



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0004928
(43) 공개일자 2025년01월08일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/26 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 25/06 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/26 (2013.01)
A61P 25/06 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7040657(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2018년09월25일
심사청구일자 2024년12월24일
- (62) 원출원 특허 10-2020-7011620
원출원일자(국제) 2018년09월25일
심사청구일자 2021년09월27일
- (85) 번역문제출일자 2024년12월06일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2018/075987
- (87) 국제공개번호 WO 2019/057992
국제공개일자 2019년03월28일
- (30) 우선권주장
17192999.5 2017년09월25일
유럽특허청(EPO)(EP)
17203370.6 2017년11월23일
유럽특허청(EPO)(EP)
- (71) 출원인
아드레노메드 아게
독일 16761 헨닝스도르프 노이엔도르프스트라췌 15아
- (72) 발명자
베르크만, 안드레아스
독일 13465 베를린 암 로제낭거 78
- (74) 대리인
양영준, 이윤기

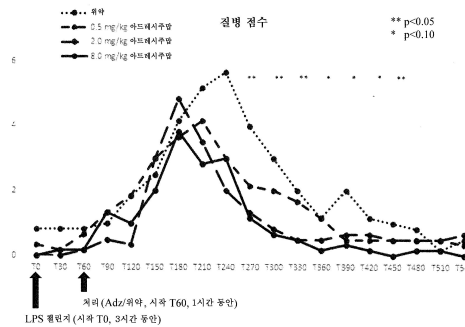
전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 발명의 명칭 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-아드레노메들린 (ADM) 결합제

(57) 요약

본 발명의 대상은 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 및/또는 상기 증상을 특징으로 하는 질환의 치료 또는 예방에서 사용하기 위한 항-아드레노메들린 (ADM) 항체 또는 항-아드레노메들린 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드이다. 질병의 증상은 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택될 수 있으며, 여기서 상기 항체 또는 단편 또는 스캐폴드는 아미노산 1 내지 52 (서열식별번호: 1)의 ADM 또는 그의 단편에 결합할 수 있다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/21 (2013.01)
C07K 2317/24 (2013.01)
C07K 2317/54 (2013.01)
C07K 2317/55 (2013.01)
C07K 2317/565 (2013.01)
C07K 2317/622 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

항-아드레노메둘린(ADM) 항체 또는 항-ADM 항체 단편을 포함하는, 질병의 증상의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 제약 제제이며, 여기서 대상체는 인간이고,

여기서 질병의 증상은 오심, 두통, 근육통, 요통, 및/또는 떨림의 군으로부터 선택되고,

여기서 질병은 샘플 중 C-반응성 단백질(CRP)의 양이 ≥ 10 mg/L인 것을 특징으로 하고/거나, 샘플 중 TNF의 양이 ≥ 50 pg/ml이고/거나, 샘플 중 바이오-ADM의 양이 ≥ 43 pg/ml이고, 여기서 상기 샘플은 전혈, 혈장, 및 혈청으로 이루어진 군으로부터 선택되고,

여기서 상기 항체 또는 단편은 ADM의 N-말단 부분(aa 1-21)에 결합하고 인간화 모노클로날 항체 또는 단편이며, 항-ADM 항체의 중쇄가 하기 서열:

CDR1: (서열식별번호: 5)

GYTFSRYW

CDR2: (서열식별번호: 6)

ILPGSGST

CDR3: (서열식별번호: 7)

TEGYEYDGFYD

을 포함하고,

항-ADM 항체의 경쇄가 하기 서열:

CDR1: (서열식별번호: 8)

QSIVYSNGNTY

CDR2:

RVS

CDR3: (서열식별번호: 9)

FQGSHIPYT

을 포함하는 것인 제약 제제.

발명의 설명

기술분야

본 발명의 대상은 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 및/또는 상기 증상을 특징으로 하는 질환의 치료 또는 예방에서 사용하기 위한 항-아드레노메둘린(ADM) 항체 또는 항-아드레노메둘린 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드이다. 질병의 증상은 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택

[0001]

될 수 있으며, 여기서 상기 항체 또는 단편 또는 스캐폴드는 아미노산 1 내지 52 (서열식별번호(SEQ ID NO): 1)의 ADM 또는 그의 단편에 결합할 수 있다.

배경 기술

- [0002] 다양한 질환 또는 질병은 그로 고통받는 개체에 대해 불쾌한 것에서부터 참을 수 없는 것에 이를 수 있는 공통되고 부분적으로 비특이적인 증상을 가질 수 있다. 1가지가 넘는 증상을 경험하는 개체는 이들 증상의 완화를 경험하기 위해 몇몇 약물을 꽤 자주 복용할 필요가 있다. 여러 상이한 근본적인 질환 또는 질병과 연관된 증상의 치료 또는 예방의 새로운 형태가 지속적으로 필요하다. 특히, 근본적인 질환 또는 질병과 연관된 1가지가 넘는 증상의 치료 또는 예방에서 사용될 수 있는 의약 또는 약물을 제공하는 것이 도움이 될 것이다. 본 발명은 이러한 요구를 다룬다.
- [0003] 펩티드 아드레노메둘린 (ADM)은 인간 크롬친화세포종 세포주로부터 단리된, 52개 아미노산을 포함하는 신규한 저혈압성 펩티드로서 1993년도 최초로 기재되었다 (*Kitamura K. et al. 1993. Biochemical and Biophysical Research Communications Vol. 192 (2): 553-560*). 같은 해에, 185개 아미노산을 포함하는 전구체 펩티드를 코딩하는 cDNA 및 상기 전구체 펩티드의 완전한 아미노산 서열이 또한 기재되었다. 그 중에서도 N-말단에서 21개 아미노산의 신호 서열을 포함하는 전구체 펩티드는 "프리프로아드레노메둘린" (프리-프로ADM)으로서 지칭된다. 본 설명에서, 명시된 모든 아미노산 위치는 일반적으로 185개 아미노산을 포함하는 프리-프로ADM에 관한 것이다. 펩티드 아드레노메둘린 (ADM)은 52개 아미노산 (서열식별번호: 1)을 포함하는 펩티드이며, 프리-프로ADM의 아미노산 95 내지 146을 포함하고, 프리-프로ADM으로부터 단백질 가수분해성 절단에 의해 형성된다. 지금까지, 프리-프로ADM의 절단에 의해 형성된 펩티드 단편 중 몇몇 단편만이, 특히 생리학적으로 활성인 펩티드 아드레노메둘린 (ADM) 및 "PAMP" (프리-프로ADM에서 신호 펩티드의 21개 아미노산에 이어지는 20개 아미노산 (22-41)을 포함하는 펩티드임)가 더욱 정확하게 특징분석되었다. 1993년도의 ADM 발견 및 특징분석은 집중 연구 활동을 촉발시켰으며, 그 결과는 본 설명과 관련하여 다양한 검토 논문에 요약되어 있고, 특히 ADM에 주력한 "펩티드" 이슈에서 발견되는 논문을 특히 참고한다 (*Editorial, Takahashi K. 2001. Peptides 22:1691*) 및 (*Eto T. 2001. Peptides 22: 1693-1711*). (*Hinson et al. 2000. Endocrine Reviews 21(2):138-167*)에서 추가로 검토된다. 지금까지의 과학적 연구에서, 그 중에서도, ADM이 다기능성 조절성 펩티드로서 간주될 수 있음이 발견되었다. 이는 글리신에 의해 연장된 불활성 형태로 순환계로 방출된다 (*Kitamura K. et al. 1998. Biochem. Biophys. Res. Commun. 244(2):551-555*). ADM에 대해 특이적이고 아마도 ADM의 효과를 조절할 가능성이 있는 결합 단백질 (*Pio R. et al. 2001. The Journal of Biological Chemistry 276(15):12292-12300*)이 또한 존재한다. 지금까지의 연구에서 ADM 뿐만 아니라 PAMP의 매우 중요한 생리학적 효과는 혈압에 영향을 미치는 효과였다.
- [0004] ADM은 효과적인 혈관확장제이며, 이는 ADM의 C-말단 부분에 있는 특정한 펩티드 세그먼트를 저혈압 효과와 연관시키는 것을 가능하게 한다. 추가로, ADM과는 상이한 작용 메커니즘을 갖는 것으로 보이는 하지만, 프리-프로ADM으로부터 형성된 상기 언급된 추가의 생리학적으로 활성인 펩티드 PAMP가 마찬가지로 저혈압 효과를 나타낸다는 것이 발견되었다
- [0005] 추가로, 순환계 및 다른 생물학적 액체에서 측정될 수 있는 ADM의 농도가 수많은 병리학적 상태에서 건강한 대조군 사람에서 발견되는 농도보다 유의하게 높다는 것이 확인되었다. 따라서, 울혈성 심부전, 심근 경색, 신장 질환, 고혈압 장애, 진성 당뇨병, 쇼크의 급성기 및 폐혈증 및 폐혈성 쇼크를 가진 환자에서 ADM 수준이 정도는 상이하지만 유의하게 증가된다. PAMP 농도가 또한 상기 병리학적 상태 중 일부에서 증가되지만, 혈장 수준이 ADM에 비해 낮다 (Eto, T., supra). 추가로, 상당히 높은 농도의 ADM이 폐혈증에서 관찰되었고, 가장 높은 농도가 폐혈성 쇼크에서 관찰되는 것으로 공지되어 있다 ((Eto, T., "supra) 및 (*Hirata et al. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1996. 81(4): 1449-1453; Ehlenz K. et al. 1997. Exp Clin Endocrinol Diabetes 105: 156-162*); *Tomoda Y. et al. 2001. Peptides 22: 1783-1794 ; Ueda S. et al. 1999. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 160: 132-136; 및 Wang P. Peptides 2001. 22: 1835-1840* 참고).
- [0006] 편두통에서 아드레노메둘린의 역할에 대한 지식은 단지 제한적이다. 아드레노메둘린이 뇌 순환 내에서 혈관확장성 효과를 갖기 때문에, 편두통에 관여하는 것으로 가정된다. 한편, 인간 ADM 정맥내 주입을 편두통으로 고통받는 환자에게 투여하는 것은 위약과 비교하여 유의하게 더 많은 두통 또는 편두통을 유도하지 않았다 (*Petersen et al. 2008. Cephalalgia 29: 23-30*). 더욱이, 아칼리(Akcali) 등은 편두통 환자의 자연 과정에서 낮은 혈장 아드레노메둘린 수준을 보고하였다 (*Akcali A. 2016. Medical Science and Discovery 3(4): 153-158*). 한편, 키스(Kis) 등은, 항-편두통 약물로서 ADM-매개된 증식 효과의 억제를 위한 잠재적인 치료적 도구

로서 신규한, 강력한, 특이적인 및 가능하게는 비-펩티드인 수용체 길항제의 개발이 필요하다고 주장하였다 (*Kis et al. 2003. Hypertens Res 26 (Suppl): S61-S70*).

도면의 간단한 설명

[0007]

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0008]

정의

[0009]

본 발명을 상세하게 기재하기 전에, 본 설명에 걸쳐 사용된 특정한 기술적 용어들에 대한 정의를 제공하는 것이 적절한 것으로 여겨진다. 본 발명이 특정한 실시양태와 관련하여 기재될 것이지만, 이러한 설명이 제한적인 의미로 해석되어서는 안된다. 본 발명의 예시적인 실시양태를 상세하게 기재하기 전에, 본 발명을 이해하는데 중요한 정의가 제공된다.

[0010]

본 명세서 및 첨부된 청구범위에서 사용된 바와 같이, 단수 형태는 문맥상 명확하게 달리 해석되지 않는다면 각각의 복수를 포함한다.

[0011]

본 발명의 문맥에서, 용어 "약" 및 "대략적으로"는 관련 기술분야의 기술자가 해당 특징의 기술적 효과를 여전히 보장하기 위해 이해할 정확도의 간격을 나타낸다. 상기 용어는 전형적으로 지정된 수치 값으로부터 $\pm 20\%$, 바람직하게는 $\pm 15\%$, 더욱 바람직하게는 $\pm 10\%$, 및 더욱 더 바람직하게는 $\pm 5\%$ 의 편차를 나타낸다.

[0012]

용어 "포함하는"은 제한하지 않는 것임을 이해해야 한다. 본 발명의 목적을 위해, 용어 "로 이루어진"은 용어 "포함하는"의 바람직한 실시양태로 고려된다. 이후에 하나의 그룹이 적어도 특정 개수의 실시양태를 포함하도록 정의되는 경우, 이는 바람직하게는 이들 실시양태만으로 이루어진 그룹을 포함하는 것을 의미한다.

[0013]

또한, 본원에서 이용된 기술이 단지 특정한 실시양태를 기재하기 위한 목적이고, 첨부된 청구범위에 의해서만 제한될 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 의도되지 않음을 이해해야 한다.

[0014]

본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "오심"은 비자발적으로 구토를 유발하는 상부 위의 불안감 및 불편함을 지칭한다 (*Metz A. 2017. Australian Family Physician Vol. 36 (9): 688-692*). 이는 구토보다 우선할 수 있지만, 사람이 구토하지 않고 오심을 가질 수 있다. 이것이 지속되면, 이는 약화 증상이다. 오심은 비특이적 증상이며, 이것이 여러 가능한 원인을 가짐을 의미한다. 오심의 일부 공통된 원인은 멀미, 현기증, 편두통, 실신, 저혈당, 위장염 (위 감염) 또는 식중독이다. 오심은 화학요법을 비롯한 여러 의약의 부작용 또는 임신 초기의 입덧이다. 오심은 또한 불안, 혐오 및 우울증에 의해 초래될 수 있다.

[0015]

본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "두통"은 두정부 영역의 어디에서나 있는 통증 증상이다. 이는 편두통 (날카롭거나 욱신거리는 통증), 긴장형 두통 및 군발성 두통에서 발생한다 (*Waldman et al. 2014. J Yoga Phys Ther 2014, 4:1*). 또한, 중증 두통을 가진 사람에서는 우울증 위험이 증가된다. 두통은 중증이건 아니건 간에 여러 상태의 결과로서 발생할 수 있다. 두통에 대한 수많은 상이한 분류 시스템이 있다. 두통의 원인에 피로, 수면 박탈, 스트레스, 의약의 영향, 기분전환 약물의 영향, 바이러스 감염, 시끄러운 소음, 일반 감기, 두부 손상, 매우 차가운 음식 또는 음료의 급속한 섭취, 및 치과 또는 부비강의 문제가 포함될 수 있다는 것이 널리 인식된다.

[0016]

두통은 "원발성" 또는 "속발성"으로 광범위하게 분류된다 (*Oleson 2005. Functional Neurology 20(2): 61-68*). 원발성 두통은 근본적인 질환 또는 구조적인 문제로 초래되지 않는 양성의 재발성 두통이다. 예를 들어, 편두통은 원발성 두통의 한 유형이다. 원발성 두통이 상당한 일상 통증 및 장애를 초래할 수 있지만, 위험하지는 않다. 원발성 두통의 4가지 카테고리는 편두통, 긴장형 두통 (TTH) 군발성 두통 및 다른 삼차 자율신경계 두통, 및 다른 원발성 두통이다.

[0017]

장기성, 대사성 또는 약물-유도된 기원을 갖는 속발성 두통은 감염, 두부 손상, 혈관 장애, 뇌 출혈 또는 종양과 같은 근본적인 질환에 의해 초래된다. 속발성 두통은 유해하거나 위험할 수 있다. 편두통은 중간 정도 내지는 중증인 재발성 두통을 특징으로 하는 원발성 두통이다 (검토를 위해: *Diener et al. 2012. Nat Rev Neurol. 8(3):162-71*을 참고함). 전형적으로, 두통은 두부의 절반에 영향을 미치고, 자연적으로 맥동하며, 2 내지 72시간 지속된다. 연관된 증상에는 오심, 구토, 및 빛, 소리 또는 냄새에 대한 민감증이 포함된다. 상기 통증은 일반적으로 신체 활동에 의해 악화된다. 1/3 이하의 사람은 전형적으로 짧은 기간의 시각적 방해인 기운을 갖고, 이는 두통이 곧 발생할 것이라는 신호이다. 가끔, 이러한 기운은 뒤따르는 두통이 거의 없거나 전

혀 없이 발생할 수 있다.

- [0018] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "근육통" 또는 "근육 통증"은 "근통"으로도 명명되고, 여러 질환 및 장애의 증상을 지칭한다 (검토를 위해: *Kyriakides et al., 2013, European Journal of Neurology 20: 997-1005*를 참고함). 가장 흔한 원인은 근육 또는 근육군의 과다 사용 또는 과다 스트레칭이다. 외상 병력이 없는 근통은 종종 바이러스 감염으로 인한 것이다. 장기간 근통은 대사성 근병증, 일부 영양 결핍 또는 만성 피로 증후군의 지표일 수 있다.
- [0019] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "요통"은 허리의 임의의 부분에서의 통증감을 지칭한다. 요통의 에피소드는 기간에 따라 급성, 아급성 또는 만성일 수 있다. 상기 통증은 둔통, 쭈시기나 찌르는 통증, 또는 작열감을 특징으로 할 수 있다. 상기 통증은 팔 및 손, 뿐만 아니라 다리 또는 발로 발산될 수 있고, 다리 및 팔에서의 감각이상 (명백한 원인이 없이 따끔거림), 약화 또는 마비를 포함할 수 있다. 요통의 해부학적 분류는 척추의 세그먼트를 따라: 목 통증 (목), 중간 허리 통증 (흉부), 하부 허리 통증 (요추) 또는 미골통 (꼬리뼈 또는 천골 통증)이고, 요추 영역이 통증에 가장 흔하다. 상기 통증은 근육, 신경, 뼈, 연골, 또는 척추 (척추)의 다른 구조체로부터 발생할 수 있지만, 담낭 및 췌장과 같은 내부 구조체 또한 허리에 관련된 통증을 초래할 수 있다 (*Cohen et al., 2008, BMJ, 337:a2718*).
- [0020] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "떨림" ("오싹함"으로도 지칭됨)은 온혈동물에서 초기 저체온증 또는 단지 추위를 느끼는 것에 대해 반응하는 신체 기능이다. 심부 체온이 저하될 때, 항상성을 유지하기 위해 떨림 반사가 촉발된다. 골격근이 작은 움직임으로 흔들리기 시작하여, 에너지를 쏠음으로써 온기를 생성한다. 사람이 추위를 느낄 수 있기 때문에, 떨림은 또한 열에 대한 반응일 수 있다. 열이 나는 동안에는 온도에 대한 시상하부 설정점이 증가한다. 증가된 설정점은 체온을 증가시키지만 (발열), 새로운 설정점에 도달할 때까지 환자가 추위를 느끼게 만든다. 격렬한 떨림을 갖는 심각한 오한은 경직으로 불린다. 환자의 신체가 새로운 설정점으로 체온을 증가시키기 위한 생리학적 시도에서 떨리기 때문에 경직이 발생한다. 떨림은 또한 수술 후에 나타날 수 있고, 이는 마취후 떨림으로 공지되어 있다.
- [0021] 본원에서 사용된 바와 같이, 토 및 토함으로도 공지된 용어 "구토"는 무엇보다도 입 및 때때로 코를 통해 위의 내용물이 비자발적으로 강제로 배출되는 것이다 (*Metz A., 2017, Australian Family Physician Vol. 36 (9): 688-692*). 구토는 매우 다양한 상태에 의해 초래될 수 있으며; 이는 위염 또는 중독과 같은 질병에 대한 특이적 반응으로서 또는 뇌 종양 및 상승된 두개내 압력에서부터 이온화 방사선에 대한 과다노출에 이르는 장애의 비특이적 후유증으로 존재할 수 있다.
- [0022] 본원에서 사용된 바와 같이, 이러한 증상의 치료 및/또는 예방이 필요한 환자에서의 질병 또는 질환의 증상은 염증 상태, 자가면역 질환, 대사 질환, 뇌 질환, 심혈관 질환 및 약물-유도된 질환을 포함하는 질환 적응증의 군으로부터 선택된다.
- [0023] 하기에, 증상 및 그와 연관된 질병의 유형이 비제한적인 목록의 형태로 제공된다. 본원에 기재된 치료 또는 예방이 1가지가 넘는 유형의 증상에 관한 것일 수 있음을 주목한다. 추가로, 주어진 의학적 적응증, 질병 또는 질환이 1가지가 넘는 증상과 연관될 수 있음을 주목한다.
- [0024] 증상 "오심"은 복부 내부의 질병, 예를 들어 폐색 장애 (예를 들어, 유문 폐색, 소장 폐색, 결장 폐색, 소장간막 동맥 증후군), 장 감염 (예를 들어, 바이러스 또는 박테리아 감염), 염증성 질환 (예컨대, 담낭염, 췌장염, 맹장염, 간염), 감각운동 기능장애 (예를 들어, 위마비, 가성 장폐색, 위식도 역류 질환, 만성 특발성 오심, 기능성 구토, 주기적 구토 증후군, 반추 증후군) 또는 담석산통; 복부 외부의 질병, 예를 들어 심장폐 장애 (예컨대, 심근병증, 심근 경색), 내이 질환 (예컨대, 멀미, 내이염, 악성 중양), 대뇌내 장애 (예를 들어, 출혈, 농양, 뇌수종, 악성 종양), 정신의학적인 질병 (예를 들어, 신경성 식욕부진 및 신경성 식욕항진, 우울증), 수술후 구토, 의약 및 약물 (예를 들어, 화학요법 및 생물학적 요법, 항생제, 항부정맥제, 디곡신, 경구용 저혈당 의약, 경구용 피임약)과 연관된 오심, 내분비/대사 질환 (예컨대, 임신, 요독증, 케토산증, 갑상선 및 부갑상선 질환, 부신 기능부전증)과 연관된 오심, 간 부전, 알콜 남용에 의한 중독으로 인한 오심 등과 연관있을 수 있다.
- [0025] 증상 "요통"은 특히 급성기의 염증으로 인한 질병 (전형적으로 2주 내지 3개월 지속됨)과 연관있을 수 있고, 허리통, 외상, 손상, 감염, 암 (특히 유방암, 폐암 및 전립선암과 같이 척추로 전파되는 것으로 공지된 암) 등과 연관있을 수 있다.
- [0026] 증상 "근통" 또는 "근육 통증"은 손상 또는 외상, 예컨대 염좌, 혈종 또는 과다사용 (근육을 너무 많이 너무 자

주 사용하였음), 예컨대 별도의 손상의 보호, 만성 긴장, 예를 들어 바이러스 감염과 연관된 횡문근융해로 인한 근육 통증, 약물-관련된, 예를 들어 피브레이트 및 스타틴, ACE 억제제, 코카인, 일부 항-레트로바이러스 약물로 인한 압박 손상, 중증 칼륨 결핍증, 섬유근통, 엘러스-단로스 증후군, 자가면역 장애 (예를 들어, 혼합 결합 조직 질환, 전신 홍반성 낭창, 류마티스성 다발성 근통, 근염, 예컨대 다발성 근염, 피부근염, 및 봉입체 근염, 다발성 경화증, 근통성 뇌척수염 (만성 피로 증후군), 가족성 지중해열, 결절성 다발성 동맥염, 데빅병, 국소 피부경화증, 유육종), 대사 질환 (예컨대, 카르니틴 팔미토일트랜스퍼라제 II 결핍증, 콘 증후군, 부신 기능부전증, 갑상선 기능 항진증, 갑상선 기능 저하증, 당뇨병, 생식선 저하증, 뿐만 아니라 이온통로병증, 스티클러 증후군, 저칼륨혈증, 저긴장증 (낮은 근긴장도), 운동 불내성, 비만세포증, 말초 신경증, 호산구증가증 근통 증후군, 바르쿠 열, 헤르페스, 철분 과다 장애로도 공지된 혈색소증, 지연 발병 근통증, AIDS, HIV 감염, 종양-유도된 골연화증, 비타민 D 결핍증, 심근 경색과 연관있을 수 있다.

[0027] 증상 "두통"은 원발성 두통과 연관있을 수 있다. 모든 두통의 90%는 원발성 두통이다. 보통 원발성 두통은 사람이 20세 내지 40세일 때 처음 시작된다. 가장 흔한 유형의 원발성 두통은 편두통 및 긴장형 두통이다. 이들은 상이한 특징을 갖는다. 편두통은 전형적으로 맥동성 두통, 오심, 광선공포증 (빛에 대한 민감증) 및 소리공포증 (소리에 대한 민감증)과 함께 나타난다. 보통 긴장형 두통은 다른 증상은 동반하지 않고 두부의 양측 상에 비-맥동성의 "띠와 같은" 압력과 함께 나타난다. 다른 매우 드문 유형의 원발성 두통에는 군발성 두통이 포함된다: 매일 동일한 시간에 발생하는, 자율신경 증상 (눈물, 눈 충혈, 코 막힘)을 갖는, 보통 한쪽 눈 주위에서의 중증 통증의 단기 에피소드 (15-180분). 군발성 두통은 트립탄으로 치료할 수 있고, 프레드니손, 에르고타민 또는 리튬으로 예방할 수 있다; 쓰시는 안면 통증을 특징으로 하는 삼차 신경통 또는 후두 신경통, 지속성 편두통, 즉, 중증 통증의 에피소드를 갖는 연속적인 편측성 통증; 원발성의 찌르는 듯한 두통, 예를 들어 자율신경 증상 (눈물, 눈 충혈, 코 막힘)이 없이 1초 내지 수분 동안 찌르는 듯한 "아이스 픽 통증" 또는 "짹 및 졸트"의 재발성 에피소드; 기침, 재채기 또는 압박 (두부에서 압력을 증가시킬 수 있는 임의의 것) 이후에 갑자기 시작되어 수분 동안 지속되는 원발성 기침 두통. "양성" 원발성 기침 두통의 진단이 이루어질 수 있기 전에는 중증의 원인 (속발성 두통 위험 신호 섹션 참조)이 제외되어야 한다; 운동하는 동안 또는 이후에 시작되어 5분 내지 24시간 동안 지속되는 육신거리고 맥동하는 통증을 특징으로 하는 원발성 운동성 두통. 이들 두통의 배후에 있는 메카니즘은 불명확하고, 가능하게는 두부의 정맥을 팽창시키는 압박으로 인해 두통이 초래된다; 성행위 동안에 시작되어 오르가즘 동안에 훨씬 악화되기 시작하는 듯한 양측성 두통을 특징으로 하는 원발성 성적 두통; 수면 두통; 두정부 어딘가 다른 곳에서의 문제로 인해 초래될 수 있는 속발성 두통. 이들 중 일부, 예컨대 경추성 두통 (목 근육으로부터 발생하는 통증), 두통에 대해 과도한 진통제를 사용한 사람들에서의 약물 과다사용 두통, 열 및 수막증, 또는 뻣뻣한 목과 함께 나타나는 수막의 염증을 특징으로 하는 수막염; 뇌 안쪽의 출혈 (두개내 출혈); 지주막하 출혈 (급성, 중증 두통, 열이 없이 뻣뻣한 목); 과열성 동맥류, 동정맥 기형, 뇌실질내 출혈; 측두 동맥염, 즉, 노인 (평균 70세)에서 흔한 동맥의 염증성 질환, 류마티스성 다발근통; 급성 폐쇄각 녹내장 (안구에서 증가된 압력); 발작후 기간의 일부로서 (발작후 상태), 경련 또는 다른 유형의 발작 이후에 일어나는 발작후 두통은 유해하지 않고; 위장 장애, 예컨대 헬리코박터 파이로리 감염, 셀리악 질환, 비셀리악 글루텐 민감증, 과민성 대장 증후군, 염증성 대장 질환, 위마비, 및 간담즙성 장애는 두통을 초래할 수 있다. 위장 장애의 치료는 두통의 관해 또는 개선을 유도할 수 있다.

[0028] 용어 두통은 원발성 또는 속발성 두통으로 정의된다. 원발성 두통은 편두통, 긴장형 두통 (TTH), 군발성 두통 및 다른 삼차 자율신경 두통, 및 다른 원발성 두통으로 정의된다.

[0029] 두통의 진단 또는 평가는 관련 기술분야에 널리 정립되어 있다. 평가는 증상의 환자 특징분석과 같은 주관적인 척도를 기반으로 수행될 수 있다. 예를 들어, 편두통은 다음 기준을 기반으로 하여 진단될 수 있다: 1) 4 내지 72시간 지속되는 두통의 일시적 공격; 2) 다음 증상 중 2가지: 편측성 통증, 육신거리며, 움직임 때 악화, 및 중간 정도 또는 중증 강도의 통증; 및 3) 다음 증상 중 1가지: 오심 또는 구토, 및 광선공포증 또는 소리공포증 (*Goadsby et al., N. Engl. J. Med. 346:257-270, 2002*).

[0030] 증상 "떨림"은 열, 저온 민감증, 폐경, 공황 발작, 불안증, 박테리아 감염, 리케차 감염, 바이러스 감염, 약물 금단 등과 연관있을 수 있다.

[0031] 증상 "구토"는 위염 (위벽의 염증), 위장염, 위식도 역류 질환, 셀리악 질환, 비셀리악 글루텐 민감증, 유문 협착, 장 폐색, 과식, 급성 복부 및/또는 복막염, 장폐색증, 음식 알러지 (중증 두드러기 또는 부기와 함께); 담낭염, 췌장염, 맹장염, 간염; 식중독, 우유 단백질에 대한 알러지 반응, 예를 들어 우유 알러지 또는 락토스 불내증; 멀미, 메니에르병, 뇌진탕, 뇌 출혈, 편두통, 뇌 종양, 양성 두개내 고혈압 및 뇌수종, 대사성 장애, 예컨대 고칼슘혈증, 요독증 부신 기능부전증, 저혈당증, 고혈당증, 약물 반응, 알콜 중독, 오피오이드 섭취, 선

택적 세로토닌 재흡수 억제제; 화학요법 약물의 사용; 광범위한 바이러스 및 박테리아, 예를 들어 노로바이러스, 인플루엔자에 의해 초래되는 위 염증; 또는 정신의학적/거동적 질병, 예컨대 신경성 식욕항진 및 게워냄 장애와 연관있을 수 있다.

[0032] 본 발명의 실시양태의 상세한 설명

[0033] 하기에, 본 발명의 실시양태가 제공된다. 일반적으로 실시양태를 동일한 카테고리 (생성물, 공정, 용도, 방법)의 임의의 다른 실시양태와 조합할 수 있음을 주목한다.

[0034] 본 발명의 한 실시양태는 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 관한 것이다. 상기 증상은 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택될 수 있다. 상기 항체 또는 단편 또는 스캐폴드는 하기에 상세한 바와 같이 성숙 ADM, 예를 들어 아미노산 1 내지 52 (서열식별번호: 1)의 ADM, 또는 성숙 ADM의 단편, 예를 들어 중간-영역 ADM (MR-ADM) (서열식별번호: 3), 또는 N-말단 ADM (서열식별번호: 4)에 결합한다.

[0035] 따라서, 본 발명의 또 다른 실시양태는 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 관한 것이며, 여기서 상기 항체 또는 단편 또는 스캐폴드는 상기 정의된 바와 같이 성숙 ADM, 예를 들어 아미노산 1 내지 52 (서열식별번호: 1)의 ADM, 또는 그의 단편에 결합한다.

[0036] 본 발명의 추가의 실시양태는 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토와 같은 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 관한 것이며, 여기서 상기 항체 또는 단편 또는 스캐폴드는 상기 정의된 바와 같이 성숙 ADM, 예를 들어 아미노산 1 내지 52 (서열식별번호: 1)의 ADM, 또는 그의 단편에 결합한다.

[0037] 추가의 실시양태에서, 본 발명은 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 관한 것이며, 여기서 상기 항체 또는 단편 또는 스캐폴드는 상기 정의된 바와 같이 성숙 ADM, 예를 들어 아미노산 1 내지 52 (서열식별번호: 1)의 ADM, 또는 그의 단편에 결합하고, 여기서 질병은 적응증으로부터 선택되며, 여기서 샘플 중 C-반응성 단백질 (CRP)의 양은 ≥ 10 mg/L이고/거나, 여기서 샘플 중 TNF의 양은 ≥ 50 pg/ml이고/거나, 여기서 샘플 중 바이오-ADM의 양은 ≥ 43 pg/ml이고/거나, 여기서 평균 동맥압이 감소된다.

[0038] 추가의 실시양태에서, 본 발명은 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 관한 것이며, 여기서 상기 항체 또는 단편 또는 스캐폴드는 상기 기재된 바와 같이 성숙 ADM, 예를 들어 아미노산 1 내지 52 (서열식별번호: 1)의 ADM, 또는 그의 단편에 결합하고, 여기서 질병은 편두통이다.

[0039] 추가의 실시양태에서, 본 발명은 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 관한 것이며, 여기서 상기 항체 또는 단편 또는 스캐폴드는 상기 기재된 바와 같이 성숙 ADM, 예를 들어 아미노산 1 내지 52 (서열식별번호: 1)의 ADM, 또는 그의 단편에 결합하고, 여기서 상기 질병은 편두통이고, 여기서 상기 대상체는 ≥ 10 mg/L의 샘플 중 C-반응성 단백질 (CRP)의 양을 갖고/거나, 여기서 샘플 중 TNF의 양은 ≥ 50 pg/ml이고/거나, 여기서 샘플 중 바이오-ADM의 양은 ≥ 43 pg/ml이고/거나, 여기서 평균 동맥압이 감소된다.

[0040] 추가의 실시양태에서, 본 발명은 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 관한 것이며, 여기서 상기 항체 또는 단편 또는 스캐폴드는 상기 기재된 바와 같이 성숙 ADM, 예를 들어 아미노산 1 내지 52 (서열식별번호: 1)의 ADM, 또는 그의 단편에 결합하고, 여기서 상기 질병은 편두통이고, 여기서 상기 대상체는 ≥ 10 mg/L인 샘플 중 C-반응성 단백질 (CRP)인 양을 갖고/거나, 여기서 샘플 중 TNF의 양은 ≥ 50 pg/ml이고/거나, 여기서 샘플 중 바이오-ADM의 양은 ≥ 43 pg/ml이고/거나, 여기서 평균 동맥압이 감소되고, 여기서 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체는 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질환 증상 중 적어도 하나를 나타낸다.

- [0041] 본 발명의 한 실시양태에서, 샘플은 전혈, 혈장 및 혈청을 포함하는 군으로부터 선택된다.
- [0042] 평균 동맥압 (MAP)은 하나의 심장 주기 동안에 환자 동맥에서의 평균 혈압으로서 정의된다. 이는 중요 장기로의 관류의 지표로 간주된다. 70 mmHg 초과인 MAP가 평균적인 사람의 장기를 유지하는데 충분한 것으로 믿어진다. 본 발명의 문맥에서, 용어 "평균 동맥압이 감소된다"는 75 mmHg 미만의 MAP를 의미한다.
- [0043] 성숙 아드레노메둘린 펩티드는 52개 아미노산 (서열식별번호: 1)을 포함하는 아미드화 펩티드 (ADM-NH₂)이며, 프리-프로ADM 1-146의 아미노산 95 내지 146을 포함하고, 프리-프로ADM으로부터 단백질 분해성 절단에 의해 형성된다. 성숙 ADM, 바이오-ADM 및 ADM-NH₂는 본원에 걸쳐 상호교환적으로 사용되고, 서열식별번호: 1에 따른 분자이다.
- [0044] 본 발명의 또 다른 실시양태는 임의의 이전 실시양태에 따라 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병, 예컨대 편두통의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 관한 것이며, 여기서 상기 항체 또는 단편 또는 스캐폴드는 ADM의 N-말단 부분 (aa 1-21): YRQSMNNFQGLRSFGCRFGTC (서열식별번호: 4)에 결합한다.
- [0045] 본 발명의 또 다른 실시양태는, 적절한 경우 임의의 이전 실시양태에 따라 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병, 예컨대 편두통의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 ADM에 결합하는 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 ADM에 결합하는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 관한 것이며, 상기 항체, 항체 단편 또는 비-Ig 스캐폴드는 아드레노메둘린의 중간영역 부분, aa 21-42: CTVQKLAHQIYQFTDKDKDNVA (서열식별번호: 3)에 결합하는 것을 특징으로 한다.
- [0046] 본 발명의 또 다른 실시양태는 임의의 이전 실시양태에 따라 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병, 예컨대 편두통의 치료 또는 예방에 사용하기 위한, 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 관한 것이며, 여기서 상기 항체 또는 항체 단편 또는 비-Ig 스캐폴드는 단일특이적이고, 특히 모노클로날이다.
- [0047] 본 발명의 또 다른 실시양태는 임의의 이전 실시양태에 따라 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병, 예컨대 편두통의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 관한 것이며, 여기서 상기 항체 또는 단편 또는 스캐폴드는 비아코어(Biacore) 2000 시스템을 이용하는 무표지 표면 플라즈몬 공명에 의해 적어도 10⁻⁷ M의 ADM에 대한 결합 친화도를 나타낸다.
- [0048] 본 발명의 또 다른 실시양태는 임의의 이전 실시양태에 따라 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병, 예컨대 편두통의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 관한 것이며, 여기서 상기 항체 또는 단편 또는 스캐폴드는 ADM-결합-단백질-1 (보체 인자 H)이 아니다.
- [0049] 본 발명의 또 다른 실시양태는 임의의 이전 실시양태에 따라 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병, 예컨대 편두통의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 관한 것이며, 여기서 상기 항체 또는 단편 또는 스캐폴드는 ADM의 N-말단 (aa 1)을 인식하고, 그에 결합한다.
- [0050] 본 발명의 또 다른 실시양태는 임의의 이전 실시양태에 따라 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병, 예컨대 편두통의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 관한 것이며, 여기서 상기 항체 또는 단편 또는 스캐폴드는 혈청, 혈액, 혈장에서의 ADM의 반감기 (t_{1/2} 절반 체류 시간)를 적어도

10%, 바람직하게는 적어도 50%, 더욱 바람직하게는 > 50%, 가장 바람직하게는 > 100% 증진시키는 ADM 안정화 항체 또는 단편 또는 스캐폴드이다.

- [0051] 본 발명의 또 다른 실시양태는 임의의 이전 실시양태에 따라 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병, 예컨대 편두통의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 관한 것이며, 여기서 상기 항체 또는 단편 또는 스캐폴드는 인간 재조합 ADM 수용체를 발현하는 CHO-K1 세포에서 기준 길항제로서 hADM 22-52를 사용하여 ADM의 생체활성을 80% 이하, 바람직하게는 50% 이하로 차단한다.
- [0052] 본 발명의 또 다른 실시양태는 임의의 이전 실시양태에 따라 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 관한 것이며, 여기서 상기 대상체는 편두통, 바이러스 감염, 질환의 약물-유도된 증상 (예를 들어, 화학요법-유도된, 또는 생물학적 제제, 항생제, 항바이러스 화합물 등에 의한 처리에 의해 유도된)을 포함하는 군으로부터 선택된 질환으로 고통받는 대상체의 군으로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 질환 또는 질병 (이들 용어는 상호교환적으로 사용될 수 있음)은 편두통이다.
- [0053] 본 발명의 또 다른 실시양태는 임의의 이전 실시양태에 따라 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 관한 것이며, 여기서 상기 대상체는 암 요법 (화학요법)을 받고 있다.
- [0054] 화학요법은 표준화된 화학요법 레지멘의 일부로서 1종 이상의 항암 약물 (화학요법제)을 사용하는 암 치료의 카테고리이다. 화학요법 약물에는 하기 약물 카테고리가 포함될 수 있다: 알킬화제, 키나제 억제제, 빈카 알칼로이드, 안트라시클린, 항대사물질, 아로마타제 억제제, 토포아이스머라제 억제제, 조작된 항암제, 예컨대 모노클로날 항체, 시토키인, 유전자 요법 벡터, 안티센스 및 펩티드 분자.
- [0055] 본 발명의 또 다른 실시양태는 임의의 이전 실시양태에 따라 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병, 예컨대 편두통의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 관한 것이며, 여기서 상기 항체 또는 단편은 ADM의 N-말단 영역 (aa 1-21) (서열식별번호: 4) 또는 그의 항체 단편에 결합하는 인간 모노클로날 항체 또는 단편이고, 여기서 중쇄는 하기 서열을 포함하고:
- [0056] CDR1: 서열식별번호: 5
- [0057] GYTFSTRYW
- [0058] CDR2: 서열식별번호: 6
- [0059] ILPGSGST
- [0060] CDR3: 서열식별번호: 7
- [0061] TEGYEYDGFYD
- [0062] 여기서 경쇄는 하기 서열을 포함한다:
- [0063] CDR1: 서열식별번호: 8
- [0064] QSIVYSNGNTY
- [0065] CDR2:
- [0066] RVS
- [0067] CDR3: 서열식별번호: 9
- [0068] FQGSHPYPT.
- [0069] 본 발명의 또 다른 실시양태는 임의의 이전 실시양태에 따라 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병, 예컨대 편두통의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 ADM에 결합하는 인간 모노클로날 항체 또는 단편 또는 그의

항체 단편에 관한 것이며, 여기서 상기 항체 또는 단편은 VH 영역으로서 하기를 포함하는 군으로부터 선택된 서열을 포함하고:

[0070]

서열식별번호: 10 (AM-VH-C)

QVQLQQSGAELMKPGASVKISCKATGYTFSRYWIEWVKQRPGHGLEWIGEILP
GSGSTNYNEKFKGKATITADTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCTEGYEYDGF
YWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
VEPKHHHHHH

[0071]

[0072]

서열식별번호: 11 (AM-VH1)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFSRYWISWVRQAPGQGLEWMGRIL
PGSGSTNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTEGYEYDGF
YWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
VEPKHHHHHH

[0073]

[0074]

서열식별번호: 12 (AM-VH2-E40)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFSRYWIEWVRQAPGQGLEWMGRIL
PGSGSTNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTEGYEYDGF
YWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
VEPKHHHHHH

[0075]

[0076]

서열식별번호: 13 (AM-VH3-T26-E55)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKATGYTFSRYWISWVRQAPGQGLEWMGEIL
PGSGSTNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTEGYEYDGF
YWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
VEPKHHHHHH

[0077]

[0078]

서열식별번호: 14 (AM-VH4-T26-E40-E55)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKATGYTFSRYWIEWVRQAPGQGLEWMGEIL
PGSGSTNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTEGYEYDGF
YWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
VEPKHHHHHH

[0079]

[0080]

VL 영역으로서 하기 서열을 포함한다:

[0081] 서열식별번호: 15 (AM-VL-C)

DVLLSQTPLSLPVS LGDQATISCRSSQSIVYSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYR
VSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHIPYTFGGGKLE
IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE
C

[0082]

[0083] 서열식별번호: 16 (AM-VL1)

DVVMTQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSIVYSNGNTYLNWFQQRPGQSPRRLIYR
VSNRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHIPYTFGQGTKL
EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
EC

[0084]

[0085] 서열식별번호: 17 (AM-VL2-E40)

DVVMTQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSIVYSNGNTYLEWFQQRPGQSPRRLIYR
VSNRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHIPYTFGQGTKL
EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
EC

[0086]

[0087] 본 발명의 또 다른 실시양태는 임의의 이전 실시양태에 따라 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병, 예컨대 편두통의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 ADM에 결합하는 인간 모노클로날 항체 또는 단편 또는 그의 항체 단편에 관한 것이며, 여기서 상기 항체 또는 단편은 중쇄로서 하기 서열을 포함하고:

[0088] 서열식별번호: 22

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFSRYWIEWVRQAPGQGLEWIGEIL
PGSGSTNYNQKFQGRVTITADTSTSTAYMELSSLRSED AVYYCTEGYEYDGF
DYWGQGT TVVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK
VDK KVEPKSCDKTHTCPPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VV
DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC
LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFS c SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0089]

[0090] 여기서 경쇄로서 하기 서열을 포함한다:

[0091] 서열식별번호: 23

DVVLTQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSIVYSNGNTYLEWYLQRPQSPRLLIY
RVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHIPYTFGGGT
KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ
SGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS
FNRGEC

[0092]

[0093] 본 발명의 구체적인 실시양태에서, 항체는 중쇄로서 하기 서열 또는 그와 > 95%, 바람직하게는 > 98%, 바람직하게는 > 99% 동일한 서열을 포함하고:

[0094] 서열식별번호: 22

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFSRYWIEWVRQAPGQGLEWIGEILP
 GSGSTNYNQKFQGRVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTEGYEYDGF
 YWQGQTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
 SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK
 KVEPKSCDKTHTCPPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH
 EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
 KCKVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSV
 MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0095]

[0096] 중쇄로서 하기 서열 또는 그와 > 95%, 바람직하게는 > 98%, 바람직하게는 > 99% 동일한 서열을 포함한다:

[0097] 서열식별번호: 23

DVVLTSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSIVYSNGNTYLEWYLQRPQSPRLLIYR
 VSNRFSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHPYTFGGGTKLE
 IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
 QESVTEQDSKDYSLSTLTKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE

[0098]

C

[0099] 두 아미노산 서열 사이의 동일성을 평가하기 위해, 쌍별 정렬을 수행한다. 동일성은 정렬에서 직접적인 매칭을 갖는 아미노산의 백분율을 정의한다.

[0100] 상기에 따른 항체를 포함하는 제약 조성물이 기재된다.

[0101] 본 발명의 또 다른 실시양태는 임의의 이전 실시양태에 따라 오심에 대해 공지된 의약과 조합하여 사용하기 위한, 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병, 예컨대 편두통의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 관한 것이다.

[0102] 본 발명의 또 다른 실시양태는 임의의 이전 실시양태에 따라 두통에 대해 공지된 의약과 조합하여 사용하기 위한, 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병, 예컨대 편두통의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 관한 것이다.

[0103] 본 발명의 또 다른 실시양태는 임의의 이전 실시양태에 따라 근육통에 대해 공지된 의약과 조합하여 사용하기 위한, 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병, 예컨대 편두통의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 관한 것이다.

[0104] 본 발명의 또 다른 실시양태는 임의의 이전 실시양태에 따라 떨림에 대해 공지된 의약과 조합하여 사용하기 위한, 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병, 예컨대 편두통의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 관한 것이다.

- [0105] 본 발명의 또 다른 실시양태는 임의의 이전 실시양태에 따라 구토에 대해 공지된 의약과 조합하여 사용하기 위한, 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병, 예컨대 편두통의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 관한 것이다.
- [0106] 본 발명의 또 다른 실시양태는 임의의 이전 실시양태에 따라 요통에 대해 공지된 의약과 조합하여 사용하기 위한, 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병, 예컨대 편두통의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 관한 것이다.
- [0107] 본 발명의 또 다른 실시양태는 임의의 이전 실시양태에 따라 항체 또는 단편 또는 스캐폴드를 포함하는, 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병, 예컨대 편두통의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 제약 제형에 관한 것이다.
- [0108] 본 발명의 또 다른 실시양태는 이전 실시양태에 따라 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병, 예컨대 편두통의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 제약 제형에 관한 것이며, 여기서 상기 제약 제형은 용액, 바람직하게는 즉시-사용 용액이다.
- [0109] 본 발명의 또 다른 실시양태는 이전 실시양태에 따라 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병, 예컨대 편두통의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 제약 제형에 관한 것이며, 여기서 상기 제약 제형은 동결-건조된 상태이다.
- [0110] 본 발명의 또 다른 실시양태는 이러한 제형과 관련된 임의의 이전 실시양태에 따라 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병, 예컨대 편두통의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 제약 제형에 관한 것이며, 여기서 상기 제약 제형은 근육내로 투여된다.
- [0111] 본 발명의 또 다른 실시양태는 이러한 제형과 관련된 임의의 이전 실시양태에 따라 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병, 예컨대 편두통의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 제약 제형에 관한 것이며, 여기서 상기 제약 제형은 혈관내로 투여된다.
- [0112] 본 발명의 또 다른 실시양태는 이전 실시양태에 따라 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병, 예컨대 편두통의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 제약 제형에 관한 것이며, 여기서 상기 제약 제형은 주입을 통해 투여된다.
- [0113] 본 발명의 또 다른 실시양태는 이러한 제형과 관련된 임의의 이전 실시양태에 따라 대상체에서 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림, 구토의 군으로부터 선택된 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병, 예컨대 편두통의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 제약 제형에 관한 것이며, 여기서 상기 제약 제형은 전신으로 투여된다.
- [0114] 본원에서 사용된 바와 같이, "질병 점수"의 정의는 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림 및 구토를 비롯한 LPS-유도된 임상 증상에 관한 것이다. 이들 증상을 하나의 점수 (= 질병 점수)로 합하였다: 예를 들어, 구토를 제외하고는 (이전 30 분 내에 구토가 있었는지에 따라 0 또는 3), 각각의 증상에 대해 0 내지 5의 척도임. 질병 점수는 모든 증상에 대한 합계이다 (0 내지 28의 이론적 범위).
- [0115] 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드와 관련하여 본원에 기재된 실시양태가 질병과 연관된 증상의 치료 또는 예방을 위해 적용되는 것으로 의도되며, 따라서 근본적인 질환(들)으로서 고려되어야

하는 급성 질환 또는 급성 상태 자체의 임의의 일차 치료 또는 제1선 치료 방법에 대해 반드시 의도되지 않음이 강조되어야 한다. 이는 본 발명이 예를 들어 암, 패혈증, 패혈성 쇼크, COPD, 울혈성 심장 질환 (급성 심부전)의 치료/치유 방법을 제공하지 않음을 의미한다.

[0116] 추가로, 본 발명의 실시양태에서 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드는 단일특이적이다. 단일특이적 항-ADM 항체 또는 단일특이적 항-ADM 항체 단편 또는 단일특이적 항-ADM 비-Ig 스캐폴드란, 상기 항체 또는 항체 단편 또는 비-Ig 스캐폴드가 표적 ADM 내의 적어도 5개 아미노산을 포함하는 1개의 특이적인 영역에 결합함을 의미한다. 단일특이적 항-ADM 항체 또는 단일특이적 항-ADM 항체 단편 또는 단일특이적 항-ADM 비-Ig 스캐폴드는 모두 동일한 항원에 대해 친화도를 갖는 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드이다.

[0117] 구체적이고 바람직한 실시양태에서, 본 발명은 항체 또는 항체 단편 또는 비-Ig 스캐폴드가 표적 ADM 내의 적어도 4개 아미노산을 포함하는 1개의 특이적인 영역에 결합하는 것을 특징으로 하는, 단일특이적 항-ADM 항체 또는 단일특이적 항-ADM 항체 단편 또는 단일특이적 항-ADM 비-Ig 스캐폴드를 제공한다. 또 다른 특정한 실시양태에서, ADM에 결합하는 항-ADM 항체 또는 항체 단편은 단일특이적 항체이다. 단일특이적이란, 상기 항체 또는 항체 단편이 표적 ADM 내의 바람직하게는 적어도 4개 또는 적어도 5개 아미노산을 포함하는 1개의 특이적인 영역에 결합하는 것을 의미한다. 단일특이적 항체 또는 단편은 모두 동일한 항원에 대해 친화도를 갖는 항체 또는 단편이다. 모노클로날 항체는 단일특이적이지만, 단일특이적 항체는 또한 공동된 배세포로부터 이들을 생산하는 것 외에 다른 수단에 의해 생산될 수 있다.

[0118] 본 발명에 따른 항체는 항원에 특이적으로 결합하는 이뮤노글로불린 유전자에 의해 실질적으로 코딩되는 하나 이상의 폴리펩티드를 포함하는 단백질이다. 인식된 이뮤노글로불린 유전자에는 카파, 람다, 알파 (IgA), 감마 (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), 델타 (IgD), 엡실론 (IgE) 및 뮤 (IgM) 불변 영역 유전자, 뿐만 아니라 수많은 이뮤노글로불린 가변 영역 유전자가 포함된다. 전장 이뮤노글로불린 경쇄는 일반적으로 약 25 kDa 또는 214개 아미노산 길이이다. 전장 이뮤노글로불린 중쇄는 일반적으로 약 50 kDa 또는 446개 아미노산 길이이다. 경쇄는 NH₂-말단에서 가변 영역 유전자 (약 110개 아미노산 길이)에 의해 및 COOH-말단에서 카파 또는 람다 불변 영역 유전자에 의해 코딩된다. 중쇄는 유사하게 가변 영역 유전자 (약 116개 아미노산 길이), 및 다른 불변 영역 유전자 중 하나에 의해 코딩된다.

[0119] 항체의 기본 구조 단위는 일반적으로 2개의 동일한 쌍의 이뮤노글로불린 쇄로 구성된 사량체이며, 각각의 쌍은 하나의 경쇄 및 하나의 중쇄를 갖는다. 각각의 쌍에서, 경쇄 및 중쇄 가변 영역은 항원에 결합하고, 불변 영역은 이펙터 기능을 매개한다. 이뮤노글로불린은 또한 다양한 다른 형태, 예를 들어 Fv, Fab 및 (Fab')₂, 뿐만 아니라 이관능성 혼성체 항체 및 단일 쇄로 존재한다 (예를 들어, *Lanzavecchia et al. 1987. Eur. J. Immunol. 17: 105; Huston et al 1988. PNAS 85:5879-5883; Bird et al. 1988. Science 242:423-426; Hood et al. 1984. Immunology, Benjamin, N.Y., 2nd ed.; Hunkapiller and Hood, 1986. Nature 323: 15-16*). 이뮤노글로불린 경쇄 또는 중쇄 가변 영역은 상보성 결정 영역 (CDR)으로도 지칭되는 3개의 초가변 영역에 의해 개재된 프레임워크 영역을 포함한다 (Sequences of Proteins of Immunological Interest, E. Kabat et al., U.S. Department of Health and Human Services, 1983 참고). 상기 언급된 바와 같이, CDR은 주로 항원의 에피토프로의 결합을 담당한다. 면역 복합체는 항원에 특이적으로 결합하는 항체, 예컨대 모노클로날 항체, 키메라 항체, 인간화 항체 또는 인간 항체, 또는 기능성 항체 단편이다.

[0120] 키메라 항체는 경쇄 및 중쇄 유전자가 상이한 종에 속하는 이뮤노글로불린 가변 및 불변 영역 유전자로부터 전형적으로 유전자 조작에 의해 구축된 것인 항체이다. 예를 들어, 마우스 모노클로날 항체로부터의 유전자의 가변 세그먼트를 인간 불변 세그먼트, 예컨대 카파 및 감마 1 또는 감마 3에 결합시킬 수 있다. 한 예에서, 치료용 키메라 항체는 마우스 항체로부터의 가변 또는 항원-결합 도메인 및 인간 항체로부터의 불변 또는 이펙터 도메인으로 구성된 혼성체 단백질이지만, 다른 포유류 종이 사용될 수 있거나, 또는 가변 영역이 분자 기술에 의해 생산될 수 있다. 키메라 항체의 제조 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있으며, 예를 들어 미국 특허 번호 5,807,715를 참고한다. "인간화" 이뮤노글로불린은 인간 프레임워크 영역 및 비-인간 (예컨대, 마우스, 래트 또는 합성) 이뮤노글로불린으로부터의 하나 이상의 CDR을 포함하는 이뮤노글로불린이다. CDR을 제공하는 비-인간 이뮤노글로불린은 "공여자"로 명명되고, 프레임워크를 제공하는 인간 이뮤노글로불린은 "수용자"로 명명된다. 한 실시양태에서, 모든 CDR은 인간화 이뮤노글로불린에서 공여자 이뮤노글로불린으로부터의 것이다. 불변 영역이 존재할 필요는 없지만, 존재하는 경우에는 이들이 인간 이뮤노글로불린 불변 영역과 실질적으로 동일하여야 하며, 즉, 적어도 약 85-90%, 예컨대 약 95% 이상 동일하여야 한다. 따라서, 가능하게는 CDR을 제외

한 인간화 이뮤노글로불린의 모든 부분이 천연 인간 이뮤노글로불린 서열의 상응하는 부분과 실질적으로 동일하다. "인간화 항체"는 인간화 경쇄 및 인간화 중쇄 이뮤노글로불린을 포함하는 항체이다. 인간화 항체는 CDR을 제공하는 공여자 항체와 동일한 항체에 결합한다. 인간화 이뮤노글로불린 또는 항체의 수용자 프레임워크는 공여자 프레임워크로부터 취해진 아미노산에 의한 제한된 개수의 치환을 가질 수 있다. 인간화 또는 다른 모노클로날 항체는 추가의 보존적 아미노산 치환을 가질 수 있고, 이는 항원 결합 또는 다른 이뮤노글로불린 기능에 대해 실질적인 영향을 미치지 않는다. 예시적인 보존적 치환은 gly, ala; val, ile, leu; asp, glu; asn, gin; ser, thr; lys, arg; 및 phe, tyr과 같은 것들이다. 인간화 이뮤노글로불린은 유전자 조작을 이용하여 구축될 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,585,089 참고). 인간 항체는 경쇄 및 중쇄 유전자가 인간 기원인 것인 항체이다. 인간 항체는 관련 기술분야에 공지된 방법을 이용하여 생산될 수 있다. 인간 항체는 관심 항체를 분비하는 인간 B 세포를 불멸화시킴으로써 생성될 수 있다. 불멸화는 예를 들어 EBV 감염에 의해 또는 인간 B 세포를 골수종 또는 하이브리도마 세포와 융합시켜 트리오마 세포를 생산함으로써 달성될 수 있다. 인간 항체는 또한 파지 디스플레이 방법에 의해 생산될 수 있거나 (예를 들어 Dower et al., PCT 공개 번호 WO 91/17271; McCafferty et al.; PCT 공개 번호 WO92/001047; 및 Winter, PCT 공개 번호 WO 92/20791 참고), 또는 인간 조합적 모노클로날 항체 라이브러리로부터 선택될 수 있다 (모르포시스(Morphosys) 웹사이트 참고). 인간 항체는 또한 인간 이뮤노글로불린 유전자를 보유하는 트랜스제닉 동물을 이용하여 제조될 수 있다 (예를 들어, PCT 공개 번호 WO 93/12227; 및 PCT 공개 번호 WO 91/10741 참고).

[0121] 따라서, 항-ADM 항체는 관련 기술분야에 공지된 포맷을 가질 수 있다. 그 예는 인간 항체, 모노클로날 항체, 인간화 항체, 키메라 항체, CDR-그래프팅된 항체이다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 예를 들어 전형적인 전장 이뮤노글로불린인 IgG로서 재조합적으로 생산된 항체이거나, 또는 예를 들어 화학적으로 커플링된 항체 (단편 항원 결합)로서 적어도 중쇄 및/또는 경쇄의 F-가변 도메인을 함유하는 항체 단편, 예컨대 비제한적으로 Fab-단편, 예컨대 Fab 미니바디, 단일 쇠 Fab 항체, 에피토프 태그를 갖는 1가 Fab 항체, 예를 들어 Fab-V5Sx2; CH3 도메인과 이량체화된 2가 Fab (미니-항체); 예를 들어 이중성 도메인의 도움으로 다량체화를 통해, 예를 들어 dHLX 도메인의 이량체화를 통해 형성된 2가 Fab 또는 다가 Fab, 예를 들어 Fab-dHLX-FSx2; F(ab')₂-단편, scFv-단편, 다량체화된 다가 또는/및 다중특이적 scFv-단편, 2가 및/또는 이중특이적 디아바디, BITE[®] (이중특이적 T-세포 인계이저), 삼관능성 항체, 예를 들어 G와는 상이한 부류로부터의 다가 항체; 단일-도메인 항체, 예를 들어 낙타과 또는 어류 이뮤노글로불린 및 수많은 다른 것들로부터 유래된 나노바디이다.

[0122] 항-ADM 항체 외에도, 다른 생물중합체 스캐폴드가 표적 분자와 복합체를 형성하는 것으로 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 높은 표적 특이적 생물중합체의 생성을 위해 사용되어 왔다. 그 예는 압타머, 스피겔머, 안티칼린 및 코노톡신이다. 항체 포맷의 도시에 대해서는, WO 2013/072513의 도 1a, 1b 및 1c를 참고한다.

[0123] 본 발명에 따른 항체 단편은 본 발명에 따른 항체의 항원 결합 단편이다.

[0124] 바람직한 실시양태에서, ADM 항체 포맷은 Fv 단편, scFv 단편, Fab 단편, scFab 단편, F(ab)₂ 단편 및 scFv-Fc 융합 단백질을 포함하는 군으로부터 선택된다. 또 다른 바람직한 실시양태에서, 항체 포맷은 scFab 단편, Fab 단편, scFv 단편 및 이들의 생체이용률 최적화된 접합체, 예컨대 PEG화 단편을 포함하는 군으로부터 선택된다. 가장 바람직한 포맷 중 하나는 scFab 포맷이다.

[0125] 비-Ig 스캐폴드는 단백질 스캐폴드일 수 있으며, 이들이 리간드 또는 항원에 결합할 수 있기 때문에 항체 모방체로서 사용될 수 있다. 비-Ig 스캐폴드는 테트라넥틴-기반 비-Ig 스캐폴드 (예를 들어, US 2010/0028995에 기재됨), 비프로넥틴 스캐폴드 (예를 들어, EP 1266 025에 기재됨); 리포칼린-기반 스캐폴드 (예를 들어, WO 2011/154420에 기재됨); 유비퀴틴 스캐폴드 (예를 들어, WO 2011/073214에 기재됨), 트랜스페링 스캐폴드 (예를 들어, US 2004/0023334에 기재됨), 단백질 A 스캐폴드 (예를 들어, EP 2231860에 기재됨), 안키린 반복부 기반 스캐폴드 (예를 들어, WO 2010/060748에 기재됨), 마이크로단백질 (바람직하게는 시스테인 매듭을 형성하는 마이크로단백질) 스캐폴드 (예를 들어, EP 2314308에 기재됨), Fyn SH3 도메인 기반 스캐폴드 (예를 들어, WO 2011/023685에 기재됨), EGFR-A-도메인 기반 스캐폴드 (예를 들어, WO 2005/040229에 기재됨) 및 쿠니츠(Kunitz) 도메인 기반 스캐폴드 (예를 들어, EP 1941867에 기재됨)를 포함하는 군으로부터 선택될 수 있다.

[0126] 본 발명의 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 다음과 같이 생산될 수 있다: Balb/c 마우스를 제0일 및 제14일에 100 µg ADM-캡티드-BSA-접합체 (100 µl 완전 프로인트 아주반트 중에 유회됨) 및 제21일 및 제28일에 50 µg (100 µl 불완전 프로인트 아주반트 중에)에 의해 면역화시켰다. 융합 실험을 수행하기 3일 전에, 100 µl 식염수에 용해된 50 µg의 접합체를 1회 복강내 및 1회 정맥내 주사로서 동물에게 제공하였다. 면역화된 마우스로부터의 비장세포 및 골수종 세포주 SP2/0의 세포를 1ml의 50% 폴리에틸렌 글리콜에 의해 30초 동안 37°C

에서 융합시켰다. 세척한 후, 상기 세포를 96-웰 세포 배양 플레이트에 시딩하였다. HAT 배지 (20% 태아 소혈청 및 HAT-보충제로 보충된 RPMI 1640 배양 배지)에서 성장시킴으로써 혼성체 클론을 선택하였다. 2주 후에, 3회 계대 배양 동안 HAT 배지를 HT 배지로 교체한 후, 정상 세포 배양 배지로 되돌렸다. 융합 3주 후에 세포 배양 상청액을 항원 특이적 IgG 항체에 대해 일차적으로 스크리닝하였다. 양성의 시험된 미소배양물을 전파를 위해 24-웰 플레이트로 옮겼다. 재시험 이후, 선택된 배양물을 제한-회석 기술을 이용하여 클로닝 및 재클로닝 하고, 이소타입을 측정하였다 (*Lane, R.D. 1985. J. Immunol. Meth. 81: 223-228; Ziegler B. et al. 1996. Horm. Metab. Res. 28: 11-15* 또한 참고).

- [0127] 항체를 하기 절차에 따라 파지 디스플레이를 이용하여 생산할 수 있다: 인간 나이브 항체 유전자 라이브러리 HAL7/8을 ADM 펩티드에 대한 재조합 단일쇄 F-가변 도메인 (scFv)의 단리를 위해 사용하였다. 2개의 상이한 스페이서를 통해 ADM 펩티드 서열에 연결된 비오틴 태그를 함유하는 펩티드를 사용하는 것을 포함하는 패닝 전략을 이용하여 항체 유전자 라이브러리를 스크리닝하였다. 비특이적으로 결합된 항원 및 스트렙타비딘 결합된 항원을 이용하는 패닝 라운드의 혼합물을 사용하여, 비특이적 결합체의 백그라운드를 최소화하였다. 패닝의 세 번째 라운드로부터의 용리된 파지를 모노클로날 scFv 발현 이. 콜라이(E. coli) 균주의 생성을 위해 사용하였다. 이들 클론 균주의 배양으로부터의 상청액을 항원 ELISA 시험을 위해 직접 사용하였다 (WO 2013/072513에 인용된 문헌을 참고하며, 그들의 전문이 본원에 포함됨).
- [0128] 무린 항체의 인간화는 하기 절차에 따라 수행될 수 있다: 무린 기원의 항체의 인간화의 경우, 항체 서열을 프레임워크 영역 (FR)과 상보성 결정 영역 (CDR) 및 항원 사이의 구조적 상호작용에 대해 분석한다. 구조적 모델링을 기반으로 하여, 인간 기원의 적절한 FR을 선택하고, 무린 CDR 서열을 인간 FR에 이식한다. CDR 또는 FR의 아미노산 서열에서의 변화를 도입하여, FR 서열의 중 전환에 의해 제거되었던 구조적 상호작용을 회복시킬 수 있다. 이러한 구조적 상호작용의 회복은 파지 디스플레이 라이브러리를 이용하는 랜덤 접근법에 의해 또는 분자 모델링에 의해 지시되는 직접적인 접근법을 통해 달성될 수 있고 (*Almagro and Fransson, 2008. Front Biosci. 13: 1619-33*), 바람직한 실시양태에서 ADM 항체 포맷은 Fv 단편, scFv 단편, Fab 단편, scFab 단편, F(ab)2 단편 및 scFv-Fc 융합 단백질을 포함하는 균으로부터 선택된다. 또 다른 바람직한 실시양태에서, 항체 포맷은 scFab 단편, Fab 단편, scFv 단편 및 이들의 생체이용률 최적화된 접합체, 예컨대 PEG화 단편을 포함하는 균으로부터 선택된다. 가장 바람직한 포맷 중 하나는 scFab 포맷이다. 또 다른 바람직한 실시양태에서, 항-ADM 항체, 항-ADM 항체 단편, 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드는 전장 항체, 항체 단편, 또는 비-Ig 스캐폴드이다.
- [0129] 바람직한 실시양태에서, 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드는 ADM에 함유된 적어도 5개 아미노산 길이를 갖는 에피토프에 대해 지정되어 그에 결합할 수 있다.
- [0130] 또 다른 바람직한 실시양태에서, 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드는 ADM에 함유된 적어도 4개 아미노산 길이를 갖는 에피토프에 대해 지정되어 그에 결합할 수 있다.
- [0131] 본 발명의 한 구체적인 실시양태에서, ADM에 결합하는 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 ADM에 결합하는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드는 환자의 급성 질환 또는 급성 상태의 치료에 사용하기 위해 제공되며, 여기서 상기 항체 또는 단편 또는 스캐폴드는 ADM-결합-단백질-1 (보체 인자 H)이 아니다. 급성 질환 또는 급성 상태는 편두통일 수 있다.
- [0132] 본 발명의 한 구체적인 실시양태에서, ADM에 결합하는 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 ADM에 결합하는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드는 환자의 급성 질환 또는 급성 상태의 치료에 사용하기 위해 제공되며, 여기서 상기 항체 또는 항체 단편 또는 비-Ig 스캐폴드는 성숙 인간 ADM의 aa 1-42의 서열 내에 있는 바람직하게는 적어도 4개 또는 적어도 5개 아미노산을 갖는 영역에 결합한다.
- [0133] 상기 급성 질환 또는 급성 상태는 두통, 바람직하게는 원발성 두통, 가장 바람직하게는 편두통일 수 있다.
- [0134] 본 발명의 한 구체적인 실시양태에서, ADM에 결합하는 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 ADM에 결합하는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드는 환자의 급성 질환 또는 급성 상태의 치료 또는 예방에 사용하기 위해 제공되며, 여기서 상기 항체 또는 단편 또는 스캐폴드는 성숙 인간 ADM의 aa 1-21의 서열: YRQSMNNFQGLRSFGCRFGTC (서열식별 번호: 4) 내에 있는 바람직하게는 적어도 4개 또는 적어도 5개 아미노산을 갖는 영역에 결합한다.
- [0135] 상기 급성 질환 또는 급성 상태는 편두통일 수 있다.
- [0136] 본 발명의 바람직한 실시양태에서, 상기 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드는 ADM의 N-말단 부분 (아미노산 1-21)에 위치하는 ADM의 영역에 결합한다.

- [0137] 또 다른 바람직한 실시양태에서, 상기 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드는 ADM의 N-말단 (aa1)을 인식하고 그에 결합한다. N-말단은 서열식별번호 1 또는 4의 아미노산 1, 즉, "Y"가 항체 결합에 필수적임을 의미한다. 상기 항체 또는 단편 또는 비-Ig 스캐폴드는 N-말단 연장된 또는 N-말단 변형된 ADM에도 결합하지 않고 N-말단 분해된 ADM에도 결합하지 않을 것이다.
- [0138] 바람직한 실시양태에서, 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드는 ADM에, 바람직하게는 인간 ADM에 함유된 적어도 5개 아미노산 길이의 에피토프에 대해 지정되고, 그에 결합할 수 있다.
- [0139] 바람직한 실시양태에서, 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드는 ADM에, 바람직하게는 인간 ADM에 함유된 적어도 4개 아미노산 길이의 에피토프에 대해 지정되고, 그에 결합할 수 있다.
- [0140] 한 구체적인 실시양태에서, 본 발명에 따른 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드를 사용하는 것이 바람직하며, 여기서 상기 항-ADM 항체 또는 상기 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드는, 혈청, 혈액, 혈장에서의 ADM의 반감기 ($t_{1/2}$; 절반 체류 시간)를 적어도 10%, 바람직하게는 적어도 50%, 더욱 바람직하게는 >50%, 가장 바람직하게는 >100% 증진시키는 ADM 안정화 항체 또는 ADM 안정화 항체 단편 또는 ADM 안정화 비-Ig 스캐폴드이다. ADM의 반감기 (절반 체류 시간)는 ADM의 정량화를 위한 면역검정을 이용하여 각각 ADM 안정화 항체 또는 ADM 안정화 항체 단편 또는 ADM 안정화 비-Ig 스캐폴드의 부재 및 존재 하에 인간 혈장에서 측정할 수 있다.
- [0141] 하기 단계를 수행할 수 있다:
- [0142] - ADM을 각각 ADM 안정화 항체 또는 ADM 안정화 항체 단편 또는 ADM 안정화 비-Ig 스캐폴드의 부재 및 존재 하에 인간 시트레이트 혈장에 희석시킬 수 있고, 24°C에서 인큐베이션할 수 있다;
- [0143] - 분취량을 선택된 시점에서 (예를 들어, 24시간 이내에) 취하고, -20°C에서 냉각시킴으로써 상기 분취량에서 ADM의 분해를 중지시킬 수 있다;
- [0144] - 선택된 검정이 안정화 항체에 의해 영향을 받지 않는 경우에는, ADM의 양을 hADM 면역검정에 의해 직접적으로 측정할 수 있다. 대안적으로, 분취량을 변성제 (예컨대, HCl)로 처리할 수 있고, 샘플을 (예를 들어, 원심분리에 의해) 깨끗이 한 후, pH를 중화시킬 수 있고, ADM을 ADM 면역검정에 의해 정량화할 수 있다. 대안적으로, 비-면역검정 기술 (예를 들어, RP-HPLC)을 ADM-정량화를 위해 이용할 수 있다.
- [0145] - 각각 ADM 안정화 항체 또는 ADM 안정화 항체 단편 또는 ADM 안정화 비-Ig 스캐폴드의 부재 및 존재 하에 인큐베이션된 ADM에 대해 ADM의 반감기를 계산한다.
- [0146] - 안정화된 ADM에 대한 반감기의 증진을, ADM 안정화 항체 또는 ADM 안정화 항체 단편 또는 ADM 안정화 비-Ig 스캐폴드의 부재 하에 인큐베이션한 ADM과 비교하여 계산한다.
- [0147] ADM의 반감기의 2배 증가는 100%의 반감기 증진이다. 반감기 (절반 체류 시간)는 특정한 화학물질 또는 약물의 농도가 특정한 유체 또는 혈액 중에서 기준선 농도의 절반으로 저하되는데 걸린 기간으로 정의된다.
- [0148] 특정한 실시양태에서, 상기 항-ADM 항체, 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드는 비중화 항체, 단편 또는 비-Ig 스캐폴드이다. 중화 항-ADM 항체, 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드는 ADM의 생체활성을 거의 100%, 적어도 90% 초과, 바람직하게는 적어도 95% 초과로 차단할 것이다.
- [0149] 대조적으로, 비중화 항-ADM 항체, 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드는 ADM의 생체활성을 100% 미만, 바람직하게는 95% 미만, 바람직하게는 90% 미만, 더욱 바람직하게는 80% 미만 및 훨씬 더 바람직하게는 50% 미만으로 차단한다. 이는 비중화 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드에 결합된 ADM의 잔류 생체활성이 0% 초과, 바람직하게는 5% 초과, 바람직하게는 10% 초과, 더욱 바람직하게는 20% 초과, 더욱 더 바람직하게는 50% 초과임을 의미한다. 이 문맥에서 (a) "비중화 항-ADM 활성"을 갖는 항체 또는 항체 단편 또는 비-Ig 스캐폴드 (집합적으로 본원에서 간단히 "비중화" 항-ADM 항체, 항체 단편 또는 비-Ig 스캐폴드로 명명됨)이며 예를 들어 ADM의 생체활성을 80% 미만으로 차단하는 분자(들)는 ADM에 결합하는 분자 또는 분자들로 정의되고, 이는 CRLR (칼시토닌 수용체 유사 수용체) 및 RAMP3 (수용체-활성 변형 단백질 3)으로 구성된 기능성 인간 재조합 ADM 수용체를 발현하는 진핵생물 세포주의 배양물에 첨가시, 병행 첨가된 인간 합성 ADM 펩티드의 작용을 통해 세포주에 의해 생산된 cAMP의 양을 감소시키고, 여기서 상기 첨가된 인간 합성 ADM은 분석할 비중화 항체의 부재 하에 cAMP 합성의 최대-절반 자극을 유도하는 양으로 첨가되고, 여기서 심지어 ADM에 결합하는 분석할 비중화 분자(들)를 분석할 비중화 항체에 의해 수득가능한 cAMP 합성의 최대 감소를 얻는데

필요한 양보다 10배 더 많은 양으로 첨가할 경우에도, ADM에 결합하는 상기 분자(들)에 의한 cAMP의 감소가 80% 이하인 정도로 일어난다. 동일한 정의가 95%, 90%, 50% 등의 다른 범위에도 적용된다.

[0150] 본 발명에 따른 구체적인 실시양태에서, 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드가 사용되며, 여기서 상기 항체 또는 항체 단편 또는 비-Ig 스캐폴드는 ADM의 생체활성을 (기준선 값의) 80% 미만, 바람직하게는 50% 미만으로 차단한다. 이는 순환 ADM을 각각 80% 이하 또는 50% 이하로 차단하는 것을 의미한다. ADM의 생체활성의 상기 제한된 차단은 과량 농도의 항체, 항체 단편 또는 비-Ig 스캐폴드에서도 (ADM과 관련하여 과량의 항체, 항체 단편 또는 비-Ig 스캐폴드를 의미함) 발생하는 것으로 이해되었다. 상기 제한된 차단은 ADM 결합체 자체의 고유의 성질이다. 이는 상기 항체, 항체 단편 또는 비-Ig 스캐폴드가 각각 80% 또는 50%의 최대 억제력을 가짐을 의미한다. 암시적으로, 이는 적절한 양의 또는 과량의 항체, 항체 단편 또는 비-Ig 스캐폴드가 투여되더라도 각각 20% 또는 50% 잔류 ADM 생체활성이 여전히 존재함을 의미한다.

[0151] 바람직한 실시양태에서 상기 항-ADM 항체, 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드는 ADM의 생체활성을 적어도 5% 차단할 것이다. 암시적으로, 이는 잔류 95% 순환 ADM 생체활성이 여전히 존재함을 의미한다. 이는 상기 항-ADM 항체, 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드의 투여 이후에 남아있는 생체활성의 하한치이다. 생체활성은 소정의 물질이 생체 내에서 또는 시험관 내에서 (예를 들어, 검정에서) 살아있는 유기체 또는 조직 또는 장기 또는 기능성 단위에 대해 그의 상호작용 이후에 일어나는 효과로서 정의된다. ADM 생체활성의 경우, 이는 인간 제조항 ADM 수용체 cAMP 기능 검정에서 ADM의 효과일 수 있다. 따라서, 본 발명에 따라 생체활성은 ADM 수용체 cAMP 기능 검정을 통해 정의된다. 이러한 검정에서 ADM의 생체활성을 측정하기 위해 하기 단계가 수행될 수 있다:

[0152] - 상기 인간 제조항 ADM 수용체 cAMP 기능 검정에서 ADM에 대해 용량 반응 곡선을 수행한다.

[0153] - 최대-절반 cAMP 자극의 ADM-농도를 계산할 수 있다.

[0154] - 일정한 최대-절반 cAMP-자극 ADM-농도에서 용량 반응 곡선 (100 μ l까지의 최종 농도)을 각각 ADM 안정화 항체 또는 ADM 안정화 항체 단편 또는 ADM 안정화 비-Ig 스캐폴드에 의해 수행한다.

[0155] 상기 ADM 안정화 항체에 의한 최대 (최대 용량에서) 억제의 50%는, 상기 ADM 항체 또는 상기 ADM 항체 단편 또는 상기 ADM 비-Ig 스캐폴드 각각이 생체활성을 기준선 값의 50%로 차단함을 의미한다. 상기 ADM 생물검정에서 최대 억제의 80%는 상기 항-ADM 항체 또는 상기 항-ADM 항체 단편 또는 상기 항-ADM 비-Ig 스캐폴드 각각이 ADM의 생체활성을 80%로 차단함을 의미한다. 이는 ADM 생체활성을 80% 이하로 차단함을 의미한다.

[0156] 바람직한 실시양태에서, 조절성 항-ADM 항체 또는 조절성 항-ADM 항체 단편 또는 조절성 항-ADM 비-Ig 스캐폴드가 사용된다. "조절성" 항-ADM 항체 또는 조절성 항-ADM 항체 단편 또는 조절성 항-ADM 비-Ig 스캐폴드는 혈청, 혈액, 혈장에서의 ADM의 반감기 (t 절반 체류 시간)를 적어도 10%, 바람직하게는 적어도 50%, 더욱 바람직하게는 >50%, 가장 바람직하게는 >100% 증진시키고 ADM의 생체활성을 80% 미만, 바람직하게는 50% 미만으로 차단하는 항체 또는 ADM 항체 단편 또는 비-Ig 스캐폴드이고, 여기서 상기 항-ADM 항체, 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드는 ADM의 생체활성을 적어도 5%로 차단할 것이다. 반감기 및 생체활성 차단과 관련된 이들 값은 이들 값을 측정하기 위해 상기 언급된 검정과 관련하여 이해되어야 한다. 이는 순환 ADM을 각각 80% 이하 또는 50% 이하로 차단함을 의미한다. 이는 각각 20% 잔류 ADM 생체활성이 여전히 존재하거나 또는 50% 잔류 ADM 생체활성이 여전히 존재함을 의미한다. 이러한 조절성 항-ADM 항체 또는 조절성 항-ADM 항체 단편 또는 조절성 항-ADM 비-Ig 스캐폴드는 투여 용량을 용이하게 한다는 이점을 제공한다. ADM 생체활성의 부분적인 차단 또는 부분적인 감소 및 생체내 반감기의 증가 (ADM 생체활성의 증가)의 조합은 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드 용량의 유익한 간편성을 유도한다. 과량의 내인성 ADM의 상황에서는, 활성 저하 효과가 항체 또는 단편 또는 스캐폴드의 주요 영향이고, 이는 ADM의 (부정적인) 효과를 제한한다. 낮은 또는 정상의 내인성 ADM 농도의 경우에는, 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드의 생물학적 효과가 저하시키는 것과 (부분적인 차단에 의해) ADM 반감기의 증가에 의해 증가시키는 것의 조합이다. 따라서, 비중화 및 조절성 ADM 항체 또는 ADM 항체 단편 또는 ADM 비-Ig 스캐폴드는 특정한 생리학적 범위 내에서 ADM의 생체활성을 유지하기 위해 ADM 생체활성 완충제와 같이 작용한다.

[0157] 본 발명에 따른 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드는 친화도 상수가 10^{-7} M, 바람직하게는 10^{-8} M 초과이도록 인간 ADM에 대한 친화도를 나타내며, 바람직한 친화도는 10^{-9} M 초과이고, 가장 바람직하게는 10^{-10} M보다 높다. 관련 기술분야의 기술자는 보다 고용량의 화합물을 적용함으로써 보다 낮은 친화

도를 보완하는 것이 고려될 수 있음을 알고 있고, 이는 본 발명의 범위를 벗어나지 않는다. 친화도 상수는 WO 2013/072513의 실시예 1에 기재된 방법에 따라 측정될 수 있다.

- [0158] 용어 "ADM 결합 단백질"이 ADM-결합-단백질-1 (보체 인자 H)을 포함하는 것이 강조되어야 한다. 그러나, 본 발명에 따른 정의에 의해 상기 ADM 결합 단백질은 비중화 항-ADM 항체/항체 단편/비-Ig 스캐폴드도 아니고 조절성 항-ADM 항체/항체 단편/비-Ig 스캐폴드도 아니다. 추가로, 본 발명의 대상은 본 발명에 따라 환자의 급성 질환 또는 급성 상태의 치료에서 사용하기 위한 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드이며, 여기서 상기 항체 또는 항체 단편 또는 비-Ig 스캐폴드는 추가의 활성 성분과 함께 조합되어 사용될 수 있다.
- [0159] 추가로, 본 발명의 대상은 본 발명에 따른 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드를 포함하는 제약 제형이다. 추가로, 본 발명의 대상은 본 발명에 따른 제약 제형이며, 여기서 상기 제약 제형은 용액, 바람직하게는 즉시-사용 용액이다. 또 다른 실시양태에서, 추가로, 본 발명의 대상은 본 발명에 따른 제약 제형이며, 여기서 상기 제약 제형은 사용하기 전에 재구성되도록 건조된 상태이다. 상기 제약 제형은 근육 내로 투여될 수 있다. 상기 제약 제형은 혈관내로 투여될 수 있다. 상기 제약 제형은 주입을 통해 투여될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 추가로, 본 발명의 대상은 본 발명에 따른 제약 제형이며, 여기서 상기 제약 제형은 동결-건조된 상태이다.
- [0160] 또 다른 더욱 바람직한 실시양태에서, 본 발명은 환자에서 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 ADM에 결합하는 항-ADM 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 ADM에 결합하는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드를 포함하는 제약 제형을 제공하며, 여기서 상기 제약 제형은 질병 증상의 치료 또는 예방이 필요한 환자에게 투여된다.
- [0161] 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 본 발명에 따른 제약 제형은 환자가 이러한 치료를 필요로 하는 한, 상기 정의된 질병과 연관된 증상의 치료 및/또는 예방을 위해 환자에게 투여되어야 한다.
- [0162] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 ADM 항체 또는 ADM 항체 단편 또는 ADM 비-IG 스캐폴드는 비중화 ADM 항체 또는 비중화 ADM 항체 단편 또는 비중화 ADM 비-Ig 스캐폴드이다.
- [0163] 본원에서 사용된 바와 같이, 항체 포맷은 Fv 단편, scFv 단편, Fab 단편, scFab 단편, (Fab)₂ 단편 및 scFv-Fc 융합 단백질을 포함하는 군으로부터 선택된다.
- [0164] 본 발명의 실시양태에서, 임의의 이전 실시양태에 따라 치료가 필요한 환자의 치료에 사용하기 위한 ADM 항체 또는 ADM 항체 단편 또는 비-Ig-스캐폴드이며, 여기서 상기 항체 또는 단편은 적어도 0.5 mg/Kg 체중, 특히 적어도 1.0 mg/kg 체중, 더욱 특히 1.0 내지 20.0 mg/kg 체중, 예를 들어 2.0 내지 10 mg/kg 체중, 2.0 내지 8.0 mg/kg 체중, 또는 2.0 내지 5.0 mg/kg 체중의 용량으로 투여될 수 있다.
- [0165] 본 발명의 실시양태에서, 본원에서 언급된 질병의 증상은 패혈증, 당뇨병, 암, 심부전 (급성 심부전), 및 패혈성 쇼크를 포함하는 군으로부터 선택된 질환과 연관이 없다.
- [0166] 본 발명의 바람직한 실시양태에서, 임의의 이전 실시양태에 따라 임의의 ADM 항체 또는 ADM 항체 단편 또는 비-Ig-스캐폴드를 사용하여 치료되거나 예방되는 질병의 증상은 편두통과 연관이 있다.
- [0167] 본 발명의 바람직한 실시양태에서, 임의의 이전 실시양태에 따라 임의의 ADM 항체 또는 ADM 항체 단편 또는 비-Ig-스캐폴드를 사용하여 치료되거나 예방되는 질병의 증상은 바이러스 감염과 연관이 있고, 여기서 상기 바이러스는 헤파드나비리다에, 아데노비리다에, 헤르페스비리다에, 인플루엔자 바이러스, 아레나비리다에, 필로비리다에, 토가비리다에, 노로바이러스, 플라비비리다에, 레트로비리다에, 홍역 바이러스, 레오비리다에, 엔테로비리다에, 피코르나비리다에, 칼리시비리다에 등을 포함하는 군으로부터 선택된다.
- [0168] 본 발명의 바람직한 실시양태에서, 임의의 이전 실시양태에 따라 임의의 ADM 항체 또는 ADM 항체 단편 또는 비-Ig-스캐폴드를 사용하여 치료되거나 예방되는 질병의 증상은 원발성 질환의 약물-치료, 예컨대 화학요법, 생물학적 제제 (예를 들어, 항체 또는 그의 단편)로의 치료, 항생제, 또는 상기 언급된 임의의 질병 증상을 초래하는 임의의 의약과 연관이 있다.
- [0169] 본 발명의 추가의 바람직한 실시양태는 임의의 이전 실시양태에 따라 증상의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에 ADM 항체 또는 ADM 항체 단편 또는 비-Ig-스캐폴드를 투여하는 것을 포함하는, 이전의 임의의 실시양태에 정의된 증상의 치료 (예를 들어, 치료, 치유, 완화, 개선, 향상 등) 또는 예방 방법에 관한 것이다. 대상체는 바람직하게는 인간이다.

- [0170] ADM 항체 또는 ADM 항체 단편 또는 비-Ig-스캐폴드는 경구, 정맥내, 피하, 동맥내, 근육내, 심장내, 척수내, 흉곽내, 복막내, 심실내, 설하, 경피 및/또는 흡입을 비롯하여 관련 기술분야에 공지된 임의의 수단에 의해 투여될 수 있다. 투여는 전신, 예를 들어 정맥내, 또는 국소일 수 있다.
- [0171] 한 측면에서, 본 발명은 개체에게 ADM 항체 또는 ADM 항체 단편 또는 비-Ig-스캐폴드의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 두통, 바람직하게는 원발성 두통, 더욱 바람직하게는 편두통을 치료 또는 예방하기 위한 방법을 제공한다.
- [0172] 추가의 실시양태에서, 본 발명은 개체에게 ADM 항체 또는 ADM 항체 단편 또는 비-Ig-스캐폴드의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 두통, 바람직하게는 원발성 두통, 더욱 바람직하게는 편두통의 발달 또는 진행을 향상시키거나, 제어하거나, 발생을 감소시키거나, 또는 지연시키기 위한 방법을 제공한다.
- [0173] ADM 항체 또는 ADM 항체 단편 또는 비-Ig-스캐폴드를 두통 이전에, 동안에 및/또는 이후에 투여할 수 있다. 일부 실시양태에서, ADM 항체 또는 ADM 항체 단편 또는 비-Ig-스캐폴드를 두통의 공격 이전에 투여한다.
- [0174] 일부 실시양태에서, ADM 항체 또는 ADM 항체 단편 또는 비-Ig-스캐폴드를 또 다른 작용제, 예컨대 두통의 치료를 위한 또 다른 작용제와 함께 투여할 수 있다.
- [0175] 두통의 "발달" 또는 "진행"은 장애의 초기 징후 및/또는 후속 진행을 의미한다. 두통의 발달은 관련 기술분야에 널리 공지된 표준 임상 기술을 이용하여 검출될 수 있고 평가될 수 있다. 그러나, 발달은 또한 검출될 수 없는 진행을 지칭한다. 본 발명의 목적을 위해, 발달 또는 진행은 증상의 생물학적 과정을 지칭한다. "발달"에는 발생, 재발 및 발병이 포함된다. 본원에서 사용된 바와 같이, 두통의 "발병" 또는 "발생"에는 초기 발병 및/또는 재발이 포함된다.
- [0176] 본원에서 사용된 바와 같이, 약물, 화합물 또는 제약 조성물의 "유효 용량" 또는 "유효량"은 유익한 또는 원하는 결과를 일으키는데 충분한 양이다. 예방적 사용의 경우, 유익한 또는 원하는 결과에는 위험의 제거 또는 감소, 중증도의 완화, 또는 질환의 생화학적, 조직학적 및/또는 거동적 증상, 그의 합병증 및 질환의 발달 동안에 나타나는 중간 병리학적 표현형을 비롯한 질환의 개시 지연과 같은 결과가 포함된다. 치료적 사용의 경우, 유익한 또는 원하는 결과에는 두통 공격의 통증 강도, 기간 또는 빈도의 감소, 및 그의 합병증 및 질환의 발달 동안에 나타나는 중간 병리학적 표현형을 비롯한 두통으로 인한 하나 이상의 증상 (생화학적, 조직학적 및/또는 거동적)의 감소, 질환으로 고통받는 사람의 삶의 질의 증가, 질환을 치료하기 위해 필요한 다른 의약 용량의 감소, 또 다른 의약의 효과 증진, 및/또는 환자의 질환 진행의 지연과 같은 임상 결과가 포함된다. 유효 용량은 1회 이상의 투여로 투여될 수 있다. 본 발명의 목적을 위해, 약물, 화합물 또는 제약 조성물의 유효 용량은 직접적으로 또는 간접적으로 예방적 또는 치료적 치료를 달성하기에 충분한 양이다. 임상적 맥락에서 이해되는 바와 같이, 약물, 화합물 또는 제약 조성물의 유효 용량은 또 다른 약물, 화합물 또는 제약 조성물과 함께 달성될 수 있거나 또는 달성되지 않을 수 있다. 따라서, "유효 용량"은 1종 이상의 치료제를 투여하는 것으로 고려될 수 있고, 1종 이상의 다른 작용제와 함께 원하는 결과가 달성될 수 있거나 또는 달성된다면, 단일 작용제가 유효량으로 제공된 것으로 고려될 수 있다.
- [0177] 하기 실시양태는 본 발명의 대상이다:
- [0178] 1. 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-아드레노메들린 (ADM) 항체 또는 항-아드레노메들린 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드이며, 여기서 상기 항체 또는 단편 또는 스캐폴드는 ADM (1-52; 서열식별번호: 1) 또는 그의 단편에 결합하는 것인 항-아드레노메들린 (ADM) 항체 또는 항-아드레노메들린 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드.
- [0179] 2. 제1항에 있어서, 상기 항체 또는 단편 또는 스캐폴드가 ADM의 N-말단 부분 (aa 1-21): YRQSMNFNQGLRFSFGCRFGTC (서열식별번호: 4)에 결합하는 것인, 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-아드레노메들린 (ADM) 항체 또는 항-아드레노메들린 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드.
- [0180] 3. 제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 항체, 항체 단편 또는 비-Ig 스캐폴드가 ADM의 aa 21-42: CTVQKLAHQIYQFTDKDKDNVA (서열식별번호: 3)로 이루어진 ADM의 중간 영역 (MR-) 부분에 결합하는 것을 특징으로 하는, 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 질병의 증상

의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 ADM에 결합하는 항-아드레노메둘린 (ADM) 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 아드레노메둘린에 결합하는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드.

- [0181] 4. 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 질병의 증상이 오심, 두통, 근육통, 요통, 떨림 및/또는 구토의 군으로부터 선택되는 것인, 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 ADM에 결합하는 항-아드레노메둘린 (ADM) 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 아드레노메둘린에 결합하는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드.
- [0182] 5. 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 질병이 ≥ 10 mg/L인 샘플 중 C-반응성 단백질 (CRP)의 양을 특징으로 하고/거나, 샘플 중 TNF의 양이 ≥ 50 pg/ml이고/거나, 샘플 중 바이오-ADM의 양이 ≥ 43 pg/ml이고/거나, 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 상기 대상체에서 평균 동맥압이 감소되는 것인, 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 ADM에 결합하는 항-아드레노메둘린 (ADM) 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 아드레노메둘린에 결합하는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드.
- [0183] 6. 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 이러한 증상 또는 질병의 치료 및/또는 예방이 필요한 환자에서의 질병이 염증 상태, 자가면역 질환, 대사 질환, 뇌 질환, 심혈관 질환 및 약물-유도된 질환을 포함하는 적응증의 군으로부터 선택되는 것인, 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 ADM에 결합하는 항-아드레노메둘린 (ADM) 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 아드레노메둘린에 결합하는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드.
- [0184] 7. 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 질병이 편두통인, 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 ADM에 결합하는 항-아드레노메둘린 (ADM) 항체 또는 항-ADM 항체 단편 또는 아드레노메둘린에 결합하는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드.
- [0185] 8. 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 단편 또는 비-Ig 스캐폴드가 단일특이적인, 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-아드레노메둘린 (ADM) 항체 또는 항-아드레노메둘린 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드.
- [0186] 9. 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 단편 또는 스캐폴드가 비아코어 2000 시스템을 이용하는 무표지 표면 플라즈몬 공명에 의해 적어도 10^{-7} M의 ADM에 대한 결합 친화도를 나타내는 것인, 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-아드레노메둘린 (ADM) 항체 또는 항-아드레노메둘린 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드.
- [0187] 10. 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 단편 또는 스캐폴드가 ADM-결합-단백질-1 (보체 인자 H)이 아닌 것인, 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-아드레노메둘린 (ADM) 항체 또는 항-아드레노메둘린 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드.
- [0188] 11. 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 단편 또는 스캐폴드가 ADM의 N-말단 (aa 1)을 인식하고 그에 결합하는 것인, 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-아드레노메둘린 (ADM) 항체 또는 항-아드레노메둘린 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드.
- [0189] 12. 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 단편 또는 스캐폴드가 혈청, 혈액, 혈장에서의 ADM의 반감기 ($t_{1/2}$ 절반 체류 시간)를 적어도 10%, 바람직하게는 적어도 50%, 더욱 바람직하게는 $> 50\%$, 가장 바람직하게는 $> 100\%$ 증진시키는 ADM 안정화 항체 또는 단편 또는 스캐폴드인, 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또

는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-아드레노메둘린 (ADM) 항체 또는 항-아드레노메둘린 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드.

[0190] 13. 제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 단편 또는 스캐폴드가 인간 재조합 ADM 수용체를 발현하는 CHO-K1 세포에서 기준 길항제로서 hADM 22-52를 사용하여 ADM의 생체활성을 80% 이하, 바람직하게는 50% 이하로 차단하는 것인, 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-아드레노메둘린 (ADM) 항체 또는 항-아드레노메둘린 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드.

[0191] 14. 제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 화학요법, 생물학적 생물제제로의 치료, 항생제, 또는 항바이러스 화합물로의 치료를 받는 것인, 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-아드레노메둘린 (ADM) 항체 또는 항-아드레노메둘린 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드.

[0192] 15. 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 단편이 ADM에 결합하는 인간 모노클로날 항체 또는 단편 또는 그의 항체 단편이고, 중쇄가 하기 서열을 포함하고:

[0193] CDR1: 서열식별번호: 5

[0194] GYTFSTRYW

[0195] CDR2: 서열식별번호: 6

[0196] ILPGSGST

[0197] CDR3: 서열식별번호: 7

[0198] TEGYEYDGFYD

[0199] 경쇄가 하기 서열을 포함하는 것인:

[0200] CDR1: 서열식별번호: 8

[0201] QSIVYSNGNTY

[0202] CDR2:

[0203] RVS

[0204] CDR3: 서열식별번호: 9

[0205] FQGSHPYT

[0206] 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-아드레노메둘린 (ADM) 항체 또는 항-아드레노메둘린 항체 단편 또는 항-ADM 비-Ig 스캐폴드.

[0207] 16. 제15항에 있어서, 상기 항체 또는 단편이 VH 영역으로서 하기를 포함하는 군으로부터 선택된 서열을 포함하고:

[0208] 서열식별번호: 10 (AM-VH-C)

QVQLQQSGAELMKPGASVKISKATGYTFSTRYWIEWVKQRPGHGLEWIGEILP
 GSGSTNYNEKFKGKATITADTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCTEGYEYDGFYD
 YWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLVVKDYFPEPVTVSWN
 SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKHHHHHH

[0209]

[0210] 서열식별번호: 11 (AM-VH1)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFSRYWISWVRQAPGQGLEWMGRIL
PGSGSTNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTEGYEYDGF
YWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
VEPKHHHHHHH

[0211]

[0212] 서열식별번호: 12 (AM-VH2-E40)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFSRYWIEWVRQAPGQGLEWMGRIL
PGSGSTNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTEGYEYDGF
YWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
VEPKHHHHHHH

[0213]

[0214] 서열식별번호: 13 (AM-VH3-T26-E55)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKATGYTFSRYWISWVRQAPGQGLEWMGEIL
PGSGSTNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTEGYEYDGF
YWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
VEPKHHHHHHH

[0215]

[0216] 서열식별번호: 14 (AM-VH4-T26-E40-E55)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKATGYTFSRYWIEWVRQAPGQGLEWMGEIL
PGSGSTNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTEGYEYDGF
YWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
VEPKHHHHHHH

[0217]

[0218] VL 영역으로서 하기 서열을 포함하는 균으로부터 선택된 서열을 포함하는 것인:

[0219] 서열식별번호: 15 (AM-VL-C)
DVLLSQTPSLPVS LGDQATISCRSSQSIVYSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYR
VSNRFSGV PDRFSGSGS GDTFLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHIPYTFGGG TKLE
IKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSTYLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE
C

[0220]

[0221] 서열식별번호: 16 (AM-VL1)
DVVMTQSPSLPVT LGQPASISCRSSQSIVYSNGNTYLNWFQQRPGQSPRRLLIYR
VSNRDSGV PDRFSGSGS GDTFLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHIPYTFGQGTKL
EIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFYPREAKVQWKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDSTYLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
EC

[0222]

[0223] 서열식별번호: 17 (AM-VL2-E40)

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSIVYSNGNTYLEWFQQRPGQSPRRLIYR
VSNRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHPYTFGQGTKL
EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
EC

[0224]

[0225] 대상체에서 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 ADM에 결합하는 인간 모노클로날 항체 또는 단편 또는 그의 항체 단편.

[0226] 17. 제15항에 있어서, 상기 항체 또는 단편이 중쇄로서 하기 서열 또는 그와 > 95% 동일한 서열을 포함하고:

[0227] 서열식별번호: 22

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGYTFSRYWIEWVRQAPGQGLEWIGEILPG
SGSTNYNQKFQGRVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTEGYEYDGFYD
GQGTTVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPK
SCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHY
TQKLSLSLSPGK

[0228]

[0229] 경쇄로서 하기 서열 또는 그와 > 95% 동일한 서열을 포함하는 것인:

[0230] 서열식별번호: 23

DVVLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSIVYSNGNTYLEWYLQRPQSPRLLIYRVS
NRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHPYTFGGGTKLEIKR
TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV
TEQDSKDYSLSTLTLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0231]

[0232] 대상체에서 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 ADM에 결합하는 인간 모노클로날 항체 또는 단편 또는 그의 항체 단편.

[0233] 18. 제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 단편 또는 스캐폴드를 포함하는, 질병의 증상 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방이 필요한 대상체에서 질병의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 또는 이러한 증상을 특징으로 하는 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 제약 제형.

[0234] 19. 중쇄로서 하기 서열 또는 그와 > 95%, 바람직하게는 > 98% 동일한 서열을 포함하고:

[0235] 서열식별번호: 22

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFSRYWIEWVRQAPGQGLEWIGEILP
 GSGSTNYNQKFQGRVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTEGYEYDGF
 YWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
 SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK
 KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH
 EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
 KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSV
 MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0236]

[0237] 경쇄로서 하기 서열 또는 그와 > 95%, 바람직하게는 > 98% 동일한 서열을 포함하는 항체:

[0238] 서열식별번호: 23

DVVLTSPLSLPVTGLQPASISCRSSQSIVYSNGNTYLEWYLQRPQSPRLLIYR
 VSNRFSGVPDRFSGSGSDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHPYTFGGGKLE
 IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
 QESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE
 C

[0239]

[0240] 20. 제19항에 따른 항체를 포함하는 제약 조성물.

[0241] **실시예**

[0242] 항체의 생성 및 그들의 친화도 상수의 측정

[0243] 몇몇 인간 및 무린 항체를 생산하였고, 그들의 친화도 상수를 측정하였다 (표 1 참고).

[0244] 면역화를 위한 펩티드 / 접합체:

[0245] 면역화를 위한 펩티드를 합성하였고, 표 1을 참고하며 (제이피티 테크놀로지스(JPT Technologies), 독일 베를린), 이는 펩티드와 소 혈청 알부민 (BSA)의 접합을 위해 추가의 N-말단 시스테인 (시스테인이 선택된 ADM-서열 내에 존재하지 않는 경우) 잔기를 갖는다. 술포연결-커플링 겔 (퍼바이오 사이언스(Perbio Science), 독일 본)을 이용함으로써 펩티드를 BSA에 공유 연결시켰다. 커플링 절차를 퍼바이오의 매뉴얼에 따라 수행하였다.

[0246] 무린 항체를 하기 방법에 따라 생성하였다:

[0247] Balb/c 마우스를 제0일 및 제14일에 100 µg 펩티드-BSA-접합체 (100 µl 완전 프로인트 아주반트 중에 유화됨) 및 제21일 및 제28일에 50 µg (100 µl 불완전 프로인트 아주반트 중에)에 의해 면역화시켰다. 융합 실험을 수행하기 3일 전에, 100 µl 식염수에 용해된 50 µg의 접합체를 1회 복강내 및 1회 정맥내 주사로서 동물에게 제공하였다.

[0248] 면역화된 마우스로부터의 비장세포 및 골수종 세포주 SP2/0의 세포를 1ml의 50% 폴리에틸렌 글리콜에 의해 30초 동안 37°C에서 융합시켰다. 세척한 후, 상기 세포를 96-웰 세포 배양 플레이트에 시딩하였다. HAT 배지 (20% 태아 소 혈청 및 HAT-보충제로 보충된 RPMI 1640 배양 배지)에서 성장시킴으로써 혼성체 클론을 선택하였다. 2 주 후에, 3회 계대 배양 동안 HAT 배지를 HT 배지로 교체한 후, 정상 세포 배양 배지로 되돌렸다.

[0249] 융합 3주 후에 세포 배양 상청액을 항원 특이적 IgG 항체에 대해 일차적으로 스크리닝하였다. 양성의 시험된 미소배양물을 전파를 위해 24-웰 플레이트로 옮겼다. 제시험 이후, 선택된 배양물을 제한-희석 기술을 이용하여 클로닝 및 재클로닝하고, 이소타입을 측정하였다 (*Lane, R.D. 1985. J. Immunol. Meth. 81: 223-228; Ziegler et al. 1996. Horm. Metab. Res. 28: 11-15* 또한 참고).

- [0250] 마우스 모노클로날 항체 생산:
- [0251] 표준 항체 생산 방법 (*Marx et al., 1997. Monoclonal Antibody Production, ATLA 25, 121*)을 통해 항체를 생산하였고, 단백질 A를 통해 정제하였다. 항체 순도는 SDS 겔 전기영동 분석을 기준으로 > 95%이었다.
- [0252] 인간 항체:
- [0253] 인간 항체를 하기 절차에 따라 파지 디스플레이를 이용하여 생산하였다:
- [0254] 인간 나이브 항체 유전자 라이브러리 HAL7/8을 ADM 펩티드에 대한 재조합 단일쇄 F-가변 도메인 (scFv)의 단리를 위해 사용하였다. 2개의 상이한 스페이서를 통해 ADM 펩티드 서열에 연결된 비오틴 태그를 함유하는 펩티드를 사용하는 것을 포함하는 패닝 전략을 이용하여 항체 유전자 라이브러리를 스크리닝하였다. 비특이적으로 결합된 항원 및 스트렙타비딘 결합된 항원을 이용하는 패닝 라운드의 혼합물을 사용하여, 비특이적 결합체의 백라운드를 최소화하였다. 패닝의 세번째 라운드로부터 용리된 파지를 모노클로날 scFv 발현 이. 콜라이(*E. coli*) 균주의 생성을 위해 사용하였다. 이들 클론 균주의 배양으로부터 상청액을 항원 ELISA 시험을 위해 직접 사용하였다 (*Hust et al. 2011. Journal of Biotechnology 152, 159-170; Schuette et al. 2009. PLoS One 4, e6625* 또한 참고).
- [0255] 양성 클론은 항원에 대한 양성 ELISA 신호 및 스트렙타비딘 코팅된 미세 역가 플레이트에 대한 음성을 기반으로 선택하였다. 추가의 특징분석을 위해, scFv 오픈 리딩 프레임을 발현 플라스미드 pOPE107 (*Hust et al. 2011. Journal of Biotechnology 152, 159-170*)에 클로닝하고, 고정된 금속 이온 친화도 크로마토그래피를 통해 배양물 상청액으로부터 포획하고, 크기 배제 크로마토그래피에 의해 정제하였다.
- [0256] 친화도 상수:
- [0257] ADM에 대한 항체의 친화도를 측정하기 위해, 고정된 항체에 대한 ADM의 결합 동력학을 비아코어 2000 시스템을 이용하는 무표지 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정하였다 (지이 헬스케어 유럽 게엠베하(GE Healthcare Europe GmbH), 독일 프라이부르크). 제조자의 지침에 따라 CM5 센서 표면에 고밀도로 공유 커플링된 항-마우스 Fc 항체를 사용하여 항체의 가역적인 고정화를 수행하였다 (마우스 항체 포획 키트; 지이 헬스케어(GE Healthcare)) (*Lorenz et al. 2011. Antimicrob Agents Chemother. 55(1): 165-173*).
- [0258] 각각 인간 및 무린 ADM의 하기 나타낸 ADM 영역에 대한 모노클로날 항체를 발생시켰다. 하기 표는 추가의 실험에서 사용된 수득된 항체의 선택을 나타낸다. 선택은 표적 영역을 기반으로 하였다:

[0259] 표 1:

서열 번호	항원/면역원	ADM 영역	명칭	친화도 상수 Kd (M)
SEQ ID: 4	YRQSMNNFQGLRSFGCRFGTC	1-21	NT-H	5.9×10^{-9}
SEQ ID: 21	CTVQKLAHQIYQ	21-32	MR-H	2×10^{-9}
아미드화 SEQ ID: 2 (N-말단에서 추가의 시스테인을 가짐)	C-APRSKISPQGY-NH ₂	C-42-52	CT-H	1.1×10^{-9}
SEQ ID: 18	YRQSMNQGSRSNGCRFGTC	1-19	NT-M	3.9×10^{-9}
SEQ ID: 19	CTFQKLAHQIYQ	19-31	MR-M	4.5×10^{-10}
아미드화 SEQ ID: 20 (N-말단에서 추가의 시스테인을 가짐)	C-APRNKISPQGY-NH ₂	C-40-50	CT-M	9×10^{-9}

[0260]

[0261]

효소적 소화에 의한 항체 단편의 생성:

[0262]

Fab 및 F(ab)₂ 단편의 생성은 뮤린 전장 항체 NT-M의 효소적 소화에 의해 수행하였다. 항체 NT-M을 a) 펩신-기반 F(ab)₂ 제조 키트 (피어스(Pierce) 44988) 및 b) 파파인-기반 Fab 제조 키트 (피어스 44985)를 사용하여 소화시켰다. 단편화 절차를 공급자에 의해 제공된 지침에 따라 수행하였다. F(ab)₂-단편화의 경우에는 37°C에서 8시간 동안 소화를 수행하였다. Fab-단편화 소화는 각각 16시간 동안 수행하였다.

[0263]

Fab 생성 및 정제에 대한 절차:

[0264]

수지를 0.5 ml의 소화 완충제로 세척하고, 컬럼을 5000 x g에서 1분 동안 원심분리함으로써, 고정된 파파인을 평형화시켰다. 완충제는 이후에 폐기하였다. 보관 용액을 제거하고, 이를 소화 완충제로 세척하고, 매회 1000 x g에서 2분 동안 원심분리함으로써, 탈염화 컬럼을 제조하였다. 0.5ml의 제조된 IgG 샘플을 평형화된 고정된 파파인을 함유하는 스핀 컬럼 튜브에 첨가하였다. 소화 반응의 인큐베이션 시간은 37°C에서 테이블탑 로커 상에서 16시간 동안 수행하였다. 컬럼을 5000 x g에서 1분 동안 원심분리하여, 고정된 파파인으로부터 소화물을 분리하였다. 그 후, 수지를 0.5ml PBS로 세척하고, 5000 x g에서 1분 동안 원심분리하였다. 세척 분획을 소화된 항체에 첨가하였고, 총 샘플 부피는 1.0ml이었다. NAb 단백질 A 컬럼을 실온에서 PBS 및 IgG 용리 완충제에 의해 평형화시켰다. 컬럼을 1분 동안 원심분리하여, 보관 용액 (0.02% 아지드화나트륨)을 제거하고, 2ml의 PBS를 첨가함으로써 평형화시키고, 1분 동안 다시 원심분리하고, 통과액을 폐기하였다. 샘플을 컬럼에 적용하고, 역전에 의해 재현탁시켰다. 인큐베이션을 실온에서 10분 동안 회전 혼합에 의해 수행하였다. 컬럼을 1분 동안 원심분리하고, Fab 단편을 갖는 통과액을 저장하였다. (참고문헌: *Coulter and Harris 1983. J. Immunol. Meth. 59, 199-203.; Lindner et al. 2010. Cancer Res. 70, 277-87; Kaufmann et al. 2010. PNAS. 107, 18950-5.; Chen et al. 2010. PNAS. 107, 14727-32; Uysal et al. 2009 J. Exp. Med. 206, 449-62; Thomas et*

al. 2009. J. Exp. Med. 206, 1913-27; Kong et al. 2009 J. Cell Biol. 185, 1275-840).

- [0265] F(ab')₂ 단편의 생성 및 정제를 위한 절차:
- [0266] 수지를 0.5 ml의 소화 완충제로 세척하고, 컬럼을 5000 x g에서 1분 동안 원심분리함으로써, 고정된 펩신을 평형화시켰다. 그 후, 완충제를 폐기하였다. 보관 용액을 제거하고, 이를 소화 완충제로 세척한 후, 매회 1000 x g에서 2분 동안 원심분리함으로써, 탈염화 컬럼을 제조하였다. 0.5ml의 제조된 IgG 샘플을 평형화된 고정된 펩신을 함유하는 스핀 컬럼 튜브에 첨가하였다. 소화 반응의 인큐베이션 시간을 테이블탑 로커 상에서 37°C에서 16시간 동안 수행하였다. 컬럼을 5000 x g에서 1분 동안 원심분리하여, 고정된 파파인으로부터 소화물을 제거하였다. 그 후, 수지를 0.5mL PBS로 세척하고, 5000 x g에서 1분 동안 원심분리하였다. 세척 분획을 소화된 항체에 첨가하였고, 총 샘플 부피는 1.0ml이었다. NAb 단백질 A 컬럼을 실온에서 PBS 및 IgG 용리 완충제에 의해 평형화시켰다. 컬럼을 1분 동안 원심분리하여, 보관 용액 (0.02% 아지드화나트륨을 함유함)을 제거하고, 2mL의 PBS를 첨가함으로써 평형화시키고, 1분 동안 다시 원심분리하고, 통과액을 폐기하였다. 샘플을 컬럼에 적용하고, 역전에 의해 재현탁시켰다. 인큐베이션을 실온에서 10분 동안 회전 혼합에 의해 수행하였다. 컬럼을 1분 동안 원심분리하고, Fab 단편을 갖는 통과액을 저장하였다. (참고문헌: *Mariani et al. 1991. Mol. Immunol. 28: 69-77; Beale 1987. Exp Comp Immunol 11:287-96; Ellerson et al. 1972. FEBS Letters 24(3):318-22; Kerbel and Elliot 1983. Meth Enzymol 93:113-147; Kulkarni et al. 1985. Cancer Immunol Immunotherapy 19:211-4; Lamoyi 1986. Meth Enzymol 121:652-663; Parham et al. 1982. J Immunol Meth 53:133-73; Raychaudhuri et al. 1985. Mol Immunol 22(9):1009-19; Rousseaux et al. 1980. Mol Immunol 17:469-82; Rousseaux et al. 1983. J Immunol Meth 64:141-6; Wilson et al. 1991. J Immunol Meth 138:111-9).*
- [0267] NT-H-항체 단편 인간화:
- [0268] 항체 단편을 CDR-그래프팅 방법에 의해 인간화하였다 (*Jones et al. 1986. Nature 321, 522-525*).
- [0269] 인간화 서열을 달성하기 위해 하기 단계를 수행하였다:
- [0270] - 총 RNA 추출: 총 RNA를 퀴아젠(Qiagen) 키트를 사용하여 NT-H 하이브리도마로부터 추출하였다.
- [0271] - 제1-라운드 RT-PCR: 퀴아젠® 원스텝(OneStep) RT-PCR 키트 (카탈로그 번호 210210)를 사용하였다. RT-PCR을 중쇄 및 경쇄에 대해 특이적인 프라이머 세트를 이용하여 수행하였다. 각각의 RNA 샘플에 대해, 12회의 개별 중쇄 및 11회의 경쇄 RT-PCR 반응을 가변 영역의 리더 서열을 포괄하는 축퇴성 정방향 프라이머 혼합물을 이용하여 설정하였다. 역방향 프라이머는 중쇄 및 경쇄의 불변 영역에 위치한다. 제한 부위는 프라이머로 조 작되지 않았다.
- [0272] - 반응 설정: 5x 퀴아젠® 원스텝 RT-PCR 완충제 5.0 µl, dNTP 혼합물 (10 mM의 각각의 dNTP를 함유함) 0.8 µl, 프라이머 세트 0.5 µl, 퀴아젠® 원스텝 RT-PCR 효소 혼합물 0.8 µl, 주형 RNA 2.0 µl, RNase-무함유물 20.0 µl가 될 때까지, 총 부피 20.0 µl, PCR 조건: 역방향 전사: 50°C, 30분; 초기 PCR 활성화: 95°C, 15분 사이클링: 94°C, 25초; 54°C, 30초; 72°C, 30초의 20 사이클; 최종 확장: 72°C, 10분, 제2-라운드 세미-네스티드 PCR: 제1-라운드 반응으로부터의 RT-PCR 산물을 제2-라운드 PCR에서 추가로 증폭시켰다. 12회의 개별 중쇄 및 11회의 경쇄 RT-PCR 반응을 항체 가변 영역에 대해 특이적인 세미-네스티드 프라이머 세트를 이용하여 설정하였다.
- [0273] - 반응 설정: 2x PCR 혼합물 10 µl; 프라이머 세트 2 µl; 제1-라운드 PCR 산물 8 µl; 총 부피 20 µl; 하이브리도마 항체 클로닝 리포트 PCR 조건: 95°C에서 5분의 초기 변성; 25초 동안 95°C, 30초 동안 57°C, 30초 동안 68°C의 25 사이클; 최종 확장은 10분 68°C이었다.
- [0274] - PCR을 종료한 후에, 증폭된 DNA 단편을 가시화하기 위해 아가로스 겔 상에서 PCR 반응 샘플을 작동시켰다. 네스티드 RT-PCR에 의해 증폭된 15개 초과 클로닝된 DNA 단편을 서열분석한 후에, 몇몇 마우스 항체 중쇄 및 경쇄를 클로닝하였고, 정확한 것으로 보였다. 단백질 서열 정렬 및 CDR 분석은 하나의 중쇄 및 하나의 경쇄를 식별한다. 가변 중쇄에서 위치 26, 40 및 55 상의 아미노산 및 가변 경쇄에서 위치 40 상의 아미노산이 결합 성질에 결정적이기 때문에, 이들을 원래의 뮤린으로 되돌릴 수 있다. 생성된 후보는 하기에 기재된다. (*Padlan 1991. Mol. Immunol. 28, 489-498; Harris and Bajorath, 1995. Protein Sci. 4, 306-310*).
- [0275] 항체 단편 서열 (서열식별번호: 10 내지 17)에 대한 주석: 볼드체 및 밑줄은 N-말단에서 C-말단으로의 번호순으로 CDR 1, 2, 3이고; 이탤릭체는 불변 영역이고; 힌지 영역은 볼드체, 밑줄 글자로 강조하였고, C-말단에서 히

스티던 태그는 볼드체 및 이탤릭체 글자로 강조하였다.

[0276] 서열식별번호: 10 (AM-VH-C)

QVQLQQSGAELMKPGASVKISCKAT**GYTFSRYW**IEWVKQRPGHGLEWIGE**ILPGSG**
STNYNEKFKGKATITADTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYC**TEGYEYDGF**YWGQTTLT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSKVHTFPAVLQ
SGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV**EPKHHHHHH**

[0277]

[0278] 서열식별번호: 11 (AM-VH1)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCAS**GYTFSRYW**ISWVRQAPGQGLEWMGR**ILPGS**
GSTNYAQKFQGRVTITADESTAYMELSSLRSEDTAVYYC**TEGYEYDGF**YWGQTTV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSKVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV**EPKHHHHHH**

[0279]

[0280] 서열식별번호: 12 (AM-VH2-E40)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCAS**GYTFSRYW**IEWVRQAPGQGLEWMGR**ILPGS**
GSTNYAQKFQGRVTITADESTAYMELSSLRSEDTAVYYC**TEGYEYDGF**YWGQTTV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSKVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV**EPKHHHHHH**

[0281]

[0282] 서열식별번호: 13 (AM-VH3-T26-E55)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCAT**GYTFSRYW**ISWVRQAPGQGLEWMGE**ILPGS**
GSTNYAQKFQGRVTITADESTAYMELSSLRSEDTAVYYC**TEGYEYDGF**YWGQTTV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSKVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV**EPKHHHHHH**

[0283]

[0284] 서열식별번호: 14 (AM-VH4-T26-E40-E55)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCAT**GYTFSRYW**IEWVRQAPGQGLEWMGE**ILPGS**
GSTNYAQKFQGRVTITADESTAYMELSSLRSEDTAVYYC**TEGYEYDGF**YWGQTTV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSKVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV**EPKHHHHHH**

[0285]

[0286] 서열식별번호: 15 (AM-VL-C)

DVLLSQTPSLPVS LGDQATISCRSS**QSIVYSNGNTY**LEWYLQKPGQSPKLLIY**RVS**N
RFSGVDRFSGSGSDFTLTKISRVEAEDLGVYYC**FOGSHIPY**TFGGGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS
KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0287]

[0288] 서열식별번호: 16 (AM-VL1)

DVVMTQSPLPVTLGQPASISCRSS**QSIVYSNGNTY**LNWFQQRPGQSPRRLIY**RVS**N
RDSGVDRFSGSGSDFTLTKISRVEAEDVGVYYC**FOGSHIPY**TFGGGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS
KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0289]

[0290] 서열식별번호: 17 (AM-VL2-E40)

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSIVYSNGNTYLEWFQQRPGQSPRRLIYRVSN
 RDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFOGSHIPYTFGQGTKLEIKRTVA
 APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS
 KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0291]

[0292] 서열식별번호: 22 (아드레시주맵 중쇄)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFSRYWIEWVRQAPGQGLEWIGEILPGSG
STNYNQKFQGRVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTEGYEYDGFQDYWGQGT
 TTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
 FPAVLQSSGLYSLSSVTVTSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
 PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV
 HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKISKAK
 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL
 D SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0293]

[0294] 서열식별번호: 23 (아드레시주맵 경쇄)

DVVLTSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSIVYSNGNTYLEWYLQRPQSPRLLIYRVSN
 RFGSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFOGSHIPYTFGGGKLEIKRTVA
 APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS
 KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0295]

[0296] 실시예 2 - 실험적 내독소혈증 동안에 건강한 남성 대상체에서 항-ADM-항체 (아드레시주맵) (HAM8101)의 증가하
 는 단일 정맥내 용량의 안전성, 관용성 및 약동학/약력학에 대한 무작위 이중-맹검 위약-대조군 I 상 연구.

[0297] 전반적인 실험 설계

[0298] 1시간에 걸쳐 i.v. 주입으로 투여되는 아드레시주맵의 그룹당 증가하는 단일 용량에 의한, 실험적 내독소혈증
 동안에 건강한 남성 지원자에서 무작위 이중-맹검 위약-대조군 I 상 연구. 연속적인 LPS (지질다당류) 모델을
 사용하여 실험적 내독소혈증을 유도하였다; LPS를 1 ng/kg의 초기 볼루스로 투여한 후, 3시간 동안 1 ng/kg/h로
 연속 주입함. 대상체는 연구 의약 (아드레시주맵 또는 위약)에 의한 한 과정의 처리를 제공받을 것이고, 1시간
 후에 LPS 투여를 시작한다. 전신 염증의 모델은 최근에 기재되었다 (*Kiers et al. 2017. Scientific Reports*
7: 40149).

[0299] 아드레시주맵을 0.5 mg/kg의 용량으로 1시간에 걸쳐 단일 주입으로 투여하였고, 후속 처리 그룹에서 2.0 및 8.0
 mg/kg까지 증가시켰다 (표 2 참고).

[0300] 표 2: 1-시간 주입에 의한 처리를 제공받은 8명의 대상체의 연구 그룹

그룹	처리		
그룹 1	0.5 mg/kg (n=6)	HAM8101	위약 (n=2)
그룹 2	2.0 mg/kg (n=6)	HAM8101	위약 (n=2)
그룹 3	8.0 mg/kg (n=6)	HAM8101	위약 (n=2)

[0301]

- [0302] 실험 집단의 선택
- [0303] 연구 집단은 건강한 젊은 남성 지원자로 이루어졌다. 실험에 포함되기 위해서는, 대상체는 모든 포함 기준을 충족시켜야 하고, 모든 배제 기준은 충족하지 않아야 한다.
- [0304] 포함 기준
- [0305] 1. 임의의 연구-규정된 절차에 앞서 이 실험에 참여하는 것에 대한 서면 동의서.
- [0306] 2. 18세 내지 35세의 남성 대상체.
- [0307] 3. 대상체는 연구 시작부터 연구 약물 투여 이후 3개월까지 확실한 피임법을 사용하는 것에 동의해야 한다.
- [0308] 4. 18 내지 30 kg/m²의 BMI, 체중 하한 50 kg 및 상한 100 kg.
- [0309] 5. 의학적 병력, 신체 검사, 바이탈 사인, 12-리드 심전도 및 임상 실험실 파라미터에 의해 측정시 건강함.
- [0310] 배제 기준
- [0311] 1. 연구 과정 동안에 및 처리일 이전 7일 이내에 임의의 의약, 기분전환 약물 또는 항산화 비타민 보충제를 자제하는 것을 꺼림.
- [0312] 2. 처리일 이전 1일 이내에 흡연 또는 알코올을 자제하는 것을 꺼림.
- [0313] 3. LPS를 투여한 실험에 이전에 참여.
- [0314] 4. 처리일 이전 3개월 이내에 유의한 혈액 손실 또는 수혈을 갖는 수술 또는 외상.
- [0315] 5. 심혈관 질환의 병력, 징후 또는 증상, 특히:
- [0316] · 빈번한 혈관미주신경성 실신 또는 기립성 저혈압의 병력
- [0317] · 휴식시 맥박수 ≤ 45 또는 ≥ 100 박동/분
- [0318] · 고혈압 (RR 수축기 >160 또는 RR 확장기 >90 mmHg)
- [0319] · 저혈압 (RR 수축기 <100 또는 RR 확장기 <50 mmHg)
- [0320] · 1도 방실 차단 또는 복잡한 다발 갈래 차단으로 이루어진 ECG에서의 전도 이상
- [0321] · 임의의 만성 심장 부정맥 (PAC, PVC 제외)
- [0322] 6. 신장 손상: 혈장 크레아티닌 >120 $\mu\text{mol/L}$
- [0323] 7. 정상 상한의 2x 초과인 간 기능 검사 (알칼린 포스파타제, AST, ALT 및/또는 γ -GT).
- [0324] 8. 천식의 병력
- [0325] 9. 아토피성 체질
- [0326] 10. 정상 상한의 2x 초과인 CRP, 또는 처리일 이전 2주 이내에 감염을 비롯한 임상적으로 유의한 급성 질병.
- [0327] 11. 처리일 이전 30일 이내에 연구 약물에 의한 처리 또는 임의의 다른 임상 실험에 참여.
- [0328] 12. 실험 프로토콜을 준수할 수 없는 것으로 알려지거나 의심됨.
- [0329] 13. 사용된 약물 제형의 임의의 부형제에 대한 공지된 과민증.
- [0330] 14. 개인적으로 (예를 들어, 언어 또는 정신적 이유로) 서면 동의서를 제공할 수 없고/거나 연구에 참여할 수 없음.
- [0331] 에스케리키아 콜라이(Escherichia coli) 유형 0113으로부터의 지질다당류 (LPS)
- [0332] 제어된 염증성 상태를 달성하기 위해, 대상체에게 지질다당류 (LPS, 미국 기준 내독소 [에스케리키아 콜라이 0:113, 리스트 바이올로지컬 래버러토리즈 인크.(List Biological Laboratories Inc.), 미국 캘리포니아주 캠프벨])를 정맥내로 제공하였다.
- [0333] 검사 체계 및 시간 윈도우

[0334] 투여된 혈액 샘플을 T=0 (기준선)에서 채혈하였다. 바이탈 사인을 양와위 또는 반양와위에서 5분 휴식 후에 측정하였다. 혈액 샘플 및 대조군 방문에 대한 스케줄 (더욱 상세한 정보에 대해서는 표 2 참고):

- [0335] · 처리일에 (제0일), 혈액 샘플을 예정된 시간 ± 5분에 채혈하였다.
- [0336] · 24시간 후에 (제1일), 후속 방문 및 채혈은 IMP 투여 이후 ± 1시간에 계획되어야 했다.
- [0337] · 제7일에, 후속 방문은 임의의 시간 ± 1일로 계획될 수 있다.
- [0338] · 제14일 및 제28일에, 후속 방문은 임의의 시간 ± 2일로 계획될 수 있다.
- [0339] · 제60일 및 제90일에, 후속 방문은 임의의 시간 ± 3일로 계획될 수 있다.

[0340] 실험실 모니터링

[0341] 하기 혈액학 파라미터를 분석하였다: 헤모글로빈, 헤마토크리트, RBC, MCV, MCH, MCHC, WBC, 혈소판, 감별 혈구 계산.

[0342] 혈액 샘플을 혈청 분리 튜브에서 수집하였고, 하기 생화학 파라미터를 분석하였다: CRP, AF, ALT, AST, γ-GT, 크레아틴 키나제, LDH, 우레아-N, 크레아티닌, 나트륨, 칼륨, PT 및 APTT

[0343] 일차 종점 변수는 다음과 같다: 유해 사건; 아드레시주맙 투여 이후 처음 10시간 동안 및 후속 기간 (T=24시간, T=7일, T=14일, T=28일, T=60일, T=90일)에 바이탈 사인, 예를 들어 심박동수, 혈압, 산소 포화도, 온도; i.v. 주입 부위에서 국소적 관용성; 안전성 실험실 파라미터 (Hb, Ht, 백혈구, 혈전구, 백혈구 감별 혈구 계산, 나트륨, 칼륨, 크레아티닌, 우레아, 알칼린 포스파타제, ALT, AST, GGT, CK, CRP, PT, APTT); 12-리드 심전도 (ECG), 아드레시주맙 투여 2 및 8시간 후에.

[0344] 이차 종점은 다음과 같다: 실험적 내독소혈증 동안에 아드레시주맙의 약동학 (예컨대, AUC, Cmax, 최종 T1/2, C1, V); 내독소혈증 일에 염증성 매개인자의 혈장 수준 (예컨대, 비제한적으로 TNF α, IL-6, IL-8, IL-10); 증상 질병 점수; 임의적: 신장 손상 마커 (예컨대, 비제한적으로 크레아티닌 클리어런스, 프로-엔케팔린 및 KIM-1).

[0345] 표 2: 그룹당 기준선 특징 (평균 ± SD)

	위약	0.5 mg/kg	2.0 mg/kg	8.0 mg/kg	P-값 *
연령	22.0 ± 1.1	22.0 ± 2.8	23.3 ± 2.5	22.5 ± 2.7	0.745
BMI	23.7 ± 1.3	23.3 ± 1.5	24.7 ± 1.9	25.6 ± 3.0	0.26

[0346]

[0347] * 일원 ANOVA에 의해 검사함

[0348] 90일 후속 기간을 포함하여 전체 연구 기간 동안에 중증의 유해 사건 (SAE) 또는 의심되는 예상치 않은 중증의 유해 반응 (SUSAR)이 관찰되지 않았다.

[0349] 결과

[0350] 위약과 비교하여 아드레시주맙 치료시에 질병 점수가 더 신속히 저하된다.

[0351] 2 및 8 mg/kg 둘 다 210분 (T210) 내지 450 분 (T450) 시점 사이에 위약에 비해 유의하게 낮은 질병 점수를 갖는다 (각각 p=0.011 및 0.005; GLM 반복 측정치) (도 1).

[0352] 도 2는 각각 T270 (270분 시점) 및 T300 (300분 시점)에서 처리 아암에 의한 질병 점수의 분포를 도시하며 (도 2 A) 및 B)), 이는 본 발명의 항체의 놀랍게도 유의한 효과를 뒷받침한다.

[0353] 다음 영향: A) 오심, B) 두통, C) 근육통, D) 요통 및 E) 떨림에 대한 단일 질병 점수 성분의 기여는 도 3에 도시되어 있다. 도시된 모든 증상은 상기 영향에 유의하게 기여한다. 구토는 두 환자에서만 각각 한번 발생하였고, 분석할 수 없었다.

[0354] 도 4는 대안적인 평가를 도시한다. 여기서, 전체 병에 관한 단일 질문을 이용하여 또 다른 점수인 병 점수를 0 내지 10의 척도로 평가하였다. 다시, 병 점수는 항-ADM-항체 (아드레시주맙)-처리된 환자에서 더 신속히 저하된다.

[0355] **건강한 인간에서 NT-H의 투여**

[0356] 연구를 건강한 남성 대상체에서 무작위 이중-맹검 위약-대조군 연구로서 수행하였고, NT-H 항체의 증가하는 단일 용량을 정맥내 (i.v.) 주입으로서 8명의 건강한 남성 대상체로 이루어진 3개의 순차적인 그룹에 투여하였으며, 각각의 그룹 (제1 그룹 0.5 mg/kg, 제2 그룹 2mg/kg, 제3 그룹 8 mg/kg)은 건강한 남성 대상체 (각각의 그룹에 대해 n = 6 활성, n = 2 위약)로 이루어진다.

[0357] 주요 포함 기준, 18세 - 35세의 연령, 확실한 피임법의 사용에 대한 동의, 및 18 내지 30 kg/m²의 BMI는 정보 동의서에 기재되어 있다.

[0358] 연구실에서 단일 i.v. 용량의 NT-H 항체 (0.5 mg/kg; 2 mg/kg; 8 mg/kg) 또는 위약을 1시간에 걸쳐 느린 주입에 의해 대상체에게 제공하였다.

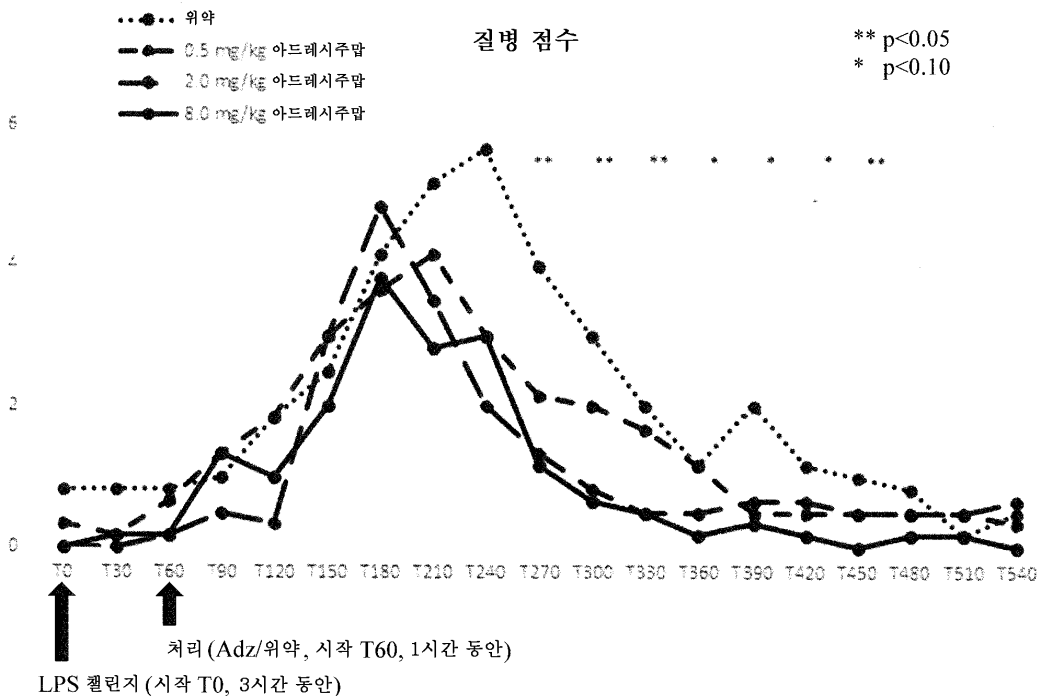
[0359] 4개의 그룹에서 기준선 ADM-값에는 차이가 없었다. 중간 ADM 값은 위약 그룹에서 7.1 pg/mL, 제1 처리 그룹 (0.5mg/kg)에서 6.8 pg/mL, 제2 처리 그룹 (2mg/kg)에서 5.5 pg/mL 및 제3 처리 그룹 (8mg/mL)에서 7.1 pg/mL 이었다.

[0360] 결과는 건강한 인간 개체에게 NT-H 항체의 투여후 처음 1.5시간 이내에 ADM-값이 급격히 증가한 다음, 정체기에 도달하고, 서서히 감소하였음을 보여준다 (도 5).

[0361] 위약 그룹 내에서 2명의 대상체 및 처리 그룹으로부터 총 3명의 대상체는 각각 단일 용량의 위약 및 NT-H 항체를 제공받기 전에 편두통 증상을 보고하였다. 매 시점 이후에, 증상을 다시 요청하였다. NT-H 항체로 처리된 대상체는 처리 4시간 후에 어떠한 편두통 증상도 보고하지 않은 반면에, 위약을 제공받은 2명의 대상체는 주입하기 전과 같이 여전히 편두통 증상으로 고통받았다.

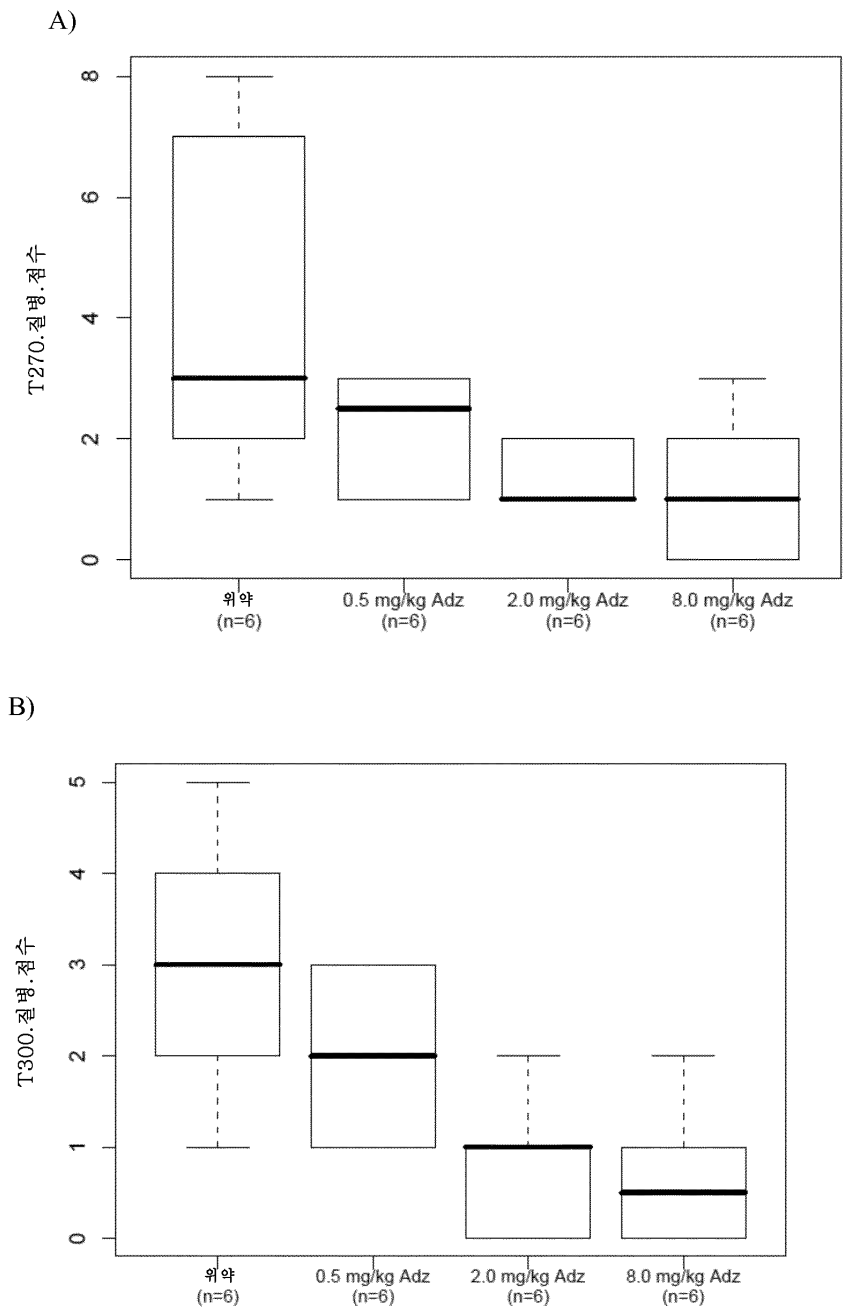
도면

도면1



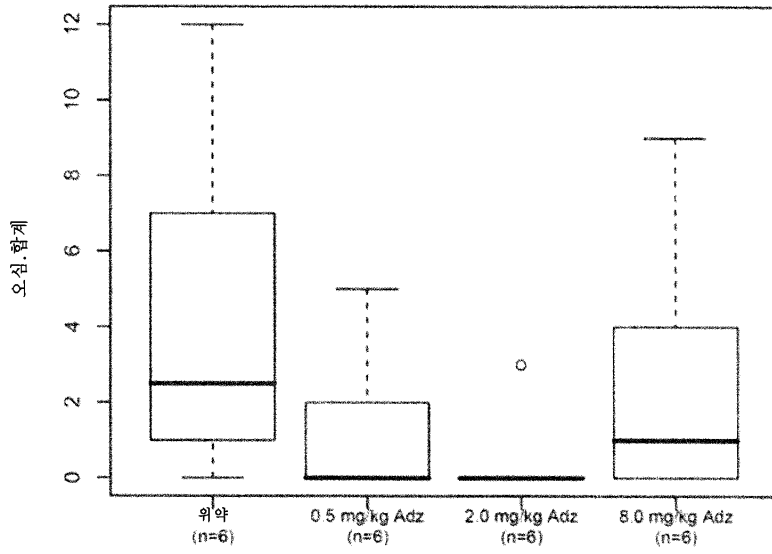
도면2

T270 및 T300에서 처리 아암에 의한 질병 점수의 분포

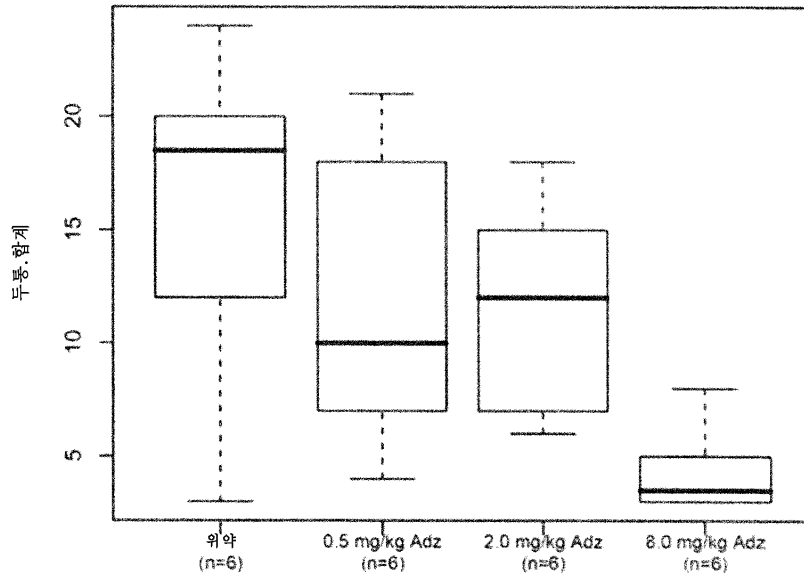


도면3i

A)

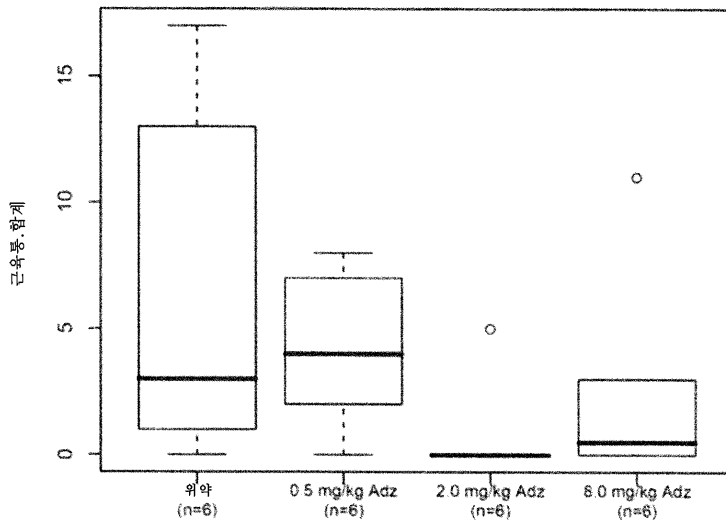


B)

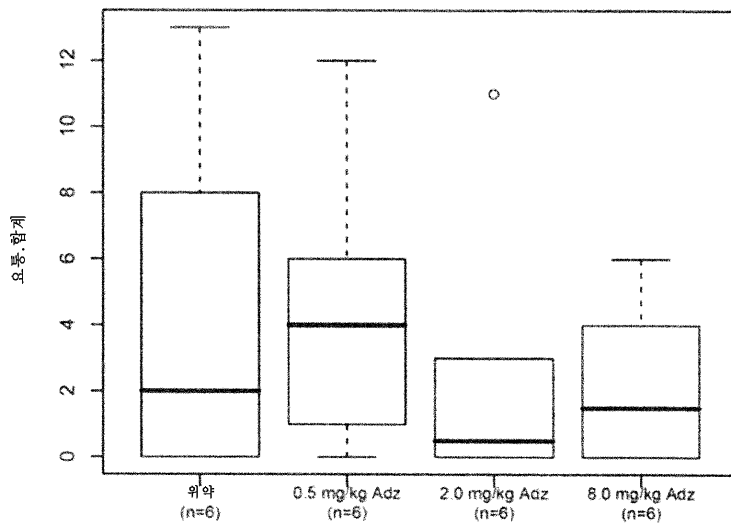


도면3ii

C)

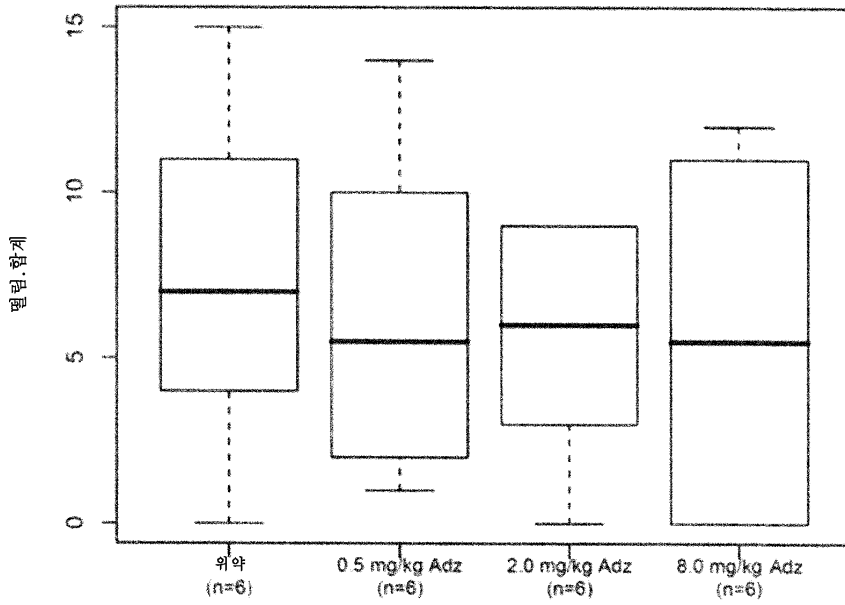


D)

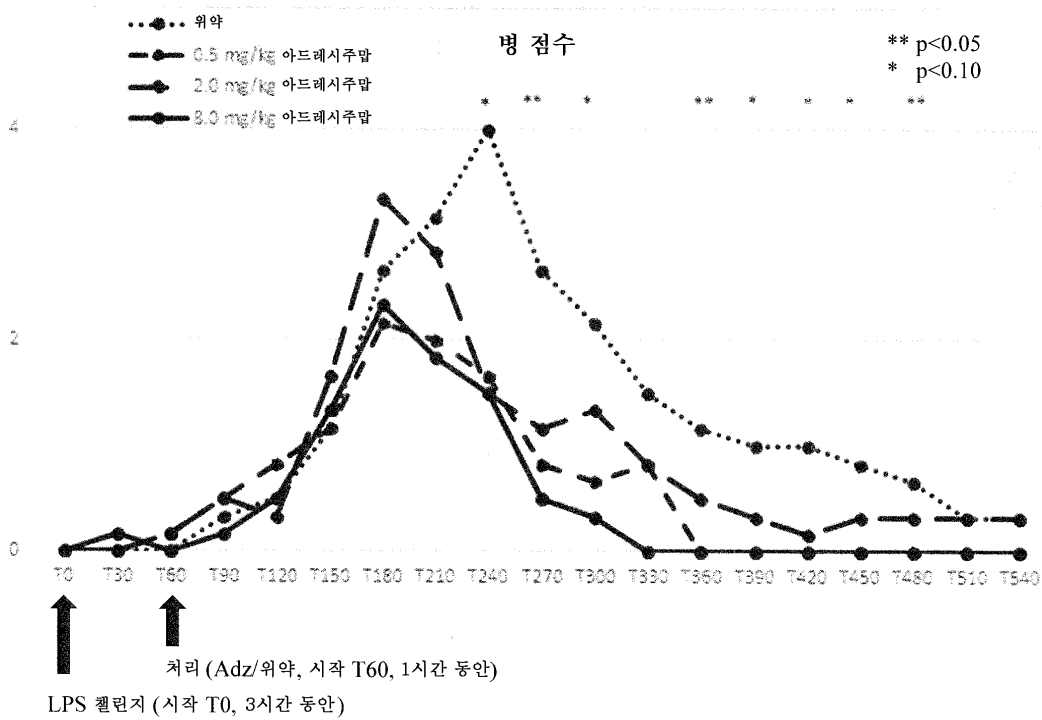


도면3iii

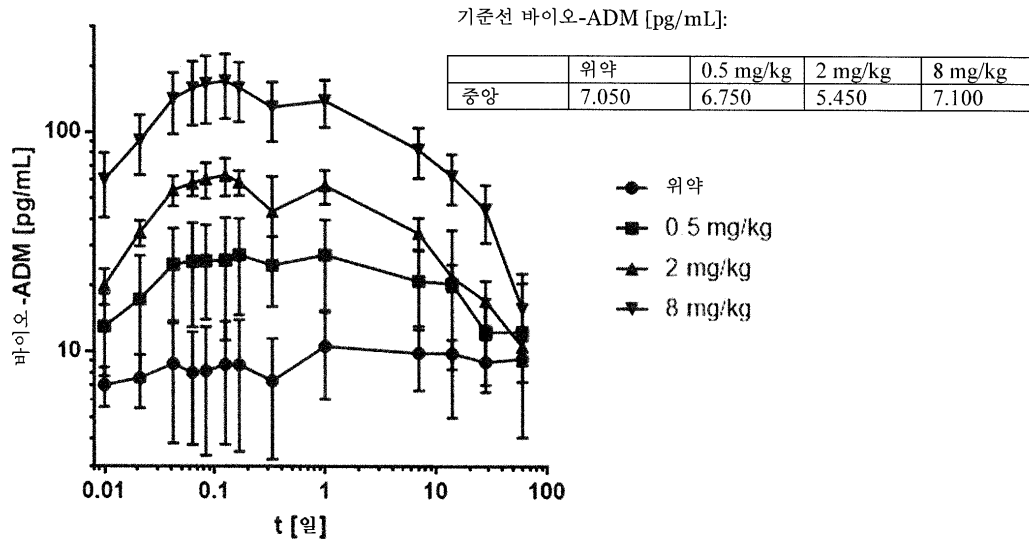
E)



도면4



도면5



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> AdrenoMed AG

<120> Anti-Adrenomedullin (ADM) Binder for use in therapy or prevention
of symptoms of illness

<130> A75176WO

<150> EP17192999.5

<151> 2017-09-25

<150> EP17203370.6

<151> 2017-11-23

<160> 23

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 52

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Tyr Arg Gln Ser Met Asn Asn Phe Gln Gly Leu Arg Ser Phe Gly Cys

1 5 10 15

Arg Phe Gly Thr Cys Thr Val Gln Lys Leu Ala His Gln Ile Tyr Gln

20 25 30
 Phe Thr Asp Lys Asp Lys Asp Asn Val Ala Pro Arg Ser Lys Ile Ser
 35 40 45

Pro Gln Gly Tyr
 50

<210> 2
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 2

Ala Pro Arg Ser Lys Ile Ser Pro Gln Gly Tyr
 1 5 10

<210> 3
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 3

Cys Thr Val Gln Lys Leu Ala His Gln Ile Tyr Gln Phe Thr Asp Lys
 1 5 10 15

Asp Lys Asp Asn Val Ala
 20

<210> 4
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 4

Tyr Arg Gln Ser Met Asn Asn Phe Gln Gly Leu Arg Ser Phe Gly Cys
 1 5 10 15

Arg Phe Gly Thr Cys
 20

<210> 5
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 5

Gly Tyr Thr Phe Ser Arg Tyr Trp

1 5

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 6

Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr

1 5

<210> 7

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 7

Thr Glu Gly Tyr Glu Tyr Asp Gly Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 8

Gln Ser Ile Val Tyr Ser Asn Gly Asn Thr Tyr

1 5 10

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 9

Phe Gln Gly Ser His Ile Pro Tyr Thr

1 5

<210> 10

<211> 225

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<400> 10

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

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

 50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

 85 90 95

Thr Glu Gly Tyr Glu Tyr Asp Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

 100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

 115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

 165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

 180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys His His His His His

 210 215 220

His

225

<210> 11

<211> 225

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<400> 11

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 Thr Phe Ser Arg Tyr

 20 25 30
Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

 35 40 45
Gly Arg Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

 50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
Thr Glu Gly Tyr Glu Tyr Asp Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

 100 105 110
Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

 115 120 125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

 130 135 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

 165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

 180 185 190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 195 200 205
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys His His His His His
 210 215 220

His

225

<210> 13

<211> 225

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<400> 13

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

50

55

60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Thr Glu Gly Tyr Glu Tyr Asp Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys His His His His His
 210 215 220

His

225

<210> 15

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<400> 15

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

Asp Gln Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val Tyr Ser
 20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
 85 90 95

Ser His Ile Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

165 170 175

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

180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 16

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<400> 16

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val Tyr Ser

20 25 30

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

35 40 45

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Asp Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
 85 90 95

Ser His Ile Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 17
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <400> 17

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val Tyr Ser
 20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

 85 90 95
 Ser His Ile Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

 100 105 110
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

 115 120 125
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

 130 135 140
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

145 150 155 160
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

 165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

 180 185 190
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

 210 215
 <210> 18

<211> 19
 <212> PRT

<213> Mus musculus
 <400> 18

Tyr Arg Gln Ser Met Asn Gln Gly Ser Arg Ser Asn Gly Cys Arg Phe

1 5 10 15
 Gly Thr Cys

<210> 19
 <211> 12

<212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 19

Cys Thr Phe Gln Lys Leu Ala His Gln Ile Tyr Gln

1 5 10

<210> 20

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 20

Ala Pro Arg Asn Lys Ile Ser Pro Gln Gly Tyr

1 5 10

<210> 21

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

Cys Thr Val Gln Lys Leu Ala His Gln Ile Tyr Gln

1 5 10

<210> 22

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human antibody heavy chain with grafted mouse CDR

<400> 22

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 Thr Phe Ser Arg Tyr

 20 25 30

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

 35 40 45

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

 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr 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

Thr Glu Gly Tyr Glu Tyr Asp Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

85 90 95

Ser His Ile Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

165 170 175

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

180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215