



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0128471
(43) 공개일자 2018년12월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/24 (2006.01) **A01K 67/027** (2006.01)
A61K 35/12 (2015.01) **A61K 38/20** (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01) **A61K 39/395** (2006.01)
C07K 14/54 (2006.01)

(52) CPC특허분류
C07K 16/244 (2013.01)
A01K 67/0271 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2018-7031330

(22) 출원일자(국제) 2017년03월28일
심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2018년10월29일

(86) 국제출원번호 PCT/US2017/024544

(87) 국제공개번호 WO 2017/172771
국제공개일자 2017년10월05일

(30) 우선권주장
62/314,697 2016년03월29일 미국(US)

(71) 출원인
안센 바이오테크 인코포레이티드
 미국 펜실베이니아주 19044 호샴 럿지뷰 드라이브
 800/850

(72) 발명자
슈브리에 마르크
 미국 19477 펜실베이니아주 스프링 하우스 매킨
 로드 1400
파라히 카미아르
 미국 19477 펜실베이니아주 스프링 하우스 매킨
 로드 1400
예일딩 뉴먼
 미국 19477 펜실베이니아주 스프링 하우스 매킨
 로드 1400

(74) 대리인
특허법인한성

전체 청구항 수 : 총 25 항

(54) 발명의 명칭 항-IL12 및/또는 항-IL23 항체의 증가된 투여 간격을 사용한 건선의 치료

(57) 요 약

증가하는 투여 간격을 사용하여 환자에서 IL-12/23-관련 질환을 치료하는 방법은 IL-12/IL-23 항체를 환자에게 투여하는 간격을 증가시키는 단계 (이때, 항체는 초기에, 4주 후에, 16주 후에 그리고 28주 후에 투여됨), 및 28주 후에 투여 간격을 증가된 간격, 예를 들어, 16주, 20주 또는 24주 간격으로 증가시키는 단계를 포함한다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 35/12 (2013.01)

A61K 38/20 (2013.01)

A61K 38/208 (2013.01)

A61K 39/00 (2013.01)

A61K 39/3955 (2013.01)

C07K 14/5434 (2013.01)

C07K 16/24 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

IL-12, IL-23, 또는 IL-12 및 IL-23 둘 모두에 대한 항체를, 초기 투여량으로, 초기 투여량 4주 후에, 그리고 초기 투여량의 투여 후 24주 동안 12주마다 1회로 환자에게 투여하는 단계, 및 초기 투여량의 투여 28주 후에 투여 간격을 12주 간격보다 긴 투여 간격으로 증가시키는 단계를 포함하는, 증가하는 투여 또는 유지 간격을 사용하여 환자에서 IL-12/23-관련 질환을 치료하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 투여 간격을 증가시키는 단계 전에, 항체에 대한 반응자로서 환자를 확인하는 단계 (identifying)를 포함하는 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 항체에 대한 반응자로서 환자를 확인하는 단계는, 환자가 PASI75, 또는 0 또는 1의 PGA 점수를 갖는 것을 측정하고 확인하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 투여된 항체가 IL-12 및 IL-23에 대한 항체인 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 투여된 항체가 우스테키누맙(ustekinumab), 구셀쿠맙(guselkumab), 브리아키누맙(brilakimumab), 틸드라키주맙(tildrakizumab) 및 BI 655066으로 이루어진 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 6

제4항에 있어서, 환자에게 투여된 IL-12 및 IL-23에 대한 항체가 우스테키누맙인 방법.

청구항 7

제4항에 있어서, 투여된 IL-12 및 IL-23에 대한 항체가 각각 서열 번호 7 및 8의 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열을 포함하는 방법.

청구항 8

제1항에 있어서, IL-12/23-관련 질환이 건선, 건선 관절염, 루푸스, 크론병(Crohn's disease), 궤양성 대장염, 유육종증, 축형 척추관절염 (nrAxSpA) 및 강직성 척추염 (AS)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, IL-12/23p40-관련 질환이 건선인 방법.

청구항 10

제1항에 있어서, 초기 투여량의 투여 28주 후에 투여 간격을 증가시키는 단계가 항체를 16주 내지 2년의 증가된 간격으로 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 항체 치료에 대한 환자의 반응성이 초기 투여량의 투여 28주 후에 측정되며, 환자가 PASI75, 또는 0 또는 1의 PGA 점수를 갖는 경우, 투여 간격을 증가시키는 방법.

청구항 12

제10항에 있어서, 초기 투여량의 투여 28주 후에 투여 간격을 증가시키는 단계가 항체를 16주, 20주, 24주 간격으로 이루어진 군으로부터 선택되는 증가된 간격으로 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 28주 후에 투여 간격을 증가시키는 단계가 항체를 매 24주의 증가된 간격으로 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 14

제1항에 있어서, 항체가 25 mg 내지 200 mg의 투여량으로 투여되는 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 항체가 45 mg 또는 90 mg의 투여량으로 투여되는 방법.

청구항 16

제14항에 있어서, 환자에서 면역원성의 위험성이 증가하지 않는 방법.

청구항 17

제1항에 있어서, IL-12/23-관련 질환을 치료하는 데 사용되는 하나 이상의 추가의 약물을 환자에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 추가의 약물이 면역억제제, 비스테로이드성 항염증 약물 (NSAID), 메토트렉세이트 (methotrexate; MTX), 항-B-세포 표면 마커 항체, 항-CD20 항체, 리툭시맙(rituximab), TNF-억제제, 코르티코스테로이드 및 동시자극성 조절제(co-stimulatory modifier)로 이루어진 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 19

각각 서열 번호 7 및 8의 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, IL-12 및 IL-23에 대한 항체를 초기 투여량으로, 초기 투여량의 투여 4주 후에, 4주째 투여량의 투여 후 24주 동안 12주마다 1회의 투여 간격으로 환자에게 투여하는 단계, 및 초기 투여량의 투여 28주 후에 투여 간격을 증가시키는 단계를 포함하는, 증가하는 투여 간격을 사용하여 환자에서 전선을 치료하는 방법으로서, 이때 투여량은 45 mg 또는 90 mg인, 방법.

청구항 20

제19항에 있어서, 초기 치료 28주 후에 환자가 PASI75, PASI90, 또는 0 또는 1의 PGA 점수를 갖는, 방법.

청구항 21

제19항에 있어서, 초기 치료 52주 후에 환자가 PASI75, PASI90, 또는 0 또는 1의 PGA 점수를 갖는, 방법.

청구항 22

제19항에 있어서, 초기 치료 108주, 112주 및/또는 116주 후에 환자가 PASI75, PASI90, 또는 0 또는 1의 PGA 점수를 갖는, 방법.

청구항 23

제19항에 있어서, 항체가 서열 번호 7의 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 및 서열 번호 8의 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하고; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.53 mg의 L-히스티딘; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 1.37 mg의 L-히스티딘 모노하이드로클로라이드 1수화물; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.04 mg의 폴리소르베이트 80; 및 약제학적 조성물 1 ml 당 약 76 mg의 수크로스를 포함하며; 이때 희석제는 표준 상태에서의 물인, 방법.

청구항 24

제19항에 있어서, 항체가 서열 번호 1, 서열 번호 2 및 서열 번호 3의 중쇄 CDR 아미노산 서열; 및 서열 번호

4, 서열 번호 5 및 서열 번호 6의 경쇄 CDR 아미노산 서열을 포함하고, 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.53 mg의 L-히스티딘; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 1.37 mg의 L-히스티딘 모노하이드로클로라이드 1수화물; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.04 mg의 폴리소르베이트 80; 및 약제학적 조성물 1 ml 당 약 76 mg의 수크로스를 포함하며; 이때 희석제는 표준 상태에서의 물인, 방법.

청구항 25

제19항에 있어서, 항체가 서열 번호 9의 잔기 1 내지 88에서 IL-12/23p40 서브유닛(subunit)에 결합하고, 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.53 mg의 L-히스티딘; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 1.37 mg의 L-히스티딘 모노하이드로클로라이드 1수화물; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.04 mg의 폴리소르베이트 80; 및 약제학적 조성물 1 ml 당 약 76 mg의 수크로스를 포함하며; 이때 희석제는 표준 상태에서의 물인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 특정 투여 계획을 사용하여, 인간 IL-12 및/또는 인간 IL-23 단백질에 결합하는 항체로 IL-12/23-관련 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다. 특히, 이는 IL-12/23-관련 질환 환자에게 투여하기에 안전하고 효과적인, 피하 투여된 항-IL-12/23p40 항체 및 항체의 특정 약제학적 조성물, 예를 들어, 우스테키누맙(ustekinumab)에 대한 증가된 투여 (또는 유지) 간격의 확인에 관한 것이다.

배경기술

[0002]

인터류킨(IL)-12는 대량적인 분자량에 따라 p35 및 p40으로 명명된 2개의 이황화-연결된 글리코실화 단백질 서브유닛으로 이루어진 분비형 이종이량체성 사이토카인이다. IL-12는 항원-제시 세포에 의해 주로 생성되며, T 세포 또는 자연 살해(NK) 세포의 표면 상에서 발현되는 2-사슬 수용체 복합체에 결합함으로써 세포-매개 면역을 유도한다. IL-12 수용체 베타-1(IL-12R β 1) 사슬은 IL-12의 p40 서브유닛에 결합하여, IL-12와 이의 수용체 사이의 주요 상호작용을 제공한다. 그러나, 세포내 신호전달(예를 들어, STAT4 인산화) 및 수용체-보유 세포(프레스키(Presky) 등, 1996)의 활성화를 부여하는 것은 제2 수용체 사슬 IL-12R β 2의 IL-12p35 라이케이션이다. 항원 제시를 동반한 IL-12 신호전달은 인터페론 갑마(IFN γ) 생성을 특징으로 하는, 보조 T 1 (Th1) 표현형으로의 T 세포 분화를 일으키는 것으로 생각된다(트린치에리(Trinchieri), 2003). Th1 세포는 일부 세포내 병원체에 대한 면역을 촉진하고, 보체-고정(complement-fixing) 항체 동종형을 생성하며, 종양 면역감시(immunosurveillance)에 기여하는 것으로 여겨진다. 따라서, IL-12는 숙주 방어 면역 기전의 중요한 성분인 것으로 생각된다.

[0003]

IL-12의 p40 단백질 서브유닛은 또한 p19로 명명된 별개의 단백질 서브유닛과 결합하여 신규한 사이토카인 IL-23을 형성할 수 있음이 밝혀졌다(오프만(Opman) 등, 2000). IL-23은 또한 2-사슬 수용체 복합체를 통해 신호를 전달한다. p40 서브유닛은 IL-12와 IL-23 사이에 공유되므로, 결론적으로 IL-12R β 1 사슬이 또한 IL-12와 IL-23 사이에 공유된다. 그러나, IL-23 특이적 세포내 신호전달(예를 들어, STAT3 인산화) 및 T 세포에 의한 후속 IL-17 생성을 부여하는 것은 IL-23 수용체 복합체 IL-23R의 제2 성분의 IL-23p19 라이케이션이다(파햄(Parham) 등, 2002; 아가르왈(Aggarwal) 등, 2003). 두 사이토카인 사이의 구조적 유사성에도 불구하고, IL-23의 생물학적 기능은 IL-12의 것과는 다르다는 것이 연구에서 입증되었다(랑리쉬(Langrish) 등, 2005).

[0004]

항체에 의한 IL-12의 중화가 건선, 다발성 경화증(MS), 류마티스 관절염, 염증성 장 질환, 인슐린-의존성(1형) 당뇨병 및 포도막염의 동물 모델을 치료하는 데 효과적이기 때문에, IL-12 및 Th1 세포 집단의 비정상적인 조절은 많은 면역-매개 질환과 관련되어 왔다(로이너드(Leonard) 등, 1995; 홍(Hong) 등, 1999; 말페이트(Malfait) 등, 1998; 데이비슨(Davidson) 등, 1998). 그러나, 이러한 연구는 공유된 p40 서브유닛을 표적으로 하므로, IL-12 및 IL-23 모두가 생체 내에서 중화되었다. 따라서, IL-12 또는 IL-23 중 하나가 질환을 매개하는지, 질환을 억제하기 위해 두 사이토카인 모두를 억제해야 하는지 여부는 불분명하였다. IL-23 억제가 항-IL-12p40 전략과 동등한 이점을 제공할 수 있다는 추가의 연구가 IL-23p19 결핍 마우스 또는 IL-23의 특이적 항체 중화를 통해 확인되었다(쿠아(Cua) 등, 2003, 머피(Murphy) 등, 2003, 벤슨(Benson) 등 2004). 따라서, 면역-매개 질환에서 IL-12 및 IL-23의 역할에 대한 증거가 있다.

[0005]

건선은 건선 관절염(PsA), 우울증, 심혈관 질환, 고혈압, 비만, 당뇨병, 대사 증후군 및 크론병(Crohn's disease)과 같은 유의한 합병증을 갖는 만성 면역-매개 피부 장애이다. 판상 건선은 이 질환의 가장 흔한 형태

이며, 은백색 인설로 덮여 있는 경계가 뚜렷한 홍반성 병변으로 나타난다. 판상은 가렵고, 고통스러우며, 종종 피부가 보기 흉해지고, 건선 환자의 상당 비율이 손/손발톱, 얼굴, 발 및 외생식기 상에 판상을 갖는다. 따라서, 건선은 신체적 피부 증상을 넘어서 일상 생활을 방해하는 신체적 부담 및 사회심리적 부담을 줄 수 있다. 예를 들어, 건선은 가족, 배우자, 사회 및 직장 관계에 부정적인 영향을 줄 수 있으며, 더 높은 우울증 발병률 및 자살 경향의 증가와 관련이 있다.

[0006] 건선 병변의 조직학적 특성은 비정상적인 각질형성세포 증식 및 분화뿐만 아니라 피부 침윤 및 CD3+ T 럼프구와 수지상 세포의 공배치(co-localization)로 인해 두꺼워진 표피를 나타낸다. 건선의 병인이 잘 정의되어 있지는 않지만, 유전자 및 단백질 분석에 의하면 IL-12, IL-23 및 이들의 하류 분자가 건선 병변에서 과발현되며, 일부는 건선 질환의 중증도와 관련이 있을 수 있음이 밝혀졌다. 건선의 치료에 사용되는 일부 요법은 IL-12 및 IL-23 수준을 조절하며, 이는 이들의 효능에 기여하는 것으로 추정된다. Th1 및 Th17 세포는 혈관확장제, 화학유인물질의 생성 및 내피 세포에서의 부착 분자의 발현을 유도하는 이펙터 사이토카인을 생성할 수 있으며, 이는 결과적으로 단핵구 및 호중구 동원(recruitment), T 세포 침윤, 신혈관형성 및 각질형성세포 활성화 및 과형성을 촉진한다. 활성화된 각질형성세포는 호중구, 단핵구, T 세포 및 수지상 세포 수송(trafficking)을 촉진하는 화학유인물질 인자를 생성하여 염증 및 각질형성세포 과다증식의 주기를 확립할 수 있다.

[0007] 중등증 내지 중증 판상 건선의 치료에서 IL-12/23 항체 우스테키누맙의 세 개의 3상 임상 시험의 결과가 공개되었다. 건선의 효능 검증 도구인 건선 부위 면적 및 중증도 지수(Psoriasis Area and Severity Index)로 평가 시, 0주차와 4주차에 피하 주사한 후, 12주마다 1회로 피하 주사에 의해 투여된 우스테키누맙은 신속하고 지속적인 임상 반응을 보였다. 중등증 내지 중증 건선 환자에서 12주간 진행한, 우스테키누맙을 TNF 길항제인 에타너셉트(etanercept)와 비교하는 3상 연구에서 우스테키누맙은 에타너셉트보다 우수한 효능을 입증하였다. 두 개의 3상 임상 시험인 피닉스(Phoenix) I 및 피닉스 II에서, 우스테키누맙은 대략 3주의 반감기를 보였다. 우스테키누맙에 대한 면역 반응률은 3 내지 5%의 범위이었다. 또한, 보고된 이상 반응은 비교적 경미하며, 대다수의 이상 반응은 비인두염 및 상기도감염과 같은 경미한 감염에 대한 감수성을 포함한다. 12주의 치료 기간 동안 위약-치료 환자와 비교하여 우스테키누맙-치료 환자에서의 감염율은 높지 않았고; 낮은 우스테키누맙 투여량에 비해 높은 것과 관련하여 증가하지도 않았다. 또한, 심혈관 이벤트, 주사 부위 반응, 악성종양 및 심각한 감염의 비율도 낮았다. 종합하면, 건선에 있어서의 우스테키누맙의 임상 관찰 결과는 이의 혁신 신약(first-in-class)의 지위를 뒷받침하였으며, 건선 발병기전에서 IL-12 및/또는 IL-23의 근본적인 역할을 확인해주었다.

발명의 내용

[0008] 제1 양태에서, 본 발명은 항-IL-12 및/또는 항-IL-23 항체, 예를 들어 항-IL-12/23p40 (IL-12/23p40) 항체를 환자에게 피하 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 IL-12/23-관련 질환을 치료하는 방법에 관한 것이며, 항-IL-12/23p40 항체를 초기 투여량으로, 초기 투여 4주 후에, 12주마다 1회의 투여 간격으로 투여하고, 초기 투여량의 28주 후에 그 간격 (유지 간격)을 증가시킨다. 증가된 투여 간격은 설정된 간격일 수 있거나, 예를 들어 건선에서 항체 요법의 증가된 투여 간격 또는 이의 중단(withdrawal) 후에 환자가 질환 상태의 재발을 경험할 때 PGA 및/또는 PASI 점수의 변화에 기초하여 맞춤 설정될 수 있다. 일 실시 형태에서, 28주 후에 투여 간격은 45 mg 또는 90 mg 투여량으로 12주마다 1회에서 16주, 20주 또는 24주마다 1회로 증가한다.

[0009] 실시 형태에서, IL-12/23-관련 질환은 건선, 건선 관절염, 루푸스, 당뇨병, 크론병, 궤양성 대장염 및 기타 염증성 장 질환, 유육종증, 강직성 척추염(AS) 및 축형 척추관절염 (nrAxSpA)으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 바람직한 실시 형태에서, IL-12/23-관련 질환은 건선이다. 다른 실시 형태에서, IL-12/23-관련 질환은 건선 관절염이다.

[0010] 본 발명은 또한 항-IL-12/23p40 항체 우스테키누맙 (스텔라라(Stelara)®)을 환자에게 피하 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 건선을 치료하는 방법에 관한 것이며, 우스테키누맙을 초기에, 초기 투여 4주 후에, 초기 투여 후 28주까지 12주마다 1회의 투여 간격으로 투여한 후, 16주, 20주 또는 24주마다 1회 투여한다.

[0011] 또한, 본 발명의 방법에 사용되는 조성물은 약 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 내지 약 1000 mg/ml 의 양으로, 특히 45 mg 또는 90 mg 투여량의 항-IL-12/23p40 항체를 포함하는 약제학적 조성물을 포함한다. 바람직한 실시 형태에서, 항-IL-12/23p40 항체는 우스테키누맙 (스텔라라®)이다. 다른 실시 형태에서, 약제학적 조성물은 서열 번호 9의 잔기 1-88을 포함하는 웨티드 사슬과 결합하는 단리된 항-IL-12/IL-23p40 항체; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.27 내지 약 0.80 mg의 L-히스티딘; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.69 내지 약 2.1 mg의 L-히스티딘 모노하이드로글로라이드 1수화물; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.02 내지 약 0.06 mg의 폴리소르베이트 80; 및 약제학적 조성물

1 ml 당 약 65 내지 약 87 mg의 수크로스를 포함하며; 이때 희석제는 표준 상태에서의 물이다.

[0012] 본 발명의 다른 양태에서, 약제학적 조성물은 (i) 서열 번호 1, 서열 번호 2 및 서열 번호 3의 중쇄 CDR 아미노산 서열; 및 (ii) 서열 번호 4, 서열 번호 5 및 서열 번호 6의 경쇄 CDR 아미노산 서열을 갖는 단리된 항-IL-12/IL-23p40 항체; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.27 내지 약 0.80 mg의 L-히스티딘; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.69 내지 약 2.1 mg의 L-히스티딘 모노하이드로클로라이드 1수화물; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.02 내지 약 0.06 mg의 폴리소르베이트 80; 및 약제학적 조성물 1 ml 당 약 65 내지 약 87 mg의 수크로스를 포함하며; 이때 희석제는 표준 상태에서의 물이다.

[0013] 본 발명의 방법의 다른 양태는 서열 번호 7의 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 및 서열 번호 8의 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 갖는 단리된 항-IL-12/IL-23p40 항체; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.27 내지 약 0.80 mg의 L-히스티딘; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.69 내지 약 2.1 mg의 L-히스티딘 모노하이드로클로라이드 1수화물; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.02 내지 약 0.06 mg의 폴리소르베이트 80; 및 약제학적 조성물 1 ml 당 약 65 내지 약 87 mg의 수크로스를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하며; 이때 희석제는 표준 상태에서의 물이다.

[0014] 본 방법의 다른 양태는 (i) 서열 번호 1, 서열 번호 2 및 서열 번호 3의 중쇄 CDR 아미노산 서열; 및 (ii) 서열 번호 4, 서열 번호 5 및 서열 번호 6의 경쇄 CDR 아미노산 서열을 갖는 단리된 항-IL-12/IL-23p40 항체; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.53 mg의 L-히스티딘; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 1.37 mg의 L-히스티딘 모노하이드로클로라이드 1수화물; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.04 mg의 폴리소르베이트 80; 및 약제학적 조성물 1 ml 당 약 76 mg의 수크로스를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 단계이며; 이때 희석제는 표준 상태에서의 물이다.

[0015] 본 방법의 추가의 양태는 서열 번호 7의 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 및 서열 번호 8의 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 갖는 단리된 항-IL-12/IL-23p40 항체 (이때, 단리된 항체는 서열 번호 9의 잔기 1 내지 88을 포함하는 웨티드 사슬과 결합함); 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.53 mg의 L-히스티딘; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 1.37 mg의 L-히스티딘 모노하이드로클로라이드 1수화물; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.04 mg의 폴리소르베이트 80; 및 약제학적 조성물 1 ml 당 약 76 mg의 수크로스를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 단계이며; 이때 희석제는 표준 상태에서의 물이다.

[0016] 본 방법의 다른 양태는 상술한 항체에 결합하기 위해, 선택적으로 서열 번호 9의 잔기 1 내지 88에서 경쟁하는 결합 화합물; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.27 내지 약 0.80 mg의 L-히스티딘; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.69 내지 약 2.1 mg의 L-히스티딘 모노하이드로클로라이드 1수화물; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.02 내지 약 0.06 mg의 폴리소르베이트 80; 및 약제학적 조성물 1 ml 당 약 65 내지 약 87 mg의 수크로스를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 단계이며; 이때 희석제는 표준 상태에서의 물이다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1은 IL-12/p40 Fab의 결합된 복합체의 문자 구조를 리본 표현으로 도시한다.

도 2는 문자 표면 상에 나타낸 p40 mAb 결합 부위 (에피토프)를 표면 및 리본 표현으로 도시한다. D1 도메인과 Fv를 명확성을 위해 복합체 구조에서 분리한다. P40의 D1 도메인의 경우, 문자 표면이 도시된다. Fab의 Fv 부분은 리본으로 도시된다. 좌측 패널: 항체 결합 부위, 즉 에피토프의 단면도(view down). 중간 패널: 좌측 패널의 도면의 약 90° 측면도. 우측 패널: 에피토프의 잔기의 리본 표현.

도 3은 다양한 p40 단일 돌연변이에 결합한 IL-12 p40 항체의 ELISA 평가의 결과를 보여준다.

도 4는 상이한 p40 뮤테인에 대한 p40 mAb의 상대적인 결합 친화도를 보여준다.

도 5는 4주의 스크리닝 기간, 0주에서 28주까지의 개방 표지 치료전 기간(run-in period), 28주에서 104주까지의 이중맹검 치료 기간, 116주까지의 치료후 기간 및 124주차에 전화 또는 현장 방문에 의한 연락을 통한 안전성 추적조사를 포함하는 3b상 무작위, 이중맹검, 활성 치료-대조(active treatment-controlled), 다기관 연구에서 우스테키누맙의 연구 계획을 보여준다.

도 6은 CNT01275PS03009 연구에서 방문에 의해 28주차에서 112주차까지 깨끗함 (0) 또는 거의 깨끗함 (1)의 PGA 점수를 달성한 대상의 비율을 보여준다.

도 7은 CNT01275PS03009 연구에서 방문에 의해 28주차에서 112주차까지 PASI 75 반응률을 달성한 대상의 비율을

보여준다.

도 8은 28주차에서 112주차까지의 시간 동안 깨끗함 (0)의 PGA 반응률을 보여준다.

도 9는 CNT01275PS03009 연구에서 방문에 의해 28주차에서 112주차까지 PASI 90 반응률을 달성한 대상의 비율을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0018] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 건선의 치료 방법은 단리된, 재조합 및/또는 합성 항-IL-12, IL-23 및 IL12/23p40 인간 항체, 및 진단 조성물 및 치료 조성물, 방법 및 장치를 투여하는 단계를 포함한다.
- [0019] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "항-IL-12 항체", "항-IL-23 항체", "항-IL-12/23p40 항체", "IL-12/23p40 항체", "항체 부분" 또는 "항체 단편" 및/또는 "항체 변이체" 등은 중쇄 또는 경쇄의 하나 이상의 상보성 결정 영역 (CDR) 또는 이의 리간드 결합 부분, 중쇄 또는 경쇄 가변 영역, 중쇄 또는 경쇄 불변 영역, 프레임워크 영역 또는 이의 임의의 부분, 또는 IL-12 및/또는 IL-23 수용체 또는 결합 단백질의 하나 이상의 부분과 같으나 이에 한정되지 않는 면역글로불린 분자의 적어도 일부를 포함하는 분자를 함유하는 임의의 단백질 또는 웨티드를 포함하며, 이는 본 발명의 항체로 혼입될 수 있다. 이러한 항체는 선택적으로 특정 리간드에 추가로 영향을 주는데, 비제한적인 예로서, 이러한 항체는 시험관내에서, 원위치에서 및/또는 생체내에서 적어도 하나의 IL-12/23 활성 또는 결합, 또는 IL-12/23 수용체 활성 또는 결합을 조절, 감소, 증가, 길항작용, 작용화, 완화, 경감, 차단, 억제, 저해 및/또는 방해한다. 비제한적인 예로서, 본 발명의 적합한 항-IL-12/23p40 항체, 특정 부분 또는 변이체는 하나 이상의 IL-12/23 분자 또는 이의 특정 부분, 변이체 또는 도메인에 결합할 수 있다. 적합한 항-IL-12/23p40 항체, 특정 부분 또는 변이체는 또한 선택적으로 RNA, DNA 또는 단백질 합성, IL-12/23 방출, IL-12/23 수용체 신호전달, 막 IL-12/23 절단, IL-12/23 활성, IL-12/23 생성 및/또는 합성과 같으나 이에 한정되지 않는 하나 이상의 IL-12/23p40 활성 또는 기능에 영향을 줄 수 있다.
- [0020] 용어 "항체"는 추가로 항체, 이의 분해 단편, 특정 부분 및 변이체를 포함하고자 하며, 항체 모방체(mimetic)를 포함하거나, 단일쇄 항체 및 이의 단편을 포함하는, 항체 또는 이의 특정 단편 또는 부분의 구조 및/또는 기능을 모방하는 항체의 부분을 포함한다. 기능적 단편은 포유류 IL-12/23에 결합하는 항원-결합 단편을 포함한다. 예를 들어, Fab (예를 들어, 파파인 분해에 의해), Fab' (예를 들어, 웨신 분해 및 부분적인 환원에 의해), 및 F(ab')₂ (예를 들어, 웨신 분해에 의해), facb (예를 들어, 플라스민 분해에 의해), pFc' (예를 들어, 웨신 또는 플라스민 분해에 의해), Fd (예를 들어, 웨신 분해, 부분적인 환원 및 재응집에 의해), Fv 또는 scFv (예를 들어, 분자생물학 기술에 의해) 단편을 포함하지만 이에 한정되지 않는, IL-12/23 또는 이의 부분에 결합할 수 있는 항체 단편이 본 발명에 포함된다 (예를 들어, 상기 문헌[Colligan, Immunology] 참조).
- [0021] 이러한 단편은 본 기술 분야에 알려져 있고/있거나 본 명세서에 기재되어 있는 바와 같은 효소에 의한 절단, 합성 또는 재조합 기술에 의해 생성될 수 있다. 항체는 또한 하나 이상의 정지 코돈이 천연 정지 부위의 상류에 도입된 항체 유전자를 사용하여 다양한 절단된(truncated) 형태로 생성될 수 있다. 예를 들어, 중쇄의 C_H1 도메인 및/또는 힌지 영역을 암호화하는 DNA 서열을 포함하도록, F(ab')₂ 중쇄 부분을 암호화하는 조합 유전자를 설계할 수 있다. 항체의 다양한 부분은 통상의 기술에 의해 화학적으로 함께 연결될 수 있거나, 유전 공학 기술을 사용하여 연속 단백질로서 제조될 수 있다.
- [0022] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "인간 항체"는 실질적으로 단백질의 모든 부분 (예를 들어, CDR, 프레임워크, C_L, C_H 도메인 (예를 들어 C_H1, C_H2, C_H3), 힌지, (V_L, V_H))이 작은 서열 변화 또는 변이만을 포함하고, 인간에서 실질적으로 비면역원성인 항체를 말한다. "인간 항체"는 또한 인간 생식세포계열 면역글로불린 서열로부터 유래되거나 이와 거의 일치하는 항체일 수 있다. 인간 항체는 생식세포계열 면역글로불린 서열에 의해 암호화되지 않는 아미노산 잔기 (예를 들어, 시험관 내에서의 무작위 또는 부위 특이적 돌연변이 유발에 의해, 또는 생체 내에서의 체세포 돌연변이에 의해 도입되는 돌연변이)를 포함할 수 있다. 종종, 이는 인간 항체가 인간에서 실질적으로 비면역원성을 의미한다. 인간 항체는 이들의 아미노산 서열 유사성에 기초하여 그룹으로 분류된다. 따라서, 서열 유사성 검색을 사용하여, 유사한 선형 서열을 갖는 항체를 주형으로 선택하여 인간 항체를 생성할 수 있다. 유사하게, 영장류 (원숭이, 개코원숭이, 침팬지 등), 설치류 (마우스, 쥐, 토끼, 기니피그, 햄스터 등) 및 기타 포유류에 지정된 항체는 이러한 종, 아속, 속, 아과, 과 특이적 항체를 지정한다. 추가로, 키메라 항체는 상기의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 이러한 변화 또는 변이는 선택적으로 그리고 바람직하게는, 변형되지 않은 항체에 비해 인간 또는 다른 종에서의 면역원성을 유지시키거나 감소시킨다. 따라

서, 인간 항체는 키메라 또는 인간화 항체와 구별된다.

[0023] 인간 항체는 기능적으로 재배열된 인간 면역글로불린 (예를 들어, 중쇄 및/또는 경쇄) 유전자를 발현할 수 있는 인간외 동물 또는 원핵 또는 진핵세포에 의해 생성될 수 있다는 점이 주목된다. 추가로, 인간 항체가 단일쇄 항체일 때, 인간 항체는 고유 인간 항체에서는 발견되지 않는 링커(linker) 펩티드를 포함할 수 있다. 예를 들어, Fv는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 연결하는 링커 펩티드, 예를 들어 2 내지 약 8개의 글라이신 또는 다른 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 이러한 링커 펩티드는 인간 기원인 것으로 생각된다.

[0024] 적어도 2개의 상이한 항원에 대한 결합 특이성을 갖는 단일클론, 바람직하게는, 인간 또는 인간화 항체인 이중 특이성(bispecific), 이종특이성(heterospecific), 이형접합성(heteroconjugate) 또는 유사 항체도 사용할 수 있다. 이 경우에, 결합 특이성 중 하나는 적어도 하나의 IL-12/23 단백질에 대한 것이고, 다른 하나는 임의의 다른 항원에 대한 것이다. 이중특이성 항체를 제조하는 방법은 본 기술 분야에 알려져 있다. 통상적으로, 이중특이성 항체의 재조합 생성은 2개의 중쇄가 상이한 특이성을 갖는, 2개의 면역글로불린 중쇄-경쇄 쌍의 동시 발현에 기초한다 (문헌[Milstein and Cuello, *Nature* 305:537 (1983)]). 면역글로불린 중쇄 및 경쇄의 무작위 분류로 인해, 이러한 하이브리도마 (콰드로마(quadroma))는 하나만 정확한 이중특이적 구조를 갖는 10개의 상이한 항체 분자의 잠재적인 혼합물을 생성한다. 일반적으로 친화성 크로마토그래피 단계에 의해 수행되는 정확한 분자의 정제는 다소 성가시며, 생성물 수율도 낮다. 유사한 절차가, 예를 들어 국제특허 공개 WO 93/08829호, 미국 특허 제6210668호, 제6193967호, 제6132992호, 제6106833호, 제6060285호, 제6037453호, 제6010902호, 제5989530호, 제5959084호, 제5959083호, 제5932448호, 제5833985호, 제5821333호, 제5807706호, 제5643759호, 제5601819호, 제5582996호, 제5496549호, 제4676980호, 국제특허 공개 WO 91/00360호, WO 92/00373호, 유럽 특허 제03089호, 문헌[Traunecker et al., *EMBO J.* 10:3655 (1991)], 문헌[Suresh et al., *Methods in Enzymology* 121:210 (1986)]에 개시되어 있으며, 이들 각각은 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0025] 본 발명의 방법 및 조성물에 유용한 항-IL-12/23p40 항체 (또한 IL-12/23p40 항체로 명명함) (또는 IL-23에 대한 항체)는 선택적으로 IL-12/23p40에 대한 (또는 IL-23에 대한) 높은 친화도 결합 및 선택적으로 그리고 바람직하게는 낮은 독성을 특징으로 할 수 있다. 특히, 개별 성분, 예를 들어 가변 영역, 불변 영역 및 프레임워크가 개별적으로 및/또는 공동으로, 선택적으로 그리고 바람직하게는 낮은 면역원성을 갖는 본 발명의 항체, 특정 단편 또는 변이체가 본 발명에서 유용하다. 본 발명에서 사용할 수 있는 항체는 선택적으로 측정가능한 정도로 증상을 완화하고, 낮고/낮거나 허용가능한 독성을 보이면서 장기간 동안 환자를 치료할 수 있는 능력을 특징으로 한다. 낮거나 허용가능한 면역원성 및/또는 높은 친화도뿐만 아니라 다른 적합한 특성이 달성되는 치료 결과에 기여할 수 있다. 본 명세서에서 "낮은 면역원성"은 치료한 환자의 약 75% 미만, 또는 바람직하게는 약 50% 미만에서 유의미한 HAHA, HACA 또는 HAMA 반응을 야기하고/하거나 치료한 환자에서 낮은 역가 (이중 항원 효소 면역검정으로 측정할 때, 약 300 미만, 바람직하게는 약 100 미만)를 야기하는 것으로서 정의된다 (전체적으로 본 명세서에 참고로 포함되는 문헌[Elliott et al., *Lancet* 344:1125-1127 (1994)]). "낮은 면역원성"은 또한 항-IL-12 항체로 치료한 환자에서 항-IL-12 항체에 대한 항체의 적정 수준의 발생률이 치료 기간 동안 권장 치료 과정에서 권장 투여량으로 치료한 환자의 25% 미만, 바람직하게는 치료한 환자의 10% 미만으로 발생하는 것으로 정의될 수 있다.

[0026] 유용성

[0027] 본 발명의 단리된 핵산은 적어도 하나의 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체 또는 이의 특정 변이체의 생성을 위해 사용될 수 있는데, 이는 면역 장애 또는 질환, 심혈관 장애 또는 질환, 감염성, 악성 및/또는 신경성 장애 또는 질환, 또는 다른 알려지거나 명시된 IL-12/23 관련 상태 중 적어도 하나로부터 선택되지만 이에 한정되지 않는, 하나 이상의 IL-12/23 상태를 진단하거나, 모니터링하거나, 조절하거나, 치료하거나, 완화하거나, 이의 발병의 예방을 돋거나, 이의 증상을 감소하기 위해 세포, 조직, 기관 또는 동물 (포유류 및 인간을 포함함)에서 측정하거나 작용하는 데 사용될 수 있다.

[0028] 이러한 방법은 이러한 증상, 효과 또는 기전의 조절, 치료, 완화, 예방 또는 감소를 필요로 하는 세포, 조직, 기관, 동물 또는 환자에게 적어도 하나의 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체를 포함하는 조성물 또는 약제학적 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 본 명세서에 기재되거나 관련 기술 분야에 알려진 바와 같이, 알려진 방법을 사용하여 수행하고 측정한 유효량은 단일 (예를 들어, 볼루스(bolus)), 다중 또는 연속 투여당 약 0.001 내지 500 mg/kg의 양, 또는 단일, 다중 또는 연속 투여당 0.01 내지 5000 µg/ml 혈청 농도의 혈청 농도를 달성하는 양, 또는 그 안의 임의의 유효 범위 또는 값을 포함할 수 있다.

[0029] 인용

[0030] 구체적으로 지정되는지 여부에 관계 없이 본 명세서에서 인용된 모든 간행물 또는 특허는 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함되며, 이는 그들이 본 발명의 시점에서의 최신의 기술을 보여주고/주거나 본 발명의 설명 및 용이성을 제공하기 때문이다. 간행물은 임의의 학술 간행물 또는 특허 간행물, 또는 모든 기록 형식, 전자 형식 또는 인쇄 형식을 포함하는 임의의 매체 형식으로 이용가능한 또 다른 정보를 가리킨다. 하기 참고문헌은 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다: 문헌[Ausubel, et al., ed., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Inc., NY, NY (1987-2001)]; 문헌[Sambrook, et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd Edition, Cold Spring Harbor, NY (1989)]; 문헌[Harlow and Lane, *antibodies, a Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor, NY (1989)]; 문헌[Colligan, et al., eds., *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons, Inc., NY (1994-2001)]; 문헌[Colligan et al., *Current Protocols in Protein Science*, John Wiley & Sons, NY, NY, (1997-2001)].

[0031] 본 발명의 항체 – 생성 및 제조

[0032] 본 발명의 방법에 사용되는 적어도 하나의 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체는 본 기술 분야에 알려진 바와 같이, 세포주, 혼합 세포주, 무한증식(immortalized) 세포 또는 무한증식 세포의 클론 집단에 의해 선택적으로 생성될 수 있다. 예를 들어, 각각 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함되는, 문헌[Ausubel, et al., ed., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Inc., NY, NY (1987-2001)]; 문헌[Sambrook, et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd Edition, Cold Spring Harbor, NY (1989)]; 문헌[Harlow and Lane, *antibodies, a Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor, NY (1989)]; 문헌[Colligan, et al., eds., *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons, Inc., NY (1994-2001)]; 문헌[Colligan et al., *Current Protocols in Protein Science*, John Wiley & Sons, NY, NY, (1997-2001)]을 참조한다.

[0033] 바람직한 항-IL-12/23p40 항체는 서열 번호 7의 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 및 서열 번호 8의 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 갖고, 서열 번호 1, 서열 번호 2 및 서열 번호 3의 중쇄 CDR 아미노산 서열; 및 서열 번호 4, 서열 번호 5 및 서열 번호 6의 경쇄 CDR 아미노산 서열을 갖는 우스테카누맙 (스텔라라®)이다. 바람직한 항-IL-23 항체 (IL-23에 특이적으로 결합하고, IL-12에 결합하지 않음)는 구셀쿠맙(guselkumab) (전체 내용이 본 명세서에 참고로 포함되는, 미국 특허 제7,935,344호에서 서열 번호 106 및 116의 가변 영역 서열을 포함하는 CNT01959로도 지칭함) 및 미국 특허 제7,935,344호에 기재된 기타 항체이다.

[0034] 단리된 IL-12/23p40 단백질, IL-23 단백질 및/또는 이의 부분 (합성 펩티드와 같은 합성 분자를 포함함)과 같은 적절한 면역원성 항원에 대해 인간 IL-12/23p40 또는 IL-23 단백질, 또는 이의 단편에 특이적인 인간 항체를 발생시킬 수 있다. 다른 특이적 또는 일반적 포유류 항체를 유사하게 발생시킬 수 있다. 면역원성 항원의 제조 및 단일클론 항체 생성은 임의의 적합한 기술을 사용하여 수행될 수 있다.

[0035] 한 방법에서, 하이브리도마(hybridoma)는 적합한 무한증식 세포주 (예를 들어, Sp2/0, Sp2/0-AG14, NS0, NS1, NS2, AE-1, L.5, L243, P3X63Ag8.653, Sp2 SA3, Sp2 MAI, Sp2 SS1, Sp2 SA5, U937, MLA 144, ACT IV, MOLT4, DA-1, JURKAT, WEHI, K-562, COS, RAJI, NIH 3T3, HL-60, MLA 144, NAMALWA, NEURO 2A 등과 같으나 이에 한정되지 않는 골수종 세포주, 또는 이종골수종(heteromyeloma), 이의 융합 산물, 또는 이로부터 유도되는 임의의 세포 또는 융합 세포, 또는 본 기술 분야에 알려진 임의의 다른 적합한 세포주) (예를 들어, www.atcc.org, www.lifetech.com 등 참조)를, 내인성 또는 이종 핵산으로서, 재조합 또는 내인성 바이러스, 세균, 조류, 원핵생물, 양서류, 곤충, 과충류, 어류, 포유동물, 설치류, 말, 양(ovine), 염소, 양, 영장류, 진핵생물, 게놈 DNA, cDNA, rDNA, 미토콘드리아 DNA 또는 RNA, 엽록체 DNA 또는 RNA, hnRNA, mRNA, tRNA, 단일, 이중 또는 삼중 가닥, 혼성화된 것 등, 또는 이들의 임의의 조합으로서, 단리되거나 클로닝된 비장, 말초 혈액, 림프선, 편도선, 또는 다른 면역 세포 또는 B 세포 함유 세포, 또는 중쇄 또는 경쇄 불변 또는 가변 또는 프레임워크 또는 CDR 서열을 발현하는 임의의 다른 세포와 같으나 이에 한정되지 않는 항체 생성 세포와 융합시켜 생성된다. 예를 들어, 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함되는, 문헌[Ausubel, 상기 문헌] 및 문헌[Colligan, *Immunology*, 상기 문헌, 챕터 2]을 참조한다.

[0036] 항체 생성 세포는 또한, 목적 항원으로 면역화된 인간 또는 다른 적합한 동물의 말초 혈액, 또는 바람직하게는 비장 또는 림프절로부터 얻을 수 있다. 임의의 다른 적합한 숙주 세포를 사용하여 본 발명의 항체, 이의 특정 단편 또는 변이체를 암호화하는 이종 또는 내인성 핵산을 또한 발현할 수 있다. 융합된 세포 (하이브리도마) 또는 재조합 세포는 선택적 배양 조건 또는 다른 적합한 공지 방법을 사용하여 단리될 수 있고, 제한 희석 또는 세포 분류, 또는 다른 공지의 방법에 의해 클로닝될 수 있다. 원하는 특이성을 갖는 항체를 생성하는 세포를

적합한 분석 (예를 들어, ELISA)에 의해 선별할 수 있다.

필요한 특이성의 항체를 생산하거나 단리하기 위한 다른 적합한 방법을 사용할 수 있으며, 이는 웹티드 또는 단백질 라이브러리 (예를 들어, 이에 한정되지는 않지만, 박테리오파지, 리보솜, 올리고뉴클레오티드, RNA, cDNA 등, 디스플레이 라이브러리; (예를 들어, 영국 캠브리지 소재의 캠브리지 안티바디 테크놀로지스(Cambridge antibody Technologies); 독일 마틴스라이드/플라네그 소재의 몰포시스(MorphoSys); 영국 스코틀랜드 아버딘 소재의 바이오베이션(Biovation); 스웨덴 룬드 소재의 바이오인벤트(BioInvent); 다이액스 코포레이션(Dyax Corp.), 엔존(Enzon), 아피맥스(Affymax)/바이오사이트(Biosite); 캘리포니아주 버클리 소재의 조마(Xoma); 아이시스(Ixsys)로부터 입수 가능하며, 예를 들어, EP 368,684호, PCT/GB91/01134호; PCT/GB92/01755호; PCT/GB92/002240호; PCT/GB92/00883호; PCT/GB93/00605호; US 08/350260호(5/12/94); PCT/GB94/01422호; PCT/GB94/02662호; PCT/GB97/01835호; (CAT/MRC); WO90/14443호; WO90/14424호; WO90/14430호; PCT/US94/1234호; WO92/18619호; WO96/07754호; (스크립스(Scripps)); WO96/13583호, WO97/08320호 (몰포시스); WO95/16027호 (바이오인벤트); WO88/06630호; WO90/3809호 (다이액스); US 4,704,692호 (엔존); PCT/US91/02989호 (아피맥스); WO89/06283호; EP 371 998호; EP 550 400호; (조마); EP 229 046호; PCT/US91/07149 (아이시스) 참조함); 또는 확률적으로(stochastically) 생성된 웹티드 또는 단백질 - 각각이 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함되는 US 5723323호, 5763192호, 5814476호, 5817483호, 5824514호, 5976862호, WO 86/05803호, EP 590 689호 (아이시스, 어플라이드 몰레큘라 에볼루션(Applied Molecular Evolution; AME)의 이전 모델) -로부터 재조합 항체를 선택하거나, 본 기술 분야에 공지되고/되거나 본 명세서에 기재된 바와 같이, 인간 항체의 레퍼토리를 생성할 수 있는 트랜스체닉 동물(예를 들어, 각각이 관련 특허 및 출원과 함께 전체적으로 참고로 포함되는, 문헌[SCID mice, Nguyen et al., *Microbiol. Immunol.* 41:901-907 (1997)]; 문헌[Sandhu et al., *Crit. Rev. Biotechnol.* 16:95-118 (1996)]; 문헌[Eren et al., *Immunol.* 93:154-161 (1998)])의 면역화에 의존하는 방법을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 상기 기술은 리보솜 디스플레이 (문헌[Hanes et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94:4937-4942 (May 1997)]; 문헌[Hanes et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95:14130-14135 (Nov. 1998)]); 단일 세포 항체 생성 기술 (예를 들어, 선택된 램프구 항체 방법 ("SLAM") (미국 특허 제5,627,052호, 문헌[Wen et al., *J. Immunol.* 17:887-892 (1987)]; 문헌[Babcock et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:7843-7848 (1996)]); 젤 미세액적 및 유세포 분석(문헌[Powell et al., *Biotechnol.* 8:333-337 (1990)]; 매사추세츠주 캠브리지 소재의 원 셀 시스템즈(One Cell Systems); 문헌[Gray et al., *J. Imm. Meth.* 182:155-163 (1995)]; 문헌[Kenny et al., *Bio/Technol.* 13:787-790 (1995)]); B-세포 선택 (문헌[Steenbakkers et al., *Molec. Biol. Reports* 19:125-134 (1994)]; 문헌[Jonak et al., *Progress Biotech.* Vol. 5, *In Vitro Immunization in Hybridoma Technology*, Borrebaeck, ed., Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, Netherlands (1988)])을 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

또한, 인간외 또는 인간 항체를 유전자 조작하거나 인간화하는 방법이 사용될 수 있으며, 이는 본 기술 분야에 잘 알려져 있다. 일반적으로, 인간화되거나 유전자 조작된 항체는 마우스, 쥐, 토끼, 인간외 영장류 또는 다른 포유동물과 같으나 이에 한정되지 않은 인간외 공급원으로부터의 하나 이상의 아미노산 잔기를 갖는다. 이러한 인간외 아미노산 잔기는 종종 "도입(import)" 잔기로 지칭되고, 전형적으로 공지의 인간 서열의 "도입" 가변, 불변 또는 기타 도메인으로부터 취한 잔기로 대체된다.

공자의 인간 Ig 서열은, 예를 들어 www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi; www.ncbi.nih.gov/igblast; www.atcc.org/phage/hdb.html; www.mrc-cpe.cam.ac.uk/ALIGNMENTS.php; www.kabatdatabase.com/top.html; ftp.ncbi.nih.gov/repository/kabat; www.sciquest.com; www.abcam.com; www.antibodyresource.com/onlinecomp.html; www.public.iastate.edu/~pedro/research_tools.html; www.whfreeman.com/immunology/CH05/kuby05.htm; www.hhmi.org/grants/lectures/1996/vlab; www.path.cam.ac.uk/~mrc7/mikeimages.html; mcb.harvard.edu/BioLinks/Immunology.html; www.immunologylink.com; pathbox.wustl.edu/~hccenter/index.html; www.appliedbiosystems.com; www.nal.usda.gov/awic/pubs/antibody; www.m.ehime-u.ac.jp/~yasuhito/Elisa.html; www.biodesign.com; www.cancerresearchuk.org; www.biotech.ufl.edu; www.isac-net.org; baserv.uci.kun.nl/~jraats/links1.html; www.recab.uni-hd.de/immuno.bme.nwu.edu; www.mrc-cpe.cam.ac.uk; www.ibt.unam.mx/vir/V_mice.html; <http://www.bioinf.org.uk/abs>; antibody.bath.ac.uk; www.unizh.ch; www.cryst.bbk.ac.uk/~ubcg07s; www.nimr.mrc.ac.uk/CC/ccaewg/ccaewg.html; www.path.cam.ac.uk/~mrc7/humanisation/TAHHP.html; www.ibt.unam.mx/vir/structure/stat_aim.html; www.biosci.missouri.edu/smithgp/index.html; www.jerini.de; 문헌[Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Dept. Health (1983)]에 개시되어 있으며, 각각은 전체적으로 본 명세서에 참고

로 포함된다.

[0040] 이러한 도입된 서열은 면역원성을 감소시키거나, 결합, 친화도, 온-레이트(on-rate), 오프-레이트(off-rate), 결합활성(avidity), 특이성, 반감기, 또는 본 기술 분야에 알려진 임의의 다른 적합한 특성을 감소시키거나, 향상시키거나, 변형시키기 위해 사용될 수 있다. 일반적으로, CDR 잔기는 직접적이고 가장 실질적으로 항원 결합에 영향을 준다. 따라서, 가변 및 불변 영역의 인간외 서열은 인간 또는 다른 아미노산으로 대체될 수 있는 반면에, 인간외 또는 인간 CDR 서열의 일부 또는 전부가 유지된다.

[0041] 항체는 또한 선택적으로 항원에 대한 높은 친화도와 다른 유리한 생물학적 특성을 유지하면서 인간화 또는 인간 항체로 유전자 조작될 수 있다. 이러한 목적을 달성하기 위해, 인간화 (또는 인간) 항체는 선택적으로 모(parental) 서열 및 인간화 서열의 3차원 모델을 사용하여 모 서열 및 다양한 개념적(conceptual) 인간화 생성물을 분석하는 과정에 의해 제조될 수 있다. 3차원 면역글로불린 모델이 일반적으로 이용가능하며, 당업자에게 잘 알려져 있다. 선택된 후보 면역글로불린 서열의 가능한 3차원 입체형태 구조를 예시하고 디스플레이하는 컴퓨터 프로그램이 이용가능하다. 이러한 디스플레이를 조사하여, 후보 면역글로불린 서열이 기능할 때 잔기의 가능한 역할을 분석할 수 있으며, 즉, 이의 항원에 결합하는 후보 면역글로불린의 능력에 영향을 주는 잔기를 분석할 수 있다. 이러한 방식으로, 프레임워크(FR) 잔기는 원하는 항체 특징, 예컨대 표적 항원(들)에 대한 친화도 증가가 달성되도록 공통 서열 및 도입 서열로부터 선택되고 조합될 수 있다.

[0042] 또한, 본 발명의 방법에 사용되는 인간 IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체는 인간 생식세포계열 경쇄 프레임워크를 포함할 수 있다. 특정 실시 형태에서, 경쇄 생식세포계열 서열은 A1, A10, A11, A14, A17, A18, A19, A2, A20, A23, A26, A27, A3, A30, A5, A7, B2, B3, L1, L10, L11, L12, L14, L15, L16, L18, L19, L2, L20, L22, L23, L24, L25, L4/18a, L5, L6, L8, L9, 01, 011, 012, 014, 018, 02, 04 및 08을 포함하지만 이에 한정되지 않는 인간 VK 서열로부터 선택된다. 소정 실시 형태에서, 이러한 경쇄 인간 생식세포계열 프레임워크는 V1-11, V1-13, V1-16, V1-17, V1-18, V1-19, V1-2, V1-20, V1-22, V1-3, V1-4, V1-5, V1-7, V1-9, V2-1, V2-11, V2-13, V2-14, V2-15, V2-17, V2-19, V2-6, V2-7, V2-8, V3-2, V3-3, V3-4, V4-1, V4-2, V4-3, V4-4, V4-6, V5-1, V5-2, V5-4 및 V5-6로부터 선택된다.

[0043] 다른 실시 형태에서, 본 발명의 방법에 사용되는 인간 IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체는 인간 생식세포계열 중쇄 프레임워크를 포함할 수 있다. 특정 실시 형태에서, 이러한 중쇄 인간 생식세포계열 프레임워크는 VH1-18, VH1-2, VH1-24, VH1-3, VH1-45, VH1-46, VH1-58, VH1-69, VH1-8, VH2-26, VH2-5, VH2-70, VH3-11, VH3-13, VH3-15, VH3-16, VH3-20, VH3-21, VH3-23, VH3-30, VH3-33, VH3-35, VH3-38, VH3-43, VH3-48, VH3-49, VH3-53, VH3-64, VH3-66, VH3-7, VH3-72, VH3-73, VH3-74, VH3-9, VH4-28, VH4-31, VH4-34, VH4-39, VH4-4, VH4-59, VH4-61, VH5-51, VH6-1 및 VH7-81로부터 선택된다.

[0044] 특정 실시 형태에서, 경쇄 가변 영역 및/또는 중쇄 가변 영역은 프레임워크 영역 또는 프레임워크 영역의 적어도 일부 (예를 들어, 2 또는 3개의 하위영역, 예컨대 FR2 및 FR3을 함유함)를 포함한다. 소정 실시 형태에서, 적어도 FRL1, FRL2, FRL3 또는 FRL4는 완전 인간이다. 다른 실시 형태에서, 적어도 FRH1, FRH2, FRH3 또는 FRH4는 완전 인간이다. 일부 실시 형태에서, 적어도 FRL1, FRL2, FRL3 또는 FRL4는 생식세포계열 서열 (예를 들어, 인간 생식세포계열)이거나, 특정 프레임워크에 대한 인간 공통 서열 (상술한 공지의 인간 Ig 서열의 공급원에서 용이하게 입수가능함)을 포함한다. 다른 실시 형태에서, 적어도 FRH1, FRH2, FRH3 또는 FRH4는 생식세포계열 서열 (예를 들어, 인간 생식세포계열)이거나, 특정 프레임워크에 대한 인간 공통 서열을 포함한다. 바람직한 실시 형태에서, 프레임워크 영역은 완전 인간 프레임워크 영역이다.

[0045] 본 발명의 항체의 인간화 또는 유전자 조작은 임의의 알려진 방법을 사용하여 수행되며, 이는 (그 안에 인용된 참고 문헌을 포함함) 각각 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함되는, 문헌 [Winter (Jones et al., Nature 321:522 (1986))]; 문헌 [Riechmann et al., Nature 332:323 (1988)]; 문헌 [Verhoeyen et al., Science 239:1534 (1988)], 문헌 [Sims et al., J. Immunol. 151: 2296 (1993)]; 문헌 [Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901 (1987)], 문헌 [Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:4285 (1992)]; 문헌 [Presta et al., J. Immunol. 151:2623 (1993)], 미국 특허 제5723323호, 제5976862호, 제5824514호, 제5817483호, 제5814476호, 제5763192호, 제5723323호, 제5,766886호, 제5714352호, 제6204023호, 제6180370호, 제5693762호, 제5530101호, 제5585089호, 제5225539호; 제4816567호, PCT/US98/16280, US96/18978, US91/09630, US91/05939, US94/01234, GB89/01334, GB91/01134, GB92/01755; WO90/14443, WO90/14424, WO90/14430, EP 229246에 기재된 것들과 같으나 이에 한정되지 않는다.

[0046] 소정 실시 형태에서, 항체는 변경된 (예를 들어, 돌연변이화된) Fc 영역을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시 형

태에서, Fc 영역을 변경하여 항체의 이펙터 기능을 감소시키거나 향상시킨다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 IgM, IgA, IgG, IgE 또는 다른 동종형으로부터 선택된 동종형이다. 대안적으로 또는 추가적으로, 아미노산 변형을 IL-12 결합 분자의 Fc 영역의 C1q 결합 및/또는 보체 의존성 세포독성 기능을 변경하는 하나 이상의 추가의 아미노산 변형과 조합하는 데 유용할 수 있다. 특정 목적 출발 폴리펩티드는 C1q에 결합하여, 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 나타내는 것일 수 있다. 기존의 C1q 결합 활성, 선택적으로 CDC를 매개하는 능력을 추가로 가진 폴리펩티드는 변형되어, 이러한 활성의 하나 또는 둘 모두가 향상될 수 있다. C1q를 변경하고/하거나 이의 보체 의존성 세포독성 기능을 변형시키는 아미노산 변형이, 예를 들어 본 명세서에 참고로 포함되는, WO0042072에 기재되어 있다.

[0047] 상기 개시된 바와 같이, 예를 들어 C1q 결합 및/또는 Fc γ R 결합을 변형시킴으로써, 보체 의존성 세포독성 (CDC) 활성 및/또는 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC) 활성을 변화시켜, 변경된 이펙터 기능을 갖는 본 발명의 인간 IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체의 Fc 영역이 고안될 수 있다. "이펙터 기능"은 (예를 들어, 대상에서) 생물학적 활성을 활성화하거나 감소시키는 원인이다. 이펙터 기능의 예에는 C1q 결합; CDC; Fc 수용체 결합; ADCC; 식균작용; 세포 표면 수용체 (예를 들어, B 세포 수용체 (BCR))의 하향 조절 등이 포함되지만 이에 한정되지 않는다. 이러한 이펙터 기능은 Fc 영역의 결합 도메인 (예를 들어, 항체 가변 도메인)과의 조합을 필요로 할 수 있으며, 다양한 분석 (예를 들어, Fc 결합 분석, ADCC 분석, CDC 분석 등)을 사용하여 평가될 수 있다.

[0048] 예를 들어, 개선된 C1q 결합 및 개선된 Fc γ RIII 결합을 갖는 (예를 들어, 개선된 ADCC 활성을 갖는) 인간 IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체의 변이체 Fc 영역이 생성될 수 있다. 대안적으로, 이펙터 기능이 감소되거나 제거되기를 원하는 경우, 변이체 Fc 영역을 감소된 CDC 활성 및/또는 감소된 ADCC 활성으로 유전자 조작할 수 있다. 다른 실시 형태에서, 이러한 활성 중 하나만을 증가시킬 수 있고, 선택적으로, 다른 활성도 감소시킬 수 있다 (예를 들어, 개선된 ADCC 활성을 갖지만 감소된 CDC 활성을 가지거나, 그 반대의 경우인 Fc 영역 변이체를 생성하기 위해).

[0049] Fc 돌연변이는 또한 유전자 조작(engineer)에 도입되어, 이들과 신생아 Fc 수용체 (FcRn)의 상호작용을 변경하고, 이들의 약물동태학적 특성을 개선할 수 있다. FcRn에 대한 결합이 개선된 인간 Fc 변이체의 집합이 기재되어 있다 (문헌[Shields et al., (2001). High resolution mapping of the binding site on human IgG1 for Fc γ RI, Fc γ RII, Fc γ RIII, and FcRn and design of IgG1 variants with improved binding to the Fc γ R, J. Biol. Chem. 276:6591-6604]).

[0050] 다른 유형의 아미노산 치환은 인간 IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체의 Fc 영역의 글리코실화 패턴을 변경하는 역할을 한다. Fc 영역의 글리코실화는 전형적으로 N-결합 또는 O-결합이다. N-결합은 아스파라긴 잔기의 측쇄에 대한 탄수화물 모이어티의 부착을 지칭한다. O-결합 글리코실화는 5-하이드록시프롤린 또는 5-하이드록시라이신이 또한 사용될 수 있지만, 가장 일반적으로는 세린 또는 트레오닌인 하이드록시아미노산에 대한 당 N-아세틸갈락토사민, 갈락토스 또는 자일로스 중 하나의 부착을 지칭한다. 아스파라긴 측쇄 펩티드 서열에 대한 탄수화물 모이어티의 효소적 부착을 위한 인식 서열은 아스파라긴-X-세린 및 아스파라긴-X-트레오닌이며, 이때 X는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산이다. 따라서, 폴리펩티드에서 이러한 펩티드 서열 중 하나의 존재는 잠재적인 글리코실화 부위를 생성한다.

[0051] 예를 들어, 폴리펩티드에서 발견되는 하나 이상의 글리코실화 부위(들)를 제거하고/하거나 폴리펩티드에 존재하지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 첨가하여 글리코실화 패턴을 변경할 수 있다. 인간 IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체의 Fc 영역에 글리코실화 부위를 첨가하는 것은 (N-결합 글리코실화 부위의 경우) 하나 이상의 상술한 트라이펩티드 서열을 함유하도록 아미노산 서열을 변경하여 편리하게 탈성된다. 예시적인 글리코실화 변이체는 중쇄의 잔기 Asn 297의 아미노산 치환을 갖는다. (O-결합 글리코실화 부위의 경우) 변경은 원래 폴리펩티드의 서열에 하나 이상의 세린 또는 트레오닌 잔기의 첨가에 의해 또는 이에 의한 치환에 의해 또한 이루어질 수 있다. 추가로, Asn 297의 Ala로의 변경은 글리코실화 부위 중 하나를 제거할 수 있다.

[0052] 소정 실시 형태에서, 본 발명의 인간 IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체는 베타 (1,4)-N-아세틸글루코사미닐트랜스페라아제 III (GnT III)를 발현하는 세포에서 발현되어, GnT III가 인간 IL-12 항체에 GlcNAc를 첨가한다. 이러한 방식으로 항체를 생성하는 방법이 WO/9954342, WO/03011878, 특히 출원 공개 20030003097A1 및 문헌 [Umana et al., Nature Biotechnology, 17:176-180, Feb. 1999]에 제공되며; 이들 모두는 전체적으로 본 명세서에 참고로 구체적으로 포함된다.

[0053] 또한 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체는 본 명세서에 기재되고/되거나 본 기술 분야에 알려진 바와 같이,

인간 항체의 레퍼토리를 생성할 수 있는 트랜스제닉 동물 (예를 들어, 마우스, 쥐, 햄스터, 인간외 영장류 등)의 면역화에 의해 선택적으로 생성될 수 있다. 인간 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체를 생성하는 세포는 본 명세서에 기재된 방법과 같은 적합한 방법을 사용하여 상기 동물로부터 단리되고, 무한증식될 수 있다.

[0054]

인간 항원에 결합하는 인간 항체의 레퍼토리를 생성할 수 있는 트랜스제닉 마우스는 알려진 방법 (각각 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함되는, 론버그(Lonberg) 등에게 등록된 미국 특허 제5,770,428호, 제5,569,825호, 제5,545,806호, 제5,625,126호, 제5,625,825호, 제5,633,425호, 제5,661,016호 및 제5,789,650호; 국제특허 공개 WO 98/50433호 (자코보비츠(Jakobovits) 등), WO 98/24893호 (자코보비츠 등), WO 98/24884호 (론버그 등), WO 97/13852호 (론버그 등), WO 94/25585호 (론버그 등), WO 96/34096호 (쿠렐라파테(Kucherlapate) 등), EP 0463 151 B1호 (쿠렐라파테 등), 유럽 특허 EP 0710 719 A1호 (쿠렐라파테 등), 미국 특허 제5,545,807호 (수라니(Surani) 등), WO 90/04036호 (브루게만(Bruggemann) 등), EP 0438 474 B1호 (브루게만 등), EP 0814 259 A2호 (론버그 등), 영국 특허 GB 2 272 440 A호 (론버그 등), 문헌[Lonberg *et al.* *Nature* 368:856-859 (1994)], 문헌[Taylor *et al.*, *Int. Immunol.* 6(4):579-591 (1994)], 문헌[Green *et al.*, *Nature Genetics* 7:13-21 (1994)], 문헌[Mendez *et al.*, *Nature Genetics* 15:146-156 (1997)], 문헌[Taylor *et al.*, *Nucleic Acids Research* 20(23):6287-6295 (1992)], 문헌[Tuaiillon *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA* 90(8):3720-3724 (1993)], 문헌[Lonberg *et al.*, *Int Rev Immunol* 13(1):65-93 (1995)] 및 문헌[Fishwald *et al.*, *Nat Biotechnol* 14(7):845-851 (1996)]과 같으나 이에 한정되지 않음)에 의해 생성될 수 있다. 일반적으로, 이러한 마우스는 기능적으로 재배열되거나, 기능적으로 재배열될 수 있는 하나 이상의 인간 면역글로불린 유전자좌로부터의 DNA를 포함하는 하나 이상의 트랜스유전자(transgene)를 포함한다. 상기 마우스에서 내인성 면역글로불린 유전자좌는 파괴되거나 결실되어, 내인성 유전자에 의해 암호화되는 항체를 생성하는 동물의 능력을 제거할 수 있다.

[0055]

통상적으로 웨티드 디스플레이 라이브러리를 사용하여 유사한 단백질 또는 단편에 특이적으로 결합하는 항체를 스크리닝할 수 있다. 이러한 방법은 원하는 기능 또는 구조를 갖는 개별 구성원에 대하여 거대 웨티드 집단을 스크리닝하는 것을 포함한다. 웨티드 디스플레이 라이브러리의 항체 스크리닝은 본 기술 분야에 잘 알려져 있다. 디스플레이된 웨티드 서열의 길이는 3 내지 5000개 이상의 아미노산, 종종 5 내지 100개의 아미노산, 종종 약 8 내지 25개의 아미노산일 수 있다. 웨티드 라이브러리를 생성하기 위한 직접적인 화학적 합성 방법 외에도, 여러가지 재조합 DNA 방법이 기재되어 있다. 하나의 유형은 박테리오파지 또는 세포의 표면 상에 웨티드 서열을 디스플레이하는 것을 포함한다. 각각의 박테리오파지 또는 세포는 특정 디스플레이된 웨티드 서열을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 이러한 방법이 PCT 특허 공개 91/17271호, 91/18980호, 91/19818호 및 93/08278호에 기재되어 있다.

[0056]

웨티드의 라이브러리를 생성하는 다른 시스템은 시험관 내에서의 화학적 합성 및 재조합 방법 모두의 양태를 포함한다. PCT 특허 공개 92/05258호, 92/14843호 및 96/19256호를 참조한다. 또한 미국 특허 제5,658,754호; 및 제5,643,768호를 참조한다. 웨티드 디스플레이 라이브러리, 벡터 및 스크리닝 키트는 인비트로겐 (Invitrogen) (캘리포니아주 칼스바드) 및 캠브리지 안티바디 테크놀로지스 (영국 캠브리지셔)와 같은 공급원으로부터 시판된다. 예를 들어, 엔존에 양도된 미국 특허 제4704692호, 제493966호, 제4946778호, 제5260203호, 제5455030호, 제5518889호, 제5534621호, 제5656730호, 제5763733호, 제5767260호 및 제5856456호; 다이엑스에 양도된 제5223409호, 제5403484호, 제5571698호, 제5837500호, 아페맥스에 양도된 제5427908호, 제5580717호; 캠브리지 안티바디 테크놀로지스에 양도된 제5885793호; 제넨테크(Genentech)에 양도된 제5750373호, 조마에 양도된 제5618920호, 제5595898호, 제5576195호, 제5698435호, 제5693493호, 제5698417호, 문헌[Colligan, 상기 문헌]; 문헌[Ausubel, 상기 문헌]; 또는 문헌[Sambrook, 상기 문헌]을 참조하며, 상기 특허 및 간행물 각각은 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0057]

이들의 우유에 이러한 항체를 생성하는 트랜스제닉 동물 또는 포유류, 예를 들어 염소, 소, 말, 양 토끼 등을 제공하기 위해 적어도 하나의 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체를 암호화하는 핵산을 사용하여 본 발명의 방법에 사용되는 항체를 또한 제조할 수 있다. 이러한 동물은 알려진 방법을 사용하여 제공할 수 있다. 비제한적인 예로서, 각각이 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함되는, 미국 특허 제5,827,690호; 제5,849,992호; 제4,873,316호; 제5,849,992호; 제5,994,616호; 제5,565,362호; 제5,304,489호 등을 참조한다.

[0058]

추가로, 식물 부분, 또는 그로부터 배양된 세포에서 이러한 항체, 특정 부분 또는 변이체를 생성하는 트랜스제닉 식물 및 배양된 식물 세포 (담배 및 옥수수와 같으나 이에 한정되지 않음)를 제공하기 위해 적어도 하나의 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체를 암호화하는 핵산을 사용하여 본 발명의 방법에 사용되는 항체를 제조할 수 있다. 비제한적인 예로서, 재조합 단백질을 발현하는 트랜스제닉 담배 잎이, 예를 들어 유도성 프로모터를

사용하여 다량의 재조합 단백질을 제공하는 데 성공적으로 사용되었다. 예를 들어, 문헌[Cramer et al., *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 240:95-118 (1999)] 및 그 안에 인용된 참고문헌을 참조한다. 또한, 트랜스제닉 옥수수는 다른 재조합 시스템에서 생성되거나, 천연 공급원으로부터 정제된 것과 동등한 생물학적 활성으로, 상업 생산 수준으로 포유류 단백질을 발현하는 데 사용되어 왔다. 예를 들어, 문헌[Hood et al., *Adv. Exp. Med. Biol.* 464:127-147 (1999)] 및 그 안에 인용된 참고문헌을 참조한다. 항체는 또한 항체 단편, 예를 들어 단일 쇄 항체 (scFv's)를 포함하는, 트랜스제닉 식물 종자, 예를 들어 담배 종자 및 감자 땅이줄기(potato tuber)로부터 다량으로 생성되었다. 예를 들어, 문헌[Conrad et al., *Plant Mol. Biol.* 38:101-109 (1998)] 및 그 안에 인용된 참고문헌을 참조한다. 따라서, 본 발명의 항체는 또한 알려진 방법에 따라 트랜스제닉 식물을 사용하여 생성될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Fischer et al., *Biotechnol. Appl. Biochem.* 30:99-108 (Oct., 1999)], 문헌[Ma et al., *Trends Biotechnol.* 13:522-7 (1995)]; 문헌[Ma et al., *Plant Physiol.* 109:341-6 (1995)]; 문헌[Whitelam et al., *Biochem. Soc. Trans.* 22:940-944 (1994)]; 및 그 안에 인용된 참고문헌을 또한 참조한다. 상기 참고문헌 각각은 본 명세서에 전체적으로 참고로 포함된다.

[0059]

본 발명의 방법에 사용되는 항체는 광범위한 친화도 (K_D)로 인간 IL-12/23p40 (또는 IL-23)에 결합할 수 있다. 바람직한 실시 형태에서, 인간 mAb는 고친화도로 인간 IL-12/23p40 (또는 IL-23)에 선택적으로 결합할 수 있다. 예를 들어, 인간 mAb는 약 10^{-7} M 이하, 비제한적인 예로서 0.1 내지 9.9 (또는 상기 범위 내의 임의의 범위 또는 값) $\times 10^{-7}$, 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12} , 10^{-13} 또는 상기 범위 내의 임의의 범위 또는 값의 K_D 로 인간 IL-12/23p40 (또는 IL-23)에 결합할 수 있다.

[0060]

항원에 대한 항체의 친화도 또는 결합활성을 임의의 적합한 방법을 사용하여 실험적으로 확인할 수 있다. (예를 들어, 문헌[Berzofsky, et al., "Antibody-Antigen Interactions, In Fundamental Immunology, Paul, W. E., Ed., Raven Press: New York, NY (1984)]]; 문헌[Kuby, Janis Immunology, W. H. Freeman and Company: New York, NY (1992)]; 및 본 명세서에 기재된 방법을 참조한다). 상이한 조건 (예를 들어, 염 농도, pH) 하에서 측정할 경우, 측정되는 특정 항체-항원 상호작용의 친화도는 다양할 수 있다. 따라서, 친화도 및 다른 항원-결합 파라미터 (예를 들어, K_D , K_a , K_d)의 측정은 바람직하게는 항체 및 항원의 표준화된 용액, 및 표준화된 완충액, 예를 들어 본 명세서에 기재된 바와 같은 완충액을 사용하여 이루어진다.

[0061]

핵산 분자

[0062]

본 명세서에 제공된 정보를 사용하여, 예를 들어, 본 명세서에 개시된 다른 서열 중에서도 서열 번호 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8의 경쇄 또는 중쇄 가변 또는 CDR 영역 중 적어도 하나의 연속 아미노산의 적어도 70 내지 100%를 암호화하는 뉴클레오티드 서열, 이의 특정 단편, 변이체 또는 공통 서열, 또는 이러한 서열 중 적어도 하나를 포함하는 기탁된(deposited) 벡터, 적어도 하나의 항-IL-12 항체를 암호화하는 본 발명의 핵산 분자를 본 명세서에 기재되거나 본 기술 분야에 알려진 방법을 사용하여 얻을 수 있다.

[0063]

본 발명의 핵산 분자는 RNA 형태, 예를 들어 mRNA, hnRNA, tRNA 또는 임의의 다른 형태 또는 cDNA 및 클로닝에 의해 얻어지거나 합성에 의해 생성된 게놈 DNA 또는 이들의 임의의 조합을 포함하지만 이에 한정되지 않는 DNA의 형태일 수 있다. DNA는 삼중가닥, 이중가닥 또는 단일가닥, 또는 이들의 임의의 조합일 수 있다. DNA 또는 RNA의 적어도 한 가닥의 임의의 부분은 센스 가닥으로도 알려진 코딩 가닥일 수 있거나, 안티-센스 가닥으로도 언급되는 비코딩 가닥일 수 있다.

[0064]

본 발명의 방법에 사용되는 단리된 핵산 분자는 선택적으로 하나 이상의 인트론을 가진 오픈 리딩 프레임 (ORF)을 포함하는 핵산 분자, 비제한적인 예로서, 하나 이상의 CDR의 하나 이상의 특정 부분, 예를 들어 하나 이상의 중쇄 (예를 들어, 서열 번호 1 내지 3) 또는 경쇄 (예를 들어, 서열 번호 4 내지 6)의 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3; 항-IL-12/23p40 항체 또는 가변 영역 (예를 들어, 서열 번호 7 및 8의 경쇄 및 중쇄 가변 영역)에 대한 코딩 서열을 포함하는 핵산 분자; 및 상술한 것과 실질적으로 상이한 뉴클레오티드 서열을 포함하지만 유전 코드의 다의성(degeneracy)으로 인해 본 명세서에 기재되고/되거나 본 기술 분야에 알려진 적어도 하나의 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체를 여전히 암호화하는 핵산 분자를 포함할 수 있다. 물론, 유전 부호는 본 기술 분야에 잘 알려져 있다. 따라서, 본 발명의 방법에서 사용되는 특정 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체를 암호화하는 이러한 축퇴 핵산 변이체를 생성하는 것은 당업자에게 통상적일 것이다. 예를 들어, 문헌[Ausubel, et al. 상기 문헌]을 참조하며, 이러한 핵산 변이체는 본 발명에 포함된다. 단리된 핵산 분자의 비제한적인 예에는 각각 HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2 및 LC CDR3을 암호화하는 핵산이 포함된다.

[0065]

본 명세서에 나타낸 바와 같이, 항-IL-12/23p40 (또는 항-L-23) 항체를 암호화하는 핵산을 포함하는 핵산 분자는 단독으로 항체 단편의 아미노산 서열을 암호화하는 것들; 전체 항체 또는 이의 부분에 대한 코딩 서열; 항체, 단편, 또는 부분에 대한 코딩 서열뿐만 아니라, 비코딩 5' 및 3' 서열을 포함하지만 이에 한정되지 않는 추가의 비코딩 서열, 예를 들어, 전사, 스플라이싱 및 폴리아데닐화 신호 (예를 들어, mRNA의 리보솜 결합 및 안정성)를 포함하는 mRNA 프로세싱에서 역할을 하는 전사되지만 비번역된 서열과 함께, 추가의 서열, 예를 들어 전술한 추가의 코딩 서열, 예를 들어 하나 이상의 인트론이 있거나 없는, 하나 이상의 신호 리더(signal leader) 또는 융합 웨티드의 코딩 서열; 추가의 아미노산, 예를 들어 부가적인 기능성을 제공하는 것들을 암호화하는 추가의 코딩 서열을 포함할 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 따라서, 항체를 암호화하는 서열은 항체 단편 또는 일부를 포함하는 융합된 항체의 정체를 용이하게 하는 웨티드를 암호화하는 서열과 같은 마커 서열에 융합될 수 있다.

[0066]

본 명세서에 기재된 폴리뉴클레오티드에 선택적으로 혼성화하는 폴리뉴클레오티드

[0067]

본 발명의 방법은 선택적인 혼성화 조건 하에서 본 명세서에 개시된 폴리뉴클레오티드에 혼성화하는 단리된 핵산을 사용한다. 따라서, 이러한 실시 형태의 폴리뉴클레오티드는 이러한 폴리뉴클레오티드를 포함하는 핵산을 단리하고/하거나, 검출하고/하거나, 정량화하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 기탁된 라이브러리에서 부분 또는 전장의 클론을 동정하거나, 단리하거나, 증폭하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 폴리뉴클레오티드는 단리된 cDNA 서열 또는 게놈이거나, 그렇지 않으면 인간 또는 포유류의 핵산 라이브러리로부터의 cDNA에 상보성이다.

[0068]

바람직하게는, cDNA 라이브러리는 적어도 80%의 전장 서열, 바람직하게는 적어도 85% 또는 90%의 전장 서열, 보다 바람직하게는 적어도 95%의 전장 서열을 포함한다. cDNA 라이브러리는 희귀 서열의 제시를 증가시키도록 정규화될 수 있다. 낮거나 중등의 염격성 혼성화 조건은 전형적이지만 비배타적으로, 상보성 서열에 비해 감소된 서열 동일성을 갖는 서열과 함께 사용된다. 중등 및 높은 염격성 조건은 동일성이 더 큰 서열에 대해 선택적으로 사용될 수 있다. 낮게 염격한 조건은 약 70%의 서열 동일성을 갖는 서열의 선택적인 혼성화를 허용하고 동원성(orthologous) 또는 이원성(paralogous) 서열을 확인하는 데 사용될 수 있다.

[0069]

선택적으로, 폴리뉴클레오티드는 항체의 적어도 일부를 암호화할 것이다. 폴리뉴클레오티드는 본 발명의 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드에 선택적으로 혼성화하기 위해 사용될 수 있는 핵산 서열을 포함한다. 예를 들어, 각각이 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함되는, 문헌[Ausubel, 상기 문헌]; 문헌[Colligan, 상기 문헌]을 참조한다.

[0070]

핵산의 제조

[0071]

단리된 핵산은 본 기술 분야에 알려진 바와 같이, (a) 재조합 방법, (b) 합성 기술, (c) 정제 기술 및/또는 (d) 이들의 조합을 사용하여 제조될 수 있다.

[0072]

핵산은 본 발명의 폴리뉴클레오티드 외에도 서열을 편리하게 포함할 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 엔도뉴클레이제 제한 부위를 포함하는 다중-클로닝 부위는 폴리뉴클레오티드의 단리를 돋기 위해 핵산 내로 삽입될 수 있다. 또한, 번역가능한 서열은 본 발명의 번역된 폴리뉴클레오티드의 단리를 돋기 위해 삽입될 수 있다. 예를 들어, 헥사-히스티딘 마커 서열은 본 발명의 단백질을 정제하는 편리한 수단을 제공한다. 코딩 서열을 제외하는 본 발명의 핵산은 선택적으로, 본 발명의 폴리뉴클레오티드의 클로닝 및/또는 발현을 위한 벡터, 어댑터 또는 링커이다.

[0073]

추가의 서열은 클로닝 및/또는 발현에서 이들의 기능을 최적화하거나, 폴리뉴클레오티드의 단리를 돋거나, 세포내로의 폴리뉴클레오티드의 도입을 개선하기 위해 이러한 클로닝 및/또는 발현 서열에 첨가될 수 있다. 클로닝 벡터, 발현 벡터, 어댑터 및 링커의 사용이 본 기술 분야에 잘 알려져 있다. (예를 들어, 문헌[Ausubel, 상기 문헌]; 또는 문헌[Sambrook, 상기 문헌]을 참조한다.)

[0074]

핵산 제조를 위한 재조합 방법

[0075]

RNA, cDNA, 게놈 DNA, 또는 이들의 임의의 조합과 같은 단리된 핵산 조성물을 본 기술 분야의 당업자에게 알려진 임의의 수의 클로닝 방법을 사용하여 생물학적 공급원으로부터 얻을 수 있다. 일부 실시 형태에서, 염격한 조건 하에서, 본 발명의 폴리뉴클레오티드에 선택적으로 혼성화하는 올리고뉴클레오티드 프로브는 cDNA 또는 게놈 DNA 라이브러리에서 원하는 서열을 확인하기 위해 사용된다. RNA의 단리 및 cDNA 및 게놈 라이브러리의 제조가 당업자에게 잘 알려져 있다. (예를 들어, 문헌[Ausubel, 상기 문헌]; 또는 문헌[Sambrook, 상기 문헌]을

참조한다.)

[0076] **핵산 스크리닝 및 단리 방법**

cDNA 또는 게놈 라이브러리는 본 명세서에 개시된 것과 같이, 본 발명의 방법에 사용되는 폴리뉴클레오티드의 서열에 기초한 프로브를 사용하여 스크리닝될 수 있다. 프로브를 게놈 DNA 또는 cDNA 서열과 혼성화하여, 동일하거나 상이한 유기체 내의 상동 유전자를 단리하는 데 사용할 수 있다. 다양한 정도의 혼성화 염격성이 분석에 사용될 수 있으며; 혼성화 배지 또는 세정 배지가 염격할 수 있음을 당업자는 이해할 것이다. 혼성화 조건이 더 염격해지면, 이중체(duplex)를 형성하기 위해 프로브와 표적 사이의 상보성 정도가 더 커야 한다. 염격성 정도는 온도, 이온강도, pH 및 포름아미드와 같은 부분 변성 용매의 존재 중 하나 이상에 의해 제어될 수 있다. 예를 들어, 혼성화 염격성은 예를 들어, 포름아미드 농도를 0% 내지 50%의 범위 내에서 조정하여, 반응 용액의 극성을 변경하여 편리하게 변동된다. 검출가능한 결합에 필요한 상보성 정도(서열 동일성)는 혼성화 배지 및/또는 세정 배지의 염격성에 따라 변동될 것이다. 상보성 정도는 최적으로 100%, 또는 70 내지 100%, 또는 상기 범위 내의 임의의 범위 또는 값일 것이다. 그러나, 프로브 및 프라이머에서의 작은 서열 변화는 혼성화 배지 및/또는 세정 배지의 염격성을 감소시켜 보상될 수 있음을 이해해야 한다.

[0078] RNA 또는 DNA의 증폭 방법은 본 기술 분야에 잘 알려져 있고, 과도한 실험을 실시하지 않으면서, 본 명세서에 제시된 교시 및 지침을 기초로 하여 본 발명에 따라 사용될 수 있다.

[0079] DNA 또는 RNA 증폭의 알려진 방법은 폴리머라제 연쇄 반응 (PCR) 및 관련 증폭 방법 (예를 들어, 미국 특허 제 4,683,195호, 제4,683,202호, 제4,800,159호, 제4,965,188호 (뮬리스(Mullis) 등); 제4,795,699호 및 제 4,921,794호 (태보(Tabor) 등); 제5,142,033호 (인니스(Innis)); 제5,122,464호 (윌슨(Wilson) 등); 제 5,091,310호 (인니스); 제5,066,584호 (질렌스텐(Gyllensten) 등); 제4,889,818호 (겔판드(Gelfand) 등); 제 4,994,370호 (실버(Silver) 등); 제4,766,067호 (비스워즈(Biswas)); 제4,656,134호 (링골드(Ringold))를 참조) 및 표적 서열에 대한 안티-센스 RNA를 이중 가닥 DNA 합성을 위한 주형으로서 사용하는 RNA 매개 증폭 (미국 특허 제5,130,238호(말렉(Malek), 등), 상표명 NASBA)을 포함하지만 이에 한정되지 않으며, 이를 참고문헌의 전체 내용은 본 명세서에 참고로 포함된다. (예를 들어, 문헌[Ausubel, 상기 문헌]; 또는 문헌[Sambrook, 상기 문헌]을 참조한다.)

[0080] 예를 들어, 폴리머라제 연쇄 반응 (PCR) 기술은 본 발명의 방법에 사용되는 폴리뉴클레오티드 서열 및 관련 유전자를 게놈 DNA 또는 cDNA 라이브러리로부터 직접 증폭하기 위해 사용될 수 있다. 또한, PCR 및 다른 시험관내 증폭 방법은, 예를 들어 발현되는 단백질을 암호화하는 핵산 서열을 클로닝하고, 샘플 내의 원하는 mRNA의 존재를 검출하기 위한 프로브로서 사용하는 핵산을 제조하거나, 핵산 시퀀싱 또는 기타 목적에 유용할 수 있다. 시험관 내 증폭 방법을 통해 당업자에게 지시하기에 충분한 기술의 예는 문헌[Berger, 상기 문헌], 문헌 [Sambrook, 상기 문헌], 및 문헌[Ausubel, 상기 문헌], 및 미국 특허 제4,683,202호 (1987) (뮬리스 등); 및 문헌[Innis, et al., PCR Protocols A Guide to Methods and Applications, Eds., Academic Press Inc., San Diego, CA (1990)])에서 찾을 수 있다. 게놈 PCR 증폭을 위한 시판용 키트가 본 기술 분야에 알려져 있다. 예를 들어, 어드밴티지-GC 게노믹 PCR 키트(Advantage-GC Genomic PCR Kit) (클론테크(Clontech))를 참조한다. 추가로, 예를 들어, T4 유전자 32 단백질 (뵈링거 만하임(Boehringer Mannheim))은 긴 PCR 생성물의 수율을 개선하기 위해 사용될 수 있다.

[0081] **핵산 제조를 위한 합성 방법**

[0082] 본 발명의 방법에 사용되는 단리된 핵산은 또한 알려진 방법에 의해 직접적인 화학적 합성으로 제조될 수 있다 (예를 들어, 문헌[Ausubel, 등, 상기 문헌] 참조). 화학적 합성은 일반적으로 단일 가닥 올리고뉴클레오티드를 생성하는데, 이는 상보성 서열과의 혼성화에 의해 또는 단일 가닥을 주형으로서 사용하여 DNA 폴리머라제에 의한 중합에 의해 이중 가닥 DNA로 전환될 수 있다. 당업자라면 DNA의 화학적 합성이 약 100개 이상의 염기의 서열로 제한될 수 있는 반면, 더 긴 서열은 더 짧은 서열의 라이게이션에 의해 얻어질 수 있음을 인식할 것이다.

[0083] **제조합 발현 카세트**

[0084] 본 발명은 핵산을 포함하는 제조합 발현 카세트를 사용한다. 본 발명의 방법에 사용되는 핵산 서열, 예를 들어 항체를 암호화하는 cDNA 또는 게놈 서열이 적어도 하나의 원하는 숙주 세포 내로 도입될 수 있는 제조합 발현 카세트 제조에 사용될 수 있다. 제조합 발현 카세트는 전형적으로 원하는 숙주 세포 내에서 폴리뉴클레오티드의 전사를 유도하는 전사 개시 조절 서열에 작동가능하게 연결된 폴리뉴클레오티드를 포함할 것이다. 이종성 및 비이종성 (즉, 내인성) 프로모터 모두가 핵산의 발현을 유도하는 데 사용될 수 있다.

- [0085] 일부 실시 형태에서, 프로모터, 인핸서 또는 기타 요소로서 작용하는 단리된 핵산이 폴리뉴클레오티드의 발현을 상향조절하거나 하향조절하기 위해 본 발명의 폴리뉴클레오티드의 비이종성 형태의 적절한 위치 (상류, 하류 또는 인트론 내)에 도입될 수 있다. 예를 들어, 내인성 프로모터는 돌연변이, 결실 및/또는 치환에 의해 생체 내에서 또는 시험관 내에서 변경될 수 있다.
- [0086] **벡터 및 숙주 세포**
- [0087] 본 발명은 또한 본 기술 분야에 잘 알려진 바와 같이, 단리된 핵산 분자를 포함하는 벡터, 재조합 벡터로 유전자 조작된 숙주 세포 및 재조합 기술에 의한 적어도 하나의 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체의 생성에 관한 것이다. 예를 들어, 각각이 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함되는 문헌[Sambrook, 등, 상기 문헌]; 문헌 [Ausubel, 등, 상기 문헌]을 참조한다.
- [0088] 폴리뉴클레오티드는 숙주 내에서의 증식을 위해 선택가능한 마커를 함유하는 벡터에 선택적으로 결합될 수 있다. 일반적으로, 플라스미드 벡터는 침전물, 예를 들어 인산칼슘 침전물 내에, 또는 하전된 지질과의 복합체 내에 도입된다. 벡터가 바이러스인 경우, 적합한 패키징(packaging) 세포주를 사용하여 시험관 내에서 패키징된 후, 숙주 세포 내로 형질도입된다.
- [0089] DNA 삽입물은 적합한 프로모터에 작동가능하게 연결되어야 한다. 발현 구조물은 전사 개시를 위한 부위, 종결을 위한 부위 및 전사된 영역에서 번역을 위한 리보솜 결합 부위를 추가로 함유할 것이다. 구조물에 의해 발현된 성숙 전사물의 코딩 부분은 바람직하게는 처음에 개시되는 번역 및 번역될 mRNA의 말단부에 적절하게 위치한 종결 코돈 (예를 들어, UAA, UGA 또는 UAG)을 포함할 것이며, 포유류 또는 진핵 세포 발현에는 UAA 및 UAG가 바람직하다.
- [0090] 발현 벡터는 바람직하게, 그러나 선택적으로 하나 이상의 선택가능한 마커를 포함할 것이다. 이러한 마커는, 예를 들어 메토트렉세이트 (MTX), 다이하이드로폴레이트 환원효소 (DHFR, 미국 특허 제4,399,216호; 제4,634,665호; 제4,656,134호; 제4,956,288호; 제5,149,636호; 제5,179,017호), 진핵 세포 배양의 경우 암피실린, 네오마이신 (G418), 마이코페놀산 또는 글루타민 합성효소 (GS, 미국 특허 제5,122,464호; 제5,770,359호; 제5,827,739호) 내성, 및 대장균 및 다른 세균 또는 원핵세포 배양의 경우 테트라사이클린 또는 암피실린 내성 유전자를 포함하지만 이에 한정되지 않는다 (상기 특허는 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함됨). 상술한 숙주 세포에 적절한 배양 배지 및 조건이 본 기술 분야에 알려져 있다. 적절한 벡터는 당업자에게 명백할 것이다. 숙주 세포 내로의 벡터 구조물의 도입은 인산칼슘 형질주입, DEAE-덱스트란 매개 형질주입, 양이온성 지질 매개 형질주입, 전기천공, 형질도입, 감염 또는 다른 알려진 방법에 의해 수행될 수 있다. 이러한 방법은 문헌[Sambrook, 상기 문헌, 챕터 1-4 및 16-18]; 문헌[Ausubel, 상기 문헌, 챕터 1, 9, 13, 15, 16]과 같이, 본 기술 분야에 기재되어 있다.
- [0091] 본 발명의 방법에 사용되는 적어도 하나의 항체는 융합 단백질과 같은 변형된 형태로 발현될 수 있고, 분비 신호뿐만 아니라 추가의 이종성 기능 영역을 포함할 수 있다. 예를 들어, 추가의 아미노산, 특히 하전된 아미노산의 영역이 정체 동안, 또는 후속 취급 및 저장 동안 숙주 세포에서의 안정성 및 지속성을 개선시키기 위해 항체의 N-말단에 첨가될 수 있다. 또한, 웨프티드 모이어티가 정체를 용이하게 하기 위해 본 발명의 항체에 첨가될 수 있다. 이러한 영역은 항체 또는 적어도 하나의 이의 단편의 최종 제조 전에 제거될 수 있다. 이러한 방법은 많은 표준 실험 매뉴얼, 예를 들어 문헌[Sambrook, 상기 문헌, 챕터 17.29-17.42 및 18.1-18.74]; 문헌 [Ausubel, 상기 문헌, 챕터 16, 17 및 18]에 기재되어 있다.
- [0092] 당업자는 본 발명의 방법에 사용되는 단백질을 암호화하는 핵산의 발현에 이용가능한 많은 발현 시스템에 대해 잘 알고 있다. 대안적으로, 핵산은 항체를 암호화하는 내인성 DNA를 함유하는 숙주 세포 내에서 (조작에 의해) 턴온(turn on)하여 숙주 세포 내에서 발현될 수 있다. 이러한 방법은, 예를 들어 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함되는, 미국 특허 제5,580,734호, 제5,641,670호, 제5,733,746호 및 제5,733,761호에 기재되어 있는 바와 같이 본 기술 분야에 알려져 있다.
- [0093] 항체, 이의 특정 부분 또는 변이체의 생성에 유용한 세포 배양물의 예는 포유류 세포이다. 포유류 세포 시스템은 종종 세포의 단일층 형태로 존재할 수 있지만, 포유류 세포 혼탁액 또는 생물반응기도 사용될 수 있다. 무손상 글리코실화 단백질을 발현할 수 있는 많은 적합한 숙주 세포주가 본 기술 분야에서 개발되었고, COS-1 (예를 들어, ATCC CRL 1650), COS-7 (예를 들어, ATCC CRL1651), HEK293, BHK21 (예를 들어, ATCC CRL-10), CHO (예를 들어, ATCC CRL 1610) 및 BSC-1 (예를 들어, ATCC CRL-26) 세포주, Cos-7 세포, CHO 세포, hep G2 세포, P3X63Ag8.653, SP2/0-Ag14, 293 세포, HeLa 세포 등을 포함하며, 이들은, 예를 들어 미국 버지니아주 매나서스

소재의 아메리칸 타입 컬쳐 컬렉션(American Type Culture Collection) (www.atcc.org)으로부터 용이하게 입수 가능하다. 바람직한 숙주 세포는 램프구 기원의 세포, 예를 들어 골수종 및 램프종 세포를 포함한다. 특히 바람직한 숙주 세포는 P3X63Ag8.653 세포 (ATCC 기탁 번호 CRL-1580) 및 SP2/0-Ag14 세포 (ATCC 기탁 번호 CRL-1851)이다. 특히 바람직한 실시 형태에서, 재조합 세포는 P3X63Ab8.653 또는 SP2/0-Ag14 세포이다.

[0094] 이러한 세포에 대한 발현 벡터는 하기 발현 조절 서열을 하나 이상 포함할 수 있지만 이로 한정되지 않는다: 복제 기점; 프로모터 (예를 들어, 후기 또는 초기 SV40 프로모터, CMV 프로모터 (미국 특허 제5,168,062호; 제5,385,839호), HSV tk 프로모터, pgk (포스포글리세레이트 키나제) 프로모터, EF-1 알파 프로모터 (미국 특허 제5,266,491호), 하나 이상의 인간 면역글로불린 프로모터; 인핸서 및/또는 프로세싱 정보 부위, 예를 들어 리보솜 결합 부위, RNA 스플라이스 부위, 폴리아데닐화 부위 (예를 들어, SV40 라지 T Ag 폴리 A 부가 부위) 및 전사 종결자 서열. 예를 들어, 문헌[Ausubel 등, 상기 문헌]; 문헌[Sambrook, 등, 상기 문헌]을 참조한다. 본 발명의 핵산 또는 단백질 생성에 유용한 다른 세포가 알려져 있고/있거나, 예를 들어 세포주 및 하이브리도마의 아메리칸 타입 컬쳐 컬렉션 카탈로그 (www.atcc.org) 또는 다른 공지의 또는 상업 공급원으로부터 이용가능하다.

[0095] 진핵 숙주 세포가 사용될 경우, 폴리아데닐화 또는 전사 종결자 서열은 전형적으로 벡터에 통합된다. 종결자 서열의 예는 소 성장 호르몬 유전자로부터의 폴리아데닐화 서열이다. 전사물의 정확한 스플라이싱을 위한 서열도 포함될 수 있다. 스플라이싱 서열의 예는 SV40으로부터의 VP1 인트론이다 (문헌[Sprague, et al., J. Virol. 45:773-781 (1983)]). 추가로, 본 기술 분야에 알려진 바와 같이, 숙주 세포 내의 복제를 조절하는 유전자 서열은 벡터 내로 혼입될 수 있다.

항체의 정제

[0097] 항-IL-12/23-p40 (또는 항-IL-23) 항체는 단백질 A 정제, 황산암모늄 또는 에탄올 침전, 산 추출, 음이온 또는 양이온 교환 크로마토그래피, 포스포셀룰로오스 크로마토그래피, 소수성 상호작용 크로마토그래피, 친화도 크로마토그래피, 하이드록실아파타이트 크로마토그래피 및 렉틴 크로마토그래피를 포함하지만 이에 한정되지 않는 잘 알려진 방법에 의해 재조합 세포 배양물로부터 회수되고 정제될 수 있다. 고성능 액체 크로마토그래피 ("HPLC")도 정제를 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 각각이 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함되는, 문헌 [Colligan, Current Protocols in Immunology] 또는 문헌[Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, NY, (1997-2001), 예를 들어, 챕터 1, 4, 6, 8, 9, 10]을 참조한다.

[0098] 본 발명의 방법에 사용되는 항체는 천연 정제된 생성물, 화학적 합성 절차의 생성물, 및 예를 들어 효모, 고등식물, 곤충 및 포유류 세포를 포함하는 진핵 숙주로부터 재조합 기술에 의해 생성된 생성물을 포함한다. 재조합 생성 절차에 사용된 숙주에 따라, 항체는 글리코실화되거나 비-글리코실화될 수 있고, 글리코실화가 바람직하다. 이러한 방법은 많은 표준 실험 매뉴얼, 예를 들어 문헌[Sambrook, 상기 문헌, 섹션 17.37-17.42]; 문헌 [Ausubel, 상기 문헌, 챕터 10, 12, 13, 16, 18 및 20], 문헌[Colligan, Protein Science, 상기 문헌, 챕터 12-14]에 기재되어 있고, 상기 문헌 모두 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.

항-IL-12/IL-23p40 항체.

[0100] 본 발명에 따른 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체는 면역글로불린 분자의 적어도 일부, 비제한적인 예로서, 하나 이상의 리간드 결합 부분 (LBP), 비제한적인 예로서, 중쇄 또는 경쇄의 상보성 결정 영역 (CDR) 또는 이의 리간드 결합 부분, 중쇄 또는 경쇄 가변 영역, 프레임워크 영역 (예를 들어, FR1, FR2, FR3, FR4 또는 이의 단편, 선택적으로 하나 이상의 치환, 삽입 또는 결실을 추가로 포함함), 중쇄 또는 경쇄 불변 영역 (예를 들어, 하나 이상의 C_H1, 헌지1, 헌지2, 헌지3, 헌지4, C_H2 또는 C_H3, 또는 이의 단편을 포함하고, 선택적으로 하나 이상의 치환, 삽입 또는 결실을 추가로 포함함), 또는 이의 임의의 부분을 포함하는 분자를 함유하는 임의의 단백질 또는 웨პ티드를 포함하며, 이는 항체로 혼입될 수 있다. 항체는 인간, 마우스, 토끼, 쥐, 설치류, 영장류, 또는 이의 임의의 조합 등과 같으나 이에 한정되지 않는 임의의 포유류를 포함하거나 이로부터 유래될 수 있다.

[0101] 본 발명의 방법에 사용되는 단리된 항체는 임의의 적합한 폴리뉴클레오티드에 의해 암호화되는, 본 명세서에 개시된 항체 아미노산 서열, 또는 임의의 단리되거나 제조된 항체를 포함한다. 바람직하게는, 인간 항체 또는 항원-결합 단편은 인간 IL-12/23 또는 IL-23에 결합하고, 이에 의해 부분적으로 또는 실질적으로 단백질의 하나 이상의 생물학적 활성을 중화시킨다. 하나 이상의 IL-12 또는 IL-23 단백질 또는 단편의 하나 이상의 생물학적 활성을 부분적으로 또는 바람직하게는 실질적으로 중화시키는 항체, 이의 특정 부분, 또는 변이체는 단백질 또는 단편에 결합함으로써, IL-12 또는 IL-23 수용체에 대한 IL-12 또는 IL-23의 결합을 통해 또는 다른 IL-12-의

존성 또는 IL-12-매개 기전을 통해 매개되는 활성을 억제할 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "중화 항체"는 IL-12 또는 IL-23-의존성 활성을 분석에 따라 약 20 내지 120%, 바람직하게는 적어도 약 10, 20, 30, 40, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100% 또는 그 이상으로 억제할 수 있는 항체를 말한다. IL-12/23-의존성 활성을 저해하는 항-IL-12/23p40 항체의 능력은 바람직하게는 본 명세서에 기재되고/되거나 본 기술 분야에 알려진 바와 같이, 하나 이상의 적합한 IL-12/23 단백질 또는 수용체 분석에 의해 평가된다. 인간 항체는 임의의 종류 (IgG, IgA, IgM, IgE, IgD 등) 또는 동종형일 수 있고, 카파 또는 람다 경쇄를 포함할 수 있다. 일 실시 형태에서, 인간 항체는 IgG 중쇄 또는 정의된 단편, 예를 들어, 동종형, IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 중 하나 이상을 포함한다 (예를 들어, § 1, § 2, § 3, § 4). 이러한 유형의 항체는, 본 명세서에 기재되고/되거나 본 기술 분야에 알려진 바와 같이, 하나 이상의 인간 경쇄 (예를 들어, IgG, IgA 및 IgM) 트랜스유전자를 포함하는 트랜스제닉 마우스 또는 다른 트랜스제닉 인간외 포유류를 사용함으로써 제조될 수 있다. 다른 실시 형태에서, 항-인간 IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 인간 항체는 IgG1 중쇄 및 IgG1 경쇄를 포함한다.

[0102]

항체는 하나 이상의 IL-12/23 단백질, 서브유닛, 단편, 부분, 또는 이들의 임의의 조합에 특이적인 하나 이상의 특정 에피토프에 결합한다. 하나 이상의 에피토프는 단백질의 적어도 하나의 부분을 포함하는 하나 이상의 항체 결합 영역을 포함하고, 에피토프는 바람직하게는 상기 단백질의 하나 이상의 세포외, 가용성, 친수성, 외부 또는 세포질 부분으로 이루어진다. 하나 이상의 특정 에피토프는 서열 번호 9의 연속 아미노산의 전체 특정 부분, 예를 들어, 아미노산 잔기 15, 17-21, 23, 40-43, 45-47, 54-56 및 58-62에 대한 적어도 1 내지 3개의 아미노산 중 하나 이상의 아미노산 서열의 임의의 조합을 포함할 수 있다.

[0103]

일반적으로, 인간 항체 또는 항원-결합 단편은 적어도 하나의 중쇄 가변 영역의 적어도 하나의 인간 상보성 결정 영역 (CDR1, CDR2 및 CDR3) 또는 변이체 및 적어도 하나의 경쇄 가변 영역의 적어도 하나의 인간 상보성 결정 영역 (CDR1, CDR2 및 CDR3) 또는 변이체를 포함하는 항원-결합 영역을 포함할 것이다. CDR 서열은 인간 생식세포계열 서열로부터 유래되거나, 인간 생식세포계열 서열과 거의 일치할 수 있다 예를 들어, 원래 인간외 CDR로부터 유래된 합성 라이브러리로부터의 CDR을 사용할 수 있다. 이러한 CDR은 원래 인간외 서열로부터의 보존적 치환의 혼입에 의해 형성될 수 있다. 비제한적인 예로서, 항체 또는 항원-결합 부분 또는 변이체는 서열 번호 1 내지 3으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3 및/또는 서열 번호 4 내지 6으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR3 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 특정 실시 형태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 상응하는 CDR 1, 2 및/또는 3의 아미노산 서열 (예를 들어, 서열 번호 1, 2 및/또는 3)을 갖는 하나 이상의 중쇄 CDR (즉, CDR1, CDR2 및/또는 CDR3)의 적어도 일부를 포함하는 항원-결합 영역을 가질 수 있다. 다른 특정 실시 형태에서, 항체 또는 항원-결합 부분 또는 변이체는 상응하는 CDR 1, 2, 및/또는 3의 아미노산 서열을 갖는 하나 이상의 경쇄 CDR (즉, CDR1, CDR2 및/또는 CDR3)의 적어도 일부를 포함하는 항원-결합 영역을 가질 수 있다.

[0104]

이러한 항체는 통상의 기술을 사용하여 항체의 다양한 부분 (예를 들어, CDR, 프레임워크)을 함께 화학적으로 연결하거나, 통상의 재조합 DNA 기술 방법을 사용하여 항체를 암호화하는 (즉, 하나 이상의) 핵산 분자를 제조하고 발현시키거나, 임의의 다른 적절한 방법을 사용하여 제조될 수 있다.

[0105]

항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체는 정의된 아미노산 서열을 갖는 하나 이상의 중쇄 또는 경쇄 가변 영역을 포함할 수 있다. 예를 들어, 바람직한 실시 형태에서, 항-IL-12/23p40 항체는 선택적으로 서열 번호 7의 아미노산 서열을 갖는 적어도 하나의 중쇄 가변 영역 및/또는 선택적으로 서열 번호 8의 아미노산 서열을 갖는 적어도 하나의 경쇄 가변 영역 중 적어도 하나를 포함한다. 인간 IL-12/23에 결합하고, 정의된 중쇄 또는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체를 적합한 방법, 예를 들어 파지 디스플레이 (문헌[Katsube, Y., et al., *Int J Mol. Med.*, 1(5):863-868 (1998)]) 또는 본 기술 분야에 공지되고/되거나 본 명세서에 기재된 트랜스제닉 동물을 사용하는 방법을 사용하여 제조할 수 있다. 예를 들어, 기능적으로 재배열된 인간 면역글로불린 중쇄 트랜스유전자 및 기능적으로 재배열될 수 있는 인간 면역글로불린 경쇄 유전자로부터의 DNA를 포함하는 트랜스유전자를 포함하는 트랜스제닉 마우스를 인간 IL-12/23 또는 이의 단편으로 면역화하여 항체의 생성을 유도할 수 있다. 필요한 경우, 항체 생성 세포가 단리될 수 있고, 하이브리도마 또는 다른 무한증식 항체-생성 세포는 본 명세서에 기재된 및/또는 본 기술 분야에 알려진 바와 같이 제조될 수 있다. 대안적으로, 항체, 특정 부분 또는 변이체는 적합한 숙주 세포에서 코딩 핵산 또는 이의 일부를 사용하여 발현될 수 있다.

[0106]

본 발명은 또한 본 명세서에 기재된 아미노산 서열과 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 포함하는 항체, 항원-결합 단편, 면역글로불린 사슬 및 CDR에 관한 것이다. 바람직하게는, 이러한 항체 또는 항원-결합 단편 및 이

러한 사슬 또는 CDR을 포함하는 항체는 고친화도 (예를 들어 약 10^{-9} M 이하의 K_D)로 인간 IL-12/23과 결합할 수 있다. 본 명세서에 기재된 서열과 실질적으로 동일한 아미노산 서열은 보존적 아미노산 치환 및 아미노산 결실 및/또는 삽입을 포함하는 서열을 포함한다. 보존적 아미노산 치환은 제1 아미노산의 것과 유사한 화학적 및/또는 물리적 특성 (예를 들어, 전하, 구조, 극성, 소수성/친수성)을 갖는 제2 아미노산에 의한 제1 아미노산의 대체를 말한다. 보존적 치환은 하기 그룹의 하나의 아미노산의 다른 아미노산에 의한 대체를 제한 없이 포함한다: 라이신 (K), 아르기닌 (R) 및 히스티딘 (H); 아스파테이트 (D) 및 글루타메이트 (E); 아스파라긴 (N), 글루타민 (Q), 세린 (S), 트레오닌 (T), 티로신 (Y), K, R, H, D 및 E; 알라닌 (A), 발린 (V), 류신 (L), 아이소류신 (I), 프롤린 (P), 페닐알라닌 (F), 트립토판 (W), 메티오닌 (M), 시스테인 (C) 및 글라이신 (G); F, W 및 Y; C, S 및 T.

[0107] 아미노산 코드

본 발명의 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체를 구성하는 아미노산은 종종 약어로 표시된다. 아미노산 표기는 본 기술 분야에서 잘 이해되는 바와 같이 아미노산을 이의 1문자 코드, 이의 3문자 코드, 명칭, 또는 3 뉴클레오티드 코돈(들)에 의해 표시될 수 있다 (문헌[Alberts, B., et al., Molecular Biology of The Cell, Third Ed., Garland Publishing, Inc., New York, 1994] 참조):

1 문자 코드	3 문자 코드	명칭	3 뉴클레오티드 코돈(들)
A	Ala	알라닌	GCA, GCC, GCG, GCU
C	Cys	시스테인	UGC, UGU
D	Asp	아스파르트산	GAC, GAU
E	Glu	글루탐산	GAA, GAG
F	Phe	페닐알라닌	UUC, UUU
G	Gly	글리신	GGA, GGC, GGG, GGU
H	His	히스티딘	CAC, CAU
I	Ile	아이소류신	AUA, AUC, AUU
K	Lys	라이신	AAA, AAG
L	Leu	류신	UUA, UUG, CUA, CUC, CUG, CUU
M	Met	메티오닌	AUG
N	Asn	아스파라긴	AAC, AAU
P	Pro	프롤린	CCA, CCC, CCG, CCU
Q	Gln	글루타민	CAA, CAG
R	Arg	아르기닌	AGA, AGG, CGA, CGC, CGG, CGU
S	Ser	세린	AGC, AGU, UCA, UCC, UCG, UCU
T	Thr	트레오닌	ACA, ACC, ACG, ACU
V	Val	발린	GUA, GUC, GUG, GUU
W	Trp	트립토판	UGG
Y	Tyr	티로신	UAC, UAU

[0109]

본 발명의 방법에서 사용되는 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체는 본 명세서에 특정된 바와 같이 천연 돌연변이 또는 인간에 의한 조작된 하나 이상의 아미노산 치환, 결실 또는 첨가를 포함할 수 있다.

[0111]

숙련자에 의해 생성되는 아미노산 치환의 수는 상기 기재된 것을 포함하는 다수의 인자에 따라 달라진다. 일반적으로 말하면, 임의의 주어진 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체, 단편 또는 변이체에 대한 아미노산 치환, 삽입 또는 결실의 수는 본 명세서에 특정된 바와 같이 40, 30, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1개 이하, 예를 들어 1 내지 30개 또는 상기 범위 내의 임의의 범위 또는 값일 것이다.

[0112]

기능에 필수적인 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체의 아미노산을 본 기술 분야에 알려진 방법, 예를 들어 부위 지정 돌연변이유발 또는 알라닌-스캐닝 돌연변이유발 (예를 들어, 문헌[Ausubel, 상기 문헌, 챕터 8, 15]; 문헌[Cunningham and Wells, Science 244:1081-1085 (1989)])에 의해 확인할 수 있다. 후자의 절차는 분자 내의 모든 잔기에 단일 알라닌 돌연변이를 도입한다. 이어서, 생성된 돌연변이 분자를 하나 이상의 IL-12 또는 IL-23 중화 활성과 같으나 이에 한정되지 않는 생물학적 활성에 대해 시험한다. 항체 결합에 결정적인 부위를 또한 결정화, 핵자기 공명 또는 광친화도 표지화 (문헌[Smith, et al., J. Mol. Biol. 224:899-904 (1992)] 및 문헌[de Vos, et al., Science 255:306-312 (1992)])와 같은 구조 분석에 의해 확인할 수 있다. IL-12 결합에 관여하는 IL-12/23p40 항체 상의 잔기를 IL-12/23p40 항체 및 IL-12 p40 항원의 공동 결정 구조에 기초하여 확인하였다. 이들을 하기 표 5에 나타낸다.

- [0113] 항-IL-12/23p40 항체는 서열 번호 1, 2, 3, 4, 5, 6 중 적어도 하나의 연속 아미노산 중 5개 내지 전부로부터 선택되는 하나 이상의 부분, 서열 또는 조합을 포함할 수 있지만 이에 한정되지 않는다.
- [0114] IL-12/23p40 항체 또는 특정 부분 또는 변이체는, 적어도 서열 번호 1의 3 내지 5개의 연속 아미노산, 서열 번호 2의 5 내지 17개의 연속 아미노산, 서열 번호 3의 5 내지 10개의 연속 아미노산, 서열 번호 4의 5 내지 11개의 연속 아미노산, 서열 번호 5의 5 내지 7개의 연속 아미노산; 서열 번호 6의 5 내지 9개의 연속 아미노산; 서열 번호 7의 Leu21, Lys76, Met83, Ser85로부터 선택되는 하나 이상의 부분, 서열 또는 조합을 포함할 수 있지만 이에 한정되지 않는다.
- [0115] 선택적으로, 항-IL-12/23p40 항체는 서열 번호 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8 중 적어도 하나의 5, 17, 10, 11, 7, 9, 119 또는 108개의 연속 아미노산의 70 내지 100% 중 적어도 하나의 폴리펩티드를 추가로 포함할 수 있다. 일 실시 형태에서, 면역글로불린 사슬, 또는 이의 부분 (예를 들어 가변 영역, CDR)의 아미노산 서열은 서열 번호 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8 중 적어도 하나의 상응하는 사슬의 아미노산 서열에 대해 약 70 내지 100%의 동일성 (예를 들어, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 또는 그 범위 내의 임의의 범위 또는 값)을 갖는다. 예를 들어, 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열을 서열 번호 4, 5, 6 또는 8의 서열과 비교할 수 있거나, 중쇄 CDR3의 아미노산 서열을 서열 번호 1, 2, 3 또는 7과 비교할 수 있다. 바람직하게는, 70 내지 100%의 아미노산 서열 동일성 (즉, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 또는 상기 범위 내의 임의의 범위 또는 값)을 본 기술 분야에 알려진 바와 같은 적합한 컴퓨터 알고리즘을 사용하여 결정한다.
- [0116] 본 기술 분야에 알려진 바와 같은 "동일성"은 서열을 비교하여 결정되는, 둘 이상의 폴리펩티드 서열 또는 둘 이상의 폴리뉴클레오티드 서열 사이의 관계이다. 본 기술 분야에서, "동일성"은 또한 이러한 서열의 스트링 사이의 매치에 의해 결정되는, 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드 서열 사이의 서열 관련도를 의미한다. "동일성" 및 "유사성"을 문헌[Computational Molecular Biology, Lesk, A. M., ed., Oxford University Press, New York, 1988], 문헌[Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D. W., ed., Academic Press, New York, 1993], 문헌[Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994], 문헌[Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987], 문헌[Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991] 및 문헌[Carillo, H., and Lipman, D., Siam J. Applied Math., 48:1073 (1988)]에 기재된 것들을 포함하지만 이에 한정되지 않는, 알려진 방법에 의해 용이하게 계산할 수 있다, 또한, 동일성 백분율 값은 벡터 NTI 스윗 8.0(Vector NTI Suite 8.0) (미국 메릴랜드주 프레데릭 소재의 인포맥스(Informax))의 열라인엑스(AlignX) 요소에 대한 디폴트 설정치를 이용하여 생성된 아미노산 및 뉴클레오티드 서열 정렬로부터 얻을 수 있다.
- [0117] 동일성을 결정하는 바람직한 방법은 시험한 서열 사이에서 가장 큰 매치를 제공하도록 설계된다. 동일성 및 유사성을 결정하는 방법은 공개적으로 이용가능한 컴퓨터 프로그램에 코딩되어 있다. 두 서열 사이의 동일성 및 유사성을 결정하는 바람직한 컴퓨터 프로그램 방법에는 GCG 프로그램 패키지 (문헌[Devereux, J., et al., Nucleic Acids Research 12(1): 387 (1984)]), BLASTP, BLASTN 및 FASTA (문헌[Atschul, S. F. et al., J. Molec. Biol. 215:403-410 (1990)])가 포함되지만 이에 한정되지 않는다. BLAST X 프로그램은 NCBI 및 다른 공급원으로부터 공개적으로 이용가능하다 (문헌[BLAST Manual, Altschul, S., et al., NCBINLM NIH Bethesda, Md. 20894]; 문헌[Altschul, S., et al., J. M. Biol. 215:403-410 (1990)]). 또한, 잘 알려진 스미스 와트만(Smith Waterman) 알고리즘을 사용하여 동일성을 결정할 수 있다.
- [0118] 폴리펩티드 서열 비교에 바람직한 파라미터는 하기를 포함한다:
- [0119] (1) 알고리즘: 니들만(Needleman) 및 분쉬(Wunsch), 문헌[J. Mol Biol. 48:443-453 (1970)] 비교 매트릭스 (Comparison matrix): BLOSSUM62, 문헌[Hentikoff and Hentikoff, Proc. Natl. Acad. Sci., USA. 89:10915-10919 (1992)]
- [0120] 갭 폐널티(Gap Penalty): 12
- [0121] 갭 길이 폐널티(Gap Length Penalty): 4
- [0122] 이러한 파라미터와 함께 유용한 프로그램은 위스콘신주 메디슨 소재의 제네티克斯 컴퓨터 그룹(Genetics Computer Group)으로부터 "갭" 프로그램으로 공개적으로 이용가능하다.

- [0123] 상술한 파라미터는 웹티드 서열 비교를 위한 디폴트 파라미터이다 (단부 캡에 패널티 없음).
- [0124] 폴리뉴클레오티드 비교에 바람직한 파라미터는 하기를 포함한다:
- [0125] (1) 알고리즘: 니들만 및 분쉬, 문헌[J. Mol Biol. 48:443-453 (1970)]
- [0126] 비교 매트릭스: 일치=+10, 불일치=0
- [0127] 캡 패널티: 50
- [0128] 캡 길이 패널티: 3
- [0129] 위스콘신주 메디슨 소재의 제네티кс 컴퓨터 그룹으로부터 "캡" 프로그램으로 이용가능함. 이들은 핵산 서열 비교에 대한 디폴트 파라미터이다.
- [0130] 예로서, 폴리뉴클레오티드 서열은 다른 서열과 동일할 수 있거나 (즉, 100% 동일), 참조 서열과 비교하여 소정 개수의 뉴클레오티드 변경을 포함할 수 있다. 이러한 변경은 하나 이상의 뉴클레오티드 결실, 전이 및 전환을 포함하는 치환, 또는 삽입으로 이루어진 군으로부터 선택되며, 변경은 참조 뉴클레오티드 서열의 5' 또는 3' 말단 위치에서 발생하거나, 참조 서열 내의 하나 이상의 연속 그룹에서 또는 참조 서열 내의 뉴클레오티드 중에 개별적으로 산재된 이러한 말단 위치 사이의 임의의 위치에서 발생할 수 있다. 변경된 뉴클레오티드의 수는 서열 내 뉴클레오티드의 총 수를 각각의 % 동일성의 % 수치 (100으로 나눈 값)와 곱하고, 서열 내 뉴클레오티드의 총 수로부터 곱을 뺏으로써, 또는
- [0131] $n.\text{sub}.\text{n}.\text{ltorsim}.\text{x}.\text{sub}.\text{n} - (x.\text{sub}.\text{n}.\text{y})$ 에 의하여 결정되며,
- [0132] 상기 식에서 $n.\text{sub}.\text{n}$ 은 변경된 뉴클레오티드의 수이고, $x.\text{sub}.\text{n}$ 은 서열 내 뉴클레오티드의 총 수이며, y 는 예를 들어, 70%에 대해서는 0.70, 80%에 대해서는 0.80, 85%에 대해서는 0.85, 90%에 대해서는 0.90, 95%에 대해서는 0.95 등이고, 정수가 아닌 $x.\text{sub}.\text{n}$ 및 y 의 곱은 $x.\text{sub}.\text{n}$ 으로부터 빼기 전에 가장 가까운 정수로 내림한다.
- [0133] 서열 번호 7의 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 서열의 변경은 이러한 코딩 서열에서 넌센스, 미스센스 또는 프레임시프트 돌연변이(frameshift mutation)를 생성하여, 이러한 변경 후에 폴리뉴클레오티드에 의해 암호화되는 폴리펩티드를 변경할 수 있다. 유사하게, 폴리펩티드 서열은 서열 번호 7의 참조 서열과 동일할 수 있거나 (100% 동일성), 참조 서열과 비교하여 소정 개수 이하의 아미노산 변경을 포함하여 % 동일성이 100% 미만일 수 있다. 이러한 변경은 하나 이상의 아미노산 결실, 보존적 및 비-보존적 치환을 포함하는 치환, 또는 삽입으로 이루어진 군으로부터 선택되며, 변경은 참조 폴리펩티드 서열의 아미노- 또는 카르복시 말단 위치에서 발생하거나, 참조 서열 내의 하나 이상의 연속 그룹에서 또는 참조 서열 내의 아미노산 사이에 개별적으로 산재된 말단 위치 사이의 임의의 위치에서 발생할 수 있다. 주어진 % 동일성에 대한 아미노산 변경의 수는 서열 번호 7의 아미노산의 총 수를 각각의 % 동일성의 % 수치 (100으로 나눈 값)와 곱한 다음, 서열 번호 7의 아미노산의 총 수로부터 곱을 뺏으로써, 또는
- [0134] $n.\text{sub}.\text{a}.\text{ltorsim}.\text{x}.\text{sub}.\text{a} - (x.\text{sub}.\text{a}.\text{y})$ 에 의하여 결정되며,
- [0135] 상기 식에서, $n.\text{sub}.\text{a}$ 는 아미노산 변경의 수이고, $x.\text{sub}.\text{a}$ 는 서열 번호 7의 아미노산의 총 수이며, y 는 예를 들어, 70%에 대해서는 0.70, 80%에 대해서는 0.80, 85%에 대해서는 0.85 등이고, 정수가 아닌 $x.\text{sub}.\text{a}$ 및 y 의 곱은 $x.\text{sub}.\text{a}$ 로부터 빼기 전에 가장 가까운 정수로 내림한다.
- [0136] 예시적인 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열 및 이의 부분이 서열 번호 1 내지 8에 제공된다. 본 발명의 항체 또는 이의 특정 변이체는 본 발명의 항체로부터의 임의의 수의 연속 아미노산 잔기를 포함할 수 있으며, 그 수는 항-IL-12 항체 내의 10 내지 100%의 연속 잔기의 수로 이루어진 정수의 군으로부터 선택된다. 선택적으로, 연속 아미노산의 이러한 하위서열(subsequence)의 길이는 적어도 약 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250개 이상의 아미노산 또는 그 범위 내의 임의의 범위 또는 값이다. 추가로, 상기 하위서열의 수는 1 내지 20, 예를 들어 적어도 2, 3, 4 또는 5로 이루어진 군으로부터 선택되는 임의의 정수일 수 있다.
- [0137] 당업자가 이해하는 바와 같이, 본 발명은 본 발명의 하나 이상의 생물학적으로 활성인 항체를 포함한다. 생물학적으로 활성인 항체의 비활성도(specific activity)는 천연 (비합성), 내인성 또는 관련되고 알려진 항체의 적어도 20%, 30% 또는 40%, 바람직하게는 적어도 50%, 60% 또는 70%, 가장 바람직하게는 적어도 80%, 90% 또는 95% 내지 100%, 또는 그 이상 (제한 없이 최대 10배의 비활성도를 포함함)이다. 효소 활성 및 기질 특이성을

분석하는 방법 및 정량화하는 수단이 당업자에게 잘 알려져 있다.

[0138] 다른 양태에서, 본 발명은 유기 모이어티의 공유 부착에 의해 변형된, 본 명세서에 기재된 인간 항체 및 항원-결합 단편에 관한 것이다. 이러한 변형은 약물동태학적 특성이 개선된 (예를 들어, 생체내 혈청 반감기 증가) 항체 또는 항원-결합 단편을 생성할 수 있다. 유기 모이어티는 선형 또는 분지형 친수성 중합체기, 지방산기 또는 지방산 에스테르기일 수 있다. 특정 실시 형태에서, 친수성 중합체기는 약 800 내지 약 120,000 달톤의 문자량을 가질 수 있으며, 폴리알칸 글리콜 (예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 폴리프로필렌 글리콜 (PPG)), 탄수화물 중합체, 아미노산 중합체 또는 폴리비닐 피롤리돈일 수 있고, 지방산 또는 지방산 에스테르기는 약 8 내지 약 40개의 탄소 원자를 포함할 수 있다.

[0139] 변형된 항체 및 항원-결합 단편은 항체에 직접 또는 간접적으로 공유결합된 하나 이상의 유기 모이어티를 포함할 수 있다. 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편에 결합되는 각각의 유기 모이어티는 독립적으로 친수성 중합체기, 지방산기 또는 지방산 에스테르기일 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "지방산"은 모노-카르복실산 및 다이-카르복실산을 포함한다. 본 명세서에서 사용될 때 용어 "친수성 중합체기"는 옥탄 중에서 보다 수중에서 더 가용성인 유기 중합체를 지칭한다. 예를 들어, 폴리라이신은 옥탄 중에서보다 수중에서 더 가용성이다. 따라서, 폴리라이신의 공유 부착에 의해 변형된 항체가 본 발명에 포함된다. 본 발명의 항체의 변형에 적합한 친수성 중합체는 선형 또는 분지형일 수 있으며, 예를 들어 폴리알칸 글리콜 (예를 들어, PEG, 모노메톡시-폴리에틸렌 글리콜 (mPEG), PPG 등), 탄수화물 (예를 들어, 텍스트란, 셀룰로오스, 올리고당, 다당류 등), 친수성 아미노산의 중합체 (예를 들어, 폴리라이신, 폴리아르기닌, 폴리아스파테이트 등), 폴리알칸 옥사이드 (예를 들어, 폴리에틸렌옥사이드, 폴리프로필렌 옥사이드 등) 및 폴리비닐 피롤리돈을 포함한다. 바람직하게는, 본 발명의 항체를 변형시키는 친수성 중합체는 별개의 문자 엔티티 (entity)로서 약 800 내지 약 150,000 달톤의 문자량을 갖는다. 예를 들어, PEG₅₀₀₀ 및 PEG_{20,000} (이때, 아래첨자는 중합체의 평균 문자량 (달톤)임)이 사용될 수 있다. 친수성 중합체기는 1 내지 약 6개의 알킬, 지방산 또는 지방산 에스테르기로 치환될 수 있다. 지방산 또는 지방산 에스테르기로 치환된 친수성 중합체를 적합한 방법을 사용하여 제조할 수 있다. 예를 들어, 아민기를 포함하는 중합체는 지방산 또는 지방산 에스테르의 카르복실레이트와 커플링될 수 있으며, 지방산 또는 지방산 에스테르 상의 활성화된 카르복실레이트 (예를 들어, N,N-카르보닐 다이이미다졸로 활성화됨)는 중합체 상의 히드록실기와 커플링될 수 있다.

[0140] 본 발명의 항체의 변형에 적합한 지방산과 지방산 에스테르는 포화될 수 있거나, 하나 이상의 불포화 단위를 함유할 수 있다. 본 발명의 항체의 변형에 적합한 지방산에는, 예를 들어 n-도데카노에이트 (C₁₂, 라우레이트), n-테트라데카노에이트 (C₁₄, 미리스테이트), n-옥타데카노에이트 (C₁₈, 스테아레이트), n-에이코사노에이트 (C₂₀, 아라키데이트), n-도코사노에이트 (C₂₂, 베헤네이트), n-트라이아콘타노에이트 (C₃₀), n-테트라콘타노에이트 (C₄₀), 시스-Δ9-옥타데카노에이트 (C₁₈, 올레이트), 모든 시스-Δ5,8,11,14-에이코사테트라에노에이트 (C₂₀, 아라키도네이트), 옥탄다이오산, 테트라데칸다이오산, 옥타데칸다이오산, 도코산다이오산 등이 포함된다. 적합한 지방산 에스테르에는 선형 또는 분지형 저급 알킬기 포함하는 다이카르복실산의 모노-에스테르가 포함된다. 저급 알킬기는 1 내지 약 12개, 바람직하게는 1 내지 약 6개의 탄소 원자를 포함할 수 있다.

[0141] 변형된 인간 항체 및 항원-결합 단편은 적합한 방법을 사용하여, 예를 들어 하나 이상의 변형제와의 반응에 의해 제조될 수 있다. 본 명세서에서 사용될 때, 용어 "변형제"는 활성화기를 포함하는 적합한 유기기 (예를 들어, 친수성 중합체, 지방산, 지방산 에스테르)를 지칭한다. "활성화기"는 적절한 조건 하에 제2 화학기와 반응하여 변형제와 제2 화학기 사이의 공유 결합을 형성할 수 있는 화학 모이어티 또는 작용기이다. 예를 들어, 아민-반응성 활성화기에는 토실레이트, 메실레이트, 할로 (클로로, 브로모, 플루오로, 요오도), N-하이드록시석신 이미딜 에스테르 (NHS) 등과 같은 친전자성 기가 포함된다. 티올과 반응 할 수 있는 활성화기에는, 예를 들어 말레이이미드, 요오도아세틸, 아크릴롤일, 피리딜 디아실파이드, 5-티올-2-니트로벤조산 티올 (TNB-티올) 등이 포함된다. 알데히드 작용기는 아민- 또는 히드라지드-함유 문자와 커플링될 수 있고, 아지드기는 3가 인산기와 반응하여 포스포르아미데이트 또는 포스포르이미드 결합을 형성할 수 있다. 활성화기를 문자 내로 도입하기에 적합한 방법은 본 기술 분야에 알려져 있다 (예를 들어, 문헌 [Hermanson, G. T., *Bioconjugate Techniques*, Academic Press: San Diego, CA (1996)]을 참조한다). 활성화기는 유기기 (예를 들어, 친수성 중합체, 지방산, 지방산 에스테르)에 직접 결합되거나, 링커 모이어티, 예를 들어 2가 C₁ 내지 C₁₂ 기 (이때, 하나 이상의 탄소 원자는 산소, 질소 또는 황과 같은 혼화원자에 의해 대체될 수 있음)를 통해 결합될 수 있다. 적합한 링커 모이어티에는, 예를 들어, 테트라에틸렌 글리콜, -(CH₂)₃-NH-(CH₂)₆-NH-, -(CH₂)₂-NH- 및 -CH₂-O-CH₂-

CH₂-O-CH₂-CH₂-O-CH-NH-가 포함된다. 예를 들어, 모노-Boc-알킬다이아민 (예를 들어, 모노-Boc-에틸랜다이아민, 모노-Boc-다이아미노헥산)을 1-에틸-3-(3-다이메틸아미노프로필) 카르보다이이미드 (EDC)의 존재 하에 지방산과 반응시켜 유리 아민과 지방산 카르복실레이트 사이에 아미드 결합을 형성함으로써 링커 모이어티를 포함하는 변형체를 제조할 수 있다. 기재된 바와 같이, 다른 카르복실레이트에 커플링될 수 있거나, 말레산 무수물과 반응시키고 생성되는 생성물을 환화하여 지방산의 활성화 말레이미도 유도체를 제조할 수 있는 1차 아민을 노출시키기 위해, 트라이플루오로아세트산 (TFA)으로 처리함으로써 생성물로부터 Boc 보호기를 제거할 수 있다. (예를 들어, 전체 교시 내용이 본 명세서에 참고로 포함되는, 국제특허 공개 WO 92/16221호 (톰슨(Thompson) 등)를 참조한다.)

[0142] 변형된 항체는 인간 항체 또는 항원-결합 단편을 변형제와 반응시켜 제조될 수 있다. 예를 들어, 유기 모이어티는 아민-반응성 변형제, 예를 들어 PEG의 NHS 에스테르를 사용함으로써 부위 비특이적 방식으로 항체에 결합될 수 있다. 변형된 인간 항체 또는 항원-결합 단편은 또한 항체 또는 항원-결합 단편의 이황화 결합 (예를 들어, 사슬내 이황화 결합)을 환원시킴으로써 제조될 수 있다. 이어서, 환원된 항체 또는 항원-결합 단편을 티올-반응성 변형제와 반응시켜 본 발명의 변형된 항체를 제조할 수 있다. 본 발명의 항체의 특정 부위에 결합되는 유기 모이어티를 포함하는 변형된 인간 항체 및 항원-결합 단편은 적합한 방법, 예를 들어 역 단백질 분해 (reverse proteolysis)에 기재된 방법을 사용하여 제조될 수 있다 (문헌[Fisch *et al.*, *Bioconjugate Chem.*, 3:147-153 (1992)]; 문헌[Werlen *et al.*, *Bioconjugate Chem.*, 5:411-417 (1994)]; 문헌[Kumaran *et al.*, *Protein Sci.* 6(10):2233-2241 (1997)]; 문헌[Itoh *et al.*, *Bioorg. Chem.*, 24(1): 59-68 (1996)]; 문헌[Capellas *et al.*, *Biotechnol. Bioeng.*, 56(4):456-463 (1997)] 및 문헌[Hermanson, G. T., *Bioconjugate Techniques*, Academic Press: San Diego, CA (1996)]).

[0143] 본 발명의 방법은 또한 본 명세서에 기재되고/되거나 본 기술 분야에 알려진 바와 같은 항-IL-12/23p40 항체를 1개 이상, 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상, 5개 이상, 6개 이상 또는 그 이상 포함하는 항-IL-12/23p40 항체 조성물을 사용하며, 이는 비-천연 조성물, 혼합물 또는 형태로 제공된다. 이러한 조성물은 서열 번호 7 또는 8의 연속 아미노산의 70 내지 100%, 또는 이의 특정 단편, 도메인 또는 변이체로 이루어진 군으로부터 선택되는 항-IL-12/23p40 항체 아미노산 서열의 적어도 1개 또는 2개의 전장, C- 및/또는 N-말단 결실 변이체, 도메인, 단편 또는 특정 변이체를 포함하는 비-천연 조성물을 포함한다. 바람직한 항-IL-12/23p40 항체 조성물은 본 명세서에 기재된 항-IL-12/23p40 항체 서열의 하나 이상의 CDR 또는 LBP 함유 부분으로서, 적어도 1개 또는 2개의 전장, 단편, 도메인 또는 변이체, 예를 들어 서열 번호 1 내지 6, 7 또는 8의 70 내지 100%, 또는 이의 특정 단편, 도메인 또는 변이체를 포함한다. 더욱 바람직한 조성물은, 예를 들어 서열 번호 1 내지 6, 7 또는 8 등의 70 내지 100%, 또는 이의 특정 단편, 도메인 또는 변이체 중 적어도 하나의 40 내지 99%를 포함한다. 이러한 조성 비율은 본 기술 분야에 공지되거나 본 발명에 기재된 바와 같이, 액체 또는 무수 용액, 혼합물, 혼탁액, 에멀전, 입자, 분말 또는 콜로이드로서 중량, 부피, 농도, 몰 농도, 몰랄 농도를 기준으로 한 것이다.

치료 활성 성분을 추가로 포함하는 항체 조성물

[0145] 본 발명의 방법에 사용되는 항체 조성물은 선택적으로 항감염약, 심혈관 (CV)계 약물, 중추신경계 (CNS) 약물, 자율신경계 (ANS) 약물, 기도 약물, 위장 (GI)관 약물, 호르몬 약물, 체액 또는 전해질 균형을 위한 약물, 혈액 약물, 항신생물제, 면역조절 약물, 눈, 귀 또는 코 사용을 위한 약물, 국소 약물, 영양제 약물 등 중의 적어도 하나로부터 선택되는 적어도 하나의 화합물 또는 단백질의 유효량을 추가로 포함할 수 있다. 이러한 약물은 본 명세서에서 각각에 대해 제시한 바와 같이 제형화, 증상, 투약 및 투여를 포함하여 본 기술 분야에 잘 알려져 있다 (예를 들어, 각각이 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함되는, 문헌[Nursing 2001 Handbook of Drugs, 21st edition, Springhouse Corp., Springhouse, PA, 2001]; 문헌[Health Professional's Drug Guide 2001, ed., Shannon, Wilson, Stang, Prentice-Hall, Inc, Upper Saddle River, NJ]; 문헌[Pharmcotherapy Handbook, Wells *et al.*, ed., Appleton & Lange, Stamford, CT]을 참조한다).

[0146] 본 발명의 방법의 항체와 배합할 수 있는 약물의 예로서, 항-감염성 약물은 살아메바제 또는 적어도 하나의 항원충제, 구충제, 항진균제, 항말라리아제, 항결핵제 또는 적어도 하나의 항나병약, 아미노글리코시드, 페니실린, 세팔로스포린, 테트라사이클린, 셀폰아미드, 플루오로퀴놀론, 항바이러스제, 마크롤리드 항감염제 및 기타 항감염제로부터 선택되는 적어도 하나일 수 있다. 호르몬 약물은 코르티코스테로이드, 안드로겐, 적어도 하나의 단백동화 스테로이드, 에스트로겐 또는 적어도 하나의 프로게스틴, 생식선자극호르몬, 항당뇨병 약물 또는 적어도 하나의 글루카곤, 갑상선 호르몬, 갑상선 호르몬 길항제, 뇌하수체 호르몬 및 부갑상선-유사 약물로부터 선택되는 적어도 하나일 수 있다. 적어도 하나의 세팔로스포린은 세파클로르, 세파드록실, 세파졸린 나트

륨, 세프디니르, 세페피메 염산염, 세핀시메, 세프메타졸 나트륨, 세포니시드 나트륨, 세포페라존 나트륨, 세포탁심 나트륨, 세포테탄 이나트륨, 세폭시틴 나트륨, 세프포독심 프록세틸, 세프프로질, 세프타지덤, 세프티부텐, 세프티족심 나트륨, 세프트리악손 나트륨, 세푸록심 악세틸, 세푸록심 나트륨, 세팔렉신 염산염, 세팔렉신 일수화물, 세프라딘 및 로라카르베프로부터 선택되는 적어도 하나일 수 있다.

[0147] 적어도 하나의 코리코스테로이드는 베타메타손, 베타메타손 아세테이트 또는 베타메타손 나트륨 인산염, 베타메타손 나트륨 인산염, 코르티손 아세테이트, 텍사메타손, 텍사메타손 아세테이트, 텍사메타손 나트륨 인산염, 플루드로코르티손 아세테이트, 하이드로코르티손, 하이드로코르티손 아세테이트, 하이드로코르티손 시피오네이트, 하이드로코르티손 나트륨 인산염, 하이드로코르티손 나트륨 석시네이트, 메틸프레드니솔론, 메틸프레드니솔론 아세테이트, 메틸프레드니솔론 나트륨 석시네이트, 프레드니솔론, 프레드니솔론 아세테이트, 프레드니솔론 나트륨 인산염, 프레드니솔론 테부테이트, 프레드니손, 트리암시놀론, 트리암시놀론 아세토니드 및 트리암시놀론 다이아세테이트로부터 선택되는 적어도 하나일 수 있다. 적어도 하나의 안드로겐 또는 단백동화 스테로이드는 다나졸, 플루옥시메스테론, 메틸테스토스테론, 난드롤론 데카노에이트, 난드롤론 펜프로피오네이트, 테스토스테론, 테스토스테론 시피오네이트, 테스토스테론 에난테이트, 테스토스테론 프로피오네이트 및 테스토스테론 경피 시스템으로부터 선택되는 적어도 하나일 수 있다.

[0148] 적어도 하나의 면역억제제는 아자티오프린, 바실릭시맙, 사이클로스포린, 다클리주맙, 림프구 면역 글로불린, 뮤로모납-CD3, 미코페놀레이트 모페틸, 미코페놀레이트 모페틸 염산염, 시클리무스 및 타크릴리무스로부터 선택되는 적어도 하나일 수 있다.

[0149] 적어도 하나의 국소 항-감염제는 아시클로비르, 암포테리신 B, 아젤라산 크림, 바시트라신, 부토코나졸 니트레이트, 클린다마이신 인산염, 클로트리마졸, 에코나졸 니트레이트, 에리트로마이신, 젠타마이신 설페이트, 케토코나졸, 마페니드 아세테이트, 메트로니다졸 (국소용), 미코나졸 니트레이트, 무피로신, 나프티핀 염산염, 네오마이신 설페이트, 니트로푸라존, 니스타틴, 실버 설파디아진, 테르비나핀 염산염, 테르코나졸, 테트라사이클린 염산염, 티오코나졸 및 툴나프테이트로부터 선택되는 적어도 하나일 수 있다. 적어도 하나의 음약 또는 이살충제는 크로타미톤, 린단, 퍼메트린 및 퍼레트린으로부터 선택되는 적어도 하나일 수 있다. 적어도 하나의 국소용 코르티코스테로이드는 베타메타손 다이프로피오네이트, 베타메타손 발레레이트, 클로베타솔 프로피오네이트, 데소니드, 데속시메타손, 텍사메타손, 텍사메타손 나트륨 인산염, 디플로라손 다이아세테이트, 플루오시놀론 아세토니드, 플루오시노니드, 플루란드레놀리드, 플루티카손 프로피오네이트, 할시오니드, 하이드로코르티손, 하이드로코르티손 아세테이트, 하이드로코르티손 부티레이트, 하이드로코르티손 발레레이트, 모메타손 푸로에이트 및 트리암시놀론 아세토니드로부터 선택되는 적어도 하나일 수 있다. (예를 들어, 문헌[Nursing 2001 Drug Handbook, pp. 1098-1136]을 참조한다).

[0150] 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체 조성물은 이러한 조절, 치료 또는 요법이 필요한 세포, 조직, 기관, 동물 또는 환자에게 접촉되거나 투여되는 적어도 하나의 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23)를 포함하고, 선택적으로 적어도 하나의 TNF 길항제 (TNF 화학물질 또는 단백질 길항제, TNF 단일클론 또는 다클론 항체 또는 단편, 가용성 TNF 수용체 (예를 들어, p55, p70 또는 p85) 또는 단편, 이의 융합 폴리펩티드, 또는 소분자 TNF 길항제, 예를 들어 TNF 결합 단백질 I 또는 II (TBP-I 또는 TBP-II), 네렐리몬맙, 인플릭시맙, 에테르나셉트, CDP-571, CDP-870, 아펠리모맙, 레네르셉트 등과 같으나 이에 한정되지 않음), 항류마티즘제 (예를 들어, 메토트렉세이트, 아우라노핀, 아우로티오글루루코스, 아자티오프린, 에타네르셉트, 금 나트륨 티오말레이트, 하이드록시클로로퀸 설페이트, 레플루노마이드, 설파살진), 면역제, 면역글로불린, 면역억제제 (예를 들어, 바실릭시맙, 사이클로스포린, 다클리주맙), 사이토카인 또는 사이토카인 길항제로부터 선택되는 적어도 하나를 추가로 포함하는 적어도 하나의 조성물 또는 약제학적 조성물의 임의의 적합하고 유효한 양을 추가로 포함할 수 있다. 이러한 사이토카인의 비제한적인 예에는 IL-1 내지 IL-23 등 (예를 들어, IL-1, IL-2 등) 중 하나가 포함되지만 이에 한정되지 않는다. 적절한 투여량은 본 기술 분야에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 문헌[Wells et al., eds., Pharmacotherapy Handbook, 2nd Edition, Appleton and Lange, Stamford, CT (2000)]; 문헌[PDR Pharmacopoeia, Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2000, Deluxe Edition, Tarascon Publishing, Loma Linda, CA (2000)]을 참조하며, 이들 참고문헌 각각은 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0151] 본 발명의 방법에 사용되는 항-IL-12/23p40 항체 화합물, 조성물 또는 조합물은 희석제, 결합제, 안정화제, 완충제, 염, 친유성 용매, 보존제, 애쥬번트(adjuvant) 등과 같지만 이에 한정되지 않는 적어도 하나의 임의의 적합한 보조제를 추가로 포함할 수 있다. 약제학적으로 허용가능한 보조제가 바람직하다. 이러한 무균 용액의 제조 방법의 비제한적인 예는 문헌[Gennaro, Ed., Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, Mack

Publishing Co. (Easton, PA) 1990]과 같은 그러나 이에 한정되지 않는 문헌에 기재된 바와 같이 본 기술 분야에 잘 알려져 있다. 약제학적으로 허용가능한 담체는 본 기술 분야에 잘 공지되거나 본 명세서에 기재된 바와 같이 항-IL-12/23p40 항체, 단편, 또는 변이체 조성물의 투여 양식, 용해도 및/또는 안정성에 적합한 것으로 통상적으로 선택될 수 있다.

[0152] 본 발명의 조성물에 유용한 약제학적 부형제 및 첨가제는 단백질, 펩티드, 아미노산, 지질 및, 탄수화물 (예를 들어, 단당류, 이당류, 삼당류, 사당류, 및 올리고당과 같은 당류; 알디톨, 알돈산, 에스테르화된 당 등과 같은 유도체화된 당; 및 다당류 또는 당 중합체)을 포함하지만 이에 한정되지 않으며, 이들은 단독으로 또는 조합되어 존재할 수 있으며, 단독으로 또는 조합으로 1 내지 99.99 wt% 또는 부피%를 구성한다. 예시적인 단백질 부형제는 인간 혈청 알부민 (HSA), 재조합 인간 알부민 (rHA), 젤라틴, 카제인 등과 같은 혈청 알부민을 포함한다. 완충 용량에서도 기능할 수 있는 대표적인 아미노산/항체 성분은 알라닌, 글라이신, 아르기닌, 베타인, 히스티딘, 글루탐산, 아스파르트산, 시스테인, 라이신, 류신, 아이소류신, 발린, 메티오닌, 페닐알라닌, 아스파탐 등을 포함한다. 바람직한 아미노산은 글라이신이다.

[0153] 본 발명에 사용하기 적합한 탄수화물 부형제는 예를 들어 프룩토스, 말토스, 갈락토스, D-만노스, 소르보스 등의 단당류; 락토스, 수크로스, 트레할로스, 셀로비오스 등의 이당류; 라피노스, 멜레지토스, 말토덱스트린, 텍스트란, 전분 등의 다당류; 만니톨, 자일리톨, 말티톨, 락티톨, 자일리톨 소르비톨 (글루시톨), 미오이노시톨 등의 알디톨을 포함한다. 본 발명에 사용하기 바람직한 탄수화물 부형제는 만니톨, 트레할로스 및 라피노스이다.

[0154] 항-IL-12/23p40 항체 (또는 항-IL-23) 조성물은 완충제 또는 pH 조절제를 또한 포함할 수 있으며; 전형적으로, 완충제는 유기산 또는 염기로부터 제조된 염이다. 대표적인 완충제는 시트르산, 아스코르브산, 글루콘산, 탄산, 타르타르산, 석신산, 아세트산, 또는 프탈산의 염과 같은 유기산 염; 트리스, 트로메타민 염산 또는 인산 염 완충제를 포함한다. 본 발명의 조성물에서 사용하기 바람직한 완충제는 시트레이트와 같은 유기산 염이다.

[0155] 추가로, 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체 조성물은 폴리비닐파롤리돈, 피콜 (중합 당), 텍스트레이트 (예를 들어, 2-하이드록시프로필- β -사이클로덱스트린과 같은 사이클로덱스트린), 폴리에틸렌 글리콜, 향료, 항미생물제, 감미제, 항산화제, 대전방지제, 계면활성제 (예를 들어, "트윈(TWEEN) 20" 및 "트윈 80"과 같은 폴리소르베이트), 지질 (예를 들어, 인지질, 지방산), 스테로이드 (예를 들어, 콜레스테롤) 및 킬레이트제 (예를 들어, EDTA)와 같은 중합체 부형제/첨가제를 포함할 수 있다.

[0156] 본 발명에 따른 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체, 부분 또는 변이체 조성물에 사용하기 적합한 이들 및 추가의 알려진 약제학적 부형제 및/또는 첨가제는, 예를 들어 문헌["Remington: The Science & Practice of Pharmacy", 19th ed., Williams & Williams, (1995)] 및 문헌["Physician's Desk Reference", 52nd ed., Medical Economics, Montvale, NJ (1998)]에 열거된 바와 같이 본 기술 분야에 알려져 있으며, 이들 문헌의 개시 내용은 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다. 바람직한 담체 또는 부형제 물질은 탄수화물 (예를 들어, 당류 및 알디톨) 및 완충제 (예를 들어, 시트레이트) 또는 중합체 물질이다. 예시적인 담체 분자에는 뮤코다당류, 하이알루론산이 있으며, 이는 관절내 전달에 유용할 수 있다.

제형

[0157] 상기 언급된 바와 같이, 본 발명은 안정적인 제형을 제공하며, 이는 바람직하게는 염수 또는 선택된 염을 포함하는 인산염 완충제뿐만 아니라, 보존된 용액 및 보존제를 함유하는 제형과, 약제학적 또는 수의학적 용도에 적합한 다용도의 보존된 제형을 포함하고, 약제학적으로 허용가능한 제형 내에 적어도 하나의 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체를 포함한다. 보존된 제형은 하나 이상의 폐놀, m-크레졸, p-크레졸, o-크레졸, 클로로크레졸, 벤질 알코올, 페닐미큐릭 니트라이트, 페녹시에탄올, 포름알데히드, 클로로부탄올, 염화마그네슘 (예를 들어, 6수화물), 알킬파라벤 (메틸, 에틸, 프로필, 부틸 등), 벤즈알코올 클로라이드, 벤즈에토늄 클로라이드, 데하이드로아세트산나트륨 및 티메로살, 또는 수성 희석제 중의 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택적으로 선택되는 하나 이상의 공지의 보존제를 함유한다. 임의의 적합한 농도 또는 혼합물, 예를 들어 0.001 내지 5%, 또는 그 범위 내의 임의의 범위 또는 값, 예를 들어 0.001, 0.003, 0.005, 0.009, 0.01, 0.02, 0.03, 0.05, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4.0, 4.3, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 또는 그 범위 내의 임의의 범위 또는 값 (이에 한정되지 않음)이 본 기술 분야에 알려진 바대로 사용될 수 있다. 비제한적인 예는 보존제를 포함하지 않거나, 0.1 내지 2%의 m-크레졸 (예를 들어, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.9, 1.0%), 0.1 내지 3%의 벤질 알코올 (예를 들어, 0.5, 0.9, 1.1, 1.5,

1.9, 2.0, 2.5%), 0.001 내지 0.5%의 티메로살 (예를 들어, 0.005, 0.01), 0.001 내지 2.0%의 페놀 (예를 들어, 0.05, 0.25, 0.28, 0.5, 0.9, 1.0%), 0.0005 내지 1.0% 알킬파라벤(들) (예를 들어, 0.00075, 0.0009, 0.001, 0.002, 0.005, 0.0075, 0.009, 0.01, 0.02, 0.05, 0.075, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.5, 0.75, 0.9, 1.0%) 등을 포함한다.

[0159] 상기 언급한 바와 같이, 본 발명의 방법은 포장 재료, 및 선택적으로 수성 희석제 중의 처방된 완충제 및/또는 보존제와 함께 적어도 하나의 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체의 용액을 포함하는 적어도 하나의 바이알을 포함하는 제조 물품을 사용하며, 상기 포장 재료는 이러한 용액이 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 18, 20, 24, 30, 36, 40, 48, 54, 60, 66, 72시간 또는 그 이상의 기간에 걸쳐 유지될 수 있음을 표시하는 라벨을 포함한다. 본 발명은 포장 재료, 및 동결건조된 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체를 포함하는 제1 바이알, 및 처방된 완충제 또는 보존제의 수성 희석제를 포함하는 제2 바이알을 포함하는 제조 물품을 추가로 사용하고, 상기 포장 재료는 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체를 수성 희석제 중에 재구성하여 24시간 또는 그 이상의 기간에 걸쳐 유지될 수 있는 용액을 형성하도록 환자에게 지시하는 라벨을 포함한다.

[0160] 본 발명에 따라 사용되는 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체는 포유류 세포 또는 트랜스제닉 세제로부터의 것을 포함하는 재조합 수단에 의해 제조될 수 있거나, 본 명세서에 기재되거나 본 기술 분야에 알려진 바와 같은 다른 생물학적 공급원으로부터 정제될 수 있다.

[0161] 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체의 범위는 재구성시에, 습윤/건조 시스템의 경우, 약 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 내지 약 1000 mg/ml 농도를 생성하는 양을 포함하지만, 더 낮거나 높은 농도가 사용가능하고 의도하는 전달 비히클에 좌우되는데, 예를 들어 용액 제형은 경피 패치, 폐, 경점막, 또는 삼투압 또는 마이크로 펌프 방법과는 상이할 것이다.

[0162] 바람직하게는, 선택적으로 수성 희석제는 약제학적으로 허용가능한 보존제를 추가로 포함한다. 바람직한 보존제는 페놀, m-크레졸, p-크레졸, o-크레졸, 클로로크레졸, 벤질 알코올, 알킬파라벤 (메틸, 에틸, 프로필, 부틸 등), 벤즈알코늄 클로라이드, 벤즈에토늄 클로라이드, 데하이드로아세트산나트륨 및 티메로살, 또는 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 것을 포함한다. 제형 내에 사용되는 보존제의 농도는 항-미생물 효과를 내기에 충분한 농도이다. 이러한 농도는 선택된 보존제에 좌우되며, 당업자에 의해 쉽게 결정된다.

[0163] 다른 부형제, 예를 들어 등장화제, 완충제, 산화방지제 및 보존성 인핸서가 선택적으로 그리고 바람직하게 희석제에 첨가될 수 있다. 글리세린과 같은 등장화제는 공지의 농도에서 통상 사용된다. 생리학상 허용되는 완충제는 바람직하게는 향상된 pH 제어를 제공하기 위해 첨가된다. 제형은 약 pH 4 내지 약 pH 10과 같은 넓은 범위의 pH를 포함할 수 있고, 바람직한 범위는 약 pH 5 내지 약 pH 9이며, 가장 바람직한 범위는 약 6.0 내지 약 8.0이다. 바람직하게는 본 발명의 제형은 약 6.8 내지 약 7.8의 pH를 갖는다. 바람직한 완충제는 인산염 완충제, 가장 바람직하게는 인산나트륨, 특히 인산염 완충 염수 (PBS)를 포함한다.

[0164] 약제학적으로 허용가능한 가용화제, 예를 들어 트윈 20 (폴리옥시에틸렌 (20) 소르비탄 모노라우레이트), 트윈 40 (폴리옥시에틸렌 (20) 소르비탄 모노팔미테이트), 트윈 80 (폴리옥시에틸렌 (20) 소르비탄 모노올레이트), 플루로닉(Pluronic) F68 (폴리옥시에틸렌 폴리옥시프로필렌 블록 공중합체), 및 PEG (폴리에틸렌 글리콜) 또는 폴리소르베이트 20 또는 80 또는 폴록사미 184 또는 188, 플루로닉® 폴리올과 같은 비이온성 계면활성제, 다른 블록 공중합체, 및 EDTA 및 EGTA 같은 킬레이트제와 같은 다른 첨가제가 응집을 감소시키기 위해 제형 또는 조성물에 선택적으로 첨가될 수 있다. 이러한 첨가제는 펌프 또는 플라스틱 용기가 제형을 투여하기 위해 사용될 경우에 특히 유용하다. 약제학적으로 허용가능한 계면활성제의 존재는 단백질 응집 성향을 완화시킨다.

[0165] 제형은 수성 희석제 중의 페놀, m-크레졸, p-크레졸, o-크레졸, 클로로크레졸, 벤질 알코올, 알킬파라벤 (메틸, 에틸, 프로필, 부틸 등), 벤즈알코늄 클로라이드, 벤즈에토늄 클로라이드, 데하이드로아세트산나트륨 및 티메로살 또는 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 보존제와 적어도 하나의 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체를 혼합하는 단계를 포함하는 방법에 의해 제조될 수 있다. 수성 희석제 중의 보존제와 적어도 하나의 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체를 혼합하는 단계를 통상의 용해 및 혼합 절차를 사용하여 실행한다. 적합한 제형을 제조하기 위해, 예를 들어 완충액 중의 적어도 하나의 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체의 측정된 양을 원하는 농도의 단백질 및 보존제를 제공하기에 충분한 양의 완충액 중의 원하는 보존제와 배합한다. 이러한 방법의 변형법이 당업자에 의해 인식될 것이다. 예를 들어, 성분이 첨가되는 순서, 추가의 첨가제 사용 여부, 제형 제조 온도 및 pH는 모두 사용되는 농도 및 투여 수단에 대해 최적화될 수 있는 인자이다.

[0166] 제형은 투명한 용액으로서, 또는 물, 보존제 및/또는 부형제, 바람직하게는 인산염 완충제 및/또는 염수 및 선

택된 염을 수성 희석제 중에 함유하는 제2 바이알로 재구성되는, 동결건조된 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체의 바이알을 포함하는 이중 바이알로서 환자에게 제공될 수 있다. 단일 용액 바이알 또는 재구성이 필요한 이중 바이알은 수회 재사용될 수 있고, 환자 치료의 단일 또는 다수의 사이클에 충분하므로 현재 사용되는 것보다 더 편리한 치료 요법을 제공할 수 있다.

[0167] 본 발명의 제조 물품은 즉시 내지 24시간 또는 그 이상의 범위의 기간에 걸쳐 투여하는 데 유용하다. 따라서, 본 발명에서 청구되는 제조 물품은 환자에게 상당한 이점을 준다. 본 발명의 제형은 선택적으로 약 2 내지 약 40°C의 온도에서 안전하게 보관될 수 있고, 연장된 시간 동안 단백질의 생물학적 활성을 유지하므로 용액이 6, 12, 18, 24, 36, 48, 72 또는 96시간, 또는 그 이상의 기간에 걸쳐 유지되고/되거나 사용될 수 있음을 표시하는 포장 라벨을 사용할 수 있다. 보존된 희석제가 사용된 경우, 상기 라벨은 1 내지 12달, 반년, 1년 반 및/또는 2년의 사용을 포함할 수 있다.

[0168] 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체의 용액은 수성 희석제에 적어도 하나의 항체를 혼합하는 단계를 포함하는 방법에 의해 제조될 수 있다. 혼합을 통상의 용해 및 혼합 절차를 사용하여 수행한다. 적합한 희석제를 제조하기 위하여, 예를 들어 물 또는 완충제 중의 측정된 양의 적어도 하나의 항체를, 원하는 농도의 단백질 및 선택적으로 보존제 또는 완충제를 제공하기에 충분한 양으로 배합한다. 이러한 방법의 변형법이 당업자에 의해 인식될 것이다. 예를 들어, 성분이 첨가되는 순서, 추가의 첨가제 사용 여부, 제형 제조 온도 및 pH는 모두 사용되는 농도 및 투여 수단에 대해 최적화될 수 있는 인자이다.

[0169] 청구되는 제품은 투명한 용액으로서, 또는 수성 희석제를 함유하는 제2 바이알로 재구성되는, 동결건조된 적어도 하나의 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체 바이알을 포함하는 이중 바이알로서 환자에게 제공될 수 있다. 단일 용액 바이알 또는 재구성이 필요한 이중 바이알은 수회 재사용될 수 있으며, 환자 치료의 단일 또는 다수의 사이클에 충분하므로 현재 이용할 수 있는 것보다 더 편리한 치료 요법을 제공하다.

[0170] 청구되는 제품은 투명한 용액, 또는 수성 희석제를 함유하는 제2 바이알로 재구성되는, 동결건조된 적어도 하나의 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체의 바이알을 포함하는 이중 바이알을 약국, 병원, 또는 다른 기관 및 기구에 제공함으로써 환자에게 간접적으로 제공될 수 있다. 이 경우 투명한 용액은 1리터 또는 그보다 훨씬 더 큰 크기일 수 있는데, 소량의 적어도 하나의 항체 용액을 1회 또는 다회 회수하여 소량의 바이알에 옮기고, 약국 또는 병원을 통해 고객 및/또는 환자에게 제공할 수 있는 큰 저장고를 제공한다.

[0171] 단일 바이알 시스템을 포함하는 승인된 장치는 용액 전달을 위한 펜-주입기(pen-injector device), 예를 들어 비디 펜즈(BD Pens), 비디 오토젝터(BD Autojector)[®], 휴마젝트(Humaject)[®], 노보펜(NovoPen)[®], B-D[®] 펜, 오토펜(AutoPen)[®] 및 옵티펜(OptiPen)[®], 게노트로핀펜(GenotropinPen)[®], 게노트로놈 펜(Genotronorm Pen)[®], 휴마트로 펜(Humatro Pen)[®], 레코-펜(Reco-Pen)[®], 로페론 펜(Roferon Pen)[®], 바이오젝터(Biojector)[®], 이젝트(Iject)[®], 제이-팁 니들-프리 인젝터(J-tip Needle-Free Injector)[®], 인트라젝트(Inraject)[®], 메디-젝트(Medi-Ject)[®], 스마트젝트(Smartject)[®]; 예를 들어, 벡톤 디킨슨(Becton Dickensen) (미국 뉴저지주 프랭클린 레이크스 소재, www.bectondickenson.com), 디세트로닉(Disetronic) (스위스 부르그도르프 소재, www.disetronic.com); 바이오젝트(Bioject) (미국 오레곤주 포틀랜드 소재, www.bioject.com); 내셔널 메디칼 프로덕츠, 웨斯顿 메디칼(National Medical Products, Weston Medical) (영국 피터보로우 소재, www.weston-medical.com), 메디-젝트 코포레이션(Medi-Ject Corp) (미국 미네소타주 미네아폴리스 소재, www.mediject.com)로부터 제조되거나 개발된 것, 및 유사하게 적합한 장치를 포함한다. 이중 바이알 시스템을 포함하는 승인된 장치는 휴마트로펜[®]과 같은 재구성된 용액의 전달을 위한 카트리지에 동결건조된 약물을 재구성하기 위한 펜-인젝터 시스템을 포함한다. 적합한 다른 장치의 예에는 사전 충전 시린지, 자동 주사기, 니들이 없는 주사기 및 니들이 없는 IV 주입 세트가 포함된다.

[0172] 상기 제품은 포장 재료를 포함할 수 있다. 포장 재료는 규제 당국이 요구하는 정보 이외에 제품을 사용할 수 있는 조건을 제공한다. 본 발명의 포장 재료는, 적용 가능한 경우, 2개의 바이알, 습윤/건식 제품에 대하여 적어도 하나의 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체를 수성 희석제에 재구성하여 용액을 형성하고, 용액을 2 내지 24시간, 또는 그 이상의 기간에 걸쳐 사용하기 위한 설명서를 환자에게 제공한다. 단일 바이알, 용액 제품, 사전 충전 시린지, 자동 주사기의 경우, 라벨은 상기 용액을 2 내지 24시간 이상의 기간에 걸쳐 사용할 수 있음을 나타낸다. 제품은 인간의 의약품 용도로 유용하다.

[0173] 본 발명의 방법에 사용되는 제형은 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체 및 선택된 완충제, 바람직하게는 염수

또는 선택된 염을 함유하는 인산염 완충제와 혼합하는 단계를 포함하는 방법에 의해 제조될 수 있다. 수성 희석제 중의 완충제와 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체를 혼합하는 단계는 통상의 용해 및 혼합 절차를 사용하여 실행된다. 적합한 제형을 제조하기 위하여, 예를 들어 물 또는 완충제 중의 측정된 양의 적어도 하나의 항체를, 원하는 농도의 단백질 및 완충제를 제공하기 충분한 양의 수중의 원하는 완충제와 배합한다. 이러한 방법의 변형법이 당업자에 의해 인식될 것이다. 예를 들어, 성분이 첨가되는 순서, 추가의 첨가제 사용 여부, 제형 제조 온도 및 pH는 모두 사용되는 농도 및 투여 수단에 대해 최적화될 수 있는 인자이다.

[0174] 본 발명의 방법은 인간 또는 동물 환자에게 투여하기에 유용하고 허용가능한 다양한 제형을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 이러한 약제학적 조성물은 희석제로서 "표준 상태"에서의 물을 그리고 당업자에게 잘 알려진 통상의 방법을 사용하여 제조된다. 예를 들어, 완충 성분, 예컨대 히스티딘 및 히스티딘 모노하이드로클로라이드 수화물이 먼저 제공된 후, 적절한 비최종 부피의 "표준 상태"에서의 물 희석제, 수크로스 및 폴리소르베이트 80이 첨가될 수 있다. 이어서, 단리된 항체가 첨가될 수 있다. 마지막으로, 약제학적 조성물의 부피는 물을 희석제로 사용하여 "표준 상태" 조건 하에서 원하는 최종 부피로 조정된다. 약제학적 조성물의 제조에 적합한 다수의 다른 방법을 당업자는 인지할 것이다.

[0175] 약제학적 조성물은 물의 단위 부피당 각 성분의 지시된 질량을 포함하거나, "표준 상태"에서 지시된 pH를 갖는 수용액 또는 혼탁액일 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "표준 상태"는 25°C +/- 2°C의 온도 및 1 기압의 압력을 의미한다. 용어 "표준 상태"는 본 기술 분야에서 기술이 인정한 단일의 온도 또는 압력의 세트를 지칭하기 위해 사용되는 것이 아니라, 대신 기준 "표준 상태" 조건 하에서 특정 조성을 갖는 용액 또는 혼탁액을 기술하기 위해 사용되는 온도 및 압력을 명시하는 기준 상태이다. 이는 용액의 부피가 부분적으로 온도와 압력의 함수이기 때문이다. 여기에 개시된 것과 동등한 약제학적 조성물이 다른 온도 및 압력에서 생성될 수 있음을 당업자는 인지할 것이다. 이러한 약제학적 조성물이 여기에 개시된 것과 동등한지 여부는 상기 정의된 "표준 상태" 조건 (예를 들어 25°C +/- 2°C 및 1 기압의 압력) 하에서 결정되어야 한다.

[0176] 중요하게는, 이러한 약제학적 조성물은 약제학적 조성을 단위 부피당 "약" 소정 값 (예를 들어 "약 0.53 mg의 L-히스티딘")의 성분 질량을 함유할 수 있거나, 약 소정 값의 pH 값을 가질 수 있다. 단리된 항체가 약제학적 조성물에 존재하는 동안 또는 단리된 항체가 약제학적 조성물에서 (예를 들어, 희석에 의해) 제거된 후에, 약제학적 조성물에 존재하는 단리된 항체가 서열 번호 9의 잔기 1 내지 88을 포함하는 펩티드 사슬에 결합할 수 있는 경우, 약제학적 조성물에 존재하는 성분의 질량 또는 pH 값은 주어진 수치 값에 대해 "약"이다. 달리 말하면, 약제학적 조성물에 단리된 항체를 배치한 후 단리된 항체의 결합 활성이 유지되고 검출될 수 있는 경우, 성분의 질량 값 또는 pH 값과 같은 값은 주어진 수치 값에 대해 "약"이다.

[0177] 경쟁 결합 분석을 수행하여, IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) mAb가 유사하거나 상이한 애피토프에 결합하는지 및/ 또는 서로 경쟁하는지를 확인할 수 있다. Ab를 ELISA 플레이트 상에 개별적으로 코팅한다. 경쟁 mAb를 첨가한 후, 비오텐화 hr IL-12/23p40을 첨가한다. 양성 대조군의 경우, 코팅을 위해 동일한 mAb를 경쟁 mAb로서 사용할 수 있다 ("자기-경쟁"). 스트렙타비딘을 사용하여 IL-12/23p40 결합을 검출한다. 이러한 결과는 mAb가 IL-12/23p40 상에서 유사하거나 부분적으로 중첩되는 애피토프를 인지하는지 여부를 보여준다.

[0178] 본 발명의 방법의 일 양태는 서열 번호 9의 잔기 1 내지 88을 포함하는 펩티드 사슬에 결합하는 단리된 항체; 약제학적 조성을 1 ml 당 약 0.27 내지 약 0.80 mg의 L-히스티딘; 약제학적 조성을 1 ml 당 약 0.69 내지 약 2.1 mg의 L-히스티딘 모노하이드로클로라이드 1수화물; 약제학적 조성을 1 ml 당 약 0.02 내지 약 0.06 mg의 폴리소르베이트 80; 및 약제학적 조성을 1 ml 당 약 65 내지 약 87 mg의 수크로스를 포함하는 약제학적 조성을 환자에게 투여하며; 이때 희석제는 표준 상태에서의 물이다.

[0179] 본 발명의 다른 양태는 (i) 서열 번호 1, 서열 번호 2 및 서열 번호 3의 중쇄 CDR 아미노산 서열; 및 (ii) 서열 번호 4, 서열 번호 5 및 서열 번호 6의 경쇄 CDR 아미노산 서열을 갖는 단리된 항체 (이때, 단리된 항체는 서열 번호 9의 잔기 1 내지 88을 포함하는 펩티드 사슬에 결합함); 약제학적 조성을 1 ml 당 약 0.27 내지 약 0.80 mg의 L-히스티딘; 약제학적 조성을 1 ml 당 약 0.69 내지 약 2.1 mg의 L-히스티딘 모노하이드로클로라이드 1수화물; 약제학적 조성을 1 ml 당 약 0.02 내지 약 0.06 mg의 폴리소르베이트 80; 및 약제학적 조성을 1 ml 당 약 65 내지 약 87 mg의 수크로스를 포함하는 약제학적 조성을 투여하는 단계를 포함하며; 이때 희석제는 표준 상태에서의 물이다.

[0180] 본 발명의 방법의 다른 양태는 서열 번호 7의 중쇄 아미노산 서열 및 서열 번호 8의 경쇄 아미노산 서열을 갖는 단리된 항-IL-12/23p40 항체 (이때, 단리된 항체는 서열 번호 9의 잔기 1 내지 88을 포함하는 펩티드 사슬에 결합함); 약제학적 조성을 1 ml 당 약 0.27 내지 약 0.80 mg의 L-히스티딘; 약제학적 조성을 1 ml 당 약 0.69 내

지 약 2.1 mg의 L-히스티딘 모노하이드로클로라이드 1수화물; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.02 내지 약 0.06 mg의 폴리소르베이트 80; 및 약제학적 조성물 1 ml 당 약 65 내지 약 87 mg의 수크로스를 포함하는 약제학적 조성물을 환자에게 투여하는 것이며; 이때 희석제는 표준 상태에서의 물이다.

[0181] 약제학적 조성물의 일 실시 형태에서, 단리된 항체 농도는 약제학적 조성물 1 ml 당 약 77 내지 약 104 mg이다. 약제학적 조성물의 다른 실시 형태에서, pH는 약 5.5 내지 약 6.5이다.

[0182] 본 발명의 방법의 다른 양태는 (i) 서열 번호 1, 서열 번호 2 및 서열 번호 3의 중쇄 CDR 아미노산 서열; 및 (ii) 서열 번호 4, 서열 번호 5 및 서열 번호 6의 경쇄 CDR 아미노산 서열을 갖는 단리된 항-IL-12/23p40 항체 (이때, 단리된 항체는 서열 번호 9의 잔기 1 내지 88을 포함하는 웨티드 사슬에 결합함); 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.53 mg의 L-히스티딘; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 1.37 mg의 L-히스티딘 모노하이드로클로라이드 1수화물; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.04 mg의 폴리소르베이트 80; 및 약제학적 조성물 1 ml 당 약 76 mg의 수크로스를 포함하는 약제학적 조성물을 환자에게 투여하며; 이때 희석제는 표준 상태에서의 물이다.

[0183] 본 발명의 방법의 추가의 양태는 서열 번호 7의 중쇄 아미노산 서열 및 서열 번호 8의 경쇄 아미노산 서열을 갖는 단리된 항-IL-12/23p40 항체 (이때, 단리된 항체는 서열 번호 9의 잔기 1 내지 88을 포함하는 웨티드 사슬에 결합함); 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.53 mg의 L-히스티딘; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 1.37 mg의 L-히스티딘 모노하이드로클로라이드 1수화물; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.04 mg의 폴리소르베이트 80; 및 약제학적 조성물 1 ml 당 약 76 mg의 수크로스를 포함하는 약제학적 조성물을 환자에게 투여하며; 이때 희석제는 표준 상태에서의 물이다.

[0184] 일 실시 형태에서, 단리된 항체 농도는 약제학적 조성물 1 ml 당 약 90 mg이다. 이러한 약제학적 조성물의 다른 실시 형태에서, pH는 약 6.0이다. 본 발명의 다른 양태는 본 명세서에 언급된 바와 같은 항-IL-12/23p40 항체와 결합하기 위해 경쟁하는, 예를 들어, 서열 번호 9의 잔기 1 내지 88을 포함하는 웨티드 사슬에 결합하는 항체; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.27 내지 약 0.80 mg의 L-히스티딘; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.69 내지 약 2.1 mg의 L-히스티딘 모노하이드로클로라이드 1수화물; 약제학적 조성물 1 ml 당 약 0.02 내지 약 0.06 mg의 폴리소르베이트 80; 및 약제학적 조성물 1 ml 당 약 65 내지 약 87 mg의 수크로스를 포함하는 약제학적 조성물을 사용하는 방법이며; 이때 희석제는 표준 상태에서의 물이다.

[0185] 안정적이거나 보존된 제형은 투명한 용액으로서, 또는 수성 희석제 중의 보존제 또는 완충제 및 부형제를 함유하는 제2 바이알로 재구성되는, 동결건조된 적어도 하나의 항-IL-12/23p40 항체의 바이알을 포함하는 이중 바이알로서 환자에게 제공될 수 있다. 단일 용액 바이알 또는 재구성이 필요한 이중 바이알은 수회 재사용될 수 있으며, 환자 치료의 단일 또는 다수의 사이클에 충분하므로 현재 이용할 수 있는 것보다 더 편리한 치료 요법을 제공하다.

[0186] 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체를 안정화시키는 다른 제형 또는 방법으로 상기 항체를 포함하는 동결건조된 분말의 투명한 용액 이외의 것을 수득할 수 있다. 투명하지 않은 용액 중에는 미립자 혼탁액을 포함하는 제형이 있으며, 상기 미립자는 다양한 치수의 구조의 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체를 함유하는 조성물로서, 마이크로스피어, 마이크로입자, 나노입자, 나노스피어 또는 리포솜으로 다양하게 알려져 있다. 활성제를 함유하는 상대적으로 균질하고 본질적으로 구형인 이러한 미립자 제형은 미국 특허 제4,589,330호에 교시된 바와 같이, 활성제 및 중합체를 함유하는 수성 상과 비수성 상을 접촉시킨 후, 비수성 상을 증발시켜 수성 상으로부터 입자를 응결시켜 형성될 수 있다. 다공성 마이크로입자는 미국 특허 제4,818,542호에 교시된 바와 같이 연속 용매 중에 분산되어 있는 활성제 및 중합체를 포함하는 제1 상을 사용하고, 동결-건조 또는 희석-추출-침전에 의해 혼탁액으로부터 상기 용매를 제거하여 제조될 수 있다. 이러한 제조에 바람직한 중합체는 천연 또는 합성 공중합체 또는 중합체이고, 이는 젤라틴, 아가, 전분, 아라비노갈락탄, 알부민, 콜라겐, 폴리글리콜산, 폴리락트산, 글리콜라이드-L(-) 락티드, 폴리(엡실론-카프로락톤), 폴리(엡실론-카프로락톤-코-락트산), 폴리(엡실론-카프로락톤-코-글리콜산), 폴리(β-하이드록시 부티르산), 폴리에틸렌 옥사이드, 폴리에틸렌, 폴리(알킬-2-시아노아크릴레이트), 폴리(하이드록시에틸 메타크릴레이트), 폴리아미드, 폴리(아미노산), 폴리(2-하이드록시에틸 DL-아스파르타미드), 폴리(에스테르 우레아), 폴리(L-페닐알라닌/에틸렌 글리콜/1,6-다이아이소시아노헥산) 및 폴리(메틸 메타크릴레이트)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특히 바람직한 중합체는 폴리에스테르, 예를 들어 폴리글리콜산, 폴리락트산, 글리콜라이드-L(-) 락티드, 폴리(엡실론-카프로락톤), 폴리(엡실론-카프로락톤-코-락트산) 및 폴리(엡실론-카프로락톤-코-글리콜산)이다. 중합체 및/또는 활성 물질의 용해에 유용한 용매는 물, 헥사플루오로이소프로판을, 메틸렌클로라이드, 테트라하이드로푸란, 헥산, 벤젠 또는 헥사플루오로아세톤 세스퀴히드레이트를 포함한다. 제2 상과 함께 활성 물질을 함유하는 상을 분산시키는 방법은 노즐 내

오피스를 통해 상기 제1 상에 압력을 가하여 소적 형성에 영향을 주는 단계를 포함할 수 있다.

[0187] 건조 분말 제형은 동결건조 이외의 공정, 예를 들어, 결정질 조성물을 분무 건조시키거나 증발시키거나 침전에 의해 용매를 추출한 후, 수성 또는 비수성 용매를 제거하는 하나 이상의 단계에 의해 수득될 수 있다. 분무 건조된 항체 제제의 제조가 미국 특히 제6,019,968호에 교시되어 있다. 항체-기반 건조 분말 조성물은 흡입할 수 있는 건조 분말을 제공하기 위한 조건 하에서 용매 중의 항체 및 선택적으로 부형제의 용액 또는 슬러리를 분무 건조시켜 제조될 수 있다. 용매는 용이하게 건조될 수 있는 극성 화합물, 예를 들어 물 및 에탄올을 포함할 수 있다. 산소의 부재 하에, 예를 들어, 질소 블랭킷(nitrogen blanket) 하에 또는 건조 기체로서 질소를 사용하여 분무 건조법을 수행하여 항체 안전성을 증진시킬 수 있다. 상대적으로 건조한 다른 제형은 국제특허 공개 WO9916419호에 교시된 바와 같이 전형적으로 하이드로플루오로알칸 추진제를 포함하는 혼탁 매질 중에 분산된 복수의 천공된 미세구조물의 분산액이다. 안정화된 분산액을 정량 흡입기를 사용하여 환자의 폐로 투여할 수 있다. 분무 건조된 약제의 상업적 제조에 유용한 장치는 부치 리미티드(Buchi Ltd.) 또는 니로 코포레이션(Niro Corp.)에 의해 제작된다.

[0188] 본 명세서에 기재된 안정적이거나 보존된 제형 또는 용액 중의 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체는 본 기술 분야에 잘 알려진 바와 같이 SC 또는 IM 주사; 경피, 폐, 경첨막, 임플란트, 삼투압 펌프, 카트리지, 마이크로 펌프, 또는 당업자가 이해하는 다른 방법을 포함하는 다양한 전달 방법을 통해 본 발명에 따라 환자에게 투여될 수 있다.

치료적 응용

[0190] 본 발명은 또한 본 기술 분야에 알려지거나 본 명세서에 기재된 바와 같이, 본 발명의 적어도 하나의 IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체를 사용하여, 예를 들어 IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체의 치료적 유효량을 세포, 조직, 기관, 동물 또는 환자에게 투여하거나, 이와 접촉시켜, 세포, 조직, 기관, 동물 또는 환자에서 적어도 하나의 IL-12/23 관련 질환을 조절하거나 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 세포, 조직, 기관, 동물 또는 환자에서 비만, 면역 관련 질환, 심혈관 질환, 감염성 질환, 악성 질환 또는 신경 질환 중 적어도 하나를 포함하지만 이에 한정되지 않는 적어도 하나의 IL-12/23 질환을 조절하거나 치료하는 방법을 제공한다.

[0191] 본 발명은 또한 세포, 조직, 기관, 동물 또는 환자에서 건선, 건선성 관절염, 류마티스성 관절염, 소아 류마티스성 관절염, 전신성 소아 류마티스성 관절염, 강직성 척추염, 위궤양, 혈청 반응 음성 관절염, 골관절염, 골용해, 정형외과 임플란트의 무균적 이완, 염증성 장질환, 궤양성 대장염, 전신성 홍반성 루푸스, 항인지질 증후군, 홍채섬모체염/포도막염/시신경염, 특발성 폐섬유증, 전신성 혈관염/베게너 유파종증, 유육종증, 고환염/정관절제술 역전 처치(reversal procedure), 알레르기성/아토피성 질환, 천식, 알레르기성 비염, 습진, 알레르기성 접촉 피부염, 알레르기성 결막염, 과민성 폐렴, 이식, 기관이식 거부반응, 이식편 대 숙주 질환, 전신성 염증 반응 증후군, 폐혈증 증후군, 그람 양성균 폐혈증, 그람 음성균 폐혈증, 배양 음성 폐혈증, 진균성 폐혈증, 호중구 감소성 발열, 요로성 폐혈증, 수막구균혈증, 외상/출혈, 화상, 전리방사선 피폭, 급성 췌장염, 성인성 호흡곤란 증후군, 류마티스성 관절염, 알코올성 간염, 만성 염증성 병상, 유육종증, 크론병, 겹상적혈구 빈혈, 당뇨병, 신장증, 아토피성 질환, 과민 반응, 알레르기성 비염, 고초열, 다년성 비염, 결막염, 자궁내막증, 천식, 두드러기, 전신성 아나필락시스, 피부염, 악성 빈혈, 용혈성 질환, 혈소판 감소증, 임의의 기관 또는 조직의 이식 거부반응, 신장 이식 거부반응, 심장 이식 거부 반응, 간 이식 거부 반응, 췌장 이식 거부 반응, 폐 이식 거부 반응, 콜수 이식 (BMT) 거부반응, 피부 동종이식 거부반응, 연골 이식 거부 반응, 뼈 이식 거부반응, 소장 이식 거부 반응, 태아 흉선 이식 거부반응, 부갑상선 이식 거부 반응, 임의의 기관 또는 조직의 이종이식 거부반응, 동종이식 거부반응, 항수용체 과민 반응, 그레이브스(Graves) 병, 레이노병, B형 인슐린 저항성 당뇨병, 천식, 중증 근무력증, 항체 매개성 세포독성, III형 과민 반응, POEMS 증후군 (다발성 신경 병증, 기관비대증, 내분비병증, 단클론 감마병증 및 피부 변화 증후군), 다발신경증, 기관비대증, 내분비병증, 단일클론 감마병증, 피부 변화 증후군, 항인지질 증후군, 천포창, 피부경화증, 혼합성 결합조직 질환, 특발성 애디슨병, 진성당뇨병, 만성 활동성 간염, 원발성 담즙성 간경변증, 백반, 혈관염, 심근 경색후(post-MI) 심장 절개술 증후군, IV형 과민증, 접촉 피부염, 과민성 폐렴, 동종이식 거부반응, 세포내 유기체에 의한 육아증, 대사성 또는 특발성 약물 과민증, 월슨병, 혈색소증, 알파-1 항트립신 결핍증, 당뇨병성 망막증, 하시모토 갑상선염, 골다공증, 시상하부-뇌하수체-부신축 평가, 원발성 담즙성 간경변증, 갑상선염, 뇌척수염, 악액질, 낭포성 섬유증, 신생아 만성 폐질환, 만성 폐쇄성 폐질환 (COPD), 가족성 적혈구증식성 림프조직구증, 피부 질환, 탈모증, 신증후군, 신장염, 사구체신염, 급성 신부전증, 혈액 투석, 요독증, 독성, 자간전증, okt3 요법, 항-CD3 요법, 사이토카인 요법, 화학 요법, 방사선 요법 (예를 들어, 무력증, 빈혈, 악액질 등을 포함하거나 이에 한정되지 않음), 만성 살리실산염 중독 등 중 적어도 하나를 포함하지만 이에 한정되지 않는 적어도 하나의 IL-12/23 관련

면역 관련 질환을 조절하거나 치료하는 방법을 제공한다. 예를 들어, 각각이 전체적으로 참고로 포함되는 문헌 [Merck Manual, 12th-17th Editions, Merck & Company, Rahway, NJ (1972, 1977, 1982, 1987, 1992, 1999)], 문헌[Pharmacotherapy Handbook, Wells et al., eds., Second Edition, Appleton and Lange, Stamford, Conn. (1998, 2000)]을 참조한다. 상기 방법은 선택적으로 적어도 하나의 TNF 항체 또는 특정 부분 또는 변이체를 포함하는 조성물 또는 약제학적 조성물의 유효량을 이러한 조절, 치료 또는 요법을 필요로 하는 세포, 조직, 기관, 동물 또는 환자에게 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어, 문헌[Merck Manual, 16th Edition, Merck & Company, Rahway, NJ (1992)]을 참조한다.

[0192]

본 발명은 또한 세포, 조직, 기관, 동물 또는 환자에서 IL-12/23 관련 질환으로 상기 열거된 다른 질환 중에서도 건선, 전선성 관절염, 크론병, 기타 염증성 장 질환, 루푸스, 유육종증, AS 또는 nrAxSpA를 조절하거나 치료하는 방법을 제공하며, 이는 면역 관련 질환, 심혈관 질환, 감염성, 악성 및/또는 신경 질환 중 적어도 하나를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 이러한 방법은 선택적으로 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체를 포함하는 적어도 하나의 조성물 또는 약제학적 조성물의 유효량을 이러한 조절, 치료 또는 요법을 필요로 하는 세포, 조직, 기관, 동물 또는 환자에게 투여하는 단계를 포함할 수 있다.

[0193]

본 발명의 임의의 방법은 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체를 포함하는 조성물 또는 약제학적 조성물의 유효량을 이러한 조절, 치료 또는 요법을 필요로 하는 세포, 조직, 기관, 동물 또는 환자에게 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 이러한 방법은 선택적으로 이러한 질환 또는 장애의 치료를 위한 공동 투여 또는 병용 요법을 추가로 포함할 수 있으며, 상기 적어도 하나의 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체, 이의 특정 부분 또는 변이체의 투여는 적어도 하나의 TNF 길항체 (예를 들어, TNF 화학물질 또는 단백질 길항체, TNF 단일클론 또는 다클론 항체 또는 단편, 가용성 TNF 수용체 (예를 들어, p55, p70 또는 p85) 또는 이의 단편, 융합 폴리펩티드, 또는 소분자 TNF 길항체, 예를 들어 TNF 결합 단백질 I 또는 II (TBP-I 또는 TBP-II), 네렐리몬맙, 인플럭시맙, 에타네르셉트 (엔브렐(Enbrel™)), 아달리몰랍 (휴미라(Humira™)), CDP-571, CDP-870, 아펠리모맙, 레네르셉트 등에 한정되지 않음), 항류머티즘제 (예를 들어, 메토트렉세이트, 아우라노핀, 아우로티오클루코스, 아자티오프린, 금 나트륨 티오말레이트, 하이드록시클로로퀸, 세파이트, 레플루노마이드, 세파살진), 근육 이완제, 마약류(narcotic), 비스테로이드성 항염증제 (NSAID), 진통제, 마취제, 진정제, 국소 마취제, 신경근육 차단제, 항미생물제 (예를 들어, 아미노글리코시드, 항진균제, 구충제, 항바이러스제, 카르바페넴, 세팔로스포린, 플루오르퀴놀론, 마크롤리드, 페니실린, 세파이트, 테트라사이클린, 또 다른 항미생물제), 전선치료제, 코르티코스테로이드, 단백동화 스테로이드, 당뇨병 관련 약제, 미네랄, 영양제, 갑상선제, 비타민, 칼슘 관련 호르몬, 지사제, 진해약, 구토방지제, 항궤양제, 완하제, 항응고제, 에리트로포이에틴 (예를 들어, 에포에틴 알파), 필그라스팀 (예를 들어, G-CSF, 뉴포겐(Neupogen)), 사르그라모스팀 (GM-CSF, 류카인(Leukine)), 면역제, 면역글로불린, 면역억제제 (예를 들어, 바실럭시맙, 사이클로스포린, 다클리주맙), 성장 호르몬, 호르몬 대체 약물, 에스트로겐 수용체 조절제, 산동제, 조절마비제, 알킬화제, 항대사물질, 유사분열 억제제, 방사성 의약품, 항우울제, 항조병제, 항정신병약, 불안 완화제, 수면제, 교감신경흥분제, 흥분제, 도네페질, 타크린, 천식 약물, 베타작용제, 흡입 스테로이드, 류코트리엔 억제제, 메틸잔틴, 크로몰린, 에피네프린 또는 유사체, 도르나제 알파 (풀모자임(Pulmozyme)), 사이토카인 또는 사이토카인 길항제로부터 선택되는 적어도 하나를 투여하기 전에, 그와 동시에 및/또는 그 후에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 적합한 투여량은 본 기술 분야에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 문헌[Wells et al., eds., Pharmacotherapy Handbook, 2nd Edition, Appleton and Lange, Stamford, CT (2000)], 문헌[PDR Pharmacopoeia, Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2000, Deluxe Edition, Tarascon Publishing, Loma Linda, CA (2000)], 문헌[Nursing 2001 Handbook of Drugs, 21st edition, Springhouse Corp., Springhouse, PA, 2001], 문헌[Health Professional's Drug Guide 2001, ed., Shannon, Wilson, Stang, Prentice-Hall, Inc, Upper Saddle River, NJ]을 참조하며, 각각의 참고 문헌은 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0194]

치료적 치료

[0195]

전형적으로, 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체 조성물의 유효량 또는 유효 투여량을 투여하여 병리적 상태의 치료를 수행하며, 조성물에 함유된 활성제의 비활성도에 따라, 상기 유효량 또는 유효 투여량은 합계가 평균적으로 투여당 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체 약 0.01 내지 500 밀리그램 이상/환자의 킬로그램, 바람직하게는 단일 또는 다중 투여당 항체 약 0.1 내지 100 밀리그램 이상/환자의 킬로그램이다. 대안적으로, 유효 혈청 농도는 단일 또는 다중 투여당 0.1 내지 5000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 혈청 농도를 포함할 수 있다. 적합한 투여량이 임상의에게 알려져 있으며, 물론 특정 질환의 상태, 투여되는 조성물의 특정 활성 및 치료할 특정 환자에 따라 달라

질 것이다. 일부 경우에, 원하는 치료량을 달성하기 위해, 모니터링되거나 계량되는 특정 투여량을 반복하여 개별 투여하는 반복 투여를 제공하는 것이 필요할 수 있으며, 이때 개별 투여는 원하는 1일 투여량 또는 효과가 달성될 때까지 반복된다.

[0196] 바람직한 투여량은 선택적으로 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 및/또는 100 내지 500 mg/kg/투여, 또는 이의 임의의 범위, 값 또는 부분을 포함할 수 있거나, 단일 또는 다중 투여당 혈청 농도 0.1, 0.5, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.5, 1.9, 2.0, 2.5, 2.9, 3.0, 3.5, 3.9, 4.0, 4.5, 4.9, 5.0, 5.5, 5.9, 6.0, 6.5, 6.9, 7.0, 7.5, 7.9, 8.0, 8.5, 8.9, 9.0, 9.5, 9.9, 10, 10.5, 10.9, 11, 11.5, 11.9, 12, 12.5, 12.9, 13.0, 13.5, 13.9, 14, 14.5, 15, 15.5, 15.9, 16, 16.5, 16.9, 17, 17.5, 17.9, 18, 18.5, 18.9, 19, 19.5, 19.9, 20, 20.5, 20.9, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 96, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500 및/또는 5000 μ g/ml, 또는 이의 임의의 범위, 값 또는 부분의 혈청 농도를 달성하도록 하는 양을 포함할 수 있다.

[0197] 대안적으로, 투여되는 투여량은 공자의 인자, 예를 들어 특정 약제의 약물동력학적 특성 및 이의 투여 방식 및 경로; 수용자의 연령, 건강 및 체중; 증상의 성질 및 정도, 병행 치료의 종류, 치료의 빈도 및 원하는 효과에 따라 달라질 수 있다. 일반적으로, 활성 성분의 투여량은 체중 1 킬로그램당 약 0.1 내지 100 밀리그램일 수 있다. 통상적으로, 0.1 내지 50, 바람직하게는, 0.1 내지 10 밀리그램/킬로그램/투여 또는 서방형이 원하는 결과를 얻는데 효과적이다.

[0198] 비제한적인 예로서, 인간 또는 동물의 치료는 본 발명의 적어도 하나의 항체 0.1 내지 100 mg/kg, 예를 들어 1 일당 0.5, 0.9, 1.0, 1.1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90 또는 100 mg/kg의 1회 또는 주기적 투여량으로서 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 또는 40일 중 적어도 하나, 또는 대안적으로 또는 추가적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51 또는 52주 중 적어도 하나, 또는 대안적으로 또는 추가적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20년 중 적어도 하나, 또는 이들의 임의의 조합에 단일, 주입 또는 반복 투여량을 사용하여 제공될 수 있다.

[0199] 체내 투여에 적합한 투여형 (조성물)은 일반적으로 단위 또는 용기당 약 0.001 밀리그램 내지 약 500 밀리그램의 활성 성분을 함유한다. 이러한 약제학적 조성물에서, 활성 성분은 대체로 조성물의 총 중량을 기준으로 약 0.5 내지 99.999 wt%의 양으로 존재할 것이다.

[0200] 비경구 투여의 경우, 항체는 약제학적으로 허용가능한 비경구 비히클과 함께 또는 별도로 제공되는 용액, 혼탁액, 에멀젼, 입자, 분말 또는 동결건조 분말로서 제형화될 수 있다. 이러한 비히클의 예는 물, 염수, 링거액, 렉스트로스 용액 및 1 내지 10% 인간 혈청 알부민이다. 리포솜 및 비수성 비히클, 예를 들어 고정유가 또한 사용될 수 있다. 비히클 또는 동결건조 분말은 등장성 (예를 들어, 염화나트륨, 만니톨) 및 화학적 안정성 (예를 들어, 완충제 및 보존제)을 유지하는 첨가제를 함유할 수 있다. 제형을 알려진 기술 또는 적합한 기술에 의해 살균시킨다.

[0201] 적합한 약제학적 담체는 본 분야의 표준 참고문헌인 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, A. Oso]의 최신판에 기재되어 있다.

대안적 투여

[0203] 공지되고 개발된 많은 투여 방식이 본 발명에 따라 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체의 약제학적 유효량의 투여에 사용될 수 있다. 폐 투여가 하기 설명에서 사용되며, 다른 투여 방식이 적합한 결과를 보이면서 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 본 발명의 IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체는 흡입 또는 본 명세서에 기재되거나 본 기술 분야에 알려진 다른 방식에 의한 투여에 적합한 임의의 다양한 장치 및 방법을 사용하여, 용액, 에멀젼, 콜로이드 또는 혼탁액, 또는 건조 분말로서 담체 중에 전달될 수 있다.

[0204]

비경구 제형 및 투여

[0205]

비경구 투여를 위한 제형은 통상적인 부형제로서 멸균수 또는 염수, 폴리에틸렌 글리콜과 같은 폴리알킬렌 글리콜, 식물 기원의 오일, 수소화 나프탈렌 등을 함유할 수 있다. 주사를 위한 수성 또는 유성 혼탁액은 알려진 방법에 따라 적당한 유화제 또는 습윤화제 및 혼탁제를 사용하여 제조될 수 있다. 주사를 위한 약제는 용매 중의 수용액, 멸균 주사용 용액 또는 혼탁액과 같은 비독성의 비경구 투여가능 희석제일 수 있다. 사용가능한 비허클 또는 용매로서, 물, 립기 용액, 등장성 염수 등이 허용되며; 통상의 용매 또는 혼탁 용매로서, 멸균 비휘발성 오일이 사용될 수 있다. 이러한 목적을 위해, 천연 또는 합성 또는 반합성 지방 오일 또는 지방산; 천연 또는 합성 또는 반합성 모노- 또는 다이- 또는 트라이-글리세리드를 포함하는 임의의 종류의 비휘발성 오일 및 지방산이 사용될 수 있다. 비경구적 투여는 본 기술 분야에 공지되어 있으며, 미국 특허 제5,851,198호에 기재된 기체 가압 무-바늘 주사 장치, 및 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함되는 미국 특허 제5,839,446호에 기재된 레이저 천공 장치와 같은 통상적인 주사 수단을 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0206]

대안적 전달

[0207]

본 발명은 또한 비경구, 피하, 근내, 정맥내, 관절내, 기관지내, 복강내, 관절낭내, 연골내, 강내, 체강내, 소뇌내, 뇌실내, 결장내, 경부내, 위내, 간내, 심근내, 골내, 골반내, 심장주위내, 복막내, 흉막내, 전립선내, 폐내, 직장내, 신장내, 망막내, 척수내, 활막내, 흉부내, 자궁내, 방광내, 병변내, 볼루스, 질내, 직장내, 구강내, 설하, 비강내, 또는 경피 수단에 의한 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체의 투여에 관한 것이다. 특히 액체 용액 또는 혼탁액의 형태로 비경구 (피하, 근육내 또는 정맥내) 또는 임의의 다른 투여에 사용하기 위해; 특히 크림 및 좌제와 같으나 이에 한정되지 않는 반고체 형태로 질내 또는 직장내 투여에 사용하기 위해; 정제 또는 캡슐의 형태와 같으나 이에 한정되지 않는 구강내 또는 설하 투여를 위해; 또는, 예를 들어 분말, 점비제(nasal drop) 또는 에어로졸 또는 소정의 약제의 형태와 같으나 이에 한정되지 않는 비강내 투여; 또는 피부 구조를 변형시키거나 경피 패치 내의 약물 농도를 증가시키기 위한 다이메틸 셀룰라이드와 같은 화학 인핸서를 가지거나(문헌[Junginger, et al. In "Drug Permeation Enhancement; Hsieh, D. S., Eds., pp. 59-90 (Marcel Dekker, Inc. New York 1994)], 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함됨), 단백질 및 펩티드를 함유하는 제형의 피부 적용을 가능하게 하는 산화제를 가지거나 (국제특허 공개 WO 98/53847호), 전기천공과 같은 일시적 수송 경로를 생성하거나 이온영동법과 같이 피부를 통한 하전된 약물의 이동성을 증가시키는 전기장의 적용, 또는 초음파영동법과 같은 초음파의 적용을 가진 (미국 특허 제4,309,989호 및 제4,767,402호) (상기 간행물 및 특허는 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함됨) 젤, 연고, 로션, 혼탁액 또는 패치 전달 시스템과 같으나 이에 한정되지 않는 경피 투여를 위해, 항-IL-12/23p40 (또는 항-IL-23) 항체 조성물을 제조할 수 있다.

[0208]

본 발명을 일반적으로 설명하였지만, 본 발명은 예시를 위해 제공되고 본 발명을 제한하는 것으로서 간주되지 않는 하기 실시예를 참고하여 보다 쉽게 이해될 것이다. 본 발명의 추가의 세부사항이 하기 비제한적인 실시예에 의해 예시된다. 본 명세서의 모든 인용문의 개시 내용은 본 명세서에 참고로 명백히 포함된다.

[0209]

실시예 1: 포유류 세포에서의 IL-12 항체의 클로닝 및 발현.

[0210]

전형적인 포유류 발현 벡터는 mRNA 전사의 개시를 매개하는 하나 이상의 프로모터 요소, 항체 코딩 서열, 및 전사의 종결 및 전사체의 폴리아데닐화에 필요한 신호를 함유한다. 추가의 요소는 인핸서, 코작(Kozak) 서열 및 RNA 스플라이싱의 공여 및 수용 부위에 인접하는 개재된 서열을 포함한다. 고 효율 전사는 SV40으로부터의 초기 및 후기 프로모터, 레트로바이러스, 예를 들어 RSV, HTLV, HIVI로부터의 긴 말단 반복체 (LTR), 및 사이토메갈로바이러스 (CMV)의 초기 프로모터로 달성될 수 있다. 그러나, 세포성 인자도 사용될 수 있다 (예를 들어, 인간 액틴 프로모터). 본 발명의 실시에 사용하기 적합한 발현 벡터는, 예를 들어 pIRES1neo, pRetro-Off, pRetro-On, PLXSN, 또는 pLNCX (클론테크 랩스(Clontech Labs), 미국 캘리포니아주 팔로 알토 소재), pcDNA3.1 (+/-), pcDNA/Zeo (+/-) 또는 pcDNA3.1/Hygro (+/-) (인비트로겐), PSVL 및 PMSG (파마시아(Pharmacia), 스웨덴 옴살라 소재), pRSVcat (ATCC 37152), pSV2dhfr (ATCC 37146) 및 pBC12MI (ATCC 67109)와 같은 벡터를 포함한다. 사용될 수 있는 포유류 숙주 세포는 인간 HeLa 293, H9 및 Jurkat 세포, 마우스 NIH3T3 세포 및 C127 세포, Cos 1, Cos 7 및 CV 1, 퀘일 QC1-3 세포, 마우스 L 세포 및 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포를 포함한다. 대안적으로, 유전자는 염색체 내로 혼입된 유전자를 함유하는 안정적인 세포주에서 발현될 수 있다. dhfr, gpt, 네오마이신 또는 하이그로마이신과 같은 선택가능한 마커를 사용한 공동-형질주입을 통해, 형질주입된 세포를 확인하고 단리할 수 있다.

[0211]

형질주입된 유전자는 또한 대량의 암호화된 항체를 발현하도록 증폭될 수 있다. DHFR (디하이드로폴레이트 환원효소) 마커는 목적 유전자의 수백 또는 십지어 수천 개의 카피를 운반하는 세포주를 개발하는 데 유용하다.

다른 유용한 선택 마커는 효소 글루타민 합성효소 (GS)이다 (문헌[Murphy, et al., Biochem. J. 227:277-279 (1991)]; 문헌[Bebbington, et al., Bio/Technology 10:169-175 (1992)]). 이러한 마커를 사용하여, 포유류 세포를 선택 배지에서 증식시켜, 최고의 내성을 갖는 세포를 선별한다. 이러한 세포주는 염색체 내로 혼입된 증폭된 유전자(들)를 함유한다. 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 및 NSO 세포는 항체 생성에 종종 사용된다.

[0212] 발현 벡터 pC1 및 pC4는 라우스 육종 바이러스의 강력한 프로모터 (LTR) (문헌[Cullen, et al., Molec. Cell. Biol. 5:438-447 (1985)])와 CMV-인핸서 (문헌[Boshart, et al., Cell 41:521-530 (1985)])의 단편을 함유한다. 예를 들어, 제한효소 절단 부위 BamHI, XbaI 및 Asp718을 갖는 다중 클로닝 부위는 목적 유전자의 클로닝을 용이하게 한다. 벡터는 3' 인트론 외에도 쥐 프리프로인슐린 유전자의, 폴리아데닐화 및 종결 신호를 함유한다.

[0213] CHO 세포에서의 클로닝 및 발현.

[0214] 벡터 pC4를 IL-12/23p40 항체의 발현에 사용한다. 플라스미드 pC4는 플라스미드 pSV2-dhfr (ATCC 기탁 번호 37146)의 유도체이다. 플라스미드는 SV40 초기 프로모터의 조절 하에 마우스 DHFR 유전자를 포함한다. 이러한 플라스미드로 형질주입된, 다이하이드로폴레이트 활성이 결여된 차이니즈 햄스터 난소- 또는 다른 세포는 화학 요법제 메토트렉세이트로 보충된 선택 배지 (예를 들어, 알파 마이너스 MEM, 라이프 테크놀로지스(Life Technologies), 미국 메릴랜드주 게이터스버그 소재)에서 세포를 배양하여 선택할 수 있다. 메토트렉세이트 (MTX)에 내성인 세포에서의 DHFR 유전자의 증폭은 문헌에 잘 기록되어 있다 (예를 들어, 문헌[F. W. Alt, et al., J. Biol. Chem. 253:1357-1370 (1978)]; 문헌[J. L. Hamlin and C. Ma, Biochem. et Biophys. Acta 1097:107-143 (1990)]; 및 문헌[M. J. Page and M. A. Sydenham, Biotechnology 9:64-68 (1991)]을 참조한다). 표적 효소인, DHFR 유전자의 증폭 결과물로서의 DHFR을 과다생성함으로써 약물에 내성을 보이는, 증가하는 농도의 MTX에서 세포를 증식시켰다. 제2 유전자가 DHFR 유전자에 연결되면, 일반적으로 동시에 증폭되고 과발현된다. 증폭된 유전자(들)의 1,000개 초과의 카피를 운반하는 세포주의 개발을 위해 상기 방법을 사용할 수 있음이 본 기술 분야에 공지되어 있다. 이어서, 메토트렉세이트를 제거하면, 숙주 세포의 하나 이상의 염색체(들) 내로 혼입된 증폭된 유전자를 포함하는 세포주가 수득된다.

[0215] 라우스 육종 바이러스의 긴 말단 반복부 (LTR)의 강력한 프로모터 이외의 고 효율 프로모터, 예를 들어 인간 β -액틴 프로모터, SV40 초기 또는 후기 프로모터 또는 다른 레트로바이러스, 예를 들어 HIV 및 HTLV로부터의 긴 말단 반복부가 또한 발현에 사용될 수 있다. 클론테크의 Tet-Off 및 Tet-On 유전자 발현 시스템 및 유사한 시스템을 포유류 세포에서 조절되는 방식으로 IL-12를 발현하기 위해 사용할 수 있다 (문헌[M. Gossen, and H. Bujard, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 5547-5551 (1992)]). mRNA의 폴리아데닐화를 위해, 예를 들어 인간 성장 호르몬 또는 글로빈 유전자로부터의 다른 신호가 사용될 수 있다. 염색체 내로 혼입된 목적 유전자를 운반하는 안정적인 세포주는 선택가능한 마커, 예를 들어 gpt, G418 또는 하이그로마이신으로 동시에 형질주입하여 선택할 수 있다. 초기에 하나 초과의 선택가능한 마커, 예를 들어 G418과 메토트렉세이트를 사용하는 것이 바람직하다. 플라스미드 pC4를 제한 효소로 분해한 후, 본 기술 분야에 공지된 방법으로 송아지 장 포스파타제를 사용하여 탈인산화한다. 이어서, 벡터를 1% 아가로스 젤로부터 단리한다.

[0216] 공지의 방법의 단계에 따라, 각각 본 발명의 IL-12/23p40 항체의 HC 및 LC CDR 영역에 상응하는, 완전한 IL-12/23p40 항체를 암호화하는 DNA 서열을 사용한다. 적합한 인간 불변 영역 (즉, HC 및 LC 영역)을 암호화하는 단리된 핵산도 이러한 구조물에 사용한다.

[0217] 이어서, 단리된 가변 및 불변 영역을 암호화하는 DNA 및 탈인산화된 벡터를 T4 DNA 리가제로 라이제이션한다. 이어서, 대장균 HB101 또는 XL-1 블루 세포를 형질전환하고, 예를 들어 제한 효소 분석을 사용하여 플라스미드 pC4가 삽입된 단편을 포함하는 박테리아를 확인한다.

[0218] 활성 DHFR 유전자가 결여된 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포가 형질주입에 사용된다. 리포펙틴을 사용하여 5 μ g의 발현 플라스미드 pC4를 0.5 μ g의 플라스미드 pSV2-네오와 함께 공동 형질주입한다. 플라스미드 pSV2-네오는 우성 선택가능한 마커, G418을 포함하는 항생제의 군에 대한 내성을 부여하는 효소를 암호화하는 Tn5로부터의 네오 유전자를 함유한다. 1 μ g/ml의 G418로 보충된 알파 마이너스 MEM에 세포를 접종한다. 2일 후에, 세포를 트립신처리하고 하이브리도마 클로닝 플레이트(독일 소재의 그라이너(Greiner)) 내에서 10, 25 또는 50 ng/ml의 메토트렉세이트 + 1 μ g/ml의 G418로 보충된 알파 마이너스 MEM 중에 접종한다. 약 10 내지 14일 후에, 단일의 클론을 트립신처리한 후, 상이한 농도의 메토트렉세이트 (50 nM, 100 nM, 200 nM, 400 nM, 800 nM)를 사용하여 6-웰 페트리 접시 또는 10 ml 플라스크에 접종한다. 이어서, 가장 높은 농도의 메토트렉세이트에서 성장하는 클론을 심지어 더 높은 농도의 메토트렉세이트 (1 mM, 2 mM, 5 mM, 10 mM, 20 mM)를 함유하는 새로운

6-웰 플레이트로 옮긴다. 100 내지 200 mM의 농도에서 성장하는 클론을 수득할 때까지 동일한 절차를 반복한다. 예를 들어, SDS-PAGE 및 웨스턴 블로트 또는 역상 HPLC 분석에 의해 원하는 유전자 생성물의 발현을 분석한다.

[0219] **실시예 2: 뮤린 실험적 자가면역성 뇌척수염 (EAE)에서의 항-IL-12p35와 항-IL-12/23p40 항체의 치료 효능의 비교**

[0220] 개요

[0221] 이러한 세트의 연구를 수행하여 다발성 경화증, 실험적 자가면역성 뇌척수염 (EAE)에 대한 마우스 모델에서 IL-12 또는 IL-12/IL-23 특이적 중화의 치료 효능을 조사하였다. IL-12의 p35 서브유닛 또는 IL-12와 IL-23에 공유되는 p40 서브유닛에 특이적인 중화성 쥐 항-마우스 단일클론 항체 (mAb)를 질환 유발 전에, 질환 발병 전에 또는 질환이 진행된 후에 투여하였다. 모든 경우에서, 항-p40만이 치료 가능성을 입증하였다. 이러한 데이터는 IL-23이 이러한 자가면역 모델에서 질환 발병기전에 대한 주요 원인임을 암시한다.

[0222] 약어:

IL	인터류킨
mAb	단일클론 항체
EAE	실험적 자가면역성 뇌척수염
Th	보조 T 세포
IFN γ	인터페론 감마
cs	임상 점수
MBP	미엘린 염기성 단백질
PK	약물동태

[0223]

[0224] 서론

[0225] 생물학적으로 활성인 IL-12는 35 (p35) 및 40 (p40) 칼로 달тон의 공유 결합된 2개의 서브유닛으로 구성된 이종 이량체로서 존재한다. 다수의 증거는 IL-12가 CD4 $^+$ T 세포로부터의 IFN γ 및 IL-2의 생성을 특징으로 하는 강력한 Th1 면역 반응을 유도할 수 있음을 입증하였다. 부적절한 Th1 반응과, 이로 인한 IL-12 발현은 많은 면역-매개 질환, 예컨대 다발성 경화증, 류마티스 관절염, 염증성 장 질환, 인슐린-의존성 당뇨병 및 포도막염과 관련이 있는 것으로 생각된다. 동물 모델에서, IL-12 중화는 면역-매개 질환을 완화하는 것으로 나타났다. 그러나, 이러한 연구는 이의 p40 서브유닛을 통해 IL-12를 중화시켰다. p40 서브유닛을 공유하는 이종이량체성 사이토카인인 IL-23 (1)에 대한 최근의 설명에 의해 이전의 발견이 IL-12 활성에 의한 것인지 아니면 IL-23 활성에 의한 것인지 여부를 결정하는 것이 중요하였다. 따라서, 자가면역, 실험적 자가면역성 뇌척수염 (EAE)의 마우스 모델에서 p35 및 p40 특이적 중화를 비교하였다. IL-12p35 특이적 중화 항체는 EAE 진행에 영향을 미치지 않았다. 대조적으로, 항-p40 mAb를 사용한 IL-12와 IL-23 둘 모두의 중화는 항체가 Th1 분화 전이나 후에 투여되었는지 여부와 관계 없이 EAE의 임상 징후를 억제하였다. 이러한 데이터는 EAE에서 항-p40 치료의 활성이 IL-23의 중화에만 기초한다는 것을 암시한다.

[0226] 방법 및 재료

[0227] 마우스

[0228] 암컷 C3H/HEB/FEJ 마우스 (미국 메인주 바 하버 소재의 잭슨 래보레이토리스(Jackson Laboratory))를 약물동태 분석에 사용하였다. EAE 연구를 위해, 암컷 B10.PL (H-2 u) 마우스를 잭슨 래보레이토리스로부터 구매하여, 6 내지 8주령의 마우스를 사용하였다. 모든 동물은 승인된 프로토콜 하에 IACUC 지침에 따라 유지하였다.

[0229] 항체

[0230] C17.8 (쥐 항-마우스 IL-12/IL-23p40, IgG2a) 및 C18.2 (쥐 항-마우스 IL-12p35, IgG2a) 하이브리도마를 조르지오 트린치에리 박사(Dr. Giorgio Trinchieri) 및 위스타 인스티튜트(Wistar Institute) (미국 펜실베이니아주 필라델피아 소재)가 제공하였다. 할란 바이오프로덕츠(Harlan Bioproducts) (미국 인디애나주 인디애나폴리스 소재)에서 복수를 생성하여, 단백질 G 친화도에 의해 정제하였다.

[0231] 쥐 항-마우스 항체의 혈청 PK

[0232] 대략 20 내지 25 g의 암컷 C3H/HEB/FEJ 마우스를 개별적으로 칭량하고, 125 I 표지된 항체 (C17.8, C18.2)의 단일

5 mg/kg 복강내 투여량으로 처리하였으며, 이때 일정한 투여량 부피/마우스는 10 mL/kg이다. 마취한 마우스에서 30분, 6 및 24시간, 4, 7, 11 및 18일에 후안와동 채혈을 채취하였다. 혈액 샘플을 실온에서 30분 내지 1시간 동안 정치시킨 후, 10 내지 15분 동안 대략 2,500 내지 3,500 rpm으로 원심분리하였다. LKB 컴퓨터카운터(Compugamma 1282 counter) (미국 메릴랜드주 게이터스버그 소재 웨일렉(Wallac))를 사용하여 각각의 혈청 샘플의 대략 50 μ L 분취물의 125 I를 계수하였다. 주사액의 10 mL 분취물을 또한 계수하였다. 각 시점에서 주사된 계수의 평균 분율을 계산하고, 주사된 항체의 총 mg을 곱하여 각 시점에 혈청에 남아있는 총 mg를 결정하였다. 데이터를 각 그룹의 5 내지 10마리 동물에 대한 세럼 중 mAb의 평균 mg +/- 표준편차로 나타낸다.

[0233] EAE 유도 및 스코어링(Scoring)

[0234] EAE 유도를 위해, 암컷 B10.PL 마우스에 200 μ g의 기니 피그-MBP (시그마(Sigma))와 배합된 총 100 μ l의 CFA (200 μ g의 인간형 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*) 자메이카 균주를 함유함)를 4 부위에 걸쳐 등에 피하 주사하였다. 면역화 시점에 그리고 48시간 후에 0.2 mL PBS 중의 200 ng의 백일해 독소 (미국 캘리포니아주 캠벨 소재의 리스트 바이올로지칼(List Biological))를 마우스에 또한 복강내 투여하였다. 지시된 날짜에 PBS 중의 100 mg/kg (C18.2) 또는 20 mg/kg (C17.8)로 회색된 C17.8 (항-IL-12p40) 또는 C18.2 (항-IL-12p35) 단일클론 항체를 마우스에 복강내 주사하였다. 대조군 마우스에 PBS 또는 쥐 IgG (바이오소스(Biosource))를 PBS 중의 20 mg/kg으로 투여하였다.

[0235] 임상 징후 (cs)를 보이는 동물을 다음과 같이 스코어링하였다: 꼬리 긴장성을 동반한 동요성 보행 또는 둔각 꼬리(limp tail) 1, 둔각 꼬리를 동반한 동요성 보행 (운동 실조증) 2, 부분 사지 마비를 동반한 운동 실조증 2.5, 한쪽 사지의 완전 마비 3, 두 번째 사지의 부분 마비를 동반한 한쪽 사지의 완전 마비 3.5, 양쪽 사지의 완전 마비 4, 빈사상태 4.5, 죽음 5. 5점으로 스코어링된 동물은 나머지 실험에서 평균 1일 cs 분석에 포함되지 않았다. 그룹의 1일 cs를 평균으로 나타내었으며, 평균 발병률, 발병일, 가장 급성인 cs, 누적 cs, cs/일, 재발 횟수 및 재발 중증도 \pm sem이 기재된다. 개별 동물의 1일 임상 점수의 합을 평균하여 그룹당 평균 누적 cs를 계산하였다. 누적 cs를 동물이 연구에 남아있는 일수로 나누어 cs/일을 계산하였다. 평균 발병 날짜를 결정하기 위해, EAE가 발생하지 않은 동물은 분석에 포함되지 않았다. 가장 높은 cs의 평균을 결정하기 위해, EAE가 발생하지 않은 마우스는 "0"의 값을 할당하고, 분석에 포함시켰다. 재발은 적어도 2일 동안 관찰된 임상 점수의 전체 점수 하락에 이어서, 적어도 2일 동안 관찰된 임상 점수의 전체 점수 상승으로 정의하였다.

[0236] 결과 및 토의

[0237] 항-p35 및 항-p40 항체는 동일한 약물동태를 갖는다

[0238] 항-p40 및 항-p35 항체의 청소율(clearance rate)을 확립하기 위해, 정상 마우스에 125 I 표지된 항체의 단일 5 mg/kg 투여량을 주사하고, 순환 수준을 항체 투여 후 11일 동안 측정하였다. 항-p35와 항-p40은 약물동태가 중첩되는데, 이는 정상 마우스 (2)에서 청소율이 동일하다는 것을 나타낸다. 각 mAb의 예상 청소율은 대략 7 내지 10일이다. 이는 단일 투여량 PK 연구이지만, 이러한 데이터는 생체 내 연구의 경우 1주 1회 투여를 뒷받침 한다.

[0239] EAE 유도 전에 항-p40 치료만이 보호된다.

[0240] 면역-매개 질환에서 IL-12 및 IL-23의 상대적인 역할을 확인하기 위해, 본 발명자는 실험적 자가면역성 뇌척수염 (EAE)이 재발한 다발성 경화증 뮤린 모델을 사용하였다. 애쥬번트에서 미엘린 염기성 단백질 (MBP)을 사용하여 EAE 유도시, B10.PL 마우스는 전형적으로 마비의 초기 에피소드 (급성 질환)를 보인 다음, 부분적으로 또는 완전히 회복되어, 다수의 재발 및/또는 만성 EAE로 진행된다. IL-12를 Th0에서 Th1으로의 분화의 주요 매개체로 생각하기 때문에 EAE는 IL-12 발현에 의존한다고 오랫동안 가정되어 왔다. 그러나, EAE 유도에서 IL-23 잠재적인 역할을 구별하기 위해, 항-p40 (IL-12 및 IL-23) 또는 항-p35 (IL-12 단독) 항체의 중화 농도를 EAE에 대한 면역화 하루 전에 확립하였다 (-1일차). 질환의 발병은 동물마다 다를 수 있다. 따라서, 항-p35 및 IL-p40 항체가 Th1 분화 동안 존재하도록 보장하기 위해 치료를 7일 및 14일 후에 반복하였다. 여러 시험관 내 중화 연구는 항-40 mAb가 항-p35 mAb보다 IL-12 중화에 5배 더 효과적임을 입증하였다 (데이터는 도시되지 않음). 따라서, 모든 EAE 실험에서 항-p35 mAb의 투여량을 항-p40보다 5배 높게 조정하였다. 2개의 별개의 실험에서, 쥐 IgG 동종형 대조군 항체 (20 mg/kg) 또는 항-p35 (100 mg/kg)로 처리한 마우스는 질환으로부터의 보호를 보여주지 않았다. 비특이적 대조군 항체 (쥐 IgG)의 말초 투여는 EAE에 걸린 비처리 마우스와 비교하여 질환의 임상 경과를 변화시키지 않았다는 사실에 주목하는 것이 중요하다. 두 연구에서, 항-p40 mAb (20 mg/kg)로 처리한 마우스는 EAE 임상 징후의 거의 완전한 억제를 보였다. 놀랍게도, 질병의 억제는 항체의 예상

청소율을 넘어 EAE 유도 70일 후까지 연장되었다. 각 실험에서, 항-p40으로 처리한 동물 한 마리 만이 연속 2 일간 EAE 임상 징후를 보였고, 각 징후는 만발성으로, 급성 임상 점수, 누적 임상 점수가 유의하게 낮았고, 질환 재발이 없었다 (표 1). 이러한 결과는 공유된 p40 서브유닛을 통한 IL-12 및 IL-23의 중화가 EAE를 거의 완전히 막는다는 것을 입증한다. 대조적으로, 항-p35만을 통한 IL-12의 특이적 중화는 효과적이지 않았다. 이러한 데이터는 EAE가 IL-12에 의해 막는다는 것을 강하게 암시한다.

[0241] 질환 발병 직전에 항-p40 치료만이 보호된다.

[0242] 예방적 치료가 EAE로부터 마우스를 완전히 보호했지만, Th1 집단이 생체 내에서 확립되면 IL-12 특이적 중화가 보호될 것인지 여부를 여전히 확인해야 했다. 따라서, 별개의 세트의 실험에서, 마우스를 EAE 유도 10일 후이지만 질환이 발병되기 전에 대조군 항체 (쥐 IgG), 항-p35 또는 항-p40 단일클론 항체로 처리하였다. 전형적인 면역 반응은 7일 이내에 발생하므로, 이러한 시점은 분화된 Th1 세포 상의 항-IL-12 또는 항-IL-23 mAb의 영향을 반영해야 한다. EAE 발병은 동물마다 다를 수 있어서, 항-p35 및 항-p40 항체가 질환 발병 동안 존재하도록 보장하기 위해 치료를 7일 및 14일 후에 반복하였다. 2개의 별개의 실험에서, 동종형 대조군 항체 (20 mg/kg) 또는 항-p35 (100 mg/kg)로 처리한 마우스는 미처리 EAE 마우스와 비교하여 질환으로부터 보호되지 않았다. 그러나, 항-p40 mAb (20 mg/kg)로 처리한 마우스는 EAE로부터 유의하게 보호되었다. 이전에 기재된 연구에서 나타난 바와 같이, EAE 유도 70일 후까지 말초에 투여된 항체의 청소에 필요한 시간을 훨씬 넘어서 질병 억제가 관찰되었다. 항체가 Th1 분화 (10일차)까지 투여되지 않았다는 것을 고려하면, 급성 EAE 동안 질환 발병률, 발병일 및 가장 높은 임상 점수가 어떤 그룹에서도 다르지 않았다는 것은 놀랄 일이 아니다 (표 2). 그러나, 두 실험 모두에서, 항-p40을 투여한 마우스는 누적 임상 점수, 1일 임상 점수 및 재발 중증도가 유의하게 낮았다.

[0243] 확립된 EAE 동안 항-p40 치료만이 보호된다.

[0244] 모든 요법에서 가장 어렵지만 임상적으로 관련된 장애물은 확립된 질환을 억제하는 것이다. 따라서 EAE에 대해 마우스를 면역화시킨 다음, 질병이 진행되면 치료 그룹으로 나누는 다른 세트의 실험을 수행하였다. 대략 EAE 유도 30일 후, 마우스는 질환의 급성 단계까지 진행되었다. 이 시점에서, 동물을 비견되는 누적 임상 점수 및 1일 임상 점수를 갖는 그룹으로 나누었다 급성에서 만성 또는 관해-재발성 질환으로 전환되는 동안 중화 농도에서 항체가 이용가능하도록 보장하기 위해 7일 및 14일 후에 치료를 반복하였다. 동종형 대조군 항체 (20 mg/kg) 또는 항-p35 (100 mg/kg) 처리 동물과 비교하여 항-p40 치료 (20 mg/kg)만이 질병을 완화시켰다. 질환 억제가 EAE 유도 80일 후까지 관찰되었다. 두 실험 모두에서, 치료 첫 날부터 80일까지 분석한 결과, 항-p40을 투여한 마우스는 누적 임상 점수, 1일 임상 점수가 낮았고, 치료 후 가장 높은 임상 점수가 가장 낮았다. 이러한 데이터는 IL-23이 Th1 분화 (표 1) 및 EAE 유도 (표 2)를 매개할 뿐만 아니라 만성 면역-매개 (예를 들어, 자가면역) 반응 (표 3)의 작용 단계(effecter phase)에 기여한다는 것을 시사한다. 따라서, 항-p40 치료는 면역-매개 질환의 진행의 어느 시점에서든 치료를 제공할 수 있다.

[0245] 결론

[0246] 면역 기능에서 IL-12의 역할에 대한 이해는 IL-12의 p40 서브유닛에 대한 연구에 기초를 두고 있다. 따라서, 자가 면역 질환의 동물 모델에서 IL-12 특이적 p35 서브유닛 대 IL-12와 IL-23 사이에 공유된 p40 서브유닛의 중화를 나란히(side-by-side) 비교하였다. 항-p40을 통한 중화는 mAb가 어느 시점에서 투여되어도 EAE를 유의하게 억제하였다. 그러나, IL-12 특이적 중화는 완전히 비효율적이었다. 따라서 우리의 데이터는 IL-12가 이러한 자가면역 모델에 기여하지 않으며, IL-23이 자가 면역 T 세포 반응의 보다 중요한 매개체가 될 것으로 기대된다는 것을 보여준다.

[0247] 실시예 3: p40 중화 에피토프

[0248] 개요

[0249] IL-12 및 IL-23의 인간 p40 서브유닛에 대한 중화 항체 (IL-12/23p40 mAb)의 에피토프를 Fab/IL-12 복합체의 결정 구조에 기초하여 확인하였다. 에피토프는 인간 IL-12의 p40 서브유닛의 D1 도메인 (잔기 1 내지 88) 상에 위치한다. 이러한 영역은 p40/p35 계면과 구별되며, IL-23의 p40 서브유닛 상에서도 이용가능할 것으로 예상된다. 항원-항체 결합에 관련된 잔기는 불연속적이며 (표 4) 고유한 임체구조 에피토프를 포함한다. 이러한 에피토프 또는 이의 부분 및 이웃한 영역에 대한 항체는 p40 서브유닛의 이러한 부분을 통해 매개되는 IL-12 및 IL-23 기능의 차단을 초래할 것이다.

[0250] 서론

- [0251] 인간 IL-12/23p40에 대해 유도된 완전 인간 단일클론 항체 (p40 mAb)는 IL-12 및 IL-23 기능의 강력한 중화제인 것으로 밝혀졌다. p40 mAb가 p40 서브유닛에 결합하여 이들의 수용체에 대한 두 사이토카인 모두의 결합을 차단함이 밝혀졌다. p40 서브유닛은 IL-12와 IL-23 사이에 공유되기 때문에, IL-12와 p40 mAb 사이의 상세한 상호작용은 중요한 공통 중화 에피토프를 한정하여, 결과적으로 사이토카인-수용체 상호작용에 대해 밝힐 수 있다.
- [0252] p40 Fab / IL-12 결정 구조에 기초한 에피토프 결정
- [0253] IL-12/IL-23p40 mAb는 배양물에서 포유류 세포주로부터 생산되고, 단백질 A 컬럼으로 정제되었다. IL-12/IL-23p40 mAb (70mg)를 37°C에서 2시간 동안 활성 완충액 (0.03M 인산나트륨, 0.15 M NaCl, 0.01 M EDTA, 0.0072 M L-시스테인, pH 7.0) 중의 파파인 (IgG 1mg 당 0.25 단위의 파파인)으로 분해시켰다. 분해를 표면-증진된 레이저 틸착 이온화 (SELDI) 질량 분석으로 모니터링하였다. 요오도아세트아미드 (0.5M)를 사용하여 분해를 멈추었다. Fc를 고정된 단백질 G로 제거하였다. p40 Fab를 슈퍼덱스(Superdex) 200 16/60 컬럼 상에서 젤 여과에 의해 추가로 정제하였다. 총 44 mg의 정제된 p40 Fab를 얻어, 이의 순도를 SDS-PAGE로 분석하였다.
- [0254] 재조합 인간 IL-12를 배양물에서 p40 및 p35 서브유닛을 과발현하는 안정적으로 형질주입된 세포주로부터 생성하여, p40 mAb 친화성 컬럼으로 정제하였다. 단백질 분획을 수집하고, 10 mM 트리스, 100 mM NaCl, pH 7.4로 투석하여, 2.5 mg/ml로 농축시켰다. 아르곤 하에 37°C에서 3일 동안 IL-12를 탈글리코실화 효소의 여러 조합 (PNGase F, 시알리다제, 엔도-0-글리코시다제, α -, β -갈락토시다제, α -만노시다제, 푸코시다제 [약 5mU-10U /100ug 단백질])과 함께 인큐베이션하여 탈글리코실화하였다.
- [0255] 탈글리코실화된 IL-12를 과량의 p40 Fab와 혼합하였다. IL-12/p40 Fab 복합체를 10mM 트리스, 50mM NaCl, pH 7.4에서 크기 배제 크로마토그래피로 정제하였다. 단리된 복합체를 대략 4 mg/ml로 농축시켰다. IL-12/p40 Fab 복합체는 상기 단백질 복합체 용액을 50mM 트리스, pH 7.0, 16% PEG 3350의 저장소(reservoir) 용액과 1:1 부피비로 배합함으로써, 시팅 드롭(sitting drop) 증기-확산법을 사용하여 결정화되었다. 전형적으로 50 내지 150 μ m 크기의 입방체, 피라미드형 또는 막대(rod) 모양의 결정이 16°C에서 2주 이내에 나타난다.
- [0256] 결정을 수확하고, 모액과 30% 에틸렌 글리콜에 액침하여, X-선 데이터 수집을 위해 액체 질소에서 급속 동결시켰다. 아르곤 국립 연구소(Argonne National Laboratory), (Axas-ComCat)에 있는 APS(Advanced Photon Source)에서 2.8 Å의 회절 한계로 최고의 데이터 세트를 수집하였다 (360 도, 0.5 도/프레임, 프레임 당 10초 노출). 회절 데이터를 덴조 앤드 스케일팩(Denzo and ScalePack)으로 처리하였다. (문헌[Otwinowski & Minor, *Methods Enzymol.* 276: 307-326]) 이러한 결정 형태의 공간군은 P2₁2₁2₁이며, 셀 치수는 a=116.8 Å, b=55.77 Å, c=182.96 Å 및 $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$ 이다. 27,141개의 독립적인 반사가 존재하며, 데이터는 3.0 Å (I/시그마 = 5.2, R_{sym}=9%.)에서 약 90% 완성되었다.
- [0257] 결정 구조를 CNX (캘리포니아주 아셀리스 소재)에서 구현된 분자 치환(molecular replacement)으로 해석하였다. 검색 모델은 IL-12의 경우 공개된 IL-12 구조 (PDB 코드 1F45)이고, p40 Fab의 경우 Fab 결정 구조 (PDB 코드 1VGE)에 기초한 상동성 모델이다. IL-12 및 p40 Fab의 분자 모델을 시각적으로 조사하고, 엑스탈뷰(XtalView)를 사용하여 수동으로 조정하였다. CNX를 사용하여 구조 정밀화를 수행하였다. 분자 모델을 인사이트(Insight)II (캘리포니아주 아셀리스 소재)를 사용하여 검증하였다. IL-12/p40 Fab의 결합된 복합체의 분자 구조는 도 1에 리본 표현으로 도시한다.
- [0258] 분자 표면 상에 p40 mAb 결합 부위 (p40 에피토프)를 표면 및 리본 표현으로 도 2에 도시한다. 결합 에피토프 잔기는 일반적으로 허용되는 관례에 따라, 항체의 임의의 원자의 4 Å 내의 임의의 원자와 임의의 표면 노출된 p40 잔기 (0.1 이상의 상대 용매 접근성)로 정의된다. 표면 접근성을 디폴트 파라미터를 사용하여 ICM (캘리포니아주 몰소프트 소재)에 의해 계산하였다. IL-12 p40에 대한 p40 mAb 결합 에피토프를 포함하는 잔기는 표면 노출 영역 (sf) 및 상대 접근성 (sf 비)과 함께 표 4에 열거되어 있다. 단백질과 관련하여 아미노산 잔기의 노출 표면적의 정의는 본 기술 분야에서 잘 허용되어 왔다. 특히, 반경이 1.4A인 물 분자가 단백질의 표면을 따라 률링되고, 특정 잔기에 대한 이러한 계산에 의해 얻어진 면적의 양은 그 잔기의 노출 표면적으로 정해진다. 완전히 연장된 입체구조의 아미노산의 총 표면적도 이용가능하다. 이때, 표면 접근성 (sf 비)은 표준 표면적에 대한 노출된 표면적의 비이다. 이러한 두 값은 함께 잔기가 단백질 표면에 노출되어 있는지 여부를 알려준다.
- [0259] 표 4 및 도 2 (우측 패널)로부터 명백한 바와 같이, p40 상의 결합 부위는 불연속적이고 불규칙한 표면 상에 분포되어 있는 다수의 표면 노출 잔기로 이루어진다. 항체-항원 상호작용은 IL-12 및 p40 mAb 상의 접근가능한

표면의 총 1758 \AA^2 를 덮어버린다. 상호작용은 3개의 염 다리: R59(H)-E59(p40), R98(H)-E45(p40) 및 R99(H)-D62(p40)에 의해 두드러지게 유도되는 것으로 보인다. 또한, 소수성 또는 반데르발스 힘이 항체-항원 상호작용에 기여한다.

[0260] 본 명세서의 공동-결정 구조에 기초하여 확인한 IL-12 결합에 관여하는 IL-12p40 항체의 잔기를 하기 표 5에 나타낸다. p40 서브유닛의 4A 내의 임의의 원자를 갖는 항-p40 항체의 모든 표면 노출된 잔기는 이러한 결합 잔기의 일부로 간주된다. 하나 이상의 이러한 잔기의 보존적 변화는 유사한 효능을 갖는 돌연변이 항체를 생성할 수 있다. 이러한 보존적 치환의 예는 VH의 R59K, R98K 및 R99K (예를 들어, 서열 번호 7) 및 VL의 D1E (예를 들어, 서열 번호 8)를 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0261] 또한, 표 5에 나타낸 각 위치에서의 포화 돌연변이유발을 수행하여 (예를 들어, 야생형 (WT) 아미노산 서열을 가능하게는 시스테인을 제외한 임의의 다른 아미노산으로 변화킴) 생성된 항체가 증가되거나, 감소되거나, 실질적으로 유사한 활성 (예를 들어, 결합)을 가지도록 하는 돌연변이를 확인할 수 있다. p40 서브유닛에 대한 생성된 항체의 결합을 임의의 적합한 결합 분석에 따라 시험할 수 있다. 포화 돌연변이유발을 사용하여, 예를 들어 비슷하게 강력한 항체 또는 상이한 특성, 즉 가변 영역 서열의 변화 (예를 들어, 가변 영역의 크기 또는 다른 구조적 변화)로 인한 효능 이외의 특성을 갖는 동등하게 강력한 항체를 생성할 수 있다.

[0262] 또한, 하나 초과의 치환, 예를 들어 각 실험에 대해 2개, 3개 또는 그 이상의 위치를 사용하여 포화 돌연변이유발을 수행할 수 있다. 이는 개별 클론이나 라이브러리로 수행된 다음, 과자 디스플레이와 같은 적절한 형식으로 선택되거나 스크리닝될 수 있다. 또한, 표 5에서의 활성을 조절하는 데 바람직한 위치에서의 개별 또는 조합 돌연변이를 조합하여 유사하거나 더 우수한 효능의 추가적인 조합 돌연변이를 생성할 수 있다.

이점

[0264] p40 mAb 결합 부위는 p40/p35 회합 부위와 구별된다 (도 1). IL-23의 p19 서브유닛은 IL-12의 p35와 진화적으로 관련이 있고, 유의한 서열 상동성을 갖는다. p19가 p35와 유사한 방식으로 p40과 회합될 가능성이 있다. 따라서, p40 mAb 결합 영역은 또한 IL-23에서 p40/p19 상호작용과 구별된다. 본 발명에서 확인된 에피토프는 IL-12 및 IL-23 모두에서 동일하게 이용가능하므로; p40 mAb가 두 사이토카인 모두의 기능을 능동적으로 차단할 수 있다는 것은 놀라운 것이 아니다.

[0265] IL-12 (p40/p35) 및 IL-23 (p40/p19)은 이들의 각각의 수용체 (IL-12R β 1/ β 2 및 IL-12R β 1/IL-23R)와 유사한 방식으로 상호작용한다. 이들은 유사한 신호전달 캐스케이드를 유도한다. 그러나, 사이토카인-수용체 상호작용의 세부사항은 문자 수준에서 명확하게 정의되어 있지 않다. 새롭게 정의된 p40 mAb 에피토프는 공유 수용체인 IL-12R β 1을 갖는 사이토카인의 IL-12 패밀리 사이의 상호작용을 위한 생물학적으로 중요한 부위를 나타낼 수 있다. 따라서, 에피토프는 단일클론 항체, 펩티드, 재조합 단백질, 소분자 및 다른 천연 또는 합성 제제를 사용하는 치료적 개입에 중요한 표적이다.

실시예 4: 돌연변이 분석을 사용한 IL-12p40 상에서의 p40 mAb의 에피토프 맵핑

개요

[0268] IL-12/IL-23p40 mAb와 IL-12p40 돌연변이의 ELISA 결합을 수행하여 결합 에피토프를 검증하였다. p40 Fab/IL-12 복합체의 결정 구조에 기초하여, 7개의 단일 돌연변이 및 2개의 이중 돌연변이를 생성하였다. 돌연변이화된 잔기는 p40 서브유닛의 도메인 I (D1)의 p40 Fab 접촉 영역에 위치한다. 상대적인 결합 친화도는 3개의 음으로 하전된 잔기 E45, E59 및 D62가 p40 mAb와의 결합 상호작용에 유의하게 기여한다는 것을 나타내었다. 다른 잔기 M23, L40 및 S43은 더 적지만 상당히 기여한다. 이러한 돌연변이 분석으로 p40 mAb가 p40 서브유닛의 도메인 I를 인식하며, 잔기 E45, E59, D62, M23, L40 및 S43이 결합 에피토프의 일부인 것을 확인한다.

재료 및 방법

[0270] 7개의 인간 p40 단일 돌연변이 M23T, L40T, S43R, E45A, E45R, E59R 및 D62R 및 2개의 이중 돌연변이 S43R/E45A 및 S43R/E45R가 연구에 사용된다. 야생형 인간 p40 WT인 hu-p40를 대조군으로 사용하였다. p40 돌연변이가 HEK293E 세포에서 일시적으로 발현되었다. 상청액을 결합 분석에 사용하였다.

[0271] 요약하면, MSD 고결합 플레이트 (메소 스케일 디스커버리(Meso Scale Discovery), 메릴랜드 주)를 1시간 동안 실온에서 5 μL 의 포획 단일클론 항체 (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)로 코팅하였다. 포획 단일클론 항체는 p40 서브유닛을 인식하지만 p40 mAb와 경쟁하지 않는다. 5% MSD 차단제 A 완충액 150 μl 를 각 웰에 첨가하고, 실온에서 1시간 동안

인큐베이션하였다. 플레이트를 0.1 M HEPES 완충액 (pH 7.4)으로 3회 세정하였다. 이러한 단백질-충전된 ELISA 플레이트를 실온에서 1시간 동안 상이한 일시적으로 빌현된 p40 돌연변이 상정액 (0.1M HEPES 완충액으로 1:10 희석, pH 7.4) 25 μ l와 함께 인큐베이션하였다. 플레이트를 0.1 M HEPES 완충액 (pH 7.4)으로 3회 세정하였다. 0 내지 20 μ g/ml 범위의 MSD 설포-태그 표지된 p40 mAb의 상이한 농도 25 μ l를 마이크로-웰에 분배하였다. 실온에서 진탕하면서 2시간 인큐베이션한 후, 플레이트를 0.1 M HEPES 완충액 (pH 7.4)으로 3회 세정하였다. 희석된 MSD 판독 완충액 T 150 μ l를 각 웰에 분배하고, 플레이트를 섹터 이미저(SECTOR imager) (MS D)로 분석하였다.

[0272] 결과

도 3에 도시된 바와 같이, E45R, E59R 및 D62R은 야생형 p40과 비교하여 각각 p40 mAb에 대한 뮤테인 p40 결합 친화도를 유의하게 감소시켰다. E45A는 E45R에 비해 결합에 대해 유의하지만 덜 극적인 효과를 가졌다. M23T, L40T 및 S43R은 각각 결합에 중등의 영향을 가졌다.

상이한 돌연변이 단백질에 대한 IL-12/IL-23p40 mAb의 상대적인 결합 친화도를 포획 분석에 의해 추가로 분석하였다. 도 4에 도시된 바와 같이, E45R, E59R 및 D62R은 각각 항원 결합을 거의 완전히 제거하였다. 다른 돌연변이 M23T, L40T 및 S43R은 계면에서 각각 결합을 대략 40% 감소시켰다. E45A는 결합을 약 70% 감소시켰다.

본 발명은 상기 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용 및 실시예에서 구체적으로 설명된 것과 다르게 실시할 수 있음이 명백할 것이다. 상기 교시 내용에 비추어 본 발명의 많은 변형 및 변경이 가능하며, 따라서 이들은 첨부된 청구범위의 범주 내에 있다.

[0276] [표 1]

-1 일차에 개시된 IL-12 및 IL-23 중화에 대한 EAE 임상 점수 (Th1 분화 전)								
그룹	발병률	사망률	발병일	가장	누적 cs ^b	Cs/일	재발 횟수	재발 종종도
<i>P-2001-060</i>								
쥐 IgG	13/13	4/13	30.5 \pm 3.2	3.6 \pm 0.3	71.4 \pm 14.1	1.2 \pm 0.2	1.3 \pm 0.2	3.6 \pm 0.2
항-p35	11/13	8/13	29.6 \pm 3.4	3.5 \pm 0.5	45.5 \pm 11.5	0.8 \pm 0.2	1.2 \pm 0.1	4.0 \pm 0.3
항-p40	1/13	0/13	40.0	0.1	1.2 \pm 0.5	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
<i>P-2001-079</i>								
미처리	6/7	0/7	24.7 \pm 2.7	3.2 \pm 0.6	110.4 \pm 20.4	1.7 \pm 0.3	1.0 \pm 0.4	3.8 \pm 0.1
쥐 IgG	9/9	2/9	29.1 \pm 2.9	3.8 \pm 0.2	90.6 \pm 10.1	1.5 \pm 0.1	0.3 \pm 0.2	4.7 \pm 0.3
항-p35	10/10	1/10	30.0 \pm 2.6	3.9 \pm 0.2	94.9 \pm 17.8	1.4 \pm 0.2	0.7 \pm 0.3	3.9 \pm 0.2
항-p40	1/10	0/10	61.0	0.3	1.6 \pm 1.1	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0

^a 임상 점수 (cs)

^b 누적 cs

마우스를 기제된 바와 같이 치료하고, EAE 유도 후 0 일부터 70 일까지의 임상 점수를 분석하였다. 데이터는 그룹당 평균 \pm 표준편차로 나타낸다.

[0277] [표 2]

10 일차에 개시된 IL-12 및 IL-23 중화에 대한 EAE 임상 점수 (Th1 분화 후)								
그룹	발병률	사망률	발병일	가장	누적 cs ^b	Cs/일	재발 횟수	재발 종종도
<i>P-2001-037</i>								
미처리	7/8	0/8	30.6 \pm 2.7	3.2 \pm 0.5	51.5 \pm 14.4	0.8 \pm 0.2	0.3 \pm 0.2	3.3 \pm 0.8
쥐 IgG	9/10	0/10	25.9 \pm 2.7	2.7 \pm 0.5	74.7 \pm 15.8	1.2 \pm 0.2	0.6 \pm 0.2	3.7 \pm 0.4
항-p35	9/10	0/10	25.8 \pm 2.6	2.5 \pm 0.4	58.8 \pm 15.6	1.0 \pm 0.2	0.7 \pm 0.3	3.2 \pm 0.3
항-p40	6/7	0/7	34.7 \pm 6.3	1.6 \pm 0.5	14.9 \pm 7.5	0.2 \pm 0.1	0.3 \pm 0.2	1.5 \pm 0.5
<i>P-2001-053</i>								
미처리	8/9	2/9	15.8 \pm 2.2	2.1 \pm 0.6	56.4 \pm 19.1	0.9 \pm 0.3	0.6 \pm 0.3	3.3 \pm 0.5
쥐 IgG	9/10	4/10	20.0 \pm 2.5	3.8 \pm 0.5	70.1 \pm 17.7	1.3 \pm 0.2	0.3 \pm 0.2	4.2 \pm 0.4
항-p35	10/10	1/10	16.5 \pm 1.1	3.2 \pm 0.3	93.8 \pm 15.7	1.4 \pm 0.2	0.8 \pm 0.2	3.2 \pm 0.3
항-p40	10/10	2/10	13.6 \pm 1.1	2.7 \pm 0.5	23.2 \pm 7.9	0.4 \pm 0.1	0.4 \pm 0.3	2.0 \pm 0.4

^a 임상 점수 (cs)

^b 누적 cs

마우스를 10 일차, 17 일차 및 24 일차에 치료하고, EAE 유도 후 0 일부터 70 일까지의 임상 점수를 분석하였다. 데이터는 그룹당 평균 \pm 표준편차로 나타낸다.

[0279]

[0280]

[표 3]

30 일차에 개시된 IL-12 및 IL-23 중화에 대한 EAE 임상 점수 (EAE 가 확립된 동안)
 첫 번째 치료부터 EAE 유도 80 일 후까지

그룹	Pre-Tx ^a	사망률	누적 cs ^b	Cs/일	가장 높은 cs	가장 낮은 cs	재발 횟수	재발 중증도
<i>P-2002-01</i>								
미처리	2.7 ± 0.6	1/5	132.9 ± 29.3	3.3 ± 0.3	4.1 ± 0.2	2.4 ± 0.5	0.6 ± 0.4	3.7 ± 0.0
항-p35	2.3 ± 0.7	1/5	135.9 ± 16.5	2.7 ± 0.3	3.8 ± 0.4	1.8 ± 0.3	2.0 ± 0.4	3.7 ± 0.3
항-p40	2.0 ± 0.2	1/6	75.6 ± 16.1	1.9 ± 0.3	2.8 ± 0.5	1.0 ± 0.4	0.7 ± 0.3	2.5 ± 1.0
<i>P-2002-093</i>								
쥐 IgG	1.7 ± 0.8	1/5	87.7 ± 16.4	2.1 ± 0.2	3.7 ± 0.4	1.2 ± 0.5	1.5 ± 0.5	3.8 ± 1.0
항-p35	1.9 ± 0.7	1/5	98.2 ± 9.7	2.2 ± 0.1	3.7 ± 0.4	1.4 ± 0.4	1.5 ± 0.3	3.3 ± 0.2
항-p40	2.4 ± 0.8	0/5	71.7 ± 21.6	1.5 ± 0.4	2.9 ± 0.6	0.8 ± 0.5	1.3 ± 0.3	2.7 ± 0.6

^a 치료 (Tx) 1 일차에 그룹당 평균 임상 점수^b 임상 점수 (cs)

[0281]

[0282]

[표 4]

IL-12/p40 상의 p40 mAb 결합 에피토프에 기여하는 잔기

번호	잔기	sf	Sf 비
15	Trp	94.2	0.36
17	Pro	69.3	0.46
18	Asp	132.9	0.86
19	Ala	27.7	0.22
20	Pro	131.5	0.88
21	Gly	18.7	0.21
23	Met	142.4	0.66
40	Leu	32.7	0.16
41	Asp	69	0.45
42	Gln	145.8	0.77
43	Ser	58.2	0.46
45	Glu	139.2	0.74
46	Val	95.8	0.57
47	Leu	95	0.48
54	Thr	77.2	0.51
55	Ile	32.7	0.17
56	Gln	111	0.58
58	Lys	69.2	0.32
59	Glu	83.2	0.44
60	Phe	113.3	0.51
61	Gly	68.2	0.77
62	Asp	41.3	0.27

[0283]

[0284]

[표 5]

IL-12/p40 에피토프에 대한 결합에 관여하는 p40 mAb 상의 잔기

중쇄 잔기	1. 경쇄 잔기
S28	D1
T31	S30
Y32	W32
W33	Y49
D57	S56
R59	N92
R98	I93
R99	Y94
R100	
P101	
G102	
Q103	

[0285]

[0286]

실시예 5: 증가된 투여 간격을 사용한 임상 시험의 결과

[0287]

4주의 스크리닝 기간, 0주에서 28주까지의 개방 표지 치료전 기간, 28주에서 104주까지의 이중맹검 치료 기간, 116주까지의 치료후 기간 및 124주차에 전화 또는 현장 방문에 의한 연락을 통한 안전성 추적조사를 포함하는 3b상 무작위, 이중맹검, 활성 치료-대조, 다기관 연구에서 우스테키누맙을 연구하였다 (도 5: 연구 계획을 참조

한다). 이 연구는 프로토콜 번호 CNT01275PS03009에 하에 중등증 내지 중증 판상 건선(PSTELLAR)에 걸린 대상"의 "대상 맞춤형" 유지 투여 접근법을 평가하기 위한 "3b상 무작위, 이중 맹검, 활성-대조, 다기관 연구"라고 제목을 붙였다. 도 5에서, NR = 주어진 시점에서의 비반응자; R = 28주차에 반응자 [PGA < 2로 정의됨]의 무작위 배정 (28주차에 비반응자 [PGA ≥ 2로 정의됨]인 대상에게 추가의 연구 제제 주사를 중단하고, 마지막 연구 제제 주사 후 최소 20주 동안 안전성에 대해 추적한 다음, 연구에서 제외될 것임); UST = 우스테키누맙; $W_k(s) =$ 주.

[0288] 등록한 모든 대상은 우스테키누맙에 노출되었다. 28주 이전에는 매 주사 방문시, 기저선 체중이 100 kg 이하인 대상은 1회 주사 (우스테키누맙 45 mg)하고, 기저선 체중이 100 kg 초과인 대상은 2회 주사 (우스테키누맙 45 mg + 우스테키누맙 45 mg)하였다. 28주에서 104주까지의 매 주사 방문시, 치료 그룹 배정 및 주사 방문에 따라 기저선 체중이 100 kg 이하인 대상은 1회 주사 (우스테키누맙 45 mg 또는 위약)하고, 기저선 체중이 100 kg 초과인 대상은 2회 주사 (우스테키누맙 45 mg + 우스테키누맙 45 mg 또는 위약 + 위약)하였다 (표 7: 연구 제제 투여 스케줄을 참조한다). 기저선에서 결정된 연구 제제의 체중에 기반한 투여량을 연구 전체에 걸쳐 사용하였다. 28주차에, PGA가 깨끗함 (0) 또는 거의 깨끗함 (1)인 대상으로 정의되는 반응자는 4:1 비로 2개의 그룹으로 무작위 배정되는 반면에, 비반응자 (PGA 점수 > 2)는 연구에서 완전히 중단되었다.

[0289] 그룹 1 (n=76): 28주차부터 연구 마지막까지, 대상은 우스테키누맙의 고정된-간격 유지 투여 q12w를 받았다 (즉, 28주차, 40주차, 52주차, 64주차, 76주차, 88주차 및 100주차).

[0290] 그룹 2 (n=302): 28주차부터, 대상은 맞춤형 간격 유지 투여를 받았다. 위약 주사를 사용하여, 연구 약물 주사 사이의 기간을 연장하여 개별-맞춤형 유지 투여 간격을 정의하였다. PGA 반응의 소실이 관찰될 때까지 4주 충분으로 연구 약물 주사 없이 반응의 유지를 평가하여 각 대상에 대한 연구 약물 투여 간격을 결정하였다. 이 시점에서, 대상은 PGA 반응이 유지되는 가장 긴 기간으로 정의되는 연구 약물 투여 간격 (즉, 반응 소실이 보이는 시점보다 4주 짧음) 또는 반응이 24주에 걸쳐 유지되는 경우, 24주의 최대 투여 간격을 추정하였다. 따라서, 그룹 2의 대상 중에서 4개의 상이한 투여 간격을 연구하고, 각각의 치료 그룹을 그룹 2a, 2b, 2c 및 2d로 지정하였다:

[0291] a. 16주차 주사 16주 후에 (32주차 방문) 처음으로 반응이 소실되면 (PGA 점수 ≥ 2), 대상은 32주차부터 104주차 투여 방문까지 (즉, 32주차, 44주차, 56주차, 68주차, 80주차, 92주차 및 104주차) 우스테키누맙 q12w를 받는다.

[0292] b. 16주차 주사 20주 후에 (36주차 방문) 처음으로 반응이 소실되면 (PGA 점수 ≥ 2), 대상은 36주차부터 104주차 투여 방문까지 (즉, 36주차, 52주차, 68주차, 80주차, 84주차 및 100주차) 우스테키누맙 q16w를 받는다.

[0293] c. 16주차 주사 24주 후에 (40주차 방문) 처음으로 반응이 소실되면 (PGA 점수 ≥ 2), 대상은 40주차부터 104주차 투여 방문까지 (즉, 40주차, 60주차, 80주차 및 100주차) 우스테키누맙 q20w를 받는다.

[0294] d. 16주차 주사 24주 후에 (40주차 방문) 반응이 소실되지 않으면 (PGA 점수 < 2), 대상은 40주차부터 104주차 투여 방문까지 (즉, 40주차, 64주차 및 88주차) 우스테키누맙 q24w를 받는다.

[0295] 이중맹검 치료 기간 동안, 그룹 1 및 그룹 2의 대상은 투여 간격에 대한 맹검을 유지하기 위해 필요에 따라 위약 주사를 받았다. 그룹 2의 대상은 무작위 배정된 연구 기간 동안 적어도 3 사이클의 대상-맞춤형 간격 유지 투여를 받았다 (표 7: 연구 투여 스케줄을 참조한다).

[0296] * 무작위 배정: 28주차에, 무작위로 순열 배치된 블록을 사용하여, 깨끗함 (0) 또는 거의 깨끗함 (1)의 정적 PGA 점수를 갖는 대상을 1:4 비로 그룹 1 (승인된 q12w 유지 계획) 또는 그룹 2 ("대상-맞춤형" 간격 유지 계획)로 무작위 배정하였다. 28주차에 무작위 배정을 대상의 기전선에서의 체중 [$\leq 100 \text{ kg}$ 대 $> 100 \text{ kg}$] 및 PGA 점수 [0 또는 1]로 계층화하였다.

[0297] * 치료 지속 기간/시험 지속 기간: 0주차부터 104주차까지 대상에 연구 제제를 투여하였다. 이어서, 대상은 최소한 추가로 20주 동안 추적 조사를 받았고, 마지막 연구 방문은 124주차이다.

[0298] * 효능에 대한 1차 분석 세트: 1차 효능 분석은 28주차에 2개의 치료 계획 (그룹 1 또는 그룹 2) 중 하나에 무작위 배정된 모든 대상을 기반으로 하였다.

[0299] * 1차 효능 변수/1차 시점: 1차 종점은 28주차에 무작위 배정된 대상에 대해 88주차에서 112주차 사이 (평가

구간)에 깨끗함 (0) 또는 거의 깨끗함 (1)의 정적 PGA 점수를 얻은 방문 횟수이다. 평가 방문은 평가 구간 동안 4주마다 수행하였다.

• 주요 2차 효능 변수:

○ 28주차에 무작위 배정된 대상에서 28주차에서 112주차까지 방문하여 깨끗함 (0) 또는 거의 깨끗함 (1)의 정적 PGA 점수, 및 95% 신뢰 구간을 갖는 대상의 비율.

○ 28주차에 무작위 배정된 대상에서 88주에서 112주 사이에 PASI 75 반응을 얻은 대상의 방문 횟수.

○ 28주차에 무작위 배정된 대상에서 28주차에서 112주차까지 방문하여 PASI 75 반응 및 95% 신뢰 구간을 갖는 대상의 비율.

• 예상된 효과 크기 및 계획된 샘플 크기: 피닉스 1 및 피닉스 2의 데이터에 따르면, 28주 이전에 연구 중단, 또는 28주차 반응에서 깨끗함 (0) 또는 거의 깨끗함 (1)의 PGA 점수의 결여로 인해 등록한 500명의 대상 중 약 35%가 28주차에 무작위 배정을 받을 자격이 없을 것으로 예상되었다. 28주차에 1:4비로 무작위 배정을 받을 것으로 예상되는 325명의 대상은 대략 65명의 대상을 그룹 1 (q12w 유지 투여)에, 그리고 대략 260명의 대상을 그룹 2 (대상-맞춤형 유지 투여)에 제공할 것이다.

연구는 300명 초과의 대상에서 2개의 우스테키누맙 유지 그룹의 반응률을 평가하도록 설계되었다. 전체 약 325명의 무작위 배정된 대상은 88주에서 112주까지의 평가 기간 동안 64.9% 내지 85.9%의 95% 신뢰 구간 - 그룹 1 (n = 65; q12w 유지 투여)에서 약 75%의 반응 - 및 54.0% 내지 66.0%의 95% 신뢰 구간 - 그룹 2 (n = 260; 대상-맞춤형 유지 투여)에서 약 60%의 반응 -을 제공할 것이다.

주요 목적:

이러한 연구의 주요 목적은 우스테키누맙의 임상 효능에 대한 유지 투여 간격을 12주 간격 (q12w)을 넘어서 연장하는 것의 효과를 평가하는 것이다.

가장 중요한 결과 요약

CNT01275PS03009는 광선 요법 또는 전선의 전신 치료의 후보자였던, 3 이상의 PGA 및 10% 이상의 BSA 장애 (involvement)로 정의되는 중등도 내지 중증도의 팔상 건선에 걸린 18 내지 80세의 성인 대상에서의 3b상, 무작위, 이중맹검, 활성 치료-대조, 다기관 시험이다.

연구는 2012년 3월 8일에 첫 번째 대상을 스크리닝하여 시작되었다. 총 611명의 대상을 스크리닝하였는데, 그 중 478명의 대상이 연구에 등록되고, 378명의 대상이 28주차에 두 치료 그룹으로 무작위 배정되었으며, 그 중 하나의 그룹은 고정된 q12주 간격 유지 계획 (그룹 1)을 받았고, 다른 그룹은 대상-맞춤형 유지 투여 간격 계획 (그룹 2)을 받았다. 연구를 미국의 42개의 위치에서 수행하였다. 최종 데이터베이스 잠금(lock)은 등록된 모든 대상의 124주 까지의 데이터를 포함한다. 2012년 3월 22일에 첫 번째 대상에게

투여하였다. 첫 번째 대상을 2012년 10월 4일에 무작위 배정하고, 마지막 대상을 2013년 9월 16일에 무작위 배정하였다.

총 611명의 대상을 스크리닝하고, 478명의 대상을 최종적으로 연구에 등록하였다. 총 378명의 반응자 (PGA 0/1)를 28주차에 무작위 배정하였다 (80% 무작위 배정 비율). 이러한 무작위 배정 비율은 예상보다 높았는데, 이는 부분적으로 28주차에 PGA 스코어링의 주관적 특성 때문일 수 있다. 이러한 최종 데이터베이스 잠금은 등록된 모든 대상의 124주 까지의 데이터를 포함하였다.

치료 그룹 별 대상의 분포 및 대상 평가능력(Evaluability)

총 478명의 대상을 등록하고, 0주에서 28주까지의 치료전 기간인 개방 표지 기간 동안 승인된 US 체중에 기반한 투여 지침 (우스테키누맙 45 mg, n=308; 우스테키누맙 90 mg, n=170)을 사용하여 우스테키누맙으로 치료하였다. 총 378명의 대상을 28주차에 2개의 그룹으로 무작위 배정하였다: 12주 간격으로 고정된-간격 유지 투여 그룹 (그룹 1) 및 대상-맞춤형 간격 유지 투여 그룹 (그룹 2). 1:4 무작위 배정 비율을 사용하여, 총 76명의 대상을 그룹 1로 무작위 배정하고, 302명의 대상을 그룹 2로 무작위 배정하였다. 그룹 2에 분배된 환자는 각각 4개의 잠재적인 투여 간격으로 유지 투여를 받았다: q12w, n=84; q16w, n=61; q20w, n=51; 및 q24w, n=84.

[0315] 대상 인구통계

전체 등록된 대상 중에서, 대다수는 백인 (84.9%)이고, 남성은 63.0%이며, 중위 연령은 46세이었다. 모든 무작위 배정된 대상 중에서, 백인 (그룹 1은 76.7%, 그룹 2는 89.4%)과 남성 (그룹 1은 57.9%, 그룹 2는 63.6%)이 가장 많았다. 그룹 1의 중위 연령은 42세이고, 그룹 2의 중위 연령은 46세이었다.

[0317] 대상의 질환 특징

전체 등록된 대상 중에서, 기저선에서의 건선의 중위 지속 기간은 13.3년이고, 관련된 신체 표면적 (BSA)의 중위%는 19.0%이며, 중위 PASI 점수는 16.0이었다. 총 35.8%의 대상이 중증 질환과 일치하는 4 이상의 PGA 점수를 보였으므로, 대다수의 대상이 3의 기저선 PGA 점수로 정의된 중증도의 질환을 가졌다. 그룹 1 및 그룹 2에 무작위 배정된 대상의 기저선 질환 특징은 일반적으로 비견되며, 전체 등록된 집단의 것과 유사하였다. 그러나, 그룹 1의 대상은 평균적으로 그룹 2 (각각 11.8년 및 17.0% BSA)의 대상과 비교하여, 질환의 지속 기간 (17.5년)이 더 길고, 관련된 피부의 기준선 BSA (21.0%)가 더 높았다.

[0319] 대상의 건선 약물 병력

전체 등록 대상자 중 32.4%는 이전에 광선 요법을 받았고, 35.4%는 이전에 기존의 전신 요법 (PUVA, 메토트렉세이트, 아시트레틴, 사이클로스포린, 마이코페놀레이트 모페틸을 포함함)을 받았으며, 31.0%는 이전에 생물학적 요법을 받았다. 일반적으로, 그룹 1 및 그룹 2로 무작위 배정된 대상 중에서 비슷한 비율이 관찰되었다. 전체 등록된 대상 중 69.0%는 이전에 생물학적 사용을 받지 않았다(*naïve*). 기존의 전신 제제의 이전 사용은 그룹 1에서 39.5%로 그룹 2 (31.1%)보다 약간 높았다. 그룹 1 (64.5%)에 비해 그룹 2에서 더 높은 비율의 대상이 (74.5%) 이전의 생물학적 사용을 받지 않았다.

[0321] 연구 제제의 중단

개방 표지 기간 (0주차에서 28주차까지) 동안, 등록 대상의 20.9% (100/478)가 연구 제제의 사용을 중단하였다. 일반적으로, 45 mg 그룹 (19.8%)과 90 mg 그룹 (22.9%)에서 유사한 비율의 대상이 연구 제제를 중단하였다. 중단의 가장 보편적인 이유는 연구의 무작위 배정된 부분으로 진행하기 위한 자격인 28주차에 깨끗함 (0) 또는 거의 깨끗함 (1)의 정적 PGA 점수 [12.1% (58/478)]에 도달하지 못했기 때문이다. 무작위 배정된 투여 기간 (28주차에서 104주차까지) 동안, 22.2% (84/378)의 무작위 배정된 대상이 연구 제제를 중단하였다. 연구 제제의 중단의 가장 보편적인 이유는 그룹 1 대상에서는 추적조사 소실 (7.9%)이고, 그룹 2 대상에서는 이상 반응 (5.0%) 또는 동의 철회 (5.0%)이었다.

무작위 배정된 치료 기간 (28주차에서 104주차까지) 동안, 22.2% (84/378)의 무작위 배정된 대상이 연구 제제를 중단하였다. 중단율은 그룹 1과 그룹 2 사이에서 유사하였다 (표 8). 연구 제제의 중단의 가장 보편적인 이유는 그룹 1의 대상에서는 추적조사 소실 (7.9%)이고, 그룹 2의 대상에서는 이상 반응 (5.0%) 또는 동의 철회 (5.0%)이었다.

[0324] 효능 연구결과:[0325] 1차 종점-

● 88주차 내지 112주차의 평가 구간 동안 그룹 2는 그룹 1에 비해 대상이 깨끗함 (0) 또는 거의 깨끗함 (1)의 PGA 점수 (PGA 0/1)를 갖는 방문 횟수가 더 적었다 (평균 차이 -0.46) (평균적으로, 그룹 1은 4.5회 방문에서 PGA 0/1을 가졌고, 그룹 2는 4.1회 방문에서 PGA 0/1을 가짐).

○ 이러한 구간 동안, 평가 구간 동안 7회 방문 모두에서 그룹 1 (55.3%)은 그룹 2 (38.1%)에 비해 더 높은 비율의 대상이 0/1의 PGA 점수를 보였다.

[0328] 2차 종점-

● 88주차에서 112주차 사이에 그룹 2는 그룹 1에 비해 대상이 PASI 75를 갖는 방문 횟수가 더 적었다 (평균 차이 -0.32) (평균적으로, 그룹 1은 5.8회 방문에서 PASI 75를 가졌고, 그룹 2는 5.4회 방문에서 PASI 75를 가짐). 평가 구간 동안 대상이 PASI 75 반응을 보인 방문 횟수는 그룹 1 (69.7%)과 그룹 2 (66.9%)에서 유사하였다.

- [0330] • 무작위 배정 후 시간 경과에 따른 반응:
- [0331] ○ PGA 0/1 반응률은 투여 간격 결정 기간 (28주차에서 40주차) 동안 그룹 1 및 그룹 2에서 모두 감소하였다. 예상대로, 대상-맞춤형 투약 간격을 정의하는 것은 그룹 2 대상의 질병 악화에 기초하기 때문에, 그룹 1에 비해 그룹 2에서 더 큰 감소가 관찰되었다. 40주차 이후에는 두 그룹의 PGA 반응률이 일반적으로 112주차까지 유지되었다. 대부분의 방문에서 반응률은 그룹 2에 비해 그룹 1이 약간 높았다.
- [0332] ○ 일반적으로, PASI 75 반응의 패턴은 28주차에서 112주차까지의 PGA 반응을 반영하였다.
- [0333] ○ 112주차까지 깨끗함 (0)의 PGA, PASI 90 또는 PASI 100 반응을 달성한 대상의 비율은 일반적으로 그룹 2에 비해 그룹 1이 높았다. 그룹 1과 그룹 2의 차이의 크기는 PGA 0/1 및 PASI 75 종점에 비해 이러한 종점에서 더 컸다.
- [0334] 안전성 연구결과:
- [0335] 28주차에서 124주차까지 378명의 대상의 무작위 배정된 연구 집단의 경우:
- [0336] • 1회 이상의 AE를 경험한 대상의 비율은 두 치료 그룹 사이에 유사하였다 (그룹 1에서 72.4%, 그룹 2에서 72.8%).
- [0337] • 그룹 1 (46.1%)과 그룹 2 (48.7%; 그룹 1과 그룹 2를 합해 48.1%)에서 감염 및 체내침입 기관계 분류 (SOC) 가 가장 많이 보고된 AE이었다. 이러한 SOC에서 가장 흔한 AE는 URTI (그룹 1에서는 27.6%, 그룹 2에서는 19.5%)와 비인두염 (그룹 1에서는 9.2%, 그룹 2에서는 13.2%)이었다.
- [0338] • 하나 이상의 심각한 이상 반응 (SAE)이 있는 대상의 비율은 그룹 1의 경우 9.2%이고, 그룹 2의 경우 7.0%였다.
- [0339] • 하나 이상의 AE로 인해 연구 제제를 중단한 (DCAE) 대상의 비율은 그룹 1의 경우 6.6%이고, 그룹 2의 경우 5.6%였다.
- [0340] • 하나 이상의 감염에 걸린 대상의 비율은 두 치료 그룹 사이에 유사하였다 (그룹 1에서 48.7%, 그룹 2에서 45.7%). 두 그룹을 합해 가장 흔한 감염은 URTI (그룹 1에서 27.6%, 그룹 2에서 19.5%)와 비인두염 (그룹 1에서 9.2%, 그룹 2에서 13.2%)이었다.
- [0341] ○ 그룹 1의 대상의 경우 심각한 감염은 보고되지 않았고; 그룹 2의 3명의 대상에서 심각한 감염이 보고되었다.
- [0342] • 연구원은 2건의 주요 유해 심혈관 이벤트(MACE)를 보고하였다: 1건의 심근 경색증 (q24 주 투여 간격으로 90mg를 투여받는 그룹 2의 대상)과 1건의 뇌졸증 (q24 주 투여 간격으로 45mg를 투여받는 그룹 2의 대상).
- [0343] • 378명의 무작위 배정된 대상 중 적어도 1건의 악성종양에 걸린 대상이 10건 보고되었다: 비흑생종 피부 암 (NMSC)에 걸린 6명의 대상 및 다른 악성종양에 걸린 다른 4명의 대상.
- [0344] • 그룹 1의 대상 중에서는 주사 부위 반응 (ISR)이 보고되지 않았다. 그룹 2에서, ISR은 2.0%의 위약 주사 및 0.4%의 45 mg 주사와 관련이 되었으며; 모두 경미한 정도였다.
- [0345] • 혈액의 혈액학적 및 화학적 실험 값에서 현저하게 비정상적인 변화는 흔하지 않았다.
- [0346] 0주차에서 124주차까지 등록된 478명의 대상의 전체 연구 집단의 경우:
- [0347] • 연구 동안 2건의 사망이 보고되었다. 1건의 사망은 자연사이고, 다른 하나는 급성 골수성 백혈병 (AML)이었다. 개방 표지 기간 동안(0주차에서 28주차까지)에는 사망이 보고되지 않았다.
- [0348] • 124주 동안, 39명의 대상 (전체 등록 집단의 8.2%)이 하나 이상의 SAE를 경험하였다.
- [0349] ○ 7명 대상에서 (1.5%) 심각한 감염이 보고되었다.

[0350] ○기회 감염 또는 활성 TB 사례는 보고되지 않았다.

[0351] • 124주 동안, 전체 등록된 대상 중 7.3%의 대상이 하나 이상의 AE로 인해 연구 제제를 중단하였다.

[0352] • 연구 동안 우스테키누맙과 관련된 가능한 아나필락시스 또는 가능한 혈청병-유사 반응이 보고되지 않았다.

[0353] • 총 12명의 등록된 대상 (2.5%)에서 하나 이상의 악성종양 (NMSC 및 기타 악성종양을 포함함)이 보고되었다: BCC에 걸린 5명의 대상, 피부 SCC에 걸린 4명의 대상, 기타 악성종양에 걸린 6명의 대상.

[0354] • 3명의 대상 (0.6%)에서 3건의 MACE가 보고되었다: 2건의 심근경색증 및 1건의 뇌졸중.

결론:

[0356] • 대상-맞춤형 간격 유지 투여 (q12w, q16w, q20 또는 q24w)로 무작위 배정된 대상에 비교하여 28주차에 고정 간격 유지 투여 (q12w)로 무작위 배정된 반응자 중에서 특히 더 높은 수준의 효능 종점 (PGA 0, PASI 90 또는 PASI 100)에 대해 효능이 더 잘 유지되었다.

[0357] • 연구 기간 동안 새로운 안전성 신호가 관찰되지 않았으며, 안전성 연구결과는 무작위 배정된 두 그룹간에 유사하였다.

[0358] • RNA 및 DNA 분석을 통해 더 긴 투여 간격으로 반응을 유지하는 그룹 2의 대상에서 더 우수한 프로파일에 대한 다른 분석이 진행 중이다.

노출 정도

[0360] 28주차에서 124주차까지 무작위 배정된 대상 중에서 투여받은 우스테키누맙의 누적 투여량에 대한 요약이 제공된다. 연구 약물 투여의 평균 횟수는 각 치료 계획 및 기간 (그룹 1의 경우 6.1 및 그룹 2의 경우 4.1)에 대해 예상한 바와 같았다.

1차 종점 분석

1차 종점

[0363] 이러한 연구의 1차 종점은 28주차에 그룹 1 및 그룹 2로 무작위 배정된 대상이 88주차에서 112주차 사이에 (평가 구간) 깨끗함 (0) 또는 거의 깨끗함 (1)의 정적 PGA 점수를 갖는 방문 횟수이다.

[0364] 평가 구간은 4주마다 수행되는 총 7회의 방문을 포함하였다. 평가 구간 동안 대상이 깨끗함 (0) 또는 거의 깨끗함 (1)의 정적 PGA 점수를 갖는 평균 (95% 신뢰 구간) 방문 횟수를 그룹 1 및 그룹 2에 대해 계산하였다 (computed). 정규 분포의 가정 하에, 1차 종점에 대한 95% 신뢰 구간의 평균 차이가 제공되었다.

[0365] 88주차에서 112주차 사이에 대상이 (0) 또는 거의 깨끗함 (1)의 PGA 점수를 달성한 방문 횟수는 하기 표 9에 요약되어 있다.

[0366] 그룹 2는 그룹 1에 비해 평가 구간 동안 대상이 깨끗함 (0) 또는 거의 깨끗함 (1)의 PGA 점수를 갖는 방문 횟수가 더 적었다 (평균 차이 -0.46). 또한, 그룹 1 (55.3%)은 그룹 2 (38.1%)에 비해 더 높은 비율의 대상이 평가 구간 동안 7회 방문 모두에서 (0) 또는 거의 깨끗함 (1)의 PGA 점수를 보였다. 이러한 구간 동안, 평가 구간 동안 그룹 1 (55.3%)은 그룹 2 (38.1%)에 비해 7회 방문 모두에서 0/1의 PGA 점수를 갖는 대상의 비율이 더 높다는 점은 흥미롭다. 추가로, 평가 구간 동안 깨끗함 (0) 또는 거의 깨끗함 (1)의 PGA 반응을 갖는 방문이 없는 대상의 비율은 그룹 1 (22.4%) 및 그룹 2 (24.2%)에서 유사하였다.

하위그룹(subgroup) 분석

[0368] 일반적으로, 평가 구간 동안 대상이 깨끗함 (0) 또는 거의 깨끗함 (1)의 정적 PGA 점수 (PGA 0/1)를 달성한 방문 횟수에는 그룹 1 및 그룹 2의 다양한 분석된 하위그룹 중에서 실질적인 차이가 없었다. 하위그룹은 기저선 인구통계 특징, 기저선 질환 특징 및 건선 약물 병력이다. 일부 하위그룹에서 88주차에서 112주차 사이에 대상이 PGA 0/1을 달성하는 방문 횟수에서 약간의 가변성이 관찰되었고; 관찰된 가변성은 각 하위그룹의 제한된 샘플 크기에 기인할 수 있다.

주요 2차 종점(들) 분석

- [0370] 시간 경과에 따른 깨끗함 (0) 또는 거의 깨끗함 (1)의 PGA 점수, 또는 PASI 75 반응을 갖는 대상의 비율 (95% 신뢰 구간)에 대한 주요 2차 분석은 실제 받은 치료와 관계 없이 배정된 치료 그룹에 따라 28주차에 무작위 배정된 효능 평가 가능 대상을 기반으로 한다. 88주차에서 112주차의 평가 구간 동안 대상이 PASI 75 반응을 달성한 방문 횟수의 주요 2차 종점의 경우, 1차 분석에서 적용된 것과 동일한 누락 데이터 취급 규칙이 또한 사용되어, 모든 무작위 배정된 대상이 분석에 포함되었다.
- [0371] **무작위 배정된 대상 집단에서 28주차에서 112주차까지 깨끗함 (0) 또는 거의 깨끗함 (1)의 PGA 점수 반응**
- [0372] 그룹 1 및 그룹 2의 28주차에서 112주차까지의 시간 경과에 따른 깨끗함 (0) 또는 거의 깨끗함 (1)의 PGA 반응이 도 6에 요약되어 있다. PGA 0/1 반응률은 투여 간격 결정 기간 (28주차에서 40주차까지) 동안 두 그룹 모두에서 감소하였다 (도 6: 파일 상의 데이터). 예상대로, 대상-맞춤형 투약 간격을 정의하는 것은 그룹 2 대상의 질병 악화에 기초하기 때문에, 그룹 1에 비해 그룹 2에서 더 큰 감소가 관찰되었다. 40주차에, PGA 0/1을 달성한 대상의 비율은 그룹 1의 경우 67.1%이고, 그룹 2의 경우 56.4%이었다. 40주 이후에, 이전의 우스테키누맙 임상 시험에서 확인된 바와 같이, q12주 주사 사이의 시점에서의 변화에 기초한 반응의 주기성은 그룹 1에서 더 현저하게 관찰되었다. 그러나, 반응률은 일반적으로 q12 주 “트로프(trough)” 방문 (예를 들어, 40주차, 52주차, 64주차 등)에 유지되었으며, 이때 우스테키누맙의 다음 주사가 예정될 것이다. 그룹 2의 반응률 또한 일반적으로 112주 동안 시간경과에 따라 유지되었다. 대부분의 방문에서의 반응률은 그룹 2에 비해 그룹 1이 약간 더 높았다 (도 6).
- [0373] **28주차에 무작위 배정된 대상에 대하여 88주차에서 112주차 사이에 대상이 PASI 75 반응을 달성한 방문 횟수.**
- [0374] 평가 구간 동안 대상이 PASI 75 반응을 갖는 방문 횟수가 하기 표 10에 요약되어 있다. PGA 반응에 기초한 상응하는 분석과 유사하게, 그룹 2는 그룹 1에 비교하여 대상이 PASI 75 반응을 갖는 방문 횟수가 더 적고 (평균 -0.32 방문 차이); 평균적으로, 그룹 1은 5.8회의 방문에서 PASI 75를 가지며, 그룹 2는 5.4회의 방문에서 PASI 75를 가졌다. 게다가, 그룹 1 (69.7%) 및 그룹 2 (66.9%) 간에 PASI 75 반응을 갖는 환자의 유사한 비율이 각각 반응을 갖는 잠재적인 방문 횟수 (0 내지 7의 범위)에 대해 관찰되었다.
- [0375] 평가 구간 동안 대상이 PASI 75 반응을 갖는 방문 횟수에 대한 유사한 결과가 하위그룹 분석에서 관찰되었다.
- [0376] **28주차에 무작위 배정된 대상에 대하여 28주차에서 112주차까지의 방문에서 PASI 75 반응을 갖는 대상의 비율**
- [0377] 28주차에서 112주차까지 시간 경과에 따른 PASI 75 반응률이 도 7에 요약되어 있다. 일반적으로, 28주차에서 112주차까지 시간 경과에 따른 PASI 75 반응의 패턴은 PGA 0/1 반응에 대한 연구결과와 유사하다 (도 6: 파일 상의 데이터). 그러나, 28주차에서 40주차의 투여량 간격 결정 기간에서의 PASI 75 반응률의 감소는 이러한 간격에서 PGA 반응에 대해 관찰된 것에 비해 더 적다. 40주차 후에, 그룹 1 및 그룹 2의 반응률은 일반적으로 112주차까지 유지되었다. 44주차에서 112주차까지 대부분의 방문에서 그룹 1의 반응률은 그룹 2에 비교하여 그룹 1이 약간 더 높았다. PGA 0/1 반응에서 관찰된 것과 유사하게, PASI 75 반응에 대한 q12 주 주기성 패턴이 그룹 1에서 더 명백한 것으로 나타났다. PASI 측정이 신체 표면적 및 정량적인 (홍반, 비늘, 경화) 요소를 포함하므로, 이는 건선의 정량적 특징만을 설명하는 PGA 단독에 비해 시간 경과에 따른 전체 질환의 부담을 더 일관되게 나타내는 역할을 할 수 있다.
- [0378] **기타 2차 PGA 반응 종점**
- [0379] **28주차에 무작위 배정된 대상에 대해 28주차에서 112주차까지 깨끗함 (0)의 PGA 점수 및 경미하거나 더 우수한 PGA 점수 (≤ 2)**
- [0380] 28주차에서 112주차까지 시간 경과에 따른 깨끗함 (0)의 PGA 반응이 도 8에 요약되어 있다. 그룹 1 (우스테키누맙 q12w 유지 계획) 및 그룹 2 (우스테키누맙 대상-맞춤형 간격 유지 계획)에 대한 반응 곡선 사이의 분리는 무작위 배정 후 제1 방문 (32주차)부터 명백하며, 시간 경과에 따른 그룹 1의 반응률은 그룹 2의 것보다 일정하게 높았다. 두 그룹의 PGA 0 반응의 차이는, 특히 후기 시점에 PGA 0/1 또는 PASI 75 반응보다 더 명백하였다. 28주차에서 112주차까지 시간 경과에 따른 경미하거나 더 우수한 PGA 점수 (PGA ≤ 2)는 두 그룹에서 비견되며, 일반적으로 시간 경과에 따라 안정적이었다.
- [0381] **대상-맞춤형 간격 유지 계획 (그룹 2)의 대상의 28주차에서 112주차까지의 PGA 반응**
- [0382] 28주차에서 112주차까지 그룹 2의 깨끗함 (0)의 PGA 점수, 깨끗함 (0) 또는 거의 깨끗함 (1)의 PGA 점수 및 경미하거나 더 우수한 PGA 반응 (≤ 2)을 평가하였다 (파일 상의 데이터). 예상한 바와 같이, 깨끗함 (0) 및 깨끗함 또는 거의 깨끗함 (0 또는 1)의 PGA 반응의 경우, 그룹 2 q20 주 및 q24 주 군(arm)의 대상이 그룹 2 q12

주 및 q16 주 군의 대상보다 잘 수행되었다. 또한, 연구결과는 그룹 2로 무작위 배정된 초기 반응자의 25% 이상이 궁극적으로 이들의 투여 간격을 q24 주로 연장했으며, 이러한 대상의 대부분이 시간 경과에 따라 반응을 유지하였음을 나타낸다.

[0383] 기타 2차 PASI 반응 종점

[0384] 대상-맞춤형 간격 유지 계획 (그룹 2)의 대상의 28주차에서 112주차까지의 PASI 반응

그룹 2의 28주차에서 112주차까지의 시간 경과에 따른 PASI 50, PASI 75, PASI 90 및 PASI 100을 평가하였다 (파일 상의 데이터). 예상한 대로, PASI 75, PASI 90 및 PASI 100의 경우, 그룹 2의 q24w 투여 계획의 대상이 그룹 2의 다른 그룹의 대상보다 더 우수한 반응을 보이는 것으로 관찰되었다.

[0386] 대상-맞춤형 간격 유지 계획 (그룹 2)의 대상에 대하여 대상이 88주차에서 112주차 사이에 PASI 75 반응을 갖는 방문 횟수

28주차에서 112주차 사이에 그룹 2 대상이 PASI 75 반응을 갖는 방문 횟수의 결과가 하기 표 11에 요약되어 있다. 88주차에서 112주차까지 대상이 PASI 75 반응을 갖는 평균 방문 횟수는 투여 간격 길이와 나란히 증가하였다.

[0388] 28주차에 무작위 배정된 대상의 28주차에서 112주차까지의 PASI 90 반응

28주차에서 112주차까지의 PASI 90 반응률이 도 9에 요약되어 있다 (파일 상의 데이터). 그룹 1 (우스테키누맙 q12w 유지 계획) 및 그룹 2 (우스테키누맙 대상-맞춤형 간격 유지 계획)에 대한 반응 곡선 사이의 분리가 무작위 배정 후 첫 방문 (32주차)에서 또한 관찰되어, 108주차까지 유지되었다 (도 9). PASI 90 반응을 달성하고 유지한 대상의 비율은 그룹 2에 비해 그룹 1이 더 높았다. 그룹 1 및 그룹 2의 PASI 90 반응 곡선의 분리는 PGA 0/1 및 PASI 75 반응 곡선에 대한 연구결과에 비교하여 더 명백하다.

[0390] 안전성

[0391] 안전성 평가는 무작위 배정된 치료 그룹을 비교하는 28주차에서 124주차까지 이어지는 연구의 이중맹검된 부분에 중점을 둔다. 124주차까지의 보조 데이터가 또한 제공된다. 하기 표 12는 28주부터 124주차까지의 주요 안전성 결과의 개요를 제공한다.

[0392] 모든 이상 반응

[0393] 28주차에서 124주차까지, 28주차에 무작위 배정된 치료 대상의 경우:

[0394] ● 하나 이상의 AE를 경험한 대상의 비율은 그룹 1 (72.4%) 및 그룹 2 (72.8%)에서 유사하며; 표 12를 참조한다 (파일 상의 데이터). AE는 그룹 1 (46.1%) 및 그룹 2 (48.7%; 그룹 1 및 그룹 2 합해 48.1%)에서 감염 및 체내침입 기관계 분류 (SOC)로 가장 흔하게 보고되었다.

[0395] ● 이러한 SOC에서 가장 흔한 AE는 URTI (그룹 1에서 27.6%, 그룹 2에서 19.5%)와 비인두염 (그룹 1에서 9.2%, 그룹 2에서 13.2%)이었다.

[0396] 0주차에서 124주차까지, 전체 등록된 대상의 경우:

[0397] ● 전체적으로, 대상의 72.6%가 하나 이상의 AE를 경험하였다. 유사하게, AE는 감염 및 체내침입 SOC (49.8%)로 가장 흔하게 보고되었고, URTI (19.9%)와 비인두염 (13.8%)이 가장 흔하게 보고되는 AE이었다.

[0398] 사망, 기타 심각한 이상 반응 및 기타 유의한 이상 반응

[0399] 사망

[0400] 124주 동안 2명이 사망하였다. 한 명 (001009010)은 자연사로 사망한 것으로 보고되었다. 상기 대상은 우스테키누맙 90 mg으로 치료받았고, 그룹 1의 고정된 간격 q12 주 치료군으로 무작위 배정되었다.

[0401] 다른 한 명 (001029005)은 급성 골수성 백혈병 (AML)으로 사망하였다. 상기 대상은 등록 전에 혈소판 수치가 상승하였으며, 제1 연구 투여 2년 후에 AML로 진단받았다. 이러한 대상은 우스테키누맙 90 mg을 받았고, 그룹 2 대상-맞춤형 q12 주 치료군이었다.

[0402] 기타 심각한 이상 반응

- [0403] 28주차에 무작위 배정된 치료 대상 중 124주 동안 하나 이상의 심각한 이상 반응 (SAE)을 경험한 대상의 비율은 그룹 1 (9.2%) 및 그룹 2 (7.0%) 모두에서 낮았다 (표 5). 특별한 패턴의 SAE가 관찰되지 않았으며, 대부분의 SAE는 1회성의 분리된 이벤트로 보고되었다. 전체 등록된 대상 중에서 8.2% (39/478)가 0주차에서 124주차까지 하나 이상의 SAE를 경험하였다 (파일 상의 데이터).
- [0404] **연구 제제 중단을 초래한 이상 반응**
- [0405] 무작위 배정된 치료 대상 중에서, 하나 이상의 AE로 인해 28주차에서 124주차 사이에 연구 제제를 중단한 (DCAE) 대상의 비율은 낮았다 (그룹 1의 경우 6.6%, 그룹 2의 경우 5.6%) [표 12 참조]. 중단을 초래하는 AE의 패턴이 관찰되지 않았으며, 대부분이 1회성 이벤트로 보고되었다.
- [0406] 전체 등록된 대상 중에서, 0주차에서 124주차 사이에 7.3%가 하나 이상의 AE로 인해 연구 제제를 중단하였다 (파일 상의 데이터).
- [0407] **감염, 심각한 감염 및 치료가 필요한 감염**
- [0408] 무작위로 배정된 치료 대상 중에서, 그룹 1 및 그룹 2의 대상 중 상당한 비율이 (48.7% 및 45.7%, 각각; 표 5) 28주차에서 124주차 사이에 하나 이상의 감염을 경험하였다. 가장 흔한 감염은 URTI (그룹 1의 대상의 27.6% 및 그룹 2에서 19.5%) 및 비인두염 (그룹 1의 대상의 9.2% 및 그룹 2에서 13.2%)이었다.
- [0409] 그룹 1에서 심각한 감염은 보고되지 않았으며, 그룹 2의 대상 중에서 3건의 심각한 감염이 보고되었다 (표 12). 보고된 심각한 감염은 1건의 박테리아성 감염, 1건의 방광염 및 1건의 요로감염을 포함하였다.
- [0410] 경구 또는 비경구 항미생물 치료가 필요한 감염이 그룹 1 대상 76명 중 18명 (23.7%) 및 그룹 2 대상 302명 중 70명 (23.2%)에서 보고되었다 (표 12 참조). 전체적으로, URTI가 가장 흔한 유형의 치료가 필요한 감염이었다 (그룹 1에서 5.3%; 그룹 2에서 5.0%).
- [0411] 전체 등록된 대상 중에서, 47.3%가 0주차에서 124주차 사이에 하나 이상의 감염을 경험하였다 (파일 상의 데이터). 가장 일반적으로 보고되는 감염은 URTI (19.9%)와 비인두염 (11.7%)이었다. 하나 이상의 심각한 감염에 걸린 대상의 비율은 1.5%이었다 (파일 상의 데이터). 124주 동안 활성 TB 또는 기회 감염은 보고되지 않았다.
- [0412] **주사 부위 반응**
- [0413] 28주차에서 124주차 사이에, 위약 또는 45 mg 주사한 그룹 1 대상 중에서 주사 부위 반응 (ISR)이 보고되지 않았다. 그룹 2 대상 중에서, 6건의 ISR은 위약 (2.0%) 투여와 관련이 있었고, 1건의 ISR은 우스테키누맙 45의 주사(0.4%)로 인한 것으로 관찰되었다. 모든 보고된 ISR은 경미한 중증도이었다 (파일 상의 데이터).
- [0414] **우스테키누맙과 관련된 가능한 아나필락시스 또는 가능한 혈청병-유사 반응**
- [0415] 대상은 124주 동안 연구 제제 투여와 관련된 가능한 아나필락시스 반응 또는 가능한 혈청병-유사 반응을 경험하지 않았다.
- [0416] **악성종양**
- [0417] 무작위 배정된 치료대상 중에서, 28주차에서 124주차 사이에 10건의 하나 이상의 악성종양이 보고되었다 (표 12). 378명 중 6명의 대상 (1.6%)이 비흑생종 피부암 (NMSC)에 걸렸는데, 이는 76명 중 2명의 그룹 1 대상 (2.6%) 및 302명 중 4명의 그룹 2 대상 (1.3%)을 포함하였다.
- [0418] 378명 중 4명 (1.1%)의 무작위 배정된 치료 대상에서 기타 유형의 악성종양이 보고되었다. 76명 중 1명의 그룹 1 대상 (1.3%)은 이행 세포 방광암 (45 mg 투여)에 걸렸다. 302명 중 3명의 그룹 2 대상 (1.0%)은 악성종양에 걸렸는데, 이는 각각 1건의 췌장암 (45 mg 투여), 급성 골수성 백혈병 (90 mg 투여) 및 만성 골수성 백혈병 (90 mg 투여)을 포함하였다.
- [0419] 전체 등록된 대상 중에서, 악성종양 (NMSC 및 기타 악성종양을 포함함) 2.5% (12/478)가 0주차에서 124주차 사이의 악성종양을 보고하였다. 상술한 것들 외에도 무작위 배정된 치료 대상 중에서 3건의 NMSC 및 2건의 기타 악성종양 (1건의 결장암 (90 mg 투여) 및 1건의 전립선암 (90 mg 투여))이 보고되었다.
- [0420] **심혈관 이벤트**
- [0421] 28주차에서 124주차 사이에 2건의 연구원이 보고한 MACE가 무작위 배정된 치료 환자 중에서 관찰되었다. q24 주 간격군에서 우스테키누맙 90 mg을 받은 1명의 그룹 2 대상 (대상 001050002)은 심근경색증에 걸렸고, q24 주

간격군에서 우스테키누맙 45 mg을 받은 1명의 그룹 2 대상 (대상 001027002)은 또한 뇌졸중에 걸렸다. 다른 추가의 연구원이 보고한 MACE인 심근경색증이 우스테키누맙 45 mg을 받은 대상 (대상 001029007)에서 28주차 전에 발생하였다.

[0422] 실험실 측정치

• 28주차에서 124주차 사이에 일부 대상에서 혈액학적 실험실 값의 현저하게 비정상적인 변화가 관찰되었지만, 현저하게 비정상적인 실험값은 일반적으로 낮으며, 그룹 1과 그룹 2 사이에 유사하였다 (파일 상의 데이터). 가장 흔하게 보고되는 혈액학적 실험 값의 현저하게 비정상적인 변화는 림프구 감소이었다 (5.3% [20/378]). 1회 초과로 발생하는 현저하게 비정상적인 혈액학적 실험 값은 그룹 2에서만 관찰되며, 이는 증가된 WBC (0.3%), 감소된 림프구수 (1.3%) 및 증가한 호산구수 (0.3%)를 포함하였다.

• 일부 대상에서 화학 실험실 값의 현저하게 비정상적인 변화가 또한 관찰되었다 (파일 상의 데이터). 현저하게 비정상적인 실험값의 비율은 그룹 1 및 그룹 2 모두에서 일반적으로 낮았다. 1회 초과로 발생하는 현저하게 비정상적인 변화는 단지 알칼리성 포스파타아제, ALT, AST 및 총 빌리루빈 수준의 상승이었으며, 이들 모두는 그룹 2 대상에서 낮은 비율로 관찰되었다. 그룹 1 및 그룹 2 모두에서 발생하는 가장 흔한 현저하게 비정상적인 변화는 상승된 ALT 수준이었다 (3.2% [12/378]).

[0425] 면역원성

평가할 수 있는 샘플을 포함하는 우스테키누맙-치료 집단 중에 124주 동안, 455명 중 63명 (13.8%)의 환자가 우스테키누맙에 대한 항체 시험에서 양성 반응을 보였다. 이러한 비율은 그룹 1 (n=7; 9.2%) 및 그룹 2 (n=32; 10.6%)에서 45mg 투여량 (n=41; 13.9%)을 받은 환자 및 90mg 투여량을 받은 환자 (n=22; 13.7%) 중에서 비슷하다. 대다수의 항체-양성 환자 (63명 중 33명)는 역가가 1:800 이하이다. (충분한 혈청 샘플을 가진 항체-양성 환자로부터의) 대부분의 항체는 시험관 내에서 우스테키누맙의 생물활성을 중화시킬 수 있었다 (62명 중 47명; 75.8%). (다회의 중단과 재치료 주기와 비슷한) 주사 중간에 우스테키누맙 농도를 측정할 수 있는 수준 이하로 감소시킬 수 있는 시험 투여 간격에서, 개발한 항-약물 항체에 대한 감수성 증가가 확인되지 않았다. 이러한 결과는 투여 간격을 최대 24-주 간격으로 증가시킬 때 면역원성의 위험성이 증가하지 않는다는 것을 의미한다.

[0427] 28주차에 PGA=0의 예측 값

24-주 투여 간격을 사용하여 시간 경과에 따라 임상 반응을 안정적으로 유지하는 그룹 2 환자는 초기 치료전 치료 기간 동안 일반적으로 가장 엄격한 측정에 대해 높은 수준의 반응을 보였다. 24-주 투여 간격 하위그룹 환자의 높은 비율이 28주차에 0의 PGA를 가지므로 (표 6), 이러한 반응의 파라미터가 이러한 간격에서 임상 반응을 유지하는 능력에 대한 예측 마커가 될 수 있는지의 유용성이 평가되었다. 28주차에 PGA=0을 달성한다는 것은, 88주차에서 112주차까지의 평가 기간 동안 7회의 방문 중 5회 이상에서 12주보다 긴 임의의 투여 간격 (예를 들어, 16주, 20주, 24주)으로 0 또는 1의 PGA를 유지하는 것에 대한 60%의 PPV와 상관관계가 있다. 또한, 7회의 방문 모두에서, 12주보다 긴 임의의 투여 간격으로 0 또는 1의 PGA를 유지하는 것에 대한 PPV는 44%이었다. 28주차에 PGA=0을 달성한다는 것은, 88주차에서 112주차까지의 평가 기간 방문 7회의 방문 중 5회 이상 및 7회의 방문 모두에서 0의 PGA에 대한 PPV가 각각 44% 및 32%와 상관관계가 있다. 표 6에 나타낸 바와 같이, 이러한 측정에 대한 민감도 및 특이성의 범위는 61 내지 75%이었다.

[0429]

[표 6]

28주차에 무작위 분배된 모든 환자 중에서 q12-24wk 반응-기반 투여에 대한 장기 반응을 예측하는 28주차에 PGA=0의 능력

88주차에서 112주차 동안 2 미만의 PGA를 갖는 방문

민감도

특이성

투여 간격 유지	(TPR) ^a	(FPR) ^b	PPV ^c	NPV ^d
q24wk 유지 투여				
≥ 5회 방문	75%	72%	44% ^a	91% ^b
7회 방문	75%	69%	32% ^a	93% ^b
q20wk 또는 q24wk 유지 투여				
≥ 5회 방문	66%	74%	53%	83%
7회 방문	69%	70%	41%	88%
>q12wk 유지 투여 ^e				
≥ 5회 방문	61%	75%	60%	76%
7회 방문	63%	70%	44%	88%

^a민감도, 또는 “진양성 비율”(True Positive Rate; TPR)은 예측 마커 또는 시험에 의해 정확하게 확인할 수 있는

비q12w 또는 q24w 유지 하위그룹 환자의 비율을 나타낸다.

^b특이성, 또는 “진음성 비율”(True Negative Rate; TNR)은 예측 마커가 음성인 경우 제안되는 예측 그룹에서 배제되어야 하는 환자의 비율을 나타낸다.

^cPPV는 예측 마커가 양성인 경우 주어진 결과의 가능성, 즉 사후 시험의 양성 결과 가능성을 나타낸다. 추가 설명으로, 이러한 특정 PPV는 117/302명의 그룹 2 환자가 28주차에 PGA=0을 가지며, 88주차에서

112주차 동안 5회 이상의 방문에서 51/117(44%) 명의 환자가 q24wk 유지 투여를 받아, PGA<2를 갖는다는 관찰결과에 기초한다. 유사하게, 88주 내지 112주 동안 7회의 방문 모두에서 이러한 그룹 2 q24wk 환자의 38/117(32%)명이 2 미만의 PGA가 가졌다.

^dNPV는 예측 마커가 음성인 경우, 음성 결과의 가능성, 즉 음성 결과의 사후 시험 가능성을 나타낸다. 추가 설명으로, 이러한 특정 NPV는 28주차에 PGA=1인 17/185명의 그룹 2 환자가 q24wk 유지 투여로 치료되며, 88주차에서 112주차 사이에 5회 이상의 방문에서 PGA<2를 가지며 (NPV=[185-17]/185=91%),

13/185명이 7회 방문 모두에서 PGA<2를 가진다는 관찰 결과에서 비롯된다 (NPV=[185-13]/185=93%).

^e> q12wk는 q16wk, q20wk 및 q24wk 유지 투여 간격을 포함한다.

FPR – 위양성 비율, NPV – 음성 예측 값, PGA – 임상의의 전반적 평가, PPV – 양성 예측 값, q12/16/20/24wk – 폐 12/16/20/24주, TPR – 진양성 비율

[0430]

[표 7]

연구 제제 투여 스케줄

개방 포지 치료전 기간 주수	제거할 (0) 또는 거의 제거할 (1)의 정직 PGA 점수를 갖는 대상은 28주차에 2 개의 치료 그룹 중 하나로 무작위 배정될 것이다. 그룹 1은 승인된 유지 계획을 받을 것이다. 그룹 2에서, 반응의 소실 시점 (PGA 점수 ≥ 2로 정의됨) 유지 계획을 결정할 것이다.*	이중맹검 치료 기간 (주)																	
		28 ^b	32 ^b	36 ^b	40 ^b	44	48	52	56	60	64	68	72	76	80	84	88	92	96
A A A	그룹 1: 승인된 계획에 따른 유지 투여 (28 주에 시작한 우스테키누맙 q12w)	A	P	P	A	P	A	P	P	A	P	A	P	P	A	P	A	P	
A A A	그룹 2a: 16주차 주사 16주 후에 (즉, 32 주차 방문) 반응이 소실되면, 대상은 32 주차부터 우스테키누맙 q12w를 받을 것이다	P	A	P	P	A	P	A	P	P	A	P	A	P	P	A	P	A	A
A A A	그룹 2b: 16주차 주사 20주 후에 (즉, 36 주차 방문) 반응이 소실되면, 대상은 36 주차부터 우스테키누맙 q16w를 받을 것이다	P	P	A	P	P	A	P	P	P	A	P	P	A	P	P	A	P	
A A A	그룹 2c: 16주차 주사 24주 후에 (즉, 40 주차 방문) 반응이 소실되면, 대상은 40 주차부터 우스테키누맙 q20w를 받을 것이다	P	P	P	A	P	P	P	A	P	P	P	A	P	P	A	P		
A A A	그룹 2d: 16주차 주사 24주 후까지 (즉, 40 주차 방문) 반응이 소실되지 않으면, 대상은 40 주차부터 우스테키누맙 q24w를 받을 것이다	P	P	P	A	P	P	P	P	A	P	P	P	A	P	P	P		

A = 45 mg 우스테키누맙 (체중이 100 kg 이하인 대상의 경우) 또는 90 mg 우스테키누맙 (체중이 100 kg 초과인 대상의 경우)을 사용한 적극적인 치료

P = 위약

■ = 연구 제제 투여 없음

a. 28주차에 제거할 (0) 또는 거의 제거할 (1)의 정직 PGA를 달성하지 못하거나, 28주차 전에 연구 제제를 중단한 대상은 28주차 전에 (즉, 0주차, 4주차, 16주차 주사)

3개의 연구 제제 주사를 모두 받지 못했고, 추가의 연구 제제 주사를 받는 것이 중단될 것이다, 마지막 연구 제제 주사 후 최소 20주 동안 안전성을 위해 추적 조사된 다음, 연구에서 제외될 것이다.

b. 이러한 방문에서, PGA 점수는 IVRS/IWRS에 입력되어야 한다. 이러한 방문에서, 질환 활성에 기초하여 연구 제제를 배분하기 위해 방문 시간을 특별히 고려해야 한다.

참고: 방문한 때마다, 대상에게 1회 2 회의 주사를 두여할 것이다. 치료 그룹 배정 및 방문에 따라 체중이 100 kg 이하인 대상에게는 1 회 주사 (45 mg 우스테키누맙 또는 위약), 체중이 100 kg 초과인 대상에게는 2 회 주사 (45 mg 우스테키누맙 + 45 mg 우스테키누맙 또는 위약 + 위약)를 두여할 것이다. 기저선에서 체중은 사용하여 결정되는 연구 제제의 투여량은 연구 체계에 걸쳐 사용되는 투여량일 것이다.

[0432]

[0433]

[표 8]

28주차에서 104주차 동안 연구 제제를 중단한 대상의 수; 28주차에 무작위 배정된 모든 대상(연구 CNT01275PSO3009)							
분석 세트: 28주차에 무작위 배정된 모든 대상	그룹 2 우스테키누맙 대상-맞춤형 간격 유지 계획						
	그룹 1 우스테키누맙 q12w 유지 계획	무작위 배정된 모든 대상					
		q12w	q16w	q20w	q24w	총량	
76	302	84	61	51	84	378	
연구 제제를 중단한 대상	17 (22.4%)	67 (22.2%)	17 (20.2%)	7 (11.5%)	7 (13.7%)	14 (16.7%)	84 (22.2%)
중단 이유							
이상 반응	4 (5.3%)	15 (5.0%)	4 (4.8%)	3 (4.9%)	2 (3.9%)	3 (3.6%)	19 (5.0%)
사망	1 (1.3%)	0	0	0	0	0	1 (0.3%)
효능 부족	2 (2.6%)	8 (2.6%)	4 (4.8%)	2 (3.3%)	1 (2.0%)	1 (1.2%)	10 (2.6%)
추적조사 실패	6 (7.9%)	12 (4.0%)	3 (3.6%)	0	3 (5.9%)	3 (3.6%)	18 (4.8%)
임신	0	3 (1.0%)	1 (1.2%)	0	0	0	3 (0.8%)
프로토콜 위반	0	4 (1.3%)	1 (1.2%)	0	0	0	4 (1.1%)
스폰서에 의한 연구 중단	0	0	0	0	0	0	0
동의서 철회	2 (2.6%)	15 (5.0%)	3 (3.6%)	1 (1.6%)	0	6 (7.1%)	17 (4.5%)
기타	2 (2.6%)	10 (3.3%)	1 (1.2%)	1 (1.6%)	1 (2.0%)	1 (1.2%)	12 (3.2%)

[0434]

[TSIDS01B.RTF] [CNT01275PSO3009\DBR_WEEK_124\RE_WEEK_124_CSR\PREPROD\TSIDS01B.SAS] 30SEP2015, 10:53

[0435]

[표 9]

88주차에서 112주차 사이에 대상이 깨끗함(0) 또는 거의 깨끗함(1)의 PGA 점수를 달성했던 방문 횟수; 28주차에 무작위 배정된 모든 대상(연구 CNT01275PSO3009)								
분석 세트: 28주차에 무작위 배정된 모든 대상	그룹 1 우스테키누맙 q12w 유지 계획			그룹 2 우스테키누맙 대상- 맞춤형 간격 유지 계획				
	76	302	76	302	4.5 (3.07)	4.1 (2.93)	(3.81; 5.21)	(3.72; 4.39)
N ^a	76	302	76	302	7.0	5.0	(0; 7)	(0; 7)
평균 (SD)	4.5 (3.07)	4.1 (2.93)	(3.81; 5.21)	(3.72; 4.39)				
평균 ^b 의 95% 신뢰 구간								
중위값	7.0	5.0						
범위	(0; 7)	(0; 7)						
IQ 범위	(1.0; 7.0)	(1.0; 7.0)						
치료 그룹 간 차이			-0.46					
95% 신뢰 구간 ^b			(-1.20; 0.29)					
대상이 깨끗함(0) 또는 거의 깨끗함(1)의 PGA 점수를 갖는 방문 횟수								
0	17 (22.4%)	73 (24.2%)						
1	6 (7.9%)	19 (6.3%)						
2	2 (2.6%)	17 (5.6%)						
3	3 (3.9%)	17 (5.6%)						
4	2 (2.6%)	16 (5.3%)						
5	2 (2.6%)	20 (6.6%)						
6	2 (2.6%)	23 (7.6%)						
7	42 (55.3%)	117 (38.7%)						

^a 치료 실패 규칙을 적용한 후, 88주차에서 112주차 사이에 임의의 데이터가 누락된 대상을 하기와 같이 처리하였다:

(1) 누락 방문이 간헐적이면, 누락 값을 누락 방문 전후에 사용 가능한 값의 거리에 비례하는 가중 평균으로 대체하였다(방문 동안 선형 관계가 가정됨). 생성된 점수는 가까운 정수로 반올림하였다.

(2) 누락 방문이 간헐적이지 않다면, 즉, 누락 방문 후 이용 가능한 데이터가 없다면, 최근 관찰치 적용 방법(last observation carried forward method)을 사용하여 누락 데이터를 대체하였다.

^b 95% 신뢰 구간은 정상 균사치를 기반으로 하였다.

[TEFPGA01A.RTF] [CNT01275PSO3009\DBR_WEEK_124\RE_WEEK_124_CSR\PROD\TEFPGA01A.SAS]
01OCT2015, 14:17

[0436]

[0437]

[표 10]

88주차에서 112주차 사이에 대상이 PASI 75 반응을 달성한 방문 횟수; 28주차에 무작위 배정된 모든 대상
(연구 CNTO1275PSO3009)

	그룹 1 우스테키누맙 q12w 유지 계획		그룹 2 우스테키누맙 대상- 맞춤형 간격 유지 계획	
분석 세트: 28주차에 무작위 배정된 모든 대상	76		302	
N ^a	76		302	
평균 (SD)	5.8 (2.31)		5.4 (2.61)	
평균 ^b 의 95% 신뢰 구간	(5.23; 6.29)		(5.15; 5.74)	
중위값	7.0		7.0	
범위	(0; 7)		(0; 7)	
IQ 범위	(6.0; 7.0)		(5.0; 7.0)	
치료 그룹간 차이			-0.32	
95% 신뢰 구간 ^b			(-0.96; 0.33)	
대상이 PASI 75 반응을 갖는 방문 횟수				
0	7 (9.2%)		43 (14.2%)	
1	2 (2.6%)		7 (2.3%)	
2	0		8 (2.6%)	
3	5 (6.6%)		5 (1.7%)	
4	1 (1.3%)		9 (3.0%)	
5	2 (2.6%)		11 (3.6%)	
6	6 (7.9%)		17 (5.6%)	
7	53 (69.7%)		202 (66.9%)	

^a 치료 실패 규칙을 적용한 후, 88주차에서 112주차 사이에 임의의 데이터가 누락된 대상을 하기와 같이 처리하였다:

- (1) 누락 방문이 간헐적이면, 누락 값을 누락 방문 전후에 사용가능한 값의 거리에 비례하는 가중 평균으로 대체하였다(방문 동안 선형 관계가 가정됨).
- (2) 누락 방문이 간헐적이지 않다면, 즉, 누락 방문 후 이용가능한 데이터가 없다면, 최근 관찰치 적용 방법을 사용하여 누락 데이터를 대체하였다.

^b 95% 신뢰 구간은 정상 근사치를 기반으로 하였다.

[TEFPASI01.RTF] [CNTO1275\PSO3009\DBR_WEEK_124\RE_WEEK_124_CSR\PROD\TEFPASI01.SAS]
01OCT2015, 14:16

[0438]

[0439]

[표 11]

88주차에서 112주차 사이에 대상이 PASI 75 반응을 달성했던 방문 횟수; 28주차에 우스테키누맙 대상-맞춤형 간격 유지 계획으로 무작위 배정된 대상 (연구 CNTO1275PSO3009)

	그룹 2 우스테키누맙 대상-맞춤형 간격 유지 계획				
	무작위 배정된 모든 대상				
	q12w	q16w	q20w	q24w	
분석 세트: 28주차에 우스테키누맙 대상- 맞춤형 간격 유지 계획에 배정된 대상	84	61	51	84	302
N ^a	84	61	51	84	302
평균 (SD)	4.7 (3.03)	5.2 (2.73)	5.6 (2.37)	6.3 (1.67)	5.4 (2.61)
평균 ^b 의 95% 신뢰 구간	(4.07; 5.38)	(4.53; 5.93)	(4.92; 6.25)	(5.97; 6.70)	(5.15; 5.74)
중위값	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0
범위	(0; 7)	(0; 7)	(0; 7)	(0; 7)	(0; 7)
IQ 범위	(1.0; 7.0)	(3.0; 7.0)	(5.0; 7.0)	(7.0; 7.0)	(5.0; 7.0)
대상이 PASI 75 반응을 갖는 방문 횟수					
0	20 (23.8%)	9 (14.8%)	5 (9.8%)	3 (3.6%)	43 (14.2%)
1	3 (3.6%)	1 (1.6%)	2 (3.9%)	1 (1.2%)	7 (2.3%)
2	3 (3.6%)	4 (6.6%)	1 (2.0%)	0	8 (2.6%)
3	0	2 (3.3%)	0	3 (3.6%)	5 (1.7%)
4	2 (2.4%)	3 (4.9%)	2 (3.9%)	2 (2.4%)	9 (3.0%)
5	2 (2.4%)	0	4 (7.8%)	5 (6.0%)	11 (3.6%)
6	8 (9.5%)	2 (3.3%)	6 (11.8%)	1 (1.2%)	17 (5.6%)
7	46 (54.8%)	40 (65.6%)	31 (60.8%)	69 (82.1%)	202 (66.9%)

^a 치료 실패 규칙을 적용한 후, 88주에서 112주 사이에 임의의 데이터가 누락된 대상을 하기와 같이 처리하였다:

- (1) 누락 방문이 간헐적이면, 누락 값을 누락 방문 전후에 사용가능한 값의 거리에 비례하는 가중 평균으로 대체하였다(방문 동안 선형 관계가 가정됨).
- (2) 누락 방문이 간헐적이지 않다면, 즉, 누락 방문 후 이용가능한 데이터가 없다면, 최근 관찰치 적용 방법을 사용하여 누락 데이터를 대체하였다.

^b 95% 신뢰 구간은 정상 근사치를 기반으로 하였다.

[TEFPASI04.RTF] [CNTO1275\PSO3009\DBR_WEEK_124\RE_WEEK_124_CSR\PROD\TEFPASI04.SAS]
01OCT2015, 14:16

[0440]

[0462] 서열 번호 4

[0463] <211>11

[0464] <212>PRT

[0465] <213>호모 사파엔스

[0466] <400>4

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

[0467] 서열 번호 5

[0468] <211>7

[0469] <212>PRT

[0470] <213>호모 사파엔스

[0471] <400>5

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

[0472] 서열 번호 6

[0473] <211>9

[0474] <212>PRT

[0475] <213>호모 사파엔스

[0476] <400>6

Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Pro Tyr Thr

1 5

[0477] 서열 번호 7

[0478] <211>119

[0479] <212>PRT

[0480] <213>호모 사파엔스

[0484]

<400>7

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Thr Tyr
 20 25 30
 Trp Leu Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Asp Trp Ile
 35 40 45
 Gly Ile Met Ser Pro Val Asp Ser Asp Ile Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
 50 55 60
 Gln Gly Gln Val Thr Met Ser Val Asp Lys Ser Ile Thr Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Arg Pro Gly Gln Gly Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

[0485]

서열 번호 8

[0486]

<211>108

[0487]

<212>PRT

[0488]

<213>호모 사파엔스

[0489]

<400>8

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

[0490]

100 105

[0491]

서열 번호 9

[0492]

<211>503

[0493]

<212>PRT

[0495] <213>호모 사파엔스

[0496] <400>9

Arg Asn Leu Pro Val Ala Thr Pro Asp Pro Gly Met Phe Pro Cys Leu
 1 5 10 15
 His His Ser Gln Asn Leu Leu Arg Ala Val Ser Asn Met Leu Gln Lys
 20 25 30
 Ala Arg Gln Thr Leu Glu Phe Tyr Pro Cys Thr Ser Glu Glu Ile Asp
 35 40 45
 His Glu Asp Ile Thr Lys Asp Lys Thr Ser Thr Val Glu Ala Cys Leu
 50 55 60
 Pro Leu Glu Leu Thr Lys Asn Glu Ser Cys Leu Asn Ser Arg Glu Thr
 65 70 75 80
 Ser Phe Ile Thr Asn Gly Ser Cys Leu Ala Ser Arg Lys Thr Ser Phe
 85 90 95
 Met Met Ala Leu Cys Leu Ser Ser Ile Tyr Glu Asp Leu Lys Met Tyr
 100 105 110
 Gln Val Glu Phe Lys Thr Met Asn Ala Lys Leu Leu Met Asp Pro Lys
 115 120 125
 Arg Gln Ile Phe Leu Asp Gln Asn Met Leu Ala Val Ile Asp Glu Leu
 130 135 140
 Met Gln Ala Leu Asn Phe Asn Ser Glu Thr Val Pro Gln Lys Ser Ser
 145 150 155 160
 Leu Glu Glu Pro Asp Phe Tyr Lys Thr Lys Ile Lys Leu Cys Ile Leu
 165 170 175
 Leu His Ala Phe Arg Ile Arg Ala Val Thr Ile Asp Arg Val Met Ser
 180 185 190
 Tyr Leu Asn Ala Ser Ile Trp Glu Leu Lys Lys Asp Val Tyr Val Val
 195 200 205
 Glu Leu Asp Trp Tyr Pro Asp Ala Pro Gly Glu Met Val Val Leu Thr
 210 215 220
 Cys Asp Thr Pro Glu Glu Asp Gly Ile Thr Trp Thr Leu Asp Gln Ser
 225 230 235 240
 Ser Glu Val Leu Gly Ser Gly Lys Thr Leu Thr Ile Gln Val Lys Glu
 245 250 255

[0497]

Phe Gly Asp Ala Gly Gln Tyr Thr Cys His Lys Gly Gly Glu Val Leu
 260 265 270
 Ser His Ser Leu Leu Leu His Lys Lys Glu Asp Gly Ile Trp Ser
 275 280 285
 Thr Asp Ile Leu Lys Asp Gln Lys Glu Pro Lys Asn Lys Thr Phe Leu
 290 295 300
 Arg Cys Glu Ala Lys Asn Tyr Ser Gly Arg Phe Thr Cys Trp Trp Leu
 305 310 315 320
 Thr Thr Ile Ser Thr Asp Leu Thr Phe Ser Val Lys Ser Ser Arg Gly
 325 330 335
 Ser Ser Asp Pro Gln Gly Val Thr Cys Gly Ala Ala Thr Leu Ser Ala
 340 345 350
 Glu Arg Val Arg Gly Asp Asn Lys Glu Tyr Glu Tyr Ser Val Glu Cys
 355 360 365
 Gln Glu Asp Ser Ala Cys Pro Ala Ala Glu Glu Ser Leu Pro Ile Glu
 370 375 380
 Val Met Val Asp Ala Val His Lys Leu Lys Tyr Glu Asn Tyr Thr Ser
 385 390 395 400
 Ser Phe Phe Ile Arg Asp Ile Ile Lys Pro Asp Pro Pro Lys Asn Leu
 405 410 415
 Gln Leu Lys Pro Leu Lys Asn Ser Arg Gln Val Glu Val Ser Trp Glu
 420 425 430
 Tyr Pro Asp Thr Trp Ser Thr Pro His Ser Tyr Phe Ser Leu Thr Phe
 435 440 445
 Cys Val Gln Val Gln Gly Lys Ser Lys Arg Glu Lys Lys Asp Arg Val
 450 455 460
 Phe Thr Asp Lys Thr Ser Ala Thr Val Ile Cys Arg Lys Asn Ala Ser
 465 470 475 480
 Ile Ser Val Arg Ala Gln Asp Arg Tyr Tyr Ser Ser Trp Ser Glu
 485 490 495
 Trp Ala Ser Val Pro Cys Ser
 500

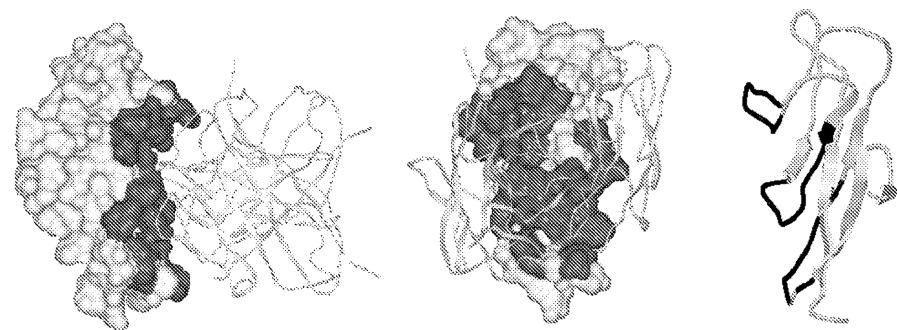
[0498]

도면

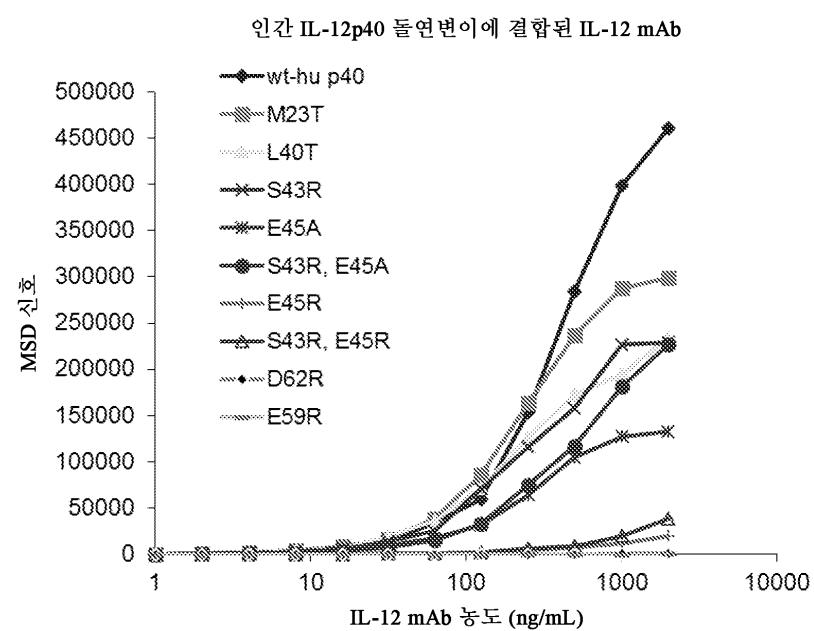
도면1



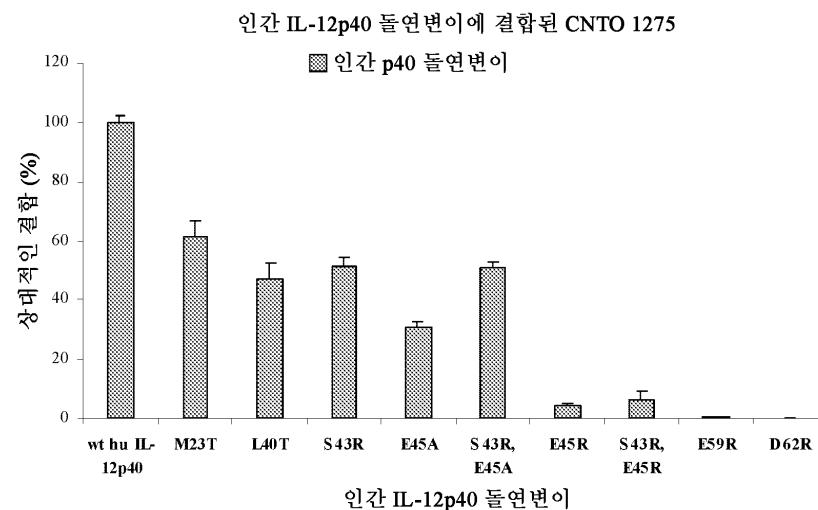
도면2



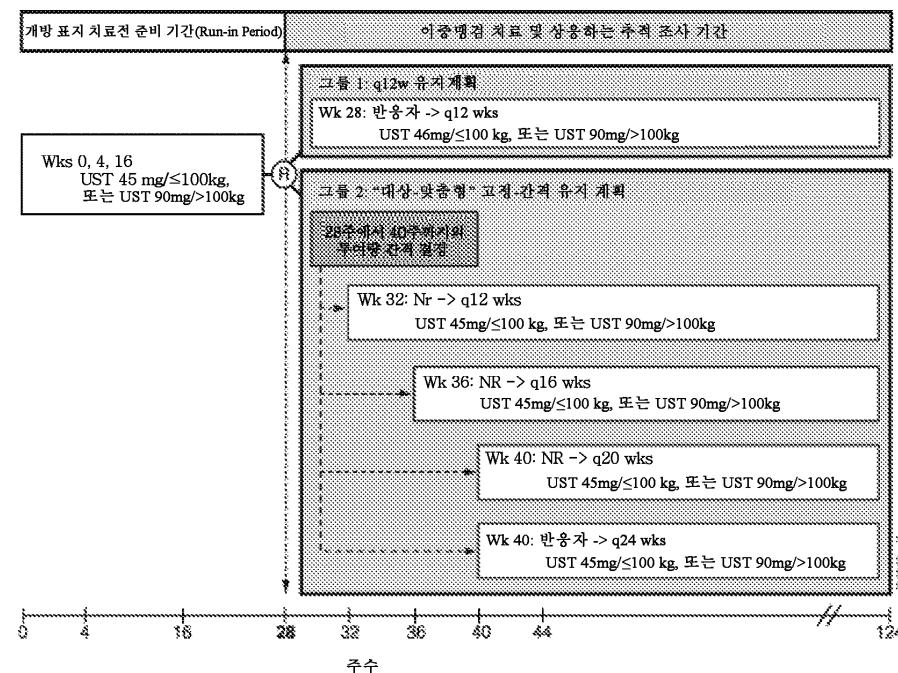
도면3



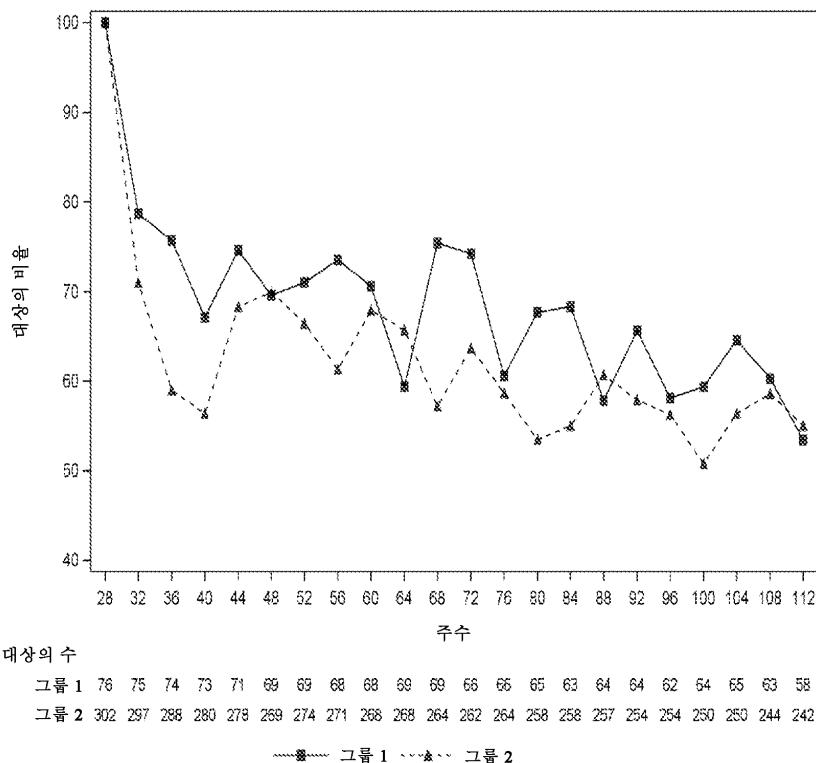
도면4



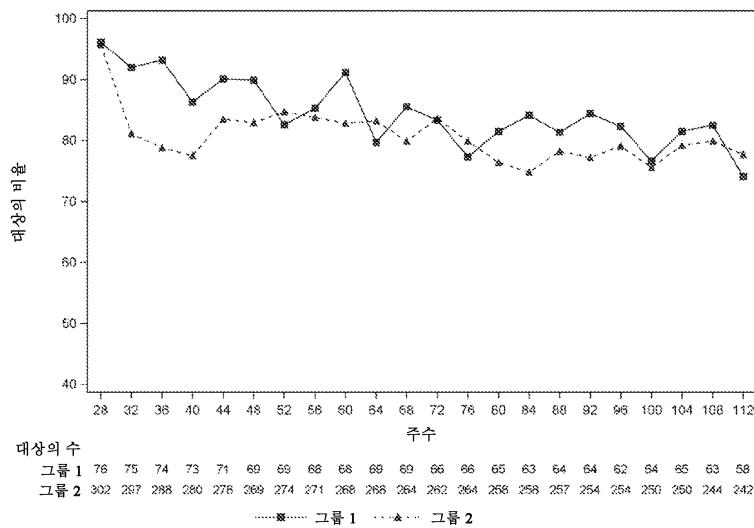
도면5



도면6



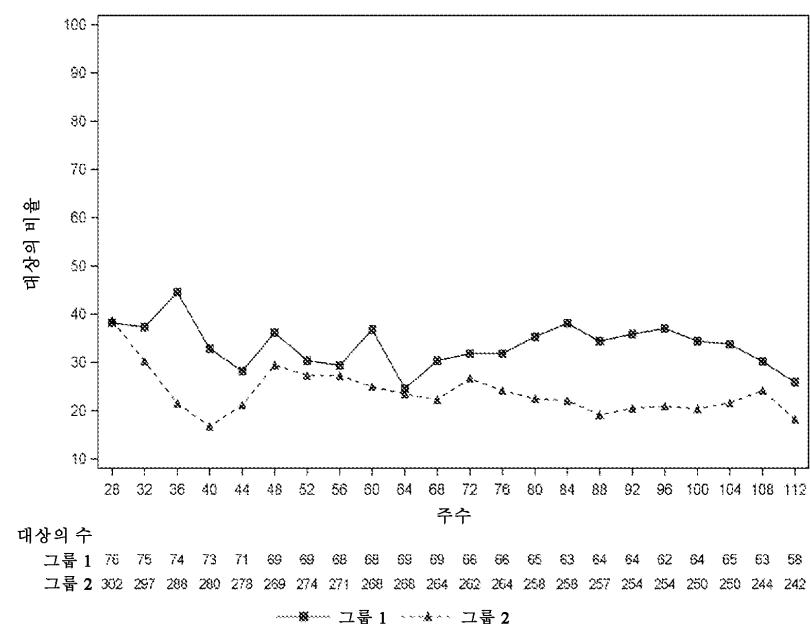
도면7



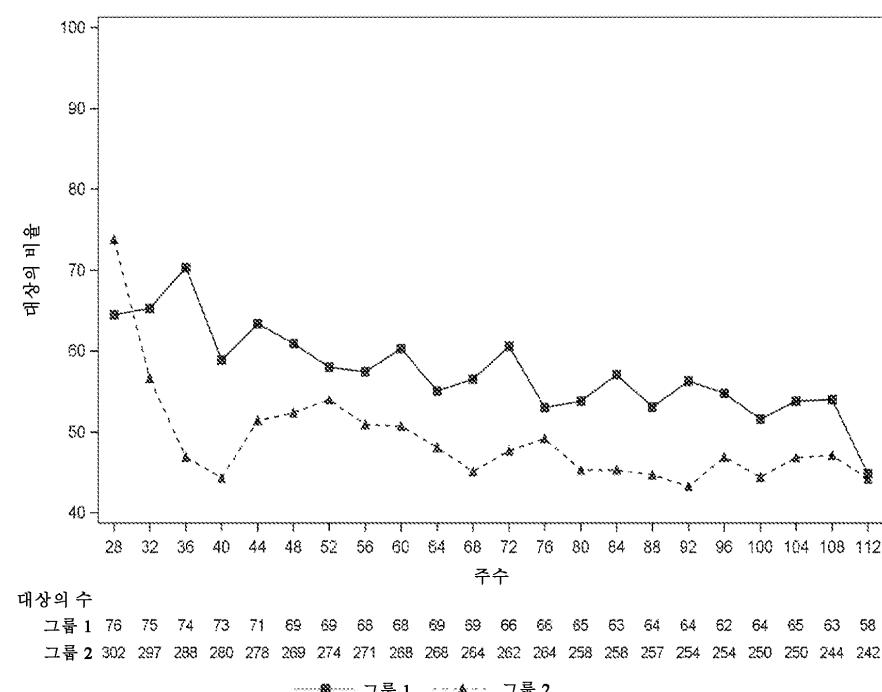
그룹 1 = 우스테키누맙 q12w 유지 계획; 그룹 2= 우스테키누맙 대상-맞춤형 간격 유지 계획

[GEFPASI01.RTF] [CNTO1275\PSO3009\DBR_WEEK_124\RE_WEEK_124_CSR\PROD\GEFPASI01.SAS] 01OCT2015, 14:12

도면8



도면9



서 열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> JANSSEN BIOTECH, INC.

MARC CHEVRIER

KAMYAR FARAH

NEWMAN YEILDING

<120> METHOD OF TREATING PSORIASIS WITH INCREASED INTERVAL DOSING OF ANTI-IL12/23 ANTIBODY

<130> JBI5084WOPCT

<140> TO BE ASSIGNED

<141> 2017-03-28

<150> 62/314697

<151> 2016-03-29

<160> 9

<170> PatentIn Ver 3.1

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Thr Tyr Trp Leu Gly

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Ile Met Ser Pro Val Asp Ser Asp Ile Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Arg Arg Pro Gly Gln Gly Tyr Phe Asp Phe

1 5 10

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 7

<211> 119

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Met Ser Pro Val Asp Ser Asp Ile Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Met Ser Val Asp Lys Ser Ile Thr Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85	90	95
Ala Arg Arg Arg Pro Gly Gln Gly Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly		
100	105	110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 8

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

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

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

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

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

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

<210> 9

<211> 503

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Arg Asn Leu Pro Val Ala Thr Pro Asp Pro Gly Met Phe Pro Cys Leu

1	5	10	15
His His Ser Gln Asn Leu Leu Arg Ala Val Ser Asn Met Leu Gln Lys			

20	25	30
Ala Arg Gln Thr Leu Glu Phe Tyr Pro Cys Thr Ser Glu Glu Ile Asp		
35	40	45
His Glu Asp Ile Thr Lys Asp Lys Thr Ser Thr Val Glu Ala Cys Leu		
50	55	60
Pro Leu Glu Leu Thr Lys Asn Glu Ser Cys Leu Asn Ser Arg Glu Thr		
65	70	75
Ser Phe Ile Thr Asn Gly Ser Cys Leu Ala Ser Arg Lys Thr Ser Phe		
85	90	95
Met Met Ala Leu Cys Leu Ser Ser Ile Tyr Glu Asp Leu Lys Met Tyr		
100	105	110
Gln Val Glu Phe Lys Thr Met Asn Ala Lys Leu Leu Met Asp Pro Lys		
115	120	125
Arg Gln Ile Phe Leu Asp Gln Asn Met Leu Ala Val Ile Asp Glu Leu		
130	135	140
Met Gln Ala Leu Asn Phe Asn Ser Glu Thr Val Pro Gln Lys Ser Ser		
145	150	155
Leu Glu Glu Pro Asp Phe Tyr Lys Thr Lys Ile Lys Leu Cys Ile Leu		
165	170	175
Leu His Ala Phe Arg Ile Arg Ala Val Thr Ile Asp Arg Val Met Ser		
180	185	190
Tyr Leu Asn Ala Ser Ile Trp Glu Leu Lys Lys Asp Val Tyr Val Val		
195	200	205
Glu Leu Asp Trp Tyr Pro Asp Ala Pro Gly Glu Met Val Val Leu Thr		
210	215	220
Cys Asp Thr Pro Glu Glu Asp Gly Ile Thr Trp Thr Leu Asp Gln Ser		
225	230	235
Ser Glu Val Leu Gly Ser Gly Lys Thr Leu Thr Ile Gln Val Lys Glu		
245	250	255
Phe Gly Asp Ala Gly Gln Tyr Thr Cys His Lys Gly Gly Glu Val Leu		
260	265	270

Ser His Ser Leu Leu Leu His Lys Lys Glu Asp Gly Ile Trp Ser
 275 280 285
 Thr Asp Ile Leu Lys Asp Gln Lys Glu Pro Lys Asn Lys Thr Phe Leu
 290 295 300
 Arg Cys Glu Ala Lys Asn Tyr Ser Gly Arg Phe Thr Cys Trp Trp Leu
 305 310 315 320
 Thr Thr Ile Ser Thr Asp Leu Thr Phe Ser Val Lys Ser Ser Arg Gly
 325 330 335
 Ser Ser Asp Pro Gln Gly Val Thr Cys Gly Ala Ala Thr Leu Ser Ala
 340 345 350
 Glu Arg Val Arg Gly Asp Asn Lys Glu Tyr Glu Tyr Ser Val Glu Cys
 355 360 365
 Gln Glu Asp Ser Ala Cys Pro Ala Ala Glu Glu Ser Leu Pro Ile Glu
 370 375 380
 Val Met Val Asp Ala Val His Lys Leu Lys Tyr Glu Asn Tyr Thr Ser
 385 390 395 400
 Ser Phe Phe Ile Arg Asp Ile Ile Lys Pro Asp Pro Pro Lys Asn Leu
 405 410 415
 Gln Leu Lys Pro Leu Lys Asn Ser Arg Gln Val Glu Val Ser Trp Glu
 420 425 430
 Tyr Pro Asp Thr Trp Ser Thr Pro His Ser Tyr Phe Ser Leu Thr Phe
 435 440 445
 Cys Val Gln Val Gln Gly Lys Ser Lys Arg Glu Lys Asp Arg Val
 450 455 460
 Phe Thr Asp Lys Thr Ser Ala Thr Val Ile Cys Arg Lys Asn Ala Ser
 465 470 475 480
 Ile Ser Val Arg Ala Gln Asp Arg Tyr Tyr Ser Ser Ser Trp Ser Glu
 485 490 495
 Trp Ala Ser Val Pro Cys Ser
 500