



등록특허 10-2366682



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년02월22일
(11) 등록번호 10-2366682
(24) 등록일자 2022년02월18일

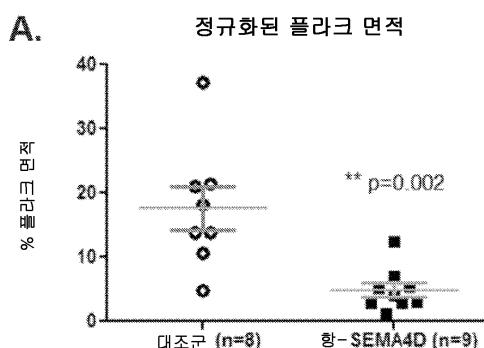
- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 39/395 (2013.01)
C07K 16/2803 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2016-7012123
- (22) 출원일자(국제) 2014년10월10일
심사청구일자 2019년07월18일
- (85) 번역문제출일자 2016년05월09일
- (65) 공개번호 10-2016-0062167
- (43) 공개일자 2016년06월01일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2014/060129
- (87) 국제공개번호 WO 2015/054628
국제공개일자 2015년04월16일
- (30) 우선권주장
61/889,421 2013년10월10일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
KR1020120044300 A*
Angiogenesis, 14, pp.309-319(2011) 1부.*
Journal of Molecular Medicine, 26, pp.39-44(2010) 1부.*
PLOS ONE, 8(5), e64265, pp.1-9(2013.05.) 1부.*
- *는 심사관에 의하여 인용된 문헌
- (73) 특허권자
백시넥스 인코포레이티드
미국 뉴욕 로체스터 마운트 호프 애브뉴 1895 (우: 14620)
- (72) 발명자
자우더러 모리스
미국 14534 뉴욕주 퍼츠포드 우드랜드 로드 44
- (74) 대리인
김진희, 김태홍

전체 청구항 수 : 총 20 항

심사관 : 강태현

(54) 발명의 명칭 **죽상경화증의 치료를 위한 세마포린-4D 결합 분자의 용도****(57) 요약**

본원에서는, 세마포린-4D(SEMA4D)에 또는 그의 고 친화성 플렉신-B1(Plexin-B1) 수용체에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자의 유효량을 죽상경화증을 갖는 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상에서 죽상경화성 플라크 성장 또는 신생혈관형성을 감소, 저해, 억제 및/또는 자연시키는 방법이 제공된다.

대 표 도 - 도1a

(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/76 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

세마포린-4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 유효량을 포함하는, 죽상경화증을 갖는 대상에서 죽상경화성 플라크의 성장을 저해하거나, 억제하거나, 감소시키거나 또는 자연시키기 위한 약제학적 조성물로서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 각각 서열번호 6, 7, 및 8로 구성된 가변 중쇄(VH) CDR 1-3을 포함하는 가변 중쇄(VH), 및 각각 서열번호 14, 15, 및 16으로 구성된 가변 경쇄(VL) CDR 1-3을 포함하는 가변 경쇄(VL)를 포함하는 것인 약제학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 SEMA4D와 그의 수용체와의 상호작용을 저해하는 것인 약제학적 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 수용체는 플렉신-B1(Plexin-B1) 또는 플렉신-B2(Plexin-B2)인 약제학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 SEMA4D 매개 플렉신-B1 신호 전달을 저해하는 것인 약제학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 대상은 심혈관 질환을 갖는 것인 약제학적 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 심혈관 질환은 관상동맥성 심장 질환(또한 허혈성 심장 질환 또는 관상동맥 질환), 심근병증, 고혈압성 심장 질환, 심부전, 폐성심, 심부정맥, 염증성 심장 질환 심내막염, 염증성 심장비대, 심근염, 심장판막증, 뇌혈관 질환, 말초 동맥 질환, 선천성 심장 질환, 류마티스성 심장 질환, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 약제학적 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 참조 단클론성 항체 VX15/2503 또는 67과 동일한 SEMA4D 에피토프에 특이적으로 결합하는 것인 약제학적 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 참조 단클론성 항체 VX15/2503 또는 67이 SEMA4D에 특이적으로 결합하는 것을 경쟁적으로 저해하는 것인 약제학적 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 VH 및 VL은 각각 서열번호 9 및 서열번호 17 또는 서열번호 10 및 서열번호 18을 포함하는 것인 약제학적 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 약제학적 조성물은 죽상경화성 플라크 주변의 신생혈관형성을 저해하거나, 자연시키거나, 감소시키거나, 자연시키는 것을 추가로 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 11

세마포린-4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 유효량을 포함하는, 죽상경화증을 갖는 대상에서 신생혈관형성을 저해하거나, 지연시키거나, 감소시키거나 또는 지연시키기 위한 약제학적 조성물로서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 각각 서열번호 6, 7, 및 8로 구성된 가변 중쇄(VH) CDR 1-3을 포함하는 가변 중쇄(VH), 및 각각 서열번호 14, 15, 및 16으로 구성된 가변 경쇄(VL) CDR 1-3을 포함하는 가변 경쇄(VL)를 포함하는 것인 약제학적 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 SEMA4D와 그의 수용체와의 상호작용을 저해하는 것인 약제학적 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 수용체는 플렉신-B1인 약제학적 조성물.

청구항 14

제11항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 SEMA4D 매개 플렉신-B1 신호 전달을 저해하는 것인 약제학적 조성물.

청구항 15

제11항에 있어서, 상기 대상은 심혈관 질환을 갖는 것인 약제학적 조성물.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 심혈관 질환은 관상동맥성 심장 질환(또한 허혈성 심장 질환 또는 관상동맥 질환), 심근병증, 고혈압성 심장 질환, 심부전, 폐성심, 심부정맥, 염증성 심장 질환 심내막염, 염증성 심장비대, 심근염, 심장판막증, 뇌혈관 질환, 말초 동맥 질환, 선천성 심장 질환, 류마티스성 심장 질환, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 약제학적 조성물.

청구항 17

제11항에 있어서, 상기 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 참조 단클론성 항체 VX15/2503 또는 67과 동일한 SEMA4D 에피토프에 특이적으로 결합하는 것인 약제학적 조성물.

청구항 18

제11항에 있어서, 상기 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 참조 단클론성 항체 VX15/2503 또는 67이 SEMA4D에 특이적으로 결합하는 것을 경쟁적으로 저해하는 것인 약제학적 조성물.

청구항 19

제11항에 있어서, 상기 VH 및 VL은 각각 서열번호 9 및 서열번호 17 또는 서열번호 10 및 서열번호 18을 포함하는 것인 약제학적 조성물.

청구항 20

세마포린-4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 유효량을 포함하는, 죽상경화증을 갖는 대상을 치료하기 위한 약제학적 조성물로서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 각각 서열번호 6, 7, 및 8로 구성된 가변 중쇄(VH) CDR 1-3을 포함하는 가변 중쇄(VH), 및 각각 서열번호 14, 15, 및 16으로 구성된 가변 경쇄(VL) CDR 1-3을 포함하는 가변 경쇄(VL)를 포함하고, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 죽상경화성 플라크의 성장을 저해하거나, 지연시키거나, 감소시키거나, 또는 지연시키는 것인 약제학적 조성물.

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001]

전자 제출된 서열 목록의 참조

[0002]

본원과 함께 출원된 ASCII 텍스트 파일의 전자적으로 제출된 서열목록(파일명: "Sequence_Listing_58008_136615.txt"; 크기: 36,964 바이트; 및 생성일: 2014년 10월 9일)의 내용은 그 전체가 참고로 본원에 포함되어 있다.

배경 기술

[0003]

CD100으로도 알려진 세마포린 4D(SEMA4D)는 부류(class) IV 세마포린 유전자 패밀리에 속하는 막통과 단백질(예를 들면, 서열번호 1(인간); 서열번호 2(젖과))이다. SEMA4D는 동형이량체로서 세포 표면 상에서 발현되지만, 세포 활성화시 SEMA4D는 단백분해 절단을 통해 세포 표면으로부터 방출되어 상기 단백질의 가용성 형태인 sSEMA4D를 생성하며, 이 역시 생물학적 활성이다. 문헌[Suzuki *et al.*, *Nature Rev. Immunol.* 3:159-167 (2003); Kikutani *et al.*, *Nature Immunol.* 9:17-23 (2008)]을 참고한다.

[0004]

SEMA4D는 비장, 흉선, 및 림프절을 포함하는 림프 기관에서, 그리고 뇌, 심장, 및 신장과 같은 비-림프 기관에서 높은 수준으로 발현된다. 림프 기관에서, SEMA4D는 휴지상태의 T 세포 상에서 풍부하게 발현되지만, 휴지상태의 B 세포 및 항원-제시 세포(APC), 예컨대 수지상 세포(DC) 상에서는 단지 약하게 발현된다. 그러나, 그의 발현은 다양한 면역학적 자극에 의한 활성화 후 이를 세포에서 상향조절된다. 면역 세포로부터의 가용성 SEMA4D의 방출은 또한 세포 활성화에 의해 증가된다.

[0005]

죽상경화증은 질환 진행 동안 면역 세포가 중요한 역할을 하는 염증성 질환으로서 인식되어 왔다(Hansson GK *et al.*, *Nat Rev Immunol* 6: 508-519, 2006). 대식세포는 CD40 분자를 발현하며, T 세포는 그 세포 표면 상에 CD40 리간드(CD40L 또는 CD154)를 갖는다(Mach F *et al.*, *Circulation* 96: 396-399, 1997; and Mach F *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 1931-36, 1997). 플라크내 면역 세포 상의 CD40L과의 CD40 결찰(ligation)은 프로테아제 및 전-염증 매개체의 분비를 유도하며, 이는 염증성 활성화를 확장시킨다(Mach F *et al.*, *Circulation* 96: 396-399, 1997). CD40 결찰의 차단 또는 CD40L 유전자 넉아웃은 죽상경화증에 걸리기 쉬운 마우스(atherosclerosis-prone mice)에서 죽상경화성 플라크(atherosclerotic plaque) 발달을 지연시킬 수 있다(Mach F *et al.*, *Nature* 394: 200-203, 1998; and Lutgens E *et al.*, *Nat Med* 11: 1313-1316, 1999). 자극하는 항-CD40 항체와의 면역 세포 상의 CD40 결찰은 Sema4D(CD100)의 발현을 유도하는 것으로 보고되어 왔다(Kumanogoh A *et al.*, *Immunity* 13: 621-31, 2000).

[0006]

SEMA4D는 면역 반응, 신생혈관형성, 상피성 형태발생 및 골 재형성을 향상시키는 것과 같은 다양한 공정에 연루되어 왔다(Kruger RP *et al.*, *Nat Rev Mol Cell Biol* 6: 789-800, 2005; Pasterkamp R.J., *Nat Rev Neurosci* 13:605-618, 2012; and Kang S *et al.*, *Seminars in Cell & Dev Biol* 24:163-171, 2013). 죽상경화성 플라크내의 림프구, 대식세포, 내피 세포 및 혈소판은 그들의 막 표면 상에서 Sema4D에 대한 고 친화성 수용체인 플렉신-B1(Plexin-B1)을 발현한다(Basile JR *et al.*, *Mol Cell Biol* 25: 6889-6898, 2005; Delaire S *et al.*, *J Immunol* 166: 4348-4354, 2001; and Chabbert-de Ponnat I *et al.*, *Int Immunol* 17: 439-447, 2005). 따라서, T 세포에 의해 발현되거나 T 세포막으로부터 방출된 Sema4D는 죽상경화성 플라크 내에 위치한 세포에 소정의 효과를 미칠 수 있다(Basile JR *et al.*, *Mol. Cell Biol* 25: 6889-6898, 2005; Delaire S *et al.*, *J Immunol* 166: 4348-4354, 2001; and Chabbert-de Ponnat I *et al.*, *Int Immunol* 17: 439-447, 2005). 이전의 연구는 시험관내와 생체내에서 내피 세포에 대한 Sema4D의 혈관신생촉진 활성을 밝혀내었다(Conrotto P *et al.*, *Blood*

105: 4321-4329, 2005; and Basil JR *et al.*, *Cancer Res* 64: 5212-5224, 2004.). 더욱이, Sema4D의 고 수준의 발현이 몇 가지 편평상피 세포 암종에서 관찰되었는데, 이는 생체내에서 종양-유도된 신생혈관형성에서의 Sema4D의 매우 중요한 역할을 제시한다(Basile JR *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 9017-9022, 2006.). 따라서, Sema4D는, 예를 들면, 죽종을 일으키는 신생혈관형성 과정을 촉진함으로써 플라크 성장에 영향을 미칠 수 있다. 실제로, 한 가지 연구는 죽상경화증에 걸리기 쉬운 ApoE 결핍된(ApoE-/-) 마우스에서 Sema4D 유전자를 결실시키는 것이 죽상경화성 플라크의 성장 및 플라크 영역 내의 신생혈관형성을 자연시킨다는 것을 밝혀내었고, 이는 죽상경화증의 진행 단계 동안 Sema4D 신호를 차단하는 것이 플라크 성장 및 신생혈관형성을 예방할 수 있음을 제시한다(Yukawa K *et al.*, *Int. J Mol. Med.* 26: 39-44, 2010).

발명의 내용

[0007]

죽상경화증의 치료를 위해 세마포린 4D 결합 분자를 사용하는 방법이 본원에 개시되어 있다. 본원에 예시된 본 발명의 양태에 따르면, 세마포린 4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하고 이의 활성을 차단하는 단리된 결합 분자의 유효량을 죽상경화증을 갖는 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상에서 죽상경화성 플라크 형성을 감소시키고, 저해하고, 억제하고/거나 자연시키는 방법이 제공된다. 어떤 구현예에서, 세마포린-4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자의 유효량을 죽상경화증을 갖는 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상에서 죽상경화성 플라크의 성장을 저해하거나, 억제하거나, 감소시키거나 자연시키는 방법이 제공된다. 어떤 구현예에서, 결합 분자는 SEMA4D와 그의 수용체와의 상호작용을 저해한다. 어떤 구현예에서, 상기 수용체는 플렉신-B1 또는 플렉신-B2(Plexin-B2)이다. 어떤 구현예에서, 결합 분자는 SEMA4D 매개 플렉신-B1 신호 전달을 저해한다. 상기 언급된 방법 중 어느 것의 어떤 구현예에서, 상기 대상은 심혈관 질환을 갖는다. 어떤 구현예에서, 심혈관 질환은 관상동맥성 심장 질환(또한 허혈성 심장 질환 또는 관상동맥 질환), 심근병증, 고혈압성 심장 질환, 심부전, 폐성심(cor pulmonale), 심부정맥, 염증성 심장 질환 심내막염, 염증성 심장비대, 심근염, 심장판막증, 뇌혈관 질환, 말초 동맥 질환, 선천성 심장 질환, 류마티스성 심장 질환, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 상기 언급된 방법 중 어느 것의 어떤 구현예에서, 단리된 결합 분자는 참조 단클론성 항체 VX15/2503 또는 67과 동일한 SEMA4D 에피토프에 특이적으로 결합한다. 상기 언급된 방법 중 어느 것의 어떤 구현예에서, 단리된 결합 분자는 참조 단클론성 항체 VX15/2503 또는 67이 SEMA4D에 특이적으로 결합하는 것을 경쟁적으로 저해한다. 상기 언급된 방법 중 어느 것의 어떤 구현예에서, 단리된 결합 분자는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다. 상기 언급된 방법 중 어느 것의 어떤 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 각각 서열번호 6, 7, 및 8을 포함하는 가변 중쇄(VH) CDR 1-3을 포함하는 가변 중쇄(VH), 및 각각 서열번호 14, 15, 및 16을 포함하는 가변 경쇄(VL) CDR 1-3을 포함하는 가변 경쇄(VL)를 포함한다. 상기 언급된 방법 중 어느 것의 어떤 구현예에서, VH 및 VL은 각각 서열번호 9 및 서열번호 17 또는 서열번호 10 및 서열번호 18을 포함한다. 상기 언급된 방법 중 어느 것의 어떤 구현예에서, 상기 방법은 죽상경화성 플라크 주변의 신생혈관형성을 저해하거나, 자연시키거나, 감소시키는 것을 추가로 포함한다.

[0008]

세마포린-4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자의 유효량을 죽상경화증을 갖는 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상에서 신생혈관형성을 저해하거나, 자연시키거나, 감소시키거나, 자연시키는 방법이 또한 제공된다. 어떤 구현예에서, 결합 분자는 SEMA4D와 그의 수용체와의 상호작용을 저해한다. 어떤 구현예에서, 상기 수용체는 플렉신-B1이다. 어떤 구현예에서, 결합 분자는 SEMA4D 매개 플렉신-B1 신호 전달을 저해한다. 상기 언급된 방법 중 어느 것의 어떤 구현예에서, 상기 대상은 심혈관 질환을 갖는다. 어떤 구현예에서, 심혈관 질환은 관상동맥성 심장 질환(또한 허혈성 심장 질환 또는 관상동맥 질환), 심근병증, 고혈압성 심장 질환, 심부전, 폐성심, 심부정맥, 염증성 심장 질환 심내막염, 염증성 심장비대, 심근염, 심장판막증, 뇌혈관 질환, 말초 동맥 질환, 선천성 심장 질환, 류마티스성 심장 질환, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 상기 언급된 방법 중 어느 것의 어떤 구현예에서, 단리된 결합 분자는 참조 단클론성 항체 VX15/2503 또는 67과 동일한 SEMA4D 에피토프에 특이적으로 결합한다. 상기 언급된 방법 중 어느 것의 어떤 구현예에서, 단리된 결합 분자는 경쟁적으로 참조 단클론성 항체 VX15/2503 또는 67이 SEMA4D에 특이적으로 결합하는 것을 경쟁적으로 저해한다. 상기 언급된 방법 중 어느 것의 어떤 구현예에서, 단리된 결합 분자는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다. 상기 언급된 방법 중 어느 것의 어떤 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 각각 서열번호 6, 7, 및 8을 포함하는 가변 중쇄(VH) CDR 1-3을 포함하는 가변 중쇄(VH), 및 각각 서열번호 14, 15, 및 16을 포함하는 가변 경쇄(VL) CDR 1-3을 포함하는 가변 경쇄(VL)를 포함한다. 상기 언급된 방법 중 어느 것의 어떤 구현예에서, VH 및 VL은 각각 서열번호 9 및 서열번호 17 또는 서열번호 10 및 서열번호 18을 포함한다.

[0009]

세마포린-4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자의 유효량을 죽상경화성 플라크를 갖는 것으로 확

인된 대상에게 투여함으로써, 죽상경화성 플라크의 성장을 저해하거나, 지연시키거나, 감소시키거나, 지연시키는 것을 포함하는, 죽상경화증을 갖는 대상을 치료하는 방법이 또한 제공된다. 어떤 구현예에서, 상기 확인은 환자로부터의 영상 또는 샘플의 분석에 의해 제공된다. 상기 언급된 방법 중 어느 것의 어떤 구현예에서, 환자는 죽상경화성 플라크를 갖는 것으로 확인되며, 환자에서의 죽상경화성 플라크의 수, 크기, 또는 특징이 미리 정해진 역치 수, 크기, 또는 특징을 초과하면 치료된다. 상기 언급된 방법 중 어느 것의 어떤 구현예에서, 환자는 죽상경화성 플라크를 갖는 것으로 확인되며, 환자에서의 죽상경화성 플라크의 수, 크기, 또는 특징이 하나 이상의 대조군 샘플과 비교하여 죽상경화증을 나타내면 치료된다. 상기 언급된 방법 중 어느 것의 어떤 구현예에서, 환자는 죽상경화성 플라크를 갖는 것으로 확인되며, 샘플에서의 CRP 및/또는 LDL의 수준이 미리 정해진 역치 수준을 초과하거나, 대조군 샘플 대비 상승되거나, 또는 죽상경화성 플라크를 나타내면 치료된다. 상기 언급된 방법 중 어느 것의 어떤 구현예에서, 환자는 죽상경화성 플라크의 수, 크기, 또는 특징이 미리 정해진 역치 수준을 초과하거나, 대조군 샘플 대비 상승되거나, 또는 죽상경화성 플라크를 나타낸다는 것을 확인하면 치료된다. 상기 방법의 어떤 구현예에서, 영상화는 관상동맥 혈관조영술, 혈관내 초음파(IVUS), 경동맥 초음파, 관상동맥 전산화단층촬영법(CT), 자기 공명 영상(MRI), 양전자 방출 단층촬영(PET), 광간섭 단층촬영(OCT), 극적외선 분광학(NIRS), 및 NIR 형광을 포함할 수 있다. 상기 언급된 방법 중 어느 것의 어떤 구현예에서, 환자는 죽상경화성 플라크를 갖는 것으로 확인되며, 환자가 하나 이상의 취약한 죽상경화성 플라크를 갖는 것으로 확인되면 치료된다. 상기 언급된 방법 중 어느 것의 어떤 구현예에서, 단리된 결합 분자는 참조 단클론성 항체 VX15/2503 또는 67과 동일한 SEMA4D 에피토프에 특이적으로 결합한다. 상기 언급된 방법 중 어느 것의 어떤 구현예에서, 단리된 결합 분자는 참조 단클론성 항체 VX15/2503 또는 67이 SEMA4D에 특이적으로 결합하는 것을 경쟁적으로 저해한다. 상기 언급된 방법 중 어느 것의 어떤 구현예에서, 단리된 결합 분자는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다. 상기 언급된 방법 중 어느 것의 어떤 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 각각 서열번호 6, 7, 및 8을 포함하는 가변 중쇄(VH) CDR 1-3을 포함하는 가변 중쇄(VH), 및 각각 서열번호 14, 15, 및 16을 포함하는 가변 경쇄(VL) CDR 1-3을 포함하는 가변 경쇄(VL)를 포함한다. 상기 언급된 방법 중 어느 것의 어떤 구현예에서, VH 및 VL은 각각 서열번호 9 및 서열번호 17 또는 서열번호 10 및 서열번호 18을 포함한다.

[0010] 본원에 예시된 양태에 따르면, 세마포린 4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자의 유효량을 죽상경화증을 갖는 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상에서 신생혈관형성을 감소시키는 방법이 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0011] 도 1a: 항-Sema4D 항체-처리된, ApoE-결핍을 갖는 자발적 고지혈증(SHL) 마우스에서 죽상경화성 플라크의 발달 억제. 도 1a는 14주령에서 시작하여 12주 동안 항-SEMA4D 항체 또는 아이소타입 대조군으로 처리된 SHL 마우스에서 죽상경화성 플라크 발전의 지질 침착물 내의 수단친화성(sudanophilic) 영역의 정량적 측정을 보여준다.

도 1b 및 1c: 항-Sema4D 항체-처리된 SHL 마우스의 플라크 내의 신생혈관형성 감소. 도 1b는 항-Sema4D 항체-처리된 SHL 마우스 및 대조군 항체-처리된 SHL 마우스의 플라크 내의 내피 세포의 이소렉틴 B4 염색의 정량적 측정에 의해 시각화된 신생혈관형성을 보여준다. 도 1c는 CD31 항체를 이용한 면역조직화학을 이용하여 시각화된 항-Sema4D 항체-처리된 SHL 마우스 및 대조군 항체-처리된 SHL 마우스의 플라크 내의 내피 세포를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

I. 정의

[0013] 용어 부정관사는 하나 이상을 가리키는 것임에 유의해야 한다. 예를 들면, "항-SEMA4D 항체"는 하나 이상의 항-SEMA4D 항체를 나타내는 것으로 이해된다. 이와 같이, 용어들 "하나", "하나 이상," 및 "적어도 하나"는 본원에서 상호교환적으로 사용될 수 있다.

[0014] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "죽상경화증"은 하지의 대부분의 관상동맥 질환, 대동맥 동맥류, 및 동맥 질환의 기저를 이루는 더 큰 동맥의 장애를 가리키며, 이는 또한 뇌혈관 질환에서 주된 역할을 한다. 죽상경화증은 남성 및 여성에서 65세 이상 및 이하 모두에서, 미국에서 사망의 주된 원인이다. E.L. Bierman, "Atherosclerosis and Other Forms of Arteriosclerosis," Ch. 208, p. 1 106 in Harrison's Principles of Internal Medicine. 13th edition, eds. K.J. Isselbacher, et al. (McGraw-Hill, Inc. NY 1994). 죽상경화증은 심장, 뇌, 팔, 다리, 골반, 및 신장 내의 동맥을 포함하는, 체내의 어느 동맥에도 영향을 미칠 수 있다. 죽상경화증은 동맥 벽의 병변에서의 콜레스테롤의 침윤 및 포말 세포의 출현을 특징으로 한다. 이것 이후에 혈소판, 대식세포, 평활근 세포, 및 성장 인자를 수반하는 복잡한 연속적인 변화가 일어나 증식성 병변을 생산한다.

이들은 혈관을 찌그러뜨리고 혈관을 경직시킨다. 상승된 혈장 콜레스테롤 수준을 갖는 개인에서, 죽상경화증 및 그의 합병증의 발생이 증가된다. W.F. Ganong, Review of Medical Physiology, 17th edition, p. 281 (Appleton & Lange Norwalk, CT 1995).

[0015] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "신생혈관형성(neovascularization 또는 angiogenesis)"은 기존 혈관으로부터 새로운 혈관이 형성되는 것을 가리킨다. 신생혈관형성은, 예를 들면, 황반 변성, 종양, 암, 및 죽상경화증의 발전 중에 존재한다.

[0016] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "염증성 장애" 또는 "염증성 질환"은 염증을 특징으로 하며 일반적으로 적열 상태, 부기, 및 통증을 수반하는 질환을 가리킨다. 염증은, 비제한적으로 심혈관 질환, 류마티스성 관절염, 위장관 질환, 신경염증성 질환(예를 들면, 다발성 경화증), 및 심지어 암(예를 들면, 담낭 암종)을 포함하는, 많은 다른 질환을 야기할 수 있다.

[0017] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "심혈관 질환"은 심장, 혈관(동맥, 모세관, 및 정맥) 또는 둘 모두에 영향을 미치는 질환을 가리킨다. 심혈관 질환의 예는, 비제한적으로, 관상동맥성 심장 질환(또한 허혈성 심장 질환 또는 관상동맥 질환), 심근병증, 고혈압성 심장 질환, 심부전, 폐성심, 심부정맥, 염증성 심장 질환 심내막염, 염증성 심장비대, 심근염, 심장판막증, 뇌혈관 질환, 말초 동맥 질환, 선천성 심장 질환, 및 류마티스성 심장 질환을 포함한다.

[0018] 용어 "치료적 유효량"은 대상 또는 포유동물에서 질환 또는 장애를 "치료하는" 데 효과적인 항체, 폴리펩타이드, 폴리뉴클레오타이드, 작은 유기 분자, 또는 다른 약물의 양을 가리킨다. 죽상경화증의 경우, 약물의 치료적 유효량은 죽상경화성 플라크의 형성을 지연시킬 수 있거나; 새로운 죽상경화성 플라크 형성의 증가를 감소시키거나, 지체시키거나 정지시킬 수 있거나; 염증을 감소시키거나, 억제하거나, 정지시킬 수 있거나; 죽상경화성 플라크에서 또는 부근에서 신생혈관형성을 저해할 수 있거나, 예를 들면 억제하거나, 지체시키거나, 예방하거나, 정지시키거나, 또는 역전시킬 수 있거나; 죽상경화성 플라크의 형태학 또는 기능을 변화시킬 수 있거나; 또는 죽상경화증과 관련된 증상 중 하나 이상을 어느 정도 경감시킬 수 있거나; 이환율 및 사망률을 감소시킬 수 있거나; 삶의 질을 개선할 수 있거나; 또는 상기 효과들의 임의의 조합일 수 있다.

[0019] "치료하는" 또는 "치료" 또는 "치료하는 것" 또는 "완화하는" 또는 "완화하는 것"과 같은 용어들은 1) 진단된 병리적 병태 또는 장애의 증상을 치유하고, 늦추고, 줄이고, 진단된 병리적 병태 또는 장애를 역전시키고/거나 진단된 병리적 병태 또는 장애의 진행을 중단시키는 치료법 및 2) 표적화된 병리적 병태 또는 장애의 발전을 방지하고/거나 늦추는 예방 또는 방지법 모두를 가리킨다. 따라서 치료를 필요로 하는 대상은 장애를 이미 가진 대상; 장애를 가지기 쉬운 대상; 및 장애가 예방될 대상을 포함한다. 유익한 또는 원하는 임상 결과는, 비제한적으로, 증상의 완화, 질환 정도의 약화, 질환의 안정화(즉, 악화되지 않는 것), 질환 진행의 지연 또는 늦춤, 질환 상태의 완화 또는 일시적 완화, 검출가능하거나 검출불가능하든 간에, 차도(부분적이든 또는 전체적이든 간에) 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. "치료"는 또한 치료를 받지 않은 경우 예상되는 생존과 비교하여 생존을 연장하는 것을 의미할 수 있다. 치료를 필요로 하는 대상은 병태 또는 장애를 이미 가진 대상뿐만 아니라 병태 또는 장애를 갖기 쉬운 대상 또는 병태 또는 장애가 예방될 대상을 포함한다.

[0020] "대상" 또는 "개체" 또는 "동물" 또는 "환자" 또는 "포유동물"은 진단, 예후 또는 요법이 요구되는 임의의 대상, 특히 포유동물 대상을 의미한다. 포유동물 대상은 인간, 가축, 농장 동물, 및 동물원 동물, 스포츠 동물, 또는 애완 동물, 예컨대 개, 고양이, 기니아 피그, 토끼, 랫트, 마우스, 말, 소, 암소, 곱, 등을 포함한다.

[0021] 본원에서 사용된 바와 같이, "항-SEMA4D 항체의 투여로부터 이익을 얻을 대상" 및 "치료를 필요로 하는 동물"과 같은 어구들은 예를 들면, SEMA4D 폴리펩타이드의 검출을 위해(예를 들면, 진단 절차를 위해) 사용된 항-SEMA4D 항체 또는 다른 SEMA4D 결합 분자의 투여로부터 및/또는 치료, 즉, 항-SEMA4D 항체 또는 다른 SEMA4D 결합 분자를 이용한, 질환의 일시적 완화 또는 예방으로부터 이익을 얻을 대상, 예컨대 포유동물 대상을 포함한다.

[0022] 본 발명의 "결합 분자" 또는 "항원 결합 분자"는 광의의 개념으로 항원 결정기에 특이적으로 결합하는 분자를 가리킨다. 일 구현예에서, 결합 분자는 SEMA4D에, 예를 들면, 약 150 kDa의 막통과 SEMA4D 폴리펩타이드 또는 약 120 kDa의 가용성 SEMA4D 폴리펩타이드(통상적으로 sSEMA4D로 불림)에 특이적으로 결합한다. 또 다른 구현예에서, 본 발명의 결합 분자는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이다. 또 다른 구현예에서, 본 발명의 결합 분자는 항체 분자의 적어도 하나의 중쇄 또는 경쇄 CDR을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 발명의 결합 분자는 하나 이상의 항체 분자로부터의 적어도 2개의 CDR을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 발명의 결합 분자는 하나 이상의 항체 분자로부터의 적어도 3개의 CDR을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 발명의 결합 분자는 하나 이상

의 항체 분자로부터의 적어도 4개의 CDR을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 발명의 결합 분자는 하나 이상의 항체 분자로부터의 적어도 5개의 CDR을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 발명의 결합 분자는 하나 이상의 항체 분자로부터의 적어도 6개의 CDR을 포함한다.

[0023] 본 발명은 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체를 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 죽상경화증을 치료하는 방법에 관한 것이다. 천연 발생 항체와 같은 전체-크기의 항체를 명시적으로 언급하지 않는 한, 용어 "항-SEMA4D 항체"는 전체-크기의 항체뿐만 아니라 상기 항체의 항원 결합 단편, 변이체, 유사체, 또는 유도체, 예를 들면, 천연 발생 항체 또는 면역글로불린 분자 또는 조작된 항체 분자 또는 항체 분자와 유사한 방식으로 항원에 결합하는 조작된 항체 분자 또는 단편을 포함한다.

[0024] 본원에서 사용된 바와 같이, "인간" 또는 "완전 인간" 항체는 인간 면역글로불린의 아미노산 서열을 갖는 항체를 포함하고, 상기에서 그리고, 예를 들면, 미국 특허 제5,939,598호(Kucherlapati *et al.*)에서 기재된 바와 같은, 인간 면역글로불린 라이브러리로부터 또는 하나 이상의 인간 면역글로불린에 대한 형질전환 동물로부터 단리된 항체를 포함한다. "인간" 또는 "완전 인간" 항체는 또한 중쇄의 적어도 가변 도메인, 또는 중쇄 및 경쇄의 적어도 가변 도메인을 포함하는 항체를 포함하고, 여기서 상기 가변 도메인(들)은 인간 면역글로불린 가변 도메인(들)의 아미노산 서열을 갖거나 또는 인간화된 항체이다.

[0025] "인간" 또는 "완전 인간" 항체는 또한 본원에 기재된 항체 분자(예를 들면, VH 영역 및/또는 VL 영역)의 변이체(유도체 포함)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나, 또는 이루어지는 상기에서 기재된 바와 같은 "인간" 또는 "완전 인간" 항체를 포함하며, 상기 항체 또는 이의 단편은 면역특이적으로 SEMA4D 폴리펩타이드 또는 이의 단편 또는 변이체에 결합한다. 당해분야의 숙련가에게 공지된 표준 기술이 인간 항-SEMA4D 항체를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열에 돌연변이를 도입하는데 사용될 수 있으며, 이는 아미노산 치환을 야기하는 부위 지향적 돌연변이유발 및 PCR 매개 돌연변이유발을 비제한적으로 포함한다. 일부 양태에서, 변이체(유도체 포함)는 참조 VH 영역, VHCDR1, VHCDR2, VHCDR3, VL 영역, VLCDR1, VLCDR2, 또는 VLCDR3 대비 50 미만의 아미노산 치환, 40 미만의 아미노산 치환, 30 미만의 아미노산 치환, 25 미만의 아미노산 치환, 20 미만의 아미노산 치환, 15 미만의 아미노산 치환, 10 미만의 아미노산 치환, 5 미만의 아미노산 치환, 4 미만의 아미노산 치환, 3 미만의 아미노산 치환, 또는 2 미만의 아미노산 치환을 인코딩한다.

[0026] 어떤 구현예에서, 아미노산 치환은 하기에 추가 논의된 보존적 아미노산 치환이다. 대안적으로, 돌연변이는 포화 돌연변이유발에 의해서와 같이, 코딩 서열의 모두 또는 일부 사이에 도입될 수 있고, 수득된 돌연변이는 활성(예를 들면, SEMA4D 폴리펩타이드, 예를 들면, 인간, 젖과, 또는 둘 모두 인간 및 젖과 SEMA4D에 결합하는 능력)을 유지하는 돌연변이를 식별하기 위해 생물학적 활성에 대해 스크리닝될 수 있다. "인간" 또는 "완전 인간" 항체의 그러한 변이체(또는 이의 유도체)는 "최적화된" 또는 "항원 결합을 위해 최적화된" 인간 또는 완전 인간 항체로도 불릴 수 있고, 이는 항원에 대해 개선된 친화성을 갖는 항체를 포함한다.

[0027] 용어들 "항체" 및 "면역글로불린"은 본원에서 상호교환적으로 사용된다. 항체 또는 면역글로불린은 중쇄의 적어도 가변 도메인을 포함하고, 정상적으로는 중쇄 및 경쇄의 적어도 가변 도메인을 포함한다. 척추동물 시스템에서의 기본적인 면역글로불린 구조는 상대적으로 널리 이해되고 있다. 예를 들면, 문헌[Harlow *et al.* (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* (2nd ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press)]을 참고한다. .

[0028] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "면역글로불린"은 생화학적으로 구별될 수 있는 다양한 광범위한 부류의 폴리펩타이드를 포함한다. 당해분야의 숙련가는 중쇄가 감마, 뮤, 알파, 델타, 또는 엡실론(γ , μ , α , δ , ϵ)(이들 사이의 일부 하위부류(예를 들면, γ 1- γ 4) 포함)로서 분류된다는 것을 인식할 것이다. 항체의 "부류"를 각각 IgG, IgM, IgA IgG, 또는 IgE로서 결정하는 것은 이 사슬의 특성이다. 면역글로불린 하위부류(아이소타입), 예를 들면, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 등은 널리 규명되어 있으며, 이는 기능적 특수화를 제공하는 것으로 알려져 있다. 이들 부류 및 아이소타입 각각의 변형된 형태는 본 개시내용을 고려하여 숙련가에게 쉽게 구별될 수 있고, 따라서, 이는 본 발명의 범위 내에 속한다. 모든 면역글로불린 부류는 명확히 본 발명의 범위 내에 속하며, 하기 논의는 일반적으로 면역글로불린 분자의 IgG 부류에 관한 것일 것이다. IgG에 대하여, 표준 면역글로불린 분자는 분자량 약 23,000 달톤의 2개의 동일한 경쇄 폴리펩타이드, 및 분자량 53,000-70,000의 2개의 동일한 중쇄 폴리펩타이드를 포함한다. 상기 4개의 사슬은 전형적으로 "Y" 배열로 디설파이드 결합에 의해 연결되며, 여기서 상기 경쇄는 "Y"의 입(mouth)에서 시작하여 가변 영역 내내 계속되는 중쇄를 뮤는다.

[0029] 경쇄는 카파 또는 람다(κ , λ) 중 하나로서 분류된다. 각각의 중쇄 부류는 카파 또는 람다 경쇄 중 하나와 결합될 수 있다. 일반적으로, 경쇄 및 중쇄는 서로 공유결합되며, 2개의 중쇄의 "테일(tail)" 부분은, 면역글로불린이 하이브리도마, B 세포 또는 유전적으로 조작된 숙주세포 중 하나에 의해 생성될 때 공유 디설파이드 연결

또는 비-공유 연결에 의해 서로 결합된다. 중쇄에서, 아미노산 서열은 Y 배열의 갈라진 말단에 있는 N-말단으로부터 각 사슬의 하부에 있는 C-말단으로 진행한다.

[0030] 경쇄 및 중쇄 모두는 구조적 및 기능적 상동성 영역으로 나뉜다. 용어들 "불변" 및 "가변"은 기능적으로 사용된다. 이와 관련하여, 경쇄 부분의 가변 도메인(VL 또는 VK) 및 중쇄 부분의 가변 도메인(VH) 모두가 항원 인식 및 특이성을 결정한다는 것이 인식될 것이다. 반대로, 경쇄의 불변 도메인(CL) 및 중쇄의 불변 도메인(CH1, CH2 또는 CH3)은 분비, 태반을 통과하는 이동, Fc 수용체 결합, 보체 결합 등과 같은 중요한 생물학적 특성을 제공한다. 관례상, 불변 영역 도메인의 넘버링은 이들이 항체의 항원 결합 부위 또는 아미노-말단으로부터 더 멀어질수록 증가한다. N-말단부는 가변 영역이고, C-말단부는 불변 영역이며; CH3 및 CL 도메인은 실제로 각각 중쇄 및 경쇄의 카복시-말단을 포함한다.

[0031] 상기에 명시한 바와 같이, 가변 영역은 항체가 항원 상의 에피토프를 선택적으로 인식하여 특이적으로 결합하는 것을 가능하게 한다. 즉, 항체의 VL 도메인 및 VH 도메인, 또는 이들 가변 도메인 내의 상보성 결정 영역(CDR)의 서브셋은 결합하여 3차원적 항원 결합 부위를 정의하는 가변 영역을 형성한다. 이 4차 항체 구조는 Y의 각각의 팔의 말단에 존재하는 항원 결합 부위를 형성한다. 더 구체적으로, 항원 결합 부위는 각각의 VH 및 VL 사슬 상의 3개의 CDR에 의해 정의된다. 일부 예에서, 예를 들면, 낙타과 종으로부터 유래되거나 낙타과 면역글로불린에 기초하여 조작된 어떤 면역글로불린 분자인 완전한 면역글로불린 분자는 경쇄 없이 중쇄만으로 이루어질 수 있다. 예를 들면, 문헌[Hamers-Casterman *et al.*, *Nature* 363:446-448 (1993)]을 참고한다.

[0032] 천연 발생 항체에서, 각각의 항원 결합 도메인 내에 존재하는 6개의 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"은, 항체가 수성 환경에서 3차원 배열을 취할 때 항원 결합 도메인을 형성하기 위해 특수하게 배치된, 짧은 비-인접한 서열의 아미노산이다. 항원 결합 도메인 내의 상기 아미노산의 나머지는 "프레임워크" 영역으로도 불리며, 적은 분자간 가변성을 나타낸다. 프레임워크 영역은 주로 β -시트 형태를 채택하며, CDR은 β -시트 구조를 연결하는 루프를 형성하고, 일부 경우에 β -시트 구조의 일부를 형성한다. 따라서, 프레임워크 영역은 사슬간 비-공유 상호 작용에 의해 CDR을 정확한 방향으로 배치시키는 것을 제공하는 스캐폴드를 형성하는 작용을 한다. 상기 배치된 CDR에 의해 형성된 항원 결합 도메인은 면역반응성 항원 상의 에피토프에 상보적인 표면을 정의한다. 이 상보적 표면은 항체가 그의 동족 에피토프에 비-공유 결합하는 것을 촉진한다. 각각 CDR 및 프레임워크 영역을 포함하는 아미노산들은 정확하게 정의되어 왔으므로(하기 참고), 이들은 당해분야의 숙련가에 의해 임의의 주어진 중쇄 또는 경쇄 가변 도메인에 대해 쉽게 식별될 수 있다.

[0033] 당해기술 내에서 사용되고/거나 받아들여진 용어의 2 이상의 정의가 있는 경우, 명백하게 달리 언급되지 않는 한, 본원에서 사용된 용어의 정의는 그러한 모든 의미를 포함하는 것으로 의도된다. 구체적인 예는 중쇄 및 경쇄 폴리펩타이드 모두의 가변 영역 내에서 발견되는 비-인접 항원 결합 부위를 기술하는 용어 "상보성 결정 영역"("CDR")의 사용이다. 이 특정 영역은 본원에 참고로 편입된 문헌[카밧 등(Kabat *et al.*) (1983) U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of Proteins of Immunological Interest" 및 코티아(Chothia) and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)]에 의해 기재되어 왔으며, 여기서 상기 정의는 서로에 대해 비교될 때 아미노산 잔기의 중첩 또는 서브셋을 포함한다. 그럼에도 불구하고, 항체 또는 이의 변이체의 CDR을 가리키기 위해 어느 하나의 정의를 적용하는 것은 본원에 정의되고 사용된 용어의 범위 내에 속하는 것으로 의도된다. 상기 언급된 참조문헌 각각에 의해 정의된 바와 같은 CDR을 포함하는 적절한 아미노산 잔기들이 비교로서 표 1에서 하기에 제시되어 있다. 특정한 CDR을 포함하는 정확한 잔기 수는 CDR의 서열 및 크기에 따라 달라질 것이다. 당해분야의 숙련가는 항체의 가변 영역 아미노산 서열을 고려할 때 어떤 잔기가 특정한 CDR을 포함하는지 일상적으로 결정할 수 있다.

표 1

CDR 정의¹

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

[0035] ¹표 1 내의 모든 CDR 정의의 넘버링은 카밧 등(하기 참고)에 의해 제시된 넘버링 규약에 따른다.

[0036] 카밧 등은 또한 임의의 항체에 적용될 수 있는 가변 도메인 서열에 대한 넘버링 시스템을 정의하였다. 당해분야의 숙련가는 서열 자체를 넘어선 어떤 실험 데이터를 신뢰하지 않고, 이러한 "카밧 넘버링"의 시스템을 임의의 가변 도메인 서열에 분명하게 할당할 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, "카밧 넘버링"은 문헌[Kabat *et al.* (1983) U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequence of Proteins of Immunological Interest"]에 의해 제시된 넘버링 시스템을 가리킨다. 달리 명시되지 않는 한, 본 발명의 항-SEMA4D 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체에서의 특정한 아미노산 잔기 위치의 넘버링에 대한 언급은 카밧 넘버링 시스템에 따른다.

[0037] 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체는, 비제한적으로, 다클론성, 단클론성, 다중특이성 및 이중특이성을 포함하며, 여기서 적어도 하나의 팔(arm)은 SEMA4D, 인간, 인간화, 영장류화, 또는 키메라 항체, 단일-사슬 항체, 에피토프-결합 단편, 예를 들면, Fab, Fab' 및 F(ab')₂, Fd, Fvs, 단일-사슬 Fvs(scFv), 디설파이드-연결된 Fvs(sdFv), VL 또는 VH 도메인 중 하나를 포함하는 단편, Fab 발현 라이브러리에 의해 생산된 단편, 및 항-이디오타입(항-Id) 항체(예를 들면, 본원에 개시된 항-SEMA4D 항체에 대한 항-Id 항체)에 특이적이다. ScFv 분자는 당해기술에 공지되어 있고, 예를 들면, 미국 특허 제5,892,019호에 기재되어 있다. 본 발명의 면역글로불린 또는 항체 분자는 면역글로불린 분자의 임의의 유형(예를 들면, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA, 및 IgY), 부류(예를 들면, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, 및 IgA2, 등), 또는 하위부류일 수 있다.

[0038] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "중쇄 부분"은 면역글로불린 중쇄로부터 유래된 아미노산 서열을 포함한다. 어떤 구현예에서, 중쇄 부분을 포함하는 폴리펩타이드는 VH 도메인, CH1 도메인, 헌지(예를 들면, 상부, 중간, 및/또는 하부 헌지 영역) 도메인, CH2 도메인, CH3 도메인, 또는 이의 변이체 또는 단편 중 적어도 하나를 포함한다. 예를 들면, 본 발명에서 사용하기 위한 결합 폴리펩타이드는 CH1 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬; CH1 도메인, 헌지 도메인의 적어도 하나의 부분, 및 CH2 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬; CH1 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬; CH1 도메인, 헌지 도메인의 적어도 하나의 부분, 및 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬, 또는 CH1 도메인, 헌지 도메인의 적어도 하나의 부분, CH2 도메인, 및 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬을 포함할 수 있다. 또 다른 구현예에서, 본 발명의 폴리펩타이드는 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬을 포함한다. 또한, 본 발명에서 사용하기 위한 결합 폴리펩타이드는 CH2 도메인의 적어도 하나의 부분(예를 들면, CH2 도메인의 모두 또는 일부)가 결여될 수 있다. 상기에 제시된 바와 같이, 당해분야의 숙련가는 천연 발생 면역글로불린 분자와 아미노산 서열이 다르도록 이들 도메인(예를 들면, 중쇄 부분)이 변형될 수 있음을 이해할 것이다.

[0039] 본원에 개시된 어떤 항-SEMA4D 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체에서, 다량체의 하나의 폴리펩타이드 사슬의 중쇄 부분은 다량체의 제2 폴리펩타이드 사슬 상의 중쇄 부분과 동일하다. 대안적으로, 본 발명의 중쇄 부분-함유 단량체들은 동일하지 않다. 예를 들면, 각각의 단량체는 상이한 표적 결합 부위를 포함하여, 예를 들면, 이중특이적 항체를 형성할 수 있다.

[0040] 본원에 개시된 방법에서 사용하기 위한 결합 분자의 중쇄 부분은 상이한 면역글로불린 분자로부터 유래될 수 있다. 예를 들면, 폴리펩타이드의 중쇄 부분은 IgG1 분자로부터 유래된 C_{H1} 도메인 및 IgG3 분자로부터 유래된 헌지 영역을 포함할 수 있다. 또 다른 예에서, 중쇄 부분은 IgG1 분자로부터 일부 유래된 헌지 영역 및, IgG3 분자로부터 일부 유래된 헌지 영역을 포함할 수 있다. 또 다른 예에서, 중쇄 부분은 IgG1 분자로부터 일부 유래된 키메라성 헌지 및, IgG4 분자로부터 일부 유래된 키메라성 헌지를 포함할 수 있다.

[0041] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "경쇄 부분"은 면역글로불린 경쇄, 예를 들면, 카파 또는 람다 경쇄로부터 유래된 아미노산 서열을 포함한다. 일 양태에서, 경쇄 부분은 VL 또는 CL 도메인 중 적어도 하나를 포함한다.

[0042] 본원에 개시된 항-SEMA4D 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체는, 이들이 인식하거나 특이적으로 결합하는, 항원, 예를 들면, 본원에 개시된 표적 폴리펩타이드(예를 들면, SEMA4D)의 에피토프(들) 또는 부위(들)의 관점에서 기재되거나 명시될 수 있다. 항체의 항원 결합 도메인과 특이적으로 상호작용하는 표적 폴리펩타이드의 부위는 "에피토프," 또는 "항원 결정기"이다. 표적 폴리펩타이드는 하나의 에피토프를 포함할 수 있지만, 전형적으로 적어도 2개의 에피토프를 포함하며, 항원의 크기, 형태, 및 유형에 따라, 임의의 수의 에피토프를 포함할 수 있다. 더욱이, 표적 폴리펩타이드 상의 "에피토프"는 비-폴리펩타이드 요소이거나 이를 포함할 수 있고, 예를 들면, 에피토프는 탄수화물 측쇄를 포함할 수 있음에 유의하여야 한다.

[0043] 항체에 대한 웹타이드 또는 폴리웹타이드 에피토프의 최소 크기는 약 4 내지 5개의 아미노산인 것으로 여겨진다. 웹타이드 또는 폴리웹타이드 에피토프는 적어도 7개, 적어도 9개, 또는 적어도 약 15개 내지 약 30개의 아미노산을 함유할 수 있다. CDR은 항원성 웹타이드 또는 폴리웹타이드를 그의 3차 형태로 인식할 수 있으므로, 에피토프를 포함하는 아미노산들은 인접할 필요가 없으며, 일부 경우, 2 이상의 상이한 웹타이드 사슬을 상에 존재할 수 있다. 본 발명의 항-SEMA4D 항체에 의해 인식되는 웹타이드 또는 폴리웹타이드 에피토프는 SEMA4D의 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 15개, 적어도 20개, 적어도 25개, 또는 약 15개 내지 약 30개의 인접하거나 비-인접한 아미노산의 서열을 함유할 수 있다.

[0044] "특이적으로 결합한다"는 것은 일반적으로 항체가 그의 항원 결합 도메인을 통해 에피토프에 결합하는 것, 및 결합이 항원 결합 도메인 및 에피토프 사이에 상당한 상보성을 수반하는 것을 의미한다. 이 정의에 따르면, 항체가 무작위의 관련없는 에피토프에 결합하는 것보다 더 쉽게 그의 항원 결합 도메인을 통하여 상기 에피토프에 결합할 때 항체가 에피토프에 "특이적으로 결합"한다고 한다. 용어 "특이성"은 어떤 항체가 어떤 에피토프에 결합하는 상대적 친화성을 정량화하기 위해 본원에서 사용된다. 예를 들면, 항체 "A"는 항체 "B"보다 제시된 에피토프에 대해 더 높은 특이성을 갖는 것으로 간주될 수 있거나, 또는 항체 "A"는 상기 항체가 관련된 에피토프 "D"에 대해 갖는 특이성보다 더 높은 특이성으로 에피토프 "C"에 결합한다고 할 수 있다.

[0045] "우선적으로 결합한다"는 것은 항체가 관련되거나, 유사하거나, 상동성이거나, 또는 비슷한 에피토프에 결합하는 것보다 더 쉽게 상기 항체가 에피토프에 특이적으로 결합하는 것을 의미한다. 따라서, 제시된 에피토프에 "우선적으로 결합"하는 항체는, 상기 항체가 관련된 에피토프와 교차 반응할 수 있음에도 불구하고, 관련된 에피토프에 결합하는 것보다 상기 에피토프에 결합할 가능성이 더 많을 것이다.

[0046] 비-제한적인 예로서, 만약 항체가 제2 에피토프에 대한 항체의 K_D 보다 낮은 해리 상수(K_D)로 제1 에피토프에 결합하면, 상기 항체는 제1 에피토프에 우선적으로 결합하는 것으로 간주될 수 있다. 또 다른 비제한적인 예에서, 만약 항체가 제2 에피토프에 대한 항체의 K_D 보다 적어도 한 자릿수 낮은 친화성으로 제1 에피토프에 결합하면, 상기 항체는 제1 항원에 우선적으로 결합하는 것으로 간주될 수 있다. 또 다른 비제한적인 예에서, 만약 항체가 제2 에피토프에 대한 항체의 K_D 보다 적어도 두 자릿수 낮은 친화성으로 제1 에피토프에 결합하면, 상기 항체는 제1 에피토프에 우선적으로 결합하는 것으로 간주될 수 있다.

[0047] 또 다른 비제한적인 예에서, 만약 항체가 제2 에피토프에 대한 항체의 $k(\text{off})$ 보다 낮은 해리 속도($k(\text{off})$)로 제1 에피토프에 결합하면, 상기 항체는 제1 에피토프에 우선적으로 결합하는 것으로 간주될 수 있다. 또 다른 비제한적인 예에서, 만약 항체가 제2 에피토프에 대한 항체의 $k(\text{off})$ 보다 적어도 한 자릿수 낮은 친화성으로 제1 에피토프에 결합하면, 상기 항체는 제1 에피토프에 우선적으로 결합하는 것으로 간주될 수 있다. 또 다른 비제한적인 예에서, 만약 항체가 제2 에피토프에 대한 항체의 $k(\text{off})$ 보다 적어도 두 자릿수 낮은 친화성으로 제1 에피토프에 결합하면, 상기 항체는 제1 에피토프에 우선적으로 결합하는 것으로 간주될 수 있다. 본원에 개시된 항체 또는 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체는 $5 \times 10^{-2} \text{ sec}^{-1}$, 10^{-2} sec^{-1} , $5 \times 10^{-3} \text{ sec}^{-1}$ 또는 10^{-3} sec^{-1} 이하의 해리 속도($k(\text{off})$)로 본원에 개시된 표적 폴리웹타이드(예를 들면, SEMA4D, 예를 들면, 인간, 젖과, 또는 인간 및 젖과 SEMA4D 모두) 또는 이의 단편 또는 변이체에 결합한다고 할 수 있다. 어떤 양태에서, 본 발명의 항체는 $5 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$, 10^{-4} sec^{-1} , $5 \times 10^{-5} \text{ sec}^{-1}$, 또는 10^{-5} sec^{-1} , $5 \times 10^{-6} \text{ sec}^{-1}$, 10^{-6} sec^{-1} , $5 \times 10^{-7} \text{ sec}^{-1}$ 또는 10^{-7} sec^{-1} 이하의 해리 속도($k(\text{off})$)로 본원에 개시된 표적 폴리웹타이드(예를 들면, SEMA4D, 예를 들면, 인간, 젖과, 또는 인간 및 젖과 SEMA4D 모두) 또는 이의 단편 또는 변이체에 결합한다고 할 수 있다.

[0048] 본원에 개시된 항체 또는 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체는 $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$, $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$, $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ 또는 $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ 이상의 결합 속도($k(\text{on})$)로 본원에 개시된 표적 폴리웹타이드(예를 들면, SEMA4D, 예를 들면, 인간, 젖과, 또는 인간 및 젖과 SEMA4D 모두) 또는 이의 단편 또는 변이체에 결합한다고 할 수 있다. 어떤 양태에서, 본 발명의 항체는 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$, $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$, $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$, 또는 $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ 또는 $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ 이상의 결합 속도($k(\text{on})$)로 본원에 개시된 표적 폴리웹타이드(예를 들면, SEMA4D, 예를 들면, 인간, 젖과, 또는 인간 및 젖과 SEMA4D 모두) 또는 이의 단편 또는 변이체에 결합한다고 할 수 있다.

[0049] 만약 항체가 에피토프에 대한 참조 항체의 결합을 어느 정도 차단하는 정도로 상기 에피토프에 우선적으로 결합하면, 상기 항체는 제시된 에피토프에 대한 참조 항체의 결합을 경쟁적으로 저해한다고 한다. 경쟁적 저해는 당해분야에서 공지된 임의의 방법, 예를 들면, 경쟁 ELISA 분석에 의해 측정될 수 있다. 항체는 제시된 에피토프

에 대한 참조 항체의 결합을 적어도 90%, 적어도 80%, 적어도 70%, 적어도 60%, 또는 적어도 50%까지 경쟁적으로 저해한다고 할 수 있다.

[0050] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "친화성"은 면역글로불린 분자의 CDR과 개별적인 에피토프의 결합의 강도의 측정값을 가리킨다. 예를 들면, 문헌[Harlow *et al.* (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed.) pages 27-28]을 참고한다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "결합능(avidity)"은 면역글로불린의 집단 및 항원 사이의 복합체의 전반적인 안정성, 즉, 항원과의 면역글로불린 혼합물의 기능적 결합 강도를 가리킨다. 예를 들면, Harlow 페이지 29-34를 참고한다. 결합능은 특정 에피토프와의 상기 집단 내의 개별적인 면역글로불린 분자의 친화성 및 또한 면역글로불린 및 항원의 결합가(valency) 모두와 관련된다. 예를 들면, 2가 단클론성 항체 및 고도로 반복되는 항원, 예컨대 폴리머 사이의 상호작용은 고 결합능의 상호작용일 것이다.

[0051] 본 발명의 항-SEMA4D 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체는 또한 그의 교차 반응성 측면에서 기재되거나 명시될 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "교차 반응성"은 제2 항원과 반응하는 하나의 항원에 대해 특이적인 항체의 능력; 2개의 상이한 항원성 물질 사이의 관련성의 측정값을 가리킨다. 따라서, 만약 항체가 그의 형성을 유도한 에피토프 이외의 에피토프에 결합하면, 상기 항체는 교차 반응성이다. 교차반응성 에피토프는 일반적으로 상기 유도성 에피토프와 많은 동일한 상보적 구조적 특징을 함유하며, 일부 경우에, 실제로 원래의 것보다 더 잘 적합할 수 있다.

[0052] 예를 들면, 어떤 항체는, 상기 항체가 관련되지만 동일하지 않은 에피토프, 예를 들면, 참조 에피토프에 대해 적어도 95%, 적어도 90%, 적어도 85%, 적어도 80%, 적어도 75%, 적어도 70%, 적어도 65%, 적어도 60%, 적어도 55%, 및 적어도 50% 동일성(당해분야에서 공지되고 본원에 기재된 방법을 이용하여 계산된 바와 같음)을 갖는 에피토프에 결합한다는 점에서, 어느 정도의 교차 반응성을 갖는다. 만약 항체가 참조 에피토프에 대해 95% 미만, 90% 미만, 85% 미만, 80% 미만, 75% 미만, 70% 미만, 65% 미만, 60% 미만, 55% 미만, 및 50% 미만의 동일성(당해분야에서 공지되고 본원에 기재된 방법을 이용하여 계산된 바와 같음)을 갖는 에피토프에 결합하지 않으면, 상기 항체는 교차 반응성을 거의 또는 전혀 갖지 않는다고 할 수 있다. 만약 항체가 어떤 에피토프의 임의의 다른 유사체, 오르소로그, 또는 동족체에 결합하지 않으면, 상기 항체는 상기 에피토프에 대해 "매우 특이적"인 것으로 간주될 수 있다.

[0053] 본 발명의 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 본 발명의 폴리펩타이드, 예를 들면, SEMA4D, 예를 들면, 인간, 쥐파, 또는 인간 및 쥐파 SEMA4D 모두에 대한 이들의 결합 친화성의 측면에서 기재되거나 명시될 수 있다. 결합 친화성은 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M, 또는 10^{-15} M 미만의 해리 상수 또는 Kd를 갖는 것들을 포함할 수 있다. 어떤 구현예에서, 본 발명의 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 약 5×10^{-9} 내지 약 6×10^{-9} 의 Kd로 인간 SEMA4D에 결합한다. 또 다른 구현예에서, 본 발명의 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 약 1×10^{-9} 내지 약 2×10^{-9} 의 Kd로 쥐파 SEMA4D에 결합한다.

[0054] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "키메라성 항체"는 면역반응성 영역 또는 부위는 제1 종으로부터 수득되거나 유래되고, 불변 영역(온전할 수 있거나, 일부일 수 있거나, 본 발명에 따라 변형될 수 있음)은 제2 종으로부터 수득되는 임의의 항체를 의미하기 위해 제시될 것이다. 일부 구현예에서 표적 결합 영역 또는 부위는 비-인간 공급원(예를 들면, 마우스 또는 영장류) 유래일 것이고 불변 영역은 인간이다.

[0055] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "조작된 항체"는 중쇄 또는 경쇄 중 하나 또는 둘 모두에서의 가변 도메인이나 공지된 특이성의 항체로부터의 하나 이상의 CDR의 적어도 부분적 대체에 의해, 그리고 필요하면, 부분적 프레임워크 영역 대체 및 서열 변화에 의해, 변경된 항체를 가리킨다. CDR은 프레임워크 영역이 유래된 항체와 동일한 부류 또는 심지어 하위부류의 항체로부터 유래될 수 있음에도 불구하고, CDR은 상이한 부류의 항체로부터, 예를 들면, 상이한 종으로부터의 항체로부터 유래될 것임이 예상된다. 공지된 특이성의 비-인간 항체로부터의 하나 이상의 "공여체" CDR이 인간 중쇄 또는 경쇄 프레임워크 영역 내로 접합된 조작된 항체는 본원에서 "인간화된 항체"로 지칭된다. 어떤 구현예에서, 하나의 가변 도메인의 항원 결합능을 또 다른 가변 도메인으로 옮기기 위해 CDR 모두를 공여체 가변 도메인으로부터 완전 CDR로 대체할 필요는 없다. 오히려, 표적 결합 부위의 활성을

유지하는데 필요한 잔기만을 옮길 수 있다.

[0056]

인간화된 항체의 중쇄 또는 경쇄, 또는 둘 모두에서의 가변 도메인은 인간 기원의 잔기만을 포함할 수 있는 것으로 더 인식되며, 이 경우 인간화된 항체의 이들 프레임워크 영역은 "완전 인간 프레임워크 영역"으로 지칭된다(예를 들면, 그 전체가 참고로 본원에 통합된, MAb 2503으로서 미국 특허출원 공개 제US 2010/0285036호에 개시된 MAb VX15/2503). 대안적으로, SEMA4D 항원에 대한 적절한 결합을 유지하거나 또는 SEMA4D 항원에 대한 결합을 향상시키기 위해 필요하면 인간화된 항체의 중쇄 또는 경쇄, 또는 둘 모두에서의 가변 도메인의 인간 프레임워크 영역(들)의 상응하는 위치 내에서 공여체 가변 도메인의 프레임워크 영역(들)의 하나 이상의 잔기가 조작될 수 있다. 따라서, 이러한 방식으로 조작된 인간 프레임워크 영역은 인간 및 공여체 프레임워크 잔기의 혼합물을 포함할 것이고, 이는 본원에서 "부분적 인간 프레임워크 영역"으로 지칭된다.

[0057]

예를 들면, 항-SEMA4D 항체의 인간화는 설치류 또는 돌연변이 설치류 CDR 또는 CDR 서열을 인간 항-SEMA4D 항체의 상응하는 서열로 치환함으로써, Winter 및 동료의 방법(Jones *et al.*, *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, *Nature* 332:323-327 (1988); Verhoeven *et al.*, *Science* 239:1534-1536 (1988))에 따라 본질적으로 수행될 수 있다. 또한 본원에 참고로 통합된, 미국 특허 제5,225,539호; 제5,585,089호; 제5,693,761호; 제5,693,762호; 제5,859,205호를 참고한다. 수득한 인간화된 항-SEMA4D 항체는 인간화된 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 가변 도메인의 완전 인간 프레임워크 영역 내에 적어도 하나의 설치류 또는 돌연변이 설치류 CDR을 포함할 것이다. 일부 경우, 인간화된 항-SEMA4D 항체의 하나 이상의 가변 도메인의 프레임워크 영역 내의 잔기는 상응하는 비-인간(예를 들면, 설치류) 잔기에 의해 대체되고(예를 들면, 미국 특허 제5,585,089호; 제5,693,761호; 제5,693,762호; 및 제6,180,370호 참고), 이 경우 수득한 인간화된 항-SEMA4D 항체는 중쇄 및/또는 경쇄의 가변 도메인 내에 부분적 인간 프레임워크 영역을 포함할 것이다.

[0058]

더욱이, 인간화된 항체는 수령체 항체에서 또는 공여체 항체에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이들 변형은 항체 성능을 더 개선하기 위해(예를 들면, 원하는 친화성을 얻기 위해) 이뤄진다. 일반적으로, 인간화된 항체는 적어도 하나, 및 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이고, 모든 또는 실질적으로 모든 CDR은 비-인간 면역글로불린의 것에 상응하며 모든 또는 실질적으로 모든 프레임워크 영역은 인간 면역글로불린 서열의 것에 상응한다. 인간화된 항체는 선택적으로 또한 면역글로불린 불변 영역(Fc)의 적어도 하나의 부분, 전형적으로 인간 면역글로불린의 것을 포함할 것이다. 추가적인 세부사항을 위해 본원에 참고로 통합된 문헌[Jones *et al.*, *Nature* 331:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, *Nature* 332:323-329 (1988); 및 Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992)]을 참고한다. 따라서, 그러한 "인간화된" 항체는 온전한 인간 가변 도메인보다 실질적으로 적은 부분이 비-인간 종으로부터의 상응하는 서열에 의해 치환된 항체를 포함할 수 있다. 실제로, 인간화된 항체는 전형적으로 일부 CDR 잔기 및 가능하게는 일부 프레임워크 잔기가 설치류 항체 내의 비슷한 부위로부터의 잔기에 의해 치환된 인간 항체이다. 예를 들면, 미국 특허 제5,225,539호; 제5,585,089호; 제5,693,761호; 제5,693,762호; 제5,859,205호를 참고한다. 또한 미국 특허 제6,180,370호, 및 국제공개 제WO 01/27160호를 참조하며, 여기에 인간화된 항체 및 미리 정해진 항원에 대해 개선된 친화성을 갖는 인간화된 항체를 생산하기 위한 기술이 개시되어 있다.

[0059]

II. 표적 폴리펩타이드 설명

[0060]

본원에서 사용된 바와 같이, 용어들 "세마포린-4D," "SEMA4D" 및 "SEMA4D 폴리펩타이드"는 "SEMA4D" 및 "Sema4D"와 마찬가지로, 상호교환적으로 사용된다. 어떤 구현예에서, SEMA4D는 세포의 표면 상에서 또는 세포에 의해 발현된다. 또 다른 구현예에서, SEMA4D는 막 결합된다. 또 다른 구현예에서, SEMA4D는 가용성, 예를 들면, sSEMA4D이다. 다른 구현예에서, SEMA4D는 전체-크기의 SEMA4D 또는 이의 단편, 또는 SEMA4D 변이체 폴리펩타이드를 포함할 수 있고, 여기서 SEMA4D 또는 SEMA4D 변이체 폴리펩타이드의 단편은 전체-크기의 SEMA4D의 기능적 특성의 일부 또는 모두를 보유한다.

[0061]

전체-크기의 인간 SEMA4D 단백질은 150 kDa의 2개의 폴리펩타이드 사슬로 이루어지는 동형이량체 막통과 단백질이다. SEMA4D는 세포 표면 수용체의 세마포린 패밀리에 속하며, CD100으로도 지칭된다. 인간 및 마우스 SEMA4D/Sema4D 모두는 그의 막통과 형태로부터 단백분해적으로 절단되어 120-kDa 가용성 형태를 생성하며, 이는 2개의 Sema4D 동형체의 존재를 나타낸다(Kumanogoh *et al.*, *J. Cell Science* 116(7):3464 (2003)). 세마포린은 본래 발전 동안 축색돌기-안내 인자로서 정의되었던 가용성 및 막-결합 단백질로 이루어지며, 뉴런과 그의 적절한 표적 사이에 정확한 연결을 확립하는 데 있어 중요한 역할을 한다. 부류 IV 세마포린을 구조적으로 고려할 때, SEMA4D는 아미노-말단 신호 서열 이후에 특징적인 'Sema' 도메인으로 이루어지며, 이는 17개의 보존된 시스테인 잔기, Ig-유사 도메인, 라이신-풍부 스트레치(stretch), 소수성 막통과 영역, 및 세포질 테일을 함유한다.

- [0062] SEMA4D의 각각의 폴리펩타이드 사슬은 약 13개의 아미노산의 신호 서열 이후에 약 512개 아미노산의 세마포린 도메인, 약 65개의 아미노산의 면역글로불린-유사(Ig-유사) 도메인, 104개의 아미노산의 라이신-풍부 스트레치, 약 19개의 아미노산의 소수성 막통과 영역, 및 110개의 아미노산의 세포질 테일을 포함한다. 세포질 테일 내의 티로신 인산화를 위한 공통 부위는 SEMA4D와 티로신 키나제와의 예상된 결합을 지지한다(Schlossman, *et al.*, Eds. (1995) *Leucocyte Typing V* (Oxford University Press, Oxford)).
- [0063] SEMA4D는 적어도 3개의 기능적 수용체인 플렉신-B1, 플렉신-B2 및 CD72를 갖는 것으로 알려져 있다. 상기 수용체 중 하나인 플렉신-B1은 비-림프 조직에서 발현되며, SEMA4D에 대한 고 친화성(1 nM) 수용체인 것으로 나타났다(Tamagnone *et al.*, *Cell* 99:71-80 (1999)). 플렉신-B1 신호전달의 SEMA4D 자극은 뉴런의 성장 원추 붕괴(growth cone collapse)를 유도하고, 희소돌기교세포의 과정 확대 붕괴(process extension collapse) 및 세포자멸사를 유도하는 것으로 나타났다(Giraudon *et al.*, *J. Immunol.* 172:1246-1255 (2004); Giraudon *et al.*, *NeuroMolecular Med.* 7:207-216 (2005)). SEMA4D에 결합한 후, 플렉신-B1 신호전달은 R-Ras의 불활성화를 매개하여, 세포외 매트릭스에 대한 인테그린 매개된 부착의 감소뿐만 아니라 RhoA의 활성화를 야기하여, 세포골격 및 세포 이동의 재편성을 야기한다. 문헌[Kruger *et al.*, *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 6:789-800 (2005); Pasterkamp, *TRENDS in Cell Biology* 15:61-64 (2005)]을 참고한다. 한편, 플렉신-B2는 SEMA4D에 대해 중간 친화성을 가지며, 최근 보고는 플렉신-B2가 케라틴생성세포 상에서 발현되고 SEMA4D-양성 γ δ T 세포를 활성화시켜 상피 보수에 기여한다는 것을 보여준다(Witherden *et al.*, *Immunity*. 2012 Aug 24;37(2):314-25).
- [0064] 림프 조직에서 CD72는 저친화도(300 nM) SEMA4D 수용체로서 이용된다(Kumanogoh *et al.*, *Immunity* 13:621-631 (2000)). B 세포 및 APC는 CD72를 발현하고, 항-CD72 항체는 CD40-유도된 B 세포 반응의 향상 및 CD23의 B 세포 쉐딩(shedding)과 같은, sSEMA4D와 동일한 많은 효과를 갖는다. CD72는 많은 저해 수용체와 결합할 수 있는, 티로신 포스파타제 SHP-1을 동원함으로써 B 세포 반응의 음성 조절물질로서 작용하는 것으로 여겨진다. SEMA4D와 CD72과의 상호작용은 SHP-1의 해리, 및 이러한 음성 활성화 신호의 손실을 야기한다. SEMA4D는 시험관내에서 T 세포 자극 및 B 세포 응집 및 생존을 촉진하는 것으로 나타났다. SEMA4D-발현 세포 또는 sSEMA4D의 부가는 시험관내에서 CD40-유도된 B 세포 증식 및 면역글로불린 생산을 향상시키고, 생체내 항체 반응을 가속화한다(Ishida *et al.*, *Inter. Immunol.* 15:1027-1034 (2003); Kumanogoh and H. Kukutani, *Trends in Immunol.* 22:670-676 (2001)). sSEMA4D는 공동자극인자 분자의 상향 조절 및 IL-12의 증가된 분비를 포함하는, DC의 CD40 유도된 성숙을 향상시킨다. 또한, sSEMA4D는 면역 세포 이동을 저해할 수 있으며, 이는 차단하는 항-SEMA4D 항체의 부가에 의해 역전될 수 있다(Elhabazi *et al.*, *J. Immunol.* 166:4341-4347 (2001); Delaire *et al.*, *J. Immunol.* 166:4348-4354 (2001)).
- [0065] Sema4D는 비장, 흉선, 및 림프절을 포함하는 림프 기관에서, 그리고 뇌, 심장, 및 신장과 같은 비-림프 기관에서 높은 수준으로 발현된다. 림프 기관에서, Sema4D는 휴지상태의 T 세포 상에서 풍부하게 발현되지만 휴지상태의 B 세포 및 항원-제시 세포(APC), 예컨대 수지상 세포(DC) 상에서는 단지 약하게 발현된다. 세포성 활성화는 SEMA4D의 표면 발현 뿐만 아니라 가용성 SEMA4D(sSEMA4D)의 생성을 증가시킨다.
- [0066] SEMA4D의 발현 패턴은 SEMA4D가 면역계에서 중요한 생리적 및 병리적 역할을 한다는 것을 제시한다. SEMA4D는 B 세포 활성화, 응집 및 생존을 촉진하고; CD40-유도된 증식 및 항체 생산을 향상시키고; T 세포 의존적 항원에 대한 항체 반응을 향상시키고; T 세포 증식을 증가시키고; 수지상 세포 성숙 및 T 세포를 자극하는 능력을 향상시키고; 탈수초화 및 축삭 변성에 직접 연루된다(Shi *et al.*, *Immunity* 13:633-642 (2000); Kumanogoh *et al.*, *J. Immunol.* 169:1175-1181 (2002); 및 Watanabe *et al.*, *J. Immunol.* 167:4321-4328 (2001)).
- [0067] SEMA4D 넉아웃(SEMA4D-/-) 마우스는 SEMA4D가 체액성 및 세포성 면역 반응 모두에서 중요한 역할을 한다는 추가의 증거를 제공해왔다. SEMA4D-/- 마우스에서 비-림프 조직의 주요 이상은 알려진 바 없다. SEMA4D-/- 마우스로 부터의 수지상 세포(DC)는 좋지 못한 이성자극 능력(allostimulatory ability)을 가지며 공동자극인자 분자의 발현에서 결함을 나타내고, 이는 sSEMA4D의 부가에 의해 구제될 수 있다. SEMA4D가 결핍된 마우스(SEMA4D-/-)는, 수초 희소돌기교세포 당단백질-특이적 T 세포가 SEMA4D의 부재시에 저조하게 생성되기 때문에, 수초 희소돌기교세포 당단백질 웹타이드에 의해 유도된 실험적인 자가면역 뇌척수염을 발전시키지 못한다(Kumanogoh *et al.*, *J. Immunol.* 169:1175-1181 (2002)). 유의미한 양의 가용성 SEMA4D는 또한 자가면역에 걸리기 쉬운 MRL/lpr 마우스(전신 자가면역 질환의 모델, 예컨대 SLE)의 혈청에서 검출되지만, 정상 마우스에서는 검출되지 않는다. 게다가, sSEMA4D의 수준은 자가-항체의 수준과 상호관련되며, 이는 나이가 들어감에 따라 증가한다(Wang *et al.*, *Blood* 97:3498-3504 (2001)). 가용성 SEMA4D는 또한 탈수초 질환을 갖는 환자의 뇌 척수액 및 혈청에서 축적되는 것으로 나타났으며, sSEMA4D는 인간 만능 신경 전구체(Dev 세포)의 세포자멸사를 유도하고, 시험관내에서 과정 확장을 저해하고 랫트 희소돌기교세포를 유도한다(Giraudon *et al.*, *J. Immunol.*

172(2):1246-1255 (2004)). 이러한 세포자멸사는 항-SEMA4D MAb에 의해 차단되었다.

[0068] III. 항-SEMA4D 항체

[0069] SEMA4D에 결합하는 항체는 당해기술에서 기재되어 왔다. 예를 들면, 각각 그 전체가 참고로써 본원에 통합된, US 공개 제2008/0219971호 A1, US 제2010/0285036호 A1, 및 US 제2006/0233793호 A1, 국제 특허 출원 WO 제93/14125호, WO 제2008/100995호, 및 WO 제2010/129917호, 및 Herold *et al.*, *Int. Immunol.* 7(1): 1-8 (1995)를 참고한다.

[0070] 이 개시내용은 일반적으로 SEMA4D, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체에 특이적으로 결합하는 항체의 투여를 포함하는, 염증성 장애를 갖는 대상, 예를 들면, 인간 환자에서 죽상 경화증을 치료하는 방법에 관한 것이다. 어떤 구현예에서, 상기 항체는 SEMA4D와 그의 수용체 중 하나 이상, 예를 들면, 플렉신-B1과의 상호 작용을 차단한다. 이러한 특성을 갖는 항-SEMA4D 항체는 본원에 제공된 방법에서 사용될 수 있다. 사용될 수 있는 항체는, 비제한적으로 MAbs VX15/2503, 67, 및 76 및 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체를 포함하며, 이는 US 2010/0285036 A1에 충분히 기재되어 있다. 본원에 제공된 방법에서 사용될 수 있는 추가적인 항체는 US 제2006/0233793호 A1에 기재된 BD16 및 BB18 항체 뿐만 아니라 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체; 또는 MAb 301, MAb 1893, MAb 657, MAb 1807, MAb 1656, MAb 1808, Mab 59, MAb 2191, MAb 2274, MAb 2275, MAb 2276, MAb 2277, MAb 2278, MAb 2279, MAb 2280, MAb 2281, MAb 2282, MAb 2283, MAb 2284, 및 MAb 2285 중 어느 하나 뿐만 아니라 US 제2008/0219971호 A1에 기재된 바와 같은 이의 임의의 단편, 변이체 또는 유도체를 포함한다. 어떤 구현예에서 본원에 제공된 방법에서 사용하기 위한 항-SEMA4D 항체는 인간, 젖과, 또는 인간 및 젖과 SEMA4D 모두에 결합한다. 상기 언급된 항체 중 어느 것과 동일한 에피토프에 결합하는 항체 및/또는 상기 언급된 항체 중 어느 것을 경쟁적으로 저해하는 항체가 또한 유용하다.

[0071] 어떤 구현예에서, 본원에 제공된 방법에서 유용한 항-SEMA4D 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체는 참조 항-SEMA4D 항체 분자, 예를 들면 상기에서 기재된 것들에 대한 아미노산 서열에 대해 적어도 약 80%, 약 85%, 약 88%, 약 89%, 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 또는 약 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는다. 추가 구현예에서, 상기 결합 분자는 참조 항체와 적어도 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 공유한다.

[0072] 또 다른 구현예에서, 본원에 제공된 방법에서 유용한 항-SEMA4D 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체는 면역글로불린 중쇄 가변 도메인(VH 도메인)을 포함하거나, 본질적으로 이들로 이루어지거나, 또는 이들로 이루어지며, 상기 VH 도메인의 CDR 중 적어도 하나는 서열번호 9 또는 10의 CDR1, CDR2 또는 CDR3에 대해 적어도 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 동일한 아미노산 서열을 갖는다.

[0073] 또 다른 구현예에서, 본원에 제공된 방법에서 유용한 항-SEMA4D 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체는 면역글로불린 중쇄 가변 도메인(VH 도메인)을 포함하거나, 본질적으로 이들로 이루어지거나, 또는 이들로 이루어지며, 상기 VH 도메인의 CDR 중 적어도 하나는 서열번호 6, 서열번호 7, 또는 서열번호 8에 대해 적어도 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 동일한 아미노산 서열을 갖는다.

[0074] 또 다른 구현예에서, 본원에 제공된 방법에서 유용한 항-SEMA4D 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체는 면역글로불린 중쇄 가변 도메인(VH 도메인)을 포함하거나, 본질적으로 이들로 이루어지거나, 또는 이들로 이루어지며, 상기 VH 도메인의 CDR 중 적어도 하나는 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 보존적 아미노산 치환을 제외하고, 서열번호 6, 서열번호 7, 또는 서열번호 8에 대해 동일한 아미노산 서열을 갖는다.

[0075] 또 다른 구현예에서, 본원에 제공된 방법에서 유용한 항-SEMA4D 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체는 서열번호 9 또는 서열번호 10에 대해 적어도 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 VH 도메인을 포함하거나, 본질적으로 이들로 이루어지거나, 또는 이들로 이루어지며, 상기 인코딩된 VH 도메인을 포함하는 항-SEMA4D 항체는 SEMA4D에 특이적으로 또는 우선적으로 결합한다.

[0076] 또 다른 구현예에서, 본원에 제공된 방법에서 유용한 항-SEMA4D 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체는 면역글로불린 경쇄 가변 도메인(VL 도메인)을 포함하거나, 본질적으로 이들로 이루어지거나, 또는 이들로 이루어지며, 상기 VL 도메인의 CDR 중 적어도 하나는 서열번호 17 또는 18의 CDR1, CDR2 또는 CDR3에 대해 적어도 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 동일한 아미노산 서열을 갖는

다.

[0077] 또 다른 구현예에서, 본원에 제공된 방법에서 유용한 항-SEMA4D 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체는 면역글로불린 경쇄 가변 도메인(VL 도메인)을 포함하거나, 본질적으로 이들로 이루어지거나, 또는 이들로 이루어지며, 상기 VL 도메인의 CDR 중 적어도 하나는 서열번호 14, 서열번호 15, 또는 서열번호 16에 대해 적어도 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 동일한 아미노산 서열을 갖는다.

[0078] 또 다른 구현예에서, 본원에 제공된 방법에서 유용한 항-SEMA4D 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체는 면역글로불린 경쇄 가변 도메인(VL 도메인)을 포함하거나, 본질적으로 이들로 이루어지거나, 또는 이들로 이루어지며, 상기 VL 도메인의 CDR 중 적어도 하나는 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 보존적 아미노산 치환을 제외하고, 서열번호 14, 서열번호 15, 또는 서열번호 16에 대해 동일한 아미노산 서열을 갖는다.

[0079] 추가 구현예에서, 본원에 제공된 방법에서 유용한 항-SEMA4D 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체는 서열번호 17 또는 서열번호 18에 대해 적어도 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 VL 도메인을 포함하거나, 본질적으로 이들로 이루어지거나, 또는 이들로 이루어지며, 상기 인코딩된 VL 도메인을 포함하는 항-SEMA4D 항체는 SEMA4D에 특이적으로 또는 우선적으로 결합한다.

[0080] 본원에 기재된 바와 같은 항-SEMA4D 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체를 인코딩하는 폴리펩타이드, 상기 폴리펩타이드를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드, 상기 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 백터, 및 본원에서 기재된 방법에서 사용하기 위한 항-SEMA4D 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체를 생산하기 위한 상기 백터 또는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 숙주 세포가 본원에 제공된 방법에서 사용하기 위해 또한 포함된다.

[0081] 본 발명의 항-SEMA4D 항체의 적합한 생물학적 활성 변이체가 본 발명의 방법에서 사용될 수 있다. 그러한 변이체들은 모 항-SEMA4D 항체의 원하는 결합 특성을 보유할 것이다. 항체 변이체를 제조하는 방법은 당해기술에서 일반적으로 이용가능하다.

[0082] 돌연변이유발 및 뉴클레오타이드 서열 변경 방법은 당해기술에 공지되어 있다. 예를 들면, 본원에 참고로 편입된 문헌[Walker and Gaastra, eds. (1983) *Techniques in Molecular Biology* (MacMillan Publishing Company, New York); Kunkel, *Proc. Nati. Acad. Sci. USA* 82:488-492 (1985); Kunkel *et al.*, *Methods Enzymol.* 154:367-382 (1987); Sambrook *et al.* (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor, N.Y.); 미국 특허 제4,873,192호]; 및 본원에서 인용된 참조문헌을 참고한다. 관심있는 폴리펩타이드의 생물학적 활성에 영향을 미치지 않는 적절한 아미노산 치환에 관한 지침은 그 전체가 참고로 통합된 *Atlas of Protein Sequence and Structure* (Nat'l. Biomed. Res. Found., Washington, D.C.), pp. 345-352에서의 Dayhoff *et al.* (1978)의 모델에서 발견될 수 있다. Dayhoff *et al.*의 모델은 점 허용된 돌연변이(PAM) 아미노산 유사성 매트릭스(PAM 250 매트릭스)를 이용하여 적합한 보존적 아미노산 치환을 결정한다. 일부 양태에서 아미노산 치환은 보존적 치환, 예컨대 하나의 아미노산을 유사한 특성을 갖는 또 다른 아미노산으로 바꾸는 것일 수 있다. Dayhoff *et al.* 모델의 PAM 250 매트릭스에 의해 교시된 바와 같은 보존적 아미노산 치환의 예는, 비제한적으로, Gly↔Ala, Val↔Ile↔Leu, Asp↔Glu, Lys↔Arg, Asn↔Gln, 및 Phe↔Trp↔Tyr을 포함한다.

[0083] 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 관심있는 폴리펩타이드의 변이체를 제작하는데 있어서, 변이체가 원하는 특성, 예를 들면, 본원에 기재된 바와 같이 세포의 표면 상에서 발현되거나 세포에 의해 분비되고, SEMA4D 차단 활성을 갖는, SEMA4D, 예를 들면, 인간, 쥐과, 또는 인간 및 쥐과 SEMA4D 모두에 특이적으로 결합하는 원하는 특성을 계속 갖도록 변형이 수행된다. 변이체 폴리펩타이드를 인코딩하는 DNA에서 수행된 돌연변이는 상기 서열을 해독틀 밖에 위치시키지 않아야 하며, 어떤 양태에서는 2차 mRNA 구조를 생성할 수 있는 상보적 영역을 만들지 않을 것이다. EP 특허 출원 공개 제75,444호를 참고한다.

[0084] 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체 결합 특이성을 측정하는 방법은, 비제한적으로, 표준 경쟁적 결합 분석, T 세포 또는 B 세포에 의한 면역글로불린 분비를 모니터링하기 위한 분석, T 세포 증식 분석, 세포자멸사 분석, ELISA 분석 등을 포함한다. 예를 들면, 문헌[WO 제93/14125 호; Shi *et al.*, *Immunity* 13:633-642 (2000); Kumanogoh *et al.*, *J Immunol* 169:1175-1181 (2002); Watanabe *et al.*, *J Immunol* 167:4321-4328 (2001); Wang *et al.*, *Blood* 97:3498-3504 (2001); and Giraudon *et al.*, *J Immunol* 172(2):1246-1255 (2004)]에 개시된 분석을 참조하며, 이들 모두는 그 전체가 참고로 본원에 통합되어

있다.

[0085] 본원에 개시된 불변 영역, CDR, VH 도메인, 또는 VL 도메인을 포함하는 임의의 특정한 폴리펩타이드가 또 다른 폴리펩타이드에 대해 적어도 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 심지어 약 100% 동일한지를 본원에서 논의할 때, % 동일성은 당해기술에 공지되어 있는 방법 및 컴퓨터 프로그램/소프트웨어, 예컨대, 비제한적으로, BESTFIT 프로그램 ((Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, Wis. 53711)을 이용하여 확인될 수 있다. BESTFIT는 Smith and Waterman (1981) *Adv. Appl. Math.* 2:482-489의 국부 상동성 알고리즘을 이용하여 두 서열 간의 최적의 상동성의 세그먼트를 찾는다. 특정한 서열이, 예를 들면, 본 발명에 따른 참조 서열에 95% 동일한지 확인하기 위해 BESTFIT 또는 어떠한 다른 서열 정렬 프로그램을 이용할 때, 동일성의 백분율이 참조 폴리펩타이드 서열의 전장에 대해 계산되도록 그리고 참조 서열 내의 아미노산의 총 수의 최대 5%의 상동성 내의 갭이 허용되도록 파라미터가 물론 설정된다.

[0086] 본 발명의 목적을 위해, 퍼센트 서열 동일성은 12의 갭 오픈 페널티 및 2의 갭 확대 페널티, 62의 BLOSUM 매트릭스를 갖는 아핀 갭 서치(affine gap search)를 이용하는 Smith-Waterman 상동성 서치 알고리즘을 이용하여 확인될 수 있다. Smith-Waterman 상동성 서치 알고리즘은 문헌[Smith 및 Waterman (1981) *Adv. Appl. Math.* 2:482-489]에 교시되어 있다. 변이체는, 예를 들면, 단지 1 내지 15 아미노산 잔기, 단지 1 내지 10 아미노산 잔기, 예컨대 6-10, 단지 5, 단지 4, 3, 2, 또는 심지어 1 아미노산 잔기가 참조 항-SEMA4D 항체(예를 들면, MAb VX15/2503, 67 또는 76)와 상이할 수 있다.

[0087] "서열 동일성"의 백분율은 또한 비교 윈도우에 대해 2개의 최적으로 정렬된 서열을 비교함으로써 확인될 수 있다. 비교를 위해 서열을 최적으로 정렬하기 위해, 비교 윈도우 내의 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드 서열의 부분은 갭으로 불리는 부가 또는 결실을 포함할 수 있는 반면, 참조 서열은 일정하게 유지된다. 최적 정렬은, 심지어 갭을 이용하여, 참조 및 비교기(comparator) 서열 사이에 "동일한" 위치의 가장 큰 가능한 수를 생성하는 상기 정렬이다. 두 서열 간의 백분율 "서열 동일성"은 2004년 9월 1일자로 미국 국립생물공학정보센터로부터 이용가능한 프로그램 "BLAST 2 서열"의 버전을 이용하여 확인될 수 있고, 상기 프로그램은 프로그램 BLASTN(뉴클레오타이드 서열 비교를 위함) 및 BLASTP(폴리펩타이드 서열 비교를 위함)를 포함하고, 상기 프로그램은 Karlin 및 Altschul(*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90(12):5873-5877, 1993)의 알고리즘에 기반한다. "BLAST 2 Sequences"를 이용할 때, 2004년 9월 1일자로 디풀트 파라미터였던 파라미터들이 단어 크기 (3), 오픈 갭 페널티 (11), 확대 갭 페널티 (1), 갭 드롭-오프 (gap drop-off) (50), 기대 값 (10) 및 비제한적으로 매트릭스 옵션을 포함하는 임의의 다른 필요한 파라미터를 위해 사용될 수 있다.

[0088] 항-SEMA4D 항체의 불변 영역은 수많은 방식으로 효과기 기능을 변경하기 위해 돌연변이될 수 있다. 예를 들면, 미국 특허 제6,737,056호 B1 및 미국 특허 출원 공개 제2004/0132101호 A1을 참조하며, 이는 Fc 수용체에 결합하는 항체를 최적화하는 Fc 돌연변이를 개시하고 있다.

[0089] 본원에 제공된 방법에서 유용한 어떤 항-SEMA4D 항체 또는 단편, 변이체 또는 그것의 유도체에서, Fc 부분은 당해기술에서 공지된 기술을 이용하여 효과기 기능을 감소시키기 위해 돌연변이될 수 있다. 예를 들면, 불변 영역 도메인의 결실 또는 불활성화(첨 돌연변이 또는 다른 수단을 통해)는 순환하는 변형된 항체의 Fc 수용체 결합을 감소시켜 종양 국재화를 증가시킬 수 있다. 다른 경우, 본 발명과 일치된 불변 영역 변형은 보체 결합을 완화하여 혈청 반감기를 감소시킨다. 불변 영역의 또 다른 변형은 디설파이드 연결기 또는 올리고당 모이어티를 변형하는데 사용될 수 있고, 이는 증가된 항원 특이성 또는 항체 유연성으로 인해 향상된 국재화를 가능하게 한다. 종양 국재화, 생체분포 및 혈청 반감기와 같은, 수득된 생리적 프로파일, 생체이용률 및 다른 생화학적 효과는, 과도한 실험과정 없이 잘 알려진 면역학적 기술을 이용하여 쉽게 측정되고 정량화될 수 있다. 본원에 제공된 방법에서 사용하기 위한 항-SEMA4D 항체는, 예를 들면, 공유 결합이 항체가 그의 동족 에피토프에 특이적으로 결합하는 것을 방지하지 못하도록 상기 항체에 임의의 유형의 문자를 공유 결합하여 변형된 유도체를 포함한다. 제한하는 것이 아닌 예를 들면, 항체 유도체는, 예를 들면, 당화, 아세틸화, 페길화, 인산화, 아미드화, 공지된 보호/차단 그룹에 의한 유도체화, 단백분해 절단, 세포성 리간드 또는 다른 단백질에의 연결 등에 의해 변형된 항체를 포함한다. 임의의 수많은 화학적 변형은, 비제한적으로 특이적 화학적 절단, 아세틸화, 포르밀화 등을 포함하는 공지된 기술에 의해 수행될 수 있다. 추가로, 유도체는 하나 이상의 비-고전적 아미노산을 함유할 수 있다.

[0090] "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 잔기가 유사한 전하를 갖는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체되는 것이다.

유사한 전하를 갖는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 패밀리는 당해기술에서 정의되어 왔다. 이들 패밀리는 염기성 측쇄(예를 들면, 라이신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄(예를 들면, 아스파르트산, 글루탐산), 전하를 띠지 않는 극성 측쇄(예를 들면, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인), 무극성 측쇄(예를 들면, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-분지형 측쇄(예를 들면, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄(예를 들면, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 갖는 아미노산을 포함한다. 대안적으로, 예컨대 포화 돌연변이유발에 의해 코딩 서열의 모두 또는 일부에 무작위로 돌연변이가 도입될 수 있고, 활성(예를 들면, 항-SEMA4D 폴리펩타이드에 결합하는 능력, 그의 수용체와의 SEMA4D 상호작용을 차단하는 능력, 또는 대상, 예를 들면, 염증성 장애 또는 죽상경화증을 갖는 환자에서 플라크 형성을 감소시키고, 저해하고, 억제하고/거나 지연시키는 능력)을 보유하는 돌연변이를 식별하기 위해 수득된 돌연변이는 생물학적 활성에 대해 스크리닝될 수 있다.

[0091] 예를 들면, 항체 분자의 프레임워크 영역에만 또는 CDR 영역에만 돌연변이를 도입할 수 있다. 도입된 돌연변이는 침묵 돌연변이(silent mutation) 또는 중립 미스센스 돌연변이(neutral missense mutation)일 수 있으며, 즉, 항원에 결합하는 항체의 능력에 전혀 또는 거의 효과를 미치지 않을 수 있다. 이러한 유형의 돌연변이는 코돈 용법을 최적화하거나, 또는 하이브리도마의 항체 생산을 개선하는데 유용할 수 있다. 대안적으로, 비-중립 미스센스 돌연변이는 항원에 결합하는 항체의 능력을 변경할 수 있다. 당해분야의 숙련가는 *w*원 결합 활성에서의 변경이 없는 것 또는 결합 활성에서의 변경(예를 들면, 항원 결합 활성의 개선 또는 항체 특이성의 변화)이 없는 것과 같은 원하는 특성을 갖는 돌연변이 분자를 설계하고 시험할 수 있을 것이다. 돌연변이유발 후, 인코딩된 단백질은 일상적으로 발현될 수 있고, 인코딩된 단백질의 기능적 및/또는 생물학적 활성(예를 들면, SEMA4D 폴리펩타이드의 적어도 하나의 애피토프에 면역특이적으로 결합하는 능력)은 본원에 기재된 기술을 이용하여 또는 당해기술에서 공지된 일상적인 변형 기술에 의해 확인될 수 있다.

[0092] 어떤 구현예에서, 본원에 제공된 방법에서 사용하기 위한 항-SEMA4D 항체는 적어도 하나의 최적화된 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. "최적화된 CDR"은 최적화된 CDR을 포함하는 항-SEMA4D 항체에게 부여되는 결합 친화도 및/또는 항-SEMA4D 활성을 개선하기 위해 CDR이 변형되거나 최적화되었음을 의도한다. "항-SEMA4D 활성" 또는 "SEMA4D 차단 활성"은 SEMA4D와 관련된 하기 활성 중 하나 이상을 조절하는 활성을 포함할 수 있다: B 세포 활성화, 응집 및 생존; CD40-유도된 증식 및 항체 생산; T 세포의 준적 항원에 대한 항체 반응; T 세포 또는 다른 면역 세포 증식; 수지상 세포 성숙; 탈수초화 및 축삭 변성; 만능 신경 전구체 및/또는 희소돌기교세포의 세포자멸사; 내피 세포 이동의 유도; 자발적인 단핵구 이동의 저해; 세포 표면 플렉신-B1 또는 다른 수용체에의 결합, 또는 SEMA4D+ 세포의 표면 상에서 발현된 가용성 SEMA4D 또는 SEMA4D와 관련된 임의의 다른 활성. 항-SEMA4D 활성은 또한 비제한적으로, 럼프종을 포함하는 어떤 유형의 암, 자가면역 질환, 중추신경계(CNS) 및 말초 신경계(PNS) 염증성 질환을 포함하는 염증성 질환, 이식 거부, 및 침습성 신생혈관형성을 포함하는, SEMA4D 발현과 관련된 질환의 발생정도 또는 중증도의 감소에 기인할 수 있다. 최근 항-SEMA4D MAbs BD16 및 BB18에 기반한 최적화된 항체의 예는 그 전체가 참고로 본원에 편입된 US 공개 제2008/0219971호 A1, 국제 특허 출원 WO 제93/14125호 및 문헌[Herold *et al.*, *Int. Immunol.* 7(1): 1-8 (1995)]에 기재되어 있다. 상기 변형은 항-SEMA4D 항체가 SEMA4D 항원에 대한 특이성을 보유하고 개선된 결합 친화도 및/또는 개선된 항-SEMA4D 활성을 갖도록 CDR 내의 아미노산의 잔기를 대체하는 것을 포함할 수 있다.

IV. 치료적 항-SEMA4D 항체를 이용한 치료 방법

[0094] 본 발명의 방법은 죽상경화증을 갖는 대상에서 죽상경화증을 치료하기 위해, 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 이의 항원 결합 단편, 변이체, 및 유도체를 포함하는, 항체를 사용하는 것에 관한 것이다. 어떤 구현예에서 내피 세포는 SEMA4D 수용체를 발현하고, 어떤 구현예에서 상기 수용체는 플렉신-B1이다. 하기 논의가 항-SEMA4D 항체의 투여를 언급하고 있음에도 불구하고, 본원에 기재된 방법은, 예를 들면 SEMA4D, 예를 들면, 인간, 마우스, 또는 인간 및 마우스 SEMA4D에 특이적으로 결합할 수 있고, SEMA4D 중화 활성을 갖고/거나 SEMA4D와 그의 수용체, 예를 들면, 플렉신-B1과의 상호작용을 차단할 수 있는, 본 발명의 항-SEMA4D 항체의 원하는 특성을 보유하는 이들 항-SEMA4D 항체의 항체의 항원 결합 단편, 변이체, 및 유도체에도 적용될 수 있다. 본원에서 기재된 방법은 또한 SEMA4D, 예를 들면, 인간, 마우스, 또는 인간 및 마우스 SEMA4D에 특이적으로 결합하고, SEMA4D 중화 활성을 갖고/거나, SEMA4D와 그의 수용체와의 상호작용을 차단할 수 있는, 본 발명의 항체의 원하는 특성을 보유하는 다른 생물학적 생성물 또는 소분자 약물에 적용될 수 있다.

[0095] 일 구현예에서, 치료는 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 본원에 기재된 바와 같은 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 관상동맥 질환을 갖거나 관상동맥 질환이 생길 위험성이 있는 환자에게 적용 또는 투여하는 것을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 치료는 또한 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함

하는 약제학적 조성물을 관상동맥 질환을 갖거나 또는 관상동맥 질환이 생길 위험성이 있는 환자에게 적용하거나 투여하는 것을 포함하는 것으로 의도된다.

[0096] 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 본원에 기재된 바와 같은 항체 또는 이의 결합 단편은 죽상경화증을 포함하는 염증성 질환의 치료에 유용하다. 일부 구현예에서, 죽상경화증의 치료는 죽상경화성 플라크의 형성을 감소시키고, 저해하고, 억제하고/거나 지연시키거나 및/또는 죽상경화성 플라크의 성장을 감소시키고, 저해하고, 억제하고/거나 지연시킬 수 있다. 죽상경화성 플라크는 시간이 경과함에 따라 동맥을 경화시키고 좁히는 혈액에서 발견되는 지방, 콜레스테롤, 칼슘, 및 다른 물질의 축적으로서, 이는 시간이 경과함에 따라 동맥을 경화시키고 좁히고, 이에 의해 산소-풍부 혈액의 흐름을 체내 기관 및 다른 부분에 제한한다.

[0097] 다른 구현예에서, 죽상경화증의 치료는 죽상경화성 플라크에서 또는 그 주변에서 일어나는 신생혈관형성을 감소시키거나 줄일 수 있다. 신생혈관형성은 인간 대동맥 및 관상동맥 동맥의 죽상경화성 플라크에서 일어난다 (Carmeliet P, *Nature Med* 9: 653-660, 2003; 및 Zhang Y *et al.*, *Am J Pathol* 143: 164-172, 1993). 이들 신생혈관은 본래 외막 혈관의 맥관으로부터 유래되며 두꺼워진 죽상경화성 내막 성장에 영양을 공급하는 역할을 한다(Kumamoto M *et al.*, *Hum Pathol* 26: 450-456, 1995). 따라서, 신생혈관형성은 죽상경화성 플라크 성장 및 탈안정화의 주요 원인이다(Barger AC *et al.*, *N Engl J Med* 310: 175-177, 1984). 몇 가지 연구들은 신생혈관형성이 죽종 형성을 촉진하는 기전을 조사하였다(Moreno PR *et al.*, *Circulation* 113: 2245-2252, 2006; 및 Cheng XW *et al.*, *Hypertension* 57:981-989, 2011). 혈관의 맥관 밀도는 플라크 내로 침입하는 염증성 단핵 세포의 수와 매우 관련이 높으므로, 플라크 내의 새로운 혈관 형성은 백혈구가 죽상경화성 플라크 내로 이동하기 위한 결정적인 유입 부위를 제공하는 것으로 여겨진다(O'Brien ER *et al.*, *Am J Pathol* 145: 883-894, 1994; 및 Moulton KS *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 4736-4741, 2003). 플라크 신생혈관으로부터의 출혈은 죽종의 지질핵에서 혈액 지질 퇴적을 도움으로써 플라크 크기를 더 크게 한다(Kolodgie FD 등, *N Engl J Med* 349: 2316-25, 2003). 안지오스타틴 또는 TNP-4570을 포함하는 신생혈관형성 억제제는 죽상경화증-prone 아포지질단백질 E-결핍된(ApoE-/-) 마우스에서 새로운 혈관 형성을 줄임으로써 플라크 성장을 억제하는 것으로 나타났으며, 이는 죽상경화증의 진행에서 신생혈관형성의 기능적 중요성을 보여준다(Moulton KS *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 4736-4741, 2003; 및 Moulton KS *et al.*, *Circulation* 99: 1726-32, 1999). 더욱이, 죽상경화성 플라크 내에서 형성된 신생혈관은 혈액으로부터 플라크 내로 분비되는 메탈로프로테이나제의 양을 증가시키고, 최종적으로 죽상판 파열 및 혈전 형성을 유도함으로써 죽상경화증을 악화시킬 수 있다(Jonsson-Rylander AC *et al.*, *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25: 180-185, 2005.).

[0098] 다른 구현예에서, 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 본원에 기재된 바와 같은 항체 또는 이의 결합 단편은 다른 염증성 질환의 치료에 유용할 수 있다. 그러한 질환의 예는, 비체한적으로, 심혈관 질환, 류마티스성 관절염, 위장관 질환, 신경염증성 질환(예를 들면, 다발성 경화증), 및 심지어 어떤 유형의 암(예를 들면, 담낭 암종)을 포함할 수 있다.

[0099] 일 구현예에서, 본 발명은 특히 죽상경화성 플라크의 형성을 저해하고, 감소시키고, 예방하고, 최소화하고/거나 지연시키고 및/또는 죽상경화성 플라크 내의 신생혈관형성을 저해하고, 감소시키고, 예방하고, 최소화하고/거나 지연시키기 위해 죽상경화증의 치료 또는 예방에서 사용하기 위한 약제로서, 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체의 사용에 관한 것이다.

[0100] 본 발명의 방법에 따르면, 적어도 하나의 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 본원의 다른 곳에서 정의된 바와 같은 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체는 죽상경화증에 대한 양성 치료 반응을 촉진하는데 사용될 수 있다. 죽상경화증에 대한 "양성 치료적 반응"은 플라크 형성, 플라크 신생혈관형성, 플라크 성장과 관련된 질환의 개선, 및/또는 상기 질환과 관련된 증상의 개선을 포함하는 것으로 의도된다. 즉, 지연된 죽상경화성 플라크 형성, 감소된 플라크의 신생혈관형성, 감소된 염증, 감소된 플라크의 성장, 이들의 조합 등이 관찰될 수 있다. 그러한 양성 치료적 반응은 투여 경로에 제한되지 않으며, 공여체, 공여체 조직(예를 들면 기관 관류와 같음), 숙주, 이들의 임의의 조합에의 투여 등을 포함할 수 있다. 특히, 본원에 제공된 방법은 환자에서 죽상경화증의 발전을 저해하거나, 예방하거나, 감소시키거나, 완화하거나, 또는 줄이는 것에 관한 것이다. 따라서, 예를 들면, 질환의 개선은 임상적으로 관측 가능한 증상의 부재, 플라크 형성 또는 플라크 성장의 감소, 저해, 억제 및/또는 지연, 신생혈관형성의 감소, 저해, 억제 및/또는 지연, 염증의 감소, 또는 플라크의 형태학 또는 기능의 변화를 특징으로 할 수 있다.

[0101] 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체는 죽상경화증을 위한 적어도 하나 이상의 다른 치료와 조합하여 사용될 수 있고; 여기서 추가의 요법은 항-SEMA4D 결합 분자, 예를

들면, 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체 요법 이전에, 동안에, 또는 이후에 투여된다. 따라서, 조합된 요법이 또 다른 치료제의 투여와 조합된, 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체의 투여를 포함하는 경우, 본 발명의 방법은 동시 투여 또는 어느 한 순서의 연속적인 투여와 함께, 별개의 제형 또는 단일 약제학적 제형을 이용한 공투여를 포함한다.

[0102] 어떤 구현예에서의 개시내용의 방법 및 시스템을 적용하기 위해, 환자로부터의 샘플 또는 영상이 하기 중 하나를 포함하는 요법의 투여 전, 후, 또는 전후 모두에 수득될 수 있다: (1) 세마포린-4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자의 유효량; 또는 (2) 죽상경화증 또는 염증성 질환을 갖는 대상에게 세마포린-4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자의 유효량. 일부 경우에, 연속적인 샘플 또는 영상이 요법이 개시된 후, 요법이 중지된 후, 또는 요법의 전후 모두에 수득될 수 있다. 샘플 또는 영상은, 예를 들면, 의료 제공자(예를 들면, 의사) 또는 의료 혜택 제공자에 의해 요청될 수 있고, 수득되고/거나 동일하거나 상이한 의료 제공자(예를 들면, 간호사, 병원) 또는 임상 실험실에 의해 가공될 수 있고, 가공 후, 결과가 또 다른 의료 제공자, 의료 혜택 제공자, 또는 환자에게 전달될 수 있다. 유사하게, 하나 이상의 의료 제공자, 의료 혜택 제공자, 및/또는 임상 실험실에 의해 하나 이상의 스코어의 측정/결정, 스코어간의 비교, 스코어의 평가 및 치료 결정이 수행될 수 있다.

[0103] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "의료 제공자"는 살아있는 대상, 예를 들면, 인간 환자와 직접 상호작용하고 관리하는 개인 또는 기관을 가리킨다. 의료 제공자의 비제한적인 예는 의사, 간호사, 기사, 치료사, 약사, 상담사, 대체 의학 시술자, 의료 설비, 의사의 사무실, 병원, 응급실, 병동, 긴급 보호 센터, 대체 의학 병동/설비, 및 일반적인 의료, 특수 의료, 수술, 및/또는 임의의 다른 유형의 치료, 평가, 유지, 요법, 약물치료 및/또는 조언을 비제한적으로 포함하는, 일반 및/또는 특수 치료, 평가, 유지, 요법, 약물치료, 및/또는 환자의 건강 상태의 전부 또는 어느 일부와 관련된 조언을 제공하는 임의의 다른 독립체를 포함한다.

[0104] 일부 양태에서, 의료 제공자는 하기 중 어느 것을 포함하는 요법을 투여하도록 또 다른 의료 제공자를 관리하거나 지시할 수 있다: (1) 세마포린-4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자의 유효량; 또는 (2) 세마포린-4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자의 유효량, 여기서 상기 대상은 죽상경화증 또는 염증성 질환을 갖거나, 또는 이를 갖는 것으로 의심된다. 의료 제공자는 또 다른 의료 제공자 또는 환자가 하기 행위를 수행하도록 시행하거나 지시할 수 있다: 샘플 또는 영상을 수득하고, 샘플 또는 영상을 가공하고, 샘플 또는 영상을 제출하고, 샘플 또는 영상을 받고, 샘플 또는 영상을 전달하고, 샘플 또는 영상을 분석하거나 측정하고, 샘플 또는 영상을 정량화하고, 샘플 또는 영상을 분석/측정/정량화한 후에 수득된 결과를 제공하고, 샘플 또는 영상을 분석/측정/정량화한 후에 수득된 결과를 받고, 하나 이상의 샘플 또는 영상을 분석/측정/정량화한 후에 수득된 결과를 비교하고/스코어를 매기고, 하나 이상의 샘플로부터의 비교/스코어를 제공하고, 하나 이상의 샘플 또는 영상으로부터 비교/스코어를 수득하고, 요법을 투여하고(예를 들면, (1) 세마포린-4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자의 유효량; 또는 (2) 세마포린-4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자의 유효량, 여기서 상기 대상은 죽상경화증 또는 염증성 질환을 갖거나, 또는 이를 갖는 것으로 의심됨), 요법의 투여를 개시하고, 요법의 투여를 중지하고, 요법의 투여를 계속하고, 요법의 투여를 일시적으로 중단하고, 투여된 치료제의 양을 증가시키고, 투여된 치료제의 양을 감소시키고, 치료제의 양의 투여를 계속하고, 치료제의 투여 빈도를 증가시키고, 치료제의 투여 빈도를 감소시키고, 치료제에 대한 동일한 투여 빈도를 유지하고, 요법 또는 치료제를 적어도 또 다른 요법 또는 치료제로 대체하고, 요법 또는 치료제를 적어도 또 다른 요법 또는 추가의 치료제와 조합한다.

[0105] 일부 양태에서, 의료 혜택 제공자는, 예를 들면, 샘플 또는 영상의 수집, 샘플 또는 영상의 가공, 샘플 또는 영상의 제출, 샘플 또는 영상의 수령, 샘플 또는 영상의 전달, 샘플 또는 영상의 분석 또는 측정, 샘플 또는 영상의 정량화, 샘플 또는 영상을 분석/측정/정량화한 후에 수득된 결과의 제공, 샘플 또는 영상을 분석/측정/정량화한 후에 수득된 결과의 전달, 하나 이상의 샘플 또는 영상을 분석/측정/정량화한 후에 수득된 결과의 비교/스코어 매기기, 하나 이상의 샘플 또는 영상으로부터의 비교/스코어의 전달, 요법 또는 치료제의 투여, 요법 또는 치료제의 투여의 개시, 요법 또는 치료제의 투여의 중단, 요법 또는 치료제의 투여의 계속, 요법 또는 치료제의 투여의 일시적 중단, 투여된 치료제의 양의 증가, 투여된 치료제의 양의 감소, 치료제의 양의 투여의 계속, 치료제의 투여 빈도의 증가, 치료제의 투여 빈도의 감소, 치료제에 대한 동일한 투여 빈도의 유지, 요법 또는 치료제를 적어도 또 다른 요법 또는 치료제로 대체, 또는 요법 또는 치료제의 적어도 또 다른 요법 또는 추가의 치료제와의 조합을 승인하거나 거절할 수 있다.

[0106] 또한, 의료 혜택 제공자는, 예를 들면, 요법의 처방을 승인하거나 거절하고, 요법의 적용범위를 승인하거나 거절하고, 요법의 비용에 대한 상환을 승인하거나 거절하고, 요법에 대한 적격성을 결정하거나 거절하는 것 등을

할 수 있다.

[0107] 일부 양태에서, 임상 실험실은, 예를 들면, 샘플을 수집하거나 수득하거나, 샘플을 가공하거나, 샘플을 제출하거나, 샘플을 받거나, 샘플을 전달하거나, 샘플을 분석 또는 측정하거나, 샘플을 정량화하거나, 샘플을 분석/측정/정량화한 후에 수득된 결과를 제공하거나, 샘플을 분석/측정/정량화한 후에 수득된 결과를 받거나, 하나 이상의 샘플을 분석/측정/정량화한 후에 수득된 결과를 비교하거나/스코어를 매기거나, 하나 이상의 샘플로부터 비교/스코어를 제공하거나, 하나 이상의 샘플로부터 비교/스코어를 수득하거나, 또는 다른 관련된 활동을 할 수 있다.

[0108] 일부 양태에서, 의료 제공자, 임상 실험실, 또는 다른 독립체는 예를 들면, 영상을 수집하거나 수득하거나, 영상을 가공하거나, 영상을 제출하거나, 영상을 받거나, 영상을 전달하거나, 영상을 분석 또는 측정하거나, 영상을 정량화하거나, 영상을 분석/측정/정량화한 후에 수득된 결과를 제공하거나, 영상을 분석/측정/정량화한 후에 수득된 결과를 받거나, 하나 이상의 영상을 분석/측정/정량화한 후에 수득된 결과를 비교하고/스코어 매기거나, 하나 이상의 영상으로부터 비교/스코어를 제공하거나, 하나 이상의 영상으로부터 비교/스코어를 수득하거나, 또는 다른 관련된 활동을 할 수 있다. 그와 같은 양태에서 사용될 수 있는 영상은, 비제한적으로, 관상동맥 혈관조영술, 혈관내 초음파(IVUS), 경동맥 초음파, 관상동맥 전산화단층촬영법(CT), 자기 공명 영상(MRI), 양전자 방출 단층촬영(PET), 광간섭 단층촬영(OCT), 근적외선 분광학(NIRS), 및 NIR 형광에 의해 수득된 영상을 포함한다. 어떤 구현예에서, 문헌에 기재된 영상화 기술이 사용될 수 있다(*Tardif et al. Circ Cardiovasc Imaging 4:319-333 (2011)*).

VII. 진단 및 치료 방법

[0110] 어떤 구현예에서, 이러한 개시내용은, 만약 대상의 B 세포, T 세포 또는 B 세포 및 T 세포 모두의 수준이 B 세포, T 세포 또는 B 세포 및 T 세포 모두의 미리 정해진 역치 수준을 초과하거나, 또는 죽상경화증을 갖는 다른 환자로부터의 샘플 또는 건강한 비-죽상경화성 환자로부터의 샘플을 비제한적으로 포함할 수 있는 하나 이상의 대조군 샘플에서의 B 세포, T 세포 또는 B 세포 및 T 세포 모두와 비교하여 상승되면, 세마포린-4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자의 유효량의 조합을 투여하는 것을 포함하는, B 세포, T 세포 또는 B 세포 및 T 세포 모두의 상승된 수준을 갖는 대상, 예를 들면, 죽상경화증을 갖는 환자를 치료하는 방법을 제공한다. B 세포, T 세포, 또는 B 세포 및 T 세포 수준은 의료 제공자에 의해 또는 임상 실험실에 의해 측정될 수 있고, 여기서 샘플, 예를 들면, 혈액 샘플은 의료 제공자에 의해 또는 임상 실험실에 의해 환자로부터 수득된다. 일 양태에서, 환자의 B 세포, T 세포 또는 B 세포 및 T 세포 모두의 수준은, 혈구계산-기반의 면역표현형 분석에서 측정될 수 있다.

[0111] 어떤 구현예에서, 이러한 개시내용은 또한, 만약 상기 대상으로부터 수득된 샘플에서의 C-반응성 단백질(CRP) 및/또는 저밀도 지질단백질(LDL) 수준이 미리 정해진 역치 수준을 초과하거나, 또는 하나 이상의 대조군 샘플에서의 CRP 및/또는 LDL 수준과 비교하여 상승되면, 세마포린-4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자의 유효량을 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 대상, 예를 들면, 죽상경화증을 갖는 환자를 치료하는 방법을 제공한다. 대상에서의 CRP 및/또는 LDL 수준 발현은 의료 제공자에 의해 또는 임상 실험실에 의해 측정될 수 있다. 어떤 양태에서, CRP 및/또는 LDL 수준은, 예를 들면, 영상화 기술을 통해, 원위치에서(*in situ*) 측정될 수 있다. 어떤 양태에서 CRP 및/또는 LDL 수준 발현은 상기 대상으로부터 수득된 샘플에서 측정될 수 있다. 일 양태에서, CRP 및/또는 LDL 수준은 CRP 및/또는 LDL을 인식하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 이용하는 면역 분석에서 측정될 수 있다. 또 하나의 양태에서 CRP 및/또는 LDL 수준은 정량적 유전자 발현 분석, 예를 들면, RT-PCR 분석을 통해 측정될 수 있다.

[0112] 이러한 개시내용은 또한 대상, 예를 들면, 죽상경화증 또는 염증성 질환을 갖는 환자가 하기 중 어느 것을 이용한 치료로부터 이로울 것인지에 관한 의료 제공자, 의료 이점 제공자, 또는 임상 실험실에 의한 결정을 용이하게 하는 방법, 분석, 및 키트를 제공한다: (1) 세마포린-4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자의 유효량; 또는 (2) 세마포린-4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자의 유효량, 여기서 상기 대상은 죽상경화증 또는 염증성 질환을 갖거나, 또는 이를 가질 것으로 의심된다. 본원에 제공된 방법, 분석, 및 키트는 대상, 예를 들면, 죽상경화증 또는 염증성 질환을 갖는 환자가, (1) 세마포린-4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자의 유효량 및 적어도 하나의 다른 면역 조절 요법의 유효량; 또는 (2) 세마포린-4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자의 유효량을 이용한 치료로부터 이로울 것인지 여부에 관한 의료 제공자, 의료 이점 제공자, 또는 임상 실험실에 의한 결정을 용이하게 할 것이다.

[0113] 본 개시내용은, 만약 환자로부터 수득된 샘플에서의 B-세포, T-세포, 또는 T-세포 및 B-세포의 수준이 미리 정

해진 역치 수준을 초과하거나, 또는 하나 이상의 대조군 샘플에서의 B-세포, T-세포, 또는 T-세포 및 B-세포의 수준을 초과하면, 세마포린-4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상, 예를 들면, 죽상경화증을 갖는 환자를 치료하는 방법을 제공한다. 일부 양태에서, 샘플은 환자로부터 수득되고 샘플 내의 B-세포, T-세포, 또는 T-세포 및 B-세포의 수준의 측정을 위해, 예를 들면, 임상 실험실에 제출된다.

[0114] 본 개시내용은 또한 세마포린-4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 죽상경화성 플라크를 갖는 것으로 확인된 대상, 예를 들면, 죽상경화증을 갖는 환자를 치료하는 방법을 제공한다. 어떤 구현예에서, 만약 환자에서의 죽상경화성 플라크의 수, 크기, 또는 특성이 미리 정해진 역치 수, 크기, 또는 특성을 초과하거나, 또는 만약 상기 대상에서의 죽상경화성 플라크의 수, 크기, 또는 특성이 하나 이상의 대조군 샘플과 비교할 때 죽상경화증을 나타내면, 상기 대상은 죽상경화성 플라크를 갖는 것으로 확인되며 치료된다. 일부 양태에서, 샘플은 환자로부터 수득되고, 샘플 내의 CRP 및/또는 LDL의 수준의 측정을 위해, 예를 들면, 임상 실험실에 제출된다. 어떤 다른 양태에서, 환자는 죽상경화성 플라크의 수, 크기, 또는 특성을 확인하기 위해 영상화 기술로 처리된다. 그와 같은 방법에서 사용될 수 있는 영상은, 비제한적으로, 관상동맥 혈관조영술, 혈관내 초음파(IVUS), 경동맥 초음파, 관상동맥 전산화단층촬영법(CT), 자기 공명 영상(MRI), 양전자 방출 단층촬영(PET), 광간섭 단층촬영(OCT), 근적외선 분광학(NIRS), 및 NIR 형광에 의해 수득된 영상을 포함한다. 어떤 구현예에서, 문헌에 기재된 영상화 기술이 사용될 수 있다(*Tardif et al. Cire Cardiovasc Imaging. 2011;4:319-333*). 어떤 구현예에서, 만약 죽상경화성 플라크가 비제한적으로, 큰 지질 코어, 낮은 SMC 함량, 높은 대식세포 함량, 및 얇은 섬유 캡을 포함하는 특징을 갖는 "취약한(vulnerable) 죽상경화성 플라크"이면, 치료가 투여된다. 대상에서의 "취약한 죽상경화성 플라크"의 존재는 평점 체계(*Virmani et al. Arterioscler Thromb Vasc Biol 20(5): 1262-75 (2000)*) 또는 다른 기술(*van Lammeren et al., Current Current Cardiology Reviews 7:22-27 (2011)*)에 의해 확인될 수 있다. 어떤 구현예에서, 그와 같은 "취약한 죽상경화성 플라크"를 갖는 것으로 확인된 대상은 본원에 제공된 방법에 따라 치료된다.

[0115] (a) 샘플 내의 B-세포, T-세포, 또는 T-세포 및 B-세포의 수준의 측정을 위해, 또는 CRP 및/또는 LDL의 측정을 위해 대상으로부터 수득된 샘플을 제출하는 단계; 및, (b) 만약 대상의 B-세포, T-세포, 또는 T-세포 및 B-세포의 수준, 또는 대상의 CRP 및/또는 LDL의 수준이 미리 정해진 역치 수준을 초과하거나, 또는 하나 이상의 대조군 샘플에서의 B-세포, T-세포, 또는 T-세포 및 B-세포의 수준, 또는 CRP 및/또는 LDL의 수준을 초과하면, 세마포린-4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자의 유효량을 대상에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상, 예를 들면, 죽상경화증을 갖는 환자를 치료하는 방법이 또한 제공된다.

[0116] 개시내용은 또한 (a) 대상, 예를 들면, 죽상경화증을 갖는 환자로부터 수득된 샘플에서의 B-세포, T-세포, 또는 T-세포 및 B-세포의 수준을 측정하는 단계, 여기서 샘플에서의 대상의 B-세포, T-세포, 또는 T-세포 및 B-세포의 수준은, 예를 들면, 혈구계산-기반의 면역표현형 분석에서 측정되며; (b) 샘플에서의 B-세포, T-세포, 또는 T-세포 및 B-세포의 수준이 미리 정해진 역치 수준을 초과하거나, 또는 하나 이상의 대조군 샘플에서의 B-세포, T-세포, 또는 T-세포 및 B-세포의 수준을 초과하는지 여부를 확인하는 단계; 및, (c) 만약 대상의 B-세포, T-세포, 또는 T-세포 및 B-세포의 수준이 미리 정해진 역치 수준을 초과하거나, 또는 하나 이상의 대조군 샘플에서의 B-세포, T-세포, 또는 T-세포 및 B-세포의 수준을 초과하면, 세마포린-4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자의 유효량을 대상에게 투여하도록 의료 제공자에게 조언하거나, 지시하거나, 또는 승인하는 단계를 포함하는, 대상, 예를 들면, 죽상경화증을 갖는 환자를 치료하는 방법을 제공한다.

[0117] 일부 양태에서, 대상의 B-세포, T-세포, 또는 T-세포 및 B-세포의 수준은 혈구계산-기반의 면역표현형 분석에서 측정될 수 있다. 어떤 양태에서, 상기 분석은, 예를 들면, "현장(point of care)" 진단 키트로서 제품화된 본원에 기재된 바와 같은 분석을 이용하여, 환자를 치료하는 의료 전문가에 의해, 대상으로부터 수득된 샘플에 대해 수행될 수 있다. 일부 양태에서, 샘플은 대상으로부터 수득될 수 있고, 비제한적으로 본원에 기재된 바와 같은 혈구계산-기반의 면역표현형 분석을 이용하는 것을 포함하는, 의료 전문가의 지시에 따라 샘플에서의 B-세포, T-세포, 또는 T-세포 및 B-세포의 수준을 측정하기 위해, 예를 들면, 임상 실험실에 제출될 수 있다. 어떤 양태에서, 상기 분석을 수행하는 임상 실험실은 대상의 B-세포, T-세포, 또는 T-세포 및 B-세포의 수준이 미리 정해진 역치 수준을 초과하거나, 또는 하나 이상의 대조군 샘플에서의 B-세포, T-세포, 또는 T-세포 및 B-세포의 수준을 초과하면, 상기 대상이 세마포린-4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자의 유효량을 이용한 치료로부터 이로울 수 있는지 여부에 관해 의료 제공자 또는 의료 혜택 제공자에게 조언할 수 있다.

[0118] 어떤 양태에서, 환자의 보험이 세마포린-4D(SEMA4D)에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자를 이용한 치료를 보장할 것인지 여부의 결정을 위해 면역분석, 다른 진단 분석, 및/또는 영상화의 결과가 의료 혜택 제공자에게

제출될 수 있다.

[0119] VIII. 약제학적 조성물 및 투여 방법

항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체를 제조하고 이를 필요로 하는 대상에게 투여하는 방법은 당해분야의 숙련가에게 잘 알려져 있거나 당해분야의 숙련가에 의해 쉽게 결정된다. 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체의 투여 경로는, 예를 들면, 경구, 비경구, 흡입에 의해 또는 국소일 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이 용어 비경구는, 예를 들면, 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 피하, 직장, 또는 질 투여를 포함한다. 이러한 모든 투여 형태가 본 발명의 범위 내에 속하는 것으로서 명확하게 고려되긴 하지만, 투여를 위한 형태의 한 가지 예는 주사용, 특히 정맥내 또는 동맥내 주사 또는 드립용 용액일 것이다. 적합한 주사용 약제학적 조성물은 베퍼(예를 들면 아세테이트, 포스페이트 또는 시트레이트 베퍼), 계면활성제(예를 들면 폴리소르베이트), 임의로 안정제(예를 들면 인간 알부민) 등을 포함할 수 있다. 그러나, 본원의 교시와 양립가능한 다른 방법에서, 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체는 부정적인 세포성 집단의 부위에 직접적으로 전달됨으로써 병든 조직이 치료제에 노출되는 것을 증가시킬 수 있다.

[0121] 본원에서 논의된 바와 같이, 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체는 염증성 장애의 생체내 치료를 위한 약제학적으로 유효량으로 투여될 수 있다. 이와 관련하여, 상기 개시된 결합 분자는 투여를 용이하게 하고 활성제의 안정성을 촉진하기 위해 제형화될 수 있음이 인식될 것이다. 어떤 구현예에서, 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용가능한 무독성 멸균 담체, 예컨대 생리적 염수, 무독성 베퍼, 보존제 등을 포함한다. 본원의 목적을 위해, 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체의 약제학적으로 유효량은, 표적에 대한 효과적인 결합을 달성하고, 이점을 달성하는, 예를 들면, 죽상경화증을 갖는 환자에서 플라크 형성 또는 성장을 감소시키고, 저해하고, 억제하고/거나 지연시키는데 충분한 양을 의미하는 것으로 간주될 것이다.

[0122] 본 발명에서 사용되는 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하고, 이는, 예를 들면, 이온 교환기, 알루미나, 알루미늄 스테아레이트, 레시틴, 혈청 단백질, 예컨대 인간 혈청 알부민, 베퍼 물질, 예컨대 포스페이트, 글리신, 소르브산, 칼륨 소르베이트, 포화된 식물성 지방산의 부분 글리세라이드 혼합물, 물, 염 또는 전해질, 예컨대 프로타민 설페이트, 디나트륨 수소 포스페이트, 칼륨 수소 포스페이트, 염화나트륨, 아연 염, 콜로이드 실리카, 마그네슘 트리실리케이트, 폴리비닐 비닐피롤리돈, 셀룰로오스-기반 물질, 폴리에틸렌 글리콜, 나트륨 카복시메틸셀룰로오스, 폴리아크릴레이트, 약스, 폴리에틸렌-폴리옥시프로필렌-블록 폴리머, 폴리에틸렌 글리콜, 및 양모지(wool fat)를 포함한다.

[0123] 비경구 투여용 조제물은 멸균된 수성 또는 비-수용액, 혼탁액, 및 유화액을 포함한다. 비-수성 용매의 예는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물성 오일, 예컨대 올리브 오일, 및 주사가능 유기 에스테르, 예컨대 에틸 올레이트다. 수성 담체는, 예를 들면, 물, 알코올성 용액/수용액, 유화액 또는 혼탁액을 포함하고, 이는 염수 및 완충 매질을 포함한다. 본 발명에서, 약제학적으로 허용가능한 담체는, 비제한적으로, 0.01-0.1 M, 예를 들면, 0.05 M 인산염 베퍼 또는 0.8% 염수를 포함한다. 다른 일반적인 비경구 비히클은 나트륨 포스페이트 용액, 링거 텍스트로오스, 텍스트로오스 및 염화나트륨, 락테이트화된 링거, 또는 고정유를 포함한다. 정맥내 비히클은 유체 및 영양소 보충물, 전해질 보충물, 예컨대 링거 텍스트로오스에 기반한 것들 등을 포함한다. 예를 들면, 항미생물제, 항산화제, 퀼레이트제, 및 불활성 가스 등과 같은 보존제 및 다른 첨가제가 또한 존재할 수 있다.

[0124] 더 상세하게는, 주사가능한 용도에 적합한 약제학적 조성물은 멸균된 수용액(수용성인 경우) 또는 분산물 및 멸균된 주사가능 용액 또는 분산물의 즉석 제조를 위한 멸균된 분말을 포함한다. 그와 같은 경우에, 상기 조성물은 멸균되어야 하며, 주사능력이 쉬울 정도로 유체이어야 한다. 상기 조성물은 제작 및 보관의 조건하에 안정해야 하며 일부 양태에서 미생물, 예컨대 박테리아 및 진균류의 오염 활동으로부터 보존될 수 있다. 담체는, 예를 들면, 물, 에탄올, 폴리올(예를 들면, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 및 액체 폴리에틸렌 글리콜, 등), 및 적합한 이들의 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산매일 수 있다. 적절한 유체성은, 예를 들면, 레시틴과 같은 코팅의 사용에 의해, 분산의 경우 필요한 입자 크기의 유지에 의해 및 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 본원에 개시된 치료 방법에서 사용하기 위한 적합한 제형은 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co.) 16th ed. (1980)]에 기재되어 있다.

[0125] 미생물의 활동은 다양한 항균 및 항진균제, 예를 들면, 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 아스코르브산, 티메로산 등에 의해 방지될 수 있다. 어떤 양태에서, 약제학적 조성물은 조성을 내에 등장제, 예를 들면, 당,

폴리알코올, 예컨대 만니톨, 소르비톨, 또는 염화나트륨을 포함할 수 있다. 주사가능 조성물의 연장된 흡수는 조성물 내에 흡수를 지연시키는 제제, 예를 들면, 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴을 포함시킴으로써 달성될 수 있다.

[0126] 어떤 경우에, 멸균된 주사가능 용액은, 필요에 따라 본원에 열거된 성분 중 하나 또는 조합과 함께, 활성 화합물(예를 들면, 그 자체로 또는 다른 활성체와 조합된, 항-SEMA4D 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체)을 적절한 용매에서 필요한 양으로 혼입한 다음, 여과 멸균함으로써 제조될 수 있다. 일반적으로, 분산물은 활성 화합물을, 염기성 분산매 및 상기 열거된 것들로부터의 필요한 다른 성분을 함유하는 멸균된 비허를 내로 혼입함으로써 제조된다. 멸균된 주사가능 용액의 제조를 위한 멸균된 분말의 경우, 일부 양태에서, 제조 방법은 진공 건조 및 냉동-건조를 포함하고, 이는 이전에 멸균-여과된 이의 용액으로부터 활성 성분 및 임의의 추가의 원하는 성분의 분말을 생성한다. 주사용 조제물은 가공되고, 앰플, 백, 병, 주사기 또는 바이알과 같은 용기 내로 충전되고, 당해분야에서 공지된 방법에 따라 무균 조건하에 밀봉된다. 또한, 조제물은 키트의 형태로 포장되어 판매될 수 있다. 그러한 제조 물품은 관련된 조성물이 질환 또는 장애를 겪고 있거나, 질환 또는 장애에 취약한 대상을 치료하는데 유용하다는 것을 표시하는 라벨 또는 포장 삽입물을 가질 수 있다.

[0127] 비경구 제형은 단일 볼루스 용량, 주입 또는 로딩 볼루스 용량 후 유지 용량일 수 있다. 이들 조성물은 특정한 고정된 또는 가변적인 간격으로, 예를 들면, 1일 1회, 또는 "필요에 따라(as needed basis)" 투여될 수 있다.

[0128] 본 발명에서 사용되는 어떤 약제학적 조성물은, 예를 들면, 캡슐, 정제, 수성 혼탁액 또는 용액을 포함하는, 허용가능한 투여 형태로 경구 투여될 수 있다. 어떤 약제학적 조성물은 또한 코 에어로졸 또는 흡입에 의해 투여될 수 있다. 그와 같은 조성물은, 벤질 알코올 또는 다른 적합한 보존제, 생체이용률을 향상시키는 흡수촉진제, 및/또는 다른 종래의 가용화제 또는 분산제를 이용하여, 염수 중의 용액으로서 제조될 수 있다.

[0129] 단일 투여 형태를 생산하기 위해 담체 물질과 조합될, 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 단편, 변이체, 또는 유도체의 양은 치료되는 숙주 및 특정한 투여 방식에 따라 달라질 것이다. 본 조성물은 단일 용량으로서, 다중 용량으로서 또는 주입액으로 확립된 기간 동안 투여될 수 있다. 투여 요법은 최적의 원하는 반응(예를 들면, 치료 또는 예방 반응)을 제공하기 위해 조정될 수도 있다.

[0130] 본 개시내용의 범위에 따라, 항-SEMA4D 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체는 치료 효과를 미치는데 충분한 양으로 상기 언급된 치료 방법에 따라 인간 또는 다른 동물에게 투여될 수 있다. 항-SEMA4D 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 공지된 기술에 따라 본 발명의 항체를 종래의 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제와 조합함으로써 제조된 종래의 복용 형태로 상기 인간 또는 다른 동물에게 투여될 수 있다. 당해분야의 숙련가는 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제의 형태 및 특성이 그것이 조합될 활성 성분의 양, 투여 경로 및 다른 공지된 변수에 의해 좌우된다는 것을 인식할 것이다. 당해분야의 숙련가는 추가로 본 발명의 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체의 하나 이상의 종을 포함하는 각태일이 사용될 수 있음을 인식할 것이다.

[0131] "치료적 유효 용량 또는 치료적 유효량" 또는 "유효량"은 투여시 치료될 질환을 갖는 환자의 치료에 대해 양성 치료 반응, 예를 들면, 죽상경화성 플라크의 형성의 지연을 야기하거나; 새로운 죽상경화성 플라크 형성의 증가를 감소시키거나, 지체시키거나 또는 정지시키거나; 죽상경화성 플라크에서의 신생혈관형성을 저해하거나, 예를 들면 억제하거나, 지체시키거나, 예방하거나, 정지시키거나, 또는 역전시키거나; 죽상경화성 플라크의 형태학 또는 기능을 변화시키거나; 또는 죽상경화증과 관련된 증상 중 하나 이상을 어느 정도 완화시키거나; 이환율 및 사망률을 감소시키거나; 삶의 질을 개선하거나; 또는 그와 같은 효과의 조합을 야기하는, 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체의 양으로 의도된다.

[0132] 예를 들면, 죽상경화성 플라크를 감소시키고, 저해하고, 억제하고/거나 지연시키는, 본 발명의 조성물의 치료적 유효 용량은, 투여 수단, 표적 부위, 환자의 생리적 상태, 환자가 인간인지 또는 동물인지 여부, 투여된 다른 약물치료, 및 치료가 예방적인지 또는 치료적인지 여부를 포함하는 많은 상이한 인자에 따라 달라진다. 어떤 구현예에서, 환자는 인간이지만, 형질전환 포유동물을 포함하는 비-인간 포유동물이 또한 치료될 수 있다. 치료 투여량은 안전성 및 효능을 최적화하기 위해 당해분야의 숙련가에게 공지된 일상적인 방법을 이용하여 적정될 수 있다.

[0133] 투여될 적어도 하나의 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 항체 또는 이의 결합 단편, 변이체, 또는 유도체의 양은 본 발명의 개시내용을 고려할 때 과도한 실험과정 없이 당해분야의 숙련가에 의해 쉽게 결정된다. 적어도 하나의 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 항체, 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체의 투여 방식 및 각각의

양에 영향을 미치는 인자들은, 비제한적으로, 질환의 중증도, 질환의 이력, 및 요법을 겪고 있는 개체의 연령, 신장, 체중, 건강, 및 신체 조건을 포함한다. 유사하게, 투여될 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 단편, 변이체, 또는 유도체의 양은 투여 방식 및 대상이 이 제제의 단일 용량 또는 다중 용량을 겪을지 여부에 좌우될 것이다.

[0134] 본 발명은 또한 염증성 장애를 갖는 대상을 치료하기 위한 약제의 제조에서, 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 본 발명의 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체의 사용을 제공하며, 여기서 상기 약제는 적어도 하나의 다른 요법으로 전처리된 대상에서 사용된다. "전처리된" 또는 "전처리"는 대상이 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체를 포함하는 약제를 받기 전에 하나 이상의 다른 요법을 받았음을(예를 들면, 적어도 하나의 다른 염증성 요법으로 처리되었음을) 의도한다. "전처리된" 또는 "전처리"는 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 본원에 개시된 단클론성 항체 VX15/2503, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체를 포함하는 약제를 이용한 치료의 개시 전 2년 이내에, 18개월 이내에, 1년 이내에, 6개월 이내에, 2개월 이내에, 6주 이내에, 1개월 이내에, 4주 이내에, 3주 이내에, 2주 이내에, 1주 이내에, 6일 이내에, 5일 이내에, 4일 이내에, 3일 이내에, 2일 이내에, 또는 심지어 1일 이내에 적어도 하나의 다른 요법으로 치료되었던 대상을 포함한다. 대상이 이전 요법 또는 요법들을 이용한 전처리에 반응하였을 필요는 없다. 따라서, 상기 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체를 포함하는 약제를 받는 대상은 이전 요법을 이용한 전처리, 또는 이전 요법 중 하나 이상(여기서, 전처리는 다중 요법을 포함)에 대해 반응하였거나, 또는 반응하지 못하였을 수 있다.

[0135] 본 발명의 실시는, 다르게 명시되지 않는 한, 본 발명의 기술 내에 속하는 세포 생물학, 세포 배양, 분자 생물학, 유전자도입 생물학, 미생물학, 재조합 DNA, 및 면역학의 종래 기술을 이용할 것이다. 그러한 기술들은 문헌에 충분히 설명되어 있다. 예를 들면, 문헌[Sambrook *et al.*, ed. (1989) *Molecular Cloning A Laboratory Manual* (2nd ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press); Sambrook *et al.*, ed. (1992) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, (Cold Springs Harbor Laboratory, NY); D. N. Glover ed., (1985) *DNA Cloning, Volumes I and II*; Gait, ed. (1984) *Oligonucleotide Synthesis*; Mullis *et al.* U.S. Pat. No. 4,683,195; Hames and Higgins, eds. (1984) *Nucleic Acid Hybridization*; Hames and Higgins, eds. (1984) *Transcription And Translation*; Freshney (1987) *Culture Of Animal Cells* (Alan R. Liss, Inc.); *Immobilized Cells And Enzymes* (IRL Press) (1986); Perbal (1984) *A Practical Guide To Molecular Cloning; the treatise, Methods In Enzymology* (Academic Press, Inc., N.Y.); Miller and Calos eds. (1987) *Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells*, (Cold Spring Harbor Laboratory); Wu *et al.*, eds., *Methods In Enzymology*, Vols. 154 and 155; Mayer and Walker, eds. (1987) *Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology* (Academic Press, London); Weir and Blackwell, eds., (1986) *Handbook Of Experimental Immunology, Volumes I-IV; Manipulating the Mouse Embryo*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., (1986); and in Ausubel *et al.* (1989) *Current Protocols in Molecular Biology* (John Wiley and Sons, Baltimore, Md.)]을 참고한다.

[0136] 항체 조작의 일반적인 원리는 문헌[Borrebaek, ed. (1995) *Antibody Engineering* (2nd ed.; Oxford Univ. Press)]에 제시되어 있다. 단백질 조작의 일반적인 원리는 문헌[Rickwood *et al.*, eds. (1995) *Protein Engineering, A Practical Approach* (IRL Press at Oxford Univ. Press, Oxford, Eng.)]에 제시되어 있다. 항체 및 항체-합텐 결합의 일반적인 원리는 문헌[Nisonoff (1984) *Molecular Immunology* (2nd ed.; Sinauer Associates, Sunderland, Mass.); and Steward (1984) *Antibodies, Their Structure and Function* (Chapman and Hall, New York, N.Y.)]에 제시되어 있다. 추가로, 당해기술에 공지되어 있고 명시적으로 기재되지 않은 면역학에서의 표준 방법들은 일반적으로 문헌[*Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons, New York; Klein (1982) *J., Immunology: The Science of Self-Nonself Discrimination* (John Wiley & Sons, NY); Kennett *et al.*, eds. (1980) *Monoclonal Antibodies, Hybridoma: A New Dimension in Biological Analyses* (Plenum Press, NY); Campbell (1984) "Monoclonal Antibody Technology" in *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology*, ed. Burden *et al.*, (Elsevier, Amsterdam); Goldsby *et al.*, eds. (2000) *Kuby Immunology* (4th ed.; H. Freeman & Co.); Roitt *et al.* (2001) *Immunology* (6th ed.; London: NY)]에 기재된 바와 같이 따른다.

[0137] 면역학의 일반적인 원리를 제시하는 표준 참고서는 문헌[*Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons, New York; Klein (1982) *J., Immunology: The Science of Self-Nonself Discrimination* (John Wiley & Sons, NY); Kennett *et al.*, eds. (1980) *Monoclonal Antibodies, Hybridoma: A New Dimension in Biological Analyses* (Plenum Press, NY); Campbell (1984) "Monoclonal Antibody Technology" in *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology*, ed. Burden *et al.*, (Elsevier, Amsterdam); Goldsby *et al.*, eds. (2000) *Kuby Immunology* (4th ed.; H. Freeman & Co.); Roitt *et al.* (2001) *Immunology* (6th ed.; London: NY)]에 기재된 바와 같이 따른다.

Mosby); Abbas *et al.* (2005) *Cellular and Molecular Immunology* (5th ed.; Elsevier Health Sciences Division); Kontermann and Dubel (2001) *Antibody Engineering* (Springer Verlag); Sambrook and Russell (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Press); Lewin (2003) *Genes VIII* (Prentice Hall 2003); Harlow and Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Press); Dieffenbach and Dveksler (2003) *PCR Primer* (Cold Spring Harbor Press)]을 포함한다.

[0138] 상기에서 인용된 모든 참조문헌뿐만 아니라 본원에 인용된 모든 참조문헌은 그 전체가 참고로써 본원에 통합되어 있다.

[0139] 하기 실시예는 예시로서 제공되며, 제한으로서 제공되는 것이 아니다.

실시예

[0141] **실시예 1:** ApoE-결핍을 갖는 자발적 고지혈증(SHL) 마우스에서 죽상경화성 플라크 형성을 저해하고 신생혈관형성을 감소시키는, 항-SEMA4D 결합 분자, 예를 들면, 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체, 예를 들면, VX15/2503의 능력 시험

[0142] **실험 설계.** 하기 실험은 죽상경화증에 취약한 ApoE-결핍을 갖는 자발적 고지혈증(SHL) 마우스의 항-Sema4D 차단 항체 처리가 플라크 성장 및 신생혈관형성을 감소시킬 수 있는지 여부를 조사하였다.

[0143] 마우스. C57BL/6의 유전적 배경하에 아포지질단백질 E(ApoE) 결핍을 갖는 수컷 자발적 고지혈증(SHL) 마우스인 C57BL/6.KOR/Stm Slc-Apo^{sh1}를 Japan SLC, Inc.(Shizuoka, Japan)로부터 수득하였다. 상기 SHL 마우스에게 정상 식이를 공급하였고 메이조 대학의 약학부 내의 동물 센터에서 사육하였다. 모든 실험 프로토콜은 동물실험윤리위원회(institutional Animal Ethics Review Committee)에 의해 승인받았다.

[0144] 마우스의 항체 처리. 수컷 14주령 SHL 마우스를 무작위로 2개의 그룹으로 배정하고, 각 그룹에게 1주에 1회씩 복강내 주사에 의해 마우스 당 0.6 mg의 마우스 대조군 단클론성 항체(n=10)(Control Ab 2B8.1E7, Vaccinex, Inc., Rochester, NY) 또는 마우스 항-SEMA4D 중화 단클론성 항체(n=9)(VX15/67-2, Vaccinex, Inc.) 중 하나를 투여하였다. 12주 처리 후, 마우스를 회생시켰다.

[0145] 조직 가공. 마우스 대동맥을 포스페이트-완충 염수(PBS)를 이용하여 좌심실 정점 내로 삽입된 21 게이지 바늘을 통해 3분간 관류시킨 다음, 4% 완충 파라포름알데하이드(pH 7.4)를 이용하여 3분간 더 관류시켰다. 주요 분지점 을 갖는 대동맥활(팔머리동맥(brachiocephalic trunk), 좌측 총 경동맥(left common carotid artery), 및 좌측 쇄골하 동맥(left subclavian artery)) 뿐만 아니라 흉부 및 복부 대동맥을 절개하고 4% 완충 파라포름알데하이드(pH 7.4)에서 고정시켰다. 그리고 나서, 대동맥을 수단(Sudan) IV(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)로 염색하여 수단친화성 지질 침착물을 드러나게 하고 총 대동맥 면적에 대한 지질 플라크 면적의 백분율을 문헌 (Dougherty A *et al.*, *Methods in Molecular Biology*, vol. 209: *Transgenic Mouse Methods and Protocols*. Humana Press Inc., Totowa, NJ, pp.293-309, 2002)에 따라 영상 J 소프트웨어(Wayne Rasband, NIH, Bethesda, MD)를 이용하여 정량화하였다.

[0146] 면역조직화학 및 형태계측. 마취된 마우스로부터 절개된 대동맥활을 4% 완충 파라포름알데하이드(pH 7.4)에서 고정시켰다. 모든 혈관을 파라핀에 세로로 포매시키고 1- μ m 연속 박편으로 절단하였다. 박편을 항-마우스 CD31 항체(BD, Franklin Lakes, NJ)로 면역표지하여 내피 세포를 염색하였다. 이후에 이를 2차 항체 및 폐록시다아제와 접합된 텍스트란 폴리머(DakoCytomation, Kyoto, Japan)와 함께 인큐베이션하였다. 신생혈관형성을 검출하기 위해, 상기 박편을 실온에서 15분 동안 10 μ g/ml 프로테이나제 K(Life Technologies Japan, Tokyo, Japan)로 전처리하고 플루오레신으로 접합된 반데이라에아 심필리시폴리아(Bandeiraea simplicifolia)로부터의 7.5 mg/ml 이소렉틴(Sigma-Aldrich)과 함께 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 이소렉틴 B4(IB4)는 내피 세포에 의해 발현된 말단 α -갈اكتоз 잔기에 결합한다. 신생혈관형성의 정도를 영상-J 형태계측 시스템(Wayne Rasband)을 이용하여 이소렉틴 B4 또는 CD31-양성 면적을 각각의 플라크 면적으로 나눔으로써 계산된 백분율로서 결정하였다.

[0147] 통계적인 분석. 데이터를 평균 \pm S.E로서 나타내었다. 항-Sema4D 항체-처리된 SHL 마우스를 스튜던트 *t*-시험을 이용하여 대조군 항체-처리된 SHL 마우스와 비교하였다. 데이터는 * $p<0.05$, ** $p<0.01$ 에서 통계적으로 유의하였다.

[0148] **항-Sema4D 항체 처리는 죽상경화성 플라크의 발전을 저해하였다.** ApoE-결핍을 갖는 SHL 마우스에서의 항-Sema4D 항체 처리가 죽상경화증 발전에 미치는 효과를 분석하기 위해, 대조군 항체-처리된 SHL 마우스 및 항-Sema4D 항

체-처리된 SHL 마우스로부터 해부된 대동맥을 대상으로 지질 침착물의 수단친화성 염색을 수행하였다. 도 1a는 대조군 항체-처리된 그룹과 비교하여 항-Sema4D 항체-처리된 SHL 마우스의 대동맥 영역에서 죽상경화성 플라크 발전의 유의미한 저해를 나타낸다. 도 1a에 나타난 바와 같이, 죽상경화성 플라크 영역의 정량적 측정은 항-Sema4D 항체-처리된 SHL 마우스에서의 전체의 대동맥 영역 대비 수단친화성 영역의 평균 백분율이 대조군 항체-처리된 그룹에서의 것보다 유의미하게 더 작았음을 보여준다(항-Sema4D 항체-처리된 마우스: $4.89 \pm 1.11\%$ 대 대조군 항체-처리된 마우스: $17.64 \pm 3.41\%$; $p=0.002$). 이들 조사결과는 죽상경화증의 진행 단계 동안 Sema4D 활성을 차단하는 항-SEMA4D 항체를 이용하는 것이 플라크 성장을 감소시킨다는 것을 입증한다.

[0149] **항-Sema4D 항체-처리된 SHL 마우스의 죽상경화성 플라크에서 적은 신생혈관형성.** 죽상경화성 플라크에서의 새로운 혈관 형성을 연구하기 위해, 이소렉틴 B4 염색을 이용하여 대조군 항체-처리된 SHL 플라크 및 항-Sema4D 항체-처리된 SHL 플라크 모두에서 신생혈관형성을 검출하였다. 상기 결과는 항-Sema4D 항체-처리된 플라크에서의 이소렉틴 B4 양성 염색의 백분율이 대조군 항체-처리된 SHL 플라크보다 유의미하게 적었음을 보여주었다(항-Sema4D 항체-처리된 SHL 마우스: $0.35 \pm 0.04\%$ 대 대조군 항체-처리된 SHL 마우스: $1.70 \pm 0.24\%$; $P<0.001$, 도 1b).

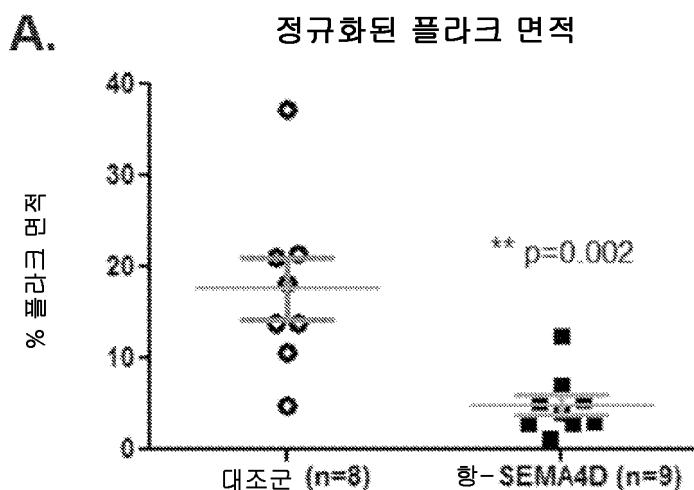
[0150] 내피 세포에 대한 마커인 CD31에 대한 항체를 이용한 면역조직화학은 또한 CD31 양성 영역이 대조군 항체-처리된 SHL 플라크와 비교하여 항-Sema4D 항체-처리된 SHL 플라크에서 유의미하게 감소하였으며(항-Sema4D 항체-처리된 SHL 마우스: $12.62 \pm 1.34\%$ 대 대조군 항체-처리된 SHL 마우스: $19.30 \pm 1.22\%$; $P=0.012$, 도 1c), 이는 항-Sema4D 항체-처리된 SHL 마우스 플라크에서의 좋지 못한 신생혈관형성을 강조한다.

[0151] 이러한 결과는 죽상경화증의 진행 단계 동안 Sema4D 활성을 차단하는 것이 신생혈관형성을 감소시키는 작용을 한다는 것을 입증한다. 또한, 상기 결과는 항-SEMA4D 항체가 내피 선조 세포가 죽상경화성 플라크 내로 이동하는 것을 차단하며, 이는 결국 플라크 신생혈관형성 및 플라크 성장 모두의 감소를 야기한다는 것을 입증한다.

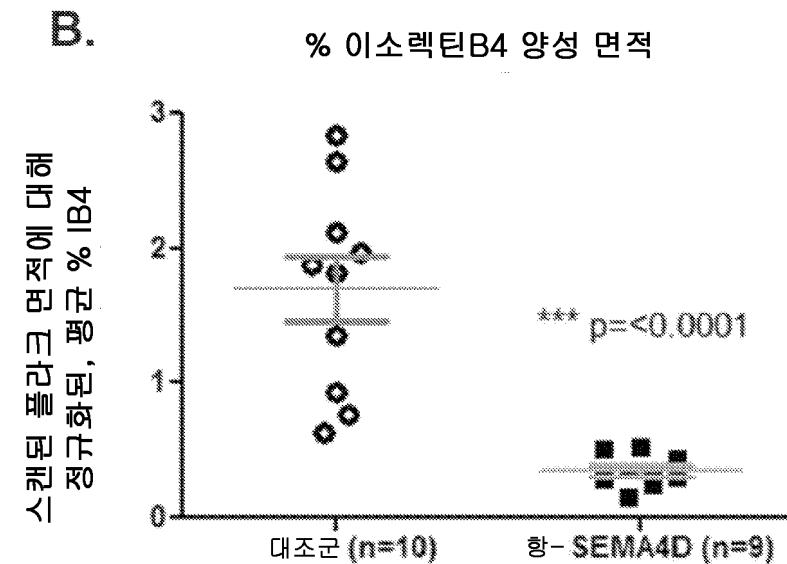
[0152] 본원에 제시된 본 발명의 많은 변형 및 다른 구현예들은 전술한 설명 및 관련된 도면에서 제시된 교시의 이점을 갖는 이들 발명이 속하는 당해분야의 숙련가에게 떠오를 것이다. 따라서, 본 발명은 개시된 특정 구현예에 제한되는 것이 아니며, 변형 및 다른 구현예들은 본원에 개시된 첨부된 청구항 및 구현예의 목록의 범위 내에 포함되고자 하는 것으로 이해되어야 한다. 특정 용어가 본원에서 사용되지만, 이들은 포괄적이고 서술적인 개념으로만 사용되고 제한의 목적을 위해 사용되는 것이 아니다.

도면

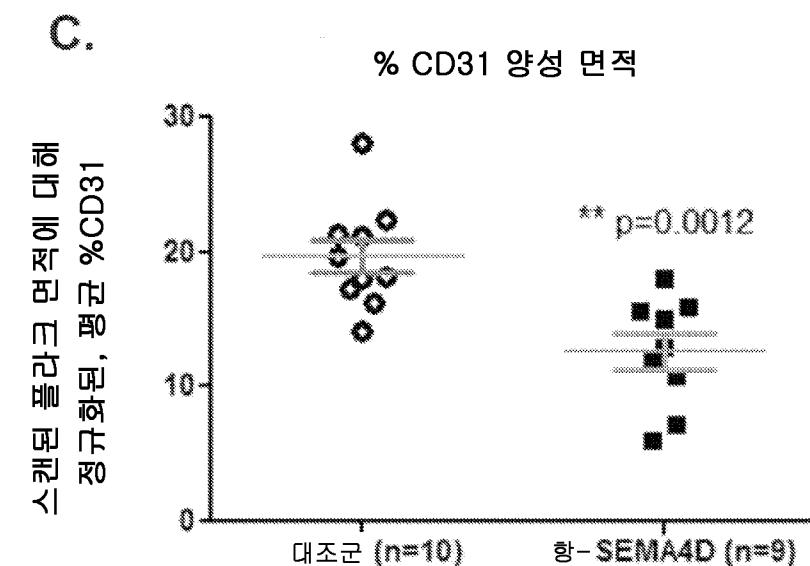
도면 1a



도면1b



도면1c



서 열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Zauderer, Maurice

<120> USE OF SEMAPHORIN-4D BINDING MOLECULES FOR TREATMENT OF ATHEROSCLEROSIS

<130> 1843.0750000/EJH/BNC

<140> To be assigned

<141> Herewith

<150> US 61/889,421

<151> 2013-10-10

<160> 48

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 862

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Arg Met Cys Thr Pro Ile Arg Gly Leu Leu Met Ala Leu Ala Val

1 5 10 15

Met Phe Gly Thr Ala Met Ala Phe Ala Pro Ile Pro Arg Ile Thr Trp

20 25 30

Glu His Arg Glu Val His Leu Val Gln Phe His Glu Pro Asp Ile Tyr

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ala Arg Glu Ala Val Phe Ala Val Asn Ala Leu Asn Ile Ser Glu

65 70 75 80

Lys Gln His Glu Val Tyr Trp Lys Val Ser Glu Asp Lys Lys Ala Lys

85 90 95

Cys Ala Glu Lys Gly Lys Ser Lys Gln Thr Glu Cys Leu Asn Tyr Ile

100 105 110

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

115 120 125

Asn Ala Phe Gln Pro Ala Cys Asp His Leu Asn Leu Thr Ser Phe Lys

130 135 140

Phe Leu Gly Lys Asn Glu Asp Gly Lys Gly Arg Cys Pro Phe Asp Pro

145 150 155 160

Ala His Ser Tyr Thr Ser Val Met Val Asp Gly Glu Leu Tyr Ser Gly

165 170 175

Thr Ser Tyr Asn Phe Leu Gly Ser Glu Pro Ile Ile Ser Arg Asn Ser

180 185 190

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

435	440	445
His Lys Ala Ile Ser Leu Glu His Ala Val His Ile Ile Glu Glu Thr		
450	455	460
Gln Leu Phe Gln Asp Phe Glu Pro Val Gln Thr Leu Leu Leu Ser Ser		
465	470	475
Lys Lys Gly Asn Arg Phe Val Tyr Ala Gly Ser Asn Ser Gly Val Val		
485	490	495
Gln Ala Pro Leu Ala Phe Cys Gly Lys His Gly Thr Cys Glu Asp Cys		
500	505	510
Val Leu Ala Arg Asp Pro Tyr Cys Ala Trp Ser Pro Pro Thr Ala Thr		
515	520	525
Cys Val Ala Leu His Gln Thr Glu Ser Pro Ser Arg Gly Leu Ile Gln		
530	535	540
Glu Met Ser Gly Asp Ala Ser Val Cys Pro Asp Lys Ser Lys Gly Ser		
545	550	555
Tyr Arg Gln His Phe Phe Lys His Gly Gly Thr Ala Glu Leu Lys Cys		
565	570	575
Ser Gln Lys Ser Asn Leu Ala Arg Val Phe Trp Lys Phe Gln Asn Gly		
580	585	590
Val Leu Lys Ala Glu Ser Pro Lys Tyr Gly Leu Met Gly Arg Lys Asn		
595	600	605
Leu Leu Ile Phe Asn Leu Ser Glu Gly Asp Ser Gly Val Tyr Gln Cys		
610	615	620
Leu Ser Glu Glu Arg Val Lys Asn Lys Thr Val Phe Gln Val Val Ala		
625	630	635
Lys His Val Leu Glu Val Lys Val Val Pro Lys Pro Val Val Ala Pro		
645	650	655
Thr Leu Ser Val Val Gln Thr Glu Gly Ser Arg Ile Ala Thr Lys Val		
660	665	670
Leu Val Ala Ser Thr Gln Gly Ser Ser Pro Pro Thr Pro Ala Val Gln		
675	680	685

Ala Thr Ser Ser Gly Ala Ile Thr Leu Pro Pro Lys Pro Ala Pro Thr
 690 695 700
 Gly Thr Ser Cys Glu Pro Lys Ile Val Ile Asn Thr Val Pro Gln Leu
 705 710 715 720
 His Ser Glu Lys Thr Met Tyr Leu Lys Ser Ser Asp Asn Arg Leu Leu

 725 730 735
 Met Ser Leu Phe Leu Phe Phe Val Leu Phe Leu Cys Leu Phe Phe
 740 745 750
 Tyr Asn Cys Tyr Lys Gly Tyr Leu Pro Arg Gln Cys Leu Lys Phe Arg
 755 760 765
 Ser Ala Leu Leu Ile Gly Lys Lys Pro Lys Ser Asp Phe Cys Asp
 770 775 780
 Arg Glu Gln Ser Leu Lys Glu Thr Leu Val Glu Pro Gly Ser Phe Ser

 785 790 795 800
 Gln Gln Asn Gly Glu His Pro Lys Pro Ala Leu Asp Thr Gly Tyr Glu
 805 810 815
 Thr Glu Gln Asp Thr Ile Thr Ser Lys Val Pro Thr Asp Arg Glu Asp
 820 825 830
 Ser Gln Arg Ile Asp Asp Leu Ser Ala Arg Asp Lys Pro Phe Asp Val
 835 840 845
 Lys Cys Glu Leu Lys Phe Ala Asp Ser Asp Ala Asp Gly Asp

 850 855 860
 <210> 2
 <211> 861
 <212> PRT
 <213> Murine sp.
 <400> 2

 Met Arg Met Cys Ala Pro Val Arg Gly Leu Phe Leu Ala Leu Val Val
 1 5 10 15
 Val Leu Arg Thr Ala Val Ala Phe Ala Pro Val Pro Arg Leu Thr Trp
 20 25 30
 Glu His Gly Glu Val Gly Leu Val Gln Phe His Lys Pro Gly Ile Phe

35 40 45

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

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

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

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

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

290 295 300

Lys Glu Pro Val Phe Tyr Ala Val Phe Thr Pro Gln Leu Asn Asn Val

305 310 315 320

Gly Leu Ser Ala Val Cys Ala Tyr Thr Leu Ala Thr Val Glu Ala Val

325 330 335

Phe Ser Arg Gly Lys Tyr Met Gln Ser Ala Thr Val Glu Gln Ser His

340 345 350

Thr Lys Trp Val Arg Tyr Asn Gly Pro Val Pro Thr Pro Arg Pro Gly

355 360 365

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

370 375 380

Asn Leu Pro Asp Lys Thr Leu Gln Phe Val Lys Asp His Pro Leu Met

385 390 395 400

Asp Asp Ser Val Thr Pro Ile Asp Asn Arg Pro Lys Leu Ile Lys Lys

405 410 415

Asp Val Asn Tyr Thr Gln Ile Val Val Asp Arg Thr Gln Ala Leu Asp

420 425 430

Gly Thr Phe Tyr Asp Val Met Phe Ile Ser Thr Asp Arg Gly Ala Leu

435 440 445

His Lys Ala Val Ile Leu Thr Lys Glu Val His Val Ile Glu Glu Thr

450 455 460

Gln Leu Phe Arg Asp Ser Glu Pro Val Leu Thr Leu Leu Ser Ser

465 470 475 480

Lys Lys Gly Arg Lys Phe Val Tyr Ala Gly Ser Asn Ser Gly Val Val

485 490 495

Gln Ala Pro Leu Ala Phe Cys Glu Lys His Gly Ser Cys Glu Asp Cys

500 505 510

Val Leu Ala Arg Asp Pro Tyr Cys Ala Trp Ser Pro Ala Ile Lys Ala

515 520 525

Cys Val Thr Leu His Gln Glu Glu Ala Ser Ser Arg Gly Trp Ile Gln

530	535	540
Asp Met Ser Gly Asp Thr Ser Ser Cys Leu Asp Lys Ser Lys Glu Ser		
545	550	555
560		
Phe Asn Gln His Phe Phe Lys His Gly Gly Thr Ala Glu Leu Lys Cys		
565	570	575
Phe Gln Lys Ser Asn Leu Ala Arg Val Val Trp Lys Phe Gln Asn Gly		
580	585	590
Glu Leu Lys Ala Ala Ser Pro Lys Tyr Gly Phe Val Gly Arg Lys His		
595	600	605
Leu Leu Ile Phe Asn Leu Ser Asp Gly Asp Ser Gly Val Tyr Gln Cys		
610	615	620
Leu Ser Glu Glu Arg Val Arg Asn Lys Thr Val Ser Gln Leu Leu Ala		
625	630	635
640		
Lys His Val Leu Glu Val Lys Met Val Pro Arg Thr Pro Pro Ser Pro		
645	650	655
660		
Thr Ser Glu Asp Ala Gln Thr Glu Gly Ser Lys Ile Thr Ser Lys Met		
665	670	
Pro Val Ala Ser Thr Gln Gly Ser Ser Pro Pro Thr Pro Ala Leu Trp		
675	680	685
Ala Thr Ser Pro Arg Ala Ala Thr Leu Pro Pro Lys Ser Ser Ser Gly		
690	695	700
705		
Thr Ser Cys Glu Pro Lys Met Val Ile Asn Thr Val Pro Gln Leu His		
710	715	720
725		
Ser Glu Lys Thr Val Tyr Leu Lys Ser Ser Asp Asn Arg Leu Leu Met		
730	735	
740		
Ser Leu Leu Leu Phe Ile Phe Val Leu Phe Leu Cys Leu Phe Ser Tyr		
745	750	
755		
Asn Cys Tyr Lys Gly Tyr Leu Pro Gly Gln Cys Leu Lys Phe Arg Ser		
760	765	
770		
Ala Leu Leu Leu Gly Lys Lys Thr Pro Lys Ser Asp Phe Ser Asp Leu		
775	780	

Glu Gln Ser Val Lys Glu Thr Leu Val Glu Pro Gly Ser Phe Ser Gln
 785 790 795 800
 Gln Asn Gly Asp His Pro Lys Pro Ala Leu Asp Thr Gly Tyr Glu Thr
 805 810 815

Glu Gln Asp Thr Ile Thr Ser Lys Val Pro Thr Asp Arg Glu Asp Ser
 820 825 830

Gln Arg Ile Asp Glu Leu Ser Ala Arg Asp Lys Pro Phe Asp Val Lys
 835 840 845

Cys Glu Leu Lys Phe Ala Asp Ser Asp Ala Asp Gly Asp
 850 855 860

<210> 3

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide anti-CD100 VH CDR1

<400> 3

ggctacagct tcagcgacta ctacatgcac 30

<210> 4

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide anti-CD100 VH CDR2

<400> 4

cagatttaatc ctaccactgg cggcgctagc tacaaccaga agttcaaggg c 51

<210> 5

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide anti-CD100 VH CDR3

<400> 5

tattactacg gcagacactt cgatgtc 27

<210> 6

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Polypeptide anti-CD100 VH CDR1

<400> 6

Gly Tyr Ser Phe Ser Asp Tyr Tyr Met His

1 5 10

<210> 7

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Polypeptide anti-CD100 VH CDR2

<400> 7

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

1 5 10 15

Gly

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Polypeptide anti-CD100 VH CDR3

<400> 8

Tyr Tyr Tyr Gly Arg His Phe Asp Val

1 5

<210> 9

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Polypeptide anti-CD100 VH 2503

<400> 9

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

1 5 10 15

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

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

50	55	60	
Lys Gly Lys Ala Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr			
65	70	75	80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Tyr Tyr Gly Arg His Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr			
100	105	110	
Thr Val Thr Val Ser Ser			
115			

<210> 10			
<211> 118			
<212> PRT			
<213> Artificial			
<220><223> Polypeptide anti-CD100 VH 67			
<400> 10			
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala			
1	5	10	15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Ser Asp Tyr			
20	25	30	
Tyr Met His Trp Val Lys Gln Ser Pro Glu Asn Ser Leu Glu Trp Ile			
35	40	45	
Gly Gln Ile Asn Pro Thr Thr Gly Gly Ala Ser Tyr Asn Gln Lys Phe			

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

100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 11

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide anti-CD100 VL CDR1

<400> 11

aaggccagcc aaagcgtgga ttatgatggc gatagtata tgaac 45

<210> 12

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide anti-CD100 VL CDR2

<400> 12

gctgcatcca atctggaaag c 21

<210> 13

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide anti-CD100 VL CDR3

<400> 13

cagcaaagca atgaggatcc ctacacc 27

<210> 14

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Polypeptide anti-CD100 VL CDR1

<400> 14

Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn

1 5 10 15

<210> 15

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Polypeptide anti-CD100 VL CDR2

<400> 15

Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Polypeptide anti-CD100 VL CDR3

<400> 16

Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Tyr Thr

1 5

<210> 17

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Polypeptide anti-CD100 VL 2503

<400> 17

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 18

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Polypeptide anti-CD100 VL 67

<400> 18

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 19

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide anti-CD100 VH 2503

<400> 19

caggtgcagc tgggtcagag cggcgctgag gtgaagaagc ctggcagcag cgtgaaggtc 60

tcctgcagg ctgcggcta cagttcagc gactactaca tgcactgggt gagacaggcc 120

cctggccaag gcctggagtg gatggccag attaatccta ccactggcgg cgctagctac 180

aaccagaagt tcaaggccaa ggccaccatt accgtggaca aaagcaccag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag aagcgaggac accgcccgtt attactgtgc cagatattac 300
 tacggcagac acttcgatgt ctggggccaa ggcaccacgg tcaccgtctc ttca 354

<210> 20

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide anti-CD100 VH 67

<400> 20

cagggtccagg tgcagcagtc tggaccttag ctgggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60
 tccttgcaagg cttctggta ctcattcagt gactactaca tgcactgggt gaagcaaagt 120
 cctgaaaata gtcttgagtg gattggacag attaattccta ccactgggg tgcttagctac 180
 aaccagaagt tcaaggcCAA ggccacatta actgttagata aatcctccag cacagcctac 240
 atgcagctca agaggctgac atctgaagag tctgcagttt attactgtac aagatattac 300
 tacggtagac acttcgatgt ctggggccaa gggaccacgg tcaccgtttc ctca 354

<210> 21

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide anti-CD100 VL 2503

<400> 21

gacatcgtga tgaccagag cccagacagc ctggctgtga gcctgggcga gagggccacc 60
 atcaactgca aggcagccaa aagcgtggat tatgtatggcg atagctatata gaactggta 120
 cagcagaaac caggccagcc tcctaagctg ctgattacg ctgcattccaa tctggaaagc 180
 ggcgtgcctg acagattcag cggcagcggc agcggcacag atttactt gaccatcagc 240
 agcctgcagg ctgaagatgt ggcagtgtat tactgtcagc aaagcaatga ggatccctac 300
 accttcggcc aaggcaccaaa gctcgagatc aaa 333

<210> 22

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide anti-CD100 VL 67

<400> 22

gacattgtga tgacccagtc tccagttct ttggctgtgt ctctagggca gagggccacc	60
atctcctgca aggcagcca aagtgttgc tatgtatggt atagttatata gaactggtag	120
caacagaaac caggacagcc acccaaactc ctcatctatg ctgcattcaa tctagaatct	180
gggatcccag ccaggtttag tggcagtggg tctggacag acttcacccct caacatccat	240
cctgtggagg aggaggatgc tgcaacctat tactgtcagc aaagtaatga ggatccgtac	300
acgttcggag gggggaccaa gctcgagatc aaa	333

<210> 23

<211> 2586

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 23

atgaggatgt gcaccccat taggggctg ctcatggcc ttgcagtgtat gtttggaca	60
gcgtatggcat ttgcacccat accccggatc acctgggagc acagagagggt gcacctggtg	120
cagtttcatg agccagacat ctacaactac tcagccttgc tgctgagcga ggacaaggac	180
accttgtaca taggtgcggg ggaggcggtc ttgcgtgtga acgcactcaa catctccgag	240
aagcagcatg aggtgtatttgaaggtctca gaagacaaaa aagcaaaatg tgcagaaaaag	300
gggaaatcaa aacagacaga gtgcctcaac tacatccggg tgctgcagcc actcagcgcc	360

acttccctt acgtgtgtgg gaccaacgca ttccagccgg cctgtgacca cctgaactta	420
acatccctta agtttctggg gaaaaatgaa gatggcaaaag gaagatgtcc ctttgaccca	480
gcacacagct acacatccgt catggttgtat ggagaacttt attcggggac gtcgtataat	540
tttttggaa gtgaacccat catctccgaa aattttccc acagtccctt gaggacagaa	600
tatgcaatcc ctggctgaa cgagcctagt ttgcgttttgc acgtgtatcc ccgaaaaagc	660
ccagacagcc ccgacggcga ggatgacagg gtctacttct tcttcacggg ggtgtctgt	720
gagtagatgatgttgcag ggtgtctgatcc acacggatag caagagtgtg caagggggac	780

cagggcggcc tgaggacctt gcagaagaaa tggacccctt tcctgaaagc ccgactcatc	840
tgctccggc cagacagcgg ctgggttttca aatgtgctgc gggatgtctt cgtgctcagg	900
tccccggcc tgaaggtgcc tgggttctat gcactttca ccccacagct gaacaacgtg	960
gggcgtcg cagtgtgcgc ctacaacccgt tccacagccg aggaggctt ctccacggg	1020
aagtacatgc agagcaccac agtggagcag tcccacacca agtgggtgcg ctataatggc	1080
ccggtagccca agccgccc tggagcgtgc atcgacagcg aggcacggc cgccaaactac	1140
accagcttct tgaatttgc agacaagacg ctgcagttcg ttaaagacca ccctttgatg	1200

gatgactcg taacccaaat agacaacagg cccaggttaa tcaagaaaga tgtgaactac 1260
 acccagatcg tggggaccc gaccaggcc ctggatggga ctgtctatga tgtcatgttt 1320
 gtcagcacag accggggagc tctgcacaaa gccatcagcc tcgagcacgc tgttcacatc 1380
 atcgaggaga cccagcttt ccaggactt gagccagtc agaccctgtctgtgtctca 1440
 aagaaggca acaggtttgt ctatgctggc tctaactcgg gcgtggtcca ggccccgtg 1500
 gcctctgtg ggaagcacgg cacctgcgag gactgtgtgc tggcgccgg 1560
 gcctggagcc cggccacagc gacctgcgtg gctctgcacc agaccgagag ccccagcagg 1620

gtttgattc agagatgag cggcgatgtctgtgtgcc cggataaaag taaaggaagt 1680
 taccggcagc attttcaa gcacggtgcc acagcggAAC tggaaatgtcc ccaaaaatcc 1740
 aacctggccc gggcttttg gaagttccag aatggcggtgt tgaaggccga gagccccaag 1800
 tacggctta tggcagaaa aaacttgc tcttcaact tgcagaagg agacagtggg 1860
 gtgtaccagt gcctgtcaga ggagagggtt aagaacaaaa cggtcttcca agtggtcgccc 1920
 aagcacgtcc tggaaagtgaa ggtggttcca aagccctgg tagccccccac cttgtcagtt 1980
 gttcagacag aaggttagtag gattgccacc aaagtgttgg tggcatccac ccaagggtct 2040

tctccccaa ccccagccgt gcaggccacc tcctccgggg ccatcacccct tcctcccaag 2100
 cctgcgcaca cggcacatc ctgcgaacca aagatgtca tcaacacggc ccccgagtc 2160
 cactcggaga aaaccatgtta tcttaagtcc agcgacaacc gcctcctcat gtccctttc 2220
 ctcttcttctt ttgttcttctt cctctgcctc ttttctaca actgctataa gggatacctg 2280
 cccagacagt gcttggaaatt ccgctcgcc ctactaattt ggaagaagaa gcccaagtca 2340
 gatttctgtg accgtgagca gggcttggag gagacgttag tagagccagg gagcttctcc 2400
 cagcagaatg gggagcaccc caagccagcc ctggacaccc gctatgagac cgagcaagac 2460

accatcacca gcaaagtccc cacggatagg gaggactcac agaggatcga cgacccttct 2520
 gccagggaca agcccttta cgtcaagtgt gagctgaagt tcgctgactc agacgcagat 2580
 ggagac 2586

<210> 24

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Peptide epitope of proteolipid protein PLP(139-151)

<400> 24

His Ser Leu Gly Lys Trp Leu Gly His Pro Asp Lys Phe

<210> 25

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Polypeptide anti-CD100 VH 76

<400> 25

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Pro Tyr Gly Trp Thr Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 26

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Polypeptide anti-CD100 VH 76 CDR1

<400> 26

Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Trp Met His

1 5 10

<210> 27

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Polypeptide anti-CD100 VH 76 CDR2

<400> 27

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

1 5 10 15

Asp

<210> 28

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Polypeptide anti-CD100 VH 76 CDR3

<400> 28

Asp Pro Tyr Gly Trp Thr Met Asp Ser

1 5

<210> 29

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Polypeptide anti-CD100 VL 76

<400> 29

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

1 5 10 15

Asp Thr Ile Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asn Ile Asn Val Trp

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Ser Tyr Pro Tyr

85	90	95
----	----	----

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100	105
-----	-----

<210> 30

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Polypeptide anti-CD100 VL 76 CDR1

<400> 30

His Ala Ser Gln Asn Ile Asn Val Trp Leu Ser

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

<210> 31

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Polypeptide anti-CD100 VL 76 CDR2

<400> 31

Lys Ala Ser Asn Leu His Thr

1	5
---	---

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Polypeptide anti-CD100 VL 76 CDR3

<400> 32

Gln Gln Gly Gln Ser Tyr Pro Tyr Thr

1	5
---	---

<210> 33

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide anti-CD100 VH 76

<400> 33

caggccagc tgccaggc tggggctgaa ctggcaaaac ctggggcctc agtgaagatg	60
tcctgcaagg ctctggcta caccttact aggtactgga tgcactgggt aaaacagagg	120
cctggacagg gcttggaaatg gattggatac attaattcttgcactggta ttcttattac	180
aatcagaagt tcaaggacaa ggccacatttgcactgcagaca aatcctccag cacagctac	240
atgcaactga gcaggctgac atctgaggac tctgcagtc attactgtgc aagagacccc	300
tacggctgga ctatggactc ctggggccaa gggactctgg tcaccgtctc ctca	354
<210> 34	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220><223> Polynucleotide anti-CD100 VH 76 CDR1	
<400> 34	
ggctacacct ttacttagtta ctggatgcac	30
<210> 35	
<211> 51	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220><223> Polynucleotide anti-CD100 VH 76 CDR2	
<400> 35	
tacattaatc ctggactgg ttattctgtataaatcaga agttcaagga c	51
<210> 36	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220><223> Polynucleotide anti-CD100 VH 76 CDR3	
<400> 36	
gaccctacg gctggactat ggactcc	27
<210> 37	
<211> 321	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220><223> Polynucleotide anti-CD100 VL 76	
<400> 37	

gacatccaga tgacccagtc tccatccagt ctgtctgcat ccctggaga cacaattacc	60
atcacttgcc atgcaggatca gaacattaat gtttggtaa gctggatcca gcagaaacca	120
ggaaatattc ctaaactatt gatctataag gcttccaact tgcacacagg cgtccatca	180
aggttagtg gcagtggatc tggaacaggt ttcacattaa ccatcagcag cctgcagcct	240
gaagacattg ccactacta ctgtcaacag ggtcaaaggatccgtacac gttcgagggg	300
gggaccaagc tcgagatcaa a	321
<210> 38	
<211> 33	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220><223> Polynucleotide anti-CD100 VL 76 CDR1	
<400> 38	
catgccagtc agaacattaa tgtttggtaa agc	33
<210> 39	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220><223> Polynucleotide anti-CD100 VL 76 CDR2	
<400> 39	
aaggcttcca acttgacac a	21
<210> 40	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220><223> Polynucleotide anti-CD100 VL 76 CDR3	
<400> 40	
caacagggtc aaagttatcc gtacacg	27
<210> 41	
<211> 51	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220><223> Epitope 1	
<400> 41	

ctgaagggtgc ctgtgttcta tgcactcttc accccacagc tgaacaacgt g 51
 <210> 42
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 ><223> Epitope 1
 <400> 42
 Leu Lys Val Pro Val Phe Tyr Ala Leu Phe Thr Pro Gln Leu Asn Asn
 1 5 10 15
 Val
 <210> 43
 <211> 45
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> Epitope 2
 <400> 43
 aaatggacct ctttcctgaa agcccgactc atctgtccc ggcca 45
 <210> 44
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Epitope 2
 <400> 44
 Lys Trp Thr Ser Phe Leu Lys Ala Arg Leu Ile Ala Ser Arg Pro
 1 5 10 15
 <210> 45
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> Epitope 3
 <400> 45
 gagtttgttgc tcagggtgct gatcccacgg atagcaagag tg 42
 <210> 46

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Epitope 3

<400> 46

Glu Phe Val Phe Arg Val Leu Ile Pro Arg Ile Ala Arg Val

1 5 10

<210> 47

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> 2282 VL domain

<400> 47

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

1 5 10 15

Glu Pro Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Asp His Thr Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile

100 105 110

Lys

<210> 48

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> 2282 VH domain

<400> 48

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Arg Val Asn Pro Tyr His Gly Tyr Ala Thr Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Glu Asn Ser Tyr Asp Gly Tyr Tyr Gly Met Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120