

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0061041
(43) 공개일자 2012년06월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) A61P 9/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-7031198
(22) 출원일자(국제) 2010년05월28일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2011년12월27일
(86) 국제출원번호 PCT/US2010/036761
(87) 국제공개번호 WO 2010/138939
국제공개일자 2010년12월02일
(30) 우선권주장
61/182,679 2009년05월29일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
조마 테크놀로지 리미티드
미국 94710 캘리포니아주 버클리 세븐쓰 스트리트 2910 조마 (유에스) 엘엘씨 씨/오
(72) 발명자
스캐너 패트릭 제이
미국 94710 캘리포니아주 버클리 세븐쓰 스트리트 2910 조마 (유에스) 엘엘씨
솔링거 알란 엠
미국 94710 캘리포니아주 버클리 세븐쓰 스트리트 2910 조마 (유에스) 엘엘씨
펠드스타인 제프리 디
미국 94710 캘리포니아주 버클리 세븐쓰 스트리트 2910 조마 (유에스) 엘엘씨
(74) 대리인
강승옥, 김성기

전체 청구항 수 : 총 107 항

(54) 발명의 명칭 IL-1 β 항체 및 이의 결합 단편의 심혈관 관련 용도

(57) 요약

항IL-1 β 결합 분자(예를 들어, IL-1 β 결합 항체 및 그의 단편)을 사용하여 급성 심혈관 질환 또는 만성 심혈관 질환을 비롯한 심혈관 사건 및/또는 심혈관 질환을 감소, 예방 또는 치료하는 방법을 개시한다. 본 개시 내용은 또한 심혈관 사건 또는 질환을 감소시키는 것을 포함하는, 심혈관 사건 및/또는 심혈관 질환의 예방 또는 치료 방법에 관한 것이다.

(30) 우선권주장

61/252,571 2009년10월16일 미국(US)

61/313,001 2010년03월11일 미국(US)

특허청구의 범위

청구항 1

피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 상기 피험체에서 심혈관 사건을 감소시키는 방법으로서, 피험체는 이전 심혈관 사건의 병력을 갖는 피험체 또는 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체이고, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 심혈관 사망, 율혈성 심부전, 심정지, 급성 관상동맥 증후군, 협심증, 또는 혈관재생술인 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 피험체는 이전 심혈관 사건의 병력을 갖는 피험체이고, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 급성 관상동맥 증후군, 협심증 또는 혈관재생술인 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 혈관재생술은 관상동맥, 경동맥 또는 말초 동맥 혈관재생술인 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 관상동맥, 경동맥 또는 말초 동맥 혈관재생술은 경피적 관상 중재술(percutaneous coronary intervention: PCI), 스텐트 이식, 관상동맥 우회술(coronary artery bypass graft: CABG), 경동맥 내막절제술, 말초 혈관 질환 우회로술, 또는 말초 혈관성형술인 방법.

청구항 5

제2항에 있어서, 상기 피험체는 또한 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 것인 방법.

청구항 6

제1항 또는 제5항에 있어서, 위험 인자는 현성 관상 심장 질환, 관상동맥 질환, 혈전증, 일과성 허혈성 발작, 좌심실 비대증, 동맥경화증, 재협착, 흡연 또는 말초 혈관 질환인 방법.

청구항 7

제1항 또는 제5항에 있어서, 위험 인자는 높은 트리글리세리드, 전신성 염증, 높은 혈중 인 수치, 높은 부갑상선 호르몬 수치, 미세알부민뇨, 또는 높은 호모시스테인 수치인 방법.

청구항 8

제1항 또는 제5항에 있어서, 위험 인자는 비만, 고혈당증, 만성 신부전, 고혈당, 만성 신장 질환, 또는 대사 증후군인 방법.

청구항 9

제1항 또는 제5항에 있어서, 위험 인자는 고혈압, 이상지질혈증, 고지질혈증, 높은 총 콜레스테롤, 높은 LDL 콜레스테롤, 또는 낮은 HDL 콜레스테롤 또는 죽상동맥경화증인 방법.

청구항 10

제1항 또는 제2항에 있어서, 피험체는 높은 C 반응성 단백질(CRP) 수치를 갖는 것인 방법.

청구항 11

제1항 또는 제2항에 있어서, 피험체는 55세 초과인 방법.

청구항 12

제1항 또는 제2항에 있어서, 피험체는 고혈압을 앓지 않는 것인 방법.

청구항 13

제1항 또는 제2항에 있어서, 피험체는 당뇨병을 앓는 것인 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 당뇨병은 2형 당뇨병인 방법.

청구항 15

제1항 또는 제2항에 있어서, 피험체는 2가지 이상의 상기 위험 인자의 병력을 갖는 것인 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 피험체는 3가지 이상의 상기 위험 인자의 병력을 갖는 것인 방법.

청구항 17

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것은 CRP 수치를 감소시키는 데 충분한 것인 방법.

청구항 18

피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 상기 피험체에서 심혈관 사건 후의 사망률을 감소시키는 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 심혈관 사건은 심근경색인 방법.

청구항 20

제18항에 있어서, 심혈관 사건은 뇌졸중인 방법.

청구항 21

제18항에 있어서, 심혈관 사건은 울혈성 심부전인 방법.

청구항 22

제18항에 있어서, 심혈관 사건은 급성 관상동맥 증후군인 방법.

청구항 23

제18항에 있어서, 심혈관 사건은 협심증인 방법.

청구항 24

제18항에 있어서, 심혈관 사건은 혈관재생술인 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 혈관재생술은 관상동맥, 경동맥 또는 말초 동맥 혈관재생술인 방법.

청구항 26

제25항에 있어서, 관상동맥, 경동맥 또는 말초 동맥 혈관재생술은 경피적 관상 중재술(PCI), 스텐트 이식, 관상동맥 우회술(CABG), 경동맥 내막절제술, 말초 혈관 질환 우회로술, 또는 말초 혈관성형술인 방법.

청구항 27

제18항에 있어서, 피험체는 2형 당뇨병을 앓지 않는 것인 방법.

청구항 28

제18항에 있어서, 피험체는 심근경색 또는 뇌졸중의 이전 심혈관 사건으로부터 생존한 것인 방법.

청구항 29

제18항에 있어서, 상기 심혈관 사건의 발생은 심근경색 또는 뇌졸중의 심혈관 사건의 재발인 방법.

청구항 30

제18항에 있어서, 피험체는 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 것인 방법.

청구항 31

제30항에 있어서, 위험 인자는 현성 관상 심장 질환, 관상동맥 질환, 혈전증, 일과성 허혈성 발작, 좌심실 비대증, 동맥경화증, 재협착, 흡연 또는 말초 혈관 질환인 방법.

청구항 32

제30항에 있어서, 위험 인자는 높은 트리글리세리드, 전신성 염증, 높은 혈중 인 수치, 높은 부갑상선 호르몬 수치, 미세알부민뇨, 또는 높은 호모시스테인 수치인 방법.

청구항 33

제30항에 있어서, 위험 인자는 비만, 고혈당증, 만성 신부전, 고혈당, 만성 신장 질환, 또는 대사 증후군인 방법.

청구항 34

제30항에 있어서, 위험 인자는 고혈압, 이상지질혈증, 고지질혈증, 높은 총 콜레스테롤, 높은 LDL 콜레스테롤, 또는 낮은 HDL 콜레스테롤 또는 죽상동맥경화증인 방법.

청구항 35

제18항에 있어서, 피험체는 고혈압을 앓지 않는 것인 방법.

청구항 36

제30항에 있어서, 피험체는 2가지 이상의 상기 위험 인자의 병력을 갖는 것인 방법.

청구항 37

제36항에 있어서, 피험체는 3가지 이상의 상기 위험 인자의 병력을 갖는 것인 방법.

청구항 38

제18항에 있어서, 상기 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것은 CRP 수치를 감소시키는 데 충분한 것인 방법.

청구항 39

심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 상기 피험체에서 심혈관 사건을 감소시키는 방법으로서, 상기 위험 인자는 2형 당뇨병, 비만, 고혈당증, 이상지질혈증, 고지질혈증, 만성 신부전, 고혈당, 만성 신장 질환, 고혈압, 죽상동맥경화증 또는 대사 증후군이 아닌 것인 방법.

청구항 40

제39항에 있어서, 위험 인자는 2형 당뇨병이 아닌 것인 방법.

청구항 41

제39항 또는 제40항에 있어서, 심혈관 사건은 심근경색인 방법.

청구항 42

제39항 또는 제40항에 있어서, 심혈관 사건은 뇌졸중인 방법.

청구항 43

제39항 또는 제40항에 있어서, 심혈관 사건은 심정지인 방법.

청구항 44

제39항 또는 제40항에 있어서, 심혈관 사건은 울혈성 심부전인 방법.

청구항 45

제39항 또는 제40항에 있어서, 심혈관 사건은 심혈관 사망인 방법.

청구항 46

제39항 또는 제40항에 있어서, 심혈관 사건은 급성 관상동맥 증후군인 방법.

청구항 47

제39항 또는 제40항에 있어서, 심혈관 사건은 협심증인 방법.

청구항 48

제39항 또는 제40항에 있어서, 심혈관 사건은 혈관재생술인 방법.

청구항 49

제48항에 있어서, 혈관재생술은 관상동맥, 경동맥 또는 말초 동맥 혈관재생술인 방법.

청구항 50

제49항에 있어서, 관상동맥, 경동맥 또는 말초 동맥 혈관재생술은 경피적 관상 중재술(PCI), 스텐트 이식, 관상동맥 우회술(CABG), 경동맥 내막절제술, 말초 혈관 질환 우회로술, 또는 말초 혈관성형술인 방법.

청구항 51

제39항에 있어서, 위험 인자는 현성 관상 심장 질환, 관상동맥 질환, 혈전증, 일과성 허혈성 발작, 좌심실 비대증, 동맥경화증, 재협착, 흡연 또는 말초 혈관 질환인 방법.

청구항 52

제39항에 있어서, 위험 인자는 높은 트리글리세리드, 전신성 염증, 높은 혈중 인 수치, 높은 부갑상선 호르몬 수치, 미세알부민뇨, 또는 높은 호모시스테인 수치인 방법.

청구항 53

제39항에 있어서, 피험체는 높은 C 반응성 단백질(CRP) 수치를 갖는 것인 방법.

청구항 54

제39항에 있어서, 피험체는 55세 초과인 방법.

청구항 55

제39항에 있어서, 피험체는 2가지 이상의 상기 위험 인자의 병력을 갖는 것인 방법.

청구항 56

제55항에 있어서, 피험체는 3가지 이상의 상기 위험 인자의 병력을 갖는 것인 방법.

청구항 57

제39항에 있어서, 상기 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것은 CRP 수치를 감소시키는 데 충분한 것인 방법.

청구항 58

피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편, 및 IL-1 β 항체 또는 단편 이외의 활성제를 포함하는 1종 이상의 다른 약학 조성물을 투여하는 것을 포함하는 상기 피험체에서 심혈관 사건을 치료하는 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 울혈성 심부전, 급성 관상동맥 증후군 또는 협심증인 방법.

청구항 59

제58항에 있어서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 콜레스테롤 강하제, 스타틴, HMG-CoA 리덕타제 억제제, 칼슘 채널 차단제, 베타 차단제, 항고혈압제, 이뇨제, 아스피린, 니아신, 안지오텐신 전환 효소(ACE) 억제제, 안지오텐신 II 수용체 차단제, 혈관확장제, 항응고제, 혈소판 응집 억제제, 혈전용해제 또는 디지탈리스인 방법.

청구항 60

피험체에게 혈관재생술을 시술하는 것과 함께 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 상기 피험체에서 심혈관 사건을 치료하는 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 울혈성 심부전, 급성 관상동맥 증후군 또는 협심증인 방법.

청구항 61

제60항에 있어서, 혈관재생술은 관상동맥, 경동맥 또는 말초 동맥 혈관재생술인 방법.

청구항 62

피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 상기 피험체에서 혈관재생술 이후의 재협착을 감소시키는 방법.

청구항 63

제62항에 있어서, 혈관재생술은 관상동맥, 경동맥 또는 말초 동맥 혈관재생술인 방법.

청구항 64

제58항, 제60항 또는 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것은 CRP 수치를 감소시키는 데 충분한 것인 방법.

청구항 65

피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편 및 1종 이상의 항고혈압제를 투여하는 것을 포함하는 상기 피험체에서 급성 고혈압을 치료하는 방법.

청구항 66

제65항에 있어서, 피험체는 혈압이 180/110 mm Hg 이상인 방법.

청구항 67

제65항에 있어서, 항고혈압제를 정맥내로 투여하는 것인 방법.

청구항 68

제65항에 있어서, 항고혈압제는 라베탈롤, 메토프롤롤, 히드랄라진, 니트로글리세린, 니카르디핀, 니트로프루시드 나트륨 또는 클레비디핀인 방법.

청구항 69

제1항, 제2항, 제18항, 제39항, 제60항 또는 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편 이외의 다른 활성제를 포함하는 1종 이상의 다른 약학 조성물을 투여하는 것을 더 포함하는 방법.

청구항 70

제69항에 있어서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 콜레스테롤 강하제인 방법.

청구항 71

제69항에 있어서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 스타틴 또는 HMG-CoA 리덕타제 억제제인 방법.

청구항 72

제69항에 있어서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 칼슘 채널 차단제인 방법.

청구항 73

제69항에 있어서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 항고혈압제, 이노제 또는 아스피린인 방법.

청구항 74

제69항에 있어서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 안지오텐신 전환 효소(ACE) 억제제 또는 안지오텐신 II 수용체 차단제인 방법.

청구항 75

제69항에 있어서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 혈관확장제인 방법.

청구항 76

제69항에 있어서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 항응고제 또는 혈소판 응집 억제제인 방법.

청구항 77

제69항에 있어서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 혈전용해제인 방법.

청구항 78

제69항에 있어서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 디지털리스인 방법.

청구항 79

제1항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 약 500 pM 이하의 해리 상수로 인간 IL-1 β 에 결합하는 것인 방법.

청구항 80

제79항에 있어서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 약 50 pM 이하의 해리 상수로 인간 IL-1 β 에 결합하는 것인 방법.

청구항 81

제80항에 있어서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 약 5 pM 이하의 해리 상수로 인간 IL-1 β 에 결합하는 것인 방법.

청구항 82

제1항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 중화 항체인 방법.

청구항 83

제1항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은, 결합된 항체 또는 단편이 IL-1 수용체 I(IL-1RI)에 대한 IL-1 β 의 결합을 실질적으로 허용하도록, IL-1 β 에피토프에 결합하는 것인 방법.

청구항 84

제1항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 IL-1 α , IL-1R 또는 IL-1Ra에 검출 가능하게 결합하지 않는 것인 방법.

청구항 85

제1항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 서열 번호 1의 경쇄 가변 영역 및 서열 번호 2의 중쇄 가변 영역을 갖는 항체의 결합과 경쟁하는 것인 방법.

청구항 86

제1항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 IL-1 β 의 Glu64를 포함하는 에피토프에 결합하는 것인 방법.

청구항 87

제1항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 IL-1 β 의 N 말단의 아미노산 1-34에 결합하는 것인 방법.

청구항 88

제1항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 인간화된 항체 또는 인간 항체인 방법.

청구항 89

제1항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 1 mg/kg 이하의 항체 또는 단편의 1 이상의 용량으로 투여하는 것인 방법.

청구항 90

제89항에 있어서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 0.3 mg/kg 이하의 항체 또는 단편의 1 이상의 용량으로 투여하는 것인 방법.

청구항 91

제90항에 있어서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 0.03 mg/kg 이하의 항체 또는 단편의 1 이상의 용량으로 투여하는 것인 방법.

청구항 92

제89항 내지 제91항 중 어느 한 항에 있어서, 1 이상의 용량은 0.01 mg/kg 이상의 항체 또는 단편인 방법.

청구항 93

제1항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 0.03 mg/kg 내지 1 mg/kg의 1 이상의 용량으로 투여하는 것인 방법.

청구항 94

제1항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 피험체 체중에 대한 용량 비와 무관하게 고정 용량으로 투여하는 것인 방법.

청구항 95

제94항에 있어서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 100 mg 이하의 항체 또는 단편의 1 이상의 용량으로 투여하는 것인 방법.

청구항 96

제95항에 있어서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 25 mg 이하의 항체 또는 단편의 1 이상의 용량

으로 투여하는 것인 방법.

청구항 97

제96항에 있어서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 10 mg 이하의 항체 또는 단편의 1 이상의 용량으로 투여하는 것인 방법.

청구항 98

제94항 내지 제97항 중 어느 한 항에 있어서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 0.5 mg 이상의 항체 또는 단편의 1 이상의 용량으로 투여하는 것인 방법.

청구항 99

제94항에 있어서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 1 mg 내지 100 mg의 항체 또는 단편의 1 이상의 용량으로 투여하는 것인 방법.

청구항 100

제94항 내지 제99항 중 어느 한 항에 있어서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편의 상기 고정 용량을 프리필드 주사기 또는 전달 장치를 사용하여 투여하는 것인 방법.

청구항 101

제1항 내지 제100항 중 어느 한 항에 있어서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 피하, 정맥내 또는 근육내 주사에 의해 투여하는 것인 방법.

청구항 102

제1항 내지 제101항 중 어느 한 항에 있어서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편의 초기 용량을 투여한 후, 1 이상의 후속 용량을 투여하는 것인 방법.

청구항 103

제102항에 있어서, 상기 초기 용량 및 1 이상의 후속 용량을 매주 약 1회 내지 매 12개월마다 약 1회의 간격으로 투여하는 것인 방법.

청구항 104

제103항에 있어서, 상기 초기 용량 및 1 이상의 후속 용량을 매 2주마다 약 1회 내지 매 6개월마다 약 1회의 간격으로 투여하는 것인 방법.

청구항 105

제104항에 있어서, 상기 초기 용량 및 1 이상의 후속 용량을 매월 약 1회 내지 매 6개월마다 약 1회의 간격으로 투여하는 것인 방법.

청구항 106

제105항에 있어서, 상기 초기 용량 및 1 이상의 후속 용량을 매월 약 1회 내지 매 3개월마다 약 1회의 간격으로 투여하는 것인 방법.

청구항 107

제105항에 있어서, 상기 초기 용량 및 1 이상의 후속 용량을 매 3개월마다 약 1회 내지 매 6개월마다 약 1회의 간격으로 투여하는 것인 방법.

명세서

기술분야

관련 출원

[0002] 본 출원은 2010년 3월 11일 출원된 미국 가출원 번호 제61/313,001호, 2009년 10월 16일 출원된 미국 가출원 번호 제61/252,571호, 및 2009년 5월 29일 출원된 미국 가출원 번호 제61/182,679호(상기 출원들의 개시 내용은 그 전문이 본원에 참고로 포함된다).

[0003] 본 개시 내용은 일반적으로 심혈관 사건 및/또는 심혈관 질환(예를 들어, 급성 심혈관 질환 또는 만성 심혈관 질환)의 감소, 예방, 또는 치료를 위한 IL-1 β 결합 분자(예를 들어, IL-1 β 결합 항체 및 그의 단편)에 관한 것이다.

배경 기술

[0004] 지난 10여년 간 염증은 심혈관 질환의 발병기전에서 중심 테마가 되어 왔으며, 매우 다양한 심장 질환이 염증 및 사이토카인 조절과 관련이 있다(문헌 [Mehra et al., 2005, J. Leukocyte Biol. 78:805-818]). 염증성 사이토카인은 각종 형태의 스트레스/손상에 대한 반응으로, 심근 세포를 비롯한, 심장 근육 내의 모든 유핵 세포 유형에 의해 분비될 수 있다. 그 수치는 염증성 심근염, 동종이식 거부, 허혈성 심장 상태, 울혈성 심부전 (CHF: congestive heart failure), 및 재관류 손상과 같이 다양한 병태에서 상승되어 있다.

[0005] IL-1 β 는 단핵구 및 대식세포를 비롯한 다수의 상이한 세포 유형에 의해 분비되는 염증성 사이토카인이다. IL-1 β 가 염증 반응의 일부로서 방출되면, 이는 대개는 예를 들어, 코르티코스테로이드, 혈소판 인자 4, 프로스타글란딘 E2(PGE2), IL-6, 및 IL-8와 같은 다른 염증성 매개 물질의 유도를 통해 매개되는 생물학적 효과를 발휘한다. IL-1 β 는 거의 모든 세포 유형에서 발견되는 IL-1 수용체의 활성화를 통해 국소 및 전신, 둘 모두의 염증성 효과를 유도한다. 인터루킨-1(IL-1: interleukin-1) 계열의 사이토카인이 다수의 질환과 연루되어 있다. IL-1 계열의 구성원으로는 IL-1 α , IL-1 β , 및 IL-1Ra를 포함한다. IL-1 수용체(IL-1R1 및 IL-1R2)에 결합할 수 있다는 점에서 서로 관련이 있기는 하지만, 상이한 유전자에 의해 발현되고, 상이한 1차 아미노산 서열을 가지는 바, 각각의 이들 사이토카인은 상이하다. 추가로, 이들 사이토카인의 생리학적 활성도 서로 구별될 수 있다.

발명의 내용

[0006] 본 개시 내용은 일반적으로 급성 심혈관 질환 또는 만성 심혈관 질환을 비롯한 심혈관 사건 및/또는 심혈관 질환의 감소, 예방 또는 치료를 위한 IL-1 β 결합 분자(예를 들어, IL-1 β 결합 항체 및 그의 단편)에 관한 것이다. 본 개시 내용은 또한 심혈관 사건 또는 질환을 감소시키는 것을 포함하는, 심혈관 사건 및/또는 심혈관 질환의 예방 또는 치료 방법에 관한 것이다.

[0007] 본 개시 내용은 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 그의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 피험체에서 심혈관 사건을 감소시키는 방법으로서, 피험체는 이전 심혈관 사건의 병력을 갖는 피험체 또는 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체이고, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 심혈관 사망, 울혈성 심부전, 심정지, 급성 관상동맥 증후군, 협심증, 또는 혈관재생술인 방법을 제공한다.

[0008] 본 개시 내용은 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 그의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체에서 심혈관 사건을 감소시키는(예를 들어, 사건 시간을 지연시키거나, 사건의 가능성 또는 위험을 감소시키거나, 사건을 예방하거나, 사건의 중증도를 감소시키거나, 회복 시간을 단축시키는) 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 심혈관 사망, 울혈성 심부전, 심정지, 급성 관상동맥 증후군, 협심증, 또는 혈관재생술인 방법을 제공한다.

[0009] 본 개시 내용은 또한 이전 심혈관 사건의 병력을 갖는 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 그의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 이전 심혈관 사건의 병력을 갖는 피험체에서 심혈관 사건을 감소시키는(예를 들어, 사건 시간을 지연시키거나, 사건의 가능성 또는 위험을 감소시키거나, 사건을 예방하거나, 사건의 중증도를 감소시키거나, 회복 시간을 단축시키는) 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 심혈관 사망, 울혈성 심부전, 심정지, 급성 관상동맥 증후군, 협심증, 또는 혈관재생술인 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 이전 심혈관 사건은 1차 심혈관 사건이다. 일부 실시양태에서, 이전 또는 1차 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 울혈성 심부전, 급성 관상동맥 증후군, 협심증 및 혈관재생술로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 이전 또는 1차 심혈관 사건은 심근경색 또는 급성 관상동맥 증후군이다. 일부 실시양태에서, 심근경색은 ST 상승 심근경색(예를 들어, ST 분절 상승 심근경색, STEMI: ST-segment elevation myocardial infarction)이다. 일부 실시양태에서, 심근경색은 비ST 상승 심근경색(예를 들어, 비ST 분절 상승 심근경색, NSTEMI: non-ST-segment elevation myocardial infarction)이다. 일부 실시양태에서, ST

상승 여부는 심전도(예를 들어, ECG, EKG)에 의해 측정된다. 일부 실시양태에서, 심혈관 사건을 감소시키는 방법은 2차 또는 후속 심혈관 사건을 감소시키는 방법이다. 일부 실시양태에서, 심혈관 사건(예를 들어, 2차 또는 후속 심혈관 사건)은 심근경색, 뇌졸중, 심혈관 사망, 울혈성 심부전, 심정지, 급성 관상동맥 증후군, 협심증 및 혈관재생술로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 1차 심혈관 사건 및 2차 심혈관 사건은 같은 유형의 심혈관 사건이다. 일부 실시양태에서, 1차 심혈관 사건 및 2차 심혈관 사건은 다른 유형의 심혈관 사건이다.

[0010] 일부 실시양태에서, 혈관재생술은 관상동맥, 경동맥 또는 말초 동맥 혈관재생술이다. 일부 실시양태에서, 관상동맥, 경동맥 또는 말초 동맥 혈관재생술은 경피적 관상 중재술(PCI: percutaneous coronary intervention), 스텐트 이식, 관상동맥 우회술(CABG: coronary artery bypass graft), 경동맥 내막절제술, 말초 혈관 질환 우회로술, 또는 말초 혈관성형술이다.

[0011] 일부 실시양태에서, 상기 피험체는 또한 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체이다. 일부 실시양태에서, 위험 인자는 현성 관상 심장 질환, 관상동맥 질환, 혈전증, 일과성 허혈성 발작, 좌심실 비대증, 동맥경화증, 재협착, 흡연 또는 말초 혈관 질환이다. 일부 실시양태에서, 위험 인자는 높은 트리글리세리드, 전신성 염증, 높은 혈중 인 수치, 높은 부갑상선 호르몬 수치, 미세알부민뇨, 또는 높은 호모시스테인 수치가다. 일부 실시양태에서, 위험 인자는 비만, 고혈당증, 만성 신부전, 고혈당, 만성 신장 질환, 또는 대사 증후군이다. 일부 실시양태에서, 위험 인자는 말기 신장 질환이다. 일부 실시양태에서, 위험 인자는 고혈압, 이상지질혈증, 고지질혈증, 총 콜레스테롤 상승, LDL 콜레스테롤 상승, 또는 낮은 HDL 콜레스테롤 수치 또는 죽상동맥경화증이다. 일부 실시양태에서, 고혈압은 180/110 mm Hg 이상의 혈압으로 나타난다. 일부 다른 실시양태에서, 고혈압은 경미한 고혈압 내지 중간 정도의 고혈압이며, 수축기 혈압(SBP: systolic blood pressure)이 140 내지 180 mm Hg이고/거나, 이완기 혈압(DBP: diastolic blood pressure)이 90 내지 110 mm Hg인 것이다.

[0012] 일부 실시양태에서, 피험체는 높은 C 반응성 단백질(CRP: C-reactive protein) 수치를 갖는다.

[0013] 일부 실시양태에서, 피험체는 55세 초과인 피험체이다.

[0014] 일부 실시양태에서, 피험체는 65세 초과인 피험체이다.

[0015] 일부 실시양태에서, 피험체는 고혈압을 앓지 않는 환자이다.

[0016] 일부 실시양태에서, 피험체는 고혈압 조절이 잘 되지 않는 피험체이다.

[0017] 일부 실시양태에서, 피험체는 부정맥을 앓는 피험체이다.

[0018] 일부 실시양태에서, 피험체는 "A형" 인격을 가진 피험체이다.

[0019] 일부 실시양태에서, 피험체는 좌식 생활 방식을 가진 피험체이다.

[0020] 일부 실시양태에서, 피험체는 당뇨병을 앓는 피험체이다. 일부 실시양태에서, 상기 당뇨병은 2형 당뇨병이다.

[0021] 일부 실시양태에서, 피험체는 2가지 이상의 상기 위험 인자의 병력을 갖는 피험체이다.

[0022] 일부 실시양태에서, 피험체는 3가지 이상의 상기 위험 인자의 병력을 갖는 피험체이다.

[0023] 일부 실시양태에서, 상기 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것은 CRP 수치를 감소시키는 데 충분하다.

[0024] 본 개시 내용은 또한 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는, 피험체에서 심혈관 사건 후의 사망률을 감소시키는 방법을 제공한다.

[0025] 일부 실시양태에서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 울혈성 심부전, 급성 관상동맥 증후군, 협심증 또는 혈관재생술이다. 일부 실시양태에서, 심혈관 사건은 심근경색 또는 급성 관상동맥 증후군이다. 일부 실시양태에서, 심근경색은 ST 상승 심근경색(예를 들어, ST 분절 상승 심근경색, STEMI)이다. 일부 실시양태에서, 심근경색은 비ST 상승 심근경색(예를 들어, 비ST 분절 상승 심근경색, NSTEMI)이다. 일부 실시양태에서, ST 상승 여부는 심전도(예를 들어, ECG, EKG)에 의해 측정된다. 일부 실시양태에서, 혈관재생술은 관상동맥, 경동맥 또는 말초 동맥 혈관재생술이다. 일부 실시양태에서, 관상동맥, 경동맥 또는 말초 동맥 혈관재생술은 경피적 관상 중재술(PCI), 스텐트 이식, 관상동맥 우회술(CABG), 경동맥 내막절제술, 말초 혈관 질환 우회로술, 또는 말초 혈관성형술이다.

- [0026] 일부 실시양태에서, 피험체는 2형 당뇨병을 앓지 않는 피험체이다.
- [0027] 일부 실시양태에서, 피험체는 심근경색 또는 뇌졸중의 이전 심혈관 사건으로부터 생존한 피험체이다.
- [0028] 일부 실시양태에서, 상기 심혈관 사건의 발생은 심근경색 또는 뇌졸중의 심혈관 사건의 재발이다.
- [0029] 일부 실시양태에서, 피험체는 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체이다. 일부 실시양태에서, 위험 인자는 현성 관상 심장 질환, 관상동맥 질환, 혈전증, 일과성 허혈성 발작, 좌심실 비대증, 동맥경화증, 재협착, 흡연 또는 말초 혈관 질환이다. 일부 실시양태에서, 위험 인자는 높은 트리글리세리드, 전신성 염증, 높은 혈중 인 수치, 높은 부갑상선 호르몬 수치, 미세알부민뇨, 또는 높은 호모시스테인 수치가 다. 일부 실시양태에서, 위험 인자는 비만, 고혈당증, 만성 신부전, 고혈당, 만성 신장 질환, 또는 대사 증후군이다. 일부 실시양태에서, 위험 인자는 말기 신장 질환이다. 일부 실시양태에서, 위험 인자는 고혈압, 이상 지질혈증, 고지질혈증, 총 콜레스테롤 상승, LDL 콜레스테롤 상승, 또는 낮은 HDL 콜레스테롤 수치 또는 죽상 동맥경화증이다. 일부 실시양태에서, 고혈압은 180/110 mm Hg 이상의 혈압으로 나타난다. 일부 다른 실시양태에서, 고혈압은 경미한 고혈압 내지 중간 정도의 고혈압이며, 수축기 혈압(SBP)이 140 내지 180 mm Hg이고/거나, 이완기 혈압(DBP)이 90 내지 110 mm Hg인 것이다.
- [0030] 일부 실시양태에서, 피험체는 고혈압을 앓지 않는 환자이다.
- [0031] 일부 실시양태에서, 피험체는 고혈압 조절이 잘 되지 않는 피험체이다.
- [0032] 일부 실시양태에서, 피험체는 부정맥을 앓는 피험체이다.
- [0033] 일부 실시양태에서, 피험체는 "A형" 인격을 가진 피험체이다.
- [0034] 일부 실시양태에서, 피험체는 좌식 생활 방식을 가진 피험체이다.
- [0035] 일부 실시양태에서, 피험체는 2가지 이상의 상기 위험 인자의 병력을 갖는 피험체이다.
- [0036] 일부 실시양태에서, 피험체는 3가지 이상의 상기 위험 인자의 병력을 갖는 피험체이다.
- [0037] 일부 실시양태에서, 피험체는 급성 심혈관 질환(예를 들어, 울혈성 심부전과 관련이 없는 급성 심혈관 질환) 또는 만성 심혈관 질환(예를 들어, 죽상경화성 심혈관 질환에 대한 다중 위험 인자와 관련이 있는 만성 심혈관 질환)을 비롯한, 심혈관 질환을 앓는 환자이다.
- [0038] 일부 실시양태에서, 상기 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것은 CRP 수치를 감소시키는 데 충분하다.
- [0039] 본 개시 내용은 또한 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체에서 심혈관 사건을 감소시키는 방법으로서, 위험 인자는 2형 당뇨병, 비만, 고혈당증, 이상지질혈증, 고지질혈증, 만성 신부전, 고혈당, 만성 신장 질환, 고혈압, 죽상동맥경화증 또는 대사 증후군이 아닌 것인 방법을 제공한다.
- [0040] 일부 실시양태에서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 심정지, 울혈성 심부전, 심혈관 사망, 급성 관상동맥 증후군(예를 들어, 진단을 받은 급성 관상동맥 증후군), 협심증 또는 혈관재생술이다. 일부 실시양태에서, 혈관재생술은 관상동맥, 경동맥 또는 말초 동맥 혈관재생술이다. 일부 실시양태에서, 관상동맥, 경동맥 또는 말초 동맥 혈관재생술은 경피적 관상 중재술(PCI), 스텐트 이식, 관상동맥 우회술(CABG), 경동맥 내막절제술, 말초 혈관 질환 우회로술, 또는 말초 혈관성형술이다.
- [0041] 일부 실시양태에서, 위험 인자는 현성 관상 심장 질환, 관상동맥 질환, 혈전증, 일과성 허혈성 발작, 좌심실 비대증, 동맥경화증, 재협착, 흡연 또는 말초 혈관 질환이다. 일부 실시양태에서, 위험 인자는 높은 트리글리세리드, 전신성 염증, 높은 혈중 인 수치, 높은 부갑상선 호르몬 수치, 미세알부민뇨, 또는 높은 호모시스테인 수치가 다.
- [0042] 일부 실시양태에서, 피험체는 높은 C 반응성 단백질(CRP) 수치를 갖는다.
- [0043] 일부 실시양태에서, 피험체는 55세 초과인 피험체이다.
- [0044] 일부 실시양태에서, 피험체는 65세 초과인 피험체이다.
- [0045] 일부 실시양태에서, 피험체는 2가지 이상의 상기 위험 인자의 병력을 갖는 피험체이다.

- [0046] 일부 실시양태에서, 피험체는 3가지 이상의 상기 위험 인자의 병력을 갖는 피험체이다.
- [0047] 일부 실시양태에서, 피험체는 급성 심혈관 질환(예를 들어, 울혈성 심부전과 관련이 없는 급성 심혈관 질환) 또는 만성 심혈관 질환(예를 들어, 죽상경화성 심혈관 질환에 대한 다중 위험 인자와 관련이 있는 만성 심혈관 질환)을 비롯한, 심혈관 질환을 앓는 환자이다.
- [0048] 일부 실시양태에서, 상기 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것은 CRP 수치를 감소시키는 데 충분하다.
- [0049] 본 개시 내용은 또한 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편, 및 IL-1 β 항체 또는 단편 이외의 활성제를 포함하는 1종 이상의 다른 약학 조성물을 투여하는 것을 포함하는 피험체에서 심혈관 사건을 치료하는 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 울혈성 심부전, 급성 관상동맥 증후군 또는 협심증인 방법을 제공한다.
- [0050] 일부 실시양태에서, 심혈관 사건은 심근경색 또는 급성 관상동맥 증후군이다. 일부 실시양태에서, 심근경색은 ST 상승 심근경색(예를 들어, ST 분절 상승 심근경색, STEMI)이다. 일부 실시양태에서, 심근경색은 비ST 상승 심근경색(예를 들어, 비ST 분절 상승 심근경색, NSTEMI)이다. 일부 실시양태에서, ST 상승 여부는 심전도(예를 들어, ECG, EKG)에 의해 측정된다.
- [0051] 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 콜레스테롤 강하제, 스타틴, HMG-CoA 리덕타제 억제제, 칼슘 채널 차단제, 베타 차단제, 항고혈압제, 이뇨제, 아스피린, 니아신, 안지오텐신 전환 효소(ACE: angiotensin-converting enzyme) 억제제, 안지오텐신 II 수용체 차단제, 혈관확장제, 항응고제, 혈소판 응집 억제제, 혈전용해제 또는 디지탈리스이다.
- [0052] 본 개시 내용은 또한 피험체에게 혈관재생술을 시술하는 것과 함께(예를 들어, 혈관재생술을 함께 병용하여) 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 피험체에서 심혈관 사건을 치료하는 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 울혈성 심부전, 급성 관상동맥 증후군 또는 협심증인 방법을 제공한다.
- [0053] 일부 실시양태에서, 심혈관 사건은 심근경색 또는 급성 관상동맥 증후군이다. 일부 실시양태에서, 심근경색은 ST 상승 심근경색(예를 들어, ST 분절 상승 심근경색, STEMI)이다. 일부 실시양태에서, 심근경색은 비ST 상승 심근경색(예를 들어, 비ST 분절 상승 심근경색, NSTEMI)이다. 일부 실시양태에서, ST 상승 여부는 심전도(예를 들어, ECG, EKG)에 의해 측정된다.
- [0054] 일부 실시양태에서, 혈관재생술은 관상동맥, 경동맥 또는 말초 동맥 혈관재생술이다.
- [0055] 본 개시 내용은 또한 피험체에게 혈관재생술을 시술하는 것과 함께(예를 들어, 혈관재생술을 함께 병용하여) 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는, 피험체에서 심혈관 질환, 예를 들어, 급성 심혈관 질환 또는 만성 심혈관 질환을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0056] 일부 실시양태에서, 상기 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것은 예를 들어, 심혈관 질환, 예를 들어, 급성 심혈관 질환 또는 만성 심혈관 질환을 앓는 환자에서, 또는 죽상경화성 심혈관 질환에 대한 다중 위험 인자를 가진 환자(예를 들어, 55세, 65세이며, 동시에 CABG, NSTEMI, 고혈압, 콜레스테롤 상승 또는 스타틴 복용 중, CRP 상승, 6개월 또는 6개월 그 이전에 심근경색/뇌졸중을 앓았던 이전 병력, ACS 또는 TIA를 앓았던 이전 병력, 흡연, PCI 이력, 2형 당뇨병 중 하나 이상을 가진 환자)에서 MACE(주요 심장 유해 사건(major adverse cardiac event), 예를 들어, 심근경색, 뇌졸중, 사망, 예를 들어, CV 사망, 및/또는 그의 복합)의 상대적인 위험을 감소(예를 들어, 위험, 빈도, 발병률, 중증도 감소)시키는 데 충분하다.
- [0057] 일부 실시양태에서, 상기 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것은 시간 상 1차 MACE 사건, 혈관재생술(예를 들어, CABG), 모든 원인의 사망률, 말초 혈관 질환, 1차 기록된 협심증 중점, 울혈성 심부전(CHF)으로 인한 입원, 병원 방문 횟수의 감소, 입원 기간, 허혈성 사건(예를 들어, 협심증 및/또는 CHF)으로 인한 재입원, 경색 크기, 이완기 용적, 박출물 또는 이뇨제 사용까지 도달하는 데 충분하다.
- [0058] 일부 실시양태에서, 상기 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것은 플라크 퇴행, 플라크 안정화 및/또는 플라크 파열 억제에 충분하다.
- [0059] 일부 실시양태에서, 상기 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것은 CRP

수치, BNP 수치, 트로포닌 수치, C 펩티드 수치, LDL 수치, 혈압 또는 혈당(HbA1c)을 감소시키는 데 충분하다.

[0060] 일부 실시양태에서, 상기 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것은 SAE, 암, 저혈당증, 심한 감염률, 감염률, 면역원성 또는 심부전증을 감소시키거나, 또는 증가시키지는 않는 데 충분하다.

[0061] 본 개시 내용은 또한 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는, 피험체에서 혈관재생술 이후의 재협착을 감소시키는 방법을 제공한다.

[0062] 일부 실시양태에서, 혈관재생술은 관상동맥, 경동맥 또는 말초 동맥 혈관재생술이다.

[0063] 일부 실시양태에서, 상기 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것이 CRP 수치를 감소시키는 데 충분하다.

[0064] 본 개시 내용은 또한 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편 및 1종 이상의 항고혈압제를 투여하는 것을 포함하는, 피험체에서 급성 고혈압을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 피험체는 180/110 mm Hg 이상의 혈압을 가진 피험체이다. 일부 다른 실시양태에서, 피험체는 수축기 혈압(SBP)이 140 내지 180 mm Hg이고/거나, 이완기 혈압(DBP)이 90 내지 110 mm Hg인, 경미한 고혈압 내지 중간 정도의 고혈압을 가진 피험체이다. 일부 실시양태에서, 항고혈압제는 정맥내로 투여된다. 일부 실시양태에서, 항고혈압제는 알파/베타 아드레날린 차단제, 안지오텐신 전환 효소 억제제, 안지오텐신 II 수용체 길항제, 항아드레날린제, 베타 아드레날린 차단제, 칼슘 채널 차단제, 이뇨제, 및 혈관확장제로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 항고혈압제는 카르베딜롤, 라베탈롤, 베나제프릴, 캅토프릴, 에날라프릴, 포시노프릴, 리시노프릴, 모엑시프릴, 페린도프릴, 퀴나프릴, 라미프릴, 트란돌라프릴, 칸데사르탄, 에프로사르탄, 이르베사르탄, 로사르탄, 텔미사르탄, 발사르탄, 클로니딘, 독사조신, 구아나벤즈, 구아나드렐, 구아네티딘, 구안파신, 메카밀아민, 메틸도파, 프라조신, 레세르핀, 테로조신, 아세부톨롤, 아테놀올, 베타소롤, 비소프롤롤, 카르테올롤, 메토프롤롤, 나돌올, 펜부톨롤, 핀돌올, 프로프라놀롤, 티몰롤, 암로디핀, 딜티아젠펜, 펠로디핀, 이스라디핀, 니카르디핀, 니페디핀, 니솔디핀, 베라파밀, 아밀로리드, 벤즈티아지드, 클로로티아지드, 클로르탈리돈, 푸로세미드, 히드로클로로티아지드, 인다파미드, 메톨라존, 포리티아지드, 스피로놀락톤, 토르세미드, 트리클로르메티아지드, 히드랄라진, 니트로글리세린, 니트로프루시드 나트륨, 클레비디핀 또는 미녹시딜이다. 일부 실시양태에서, 항고혈압제는 라베탈롤, 메토프롤롤, 히드랄라진, 니트로글리세린, 니카르디핀, 니트로프루시드 나트륨 또는 클레비디핀이다.

[0065] 본 개시 내용은 또한 피험체에게 의학적 중재 또는 외과적 중재와 함께(예를 들어, 그와 병용하여)(예를 들어, 그 이전에, 그 중에, 또는 그 이후에 병용하여) 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는, 피험체에서 심혈관 사건 또는 질환(예를 들어, 급성 심혈관 질환 또는 만성 심혈관 질환)을 감소, 예방, 또는 치료하는 방법을 제공한다. 상기 항체는 치료학적 유효량으로 투여될 수 있다. 상기 중재는 치료학적 유효할 수 있다. 일부 실시양태에서, 의학적 중재는 활성제, 예를 들어, 약물 또는 생물제, 예를 들어, 본원에 기술된 활성제 중 어느 하나 이상의 것이다. 일부 실시양태에서, 의학적 중재는 외래 환자를 위한 의학적 치료 또는 방법이다. 일부 실시양태에서, 의학적 중재는 원내 환자 입원이다. 일부 실시양태에서, 외과적 중재는 혈관재생술, 예를 들어, 본원에 기술된 혈관재생술 중 어느 하나 이상의 것이다. 일부 실시양태에서, 외과적 중재는 심장 판막 수복 또는 치환, 관상 우회로술, 심장 이식 또는 심장 펌프를 포함한다. 일부 실시양태에서, 외과적 중재는 양측 심실 심장 박동 조율기, 체내 심장 제세동기(ICD: internal cardiac defibrillator) 또는 근육절제술이다. 일부 실시양태에서, 의학적 중재는 금연 약물 처치 또는 금연 상담이다.

[0066] 본 개시 내용은 또한 (a) 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체를 확인, 진단, 또는 선별하는 단계, 및 (b) 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체에서 심혈관 사건을 감소시키는 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 심혈관 사망, 울혈성 심부전, 심정지, 급성 관상동맥 증후군, 협심증, 또는 혈관재생술인 방법을 제공한다.

[0067] 본 개시 내용은 또한 (a) 이전 심혈관 사건의 병력을 갖는 피험체를 확인, 진단, 또는 선별하는 단계, 및 (b) 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 이전 심혈관 사건의 병력을 갖는 피험체에서 심혈관 사건을 감소시키는 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 급성 관상동맥 증후군, 협심증 또는 혈관재생술인 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 이전 심혈관 사건은

1차 심혈관 사건이다. 일부 실시양태에서, 이전 또는 1차 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 울혈성 심부전, 급성 관상동맥 증후군, 협심증 및 혈관재생술로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 이전 또는 1차 심혈관 사건은 심근경색 또는 급성 관상동맥 증후군이다. 일부 실시양태에서, 심근경색은 ST 상승 심근경색(예를 들어, ST 분절 상승 심근경색, STEMI)이다. 일부 실시양태에서, 심근경색은 비ST 상승 심근경색(예를 들어, 비ST 분절 상승 심근경색, NSTEMI)이다. 일부 실시양태에서, ST 상승 여부는 심전도(예를 들어, ECG, EKG)에 의해 측정된다. 일부 실시양태에서, 심혈관 사건을 감소시키는 방법은 2차 또는 후속 심혈관 사건을 감소시키는 방법이다. 일부 실시양태에서, 심혈관 사건(예를 들어, 2차 또는 후속 심혈관 사건)은 심근경색, 뇌졸중, 심혈관 사망, 울혈성 심부전, 심정지, 급성 관상동맥 증후군, 협심증 및 혈관재생술로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 1차 심혈관 사건 및 2차 심혈관 사건은 같은 유형의 심혈관 사건이다. 일부 실시양태에서, 1차 심혈관 사건 및 2차 심혈관 사건은 다른 유형의 심혈관 사건이다.

[0068] 본 개시 내용은 또한 (a) 심혈관 사건을 앓는 피험체를 확인, 진단, 또는 선별하는 단계, 및 (b) 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는, 피험체에서 심혈관 사건 후의 사망률을 감소시키는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 울혈성 심부전, 급성 관상동맥 증후군, 협심증 및 혈관재생술로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 심혈관 사건은 심근경색 또는 급성 관상동맥 증후군이다. 일부 실시양태에서, 심근경색은 ST 상승 심근경색(예를 들어, ST 분절 상승 심근경색, STEMI)이다. 일부 실시양태에서, 심근경색은 비ST 상승 심근경색(예를 들어, 비ST 분절 상승 심근경색, NSTEMI)이다. 일부 실시양태에서, ST 상승 여부는 심전도(예를 들어, ECG, EKG)에 의해 측정된다.

[0069] 본 개시 내용은 또한 (a) 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체를 확인, 진단, 또는 선별하는 단계, 및 (b) 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체에서 심혈관 사건을 감소시키는 방법으로서, 위험 인자가 2형 당뇨병, 비만, 고혈당증, 이상지질혈증, 고지질혈증, 만성 신부전, 고혈당, 만성 신장 질환, 고혈압, 죽상동맥경화증 또는 대사 증후군이 아닌 것인 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 심혈관 사망, 울혈성 심부전, 심정지, 급성 관상동맥 증후군, 협심증 및 혈관재생술로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0070] 본 개시 내용은 또한 (a) 심혈관 사건을 앓는 피험체를 확인, 진단, 또는 선별하는 단계, 및 (b) 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편, 및 IL-1 β 항체 또는 단편 이외의 활성제를 포함하는 1종 이상의 다른 약학 조성물을 투여하는 것을 포함하는 피험체에서 심혈관 사건을 치료하는 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 울혈성 심부전, 급성 관상동맥 증후군 또는 협심증인 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 이전 또는 1차 심혈관 사건은 심근경색 또는 급성 관상동맥 증후군이다. 일부 실시양태에서, 심근경색은 ST 상승 심근경색(예를 들어, ST 분절 상승 심근경색, STEMI)이다. 일부 실시양태에서, 심근경색은 비ST 상승 심근경색(예를 들어, 비ST 분절 상승 심근경색, NSTEMI)이다. 일부 실시양태에서, ST 상승 여부는 심전도(예를 들어, ECG, EKG)에 의해 측정된다.

[0071] 본 개시 내용은 또한 (a) 심혈관 사건을 앓는 피험체를 확인, 진단, 또는 선별하는 단계, 및 (b) 피험체에게 혈관재생술을 시술하는 것과 함께(예를 들어, 혈관재생술을 함께 병용하여) 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 피험체에서 심혈관 사건을 치료하는 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 울혈성 심부전, 급성 관상동맥 증후군 또는 협심증인 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 이전 또는 1차 심혈관 사건은 심근경색 또는 급성 관상동맥 증후군이다. 일부 실시양태에서, 심근경색은 ST 상승 심근경색(예를 들어, ST 분절 상승 심근경색, STEMI)이다. 일부 실시양태에서, 심근경색은 비ST 상승 심근경색(예를 들어, 비ST 분절 상승 심근경색, NSTEMI)이다. 일부 실시양태에서, ST 상승 여부는 심전도(예를 들어, ECG, EKG)에 의해 측정된다.

[0072] 본 개시 내용은 또한 (a) 혈관재생술을 받은 피험체를 확인, 진단, 또는 선별하는 단계, 및 (b) 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는, 피험체에서 혈관재생술 이후의 재협착을 감소시키는 방법을 제공한다.

[0073] 본 개시 내용은 또한 (a) 급성 고혈압을 앓는 피험체를 확인, 진단, 또는 선별하는 단계, 및 (b) 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편 및 1종 이상의 항고혈압제를 투여하는 것을 포함하는, 피험체에서 급성 고혈압을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 고혈압은 180/110 mm Hg 이상의 혈압으로 나타난다. 일부 다른 실시양태에서, 고혈압은 경미한 고혈압 내지 중간 정도의 고혈압이며, 수

축기 혈압(SBP)이 140 내지 180 mm Hg이고/거나, 이완기 혈압(DBP)이 90 내지 110 mm Hg인 것이다.

- [0074] 상기 언급한 실시양태 중 어느 것 및/또는 그들 모두에서, 상기 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것이 CRP 수치를 감소시키는 데 충분할 수 있다.
- [0075] 본 개시 내용은 또한 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여함으로써, 급성 심혈관 질환 또는 만성 심혈관 질환을 비롯한 심혈관 사건 및/또는 심혈관 질환을 감소, 예방 또는 치료하기 위한 방법과 같은, 상기 언급한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두에서 사용하기 위한 약학 조성물을 제공한다.
- [0076] 예를 들어, 상기 기술된 것과 같은 다양한 방법 및 약학 조성물이 본원에서 제공된다. 본 개시 내용은 추가로 IL-1 β 결합 항체 및 이의 결합 단편 뿐만 아니라, 상기 언급한 방법 및 약학 조성물들 중 어느 것 및/또는 그들 모두에서 또는 그와 함께 사용될 수 있는 적합한 투여량 및 투약 요법을 제공한다.
- [0077] 상기 기술한 방법 및 약학 조성물들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 항체 또는 단편은 약 1 nM 이하의 해리 상수로 인간 IL-1 β 에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 단편은 약 500 pM 이하의 해리 상수로 인간 IL-1 β 에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 약 250 pM 이하의 해리 상수로 인간 IL-1 β 에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 약 100 pM 이하의 해리 상수로 인간 IL-1 β 에 결합한다. 상기 기술한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 약 50 pM 이하의 해리 상수로 인간 IL-1 β 에 결합한다. 상기 기술한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 약 5 pM 이하의 해리 상수로 인간 IL-1 β 에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 약 1 pM 이하의 해리 상수로 인간 IL-1 β 에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 약 0.3 pM 이하의 해리 상수로 인간 IL-1 β 에 결합한다.
- [0078] 상기 기술한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 중화 항체이다.
- [0079] 상기 기술한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 결합된 항체 또는 단편이 실질적으로 IL-1 β 의 IL-1 수용체 I(IL-1RI)에의 결합을 허용하도록 IL-1 β 에피토프에 결합한다.
- [0080] 상기 기술한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 IL-1 α , IL-1R 또는 IL-1Ra에 검출 가능하게 결합하지 않는다.
- [0081] 상기 기술한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 서열 번호 1의 경쇄 가변 영역 및 서열 번호 2의 중쇄 가변 영역을 갖는 항체의 결합과 경쟁한다. 상기 기술한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은, 서열 번호 1의 경쇄 가변 영역 및 서열 번호 2의 중쇄 가변 영역을 갖는 항체가 결합하는 에피토프와 동일하거나, 실질적으로 동일한 에피토프에 결합한다. 상기 기술한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 서열 번호 1의 경쇄 가변 영역 및 서열 번호 2의 중쇄 가변 영역을 가진다.
- [0082] 상기 기술한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 IL-1 β 의 Glu64를 포함하는 에피토프에 결합한다.
- [0083] 상기 기술한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 IL-1 β 의 N 말단의 아미노산 1-34에 결합한다.
- [0084] 상기 기술한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 인간화된 항체 또는 인간 항체이다.
- [0085] 상기 기술한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 3 mg/kg의 항체 또는 단편인 1 이상의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 1 mg/kg 이하의 항체 또는 단편인 1 이상의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 0.3 mg/kg 이하의 항체 또는 단편인 1 이상의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 0.1 mg/kg 이하의 항체 또는 단편인 1 이상의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 0.03 mg/kg 이하의 항체 또는 단편인 1 이상의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 1 이상의 용량은 적어도 0.01 mg/kg의 항체 또

는 단편이다. 상기 기술한 방법들 중 어느 것의 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 0.03 mg/kg 내지 1 mg/kg인 1 이상의 용량으로 투여된다.

[0086] 상기 기술한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 피험체 체중에 대한 용량 비와 무관하게 고정 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 100 mg 이하의 항체 또는 단편인 1 이상의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 25 mg 이하의 항체 또는 단편인 1 이상의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 10 mg 이하의 항체 또는 단편인 1 이상의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 0.5 mg의 항체 또는 단편인 1 이상의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 1 mg 내지 100 mg의 항체 또는 단편인 1 이상의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 상기 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편의 고정 용량은 프리필드 주사기 또는 전달 장치의 사용으로 투여된다.

[0087] 상기 기술한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 피하, 정맥내 또는 근육내 주사에 의해 투여된다.

[0088] 상기 기술한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 초기 용량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여한 후, 1 이상의 후속 용량으로 투여한다. 일부 실시양태에서, 상기 초기 용량 및 1 이상의 후속 용량은 매주 약 1회 내지 매 12시간마다 약 1회인 간격을 두고 투여된다. 일부 실시양태에서, 상기 초기 용량 및 1 이상의 후속 용량은 매 2주마다 약 1회 내지 매 6개월마다 약 1회인 간격을 두고 투여된다. 일부 실시양태에서, 상기 초기 용량 및 1 이상의 후속 용량은 매월 약 1회 내지 매 6개월마다 약 1회인 간격을 두고 투여된다. 일부 실시양태에서, 상기 초기 용량 및 1 이상의 후속 용량은 매월 약 1회 내지 매 3개월마다 약 1회인 간격을 두고 투여된다. 일부 실시양태에서, 상기 초기 용량 및 1 이상의 후속 용량은 매 3개월마다 약 1회 내지 매 6개월마다 약 1회인 간격을 두고 투여된다.

[0089] 상기 언급한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편의 투여를 위한 투약 간격이 1 초과인 투약 간격을 포함하는 투약 요법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 투약 요법은 IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편의 투여를 위한 적어도 2개(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6개)의 상이한 투약 간격을 포함한다. 일부 실시양태에서, 투약 요법은 IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편의 투여를 위한 2개의 상이한 투약 간격을 포함한다. 일부 실시양태에서, 투약 요법은 IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편의 투여를 위한 2개의 상이한 투약 간격을 포함하며, 제1 투약 간격은 IL-1 β 항체 또는 그의 단편을 1 이상의 용량으로 투여하는 것을 포함하고, 제2 투약 간격은 IL-1 β 항체 또는 그의 단편을 1 이상의 용량으로 투여하는 것을 포함하고, 제1 투약 간격은 제2 투약 간격보다 시간상 더 짧다. 예를 들어, 제1 투약 간격은 수일 또는 수주일 수 있고, 제2 투약 간격은 수개월일 수 있다. 일부 실시양태에서, 제1 투약 간격은 약 5일 내지 약 28일, 약 7일 내지 약 21일, 약 12일 내지 약 16일, 또는 약 14일이다. 일부 실시양태에서, 제2 투약 간격은 약 1개월 내지 약 3개월, 약 1개월 내지 약 2개월, 또는 약 1개월이다. 일부 실시양태에서, 제1 투약 간격은 약 7일이고, 제2 투약 간격은 약 1개월이다.

[0090] 일부 실시양태에서, 초기 용량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여한 후, 1 이상의 후속 용량으로 투여하고, 초기 용량 및 제2 용량 투여 사이의 투약 간격 및 제2 용량 및 제3 용량 투여 사이의 투약 간격은 약 7일 내지 약 21일이고, 후속 용량 투여 사이의 투약 간격은 약 1개월 내지 약 3개월이다. 일부 실시양태에서, 초기 용량 및 제2 용량 투여 사이의 투약 간격 및 제2 용량 및 제3 용량 투여 사이의 투약 간격은 약 14일이고, 후속 용량 투여 사이의 투약 간격은 약 1개월이다.

[0091] 상기 언급한 방법들, 투여량 및/또는 투약 요법 중 어느 것 및/또는 그들 모두에 대한 일부 바람직한 실시양태에서, IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편(예를 들어, 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편)은 심혈관 사건 발생 1주 이내에, 심혈관 사건 발생 96시간 이내에, 심혈관 사건 발생 72시간 이내에, 심혈관 사건 발생 48시간 이내에, 심혈관 사건 발생 24시간 이내에, 또는 심혈관 사건 발생 12시간 이내에 1차 투여된다.

[0092] 상기 기술한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 초기 용량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여한 후, 1 이상의 후속 용량으로 투여하고, 상기 1 이상의 후속 용량은 초기 용량과 대략적으로 동일하거나, 그보다 적은 양이다.

[0093] 상기 기술한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 초기 용량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여한 후, 1 이상의 후속 용량으로 투여하고, 후속 용량 중 적어도 하나는 초기 용량보

다 많은 양이다.

[0094] 상기 기술한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편의 IC₅₀은 IL-1 β 에 의해 유도되는 IL-8의 생산을 측정하는 인간 전혈 IL-1 β 억제 분석법에서 IL-1 β 수용체 길항제보다 더 낮다. 일부 실시양태에서, IL-1 β 수용체 길항제는 아나킨라이다.

[0095] 일부 실시양태에서, 상기 기술한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두는 IL-1 β 항체 또는 단편 이외의 활성제를 포함하는 1종 이상의 다른 약학 조성물을 투여하는 것을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 콜레스테롤 강하제이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 스타틴 또는 HMG-CoA 리덕타제 억제제(예를 들어, 로바스타틴, 프라바스타틴, 심바스타틴, 플루바스타틴, 아토르바스타틴, 세리바스타틴, 메바스타틴, 피타바스타틴, 로수바스타틴 또는 그의 혼합물 또는 에제티미브, 니아신, 암로디핀 베실레이트와의 혼합물)이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 칼슘 채널 차단제(예를 들어, 암로디핀, 딜티아젠펜, 니페디핀, 니카르디핀, 베라파밀) 또는 베타 차단제(예를 들어, 에스몰롤, 메토프롤롤, 나돌올, 펜부톨롤)이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 항고혈압제(예를 들어, 라베탈롤, 메토프롤롤, 히드랄라진, 니트로글리세린, 니카르디핀, 니트로프루시드 나트륨, 클레비디핀), 이뇨제(예를 들어, 에스몰롤아지드 이뇨제, 클로르탈리돈, 푸로세미드, 히드로클로로티아지드, 인다파미드, 메톨라존, 아밀로리드 히드로클로라이드, 스피로놀락톤, 트리암테렌) 또는 아스피린이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 안지오텐신 전환 효소(ACE) 억제제(예를 들어, 라미프릴, 라미프릴레이트, 캅토프릴, 리시노프릴) 또는 안지오텐신 II 수용체 차단제(예를 들어, 로사르탄, 올메사르탄, 발사르탄)이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 혈관확장제이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 항응고제(예를 들어, 아세노쿠마롤, 펜프로쿠몬, 와파린, 헤파린, 저분자 헤파린) 또는 혈소판 응집 억제제(예를 들어, 클로피도그렐, 티클로피딘, 실로스타졸, 디피리다몰, 엡티피바티드, 아스피린, 압식시맙, 엡티피바티드, 티로피반)이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 혈전용해제(예를 들어, 스트렙토키나제, 우로키나제, 알테플라제, 레테플라제, 테네크테플라제)이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 디지탈리스이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 디곡신 또는 네시리티드이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 산소이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 트롬빈 억제제(예를 들어, 히루딘, 비발리루딘)이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 니트레이트(예를 들어, 글리세릴 트리니트레이트(GTN)/니트로글리세린, 이소소르비드 디니트레이트, 이소소르비드 모노니트레이트)이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 진통제(예를 들어, 모르핀 수화물)이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 레닌 억제제이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 엔도텔린 A 수용체 억제제이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 알도스테론 억제제이다.

[0096] 본 개시 내용은 또한 심장 사건 또는 심혈관 질환의 감소, 예방 또는 치료용 조성물 제조에서, IL-1 β 에 의해 유도되는 IL-8의 생산을 측정하는 인간 전혈 IL-1 β 억제 분석법에서 IC₅₀이 IL-1 β 수용체 길항제보다 더 낮은 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편의 용도를 제공한다.

[0097] 본원에서 제공하는 이들 IL-1 β 결합 항체 및 이의 결합 단편 뿐만 아니라, 적합한 투여량 및 투약 요법 및/또는 IL-1 β 항체 또는 단편 이외의 활성제를 포함하는 다른 약학 조성물은 예를 들면, 하기 것들을 비롯한, 상기 언급한 방법 및/또는 약학 조성물 중 어느 것에서 또는 그와 함께 사용될 수 있다:

[0098] 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체에서 심혈관 사건을 감소시키는 데(예를 들어, 사건 시간을 지연시키거나, 사건의 가능성 또는 위험을 감소시키거나, 사건을 예방하거나, 사건의 중증도를 감소시키거나, 회복 시간을 단축시키는 데) 사용하기 위한 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 심혈관 사망, 울혈성 심부전, 심정지, 급성 관상동맥 증후군, 협심증, 또는 혈관재생술인 방법 및/또는 약학 조성물;

[0099] 이전 심혈관 사건의 병력을 갖는 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 이전 심혈관 사건의 병력을 갖는 피험체에서 심혈관 사건을 감소시키는 데(예를 들어, 사건 시간을 지연시키거나, 사건의 가능성 또는 위험을 감소시키거나, 사건을 예방하거나, 사건의 중증도를 감소시키거나, 회복 시간을 단축시키는 데) 사용하기 위한 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색,

뇌졸중, 심혈관 사망, 울혈성 심부전, 심정지, 급성 관상동맥 증후군, 협심증 또는 혈관재생술인 방법 및/또는 약학 조성물;

- [0100] 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는, 피험체에서 심혈관 사건 후의 사망률을 감소시키는 데 사용하기 위한 방법 및/또는 약학 조성물;
- [0101] 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체에서 심혈관 사건을 감소시키는 데 사용하기 위한 방법으로서, 위험 인자는 2형 당뇨병, 비만, 고혈당증, 이상지질혈증, 고지질혈증, 만성 신부전, 고혈당, 만성 신장 질환, 고혈압, 죽상동맥경화증 또는 대사 증후군이 아닌 것인 방법 및/또는 약학 조성물;
- [0102] 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편, 및 IL-1 β 항체 또는 단편 이외의 활성제를 포함하는 1종 이상의 다른 약학 조성물을 투여하는 것을 포함하는 피험체에서 심혈관 사건을 치료하는 데 사용하기 위한 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 울혈성 심부전, 급성 관상동맥 증후군 또는 협심증인 방법 및/또는 약학 조성물;
- [0103] 피험체에게 혈관재생술을 시술하는 것과 함께 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 피험체에서 심혈관 사건을 치료하는 데 사용하기 위한 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 울혈성 심부전, 급성 관상동맥 증후군 또는 협심증인 방법 및/또는 약학 조성물;
- [0104] 피험체에게 혈관재생술을 시술하는 것과 함께 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 피험체에서 심혈관 질환, 예를 들어, 급성 심혈관 질환 또는 만성 심혈관 질환을 치료하는 데 사용하기 위한 방법 및/또는 약학 조성물;
- [0105] 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 피험체에서 혈관재생술 이후의 재협착을 감소시키는 데 사용하기 위한 방법 및/또는 약학 조성물;
- [0106] 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편 및 1종 이상의 항고혈압제를 투여하는 것을 포함하는 피험체에서 급성 고혈압을 치료하는 데 사용하기 위한 방법 및/또는 약학 조성물;
- [0107] 피험체에게 의학적 중재 또는 외과적 중재와 함께 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 피험체에서 심혈관 사건 또는 질환(예를 들어, 급성 심혈관 질환 또는 만성 심혈관 질환)을 감소, 예방, 또는 치료하는 데 사용하기 위한 방법 및/또는 약학 조성물;
- [0108] 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 피험체에서 혈소판 활성을 억제시키는 데 사용하기 위한 방법 및/또는 약학 조성물;
- [0109] (a) 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체를 확인, 진단, 또는 선별하는 단계, 및 (b) 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체에서 심혈관 사건을 감소시키는 데 사용하기 위한 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 심혈관 사망, 울혈성 심부전, 심정지, 급성 관상동맥 증후군, 협심증, 또는 혈관재생술인 방법 및/또는 약학 조성물;
- [0110] (a) 이전 심혈관 사건의 병력을 갖는 피험체를 확인, 진단, 또는 선별하는 단계, 및 (b) 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 이전 심혈관 사건의 병력을 갖는 피험체에서 심혈관 사건을 감소시키는 데 사용하기 위한 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 급성 관상동맥 증후군, 협심증 또는 혈관재생술인 방법 및/또는 약학 조성물;
- [0111] (a) 심혈관 사건을 앓는 피험체를 확인, 진단, 또는 선별하는 단계, 및 (b) 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 피험체에서 심혈관 사건 후의 사망률을 감소시키는 데 사용하기 위한 방법 및/또는 약학 조성물;
- [0112] (a) 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체를 확인, 진단, 또는 선별하는 단계, 및 (b) 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체에서 심혈관 사건을 감소시키는 데 사용하기 위한 방법으로서, 위험 인자가 2형 당뇨병, 비만, 고혈당증, 이상지질혈증, 고지질혈증, 만성 신부전, 고혈당, 만성 신장 질환, 고혈압, 죽상동맥경화증 또는 대사 증후군이 아닌 것인 방법 및/또는 약학 조성물;

- [0113] (a) 심혈관 사건을 앓는 피험체를 확인, 진단, 또는 선별하는 단계, 및 (b) 피험체에게 치료학적 유효량의 항 IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편, 및 IL-1 β 항체 또는 단편 이외의 활성제를 포함하는 1종 이상의 다른 약학 조성물을 투여하는 것을 포함하는 피험체에서 심혈관 사건을 치료하는 데 사용하기 위한 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 울혈성 심부전, 급성 관상동맥 증후군 또는 협심증인 방법 및/또는 약학 조성물;
- [0114] (a) 심혈관 사건을 앓는 피험체를 확인, 진단, 또는 선별하는 단계, 및 (b) 피험체에게 혈관재생술을 시술하는 것과 함께(예를 들어, 혈관재생술을 함께 병용하여) 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 피험체에서 심혈관 사건을 치료하는 데 사용하기 위한 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 울혈성 심부전, 급성 관상동맥 증후군 또는 협심증인 방법 및/또는 약학 조성물;
- [0115] (a) 혈관재생술을 받은 피험체를 확인, 진단, 또는 선별하는 단계, 및 (b) 피험체에게 치료학적 유효량의 항 IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 피험체에서 혈관재생술 이후의 재협착을 감소시키는 데 사용하기 위한 방법 및/또는 약학 조성물;
- [0116] (a) 급성 고혈압을 앓는 피험체를 확인, 진단, 또는 선별하는 단계, 및 (b) 피험체에게 치료학적 유효량의 항 IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편 및 1종 이상의 항고혈압제를 투여하는 것을 포함하는 피험체에서 급성 고혈압을 치료하는 데 사용하기 위한 방법 및/또는 약학 조성물.
- [0117] 본 명세서에서는 예를 들어, 급성 심혈관 질환 또는 만성 심혈관 질환을 비롯한 심혈관 사건 및/또는 심혈관 질환의 감소, 예방, 또는 치료를 위해 특정의 성질(예를 들어, Kd 값 또는 IC₅₀ 값)을 가진 IL-1 β 항체 또는 이의 결합 단편을 사용하는 방법을 제공하는데, 이는 또한 상기 방법에서 사용하기 위한 의약의 제조에서 상기 IL-1 β 항체 또는 이의 결합 단편의 용도도 포함한다는 것을 이해하여야 한다. 추가로, 본 개시 내용은 또한 이러한 성질을 가진 IL-1 β 항체 또는 이의 결합 단편 뿐만 아니라, 예를 들어, 급성 심혈관 질환 또는 만성 심혈관 질환을 비롯한 심혈관 사건 및/또는 심혈관 질환의 감소, 예방, 또는 치료용의 본원에서 제공하는 방법에서 사용하기 위한 이들 항체 또는 그의 단편을 포함하는 약학 조성물 또한 포함한다.

도면의 간단한 설명

- [0118] 도 1은 인간 피험체에서 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 또는 1.0 mg/kg의 항IL-1 β 항체를 IV 투여한 이후의 혈청 농도를 나타낸 그래프이다.
- 도 2는 인간 피험체에서 0.03, 0.1 및 0.3 mg/kg의 항IL-1 β 항체를 SC 투여한 이후의 혈청 농도를 나타낸 그래프이다.
- 도 3은 인간 피험체에서, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 또는 1.0 mg/kg의 항IL-1 β 항체를 투여한 후 28일째 CRP 변화율(%)의 중앙값을 나타낸 그래프이다.
- 도 4는 심근경색 동물 모델에서 초음파 심장 검사값의 변화를 나타낸 그래프이다.
- 도 5는 심근경색 동물 모델에서 비운동성 분절(경색 크기 대리), 전벽(경색) 두께, MPI 또는 Tei 지수(복합 수축기 및 이완기 기능장애 표지 및 심부전증과 관련된 사망률에 대한 대리 표지) 및 TAPSE(우심실 기능의 표지 및 AMI에 대한 대리 표지)의 측정값을 나타내는 그래프이다.
- 도 6은 내피 세포로부터의 대식세포에 의해 유도된 전염증성 사이토카인의 방출 억제를 나타낸 그래프이다.
- 도 7은 평활근 세포로부터의 대식세포에 의해 유도된 염증성 사이토카인의 방출 억제를 나타낸 그래프이다.
- 도 8은 ApoE 녹아웃 마우스의 대동맥 내의 죽상경화성 병변 형성 감소를 나타내는 그래프이다.
- 도 9는 ApoE 녹아웃 마우스의 대동맥 내의 죽상경화성 병변 형성 감소를 나타내는 정면 분석 결과 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0119] 본 개시 내용은 심혈관 질환, 예를 들어, 급성 심혈관 질환 또는 만성 심혈관 질환의 치료 및/또는 예방을 위한 방법 및 관련 물품에 관한 것이다. 본 방법은 심혈관 질환에 대한 위험 인자의 병력을 갖는 피험체를 비롯한 피험체에서 심혈관 사건, 예를 들어, 심근경색, 뇌졸중, 심혈관 사망, 울혈성 심부전, 심정지, 급성 관상동맥 증후군, 협심증, 또는 혈관재생술을 감소, 치료 또는 예방하는 데 사용될 수 있다. 본 방법은 또한 피험체에서 심혈관 사건 후의 사망률을 감소시키는 데 사용될 수 있다. 본원에 개시된 바와 같은 항IL-1 β 결합

항체 또는 결합 단편을 사용하는 것이, 안전성이 보다 크고(예를 들어, 부작용 감소), 효능이 더 크며, 질환의 염증성 구성 요소를 표적으로 하고/하거나, 투약 빈도가 감소되었다는 점에서 종래 이용가능한 옵션보다 강력한 이점을 제공한다.

[0120] 인터루킨-1(IL-1) 계열의 사이토카인은 여러 질환 상태, 예를 들어, 류마티스 관절염(RA: rheumatoid arthritis), 골관절염, 크론병, 궤양성 대장염(UC: ulcerative colitis), 패혈 쇼크, 만성 폐쇄 폐 질환(COPD: chronic obstructive pulmonary disease), 천식, 이식대숙주병, 죽상동맥경화증, 성인 T 세포 백혈병, 다발골수종, 다발경화증, 뇌졸중, 및 알츠하이머병과 연루되어 있다. IL-1 계열의 구성원으로는 IL-1 α , IL-1 β , 및 IL-1Ra를 포함한다. IL-1 수용체(IL-1R1 및 IL-1R2)에 결합할 수 있는 그의 능력에 의해 서로 관련이 있기는 하지만, 각각의 이들 사이토카인은 상이한 유전자에 의해 발현되고, 상이한 1차 아미노산 서열을 가진다. 추가로, 이들 사이토카인의 생리학적 활성도 서로 구별될 수 있다.

[0121] IL-1 수용체 신호 전달을 붕괴시키는 화합물이 IL-1 매개된 질환, 예를 들어, 상기 언급한 질환들 중 일부의 질환을 치료하기 위한 치료제로서 연구 조사되어 왔다. 이들 화합물로는 재조합 IL-1Ra(Amgen Inc.: 캘리포니아주 사우전드 오크스) 및 IL-1 수용체 "포획(trap)" 펩티드(Regeneron Inc.: 뉴욕주 태리타운) 뿐만 아니라, 동물 유래의 IL-1 β 항체 및 재조합 IL-1 β 항체 및 그의 단편을 포함한다. IL-1 β 리간드를 직접 표적하는 화합물이 우수한 전략법을 제공하며, 특히, 고 친화성 IL-1 β 항체를 투여할 경우에 그러한 것으로 간주된다.

[0122] **항체, 인간화된 항체 및 인간 유전자조작된 항체**

[0123] IL-1(예를 들어, IL-1 β) 결합 항체는 폴리클로날 항체, 모노클로날 항체 (mAb: monoclonal antibody), 재조합 항체, 키메라 항체, CDR 이식화된 항체, 완전한 인간 항체, 단일 쇠 항체, 및/또는 이중특이성 항체 뿐만 아니라, 그의 단편 (변이체 및 유도체 포함)으로서 제공될 수 있는데, 이들은 효소적 절단, 펩티드 합성 또는 재조합 기술을 포함하나, 이에 한정되지 않는 공지 기법에 의해 제공된다.

[0124] 항체는 일반적으로, 2개의 중쇄 폴리펩티드와 2개의 경쇄 폴리펩티드를 포함하긴 하지만, 1개의 중쇄와 1개의 경쇄를 가진 단일 도메인 항체 및 경쇄가 없는 중쇄 항체도 또한 주시된다. 중쇄 불변 도메인의 아미노산 서열을 기준으로 하여 알파, 델타, 엡실론, 감마 및 뮤로 지칭되는 5가지 유형의 중쇄가 있다. 이들 상이한 유형의 중쇄는 각각 5가지 부류의 항체, 즉, IgA(IgA₁ 및 IgA₂ 포함), IgD, IgE, IgG 및 IgM을 발생시키는데, 이에는 IgG의 4가지 서브부류, 즉 IgG₁, IgG₂, IgG₃ 및 IgG₄가 포함된다. 불변 도메인의 아미노산 서열을 기준으로 하여 카파(κ) 또는 람다(λ)로 지칭되는 2가지 유형의 경쇄가 있다. 전장의 항체는 불변 도메인과 가변 도메인을 포함한다. 불변 영역은 항체의 항원 결합 단편에 존재하지 않아도 된다. 본원에 개시된 항체의 항원 결합 단편으로는 Fab, Fab', F(ab')₂ 및 F(v) 항체 단편을 포함할 수 있다. 하기에서 보다 상세히 논의되는 바와 같이, IL-1 β 결합 단편은 IL-1 β 와 결합하게 될 항체 단편 및 항원 결합 폴리펩티드를 포함한다.

[0125] 항체 또는 그의 항원 결합 단편의 중쇄 및 경쇄 서열 각각에는 3개의 상보성 결정 영역(CDR: complementarity determining region) 뿐만 아니라, 비-CDR 골격 영역(FR: framework)을 수반한 가변 영역이 포함된다. 본원에서 사용되는 바, "중쇄" 및 "경쇄"라는 용어는 달리 언급되지 않는 한, 각각 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 의미한다. 중쇄 CDR은 본원에서 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3으로서 지칭된다. 경쇄 CDR은 본원에서 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3으로서 지칭된다. 항체 서열 중의 가변 영역과 CDR은 (i) 당업계에서 개발된 일반적 규칙에 따라서 확인할 수 있거나, 또는 (ii) 공지된 가변 영역의 데이터베이스에 대하여 해당 서열을 정렬함으로써 확인할 수 있다. 이들 영역을 확인하는 방법은 문헌 ([Kontermann and Dubel, eds., *Antibody Engineering*, Springer, New York, NY, 2001], 및 [Dinarello et al., *Current Protocols in Immunology*, John Wiley and Sons Inc., Hoboken, NJ, 2000])에 기재되어 있다. 항체 서열의 데이터베이스는 웹사이트 [www.bioinf.org.uk/abs\(A.C. Martin in the Department of Biochemistry & Molecular Biology University College London\(영국 런던\)\)](http://www.bioinf.org.uk/abs(A.C.Martin%20in%20the%20Department%20of%20Biochemistry%20&%20Molecular%20Biology%20University%20College%20London(영국%20런던)))이 관리의 "카바트만(Kabatman)" 데이터베이스 및 문헌 [Retter et al., *Nucl. Acids Res.*, 33(Database issue): D671-D674 (2005)]에 기술되어 있는 바와 같은, www.vbase2.org의 VBASE2에 기재되어 있고, 그에 액세스 가능하다. "카바트만" 데이터베이스 웹사이트에는 CDR을 확인하기 위한 일반적인 경험적 상식이 포함되어 있다. 본원에서 사용되는 바, "CDR"이라는 용어는 달리 명시되지 않는 한, 문헌 [Kabat et al., *Sequences of Immunological Interest*, 5th ed., U.S. Department of Health and Human Services, 1991]에서 정의된 바와 같다.

[0126] 바람직하게는, 당업계에 공지된 표준 기법을 사용하여 관련 항원 및 애주번트를 다중 피하(sc) 또는 복강내(ip)로 주사하여 면역화시키면 동물에서 폴리클로날 항체가 상승하게 된다. 이작용성 또는 유도체화 제제, 예

를 들어, 말레이미도벤조일 술포숙신이미드 에스테르(시스테인 잔기를 통한 접합), N-히드록시숙신이미드(리신 잔기를 통한 접합), 글루타르알데히드, 숙신산 무수물, 또는 당업계에 공지된 다른 제제를 사용하여 관련 항원을 면역화되는 중에서 면역원성인 단백질, 예를 들어, 키홀럼펫 헤모시아닌, 혈청 알부민, 소 티로글로불린, 또는 대두 티로신 억제제에 접합시킴으로써 개선된 항체 반응을 얻을 수 있다.

[0127] 모노클로날 항체는 실질적으로 동질성 항체로 이루어진 군집으로부터 획득되는 항체를 의미한다. 모노클로날 항체는 일반적으로 고도로 특이성이고, 전형적으로 상이한 결정기(에피토프)에 대해 유도되는 상이한 항체를 포함하는 중재 (폴리클로날) 항체 제제와는 대조적으로, 단일 항원 부위에 대해 유도될 수 있다. 그의 특이성 이외에도, 모노클로날 항체는 상이한 특이성 및 특징을 가진 다른 면역글로불린에 의해 오염되지 않은 동질성 배양물에 의해 합성될 수 있다는 점에서 이롭다.

[0128] 본 개시 내용에 따라 사용되는 모노클로날 항체는 최초로 문헌 [Kohler et al., {*Nature*, 256:495-7, 1975}]에 기술된 하이브리도마 방법에 의해 제조될 수 있거나, 또는 재조합 DNA 방법(예를 들어, 미국 특허 번호 제 4,816,567호 참조)에 의해 제조될 수 있다. 모노클로날 항체는 또한 예를 들어, 문헌 ([Clackson et al., {*Nature* 352:624-628, 1991}] 및 [Marks et al., (*J. Mol. Biol.* 222:581-597, 1991))]에 기재되어 있는 기법을 사용하여 파지 항체 라이브러리로부터 단리될 수 있다.

[0129] 본 개시 내용의 항체는 당업계에 주지되어 있고, 본원에 기술되어 있는 항체의 보다 소형의 결합 단편으로서 사용될 수 있다는 것도 또한 주지된다. 본 개시 내용은 전장의 중쇄 2개와 전장의 경쇄 2개를 포함하는 IL-1(예를 들어, IL-1 β) 결합 항체를 포함한다. 별법으로, IL-1 β 결합 항체는 예를 들어, IL-1 β 에 대한 결합 활성을 보유하고 있는 단일 쇠 항체 또는 "미니" 항체 등으로 구성될 수 있다. 이러한 구성체는 (문헌 [Antibody Engineering, The practical approach series, J. McCafferty, H. R. Hoogenboom, and D. J. Chiswell, editors, Oxford University Press, 1996]에 기재되어 있는 바와 같이) 당업계에 공지된 방법, 예를 들어, E. 콜라이(*E. coli*)에서의 발현을 위한 단일 쇠 항체의 PCR 매개된 클로닝 및 조립에 의해 제조될 수 있다. 이러한 유형의 구성체에서는, 항체 분자의 중쇄 및 경쇄의 가변 부분을 cDNA로부터 PCR 증폭시킨다. 이어서, 생성된 앰플리콘을, 예를 들어, 아미노산 Gly 및 Ser으로 구성된 가요성 단백질 링커를 코딩하는 링커 DNA를 통하여 2차 PCR 단계에서 조립한다. 이러한 링커는 가변 중쇄 부분과 경쇄 부분이, 항원 결합 포켓이 재생되고, 항원이 대개는 전장의 이량체성 모체 면역글로불린 분자와 필적하는 친화도로 결합되는 방식으로 폴딩할 수 있게 해준다.

[0130] IL-1(예를 들어, IL-1 β) 결합 항체 및 단편은 본원에 개시된 예시 항체, 단편 및 서열의 변이체를 포함한다. 변이체는 본원에 개시된 예시 항체, 단편 및 서열들 중의 하나 이상과 동일하거나 실질적으로 동일한 친화성과 에피토프 결합 특이성을 지닌 하나 이상의 아미노산 서열 치환, 결실 및/또는 부가를 포함하는 펩티드 및 폴리펩티드를 포함한다. 따라서, 변이체는 친화성과 에피토프 결합 특이성 측면에서 실질적인 변화를 유발시키지 않는, 본원에 기재된 예시 항체, 단편 및 서열에 대한 하나 이상의 아미노산 서열 치환, 결실 및/또는 부가를 포함하는 펩티드 및 폴리펩티드를 포함한다. 예를 들어, 항체 또는 단편의 변이체는 항체 또는 단편에 대한 한 가지 이상의 변화로부터 생성될 수 있는데, 이로써 변화된 항체 또는 단편은 출발 서열과 동일하거나 실질적으로 동일한 친화성과 에피토프 결합 특이성을 지닌다. 변이체는 천연적으로 발생된 것이거나, 예를 들어, 대립유전자 또는 스플라이스 변이체이거나, 또는 인공적으로 구성될 수 있다. 변이체는 이러한 변이체를 코딩하는 상응하는 핵산 분자로부터 제조될 수 있다. 본 발명의 항체 및 IL-1 β 결합 단편의 변이체는 천연적으로 발생되거나, 또는 재조합 DNA 기술을 사용하여 본래 서열을 시험관내 조작에 의해 도입되는 경쇄 및 중쇄 아미노산 서열상의 변화물일 수도 있다. 천연적으로 발생된 변이체에는 외래 항원에 대한 항체 반응 발생 동안에 상응하는 생식세포계 뉴클레오티드 서열 내에서 생체내 생성되는 "체세포" 변이체가 포함된다.

[0131] IL-1(예를 들어, IL-1 β) 결합 항체 및 결합 단편의 변이체는 또한 돌연변이 유발 기법에 의해 제조될 수도 있다. 예를 들어, 아미노산 변화를 항체 코딩 영역 전반에 걸쳐 무작위로 도입할 수 있고, 이로써 생성된 변이체를 대상으로 하여 IL-1 β 에 대한 결합 친화성이나 또 다른 특성에 대해 스크리닝할 수 있다. 별법으로, 아미노산 변화를 IL-1 β 항체의 선별된 영역, 예를 들어, 경쇄 및/또는 중쇄 CDR, 및/또는 골격 영역에 도입할 수 있고, 이로써 생성된 항체를 대상으로 하여 IL-1 β 에 대한 결합성이나 일부 다른 활성에 대해 스크리닝할 수 있다. 아미노산 변화는 단일 아미노산 차이에서부터 소정의 CDR, 예를 들어, CDR3 내 다수의 아미노산 순열을 도입하는 것까지 다양한, CDR 내에서의 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 또 다른 방법에서, CDR 내의 각 잔기가 IL-1 β 결합에 기여하는지 여부는 CDR 내의 적어도 하나의 잔기를 알라닌으로 치환시킴으로써 평가할 수 있다(문헌 [Lewis et al. (1995), *Mol. Immunol.* 32: 1065-72]). 이어서, 보다 최적의 서열을 결정하기 위해서는 IL-1 β 에 대한 결합 측면에서 최적이지 아닌 잔기를 변화시킬 수 있다. 또한, CDR, 예를 들

어, CDR3의 크기를 증가시키는 아미노산을 삽입함으로써 생성된 변이체를 포함한다. 예를 들어, 대부분의 경쇄 CDR3 서열은 길이가 9개 아미노산이다. 9개 잔기보다 짧은 항체 내의 경쇄 서열은 CDR의 길이를 증가시키는 것에 적당한 아미노산을 삽입함으로써 IL-1 β 에 대한 결합성을 최적화시킬 수 있다.

[0132] 변이체는 또한 경쇄 또는 중쇄를 "쇄 서플링"함으로써 제조될 수도 있다(문헌 [Marks et al. (1992), *Biotechnology* 10: 779-83]). 단일 경쇄(또는 중쇄)를, 중쇄(또는 경쇄) 레파토리를 가진 라이브러리와 조합할 수 있고, 이로써 생성된 균집을 대상으로 하여 원하는 활성, 예를 들어, IL-1 β 에 대한 결합에 대해 스크리닝할 수 있다. 이로써, 중쇄와 경쇄 둘 모두의 레파토리를 포함하는 라이브러리를 이용하는 경우에 가능한 것보다 더 큰, 단일 경쇄(또는 중쇄)와 조합한 상이한 중쇄(또는 경쇄) 샘플을 스크리닝할 수 있게 된다.

[0133] 본 개시 내용의 IL-1(예를 들어, IL-1 β) 결합 항체 및 단편은 본원에 개시된 예시 항체, 단편 및 서열의 유도체를 포함한다. 유도체는 화학적으로 변형된 폴리펩티드 또는 펩티드, 또는 그의 변이체, 단편 또는 유도체를 포함한다. 예로는 하나 이상의 중합체, 예를 들어, 수용성 중합체, N 결합 또는 O 결합 당질, 당, 인산염, 및/또는 다른 상기 분자의 공유 부착물을 포함한다. 이러한 유도체는 부착된 분자의 유형이나 위치면에서 천연적으로 발생된 또는 출발 펩티드 또는 폴리펩티드와 상이한 방식으로 변형된다. 유도체는 추가로 상기 펩티드 또는 폴리펩티드 상에 천연상 존재하는 하나 이상의 화학기의 결실을 포함한다.

[0134] IL-1 β 결합 항체 및 단편은 이중특이성일 수 있다. 이중특이성 항체 또는 단편은 몇 가지 형상일 수 있다. 예를 들어, 이중특이성 항체는 단일 항체(또는 항체 단편)와 유사할 수 있지만, 2개의 상이한 항원 결합 부위(가변 영역)를 가질 수 있다. 이중특이성 항체는 화학적 기법(문헌 [Kranz et al. (1981), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78: 5807])에 의해, "폴리오마" 기법(미국 특허 번호 제4,474,893호) 또는 재조합 DNA 기법에 의해 제조될 수 있다. 본 개시 내용의 이중특이성 항체는 적어도 2개의 상이한 에피토프(이중 적어도 하나는 IL-1 β 의 에피토프이다)에 대한 결합 특이성을 가질 수 있다. IL-1 β 결합 항체 및 단편은 또한 이중항체일 수 있다. 이중항체는 함께 연결된 2개 이상의 항체, 또는 항체 결합 단편(Fab)인데, 각 항체 또는 단편은 상이한 특이성을 지니고 있다.

[0135] 모노클로날 항체 생성을 우회하는 항체 분자의 항원 결합 영역의 재조합 DNA 버전을 생성하는 기법이 본 발명의 IL-1(예를 들어, IL-1 β) 결합 항체 및 단편에 대해 주시된다. DNA를 세균성 발현 시스템 내로 클로닝한다. 본 개시 내용을 실시하는 데 적합한 상기 기법들 중의 한 예는 발현된 Fab 단백질이 주변세포질 공간(세균 세포막과 세포벽 사이)으로 이동할 수 있게 하거나 분비될 수 있게 하는 리더 서열을 가진 박테리오파지 람다 벡터 시스템을 이용한다. IL-1 β 와 결합하는 것을 알아보기 위해 다수의 기능적 Fab 단편을 신속하게 생성하고, 스크리닝할 수 있다. 이러한 IL-1 β 결합체(IL-1 β 폴리펩티드에 대한 특이성을 지닌 Fab 단편)가 본 개시 내용의 IL-1 β 결합 항체 및 단편 내에 구체적으로 포함된다.

[0136] 본 발명의 IL-1(예를 들어, IL-1 β) 결합 항체 및 단편은 인간화된 항체 또는 인간 조작된 항체일 수 있다. 본원에 사용되는 바, 인간화된 항체, 또는 그의 항원 결합 단편은 비인간 항체로부터의 항원 결합 부위 일부와 인간 항체의 골격 및/또는 불변 영역 일부를 포함하는 재조합 폴리펩티드이다. 인간 조작된 항체 또는 항체 단편은 인간 내에서 변형된 항체의 임의의 검출가능한 임의의 면역원성을 저하시키거나 제거하기 위해 특정 위치에 있는 아미노산을 변형(예를 들어, 결실, 삽입 또는 치환)시킴으로써 조작된 비인간(예를 들어, 마우스) 항체이다.

[0137] 인간화된 항체로는 키메라 항체 및 CDR-이식화 항체를 포함한다. 키메라 항체는 인간 불변 영역과 연결된 비인간 항체 가변 영역을 포함하는 항체이다. 따라서, 키메라 항체에서는 가변 영역이 주로 비인간 영역이고, 불변 영역이 인간 영역이다. 키메라 항체 및 이를 제조하는 방법이 문헌 ([Morrison, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81: 6841-6855 (1984)], [Boulianne, et al., *Nature*, 312: 643-646 (1984)], 및 PCT 출원 공개 공보 WO 86/01533)에 기술되어 있다. 이들 항체가 마우스 모노클로날 항체보다 면역원성이 더 작을 수 있지만, 키메라 항체의 투여는 항체의 비인간 부분에 대한 인간 면역 반응(HAMA)과 연관되었다. 키메라 항체는 또한 적당한 항원 결합 특이성의 마우스 항체 분자로부터의 유전자를 적당한 생물학적 활성, 예를 들어, 인간 보체를 활성화시키고 ADCC를 매개할 수 있는 능력의 인간 항체 분자로부터의 유전자와 함께 스피라이싱함으로써 생성될 수도 있다(문헌 ([Morrison et al. (1984), *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81: 6851]; [Neuberger et al. (1984), *Nature*, 312: 604])). 한 가지 예는 Fc 영역을 상이한 이소형의 영역으로 대체하는 것이다.

[0138] CDR-이식화 항체는 인간 "수용자" 항체로부터의 골격 영역과 연결된 비인간 "공여자" 항체로부터의 CDR을 포함하는 항체이다. 일반적으로, CDR-이식화 항체는 키메라 항체보다 더 많은 인간 항체 서열을 포함하는데, 이는 상기 항체가 인간 항체로부터의 불변 영역 서열과 가변 영역(골격) 서열 둘 모두를 포함하기 때문이다. 따

라서, 예를 들어, 본 개시 내용의 CDR-이식화 인간화된 항체는 인간 항체의 골격 영역(예를 들어, 인간 항체의 FR-1, FR2 또는 FR-3)으로부터의 연속되는 아미노산 서열(예를 들어, 약 5개 이상, 10개 이상, 또는 심지어 15개 이상 연속되는 아미노산 잔기)을 포함하거나, 임의로는 인간 항체의 전체 골격 영역의 대부분 또는 전부를 포함하는 중쇄를 포함할 수 있다. CDR-이식화 항체 및 그의 제조 방법은 문헌 ([Jones et al., *Nature*, 321: 522-525 (1986)], [Riechmann et al., *Nature*, 332: 323-327 (1988)], 및 [Verhoeyen et al., *Science*, 239: 1534-1536 (1988)])에 기재되어 있다. 인간화된 항체를 생성하기 위해 사용될 수 있는 방법은 또한 미국 특허 제4,816,567호, 제5,721,367호, 제5,837,243호 및 제6,180,377호에 기재되어 있다. CDR-이식화 항체는 비인간 항체 부분에 대하여 면역 반응을 유도시키는 경향이 키메라 항체보다는 더 작은 것으로 간주된다. 그러나, 공여자 항체로부터의 골격 서열이 공여자 항체의 결합 친화성 및/또는 특이성에 요구되는데, 이는 아마도 이들 골격 서열이 공여자 항체의 항원 결합부의 폴딩에 영향을 미치기 때문인 것으로 보고되었다. 따라서, 공여자 비인간 CDR 서열을 변경되지 않은 인간 골격 서열 상으로 이식시킨 경우, 이로써 생성된 CDR-이식화 항체는 일부 경우에는 원래의 비인간 공여자 항체와 비교하여 결합능(binding avidity) 상실을 나타낼 수 있다. 예를 들어, 문헌 ([Riechmann et al., *Nature*, 332: 323-327 (1988)], 및 [Verhoeyen et al., *Science*, 239: 1534-1536 (1988)])을 참조한다.

[0139] 인간 조작된 항체로는 예를 들어, "베니어(veneered)" 항체, 및 휴먼 엔지니어링(HUMAN ENGINEERING)TM 기술(미국 특허 제5,869,619호)을 이용하여 제조된 항체를 포함한다. 휴먼 엔지니어링TM 기술은 상업적으로 이용 가능하고, 이는 인간에서는 면역원성이 감소되고, 그럼에도 불구하고 원래의 비인간 항체의 원하는 결합 특성은 보유하는 변형된 항체를 제조하기 위해 항체의 아미노산 서열에 대한 특이적 변화를 유도함으로써 비인간 항체 또는 항체 단편, 예를 들어, 마우스 또는 키메라 항체 또는 항체 단편을 변경시키는 것을 포함한다. 일반적으로, 상기 기법은 비인간(예를 들어, 마우스) 항체의 아미노산 잔기를 "저 위험," "중간 수준의 위험" 또는 "고 위험" 잔기로서 분류하는 것을 포함한다. 이러한 분류는 치환이 생성된 항체의 폴딩 및/또는 항원 결합 특성에 영향을 미칠 수 있는 위험에 대항하여 (예를 들어, 인간에서 면역원성을 위한) 특별히 치환하는 경우에 예상되는 이익을 평가하는 전반적 위험/보상 계산법을 이용하여 수행한다. 따라서, 저 위험 위치는 항원 결합 특성에 상당한 영향을 미치지 않으면서도 면역원성을 저하시키는 것으로 예측되기 때문에 유익할 것으로 예상되는 치환이 이루어진 곳이다. 중간 수준의 위험 위치는 면역원성을 저하시키는 것으로 예측되긴 하지만 단백질 폴딩 및/또는 항원 결합성에 영향을 미칠 가능성이 더 큰 것으로 예상되는 치환이 이루어진 곳이다. 고 위험 위치는 적당한 폴딩이나 항원 결합성에 관여할 가능성이 가장 큰 잔기를 함유한다. 일반적으로, 비인간 항체 중의 저 위험 위치는 인간 잔기로 치환시키고, 고 위험 위치는 거의 치환시키지 않으며, 중간 수준의 위험 위치에서의 인간화 치환은 종종 이루어지긴 하지만, 무차별적이지 않다. 비인간 항체 가변 영역 서열 중 프롤린을 수반한 위치가 보통 적어도 중간 수준의 위험 위치로서 분류된다.

[0140] 비인간(예를 들어, 마우스) 항체 서열의 소정의 저 위험 위치 또는 중간 수준의 위험 위치에서 치환될 특성의 인간 아미노산 잔기는 비인간 항체의 가변 영역으로부터의 아미노산 서열을 특이적 또는 컨센서스 인간 항체 서열의 상응하는 영역과 정렬시킴으로써 선별할 수 있다. 이러한 정렬에 따라서 인간 항체 서열 중의 상응하는 영역을 비인간 서열 중의 저 위험 또는 중간 수준의 위험 위치에서의 아미노산 잔기로 치환시킬 수 있다. 인간 조작된 단백질을 제조하는 기법은 문헌 ([Studnicka et al., *Protein Engineering*, 7: 805-814 (1994)], 미국 특허 제5,766,886호, 제5,770,196호, 제5,821,123호, 및 제5,869,619호, 및 PCT 출원 공개 공보 WO 93/11794)에 상세히 기재되어 있다.

[0141] "베니어" 항체는 면역원성을 추가로 저하시키거나 기능을 추가로 증강시키기 위해 특정의 용매 노출된 아미노산 잔기를 대체시키도록 조작된 비인간 또는 인간화된 항체(예를 들어, 키메라 또는 CDR-이식화 항체)이다. 키메라 항체의 표면 잔기는 적당한 항체 폴딩에 영향을 미칠 수 있는 가능성이 적고, 면역 반응을 유도할 수 있는 가능성은 더 큰 것으로 추정되는 바, 키메라 항체를 베니어링하는 것은 예를 들어, 키메라 항체의 비인간 골격 영역 중의 용매 노출된 잔기를 확인하고, 이들 중의 적어도 하나를 인간 골격 영역으로부터의 상응하는 표면 잔기로 치환시키는 것을 포함할 수 있다. 베니어링은 상기 기술한 휴먼 엔지니어링TM 기술을 사용하는 것을 비롯한, 임의의 적합한 공학 기법에 의해 달성될 수 있다.

[0142] 상이한 접근법에서는, CDR-이식화 항체를 "탈인간화"함으로써 결합능을 회복시킬 수 있다. 탈인간화는 공여자 항체의 골격 영역으로부터의 잔기를 CDR 이식화 항체로 복원시킴으로써 적당한 폴딩을 복원시키는 것을 포함할 수 있다. 유사한 "탈인간화"는 (i) "공여자" 골격 영역의 일부를 "수용자" 항체에 포함시키거나, 또는 (ii) "공여자" 항체 골격 영역의 일부를 수용자 항체 내로 (이식되는 공여자 CDR과 함께) 이식함으로써 달성할 수 있다.

- [0143] 항체, 인간화된 항체, 인간 조작된 항체, 및 이들의 제조 방법에 관한 추가의 논의에 대해서는 문헌 [Kontermann and Dubel, eds., *Antibody Engineering*, Springer, 신생 York, NY, 2001]을 참조한다.
- [0144] 예시되는 인간화된 항체 또는 인간 조작된 항체로는 IgG, IgM, IgE, IgA, 및 IgD 항체를 포함한다. 본 발명의 항체는 임의 부류(IgG, IgA, IgM, IgE, IgD 등) 또는 이소형일 수도 있으며, 카파 또는 람다 경쇄를 포함할 수 있다. 예를 들어, 인간 항체는 IgG 중쇄 또는 정의된 단편, 예를 들어, 이소형 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 중의 적어도 하나를 포함할 수 있다. 추가의 예로서, 본 발명의 항체 또는 단편은 IgG1 중쇄 및 IgG1 경쇄를 포함할 수 있다.
- [0145] 본 발명의 항체 및 단편은 인간 항체, 예를 들어, 인간 생식세포계 면역글로불린 핵산 서열의 천연적으로 발생된 체세포 변이체인 핵산 서열에 의해 코딩되고 IL-1 β 폴리펩티드와 결합하는 항체, 및 그의 단편, 합성 변이체, 유도체 및 융합물일 수 있다. 이러한 항체는 당업계에 공지된 임의 방법, 예를 들어, 본래의 면역글로불린 레파토리를 포유 동물 염색체 중의 인간 V-유전자로 대체시킨 트랜스제닉 포유 동물(예를 들어, 트랜스제닉 마우스)을 사용함으로써 생성시킬 수 있다. 이러한 포유 동물은 인간 생식세포계 항체 유전자의 체세포 초변이와 VDJ 재조합을 정상적인 방식으로 수행하는 것으로 여겨지므로, 완전한 인간 서열을 지닌 고 친화성 항체를 생성할 수 있다.
- [0146] 단백질을 표적하는 인간 항체는 또한 내인성 면역글로불린 생산은 하지 못하고, 인간 면역글로불린 유전자좌를 함유하도록 조작된 트랜스제닉 동물을 사용하여 생성될 수 있다. 예를 들어, WO 98/24893에는 내인성 중쇄 및 경쇄 유전자좌의 불활성화에 의해 동물이 작용성 내인성 면역글로불린을 생산하지 못하는, 인간 Ig 유전자좌를 가진 트랜스제닉 동물이 개시되어 있다. WO 91/00906에는 또한 항체가 영장류 불변 및/또는 가변 영역을 갖고, 내인성 면역글로불린을 코딩하는 유전자좌는 치환되거나 불활성화되어 있는, 면역원에의 면역 반응을 상승시킬 수 있는 트랜스제닉 비영장류 포유 동물 숙주가 개시되어 있다. WO 96/30498 및 미국 특허 번호 제 6,091,001호에는 포유 동물에서 면역글로불린 유전자좌를 변형시키기 위해, 예를 들어, 불변 또는 가변 영역 전부 또는 그 일부를 치환시켜 변형된 항체 분자를 형성하기 위해 Cre/Lox 시스템을 사용한 것이 개시되어 있다. WO 94/02602에는 불활성화된 내인성 Ig 유전자좌 및 작용성 인간 Ig 유전자좌를 가진 비인간 포유 동물 숙주가 개시되어 있다. 미국 특허 번호 제 5,939,598호에는 마우스에 내인성 중쇄가 없고, 하나 이상의 이중 불변 영역을 포함하는 외인성 면역글로불린 유전자좌를 발현하는 트랜스제닉 마우스를 제조하는 방법이 개시되어 있다. 또한, 미국 특허 번호 제 6,114,598호, 제 6,657,103호, 및 제 6,833,268호도 참조한다.
- [0147] 상기 기술된 트랜스제닉 동물을 사용하여 선택된 항원 분자에 대한 면역 반응을 일으킬 수 있고, 항체 생산 세포를 동물로부터 제거하고, 이를 사용하여 인간 모노클로날 항체를 분비하는 하이브리도마를 생산할 수 있다. 면역화 프로토콜, 애주버트 등이 당업계에 공지되어 있으며, 이는 예를 들어, WO 96/33735에 기술되어 있는 바와 같은 트랜스제닉 마우스를 면역화시키는 데 사용된다. 상기 공개 문헌에는 IL-6, IL-8, TNF α , 인간 CD4, L 셀렉틴, gp39, 및 과산화 독소를 비롯한, 다양한 항원 분자에 대한 모노클로날 항체가 개시되어 있다. 모노클로날 항체는 상응하는 단백질의 생물학적 활성 또는 생리학적 효과를 억제시키거나 중화시킬 수 있는 능력에 대해 테스트될 수 있다. WO 96/33735에는 IL-8로 면역화된 트랜스제닉 마우스의 면역 세포로부터 유래된, IL-8에 대한 모노클로날 항체가 IL-8에 의해 유도된 호중구의 작용을 차단시켰다고 개시되어 있다. 트랜스제닉 동물을 면역화시키는 데 사용된 항원에 대한 특이성을 가진 인간 모노클로날 항체는 또한 WO 96/34096 및 미국 특허 출원 번호 제 20030194404호; 및 미국 특허 출원 번호 제 20030031667호에 개시되어 있다.
- [0148] 모노클로날 항체를 제조하는 데 유용한 추가의 트랜스제닉 동물로는 문헌 (미국 특허 번호 제 5,770,429호 및 [Fishwild, et al. (*Nat. Biotechnol.* 14:845-851, 1996))]에 기재되어 있는 메테렉스 HuMAb-마우스(Medarex HuMAb-MOUSE)?를 포함하는데, 이는 인간 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는, 비정렬된 인간 항체 유전자로부터의 유전자 서열을 포함한다. HuMAb-마우스?로 면역화시키면 표적 단백질에 대한 전체적인 인간 모노클로날 항체를 제조할 수 있다.
- [0149] 또한, 문헌 [Ishida et al. (*Cloning Stem Cells*. 4:91-102, 2002)]에는 메가염기쌍 크기의, 인간 DNA 세그먼트를 포함하고, 전체 인간 면역글로불린(hIg: human immunoglobulin) 유전자좌를 포함하는 트랜스크로모 마우스(TransChromo 마우스)(TC마우스TM)가 기재되어 있다. TC마우스TM는 IgG의 서브부류 모두(IgG1-G4)를 비롯한, 충분히 다양한 hIg 레파토리를 가진다. 각종 인간 항원으로 TC마우스TM를 면역화시키면 인간 항체를 포함하는 항체 반응이 일어난다.
- [0150] 또한, 문헌 ([Jakobovits et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:2551 (1993)]; [Jakobovits et al., *Nature*, 362:255-258 (1993)]; [Bruggermann et al., *Year in Immunol.*, 7:33 (1993)]; 및 미국 특허 번호 제

5,591,669호, 미국 특허 번호 제5,589,369호, 미국 특허 번호 제5,545,807호; 및 미국 특허 공개 번호 제 20020199213호를 참조한다. 미국 특허 공개 번호 제20030092125호에는 원하는 에피토프에 대한 동물의 면역 반응을 편향시키는 방법이 기술되어 있다. 인간 항체는 또한 시험관내에서 활성화된 B 세포에 의해 생성될 수 있다(미국 특허 번호 제5,567,610호 및 제5,229,275호 참조).

[0151] 인간 항체는 또한 항체 디스플레이 라이브러리를 시험관내에서 스크리닝함으로써 생성될 수 있다. 문헌 ([Hoogenboom et al. (1991), J. Mol. Biol. 227: 381]; 및 [Marks et al. (1991), J. Mol. Biol. 222: 581])을 참조한다. 각종 항체 함유 파지 디스플레이 라이브러리가 보고된 바 있고, 이는 용이하게 제조될 수 있다. 라이브러리는 적당한 표적에 대하여 스크리닝될 수 있는 다양한 인간 항체 서열, 예를 들어, 인간 Fab, Fv, 및 scFv 단편을 함유할 수 있다. 파지 디스플레이 라이브러리는 IL-1 β 의 선택적 결합체를 확인하기 위해 스크리닝될 수 있는 항체 이외의 펩티드 또는 단백질을 포함할 수 있다.

[0152] 재조합 인간 항체 유전자의 레파토리를 구축하고, 섬유상 박테리오파지의 표면에 코딩된 항체 단편을 디스플레이하는 것에 대한 기술 개발이 인간 항체를 직접적으로 제조할 수 있는 수단을 제공하였다. 파지 기술에 의해 제조된 항체는 세균에서 항원 결합 단편으로서-보통 Fv 또는 Fab 단편으로서 제조되고, 이를 통해 효과기 작용은 없다. 효과기 작용은 2가지 전략법 중 하나에 의해 도입될 수 있다: 단편을 포유 동물 세포에서의 발현을 위한 완전한 항체로 조작할 수 있거나, 효과기 작용을 유발할 수 있는 제2 결합 부위를 가진 이중특이성 항체 단편으로 조작할 수 있다.

[0153] 본 개시 내용은 파지상에서 인간 항체 라이브러리를 합성하는 단계, 표적 단백질 또는 그의 일부를 사용하여 라이브러리를 스크리닝하는 단계, 표적에 결합하는 파지를 분리시키는 단계, 파지로부터 항체를 수득하는 단계를 포함하는, 표적 특이성인 항체 또는 그의 항원 결합부를 제조하는 방법에 주시한다. 일례로, 파지 디스플레이 기법에서 사용하기 위한 항체 라이브러리를 제조하는 방법은 인간 면역글로불린 유전자좌를 포함하는 비인간 동물을 표적 항원 또는 그의 항원부로 면역화시켜 면역 반응을 일으키는 단계, 면역화된 동물로부터 항체 생산 세포를 추출하는 단계, 추출된 세포로부터 RNA를 분리시키는 단계, RNA를 역전사시켜 cDNA를 제조하는 단계, 프라이머를 사용하여 cDNA를 증폭시키는 단계, 및 항체가 파지 상에서 발현될 수 있도록 cDNA를 파지 디스플레이 벡터 내로 삽입시키는 단계를 포함한다. 본 개시 내용의 재조합 표적 특이성 항체는 이러한 방식으로 수득할 수 있다.

[0154] 파지 디스플레이 방법은 항체 레파토리를 섬유상 박테리오파지의 표면에 디스플레이한 후, 그의 최선의 항원에의 결합에 의해 파지를 선택함으로써 수행하는 면역 선택을 모방한다. 그러한 한가지 기법은 WO 99/10494에 기술되어 있는데, 이는 상기 접근법을 사용하여 MPL에 대한 고 친화성이고 작용성의 효원 항체, 및 msk 수용체를 분리시키는 것이 기술되어 있다. 본 개시 내용의 항체는 인간 림프구로부터 유래된 mRNA로부터 제조된 인간 V_L 및 V_H cDNA를 사용하여 재조합 조합형 항체 라이브러리의 스크리닝에 의해 분리될 수 있다. 상기 라이브러리를 제조하고 스크리닝하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 제5,969,108호를 참조한다. 파지 디스플레이 라이브러리를 생성할 수 있는 상업적으로 이용가능한 키트가 존재한다(예를 들어, Pharmacia Recombinant Phage Antibody System(카탈로그 번호 27-9400-01); 및 Stratagene SurfZAP.TM. 파지 디스플레이 키트(카탈로그 번호 240612)). 항체 디스플레이 라이브러리를 생성하고 스크리닝하는 데 사용될 수 있는 다른 방법 및 시약 또한 존재한다(예를 들어, 문헌 (미국 특허 번호 제5,223,409호(Ladner et al.); PCT 공개 공보 번호 WO 92/18619(Kang et al.); PCT 공개 공보 번호 WO 91/17271(Dower et al.); PCT 공개 공보 번호 WO 92/20791(Winter et al.); PCT 공개 공보 번호 WO 92/15679(Markland et al.); PCT 공개 공보 번호 WO 93/01288(Breitling et al.); PCT 공개 공보 번호 WO 92/01047(McCafferty et al.); PCT 공개 공보 번호 WO 92/09690(Garrard et al.); [Fuchs et al. (1991) *Bio/Technology* 9:1370-1372]; [Hay et al. (1992) *Hum. Antibod. Hybridomas* 3:81-85]; [Huse et al. (1989) *Science* 246:1275-1281]; [McCafferty et al., *Nature* (1990) 348:552-554]; [Griffiths et al. (1993) *EMBO J* 12:725-734]; [Hawkins et al. (1992) *J. Mol. Biol.* 226:889-896]; [Clackson et al. (1991) *Nature* 352:624-628]; [Gram et al. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:3576-3580]; [Garrard et al. (1991) *Bio/Technology* 9:1373-1377]; [Hoogenboom et al. (1991) *Nuc Acid Res* 19:4133-4137]; 및 [Barbas et al. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:7978-7982])를 참조한다).

[0155] 한 실시양태에서, 원하는 특징을 가진, 표적 항원에 대해 특이적인 인간 항체를 분리시키기 위해 인간 V_H 및 V_L 라이브러리를 스크리닝하여 원하는 특이성을 가진 항체 단편을 선택한다. 본 방법에서 사용되는 항체 라이브러리는 본원에 기술된 바와 같이, 그리고 당업계에 기술되어 있는 바와 같이(문헌 (PCT 공개 공보 번호 WO

92/01047((McCafferty et al.), [McCafferty et al., (*Nature* 348:552-554, 1990)]; 및 [Griffiths et al., (*EMBO J* 12:725-734, 1993))]) 제조되고, 스크리닝 scFv 라이브러리인 것이 바람직하다

- [0156] 별법으로, 항체의 Fd 단편(V_H - C_H1) 및 경쇄(V_L - C_L)는 PCR에 의해 따로 클로닝될 수 있고, 조합형 파지 디스플레이 라이브러리에서 무작위적으로 재조합된 후, 특정 항원에의 결합에 대해 선택될 수 있다. Fab 단편은 파지 표면 상에서 발현되고, 즉, 그를 코딩하는 유전자에 물리적으로 연결되어 있다. 따라서, 항원 결합에 의한 Fab의 선택은 Fab 코딩 서열을 동시에 선택하게 하며, 이는 후에 증폭될 수 있다. 페닝으로 불리는, 항원 결합 및 재증폭을 수차례 수행함으로써, 항원에 특이적인 Fab를 농축하고 최종적으로 단리시킬 수 있다.
- [0157] 1994년에, "유도 선택(guided selection)"이라 불리는 항체의 인간화 방법이 설명되었다. 유도 선택은 마우스 모노클로날 항체를 인간화하기 위하여 파지 디스플레이 기술을 이용한다(문헌 [Jespersen, L. S., et al., *Bio/Technology* 12, 899-903 (1994)] 참조). 이를 위해, 마우스 모노클로날 항체의 Fd 단편을 인간 경쇄 라이브러리와 함께 디스플레이할 수 있으며, 생성된 하이브리드 Fab 라이브러리를 항원을 사용하여 선택할 수 있다. 마우스 Fd 단편은 이와 같이 선택을 유도하는 주형을 제공한다. 이어서, 선택된 인간 경쇄가 인간 Fd 단편 라이브러리와 조합된다. 생성된 라이브러리의 선택으로 완전한 인간 Fab가 수득된다.
- [0158] 파지 디스플레이 라이브러리로부터 인간 항체를 유도하는 다양한 방법이 기술되어 있다(예를 들어, 문헌 ([Hoogenboom et al., *J. Mol. Biol.*, 227:381 (1991)]; [Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 222:581-597 (1991)]; 미국 특허 번호 제5,565,332호 및 제5,573,905호; [Clackson, T., and Wells, J. A., *TIBTECH* 12, 173-184 (1994)]). 특히, 파지 디스플레이 라이브러리로부터 유도된 항체의 시험관내 선택 및 진화가 강력한 수단이 되었다(문헌 ([Burton, D. R., and Barbas III, C. F., *Adv. Immunol* 57, 191-280 (1994)]; [Winter, G., et al., *Annu. Rev. Immunol.* 12, 433-455 (1994)]; 미국 특허 공개 번호 20020004215 및 WO 92/01047; 미국 특허 공개 번호 20030190317; 및 미국 특허 번호 제6,054,287호 및 제5,877,293호)를 참조한다).
- [0159] 문헌 ([Watkins, "Screening of Phage-Expressed Antibody Libraries by Capture Lift," *Methods in Molecular Biology, Antibody Phage Display: Methods and Protocols* 178: 187-193 (2002)], 및 미국 특허 공개 번호 20030044772(2003년 3월 6일 공개))에는 고체 지지체 상에 후보 결합 분자를 고정화시키는 것을 포함하는, 포획 리프트에 의해 파지 발현 항체 라이브러리 또는 다른 결합 분자를 스크리닝하는 방법이 기재되어 있다.
- [0160] Fv 단편은 가용성 단편으로서 발현된 상보적인 쇄와의 파지 단백질 용합물(예를 들어, M13 유전자 III과의 것)로서 발현된 쇄의 회합에 의해 파지의 표면에 디스플레이된다. 파지는 섬유상 파지일 수 있으며, 예를 들어, 부류 I 파지(fd, M13, f1, If1, lke, ZJ/Z, Ff) 중 하나, 및 부류 II 파지(Xf, Pf1 및 Pf3) 중 하나일 수 있다. 파지는 M13, 또는 fd 또는 그의 유도체일 수 있다.
- [0161] 일단 초기 인간 V_L 및 V_H 세그먼트가 선택되고 나면, 초기에 선택된 인간 V_L 및 V_H 세그먼트의 상이한 쌍을 표적 결합에 대하여 스크리닝하는 "혼합 및 매치"라는 실험을 수행하여 바람직한 V_L/V_H 쌍 조합을 선택한다. 또한, 항체의 정질을 추가로 개선시키기 위해, 천연 면역 반응시 항체의 친화성 돌연변이를 담당하는 생체내 체성 돌연변이 방법과 유사한 방법으로 바람직한 V_L/V_H 쌍(들)의 V_L 및 V_H 세그먼트를 무작위로, 바람직하게는, V_L 및/또는 V_H 의 CDR1, CDR2 또는 CDR3 영역 중 어느 것 내에서 돌연변이시킬 수 있다. 이러한 시험관내 친화성 돌연변이는 각각 V_H CDR1, CDR2, 및 CDR3, 또는 V_L CDR1, CDR2, 및 CDR3에 상보적인 PCR 프라이머를 사용하여 V_L 및 V_H 영역을 증폭시킴으로써 달성될 수 있는데, 상기 프라이머는 무작위 돌연변이가 V_H 및/또는 V_L CDR3 영역 내로 도입된 V_L 및 V_H 세그먼트를 생성된 PCR 생성물이 코딩하도록 특정 위치에 있는 4개의 뉴클레오타이드 염기의 무작위 혼합물과 "스파이킹되어 있었다." 이들 무작위로 돌연변이된 V_L 및 V_H 세그먼트는 표적 항원에의 결합에 대해 다시 스크리닝될 수 있다.
- [0162] 재조합 면역글로불린 디스플레이 라이브러리로부터 표적 특이성 항체를 스크리닝하고 단리시킨 후, 선택된 항체를 코딩하는 핵산을 디스플레이 패키지로부터(예를 들어, 파지 게놈으로부터) 회수하고, 표준 재조합 DNA 기법에 의해 다른 발현 벡터로 서브클로닝시킬 수 있다. 원하는 경우, 하기 기술하는 바와 같이, 핵산을 추가로 조작하여 본 개시 내용의 다른 항체 형태를 생성할 수 있다. 조합형 라이브러리의 스크리닝에 의해 단리된 재조합 인간 항체를 발현시키기 위해, 본원에 기술되어 있는 바와 같이 항체를 코딩하는 DNA를 재조합 발현 벡터로 클로닝하고, 포유 동물 숙주 세포내로 도입한다.

- [0163] 파지 디스플레이 방법은 세균 또는 숙주 세포의 돌연변이 유발 유전자 군주에서 수행될 수 있다는 것에 주시한다. 돌연변이 유발 유전자 군주는 그의 모체 DNA와 비교하여, DNA가 그 군주 내에서 복제되어 돌연변이되도록 하는 유전자 결합을 가진 숙주 세포이다. 예시적인 돌연변이 유발 유전자 군주로는 NR9046mutD5 및 NR9046mut T1이 있다.
- [0164] 헬퍼 파지를 사용하여 파지 디스플레이 방법을 수행하는 것 또한 주시된다. 헬퍼 파지는 결합이 있는 파지 게놈을 함유하는 세포를 감염시키는 데 사용되고, 그 결합을 보완하는 작용을 하는 파지이다. 결합이 있는 파지 게놈은, 일부 작용을 코딩하는 유전자 서열이 결실된 파지미드 또는 파지일 수 있다. 헬퍼 파지의 예로는 M13K07, M13K07 유전자 III 3번; 및 캡시단 단백질에 융합된 파지 디스플레이 또는 코딩 결합 분자가 있다.
- [0165] 항체는 또한, WO 92/01047에 개시되어 있는 것과 같은, H 또는 L쇄 클론을 함유하는 개별 콜로니를 사용하여 다른 나머지 한쇄 (L 또는 H)를 코딩하는 클론의 완전한 라이브러리를 감염시키고, 생성된, 2가지쇄에 특이적인 결합 구성원을 파지 디스플레이 기법, 예를 들어, 상기 문헌에 기술되어 있는 방법에 따라 선택하는 것인 계층적 이중 조합형 접근법을 사용함으로써 파지 디스플레이 스크리닝 방법을 통해 생성된다. 이러한 기법은 또한 문헌 [Marks et al., (*Bio/Technology*, 10:779-783, 1992)]에 개시되어 있다.
- [0166] 효모 및 미생물 세포의 표면 상에 캡티드를 디스플레이하는 방법 또한 항원 특이성 항체를 확인하는 데 사용되었다. 예를 들어, 미국 특허 번호 제6,699,658호를 참조한다. 항체 라이브러리를 효모 단백질, 예를 들어, 어글루티닌에 부착시켜 면역계에서 B 세포에 의한 항체의 세포 표면에서의 디스플레이를 효과적으로 모방할 수 있다.
- [0167] 파지 디스플레이 방법 이외에도, 리보솜 mRNA 디스플레이 방법 및 미생물 세포 디스플레이 방법을 사용하여 항체를 단리시킬 수 있다. 리보솜 디스플레이를 사용하여 폴리펩티드를 선택하는 것은 문헌 ([Hanes et al., (*Proc. Natl Acad Set USA*, 94:4937-4942, 1997)] 및 미국 특허 번호 제5,643,768호 및 제5,658,754호 (Kawasaki)에 기재되어 있다. 리보솜 디스플레이는 또한 항체의 돌연변이를 대규모로 빠르게 분석하는 데 유용하다. 이러한 선택적 돌연변이 유발 접근법은 또한 리보솜 디스플레이 기법을 사용하여 선택될 수 있는 개선된 활성을 가진 항체를 제조하는 방법을 제공한다.
- [0168] IL-1(예를 들어, IL-1 β) 결합 항체 및 단편은 IL-1 β 와 결합하지는 않지만, 대신 다른 작용, 예를 들어, 순간 반감기, 직접적인 세포독성 효과, 검출가능한 표지화, 또는 수용자의 내인성 보체 캐스케이드 또는 내인성 세포성 세포독성의 활성화를 담당하는 부분을 하나 이상 포함할 수 있다. 항체 또는 단편은 불변 영역 전부 또는 그 일부를 포함할 수 있고, IgA(예를 들어, IgA₁ 또는 IgA₂), IgD, IgE, IgG(예를 들어, IgG₁, IgG₂, IgG₃ 또는 IgG₄), 또는 IgM을 포함한 모든 이소형 중 어느 것일 수 있다. 불변 영역을 포함하는 것 이외에도, 또는 불변 영역을 포함하는 것 대신, 본 개시 내용의 항체 결합 화합물은 에피토프 태그, 구제 수용체 에피토프, 진단 또는 정제용 표지 부분, 또는 세포독성 부분, 예를 들어, 방사성핵종 또는 독소를 포함할 수 있다.
- [0169] 본 항체 및 단편의 불변 영역(존재하는 경우)은 γ 1, γ 2, γ 3, γ 4, μ , β 2 또는 δ 또는 ϵ 유형, 바람직하게는 γ 유형, 더욱 바람직하게는 γ 유형일 수 있는 반면, 인간 경쇄의 불변 부분은 κ 또는 λ 유형(이는 λ_1 , λ_2 및 λ_3 서브유형을 포함한다)일 수 있는데, κ 유형이 바람직하다.
- [0170] 변이체는 또한 야생형 Fc 영역과 비교해서 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함하는 것인 변형된 Fc 영역을 포함하는 항체 또는 단편을 포함한다. 변이체 Fc 영역은 야생형 Fc 영역을 포함하는 필적하는 분자와 비교하여 보다 더 크거나 적은 친화도로 Fc 수용체와 결합할 수 있도록 디자인될 수 있다.
- [0171] 예를 들어, 본 발명의 IIL-1 β 결합 항체 및 단편은 변형된 Fc 영역을 포함할 수 있다. Fc 영역은 IgG의 과파인 분해시 생성되는 IgG C 말단 도메인과 상동성인, 천연적으로 발생된 폴리펩티드, 또는 합성 폴리펩티드를 지칭한다. IgG Fc는 분자량이 대략 50 kD이다. 본 발명의 항체 및 단편에서, 전체 Fc 영역이 사용될 수 있거나, 또는 단지 반감기 증강 부분만이 사용될 수 있다. 또한, 아미노산 서열 중의 많은 변형이 허용될 수 있는데, 이는 본래의 활성이 모든 경우에 있어 반드시 필요하거나 요망되는 것은 아니기 때문이다.
- [0172] Fc 영역은 원하는 경우, 보체를 고정시킬 수 있고, Fc 수용체와 고 친화도로 결합할 수 있는 그의 능력을 억제하기 위해 돌연변이될 수 있다. 류틴 IgG Fc의 경우에, Glu 318, Lys 320, 및 Lys 322를 Ala 잔기로 치환시키면 해당 단백질은 ADCC를 지시할 수 없게 된다. Leu 235를 Glu로 치환시키면 Fc 수용체와 고 친화도로 결합할 수 있는 단백질의 능력이 억제된다. 인간 IgG에 대한 각종 돌연변이가 공지되어 있다(예를 들어, 문헌 [Morrison et al., 1994, *The Immunologist* 2: 119-124] 및 [Brekke et al., 1994, *The Immunologist* 2:

125]) 참조).

- [0173] 일부 실시양태에서, 생물학적 환경하에 본 발명의 항체 또는 단편의 반감기, 예를 들어, 시험관내 분석법에 의해 측정된 혈청 반감기 또는 반감기를 증가시키도록 천연적으로 발생된 Fc 영역을 변형시킨 변형된 Fc 영역을 포함하는 본 발명의 항체 또는 단편을 제공한다. IgG의 Fc 영역의 원래 형태를 변경시키는 방법이 또한 미국 특허 번호 제6,998,253호에 기술되어 있다.
- [0174] 특정 양태에서는, 항체 또는 단편의 혈청 반감기를 증가시키기 위해 예를 들어, 다당류 중합체를 비롯한 PEG 또는 수용성 중합체와 같은 분자를 항체 단편에 첨가하는 것과 같이, 항체 또는 단편의 혈청 반감기를 증가시키기 위해 항체 또는 단편을 변형시키는 것이 바람직할 수 있다. 이는 또한 (예를 들어, 상기 항체 단편 중의 적당한 영역을 돌연변이시키거나, 또는 에피토프를 펩티드 태그 내로 도입한 다음, 이를 어느 한 말단이나 중앙에서, 예를 들면, DNA 또는 펩티드 합성에 의해 항체 단편과 융합시켜) 예를 들어, 구체 수용체 결합 에피토프를 항체 단편 내로 도입함으로써 달성할 수도 있다(국제 공개 공보 번호 WO96/32478 참조). 구체 수용체 결합 에피토프란 IgG 분자의 생체내 혈청 반감기를 증가시키는 역할을 하는 IgG 분자(예를 들어, IgG₁, IgG₂, IgG₃, 또는 IgG₄)의 Fc 영역의 에피토프를 지칭한다.
- [0175] 구체 수용체 결합 에피토프는 Fc 도메인의 1개 또는 2개의 루프로부터의 임의의 하나 이상의 아미노산 잔기가 항체 단편의 유사 위치로 전이된 영역을 포함할 수 있다. Fc 도메인의 1개 또는 2개의 루프로부터의 3개 이상의 잔기가 전이된 것이 더욱더 바람직하다. 상기 에피토프를 (예를 들어, IgG의) Fc 영역의 CH2 도메인로부터 취하고, 이를 항체의 CH1, CH3, 또는 V_H 영역, 또는 1 초과 2 이하의 상기 영역으로 전이되는 것이 더욱더 바람직하다. 별법으로, 상기 에피토프를 Fc 영역의 CH2 도메인으로부터 취하고, 항체 단편의 C_L 영역 또는 V_L 영역, 또는 이들 둘 모두로 전이시킬 수 있다. Fc 변이체 및 이와 구체 수용체와의 상호작용에 관해 기재한 국제 출원 WO 97/34631 및 WO 96/32478 또한 참조한다.
- [0176] Fc 수용체 결합 부위 내의 잔기를 돌연변이시키면 예를 들어, ADCC 또는 CDC 활성 변경, 또는 반감기 변경과 같이, 효과기 작용이 변경될 수 있다. 잠재적 돌연변이로는 하나 이상의 잔기의 삽입, 결실 또는 치환, 예를 들어, 알라닌으로의 치환, 보존적 치환, 비보존적 치환, 또는 상이한 IgG 서브유로부터의 동일한 위치에 존재하는 상응하는 아미노산 잔기로의 치환(예를 들어, IgG1 잔기를 상기 위치에 존재하는 상응하는 IgG2 잔기로 대체)을 포함한다. 예를 들어, IgG4 중의 아미노산 위치 241에 존재하는 세린을 (IgG1 및 IgG2 중의 동일 위치에서 발견되는) 프롤린으로 돌연변이시키면 동질성 항체가 생성될 뿐만 아니라, 원래의 키메라 IgG4와 비교해서 조직 분포도가 개선되고 혈청 반감기가 연장된 것으로 보고되었다(문헌 [Angal et al., *Mol. Immunol.* 30:105-8, 1993]).
- [0177] 항체 단편은 온전한 전장의 항체의 일부분, 예를 들어, 온전한 항체의 항원 결합 또는 가변 영역이다. 항체 단편의 예로는 Fab, Fab', F(ab')₂, 및 Fv 단편; 디아바디; 선형 항체; 단일쇄 항체 분자(예를 들어, scFv); 다중특이성 항체 단편, 예를 들어, 이중특이성, 삼중특이성, 및 다중특이성(예를 들어, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디); 미니바디; 킬레이팅 재조합 항체; 트리바디 또는 비바디; 인트라바디; 나노바디; 소형 모듈 면역약제(SMIP: small modular immunopharmaceuticals), 에드넥틴, 결합 도메인 면역글로불린 융합 단백질; 카멜화 항체; V_H 함유 항체; 및 항체 단편으로부터 형성된 임의의 다른 폴리펩티드를 포함한다.
- [0178] 본 개시 내용은 상기 중쇄 또는 경쇄 서열 중 어느 것을 포함하고, IL-1β와 결합하는 IL-1β 결합 항체 단편을 포함한다. 본원에서 사용되는 바, 단편이라는 용어는 항체의 임의의 3개 이상의 연속되는 아미노산(예를 들어, 4개 이상, 5개 이상, 6개 이상, 8개 이상, 또는 심지어 10개 이상의 연속되는 아미노산)을 지칭하고, Fab, Fab', F(ab')₂ 및 F(v) 단편, 또는 개별적 경쇄 또는 중쇄 가변 영역 또는 그의 일부를 포함한다. IL-1β 결합 단편으로는 예를 들어, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv 및 scFv를 포함한다. 이들 단편에는 온전한 항체의 Fc 단편이 결여되어 있고, 순환시 보다 신속하게 제거되며, 온전한 항체보다 비특이성이 더 작은 조직 결합성을 지닐 수 있다. 문헌 [Wahl et al. (1983), *J. Nucl. Med.*, 24: 316-25]를 참조한다. 이들 단편은 주지된 방법을 사용하여, 예를 들어, (이를 통해 Fab 단편을 생성되는) 파파인, 또는 (이를 통해 F(ab')₂ 단편이 생성되는) 펩신과 같은 효소를 사용한 단백질분해성 절단에 의해, 온전한 항체로부터 생성될 수 있다.
- [0179] IL-1β 또는 IL-1R1에 결합하는 분자(예를 들어, 항체, 길항제, 또는 다른 억제제의 존재 여부를 측정하는 분석법을 비롯한, IL-1β의 IL-1 수용체 I형(IL-1R1)에의 결합을 측정하는 데 사용하기 위한 시험관내 및 세포 기반 분석법이 잘 기술되어 있다(예를 들어, 문헌 ([Evans et al., (1995), *J. Biol. Chem.* 270:11477-

11483]; [Vigers et al., (2000), J. Biol. Chem. 275:36927-36933]; [Yanofsky et al., (1996), Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:7381-7386]; [Fredericks et al., (2004), Protein Eng. Des. Sel. 17:95-106]; [Slack et al., (1993), J. Biol. Chem. 268:2513-2524]; [Smith et al., (2003), Immunity 18:87-96; Vigers et al., (1997), Nature 386:190-194]; [Ruggiero et al., (1997), J. Immunol. 158:3881-3887]; [Guo et al., (1995), J. Biol. Chem. 270:27562-27568]; [Svenson et al., (1995), Eur. J. Immunol. 25:2842-2850]; [Arend et al., (1994), J. Immunol. 153:4766-4774])를 참조한다. 상기 분석법을 위한 인간 IL-1 수용체 I형을 비롯한 재조합 IL-1 수용체 I형은 다양한 상업적 공급원(예를 들어, R&D Systems, SIGMA 참조)으로부터 쉽게 이용할 수 있다. IL-1 수용체 I형은 표준 분자 생물학적 방법 및 당업계에 공지된 형질감염 기법을 사용하여 적절한 숙주 세포내로 도입된 발현 구성체 또는 벡터로부터 발현될 수 있다. 이어서, 결합 분석법에서 사용하기 위해 발현된 IL-1 수용체 I형을 단리시키고 정제할 수 있거나, 또는 별법으로, 세포에 결합된 형태로 직접 사용할 수 있다.

[0180] 예를 들어, IL-1 β 의 IL-1 수용체 I형에의 결합은, IL-1 β 결합 항체를 고정화시키고, IL-1 β 와 고정화된 항체를 접촉시키고, IL-1 β 가 상기 항체에 결합하였는지 여부를 확인하고, 가용성 형태의 IL-1RI를 결합된 IL-1 β /항체 복합체와 접촉시키고, 가용성 IL-1RI가 상기 복합체에 결합하였는지 여부를 확인함으로써 측정될 수 있다. 상기 프로토콜은 또한 IL-1 β 와 접촉시키기 이전에 가용성 IL-1RI를 고정화된 항체와 접촉시켜 가용성 IL-1RI가 고정화된 항체에 결합하지 않음을 확인하는 것을 포함할 수 있다. 상기 프로토콜은 결합 상호작용의 역학적 분석을 위해 비아코어(Biacore)² 기기를 사용하여 수행될 수 있다. 상기 프로토콜은 항체 또는 다른 분자가 IL-1 β 의 IL-1 수용체 I형에의 결합을 허용하는지 또는 차단하는지 여부를 확인하는 데에도 사용될 수 있다.

[0181] 다른 IL-1 β /IL-1RI 결합 분석법의 경우, IL-1 β 의 IL-1 수용체 I형에의 결합을 허용하는지 또는 차단하는지 여부는 IL-1 β 항체 또는 그의 IL-1 β 결합 단편의 존재 또는 부재하에서의 IL-1 β 의 IL-1RI에의 결합을 비교함으로써 확인할 수 있다. 차단은 분석 관독으로, 상응하는 완충제 또는 희석제는 함유하지만 IL-1 β 항체 또는 그의 IL-1 β 결합 단편은 함유하지 않는 대조군 샘플과 비교하여, 항-IL-1 β 항체 또는 그의 IL-1 β 결합 단편의 존재하에서의 IL-1 β 의 IL-1RI에의 결합이 지정된 만큼 감소하였는지를 관독함으로써 확인된다. 분석 관독은 차단 존재 여부를 나타내는 것으로 정질적 관점에서 판단될 수 있거나, 또는 항체 또는 단편의 존재에 기인하여 발생하는 결합 감소율(%) 또는 감소 배수를 나타내는 것으로 정량적 관점에서 판단될 수도 있다.

[0182] 별법으로, 또는 추가로, 항체 또는 단편의 부재하에서 동일한 농도의 IL-1 β 와 IL-1RI의 결합과 비교하여, IL-1 β 결합 항체 또는 IL-1 β 결합 단편이 IL-1 β 의 IL-1RI에의 결합을 실질적으로 차단하였을 때, IL-1 β 의 IL-1RI에의 결합은 적어도 10배, 별법으로, 적어도 약 20배, 별법으로, 적어도 약 50배, 별법으로, 적어도 약 100배, 별법으로, 적어도 약 1,000배, 별법으로, 적어도 약 10,000배 이상 만큼 감소하게 된다. 또 다른 일례로, IL-1 β 결합 항체 또는 IL-1 β 결합 단편이 IL-1 β 의 IL-1RI에의 결합을 실질적으로 허용하였을 때, IL-1 β 의 IL-1RI에의 결합은 항체 또는 단편의 부재하에서 동일한 농도의 IL-1 β 와 IL-1RI의 결합의 적어도 약 90%, 별법으로, 적어도 약 95%, 별법으로, 적어도 약 99%, 별법으로, 적어도 약 99.9%, 별법으로, 적어도 약 99.99%, 별법으로, 적어도 약 99.999%, 별법으로, 적어도 약 99.9999%, 별법으로, 그와 실질적으로 동일하다.

[0183] 특정 실시양태에서, 본 개시 내용은 본원에 기술된 예시 항체 중 하나 이상과 동일한 에피토프 또는 실질적으로 동일한 에피토프에 결합하는 IL-1 β 결합 항체 또는 IL-1 β 결합 단편을 포함할 수 있다. 별법으로 또는 추가로, IL-1 β 결합 항체 또는 IL-1 β 결합 단편은 미국 출원 번호 11/472813에 기술된 AB7의 가변 영역 서열(하기 제시한 서열)을 가진 항체와 결합을 놓고 경쟁한다. 별법으로 또는 추가로, 본 개시 내용은 아미노산 서열 ESVDPKNYPKKKMEKRFVFNKIE (서열 번호 3)에 함유된 에피토프에 결합하는 IL-1 β 결합 항체 및 단편을 포함한다. 본원에서 주시되는 바와 같이, 당업계의 여러 공지 방법들 중 임의의 것을 사용하여 IL-1 β 결합 항체 또는 단편이 예시 항체 중의 하나 이상, 예를 들어, AB7로 지정된 항체와 동일한 에피토프 또는 실질적으로 동일한 에피토프에 결합하는지 여부를 쉽게 확인할 수 있다.

[0184] 예를 들어, IL-1 β 결합 항체 또는 단편이 결합하는 주요 아미노산 잔기(에피토프)는 펩티드 어레이, 예를 들어, 펩스팟(PepSpot)TM 펩티드 어레이(JPT Peptide Technologies: 독일 베를린)(여기서, 전체 IL-1 β 아미노산 서열에 걸쳐 있고, 각 펩티드는 앞의 것과 11개 아미노산이 중복되어 있는 12개의 아미노산 펩티드로 이루어져 있는 스캔은 막 상에서 직접 합성한다)를 사용하여 결정될 수 있다. 이어서, 상기 펩티드를 보유하는 막을, 찾고자 하는 결합 정보에 대해 예를 들어, 실온에서 2 hr 동안 2 μ g/ml 농도로 항체를 이용하여 프로빙한다. 항체의 막 결합 펩티드에의 결합은 2차 HRP 접합된 염소 항인간(또는 적절할 경우, 마우스) 항체에 이어, 증강 화학발광(ECL: enhanced chemiluminescence)을 사용하여 검출할 수 있다. 성숙한 IL-1 β 단백질의

특정 아미노산 잔기 또는 서열에 상응하고, 항체 결합에 대해 양성인 점수를 가진 펩티드 스폿(들)이 특정 항체가 결합하는 에피토프임을 나타낸다.

[0185] 별법으로 또는 추가로, 예를 들어, 항체 경쟁 실험을 수행할 수 있고, 이러한 분석법은 당업계에 주지되어 있다. 예를 들어, 항체 또는 단편이, 성숙한 IL-1 β 단백질의 잔기 83-105에 상응하는 아미노산 ESVDPKNYPKKKMEKRFVFNKIE(서열 번호 3)를 포함하는 펩티드 서열 내에 함유된 에피토프와 결합하는지를 확인하기 위해, 특이성이 알려지지 않은 항체를 본 개시 내용의 예시 항체 중 임의의 것(예를 들어, AB7)과 비교할 수 있다. 예를 들어, 결합 상호작용을 역학적으로 분석하기 위한 비아코어? 기기를 사용하거나, ELISA에 의해 결합 경쟁 분석법을 수행할 수 있다. 이러한 분석법에서는, 알려지지 않은 에피토프 특이성의 항체를 대상으로 하여, 공지된 비교인자 항체(예를 들어, AB7)에 대하여 결합하는 것을 놓고 경쟁할 수 있는 능력에 관하여 평가한다. 특별한 에피토프에 대한 결합을 놓고 경쟁하는 것은 IL-1 β 에피토프에 대한 결합성이 공지된 비교인자 항체(예를 들어, AB7) 경우의 적어도 약 50%, 또는 적어도 약 70%, 또는 적어도 약 80%, 또는 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 99% 또는 약 100% 감소됨으로써 확인되는데, 이는 실질적으로 동일한 에피토프에 대한 결합성을 나타낸다.

[0186] 이와 같이 개시한 예시 항체 내의 IL-1 β 결합성 영역 및/또는 개시된 항체에 의해 인식된 에피토프를 확인한다는 측면에서 보면, 유사한 결합 특징과 치료학상 또는 진단학상 유용성을 지닌 추가의 항체가 상기 개시 내용의 실시양태와 함께병행하여 생성될 수 있다고 주시된다.

[0187] 항체의 항원 결합 단편으로는 일반적으로 항체의 항원 결합부를 보유함으로써 항원에 특이적으로 결합할 수 있는 능력을 보유하고 있는 단편을 포함한다. 항체의 항원 결합 기능은 전장의 항체 단편에 의해 수행될 수 있는 것으로 널리 확립되어 있다. 항원 결합부의 예로는 (i) VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 이루어진 1가 단편인 Fab 단편; (ii) 힌지 영역에서 이황화 브릿지에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인 F(ab') $_2$ 단편; (iii) VH 및 CH1 도메인인 Fd 단편; (iv) 항체의 단일 아암의 VL 및 VH 도메인인 Fv 단편; (v) VH 도메인인 dAb 단편(문헌 [Ward et al., (1989) Nature 341:544-546]); 및 (vi) 단리된 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 단일쇄 항체 또한 항체의 항원 결합부라는 용어에 포함된다. 본 개시 내용의 IL-1 β 결합 항체 및 단편은 또한 스캐폴드(예를 들어, 단백질 또는 당질 스캐폴딩)를 포함하거나, 포함하지 않는, 1가 또는 다가, 또는 단량체성 또는 다량체성(예를 들어, 사량체성)의 CDR로부터 유도된 결합 도메인을 포함한다.

[0188] 본 발명의 IL-1 β 결합 항체 또는 단편은 항체 또는 항체 일부와 하나 이상의 다른 단백질 또는 펩티드와의 공유적 또는 비공유적 회합에 의해 형성된 보다 큰 면역어드헤신 분자의 일부일 수 있다. 이러한 면역어드헤신 분자의 예로는 스트렙타비딘 코어 영역을 사용하여 사량체성 scFv 분자를 제조하는 것(문헌 [Kipriyanov, S. M., et al. (1995) Human Antibodies and Hybridomas 6:93-101])과 시스테인 잔기, 표지 펩티드 및 C 말단 폴리히스티딘 태그를 사용하여 2가 및 비오틴화된 scFv 분자를 제조하는 것(문헌 [Kipriyanov, S. M., et al. (1994) Mol. Immunol. 31:1047-1058])을 포함한다. 면역어드헤신 분자를 포함하는 항체 및 단편은 본원에 기술된 바와 같은 표준 재조합 DNA 기법을 사용하여 수득할 수 있다. 바람직한 항원 결합부는 완전한 도메인 또는 완전한 도메인의 쌍이다.

[0189] 본 개시 내용의 IL-1 β 결합 항체 및 단편은 또한 V $_H$ 도메인으로 이루어진 도메인 항체(dAb) 단편(문헌 [Ward et al., Nature 341:544-546, 1989])을 포함한다. 본 개시 내용의 IL-1 β 결합 항체 및 단편은 또한 V $_H$ 도메인과 V $_L$ 도메인이 동일한쇄 상에서 발현되지만, 이 두 도메인 간에 쌍을 형성시키기에는 너무 짧은 링커를 사용함으로써 이들 도메인이 또 다른쇄의 상보성 도메인과 쌍을 형성하도록 하고 2개의 항원 결합 부위를 생성하는 2가 항체인 디아바디를 포함한다(예를 들어, 문헌 (EP 404,097; WO 93/11161; [Holliger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448, 1993], 및 [Poljak et al., Structure 2:1121-1123, 1994]) 참조). 디아바디는 이중특이성 또는 단일특이성일 수 있다.

[0190] 본 개시 내용의 IL-1 β 결합 항체 및 단편은 또한 IL-1 β 에 결합하는 단일쇄 항체 단편(scFv)을 포함한다. scFv는 항체 경쇄 가변 영역(V $_L$)에 작동가능하게 연결된 항체 중쇄 가변 영역(V $_H$)을 포함하는데, 이러한 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은 함께 또는 개별적으로, IL-1 β 에 결합하는 결합 부위를 형성한다. scFv는 아미노 말단에 V $_H$ 영역을 포함할 수 있고, 카르복시 말단에 V $_L$ 영역을 포함할 수 있다. 별법으로, scFv는 아미노 말단에 V $_L$ 영역을 포함할 수 있고, 카르복시 말단에 V $_H$ 영역을 포함할 수 있다. 추가로, Fv 단편의 두 도메인 V $_L$ 및 V $_H$ 가 별개의 유전자에 의해 코딩되긴 하지만, 이들은 재조합 방법을 사용하여 이들을, V $_L$ 영역과 V $_H$ 영

역은 쌍을 형성하여(단일 쇠 Fv(scFv: single chain Fv)로서 공지된) 1가 분자를 형성하는 단일 단백질 쇠로 만들 수 있는 합성 링커에 의해 연결될 수 있다(예를 들어, 문헌 ([Bird et al. (1988) Science 242:423-426]; 및 [Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883]) 참조).

[0191] scFv는 임의로, 중쇄 가변 영역과 경쇄 가변 영역 사이에 폴리펩티드 링커를 추가로 포함할 수 있다. 이러한 폴리펩티드 링커는 일반적으로, 1 내지 50개의 아미노산, 별법으로, 3 내지 12개의 아미노산, 별법으로, 2개의 아미노산을 포함한다. scFv 중의 중쇄와 경쇄를 연결하기 위한 링커 펩티드의 한 가지 예는 5개의 아미노산 서열 Gly-Gly-Gly-Gly-Ser(서열 번호 6)을 포함한다. 다른 예로는 링커를 생성하기 위한 상기 서열의 하나 이상의 직렬식 반복부를 포함한다(예를 들어, Gly-Gly-Gly-Gly-Ser(서열 번호 6)로 구성된 2개 내지 4개 반복부를 포함하는 폴리펩티드).

[0192] 본 개시 내용의 IL-1 β 결합 항체 및 단편은 또한 중쇄 항체(HCAb: heavy chain antibody)를 포함한다. 통상적인 항체의 H₂L₂ 구조에 대한 예외는 낙타과 동물(낙타, 단봉 낙타 및 라마)(문헌 ([Hamers-Casterman et al., 1993 Nature 363: 446]; [Nguyen et al., 1998 J. Mol. Biol. 275: 413])), 우베공 상어(문헌 [Nuttall et al., Mol. Immunol. 38:313-26, 2001]), 너스 상어(문헌 ([Greenberg et al., Nature 374:168-73, 1995]; [Roux et al., 1998 Proc. Nat. Acad. Sci. USA 95: 11804])), 및 반점형 은상어(문헌 [Nguyen, et al., "Heavy-chain antibodies in Camelidae; a case of evolutionary innovation," 2002 Immunogenetics 54(1): 39-47])에서 발견된 면역글로불린의 몇몇 이소형에서 일어난다. 이들 항체는 명백하게 이들 작용성 항체가 오직 중쇄로만 이루어진 이량체("중쇄 항체" 또는 "HCAb"로서 지칭된다)라는 점에서 오직 중쇄 가변 영역만을 사용하여 항원 결합 영역을 형성할 수 있다. 따라서, 본 발명의 IL-1 β 결합성 항체 및 단편의 일부 실시양태는 IL-1 β 에 특이적으로 결합하는 중쇄 항체일 수 있다. 예를 들어, IgG의 한 부류이고 경쇄가 결핍된 중쇄 항체는 낙타, 단봉 낙타 및 라마를 포함하는 카멜리다에(Camelidae) 속 동물에 의해 생성된다(문헌 [Hamers-Casterman et al., Nature 363:446-448 (1993)]). HCAb는 통상적인 IgG 항체의 분자량이 약 160 kDa 대신 약 95 kDa의 분자량을 가진다. 그들의 결합 도메인은 중쇄 가변 도메인으로만 이루어지는데, 이는 통상적인 V_H와 구별하기 위해 종종 V_H로서 지칭된다(문헌 [Muyldermans et al., J. Mol. Recognit. 12:131-140 (1999)]). 중쇄 항체의 가변 도메인은 종종 나노바디로 지칭된다(문헌 [Cortez-Retamozo et al., Cancer Research 64:2853-57, 2004]). 나노바디 라이브러리는 문헌 [Conrath et al., (Antimicrob Agents Chemother 45: 2807-12, 2001)]에 기재된 바와 같이, 또는 재조합 방법을 사용하여 면역화된 단봉 낙타로부터 생성시킬 수 있다.

[0193] 제1 불변 도메인(C_{H1})이 존재하지 않기 때문에 (스플라이스 컨센서스 신호 상실로 인해 mRNA 프로세싱 동안에 스플라이싱 제거됨), 가변 도메인(V_H) 바로 다음에 힌지 영역, C_{H2} 및 C_{H3} 도메인이 존재한다(문헌 ([Nguyen et al., Mol. Immunol. 36:515-524 (1999)]; [Woolven et al., Immunogenetics 50:98-101 (1999)])). 보고된 바에 따르면, 카멜리드 동물 V_H는 힌지, CH2 및 CH3 도메인을 함유하고, CH1 도메인은 결여된 IgG2 및 IgG3 불변 영역과 재조합한다(문헌 [Hamers-Casterman et al., 상기 문헌 동일]). 예를 들어, 라마 IgG1은 V_H가 힌지, CH1, CH2 및 CH3 도메인을 함유하는 불변 영역과 재조합하는 통상적인 (H₂L₂) 항체 이소형인 반면, 라마 IgG2 및 IgG3은 CH1 도메인이 결여되고, 경쇄를 함유하지 않는 중쇄만의 이소형이다.

[0194] HCAb에 경쇄가 결여되어 있긴 하지만, 이는 항원 결합 레파토리를 가지고 있다. HCAb의 유전적 발생 기전은 문헌 ([Nguyen et al. Adv. Immunol 79:261-296 (2001)] 및 [Nguyen et al., Immunogenetics 54:39-47 (2002)])에서 살펴볼 수 있다. 너스 상어를 비롯한 상어는 단일 단량체 V 도메인을 함유하는 유사한 항원 수용체를 나타낸다(문헌 ([Irving et al., J. Immunol. Methods 248:31-45 (2001)]; [Roux et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:11804 (1998)]).

[0195] V_H는 소형의 온전한 항원 결합 단편(예를 들어, 약 15 kDa이고, 118-136 잔기인 단편)을 포함한다. 카멜리드 V_H 도메인은 항원과 고 친화도로 결합하는 것으로 밝혀졌는데(문헌 [Desmyter et al., J. Biol. Chem. 276:26285-90, 2001]), V_H는 전형적으로 나노몰 범위이고, Fab 및 scFv 단편의 친화도에 필적하는 친화도를 가진다. V_H는 고도로 가용성이고, scFv 및 Fab 단편의 상응하는 유도체보다 더 안정적이다. V_H 단편을 가용성 형태로 제조하는 것은 상대적으로 어렵지만, 골격 잔기를 보다 V_H와 유사하게 변경시킨 경우에는 용해도와 특이적 결합성을 개선시킬 수 있다(예를 들어, 문헌 [Reichman et al., J Immunol Methods 1999, 231:25-38]). V_H는 L 쇠에 의해 대체될 때까지는 보통 폴딩 및 어셈블리하는 동안에 소포체(ER: Endoplasmic Reticulum) 내

의 H쇄에 결합하는 BiP(면역글로불린 중쇄 결합 단백질)와의 장기간 상호작용을 막고, 보다 큰 친수성을 갖도록 하는 아미노산 치환을 수반한다. V_H 의 친수성이 증가하였기 때문에, ER로부터의 분비는 개선되어 있다.

[0196] 작용성 V_H 는 면역화된 카멜리드의 HCAb의 단백질분해성 절단에 의해, 재조합 V_H 를 생성시키는 면역화된 카멜리드의 B-세포로부터, 또는 천연 또는 합성 라이브러리로부터의 직접적인 V_H 유전자 클로닝에 의해 수득할 수 있다. 원하는 항원 특이성을 가진 V_H 는 또한 파지 디스플레이 방법을 통하여 수득할 수 있다. V_H 를 파지 디스플레이에 사용하는 것은 Fab 또는 scFv와 비교해서 훨씬 더 간단하고 보다 더 효율적인데, 이는 작용성 항원 결합 단편을 수득하기 위해서는 단 1개의 도메인 만이 클로닝 및 발현에 필요하기 때문이다(문헌 ([Muyldermans, *Biotechnol.* 74:277-302 (2001)]; [Ghahroudi et al., *FEBS Lett.* 414:521-526 (1997)]; 및 [van der Linden et al., *J. Biotechnol.* 80:261-270 (2000)]). 카멜리드 중쇄를 가진 항체를 생성시키는 방법은 또한 미국 특허 공개 번호 제20050136049호 및 제20050037421호에 기재되어 있다.

[0197] 리보솜 디스플레이 방법을 사용하여 원하는 결합 활성과 친화성을 가진 scFv 및/또는 V_H 분자를 확인하고 단리시킬 수 있다(문헌 [Irving et al., *J. Immunol. Methods* 248:31-45 (2001)]). 리보솜 디스플레이 및 선별은 대규모 라이브러리(10^{14})를 생성하고, 디스플레이할 수 있는 잠재능을 지니고 있다.

[0198] 다른 실시양태는 비카멜리다에 V_H , 예를 들어, 인간 V_H 를 변형시켜 그들의 용해도를 개선시키고, 비특이적인 결합을 방해함으로써 카멜화 과정을 통해 생성되는 V_H 유사 분자를 제공한다. 이는 V_H 의 V_L 측상의 잔기를 V_H 유사 잔기로 대체시켜 가용성이 보다 큰 V_H 단편을 모방함으로써 달성된다. 카멜화된 V_H 단편, 특히, 인간 골격에 기초한 단편은 환자에게 생체내 투여되는 경우에 상당히 저하된 면역 반응을 나타낼 것으로 예상되는 바, 이는 치료학상 적용에 있어 상당히 유익할 것으로 기대된다(문헌 ([Davies et al., *FEBS Lett.* 339:285-290 (1994)]; [Davies et al., *Protein Eng.* 9:531-537 (1996)]; [Tanha et al., *J. Biol. Chem.* 276:24774-24780 (2001)]; 및 [Riechmann et al., *Immunol. Methods* 231:25-38 (1999)]).

[0199] Fab 단편, scFv, 및 V_H 를 포함하는 IL-1 β 단편을 생산하는 데 광범위한 발현 시스템이 이용가능하다. 예를 들어, 원핵성 및 진핵성 기원, 둘 모두의 발현 시스템을 항체 단편 및 항체 융합 단백질의 대규모 생산에 사용할 수 있다. 다량의 항체 단편이 배양 배지 내로 분비될 수 있도록 하는 발현 시스템이 특히 이롭다.

[0200] 이중특이성 Fab-scFv("비바디") 및 삼중특이성 Fab-(scFv)(2)("트리바디")의 생산은 문헌 ([Schoonjans et al. (*J Immunol* 165:7050-57, 2000)] 및 [Willems et al. (*J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 786:161-76, 2003))]에 기술되어 있다. 비바디 또는 트리바디의 경우, scFv 분자를 VL-CL(L) 및 VH-CH₁(Fd)쇄 중 하나 또는 그 둘 모두에 융합시켜 예를 들어, 2개의 scFv가 Fab의 C 말단에 융합된 트리바디, 및 1개의 scFv가 Fab의 C 말단에 융합된 비바디를 수득할 수 있다. 펩티드 링커(힌지 없음)를 통하여 또는 IgG 힌지를 통하여 CH₃과 융합된 scFv로 이루어진 "미니바디"는 문헌 [Olafsen, et al., *Protein Eng Des Sel.* 2004 Apr; 17(4):315-23]에 기술되어 있다.

[0201] 인트라바디는 세포내 발현을 입증해주고, 세포내 단백질 기능을 조작할 수 있는 단일쇄 항체이다(문헌 ([Biocca, et al., *EMBO J.* 9:101-108, 1990]; [Colby et al., *Proc Natl Acad Sci USA.* 101:17616-21, 2004])). 세포내 영역에 항체 구성체를 보유하고 있는 세포 신호 서열을 포함하는 인트라바디는 문헌 ([Mhashilkar et al (*EMBO J* 14:1542-51, 1995)] 및 [Wheeler et al. (*FASEB J.* 17:1733-5, 2003))]에 기술되어 있는 바와 같이 생산할 수 있다. 트랜스바디는 단백질 형질도입 도메인(PTD: protein transduction domain)이 단일쇄 가변 단편(scFv) 항체에 융합된 세포 투과성 항체이다(문헌 [Heng et al., (*Med Hypotheses.* 64:1105-8, 2005)]).

[0202] 본 개시 내용의 IL-1 β 결합 항체 및 단편은 또한 표적 단백질에 대해 특이적인 SMIP 또는 결합 도메인 면역글로불린 융합 단백질인 항체를 포함한다. 이들 구성체는 항체 효과기 기능을 수행하는 데 필요한 면역글로불린 도메인에 융합된 항원 결합 도메인을 포함하는 단일쇄 폴리펩티드이다. 예를 들어, W003/041600, 미국 특허 공개 20030133939 및 미국 특허 공개 20030118592를 참조한다.

[0203] 본 개시 내용의 IL-1 β 결합 항체 및 단편은 또한 면역어드레싱을 포함한다. 하나 이상의 CDR을 특정 분자 내로 공유적 또는 비공유적으로 도입하여 이를 면역어드레신으로 만들 수 있다. 면역어드레신은 보다 큰 폴리펩티드쇄의 일부로서 CDR(들)을 도입할 수 있거나, CDR(들)을 또 다른 폴리펩티드쇄에 공유적으로 연결시킬 수 있거나, 또는 CDR(들)을 비공유적으로 도입할 수 있다. 본원에 개시된 CDR은 면역어드레신이 IL-1 β 에 특

이적으로 결합할 수 있도록 한다.

[0204] 본 개시 내용의 IL-1 β 결합 항체 및 단편은 또한 유기 또는 분자 스캐폴드(예를 들어, 단백질 또는 당질 스캐폴드) 상에 구축된 하나 이상의 IL-1 β 결합부를 포함하는 항체 모방체를 포함한다. 통상 단백질 스캐폴드로서 지칭되는, 상대적으로 한정된 3차원 구조를 가진 단백질을 항체 모방체 디자인을 위한 시약으로서 사용할 수 있다. 이들 스캐폴드는 전형적으로, 특이적 또는 무작위 서열 변이가 적용될 수 있는 하나 이상의 영역을 함유하고, 이러한 서열 무작위화는 원하는 생성물을 그로부터 선별할 수 있는 단백질 라이브러리를 생성시키기 위해 종종 수행된다. 예를 들어, 항체 모방체는 모체 항체가 결합하는 리간드를 향한 선택적 결합 활성을 나타내고, 각 루프 내로 삽입된 모체 항체와 상이한 CDR을 함유하는 2개 이상의 용매 노출된 루프를 가진 스캐폴드를 함유하는 면역글로불린 유사 도메인을 가진 키메라 비면역글로불린 결합 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 신규한 결합 특성을 지닌 단백질을 수득하기 위한 비면역글로불린 단백질 스캐폴드가 제안되었다(문헌([Tramontano et al., J. Mol. Recognit. 7:9, 1994]; [McConnell and Hoess, J. Mol. Biol. 250:460, 1995])). 다른 단백질을 골격으로서 테스트하였고, 이를 사용하여 알파 나선형 표면 상의 무작위화 잔기(문헌([Nord et al., Nat. Biotechnol. 15:772, 1997]; [Nord et al., Protein Eng. 8:601, 1995])), 알파 나선형 다발 중의 알파 나선들 간의 루프(문헌 [Ku and Schultz, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:6552, 1995]), 및 이황화 브릿지에 의해 제한된 루프, 예를 들어, 소형 프로테아제 억제제의 루프(문헌 ([Markland et al., Biochemistry 35:8045, 1996]; [Markland et al., Biochemistry 35:8058, 1996]; [Rottgen and Collins, Gene 164:243, 1995]; [Wang et al., J. Biol. Chem. 270:12250, 1995]))를 나타내었다. 항체 모방체를 위한 스캐폴드를 이용하는 방법이 문헌 (미국 특허 제5,770,380호 및 미국 특허 공개 2004/0171116, 2004/0266993, 및 2005/0038229)에 개시되어 있다.

[0205] 본원의 방법에서 사용하기 위한 항IL-1 β 결합 항체 또는 결합 단편은 일반적으로 (예를 들어, BIAcore로 측정된 바) 고 친화도로 IL-1 β 에 결합한다. 바람직한 실시양태에서, 항체 또는 그의 단편은 약 10 nM 이하의, 약 5 nM 이하의, 약 1 nM 이하의, 약 500 pM 이하의, 약 250 pM 이하의, 약 100 pM 이하의, 약 50 pM 이하의, 또는 약 25 pM 이하의 평형 결합 해리 상수(K_D)로 IL-1 β 에 결합한다. 특히 바람직한 실시양태에서, 항체 또는 항체 단편은 약 100 pM 이하의, 약 50 pM 이하의, 약 10 pM 이하의, 약 5 pM 이하의, 약 3 pM 이하의, 약 1 pM 이하의, 약 0.75 pM 이하의, 약 0.5 pM 이하의, 약 0.3 pM 이하의, 약 0.2 pM 이하의, 또는 약 0.1 pM 이하의 해리 상수로 인간 IL-1 β 에 결합한다. 특히 바람직한 실시양태에서, 항체 또는 항체 단편은 약 10 pM 이하의 해리 상수로 인간 IL-1 β 에 결합한다.

[0206] 본 개시 내용의 항체 또는 단편은 효소 결합 면역흡착 분석법(ELISA: enzyme linked immunosorbent assay)으로 측정된 바, 약 10 nM 이하의, 약 5 nM 이하의, 약 2 nM 이하의, 약 1 nM 이하의, 약 0.75 nM 이하의, 약 0.5 nM 이하의, 약 0.4 nM 이하의, 약 0.3 nM 이하의, 또는 심지어 약 0.2 nM 이하의 IC_{50} 으로 IL-1 β 에 결합할 수 있다. 바람직하게, 본 개시 내용의 항체 또는 항체 단편은 IL-1 이외의 다른 어떤 표적과도 교차 반응하지 않는다. 예를 들어, 본 발명의 항체 및 단편은 IL-1 β 에 결합할 수 있지만, IL-1 α 에는 검출가능할 정도로 결합하지 않거나, 또는 그의 IL-1 α 에의 결합하고 비교하여, 그의 IL-1 β 에의 결합에 있어 적어도 약 100배(예를 들어, 적어도 약 150배, 적어도 약 200배, 또는 심지어 적어도 약 250배) 더 큰 선택성을 가질 수 있다. 특정 실시양태에서, 본 개시 내용에 따라 사용되는 항체 또는 단편은, 본 개시 내용의 항체 또는 단편을 투여받지 않은, IL-1 β 으로 자극을 받은 동물에서의 혈청 IL-6 수치와 비교하여, 동물에서 IL-1 β 에 의해 유도된 혈청 IL-6의 발현을 적어도 50%(예를 들어, 적어도 60%, 적어도 70%, 또는 심지어 적어도 80%) 만큼 억제시킨다. 항체는 IL-1 β 에 결합할 수 있지만, 결합된 IL-1 β 리간드가 IL-1 수용체 I형(IL-1RI)에 결합하는 것을 허용 또는 실질적으로 허용할 수 있다. IL-1 β 의 IL-1RI에의 결합을 차단하거나, 실질적으로 간섭하는 다수의 공지 IL-1 β 결합 항체와는 대조적으로, AB5 및 AB7로 지정된 항체(US 출원 번호 제11/472813호)는 IL-1 β 리간드에 선택적으로 결합하지만, 결합된 IL-1 β 리간드의 IL-1RI에의 결합을 허용한다. 예를 들어, AB7로 지정된 항체는 IL-1 β 에피토프에 결합하지만, 여전히 결합된 IL-1 β 의 IL-1RI에의 결합을 허용한다. 특정 실시양태에서, 항체는 IL-1RI에 결합한 결합된 IL-1 β 의 상호작용의 친화성을 감소시킬 수 있다. 따라서, 관련 측면에서, 개시 내용은 상기 언급한 특징들 중 적어도 하나를 가진 IL-1 β 결합 항체 또는 IL-1 β 결합 항체 단편의 용도를 제공한다. 본 개시 내용의 상기 항체, 항체 단편, 또는 폴리펩티드 중 임의의 것은 인간화되거나, 인간 조작된 것일 수 있다.

[0207] 예를 들어, 하기 특허 및 특허 출원: US 4,935,343; US 2003/0026806; US 2003/0124617(예를 들어, 항체 AAL 160); WO 2006/081139(예를 들어, 항체 9.5.2); WO 03/034984; WO 95/01997(예를 들어, 항체 SK48-E26 VT KY); U.S. 7,446,175(예를 들어, 항체 ACZ 885); WO 03/010282(예를 들어, 항체 Hu007); WO 03/073982(예를 들어,

항체 N55S), U.S. 7,541,033(예를 들어, W17, U43, W13, W18, W20), U.S. 7,491,392, WO 2004/072116, WO 2004/067568, EP 0 267 611 B1, EP 0364 778 B1, 및 미국 출원 번호 제11/472813호에 기술된 항체, 그에 기술된 것과 같은 방법을 사용하여 유도된 항체를 비롯한, 당업계에 공지되어 있는 다양한 IL-1(예를 들어, IL-1 β) 항체 및 단편이 본원에서 제공하는 방법에 따라 사용될 수 있다. 비제한적인 일례로, 항체 AB5 및 AB7(미국 출원 번호 제11/472813호, WO2007/002261)이 본 개시 내용에 따라 사용될 수 있다. AB5 및 AB7의 가변 영역 서열은 하기와 같다:

AB7

경쇄

DIQMTQSTSSLSASVGDRVITITCRASQDISNYLSWYQQKPGKAVKLLIYYTSKLHSG
VPSRFGSGSGTDYTLTISSLQQEDFATYFCLOGKMLPWTFGQGTKEIK

(서열 번호 1)

[0208]

[0209]

밑줄로 표시된 서열은 (좌측에서 우측으로) CDR1, 2 및 3을 나타낸다.

중쇄

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCSFSGFSLSTSGMGVGVIRQPSGKGLEWLAHIWWD
GDESYNPSLKSRLTISKDTSKNQVSLKITSVTAADTAVYFCARNRYDPPWFVDWGQ
GTLVTVSS (서열번호 2)

[0210]

[0211]

밑줄로 표시된 서열은 (좌측에서 우측으로) CDR1, 2 및 3을 나타낸다.

AB5

경쇄

DIQMTQTSSLSASLGDRVITISCRASQDISNYLSWYQQKPDGTVKLLIYYTSKLHSG
VPSRFGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCLOGKMLPWTFGGGTKEIK

(서열 번호 4)

[0212]

[0213]

밑줄로 표시된 서열은 (좌측에서 우측으로) CDR1, 2 및 3을 나타낸다.

중쇄

QVTLKESGPGILKPSQTLSTCSFSGFSLSTSGMGVGVIRQPSGKGLEWLAHIWWD
GDESYNPSLKLTQLTISKDTSRNQVFLKITSVDTVDTATYFCARNRYDPPWFVDWGQ
GTLVTVSS (서열 번호 5)

[0214]

[0215]

밑줄로 표시된 서열은 (좌측에서 우측으로) CDR1, 2 및 3을 나타낸다.

[0216]

일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법 중 임의의 방법 및/또는 모든 방법에서 사용하기 위한 IL-1 β 항체 또는 그의 단편은 약 1 nM 이하의 해리 상수로 인간 IL-1 β 에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 단편은 약 500 pM 이하의 해리 상수로 인간 IL-1 β 에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 약 250 pM 이하의 해리 상수로 인간 IL-1 β 에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 약 100 pM 이하의 해리 상수로 인간 IL-1 β 에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 단편은 약 50 pM 이하의 해리 상수로 인간 IL-1 β 에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 단편은 약 10 pM 이하의 해리 상수로 인간 IL-1 β 에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 단편은 약 5 pM 이하의 해리 상수로 인간 IL-1 β 에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 단편은 약 1 pM 이하의 해리 상수로 인간 IL-1 β 에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 단편은 약 0.3 pM 이하의 해리 상수로 인간 IL-1 β 에 결합한다.

[0217]

일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 중화 항체이다.

[0218]

일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 결합된 항체 또는 단편이 실질적으로 IL-1 β 의 IL-1 수용체 I(IL-1RI)에의 결합을 허용하도록 IL-1 β 에피토프에 결합한다.

[0219]

일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 검출 가능하게 IL-1 α , IL-1R 또는 IL-1Ra에 결합하지 못한다.

- [0220] 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 서열 번호 1의 경쇄 가변 영역 및 서열 번호 2의 중쇄 가변 영역을 갖는 항체의 결합과 경쟁한다. 상기 기술한 방법들 중 어느 것의 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 서열 번호 1의 경쇄 가변 영역 및 서열 번호 2의 중쇄 가변 영역을 갖는 항체가 결합하는 에피토프와 동일하거나, 실질적으로 동일한 에피토프에 결합한다. 상기 기술한 방법들 중 어느 것의 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 서열 번호 1의 경쇄 가변 영역 및 서열 번호 2의 중쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0221] 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 IL-1 β 의 Glu64를 포함하는 에피토프에 결합한다.
- [0222] 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 IL-1 β 의 N 말단의 아미노산 1-34에 결합한다.
- [0223] 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 인간화된 항체 또는 인간 항체이다.
- [0224] 본 개시 내용은 또한 IL-1 β 에 의해 유도되는 IL-8의 생산을 측정하는 인간 전혈 IL-1 β 억제 분석법에서 IC₅₀이 IL-1 β 수용체 길항제보다 더 낮은 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편의 심장 사건 또는 심혈관 질환의 감소, 예방, 또는 치료에 사용하기 위한 조성물의 제조에서의 용도를 제공한다.
- [0225] 또 다른 측면에서, 본 방법은 IL-1 β 에 의해 유도되는 IL-8의 생산을 측정하는 인간 전혈 IL-1 β 억제 분석법에서 IL-1 β 수용체 길항제보다 더 낮은 IC₅₀을 가진 항IL-1 β 항체 또는 그의 단편을 치료학적 유효량으로 투여하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체 또는 단편은 IL-1 β 에 의해 유도되는 IL-8의 생산을 측정하는 인간 전혈 IL-1 β 억제 분석법에서 IL-1 β 수용체 길항제의 IC₅₀의 약 90%, 80%, 70%, 60%, 50%보다 더 낮은 IC₅₀을 가진다. 추가의 실시양태에서, 항체 또는 단편은 IL-1 β 에 의해 유도되는 IL-8의 생산을 측정하는 인간 전혈 IL-1 β 억제 분석법에서 IL-1 β 수용체 길항제의 IC₅₀의 약 40%, 30%, 20%, 10%보다 더 낮은 IC₅₀을 가진다. 바람직한 실시양태에서, 항체 또는 단편은 IL-1 β 에 의해 유도되는 IL-8의 생산을 측정하는 인간 전혈 IL-1 β 억제 분석법에서 IL-1 β 수용체 길항제의 IC₅₀의 약 8%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%보다 더 낮은 IC₅₀을 가진다. 한 실시양태에서, IL-1 β 수용체 길항제는 아나킨라(즉, Kineret[®])이다.
- [0226] 또 다른 측면에서, 본원에서 제공하는 방법은, 문헌 [Economides et al., *Nature Med*, 9:47-52 (2003)](이는 본원에서 참고로 포함된다)에 기재되어 있는 분석법을 사용하여 대조군 항체와 비교하였을 때, 마우스에서 IL-1 β 에 의해 자극을 받은 IL-6의 방출을 생체내에서 억제시키는 항IL-1 β 항체 또는 그의 단편을 치료학적 유효량으로 피험체에게 투여하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체 또는 단편은 대조군 항체와 비교하였을 때, 마우스에서 IL-1 β 에 의해 자극을 받은 IL-6의 방출을 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50% 만큼 생체내에서 억제시킨다. 추가의 실시양태에서, 항체 또는 단편은 대조군 항체와 비교하였을 때, 마우스에서 IL-1 β 에 의해 자극을 받은 IL-6의 방출을 적어도 약 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 만큼 생체내에서 억제시킨다.
- [0227] 또 다른 측면에서, 본 개시 내용은 항체를 사용하지 않은 대조군과 비교하였을 때, 인간 전혈 중 스태필로코커스 에피더미디스(*Staphylococcus epidermidis*)에 의해 유도된 사이토카인 생산을 억제시키는 항IL-1 β 항체 또는 그의 단편을 치료학적 유효량으로 인간에게 투여하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서 항체 또는 단편은 대조군과 비교하였을 때, 보다 더 큰 수치로 인간 전혈 중 스태필로코커스 에피더미디스에 의해 유도된 사이토카인 생산을 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50% 만큼 억제시킨다. 추가의 실시양태에서, 항체 또는 단편은 대조군과 비교하였을 때, 보다 더 큰 수치로 인간 전혈 중 스태필로코커스 에피더미디스에 의해 유도된 사이토카인 생산을 적어도 약 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 만큼 억제시킨다. 한 실시양태에서, 억제되는 사이토카인은 IL-1 β , IL-1 α , IL-6, IL-8, IL-1 α , TNF α 또는 IFN γ 이다.
- [0228] 본원에서 기술하는 항체 및 항체 단편은 임의의 적합한 방법에 의해 제조될 수 있다. 상기 항체 및 항체 단편을 제조하는 적합한 방법은 당업계에 공지되어 있다. 항체 및 항체 단편을 제조하는 다른 방법은 개시 내용의 일부로서 본원에 기술되어 있는 것과 같다. 본원에 기술되어 있는 것과 같은, 항체, 항체 단편, 또는 폴리펩티드는 임의의 정도로 단리되거나 정제될 수 있다. 본원에서 사용되는 바, 단리된 화합물은 그의 천연 환경으로부터 제거된 화합물이다. 정제된 화합물은 상기 화합물이 (i) 그의 천연 환경에 존재하는 경우보다 더 순수하거나, 또는 (ii) 실험실 조건하에서 초기 합성 및/또는 증폭되었을 때보다 더 순수한 형태로 존재할 수 있도록, 순도가 증가된 화합물이며, "순도"는 상대적인 용어이고, 반드시 "절대 순도"를 의미하지는 않는다.

[0229] **약학 조성물**

[0230] 본 개시 내용에 따라 사용하기 위한 IL-1(예를 들어, IL-1 β) 결합 항체 및 항체 단편은 본원의 방법에서 사용하기 위한 조성물, 특히, 약학 조성물로 제제화될 수 있다. 그러한 조성물은 적합한 담체, 예를 들어, 제약상 허용되는 제제와 함께, 본 개시 내용의 IL-1 β 결합 항체 또는 항체 단편을 치료학상 또는 예방학상 유효량으로 포함한다. 전형적으로, 본 개시 내용의 IL-1 β 결합 항체 및 항체 단편은 약학 조성물로 제제화하기 이전에 동물에게 투여하기 충분하도록 정제한다.

[0231] 제약상 허용되는 제제는 담체, 부형제, 희석제, 항산화제, 방부제, 착색제, 향미제 및 희석제, 유화제, 현탁화제, 용매, 충전제, 벌크화제, 완충제, 전달 비히클, 등장화제, 공용매, 습윤제, 착화제, 완충제, 향미생물제, 및 계면활성제를 포함한다.

[0232] 중성 완충 염수 또는 알부민과 혼합된 염수가 적당한 담체로 예시된다. 약학 조성물은 항산화제, 예를 들어, 아스코르브산; 저분자 폴리펩티드; 단백질, 예를 들어, 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예를 들어, 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예를 들어, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌 또는 리신; 당당류, 이당류 및 다른 당질, 예를 들어, 글루코스, 만노스 또는 덱스트린; 킬레이팅제, 예를 들어, EDTA; 당 알콜, 예를 들어, 만니톨 또는 소르비톨; 염 형성 반대 이온, 예를 들어, 나트륨; 및/또는 비이온성 계면활성제, 예를 들어, 트윈(Tween), 플루로닉스, 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG: polyethylene glycol)을 포함할 수 있다. 또한, 일례로, 적합한 등장성 증강제로는 알칼리 금속 할라이드(바람직하게, 염화나트륨 또는 염화칼륨), 만니톨, 소르비톨 등을 포함한다. 적합한 방부제로는 벤즈알코늄 클로라이드, 티메로살, 페네틸 알콜, 메틸파라벤, 프로필파라벤, 클로르헥시딘, 소르브산 등을 포함한다. 과산화수소를 방부제로서 사용할 수도 있다. 적합한 공용매로는 글리세린, 프로필렌 글리콜 및 PEG를 포함한다. 적합한 착화제로는 카페인, 폴리비닐피롤리돈, 베타 시클로덱스트린 또는 히드록시-프로필-베타-시클로덱스트린을 포함한다. 적합한 계면활성제 또는 습윤제로는 솔르비탄 에스테르, 폴리소르베이트, 예를 들어, 폴리소르베이트 80, 트로메타민, 렉시틴, 콜레스테롤, 킬록사팔 등을 포함한다. 완충제는 통상적인 완충제, 예를 들어, 아세테이트, 보레이트, 시트레이트, 포스페이트, 비카르보네이트 또는 트리스-HCl일 수 있다. 아세테이트 완충제는 약 pH 4 내지 5.5일 수 있고, 트리스 완충제는 약 pH 7 내지 8.5일 수 있다. 부가의 약학 조성물은 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, A. R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company, 1990]에 기재되어 있다.

[0233] 본 발명의 조성물은 액상 형태이거나, 또는 동결건조된 형태일 수 있고, 이는 하나 이상의 동결건조 보호제, 부형제, 계면활성제, 고 분자량의 구조적 첨가제 및/또는 벌크화제(예를 들어, 미국 특허 제6,685,940호, 제6,566,329호, 및 제6,372,716호 참조)를 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 비환원 당, 예를 들어, 수크로스, 락토스 또는 트레할로스는 동결건조 보호제가 포함된다. 일반적으로 포함되는 동결건조 보호제의 양은 재구성 시 생성되는 제제가 등장성이 되도록 하는 양이지만, 고장성 또는 약간 저장성인 제제도 적합할 수 있다. 또한, 동결건조 보호제의 양은 동결건조시 허용되지 않는 양의 단백질 분해 및/또는 응집을 방지하기에 충분해야 한다. 예비 동결건조된 제제 중 당(예를 들어, 수로스, 락토스, 트레할로스)에 대해 예시되는 동결건조 보호제 농도는 약 10 mM 내지 약 400 mM이다. 또 다른 실시양태에서, 계면활성제, 예를 들어, 비이온성 계면활성제 및 이온성 계면활성제, 예를 들어, 폴리소르베이트(예를 들어, 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 80); 폴록사머(예를 들어, 폴록사머 188); 폴리(에틸렌 글리콜) 페닐 에테르(예를 들어, 트리톤); 나트륨 도데실 황산염(SDS: sodium dodecyl sulfate); 나트륨 라우렐 황산염; 나트륨 옥틸 글리코사이드; 라우릴-, 미리스틸-, 리놀레일- 또는 스테아릴-술포베타인; 라우릴-, 미리스틸-, 리놀레일- 또는 스테아릴-사르코신; 리놀레일-, 미리스틸- 또는 세틸-베타인; 라우로아미도프로필-, 코카미도프로필-, 리놀레아미도프로필-, 미리스트아미도프로필-, 팔미도프로필-, 또는 이소스테아르아미도프로필-베타인(예를 들어, 라우로아미도프로필); 미리스트아미도프로필-, 팔미도프로필- 또는 이소스테아르아미도프로필-디메틸아민; 나트륨 메틸 코코일-, 또는 이나트륨 메틸 오페일-타우레이트; 및 모나쿠아트(MONAQUAT)TM 시리즈(Mona Industries, Inc.: 뉴저지 패터슨), 폴리에틸 글리콜, 폴리프로필 글리콜, 및 에틸렌과 프로필렌 글리콜의 공중합체(예를 들어, 플루로닉스(Pluronic), PF68 등)를 포함한다. 예비 동결건조된 제제에 존재할 수 있는 계면활성제의 예시되는 양은 약 0.001 내지 0.5%이다. 고 분자량의 구조적 첨가제(예를 들어, 충전제, 결합제)로는 예를 들어, 아카시아, 알부민, 알긴산, 인산칼슘(2상), 셀룰로스, 카르복시메틸셀룰로스, 카르복시메틸셀룰로스 나트륨, 히드록시에틸셀룰로스, 히드록시프로필셀룰로스, 히드록시프로필메틸셀룰로스, 미세결정질 셀룰로스, 덱스트란, 덱스트린, 덱스트레이트, 수크로스, 킬로스, 예비 젤라틴화된 전분, 황산칼슘, 아밀로스, 글리신, 벤토나이트, 말토스, 소르비톨, 에틸셀룰로스, 인산수소 이나트륨, 인산이나트륨, 이나트륨 피로황산염, 폴리비닐 알콜, 젤

라틴, 글루코스, 구아 검, 액상 글루코스, 압축성 당, 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 말토덱스트린, 폴리에틸렌 옥사이드, 폴리메타크릴레이트, 포비돈, 알긴산나트륨, 트라카칸트 미세결정성 셀룰로스, 전분 및 제인(zein)을 포함한다. 고 분자량의 구조적 첨가제의 예시되는 농도는 0.1 중량% 내지 10 중량%이다. 다른 실시양태에서, 벌크화제(예를 들어, 만넛톨, 글리신)가 포함될 수 있다.

[0234] 조성물은 비경구 투여에 적합할 수 있다. 예시되는 조성물은 당업자에게 이용 가능한 모든 경로, 예를 들어, 관절내, 피하, 정맥내, 근육내, 복강내, 뇌내(실질내), 뇌실내, 근육내, 안내, 동맥내, 병변내, 직장내, 경피, 경구 및 흡입용 경로에 의해 동물에게 주사 또는 주입하기에 적합하다. 비경구 제제는 전형적으로, 제약상 허용되는 방부제를 임의로 함유하는, 발열원을 함유하지 않는 멸균성의 등장성 수용액일 것이다.

[0235] 비수성 용매의 예는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물성 오일, 예를 들어, 올리브유, 및 주사용 유기 에스테르, 예를 들어, 에틸 올레이트이다. 수성 담체로는 물, 알콜성/수용액, 에멀전 또는 현탁액(염수 및 완충처리된 매질 포함)을 포함한다. 비경구 비히클로는 염화나트륨 용액, 링거(Ringer) 텍스트로스, 텍스트로스 및 염화나트륨, 유산을 가한 링거액, 또는 고정유를 포함한다. 정맥내 비히클로는 유체 및 영양 보충제, 전해질 보충제, 예를 들어, 링거 텍스트로스를 기반으로 하는 보충제 등을 포함한다. 방부제 및 기타 첨가제, 예를 들어, 향미생물제, 향산화제, 킬레이팅제, 불활성 기체 등이 존재할 수도 있다. 일반적으로 문헌 [Remington's Pharmaceutical Science, 16th Ed., Mack Eds., 1980](이는 본원에서 참고로 포함된다)을 참조한다.

[0236] 본원에 기재된 약학 조성물은 국소 농도의 생성물(예를 들어, 볼루스, 데포 효과)을 특별한 국소 환경에서 지효성으로 제공하고/하거나 그의 안정성 또는 반감기를 증가시킬 수 있도록 하는 방식으로 전달 조절형으로 지속 전달용으로 제제화될 수 있다. 특정 실시양태에서, 상기와 같은 조성물은 초기 데포 중 상당량의 항체 또는 단편을 포함할 수 있지만, 본원의 개시 내용에 따라, 임의 시점에서 실제 방출되고 이용가능한 항체 또는 단편의 유효량은 초기 데포보다 훨씬 적은 양임을 본 개시 내용은 주시한다. 조성물은 중합체성 화합물, 예를 들어, 폴리락트산, 폴리글리콜산 등의 미립 제제 뿐만 아니라, 생체분해성 매트릭스, 주사 가능한 미소구, 미소캡슐상 입자, 미소캡슐, 생체부식성 입자 비드, 리포솜, 및 이식 가능한 전달 장치(이는 활성제를 방출 조절형으로 또는 지효성으로 방출하는 것으로, 이는 데포 주사로 전달될 수 있다)와 함께 본 개시 내용의 IL-1 β 결합 항체, 항체 단편, 핵산, 또는 벡터로 구성된 제제를 포함한다. 상기와 같은 지효성 전달 또는 전달 조절형 수단을 제조하는 기법은 공지되어 있고, 약물의 방출 조절형으로 방출하고 전달하기 위한 각종 중합체가 개발되어 사용되어 왔다. 상기 중합체는 전형적으로 생체분해성 및 생체적합성이다. 온도 또는 pH 민감 특성을 지닌 히드로겔, 및 에난티오머 중합체 또는 폴리펩티드 세그먼트를 착화시킴으로써 형성된 것을 비롯한, 중합체 히드로겔은 생체활성 단백질 제제(예를 들어, 항체)를 포획하는 데 관여하는 순한 수성 조건으로 인해 약물 데포 효과를 제공하는데 바람직할 수 있다. 예를 들어, 약학 조성물을 전달하기 위한 방출 조절형의 다공성 중합체 미립자에 관한 설명은 PCT 공개 공보 WO 93/15722를 참조한다.

[0237] 이러한 목적에 적합한 물질로는 폴리락티드(예를 들어, 미국 특허 제3,773,919호 참조), 폴리-(α -히드록시카르복실산), 예를 들어, 폴리-D(-)-3-히드록시부티르산의 중합체(EP 133,988A), L-글루탐산 및 감마 에틸-L-글루타메이트의 공중합체(문헌 [Sidman et al., Biopolymers, 22: 547-556 (1983)]), 폴리(2-히드록시에틸-메타크릴레이트)(문헌 [Langer et al., J. Biomed. Mater. Res., 15: 167-277 (1981)], 및 [Langer, Chem. Tech., 12: 98-105 (1982)]), 에틸렌 비닐 아세테이트, 또는 폴리-D(-)-3-히드록시부티르산을 포함한다. 다른 생체분해성 중합체로는 폴리(락톤), 폴리(아세탈), 폴리(오르토에스테르), 및 폴리(오르토카르보네이트)를 포함한다. 지효성 조성물로는 또한 당업계에 공지된 몇 가지 방법에 의해 제조될 수 있는 리포솜이 포함될 수 있다(예를 들어, 문헌 [Eppstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688-92 (1985)] 참조). 담체 자체, 또는 그의 분해 생성물은 표적 조직에서 무독성이어야 하고, 베타를 추가로 악화시키지 않아야 한다. 이는 표적 질병을 앓는 동물 모델에서, 또는 이러한 모델이 입수 가능하지 않을 경우, 정상적인 동물에서 통상적인 스크리닝에 의해 결정될 수 있다.

[0238] 지효성 방출을 위해 재조합 단백질을 미소캡슐화하는 것은 인간 성장 호르몬 (rhGH: human growth hormone), 인터페론-(rhIFN--), 인터루킨-2, 및 MN rgp120을 이용함으로써 성공을 거두었다(문헌 ([Johnson et al., Nat. Med., 2:795-799 (1996)]; [Yasuda, Biomed. Ther., 27:1221-1223 (1993)]; [Hora et al., Bio/Technology, 8:755-758 (1990)]; [Cleland, "Design and Production of Single Immunization Vaccines Using Polylactide Polyglycolide Microsphere Systems," in Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach, Powell and Newman, eds, (Plenum Press: 신생 York, 1995), pp. 439-462]; WO 97/03692, WO 96/40072, WO 96/07399; 및 미국 특허 번호 제5,654,010호)). 생체적합성과 광범위한 생체분해성 특성에 기인

하여 폴리-락트산-코글리콜산(PLGA: poly-lactic-coglycolic acid) 중합체를 사용함으로써 이들 단백질의 지효성 방출 제제를 개발하게 되었다. PLGA의 분해 생성물인 락트산과 글리콜산은 인체 내에서 신속하게 제거될 수 있다. 또한, 이러한 중합체의 분해가능성은 그의 분자량과 조성에 따라 달라질 수 있다(문헌 ([Lewis, "Controlled release of bioactives from lactide/glycolide polymer," in: M. Chasin and R. Langer (Eds.), Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems (Marcel Dekker: 신생 York, 1990), pp. 1-41]). 지효성 방출 조성물의 추가 예로는 예를 들어, 문헌 (EP 58,48 IA, 미국 특허 번호 제3,887,699호, EP 158,277A, 캐나다 특허 번호 제1176565호, [U. Sidman et al., Biopolymers 22, 547 [1983]], [R. Langer et al., Chem. Tech. 12, 98 [1982]], [Sinha et al., J. Control. Release 90, 261 [2003]], [Zhu et al., Nat. Biotechnol. 18, 24 [2000]], 및 [Dai et al., Colloids Surf B Biointerfaces 41, 117 [2005]])의 것을 포함한다.

[0239] 생체접착성 중합체 또한 본 개시 내용의 조성물에 사용되거나, 그와 함께 사용되는 것으로 주시된다. 생체접착성 물질은 생물학적 기질에 장시간 동안 접착할 수 있는 합성 및 천연적으로 발생된 물질이다. 예를 들어, 카르보폴(Carbopol) 및 폴리카르보필은 둘 모두 폴리(아크릴산)의 가교 결합된 합성 유도체이다. 천연적으로 발생된 물질을 기반으로 하는 생체접착성 전달 시스템으로는 예를 들어, 히알루로난으로서 공지되기도 한 히알루론산을 포함한다. 히알루론산은 D-글루쿠론산과 N-아세틸-D-글루코사민의 잔기로 이루어진 천연적으로 발생된 점액성 다당류이다. 히알루론산은 척추 동물의 세포외 조직 매트릭스(결합 조직 포함)에서 발견될 뿐만 아니라, 활액과 안구의 유리체액 및 안구 방수에서 발견된다. 히알루론산의 에스테르화 유도체를 사용하여 생체적합성 및 생체분해성 전달에 사용하기 위한 미소구를 제조하였다(예를 들어, 문헌 [Cortivo et al., Biomaterials (1991) 12:727-730; European Publication No. 517,565]; 국제 공개 공보 번호 WO 96/29998; [Ilium et al., J. Controlled Rel. (1994) 29:133-141]). 본 개시 내용의 조성물을 함유하는 예시적인 히알루론산은 IL-1 β 결합 항체 또는 단편 대 히알루론산 중합체가 대략 0.1% 대 약 40%(w/w)인 양으로 히알루론산 에스테르 중합체를 포함한다.

[0240] 생체분해성 중합체 매트릭스와 비생체분해성 중합체 매트릭스 둘 모두를 사용하여 본 개시 내용의 조성물을 전달할 수 있고, 이러한 중합체 매트릭스는 천연 또는 합성 중합체를 포함할 수 있다. 생체분해성 매트릭스가 바람직하다. 방출이 전반적으로 일어나는 시간은 중합체 선택에 의거한다. 전형적으로 수 시간 내지 3개월 내지 12개월에 걸쳐 방출되는 것이 가장 바람직할 수 있다. 생체분해성 전달 시스템을 형성하기 위해 사용될 수 있는 합성 중합체의 예로는 하기를 포함한다: 락트산과 글리콜산의 중합체, 폴리아미드, 폴리카르보네이트, 폴리알킬렌, 폴리알킬렌 글리콜, 폴리알킬렌 옥시드, 폴리알킬렌 테레프탈레이트, 폴리비닐 알콜, 폴리비닐 에테르, 폴리비닐 에스테르, 폴리비닐 할라이드, 폴리비닐피롤리돈, 폴리글리콜리드, 폴리실록산, 폴리무수물, 폴리우레탄 및 그의 공중합체, 폴리(부트산), 폴리(발레산), 알킬 셀룰로스, 히드록시알킬 셀룰로스, 셀룰로스 에테르, 셀룰로스 에스테르, 니트로 셀룰로스, 아크릴 에스테르와 메타크릴 에스테르의 중합체, 메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스, 히드록시프로필 셀룰로스, 히드록시프로필 메틸 셀룰로스, 히드록시부틸 메틸 셀룰로스, 셀룰로스 아세테이트, 셀룰로스 프로피오네이트, 셀룰로스 아세테이트 부티레이트, 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트, 카르복시에틸 셀룰로스, 셀룰로스 트리아세테이트, 셀룰로스 술페이트 나트륨 염, 폴리(메틸 메타크릴레이트), 폴리(에틸 메타크릴레이트), 폴리(부틸메타크릴레이트), 폴리(이소부틸 메타크릴레이트), 폴리(헥실메타크릴레이트), 폴리(이소데실 메타크릴레이트), 폴리(라우릴 메타크릴레이트), 폴리(페닐 메타크릴레이트), 폴리(메틸 아크릴레이트), 폴리(이소프로필 아크릴레이트), 폴리(이소부틸 아크릴레이트), 폴리(옥타데실 아크릴레이트), 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 폴리(에틸렌 글리콜), 폴리(에틸렌 옥시드), 폴리(에틸렌 테레프탈레이트), 폴리(비닐 알콜), 폴리비닐 아세테이트, 폴리비닐 클로라이드, 폴리스티렌 및 폴리비닐피롤리돈. 예시되는 천연 중합체로는 알지네이트 및 다른 다당류(덱스트란 및 셀룰로스 포함), 콜라겐, 그의 화학적 유도체 (화학기의 치환물, 부가물, 예를 들어, 알킬, 알킬렌, 히드록시화물, 산화물, 및 당업자에 의해 통상적으로 만들어진 다른 변형물), 알부민 및 다른 친수성 단백질, 제인 및 기타 프콜라민 및 소수성 단백질, 그의 공중합체 및 혼합물을 포함한다. 일반적으로, 이들 물질은 효소적 가수분해에 의해, 또는 표면 또는 벌크 침식에 의한 생체내 수분 노출에 의해 분해된다. 이러한 중합체는 임의로 물 중에서 그의 중량의 약 90% 까지를 흡수할 수 있고, 추가로 다가 이온이나 기타 중합체와 임의로 가교결합되는 히드로겔 형태이다(예를 들어, (WO 04/009664, WO 05/087201, [Sawhney, et al., Macromolecules, 1993, 26, 581-587]) 참조).

[0241] 전달 시스템으로는 또한 지질, 예를 들어, 스테롤, 예를 들면, 콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르 및 지방산 또는 중성 지방, 예를 들어, 모노, 디 및 트리글리세리드인 비중합체 시스템; 히드로겔 방출 시스템; 실라스틱(silastic) 시스템; 펩티드계 시스템; 왁스 코팅; 통상적인 결합제 및 부형제를 사용한 압착 정제; 부분적인

로 융합된 이식체 등을 포함한다. 구체적인 예로는 하기를 포함하나, 이에 한정되지 않는다: (a) 예를 들어, 미국 특허 제4,452,775호, 제4,675,189호 및 제5,736,152호에 기재된 것과 같이, 매트릭스 내에 생성물이 특정 형태로 함유되어 있는 부식형 시스템 및 (b) 미국 특허 제3,854,480호, 제5,133,974호 및 제5,407,686호에 기재된 바와 같이, 생성물이 중합체로부터 제어 속도로 침투되는 확산형 시스템. 생성물을 함유하는 리포솜은 예를 들어, 문헌 (DE 3,218,121; [Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688-3692 (1985)]; [Hwang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77: 4030-4034 (1980)]; EP 52,322; EP 36,676; EP 88,046; EP 143,949; EP 142,641; 일본 특허 출원 83-118008; 미국 특허 번호 제4,485,045호 및 제4,544,545호; 및 EP 102,324)의 것과 같은 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0242] IL-1 β 결합 항체 또는 단편을 포함하는 약학 조성물은 흡입용으로, 예를 들어, 건식 분체로서 제제화될 수 있다. 흡입 용액은 에어로졸 전달을 위해 액화 추진체로 제제화될 수도 있다. 또 다른 제제화에서는, 용액을 분무시킬 수도 있다. 폐 투여용의 추가의 약학 조성물로는 예를 들어, 화학적으로 변형된 단백질의 폐 전달이 개시되어 있는 PCT 출원 공개 공보 WO 94/20069에 기재된 것을 포함한다. 폐 전달용인 경우, 입자 크기는 폐의 말단부까지 전달하는 데 적합하여야 한다. 예를 들어, 입자 크기는 1 μ m 내지 5 μ m일 수 있지만; 예를 들어, 각 입자가 상당히 다공성일 경우, 보다 큰 입자가 사용될 수 있다.

[0243] IL-1 β 결합 항체 또는 항체 단편을 함유하는 특정의 제제는 경구적으로 투여될 수 있다. 이러한 방식으로 투여되는 제제는 고체 제형, 예를 들어, 정제 및 캡슐제를 조제할 때 사용되는 상업적으로 이용가능한 담체와 함께, 또는 그를 포함하지 않고 제제화될 수 있다. 예를 들어, 캡슐제는, 생체이용성이 최대가 되고, 전신 이전의 분해는 최소화되는 시점에 제제의 활성 부분이 위장관에서 방출될 수 있도록 디자인될 수 있다. 선택적 결합제의 흡수를 촉진시키기 위해 추가의 제제를 포함할 수 있다. 희석제, 향미제, 저용점 왁스, 식물성 오일, 윤활제, 현탁제, 정제 분해제, 및 결합제 또한 사용될 수 있다.

[0244] 또 다른 제제는 정제 제조에 적합한 비독성 부형제와의 혼합물로서 유효량의 IL-1 β 결합 항체 또는 단편을 포함할 수 있다. 멸균수, 또는 또 다른 적절한 비히클 중에 용해를 용해시켜 액제를 단위 제형으로 제조할 수 있다. 적합한 부형제로는 불활성 희석제, 예를 들어, 탄산칼슘, 탄산나트륨 또는 중탄산나트륨, 락토스, 또는 인산칼슘; 또는 결합제, 예를 들어, 전분, 젤라틴 또는 아카시아; 또는 윤활제, 예를 들어, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산, 또는 탈크를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0245] 적합하고/하거나 바람직한 제약 제제는 의도한 투여 경로, 전달 형태, 및 원하는 투여량에 따라, 본 개시 내용 및 제형 기술에 관한 일반적인 지식 측면에서 결정될 수 있다. 유효량은 투여 방식에 상관없이 환자 체중, 체표면적 또는 기관 크기에 따라서 계산될 수 있다. 본원에 기재된 각각의 제제와 연관된 치료에 적절한 투여량을 결정하기 위한 계산에 관한 추가의 개선은 당업계에서 통상적으로 이루어지고, 이는 당업계에서 통상적으로 수행된 과제 범위 내에 있다. 적절한 투여량은 적당한 용량 반응 데이터를 사용함으로써 확인할 수 있다.

[0246] 하나 이상의 다른 치료제와 함께 IL-1 β 결합 항체 및 단편을 포함하는 제제를 비롯한, 추가의 제제가 본 개시 내용 관점에서 명백할 것이다. 예를 들어, 일부 제제에서는, 본 개시 내용의 IL-1 β 결합 항체, 항체 단편, 핵산 또는 벡터를 IL-1 신호 전달 경로의 제2 억제제와 함께 제제화한다. 대표적인 제2 억제제로는 항체, 항체 단편, 펩티드, 폴리펩티드, 화합물, 핵산, 벡터 및 약학 조성물, 예를 들어 US 6899878, US 2003022869, US 20060094663, US 20050186615, US 20030166069, WO/04022718, WO/05084696, WO/05019259에 기재되어 있는 것을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 예를 들어, 조성물은 IL-1 β 결합 항체, 단편, 또는 이러한 항체 또는 단편을 코딩하는 핵산 또는 벡터와 함께 본 개시 내용의 IL-1 β 결합 항체, 항체 단편, 핵산 또는 벡터를 포함할 수 있다.

[0247] 사용 방법

[0248] 본원에 기술된 심혈관 질환, 예를 들어, 급성 심혈관 질환 또는 만성 심혈관 질환 치료 및/또는 예방 방법에 의해 개시된 바와 같이, 항IL-1 β 결합 항체 또는 결합 그의 단편은 치료학적 유효량으로 사용될 수 있다. 그러한 방법 뿐만 아니라, 상기 방법에 사용하기 위한 약학 조성물은 심혈관 질환에 대한 위험 인자의 병력을 갖는 피험체를 비롯한, 피험체에서 심혈관 사건, 예를 들어, 심근경색, 뇌졸중, 심혈관 사망, 울혈성 심부전, 심정지, 급성 관상동맥 증후군, 협심증, 또는 혈관재생술을 감소, 치료 또는 예방하는 데 사용될 수 있다. 방법 및 약학 조성물은 또한 피험체에서 심혈관 사건 후의 사망률을 감소시키는 데 사용될 수 있다. 본 개시 내용은 또한 항IL-1 β 항체 또는 단편의 대체물로서, 또는 항IL-1 β 항체 또는 단편 이외의 것인 다른 IL-1 경로 억제제를 사용하는 것에 주시한다.

- [0249] 기술된 방법과 관련하여 본원에서 사용되는 용어 "예방," "예방하다," "예방하는," "저해," "저해하다," "저해하는," "억제시키다" 및 "억제"는 사건, 질환 또는 병태, 예를 들어, 심혈관 사건 또는 질환(예를 들어, 급성 또는 만성 심혈관 질환)의 임상적 증상 또는 소견의 발병을 일시적으로 또는 영구적으로 예방, 저해, 또는 감소시키는 것을 의미한다. 상기 예방, 저해, 또는 감소가 절대적으로 유용할 필요는 없다.
- [0250] 기술된 방법과 관련하여 본원에서 사용되는 용어 "감소시키다," "감소시키는" 및 "감소"는 사건 또는 질환 발병까지의 시간을 지연시키거나, 사건 또는 질환의 가능성 또는 위험을 감소시키거나, (예를 들어, 처리군에서) 사건 또는 질환의 발병률을 감소시키거나, 사건 또는 질환의 발병률을 예방하거나(예를 들어, 심혈관 사건 또는 질환의 예방), 사건 또는 질환(단, 사건이 사망일 경우는 제외)의 크기 또는 중증도를 감소시키거나, 및/또는 사건 또는 질환(단, 사건이 사망일 경우는 제외)으로부터 회복되는 소요되는 시간 단축, 예를 들어, 심혈관 사건 또는 질환(예를 들어, 급성 또는 만성 심혈관 질환)을 치료하거나, 그의 치료법을 의미한다.
- [0251] 본원에서 사용되는 바, "심혈관 사건 후의 사망률"이라는 어구는 심혈관 사건 후(즉, 심혈관 사건의 개시 이후)에 발생하고, 반드시 그러한 것은 아니지만, 직접 또는 간접적으로 심혈관 사건에 의해 유발되거나, 그에 영향을 받은 것일 수 있는 사망률(즉, 사망)을 의미한다. ~후에 라는 것은 또한 직접 또는 간접적인 인과 관계의 측정 가능 여부와는 상관없이 심혈관 사건과 사망률 사이의 시간상 근접성(예를 들어, 측정가능한 것)을 의미한다. 심혈관 사건과 사망률 사이의 시간상 근접성은 달라질 수 있고, 이는 임박하다는 것이 동시인 것인 시간량을 포함할 수 있다.
- [0252] 본원에서 기술된 방법과 관련하여 사용되는 용어 "치료," "치료하다," "치료하는"은 사건, 질환 또는 병태, 예를 들어, 심혈관 사건 또는 질환(예를 들어, 급성 또는 만성 심혈관 질환)의 임상적 증상, 소견 또는 진행을 일시적으로 또는 영구적으로 제거, 감소, 저해, 또는 호전시키는 것을 의미한다. 상기와 같은 치료가 절대적으로 유용할 필요는 없다.
- [0253] 본원에서 사용되는 바, "치료를 필요로 하는"이라는 용어는 환자가 치료를 요구하거나, 그러한 치료가 도움이 될 것이라는 의료인의 판단을 의미한다. 이러한 판단은 의료인의 전문적 지식 범위내에 있지만, 개시 내용의 방법 또는 화합물에 의해 치료가 가능한 병태의 결과로서 환자가 병중에 있거나, 또는 그렇게 될 것이라는 정보를 포함하는 다양한 인자에 기초하여 이루어진다.
- [0254] 본원에서 사용되는 바, "예방을 필요로 하는"이라는 용어는 환자가 예방을 요구하거나, 그러한 예방이 도움이 될 것이라는 의료인의 판단을 의미한다. 이러한 판단은 의료인의 전문적 지식 범위내에 있지만, 개시 내용의 방법 또는 화합물에 의해 예방이 가능한 병태의 결과로서 환자가 병중에 있게 되거나, 또는 그렇게 될 수 있을 것이라는 정보를 포함하는 다양한 인자에 기초하여 이루어진다.
- [0255] 본원에서 사용되는 바, "치료학적 유효량"이라는 용어는 (예를 들어, 1 이상의 용량으로서) 피험체에게 투여되었을 때, 질환 상태 또는 병태의 임의의 증상, 측면, 또는 특징에 대해 임의의 검출가능한 양성 효과를 발휘할 수 있는, 예를 들어, 심혈관 사건 또는 질환을 감소시키거나, 심혈관 사건 또는 질환(예를 들어, 급성 또는 만성 심혈관 질환) 후의 사망률을 감소시키는, 단독 또는 약학 조성물의 일부로서의 화합물(예를 들어, 항체)의 양을 의미한다. 그러한 효과가 절대적으로 유용할 필요는 없다.
- [0256] 본 개시 내용은 심혈관 질환, 예를 들어, 급성 심혈관 질환 또는 만성 심혈관 질환을 앓는 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는, 심혈관 질환, 예를 들어, 급성 심혈관 질환 또는 만성 심혈관 질환을 앓는 피험체를 치료하는 방법을 제공한다.
- [0257] 본 개시 내용은 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 피험체에서 심혈관 사건을 감소시키는 방법으로서, 피험체는 이전 심혈관 사건의 병력을 갖는 피험체 또는 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체이고, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 심혈관 사망, 울혈성 심부전, 심정지, 급성 관상동맥 증후군, 협심증, 또는 혈관재생술인 방법을 제공한다.
- [0258] 본 개시 내용은 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체에서 심혈관 사건을 감소시키는(예를 들어, 사건 시간을 지연시키거나, 사건의 가능성 또는 위험을 감소시키거나, 사건을 예방하거나, 사건의 중증도를 감소시키거나, 회복 시간을 단축시키는) 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 심혈관 사망, 울혈성 심부전, 심정지, 급성 관상동맥 증후군, 협심증, 또는 혈관재생술인 방법을 제공한다.

- [0259] 본 개시 내용은 또한 이전 심혈관 사건의 병력을 갖는 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 이전 심혈관 사건의 병력을 갖는 피험체에서 심혈관 사건을 감소시키는(예를 들어, 사건 시간을 지연시키거나, 사건의 가능성 또는 위험을 감소시키거나, 사건을 예방하거나, 사건의 중증도를 감소시키거나, 회복 시간을 단축시키는) 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 심혈관 사망, 울혈성 심부전, 심정지, 급성 관상동맥 증후군, 협심증, 또는 혈관재생술인 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 이전 심혈관 사건은 1차 심혈관 사건이다. 일부 실시양태에서, 이전 또는 1차 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 울혈성 심부전, 급성 관상동맥 증후군, 협심증 및 혈관재생술로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0260] 일부 실시양태에서, 이전 또는 1차 심혈관 사건은 심근경색 또는 급성 관상동맥 증후군이다. 일부 실시양태에서, 심근경색은 ST 상승 심근경색(예를 들어, ST 분절 상승 심근경색, STEMI)이다. 일부 실시양태에서, 심근경색은 비ST 상승 심근경색(예를 들어, 비ST 분절 상승 심근경색, NSTEMI)이다. 일부 실시양태에서, ST 상승 여부는 심전도(예를 들어, ECG, EKG)에 의해 측정된다.
- [0261] 일부 실시양태에서, 심혈관 사건을 감소시키는 방법은 2차 또는 후속 심혈관 사건을 감소시키는 방법이다. 일부 실시양태에서, 심혈관 사건(예를 들어, 2차 또는 후속 심혈관 사건)은 심근경색, 뇌졸중, 심혈관 사망, 울혈성 심부전, 심정지, 급성 관상동맥 증후군, 협심증 및 혈관재생술로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 1차 심혈관 사건 및 2차 심혈관 사건은 같은 유형의 심혈관 사건이다. 일부 실시양태에서, 1차 심혈관 사건 및 2차 심혈관 사건은 다른 유형의 심혈관 사건이다.
- [0262] 일부 실시양태에서, 혈관재생술은 관상동맥, 경동맥 또는 말초 동맥 혈관재생술이다. 일부 실시양태에서, 관상동맥, 경동맥 또는 말초 동맥 혈관재생술은 경피적 관상 중재술(PCI), 스텐트 이식, 관상동맥 우회술(CABG), 경동맥 내막절제술, 말초 혈관 질환 우회로술, 또는 말초 혈관성형술이다.
- [0263] 일부 바람직한 실시양태에서, IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 심혈관 사건 발생 1주 이내에, 심혈관 사건 발생 96시간 이내에, 심혈관 사건 발생 72시간 이내에, 심혈관 사건 발생 48시간 이내에, 심혈관 사건 발생 24시간 이내에, 또는 심혈관 사건 발생 12시간 이내에 1차 투여된다. 일부 실시양태에서, 피험체는 또한 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체이다. 일부 실시양태에서, 위험 인자는 현성 관상 심장 질환, 관상동맥 질환, 혈전증, 일과성 허혈성 발작, 좌심실 비대증, 동맥경화증, 재협착, 흡연 또는 말초 혈관 질환이다. 일부 실시양태에서, 말초 혈관 질환은 임상적으로 자명한 것이다(예를 들어, 폰텐(Fontaine Class) 부류 II 이상의 말초 동맥 질환)이다. 일부 실시양태에서, 위험 인자는 높은 트리글리세리드, 전신성 염증, 높은 혈중 인 수치, 높은 부갑상선 호르몬 수치, 미세알부민뇨, 또는 높은 호모시스테인 수치이다. 일부 실시양태에서, 위험 인자는 비만, 고혈당증, 만성 신부전, 고혈당, 만성 신장 질환, 또는 대사 증후군이다. 일부 실시양태에서, 위험 인자는 말기 신장 질환이다. 일부 실시양태에서, 위험 인자는 고혈압, 이상지질혈증, 고지질혈증, 총 콜레스테롤 상승, LDL 콜레스테롤 상승, 또는 낮은 HDL 콜레스테롤 수치 또는 죽상동맥경화증이다. 일부 실시양태에서, 고혈압은 180/110 mm Hg 이상의 혈압으로 나타난다. 일부 다른 실시양태에서, 고혈압은 경미한 고혈압 내지 중간 정도의 고혈압이며, 수축기 혈압(SBP)이 140 내지 180 mm Hg이고/거나, 이완기 혈압(DBP)이 90 내지 110 mm Hg인 것이다. 일부 실시양태에서, 피험체는 높은 C 반응성 단백질(CRP) 수치를 갖는다. 일부 실시양태에서, 피험체는 55세 초과 피험체이다. 일부 실시양태에서, 피험체는 65세 초과 피험체이다. 일부 실시양태에서, 피험체는 고혈압을 앓지 않는 환자이다. 일부 실시양태에서, 피험체는 고혈압 조절이 잘 되지 않는 피험체이다. 일부 실시양태에서, 피험체는 "A형" 인격을 가진 피험체이다. 일부 실시양태에서, 피험체는 좌식 생활 방식을 가진 피험체이다. 일부 실시양태에서, 피험체는 당뇨병을 앓는 피험체이다. 일부 실시양태에서, 당뇨병은 2형 당뇨병이다. 일부 실시양태에서, 피험체는 2가지 이상의 상기 위험 인자의 병력을 갖는 피험체이다. 일부 실시양태에서, 피험체는 3가지 이상의 상기 위험 인자의 병력을 갖는 피험체이다.
- [0264] 일부 실시양태에서, 상기 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것은 CRP 수치를 감소시키는 데 충분하다.
- [0265] 본 개시 내용은 또한 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는, 피험체에서 심혈관 사건 후의 사망률을 감소시키는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 심정지, 울혈성 심부전, 심혈관 사망, 급성 관상동맥 증후군(예를 들어, 진단을 받은 급성 관상동맥 증후군), 협심증 또는 혈관재생술이다. 일부 실시양태에서, 심혈관 사건은 심근경색 또는 급성 관상동맥 증후군이다. 일부 실시양태에서, 심근경색은 ST 상승 심근경색(예를 들어, ST 분절 상승 심근경색, STEMI)이다. 일부 실시양태에서, 심근경색은 비ST 상승 심근경색(예를 들어, 비ST 분절 상승 심근경색,

NSTEMI)이다. 일부 실시양태에서, ST 상승 여부는 심전도(예를 들어, ECG, EKG)에 의해 측정된다.

- [0266] 일부 실시양태에서, 사망률은 심혈관 원인으로 인한 사망이다. 다른 실시양태에서, 사망률은 임의의 원인으로 인한 사망이다. 일부 실시양태에서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 울혈성 심부전, 급성 관상동맥 증후군, 협심증 또는 혈관재생술이다. 일부 실시양태에서, 혈관재생술은 관상동맥, 경동맥 또는 말초 동맥 혈관재생술이다. 일부 실시양태에서, 관상동맥, 경동맥 또는 말초 동맥 혈관재생술은 경피적 관상 중재술(PCI), 스텐트 이식, 관상동맥 우회술(CABG), 경동맥 내막절제술, 말초 혈관 질환 우회로술, 또는 말초 혈관성형술이다.
- [0267] 일부 바람직한 실시양태에서, IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 심혈관 사건 발생 1주 이내에, 심혈관 사건 발생 96시간 이내에, 심혈관 사건 발생 72시간 이내에, 심혈관 사건 발생 48시간 이내에, 심혈관 사건 발생 24시간 이내에, 또는 심혈관 사건 발생 12시간 이내에 1차 투여된다. 일부 실시양태에서, 피험체는 2형 당뇨병을 앓지 않는 피험체이다. 일부 실시양태에서, 피험체는 심근경색 또는 뇌졸중의 이전 심혈관 사건으로부터 생존한 피험체이다. 일부 실시양태에서, 상기 심혈관 사건의 발생은 심근경색 또는 뇌졸중의 심혈관 사건의 재발이다.
- [0268] 일부 실시양태에서, 피험체는 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체이다. 일부 실시양태에서, 위험 인자는 현성 관상 심장 질환, 관상동맥 질환, 혈전증, 일과성 허혈성 발작, 좌심실 비대증, 동맥경화증, 재협착, 흡연 또는 말초 혈관 질환이다. 일부 실시양태에서, 말초 혈관 질환은 임상적으로 자명한 것이다(예를 들어, 폰텐 부류 II 이상의 말초 동맥 질환)이다. 일부 실시양태에서, 위험 인자는 높은 트리글리세리드, 전신성 염증, 높은 혈중 인 수치, 높은 부갑상선 호르몬 수치, 미세알부민뇨, 또는 높은 호모시스테인 수치이다. 일부 실시양태에서, 위험 인자는 비만, 고혈당증, 만성 신부전, 고혈당, 만성 신장 질환, 또는 대사 증후군이다. 일부 실시양태에서, 위험 인자는 고혈압, 이상지질혈증, 고지질혈증, 총 콜레스테롤 상승, LDL 콜레스테롤 상승, 또는 낮은 HDL 콜레스테롤 수치 또는 죽상동맥경화증이다. 일부 실시양태에서, 고혈압은 180/110 mm Hg 이상의 혈압으로 나타난다. 일부 다른 실시양태에서, 고혈압은 경미한 고혈압 내지 중간 정도의 고혈압이며, 수축기 혈압(SBP)이 140 내지 180 mm Hg이고/거나, 이완기 혈압(DBP)이 90 내지 110 mm Hg인 것이다.
- [0269] 일부 실시양태에서, 피험체는 고혈압을 앓지 않는 환자이다. 일부 실시양태에서, 피험체는 고혈압 조절이 잘 되지 않는 피험체이다. 일부 실시양태에서, 피험체는 "A형" 인격을 가진 피험체이다. 일부 실시양태에서, 피험체는 좌식 생활 방식을 가진 피험체이다. 일부 실시양태에서, 피험체는 2가지 이상의 상기 위험 인자의 병력을 갖는 피험체이다. 일부 실시양태에서, 피험체는 3가지 이상의 상기 위험 인자의 병력을 갖는 피험체이다.
- [0270] 일부 실시양태에서, 상기 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것은 CRP 수치를 감소시키는 데 충분하다.
- [0271] 본 개시 내용은 또한 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체에서 심혈관 사건을 감소시키는 방법으로서, 위험 인자는 2형 당뇨병, 비만, 고혈당증, 이상지질혈증, 고지질혈증, 만성 신부전, 고혈당, 만성 신장 질환, 고혈압, 죽상동맥경화증 또는 대사 증후군 이 아닌 것인 방법을 제공한다.
- [0272] 일부 실시양태에서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 심정지, 울혈성 심부전, 심혈관 사망, 급성 관상동맥 증후군(예를 들어, 진단을 받은 급성 관상동맥 증후군), 협심증 또는 혈관재생술이다. 일부 실시양태에서, 혈관재생술은 관상동맥, 경동맥 또는 말초 동맥 혈관재생술이다. 일부 실시양태에서, 관상동맥, 경동맥 또는 말초 동맥 혈관재생술은 경피적 관상 중재술(PCI), 스텐트 이식, 관상동맥 우회술(CABG), 경동맥 내막절제술, 말초 혈관 질환 우회로술, 또는 말초 혈관성형술이다.
- [0273] 일부 실시양태에서, 위험 인자는 현성 관상 심장 질환, 관상동맥 질환, 혈전증, 일과성 허혈성 발작, 좌심실 비대증, 동맥경화증, 재협착, 흡연 또는 말초 혈관 질환이다. 일부 실시양태에서, 위험 인자는 높은 트리글리세리드, 전신성 염증, 높은 혈중 인 수치, 높은 부갑상선 호르몬 수치, 미세알부민뇨, 또는 높은 호모시스테인 수치이다.
- [0274] 일부 실시양태에서, 피험체는 높은 C 반응성 단백질(CRP) 수치를 갖는다. 일부 실시양태에서, 피험체는 55세 초과 피험체이다. 일부 실시양태에서, 피험체는 65세 초과 피험체이다. 일부 실시양태에서, 피험체는 2가지 이상의 상기 위험 인자의 병력을 갖는 피험체이다. 일부 실시양태에서, 피험체는 3가지 이상의 상기 위험

인자의 병력을 갖는 피험체이다.

- [0275] 일부 실시양태에서, 상기 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것은 CRP 수치를 감소시키는 데 충분하다.
- [0276] 본 개시 내용은 또한 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편, 및 IL-1 β 항체 또는 단편 이외의 활성제를 포함하는 1종 이상의 다른 약학 조성물을 투여하는 것을 포함하는 피험체에서 심혈관 사건을 치료하는 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 울혈성 심부전, 급성 관상동맥 증후군 또는 협심증인 방법을 제공한다.
- [0277] 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 콜레스테롤 강하제, 스타틴, HMG-CoA 리덕타제 억제제, 칼슘 채널 차단제, 베타 차단제, 항고혈압제, 이뇨제, 아스피린, 니아신, 안지오텐신 전환 효소(ACE) 억제제, 안지오텐신 II 수용체 차단제, 혈관확장제, 항응고제, 혈소판 응집 억제제, 혈전용해제 또는 디지탈리스이다.
- [0278] 본 개시 내용은 또한 피험체에게 혈관재생술을 시술하는 것과 함께 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 피험체에서 심혈관 질환을 치료하는 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 울혈성 심부전, 급성 관상동맥 증후군 또는 협심증인 방법을 제공한다.
- [0279] 본 개시 내용은 또한 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는, 피험체에서 혈관재생술 이후의 재협착을 감소시키는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 혈관재생술은 관상동맥, 경동맥 또는 말초 동맥 혈관재생술이다.
- [0280] 본 개시 내용은 또한 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편 및 1종 이상의 항고혈압제를 투여하는 것을 포함하는, 피험체에서 급성 고혈압을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 피험체는 180/110 mm Hg 이상의 혈압을 가진 피험체이다. 일부 다른 실시양태에서, 피험체는 수축기 혈압(SBP)이 140 내지 180 mm Hg이고/거나, 이완기 혈압(DBP)이 90 내지 110 mm Hg인, 경미한 고혈압 내지 중간 정도의 고혈압을 가진 피험체이다. 일부 실시양태에서, 항고혈압제는 정맥내로 투여된다. 일부 실시양태에서, 항고혈압제는 알파/베타 아드레날린 차단제, 안지오텐신 전환 효소 억제제, 안지오텐신 II 수용체 길항제, 항아드레날린제, 베타 아드레날린 차단제, 칼슘 채널 차단제, 이뇨제, and 혈관확장제이다. 일부 실시양태에서, 항고혈압제는 카르베딜롤, 라베탈롤, 베나제프릴, 캅토프릴, 에날라프릴, 포시노프릴, 리시노프릴, 모엑시프릴, 페린도프릴, 퀴나프릴, 라미프릴, 트란돌라프릴, 칸데사르탄, 에프로사르탄, 이르베사르탄, 로사르탄, 텔미사르탄, 발사르탄, 클로니딘, 독사조신, 구아나벤즈, 구아나드렐, 구아네티딘, 구안파신, 메카밀아민, 메틸도파, 프라조신, 레세르핀, 테로조신, 아세부톨롤, 아테놀올, 베타소롤, 비소프롤롤, 카르테올롤, 메토프롤롤, 나돌올, 펜부톨롤, 핀돌올, 프로프라놀롤, 티몰롤, 암로디핀, 딜티아젠텐, 펠로디핀, 이스라디핀, 니카르디핀, 니페디핀, 니솔리핀, 베라파밀, 아밀로리드, 벤즈티아지드, 클로로티아지드, 클로르탈리돈, 푸로세미드, 히드로클로로티아지드, 인다파미드, 메톨라존, 폴리티아지드, 스피로놀락톤, 토르세미드, 트리클로르메티아지드, 히드랄라진, 니트로글리세린, 니트로프루시드 나트륨, 클레비디핀 또는 미녹시딜로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 항고혈압제는 라베탈롤, 메토프롤롤, 히드랄라진, 니트로글리세린, 니카르디핀, 니트로프루시드 나트륨 또는 클레비디핀이다.
- [0281] 본 개시 내용은 또한 피험체에게 의학적 중재 또는 외과적 중재와 함께(예를 들어, 그와 병용하여)(예를 들어, 그 이전에, 그 중에, 또는 그 이후에 병용하여) 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는, 피험체에서 심혈관상기 항체는 치료학적 유효량으로 투여될 수 있다. 상기 중재는 치료학적 유효할 수 있다. 일부 실시양태에서, 의학적 중재는 활성제, 예를 들어, 약물 또는 생물제, 예를 들어, 본원에 기술된 활성제 중 어느 하나 이상의 것이다. 일부 실시양태에서, 의학적 중재는 외래 환자를 위한 의학적 치료 또는 방법이다. 일부 실시양태에서, 의학적 중재는 원내 환자 입원이다. 일부 실시양태에서, 외과적 중재는 혈관재생술, 예를 들어, 본원에 기술된 혈관재생술 중 어느 하나 이상의 것이다. 일부 실시양태에서, 외과적 중재는 심장 판막 수복 또는 치환, 관상 우회로술, 심장 이식 또는 심장 펌프를 포함한다. 사건 또는 질환을 감소, 예방, 또는 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 외과적 중재는 양측 심실 심장 박동 조율기, 체내 심장 제세동기(ICD) 또는 근육절제술이다. 일부 실시양태에서, 의학적 중재는 금연 약물 처치 또는 금연 상담이다.
- [0282] 본 개시 내용은 또한 (a) 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체를 확인, 진단, 또는 선별하는 단계, 및 (b) 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체에서 심혈관 사건을 감소시키는

방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 심혈관 사망, 울혈성 심부전, 심정지, 급성 관상동맥 증후군, 협심증, 또는 혈관재생술인 방법을 제공한다.

- [0283] 본 개시 내용은 또한 (a) 이전 심혈관 사건의 병력을 갖는 피험체를 확인, 진단, 또는 선별하는 단계, 및 (b) 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 이전 심혈관 사건의 병력을 갖는 피험체에서 심혈관 사건을 감소시키는 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 급성 관상동맥 증후군, 협심증 또는 혈관재생술인 방법을 제공한다.
- [0284] 본 개시 내용은 또한 (a) 심혈관 사건을 앓는 피험체를 확인, 진단, 또는 선별하는 단계, 및 (b) 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는, 피험체에서 심혈관 사건 후의 사망률을 감소시키는 방법을 제공한다.
- [0285] 본 개시 내용은 또한 (a) 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체를 확인, 진단, 또는 선별하는 단계, 및 (b) 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체에서 심혈관 사건을 감소시키는 방법으로서, 위험 인자가 2형 당뇨병, 비만, 고혈당증, 이상지질혈증, 고지질혈증, 만성 신부전, 고혈당, 만성 신장 질환, 고혈압, 죽상동맥경화증 또는 대사 증후군이 아닌 것인 방법을 제공한다.
- [0286] 본 개시 내용은 또한 (a) 심혈관 사건을 앓는 피험체를 확인, 진단, 또는 선별하는 단계, 및 (b) 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편, 및 IL-1 β 항체 또는 단편 이외의 활성제를 포함하는 1종 이상의 다른 약학 조성물을 투여하는 것을 포함하는 피험체에서 심혈관 사건을 치료하는 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 울혈성 심부전, 급성 관상동맥 증후군 또는 협심증인 방법을 제공한다.
- [0287] 본 개시 내용은 또한 (a) 심혈관 사건을 앓는 피험체를 확인, 진단, 또는 선별하는 단계, 및 (b) 피험체에게 혈관재생술을 시술하는 것과 함께(예를 들어, 혈관재생술을 함께 병용하여) 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 피험체에서 심혈관 사건을 치료하는 방법으로서, 심혈관 사건은 심근경색, 뇌졸중, 울혈성 심부전, 급성 관상동맥 증후군 또는 협심증인 방법을 제공한다.
- [0288] 본 개시 내용은 또한 (a) 혈관재생술을 받은 피험체를 확인, 진단, 또는 선별하는 단계, 및 (b) 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는, 피험체에서 혈관재생술 이후의 재협착을 감소시키는 방법을 제공한다.
- [0289] 본 개시 내용은 또한 (a) 급성 고혈압을 앓는 피험체를 확인, 진단, 또는 선별하는 단계, 및 (b) 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편 및 1종 이상의 항고혈압제를 투여하는 것을 포함하는, 피험체에서 급성 고혈압을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 고혈압은 180/110 mm Hg 이상의 혈압으로 나타난다. 일부 다른 실시양태에서, 고혈압은 경미한 고혈압 내지 중간 정도의 고혈압이며, 수축기 혈압(SBP)이 140 내지 180 mm Hg이고/거나, 이완기 혈압(DBP)이 90 내지 110 mm Hg인 것이다.
- [0290] 본 개시 내용은 또한 최근 심근경색(MI), 최근 뇌졸중, 또는 확립 말초 동맥 질환, 신생 허혈성 뇌졸중(치명적 또는 비치명적)의 통합결과변수 발생률(rate of a combined endpoint), 신생 MI(치명적 또는 비치명적), 및 다른 혈관 사망의 이력을 가진 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는, 최근 심근경색(MI), 최근 뇌졸중, 또는 확립 말초 동맥 질환, 신생 허혈성 뇌졸중(치명적 또는 비치명적)의 통합결과변수 발생률, 신생 MI(치명적 또는 비치명적), 및 다른 혈관 사망의 이력을 가진 피험체에서 감소시키는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 피험체는 비ST 분절 상승(예를 들어, 불안정 협심증 또는 비Q파 심근경색)을 포함하는 급성 관상동맥 증후군 환자이다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 가장 최근의 가슴 통증 또는 허혈과 일치하는 증상의 에피소프가 발병 12, 24, 48 또는 72시간 이내에 최초로 투여된다. 일부 실시양태에서, 피험체는 신생 허혈(예를 들어, 비ST 분절 상승)과 상용성인 ECG 변화를 보이거나, 심장 효소 또는 트로포닌 I 또는 T가 정상 상한의 적어도 2배까지 상승한 피험체이다.
- [0291] 본 개시 내용은 또한 최근 심근경색(MI), 최근 뇌졸중, 또는 확립 말초 동맥 질환을 가진 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는, 최근 심근경색(MI), 최근 뇌졸중, 또는 확립 말초 동맥 질환을 가진 피험체에서 죽상경화혈전성 사고를 감소시키는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 피험체는 비ST 분절 상승(예를 들어, 불안정 협심증 또는 비Q파 심근경색)을 포함하는 급성 관상동맥 증후군 환자이다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 가장 최근의 가슴 통증 또는 허혈과 일치하는 증상의 에피소프가 발병 72시간 이내, 또는 바람직하게, 48시간 이내, 또는

더욱 바람직하게, 24, 12, 6 또는 3시간 이내에 최초로 투여된다. 일부 실시양태에서, 피험체는 신생 허혈(예를 들어, 비ST 분절 상승)과 상용성인 ECG 변화를 보이거나, 심장 효소 또는 트로포닌 I 또는 T가 정상 상한의 적어도 2배까지 상승한 피험체이다.

[0292] 본 개시 내용은 또한 ST 분절 상승 급성 심근경색, 임의 원인에 의한 사망률, 및 사망의 통합결과변수 발생률, 재경색 또는 뇌졸중을 가진 피험체에게 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는, ST 분절 상승 급성 심근경색, 임의 원인에 의한 사망률, 및 사망의 통합결과변수 발생률, 재경색 또는 뇌졸중을 가진 피험체에서 이를 감소시키는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 피험체에서 심근경색 증상이 나타난 후 72시간 이내, 또는 바람직하게, 48시간 이내, 또는 더욱 바람직하게, 24, 12, 6 또는 3시간 이내에 최초로 투여된다.

[0293] 상기 기술한 방법들 중 어느 것의 일부 실시양태에서, 피험체는 심혈관 질환, 예를 들어, 급성 심혈관 질환 또는 만성 심혈관 질환을 앓는 환자이다.

[0294] 상기 기술한 방법들 중 어느 것의 일부 실시양태에서, 상기 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하는 것은 CRP 수치를 감소시키는 데 충분하다.

[0295] 본 개시 내용은 또한 IL-1 β 에 의해 유도되는 IL-8의 생산을 측정하는 인간 전혈 IL-1 β 억제 분석법에서 IC₅₀이 IL-1 β 수용체 길항제보다 더 낮은 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편의, 심장 사건 또는 심혈관 질환의 감소, 예방, 또는 치료에서 사용하기 위한 조성물의 제조에서의 용도를 제공한다.

[0296] 본 개시 내용은 또한 심혈관 사건의 감소(예를 들어, 사건 시간 지연, 사건의 가능성 또는 위험 감소, 사건 예방, 사건의 중증도 감소, 회복 시간 단축)를 심혈관 사건 및/또는 IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편의 초기 투여 후 2년 이상, 3년 이상, 4년 이상, 또는 5년 이상의 기간에 걸쳐 피험체에서 평가할 수 있는 것을 제공한다.

[0297] 추가로, 본 개시 내용은 추가로 치료학적 유효량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편이 C 반응성 단백질(CRP) 수치를 감소시키는 데 충분할 수 있다는 것을 제공한다. CRP 수치 감소는 표준 분석법(예를 들어, 고감도 CRP, 초고감도 CRP)을 사용하여 쉽게 측정할 수 있다. 본원에 개시된 방법에 의해 제공되는 바, C 반응성 단백질 수치 감소는 예를 들어, 처리전 수치로부터 ≥ 0.2 , ≥ 0.4 , ≥ 0.6 , ≥ 0.8 , ≥ 1.0 , ≥ 1.4 , ≥ 1.8 , ≥ 2.2 , ≥ 2.6 , ≥ 3.0 mg/L 만큼 감소한 것일 수 있다. 별법으로, C 반응성 단백질 수치 감소는 예를 들어, 처리전 수치로부터 $\geq 20\%$, $\geq 30\%$, $\geq 40\%$, $\geq 50\%$, $\geq 60\%$, $\geq 70\%$, $\geq 80\%$, $\geq 90\%$, $\geq 95\%$ 만큼 감소한 것일 수 있다.

[0298] 별법으로 또는 추가로, 본원에 개시된 바와 같이 치료된 피험체는 지질 프로파일이 측정가능할 정도로 개선(예를 들어, 혈청 지질 감소, HDL 대 LDL의 비 변화)되었음을 경험할 수 있다. 그러한 혈청 지질 및/또는 지질 프로파일 측정은 예를 들어, 콜레스테롤 감소, 저밀도 지질단백질(LDL: low-density lipoprotein) 콜레스테롤 감소, 초저밀도 지질단백질(VLDL: very-low-density lipoprotein) 콜레스테롤 감소, 트리글리세리드 감소, 유리 지방산 감소, 아포지질단백질 B(Apo B: apolipoprotein B) 감소, 고밀도 지질단백질(HDL: high-density lipoprotein) 콜레스테롤 증가, 처리전 수치와 비교하여 고밀도 지질단백질 콜레스테롤 수치 유지, 및/또는 아포지질단백질 A(Apo A: apolipoprotein A) 증가를 포함할 수 있다. 당업계에 공지된 표준 기법을 사용하여 측정할 수 있다. 예를 들어, 콜레스테롤 수치(예를 들어, 총 콜레스테롤) 감소는 처리전 수치로부터 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60% 이상 만큼 감소한 것일 수 있다. 저밀도 지질단백질 콜레스테롤 수치 감소는 처리전 수치로부터 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60% 이상 만큼 감소한 것일 수 있다. 피험체의 혈중 트리글리세리드 수치 감소는 처리전 수치로부터 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70% 이상 만큼 감소한 것일 수 있다. 유리 지방산 수치의 감소는 처리전 수치로부터 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60% 이상 만큼 감소한 것일 수 있다. 고밀도 지질단백질 콜레스테롤 수치 증가는 처리전 수치로부터 적어도 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 8%, 10%, 12%, 14%, 16% 이상 만큼 증가한 것일 수 있다.

[0299] 당업계에 공지된 표준 의료 행위 및/또는 당업계에 공지된 다양한 표준 분석법, 예를 들어, 문헌([Chernecky CC, Berger BJ, eds. (2004). Laboratory Tests and Diagnostic Procedures, 4th ed. Philadelphia: Saunders]; [Fischbach FT, Dunning MB III, eds. (2004). Manual of Laboratory and Diagnostic Tests, 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins]; [Genest J, et al. (2003). Recommendations for the management of dyslipidemia and the prevention of cardiovascular disease: Summary of the 2003 update. Canadian Medical Association Journal, 169(9): 921-924])에 공개되어 있는 분석법을 사용하여 상기 언급한 바와 같이 진단하고 측정할 수 있다. 또한, 온라인:

(<http://www.cmai.ca/cgi/content/full/169/9/921/DC1>: 문헌 [Handbook of Diagnostic Tests (2003). 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins]; 및 [Pagana KD, Pagana TJ (2002). Mosby's Manual of Diagnostic and Laboratory Tests, 2nd ed. St. Louis: Mosby]) 또한 이용가능하다.

투약

상기 언급한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두에서 사용하기 위한 항IL-1 β 결합 항체 또는 결합 그의 단편은 1 이상의 용량(예를 들어, 초기 용량 및 1 이상의 후속 용량)으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 10 mg/kg 이하, 5 mg/kg 이하, 3 mg/kg 이하, 또는 2 mg/kg 이하의 항체 또는 단편인 1 이상의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 1 mg/kg 이하의 항체 또는 단편인 1 이상의 용량, 0.5 mg/kg 이하의 항체 또는 단편인 1 이상의 용량, 0.3 mg/kg 이하의 항체 또는 단편인 1 이상의 용량, 0.1 mg/kg 이하의 항체 또는 단편인 1 이상의 용량, 또는 0.03 mg/kg 이하의 항체 또는 단편인 1 이상의 용량으로 투여된다. 상기 언급한 실시양태 중 일부에서, 1 이상의 용량은 적어도 0.01 mg/kg의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편이다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 약 0.01 mg/kg 내지 1 mg/kg, 약 0.03 mg/kg 내지 1 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 0.3 mg/kg, 또는 약 0.1 mg/kg 내지 0.3 mg/kg인 1 이상의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 약 0.001 mg/kg 내지 0.3 mg/kg, 약 0.001 mg/kg 내지 0.1 mg/kg, 약 0.001 mg/kg 내지 0.03 mg/kg 또는 약 0.001 mg/kg 내지 0.01 mg/kg인 1 이상의 용량으로 투여된다.

다른 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편의 초기 용량 및 1 이상의 후속 용량은 각각 약 0.01 mg/kg 내지 약 10 mg/kg의 항체, 약 0.05 내지 약 5 mg/kg의 항체, 약 0.05 mg/kg 내지 약 3 mg/kg의 항체, 약 0.1 mg/kg 내지 약 3 mg/kg의 항체, 약 0.1 mg/kg 내지 약 1 mg/kg의 항체, 약 0.1 mg/kg 내지 약 0.5 mg/kg의 항체, 약 0.3 mg/kg 내지 약 5 mg/kg의 항체, 약 0.3 mg/kg 내지 약 3 mg/kg의 항체, 약 0.3 mg/kg 내지 약 1 mg/kg의 항체, 약 0.5 mg/kg 내지 약 5 mg/kg의 항체, 약 0.5 mg/kg 내지 약 3 mg/kg의 항체, 약 0.5 mg/kg 내지 약 1 mg/kg의 항체, 약 1 mg/kg 내지 약 5 mg/kg의 항체, 또는 약 1 mg/kg 내지 약 3 mg/kg의 항체이다. 특정 실시양태에서, 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상, 5개 이상, 6개 이상, 7개 이상, 8개 이상, 9개 이상, 10개 이상 또는 11개 이상의 후속 용량으로 항체가 투여된다. 상기 언급한 투여량은 mg(항체 또는 단편)/kg(치료받는 개체의 체중)으로 제시된다.

상기 언급한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두에서 사용하기 위한 항IL-1 β 결합 항체 또는 결합 그의 단편은 피험체 체중에 대한 용량 비와 무관하게 고정 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 1,000 mg 이하, 500 mg 이하, 또는 250 mg 이하의 항체 또는 단편인 하나 이상의 고정 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 항 IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 100 mg 이하, 25 mg 이하, 또는 10 mg 이하의 항체 또는 단편인 하나 이상의 고정 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 0.5 mg의 항체 또는 단편인 1 이상의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 1 mg의 항체 또는 단편인 1 이상의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 10 mg의 항체 또는 단편인 1 이상의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 1 mg 내지 100 mg의 항체 또는 단편인 1 이상의 용량으로 투여된다.

특정 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편의 고정 용량은 약 1 mg 내지 약 10 mg, 약 1 mg 내지 약 25 mg, 약 10 mg 내지 약 25 mg, 약 10 mg 내지 약 50 mg, 약 10 mg 내지 약 100 mg, 약 25 mg 내지 약 50 mg, 약 25 mg 내지 약 100 mg, 약 50 mg 내지 약 100 mg, 약 50 mg 내지 약 150 mg, 약 100 mg 내지 약 150 mg, 약 100 mg 내지 약 200 mg, 약 150 mg 내지 약 200 mg, 약 150 mg 내지 약 250 mg, 약 200 mg 내지 약 250 mg, 약 200 mg 내지 약 300 mg, 약 250 mg 내지 약 300 mg, 약 250 mg 내지 약 500 mg, 약 300 mg 내지 약 400 mg, 약 400 mg 내지 약 500 mg, 약 400 mg 내지 약 600 mg, 약 500 mg 내지 약 750 mg, 약 600 mg 내지 약 750 mg, 약 700 mg 내지 약 800 mg, 또는 약 750 mg 내지 약 1,000 mg이다. 다른 실시양태에서, 항 IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편의 고정 용량은 약 1 mg 내지 약 10 mg, 약 1 mg 내지 약 25 mg, 약 10 mg 내지 약 25 mg, 약 10 mg 내지 약 100 mg, 약 25 mg 내지 약 50 mg, 약 50 mg 내지 약 100 mg, 약 100 mg 내지 약 150 mg, 약 150 mg 내지 약 200 mg, 또는 약 200 mg 내지 약 250 mg이다.

상기 언급한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 고정 용량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 프리필드 주사기 또는 전달 장치의 사용으로 투여된다.

상기 언급한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합

단편은 피하, 정맥내, 또는 근육내 주사에 의해 투여된다.

[0307] 상기 언급한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 초기 용량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여한 후, 1 이상의 후속 용량을 투여한다. 일부 실시양태에서, 초기 용량 및 1 이상의 후속 용량은 매주 약 1회 내지 매 12시간마다 약 1회인 간격으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 초기 용량 및 1 이상의 후속 용량은 매 2주마다 약 1회 내지 매 6개월마다 약 1회인 간격으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 초기 용량 및 1 이상의 후속 용량은 매월 약 1회 내지 매 6개월마다 약 1회인 간격으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 초기 용량 및 1 이상의 후속 용량은 매월 약 1회 내지 매 3개월마다 약 1회인 간격으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 초기 용량 및 1 이상의 후속 용량은 매 3개월마다 약 1회 내지 매 6개월마다 약 1회인 간격으로 투여된다.

[0308] 본 개시 내용은 또한 투약 요법이 IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하기 위한 1 초과 2 이하의 투약 간격을 포함하는 것인, 상기 언급한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두에서 사용하기 위한 투약 요법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 투약 요법은 IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하기 위한 적어도 2개 (예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6개)의 상이한 투약 간격을 포함한다. 일부 실시양태에서, 투약 요법은 IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하기 위한 2개의 상이한 투약 간격을 포함한다. 일부 실시양태에서, 투약 요법은 IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여하기 위한 2개의 상이한 투약 간격을 포함하며, 제1 투약 간격은 IL-1 β 항체 또는 그의 단편을 1 이상의 용량으로 투여하는 것을 포함하고, 제2 투약 간격은 IL-1 β 항체 또는 그의 단편을 1 이상의 용량으로 투여하는 것을 포함하며, 제1 투약 간격은 제2 투약 간격보다 시간상 더 짧다. 예를 들어, 제1 투약 간격은 수일 또는 수주일 수 있고, 제2 투약 간격은 수개월일 수 있다. 일부 실시양태에서, 제1 투약 간격은 약 5일 내지 약 28일, 약 7일 내지 약 21일, 약 12일 내지 약 16일, 또는 약 14일이다. 일부 실시양태에서, 제2 투약 간격은 약 1개월 내지 약 3개월, 약 1개월 내지 약 2개월, 또는 약 1개월이다. 일부 실시양태에서, 제1 투약 간격은 약 7일이고, 제2 투약 간격은 약 1개월이다.

[0309] 일부 실시양태에서, 초기 용량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여한 후, 1 이상의 후속 용량을 투여하며, 초기 용량 및 제2 용량 투여 사이의 투약 간격, 및 제2 용량 및 제3 용량 투여 사이의 투약 간격은 약 7일 내지 약 21일이고, 후속 용량 투여 사이의 투약 간격은 약 1개월 내지 약 3개월이다. 일부 실시양태에서, 초기 용량 및 제2 용량 투여 사이의 투약 간격, 및 제2 용량 및 제3 용량 투여 사이의 투약 간격은 약 12 내지 16일이고, 후속 용량 투여 사이의 투약 간격은 약 1개월 내지 약 2개월이다. 일부 실시양태에서, 초기 용량 및 제2 용량 투여 사이의 투약 간격, 및 제2 용량 및 제3 용량 투여 사이의 투약 간격은 약 14일이고, 후속 용량 투여 사이의 투약 간격은 약 1개월이다. 상기 언급한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은, 용량 투여 사이의 간격이 피험체 중의 상기 항체 또는 항체 단편의 혈장 농도가 적어도 약 0.1 ug/mL 수치로 유지될 수 있도록 하는 데 충분한 시간이 되도록 피험체에게 투여된다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은, 용량 투여 사이의 간격이 피험체 중의 상기 항체 또는 항체 단편의 혈장 농도가 적어도 약 0.3 ug/mL 수치로 유지될 수 있도록 하는 데 충분한 시간이 되도록 피험체에게 투여된다. 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편, 용량 투여 사이의 간격이 피험체 중의 상기 항체 또는 항체 단편의 혈장 농도가 적어도 약 1 ug/mL 수치로 유지될 수 있도록 하는 데 충분한 시간이 되도록 피험체에게 투여된다. 일부 실시양태에서, 이러한 혈장 농도 값은 본원 개시 내용에 따른 항체 또는 단편으로 처리된 개체에 대해 수득된 값을 나타낸다.

[0310] 상기 언급한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 초기 용량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여한 후, 1 이상의 후속 용량을 투여하며, 상기 1 이상의 후속 용량은 대략적으로 초기 용량과 동일하거나, 그보다 적은 양이다.

[0311] 상기 언급한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 초기 용량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여한 후, 1 이상의 후속 용량을 투여하며, 적어도 하나의 후속 용량은 초기 용량보다 많은 양이다.

[0312] 상기 언급한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편은 IL-1 β 에 의해 유도되는 IL-8의 생산을 측정하는 인간 전혈 IL-1 β 억제 분석법에서 IL-1 β 수용체 길항제보다 더 낮은 IC₅₀을 가진다.

[0313] 상기 언급한 방법들 중 어느 것 및/또는 그들 모두의 일부 실시양태에서, 항IL-1 β 결합 항체 또는 결합 단편을 투여하고, 초기 용량의 항IL-1 β 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 투여한 후, 1 이상의 후속 용량을 투여하며, 상기 초기 용량 및 1 이상의 후속 용량을 사용하는 치료 과정 동안 각 투여 사이의 기간이 약 1주 초과

내지 약 6개월 미만인 기간 동안 인간에서 상기 항체 또는 항체 단편의 혈장 농도가 약 0.1 ug/mL 수치 아래로 감소하는 것이 허용된다. 일부 실시양태에서, 각 투여 사이의 기간이 약 1주 초과 내지 약 5개월, 약 4개월, 약 3개월, 약 2개월, 약 1개월, 약 3주, 또는 약 2주 미만인 기간 동안 상기 항체 또는 항체 단편의 혈장 농도가 약 0.07 ug/mL 수치 아래로 감소하는 것이 허용된다. 일부 실시양태에서, 혈장 농도 값은 본원 개시 내용에 따라 항체 또는 단편으로 치료되는 각 개체에 대해 획득되는 값을 나타낸다.

[0314] **비용**

[0315] 본 개시 내용은 또한 하나 이상의 다른 활성제를 포함하는 약학 조성물을 IL-1 β 결합 항체 또는 단편과 함께 병용하여(예를 들어, 그와도 별개로) 투여될 수 있고, 상기 투여는 시간상 같은 시점에 또는 다른 시점에, 예를 들어, 같은 날 또는 다른 날에 수행될 수 있는 것을 제공한다. 다른 활성제는 당업계에 공지된 표준 의료 행위(예를 들어, 현 진료 표준)에 따라 투여할 수 있거나, 예를 들어, 본원에 개시된 IL-1 β 결합 항체 또는 단편 투여와 함께 병용하여 사용하는 경우에는 투여 방법을 수정할 수 있다(예를 들어, 간격 연장, 투여량 축소, 개시 지연). 하기 기재하는 활성화제는 예시적인 것이고, 제한하고자 하는 것은 아니며, 조합물은 또한 1 초과의 첨가제, 예를 들어, 2 또는 3개의 첨가제를 포함할 수 있다.

[0316] 본원에 개시된 바와 같이 피험체에게 투여되는 항IL-1 β 항체 또는 그의 단편은 적어도 하나의 추가 활성제, 예를 들어, 본원에서 제공하는 활성제들 중 임의의 것을 사용하는 치료법과 함께 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 적어도 하나의 활성제를 사용하는 치료법은 유지된다. 또 다른 실시양태에서, 적어도 하나의 활성제를 사용하는 치료법은 감소되거나 중단되는 반면(예를 들어, 피험체가 안정 상태일 경우), 항IL-1 β 항체 또는 단편을 사용하는 치료법은 일정한 투약 요법으로 유지된다. 또 다른 실시양태에서, 적어도 하나의 활성제를 사용하는 치료법은 감소되거나 중단되는 반면(예를 들어, 피험체가 안정 상태일 경우), 항IL-1 β 항체 또는 단편을 사용하는 치료법은 증가된다(예를 들어, 용량 증량, 투약 빈도 증가, 치료 요법 기간 연장). 추가의 또 다른 실시양태에서, 적어도 하나의 활성제를 사용하는 치료법은 유지되고, 항IL-1 β 항체 또는 단편을 사용하는 치료법은 감소되거나 중단된다(예를 들어, 용량 감량, 투약 빈도 감소, 치료 요법 기간 단축). 추가의 또 다른 실시양태에서, 적어도 하나의 활성제를 사용하는 치료법 및 항IL-1 β 항체 또는 단편을 사용하는 치료법은 감소되거나 중단된다(예를 들어, 용량 감량, 투약 빈도 감소, 치료 요법 기간 단축).

[0317] 일부 실시양태에서, 상기 기술한 방법 중 임의의 방법은 항IL-1 β 결합 항체 또는 그의 결합 단편 이외의 활성제를 포함하는 1종 이상의 다른 약학 조성물을 투여하는 것을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 콜레스테롤 강하제이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 스타틴 또는 HMG-CoA 리덕타제 억제제(예를 들어, 로바스타틴, 프라바스타틴, 심바스타틴, 플루바스타틴, 아토르바스타틴, 세리바스타틴, 메바스타틴, 피타바스타틴, 로수바스타틴 또는 그의 혼합물 또는 에제티미브, 니아신, 암로디핀 베실레이트와의 혼합물)이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 칼슘 채널 차단제(예를 들어, 암로디핀, 딜티아젠펜, 니페디핀, 니카르디핀, 베라파밀) 또는 베타 차단제(예를 들어, 에스몰롤, 메토프롤롤, 나돌올, 펜부톨롤)이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 항고혈압제(예를 들어, 라베탈롤, 메토프롤롤, 히드랄라진, 니트로글리세린, 니카르디핀, 니트로글리세린 나트륨, 클레비디핀), 이노제(예를 들어, 에스몰롤아지드 이노제, 클로르탈리돈, 푸로세미드, 히드로클로로티아지드, 인다파미드, 메톨라존, 아밀로리드 히드로클로라이드, 스피로놀락톤, 트리암테렌) 또는 아스피린이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 안지오텐신 전환 효소(ACE) 억제제(예를 들어, 라미프릴, 라미프릴레이트, 캅토프릴, 리시노프릴) 또는 안지오텐신 II 수용체 차단제(예를 들어, 로사르탄, 올메사르탄, 발사르탄)이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 혈관확장제이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 항응고제(예를 들어, 아세노쿠마롤, 펜프로쿠몬, 와파린, 헤파린, 저분자 헤파린) 또는 혈소판 응집 억제제(예를 들어, 클로피도그렐, 티클로피딘, 실로스타졸, 디피리다몰, 엡티피바티드, 아스피린, 압식시맙, 엡티피바티드, 티로피반)이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 혈전용해제(예를 들어, 스트렙토키나제, 우로키나제, 알테플라제, 레테플라제, 테네크테플라제)이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 디지털리스이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 디곡신 또는 네시리티드이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 산소이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 트롬빈 억제제(예를 들어, 히루딘, 비발리루딘)이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성

제는 니트레이트(예를 들어, 글리세릴 트리니트레이트(GTN)/니트로글리세린, 이소소르비드 디니트레이트, 이소소르비드 모노니트레이트)이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 진통제(예를 들어, 모르핀 술페이트)이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 레닌 억제제이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 엔도텔린 A 수용체 억제제이다. 일부 실시양태에서, 상기 1종 이상의 다른 약학 조성물의 활성제는 알도스테론 억제제이다.

[0318] 또 다른 실시양태에서, 본원에 개시된 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하기 위한 의약(예를 들어, 심혈관 사건 및/또는 심혈관 질환의 감소, 예방 또는 치료용 의약)의 제조에서의 IL-1 β 항체 또는 결합 단편의 용도가 주시된다. 상기 용도 중 임의의 용도에서, 의약은 제2 활성제를 사용하는 치료법과 함께 조화를 이루도록 조정될 수 있다.

[0319] 본 개시 내용의 추가의 또 다른 측면에서, 용기, 용기 내의 항IL-1 β 항체 또는 그의 단편을 포함하는 조성물, 및 본원에 개시된 바와 같이 (예를 들어, 심혈관 사건 및/또는 심혈관 질환의 감소, 예방, 또는 치료를 위해) 피험체(예를 들어, 인간)에게 항체 또는 단편을 투여하는 것에 관한 사용 설명서를 포함하는 포장 삽입물을 포함하는 물품을 제공한다. 한 실시양태에서, 용기는 추가로 제약상 적합한 담체, 부형제, 또는 희석제를 포함한다. 관련된 실시양태에서, 용기 내의 조성물은 추가로 제2 활성제를 포함한다.

[0320] 본 개시 내용에서는 키트 또한 주시된다. 한 실시양태에서, 키트는 용기, 예를 들어, 바이알 또는 병 내에 포장된 치료학상 또는 예방학상 유효량의 항IL-1 β 항체 또는 그의 단편을 포함하고, 상기 용기에 부착되어 있거나, 그와 포장된 표지를 추가로 포함하는데, 이러한 표지는 용기의 내용물을 설명해주고, 본원에 개시된 바와 같이 (예를 들어, 심혈관 사건 및/또는 심혈관 질환의 감소, 예방, 또는 치료를 위해) 용기의 내용물을 사용하는 것에 관한 지시 사항 및/또는 사용 설명서를 제공한다. 한 실시양태에서, 용기는 추가로 제약상 적합한 담체, 부형제, 또는 희석제를 포함한다. 관련된 실시양태에서, 용기 내의 조성물은 추가로 제2 활성제를 포함한다.

[0321] 한 실시양태에서, 물품, 키트 또는 의약은 본원에 개시된 바와 같이 (예를 들어, 심혈관 사건 및/또는 심혈관 질환의 감소, 예방, 또는 치료를 위해) 피험체에서 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하기 위한 것이다. 또 다른 실시양태에서, 물품의 포장 삽입물의 사용 설명서 또는 키트의 표지는 상기 언급한 투여량 및/또는 투약 요법 중 어느 것에 따라 항체 또는 단편을 투여하는 것에 관한 설명을 포함한다. 추가의 또 다른 실시양태에서, 키트 또는 물품의 용기는 프리필드 주사기이다.

[0322] [실시예]

[0323] 하기 실시예는 단지 본 개시 내용의 실시를 추가로 설명하고자 하는 것이며, 어느 방식으로든 본 개시 내용의 범주를 제한하고자 하는 것으로 해석되서는 안된다. 본원에서 인용된 모든 특허 및 과학 문헌 개시 내용은 그의 전문이 본원에 참고로 명백히 포함된다.

[0324] **실시예 1**

[0325] **인간 피험체에게 IL-1 β 항체 투여**

[0326] 하기 언급한 용도로 IL-1 β 결합 항체 또는 결합 그의 단편을 피험체에게 투여할 수 있다. 구체적으로, 일례로는 (상기 기술된) AB7로 지정된 IL-1 β 항체를 인간 피험체에게 투여하여 안전성, 약동학적 성질 및 생체내 생물학적 활성에 대해 평가하였다. 2형 당뇨병을 앓는 인간 피험체에서 이중 맹검 위약 대조군 임상 연구를 수행하였다. 피험체 군들은 일정 시간에 걸쳐 항체를 단일 용량으로 또는 다중 용량으로 정맥내(IV) 또는 피하(SC) 경로를 통해 투여받았다.

[0327] IV 경로 투여에 의해 투여되는 단일 용량에 대한 본 연구를 위한 처리군과 피험체 명수를 하기 표에 나타내었다:

IV 경로	항체		위약
	피험체 명수	용량	피험체 명수
1	5	0.01 mg/kg	1
2	5	0.03 mg/kg	1
3	5	0.1 mg/kg	1
4	5	0.3 mg/kg	1
5	5	1.0 mg/kg	1
6	5	3.0 mg/kg	1

[0328]

[0329] 유사하게, SC 경로 투여에 의해 투여되는 단일 용량 및 다중(3배량, 매 2마다) 용량에 대한 본 연구를 위한

처리군과 피험체 명수를 하기 표에 나타내었다:

SC 경로 군	항체		위약 피험체 명수
	피험체 명수	용량	
단일 용량			
1	5	0.03 mg/kg	1
2	5	0.1 mg/kg	1
3	5	0.3 mg/kg	1
다중 용량			
4	5	0.03 mg/kg	1
5	5	0.3 mg/kg	1

[0330]

[0331]

연구 1일째, 항체 또는 위약을 일정한 속도로 IV 주입 또는 SC 주사하였다(예를 들어, 전복부, 팔, 대퇴부). 공지된 표준 의료 행위를 사용하여 부작용 기록, 신체 검사, 활력 징후 및 임상 실험실 테스트(예를 들어, 혈액 화학적 성질 검사, 혈액학적 성질 검사, 요검사)를 비롯한 안전성 평가를 수행하였다. 투여 이전 및 투여 후 다중 시점에 혈액을 수집하고, C 반응성 단백질을 비롯한 각종 파라미터에 대해 평가하였다.

[0332]

별법으로 또는 추가로, 예를 들어, 동시에 또는 그보다 긴 장기간의 간격(예를 들어, 수개월간의 간격)으로 후속 용량을 추가 회수로 투여하는 것, 대체 투여 용량, 및/또는 군의 크기 확대에 대해 평가하기 위한 연구군을 추가로 포함시킬 수 있다.

[0333]

실시예 2

[0334]

인간 피험체에서 IL-1 β 항체의 약동학적 성질

[0335]

0, 1, 2, 3, 4, 7, 9 \pm 1, 11 \pm 1, 14 \pm 1, 21 \pm 2, 28 \pm 2, 42 \pm 3, 및 56 \pm 3일째 약동학적 성질 분석을 위해 샘플을 분석하였다. 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 또는 1.0 mg/kg 용량 수준으로 단일 용량의 항체를 IV 투여한 후 약동학적 성질에 대한 데이터의 중간 분석을 통해 혈청 농도-시간 프로파일이 제시되었는데, 말기 반감기는 22일이고, 제거율은 2.54 mL/일/kg이고, 중심 구획 분포 용량은 41.3 mL/kg이었는데, 이는 혈청 부피와 매우 유사하였다 (도 1).

[0336]

유사하게, 단일 용량 SC 투여군에 대해 샘플을 분석하였다. 도 2에 제시되어 있는 바와 같이, 0.03, 0.1 및 0.3 mg/kg 용량 수준으로 투여한 결과, 말기 반감기는 22.7일이고, 제거율은 2.4 mL/일/kg이고, 중심 구획 분포 용량은 40.7 mL/kg인 프로파일을 얻었다.

[0337]

실시예 3

[0338]

인간 피험체에서 IL-1 β 항체가 CRP에 미치는 효과

[0339]

PK 샘플과 같은 시점에 혈청 중의 C 반응성 단백질 또한 측정하였다. 단일 용량의 항체는 위약 처리군과 비교하여 각각의 항체 처리 투여군에서 초민감성 C 반응성 단백질(usCRP: ultrasensitive C-reactive protein) 수치를 감소시켰다. 도 3에 나타난 바와 같이, 항체를 단일 용량으로 IV 투여한 후 28일 경과하였을 때, usCRP의 감소율의 중앙값은 위약의 경우 4%인 것과 비교하여, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 및 1.0 mg/kg의 투여군에서는 각각 33, 46, 47, 36, 및 26%였다.

[0340]

실시예 4

[0341]

심혈관 사건 모델(급성 심근경색)에서의 IL-1 β 항체 평가

[0342]

IL-1 β 항체 또는 이의 결합 단편의 심장 효과(예를 들어, 유해한 심장 리모델링을 억제시키는 효과)를 측정하기 위해 급성 심근경색(MI)을 앓는 설치류 모델을 사용할 수 있었다(예를 들어, 문헌 ([Wang et al., 2006, Tex. Heart Inst. J. 33:290-293]; [Salloum et al., 2009, Cardiovasc. Drugs Ther. 23:129-135] 참조). 예를 들어, MI 모델에서 심장 기능에 대한 측정값의 개선은 후속 심혈관 사건(예를 들어, 울혈성 심부전)의 기회와 관련이 있었다. 비근교계 마우스(예를 들어, Institute of Cancer Research의 마우스) 및/또는 래트(예를 들어, Wistar 래트)를 설치류 MI 모델로 사용하였다. 수술에 앞서, 하기 파라미터에 대한 측정값을 얻기 위해 베보770(Vevo770) 영상 시스템(VisualSonics: 캐나다 토론토) 또는 아쿠손 C256(Acuson C256)을 사용하여 경흉부 심초음파 검사(TTE: transthoracic echocardiography)에 의해 동물을 평가하였다:

[0343]

? 좌심실 이완기말 내경(LVEDD: Left ventricular end-diastolic diameter)

[0344]

? 좌심실 수축기말 내경(LVESD: Left ventricular end-systolic diameter)

[0345]

? 전벽 이완기 두께(AWDT: Anterior wall diastolic thickness)

[0346] ? 후벽 이완기 두께(PWDT: Posterior wall diastolic thickness)

[0347] ? 전벽 수축기 두께(AWST: Anterior wall systolic thickness)

[0348] ? 후벽 수축기 두께(PWST: Posterior wall systolic thickness)

[0349] 좌심실 단축율(FS: fractional-shortening)은

[0350] $(LVEDD - LVESD)/LVEDD \times 100$ 과 같이 계산한다.

[0351] 마취하에서 성체 동물의 관상동맥을 결찰시켰다. 개흉술을 통해 심장을 노출시킨 후, 실크 결찰사를 사용하여 몸쪽 좌하행 관상동맥 혈관 주변을 결찰시켜 MI를 유도하였다. 대조군 동물군(모의 수술)도 같은 수술을 하였는데, 단, 관상 결찰을 수행하지 않았다(하기 표 참조). 수술 후 기간 동안에 또는 그 즉시 사망한 동물은 분석에 포함시키지 않았다.

	TTE	수술	항체 Txt	반복 TTE
1군	실시	수술, MI 유도	고용량(t=0)	24 hr, 7d, 14d
2군	실시	수술, MI 유도	저용량(t=0)	24 hr, 7d, 14d
3군	실시	수술, MI 유도	고용량(24 hr)	24 hr, 7d, 14d
4군	실시	수술, MI 유도	저용량(24 hr)	24 hr, 7d, 14d
3군	실시	수술, MI 유도	위약	24 hr, 7d, 14d
4군	실시	수술, 모의 수술	미적용	24 hr, 7d, 14d

[0352]

[0353] 이어서, 허혈을 앓는 동안, 및/또는 그 후, 동물에게 미리 결정된 회수만큼 1회 이상으로 처리 항체 또는 위약(예를 들어, 대조군 항체)을 복강내로 또는 정맥내로 투여하였다. 예를 들어, 한 처리군에서는 항체를 허혈을 앓는 동안(t=0) 투여하고, 또 다른 한 처리군에서는 항체를 허혈 후 24시간 경과하였을 때 투여하였다.

[0354] 동물을 관찰하고, 연구 기간 동안 사망한 마릿수를 기록하였다. 미리 결정된 처리후 시점(예를 들어, 24 hr째, 7일째, 14일째)에 TTE에 의해 살아남아 있는 동물을 평가하였다. 또한, 의식이 깨어 있을 때, 예를 들어, 비침습적 컴퓨터화된 혈압측정용 꼬리 커프(tail-cuff) 시스템(BP-2000, Visitech Systems)을 사용하여 수축기 BP를 측정하였고, 이는 동맥내 BP를 직접 측정한 측정값과 매우 밀접한 상관관계가 있는 것으로 나타났다. 동물을 희생시키고, 혈청으로부터 혈액을 수집하고, 경색 면적(크기)을 측정하였다. 심장을 제거한 후, 에반스 블루(Evans blue) 염료 또는 0.5% 니트로블루 테트라졸륨(NBT: nitroblue tetrazolium)으로 염색하고, 염수로 세척하고, 사진 촬영하여 경색 크기를 측정하였다. 이어서, 조직을 4% 파라포름알데히드 중에 고정시키고, 파라핀에 포매시키고, 헤마톡실린 및 에오신으로 염색하여 조직 손상에 대하여 조직학적으로 평가하기 위해 절개하였다. 별법으로, 또는 추가로, 조직을 고정시키고, 절개하여 심근 세포 사멸 수준을 정량화하였다(예를 들어, 아포프토시스를 측정하는 TUNEL 법).

[0355] 별법으로, IL-1 β 성체 수컷 비근교계 ICR 마우스(예를 들어, Harlan Laboratories: 인디애나주 인디애나폴리스)에서 항체 또는 단편이 심장 기능 및/또는 유해한 심장 리모델링(예를 들어, 후속 심혈관 사건, 예를 들어, 울혈성 심부전의 기회)에 미치는 효과를 평가하는 연구를 수행할 수 있었다. 종래 기술된 바와 같이, CD-1 마우스는 실험상 심근경색을 앓았다(문헌 [Abbate et al., 2008, Circulation 117:2670-2683]). 펜토바르비탈(70 mg/kg, IP)을 사용하여 마우스를 마취시키고, 입기관에 관을 삽입하고, 양압 환기기 상에서 환기시켰다. 4번째 늑강간에서 좌측 개흉술을 실시하고, 심낭막을 벗겨내 심장을 노출시켰다. 이어서, 수술용 현미경(Leica F40)을 사용하여 좌하행 관상동맥을 확인하고, 7.0 실크 결찰사를 사용하여 결찰시켰다. 종래 기술된 바와 같이 4마리로 구성된 한 군은 모의 수술을 받도록 하였다(문헌 [Abbate, 상기 문헌 동일]). 수술 후, 마우스를 항IL-1 β 항체 XMA052 MG1K 처리군으로 무작위로 지정하고, 수술 후 즉시 및 이어서 7일 후에 다시 상기 항체(0.05 mg/kg, 0.5 mg/kg, 5 mg/kg 용량), 또는 대조군 IgG(1군당 n=6)를 복강내로 투여하였다. 수술 48시간 전 추가 용량의 항체(0.5 mg/kg)로 전처리하여, 그러한 전처리가 미치는 효과에 대해서 테스트하였다.

[0356] 수술 전 및 관상 결찰 후 7, 14 및 28일째 모든 마우스에서 경흉부 심초음파 검사를 실시하였다. 베보770 영상 시스템(VisualSonics: 캐나다 토론토) 및 30 MHz 프로브를 사용하여 도플러 심초음파 검사를 실시하였다. 먼저 흉골연 및 심첨 단면도로 2차원 모드로 심장 사진을 촬영하고, 미국 심장 초음파 학회(American Society of Echocardiography) 권고에 따라 측정하였다(문헌 [Gardin et al., 2002, J Am Soc Echocardiography 15:275-290]). 좌심실(LV: left ventricular) 이완기말 내경(LVEDD), LV 수축기말 내경(LVESD), 전벽 이완기 두께(AWDT), 전벽 수축기 두께(AWST), 후벽 이완기 두께(PWDT), 및 후벽 수축기 두께(PWST)를 M 모드로 측정하였다. LV 단축율(LVFS)은 $FS = (LVEDD - LVESD)/LVEDD \times 100$ 으로 계산하였다. (경색 크기와 상관관계가 있는) 비운동성 분절의 개수를 17 분절 맵을 사용하여 측정하였다. 심첨 단면도를 사용하여 박출 시간(ET: ejection

time), 경승포판에서 시행한 A과 끝에서부터 다음 E과 사이의 시간 간격(AE)을 측정하였다. 이어서, 심근 성능 지수(MPI: myocardial performance index, 또는 Tei 지수)를 컴퓨터화하였다(MPI=[AE-ET]/ET). 또한 우심실 기능의 표지로서 환상 삼첨판 수축기 운동도 측정하였다. 심조음과 검사를 실시하고, 심조음파도를 관독하는 연구원들을 처리 할당에 대해 맹목화시켰다. 각 군들 간의 차이에 대해 조사하기 위해 사후 T 검정과 함께 다중 비교를 위한 ANOVA를 사용하여 SPSS 11.0(일리노이주 시카고)으로 통계학적 분석을 실시하였다. 여러 군들 간의 간격 변화 비교를 위해, 반복 측정된 측정값에 대한 무작위 효과 ANOVA를 사용하여 시간, 군, 및 시간과 군의 상호작용에의 주요 효과를 확인하였다. P 값이 <0.05일 경우, 통계학적 차이가 유의적인 것으로 간주하였다.

[0357] 모든 군에서 기준선 초음파 심장 검사값은 유사하였다. 예측한 바와 같이, 모든 군(모의 수술군의 마우스 제외)의 기준선과 비교하였을 때, 수술 후 7일째 LV 내경(LVEDD 및 LVESD)이 빠르게 유의적으로 증가하였고, LVFS가 유의적으로 감소한 것이 관찰되었다. XMA052 MG1K 항체를 투여받은 마우스에서는 대조군과 비교하여 LVEDD, LVESD가 보다 소규모로 증가하였고, LVFS가 보다 소규모로 감소하였다(도 4).

[0358] 경색 크기에 대한 대리인 비운동성 분절의 개수는 염수 처리군의 마우스에서는 3.9 ± 0.4 개였고, 이는 상기 처리를 통해서는 어떤 영향도 받지 못했다(도 5). 따라서, 염수 처리군에서 전벽(경색) 두께는 0.52 ± 0.05 mm였고, 상기 처리를 통해서는 어떤 영향도 받지 못했다(도 5). 복합 수축기 및 이완기 기능장애 표지 및 심부전증과 관련된 사망률에 대한 대리 표지인 MPI 또는 Tei 지수는 AMI 후 유의적으로 증가하였고(이는 기능을 충분하게 하지 못한다는 것을 반영), XMA052 MG1K 항체 처리군의 마우스에서는 유지되었다(도 5). 유사하게, 우심실 기능의 표지 및 AMI와 관련된 사망률에 대한 대리 표지인 TAPSE는 AMI 후 유의적으로 감소하였고(이는 기능을 충분하게 하지 못한다는 것을 반영), XMA052 MG1K 항체 처리군의 마우스에서는 부분적으로 유지되었다(도 5). 따라서, 항체를 사용하여 IL-1 β 를 차단시키면, 마우스에서 경색 크기와는 상관없이, AMI 이후의 기능 장애 및 심장 확장을 호전시킬 수 있었다. 수술 48시간 전 추가 용량의 XMA052 MG1K 항체로 전처리한 경우에는 상기 동물 모델에서 수술 후 처리에 대해 어떤 이점도 제공하지 않았다(데이터는 나타내지 않음).

[0359] 실시예 5

[0360] 심혈관 사건 모델(뇌졸중)에서 IL-1 β 항체 평가

[0361] 뇌졸중을 앓는 설치류(예를 들어, 마우스, 래트) 모델을 사용하여 IL-1 β 항체 또는 이의 결합 단편의 효과를 평가하였다. 예를 들어, 한 모델에서는 성체 수컷 피셔(Fischer) 래트를 사용하였다(예를 들어, 문헌 [Morales et al., 2008, Circulation 118:1450-1459] 참조). 또 다른 모델에서는, C57BL/6 마우스를 사용하였다(예를 들어, 문헌 [Royl et al., 2009, Brain Res. 1265:148-157]). 연구원들을 처리군에 대해 맹목화시켜 무작위 방식으로 실험을 수행하였다. 중간 대뇌 동맥 을 폐쇄(MCAO: middle cerebral artery)시켜, 예를 들어, 소작술 또는 단일필라멘트 폐쇄법에 의해 영구 국소 대뇌 허혈을 유도하였다. MCA에는 노출되었지만 폐쇄되지는 않은 래트/마우스가 모의 수술을 받은 대조군으로서의 역할을 하였다.

[0362] 이어서, 상기 시술 후, 대조군 동물군 및 MCAO 군에게 미리 결정된 회수만큼 1회 이상으로 처리 항체 또는 위약(예를 들어, 대조군 항체)을 복강내로 또는 정맥내로 투여하였다. 예를 들어, 한 처리군에서는 항체를 시술 후 즉시 투여하고, 또 다른 한 처리군에서는 항체를 24시간 경과하였을 때 투여하였다.

	MCAO	항체 Txt	생존 테스트	MRI	조직학적 검사
1군	모의	미적용	실시	실시	실시
2군	실시	위약	실시	실시	실시
3군	실시	저용량(t=0)	실시	실시	실시
4군	실시	고용량(t=0)	실시	실시	실시
3군	실시	저용량(24 hr)	실시	실시	실시
4군	실시	고용량(24 hr)	실시	실시	실시

[0363]

[0364] 동물을 생존 및 체중 변화 뿐만 아니라, 기능 회복(예를 들어, 감각운동, 행동 테스트, 예를 들어, 폴 테스트, 와이어 걸이 테스트 및/또는 신경학적 결손 점수)에 대해 평가하고, 살아 있는 제단계 동안 MRI(예를 들어, T2 가중치 MRI)를 사용하여 뇌 병변 크기를 측정한 후, 사후(예를 들어, 4주째)에 조직학적으로 검사하였다(예를 들어, 관상 뇌 냉동 절편 HE 염색 및 GFAP 염색). 추가로, T2 가중치 MRI 및 HE 염색된 관상 뇌 냉동 절편에 기초하여 컴퓨터 지원 대뇌 반구 용적을 측정할 수 있었다. MRI(예를 들어, FAIR MRI)을 사용하여 대뇌 반구 혈류량을 측정함으로써 MCAO 이후 급성 재관류에 미치는 효과를 측정함으로써 추가 시험군을 평가할 수 있었다.

[0365] 실시예 6

[0366] 말초 혈관 질환을 앓는 모델에서 IL-1 β 항체 평가

[0367] IL-1 β 항체 또는 이의 결합 단편이 말초 혈관 질환에 미치는 효과를 확인하기 위해 사지 허혈을 앓는 동물 모델을 사용할 수 있었다(예를 들어, 문헌 [Park et al., Endocrinology 149:483-491, 2008] 참조). 예를 들어, 마취시킨 동물에서 한쪽 대퇴부 동맥을 결찰시킴으로써 C57BL/6 수컷 마우스에서 사지 허혈을 유도하였다. 동맥이 노출되었지만, 결찰되지는 않는 마우스가 모의 수술을 받은 대조군으로서의 역할을 하였다.

[0368] 이어서, 상기 시술 후, 대조군 동물군 및 동맥 결찰군에게 미리 결정된 회수만큼 1회 이상으로 처리 항체 또는 위약(예를 들어, 대조군 항체)을 복강내로 또는 정맥내로 투여하였다. 예를 들어, 한 처리군에서는 항체를 시술 후 즉시 투여하고, 또 다른 한 처리군에서는 항체를 24시간 경과하였을 때 투여하였다.

	결찰	항체 Txt	LDPI	조직학적 검사
1군	모의	미적용	실시	실시
2군	실시	위약	실시	실시
3군	실시	저용량(t=0)	실시	실시
4군	실시	고용량(t=0)	실시	실시
3군	실시	저용량(24 hr)	실시	실시
4군	실시	고용량(24 hr)	실시	실시

[0369]

[0370] 레이저 도플러 관류 영상(LDPI: laser Doppler perfusion image) 분석기(Moor Instruments: 영국 데번)로 양측 뒷다리 혈류를 평가하고, 허혈 사지 혈류량 대 정상 사지 혈류량에 의해 혈류 회복을 평가하였다. 일정 간격으로(예를 들어, 2주 동안 매일) LDPI에 의해 연속하여 혈류량을 측정하고 관찰하였다. 마우스를 안락사시키고, 조직학적 분석을 위해 허혈성 뒷다리를 분리하였다.

[0371] 4% 파라포름알데히드로 고정시킨 후, 허혈성 아랫다리를 OCT 화합물 중에 포매시키고, 냉동 절편화를 위해 냉동시켰다. 조직 절편을 래트를 항마우스 혈소판 EC 부착 분자 1(PECAM-1: platelet EC adhesion molecule)(PharMingen), 마우스 항 α 평활근 액틴(SMA: smooth muscle actin)(Sigma), 및 래트 항마우스 CD45(PharMingen), 토기 항cGKI(Calbiochem)로 염색하였다. 모세관 밀도 및 염증을 평가하기 위해 각 마우스로부터의 (약 3 mm 정도 떨어져 있는) 2개의 상이한 절편 상의 무작위 시야 4개를 사진 촬영하고, 컴퓨터 지원 분석을 수행하고, 모세관 밀도는 PECAM-1(내피 표지) 또는 α SMA(혈관 평활근 표지)로 염색된 모세관의 평균 개수로서 계산하였다. 침윤성 CD45 양성 백혈구의 평균 개수를 염증에 대한 평가값으로서 계수하였다.

[0372] 실시예 7

[0373] 죽상동맥경화증을 앓는 모델에서 IL-1 β 항체 평가

[0374] 내피 세포 및 평활근 세포로부터의 대식세포에 의해 유도된 사이토카인 생산에 대하여 IL-1 β 항체(XOMA 052)가 미치는 효과를 공배양 시스템에서 평가하였다. 상기 모델에서, THP-1 세포를 12시간 동안 200 nM PMA를 사용하여 대식 세포 유사 표현형으로 미리 활성화시키고, 1회 세척하고, 명시된 바와 같이, XOMA 052의 존재 또는 부재하에서 미리 플레이팅된 인간 제정맥 내피 세포(HUVEC: human umbilical vein endothelial cell) 또는 인간 관상동맥 평활근 세포(CASMC: coronary artery smooth muscle cell)에 (10^4 :1; 10^6 THP-1 대 10^5 HUVEC 또는 CASMC)의 비율로 첨가하였다. 별법으로, 명시된 바와 같이, 세포를 XOMA 052의 존재 또는 부재하에서 rhIL-1 β (R&D Systems)와 함께 인큐베이션시켰다. 48시간 후, 상등액을 제거하고, ELISA(R&D Systems)에 의해 사이토카인 또는 효소 함량에 대해 평가하였다. 모든 분석법으로 3중으로 실시하였다. 본 데이터를 통해 XOMA 052가 내피 세포로부터의 IL-1 β 에 의해 유도된 염증전 분자, 예를 들어, IL-6, IL-8, MCP-1 및 PAI-1의 방출을 억제시킨다는 것이 입증되었다($p < 0.05$, 도 6, 좌측 패널). 추가로, 본 데이터를 통해 XOMA 052가 평활근 세포로부터의 IL-6 및 IL-8의 방출을 억제시킬 뿐만 아니라, IL-1 β 에 의해 유도된 MMP-3 및 MMP-9의 방출도 억제시킨다는 것이 입증되었다($p < 0.05$, 도 7, 좌측 패널). 또한, XOMA 052가 잠재적으로는 대식세포/EC 또는 대식세포/SMC 공배양 시스템과 관련하여 상기 인자들의 유도를 감소시켰다는 점이 중요한 관찰 결과였다($p < 0.05$, 도 6 & 7, 우측 패널).

[0375] ApoE 킥아웃 마우스는 인간과 유사한 진행 패턴으로 진행되는 죽상동맥경화증을 앓는 것으로 충분히 입증된 모델이다. 6주제를 시작으로 16주 동안 C57BL/6 배경상에서 수컷 ApoE^{-/-} 마우스에 죽종을 형성시키는 사료를 제공하고, 연구 기간 동안 IL-1 β 항체, XMA052 MG1K(i.p., 명시된 바와 같이 매주 2회), 대조군 마우스

IgG(i.p., 매주 2회, 1.0 mg/kg; Jackson ImmunoResearch), 또는 퀴나프릴(subQ, 10 mg/kg, 매일)로 처리하였다. (문헌 [Calkin et al., 2007, Atherosclerosis 195:17-22])에 기술되어 있는 바와 같이, 그리고 하기와 같이 수단 IV(Sudan IV) 염색법을 사용하여 정맥 분석을 수행하였다. 대동맥을 아치형으로 나누고, 이어서, 흉부 및 복부 대동맥을 길이로 잘라냈다. 왁스상에 정면으로 놓고 핀으로 고정시킨 후, 대동맥을 사진 촬영하고 분석하였다. 전체 플라크 면적 및 분절 플라크 면적을 수단 IV에 의해 염색되어 적색으로 시각화된 면적(%)으로서 정량하였다. 이어서, 대동맥을 파라핀에 포매시키고, 횡단면을 분석하기 위해 절편을 절단하였다. XMA052 MG1K는 테스트된 3가지 용량 전체에서 ApoE 녹아웃 마우스에서의 죽상경화성 병변 형성을 22-37% 만큼 억제시켰다($p < 0.05$, 도 8, 9).

[0376]

별법으로, 비침습적 고해상도 초음파 기법을 사용하여 플라크 진행 및 생체내 관상동맥 기능에 대해 평가하였다(예를 들어, 문헌 [Gronroos et al., Am J Physiol Heart Circ Physiol. 295:H2046-53, 2008]). 대략 16주 동안 항체를 처리를 하거나, 하지 않으면서 8주령된 수컷 ApoE 마우스에 고지방 사료를 제공하였다. 처리를 진행하는 동안, 전체 콜레스테롤 수치를 측정하고, 그뿐만 아니라, 초음파 생체현미경을 사용하여 생체내에서 시각화되는 것에 따라, 팔다리 동맥에서의 병변 진행 지연 정도도 측정하였다. 또한, 조직학적 분석을 사용하여 팔다리 죽상동맥경화증이 감소되었는지도 확인하였다. 용적 유량에 의해, 예를 들어, 아테노신 주입 이전 및 그 동안에 도플러 속도 신호 및 좌측 관상동맥 형태학적 성질을 동시에 기록함으로써 관상동맥 기능 또한 측정할 수 있었다.

	항체 Txt	콜레스테롤 검사	초음파 검사	조직학적 검사
1군	위약	실시	실시	실시
2군	저용량	실시	실시	실시
3군	중간 용량	실시	실시	실시
4군	고용량	실시	실시	실시

[0377]

[0378]

ApoE 녹아웃 모델에서 IL-1 β 항체가 죽상경화성 병변 형성에 대해 미치는 효과의 특징에 대해 추가로 규명하기 위해, 대동맥동 및/또는 팔다리 동맥을 절개하고, 병변이 있는 횡단 면적 및 함량에 대해 평가하였다(문헌 ([Zhou et al., 2008, Eur. J. Pharmacol. 590:297-302]; [Calkin et al., 2007, Atherosclerosis 195:17-22]; [Kirii et al., 2003, Arterioscler. Thromb. Vase. Biol. 23:656-660])). 일련의 3 μ m 파라핀 절편에서 왁스를 제거하고, 탈수시켰다. 3% 과산화수소와 함께 인큐베이션시켜 내인성 퍼옥시다제 활성을 억제시켰다. 포스페이트 완충처리된 염수 중 20%(v/v) 염소 혈청으로 절편을 차단시킨 후, 절편을 α 평활근 액틴, 염증성 표지, 예를 들어, IL-6, IL-8, MCP-1, ICAM-1 및 VCAM-1, 분해 효소, 예를 들어, MMP-3, MMP-9 및 카텝신 S 또는 혈전 인자, 예를 들어, 조직 인자 또는 PAI-1에 대한 항체와 함께 4°C에서 밤새도록 인큐베이션시켰다. 이어서, 절편을 적절한 2차 항체와 함께 인큐베이션시켰다. 양성 면적을 계수하고, 전체 플라크 면적에 대한 상대적인 비율(%)로서 나타내었다. 1차 항체가 동일한 희석율로 마우스 또는 래트 IgG로 대체된 음성 대조군을 포함하였다. 친유성 염료 오일 레드 O(Oil Red O)로 염색하여 절편을 또한 지질 함량에 대해 평가하고, CD68에 대한 항체로 염색하여 면역조직화학법에 의해 대식세포 침윤을 정량화하였다(문헌 (Kirii et al., 2003, Arterioscler. Thromb. Vase. Biol. 23:656-660)). 영상 분석 프로그램(Image Pro Plus, Media Cybernetics)을 사용하여 양성으로 면역염색된 절편에 대한 맵핑 분석을 수행하였다.

[0379]

별법으로, 염증 및 매트릭스 분해에 대한 표지에 대해서는 정량적 유전자 발현 분석법에 의해 정보를 얻었다(문헌 [alkin et al., 2007, Atherosclerosis 195:17-22]). 트리졸을 사용하여 균질화시켜 전체 대동맥으로부터 RNA를 추출하고, DN아제로 처리하였다. ABI 프리즘 7700 시퀀스 디텍터(ABI Prism 7700 Sequence Detector) 상에서 태크맨(Taqman) 시스템을 사용하여 정량적 실시간 RT-PCR을 수행하였다. 상기 언급한 유전자들의 유전자 발현을 18S mRNA로 정규화하고, 이를 비처리 대조군 마우스에서의 발현 수준과 비교한 상대적인 비로서 기록하였다. 통계학적으로 분석하기 위해, 비파라미터 데이터를 그의 로그 미분계수로서 처리하였다. 스튜던트 t 검정(Student's t-tests)(2개의 군) 또는 1원 ANOVA(3개 이상의 군)를 사용하여 발현의 차이를 비교하였다.

[0380]

ELISA에 의해 또는 메소스케일 디스커버리(MSD: Mesoscale Discovery) 플랫폼을 사용하여 항체로 처리된 ApoE 녹아웃 마우스의 혈청에서 염증, 분해 및 혈전증에 관한 상기 언급한 표지에 대해 IL-1 β 항체가 미치는 영향 또한 평가하였다. 희생시켰을 때 심장 천자에 의해 수득한 혈청을 문헌 [Warnick, 1986, Methods Enzymol. 129:101-23]에 기술되어 있는 바와 같이, 혈청 지질에 대해 분석하였다. 모든 지질 분석법을 3중으로 측정하여 실시하였다. 정확도를 확인하기 위해 농도가 공지된 분석물을 포함하는 외부 대조군 샘플을 각 분석에 제공하였다. 유리 혈장 글리세롤 농도 또한 측정하고, 트리글리세리드 값을 보정하는 데 사용하였다.

[0381]

죽상경화성 병변의 안정성을 정량적으로 평가하기 위해, 두께 5 μ m 짜리 절편을 선택하고 정량하였다. 상행

대동맥이 보일 때까지 심저 횡단면으로부터 매 50 μm 마다 계속하여 절편을 절단하였다. 형태측정 및 면역조직화학적 분석을 위해 마우스 1마리당 대략 6개의 일련의 5 μm 절편을 사용하였다. 플라크 중 콜라겐 및 포말 세포를 변형된 모벳(Movat) 펜트크롬 염료로 염색하였다. 염색된 절편을 플라크 내에 존재하는 매물 섬유성 덮개에 대해 검사하고, 계수도 하였다. 컴퓨터화된 영상 분석 프로그램(Image Pro Plus, Media Cybernetics)을 사용하여 형태를 측정하였다. 세포의 지질, 포말 세포 및 콜라겐을 비롯한, 플라크 구성을 플라크 면적 비율(%)로서 측정하였다. 플라크 면적을 직접 측정하고, 내부 탄력층으로 둘러싸여진 부분의 면적에서 상기 값을 감산하여, 내부 탄력층으로 둘러싸여진 부분의 면적으로 보정된 개방(patent) 루멘 면적을 유도하였다. 취약성 지수((포말 세포+세포의 지질)/(콜라겐+평활근 세포)) 및 매물 섬유성 덮개의 평균 개수를 계산하여 IL-1 β 항체가 플라크 안정성에 미치는 효과에 대해 평가하였다.

[0382] 혈압측정용 꼬리 커프를 사용하여 수축기 및 이완기 혈압을 측정하고, 평균 혈압을 계산하였다(문헌 [Chamberlain et al., 2009, PLoS ONE 4(4): e5073]). 마우스의 스트레스 수준이 최저로 유지될 수 있도록 실험 기간 내내 1명의 조련사를 사용하고, 분석을 시작하기 전에 마우스를 1주 동안 훈련시켰다(혈압 및 맥박을 관독하였지만, 그 데이터는 삭제하였다). 정상적으로도 하루 동안 혈압이 변동하는 것을 회피하기 위해 매일 같은 시간에 혈압을 측정하였다. 추가로, 매일 꼬리의 같은 부분에서 혈압을 측정하였다. 분석하는 동안, 매일 10개의 측정값을 얻었고, 각각의 "데이터 수집일" 및 주에 대한 평균 혈압 및 표준 편차를 계산하였다(주당 마우스 1마리에 대해 총 50개의 관독값, 매일 10개씩). 매일 개별 데이터 점이 혈압이 40 mmHg 미만이거나, 210 mmHg 초과일 경우, 또는 평균으로부터의 표준 편차가 2보다 클 경우, 이를 배제시켰다. 유효 관독값이 4개 미만일 경우, 당일의 모든 데이터를 배제시켰다. 유효 측정 일수가 적어도 3일이 되지 않았다면, 그 해당 주의 데이터를 배제시켰다. 웨스턴(Western) 또는 WHC 사료를 제공하기 전에, 각 마우스에서 차우 사료를 섭취하는 1주째의 기준선 관독값을 얻었다. 전체 비선형 회귀에 의해 데이터를 분석하였다. 이러한 통계학적 검정을 통해 데이터 세트 사이에 하나 이상의 파라미터를 동시에 공유하는 전체 데이터 세트 패밀리에 대해 분석하였다. 각각의 공유 파라미터에 대해, 전체 비선형 회귀를 통해서 모든 데이터 세트 적용되는 최적 값을 찾았다. 이러한 경우, 대조군(차우 제공) 및 처리군(상기 사료 제공) 조건하에서 유전자형이 다른 마우스에 대해 혈압을 측정하고, 전체 비선형 회귀를 통해서 각 혈압 곡선간의 차이가 확실한지 여부를 확인하였다. 검정에서는 개별 시점을 비교하지는 않았지만, 그 대신 데이터를 전체적으로 처리하여 비교당 단일 p 값을 얻었다.

[0383] 상기 연구를 추가로 확대시켜 ApoE 결핍 무린 죽상동맥경화증 모델의 경동맥 병변에서 플라크 파열에 대해 IL-1 β 항체 또는 그의 단편이 미치는 효과를 평가하였다(예를 들어, 문헌 [Nakamura et al., Atherosclerosis, 2009, Feb 21 [Epub ahead of print]] 참조). ApoE 결핍 8주령된 마우스(C57BL/6)를 마취시키고, 좌측 총경동맥 분지에 대해 가장 가까운 쪽의 좌측 총경동맥을 결찰시켰다. 결찰 후 4주 경과하였을 때, 결찰 부위에 대해 가장 가까운 쪽에 폴리에틸렌 커프를 적용시켰다. 동맥이 노출되었지만, 결찰되지는 않는 마우스 뿐만 아니라, 결찰은 되었지만, 폴리에틸렌 커프를 적용받지 못한 마우스를 대조군으로서 포함시켰다.

[0384] 이어서, 시술 후, 동물에게 미리 결정된 회수만큼 1회 이상으로 처리 항체 또는 위약(예를 들어, 대조군 항체)을 복강내로 또는 정맥내로 투여하였다. 예를 들어, 한 처리군에서는 항체를 커프 장착 24 또는 48시간 전에 투여하였다. 또 다른 한 처리군에서는 항체를 커프 장착시에 투여하였다.

	결찰	커프	항체 Txt	조직학적 검소
1군	모의	미적용	미적용	실시
2군	실시	미장착	미적용	실시
3군	실시	미장착	위약	0일째 실시
4군	실시	장착	위약	4일째 실시
5군	실시	미장착	저용량(-24 hr)	0일째 실시
6군	실시	미장착	고용량(-24 hr)	0일째 실시
7군	실시	장착	저용량(-24 hr)	4일째 실시
8군	실시	장착	고용량(-24 hr)	4일째 실시
9군	실시	장착	저용량(0일째)	4일째 실시
10군	실시	장착	고용량(0일째)	4일째 실시

[0385]

[0386] 커프 장착 직전(0일째) 및 커프 장착 후 4일째, 마우스를 생리학적인 압력하에 0.01 M 포스페이트 완충액(pH 7.4) 중의 등장성 염수 및 4% 파라포름알데히드를 사용하여 좌심실을 통해 관류시켰다. 경동맥을 수집하고, 조직학적 분석을 위해 프로세싱하였다. 각 경동맥의 커프 안쪽 영역으로부터 횡단 냉동절편 (6 μm)을 제조하고, 헤마톡실린 및 에오신(H&E), 및 콜라겐에 대해서는 피크로시리우스 레드로 염색하였다. 호중구에 대한 항체를 사용하여 면역조직화화적으로 염색하기 위해 별도의 슬라이드 상에 있는 상응하는 절편을 사용하였다.

- [0387] 항체 처리군과 대조군 사이의 벽내 혈전을 수반하는 신생혈관내막 내의 플라크내 출혈 및 파열 비율을 비교하였다. 각 샘플 조직에서 60 μm 간격으로 얻은 30개의 절편을 분석한 결과에 기초하여 병변을 3가지 군으로 분류함으로써 경동맥의 커프 안쪽 영역에서의 플라크 파열을 조직학적으로 분류하였다. 커프 안쪽 영역에 어떤 균열도 없고, 벽 또는 폐쇄성 혈전도 없는 경우, 이를 "비파열"로 분류하였다. 플라크내 출혈이 검출된 경우, 또는 플라크내 균열 또는 부식과 함께 벽 또는 폐쇄성 혈전이 검출된 경우, 이는 각각 "출혈" 또는 "파열"로 분류하였다.
- [0388] 신생혈관내막내 호중구 침윤 및 콜라겐 함량 또한 측정하였다. 편광으로 시각화하였을 때 밝게 보이는, 피크로시리우스 레드 염색 양성 부분의 면적에 의해 콜라겐 함량을 평가하였다. 내막내 호중구 침윤은 항호중구 항체(1:50; Serotec, MCA771GA)에 의해 염색된 호중구 양성 부분의 면적에 의해 평가하였다.
- [0389] **실시예 8**
- [0390] **심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체에서의 심혈관 사건 감소**
- [0391] 심혈관 질환에 대한 1 이상의 위험 인자의 병력을 갖는 피험체에서 IL-1 β 항체 또는 이의 결합 단편이 심혈관 사건(예를 들어, 1차 사건까지의 시간)을 감소시키는 데 미치는 효과를 확인하기 위해, 임상 연구를 수행하였다. 한 연구에서는, 심혈관 원인, 심근경색, 또는 뇌졸중으로 인한 사망의 복합적인 결과를 포함하는 1차 결과 뿐만 아니라, 개별적으로 얻은 각 결과의 감소(예를 들어, 예방)를 측정함으로써 위험 군집에서 IL-1 β 항체를 평가하였다. 2차 결과의 감소(예를 들어, 예방)에 대한 측정은 임의 원인에 의한 사망, 혈관재생술의 필요성, 심부전증, 협심증(예를 들어, 협심증으로 인한 입원, 불안정한 협심증), 울혈성 심부전, 및 급성 관상동맥 증후군을 포함할 수 있었다.
- [0392] 이중 맹검 연구를 위해, 피험체는 2개의 IL-1 β 항체 처리 투여군(예를 들어, 0.3 mg/kg, 0.1 mg/kg) 중 하나, 또는 대응되는 위약 처리군에 무작위로 등록하였다. 진료 표준으로 함께 병용하여 항체 및 위약 처리를 수행하였다. 관상동맥 질환 (예를 들어, 현성 관상동맥 질환), 말초 혈관 질환, 2형 당뇨병, 총 콜레스테롤 상승, 고혈압, 낮은 HDL 콜레스테롤 수치, 흡연, 죽상동맥경화증 및/또는 미세알부민뇨 병력이 있는 55세 이상의 남성 및 여성을 본 연구에 포함시켰다. 최근 (예를 들어, 등록 6개월내) 심혈관 사건을 경험한 것으로 알려진 경우에는 피험체를 제외시켰다. 각 군의 크기는 연구 기간 동안 심혈관 사건의 상대적인 위험도의 감소를 검출하기에 충분한 명수로 피험체를 포함하는 것으로 하였다. 피험체 모두 사전동의서를 작성하였다.
- [0393] 피험체는 1개월 간격으로 IL-1 β 항체 또는 위약을 투여받고, 연구 기간 내내(예를 들어, 3년간의 연구 기간 동안 내내) 그 결과에 대해 모니터링되었다. 의학업체에서 승인받은 표준 임상 진단법에 의해 결과를 측정하였다. IL-1 β 항체로부터의 효과를 나타내는 결과는 심혈관 사건 결과의 상대적인 위험도의 감소(예를 들어, 상대적인 위험도가 20% 감소)를 포함하였다.
- [0394] **실시예 9**
- [0395] **이전 심혈관 사건의 병력을 갖는 피험체에서의 심혈관 사건 감소**
- [0396] 이전 심혈관 사건의 병력을 갖는 피험체에서 IL-1 β 항체 또는 이의 결합 단편이 심혈관 사건(예를 들어, 2차 사건까지의 시간)을 감소시키는 데 미치는 효과를 확인하기 위해, 임상 연구를 수행하였다. 한 연구에서는, 심근경색 또는 급성 관상동맥 증후군의 1차 기록된 심혈관 사건이 발생한 이후의 기간에 피험체에서 IL-1 β 항체를 평가하였다. 연구에서는 심혈관 원인, 심근경색, 또는 뇌졸중으로 인한 사망의 복합적인 결과를 포함하는 1차 심혈관 사건 결과 뿐만 아니라, 개별적으로 얻은 각 결과의 감소(예를 들어, 예방)를 측정하였다. 2차 결과의 감소(예를 들어, 예방)에 대한 측정은 임의 원인에 의한 사망, 혈관재생술의 필요성, 심부전증, 협심증(예를 들어, 협심증으로 인한 입원, 불안정한 협심증), 울혈성 심부전, 및 급성 관상동맥 증후군을 포함할 수 있었다.
- [0397] 이중 맹검 연구를 위해, 피험체는 2개의 IL-1 β 항체 처리 투여군(예를 들어, 0.3 mg/kg, 0.1 mg/kg) 중 하나, 또는 대응되는 위약 처리군에 무작위로 등록하였다. 상기 기술된 바와 같이, 남성 및 여성은 1차 심혈관 사건이 최근(예를 들어, 96시간 이내)에 발생한 후 등록하였다. 각 군의 크기는 연구 기간 동안 후속 심혈관 사건의 상대적인 위험도의 감소를 검출하기에 충분한 명수로 피험체를 포함하는 것으로 하였다. 피험체 모두 사전동의서를 작성하였다.
- [0398] 피험체는 1개월 간격으로 IL-1 β 항체 또는 위약을 투여받고, 연구 기간 내내(예를 들어, 3년간의 연구 기간 동안 내내) 그 결과에 대해 모니터링되었다. 의학업체에서 승인받은 표준 임상 진단법에 의해 결과를 측정하

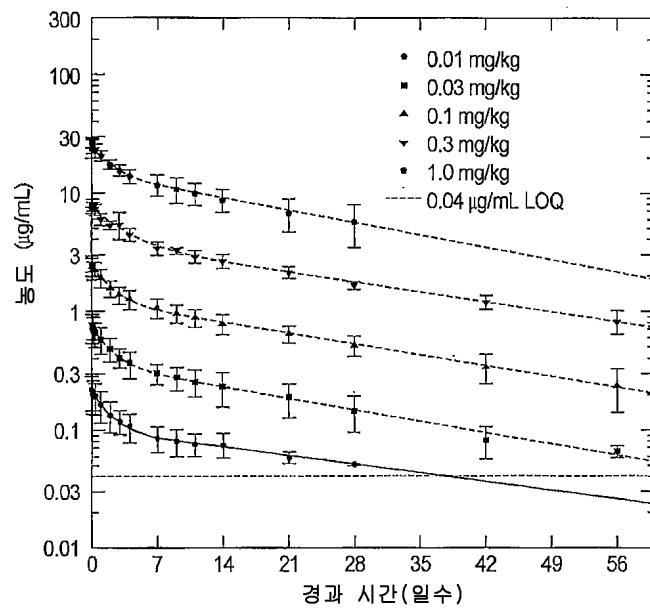
였다. IL-1 β 항체로부터의 효과를 나타내는 결과는 2차 심혈관 사건 결과의 상대적인 위험도의 감소(예를 들어, 상대적인 위험성이 20% 감소)를 포함하였다.

[0399] 본원에서 인용된 공개문헌, 특허 출원, 및 특허를 비롯한 모든 참조 문헌은 각 참고 문헌이 개별적이고도 구체적으로 본원에 참고로써 포함되고, 그의 전문이 본원에 제시된다고 표시한 경우와 동일한 정도로 본원에 참고로 포함된다.

[0400] 본 발명을 기술하는데 있어서(특히, 하기의 특허청구범위에서) 단수 형태의 용어 및 유사한 지시 대상물의 사용은 본원에서 달리 언급하지 않거나 명백하게 반박하지 않는 한은 단수와 복수 둘 다를 포함하는 것으로 해석되어야 한다. 용어 "포함하는", "가진", "포함하는" 및 "함유하는"이라는 용어는 달리 언급되지 않는 한, 제약을 두지 않는 용어(즉, "~을 포함하나, 이에 한정되지 않는다"를 의미한다)로 해석되어야 한다. 제약을 두지 않는 용어를 사용하여 본 발명의 특징이나 요소를 기재하는 경우는 언제나, 본 발명의 정신 및 범주로부터 벗어나지 않고서도 이러한 제약을 두지 않는 용어 대신에 한정적인 용어를 사용할 수 있다는 것이 구체적으로 주시된다. 본원에서 일정 값의 범위에 관한 언급은 단지 본원에서 달리 명시하지 않는 한, 이러한 범위 내에 속하는 각각의 별개 값을 개별적으로 언급하는 것에 대한 약식 방법으로서 제공되는 것으로 하며, 각각의 별개 값은 이것이 본원에서 개별적으로 언급되는 경우처럼 본 명세서내 포함된다. 본원에 기재된 모든 방법은 본원에서 달리 명시되지 않거나, 명백하게 반박하지 않는 한은 임의의 적합한 순서로 수행될 수 있다. 본원에서 제공하는 임의의 및 모든 예, 또는 예시 표현(예를 들어, "예를 들어")은 단지 본 발명을 보다 잘 설명하기 위한 것이고, 달리 청구되지 않는 한은 본 발명의 범주를 제한하지 않는다. 본 명세서 내의 모든 표현이, 청구되지 않은 모든 요소를 본 발명을 실시하는 데 필수적인 것으로 제시한다고 해석되서는 안된다. 본 발명자들에게 공지된 본 발명을 수행하기 위한 최적의 모드를 비롯한, 본 발명의 바람직한 실시양태가 본원에 기재되어 있다. 이러한 바람직한 실시양태에 관한 변형은 상기 기술된 기재 내용 관독시 당업자에게 명백할 수 있다. 본 발명자들은 당업자가 이러한 변형을 적절히 이용할 것으로 예상하며, 본 발명자들은 본원에 구체적으로 기재된 것과는 다르게 본 발명을 실시하고자 한다. 따라서, 본 발명은 적용가능한 법규에 의해 허용되는 것으로서 본원에 첨부된 청구의 범위에 인용된 주제의 모든 수정물과 등가물을 포함한다. 또한, 가능한 모든 수정물에 있어서의 상기 언급된 요소들의 모든 조합이, 본원에서 달리 언급하지 않거나 명백하게 반박하지 않는 한은 본 발명에 포함된다.

도면

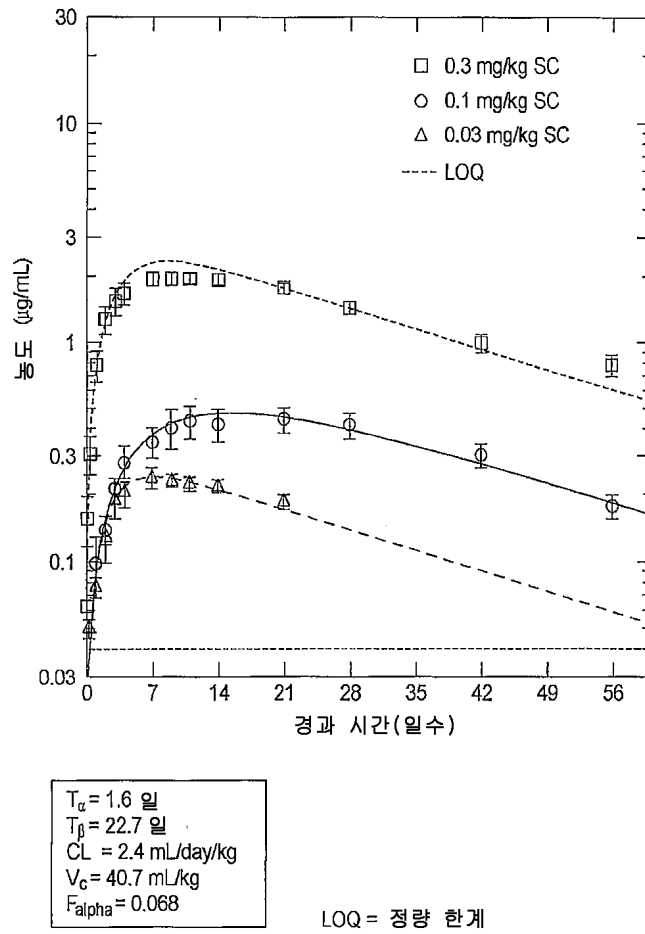
도면1



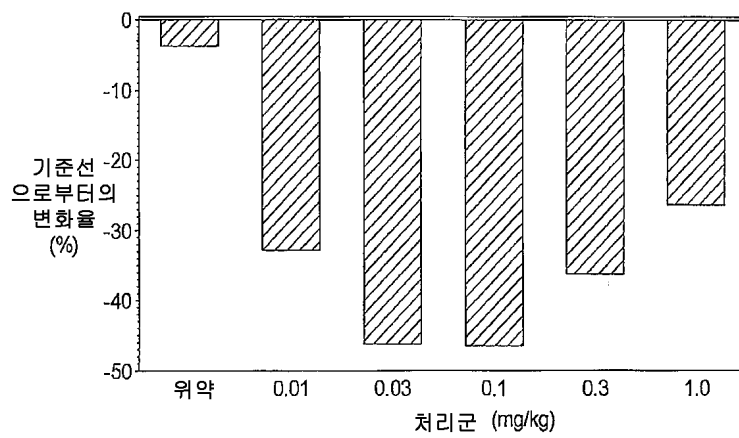
$T_a = 1.42$ 일
 $T_b = 22.0$ 일
 $CL = 2.54$ mL/day/kg
 $V_c = 41.3$ mL/kg
 $F_{alpha} = 0.061$

LOQ = 정량 한계

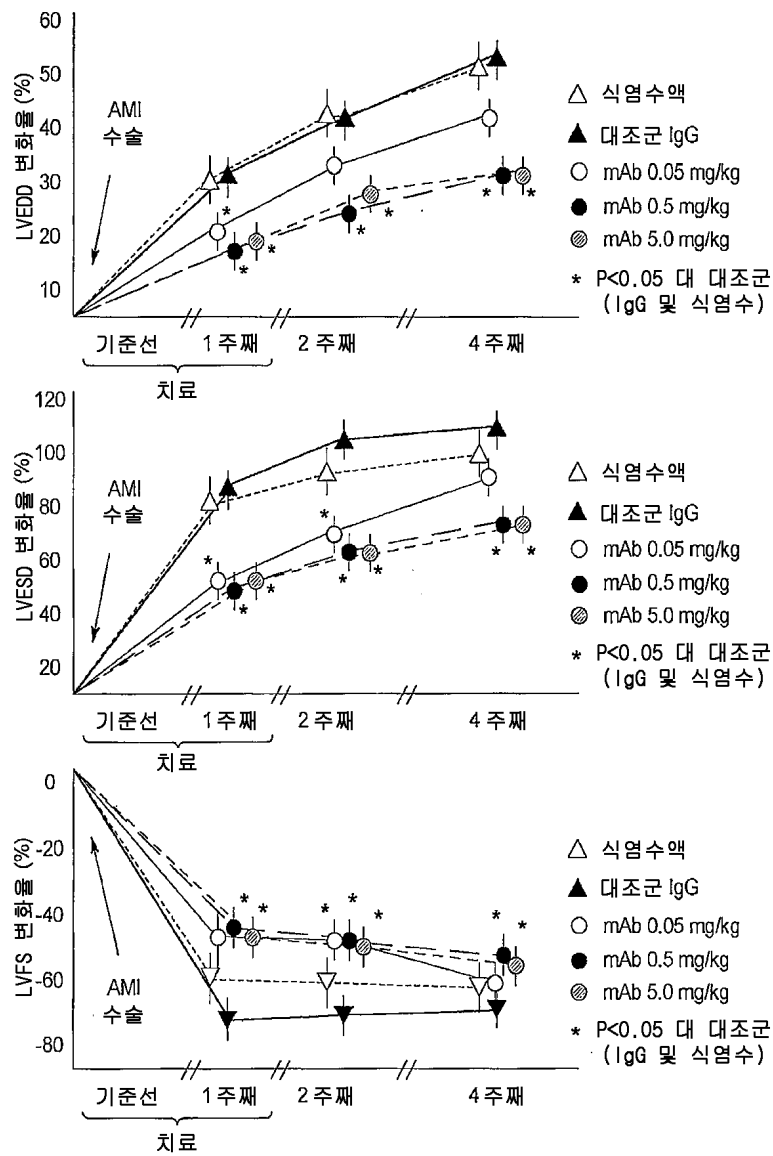
도면2



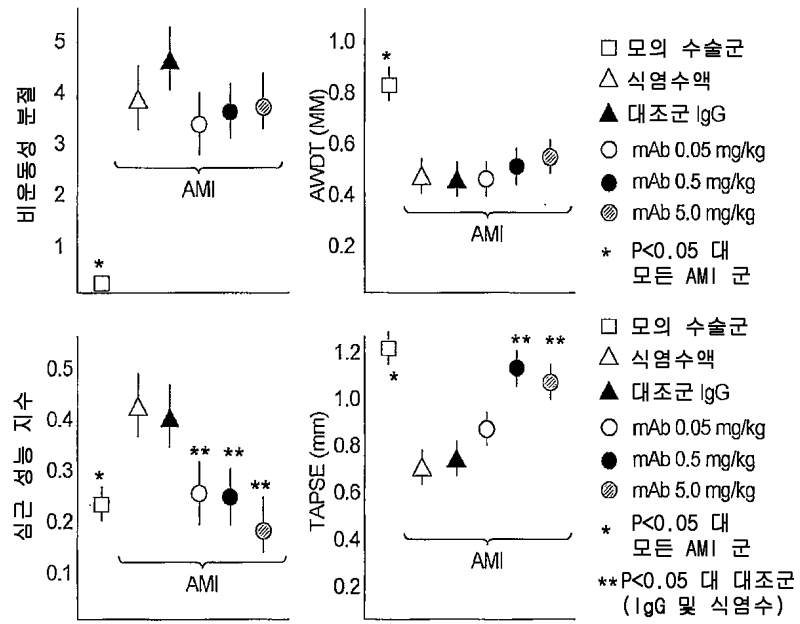
도면3



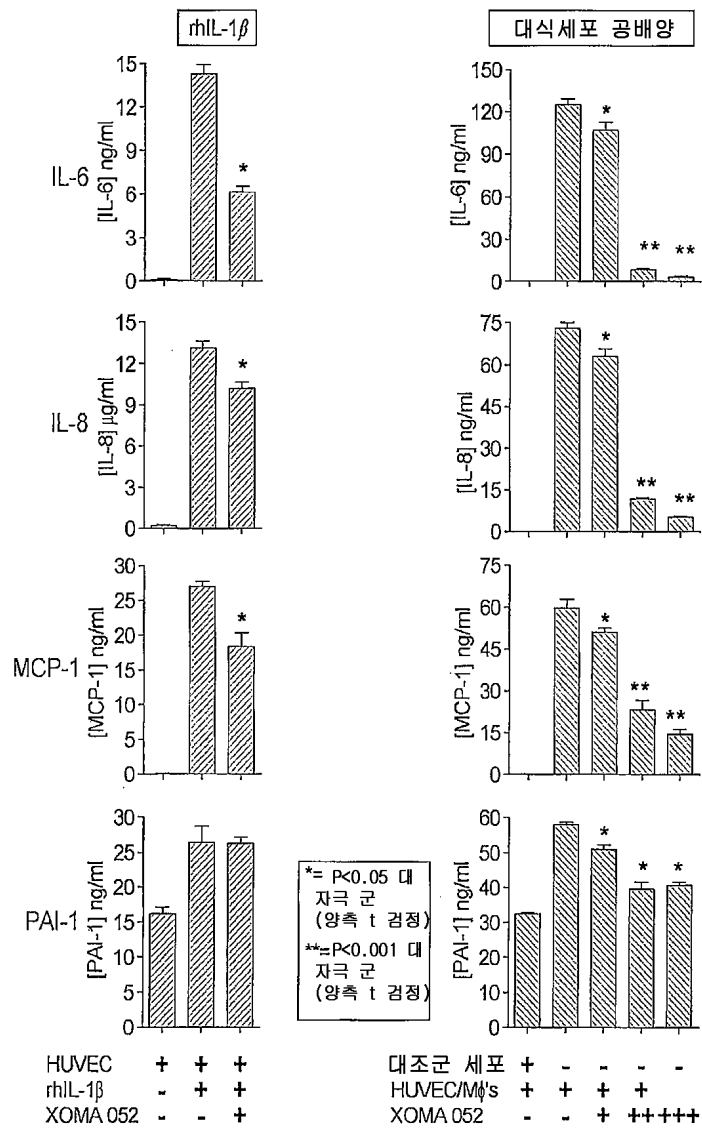
도면4



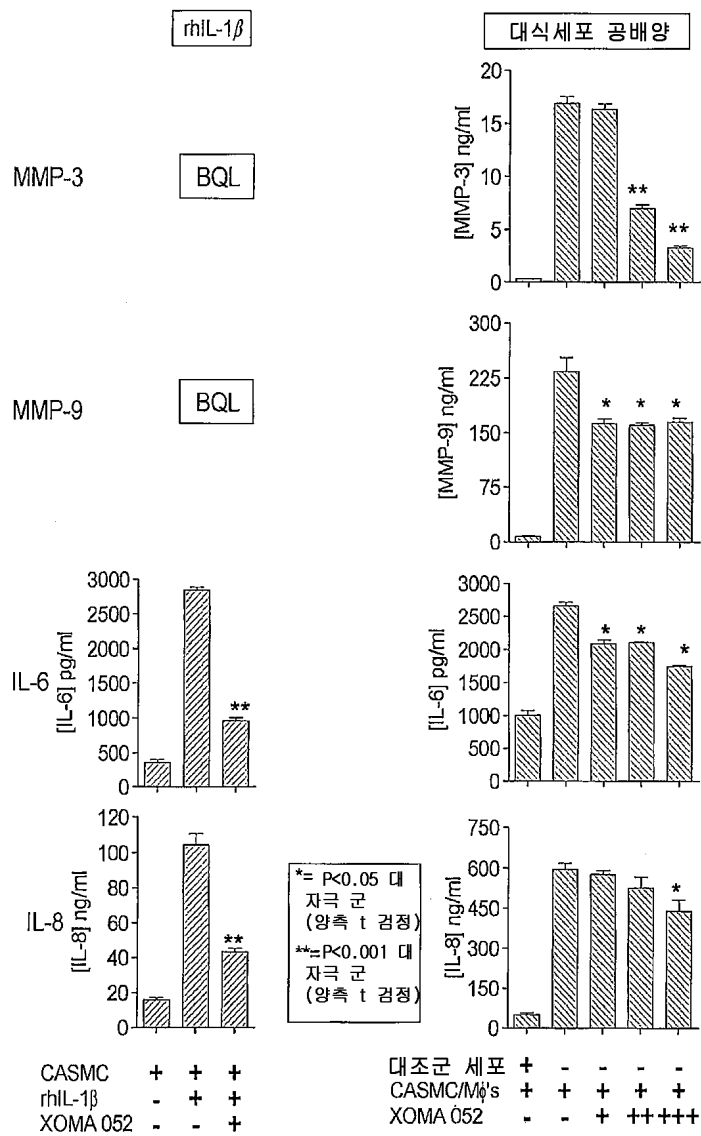
도면5



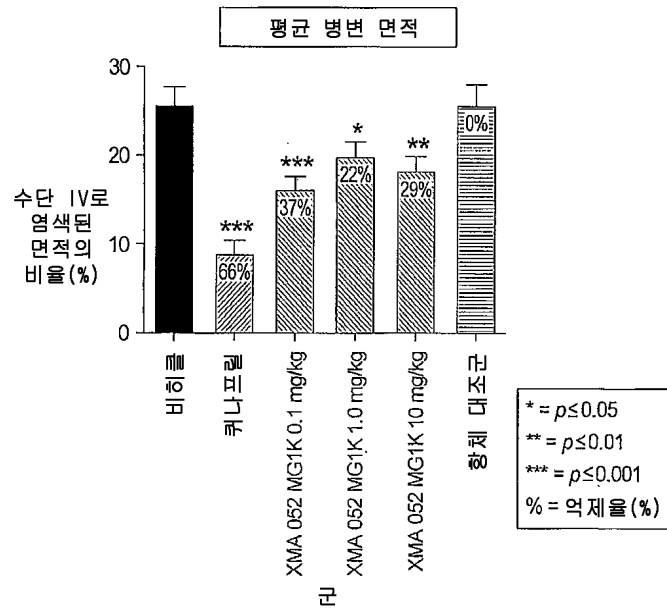
도면6



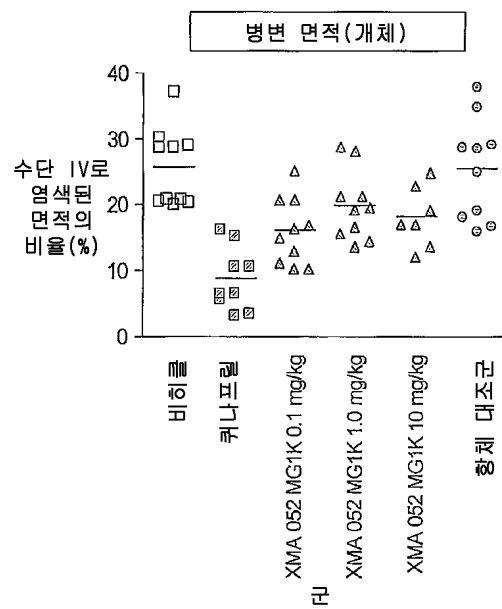
도면7



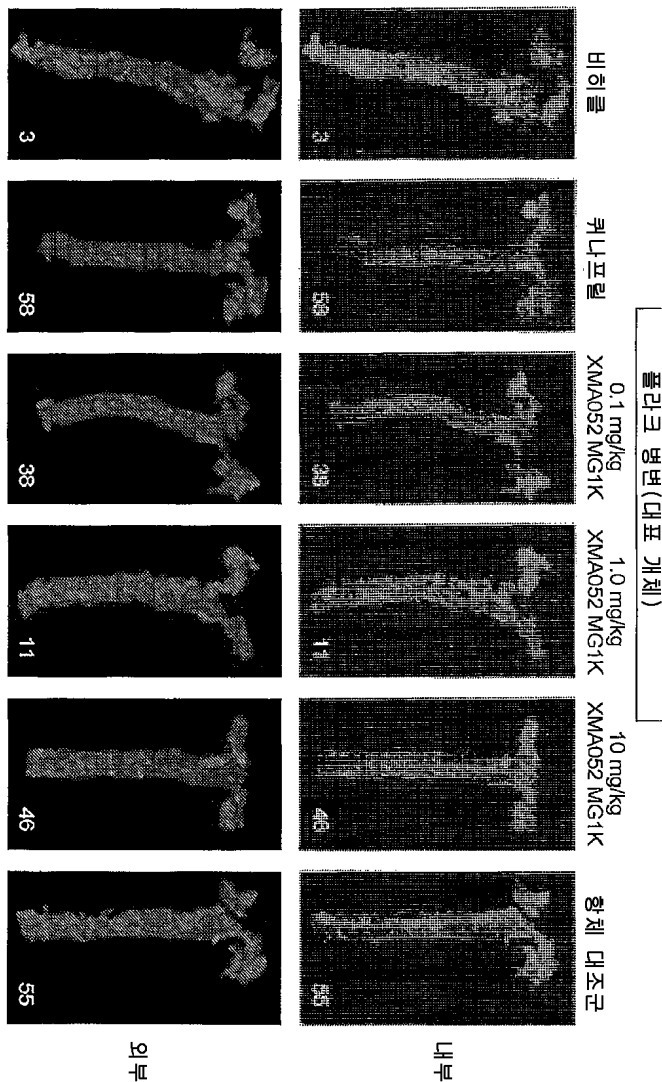
도면8a



도면8b



도면9



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> XOMA Technology Ltd.

<120> CARDIOVASCULAR RELATED USES OF IL-1?ANTIBODIES AND BINDING
FRAGMENTS THEREOF

<130> 3716368-181

<140> PCT/US2010/036761

<141> 2010-05-28

<150> 61/182,679

<151> 2009-05-29

<160> 6

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthesized: AB7 light chain

<400> 1

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Gln

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Leu Gln Gly Lys Met Leu Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 2

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthesized: AB7 heavy chain

<400> 2

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser

20 25 30

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

35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Gly Asp Glu Ser Tyr Asn Pro Ser

50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Ser Leu Lys Ile Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Phe

85 90 95
 Cys Ala Arg Asn Arg Tyr Asp Pro Pro Trp Phe Val Asp Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 3

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthesized: Epitope corresponding to residues 83-105 of the
 mature IL-1 protein

<400> 3

Glu Ser Val Asp Pro Lys Asn Tyr Pro Lys Lys Lys Met Glu Lys Arg
 1 5 10 15

Phe Val Phe Asn Lys Ile Glu
 20

<210> 4

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthesized: AB5 light chain

<400> 4

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

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

<210> 5

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthesized: AB5 heavy chain

<400> 5

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30
Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Gly Asp Glu Ser Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Thr Gln Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Arg Asn Gln Val
65 70 75 80
Phe Leu Lys Ile Thr Ser Val Asp Thr Val Asp Thr Ala Thr Tyr Phe
85 90 95
Cys Ala Arg Asn Arg Tyr Asp Pro Pro Trp Phe Val Asp Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 6

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthesized: linker

<400> 6

Gly Gly Gly Gly Ser

1

5