(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0017228
(43) 공개일자 2025년02월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/68 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01) *C07K 16/28* (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/6896 (2013.01)
A61P 25/28 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2024-7042218
(22) 출원일자(국제) 2023년05월24일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년12월19일
(86) 국제출원번호 PCT/US2023/067438
(87) 국제공개번호 WO 2023/230538
국제공개일자 2023년11월30일
(30) 우선권주장
63/365,458 2022년05월27일 미국(US)

(71) 출원인
엘레던 파마슈티컬즈, 아이엔씨.
미국 캘리포니아 92612 어바인 맥아더 불러바드 19800 스위트 250
(72) 발명자
페린 스티븐 엔.
미국 캘리포니아 92612 어바인 맥아더 불러바드 19800 스위트 250
(74) 대리인
리앤목특허법인

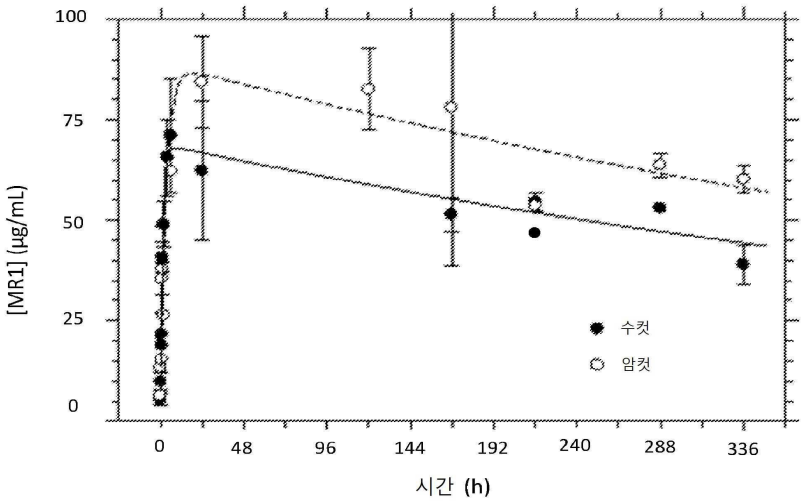
전체 청구항 수 : 총 60 항

(54) 발명의 명칭 **근위축성 측색경화증의 치료 방법**

(57) 요 약

본 명세서에서 신경변성 질환, 예컨대 근위축성 측색경화증, 알츠하이머병, 파킨슨병, 중증근무력증, 다초점성 운동신경병증, 원발성 측색경화증, 척수 근위축증, 케네디병, 및 척수소뇌 실조증을 치료하기 위한 방법 및 키트가 제공된다. 또한 샘플에서 바이오마커 수준을 측정함으로써 치료에 대한 반응을 예측하거나 측정하는 방법, 및 바이오마커 수준을 조절하는 방법이 제공된다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
C07K 16/2875 (2013.01)
G01N 33/6893 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

CD40L 또는 CD40에 대한 화합물을 이용한 치료에 대해 질환 또는 장애가 있는 대상체의 반응을 예측하는 방법으로서,

대상체로부터 샘플을 수집하는 단계;

샘플에 존재하는 적어도 하나의 바이오마커의 농도를 측정하는 단계로서, 적어도 하나의 바이오마커는 NFL, MMP9, MMP3, IL6, IL18, IgA, TNFR2, TNFa, IL2ra, 인자VIII, CRP, SAP, MCP1, En-Raged, MIG, vWF, IgE, IL8, IP10, C3, 및 MMP2인, 단계

를 포함하며;

여기서 적어도 하나의 바이오마커의 농도는 대상체가 CD40L 또는 CD40에 대한 화합물을 이용한 질환 또는 장애에 대한 치료에 반응할 가능성이 있음을 예측하는, 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 질환 또는 장애는 염증, 신경변성 질환, 또는 신경근 질환인, 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 신경변성 질환 또는 신경근 질환은 근위축성 측색경화증, 알츠하이머병, 파킨슨병, 중증근무력증, 다초점성 운동신경병증, 원발성 측색경화증, 척수 근위축증, 케네디병, 또는 척수소뇌 실조증인, 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 신경변성 질환 또는 신경근 질환은 근위축성 측색경화증(ALS)인, 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 대상체는 포유동물 및/또는 인간인, 방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 화합물은 CD40과 CD40L의 상호 작용을 차단하는, 방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 화합물은 항-CD40L 항체 또는 항-CD40 항체인, 방법.

청구항 8

제1항에 있어서, 화합물은 테고프루바트인, 방법.

청구항 9

제1항에 있어서, 화합물은 MR1 또는 5c8인, 방법.

청구항 10

질환 또는 장애가 있는 대상체를 치료하는 방법으로서,

치료적 유효 용량의, CD40L 또는 CD40에 대한 화합물을 투여하는 단계

를 포함하며, 여기서 치료적 유효 용량의 투여는 대상체의 혈장에서 화합물을 5 μg/mL 내지 100 μg/mL의 농도로; 바람직하게는 30 μg/mL 내지 60 μg/mL인 용량으로 유지하는, 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 질환 또는 장애는 염증, 신경변성 질환, 또는 신경근 질환인, 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 신경변성 질환 또는 신경근 질환은 근위축성 측색경화증, 알츠하이머병, 파킨슨병, 중증근무력증, 다초점성 운동신경병증, 원발성 측색경화증, 척수 근위축증, 케네디병, 또는 척수소뇌 실조증인, 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 신경변성 질환 또는 신경근 질환은 근위축성 측색경화증(ALS)인, 방법.

청구항 14

제10항에 있어서, 대상체는 포유동물 및/또는 인간인, 방법.

청구항 15

제10항에 있어서, 화합물은 CD40과 CD40L의 상호 작용을 차단하는, 방법.

청구항 16

제10항에 있어서, 화합물은 항-CD40L 항체 또는 항-CD40 항체인, 방법.

청구항 17

제10항에 있어서, 화합물은 테고프루바트인, 방법.

청구항 18

제10항에 있어서, 화합물은 MR1 또는 5c8인, 방법.

청구항 19

제10항에 있어서, 화합물은 2주마다 적어도 1회 투여되는, 방법.

청구항 20

제10항에 있어서, 화합물은 적어도 12주의 기간 동안 투여되는, 방법.

청구항 21

제10항에 있어서, 화합물은 200 mg/kg 내지 100 mg/kg의 용량; 바람직하게는 1 mg/kg 내지 8 mg/kg의 용량; 가장 바람직하게는 2 mg/kg 내지 4 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 22

제10항에 있어서, 제2의 약제학적으로 효과적인 화합물을 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 23

제22항에 있어서, 제2 화합물은 CD28과 CD86 사이 또는 CD28과 CD80 사이의 상호 작용을 차단하는, 방법.

청구항 24

제22항에 있어서, 제2 화합물은 인터류킨, 사이토카인, 및 전염증성 마커로 이루어진 군으로부터 선택되는 바이오마커 중 적어도 하나를 표적으로 하는, 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 제2 화합물은 NFL, CXCL13, CD40L, CXCL9, TNF-알파, En-Raged, TNFR2, IgM, IgA, Il2r, CXCL10, CD40, B2M, VCAM, Il-18, Il-16, SAP, MIP1베타, MDC, C3, CRP, Fibrogen, IgE, ICAM, 인자VIII,

Ena-78, Pal1, Rantes, TIMP1, vWF, I1-6, MCP1, MMP3, MMP9, 및 MMP2로 이루어진 군으로부터 선택되는 바이오마커 중 적어도 하나를 표적으로 하는, 방법.

청구항 26

제22항에 있어서, 제2 화합물은 CTLA4-Ig 융합 단백질, 아바타셉트, 벨라타셉트, 또는 갈릭시맙인, 방법.

청구항 27

제10항에 있어서, 화합물은 경구, 비경구, 또는 국소로 투여되는, 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 화합물은 비경구로 투여되는, 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, 화합물은 주사로, 가장 바람직하게는 정맥내, 근육내, 또는 피하 주사로 투여되는, 방법.

청구항 30

제1항에 있어서, 질환 또는 장애는 대장염, 약물 유도 루푸스 신염, 이식편대 숙주 질환, 면역 이식편 반응, 이식 거부 및 죽상경화증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 염증성 또는 면역 질환 또는 장애인, 방법.

청구항 31

제1항에 있어서, 질환 또는 장애는 전신 홍반 루푸스, 1형 당뇨병, 중증근무력증, 염증성 장 질환, 면역 혈소판 감소성 자반증, 류마티스 관절염, 건선, 애디슨병, 크론병, 포도막염, 다발성 경화증, 용혈성 빈혈, 및 그레이브스병으로 이루어진 군으로부터 선택되는 자가면역 질환인, 방법.

청구항 32

제1항에 있어서, CD40L 또는 CD40을 표적으로 하는 화합물은

(a) i) 서열번호 9에 제시된 서열을 포함하는 CDRH1 도메인;

ii) 서열번호 10, 11, 12, 13, 또는 14에 제시된 서열을 포함하는 CDRH2 도메인; 및

iii) 서열번호 15에 제시된 서열을 포함하는 CDRH3 도메인

을 포함하는 중쇄 가변 영역(V_H); 및

(b) i) 서열번호 16 또는 17에 제시된 서열을 포함하는 CDRL1 도메인;

ii) 서열번호 18 또는 19에 제시된 서열을 포함하는 CDRL2 도메인; 및

iii) 서열번호 20에 제시된 서열을 포함하는 CDRL3 도메인

을 포함하는 경쇄 가변 영역(V_L)

을 포함하는 항체인, 방법.

청구항 33

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, CD40L 또는 CD40을 표적으로 하는 화합물은

(a) 서열번호 1, 2, 3, 또는 4에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역(V_H); 및

(b) 서열번호 5, 6, 7, 또는 8에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역(V_L)

을 포함하는 항체인, 방법.

청구항 34

대상체에서 적어도 하나의 바이오마커의 농도를 조절하는 방법으로서,

치료적 유효량의, CD40L 또는 CD40에 대한 화합물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 적어도 하나의 바이오마커는 NFL, CXCL13, CD40L, CXCL9, TNF-알파, En-Raged, TNFR2, IgM, IgA, Il2r, CXCL10, CD40, B2M, VCAM, Il-18, Il-16, SAP, MIP1베타, MDC, C3, CRP, Fibrogen, IgE, ICAM, 인자VIII, Ena-78, Pal1, Rantes, TIMP1, vWF, Il-6, MCP1, MMP3, MMP9, MCP1, MIG, vWF, Il-8, IP10, 또는 MMP2인, 방법.

청구항 35

제34항에 있어서, 화합물의 투여 후에 적어도 하나의 바이오마커의 농도가 증가하는, 방법.

청구항 36

제34항에 있어서, 화합물의 투여 후에 적어도 하나의 바이오마커의 농도가 감소하는, 방법.

청구항 37

제34항에 있어서, 화합물의 투여 후에 적어도 하나의 바이오마커의 농도는 증가하고, 적어도 하나의 다른 바이오마커의 농도는 감소하는, 방법.

청구항 38

제34항에 있어서, 대상체는 질환 또는 장애를 갖는, 방법.

청구항 39

제38항에 있어서, 질환 또는 장애는 염증, 신경변성 질환, 또는 신경근 질환인, 방법.

청구항 40

제39항에 있어서, 신경변성 질환 또는 신경근 질환은 근위축성 측색경화증, 알츠하이머병, 파킨슨병, 중증근무력증, 다초점성 운동신경병증, 원발성 측색경화증, 척수 근위축증, 케네디병, 또는 척수소뇌 실조증인, 방법.

청구항 41

제40항에 있어서, 신경변성 질환 또는 신경근 질환은 근위축성 측색경화증(ALS)인, 방법.

청구항 42

제34항에 있어서, 대상체는 포유동물 및/또는 인간인, 방법.

청구항 43

제34항에 있어서, 화합물은 CD40과 CD40L의 상호 작용을 차단하는, 방법.

청구항 44

제34항에 있어서, 화합물은 항-CD40L 항체 또는 항-CD40 항체인, 방법.

청구항 45

제34항에 있어서, 화합물은 테고프루바트인, 방법.

청구항 46

제34항에 있어서, 화합물은 MR1 또는 5c8인, 방법.

청구항 47

제34항에 있어서, 치료적 유효 용량의 투여는 대상체의 혈장에서 화합물을 5 μg/mL 내지 100 μg/mL의 농도로; 바람직하게는 30 μg/mL 내지 60 μg/mL인 용량으로 유지하는, 방법.

청구항 48

제34항에 있어서, 화합물은 2주마다 적어도 1회 투여되는, 방법.

청구항 49

제34항에 있어서, 화합물은 적어도 12주의 기간 동안 투여되는, 방법.

청구항 50

제34항에 있어서, 화합물은 200 mg/kg 내지 100 mg/kg의 용량; 바람직하게는 1 mg/kg 내지 8 mg/kg의 용량; 가장 바람직하게는 2 mg/kg 내지 4 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 51

제34항에 있어서, 화합물은 경구, 비경구, 또는 국소로 투여되는, 방법.

청구항 52

제51항에 있어서, 화합물은 비경구로 투여되는, 방법.

청구항 53

제52항에 있어서, 화합물은 주사로, 가장 바람직하게는 정맥내, 근육내, 또는 피하 주사로 투여되는, 방법.

청구항 54

제34항에 있어서, 질환 또는 장애는 대장염, 약물 유도 루푸스 신염, 이식편대 숙주 질환, 면역 이식편 반응, 이식 거부 및 죽상경화증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 염증성 또는 면역 질환 또는 장애인, 방법.

청구항 55

제34항에 있어서, 질환 또는 장애는 전신 홍반 루푸스, 1형 당뇨병, 중증근무력증, 염증성 장 질환, 면역 혈소판 감소성 자반증, 류마티스 관절염, 건선, 애디슨병, 크론병, 포도막염, 다발성 경화증, 용혈성 빈혈, 및 그레이브스병으로 이루어진 군으로부터 선택되는 자가면역 질환인, 방법.

청구항 56

제34항에 있어서, CD40L 또는 CD40을 표적으로 하는 화합물은

(a) i) 서열번호 9에 제시된 서열을 포함하는 CDRH1 도메인;

ii) 서열번호 10, 11, 12, 13, 또는 14에 제시된 서열을 포함하는 CDRH2 도메인; 및

iii) 서열번호 15에 제시된 서열을 포함하는 CDRH3 도메인

을 포함하는 중쇄 가변 영역(V_H); 및

(b) i) 서열번호 16 또는 17에 제시된 서열을 포함하는 CDRL1 도메인;

ii) 서열번호 18 또는 19에 제시된 서열을 포함하는 CDRL2 도메인; 및

iii) 서열번호 20에 제시된 서열을 포함하는 CDRL3 도메인

을 포함하는 경쇄 가변 영역(V_L)

을 포함하는 항체인, 방법.

청구항 57

제34항에 있어서, CD40L 또는 CD40을 표적으로 하는 화합물은

(a) 서열번호 1, 2, 3, 또는 4에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역(V_H); 및

(b) 서열번호 5, 6, 7, 또는 8에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역(V_L)

을 포함하는 항체인, 방법.

청구항 58

ALS가 있는 대상체의 ALS-FRS 점수를 유지 또는 개선하는 방법으로서,

치료적 유효 용량의, CD40L 또는 CD40에 대한 화합물을 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 치료적 유효 용량의 투여는 대상체의 혈장에서 화합물을 5 μg/mL 내지 100 μg/mL의 농도로; 바람직하게는 30 μg/mL 내지 60 μg/mL인 용량으로 유지하는, 방법.

청구항 59

CD40L 또는 CD40에 대한 화합물로 질환 또는 장애가 있는 대상체를 사전 스크리닝 및 치료하는 방법으로서,

대상체로부터 샘플을 수집하는 단계;

유체에 존재하는 적어도 하나의 바이오마커의 농도를 검출하는 단계로서, 적어도 하나의 바이오마커는 NFL, MMP9, MMP3, IL6, IL18, IgA, TNFR2, TNFa, IL2ra, 인자VIII, CRP, SAP, MCP1, En-Raged, MIG, vWF, IgE, IL8, IP10, C3, 또는 MMP2인, 단계;

해당 질환 또는 장애가 없는 대상체에서 적어도 하나의 바이오마커의 농도에 대해 적어도 하나의 바이오마커의 농도를 스크리닝하는 단계; 및

대상체의 혈장이 화합물의 농도를 5 μg/mL 내지 100 μg/mL인 용량; 바람직하게는 30 μg/mL 내지 60 μg/mL인 용량으로 유지하도록 치료적 유효 용량의, CD40L 또는 CD40에 대한 화합물을 투여하는 단계

를 포함하는, 방법.

청구항 60

제59항에 있어서, 화합물은 대상체의 적어도 하나의 바이오마커의 농도가 질환 또는 장애가 없는 대상체의 적어도 하나의 바이오마커의 농도와 상당히 상이한 경우 대상체에게 투여되는, 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원에 대한 상호 참조**

[0002] 본 출원은 2022년 5월 27일에 출원된 미국 가출원 63/365458에 대한 우선권을 주장하며, 이의 전문이 참조로 포함된다.

[0003] **서열 목록에 대한 참조**

[0004] 본 출원은 전자 형식으로 서열 목록과 함께 제출된다. 서열 목록은 2023년 4월 20일에 생성되고, 크기가 27,094 바이트인 "ELDN.010WO.xml"이라는 명칭의 파일로 제공된다. 서열 목록의 전자 형식의 정보는 본 명세서에 전문이 참조로 포함된다.

[0005] **기술분야**

[0006] 본 개시내용은 신경변성 질환, 예컨대 근위축성 측색경화증을 치료하는 방법에 관한 것이다. 또한, 하나 이상의 바이오마커의 수준을 측정하는 단계를 포함하여, 치료에 대한 반응을 예측 및/또는 측정하는 방법이 제공된다. 구현예는 또한 하나 이상의 바이오마커의 수준을 조절하는 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0007] 때때로 루게릭병으로 지칭되는 근위축성 측색경화증(ALS)은 척추와 뇌의 운동 뉴런의 퇴화로 인해 생기는 근섬유 위축으로 특성화되는 진행성의 치명적인 신경 장애이다. ALS는 대략 30,000명의 미국 시민에게 영향을 미치며, 사례의 약 10%만이 가족성 ALS 형태로 분류된다. 대사 효소인 슈퍼옥사이드 디스뮤타제 1(*SOD1*)에 돌연변이가 있는 가족성 환자의 하위집합에서, 병리학적 진행은 이 효소의 돌연변이 형태와 연관된 알려지지 않은 기능 획득에 기인할 수 있다(*SOD1* 의존적)(Rosen, 1993). 그러나, 대부분의 ALS 사례에서 *SOD1* 유전자는 돌연변이를

포함하지 않고, *SOD1* 효소의 활성이 정상이며, 질환 병리의 메커니즘이 알려져 있지 않다(*SOD1* 독립적). 따라서, 나머지 90%의 ALS 사례는 잘 특성화된 유전적 구성요소 또는 병원(causal agent)이 없는 산발적 사례로 분류된다.

[0008] 산발적으로 발생하는 질환 형태의 원인이 알려져 있지 않기 때문에, 연구자들은 질환의 실험실 모델을 만들기 위해 유전자이식 전략에 의지하였다. *SOD1* 유전자의 식별 역할은 ALS의 유전자이식 설치류 모델의 생성으로 이어졌다. 인간 $SOD1^{G93A}$ 이식유전자의 23개 카피를 갖는 유전자이식 마우스 품종("G93A 마우스")은 가장 널리 사용되는 ALS의 뮤린 모델이며, ALS 치료 연구에 대한 표준 모델("G93A 마우스")로 받아들여진다(문헌[Tu PH et. al.(1996) *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:3155-3160 and Gurney ME (1997) *J Neuro Sci* 152 Suppl 1: S67-S73] 참조).

[0009] ALS는 척수에서 운동 뉴런을 상실하여 근위축을 초래하는 것으로 특성화되지만, 질환은 또한 그 자체로 축삭 수송, 단백질 응집, 흥분 독성, 성상세포증(astrocytosis), 미토콘드리아 기능 장애, 미세아교세포 활성화, 및 시냅스 리모델링의 변화로 나타난다. 미세아교세포 활성화, 성상세포증 및 주변부로부터 침윤하는 염증 세포의 존재는 잘 설명되어 있다. ALS 환자의 척수에 IgG 면역반응성 침전물의 축적, ALS의 척수로 림프구, 수지상 세포, 단핵구, 및 대식세포의 침윤이 있다. 침윤성 면역 세포의 역할은 잘 이해되지 않지만, 최근 연구는 침윤 T 세포 집단이 신경보호작용을 하고 세포독성이 아님을 시사하였다. ALS는 미세아교세포와 성상세포의 활성화에 의해 매개되는 면역 구성요소를 갖지만, 자가면역 장애인 것으로 간주되지 않는다. 특정 면역 조절 경로(예를 들어, 공동자극 경로)의 관여가 설명된 류마티스 관절염 또는 전신 홍반 루푸스와 같은 질환과 달리, 그러한 경로의 관여가 ALS에 대해서는 설명되지 않았다.

[0010] 현재 의사는 ALS를 치료하기 위한 선택권이 제한적이다. 현재, 리루졸은 ALS의 치료를 위해 FDA가 승인한 유일한 약물이다. 임상 시험에서, 리루졸은 생존 시간을 조금 늘리는 데 단지 약간의 이익만 나타내었다. 따라서, ALS에 대한 효과적인 치료법이 절실히 필요하다.

발명의 내용

과제의 해결 수단

[0011] 본 명세서에는 CD40L 또는 CD40에 대한 화합물을 이용한 치료에 대해 질환 또는 장애가 있는 대상체의 반응을 예측하는 방법이 개시되어 있다. 일부 구현예에서, 방법은 대상체로부터 샘플을 수집하는 단계; 샘플에 존재하는 적어도 하나의 바이오마커의 농도를 측정하는 단계로서, 적어도 하나의 바이오마커는 NFL, MMP9, MMP3, IL6, IL18, IgA, TNFR2, TNFa, IL2ra, 인자VIII, CRP, SAP, MCP1, En-Raged, MIG, vWF, IgE, IL8, IP10, C3, 및 MMP2인, 단계를 포함하며; 여기서 적어도 하나의 바이오마커의 농도는 대상체가 CD40L 또는 CD40에 대한 화합물을 이용한 질환 또는 장애에 대한 치료에 반응할 가능성이 있음을 예측한다. 일부 구현예에서, 질환 또는 장애는 염증, 신경변성 질환, 또는 신경근 질환이다. 일부 구현예에서, 신경변성 질환 또는 신경근 질환은 근위축성 측색경화증, 알츠하이머병, 파킨슨병, 중증근무력증, 다초점성 운동신경병증, 원발성 측색경화증, 척수 근위축증, 케네디병, 또는 척수소뇌 실조증이다. 일부 구현예에서, 신경변성 질환 또는 신경근 질환은 근위축성 측색경화증(ALS)이다. 일부 구현예에서, 대상체는 포유동물 및/또는 인간이다. 일부 구현예에서, 화합물은 CD40과 CD40L의 상호 작용을 차단한다. 일부 구현예에서, 화합물은 항-CD40L 항체 또는 항-CD40 항체이다. 일부 구현예에서, 화합물은 테고프루바트(tegoprubart)이다. 일부 구현예에서, 화합물은 MR1 또는 5c8이다.

[0012] 또한 본 명세서에는 질환 또는 장애가 있는 대상체를 치료하는 방법이 개시되어 있다. 일부 구현예에서, 방법은 치료적 유효 용량의, CD40L 또는 CD40에 대한 화합물을 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 치료적 유효 용량의 투여는 대상체의 혈장에서 화합물을 5 μg/mL 내지 100 μg/mL의 농도로; 바람직하게는 30 μg/mL 내지 60 μg/mL인 용량으로 유지한다. 일부 구현예에서, 질환 또는 장애는 염증, 신경변성 질환, 또는 신경근 질환이다. 일부 구현예에서, 신경변성 질환 또는 신경근 질환은 근위축성 측색경화증, 알츠하이머병, 파킨슨병, 중증근무력증, 다초점성 운동신경병증, 원발성 측색경화증, 척수 근위축증, 케네디병, 또는 척수소뇌 실조증이다. 일부 구현예에서, 신경변성 질환 또는 신경근 질환은 근위축성 측색경화증(ALS)이다. 일부 구현예에서, 대상체는 포유동물 및/또는 인간이다. 일부 구현예에서, 화합물은 CD40과 CD40L의 상호 작용을 차단한다. 일부 구현예에서, 화합물은 항-CD40L 항체 또는 항-CD40 항체이다. 일부 구현예에서, 화합물은 테고프루바트이다. 일부 구현예에서, 화합물은 MR1 또는 5c8이다. 일부 구현예에서, 화합물은 2주마다 적어도 1회 투여된다. 일부 구현예에서, 화합물은 적어도 12주의 기간 동안 투여된다. 일부 구현예에서, 화합물은 200 mg/kg 내지 100 mg/kg의 용량; 바람직하게는 1 mg/kg 내지 8 mg/kg의 용량; 가장 바람직하게는 2 mg/kg 내지 4 mg/kg의 용량으로 투여된다. 일부

구현예에서, 방법은 제2의 약제학적으로 효과적인 화합물을 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 화합물은 CD28과 CD86 사이 또는 CD28과 CD80 사이의 상호 작용을 차단한다. 일부 구현예에서, 제2 화합물은 인터류킨, 사이토카인, 및 전염증성 마커로 이루어진 군으로부터 선택되는 바이오마커 중 적어도 하나를 표적으로 한다. 일부 구현예에서, 제2 화합물은 NFL, CXCL13, CD40L, CXCL9, TNF-알파, En-Raged, TNFR2, IgM, IgA, I12r, CXCL10, CD40, B2M, VCAM, I1-18, I1-16, SAP, MIP1베타, MDC, C3, CRP, Fibrogen, IgE, ICAM, 인자VIII, Ena-78, Pal1, Rantes, TIMP1, vWF, I1-6, MCP1, MMP3, MMP9, 및 MMP2로 이루어진 군으로부터 선택되는 바이오마커 중 적어도 하나를 표적으로 한다. 일부 구현예에서, 제2 화합물은 CTLA4-Ig 융합 단백질, 아바타셉트, 벨라타셉트, 또는 갈릭시맙이다. 일부 구현예에서, 화합물은 경구, 비경구, 또는 국소로 투여된다. 일부 구현예에서, 화합물은 비경구로 투여된다. 일부 구현예에서, 화합물은 주사로, 가장 바람직하게는 정맥내, 근육내, 또는 피하 주사로 투여된다. 일부 구현예에서, 질환 또는 장애는 대장염, 약물 유도 루푸스 신염, 이식편대 숙주 질환, 면역 이식편 반응, 이식 거부 및 죽상경화증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 염증성 또는 면역 질환 또는 장애이다. 일부 구현예에서, 질환 또는 장애는 전신 홍반 루푸스, 1형 당뇨병, 중증 근무력증, 염증성 장 질환, 면역 혈소판 감소성 자반증, 류마티스 관절염, 건선, 애디슨병, 크론병, 포도막염, 다발성 경화증, 용혈성 빈혈, 및 그레이브스병으로 이루어진 군으로부터 선택되는 자가면역 질환이다. 일부 구현예에서, CD40L 또는 CD40을 표적으로 하는 화합물은 (1) 서열번호 9에 제시된 서열을 포함하는 CDRH1 도메인; (2) 서열번호 10, 11, 12, 13, 또는 14에 제시된 서열을 포함하는 CDRH2 도메인; 및 (3) 서열번호 15에 제시된 서열을 포함하는 CDRH3 도메인을 포함하는 중쇄 가변 영역(V_H)을 포함하고; 또한 (4) 서열번호 16 또는 17에 제시된 서열을 포함하는 CDRL1 도메인; (5) 서열번호 18 또는 19에 제시된 서열을 포함하는 CDRL2 도메인; 및 (6) 서열번호 20에 제시된 서열을 포함하는 CDRL3 도메인을 포함하는 경쇄 가변 영역(V_L)을 포함하는 항체이다. 일부 구현예에서, CD40L 또는 CD40을 표적으로 하는 화합물은 서열번호 1, 2, 3, 또는 4에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역(V_H); 및 서열번호 5, 6, 7, 또는 8에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역(V_L)을 포함하는 항체이다.

[0013] 또한 본 명세서에는 대상체에서 적어도 하나의 바이오마커의 농도를 조절하는 방법이 개시되어 있다. 일부 구현예에서, 방법은 치료적 유효량의, CD40L 또는 CD40에 대한 화합물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 적어도 하나의 바이오마커는 NFL, CXCL13, CD40L, CXCL9, TNF-알파, En-Raged, TNFR2, IgM, IgA, I12r, CXCL10, CD40, B2M, VCAM, I1-18, I1-16, SAP, MIP1베타, MDC, C3, CRP, Fibrogen, IgE, ICAM, 인자VIII, Ena-78, Pal1, Rantes, TIMP1, vWF, I1-6, MCP1, MMP3, MMP9, MCP1, MIG, vWF, I1-8, IP10, 또는 MMP2이다. 일부 구현예에서, 화합물의 투여 후에 적어도 하나의 바이오마커의 농도는 증가한다. 일부 구현예에서, 화합물의 투여 후에 적어도 하나의 바이오마커의 농도는 감소한다. 일부 구현예에서, 화합물의 투여 후에 적어도 하나의 바이오마커의 농도는 증가하고, 적어도 하나의 다른 바이오마커의 농도는 감소한다. 일부 구현예에서, 대상체는 질환 또는 장애를 갖는다. 일부 구현예에서, 질환 또는 장애는 염증, 신경변성 질환, 또는 신경근 질환이다. 일부 구현예에서, 신경변성 질환 또는 신경근 질환은 근위축성 측색경화증, 알츠하이머병, 파킨슨병, 중증 근무력증, 다초점성 운동신경병증, 원발성 측색경화증, 척수 근위축증, 케네디병, 또는 척수소뇌 실조증이다. 일부 구현예에서, 신경변성 질환 또는 신경근 질환은 근위축성 측색경화증(ALS)이다. 일부 구현예에서, 대상체는 포유동물 및/또는 인간이다. 일부 구현예에서, 화합물은 CD40과 CD40L 사이의 상호 작용을 차단한다. 일부 구현예에서, 화합물은 항-CD40L 항체 또는 항-CD40 항체이다. 일부 구현예에서, 화합물은 테고프루바트이다. 일부 구현예에서, 화합물은 MR1 또는 5c8이다. 일부 구현예에서, 방법은 치료적 유효 용량의 투여가 대상체의 혈장에서 화합물을 5 μg/mL 내지 100 μg/mL의 농도로; 바람직하게는 30 μg/mL 내지 60 μg/mL인 용량으로 유지하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 화합물은 2주마다 적어도 1회 투여된다. 일부 구현예에서, 화합물은 적어도 12주의 기간 동안 투여된다. 일부 구현예에서, 화합물은 200 mg/kg 내지 100 mg/kg의 용량; 바람직하게는 1 mg/kg 내지 8 mg/kg의 용량; 가장 바람직하게는 2 mg/kg 내지 4 mg/kg의 용량으로 투여된다. 일부 구현예에서, 화합물은 경구, 비경구, 또는 국소로 투여된다. 일부 구현예에서, 화합물은 비경구로 투여된다. 일부 구현예에서, 화합물은 주사로, 가장 바람직하게는 정맥내, 근육내, 또는 피하 주사로 투여된다. 일부 구현예에서, 질환 또는 장애는 대장염, 약물 유도 루푸스 신염, 이식편대 숙주 질환, 면역 이식편 반응, 이식 거부 및 죽상경화증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 염증성 또는 면역 질환 또는 장애이다. 일부 구현예에서, 질환 또는 장애는 전신 홍반 루푸스, 1형 당뇨병, 중증근무력증, 염증성 장 질환, 면역 혈소판 감소성 자반증, 류마티스 관절염, 건선, 애디슨병, 크론병, 포도막염, 다발성 경화증, 용혈성 빈혈, 및 그레이브스병으로 이루어진 군으로부터 선택되는 자가면역 질환이다. 일부 구현예에서, CD40L 또는 CD40을 표적으로 하는 화합물은 (1) 서열번호 9에 제시된 서열을 포함하는 CDRH1 도메인; (2) 서열번호 10, 11, 12, 13, 또는 14에 제시된 서열을 포

함하는 CDRH2 도메인; 및 (3) 서열번호 15에 제시된 서열을 포함하는 CDRH3 도메인을 포함하는 중쇄 가변 영역(V_H)을 포함하고; (4) 서열번호 16 또는 17에 제시된 서열을 포함하는 CDRL1 도메인; (5) 서열번호 18 또는 19에 제시된 서열을 포함하는 CDRL2 도메인; 및 (6) 서열번호 20에 제시된 서열을 포함하는 CDRL3 도메인을 포함하는 경쇄 가변 영역(V_L)을 추가로 포함하는 항체이다. 일부 구현예에서, CD40L 또는 CD40을 표적으로 하는 화합물은 서열번호 1, 2, 3, 또는 4에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역(V_H); 및 서열번호 5, 6, 7, 또는 8에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역(V_L)을 포함하는 항체이다.

[0014] 또한 본 명세서에서 ALS가 있는 대상체의 ALS-FRS 점수를 유지 또는 개선하는 방법이 개시되어 있다. 일부 구현예에서, 방법은 치료적 유효 용량의, CD40L 또는 CD40에 대한 화합물을 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 치료적 유효 용량의 투여는 대상체의 혈장에서 화합물을 5 μg/mL 내지 100 μg/mL의 농도로; 바람직하게는 30 μg/mL 내지 60 μg/mL인 용량으로 유지한다.

[0015] 또한 본 명세서에는 CD40L 또는 CD40에 대한 화합물로 질환 또는 장애가 있는 대상체를 사전 스크리닝 및 치료하는 방법이 개시되어 있다. 일부 구현예에서, 방법은 대상체로부터 샘플을 수집하는 단계; 유체에 존재하는 적어도 하나의 바이오마커의 농도를 검출하는 단계로서, 적어도 하나의 바이오마커는 NFL, MMP9, MMP3, IL6, IL18, IgA, TNFR2, TNFa, IL2ra, 인자VIII, CRP, SAP, MCP1, En-Raged, MIG, vWF, IgE, IL8, IP10, C3, 또는 MMP2인, 단계; 해당 질환 또는 장애가 없는 대상체에서 적어도 하나의 바이오마커의 농도에 대해 적어도 하나의 바이오마커의 농도를 스크리닝하는 단계; 및 대상체의 혈장이 화합물의 농도를 5 μg/mL 내지 100 μg/mL인 용량; 바람직하게는 30 μg/mL 내지 60 μg/mL인 용량으로 유지하도록 치료적 유효 용량의, CD40L 또는 CD40에 대한 화합물을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 화합물은 대상체의 적어도 하나의 바이오마커의 농도가 질환 또는 장애가 없는 대상체의 적어도 하나의 바이오마커의 농도와 상당히 상이한 경우 대상체에게 투여된다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1a는 선형 농도(Y) 축을 사용하여 시간 경과에 따른 MR1 농도를 나타낸다.

도 1b는 로그 농도(Y) 축을 사용하여 시간 경과에 따른 MR1 농도를 나타낸다.

도 2는 대조군과 처리군에 대해 40일째부터 시작하여 최대 체중에 도달할 때까지의 평균 일일 체중 측정치 그래프이다.

도 3은 대조군과 처리군에 대해 최대 체중에서 사망할 때까지의 평균 일일 체중 측정치를 도시한다.

도 4는 연구 시작으로부터 신경학적 점수 2로 진행하는 데 걸리는 시간을 기준으로 질환 발병 시간을 도시한다.

도 5는 주어진 신경학적 점수 0 내지 4에서의 각각의 그룹의 중간 연령(X-축)뿐만 아니라, 주어진 점수에서의 각각의 그룹이 안정적인 일수(Y-축)를 표시하는 그래프이다.

도 6은 콕스(Cox) 비례 위험 모델로 계산된 대조군 및 처리군에 대한 카플란 마이어(Kaplan Meier) 생존 플롯을 나타낸다.

도 7A는 대조군과 MR1 처리군에 대해 40일째부터 시작하여 최대 체중에 도달할 때까지의 평균 일일 체중 측정치 그래프이다.

도 7B는 대조군과 MR1 처리군에 대해 최대 체중에서 사망할 때까지의 평균 일일 체중 측정치를 도시하는 그래프이다.

도 7C는 대조군과 MR1 처리군에서 신경학적 점수 2로 진행하는 데 걸리는 시간을 기준으로 질환 발병 시간을 나타낸다.

도 7D는 대조군과 MR1 처리군에 대해 최대 체중에서 사망할 때까지의 평균 일일 체중 측정치를 나타낸다.

도 8은 JB5 항체(원, 점선), hu5c8 항체(사각형-실선), 및 대조군 CTLA4-IgG1(삼각형)의 인간 CD40L에 대한 상대적 결합을 나타내는 그래프이다.

도 9는 hu5c8 및 JB5 VL 영역(서열번호 1), hu5c8 및 JB5 VH 영역(서열번호 2), Fc 영역(서열번호 3), JB5 Fc 영역(서열번호 4), JB5-R28K VL 영역(서열번호 5), JB5-K74R VH 영역(서열번호 6), 및 JB5 경쇄 아미노산 서열

(서열번호 7)에 대한 아미노산 서열을 제공한다.

도 10은 항-CD40L 항체 JB5를 인코딩하는 경쇄 합성 뉴클레오타이드 서열(서열번호 8)을 제공하며, 대문자는 합성 유전자의 엑손을 나타내고 소문자는 합성 유전자의 인트론 서열을 나타내며, 또한 항-CD40L 항체 JB5의 중쇄 아미노산 서열(서열번호 9)을 제공한다.

도 11은 항-CD40L 항체 JB5의 중쇄를 인코딩하는 합성 핵산 서열(서열번호 10)을 제공하며, 대문자는 합성 유전자의 엑손을 나타내고 소문자는 합성 유전자의 인트론 서열을 나타낸다.

도 12는 항-CD40L 항체 JB5-R28K의 아미노산 서열(서열번호 11), 항-CD40L 항체 JB5-R28K의 경쇄를 인코딩하는 합성 핵산 서열(서열번호 12)을 제공하며, 대문자는 합성 유전자의 엑손을 나타내고 소문자는 합성 유전자의 인트론 서열을 나타내며, 또한 항-CD40L 항체 JB5-K74R의 중쇄 아미노산 서열(서열번호 13)을 제공한다.

도 13은 항-CD40L 항체 JB5-K74R의 중쇄를 인코딩하는 합성 핵산 서열(서열번호 14)을 제공하며, 대문자는 합성 유전자의 엑손을 나타내고 소문자는 합성 유전자의 인트론 서열을 나타낸다.

도 14는 항-CD40L 항체 JB5의 중쇄 및 경쇄의 CDR의 아미노산 서열(각각 서열번호 15 내지 20) 및 hu5C8 중쇄의 아미노산 서열(서열번호 21)을 제공한다.

도 15a는 항-CD40L 항체 5c8에 대한 16개 항체 클론의 순위가 매겨진 효능을 나타내는 막대 그래프이다. 순위가 매겨진 효능은 IC50 클론 / 5c8의 IC50 x 100이다.

도 15b는 항-CD40L 항체 AT-1501에 대한 16개 항체 클론의 순위가 매겨진 효능을 나타내는 막대 그래프이다. 순위가 매겨진 효능은 IC50 클론 / AT-1501의 IC50 x 100이다.

도 16a 내지 16g 및 16i 내지 16q는 5c8에 대한 결합 곡선과 함께 각각의 클론의 항체의 결합 곡선을 나타낸다. 도 16h는 AT-1501 및 5c8의 결합 곡선을 나타낸다.

도 17a 내지 17g 및 17i 내지 17q는 AT-1501에 대한 결합 곡선과 함께 각각의 클론의 항체의 결합 곡선을 나타낸다. 도 17h는 AT-1501 및 5c8의 결합 곡선을 나타낸다.

도 18a 및 18b는 각각 FcɣRI에 대한 8개의 항체 클론, 5c8, AT-1501 및 아바타셉트의 결합을 나타내는 그래프이다. 유의한 결합을 갖는 유일한 항체는 5c8 항체이다.

도 19a 및 19b는 각각 FcɣRIIa에 대한 8개의 항체 클론, 5c8, AT-1501 및 아바타셉트의 결합을 나타내는 그래프이다. 유의한 결합을 갖는 유일한 항체는 5c8 항체이다.

도 20a 및 20b는 각각 FcɣRIIIa에 대한 8개의 항체 클론, 5c8, AT-1501 및 아바타셉트의 결합을 나타내는 그래프이다. 항체 중 어느 것도 FcɣRIIIa에 대한 유의한 결합을 나타내지 않았다.

도 20c 및 20d는 각각 FcɣRIIIb에 대한 8개의 항체 클론, 5c8, AT-1501 및 아바타셉트의 결합을 나타내는 그래프이다. 항체 중 어느 것도 FcɣRIIIb에 대한 유의한 결합을 나타내지 않았다.

도 21a 및 21b는 각각 C1q에 대한 8개의 항체 클론, 5c8, AT-1501 및 아바타셉트의 결합을 나타내는 그래프이다. C1q에 대한 유의한 결합을 갖는 유일한 항체는 5c8 항체이다.

도 22는 실시예 1에 개괄된 임상 시험의 일부로 인간 대상체에게 AT-1501을 투여한 시점의 개략적 예시를 나타낸다. -28일째에서 -4일째에 "사전 스크리닝" 기준 평가를 위해 대상체에서 혈액(바이오샘플)을 수집한 다음, 총 101일 동안 2주마다 1회 대상체에게 용량을 투여하였다. 각각의 투약일에, 약물 투여 전 사전 스크리닝을 위해 혈액을 수집하고, 수혈 2시간 후 다시 수집하였다.

도 23은 시간 경과에 따른 1 mg/kg, 2 mg/kg, 4 mg/kg, 또는 8 mg/kg을 투약받은 대상체에서 AT-1501의 농도를 나타낸다. X 축은 초기 투약 이후의 일수이고, Y 축은 혈장에 존재하는 AT-1501의 농도(단위: μg/mL)이다.

도 24a 내지 24i는 9개의 ADA-양성 샘플, 혈액 내 AT-1501의 농도, 및 ADA가 검출된 시간(원)을 나타낸다. 이 도면은 환자 103202(도 24a), 104202(도 24b), 105202(도 24c), 105205(도 24d), 105206(도 24e), 108202(도 24f), 108203(도 24g), 108204(도 24h), 및 108205(도 24i)의 혈장에서 ADA 역가의 양성 검출을 나타낸다.

도 25는 1, 2, 4, 또는 8 mg/kg의 AT-1501에 노출된 후 대상체의 단백질 변화에 대한 히트맵을 나타낸다.

도 26a 내지 26b는 기준선과 비교하여 4, 6, 8, 10, 및 12주째에 1, 2, 4, 또는 8 mg/kg의 AT-1501에 노출된 후 인간 대상체에서 바이오마커 CXCL13의 변화 백분율을 나타낸다. 도 26b는 12주째의 데이터를 확대한 것이다.

도 27a 내지 27b는 기준선과 비교하여 4, 6, 8, 10, 및 12주째에 1, 2, 4, 또는 8 mg/kg의 AT-1501에 노출된 후 인간 대상체에서 바이오마커 CD40L의 변화 백분율을 나타낸다. 도 27b는 12주째의 데이터를 확대한 것이다. "*"는 p-값이 0.05와 0.01 사이임을 나타내고; "**"는 p-값이 0.01과 0.001 사이임을 나타내며; "***"는 p-값이 0.001 미만임을 나타낸다.

도 28a 내지 28b는 기준선과 비교하여 4, 6, 8, 10, 및 12주째에 1, 2, 4, 또는 8 mg/kg의 AT-1501에 노출된 후 인간 대상체에서 바이오마커 CD40의 변화 백분율을 나타낸다. 도 28b는 12주째의 데이터를 확대한 것이다. "*"는 p-값이 0.05와 0.01 사이임을 나타내고; "**"는 p-값이 0.01과 0.001 사이임을 나타내며; "***"는 p-값이 0.001 미만임을 나타낸다.

도 29a 내지 29l은 CD40L/CD40을 표적으로 하는 화합물로 12주 동안 치료한 후, 인간 대상체의 혈장에서 단백질 농도의 변화 백분율을 나타낸다. 각각의 그래프는 1, 2, 4, 또는 8 mg/kg의 AT-1501을 투약한 환자에서 단백질의 평균 변화를 나타낸다. 각각의 그래프는 각각 평가된 단백질 중 총 단백질 농도의 가장 큰 감소를 나타내며, 평가된 단백질은 각각 CD40L(도 29a), CXCL13(도 29b), CXCL9(도 29c), TNF-알파(도 29d), En-Raged(도 29e), TNFR2(도 29f), IgM(도 29g), IgA(도 29h), I12r(도 29i), CXCL10(도 29j), CD40(도 29k), 및 B2M(도 29l)에 대한 것이었다. "*"는 p-값이 0.05와 0.01 사이임을 나타내고; "**"는 p-값이 0.01과 0.001 사이임을 나타내며; "***"는 p-값이 0.001 미만임을 나타낸다.

도 30a 내지 30l은 CD40L/CD40을 표적으로 하는 화합물로 12주 동안 치료한 후, 인간 대상체의 혈장에서 단백질 농도의 변화 백분율을 나타낸다. 각각의 그래프는 1, 2, 4, 또는 8 mg/kg의 AT-1501을 투약한 환자에서 단백질의 평균 변화를 나타낸다. 각각의 그래프는 각각 VCAM(도 30a), IL-18(도 30b), IL-16(도 30c), SAP(도 30d), MIP1-베타(도 30e), MDC(도 30f), C3(도 30g), CRP(도 30h), 피브리노겐(도 30i), IgE(도 30j), ICAM(도 30k), 및 MCP1(도 30l) 각각에 대한 총 단백질 농도의 감소를 나타낸다. "*"는 p-값이 0.05와 0.01 사이임을 나타내고; "**"는 p-값이 0.01과 0.001 사이임을 나타내며; "***"는 p-값이 0.001 미만임을 나타낸다.

도 31a 내지 31e는 CD40L/CD40을 표적으로 하는 화합물로 12주 동안 치료한 후, 인간 대상체의 혈장에서 단백질 농도의 변화 백분율을 나타낸다. 각각의 그래프는 1, 2, 4, 또는 8 mg/kg의 AT-1501을 투약한 환자에서 단백질의 평균 변화를 나타낸다. 각각의 그래프는 각각 IL-6(도 31a), ENA-78(도 31b), RANTES(도 31c), MMP3(도 31d), 및 MMP9(도 31e) 각각에 대한 총 단백질 농도의 증가를 나타낸다. "*"는 p-값이 0.05와 0.01 사이임을 나타내고; "**"는 p-값이 0.01과 0.001 사이임을 나타내며; "***"는 p-값이 0.001 미만임을 나타낸다.

도 32는 1, 2, 4, 또는 8 mg/kg 투약량으로 AT-1501로 12주 동안 치료한 후, 인간 대상체의 혈장에서 NFL의 농도의 변화 백분율을 나타낸다.

도 33a 내지 33d는 11주에 걸쳐 인간 대상체 코호트에 대한 ALS-FRS 점수의 총 변화를 나타낸다. ALS-FRS 점수는 임상의가 평가하였다. 데이터는 1 mg/kg의 AT-1501 치료, 2 mg/kg의 AT-1501 치료, 4 mg/kg의 AT-1501 치료, 8 mg/kg의 AT-1501 치료를 받거나, "Proact" 치료를 받지 않은 대상체로 구분된다. 도 33a는 임상 시험에 참여한 모든 환자의 점수를 합한 것이다. 도 33b는 더 이상 등록 기준을 충족하지 않는 환자의 점수를 제거하였다. 도 33c는 치료-관련 부작용을 보고한 환자의 점수를 제거하였다. 도 33d는 치료에 가장 잘 반응한 환자를 제외한, 모든 환자의 점수를 제거하였다.

도 34는 7주에 걸쳐 인간 대상체에 대한 ALS-FRS 점수의 변화를 나타낸다. 이 경우, 대상체는 결합되지 않고, 데이터는 AT-1501을 이용한 치료에 대한 반응자(회색)과 비-반응자(짙은 회색)로 그룹화되어 있다.

도 35는 치료 전 대상체의 단백질의 농도(log2)에 대한 중첩된 점 플롯을 나타낸다. 값은 단백질 유형(X-축)과, AT-1501을 이용한 이후 치료에 대한 비-반응자(왼쪽, 밝은 회색) 및 반응자(짙은 회색)로 구분된다. 각각의 클러스터의 수평선은 해당 클러스터에 대한 평균 값을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 다음 상세한 설명에서는, 상세한 설명의 일부를 형성하는, 첨부된 도면을 참조한다. 도면에서, 유사한 기호는 문맥이 달리 지시하지 않는 한, 통상적으로 유사한 구성요소를 식별한다. 상세한 설명, 도면, 및 청구범위에 기재된 예시적인 구현예는 제한적이지 않다. 다른 구현예가 이용될 수 있으며, 본 명세서에 제시된 주제의 사상

또는 범주를 벗어나지 않으면서 다른 변화가 이루어질 수 있다. 일반적으로 본 명세서에 기재되고, 도면에 예시된 바와 같은 본 개시내용의 양태는 매우 다양한 상이한 구성으로 배열, 치환, 조합, 분리, 및 설계될 수 있으며, 이들 모두 본 명세서에 명시적으로 고려됨이 쉽게 이해될 것이다. 본 명세서에 인용된 모든 참조문헌은 본 명세서에 언급된 특정 개시내용을 위해 본 명세서에 전문이 참조로 명시적으로 포함된다.

[0018] 본 개시내용은 치료적 유효량의, CD40과 CD40L의 상호 작용을 차단하는 화합물을 투여함으로써 신경변성 또는 신경근 장애가 있는 환자를 치료하는 방법을 기재한다. 본 개시내용은 또한 CD40과 CD40L의 상호 작용을 차단하는 화합물을 CD28과 CD86 사이 또는 CD28과 CD80 사이의 상호 작용을 차단하는 화합물과 함께 공동 투여함으로써 환자를 치료하는 방법을 기재한다. 일부 구현예는 하나 이상의 바이오마커의 수준을 측정하는 단계를 포함하여, 치료에 대한 반응을 예측 및/또는 측정하는 방법에 관한 것이다. 구현예는 또한 하나 이상의 바이오마커의 수준을 조절하는 방법에 관한 것이다.

[0019] 약어 및 정의

[0020] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 본 명세서에서 참조된 모든 특허, 출원, 공개된 출원 및 기타 간행물은 달리 언급되지 않는 한 전문이 참조로 포함된다. 본 명세서에서 용어에 대한 복수의 정의가 있는 경우, 달리 언급되지 않는 한 이 섹션의 정의가 우선한다.

[0021] 당업자는 출발 물질, 생물학적 및 화학적 물질, 생물학적 및 화학적 시약, 합성 방법, 정제 방법, 분석 방법, 검정 방법, 및 구체적으로 예시된 방법 이외의 생물학적 방법이 과도한 실험에 의존하지 않고 구현예의 실시에 이용될 수 있음을 이해할 것이다. 그러한 임의의 물질 및 방법의 모든 당업계에 알려진 기능적 동등물은 본 개시내용에 포함되는 것으로 의도된다.

[0022] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "하나"("a" 또는 "an")는 하나 이상을 의미할 수 있다.

[0023] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "약" 또는 "대략"은 당업자에 의해 이해되는 바와 같은 일반적인 의미를 가지며, 따라서 값이 값을 결정하는 데 이용되는 방법에 대한 내재적 오차 변동, 또는 여러 결정 중에 존재하는 변동을 포함한다는 것을 나타낸다.

[0024] 접속사 "또는"의 사용은 "~ 중 적어도 하나"와 호환 가능하게 사용된다. 예를 들어, 조성물이 A 또는 B를 포함하는 경우, 방법은 A 및 B 중 적어도 하나를 포함하여야 하지만, 또한 A와 B를 둘 다 포함할 수 있다. 마찬가지로, "A, B, C 또는 D"를 포함하는 조성물은 A, B, C 및 D의 그룹 중 적어도 하나를 포함하여야 하지만, 또한 A, B, C 및 D의 모든 또는 임의의 조합을 포함할 수 있다.

[0025] 아미노산 치환은 원래 아미노산, 명시된 서열에서 아미노산의 위치 및 대체 아미노산이 식별되는 규칙으로 표시되며, 예를 들어 C11S는 폴리펩타이드 서열의 위치 11에 있는 시스테인이 세린으로 대체됨을 나타낸다.

[0026] 인간화 항체는 인간에서 자연적으로 생성되는 항체 변이체와의 유사성을 증가시키기 위해 단백질 서열이 변형된 비-인간 종으로부터 생성된 항체이다. "인간화" 과정은 보통 인간에게 투여하기 위해 개발된 모노클로날 항체(예를 들어, 항암 약물로 개발된 항체)에 적용된다.

[0027] 현재 비-인간 동물에서 생성된 항체 유래의 관련 CDR을 인간 항체 "스캐폴드"에 삽입함으로써 비-인간 항체를 인간화하는 것이 일반적이다. 인간화 항체의 "직접" 생성은 적절한 CDR 코딩 절편(원하는 결합 특성을 담당함)을 인간 항체 "스캐폴드"에 삽입함으로써 달성될 수 있다. 이는 적절한 벡터 및 포유동물 세포에서의 발현을 사용하는 재조합 DNA 방법을 통해 달성될 수 있다. 즉, 마우스(또는 다른 비-인간)에서 원하는 특성을 갖도록 항체가 개발된 후, 해당 항체를 코딩하는 DNA를 단리하여 벡터로 클로닝하고 시퀀싱할 수 있다. 그 다음 해당 항체 CDR에 해당하는 DNA 서열이 결정될 수 있다. 원하는 CDR의 정확한 서열을 알게 되면, 이러한 서열을 인간 항체 변이체에 대한 DNA를 포함하는 작제물로 적절하게 삽입하기 위한 전략을 고안할 수 있다. CDR은 또한 스캐폴드에 삽입하기 전에, 예를 들어 특이성을 증가시키기 위해 다양할 수 있다.

[0028] 용어 "인간" 항체는 인간에 의해 생성된 항체에 상응하는 아미노산 서열을 갖고/갖거나 인간 항체를 제조하기 위한 임의의 기법을 사용하여 제조된 항체를 지칭한다. 인간 항체의 이러한 정의는 구체적으로 비-인간 항원 결합 잔기를 포함하는 인간화 항체를 배제한다.

[0029] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "변이체"는 야생형 서열의 변형 또는 변경된 형태로 정의되며, 예를 들어 하나 이상의 아미노산이 실질적으로 기능에 영향을 미치지 않는 다른 아미노산(들) 또는 비-아미노산(들)으로 대체될 수 있다. 일부 구현예에서, 변이체는 적어도 하나의 아미노산 잔기에 대해 변경된 측쇄를 포함할 수

있다.

[0030] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "항원"은 항체의 생성을 자극하고 항체와 특이적으로 결합할 수 있는 실체 및/또는 면역계 반응을 유발하는 실체로 정의된다. 예를 들어, 세포 표면 단백질 또는 이의 특정 선형 또는 비-선형 부분. 본 명세서에서 이 용어는 "Ag"로 약칭될 수 있다.

[0031] "항원 결합 항체 단편"은 온전한 항체가 결합하는 항원에 결합하는 온전한 항체의 일부를 포함하는 온전한 항체 이외의 분자를 지칭한다. 항체 단편의 예로는 Fv, Fab, Fab', Fd 단편, dAb 단편, Fab'-SH, F(ab')2; 디아바디; 트리아바디; 선형 항체; 단일-사슬 항체 분자(예를 들어, scFv); 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체, 항체의 초가변 영역을 모방하는 아미노산 잔기로 이루어진 최소 인식 단위(예를 들어, 단리된 상보성 결정 영역(CDR), 예컨대 CDR3 펩타이드)가 포함되지만 이에 제한되지 않는다. 본 출원에 개시된 바와 같은 항원 결합 단편은 항원 CD40L에 결합한다.

[0032] 항체의 항원-결합 단편은 통상적으로 적어도 하나의 가변 도메인을 포함할 것이다. 가변 도메인은 임의의 크기 또는 아미노산 조성을 가질 수 있으며, 일반적으로 하나 이상의 프레임워크 서열에 인접하거나 이의 프레임 내에 있는 적어도 하나의 CDR을 포함할 것이다. VL 도메인과 연관된 VH 도메인을 갖는 항원-결합 단편에서, VH 및 VL 도메인은 임의의 적합한 배열로 서로에 대해 위치할 수 있다. 예를 들어, 가변 영역은 이량체이고, VH-VH, VH-VL 또는 VL-VL 이량체를 포함할 수 있다. 대안적으로, 항체의 항원-결합 단편은 단량체 VH 또는 VL 도메인을 포함할 수 있다.

[0033] 단리된 항체는 항체 또는 항원 결합 단편의 각각의 아암(arm)이 상이한 표적 또는 에피토프에 결합하는 이중특이적 항체를 포함한다.

[0034] 용어 "전장 항체", "온전한 항체", 및 "전체 항체"는 천연 항체 구조와 실질적으로 유사한 구조를 갖거나 Fc 영역을 포함하는 중쇄를 갖는 항체를 지칭하도록 본 명세서에서 호환 가능하게 사용된다.

[0035] "5c8"은 CD40L에 결합하는 마우스 항-인간 항체를 지칭하며, 수탁 번호가 HB10916인 ATCC에서 이용 가능한 하이브리도마에 의해 생산되고 미국 특허 5,474,771에 기재되어 있다. "hu5c8"은 문헌[Karpusas, et al., Structure vol. 9, pp 321-329, (2001)]에 개시된 서열을 갖는 5c8의 인간화 버전을 지칭한다.

[0036] 용어 "특이적으로 결합한다" 등은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 생리학적 조건 하에서 비교적 안정적인 항원과 복합체를 형성하는 것을 의미한다. 특이적 결합은 약 3000 nM 이하(즉, 더 작은 KD는 더 단단한 결합을 나타냄), 약 2000 nM 이하, 약 1000 nM 이하; 약 500 nM 이하; 약 300 nM 이하; 약 200 nM 이하; 약 100 nM 이하; 약 50 nM 이하; 약 1 nM 이하; 또는 약 0.5 nM의 평형 해리 상수(KD)로 특성화될 수 있다.

[0037] 특정 항원 또는 에피토프에 대한 특이적 결합은, 예를 들어 항원 또는 에피토프에 대한 KD가 적어도 약 1×10^{-4} M, 적어도 약 1×10^{-5} M, 적어도 약 1×10^{-6} M, 적어도 약 1×10^{-7} M, 적어도 약 1×10^{-8} M, 적어도 약 1×10^{-9} M, 대안적으로 적어도 약 1×10^{-10} M, 적어도 약 1×10^{-11} M, 적어도 약 1×10^{-12} M, 또는 그 이상인 항체에 의해 나타날 수 있으며, 여기서 KD는 특정 항체-항원 상호 작용의 평형 해리 상수를 지칭한다. 통상적으로, 항원에 특이적으로 결합하는 항체는 KD가, 항원 또는 에피토프에 비해 대조군 분자에 대해 20-, 50-, 100-, 500-, 1000-, 5,000-, 10,000-배 또는 그 이상 더 클 것이다. 또한, 특정 항원 또는 에피토프에 대한 특이적 결합은, 예를 들어 항원 또는 에피토프에 대한 Ka가 대조군에 비해 에피토프에 대해 적어도 20-, 50-, 100-, 500-, 1000-, 5,000-, 10,000-배 또는 그 이상인 항체에 의해 나타날 수 있으며, 여기서 Ka는 특정 항체-항원 상호 작용의 회합률을 지칭한다.

[0038] 용어 "중화 항체"는 CD40L의 생물학적 활성을 억제 및/또는 중화할 수 있는 항체, 예를 들어 CD40에 대한 CD40L의 결합을 억제 또는 방지 또는 감소시키고, 따라서 CD40L에 의해 촉발되는 신호전달 경로를 억제 또는 감소시키고/시키거나 CD40에 대한 CD40L의 결합을 억제 또는 감소시키는 항-CD40L 항체 또는 이의 항원 단편을 포함한다.

[0039] 용어 "길항 항체" 또는 "길항제 항체"는 본 명세서에서 동등하게 사용되며, 상기 중화 항체에 대해 기재된 바와 같이, CD40L의 생물학적 신호전달 활성을 억제 및/또는 중화할 수 있는 항체를 포함한다.

[0040] 본 명세서에서 이용된 용어 및 표현은 설명의 용어로 사용되고 제한적인 용어가 아니며, 그러한 용어 및 표현을 사용함에 있어서 나타내고 기재된 특징 또는 이의 일부의 임의의 동등물을 배제하려는 의도는 없지만, 다양한 변형이 청구된 구현예의 범주 내에서 가능하다는 것이 인정된다. 따라서, 본 개시내용의 양태가 바람직한 구현

예, 예시적인 구현예 및 선택적인 특징을 포함할 수 있는 다양한 구현예에 의해 구체적으로 개시되었지만, 당업자에 의해 본 명세서에 개시된 개념의 변형 및 변화가 이루어질 수 있음이 이해되어야 한다. 그러한 변형 및 변화는, 기재된 바와 같고 첨부된 청구범위에 의해 정의될 수 있는 본 개시내용의 구현예의 범주 내에 있는 것으로 간주된다.

[0041] 명세서에서 폴리펩타이드 또는 아미노산 서열 사이의 동일성 백분율이 언급된다. 두 서열 사이의 동일성 백분율은 갭의 수와 각각의 갭의 길이(이는 두 서열의 최적 정렬을 위해 도입되어야 함)를 고려하여 서열이 공유하는 동일한 위치의 수의 함수이다. 동일성은 "로컬 동일성" 또는 "글로벌 동일성"으로 측정될 수 있다. 로컬 동일성은 그러한 서열의 문자열 사이의 일치에 의해 결정되는 바와 같은 폴리펩타이드 사이의 서열 관련성의 정도를 지칭한다. 글로벌 동일성은 참조 폴리펩타이드의 전장과 비교하여 폴리펩타이드의 서열 관련성의 정도를 지칭한다. 달리 명시되지 않는 한, 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 동일성은 글로벌 동일성을 의미한다. 본 개시내용의 목적을 위해, 글로벌 동일성에 대한 백분율은 갭 페널티가 12, 갭 연장 페널티가 4, 및 프레임시프트 갭 페널티가 5인 Blossum 62 스코어링 매트릭스를 사용하는 Needleman 및 Wunsch((1970) J. Mol. Biol. 48:444-453) 알고리즘을 사용하여 계산된다. Needleman 및 Wunsch 알고리즘을 통합한 공개적으로 이용 가능한 소프트웨어 프로그램이 많이 있으며, 예를 들어 GCG 소프트웨어 패키지의 GAP 프로그램이 있다.

[0042] CD40L은 또한 CD154, gp39, T-BAM, 5c8 항원, 또는 TNF 관련 활성화 단백질(TRAP)로도 알려져 있다.

[0043] 본 명세서 전반에 걸쳐, 문맥이 달리 요구하지 않는 한, 단어 "포함하다", "포함한다" 및 "포함하는"은 언급된 단계 또는 요소 또는 단계 또는 요소의 그룹을 포함하는 것을 의미하지만, 임의의 다른 단계 또는 요소 또는 단계 또는 요소의 그룹을 제외하지 않는 것으로 이해될 것이다. "~로 이루어진"이란, 어구 "~로 이루어진" 앞에 오는 모든 것을 포함하고자 하고, 이로 제한된다. 따라서, 어구 "~로 이루어진"은 열거된 요소가 요구되거나 필수적이며, 다른 요소가 존재하지 않을 수 있음을 나타낸다. "~로 본질적으로 이루어진"이란, 상기 어구 앞에 열거된 임의의 요소를 포함하고자 하고, 열거된 요소에 대해 본 개시내용에 명시된 활성 또는 작용을 방해하거나 이에 기여하지 않는 다른 요소로 제한된다. 따라서, 어구 "~로 본질적으로 이루어진"은 열거된 요소가 요구되거나 필수적이지만, 다른 요소는 선택 사항이며 열거된 요소의 활성 또는 작용에 실질적으로 영향을 미치는지 여부에 따라 존재할 수도 있고 존재하지 않을 수도 있음을 나타낸다.

[0044] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "기능" 및 "기능적"은 본 명세서에 비추어 이해되는 평범하고 일반적인 의미를 가지며, 생물학적, 효소적, 또는 치료적 기능을 지칭한다.

[0045] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 임의의 주어진 물질, 화합물, 또는 재료의 "수율"이라는 용어는 본 명세서에 비추어 이해되는 평범하고 일반적인 의미를 가지며, 예상되는 전체 양에 대한 물질, 화합물, 또는 재료의 실제 전체 양을 지칭한다. 예를 들어, 물질, 화합물, 또는 재료의 수율은 예상되는 전체 양의 80, 81, 82, 83, 84, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100%이거나, 약 80, 81, 82, 83, 84, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100%이거나, 적어도 80, 81, 82, 83, 84, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100%이거나, 적어도 약 80, 81, 82, 83, 84, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100%이거나, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100% 이하이거나, 약 80, 81, 82, 83, 84, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100% 이하이며 그 사이의 모든 소수를 포함한다. 수율은 생산의 임의의 단계 동안 반응 또는 공정의 효율성, 원치않는 부반응, 저하, 투입 물질, 화합물, 또는 재료의 품질, 또는 원하는 물질, 화합물, 또는 재료의 손실에 의해 영향을 받을 수 있다.

[0046] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "단리된"은 명세서에 비추어 이해되는 평범하고 일반적인 의미를 가지며, (1) 처음 생산될 때(자연에서 및/또는 실험적 환경에서) 연관된 구성요소 중 적어도 일부로부터 분리되고/되거나, (2) 사람의 손으로 생산, 제조, 및/또는 제작된 물질 및/또는 실체를 지칭한다. 단리된 물질 및/또는 실체는 처음에 연관된 다른 구성요소의 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 98%, 약 99%, 실질적으로 100%, 또는 100%와 동일한 양, 약 이러한 양, 적어도 이러한 양, 적어도 약 이러한 양, 이러한 양 이하, 또는 약 이러한 양 이하(또는 상기 언급된 값을 포함하고/하거나 이에 걸친 범위)로부터 분리될 수 있다. 일부 구현예에서, 단리된 작용제는 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 실질적으로 100%, 또는 100%(또는 상기 언급된 값을 포함하고/하거나 이에 걸친 범위) 순수하거나, 약 이 값으로 순수하거나, 적어도 이 값으로 순수하거나, 적어도 약 이 값으로 순수하거나, 이 값 이하로 순수하거나, 약 이 값 이하로 순수하다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "단리된" 물질은 "순수"할 수 있다(예를 들어, 다른 구성요소가 실질적으로 없음). 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "단리된 세포"는 다세포 유기체 또는 조직에 포함되지 않는 세포를 지칭할 수 있다.

[0047] 용어 "단리된 단백질" 또는 "단리된 폴리펩타이드"(예를 들어, 단리된 항체 또는 단리된 항원 결합 단편)는 그 기원 또는 유래의 출처로 인해 천연 상태에서 동반되는 자연적으로 회합된 구성요소와 회합되지 않거나; 동일한 종 유래의 다른 단백질이 실질적으로 없거나; 상이한 종 유래의 세포에 의해 발현되거나; 자연에서 발생하지 않는 단백질 또는 폴리펩타이드이다. 따라서, 화학적으로 합성되거나, 자연적으로 유래된 세포와 상이한 세포 시스템에서 합성된 폴리펩타이드는 자연적으로 회합된 구성요소로부터 "단리"될 것이다. 단백질은 또한 당업계에서 잘 알려진 단백질 정제 기법을 사용하여 단리에 의해 자연적으로 회합된 구성요소가 실질적으로 없도록 만들어질 수 있다.

[0048] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "생체 내"는 본 명세서에 비추어 이해되는 평범하고 일반적인 의미로 제공되며, 조직 추출물 또는 죽은 유기체와 대조적으로 살아있는 유기체, 보통 동물, 포유동물(인간을 포함함), 및 식물, 또는 이러한 살아있는 유기체를 구성하는 살아있는 세포 내에서 방법을 수행하는 것을 지칭한다.

[0049] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "생체 외"는 본 명세서에 비추어 이해되는 평범하고 일반적인 의미로 제공되며, 자연 조건을 거의 변경하지 않고 살아있는 유기체 외부에서 방법을 수행하는 것을 지칭한다.

[0050] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "시험관 내"는 본 명세서에 비추어 이해되는 평범하고 일반적인 의미로 제공되며, 생물학적 조건 외부에서, 예를 들어 페트리 접시 또는 시험관에서 방법을 수행하는 것을 지칭한다.

[0051] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "핵산", "핵산 분자", 또는 "뉴클레오타이드"는 폴리뉴클레오타이드 또는 올리고뉴클레오타이드, 예컨대 데옥시리보핵산(DNA) 또는 리보핵산(RNA), 올리고뉴클레오타이드, 중합효소 연쇄 반응(PCR)에 의해 생성된 단편, 및 결찰, 절단, 엔도뉴클레아제 작용, 엑소뉴클레아제 작용 중 임의의 것, 및 합성 생성에 의해 생성된 단편을 지칭한다. 핵산 분자는 자연적으로 발생하는 뉴클레오타이드(예컨대, DNA 및 RNA)인 단량체, 또는 자연적으로 발생하는 뉴클레오타이드의 유사체(예를 들어, 자연적으로 발생하는 뉴클레오타이드의 거울상이성질체 형태), 또는 둘 다의 조합으로 구성될 수 있다. 변형된 뉴클레오타이드는 당 모이어티 및/또는 피리미딘 또는 퓨린 염기 모이어티에 변경이 있을 수 있다. 당 변형은, 예를 들어 하나 이상의 하이드록실 기를 할로겐, 알킬 기, 아민, 및 아지도 기로 대체하는 것을 포함하거나, 당은 에테르 또는 에스테르로서 기능화될 수 있다. 더욱이, 전체 당 모이어티는 아자-당 및 탄소환 당 유사체와 같은 입체적 및 전자적으로 유사한 구조로 대체될 수 있다. 염기 모이어티의 변형의 예로는 알킬화 퓨린 및 피리미딘, 아실화 퓨린 또는 피리미딘, 또는 다른 잘 알려진 헤테로사이클릭 치환기가 포함된다. 핵산 단량체는 포스포디에스테르 결합 또는 그러한 연결의 유사체에 의해 연결될 수 있다. 포스포디에스테르 연결의 유사체로는 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포로셀레노에이트, 포스포로디셀레노에이트, 포스포로아닐로티오에이트, 포스포르아닐리데이트, 포스포르아미데이트 등이 포함된다. 용어 "핵산 분자"는 또한 소위 "펩타이드 핵산"을 포함하며, 이는 폴리아미드 백본에 부착된 자연적으로 발생하거나 변형된 핵산 염기를 포함한다. 핵산은 단일 가닥 또는 이중 가닥일 수 있다.

[0052] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "펩타이드", "폴리펩타이드", 및 "단백질"은 본 명세서에 비추어 이해되는 평범하고 일반적인 의미를 가지며, 펩타이드 결합에 의해 연결된 아미노산으로 구성되는 거대분자를 지칭한다. 펩타이드, 폴리펩타이드, 및 단백질의 수많은 기능은 당업계에 알려져 있으며, 효소, 구조, 수송, 방어, 호르몬, 또는 신호전달이 포함되지만 이에 제한되지 않는다. 펩타이드, 폴리펩타이드, 및 단백질은 항상 그런 것은 아니지만 종종 핵산 주형을 사용하여 리보솜 복합체에 의해 생물학적으로 생성되지만, 화학적 합성도 또한 이용 가능하다. 핵산 주형을 조작함으로써, 펩타이드, 폴리펩타이드, 및 단백질 돌연변이, 예컨대 치환, 결실, 절단, 첨가, 복제, 또는 하나 초과의 펩타이드, 폴리펩타이드, 또는 단백질의 융합이 수행될 수 있다. 하나 초과의 펩타이드, 폴리펩타이드, 또는 단백질의 이러한 융합은 동일한 분자에서 인접하게 연결되거나, 그 사이에 추가 아미노산, 예를 들어 링커, 반복부, 에피토프, 또는 태그, 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 150, 200, 또는 300개의 염기 길이, 약 이러한 염기 길이, 적어도 이러한 염기 길이, 적어도 약 이러한 염기 길이, 이러한 염기 길이 이하, 또는 약 이러한 염기 길이 이하, 또는 상기 언급한 길이 중 임의의 2개에 의해 정의된 범위의 임의의 길이인 다른 서열과 연결될 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 폴리펩타이드의 "하류"라는 용어는 본 명세서에 비추어 이해되는 평범하고 일반적인 의미를 가지며, 이전 서열의 C-말단 뒤에 있는 서열을 지칭한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 폴리펩타이드의 "상류"라는 용어는 본 명세서에 비추어 이해되는 평범하고 일반적인 의미를 가지며, 후속 서열의 N-말단 앞에 있는 서열을 지칭한다.

[0053] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "유전자"는 본 명세서에 비추어 이해되는 평범하고 일반적인 의미를 가지며, 일반적으로 단백질 또는 기능적 RNA를 인코딩하는 핵산의 일부를 지칭하지만; 이 용어는 선택적으로 조절

서열을 포함할 수 있다. 용어 "유전자"는 유전자 조절 서열(예를 들어, 프로모터, 인핸서 등) 및/또는 인트론 서열을 포함할 수 있는 것을 당업자는 이해할 것이다. 유전자의 정의는 단백질을 인코딩하지 않지만 tRNA 및 miRNA와 같은 기능적 RNA 분자를 인코딩하는 핵산에 대한 언급을 포함하는 것을 추가로 이해할 것이다. 일부 경우에, 유전자는 전사, 또는 메시지 생성 또는 조성물에 관여하는 조절 서열을 포함한다. 다른 구현예에서, 유전자는 단백질, 폴리펩타이드, 또는 펩타이드를 인코딩하는 전사된 서열을 포함한다. 본 명세서에 기재된 용어에 따라, "단리된 유전자"는 다른 자연적으로 발생하는 유전자, 조절 서열, 폴리펩타이드, 또는 펩타이드 인코딩 서열 등과 같은 다른 그러한 서열로부터 실질적으로 단리된, 전사된 핵산(들), 조절 서열, 코딩 서열 등을 포함할 수 있다. 이와 관련하여, 용어 "유전자"는 단순화를 위해 전사된 뉴클레오타이드 서열, 및 이의 보체를 포함하는 핵산을 지칭하는 데 사용된다. 당업자가 이해할 바와 같이, 이러한 기능적 용어 "유전자"는 게놈 서열 모두, RNA 또는 cDNA 서열, 또는 더 작은 조작된 핵산 절편(유전자의 비-전사 프로모터 또는 인핸서 영역을 포함하지만 이에 제한되지 않는 유전자의 비-전사 부분의 핵산 절편을 포함함)을 포함한다. 더 작은 조작된 유전자 핵산 절편은 핵산 조작 기술, 단백질, 폴리펩타이드, 도메인, 펩타이드, 융합 단백질, 돌연변이체 및/또는 이와 유사한 것을 사용하여 발현할 수 있거나 발현하도록 조정될 수 있다.

[0054] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "개체", "대상체", "숙주", 또는 "환자"는 당업자가 이해하는 바와 같은 일반적인 의미를 가지므로, 인간 또는 비-인간 포유동물을 포함한다. 용어 "포유동물"은 이의 일반적인 생물학적 의미로 사용된다. 따라서, 이에는 구체적으로 시미안(simian)(침팬지, 유인원, 원숭이)을 포함한 영장류, 인간, 소, 말, 양, 염소, 돼지, 토끼, 개, 고양이, 설치류, 래트, 원숭이, 또는 기니피그가 포함되지만 이에 제한되지 않는다.

[0055] 본 명세서에 개시된 치수 및 값은 인용된 정확한 수치에 엄격하게 제한되는 것으로 이해되어서는 안 된다. 대신, 달리 명시하지 않는 한, 그러한 각각의 치수는 인용된 값과 해당 값을 둘러싼 기능적으로 동등한 범위를 둘 다 의미하고자 한다. 예를 들어, "20 ㎜"로 개시된 치수는 "약 20 ㎜"를 의미하고자 한다.

[0056] 다음 약어가 본 명세서에서 사용된다: 근위축성 측색경화증(ALS); 슈퍼옥사이드 디스뮤타제-1(*SOD1*); T 세포 수용체(TCR); 주요 조직적합성 복합체(MHC) 항원 제시 세포(APC); 인산 완충 식염수(PBS), 상보성 결정 영역(CDR). "IP"는 복강내를 의미하고 "IV"는 정맥내를 의미한다.

[0057] MR1은 마우스 CD40 리간드에 결합하는 햄스터 모노클로날 항체이다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 "야생형"은 비-유전자이식 마우스를 의미한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 "소분자"는 분자량이 2000 달톤 미만인 화합물을 의미한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 "치료" 또는 "치료하는"은 예방적 및 치료적 처리를 포함한다. 어구 "치료적 유효량"은 특정 대상체 또는 대상체 집단에서 단독으로 또는 다른 약제학적 작용제 또는 치료와 함께 투여하여 치료될 장애 또는 병태를 억제하거나, 이의 개선을 가능하게 하기에 충분한 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 양을 의미한다.

[0058] 작용제, 예를 들어 약제학적 제형의 "유효량"은 원하는 치료적 또는 예방적 결과를 달성하기 위해 필요한 투약량 및 기간 동안 효과적인 양을 지칭한다.

[0059] "친화도"는 분자(예를 들어, 항체)의 단일 결합 부위와 이의 결합 파트너(예를 들어, 항원) 사이의 비공유 상호작용의 총 합의 강도를 지칭한다. 달리 나타내지 않는 한, 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "결합 친화도"는 결합 쌍(예를 들어, 항체와 항원)의 구성원 사이의 1:1 상호작용을 반영하는 고유한 결합 친화도를 지칭한다. 분자 X의 파트너 Y에 대한 친화도는 일반적으로 항체와 이의 항원 사이의 평형 해리 상수(KD), 즉 k_{off}/k_{on}의 비율로 표시될 수 있다. KD 및 친화성은 반비례 관계에 있다. KD 값은 항체 농도(특정 실험에 필요한 항체 양)와 관련이 있으므로, KD 값이 더 낮을수록(농도가 더 낮을수록) 항체의 친화도는 더 높아진다. 친화도는 본 명세서에 기재된 것을 포함하여, 당업계에 알려진 통상적인 방법에 의해 측정될 수 있다. 결합 친화도를 측정하기 위한 구체적, 설명적 및 예시적인 구현예는 방사선면역측정법(RIA), 분석물로서 사용된 인간 CD40 리간드 폴리펩타이드로 단백질-A 커플링 CM5 연구 등급 센서 칩(GE Healthcare Europe GmbH, 스위스 글래트브루그 소재; BR-1000-14)에서 항체를 포획함으로써 BIAcore® 기기(GE Healthcare Europe GmbH, 스위스 글래트브루그 소재) 상의 표면 플라스몬 공명(SPR)에 의해 측정될 수 있다. 다른 방법으로는 방사선면역측정법, 및 운동 배제 분석법(Kinetic Exclusion Assay)이 포함될 수 있다. 운동 배제 분석법은 항원/항체 상호 작용에 대한 평형 해리 상수, 및 회합 및 해리 속도 상수를 측정할 수 있는 범용 면역분석 플랫폼이다.

[0060] "ALS-TDI"는 ALS Therapy Development Institute에 대한 약어이다. "h*SOD1*G93A 전임상 마우스 모델", "h*SOD1*G93A 마우스 모델", "G93A 전임상 마우스 모델" 및 "G93A 마우스 모델"은 본 명세서에서 사용되는 바와

동일한 의미를 갖는다. "h*SOD1*G93A 마우스" 및 "G93A 마우스"는 본 명세서에서 사용되는 바와 동일한 의미를 갖는다.

[0061] TMB는 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘의 약어이다.

[0062] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "CDR 도메인"은 측접 서열이 있거나 없는 항체 상보성 결정 영역을 의미한다.

[0063] "이펙터 기능"은 항체의 Fc 영역에 기인하는 생물학적 활성을 지칭하며, 이는 항체 이소타입에 따라 다르다. 항체 이펙터 기능의 예로는 C1q 결합 및 보체 의존적 세포독성(CDC); Fc 수용체 결합; 항체-의존적 세포-매개 세포독성(ADCC); 식세포작용; 세포 표면 수용체(예를 들어, B 세포 수용체)의 하향 조절; 및 B 세포 활성화가 포함된다. 한 가지 이펙터 기능은 Fc 수용체(FcR)(예를 들어, IgG 수용체 Ia의 고친화도 Fc 영역(FCγRIa)(CD64)(서열번호 34), 저친화도 면역글로불린 감마 Fc 영역 수용체 IIa(FCγRIIa)(CD32)(서열번호 35), 저친화도 면역글로불린 감마 Fc 영역 수용체 IIIa(FCγRIIIA)(CD16a)(서열번호 36), 저친화도 면역글로불린 감마 Fc 영역 수용체 IIIb(FCγRIIIb)(CD16b)(서열번호 37)를 포함하지만 이에 제한되지 않는 단백질에 결합하는 항체의 Fc 또는 불변 영역의 능력이다. 일부 구현예에서, 항체 및 이의 항원 결합 단편이 Fc 도메인을 갖는 경우, Fc 도메인은 하나 이상의 Fc 이펙터 기능을 감소시키거나 제거하도록 조작되었다. 바람직한 구현예에서, Fc 도메인은 혈소판 활성화 및/또는 혈소판 응집 및 혈전색전증의 수반 위험을 감소시키거나 제거하도록 조작되었다.

[0064] 화합물의 생체 내 평가

[0065] 본 개시내용의 방법에서 사용되는 화합물은 G93A 마우스 모델을 사용하여 효능에 대해 평가될 수 있다(문헌[Tu PH et al. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93:3155-60 and Gurney ME. et al. J Neurol Sci 1997;152(Suppl 1):S67-73] 참조). 이 모델은 93번 위치에서 글리신에서 알라닌으로의 돌연변이를 포함하는 인간 *SOD1* 유전자의 23개 카피를 마우스 게놈에 삽입함으로써 구축되었다. 이러한 마우스는 인간의 산발성 및 가족성 질환 형태의 병리학의 대부분의 주요 지점을 정확하게 재현하여 이 모델을 질환을 변경시키는 개입을 테스트하기 위한 현재 이용 가능한 최상의 선택사항으로 만든다.

[0066] 출생 시 G93A 마우스에서 이상에 대한 식별 가능한 표현형 발현은 없다. 눈에 보이는 질환 징후는 약 90일령이 될 때까지 나타나지 않으며, 그 후 뒷다리 기능의 점진적인 상실을 경험하여 약 134일령에 완전한 마비와 사망을 초래한다. 근육 소모는 운동 뉴런의 사망 또는 기능 장애에 의해 유발되지만, 이러한 세포의 사망은 미세아교세포 및 성상세포를 포함한 주변 세포와의 상호 작용과 연관되거나 부분적으로 이에 의해 유발된다. 뚜렷한 성상세포증은 약 80일령에 처음 나타나는 한편, 주로 미세아교세포에 의해 매개되는 신경 염증이 약 100일령에 나타나서 사망할 때까지 확대된다.

[0067] 인간 질환은 임의의 운동 영역에서 시작될 수 있지만, 마우스 질환은 확실히 먼저 경추와 요추 영역에서 발생한다. G93A 마우스에서, 운동 뉴런 수는 눈에 띄는 증상 발병 시점인 대략 85일째에 상당히 감소하였으며, 사망 시 손실이 50% 이상에 이른다. 세포골격, 신경미세섬유, 축삭 수송, 골지, 소포체, 미토콘드리아, 아폽토시스 기구, 프로테아좀, 및 세포질 단백질 처리의 이상이 질환 과정 동안 뉴런에서 관찰된다.

[0068] 인간 질환은 임의의 운동 영역에서 시작될 수 있지만, 마우스 질환은 확실히 먼저 요추와 천골 영역에서 발생한다. G93A 마우스에서, 운동 뉴런 수는 눈에 띄는 증상 발병 시점인 대략 85일째에 상당히 감소하였으며, 사망 시 손실이 50% 이상에 이른다. 세포골격, 신경미세섬유, 축삭 수송, 골지, 소포체, 미토콘드리아, 아폽토시스 기구, 프로테아좀, 및 세포질 단백질 처리의 이상이 질환 과정 동안 뉴런에서 관찰된다.

[0069] 지금까지, 이러한 마우스의 수명을 연장시키는 치료제를 설명하는 적어도 50개의 간행물이 있었다. 그러나, 리루졸 이외의 치료제는 해당 임상 효능을 나타내지 않았다. ALS Therapy Development Institute는 노이즈 변수를 제어하는 G93A 마우스 모델에서 최적화된 치료 약물 스크리닝을 설명하였다(본 명세서에 참조로 포함된 문헌[Scott S. et al. *Amyotrophic Lateral Sclerosis* 2008; 9: 4-15]). Scott외 다수는 내재하는 혼란스러운 생물학적 변수에 의해 유발되는 노이즈를 해결하고 관리하는 G93A 마우스 모델에 대한 최소 연구 설계를 설명한다. 이 연구 설계를 검증하기 위해, 이전에 전임상 모델에서 효능이 있는 것으로 보고되었지만 이후 인간 임상 시험에서 실패한 9가지 화합물을 대부분 다양한 용량으로 평가하였다. 이들 분자 중 여럿은 Celebrex®, 미노사이클린, 탈리도마이드, 및 크레아틴을 포함하여 종양 괴사 인자 신호전달(TNF) 및 미세아교세포 활성화를 억제하는 항-염증성 분자이다. Celebrex®는 G93A 모델에서 수명을 19%(24일) 개선시키는 것으로 보고되었지만, 고성능(high-powered) 연구에서는 생존율의 어떠한 변화도 검출하지 못했다(1.8일, 0.52%)(Scott et al.). 미노사이

클린(이전 보고; 15.8% 개선; 고성능 연구, -0.60%), 크레아티닌(이전 보고 17.8%; 고성능 연구 0.67%), 및 탈리도마이드(이전 보고 생존율 16% 개선; 고성능 연구 -1.9%)에 대해서도 유사한 결과가 얻어졌다.

[0070] 후보 화합물의 식별

[0071] 질환 진행 동안 다양한 시점에서 야생형 마우스 및 G93A 마우스에 대해 게놈 전체 발현 프로파일링 분석을 수행하였다. 2개 그룹 간에 차등적으로 발현되는 것으로 식별된 유전자를 분석하고 결과 데이터를 사용하여 스크리닝할 약물을 선택하는 데 집중하였다. 차등적으로 발현된 유전자 중에는 CD86, CD44, ICAM, ITGAM, ITGA ITGAX, ITGB2, H2-K1(MHC II), H2-AB1(MHC II), H2-D1(MHCII), 및 H2-Eb1(MHC II)을 포함한 면역 반응 및 세포 부착에 관련된 유전자가 포함된다. 이들 데이터는 염증 특징이 질환 진행 동안 증가하고 공동 자극 경로의 관련성과 일치함을 나타낸다. 공동 자극 경로는 CD28/CD80 또는 CD28/CD86 또는 CD40/CD40L 상호 작용을 통한 세포 유형 간의 상호 작용을 포함하며, 이들 중 일부는 유전자 발현 분석에서 식별되었다.

[0072] 치료법 개발에 적용 가능한 분자 경로를 식별하기 위해, 유전자 발현 패턴의 변화를 G93A 마우스 모델에서 질환 진행 동안 특성화하였다. Affymetrix GeneChip® 마우스 발현 세트 430vII MOE430vII 유전자 칩을 사용하여 전체 게놈 전사 프로파일링을 연구하였다. 종적 연구 설계를 이용하여 G93A 골격근과 척수를 비-유전자이식 한배 새끼와 비교하였다. G93A 마우스 모델에서 증상 발병은 먼저 대략 75일째에 시작하여 꼬리 마비에서 보이고 뒷다리, 그 다음 앞다리, 및 마지막으로 횡경막에서 점진적으로 마비가 나타난다. G93A 동물 개체군의 평균 생존은 134일이다. 종적 연구 설계로 G93A 동물과 야생형 한배 새끼에서 30, 50, 60, 80, 90, 100, 110, 및 120일째(0일은 태어난 날임)에 종아리 근육(비복근)과 척수를 수집하였다. 각각의 시점에 대해, 5마리의 야생형과 5마리의 G93A 동물에서 조직을 수집하고 총 160개 조직에 대해 독립적으로 처리하였다.

[0073] 상기 기재한 적절한 시점에 IACUC 프로토콜에 따라 동물을 안락사시켰다. 조직을 즉시 수확하여 액체 질소에서 급속 냉동하였다. 냉동된 조직을 -80℃에서 저장하였다. 제조업체가 기재한 바와 같이 Qiagen RNaEasy 키트를 사용하여 조직에서 총 RNA를 동시에 단리하였다. Ambion Message AMPII T7 시험관 내 전사 키트를 사용하여 비오틴화 뉴클레오타이드를 통합한 표준 T7 선형 증폭을 사용하여, 단리한 총 RNA를 증폭하였다. 표지된 프로브를 단편화하여 제조업체의 프로토콜에 따라 Affymetrix GeneChip® 마우스 발현 세트 430vII에 혼성화시켰다. Genechips을 Affymetrix GeneChip® Fluids Station 450에서 세척하여 혼성화되지 않은 프로브를 제거하였다. Genechips을 Affymetrix GeneChip® 3000 7G 스캐너에서 스캔하였다.

[0074] Bioconductor의 R 개발 언어 버전 2.6을 사용하여 모든 컴퓨터 처리 및 모델링을 수행하였다. 척수 및 비복근 데이터 세트를 독립적으로 분석하였다. Affymetrix CEL 파일을 모든 데이터 전처리에 사용하였다. Bioconductor 비네트 SIMPLE AFFY, AFFY 및 AFFY PLM을 사용하여 각각의 데이터 세트에서 모든 CEL 파일을 품질 관리하였다. LIMMA 패키지를 사용하여 주어진 시점에서 G93A와 야생형 조직 간의 유전자 발현의 통계적 변화를 평가하였다. 베이즈(bayes) 모델을 사용하여 그룹 간 발현 변화의 유의성을 결정하였다.

[0075] 이 데이터는 염증 특징이 질환 진행 동안 증가함을 나타낸다. 이들 유전자 발현 변화는 항원 제시 세포, 예컨대 수지상 세포, 대식세포, 및 B 세포의 활성화를 반영한다. 상호 작용의 차단은 ALS의 질환 진행을 악화시키는 면역 반응을 개선시킬 수 있다. 공동 자극 경로는 CD-28/CD80 또는 CD-28/CD86 또는 CD40/CD40L 상호 작용을 차단함으로써 억제될 수 있다.

[0076] 공동 자극 경로는 다른 상호 작용과 함께, T 세포 상의 CD40L(또한 CD154, gp39, T-BAM, 5c8 항원, CD40CR 및 TRAP로도 알려짐)에 대한 B 세포 상의 CD40의 결합을 포함한다. 인간 CD40은 성숙한 B 세포뿐만 아니라, 대식세포, 수지상 세포, 섬유아세포 및 활성화된 내피 세포에서 발현된다. CD40:CD40L 결합의 차단은 I형 T-헬퍼 세포 반응의 발달을 촉진시키는 것으로 생각된다.

[0077] 이러한 상호 작용을 차단하고 공동 자극 신호를 억제하는 화합물을 사용하여, 상당한 양의 연구는 이식 및 자가면역의 전임상 모델에서 CD40L, CD80 또는 CD86 중 하나 이상을 차단하는 면역조절 효과를 입증하였다. 항체 차단 또는 CD40L-Ig의 아데노바이러스 발현으로 CD40L 기능을 차단하면 30 내지 90일만큼 동종이식편 이식이 개선된다. CTLA4-Ig 또는 CTLA4-Ig의 아데노바이러스 발현을 이용한 APC 상의 CD80/CD86을 차단하는 유사한 연구는 동종이식편 이식 생존율을 일시적으로 개선시킨다. 이러한 모델에서 이식 거부는 일시적이며 이식편 거부는 시간 경과에 따라 발생한다. 장기 이식 거부 억제는 CTLA4-Ig를 이용하여 공동 자극 경로를 차단하고 항-CD40L 항체를 이용하여 APC의 CD40L 활성화를 차단함으로써 달성될 수 있다.

[0078] 마우스에서 CD40L에 대한 항체의 차단 또는 CD40L의 유전적 결실로 다발성 경화증, 콜라겐 유도 관절염, 및 전

신성 루푸스의 모델인 실험적 알레르기성 뇌척수염(EAE)의 전임상 모델에서 CD40L이 질환 진행, 생존, 및 질환 대용 마커를 개선시킨다는 것이 입증되었다. CD40:CD40L 결합의 차단은 많은 대식세포의 전염증성 활성을 매개하는 일산화질소를 생성하는 대식세포의 능력을 감소시키는 것으로 보인다.

[0079] 그러한 연구에서 CD40:CD40L 상호 작용의 차단 및/또는 CD28:CD80 또는 CD28:CD86 상호 작용의 차단이 면역 반응을 조절할 수 있는 것으로 보인다.

[0080] 면역조직화학 데이터는 유전자 발현 데이터와 잘 연관되어 있는 것으로 나타났으며, 이 데이터는 G93A 마우스의 질환 진행 동안 골격근을 침윤하는 항원 제시 세포로서 대식세포를 식별한다.

[0081] G93A 및 야생형 동물의 비복근에서 잠재적 항원 제시 세포의 존재 및 국재화를 결정하기 위해, 110일째에 G93A 및 야생형 마우스에서 수확한 비복근 조직에서 면역조직화학을 수행하였다. 수확 직후, 조직을 OCT에 포매하였다. 동결 절편을 H&E 염색하고 미엘린에 대한 항체(항-S100b 항체) 또는 T 세포(항-CD3 항체), B 세포(CD45R 범 B 세포 항체), 및 대식세포(항-CD11b 항체)를 포함한 조혈 세포 계통에 대한 항체와 혼성화시켰다. 110일째에, CD11b 양성 대식세포의 침윤이 있었고, 대식세포는 골격근을 자극하는 신경 축삭에 국재화되는 것으로 보인다. 대식세포의 국재화는 근육 전체에 걸쳐 분산되지 않으며, 이는 염증이 근위축 또는 근섬유 리모델링으로 인한 것이 아님을 시사한다.

[0082] 110일째에 골격근에서 단핵구 계통 세포의 동일성을 확인하고 비-유전자이식 동물과 비교하여 이러한 세포의 관련성을 명확히 하기 위해, 대식세포 계통에 특이적인 항체 패널을 이용하여 추가적인 면역조직화학을 수행하였다. 항-S100b 항체를 이용하여 골격근을 자극하는 미엘린 연관 축삭을 표지하였다. 대식세포 특이적 항체(항-CD11b 항체, 항-CD86 항체 및 항-MAC1 항체) 모두 G93A 마우스의 골격근을 자극하는 신경의 축삭으로 대식세포를 국재화시켰으며, 야생형 동물의 축삭에는 대식세포가 존재하지 않았다. 대식세포의 국재화는 근육을 자극하는 신경에 특이적이었으며, 근육의 근섬유에는 대식세포가 존재하지 않았다.

[0083] 유전자 발현 데이터는 공동 자극 경로와 연관된 유전자가 척수뿐만 아니라 골격근 둘 다에서 질환 진행 동안 일시적으로 증가하고 있음을 시사한다(도 1a 내지 1b). 골격근으로의 대식세포 침윤 시기를 특성화하기 위해, G93A 마우스의 비복근 절편에서 60, 80, 및 100일째에 면역조직화학을 수행하였다. 60일째에는 대식세포 침윤 및 축삭으로의 국재화 증거가 없었다. 대식세포는 80일째에 분명하였고 110일째에는 골격근에 대해 앞서 기재한 바와 같이 근육을 자극하는 축삭으로 국재화되었다. 80일째 내지 100일째 사이에 대식세포의 수가 증가하였고 대식세포의 축적은 골격근을 자극하는 축삭에 특이적이었다.

[0084] 대식세포 침윤의 증가를 정량화하기 위해, 5마리의 G93A 및 5마리의 야생형 동물의 대표적인 절편을 항-CD86 항체와 혼성화하고 10,000 제곱마이크론당 대식세포의 수를 계수하였다. 야생형 동물에서 대식세포의 수는 60, 80 및 100일 시점에서 동일하였다. 도 2에서 볼 수 있는 바와 같이, 대식세포는 80일째 내지 100일째 사이에 골격근에 일시적으로 축적되고, 야생형 골격근에는 대식세포가 거의 존재하지 않는다.

[0085] 요약하면, 면역조직화학 데이터는 유전자 발현 데이터와 매우 잘 연관되어 있으며, G93A 마우스 모델에서 질환 진행 동안 골격근에 침윤하는 항원 제시 세포로서 대식세포를 식별한다. 예상치 못한 결과는 미엘린 및 대식세포에 대한 항체로 표지하여 국재화 시 대식세포 침윤이 골격근을 자극하는 축삭을 특이적으로 표적화하는 것으로 보인다는 것이다.

[0086] <u>G93A 조직에서 MR1의 약동학 분석</u>

[0087] 샌드위치 형식의 매트릭스 매칭, 비-경쟁 효소 결합 면역흡착 분석(ELISA)을 사용하여 뮤린 CD40L에 대한 MR1의 조직 수준을 결정하였다. 각각의 플레이트에 7점 표준 곡선을 포함하였다. PBS 희석 용액에 첨가된 정제된 MR1을 사용하여 표준물을 제조하였다. 미지 샘플의 동등한 희석에서 PBS 희석 용액을 정상 마우스 조직과 매트릭스 매칭시켜 조직 용해물에서 발생하는 임의의 비-특이적 효과를 교정하였다.

[0088] 암컷 및 수컷 G93A 마우스 둘 다에서 투약(10 mg/kg, IP) 후 2주의 기간에 걸쳐 약동학 분석을 위해 84개의 혈장 샘플을 취하였다.

[0089] 제거 반감기는 암컷(23일)과 수컷(22일)에서 유사하였으며 마우스에서 통상적인 마우스 IgG2-기반 항체에 대한 반감기와 유사하였다. 항-햄스터 항체 반응의 징후는 보이지 않았다.

[0090] 암컷은 수컷보다 MR1에 대한 분포 용적이 다소 더 작은 것으로 나타내며, 따라서 동일한 10 mg/kg 용량을 제공했을 때 더 높은 혈장 수준을 나타낸다. 수컷은 더 빠른 소거 및 더 큰 분포 용적을 나타낸다. 따라서, 유사한 혈장 수준을 얻기 위해, 수컷은 더 높은 용량을 필요로 할 것이다. 도 1a는 선형 농도(Y) 축을 사용하여 시간

경과에 따른 MR1 농도를 나타낸다. 도 1b는 로그 농도(Y) 축을 사용하여 시간 경과에 따른 MR1 농도를 나타낸다.

[0091] 36마리의 암컷 G93A 마우스를 한배 새끼로 일치시키고, 2개의 연구 그룹으로 무작위로 나누었다. 18마리의 G93A 마우스는 MRI-처리군에 배치하고 다른 18마리의 G93A 마우스는 대조군에 배치하였다. 연구 일수는 출생일로부터의 일수를 기준으로 한다.

[0092] 50일째에 56 μg의 MR1의 단일 주사를 복강내(IP)로 투여하였다. 볼러스 주사 후 18 μg의 MR1의 매주 유지 주사를 IP 주사로 투여하였다. 용량은 비히클(인산 완충 식염수(PBS, pH 7.3))에서 총 부피가 200 μl가 되도록 제조하였다. 대조군 동물에게 200 μl PBS를 투여하였다. 54일째에 시작하여, 동물을 연구 기간 내내 매일 모니터링하고 매일 체중 측정뿐만 아니라 신경학적 점수를 측정하였다.

[0093] 양쪽 뒷다리에 대한 신경학적 점수를 50일령때부터 각각의 마우스에 대해 매일 평가하였다. 신경학적 점수는 0 내지 4의 척도를 이용하였다. (Scott et al., ALS Journal Jan 2008). 간략하게, 0의 점수를 부여받은 동물은 마우스를 꼬리로 매달았을 때 뒷다리가 측면 중앙선에서 완전히 뻗은 상태였고, 마우스는 2 내지 3회 매달았을 때 이를 2초 동안 유지할 수 있다. 동물이 꼬리로 매달려 있는 동안 측면 중앙선 쪽으로 다리가 꺾이거나 부분적으로 꺾이거나(약화) 뒷다리가 떨리는 경우 동물은 1점을 받는다. 동물은 12인치를 걷는 동안 적어도 2회 발가락이 구부러지거나, 발의 임의의 일부가 케이지 바닥/테이블을 따라 끌리는 경우 2점을 받는다. 동물은 경직마비 또는 최소한의 관절 움직임이 있거나, 발이 앞으로 움직이는 데 사용되지 않는 경우 3점을 받는다. 동물은 양쪽에서 30초 이내에 스스로 일어설 수 없는 경우 4점을 받는다. 뒷다리 하나가 2점을 받으면, 사료 펠렛을 침구에 남겨둔다. 뒷다리 둘 다가 2점을 받으면, 침구에 사료 펠렛에 추가적으로 Nutra-Gel®(Bio-Serve #S4798)을 사료로 제공하고, 긴 빨대 튜브를 물병에 놓는다.

[0094] 각각의 마우스에 대해 사망 날짜와 원인을 기록하였다. 인도적인 이유로, 동물을 면밀히 모니터링하고 엄격한 빈사상태에 대한 기준을 사용하여 실제 사망 전에 빈사상태로 희생시켰다. 신뢰할 수 있게 인도적으로 생존 기간을 결정하기 위해, 마우스를 옆으로 눕힌 후 30초 동안 마우스가 스스로 일어설 수 없는 상태(신경학적 점수 4)로 정의된 빈사 상태를 사용하였다. 빈사상태의 마우스는 "사망"으로 평가되었고, 이산화탄소를 사용하여 안락사시켰다.

[0095] 표준 절차는 통계 분석 전에 처리군과 대조군 둘 다에서 ALS와 관련되지 않은 사망을 제거하는 것이다. 이러한 경우, 대조군 또는 처리군의 모든 동물 사망은 ALS에 기인하였다. 따라서, ALS와 관련되지 않은 사망으로 인해 검열된 동물은 없었다.

[0096] 돌연변이 *SOD1* 유전자이식 동물은 신생아 때 정상적인 체중(BW) 특성을 보이며, 성체가 되어 비-유전자이식 동물과 비교하여 정상적으로 체중이 증가한다. 이식유전자의 유전자 돌연변이의 특성과 돌연변이 이식유전자의 카피 수에 따라 성체 동물에서 체중 감소가 명백하게 되고 사망할 때까지 계속된다. 처리군 및 대조군에서 체중 감소의 분석은 질환 발병과 진행 속도에 대한 추정 치료 효과에 대한 통찰력을 제공할 수 있다. 체중에 대한 MR1 치료의 영향을 평가하기 위해, 2가지 요약 매개변수, 즉 (1) 질환 발병에 대한 영향을 반영할 수 있는, 연구 시작부터 최대 체중에 도달할 때까지 BW의 변화, (2) 질환 진행에 대한 영향을 반영할 수 있는, 최대 체중부터 사망할 때까지의 BW의 변화를 조사한다.

[0097] 40일째로부터 최대 체중에 도달할 때까지의 시간에 대한 비교 MR1-처리군 및 대조군의 시간-대-사건 곡선이 도 2에 나타나 있다. MR1 처리군은 51일인 것과 비교하여 대조군의 경우 최대 체중까지의 중간 시간은 50일이었다. 로그 순위 및 윌콕슨(Wilcoxon) 통계 모델, 콕스 비례 위험, 또는 매개변수 통계 검정을 사용하여 카플란 마이어로 분석할 때 이러한 차이는 유의하지 않았다.

[0098] 최대 체중부터 사망할 때까지의 시간에 대한 비교 MR1-처리군 및 대조군의 시간-대-사건 곡선이 도 3에 나타나 있다. 최대 체중부터 사망할 때까지의 시간은 MRI 처리 동물에서 통계적으로 유의하게 15일 더 늦었다. 대조군 동물은 MR1-처리 동물보다 최대 체중에 도달한 후 더 일찍 사망할 위험이 2.4 내지 4.7배 더 크다. 대조군에서 최대 체중부터 사망할 때까지의 중간 시간은 26일인 한편, MR1 처리군에서는 41일이었다. 이 실시예에서 분석 각각에 대한 유의성은 유의성을 더 잘 평가하기 위해 여러 가지 방법으로 계산되었다. 여러 가지 접근법을 사용하여 분석했을 때 지연은 통계적으로 유의하다. (카플란 마이어, 로그 순위 p=0.0110 및 윌콕슨, p=0.0069; 콕스 비례 위험 모델 p=0.05151; 매개변수 통계 모델, p=0.0122). 체중 데이터에 기반하여 MR1은 G93A 마우스 모델에서 질환 발병에 미치는 영향이 더 적은 것으로 보이지만, 최대 체중부터 사망할 때까지 체중 감소 속도를 늦추는 데 극적인 효과가 있다.

[0099] 질환 발병 시기를 또한 식염수 처리군과 MR1 처리군의 일일 신경학적 점수를 분석함으로써 특성화하였다. 연구 시작 시(50일째), 모든 동물은 관찰 가능한 증상 또는 마비 없이 신경학적 점수가 0이다. 질환 발병은 신경학적 점수 0으로부터, 동물이 뒷다리를 명확히 끌고 있을 때의 신경학적 점수 2로 신경학적 점수의 진행을 조사함으로써 특성화될 수 있다. MR1 및 대조군 동물이 신경학적 점수 2로 진행되는 연령, 및 신경학적 점수가 2에 이른 일수에 대한 시간-대-사건 플롯이 도 4에 나타나 있다. 각각의 그룹에 대한 신경학적 점수가 2에 이른 중간 시간이 도 5에 플롯팅되어 있다. 대조군에서 점수 2에 도달하는 시간은 115일이고 MR1 처리군의 경우 122일이다. 신경학적 점수 데이터에 기반하여 MR1은 G93A 마우스 모델에서 질환 발병을 대략 7일 지연시키고, 지연은 여러 가지 접근법을 사용하여 분석했을 때 통계적으로 유의하다. (카플란 마이어, 로그 순위(p = 0.0378) 및 윌콕슨(p = 0.0591); 콕스 비례 위험 모델(p = 0.0521); 매개변수 분석(p = 0.0582)). 각각의 신경학적 점수 수준에서 보낸 일수는 도 5에서 해당 점수 수준에서의 중간 연령에 대해 플롯팅되어 있다.

[0100] 처리된 동물의 생존 시간은 대조군 동물보다 13일 더 늦었다. 최대 체중부터 사망할 때까지의 시간에 대한 비교 MR1-처리군 및 대조군의 시간-대-사건 곡선이 도 6에 나타나 있다. 대조군의 경우 중간 생존 시간이 128일이고 MR1 처리군의 경우 중간 생존 시간은 141일이었다. 대조군 동물은 MR1 처리 동물보다 더 일찍 사망할 위험이 2.8 내지 3.2배 더 컸다. 여러 가지 접근법을 사용하여 분석했을 때 지연은 통계적으로 유의하다. (카플란 마이어, 로그 순위(p = 0.0040) 및 윌콕슨 검정(p = 0.0109); 콕스 비례 위험 모델(p = 0.0060); 매개변수 분석(p = 0.0049)).

[0101] 60마리의 암컷 및 36마리의 수컷 G93A 마우스는 한배 새끼로 일치시키고, 처리군 또는 대조군에 무작위로 할당하였다. 암컷 마우스 중 30마리 및 수컷 마우스 중 18마리를 50일째에 시작하여 MR1로 처리하였다. 연구 일수는 출생일을 기준으로 한다.

[0102] 암컷 또는 수컷에게 각각 50일째에 5.22 mg/kg 또는 6.75 mg/kg의 MR1의 단일 볼러스 주사를 복강내로 투여하였다. 볼러스 주사 후 IP 주사를 통해 암컷은 1 mg/kg의 MR1을 매주 주사받고, 수컷은 1.34 mg/kg의 MR1을 매주 주사받았다. 용량은 비히클(인산 완충 식염수(PBS, pH 7.3))에서 총 부피가 200 μl가 되도록 제조하였다. 대조군 동물에게 200 μl PBS를 투여하였다. 앞서 기재한 바와 같이 체중, 신경학적 점수, 비-관련 ALS 사망, 및 안락사 기준에 대해 동물을 모니터링하였다.

[0103] 40일째로부터 최대 체중에 도달할 때까지의 시간에 대한 비교 MR1-처리군 및 대조군의 시간-대-사건 곡선이 도 7A에 나타나 있다. MR1 처리군은 53일인 것과 비교하여 대조군의 경우 최대 체중까지의 중간 시간은 49일이었다. 로그 순위 및 윌콕슨 통계 모델, 콕스 비례 위험, 또는 매개변수 통계 검정을 사용하여 카플란 마이어로 분석할 때 이러한 차이는 유의하지 않았다.

[0104] 최대 체중부터 사망할 때까지의 시간에 대한 비교 MR1-처리군 및 대조군의 시간-대-사건 곡선이 도 7B에 나타나 있다. 최대 체중부터 사망할 때까지의 시간은 MRI 처리 동물에서 통계적으로 유의하게 6일 더 늦었다. 대조군에서 최대 체중부터 사망할 때까지의 중간 시간은 29일인 한편, MR1 처리군에서는 35일이었다. 이 실시예에서 분석 각각에 대한 유의성은 유의성을 더 잘 평가하기 위해 여러 가지 방법으로 계산되었다. 여러 가지 통계 모델을 사용하여 분석했을 때 지연은 통계적으로 유의하다: 카플란 마이어, 로그 순위(p=0.0413) 및 윌콕슨(p=0.0732); 및 콕스 비례 위험 모델(p=0.0460). 체중 데이터에 기반하여 MR1은 G93A 마우스 모델에서 질환 발병에 미치는 영향이 더 적은 것으로 보이지만, 최대 체중부터 사망할 때까지 체중 감소 속도를 늦추는 데 극적인 효과가 있다.

[0105] MR1 및 대조군 동물이 신경학적 점수 2로 진행되는 연령, 및 신경학적 점수가 2에 있던 일수에 대한 시간-대-사건 플롯이 도 7C에 나타나 있다. 대조군에서 점수 2에 도달하는 시간은 113일이었고 MR1 처리군의 경우 121일이었다. 신경학적 점수 데이터에 기반하여 MR1은 G93A 마우스 모델에서 질환 발병을 대략 8일 지연시키고, 지연은 여러 가지 통계 모델을 사용하여 분석했을 때 통계적으로 유의하다: 카플란 마이어, 로그 순위(p = 0.0038) 및 윌콕슨(p = 0.0017); 및 콕스 비례 위험 모델(p = 0.0010).

[0106] 처리된 동물의 생존 시간은 대조군 동물보다 9일 더 늦었다. 도 7D에 나타낸 바와 같이, 대조군의 경우 중간 생존 시간이 124일이었고 MR1 처리군의 경우 중간 생존 시간은 133일이었다. 여러 가지 통계 모델을 사용하여 분석했을 때 지연은 통계적으로 유의하다: 카플란 마이어, 로그 순위(p = 0.0043) 및 윌콕슨 검정(p = 0.0040); 및 콕스 비례 위험 모델(p = 0.0030).

[0107] 본 명세서에 기재된 실시예 및 구현예는 단지 설명을 위한 것이고 이에 비추어 다양한 변형 또는 변화가 당업자에게 제안될 것이며 본 출원의 사상 및 범위와 첨부된 청구범위의 범주 내에 포함되어야 함이 이해된다.

[0108] 원하는 항체의 중쇄 및 경쇄를 인코딩하는 핵산 서열을 중국 햄스터 난소(CHO) 세포와 같은 포유동물 세포에서의 발현에 적합하도록 설계하였다. 그 다음 핵산을 인공적으로 합성하고 표준 분자 생물학 기법을 사용하여 항체 발현 벡터인 BPJPuro에 결찰시켰다. BPJPuro는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포에서 면역글로불린의 선택 가능하고 안정적인 발현을 위해 최적화된 이중 유전자 포유동물 발현 벡터이다. 그 다음 벡터를 CHO 세포에 형질감염시키고 안정적인 형질감염체를 선택하였다.

[0109] 유사하게, 서열번호 9의 아미노산 서열을 갖는 중쇄를 인코딩하는 핵산(서열번호 10), 및 서열번호 7의 아미노산 서열을 갖는 경쇄를 인코딩하는 핵산(서열번호 8)을 합성하고 항체 발현 벡터인 BPJPuro에 결찰시켰다.

[0110] 중쇄 및 경쇄를 인코딩하는 생성된 발현 벡터를 리포좀 매개 형질감염을 사용하여 CHO 계통(CHO SA, Cellectis SA, 프랑스 파리 소재)에 형질감염시켰다. 퓨로마이신 선택에 의해 안정적인 형질감염체를 단리하고 서브클로닝하여 클론 세포주를 제공하였다. 후보 세포주를 무혈청 현탁액 배양에 적응시키고, IgG 생성과 강력한 성장에 대해 스크리닝하였다. 세포주 중 하나를 선택하여 JB5로 명명하고, 세포주를 파일럿 규모 생물반응기에서 배양한 다음, 항체 JB5를 순차적 농도, 단백질 A/G 친화 크로마토그래피, 및 크기 배제 크로마토그래피에 의해 조건 배지에서 정제하였다.

[0111] 3부 샌드위치 ELISA 분석을 사용하여 모 항체 hu5c8에 대한 JB5 항체의 결합 동역학을 결정하였다. 모든 세척은 250 μl PBS로 3회 세척하여 수행하였다. 96-웰 폴리스티렌 플레이트를 100 μl/웰의 JB5 또는 hu5c8 항체(2 μg/ml)로 4℃에서 16시간 동안 코팅하였다. 플레이트를 세척한 다음 2% 소혈청 알부민/PBS로 실온에서 1시간 동안 차단하였다. 플레이트를 세척하고 재조합 인간 CD40L 단백질(Santa Cruz Biotechnology, 미국 캘리포니아주 산타 크루즈 소재)을 플레이트에 첨가하여 2000 ng/ml에서 시작하여 2배 희석하여 적정하였다. 결합 및 세척 후, 100 μl의 비오틴화 염소 항-인간 CD40L 폴리클로날 항체(200 ng/ml) 및 100 μl의 스트렙타비딘-호스래디쉬 퍼옥시다제 접합체를 100 ng/ml로 사용하여 결합된 CD40L 단백질을 검출하였다. 크로마겐 TMB(3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘) 및 450 nm에서의 흡광도의 분광광도 분석을 이용하여 비색 검출을 수행하였다. 생성된 결합 곡선(도 8)은 JB5(원)가 모 항체 hu5c8(사각형)에 비해 매우 유사한 CD40L 결합을 가짐을 나타낸다. JB5와 동일한 Fc 도메인을 갖는 대조군 단백질 CTLA4-IgG1(삼각형)은 유의한 결합을 나타내지 않았다. hu5c8 및 JB5에 대해 계산된 EC50은 각각 114 및 137 nM이다. JB5-R28K 및 JB5-K74R은 JB5의 것과 유사한 결합을 나타내었다.

[0112] 5c8 또는 AT-1501과 대비하여 16개 모든 클론의 항체의 CD40L 결합을 비교하기 위해, 동일한 96-웰 분석 플레이트에서 실행된 5c8 및 AT-1501이 있는 2개 클론을 사용하여 결합 분석을 실행하였다. 3부 샌드위치 ELISA 분석을 사용하여 참조 항체인 5c8-19 및 AT1501와 비교하여 본 개시내용의 항체의 결합 수준을 결정하였다. 96-웰 폴리스티렌 플레이트를 PBS에서 2 μg/ml를 사용하여 재조합 인간 CD40L(BioLegend 카탈로그 번호 591706)로 코팅하고 50 μl/웰을 Costar 96-웰 ½ 면적 고결합 분석 플레이트(Corning 3690)에 첨가한 다음 4℃에서 밤새 인큐베이션하였다. 플레이트를 (1X) PBS/1.0% BSA(140 μl/웰)로 실온에서 1시간 동안 차단하여 배경 결합을 방지하였다. 5C8 또는 AT1501(2 μg/ml로부터 연속 2배 희석)의 결합 곡선을 첨가하고(50 μl/웰) 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 세척하고 HRP-(Fab2) 당나귀 항-인간 IgG(Fc 특이적)(Jackson Immuno. 709-036-098)와 함께 1:10,000 희석(50 μl/웰)으로 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 세척하고 TMB 기질(Surmodics BioFX TMBW-1000-01)을 첨가하였다(50 μl/웰). 25 μl $2NH_2SO_4$를 이용하여 실온에서 5분 후에 발색을 중단시킨다. SoftMax Pro 6.2.2 프로그램을 사용하여 Molecular Devices SpectraMax M5 플레이트 판독기에서 플레이트를 판독하여 450 nm에서의 흡광도를 결정한다.

[0113] 상대적 CD40L 결합 효능을 다음과 같이 계산하였다: [IC50(클론) / IC50(5c8 또는 AT-1501) X 100%]. 5c8과 대비한 16개의 클론의 순위가 매겨진 효능은 도 15a에 나타나 있으며 AT-1501과 대비한 순위가 매겨진 효능은 도 15b에 나타나 있다. 생성된 결합 곡선은 도 16a 내지 16q(5c8과 대비한 16개 클론의 비교, 도 16h는 AT-1501과 5c8의 비교를 나타냄) 및 도 17a 내지 17q(AT-1501과 대비한 16개 클론의 비교, 도 17h는 AT-1501과 5c8의 비교를 나타냄)에 나타나 있다. 각각의 클론에 대한 IC50, LCL, UCL 및 상대 효능은 **표 1**(5c8과의 비교) 및 **표 2**(AT-1501과의 비교)에 나타나 있다.

표 1

[0114]

도면 번호	클론	IC50	LCL	UCL	상대 효능
16a	16-3	0.022	0.017	0.026	46
	5c8	0.047	0.040	0.054	
16b	8-3	0.036	0.028	0.043	51
	5c8	0.070	0.062	0.078	

16c	12-4	0.020	0.013	0.027	47
	5c8	0.042	0.038	0.046	
16d	8-4	0.036	0.030	0.041	51
	5c8	0.070	0.062	0.078	
16e	13-2	0.020	0.013	0.027	48
	5c8	0.041	0.038	0.045	
16f	4-4	0.037	0.029	0.045	51
	5c8	0.072	0.064	0.081	
16g	17-1	0.028	0.023	0.033	63
	5c8	0.044	0.036	0.053	
16h	AT-1501	0.049	0.043	0.056	95
	5c8	0.052	0.046	0.058	
16i	5-3	0.055	0.047	0.063	76
	5c8	0.072	0.064	0.081	
16j	6-6	0.065	0.059	0.070	106
	5c8	0.061	0.054	0.068	
16k	18-2	0.041	0.036	0.046	92
	5c8	0.044	0.036	0.053	
16l	10-4	0.075	0.065	0.086	113
	5c8	0.067	0.058	0.076	
16m	10-1	0.079	0.070	0.089	119
	5c8	0.067	0.058	0.076	
16n	7-5	0.102	0.094	0.111	168
	5c8	0.061	0.054	0.068	
16o	15.4	0.063	0.056	0.069	133
	5c8	0.047	0.040	0.054	
16p	11-5	0.092	0.071	0.112	177
	5c8	0.052	0.046	0.058	
16q	15-1	0.081	0.073	0.089	163
	5c8	0.050	0.046	0.053	

표 2

[0115]

도면 번호	클론	IC50	LCL	UCL	상대 효능
17a	12-4	0.020	0.013	0.027	45
	AT-1501	0.044	0.039	0.049	
17b	8-3	0.036	0.028	0.043	59
	AT-1501	0.060	0.053	0.068	
17c	13-2	0.020	0.013	0.027	45
	AT-1501	0.044	0.038	0.049	
17d	8-4	0.036	0.030	0.041	59
	AT-1501	0.060	0.053	0.068	
17e	16-3	0.022	0.017	0.026	48
	AT-1501	0.045	0.039	0.051	
17f	4-4	0.037	0.029	0.045	60
	AT-1501	0.062	0.054	0.070	
17g	17-1	0.028	0.023	0.033	66
	AT-1501	0.042	0.035	0.050	
17h	5c8	0.052	0.046	0.058	105
	AT-1501	0.049	0.043	0.056	
17i	5-3	0.055	0.047	0.063	89
	AT-1501	0.062	0.054	0.070	
17j	10-4	0.075	0.065	0.086	115
	AT-1501	0.066	0.056	0.076	
17k	18-2	0.041	0.036	0.046	96
	AT-1501	0.042	0.035	0.050	
17l	10-1	0.079	0.070	0.089	121

	AT-1501	0.066	0.056	0.076	
17m	6-6	0.065	0.059	0.070	132
	AT-1501	0.049	0.047	0.051	
17n	11-5	0.092	0.071	0.112	174
	AT-1501	0.053	0.050	0.056	
17o	15-4	0.063	0.056	0.069	139
	AT-1501	0.045	0.039	0.051	
17p	7-5	0.102	0.094	0.111	210
	AT-1501	0.049	0.047	0.051	
17q	15-1	0.081	0.073	0.089	159
	AT-1501	0.051	0.046	0.055	

[0116] 16개의 VH/VL 항체 클론은 2개의 돌연변이 P238S 및 N297G를 갖는 IgG1 Fc(서열번호 21)로 구축되었다. 이들 항체 클론을 인간 FcγRI, FcγRIIa 및 FcγRIIIa에 결합하기 위한 Fc 이펙터 기능에 대해 분석하였다.

[0117] 항-CD40L 항체(아바타셉트는 음성 대조군으로 포함함)를 (1X) PBS에서 2 μg/ml로 희석하고 50 μl/웰을 Costar 96-웰 ½ 면적 고결합 분석 플레이트(Corning 3690)에 첨가하여 4℃에서 밤새 인큐베이션하였다. 플레이트를 (1X) PBS/1.0% BSA(140 μl/웰)로 실온에서 1시간 동안 차단하여 배경 결합을 방지하였다. 재조합 인간 FcγRI, IIa, IIIa 및 IIIb(5 μg/ml에서 연속 2배 희석)의 결합 곡선을 첨가하고(50 μl/웰) 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 세척하고 2 μg/ml(50 μl/웰)의 마우스 항-인간 CD16(항-FcRIII); CD32(항-FcRIIa) 또는 CD64(항-FcRI)(eBioSciences/Invitrogen 14-0168-82; 16-0329-81; 14-0649-82)과 함께 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 세척하고 HRP-(Fab_2) 염소 항-마우스 IgG(Fc 특이적)(Jackson Immuno. 116-036-071)와 함께 1:10,000 희석(50 μl/웰)으로 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 세척하고 TMB 기질(Surmodics BioFX TMBW-1000-01)을 첨가하였다(50 μl/웰). (25 μl/웰) $2NH_2SO_4$를 이용하여 실온에서 5분 후에 발색을 중단시켰다. SoftMax Pro 6.2.2 프로그램을 사용하여 Molecular Devices SpectraMax M5 플레이트 판독기에서 플레이트를 판독하여 450 nm에서의 흡광도를 결정하였다.

[0118] 도면에서 볼 수 있는 바와 같이, 본 출원에 개시된 클론은 3가지 Fc 수용체에 대한 결합이 음성인 한편, 5c8은 FcγRI, FcγRIIa에 결합했지만 FcγRIIIa 또는 FcγRIIIb에는 결합하지 않았다. 도 18a 및 18b 각각은 5c8, AT-1501 및 아바타셉트의 결합 곡선과 비교하여 8가지 항체 클론에 있어서 FcγRIa에 대한 결합을 나타낸다. 도 19a 및 19b 각각은 5c8, AT-1501 및 아바타셉트의 결합 곡선과 비교하여 8가지 항체 클론에 있어서 FcγRIIa에 대한 결합을 나타낸다. 도 20a 및 20b 각각은 5c8, AT-1501 및 아바타셉트의 결합 곡선과 비교하여 8가지 항체 클론에 있어서 FcγRIIIa에 대한 결합을 나타낸다. 도 20c 및 20d 각각은 5c8, AT-1501 및 아바타셉트의 결합 곡선과 비교하여 8가지 항체 클론에 있어서 FcγRIIIb에 대한 결합을 나타낸다. (도 18a, 19a, 20a 및 20b는 항체 클론 4-4, 5-3, 6-6, 7-5, 8-3, 8-4, 10-1 및 10-4의 결과를 나타내고; 도 18b, 19b, 20c 및 20d는 항체 클론 11-5, 12-4, 13-2, 15-1, 15-4, 16-3, 17-1 및 18-2의 결과를 나타냄).

[0119] 항-CD40L 항체(아바타셉트는 음성 대조군으로 포함함)를 (1X) PBS에서 2 μg/ml로 희석하고 50 μl/웰을 Costar 96-웰 ½ 면적 고결합 분석 플레이트(Corning 3690)에 첨가하여 4℃에서 밤새 인큐베이션하였다. 플레이트를 (1X) PBS/1.0% BSA(140 μl/웰)로 실온에서 1시간 동안 차단하여 배경 결합을 방지하였다. 10 μg/ml에서 연속 2배 희석한 천연 인간 C1q 단백질(Abcam ab96363)의 결합 곡선을 실온에서 1시간 동안 첨가하였다(50 μl/웰). 플레이트를 세척하였고 HRP-양 항-인간 C1q(Abcam ab46191)을 1:400 희석(50 μl/웰)으로 첨가한 다음 실온에서 1시간 동안 인큐베이션한다. 플레이트를 세척하였고 TMB 기질(Surmodics BioFX TMBW-1000-01)을 첨가한다(50 μl/웰). (25 μl/웰) $2NH_2SO_4$를 이용하여 실온에서 5분 후에 발색을 중단시켰다. SoftMax Pro 6.2.2 프로그램을 사용하여 Molecular Devices SpectraMax M5 플레이트 판독기에서 플레이트를 판독하여 450 nm에서의 흡광도를 결정하였다.

[0120] 도면에서 볼 수 있는 바와 같이, 본 출원에 개시된 16가지 모든 항체 클론의 항체는 C1q에 대한 결합이 음성인 한편, 5c8은 유의한 결합을 나타내었다. 도 21a 및 21b 각각은 5c8, AT-1501 및 아바타셉트의 결합 곡선과 비교하여 8가지 항체 클론에 있어서 C1q에 대한 결합을 나타낸다. 도 21a는 항체 클론 4-4, 5-3, 6-6, 7-5, 8-3, 8-4, 10-1 및 10-4의 결과를 나타내고; 도 21b는 항체 클론 11-5, 12-4, 13-2, 15-1, 15-4, 16-3, 17-1 및 18-2의 결과를 나타낸다.

[0121] 유전자 발현 데이터가 공동 자극 경로의 관련성을 나타내었기 때문에, MRI의 효능을 G93A 모델에서 평가하였다.

MR1은 CD40L에 결합하며, 따라서 면역 반응에 관련된 공동 자극 경로에 참여하는 CD40의 상호 작용을 차단한다. 문헌에는 MR1이 강력한 면역 구성요소를 갖는 류마티스 관절염과 이식편대 숙주 질환의 치료에 효능이 있는 것으로 보고되었다. 류마티스 관절염은 자가면역 질환이고 이식편대 숙주 질환은 숙주의 신체가 이식편 조직에 대한 강력한 면역 반응을 일으킬 때 발생한다.

[0122] ALS는 미세아교세포와 성상세포의 활성화에 의해 매개되는 면역 구성요소를 갖지만, 자가면역 장애인 것으로 간주되지 않는다. TNFα-억제제, Celebrex®, 미노사이클린, 및 탈리도마이드를 포함하여 여러 항-염증 약물이 전임상 또는 임상 시험에서 효능을 나타내지 못했다. 따라서 MR1이 G93A ALS 모델에서 효능을 나타냈다는 것은 예상치 못한 것이었다.

[0123] 본 개시내용에 따른 방법은 CD40L과 CD40의 상호 작용을 차단하고/하거나 CD28과 CD80의 상호 작용을 차단하고/하거나 CD28과 CD86의 상호 작용을 차단하는 화합물을 환자에게 투여함으로써 신경변성 및/또는 신경근 장애가 있는 환자를 치료하는 방법을 포함한다. 일 구현예는 CD40L과 CD40의 상호 작용을 차단하는 화합물을 환자에게 투여함으로써 알츠하이머병, 파킨슨병, 근위축성 측색경화증, 중증근무력증, 다초점성 운동신경병증, 원발성 측색경화증, 척수 근위축증, 케네디병, 및 척수소뇌 실조증이 있는 환자를 치료하는 방법이다. 또 다른 구현예에서 환자를 치료하는 방법은 항-CD40L 항체를 투여하는 것에 의한다.

[0124] 일부 구현예에서, 치료용 화합물은 CD40과 CD40L의 상호 작용을 차단하는 임의의 화합물을 포함한다. 예를 들어, 다수의 동물 연구는 CD40:CD40L 결합을 방해할 수 있는 작용제를 설명한다(예를 들어, 본 명세서에 참조로 포함된 US2005158314 및 US7173046 참조). 그리고, 예를 들어 다수의 항-CD40L 항체가 생산되고 특성화되었다. (예를 들어, Bristol-Myers Squibb의 미국 특허 5,876,950를 참조하며, 이는 본 명세서에 참조로 포함됨). 본 개시내용의 방법에서 유용한 항-CD40L 항체로는 Taconic(미국 뉴욕주 허드슨 소재) 및 BD Biosciences(미국 캘리포니아주 새너제이 소재)에서 입수 가능한 햄스터 모노클로날 항체인 MR1; 미국 특허 5,474,771(본 명세서에 참조로 포함됨)에 기재된 인간화 항체인 5c8; Ancell(카탈로그 X 353-020, 미국 미네소타주 베이포트 소재)에서 구매 가능한, 뮤린 모노클로날 항체 클론 24-31의 CDR과 함께 인간 감마-1 중쇄 및 인간 카파-경쇄를 포함하는 인간화된 모노클로날 항체인 햄스터 인간 키메라 항체 IDEC 131/E6040; ABI 793; Sgn-40; ImxM90(Immunex); ImxM91(Immunex); ImxM92(Immunex); 및 Genzyme(미국 매사추세츠주 케임브리지 소재, 카탈로그 번호 80-3703-01)에서 구매 가능한 항-CD40L mAb가 포함되지만 이에 제한되지 않는다. 또한 PharMingen(미국 샌디에이고 소재, 카탈로그 번호 33580D)에서 항-CD40L mAb가 구매 가능하다. 본 개시내용에 따른 구현예는 치료적 유효량의 항-CD40L 항체를 투여하는 단계를 포함하는, 신경변성 또는 신경근 장애가 있는 환자를 치료하는 방법을 포함한다. 일 구현예는 치료적 유효량의, MR1, 5c8, IDEC 131/E6040, 클론 24-31, ABI 793, ImxM90, ImxM91, ImxM92, 또는 Sgn-40으로부터 선택되는 항-CD40L 항체를 투여하는 단계를 포함하는, 신경변성 또는 신경근 장애가 있는 환자를 치료하는 방법이다. 일 구현예에서 항체는 5c8이다. 또 다른 구현예에서 항체는 MR1이다.

[0125] 일부 구현예에서 신경변성 또는 신경근 장애는 알츠하이머병, 파킨슨병, 근위축성 측색경화증, 중증근무력증, 다초점성 운동신경병증, 원발성 측색경화증, 척수 근위축증, 케네디병, 또는 척수소뇌 실조증이다. 일 구현예는 치료적 유효량의 항-CD40L 항체를 투여하는 단계를 포함하는, 근위축성 측색경화증이 있는 환자를 치료하는 방법이다. 특정 구현예에서 항-CD40L 항체는 MR1이다. 또 다른 특정 구현예에서 항-CD40L 항체는 5c8이다.

[0126] 또 다른 구현예에서 치료 방법은 치료적 유효량의 항-CD40 항체를 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서 항-CD40L 화합물은 Fab 단편, $F(ab')_2$, F(ab'), 단일 사슬 항체, 폴리펩타이드, 폴리펩타이드의 융합 작제물 등이다. 일부 구현예에서 화합물은 CD40:CD40L 상호 작용을 차단할 수 있는 소분자 화합물이다. 다른 구현예에서 이러한 화합물은 CD40:CD40L 상호 작용을 차단하는 능력을 가진, BIO3417, 또는 미국 특허 7,173,046에 개시된 화합물 중 임의의 것을 포함한다.

[0127] CD40:CD40L 상호 작용을 차단하는 화합물은 다른 화합물과 병용하여 투여될 수 있다. 따라서, 또 다른 구현예는 CD80과 CD28 사이의 상호 작용을 차단하는 화합물과 병용하여 CD40L과 CD40의 상호 작용을 차단하는 화합물을 투여하는 단계를 포함하는, 신경변성 또는 신경근 장애가 있는 환자를 치료하는 방법이다. 또 다른 구현예는 CD86과 CD28 사이의 상호 작용을 차단하는 화합물과 병용하여 CD40L과 CD40의 상호 작용을 차단하는 화합물을 투여함으로써 환자를 치료하는 방법이다. 일 구현예에서, CD80과 CD28의 상호 작용을 차단하는 화합물은 갈릭시맙, 또는 H1f1 및 h3d1, 또는 16C10, 또는 7C10이다. 일 구현예에서 CD86과 CD28의 상호 작용을 차단하는 화합물은 CTLA4-Ig 단백질 접합체, 예컨대 아베타셉트 또는 벨라타셉트이다. 본 개시내용에 따른 구현예는 또한 CD80과 CD28 사이의 상호 작용을 차단하는 화합물과 병용하여 CD40L과 CD40의 상호작용을 차단하는 화합물을 투

여하는 단계, 또는 CD86과 CD28 사이의 상호 작용을 차단하는 화합물과 병용하여 치료적 유효량의, CD40L과 CD40의 상호 작용을 차단하는 화합물을 투여하는 단계를 포함하는, 신경변성 또는 신경근 장애가 있는 환자를 치료하는 방법을 포함하며, 여기서 신경변성 또는 신경근 장애는 알츠하이머병, 파킨슨병, 근위축성 측색경화증, 중증근무력증, 다초점성 운동신경병증, 원발성 측색경화증, 척수 근위축증, 케네디병, 또는 척수소뇌 실조증이다. 특정 구현예에서 CD40L과 CD40의 상호 작용을 차단하는 화합물은 MR1이고, CD28과 CD86 사이 또는 CD28과 CD80 사이의 상호 작용을 차단하는 화합물은 아바타셉트, 갈릭시맙 또는 벨라타셉트이다. 다른 구현예에서, CD40L과 CD40의 상호 작용을 차단하는 화합물은 5c8이다. 또 다른 구현예는 아바타셉트 또는 벨라타셉트와 병용하여 치료적 유효량의 MR1을 투여하는 단계를 포함하는, 근위축성 측색경화증이 있는 환자를 치료하는 방법이다. 또 다른 구현예는 아바타셉트 또는 벨라타셉트와 병용하여 치료적 유효량의 5c8을 투여하는 단계를 포함하는, 근위축성 측색경화증이 있는 환자를 치료하는 방법이다.

[0128] 약제학적 조성물 및 투여 방법

[0129] 상기 장애 중 임의의 것을 치료하기 위해, 본 개시내용의 방법에 따라 사용하기 위한 약제학적 조성물이 하나 이상의 생리학적으로 허용 가능한 담체를 사용하여 통상적인 방식으로 제형화될 수 있다. 약제학적으로 허용 가능한 담체는 투여되는 특정 조성물뿐만 아니라 조성물을 투여하는 데 사용되는 특정 방법에 의해 부분적으로 결정된다. 따라서, 본 개시내용의 방법에 유용한 화합물의 매우 다양한 적합한 제형이 있다(예를 들어, 문헌 [Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th ed., Gennaro et al. Eds., Lippincott Williams and Wilkins, 2000] 참조).

[0130] 경구 투여에 적합한 제형으로는, 예를 들어 고체, 반고체 및 액체 시스템, 예컨대 정제; 다중- 또는 나노-미립자, 액체, 또는 분말을 포함하는 연질 또는 경질 캡슐; 로젠지(액체로 채워진 것을 포함함); 씹어 먹는 것; 겔; 빠르게 분산되는 투약 형태; 필름; 질좌약; 스프레이; 및 협측/점막접착 패치가 포함된다.

[0131] 비경구 투여에 적합한 제형으로는 산화방지제, 완충액, 정균제, 및 제형을 의도된 수용자의 혈액과 등장성으로 만드는 용질을 포함할 수 있는 수성 및 비수성, 등장성 멸균 주사 용액, 및 현탁화제, 가용화제, 증점제, 안정화제, 및 보존제를 포함할 수 있는 수성 및 비수성 멸균 현탁액이 포함된다.

[0132] 본 개시내용에 따르면, 화합물은 임의의 적합한 수단에 의해 투여될 수 있으며, 이는 치료될 장애의 유형 및 화합물 자체의 성질에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 화합물은 경구, 비경구, 또는 국소로 투여될 수 있다. 항체와 같은 단백질의 경우, 투여 경로로는 바람직하게는 비경구, 예를 들어 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내, 또는 피하가 포함된다. 바람직하게는 비경구 투약은 주사로, 가장 바람직하게는 정맥내, 근육내, 또는 피하 주사로 제공된다. 투여될 양은 다양한 요인, 예컨대 임상 증상, 개체의 체중, 및 다른 약물이 투여되는지 여부에 따라 달라질 것이다. 적절한 투약 형태, 투약량, 및 투여 경로의 결정은 약제학 및 의학 분야의 통상적인 기술 수준 내에 있으며 하기에 기재되어 있음이 이해되어야 한다.

[0133] 항-CD40L 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 예시적인 일 약제학적 조성물에서, 조성물은 정맥내 또는 피하 투여용으로 항-CD40L 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 멸균된 무-방부제 용액으로 제형화된다. 제형은 1회용의 프리필드 펜, 예를 들어 약 1 mL의 프리필드 유리 주사기를 포함하는 1회용, 또는 1회용의 기관용 바이알로 공급될 수 있다. 바람직하게는, 항-CD40L 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 약제학적 조성물은 투명하고 무색이며, pH가 약 5.0 내지 약 6.9이고, 바람직하게는 pH가 약 5.0 내지 약 6.5이며, 훨씬 더 바람직하게는 pH가 약 5.0 내지 약 6.0의 범위이다. 다양한 구현예에서, 약제학적 조성물을 포함하는 제형은 재구성되어 대상체에게 투여될 때 용액 mL당 약 500 mg 내지 약 1 mg, 또는 약 400 mg 내지 약 10 mg, 또는 약 300 mg 내지 약 30 mg 또는 약 200 mg 내지 약 50 mg의 항-CD40L 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함할 수 있다.

[0134] 치료제에 대한 투여 요법의 선택은 개체의 혈청 또는 조직 전환율, 징후의 수준, 개체의 면역원성, 및 생물학적 매트릭스에서 표적 세포의 접근성, 환자의 전반적인 건강, 환자의 이전 병력 등을 포함하여 여러 인자에 따라 다르다. 바람직하게는, 투여 요법은 허용 가능한 수준의 부작용과 일관되게 환자에게 전달되는 치료제의 양을 최대화한다. 따라서, 전달되는 생물제제의 양은 특정 실체 및 치료될 병태의 중증도에 따라 부분적으로 달라진다. 적절한 투약 형태, 투약량, 및 투여 경로의 결정은 약제학 및 의학 분야의 통상적인 기술 수준 내에 있음이 이해되어야 한다.

[0135] 용량 및 노출

[0136] 본 개시내용의 약제학적 제형은 약 0.001 내지 약 200 mg/kg의 항-CD40L 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함할 수 있으며, 예를 들어 약 0.001 mg/kg 내지 약 100 mg/kg, 또는 약 0.001 mg/kg 내지 약 50 mg/kg, 또는 약

0.001 mg/kg 내지 약 10 mg/kg의 항-CD40L 항체, 또는 이의 항원-결합 단편의 정맥 주사가 볼러스로 제공될 수 있고, 나머지 항체 용량은 정맥내 주사로 투여될 수 있다. 미리 결정된 용량의 항-CD40L 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은, 예를 들어 1시간 내지 2시간 내지 5시간의 기간에 걸쳐 투여될 수 있다.

[0137] 추가 구현예에서, 용량의 일부는 피하 주사 및/또는 볼러스 형태의 주입으로 투여되고 나머지는 항체 제형의 주입에 의해 투여된다. 일부 예시적인 용량에서, 항체 제형은 약 0.001 내지 약 200 mg/kg, 예를 들어 약 0.001 mg/kg 내지 약 100 mg/kg, 또는 약 0.001 mg/kg 내지 약 50 mg/kg, 또는 약 0.001 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 범위의 항-CD40L 항체, 또는 이의 항원-결합 단편의 정맥내 주사의 용량으로 피하로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서 용량은 볼러스로 제공될 수 있고, 나머지 항체 용량은 피하 또는 정맥내 주사에 의해 투여될 수 있다. 미리 결정된 용량의 항-CD40L 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은, 예를 들어 1시간의 기간, 또는 2시간의 기간, 또는 3시간의 기간, 또는 4시간의 기간 또는 5시간의 기간 또는 그 이상에 걸쳐 투여될 수 있다.

[0138] 일부 구현예에서, 용량은, 예컨대 혈장에서 안정 상태를 유지할 정도로 일정한 속도로 투여된다. 일부 구현예에서, 용량은 2주마다 투여된다. 일부 구현예에서, 화합물은 대상체의 혈장이 1 μg/mL 내지 1 mg/mL인 용량으로 화합물의 농도를 유지하도록 투여된다. 일부에서, 화합물은 대상체의 혈장이 1 μg/mL 내지 500 μg/mL인 용량으로 화합물의 농도를 유지하도록 투여된다. 일부 구현예에서, 화합물은 대상체의 혈장이 1 μg/mL 내지 250 μg/mL인 용량으로 화합물의 농도를 유지하도록 투여된다. 일부 구현예에서, 화합물은 대상체의 혈장이 5 μg/mL 내지 100 μg/mL인 용량으로 화합물의 농도를 유지하도록 투여된다. 일부 구현예에서, 화합물은 대상체의 혈장이 30 μg/mL 내지 60 μg/mL인 용량으로 화합물의 농도를 유지하도록 투여된다.

[0139] 바이오마커

[0140] 본 출원의 일부 구현예는 CD40/CD40L을 표적으로 하는 화합물의 처리로 대상체의 바이오마커를 변형시키는 것에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 바이오마커는 CD40/CD40L 활성에 관련된 단백질이다. 일부 구현예에서, 바이오마커는 CD40이다. 일부 구현예에서, 바이오마커는 CD40L이다. 일부 구현예에서, 바이오마커는 NFL이다. 일부 구현예에서, 바이오마커는 전염증성 마커이거나, 또는 염증과 관련이 있다. 일부 구현예에서, 바이오마커는 ALS와 관련이 있다. 일부 구현예에서, 바이오마커는 신경변성 또는 신경근 질환 또는 장애와 관련이 있다. 일부 구현예에서, 바이오마커는 사이토카인 및/또는 인터류킨이다. 일부 구현예에서, 바이오마커는 NFL, CXCL13, CD40L, CXCL9, TNF-알파, En-Raged, TNFR2, IgM, IgA, I12r, CXCL10, CD40, B2M, VCAM, I1-18, I1-16, SAP, MIP1베타, MDC, C3, CRP, Fibrogen, IgE, ICAM, 인자VIII, Ena-78, Pa11, Rantes, TIMP1, vWF, I1-6, MCP1, MMP3, MMP9, MCP1, MIG, vWF, I1-8, IP10, 및 MMP2 중 하나 이상이다.

[0141] 일부 구현예에서, CD40/CD40L을 표적으로 하는 화합물을 이용한 처리는 하나 이상의 바이오마커의 농도를 증가시킨다. 일부 구현예에서, CD40/CD40L을 표적으로 하는 화합물을 이용한 처리는 하나 이상의 바이오마커의 농도를 감소시킨다. 일부 구현예에서, CD40/CD40L을 표적으로 하는 화합물을 이용한 처리는 적어도 하나의 바이오마커 농도를 증가시키고, 적어도 하나의 다른 바이오마커 농도를 감소시킨다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 바이오마커의 기준 수준은 CD40/CD40L을 표적으로 하는 화합물을 이용한 치료에 대한 질환, 장애, 또는 병태가 있는 대상체의 반응에 대한 예측인자의 역할을 한다.

[0142] 병용 요법

[0143] 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항체 단편은 단독으로(단일요법) 또는 병용하여, 즉 다른 작용제와 조합하여 투여될 수 있다. 예를 들어, 일 구현예에서 병용 요법은 하나 이상의 추가적인 치료제를 포함할 수 있다. 또 다른 구현예에서 병용 요법은 추가적인 치료제를 포함할 수 있거나 포함하지 않을 수 있는 표준 치료 치료법을 포함한다(본질적으로 항체 또는 이의 항체 단편으로 이루어짐).

[0144] 보조 또는 조합 투여(공동 투여)는 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원 결합 단편 중 임의의 것과, 동일하거나 상이한 투약 형태의 하나 이상의 작용제를 동시에 투여하는 것, 또는 폴리펩타이드와 하나 이상의 작용제를 별도로 투여하는 것(예를 들어, 순차 투여)을 포함한다. 그러한 동시 또는 순차 투여는 바람직하게는 폴리펩타이드와 하나 이상의 작용제가 둘 다 치료된 환자에게 동시에 존재하는 결과를 초래한다.

[0145] 키트 및 제조 물품

[0146] 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원 결합 단편 및 사용 지침을 포함하는 키트가 추가로 제공된다. 키트는 통상적으로 미리 정해진 양의 시약의 포장된 조합과 지침 및 키트의 내용물의 의도된 사용을 나타내는 라벨을 포함한다. 라벨 또는 지침이라는 용어에는 키트에 공급되거나 키트와 함께 공급되거나, 다르게는 키트의 제조, 운송, 판매, 또는 사용 동안 언제든지 키트에 동반되는 임의의 서면 또는 기록 자료가 포함된다. 이는 의약품

또는 생물학적 제품의 제조, 사용 또는 판매를 규제하는 정부 기관이 규정한 형태일 수 있으며, 이러한 공지는 인간 투여를 위해 또는 수의학적 용도로 제조, 사용 또는 판매를 기관이 승인하였음을 반영한다. 라벨 또는 지침으로는 또한 광고 전단지 및 브로셔, 포장재, 및 오디오 또는 비디오 지침이 포함될 수 있다.

[0147] 항-CD40L 항원 결합 분자

[0148] 본 명세서에서 제공되는 일부 구현예는 혈소판 활성화를 방지하기 위해 변형된 Fc 도메인이 있는 hu5c8의 가변 경쇄 및 가변 중쇄 CDR 서열을 갖는 인간 IgG1 컨센서스 프레임워크를 포함하는 항-CD40L 항체 hu5c8의 변형된 버전인 항체에 관한 것이다.

[0149] **표 3**은 본 출원에서 언급된 서열번호의 설명을 제공한다.

표 3

[0150]

서열번호	서열 설명
1	경쇄 가변 영역 아미노산 서열(hu5c8 및 JB5)
2	중쇄 가변 영역 아미노산 서열(hu5c8 및 JB5)
3	Fc 영역 아미노산 서열(hu5c8)
4	JB5 Fc 영역 아미노산 서열
5	JB5-R28K 경쇄 가변 영역 아미노산 서열
6	JB5-K74R 중쇄 가변 영역 아미노산 서열
7	JB5 경쇄 아미노산 서열
8	JB5 경쇄 핵산 서열
9	JB5 중쇄 아미노산 서열
10	JB5 중쇄 핵산 서열
11	JB5-R28K 경쇄 아미노산 서열
12	JB5-R28K 경쇄 합성 유전자 핵산 서열
13	JB5-K74R 중쇄 아미노산 서열
14	JB5-K74R 중쇄 합성 유전자 핵산 서열
15	JB5 가변 경쇄 아미노산 서열의 CDR-1
16	JB5 가변 경쇄 아미노산 서열의 CDR-2
17	JB5 가변 경쇄 아미노산 서열의 CDR-3
18	JB5 가변 중쇄 아미노산 서열의 CDR-1
19	JB5 가변 중쇄 아미노산 서열의 CDR-2
20	JB5 가변 중쇄 아미노산 서열의 CDR-3
21	Hu5c8 중쇄 아미노산 서열

[0151] 일 구현예(구현예 A)는 CD40L에 결합하고 경쇄 및 중쇄를 포함하는 단리된 항체이며, 여기서 경쇄는 서열번호 1과 적어도 90%, 또는 적어도 91%, 또는 적어도 92%, 또는 적어도 93%, 또는 적어도 94%, 또는 적어도 95%, 또는 적어도 96%, 또는 적어도 97%, 또는 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고, 중쇄는 가변 중쇄 영역 및 Fc 영역을 포함하고, 중쇄 가변 영역은 서열번호 2와 적어도 90%, 또는 적어도 91%, 또는 적어도 92%, 또는 적어도 93%, 또는 적어도 94%, 또는 적어도 95%, 또는 적어도 96%, 또는 적어도 97%, 또는 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며, Fc 영역은 서열번호 3과 적어도 적어도 90%, 또는 적어도 91%, 또는 적어도 92%, 또는 적어도 93%, 또는 적어도 94%, 또는 적어도 95%, 또는 적어도 96%, 또는 적어도 97%, 또는 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하되, Fc 영역은 C11S, C14S, 및 P23S로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나의 치환 또는 치환 조합을 포함한다.

[0152] 또 다른 구현예(구현예 B)는 구현예 A에 따른 단리된 항체이며, 여기서 Fc 영역은 아미노산 치환 C5S를 추가로 포함한다.

[0153] 구현예 A 및 B의 변형에서 항체는 치환 T33W, S26D, 및 Q27E 중 어느 것도 포함하지 않는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0154] 구현예 A 및 B의 다른 변형에서, 경쇄 가변 영역은 치환 R28K를 포함한다.

[0155] 구현예 A 및 B의 일부 변형에서, 중쇄 및 경쇄의 CDR은 **표 4**에 열거된 서열을 갖는다.

표 4

[0156]

CDR1 경쇄	ISCRASQRVSSSTYSYMH(서열번호 15)
CDR2 경쇄	YASNLES(서열번호 16)
CDR3 경쇄	QHSWEIPPT(서열번호 17)
CDR1 중쇄	SYYMY(서열번호 18)
CDR2 중쇄	EINPSNGDTNFNEKFKS(서열번호 19)
CDR3 중쇄	SDGRNDMDS(서열번호 20)

[0157] 구현예 A 및 B의 또 다른 변형에서, 경쇄 가변 영역은 아미노산 서열 ICRRASQRVSSSTYSYMH(서열번호 15)을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 경쇄 가변 영역은 아미노산 서열 ICRRASQRVSSSTYSYMH(서열번호 15), 및 아미노산 서열 YASNLES(서열번호 16) 및 QHSWEIPPT(서열번호 17) 중 하나 또는 둘 다를 포함한다.

[0158] 구현예 A 및 B의 일부 변형에서, 경쇄 가변 영역은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서 경쇄 가변 영역은 서열번호 1의 아미노산으로 이루어진다. 일부 구현예에서, 경쇄는 본질적으로 서열번호 7의 아미노산 서열로 이루어진다. 다른 구현예에서, 경쇄는 서열번호 7의 아미노산 서열로 이루어진다. 또 다른 구현예에서, 경쇄는 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 경쇄는 본질적으로 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진다. 또 다른 구현예에서, 경쇄는 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진다.

[0159] 구현예 A 및 B의 다른 변형에서, 항체는 치환 T30H, Y33W, 또는 S54N 중 어느 것도 포함하지 않는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 구현예 A 및 B의 구현예의 항체의 일부 구현예에서, 경쇄 가변 영역은 치환 T33W, S26D, 및 Q27E 중 어느 것도 포함하지 않는다. 구현예 A 및 B의 다른 변형에서, 경쇄 가변 영역은 치환 T33W, S26D, 및 Q27E 중 어느 것도 포함하지 않고, 중쇄 가변 영역은 치환 T30H, Y33W, 또는 S54N 중 어느 것도 포함하지 않는다.

[0160] 구현예 A 및 B의 또 다른 변형에서, 중쇄 가변 영역은 치환 K74R을 포함한다. 일 구현예에서 중쇄 가변 영역은 아미노산 서열 SYYMY(서열번호 18), EINPSNGDTNFNEKFKS(서열번호 19), 및 SDGRNDMDS(서열번호 20) 중 하나 또는 임의의 조합을 포함한다.

[0161] 또 다른 구현예에서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 중쇄 가변 영역은 본질적으로 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진다. 또 다른 구현예에서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진다. 일부 구현예에서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 중쇄 가변 영역은 본질적으로 서열번호 6의 아미노산 서열로 이루어진다. 또 다른 구현예에서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 6의 아미노산 서열로 이루어진다.

[0162] 본 명세서에서 제공되는 일부 구현예는 단리된 항체에 관한 것이며, 여기서 경쇄는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하고, 중쇄는 서열번호 9의 아미노산 서열로 이루어진다.

[0163] 본 명세서에서 제공되는 일부 구현예는 단리된 항체에 관한 것이며, 여기서 경쇄는 서열번호 7의 아미노산 서열로 이루어지고, 중쇄는 서열번호 9의 아미노산 서열로 이루어진다.

[0164] 본 명세서에서 제공되는 일부 구현예는 단리된 항체에 관한 것이며, 여기서 경쇄 가변 영역은 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하고, 중쇄는 서열번호 9의 아미노산 서열로 이루어진다.

[0165] 또 다른 구현예는 단리된 항체이며, 여기서 경쇄는 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어지고, 중쇄는 서열번호 9의 아미노산 서열로 이루어진다.

[0166] 또 다른 구현예는 단리된 항체이며, 여기서 경쇄는 서열번호 7의 아미노산 서열로 이루어지고, 중쇄는 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진다.

[0167] 또 다른 구현예는 단리된 항체이며, 여기서 경쇄는 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어지고, 중쇄는 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진다.

[0168] 본 명세서에서 제공되는 일부 구현예는 다음 열거된 대안에 관한 것이다.

[0169] CD40L 또는 CD40에 대한 화합물을 이용한 치료에 대해 질환 또는 장애가 있는 대상체의 반응을 예측하는 방법으로서, 대상체로부터 샘플을 수집하는 단계; 샘플에 존재하는 적어도 하나의 바이오마커의 농도를 측정하는 단계로서, 적어도 하나의 바이오마커는 NFL, MMP9, MMP3, IL6, IL18, IgA, TNFR2, TNFa, IL2ra, 인자VIII, CRP,

SAP, MCP1, En-Raged, MIG, vWF, IgE, IL8, IP10, C3, 및 MMP2인, 단계를 포함하며; 여기서 적어도 하나의 바이오마커의 농도는 대상체가 CD40L 또는 CD40에 대한 화합물을 이용한 질환 또는 장애에 대한 치료에 반응할 가능성이 있음을 예측하는, 방법.

[0170] 대안 1에 있어서, 질환 또는 장애는 염증, 신경변성 질환, 또는 신경근 질환인, 방법.

[0171] 대안 2에 있어서, 신경변성 질환 또는 신경근 질환은 근위축성 측색경화증, 알츠하이머병, 파킨슨병, 중증근무력증, 다초점성 운동신경병증, 원발성 측색경화증, 척수 근위축증, 케네디병, 또는 척수소뇌 실조증인, 방법.

[0172] 대안 3에 있어서, 신경변성 질환 또는 신경근 질환은 근위축성 측색경화증(ALS)인, 방법.

[0173] 대안 1 내지 4 중 어느 하나에 있어서, 대상체는 포유동물 및/또는 인간인, 방법.

[0174] 대안 1 내지 5 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 CD40과 CD40L의 상호 작용을 차단하는, 방법.

[0175] 대안 1 내지 6 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 항-CD40L 항체 또는 항-CD40 항체인, 방법.

[0176] 대안 1 내지 7 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 테고프루바트인, 방법.

[0177] 대안 1 내지 8 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 MR1 또는 5c8인, 방법.

[0178] 질환 또는 장애가 있는 대상체를 치료하는 방법으로서, 치료적 유효 용량의, CD40L 또는 CD40에 대한 화합물을 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 치료적 유효 용량의 투여는 대상체의 혈장에서 화합물을 5 μg/mL 내지 100 μg/mL의 농도로; 바람직하게는 30 μg/mL 내지 60 μg/mL인 용량으로 유지하는, 방법.

[0179] 대안 10에 있어서, 질환 또는 장애는 염증, 신경변성 질환, 또는 신경근 질환인, 방법.

[0180] 대안 11에 있어서, 신경변성 질환 또는 신경근 질환은 근위축성 측색경화증, 알츠하이머병, 파킨슨병, 중증근무력증, 다초점성 운동신경병증, 원발성 측색경화증, 척수 근위축증, 케네디병, 또는 척수소뇌 실조증인, 방법.

[0181] 대안 12에 있어서, 신경변성 질환 또는 신경근 질환은 근위축성 측색경화증(ALS)인, 방법.

[0182] 대안 10 내지 13 중 어느 하나에 있어서, 대상체는 포유동물 및/또는 인간인, 방법.

[0183] 대안 10 내지 14 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 CD40과 CD40L의 상호 작용을 차단하는, 방법.

[0184] 대안 10 내지 15 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 항-CD40L 항체 또는 항-CD40 항체인, 방법.

[0185] 대안 10 내지 16 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 테고프루바트인, 방법.

[0186] 대안 10 내지 17 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 MR1 또는 5c8인, 방법.

[0187] 대안 10 내지 18 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 2주마다 적어도 1회 투여되는, 방법.

[0188] 대안 10 내지 19 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 적어도 12주의 기간 동안 투여되는, 방법.

[0189] 대안 10 내지 20 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 200 mg/kg 내지 100 mg/kg의 용량; 바람직하게는 1 mg/kg 내지 8 mg/kg의 용량; 가장 바람직하게는 2 mg/kg 내지 4 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

[0190] 대안 10 내지 21 중 어느 하나에 있어서, 제2의 약제학적으로 효과적인 화합물을 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

[0191] 대안 22에 있어서, 제2 화합물은 CD28과 CD86 사이 또는 CD28과 CD80 사이의 상호 작용을 차단하는, 방법.

[0192] 대안 22에 있어서, 제2 화합물은 인터류킨, 사이토카인, 및 전염증성 마커로 이루어진 군으로부터 선택되는 바이오마커 중 적어도 하나를 표적으로 하는, 방법.

[0193] 대안 24에 있어서, 제2 화합물은 NFL, CXCL13, CD40L, CXCL9, TNF-알파, En-Raged, TNFR2, IgM, IgA, Il2r, CXCL10, CD40, B2M, VCAM, Il-18, Il-16, SAP, MIP1베타, MDC, C3, CRP, Fibrogen, IgE, ICAM, 인자VIII, Ena-78, Pal1, Rantes, TIMP1, vWF, Il-6, MCP1, MMP3, MMP9, 및 MMP2로 이루어진 군으로부터 선택되는 바이오마커 중 적어도 하나를 표적으로 하는, 방법.

[0194] 대안 22에 있어서, 제2 화합물은 CTLA4-Ig 융합 단백질, 아바타셉트, 벨라타셉트, 또는 갈릭시맙인, 방법.

[0195] 대안 10 내지 26 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 경구, 비경구, 또는 국소로 투여되는, 방법.

[0196] 대안 27에 있어서, 화합물은 비경구로 투여되는, 방법.

[0197] 대안 28에 있어서, 화합물은 주사로, 가장 바람직하게는 정맥내, 근육내, 또는 피하 주사로 투여되는, 방법.

[0198] 대안 1 내지 29 중 어느 하나에 있어서, 질환 또는 장애는 대장염, 약물 유도 루푸스 신염, 이식편대 숙주 질환, 면역 이식편 반응, 이식 거부 및 죽상경화증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 염증성 또는 면역 질환 또는 장애인, 방법.

[0199] 대안 1 내지 30 중 어느 하나에 있어서, 질환 또는 장애는 전신 홍반 루푸스, 1형 당뇨병, 중증근무력증, 염증성 장 질환, 면역 혈소판 감소성 자반증, 류마티스 관절염, 건선, 애디슨병, 크론병, 포도막염, 다발성 경화증, 용혈성 빈혈, 및 그레이브스병으로 이루어진 군으로부터 선택되는 자가면역 질환인, 방법.

[0200] 대안 1 내지 31 중 어느 하나에 있어서, CD40L 또는 CD40을 표적으로 하는 화합물은 (a) i) 서열번호 9에 제시된 서열을 포함하는 CDRH1 도메인; ii) 서열번호 10, 11, 12, 13, 또는 14에 제시된 서열을 포함하는 CDRH2 도메인; 및 iii) 서열번호 15에 제시된 서열을 포함하는 CDRH3 도메인을 포함하는 중쇄 가변 영역(V_H); 및 (b) i) 서열번호 16 또는 17에 제시된 서열을 포함하는 CDRL1 도메인; ii) 서열번호 18 또는 19에 제시된 서열을 포함하는 CDRL2 도메인; 및 iii) 서열번호 20에 제시된 서열을 포함하는 CDRL3 도메인을 포함하는 경쇄 가변 영역(V_L)을 포함하는 항체인, 방법.

[0201] 대안 1 내지 32 중 어느 하나에 있어서, CD40L 또는 CD40을 표적으로 하는 화합물은 (a) 서열번호 1, 2, 3, 또는 4에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역(V_H); 및 (b) 서열번호 5, 6, 7, 또는 8에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역(V_L)을 포함하는 항체인, 방법.

[0202] 대상체에서 적어도 하나의 바이오마커의 농도를 조절하는 방법으로서, 치료적 유효량의, CD40L 또는 CD40에 대한 화합물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 적어도 하나의 바이오마커는 NFL, CXCL13, CD40L, CXCL9, TNF-알파, En-Raged, TNFR2, IgM, IgA, I12r, CXCL10, CD40, B2M, VCAM, I1-18, I1-16, SAP, MIP1베타, MDC, C3, CRP, Fibrogen, IgE, ICAM, 인자VIII, Ena-78, Pa11, Rantes, TIMP1, vWF, I1-6, MCP1, MMP3, MMP9, MCP1, MIG, vWF, I1-8, IP10, 또는 MMP2인, 방법.

[0203] 대안 34에 있어서, 화합물의 투여 후에 적어도 하나의 바이오마커의 농도가 증가하는, 방법.

[0204] 대안 34에 있어서, 화합물의 투여 후에 적어도 하나의 바이오마커의 농도가 감소하는, 방법.

[0205] 대안 34에 있어서, 화합물의 투여 후에 적어도 하나의 바이오마커의 농도는 증가하고, 적어도 하나의 다른 바이오마커의 농도는 감소하는, 방법.

[0206] 대안 34 내지 37 중 어느 하나에 있어서, 대상체는 질환 또는 장애를 갖는, 방법.

[0207] 대안 38에 있어서, 질환 또는 장애는 염증, 신경변성 질환, 또는 신경근 질환인, 방법.

[0208] 대안 39에 있어서, 신경변성 질환 또는 신경근 질환은 근위축성 측색경화증, 알츠하이머병, 파킨슨병, 중증근무력증, 다초점성 운동신경병증, 원발성 측색경화증, 척수 근위축증, 케네디병, 또는 척수소뇌 실조증인, 방법.

[0209] 대안 40에 있어서, 신경변성 질환 또는 신경근 질환은 근위축성 측색경화증(ALS)인, 방법.

[0210] 대안 34 내지 41 중 어느 하나에 있어서, 대상체는 포유동물 및/또는 인간인, 방법.

[0211] 대안 34 내지 42 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 CD40과 CD40L의 상호 작용을 차단하는, 방법.

[0212] 대안 34 내지 43 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 항-CD40L 항체 또는 항-CD40 항체인, 방법.

[0213] 대안 34 내지 44 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 테고프루바트인, 방법.

[0214] 대안 34 내지 45 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 MR1 또는 5c8인, 방법.

[0215] 대안 34 내지 46 중 어느 하나에 있어서, 치료적 유효 용량의 투여는 대상체의 혈장에서 화합물을 5 μg/mL 내지 100 μg/mL의 농도로; 바람직하게는 30 μg/mL 내지 60 μg/mL인 용량으로 유지하는, 방법.

[0216] 대안 34 내지 47 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 2주마다 적어도 1회 투여되는, 방법.

[0217] 대안 34 내지 48 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 적어도 12주의 기간 동안 투여되는, 방법.

[0218] 대안 34 내지 49 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 200 mg/kg 내지 100 mg/kg의 용량; 바람직하게는 1 mg/kg 내지 8 mg/kg의 용량; 가장 바람직하게는 2 mg/kg 내지 4 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

[0219] 대안 34 내지 50 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 경구, 비경구, 또는 국소로 투여되는, 방법.

[0220] 대안 51에 있어서, 화합물은 비경구로 투여되는, 방법.

[0221] 대안 52에 있어서, 화합물은 주사로, 가장 바람직하게는 정맥내, 근육내, 또는 피하 주사로 투여되는, 방법.

[0222] 대안 34 내지 53 중 어느 하나에 있어서, 질환 또는 장애는 대장염, 약물 유도 루푸스 신염, 이식편대 숙주 질환, 면역 이식편 반응, 이식 거부 및 죽상경화증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 염증성 또는 면역 질환 또는 장애인, 방법.

[0223] 대안 34 내지 54 중 어느 하나에 있어서, 질환 또는 장애는 전신 홍반 루푸스, 1형 당뇨병, 중증근무력증, 염증성 장 질환, 면역 혈소판 감소성 자반증, 류마티스 관절염, 건선, 애디슨병, 크론병, 포도막염, 다발성 경화증, 용혈성 빈혈, 및 그레이브스병으로 이루어진 군으로부터 선택되는 자가면역 질환인, 방법.

[0224] 대안 34 내지 55 중 어느 하나에 있어서, CD40L 또는 CD40을 표적으로 하는 화합물은 (a) i) 서열번호 9에 제시된 서열을 포함하는 CDRH1 도메인; ii) 서열번호 10, 11, 12, 13, 또는 14에 제시된 서열을 포함하는 CDRH2 도메인; 및 iii) 서열번호 15에 제시된 서열을 포함하는 CDRH3 도메인을 포함하는 중쇄 가변 영역(V_H); 및 (b) i) 서열번호 16 또는 17에 제시된 서열을 포함하는 CDRL1 도메인; ii) 서열번호 18 또는 19에 제시된 서열을 포함하는 CDRL2 도메인; 및 iii) 서열번호 20에 제시된 서열을 포함하는 CDRL3 도메인을 포함하는 경쇄 가변 영역(V_L)을 포함하는 항체인, 방법.

[0225] 대안 34 내지 56 중 어느 하나에 있어서, CD40L 또는 CD40을 표적으로 하는 화합물은 (a) 서열번호 1, 2, 3, 또는 4에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역(V_H); 및 (b) 서열번호 5, 6, 7, 또는 8에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역(V_L)을 포함하는 항체인, 방법.

[0226] ALS가 있는 대상체의 ALS-FRS 점수를 유지 또는 개선하는 방법으로서, 치료적 유효 용량의, CD40L 또는 CD40에 대한 화합물을 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 치료적 유효 용량의 투여는 대상체의 혈장에서 화합물을 5 μg/mL 내지 100 μg/mL의 농도로; 바람직하게는 30 μg/mL 내지 60 μg/mL인 용량으로 유지하는, 방법.

[0227] CD40L 또는 CD40에 대한 화합물로 질환 또는 장애가 있는 대상체를 사전 스크리닝 및 치료하는 방법으로서, 대상체로부터 샘플을 수집하는 단계; 유체에 존재하는 적어도 하나의 바이오마커의 농도를 검출하는 단계로서, 적어도 하나의 바이오마커는 NFL, MMP9, MMP3, IL6, IL18, IgA, TNFR2, TNFa, IL2ra, 인자VIII, CRP, SAP, MCP1, En-Raged, MIG, vWF, IgE, IL8, IP10, C3, 또는 MMP2인, 단계; 해당 질환 또는 장애가 없는 대상체에서 적어도 하나의 바이오마커의 농도에 대해 적어도 하나의 바이오마커의 농도를 스크리닝하는 단계; 및 대상체의 혈장이 화합물의 농도를 5 μg/mL 내지 100 μg/mL인 용량; 바람직하게는 30 μg/mL 내지 60 μg/mL인 용량으로 유지하도록 치료적 유효 용량의, CD40L 또는 CD40에 대한 화합물을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[0228] 대안 59에 있어서, 화합물은 대상체의 적어도 하나의 바이오마커의 농도가 질환 또는 장애가 없는 대상체의 적어도 하나의 바이오마커의 농도와 상당히 상이한 경우 대상체에게 투여되는, 방법.

[0229] **실시예**

[0230] 본 명세서에서 제공되는 구현예는 다음 실시예에서 추가로 정의된다. 이러한 실시예는 단지 예시로 주어진 것임이 이해되어야 한다. 상기 논의 및 이러한 실시예로부터, 당업자는 본 개시내용의 필수적인 특성을 확인할 수 있으며, 이의 사상 및 범주를 벗어나지 않으면서 본 개시내용의 구현예의 다양한 변화 및 변형을 가하여 다양한 용법과 조건에 맞게 조정할 수 있다. 따라서, 본 명세서에 나타내고 기재된 것에 추가적으로 구현예의 다양한 변형이 상기 설명으로부터 당업자에게 명백할 것이다. 그러한 변형은 또한 첨부된 청구범위의 범주에 속하는 것으로 의도된다. 본 명세서에 제시된 각각의 참조문헌의 개시내용은 본 명세서에 전문이 참고로, 그리고 본 명세서에 참조된 개시내용을 위해 포함된다.

[0231] **실시예 1**

[0232] <u>임상 연구 설계</u>

[0233] CD40L 또는 CD40을 표적으로 하는 화합물의 유효성을 임상 시험에서 평가하였다. 총 54명의 인간 대상체가 참여

하였으며; 이들 대상체는 양성 ALS 진단, 또는 실험실에서 지원하는 개정된 El Escorial 기준을 통한 가능성, 확률적, 또는 확실성 진단을 기준으로 선택되었다. 각각의 대상체는 또한 ALSFRS-R 집계 점수가 35점 이상이었고, 초기 진단 이후 24개월을 넘지 않았다. 또한, 시험을 위해 선택된 각각의 대상체는 기관절개술을 받았거나, 영구적인 보조 환기 시스템을 사용하였다. 선택된 대상체의 인구통계는 **표 5**에 나타나 있다.

표 5

[0234]

	1 mg/kg (N=9)	2 mg/kg (N=9)	4 mg/kg (N=18)	8 mg/kg (N=18)	모든 대상체 (N=54)
연령(세) 평균	61.2	59.0	56.4	60.3	59.0
연령 < 65세	7 (77.8%)	6 (66.7%)	15 (83.3%)	11 (61.1%)	39 (72.2%)
성별 - 남성	6 (66.7%)	7 (77.8%)	12 (66.7%)	10 (55.6%)	35 (64.8%)
민족 - 히스패닉계 / 라틴계	0	0	0	3 (16.7%)	3 (5.6%)
인종 - 백인	9 (100%)	8 (88.9%)	17 (94.4%)	18 (100%)	52 (96.3%)
인종 - 아시아인	0	1 (11.1%)	1 (5.6%)	0	2 (3.7%)
BMI 평균	26.2	27.6	25.1	26.0	26.0
ALSFRS-R(스크리닝) 평균 (최소, 최대)	41.1 (38, 46)	40.2 (38, 43)	39.7 (35, 47)	39.2 (35, 45)	39.9 (35, 47)
ALSFRS-R(기준선) 평균 (최소, 최대) ALSFRS-R <=34*	40.4 (38, 46) 0 (0%)	40.0 (37, 43) 0 (0%)	39.6 (34, 47) 1 (3%)	38.6 (29, 47) 3 (17%)	39.5 (29, 47) 4 (7%)
ALS 연수 도메인<=4 (기준선)	0 (0%)	0 (0%)	2 (11%)	4 (22%)	6 (11%)

[0235] 투약 코호트는 4개였다: 1 mg/kg(n=9), 2 mg/kg(n=9), 4 mg/kg(n=18), 8 mg/kg(n=18). 도 22에 개략적으로 개괄된 바와 같이, 각각의 대상체는 화합물의 제1 투약 전 -28일 또는 -4일째에 기준선 데이터로 이들 대상체로부터 혈액의 생체샘플을 2개 수집하였다. 0일째에, 2개의 추가 후속 생체샘플을 수집하였다. 이들 생체샘플은 pK/ADA의 분석에 사용된 혈장 샘플 1개, 및 바이오마커 수준 분석을 위한 혈장 샘플 1개로 이루어졌다.

[0236] 생체샘플 수집 후, 각각의 대상체는 즉시 화합물 AT-1501(또한 테고프루바트라고도 함)을 1 mg/kg, 2 mg/kg, 4 mg/kg, 또는 8 mg/kg로 IV 주입을 받았다. 혈장 생체샘플을 수집한 후, 설정된 용량으로 AT-1501을 투여하는 이러한 패턴을 총 101일 동안 14일마다 반복하였다. 주입은 0, 15, 29, 43, 57, 및 71일째에 제공되었다. 수혈 후 2시간 후에 2개의 생체샘플을 추가로 수집하였다.

[0237] 투약 코스를 완료한 후, 분석된 평가변수는 안전성 및 내약성, 약동학, 및 항-약물 항체 수준, CD40L 표적 관여(engagement), 전염증성 마커의 변화, 및 ALSFRS-R의 변화, 호흡 기능, 및 신경미세섬유 경쇄(NFL) 수준을 포함하였다.

[0238] 안전성

[0239] **표 6**에 요약된 바와 같이, 대상체의 90% 초과가 임상 시험을 완료하였다. 표에서 "기타"로 표시된 1명의 대상체는 스크리닝에서 합격하였지만, 투약량을 받지 않았고 대신 다른 참가자로 대체되었다.

표 6

[0240]

	1 mg/kg (N=9)	2 mg/kg (N=9)	4 mg/kg (N=18)	8 mg/kg (N=18)	모든 대상체 (N=54)
스크리닝					70
등록					55
스크리닝 실패					15
치료	9	9	18	18	54
프로토콜에 따름	9 (100%)	8 (88.9%)	18 (100%)	17 (94.4%)	52 (96%)
완료	8 (88.9%)	7 (77.8%)	18 (100%)	16 (88.9%)	49 (90.7%)
중단	1 (11.1%)	2 (22.2%)	0	2 (11.1%)	5 (9.3%)

D/C 이유					
AE	1 (11.1%)	1 (11.1%)	0	0	2 (3.7%)
동의 철회	0	0	0	2 (11.1%)	2 (3.7%)
기타	0	1 (11.1%)	0	0	1 (1.9%)

[0241] 임상 시험 과정 동안 대상체에서 치료 후 발생한 이상 사례(Treatment Emergent Adverse Event; TEAE)의 수를 계수하여 AT-1501의 안전성을 평가하였다. 결과는 **표 7**에 요약되어 있다. 전체적으로 테고프루바트는 치료와 관련된 심각한 이상 사례 또는 어떠한 유의한 항-약물 항체 반응 없이 잘 용인되었다.

표 7

[0242]

	1 mg/kg (N=9)	2 mg/kg (N=9)	4 mg/kg (N=18)	8 mg/kg (N=18)	모든 대상체 (N=54)
TEAE의 수	30	66	54	67	217
적어도 1개의 TEAE가 있는 대상체의 수	8 (88.9%)	8 (88.9%)	10 (55.6%)	16 (88.9%)	42 (77.8%)
심각한 TEAE의 수	0	1	0	0	1
적어도 1개의 심각한 TEAE가 있는 대상체의 수	0	1 (11.1%)	0	0	1 (1.9%)
관련 TEAE가 있는 대상체의 수	3 (33.3%)	5 (55.6%)	4 (22.2%)	7 (38.9%)	19 (35.2%)
심각한 관련 TEAE가 있는 대상체의 수	0	0	0	0	0

[0243] 부작용의 특정 증상, 및 이러한 증상을 자가 보고한 대상체의 백분율은 **표 8**에 요약된 바와 같다.

표 8

[0244]

보고된 증상	대상체의 수(%)
피로	25.9
낙상	22.2
두통	20
근육 경련	11.1
관절통	9.3
현기증	9.3
호흡곤란	9.3
근육 약화	9.3
타박상	7.4
우울증	7.4
메스꺼움	7.4
혈압 상승	5.6
감각저하	5.6
근육 경직	5.6
비인두염	5.6
목 통증	5.6

[0245] **실시예 2**

[0246] 약동학 및 항-약물 항체 농도

[0247] 실시예 1에 논의된 바와 같이, 투약 전, 및 주입을 통한 투약 2시간 후에 대상체에서 혈장 생체샘플을 수집하였다. 주입은 임상 시험의 0, 15, 29, 43, 57, 및 71일째에 수행하였다. 이들 생체샘플을 부분적으로 사용하여 혈액에 존재하는 AT-1501 약물 수준의 농도를 평가하였다. 도 23에는 시간 경과에 따른 각각의 대상체의 혈장 중 AT-1501의 수준의 오버레이가 나타나 있다. 이 분석으로부터, AT-1501의 반감기는 14일 초과인 것으로 결정되었다. 결과적으로, 노출 수준은 시간 경과에 따라 대상체에서 증가되어, 정상 상태에 도달하지 못했다.

[0248] 또한, 중화 ADA의 증거는 없었다. 7명의 대상체에서 215개의 샘플 중 9개의 ADA가 있었다(도 24a 내지 24i). 이들 9개의 ADA 중 4개는 대상체가 시험 항목을 중단한 14주째에 검출되었다. 1명의 대상체(102201)는 시험 전에 기존 ADA 역가를 가지고 있었다. ADA-양성인 대상체와 발생 시간은 **표 9**에 나타낸 바와 같았다. 9개의 모든 ADA는 역가가 매우 낮았고, 분석에서 검출 한계점에 있었다. 이들 ADA는 중화되지 않았으며, 해당 대상체에게 제공된 약물인 테고프루바트(AT-1501)의 수준에 영향을 미치지 않았다.

표 9

[0249]

대상체 ID	용량(mg/kg)	주	연속 희석
103202	1	14	2
108204	1	14	2
104202	1	14	4
104203	2	6	2
110202	4	14	4
110204	8	4	4
102201	2	2	1
102201	2	4	1
102201	2	6	1

[0250] **실시예 3**

[0251] 일반 바이오마커 분석

[0252] 임상 시험 동안 대상체로부터 수집한 각각의 생체샘플을 또한 분자 바이오마커의 변화에 대해 평가하였다. 이들 마커는 CD40L 표적 관여(CXCL13, IgA, 및 CD40L)에 대해 측정하는 데 사용된 마커와 염증(TNF-알파, IL-6, En-Raged MCP-1, IL-1, IL1-베타, 및 CRP)에 대해 측정하는 데 사용된 마커를 포함하였다. 2가지 분석 방법을 이용하여 바이오마커 변화를 조사하였다: (1) 회귀 모델을 계산하고 모든 대상체에 대해 모든 분석물을 플롯팅하는 방법, 및 (2) 데이터를 정규화한 다음, 시간 경과에 따른 바이오마커의 배수 변화를 계산하고 위발견율(false discovery rate)을 보정하는 방법.

[0253] 분석 전에, 데이터 사전 처리를 수행하여 연수 서브도메인에서 점수가 4점 미만이고 0일째에 ALSFRS가 35 미만인 대상체와 같은 이상치를 제거하였다. 이상치로 제거된 대상체는 **표 10**에 요약된 바와 같았다.

표 10

[0254]

대상체:	109202	111203	103204	103205	107202	114203	114205
용량:	4 mg/kg	4 mg/kg	8 mg/kg	8 mg/kg	8 mg/kg	8 mg/kg	8 mg/kg
기준 점수:	연수 <=4	연수 <=4 및 총 <=34	연수 <=4 및 총 <=34	총 <=34	연수 <=4	연수 <=4 및 총 <=34	연수 <=4

[0255] 또한, 양성 신호가 희박한 단백질을 여과하였다. 이들 단백질은 AFP, CA-125, CA-19-9, 이오탁신-1, EPO, G-CSF, GH, GM-CSF, hCG, INFg, IL1-a, IL1-b, IL10, IL12-p40, IL12-p70, IL-13, IL-17, IL1-ra, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6(Luminex), IL-7, MCP-2, MICA, MIP1-A, PSA-F, SCF, 및 TNFa(Luminex)를 포함하였다.

[0256] 분석 시, 상당 수의 단백질이 테고프루바트 치료 후 하향 조절된 것으로 발견되었다(도 25). 단백질의 증가 또는 하향 조절 정도는 용량 의존적이었다.

[0257] 표적 관여에 대한 바이오마커

[0258] 대상체에서 CXCL13, CD40L, 및 CD40의 수준을 모니터링함으로써 AT-1501에 의한 CD40L 및 CD40의 관여를 평가하였다. AT-1501 노출은 3가지 단백질 수준 모두를 용량-의존적 방식으로 감소시켰다(도 26a, 26b, 27a, 27b, 28a, 및 28b). 4 mg/kg 및 8 mg/kg 용량에서 감소는 통계적으로 유의하였다. 최대 감소는 대상체에게 AT-1501을 투약한 지 이틀째에 달성되었다. 이는 CD40L/CD40의 표적이 치료 시 유의하게 관여하였음을 입증한다.

[0259] 전염증성 사이토카인 바이오마커

[0260] 또한 AT-1501을 이용한 대상체의 치료 후 농도 변화에 대해 전염증성 마커 및 다른 관련 스트레스 단백질의 수

준을 평가하였다. 평가한 것들 중에서, CD40L, CXCL13, CXCL9, TNF-알파, En-Raged, TNFR2, IgM, IgA, IL2r, CXCL10, CD40, 및 B2M은 AT-1501 치료 후 단백질 농도가 가장 많이 감소하였다(도 29a 내지 291). 또한 단백질 VCAM, IL-18, IL-16, SAP, MIP1-베타, MDC, C3, CRP, 피브리노겐, IgE, ICAM, 및 MCP1에 대해서도 농도의 상당한 감소가 검출되었다(도 30a 내지 301). 몇몇 단백질은 AT-1501에 대상체가 노출 시 농도가 증가하였으며; 이들 단백질에는 IL-6, ENA-78, RANTES, MMP3, 및 MMP9가 포함되었다(도 31a 내지 31e). 전체적으로, AT-1501을 이용한 대상체의 치료는 염증 및 공동 자극 신호전달과 연관된 조사된 단백질의 발현을 50% 초과로 감소시켰다.

[0261] 신경미세섬유 경쇄(NFL) 수준의 농도도 또한 12주째에 평가하였다(도 32). 어떠한 용량에서도 NFL 농도의 통계적으로 유의한 변화는 없었다. 그러나, 등록 시 NFL 수준은 진행 속도와 상관관계가 있었다.

[0262] **실시예 4**

[0263] ALS 기능 평가 척도

[0264] 임상 시험 동안 2주마다, 임상의가 대상체의 ALS 기능 평가 척도(ALS-FRS) 변화에 대해 대상체를 평가하였다. ALS-FRS 점수 변화를 모든 대상체에 대해 시간 경과에 따라 플롯팅하였으며; 전체적으로, 각각의 코호트는 데이터베이스 Pro-ACT에서 공급하는 바와 같이, 치료받지 않은 환자의 일반적인 속도와 비슷한 속도로 악화되었다(도 33a).

[0265] 다음으로, 12주 시점에 초기 등록 기준을 더 이상 충족하지 않는 환자를 제외하도록 데이터를 수정하였다(도 33b). 이를 통해 각각의 그룹에 대한 전체 오차가 감소되었지만, ALS-FRS 점수의 전체 추세는 치료받지 않은 환자의 속도와 강한 상관관계가 있었다.

[0266] 치료-관련 효과(TE)가 있는 환자를 제외하도록 데이터를 추가로 수정하였다(도 33c). 이를 통해 낮은 수준의 AT-1501을 제공받은 대상체에 있어서 대부분 FRS의 감소가 줄었지만, 더 높은 투약량 코호트에는 유의한 영향을 미치지 않았다.

[0267] 마지막으로, AT-1501을 이용한 치료에 대해 가장 잘 반응하는 것으로 보이는 환자(이하 "반응자"라고 함)만 포함하도록 데이터를 수정하였다(도 33d). 이는 데이터를 가장 크게 변화시켰는데, 여기서 치료받은 대상체, 특히 4 mg/kg 투약량 코호트의 대상체는 치료받지 않은 대상체와 비교하여 ALS-FRS 점수의 감소가 줄어들었다.

[0268] 투약량 그룹별 인간 대상체의 ALS-FRS 월별 변화에 대한 전체 기울기는 **표 11**에 나타낸 바와 같다. 열은 다음과 같다: "전체"(제외된 환자 없음), "EC"(등록 기준을 충족하지 못한 환자는 제외함), "TE"(치료-관련 부작용이 있는 환자는 제외함), 및 "Res"(약물 치료에 양성으로 반응한 사람만 포함함). "Pro-Act" 행은 Pro-ACT 데이터베이스에서 가져온 치료받지 않은 환자에 대한 ALS-FRS 데이터를 나타낸다.

표 11

[0269]

그룹	전체	EC	EC/TE	Res
1 mg/kg	-0.83	-0.83	-063	-0.63
2 mg/kg	-0.94	-0.94	-0.75	-0.75
4 mg/kg	-0.5	-0.48	-0.48	-0.36
8 mg/kg	-1.79	-0.93	-0.93	-0.88
ProAct	-0.83	-0.83	-0.83	-0.83

[0270] 반응자 대 비-반응자

[0271] 일부 환자는 AT-1501에 잘 반응하는 것으로 보이는 한편(이른바 "반응자"), 다른 환자는 그렇지 않은(이른바 "비-반응자") 이유는 무엇일까? 이 질문에 답하기 위해, ASL-FRS 점수를 각각의 개체에 대해 시간 경과에 따라 플롯팅하였다. 이들 개체 중 16명(8명의 반응자, 및 8명의 비-반응자)에 대한 ALS-FRS 점수 값은 **표 12**에 나타낸 바와 같으며, 도 34에 그래프 형태로 플롯팅되어 있다.

표 12

[0272]

용량	대상체	스크리닝 값	기준 값	3주째	5주째	7주째	9주째	11주째	총 변화
반응자									
1.0 mg/kg	105206	46	46	46	47	46	46	46	0

2.0 mg/kg	105209	41	41	41	41	41	41	41	0
4.0 mg/kg	104205	47	47	47	47	47	47	47	0
4.0 mg/kg	106201	43	43	43	43	43	43	43	0
4.0 mg/kg	109203	45	46	46	45	45	45	45	0
4.0 mg/kg	111204	41	45	40	44	44	42	41	0
4.0 mg/kg	115205	35	36	38	37	37	36	35	0
8.0 mg/kg	104211	41	41	41	41	40	41	41	0
비-반응자									
1.0 mg/kg	108202	41	41	37	37	37	37	34	-7
2.0 mg/kg	102201	42	42	37	32	32	30	34	-8
4.0 mg/kg	105211	35	35	32	31	31	29	29	-6
4.0 mg/kg	112201	38	38	37	40	37	24	31	-7
4.0 mg/kg	115203	39	39	36	34	31	32	33	-6
8.0 mg/kg	103204	35	29	28	28	24	24	18	-17
8.0 mg/kg	107202	37	35	34	31	26	27	20	-17
8.0 mg/kg	114203	35	34	34	34	29	28	26	-9

[0273] 도 34 및 상기 표에서 볼 수 있는 바와 같이, 하위그룹 "반응자"는 기준선으로부터 12주째까지 ALS-FRS의 유의한 변화가 없었다. 한편, "비-반응자"는 치료받지 않은 환자와 일치하는 비율로 감소하였다. 이는 "비-반응자" 그룹이 AT-1501에서 검출 가능한 이익을 얻지 못한 한편, "반응자"는 AT-1501을 이용한 치료 시 ALS-FRS 점수의 손실에 대한 상당한 저항성을 얻었음을 나타낸다.

[0274] 다음으로, AT-1501을 이용한 치료 전(기준 값) 각각의 대상체에서 단백질의 농도를 다중 선형 회귀 분석을 통해 비교하였다. 도 35 및 **표 13 내지 14**에 나타낸 바와 같이, 나중에 AT-1501을 이용한 치료에 양성으로 반응할 대상체의 혈장에서 상당히 더 높은 농도로 존재하는 여러 단백질이 있었다. **표 13**은 강도에 대해 정규화된 기준 혈장 수준에서 각각의 단백질의 평균 단백질 농도 차이에 대한 F 통계량과 p-값을 나타낸다. 기준에서 각각의 단백질의 차이를 또한 ALS-FRS 변화에 대한 기울기의 예측인자로 선형 회귀를 사용하여 분석하였으며; 이들 값은 **표 14**에 나타낸 바와 같다. 이 중에서, 가장 유의한 것은 NFL의 초기 농도였으며(척도 차이로 인해 도 35에 나타내지 않음), 이는 거의 50 포인트의 F 통계량을 가졌다. 또한, 가장 유의한 초기 단백질 농도 중에는 MMP9, MMP3, I12ra, TNF-알파, 및 IL-18이 있었다.

표 13

[0275]

단백질	**F 통계량**	**p값**
MMP3	90.02	2.2E-16
TNFa	35.11	7.206E-09
IL18	34.64	8.961E-09
SAP	33.28	1.70E-07
NFL	26.18	5.04E-07
MCP1	14.38	0.0001751
Enraged	14	0.0002119
MIG	8.559	0.003652
vWF	8.065	0.004765
IgE	7.634	0.006016
MMP9	5.981	0.01493
IL8	5.969	0.01503
IP10	5.926	0.0154
C3	5.65	0.0197
MMP2	5.002	0.02591

표 14

[0276]

단백질	**F 통계량**	**p값**
NFL	44.08	1.41E-10

MMP9	10.77	0.00113
MMP3	10.76	0.001138
IL6	9.978	0.001716
IL18	9.746	0.00194
IgA	9.537	0.002167
TNFR2	7.211	0.007575
TNFa	7.077	0.01629
IL2ra	5.651	0.01796
인자VIII	5.302	0.02186
CRP	4.108	0.0434

[0277] 도 35 및 **표 12 내지 13**에 나타낸 바와 같이, 임의의 치료 전 비-반응자와 반응자 사이에서 단백질 마커 발현에 통계적으로 유의한 차이가 있다. 이러한 단백질 수준 중 어느 것도 민족, 성별, 연령, 또는 치료 시간과 같은 공변량과 유의하게 상관관계가 없었다.

[0278] 이러한 결과는 ALS 환자의 혈장에서 이러한 단백질의 농도에 대한 초기 평가가 AT-1501 치료에 대한 환자의 반응성에 대한 예측인자의 역할을 할 수 있으므로, 매우 중요하다. 즉, 개체가 반응자 코호트와 상응하는 농도의 바이오마커를 가진다면, CD40L/CD40을 표적으로 하는 화합물을 이용한 치료로부터 상당한 이익을 얻을 가능성이 높다.

[0279] 요약

[0280] 전체적으로, 테고프루바트는 ADA의 낮은 발생률과 함께 선형 pK 및 용량 비례성을 갖는 우수한 안전성 프로파일을 나타낸다. 또한, 테고프루바트는 T 세포 마커 CD40L과 B 세포 마커 CXCL13, IgA 및 IgE에 대한 용량 의존적 감소와 함께 표적 관여를 나타내었을 뿐만 아니라, 용량 증가에 따라 환자 반응을 증가시켰다. 테고프루바트는 또한 용량-의존적 방식으로 4개의 전향적으로 선택된 전염증성 마커 중 3개, 즉 TNFa, MCP1, 및 En-Raged를 감소시켰으며, 환자 반응을 증가시켰다. IL1b는 다중 ELISA에서 검출 한계 미만이었고, IL6은 테고프루바트에 의해 하향 조절되지 않았다.

[0281] 테고프루바트는 분석된 32개의 전염증성 단백질 중 23개의 발현을 감소시켰으며, 이는 자가면역 및 이식의 여러 전임상 모델에서 CD40L의 억제에 대해 설명된 전염증성 신호전달의 하류 조절을 명확히 입증하였다. 전염증성 신호전달의 감소는 ALS FRS로 측정 시 질환 진행의 개선 추세를 보였다. 시간 경과에 따른 ALSFRS의 변화와 상관관계가 있는 여러 단백질을 선형 회귀로 식별하였다.

[0282] 다시 말하면, 본 출원에서 보고된 결과는 ALS 환자의 혈장에서 선택된 단백질을 가능한 한 일찍 정량화하는 것이, CD40L/CD40을 표적으로 하는 화합물을 이용한 치료에 대한 환자의 반응성에 대한 예측인자의 역할을 할 수 있음을 나타낸다.

[0283] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 섹션 표제는 구성 목적만을 위한 것이며, 어떠한 방식으로든 기재된 주제를 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 특허, 특허 출원, 기사, 서적, 논문, 및 인터넷 웹 페이지를 포함하지만 이에 제한되지 않는 본 출원에 인용된 모든 문헌 및 유사한 자료는 본 명세서에 구체적으로 언급된 개시내용을 포함하여 임의의 목적을 위해 전문이 참조로 명시적으로 포함된다. 포함된 참조문헌의 용어 정의가 본 교시내용에서 제공되는 정의와 상이한 것으로 보이는 경우, 본 교시내용에서 제공되는 정의가 우선할 것이다. 사소하고 미미한 편차가 본 명세서의 교시내용 범주 내에 있도록 본 교시내용에서 논의된 온도, 농도, 시간 등에 앞서 암시적인 "약"이 있음이 이해될 것이다.

[0284] 본 개시내용은 특정 구현예 및 실시예의 맥락에서 개시되었지만, 당업자는 본 개시내용이 구체적으로 개시된 구현예를 넘어 다른 대안적인 구현예 및/또는 구현예의 용도 및 이의 명백한 변형 및 동등물로 확장된다는 것을 이해할 것이다. 추가적으로, 본 개시내용의 여러 변형을 상세하게 나타내고 기재하였지만, 본 개시내용의 범주 내에 있는 다른 변형은 본 개시내용에 기반하여 당업자가 쉽게 알게 될 것이다. 또한 구현예의 구체적인 특징 및 양태의 다양한 조합 또는 하위조합이 이루어질 수 있고 여전히 구현예의 범주 내에 속한다는 것이 고려된다. 개시된 구현예의 다양한 특징 및 양태는 다양한 모드 또는 구현예를 형성하기 위해 서로 조합되거나 대체될 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 따라서, 본 개시내용의 범주는 상기 기재된 특정 개시된 구현예에 의해 제한되지 않는 것으로 의도된다.

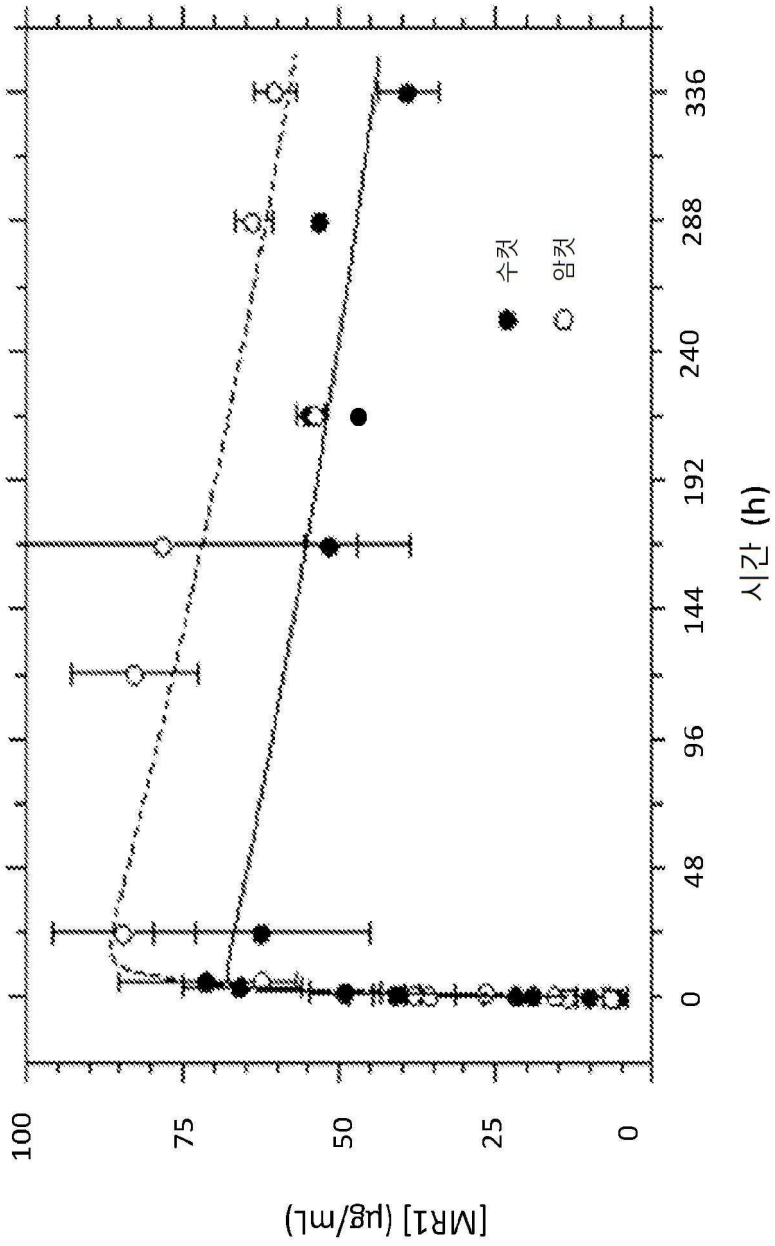
[0285] 그러나, 본 개시내용의 사상 및 범주 내에서의 다양한 변화 및 변형이 당업자에게 명백하게 될 것이므로 이러한

상세한 설명은 바람직한 구현예를 나타내지만 단지 예시로 주어진 것임이 이해되어야 한다.

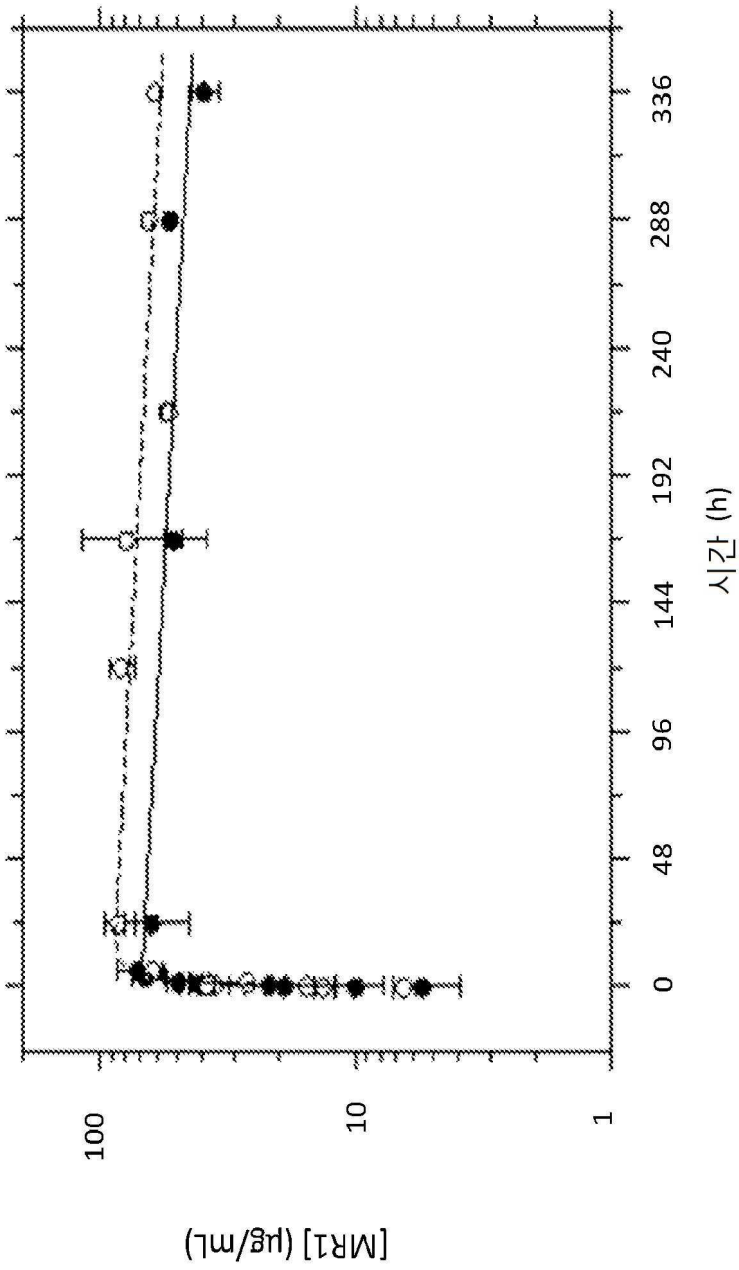
[0286] 본 명세서에 제시된 설명에서 사용된 용어는 제한적이거나 한정적인 방식으로 해석되는 것으로 의도되지 않는다. 오히려, 용어는 단순히 시스템, 방법, 및 관련 구성요소의 구현예의 상세한 설명과 함께 이용되고 있다. 또한, 구현예는 여러 가지 신규한 특징을 포함할 수 있으며, 그 중 어느 것도, 바람직한 속성에 대해 단독으로 책임이 있거나 구현예를 실시하는 데 필수적인 것으로 여겨지지 않는다.

도면

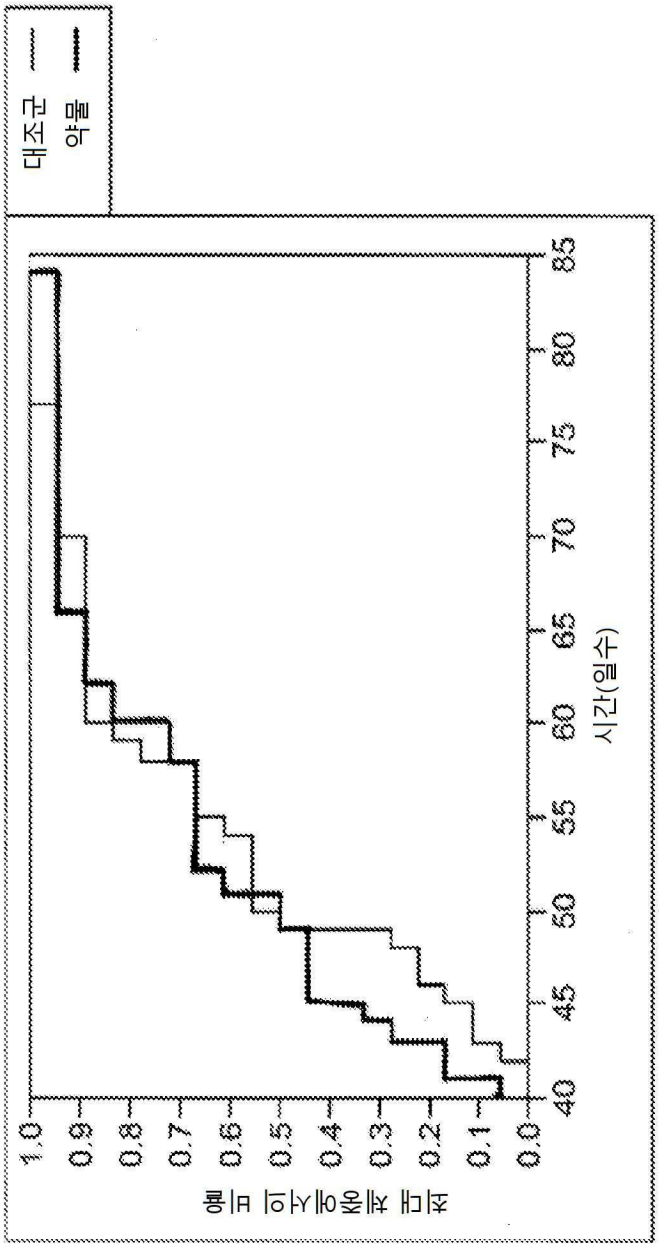
도면1a



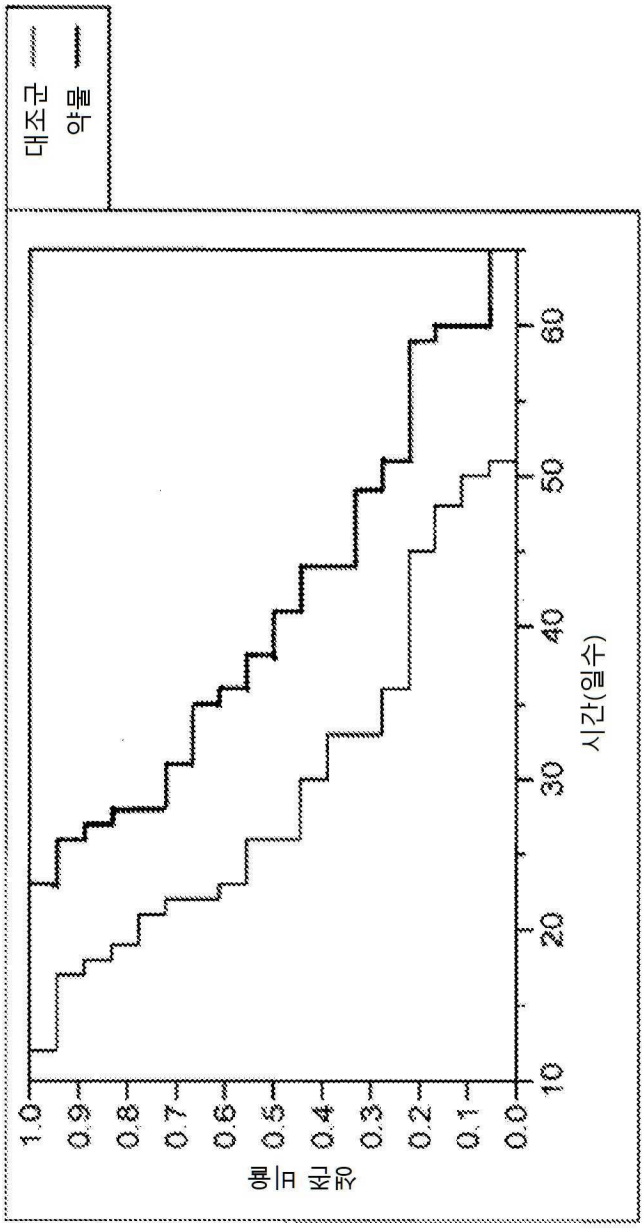
도면1b



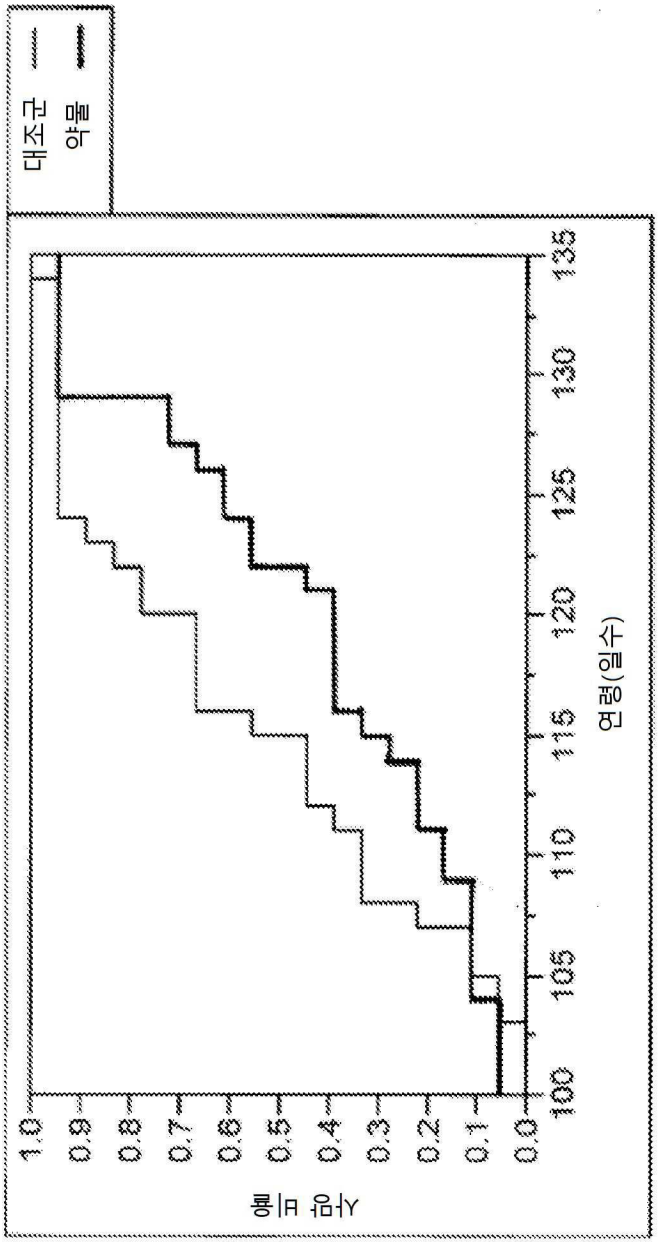
도면2


대조군
약물
최대 체중에서의 비율
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
40
45
50
55
60
65
70
75
80
85
시간(일수)

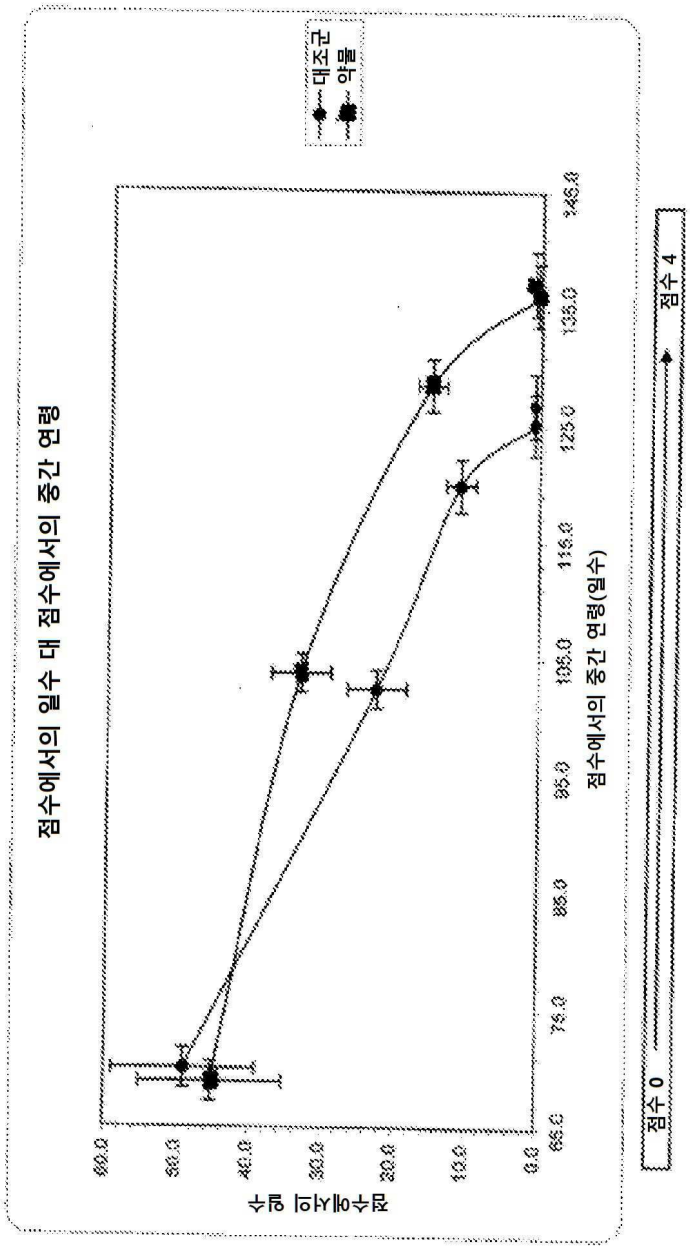
도면3



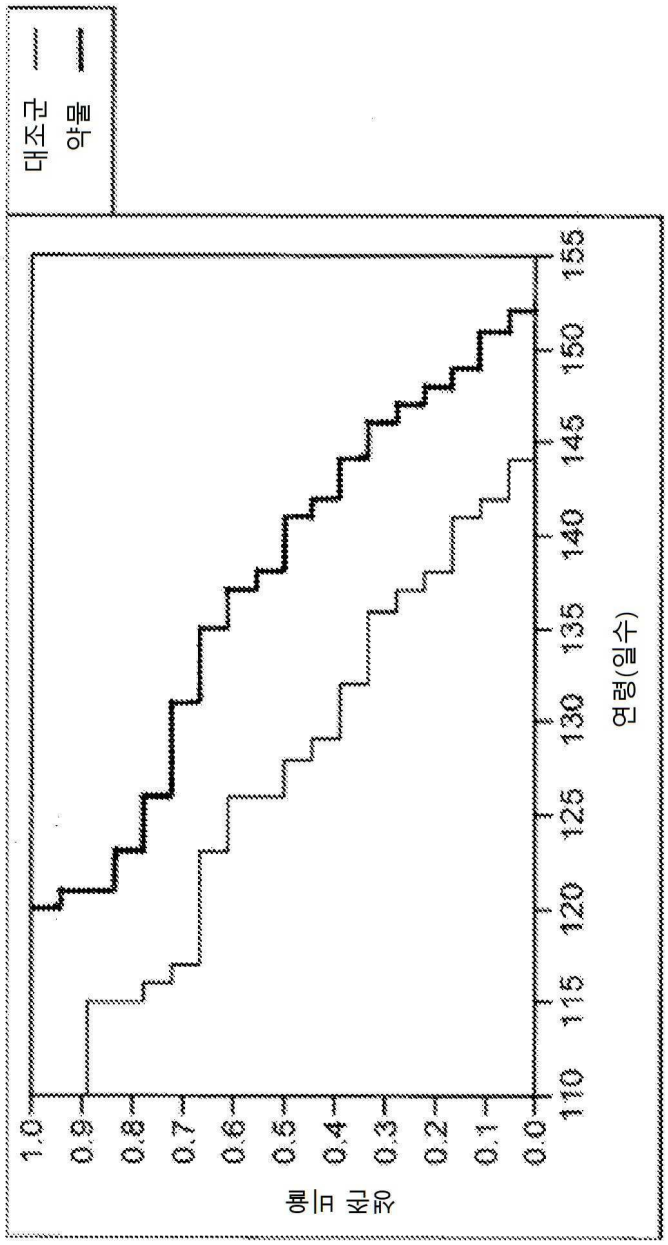
도면4


대조군
약물
사망 비율
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
100
105
110
115
120
125
130
135
연령(일수)

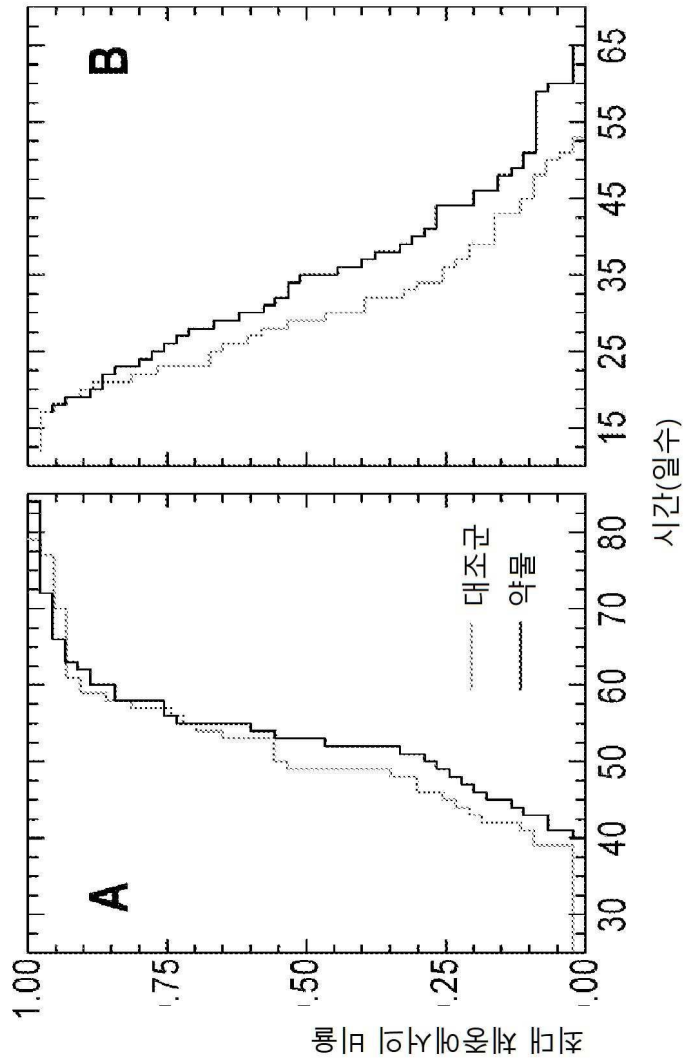
도면5


점수에서의 일수 대 점수에서의 중간 연령
대조군
약물
점수에서의 일수
점수에서의 중간 연령(일수)
0.0
20.0
40.0
60.0
65.0
75.0
85.0
95.0
105.0
115.0
125.0
135.0
145.0
점수 0
점수 4

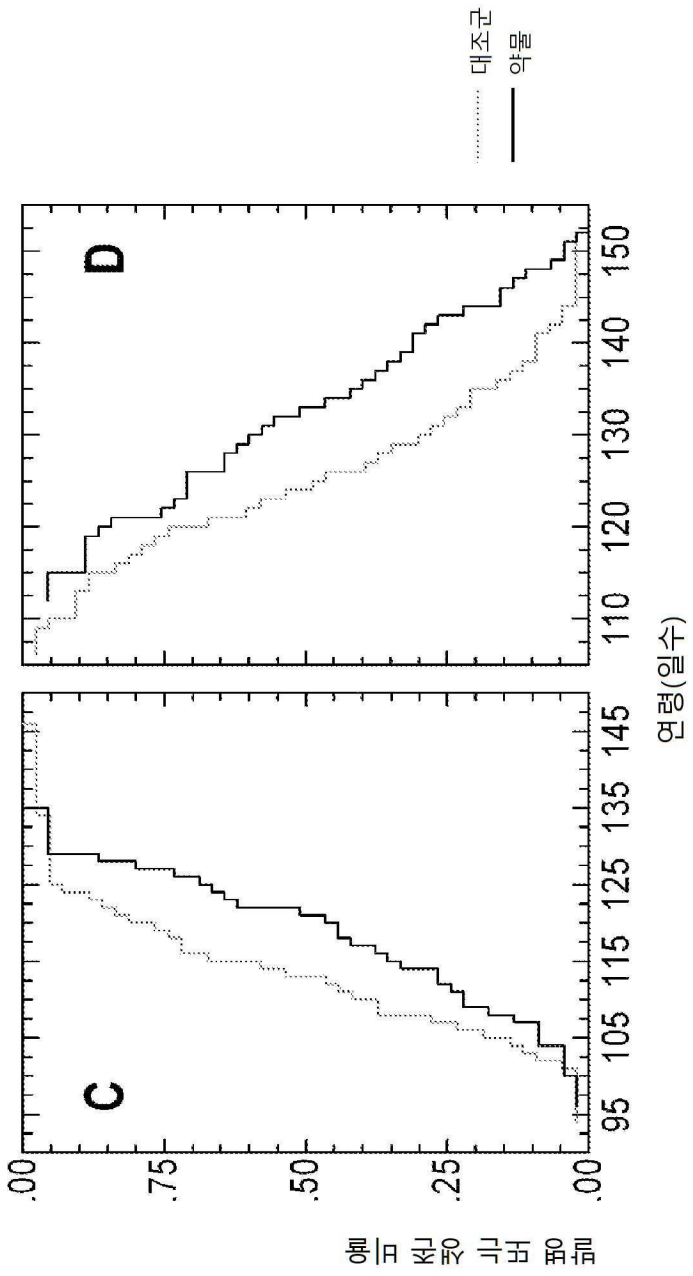
도면6


대조군
약물
생존 비율
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
110
115
120
125
130
135
140
145
150
155
연령(일수)

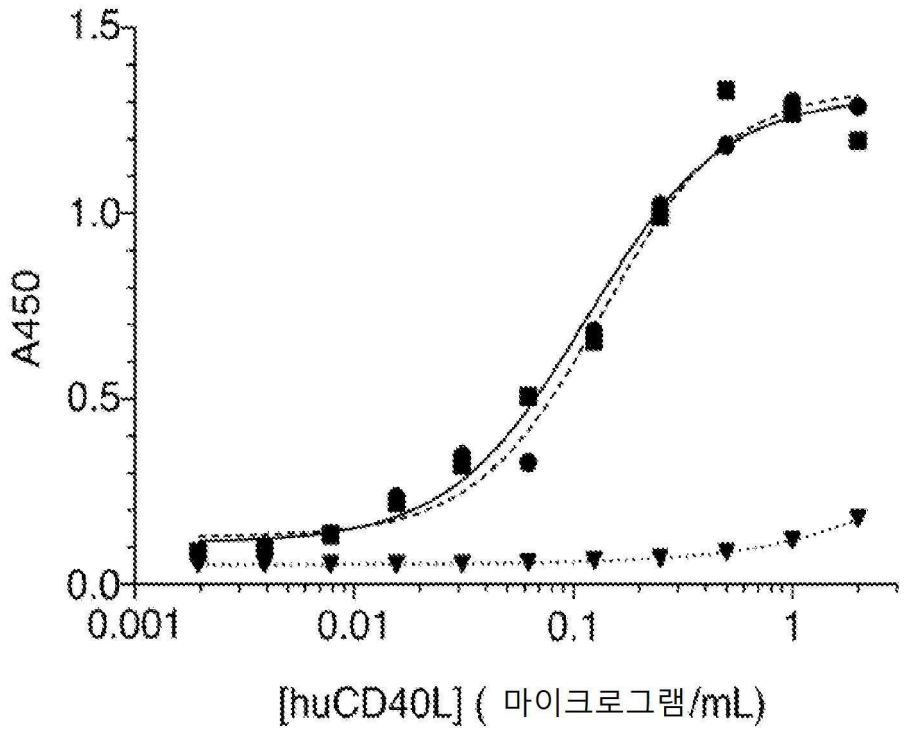
도면7ab


B
A
대조군
약물
1.00
.75
.50
.25
.00
15
25
35
45
55
65
30
40
50
60
70
80
시간(일수)
최대 체중에서의 비율

도면7cd


대조군
약물
D
C
.00
.25
.50
.75
1.00
95
105
115
125
135
145
110
120
130
140
150
연령(일수)
발병 또는 생존 비율

도면8



도면9

서열번호	설명	서열
1	hu5c8 및 JB5 VL 영역	DIVLTQSPATLSVSPGERATISCRASQRVSSSTYSYMHWYQQKPGQPPKL LIKYASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDFAIYYCQHSWEIPP TFGGGTKLEIK
2	hu5c8 및 JB5 VH 영역	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIGE INPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRSD GRNDMDSWGQGTLVTVSS
3	Fc 영역	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
4	JB5 Fc 영역	EPKSSDKTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
5	JB5-R28K VL 영역	DIVLTQSPATLSVSPGERATISCRASQKVSSSTYSYMHWYQQKPGQPPKL LIKYASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDFATYYCQHSWEIPP TFGGGTKLEIK
6	JB5-K74R VH 영역	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIGE INPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDRSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRSD GRNDMDSWGQGTLVTVSS
7	JB5 경쇄 아미노산 서열	DIVLTQSPATLSVSPGERATISCRASQRVSSSTYSYMHWYQQKPGQPPKL LIKYASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDFATYYCQHSWEIPP TFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC

도면10

서열번호	설명	서열
8	JB 경쇄 뉴클레오타이드 서열	GACATCGTGCTGACCCAGTCCCCCGCCACCCTGTCCGTGTCCCCCGGCGA GAGGGCCACCATCTCCTGCAGGGCCTCCCAGAGGGTGTCCTCCTCCACCT ACTCCTACATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCCAAGCTG CTGATCAAGTACGCCTCCAACCTGGAGTCCGGCGTGCCCGCCAGGTTCTC CGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCTCCTCCGTGGAGC CCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCACTCCTGGGAGATCCCCCCC ACCTTCGGCGGCGGCACCAAGCTGgaaatcaaaCGTACGGTGGCTGCACC ATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTG CCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA CAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGA CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTC ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGA GTGTTAGTGA
9	JB5 중쇄 아미노산 서열	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIGE INPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRSD GRNDMDSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSSDKTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

도면11

서열번호	설명	서열
10	JB5 중쇄 핵산 서열	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGGTGAAGCCCGGCGCCTC CGTGAAGCTGTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACATCTTCACCTCCTACTACA TGTACTGGGTGAAGCAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCGGCGAG ATCAACCCCTCCAACGGCGACACCAACTTCAACGAGAAGTTCAAGTCCAA GGCCACCCTGACCGTGGACAAGTCCGCCTCCACCGCCTACATGGAGCTGT CCTCCCTGAGGTCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCAGGTCCGAC GGCAGGAACGACATGGACTCCTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGTC CTCCGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCA AGAGCACCTCTGGGGGCACAGCAGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTAC TTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGG CGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCA GCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATC TGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGg *tgagaggccagcacagggagggagggtgtctgctggaagccaggctcagc* *gctcctgcctggacgcatcccggctatgcagccccagtccagggcagcaa* *ggcaggccccgtctgcctcttcacccggaggcctctgcccgccccactca* *tgctcagggagagggtcttctggctttttccccaggctctgggcaggcac* *aggctaggtgcccctaacccaggccctgcacacaaaggggcaggtgctgg* *gctcagacctgccaagagccatatccgggaggaccctgcccctgacctaa* *gcccaccccaaaggccaaactctccactccctcagctcggacaccttctc* *tcctcccagattccagtaactcccaatcttctctctgcag*AGCCCAAATC TAGTGACAAAACTCACACAAGCCCACCGAGCCCAG*gtaagccagcccagg* *cctcgccctccagctcaaggcgggacaggtgccctagagtagcctgcatc* *cagggacaggccccagccgggtgctgacacgtccacctccatctcttcct* *cag*CACCTGAACTCCTGGGGGGATCCTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAA CCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGT GGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGG ACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTAC AACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTG GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAG CCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAG*gtgggacccgtggggtg* *cgagggccacatggacagaggccggctcggcccaccctctgccctgagag* *tgaccgctgtaccaacctctgtccctacag*GGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAG CCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGT GGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTG CTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAA GAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGG CTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA *taatga*

도면12

서열번호	설명	서열
11	JB5-R28K 경쇄 아미노산 서열	DIVLTQSPATLSVSPGERATISCRASQKVSSSTYSYMHWYQQKPGQPPKL LIKYASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDFATYYCQHSWEIPP TFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
12	JB5-R28K 경쇄 핵산 서열	GACATCGTGCTGACCCAGTCCCCCGCCACCCTGTCCGTGTCCCCCGGCGA GAGGGCCACCATCTCCTGCAGGGCCTCCCAGAAGGTGTCCTCCTCCACCT ACTCCTACATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCCAAGCTG CTGATCAAGTACGCCTCCAACCTGGAGTCCGGCGTGCCCGCCAGGTTCTC CGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCTCCTCCGTGGAGC CCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCACTCCTGGGAGATCCCCCCC ACCTTCGGCGGCGGCACCAAGCTGgaaatcaaaCGTACGGTGGCTGCACC ATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTG CCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA CAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGA CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTC ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGA GTGTTAGTGA
13	JB5-K74R 중쇄 아미노산	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIGE INPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDRSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRSD GRNDMDSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSSDKTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

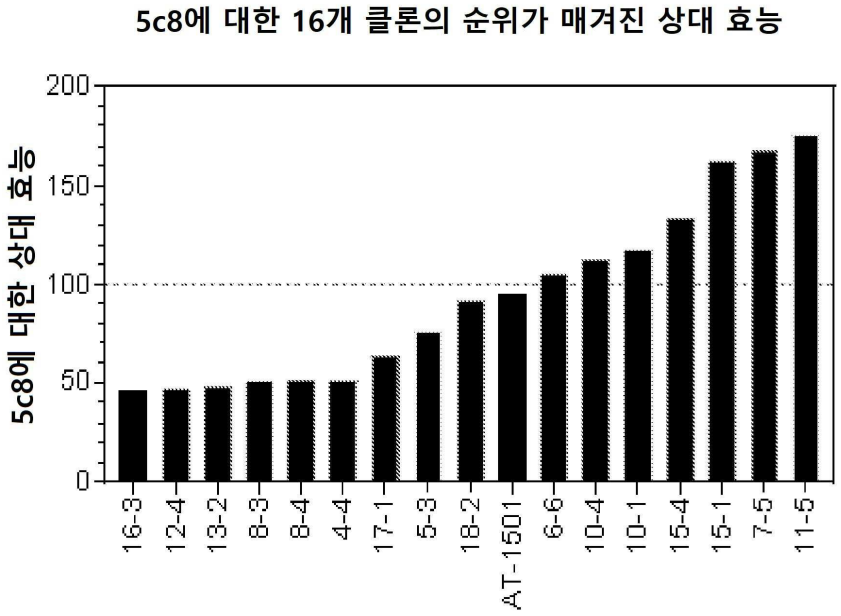
도면13

서열번호	설명	서열
14	JB5-K74R 중쇄 핵산 서열	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGGTGAAGCCCGGCGCCTC CGTGAAGCTGTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACATCTTCACCTCCTACTACA TGTACTGGGTGAAGCAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCGGCGAG ATCAACCCCTCCAACGGCGACACCAACTTCAACGAGAAGTTCAAGTCCAA GGCCACCCTGACCGTGGACAGGTCCGCCTCCACCGCCTACATGGAGCTGT CCTCCCTGAGGTCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCAGGTCCGAC GGCAGGAACGACATGGACTCCTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGTC CTCCGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCA AGAGCACCTCTGGGGGCACAGCAGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTAC TTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGG CGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCA GCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATC TGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG*g* *tgagaggccagcacagggagggagggtgtctgctggaagccaggctcagc* *gctcctgcctggacgcatcccggctatgcagccccagtccagggcagcaa* *ggcaggccccgtctgcctcttcacccggaggcctctgcccgccccactca* *tgctcagggagagggtcttctggctttttccccaggctctgggcaggcac* *aggctaggtgcccctaacccaggccctgcacacaaaggggcaggtgctgg* *gctcagacctgccaagagccatatccgggaggaccctgcccctgacctaa* *gcccaccccaaaggccaaactctccactccctcagctcggacaccttctc* *tcctcccagattccagtaactcccaatcttctctctgcag*AGCCCAAATC TAGTGACAAAACTCACACAAGCCCACCGAGCCCAG*gtaagccagcccagg* *cctcgccctccagctcaaggcgggacaggtgccctagagtagcctgcatc* *cagggacaggccccagccgggtgctgacacgtccacctccatctcttcct* *cag*CACCTGAACTCCTGGGGGGATCCTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAA CCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGT GGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGG ACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTAC AACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTG GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAG CCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAG*gtgggacccgtggggtg* *cgagggccacatggacagaggccggctcggcccaccctctgccctgagag* *tgaccgctgtaccaacctctgtccctacag*GGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAG CCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGT GGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTG CTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAA GAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGG CTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA *taatga*

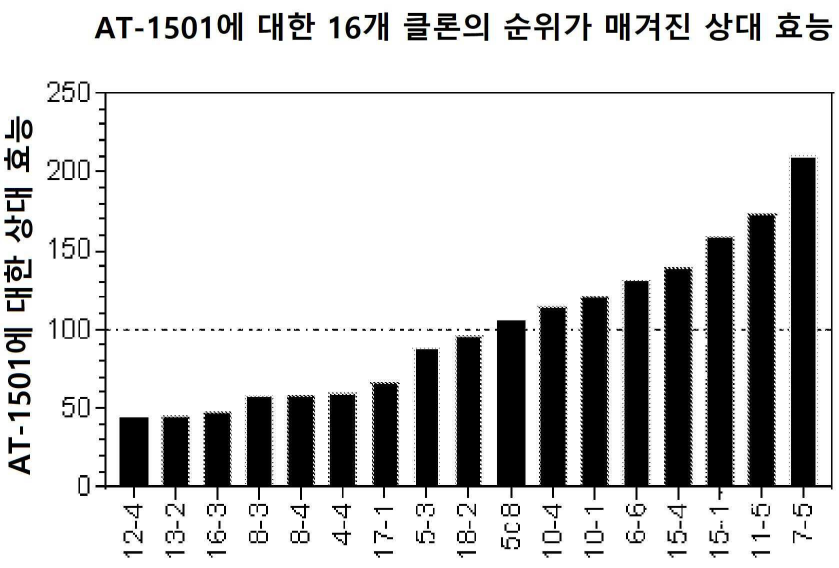
도면14

서열번호	설명	서열
15	JB5 CDR-L1	ISCRASQRVSSSTYSYMH
16	JB5 CDR-L2	YASNLES
17	JB5 CDR-L3	QHSWEIPPT
18	JB5 CDR-H1	SYYMY
19	JB5 CDR-H2	EINPSNGDTNFNEKFKS
20	JB5 CDR-H3	SDGRNDMDS
21	Hu5c8 중쇄	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTN FNEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRSDGRNDMDSWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

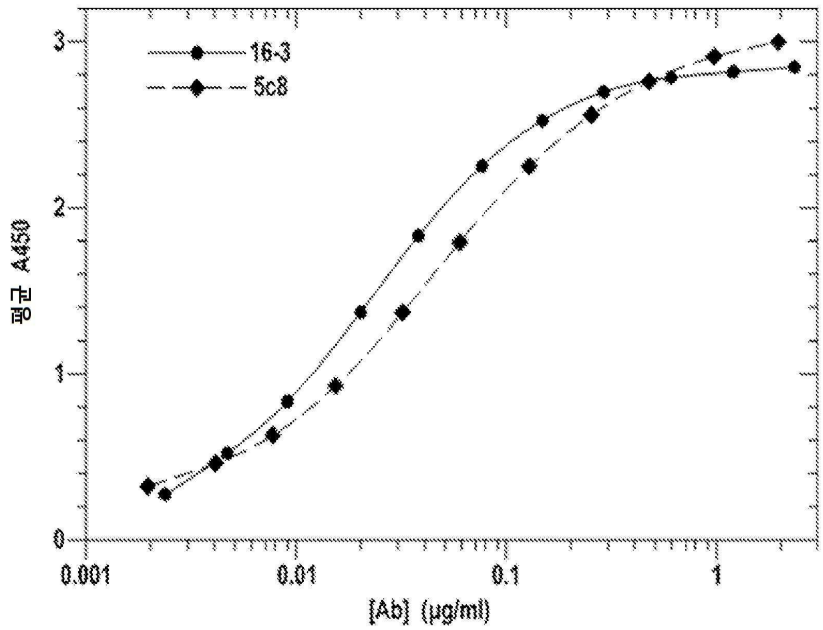
도면15a


5c8에 대한 16개 클론의 순위가 매겨진 상대 효능
5c8에 대한 상대 효능
200
150
100
50
0
16-3
12-4
13-2
8-3
8-4
4-4
17-1
5-3
18-2
AT-1501
6-6
10-4
10-1
15-4
15-1
7-5
11-5

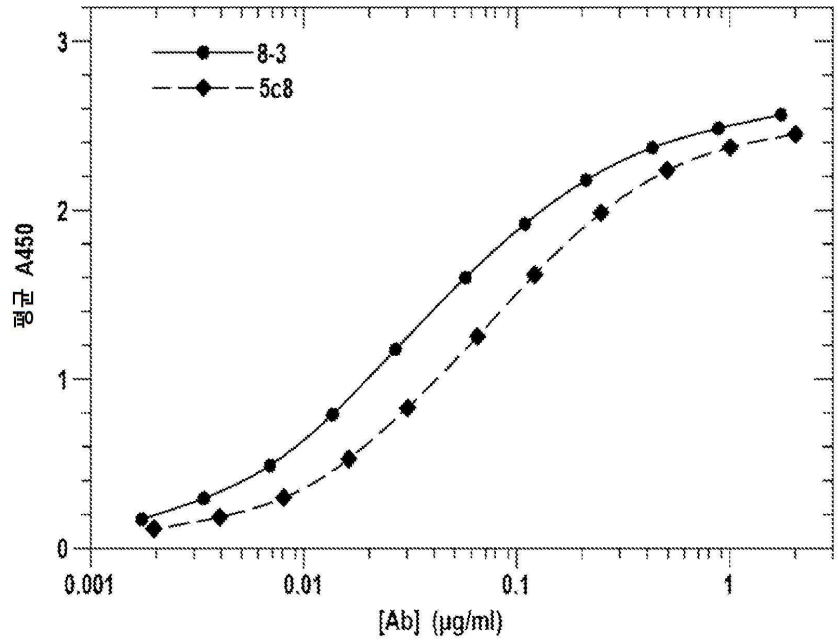
도면15b


AT-1501에 대한 16개 클론의 순위가 매겨진 상대 효능
AT-1501에 대한 상대 효능
250
200
150
100
50
0
12-4
13-2
16-3
8-3
8-4
4-4
17-1
5-3
18-2
5c8
10-4
10-1
6-6
15-4
15-1
11-5
7-5

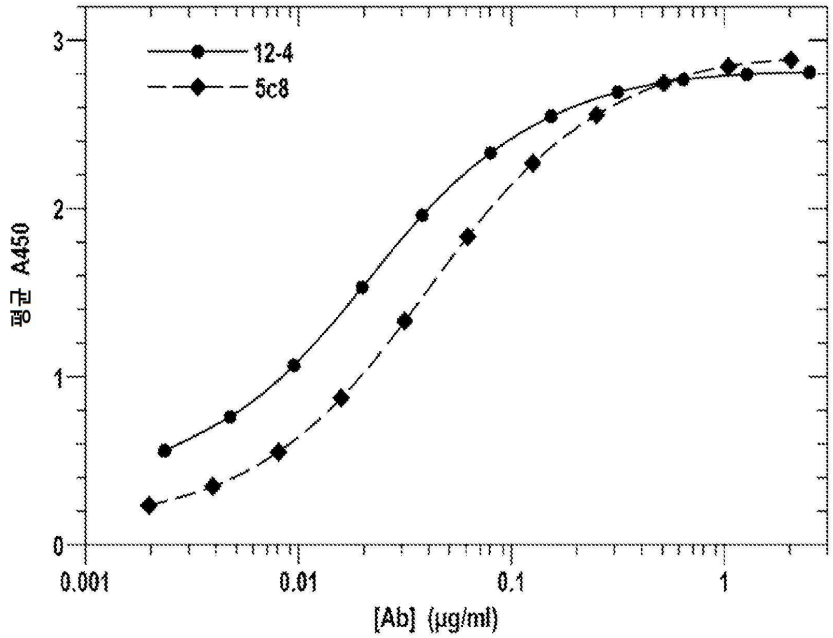
도면16a


16-3
5c8
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

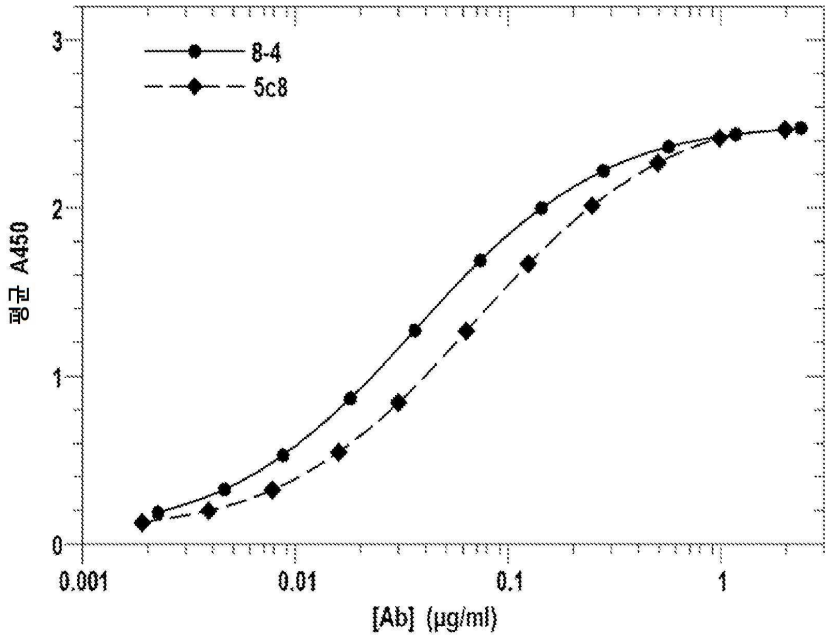
도면16b


8-3
5c8
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

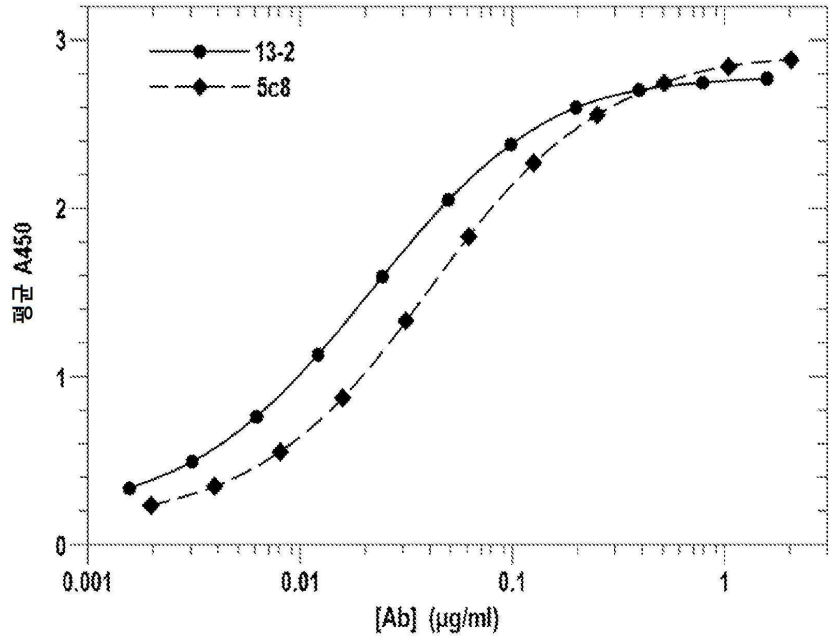
도면16c


12-4
5c8
평균 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

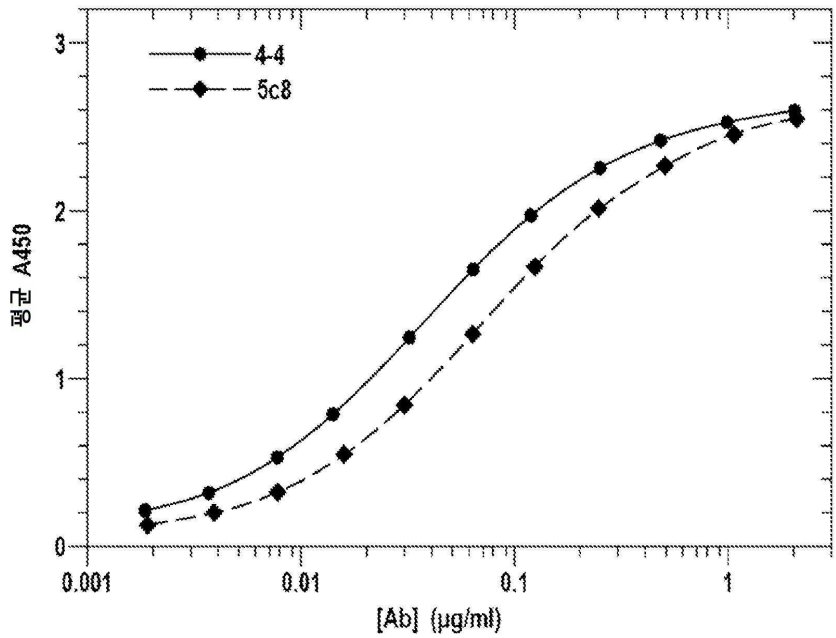
도면16d


8-4
5c8
평균 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

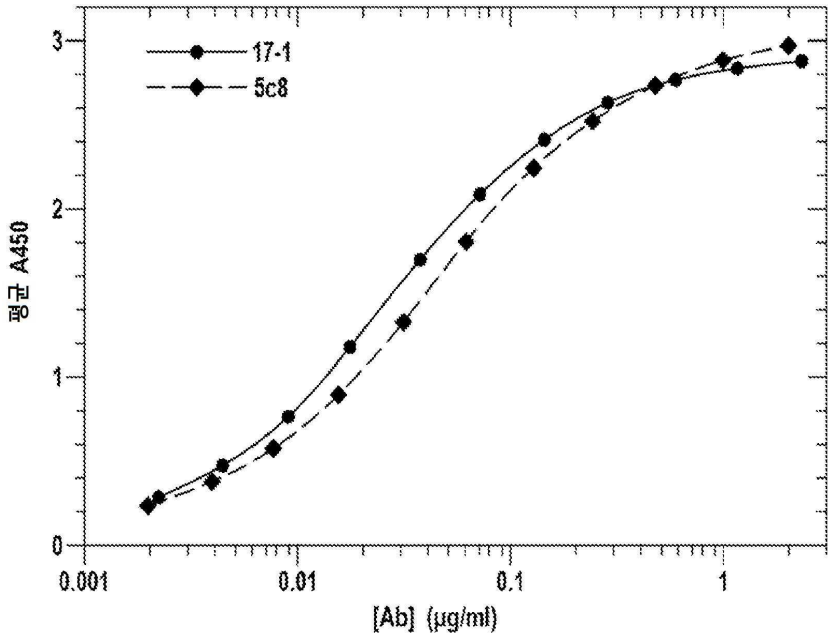
도면16e


13-2
5c8
평균 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

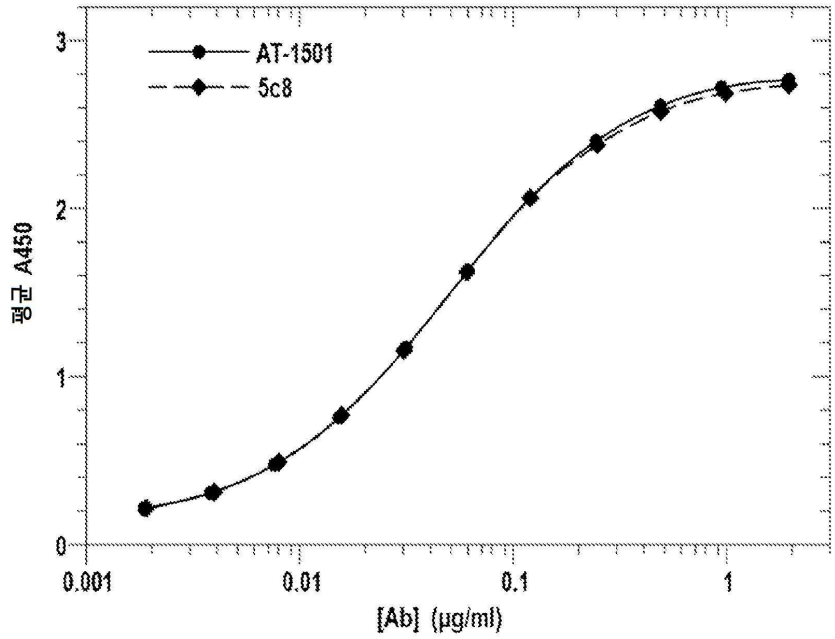
도면16f


4-4
5c8
평균 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

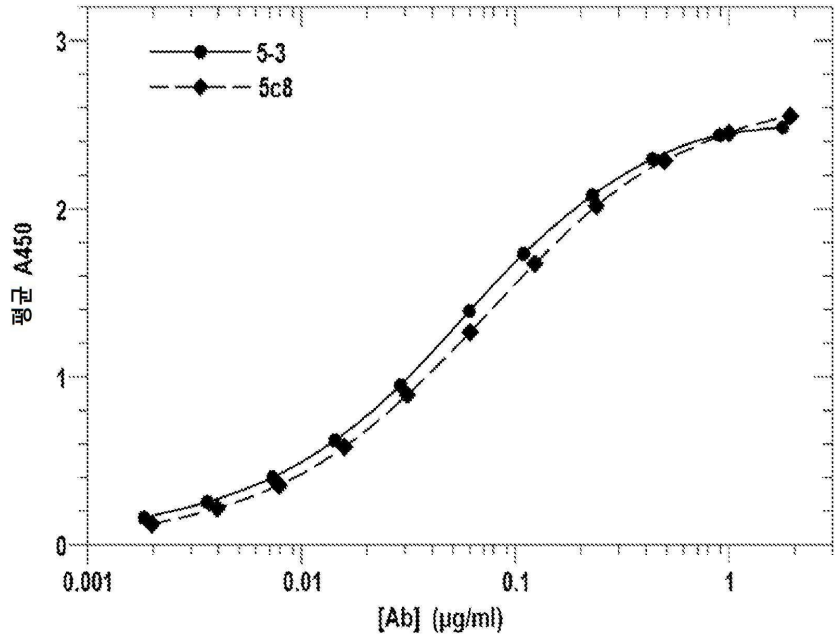
도면16g


17-1
5c8
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

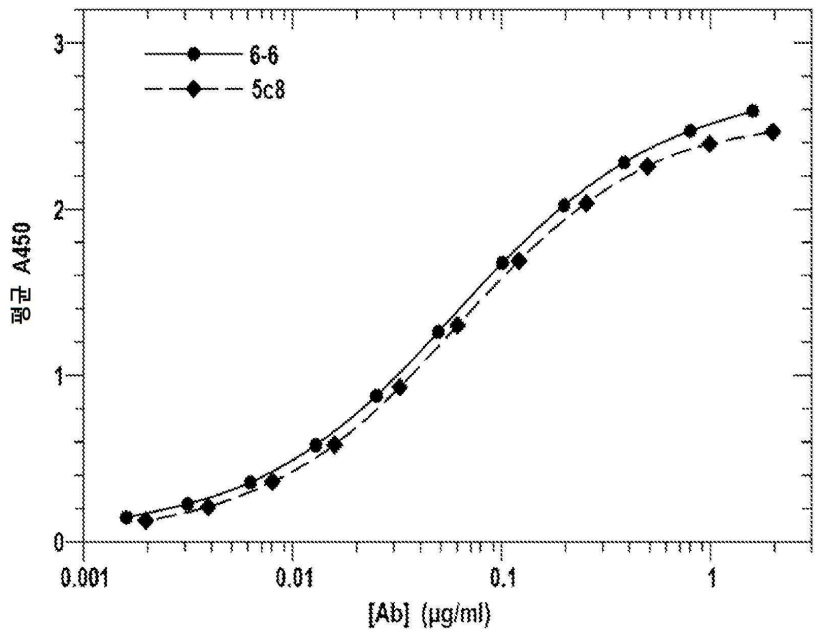
도면16h


AT-1501
5c8
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

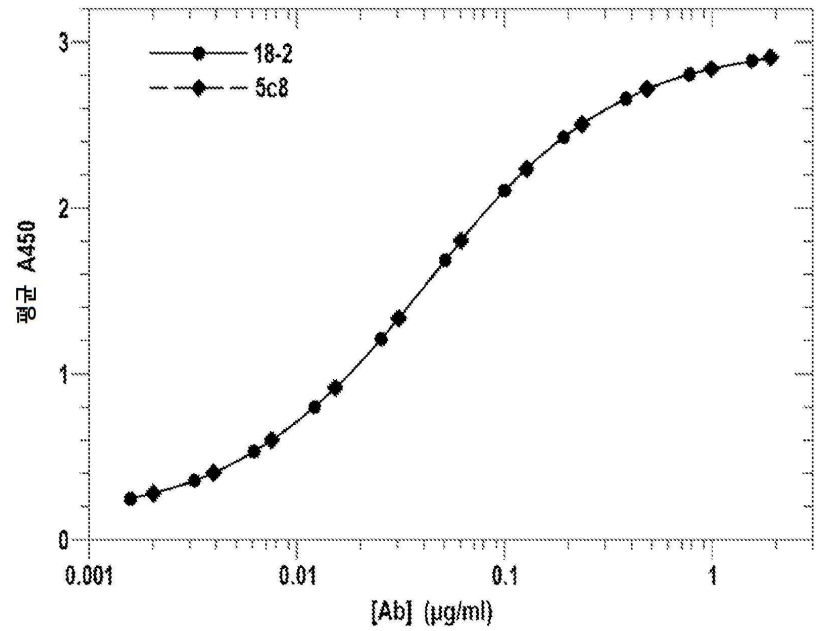
도면16i


5-3
5c8
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

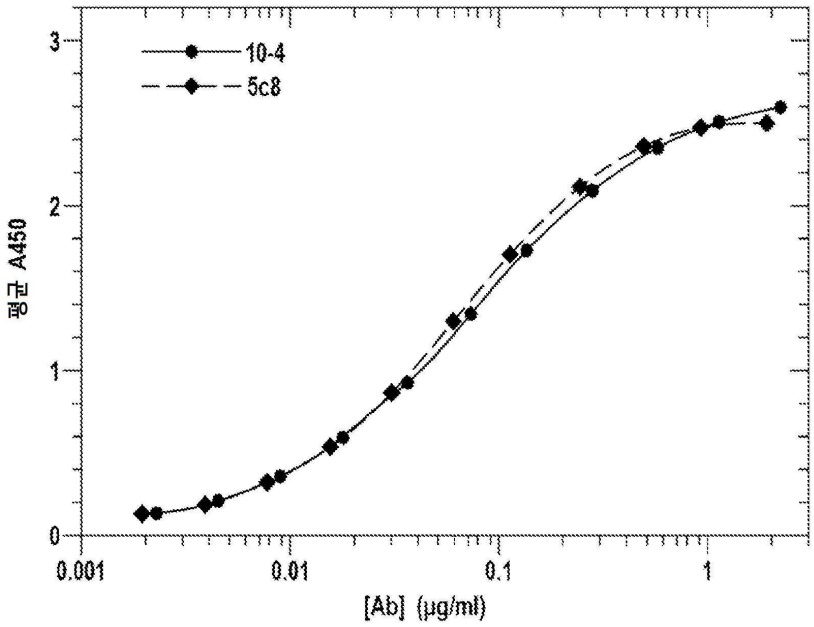
도면16j


6-6
5c8
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

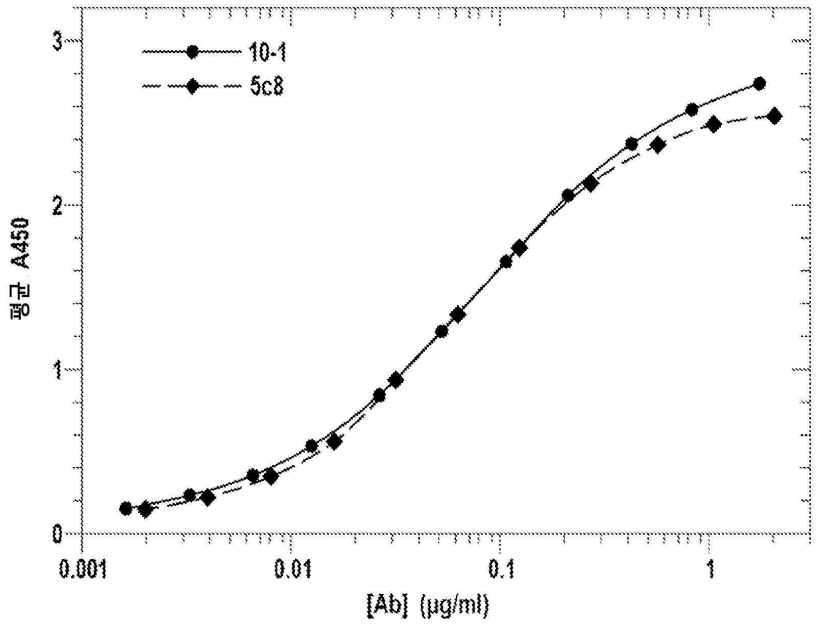
도면16k


18-2
5c8
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

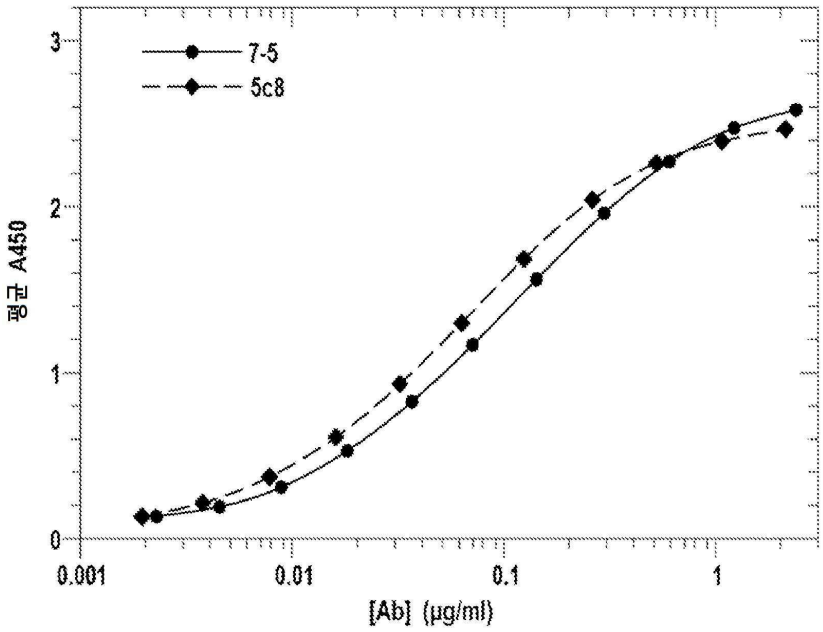
도면16l


10-4
5c8
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

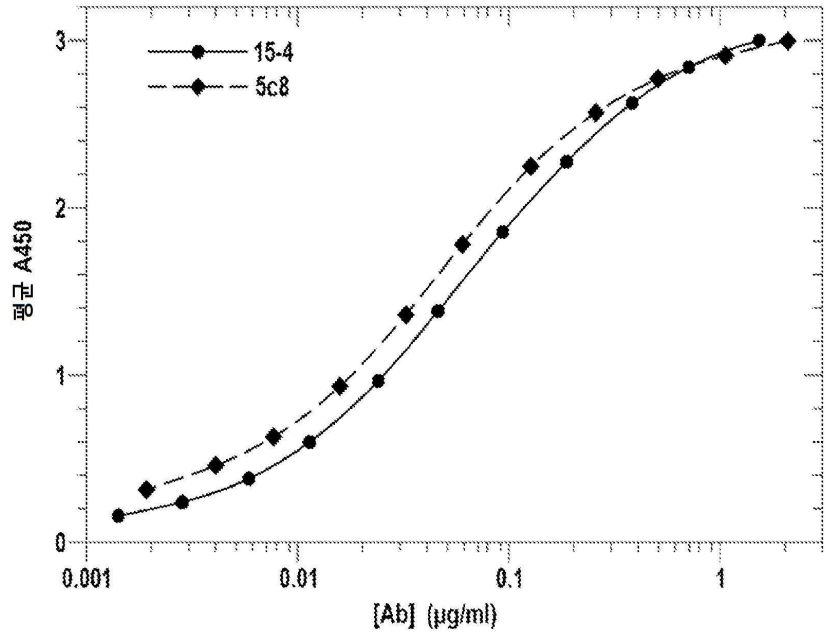
도면16m


10-1
5c8
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

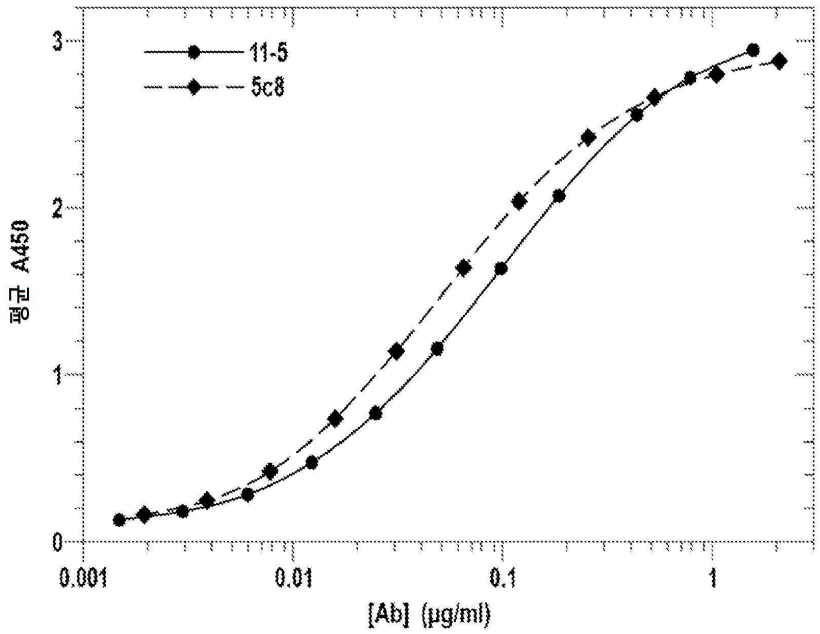
도면16n


7-5
5c8
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

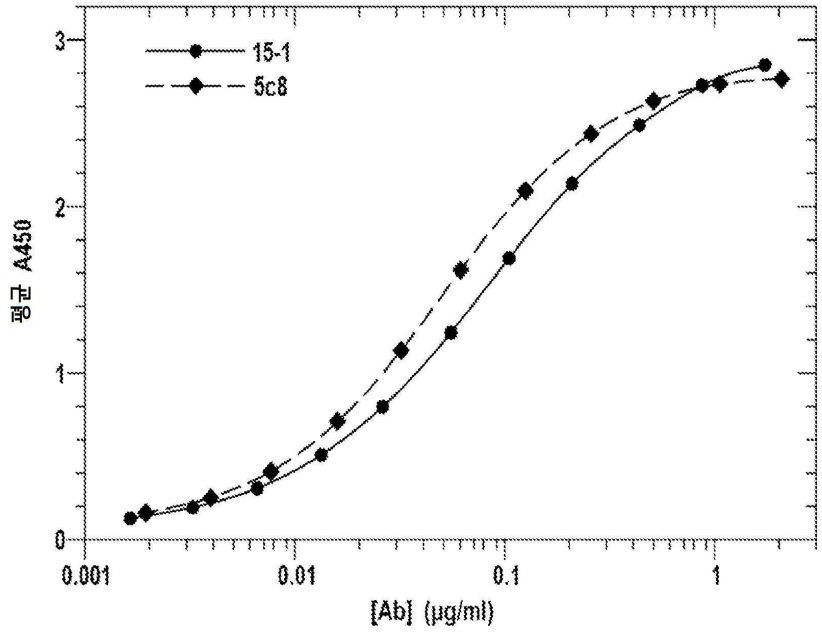
도면16o


15-4
5c8
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

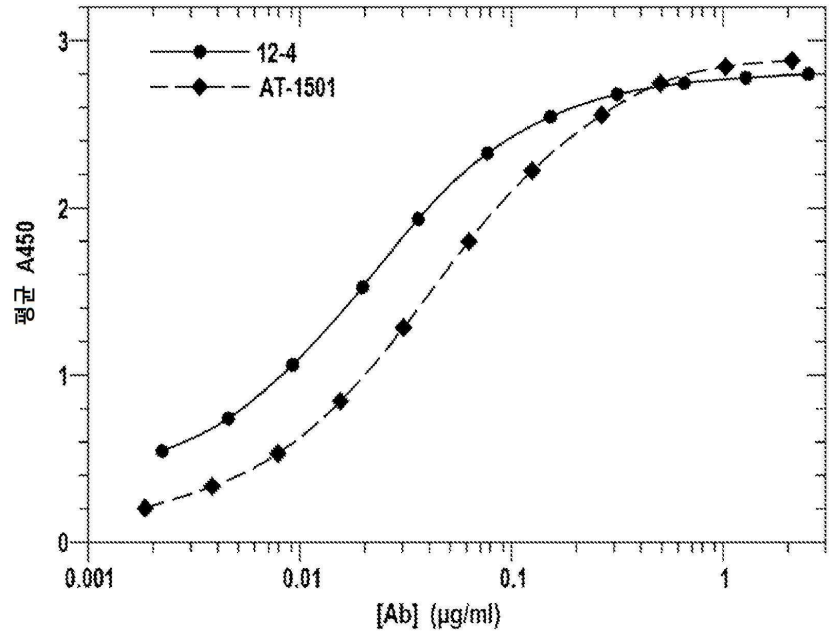
도면16p


11-5
5c8
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

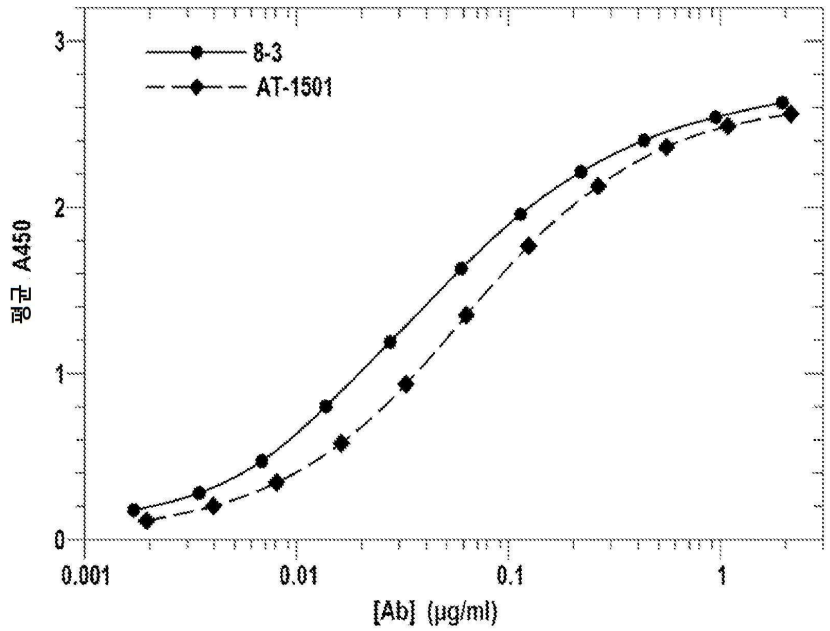
도면16q


15-1
5c8
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

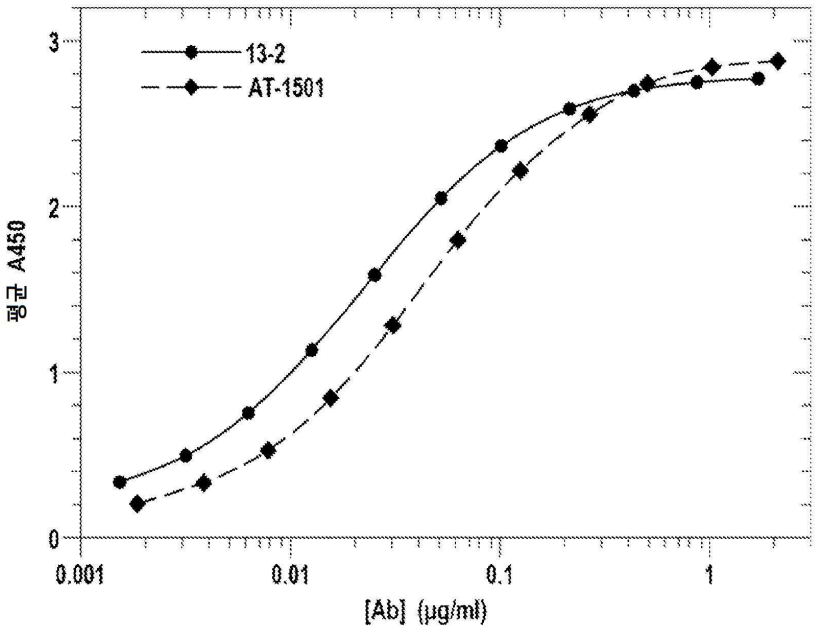
도면17a


12-4
AT-1501
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

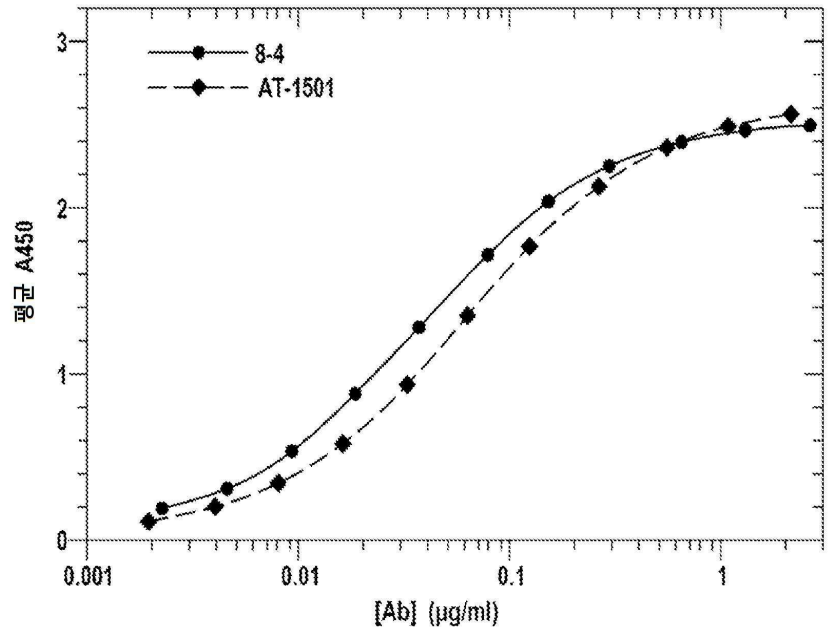
도면17b


8-3
AT-1501
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

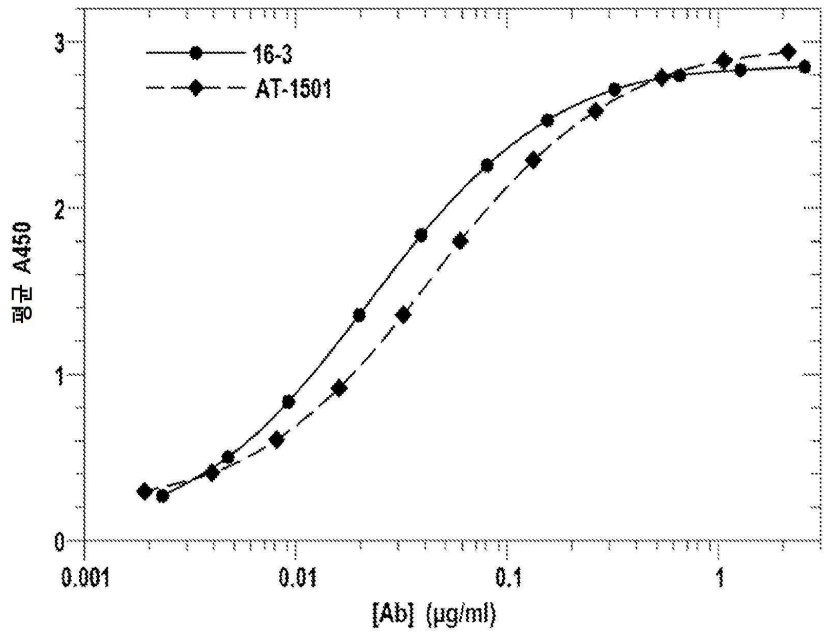
도면17c


13-2
AT-1501
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

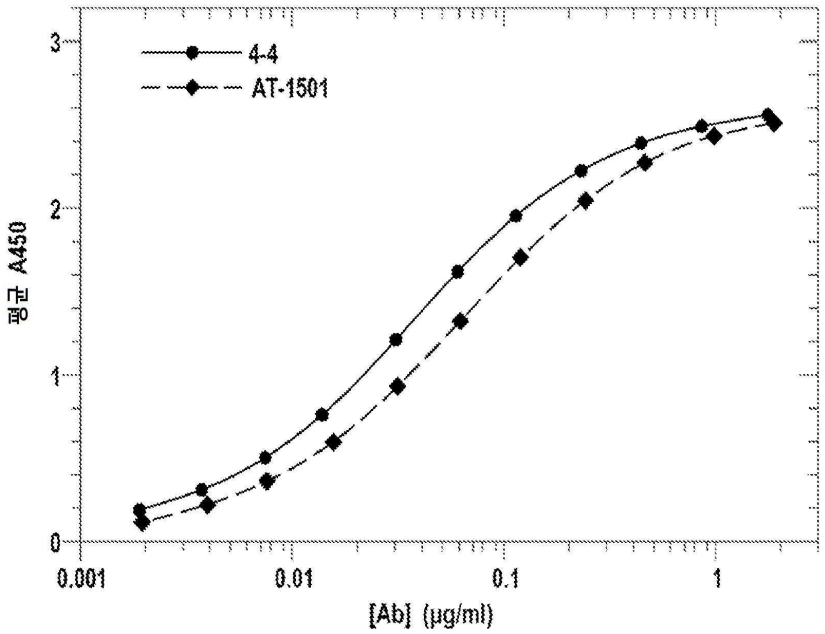
도면17d


8-4
AT-1501
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

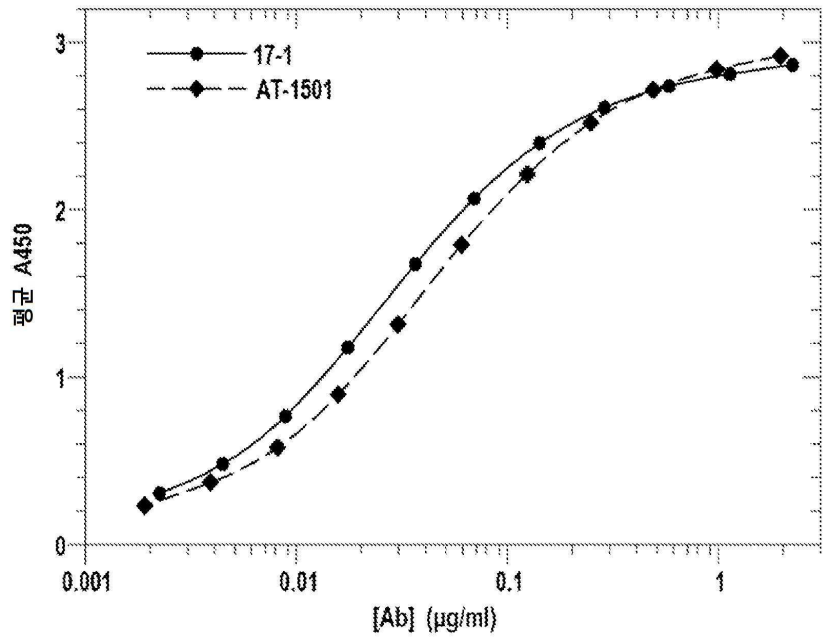
도면17e


16-3
AT-1501
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

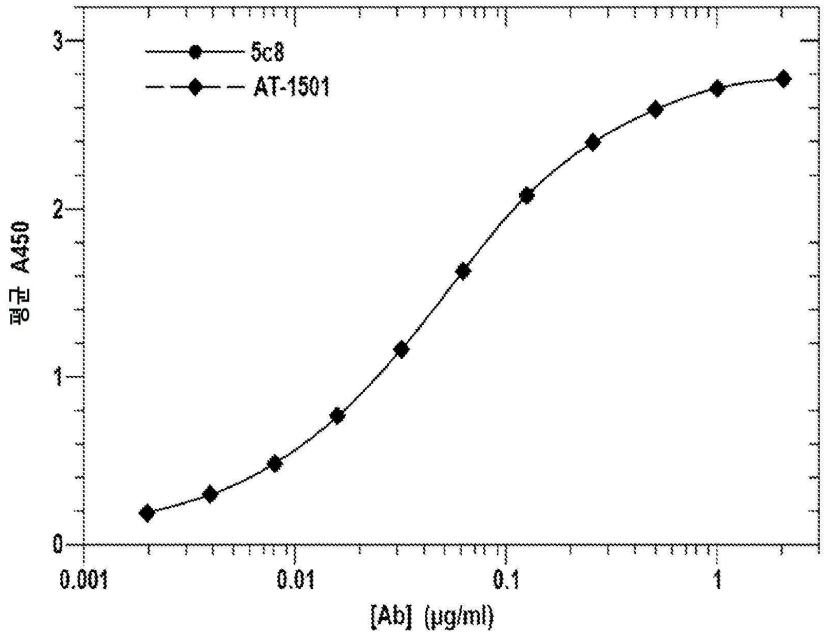
도면17f


4-4
AT-1501
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

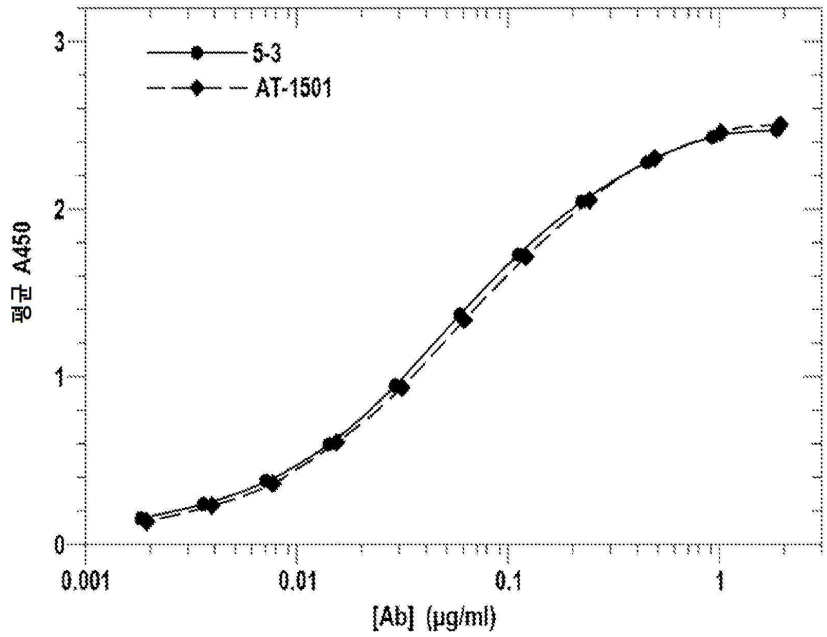
도면17g


17-1
AT-1501
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

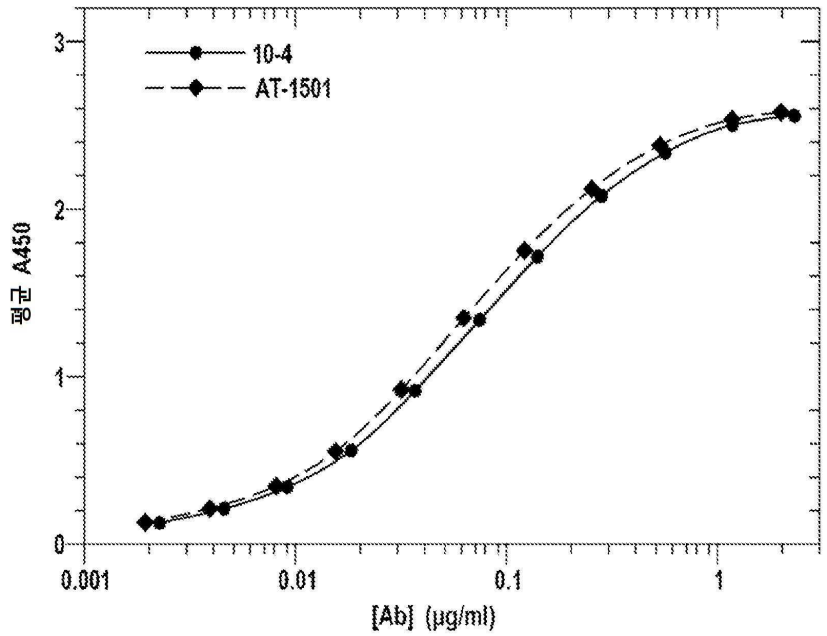
도면17h


5c8
AT-1501
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

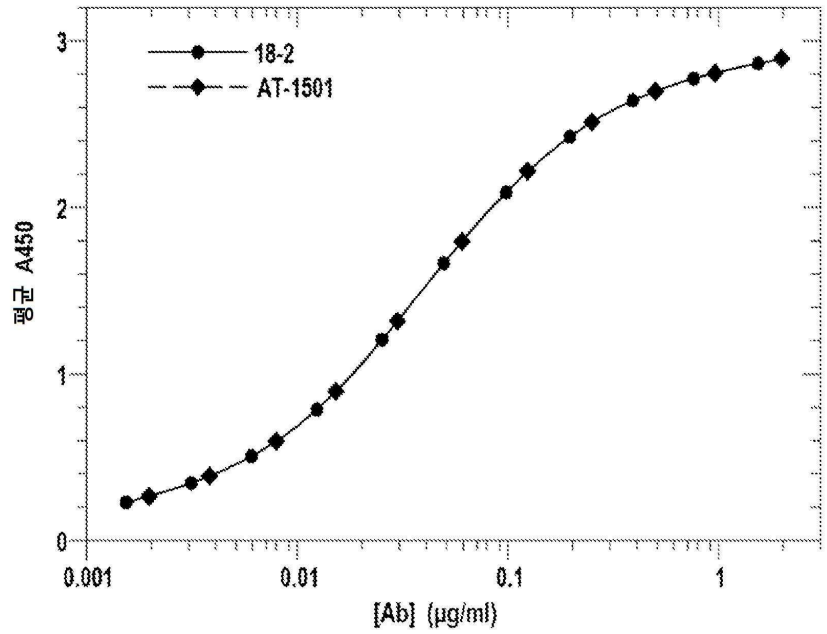
도면17i


5-3
AT-1501
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

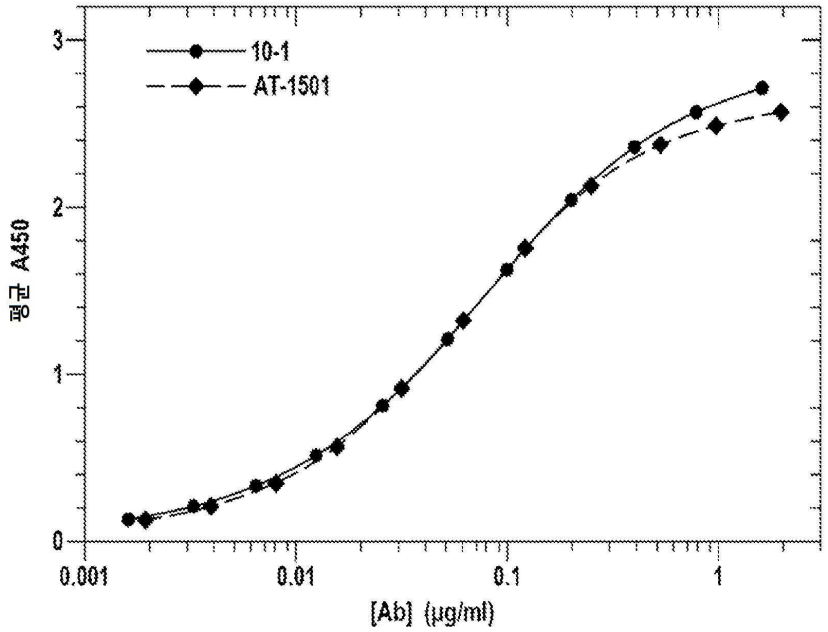
도면17j


10-4
AT-1501
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

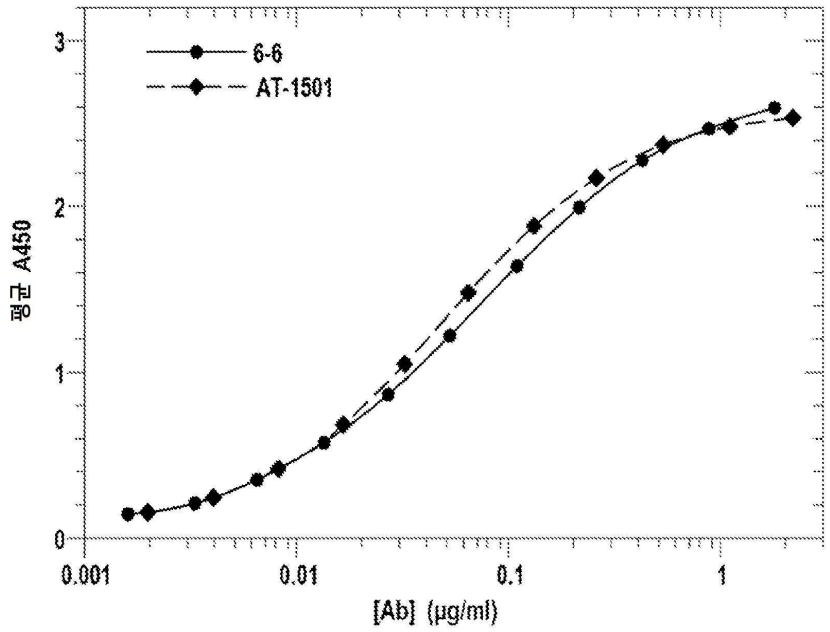
도면17k


18-2
AT-1501
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

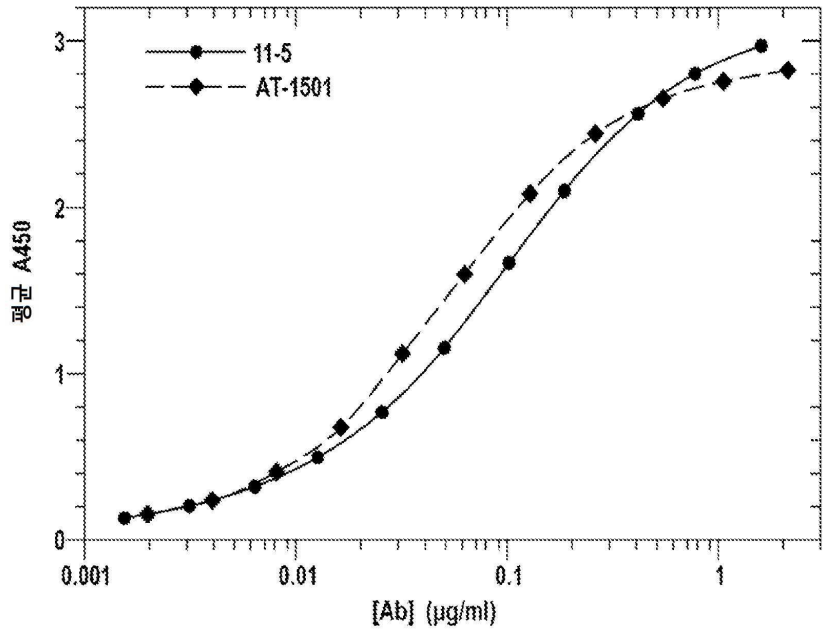
도면17l


10-1
AT-1501
평균 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

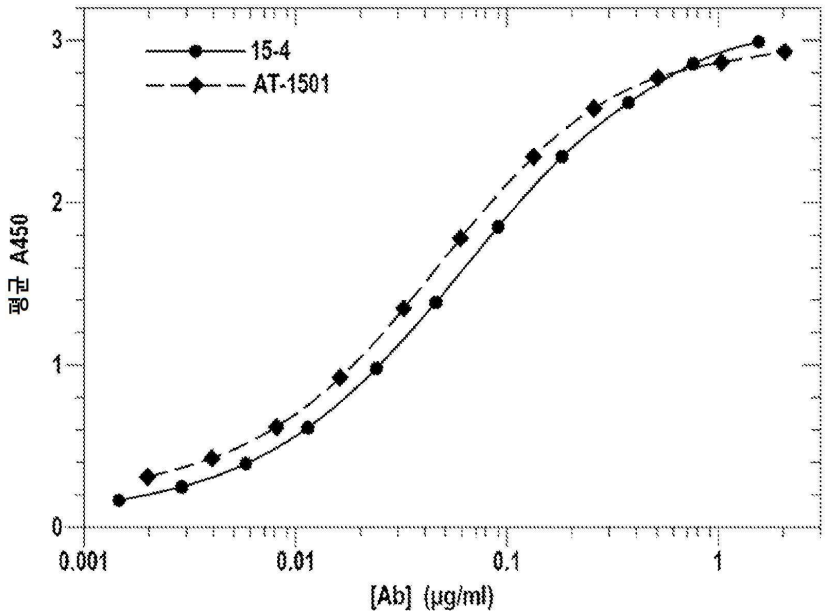
도면17m


6-6
AT-1501
평균 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

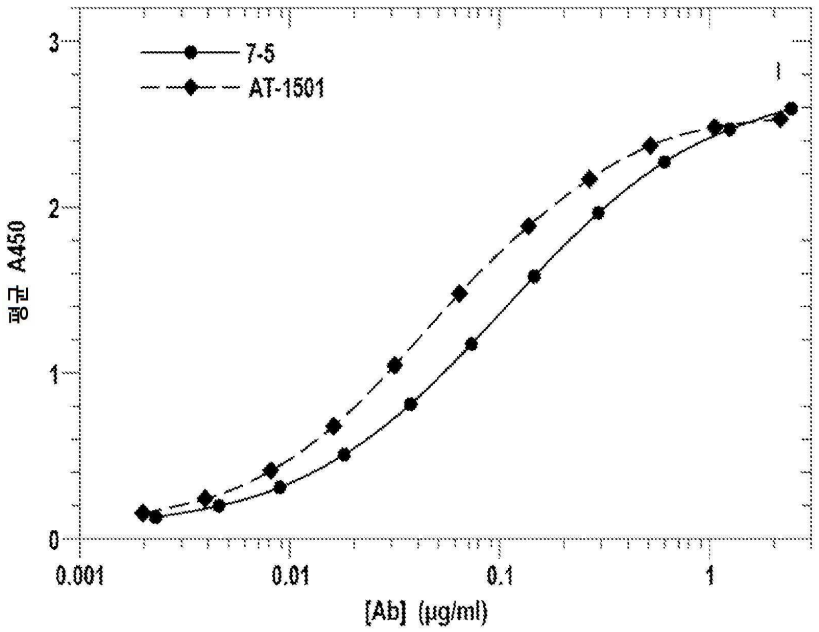
도면17n


11-5
AT-1501
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

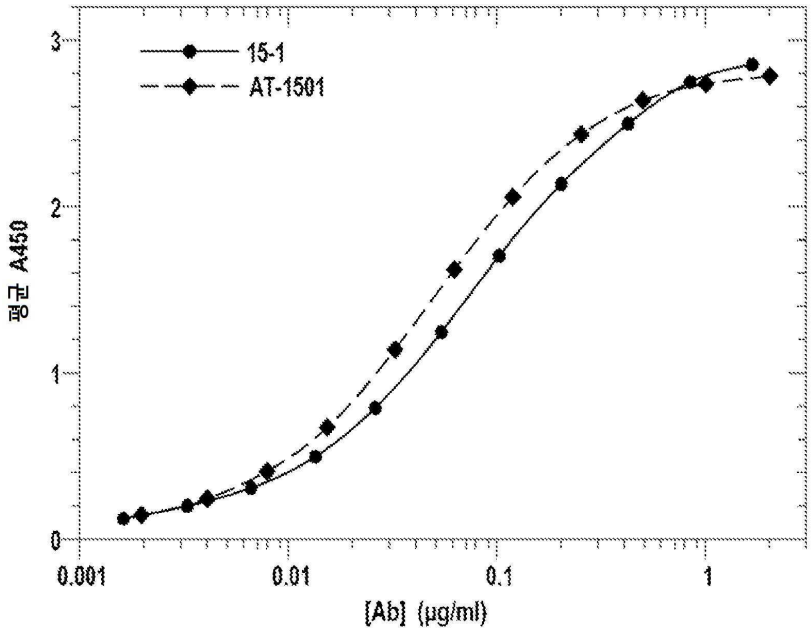
도면17o


15-4
AT-1501
평균 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

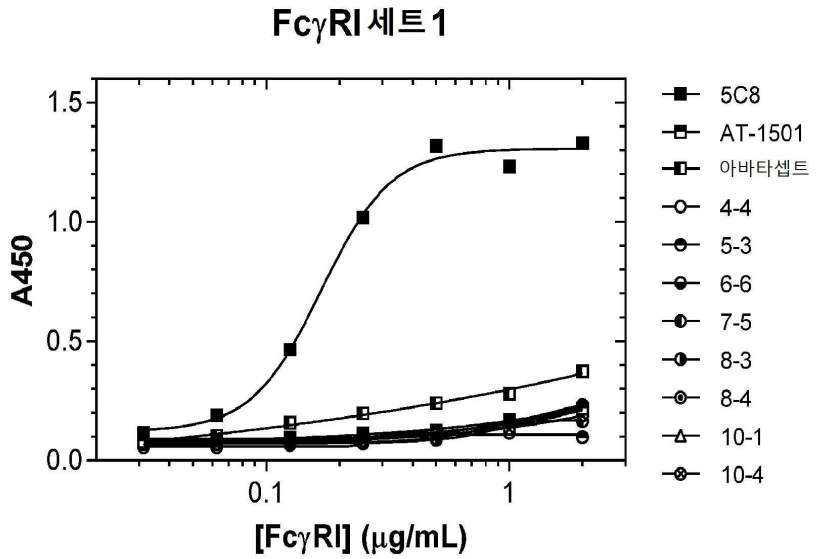
도면17p


7-5
AT-1501
평균 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

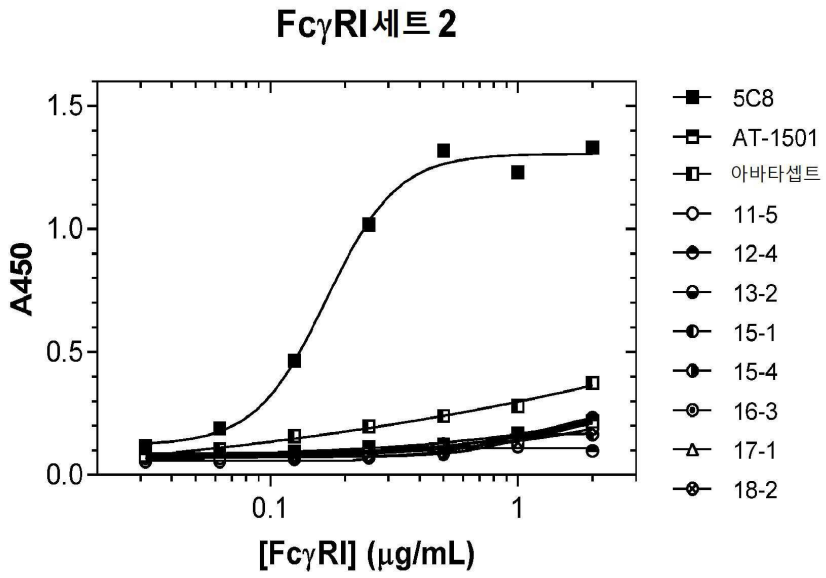
도면17q


15-1
AT-1501
평균 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

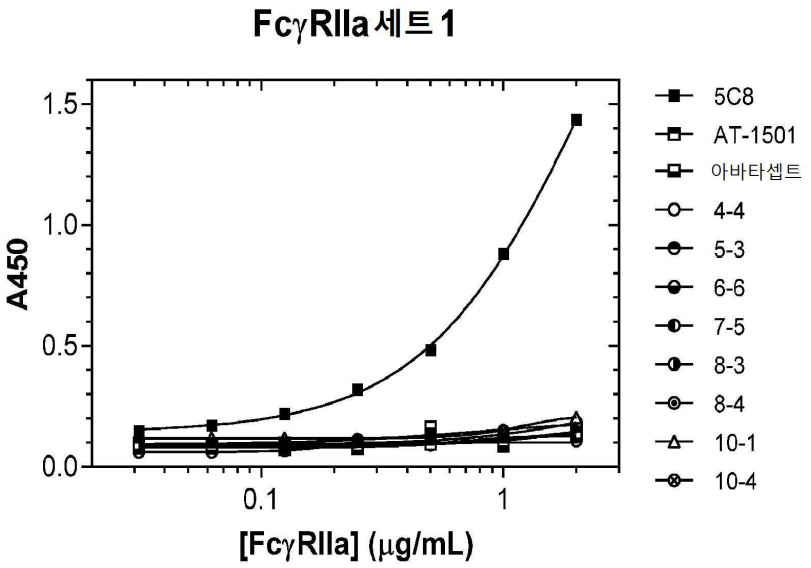
도면18a


FcγRI 세트 1
A450
1.5
1.0
0.5
0.0
0.1
1
[FcγRI] (μg/mL)
5C8
AT-1501
아바타셉트
4-4
5-3
6-6
7-5
8-3
8-4
10-1
10-4

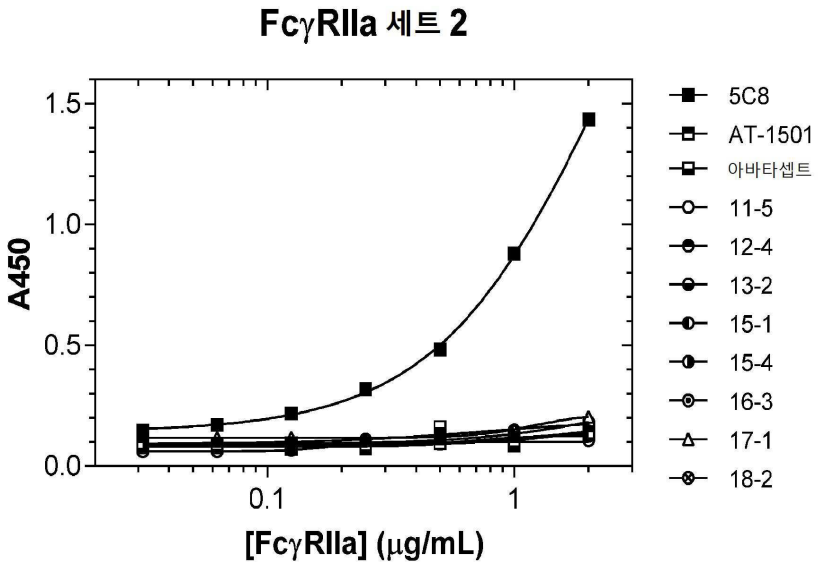
도면18b


FcγRI 세트 2
A450
1.5
1.0
0.5
0.0
0.1
1
[FcγRI] (μg/mL)
5C8
AT-1501
아바타셉트
11-5
12-4
13-2
15-1
15-4
16-3
17-1
18-2

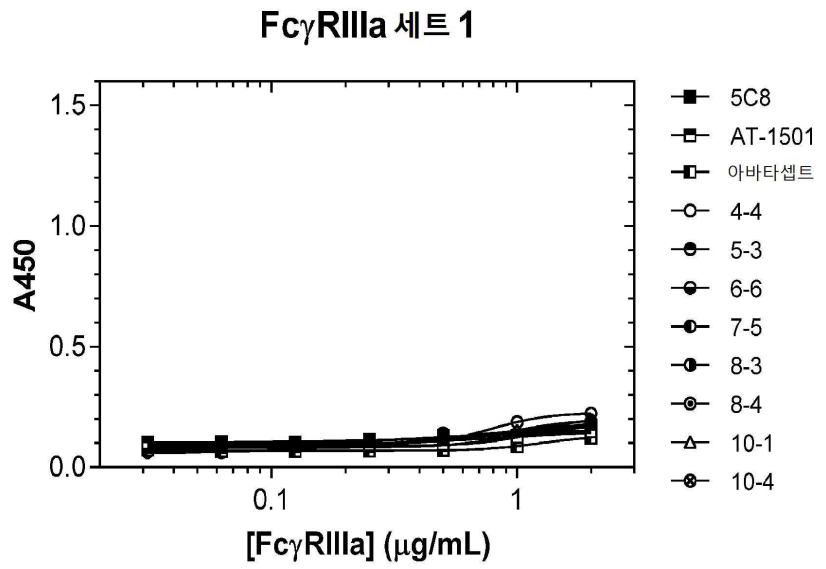
도면19a


FcγRIIa 세트 1
A450
1.5
1.0
0.5
0.0
0.1
1
[FcγRIIa] (μg/mL)
5C8
AT-1501
아바타셉트
4-4
5-3
6-6
7-5
8-3
8-4
10-1
10-4

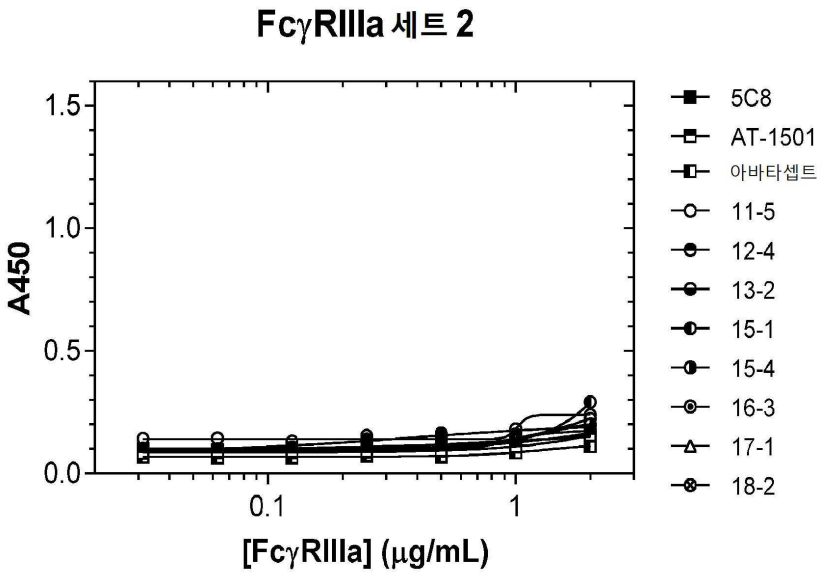
도면19b


FcγRIIa 세트 2
A450
1.5
1.0
0.5
0.0
0.1
1
[FcγRIIa] (μg/mL)
5C8
AT-1501
아바타셉트
11-5
12-4
13-2
15-1
15-4
16-3
17-1
18-2

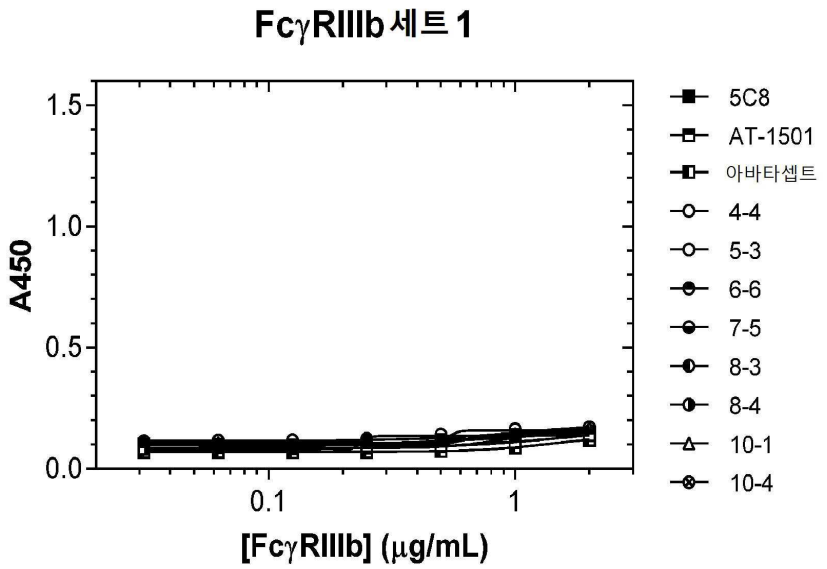
도면20a


FcγRIIIa 세트 1
A450
1.5
1.0
0.5
0.0
0.1
1
[FcγRIIIa] (μg/mL)
5C8
AT-1501
아바타셉트
4-4
5-3
6-6
7-5
8-3
8-4
10-1
10-4

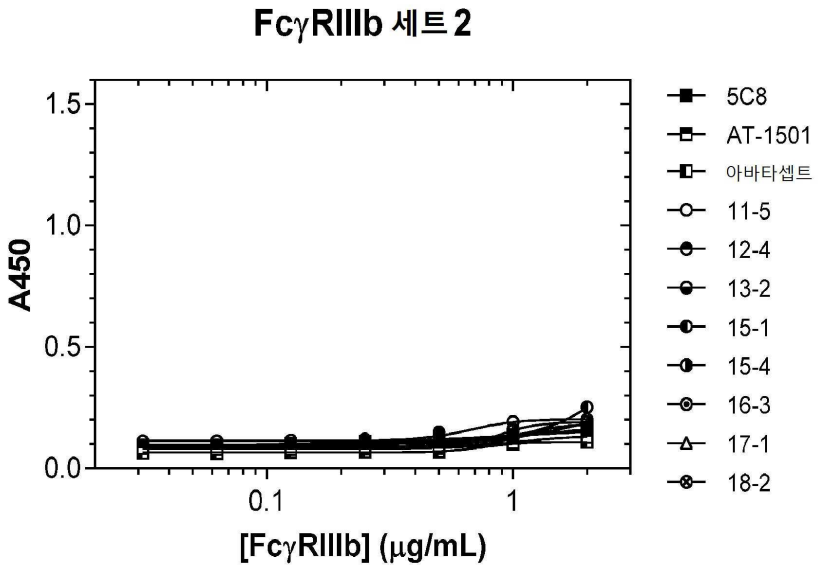
도면20b


FcγRIIIa 세트 2
A450
1.5
1.0
0.5
0.0
0.1
1
[FcγRIIIa] (μg/mL)
5C8
AT-1501
아바타셉트
11-5
12-4
13-2
15-1
15-4
16-3
17-1
18-2

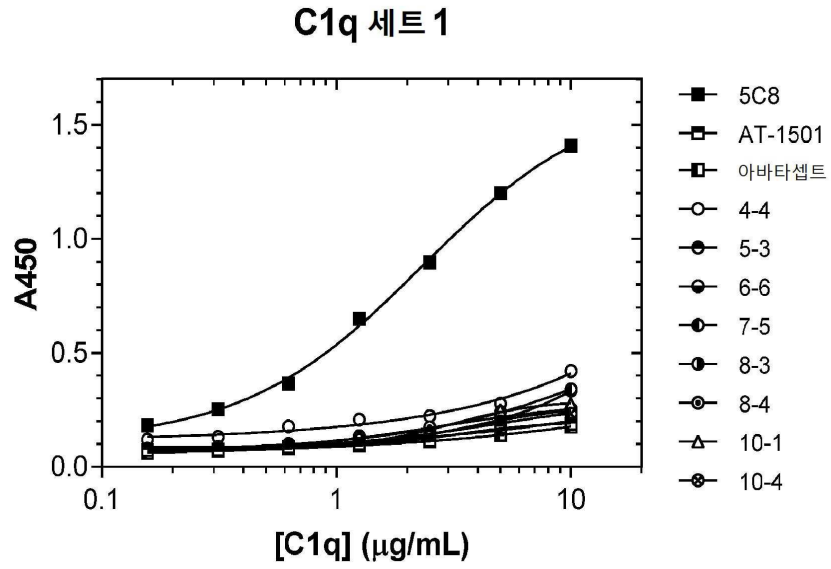
도면20c


FcγRIIIb 세트 1
A450
1.5
1.0
0.5
0.0
0.1
1
[FcγRIIIb] (μg/mL)
5C8
AT-1501
아바타셉트
4-4
5-3
6-6
7-5
8-3
8-4
10-1
10-4

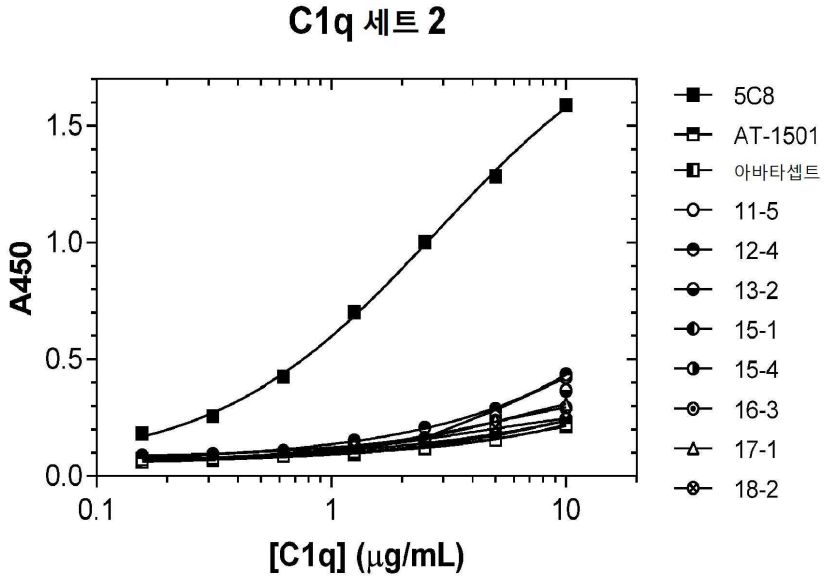
도면20d


FcγRIIIb 세트 2
A450
1.5
1.0
0.5
0.0
0.1
1
[FcγRIIIb] (μg/mL)
5C8
AT-1501
아바타셉트
11-5
12-4
13-2
15-1
15-4
16-3
17-1
18-2

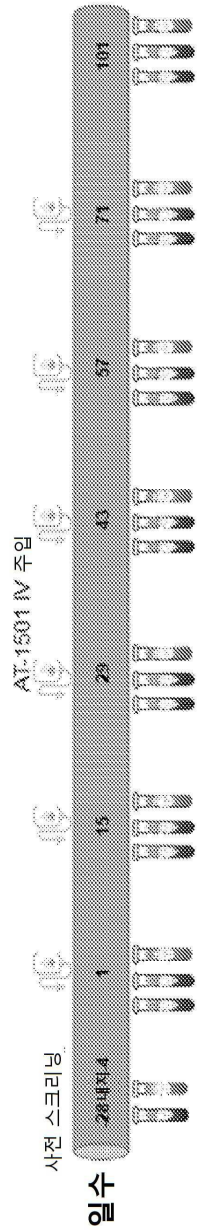
도면21a


C1q 세트 1
A450
1.5
1.0
0.5
0.0
0.1
1
10
[C1q] (μg/mL)
5C8
AT-1501
아바타셉트
4-4
5-3
6-6
7-5
8-3
8-4
10-1
10-4

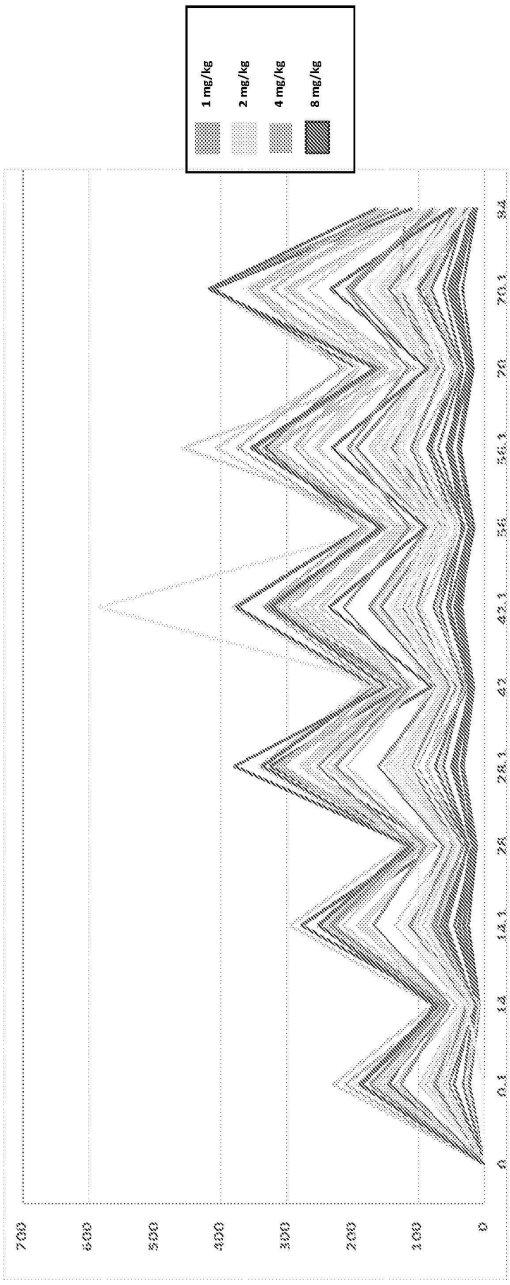
도면21b


C1q 세트 2
A450
1.5
1.0
0.5
0.0
0.1
1
10
[C1q] (μg/mL)
5C8
AT-1501
아바타셉트
11-5
12-4
13-2
15-1
15-4
16-3
17-1
18-2

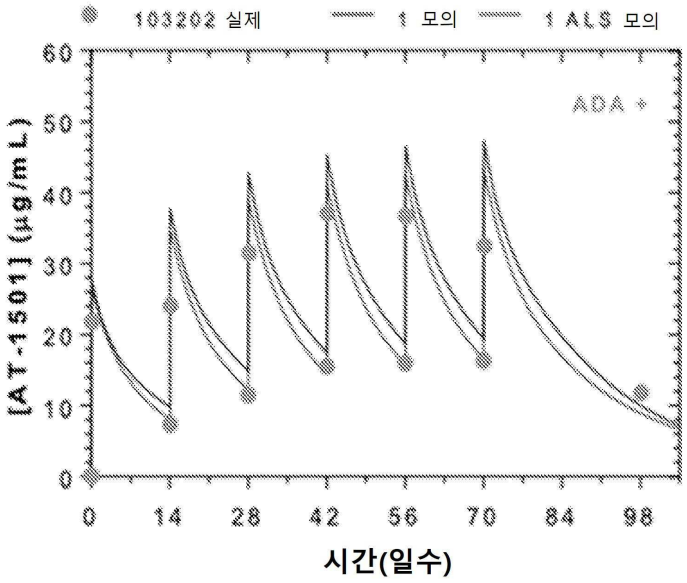
도면22



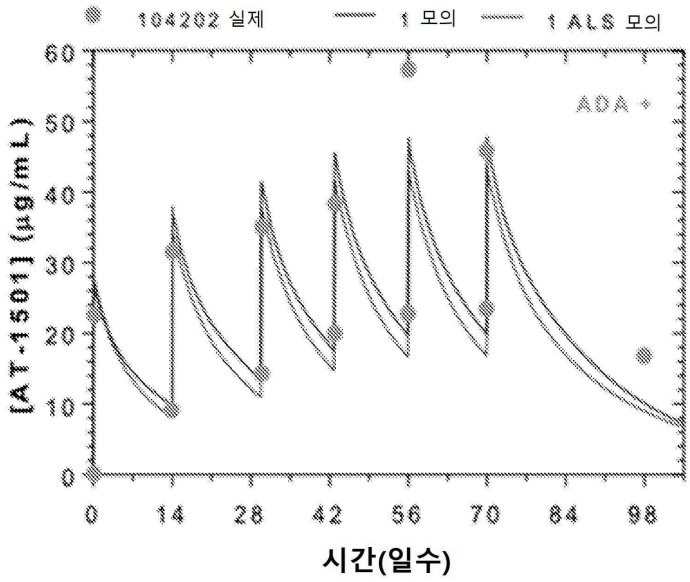
도면23


1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
700
600
500
400
300
200
100
0
0
0.1
14
14.1
28
28.1
42
42.1
56
56.1
70
70.1
84

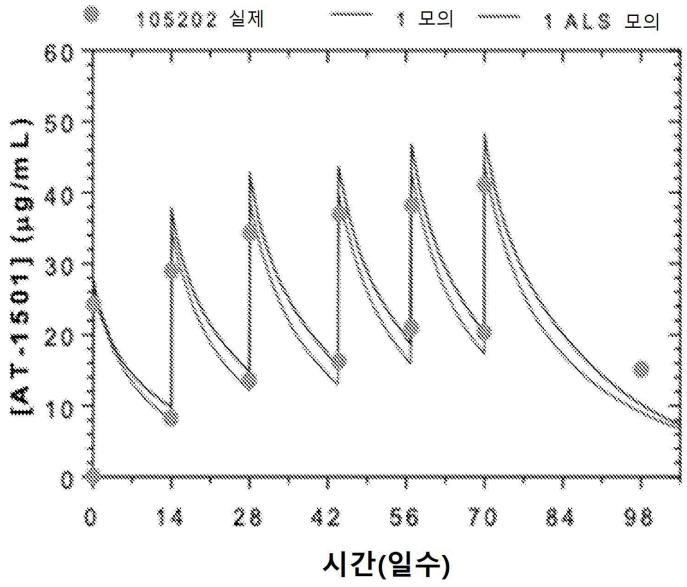
도면24a


103202 실제
1 모의
1 ALS 모의
ADA +
[AT-1501] (μg/mL)
0
10
20
30
40
50
60
0
14
28
42
56
70
84
98
시간(일수)

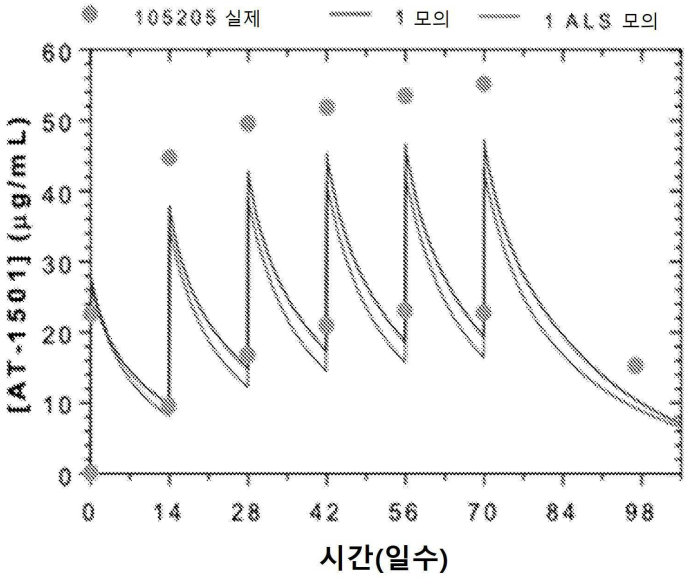
도면24b


104202 실제
1 모의
1 ALS 모의
ADA +
[AT-1501] (μg/mL)
0
10
20
30
40
50
60
0
14
28
42
56
70
84
98
시간(일수)

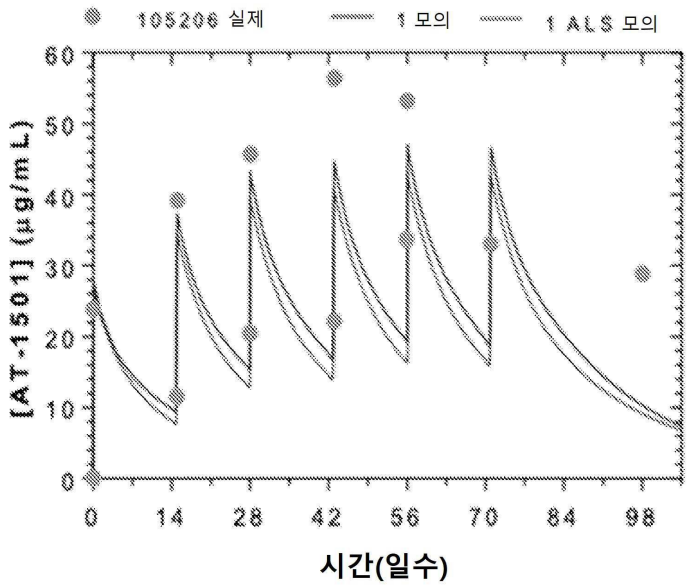
도면24c


105202 실제
1 모의
1 ALS 모의
[AT-1501] (μg/mL)
0
10
20
30
40
50
60
0
14
28
42
56
70
84
98
시간(일수)

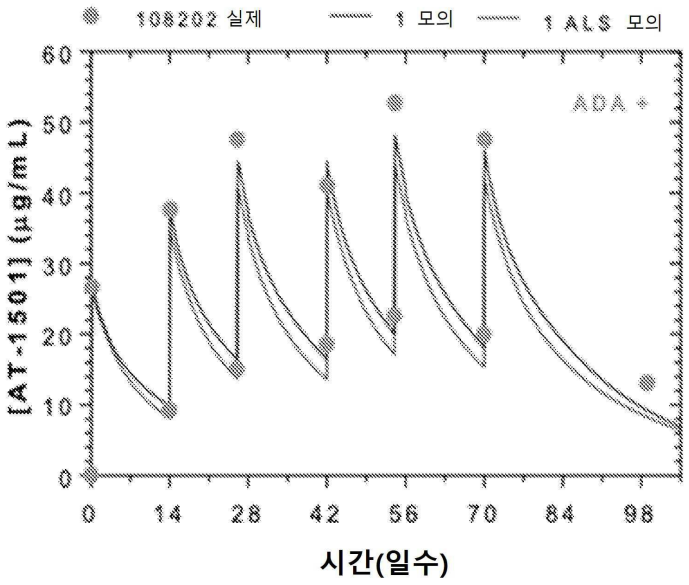
도면24d


105205 실제
1 모의
1 ALS 모의
[AT-1501] (μg/mL)
0
10
20
30
40
50
60
0
14
28
42
56
70
84
98
시간(일수)

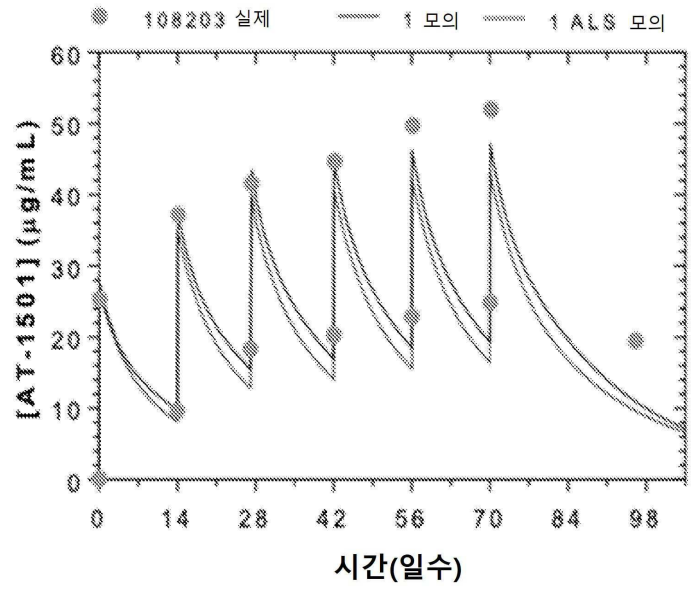
도면24e


105206 실제
1 모의
1 ALS 모의
[AT-1501] (μg/mL)
0
10
20
30
40
50
60
0
14
28
42
56
70
84
98
시간(일수)

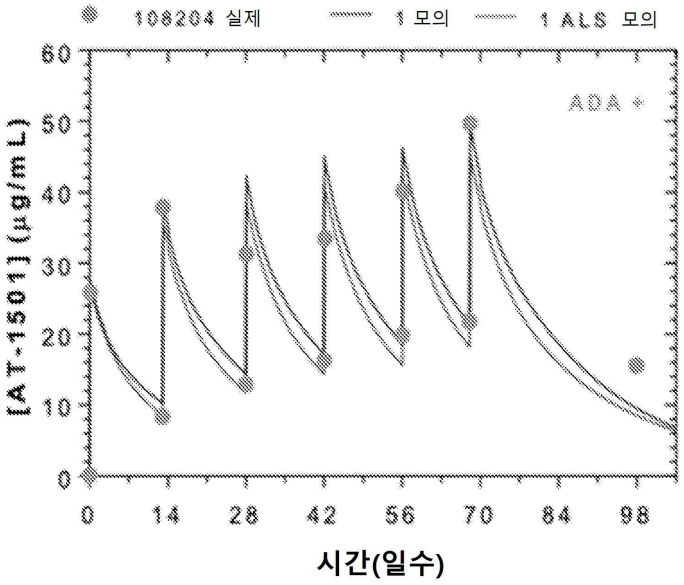
도면24f


108202 실제
1 모의
1 ALS 모의
ADA +
[AT-1501] (μg/mL)
0
10
20
30
40
50
60
0
14
28
42
56
70
84
98
시간(일수)

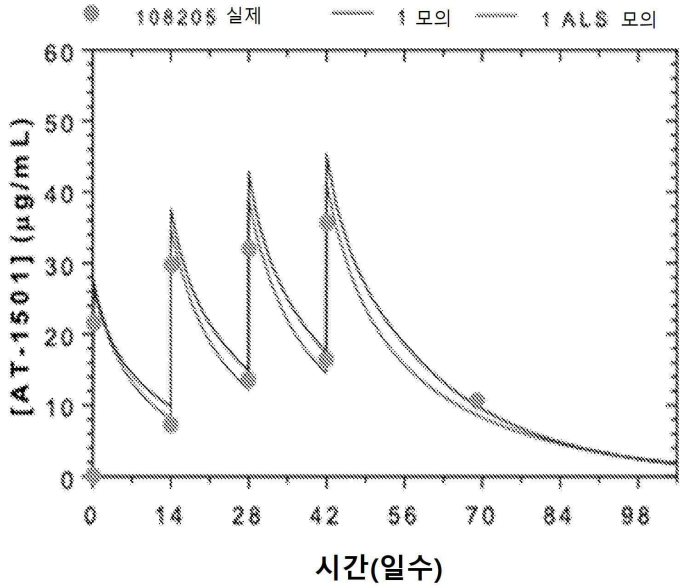
도면24g


108203 실제
1 모의
1 ALS 모의
[AT-1501] (μg/mL)
0
10
20
30
40
50
60
0
14
28
42
56
70
84
98
시간(일수)

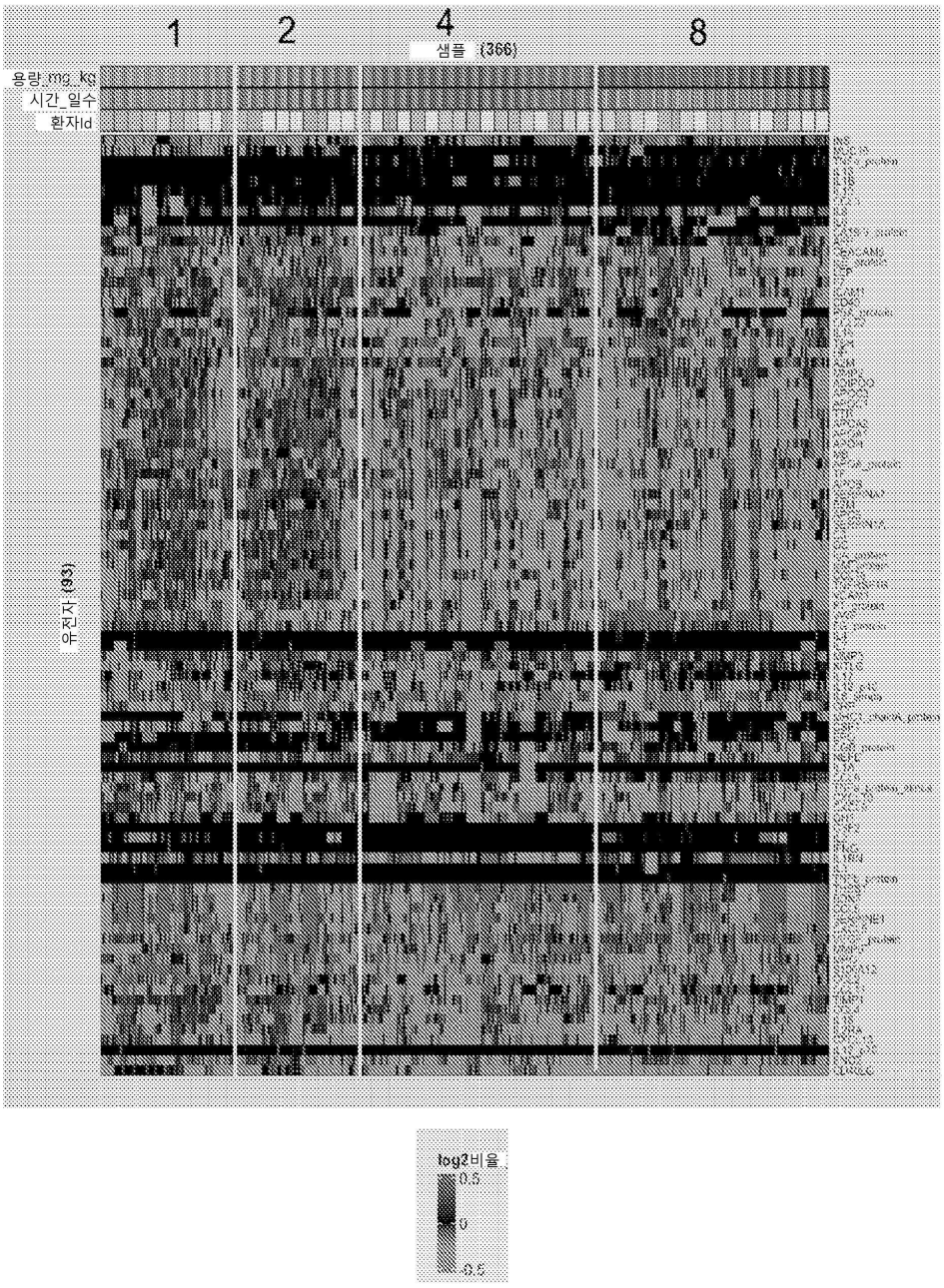
도면24h


108204 실제
1 모의
1 ALS 모의
ADA +
[AT-1501] (μg/mL)
0
10
20
30
40
50
60
0
14
28
42
56
70
84
98
시간(일수)

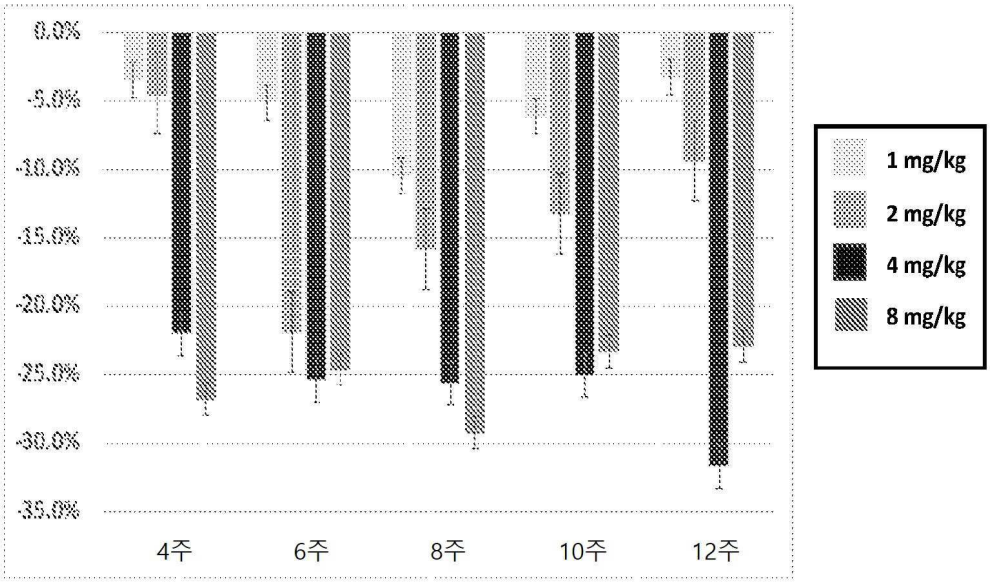
도면24i


108205 실제
1 모의
1 ALS 모의
[AT-1501] (μg/mL)
0
10
20
30
40
50
60
0
14
28
42
56
70
84
98
시간(일수)

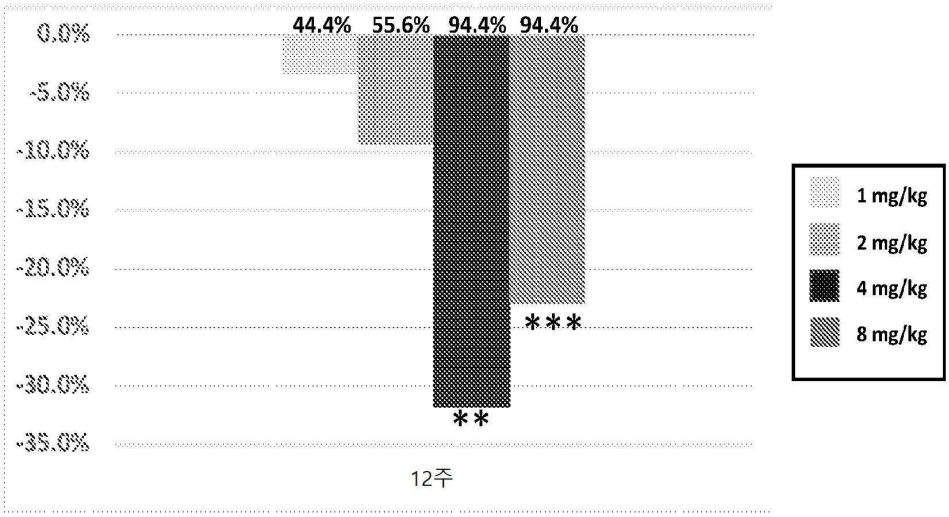
도면25



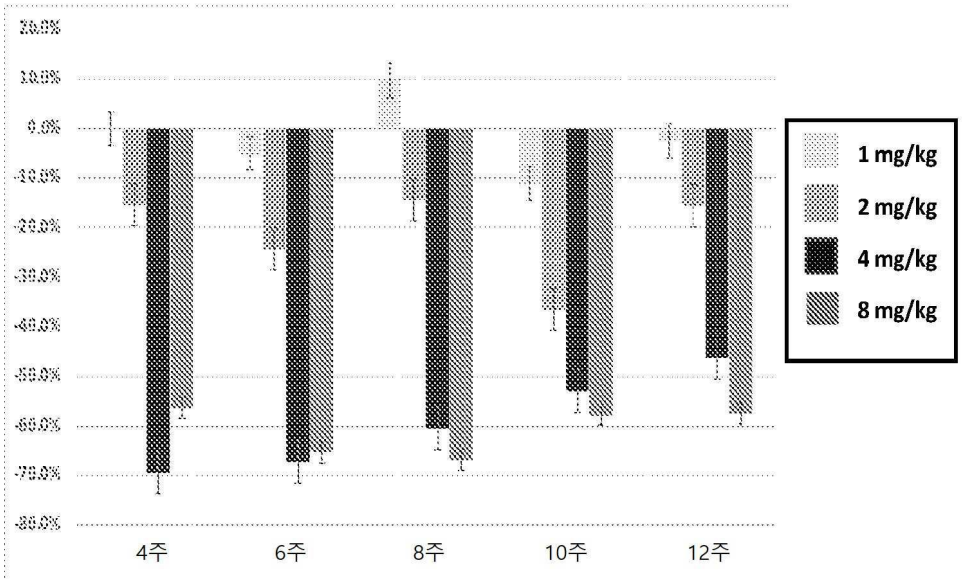
도면26a


0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
-20.0%
-25.0%
-30.0%
-35.0%
4주
6주
8주
10주
12주
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg

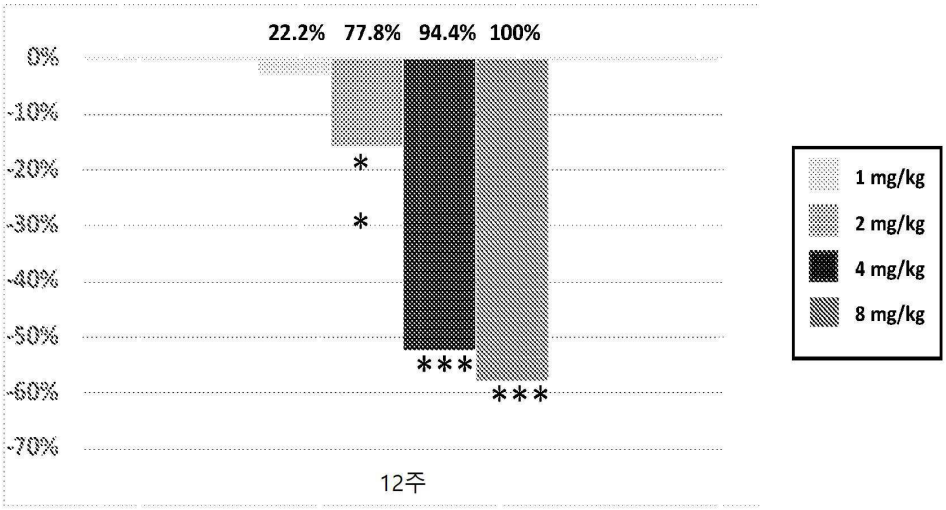
도면26b


0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
-20.0%
-25.0%
-30.0%
-35.0%
44.4%
55.6%
94.4%
94.4%
***
**
12주
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg

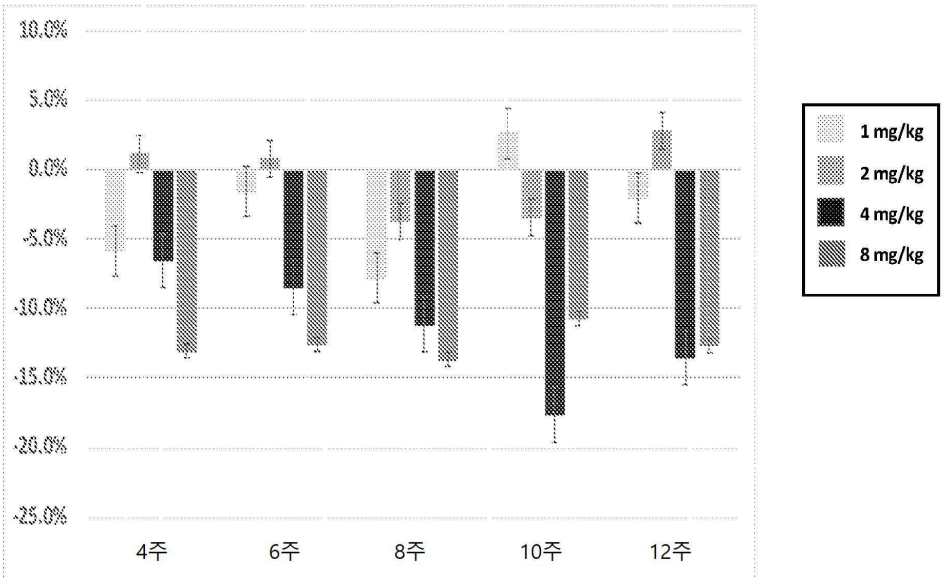
도면27a


4주
6주
8주
10주
12주
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg

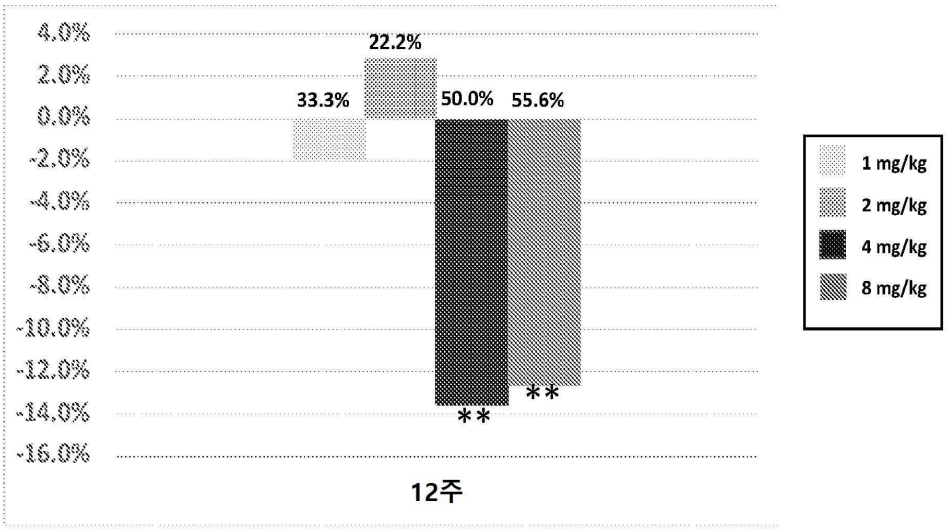
도면27b


22.2%
77.8%
94.4%
100%
0%
-10%
-20%
-30%
-40%
-50%
-60%
-70%
*
*
***
***
12주
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg

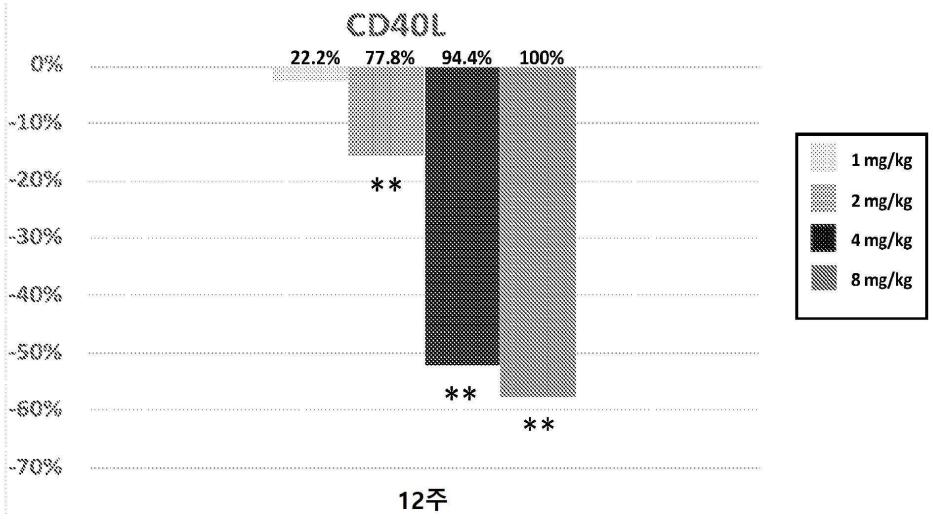
도면28a


10.0%
5.0%
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
-20.0%
-25.0%
4주
6주
8주
10주
12주
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg

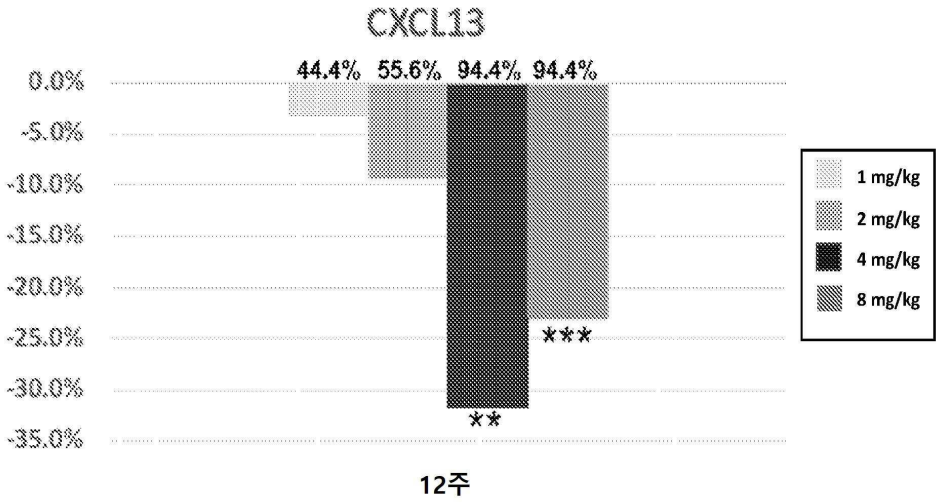
도면28b


4.0%
2.0%
0.0%
-2.0%
-4.0%
-6.0%
-8.0%
-10.0%
-12.0%
-14.0%
-16.0%
33.3%
22.2%
50.0%
55.6%
**
**
12주
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg

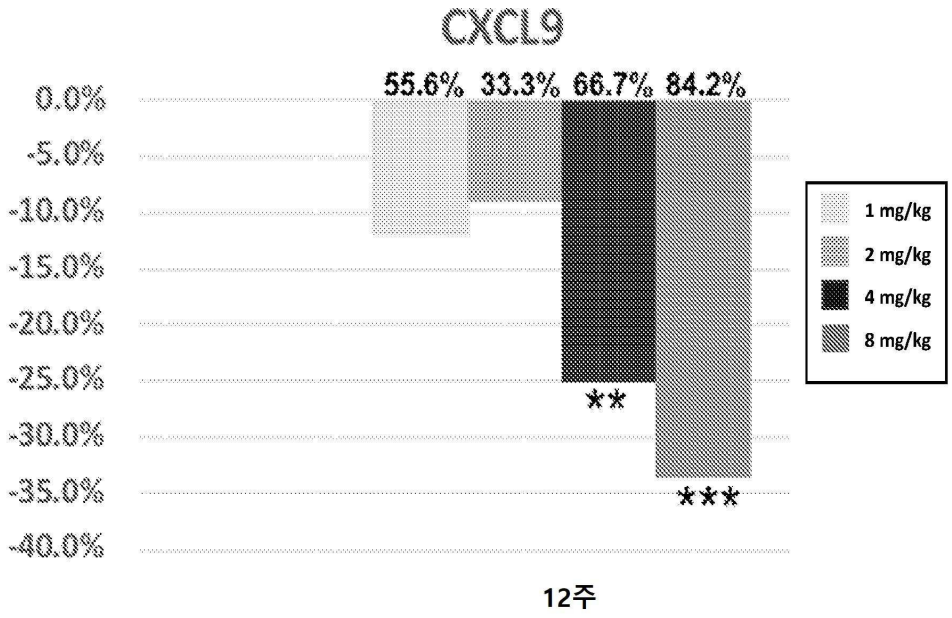
도면29a


CD40L
22.2%
77.8%
94.4%
100%
0%
-10%
-20%
-30%
-40%
-50%
-60%
-70%
**
**
**
12주
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg

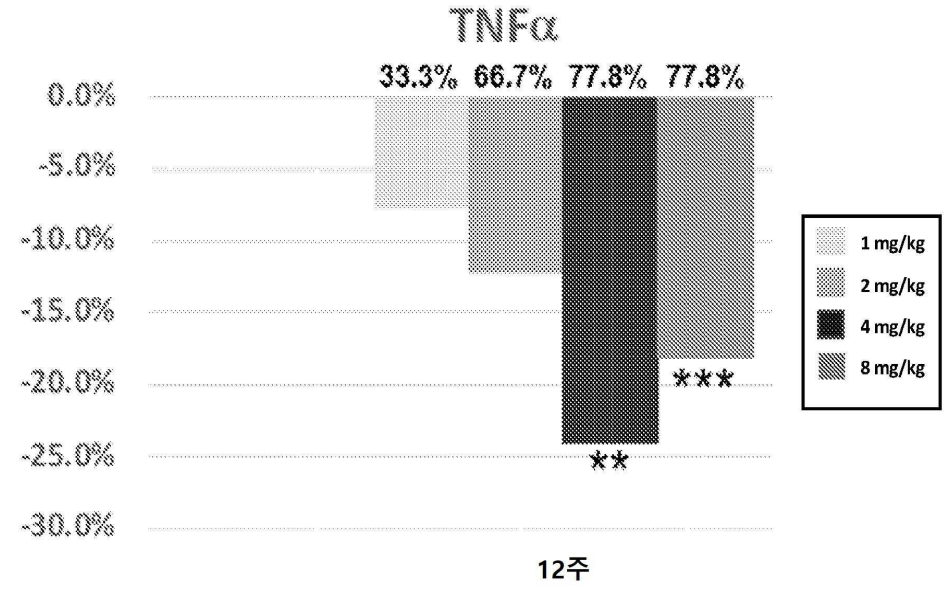
도면29b


CXCL13
44.4%
55.6%
94.4%
94.4%
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
-20.0%
-25.0%
-30.0%
-35.0%
***
**
12주
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg

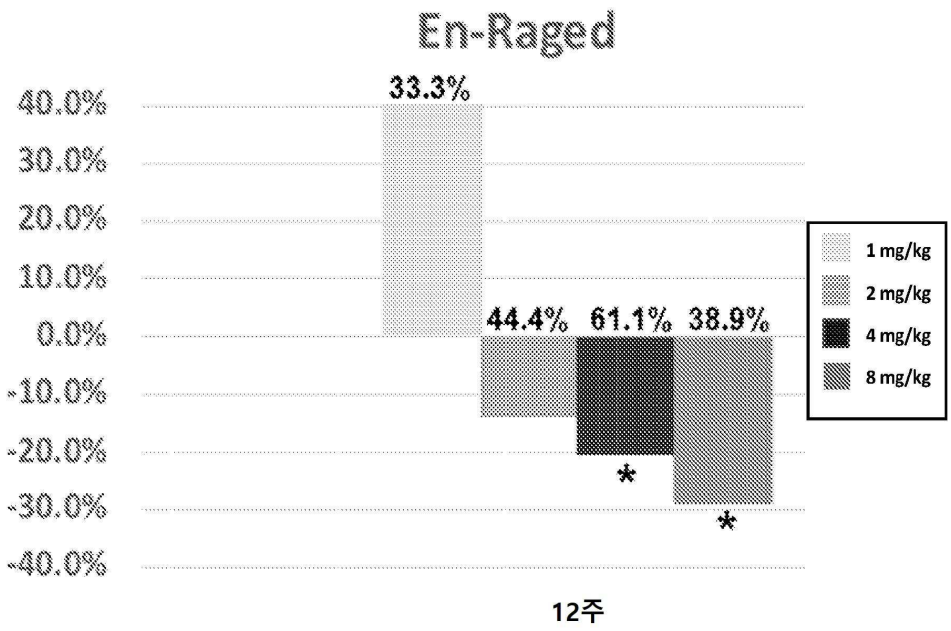
도면29c


CXCL9
55.6%
33.3%
66.7%
84.2%
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
-20.0%
-25.0%
-30.0%
-35.0%
-40.0%
**
***
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

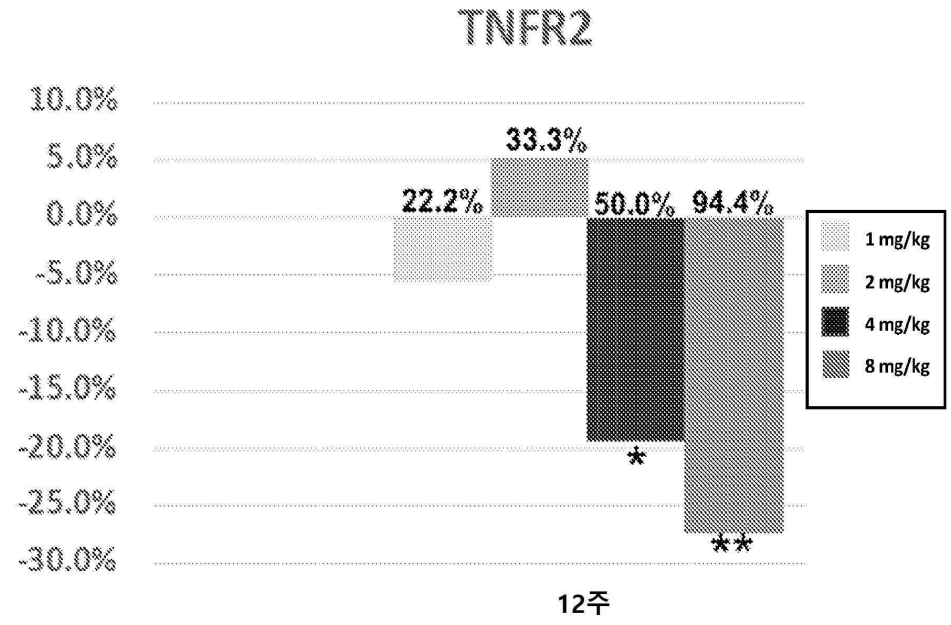
도면29d


TNFα
33.3%
66.7%
77.8%
77.8%
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
-20.0%
-25.0%
-30.0%
***
**
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

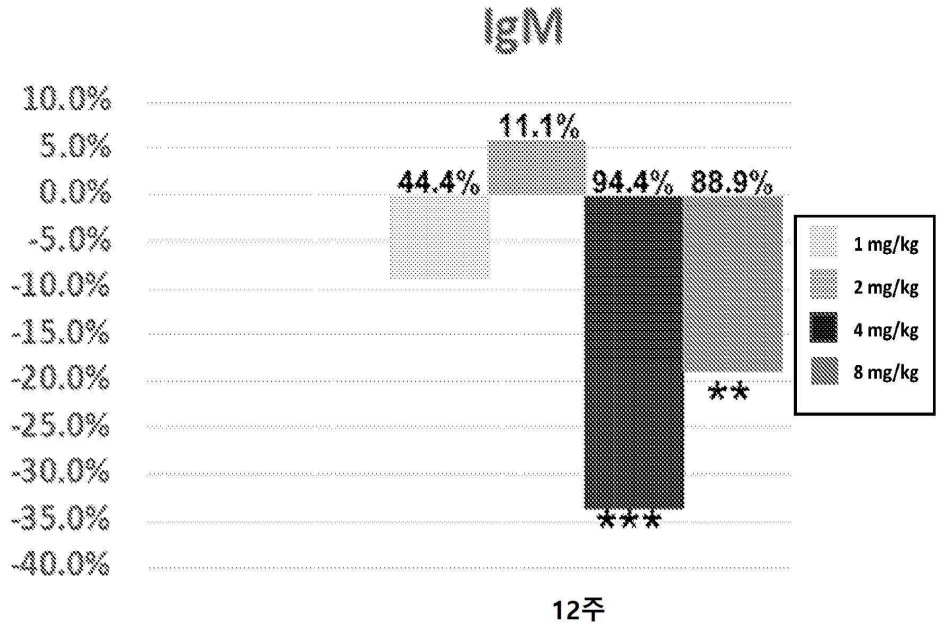
도면29e


En-Raged
40.0%
30.0%
20.0%
10.0%
0.0%
-10.0%
-20.0%
-30.0%
-40.0%
33.3%
44.4%
61.1%
38.9%
*
*
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

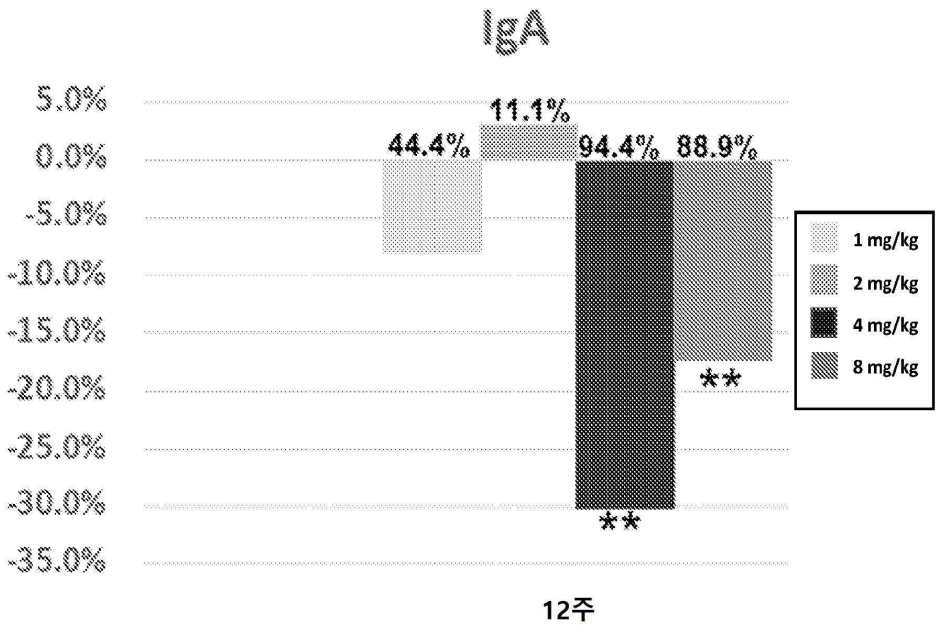
도면29f


TNFR2
10.0%
5.0%
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
-20.0%
-25.0%
-30.0%
22.2%
33.3%
50.0%
94.4%
*
**
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

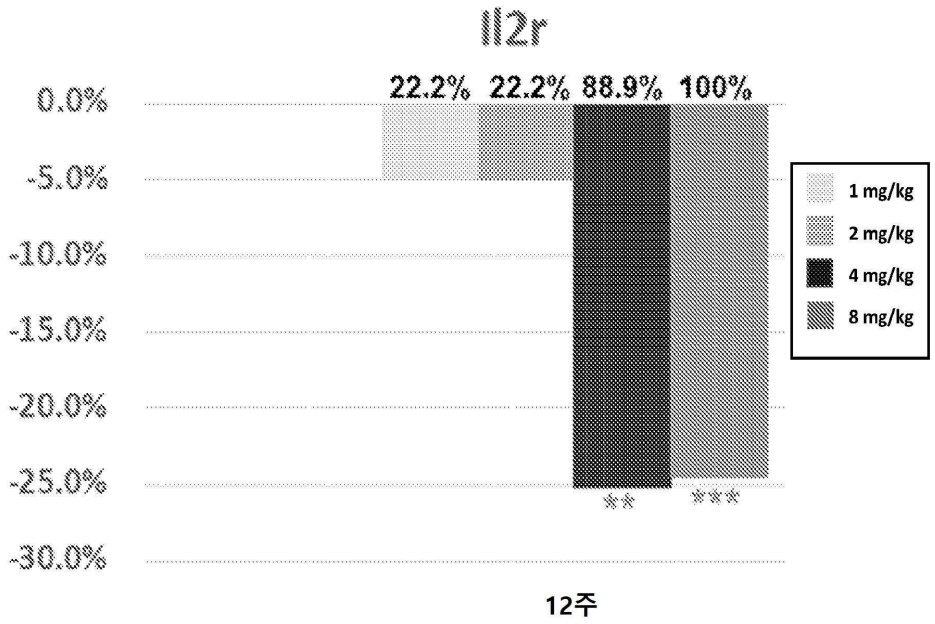
도면29g


IgM
10.0%
5.0%
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
-20.0%
-25.0%
-30.0%
-35.0%
-40.0%
44.4%
11.1%
94.4%
88.9%
**
***
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

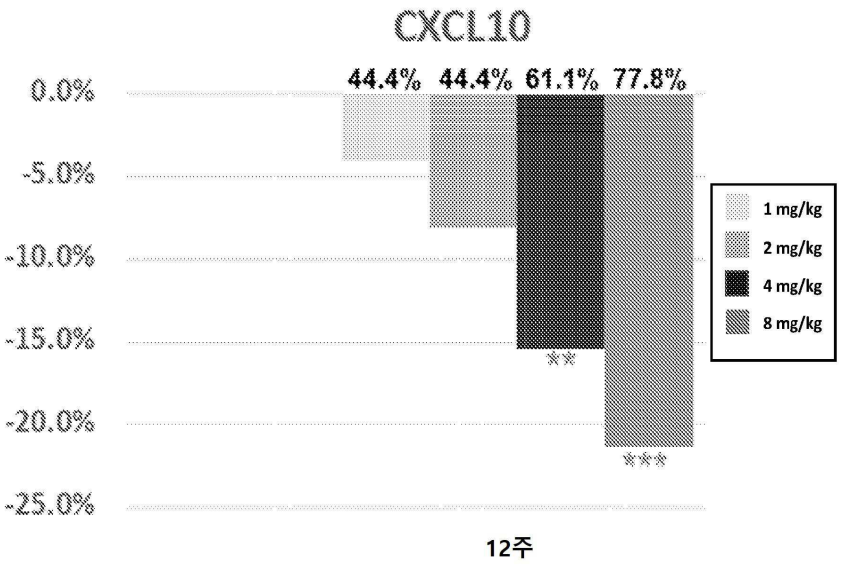
도면29h


IgA
5.0%
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
-20.0%
-25.0%
-30.0%
-35.0%
44.4%
11.1%
94.4%
88.9%
**
**
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

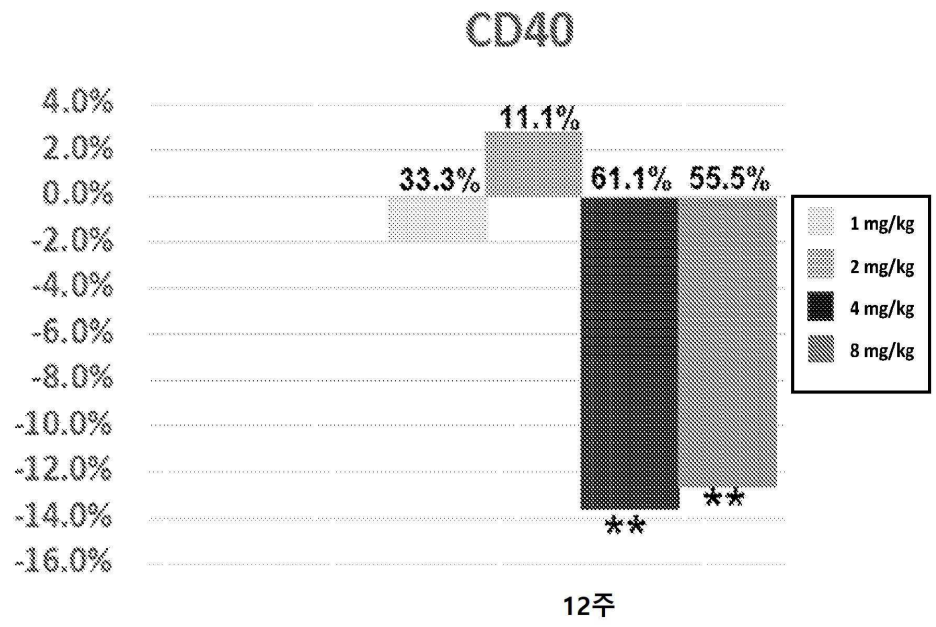
도면29i


Il2r
22.2%
22.2%
88.9%
100%
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
-20.0%
-25.0%
-30.0%
**
***
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

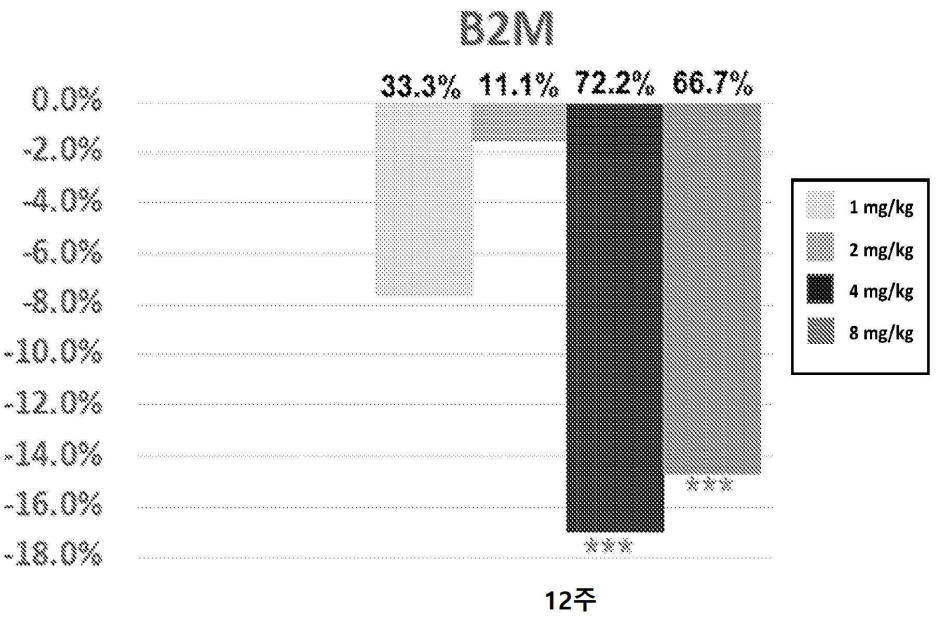
도면29j


CXCL10
44.4%
44.4%
61.1%
77.8%
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
-20.0%
-25.0%
**
***
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

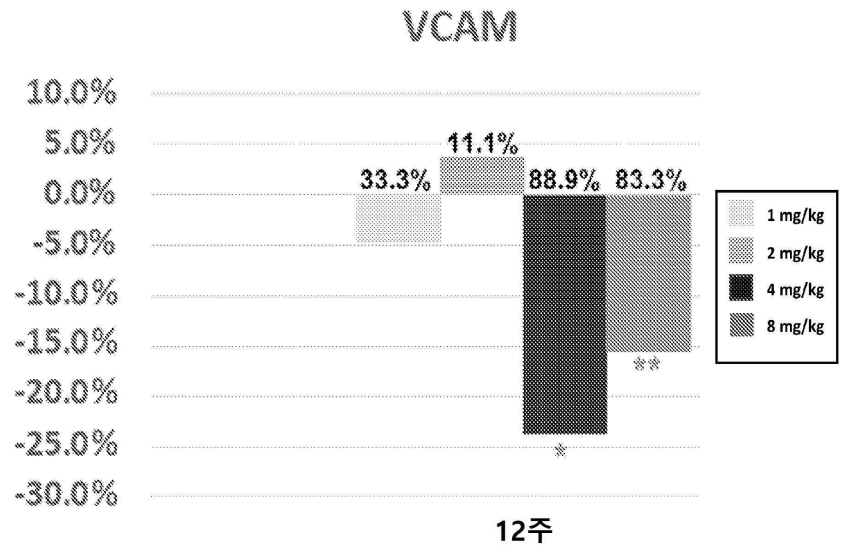
도면29k


CD40
4.0%
2.0%
0.0%
-2.0%
-4.0%
-6.0%
-8.0%
-10.0%
-12.0%
-14.0%
-16.0%
33.3%
11.1%
61.1%
55.5%
**
**
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

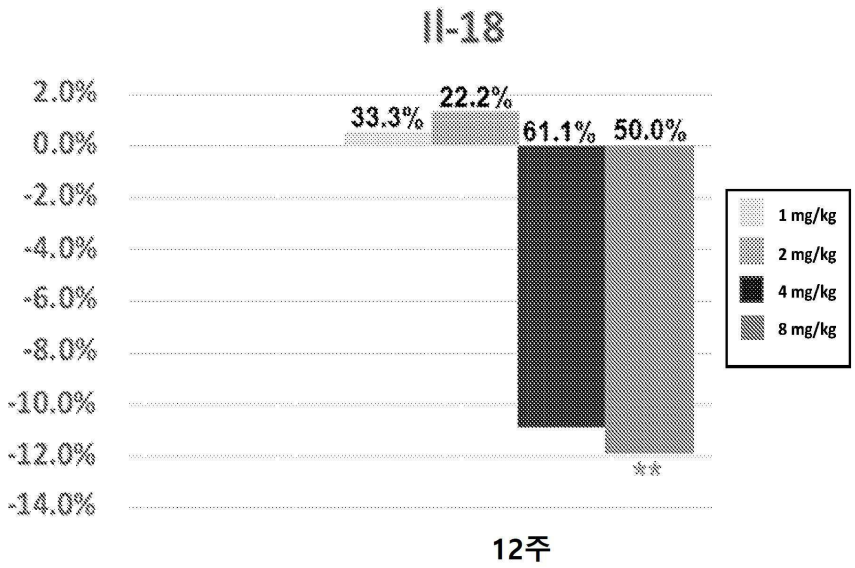
도면291


B2M
0.0%
-2.0%
-4.0%
-6.0%
-8.0%
-10.0%
-12.0%
-14.0%
-16.0%
-18.0%
33.3%
11.1%
72.2%
66.7%
***
***
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

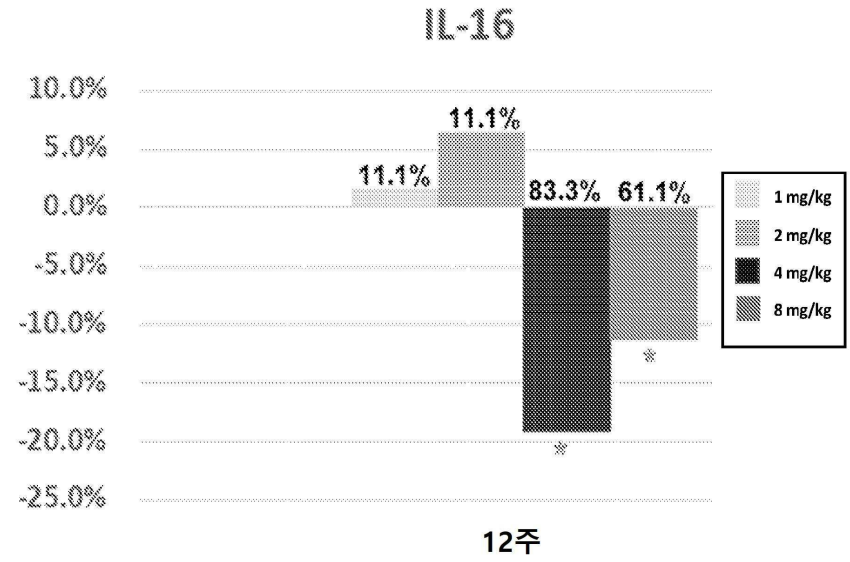
도면30a


VCAM
10.0%
5.0%
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
-20.0%
-25.0%
-30.0%
33.3%
11.1%
88.9%
83.3%
**
*
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

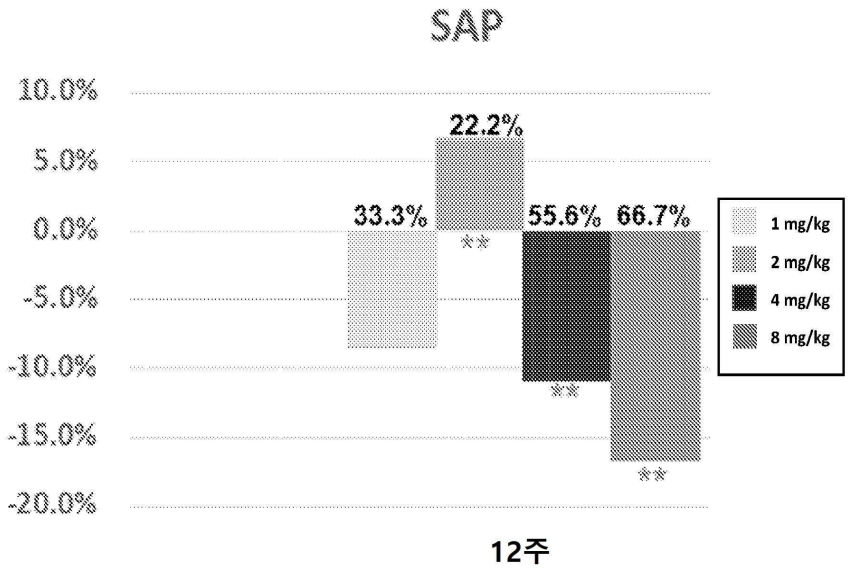
도면30b


Il-18
2.0%
0.0%
-2.0%
-4.0%
-6.0%
-8.0%
-10.0%
-12.0%
-14.0%
33.3%
22.2%
61.1%
50.0%
**
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

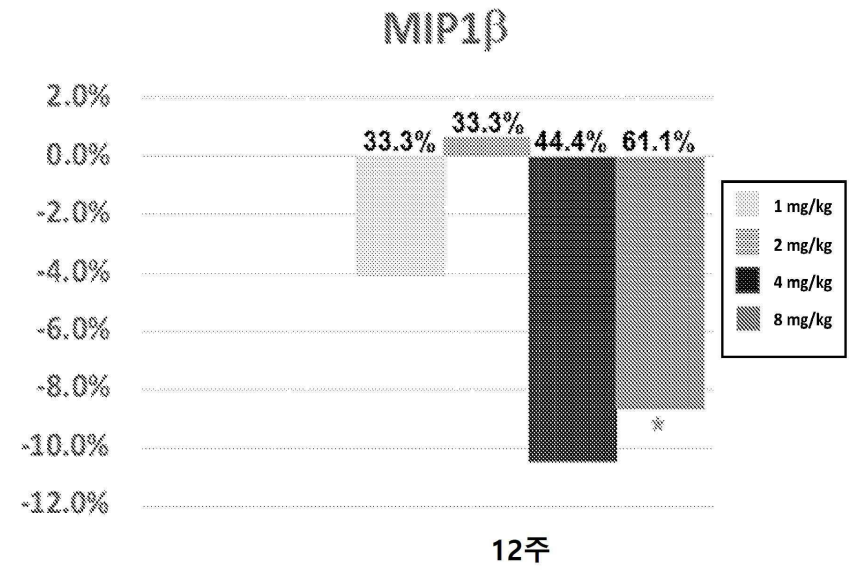
도면30c


IL-16
10.0%
5.0%
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
-20.0%
-25.0%
11.1%
11.1%
83.3%
61.1%
*
*
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

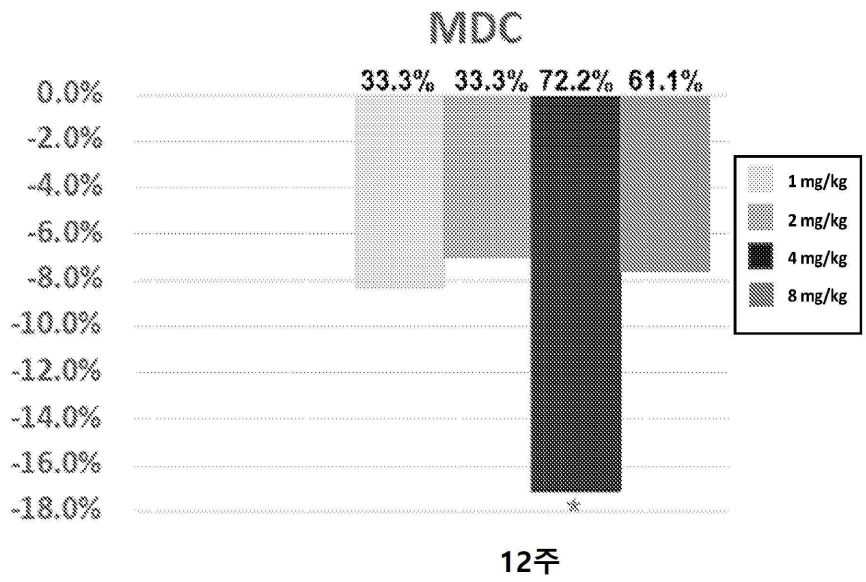
도면30d


SAP
10.0%
5.0%
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
-20.0%
33.3%
22.2%
55.6%
66.7%
**
**
**
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

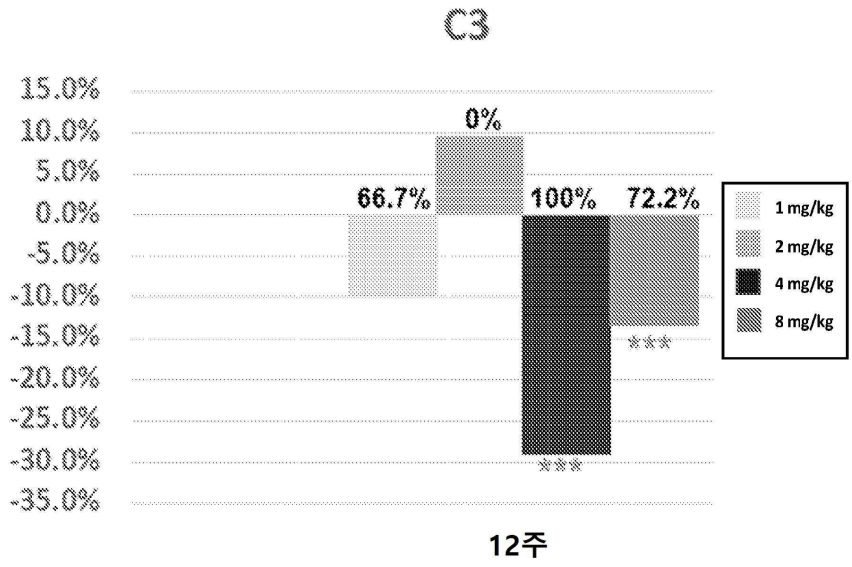
도면30e


MIP1β
2.0%
0.0%
-2.0%
-4.0%
-6.0%
-8.0%
-10.0%
-12.0%
33.3%
33.3%
44.4%
61.1%
※
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

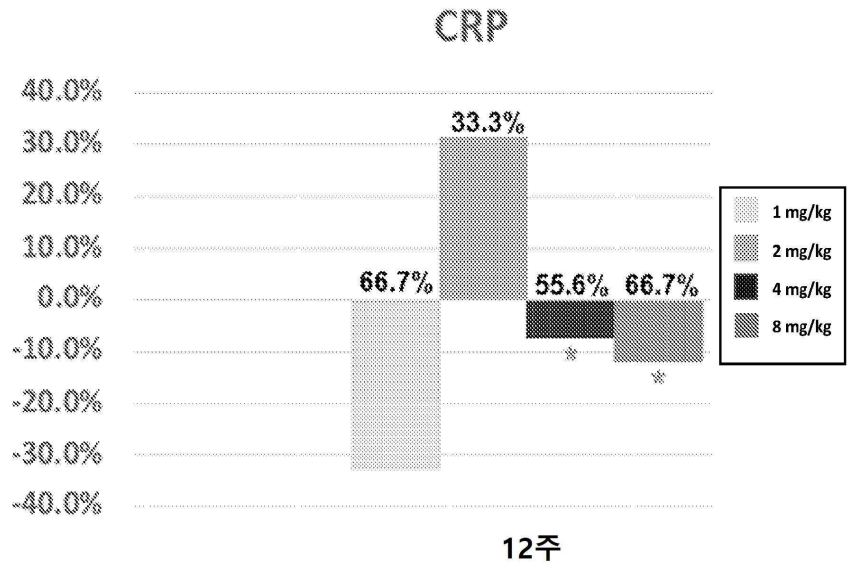
도면30f


MDC
0.0%
-2.0%
-4.0%
-6.0%
-8.0%
-10.0%
-12.0%
-14.0%
-16.0%
-18.0%
33.3%
33.3%
72.2%
61.1%
※
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

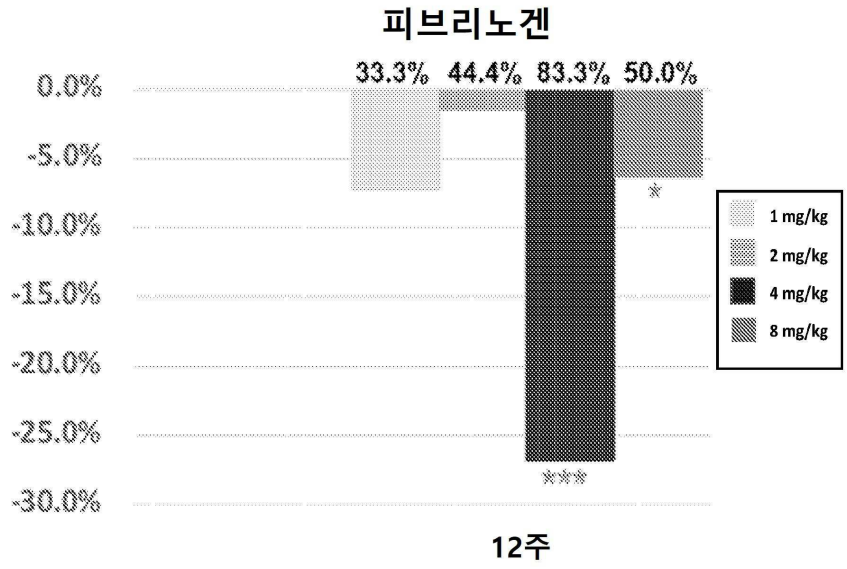
도면30g


C3
15.0%
10.0%
5.0%
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
-20.0%
-25.0%
-30.0%
-35.0%
0%
66.7%
100%
72.2%
***
***
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

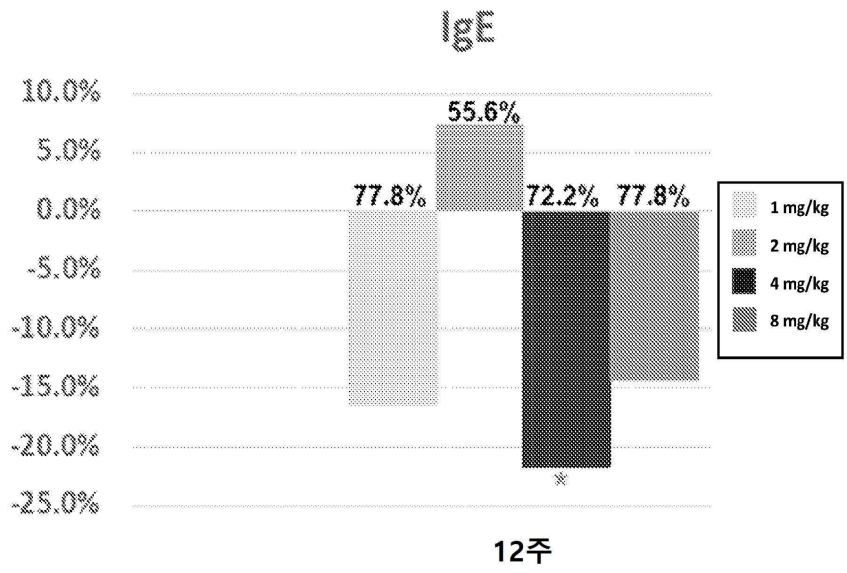
도면30h


CRP
40.0%
30.0%
20.0%
10.0%
0.0%
-10.0%
-20.0%
-30.0%
-40.0%
33.3%
66.7%
55.6%
66.7%
*
*
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

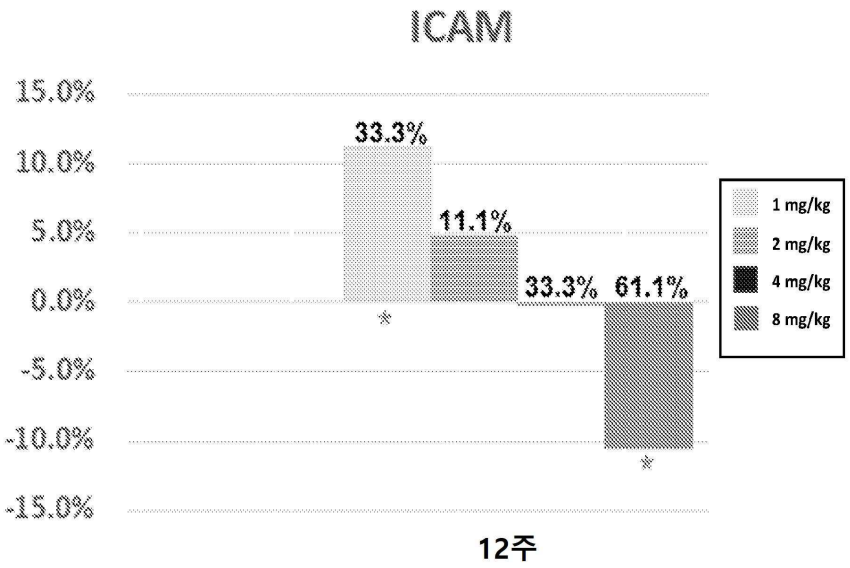
도면30i


피브리노겐
33.3%
44.4%
83.3%
50.0%
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
-20.0%
-25.0%
-30.0%
*
***
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

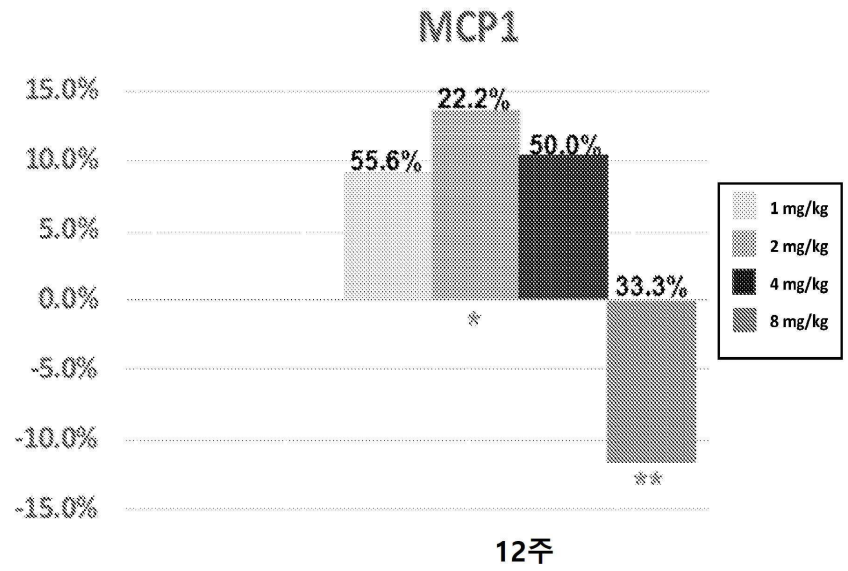
도면30j


IgE
10.0%
5.0%
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
-20.0%
-25.0%
55.6%
77.8%
72.2%
77.8%
*
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

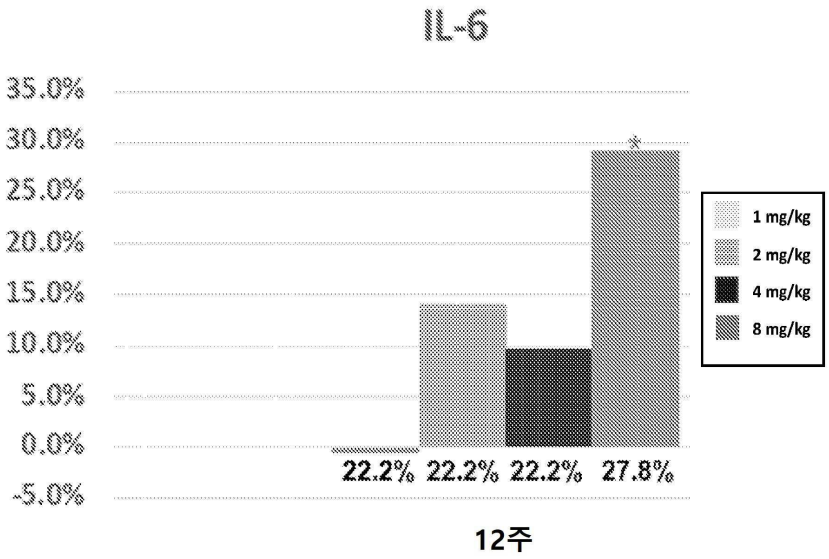
도면30k


ICAM
15.0%
10.0%
5.0%
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
33.3%
11.1%
33.3%
61.1%
*
**
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

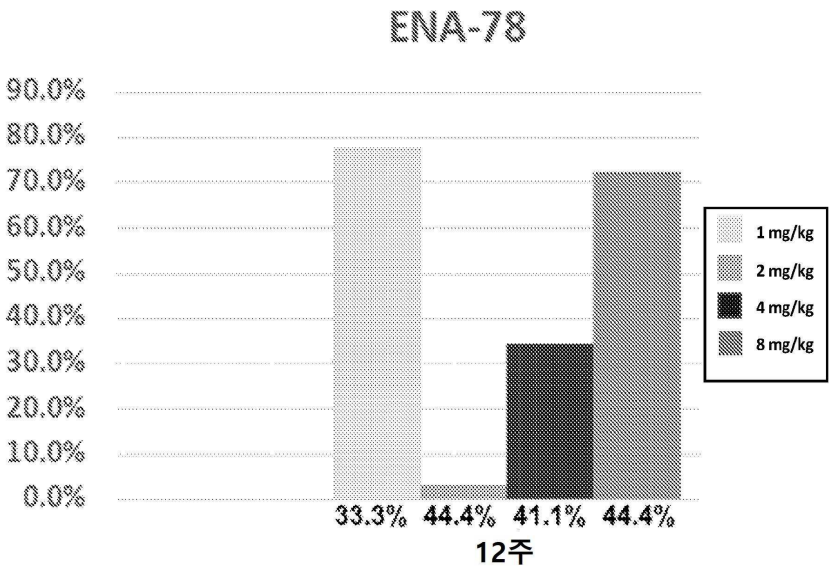
도면301


MCP1
15.0%
10.0%
5.0%
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
55.6%
22.2%
50.0%
33.3%
*
**
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

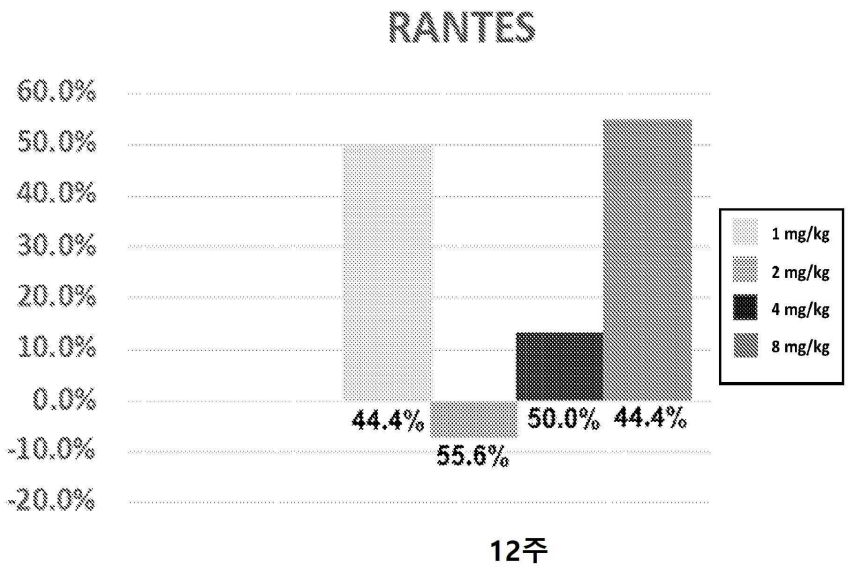
도면31a


IL-6
35.0%
30.0%
25.0%
20.0%
15.0%
10.0%
5.0%
0.0%
-5.0%
22.2%
22.2%
22.2%
27.8%
12주
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg

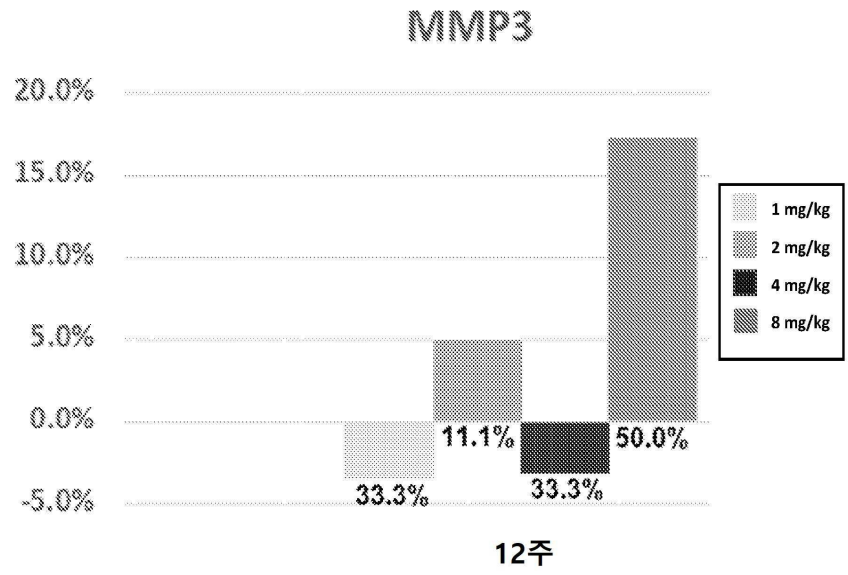
도면31b


ENA-78
90.0%
80.0%
70.0%
60.0%
50.0%
40.0%
30.0%
20.0%
10.0%
0.0%
33.3%
44.4%
41.1%
44.4%
12주
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg

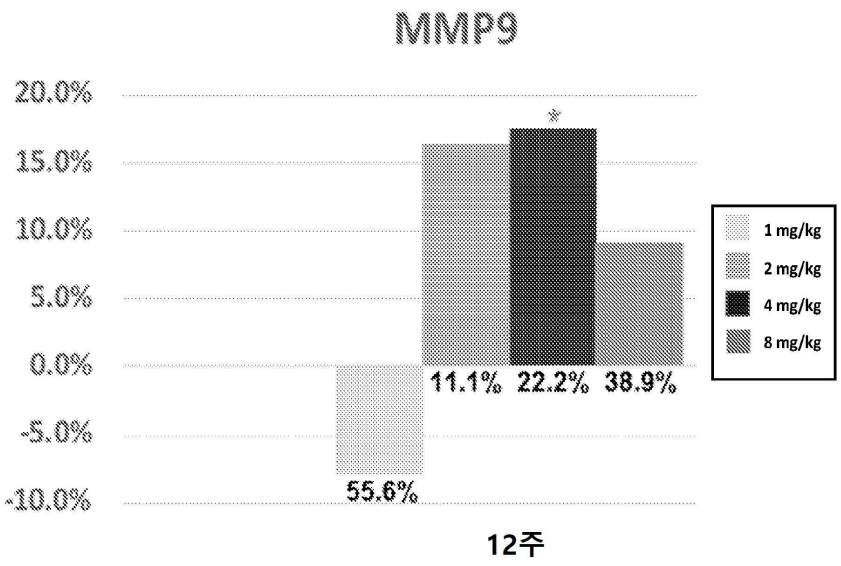
도면31c


RANTES
60.0%
50.0%
40.0%
30.0%
20.0%
10.0%
0.0%
-10.0%
-20.0%
44.4%
55.6%
50.0%
44.4%
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

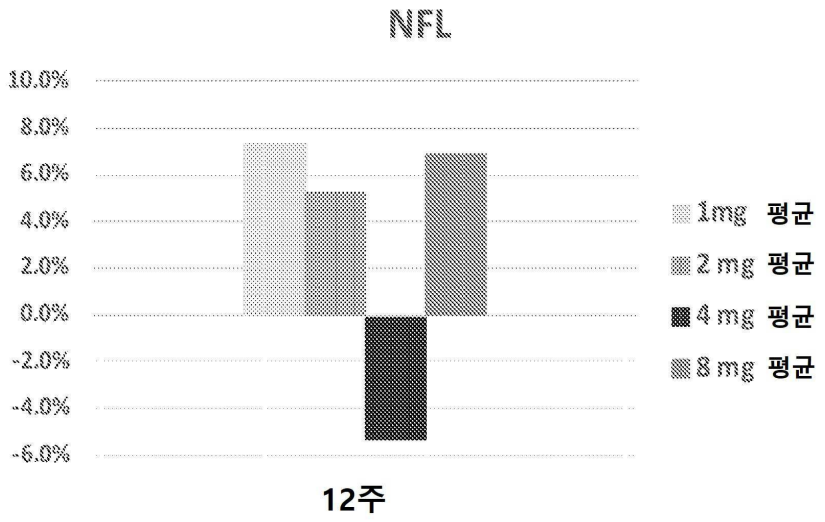
도면31d


MMP3
20.0%
15.0%
10.0%
5.0%
0.0%
-5.0%
33.3%
11.1%
33.3%
50.0%
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

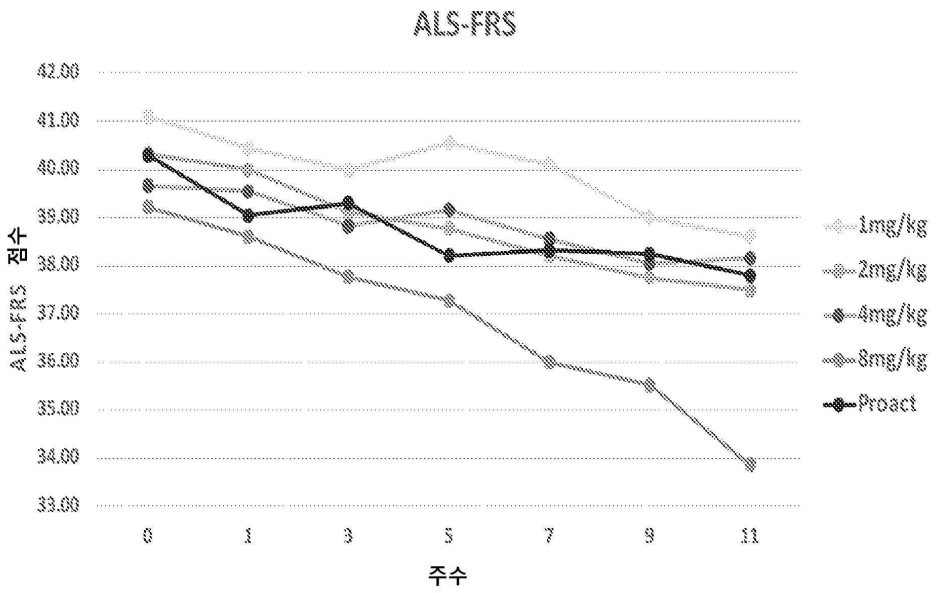
도면31e


MMP9
20.0%
15.0%
10.0%
5.0%
0.0%
-5.0%
-10.0%
*
11.1%
22.2%
38.9%
55.6%
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
8 mg/kg
12주

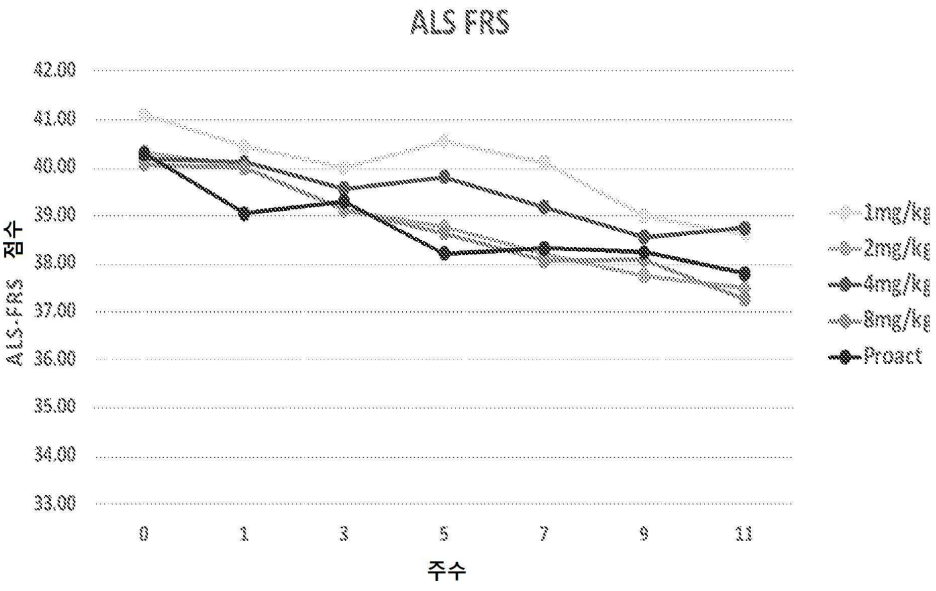
도면32


NFL
10.0%
8.0%
6.0%
4.0%
2.0%
0.0%
-2.0%
-4.0%
-6.0%
1mg 평균
2 mg 평균
4 mg 평균
8 mg 평균
12주

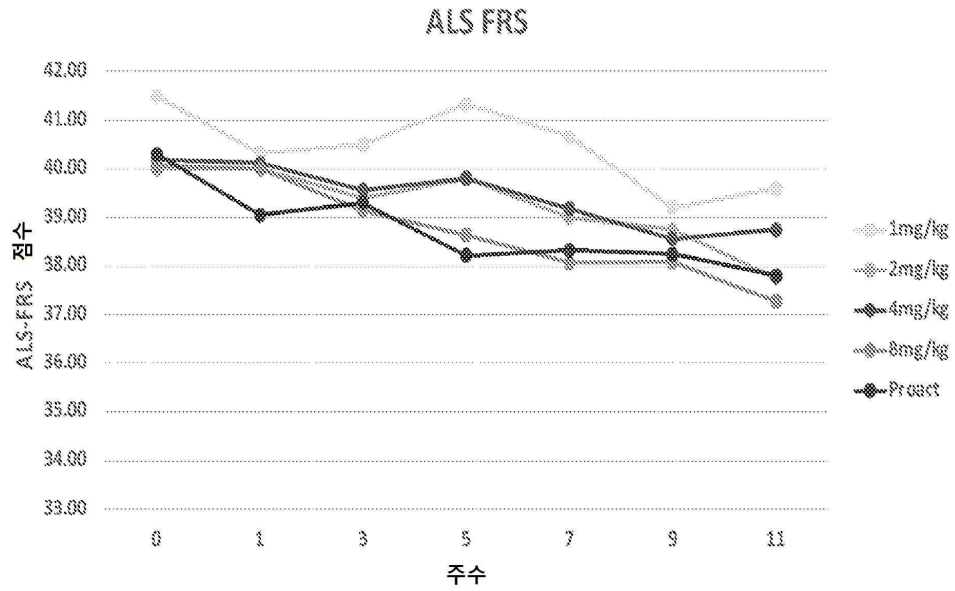
도면33a


ALS-FRS
42.00
41.00
40.00
39.00
38.00
37.00
36.00
35.00
34.00
33.00
ALS-FRS 점수
0
1
3
5
7
9
11
주수
1mg/kg
2mg/kg
4mg/kg
8mg/kg
Proact

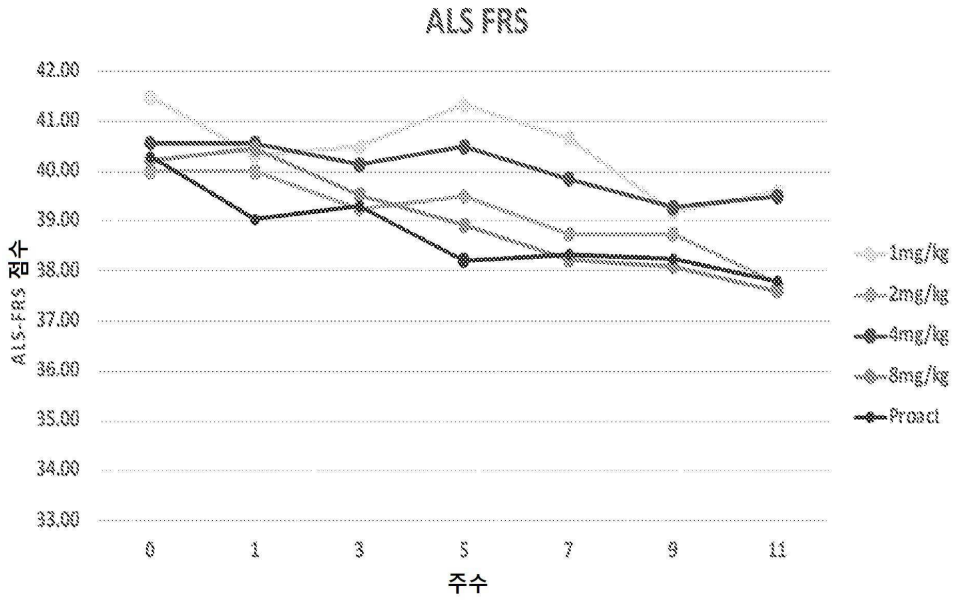
도면33b


ALS FRS
42.00
41.00
40.00
39.00
38.00
37.00
36.00
35.00
34.00
33.00
ALS-FRS 점수
0
1
3
5
7
9
11
주수
1mg/kg
2mg/kg
4mg/kg
8mg/kg
Proact

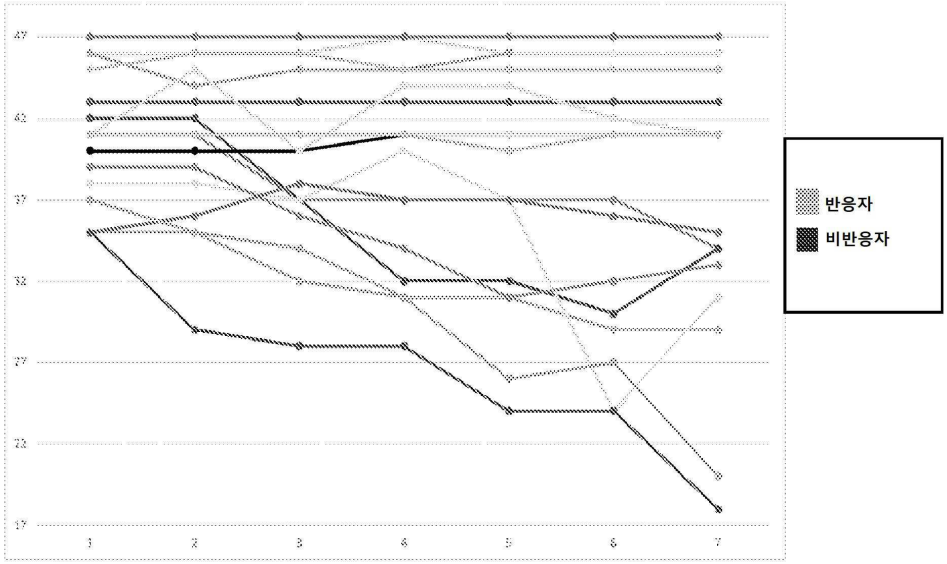
도면33c


ALS FRS
42.00
41.00
40.00
39.00
38.00
37.00
36.00
35.00
34.00
33.00
ALS-FRS 점수
0
1
3
5
7
9
11
주수
1mg/kg
2mg/kg
4mg/kg
8mg/kg
Proact

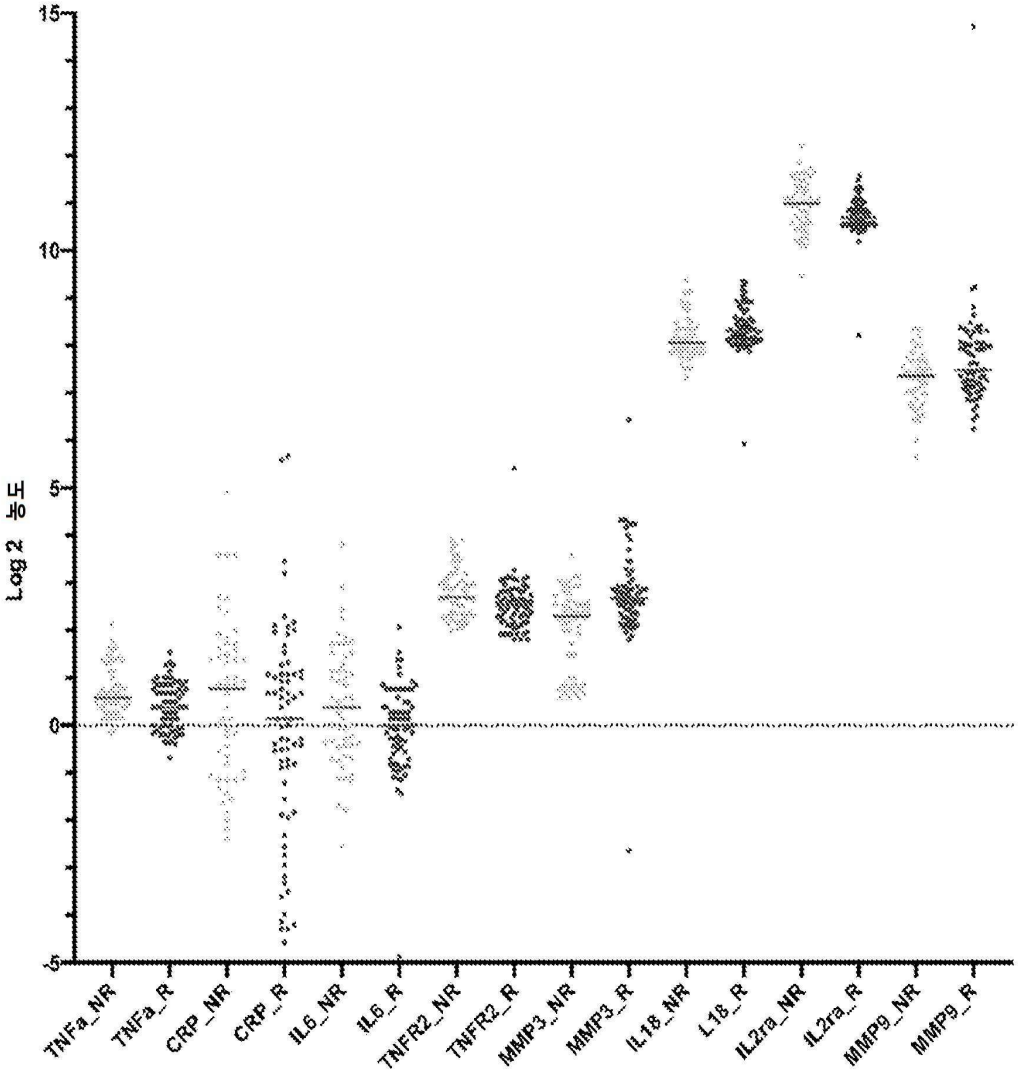
도면33d


ALS FRS
42.00
41.00
40.00
39.00
38.00
37.00
36.00
35.00
34.00
33.00
ALS-FRS 점수
0
1
3
5
7
9
11
주수
1mg/kg
2mg/kg
4mg/kg
8mg/kg
Proact

도면34


반응자
비반응자

도면35


Log 2 농도
15
10
5
0
-5
TNFa_NR
TNFa_R
CRP_NR
CRP_R
IL6_NR
IL6_R
TNFR2_NR
TNFR2_R
MMP3_NR
MMP3_R
IL18_NR
L18_R
IL2ra_NR
IL2ra_R
MMP9_NR
MMP9_R

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.