



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2007-0100228  
(43) 공개일자 2007년10월10일

(51) Int. Cl.

A61K 39/395(2006.01) A61K 31/525(2006.01)

A61P 9/14(2006.01) A61P 37/00(2006.01)

(21) 출원번호 10-2007-7007778

(22) 출원일자 2007년04월05일

심사청구일자 없음

번역문제출일자 2007년04월05일

(86) 국제출원번호 PCT/US2005/034647

국제출원일자 2005년09월28일

(87) 국제공개번호 WO 2006/041680

국제공개일자 2006년04월20일

(30) 우선권주장

60/616,104 2004년10월05일 미국(US)

(71) 출원인

제넨테크, 인크.

미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우스샌프란시스코 디엔에이 웨이 1

(72) 발명자

브루네타, 폴 쥐.

미국 94110 캘리포니아주 샌프란시스코 햄프쉬어 스트리트 1257

(74) 대리인

김영, 장수길

전체 청구항 수 : 총 124 항

(54) 혈관염의 치료 방법

(57) 요약

본 발명은 약 1 개월 동안 1회 내지 3회 용량 빈도로 약 400 mg 내지 1.3 g 용량의 B-세포 표면 마커에 결합하는 길항제, 예컨대 CD20 항체를 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 치료에 적절한 환자의 항호중구 세포질 항체-관련 혈관염 (ANCA-관련 혈관염)의 치료 방법을 제공한다. 또한 본 발명은 임의의 투여 요법으로 항체에 대한 초기 노출 및 후속 노출을 제공하도록 유효량의 B-세포 표면 마커에 결합하는 항체를 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 치료에 적절한 대상체의 ANCA-관련 혈관염의 또다른 치료 방법을 제공한다. 추가로, 이러한 방법에 유용한 제조품을 제공한다.

대표도 - 도1A

가변 경쇄 도메인의 서열 정렬

	FR1	CDR1	
	10 20 30 40		
2H7	QIVLSQSPAILSASPGKVTMT	[RASSVS-YMH]	WYQKP
	* * * *	* * * *	
hu2H7.v16	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	[RASSVS-YMH]	WYQKP
		* * * *	
hum KI	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	[RASQISINYLA]	WYQKP
	FR2	CDR2	FR3
	50 60 70 80		
2H7	GSSPKPWY [APSNLAS]	GVPARFSGSGSGTSYSLTISRVEA	
	* * *	* * * *	
hu2H7.v16	GKAPKPLIY [APSNLAS]	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQ	
	* * *		
hum KI	GKAPKLLIY [AASSLES]	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQ	
	CDR3	FR4	
	90 100		
2H7	EDAATYYC [QQWSFNPPT]	FGAGTKLELKR	
	* * *	* * *	
hu2H7.v16	EDFATYYC [QQWSFNPPT]	FGQGTKVEIKR	
	* * *		
hum KI	EDFATYYC [QQYNSLPWT]	FGQGTKVEIKR	

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

약 1 개월 동안 1회 내지 3회 용량 빈도로 약 400 mg 내지 1.3 g 용량의 CD20 항체를 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 환자의 항호중구 세포질 항체-관련 혈관염 (ANCA-관련 혈관염)의 치료 방법.

### 청구항 2

제1항에 있어서, 용량이 약 500 mg 내지 1.2 g인 방법.

### 청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 용량이 약 750 mg 내지 1.1 g인 방법.

### 청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 항체를 2회 내지 3회 용량으로 투여하는 방법.

### 청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 항체를 3회 용량으로 투여하는 방법.

### 청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 항체를 약 2 내지 3 주 동안 투여하는 방법.

### 청구항 7

제6항에 있어서, 투여 기간이 약 3 주인 방법.

### 청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, ANCA-관련 혈관염이 베게너 육아종증인 방법.

### 청구항 9

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, ANCA-관련 혈관염이 현미경적 다발성혈관염인 방법.

### 청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, CD20 항체는 제1 약제이며, 유효량의 제2 약제를 투여하는 방법.

### 청구항 11

제10항에 있어서, 제2 약제가 1 이상의 약제인 방법.

### 청구항 12

제10항 또는 제11항에 있어서, 제2 약제가 화학요법제, 면역억제제, 질환 조절 항류마티스제 (DMARD), 세포독성제, 인테그린 길항제, 비스테로이드 항염증 약물 (NSAID), 사이토카인 길항제, 또는 호르몬, 또는 이들의 조합물인 방법.

### 청구항 13

제12항에 있어서, 제2 약제가 스테로이드 또는 면역억제제 또는 양쪽 모두인 방법.

### 청구항 14

제13항에 있어서, 제2 약제가 스테로이드인 방법.

### 청구항 15

제14항에 있어서, 스테로이드가 코르티코스테로이드인 방법.

#### 청구항 16

제15항에 있어서, 스테로이드가 프레드니손, 프레드니솔론, 메틸프레드니솔론, 히드로코르티손, 또는 텍사메타손인 방법.

#### 청구항 17

제14항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 스테로이드가 CD20 항체를 투여하지 않고 스테로이드로 치료받는 환자에 사용되는 양보다 더욱 소량으로 투여되는 방법.

#### 청구항 18

제13항에 있어서, 제2 약제가 면역억제제인 방법.

#### 청구항 19

제18항에 있어서, 면역억제제가 시클로포스파미드, 클로람부실, 미코페놀레이트 모페틸, 레플루노미드, 아자티오프린, 또는 메토트렉세이트인 방법.

#### 청구항 20

제19항에 있어서, 면역억제제가 시클로포스파미드인 방법.

#### 청구항 21

제13항에 있어서, 제2 약제가 스테로이드 및 면역억제제인 방법.

#### 청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 이전에 CD20 항체로 전혀 치료받은 적이 없는 방법.

#### 청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 혈관염으로 재발된 적이 없는 방법.

#### 청구항 24

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 순수 항체 (naked antibody)인 방법.

#### 청구항 25

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 다른 분자와 접합된 것인 방법.

#### 청구항 26

제25항에 있어서, 다른 분자가 세포독성제인 방법.

#### 청구항 27

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 항체를 정맥내 투여하는 방법.

#### 청구항 28

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 항체를 피하 투여하는 방법.

#### 청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, ANCA-관련 혈관염 치료를 위해 CD20 항체 이외의 어떠한 다른 약제도 대상체에 투여되지 않는 방법.

#### 청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 리톡시맵인 방법.

#### 청구항 31

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 서열 2 및 8의 가변 도메인 서열을 포함하는 인간화 2H7인 방법.

#### 청구항 32

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 서열 39 및 40의 가변 도메인 서열을 포함하는 인간화 2H7인 방법.

#### 청구항 33

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 서열 32 및 33의 가변 도메인 서열을 포함하는 인간화 2H7인 방법.

#### 청구항 34

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 서열 8내의 변형 N100A, 또는 D56A 및 N100A, 또는 D56A, N100Y, 및 S100aR을 갖는 가변 중쇄 도메인 및 서열 2내의 변형 M32L, 또는 S92A, 또는 M32L 및 S92A를 갖는 가변 경쇄 도메인을 포함하는 인간화 2H7인 방법.

#### 청구항 35

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 투여 후 6 개월에 환자의 BVAS/WG 스코어가 0인 방법.

#### 청구항 36

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 환자의 항핵항체 (ANA), 항류마티스 인자 (RF) 항체, 크레아티닌, 혈중 요소 질소, 항내피성 항체, 항호중구 세포질 항체 (ANCA), 또는 이들의 조합의 농도가 증가된 것인 방법.

#### 청구항 37

a. CD20 항체를 포함하는 용기, 및

b. 약 1 개월 동안 1회 내지 3회 용량 빈도로 약 400 mg 내지 1.3 g 용량의 CD20 항체를 환자에게 투여함을 나타내는, 환자의 항호중구 세포질 항체-관련 혈관염 (ANCA-관련 혈관염)의 치료에 관한 지시서를 갖는 제품 첨부 문서

를 포함하는 제조품.

#### 청구항 38

제37항에 있어서, CD20 항체는 제1 약제이며, 제2 약제를 포함하는 용기, 및 제2 약제로의 환자의 치료에 관한 제품 첨부문서 상의 지시서를 더 포함하는 제조품.

#### 청구항 39

제38항에 있어서, 제2 약제가 화학요법제, 면역억제제, 세포독성제, 인테그린 길항제, 사이토카인 길항제, 또는 호르몬인 제조품.

#### 청구항 40

제38항 또는 제39항에 있어서, 제2 약제가 스테로이드 또는 면역억제제 또는 양쪽 모두인 제조품.

#### 청구항 41

초기 항체 노출 및 그로부터 약 16 내지 54 주 후에 제2 항체 노출을 제공하도록 유효량의 CD20 항체를 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체의 항호중구 세포질 항체-관련 혈관염 (ANCA-관련 혈관염)의 치료 방법.

#### 청구항 42

제41항에 있어서, 각각의 항체 노출이 단일 용량의 항체 또는 2회 또는 3회 분할 용량의 항체로서 대상체에게 제공되는 방법.

#### 청구항 43

제41항 또는 제42항에 있어서, 초기 노출로부터 약 20 내지 30 주 후에 제2 노출을 제공하는 방법.

#### 청구항 44

제41항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 초기 노출로부터 약 46 내지 54 주 후에 제2 노출을 제공하는 방법.

#### 청구항 45

제41항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 초기 및 제2 항체 노출을 약 0.5 내지 4 g의 양으로 제공하는 방법.

#### 청구항 46

제41항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 초기 및 제2 항체 노출을 약 1.5 내지 3.5 g의 양으로 제공하는 방법.

#### 청구항 47

제41항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 초기 및 제2 항체 노출을 약 1.5 내지 2.5 g의 양으로 제공하는 방법.

#### 청구항 48

제41항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 초기 노출로부터 약 46 내지 60 주 후에 제3 항체 노출을 제공하도록 유효량의 CD20 항체를 대상체에게 투여하는 것을 더 포함하는 방법.

#### 청구항 49

제48항에 있어서, 제3 항체 노출을 약 0.5 내지 4 g의 양으로 제공하는 방법.

#### 청구항 50

제48항 또는 제49항에 있어서, 제3 항체 노출을 약 1.5 내지 3.5 g의 양으로 제공하는 방법.

#### 청구항 51

제48항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 제3 항체 노출을 약 1.5 내지 2.5 g의 양으로 제공하는 방법.

#### 청구항 52

제48항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 초기 노출로부터 약 46 내지 55 주 후에 제3 노출을 제공하는 방법.

#### 청구항 53

제48항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 초기 노출로부터 적어도 약 70 내지 75 주까지는 어떠한 추가적 항체 노출도 제공하지 않는 방법.

#### 청구항 54

제53항에 있어서, 초기 노출로부터 약 74 내지 80 주까지는 어떠한 추가적 항체 노출도 제공하지 않는 방법.

#### 청구항 55

제41항 및 제43항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 1 이상의 항체 노출이 단일 용량의 항체로서 대상체에게 제공되는 방법.

#### 청구항 56

제41항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 항체 노출이 단일 용량의 항체로서 대상체에게 제공되는 방법.

#### 청구항 57

제41항 및 제43항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 1 이상의 항체 노출이 분할 용량의 항체로서 대상체에게 제공되는 방법.

#### 청구항 58

제41항 내지 제54항 및 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 항체 노출이 분할 용량의 항체로서 제공되는 방법.

#### 청구항 59

제57항에 있어서, 분할 용량이 약 2회 내지 3회 용량인 방법.

#### 청구항 60

제57항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 분할 용량이 제1 및 제2 용량으로 구성되는 방법.

#### 청구항 61

제57항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 분할 용량이 제1, 제2 및 제3 용량으로 구성되는 방법.

#### 청구항 62

제57항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 후속 용량을 이전 용량 투여 시점으로부터 약 1 내지 20 일에 투여하는 방법.

#### 청구항 63

제57항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 후속 용량을 이전 용량 투여 시점으로부터 약 6 내지 16 일에 투여하는 방법.

#### 청구항 64

제57항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 후속 용량을 이전 용량 투여 시점으로부터 약 14 내지 16 일에 투여하는 방법.

#### 청구항 65

제57항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 총 약 1 일 내지 4 주 동안 분할 용량을 투여하는 방법.

#### 청구항 66

제57항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, 총 약 1 내지 25 일 동안 분할 용량을 투여하는 방법.

#### 청구항 67

제57항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 분할 용량을 거의 매주 투여하는데, 제1 용량으로부터 약 1 주에 제2 용량을 투여하고 이전 용량으로부터 약 1 주에 임의의 후속 용량을 투여하는 방법.

#### 청구항 68

제57항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 항체의 각각의 분할 용량이 약 0.5 내지 1.5 g인 방법.

#### 청구항 69

제57항 내지 제68항 중 어느 한 항에 있어서, 항체의 각각의 분할 용량이 약 0.75 내지 1.3 g인 방법.

#### 청구항 70

제41항 내지 제69항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체에게 4 내지 20 항체 노출을 투여하는 방법.

#### 청구항 71

제41항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, CD20 항체는 제1 약제이며, 유효량의 제2 약제가 항체 노출과 함께 투여되는 방법.

#### 청구항 72

제71항에 있어서, 제2 약제가 초기 노출과 함께 투여되는 방법.

#### 청구항 73

제71항 또는 제72항에 있어서, 제2 약제가 초기 및 제2 노출과 함께 투여되는 방법.

#### 청구항 74

제71항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 약제가 모든 노출과 함께 투여되는 방법.

#### 청구항 75

제71항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 약제가 화학요법제, 면역억제제, 질환 조절 항류마티스제 (DMARD), 세포독성제, 인테그린 길항제, 비스테로이드 항염증 약물 (NSAID), 사이토카인 길항제, 또는 호르몬, 또는 이들의 조합물인 방법.

#### 청구항 76

제71항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 약제가 스테로이드 또는 면역억제제 또는 양쪽 모두를 포함하는 방법.

#### 청구항 77

제71항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 약제가 스테로이드인 방법.

#### 청구항 78

제77항에 있어서, 스테로이드가 코르티코스테로이드인 방법.

#### 청구항 79

제78항에 있어서, 스테로이드가 프레드니손, 프레드니솔론, 메틸프레드니솔론, 히드로코르티손, 또는 덱사메타손인 방법.

#### 청구항 80

제77항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 스테로이드가 CD20 항체를 투여하지 않고 스테로이드로 치료받는 환자에 사용되는 양보다 더욱 소량으로 투여되는 방법.

#### 청구항 81

제71항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 약제가 면역억제제인 방법.

#### 청구항 82

제81항에 있어서, 면역억제제가 시클로포스파미드, 클로람부실, 레플루노미드, 미코페놀레이트 모페틸, 아자티오프린, 또는 메토트렉세이트인 방법.

### 청구항 83

제82항에 있어서, 면역억제제가 시클로포스파미드인 방법.

### 청구항 84

제71항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 약제가 스테로이드 및 면역억제제를 포함하는 방법.

### 청구항 85

제72항에 있어서, 제2 약제가 제2 노출과 함께 투여되지 않거나, 또는 초기 노출과 함께 사용되는 양보다 더욱 소량으로 투여되는 방법.

### 청구항 86

제41항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 초기 노출로서 약 2-3 g의 CD20 항체를 투여하는 방법.

### 청구항 87

제86항에 있어서, 초기 노출로서 약 1 g의 CD20 항체를 약 3 주 동안 매주 투여하는 방법.

### 청구항 88

제86항 또는 제87항에 있어서, 제2 노출로서 초기 노출로부터 약 6 개월에 약 2 g을 투여하는 방법.

### 청구항 89

제86항 내지 제88항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 노출로서 초기 노출로부터 약 6 개월에 약 1 g의 항체를 투여한 후 약 2 주 내에 또다른 약 1 g의 항체를 투여하는 방법.

### 청구항 90

제86항에 있어서, 초기 노출로서 약 1 g의 CD20 항체를 투여한 후 약 2 주 내에 또다른 약 1 g의 항체를 투여하는 방법.

### 청구항 91

제90항에 있어서, 제2 노출로서 초기 노출로부터 약 6 개월에 약 2 g을 투여하는 방법.

### 청구항 92

제90항 또는 제91항에 있어서, 제2 노출로서 초기 노출로부터 약 6 개월에 약 1 g의 항체를 투여한 후 약 2 주 내에 또다른 약 1 g의 항체를 투여하는 방법.

### 청구항 93

제86항 내지 제92항 중 어느 한 항에 있어서, 스테로이드가 초기 노출 전 또는 초기 노출과 함께 대상체에 투여되는 방법.

### 청구항 94

제93항에 있어서, 스테로이드가 제2 노출과 함께 투여되지 않거나, 또는 초기 노출과 함께 사용되는 양보다 더욱 소량으로 제2 노출과 함께 투여되는 방법.

### 청구항 95

제93항 또는 제94항에 있어서, 스테로이드가 제3 또는 후속 노출과 함께 투여되지 않는 방법.

### 청구항 96

제41항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 이전에 CD20 항체로 전혀 치료받은 적이 없는 방법.



**청구항 97**

제41항 내지 제96항 중 어느 한 항에 있어서, 초기 또는 후속 항체 노출 후 대상체가 완화되는 방법.

**청구항 98**

제41항 내지 제96항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 항체 노출이 제공되었을 때 대상체가 완화되는 방법.

**청구항 99**

제98항에 있어서, 모든 항체 노출이 제공되었을 때 대상체가 완화되는 방법.

**청구항 100**

제41항 내지 제99항 중 어느 한 항에 있어서, 초기 및 제2 항체 노출이 동일한 CD20 항체에 의한 것인 방법.

**청구항 101**

제41항 내지 제100항 중 어느 한 항에 있어서, 모든 항체 노출이 동일한 CD20 항체에 의한 것인 방법.

**청구항 102**

제41항 내지 제101항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 순수 항체인 방법.

**청구항 103**

제41항 내지 제101항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 다른 분자와 접합된 것인 방법.

**청구항 104**

제103항에 있어서, 다른 분자가 세포독성제인 방법.

**청구항 105**

제41항 내지 제104항 중 어느 한 항에 있어서, 항체를 정맥내 투여하는 방법.

**청구항 106**

제105항에 있어서, 각각의 항체 노출을 위해 항체를 정맥내 투여하는 방법.

**청구항 107**

제41항 내지 제104항 중 어느 한 항에 있어서, 항체를 피하 투여하는 방법.

**청구항 108**

제107항에 있어서, 각각의 항체 노출을 위해 항체를 피하 투여하는 방법.

**청구항 109**

제41항 내지 제108항 중 어느 한 항에 있어서, ANCA-관련 혈관염 치료를 위해 CD20 항체 이외의 어떠한 다른 약제도 대상체에 투여되지 않는 방법.

**청구항 110**

제41항 내지 제109항 중 어느 한 항에 있어서, ANCA-관련 혈관염이 베게너 육아종증인 방법.

**청구항 111**

제41항 내지 제109항 중 어느 한 항에 있어서, ANCA-관련 혈관염이 현미경적 다발성혈관염인 방법.

**청구항 112**

제41항 내지 제111항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 리툭시맙인 방법.

#### 청구항 113

제41항 내지 제111항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 서열 2 및 8의 가변 도메인 서열을 포함하는 인간화 2H7인 방법.

#### 청구항 114

제41항 내지 제111항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 서열 39 및 40의 가변 도메인 서열을 포함하는 인간화 2H7인 방법.

#### 청구항 115

제41항 내지 제111항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 서열 32 및 33의 가변 도메인 서열을 포함하는 인간화 2H7인 방법.

#### 청구항 116

제41항 내지 제111항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 서열 8내의 변형 N100A, 또는 D56A 및 N100A, 또는 D56A, N100Y, 및 S100aR을 갖는 가변 중쇄 도메인 및 서열 2내의 변형 M32L, 또는 S92A, 또는 M32L 및 S92A를 갖는 가변 경쇄 도메인을 포함하는 인간화 2H7인 방법.

#### 청구항 117

제41항 내지 제116항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 투여 후 6 개월에 대상체의 BVAS/WG 스코어가 0인 방법.

#### 청구항 118

제41항 내지 제117항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체의 항핵항체 (ANA), 항류마티스 인자 (RF) 항체, 크레아티닌, 혈중 요소 질소, 항내피성 항체, 항호중구 세포질 항체 (ANCA), 또는 이들의 조합의 농도가 증가된 것인 방법.

#### 청구항 119

a. CD20 항체를 포함하는 용기, 및

b. 초기 항체 노출 및 그로부터 약 16 내지 54 주 후에 제2 항체 노출을 제공하도록 유효량의 항체를 대상체에게 투여함을 나타내는, 대상체의 항호중구 세포질 항체-관련 혈관염 (ANCA-관련 혈관염)의 치료에 관한 지시서를 갖는 제품 첨부문서

를 포함하는 제조품.

#### 청구항 120

제119항에 있어서, 각각의 항체 노출이 단일 용량의 항체 또는 2회 또는 3회 분할 용량의 항체로서 대상체에게 제공되는 것인 제조품.

#### 청구항 121

제119항 또는 제120항에 있어서, 각각의 초기 및 제2 항체 노출이 0.5 내지 4 g의 양으로 제공되는 것인 제조품.

#### 청구항 122

제119항 내지 제121항 중 어느 한 항에 있어서, CD20 항체는 제1 약제이며, 제2 약제를 포함하는 용기, 및 추가로 제2 약제로의 대상체의 치료에 관한 제품 첨부문서 상의 지시서를 더 포함하는 제조품.

#### 청구항 123

제122항에 있어서, 제2 약제가 화학요법제, 면역억제제, 세포독성제, 인테그린 길항제, 사이토카인 길항제, 또는 호르몬인 제조품.

## 청구항 124

제123항에 있어서, 제2 약제가 스테로이드 또는 면역억제제 또는 양쪽 모두인 제조품.

## 명세서

### <1> 관련 출원

<2> 본 출원은 35 USC 119(e) 하에 2004년 10월 5일 출원된 미국 특허 가출원 제60/616,104호에 대한 우선권을 주장하는, 37 CFR 1.53(b)(1) 하에 출원된 정식 출원이며, 상기 가출원의 내용은 본원에 참고문헌으로 포함된다.

## 기술 분야

<3> 본 발명은 대상체의 항호중구 세포질 항체 (ANCA)-관련 혈관염의 치료 방법, 이러한 용도에 관한 지시서를 포함하는 키트에 관한 것이다.

## 배경 기술

### <4> 혈관염

<5> 여러 질환 중에서, 자가면역 질환, 예컨대 류마티스 관절염, 다발성 경화증, 혈관염, 및 루푸스는 인간에게 임상적으로 중요한 질환이다. 질환명에서도 알 수 있듯이, 자가면역 질환은 신체의 자가 면역계를 통해 자신의 신체를 파괴시킨다. 자가면역 질환의 각각의 유형에 따라 병리학적 메카니즘이 다르지만, 일반적인 일 메카니즘은 특정 항체 (본원에서는 자가 반응 항체 또는 자가항체로 지칭함)의 결합을 수반한다.

<6> 혈관염은 혈관벽의 염증으로 정의되며 개별 질환 실체의 다양한 군의 병리학적인 근원을 형성한다. 통상적인 원발성 전신 혈관염인 항호중구 세포질 항체 (ANCA)-관련 혈관염에는 현미경적 다발성혈관염, 베게너 육아종증 (Wegener's granulomatosis), 초크-스트라우스 증후군 (Churg-Strauss syndrome), 신장-제한된 혈관염 (특발성 괴사성 반원형 사구체신염) (Falk et al. N. Engl. J. Med., 318: 1651-1657 (1988)), 및 특정형의 약물-유도 혈관염이 포함된다. [Jennette et al. Arthritis Rheum. 37:187-92 (1994)]; [Jennette and Falk, N. Engl. J. Med. 337: 1512-1523 (1997)]. 상기 언급된 질환은 모든 연령의 사람들에게 영향을 미치는데 가장 보편적으로는 50대 및 60대의 노인들에게서 나타나며, 남성 및 여성에 대한 영향을 동일하다. [Pettersson et al., Clin. Nephrol., 43: 141-149 (1995)]; [Falk et al., Ann. Intern. Med. 113: 656-663 (1990)].

<7> ANCA는 1982년에 최초로 보고된, 호중구 및 단핵구 리소좀의 세포질 과립 내 항원에 대한 특이적인 항체이다. [Niles et al., Arch. Intern. Med., 156:440-445 (1996)]. ANCA는 에탄올-고정 호중구 상의 간접 면역형광을 통해 최초로 검출되었다. [Wiik, "Delineation of a standard procedure for indirect immunofluorescence detection of ANCA" APMIS Suppl. 6: 12-13 (1989)]. 3개 이상의 상이한 형광 패턴인 핵엽 (nuclear lobe)를 갖는 영역에서의 형광 강도가 항진되는 세포질/표준 패턴 (cANCA), 핵주위 패턴 (pANCA), 및 더욱 광범위 세포질 염색 패턴 (비전형적 ANCA)으로 구분된다. cANCA 패턴을 생성하는 대략 90 %의 혈청은 골수 세포의 아주르 친화성 과립으로부터의 세린 프로테아제인 프로테이나제 3 (PR3)과 반응한다. [Jennette and Falk, N Engl. J. Med., 상기 문헌]. 중간 크기 및 작은 크기의 혈관에 주로 영향을 미치는 원발성 전신 혈관염이 있는 환자에서, 핵주위 패턴 (pANCA)을 생산하는 대략 75 %의 혈청은 골수성 리소좀성 효소인 미엘로퍼옥시다제 (MPO)와 반응한다. [Cohen Tervaert et al., Am. J. Med. 91:59-66 (1991)]. 다른 비혈관염성 질환을 갖는 ANCA-양성 환자에서, 종종 항원 특이성이 인지된다. PR3-ANCA 및 MPO-ANCA의 진단 가능성은 현재 꽤 잘 확립되어져 있다. 혈관염의 증상 및 증후군을 갖는 환자에서, PR3에 대해 특이성이 있는 ANCA (PR3-ANCA)로의 진단은 베게너 육아종증을 암시하며, 반면 MPO에 대해 특이성이 있는 ANCA (MPO-ANCA)는 현미경적 다발성혈관염, 특발성 괴사성 반원형 사구체신염, 또는 활동성 초크-스트라우스 증후군에 매우 민감하다. [Cohen Tervaert et al., Sarcoidosis Vase. Diffuse Lung Dis. 13: 241-245 (1996)]. 또한 인간 사구체신염 및 혈관염에서 ANCA IgG의 직접적 병원성 역할을 강하게 시사하는 동물 모델을 기술한 문헌 [Xiao et al., J. Clin. Invest., 110: 955-963 (2002)], 및 베게너 육아종증에서, B-세포 활성화는 활동성 질환과 관련이 있으나, T-세포 활성화는 질환의 완화 동안에도 지속되어, 본 질환이 내인성 면역계 장애임을 나타낸 문헌 [Papa et al., J. Allergy Clin. Immunol., 103: 885-894 (1999)] 참조. 또한 인간 B 림프구 기능 억제에 대한 시클로포스파미드의 역할에 관한 문헌 [Cupps et al., J. Immunol., 128: 2453-2457 (1982)] 참조.

<8> 원발성 혈관염 증후군의 범위 내에서, ANCA-관련 증후군은 공통되는 특징에 대한 특유한 군을 형성한다. 대부

분의 환자는 권태감, 근육통, 관절통, 열, 및 체중 감소로 이루어지는 독감-유사 발현의 전조 증상을 갖는다. 이러한 독감-유사 발현은 혈관염 또는 신장염 질환의 명백한 발현 전 수일 내지 수주 내에 나타난다. 베게너 육아종증은 상기도 및 하기도의 괴사성 육아종성 염증의 존재에 의해 다른 것들과 구분되는데, 이는 보통 전신 괴사성 소혈관 혈관염 및 사구체신염을 동반한다. 초크-스트라우스 증후군은 사구체신염을 동반하거나 또는 동반하지 않는 전신 혈관염 이외에, 천식, 알레르기성 비염, 전신 호산구증가증(의 병력)의 존재에 의해 구분된다. 현미경적 다발성혈관염은 괴사성 및/또는 반원형 사구체신염 및 소혈관과 관련있는 다체계 혈관염에 특징이 있다. 현미경적 다발성혈관염은 베게너 육아종증 및 초크-스트라우스 증후군과 많은 특징을 공유하지만, 기도의 괴사성 육아종성 염증 및 천식은 없다. [Jennette et al., Arthritis Rheum., 상기 문헌]. 특발성 괴사성 및/또는 반원형 사구체신염에서, 혈관염 프로세스는 신장에 제한된다. 주요 기관 손상이 있을 때 현미경적 다발성혈관염 또는 베게너 육아종증 환자의 치료는 본질적으로 동일하기 때문에, 치료 개시 전에 ANCA-관련 혈관염의 매우 밀접한 변이형들 간의 명확한 분리는 필요하지 않다. [Jennette et al. Arthritis Rheum., 상기 문헌].

<9> 치료가 가능하기 전에는, 전신 베게너 육아종증 환자의 평균 생존은 5 개월이었다. 1970년대 초에, Fauci 및 Wolff는 1 mg/체중kg/day의 용량으로 시작하여 격일 스케줄로 테이퍼링하는 프레드니손 요법으로 완화시킨 후 1 년 동안 매일 시클로포스파미드 요법을 사용하는 것을 결합한 투약법을 도입하였다. 상기 치료로 80 내지 100 % 환자의 완화 유도가 재현됨이 밝혀졌고 장기간 생존이라는 결과를 가져올 수 있었다. 실제로, 시클로포스파미드 및 스테로이드를 사용하는 지속적인 (1 년 이상) 면역억제 요법은 대부분의 혈관염 장애의 질환 완화를 유도하고 초기 재발을 예방하는데 효과적이다. [Balow et al., "Vasculitic diseases of the kidney, polyarteritis, Wegener's granulomatosis, necrotizing and crescentic glomerulonephritis, and other disorders." In: Schrier and Gottschalk (eds): Diseases of the kidney, 5th edition, (Little, Brown and Company, Boston, 1993), pp. 2095-2117]; [Jayne et al., N. Engl. J. Med., 349: 36-44 (2003)]; [Gaskin et al., "Systemic vasculitis" In: Cameon et al. (eds): Oxford textbook of clinical nephrology. (Oxford University Press, Oxford, 1992), pp. 612-636]; [Fauci et al., Ann. Intern. Med. 89: 660-676 (1978)]; [Fauci et al., Ann. Intern. Med., 98: 76-85 (1983)]; [Hoffman et al., Ann. Int. Med., 116: 488-498 (1992)]; 및 [Andrassy et al., Clin. Nephrol, 35: 139-147 (1991)].

<10> 하지만, 치료를 테이퍼링하고 중단시키면, 통상적으로 재발된다. 한 연구에서, 베게너 육아종증 환자의 50 %가 그 후 평균 8 년 사이에 재발하였다. 또한, 완화를 지속시키기 위해 시클로포스파미드를 계속적으로 사용하는 것은 추천되지 않는데, 이는 이러한 치료 요법이 심각한 잠재적 치사 부작용, 예컨대 기회 감염의 발생 및 악성종양의 발병과 관련되어 있기 때문이다. 예를 들어, 시클로포스파미드의 반복은 골수 억제, 감염, 방광염, 불임증, 척수형성이상증, 및 방광의 이행-세포 암종과 관련이 있다. 몇몇 경우에, 이러한 독성 작용으로 인해, 시클로포스파미드의 추가적 사용이 불가능해진다. [Stillwell et al., Arthritis Rheum., 31: 465-470 (1988)]; [Radis et al., Arthritis Rheum. 38: 1120-1127 (1995)]. 따라서, 일단 완화되었다면, 부작용을 예방하기 위해, 시클로포스파미드를 테이퍼링하거나 중단하고 아자티오프린으로 대체하는데, 이 방법은 엄격한 다기관 시험으로 시험하여 18 개월 동안의 추적조사 (follow-up)에서 동등하게 유효한 것으로 증명된 것이다. [Gaskin et al., 상기 문헌, 1992]; [Jayne, Rheumatology 39: 585-595 (2000)]. 아자티오프린은 완화 유도에 있어 시클로포스파미드보다는 덜 유효한 것으로 생각되지만, 이의 장기간 독성은 훨씬 더 낮다. [Bouroncle et al., Am. J. Med., 42: 314-318 (1967)]; [Norton et al., Arch. Intern. Med., 121: 554-560 (1968)].

<11> 다른 별도의 유지 요법 투약법은 메토티렉세이트 (de Groot et al. Arthritis Rheum., 39: 2052-2061 (1996)), 사이클로스포린 A (Haubitz et al., Nephrol. Dial Transplant, 13: 2074-2076 (1998)), 미코페놀레이트 (Nowack et al., J. Am. Soc. Nephrol, 10: 1965-1971 (1999)), 또는 트리메토프림-술파메톡사졸 (Stegeman et al., N. Engl. J. Med., 335: 16-20 (1996))을 포함한다. 또한 문헌 [Sanders, et al. N. Engl. J. Med. 349: 2072-2073 (2003)] 참조. 하지만, ANCA-관련 혈관염에서는 재발이 빈번하게 관찰되기 때문에, 이러한 경우의 치료는 증강되거나 또는 재구성되어야만 한다. [Hoffman et al., 상기 문헌]; [Gordon et al., Q J. Med., 86: 779-789 (1993)]; [Nachman et al., J. Am. Soc. Nephrol, 7: 33-39 (1996)]; [Guillevin et al., Medicine 78: 26-37 (1999)]; [Reinhold-Keller et al., Arthritis. Rheum. 43: 1021-1032 (2000)]; [Langford, New Eng. J. Med., 349: 3-4 (July 2003)].

<12> 인플릭시맴으로의 중량 괴사 인자-알파 (TNF-알파) 차단은 불응성 질환의 관리 및 초기 요법 모두와 관련하여 ANCA-관련 혈관염에 가능한 요법이다. 인플릭시맴은 ANCA-관련 혈관염이 있는 88 %의 환자의 완화 유도에 유효하며 스테로이드 용량의 감소를 가능하게 한다. [Booth et al., J. Am. Soc. Nephrol. 15:717-721 (2004)].

나아가, 문헌 [Stone et al., Arthritis and Rheumatism, 44: 1149-1154 (2001)]은 베게너 육아종증에 대한 표준 치료와 병용하여 매주 2회 25 mg 피하 투여되는 TNF-알파 억제제 에타너셉트 (ENBREL®)가 거의 유해 사례 없이 환자에게 잘 허용되나, 간헐적으로 (때때로 심각한) 활동성 질환이 있음을 개시한다.

- <13> 초크-스트라우스 증후군이 있는 환자는 보통 고용량 코르티코스테로이드 요법 단독에 반응하나, 몇몇 경우에는 세포독성 약물을 추가로 요구할 수도 있다. [Jayne and Rasmussen, Mayo Clin. Proc. 72:737-47 (1997)]. 혈관 손상을 가속화시키는 동반 조건 (comorbid condition), 예를 들어, 고혈압, 당뇨병, 고콜레스테롤혈증, 및 흡연 또한 적절히 조절되어야만 한다.
- <14> 약물-유도 혈관염에서, 병원성 유발 제제 (offending agent)는 중단되어야만 한다. 항히스타민제 및 비스테로이드 항염증 약물은 피부 불쾌함의 경감 및 관련 관절통 및 근육통의 감소에 도움이 된다. 심각한 피부 질환은 경구 코르티코스테로이드 요법을 정당화시킬 수 있다. [Jennette et al., Arthritis Rheum., 상기 문헌].
- <15> ANCA의 존속 및 재출현은 이들의 자가항체의 생체내 병태생리학적 역할을 암시하는, 질환 활동성의 재발병에 대한 위험 인자이다. [Stegeman et al., Ann. Intern. Med., 120: 12-17 (1994)]; [De'Oliviera et al., Am. J. Kidney Dis, 25: 380-389 (1995)]; [Jayne et al., Q. J. Med., 88: 127-133 (1995)]. 흔히 간접 면역형광을 통해 검출되는 cANCA의 역가 상승은 베게너 육아종증의 재발에 앞서 나타나며 (Cohen Tervaert et al., Arch. Intern. Med., 149: 2461-2465 (1989)), 면역억제제로의 치료를 통해 cANCA의 상승에 기초한 상기 재발을 예방할 수 있다 (Cohen Tervaert et al., Lancet, 336: 706-711 (1990)).
- <16> ANCA-관련 혈관염에 대한 일반적인 논의에 대해서는, 문헌 [Lhote and Guillevin, Rheum. Dis. Clin. North Am 21: 911-947 (1995); "ANCA-associated vasculitis occurrence, prediction, prevention, and outcome of relapses" by Maarten Boomsma, PhD Thesis, Thesis University Groningen, ISBN 90-367-1451-6 (M.M. Boomsma, Groningen, 2001) (<http://www.ub.rug.nl/eldoc/dis/medicine/m.m.boomsma/thesis.pdf>)], [Kamesh et al., J Am Soc Nephrol 13: 1953-1960 (2002)], 및 [Jayne, Kidney & Blood Pressure Research 26:231-239 (2003)]을 참조한다.

#### <17> CD20 항체 및 이를 사용하는 요법

- <18> 림프구는 조혈 프로세스 동안 골수에서 생산되는 많은 유형의 백혈구 중 하나이다. 림프구에는 2가지 주요 집단이 있다: B 림프구 (B 세포) 및 T 림프구 (T 세포). 본원에서 특히 흥미로운 림프구는 B 세포이다.
- <19> B 세포는 골수 내에서 성숙되어, 이의 세포 표면 상에 항원-결합 항체를 발현하면서 골수를 떠난다. 나이브 (naive) B 세포가 이의 막-결합 항체에 특이적인 항원을 최초로 만나면, 세포가 급속하게 분열하기 시작하여, 이의 자손이 메모리(memory) B 세포 및 "형질 세포"로 칭해지는 이펙터(effector) 세포로 분화된다. 메모리 B 세포는 수명 기간이 더 길고, 원래의 어버이 세포와 동일한 특이성을 갖는 막-결합 항체를 계속 발현한다. 형질 세포는 막-결합 항체를 발현하지 않지만, 대신 분비될 수 있는 형태의 항체를 생산한다. 분비된 항체는 체액성 면역의 주요 이펙터 분자이다.
- <20> CD20 항원 (인간 B-림프구-제한 분화 항원, Bp35으로도 또한 칭해짐)은 프리(pre)-B 및 성숙 B 림프구 상에 위치한 분자량이 약 35 kD인 소수성 막형단 단백질이다 ([Valentine et al. J. Biol. Chem. 264(19): 11282-11287 (1989)]; 및 [Einfeld et al. EMBO J. 7(3):711-717 (1988)]). 이 항원은 90 %를 초과하는 B-세포 비-호지킨(non-Hodgkin) 림프종 (NHL) 상에서 발현되지만 (Anderson et al. Blood 63(6):1424-1433 (1984)), 조혈 줄기 세포, 프로(pro)-B 세포, 정상 형질 세포 또는 기타 정상 조직에서는 발견되지 않는다 (Tedder et al. J. Immunol. 135(2):973-979 (1985)). CD20은 세포-주기 개시 및 분화를 위한 활성화 프로세스에서의 초기 단계 (들)를 조절하고 (Tedder et al., 상기 문헌), 아마도 칼슘 이온 채널로 기능한다 (Tedder et al. J. Cell Biochem. 14D: 195 (1990)).
- <21> B-세포 림프종에서의 CD20의 발현이 주어지면, 이러한 항원은 이같은 림프종의 "표적화"를 위한 후보물질로 작용할 수 있다. 본질적으로, 이같은 표적화는 하기와 같이 일반화될 수 있다: B 세포의 CD20 표면 항원에 특이적인 항체가 환자에게 투여된다. 이러한 항-CD20 항체는 정상 B 세포 및 악성 B 세포 모두 (표면 상으로)의 CD20 항원에 특이적으로 결합한다; CD20 표면 항원에 결합된 항체는 신생물 B 세포의 파괴 및 결핍에 이를 수 있다. 추가적으로, 종양을 파괴하는 잠재력을 갖는 화학 작용제 또는 방사성 표지가 신생물 B 세포에 특이적으로 "전달"되도록 항-CD20 항체에 접합될 수 있다. 접근법과 상관없이, 1차 목표는 종양을 파괴하는 것이다; 특이적 접근법은 사용된 특정 항-CD20 항체에 의해 결정될 수 있고, 이에 따라 CD20 항원을 표적화하기 위한 이용 가능한 접근법은 상당히 변할 수 있다.



- <22> 리투시맵(RITUXAN®) 항체는 CD20 항원에 대해 지시된, 유전자 조작된 키메라 무린/인간 모노클로날 항체이다. 리투시맵은 1998년 4월 7일 허여된 미국 특허 제5,736,137호 (Anderson et al.)에서 "AC2B8"으로 칭해진 항체이다. 리투시맵은 재발된 또는 불응성 저악성 또는 소포형, CD20 양성, B-세포 비-호지킨 림프종 환자의 치료에 지시되었다. 작용 연구의 시험관내 메카니즘은 리투시맵이 인간 보체에 결합하여 보체-의존성 세포독성(CDC)을 통해 림프모양 B-세포주를 용해시킨다는 것을 나타냈다 (Reff et al. Blood 83(2):435-445 (1994)). 추가적으로, 이는 항체-의존성 세포형 세포독성 (ADCC) 분석에서 상당한 활성을 갖는다. 더욱 최근에는, 리투시맵은, 다른 항-CD19 및 CD20 항체와는 달리, 삼중수소화 티미딘 혼입 분석에서 항-증식 작용을 갖고, 세포자멸사를 직접적으로 유도하는 것으로 나타났다 (Maloney et al. Blood 88(10):637a (1996)). 리투시맵과 화학요법 및 독소 간의 상승작용 또한 실험적으로 관찰되었다. 특히, 리투시맵은 약물-저항성 인간 B-세포 림프종 세포주를 독소루비신, CDDP, VP-16, 디프테리아 독소 및 리신의 세포독성 작용에 대해 민감하게 한다 (Demidem et al. Cancer Chemotherapy & Radiopharmaceuticals 12(3):177-186 (1997)). 생체내 전임상 연구는 리투시맵이 사이노몰거스(cynomolgus) 원숭이의 말초 혈관, 림프절, 및 골수로부터, 아마도 보체 및 세포-매개 프로세스를 통해, B 세포를 결핍시킨다는 것을 나타냈다 (Reff et al., Blood 83:435-445 (1994)).
- <23> 재발되거나 또는 불응성 저악성 또는 소포형 CD20<sup>+</sup> B-세포 NHL 환자의 치료를 위한 매주 4회 375 mg/m<sup>2</sup> 용량의 리투시맵이 1997년 11월에 미국에서 승인되었다. 2001년 4월, 미국 식품 의약품 안전청 (the Food and Drug Administration, FDA)은 저악성 NHL의 치료: 재치료 (매주 4회 용량) 및 추가 투여 요법 (매주 8 회 용량)에 대한 추가적 승인요구를 승인하였다. 단독 요법으로서 또는 면역억제제 또는 화학요법과 병용하여 300,000명 이상의 환자를 리투시맵에 노출시켰다. 또한 환자는 2 년 이하의 유지 요법으로 리투시맵으로 치료받았다. [Hainsworth et al., J. Clin. Oncol. 21:1746-1751 (2003)]; [Hainsworth et al., J. Clin. Oncol. 20:4261-4267 (2002)]. 또한 리투시맵은 악성 및 비악성 형질 세포 장애 치료에도 사용되었다. [Trean and Anderson, Semin Oncol. 27: 79-85 (2000)].
- <24> 리투시맵은 B 세포 및 자가항체가 질환 병태생리학에서 일정한 역할을 하는 것으로 나타난 다양한 비-악성 자가면역 장애에서도 또한 연구되었다. [Edwards et al., Biochem Soc. Trans. 30:824-828 (2002)]. 리투시맵은, 예를 들어, 류마티스 관절염 (RA) ([Leandro et al., Ann. Rheum. Dis. 61:883-888 (2002)], [Edwards et al., Arthritis Rheum., 46 (Suppl 9): S46 (2002)], [Stahl et al., Ann. Rheum. Dis., 62 (Suppl 1): OP004 (2003)], [Shaw et al. Ann. Rheum. Dis. 62 Suppl 2:ii55-n59 (2003)], [Weyand and Goronzy, Ann. N.Y. Acad Set 987:140-149 (2003)], [Emery et al., Arthritis Rheum. 48(9):S439 (2003)], 루푸스 ([Eisenberg, Arthritis. Res. Ther. 5:157-159 (2003)], [Anohk et al., Arthritis Rheum. 48:455-459 (2003)], [Leandro et al. Arthritis Rheum. 46: 2673-2677 (2002)]; [Gorman et al., Lupus, 13: 312-316 (2004)], [Tomietto et al., Thromb Haemost 92:1150-1153 (2004)], 면역 혈소판감소 자색반 ([D'Arena et al., Leuk. Lymphoma 44:561-562 (2003)]; [Stasi et al., Blood, 98: 952-957 (2001)]; [Saleh et al., Semin. Oncol, 27 (Suppl 12):99-103 (2000)]; [Zaia et al., Haematologica, 87:189-195 (2002)]; [Zaja et al., Haematologica 88: 538-546 (2003)]; [Cooper et al., Br. J. Haematol. 125: 232-239 (2004)]; [Ratanatharathorn et al., Ann. Int. Med., 133: 275-279 (2000)], 진정 적혈구 무형성증 (Auner et al., Br. J. Haematol, 116: 725-728 (2002)); 자가면역성 빈혈 ([Zaja et al., Haematologica 87:189-195 (2002)] ([Haematologica 87:336 (2002)]에는 오류가 있음); [Raj et al., J. Pediatr. Hematol. Oncol. 26: 312-314 (2004)]; [Zecca et al., Blood 101: 3857-3861 (2003)]; [Quarter et al., Lancet 358: 1511-1513 (2001)], 자가면역성 혈소판감소증 (Robak, Eur. J. Haematol, 72: 79-88 (2004)); 저온 응집병 ([Layios et al., Leukemia, 15:187-8 (2001)]; [Berentsen et al., Blood, 103:2925-2928 (2004)]; [Berentsen et al., Br. J. Haematol., 115:79-83 (2001)]; [Bauduer, Br. J. Haematol., 112:1083-1090 (2001)]; [Damiani et al., Br. J. Haematol., 114:229-234 (2001)]; [Lee and Kueck, Blood 92: 3490-3491 (1998)], 심각한 인슐린 저항성의 B형 증후군 (Coll et al., N. Engl. J. Med., 350: 310-311 (2004), 혼합 한랭글로불린혈증 ([De Vita et al., Arthritis Rheum. 46 Suppl. 9:S206/S469 (2002)]; [Zaja et al. Haematologica 84: 1157-1158 (1999)], 중증 근무력증 ([Zaja et al., Neurology, 55:1062-63 (2000)]; [Wylam et al., J. Pediatr., 143:674-677 (2003)], 베게너 육아종증 ([Specks et al., Arthritis & Rheumatism 44: 2836-2840 (2001)), 불응성 보통 천포창 (Dupuy et al., Arch Dermatol, 140:91-96 (2004)), 피부근육염 (Levine, Arthritis Rheum., 46 (Suppl. 9):S1299 (2002)), 쇼그렌 증후군 (Somer et al., Arthritis & Rheumatism, 49: 394-398 (2003)), 활성 II형 혼합 한랭글로불린혈증 (Zaja et al., Blood, 101: 3827-3834 (2003)), 보통 천포창 (Dupay et al., Arch. Dermatol, 140: 91-95 (2004)), 자가면역성 신경병증 ([Pestronk et al., J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry 74:485-489

(2003)]; [Nobile-Orazio, Curr. Opin. Neurol. 17:599-605 (2004)]; [Rojas-Garcia et al., Neurology 61:1814-1816 (2003)]; [Renaud et al. Muscle Nerve 27:611-615 (2003)], 부신생물 안간대-간대성 근경련 증후군 (Pranzatelli et al. Neurology 60(Suppl. 1) P05.128:A395 (2003)), 후천성 VIII 인자 억제제 (Wiestner et al. Blood 100:3426-3428 (2002)) 및 재발-이장성 다발성 경화증 (RRMS)의 징후 및 증상을 잠재적으로 경감시키는 것으로 보고되었다. [Cross et al. (abstract) "Preliminary Results from a Phase II Trial of Rituximab in MS" Eighth Annual Meeting of the Americas Committees for Research and Treatment in Multiple Sclerosis, 20-21 (2003)].

<25> 제II상 연구 (WA16291)를 류마티스 관절염 (RA) 환자에서 수행하여, 리툽시맵의 안정성 및 효능에 대한 48-주 추적조사 데이터를 제공하였다. [Emery et al. Arthritis Rheum. 48(9):S439 (2003)]; [Szczepanski et al. Arthritis Rheum. 48(9):S121 (2003)]. 총 161명의 환자를 4가지 치료 병기에 대해 무작위로 고르게 나누었다: 메토티렉세이트, 리툽시맵 단독, 리툽시맵 + 메토티렉세이트, 및 리툽시맵 + 시클로포스파미드 (CTX). 리툽시맵의 치료 요법은 1일 및 15일에 1 g을 정맥내에 투여하는 것이었다. 대부분의 RA 환자에서의 리툽시맵의 주입은 대부분의 환자에서 잘 허용되었고, 36 %의 환자는 최초 주입 동안 한가지 이상의 유해 사례를 겪었다 (플라시보를 수여받은 30 %의 환자와 비교). 전반적으로, 대부분의 유해 사례는 경미하여 중증도가 온건한 것으로 간주되었고, 모든 처리 군에 대해 균형을 잘 이루었다. 48 주에 걸쳐 4개의 병기에서 19개의 심각한 유해 사례가 있었고, 이는 리툽시맵/CTX 군에서 조금더 빈번하였다. 감염 발생은 모든 군에 대해 균형을 잘 이루었다. 이러한 RA 환자 집단에서의 심각한 감염의 평균 비율은 100 환자-년 당 4.66이었고, 이는 커뮤니티를 기초로 하는 역학 연구에서 보고된 RA 환자에서 병원 입원을 필요로 하는 감염 비율 (100 환자-년 당 9.57)보다 낮다. [Doran et al., Arthritis Rheum. 46:2287-2293 (2002)].

<26> 자가면역성 신경병증 (Pestronk et al., 상기 문헌), 안간대-간대성 근경련 증후군 (Pranzatelli et al., 상기 문헌), 및 RRMS (Cross et al., 상기 문헌)를 포함하는 신경 장애가 있는 소수의 환자에서의 리툽시맵의 보고된 안전성 프로파일은 종양학 또는 RA에서 보고된 것과 유사하였다. RRMS 환자에서의 인터페론-베타 (IFN-β) 또는 글라티라머 아세테이트와 병용되는 리툽시맵의 진행중인 연구자-스폰서 시도 (IST: investigator-sponsored trial)에서 (Cross et al., 상기 문헌), 치료된 환자 10명 중 1명은 리툽시맵의 최초 주입 후 중증도의 열 및 오한을 겪어서 야간 관찰을 위해 병원에 입원하였고, 나머지 9명은 4가지의 주입 요법을 어떠한 보고된 유해 사례도 없이 완료하였다.

<27> CD20 항체 및 CD20 결합 분자에 관한 특허 및 특허 공보에는 미국 특허 제5,776,456호, 제5,736,137호, 제5,843,439호, 제6,399,061호, 및 제6,682,734호, 뿐만 아니라 US 2002/0197255, US 2003/0021781, US 2003/0082172, US 2003/0095963, US 2003/0147885 (Anderson et al.); 미국 특허 제6,455,043 및 WO 2000/09160 (Grillo-Lopez, A.); WO 2000/27428 (Grillo-Lopez and White); WO 2000/27433 (Grillo-Lopez and Leonard); WO 2000/44788 (Braslawsky et al.); WO 2001/10462 (Rastetter, W.); WO 01/10461 (Rastetter and White); WO 2001/10460 (White and Grillo-Lopez); US 2001/0018041, US 2003/0180292, WO 2001/34194 (Hanna and Hariharan); US 2002/0006404 및 WO 2002/04021 (Hanna and Hariharan); US 2002/0012665 및 WO 2001/74388 (Hanna, N.); US 2002/0058029 (Hanna, N.); US 2003/0103971 (Hariharan and Hanna); US 2002/0009444 및 WO 2001/80884 (Grillo-Lopez, A.); WO 2001/97858; US 2005/0112060, 및 미국 특허 제6,846,476호; (White, C); US 2002/0128488 및 WO 2002/34790 (Reff, M.); WO 2002/060955 (Braslawsky et al.); WO 2002/096948 (Braslawsky et al.); WO 2002/079255 (Reff and Davies); 미국 특허 제6,171,586호 및 WO 1998/56418 (Lam et al.); WO 1998/58964 (Raju, S.); WO 1999/22764 (Raju, S.); WO 1999/51642, 미국 특허 제6,194,551호, 미국 특허 제6,242,195호, 미국 특허 제6,528,624호 및 미국 특허 제6,538,124호 (Idusogie et al.); WO 2000/42072 (Presta, L.); WO 2000/67796 (Curd et al.); WO 2001/03734 (Grillo-Lopez et al.); US 2002/0004587 및 WO 2001/77342 (Miller and Presta); US 2002/0197256 (Grewal, L); US 2003/0157108 (Presta, L.); 미국 특허 제6,565,827호, 제6,090,365호, 제6,287,537호, 제6,015,542호, 제5,843,398호, 및 제5,595,721호, (Kaminski et al.); 미국 특허 제 5,500,362호, 제5,677,180호, 제5,721,108호, 제6,120,767호, 제6,652,852호, 제6,893,625호 (Robinson et al.); 미국 특허 제6,410,391호 (Raubitschek et al.); 미국 특허 제6,224,866호 및 WO 00/20864 (Barbera-Guillem, E.); WO 2001/13945 (Barbera-Guillem, E.); WO 2000/67795 (Goldenberg); US 2003/0133930 및 WO 2000/74718 (Goldenberg and Hansen); US 2003/0219433 및 WO 2003/68821 (Hansen et al.); WO 2004/058298 (Goldenberg and Hansen); WO 2000/76542 (Golay et al.); WO 2001/72333 (Wolin and Rosenblatt); 미국 특허 제6,368,596호 (Ghetie et al.); 미국 특허 제6,306,393호 및 US 2002/0041847 (Goldenberg, D.); US 2003/0026801 (Weiner and Hartmann); WO 2002/102312 (Engleman, E.); US 2003/0068664 (Albitar et al.); WO 2003/002607 (Leung, S.); WO

2003/049694, US 2002/0009427, 및 US 2003/0185796 (Wolin et al.); WO 2003/061694 (Sing and Siegall); US 2003/0219818 (Bohen et al.); US 2003/0219433 및 WO 2003/068821 (Hansen et al.); US 2003/0219818 (Bohen et al.); US2002/0136719 (Shenoy et al.); WO 2004/032828 (Wahl et al.); 및 WO 2002/56910 (Hayden-Ledbetter)이 포함된다. 또한 미국 특허 제5,849,898호 및 EP 330,191 (Seed et al.); EP 332,865 A2 (Meyer and Weiss); 미국 특허 제4,861,579호 (Meyer et al.); US 2001/0056066 (Bugelski et al.); WO 1995/03770 (Bhat et al.); US 2003/0219433 A1 (Hansen et al.); WO 2004/035607 (Teeling et al.); WO 2004/056312 (Lowman et al.); US 2004/0093621 (Shitara et al.); WO 2004/103404 (Watkins et al.); WO 2005/000901 (Tedder et al.); US 2005/0025764 (Watkins et al.); WO 2005/016969 (Carr et al.); US 2005/0069545 (Carr et al.); WO 2005/014618 (Chang et al.); US 2005/0079174 (Barbera-Guillem and Nelson); US 2005/0106108 (Leung and Hansen); WO2005/044859 및 US 2005/0123546 (Umana et al.); WO 2005/070963 (Allan et al.); US 2005/0186216 (Ledbetter and Hayden-Ledbetter); 및 미국 특허 제6,897,044호 (Braslawski et al.) 참조.

<28>

리툽시맵으로의 치료에 관한 공개문헌으로는 하기의 것들이 포함된다: [Perotta and Abuel, "Response of chronic relapsing ITP of 10 years duration to rituximab" Abstract # 3360 Blood 10(1)(part 1-2): p. 88B (1998)]; [Perotta et al., "Rituxan in the treatment of chronic idiopathic thrombocytopaenic purpura (ITP)", Blood, 94: 49 (abstract) (1999)]; [Matthews, R., "Medical Heretics" New Scientist (7 April, 2001)]; [Leandro et al., "Clinical outcome in 22 patients with rheumatoid arthritis treated with B lymphocyte depletion" Ann. Rheum. Dis, 상기 문헌]; [Leandro et al., "Lymphocyte depletion in rheumatoid arthritis: early evidence for safety, efficacy and dose response" Arthritis and Rheumatism 44(9): S370 (2001)]; 2-주기 기간 동안, 각각의 환자들은 리툽시맵 500-mg 2회 주입, 시클로포스파미드 750-mg 2회 주입, 및 고용량 경구 코르티코스테로이드를 수여받았고, 치료된 환자 중 2명은 각각 7 개월 및 8 개월에 재발되어 상이한 프로토콜로 재치료받은 것에 관한 문헌 [Leandro et al., "An open study of B lymphocyte depletion in systemic lupus erythematosus", Arthritis and Rheumatism, 46:2673-2677 (2002)]; 환자를 리툽시맵 (375 mg/m<sup>2</sup> × 4, 1주 간격으로 반복)으로 치료하고, 추가적인 리툽시맵 적용을 5-6 개월마다 전달한 후, 유지 요법으로 리툽시맵 375 mg/m<sup>2</sup>을 3 개월마다 제공하였고, 불응성 SLE에 걸린 제2 환자가 리툽시맵으로 성공적으로 치료되었고 3 개월마다 유지 요법을 제공하였으며, 양쪽 환자 모두 리툽시맵에 잘 반응한 것에 관한 문헌 ["Successful long-term treatment of systemic lupus erythematosus with rituximab maintenance therapy" Weide et al., Lupus, 12: 779-782 (2003)]; [Edwards and Cambridge, "Sustained improvement in rheumatoid arthritis following a protocol designed to deplete B lymphocytes" Rheumatology 40:205-211 (2001)]; [Cambridge et al., "B lymphocyte depletion in patients with rheumatoid arthritis: serial studies of immunological parameters" Arthritis Rheum., 46 (Suppl. 9):S1350 (2002)]; [Cambridge et al., "Serologic changes following B lymphocyte depletion therapy for rheumatoid arthritis" Arthritis Rheum., 48: 2146-2154 (2003)]; [Edwards et al., "B-lymphocyte depletion therapy in rheumatoid arthritis and other autoimmune disorders" Biochem Soc. Trans., 상기 문헌]; [Edwards et al., "Efficacy and safety of rituximab, a B-cell targeted chimeric monoclonal antibody: A randomized, placebo controlled trial in patients with rheumatoid arthritis. Arthritis and Rheumatism 46(9):S197 (2002)]; [Edwards et al., "Efficacy of B-cell-targeted therapy with rituximab in patients with rheumatoid arthritis" N Engl. J. Med. 350:2572-82 (2004)]; [Pavelka et al., Ann. Rheum. Dis. 63: (S1):289-290 (2004)]; [Emery et al., Arthritis Rheum. 50 (S9):S659 (2004)]; [Levine and Pestronk, "IgM antibody-related polyneuropathies: B-cell depletion chemotherapy using rituximab" Neurology 52:1701-1704 (1999)]; [Uchida et al., "The innate mononuclear phagocyte network depletes B lymphocytes through Fc receptor-dependent mechanisms during anti-CD20 antibody immunotherapy" J. Exp. Med. 199:1659-1669 (2004)]; [Gong et al., "Importance of cellular microenvironment and circulatory dynamics in B cell immunotherapy" J. Immunol. 174:817-826 (2005)]; [Hamaguchi et al., "The peritoneal cavity provides a protective niche for B 1 and conventional B lymphocytes during anti-CD20 immunotherapy in mice" J. Immunol. 174:4389-4399 (2005)]; [Cragg et al. "The biology of CD20 and its potential as a target for mAb therapy" Curr. Dir. Autoimmun. 8:140-174 (2005)]; [Eisenberg, "Mechanisms of autoimmunity" Immunol. Res. 27:203-218 (2003)]; [DeVita et al., "Efficacy of selective B cell blockade in the treatment of rheumatoid arthritis" Arthritis & Rheum. 46:2029-2033 (2002)]; [Hidashida et al. "Treatment of DMARD-refractory rheumatoid arthritis with rituximab." Presented at the Annual Scientific Meeting of the College of Rheumatology; Oct 24-29; New Orleans, LA 2002]; [Tuscano, J.



"Successful treatment of infliximab-refractory rheumatoid arthritis with rituximab" Presented at the Annual Scientific Meeting of the American College of Rheumatology; Oct 24-29; New Orleans, LA 2002 and published Tuscano, Arthritis Rheum. 46: 3420 (2002)]; ["Pathogenic roles of B cells in human autoimmunity; insights from the clinic" Martin and Chan, Immunity 20:517-527 (2004)]; [Silverman and Weisman, "Rituximab therapy and Autoimmune Disorders, Prospects for Anti-B Cell Therapy", Arthritis and Rheumatism, 48:1484-1492 (2003)]; [Kazkaz and Isenberg, "Anti B cell therapy (rituximab) in the treatment of autoimmune diseases", Current opinion in pharmacology, 4: 398-402 (2004)]; [Virgolini and Vanda, "Rituximab in autoimmune diseases", Biomedicine & pharmacotherapy, 58:299-309(2004)]; [Klemmer et al., "Treatment of antibody mediated autoimmune disorders with a AntiCD20 monoclonal antibody Rituximab", Arthritis And Rheumatism, 48:(9) 9,S (SEP), page: S624-S624 (2003)]; [Kneitz et al., "Effective B cell depletion with rituximab in the treatment of autoimmune diseases", Immunobiology, 206: 519-527 (2002)]; [Arzoo et al., "Treatment of refractory antibody mediated autoimmune disorders with an anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab)" Annals of the Rheumatic Diseases, 61 (10), p922-4 (2002) Comment in Ann. Rheum. Dis. 61: 863-866 (2002)]; ["Future Strategies in Immunotherapy" by Lake and Dionne, in Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery (2003 by John Wiley & Sons, Inc.) Article Online Posting Date: January 15, 2003 (Chapter 2 "Antibody-directed Immunotherapy")]; [Liang and Tedder, Wiley Encyclopedia of Molecular Medicine, Section: CD20 as an Immunotherapy Target, article online posting date: 15 January, 2002 entitled "CD20"]; [Appendix 4A entitled "Monoclonal Antibodies to Human Cell Surface Antigens" by Stockinger et al., eds: Coligan et al., in Current Protocols in Immunology (2003 John Wiley & Sons, Inc.) Online Posting Date: May, 2003; Print Publication Date: February, 2003]; [Penichet and Morrison, "CD Antibodies/molecules: Definition; Antibody Engineering" in Wiley Encyclopedia of Molecular Medicine Section: Chimeric, Humanized and Human Antibodies; posted online 15 January, 2002].

<29>

또한, 문헌 [Looney "B cells as a therapeutic target in autoimmune diseases other than rheumatoid arthritis" Rheumatology, 44 Suppl 2: i113-i117 (2005)]; [Chambers and Isenberg, "Anti-B cell therapy (rituximab) in the treatment of autoimmune diseases" Lupus 14(3): 210-214 (2005)]; [Looney et al., "B-cell depletion as a novel treatment for systemic lupus erythematosus: a phase I/II dose-escalating trial of rituximab" Arthritis Rheum. 50: 2580-2589 (2004)]; [Looney, "Treating human autoimmune disease by depletion B cells" Ann. Rheum. Dis. 61 : 863-866 (2002)]; [Edelbauer et al., "Rituximab in childhood systemic lupus erythematosus refractory to conventional immunosuppression Case report" Pediatr. Nephrol. 20(6): 811-813 (2005)]; [D'Cruz and Hughes, "The treatment of lupus nephritis" BMJ 330(7488): 377-378 (2005)]; [Looney, "B cell-targeted therapy in diseases other than rheumatoid arthritis" J. Rheumatol. Suppl. 73: 25-28; discussion 29-30 (2005)]; [Sfikakis et al., "Remission of proliferative lupus nephritis following B cell depletion therapy is preceded by down-regulation of the T cell costimulatory molecule CD40 ligand: an open-label trial" Arthritis Rheum. 52(2): 501-513 (2005)]; [Rastetter et al., "Rituximab: expanding role in therapy for lymphomas and autoimmune diseases" Annu. Rev. Med. 55: 477-503 (2004)]; [Silverman, "Anti-CD20 therapy in systemic lupus erythematosus: a step closer to the clinic" Arthritis Rheum. 52(2): 371-7 (2005), Erratum in: Arthritis Rheum. 52(4): 1342 (2005)]; [Ahn et al., "Long-term remission from life-threatening hypercoagulable state associated with lupus anticoagulant (LA) following rituximab therapy" Am. J. Hematol. 78(2): 127-129 (2005)]; [Tahir et al., "Humanized anti-CD20 monoclonal antibody in the treatment of severe resistant systemic lupus erythematosus in a patient with antibodies against rituximab" Rheumatology, 44(4): 561-562 (2005), Epub 2005 Jan 11]; [Looney et al., "Treatment of SLE with anti-CD20 monoclonal antibody" Curr. Dir. Autoimmun. 8: 193-205 (2005)]; [Cragg et al., "The biology of CD20 and its potential as a target for mAb therapy" Curr. Dir. Autoimmun. 8: 140-174 (2005)]; [Gottenberg et al., "Tolerance and short term efficacy of rituximab in 43 patients with systemic autoimmune diseases" Ann. Rheum. Dis. 64(6): 913-920 (2005) Epub 2004 Nov 18]; [Tokunaga et al., "Down-regulation of CD40 and CD80 on B cells in patients with life-threatening systemic lupus erythematosus after successful treatment with rituximab" Rheumatology 44(2): 176-182 (2005), Epub 2004 Oct 19] 참조. 또한 문헌 [Leandro et al., "B cell repopulation occurs mainly from naive B cells in

patient with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus" *Arthritis Rheum.*, 48 (Suppl 9)] 참조.

<30> 문헌 [Specks et al. "Response of Wegener's granulomatosis to anti-CD20 chimeric monoclonal antibody therapy" *Arthritis & Rheumatism* 44:2836-2840 (2001)]은 베게너 육아종증의 치료를 위한 375 mg/m<sup>2</sup>의 리툽시맵 및 고용량 글루코코티코이드 4회 주입의 효과적인 사용을 개시한다. 상기 요법은 cANCA이 재발되는 11 개월 후 반복하는데, 이때에는 글루코코티코이드는 사용하지 않는다. 리툽시맵의 두번째 사용 후 8 개월에, 환자의 질환은 완전히 완화된 상태로 있다. 추가적으로, 또다른 연구에서는, 리툽시맵을 경구 프레드니손 1 mg/kg/day (이를 4 주에 걸쳐 40 mg/day로 감소시키고, 그 다음 16 주에 걸쳐 완전히 중단시킴)와 함께 375 mg/m<sup>2</sup> x 4의 용량으로 사용하였을 때, 심각한 ANCA-관련 혈관염에 잘 허용되는 유효한 완화 유도 제제로 밝혀졌다. ANCA 역가 재발/상승에 있어 4 명의 환자를 리툽시맵 단독으로 재치료하였다. 글루코코티코이드 이외에, 어떠한 추가적인 면역억제제도 완화 유도 및 지속적 완화 유지 (6 개월 이상)를 위해 필요하지 않았다. 온라인 초록 접수 및 요청 문헌 [Keogh et al., "Rituximab for Remission Induction in Severe ANCA-Associated Vasculitis: Report of a Prospective Open-Label Pilot Trial in 10 Patients", *American College of Rheumatology*, Session Number: 28-100, Session Title: Vasculitis, Session Type: ACR Concurrent Session, Primary Category: 28 Vasculitis, Session 10/18/2004 (<[www.abstractsonline.com/viewer/SearchResults.asp](http://www.abstractsonline.com/viewer/SearchResults.asp)>)] 참조. 또한 불응성 ANCA-관련 혈관염이 있는 11 명의 환자를 매주 4회 375 mg/m<sup>2</sup> 용량의 리툽시맵 및 고용량 글루코코티코이드로 치료시, 완화가 나타난 것을 보고한 문헌 [Keogh et al., *신장 Blood Press. Res.* 26:293 (2003)] 참조.

<31> 불응성 ANCA-관련 혈관염이 있는 환자에게 면역억제 약제 예컨대 정맥내 시클로포스파미드, 미코페놀레이트 모페틸, 아자티오프린, 또는 레플루노미드와 함께 리툽시맵을 투여시, 명백한 효능이 나타났다. [Eriksson, "Short-term outcome and safety in 5 patients with ANCA-positive vasculitis treated with rituximab", *Kidney and Blood Pressure Research*, 26: 294 (2003)] (1 주에 1회 4 주 동안 리툽시맵 375 mg/m<sup>2</sup>로 치료받은 ANCA-관련 혈관염이 있는 5 명의 환자는 치료에 반응하였음); [Jayne *Kidney and Blood Pressure Research*, 26: 294-295 (2003)] (기본 (background) 면역억제제 및 프레드니솔론과 함께 375 mg/m<sup>2</sup>의 리툽시맵을 매주 4회 주입받은 불응성 혈관염이 있는 6 명의 환자는 혈관염 활성의 큰 감소를 경험하였음). 불응성 전신 혈관염이 있는 환자에게 정맥내 시클로포스파미드와 함께 1회 375 mg/m<sup>2</sup> 리툽시맵의 4회 용량을 사용한 또다른 보고는 문헌 [Jayne, poster 88 (11<sup>th</sup> International Vasculitis and ANCA workshop), 2003 American Society of Nephrology]에서 제공된다. 또한 총 18 개월 동안 ANCA-관련 혈관염에 대한 리툽시맵의 시험을 제시한 문헌 [Stone and Specks, "Rituximab Therapy for the Induction of Remission and Tolerance in ANCA-associated Vasculitis", in the Clinical Trial Research Summary of the 2002-2003 Immune Tolerance Network, <http://www.immunetolerance.org/research/autoimmune/trials/stone.html>] 참조. 또한 매주 2회 또는 4회 500 mg 용량의 리툽시맵으로 효과적으로 치료받은 ANCA-양성 혈관염이 있는 9 명의 환자에 관한 문헌 [Eriksson, *J Internal Med.*, 257: 540-548 (2005)], 뿐 아니라 2000년 1월과 2002년 9월 사이에 수행된 불응성 ANCA-관련 혈관염이 있는 11 명의 환자를 매주 4회 375 mg/m<sup>2</sup> 용량의 리툽시맵으로 치료 또는 재치료하여 B 림프구 결핍을 통해 완화를 유도한 것을 보고한 문헌 [Keogh et al., *Arthritis and Rheumatism*, 52: 262-268 (2005)] 참조.

<32> 인간화 항CD20 항체의 활성에 대해서는, 예를 들어, 문헌 [Vugmeyster et al., "Depletion of B cells by a humanized anti-CD20 antibody PRO70769 in *Macaca fascicularis*" *J Immunother* 28: 212-219 (2005)] 참조. 인간 모노클로날 항체의 논의에 대해서는, 문헌 [Baker et al., "Generation and characterization of LymphoStat-B, a human monoclonal antibody that antagonizes the bioactivities of B lymphocyte stimulator" *Arthritis Rheum.* 48: 3253-3265 (2003)] 참조.

<33> 1 개월 동안 활성 약물 주입 빈도를 감소시키는 치료의 접근법에 대한 요구가 존재한다. 또한, 현재 사용되는 약물 예컨대 스테로이드 및 화학요법제의 독성 작용의 위험을 감소시키고, ANCA-관련 혈관염이 있는 환자에서의 질환 발작 및 재발 (relapse/recurrence)의 위험을 감소시켜, 오랜 시간 동안 완화를 지속시키고 지속된 완화를 유지시키는 것에 대한 요구가 있다.

<34>

#### 발명의 요약

- <35> 본 발명은 효능있는 투여 요법의 선택 및 예정된 또는 예정되지 않은 재치료를 포함하는, ANCA-관련 혈관염이 있는 대상체에 안전하고 활성인 치료 요법을 제공하는 CD20 항체의 투여를 포함한다. 이러한 길항제는 불응성 질환의 초기 요법 및 관리 모두에 유효하다.
- <36> 따라서, 본 발명은 다음을 청구한다. 제1면에서, 본 발명은 약 1 개월 동안 1회 내지 3회 용량 빈도로 약 400 mg 내지 1.3 g 용량의 CD20 항체를 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 환자의 ANCA-관련 혈관염의 치료에 관한 것이다.
- <37> 추가적인 면에서, 본 발명은 CD20 항체를 포함하는 용기, 및 약 1 개월 동안 1회 내지 3회 용량 빈도로 약 400 mg 내지 1.3 g 용량의 CD20 항체를 환자에게 투여함을 나타내는, 환자의 ANCA-관련 혈관염의 치료에 관한 지시서를 갖는 제품 첨부문서를 포함하는 제조품을 제공한다.
- <38> 상기 발명의 면의 바람직한 실시태양에서, 혈관염은 베게너 육아종증 또는 현미경적 다발성혈관염이고/이거나, CD20 항체는 제1 약제이며, 유효량의 제2 약제가 환자에게 투여된다. 이러한 약제는 1 이상의 약제일 수 있다. 더욱 바람직하게는, 상기 제2 약제는 화학요법제, 면역억제제, 질환 조절 항류마티스제 (DMARD), 세포독성제, 인테그린 길항제, 비스테로이드 항염증 약물 (NSAID), 사이토카인 길항제, 호르몬, 또는 이들의 조합물이다.
- <39> 추가적인 면에서, 본 발명은 초기 항체 노출 및 그로부터 약 16 내지 54 주 후에 제2 노출을 제공하도록 유효량의 CD20 항체를 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체의 ANCA-관련 혈관염의 치료 방법에 관한 것이다.
- <40> 항체 다노출과 관련된 상기 마지막 방법의 바람직한 일 실시태양에서, 본 발명은 약 0.5 내지 4 g의 초기 항체 노출 및 그로부터 약 16 내지 54 주 후에 약 0.5 내지 4 g의 제2 항체 노출을 제공하도록 유효량의 CD20 항체를 대상체에게 투여하는 것을 포함하며, 이 때 각각의 항체 노출은 약 1 내지 4회 용량의 항체로서, 더욱 바람직하게는 단일 용량의 항체 또는 2회 또는 3회 분할 용량의 항체로서 대상체에 제공되는, 대상체의 ANCA-관련 혈관염의 치료 방법에 관한 것이다.
- <41> 본원의 특이적인 바람직한 실시태양은 초기 항체 노출 및 그로부터 약 16 내지 54 주 후에 제2 항체 노출을 제공하도록 유효량의 CD20 항체를 대상체에게 투여하는 것을 포함하며, 이 때 각각의 항체 노출은 단일 용량의 항체 또는 2회 또는 3회 분할 용량의 항체로서 대상체에 제공되는, 대상체의 ANCA-관련 혈관염의 치료 방법에 관한 것이다. 바람직하게는, 상기 방법에서, 각각의 항체 노출은 약 0.5 내지 4 g이다.
- <42> 상기 마지막 방법의 또다른 바람직한 실시태양에서, 제1 약제는 항체이며, 제2 약제가 초기 노출 및/또는 후속 노출과 함께 투여된다. 바람직한 실시태양에서, 제2 약제는 바람직한 것으로 상기 언급한 것들 중 1 이상이다. 더욱 바람직한 실시태양에서, 제2 약제는 스테로이드 및/또는 면역억제제이다. 더욱 바람직한 실시태양에서, 스테로이드는 제1 노출과 함께는 투여되나, 제2 노출과 함께는 투여되지 않으며, 또는 초기 노출과 함께 사용되는 양보다 더욱 소량으로 투여된다.
- <43> 상기 마지막 면의 또다른 바람직한 실시태양에서, 대상체는 이전에 CD20 항체로 전혀 치료받은 적이 없고/없거나, 혈관염 치료를 위해 CD20 항체 이외의 어떠한 다른 약제도 대상체에 투여되지 않는다. 또다른 바람직한 실시태양에서, 초기 및 제2 항체 노출은 동일한 항체에 의하며, 더욱 바람직하게는 모든 항체 노출은 동일한 항체에 의한다. 또다른 바람직한 실시태양에서, 대상체는 초기 또는 후속 항체 노출 후에 완화되며, 바람직하게는 제2 항체 노출이 제공되었을 때 완화된다. 더욱 바람직하게는, 대상체는 모든 항체 노출이 제공되었을 때 완화된다. 가장 바람직하게는, 상기 대상체는 마지막 항체 노출이 제공된 후 적어도 약 6 개월에 완화된다.
- <44> 상기 마지막 면의 또다른 바람직한 실시태양에서, 대상체의 항핵항체 (ANA), 항류마티스 인자 (RF) 항체, 크레아티닌, 혈중 요소 질소, 항-내피성 항체, 항호중구 세포질 항체 (ANCA), 또는 이들의 2 이상의 조합의 농도는 증가된다.
- <45> 추가적으로, 또다른 면에서, 본 발명은
- <46> (a) CD20 항체를 포함하는 용기, 및
- <47> (b) 초기 항체 노출 및 그로부터 약 16 내지 54 주 후에 제2 항체 노출을 제공하도록 유효량의 항체를 대상체에게 투여함을 나타내는, 대상체의 ANCA-관련 혈관염의 치료에 관한 지시서를 갖는 제품 첨부문서
- <48> 를 포함하는 제조품을 제공한다.
- <49> 바람직하게는, 상기 제품 첨부문서는 약 0.5 내지 4 g의 초기 항체 노출 및 그로부터 약 16 내지 54 주 후에 약

0.5 내지 4 g의 제2 항체 노출을 제공하도록 유효량의 항체를 대상체에게 투여하며, 이 때 각각의 항체 노출은 약 1 내지 4회 용량의 항체로서, 바람직하게는 단일 용량의 항체 또는 2회 또는 3회 분할 용량의 항체로서 대상체에 제공됨을 나타내는, 대상체의 ANCA-관련 혈관염의 치료에 관한 지시서와 함께 제공된다.

<50> 특정 면에서,

<51> (a) CD20 항체를 포함하는 용기, 및

<52> (b) 초기 항체 노출 및 그로부터 약 16 내지 54 주 후에 제2 항체 노출을 제공하도록 유효량의 항체를 대상체에게 투여하며, 이 때 각각의 항체 노출이 단일 용량의 항체 또는 2회 또는 3회 분할 용량의 항체로서 대상체에 제공됨을 나타내는, 대상체의 ANCA-관련 혈관염의 치료에 관한 지시서를 갖는 제품 첨부문서

<53> 를 포함하는 제조품을 제공한다.

<54> 본원의 치료는 바람직하게는 과량의 제2 약제 예컨대 면역억제제 및/또는 상기 대상체의 일반적 표준 치료인 화학요법제의 공동투여, 사전투여, 또는 후투여의 필요성을 감소, 최소화, 또는 제거하여, 상기 표준 치료의 부작용을 가능한 한 많이 제거하며, 나아가 비용 감소 및 대상체에게의 편리함, 예컨대 투여 시간 및 투여 빈도의 편리함을 증진시킨다.

## 발명의 상세한 설명

<66> I. 정의

<67> "B 세포"는 골수 내에서 성숙하는 림프구이고, 나이트 B 세포, 메모리 B 세포, 또는 이펙터 B 세포 (형질 세포)를 포함한다. 본원의 B 세포는 정상 또는 비-악성 B 세포일 수 있다.

<68> 본원에서의 "B-세포 표면 마커" 또는 "B-세포 표면 항원"은 이에 결합하는 길항제가 표적으로 할 수 있는 B 세포의 표면 상에서 발현되는 항원이다. 예시적인 B-세포 표면 마커로는 CD10, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD37, CD40, CD53, CD72, CD73, CD74, CDw75, CDw76, CD77, CDw78, CD79a, CD79b, CD80, CD81, CD82, CD83, CDw84, CD85 및 CD86 백혈구 표면 마커가 포함된다 (설명을 위해서는, [The Leukocyte Antigen Facts Book, 2<sup>nd</sup> Edition. 1997, ed. Barclay et al. Academic Press, Harcourt Brace & Co., New York] 참조). 기타 B-세포 표면 마커로는 RP105, FcRH2, B-세포 CR2, CCR6, CD72, P2X5, HLA-DOB, CXCR5, FCER2, BR3, BtIg, NAG14, SLGC16270, FcRH1, IRTA2, ATWD578, FcRH3, IRTA1, FcRH6, BCMA, 및 239287이 포함된다. 특히 흥미로운 B-세포 표면 마커는 포유동물의 다른 비-B-세포 조직과 비교하여 B 세포 상에서 우선적으로 발현되고, 전구체 B 세포와 성숙형 B 세포 모두에서 발현될 수 있다. 본원에서 바람직한 B-세포 표면 마커는 CD20 및 CD22이다.

<69> "CD20" 항원, 또는 "CD20"은 말초 혈관 또는 림프 기관으로부터의 90 %를 초과하는 B 세포의 표면 상에서 발견된 약 35-kDa의 비-글리코실화 인단백질이다. CD20은 정상 B 세포뿐만 아니라 악성 B 세포 모두에 존재하지만, 줄기 세포 상에서는 발현되지 않는다. 문헌에서의 CD20에 대한 다른 명칭으로는 "B-림프구-제한 항원" 및 "Bp35"이 포함된다. CD20 항원은, 예를 들어, [Clark et al. Proc. Natl. Acad. Sci (USA) 82:1766 (1985)]에 기술되어 있다.

<70> BL-CAM 또는 Lyb8로 또한 공지된 "CD22" 항원 또는 "CD22"는 분자량이 약 130 (환원형) 내지 140 kD (비환원형)인 유형 1 내재성 막 당단백질이다. 이는 B-림프구의 세포질과 세포막 모두에서 발현된다. CD22 항원은 CD19 항원과 대략 동일한 단계의 B-세포 림프구 분화에서 초기에 나타난다. 다른 B-세포 마커와 달리, CD22 막 발현은 성숙형 B 세포 (CD22+) 내지 형질 세포 (CD22-) 사이에 포함되는 후기 발현 단계로 제한된다. CD22 항원은, 예를 들어, [Wilson et al. J. Exp. Med. 173:137 (1991)] 및 [Wilson et al. J. Immunol. 150:5013 (1993)]에 기술되어 있다.

<71> "길항제"는, B-세포 상의 CD20에의 결합 시, 포유동물에서 B 세포를 파괴 또는 결핍시키고/거나, 예를 들어 B 세포에 의해 유발되는 체액성 반응을 감소시키거나 방지함으로써, 1 이상의 B-세포 기능을 방해하는 분자이다. 바람직하게는 길항제는 길항제로 처리된 포유동물에서 B 세포를 결핍시킬 수 있다 (즉, 순환되는 B-세포 수준을 감소시킬 수 있다). 이같은 결핍은 다양한 메카니즘 예컨대 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC) 및/또는 보체-의존성 세포독성 (CDC), B-세포 증식 억제, 및/또는 B-세포 사멸 유도 (예를 들어, 세포자멸사를 통해)를 통해 이루어질 수 있다. 본 발명의 범주 내에 포함되는 길항제로는 세포독성제에 임의로 접합 또는 융합된, CD20에 결합하는 항체, 합성 또는 천연-서열 펩티드, 면역접합체 및 소형-분자 길항제가 포함된다. 바람직한



길항제로는 항체가 포함된다.

- <72> 본원의 "항체 길항제"는 B 세포 상의 B-세포 표면 마커에 결합시, 포유동물의 B 세포를 파괴 또는 고갈시키고/거나 예를 들어, B 세포에 의해 유도되는 체액성 반응을 감소시키거나 방지함으로써, 1 이상의 B-세포 기능을 방해하는 항체이다. 바람직하게는 항체 길항제는 항체 길항제로 처리된 포유동물에서 B 세포를 결핍시킬 수 있다 (즉, 순환되는 B-세포 수준을 감소시킬 수 있다). 이같은 결핍은 다양한 메카니즘 예컨대 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC) 및/또는 보체-의존성 세포독성 (CDC), B-세포 증식 억제 및/또는 B-세포 사멸 유도 (예를 들어, 세포자멸사를 통해)를 통해 이루어질 수 있다.
- <73> 본원에서의 용어 "항체"는 가장 광범위한 의미로 사용되고, 구체적으로 무손상 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 2개 이상의 무손상 항체로부터 형성된 다중특이적 항체 (예를 들어, 이중특이적 항체), 및 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한 항체 단편이 포함된다.
- <74> "항체 단편"은 바람직하게는 무손상 항체의 항원-결합 영역을 포함하는 무손상 항체의 일부를 포함한다. 항체 단편의 예로는 Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> 및 Fv 단편; 디아바디(diabody); 선형 항체; 단일쇄 항체 분자; 및 항체 단편들로부터 형성된 다중특이적 항체가 포함된다.
- <75> 본원에 있어, "무손상 항체"는 중쇄 및 경쇄 가변 도메인 뿐만 아니라 Fc 영역을 포함하는 것이다.
- <76> "B-세포 표면 마커에 결합하는 항체"는 B-세포 표면 마커에 결합시, 포유동물의 B 세포를 파괴 또는 결핍시키고/거나 예를 들어, B 세포에 의해 유도되는 체액성 반응을 감소 또는 억제함으로써, 1 이상의 B-세포 기능을 방해하는 분자이다. 바람직하게는 항체 길항제는 항체 길항제로 처리된 포유동물에서 B 세포를 결핍시킬 수 있다 (즉, 순환되는 B-세포 수준을 감소시킬 수 있다). 이같은 결핍은 다양한 메카니즘 예컨대 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC) 및/또는 보체-의존성 세포독성 (CDC), B-세포 증식 억제 및/또는 B-세포 사멸 유도 (예를 들어, 세포자멸사를 통해)를 통해 이루어질 수 있다. 바람직한 일 실시태양에서, 항체는 주요 임상 반응을 유도한다. 또다른 바람직한 실시태양에서, B-세포 표면 마커는 CD20이며, 이 때, B-세포 표면 마커에 결합하는 항체는 CD20에 결합하는 항체, 또는 "CD20 항체"이다. 특히 바람직한 실시태양은 주요 임상 반응을 유도하는 CD20 항체이다. 본원에 있어, "주요 임상 반응"은 연속되는 6 개월 동안 미국 류마티스 학회 (American College of Rheumatology) 70 반응 (ACR 70)에 도달하는 것으로 정의된다. ACR 반응 스코어는 이 평가 시스템에서 징후 및 증상 조절의 가장 높은 수준을 ACR 70으로하여, ACR 20, ACR 50 및 ACR 70로 분류된다. ACR 반응 스코어는 관절 종창 및 압통, 통증을 포함하는 류마티스 관절염 질환 활동성, 장애의 정도 및 환자 및 의사의 총체적인 평가의 개선도를 측정한다. FDA에 의해 인지되며 본원에서 정의된 바와 같은 주요 임상 반응을 유도하는 상이한 유형의 항체의 일례에는 에타너셉트 (ENB REL®)가 있다.
- <77> CD20 항체의 예로는 현재 "리툭시맵" ("RITUXAN®")으로 칭해지는 "C2B8" (미국 특허 제5,736,137호); IDEC Pharmaceuticals, Inc.로부터 상업적으로 입수가 가능한 "Y2B8" 또는 "이브리튜모맵 티옥세탄(Ibritumomab Tiuxetan)" (ZEVALIN®)으로 명명된 이트림-[90]-표지 2B8 뮤린 항체 (미국 특허 제5,736,137호); "토시튜모맵 (Tositumomab)"으로 또한 칭해지는 마우스 IgG2a "B1" (임의로 <sup>131</sup>I로 표지되어 Coriza로부터 상업적으로 입수가 가능한 <sup>131</sup>I-B1", 또는 "요오드 I131 토시튜모맵" (BEXXAR™)가 생성됨) (미국 특허 제5,595,721호 참조); 뮤린 모노클로날 항체 "1F5" ([Press et al. Blood 69(2):584-591 (1987)] 및 "프레임워크 패치(patch)" 또는 인간화 1F5 (WO03/002607, Leung, S.); ATCC 기탁 HB-96450); 마우스 2H7 및 키메라 2H7 항체 (미국 특허 제5,677,180호); 인간화 2H7 (WO 2004/056312 (Lowman et al.) 및 하기 기술되는 것들), HUMAX-CD20™ 항체, B-세포의 세포 막의 CD20 분자를 표적화하는 고친화성 모두 인간 항체 (Genmab, Denmark; 예를 들어, [Glennie and van de Winkel, Drug Discovery Today 8: 503-510 (2003)] 및 [Cragg et al., Blood 101 1045-1052 (2003)] 참조); WO 04/035607 (Teeling et al.)에 개시된 인간 모노클로날 항체; AME-133 (Applied Molecular Evolution); A20 항체 또는 이들의 변이체 예컨대 키메라 또는 인간화 A20 항체 (각각, cA20, hA20) (US 2003/0219433, Immunomedics); 및 International Leukocyte Typing Workshop으로부터 입수가 가능한 모노클로날 항체 L27, G28-2, 93-1B3, B-C1 또는 NU-B2 ([Valentine et al., In: Leukocyte Typing III, (McMichael, Ed., p. 440, Oxford University Press (1987))])이 포함된다. 본원의 바람직한 CD20는 키메라, 인간화, 또는 인간 CD20 항체, 더욱 바람직하게는 리툭시맵, 인간화 2H7, 키메라 또는 인간화 A20 항체 (Immunomedics), 및 HUMAX-CD20™ 인간 CD20 항체 (Genmab)이다.
- <78> 본원에서의 용어 "리툭시맵" 및 "RITUXAN®"은 CD20 항원에 대해 지시되고 미국 특허 제5,736,137호에서 "C2B8"으로 명명된, 유전자 조작된 키메라 마우스/인간 모노클로날 항체를 지칭하는데, 여기에는 CD20에 결합하는

능력이 유지된 이의 단편이 포함된다.

<79> 순수하게 본원에 있어, 달리 나타내지 않는다면, "인간화 2H7"은 인간화 항체, 또는 이의 항원-결합 단편을 지칭하고, 이때 항체는 생체내에서 영장류 B 세포를 결핍시키는 데 효과적이고, 항체는 이의 H 사슬 가변 영역(V<sub>H</sub>) 내에 적어도 항-인간 CD20 항체로부터의 서열 12 (도 1B)의 CDRH3 서열 및 실질적으로 인간 중쇄 아군 III (V<sub>H</sub>III)의 인간 컨센서스 프레임워크 (FR) 잔기를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 이러한 항체는 H 사슬인 서열 10의 CDRH1 서열 및 서열 11의 CDRH2 서열을 추가로 포함하고, 더욱 바람직하게는 L 사슬인 서열 4의 CDRL1 서열, 서열 5의 CDRL2 서열, 서열 6의 CDRL3 서열 및 실질적으로 인간 경쇄 아군 I (VI)의 인간 컨센서스 프레임워크 (FR) 잔기를 포함하고, 이때 V<sub>H</sub> 영역은 인간 IgG 사슬 불변 영역에 연결될 수 있고, 이 영역은, 예를 들어, IgG1 또는 IgG3일 수 있다. 또한 WO 2004/056312 (Lowman et al.) 참조.

<80> 바람직한 실시양태에서, 이같은 항체는 서열 8의 V<sub>H</sub> 서열 (v16, 도 1B에 제시됨)을 포함하고, 또한 서열 2의 V<sub>L</sub> 서열 (v16, 도 1A에 제시됨)을 임의로 포함하는데, 이는 H 사슬 내의 D56A 및 N100A 및 L 사슬 내의 S92A의 아미노산 치환을 가질 수 있다 (v.96). 바람직하게는, 항체는 각각 도 2 및 3에 나타난 바와 같이, 서열 13 및 14의 경쇄 및 중쇄 아미노산 서열을 포함하는 무손상 항체이다. 또다른 바람직한 실시태양은 항체가 각각 도 2 및 4에 나타난 바와 같이, 서열 13 및 15의 경쇄 및 중쇄 아미노산 서열을 포함하는 2H7.v31인 경우이다. 본원의 항체는 ADCC 및/또는 CDC 활성을 개선시키는 Fc 영역의 S298A/E333A/K334A와 같은 1 이상의 아미노산 치환을 추가적으로 포함할 수 있으며, 더욱 바람직하게는 2H7.v31는 서열 15의 중쇄 아미노산 서열을 갖는다 (도 4에 제시됨). 또다른 바람직한 실시태양은 항체가 도 5 및 6에 나타난 바와 같이, 상응하는 2H7.v16의 경쇄 및 중쇄 아미노산 서열에 상응하는 서열의 정렬인 각각 서열 28 및 29의 경쇄 및 중쇄 아미노산 서열을 포함하는 2H7.v138인 경우이다. 별법으로, 이러한 바람직한 무손상 인간화 2H7 항체는 N434W의 아미노산 치환을 제외하고는 2H7.v138의 경쇄 및 중쇄 서열을 갖는 2H7.v477이다. 임의 상기 항체는 추가적으로 CDC 활성을 감소시키는 Fc 영역의 1 이상의 아미노산 치환, 예를 들어 적어도 치환 K322A를 포함한다. 미국 특허 제6,528,624 B1호 (Idusogie et al.) 참조.

<81> 가장 바람직한 인간화 2H7 변이체는 서열 2의 가변 경쇄 도메인 및 서열 8의 가변 중쇄 도메인을 갖는 변이체, 즉, Fc 영역에 치환이 있거나 또는 없는 변이체, 및 서열 8내의 변형 N100A 또는 D56A 및 N100A를 갖는 가변 중쇄 도메인 및 서열 2내의 변형 M32L, 또는 S92A, 또는 M32L 및 S92A를 갖는 가변 경쇄 도메인을 가지는 변이체, 즉, Fc 영역에 치환이 있거나 또는 없는 변이체이다. Fc 영역에서 치환이 일어나는 경우, 이는 바람직하게는 하기 표에 기재된 것들 중 하나이다.

<82> 본 발명의 다양한 바람직한 실시태양을 요약하면, 2H7 버전 16에 기초한 변이체의 V 영역은 하기 표에 나타난 아미노산 치환의 위치를 제외하고는 v16의 아미노산 서열을 가질 것이다. 달리 나타내지 않는다면, 2H7 변이체는 v16의 L 사슬과 동일한 L 사슬을 가질 것이다.

2H7 버전	중쇄 (V <sub>H</sub> ) 변화	경쇄 (V <sub>L</sub> ) 변화	Fc 변화
16			-
31	-	-	S298A, E333A, K334A
73	N100A	M32L	
75	N100A	M32L	S298A, E333A, K334A
96	D56A, N100A	S92A	
114	D56A, N100A	M32L, S92A	S298A, E333A, K334A
115	D56A, N100A	M32L, S92A	S298A, E333A, K334A, E356D, M358L
116	D56A, N100A	M32L, S92A	S298A, K334A, K322A
138	D56A, N100A	M32L, S92A	S298A, E333A, K334A, K326A
477	D56A, N100A	M32L, S92A	S298A, E333A, K334A, K326A, N434W
375	-	-	K334L

<83>

<84> 특히 바람직한 인간화 2H7은 가변 경쇄 서열:

DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASSSVSYMHWYQQKPGKAPKPLIYAPSNLASGVPSRFSGSGSGT  
DFTLTISLQPEDFATYYCQQWSFNPTFGQGTKVEIKR (서열 2);

<85>

<86> 및 가변 중쇄 서열:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGAIYPGNGDTSYNQKFK  
GRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVYYYSNSYWFYFDVWGQGLTVTVSS (서열 8).

<87>

<88> 을 포함하는 무손상 항체 또는 항체 단편이다.

<89> 인간화 2H7 항체가 무손상 항체인 경우, 바람직하게는 이는 경쇄 아미노산 서열:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVSYMHWYQQKPGKAPKPLIYAPSNLASGVPSRFSGSGSGT  
DFTLTISLQPEDFATYYCQQWSFNPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN  
FYFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP  
VTKSFNRGEC (서열 13);

<90>

<91> 및 중쇄 아미노산 서열:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGAIYPGNGDTSYNQKFK  
GRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVYYYSNSYWFYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSV  
FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL  
GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC  
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN  
KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT  
TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열 14)

<92>

<93> 또는 중쇄 아미노산 서열:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGAIYPGNGDTSYNQKFK  
GRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVYYYSNSYWFYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSV  
FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL  
GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC  
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNATYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN  
KALPAPIAATISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT  
TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열 15).

<94>

<95> 을 포함한다.

<96> 또다른 바람직한 실시태양, 무손상 인간화 2H7 항체는 경쇄 아미노산 서열:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVSYLHWYQQKPGKAPKPLIYAPSNLASGVPSR  
FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQWAFNPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS  
DEQLKSGTASVCLLNIFYFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLS  
SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열 28)

<97>

<98> 및 중쇄 아미노산 서열:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG  
YTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGAIYPGNGATSYNQKFKGRFTISVDKSKNTLYLQMNSL  
RAEDTAVYYCARVYYYSASYWFYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA  
LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN  
VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC  
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNATYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC  
KVSNAALPAPIAATISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW  
ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSL  
SLSPGK (서열 29).

<99>

<100> 을 포함한다.

<101> "항체-의존성 세포-매개 세포독성" 및 "ADCC"는 Fc 수용체 (FcR)을 발현하는 비특이적 세포독성 세포 (예를 들  
어, 천연 킬러 (NK) 세포, 호중구 및 대식세포)가 표적 세포 상의 결합된 항체를 인식하고 이어서 표적 세포의

용해를 야기하는 세포-매개 반응을 지칭한다. ADCC를 매개하는 1차 세포인 NK 세포는 Fc $\gamma$ RIII만을 발현하는 반면, 단핵구는 Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RRII 및 Fc $\gamma$ RIII를 발현한다. 조혈 세포 상에서의 FcR 발현은 [Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-92 (1991)]의 464면의 표 3에 요약되어 있다. 당해 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위하여, 미국 특허 제5,500,362호 또는 제5,821,337호에 기술된 것과 같은 시험관내 ADCC 분석을 수행할 수 있다. 이같은 분석에 유용한 이펙터 세포에는 말초혈 단핵 세포 (PBMC) 및 천연 킬러 (NK) 세포가 포함된다. 별법으로 또는 추가적으로, 당해 분자의 ADCC 활성은 생체내에서, 예를 들어, [Clynes et al., PNAS (USA) 95:652-656 (1998)]에 개시된 것과 같은 동물 모델에서 평가할 수 있다.

<102> "인간 이펙터 세포"는 하나 이상의 FcR을 발현하고 이펙터 기능을 수행하는 백혈구이다. 바람직하게는, 이러한 세포는 적어도 Fc $\gamma$ RIII를 발현하고 ADCC 이펙터 기능을 수행한다. ADCC를 매개하는 인간 백혈구의 예로는 말초혈 단핵 세포 (PBMC), 천연 킬러 (NK) 세포, 단핵구, 세포독성 T 세포 및 호중구가 포함되는데, PBMC와 NK 세포가 바람직하다.

<103> 용어 "Fc 수용체" 또는 "FcR"은 항체의 Fc 영역에 결합하는 수용체를 기술하기 위해 사용된다. 바람직한 FcR은 천연-서열 인간 FcR이다. 또한, 바람직한 FcR은 IgG 항체와 결합하는 수용체 (감마 수용체)이고, 이것으로는 Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RRII 및 Fc $\gamma$ RIII 서브클래스의 수용체 (이러한 수용체들의 대립유전자 변이체 및 별법적으로 스플라이싱된 형태 포함)가 포함된다. Fc $\gamma$ RRII 수용체에는 Fc $\gamma$ RIIA ("활성화 수용체")와 Fc $\gamma$ RIIB ("억제 수용체")가 포함되고, 이들은 주로 이들의 세포질 도메인에서 상이하지만 유사한 아미노산 서열을 갖는다. 활성화 수용체 Fc $\gamma$ RIIA는 세포질 도메인 내에 면역수용체 티로신계 활성화 모티프 (ITAM)를 함유한다. 억제 수용체 Fc $\gamma$ RIIB는 세포질 도메인 내에 면역수용체 티로신계 억제 모티프 (ITIM)를 함유한다 ([Daeron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997)] 참조). FcR은 [Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991)]; [Capel et al., Immunomethods 4:25-34 (1994)]; 및 [de Haas et al., J. Lab. Clin. Med. 126:330-41 (1995)]에 개시되어 있다. 추후에 확인될 것이 포함되는 기타 FcR이 본원의 용어 "FcR"에 포함된다. 상기 용어에는 모체 IgG를 태아에게 전달하는 것을 담당하는 신생아 수용체 FcRn 또한 포함된다 ([Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976)] 및 [Kim et al., J. Immunol. 24:249 (1994)]).

<104> "보체-의존성 세포독성" 또는 "CDC"는 보체의 존재하에 표적을 용해시키는 분자의 능력을 지칭한다. 보체 활성화 경로는 보체 시스템의 제1 성분 (C1q)이 동족 항원과 복합체를 형성한 분자 (예를 들어 항체)에 결합하는 것에 의해 개시된다. 보체 활성화를 평가하기 위하여, 예를 들어, [Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996)]에 기술된 바와 같은 CDC 분석을 수행할 수 있다.

<105> "성장-억제" 항체는 항체가 결합하는 항원을 발현하는 세포의 증식을 방지하거나 감소시키는 것들이다. 예를 들어, 항체는 B 세포의 증식을 시험관내에서 및/또는 생체내에서 방지하거나 감소시킬 수 있다.

<106> "세포자멸사를 유도"하는 항체는 표준 세포자멸사 분석법 예컨대 아넥신 V의 결합, DNA의 단편화, 세포 수축, 소포체의 팽창, 세포 단편화 및/또는 막 소포 (세포자멸사체 (apoptotic body)로 칭해짐)의 형성에 의해 결정되는 바와 같이 계획된 세포 사멸, 예를 들어 B 세포의 계획된 세포 사멸을 유도하는 것들이다.

<107> 일반적으로 "천연 항체"는 2개의 동일한 경쇄 (L) 및 2개의 동일한 중쇄 (H)로 구성된, 약 150,000 달톤의 이종 사량체성(heterotetrameric) 당단백질이다. 각각의 경쇄는 하나의 디설피드 공유 결합에 의해 중쇄에 연결되는데, 디설피드 연결의 수는 여러 면역글로불린 이소형(isotype)의 중쇄에 따라 다르다. 또한 각각의 중쇄 및 경쇄는 규칙적인 간격의 사슬내 디설피드 다리를 갖는다. 각각의 중쇄는 다수의 불변 도메인이 이어지는 가변 도메인 (V<sub>H</sub>)을 한쪽 말단에 갖는다. 각각의 경쇄는 한쪽 말단에 가변 도메인 (V<sub>L</sub>)을 갖고 다른쪽 말단에 불변 도메인을 갖는다; 경쇄의 불변 도메인은 중쇄의 첫번째 불변 도메인과 정렬되고, 경쇄 가변 도메인은 중쇄의 가변 도메인과 정렬된다. 특정 아미노산 잔기가 경쇄 가변 도메인과 중쇄 가변 도메인 사이의 계면을 형성하는 것으로 여겨진다.

<108> 용어 "가변"은 가변 도메인의 특정 부분이 항체들 간에서 서열이 크게 상이하고 각각의 특정 항체의 특정 항원에 대한 결합 및 특이성에 사용된다는 사실을 지칭한다. 그러나, 가변성은 항체의 가변 도메인 전반에 걸쳐 고르게 분포되지 않다. 가변성은 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 모두에서 초가변 영역으로 칭해지는 3개의 절편에 집중된다. 가변 도메인에서 더욱 고도로 보존된 부분은 프레임워크 영역 (FR)으로 칭해진다. 천연 중쇄 및 경쇄 각각의 가변 도메인은  $\beta$ -시트 구조를 연결하고, 일부 경우에는  $\beta$ -시트 구조의 일부를 형성하는 루프를 형성하는 3개의 초가변 영역에 의해 연결된,  $\beta$ -시트 배열을 주로 채택한 4개의 FR을 포함한다. 각각의 사슬 내의 초가변 영역은 FR에 의해 매우 근접하게 함께 유지되고, 다른쪽 사슬로부터의 초가변 영역들과 함께 항체의 항원-결합 부위를 형성하는데 기여한다 ([Kabat et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed.



Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)] 참조). 불변 도메인은 항체가 항원에 결합하는 데에 직접적으로 관여하지는 않지만, 항체 의존성 세포형 세포 독성 (ADCC)에서의 항체의 참여와 같은 다양한 이펙터 기능을 나타낸다.

- <109> 항체를 파파인(papain)으로 소화시키면 "Fab" 단편이라고 칭해지는, 각각 단일 항원-결합 부위를 갖는 2개의 동일한 항원-결합 단편과, 나머지 "Fc" 단편이 생성되는데, Fc라는 명칭은 쉽게 결정화되는 이의 능력을 반영한 것이다. 펩신으로 처리하면 2개의 항원 결합 부위를 갖고 여전히 항원과 교차결합할 수 있는  $F(ab')_2$  단편이 생성된다.
- <110> "Fv"는 완전한 항원-인식 부위 및 항원-결합 부위를 지닌 최소 항체 단편이다. 이러한 영역은 1개의 중쇄 가변 도메인과 1개의 경쇄 가변 도메인이 단단한 비공유결합으로 결합되어 있는 이량체로 구성된다. 각각의 가변 도메인의 3개의 초가변 영역이 상호작용하여  $V_H$ - $V_L$  이량체의 표면 상에 항원-결합 부위를 규정하는 것은 이러한 배열 내이다. 총괄적으로, 6개의 초가변 영역이 항원-결합 특이성을 항체에 부여한다. 그러나, 단일 가변 도메인 (또는 항원에 특이적인 3개의 초가변성 영역만을 포함한 Fv의 절반)도, 비록 전체 결합 부위보다는 낮은 친화력이지만, 항원을 인식하고 이에 결합하는 능력을 갖는다.
- <111> 또한, Fab 단편은 경쇄의 불변 도메인 및 중쇄의 제1 불변 도메인 (CH1)을 함유한다. Fab' 단편은, 항체 힌지 (hinge) 영역으로부터의 1개 이상의 시스테인을 포함하는 중쇄 CH1 도메인의 카르복시 말단에 몇개의 잔기들이 부가되어 있어서 Fab 단편과 다르다. 본원에서 Fab'-SH는 불변 도메인의 시스테인 잔기(들)이 하나 이상의 유리 티올 기를 갖는 Fab'에 대한 명칭이다.  $F(ab')_2$  항체 단편은 힌지 시스테인을 사이에 갖는 Fab' 단편들의 쌍으로서 최초로 생성되었다. 항체 단편들의 다른 화학적 커플링 또한 공지되어 있다.
- <112> 임의의 척추동물 중으로부터의 항체 (면역글로불린)의 "경쇄"는 불변 도메인의 아미노산 서열을 기초로 하여 카파 ( $\kappa$ ) 및 람다 ( $\lambda$ )로 칭해지는 명백하게 상이한 2가지 유형 중의 하나로 지정될 수 있다.
- <113> 중쇄의 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라, 항체는 여러 클래스로 나누어질 수 있다. 무손상 항체에는 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM의 주요 5개 클래스가 있고, 이들 중 몇몇은 서브클래스 (이소형), 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA 및 IgA2로 추가로 분류될 수 있다. 상이한 클래스의 항체에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\gamma$  및  $\mu$ 로 칭해진다. 상이한 클래스의 면역글로불린의 서브유닛 구조 및 3차원 배열은 유지되어 있다.
- <114> "단일쇄 Fv" 또는 "scFv" 항체 단편은 단일 폴리펩티드 사슬 내에 존재하는 항체의  $V_H$  및  $V_L$  항체 도메인을 포함한다. 바람직하게는, Fv 폴리펩티드는 scFv가 항원 결합을 위한 원하는 구조를 형성할 수 있도록 하는  $V_H$  및  $V_L$  도메인 간의 폴리펩티드 링커를 추가로 포함한다. scFv의 개관을 위해서는, [Pluckthun, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)] 참조.
- <115> 용어 "디아바디"는 동일한 폴리펩티드 사슬 ( $V_H$ - $V_L$ ) 내의 경쇄 가변 도메인 ( $V_L$ )에 연결된 중쇄 가변 도메인 ( $V_H$ )을 포함하는, 2개의 항원-결합 부위를 갖는 소형 항체 단편을 의미한다. 동일한 사슬 상의 두 도메인 간에 쌍을 형성하도록 하기에는 너무 짧은 링커를 사용함으로써, 도메인은 또다른 사슬의 상보적 도메인과 쌍을 이루도록 강요되고, 2개의 항원-결합 부위가 생성된다. 디아바디는, 예를 들어, EP 404,097; WO 93/11161; 및 [Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993)]에 더욱 상세하게 기술되어 있다.
- <116> 본원에서 사용된 용어 "모노클로날 항체"는 실질적으로 균질한 항체들의 집단으로부터 수득된 항체를 지칭하는데, 즉 집단을 이루는 개별적인 항체들은 모노클로날 항체 생산 동안 발생할 수 있는 미량으로 존재하는 변이체를 제외하고는 동일하고/거나 동일한 에피토프에 결합한다. 또한, 여러 결정인자 (에피토프)에 대해 지시된 여러 항체를 전형적으로 포함하는 통상적인 폴리클로날 항체 제제와는 반대로, 각각의 모노클로날 항체는 항원 상의 단일 결정인자에 대해 지시된다. 이의 특이성에 더하여, 모노클로날 항체는 이들이 다른 면역글로불린에 오염되지 않는다. 수식어구 "모노클로날"은 실질적으로 균질한 항체 집단으로부터 수득된 항체의 특성을 가리키는 것이며, 임의의 특정한 방법에 의한 항체 생산을 요구하는 것으로 해석되어서는 안된다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용될 모노클로날 항체는 [Kohler et al., Nature, 256:495(1975)]에 최초로 기술된 하이브리도마 방법으로 제조할 수 있거나, 또는 재조합 DNA 방법 (예를 들어, 미국 특허 제4,816,567호 참조)으로 제조할 수 있다. 또한 "모노클로날 항체"는, 예를 들어, [Clackson et al., Nature, 352:624-628(1991)] 및 [Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581-597(1991)]에 기술된 기술을 이용하여 과지 항체 라이브러리로부터 단리할 수 있

다.

- <117> 본원에서 모노클로날 항체에는 중쇄 및/또는 경쇄의 일부분이 특정 종으로부터 유래되거나 또는 특정 항체 클래스 또는 서브클래스에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 상동성이고, 사슬(들)의 나머지부분은 또다른 종으로부터 유래되거나 또다른 항체 클래스 또는 서브클래스에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 상동성인 "키메라" 항체 (면역글로불린), 뿐만 아니라 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한 이같은 항체의 단편이 특히 포함된다 (미국 특허 제4,816,567호; [Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855(1984)]). 본원에서 당해 키메라 항체에는 비-인간 영장류 (예를 들어, 구대륙 원숭이, 예컨대 개코원숭이, 붉은털 원숭이 또는 사이노몰거스 원숭이)로부터 유래된 가변 도메인 항원-결합 서열 및 인간 불변-영역 서열을 포함하는 "영장류화(primitized)" 항체가 포함된다 (미국 특허 제5,693,780호).
- <118> 비-인간 (예를 들어, 무린) 항체의 "인간화" 형태는 비-인간 면역글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 항체이다. 대부분의 부분에 대해서, 인간화 항체는 수용자의 초가변 영역으로부터의 잔기가 원하는 특이성, 친화성 및 능력 갖는 마우스, 래트, 토끼 또는 비-인간 영장류와 같은 비-인간 종의 초가변 영역 (공여자 항체)으로부터의 잔기로 대체된 인간 면역글로불린 (수용자 항체)이다. 일부 경우에는, 인간 면역글로불린의 프레임워크 영역 (FR) 잔기가 상응하는 비-인간 잔기로 대체된다. 또한, 인간화 항체는 수용자 항체에서 또는 공여자 항체에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이러한 변형은 항체의 성능을 더욱 정련시키기 위해 이루어진다. 일반적으로, 인간화 항체는 1개 이상, 전형적으로는 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함하고, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 초가변 루프는 비-인간 면역글로불린의 초가변 루프에 상응하고 모든 또는 실질적으로 모든 FR은 상기 언급한 FR 치환(들)을 제외하고는 인간 면역글로불린 서열의 것이다. 또한 인간화 항체는 면역글로불린 불변 영역 (Fc)의 적어도 일부, 전형적으로는 인간 면역글로불린의 것을 임의로 포함할 것이다. 추가적인 상세사항은 [Jones et al., Nature, 321:522-525 (1986)]; [Riechmann et al., Nature, 332:323-329 (1988)]; 및 [Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992)] 참조.
- <119> 본원에 사용된 용어 "초가변 영역"은 항원 결합을 담당하는 항체의 아미노산 잔기를 지칭한다. 초가변 영역은 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"로부터의 아미노산 잔기 (예를 들어, 경쇄 가변 도메인 내의 잔기 24-34 (L1), 50-56 (L2) 및 89-97 (L3), 및 중쇄 가변 도메인 내의 31-35 (H1), 50-65 (H2) 및 95-102 (H3); [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)] 및/또는 "초가변 루프"로부터의 잔기 (예를 들어, 경쇄 가변 도메인 내의 잔기 26-32 (L1), 50-52 (L2) 및 91-96 (L3) 및 중쇄 가변 도메인 내의 26-32 (H1), 53-55 (H2) 및 96-101 (H3); [Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)])를 포함한다. "프레임워크" 또는 "FR" 잔기는 본원에서 정의된 초가변 영역 잔기 이외의 가변 도메인 잔기이다.
- <120> "순수 항체 (naked antibody)"는 이중 분자, 예컨대 세포독성 잔기 또는 방사선표지에 접합되지 않은 (본원에서 정의한 바와 같은) 항체이다.
- <121> "단리된" 항체는 천연 환경의 성분으로부터 확인 및 분리 및/또는 회수된 것이다. 천연 환경의 오염 성분은 항체가 진단 또는 치료에 사용되는 것을 방해하는 물질이고, 효소, 호르몬 및 기타 단백질성 또는 비-단백질성 용질을 포함할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 항체는 (1) 로우리(Lowry) 방법으로 측정시의 항체의 95 중량%를 초과하는 정도, 가장 바람직하게는 99 중량%를 초과하는 정도로, (2) 스피닝 컵 서열분석기 사용에 의해 N-말단 또는 내부 아미노산 서열의 잔기 15개 이상을 얻기에 충분한 정도로, 또는 (3) 쿠마시 블루 또는 바람직하게는 은 염색을 이용하는 환원 또는 비-환원 조건하에서의 SDS-PAGE에 의한 균질성 정도로 정제될 것이다. 단리된 항체에는 재조합 세포내의 계내 항체를 포함하는데, 이는 항체의 천연 환경의 하나 이상의 성분이 존재하지 않을 것이기 때문이다. 그러나, 통상적으로, 단리된 길항체는 1회 이상의 정제 단계를 통해 제조될 것이다.
- <122> 본원에서 사용된 "ANCA-관련 혈관염" 또는 "항호중구 세포질 항체-관련 혈관염" 또는 "AAV"는 순환 항호중구 세포질 항체 (ANCA)가 대상체의 혈액에 일반적으로 존재하는 전신 혈관염 (또는 혈관벽의 염증)을 포함하는 자가 면역 질환 또는 장애이며, 또는 하기 언급하는 바와 같은 혈관염으로 정의되는 다른 임상 증세가 존재한다. 본원에서 사용된 용어 "ANCA-관련 혈관염"은 유형 및 단계 또는 중증도와 상관없이, 증후가 명백한지와 상관없이, 진단된 ANCA-관련 혈관염에 적용된다. ANCA-관련 혈관염의 예는 현미경적 다발성혈관염, 베게너 육아종증, 초크-스트라우스 증후군, 신장-제한된 혈관염 (특발성 괴사성 반원형 사구체신염), 및 특정형의 약물-유도 혈관염을 포함한다. ANCA-관련 혈관염 및 이의 다양한 증세의 진단은 하기 기재하는 것들을 포함한다.
- <123> 몇몇 진단성 시험은 통상적으로 ANCA-관련 혈관염을 가질 것이라고 의심되는 사람들에게 사용된다. 혈관염성 장애의 특이적 유형을 정의하는데 도움이 될 수 있는 특징은 기관 병발의 유형, ANCA의 존재 및 유형 (미엘로퍼

옥시다제-ANCA 또는 프로테이나제 3-ANCA), 혈청 한랭글로불린혈증의 존재, 및 육아종성 염증에 대한 증거의 존재를 포함한다.

<124> ANCA-관련 혈관염과 관련된 예시적인 자가항체는 증가된 농도의 항핵항체 (ANA), 항류마티스 인자 (RF) 항체, 크레아티닌, 혈중 요소 질소, 항-내피성 항체, 항호중구 세포질 항체 (ANCA), 예컨대 프로테이나제 3 (PR3) 또는 미엘로퍼옥시다제 (MPO), 또는 이들의 조합에 대해 지시된 자가항체를 포함한다.

<125> ANCA 항체는 PR3-ANCA 및 MPO-ANCA를 특징으로 하는 항원-특이적인 면역화학적 분석법을 사용하여 검출될 수 있다. [Niles et al., 상기 문헌]. ANCA에 대한 ELISA 시험은 ANCA-관련 혈관염에 대해 실질적으로 높은 양성 예상 값 및 가능도비와 관련이 있기 때문에, ELISA 시험은 면역형광을 통해 ANCA에 대해 양성인 시료에 대해서만 수행될 수 있다. [Stone et al., Arthritis Care and Research, 13: 424-34 (2000)], [Comment on Arthritis Care Res 13: 341-342 (2000)], [Russell et al., Clin Immunol, 103: 196-203 (2002)].

<126> 하지만, 현미경적 다발성혈관염 (ANCA-관련 혈관염의 가장 통상적인 유형) 및 베게너 육아종증이 있는 약 10 %의 환자에서 ANCA에 대한 음성 분석값을 가지며, 이러한 소견으로는 이들 질환을 완전히 판명하지 못하며, ANCA 역가가 언제나 질환 활동성과 서로 관련이 있는 것은 아니다. [Jennette and Falk, N. Engl J. Med., 상기 문헌]. 한편, 양성 ANCA 분석 결과가 ANCA-관련 혈관염의 유일한 특징이 아니다.

<127> 표 1은 ANCA-관련 혈관염의 잠재적 임상 증세를 요약한 것인데, 이는 감염성 또는 악성 프로세스에 의해 야기되지 않는 다체계 질환 (예를 들어, 신장 기능장애, 피부 발진, 폐 증세, 또는 신경학적 증세)이 있는 임의의 환자로 의심해보아야만 한다. 체질적 증세가 통상적이다. 다양한 계 (system) 병발의 빈도 및 조합은 개별 질환 실체에 따라 다양하다. 또한 [Guillevin et al. Arthritis Rheum. 42:421-430 (1999)]; [Pettersson et al., Clin. Nephrol. 43: 141-149 (1995)]; [Savage et al., Lancet 349:553-558 (1997)]; [Guillevin et al., Br. J. Rheumatol 35:958-964 (1996)] 참조.

## 【표 1】

ANCA-관련 혈관염의 임상적 증세

계	증세
체질성	열, 체중 감소, 식욕부진, 일반적 권태감
근골격계	근육통, 관절통
피부	촉지성 자색반, 두드러기
신장	단백뇨, 혈뇨, 신기능부전, 신부전, 피사성 사구체신염
기도	호흡곤란, 기침, 객혈; 폐 침윤, 간질 폐질환, 폐출혈
신경계	말초 신경병증, 특히 홀신경염
위장관	분변혈, 간 효소 상승; 설사, 구역, 구토, 복부 통증

<128> 가장 통상적인 피부 병변은 보통 하지에서 시작되는 약한 융기성 비-창백 발진인, 촉지성 자색반이다. 때때로, 발진은 소포성이거나 또는 약하게 궤양을 형성한다. 두드러기 또한 ANCA-관련 혈관염의 증세일 수 있다. 비혈관염성 알레르기성 두드러기와는 달리, 혈관염 두드러기는 1 일 이상 지속되며, 자반성 병변으로 발전할 수 있다. 저보체혈증은 혈관염이 ANCA-관련 혈관염인 경우보다 면역 복합체-매개인 경우에 나타날 수 있다.

<130> 혈관염의 신장 병발은 신부전으로 진행할 수 있다. 신장의 생검 결과는 통상적으로 사구체신염으로 밝혀진다. 국소 피사, 반월상 형성 및 면역글로불린 침착물의 부재 또는 불충분이 ANCA-관련 혈관염이 있는 환자의 사구체신염의 특징이다. [Pettersson et al., Clin. Nephrol. 43:141-149 (1995)]. 폐 병발은 순간적인 (fleeting)

국소 침윤물 또는 간질 (interstitial) 질환에서부터 광범위 폐 출혈성 폐포 모세혈관염에까지 이른다. 후자는 소혈관 혈관염 중 가장 생명을 위협하는 것이다.

<131> 한편, 다체계 증세를 나타내는 다른 질환으로부터 ANCA-관련 혈관염을 구분하는 것이 중요하다. 상이한 기관에서 광범위한 색전형성을 가지는 질환 (예를 들어, 죽종성색전성 질환, 심장내막염, 항인지질 증후군, 및 심방점액종)은 유사한 임상 형태를 생성할 수 있다. [Kelley, "Vasculitis and related disorders" In: Textbook of rheumatology. 5th ed. (Philadelphia: Saunders, 1997), pp.1079-1101]. 폐혈증이 있는 사람 또는 다체계 병발이 나타날 수 있다. ANCA-관련 혈관염이 감염 또는 악성종양에 속발성일 수 있음을 인식하는 것 또한 중요하다. 몇몇 바이러스성, 박테리아성, 및 진균성 감염이 주로 진피 혈관염인 혈관염과 합병을 일으킬 수 있다. 진단은 임상 병력을 통해 추측한다. 악성종양, 예컨대 림프종, 백혈병, 골수증식, 및 골수형성이상 증후군은 ANCA-관련 혈관염과 관련이 있을 수 있으나, 고형 종양은 이러한 혈관염과 통상적으로 관련이 적다. ANCA 분석이 양성이라 하더라도, 잠재적 감염성 또는 악성 원인을 철저히 평가한 뒤에 ANCA-관련 혈관염의 진단이 행해져야만 한다.

<132> 표 2는 혈관염의 특이적 유형 진단에 도움이 될 수 있는 몇몇 임상 특징을 나타낸다. 실험실 측정은 전체 혈구 개수 및 통상적인 화학 프로파일, 요검사, 대변 잠혈 검사, 및 단순 흉부촬영상을 포함하여야만 한다. 정상적 혈구 빈혈, 혈소판증가증, 적혈구 침강 속도 상승, 증가된 간 기능 또는 신장 병발의 증거가 있을 수 있으며, 또는 신장 병발 ANCA 혈청 농도의 상승 또한 측정될 수 있다. ANCA-관련 혈관염을 배제하기 위해 행해져야만 하는 다른 실험실 시험은 항핵항체, 류마티스 인자, 한랭글로불린혈증, 보체, 간염 B 및 C에 대한 항체, 및 인간 면역결핍 바이러스 (HIV) 시험을 포함한다. 적절하게는, 흉부 및 동굴 전산화 단층촬영 스캔 또한 행해질 수 있다. 병발 조직 (예를 들어, 피부, 신경, 폐, 또는 신장)의 병적 조사는 ANCA-관련 혈관염의 유형을 알아내는데 도움이 될 수 있다. 생검은 증후성이고 접근가능한 부위로부터 얻어져야만 한다. 무증상 부위로부터의 생검은 양성 결과의 낮은 수득률을 보인다.

## 【표 2】

혈관염의 특이형의 진단을 용이하게 하는 임상적 특징

임상적 특징	혈관염의 가능형
폐 및 신장 증후군	베게너 육아종증, 현미경적 다발성혈관염
폐-진피 증후군	한랭글로불린혈증, 헤노흐-셰라인 (Henoch-Schonlein) 자색반
천식 및 호산구증가증	초크-스트라우스 증후군
상기도 병발	베게너 육아종증 (예, 부비동염 및 중이염)

<133>

<134> 표 2의 정보는 [Jennette and Falk, N Engl. J. Med. , 상기 문헌], 및 [Kelley, 상기 문헌]에 의한 것이다.

<135> 베게너 육아종증은 보통 중간 크기의 혈관에서 병발하는 사구체신염 및 전신 혈관염과 함께, 실질의 육아종 및 괴사 형성을 포함하는, 상기도 및 하기도의 괴사성 육아종을 특징으로 한다. [Kelley, 상기 문헌]. 상기도 징후 및 증상은 동굴염, 비궤양, 중이염, 또는 청력 상실을 포함한다. 상기도 징후 및 증상은 70 %의 환자에서 나타나며 공동을 형성할 수 있는 폐 침윤물 또는 소절은 85 %의 환자에서 발병한다. [Kelley, 상기 문헌]. 75 내지 90 %에서 혈청 항프로테아제 3-ANCA (c-ANCA)가 양성이라 하더라도, 20 %만이 p-ANCA에 양성일 수 있다. 개흉폐 생검이 가장 정확한 진단성 시험이다. 동굴 생검은 단지 30 %의 경우에서만 진단성인데 이는 염증성 소견이 종종 비특이적이 때문이며 신장 생검 또는 상대적으로 비특이적이다. 방사선촬영으로 폐포 및 간질 모두에서 중앙 및 하부 영역에 광범위한 불투명성이 발견된다. 공동을 형성할 수 있는 소절은 어린이에게서는 드물다. CT 스캐닝은 병이 있음을 의미하는 광범위한 혈관주위 불투명성을 나타낼 수 있다. 베게너 육아종증은 임의의 연령의 환자에게 영향을 미칠 수 있지만, 40 대 동안 가장 많이 발생하며, 남성에서 약간 더 통상적이다. [Duna et al., Rheum. Dis. Chn North Am 21: 949-986 (1995)]. 베게너 육아종증을 진단하는 가장 명확한 방법은 병발된 기관 부위 (보통 동굴, 폐 또는 신장)의 생검을 수행하여, 질환원 특징인 혈관염 및 육아종의 존재를 확인하는 것이다.

<136> 현미경성 다발혈관염은 ANCA의 존재 및 병발된 혈관에 면역 침착물이 거의 없거나 또는 전혀 없는 것을 특징으로 한다. [Savage et al., Lancet 349: 553-558 (1997)]. 신장은 이러한 유형의 혈관염이 있는 90 %의 환자



에서 가장 통상적으로 영향을 받는 기관이다. [Kelley, 상기 문헌]. 환자는 신장 증세, 측지성 자색반, 복부 통증, 기침, 및 객혈의 가변적인 조합을 나타낸다. 대부분의 환자에서 MPO-ANCA (p-ANCA)는 양성이지만, 40 %의 환자에서만 PR3-ANCA (c-ANCA)이 존재할 수 있다. 발현의 가장 통상적인 연령은 40 내지 60 세이며, 가장 통상적인 성은 남성이다.

<137> 초크-스트라우스 증후군은 희귀병이며 알레르기성 비염 및 천식, 폐렴과 유사한 호산성 침윤성 질환, 및 육아종성 염증을 갖는 전신 소혈관 혈관염의 3 단계를 가진다. [Guillevin et al., Br. J. Rheumatol, 35:958-964 (1996)]. 혈관염 단계는 보통 천식 발현의 3 년 이내에 발병한다. 거의 모든 환자가 혈액 내에 10 % 이상의 호산구를 가진다. 관상 동맥염 및 심근염은 이환율 및 사망률의 주요 원인이다. 발현 연령은 15 세부터 70 세까지 다양하며, 남성에서 더욱 통상적이다. 약물-유도 혈관염은 보통 약물을 시작한 후 7 내지 21 일 이내에 발병하며, 피부에 한정될 수 있다. [Jennette and Falk, N. Engl. J. Med., 상기 문헌]. 피부 병변은 전신 소혈관 혈관염에서 나타나는 것과 동일하다. 약물은 대략 10 %의 혈관염 피부 병변을 일으킨다. 관련된 약물에는 페니실린, 아미노페니실린, 숄폰아미드, 알로푸리놀, 티아지드, 퀴놀론, 히단토인, 및 프로필티오우라실 포함된다. 몇몇 약물, 예컨대 프로필티오우라실 및 히드랄라진 (APRESOLINE™)이 ANCA를 유도함으로써 혈관염을 일으키는 것으로 보인다.

<138> 활동성 질환을 시험하고 치료에 적극적인 환자/대상을 결정하는 또다른 방법은 환자의 버밍엄(Birmingham) 혈관염 활성 스코어/베게너 육아종증 (BVAS/WG) 값을 통해 주요한 것인지 또는 사소한 것인지를 결정하는 것이다. 이 스코어는 혈관염 활성의 지표이며 활동성 베게너 육아종증에 기인한 직접적인 임상 특징을 나타내도록 고안된 것이다. 이는 베게너 육아종증에 대한 유효하고 신뢰성 있는 질환-특이적인 표지로 밝혀졌다. [Stone et al., Arthritis & Rheumatism, 44:912-920 (2001)]. 이는 다른 ANCA-관련 혈관염 질환에도 또한 사용될 수 있다. 기구는 지속적 활성을 나타내는 특징으로부터 신규하거나 또는 악화된 질환 활동성을 나타내는 특징을 분리한다. 통상적으로 환자의 BVAS/WG 스코어는 3 이상이다 (또는 치료한지 28 일 이내에는 3 이상이었음). BVAS/WG 평가 형태의 각각의 주요 아이템에는 3점을 준다. 각각의 사소한 (minor) 아이템에는 1점을 준다. 한편, 사용되는 또다른 특징은 처음 발현 또는 재발의 급성 질환은 10 이상의 BVAS/WG를 나타내며, 반면 지속적 질환은 4 이상의 BVAS/WG를 나타낸다는 것이다. 림프구감소증 또한 베게너 육아종증의 좋은 마커일 수 있다. [Izzedme et al., Nephron 92:466-471 (2002)].

<139> 본원의 "대상체"는 ANCA-관련 혈관염의 1 이상의 징후, 증상 또는 다른 표지를 경험중이거나 또는 경험하였거나, 예를 들어 새롭게 진단받았거나 또는 이전에 진단받았는지 상관없이 ANCA-관련 혈관염으로 진단 받았고, 현재 ANCA-관련 혈관염의 재발을 겪고있거나 또는 ANCA-관련 혈관염이 발병할 위험성이 있는, ANCA-관련 혈관염 치료에 적극적인 환자를 포함하는 인간 대상체이다. 대상체는 이전에 CD20 항체로 치료받았을 수도 있고 또는 치료받지 않았을 수도 있다. 경우에 따라서, ANCA-관련 혈관염의 치료에 적극적인 대상체는 혈액에서 침윤성 CD20 세포의 농도 증가가 스크리닝되었거나 또는 분석법을 사용하여 스크리닝시 자가항체가 검출된 대상체일 수 있는데, 이때 자가항체 생산은 정성적으로, 바람직하게는 정량적으로 측정된다.

<140> 본원의 "환자"는 ANCA-관련 혈관염의 1 이상의 징후, 증상 또는 다른 표지를 경험중이거나 또는 경험하였거나, 예를 들어 새롭게 진단받았거나 또는 이전에 진단받았고, 현재 재발을 겪고있는, ANCA-관련 혈관염 치료에 적극적인 인간 대상체이다. 환자는 이전에 CD20 항체로 치료받았을 수도 있고 또는 치료받지 않았을 수도 있다. 경우에 따라서, ANCA-관련 혈관염의 치료에 적극적인 환자는 상기 언급한 바와 같이, 분석법을 사용하여 스크리닝시 자가항체가 검출된 환자일 수 있는데, 이때 자가항체 생산은 정성적으로, 바람직하게는 정량적으로 측정된다.

<141> 본원에서 대상체의 "치료"는 치료용 처치 및 예방용 또는 방지용 조치 모두를 지칭한다. 치료를 필요로 하는 대상체에는 이미 ANCA-관련 혈관염을 앓고 있는 대상뿐만 아니라, ANCA-관련 혈관염을 예방하려는 대상체도 포함된다. 따라서, 대상체는 ANCA-관련 혈관염을 앓고 있는 것으로 진단되었거나, 또는 ANCA-관련 혈관염에 걸리기 쉽거나 또는 민감할 수 있다.

<142> 본원에서 환자의 "치료"는 치료용 처치를 지칭한다. 치료를 필요로 하는 환자는 ANCA-관련 혈관염을 앓고 있는 것으로 진단된 환자이다.

<143> 본원의 목적에 있어서, 그/그녀가 활동성 ANCA-관련 혈관염 질환의 어떠한 증상, 예컨대 본원에 개시된 방법으로 검출될 수 있는 어떠한 증상도 없으며, B 세포의 재구성 및 일치하거나 또는 이후 B 세포의 재구성이 나타나는 ANCA 역가의 재발 또는 ANCA 역가 상승도 없었던 경우라면, 환자 또는 대상체는 "완화"된 것인데, 이는 ANCA 농도의 지속 및 재발은 베게너 육아종증으로부터의 임상적 완화에 있는 환자의 재발을 예측하는 것으로 밝혀졌기 때문이다. [Boomsma et al., rthritis Rheum., 43:2025-2033 (2000)]. 완화되지 않은 환자 또는 대상체에

는 예를 들어, B 세포의 재구성 후 질환 발적을 경험한 자, 신장 손상과 같은 기관 손상을 앓은 자, 또는 무증상이나 B 세포의 재구성과 일치하거나 또는 이후 B 세포의 재구성이 나타나는 ANCA의 재발 또는 ANCA 역가 상승을 가졌던 자를 포함한다. 활동성 질환 및/또는 기관의 손상을 포함하는 이러한 증상의 재발을 경험하거나, 또는 ANCA 역가 재발 또는 상승이 나타난 대상체 및 환자는 "재발"되었었거나 또는 "재발"된 대상체 및 환자이다.

<144> ANCA-관련 혈관염의 "증후군"은 대상체 또는 환자가 겪게되며 질환을 암시하는, 정상 구조, 정상 기능, 또는 정상 감각으로부터의 이탈 또는 임의의 병적 현상인데, 예컨대 상기 언급된 것들이 있다.

<145> 표현 "유효량"이란 ANCA-관련 혈관염의 치료에 유효한 항체 또는 길항제의 양을 지칭한다.

<146> "항체 노출"이란 약 1 일 내지 약 5 주에 걸쳐 투여되는 1회 이상의 용량의 본원의 항체와 접촉시키거나 또는 이에 노출시키는 것을 지칭한다. 용량은 한번에 또는 상기 노출 기간에 걸쳐 고정된 또는 불규칙적 시간 간격으로, 예를 들어, 4 주 동안 매주 1회 용량 또는 약 13 내지 17 일의 간격으로의 2회 분할 용량으로 주어질 수 있다. 초기 및 후속 항체 노출은 본원에서 상세하게 기술하는 바와 같이 일정시간에 의해 서로 분리된다.

<147> "초기 노출로부터" 또는 임의의 이전 노출로부터 임의의 시간 후에 제공되거나 또는 투여되는 노출이란 만약 노출을 위해 1 이상의 용량이 투여된다면, 제2 또는 후속 노출을 위한 시간이 이전 노출로부터 임의의 용량이 투여된 시간으로부터 측정된 것을 의미한다. 예를 들어, 초기 노출시 2회 용량이 투여된다면, 제2 노출은 이전 노출에서 제1 용량 또는 제2 용량이 투여된 시간으로부터 측정하여 적어도 약 16 내지 54 주 후에 주어지게 된다. 유사하게, 3회 용량이 투여된다면, 제2 노출은 이전 노출에서 제1 용량, 제2 용량 또는 제3 용량의 시간으로부터 측정될 수 있다. 바람직하게는, "초기 노출로부터" 또는 임의의 이전 노출로부터란 제1 용량의 시간으로부터 측정된다.

<148> 보조 요법을 위해 본원에서 사용된 용어 "면역억제제"는 본원에서 치료될 포유동물의 면역계를 억제하거나 차폐하는 작용을 하는 물질을 지칭한다. 사이토카인 생산을 억제하거나, 자가-항원 발현을 하향조절 또는 억제하거나, MHC 항원을 차폐하는 물질이 포함된다. 이같은 면역억제제의 예로는 2-아미노-6-아릴-5-치환 피리미딘 (미국 특허 제4,665,077호), 비스테로이드 항염증 약물 (NSAIDs), 간시클로버, 타크몰리무스, 글루코코르티코이드 예컨대 코르티솔 또는 알도스테론, 항-염증제 예컨대 시클로옥시게나제 억제제, 5-리폭시게나제 억제제, 또는 루코트리엔 수용체 길항제, 푸린 길항제 예컨대 아자티오프린 또는 미코페놀레이트 모페틸 (MMF), 알킬화제 예컨대 시클로포스파미드, 브로모크립틴, 다나졸, 답손, 글루타르알데히드 (미국 특허 제4,120,649호에 기술된 바와 같이 MHC 항원을 차폐함), MHC 항원 및 MHC 단편에 대한 항-개별특이형 항체, 시클로스포린 A; 스테로이드 예컨대 코르티코스테로이드 또는 글루코코르티코스테로이드 또는 글루코코르티코이드 유사체, 예를 들어, 프레드니손, SOLUMEDROL® 메틸프레드니솔론 소듐 숙시네이트를 포함하는 메틸프레드니솔론, 및 텍사메타손, 디히드로폴레이트 환원효소 억제제 예컨대 메토타렉세이트 (경구 또는 피하), 항말라리아제 예컨대 클로로퀸 및 히드록시클로로퀸, 술파살라진, 레플루노미드; 항-인터페론- $\alpha$ ,  $\beta$ , 또는  $\gamma$  항체, 항-종양 괴사 인자 (TNF)- $\alpha$  항체 (인플릭시맵 또는 아달리무맵), 항-TNF $\alpha$  면역접합체 (이테너셉트), 항-TNF- $\beta$  항체, 항-인터루킨-2 (IL-2) 항체 및 항-IL-2 수용체 항체, 및 항-인터루킨 (IL-6) 수용체 항체 및 길항제가 포함되는, 사이토카인 또는 사이토카인 수용체 길항제; 항-CD11a 및 항-CD18 항체가 포함되는 항-LFA-1 항체; 항-L3T4 항체; 이중 항-림프구 글로불린; 폴리클로날 또는 pan-T 항체, 바람직하게는 항-CD3 또는 항-CD4/CD4a 항체; LFA-3 결합 도메인을 함유하는 가용성 펩티드 (1990년 7월 26일 공개된 WO 90/08187); 스트렙토키나제; 전환 성장 인자-베타 (TGF-베타), 스트렙토도나제; 숙주로부터의 RNA 또는 DNA; FK506; RS-61443; 클로람부실; 테옥시스퍼구알린; 라파마이신; T-세포 수용체 (Cohen et al., 미국 특허 제5,114,721호); T-세포 수용체 단편 ([Offner et al. Science, 251:430-432 (1991)]; WO 1990/11294; [Ianeway, Nature, 341:482 (1989)]; 및 WO 1991/01133), BAFF 길항제 예컨대 BAFF 항체 및 BR3 항체 및 zTNF4 길항제 (개발을 위해서는, [Mackay 및 Mackay, Trends Immunol., 23 113-5 (2002)] 참조 및 또한 하기의 정의 참조); CD40-CD40 리간드에 대한 항체를 차단하는 것을 포함하는, T 세포 보조 신호, 예컨대 항-CD40 수용체 또는 항-CD40 리간드 (CD154)를 방해하는 생물학적 제제, (예를 들어, [Dune et al., Science, 261:1328-30 (1993)]; [Mohan et al., J Immunol., 154:1470-80 (1995)]) 및 CTLA4-Ig (Finck et al., Science, 265: 1225-7 (1994)); 및 T-세포 수용체 항체 (EP 340,109) 예컨대 T10B9가 포함된다. 본원의 몇몇 바람직한 면역억제제는 시클로포스파미드, 클로람부실, 아자티오프린, 레플루노미드, MMF, 또는 메토타렉세이트를 포함한다.

<149> 본원에서 사용된 용어 "세포독성제"는 세포의 기능을 억제 또는 방지하고/하거나 세포의 파괴를 야기하는 물질을 지칭한다. 이 용어는 방사성 동위원소 (예를 들어  $^{211}\text{At}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{188}\text{Re}$ ,  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{212}\text{Bi}$ ,  $^{32}\text{P}$  및 Lu의 방사성 동위원소), 화학요법제, 및 박테리아, 진균류, 식물 또는 동물 기원의 효소적으로 활성인 독소 또는

소분자 독소와 같은 독소, 또는 이의 단편을 포함하도록 의도된다.

<150>

"화학요법제"는 암의 치료에 유용한 화학 화합물이다. 화학요법제의 예로는 알킬화제 예컨대 티오테파 및 시클로스포스파미드(CYTOXAN®); 알킬 술포네이트 예컨대 부솔판, 임프로솔판 및 피포솔판; 아지리딘 예컨대 벤조도파, 카르보퀴온, 메투레도파, 및 우레도파; 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포라미드, 트리에틸렌티오포스포라미드 및 트리에틸렌올로멜라민이 포함되는, 에틸렌이민 및 메틸아멜라민; 아세토게닌 (특히 불라타신 및 불라타시논); 델타-9-테트라히드로칸나비올 (드로나비올, MARINAL®); 베타-라파콘; 라파콜; 콜치신; 베틀린산; 캄프토테신 (합성 유사체 토포테칸 (HYCAMTIN®), CPT-11 (이리노테칸, CAMPTOSAR®), 아세틸캄프토테신, 스코폴렉틴, 및 9-아미노캄프토테신 포함); 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065 (이의 아도젤레신, 카르젤레신 및 비젤레신 합성 유사체 포함); 포도필로톡신; 포도필린산; 테니포시드; 크립토파이신 (특히 크립토파이신 1 및 크립토파이신 8); 둘라스타틴; 듀오카르마이신 (합성 유사체인 KW-2189 및 CB1-TM1 포함); 엘레우테로빈; 판크라티스타틴; 사르코키타인; 스폰지스타틴; 질소 머스타드 예컨대 클로람부실, 클로르나파진, 클로로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파미드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥시드 히드로클로라이드, 멜팔란, 노벤비친, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파미드, 우라실 머스타드; 니트로소우레아 예컨대 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴, 및 라니무스틴; 항생제 예컨대 엔다이인 항생제 (예를 들어, 칼리키아마이신, 특히 칼리키아마이신 감마 II 및 칼리키아마이신 오메가 II (예를 들어, [Agnew, Chem Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994)] 참조); 다이네마이신 A가 포함되는 다이네마이신; 에스페라마이신; 뿐만 아니라 네오카르지노스타틴 발색단 및 관련된 색단백질 엔다이인 항생제 발색단), 아클라시노마이신, 악티노마이신, 오프라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 각티노마이신, 카라바이신, 카르미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이시니스, 닥티노마이신, 다우노루비신, 텍토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, 독소루비신 (ADRIAMYCIN®, 모르폴리노-독소루비신, 시아노모르폴리노-독소루비신, 2-피롤리노-독소루비신, 독소루비신 HCl 리포솜 주입 (DOXIL®) 및 테옥시독소루비신 포함), 에피루비신, 에소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신 예컨대 미토마이신 C, 마이코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 페폴로마이신, 포트피로마이신, 푸로마이신, 켈라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니맥스, 지노스타틴, 조루비신; 항-대사물질 예컨대 메토타렉세이트, 겐시타빈 (GEMZAR®), 테가푸르 (URTORAL®), 카페시타빈 (XELODA®), 에포틸론 및 5-플루오로우라실 (5-FU); 염산 유사체 예컨대 데노프테린, 프테로프테린, 트리에트렉세이트; 푸린 유사체 예컨대 플루다라빈, 6-메르캅토푸린, 티아미프린, 티오구아닌; 피리미딘 유사체 예컨대 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자유리딘, 카르모푸르, 사이타라빈, 디데옥시유리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 플록스유리딘; 항-부신제 예컨대 아미노글루테티미드, 미토탄, 트릴로스탄; 염산 보충물 예컨대 프롤린산; 아세글라톤; 알도포스파미드 글리코시드; 아미노레볼린산; 에닐우라실; 암사크린; 베스트라부실; 비산트렌; 에다트렉세이트; 데포파민; 데메콜신; 디아지퀴온; 엘포르니틴; 엘리프티늄 아세테이트; 에포틸론; 에토글루시드; 질산갈륨; 히드록시우레아; 렌티난; 로니다이인; 마이탄시노이드 예컨대 마이탄신 및 안사미토신; 미토구아존; 미톡산트론; 모피단물; 니트라에린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 로속산트론; 2-에틸히드라지드; 프로카르바진; PSK® 다당류 복합체 (JHS Natural Products, Eugene, OR); 라죽산; 리죽신; 시조피란; 스피로게르마늄; 테누아존산; 트리아지퀴온; 2,2',2"-트리클로로트리메틸아민; 트리코테센 (특히 T-2 독소, 베라쿠린 A, 로리딘 A 및 아나귀딘); 우레탄; 빈데신 (ELDISINE®, FILDESIN®); 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미톨락톨; 피포브로만; 가사이토신; 아라비노시드 ("Ara-C"); 티오테파; 탁소이드, 예를 들어, 파클리탁셀 (TAXOL®), 파클리탁셀의 알부민-조작 나노입자 제형 (ABRAXANE™), 및 독세탁셀 (TAXOTERE®); 클로란부실; 6-티오구아닌; 메르캅토푸린; 메토타렉세이트; 백금 유사체 예컨대 시스플라틴 및 카르보플라틴; 빈블라스틴 (VELBAN®); 백금; 에토포시드 (VP-16); 이포스파미드; 미톡산트론; 빈크리스틴 (ONCOVIN®); 옥살리플라빈; 루코보빈; 비노렐빈 (NAVELBINE®); 노반트론; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 이반드로네이트; 토포이소머라제 저해제 RFS 2000; 디플루오로메틸오르니틴 (DMFO); 레티노이드 예컨대 레티산; 및 임의의 상기 물질들의 제약상 허용가능한 염, 산 또는 유도체; 뿐만 아니라 시클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴, 및 프레드니솔론의 병용요법에 대한 약어인 CHOP, 및 5-FU 및 루코보빈과 병용되는 옥살리플라틴 (ELOXATIN™)으로의 치료요법에 대한 약어인 FOLFOX와 같은 2 이상의 상기 물질들의 조합이 포함된다.

<151>

또한 상기 정의에는 암의 성장을 촉진시킬 수 있는 호르몬의 작용을 조절, 감소, 차단, 또는 억제하는 작용을 하는, 흔히 전신 또는 온몸 치료 형태의 항호르몬성 제제를 포함한다. 이들은 호르몬 그자체일 수도 있다. 예로는 예를 들어, 타목시펜 (NOLVADEX® 타목시펜 포함), 알록시펜 (EVISTA®), 드롤록시펜, 4-히드록시 타목시펜, 트리옥시펜, 케옥시펜, LY1 17018, 오나프리스톤, 및 토레미펜 (FARESTON®)을 포함하는 항-에스트로겐 및 선택적 에스트로겐 수용체 조절제 (SERMs); 항-프로게스테론; 에스트로겐 수용체 하향-조절제 (ERDs); 에스트로겐 수용체 길항제 예컨대 플베스트란트 (FASLODEX®); 난소를 억제하거나 또는 정지시키는 기능을 하는 제제,



예를 들어, 황체형성 호르몬-방출 호르몬 (LHRH) 아고니스트 예컨대 루프롤리드 아세테이트 (LUPRON® 및 ELIGARD®), 고세렐린 아세테이트, 부세렐린 아세테이트 및 트립테렐린; 항-안드로겐 예컨대 플루타미드, 닐루타미드 및 비칼루타미드; 및 부신에서 에스트로겐 생산을 조절하는 효소 아로마타제를 억제하는 아로마타제 억제제, 예컨대, 4(5)-이미다졸, 아미노글루테티미드, 메게스트롤 아세테이트 (MEGASE®), 액세메스탄 (AROMASIN®), 포르메스타니에, 파드로졸, 보로졸 (RIVISOR®), 레트로졸 (FEMARA®), 및 아나트로졸 (ARIMIDEX®)을 포함한다. 또한, 상기 정의된 화학요법제는 비포스포네이트 예컨대 클로드로네이트 (예를 들어, BONEFOS® 또는 OSTAC®), 에티드로네이트 (DIDROCAL®), NE-58095, 졸레드론산/졸레드로네이트 (ZOMETA®), 알레드로네이트 (FOSAMAX®), 파미드로네이트 (AREDIA®), 틸루드로네이트 (SKELID®), 또는 리세드로네이트 (ACTONEL®); 뿐만 아니라 트록사시타빈 (1,3-디옥솔란 뉴클레오시드 사이토신 유사체); 안티센스 올리고뉴클레오티드, 특히 이상적 (abherent) 세포 증식에 관계하는 신호전달 경로의 유전자 발현을 억제하는 것, 예컨대, PKC-알파, Raf, H-Ras, 및 표피 성장 인자 수용체 (EGF-R), 백신 예컨대 THERATOPE® 백신 및 유전자 요법 백신, 예를 들어, ALLOVECTIN® 백신, LEUVECTIN® 백신, 및 VAXID® 백신; 토포이소머라제 1 억제제 (예를 들어, LURTOTECAN®), rmRH (예를 들어, ABARELIX®), 라파티닙 디토실레이트 (GW572016로도 또한 공지된 ErbB-2 및 EGFR 이중 티로신 키나제 소형-분자 억제제), 및 이들의 제약상 허용되는 염, 산 또는 유도체를 포함한다.

<152> 용어 "사이토카인"은 또다른 세포 상에서 세포간 매개자로서 작용하는 하나의 세포 집단에 의해 방출되는 단백질에 대한 일반명이다. 이같은 사이토카인의 예로는 림포카인, 모노카인, 인터루킨 (IL) 예컨대 PROLEUKIN® rIL-2를 포함하는, IL-1, IL-1 $\alpha$ , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-11, IL-12, IL-15; 종양 괴사 인자 예컨대 TNF- $\alpha$  또는 TNF- $\beta$ ; 및 LIF 및 키티 리간드 (KL)이 포함되는 기타 폴리펩티드 인자가 포함된다. 본원에 사용된 용어 사이토카인에는 천연 공급원으로부터 또는 재조합 세포 배양물로부터의 단백질 및 합성적으로 생산된 소형-분자 실체를 포함하는, 천연-서열 사이토카인의 생물학적으로 활성인 등가물 및 이들의 제약상 허용되는 유도체 및 염이 포함된다.

<153> 용어 "호르몬"은 폴리펩티드 호르몬을 지칭하고, 이는 관이 있는 샘 기관에 의해 일반적으로 분비된다. 호르몬 중에서, 예를 들어, 성장 호르몬 예컨대 인간 성장 호르몬, N-메티오닐 인간 성장 호르몬, 및 소 성장 호르몬; 부갑상선 호르몬; 티록신; 인슐린; 프로인슐린; 틸락신; 에스트라디올; 호르몬-대체 요법, 안드로겐 예컨대 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스탄, 또는 테스토라톤, 프로텍락신, 당단백질 호르몬 예컨대 난포-자극 호르몬 (FSH), 갑상선-자극 호르몬 (TSH), 및 황체형성 호르몬 (LH); 프로락틴; 태반 락토겐; 마우스 성선자극호르몬-관련 펩티드; 고나도트로핀-방출 호르몬; 인히빈; 액티빈; 물러판-저해 물질; 및 트롬보포이에틴이 포함된다. 본원에 사용된 용어 호르몬에는 천연 공급원으로부터 또는 재조합 세포 배양물로부터의 단백질 및 합성적으로 생산된 소형-분자 실체를 포함하는, 천연-서열 호르몬의 생물학적으로 활성인 등가물 및 이들의 제약상 허용되는 유도체 및 염이 포함된다.

<154> 용어 "성장 인자"는 성장을 촉진하는 단백질을 지칭하고, 예를 들어, 간 성장 인자; 섬유모세포 성장 인자; 혈관 내피 성장 인자; 신경 성장 인자 예컨대 NGF- $\beta$ ; 혈소판-유래 성장 인자; 전환 성장 인자 (TGF) 예컨대 TGF- $\alpha$  및 TGF- $\beta$ ; 인슐린 유사 성장 인자-I 및 -II; 에리트로포이에틴 (EPO); 골유도성 인자; 인터페론 예컨대 인터페론- $\alpha$ , - $\beta$ , 및 - $\gamma$ ; 및 콜로니 자극 인자 (CSF) 예컨대 대식세포-CSF (M-CSF), 과립구-대식세포-CSF (GM-CSF), 및 과립구-CSF (G-CSF)가 포함된다. 본원에 사용된 용어 성장 인자에는 천연 공급원으로부터 또는 재조합 세포 배양물로부터의 단백질 및 합성적으로 생산된 소형-분자 실체를 포함하는, 천연-서열 성장 인자의 생물학적으로 활성인 등가물 및 이들의 제약상 허용되는 유도체 및 염이 포함된다.

<155> 용어 "인테그린"은 세포가 세포외 매트릭스에 결합하여 응답하도록 하고, 다양한 세포 기능 예컨대 상처 치유, 세포 분화, 종양 세포의 귀소 및 세포자멸사에 수반되는 수용체 단백질을 지칭한다. 이들은 세포-세포외 매트릭스 및 세포-세포 상호작용에서 수반되는 세포-부착 수용체의 대형 족의 일부이다. 기능성 인테그린은 비-공유결합적으로 결합된, 알파 및 베타로 칭해지는 2개의 막형단 당단백질 서브유닛으로 구성된다. 알파 서브유닛 모두는 서로 약간의 상동성을 공유하고, 베타 서브유닛도 마찬가지이다. 수용체는 항상 1개의 알파 사슬 및 1개의 베타 사슬을 함유한다. 예로는 알파6베타1, 알파3베타1, 알파7베타1, LFA-I 등이 포함된다. 본원에 사용된 용어 "인테그린"에는 천연 공급원으로부터 또는 재조합 세포 배양물로부터의 단백질 및 합성적으로 생산된 소형-분자 실체를 포함하는, 천연-서열 인테그린의 생물학적으로 활성인 등가물 및 이들의 제약상 허용되는 유도체 및 염이 포함된다.

<156> 본원의 목적에 있어서, "종양 괴사 인자 알파 (TNF-알파)"는 [Pennica et al., Nature, 312:721 (1984)] 또는 [Aggarwal et al., JBC, 260:2345 (1985)]에 기술된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 인간 TNF-알파 분자를 지칭한다. 본원의 "TNF-알파 억제제"는 일반적으로 TNF-알파와의 결합 및 이의 활성의 중화를 통해, TNF-알



과의 생물학적 기능을 어느 정도 억제하는 제제이다. 본원에서 특히 구현되는 TNF 억제제의 예에는 에타너셉트 (ENBREL®), 인플릭시맵 (REMICADE®), 및 아달리무맵 (HUMIRA™)이 있다.

<157> "질환 조절 항류마티스제" 또는 "DMARDs"의 예에는 히드록시클로로퀸, 술파살라진, 메토틱렉세이트, 레플루노미드, 에타너셉트, 인플릭시맵 (+ 경구 및 피하 메토틱렉세이트), 아자티오프린, D-페니실라민, 금염 (gold salt) (경구), 금염 (근육내), 미노시클린, 시클로스포린 A 및 국소적 시클로스포린을 포함하는 시클로스포린, 스테필로코코스성 단백질 A를 (Goodyear and Silverman, J. Exp. Med., 197, (9), p i 125-39 (2003)), 이들의 염 및 유도체, 등이 포함된다.

<158> "비스테로이드 항염증 약물" 또는 "NSAIDs"의 예에는 아스피린, 아세틸살리실산, 이부프로펜, 나프록센, 인도메타신, 술인단, 톨메틴, COX-2 억제제 예컨대 셀레콕싹 (CELEBREX®, 4-(5-(4-메틸페닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일) 벤젠술폰아미드 및 발데콕싹 (BEXTRA®), 및 멜록시캄 (MOBIC®) 이들의 염 및 유도체, 등이 포함된다. 바람직하게는, 이들은 아스피린, 나프록센, 이부프로펜, 인도메타신, 또는 톨메틴이다.

<159> 본원의 "인테그린 길항제 또는 항체"의 예는 LFA-I 항체, 예컨대 Genentech로부터 상업적으로 입수가능한 에팔리주맵 (RAPTIV A®), 또는 알파 4 인테그린 항체 예컨대 Biogen으로부터 입수가능한 나탈리주맵 (ANTEGREN®), 또는 디아자시클릭 페닐알라닌 유도체 (WO 2003/89410), 페닐알라닌 유도체 (WO 2003/70709, WO 2002/28830, WO 2002/16329 및 WO 2003/53926), 페닐프로피온산 유도체 (WO 2003/10135), 에나민 유도체 (WO 2001/79173), 프로판산 유도체 (WO 2000/37444), 알칸산 유도체 (WO 2000/32575), 치환된 페닐 유도체 (미국 특허 제 6,677,339호 및 제 6,348,463호), 방향족 아민 유도체 (미국 특허 제 6,369,229호), ADAM 디스인테그린 도메인 폴리펩티드 (US 2002/0042368), 알파v베타3 인테그린에 대한 항체 (EP 633945), 아자-다리 비시클릭 아미노산 유도체 (WO 2002/02556), 등을 포함한다.

<160> "코르티코스테로이드"란 자연 발생 코르티코스테로이드의 작용을 모방하거나 또는 증대시키는 스테로이드의 일 반적 화학 구조를 갖는 몇몇 합성 또는 자연 발생 물질 중 임의의 하나를 지칭한다. 합성 코르티코스테로이드의 예는 프레드니손, 프레드니솔론 (메틸프레드니솔론, 예컨대 SOLU-MEDROL® 메틸프레드니솔론 소듐 숙시네이트를 포함함), 텍사메타손 또는 텍사메타손 트리암시놀론, 히드로코르티손, 및 베타메타손을 포함한다. 본원의 바람직한 코르티코스테로이드는 프레드니손, 메틸프레드니솔론, 히드로코르티손, 또는 텍사메타손이다.

<161> 본원에서 사용된 용어 "BAFF," "BAFF 폴리펩티드," "TALL-1" 또는 "TALL-1 폴리펩티드," 및 "BLyS"은 "천연-서열 BAFF 폴리펩티드" 및 "BAFF 변이체"를 포함한다. "BAFF"란 하기 나타나는 임의의 일 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드 및 천연 BAFF의 생물학적 활성을 갖는 이들의 상동체 및 단편 및 변이체에 주어진 명칭이다.

<162> 인간 BAFF 서열 (서열 16):

```
1 MDDSTEREQSRLTSCCLKREEMKLKECVSILPRKESPSVRSSKDGKLLAATLLALLSSC
61 LTVVSFYQVAALQGDLSRAELQGHHAELKPAGAGAPKAGLEEAPAVTAGLKIFEPAP
121 GEGNSSQNSRNKRAVQGPEETVTQDCLQLIADSETPTIQKGSYTFVPWLLSFKRGSAL
181 KENKILVKETGYFFIYGQVLYTDKTYAMGHILQKRVHVFGEDELSLTLFRCIQNMPETL
241 PNNSCYSAGIAKLEEGDELQLAIPRENAQISLDGDTVTFGALKLL
```

<163>

<164> 마우스 BAFF 서열 (서열 17).

```
1 MDESAKTLPPCLCFCEKGEDMKVGYDPITPQKEEGAWFGICRDGRLLAATLLALLSS
61 SFTAMSLYQLAALQADLMNLRMELQSYRGSATPAAAGAPELTAGVKLLTPAAPRPHNSSR
121 GHRNRRAFQGPETEVDLSDAPPAPCLPGCRHSQHDDNGMNLRLNIQDCLQLIADSDTP
181 TIRKGTYTTFVPWLLSFKRGNALKEKENKIVVRQTGYFFIYSQVLYTDPIFAMGHVIRKK
241 VHVFGEDELSLTLFRCIQNMPKTLNPNNSCYSAGIARLEEGDEIQLAIPRENAQISRNGDD
301 TFFGALKLL
```

<165>

<166> BAFF의 생물학적 활성은 B 세포 생존 촉진, B 세포 성숙 촉진 및 BR3에의 결합으로 이루어지는 군으로부터 선택될 수 있다. BAFF의 변이체는 바람직하게는 BAFF 폴리펩티드의 천연 서열과 80 % 이상 또는 100 % 이하의 임의의 연속수, 더욱 바람직하게는, 90 % 이상, 및 더더욱 바람직하게는 95 % 이상의 아미노산 서열 동일성을 가질 것이다.

<167> "천연-서열" BAFF 폴리펩티드는 상응하는 천연 유래의 BAFF 폴리펩티드와 동일한 아미노산 서열을 가지는 폴리펩티드를 포함한다. 예를 들어, BAFF는 푸린형 프로테아제에 의해 세포 표면으로부터 분리된 후 가용성 형태로 존재한다. 이러한 천연-서열 BAFF 폴리펩티드는 자연에서 단리될 수 있고 또는 재조합 및/또는 합성 수단을 통해 제조될 수 있다.

- <168> 용어 "천연-서열 BAFF 폴리펩티드" 또는 "천연 BAFF"는 특히 폴리펩티드의 자연 발생 말단이 잘린 형태 또는 분비 형태 (예를 들어, 세포외 도메인 서열), 자연 발생 변이형 (예를 들어, 별법으로 스플라이싱된 형태), 및 자연 발생 대립유전자 변이체를 포함한다. 용어 "BAFF"는 [Shu et al., J. Leukocyte Biol., 65:680 (1999)]; [GenBank Accession No. AF1 36293]; 1998년 5월 7일 공개된 WO 1998/18921; 1998년 10월 7일 공개된 EP 869,180; 1998년 6월 25일 공개된 WO 1998/27114; 1999년 5월 18일 공개된 WO 1999/12964; 1999년 7월 8일 공개된 WO 1999/33980; [Moore et al., Science, 285:260-263 (1999)]; [Schneider et al., J. Exp. Med., 189:1747-1756 (1999)] 및 [Mukhopadhyay et al., J. Biol. Chem., 274: 15978-15981 (1999)]에 기술된 BAFF 폴리펩티드를 포함한다.
- <169> 본원에 사용된 용어 "BAFF 길항제"는 가장 넓은 의미로 사용되며 (1) 천연-서열 BAFF 폴리펩티드에 결합하거나 또는 BR3의 천연-서열에 결합하여 BAFF 폴리펩티드과의 BR3 상호작용을 부분적으로 또는 완전히 차단시키고, (2) 천연-서열 BAFF 활성을 부분적으로 또는 완전히 차단, 억제, 또는 중화시키는 임의의 분자를 포함한다. 바람직한 일 실시태양에서 차단된 BAFF 수용체는 BR3 수용체이다. 천연 BAFF 활성은 다른 것들 중에서, B-세포 생존 및/또는 B-세포 성숙을 촉진시킨다. 일 실시태양에서, BAFF 활성의 억제, 차단 또는 중화는 B 세포의 수를 감소시키는 결과는 가져온다. 본 발명에 따른 BAFF 길항제는 시험관내 및/또는 생체내에서의 BAFF 폴리펩티드의 1 이상의 생물학적 활성을 부분적으로 또는 완전히 억제, 차단 또는 중화시킬 것이다. 일 실시태양에서, 생물학적으로 활성인 BAFF는 시험관내 및/또는 생체내의 다음의 경우 중 임의의 하나 또는 조합을 가능하게 한다: B 세포 생존의 증가, IgG 및/또는 IgM의 농도 증가, 형질 세포 수의 증가, 및 지라 B 세포에서 NF- $\kappa$ B/100의 p52 NF- $\kappa$ B로의 프로세싱 (예를 들어, [Batten et al., J. Exp. Med. 192: 1453-1465 (2000)]; [Moore et al., Science 285:260-263 (1999)]; [Kayagaki et al. Immunity 17:515-524 (2002)]).
- <170> 상기 언급한 바와 같이, BAFF 길항제는 직접 또는 간접적 방법으로 작용하여 시험관내 또는 생체내에서 BAFF 신호전달을 부분적으로 또는 완전히 억제, 차단 또는 중화시키는 기능을 할 수 있다. 예를 들어, BAFF 길항제는 직접적으로 BAFF에 결합할 수 있다. 예를 들어, 잔기 162-275 및/또는 인간 BAFF의 162, 163, 206, 211, 231, 233, 264 및 265로 이루어지는 군으로부터 선택되는 잔기의 이웃 잔기를 포함하는 인간 BAFF의 영역 내에서 결합하여 BR3에 결합하는 BAFF를 억제 장애시키도록 하는 BAFF 항체가 고려되어지는데, 이러한 잔기 번호를 서열 16으로 지칭한다. 또다른 예에서, 직접 결합체는 BAFF에 결합하는 BAFF 수용체의 임의의 부분 예컨대 BAFF 수용체의 세포외 도메인, 또는 천연 BAFF에 결합하는 이들의 단편 및 변이체를 포함하는 폴리펩티드이다. 또다른 예에서, BAFF 길항제는 하기 화학식 I의 서열을 포함하는 폴리펩티드의 서열을 가지며, 화학식 I의 한쪽 시스템인 C의 N-말단에서부터 다른쪽 시스템인 C의 C-말단까지의 7개의 아미노산 잔기내에는 시스테인을 포함하지 않는 폴리펩티드를 포함한다.

### 화학식 I

- <171>  $X_1-C-X_3-D-X_5-L-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}-C-X_{14}-X_{15}-X_{16}-X_{17}$  (화학식 I) (서열: 18)
- <172> 상기식에서,  $X_1$ ,  $X_3$ ,  $X_5$ ,  $X_7$ ,  $X_8$ ,  $X_9$ ,  $X_{10}$ ,  $X_{11}$ ,  $X_{12}$ ,  $X_{14}$ ,  $X_{15}$  및  $X_{17}$ 은 시스테인을 제외한 임의의 아미노산이고,  $X_{16}$ 은 L, F, I 및 V로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산이다.
- <173> 일 실시태양에서, 화학식 I의 서열을 포함하는 폴리펩티드는 디설피드 결합으로 연결되는 두개의 Cs; L과  $X_7$  사이에 회전 중심을 갖는 I형 베타 회전 구조 형태를 형성하는  $X_5LX_7X_8$ 을 가지며;  $X_8$ 의 2면각 phi에 대해 양의 값을 가진다. 일 실시태양에서,  $X_{10}$ 은 W, F, V, L, I, Y, M 및 비-극성 아미노 아미노산으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 또다른 실시태양에서,  $X_{10}$ 은 W이다. 또다른 실시태양에서,  $X_{11}$ 은 M, V, L, I, Y, F, W 및 비-극성 아미노산으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산이다. 또다른 실시태양에서,  $X_5$ 는 V, L, P, S, I, 및 R로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 또다른 실시태양에서,  $X_7$ 은 V, T, I 및 L로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 또다른 실시태양에서,  $X_8$ 은 R, K, G, N, H 및 D-아미노산으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 또다른 실시태양에서,  $X_9$ 은 H, K, A, R 및 Q로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 또다른 실시태양에서,  $X_{11}$ 은 I 또는 V이다. 또다른 실시태양에서,  $X_{12}$ 은 P, A, D, E 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 또다른 실시태양에서,  $X_{16}$ 은 L이다. 특정 일 실시태양에서, 화학식 I의 서열은

ECFDLLVRAWVPCSVLK (서열 19), ECFDLLVRHWVPCGLLR (SEQ ID NO:20), ECFDLLVRRWVPCSEMLG (서열 21), ECFDLLVRSWVPCHMLR (서열 22), ECFDLLVRHWVACGLLR (서열 23), 및 QCFDRLNAWVPCSVLK (서열 24).

로 이루어지는 군으로부터 선택되는 서열이다. 바람직한 실시태양에서, BAFF 길항제는 서열 19, 20, 21, 22, 및 23로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 일 아미노산 서열을 포함한다.

<174> 또다른 실시태양에서, BAFF 길항제는 화학식 II의 서열을 포함하는 폴리펩티드의 서열을 가지며, 화학식 II의 한쪽 시스테인 C의 N-말단에서부터 다른쪽 시스테인 C의 C-말단까지의 7개의 아미노산 잔기내에는 시스테인을 포함하지 않는 폴리펩티드를 포함한다.

## 화학식 II

<175>  $X_1-C-X_3-X_5-L-V-X_8-X_9-W-V-P-C-X_{14}-X_{15}-L-X_{17}$  (화학식 II) (서열 25)

<176> 상기식에서,  $X_1$ ,  $X_3$ ,  $X_5$ ,  $X_8$ ,  $X_9$ ,  $X_{14}$ ,  $X_{15}$  및  $X_{17}$ 은 시스테인을 제외한 임의의 아미노산이다.

<177> 일 실시태양에서, 화학식 II의 서열을 포함하는 폴리펩티드는 두개의 Cs 사이에 디설피드 결합을 가지며; L과  $X_7$  사이에 회전 중심을 갖는 I형 베타 회전 구조 형태를 형성하는  $X_5LX_7X_8$ 의 형태를 가지며  $X_8$ 의 2면각 phi에 대해 양의 값을 가진다. 화학식 II의 또다른 실시태양에서,  $X_3$ 은 M, A, V, L, I, Y, F, W 및 비-극성 아미노산으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산이다. 화학식 II의 또다른 실시태양에서,  $X_5$ 는 V, L, P, S, I, 및 R로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 화학식 II의 또다른 실시태양에서,  $X_8$ 은 R, K, G, N, H 및 D-아미노산으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 화학식 II의 또다른 실시태양에서,  $X_9$ 는 H, K, A, R 및 Q로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

<178> 추가적 실시태양에서, 세포의 도메인 또는 이들의 BAFF-결합 단편 또는 BAFF-결합 변이체가 유도되는 BAFF 수용체는 TACI, BR3 또는 BCMA이다. 별법으로 BAFF 길항제는 천연-서열 BR3의 세포의 도메인의 BAFF 결합 영역에서 천연-서열 BR3의 세포의 도메인과 결합하여 시험관내, 체내, 또는 생체내에서의 BAFF의 BR3에 대한 결합을 부분적으로 또는 완전히 차단, 억제 또는 중화시킬 수 있다. 예를 들어, 이러한 간접 길항제는 하기 정의된 바와 같은 인간 BR3의 잔기 23-38을 포함하는 BR3의 영역 (서열 26) 또는 이들 잔기의 이웃 영역에서 결합하여 인간 BR3의 BAFF로의 결합을 입체 장애시키는 항-BR3 항체이다.

<179> 몇몇 실시태양에서, 본 발명에 따른 BAFF 길항제는 천연 BAFF에 결합하는 BAFF 수용체의 세포의 도메인, 또는 이들의 단편 및 변이체를 포함하는 BAFF 항체 및 면역접합체를 포함한다. 추가적 실시태양에서, 세포의 도메인 또는 이들의 AFF-결합 단편 또는 BAFF-결합 변이체가 유래되는 BAFF 수용체는 TACI, BR3 또는 BCMA이다. 또다른 실시태양에서, 면역접합체는 서열 19, 20, 21, 22, 23, 및 24로 이루어지는 군 중 임의의 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하여, 상기 기술된 바와 같은 화학식 I 또는 화학식 II의 아미노산 서열을 포함한다.

<180> 일 실시태양에 따르면, BAFF 길항제는 100nM 이하의 결합 친화성으로 BAFF 폴리펩티드 또는 BR3 폴리펩티드에 결합한다. 또다른 실시태양에서, BAFF 길항제는 10nM 이하의 결합 친화성으로 BAFF 폴리펩티드 또는 BR3 폴리펩티드에 결합한다. 또다른 실시태양에 따르면, BAFF 길항제는 1nM 이하의 결합 친화성으로 BAFF 폴리펩티드 또는 BR3 폴리펩티드에 결합한다.

<181> 본원에 사용된 용어 "BR3", "BR3 폴리펩티드" 또는 "BR3 수용체"는 (본원에서 추가적으로 정의되는) "천연-서열 BR3 폴리펩티드" 및 "BR3 변이체"를 포함한다. "BR3"는 하기의 아미노산 서열 및 천연 BAFF에 결합하는 이들의 상동체, 및 이들의 변이체 또는 단편을 포함하는 BR3 폴리펩티드에 주어지는 명칭이다.

<182> 인간 BR3 서열 (서열 26)

```
1 MRRGPRSLRGRDAPAPTPCPVPAECFDLLVRHCACGLLRTPRKPAGASSPAPRTALQPQ
61 ESGVAGAGEAALPLPGLLFGAPALLGLALVLALVLVGLVSWRRRQRLRGASSAEAPDGD
121 KDAPEPLDKVIILSPGISDATAPAWPPPGEDPGTTPPGHSVPVPATELGSTELVTTKTAG
181 PEQQ.
```

<184> 본 발명의 BR3 폴리펩티드는 다양한 공급원, 예컨대 인간 조직형 또는 또다른 공급원으로부터 단리될 수 있고, 또는 재조합 및/또는 합성법을 통해 제조될 수 있다. 용어 BR3은 WO 2002/24909 및 WO 2003/14294에 기술된

BR3 폴리펩티드를 포함한다.

- <185> "천연-서열" BR3 폴리펩티드 또는 "천연 BR3"은 천연에서 유래된 상응하는 BR3 폴리펩티드와 동일한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 이러한 천연-서열 BR3 폴리펩티드는 천연에서 단리될 수 있고 또는 재조합 및/또는 합성 수단을 통해 제조될 수 있다. 용어 "천연-서열 BR3 폴리펩티드"는 특히 폴리펩티드의 자연 발생 말단이 잘린 형태 또는 분비 형태 (예를 들어, 세포외 도메인 서열), 자연 발생 변이형 (예를 들어, 별법으로 스플라이싱된 형태), 및 자연 발생 대립유전자 변이체를 포함한다. 본 발명의 BR3 폴리펩티드는 인간 BR3의 아미노산 잔기 1 내지 184의 인접 서열을 포함하거나 또는 이로 이루어지는 BR3 폴리펩티드를 포함한다 (서열 26).
- <186> BR3 "세포외 도메인" 또는 "ECD"는 본질적으로 막횡단 및 세포질 도메인로부터 자유로운 BR3 폴리펩티드의 형태를 지칭한다. BR3의 ECD 형태는 인간 BR3의 아미노산 1-77, 2-62, 2-71, 1-61, 7-71, 23-38 및 2-63으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 하나의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 본 발명은 인간 BR3의 상기 언급된 ECD 형태 중 임의의 하나 및 천연 BAFF에 결합하는 이들의 변이체 및 단편을 포함하는 폴리펩티드인 BAFF 길항체를 구현한다.
- <187> Mini-BR3은 BR3의 BAFF-결합 도메인의 26-잔기 코어 영역, 즉, 아미노산 서열: TPCVPAECFD LLVRHCVCACG LLRTPR (서열 27) 이다.
- <188> "BR3 변이체"는 천연-서열의 아미노산 서열, 전장 BR3 또는 BR3 ECD를 갖는 약 80% 이상의 아미노산 서열 동일성을 갖는 BR3 폴리펩티드를 의미하며 천연-서열 BAFF 폴리펩티드에 결합한다. 경우에 따라서는, BR3 변이체는 단일 시스테인-풍부 도메인을 포함한다. 이러한 BR3 변이체 폴리펩티드는 예를 들어, 전장 아미노산의 N- 및/또는 C-말단 뿐 아니라 1 이상의 내부 도메인 내에서 1 이상의 아미노산 잔기가 부가, 또는 결실된 BR3 폴리펩티드를 포함한다. 천연 서열 BAFF 폴리펩티드에 결합하는 BR3 ECD의 서열 단편 또한 구현된다. 일 실시태양에 따르면, BR3 변이체 폴리펩티드는 인간 BR3 폴리펩티드 또는 이들의 특이적 단편 (예를 들어, ECD)와 약 80% 이상의 아미노산 서열 동일성, 약 81% 이상의 아미노산 서열 동일성, 약 82% 이상의 아미노산 서열 동일성, 약 83% 이상의 아미노산 서열 동일성, 약 84% 이상의 아미노산 서열 동일성, 약 85% 이상의 아미노산 서열 동일성, 약 86% 이상의 아미노산 서열 동일성, 약 87% 이상의 아미노산 서열 동일성, 약 88% 이상의 아미노산 서열 동일성, 약 89% 이상의 아미노산 서열 동일성, 약 90% 이상의 아미노산 서열 동일성, 약 91% 이상의 아미노산 서열 동일성, 약 92% 이상의 아미노산 서열 동일성, 약 93% 이상의 아미노산 서열 동일성, 약 94% 이상의 아미노산 서열 동일성, 약 95% 이상의 아미노산 서열 동일성, 약 96% 이상의 아미노산 서열 동일성, 약 97% 이상의 아미노산 서열 동일성, 약 98% 이상의 아미노산 서열 동일성, 약 99% 이상의 아미노산 서열 동일성을 가질 것이다. BR3 변이체 폴리펩티드는 천연 BR3 폴리펩티드 서열을 포함하지 않는다. 또다른 실시태양에서, BR3 변이체 폴리펩티드는 길이 약 10 이상의 아미노산, 또는 길이 약 20 이상의 아미노산, 길이 약 30 이상의 아미노산, 길이 약 40 이상의 아미노산, 길이 약 50 이상의 아미노산, 길이 약 60 이상의 아미노산, 길이 약 70 이상의 아미노산이다.
- <189> 바람직한 일 실시태양에서, 본원의 BAFF 길항체는 BAFF에 결합하는 BR3, TACI 또는 BCMA의 부분, 또는 BAFF에 결합하는 이들의 변이체를 포함하는 면역접합체이다. 일 실시태양에서, BAFF 길항체는 BAFF 항체이다. "BAFF 항체"는 BAFF에 결합하는, 바람직하게는 "BAFF" 정의 하에 본원에서 개시된 인간 BAFF 서열 (서열 16)의 잔기 162-275를 포함하는 인간 BAFF의 영역 내의 BAFF에 결합하는 항체이다. 또다른 실시태양에서, BAFF 길항체는 BR3 항체이다. "BR3 항체"는 BR3에 결합하는, 바람직하게는 "BR3" 정의 하에 본원에서 개시된 인간 BR3 서열 (서열 26)의 잔기 23-38을 포함하는 인간 BR3의 영역 내의 BR3에 결합하는 항체이다. 일반적으로, 본원에서 지칭되는 인간 BAFF 및 인간 BR3의 아미노산 위치는 "BAFF" 및 "BR3" 정의하에 개시된 각각 서열 16 및 26인 인간 BAFF 및 인간 BR3 하의 서열 번호매김을 따른다.
- <190> BAFF-결합 폴리펩티드 또는 BAFF 항체의 다른 예들은 예를 들어, WO 2002/092620, WO 2003/014294, [Gordon et al., Biochemistry 42(20):5977-5983 (2003)], [Kelley et al., J. Biol. Chem., 279(16):16727-16735 (2004)], WO 1998/18921, WO 2001/12812, WO 2000/68378 및 WO 2000/40716에서 알 수 있다.
- <191> "제품 첨부문서"는 치료 제품의 상업적 포장에 통상적으로 포함되는 지시서를 지칭하는데 사용되는데, 이 지시서에는 증상, 사용법, 투여량, 투여법, 금기사항, 포장된 제품과 병용되는 다른 치료품, 및/또는 상기 치료품의 사용에 관한 주의사항 등에 대한 정보를 포함한다.
- <192> "약제"는 ANCA-관련 혈관염 또는 이의 증후군 또는 부작용을 치료하는 활성 약물이다.



## II. 요법

일면에서, 본 발명은 약 1 개월 동안 1회 내지 3회 용량 빈도로 약 400 mg 내지 1.3 g 용량의 B-세포 표면 마커에 결합하는 길항제, 바람직하게는 항체 (더욱 바람직하게는 CD20 항체)를 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 환자의 ANCA-관련 혈관염의 치료 방법을 제공한다.

이에 따라, 본 발명은 약 1 개월 동안 1회 내지 3회 용량 빈도로 약 400 mg 내지 1.3 g 용량의 B-세포 표면 마커에 결합하는 길항제를 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 환자의 ANCA-관련 혈관염의 치료 방법을 구현한다.

본 발명은 또한 약 1 개월 동안 1회 내지 3회 용량 빈도로 약 400 mg 내지 1.3 g 용량의 B-세포 표면 마커에 결합하는 항체를 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 환자의 ANCA-관련 혈관염의 치료 방법을 구현한다.

상기 각각의 면의 바람직한 실시태양에서, 용량은 약 500 mg 내지 1.2 g, 더욱 바람직하게는 약 750 mg 내지 1.1 g이다. 또다른 바람직한 실시태양에서, 항체는 2회 내지 3회 용량, 더욱 바람직하게는 2회 용량, 별법으로 3회 용량으로 투여된다. 더욱 바람직한 실시태양에서, 항체는 약 2 내지 3 주 동안, 더욱 바람직하게는 약 2 주 동안, 별법으로 3 주 동안 투여된다.

또다른 실시태양에서, 본 발명은 (바람직하게는 약 0.5 내지 4 g, 더욱 바람직하게는 약 1.5 내지 3.5 g, 및 더 더욱 바람직하게는 약 1.5 내지 2.5 g의) 초기 항체 노출 및 그로부터 약 16 내지 54 주 (바람직하게는 약 20 내지 30 주, 더욱 바람직하게는 약 46 내지 54 주) 후에 (바람직하게는 약 0.5 내지 4 g, 더욱 바람직하게는 약 1.5 내지 3.5 g, 더더욱 바람직하게는 약 1.5 내지 2.5 g의) 제2 항체 노출을 제공하도록 유효량의 B-세포 표면 마커에 결합하는 항체 (바람직하게는 CD20 항체)를 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 치료에 적절한 대상체의 ANCA-관련 혈관염의 치료 방법을 제공한다.

본 발명에 있어, 제2 항체 노출은 초기 항체 노출 후 대상체가 CD20 항체로 치료되는 다음 시점이며, 초기 및 제2 노출 사이에는 어떠한 CD20 항체 치료 또는 노출도 개재되지 않는다. 이러한 재치료는 예정될 수도 또는 예정되지 않을 수도 있으나, 바람직하게는 특히 신장과 같은 기관을 손상으로부터 보호하기 위해 예정된 재투여가 있다.

바람직하게는 본 방법은 초기 노출로부터 약 46 내지 60 주 (바람직하게는 약 46 내지 55, 더욱 바람직하게는 약 46 내지 52 주) 후 (바람직하게는 약 0.5 내지 4 g, 더욱 바람직하게는 약 1.5 내지 3.5 g, 더더욱 바람직하게는 약 1.5 내지 2.5 g의) 제3 항체 노출을 제공하도록 유효량의 CD20 항체를 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 바람직하게는, 초기 노출로부터 적어도 약 70-75 주까지는 어떠한 추가적 항체 노출도 제공하지 않으며, 더더욱 바람직하게는, 초기 노출로부터 적어도 약 74-80 주까지는 어떠한 추가적 항체 노출도 제공하지 않는다.

본원의 임의의 1 이상의 항체 노출은 단일 용량의 항체, 또는 분할 용량, 예를 들어, 약 1-4 분할 용량의 항체 (예를 들어, 제1 및 제2 용량, 또는 제1, 제2, 및 제3 용량, 또는 제1, 제2, 제3, 및 제4 용량, 등으로 구성됨)로서 대상체에 제공될 수 있다. 각각의 항체 노출에 사용되는 특정 용량 수 (1, 2 또는 3 또는 그 이상)은 예를 들어, 치료되는 ANCA-관련 혈관염의 유형, 사용되는 항체의 형태, 하기 언급하는 바와 같이 제2 약제가 어떤 유형으로, 얼마나 많이 얼마나 자주 사용되는지, 및 투여 방법 및 투여 빈도에 의존한다. 분할 용량으로 투여되는 경우, 후속 용량 (예를 들어, 제2 또는 제3 용량)은 바람직하게는 이전 용량을 투여한 시점에서부터 약 1 내지 20 일, 더욱 바람직하게는 약 6 내지 16 일, 및 가장 바람직하게는 약 14 내지 16 일에 투여된다. 분할 용량은 바람직하게는 약 1 일 내지 4 주, 더욱 바람직하게는 약 1 내지 20 일 (예를 들어, 6-18 일 기간 동안)의 총 기간 동안 투여된다. 일면에서, 분할 용량은 거의 매주 투여되는데, 제2 용량은 제1 용량으로부터 약 1 주에 투여되고, 임의의 제3 또는 후속 용량은 제2 용량으로부터 약 1 주에 투여된다. 항체의 각각의 분할 용량은 바람직하게는 약 0.5 내지 1.5 g, 더욱 바람직하게는 약 0.75 내지 1.3 g이다.

가장 바람직한 실시태양에서,

초기 항체 노출 및 그로부터 약 16 내지 54 후에 제2 항체 노출을 제공하도록 유효량의 B-세포 표면 마커에 결합하는 항체 (예를 들어, CD20 항체)를 대상체에게 투여하는 것을 포함하며, 이 때 각각의 항체 노출은 단일 용량의 항체 또는 2회 또는 3회 분할 용량의 항체로서 대상체에 제공되는 대상체의 ANCA-관련 혈관염의 치료 방법을 제공한다. 바람직하게는, 이러한 방법에서, 항체 노출은 각각 약 0.5 내지 4 g이고, 가장 바람직하게는 상기 주어진 양이다.

일 실시태양에서, 항체의 약 3회 이상 노출, 예를 들어, 약 3 내지 60회 노출, 더욱 특히 약 3 내지 40회 노출, 가장 특히, 약 3 내지 20회 노출을 대상체에게 제공한다. 바람직하게는, 이러한 노출은 각각 24 주 간격으로

투여된다. 일 실시태양에서, 각각의 항체 노출은 단일 용량의 항체로서 제공된다. 별도의 실시태양에서, 각각의 항체 노출은 분할 용량의 항체로서 제공된다. 하지만, 모든 항체 노출이 단일 용량 또는 분할 용량으로 제공될 필요는 없다.

<205> 바람직한 일 실시태양에서, 약 2-3 g의 CD20 항체를 초기 노출로서 투여한다. 약 3 g을 투여하는 경우에는, 초기 노출로서 약 1 g의 CD20 항체를 약 3 주 동안 매주 투여한다. 초기 노출로서 약 2 g의 CD20 항체를 투여하는 경우에는 초기 노출로서, 약 1 g의 CD20 항체를 투여한 후 약 2 주 내에 또다른 약 1 g의 항체를 투여한다. 바람직한 면에서, 제2 노출로서 초기 노출로부터 약 6 개월에 약 2 g의 양으로 투여된다. 별도의 바람직한 면에서, 제2 노출로서 초기 노출로부터 약 6 개월에 약 1 g의 항체를 투여한 후 약 2 주 내에 또다른 약 1 g의 항체를 투여한다.

<206> 상기 기술한 본 발명의 모든 방법에서, CD20 또는 B-세포 표면 마커 항체는 순수 항체일 수도 있고 또는 또다른 분자 예컨대 방사성 화합물과 같은 세포독성제와 결합될 수 있다. 본원의 바람직한 CD20 항체는 키메라, 인간화, 또는 인간 CD20 항체, 더욱 바람직하게는 리톡시맵, 인간화 2H7 (예, 서열 2 및 8의 가변 도메인 서열을 포함함, 또는 서열 8내의 변형 N100A 또는 D56A 및 N100A를 갖는 가변 중쇄 도메인 및 서열 2내의 변형 M32L, 또는 S92A, 또는 M32L 및 S92A를 갖는 가변 경쇄 도메인을 포함함), 키메라 또는 인간화 A20 항체 (Immunomedics), 또는 HUMAX-CD20™ 인간 CD20 항체 (Genmab)이다. 더더욱 바람직하게는 리톡시맵 또는 인간화 2H7이다. 또한, 본원의 모든 방법에서 ANCA-관련 혈관염이 임의의 상기 질환일 수 있지만, 바람직한 일 실시태양에서는, 베게너 육아종증 또는 현미경성 다발혈관염이다.

<207> 본원의 모든 방법의 추가적 실시태양에서, 대상체 또는 환자는 ANCA-관련 혈관염 치료를 위한 약물(들), 예컨대 면역억제제(들)로 이전에 전혀 치료받은 적이 없었고/거나 B-세포 표면 마커에 대한 길항제 (예를 들어, 항체)로 이전에 전혀 치료받은 적이 없었다 (예를 들어, CD20 항체로 이전에 전혀 치료받은 적이 없었음). 또다른 추가적인 면에서, 초기 또는 후속 항체 노출을 포함하는, 대상체 또는 환자는 상기 임의의 방법으로 치료 받기 전에, ANCA-관련 혈관염으로 재발된 적이 있었을 수 있고 또는 신장 손상과 같은 기관 손상을 앓았을 수 있다. 하지만, 바람직하게는, 환자 또는 대상체는 적어도 초기 치료 전에, 혈관염이 재발되지 않았으며 더욱 바람직하게는 재발된 적이 없었다.

<208> 또다른 실시태양에서, 대상체 또는 환자는 혈관염 치료를 위해 약물(들)로 이전에 치료받았고/거나 이러한 항체 또는 길항제로 이전에 치료받았었다. 또다른 실시태양에서, 길항제 (예를 들어, CD20 항체)는 혈관염을 치료하기 위해 대상체 또는 환자에게 투여되는 유일한 약제이다. 또다른 실시태양에서, 길항제 (예를 들어, CD20 항체)는 혈관염의 치료에 사용되는 약제 중 하나이다. 추가적 실시태양에서, 대상체 또는 환자는 악성종양을 가지고 있지 않다. 또다른 추가적 실시태양에서, 대상체 또는 환자는 류마티스 관절염을 가지고 있지 않다. 또다른 추가적 실시태양에서, 대상체 또는 환자는 다발성 경화증을 가지고 있지 않다. 추가적 실시태양에서, 대상체 또는 환자는 루푸스 또는 쇼그렌 증후군을 가지고 있지 않다. 추가적 실시태양에서, 대상체 또는 환자는 ANCA-관련 혈관염 이외의 다른 자가면역 질환을 가지고 있지 않다. 본 발명의 또다른 면에서, ANCA-관련 혈관염은 다른 자가면역 질환과 관련이 없거나 또는 상이한 자가면역 질환이 발병할 위험과 관련이 없다. 상기 마지막 기재에 있어, 본원의 "자가면역 질환" 은 자신의 개별 조직 또는 기관으로부터 직접 발생하여 나타나는 질환 또는 장애 또는 이들의 공통적 징후 (co-segregate) 또는 증세 또는 이로부터 발생하는 증상이다. B 세포는 자가항체 생산, 면역 복합체 형성, 수상돌기 및 T-세포 활성화, 사이토카인 합성, 직접 케모카인 방출을 포함하는 수많은 기계적 경로를 통해 인간 자가면역 질환에 병원성으로 작용하여 이소성 신생-림프형성의 병소를 제공하는 것으로 나타나는데, 이에 대해서는 어떠한 하나의 이론에 제한되지 않는다. 각각의 이러한 경로는 자가면역 질환의 병리에 다양한 정도로 참여한다.

<209> 또다른 실시태양에서, 대상체 또는 환자는 길항제 또는 항체의 투여 후, 약 3 개월, 바람직하게는 약 6 개월, 가장 바람직하게는 약 1 년 이상시 3 미만, 더욱 바람직하게는 약 2 미만, 더더욱 바람직하게는 약 1 미만, 가장 바람직하게는 0 (완전한 완화)의 BVAS/WG 스코어를 가진다. 상기 BVAS 반응의 특이적인 실시태양은 투여 후 BVAS/WG 스코어가 3 개월에 2 미만, 또는 투여 후 14 주 또는 3 개월에 1 미만 (예를 들어, 0.2 또는 0.4), 투여 후 6 개월에 1 미만 (예를 들어, 0.6), 또는 가장 바람직하게는, 투여 후 3 또는 6 개월에 0을 달성한다. 또다른 실시태양에서, 치료의 시작과 비교하여 스테로이드 예컨대 프레드니손의 양은 낮아진 BVAS/WG 스코어에 실질적으로 영향을 주지 않고도 감소된다. 이에 따라, 예를 들어, 치료 후 일정 시간이 지난 시점 (예컨대 치료 후 3 개월 또는 6 개월)의 대상체 또는 환자는 바람직하게는 기저선으로부터 낮아진 BVAS/WG 스코어를 가지며 기저선 (투여 시작시의 기저선)으로부터 감소된 용량의 스테로이드를 투여받는다. 또다른 추가적 실시태양에서는, 투여 후 대상체 또는 환자의 치료에 대한 반응을 시험하여 반응의 수준이 혈관염의 치료에 유효한지를

결정하는 단계가 치료 방법에 포함된다. 예를 들어, 투여 후 BVAS/WG 스코어를 시험하고 이를 투여 전 얻어진 기저선 BVAS/WG 스코어와 비교하여 그 스코어가 얼마 만큼 낮아졌는지를 측정함으로써 치료가 유효한지를 결정하는 단계를 포함한다. 본 시험은 투여 후 다양한 예정되거나 또는 예정되지 않은 시간 간격으로 반복하여 임의의 부분적 또는 완전한 완화의 유지를 결정할 수 있다. 별법으로, 본원의 발명은 ANCA-관련 혈관염에 대한 1 이상의 생물학적 마커, 예컨대 상기 기재한 바와 같은 ANCA-관련 혈관염에 특이한 1 이상의 자가항체, BVAS/WG 스코어, 또는 증상이 존재하는지를 알아보기 위해, 투여 전에 환자 또는 대상체를 시험하는 단계를 포함한다. 또다른 방법에서는, 항체 또는 길항제를 대상체 또는 환자에게 투여하기 전에, 상기 기술한 바와 같은, 환자 또는 대상체의 임상 병력을 체크하여 환자 또는 대상체의 증상의 원인, 예를 들어, 원발성 원인으로서는 감염 또는 악성종양을 판단하는 단계를 포함할 수 있다. 바람직하게는, ANCA-관련 혈관염은 원발성 (즉, 선도 질환)이고, 속발성, 예컨대 감염 또는 악성종양 (고형 또는 액상 종양 모두)에 속발성이 아니다.

<210> 본원의 다노출 방법의 바람직한 실시태양에서, 대상체는 초기 또는 임의의 후속 항체 노출 후 완화된 다. 더욱 바람직하게는, 본원의 다노출 방법은 제2, 및 바람직하게는 모든 항체 노출이 제공되었을 때 환자가 완화된도록 예정된 재투여 또는 재치료를 포함한다. 이러한 재투여는 치료적으로 치료하기보다는 임의의 재발 또는 기관 손상을 예방하도록 계획된다. 가장 바람직하게는, 대상체는 재치료 방법으로 사용된 마지막 항체 노출 이후, 약 6 개월 이상 동안, 더욱 가장 바람직하게는 약 9 개월 이상 동안, 더더욱 가장 바람직하게는 약 1 년 이상 동안 완화된 다.

<211> 또다른 실시태양에서, 대상체는 2 이상의 항체 노출, 바람직하게는 각각의 항체 노출에 동일한 CD20 항체로 치료된다. 이에 따라, 바람직하게는 초기 및 제2 항체 노출은 동일한 항체에 의하며, 더욱 바람직하게는 모든 항체 노출은 동일한 항체에 의하는데, 즉, 최초의 두번의 노출, 바람직하게는 모든 노출에 대한 치료는 B-세포 표면 마커에 결합하는 일 유형의 항체, 예컨대 CD20 항체, 예를 들어 리투시맵 또는 동일한 인간화 2H7에 의한다.

<212> 본원의 임의의 방법에서, B-세포 표면 마커에 결합하는 길항제 또는 항체와 함께 (B-세포 표면 마커에 결합하는 길항제 또는 항체 (예를 들어, CD20 항체)가 제1 약제인 경우) 유효량의 제2 약제를 대상체 또는 환자에게 투여할 수 있다. 제2 약제는 1 이상의 약제일 수 있으며, 예를 들어, 세포독성제, 화학요법제, 면역억제제, 사이토카인, 사이토카인 길항제 또는 항체, 성장 인자, 호르몬, 인테그린, 인테그린 길항제 또는 항체, 또는 이들의 임의의 조합물을 포함한다. 이러한 제2 약제의 유형은, 혈관염의 유형, 혈관염의 중증도, 환자의 증상 및 연령, 사용되는 제1 약제의 유형 및 용량 등을 포함하는 다양한 인자에 의존한다.

<213> 이러한 추가적인 약제의 예는 화학요법제, 인터페론 계열 약물 예컨대 인터페론-알파 (예를 들어, Amarillo Biosciences, Inc로부터 입수), IFN-베타-1a (REBIF<sup>®</sup> 및 AVONEX<sup>®</sup>) 또는 IFN-베타-1b (BETASERON<sup>®</sup>), 올리고핵티드 예컨대 글라티라머 아세테이트 (COPAXONE<sup>®</sup>), CD40-CD40 리간드 차단제, 세포독성제 또는 면역억제제 (예컨대 미톡산트론 (NOVANTRONE<sup>®</sup>), 메토틱렉세이트, 시클로포스파미드, 클로람부실, 레플루노미드, 및 아자티오프린), 정맥내 면역글로불린 (감마 글로불린), 림프구-결핍 요법 (예를 들어, 미톡산트론, 시클로포스파미드, CAMPATH<sup>™</sup> 항체, 항-CD4, 클라드리빈, 탈면역화된 것을 포함하는 2 이상의 도메인으로 구성된 폴리펩티드, 자가반응 B-세포의 Ig 수용체에 의해 특이적으로 인지되는 자가반응 항원 또는 이의 단편, 전신 방사선조사, 골수 이식), 인테그린 길항제 또는 항체 (예를 들어, Genentech로부터 상업적으로 입수가능한 LFA-I 항체 예컨대 에팔리주맵/RAPTIVA<sup>®</sup>, 또는 Biogen으로부터 상업적으로 입수가능한 알파 4 인테그린 항체 예컨대 나탈리주맵/ANTEGRIN<sup>®</sup>, 또는 상기 언급한 다른것들), ANCA-관련 혈관염에 속발성이거나 또는 이에 관련되는 증상 (예를 들어, 진균성 및 다른 감염) 치료 약물, 예컨대 본원에서 언급된 것들, 스테로이드 예컨대 코르티코스테로이드 (예를 들어, 프레드니솔론, 메틸프레드니솔론 예컨대 주입용 SOLU-MEDROL<sup>™</sup> 메틸프레드니솔론 소듐 속시네이트, 프레드니손 예컨대 저용량 프레드니손, 텍사메타손, 또는 예를 들어, 전신 코르티코스테로이드 요법을 포함하여 관절 주입되는 글루코코르티코이드), 비-림프구-결핍 면역억제 요법 (예를 들어, MMF 또는 사이클로스포린), "스타틴" 계열의 콜레스테롤-저하 약물 (세리바스타틴 (BAYCOL<sup>™</sup>), 플루바스타틴 (LESCOL<sup>™</sup>), 아토르바스타틴 (LIPITOR<sup>™</sup>), 로바스타틴 (MEVACOR<sup>™</sup>), 프라바스타틴 (PRAVACHOL<sup>™</sup>), 및 심바스타틴 (ZOCOR<sup>™</sup>)을 포함), 에스트라디올, 테스토스테론 (경우에 따라서는 투여량이 증가됨, [Stuve et al. Neurology 8:290-301 (2002)]), 안드로겐, 호르몬-대체 요법, TNF 억제제 예컨대 TNF-알파에 대한 항체, DMARD, NSAID, 혈장분리반출술 또는 혈장교환술, 트리메토프림-술파메톡사졸 (BACTRIM<sup>™</sup>, SEPTRA<sup>™</sup>), 미코페놀레이트 모페틸, H2-차단제 또는 프로톤 펌프 억제제 (잠재적 궤양유발 면역억제 요법 사용시), 레보티록신, 시클로스포린 A (예 SANDIMMUNE

®), 소마토스타틴 유사체, 사이토카인, 항-사이토카인 길항제 또는 항체, 항대사물질, 면역억제제, 재활술, 방사성요오드, 감상샘절제술, BAFF 길항제 예컨대 BAFF 또는 BR3 항체 또는 면역접합체, 항-CD40 수용체 또는 항-CD40 리간드 (CD154), 항-IL-6 수용체 길항제/항체, 또다른 B-세포 표면 길항제 또는 항체 예컨대 리툽시맙을 갖는 인간화 2H7 또는 다른 인간화 또는 인간 CD20 항체 등을 포함한다.

<214> 바람직한 상기 약제는 화학요법제, 세포독성제, 항-인테그린, 감마 글로불린, 항-CD4, 클라드리빈, 트리메토프림술피메톡사졸, H2-차단제, 프로톤 펌프 억제제, 코르티코스테로이드, 사이클로스포린, 스타틴 계열의 콜레스테롤-저하 약물, 에스트라디올, 테스토스테론, 안드로겐, 호르몬-대체 약물, TNF 억제제, DMARD, NSAID (예를 들어, 근골격계 증후군 치료를 위한 것), 레보티록신, 시클로스포린 A, 소마토스타틴 유사체, 사이토카인 길항제 또는 사이토카인-수용체 길항제, 항대사물질, BAFF 길항제 예컨대 BAFF 항체 또는 BR3 항체, 특히 BAFF 항체, 면역억제제, 및 또다른 B-세포 표면 마커 항체, 예컨대 리툽시맙 및 인간화 2H7 또는 다른 인간화 CD20 항체의 조합물이다.

<215> 더욱 바람직한 상기 약제는 화학요법제, 면역억제제이며, TNF-알파에 대한 항체, CD40-CD40 리간드에 대한 항체, 및 BAFF 길항제 예컨대 BAFT 또는 BR3 항체, DMARD, 세포독성제, 인테그린 길항제, NSAID, 사이토카인 길항제, 또는 호르몬, 또는 이들의 조합물을 포함한다. 면역억제제는 예를 들어, 주요 기관 병발에 의한 매우 활성인 질환에 요구될 수 있으며 시클로포스파미드 (CYTOXAN®), 클로람부실, 레플루노미드, MMF, 아자티오프린 (IMURAN®), 및 메토포렉세이트와 같은 제제를 포함한다. BAFF 길항제는 효능을 위해 제1 약제와 병용하여 사용될 수 있다.

<216> 더더욱 바람직한 것에는, 스테로이드, 화학요법제, 면역억제제, 세포독성제, 인테그린 길항제, 사이토카인 길항제, 또는 호르몬, 또는 이들의 조합물이 있으며, 가장 바람직하게는, 스테로이드 및/또는 면역억제제이고, 더욱 가장 바람직하게는, 코르티코스테로이드 및/또는 면역억제제이다.

<217> 특히 바람직한 일 실시태양에서, 제2 약제는 1 이상의 스테로이드, 예를 들어, 코르티코스테로이드, 바람직하게는 프레드니손, 프레드니솔론, 메틸프레드니솔론, 히드로코르티손, 또는 텍사메타손을 포함한다. 이러한 스테로이드는 제1 약제, 예를 들어, CD20 항체를 투여하지 않고 스테로이드로 치료받는 환자에 사용되는 양보다 더욱 소량으로 제2 노출과 함께 투여된다. 바람직한 면에서, 스테로이드는 제2 항체 노출과 함께 투여되지 않거나 또는 초기 항체 노출과 함께 사용되는 양보다 더욱 소량으로 투여된다. 또한 바람직하게는 스테로이드는 제3 또는 후속 항체 노출과 함께 투여되지 않는다.

<218> 또다른 추가적인 특히 바람직한 면에서, 제2 약제는 면역억제제이고, 더욱 바람직하게는 시클로포스파미드, MMF, 클로람부실, 아자티오프린, 레플루노미드, 또는 메토포렉세이트이고, 바람직하게는, 적어도 초기 항체 노출과 함께 투여된다. 일 실시태양에서, 완화의 유지를 위해 시클로포스파미드 대신에 아자티오프린, 메토포렉세이트, 또는 MMF가 바람직하게 사용된다.

<219> 추가적 바람직한 면에서, 제2 약제는 1 이상의 스테로이드 및 면역억제제의 조합물이다.

<220> ANCA-관련 혈관염의 예방적 치료에 진균성 감염에 대한 경구용 플루코나졸 (DIFLUCAN™)이 또한 사용될 수 있으며 나아가 뉴모시스티스 카리니 (Pneumocystis carinii)가 있는 환자의 예방적 치료를 위해 매주 3회 트리메토프림-술피메톡사졸 (480 mg)이 사용될 수 있다. [Jayne and Rasmussen, 상기 문헌].

<221> 상기 모든 제2 약제는 서로 조합하여 사용되거나 제1 약제와 함께 이를 조합하여 사용될 수 있는데, 이 때 본원에 사용되는 표현 "제2 약제"란 각각 제1 약제 이외의 유일한 약제를 의미하지 않는다. 따라서, 제2 약제는 하나의 약제일 필요가 없으며, 1 이상의 상기 약물로 구성되거나 또는 1 이상의 상기 약물을 포함할 수 있다.

<222> 본원에서 기술된 상기 제2 약제는 일반적으로 동일한 투여량으로 하기 사용되는 투여 경로로, 또는 약 1 내지 99 %의 통상 사용되는 투여량으로 사용된다. 상기 제2 약제를 사용하는 경우에는, 바람직하게는 제1 약제가 없는 경우보다 더욱 소량으로, 특히 제1 약제와 함께 사용시의 초기 용량보다 낮은 후속 용량으로 사용되어, 이에 의해 야기되는 부작용을 제거 또는 감소시킨다.

<223> 본원의 재치료 방법에 있어서, 유효량의 제2 약제가 항체 노출과 함께 투여되는 경우에는, 임의의 노출, 예를 들어, 단지 한번의 노출, 또는 1 이상의 노출과 함께 투여될 수 있다. 일 실시태양에서, 제2 약제는 초기 노출과 함께 투여된다. 또다른 실시태양에서, 제2 약제는 초기 또는 제2 노출과 함께 투여된다. 또다른 추가적 실시태양에서, 제2 약제는 모든 노출과 함께 투여된다. 바람직하게는, 초기 노출 후, 예컨대 스테로이드와 같은 제2 약제의 양을 감소시키거나 또는 제거시켜 프레드니손, 프레드니솔론, 메틸프레드니솔론, 및 시클로포스파미



드와 같이 부작용을 갖는 제제의 대상체에 대한 부작용의 노출을 감소시킨다.

- <224> 특정 예로서, 현미경적 다발성혈관염 및 베게너 육아종증 환자의 치료는 (1) 완화 유도, (2) 완화 유지, 및 (3) 재발 치료의 3 단계로 이루어진다. 현재 유도 요법은 흔히 시클로포스파미드 (CYTOXAN®) 및 코르티코스테로이드로 이루어진다. 이는 수 일 동안 (예를 들어, 1 내지 5 일) 고용량의 정맥내 메틸프레드니솔론 + 일정 시간, 예컨대 3-5 개월에 걸쳐 테이퍼링되는 경구 프레드니손을 포함한다. 공격정 질환에 있어서는, 정맥내 또는 경구 시클로포스파미드와 병용되는 3 일 동안의 고용량 정맥내 메틸프레드니솔론의 사용이 추천된다. 그 후, 12 내지 18 개월 동안 시클로포스파미드 유지와 함께, 프레드니손의 용량을 테이퍼링시키는 것이 바람직하다. 제1 약제가 사용되는 경우, 투여량 및 빈도는 또한 감소되는 것이 바람직한데, 이는 질환을 조절하는 가장 저용량의 스테로이드를 사용하여야 하기 때문이다. 증상이 악화되는 것으로 여겨진다면, 감염을 고려해보아야 한다. 12 개월의 완화가 지속된 환자에 대해서는, 상기 모든 투여되는 본원의 제1 약제와 함께인 상기 모든 제2 약제의 사용을 제1 약제가 없는 경우보다 빠른 속도로 중단시킨다. 그럼에도, 증상이 양호하게 조절되는 환자에 대해 6 개월 간격으로 재발 징후 및 증상에 대해 철저히 추적조사를 하여야만 한다. 이들 제제로의 치료 동안, 전체 혈구 계산 및 간 기능 검사를 주기적으로 수행해야만 한다.
- <225> 제2 약제의 병용 투여는 별도의 제형 또는 단일 제약 제형을 사용하는 공동-투여 (동시 투여), 및 바람직하게는 두개의 (또는 모든) 활성제 (약제)가 이들의 생물학적 활성을 동시에 나타낼 수 있는 시간대의, 순차적인 연속 투여를 포함한다.
- <226> 본원의 항체 또는 길항제는 비경구, 국소, 피하, 복강내, 폐내, 비내, 및/또는 병변내 투여를 포함하는 임의의 적합한 수단으로 투여된다. 비경구 주입은 근육내, 정맥내 (i.v.), 동맥내, 복강내, 또는 피하 투여를 포함한다. 정맥내 주입 또한 구현된다 (예를 들어, CD20 항체의 정맥내 전달에 관한, US 2002/0009444 (Grillo-Lopez) 참조). 또한, 항체 또는 길항제는 예를 들어, 항체 또는 길항제의 감소되는 용량을 사용하는 펄스 주입으로 투여되는 것이 적합할 수 있다. 바람직하게는 정맥내 또는 피하로 투여되며, 더욱 바람직하게는 정맥내 주입으로 투여된다.
- <227> 항체의 다노출이 제공되는 경우, 각각의 노출은 동일하거나 또는 상이한 투여 수단을 사용하여 제공될 수 있다. 일 실시태양에서, 각각의 노출은 정맥내 투여에 의한다. 일 실시태양에서, 각각의 노출은 피하 투여에 의한다. 또다른 실시태양에서, 노출은 정맥내 및 피하 투여 모두에 의해 주어진다.
- <228> 일 실시태양에서, 정맥내 푸쉬 (push) 또는 볼루스 (bolus)보다는 서서히 정맥내로의 주입을 통해 CD20 항체를 투여한다. 예를 들어, 스테로이드 예컨대 프레드니솔론 또는 메틸프레드니솔론 (예를 들어, 약 80-120 mg i.v., 더욱 특히, 약 100 mg i.v.)을 CD20 항체의 주입 전 약 30 분에 투여한다. 예를 들어, CD20 항체를 전용선을 통해 주입한다.
- <229> CD20 항체에 대한 다용량 노출의 초기 용량에 있어, 또는 노출이 단지 하나의 용량을 포함하는 경우의 단일 용량에 있어, 이러한 주입은 바람직하게는 약 50 mg/hour의 속도로 시작된다. 이는 예를 들어 매번 약 30 분 마다 약 50 mg/hour의 증가 속도로 차츰 증가되어 최대 약 400 mg/hour에 이를 수 있다. 하지만, 대상체가 주입과 관련된 반응을 나타낸다면, 주입 속도를 예를 들어 현 속도의 반으로, 예를 들어, 100 mg/hour에서 50 mg/hour로 감소시키는 것이 바람직하다. 바람직하게는, CD20 항체의 상기 용량 (예를 들어, 약 1000 mg 총량)의 주입은 약 255 분 (4 시간 15 분)에 완료된다. 경우에 따라서는, 대상체는 주입 시작 전 약 30 내지 60 분에 경구로 아세트아미노펜/파라세타몰 (예를 들어, 약 1 g) 및 디펜히드라민 HCl (예를 들어, 약 50 mg 또는 등가량의 유사 제제)의 예방적 치료를 수여받는다.
- <230> CD20 항체의 1 이상의 주입 (용량)이 총 노출로서 주어지는 경우에는, 본 주입 실시태양의 제2 또는 후속 CD20 항체 주입은 바람직하게는 초기 주입보다 더 높은 속도로, 예를 들어, 약 100 mg/hour로 시작한다. 이 속도는 예를 들어 매번 약 30 분 마다 약 100 mg/hour의 증가 속도로 차츰 증가되어 최대 약 400 mg/hour에 이를 수 있다. 주입-관련 반응을 나타낸 대상체에서는 주입 속도를 현 속도의 반으로, 예를 들어, 100 mg/hour에서 50 mg/hour로 감소시키는 것이 바람직하다. 바람직하게는, CD20 항체의 제2 또는 후속 용량 (예를 들어, 약 1000 mg 총량)의 주입은 약 195 분 (3 시간 15 분)에 완료된다.
- <231> 상기 항체를 생산, 변형 및 제형화 방법에 관한 논의는 다음과 같다.
- <232> **III. 항체의 생산**
- <233> 본 발명의 방법 및 제조품은 B 세포 표면 마커에 결합하는 항체, 특히 CD20에 결합하는 항체를 사용하거나 또는

이를 포함시킨다. 따라서, 이러한 항체를 생산하는 방법을 이하에서 기술할 것이다.

- <234> 항체(들)의 생산 또는 이(들)의 스크리닝에 사용되는 CD20 항원은, 예를 들어, 원하는 에피토프를 포함하는 CD20의 가용성 형태, 또는 이들의 부분일 수 있다. 별법으로, 또는 추가적으로, 항체(들)을 생산하거나 또는 스크리닝하는데 이들 세포 표면에 CD20을 발현하는 세포를 사용할 수 있다. 항체 생산에 유용한 CD20의 다른 형태는 당업계에게 명백할 것이다.
- <235> 본 발명에 따라 사용되는 항체의 생산을 위한 예시적인 기술이 하기에 기술된다.
- <236> (i) 폴리클로날 항체.
- <237> 폴리클로날 항체는 관련 항원 및 애주번트의 다중 피하 (sc) 또는 복강내 (ip) 주사에 의해 동물에서 바람직하게 생성된다. 이관능성 또는 유도체화 작용제, 예를 들어 말레이미도벤조일 술포숙신이미드 에스테르 (시스테인 잔기를 통한 접합), N-히드록시숙신이미드 (라이신 잔기를 통한 접합), 글루타르알데히드, 숙신산 무수물,  $\text{SOCl}_2$ , 또는  $\text{R}^1\text{N}=\text{C}=\text{NR}$  (여기서, R 및  $\text{R}^1$ 은 상이한 알킬기이다)을 사용하여, 면역화될 종에서 면역원성인 단백질, 예를 들어 키홀 림펫 헤모시아닌, 혈청 알부민, 소 티로글로불린 또는 대두 트립신 억제제에 관련 항원을 접합시키는 것이 유용할 수 있다.
- <238> 예를 들어, 100  $\mu\text{g}$  또는 5  $\mu\text{g}$ 의 단백질 또는 접합체 (각각 토끼 또는 마우스에 대한 것)를 3배 용량의 프로인트 (Freund) 완전 애주번트와 합하고, 이 용액을 다중 부위에 진피내 주사함으로써, 항원, 면역원성 접합체 또는 유도체에 대해 동물들을 면역화시킨다. 1 개월 후, 프로인트 완전 애주번트 내의 펩티드 또는 접합체를 원래 양의 1/5 내지 1/10로 다중 부위에 피하 주사하여 동물을 부스팅시킨다. 7 내지 14일 후, 동물에서 채혈하여, 항체 역가에 대해 혈청을 분석한다. 역가가 정체기(plateau)에 도달할 때까지 동물을 부스팅시킨다. 바람직하게는, 상이한 단백질에 및/또는 상이한 가교결합 시약을 통해 접합된 동일한 항원의 접합체로 동물을 부스팅시킨다. 접합체는 또한 재조합 세포 배양물에서 단백질 융합체로서 제조될 수 있다. 또한, 백반과 같은 응집제를 적절하게 사용하여 면역 반응을 증강시킨다.
- <239> (ii) 모노클로날 항체.
- <240> 모노클로날 항체는 실질적으로 균질한 항체들의 집단으로부터 수득되는데, 즉 집단을 이루는 개별적인 항체들은 모노클로날 항체 생산 동안 발생할 수 있는 일반적으로 미량으로 존재하는 변이체를 제외하고는 동일하고/거나 동일한 에피토프에 결합한다. 따라서, 수식어구 "모노클로날"은 개별적인 또는 폴리클로날 항체들의 혼합물이 아닌 것으로 항체의 특징을 가리킨다.
- <241> 예를 들어, 모노클로날 항체는 [Kohler et al., Nature, 256:495[1975]]에 최초로 기술된 하이브리도마 방법을 사용하여 제조할 수 있거나, 또는 재조합 DNA 방법 (미국 특허 제4,816,567호)으로 제조할 수 있다.
- <242> 하이브리도마 방법에서는, 마우스 또는 기타 적절한 숙주 동물, 예컨대 햄스터를 상기 기술한 바와 같이 면역화시켜, 면역화에 사용된 단백질에 특이적으로 결합할 항체를 생산하거나 생산할 수 있는 림프구를 유발시킨다. 별법으로, 림프구를 시험관내에서 면역화시킬 수 있다. 그 후, 적절한 융합제, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜을 사용하여 림프구를 골수종 세포와 융합시켜 하이브리도마 세포를 형성한다 (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp. 59-103, Academic Press, 1986).
- <243> 이렇게 제조된 하이브리도마 세포를 융합되지 않은 어버이 골수종 세포의 성장 또는 생존을 억제하는 하나 이상의 물질을 바람직하게는 함유하는 적절한 배양 배지에 접종하여 성장시킨다. 예를 들어, 어버이 골수종 세포에 하이포잔틴 구아닌 포스포리보실 트랜스퍼라제 (HGPRT 또는 HPRT) 효소가 없는 경우, 하이브리도마용 배양 배지는 전형적으로 하이포잔틴, 아미노프테린 및 티미딘을 포함할 것이며 (HAT 배지), 이러한 물질들은 HGPRT-결핍 세포의 성장을 방지한다.
- <244> 바람직한 골수종 세포는 효율적으로 융합되고, 선택된 항체-생산 세포에 의한 높은 수준의 안정적인 항체 생산을 지지하며, HAT 배지와 같은 배지에 감수성이 있는 것이다. 이들 중에서, 바람직한 골수종 세포주는 무린 골수종 세포주, 예컨대 [Salk Institute Cell Distribution Center (San Diego, California USA)]로부터 입수가 가능한 MOPC-21 및 MPC-11 마우스 종양으로부터 유래된 것, 및 [American Type Culture Collection (Manassas, Virginia USA)]로부터 입수가 가능한 SP-2 또는 X63-Ag8-653 세포이다. 또한, 인간 골수종 및 무린-인간 헤테로골수종 세포주 또한 인간 모노클로날 항체의 생산을 위해 기술되어 있다 ([Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984)]; [Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63

(Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)]).

- <245> 하이브리도마 세포가 성장하는 배양 배지를 항원에 대해 지시된 모노클로날 항체의 생산에 대해 분석한다. 바람직하게는, 하이브리도마 세포에 의해 생산된 모노클로날 항체의 결합 특이성을 면역침전에 의해 또는 시험관 내 결합 분석법, 예컨대 방사선면역분석법 (RIA) 또는 효소-결합 면역흡착 분석법 (ELISA)으로 측정한다.
- <246> 모노클로날 항체의 결합 친화성은, 예를 들어, [Munson et al., Anal. Biochem., 107:220 (1980)]의 스캐차드 (Scatchard) 분석법에 의해 측정할 수 있다.
- <247> 원하는 특이성, 친화성 및/또는 활성의 항체를 생산하는 하이브리도마 세포를 확인한 후, 클론을 한계 희석 절차에 의해 서브클로닝하고, 표준 방법 (Goding, Monoclonal Antibodies Principles and Practice, pp 59-103 (Academic Press, 1986))에 의해 성장시킬 수 있다. 이러한 목적에 적절한 배양 배지는, 예를 들어, D-MEM 또는 RPMI-1640 배지를 포함한다. 또한, 하이브리도마 세포를 동물에서 복수 종양으로서 생체내 성장시킬 수 있다.
- <248> 서브클론에 의해 분리된 모노클로날 항체는 예를 들어 단백질 A-SEPHAROSE™ 아가로스 크로마토그래피, 히드록실아파타이트 크로마토그래피, 겔 전기영동, 투석 또는 친화성 크로마토그래피와 같은 통상적인 면역글로불린 정제 절차에 의해 배양 배지, 복수액 또는 혈청으로부터 적절하게 분리된다.
- <249> 통상적인 방법 (예를 들어, 마우스 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 이용함)을 이용하여 모노클로날 항체를 코딩하는 DNA를 쉽게 단리하고 서열분석한다. 하이브리도마 세포는 이같은 DNA의 바람직한 공급원으로 기능한다. 일단 단리되면, DNA를 발현 벡터 내로 넣을 수 있고, 그 후 이를 형질감염되지 않으면 면역글로불린 단백질을 생산하지 않는 대장균 세포, 원숭이 COS 세포, 차이니즈 햄스터 난소 (Chinese Hamster Ovary, CHO) 세포 또는 골수종 세포와 같은 숙주 세포 내로 형질감염시켜, 재조합 숙주 세포에서의 모노클로날 항체의 생산을 수득한다. 항체를 코딩하는 DNA의 박테리아에서의 재조합 발현에 대한 리뷰 논문에는 [Skerra et al., Curr. Opinion in Immunol., 5:256-262(1993)] 및 [Plueckthun, Immunol. Revs. 130:151-188(1992)]이 포함된다.
- <250> 추가적인 실시양태에서, 항체 또는 항체 단편을 [McCafferty et al., Nature, 348:552-554 (1990)]에 기술된 기술을 사용하여 생성된 항체 파지 라이브러리로부터 단리할 수 있다. [Clackson et al., Nature, 352:624-628(1991)] 및 [Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581-597(1991)]에는 파지 라이브러리를 사용한 무린 및 인간 항체의 단리가 각각 기술되어 있다. 후속적인 문헌들에는 사슬 셔플링(shuffling)에 의한 고친화성 (nM 범위) 인간 항체의 생산 (Marks et al., Bio/Technology, 10:779-783(1992)), 뿐만 아니라 매우 큰 파지 라이브러리를 구축하기 위한 전략으로서의 조합 감염 및 생체내 재조합 (Waterhouse et al., Nucl. Acids Res., 21:2265-2266(1993))이 기술되어 있다. 따라서, 이러한 기술들은 모노클로날 항체의 단리를 위한 전통적인 모노클로날 항체 하이브리도마 기술에 대한 실행가능한 대안이다.
- <251> 또한, 예를 들어, 상동성 무린 서열 대신에 인간 중쇄 및 경쇄 불변 도메인에 대한 코딩 서열을 치환함으로써 (미국 특허 제4,816,567호; [Morrison et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA, 81:6851 (1984)]), 또는 비-면역글로불린 폴리펩티드에 대한 코딩 서열 전부 또는 일부를 면역글로불린 코딩 서열에 공유 결합시킴으로써 DNA를 변형시킬 수 있다.
- <252> 전형적으로, 이같은 비-면역글로불린 폴리펩티드로 항체의 불변 도메인을 치환하거나, 항체의 한 항원-결합 부위의 가변 도메인을 치환하여, 항원에 대한 특이성을 갖는 한 항원-결합 부위 및 상이한 항원에 대해 특이성을 갖는 또다른 항원-결합 부위를 포함하는 키메라 2가 항체가 생성된다.
- <253> 또한, Fc $\gamma$ R에 고친화성을 갖는 변형된 Fc 영역을 포함하는 항체는 이펙터 세포 기능의 향상된 효능을 원하는 US 2005/0037000 및 WO 2004/63351 (Macrogenics, Inc. STA VENHAGEN et al.)에 기술된 바와 같은 질환, 예컨대 자가면역 질환 치료에 유용하다.
- <254> (iii) 인간화 항체
- <255> 비-인간 항체를 인간화시키는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 바람직하게는, 인간화 항체에는 비-인간 공급원으로부터 유래되어 인간화 항체내로 도입되는 하나 이상의 아미노산 잔기를 가진다. 이러한 비-인간 아미노산 잔기는 종종 "수입" 잔기로 지칭되고, 이는 전형적으로는 "수입" 가변 도메인으로부터 취해진다. 인간화는 인간 항체의 상응하는 서열을 초가변 영역으로 치환함으로써 Winter 및 공동 연구자의 방법 ([Jones et al., Nature, 321: 522-525 (1986)]; [Riechmann et al., Nature, 332: 323-327 (1988)]; [Verhoeven et al.,

Science, 239: 1534-1536 (1988))]에 따라 본질적으로 수행할 수 있다. 따라서, 이같은 "인간화" 항체는 무손상 인간 가변 도메인보다 실질적으로 더 적은 서열이 비-인간 종으로부터의 상응하는 서열로 치환된 키메라 항체 (미국 특허 제4,816,567호)이다. 실제로, 인간화 항체는 전형적으로 일부 초가변 영역 잔기 및 가능하게는 일부 FR 잔기가 설치류 항체의 유사한 부위로부터의 잔기로 치환된 인간 항체이다.

<256> 인간화 항체를 제조하는데 사용되는 인간 가변 도메인 (경쇄 및 중쇄 모두)을 선택하는 것은 항원성을 감소시키는데 매우 중요하다. 소위 "베스트-핏(best-fit)" 방법에 따라, 설치류 항체의 가변 도메인의 서열을 공지된 인간 가변-도메인 서열의 전체 라이브러리에 대해 스크리닝한다. 이어서, 설치류의 서열에 가장 근접한 인간 서열을 인간화 항체에 대한 인간 프레임워크 영역 (FR)으로서 허용한다 ([Sims et al., J. Immunol., 151:2296 (1993)]; [Chothia et al., J. Mol. Biol., 196:901 (1987)]). 또다른 방법에서는 경쇄 또는 중쇄 가변 영역의 특정 아군의 모든 인간 항체의 컨센서스 서열로부터 유래된 특정 프레임워크 영역을 사용한다. 몇몇의 상이한 인간화 항체에 대해 동일한 프레임워크를 사용할 수 있다 ([Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992)]; [Presta et al., J. Immunol., 151:2623 (1993)]).

<257> 항원에 대한 고친화성 및 기타 유리한 생물학적 성질을 유지시키면서 항체를 인간화시키는 것 또한 중요하다. 이러한 목적을 이루기 위해, 바람직한 방법에 따라, 어버이 서열 및 인간화 서열의 3차원 모델을 사용한 어버이 서열 및 다양한 개념적 인간화 생성물의 분석 프로세스에 의해 인간화 항체를 제조한다. 3차원 번역글로불린 모델은 일반적으로 당업자가 이용가능하고, 이들에게 친숙하다. 선택된 후보 번역글로불린 서열의 가능한 3차원 입체 구조를 설명하고 디스플레이하는 컴퓨터 프로그램을 이용할 수 있다. 이러한 디스플레이들의 정밀검사로 후보 번역글로불린 서열의 기능화에서 잔기들의 가능한 역할을 분석할 수 있으며, 즉, 항원에 결합하는 후보 번역글로불린의 능력에 영향을 미치는 잔기를 분석할 수 있다. 이러한 방식으로, 원하는 항체 특성, 예컨대 표적 항원(들)에 대한 증가된 친화성이 달성되도록 수용자 및 수입 서열로부터 FR 잔기를 선택하고 조합시킬 수 있다. 일반적으로, 초가변 영역은 항원 결합에 영향을 미치는데 직접적으로, 그리고 가장 실질적으로 관여한다.

<258> (iv) 인간 항체

<259> 인간화의 대안으로서, 인간 항체를 생성시킬 수 있다. 예를 들어, 번역화시키면 내인성 번역글로불린 생산의 부재 하에 인간 항체의 전체 레퍼토리를 생산할 수 있는 트랜스제닉(trnasgenic) 동물 (예를 들어, 마우스)을 생산하는 것이 현재 가능하다. 예를 들어, 키메라 및 생식계열 돌연변이 마우스에서 항체 중쇄 연결 영역 (J<sub>H</sub>) 유전자를 동형접합 결실시키면 내인성 항체의 생산이 완전히 억제되는 것으로 기술되었다. 인간 생식계열 번역글로불린 유전자 어레이를 이같은 생식계열 돌연변이 마우스에게 전달하면, 항원 접종시 인간 항체가 생산될 것이다. 예를 들어, [Jakobovits et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:2551 (1993)]; [Jakobovits et al., Nature, 362:255-258 (1993)]; [Bruggermann et al., Year in Immuno., 7:33 (1993)]; 및 미국 특허 제 5,591,669호, 제5,589,369호, 제5,545,807호 참조.

<260> 별법으로, 파지 디스플레이 기술 (McCafferty et al., Nature 348:552-553 (1990))을 이용하여 번역화되지 않은 공여자로부터의 번역글로불린 가변 (V) 도메인 유전자 레퍼토리로 부터 인간 항체 및 항체 단편을 시험관내에서 생산할 수 있다. 이러한 기술에 따라, 항체 V 도메인 유전자는 M13 또는 fd와 같은 섬유상 박테리오파지의 주요 또는 소수 코트 단백질 유전자 내로 인-프레임(in-frame) 클로닝되고, 파지 입자의 표면 상에 기능성 항체 단편으로 디스플레이된다. 섬유상 입자가 파지 게놈의 단일-가닥 DNA 카피를 함유하기 때문에, 항체의 기능적 성질을 기초로 하는 선택으로 이러한 성질을 나타내는 항체를 코딩하는 유전자가 선택된다. 따라서, 파지는 B-세포의 성질을 일부 모방한다. 파지 디스플레이는 다양한 포맷으로 수행될 수 있다; 이의 개관을 위해서는, 예를 들어, [Johnson, Kevin S. and Chiswell, David J., Current Opinion in Structural Biology 3:564-571 (1993)] 참조. V-유전자 절편의 다양한 공급원을 파지 디스플레이에 사용할 수 있다. [Clackson et al., Nature 352: 624-628 (1991)]에서는 번역화된 마우스의 지라로부터 유래된 V 유전자의 소형 무작위 조합 라이브러리로부터 항-옥사졸론 항체의 다양한 어레이가 단리되었다. 본질적으로 [Marks et al., J. Mol. Biol. 222:581-597 (1991)], 또는 [Griffith et al., EMBO J. 12:725-734 (1993)]에 기술된 기술에 따라, 번역화되지 않은 인간 공여자로부터의 V 유전자의 레퍼토리가 구축될 수 있고, 다양한 어레이의 항원 (자가-항원 포함)에 대한 항체를 단리할 수 있다. 또한, 미국 특허 제5,565,332호 및 제5,573,905호 참조.

<261> 또한 인간 항체는 시험관내 활성화된 B 세포에 의해 생성될 수 있다 (미국 특허 제5,567,610호 및 제5,229,275호 참조).



- <262> (v) 항체 단편
- <263> 항체 단편의 생산을 위하여 다양한 기술이 개발되어 왔다. 전통적으로, 이러한 단편들은 무손상 항체의 단백질을 분해성 분해를 통해 유도되었다 (예를 들어, [Morimoto et al., Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24: 107-117 (1992)]; 및 [Brennan et al., Science 229: 81 (1985)] 참조). 그러나, 현재 이러한 단편들은 재조합 숙주 세포에 의해 직접적으로 생산될 수 있다. 예를 들어, 상기 논의된 항체 파지 라이브러리로부터 항체 단편이 단리될 수 있다. 별법으로, Fab'-SH 단편이 대장균으로부터 직접 회수되고 화학적으로 커플링되어 F(ab')<sub>2</sub> 단편을 형성할 수 있다 (Carter et al., Bio/Technology 10:163-167 (1992)). 또다른 접근법에 따르면, F(ab')<sub>2</sub> 단편이 재조합 숙주 세포 배양물로부터 직접적으로 단리될 수 있다. 항체 단편의 생산을 위한 기타 기술은 당업자에게 명백할 것이다. 또다른 실시양태에서, 선택된 항체는 단일쇄 Fv 단편 (scFv)이다. WO 93/16185; 미국 특허 제5,571,894호; 및 미국 특허 제5,587,458호 참조. 또한 항체 단편은, 예를 들어, 미국 특허 제5,641,870호에 기술된 것과 같이, "선형 항체"일 수 있다. 이같은 선형 항체 단편은 단일특이적 또는 이중특이적일 수 있다.
- <264> (vi) 이중특이적 항체
- <265> 이중특이적 항체는 2개 이상의 상이한 에피토프에 대해 결합 특이성을 갖는 항체이다. 예시적인 이중특이적 항체는 CD20 항원의 2개의 상이한 에피토프에 결합할 수 있다. 또다른 이같은 항체는 CD20에 결합할 수 있고, 추가로 B-세포 표면 마커에 결합할 수 있다. 별법으로, 세포성 방어 메카니즘이 B 세포에 집중되도록, 항-CD20 결합 팔(arm)이 Fc $\gamma$ RI (CD64), Fc $\gamma$ RII (CD32) 및 Fc $\gamma$ RIII (CD16)과 같은 IgG에 대한 Fc 수용체 (Fc $\gamma$ R), 또는 T-세포 수용체 분자 (예를 들어, CD2 또는 CD3)와 같은 백혈구 상의 촉발 분자에 결합하는 팔과 조합될 수 있다. 또한 이중특이적 항체를 사용하여 세포독성제를 B-세포에 국소화시킬 수 있다. 이러한 항체들은 CD20-결합 팔, 및 세포독성제 (예를 들어, 사포린, 항-인터페론- $\alpha$ , 빈카 알칼로이드, 라이신(ricin) A 사슬, 메토크세이트 또는 방사성 동위원소 합텐)에 결합하는 팔을 갖는다. 이중 특이적 항체는 전장 항체 또는 항체 단편 (예를 들어, F(ab')<sub>2</sub> 이중특이적 항체)으로 제조될 수 있다.
- <266> 이중특이적 항체의 제조 방법은 당업계에 공지되어 있다. 전장 이중특이적 항체의 전통적인 생산은 2개의 면역글로불린 중쇄-경쇄 쌍의 동시발현을 기초로 하고, 여기서 두 사슬은 상이한 특이성을 갖는다 (Millstein et al., Nature, 305:537-539 (1983)). 면역글로불린 중쇄 및 경쇄의 무작위 편성으로 인해, 이러한 하이브리도마 (퀴드로마(quadroma))는 10가지 상이한 항체 분자의 잠재적 혼합물을 생산하고, 이중 하나만이 올바른 이중특이적 구조를 갖는다. 일반적으로 친화성 크로마토그래피 단계에 의해 이루어지는 올바른 분자의 정제는 다소 번거롭고, 생성물 수율이 낮다. 유사한 절차가 WO 93/08829 및 [Traunecker et al., EMBO J., 10:3655-3659 (1991)]에 개시되어 있다.
- <267> 다른 접근법에 따르면, 원하는 결합 특이성을 갖는 항체 가변 도메인 (항체-항원 결합 부위)이 면역글로불린 불변 도메인 서열에 융합된다. 적어도 하나의 일부, CH2 및 CH3 영역을 포함하는 면역글로불린 중쇄 불변 도메인과의 융합이 바람직하다. 경쇄 결합에 필요한 부위를 함유하는 제1 중쇄 불변 영역 (CH1)이 융합체 중 적어도 하나에 존재하는 것이 바람직하다. 면역글로불린 중쇄 융합체, 및 원한다면 면역글로불린 경쇄를 코딩하는 DNA들을 별도의 발현 벡터에 삽입하고, 적절한 숙주 세포 내로 공-형질감염시킨다. 이것은 구축에 사용된 3개의 폴리펩티드 사슬의 동등하지 않은 비율이 최적 수율을 제공하는 실시양태에서 3개의 폴리펩티드 단편의 상호 비율을 조절하는데 있어서 큰 유연성을 제공한다. 그러나, 동일한 비율의 2개 이상의 폴리펩티드 사슬의 발현으로 높은 수율이 획득되는 경우 또는 비율이 특별한 의미를 갖지 않는 경우, 2개 또는 모든 3개의 폴리펩티드 사슬에 대한 코딩 서열을 단일 발현 벡터에 삽입할 수 있다.
- <268> 이러한 접근법의 바람직한 실시양태에서, 이중특이적 항체는 한쪽 팔 내의 제1 결합 특이성을 갖는 하이브리드 면역글로불린 중쇄, 및 다른쪽 팔 내의 하이브리드 면역글로불린 중쇄-경쇄 쌍 (제2 결합 특이성 제공)으로 구성된다. 이중특이적 분자의 한쪽 절반에만 면역글로불린 경쇄가 존재하는 것이 용이한 분리 방식을 제공하기 때문에, 이러한 비대칭 구조는 원치 않는 면역글로불린 사슬 조합물로부터의 원하는 이중특이적 화합물의 분리를 용이하게 한다는 것이 발견되었다. 이러한 접근법은 WO 94/04690에 개시되어 있다. 이중특이적 항체의 생성을 위한 추가적인 상세한 내용은, 예를 들어, [Suresh et al., Methods in Enzymology, 121:210 (1986)] 참조.
- <269> 미국 특허 제5,731,168호에 기재된 또다른 접근법에 따르면, 한 쌍의 항체 분자 사이의 경계면을 조작하여 재조합 세포 배양물로부터 회수되는 이중이량체의 백분율을 최대화할 수 있다. 바람직한 경계면은 항체 불변 도메인



인의 C<sub>4</sub>3 도메인의 적어도 일부를 포함한다. 이러한 방법에서, 제1 항체 분자의 경계면으로부터의 1개 이상의 작은 아미노산 측쇄가 보다 큰 측쇄 (예를 들어, 티로신 또는 트립토판)로 대체된다. 큰 아미노산 측쇄를 더 작은 아미노산 측쇄 (예를 들어, 알라닌 또는 트레오닌)로 대체함으로써 큰 측쇄(들)에 대한 동일하거나 유사한 크기의 보상 "공동(cavity)"이 제2 항체 분자의 경계면 상에 생성된다. 이는 동종이량체와 같은 다른 원치 않는 최종-생성물에 비해 이종이량체의 수율을 증가시키는 메카니즘을 제공한다.

<270> 이종특이적 항체에는 가교결합된 또는 "이종접합체" 항체가 포함된다. 예를 들어, 이종접합체 내의 항체들 중 하나는 아비딘에 커플링되고 다른 하나는 비오틴에 커플링될 수 있다. 이같은 항체들은, 예를 들어, 면역계 세포를 원치 않는 세포에 표적화시키기 위해서 (미국 특허 제4,676,980호), 그리고 HIV 감염의 치료를 위해서 (WO 91/00360, WO 92/200373 및 EP 03089) 제안되었다. 이종접합체 항체는 임의의 편리한 가교결합 방법을 이용하여 제조할 수 있다. 다수의 가교결합 기술과 함께, 적절한 가교결합체는 당업계에서 주지되어 있고, 예를 들어, 미국 특허 제4,676,980에 개시되어 있다.

<271> 항체 단편으로부터 이종특이적 항체를 생성시키는 기술 또한 문헌에 기술되어 있다. 예를 들어, 화학적 연결을 이용하여 이종특이적 항체를 제조할 수 있다. [Brennan et al., Science 229:81 (1985)]에는 무손상 항체를 단백질분해적으로 절단시켜 F(ab')<sub>2</sub> 단편을 생성시키는 방법이 기술되어 있다. 이러한 단편을 디티올 착화제인 아비산나트륨의 존재하에 환원시켜 인접한 디티올들을 안정화시키고 분자간 디설피드 형성을 방지한다. 그 후 생성된 Fab' 단편을 티오니트로벤조에이트(TNB) 유도체로 전환시킨다. 그 후 Fab'-TNB 유도체 중 하나를 메르캅토에틸아민으로의 환원에 의해 Fab'-티올로 재전환시키고, 등몰량의 다른 Fab'-TNB 유도체와 혼합하여 이종특이적 항체를 형성시킨다. 생산된 이종특이적 항체를 효소의 선택적 고정을 위한 작용제로서 사용할 수 있다.

<272> 제조할 세포 배양물로부터 직접적으로 이종특이적 항체 단편을 제조 및 분리하기 위한 다양한 기술이 또한 기술되었다. 예를 들어, 류신 지퍼를 사용하여 이종특이적 항체를 생산하였다. [Kostelny et al., J. Immunol. 148(5):1547-1553 (1992)]. Fos 및 Jun 단백질로부터의 류신 지퍼 펩티드를 2개의 상이한 항체의 Fab' 부분에 유전자 융합에 의해 연결하였다. 항체 동종이량체를 힌지 영역에서 환원시켜 단량체를 형성시킨 후, 다시 산화시켜 항체 이종이량체를 형성시켰다. 이러한 방법은 항체 동종이량체의 생산에 또한 이용될 수 있다. [Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993)]에 기술된 "디아바디" 기술은 이종특이적 항체 단편의 별법적인 제조 메카니즘을 제공하였다. 단편은 동일한 사슬 상의 두 도메인이 쌍을 이루게 하기에는 너무 짧은 링커에 의해 경쇄 가변 도메인 (V<sub>L</sub>)에 연결된 중쇄 가변 도메인 (V<sub>H</sub>)을 포함한다. 따라서, 한 단편의 V<sub>H</sub> 및 V<sub>L</sub> 도메인이 또다른 단편의 상보적인 V<sub>L</sub> 및 V<sub>H</sub> 도메인과 쌍을 이루도록 강요됨으로써, 2개의 항원 결합 부위가 형성된다. 단일쇄 Fv (sFv) 이량체를 사용하여 이종특이적 항체 단편을 제조하기 위한 또다른 전략 또한 보고되었다. [Gruber et al., J. Immunol. 152:5368 (1994)] 참조.

<273> 2가를 초과하는 항체도 구현된다. 예를 들어, 삼중특이적 항체를 제조할 수 있다. [Tutt et al., J. Immunol. 147:60 (1991)].

#### <274> IV. 접합체 및 항체의 기타 변형

<275> 본원의 방법에서 사용된 또는 본원의 제조품에 포함된 항체는 세포독성제에 임의로 접합된다. 예를 들어, (CD20) 항체는 WO 2004/03282에 기술된 바와 같은 약물에 접합될 수 있다.

<276> 이같은 항체-세포독성제 접합체의 생성에 유용한 화학요법제는 상기 기술되어 있다.

<277> 항체와 하나 이상의 소형-분자 독소, 예컨대 칼리케아마이신, 메이탄신 (미국 특허 제5,208,020호), 트리코텐 및 CC1065의 접합체 또한 본원에서 구현된다. 본 발명의 한 실시양태에서, 항체는 하나 이상의 메이탄신 분자 (예를 들어, 항체 분자 당 약 1 내지 약 10 개의 메이탄신 분자)에 접합될 수 있다. 메이탄신은, 예를 들어, May-SS-Me로 전환될 수 있고, 이는 May-SH3로 환원되어 변형된 항체와 반응하여 (Chari et al., Cancer Research 52:127-131 (1992)), 메이탄시노이드-항체 접합체가 생성될 수 있다.

<278> 별법으로, 항체는 하나 이상의 칼리케아마이신 분자와 접합된다. 칼리케아마이신 족의 항생제는 피코몰 이하 농도에서 이중-가닥 DNA 파괴를 일으킬 수 있다. 이용될 수 있는 칼리케아마이신의 구조 유사체로는  $\gamma_1^I$ ,  $\alpha_2^I$ ,  $\alpha_3^I$ , N-아세틸- $\gamma_1^I$ , PSAG 및  $\Theta_1^I$ 이 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다 ([Hinman et al., Cancer Research 53:3336-3342 (1993)] 및 [Lode et al., Cancer Research 58:2925-2928 (1998)]).

- <279> 사용될 수 있는 효소적으로 활성인 독소 및 이의 단편에는 디프테리아 A 사슬, 디프테리아 독소의 비결합 활성 단편, 외독소 A 사슬 (슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*) 유래), 라이신 A 사슬, 아브린 A 사슬, 모테신 A 사슬, 알파-사르신, 알레우리테스 포르디(*Aleurites fordii*) 단백질, 디안틴 단백질, 파이톨라카 아메리카나(*Phytolacca americana*) 단백질 (PAPI, PAPII 및 PAP-S), 모모르디카 카란티아 억제제, 쿠르신, 크로틴, 사파오나리아 오피시날리스 억제제, 겔로닌, 미토겔린, 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신 및 트리코테세네스가 포함된다. 예를 들어, 1993년 10월 28일 공개된 WO 1993/21232 참조.
- <280> 본 발명에서는 뉴클레오분해(nucleolytic) 활성을 나타내는 화합물 (예를 들어, 리보뉴클레아제 또는 DNA 엔도뉴클레아제 예컨대 데옥시리보뉴클레아제; DNase)과 접합된 항체가 또한 구현된다.
- <281> 다양한 방사성 동위원소가 방사성접합된(radioconjugated) 항체의 생산에 이용가능하다. 예로는  $At^{211}$ ,  $I^{131}$ ,  $I^{125}$ ,  $Y^{90}$ ,  $Re^{186}$ ,  $Re^{188}$ ,  $Sm^{153}$ ,  $Bi^{212}$ ,  $P^{32}$ , 및 Lu의 방사성 동위원소가 포함된다.
- <282> 다양한 이관능성 단백질 커플링제 예컨대 N-숙신이미딜-3-(2-피리딜디티올)프로피오네이트(SPDP), 숙신이미딜-4-(N-말레이미도메틸) 시클로헥산-1-카르복실레이트, 이미노티올란 (IT), 이미도에스테르의 이관능성 유도체 (예컨대 디메틸 아디프이미데이트 HCL), 활성 에스테르 (예컨대 디숙신이미딜 수베레이트), 알데히드 (예컨대 글루타르알데히드), 비스-아지도 화합물 (예컨대 비스(p-아지도벤조일)헥산디아민), 비스-디아조늄 유도체 (예컨대 비스-(p-디아조늄벤조일)-에틸렌디아민), 디이소시아네이트 (예컨대 톨리엔 2,6-디이소시아네이트), 및 비스-활성 플루오르 화합물 (예컨대 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠)을 사용하여 항체와 세포독성제의 접합체를 만들 수 있다. 예를 들어, [Vitetta et al., Science, 238:1098 (1987)]에 기술된 바와 같이 리신 면역독소를 제조할 수 있다. 탄소-14-표지된 1-이소티오시아나토벤질-3-메틸디에틸렌 트리아민펜타아세트산 (MX-DTPA)은 방사선뉴클레오티드를 항체에 접합시키기 위한 예시적인 킬레이트화제이다. WO 1994/11026 참조. 링커는 세포 내에서 세포독성 약물의 방출을 용이하게 하는 "절단가능한 링커"일 수 있다. 예를 들어, 산-불안정 링커, 펩티다제-민감성 링커, 디메틸 링커 또는 디설피드-함유 링커 (Chari et al., Cancer Research 52:127-131 (1992))를 사용할 수 있다.
- <283> 별법으로, 예를 들어, 재조합 기술 또는 펩티드 합성에 의해 항체 및 세포독성제를 포함하는 융합 단백질을 제조할 수 있다.
- <284> 또다른 실시양태에서, 종양 예비표적화에 사용하기 위해 항체를 "수용체" (예컨대 스트렙타비딘)에 접합시킬 수 있는데, 이때 항체-수용체 접합체를 대상체에게 투여하고, 이어서 제거제를 사용하여 결합되지 않은 접합체를 순환계로부터 제거한 후, 세포독성제 (예를 들어 방사성뉴클레오티드)에 접합된 "리간드" (예컨대, 아비딘)를 투여한다.
- <285> 또한 본 발명의 항체는 전구약물 (예를 들어, 펩티드 화학요법제, WO 1981/01145 참조)을 활성 항암제로 전환시키는 전구약물-활성화 효소에 접합될 수 있다. 예를 들어, WO 1988/07378 및 미국 특허 제4,975,278호 참조.
- <286> 이같은 접합체의 효소 성분으로는 전구약물을 이의 더욱 활성인 세포독성 형태로 전환시키는 방식으로 전구약물에 작용할 수 있는 임의의 효소가 포함된다.
- <287> 본 발명의 방법에 유용한 효소는 포스페이트-함유 전구약물을 유리 약물로 전환시키는데 유용한 알칼리성 포스파타제; 술페이트-함유 전구약물을 유리 약물로 전환시키는데 유용한 아틸솔파타제; 비독성 5-플루오로사이토신을 항암 약물 5-플루오로우라실로 전환시키는데 유용한 사이토신 디아미나제; 펩티드-함유 전구약물을 유리 약물로 전환시키는데 유용한 프로테아제, 예컨대 세라티아 프로테아제, 테르몰리신, 서브틸리신, 카르복시펩티다제 및 카텝신 (예컨대 카텝신 B 및 L); D-아미노산 치환기를 함유하는 전구약물을 전환시키는데 유용한 D-알라닐카르복시펩티다제; 글리코실화 전구약물을 유리 약물로 전환시키는데 유용한  $\beta$ -갈락토시다제 및 뉴라미니다제와 같은 탄수화물-절단 효소;  $\beta$ -락탐으로 유도체화된 약물을 유리 약물로 전환시키는데 유용한  $\beta$ -락탐마제; 및 각각 페녹시아세틸 또는 페닐아세틸기로 아민 질소에서 유도체화된 약물을 유리 약물로 전환시키는데 유용한 페닐실린 V 아미다제 또는 페닐실린 G 아미다제와 같은 페닐실린 아미다제가 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다. 별법으로, 당업계에 "아브자임(abzyme)"으로 또한 공지된, 효소 활성을 갖는 항체를 이용하여 본 발명의 전구약물을 유리 활성 약물로 전환시킬 수 있다 (예를 들어, [Massey, Nature 328:457-458 (1987)] 참조). 아브자임을 종양 세포 집단에 전달하기 위해 항체-아브자임 접합체를 본원에 기술된 바와 같이 제조할 수 있다.
- <288> 본 발명의 효소는 상기 논의된 이중이관능성 가교결합 시약을 이용하는 것과 같이 당업계에 주지된 기술에 의해 항체에 공유 결합될 수 있다. 별법으로, 본 발명의 효소의 적어도 기능적으로 활성인 부분에 연결된 본 발명의

항체의 적어도 항원-결합 영역을 포함하는 융합 단백질을 당업계에 주지된 재조합 DNA 기술을 이용하여 구축할 수 있다 (예를 들어, [Neuberger et al., Nature 312:604-608 (1984)] 참조).

<289> 항체의 또다른 변형이 본원에서 구현된다. 예를 들어, 길항제는 다양한 비-단백질성 중합체, 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 폴리프로필렌 글리콜, 폴리옥시알킬렌, 또는 폴리에틸렌 글리콜과 폴리프로필렌 글리콜의 다양한 비-단백질성 공중합체 중 하나에 연결될 수 있다. 1 이상의 PEG 분자와 연결된 항체 단편, 예컨대 Fab'가 본 발명의 특히 바람직한 실시태양이다.

<290> 본원에 개시된 항체는 리포솜으로 또한 제형화될 수 있다. 항체를 함유하는 리포솜은 당업계에 공지된 방법에 의해, 예컨대 [Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:3688 (1985)]; [Hwang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4030 (1980)]; 및 미국 특허 제4,485,045호 및 제4,544,545호; 및 1997년 10월 23일에 공개된 WO 97/38731에 기술된 바와 같이 제조된다. 순환 시간이 증강된 리포솜은 미국 특허 제5,013,556호에 개시되어 있다.

<291> 특히 유용한 리포솜은 포스파티딜콜린, 콜레스테롤 및 PEG-유도체화 포스파티딜에탄올아민 (PEG-PE)을 포함하는 지질 조성물을 사용하여 역상 증발법에 의해 생성될 수 있다. 규정된 세공 크기의 필터를 통해 리포솜을 압출하여 원하는 직경을 갖는 리포솜을 수득한다. 디술피드 상호교환 반응을 통해 [Martin et al., J. Biol. Chem., 257:286-288 (1982)]에 기술된 바와 같이 본 발명의 항체의 Fab' 단편이 리포솜에 접합될 수 있다. 화학요법제가 리포솜 내에 임의로 함유될 수 있다. [Gabizon et al., J. National Cancer Inst., 81(19):1484 (1989)] 참조.

<292> 본원에 기술된 단백질 또는 펩티드 항체의 아미노산 서열 변형(들)이 구현된다. 예를 들어, 이것은 항체의 결합 친화성 및/또는 기타 생물학적 성질을 개선시키는데 바람직할 수 있다. 항체의 아미노산 서열 변이체들은 적절한 뉴클레오타이드 변화를 길항제 핵산 내에 도입함으로써, 또는 펩티드 합성에 의해 제조된다. 이같은 변형에는, 예를 들어, 항체의 아미노산 서열 내 잔기의 결실 및/또는 삽입 및/또는 치환이 포함된다. 최종 구축물이 원하는 특성을 갖는다는 조건하에 결실, 삽입 및 치환의 임의 조합이 이루어져 최종 구축물에 도달된다. 또한 아미노산 변화는 글리코실화 부위의 수 또는 위치를 변화시키는 것과 같이 항체의 번역후 프로세스를 변경시킬 수 있다.

<293> 돌연변이유발에 바람직한 위치인 항체의 특정 잔기 또는 영역을 확인하기 위해 유용한 방법은, [Cunningham and Wells, Science, 244:1081-1085 (1989)]에 기술된 바와 같이 "알라닌-스캐닝 돌연변이유발"으로 칭해진다. 여기서, 잔기 또는 표적 잔기의 군이 확인되고 (예를 들어, arg, asp, his, lys 및 glu와 같은 대전 잔기), 중성 또는 음으로 대전된 아미노산 (가장 바람직하게는 알라닌 또는 폴리알라닌)으로 치환되어, 아미노산과 항원과의 상호작용에 영향을 미친다. 그 후, 치환에 대해 기능적 감수성을 나타내는 아미노산 위치를 치환 부위에 또는 치환 부위에 대해 추가적인 변이체 또는 다른 변이체를 도입함으로써 정련한다. 따라서, 아미노산 서열 변이를 도입하기 위한 부위는 미리 결정되지만, 돌연변이 그 자체의 성질을 미리 결정할 필요는 없다. 예를 들어, 소정의 부위에서 돌연변이의 성과를 분석하기 위해, 표적 코돈 또는 영역에서 ala 스캐닝 또는 무작위 돌연변이유발을 수행하고, 발현된 길항제 변이체들을 원하는 활성에 대해 스크리닝한다.

<294> 아미노산 서열 삽입에는 길이 범위가 하나의 잔기 내지 100개 이상의 잔기를 함유하는 폴리펩티드에 이르는 아미노- 및/또는 카복시 말단 융합, 뿐만 아니라 단일 또는 다수 아미노산 잔기의 서열내 삽입이 포함된다. 말단 삽입의 예로는 N-말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체 또는 세포독성 폴리펩티드에 융합된 항체가 포함된다. 항체 분자의 다른 삽입 변이체에는 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 폴리펩티드 또는 효소가 길항제의 N- 또는 C-말단에 융합된 것이 포함된다.

<295> 또다른 유형의 변이체는 아미노산 치환 변이체이다. 이러한 변이체는 항체 분자 내의 1개 이상의 아미노산 잔기가 상이한 잔기로 대체된 것이다. 항체의 치환 돌연변이유발에 가장 흥미로운 부위에는 초가변 영역이 포함되지만, FR 변형 또한 구현된다. 보존적 치환이 "바람직한 치환"이라는 표제 하에 표 3에 제시된다. 이같은 치환으로 생물학적 활성이 변하게 되면, 표 3에서 "예시적 치환"으로 명명된 또는 아미노산 클래스와 관련하여 하기에 추가로 기술되는 바와 같은 더욱 실질적인 변화가 도입될 수 있고, 생성물을 스크리닝하게 된다.

**【표 3】**

본래의 잔기	예시적 치환	바람직한 치환
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 노르류신	Leu
Leu (L)	노르류신 ; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 노르류신	Leu

<296>

<297>

항체의 생물학적 성질에 있어서의 실질적인 변화는 (a) 예를 들어 시트 또는 나선 형태와 같은, 치환 영역 내의 폴리펩티드 골격의 구조; (b) 표적 부위에서의 분자의 전하 또는 소수성; 또는 (c) 측쇄의 부피(bulk)를 유지하는 것에 대한 효과가 상당히 상이한 치환을 선택함으로써 수행된다. 아미노산은 이들 측쇄의 성질의 유사성에 따라 하기 군으로 분류된다 (A. L. Lehninger, in Biochemistry, second ed., pp 73-75, Worth Publishers, New York (1975)):

<298>

(1) 비-극성 Ala (A), Val (V), Leu (L), Ile (I), Pro (P), Phe (F), Trp (W), Met (M)

<299>

(2) 전하를 띄지 않는 극성: Gly (G), Ser (S), Thr (T), Cys (C), Tyr (Y), Asn (N), Gln (Q)

<300>

(3) 산성: Asp (D), Glu (E)

<301>

(4) 염기성: Lys (K), Arg (R), His(H)

<302>

별법으로, 자연 발생 잔기는 공통적인 측쇄 성질을 기초로 하기 군으로 분류된다:

<303>

(1) 소수성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

<304>

(2) 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

<305>

(3) 산성: Asp, Glu;

<306>

(4) 염기성: His, Lys, Arg;

<307>

(5) 사슬 배향에 영향을 미치는 잔기: Gly, Pro; 및

<308>

(6) 방향족: Trp, Tyr, Phe.

<309>

비-보존적 치환은 이들 클래스 중의 하나의 구성원을 또다른 클래스로 교환함으로써 이루어질 것이다.



- <310> 항체의 적당한 형태를 유지하는데 수반되지 않는 임의의 시스템인 잔기가, 일반적으로 세린으로 또한 치환되어 분자의 산화적 안정성이 개선되고 비정상적인 가교결합이 방지될 수 있다. 역으로, 시스템인 결합(들)이 길항체에 부가되어 이의 안정성이 개선될 수 있다 (특히, 길항체가 Fv 단편과 같은 항체 단편인 경우).
- <311> 특히 바람직한 유형의 치환 변이체에는 어머니 항체의 1개 이상의 추가변 영역 잔기가 치환되는 것을 수반한다. 일반적으로, 추가적인 개발용으로 선택된 생성 변이체(들)는 이들이 유래되는 어머니 항체에 비해 생물학적 성질이 개선될 것이다. 이같은 치환 변이체를 생성시키는 간편한 방법은 파지 디스플레이를 이용한 친화성 성숙이다. 간략하게, 몇몇 추가변 영역 부위 (예를 들어, 6 내지 7개 부위)를 돌연변이시켜 각각의 부위에서 모든 가능한 아미노산 치환을 생성시킨다. 이렇게 생성된 항체 변이체는 각각 입자 내에 패키징된 M13의 유전자 III 생성물에 대한 융합체로서 섬유상 파지 입자로부터 1가 융합체로 디스플레이된다. 이어서, 파지-디스플레이된 변이체를 본원에 기술된 바와 같이 이의 생물학적 활성 (예를 들어, 결합 친화성)에 대해 스크리닝한다. 변형에 대한 후보 추가변 영역 부위를 확인하기 위해, 알라닌-스캐닝 돌연변이유발법을 수행하여 항원 결합에 유의하게 기여하는 추가변 영역 잔기를 확인할 수 있다. 별법으로 또는 추가적으로, 항원-항체 복합체의 결정 구조를 분석하여 항체와 항원 사이의 접촉 위치를 확인하는 것이 유리할 수 있다. 이같은 접촉 잔기와 이웃 잔기는 본원에서 상술된 기술에 따른 치환에 대한 후보물이다. 일단 이같은 변이체가 생성되면, 변이체 패널을 본원에 기술된 바와 같이 스크리닝하고, 한가지 이상의 관련 분석법에서 탁월한 성질을 갖는 항체를 추가적인 개발용으로 선택할 수 있다.
- <312> 항체의 아미노산 변이체의 또다른 유형은 항체의 원래의 글리코실화 패턴을 변경시킨다. 변경은 항체에서 발견되는 하나 이상의 탄수화물 모이어티 (moiety)를 결실시키는 것 및/또는 항체에 존재하지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 부가하는 것을 의미한다.
- <313> 폴리펩티드의 글리코실화는 전형적으로 N-연결 또는 O-연결된다. N-연결은 탄수화물 모이어티가 아스파라긴 잔기의 측쇄에 부착된 것을 지칭한다. 트리펩티드 서열 아스파라긴-X-세린 및 아스파라긴-X-트레오닌 (여기서, X는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산이다)은 탄수화물 모이어티를 아스파라긴 측쇄에 효소적으로 부착시키기 위한 인식 서열이다. 따라서, 이러한 트리펩티드 서열 중의 하나가 폴리펩티드에 존재함으로써 잠재적인 글리코실화 부위가 생성된다. O-연결된 글리코실화는 당 N-아세틸갈락토사민, 갈락토스 또는 자일로스의 중의 하나가 히드록시아미노산, 가장 통상적으로는 세린 또는 트레오닌에 부착되는 것을 지칭하지만, 5-히드록시프롤린 또는 5-히드록시라이신 또한 사용될 수 있다.
- <314> 항체에 글리코실화 부위를 부가하는 것은 항체가 하나 이상의 상기 기술된 트리펩티드 서열을 함유하도록 아미노산 서열을 변경시킴으로써 편리하게 이루어진다 (N-연결된 글리코실화 부위의 경우). 또한 변경은 원래의 항체의 서열에 대한 하나 이상의 세린 또는 트레오닌 잔기의 부가 또는 치환에 의해 이루어질 수 있다 (O-연결된 글리코실화 부위의 경우).
- <315> 항체가 Fc 영역을 포함하는 경우, 이에 결합된 탄화수소는 변형될 수 있다. 예를 들어, 항체의 Fc 영역에 결합되는 퓨코스가 결여된 성숙된 탄화수소 구조를 갖는 항체는 미국 특허 출원 제US 2003/0157108호 (Presta, L)에 기술되어 있다. 또한 US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd) 참조. 항체의 Fc 영역에 결합되는 탄화수소의 이등분된 (bisecting) N-아세틸글루코사민 (GlcNAc)을 갖는 항체는 WO 2003/011878 (Jean-Mairet et al.) 및 미국 특허 제6,602,684호 (Umana et al.)에서 언급되어 있다. 항체의 Fc 영역에 결합되는 올리고당의 1 이상의 갈락토스 잔기를 갖는 항체는 WO 1997/30087 (Patel et al.)에 보고되어 있다. 또한, 이들의 Fc 영역에 결합하는 변형된 탄화수소를 갖는 항체에 관해서는 WO 1998/58964 (Raju, S.) 및 WO 1999/22764 (Raju, S.)을 참조. 또한 변형된 글리코실화를 갖는 항원-결합 분자에 대해서는 US 2005/0123546 (Umana et al.) 참조.
- <316> 본원의 바람직한 글리코실화 변이체는 Fc 영역을 포함하는데, 이 때 Fc 영역에 결합되는 탄화수소 구조는 퓨코스가 결여되어 있다. 이러한 변이체는 ADCC 기능을 개선시킨다. 경우에 따라서는, Fc 영역은 추가로 ADCC를 추가적으로 개선시키는 이들에서의 1 이상의 아미노산 치환, 예를 들어, Fc 영역의 위치 298, 333, 및/또는 334 (잔기의 Eu 번호매김)의 치환을 포함한다. "탈퓨실화" 또는 "퓨코스-결핍" 항체에 관련된 문헌의 예는 US 2003/0157108, WO 2000/61739, WO 2001/29246, US 2003/0115614, US 2002/0164328, US 2004/0093621, US 2004/0132140, US 2004/0110704, US 2004/0110282, US 2004/0109865, WO 2003/085119, WO 2003/084570, WO 2005/035586, WO 2005/035778, WO2005/053742, [Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336: 1239-1249 (2004)], [Yamane-Ohnuki et al. Biotech Bioeng 87: 614 (2004)]을 포함한다. 탈퓨실화 항체를 생산하는 세포주의 예는 단백질 퓨실화가 결핍된 Led13 CHO 세포 ([Ripka et al. Arch Biochem Bwphys 249 533-545 (1986)], 미국 특허 출원 제US 2003/0157108 A1호 (Presta, L), 및 WO 2004/056312 A1 (Adams et al.), 특허 실시예 11), 및



녹아웃 (knockout) 세포주, 예컨대 알파-1,6-푸코실트랜스퍼라제 유전자, FUT8, 녹아웃 CHO 세포 (Yamane-Ohnuki et al. Biotech Bioeng 87 614 (2004))을 포함한다.

- <317> 항체의 아미노산 서열 변이체를 코딩하는 핵산 분자는 당업계에 공지된 다양한 방법에 의해 제조된다. 이러한 방법에는 천연 공급원으로부터의 단리 (자연 발생 아미노산 서열 변이체의 경우) 또는 올리고뉴클레오타이드-매개 (또는 부위-지정) 돌연변이유발, PCR 돌연변이유발, 및 항체의 앞서 제조된 변이체 또는 비-변이체 버전의 카세트 돌연변이유발이 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다.
- <318> 이펙터 기능과 관련하여, 예를 들어, 항체의 항체-의존성 세포형 세포독성 (ADCC) 및/또는 보체-의존성 세포독성 (CDC)가 증강되도록, 본 발명의 길항제를 변형시키는 것이 바람직할 수 있다. 이는 항체 길항체의 Fc 영역에 1개 이상의 아미노산 치환을 도입함으로써 달성할 수 있다. 별법으로 또는 추가적으로, 시스테인 잔기(들)를 Fc 영역에 도입함으로써, 이러한 영역 내에 사슬간 디설피드 결합이 형성되도록 할 수 있다. 이렇게 생성된 동종이량체 항체는 개선된 내재화 능력 및/또는 증가된 보체-매개 세포 사멸 및 항체-의존성 세포형 세포독성 (ADCC)를 가질 수 있다. [Caron et al., J. Exp Med., 176:1191-1195 (1992)] 및 [Shopes, B. J. Immunol., 148:2918-2922 (1992)] 참조. [Wolff et al. Cancer Research, 53:2560-2565 (1993)]에 기술된 바와 같은 이중이관능성 가교-링커를 사용하여 항종양 활성이 증강된 동종이량체 항체를 또한 제조할 수 있다. 별법으로, 이중 Fc 영역을 갖는 항체를 조작함으로써 보체 용해 및 ADCC 능력을 증강시킬 수 있다. [Stevenson et al., Anti-Cancer Drug Design 3:219-230 (1989)] 참조.
- <319> WO 00/42072 (Presta, L)는 인간 이펙터 세포의 존재시 개선된 ADCC 기능을 갖는 항체를 기술하는데, 이 항체는 이들의 Fc 영역의 아미노산 치환을 포함한다. 바람직하게는, 개선된 ADCC를 갖는 항체는 Fc 영역의 위치 298, 333, 및/또는 334에서의 치환을 포함한다. 바람직하게는, 변형된 Fc 영역은 상기 위치 중, 1, 2 또는 3군데에서의 치환을 포함하거나 또는 이로 이루어지는 인간 IgG1 Fc 영역이다.
- <320> 변형된 C1q 결합 및/또는 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 갖는 항체는 W099/51642, 미국 특허 제6,194,551 B1호, 미국 특허 제6,242,195 B1호, 미국 특허 제6,528,624 B1호 및 미국 특허 제6,538,124호 (Idusogie et al.)에 기술되어 있다. 항체는 이들의 Fc 영역의 아미노산 위치 270, 322, 326, 327, 329, 313, 333 및/또는 334 중 1 이상의 위치에서의 아미노산 치환을 포함한다.
- <321> 항체의 혈청 반감기를 증가시키기 위해, 예를 들어, 미국 특허 제5,739,277호에 기재된 바와 같이 항체 (특히, 항체 단편) 내로 셀비지(salvage) 수용체 결합 에피토프를 혼입시킬 수 있다. 본원에 사용된 용어 "셀비지 수용체 결합 에피토프"는 IgG 분자의 생체내 혈청 반감기를 증가시키는 역할을 하는 IgG 분자 (예를 들어, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> 또는 IgG<sub>4</sub>)의 Fc 영역의 에피토프를 지칭한다. 이들의 Fc 영역에서의 치환 및 증가된 혈청 반감기를 갖는 항체는 또한 WO 00/42072 (Presta, L)에 기술되어 있다.
- <322> 3 이상의 (바람직하게는 4) 관능적 항원 결합 부위를 갖는 조작된 항체 또한 구현된다 (미국 출원 US 2002/0004587 A1, Miller et al.)
- <323> **V. 제약 제형**
- <324> 본 발명에 따라 사용된 항체의 치료용 제형은 동결건조 제형 또는 수용액의 형태로 원하는 정도의 순도를 갖는 항체를 임의의 제약상 허용가능한 담체, 부형제 또는 안정화제 (Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, Osol, A. Ed. (1980))와 혼합함으로써 보관용으로 제조된다. 허용가능한 담체, 부형제 또는 안정화제는 사용된 투여량 및 농도에서 수용자에게 비독성이고, 포스페이트, 시트레이트 및 기타 유기산과 같은 버퍼; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함하는 산화방지제; 방부제 (예컨대 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤즈에토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 메틸 또는 프로필 파라벤과 같은 알킬 파라벤; 카테콜; 레소르시놀; 시클로헥사놀, 3-펜타놀; 및 m-크레졸); 저분자량 (약 10개 잔기 미만)의 폴리펩티드; 혈청 알부민, 젤라틴 또는 이뮤노글로불린과 같은 단백질; 폴리비닐피롤리돈과 같은 친수성 중합체; 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 라이신과 같은 아미노산; 글루코스, 만노스 또는 텍스트린을 포함하는 당당류, 이당류 및 기타 탄수화물; EDTA와 같은 킬레이트화제; 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨과 같은 당; 나트륨과 같은 염-형성 카운터 이온; 금속 착물 (예를 들어, Zn-단백질 착물); 및/또는 TWEEN™, PLURONICS™ 또는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)과 같은 비-이온성 계면활성제가 포함된다.
- <325> 예시적인 항-CD20 항체 제형은 WO 1998/56418에 기술되어 있다. 이러한 공개 공보에는 40 mg/ml 리투시맵, 25

mM 아세테이트, 150 mM 트레할로스, 0.9 % 벤질 알콜, 및 pH 5.0의 0.02 % 폴리소르베이트 20을 포함하는 액체 다중용량 제형이 기술되어 있고, 이의 최소 저장 기간은 2-8 °C에서 2 년이다. 흥미로운 또다른 항-CD20 제형은 9.0 mg/ml 염화나트륨 내의 10 mg/ml 리톡시맵, 7.35 mg/ml 시트르산나트륨 2수화물, 0.7 mg/ml 폴리소르베이트 80, 및 주사용 멸균수 (pH 6.5)를 포함한다.

<326> 피하 투여를 위해 채택된 동결건조 제형은 미국 특허 제6,267,958호 (Andya et al.)에 기술되어 있다. 이같은 동결건조 제형은 높은 단백질 농도로 적절한 희석제로 재구성될 수 있고, 재구성된 제형이 본원에서 치료될 포유동물에게 피하 투여될 수 있다.

<327> 항체의 결정화 형태 또한 구현된다. 예를 들어 US 2002/0136719A1 (Shenoy et al.) 참조.

<328> 본원에서의 제형은 필요한 경우 1가지 이상의 활성 화합물 (상기 언급한 바와 같은 제2 약제), 바람직하게는 서로에게 역효과를 일으키지 않는 보완적인 활성을 갖는 것들을 또한 함유할 수 있다. 이같은 약제의 유형 및 유효량은 예를 들어 제형 내에 존재하는 항체의 양, 및 대상체의 임상 파라미터에 따라 좌우된다. 바람직한 약제는 상기 언급한 바와 같다.

<329> 활성 성분은 예를 들어 코아세르베이션(coacervation) 기술 또는 계면 중합에 의해 제조된 마이크로캡슐, 예를 들어, 각각 콜로이드성 약물 전달 시스템 (예를 들어, 리포솜, 알부민 마이크로스피어, 마이크로에멀전, 나노입자 및 나노캡슐) 또는 매크로에멀전(macroemulsion) 내의 히드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐 내에 또한 포획될 수 있다. 이같은 기술은 [Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, Oslo, A. Ed. (1980)]에 개시되어 있다.

<330> 서방성 제제가 제조될 수 있다. 서방성 제제의 적절한 예로는 항체를 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스가 포함되고, 매트릭스는 성형품, 예를 들어, 필름 또는 마이크로캡슐의 형태이다. 서방성 매트릭스의 예로는 폴리에스테르, 히드로겔 (예를 들어, 폴리(2-히드록시에틸-메타크릴레이트) 또는 폴리(비닐알콜)), 폴리락티드 (미국 특허 제3,773,919호), L-글루탐산과  $\gamma$ -에틸-L-글루타메이트의 공중합체, 비-분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 락트산-글리콜산 공중합체 예컨대 LUPRON DEPOT™ (락트산-글리콜산 공중합체 및 루프폴리드 아세테이트로 구성된 주사용 마이크로스피어), 및 폴리-D-(-)-3-히드록시부티르산이 포함된다.

<331> 생체내 투여에 사용될 제형은 반드시 멸균되어야 한다. 멸균은 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 용이하게 수행된다.

## <332> VI. 제조품

<333> 본 발명의 또다른 실시태양에서는 상기 기술된 ANCA-관련 혈관염을 치료하는데 유용한 물질을 포함하는 제조품을 제공한다. 일면에서, 제조품은 (a) B-세포 표면 마커에 결합하는 길항제 (예를 들어, CD20 항체를 포함하는, B-세포 표면 마커에 결합하는 항체)를 포함하는 용기 (바람직하게는 용기 내에 길항제 또는 항체 및 제약상 허용되는 담체 또는 희석제를 포함함), 및 (b) 약 1 개월 동안 1회 내지 3회 용량 빈도로 약 400 mg 내지 1.3 g 용량의 길항제 또는 항체를 환자에게 투여함을 나타내는, 환자의 ANCA-관련 혈관염의 치료에 관한 지시서를 갖는 제품 첨부문서를 포함한다.

<334> 이에 따라, 본 발명은 CD20 항체, 또는 B-세포 표면 마커에 결합하는 항체 또는 길항제를 포함하는 용기; 및 약 1 개월 동안 1회 내지 3회 용량 빈도로 약 400 mg 내지 1.3 g 용량의 CD20 항체, 또는 B-세포 표면 마커에 결합하는 항체 또는 길항제를 환자에게 투여함을 나타내는, 환자의 ANCA-관련 혈관염의 치료에 관한 지시서를 갖는 제품 첨부문서를 포함하는 제조품을 제공한다.

<335> 바람직한 실시태양에서, 본원의 제품은 길항제 또는 항체가 제1 약제이며, 제2 약제를 포함하는 용기를 더 포함한다. 본 제품은 유효량의 제2 약제로의 환자의 치료에 관한 제품 첨부문서 상의 지시서를 더 포함한다. 제2 약제는 상기 기술한 것들 중 임의의 것일 수 있는데, 예시적 제2 약제로는 화학요법제, 면역억제제, 세포독성제, 인테그린 길항제, 사이토카인 길항제, 또는 호르몬이 있다. 바람직한 제2 약제는 상기 기술된 바와 같은 바람직한 것들이며, 가장 바람직하게는, 스테로이드 또는 면역억제제 또는 양쪽 모두이다.

<336> 또다른 면에서, 본 발명은 (a) B-세포 표면 마커에 결합하는 항체 (예를 들어, CD20 항체)를 포함하는 용기 (바람직하게는 용기는 용기 내에 항체 및 제약상 허용되는 담체 또는 희석제를 포함함), 및 (b) 초기 항체 노출 및 그로부터 약 16 내지 54 주 후에 제2 노출을 제공하도록 유효량의 항체를 대상체에게 투여함을 나타내는, 대상체의 ANCA-관련 혈관염 치료에 관한 지시서를 갖는 제품 첨부문서를 포함하는 제조품을 제공한다.

<337> 바람직하게는, 이러한 제품 첨부문서는 약 0.5 내지 4 g의 초기 항체 노출 및 그로부터 약 16 내지 54 주 후에

약 0.5 내지 4 g의 제2 노출을 제공하도록 유효량의 항체를 대상체에게 투여하고, 이 때 각각의 항체 노출은 약 1 내지 4회 용량의 항체, 바람직하게는 단일 용량의 항체 또는 2회 또는 3회 분할 용량의 항체로 대상체에게 제공됨을 나타내는, 대상체의 ANCA-관련 혈관염 치료에 관한 지시서로 제공된다.

- <338> 특정 면에서,
- <339> (a) B-세포 표면 마커에 결합되는 항체 (예, CD20 항체) 를 포함하는 용기(바람직하게는 용기는 용기 내에 항체 및 제약상 허용되는 담체 또는 희석제를 포함함), 및
- <340> (b) 초기 항체 노출 및 그로부터 약 16 내지 54 주 후에 제2 노출을 제공하도록 유효량의 항체를 대상체에게 투여하고, 이 때 각각의 항체 노출은 단일 용량의 항체 또는 2회 또는 3회 분할 용량의 항체로 대상체에게 제공됨을 나타내는, 대상체의 ANCA-관련 혈관염 치료에 관한 지시서를 갖는 제품 첨부문서
- <341> 를 포함하는 제조품을 제공한다. 바람직하게는, 항체 노출은 약 0.5 내지 4 g이다.
- <342> 상기 본 발명의 면의 바람직한 실시태양에서, 본원의 제조품은 항체가 제1 약제이며, 제2 약제를 포함하는 용기를 더 포함하며, 제조품은 유효량의 제2 약제로의 대상체의 치료에 관한 제품 첨부문서 상의 지시서를 더 포함한다. 제2 약제는 상기 기술한 것들 중 임의의 것일 수 있는데, 예시적 제2 약제로는 화학요법제, 면역억제제, 세포독성제, 인테그린 길항제, 사이토카인 길항제, 또는 호르몬이 있으며, 가장 바람직하게는 스테로이드 또는 면역억제제, 또는 양쪽 모두이다.
- <343> 상기 모든 면에서, 제품 첨부문서는 용기 상에 있거나 또는 용기와 연관되어 있다. 적절한 용기로는, 예를 들어, 병, 바이알(vial), 주사기 등이 포함된다. 용기는 다양한 재료 예컨대 유리 또는 플라스틱으로부터 형성될 수 있다. 용기는 ANCA-관련 혈관염의 치료에 효과적인 조성물을 담고 있거나 함유하고, 멸균 접근 포트(port)를 가질 수 있다 (예를 들어, 용기는 피하주사 바늘이 관통가능한 마개가 있는 정맥내 용액 백 또는 바이알일 수 있다). 조성물 내의 1 이상의 작용제는 길항제 또는 항체이다. 표지 또는 제품 첨부문서는 조성물이 길항제 또는 항체 및 제공되는 임의의 다른 약제의 투여량 및 투여 간격에 대한 특정 지침에 따라 치료에 적절한 환자 또는 대상체의 ANCA-관련 혈관염을 치료하는데 사용할 수 있음을 나타낸다. 제조품은 제약상 허용가능한 희석제 버퍼, 예컨대 정균처리된 주사용수 (BWFJ), 포스페이트-완충 염수, 링거액 및/또는 텍스트로스 용액을 포함하는 추가적 용기를 더 포함할 수 있다. 기타 버퍼, 희석제, 필터, 바늘 및 주사기를 포함하여, 상업용 및 사용자의 관점에서 바람직한 기타 물질을 더 포함할 수 있다.
- <344> 본 발명의 추가적인 상세사항이 하기의 비제한적 실시예에 의해 설명된다. 명세서의 모든 인용문의 기재내용은 본원에 참고문헌으로 명백하게 포함된다.

## 실시예

- <345> 실시예 1
- <346> **베게너 육아종증 환자에서의 리툭시맵 효능 연구**
- <347> 본 연구는 1 이상의 전신 질환 증상을 나타내는 베게너 육아종증 환자의 징후 및 증상의 치료에 있어 플라스보와 비교하여, 임의의 투여 요법으로의 리툭시맵 (MABTHERA®/RITUXAN®)의 효능 및 안정성의 우수성을 평가한다.
- <348> 2 개의 초기 용량의 리툭시맵 (1000 mg i.v.x 2)을 1 일 및 15 일에 1 mg/kg/day의 경구 프레드니손 (4 주에 40 mg/day로 감소시키고 그 후 3-5 개월에 걸쳐 프레드니손의 완전한 중단을 가져오는 표준 테이퍼링 투약법을 사용하여 테이퍼링시킴)과 함께 i.v. 투여하였다. 두가지 연구군의 간에 1:1 무작위화를 사용하고, 연구군 당 약 48 명의 환자 (총 96 명의 환자)를 사용하여, 상기 실험적 투약법을 리툭시맵 대신 리툭시맵 플라스보를 사용하는 것을 제외하고는 동일한 투약법과 비교하였다. 활동성 질환은 0 초과인 버르밍햄 혈관염 활성 스코어/베게너 육아종증 (BVAS/WG) 스코어로서 정의된다. 시험 세포물 (inclusion)에 있어, 환자의 BVAS/WG 스코어는 3 이상이어야만 한다 (또는 28일 동안 무작위 추출시 3 이상이었음). BVAS/WG 평가 형태의 각각의 주요 아이টে에는 3점을 준다. 각각의 사소한 아이টে에는 1점을 준다. 질환 활동도를 결정하기 위해서는, 연구자는 활동성 혈관염 (지속적 아이টে와 반대되는 신규/악화된 BVAS/WG 아이টে)와 (이전의 활동성 혈관염에 의해 야기된) 영구 기관 손상을 구분할 것이다.
- <349> 심각한 발적은 1 이상의 주요 BVAS/WG 아이테의 신규한 발생이다. (주요 아이টে는 BVAS/WG 스코어링 시트 상에 \*가 붙는다). 일반적으로 이러한 발적은 프레드니손 용량 또는 시클로포스파미드 용량을 증가시킴으로써 치료

된다.

- <350> 심각한 베게너 육아종증은 하기 정의한 것에 의해 제한된 것으로 분류될 수 없는 질환이 있는 환자에서 발생한다.
- <351> 제한된 발적은 1 이상의 사소한 BVAS/WG 아이템의 신규 발생이다. 일반적으로 이러한 발적은 프레드니손 용량 또는 메토타렉세이트 용량을 증가시킴으로써 치료된다.
- <352> 제한된 베게너 육아종증은 베게너 육아종증의 진단에 관한 변형된 미국 류마티스 학회 (ACR) 기준은 충족시키나 중요 개별 기관 또는 환자의 생명에 대한 즉각적인 위협을 지니는 질환을 가지지는 않는 환자에서 발생한다. 특히, 이들은 하기의 경우를 의미한다.
- <353> · 환자의 뇨에 적혈구 원주체가 없다.
- <354> · 혈뇨 (RBC 원주체는 없음)가 존재하는 경우, 혈청 크레아티닌은 1.4 이하임이 분명하며, 환자의 기저선보다 25 %를 초과하는 크레아티닌의 어떠한 상승도 없음이 명백하다.
- <355> · 실내 공기 pO<sub>2</sub>가 > 70 mmHg이거나 또는 펄스 산소측정법에 의한 실내 공기 O<sub>2</sub> 포화도가 > 92 %인 경우에, 폐 병발은 제한됨이 분명하다. 프로세스의 진행의 어떠한 근거도 없다면 폐 출혈은 제한된 질환으로서 취급될 수 있다. 진행 데이터의 부재시, 폐 출혈은 의사의 판단하에 심각한 질환으로 취급될 수도 있다.
- <356> · 최대 요법의 즉각적인 제시 없다면 기관의 기능 및/또는 환자의 생명을 위협하게 되는 어떠한 질환도 임의의 중요 기관 (예를 들어, 위장관, 눈, 중추신경계)에 존재할 수 없다.
- <357> 새롭게 진단된 환자는 연구 개시 전에 면역억제 요법 증가의 병력이 없으며, 그/그녀의 제1 치료가 베게너 육아종증에 대해 코르티코스테로이드 및/또는 화학요법제 또는 면역억제제로 행해지는 환자이다.
- <358> 스코어링 BVAS/WG에 있어, 지속적 질환은 사전 시험 평가에서도 존재하였던 현재 진행중인 질환 활동성의 존재 (즉, 신규하거나 또는 악화된 활성이 아님)로 정의된다.
- <359> 잠복 결핵 감염의 검출을 위해, 정제된 단백질 유도체 피부 시험을 사용할 수 있다.
- <360> 불응성 환자는 본 연구에 적절한 환자에 나타나는, 베게너 육아종증 활성의 치료 개시 전에 면역억제 요법 (코르티코스테로이드 및/또는 면역억제제 또는 화학요법제)의 병력이 있는 환자이다.
- <361> 환자의 BVAS/WG 스코어가 0인 경우에 환자가 완화된 것으로 간주될 것이다.
- <362> 상기 리툽시맵-기재 투약법은 현 치료 표준에 대한 도전이며, 이는 스테로이드 및 이의 공지된 독성의 환자 노출을 제한하고, 개선된 순수 임상 이점을 나타내도록 의도된다. 3 개월에 시험의 1차적 효능 최종 적정점을 결정하고, 16.8 개월까지 추적조사를 하는 것과 함께, 질환 활동성, 추가적 면역억제제의 사용, 스테로이드 사용법, 및 안정성 사례에 대해 1 년의 시험 기간에 걸쳐 환자를 모니터링한다. 안정성 추적조사는 12 개월 후부터 리툽시맵의 마지막 투여시 또는 ANCA가 정상 범위로 돌아올 때 중 후에 발생하는 것까지 요구된다.
- <363> 1차 목표는 어떠한 유해 사례도 나타나지 않고, BVAS/VG 스코어 0 및 6 개월에 성공적인 프레드니손 테이퍼링이 달성된 환자의 비율을 결정하는 것이다.
- <364> 리툽시맵 (또는 리툽시맵에 대해 치환된 인간화 2H7)은 80 % 이상의 등록된 베게너 육아종증 환자에서의 완화 (BVAS/WG 스코어 0의 달성) 유도에 유효하며, 대조군에 비해 스테로이드의 용량을 감소시킬 수 있다고 예상 및 예견된다. BVAS/WG는 처음 스코어에서 14 주에 약 0.2 내지 0.4로 감소될 것으로 예상된다. C-반응성 단백질 (mg/L)은 처음 수준에서 14 주에 약 3 내지 11의 범위로 감소될 것으로 예상된다. 평균 프레드니솔론 용량 (mg/day)은 처음 값에서 14 주에 통계적으로 유의하게 낮은 값으로 감소될 것으로 예상된다. 재발은 평균 27 주 후에 5 명 미만의 환자에서 발생할 것으로 예상된다. 처음 BVAS/VG 평균이 3.6인 경우, 치료의 6 개월에는, 통계적으로 유의한 0.6의 값으로 감소될 것으로 예상된다. 때때로는, 활동성 질환은 70 % 이하의 환자에서 관찰된 것으로 예상된다. 이와는 대조로, 대조군은 BVAS/WG 및 C-반응성 단백질, 및 스테로이드 사용에서 훨씬 적은 감소를 나타낼 것으로 예상되며, 완화된 환자는 거의 없을 것으로 예상된다.
- <365>

## 실시예 2

### 현미경적 다발성혈관염 환자에서의 리툽시맵 효능 연구

- <367> 환자가 현미경적 다발성혈관염에 대해 치료된다는 것을 제외하고는 실시예 1의 프로토콜을 따른다. 베게너 육



아중증에서와 유사한 결과가 관찰될 것이라고 예상되는데, 즉, BVAS/WG 스코어 0으로 측정되는 완화는 연구 병기로 치료받은 80 % 이상의 환자에서 나타날 것이라고 예상되고 스테로이드의 사용은 연구 과정에서 감소될 것이라고 예상되며, 이러한 결과는 대조 결과와 비교하여 통계적으로 유의한 의미의 면에서 훨씬 우수할 것으로 예상된다.

<368>

### 실시예 3

<369>

#### 베게너 육아종증 환자에서의 리툽시맵 효능의 재치료 연구

<370>

본 연구는 베게너 육아종증 성인 대상체에 있어 플라시보와 비교하여, 리툽시맵 (MABTHERA®/RITUXAN®)의 효능 및 안정성의 우수성을 평가한다. 연구 I은 최초 형태 또는 재발의 급성 질환을 조사한다 (BVAS  $\geq$  10; n = 16); 연구 II는 지속적 질환을 조사한다 (BVAS  $\geq$  4; n = 16). 연구 I 및 II에서 환자는 3 개의 초기 용량의 리툽시맵 (1 g i.v.)을 1, 8, 및 15 일에 수여받는다. 연구 I의 동시 용법은 실시예 1의 투약법에 따라 테이퍼링되는 1 mg/kg/day 경구 프레드니손 및 시클로포스파미드 (표준 치료에 따름)을 포함한다. 연구 II 환자는 리툽시맵 및 실시예 1의 투약법에 따라 테이퍼링된 1 mg/kg/day 경구 프레드니손을 수여받는다. 모든 대상체는 14 일의 간격이 있는 24 및 26 주에 각각 1000 mg i.v.의 두번째 리툽시맵/플라시보 주입을, 스테로이드 또는 시클로포스파미드 없이 수여받는데, 이 때의 환자는 증상을 나타내든지 또는 완전히 완화되었는지 관계없다. 리툽시맵 치료의 과정은 최소 16 주의 간격 만큼 떨어져야만 한다.

<371>

실험적 투약법을 리툽시맵 플라시보 + 동일 용량의 테이퍼링된 경구 프레드니손 및 시클로포스파미드 (연구 I), 또는 동일 용량의 테이퍼링된 경구 프레드니손 (연구 II)과 비교하였다.

<372>

독성으로 인해 강제되지 않는한, 면역억제 약물에서의 변화는 연구 동안 허용되지 않으며, 경구 프레드니손 이외의 다른 약물에 대한 테이퍼링의 요구는 의학적 모니터링 (Medical Monitor)과 함께 앞서 논의되어야만 한다. 연구 대상은 적절한 리툽시맵 투여 방법에 대해 훈련받을 것이다. 연구자의 판단 하의 관찰을 위해, 특히 대상체의 최초 주입에 대한 관찰을 위해 대상체를 입원시킬 수 있다. 리툽시맵은 철저한 감독 하에 투여되어야만 하고, 완벽한 소생 시설을 즉시 이용가능하여야만 한다.

<373>

환자를 52 주 연구에 걸친 질환 활동성, 추가적 면역억제제의 사용, 질환의 발작, 프레드니손 사용법, 안정성 사례에 대해 12 개월 동안 매달 모니터링한다. 시험의 1차적 효능 최종 적정점을 52 주에 결정하고, 효능 측정을 환자 치료 또는 다른 연구 과정에 관여하지 않은 특별한 조사 평가자 (Examining Assessor)가 평가한다. 환자의 VAS/WG 스코어 및 효과적인 프레드니손 테이퍼링에 대해 환자를 평가한다. 52 주가 끝날 때쯤, 리툽시맵 플라시보 또는 리툽시맵을 수여받았고 BVAS/WG 스코어 0 및 6 개월에 성공적인 프레드니손 테이퍼링을 나타내는 대상체는 연구 참여를 완료한 것이다. 리툽시맵을 수여받았으나 52 주에 이러한 스코어를 나타내지 않은 대상체를 6 개월 후부터 리툽시맵의 마지막 투여시 또는 BVAS/WG 스코어 0이 된 때 중 먼저 발생한 것까지 관찰한다. 부위 (site)는 대상체가 플라시보를 수여받았는지 또는 리툽시맵을 수여받았는지가 아닌, 대상체의 추적조사가 계속되어야할지에 대해 알려줄 것이다. 안정성 추적조사는 12 개월 후 리툽시맵의 마지막 투여시 또는 BVAS/WG 스코어 0이 된 때 중 후에 발생하는 것까지 요구된다.

<374>

상기 리툽시맵-기재 투약법은 현 치료 표준에 대한 도전이며, BVAS/WG 스코어 0이라는 1차적 최종 적정점 및 성공적인 프레드니손 테이퍼링을 달성한 환자의 비율을 결정하는 1차적 목표에 의해 개선된 순수 임상 이점을 나타낼 것으로 예상된다.

<375>

이는 스테로이드 및 이의 공지된 독성에의 환자 노출을 제한하고, 개선된 순수 임상 이점을 나타내도록 의도된다.

<376>

상기 기재된 연구 I 및 II의 프로토콜에서 대상체에게 리툽시맵 또는 인간화 2H7를 투여한 것은 80 % 이상의 등록된 베게너 육아종증 환자에서의 완화 (BVAS/WG 스코어 0의 달성)를 유도할 것이고, 대조군에 비해 스테로이드의 용량을 감소시킬 수 있을 것으로 예상 및 예견된다. BVAS/WG는 처음 스코어에서 14 주에 약 0.2 내지 0.4로 감소될 것으로 예상된다. C-반응성 단백질 (mg/L)은 처음 수준에서 14 주에 약 3 내지 11의 범위로 감소될 것으로 예상된다. 연구 I 및 II 모두에서의 평균 스테로이드 사용은 처음 값에서 14 주에 통계적으로 유의하게 낮은 값으로 감소될 것으로 예상된다. 재발은 평균 27 주 후에 5 명 미만의 환자에서 발생할 것으로 예상된다. 이 결과는 연구 I 및 II에 대한 대조군에서의 결과보다 훨씬 우수할 것으로 예상된다.

<377>

또한, 약 48-54 주에, 스테로이드(들) 및/또는 다른 면역억제제와 함께 또는 없이, 또다른 2 g 용량의 리툽시맵을 한번에 모두 투여하거나 또는 1 g의 양으로 약 14-16 일에 걸쳐서 투여한 것은 그다음 해 (second year) 전



반에 걸쳐 베게너 육아종증의 치료에 유효 (80 % 이상의 등록된 환자에서 BVAS/WG 스코어 0의 달성)할 것으로 예상되며, 이 때 리툽시맵보다는 리툽시맵 플라스비보를 수여받은 대조군 환자에 비해 현저한 개선이 나타날 것으로 예상된다. 이에 따라, 리툽시맵 (또는 인간화 2H7)을 우선 약 2 주 동안 투여한 후, 약 4-8 개월에 또다른 치료를 하고, 그 후 초기 치료로부터 약 1 년 (임의의 하나의 용량이 투여된 시점으로부터 측정함)에 또다른 치료를 하며, 초기 치료로부터 약 2 년에 치료하며, 이 때, 각각의 치료에 대해 약 1 g x 2-4 용량을 한번에, 약 2 내지 4 주에 걸쳐 거의 매주, 또는 거의 매번 다른 주에, 효과적일 것으로 예상될 것이다. 이러한 재치료 프로토콜은 부작용이 거의 없거나 또는 전혀 없이 수 년 동안 성공적으로 사용될 것이라고 예상된다.

<378>

#### 실시예 4

<379>

#### 베게너 육아종증 환자에서의 리툽시맵 효능의 제2 재치료 연구

<380>

본 연구는 리툽시맵 또는 리툽시맵 플라스비보의 초기 용량이 1000 mg i.v.x 2 (0 일, 제2 주입은 15 일 +/- 1 일에 행해짐)로 주어지고, 24 및 26 주에 투여되고 격주 용량으로 구성되는 리툽시맵 또는 플라스비보 주입의 후속 과정이 완화된 대상체, 예를 들어, ANCA 역가의 상승, ANCA 역가 증가의 지속, 및 다른 증상과 같은 질환 활동성의 증가를 나타내지 않는 대상체에만 주어진다라는 점을 제외하고는 실시예 3과 동일하다. 모든 다른 기준은 동일하다.

<381>

상기 기술한 예정된 재투여 프로토콜에서 리툽시맵 또는 인간화 2H7를 대상체에게 투여하는 80 % 이상의 등록된 베게너 육아종증 환자에서의 완화 (BVAS/WG 스코어 0의 달성) 유도에 유효할 것이며, 대조군에 비해 스테로이드의 용량을 감소시킬 수 있다고 예상 및 예견된다. BVAS/WG는 처음 스코어에서 14 주에 약 0.2 내지 0.4로 감소될 것으로 예상된다. C-반응성 단백질 (mg/L)은 처음 수준에서 14 주에 약 3 내지 11의 범위로 감소될 것으로 예상된다. 평균 프레드니솔론 용량 (mg/day)은 처음 값에서 14 주에 통계적으로 유의하게 낮은 값으로 감소될 것으로 예상된다. 재발은 평균 27 주 후에 5 명 미만의 환자에서 발생될 것으로 예상된다. 이 결과는 연구 I 및 II에 대한 대조군에서의 결과보다 훨씬 우수할 것으로 예상된다.

<382>

또한, 약 48-54 주에, 프레드니손 테이퍼링 및 i.v. 메틸프레드니솔론 및/또는 다른 면역억제제와 함께 또는 없이, 또다른 2 g 용량의 CD20 항체 (예를 들어, 리툽시맵 또는 인간화 2H7)을 한번에 모두 투여하거나 또는 1 g의 양으로 약 14-16 일에 걸쳐서 투여한 것은 그다음 해 전반에 걸쳐 베게너 육아종증의 치료에 유효 (80 % 이상의 등록된 환자가 BVAS/WG 스코어 0을 가짐)할 것으로 예상된다. 이에 따라, CD20 항체를 우선 약 2 주 동안 투여한 후, 약 4-8 개월에 또다른 치료를 하고, 그 후 초기 치료로부터 약 1 년 (임의의 하나의 용량이 투여된 시점으로부터 측정함)에 또다른 치료를 하며, 초기 치료로부터 약 2 년에 치료하며, 이 때, 각각의 치료에 대해 약 1 g x 2-4 용량을 한번에, 약 2 내지 4 주에 걸쳐 거의 매주, 또는 거의 매번 다른 주에, 효과적일 것으로 예상될 것이다. 이러한 치료의 결과는 플라스비보에 의한 대조군의 결과보다 훨씬 우수할 것이라고 예상될 것이다. 이러한 재치료 프로토콜은 부작용이 거의 없거나 또는 전혀 없이 수 년 동안 성공적으로 사용될 것이라고 예상된다.

<383>

#### 실시예 5

<384>

#### 베게너 육아종증 환자에서의 리툽시맵 효능의 제3 재치료 연구

<385>

리툽시맵을 6 개월 간격보다는 1 년 간격으로 투여하는 것을 제외하고는 실시예 4와 동일한 용량 및 실시예 4의 프로토콜을 사용하여, 환자가 우선 리툽시맵으로 치료받은 후, 처음 치료받은 후 1 년에 리툽시맵으로 재치료받는다면 실시예 4 결과는 효과적일 것으로 예상된다.

<386>

#### 실시예 6

<387>

#### 전신 ANCA-관련 혈관염 대상체에서의 리툽시맵 효능 연구

<388>

무작위, 다기관 (multi-center), 이중 맹검 (double-masked), 플라스비보 대조군 시험을 전신 ANCA-관련 혈관염 환자에서 리툽시맵을 사용하여 수행한다. 200 명의 환자를 (1) 종래의 치료 (시클로포스파미드 및 코르티코스테로이드, 그 후 아자티오프린); 또는 (2) 완화 유도를 위해, 1 g의 리툽시맵을 1 일 및 15 일에 사용하는 리툽시맵 (+ 코르티코스테로이드, 초기)으로 무작위화하였다.

<389>

6 개월에 누적 질환 활동성을 측정함으로써 질환 완화를 유도하는 상기 투여 요법의 리툽시맵 및 코르티코스테로이드의 능력에 대해 1차 임상 비교를 실시한다. ANCA-관련 혈관염의 치료에 대한 표준에 따르면, 종래의 치료 병기에서 환자는 6 개월 미만 동안은 시클로포스파미드를, 그 후는 아자티오프린을 수여받아, 18 개월의 총 치료 기간을 완료하게 된다. B-세포 내성을 회복시키는 리툽시맵의 능력을 평가하기 위해, 양쪽 시험군의 환자

는 총 18 개월 동안 조사될 것이다.

<390> 리톡시맵 (또는 리톡시맵에 대해 치환된 인간화 2H7)은 2/3 이상의 환자에서 ANCA-관련 혈관염 환자의 안정한 완화를 유도할 것이고 ANCA 표적 항원에 대한 B-세포의 내성을 재확립할 것으로 예상된다. 또한 리톡시맵 또는 다른 CD20 항체는 이의 우수한 부작용 프로파일, 예를 들어 화학요법제 및 스테로이드보다 훨씬 약산 독성 및 내성 회복의 우수함으로 인해, 표준 요법보다 실질적인 이점을 제공하여 질환 완화의 유도 및 유지에 있어 적어도 종래의 치료 요법만큼 유효할 것이라고 예상된다.

<391> **실시예 7**

<392> **심각한 베게너 육아종증 또는 심각한 현미경적 다발성혈관염 대상체에서의 리톡시맵 효능의 재치료 연구**

<393> 심각한 활동성 베게너 육아종증 또는 심각한 활동성 현미경적 다발성혈관염이 있고, ANCA 시험 양성이고, 3 이상의 BVAS/VG 스코어를 가지며, 시클로포스파미드에 무반응성이거나 또는 시클로포스파미드 사용이 금지된 20 명의 환자를 등록한다. 심각한 베게너 육아종증의 정의에 대해서는 실시예 1을 참조하라. 완화 유도 투약법은 경구 프레드니손 (1 mg/kg/day) 및 리톡시맵 (1 일에 1 g 및 15 일에 1 g)으로 이루어진다. 4 주에, 프레드니손을 40 mg/day로 감소시킨다. 표준화된 테이퍼링 투약법을 따라, 그 다음 16 주에 걸쳐 프레드니손을 완전히 중단시킨다. 이를 리톡시맵이 아닌 리톡시맵 플라스보를 갖는 동일한 투약법 (대조 연구)과 비교한다. 프로토콜은 환자가 B 세포의 재구성 후 질환 발적을 경감하였는지, B 세포의 재구성과 일치하거나 또는 이후 B 세포가 재구성되는 ANCA의 재발 또는 ANCA 역가 상승이 있는 무증상이 있는지, 또는 완전히 완화되었는지와 상관없이 모든 환자에 대해 6 개월에 동일한 완화 유도 투약법으로 재치료를 나타낸다. 이러한 재치료 요법은 리톡시맵 및 리톡시맵 플라스보에 대해 2 주 간격의 1 g x 2를 포함한다. B 세포 부재시의 임상 발적은 치료 실패로 간주한다. 1 년 동안 매달 환자를 평가한다.

<394> 치료군의 환자는 리톡시맵 주입이 잘 허용될 것이며 이들의 B 세포는 신속히 결핍될 것이며 이들 모두에서 3 개월에 완전한 완화 (BVAS/WG 0)가 달성될 것이라고 예상된다. 치료군의 모든 환자는 6 개월에 글루코코르티코이드 테이퍼링이 완성될 것으로 예상된다. 12 개월 후, 치료군의 어떠한 환자도 임상 발적을 경험하지 않을 것이며 B 세포는 12 개월의 환자에서 모두는 아니지만 대부분 회복될 것이라고 예상된다. 글루코코르티코이드 이외의 어떠한 다른 면역억제제도, 리톡시맵 치료받는 환자에서 완화의 유도 및 지속적 완화 (6 개월 이상)의 유지에 필요할 것이라고 예상되지 않는다.

<395> **실시예 8**

<396> **본원에 유용한 인간화 2H7 변이체**

<397> 다음의 CDR 서열 중 1, 2, 3, 4, 5 또는 6 개를 포함하는 인간화 2H7 항체가 본원에서 유용하다.

<398> CDR L1 서열 RASSSVSYXH (여기서 X는 M 또는 L임) (서열 35), 예를 들어, 서열 4 (도 1A),

<399> CDR L2 서열 5의 서열 (도 1A),

<400> CDR L3 서열 QQWFXNPPT (여기서 X는 S 또는 A임) (서열 36), 예를 들어, 서열 6 (도 1A),

<401> CDR H1 서열 10의 서열 (도 1B),

<402> CDR H2 AIYPGNGXTSYNQKFKG의 서열 (여기서 X는 D 또는 A임) (서열 37), 예를 들어, 서열 11 (도 1B), 및

<403> CDR H3 VVYYSXXYWFVDV의 서열 (여기서 위치 6의 X는 N, A, Y, W, 또는 D이고, 위치 7의 X는 S 또는 R임) (서열 38), 예를 들어, 서열 12 (도 1B).

<404> 본원의 인간화 2H7 항체는 C-말단 리신을 함유하는 중쇄 아미노산 서열을 갖는 것 및 이를 갖지 않는 것을 포함한다. 상기 CDR 서열은 일반적으로 인간 가변 경쇄 및 가변 중쇄 중쇄-프레임워크 서열, 예컨대 실질적으로 인간 경쇄 카파 아군 I ( $V_L \kappa I$ )의 인간 컨센서스 FR 잔기, 및 실질적으로 인간 중쇄 아군 III ( $V_H III$ )의 인간 컨센서스 FR 잔기 내에 존재한다. 또한 WO 2004/056312 (Lowman et al.) 참조.

<405> 가변 중쇄 영역은 인간 IgG 사슬 불변 영역에 결합될 수 있는데, 여기서 영역은 예를 들어, 천연-서열 및 비천연-서열 불변 영역을 포함하는 IgG1 또는 IgG3일 수 있다.

<406> 바람직한 실시태양에서, 이러한 항체는 서열 8의 가변 중쇄-도메인 서열 (v16, 도 1B에 나타난 바와 같음) 및, 임의로 서열 2의 가변 경쇄-도메인 서열 (v16, 도 1A에 나타난 바와 같음)을 또한 포함하는데, 이들은 가변 중

쇄 도메인의 위치 56, 100, 및/또는 100a에서의 1 이상의 아미노산 치환(들) (예를 들어, D56A, N100A, 또는 N100Y, 및/또는 S100aR) 및 가변 경쇄 도메인의 위치 32 및/또는 92의 1 이상의 아미노산 치환(들) (예를 들어, M32L 및/또는 S92A)을 임의로 포함한다. 바람직하게는, 항체는 서열 13 또는 30의 경쇄 아미노산 서열 및 서열 14, 15, 29, 31, 34, 또는 39의 중쇄 아미노산 서열을 포함하는 무손상 항체인데, 서열 39는 하기 나타낸다.

<407> 바람직한 인간화 2H7 항체는 오크렐리주맵 (Genentech, Inc.)이다.

<408> 본원의 항체는 ADCC 활성을 개선시키는 Fc 영역의 1 이상의 아미노산 치환, (예컨대 위치 298, 333, 및 334의 아미노산 치환, 바람직하게는 중쇄 잔기의 Eu 번호매김을 사용시 S298A, E333A, 및 K334A)을 추가적으로 포함할 수 있다. 또한 미국 특허 제6,737,056호 (L. Presta) 참조.

<409> 이들 임의의 항체는 FcRn 결합 또는 혈청 반감기를 개선시키는 Fc 영역의 1 이상의 치환 (예를 들어 중쇄 위치 434의 치환, 예컨대 N434W)을 포함할 수 있다. 또한 미국 특허 제6,737,056호 (L. Presta) 참조.

<410> 이들 임의의 항체는 CDC 활성을 증가시키는 Fc 영역의 1 이상의 아미노산 치환 (예를 들어, 위치 326의 치환을 적어도 포함함, 바람직하게는 K326A 또는 K326W)을 추가적으로 포함할 수 있다. 또한 미국 특허 제6,528,624호 (Idusogie et al.) 참조.

<411> 몇몇 바람직한 인간화 2H7 변이체는 서열 2의 가변 경쇄 도메인 및 서열 8의 가변 중쇄 도메인을 포함하는 것들 (Fc 영역 (존재하는 경우) 내에 치환이 있거나 또는 없는 것들을 포함함)인데, 이들은 서열 8 내의 변경: N100A; 또는 D56A 및 N100A; 또는 D56A, N100Y, 및 S100aR를 갖는 가변 중쇄 도메인; 및 서열 2 내의 변경: M32L; 또는 S92A; 또는 M32L 및 S92A를 갖는 가변 경쇄 도메인을 포함한다.

<412> 2H7.v16의 가변 중쇄 도메인의 M34는 항체 안정성의 가능원으로 확인되었고 치환에 대한 또다른 가능 후보물질이다.

<413> 본 발명의 몇몇 다양한 바람직한 실시태양을 요약하자면, 2H7.v16에 기초한 변이체의 가변 영역은 하기 표 4에서 나타나는 아미노산 치환의 위치를 제외하고는 v16의 아미노산 서열을 포함한다. 달리 나타내지 않는다면, 2H7 변이체는 v16과 동일한 경쇄를 가질 것이다.

#### 【표 4】

예시적 인간화 2H7 항체 변이체

2H7 버전	중쇄 (V <sub>H</sub> ) 변화	경쇄 (V <sub>L</sub> ) 변화	Fc 변화
표준 16			-
31	-	-	S298A, E333A, K334A
73	N100A	M32L	
75	N100A	M32L	S298A, E333A, K334A
96	D56A, N100A	S92A	
114	D56A, N100A	M32L, S92A	S298A, E333A, K334A
115	D56A, N100A	M32L, S92A	S298A, E333A, K334A, E356D, M358L
116	D56A, N100A	M32L, S92A	S298A, K322A, K334A,
138	D56A, N100A	M32L, S92A	S298A, K326A, E333A, K334A,
477	D56A, N100A	M32L, S92A	S298A, K326A, E333A, K334A, N434W
375	-	-	K334L
588	-	-	S298A, K326A, E333A, K334A
511	D56A, N100Y, S100aR	M32L, S92A	S298A, K326A, E333A, K334A

<414>

<415> 바람직한 하나의 인간화 2H7은 2H7.v16 가변 경쇄-도메인 서열

DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASSSVSYMHWYQQKPGKAPKPLIYAPSNLASGVPSRFSGSGSGT

<416>

DFTLTISLQPEDFATYYCQQWSFNPTFGGQGTKVEIKR (서열 2);

<417>

및 2H7.v16 가변 중쇄-도메인 서열

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGAIYPGNGDTSYNQKFK

<418>

GRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVYYYSNSYWFYFDVWGQGTLLTVSS (서열 8).

<419>

을 포함한다.

- <420> 인간화 2H7.v16 항체가 무손상 항체인 경우, 이는 경쇄 아미노산 서열:
- DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASSSVSYMHWYQQKPGKAPKPLIYAPSNLASGVPSRFSGSGSGT  
DFTLTISLQPEDFATYYCQQWSFNPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN  
FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP  
VTKSFNRGEC (서열 13);
- <421>
- <422> 및 서열 14 또는
- EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGAIYPGNGDTSYNQKFK  
GRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVVYYNSYWFYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSV  
FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL  
GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC  
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN  
KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT  
TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (서열 15).
- <423>
- <424> 의 중쇄 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- <425> 또다른 바람직한 인간화 2H7 항체는 2H7.v511 가변 경쇄-도메인 서열:
- DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASSSVSYLHWYQQKPGKAPKPLIYAPSNLASGVPSRFSGSGSGT  
DFTLTISLQPEDFATYYCQQWAFNPPTFGQGTKVEIKR (서열 39)
- <426>
- <427> 및 2H7.v511 가변 중쇄-도메인 서열:
- EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGAIYPGNGATSYNQKFK  
GRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVVYYSYRYWFYFDVWGQGLTVTVSS (서열 40).
- <428>
- <429> 을 포함한다.
- <430> 인간화 2H7.v511 항체가 무손상 항체인 경우, 이는 경쇄 아미노산 서열:
- DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASSSVSYLHWYQQKPGKAPKPLIYAPSNLASGVPSRFSGSGSGT  
DFTLTISLQPEDFATYYCQQWAFNPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN  
FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP  
VTKSFNRGEC (서열 30)
- <431>
- <432> 및 서열 31 또는
- EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGAIYPGNGATSYNQKFK  
GRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVVYYSYRYWFYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSV  
FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL  
GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC  
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNATYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN  
AALPAPIAATISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT  
TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (서열 41).
- <433>
- <434> 의 중쇄 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- <435> 중쇄에 대한 C-말단 리신 서열을 사용하는 인간화 2H7.v16을 갖는 인간화 2H7.v511의 성숙형 경쇄 및 중쇄를 각 정렬한 도 7 및 8 참조.
- <436> 인간화 2H7.v31 항체가 무손상 항체인 경우, 이는 경쇄 아미노산 서열:
- DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASSSVSYLHWYQQKPGKAPKPLIYAPSNLASGVPSRFSGSGSGT  
DFTLTISLQPEDFATYYCQQWAFNPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN  
FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP  
VTKSFNRGEC (서열 13)
- <437>

<438> 및 서열 15 또는

FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL  
GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC  
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNATYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN  
KALPAPIAATISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT  
TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (서열 42) 또는 :  
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGAIYPGNGATSYNQKFK  
GRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVYYSYRYWYFDVWGQGTLLVTVSSASTKGPSV  
FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL  
GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC  
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNATYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN  
AALPAPIAATISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT  
TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (서열 43).

<439>

<440> 의 중쇄 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

<441> 본원의 바람직한 실시태양에서 항체는 서열 2 및 8의 가변 도메인 서열을 포함하는 인간화 2H7이다 (버전 16). 본원의 또다른 바람직한 실시태양은 항체가 서열 39 및 40의 가변 도메인 서열을 포함하는 인간화 2H7인 경우이다 (버전 511). 또한, 항체가 서열 32 및 33의 가변 도메인 서열을 포함하는 인간화 2H7 (버전 114에 대한 도 9 참조), 예컨대 서열 32의 가변 경쇄 도메인 및 서열 34의 중쇄 아미노산 서열을 포함하는 것인 경우가 바람직하다. 또한 항체가 서열 8내의 변형 N100A, 또는 D56A 및 N100A, 또는 D56A, N100Y, 및 S100aR을 갖는 가변 중쇄 도메인 및 서열 2내의 변형 M32L, 또는 S92A, 또는 M32L 및 S92A를 갖는 가변 경쇄 도메인을 포함하는 인간화 2H7인 경우가 바람직하다.

### 도면의 간단한 설명

<55> 도 1A는 뮤린 2H7 (서열 1), 인간화 2H7.v16 변이체 (서열 2), 및 인간 카파 경쇄 아군 I (서열 3) 각각의 경쇄 가변 도메인 ( $V_L$ )의 아미노산 서열을 비교하는 서열 정렬이다. 2H7 및 hu2H7.v16의  $V_L$ 의 CDR은 하기와 같다: CDR1 (서열 4), CDR2 (서열 5), 및 CDR3 (서열 6).

<56> 도 1B는 뮤린 2H7 (서열 7), 인간화 2H7.v16 변이체 (서열 8), 및 중쇄 아군 III의 인간 컨센서스(consensus) 서열 (서열 9) 각각의 중쇄 가변 도메인 ( $V_H$ )의 아미노산 서열을 비교하는 서열 정렬이다. 2H7 및 hu2H7.v16의  $V_H$ 의 CDR은 하기와 같다: CDR1 (서열 10), CDR2 (서열 11), 및 CDR3 (서열 12).

<57> 도 1A 및 도 1B에서, 각각의 사슬 내의 CDR1, CDR2 및 CDR3은, 표시된 바와 같이, 프레임워크 영역 FR1-FR4에 의해 플랭킹되어(flanked) 괄호 내에 들어있다. 2H7은 뮤린 2H7 항체를 지칭한다. 2개의 열의 서열 간의 별표는 두 서열 간에 상이한 위치를 가리킨다. 잔기 번호매김은 [Kabat et al. Sequences of Immunological interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)]에 따른 것이고, 삽입은 a, b, c, d, 및 e로 표시된다.

<58> 도 2는 성숙형 2H7.v16 L 사슬 (서열 13)의 아미노산 서열을 나타낸다.

<59> 도 3는 성숙형 2H7.v16 H 사슬 (서열 14)의 아미노산 서열을 나타낸다.

<60> 도 4는 성숙형 2H7.v31 H 사슬 (서열 15)의 아미노산 서열을 나타낸다. 2H7.v31의 L 사슬은 2H7.v16의 L 사슬과 동일하다.

<61> 도 5는 인간화 2H7.v16 변이체 (서열 2)와 인간화 2H7.v138 변이체 (서열 28)의 경쇄 아미노산 서열을 비교하는 서열 정렬이다.

<62> 도 6은 인간화 2H7.v16 변이체 (서열 8)과 인간화 2H7.v138 변이체 (서열 29)의 중쇄 아미노산 서열을 비교하는 서열 정렬이다.

<63> 도 7은 Kabat 가변-도메인 잔기 번호매김 및 Eu 불변-도메인 잔기 번호매김에 의한 성숙형 2H7.v16 및 2H7.v511 경쇄 (각각, 서열 13 및 30)의 정렬을 나타낸다.

<64> 도 8은 Kabat 가변-도메인 잔기 번호매김 및 Eu 불변-도메인 잔기 번호매김에 의한 성숙형 2H7.v16 및 2H7.v511



중쇄 (각각, 서열 14 및 31)의 정렬을 나타낸다.

<65>

도 9A는 인간화 2H7.v114 가변 경쇄 도메인 (서열 32)의 서열을 나타내고, 도 9B는 인간화 2H7.v114 가변 중쇄 도메인 (서열 33)의 서열을 나타내고, 도 9C는 인간화 2H7.v114 전장 중쇄 (서열 34)의 서열을 나타내는데, 이들은 Kabat 가변-도메인 잔기 번호매김 및 Eu 불변-도메인 잔기 번호매김에 의한다.

## 도면

### 도면1A

#### 가변 경쇄 도메인의 서열 정렬

	FR1	CDR1	
	10	20	30 40
2H7	QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTC	[RASSVS-YMH]	WYQQKP
	* * * *	* * *	
hu2H7.v16	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	[RASSVS-YMH]	WYQQKP
		* * * *	
hum KI	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	[RASQISNYLA]	WYQQKP
	FR2	CDR2	FR3
	50	60	70 80
2H7	GSSPKPWIY [APSNLAS]	GVPARFSGSGSGTSYSLTISRVEA	
	** *	*	*** ****
hu2H7.v16	GKAPKPLIY [APSNLAS]	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP	
	*	* * *	
hum KI	GKAPKLLIY [AASSLES]	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP	
	CDR3	FR4	
	90	100	
2H7	EDAATYYC [QQWSFNPPT]	FGAGTKLELKR	
	*	* * *	
hu2H7.v16	EDFATYYC [QQWSFNPPT]	FGQGTKVEIKR	
	*****		
hum KI	EDFATYYC [QQYNSLPWT]	FGQGTKVEIKR	

도면1B

가변 중쇄 도메인의 서열 정렬

	FR1	CDR1	
	10 20 30 40		
2H7	QAYLQQSGAELVRPGASVKMSCKAS	[GYTFTSYNMH]	WVKQT
	*** ** *		**
hu2H7.v16	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	[GYTFTSYNMH]	WVRQA
		* * *	
hum III	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	[GFTFSSYAMS]	WVRQA
	FR2	CDR2	FR3
	50 a 60 70 80		
2H7	PRQGLEWIG	[AIYPGNGDTSYNQKFKG]	KATLTVDKSSSTAYM
	** *		** ** ** *
hu2H7.v16	PGKGLEWVG	[AIYPGNGDTSYNQKFKG]	RFTISVDKSKNTLYL
	* * * * *		* *
hum III	PGKGLEWVA	[VISGDGGSTYYADSVKG]	RFTISRDNSKNTLTL
	CDR3	FR4	
	abc 90 100abcde 110		
2H7	QLSSLTSEDSAVYFCAR	[VVYYSNSYWFYFDV]	WGTGTVTVSS
	** ** *		* *
hu2H7.v16	QMNSLRAEDTAVYYCAR	[VVYYSNSYWFYFDV]	WGQGLTVTVSS
		***** ** *	
hum III	QMNSLRAEDTAVYYCAR	[GRVGYSLY---DY]	WGQGLTVTVSS

도면2

인간화 2H7.v16 경쇄

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVSYMHWYQQKPKGKAPKPLIYAPSNLASGVPSRFSG  
SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQWSFNPPFTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKKS  
GTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHK  
VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열 13)

도면3

인간화 2H7.v16 중쇄

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGAIYPGNGDTSYNQK  
FKGRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVVYYSNSYWFYFDVWGQGLTVTVSSASTK  
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS  
VVTVPSSSLGTQFYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP  
KDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH  
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY  
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHY  
TQKSLSLSPGK (서열 14)

도면4

인간화 2H7.v31 중쇄

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGAIYPNGDTSYNQK  
FKGRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVVYYSNSYWFYFDVWGQGLVTVSSASTK  
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEFVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS  
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKP  
KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNATYRVVSVLTVLH  
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIAATISKAKQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY  
PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHY  
TQKSLSLSPGK (서열 15)

도면5

v16 및 v138 경쇄 정렬 (서열 번호 매김)

	10	20	30	40	50
hu2H7.v16. 경쇄	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASSSVSYMHWYQQKPGKAPKPLIYAP *****				
hu2H7.v138. 경쇄	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASSSVSYLHWYQQKPGKAPKPLIYAP *****				
	10	20	30	40	50
	60	70	80	90	100
hu2H7.v16. 경쇄	SNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQWSFNPPTFGQG *****				
hu2H7.v138. 경쇄	SNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQWAFNPPTFGQG *****				
	60	70	80	90	100
	110	120	130	140	150
hu2H7.v16. 경쇄	TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYFPREAKVQWKVD *****				
hu2H7.v138. 경쇄	TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYFPREAKVQWKVD *****				
	110	120	130	140	150
	160	170	180	190	200
hu2H7.v16. 경쇄	NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLISKADYEKHKVYACEVTHQGL *****				
hu2H7.v138. 경쇄	NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLISKADYEKHKVYACEVTHQGL *****				
	160	170	180	190	200
	210				
hu2H7.v16. 경쇄	SSPVTKSFNRGEC *****				
hu2H7.v138. 경쇄	SSPVTKSFNRGEC *****				
	210				

도면6

v16 및 v138 중쇄 정렬 (서열 번호 매김)

	10	20	30	40	50
hu2H7.v16. 중쇄	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGA				
hu2H7.v138. 중쇄	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGA				
	10	20	30	40	50
	60	70	80	90	100
hu2H7.v16. 중쇄	IYPGNGDTSYNQKFKGRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVV				
hu2H7.v138. 중쇄	IYPGNGATSYNQKFKGRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVV				
	60	70	80	90	100
	110	120	130	140	150
hu2H7.v16. 중쇄	YYSNSYWYFDVWQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL				
hu2H7.v138. 중쇄	YYSASYWYFDVWQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL				
	110	120	130	140	150
	160	170	180	190	200
hu2H7.v16. 중쇄	VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT				
hu2H7.v138. 중쇄	VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT				
	160	170	180	190	200
	210	220	230	240	250
hu2H7.v16. 중쇄	QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP				
hu2H7.v138. 중쇄	QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP				
	210	220	230	240	250
	260	270	280	290	300
hu2H7.v16. 중쇄	KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ				
hu2H7.v138. 중쇄	KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ				
	260	270	280	290	300
	310	320	330	340	350
hu2H7.v16. 중쇄	YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE				
hu2H7.v138. 중쇄	YNATYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNALPAPIAATISKAKGQPRE				
	310	320	330	340	350
	360	370	380	390	400
hu2H7.v16. 중쇄	PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP				
hu2H7.v138. 중쇄	PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP				
	360	370	380	390	400
	410	420	430	440	450
hu2H7.v16. 중쇄	PVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK				
hu2H7.v138. 중쇄	PVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK				
	410	420	430	440	450

도면7

경쇄 정렬

	1	32
hu2H7.v16	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVSYMHWYQQKPGKAPKPLIYAP	
	*****	
hu2H7.v511	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVSYLHWYQQKPGKAPKPLIYAP	
	52	
hu2H7.v16	SNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQWSFNPPTFGQG	
	*****	
hu2H7.v511	SNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQWAFNPPTFGQG	
	102	
hu2H7.v16	TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD	
	*****	
hu2H7.v511	TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD	
	152	
hu2H7.v16	NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL	
	*****	
hu2H7.v511	NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL	
	202	214
hu2H7.v16	SSPVTKSFNRGEC	
	*****	
hu2H7.v511	SSPVTKSFNRGEC	



도면8

중쇄 정렬

hu2H7.v16	1 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMHW *****
hu2H7.v511	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMHW
hu2H7.v16	37                      52a                      82abc VRQAPGKGLEWVGAIYPGNGDTSYNQKFKGRFTISVDKSKNTLYLQMNSL *****
hu2H7.v511	VRQAPGKGLEWVGAIYPGNGDTSYNQKFKGRFTISVDKSKNTLYLQMNSL
hu2H7.v16	83                      100abcde                      113 RAEDTAVYYCARVVYYSNSYWFYFDVWGQGTLLTVSS *****
hu2H7.v511	RAEDTAVYYCARVVYYSRYWFYFDVWGQGTLLTVSS
hu2H7.v16	118 ASTKGPSVFPLAPS *****
hu2H7.v511	ASTKGPSVFPLAPS
hu2H7.v16	132 SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS *****
hu2H7.v511	SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
hu2H7.v16	182 LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA *****
hu2H7.v511	LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
hu2H7.v16	232 PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG *****
hu2H7.v511	PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
hu2H7.v16	282 VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP *****
hu2H7.v511	VEVHNAKTKPREEQYNATYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNALPAP
hu2H7.v16	332 IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW *                      *****
hu2H7.v511	IAATISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
hu2H7.v16	382 ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA *****
hu2H7.v511	ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA
hu2H7.v16	432                      447 LHNHYTQKSLSLSPGK *****
hu2H7.v511	LHNHYTQKSLSLSPGK

도면9A

인간화 2H7.v114 가변 경쇄 도메인 :

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVSYLHWYQQKPGKAPKPLIYAPSNLASGVPSRFSGSGSG  
TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQWAFNPPTFGQGTKVEIKR

도면9B

인간화 2H7.v114 가변 중쇄 도메인 :

FEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGAIYPGNGATSYNQK  
FKGRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVVYYSASYWYFDVWGQGTLLVTVSS

도면9C

인간화 2H7.v114 전장 중쇄 :

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGAIYPGNG  
ATSYNQKFKGRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVVYYSASYWYFDVWGQG  
TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA  
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPPCP  
APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP  
REEQYNATYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYCKVSNKALPAPIAATISKAKGQPREPQVYTL  
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT  
VDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

서열목록

<110> GENENTECH, INC. , BRUNETTA, PAUL G.

<120> METHOD FOR TREATING VASCULITIS

<130> P2177R1 PCT

<140> PCT/US2005/034647

<141> 2005-09-28

<150> US 60/616,104

<151> 2004-10-05

<160> 43

<210> 1

<211> 107

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 1

Gln Ile Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Ala Ser Pro  
1 5 10 15

Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser  
20 25 30

Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro  
35 40 45

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

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser  
65 70 75

Arg Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp  
80 85 90

Ser Phe Asn Pro Pro Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu  
95 100 105

Lys Arg

<210> 2

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 2

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

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

Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro

35 40 45

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

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
65 70 75

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp  
80 85 90

Ser Phe Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile  
95 100 105

Lys Arg

<210> 3

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

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

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

Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys  
35 40 45

Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln  
80 85 90

Tyr Asn Ser Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu  
                   95                  100                  105

Ile Lys Arg

<210> 4

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 4

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His Ala Pro Ser Asn Leu  
       1                  5                  10                  15

Ala Ser Gln Gln Trp Ser Phe Asn Pro Pro Thr  
                   20                  25

<210> 5

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 5

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His Ala Pro Ser Asn Leu  
       1                  5                  10                  15

Ala Ser Gln Gln Trp Ser Phe Asn Pro Pro Thr  
                   20                  25

<210> 6



<211> 27

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 6

Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Ser	Asn	Tyr	Leu	Ala	Ala	Ala	Ser	Ser
1				5					10					15

Leu	Glu	Ser	Gln	Gln	Tyr	Asn	Ser	Leu	Pro	Trp	Thr
			20						25		

<210> 7

<211> 122

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 7

Gln	Ala	Tyr	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Val	Arg	Pro	Gly
1				5					10					15

Ala	Ser	Val	Lys	Met	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr
				20					25					30

Ser	Tyr	Asn	Met	His	Trp	Val	Lys	Gln	Thr	Pro	Arg	Gln	Gly	Leu
				35					40					45

Glu	Trp	Ile	Gly	Ala	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asn	Gly	Asp	Thr	Ser	Tyr
				50					55					60

Asn	Gln	Lys	Phe	Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser
				65					70					75

Ser	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Gln	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp
				80					85					90

Ser	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg	Val	Val	Tyr	Tyr	Ser	Asn	Ser
				95					100					105

Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val  
110 115 120

Ser Ser

<210> 8

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 8

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly  
1 5 10 15

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr  
20 25 30

Ser Tyr Asn Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu  
35 40 45

Glu Trp Val Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr  
50 55 60

Asn Gln Lys Phe Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser  
65 70 75

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp  
80 85 90

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Val Val Tyr Tyr Ser Asn Ser  
95 100 105

Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val  
110 115 120

Ser Ser

<210> 9

<211> 119

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly  
1 5 10 15

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser  
20 25 30

Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu  
35 40 45

Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr  
50 55 60

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser  
65 70 75

Lys Asn Thr Leu Thr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp  
80 85 90

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Arg Val Gly Tyr Ser Leu  
95 100 105

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
110 115

<210> 10

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 10

Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr	Asn	Met	His	Ala	Ile	Tyr	Pro	Gly
1				5					10					15

Asn	Gly	Asp	Thr	Ser	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe	Lys	Gly	Val	Val	Tyr
				20					25					30

Tyr	Ser	Asn	Ser	Tyr	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val
				35					40

<210> 11

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 11

Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr	Asn	Met	His	Ala	Ile	Tyr	Pro	Gly
1				5					10					15

Asn	Gly	Asp	Thr	Ser	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe	Lys	Gly	Val	Val	Tyr
				20					25					30

Tyr	Ser	Asn	Ser	Tyr	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val
				35					40

<210> 12

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 12

Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	Ala	Met	Ser	Val	Ile	Ser	Gly	Asp
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

1	5	10	15
Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Gly Arg Val	20	25	30
Gly Tyr Ser Leu Tyr Asp Tyr	35		
<210> 13			
<211> 213			
<212> PRT			
<213> Artificial sequence			
<220>			
<223> Sequence is synthesized			
<400> 13			
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val	1	5	10 15
Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser	20	25	30
Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro	35	40	45
Leu Ile Tyr Ala Pro Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg	50	55	60
Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser	65	70	75
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp	80	85	90
Ser Phe Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile	95	100	105
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser	110	115	120



Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu  
125 130 135

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp  
140 145 150

Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln  
155 160 165

Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu  
170 175 180

Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val  
185 190 195

Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg  
200 205 210

Gly Glu Cys

<210> 14

<211> 452

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 14

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly  
1 5 10 15

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr  
20 25 30

Ser Tyr Asn Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu  
35 40 45

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

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp  
260 265 270

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
275 280 285

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
290 295 300

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
305 310 315

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
320 325 330

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys  
335 340 345

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
350 355 360

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys  
365 370 375

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
380 385 390

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
395 400 405

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
410 415 420

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
425 430 435

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
440 445 450

Gly Lys

<210> 15

<211> 452

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 15

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly
1				5						10				15

Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr
				20						25				30

Ser	Tyr	Asn	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu
				35						40				45

Glu	Trp	Val	Gly	Ala	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asn	Gly	Asp	Thr	Ser	Tyr
				50						55				60

Asn	Gln	Lys	Phe	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Lys	Ser
				65						70				75

Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp
				80						85				90

Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Val	Val	Tyr	Tyr	Ser	Asn	Ser
				95						100				105

Tyr	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val
				110						115				120

Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro
				125						130				135

Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu
				140						145				150

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
155 160 165

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
170 175 180

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
185 190 195

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys  
200 205 210

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys  
215 220 225

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu  
230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr  
245 250 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp  
260 265 270

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
275 280 285

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
290 295 300

Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
305 310 315

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
320 325 330

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Ala Ala Thr Ile Ser Lys Ala Lys  
335 340 345

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg



	350		355		360
Glu Glu Met Thr	Lys Asn Gln Val Ser	Leu Thr Cys Leu Val	Lys		
	365		370		375
Gly Phe Tyr Pro	Ser Asp Ile Ala Val	Glu Trp Glu Ser Asn	Gly		
	380		385		390
Gln Pro Glu Asn	Asn Tyr Lys Thr Thr	Pro Pro Val Leu Asp	Ser		
	395		400		405
Asp Gly Ser Phe	Phe Leu Tyr Ser Lys	Leu Thr Val Asp Lys	Ser		
	410		415		420
Arg Trp Gln Gln	Gly Asn Val Phe Ser	Cys Ser Val Met His	Glu		
	425		430		435
Ala Leu His Asn	His Tyr Thr Gln Lys	Ser Leu Ser Leu Ser	Pro		
	440		445		450
Gly Lys					
<210> 16					
<211> 285					
<212> PRT					
<213> Homo sapiens					
<400> 16					
Met Asp Asp Ser Thr	Glu Arg Glu Gln Ser	Arg Leu Thr Ser Cys			
1	5	10	15		
Leu Lys Lys Arg	Glu Glu Met Lys Leu	Lys Glu Cys Val Ser	Ile		
	20	25	30		
Leu Pro Arg Lys	Glu Ser Pro Ser Val	Arg Ser Ser Lys Asp	Gly		
	35	40	45		
Lys Leu Leu Ala	Ala Thr Leu Leu Leu	Ala Leu Leu Ser Cys	Cys		
	50	55	60		

Leu Thr Val Val Ser Phe Tyr Gln Val Ala Ala Leu Gln Gly Asp  
65 70 75

Leu Ala Ser Leu Arg Ala Glu Leu Gln Gly His His Ala Glu Lys  
80 85 90

Leu Pro Ala Gly Ala Gly Ala Pro Lys Ala Gly Leu Glu Glu Ala  
95 100 105

Pro Ala Val Thr Ala Gly Leu Lys Ile Phe Glu Pro Pro Ala Pro  
110 115 120

Gly Glu Gly Asn Ser Ser Gln Asn Ser Arg Asn Lys Arg Ala Val  
125 130 135

Gln Gly Pro Glu Glu Thr Val Thr Gln Asp Cys Leu Gln Leu Ile  
140 145 150

Ala Asp Ser Glu Thr Pro Thr Ile Gln Lys Gly Ser Tyr Thr Phe  
155 160 165

Val Pro Trp Leu Leu Ser Phe Lys Arg Gly Ser Ala Leu Glu Glu  
170 175 180

Lys Glu Asn Lys Ile Leu Val Lys Glu Thr Gly Tyr Phe Phe Ile  
185 190 195

Tyr Gly Gln Val Leu Tyr Thr Asp Lys Thr Tyr Ala Met Gly His  
200 205 210

Leu Ile Gln Arg Lys Lys Val His Val Phe Gly Asp Glu Leu Ser  
215 220 225

Leu Val Thr Leu Phe Arg Cys Ile Gln Asn Met Pro Glu Thr Leu  
230 235 240

Pro Asn Asn Ser Cys Tyr Ser Ala Gly Ile Ala Lys Leu Glu Glu  
245 250 255

Gly Asp Glu Leu Gln Leu Ala Ile Pro Arg Glu Asn Ala Gln Ile

260 265 270

Ser Leu Asp Gly Asp Val Thr Phe Phe Gly Ala Leu Lys Leu Leu  
275 280 285

<210> 17

<211> 309

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 17

Met Asp Glu Ser Ala Lys Thr Leu Pro Pro Pro Cys Leu Cys Phe  
1 5 10 15

Cys Ser Glu Lys Gly Glu Asp Met Lys Val Gly Tyr Asp Pro Ile  
20 25 30

Thr Pro Gln Lys Glu Glu Gly Ala Trp Phe Gly Ile Cys Arg Asp  
35 40 45

Gly Arg Leu Leu Ala Ala Thr Leu Leu Leu Ala Leu Leu Ser Ser  
50 55 60

Ser Phe Thr Ala Met Ser Leu Tyr Gln Leu Ala Ala Leu Gln Ala  
65 70 75

Asp Leu Met Asn Leu Arg Met Glu Leu Gln Ser Tyr Arg Gly Ser  
80 85 90

Ala Thr Pro Ala Ala Ala Gly Ala Pro Glu Leu Thr Ala Gly Val  
95 100 105

Lys Leu Leu Thr Pro Ala Ala Pro Arg Pro His Asn Ser Ser Arg  
110 115 120

Gly His Arg Asn Arg Arg Ala Phe Gln Gly Pro Glu Glu Thr Glu  
125 130 135

Gln Asp Val Asp Leu Ser Ala Pro Pro Ala Pro Cys Leu Pro Gly  
140 145 150

Cys Arg His Ser Gln His Asp Asp Asn Gly Met Asn Leu Arg Asn  
155 160 165

Ile Ile Gln Asp Cys Leu Gln Leu Ile Ala Asp Ser Asp Thr Pro  
170 175 180

Thr Ile Arg Lys Gly Thr Tyr Thr Phe Val Pro Trp Leu Leu Ser  
185 190 195

Phe Lys Arg Gly Asn Ala Leu Glu Glu Lys Glu Asn Lys Ile Val  
200 205 210

Val Arg Gln Thr Gly Tyr Phe Phe Ile Tyr Ser Gln Val Leu Tyr  
215 220 225

Thr Asp Pro Ile Phe Ala Met Gly His Val Ile Gln Arg Lys Lys  
230 235 240

Val His Val Phe Gly Asp Glu Leu Ser Leu Val Thr Leu Phe Arg  
245 250 255

Cys Ile Gln Asn Met Pro Lys Thr Leu Pro Asn Asn Ser Cys Tyr  
260 265 270

Ser Ala Gly Ile Ala Arg Leu Glu Glu Gly Asp Glu Ile Gln Leu  
275 280 285

Ala Ile Pro Arg Glu Asn Ala Gln Ile Ser Arg Asn Gly Asp Asp  
290 295 300

Thr Phe Phe Gly Ala Leu Lys Leu Leu  
305

<210> 18

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<220>

<221> Xaa

<222> 1

<223> X = Any Amino Acid except Cysteine

<220>

<221> Xaa

<222> 3

<223> X = Any Amino Acid except Cysteine

<220>

<221> Xaa

<222> 5

<223> X = Any Amino Acid except Cysteine

<220>

<221> Xaa

<222> 7-10

<223> X = Any Amino Acid except Cysteine

<220>

<221> Xaa

<222> 11, 12, 14, 15, 17

<223> X = Any Amino Acid except Cysteine

<220>

<221> Xaa

<222> 16

<223> X = L, F, I, or V

<400> 18

Xaa	Cys	Xaa	Asp	Xaa	Leu	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Cys	Xaa	Xaa
1				5				10					15	

Xaa Xaa



<210> 19

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 19

Glu	Cys	Phe	Asp	Leu	Leu	Val	Arg	Ala	Trp	Val	Pro	Cys	Ser	Val
1				5					10					15

Leu Lys

<210> 20

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 20

Glu	Cys	Phe	Asp	Leu	Leu	Val	Arg	His	Trp	Val	Pro	Cys	Gly	Leu
1				5					10					15

Leu Arg

<210> 21

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 21

Glu	Cys	Phe	Asp	Leu	Leu	Val	Arg	Arg	Trp	Val	Pro	Cys	Glu	Met
1				5					10					15

Leu Gly

<210> 22

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 22

Glu	Cys	Phe	Asp	Leu	Leu	Val	Arg	Ser	Trp	Val	Pro	Cys	His	Met
1				5					10					15

Leu Arg

<210> 23

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 23

Glu	Cys	Phe	Asp	Leu	Leu	Val	Arg	His	Trp	Val	Ala	Cys	Gly	Leu
1				5					10					15

Leu Arg

<210> 24

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 24

Gln	Cys	Phe	Asp	Arg	Leu	Asn	Ala	Trp	Val	Pro	Cys	Ser	Val	Leu
1				5				10					15	

Lys

<210> 25

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<220>

<221> Xaa

<222> 1, 3, 5, 8, 9, 14, 15, 17

<223> Xaa = Any Amino Acid Except Cysteine

<400> 25

Xaa	Cys	Xaa	Asp	Xaa	Leu	Val	Xaa	Xaa	Trp	Val	Pro	Cys	Xaa	Xaa
1				5				10					15	

Leu Xaa

<210> 26

<211> 184

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

Met Arg Arg Gly Pro Arg Ser Leu Arg Gly Arg Asp Ala Pro Ala  
1 5 10 15

Pro Thr Pro Cys Val Pro Ala Glu Cys Phe Asp Leu Leu Val Arg  
20 25 30

His Cys Val Ala Cys Gly Leu Leu Arg Thr Pro Arg Pro Lys Pro  
35 40 45

Ala Gly Ala Ser Ser Pro Ala Pro Arg Thr Ala Leu Gln Pro Gln  
50 55 60

Glu Ser Val Gly Ala Gly Ala Gly Glu Ala Ala Leu Pro Leu Pro  
65 70 75

Gly Leu Leu Phe Gly Ala Pro Ala Leu Leu Gly Leu Ala Leu Val  
80 85 90

Leu Ala Leu Val Leu Val Gly Leu Val Ser Trp Arg Arg Arg Gln  
95 100 105

Arg Arg Leu Arg Gly Ala Ser Ser Ala Glu Ala Pro Asp Gly Asp  
110 115 120

Lys Asp Ala Pro Glu Pro Leu Asp Lys Val Ile Ile Leu Ser Pro  
125 130 135

Gly Ile Ser Asp Ala Thr Ala Pro Ala Trp Pro Pro Pro Gly Glu  
140 145 150

Asp Pro Gly Thr Thr Pro Pro Gly His Ser Val Pro Val Pro Ala  
155 160 165

Thr Glu Leu Gly Ser Thr Glu Leu Val Thr Thr Lys Thr Ala Gly  
170 175 180

Pro Glu Gln Gln

<210> 27

<211> 26

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

Thr	Pro	Cys	Val	Pro	Ala	Glu	Cys	Phe	Asp	Leu	Leu	Val	Arg	His
1				5					10					15

Cys	Val	Ala	Cys	Gly	Leu	Leu	Arg	Thr	Pro	Arg
				20				25		

<210> 28

<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 28

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

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

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

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

Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser
				65					70					75

Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Trp
				80					85					90

Ala Phe Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile  
95 100 105

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser  
110 115 120

Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu  
125 130 135

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp  
140 145 150

Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln  
155 160 165

Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu  
170 175 180

Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val  
185 190 195

Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg  
200 205 210

Gly Glu Cys

<210> 29

<211> 452

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 29

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly  
1 5 10 15



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

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu  
230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr  
245 250 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp  
260 265 270

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
275 280 285

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
290 295 300

Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
305 310 315

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
320 325 330

Ala Ala Leu Pro Ala Pro Ile Ala Ala Thr Ile Ser Lys Ala Lys  
335 340 345

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
350 355 360

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys  
365 370 375

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
380 385 390

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
395 400 405

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
410 415 420

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

425 430 435

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
440 445 450

Gly Lys

<210> 30

<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 30

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

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

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

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

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
65 70 75

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp  
80 85 90

Ala Phe Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile  
95 100 105

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser  
110 115 120

Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu  
125 130 135

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp  
140 145 150

Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln  
155 160 165

Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu  
170 175 180

Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val  
185 190 195

Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg  
200 205 210

Gly Glu Cys

<210> 31

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 31

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly  
1 5 10 15

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr  
20 25 30

Ser Tyr Asn Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu  
35 40 45

Glu Trp Val Gly Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Ala Thr Ser Tyr Asn  
50 55 60

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys  
65 70 75

Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr  
80 85 90

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Val Val Tyr Tyr Ser Tyr Arg Tyr  
95 100 105

Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
110 115 120

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser  
125 130 135

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val  
140 145 150

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
155 160 165

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
170 175 180

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
185 190 195

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro  
200 205 210

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
215 220 225

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly  
230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu  
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val  
260 265 270

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

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

Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
305 310 315

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Ala  
320 325 330

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Ala Ala Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
335 340 345

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu  
350 355 360

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly  
365 370 375

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
380 385 390

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
395 400 405

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
410 415 420

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala  
425 430 435

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
440 445 450

Lys



<210> 32

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 32

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

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

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

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

Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser
				65					70					75

Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Trp
				80					85					90

Ala	Phe	Asn	Pro	Pro	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile
				95					100					105

Lys Arg

<210> 33

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 33

Phe Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro  
1 5 10 15

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe  
20 25 30

Thr Ser Tyr Asn Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly  
35 40 45

Leu Glu Trp Val Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Ala Thr Ser  
50 55 60

Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys  
65 70 75

Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu  
80 85 90

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Val Val Tyr Tyr Ser Ala  
95 100 105

Ser Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
110 115 120

Val Ser Ser

<210> 34

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 34

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly  
1 5 10 15

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr  
20 25 30

Ser Tyr Asn Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu  
35 40 45

Glu Trp Val Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Ala Thr Ser Tyr  
50 55 60

Asn Gln Lys Phe Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser  
65 70 75

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp  
80 85 90

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Val Val Tyr Tyr Ser Ala Ser  
95 100 105

Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val  
110 115 120

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro  
125 130 135

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
140 145 150

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
155 160 165

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
170 175 180

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
185 190 195

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys  
200 205 210

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys  
215 220 225

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu  
230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr  
245 250 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp  
260 265 270

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
275 280 285

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
290 295 300

Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
305 310 315

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
320 325 330

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Ala Ala Thr Ile Ser Lys Ala Lys  
335 340 345

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
350 355 360

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys  
365 370 375

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
380 385 390

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
395 400 405

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
410 415 420

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
425 430 435

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
440 445 450

Gly

<210> 35

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<220>

<221> Xaa

<222> 9

<223> X is M or L

<400> 35

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Xaa His  
5 10

<210> 36

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<220>

<221> Xaa

<222> 4

<223> X is S or A

<400> 36

Gln Gln Trp Xaa Phe Asn Pro Pro Thr  
5

<210> 37

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<220>

<221> Xaa

<222> 8

<223> X is D or A

<400> 37

Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Xaa Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe  
1 5 10 15

Lys Gly

<210> 38

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<220>

<221> Xaa

<222> 6

<223> X is N, A, Y, W, or D

<220>

<221> Xaa

<222> 7

<223> X is S or R

<400> 38

Val	Val	Tyr	Tyr	Ser	Xaa	Xaa	Tyr	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val
				5				10				

<210> 39

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 39

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

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

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

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

Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser
				65				70					75	

Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Trp
				80				85					90	



Ala Phe Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile  
95 100 105

Lys Arg

<210> 40

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 40

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly  
1 5 10 15

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr  
20 25 30

Ser Tyr Asn Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu  
35 40 45

Glu Trp Val Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Ala Thr Ser Tyr  
50 55 60

Asn Gln Lys Phe Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser  
65 70 75

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp  
80 85 90

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Val Val Tyr Tyr Ser Tyr Arg  
95 100 105

Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val  
110 115 120

Ser Ser

<210> 41

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 41

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly
1				5						10				15

Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr
				20						25				30

Ser	Tyr	Asn	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu
				35						40				45

Glu	Trp	Val	Gly	Ala	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asn	Gly	Ala	Thr	Ser	Tyr
				50						55				60

Asn	Gln	Lys	Phe	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Lys	Ser
				65						70				75

Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp
				80						85				90

Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Val	Val	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Arg
				95						100				105

Tyr	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val
				110						115				120

Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro
				125						130				135

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

140	145	150
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser		
155	160	165
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln		
170	175	180
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser		
185	190	195
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys		
200	205	210
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys		
215	220	225
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu		
230	235	240
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr		
245	250	255
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp		
260	265	270
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp		
275	280	285
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln		
290	295	300
Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His		
305	310	315
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
320	325	330
Ala Ala Leu Pro Ala Pro Ile Ala Ala Thr Ile Ser Lys Ala Lys		
335	340	345

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
350 355 360

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys  
365 370 375

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
380 385 390

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
395 400 405

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
410 415 420

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
425 430 435

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
440 445 450

Gly

<210> 42

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 42

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly  
1 5 10 15

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr  
20 25 30

Ser Tyr Asn Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

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

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr		
	245	250 255
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp		
	260	265 270
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp		
	275	280 285
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln		
	290	295 300
Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His		
	305	310 315
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
	320	325 330
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Ala Ala Thr Ile Ser Lys Ala Lys		
	335	340 345
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg		
	350	355 360
Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys		
	365	370 375
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly		
	380	385 390
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		
	395	400 405
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser		
	410	415 420
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu		
	425	430 435
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		
	440	445 450

Gly

<210> 43

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Sequence is synthesized

<400> 43

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly
1				5					10					15

Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr
				20					25					30

Ser	Tyr	Asn	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu
				35					40					45

Glu	Trp	Val	Gly	Ala	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asn	Gly	Ala	Thr	Ser	Tyr
				50					55					60

Asn	Gln	Lys	Phe	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Lys	Ser
				65					70					75

Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp
				80					85					90

Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Val	Val	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Arg
				95					100					105

Tyr	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val
				110					115					120

Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro
				125					130					135

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
140 145 150

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
155 160 165

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
170 175 180

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
185 190 195

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys  
200 205 210

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys  
215 220 225

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu  
230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr  
245 250 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp  
260 265 270

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
275 280 285

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
290 295 300

Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
305 310 315

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
320 325 330

Ala Ala Leu Pro Ala Pro Ile Ala Ala Thr Ile Ser Lys Ala Lys  
335 340 345



Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
350 355 360

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys  
365 370 375

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
380 385 390

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
395 400 405

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
410 415 420

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
425 430 435

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
440 445 450

Gly