



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0095802
 (43) 공개일자 2017년08월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) **A61K 45/00** (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
 (52) CPC특허분류
A61K 39/395 (2013.01)
A61K 45/00 (2013.01)
 (21) 출원번호 10-2017-7008434
 (22) 출원일자(국제) 2016년02월26일
 심사청구일자 2017년07월28일
 (85) 번역문제출일자 2017년03월28일
 (86) 국제출원번호 PCT/JP2016/055768
 (87) 국제공개번호 WO 2016/136933
 국제공개일자 2016년09월01일
 (30) 우선권주장
 JP-P-2015-037933 2015년02월27일 일본(JP)

(71) 출원인
추가이 세이야쿠 가부시키키가이샤
 일본국 도쿄도 기타쿠 우키마 5초메 5반 1코
 (72) 발명자
가케히 다카히로
 일본 도쿄도 주오쿠 니혼바시무로마치 2-1-1 추가이 세이야쿠 가부시키키가이샤 내
야마다 아키노리
 일본 도쿄도 주오쿠 니혼바시무로마치 2-1-1 추가이 세이야쿠 가부시키키가이샤 내
이시다 요시마사
 일본 도쿄도 주오쿠 니혼바시무로마치 2-1-1 추가이 세이야쿠 가부시키키가이샤 내
 (74) 대리인
제일특허법인

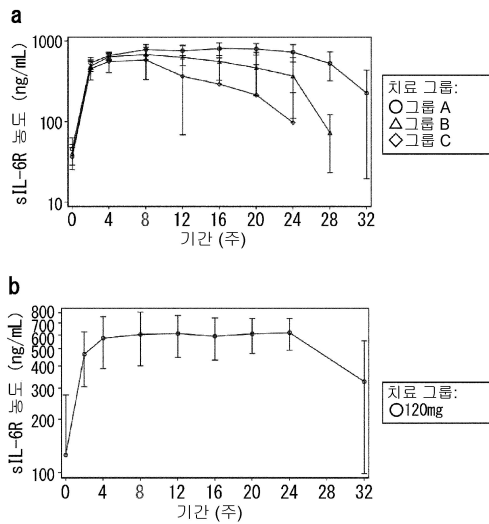
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **IL-6 관련 질환 치료용 조성물**

(57) 요약

IL-6 저해제를 유효 성분으로 하는 IL-6 관련 질환 치료용 의약 조성물로서, 통상 투여량과 동일한 투여량으로 통상 투여 간격보다도 짧은 간격으로 투여되는 단간격 투여 기간을 거친 후, 통상 투여되는 것을 특징으로 하는 의약 조성물.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A61K 9/0021 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

IL-6 저해제를 유효 성분으로 하는 IL-6 관련 질환 치료용 의약 조성물로서, 통상 투여량과 동일한 투여량으로 통상 투여 간격보다도 짧은 간격으로 복수회 투여되는 단간격 투여 기간을 거친 후, 통상 투여되는 것을 특징으로 하는 의약 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서,
상기 통상 투여 간격이 3~5주간인 것을 특징으로 하는 의약 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서,
상기 통상 투여 간격이 4주간인 것을 특징으로 하는 의약 조성물.

청구항 4

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 통상 투여 간격보다도 짧은 간격으로 복수회 투여되는 단간격 투여 기간의 투여 간격이 1~2주간인 것을 특징으로 하는 의약 조성물.

청구항 5

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 통상 투여 간격보다도 짧은 간격으로 복수회 투여되는 단간격 투여 기간의 투여 간격이 2주간인 것을 특징으로 하는 의약 조성물.

청구항 6

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 단간격 투여 기간이 초회 투여 개시 시로부터 4주간인 것을 특징으로 하는 의약 조성물.

청구항 7

제 1 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 통상 투여에 있어서의 투여량이 50~800mg/회인 것을 특징으로 하는 의약 조성물.

청구항 8

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 통상 투여에 있어서의 투여량이 120mg/회인 것을 특징으로 하는 의약 조성물.

청구항 9

제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 IL-6 저해제가 IL-6 수용체 항체인 의약 조성물.

청구항 10

제 9 항에 있어서,

상기 IL-6 수용체 항체가 키메라 항체, 인간화 항체 또는 인간 항체 중 어느 하나인 의약 조성물.

청구항 11

제 9 항에 있어서,

상기 IL-6 수용체 항체가 서열번호: 1의 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호: 2의 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체인 의약 조성물.

청구항 12

제 9 항에 있어서,

상기 IL-6 수용체 항체가 서열번호: 3의 서열을 갖는 중쇄 및 서열번호: 4의 서열을 갖는 경쇄를 포함하는 항체인 의약 조성물.

청구항 13

제 9 항에 있어서,

상기 IL-6 수용체 항체가 SA237인 의약 조성물.

청구항 14

제 1 항 내지 제 13 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 IL-6 관련 질환이, 관절 류머티즘, 약년성 특발성 관절염, 전신형 약년성 특발성 관절염, 캐슬만병, 전신성 에리테마토데스(SLE), 루푸스 신염, 크론병, lymphoma, 켈양성 대장암, 빈혈, 혈관염, 가와사키병, Still병, 아밀로이드증, 다발성 경화증, 이식, 가령 황반 변성증, 경직성 척추염, 건선, 건선성 관절염, 만성 폐색성 폐질환(COPD), IgA 신증, 변형성 관절증, 천식, 당뇨병성 신증, GVHD, 자궁 내막증, 간염(NASH), 심근경색, 동맥경화, 폐혈증, 골다공증, 당뇨병, 다발성 골수종, 전립선암, 신암, B-cell non-Hodgkin's, 췌암, 폐암, 식도암, 대장암, 암 카렉시아, 암 신경침윤, 심근경색, 근시성 맥락막 혈관신생, 특발성 맥락막 혈관신생, 포도막염, 만성 갑상선염, 지연성 과민증, 접촉성 피부염, 아토피성 피부염, 중피종, 다발성 근염, 피부근염, 범포도막염, 전부 포도막염, 중간부 포도막염, 강막염, 각막염, 안와염증, 시신경염, 당뇨병 망막증, 증식 초자체 망막증, 안구 건조증, 수술 후 염증, 시신경 척수염, 중증 근무력증, 또는 폐 고혈압증인 의약 조성물.

청구항 15

제 1 항 내지 제 14 항 중 어느 한 항에 있어서,

피하 투여 제제인 의약 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 IL-6 관련 질환의 치료에 이용되는 의약 조성물 또는 투여 레지멘에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 인터류킨 6(IL-6)은 B 세포 자극 인자 2(BSF2) 또는 인터페론 β2라고도 호칭된 사이토카인이다. IL-6은 B 림프구계 세포의 활성화에 관여하는 분화 인자로서 발견되고(비특허문헌 1), 그 후, 여러 가지의 세포의 기능에 영향을 미치는 다기능 사이토카인인 것이 밝혀졌다(비특허문헌 2). IL-6은 T 림프구계 세포의 성숙화를 유도한다는 것이 보고되어 있다(비특허문헌 3).

[0003] IL-6은 세포 상에서 2종의 단백질을 개재하여 그의 생물학적 활성을 전달한다. 하나는, IL-6이 결합하는 분자량 약 80kD의 리간드 결합성 단백질의 IL-6 수용체이다(비특허문헌 4, 5). IL-6 수용체는, 세포막을 관통해서 세포막 상에 발현하는 막 결합형 외에, 주로 그의 세포 외 영역으로 이루어지는 가용성 IL-6 수용체로서도 존재한다.

- [0004] 다른 하나는, 비리간드 결합성의 시그널 전달에 관계되는 분자량 약 130kD의 막 단백질 gp130이다. IL-6과 IL-6 수용체는 IL-6/IL-6 수용체 복합체를 형성하고, 이어서 gp130과 결합하는 것에 의해, IL-6의 생물학적 활성이 세포 내에 전달된다(비특허문헌 6).
- [0005] IL-6 저해제는 IL-6의 생물학적 활성의 전달을 저해하는 물질이다. 지금까지 IL-6에 대한 항체(항IL-6 항체), IL-6 수용체에 대한 항체(항IL-6 수용체 항체), gp130에 대한 항체(항gp130 항체), IL-6 개변체, IL-6 또는 IL-6 수용체 부분 펩타이드 등이 알려져 있다.
- [0006] 항IL-6 수용체 항체에 관해서는, 몇 가지의 보고가 있다(비특허문헌 7, 8, 특허문헌 1~3). 그 중 하나인 마우스 항체 PM-1(비특허문헌 9)의 상보성 결정 영역(CDR; complementarity determining region)을 인간 항체에 이식하는 것에 의해 얻어진 인간화 PM-1 항체가 알려져 있다(특허문헌 1).
- [0007] 현재 IL-6 수용체에 대한 항체인 TOCILIZUMAB이 관절 류머티즘, 캐슬만병 등의 염증성 질환의 치료에 이용되고 있고(비특허문헌 10), 나아가서는 시신경 척수염(NMO)과 같은 질환에 있어서도 효과가 확인되어 있다(비특허문헌 11).
- [0008] 또한, IL-6 항체에 의한 중증 근무력증에 대한 치료 효과와 같은 것도 보고되어 있다(비특허문헌 12)
- [0009] TOCILIZUMAB과 같은 인간화 항체는 제1세대의 항체 의약이고, 제1세대의 항체 의약을 개량하여 약효·편리성·비용을 개선시킨 제2세대의 항체 의약이 현재 개발되고 있다(특허문헌 2). 제2세대의 항체 의약으로서, 이펙터 기능, 항원 결합능, 약물 동태, 안정성을 향상시키거나, 또는 면역원성 리스크를 저감시키는 등의 개량 기술이 적용된 새로운 항IL-6 리셉터 항체인 SA237이 이미 임상 시험에 들어가 있다.
- [0010] 또한, 항체에 의한 치료가 현재 많이 행해지고 있지만, 항항체의 발생에 의한 치료 효과의 감약(減弱)이 alemtuzumab으로 확인되어 있고, 그것을 억제하는 수단으로서 고투여량에 의한 면역 관용 대신에 고투여량 투여 가능한 비세포 결합성의 변이체를 투여하는 것이 유효하다는 취지가 보고되어 있다(비특허문헌 13).
- [0011] 한편, 본 출원의 발명에 관련하는 선행기술문헌 정보를 이하에 나타낸다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0012] (특허문헌 0001) 국제 특허출원 공개번호 WO 92-19759
- (특허문헌 0002) 국제 특허출원 공개번호 WO 2010/035769

비특허문헌

- [0013] (비특허문헌 0001) Hirano, T. et al., Nature (1986) 324, 73-76
- (비특허문헌 0002) Akira, S. et al., Adv. in Immunology (1993) 54, 1-78
- (비특허문헌 0003) Lotz, M. et al., J. Exp. Med. (1988) 167, 1253-1258
- (비특허문헌 0004) Taga, T. et al., J. Exp. Med. (1987) 166, 967-981
- (비특허문헌 0005) Yamasaki, K. et al., Science (1988) 241, 825-828
- (비특허문헌 0006) Taga, T. et al., Cell (1989) 58, 573-581
- (비특허문헌 0007) Novick, D. et al., Hybridoma (1991) 10, 137-146
- (비특허문헌 0008) Huang, Y. W. et al., Hybridoma (1993) 12, 621-630
- (비특허문헌 0009) Hirata, Y. et al., J. Immunol. (1989) 143, 2900-2906
- (비특허문헌 0010) Nishimoto N. et al., Blood. 2005 Oct 15; 106(8): 2627-32.
- (비특허문헌 0011) Araki, . et al., Mod Rheumatol. (2013) 23(4), 827-831
- (비특허문헌 0012) Aricha, R. et al. J. Autoimmun. (2011) 36(2), 135-141

(비특허문헌 0013) Charlotte L. et al., Nature Reviews Rheumatology (2010) 6, 558-559

발명의 내용

해결하려는 과제

[0014] 면역원성을 저감하는 기술이 이용된 SA237(서열번호: 3의 중쇄와 서열번호: 4의 경쇄를 가지는 항체)이어도, 건강한 성인 남성을 대상으로 120mg의 SA237을 투여한 제I상 단회 피하 투여 시험(SA-001 JP 시험)에서는 항SA237 항체의 발현이 54.2%(72예 중 39예) 보여져, 면역원성의 문제가 발생하고 있었다. 본 발명은, 항항체의 발생을 억제하여, 보다 유효한 IL-6 관련 질환의 치료에 이용되는 의약 조성물 또는 투여 레지멘을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0015] 본 발명자들은, 상기 과제를 해결하기 위해서, 면역 관용에 착안하여, 소정의 투여 방법, 투여량에 의한 투여를 행하는 것에 의해 항항체의 발생을 억제한다는 것을 발견했다.

[0016] 즉, 본 발명자들은, 소정의 투여량, 투여 방법에 의한 투여를 행하는 의약 조성물을 이용하는 것에 의해 항항체의 발생을 억제하여, IL-6 관련 질환을 치료할 수 있다는 것을 발견하여, 본 발명을 완성하기에 이르렀다.

[0017] 본 발명은, 구체적으로는 이하를 포함한다.

[0018] [1] IL-6 저해제를 유효 성분으로 하는 IL-6 관련 질환 치료용 의약 조성물로서, 통상 투여량과 동일한 투여량으로 통상 투여 간격보다도 짧은 간격으로 복수회 투여되는 단간격 투여 기간을 거친 후, 통상 투여되는 것을 특징으로 하는, 의약 조성물.

[0019] [2] 상기 통상 투여 간격이 3~5주간인 것을 특징으로 하는, [1] 에 기재된 의약 조성물.

[0020] [3] 상기 통상 투여 간격이 4주간인 것을 특징으로 하는, [1] 에 기재된 의약 조성물.

[0021] [4] 상기 통상 투여 간격보다도 짧은 간격으로 복수회 투여되는 단간격 투여 기간의 투여 간격이 1~2주간인 것을 특징으로 하는, [1] 내지 [3] 중 어느 한 항에 기재된 의약 조성물.

[0022] [5] 상기 통상 투여 간격보다도 짧은 간격으로 복수회 투여되는 단간격 투여 기간의 투여 간격이 2주간인 것을 특징으로 하는, [1] 내지 [3] 중 어느 한 항에 기재된 의약 조성물.

[0023] [6] 상기 단간격 투여 기간이 초회 투여 개시 시로부터 4주간인 것을 특징으로 하는, [1] 내지 [5] 중 어느 한 항에 기재된 의약 조성물.

[0024] [7] 상기 통상 투여에 있어서의 투여량이 50~800mg/회인 것을 특징으로 하는, [1] 내지 [6] 중 어느 한 항에 기재된 의약 조성물.

[0025] [8] 상기 통상 투여에 있어서의 투여량이 120mg/회인 것을 특징으로 하는, [1] 내지 [7] 중 어느 한 항에 기재된 의약 조성물.

[0026] [9] 상기 IL-6 저해제가 IL-6 수용체 항체인, [1] 내지 [8] 중 어느 한 항에 기재된 의약 조성물.

[0027] [10] 상기 IL-6 수용체 항체가 키메라 항체, 인간화 항체 또는 인간 항체 중 어느 하나인, [9] 에 기재된 의약 조성물.

[0028] [11] 상기 IL-6 수용체 항체가 서열번호: 1의 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호: 2의 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체인, [9] 에 기재된 의약 조성물.

[0029] [12] 상기 IL-6 수용체 항체가 서열번호: 3의 서열을 갖는 중쇄 및 서열번호: 4의 서열을 갖는 경쇄를 포함하는 항체인, [9] 에 기재된 의약 조성물.

[0030] [13] 상기 IL-6 수용체 항체가 SA237인, [9] 에 기재된 의약 조성물.

[0031] [14] 상기 IL-6 관련 질환이, 관절 류머티즘, 약년성 특발성 관절염, 전신형 약년성 특발성 관절염, 캐슬만병, 전신성 에리테마토데스(SLE), 루푸스 신염(腎炎), 크론병, lymphoma, 궤양성 대장염, 빈혈, 혈관염,

가와사키병, Still병, 아밀로이드증, 다발성 경화증, 이식, 가령 황반 변성증, 경직성 척추염, 건선, 건선성 관절염, 만성 폐색성 폐질환(COPD), IgA 신증, 변형성 관절증, 천식, 당뇨병성 신증, GVHD, 자궁 내막증, 간염(NASH), 심근경색, 동맥경화, 패혈증, 골다공증, 당뇨병, 다발성 골수종, 전립선암, 신암, B-cell non-Hodgkin's, 췌암, 폐암, 식도암, 대장암, 암 카렉시아, 암 신경침윤, 심근경색, 근시성 맥락막 혈관신생, 특발성 맥락막 혈관신생, 포도막염, 만성 갑상선염, 지연성 과민증, 접촉성 피부염, 아토피성 피부염, 중피종, 다발성 근염, 피부근염, 범포도막염, 전부 포도막염, 중간부 포도막염, 강막염, 각막염, 안와염증, 시신경염, 당뇨병 망막증, 증식 초자체 망막증, 안구 건조증, 수술 후 염증, 시신경 척수염, 중증 근무력증, 또는 폐 고혈압증인, [1] 내지 [13] 중 어느 한 항에 기재된 의약 조성물.

[0032] [15] 피하 투여 제제인, [1] 내지 [14] 중 어느 한 항에 기재된 의약 조성물.

[0033] [16] 통상 투여와 동일한 투여량으로 통상 투여 간격보다도 짧은 간격으로 복수회 투여되는 단간격 투여 기간을 거친 후, 통상 투여되는 것을 특징으로 하는, IL-6 저해제를 투여하는 공정을 포함하는, IL-6 관련 질환을 치료하는 방법.

[0034] [17] 통상 투여와 동일한 투여량으로 통상 투여 간격보다도 짧은 간격으로 복수회 투여되는 단간격 투여 기간을 거친 후, 통상 투여되는 것을 특징으로 하는, IL-6 관련 질환을 치료하기 위한 IL-6 저해제.

[0035] [18] 통상 투여와 동일한 투여량으로 통상 투여 간격보다도 짧은 간격으로 복수회 투여되는 단간격 투여 기간을 거친 후, 통상 투여되는 것을 특징으로 하는, IL-6 관련 질환 치료제의 제조를 위한 IL-6 저해제의 사용.

발명의 효과

[0036] 본 발명의 의약 조성물 또는 레지멘에 의해, 면역원성의 문제인 항약물 항체의 발생을 해소하고, 높은 투여량에 노출되지 않기 때문에 환자의 부담이 적은 의약 조성물을 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0037] 도 1은 혈청 중 SA237 농도의 평균값(및 표준 편차)의 추이를 나타내는 그래프이다. 도 1a는 주요 평가 기간에 있어서의 SA237 농도의 추이를, 도 1b는 계속 투여 기간에 있어서의 SA237 농도의 추이를, 도 1c는 8주까지의 혈청 중 SA237 농도의 추이를 나타낸다.

도 2는 SA237의 약역학 평가의 지표가 되는 혈청 중 sIL-6R 농도의 평균값(및 표준 편차)의 추이를 나타내는 그래프이다. 도 2a는 주요 평가 기간에 있어서의 sIL-6R 농도의 추이를, 도 2b는 계속 투여 기간에 있어서의 혈청 중의 sIL-6R 농도의 추이를 나타낸다.

도 3은 SA237의 약역학 평가의 지표가 되는 혈청 중 CRP 농도의 평균값(및 표준 편차)의 추이를 나타내는 그래프이다. 도 3a는 주요 평가 기간에 있어서의 CRP 농도의 추이를, 도 3b는 계속 투여 기간에 있어서의 CRP 농도의 추이를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0038] 이하, 본 발명에 대하여 상세하게 설명한다.

[0039] 본 발명은 IL-6 관련 질환의 치료에 이용되는 의약 조성물 또는 투여 레지멘에 관한 것이다.

[0040] 본 발명에 있어서의 「IL-6 저해제」란, IL-6에 의한 시그널 전달을 차단하여, IL-6의 생물학적 활성을 저해하는 물질이다. IL-6 저해제는, 바람직하게는 IL-6, IL-6 수용체 및 gp130 중 어느 하나의 결합에 대한 저해 작용을 갖는 물질이다.

[0041] 본 발명의 IL-6 저해제로서는, 예를 들면 항IL-6 항체, 항IL-6 수용체 항체, 항gp130 항체, IL-6 개변체, 가용성 IL-6 수용체 개변체, 또는 IL-6 또는 IL-6 수용체의 부분 펩타이드, 및 이들과 마찬가지로의 활성을 나타내는 저분자 물질을 들 수 있지만, 특별히 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 IL-6 저해제로서는, 바람직하게는 IL-6 수용체를 인식하는 항체를 들 수 있다.

[0042] 본 발명에 있어서의 항체의 유래는 특별히 한정되는 것은 아니지만, 바람직하게는 포유동물 유래이고, 보다 바람직하게는 인간 유래의 항체를 들 수 있다.

[0043] 본 발명에서 사용되는 항IL-6 항체는 공지의 수단을 이용하여 폴리클로날 또는 모노클로날 항체로서 얻을 수 있다. 본 발명에서 사용되는 항IL-6 항체로서, 특히 포유동물 유래의 모노클로날 항체가 바람직하다. 포유동물

유래의 모노클로날 항체로서는, 하이브리도마에 의해 생성되는 것 및 유전자 공학적 수법에 의해 항체 유전자를 포함하는 발현 벡터로 형질 전환된 숙주에 의해 생성되는 것이 있다. 이 항체는 IL-6과 결합하는 것에 의해, IL-6의 IL-6 수용체에 대한 결합을 저해하여 IL-6의 생물학적 활성의 세포 내로의 전달을 차단한다.

- [0044] 이와 같은 항체로서는, MH166(Matsuda, T. et al., Eur. J. Immunol. (1988) 18, 951-956)이나 SK2 항체(Sato, K. et al., 제21회 일본면역학회총회, 학술 기록(1991) 21, 166) 등을 들 수 있다.
- [0045] 항IL-6 항체 산생 하이브리도마는, 기본적으로는 공지 기술을 사용하여, 이하와 같이 해서 제작할 수 있다. 즉, IL-6을 감작 항원으로서 사용하여, 이것을 통상의 면역 방법에 따라 면역하고, 얻어지는 면역 세포를 통상의 세포 융합법에 의해 공지의 친세포와 융합시키고, 통상의 스크리닝법에 의해, 모노클로날인 항체 산생 세포를 스크리닝하는 것에 의해 제작할 수 있다.
- [0046] 구체적으로는, 항IL-6 항체를 제작하기 위해서는 다음과 같이 하면 된다. 예를 들면, 항체 취득의 감작 항원으로서 사용되는 인간 IL-6은 Eur. J. Biochem (1987) 168, 543-550, J. Immunol. (1988) 140, 1534-1541, 또는 Agr. Biol. Chem. (1990) 54, 2685-2688에 개시된 IL-6 유전자/아미노산 서열을 이용하는 것에 의해 얻어진다.
- [0047] IL-6의 유전자 서열을 공지의 발현 벡터계에 삽입하여 적당한 숙주 세포를 형질 전환시킨 후, 그 숙주 세포 중 또는 배양 상청 중으로부터 목적의 IL-6 단백질을 공지의 방법으로 정제하고, 이 정제 IL-6 단백질을 감작 항원으로서 이용하면 된다. 또한, IL-6 단백질과 다른 단백질의 융합 단백질을 감작 항원으로서 이용해도 된다.
- [0048] 본 발명에서 사용되는 항IL-6 수용체 항체는 공지의 수단을 이용하여 폴리클로날 또는 모노클로날 항체로서 얻을 수 있다. 본 발명에서 사용되는 항IL-6 수용체 항체로서, 특히 포유동물 유래의 모노클로날 항체가 바람직하다. 포유동물 유래의 모노클로날 항체로서는, 하이브리도마에 의해 생성되는 것 및 유전자 공학적 수법에 의해 항체 유전자를 포함하는 발현 벡터로 형질 전환된 숙주에 의해 생성되는 것이 있다. 이 항체는 IL-6 수용체와 결합하는 것에 의해, IL-6의 IL-6 수용체에 대한 결합을 저해하여 IL-6의 생물학적 활성의 세포 내로의 전달을 차단한다.
- [0049] 이와 같은 항체로서는, MR16-1 항체(Tamura, T. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1993) 90, 11924-11928), PM-1 항체 (Hirata, Y. et al., J. Immunol. (1989) 143, 2900-2906), AUK12-20 항체, AUK64-7 항체 또는 AUK146-15 항체(국제 특허출원 공개번호 WO 92-19759) 등을 들 수 있다. 이들 중에서, 인간 IL-6 수용체에 대한 바람직한 모노클로날 항체로서는 PM-1 항체가 예시되고, 또한 마우스 IL-6 수용체에 대한 바람직한 모노클로날 항체로서는 MR16-1 항체를 들 수 있다.
- [0050] 항IL-6 수용체 모노클로날 항체 산생 하이브리도마는, 기본적으로는 공지 기술을 사용하여, 이하와 같이 해서 제작할 수 있다. 즉, IL-6 수용체를 감작 항원으로서 사용하여, 이것을 통상의 면역 방법에 따라 면역하고, 얻어지는 면역 세포를 통상의 세포 융합법에 의해 공지의 친세포와 융합시키고, 통상의 스크리닝법에 의해, 모노클로날인 항체 산생 세포를 스크리닝하는 것에 의해 제작할 수 있다.
- [0051] 구체적으로는, 항IL-6 수용체 항체를 제작하기 위해서는 다음과 같이 하면 된다. 예를 들면, 항체 취득의 감작 항원으로서 사용되는 인간 IL-6 수용체는 유럽 특허출원 공개번호 EP 325474에, 마우스 IL-6 수용체는 일본 특허출원 공개번호 특허공개 평3-155795에 개시된 IL-6 수용체 유전자/아미노산 서열을 이용하는 것에 의해 얻어진다.
- [0052] IL-6 수용체 단백질은 세포막 상에 발현하고 있는 것과 세포막으로부터 이탈해 있는 것(가용성 IL-6 수용체)(Yasukawa, K. et al., J. Biochem. (1990) 108, 673-676)의 2종류가 있다. 가용성 IL-6 수용체는 세포막에 결합하고 있는 IL-6 수용체의 실질적으로 세포 외 영역으로 구성되어 있고, 세포막 관통 영역 또는 세포막 관통 영역과 세포 내 영역이 결손되어 있다는 점에서 막 결합형 IL-6 수용체와 상이하다. IL-6 수용체 단백질은, 본 발명에서 이용되는 항IL-6 수용체 항체의 제작의 감작 항원으로서 사용될 수 있는 한, 어느 IL-6 수용체를 사용해도 된다.
- [0053] IL-6 수용체의 유전자 서열을 공지의 발현 벡터계에 삽입하여 적당한 숙주 세포를 형질 전환시킨 후, 그 숙주 세포 중 또는 배양 상청 중으로부터 목적의 IL-6 수용체 단백질을 공지의 방법으로 정제하고, 이 정제 IL-6 수용체 단백질을 감작 항원으로서 이용하면 된다. 또한, IL-6 수용체를 발현하고 있는 세포나 IL-6 수용체 단백질과 다른 단백질의 융합 단백질을 감작 항원으로서 이용해도 된다.
- [0054] 본 발명에서 사용되는 항gp130 항체는 공지의 수단을 이용하여 폴리클로날 또는 모노클로날 항체로서 얻을 수 있다. 본 발명에서 사용되는 항gp130 항체로서, 특히 포유동물 유래의 모노클로날 항체가 바람직하다. 포유동

물 유래의 모노클로날 항체로서는, 하이브리도마에 의해 생성되는 것 및 유전자 공학적 수법에 의해 항체 유전자를 포함하는 발현 벡터로 형질 전환된 숙주에 의해 생성되는 것이 있다. 이 항체는 gp130과 결합하는 것에 의해, IL-6/IL-6 수용체 복합체의 gp130에 대한 결합을 저해하여 IL-6의 생물학적 활성의 세포 내로의 전달을 차단한다.

- [0055] 이와 같은 항체로서는, AM64 항체(일본 특허공개 평3-219894), 4B11 항체 및 2H4 항체(US 5571513) B-S12 항체 및 B-P8 항체(일본 특허공개 평8-291199) 등을 들 수 있다.
- [0056] 항gp130 모노클로날 항체 산생 하이브리도마는, 기본적으로는 공지 기술을 사용하여, 이하와 같이 해서 제작할 수 있다. 즉, gp130을 감각 항원으로서 사용하여, 이것을 통상의 면역 방법에 따라 면역하고, 얻어지는 면역 세포를 통상의 세포 융합법에 의해 공지의 친세포와 융합시키고, 통상의 스크리닝법에 의해, 모노클로날 항체 산생 세포를 스크리닝하는 것에 의해 제작할 수 있다.
- [0057] 구체적으로는, 모노클로날 항체를 제작하기 위해서는 다음과 같이 하면 된다. 예를 들면, 항체 취득의 감각 항원으로서 사용되는 gp130은 유럽 특허출원 공개번호 EP 411946에 개시된 gp130 유전자/아미노산 서열을 이용하는 것에 의해 얻어진다.
- [0058] gp130의 유전자 서열을 공지의 발현 벡터계에 삽입하여 적당한 숙주 세포를 형질 전환시킨 후, 그 숙주 세포 중 또는 배양 상청 중으로부터 목적의 gp130 단백질을 공지의 방법으로 정제하고, 이 정제 gp130 단백질을 감각 항원으로서 이용하면 된다. 또한, gp130을 발현하고 있는 세포나 gp130 단백질과 다른 단백질의 융합 단백질을 감각 항원으로서 이용해도 된다.
- [0059] 감각 항원으로 면역되는 포유동물로서는, 특별히 한정되는 것은 아니지만, 세포 융합에 사용하는 친세포와의 적합성을 고려해서 선택하는 것이 바람직하고, 일반적으로 설치류의 동물, 예를 들면 마우스, 래트, 햄스터 등이 사용된다.
- [0060] 감각 항원을 동물에 면역하기 위해서는, 공지의 방법에 따라 행해진다. 예를 들면, 일반적 방법으로서, 감각 항원을 포유동물의 복강내 또는 피하에 주사하는 것에 의해 행해진다. 구체적으로는, 감각 항원을 PBS(Phosphate-Buffered Saline)나 생리 식염수 등으로 적당량으로 희석, 현탁한 것을 희망에 따라 통상의 아주 반트, 예를 들면 프로인트 완전 아주반트를 적량 혼합하고, 유회 후, 포유동물에 4~21일마다 수회 투여하는 것이 바람직하다. 또한, 감각 항원 면역 시에 적당한 담체를 사용할 수 있다.
- [0061] 이와 같이 면역하여, 혈청 중에 원하는 항체 레벨이 상승하는 것을 확인한 후에, 포유동물로부터 면역 세포가 취출되어, 세포 융합에 제공된다. 세포 융합에 제공되는 바람직한 면역 세포로서는, 특히 비(脾)세포를 들 수 있다.
- [0062] 상기 면역 세포와 융합되는 다른 쪽의 친세포로서의 포유동물의 골수종 세포는 이미 공지된 여러 가지의 세포주, 예를 들면, P3X63Ag8.653(Kearney, J. F. et al. J. Immunol. (1979) 123, 1548-1550), P3X63Ag8U.1(Current Topics in Microbiology and Immunology (1978) 81, 1-7), NS-1(Kohler, G. and Milstein, C. Eur. J. Immunol. (1976) 6, 511-519), MPC-11(Margulies, D. H. et al., Cell (1976) 8, 405-415), SP2/0(Shulman, M. et al., Nature (1978) 276, 269-270), FO(de St. Groth, S. F. et al., J. Immunol. Methods (1980) 35, 1-21), S194(Trowbridge, I. S. J. Exp. Med. (1978) 148, 313-323), R210(Galfre, G. et al., Nature (1979) 277, 131-133) 등이 적절히 사용된다.
- [0063] 상기 면역 세포와 골수종 세포의 세포 융합은 기본적으로는 공지의 방법, 예를 들어, 밀슈타인 등의 방법(Kohler, G. and Milstein, C., Methods Enzymol. (1981) 73, 3-46) 등에 준하여 행할 수 있다.
- [0064] 보다 구체적으로는, 상기 세포 융합은 예를 들면, 세포 융합 촉진제의 존재하에 통상의 영양 배양액 중에서 실시된다. 융합 촉진제로서는 예를 들면, 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 센다이 바이러스(HVJ) 등이 사용되고, 추가로 희망에 따라 융합 효율을 높이기 위해서 다이메틸설폭사이드 등의 보조제를 첨가 사용할 수도 있다.
- [0065] 면역 세포와 골수종 세포의 사용 비율은, 예를 들면, 골수종 세포에 대해서 면역 세포를 1~10배로 하는 것이 바람직하다. 상기 세포 융합에 이용하는 배양액으로서, 예를 들면, 상기 골수종 세포주의 증식에 적합한 RPMI1640 배양액, MEM 배양액, 그 밖에 이 종류의 세포 배양에 이용되는 통상의 배양액이 사용 가능하고, 추가로 소태아 혈청(FCS) 등의 혈청 보액을 병용할 수도 있다.
- [0066] 세포 융합은, 상기 면역 세포와 골수종 세포의 소정량을 상기 배양액 중에서 잘 혼합하고, 미리 37℃ 정도로 가온된 PEG 용액, 예를 들면, 평균 분자량 1000~6000 정도의 PEG 용액을, 통상 30~60%(w/v)의 농도로 첨가하여,

혼합하는 것에 의해 목적으로 하는 융합 세포(하이브리도마)가 형성된다. 계속해서, 적당한 배양액을 축차적으로 첨가하고, 원심하여 상층을 제거하는 조작을 반복하는 것에 의해 하이브리도마의 생육에 바람직하지 않은 세포 융합제 등을 제거할 수 있다.

- [0067] 당해 하이브리도마는 통상의 선택 배양액, 예를 들면, HAT 배양액(하이포잔틴, 아미노프테린 및 티미딘을 포함하는 배양액)에서 배양하는 것에 의해 선택된다. 당해 HAT 배양액에서의 배양은 목적으로 하는 하이브리도마 이외의 세포(비융합 세포)가 사멸하는 데 충분한 시간, 통상 수일~수주간 계속된다. 이어서, 통상의 한계 희석법을 실시하여, 목적으로 하는 항체를 산생하는 하이브리도마의 스크리닝 및 클로닝이 행해진다.
- [0068] 또한, 인간 이외의 동물에 항원을 면역하여 상기 하이브리도마를 얻는 것 외에, 인간 림프구를 *in vitro*에서 원하는 항원 단백질 또는 항원 발현 세포로 감각하고, 감각 B 림프구를 인간 골수종 세포, 예를 들면 U266과 융합시켜, 원하는 항원 또는 항원 발현 세포에 대한 결합 활성을 갖는 원하는 인간 항체를 얻을 수도 있다(일본 특허공개 평1-59878 참조). 또, 인간 항체 유전자의 레퍼토리를 갖는 트랜스제닉 동물에 항원 또는 항원 발현 세포를 투여하고, 전술의 방법에 따라 원하는 인간 항체를 취득해도 된다(국제 특허출원 공개번호 WO 93/12227, WO 92/03918, WO 94/02602, WO 94/25585, WO 96/34096, WO 96/33735 참조).
- [0069] 이와 같이 해서 제작되는 모노클로날 항체를 산생하는 하이브리도마는 통상의 배양액 중에서 계대 배양하는 것이 가능하고, 또한 액체 질소 중에서 장기 보존하는 것이 가능하다.
- [0070] 당해 하이브리도마로부터 모노클로날 항체를 취득하기 위해서는, 당해 하이브리도마를 통상의 방법에 따라 배양하고, 그 배양 상청으로서 얻는 방법, 또는 하이브리도마를 이것과 적합성이 있는 포유동물에 투여해서 증식시켜, 그의 복수로서 얻는 방법 등이 채용된다. 전자의 방법은 고순도의 항체를 얻는 데 적합한 한편, 후자의 방법은 항체의 대량 생산에 적합하다.
- [0071] 예를 들면, 항IL-6 수용체 항체 산생 하이브리도마의 제작은 일본 특허공개 평3-139293에 개시된 방법에 의해 행할 수 있다. PM-1 항체 산생 하이브리도마를 BALB/c 마우스의 복강내에 주입하여 복수를 얻고, 이 복수로부터 PM-1 항체를 정제하는 방법이나, 본 하이브리도마를 적당한 배지, 예를 들면, 10% 소태아 혈청, 5% BM-Condimed H1(Boehringer Mannheim제) 함유 RPMI1640 배지, 하이브리도마 SFM 배지(GIBCO-BRL제), PFHM-II 배지(GIBCO-BRL제) 등에서 배양하고, 그 배양 상청으로부터 PM-1 항체를 정제하는 방법으로 행할 수 있다.
- [0072] 본 발명에는, 모노클로날 항체로서, 항체 유전자를 하이브리도마로부터 클로닝하고, 적당한 벡터에 짜 넣어, 이것을 숙주에 도입하고, 유전자 재조합 기술을 이용하여 산생시킨 재조합형 항체를 이용할 수 있다(예를 들면, Borrebaeck C. A. K. and Larrick J. W. THERAPEUTIC MONOCLONAL ANTIBODIES, Published in the United Kingdom by MACMILLAN PUBLISHERS LTD, 1990 참조).
- [0073] 구체적으로는, 목적으로 하는 항체를 산생하는 세포, 예를 들면 하이브리도마로부터 항체의 가변(V) 영역을 코딩하는 mRNA를 단리한다. mRNA의 단리는 공지된 방법, 예를 들면, 구아니딘 초원심법(Chirgwin, J. M. et al., *Biochemistry* (1979) 18, 5294-5299), AGPC법(Chomczynski, P. et al., *Anal. Biochem.* (1987) 162, 156-159) 등에 의해 전체 RNA를 조제하고, mRNA Purification Kit(Pharmacia제) 등을 사용하여 mRNA를 조제한다. 또한, QuickPrep mRNA Purification Kit(Pharmacia제)를 이용하는 것에 의해 mRNA를 직접 조제할 수 있다.
- [0074] 얻어진 mRNA로부터 역전사 효소를 이용하여 항체 V 영역의 cDNA를 합성한다. cDNA의 합성은 AMV Reverse Transcriptase First-strand cDNA Synthesis Kit 등을 이용하여 행할 수 있다. 또한, cDNA의 합성 및 증폭을 행하기 위해서는 5'-Ampli FINDER RACE Kit(Clontech제) 및 PCR을 이용한 5'-RACE법(Frohman, M. A. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1988) 85, 8998-9002; Belyavsky, A. et al., *Nucleic Acids Res.* (1989) 17, 2919-2932)을 사용할 수 있다. 얻어진 PCR 산물로부터 목적으로 하는 DNA 단편을 정제하고, 벡터 DNA와 연결한다. 더욱이, 이것으로부터 재조합 벡터를 제작하여, 대장균 등에 도입하고 콜로니를 선택해서 원하는 재조합 벡터를 조제한다. 목적으로 하는 DNA의 염기 서열을 공지된 방법, 예를 들면 다이데옥시법에 의해 확인한다.
- [0075] 목적으로 하는 항체의 V 영역을 코딩하는 DNA가 얻어지면, 이것을 원하는 항체 정상 영역(C 영역)을 코딩하는 DNA와 연결하고, 이것을 발현 벡터에 짜 넣는다. 또는, 항체의 V 영역을 코딩하는 DNA를, 항체 C 영역의 DNA를 포함하는 발현 벡터에 짜 넣어도 된다.
- [0076] 본 발명에서 사용되는 항체를 제조하기 위해서는, 후술과 같이 항체 유전자를 발현 제어 영역, 예를 들면, 인핸서, 프로모터의 제어하에서 발현하도록 발현 벡터에 짜 넣는다. 다음으로, 이 발현 벡터에 의해 숙주 세포를

형질 전환하여, 항체를 발현시킬 수 있다.

- [0077] 본 발명에서는, 인간에 대한 이중 항원성을 저하시키는 것 등을 목적으로 해서 인위적으로 개변한 유전자 재조합형 항체, 예를 들면, 키메라(Chimeric) 항체, 인간화(Humanized) 항체, 인간(human) 항체를 사용할 수 있다. 이들 개변 항체는 기지의 방법을 이용하여 제조할 수 있다.
- [0078] 키메라 항체는, 상기와 같이 해서 얻은 항체 V 영역을 코딩하는 DNA를 인간 항체 C 영역을 코딩하는 DNA와 연결하고, 이것을 발현 벡터에 짜 넣어 숙주에 도입하여 산생시키는 것에 의해 얻어진다(유럽 특허출원 공개번호 EP 125023, 국제 특허출원 공개번호 WO 92-19759 참조). 이 기지의 방법을 이용하여, 본 발명에 유용한 키메라 항체를 얻을 수 있다.
- [0079] 인간화 항체는, 재구성(reshaped) 인간 항체 또는 인간형화 항체라고도 칭해지고, 인간 이외의 포유동물, 예를 들면 마우스 항체의 상보성 결정 영역(CDR)을 인간 항체의 상보성 결정 영역에 이식한 것이며, 그의 일반적인 유전자 재조합 수법도 알려져 있다(유럽 특허출원 공개번호 EP 125023, 국제 특허출원 공개번호 WO 92-19759 참조).
- [0080] 구체적으로는, 마우스 항체의 CDR과 인간 항체의 프레임워크 영역(FR; framework region)을 연결하도록 설계한 DNA 서열을, 말단부에 오버랩되는 부분을 갖도록 제작한 수 개의 올리고뉴클레오타이드로부터 PCR법에 의해 합성한다. 얻어진 DNA를 인간 항체 C 영역을 코딩하는 DNA와 연결하고, 이어서 발현 벡터에 짜 넣어, 이것을 숙주에 도입하여 산생시키는 것에 의해 얻어진다(유럽 특허출원 공개번호 EP 239400, 국제 특허출원 공개번호 WO 92-19759 참조).
- [0081] CDR을 개재하여 연결되는 인간 항체의 FR은 상보성 결정 영역이 양호한 항원 결합 부위를 형성하는 것이 선택된다. 필요에 따라, 재구성 인간 항체의 상보성 결정 영역이 적절한 항원 결합 부위를 형성하도록 항체의 가변 영역의 프레임워크 영역의 아미노산을 치환해도 된다(Sato, K. et al., Cancer Res. (1993) 53, 851-856).
- [0082] 키메라 항체, 인간화 항체에는, 인간 항체 C 영역이 사용된다. 인간 항체 C 영역으로서는, C_γ를 들 수 있고, 예를 들면, C_γ1, C_γ2, C_γ3 또는 C_γ4를 사용할 수 있다. 또한, 항체 또는 그의 산생의 안정성을 개선하기 위해서, 인간 항체 C 영역을 수식해도 된다.
- [0083] 키메라 항체는 인간 이외의 포유동물 유래 항체의 가변 영역과 인간 항체 유래의 C 영역으로 이루어지고, 또한 인간화 항체는 인간 이외의 포유동물 유래 항체의 상보성 결정 영역과 인간 항체 유래의 프레임워크 영역 및 C 영역으로 이루어져, 양자는 인간 체내에 있어서의 항원성이 저하되어 있기 때문에, 본 발명에 사용되는 항체로서 유용하다.
- [0084] 본 발명에 사용되는 인간화 항체의 바람직한 구체예로서는, 인간화 PM-1 항체를 들 수 있다(국제 특허출원 공개번호 WO 92-19759 참조).
- [0085] 또한, 인간 항체의 취득 방법으로서 앞서 기술한 방법 외에, 인간 항체 라이브러리를 이용하여, 팬닝에 의해 인간 항체를 취득하는 기술도 알려져 있다. 예를 들면, 인간 항체의 가변 영역을 1본쇄 항체(scFv)로서 파지 디스플레이법에 의해 파지의 표면에 발현시켜, 항원에 결합하는 파지를 선택할 수도 있다. 선택된 파지의 유전자를 해석하면, 항원에 결합하는 인간 항체의 가변 영역을 코딩하는 DNA 서열을 결정할 수 있다. 항원에 결합하는 scFv의 DNA 서열이 밝혀지면, 당해 서열을 포함하는 적당한 발현 벡터를 제작하여, 인간 항체를 취득할 수 있다. 이들 방법은 이미 주지이며, WO 92/01047, WO 92/20791, WO 93/06213, WO 93/11236, WO 93/19172, WO 95/01438, WO 95/15388을 참고로 할 수 있다.
- [0086] 상기와 같이 구축한 항체 유전자는 공지의 방법에 의해 발현시킬 수 있다. 포유류 세포를 이용한 경우, 상용되는 유용한 프로모터, 발현되는 항체 유전자, 그의 3' 측 하류에 폴리 A 시그널을 기능적으로 결합시킨 DNA 또는 그것을 포함하는 벡터에 의해 발현시킬 수 있다. 예를 들면 프로모터/인핸서로서는, 인간 사이토메갈로바이러스 전기 프로모터/인핸서(human cytomegalovirus immediate early promoter/enhancer)를 들 수 있다.
- [0087] 또한, 그 밖에 본 발명에서 사용되는 항체 발현에 사용할 수 있는 프로모터/인핸서로서, 레트로바이러스, 폴리오마바이러스, 아데노바이러스, 유인원바이러스 40(SV40) 등의 바이러스 프로모터/인핸서나 인간 신장 인자 1α(HEF1α) 등의 포유류 세포 유래의 프로모터/인핸서를 이용하면 된다.
- [0088] 예를 들면, SV40 프로모터/인핸서를 사용하는 경우, Mulligan 등의 방법(Mulligan, R. C. et al., Nature (1979) 277, 108-114), 또한 HEF1α 프로모터/인핸서를 사용하는 경우, Mizushima 등의 방법(Mizushima, S.

and Nagata, S. *Nucleic Acids Res.* (1990) 18, 5322)에 따르면 용이하게 실시할 수 있다.

- [0089] 대장균의 경우, 상용되는 유용한 프로모터, 항체 분비를 위한 시그널 서열, 발현시킬 항체 유전자를 기능적으로 결합시켜 발현시킬 수 있다. 예를 들면 프로모터로서는, lacZ 프로모터, araB 프로모터를 들 수 있다. lacZ 프로모터를 사용하는 경우, Ward 등의 방법(Ward, E. S. et al., *Nature* (1989) 341, 544-546; Ward, E. S. et al. *FASEB J.* (1992) 6, 2422-2427), araB 프로모터를 사용하는 경우, Better 등의 방법(Better, M. et al. *Science* (1988) 240, 1041-1043)에 따르면 된다.
- [0090] 항체 분비를 위한 시그널 서열로서는, 대장균의 페리플라즘에 산생시키는 경우, pelB 시그널 서열(Lei, S. P. et al. *J. Bacteriol.* (1987) 169, 4379-4383)을 사용하면 된다. 페리플라즘에 산생된 항체를 분리한 후, 항체의 구조를 적절히 리폴드(refold)하여 사용한다(예를 들면, WO 96/30394를 참조).
- [0091] 복제 기원으로서, SV40, 폴리오마바이러스, 아데노바이러스, 소유두종바이러스(BPV) 등의 유래의 것을 이용할 수 있고, 또 숙주 세포계에서 유전자 카피수 증폭을 위해, 발현 벡터는 선택 마커로서, 아미노글리코사이드 포스포트랜스페라아제(APH) 유전자, 티미딘 키나아제(TK) 유전자, 대장균 잔틴 구아닌 포스포리보실트랜스페라아제(Ecogpt) 유전자, 다이하이드로엽산 환원 효소(dhfr) 유전자 등을 포함할 수 있다.
- [0092] 본 발명에서 사용되는 항체의 제조를 위해서, 임의의 산생계를 사용할 수 있다. 항체 제조를 위한 산생계는 in vitro 및 in vivo의 산생계가 있다. in vitro의 산생계로서는, 진핵 세포를 사용하는 산생계나 원핵 세포를 사용하는 산생계를 들 수 있다.
- [0093] 진핵 세포를 사용하는 경우, 동물 세포, 식물 세포, 또는 진균 세포를 이용하는 산생계가 있다. 동물 세포로서는, (1) 포유류 세포, 예를 들면, CHO, COS, 골수종, BHK(baby hamster kidney), HeLa, Vero 등, (2) 양서류 세포, 예를 들면, 아프리카말뚝개구리 난모 세포, 또는 (3) 곤충 세포, 예를 들면, sf9, sf21, Tn5 등이 알려져 있다. 식물 세포로서는, 니코티아나 타바쿰(*Nicotiana tabacum*) 유래의 세포가 알려져 있고, 이것을 캘러스 배양하면 된다. 진균 세포로서는, 효모, 예를 들면, 사카로마이세스(*Saccharomyces*)속, 예를 들면 사카로마이세스 세레비시애(*Saccharomyces cerevisiae*), 사상균, 예를 들면 아스퍼질러스(*Aspergillus*)속, 예를 들면 아스퍼질러스 니제르(*Aspergillus niger*) 등이 알려져 있다.
- [0094] 원핵 세포를 사용하는 경우, 세균 세포를 이용하는 산생계가 있다. 세균 세포로서는, 대장균(*E. coli*), 고초균이 알려져 있다.
- [0095] 이들 세포에 목적으로 하는 항체 유전자를 형질 전환에 의해 도입하고, 형질 전환된 세포를 in vitro에서 배양하는 것에 의해 항체가 얻어진다. 배양은 공지의 방법에 따라 행한다. 예를 들면, 배양액으로서, DMEM, MEM, RPMI1640, IMDM을 사용할 수 있고, 소태아 혈청(FCS) 등의 혈청 보액을 병용할 수도 있다. 또한, 항체 유전자를 도입한 세포를 동물의 복강 등으로 옮기는 것에 의해, in vivo에서 항체를 산생해도 된다.
- [0096] 한편, in vivo의 산생계로서는, 동물을 사용하는 산생계나 식물을 사용하는 산생계를 들 수 있다. 동물을 사용하는 경우, 포유류 동물, 곤충을 이용하는 산생계 등이 있다.
- [0097] 포유류 동물로서는, 염소, 돼지, 양, 마우스, 소 등을 이용할 수 있다(Vicki Glaser, *SPECTRUM Biotechnology Applications*, 1993). 또한, 곤충으로서, 누에를 이용할 수 있다. 식물을 사용하는 경우, 예를 들면 담배를 이용할 수 있다.
- [0098] 이들 동물 또는 식물에 항체 유전자를 도입하여, 동물 또는 식물의 체내에서 항체를 산생시키고, 회수한다. 예를 들면, 항체 유전자를 염소 β 카제인과 같은 유즙 중에 고유하게 산생되는 단백질을 코딩하는 유전자의 도중에 삽입하여 융합 유전자로서 조제한다. 항체 유전자가 삽입된 융합 유전자를 포함하는 DNA 단편을 염소의 배(胚)에 주입하고, 이 배를 암컷의 염소에 도입한다. 배를 수용한 염소로부터 태어나는 트랜스제닉 염소 또는 그의 자손이 산생하는 유즙으로부터 원하는 항체를 얻는다. 트랜스제닉 염소로부터 산생되는 원하는 항체를 포함하는 유즙량을 증가시키기 위해서, 적절히 호르몬을 트랜스제닉 염소에 사용해도 된다(Ebert, K. M. et al., *Bio/Technology* (1994) 12, 699-702).
- [0099] 또한, 누에를 이용하는 경우, 목적의 항체 유전자를 삽입한 배콜로바이러스를 누에에 감염시키고, 이 누에의 체액으로부터 원하는 항체를 얻는다(Maeda, S. et al., *Nature* (1985) 315, 592-594). 또, 담배를 이용하는 경우, 목적의 항체 유전자를 식물 발현용 벡터, 예를 들면 pMON530에 삽입하고, 이 벡터를 *Agrobacterium tumefaciens*와 같은 박테리아에 도입한다. 이 박테리아를 담배, 예를 들면 *Nicotiana tabacum*에 감염시켜, 본 담배의 잎으로부터 원하는 항체를 얻는다(Julian, K. -C. Ma et al., *Eur. J. Immunol.* (1994) 24, 131-138).

- [0100] 진술한 바와 같이 in vitro 또는 in vivo의 산생계에서 항체를 산생하는 경우, 항체 중쇄(H쇄) 또는 경쇄(L쇄)를 코딩하는 DNA를 따로따로 발현 벡터에 짜 넣어 숙주를 동시 형질 전환시켜도 되고, 또는 H쇄 및 L쇄를 코딩하는 DNA를 단일의 발현 벡터에 짜 넣어, 숙주를 형질 전환시켜도 된다(국제 특허출원 공개번호 WO 94-11523 참조).
- [0101] 본 발명에서 사용되는 항체는, 본 발명에 적합하게 사용될 수 있는 한, 항체의 단편이나 그의 수식물이어도 된다. 예를 들면, 항체의 단편으로서는, Fab, F(ab')₂, Fv 또는 H쇄와 L쇄의 Fv를 적당한 링커로 연결시킨 싱글체인 Fv(scFv)를 들 수 있다.
- [0102] 구체적으로는, 항체를 효소, 예를 들면, 파파인, 펩신으로 처리하여 항체 단편을 생성시키거나, 또는 이들 항체 단편을 코딩하는 유전자를 구축하고, 이것을 발현 벡터에 도입한 후, 적당한 숙주 세포로 발현시킨다(예를 들면, Co, M. S. et al., J. Immunol. (1994) 152, 2968-2976, Better, M. & Horwitz, A. H. Methods in Enzymology (1989) 178, 476-496, Plueckthun, A. & Skerra, A. Methods in Enzymology (1989) 178, 497-515, Lamoyi, E., Methods in Enzymology (1989) 121, 652-663, Rousseaux, J. et al., Methods in Enzymology (1989) 121, 663-66, Bird, R. E. et al., TIBTECH (1991) 9, 132-137 참조).
- [0103] scFv는 항체의 H쇄 V 영역과 L쇄 V 영역을 연결하는 것에 의해 얻어진다. 이 scFv에 있어서, H쇄 V 영역과 L쇄 V 영역은 링커, 바람직하게는 펩타이드 링커를 개재하여 연결된다(Huston, J. S. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (1988) 85, 5879-5883). scFv에 있어서의 H쇄 V 영역 및 L쇄 V 영역은 상기 항체로서 기재된 것 중 어느 유래여도 된다. V 영역을 연결하는 펩타이드 링커로서는, 예를 들면 아미노산 12-19잔기로 이루어지는 임의의 1본쇄 펩타이드가 이용된다.
- [0104] scFv를 코딩하는 DNA는, 상기 항체의 H쇄 또는 H쇄 V 영역을 코딩하는 DNA, 및 L쇄 또는 L쇄 V 영역을 코딩하는 DNA를 주형으로 하고, 그들 서열 중 원하는 아미노산 서열을 코딩하는 DNA 부분을, 그의 양끝을 규정하는 프라이머쌍을 이용하여 PCR법에 의해 증폭하고, 이어서 펩타이드 링커 부분을 코딩하는 DNA 및 그의 양끝을 각각 H쇄, L쇄와 연결되도록 규정하는 프라이머쌍을 조합하여 더 증폭하는 것에 의해 얻어진다.
- [0105] 또한, 일단 scFv를 코딩하는 DNA가 제작되면, 그들을 함유하는 발현 벡터 및 해당 발현 벡터에 의해 형질 전환된 숙주를 통상의 방법에 따라 얻을 수 있고, 또한 그 숙주를 이용하여 통상의 방법에 따라 scFv를 얻을 수 있다.
- [0106] 이들 항체의 단편은 상기와 마찬가지로 해서 그 유전자를 취득하여 발현시키고, 숙주에 의해 산생시킬 수 있다. 본 발명에서 말하는 「항체」에는 이들 항체의 단편도 포함된다.
- [0107] 항체의 수식물로서, 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 등의 각종 분자와 결합한 항체를 사용할 수도 있다. 본 발명에서 말하는 「항체」에는 이들 항체 수식물도 포함된다. 이와 같은 항체 수식물을 얻기 위해서는, 얻어진 항체에 화학적인 수식을 실시하는 것에 의해 얻을 수 있다. 이들 방법은 이 분야에 있어서 이미 확립되어 있다.
- [0108] 상기와 같이 산생, 발현된 항체는 세포 내외, 숙주로부터 분리하여 균일하게까지 정제할 수 있다. 본 발명에서 사용되는 항체의 분리, 정제는 어피니티 크로마토그래피에 의해 행할 수 있다. 어피니티 크로마토그래피에 이용하는 컬럼으로서, 예를 들면, 프로테인 A 컬럼, 프로테인 G 컬럼을 들 수 있다. 프로테인 A 컬럼에 이용하는 담체로서, 예를 들면, HyperD, POROS, Sepharose F.F. 등을 들 수 있다. 그 밖에, 통상의 단백질에서 사용되고 있는 분리, 정제 방법을 사용하면 되고, 전혀 한정되는 것은 아니다.
- [0109] 예를 들면, 상기 어피니티 크로마토그래피 이외의 크로마토그래피, 필터, 한외 여과, 염석, 투석 등을 적절히 선택, 조합하면, 본 발명에서 사용되는 항체를 분리, 정제할 수 있다. 크로마토그래피로서는, 예를 들면, 이온 교환 크로마토그래피, 소수 크로마토그래피, 겔 여과 등을 들 수 있다. 이들 크로마토그래피는 HPLC(High performance liquid chromatography)에 적용할 수 있다. 또한, 역상 HPLC(reverse phase HPLC)를 이용해도 된다.
- [0110] 상기에서 얻어진 항체의 농도 측정은 흡광도의 측정 또는 ELISA 등에 의해 행할 수 있다. 즉, 흡광도의 측정에 의한 경우에는, PBS(-)로 적당히 희석한 후, 280nm의 흡광도를 측정하고, 1mg/ml를 1.350D로서 산출한다. 또한, ELISA에 의한 경우에는 이하와 같이 측정할 수 있다. 즉, 0.1M 중탄산 완충액(pH 9.6)으로 1μg/ml로 희석한 염소 항인간 IgG(TAG제) 100μl를 96웰 플레이트(Nunc제)에 가하고, 4℃에서 하룻밤 인큐베이션하여, 항체를 고상화한다. 블로킹 후, 적절히 희석한 본 발명에서 사용되는 항체 또는 항체를 포함하는 샘플, 또는 표품으로서 인간 IgG(CAPPEL제) 100μl를 첨가하고, 실온에서 1시간 인큐베이션한다.

- [0111] 세정 후, 5000배 희석한 알칼리 포스파타아제 표지 항인간 IgG(BIO SOURCE제) 100 μ l를 가하고, 실온에서 1시간 인큐베이션한다. 세정 후, 기질 용액을 가하여 인큐베이션한 후, MICROPLATE READER Model 3550(Bio-Rad제)을 이용하여 405nm에서의 흡광도를 측정하고, 목적하는 항체의 농도를 산출한다.
- [0112] 본 발명에서 사용되는 IL-6 개변체는 IL-6 수용체와의 결합 활성을 갖고, 또한 IL-6의 생물학적 활성을 전달하지 않는 물질이다. 즉, IL-6 개변체는 IL-6 수용체에 대하여 IL-6과 경쟁적으로 결합하지만, IL-6의 생물학적 활성을 전달하지 않기 때문에, IL-6에 의한 시그널 전달을 차단한다.
- [0113] IL-6 개변체는 IL-6의 아미노산 서열의 아미노산 잔기를 치환하는 것에 의해 변이를 도입하여 제작된다. IL-6 개변체의 기초가 되는 IL-6은 그의 유래를 따지지 않지만, 항원성 등을 고려하면, 바람직하게는 인간 IL-6이다.
- [0114] 구체적으로는, IL-6의 아미노산 서열을 공지의 분자 모델링 프로그램, 예를 들어, WHATIF(Vriend et al., J. Mol. Graphics (1990) 8, 52-56)를 이용하여 그의 2차 구조를 예측하고, 더욱이 치환되는 아미노산 잔기의 전체에 미치는 영향을 평가하는 것에 의해 행해진다. 적절한 치환 아미노산 잔기를 결정한 후, 인간 IL-6 유전자를 코딩하는 염기 서열을 포함하는 벡터를 주형으로 해서, 통상 행해지는 PCR법에 의해 아미노산이 치환되도록 변이를 도입하는 것에 의해, IL-6 개변체를 코딩하는 유전자가 얻어진다. 이것을 필요에 따라서 적당한 발현 벡터에 짜 넣어, 상기 재조합형 항체의 발현, 산생 및 정제 방법에 준하여 IL-6 개변체를 얻을 수 있다.
- [0115] IL-6 개변체의 구체예로서는, Brakenhoff et al., J. Biol. Chem. (1994) 269, 86-93, 및 Savino et al., EMBO J. (1994) 13, 1357-1367, WO 96-18648, WO 96-17869에 개시되어 있다.
- [0116] 본 발명에서 사용되는 IL-6 부분 펩타이드 또는 IL-6 수용체 부분 펩타이드는, 각각 IL-6 수용체 또는 IL-6과의 결합 활성을 갖고, 또한 IL-6의 생물학적 활성을 전달하지 않는 물질이다. 즉, IL-6 부분 펩타이드 또는 IL-6 수용체 부분 펩타이드는 IL-6 수용체 또는 IL-6에 결합하여, 이들을 포착하는 것에 의해 IL-6의 IL-6 수용체에 대한 결합을 특이적으로 저해한다. 그 결과, IL-6의 생물학적 활성을 전달하지 않기 때문에, IL-6에 의한 시그널 전달을 차단한다.
- [0117] IL-6 부분 펩타이드 또는 IL-6 수용체 부분 펩타이드는, IL-6 또는 IL-6 수용체의 아미노산 서열에 있어서 IL-6과 IL-6 수용체의 결합에 관계되는 영역의 일부 또는 전부의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드이다. 이와 같은 펩타이드는 통상 10~80, 바람직하게는 20~50, 보다 바람직하게는 20~40개의 아미노산 잔기로 이루어진다.
- [0118] IL-6 부분 펩타이드 또는 IL-6 수용체 부분 펩타이드는, IL-6 또는 IL-6 수용체의 아미노산 서열에 있어서, IL-6과 IL-6 수용체의 결합에 관계되는 영역을 특정하고, 그 특정한 영역의 일부 또는 전부의 아미노산 서열에 기초하여 통상 알려진 방법, 예를 들면 유전자 공학적 수법 또는 펩타이드 합성법에 의해 제작할 수 있다.
- [0119] IL-6 부분 펩타이드 또는 IL-6 수용체 부분 펩타이드를 유전자 공학적 수법에 의해 제작하기 위해서는, 원하는 펩타이드를 코딩하는 DNA 서열을 발현 벡터에 짜 넣어, 상기 재조합형 항체의 발현, 산생 및 정제 방법에 준하여 얻을 수 있다.
- [0120] IL-6 부분 펩타이드 또는 IL-6 수용체 부분 펩타이드를 펩타이드 합성법에 의해 제작하기 위해서는, 펩타이드 합성에 있어서 통상 이용되고 있는 방법, 예를 들면 고상 합성법 또는 액상 합성법을 이용할 수 있다.
- [0121] 구체적으로는, 「속의약품의 개발 제14권 펩타이드 합성(감수: 야지마 하루아키, 히로카와서점, 1991년)」에 기재된 방법에 준하여 행하면 된다. 고상 합성법으로서는, 예를 들면 유기 용매에 불용성인 지지체에 합성하려고 하는 펩타이드의 C 말단에 대응하는 아미노산을 결합시키고, α -아미노기 및 측쇄 작용기를 적절한 보호기로 보호한 아미노산을 C 말단으로부터 N 말단 방향의 순서로 1아미노산씩 축합시키는 반응과 수지 상에 결합한 아미노산 또는 펩타이드의 α -아미노기의 해당 보호기를 탈리시키는 반응을 교대로 반복하는 것에 의해, 펩타이드쇄를 신장시키는 방법이 이용된다. 고상 펩타이드 합성법은 이용되는 보호기의 종류에 의해 Boc법과 Fmoc법으로 대별된다.
- [0122] 이와 같이 해서 목적으로 하는 펩타이드를 합성한 후, 탈보호 반응 및 펩타이드쇄의 지지체로부터의 절단 반응을 한다. 펩타이드쇄와의 절단 반응에는, Boc법에서는 불화수소 또는 트라이플루오로메테인설폰산을, 또한 Fmoc법에서는 TFA를 통상 이용할 수 있다. Boc법에서는, 예를 들면 불화수소 중에서 상기 보호 펩타이드 수지를 아니솔 존재하에서 처리한다. 이어서, 보호기의 탈리와 지지체로부터의 절단을 하여 펩타이드를 회수한다. 이것을 동결 건조하는 것에 의해, 조(粗)펩타이드가 얻어진다. 한편, Fmoc법에서는, 예를 들면 TFA 중에서 상기 마찬가지의 조작으로 탈보호 반응 및 펩타이드쇄의 지지체로부터의 절단 반응을 행할 수 있다.

- [0123] 얻어진 조펩타이드는 HPLC에 적용하는 것에 의해 분리, 정제할 수 있다. 그의 용출에 있어서, 단백질의 정제에 통상 이용되는 물-아세트나이트릴계 용매를 사용하여 최적 조건하에서 행하면 된다. 얻어진 크로마토그래피의 프로파일의 피크에 해당하는 분획을 분취하고, 이것을 동결 건조한다. 이와 같이 해서 정제한 펩타이드 분획에 대하여, 매스 스펙트럼 분석에 의한 분자량 해석, 아미노산 조성 분석, 또는 아미노산 서열 해석 등에 의해 동정한다.
- [0124] IL-6 부분 펩타이드 및 IL-6 수용체 부분 펩타이드의 구체에는 일본 특허공개 평2-188600, 일본 특허공개 평7-324097, 일본 특허공개 평8-311098 및 미국 특허 공보 US5210075에 개시되어 있다.
- [0125] 본 발명에 사용하는 항체는 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 방사성 물질, 독신 등의 각종 분자와 결합한 콘주게이트 항체여도 된다. 이와 같은 콘주게이트 항체는 얻어진 항체에 화학적인 수식을 실시하는 것에 의해 얻을 수 있다. 한편, 항체의 수식 방법은 이 분야에 있어서 이미 확립되어 있다. 본 발명에 있어서의 「항체」에는 이들 콘주게이트 항체도 포함된다.
- [0126] 본 발명에 있어서의 「IL-6 관련 질환」이란, IL-6에 관련되는 질환이며, 예를 들어 관절 류머티즘, 약년성 특발성 관절염, 전신형 약년성 특발성 관절염, 케슬만병, 전신성 에리테마토데스(SLE), 루푸스 신염, 크론병, 림프종(lymphoma), 궤양성 대장염, 빈혈, 혈관염, 가와사키병, Still병, 아밀로이드증, 다발성 경화증, 이식, 가령 황반 변성증, 경직성 척추염, 건선, 건선성 관절염, 만성 폐색성 폐질환(COPD), IgA 신증, 변형성 관절증, 천식, 당뇨병성 신증, GVHD, 자궁 내막증, 간염(NASH), 심근경색, 동맥경화, 패혈증, 골다공증, 당뇨병, 다발성 골수종, 전립선암, 신암, 비호지킨 B 세포성 림프종(B-cell non-Hodgkin's), 췌암, 폐암, 식도암, 대장암, 암 카넥시아, 암 신경침윤, 심근경색, 근시성 맥락막 혈관신생, 특발성 맥락막 혈관신생, 포도막염, 만성 갑상선염, 지연성 과민증, 접촉성 피부염, 아토피성 피부염, 중피종, 다발성 근염, 피부근염, 범포도막염, 전부 포도막염, 중간부 포도막염, 강막염, 각막염, 안와염증, 시신경염, 당뇨병 망막증, 증식 초자체 망막증, 안구 건조증, 수술 후 염증, 시신경 척수염, 중증 근무력증, 폐 고혈압증 등을 들 수 있다.
- [0127] 본 발명에 있어서의 「통상 투여 간격」이란, 당해 의약품(본 발명의 의약 조성물)에 있어서 통상 이용되는 투여 간격이며, 예를 들어 첨부 문서 등에서 「이후, 4주간의 간격으로 투여를 행할 것」과 같은 기재와 같이, 정상적으로 투여된다는 취지가 기재되어 있는 투여 간격을 들 수 있다. 본 발명에 있어서의 통상 투여 간격으로서, 특별히 한정되는 것은 아니지만, 예를 들어 1일~24주간, 바람직하게는 2주간~8주간, 보다 바람직하게는 3~5주간, 더 바람직하게는 4주년을 들 수 있다. 통상 투여 간격은 일정한 폭을 갖고 있어도 된다.
- [0128] 본 발명에 있어서의 「통상 투여량」이란, 당해 의약품(본 발명의 의약 조성물)에 있어서 통상 이용되는 투여량이며, 예를 들어 첨부 문서로서 「통상, 체중 1kg당 8mg을 1회의 투여량으로 하고」와 같은 기재와 같이, 통상 투여된다는 취지가 기재되어 있는 투여량을 들 수 있다. 본 발명에 있어서의 통상 투여량으로서, 특별히 한정되는 것은 아니지만, 예를 들어 1회의 투여당, IL-6 저해제가 체중 1kg당 2~20mg(2~20mg/kg), 또는 IL-6 저해제가 50~800mg을 들 수 있고, 바람직하게는 IL-6 저해제가 체중 1kg당 2~8mg(2~8mg/kg), 또는 IL-6 저해제가 80~160mg을 들 수 있으며, 더 바람직하게는 IL-6 저해제가 체중 1kg당 8mg(8mg/kg), 또는 IL-6 저해제가 120mg이다.
- [0129] 본 발명에 있어서의 「단간격 투여 기간」이란, 면역원성에 의한 항약물 항체의 생성을 억제하기 위해서 약물(본 발명의 의약 조성물)에 대한 면역 관용을 유도시키기 위한 투여 기간을 말한다. 본 발명에 있어서의 단간격 투여 기간은 통상 투여량과 동일한 투여량으로 통상 간격보다도 짧은 간격으로 복수회 투여되는 기간이며, 면역 관용이 유도되는 기간이면 특별히 한정되는 것은 아니지만, 바람직하게는 초회 투여로부터 1~8주간, 보다 바람직하게는 초회 투여로부터 4주간이다. 통상 투여량과 동일한 투여량이란, 통상 투여량을 투여한 경우와 동일한 정도의 IL-6 저해제의 혈중 농도를 보이는 경우도 포함된다. 통상 투여 간격보다도 짧은 간격이란, 통상 투여 간격보다도 짧은 기간이면 특별히 한정되는 것은 아니지만, 바람직하게는 통상 투여 간격의 절반의 기간이며, 예를 들어 통상 투여 간격이 4주간인 경우에는, 2주간이 된다. 예를 들면, 단간격 투여 기간은 일정한 폭을 가지고 있어도 되고, 예를 들면 1~2주간이어도 된다. 복수회 투여란, 초회 투여를 포함하여 2회 이상의 투여를 말하고, 바람직하게는 초회 투여를 포함하여 2~5회, 보다 바람직하게는 초회 투여를 포함하여 3회이다. 면역 관용이 유도되었는지 여부는 항약물 항체의 발생이 억제되었는지 여부에 의해 판단할 수 있다.
- [0130] 본 발명에 있어서의 「통상 투여」란, 당해 의약품(본 발명의 의약 조성물)에 있어서 통상 이용되는 투여이며, 예를 들어 전술의 「통상 투여량」, 「통상 투여 간격」으로 투여되는 것을 말한다.
- [0131] 본 발명에 있어서의 「IL-6 수용체 항체」의 바람직한 예로서는, 인간화 항IL-6 리셉터 IgG1 항체인

토실리주맵, 및 토실리주맵의 가변 영역 및 정상 영역의 개변을 행한 인간화 항IL-6 리셉터 항체를 들 수 있고, 구체적으로는 서열번호: 1의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열번호: 2의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체를 들 수 있다. 더 바람직하게는, 서열번호: 3의 서열을 포함하는 중쇄(SA237의 중쇄) 및 서열번호: 4의 서열을 포함하는 경쇄(SA237의 경쇄)를 포함하는 항체이다. 특히 SA237이 바람직하다.

[0132] 이와 같은 항체는, 예를 들면 WO 2010/035769, WO 2010/107108, WO 2010/106812 등에 기재된 방법에 따라 취득할 수 있다. 구체적으로는, 상기 IL-6 수용체 항체의 서열을 기초로, 당업자에게 공지인 유전자 재조합 기술을 이용하여 항체를 제작하는 것이 가능하다(예를 들면, Borrebaeck CAK and Larrick JW, THERAPEUTIC MONOCLONAL ANTIBODIES, Published in the United Kingdom by MACMILLAN PUBLISHERS LTD, 1990 참조). 재조합형 항체는, 그것을 코딩하는 DNA를 하이브리도마, 또는 항체를 산생하는 감작 림프구 등의 항체 산생 세포로부터 클로닝하고, 적당한 벡터에 짜 넣어, 이것을 숙주(숙주 세포)에 도입하고 산생시켜 얻을 수 있다.

[0133] 이와 같은 항체의 분리, 정제는 통상의 항체의 정제에서 사용되고 있는 분리, 정제 방법을 사용하면 되고, 전혀 한정되는 것은 아니다. 예를 들면, 크로마토그래피 컬럼, 필터, 한외 여과, 염석, 용매 침전, 용매 추출, 증류, 면역 침강, SDS-폴리아크릴아마이드 겔 전기 영동, 등전점 전기 영동법, 투석, 재결정 등을 적절히 선택, 조합하면 항체를 분리, 정제할 수 있다.

[0134] 본 발명에 있어서는, 통상 투여 기간은 단간격 투여 기간에서의 최후의 투여로부터 개시한다. 즉, 단간격 투여 기간에서의 최후의 투여로부터 통상 투여 간격 경과한 후, 통상 투여 기간에서의 최초의 투여가 행해진다.

[0135] 본 발명의 의약 조성물은, 바람직하게는 단간격 투여 기간에 있어서 초회 투여로부터 1~3주간 간격으로 2~5회 통상 투여량과 동일한 투여량으로 IL-6 저해제를 투여한 후, 단간격 투여 기간에서의 최후의 투여로부터 2~8주간 간격으로 통상 투여량인 1회당 50~800mg의 IL-6 저해제를 투여해 가는 의약 조성물이며, 더 바람직하게는 단간격 투여 기간에 있어서 초회 투여로부터 2주간 간격으로 SA237을 통상 투여량과 동일한 투여량으로 3회 투여(즉 0주, 2주, 4주에 투여)한 후, 단간격 투여 기간에서의 최종 투여로부터 8주간 간격(즉 단간격 투여 기간의 초회 투여로부터 12주, 20주, 28주와 8주간 간격으로 계속해 간다)으로 통상 투여량인 1회당 120mg의 SA237을 투여해 가는 통상 투여되는 의약 조성물이다.

[0136] IL-6 저해제의 바람직한 투여 스케줄에 대해서는, 증상의 관찰 및 혈액 검사값의 동향을 관찰하면서 적절히 투여 간격을 늘려가는 등 조정하는 것도 가능하다.

[0137] 치료 또는 예방 목적으로 사용되는 본 발명의 의약 조성물은, 필요에 따라서, 적당한 약학적으로 허용되는 담체, 매체 등과 혼합하여 조제하고, 동결 건조 제제 또는 용액 제제로 할 수 있다. 적당한 약학적으로 허용되는 담체, 매체로서는, 예를 들면, 멸균수나 생리 식염수, 안정제, 부형제, 산화 방지제(아스코르브산 등), 완충제(인산, 시트르산, 히스티딘, 다른 유기산 등), 방부제, 계면활성제(PEG, Tween 등), 킬레이트제(EDTA 등), 결합제 등을 들 수 있다. 또한, 그 밖의 저분자량의 폴리펩타이드, 혈청 알부민, 젤라틴이나 면역글로불린 등의 단백질, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 글루탐산, 아스파르트산, 메싸이오닌, 아르기닌 및 라이신 등의 아미노산, 다당 및 단당 등의 당류나 탄수화물, 만니톨이나 소비톨 등의 당 알코올을 포함하고 있어도 된다. 주사용의 수용액으로 하는 경우에는, 예를 들면 생리 식염수, 포도당이나 그 밖의 보조약을 포함하는 등장액, 예를 들면, D-소비톨, D-만노스, D-만니톨, 염화나트륨을 들 수 있고, 적당한 용해 보조제, 예를 들면 알코올(에탄올 등), 폴리알코올(프로필렌 글리콜, PEG 등), 비이온성 계면활성제(폴리소베이트 80, 폴리소베이트 20, 폴록사머 188, HCO-50) 등과 병용해도 된다. 또한, 제제 중에 히알루로니다아제(hyaluronidase)를 혼합하는 것에 의해, 보다 큰 액량을 피하 투여하는 것도 가능하다(Expert Opin Drug Deliv. 2007 Jul;4(4):427-40). 또한, 본 발명의 의약 조성물은 미리 주사통에 넣어져 있어도 된다. 한편, 용액 제제는 WO 2011/090088에 기재된 방법에 따라 제작할 수 있다.

[0138] 또한, 필요에 따라 본 발명의 의약 조성물을 마이크로캡슐(하이드록시메틸셀룰로스, 젤라틴, 폴리[메틸메타크릴산] 등의 마이크로캡슐)에 봉입하거나, 콜로이드 트릭 딜리버리 시스템(리포솜, 알부민 마이크로스피어, 마이크로에멀션, 나노입자 및 나노캡슐 등)으로 할 수도 있다("Remington's Pharmaceutical Science 16th edition", Oslo Ed. (1980) 등 참조). 또, 약제를 서방성의 약제로 하는 방법도 공지이며, 본 발명의 의약 조성물에 적용할 수 있다(Langer et al., J.Biomed.Mater.Res. 15: 267-277 (1981); Langer, Chemtech. 12: 98-105 (1982); 미국 특허 제3,773,919호; 유럽 특허출원 공개(EP) 제58,481호; Sidman et al., Biopolymers 22: 547-556 (1983); EP 제133,988호).

[0139] 본 발명의 의약 조성물의 투여는 임의의 적절한 경로를 개재하여 환자에게 투여할 수 있다. 예를 들면, 볼러스

로서 또는 일정 기간에 걸친 지속 주입에 의한 정맥내, 근육내, 복강내, 뇌척수내, 경피, 피하, 관절내, 설하, 활액내, 경구, 흡입, 국소 또는 외용에 의한 경로에 의해 환자에게 투여된다. 정맥내 투여 또는 피하 투여가 바람직하다.

[0140] 한편, 본 명세서에 있어서 인용된 모든 선행기술문헌은 참조로서 본 명세서에 포함된다.

[0141] **실시예**

[0142] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 구체적으로 설명하지만, 본 발명은 이들 실시예에 제한되는 것은 아니다.

[0143] 실시예 1: IL-6 저해제의 조정

[0144] 특허문헌(WO 2010/035769)에 기재된 IL-6 수용체 항체인 SA237(특허문헌 WO 2010/035769 중에서는 서열번호: 26(본 명세서에서는 서열번호: 3)의 서열을 갖는 중쇄 및 서열번호: 29(본 명세서에서는 서열번호: 4)의 서열을 갖는 경쇄를 포함하는 항체)을 상기 특허문헌의 기재에 따라 제작했다. 만들어진 항체를 이용하여, 특허문헌 WO 2011/090088에 기재된 방법에 의해 피하 투여 제제로서 조정했다.

[0145] 실시예 2: 일본인 및 백인의 건강한 성인 남성을 대상으로 한 단회 피하 투여에 의한 시험(SA001JP 시험)

[0146] 일본인 및 백인의 건강한 성인 남성을 대상으로 SA237을 피하 투여했을 때의 안전성, 인용성, 약물 동태 및 생체이용률(bioavailability)을 확인했다. 본 시험에서는 48예의 일본인에게 SA237의 피하 또는 점적 정맥내 투여, 24예의 백인에게 SA237의 피하 투여를 실시했다. 24예까지의 SA237의 단회 투여 시의 안전성 및 인용성은 대체로 양호했다. 60mg 및 120mg의 피하 투여 시의 절대 생체이용률은 각각 64.6% 및 69.4%였다. SA237이 투여된 72예 중 39예에 있어서 항SA237 항체의 산생이 확인되었다.

[0147] 실시예 3: 일본인의 관절 류머티즘 환자를 대상으로 한 반복 피하 투여에 의한 비맹검 병행군간 비교 시험(SA-105JP 시험)

[0148] 이하의 기준을 만족시키는 환자를 피험자로서 선택했다.

[0149] (1) 미국류머티즘학회(ACR)의 1987년 분류 기준에 의해, 관절 류머티즘(RA)으로 진단되는 환자

[0150] (2) RA의 이병(罹病) 기간이 6개월 이상인 환자

[0151] (3) 치험약 투여 개시 전 2주간 이내의 검사에서 CRP(C 반응성 단백질)가 시설 기준값 상한을 초과하는 환자

[0152] (4) 동의 취득 시에 있어서 연령 20세 이상의 환자

[0153] (5) 문서로 본인으로부터 치험 참가의 동의가 얻어져 있는 환자

[0154] (6) 치험약 투여 개시 전 16주간 이후에 MTX(메토티렉세이트)에 의한 치료가 실시되어 있지 않은 환자

[0155] (7) 치험약 투여 개시 전 12주간 이후에(표준적인 콜레스티라민 요법 또는 활성탄에 의한 약제 제거가 실시된 경우에는, 치험약 투여 개시 전 4주간 이후)에 레플루노마이드에 의한 치료가 실시되어 있지 않은 환자

[0156] (8) 치험약 투여 개시 전 4주간 이후에 상기 이외의 DMARD 또는 면역 억제제에 의한 치료가 실시되어 있지 않은 환자

[0157] (9) 치험약 투여 개시 전 2주간 이후에 프레드니솔론 환산 1일 10mg을 초과하는 치료가 실시되어 있지 않은 환자

[0158] 중앙 등록법에 의한 3그룹(그룹 A, B, C)으로 랜덤으로 할당하여, 비맹검 병행군간 비교 시험으로 실시했다(표 1 참조). 할당에 있어서는 체중을 인자로 했다. 본 치험은 주요 평가 기간, 계속 투여 기간 및 후관찰 기간으로 이루어진다.

[0159] 주요 평가 기간에서는, SA237 120mg을 0, 2, 4주에 투여하고, 8주 시 이후에는 그룹 A, B, C 각각 120, 60, 30mg을 4주 간격으로 16주 시까지 투여하고, 그 후, 원칙으로서 그룹 A, B, C는 각각 혈청 중 SA237 농도가 검출 한계 미만이 된다고 예상되는 32, 28, 24주 시까지 관찰(항SA237 항체 측정을 포함한다)을 실시했다.

[0160] 계속 투여 기간에서는, SA237 120mg을 0, 2, 4주 시에 투여하고, 8주 시 이후에는 120mg을 4주 간격으로 20주 시까지 투여하고, 32주 시까지 관찰을 실시했다.

[0161] 한편, 피험약은 1바이알 중에 120mg의 SA237을 함유하는 액 1.0mL를 충전한 것이다. 첨가제로서 L-히스티딘, L-아르기닌, L-아스파르트산 및 폴리옥시에틸렌(160) 폴리옥시프로필렌(30) 글리콜을 함유하고, pH는 5.5~6.5가

되어 있다. 또한, 투여는 원칙적으로 복부에 피하 투여로 행했다.

표 1

증례 수:

	그룹 A	그룹 B	그룹 C	계
목표예수	10	10	10	30
등록예수	11	11	11	33
할당예	11	11	11	33
투여예	11	11	11	33
약물 동태 해석 대상예	11	11	11	33
유효성 해석 대상 집단 (FAS)	11	11	11	33
유효성 해석 대상 집단 (PPS)	9	9	9	27
안전성 해석 대상예	11	11	11	33

[0162]

[0163]

RA 환자를 대상으로 해서 SA237을 반복 투여했을 때의 약물 동태·약역학적 평가, 유효성(FAS 대상) 및 안전성의 검토에 있어서, 각 해석 대상이 된 각 그룹 11예, 합계 33예의 피험자 배경은, 연령이 59.0~65.0세(각 그룹의 중앙값의 범위, 이하 마찬가지로), 체중이 50.30~57.90kg이었다. 여성의 비율이 높아, 그룹 A가 81.8%(9/11예), 그룹 B가 90.9%(10/11예), 그룹 C가 63.6%(7/11예)였다. 치험약이 주요 평가 기간의 최후까지 투여된 피험자는, 그룹 A가 10/11예(90.9%), 그룹 B가 10/11예(90.9%) 및 그룹 C가 9/11예(81.8%)이고, 전체 기간(주요 평가 기간 및 계속 투여 기간) 관찰할 수 있었던 피험자는, 그룹 A가 10/11예(90.9%), 그룹 B가 7/11예(63.6%) 및 그룹 C가 7/11예(63.6%)였다.

[0164]

(1) 약물 동태

[0165]

평가 방법: 관찰·검사는 표 2 및 표 3에 따라 관찰·검사를 행했다. 특별히 규정이 없는 경우에는 치험약 투여 전에 실시했다. 기정의 주요 평가 기간을 완료하고 있지 않아도, 계속 투여 기간 초회 투여 후 또는 계속 투여 기간의 초회 투여 동일(同日)이 되는 경우에는, 이후의 주요 평가 기간의 관찰·검사는 실시 불요로 했다. 한편, 시험 기간에 대하여, 이하와 같이 정의했다.

[0166]

주요 평가 기간: 치험약의 초회 투여일로부터, 원칙으로서 그룹 A, B, C는 각각 혈청 중 SA237 농도가 소실된다고 예상되는 32, 28, 24주 시까지의 관찰·검사로 한다. 단, 이것 이전에 혈청 중 SA237 농도가 검출 한계 미만인 것이 확인되어 계속 투여를 개시한 경우에는, 계속 투여 기간의 초회 투여 전의 관찰·검사까지로 한다.

[0167]

계속 투여 기간: 주요 평가 기간의 종료 후, 계속 투여의 초회 투여 개시일로부터 계속 투여 기간 24주 시의 관찰·검사까지로 한다.

[0168]

후관찰 기간: 계속 투여 기간의 24주 시의 관찰·검사 종료 후로부터 32주 시까지로 한다.

표 2

관찰·검사 스케줄(주요 평가 기간)

주	0	0	1	2	4	8	12	16	20	24	28	32
일	1	4	8	15	29	57	85	113	141	169	197	225
허용 범위		±1	±2	±3	±3	±3	±3	±3	±3	±3	±3	±3
SA237 투여	●			●	●	●	●	●				
유해 사상	←											→
임신 검사(혈청 또는 소변)	●				●	●	●	●	●	●	●	●
항CCP 항체, 류머토이드 인자	●								●			
바이탈 사인	●			●	●	●	●	●	●			
체중	●								●			
심전도	●		●						●			
흉부 X선 (또는 흉부 CT)									●			
압통 및 종창 관찰수	●				●	●	●	●	●			
VAS 피험자/의사	●				●	●	●	●	●			
JHAQ	●				●	●	●	●	●			
CRP	●			●	●	●	●	●	●	●	●	●
ESR	●				●	●	●	●	●			
MMP-3	●				●	●	●	●	●			
혈액학 검사	●			●	●	●	●	●	●			
혈액 응고계 검사	●			●	●	●	●	●	●			
혈액 생화학 검사	●			●	●	●	●	●	●			
소변 검사	●			●	●	●	●	●	●			
보체값	●				●	●	●	●	●			
항SA237 항체	●				●	●	●	●	●	●	●	●
약물 동태	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
IL-6	●			●	●	●	●	●	●			
가용성 IL-6 리셉터	●			●	●	●	●	●	●	●	●	●

[0169]

표 3

관찰·검사 스케줄(계속 투여 기간 및 후관찰 기간)

주	0	0	1	2	4	8	12	16	20	24	32
일	1	4	8	15	29	57	85	113	141	169	225
허용 범위		±1	±2	±3	±7	±7	±7	±7	±7	±7	±7
SA237 투여	●			●	●	●	●	●	●		
유해 사상	←										→
임신 검사(혈청 또는 소변)	●				●	●	●	●	●	●	
항CCP 항체, 류머토이드 인자											●
바이탈 사인	●			●	●	●	●	●	●	●	
체중	●										●
심전도	●										●
흉부 X선(또는 흉부 CT)											●
압통 및 종창 관찰수	●				●	●	●	●	●	●	
VAS 피험자/의사	●				●	●	●	●	●	●	
JHAQ	●				●	●	●	●	●	●	
CRP	●			●	●	●	●	●	●	●	●
ESR	●				●	●	●	●	●	●	
MMP-3	●				●	●	●	●	●	●	
혈액학 검사	●			●	●	●	●	●	●	●	●
혈액 응고계 검사	●			●	●	●	●	●	●	●	●
혈액 생화학 검사	●			●	●	●	●	●	●	●	●
소변 검사	●			●	●	●	●	●	●	●	●
항SA237 항체	●				●	●	●	●	●	●	●
약물 동태	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
IL-6	●			●	●	●	●	●	●	●	●
가용성 IL-6 리셉터	●			●	●	●	●	●	●	●	●

[0170]

[0171]

결과: 본 시험에 있어서의 약물 동태의 그래프를 도 1에 나타낸다. 혈청 중 SA237 농도의 트로프값은, 주요 평가 기간의 그룹 A 및 계속 투여 기간에서는, 양 기간 모두 4주 시 이후 거의 일정했다. 한편, 주요 평가 기간의 그룹 B 및 그룹 C의 혈청 중 SA237 농도는 8주 시 이후 저하되었다. 8주 시까지의 혈청 중 SA237 농도 및

AUC_{0-24h}는 주요 평가 기간과 계속 투여 기간에 큰 차가 확인되지 않았기 때문에, 한번 SA237의 투여를 중지한 후에 재투여를 개시하더라도 약물 동태의 변동은 없었다.

[0172] (2) 약역학적 평가

[0173] 결과: 본 시험에 있어서의 약역학적 평가의 그래프를 도 2, 도 3에 나타낸다. 혈청 중 SA237 농도가 일정하게 유지되어 있던 주요 평가 기간의 그룹 A의 8주 시~20주 시 및 계속 투여 8주 시~24주 시에서는, 혈청 중 sIL-6R 농도도 거의 일정하게 유지되어 있었다. 한편, 주요 평가 기간의 그룹 B 및 그룹 C의 8주 시 이후에는, SA237 농도의 저하에 수반하여 IL-6 저해의 PD 마커인 혈청 중 sIL-6R 농도는 저하되었다.

[0174] 주요 평가 기간의 IL-6 저해의 PD 마커인 CRP는, 그룹 A에서는 4주 시로부터 20주 시까지 반수 정도의 피험자에서 정량 하한값(0.005mg/dL) 미만이고, 평균값에 있어서도 0.01mg/dL 부근으로 낮은 값으로 추이했다. 그룹 B에서는 16주 시 이후에, 그룹 C에서는 8주 시 이후에 0.1mg/dL 이상까지 상승했다. CRP 정상화(0.3mg/dL 이하)의 비율에 있어서도, 평균값의 추이와 마찬가지로의 경향이고, 4주 시에 각 그룹에서 81.8~90.9%가 된 후, 8주 시에 비해 20주 시에서는, 그룹 A가 100%로 변함없고, 그룹 B가 81.8%로부터 80.0%로 동일한 정도이며, 그룹 C에서는 90.9%로부터 33.3%로 감소했다. 대부분의 피험자, 시점에서 혈청 중 SA237 농도를 정량할 수 있는 농도(0.2 μg/mL) 이상이면, CRP는 베이스라인값으로부터 저하되고 있다고 생각되었다.

[0175] (3) 유효성

[0176] 평가 방법: DAS28(Modified disease activity score based on 28 joint counts)은 관절 류머티즘의 활동성을 평가하는 지표이고, 관찰 대상인 28관절에 있어서의 압통 관절수(TJC), 종창 관절수(SJC), 및 ESR, 「피험자에 의한 전반 평가」를 이용하여 이하의 계산식으로부터 산출하고, 투여 개시로부터 최종 관찰일까지의 추이를 검토했다. 그룹마다, 시기마다 요약 통계량(평균값, 표준 편차, 중앙값, 최소값, 최대값)을 산출했다. 또한, 임상적 관해율을 산출했다.

DAS28의 관찰 대상인 28관절

관절 부위	관절수
어깨 관절	2
팔꿈치 관절	2
손 관절	2
손가락(DIP 관절을 제외함)	20
허리 관절	2

Modified DAS based on 28 Joint Count = DAS28

$$DAS28 = 0.56 \sqrt{TJC} + 0.28 \sqrt{SJC} + 0.7 \times \ln ESR + 0.014 \times GH$$

[0179] ACR 20%, 50%, 70% 개선 기준은 이하와 같이 평가했다.

ACR 개선 기준

하기 7항목 중, 종창 관절수 및 압통 관절수가 20% 이상 개선되고, 또한 나머지 5항목 중 3항목에서 20% 이상의 개선이 확인된 증례를 ACR 기준 20% 이상 개선 있음으로 한다. 50% 및 70% 개선은 상기의 20% 개선 부분이 각각 50%, 70% 개선된 환자를 가리킨다.

- ① 종창 관절수(66관절)
- ② 압통 관절수(68관절)
- ③ 환자에 의한 동통 평가
- ④ 환자에 의한 전반 평가
- ⑤ 의사에 의한 전반 평가
- ⑥ 환자에 의한 일상 생활 동작의 평가(JHAQ)
- ⑦ CRP 또는 ESR

[0181] 결과: 본 시험에 있어서의 유효성을 나타내는 주요 평가 기간에 있어서의 DAS28 score의 변화량의 추이를 이하

의 표 4에 나타낸다.

표 4

각 Visit에 있어서의 DAS28의 총계값	그룹 A 120 mg (N=11)	그룹 B 60 mg (N=11)	그룹 C 30 mg (N=11)
베이스라인으로부터의 변화			
4주 시			
n	11	11	11
평균값	-1.85	-1.95	-1.46
표준 편차	0.71	1.06	0.71
8주 시			
n	11	11	11
평균값	-2.73	-2.93	-2.35
표준 편차	1.12	1.40	0.74
12주 시			
n	11	11	11
평균값	-2.94	-2.67	-2.19
표준 편차	1.22	1.59	1.15
16주 시			
n	11	11	11
평균값	-3.13	-2.56	-1.66
표준 편차	1.33	1.79	1.68
20주 시			
n	11	11	11
평균값	-3.29	-2.63	-1.25
표준 편차	1.34	1.92	1.73

[0182]

[0183]

DAS28은 8주 시에 개선이 확인되었다. 주요 평가 기간에 상이한 용량을 투여 개시(8주 시)하고 난 후에는, 그룹 A에서는 DAS28이 더 개선되었지만, 그룹 B에서는 큰 변동이 확인되지 않고, 그룹 C에서는 베이스라인값으로 돌아오는 경향이 확인되었다.

[0184]

ACR 20% 개선 빈도는 8주 시에 각 그룹에서 70.0~81.8%, 50% 개선 빈도는 40.0~50.0%, 70% 개선 빈도는 18.2~30.0%가 되었다. 8주 시에 비해 20주 시에서는, 20% 개선 빈도는 그룹 A 및 그룹 B에서는 유지되었지만, 그룹 C에서는 감소했다. 20주 시에는, 50% 및 70% 개선 빈도는, 그룹 A에서는 각각 72.7%(8/11예) 및 54.5%(6/11예)로 8주 시에 비해 증가했지만, 그룹 B 및 그룹 C에서는 큰 변동은 확인되지 않았다.

[0185]

(4) 면역원성 및 항체 양성예의 약물 동태, 약역학적 평가, 유효성 및 안전성

[0186]

항SA237 항체가 확인된 것은 그룹 B 및 그룹 C의 각 1예 계 2/33예였다. 이 2예에서는, 항SA237 항체 검출 후의 계속 투여 기간 중의 혈청 중 SA237 농도는 정량 하한값 미만이고, 항체가 검출된 시기 이후, SA237 투여에 의한 가용성 IL-6 수용체(sIL-6R) 농도 상승 및 CRP 농도 저하는 확인되지 않고, DAS28, CDAI 및 SDAI가 상승했다. 또한, 이 2예에 항체 검출 후 확인된 유해 사상은 중증도가 경도인 당뇨병 1건이었다. 본 사상은 알레르기 반응은 아니고, 합병증의 악화였다. 양 피험자 모두 항체 검출 후 반복해서 SA237의 투여를 받았지만, 안전성상의 문제는 확인되지 않았다.

[0187]

(5) 결론

[0188]

RA 환자를 대상으로 해서, SA237 120mg을 2주 간격으로 3회 투여 후, 8주 시 이후 4주 간격으로 120mg을 3회 투여했을 때, 4주 시~최종 투여 4주 후까지 안정된 혈청 중 약물 농도가 유지되고, 그에 따른 혈청 중 sIL-6R 농도의 높은 값 및 CRP의 낮은 값, 및 DAS28을 포함하는 어느 유효성 평가 항목의 안정된 개선이 확인되었다. 본 시험 전체에서의 항SA237 항체 검출 빈도는 6.1%(2/33예)이고, 항SA237 항체 검출예에서는, 항SA237 항체 검출 시 이후, 혈청 중 SA237 농도 저하를 확인했지만, 안전성에 있어서의 문제는 확인되지 않아, 허용할 수 있는 범

위였다. 이상으로부터, 본 투여 방법에 있어서 안전성상 염려되는 문제는 확인되지 않았다.

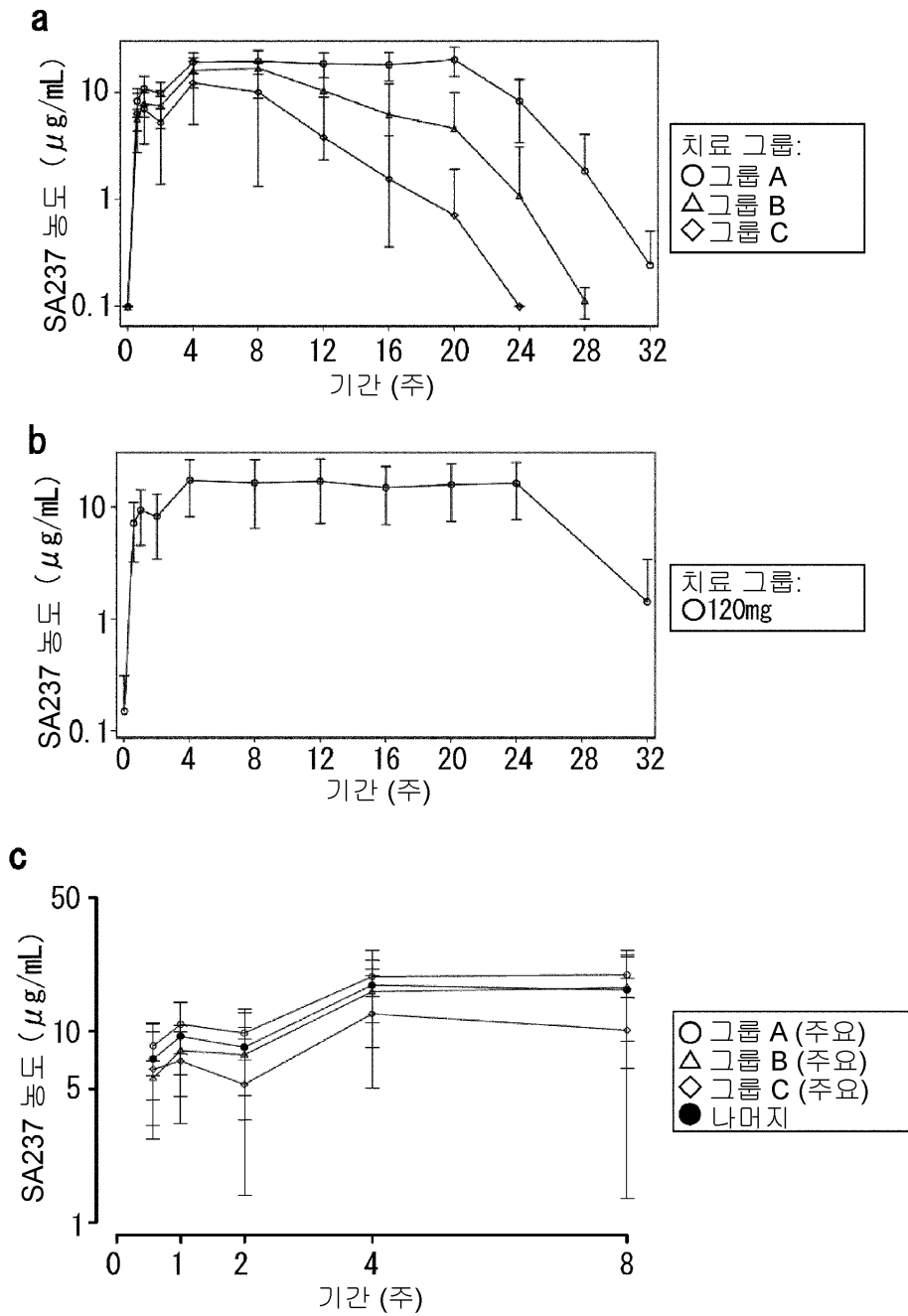
산업상 이용가능성

[0189]

본 발명의 의약 조성물 또는 레지멘에 의해, 면역원성의 문제인 항약물 항체의 발생을 해소함과 더불어, 부작용을 저감한 데다가, 보다 치료 효과가 높고, 높은 투여량에 노출되지 않기 때문에 환자의 부담이 적은 의약 조성물을 제공할 수 있다.

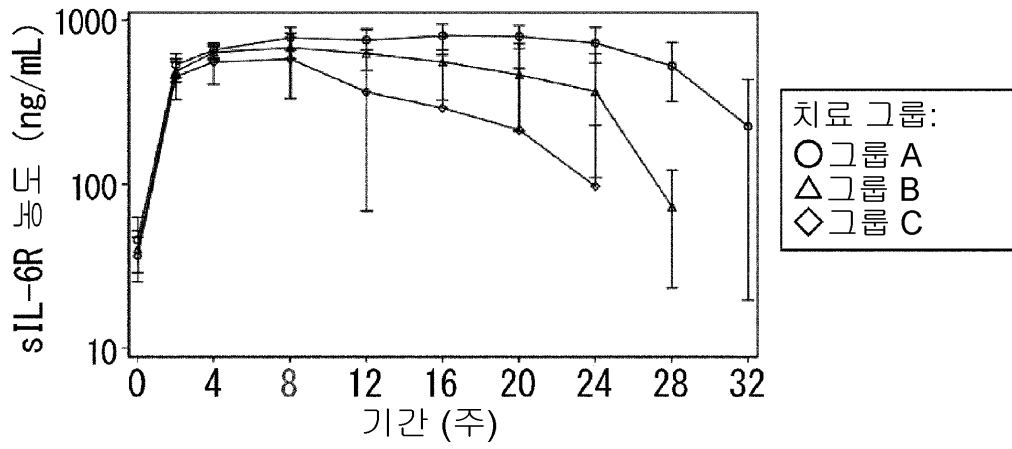
도면

도면1

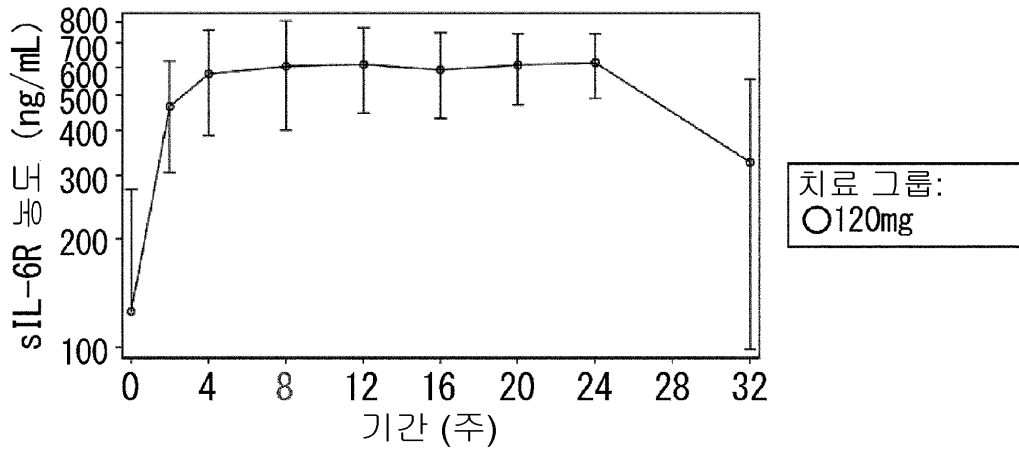


도면2

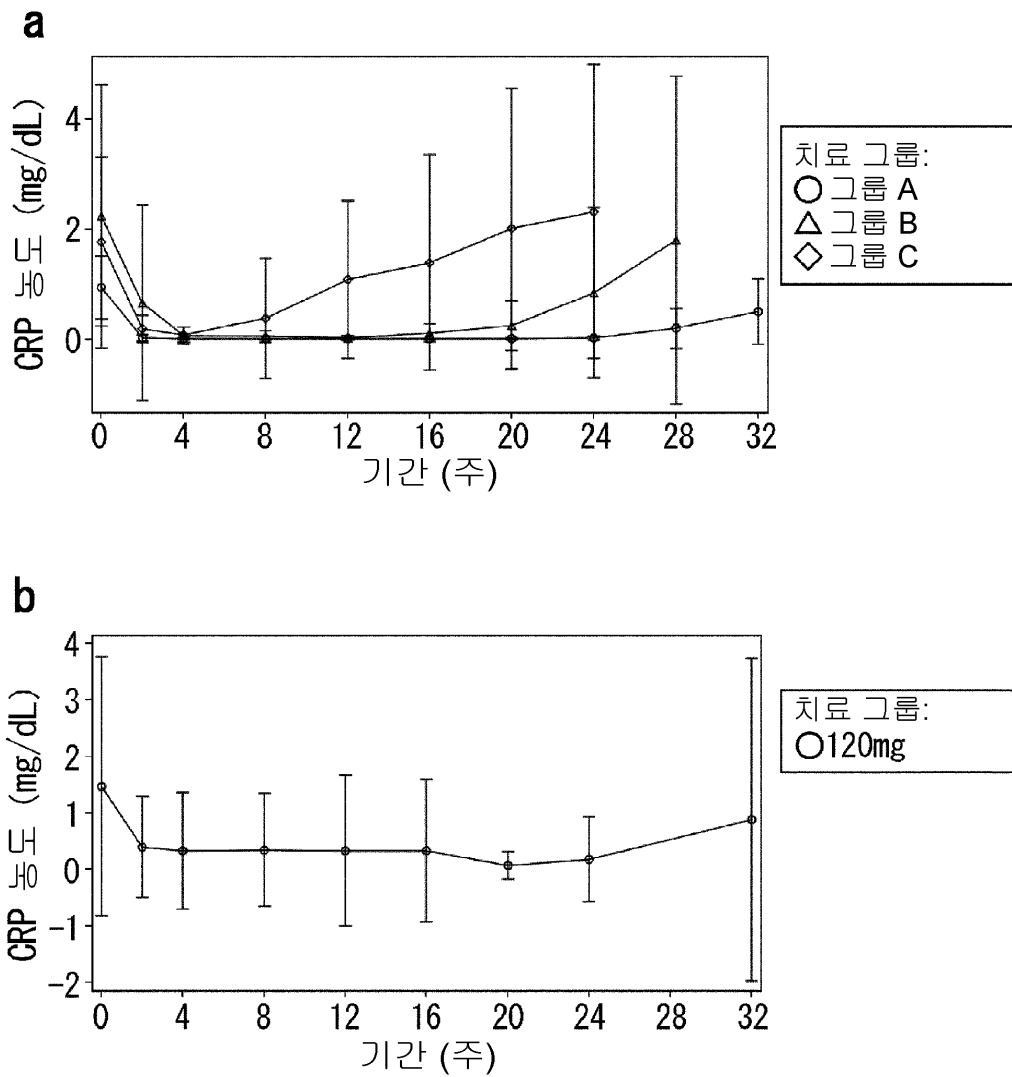
a



b



도면3



서열목록

SEQUENCE LISTING

- <110> CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA
- <120> COMPOSITIONS FOR TREATING IL-6-ASSOCIATED DISEASES
- <130> C1-A1503P
- <150> JP 2015-037933
- <151> 2015-02-27
- <160> 4
- <170> PatentIn version 3.4
- <210> 1
- <211> 119
- <212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized polypeptide sequence

<400> 1

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

<210> 2

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized polypeptide sequence

<400> 2

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

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

385 390 395 400
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

 405 410 415
 Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala

 420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

 435 440

<210> 4

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized polypeptide sequence

<400> 4

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

Asp Ser Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Thr Asp Ile Ser Ser His
 20 25 30

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

Tyr Tyr Gly Ser His Leu Leu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala
 65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly Asn Arg Leu Pro Tyr
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Glu Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210