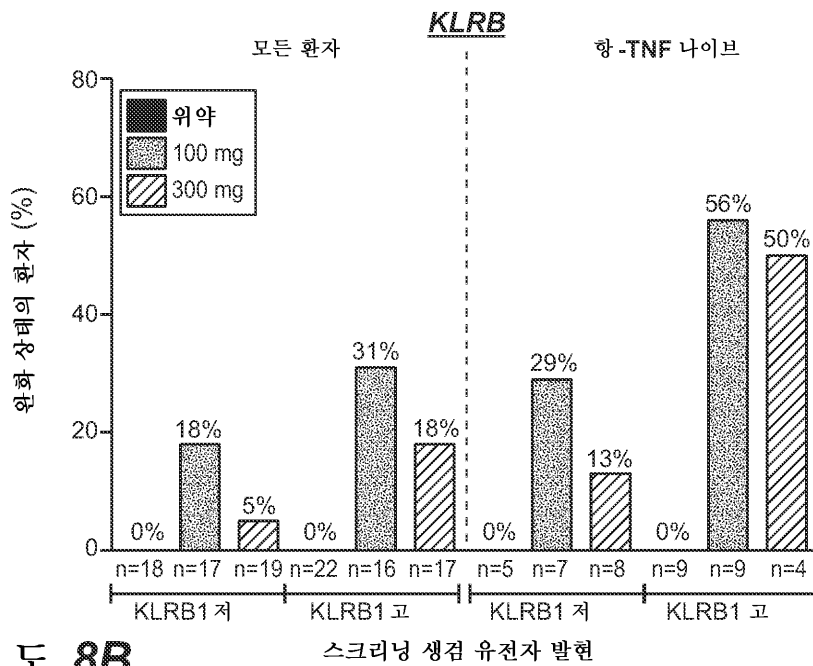
도면7ii



도면8i

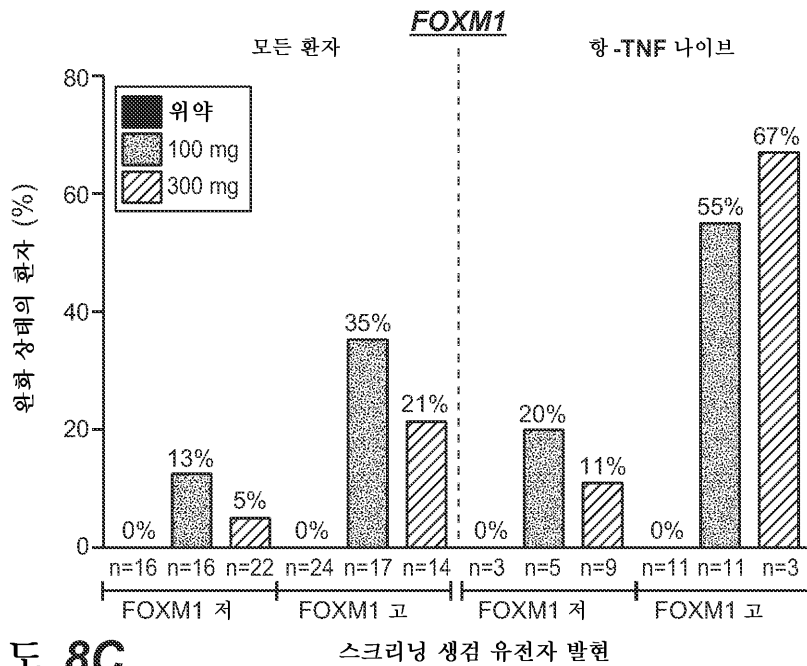


도 8A

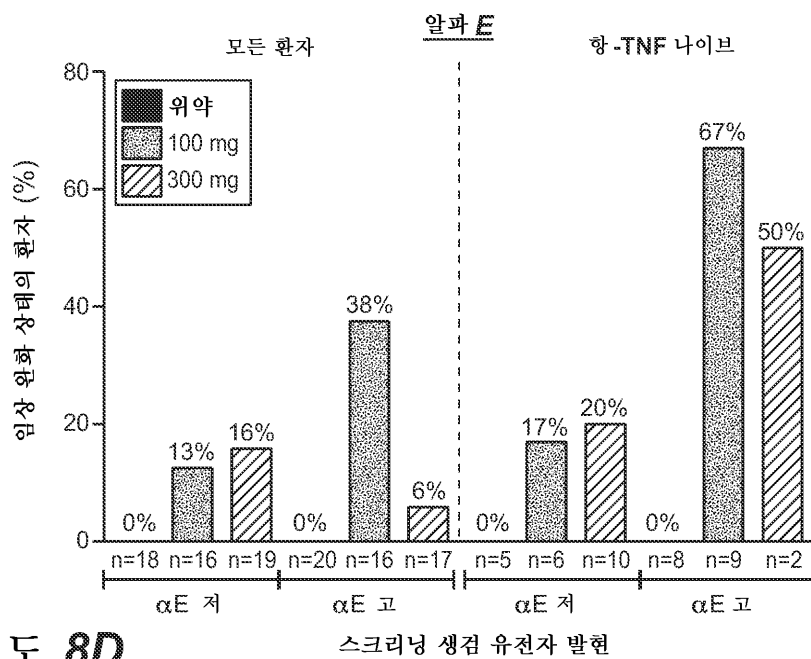


도 8B

도면8ii

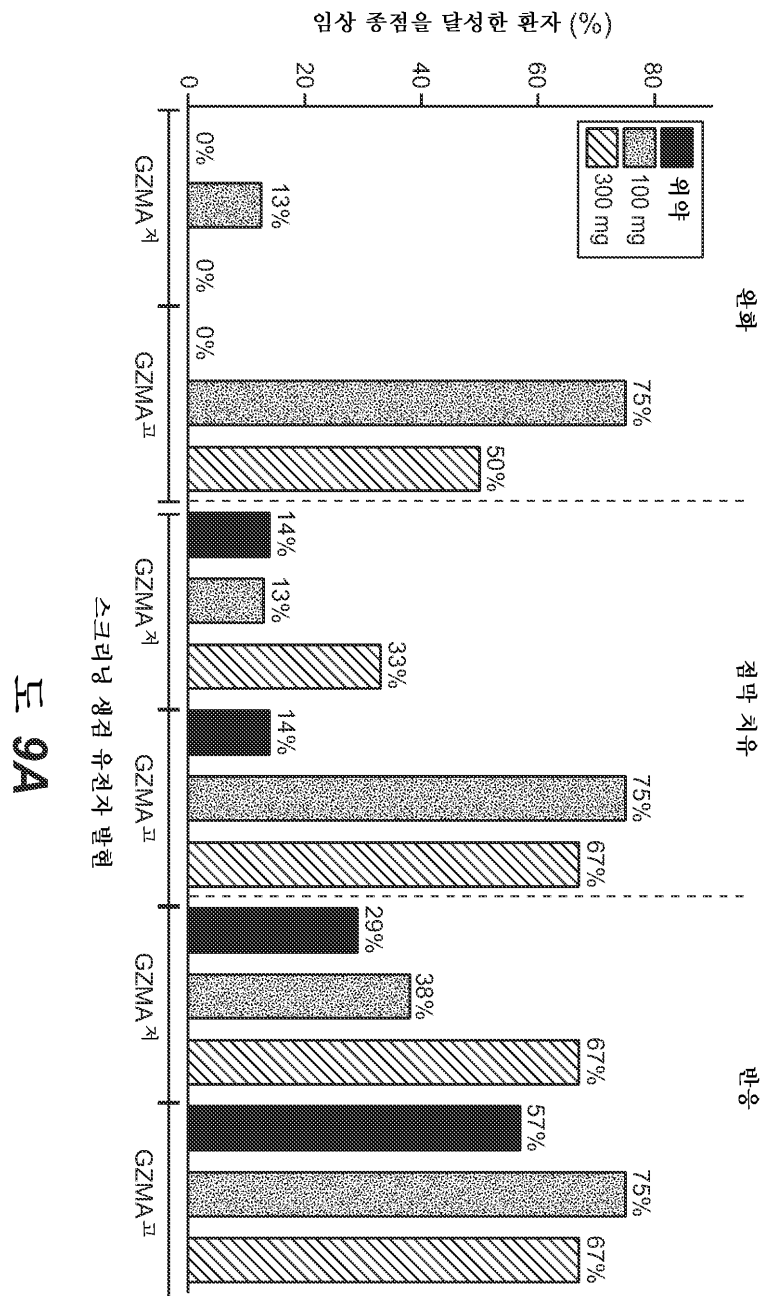


도 8C



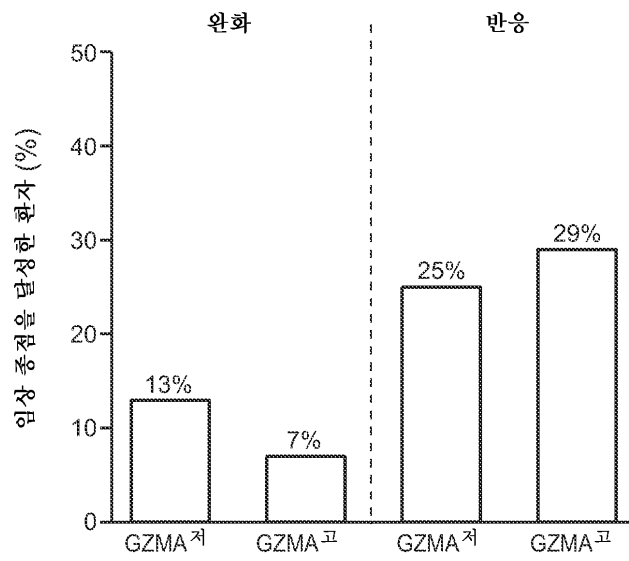
도 8D

도면9i

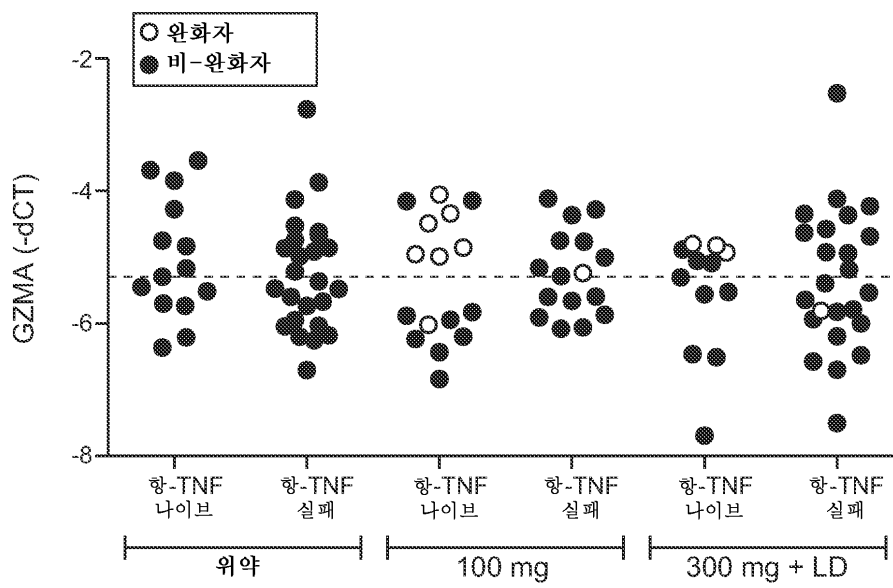




도면9ii

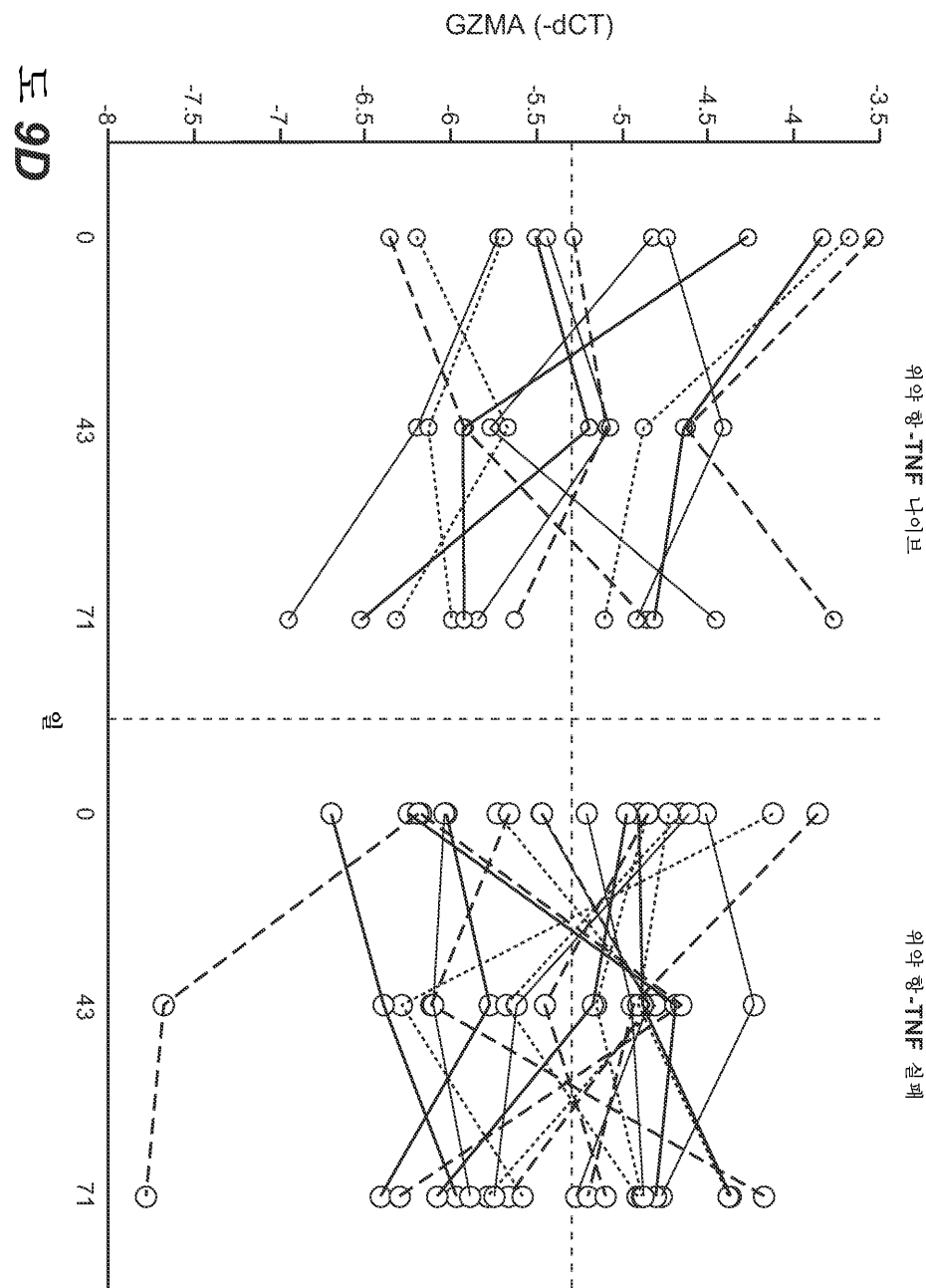


도 9B

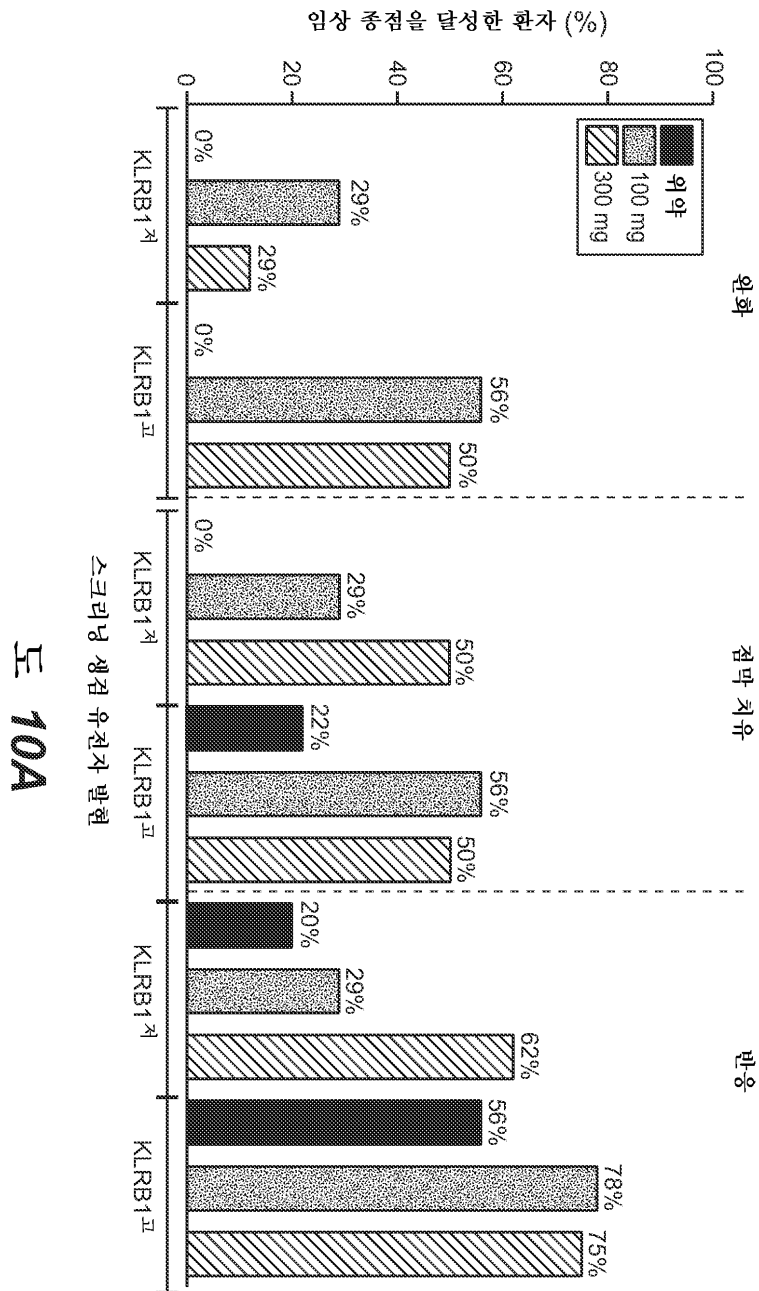


도 9C

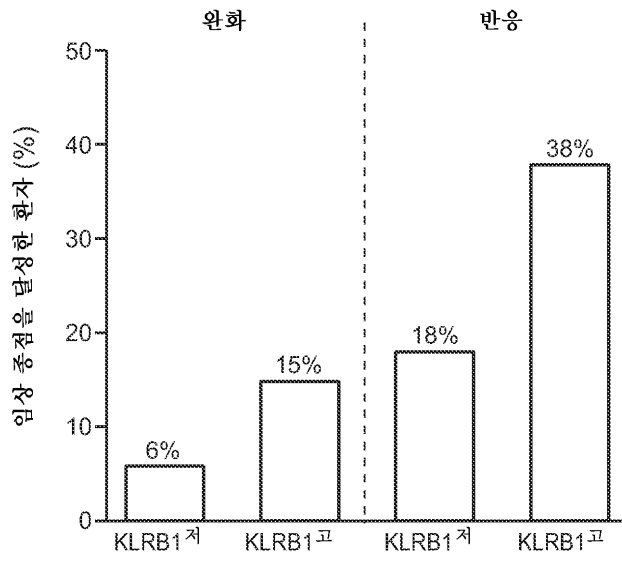
도면9iii



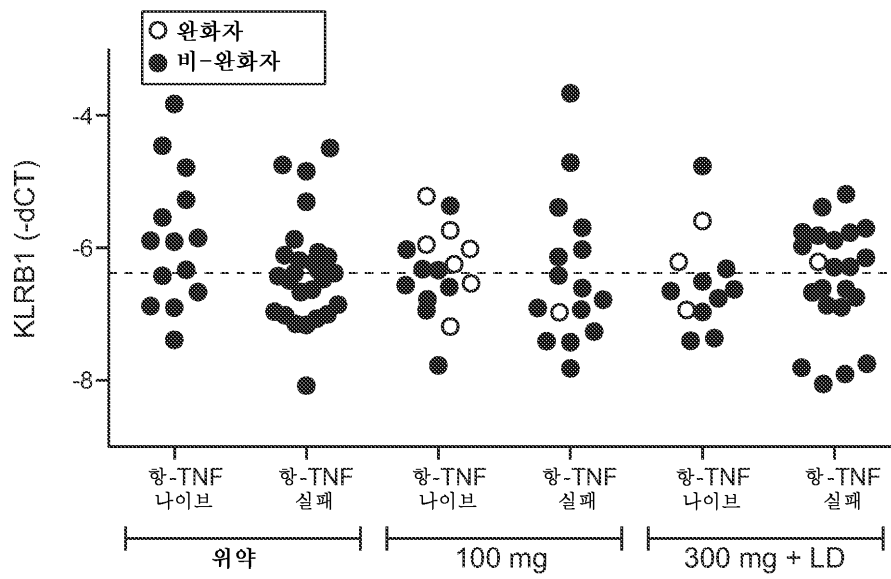
도면10i



도면10ii

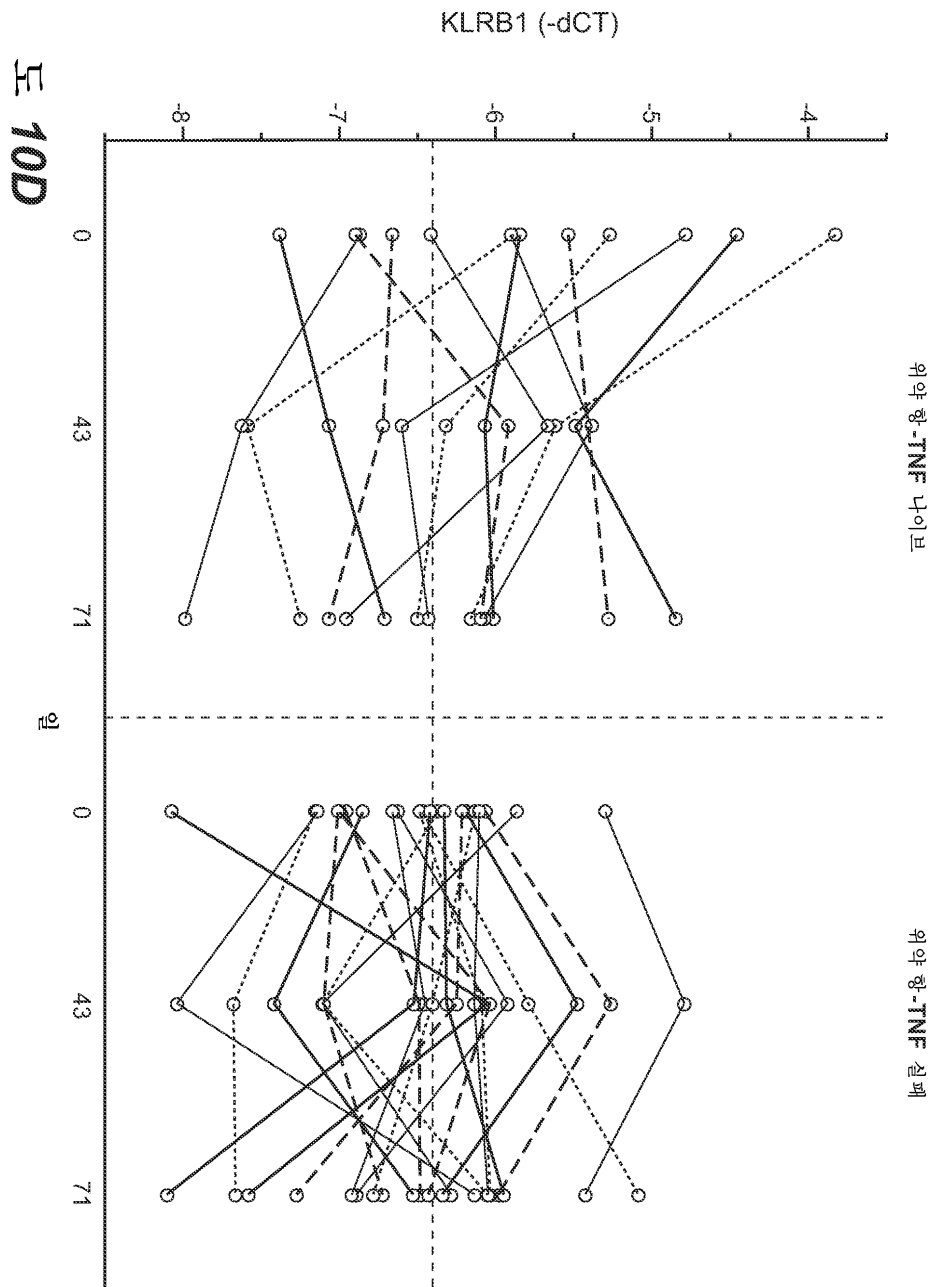


도 10B



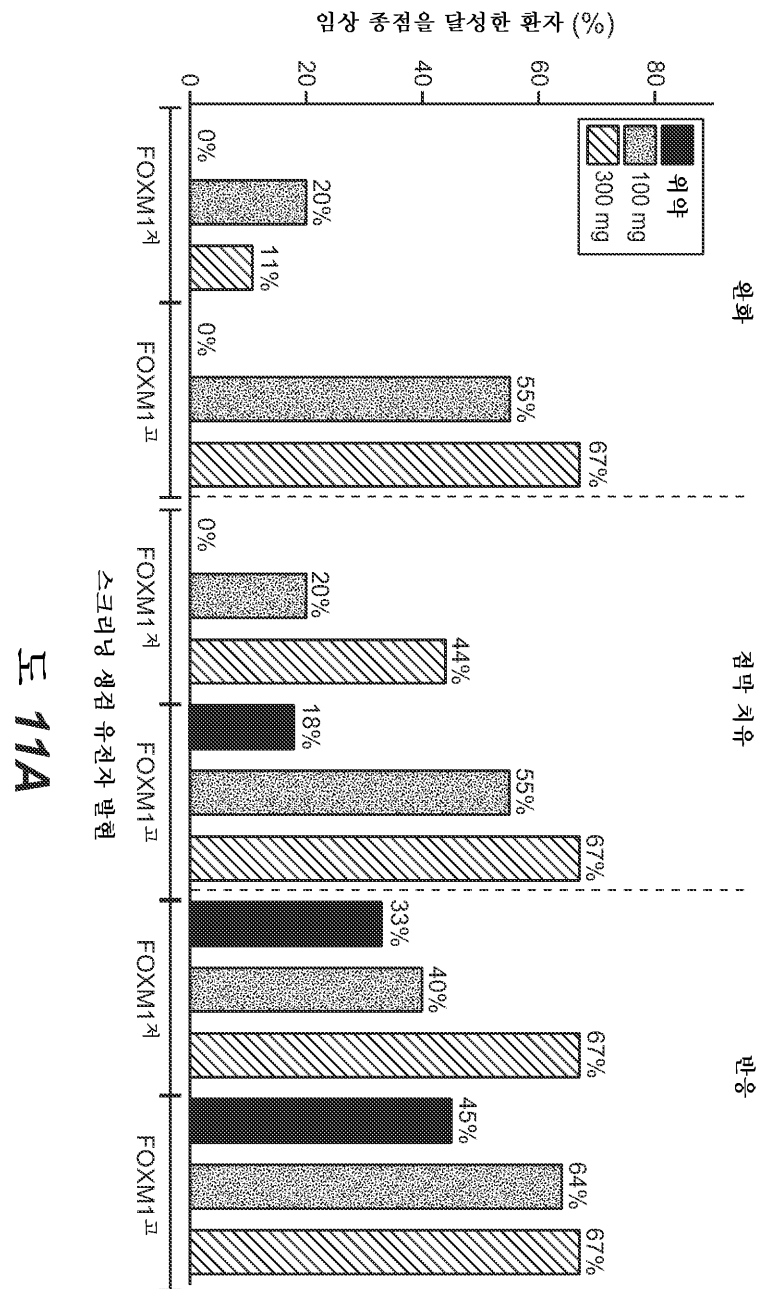
도 10C

도면10iii

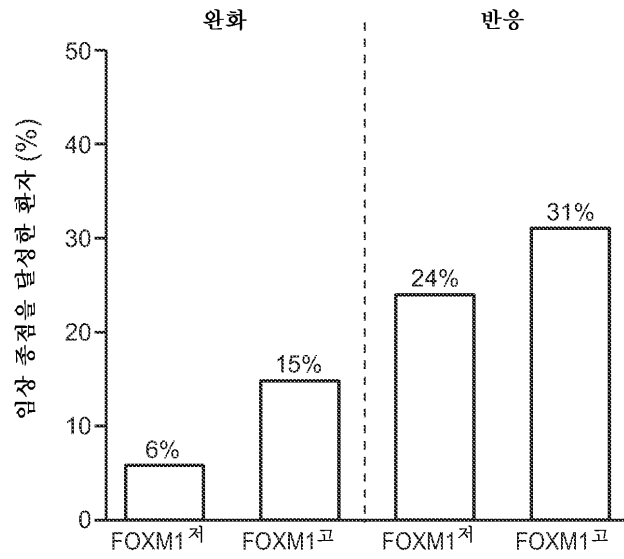




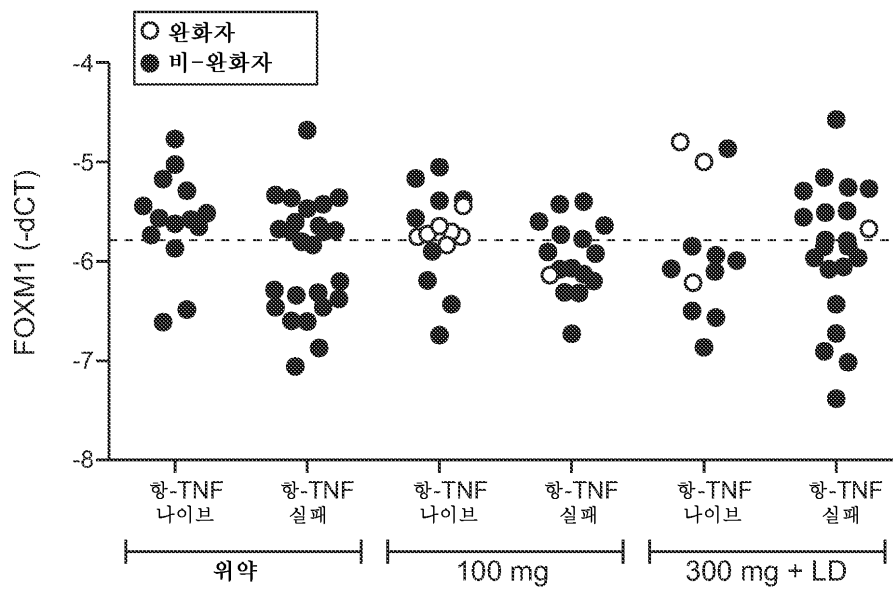
도면11i



도면11i

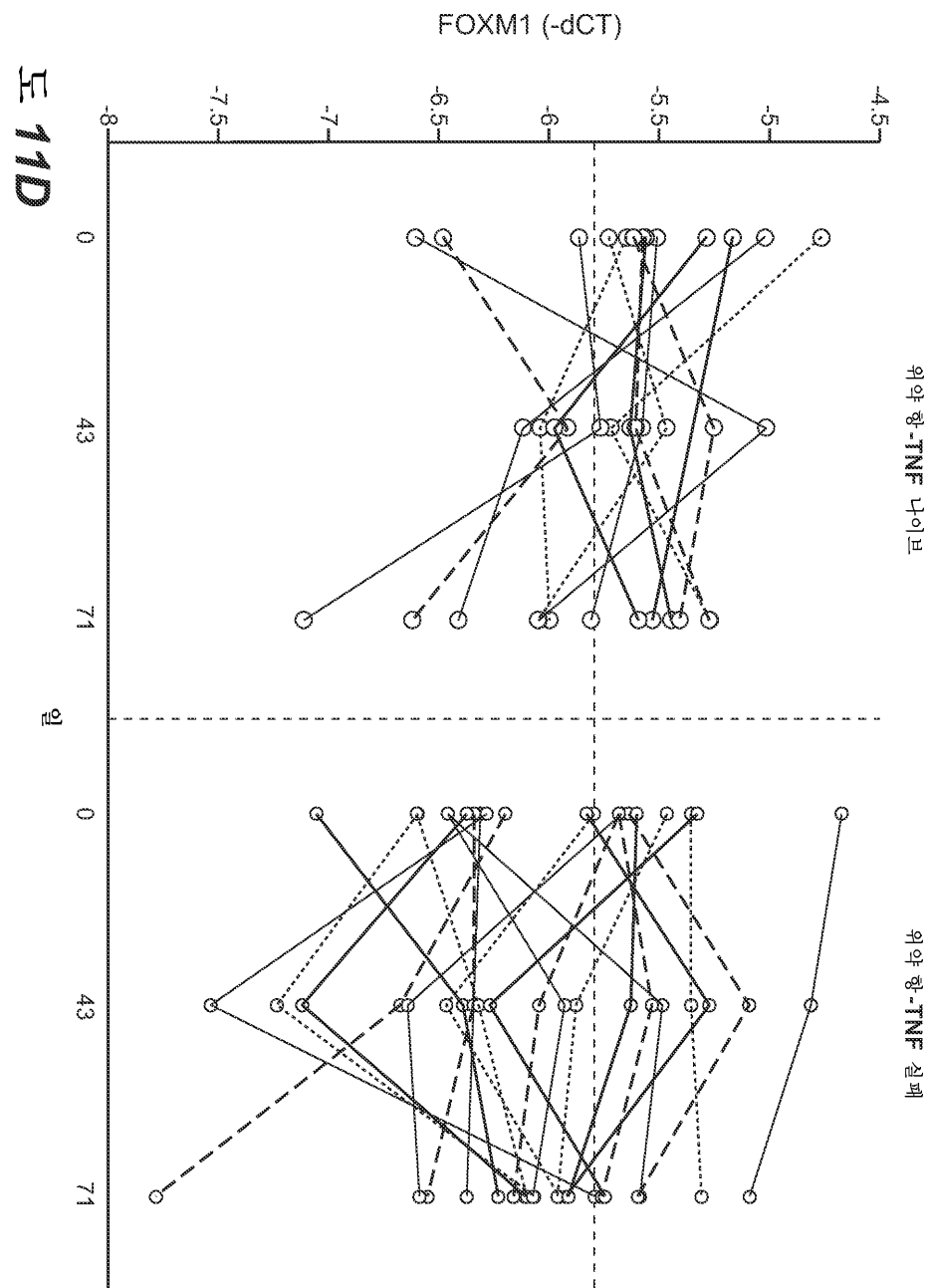


도 11B

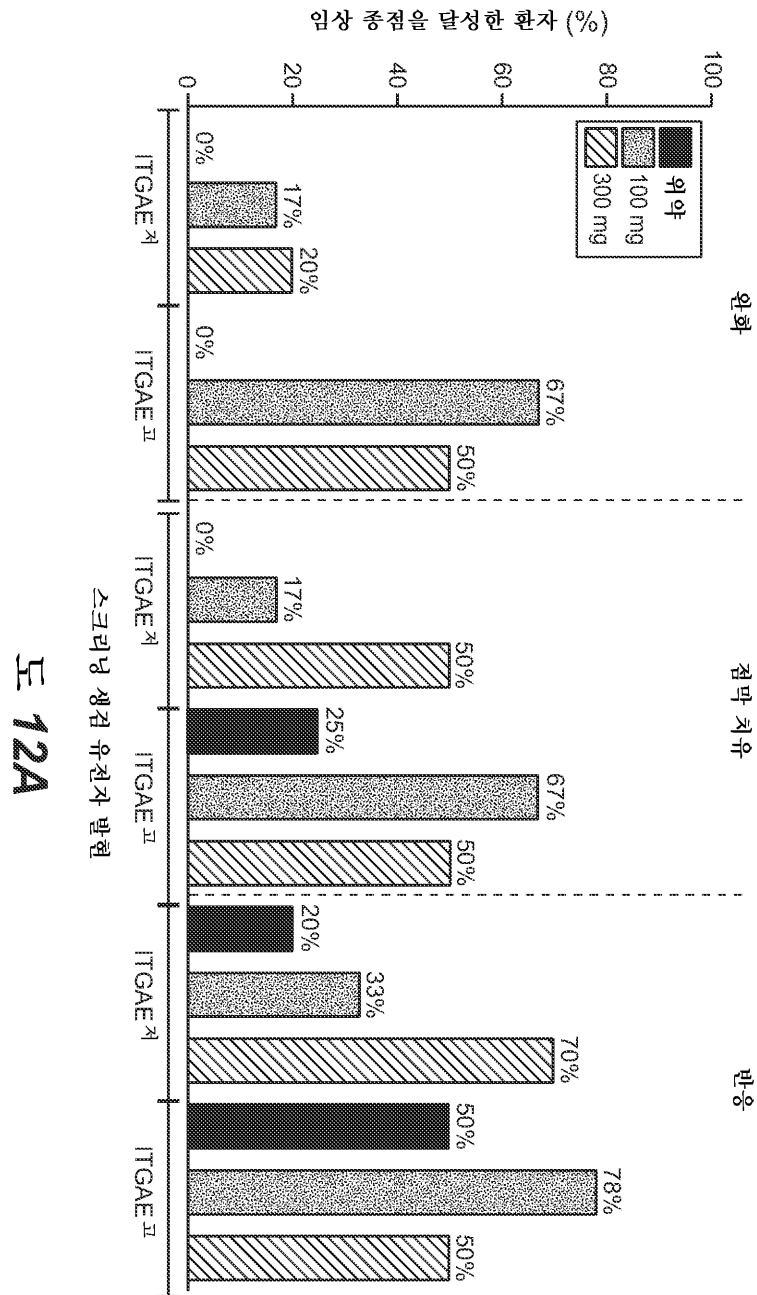


도 11C

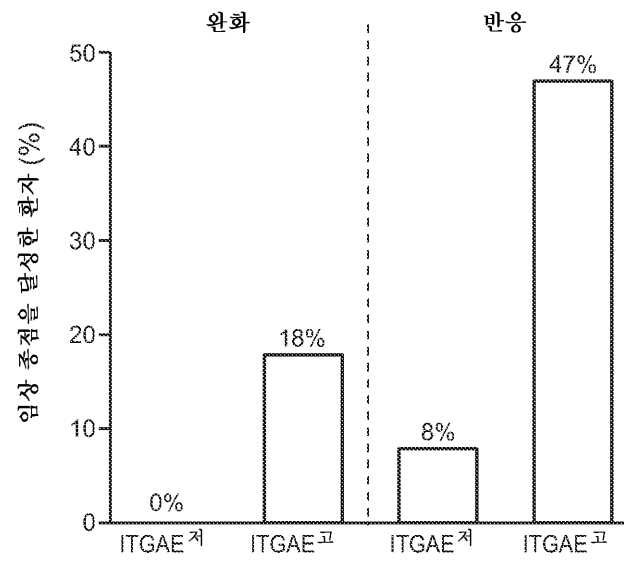
도면11iii



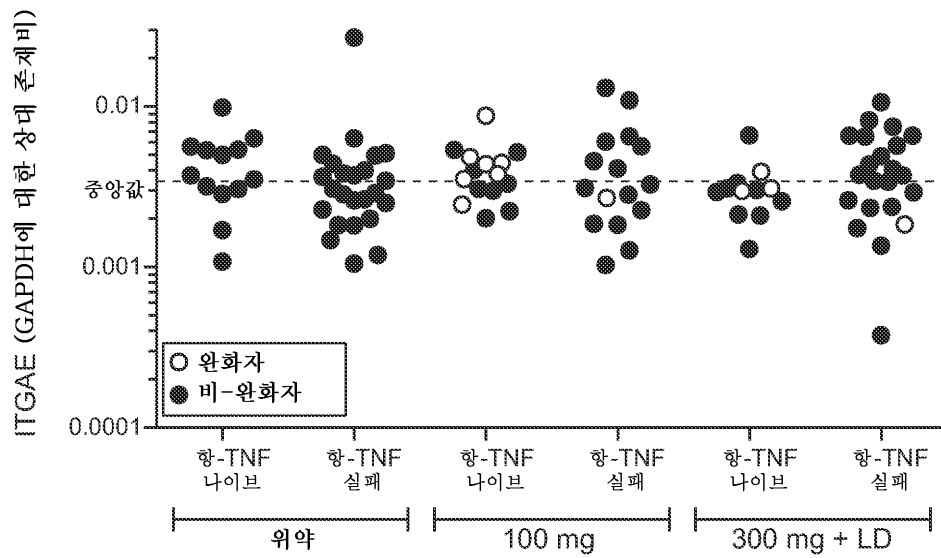
도면12i



도면12ii



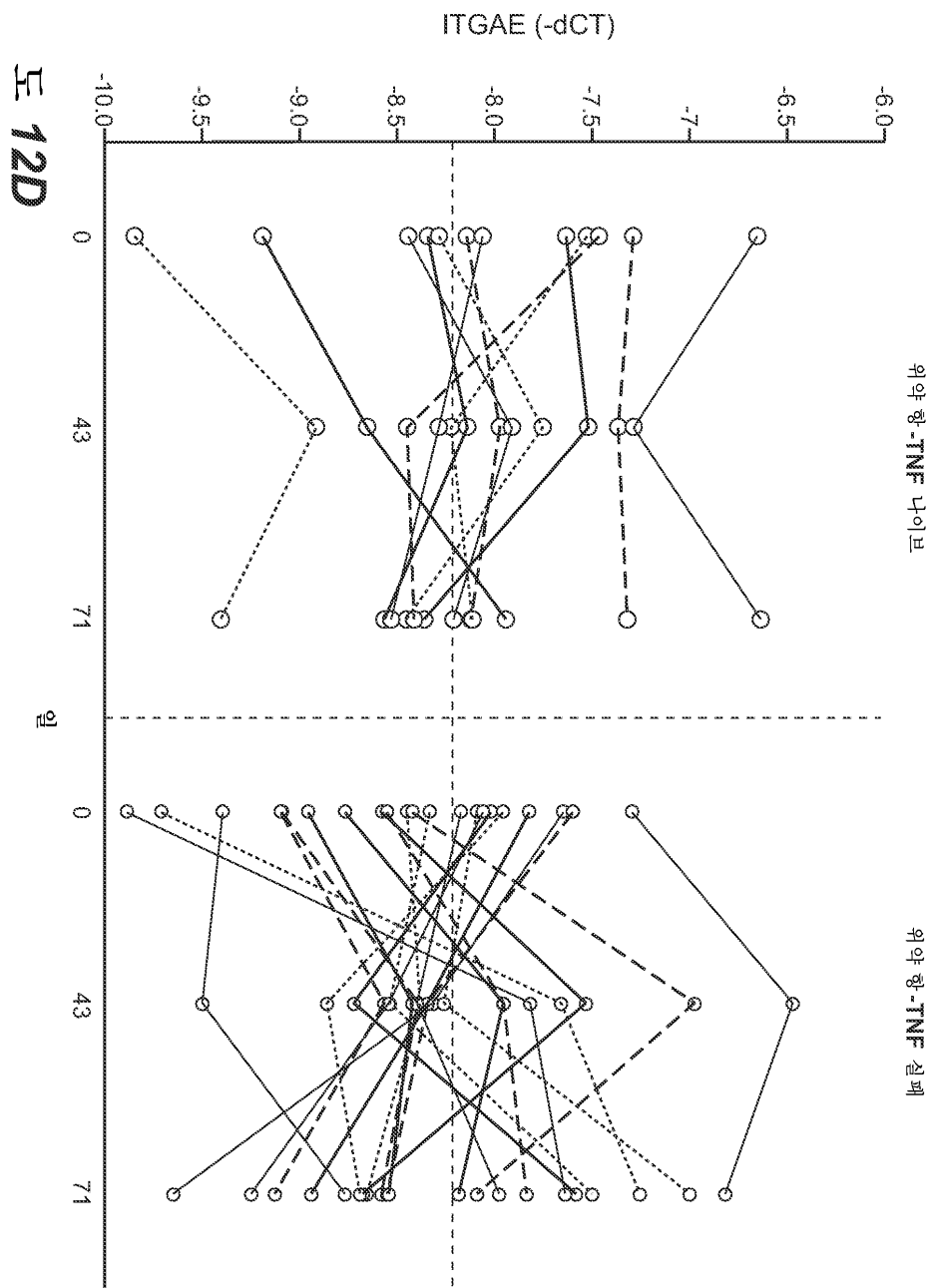
도 12B



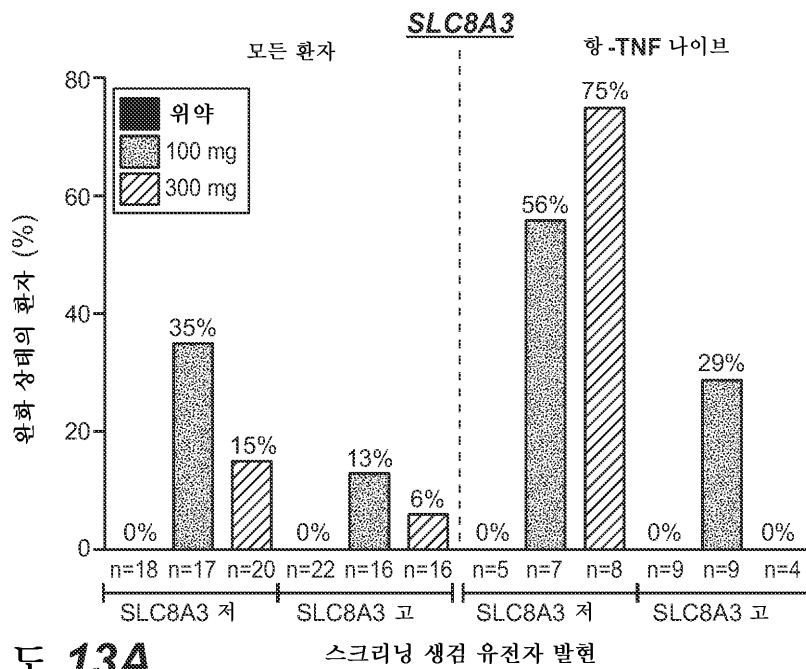
도 12C



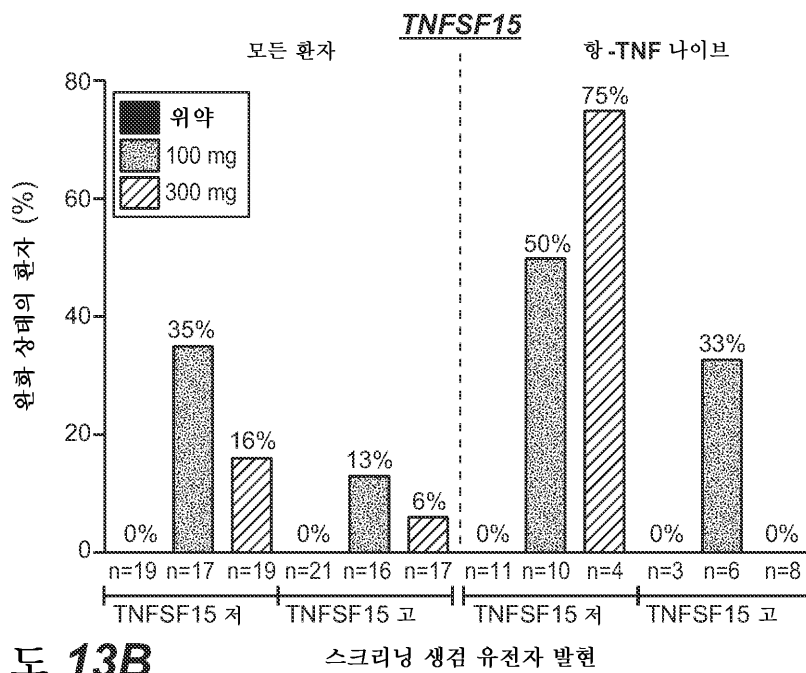
도면12iii



도면13i

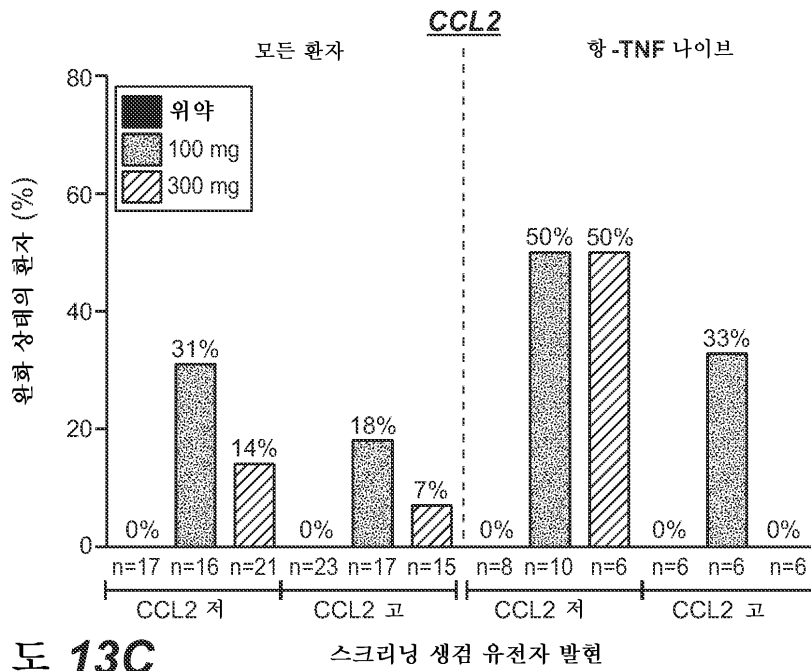


도 13A

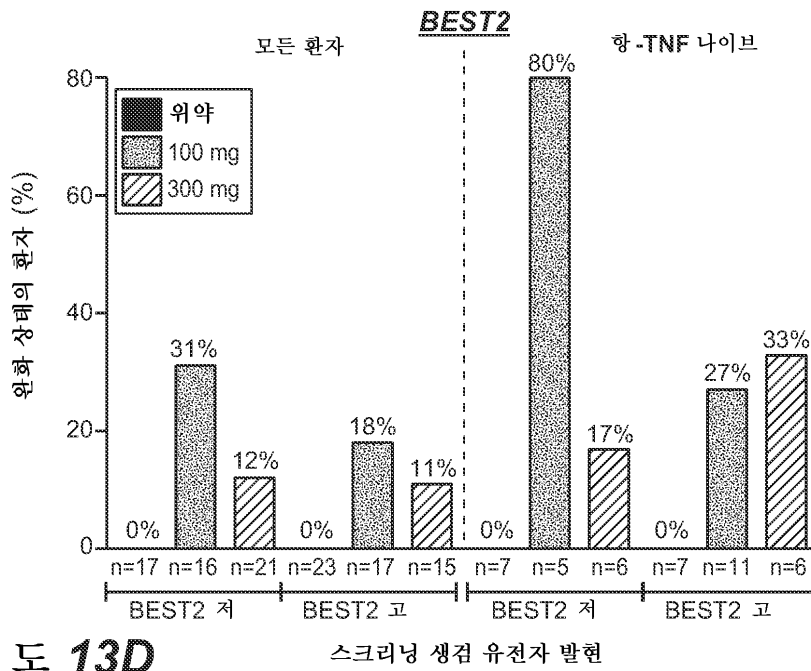


도 13B

도면13ii

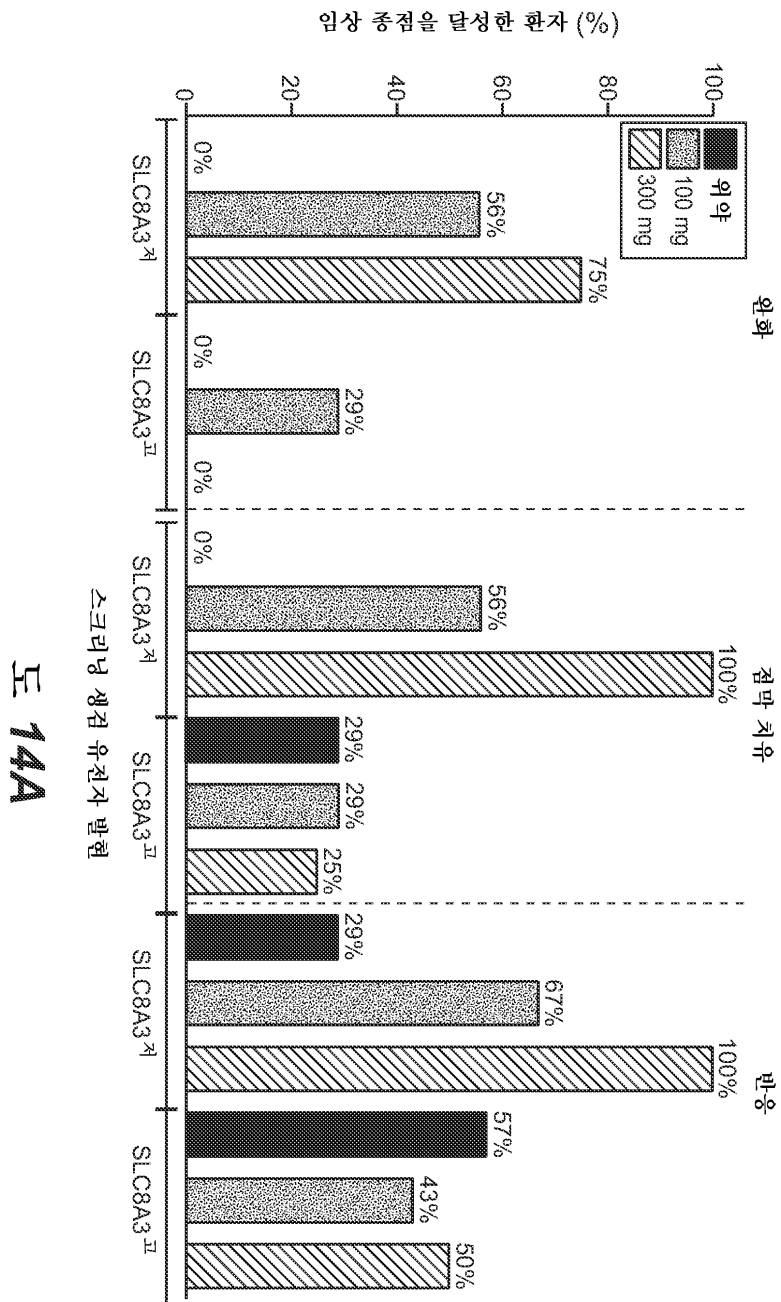


도 13C

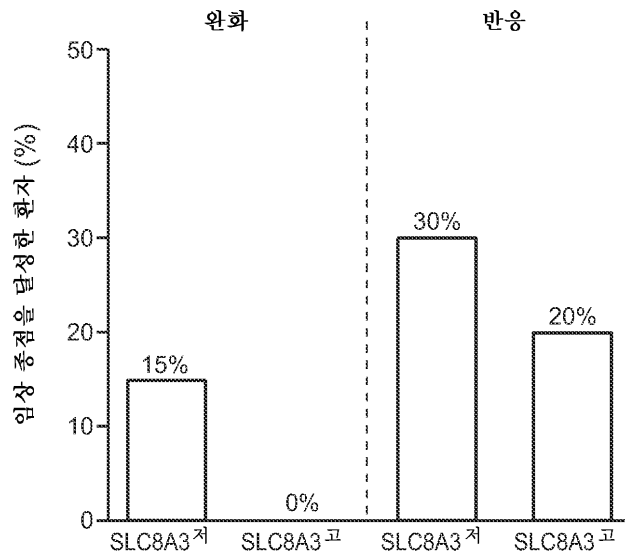


도 13D

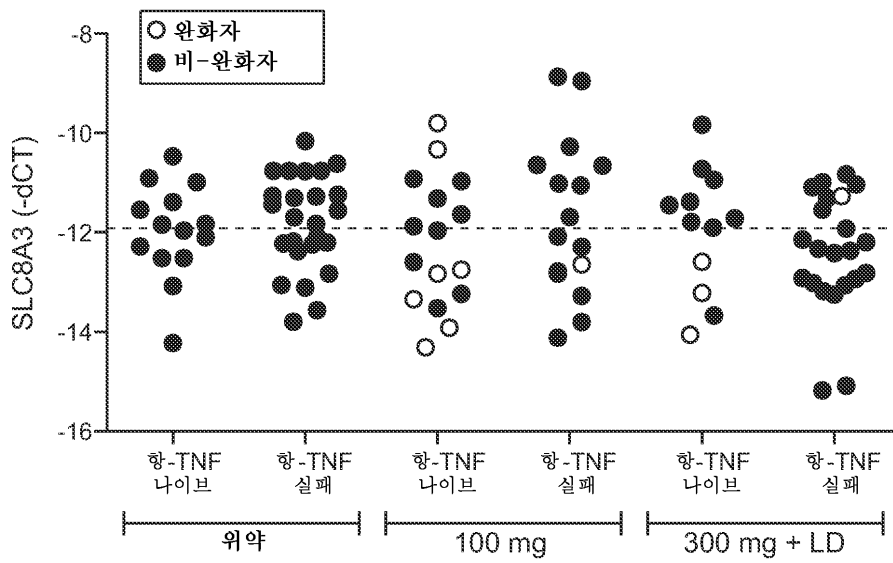
도면14i



도면14ii



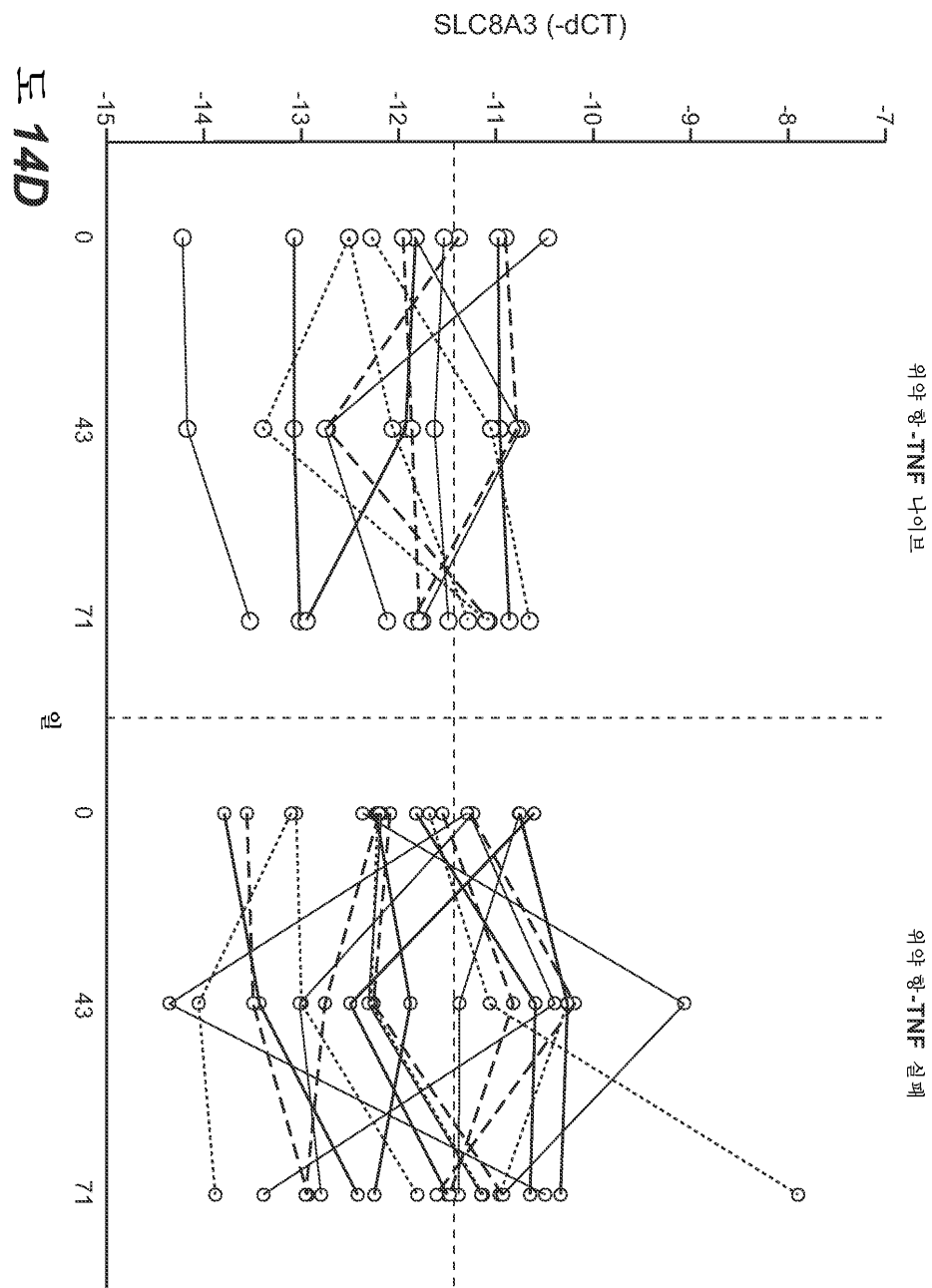
도 14B



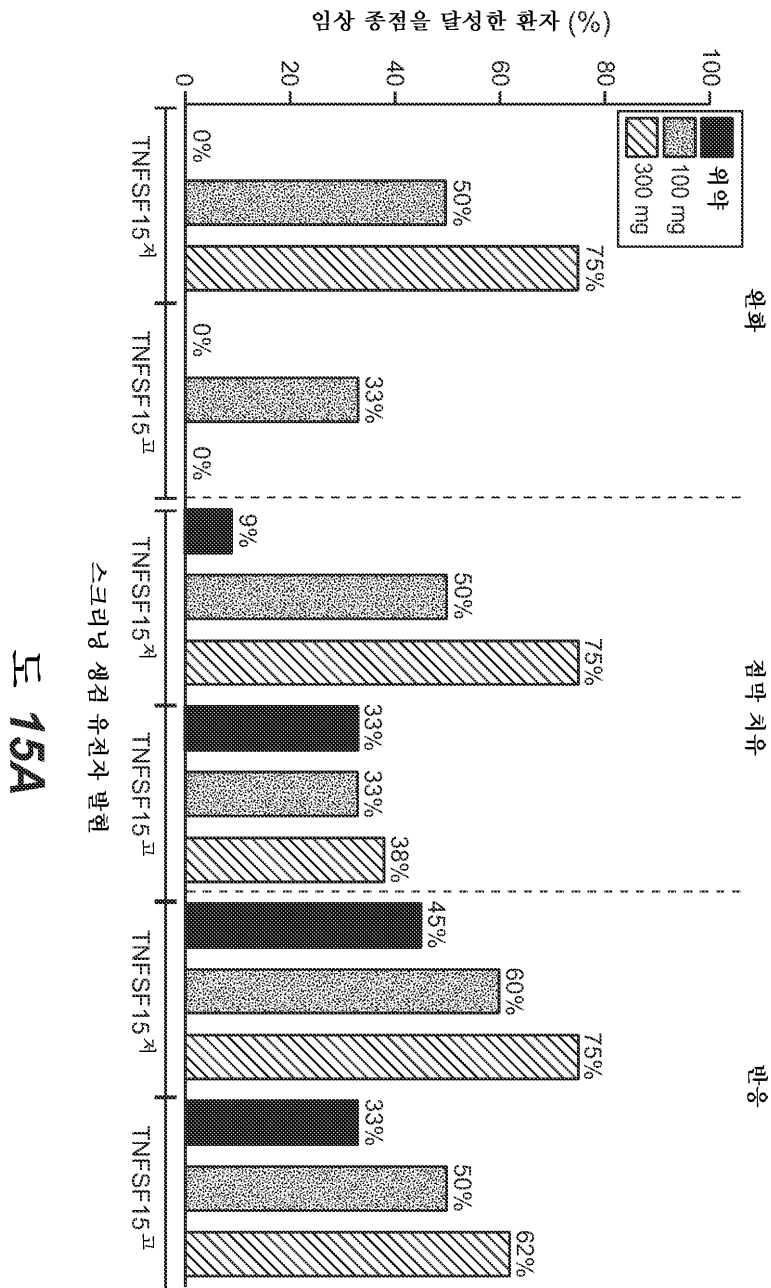
도 14C



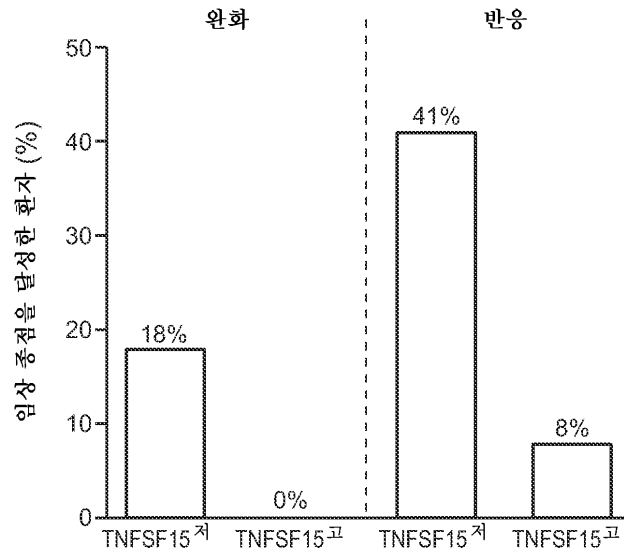
도면14iii



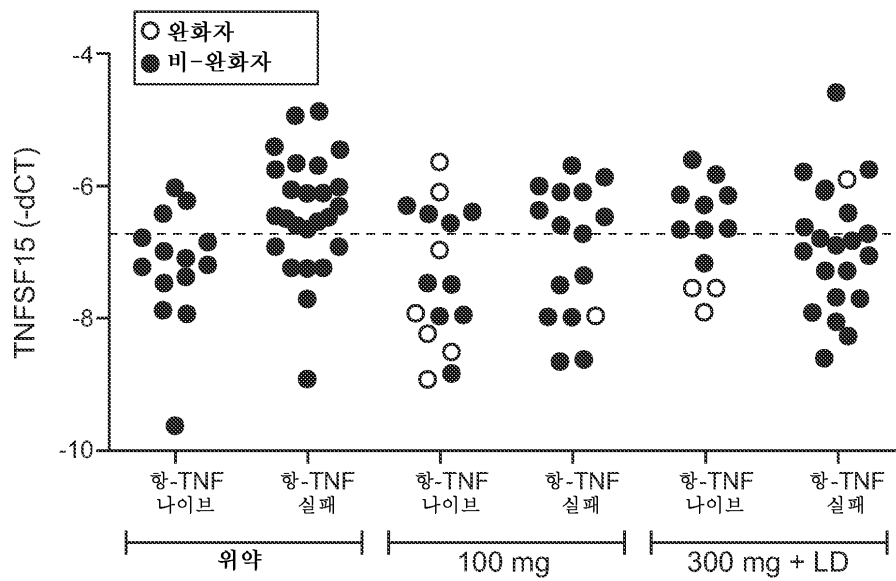
도면15i



도면15i

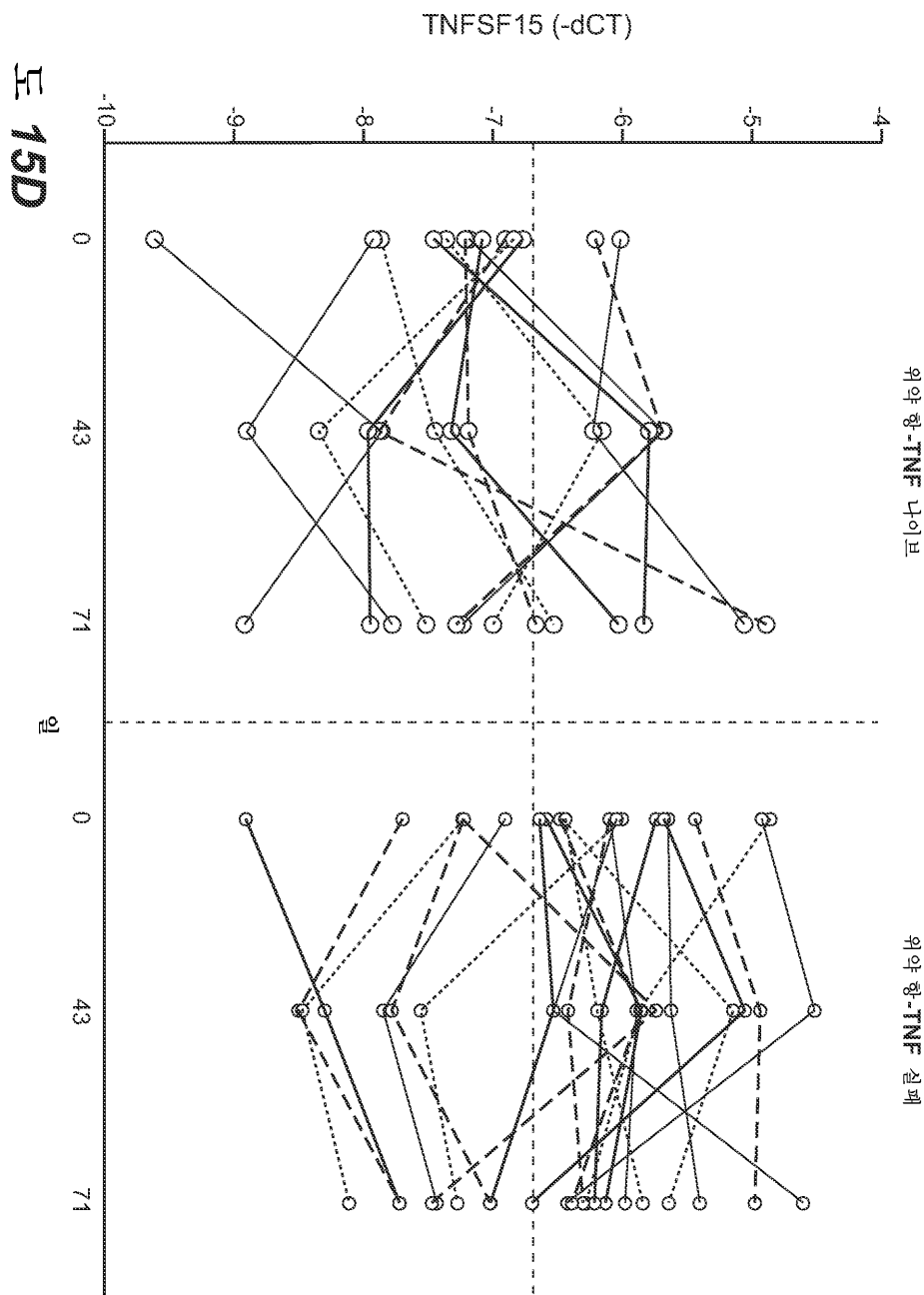


도 15B

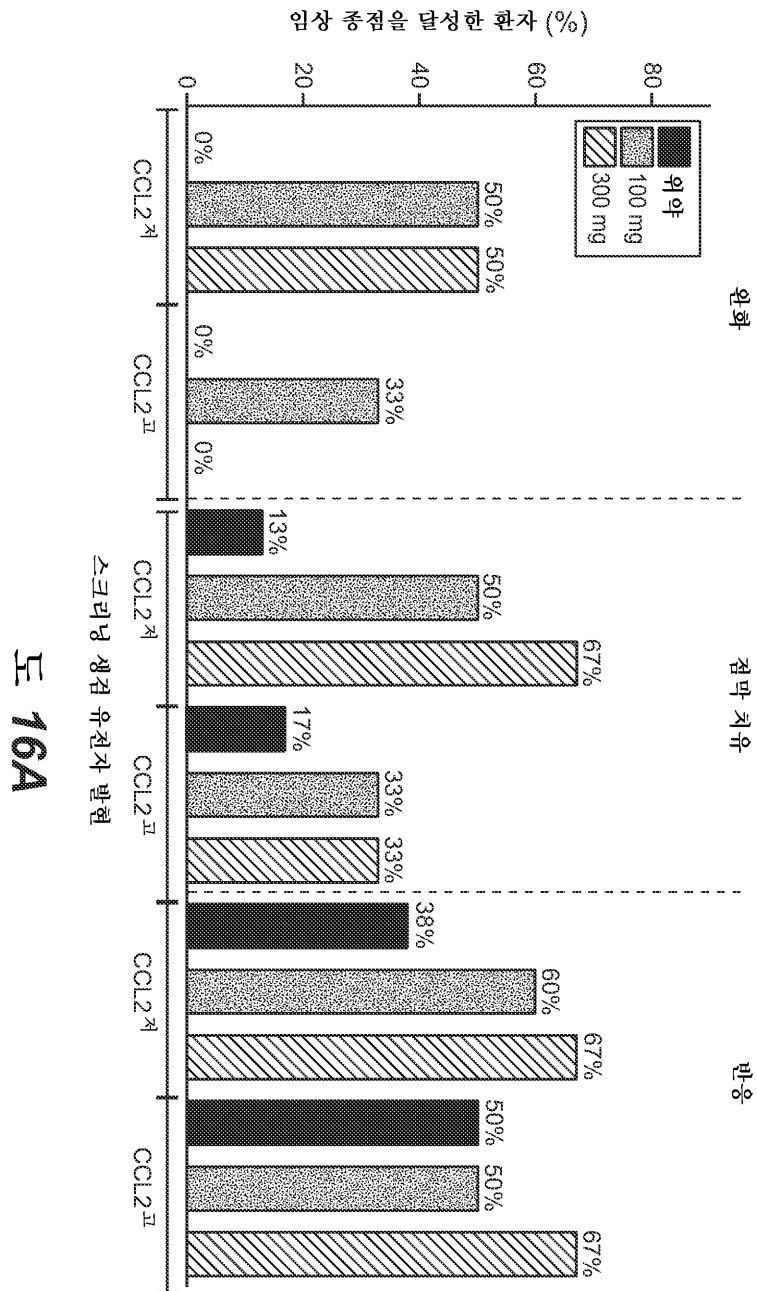


도 15C

도면 15iii

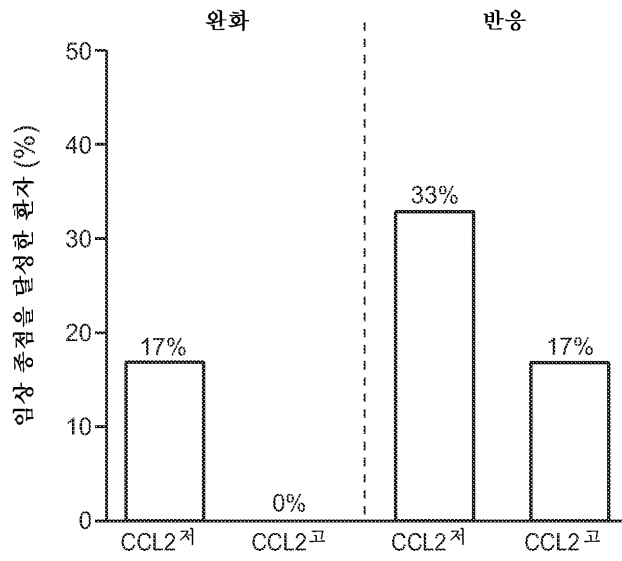


도면16i

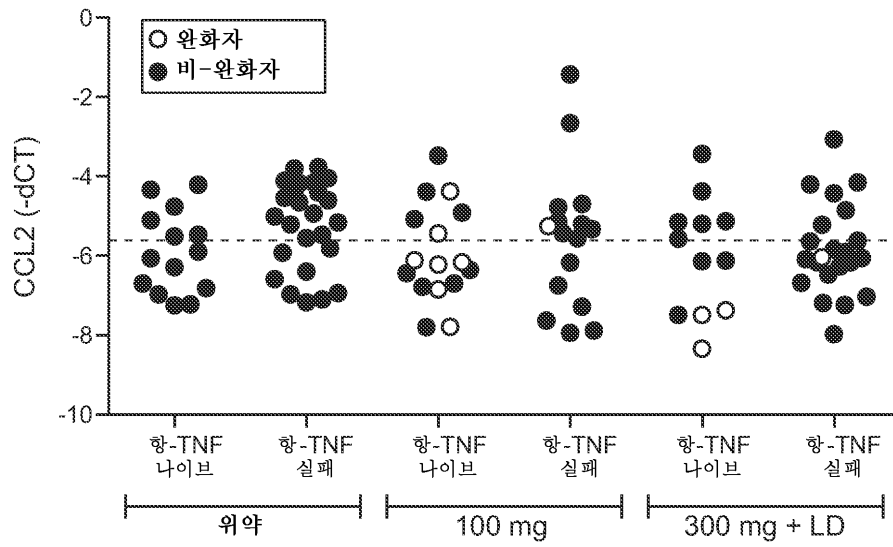




도면16ii

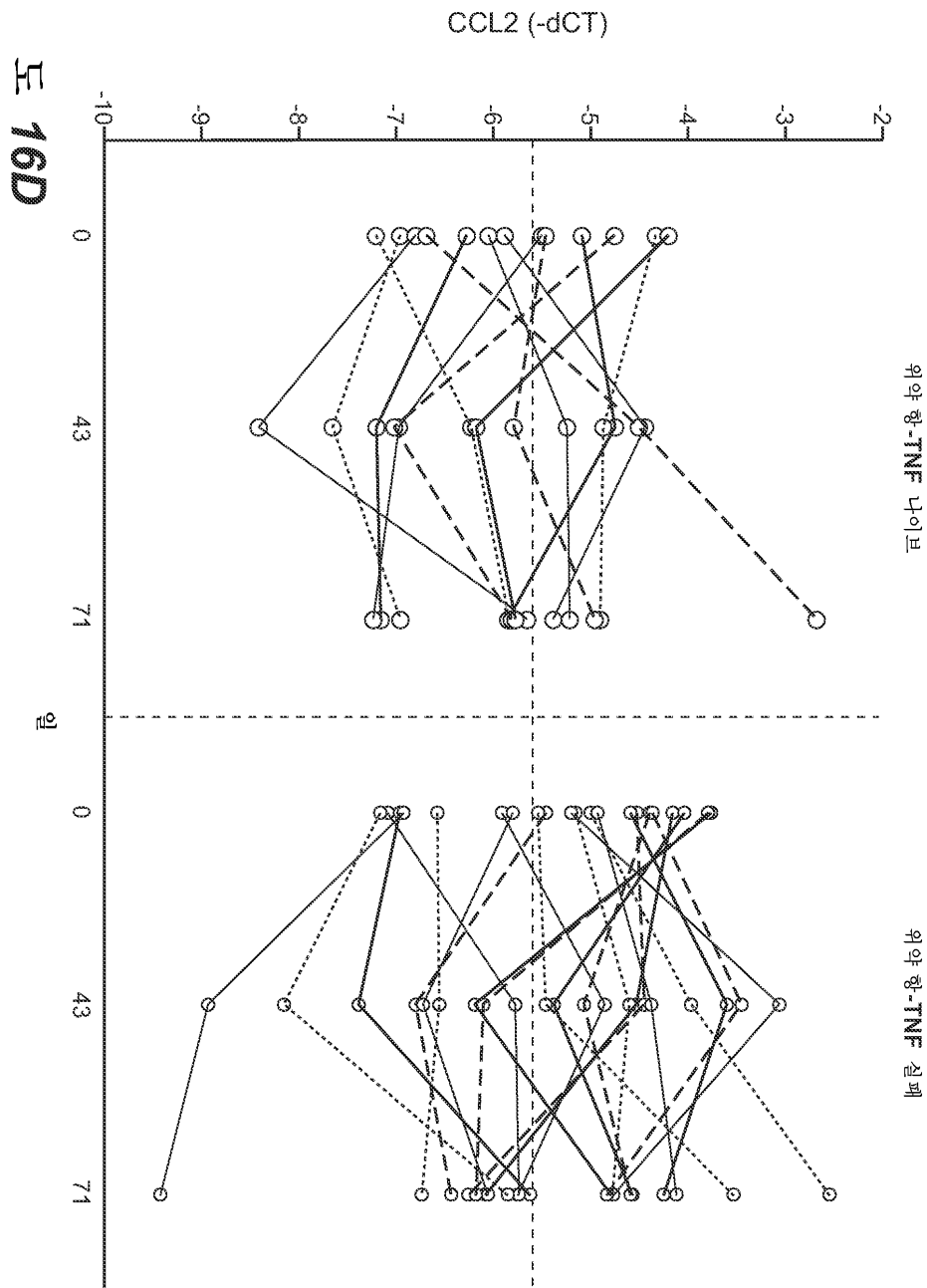


도 16B

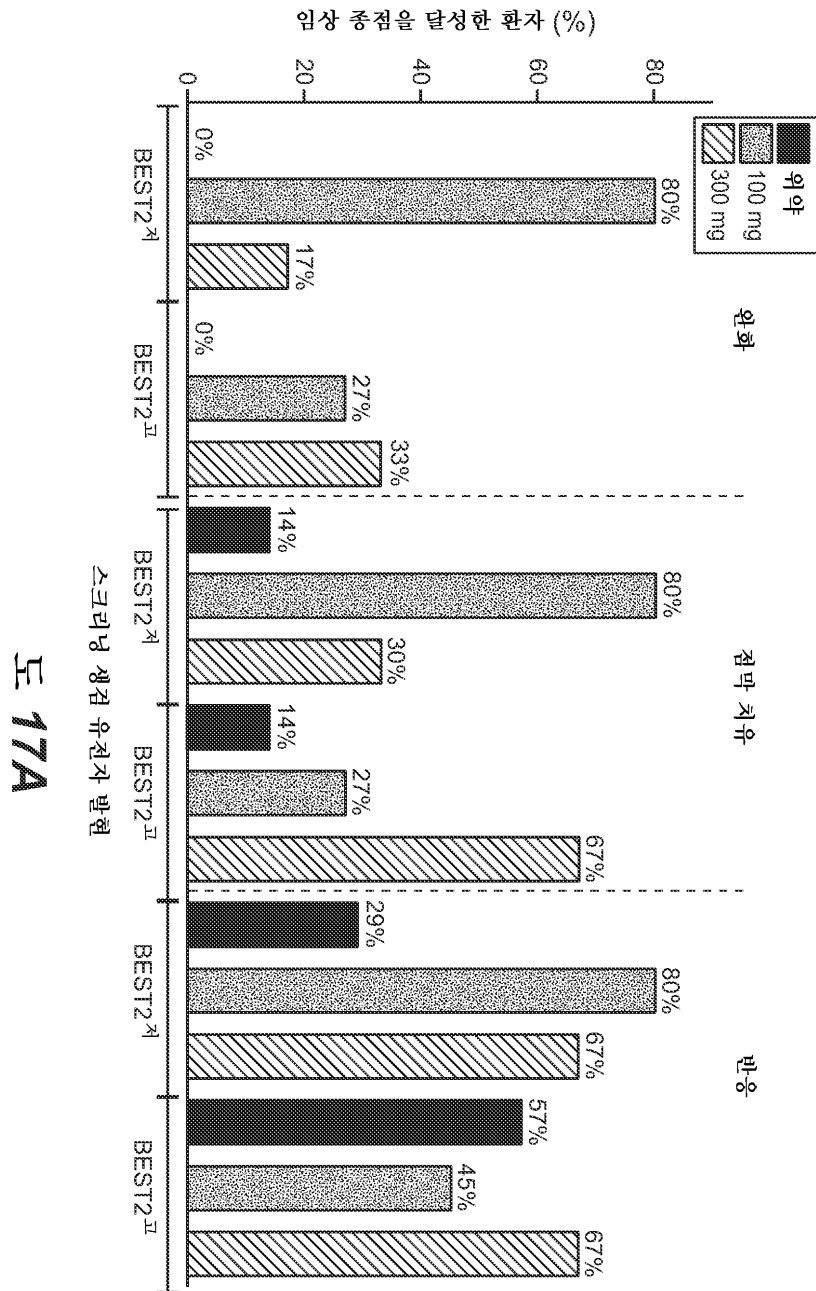


도 16C

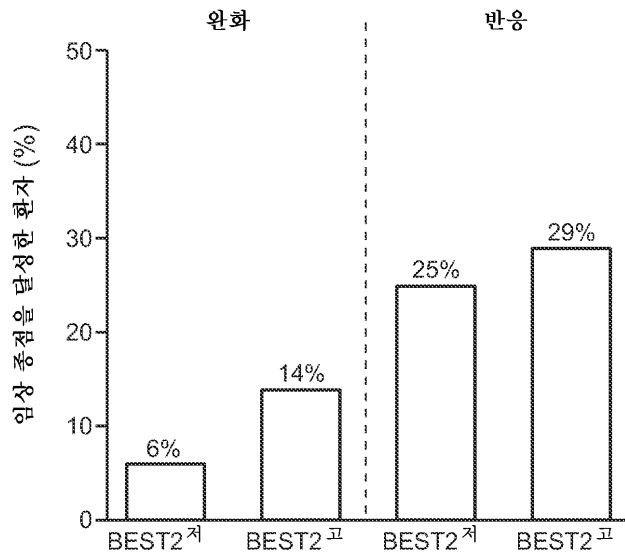
도면16iii



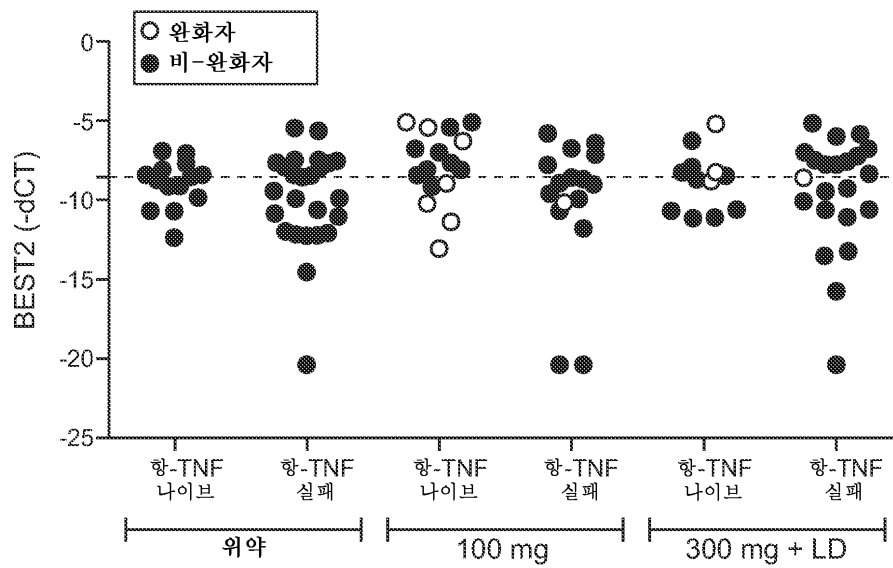
도면17i



도면17ii

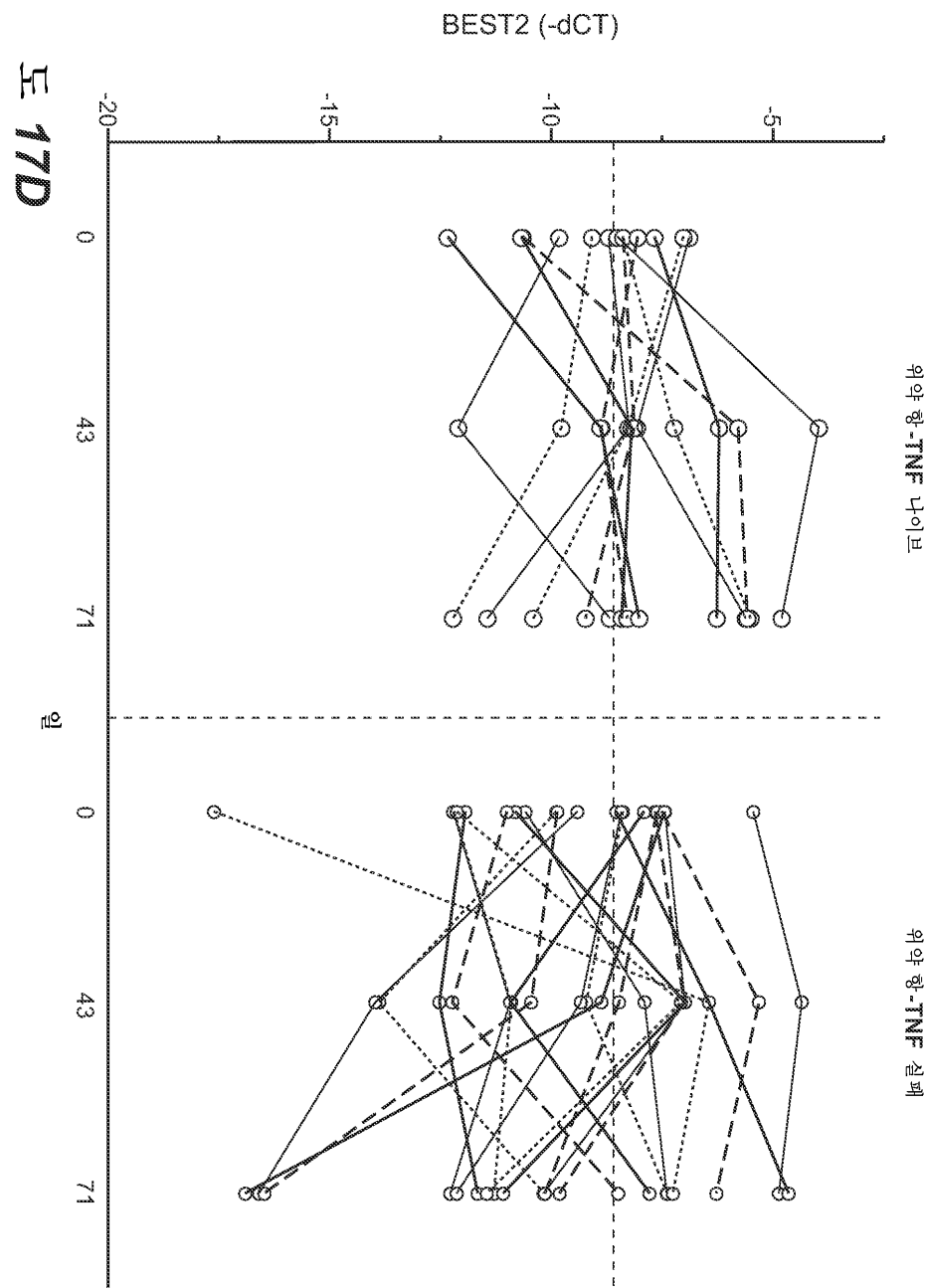


도 17B



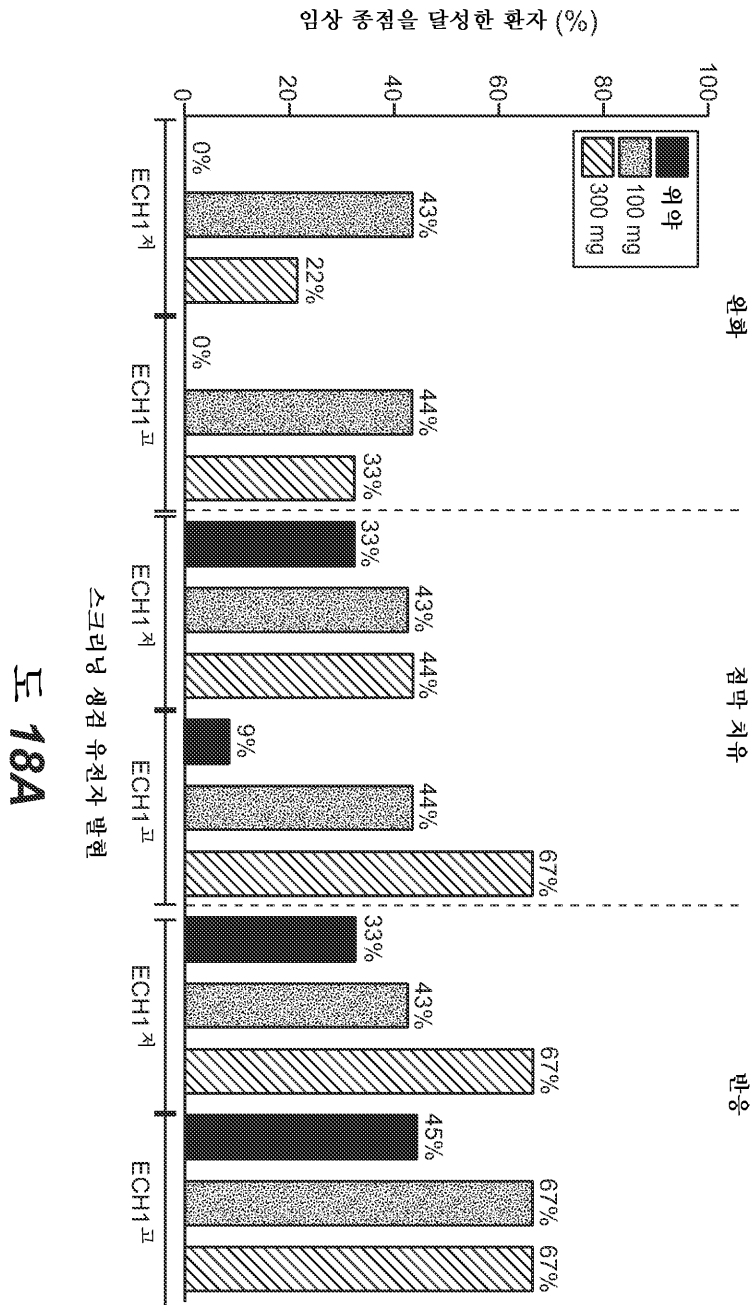
도 17C

도면17iii

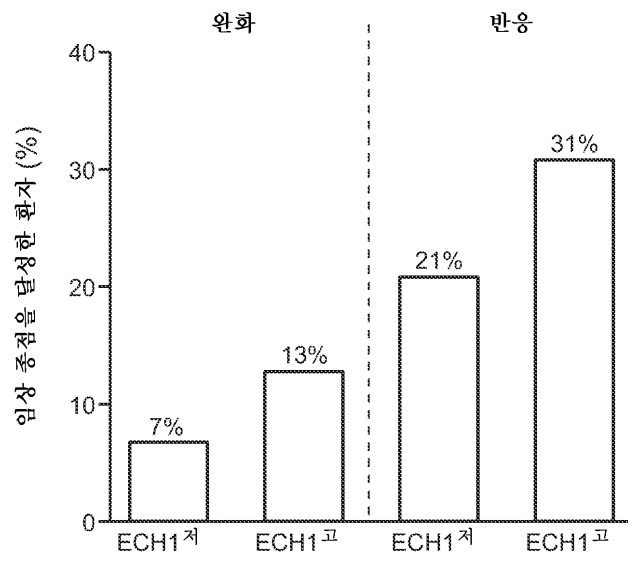




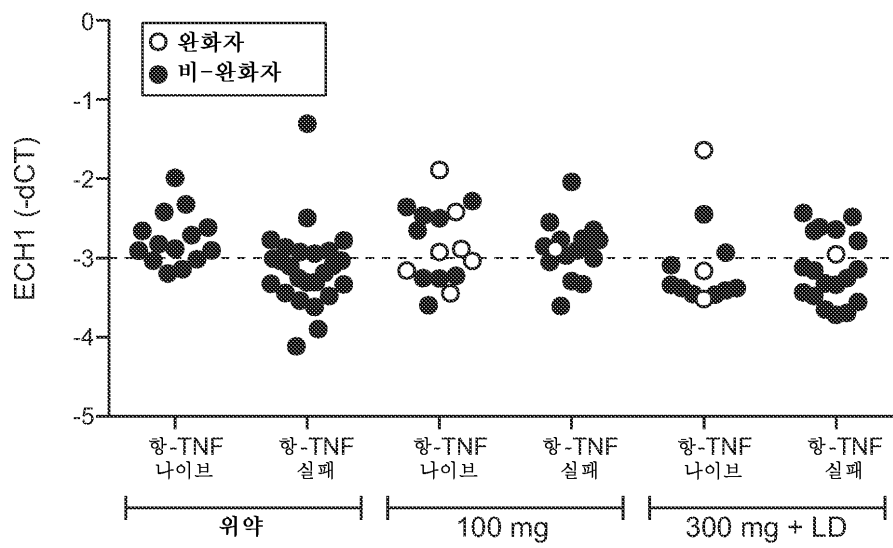
도면18i



도면18ii

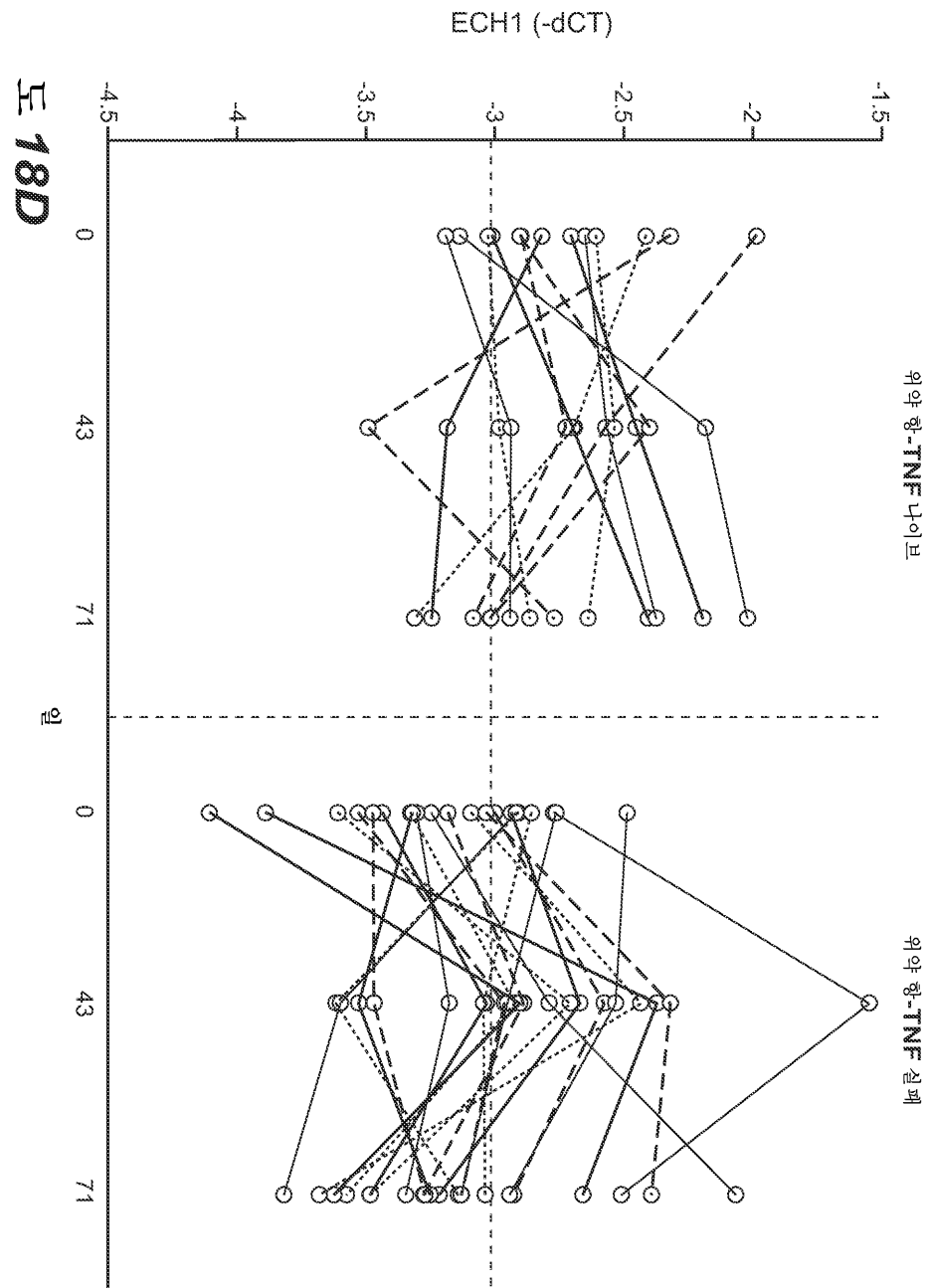


도 18B

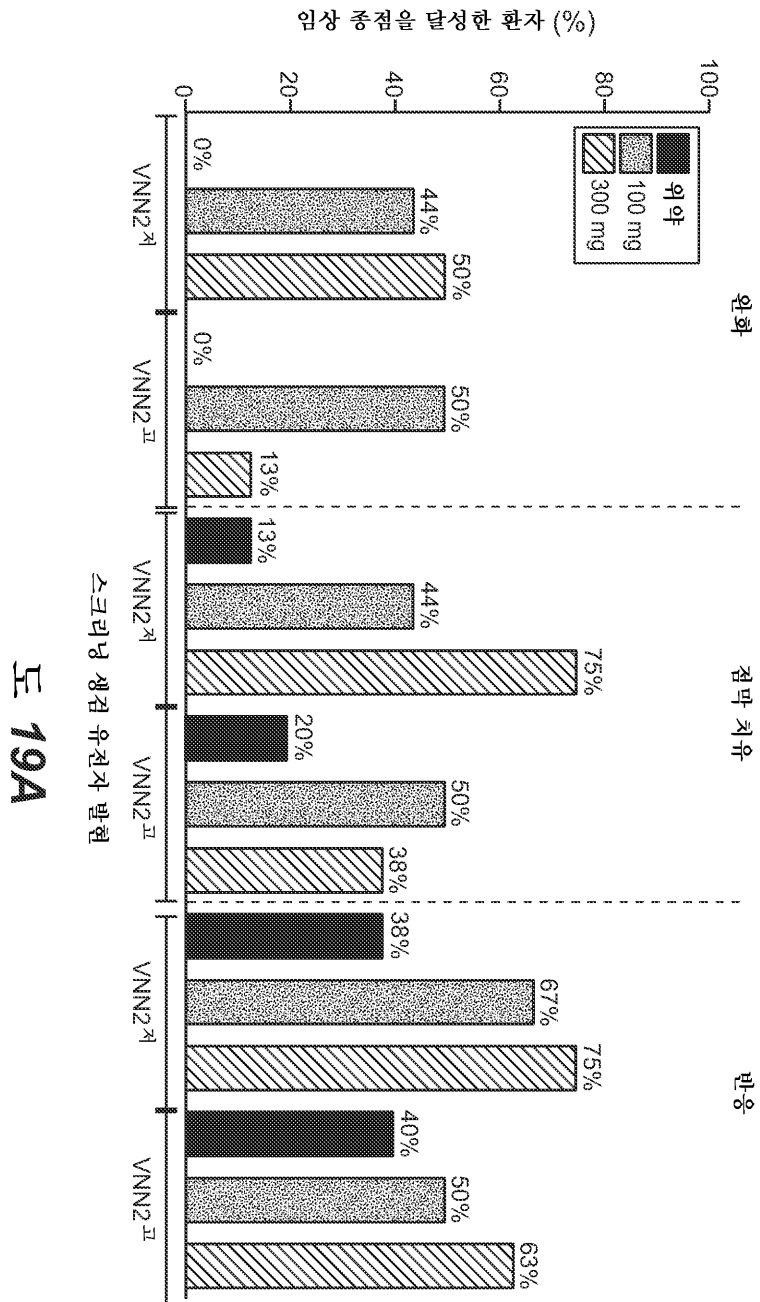


도 18C

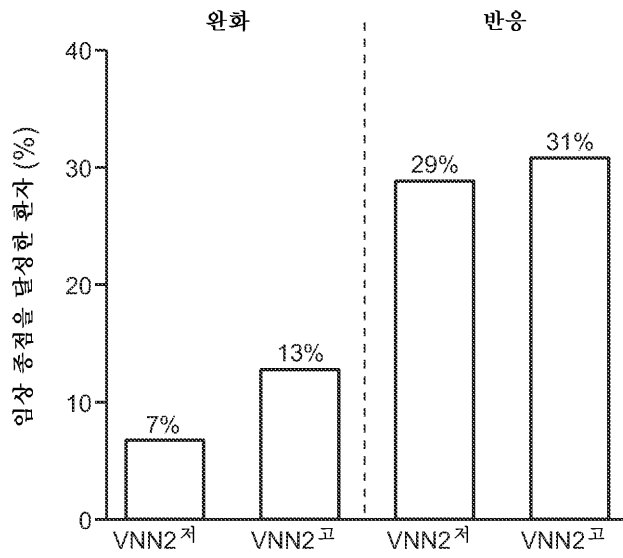
도면18iii



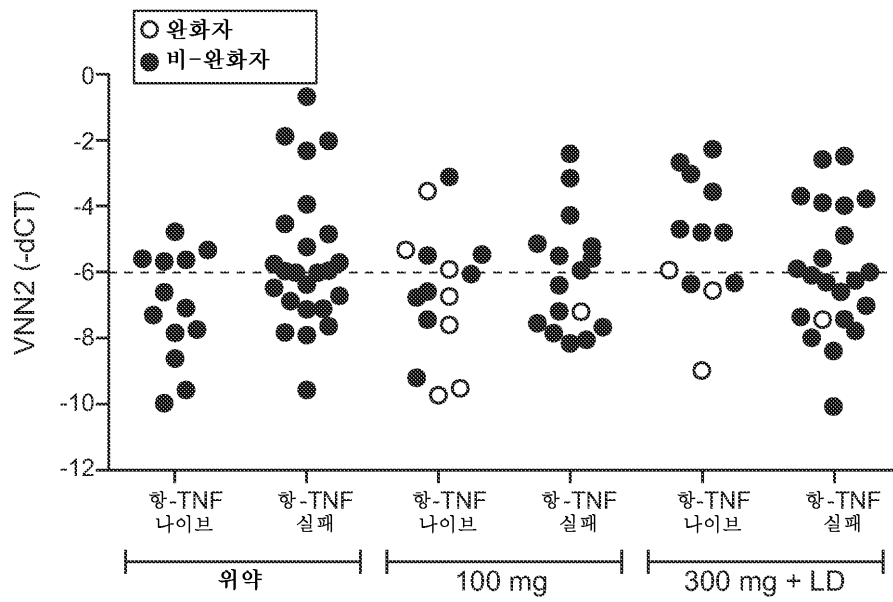
도면19i



도면19i



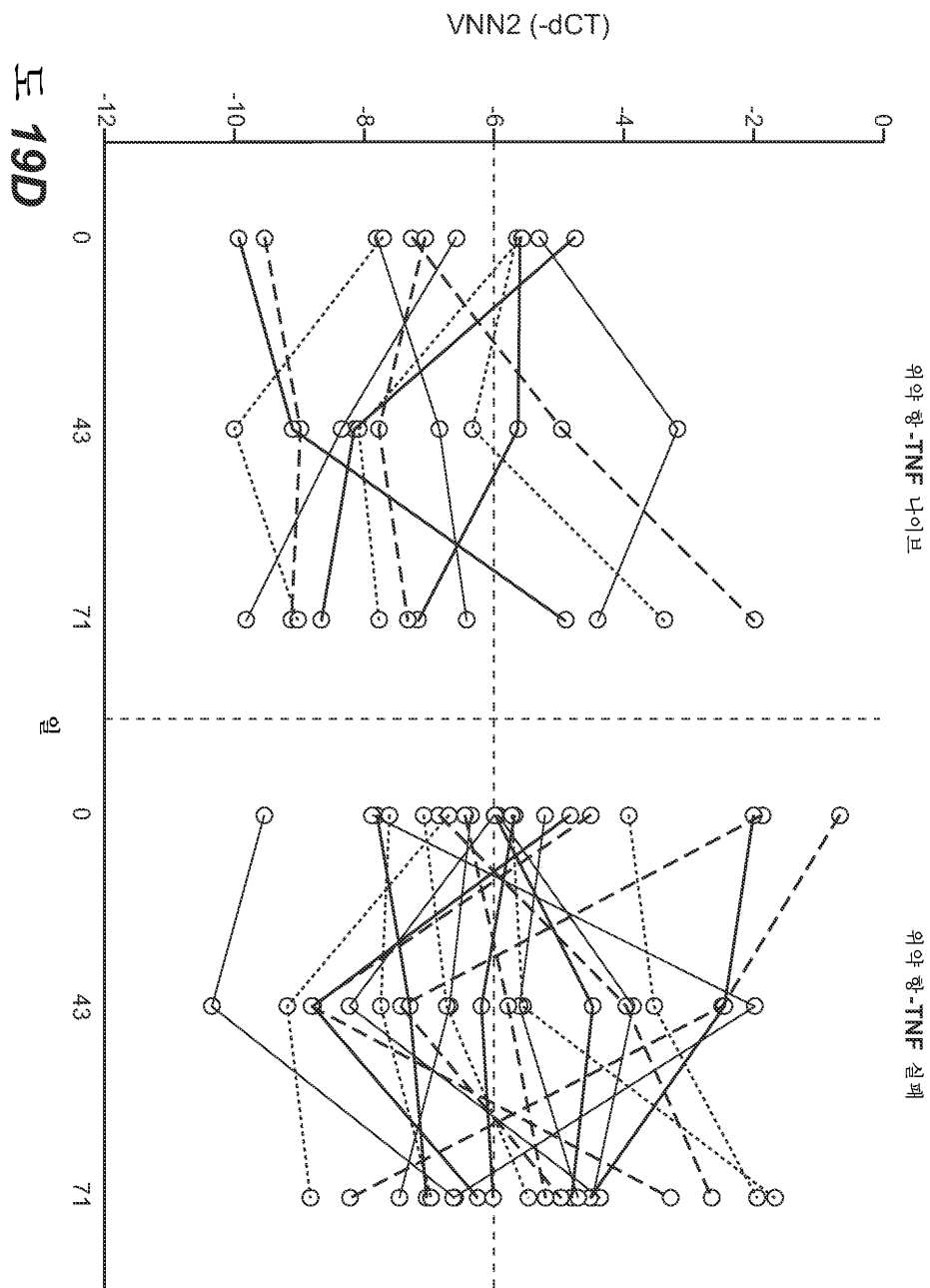
도 19B



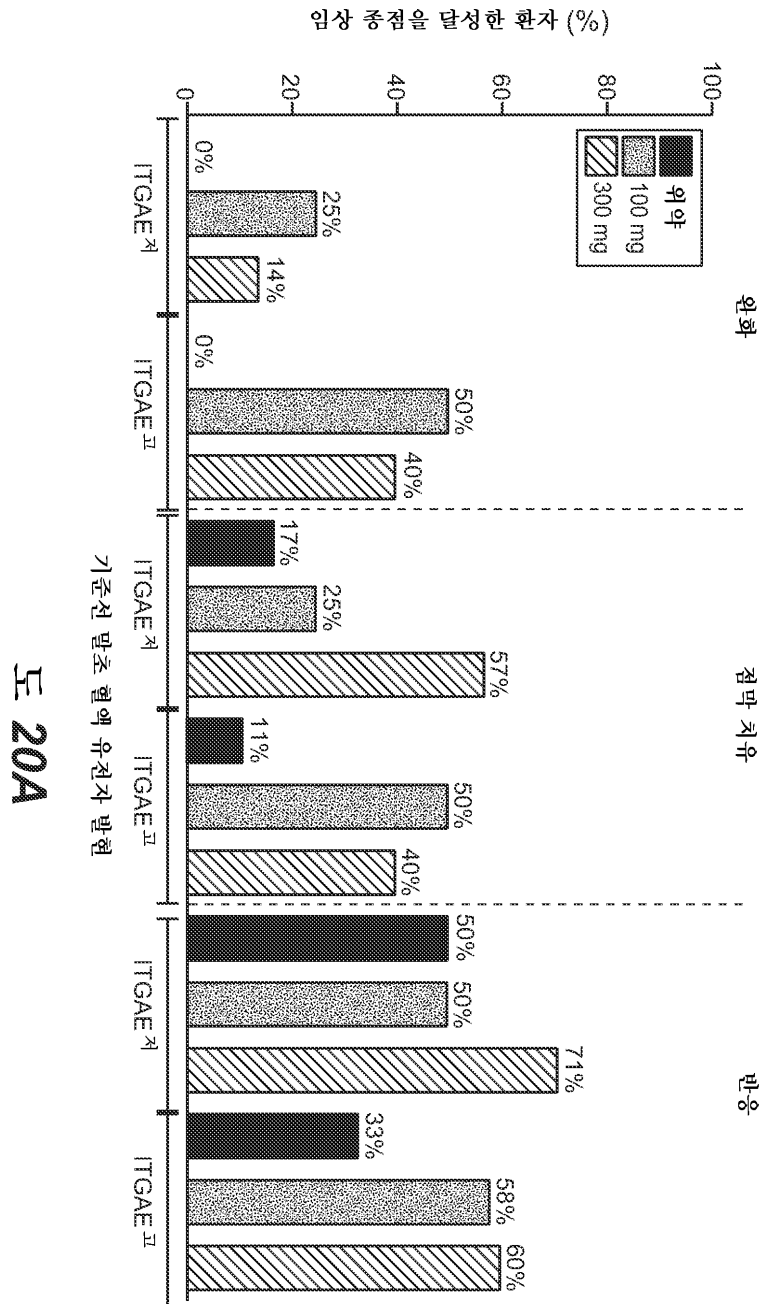
도 19C



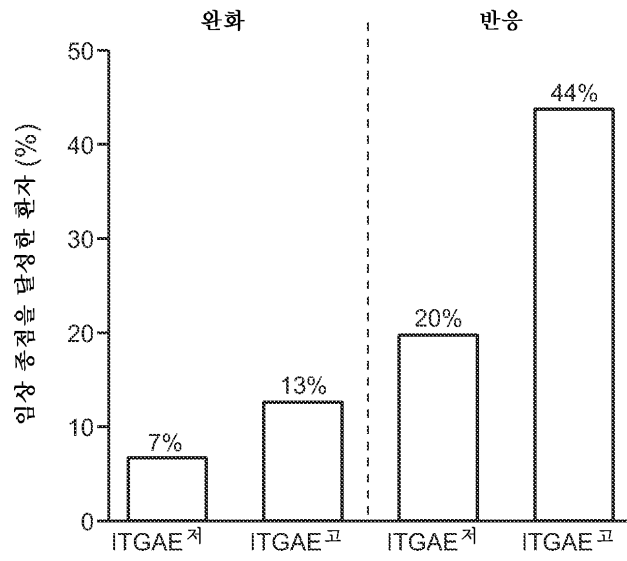
도면19iii



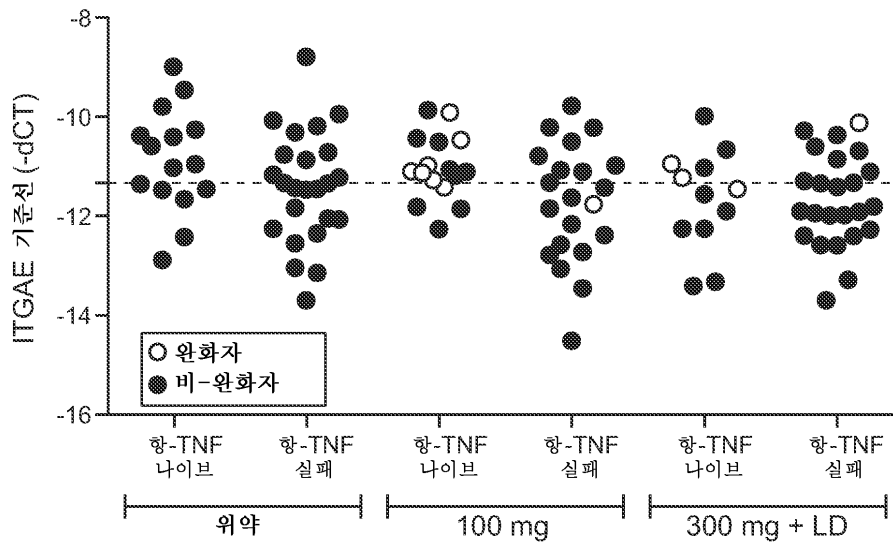
도면20i



도면20ii

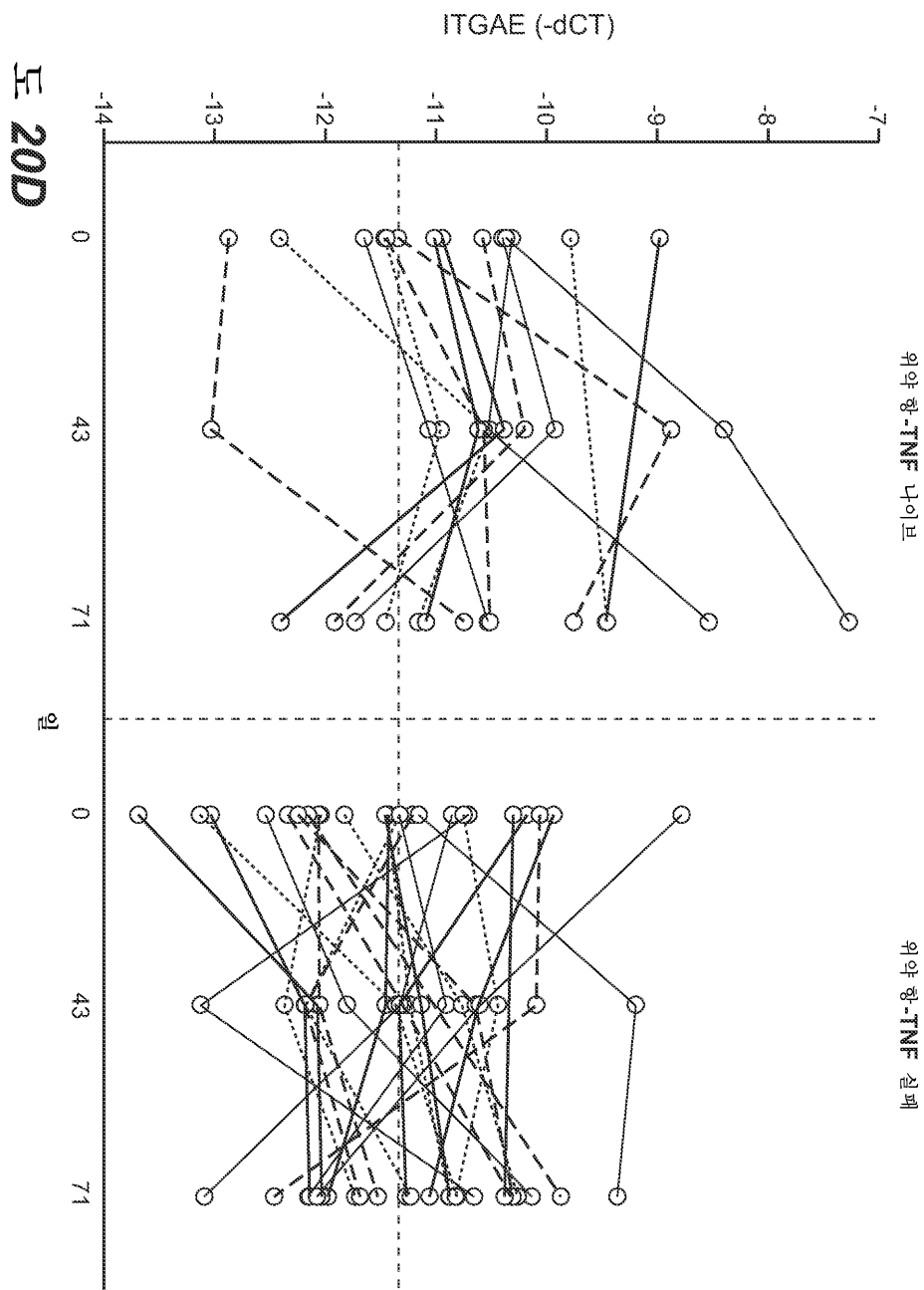


도 20B

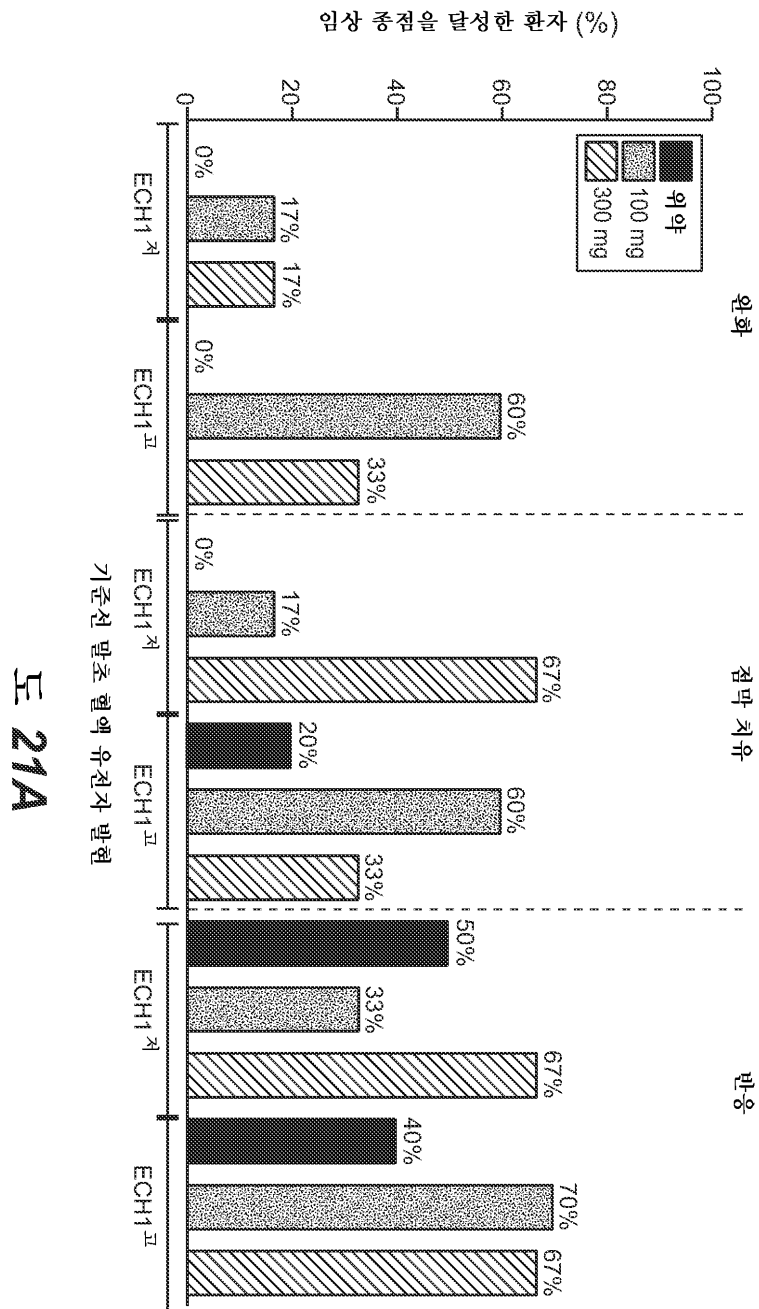


도 20C

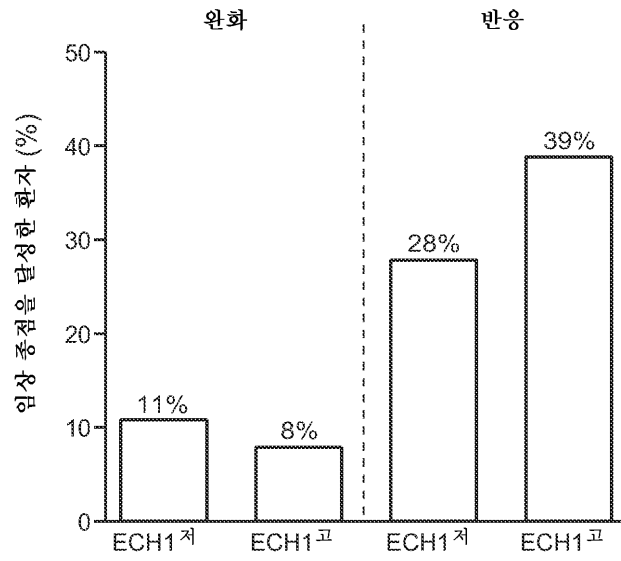
도면20iii



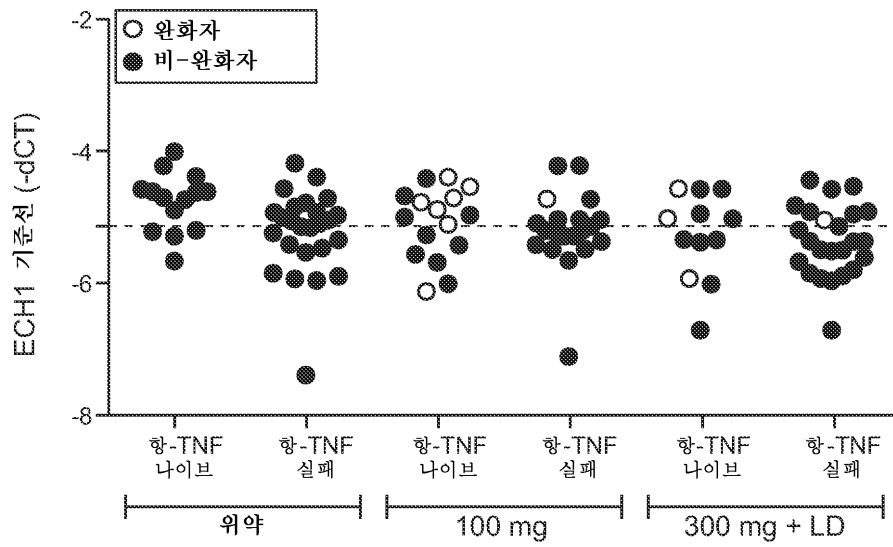
도면21i



도면21ii



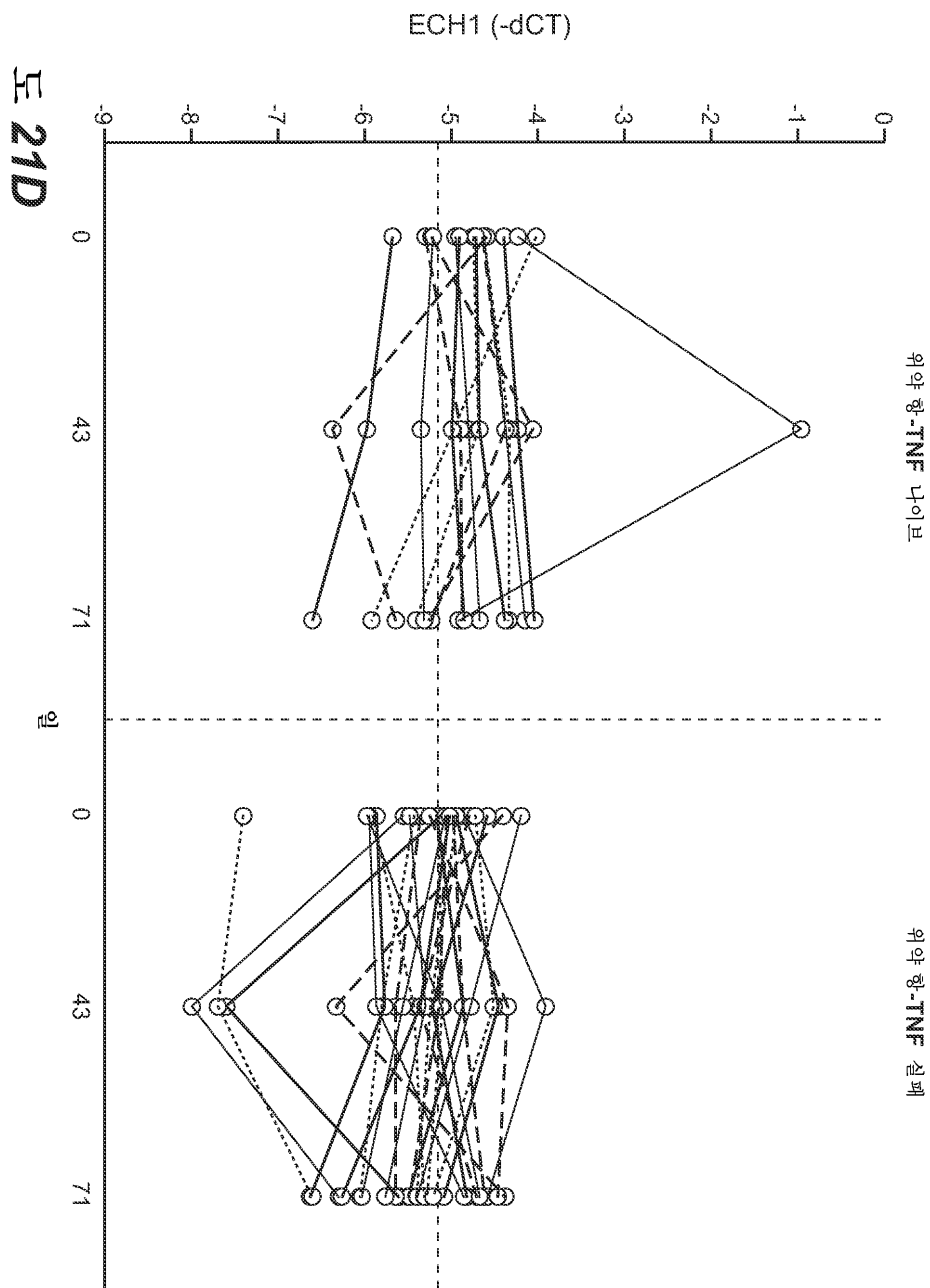
도 21B



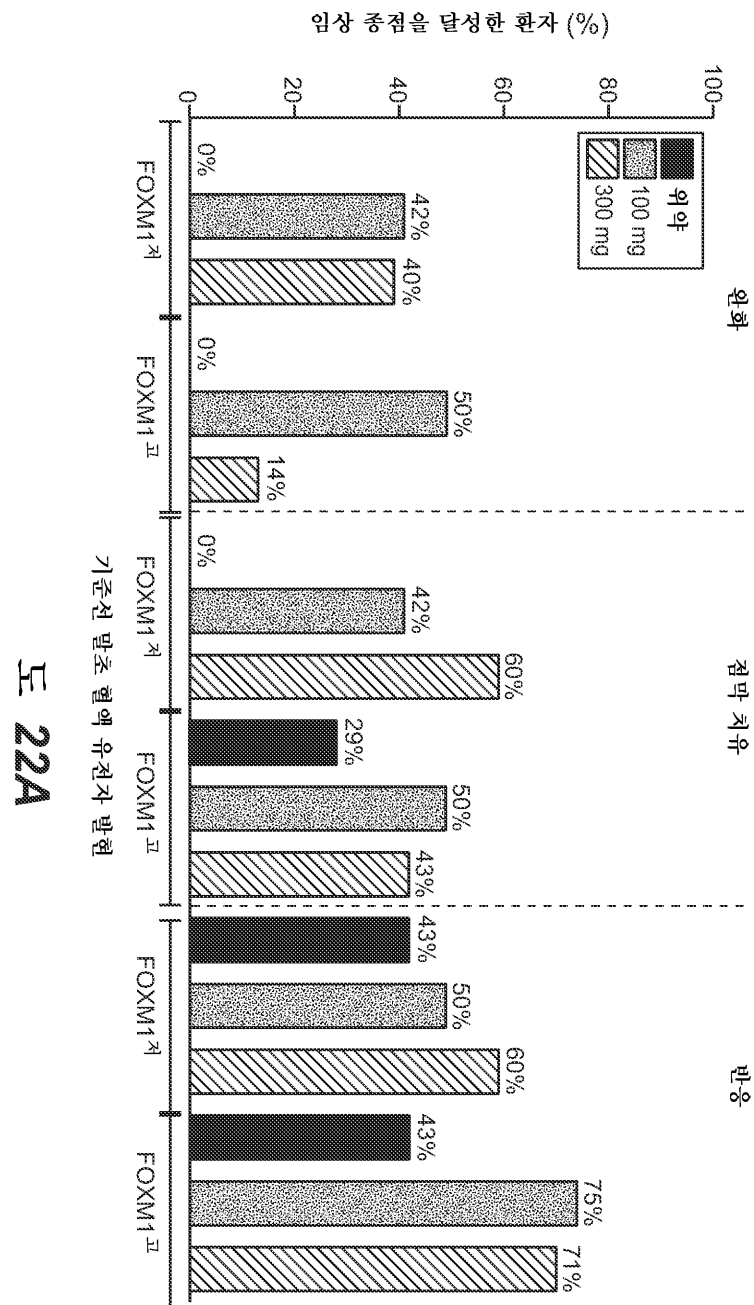
도 21C



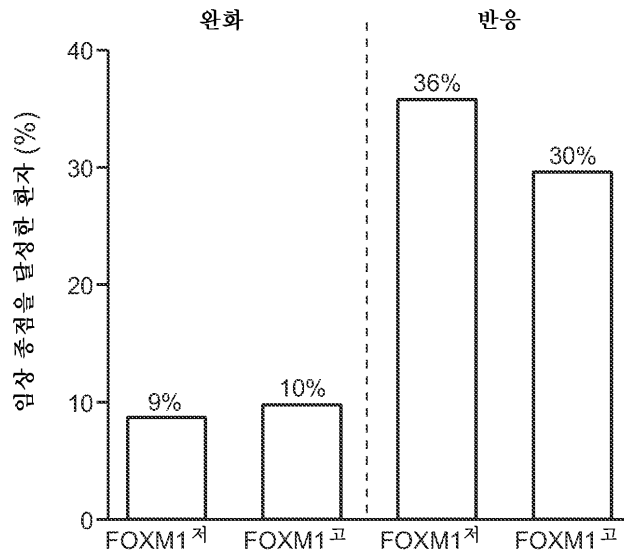
도면21iii



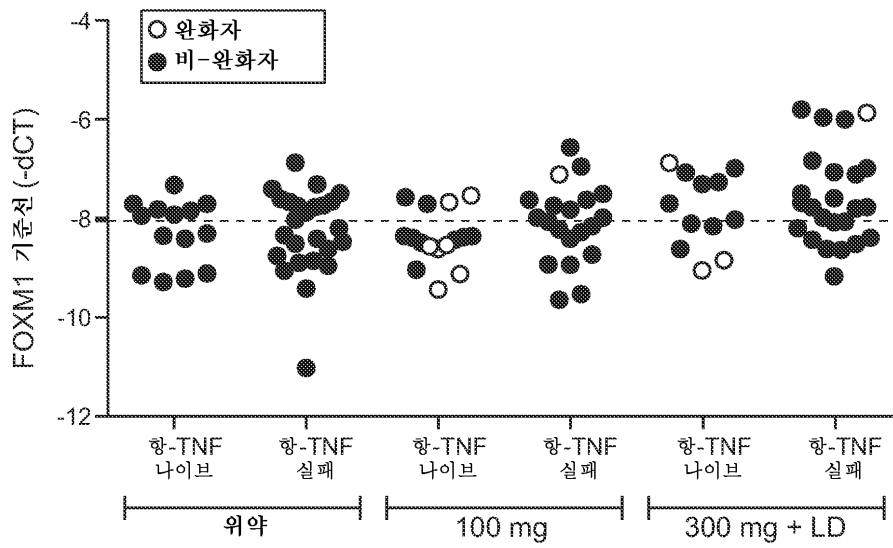
도면22i



도면22ii

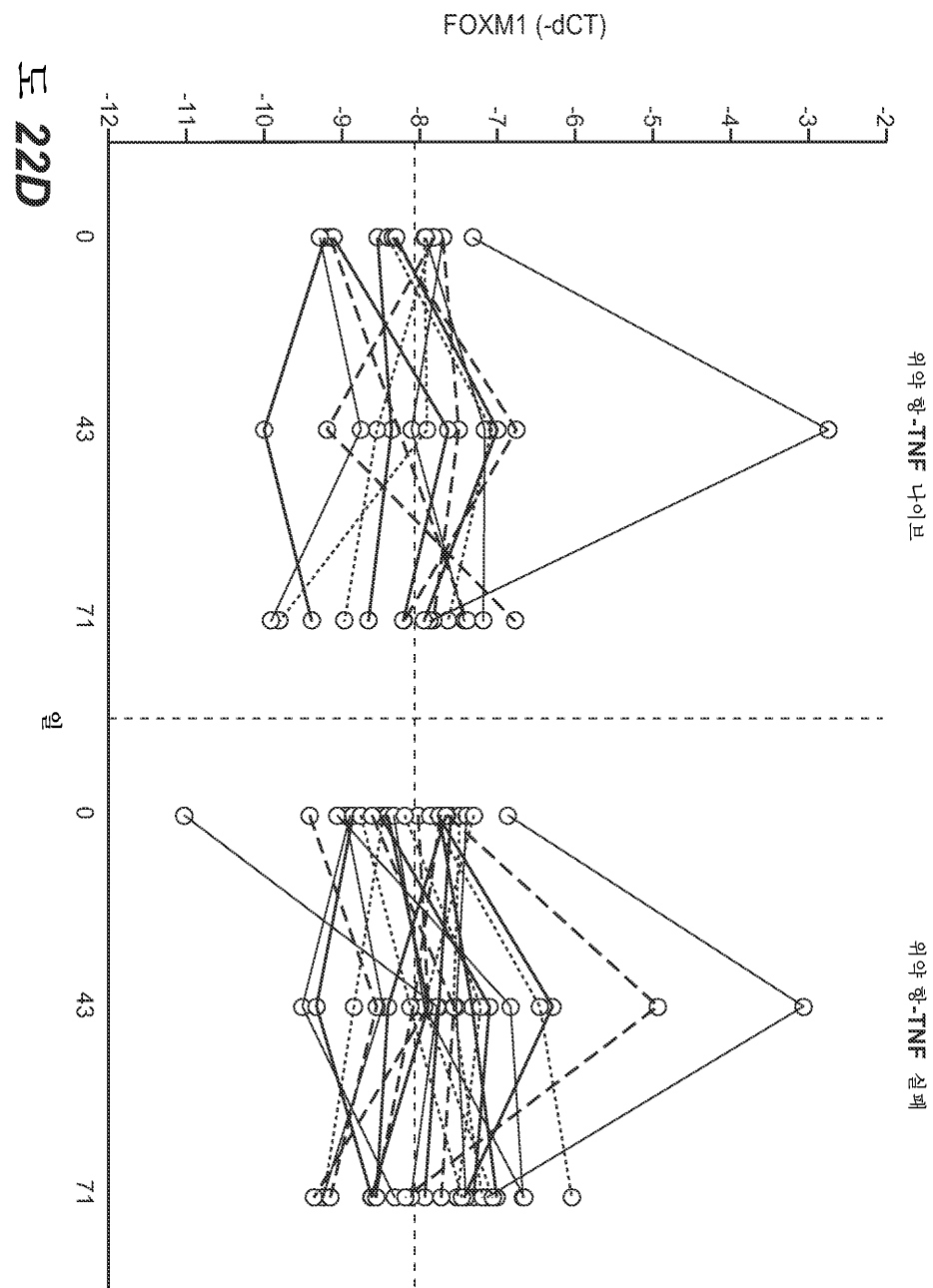


도 22B

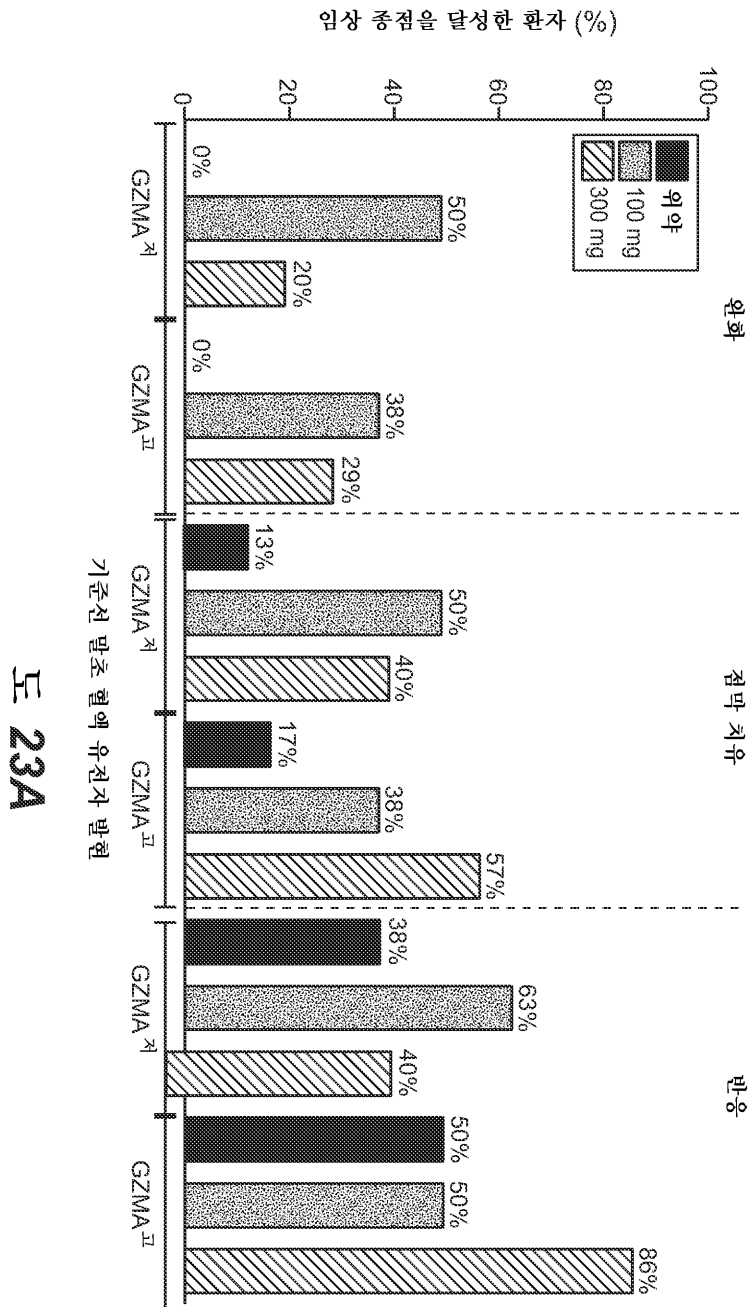


도 22C

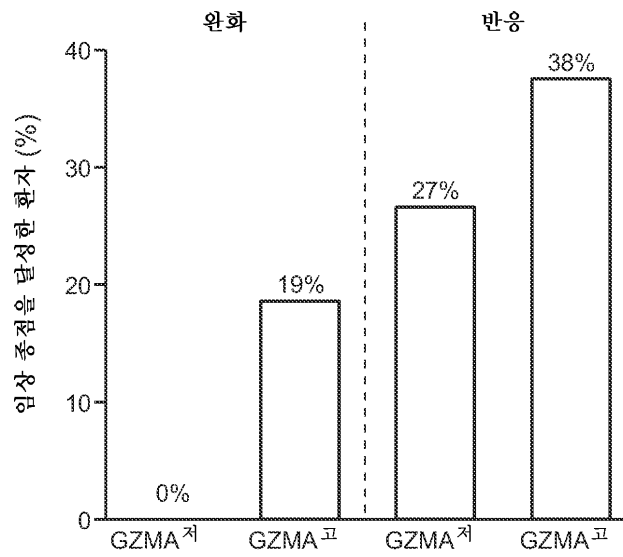
도면22iii



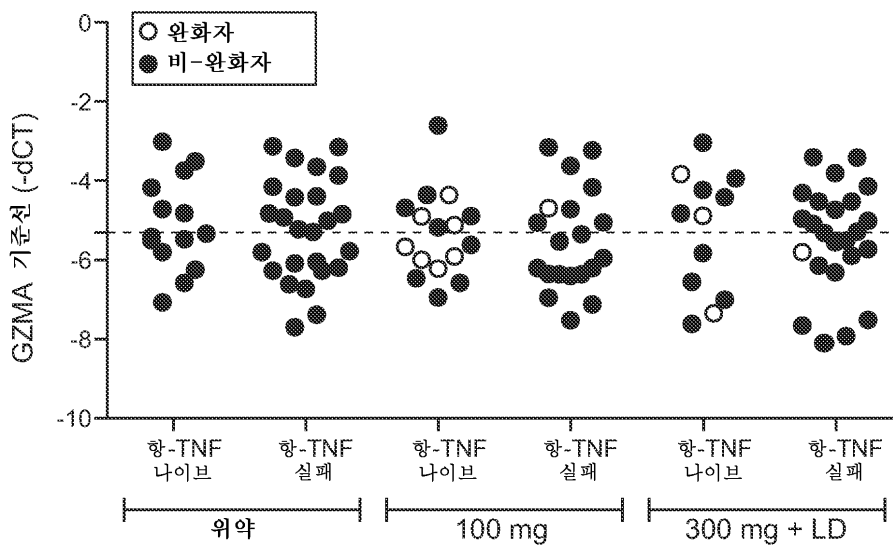
도면23i



도면23ii



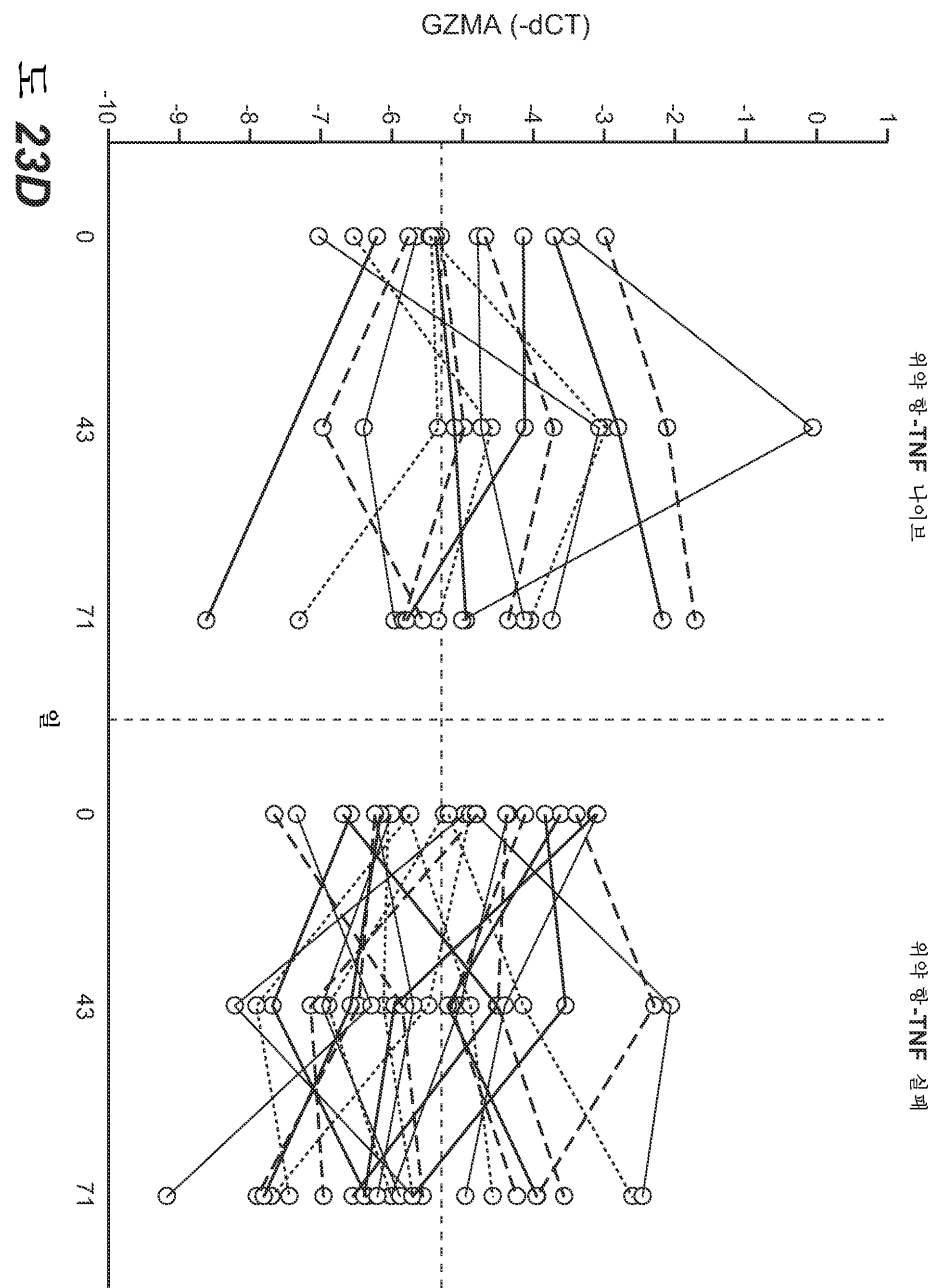
도 23B



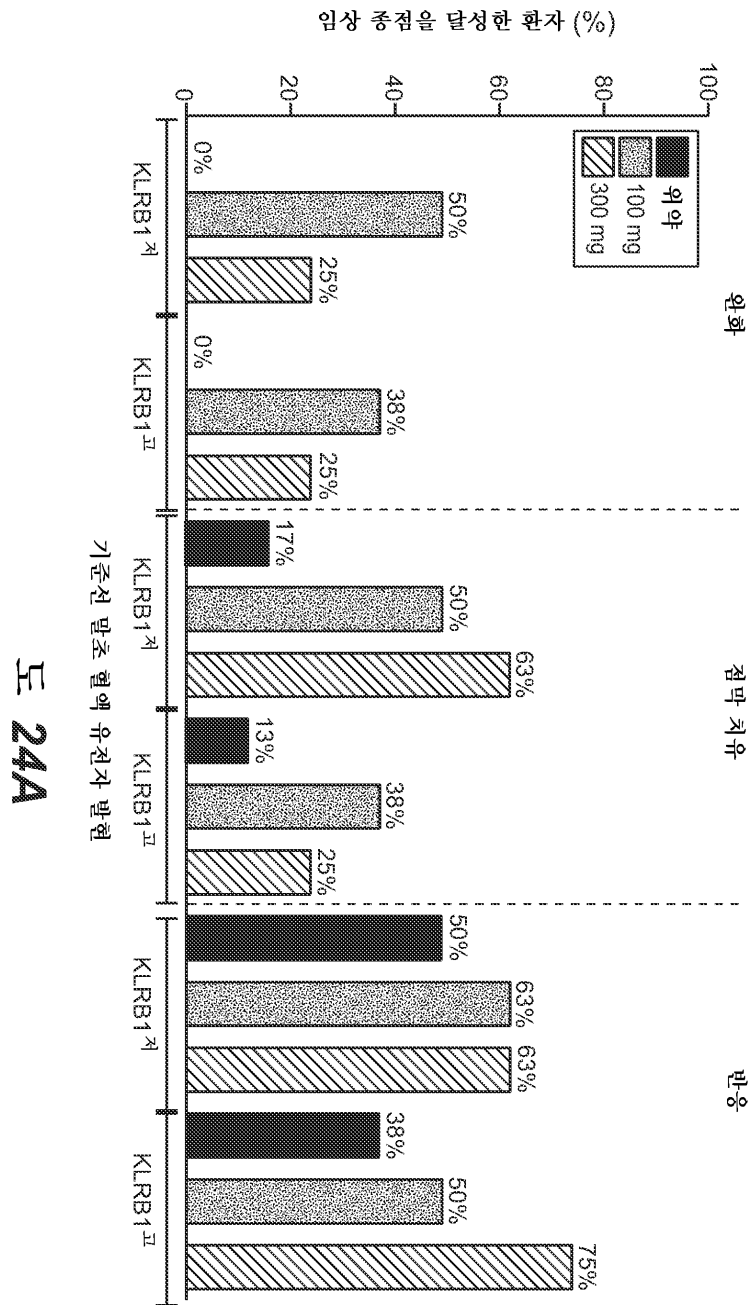
도 23C



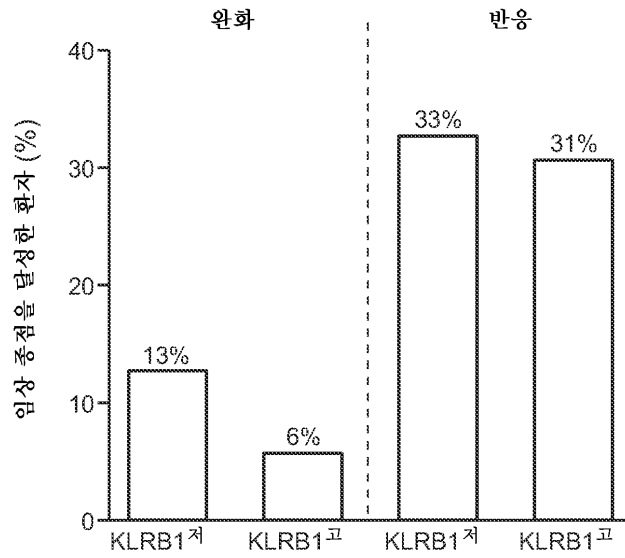
도면23iii



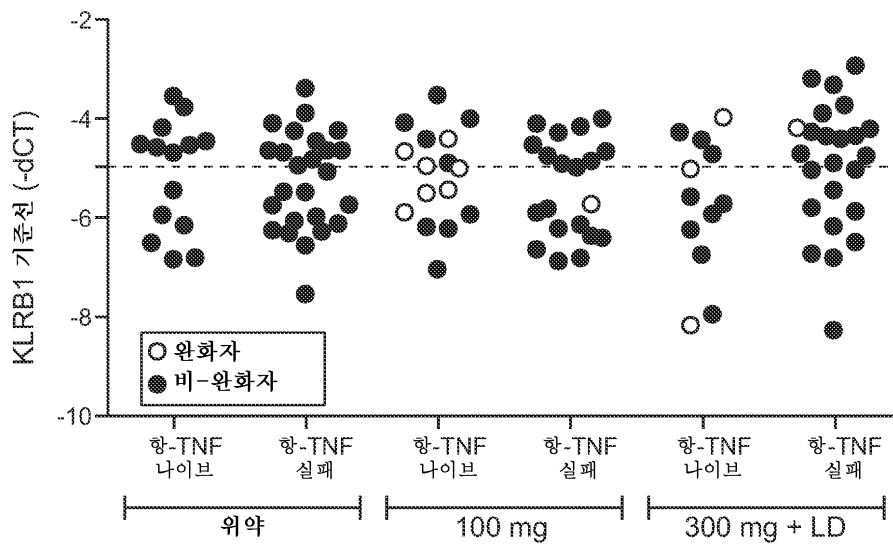
도면24i



도면24ii

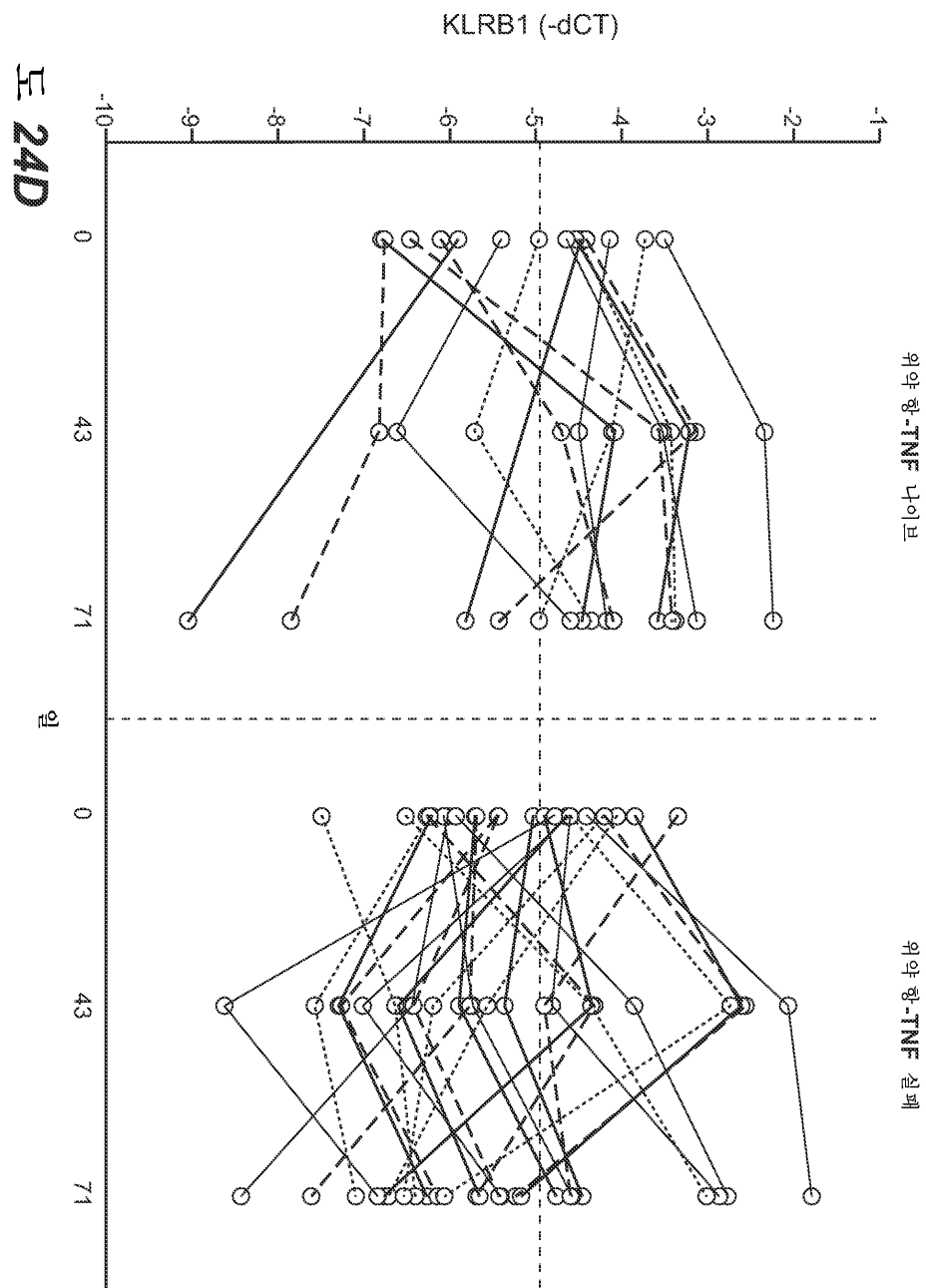


도 24B

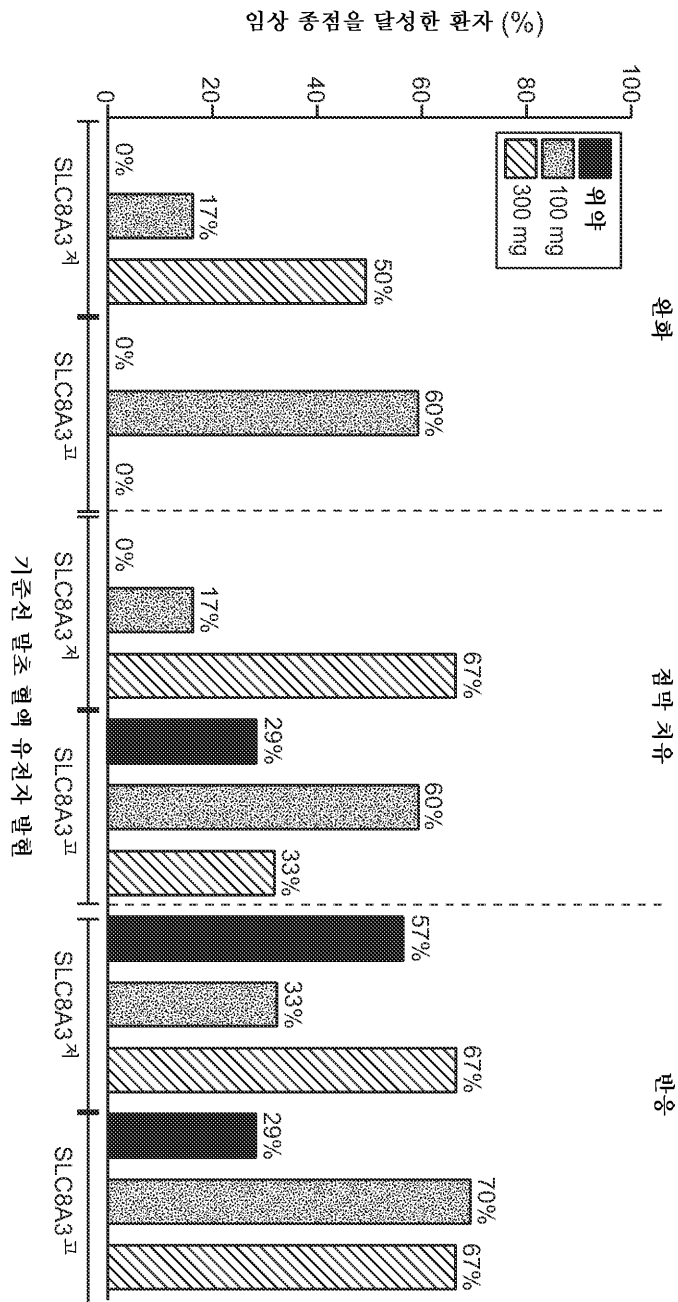


도 24C

도면24iii

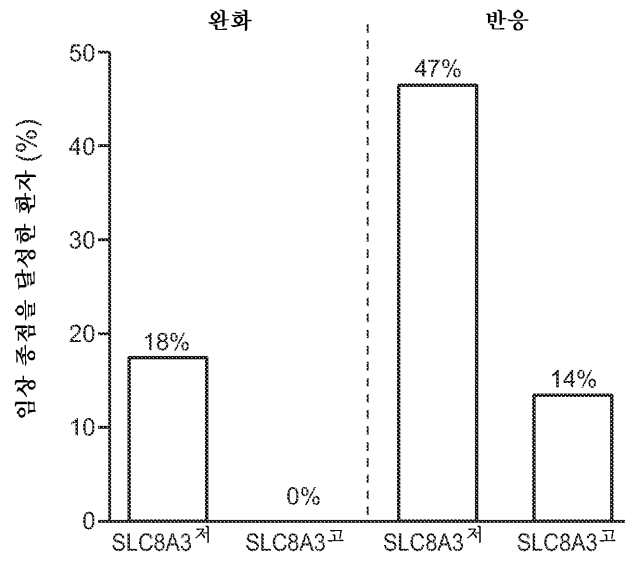


도면25i

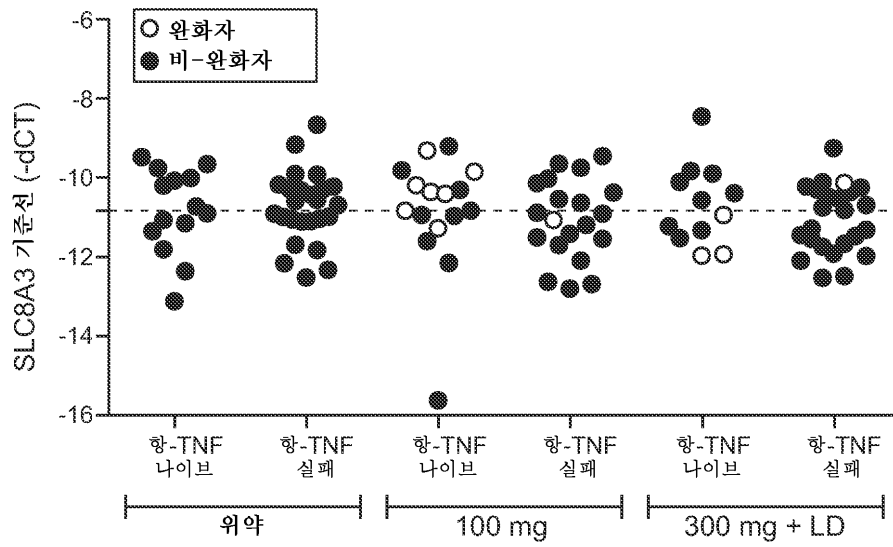


도 25A

도면25ii



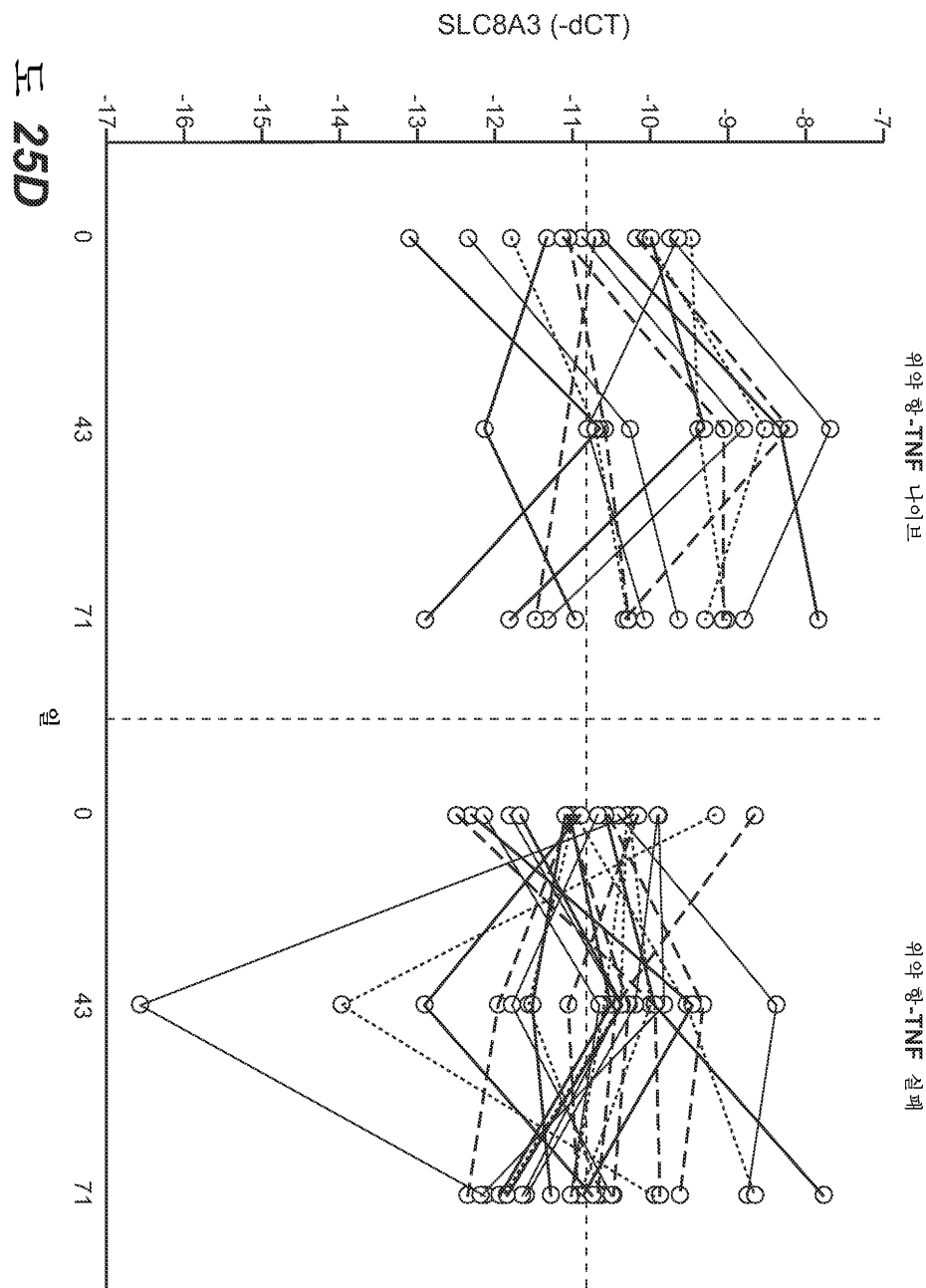
도 25B



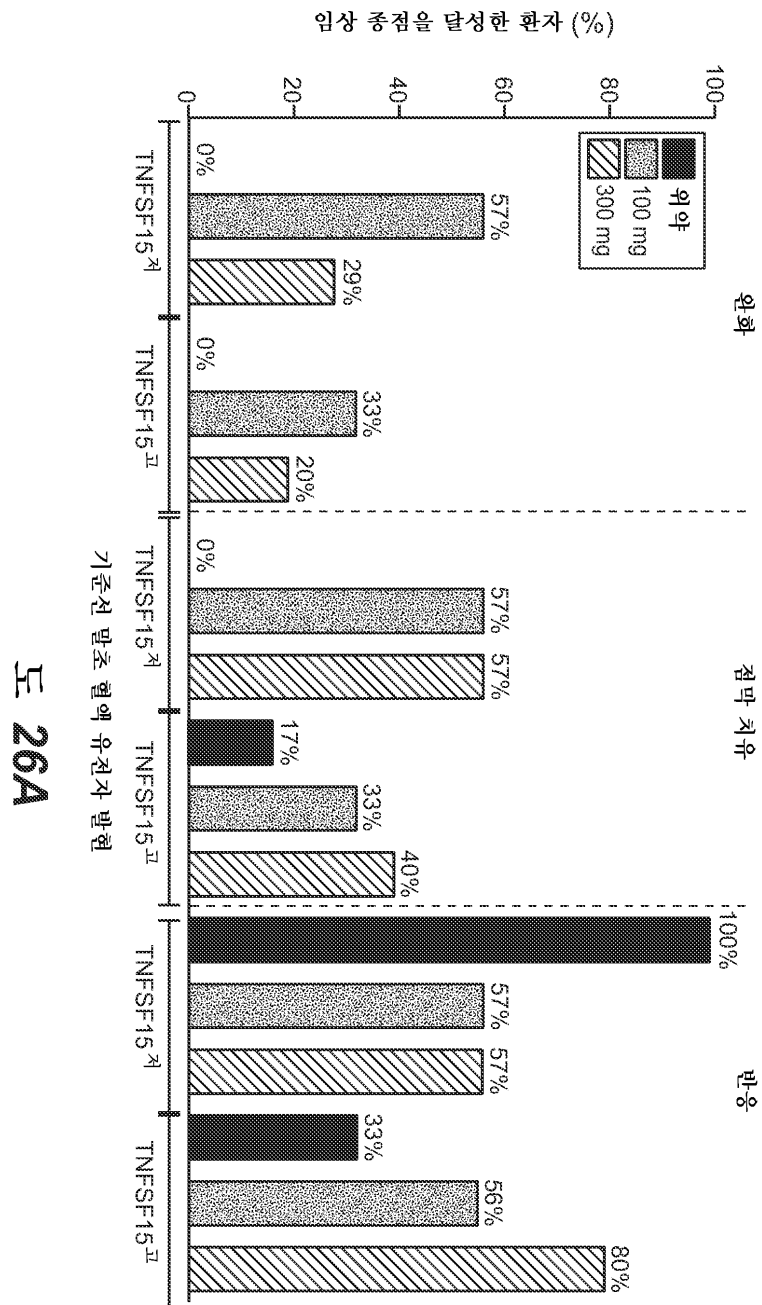
도 25C



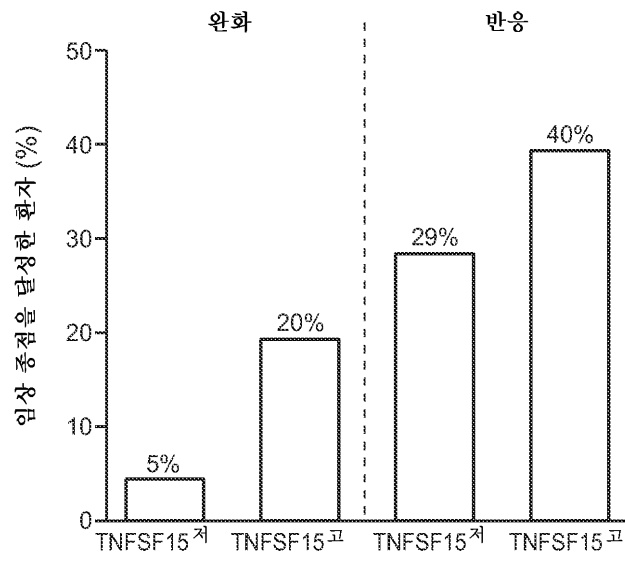
도면25iii



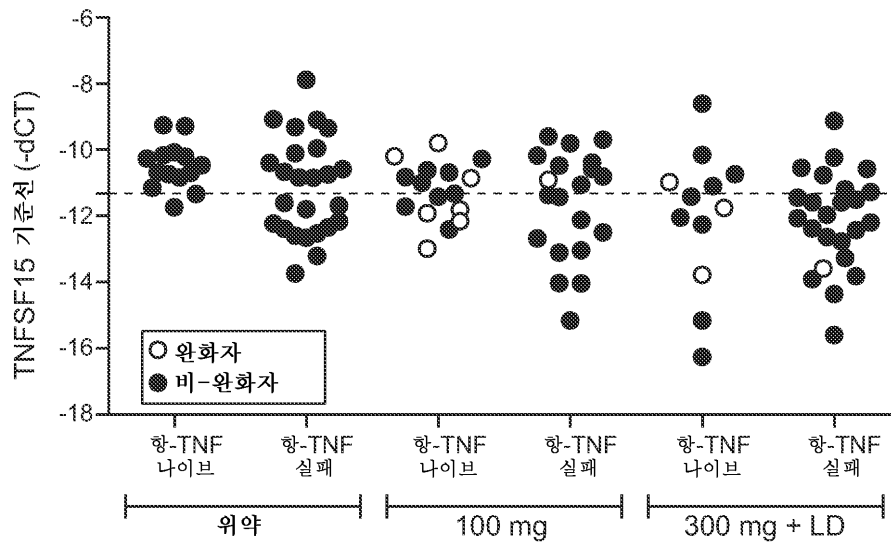
도면26i



도면26ii

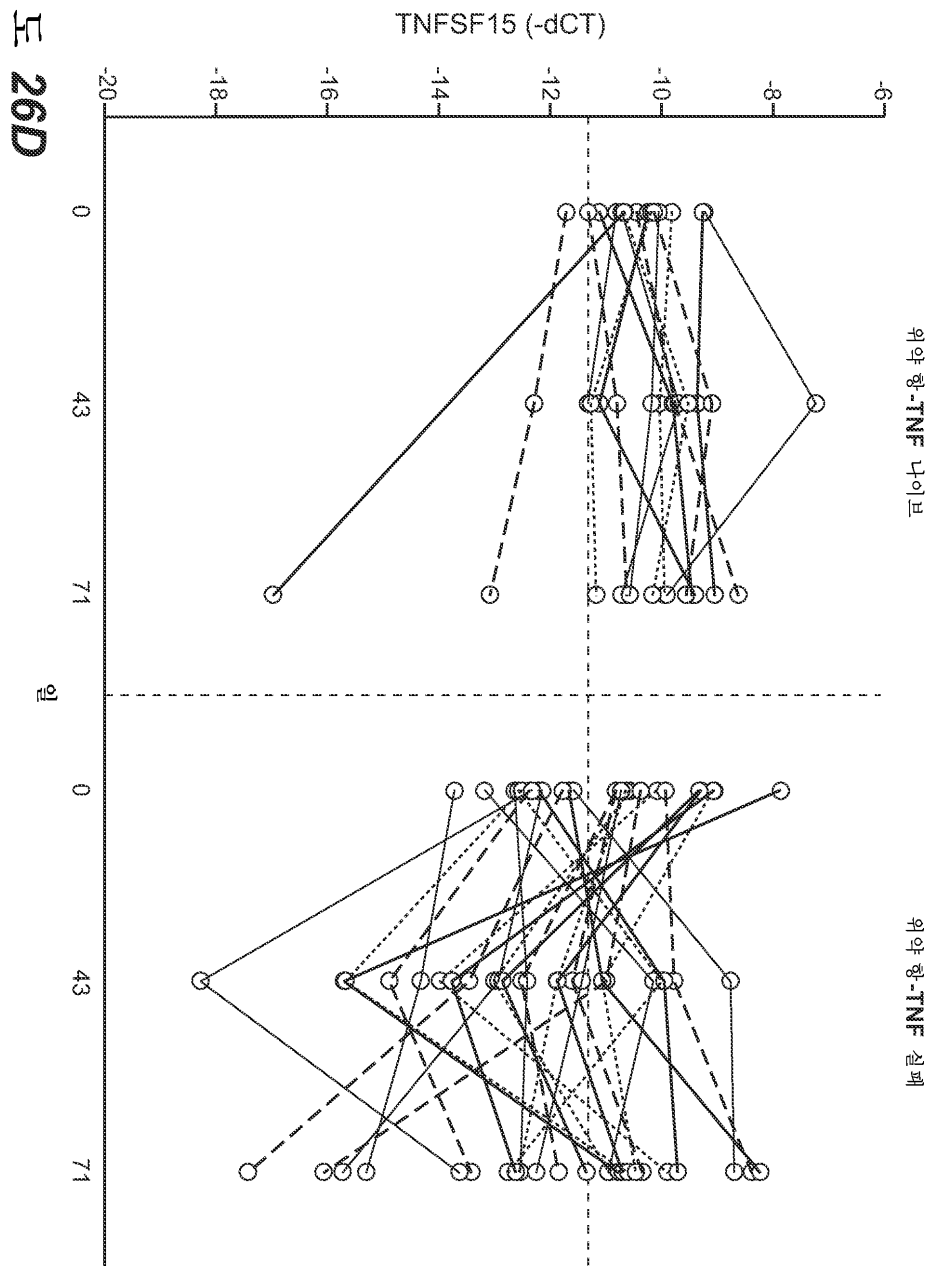


도 26B

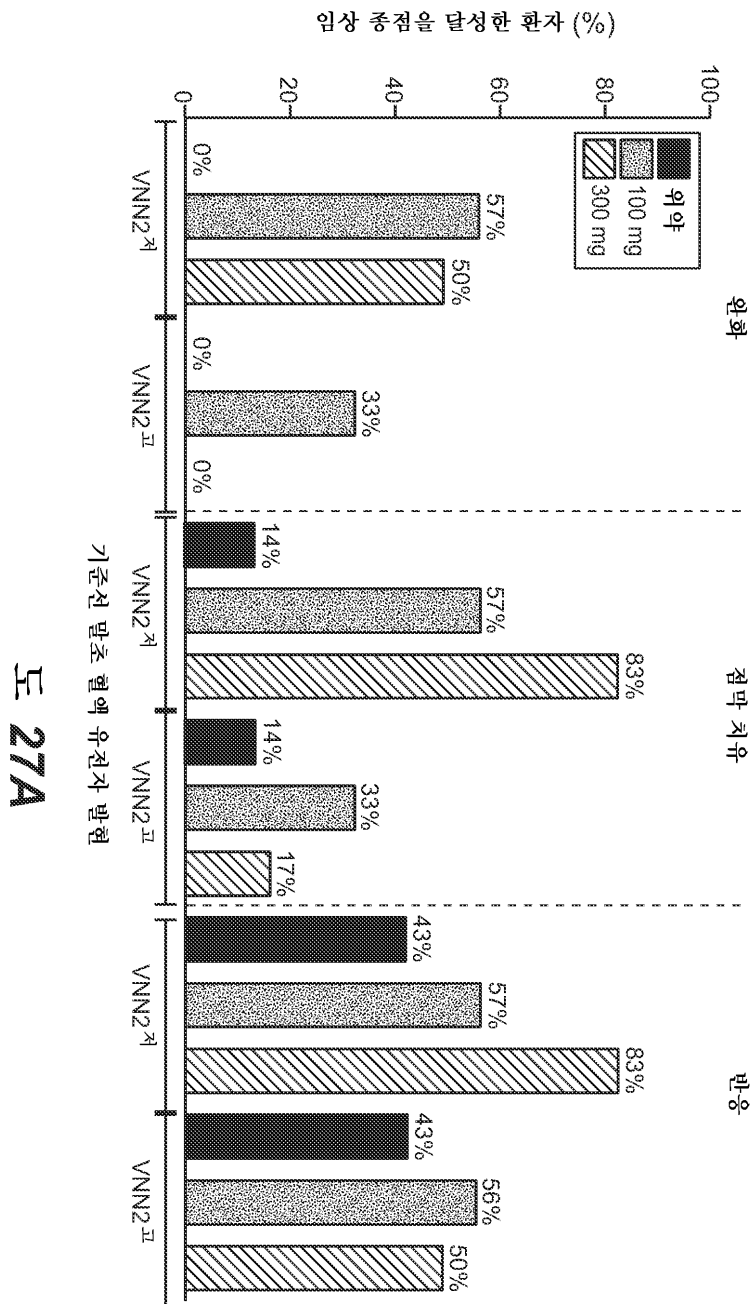


도 26C

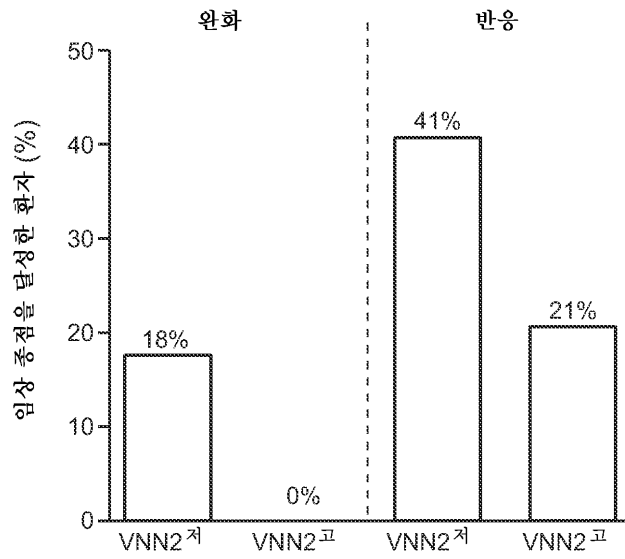
도면26iii



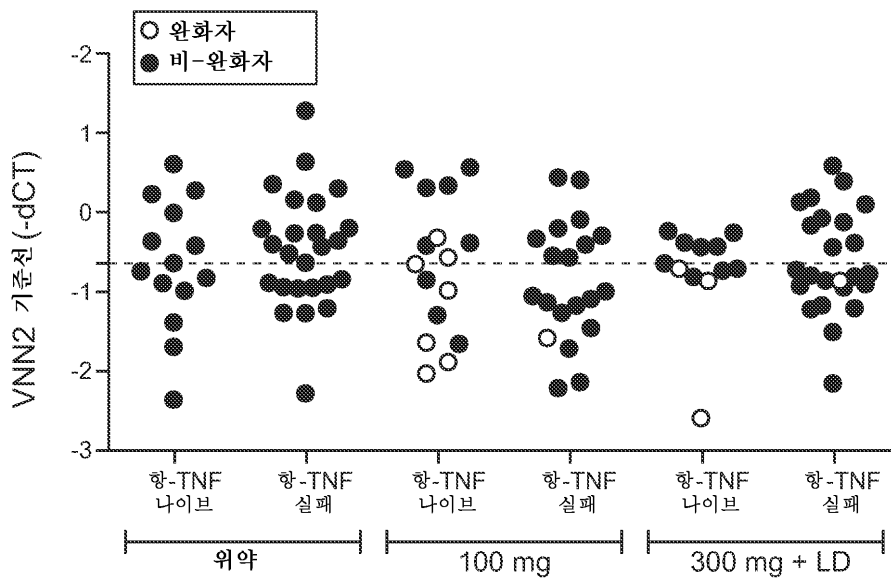
도면27i



도면27ii



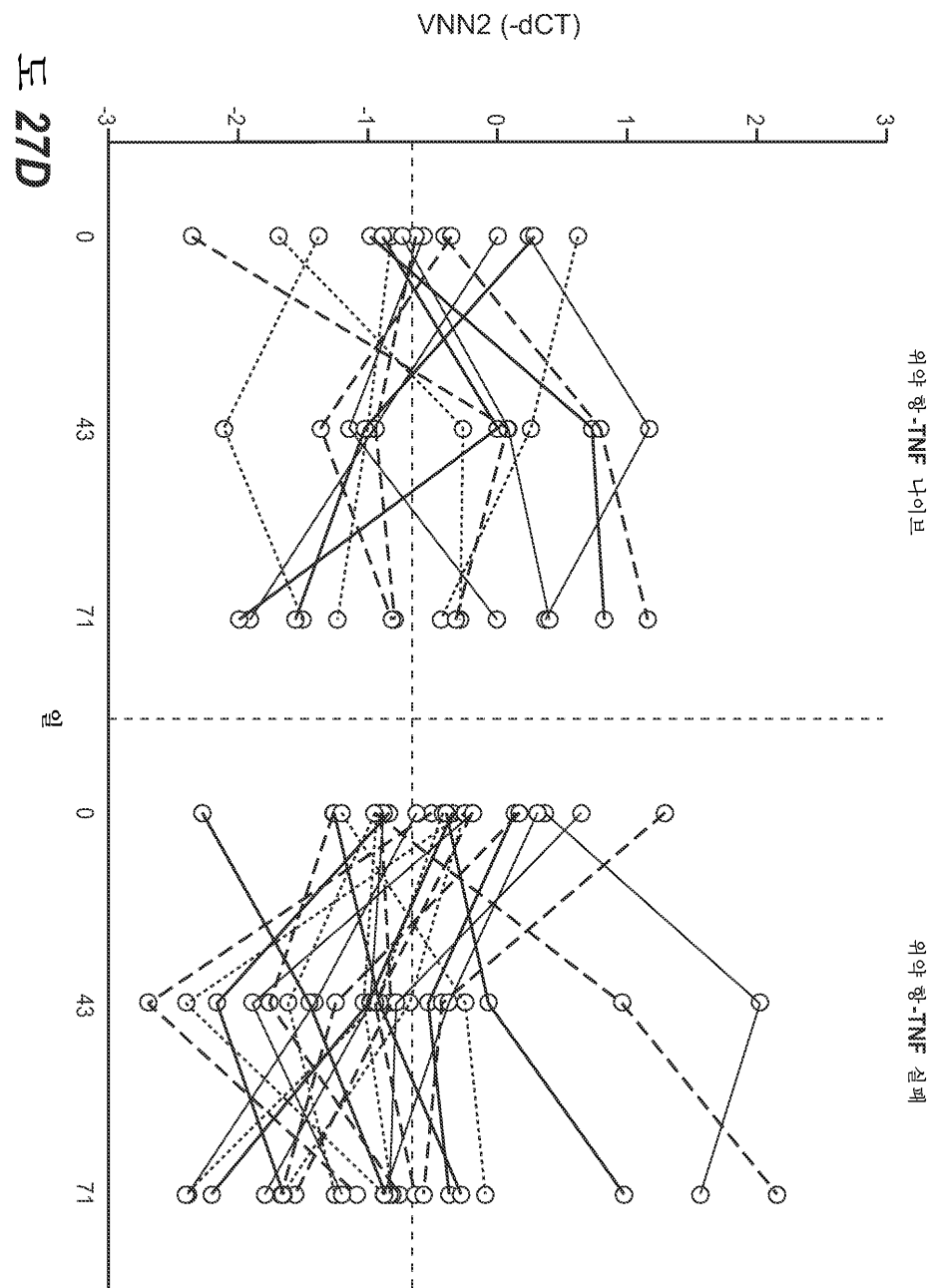
도 27B



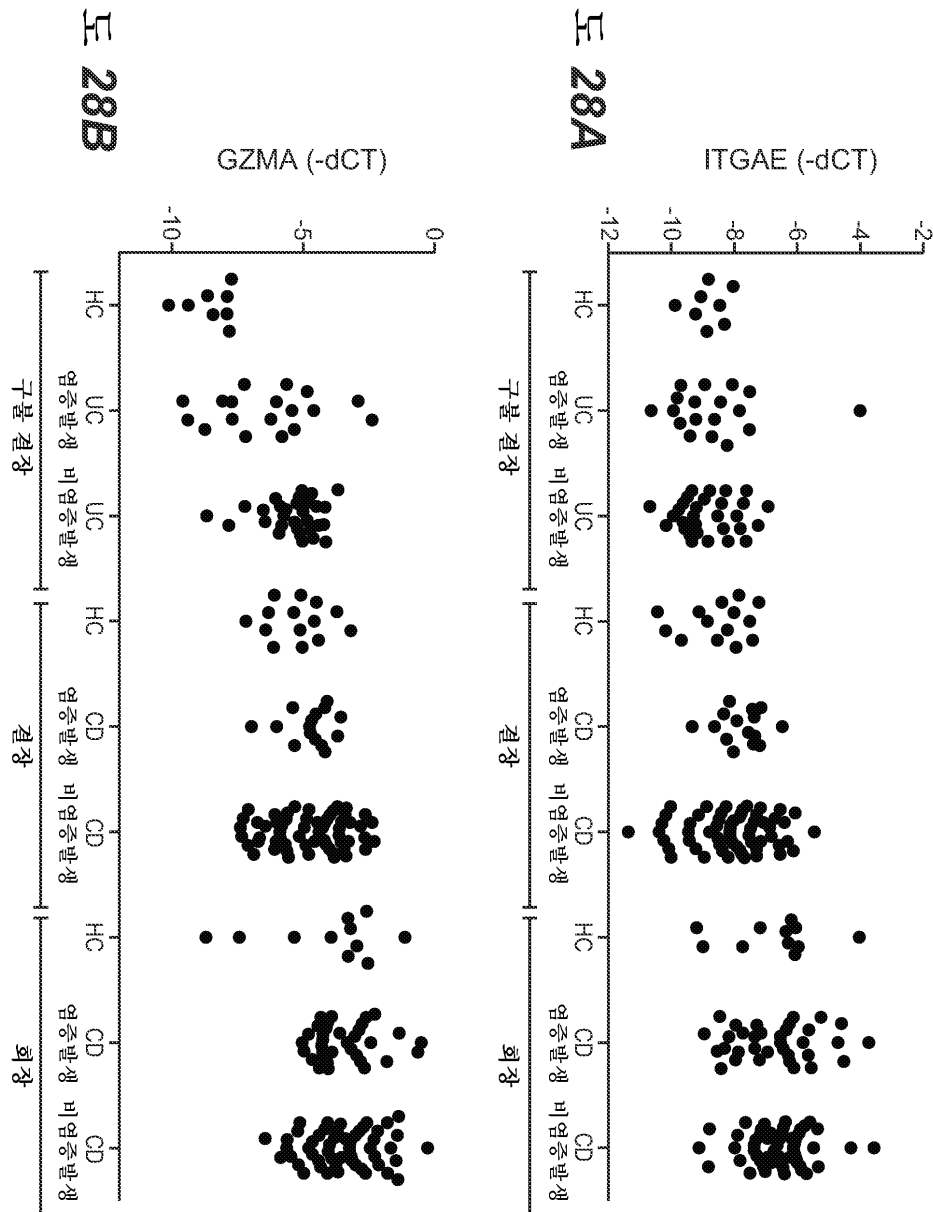
도 27C



도면27iii

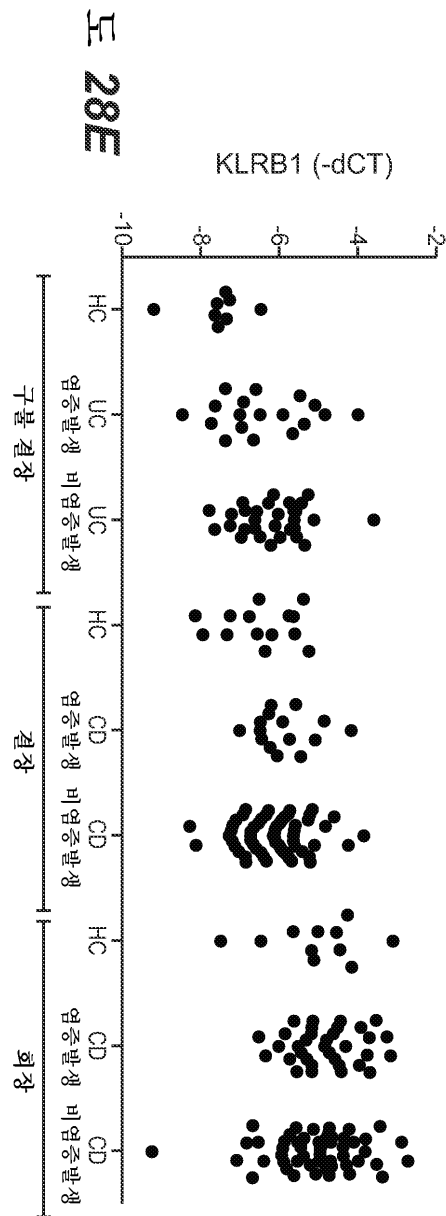
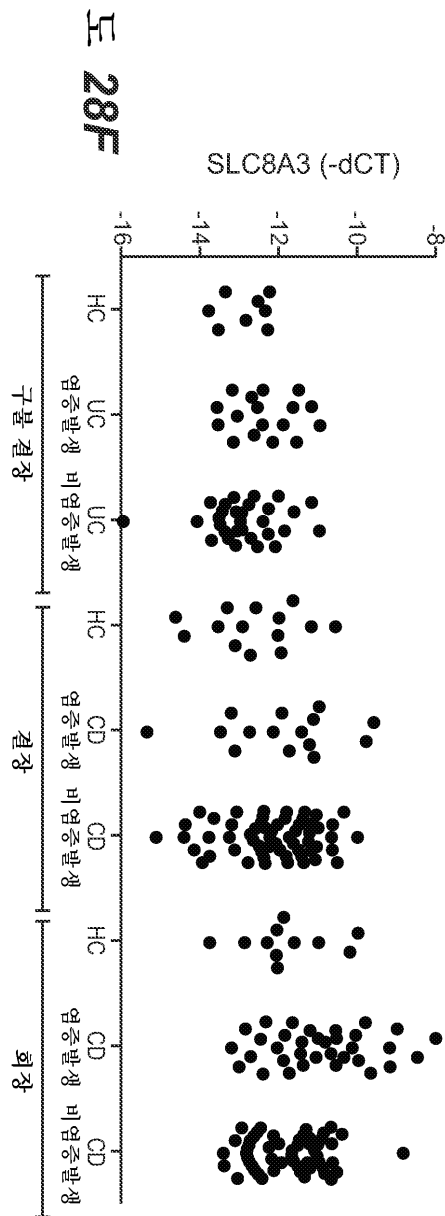


도면28i

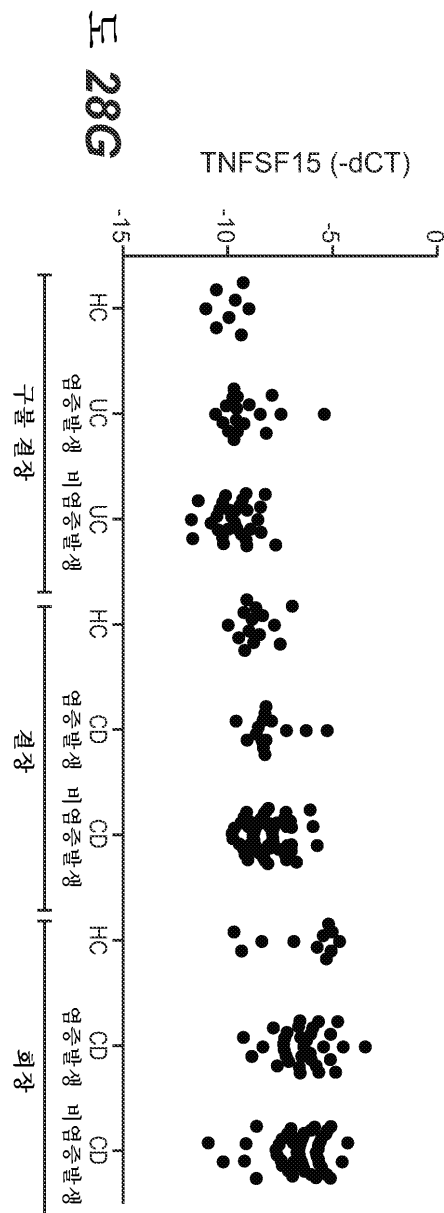
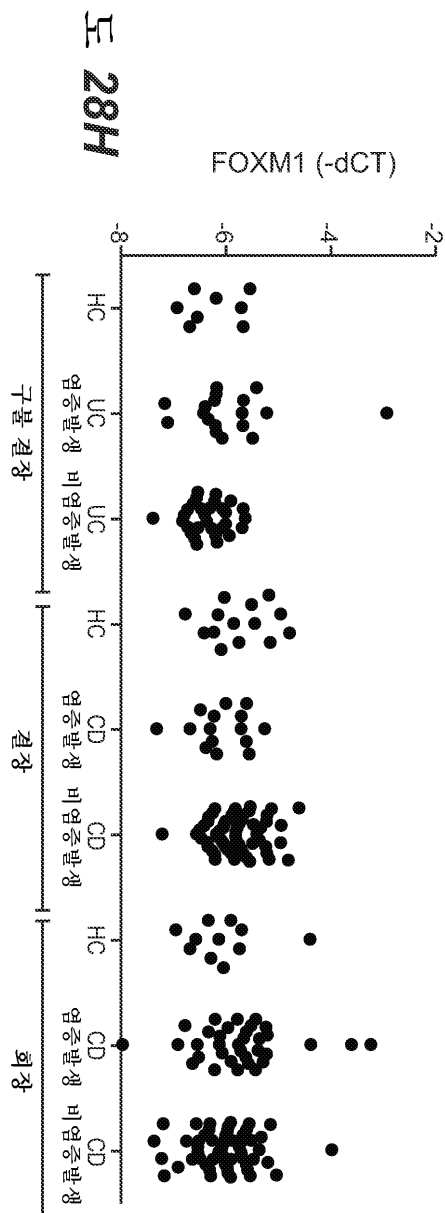




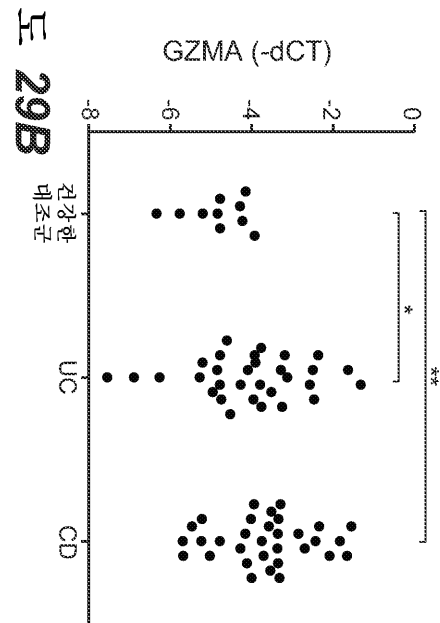
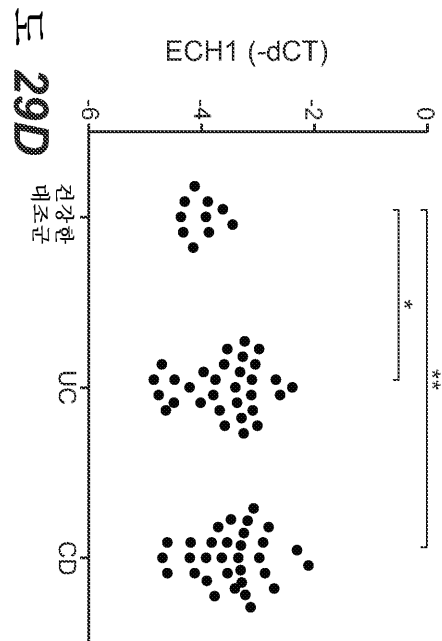
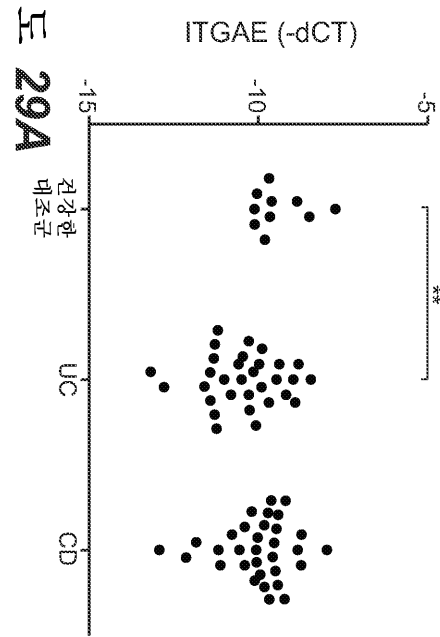
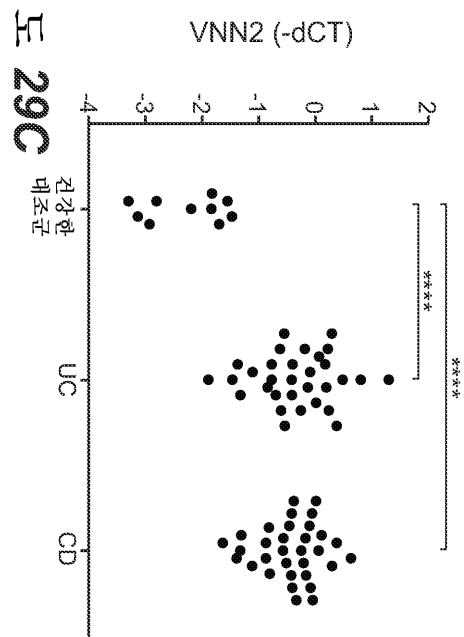
도면28iii



도면 28iv

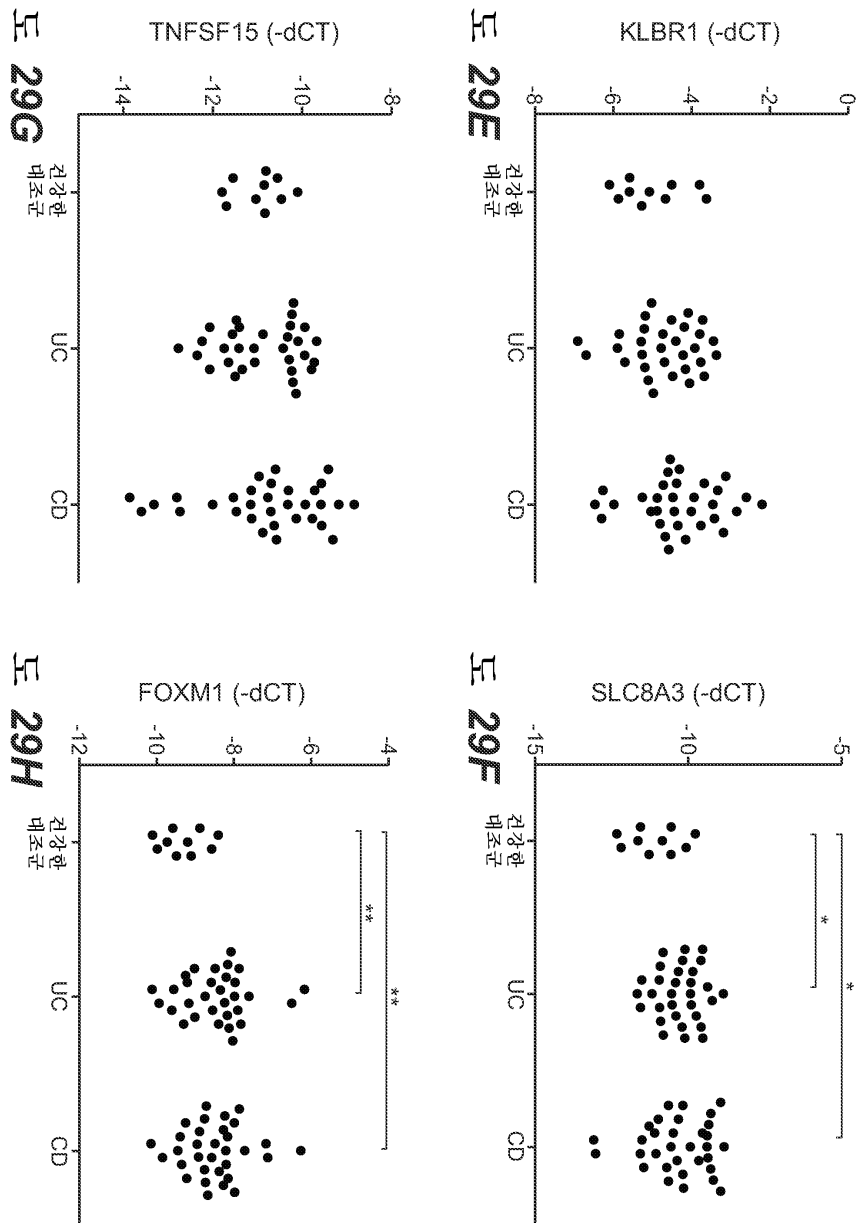


도면29i



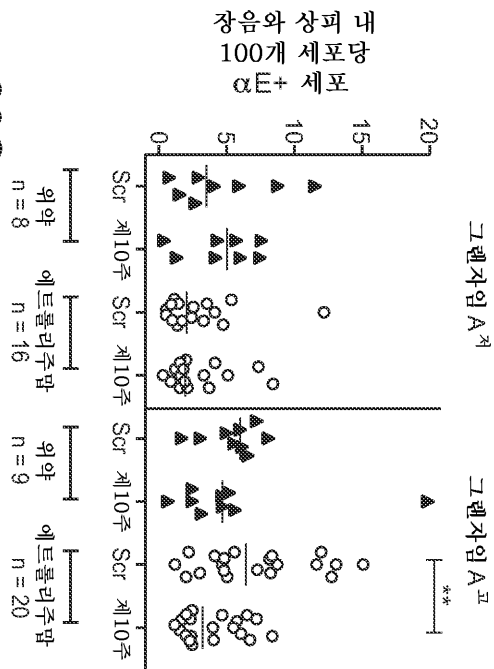


도면29ii

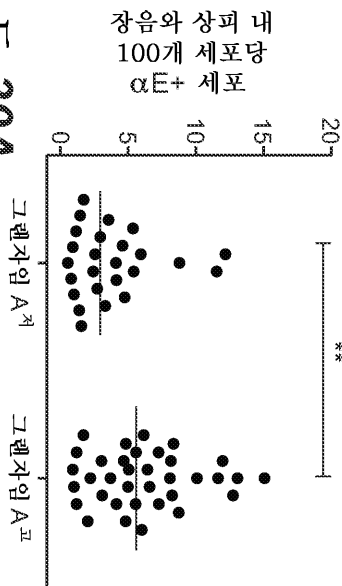


도면30

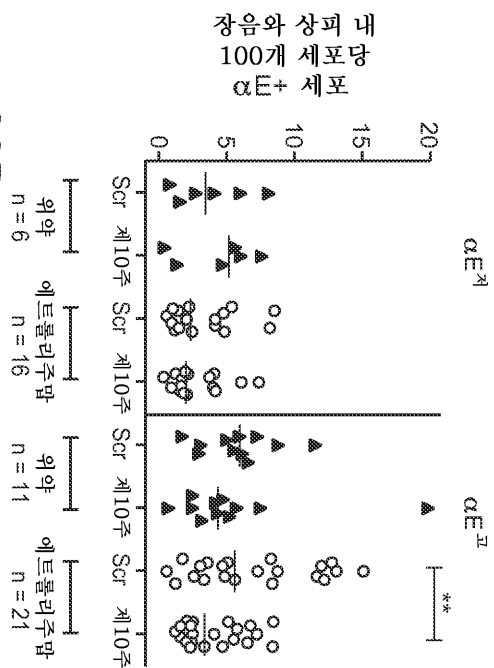
도 30A



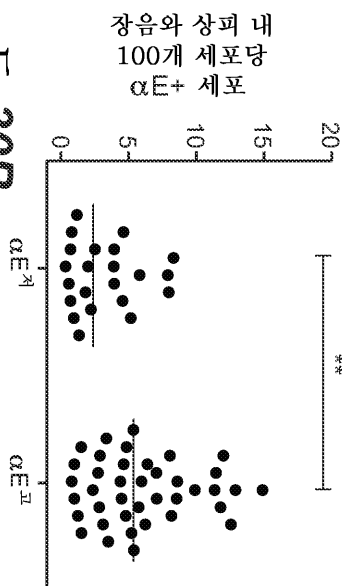
도 30B



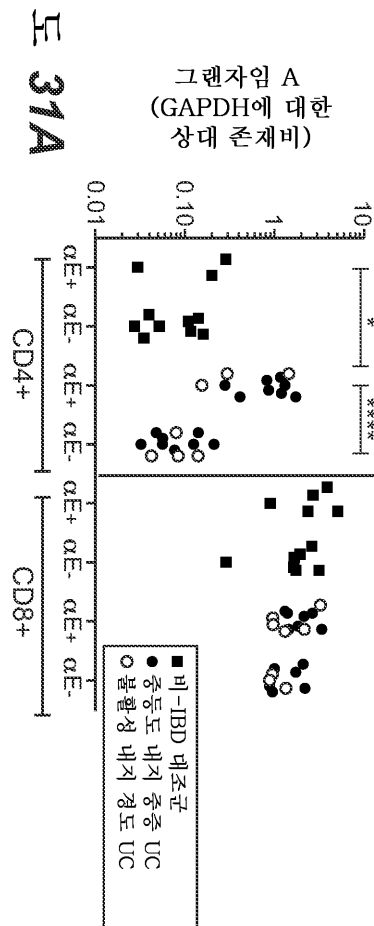
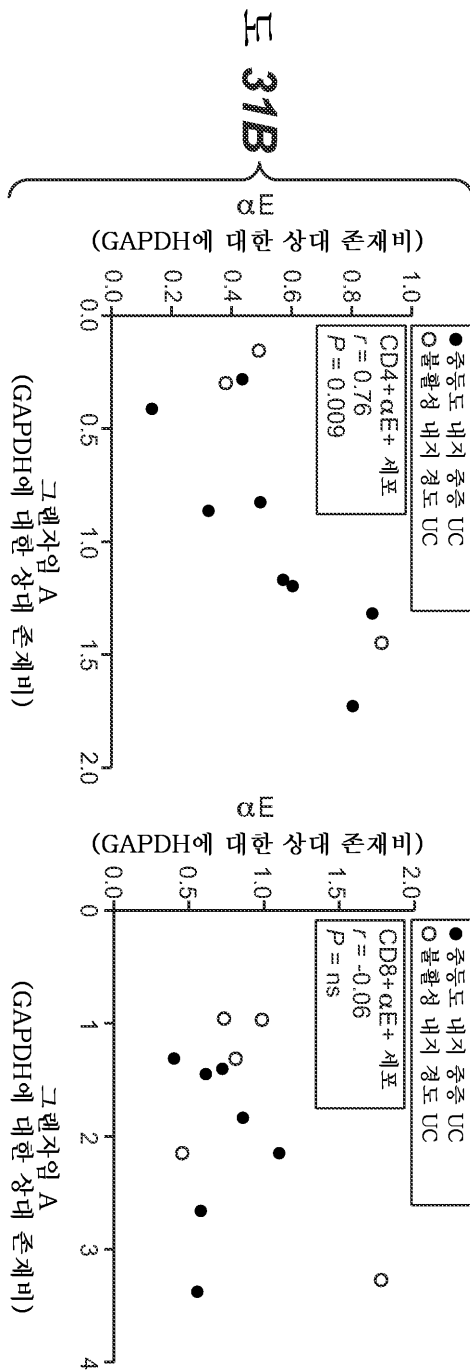
도 30C



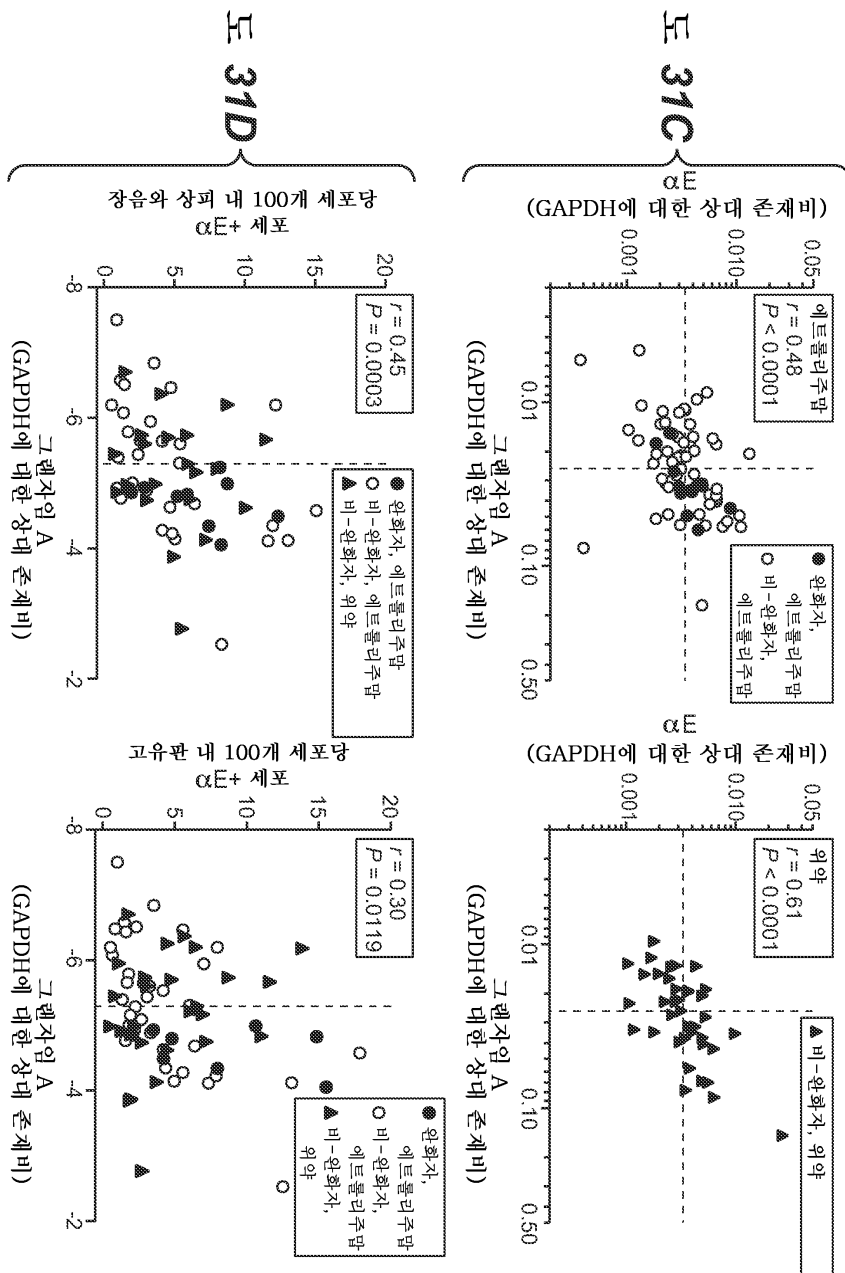
도 30D



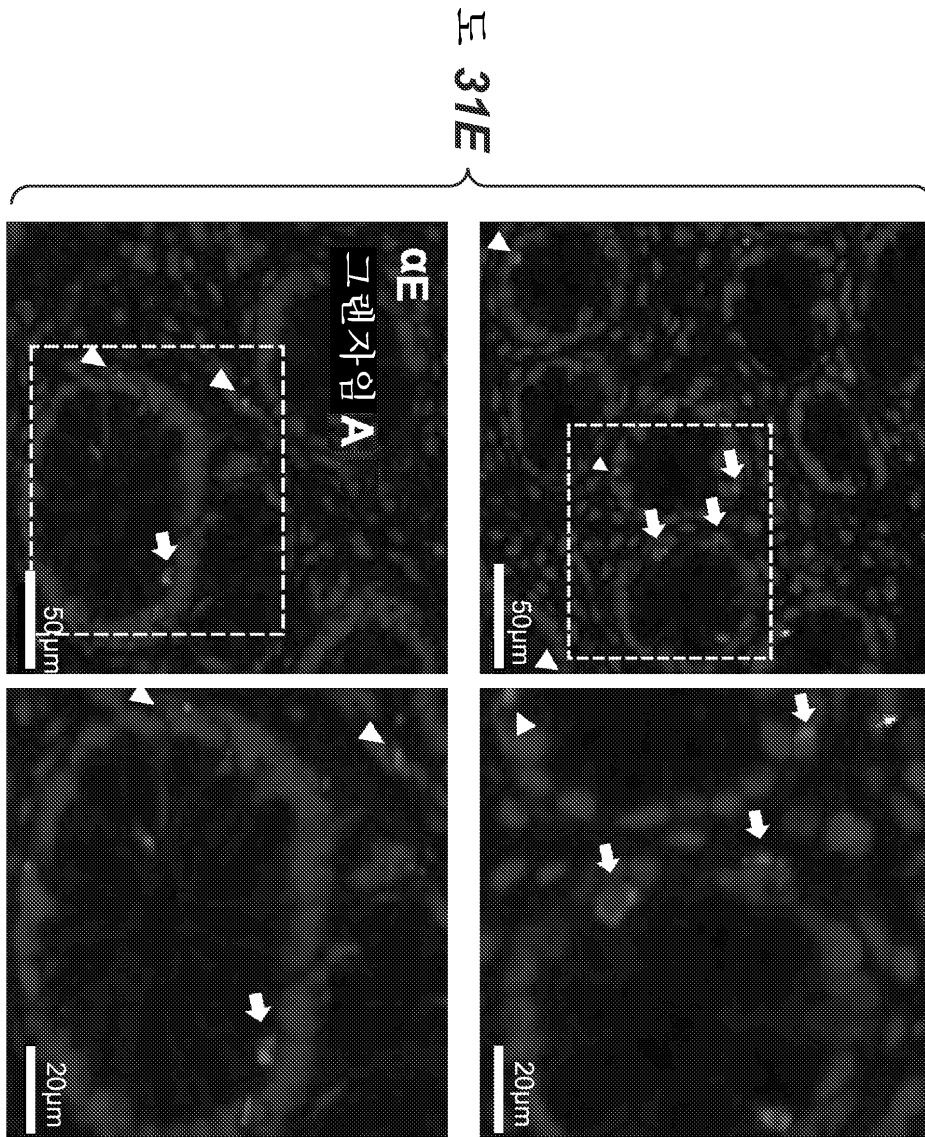
도면31i



도면31ii



도면31iii



## 서열 목록

### SEQUENCE LISTING

<110> GENENTECH, INC. ET AL.

<120> METHODS FOR DIAGNOSING AND TREATING INFLAMMATORY BOWEL DISEASE

<130> P5817R1-WO

<140><141><150> 61/971,379

<151> 2014-03-27

<160> 32

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 1

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Thr Tyr Leu His

1 5 10

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 2

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser

1 5

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 3

Gln Gln Gly Asn Ser Leu Pro Asn Thr

1 5

<210> 4

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<

<400> 4

Gly Phe Phe Ile Thr Asn Asn Tyr Trp Gly



1                    5                    10

<210> 5

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 5

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

1                    5                    10                    15

Ser

<210> 6

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 6

Met Thr Gly Ser Ser Gly Tyr Phe Asp Phe

1                    5                    10

<210> 7

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 7

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Leu Leu His

1                    5                    10

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 8

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Thr Leu Leu His

1 5 10

<210> 9

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 9

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asp Leu Leu His

1 5 10

<210> 10

<211> 108

<212> PRT

<213> Rattus sp.

<400> 10

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asn Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Leu Ser Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Ser Leu Pro Asn

85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg

100 105

<210> 11

<211> 117

<212> PRT

<213> Rattus sp.

<400> 11

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Phe Pro Gly Asn Lys Met Glu Trp Met

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Met Thr Gly Ser Ser Gly Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Pro Gly Thr Met

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 12

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105

<210> 13

<211

> 113

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

100 105 110

Ser

<210> 14

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 14

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105

<210> 15

<211

> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 15

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 Phe Ile Thr Asn Asn

20 25 30

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

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

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 16

<211> 11

<212> PRT

### <213> Artificial Sequence

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

<400> 16

Ala Met Thr Gly Ser Ser Gly Tyr Phe Asp Phe

1                      5                      10

&lt;210&gt; 17

<211> 11

<212> PRT

### <213> Artificial Sequence

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

<400> 17

Ala Arg Thr Gly Ser Ser Gly Tyr Phe Asp Phe

1                      5                      10

<210> 18

<211> 11

<212> PRT



<213> Artificial Sequence

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

<400> 18

Ala Gln Thr Gly Ser Ser Gly Tyr Phe Asp Phe

1                    5                    10

<210> 19

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 19

Arg Thr Gly Ser Ser Gly Tyr Phe Asp Phe

1                    5                    10

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 20

Arg Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser

1                    5

<210> 21

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD\_RES

<222> (1)..(1)

<223> Any amino acid

<400> 21

Xaa Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser

1 5

<210> 22

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 22

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105

<210> 23

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400>

> 23

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

1 5 10 15

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

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Ser Leu Pro Asn  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
100 105

<210> 24

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400

> 24

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

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

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Ser Leu Pro Asn  
85 90 95

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

100 105

<210> 25

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400

> 25

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 Phe Ile Thr Asn Asn

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Met Thr Gly Ser Ser Gly Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 26

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Ala, Gly, Ser, Thr or Val

<220><221> MOD\_RES

<222> (3)..(3)

<223> Ser, Gly, Ile, Lys, Asn, Pro, Gln, Arg or Thr

<220><221> MOD\_RES

<222> (4)..(4)

<223> Glu, Val, Gln, Ala, Asp, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Asn  
or Arg

<220><221> MOD\_RES

<222> (5)..(5)

<223> Ser, Tyr, Ala, Asp, Gly, His, Ile, Lys, Asn, Pro, Arg,  
Thr or Val

<220><221> MOD\_RES

<222> (6)..(6)

<223> Val, Arg, Ile, Ala, Gly, Lys, Leu, Met or Gln

<220><221> MOD\_RES

<222> (7)..(7)

<223> Asp, Val, Ser, Ala, Glu, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Asn,  
Pro, Ser or Thr

<220><221> MOD\_RES

<222> (8)..(8)

<223> Asp, Gly, Asn, Glu, Thr, Pro or Ser

<220><221> MOD\_RES

<222> (9)..(9)

<223> Leu, Tyr, Ile or Met

<220><221> MOD\_RES

<222> (10)..(10)

<223> Leu, Ala, Ile, Met or Val

<220><221> MOD\_RES

<222> (11)..(11)

<223> His, Tyr, Phe or Ser

<400> 26

Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5 10

<210> 27

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<220><221> MOD\_RES

<222> (1)..(1)

<223> Any amino acid

<220><221> MOD\_RES

<222> (4)..(4)

<223> Ser or Asp

<220><221> MOD\_RES

<222> (5)..(5)

<223> Gln or Ser

<220><221> MOD\_RES

<222> (6)..(6)

<223> Ser, Asp, Leu or Arg

<220><221> MOD\_RES

<222> (7)..(7)

<223> Ile, Val, Glu or Lys

<220>

<223> See specification as filed for detailed description of

substitutions and certain embodiments

<400> 27

Xaa Tyr Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Ser

1 5

<210> 28

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide  
 <220><221> MOD\_RES  
 <222> (8)..(8)  
 <223> Asn, Val, Trp, Tyr, Arg, Ser, Thr, Ala, Phe, His, Ile,  
 Leu or Met  
 <400> 28  
 Gln Gln Gly Asn Ser Leu Pro Xaa Thr  
 1 5  
 <210> 29  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

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

peptide  
 <220><221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Tyr, Phe, Val or Asp  
 <220><221> MOD\_RES  
 <222> (6)..(6)  
 <223> Ser or Gly  
 <220><221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Ser or Tyr  
 <220><221> MOD\_RES  
 <222> (12)..(12)  
 <223> Asn, Thr, Ala or Asp  
 <220><221> MOD\_RES  
 <222> (13)..(13)  
 <223> Pro, His, Asp or Ala  
 <220><221> MOD\_RES  
 <222> (15)..(15)  
 <223> Leu or Val  
 <220><221> MOD\_RES  
 <222> (17)..(17)



<223> Ser or Gly

<400> 29

Gly Xaa Ile Ser Tyr Xaa Gly Ser Thr Xaa Tyr Xaa Xaa Ser Xaa Lys

1 5 10 15

Xaa

<210> 30

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<220><221> MOD\_RES

<222> (1)..(1)

<223> May or may not be present

<220><221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Arg, Met, Ala, Glu, Gly, Gln or Ser

<220><221> MOD\_RES

<222> (11)..(11)

<223> Phe or Tyr

<400> 30

Ala Xaa Thr Gly Ser Ser Gly Tyr Phe Asp Xaa

1 5 10

<210> 31

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 31

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

1 5 10 15

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

100 105

<210> 32

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 32

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 Phe Ile Thr Asn Asn  
20 25 30  
Tyr Trp Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

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

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

100

105

110

Val Thr Val Ser Ser

115