(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0117643
(43) 공개일자 2016년10월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
C07K 16/24 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 39/395 (2013.01)
C07K 16/243 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-7026990(분할)
(22) 출원일자(국제) 2009년04월28일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2010-7026144
원출원일자(국제) 2009년04월28일
심사청구일자 2014년04월18일
(85) 번역문제출일자 2016년09월28일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2009/055129
(87) 국제공개번호 WO 2009/133103
국제공개일자 2009년11월05일
(30) 우선권주장
61/125,880 2008년04월29일 미국(US)

(71) 출원인
암젠 리서치 (뮌헨) 게엠베하
독일 뮌헨, 스타펠지스트리트 2,81477
(72) 발명자
쁠라떼르-지베르끄, 끄리스틴
프랑스공화국, 에프-74140 이브와르, 보쎙나즈 115
(74) 대리인
손민

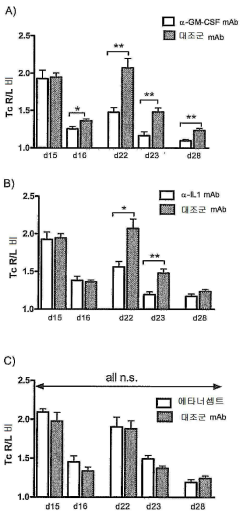
전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 발명의 명칭 **치료를 위한 GM-CSF 및 IL-17의 억제제**

(57) 요 약

본 발명은 염증성 질환을 앓고 있는 대상체에서 염증성 질환을 치료하기 위한 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 GM-CSF를 중화시키는 화합물 및 IL-17을 중화시키는 화합물을 상기 대상체에 투여하는 것을 포함한다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
C07K 16/244 (2013.01)
A61K 2039/507 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

염증성 질환을 앓고 있는 대상체에서 염증성 질환을 치료하기 위한 방법으로서, 하기 화합물을 상기 대상체에 투여하는 것을 포함하는 방법:

(a) GM-CSF를 중화시키는 화합물, 및

(b) IL-17을 중화시키는 화합물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 염증성 질환의 치료에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 암과 같은 종양성 질환의 치료에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 염증성 및/또는 종양성 질환의 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다. 본 출원이 출원되는 곳의 법에 따라, 본 발명은 또한 상기 질환의 치료용 약제의 제조에서 2개의 특정 물질의 사용에 관한 것일 수 있다.

배 경 기 술

[0002] 초기에 조혈 성장인자로서 동정된 과립구-대식세포 콜로니 자극인자(GM-CSF: Granulocyte-macrophage colony stimulating factor)는, 보다 최근에 염증 및 자가면역에서 중요한 시토킨인 것으로 밝혀졌다. GM-CSF mRNA 또는 단백질의 증가된 수준은 알러지성 및 건선 환자, 관절염 및 천식 환자에게 포함되는 다양한 염증성 부위에서 측정된다.

[0003] 다수의 생체내 연구는 지난 몇 년간에 걸쳐 관절염 실험적 자가면역 뇌염, 건선 및 폐 질환의 모델을 포함하는 염증의 다양한 모델에서, 중화 항체에 의한 GM-CSF의 차단이 전-염증성 질환을 예방하거나 치료할 수도 있다는 점을 입증하였다. GM-CSF는 성숙 호중구 및 대식세포의 증식 및 활성을 자극함으로써 선천적 면역에서 중요한 역할을 한다. 또한, GM-CSF는 시험관내 수지상 세포의 분화 및 성숙을 통제함으로써 항원 제공에 중요한 역할을 하는 것으로 입증되었다. 생체내에서, GM-CSF는 인간 PBMC, T 세포 및 APC에 의해 1형 전-염증성 시토킨을 우선적으로 유도한다는 것이 보고되었다.

[0004] 인터루킨-17(IL-17)은 현재 IL-17A 내지 IL-17F의 6개의 멤버로 이루어진 후천성 면역계의 시토킨의 패밀리이다. IL-17은 상호간에 상당한 서열 상동성을 공유하며 현재 IL-17RA 내지 IL-17RE의 5개의 멤버를 포함하는 패밀리인 IL-17 수용체에 결합하는 것으로 기재된다. IL-17 수용체 패밀리의 멤버는 I형 막관통 단백질이다. IL-17에 대한 수용체는 면역계의 모든 세포에 의해 풍부하게 발현되며, IL-17A, IL-17F 및 IL-17D에 의한 다양한 세포 유형의 자극은 다른 시토킨, 예컨대 IL-1β, TNFα 및 IL-6, 및 케모킨 IL-8 및 MIP-1α의 발현을 유도할 수 있다는 점이, 현재 일반적으로 받아들여지고 있다. 이의 수용체와 대조적으로, IL-17은 최근에 발견된 Th17 세포에 의해 주로 생성되며, 그의 발현은 감염 및 자가면역에 종종 관여되었다.

[0005] 류마티스 관절염(RA)은 만성, 염증성 및 전신성 자가면역 질환이다. 비록 RA의 병인학 및 발병과정이 아직 완전히 이해되지는 않지만, 상기 질환은 관절 연골 및 골의 진행성 파괴를 유발하는, 공격적 활막 과다증식(판누스 형성) 및 염증(활막염)을 특징으로 갖는다. 류마티스 관절염(RA)은 선천적 및 후천적 면역계 부문 모두에 속하는 다수의 세포 유형과 인자 사이의 복잡한 상호작용으로부터 야기된다. 예를 들어, 상이한 시토킨 발현의 일반적인 증가는 RA 환자, 즉 IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-10, IL-13, IFNγ, G-CSF, GM-CSF, MCP-1 및 MIP-1β의 수준이 대조군에 비해 훨씬 더 높은 환자에게서 관찰된다는 것이 보고되었다. 또한, IL-1, TNFα 및 IL-18은 RA에서 T 세포를 자극하는 중요한 염증성 인자로서 동정되었다. 공개된 보고서는 RA에서 GM-CSF에 대해 병원성 역할을 가설을 제기하였다. 이러한 가설은 (i) GM-CSF는 RA 환자의 활막에서 생성되며, 이 시토킨의 높은 수준은 그의 활막액에서 측정될 수 있다는 점; (ii) 중화 항-GM-CSF 모노클로날 항체(mAb)에 의한 치료가 관절염에 대한 콜라겐-유도 마우스 모델(CIA)에서 질환의 중증도를 감소시킨다는 점; (iii) GM-CSF-결핍 마우스가 콜라겐

및 mBSA에 의한 질환 유도에 대해 감소된 감수성을 갖는다는 점; (iv) CIA 마우스에 재조합 GM-CSF를 주사하는 것이 질환을 악화시킨다는 점; 및 (v) 화학요법 이후에 GM-CSF를 수용한 RA 환자가 관절염 중증도의 악화를 보여준다는 점에 의해 뒷받침된다.

[0006] 상기 동정된 상이한 시토킨 외에, IL-17이 또한 RA 병리학에 관여된다는 것을 보여주는 이유는, IL-17 수준이 RA 활막 및 활막액에서 높고, IL-17 차단은 실험 모델에서 관절염 동안 관절 염증 및 파괴를 감소시키기 때문이다. 또한, IL-17이 유전적으로 결핍된 마우스는 억제된 콜라겐-유도 관절염을 나타내며, IL-1Ra-/- 마우스와 비교할 때 IL-17-/- 마우스는 IL-1 수용체 길항제가 결핍된 Balb/c 마우스에서 일반적으로 나타나는 다발성 관절염의 자연적인 개시를 전혀 나타내지 않는다. 마우스 생체내 실험에서 IL-17 및 TNFα의 국부적 공동자극이 호중구의 보충 및 생존 모두에 대한 효과를 통해 결국에는 호중구의 GM-CSF-의존적 축적을 야기하였다는 것이 또한 보고되었다.

[0007] 마우스에서 인간 RA-유사 질환을 조사하기 위해 사용되는 모델 중의 하나는 연쇄상구균세포벽(SCW) 관절염이다. 이러한 모델에서, 급성 질환 및 만성 재발성 관절염은 모두 마우스의 하나의 무릎 관절로 세균의 세포벽 단편의 관절내(i.a) 주사에 의해 유도될 수 있다. 선천적 면역이 주요한 병원성 역할을 하는 급성 관절염은 나이브(naive) 마우스의 무릎 관절로 SCW 단편의 단회 주사에 의해 수득된다. SCW 단편의 반복된 관절내 주사에 의해, 만성 재발성 모델은 획득된 면역의 매개체가 점차적으로 선천적 반응의 초기 우세를 대체하도록 설정된다. 콜라겐-유도 관절염(CIA)은 연골 콜라겐 유형 II(CII)에 대한 T 세포 및 항체-매개 자가면역 반응성에 기초하여 또한 널리 받아들여진 관절염 모델이다. 이러한 마우스 모델은 인간 RA와 수 개의 임상적, 조직병리학적 및 면역학적 특징을 공유하며, 활액 염증 이후의 심각한 연골 및 골 침식을 주 특징으로 한다. 본 발명자는 TNFα-비의존성 만성 SCW 관절염 모델 및 TNFα-의존성 CIA 모델에서 GM-CSF 중화의 치료 효과를 연구하였다. 또한, 본 발명자는 GM-CSF 및 IL-17 경로를 억제함으로써 선천성 면역과 적응 면역 모두의 차단 효과를 연구하였다. 이는 IL-17 수용체가 유전적으로 결핍된 마우스(IL-17R-KO 마우스)에서 GM-CSF를 중화시키는 것에 의해, 또는 GM-CSF 및 IL-17을 중화시키는 화합물에 의한 조합 처리에 의해 수행되었다. 본 발명자는 놀랍게도 염증성 질환의 두 개의 타입 모두 GM-CSF 및 IL-17 경로의 조합된 차단에 의해 매우 효과적인 방식으로 치료될 수 있다는 점을 관찰하였다. CIA 모델에서, GM-CSF 억제 화합물 및 IL-17 억제 화합물의 조합된 투여는 콜라겐-유도 관절염의 임상적 스코어를 유의적으로 감소시킨 반면, GM-CSF 억제 화합물 또는 IL-17 억제 화합물 단독에 의한 처리는 관절염의 중증도를 유의적으로 감소시키지 않았다. 또한, 상세한 조직학적 분석은 관절 염증 및 연골과 골의 파괴에 대해 조합 치료의 상승적 효과를 입증하였다. 따라서, 두 개의 경로의 조합된 차단은 염증 및 관절 파괴로부터 매우 효과적으로 보호될 수 있도록 하는 결과를 가져왔다. 이러한 결과는 매우 최근까지도 GM-CSF가 IL-17의 다운스트림(downstream)에 놓여있다고 가정되었기 때문에 (예컨대, Kawaguchi M. 등의 J. Allergy Clin. Immunol. 114 (2004), 444-450; Starnes T. 등의 The Journal of Immunology 169 (2002), 642-646; Laan M. 등의 Eur. Respir. J. 21 (2003), 387-393 참조), 특히 놀라운 것이었다. 따라서, GM-CSF 및 IL-17을 중화시키는 화합물을 조합한 치료로부터 어떠한 부가적 또는 상승적 효과도 예측될 수 없었다. 본 출원에서는 생체내 IL-17 및 GM-CSF의 조합된 차단의 유리한 효과가 최초로 입증되었다. 본원에 제시된 데이터는 후술하는 바와 같이, 항-IL-17과 조합된 항-GM-CSF 처리가 RA에서 뿐만 아니라 다른 자가면역 및 염증성 질환 상태에 대해서도 현저한 치료적 효과를 가진다는 점을 강하게 입증한다.

[0009] 따라서, 본 발명의 약학적 수단 및 방법은 특히 관절염의 치료에 관한 것이지만, 다발성 경화증, 건선 및 폐 염증, 예컨대 천식 및 만성 폐쇄성 폐 질환(COPD)을 포함하는 다른 염증성 질환에도 적용될 수 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명은 염증성 질환의 치료에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 암과 같은 종양성 질환의 치료에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 염증성 및/또는 종양성 질환의 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다. 본 출원이 출원되는 곳의 법에 따라, 본 발명은 또한 상기 질환의 치료용 약제의 제조에서 2개의 특정 물질의 사용에 관한 것일 수 있다.

과제의 해결 수단

[0011] 정의

[0012] 본원 명세서에서 사용되는 용어 "대상체"는 동물을 가리킨다. 용어 "동물"에는 포유류, 예컨대 실험용 동물(설

치류, 예컨대, 래트, 기니피그, 햄스터 또는 마우스, 비인간 영장류, 예컨대, 시노몰구스 또는 마카크 원숭이), 실내 또는 애완 동물(예컨대, 개 또는 고양이), 사육 동물 또는 가축(예컨대, 소, 양, 염소 및 돼지) 및/또는 인간이 포함되지만, 이에 한정되는 것은 아니다. 바람직하게는, 동물은 인간 또는 비인간 영장류이다.

[0013] 본원 명세서에서 사용되는 용어 "GM-CSF"는 문헌상 정의되는 인간(*호모 사피*엔스) 및 비인간 영장류 GM-CSF 모두를 나타내며, 이의 변이체(상동체)를 포함한다. 상기 용어에는 또한 인간 및 비인간 영장류 GM-CSF 수용체, 및 이의 변이체(상동체)가 포함된다. 특히 바람직한 비인간 영장류 GM-CSF 또는 비인간 영장류 GM-CSF 수용체의 변이체(상동체)에는 긴팔원숭이(*nomascus concolor*, 서부 볏긴팔 긴팔원숭이라고도 알려짐) 및 마카카 과의 원숭이, 예를 들어 레서스원숭이(*Macaca mulatta*) 및 시노몰구스원숭이(*Macaca fascicularis*)의 것이 포함된다.

[0014] 본원명세서에서 사용되는 용어 "GM-CSF 또는 GM-CSF 수용체에 결합하는 항체", 또는 이의 기능성 단편에는, 동물의 GM-CSF 또는 GM-CSF 수용체에 결합하는 능력을 가진 임의의 항체 또는 항체 단편이 포함된다. 특히, 이는 인간과 상기 언급된 원숭이 종의 하나 이상 사이에서 (GM-CSF 또는 GM-CSF 수용체에 대한 결합과 관련하여) 교차반응성을 나타내는, 임의의 항체 또는 이의 단편을 포함한다. 예를 들어, 상기 항체 또는 이의 단편은 인간 GM-CSF와 시노몰구스 원숭이(*Macaca fascicularis*)의 GM-CSF 모두에 결합(및 중화)하는 것이 가능하다. 이는 인간 대상체에 치료적으로 투여하기 위한 항체 분자에 특히 유리하며, 그 이유는 상기 항체가 일반적으로 규제 승인에 앞서 다수의 테스트를 통해 진행되어야 하며, 이의 일부 초기 테스트는 비인간 동물 종을 포함하기 때문이다. 상기 테스트의 수행에 있어서, 인간과 유전적 유사성의 정도가 높은 종(예컨대, 시노몰구스 원숭이와 같은 비인간 영장류)을 비인간 종으로서 사용하는 것이 일반적으로 바람직하며, 그 이유는 이와 같이 수득되는 결과가 인간에게 동일한 분자를 투여할 때 예상될 수 있는 대응 결과를 일반적으로 매우 높게 예측할 것이기 때문이다. 그러나, 동물 테스트에 기초한 상기 예측력은 적어도 부분적으로는 분자의 비교가능성에 의존하며, 이는 만일 종-교차 반응성 때문에 동일한 치료학적 분자가 인간 및 비인간 동물에 투여될 수 있다면 매우 높다. 따라서, 만일 항체 분자가 인간에서 그리고 다른 종에서 동일한 항원에 대해 교차반응성이라면, 테스트는 인간에서 그리고 다른 종, 예를 들어 상기 언급된 원숭의 종의 하나에서 동일한 항체 분자를 사용하여 수행될 수 있다. 이는 테스트 자체의 효율 뿐만 아니라 치료적 관점에서 궁극적으로 관심대상인 종인 인간에게서 상기 항체의 행동과 관련된 상기 테스트의 예측력 모두를 증가시킨다.

[0015] 본원명세서에서 사용되는 용어 "GM-CSF 또는 GM-CSF 수용체에 결합하는 항체"에는 또한 GM-CSF 또는 GM-CSF 수용체에 대한 모노클로날 항체, 또는 상기 결합능력을 갖는 이의 기능성 단편이 포함된다.

[0016] 본 발명의 제1측면은 염증성 질환을 앓고 있는 대상체에서 염증성 질환을 치료하기 위한 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 GM-CSF를 중화시키는 화합물(약칭: GM-CSF-억제 화합물) 및 IL-17을 중화시키는 화합물(약칭: IL-17-억제 화합물)의 투여를 포함한다. 상기 화합물은 하나의 조성물의 일부일 수 있거나, 또는 별개의 약제일 수 있으며, 이는 당업자에게 잘 알려진 파라미터에 의존한다.

[0017] 상기 방법의 바람직한 실시예는 다음과 같다:

[0018] (a) GM-CSF-중화 화합물이 IL-17-중화 화합물 이전에 또는 이후에 대상체에 투여되는 방법, 또는 2개의 화합물이 동시에 투여되는 방법;

[0019] (b) 본 발명의 제1측면 또는 (a)에 따른 방법으로서, 치료되는 대상체가 상기 정의된 동물인 방법;

[0020] (c) 본 발명의 제1측면 또는 (a) 또는 (b)에 따른 방법으로서, GM-CSF-중화 화합물이 폴리펩티드, 펩티도미메틱(peptidomimetic), 핵산 또는 소분자인 방법;

[0021] (d) (c)에 따른 방법으로서, 폴리펩티드가 GM-CSF 또는 GM-CSF 수용체에 결합하는 항체 또는 이의 기능성 단편인 방법. 바람직하게는, 상기 항체는 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편임;

[0022] (e) (d)에 따른 방법으로서, 항체가 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편인 방법;

[0023] (f) (d) 또는 (e)에 따른 방법으로서, 항체 또는 이의 기능성 단편이 인간 및 비인간 영장류 GM-CSF의 에피토프에 결합하는 방법. 상기 에피토프는 바람직하게는 인간 및 비인간 영장류 GM-CSF의 불연속 에피토프이며, 상기 에피토프는 바람직하게는 아미노산 23-27 (RRLLN) 및/또는 아미노산 65-77 (GLR/QGSLTKLKGPL)을 포함함. 아미노산 서열 스트레치(stretch) 65-77 내에서 67번 위치의 가변성은, 한편으로는 인간 및 긴팔원숭이 GM-CSF(67번 위치는 R임)와 다른 한편으로는 마카카 과의 원숭이, 예를 들어 시노몰구스 및 레서스원숭이(67번 위치는 Q임) 사이에 GM-CSF의 이러한 위치에서 이종성을 반영함;

[0024] (g) (f)에 따른 방법으로서, 상기 불연속 에피토프가 아미노산 28-31 (LSRD), 아미노산 32-33 (TA), 및/또는 아

미노산 21-22 (EA)를 추가로 포함하는 방법;

[0025] (h) (e), (f) 및 (g) 중 어느 하나에 따른 방법으로서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 그의 중쇄 가변영역에 서열번호: 1-13 또는 56의 임의의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 방법;

[0026] (i) (h)에 따른 방법으로서, 임의의 상기 중쇄 가변영역 CDR3 서열이 중쇄 가변영역에서 서열번호: 14의 중쇄 가변영역 CDR1 서열 및 서열번호: 15의 중쇄 가변영역 CDR2 서열과 함께 존재하는 방법;

[0027] (j) (h) 또는 (i)에 따른 방법으로서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 그의 경쇄 가변영역에 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열번호: 17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 방법;

[0028] (k) (j)에 따른 방법으로서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 그의 경쇄 가변영역에 임의의 서열번호: 19, 54 및 55의 아미노산 서열을 추가로 포함하는 방법;

[0029] (l) (h) 또는 (i)에 따른 방법으로서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 그의 중쇄 가변영역에 임의의 서열번호: 20-33, 52 또는 53의 아미노산 서열을 포함하는 방법;

[0031] (m) (h) 내지 (l) 중 어느 하나에 따른 방법으로서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 그의 경쇄 가변영역에 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열번호: 17의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 및 서열번호: 18의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하며, 그의 중쇄 가변영역에 서열번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 영역, 서열번호: 15의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 영역, 및 임의의 서열번호: 1-13 또는 56의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 방법;

[0032] (n) (h) 내지 (m) 중 어느 하나에 따른 방법으로서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 서열번호: 34의 경쇄 아미노산 서열 및 임의의 서열번호: 35-48의 중쇄 아미노산 서열을 포함하는 방법;

[0033] (o) (h) 내지 (n) 중 어느 하나에 따른 방법으로서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 임의의 서열번호: 1-48 및/또는 52-56의 아미노산 서열 각각에 70% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 방법. 상동성은 표준 서열 정렬 프로그램, 예컨대 Vector NTI(InforMax™, 메릴랜드, 미국)에 의해 측정됨. 상기 프로그램은 아미노산-대-아미노산을 기준으로 정렬된 서열을 비교하며, 비교를 위해 다양한 정도의 엄중함으로 세팅될 수 있음 (예컨대, 동일 아미노산, 보존적 아미노산 치환 등). 본원에서 사용되는 용어에서, 만일 문제되는 2개의 아미노산이 각각 동일한 화학 군, 즉 산성, 비극성, 비전하 극성 및 염기성에 속한다면, 이는 서로의 "보존적 치환(conservative substitution)"인 것으로 고려됨. 비제한적인 예로서, 비극성 아미노산의 군에 속하는 2개의 다른 아미노산은 동일하지 않더라도 이러한 2개의 아미노산은 서로의 "보존적 치환"으로 고려되는 반면, 1개의 아미노산은 비극성 아미노산이고 다른 1개의 아미노산은 염기성 아미노산이라면 이러한 2개의 아미노산은 서로의 "보존적 치환"으로 고려되지 않을 것임. Alberts, Johnson, Lewis, Raff, Roberts 및 Walter의 "세포의 분자생물학" 제4판(2002)의 Panel 3.1은 아미노산을 4개의 주요 군, 즉 산성, 비극성, 비전하 극성 및 염기성으로 그룹을 분류함. 상기 그룹의 분류는 본 발명의 목적상 특정 아미노산이 문제되는 다른 아미노산의 보존적 치환인지 여부를 결정하기 위한 목적으로 사용될 수 있음;

[0034] (p) 본 발명의 제1측면 또는 (a) 내지 (o) 중 어느 하나에 따른 방법으로서, IL-17-중화 화합물이 폴리펩티드, 펩티도미메틱, 핵산 또는 소분자인 방법;

[0035] (q) (p)에 따른 방법으로서, 폴리펩티드가 IL-17 또는 IL-17 수용체에 결합하는 항체 또는 이의 기능성 단편인 방법. 바람직하게는, 상기 항체는 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편임;

[0036] (r) (q)에 따른 방법으로서, 항체가 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편인 방법; 및

[0037] (s) 본 발명의 제1측면 또는 (a) 내지 (r) 중 어느 하나에 따른 방법으로서, 염증성 질환이 류마티스 관절염(RA)(이는 TNF-알파 중화제의 처리에 내성인 RA를 포함함), 천식, 다발성 경화증(MS), 만성 폐쇄성 폐 질환(COPD), 급성 호흡장애증후군(ARDS), 특발성 폐섬유화증(IPF), 염증성 장 질환(IBD), 크론병, 포도막염, 황반변성, 대장염, 건선, 월러변성, 항인지질증후군(APS), 급성 관동맥증후군, 레스티노시스, 아테롬성동맥경화증, 재발성 다발연골염(RP), 급성 또는 만성 간염, 불량 정형외과용 임플란트(failed orthopedic implant), 사구체신염, 루푸스, 또는 다른 자가면역 장애인 방법.

[0038] 본 발명의 제2측면은 종양성 질환을 앓고 있는 대상체에서 종양성 질환을 치료하기 위한 방법에 관한 것으로서,

상기 방법은 GM-CSF-중화 화합물 및 IL-17-중화 화합물의 투여를 포함한다. 상기 화합물은 하나의 조성물의 일부일 수 있거나, 또는 별개의 약제일 수 있으며, 이는 당업자에게 잘 알려진 파라미터에 의존한다.

[0039] 상기 제2측면에 따른 방법의 바람직한 실시예는 다음과 같다:

[0040] (a) GM-CSF-중화 화합물이 IL-17-중화 화합물 이전에 또는 이후에 대상체에 투여되는 방법, 또는 2개의 화합물이 동시에 투여되는 방법;

[0041] (b) 본 발명의 제2측면 또는 (a)에 따른 방법으로서, 치료되는 대상체가 상기 정의된 동물인 방법. 바람직하게는, 상기 대상체는 인간 또는 비인간 영장류임;

[0042] (c) 본 발명의 제2측면 또는 (a) 또는 (b)에 따른 방법으로서, GM-CSF-중화 화합물이 폴리펩티드, 펩티도미메틱, 핵산 또는 소분자인 방법;

[0043] (d) (c)에 따른 방법으로서, 폴리펩티드가 GM-CSF 또는 GM-CSF 수용체에 결합하는 항체 또는 이의 기능성 단편인 방법. 바람직하게는, 상기 항체는 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편임;

[0044] (e) (d)에 따른 방법으로서, 항체가 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편인 방법;

[0045] (f) (d) 또는 (e)에 따른 방법으로서, 항체 또는 이의 기능성 단편이 인간 및 비인간 영장류 GM-CSF의 에피토프에 결합하는 방법. 상기 에피토프는 바람직하게는 인간 및 비인간 영장류 GM-CSF의 불연속 에피토프이며, 상기 에피토프는 바람직하게는 아미노산 23-27 (RRLLN) 및/또는 아미노산 65-77 (GLR/QGSLTKLKGPL)을 포함함.

[0046] (g) (f)에 따른 방법으로서, 상기 불연속 에피토프가 아미노산 28-31 (LSRD), 아미노산 32-33 (TA), 및/또는 아미노산 21-22 (EA)를 추가로 포함하는 방법;

[0047] (h) (e), (f) 및 (g) 중 어느 하나에 따른 방법으로서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 그의 중쇄 가변영역에 서열번호: 1-13 또는 56의 임의의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 방법;

[0048] (i) (h)에 따른 방법으로서, 임의의 상기 중쇄 가변영역 CDR3 서열이 중쇄 가변영역에서 서열번호: 14의 중쇄 가변영역 CDR1 서열 및 서열번호: 15의 중쇄 가변영역 CDR2 서열과 함께 존재하는 방법;

[0049] (j) (h) 또는 (i)에 따른 방법으로서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 그의 경쇄 가변영역에 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열번호: 17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 방법;

[0050] (k) (j)에 따른 방법으로서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 그의 경쇄 가변영역에 임의의 서열번호: 19, 54 및 55의 아미노산 서열을 추가로 포함하는 방법;

[0051] (l) (h) 또는 (i)에 따른 방법으로서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 그의 중쇄 가변영역에 임의의 서열번호: 20-33, 52 또는 53의 아미노산 서열을 포함하는 방법;

[0052] (m) (h) 내지 (l) 중 어느 하나에 따른 방법으로서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 그의 경쇄 가변영역에 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열번호: 17의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 및 서열번호: 18의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하며, 그의 중쇄 가변영역에 서열번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 영역, 서열번호: 15의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 영역, 및 임의의 서열번호: 1-13 또는 56의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 방법;

[0053] (n) (h) 내지 (m) 중 어느 하나에 따른 방법으로서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 서열번호: 34의 경쇄 아미노산 서열 및 임의의 서열번호: 35-48의 중쇄 아미노산 서열을 포함하는 방법;

[0054] (o) (h) 내지 (n) 중 어느 하나에 따른 방법으로서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 임의의 서열번호: 1-48 및/또는 52-56의 아미노산 서열 각각에 70% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 방법. 상동성은 본 발명의 제1측면과 관련된 단락인 실시예 (o)에서와 같이 여기서 규정됨;

[0055] (p) 본 발명의 제2측면 또는 (a) 내지 (o) 중 어느 하나에 따른 방법으로서, IL-17-중화 화합물이 폴리펩티드, 펩티도미메틱, 핵산 또는 소분자인 방법;

[0056] (q) (p)에 따른 방법으로서, 폴리펩티드가 IL-17 또는 IL-17 수용체에 결합하는 항체 또는 이의 기능성 단편인 방법. 바람직하게는, 상기 항체는 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편임;

[0057] (r) (q)에 따른 방법으로서, 항체가 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편인 방법;

[0058] (s) 본 발명의 제2측면 또는 (a) 내지 (r) 중 어느 하나에 따른 방법으로서, 상기 종양성 질환이 암인 방법; 및

[0059] (t) (s)에 따른 방법으로서, 상기 암이 백혈병, 다발성 골수종, 위암 또는 피부암종인 방법.

[0060] 본 발명의 제3측면은 인간 및/또는 수의학에 사용하기 위한, 특히 인간 및/또는 상기 정의된 동물에서 염증성 질환 또는 종양성 질환을 치료하기 위한, 약학적 조성물에 관한 것이다. 상기 조성물은 GM-CSF-중화 화합물(약칭: GM-CSF-억제 화합물) 및 IL-17-중화 화합물(약칭: IL-17-억제 화합물)을 포함한다. 본 발명의 제3측면에 따른 조성물의 바람직한 실시예는 다음과 같다:

[0061] (a) GM-CSF-억제 화합물이 폴리펩티드, 펩티도미메틱, 핵산 또는 소분자인 조성물;

[0062] (b) (a)에 따른 조성물로서, 폴리펩티드가 GM-CSF 또는 GM-CSF 수용체에 결합하는 항체 또는 이의 기능성 단편인 조성물. 바람직하게는, 상기 항체는 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편임;

[0063] (c) (b)에 따른 조성물로서, 항체 또는 이의 기능성 단편이 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편인 조성물;

[0064] (d) (b) 또는 (c)에 따른 조성물로서, 항체 또는 이의 기능성 단편이 인간 및 비인간 영장류 GM-CSF의 에피토프에 결합하는 조성물. 상기 에피토프는 바람직하게는 인간 및 비인간 영장류 GM-CSF의 불연속 에피토프이며, 상기 에피토프는 바람직하게는 아미노산 23-27 (RRLLN) 및/또는 아미노산 65-77 (GLR/QGSLTKLKGPL)을 포함함.

[0065] (e) (d)에 따른 조성물로서, 상기 불연속 에피토프가 아미노산 28-31 (LSRD), 아미노산 32-33 (TA), 및/또는 아미노산 21-22 (EA)를 추가로 포함하는 조성물;

[0066] (f) (c), (d) 및 (e) 중 어느 하나에 따른 조성물로서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 그의 중쇄 가변영역에 서열번호: 1-13 또는 56의 임의의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 조성물;

[0067] (g) (f)에 따른 조성물로서, 임의의 상기 중쇄 가변영역 CDR3 서열이 중쇄 가변영역에서 서열번호: 14의 중쇄 가변영역 CDR1 서열 및 서열번호: 15의 중쇄 가변영역 CDR2 서열과 함께 존재하는 조성물;

[0068] (h) (f) 또는 (g)에 따른 조성물로서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 그의 경쇄 가변영역에 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열번호: 17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 조성물;

[0070] (i) (h)에 따른 조성물로서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 그의 경쇄 가변영역에 임의의 서열번호: 19, 54 및 55의 아미노산 서열을 추가로 포함하는 조성물;

[0071] (j) (f) 또는 (g)에 따른 조성물로서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 그의 중쇄 가변영역에 임의의 서열번호: 20-33, 52 또는 53의 아미노산 서열을 포함하는 조성물;

[0072] (k) (f) 내지 (j) 중 어느 하나에 따른 조성물로서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 그의 경쇄 가변영역에 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열번호: 17의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 및 서열번호: 18의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하며, 그의 중쇄 가변영역에 서열번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 영역, 서열번호: 15의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 영역, 및 임의의 서열번호: 1-13 또는 56의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 조성물;

[0073] (l) (f) 내지 (k) 중 어느 하나에 따른 조성물로서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 서열번호: 34의 경쇄 아미노산 서열 및 임의의 서열번호: 35-48의 중쇄 아미노산 서열을 포함하는 조성물;

[0074] (m) (f) 내지 (l) 중 어느 하나에 따른 조성물로서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 임의의 서열번호: 1-48 및/또는 52-56의 아미노산 서열 각각에 70% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 조성물. 상동성은 본 발명의 제1측면과 관련된 단락인 실시예 (o)에서와 같이 여기서 규정됨;

[0075] (n) (a) 내지 (m) 중 어느 하나에 따른 조성물로서, IL-17-억제 화합물이 폴리펩티드, 펩티도미메틱, 핵산 또는 소분자인 조성물;

[0076] (o) (n)에 따른 조성물로서, 폴리펩티드가 IL-17 또는 IL-17 수용체에 결합하는 항체 또는 이의 기능성 단편인 조성물. 바람직하게는, 상기 항체는 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편임;

[0078] (p) (o)에 따른 조성물로서, 항체 또는 이의 기능성 단편이 각각 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편인 조성물;

[0079] (q) (a) 내지 (p) 중 어느 하나에 따른 조성물로서, 상기 조성물은 염증성 질환 및/또는 종양성 질환의 치료용이며, 특히 염증성 질환은 류마티스 관절염(RA)(이는 TNF-알파 중화제의 처리에 내성인 RA를 포함함), 천식, 다발성 경화증(MS), 만성 폐쇄성 폐 질환(COPD), 급성 호흡장애증후군(ARDS), 특발성 폐섬유화증(IPF), 염증성 장 질환(IBD), 크론병, 포도막염, 황반변성, 대장염, 건선, 월러변성, 항인지질증후군(APS), 급성 관동맥증후군, 레스티노시스, 아테롬성동맥경화증, 재발성 다발연골염(RP), 급성 또는 만성 간염, 불량 정형외과용 임플란트, 사구체신염, 루푸스 또는 자가면역 장애이고, 및/또는 종양성 질환은 백혈병, 다발성 골수종, 위암 또는 피부암종과 같은 암이고, 및/또는 상기 종양성 질환은 백혈병, 다발성 골수종, 위암 또는 피부암종과 같은 암임.

[0080] 본 출원이 제출되는 곳의 법학에 따라, 본 발명의 제4측면은 상기에서 더욱 구체화된 염증성 질환 및 종양성 질환의 치료용 약제의 제조에 있어서 GM-CSF-억제 화합물 및 IL-17-억제 화합물의 조합된 사용일 수 있다. 따라서, 본 발명의 제4측면의 바람직한 실시예에서, GM-CSF- 및 IL-17-억제 화합물을 포함하는 약제는 하기의 투여를 위해 제형화될 수 있다: (i) 첫째로 GM-CSF-억제 화합물 및 둘째로 IL-17-억제 화합물의 투여, (ii) 첫째로 IL-17-억제 화합물 및 둘째로 GM-CSF-억제 화합물의 투여, 및 (iii) GM-CSF-억제 화합물 및 IL-17-억제 화합물을 동시에 투여. 따라서, 상기 2개의 화합물은 하나의 조성물의 일부일 수 있거나, 또는 별개의 약제일 수 있으며, 이는 당업자에게 잘 알려진 파라미터에 의존한다.

[0081] 선택적으로, 제5측면은 상기 기재된 임의의 질환의 치료용 GM-CSF- 및 IL-17-억제 화합물일 수 있다. 또한, 상기 화합물은 임의의 순서로 순차적으로 투여되거나 또는 동시에 투여될 수 있다. 유사하게, 상기 화합물은 하나의 조성물의 일부일 수 있거나, 또는 별개의 약제일 수 있으며, 이는 당업자에게 잘 알려진 파라미터에 의존한다.

[0082] 약제의 제조에 GM-CSF- 및 IL-17-억제 화합물을 사용하는 경우와 임의의 질환의 치료에 사용하기 위한 GM-CSF- 및 IL-17-억제 화합물의 경우에, 바람직한 실시예는 다음과 같다.

[0083] (a) 치료되는 대상체가 상기 기재된 바와 같음;

[0084] (b) GM-CSF-억제 화합물은 폴리펩티드, 펩티도미메틱, 핵산 또는 소분자임;

[0085] (c) (b)에 따른 폴리펩티드가 GM-CSF 또는 GM-CSF 수용체에 결합하는 항체 또는 이의 기능성 단편임. 바람직하게는, 상기 항체는 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편임;

[0086] (d) (c)의 항체 또는 이의 기능성 단편이 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편임;

[0087] (e) 항체 또는 이의 기능성 단편이 인간 및 비인간 영장류 GM-CSF의 에피토프에 결합함. 상기 에피토프는 바람직하게는 인간 및 비인간 영장류 GM-CSF의 불연속 에피토프이며, 상기 에피토프는 바람직하게는 아미노산 23-27 (RRLLN) 및/또는 아미노산 65-77 (GLR/QGSLTKLKGPL)을 포함함.

[0088] (f) 불연속 에피토프가 아미노산 28-31 (LSRD), 아미노산 32-33 (TA), 및/또는 아미노산 21-22 (EA)를 추가로 포함함;

[0089] (g) (d), (e) 및 (f) 중 어느 하나에 따른 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 그의 중쇄 가변영역에 서열번호: 1-13 또는 56의 임의의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함함;

[0090] (h) 실시예 (g)에서, 임의의 상기 중쇄 가변영역 CDR3 서열이 중쇄 가변영역에서 서열번호: 14의 중쇄 가변영역 CDR1 서열 및 서열번호: 15의 중쇄 가변영역 CDR2 서열과 함께 존재함;

[0091] (i) 실시예 (h) 또는 (g)에서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 그의 경쇄 가변영역에 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열번호: 17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함함;

[0092] (j) (i)에 따른 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 그의 경쇄 가변영역에 임의의 서열번호: 19, 54 및 55의 아미노산 서열을 추가로 포함함;

[0093] (k) 실시예 (h) 또는 (g)에 따른 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 그의 중쇄 가변영역에 임의의 서열번호: 20-33, 52 또는 53의 아미노산 서열을 포함함;

[0094] (l) 실시예 (g) 내지 (k) 중 어느 하나에 있어서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 그의 경쇄 가변영역에 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열번호: 17의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 및 서열번호: 18의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하며, 그의 중쇄 가변영역에 서열번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 영역, 서열번호: 15의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 영역, 및 임의의 서열번호: 1-13 또는 56의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함함;

[0095] (m) 실시예 (g) 내지 (l) 중 어느 하나에 있어서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 서열번호: 34의 경쇄 아미노산 서열 및 임의의 서열번호: 35-48의 중쇄 아미노산 서열을 포함함;

[0096] (n) 실시예 (g) 내지 (m) 중 어느 하나에 있어서, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 임의의 서열번호: 1-48 및/또는 52-56의 아미노산 서열 각각에 70% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함함. 상동성은 표준 서열 정렬 프로그램, 예컨대 Vector NTI(InforMax™, 메릴랜드, 미국)에 의해 측정됨. 상기 프로그램은 아미노산-대-아미노산을 기준으로 정렬된 서열을 비교하며, 비교를 위해 다양한 정도의 엄중함으로 세팅될 수 있음 (예컨대, 동일 아미노산, 보존적 아미노산 치환 등). 본원에서 사용되는 용어에서, 만일 문제되는 2개의 아미노산이 각각 동일한 화학 군, 즉 산성, 비극성, 비전하 극성 및 염기성에 속한다면, 이는 서로의 "보존적 치환(conservative substitution)"인 것으로 고려됨. 비제한적인 예로서, 비극성 아미노산의 군에 속하는 2개의 다른 아미노산은 동일하지 않더라도 이러한 2개의 아미노산은 서로의 "보존적 치환"으로 고려되는 반면, 1개의 아미노산은 비극성 아미노산이고 다른 1개의 아미노산은 염기성 아미노산이라면 이러한 2개의 아미노산은 서로의 "보존적 치환"으로 고려되지 않을 것임. Alberts, Johnson, Lewis, Raff, Roberts 및 Walter의 "세포의 분자생물학" 제4판(2002)의 Panel 3.1은 아미노산을 4개의 주요 군, 즉 산성, 비극성, 비전하 극성 및 염기성으로 그룹을 분류함. 상기 그룹의 분류는 본 발명의 목적상 특정 아미노산이 문제되는 다른 아미노산의 보존적 치환인지 여부를 결정하기 위한 목적으로 사용될 수 있음;

[0097] (o) (a) 내지 (n) 중 어느 하나에 있어서, IL-17-억제 화합물이 폴리펩티드, 펩티도미메틱, 핵산 또는 소분자임;

[0098] (p) (o)의 폴리펩티드가 IL-17 또는 IL-17 수용체에 결합하는 항체 또는 이의 기능성 단편임. 바람직하게는, 상기 항체는 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편임;

[0099] (q) (p)의 항체 또는 이의 기능성 단편이 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편임; 및

[0100] (r) 염증성 질환이 류마티스 관절염(RA)(이는 TNF-알파 중화제의 처리에 내성인 RA를 포함함), 천식, 다발성 경화증(MS), 만성 폐쇄성 폐 질환(COPD), 급성 호흡장애증후군(ARDS), 특발성 폐섬유화증(IPF), 염증성 장 질환(IBD), 크론병, 포도막염, 황반변성, 대장염, 건선, 월러변성, 항인지질증후군(APS), 급성 관동맥증후군, 레스티노시스, 아테롬성동맥경화증, 재발성 다발연골염(RP), 급성 또는 만성 간염, 불량 정형외과용 임플란트, 사구체신염, 루푸스 또는 자가면역 장애이고, 및/또는 종양성 질환이 백혈병, 다발성 골수종, 위암 또는 피부암종과 같은 암임.

[0101] 앞서 언급된 바와 같이, 본원명세서에서 사용되는 용어 "IL-17"은 IL-17A 내지 IL-17F의 6개의 멤버로 이루어진 후천성 면역계의 시토킨의 패밀리를 나타낸다. 또한, 상기 용어의 정의에는 예컨대, $CD4^+$ T 세포에 의해 생리학적으로 발현되는 것으로서 보고된 IL-17A/IL-17F와 같은 헤테로이량체가 포함된다. 본 발명에 따라 중화되는 IL-17 패밀리 멤버의 특히 바람직한 군에는 IL-17A, IL-17F 및 IL-17D가 포함된다. 더 바람직하게는, IL-17A 및 IL-17F의 효과가 본 발명에 따라 중화된다. IL-17A, IL-17F 및 IL-17D로 이루어진 군이 바람직하기 때문에, IL-17 수용체(IL-17R)의 하위그룹의 신호(signaling), 즉 IL-17RA, IL-17RB 및 IL-17RC의 신호, 더 바람직하게는 IL-17RA 및 IL-17RC의 신호를 중화/억제하는 것이 또한 바람직하다.

[0102] 본원에서 사용되는 용어 "특이적으로 결합한다" 또는 관련 표현, 예컨대 "특이적 결합", "특이적으로 결합하는", "특이적 결합제" 등은, GM-CSF-/IL-17-억제 화합물, 바람직하게는 (앞서 정의된) 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 잠재적인 결합 파트너로서 다수의 상이한 항원의 풀(pool)로부터, GM-CSF/IL-17만 결합되거나 또는 유의적으로 결합될 정도로, GM-CSF/IL-17과 상이한 임의의 수의 다른 잠재적 항원과 GM-CSF/IL-17을 구별하는 능력을 나타낸다. 본 발명의 의미 내에서, 잠재적인 결합 파트너로서 동등하게 접근할 수 있는 다수의 상이한 항원의 풀 중에서, GM-CSF/IL-17이 GM-CSF/IL-17과 상이한 임의의 다른 항원들보다 10배 이상, 바람직하게는 50배 이상, 가장 바람직하게는 100배 또는 그 이상으로 (운동감각(kinetic sense) 면에서) 더 자주 결합될 때, GM-CSF/IL-17은 "유의적으로(significantly)" 결합된다. 상기 운동 측정은 바이아코어(Biacore)

장치를 이용하여 수행될 수 있다.

[0103] 본원에서 사용되는 "중화", "중화제", "중화시키는 것" 및 이의 문법적으로 관련된 변형들은, GM-CSF/IL-17의 생물학적 효과(들)의 부분적 또는 전체적 약화를 나타낸다. 상기 GM-CSF/IL-17의 생물학적 효과(들)의 부분적 또는 전체적 약화는 신호 전달과 같은 GM-CSF/IL-17-매개 과정의 변경, 방해 및/또는 실효로부터 야기되며, 이는 예를 들면 세포내 신호전달, 세포 증식 또는 가용성 물질의 방출, 예를 들면 GM-CSF 외의 리간드에 대한 표면 수용체의 발현을 야기하는 세포내 유전자 활성화의 상향 또는 하향 조절 등으로 야기된다. 당업자가 이해하는 바와 같이, 제제, 예를 들어 문제되는 항체 또는 이의 기능성 단편이 중화제로서 분류되는지 여부를 결정하는 방법은 다양하게 존재한다. 일례로서, 이는 일반적으로 하기와 같이 수행되는 표준 *시험관내* 테스트에 의해 달성될 수 있다: 첫번째 증식 실험에서, 세포주의 증식 정도가 GM-CSF의 활성에 의존한다고 알려져 있는 세포주가 GM-CSF의 농도를 다르게 한 일련의 샘플에서 배양되고, 그 배양 이후에 세포주의 증식 정도가 측정된다. 이러한 측정으로부터, 세포 증식의 최대의 반값을 허용하는 GM-CSF의 농도가 측정된다. 그 후, 두번째 증식 실험은 첫번째 증식 실험에서 사용된 동일한 수의 세포를 일련의 샘플의 각각에서 사용하고, GM-CSF의 상기 측정된 농도를 사용하며, 이번에는 GM-CSF의 중화제인 것으로 의심되는 항체 또는 이의 기능성 단편의 농도를 다르게 하여, 수행된다. 세포 증식이 다시 측정되어, 성장 억제의 최대의 반값을 가져오기에 충분한 항체 또는 이의 기능성 단편의 농도가 결정된다. 만일 성장 억제 대 항체(또는 이의 기능성 단편)의 농도의 결과 그래프가 S자 모양이고, 항체(또는 이의 기능성 단편)의 농도가 증가함에 따라 세포 증식의 감소를 야기한다면, 어느 정도의 항체-의존 성장 억제를 가져오며, 이는 즉 GM-CSF의 활성이 어느 정도까지 중화된 것을 의미한다. 상기 경우에, 항체 또는 이의 기능성 단편은 본 발명의 의미 내에서 "중화제"로 고려될 수 있다. 세포주의 증식 정도가 GM-CSF의 활성에 의존한다고 알려져 있는 세포주의 하나의 예는 [Kitamura, T. 등의 (1989). J Cell Physiol 140, 323-34]에 기재되어 있는 TF-1 세포주이다.

[0104] 당업자가 이해하는 바와 같이, 세포 증식의 정도가 GM-CSF를 중화시키는 능력이 설정될 수 있는 유일한 파라미터는 아니다. 예를 들어, 신호 분자(예컨대, 시토킨)의 수준, GM-CSF에 의존하는 분비의 수준의 측정은, 의심되는 GM-CSF 중화제(GM-CSF를 억제하는 화합물)를 동정하기 위해 사용될 수 있다. 상응하는 세포 실험 세팅은 IL-17을 억제하는 화합물의 중화 효과의 입증을 위한 당업계에서 통상의 기술자에 의해 알려져 있다. 문제되는 항체 또는 이의 기능성 단편이 GM-CSF 활성의 중화제인지 여부를 결정하기 위해 사용될 수 있는 세포주의 다른 예에는, AML-193 (Lange, B. 등의 (1987). Blood 70, 192-9); GF-D8 (Rambaldi, A. 등의 (1993). Blood 81, 1376-83); GM/SO (Oez, S. 등의 (1990). Experimental Hematology 18, 1108-11); MO7E (Avanzi, G. C. 등의 (1990). Journal of Cellular Physiology 145, 458-64); TALL-103 (Valtieri, M. 등의 (1987). Journal of Immunology 138, 4042-50); UT-7 (Komatsu, N. 등의 (1991). Cancer Research 51, 341-8)가 포함된다. 문제되는 화합물, 예컨대, 항체 또는 이의 기능성 단편이 IL-17 활성의 중화제인지 여부를 결정하기 위해 사용될 수 있는 세포주/세포 기초 분석법의 예에는, IL-17 단백질의 BEAS-2B 시험관내 분석법(BEAS-2B, 인간 기관지 상피세포(ATCC, CRL-9609)) 또는 섬유아세포로부터 표준 IL-6 방출 분석법(Yao 등의 1995, Journal of Immunology, 155, 5483-5486)이 포함된다.

[0105] 본 발명에 따라 GM-CSF 및 IL-17 각각의 억제/중화는 상기 시토킨에 대한 수용체를 갖는 세포 외부에서 또는 상기 세포 내에서 야기될 수 있다는 것이 이해된다. 따라서, 화합물에 의한 GM-CSF 및 IL-17의 억제/중화는, GM-CSF 또는 IL-17의 그의 특이적 수용체에 대한 결합의 억제 또는 방지이거나, 또는 시토킨의 그의 수용체에 대한 결합에 의해 유도되는 세포내 신호의 억제일 수 있다. IL-17 신호의 세포내 작용 억제제/중화제는 세포내 신호 경로를 차단하는 화합물을 포함하며, 이의 예에는 JAK/STAT, MAPK p38, NF-kappaB 또는 JNK의 억제제가 포함된다.

[0106] 상기에서 기재된 바와 같이, GM-CSF 또는 IL-17의 억제제는 폴리펩티드, 펩티도미메틱, 핵산 분자 및 소분자로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "폴리펩티드"는 30개보다 많은 아미노산으로 이루어진 분자의 군으로 기재된다. 본 발명에 따르면, 폴리펩티드의 군은 하나의 폴리펩티드 또는 하나보다 많은 폴리펩티드로 이루어진 "단백질"을 포함한다. 또한, 용어 "폴리펩티드"는 단백질의 단편이 30개보다 많은 아미노산으로 이루어지는 한, 이러한 단편으로 기재된다. 폴리펩티드는 다량체, 예컨대 이량체, 삼량체 및 고급 올리고머, 즉 하나보다 많은 폴리펩티드 분자로 이루어진 형태를 형성할 수 있다는 것이 당업계에 잘 알려져 있다. 상기 다량체는 또한 상기 용어 "폴리펩티드"의 정의에 포함된다. 상기 이량체, 삼량체 등을 형성하는 폴리펩티드 분자는 동일할 수도 있고 동일하지 않을 수도 있다. 따라서, 상기 다량체의 대응하는 고차구조는 호모- 또는 헤테로이량체, 호모- 또는 헤테로삼량체 등으로 지칭된다. 헤테로다량체의 예는, 천연적으로 발생하는 형태에서 2개의 동일한 폴리펩티드 경쇄 및 2개의 동일한 폴리펩티드 중쇄로 이루어진 항체 분자이다. 용어 "폴

리펩티드" 및 "단백질"은 또한 자연적으로 또는 비자연적으로 변형된 폴리펩티드/단백질을 나타내며, 상기 변형은 예컨대 글리코실화, 아세틸화, 인산화 등과 같은 번역 후의 변형에 의해 야기된다. 상기 변형은 당업계에 잘 알려져 있다.

[0107] 용어 "소분자"는 분자량이 1000 돌턴 미만, 바람직하게는 300 내지 700 돌턴인 약물 화합물의 군으로 정의된다. 대응하는 소분자는 적어도 부분적으로 랜덤화된 펩티드 라이브러리로부터 유래된 것일 수 있다. 본 발명에 따라 적합한 소분자의 라이브러리는 당업계에 잘 알려져 있거나, 및/또는 상업적 판매업자로부터 구입될 수 있다.

[0108] 본 발명의 명세서에서 용어 "핵산"은 인산, 당 및 푸린 및 피리미딘 염기의 다양한 반복 단위로 이루어진 고분자로 정의된다. 상기 분자의 실시예에는 DNA, RNA 및 PNA가 포함된다. 본 발명에서 핵산의 특히 바람직한 실시예는 앱타머(aptamer)이다. 앱타머는 DNA 또는 RNA 분자로서, 다른 분자를 결합하는 그의 능력에 기초하여 랜덤 풀로부터 선택된 것이다. 핵산, 단백질, 작은 유기 화합물 및 심지어 전체 유기체를 결합하는 앱타머가 선택되었다.

[0109] 용어 "펩티도미메틱"은 펩티드를 모방하도록 설계된 작은 단백질-유사 쇄로서 기재된다. 이러한 유형의 분자는 분자의 성질을 바꾸기 위하여 현존하는 펩티드를 변형시켜 인위적으로 유도된 것이다. 예를 들어, 현존하는 모체 펩티드는 분자의 안정성 또는 생물학적 활성이 바뀌도록 변형된다. 이러한 변형은 백본(backbone)의 변경 및 비천연적 아미노산의 삽입을 포함한다.

[0110] 용어 "GM-CSF 수용체"는 GM-CSF의 생리학적 세포 표면 수용체를 나타내며, 이는 당업계에서 공통 베타 (c) 서브유닛 및 CD116의 헤테로머로서 서술된다. 용어 "IL-17 수용체"는 IL-17의 다른 이소폼(isoform)의 생리학적 세포 표면 수용체의 패밀리를 나타낸다. 이러한 패밀리는 현재 그 중에서도 이소폼 IL-17RA, IL-17RB, IL-17RC, IL-17RD 및 IL-17RE를 포함한다.

[0111] 중화 펩티드의 바람직한 실시예는 항체(또는 이의 기능성 단편), 더 바람직하게는 인간 항체(또는 이의 기능성 단편)이다. 항체의 제조법은 당업계에 잘 알려져 있으며, 예컨대 [Harlow and Lane "Antibodies, A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988] 및 [Harlow and Lane "Using Antibodies: A Laboratory Manual" Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999]에 기재되어 있다. 용어 "항체"는 면역글로불린(Ig)의 다른 군(즉, IgA, IgG, IgM, IgD 및 IgE) 및 하위클래스(예컨대, IgG1, IgG2 등)를 포함한다. 본 발명의 의미 내에서 항체 용어의 정의 범주에 또한 포함되는 항체의 유도체는 예를 들어 글리코실화, 아세틸화, 인산화, 파르네실화, 히드록실화, 메틸화 또는 에스테르화와 같은 분자의 변형을 포함한다.

[0112] 비인간 및 인간의 항체 또는 이의 기능성 단편(이는 GM-CSF 및 IL-17 모두에 대해 특이성을 가짐)은 바람직하게는 모노클로날이다. 모노클로날인 인간 항체를 제조하는 것은 특히 어렵다. 불멸화된(immortalized) 세포주와 뮤린(murine) B 세포의 융합과 대조적으로, 불멸화된 세포주와 인간 B 세포의 융합은 성공가능하지 않다. 따라서, 인간 모노클로날 항체는 항체 기술 분야에 일반적으로 존재하는 것으로 인정되는 상당한 기술적 장애물을 극복한 결과이다. 항체의 모노클로날 성질은 이를 특히 치료제로서 용도에 잘 적합하게 하며, 그 이유는 상기 항체가 특징을 잘 나타내며 재현성있게 제조되고 정제될 수 있는 단일의 동종 분자 종으로서 존재할 것이기 때문이다. 이러한 요소들은 생성물의 생물학적 활성을 높은 정확도로 예측될 수 있도록 하며, 이는 상기 분자가 인간에게 치료적 투여를 위한 규제 승인을 받을 예정이라면 매우 중요하다.

[0113] 모노클로날 항체(또는 이에 상응하는 기능성 단편)은 인간 항체(또는 이에 상응하는 기능성 단편)인 것이 특히 바람직하다. 인간에게 치료적 투여를 목적으로 하는 항체 제제를 고려할 때, 항체는 인간을 기원(origin)으로 하는 것이 매우 유리하다. 인간 환자에게 투여한 후에, 인간 항체 또는 이의 기능성 단편은 환자의 면역계에 의한 강한 면역반응을 대부분 야기하지 않을 것이며, 이는 비인간 단백질인 이물질인 것으로 인식되지 않을 것을 의미한다. 이는 숙주의, 즉 환자의 어떠한 항체도 환자의 신체에서 치료적 항체의 활성을 반대로 차단하거나 및/또는 치료적 항체의 제거를 촉진하는 치료적 항체에 대항하여 생성되지 않을 것이며, 이에 따라 그의 목적하는 치료효과의 발현을 막지 않을 것이라는 점을 의미한다.

[0114] 본원에서 사용되는 용어 "인간" 항체는, 특이성을 갖는 항체 또는 그의 기능성 단편이 인간 배선(germline) 항체 레퍼토리(repertoire)에 포함된 아미노산 서열(들)을 포함하는 것을 의미하는 것으로서 이해된다. 본원의 정의에서, 항체 또는 그의 단편이 상기 인간 배선 아미노산 서열(들)로 이루어져 있다면, 즉 문제되는 항체 또는 이의 기능성 단편의 아미노산 서열(들)이 발현된 인간 배선 아미노산 서열(들)과 동일하다면, 이는 인간 항체로 간주될 수 있다. 또한, 항체 또는 이의 기능성 단편의 서열(들)이 이와 가장 가까운 인간 배선 서열(들) 과의 차이가 체성 과돌연변이(somatic hypermutation)의 각인에 기인되는 것으로 예상되는 정도라면, 상기 항체 또는

이의 기능성 단편은 인간 항체로 간주될 수 있다. 또한 많은 비인간 포유류, 예를 들면 마우스 및 래트와 같은 설치류의 항체는 VH CDR3 아미노산 서열을 포함하고 있고, 이는 발현된 인간 항체 레퍼토리에도 존재하는 것으로 예측될 수 있다. 발현된 인간 레퍼토리에 존재하는 것으로 예측될 수 있는 인간 또는 비인간 기원의 임의의 상기 서열(들)은 본 발명의 목적을 위한 "인간" 항체로 간주될 수 있다.

[0115] 본 발명의 바람직한 실시예에 따르면, 약리학적 목적으로 이용되는 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편은 인간과 적어도 하나의 원숭이 종 사이에 교차반응성을 나타낸다. 또한, 동일한 종-교차 반응성은 GM-CSF 및/또는 IL-17의 모든 다른 (비-항체 또는 항체로부터 유도되지 않은 것) 중화/억제 화합물에 대해서도 또한 바람직하다. 이러한 약제들은 통상 규제 승인에 앞서 많은 테스트를 거쳐야 하며, 이들 중 어떤 초기 테스트는 비인간 동물 종을 포함하기 때문에, 상기 교차 반응성 항체는 매우 유용하다. 이러한 테스트를 수행함에 있어, 일반적으로는 인간과 유전적으로 매우 유사한 종을 비인간 종으로서 사용하는 것이 바람직한데, 이는 획득되는 결과가 일반적으로 동일한 물질을 인간에게 투여하였을 때 얻어질 수 있는 결과를 매우 높은 수준으로 예측가능하게 하기 때문이다. 그러나, 이러한 동물 테스트에 기반한 예측력은 적어도 부분적으로는 분자의 적합성에 의존하며, 동일한 치료 분자를 인간 및 동물 모델에 투여할 수 있을 때 종-교차 반응성이 있는 경우 그 예측력이 매우 높다. 본 발명의 실시예에서와 같이, 항체 분자가 동일한 항원에 대해 인간 및 다른 가까운 관련 종에서 교차-반응성이 있는 경우, 동일한 항체 분자를 인간에서 그리고 이 가까운 관련 종, 예를 들어 전술한 원숭이 종에 사용하여 테스트를 수행할 수 있다. 이는 이들 테스트 자체의 효능성 및 치료학적 관점에서 가장 관심의 대상이 되는 종인 인간에서의 상기 항체의 행동과 관련된 상기 테스트의 예측력 모두를 증가시킨다. 항체가 아닌 (또는 항체로부터 유도되지 않은) 중화/억제 화합물을 사용한 대안적인 실시예에 대해 동일하게 적용된다.

[0116] 본 발명의 추가의 실시예에 따르면, 인간 모노클로날 항체는 IgG 항체일 수 있다. IgG는 매우 구별적인 항원 인식 및 결합을 담당하는 가변성 항체 영역 뿐만 아니라 내인성으로 생성되는 항체에 통상 존재하는 중쇄 및 경쇄 항체 폴리펩티드 사슬의 불변 영역을 포함하며, 어떤 경우에는 하나 이상의 부위가 탄수화물로 수식되어 있다. 상기 글리코실화는 통상 IgG 형식의 홀마크(hallmark)이며, 이러한 불변 영역의 부분은 생체내에서 다양한 효능자(effector) 기능을 유발하는 것으로 알려진 전체 항체의 소위 Fc 영역을 구성한다. 또한, Fc 영역은 Fc 수용체에 대한 IgG의 결합을 매개하며, 따라서 생체내에서의 반감기를 연장시킬 뿐만 아니라, Fc 수용체가 증가하는 부위, 예를 들면 염증 조직에 IgG의 귀소성(homming)을 촉진시킨다. 바람직하게는, IgG항체는 IgG1 항체 또는 IgG4 항체이며, 그 이유는 이들의 생체내 작용기전이 특히 잘 규명되고 이해되어져 있기 때문이다. 이는 특히 IgG1 항체가 그러하다.

[0117] 본 발명의 추가적인 실시예에 따르면, 인간 모노클로날 항체의 기능성 단편은 scFv, 단일 도메인 항체(single domain antibody), Fv, VHH 항체, 디아체(diabody), 탠덤 디아체(tandem diabody), Fab, Fab' 또는 F(ab)2일 수 있다. 이러한 단편들은 통상 두 개의 하위클래스로 분류되는데, 이는 즉 단일 폴리펩티드 사슬로 이루어진 것과, 적어도 두 개의 폴리펩티드 사슬을 포함하는 것이다. 전자의 하위클래스의 구성원에는 scFv(폴리펩티드 링커(linker)를 통해 단일 폴리펩티드 사슬로 결합된 하나의 VH 영역 및 하나의 VL 영역을 포함함); VHH 항체(단일 VH 영역을 포함함)와 같은 단일 도메인 항체(단일 항체 가변영역을 포함함)을 포함된다. 후자의 하위클래스의 구성원에는 Fv(하나의 VH 영역 및 하나의 VL 영역을 별개의 폴리펩티드 사슬로서 포함하며, 상기 별개의 폴리펩티드 사슬은 서로 비-공유적으로 연관됨); 디아체(두 개의 비공유적으로 연관된 폴리펩티드 사슬을 포함하며, 이들 각각은 두 개의 항체 가변영역, 통상 폴리펩티드 사슬 당 하나의 VH 및 하나의 VL을 포함하며, 이 두 개의 폴리펩티드 사슬은 머리-꼬리 형상으로 배열되어 2가 항체 분자를 생성함); 탠덤 디아체(4개의 공유 결합된 두 개의 상이한 특이성의 면역글로불린 가변영역(VH 및 VL 영역)을 포함하고, 전술한 디아체보다 두 배로 큰 호모다이머를 형성하는, 이중특이적 단일 사슬 Fv 항체); Fab(하나의 폴리펩티드 사슬로서, 그 자체가 VL 영역 및 전체 경쇄 불변영역을 포함하는 전체 항체 경쇄를 포함하고, 다른 폴리펩티드 사슬로서, 전체 VH 영역 및 중쇄 불변영역의 일부를 포함하는 항체 중쇄의 일부분을 포함하며, 상기 두 개의 폴리펩티드 사슬이 사슬간 디설피드 결합을 통해 분자간으로 결합됨); Fab'(상기 Fab에서 항체 중쇄상에 포함된 디설피드 결합이 추가적으로 환원된 것); 및 F(ab)2 (두 개의 Fab' 분자를 포함하고, 각각의 Fab' 분자는 사슬간 디설피드 결합에 의해 각각의 다른 Fab' 분자에 연결됨). 일반적으로, 전술한 형태의 기능적 항체 단편은 예를 들면 특정 긴급상태에의 치료적 투여를 위해 요망되는 항체의 약동력적 성질 등을 매우 유연성 있게 테일러링(tailoring)할 수 있다. 예를 들면, 혈관 분포가 좋지 않은 것으로 알려진 조직(예컨대, 관절)을 치료할 때, 조직 침투도를 증가시키기 위해 투여되는 항체의 크기를 줄이는 것이 바람직할 수 있다. 어떤 경우에는, 치료적 항체를 신체에서 제거하는 속도를 증가시키는 것이 바람직할 수도 있으며, 상기 속도는 통상 투여되는 항체의 크기를 줄임으로써 촉진될 수 있다. 항체 단편이 모 항체의 에피토프/표적에 대해 특이적 결합 특징을 유지하는 한, 즉 항체 단편이 GM-CSF 또는 IL-17에 각각 특이적으로 결합되어 있는 한, 항체 단편은 본 발명의 명세서에서 기능적 항체 단편으로 정의

된다.

[0118] 본 발명의 다른 실시예에 따르면, 상기 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편은 1가 단일특이적; 다가 단일특이적, 특히 2가 단일특이적; 또는 다가 다중 특이적, 특히 2가 이중특이적 형태로 존재할 수 있다. 통상적으로, 다가 단일특이적, 특히 전술한 전체 인간 IgG와 같은 2가 단일특이적 항체는, 이러한 항체에 의해 발휘되는 중화가 결합능 효과(avidity effect), 즉 동일한 항원(본 발명에서는 GM-CSF/IL-17)의 다수 분자에 대한 동일 항체에 의한 결합을 통해 증강되는 치료학적 이점을 가져올 수 있다. 항체의 단편의 수 개의 1가 단일특이적 형태는 전술되었다 (예컨대, scFv, Fv, VHH 또는 단일 도메인 항체). 다가 다중특이적, 특히 이가 이중특이적 형태의 인간 모노클로날 항-GM-CSF/IL-17 항체는 전체 IgG를 포함할 수 있으며, 전체 IgG에서 하나의 결합 암(arm)이 비인간 영장류 GM-CSF/IL-17에 결합하고 다른 결합 암은 GM-CSF/IL-17과 상이한 다른 항원에 결합한다. 다가 다중특이적, 특히 2가 이중특이적 형태는 바람직하게는 인간 단일 사슬 이중특이적 항체, 즉 당업계에 통상적으로 알려진 바와 같은 짧은 삽입 폴리펩티드 스페이서에 의해 하나의 인접한 폴리펩티드 사슬로 연결된, 전술한 바와 같은 두 개의 scFv 본체를 포함하는 재조합 인간 항체 구축물(construct)일 수 있다 (예를 들어, 항-CD19 x 항-CD3 이중특이적 단일 사슬 항체에 대해 WO 99/54440를 참조). 여기에서, 이중특이적 단일 사슬 항체 내에 포함된 이중특이적 단일 사슬 항체의 하나의 scFv 부분은 특이적으로 전술한 GM-CSF/IL-17과 결합하는 반면, 상기 이중특이적 단일 사슬 항체의 다른 scFv 부분은 치료적 효과가 있는 것으로 측정된 다른 항원과 결합한다. 바람직한 다른 실시예는, 이중특이적 단일 사슬 항체는 상기에서와 같이 GM-CSF와 특이적으로 결합하는 반면, 이러한 이중특이적 단일 사슬 항체의 각각의 다른 scFv 부분은 IL-17과 결합하는 것이다.

[0119] 추가적인 실시예에 따르면, 억제성(inhibitory) 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편은 예를 들어 하나 이상의 분자의 폴리에틸렌글리콜("PEG") 및/또는 폴리비닐피롤리돈("PVP")과 같은 유기 중합체로 유도체화될 수 있다. 본 기술분야에 알려진 바와 같이, 이러한 유도체화는 항체 또는 이의 기능성 단편의 약동력적 성질을 조절하는데 유리할 수 있다. 특히 바람직한 것은 PEG-말레이미드로 유도체화된 PEG 분자이며, 이는 시스테인 아미노산의 설프하이드릴기(sulfhydryl group)에 의해 부위-특이적 방식으로 항체 또는 이의 기능성 단편과 접합할 수 있다. 이들 중에서, 분지 또는 직선 사슬형의 20kD 및/또는 40 kD PEG-말레이미드가 특히 바람직하다. 이는 특히 scFv 단편과 같은 더 작은 인간 항-GM-CSF/IL-17 항체 단편을 하나 이상의 PEG 분자, 특히 PEG-말레이미드와 결합시킴으로써 그 유효 분자량을 증가시키는데 유리할 수 있다.

[0120] 본 명세서에서, 인간 및 비인간 영장류 GM-CSF의 넘버링은 성숙 GM-CSF, 즉 17 아미노산 신호 서열이 없는 GM-CSF(전술한 인간 및 비인간 영장류 종 모두에서 성숙 GM-CSF의 전체 길이는 127 아미노산임)의 넘버링을 지칭한다. 인간 GM-CSF(서열번호: 57) 및 긴팔원숭이 GM-CSF(서열번호: 58)의 서열은 다음과 같다:

APARSPSPST QPWEHVNAIQ EA**RRLLN***LSR* *D*TAAEMNETV EVISEMFDLQ
EPTCLQTRLE LYKQ**GLRGSL** **TKLKGPL**TMM ASHYKQHCPP TPETSCATQI
ITFESFKENL KDFLLVIPFD CWEPVQE

[0121]

[0122] 예를 들어 레서스원숭이(서열번호: 59) 및 시노몰구스 원숭이(서열번호: 60)와 같은 마카카 원숭이 패밀리의 특정 구성원의 GM-CSF의 서열은 다음과 같다:

APARSPSPGT QPWEHVNAIQ EA**RRLLN***LSR* *D*TAAEMNKTV EVVSEMFDLQ
EPSCLQTRLE LYKQ**GLQGSL** **TKLKGPL**TMM ASHYKQHCPP TPETSCATQI
ITFQSFKENL KDFLLVIPFD CWEPVQE

[0123]

[0124] 전술한 바와 같은 인간 모노클로날 항체(또는 이의 기능성 단편)에 의해 결합된 최소한의 에피토프, 바람직하게는 불연속 에피토프는 상기 GM-CSF 서열에서 굵게 표시하였다. 본 발명에서, "불연속 에피토프"는 주어진 폴리펩타이드 사슬, 본 발명에서 성숙 인간 및 비인간 영장류 GM-CSF내에서, 동시에 그리고 특이적으로 항체에 의해 결합되는 적어도 두개의 인접하지 않는 아미노산 서열 스트레치를 지칭한다. 본 정의에 따르면, 이러한 동시적인 특이적 결합은 선형의 GM-CSF 폴리펩티드일 수 있다. 여기에서, 연장된 루프를 형성하는 성숙 GM-CSF 폴리펩티드를 연상할 수 있는데, 상기 펩티드의 한 영역에서 상기 굵게 표시한 두 개의 서열이, 예를 들면 서로 근접한 위치에서 다소 평행으로 정렬된다. 이러한 상태에서, 이들은 항체 단편에 의해 특이적으로 그리고 동시에 결합된다. 본 정의에 따르면, 상기 표시된 성숙 GM-CSF의 두 개의 서열 스트레치의 동시적인 특이적 결합은 또한 입체형태적 에피토프에 결합하는 항체의 형태로 될 수 있다. 여기에서, 성숙 GM-CSF는 생체내에서 통상적으로

존재하는 것과 같은 3차 형태를 이미 형성하였다. 이러한 3차 형태에서, 성숙 GM-CSF 폴리펩티드 사슬은 상기 표시한 두 개의 서열 스트레치가 공간적으로 근접하게, 예를 들면 접힌 성숙 GM-CSF의 특정 영역의 바깥 표면에 오도록 접혀지며, 이후 주위 폴리펩티드 서열의 맥락에서 그의 3차원적 형태에 의해 인식된다.

[0125] 바람직한 인간 모노클로날 항-GM-CSF 항체 또는 이의 기능성 단편은, 서열번호: 14의 중쇄 가변영역 CDR1 서열, 서열번호: 15의 중쇄 가변영역 CDR2 서열 및 서열번호: 1의 중쇄 가변영역 CDR3 서열을 포함하거나; 또는 서열번호: 14의 중쇄가변영역 CDR1 서열, 서열번호: 15의 중쇄가변영역 CDR2 서열 및 서열번호: 2의 중쇄 가변영역 CDR3 서열을 포함하거나; 또는 서열번호: 14의 중쇄 가변영역 CDR1 서열, 서열번호: 15의 중쇄 가변영역 CDR2 서열 및 서열번호: 3의 중쇄 가변영역 CDR3 서열을 포함하거나; 또는 서열번호: 14의 중쇄 가변영역 CDR1 서열, 서열번호: 15의 중쇄 가변영역 CDR2 서열 및 서열번호: 4의 중쇄 가변영역 CDR3 서열을 포함하거나; 또는 서열번호: 14의 중쇄 가변영역 CDR1 서열, 서열번호: 15의 중쇄 가변영역 CDR2 서열 및 서열번호: 5의 중쇄 가변영역 CDR3 서열을 포함하거나; 또는 서열번호: 14의 중쇄 가변영역 CDR1 서열, 서열번호: 15의 중쇄 가변영역 CDR2 서열 및 서열번호: 6의 중쇄 가변영역 CDR3 서열을 포함하거나; 또는 서열번호: 14의 중쇄 가변영역 CDR1 서열, 서열번호: 15의 중쇄 가변영역 CDR2 서열 및 서열번호: 7의 중쇄 가변영역 CDR3 서열을 포함하거나; 또는 서열번호: 14의 중쇄 가변영역 CDR1 서열, 서열번호: 15의 중쇄 가변영역 CDR2 서열 및 서열번호: 8의 중쇄 가변영역 CDR3 서열을 포함하거나; 또는 서열번호: 14의 중쇄 가변영역 CDR1 서열, 서열번호: 15의 중쇄 가변영역 CDR2 서열 및 서열번호: 9의 중쇄 가변영역 CDR3 서열을 포함하거나; 또는 서열번호: 14의 중쇄 가변영역 CDR1 서열, 서열번호: 15의 중쇄 가변영역 CDR2 서열 및 서열번호: 10의 중쇄 가변영역 CDR3 서열을 포함하거나; 또는 서열번호: 14의 중쇄 가변영역 CDR1 서열, 서열번호: 15의 중쇄 가변영역 CDR2 서열 및 서열번호: 11의 중쇄 가변영역 CDR3 서열을 포함하거나; 또는 서열번호: 14의 중쇄 가변영역 CDR1 서열, 서열번호: 15의 중쇄 가변영역 CDR2 서열 및 서열번호: 12의 중쇄 가변영역 CDR3 서열을 포함하거나; 또는 서열번호: 14의 중쇄 가변영역 CDR1 서열, 서열번호: 15의 중쇄 가변영역 CDR2 서열 및 서열번호: 13의 중쇄 가변영역 CDR3 서열을 포함하거나; 또는 서열번호: 14의 중쇄 가변영역 CDR1 서열, 서열번호: 15의 중쇄 가변영역 CDR2 서열 및 서열번호: 56의 중쇄 가변영역 CDR3 서열을 포함한다.

[0126] 더욱 바람직하게는, 상기 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열의 14개의 조합 중 어느 하나는, 경쇄 가변영역에 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열번호: 17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 추가적으로 포함하는 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편에 존재한다.

[0127] 추가적인 실시예에 따르면, 억제성 인간 모노클로날 항-GM-CSF 항체 또는 이의 기능성 단편은 그의 경쇄 가변영역에 서열번호: 19의 아미노산 서열을 포함한다. 바람직하게는, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편은 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 19의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 20의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 19의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 21의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 19의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 22의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 19의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 23의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 19의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 24의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 19의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 25의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 19의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 26의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 19의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 27의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 19의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 28의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 19의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 29의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 19의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 30의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 19의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 31의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 19의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 32의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 19의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 33의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 19의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 52의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 19의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 53의 아미노산 서열을 포함한다.

[0128] 또다른 실시예에 따르면, 억제성 인간 모노클로날 항-GM-CSF 항체 또는 이의 기능성 단편은 그의 경쇄 가변영역에 서열번호: 54의 아미노산 서열을 포함한다. 바람직하게는, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편은

그 경쇄 가변영역이 서열번호: 54의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 20의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 54의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 21의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 54의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 22의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 54의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 23의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 54의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 24의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 54의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 25의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 54의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 26의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 54의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 27의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 54의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 28의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 54의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 29의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 54의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 30의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 54의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 31의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 54의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 32의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 54의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 33의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 54의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 52의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 54의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 53의 아미노산 서열을 포함한다.

[0129] 또다른 실시예에 따르면, 억제성 인간 모노클로날 항-GM-CSF 항체 또는 이의 기능성 단편은 그의 경쇄 가변영역에 서열번호: 55의 아미노산 서열을 포함한다. 바람직하게는, 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편은 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 55의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 20의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 55의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 21의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 55의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 22의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 55의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 23의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 55의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 24의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 55의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 25의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 55의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 26의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 55의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 27의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 55의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 28의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 55의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 29의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 55의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 30의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 55의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 31의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 55의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 32의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 55의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 33의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 55의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 52의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄 가변영역이 서열번호: 55의 아미노산 서열을 포함하고 중쇄 가변영역이 서열번호: 53의 아미노산 서열을 포함한다.

[0130] 바람직한 억제성 인간 모노클로날 항-GM-CSF 항체 또는 이의 기능성 단편은, 그 경쇄 가변영역에 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 영역, 서열번호: 17의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 영역 및 서열번호: 18의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하고, 그 중쇄 가변영역에 서열번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 영역, 서열번호: 15 아미노산 서열을 갖는 CDR2 영역, 서열번호: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 또는 56 중 어느 하나의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함한다.

[0131] 보다 바람직한 실시예에서, 항체는 그 경쇄에 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하고 그 중쇄에 서열번호: 35의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄에 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하고 그 중쇄에 서열번호: 36의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄에 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하고 그 중쇄에 서열번호: 37의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄에 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하고 그 중쇄에 서열번호: 38의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄에 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하고 그

중쇄에 서열번호: 39의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄에 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하고 그 중쇄에 서열번호: 40의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄에 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하고 그 중쇄에 서열번호: 41의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄에 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하고 그 중쇄에 서열번호: 42의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄에 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하고 그 중쇄에 서열번호: 43의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄에 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하고 그 중쇄에 서열번호: 44의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄에 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하고 그 중쇄에 서열번호: 45의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄에 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하고 그 중쇄에 서열번호: 46의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄에 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하고 그 중쇄에 서열번호: 47의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 그 경쇄에 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하고 그 중쇄에 서열번호: 48의 아미노산 서열을 포함한다.

[0132] 상기 바람직한 실시예는 비인간 영장류 및 인간 GM-CSF의 활성 중화제로서 특히 유리한 인간 모노클로날 항체 분자 및/또는 이의 기능성 단편을 제공한다. 이러한 특히 바람직한 실시예에 따른 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편은 하기와 같은 이유로 매우 유리하다.

[0133] 첫째, 이들은 비인간 영장류 및 인간 GM-CSF를 매우 특이적으로 인식한다. 즉, 비인간 영장류 GM-CSF와 다른 비인간 영장류 콜로니 자극인자(예를 들면 비인간 영장류 G-CSF 및 M-CSF)와의 혼합물에서, 상기의 특히 바람직한 실시예에 따른 결합 분자는 비인간 영장류 GM-CSF를 고도로 구별하는 반면, 동일한 환경에 존재하는 다른 콜로니 자극인자는 인식하지 않는다. 이는 필요한 부분만 약간 수정되어 인간 GM-CSF에게 동일하게 적용된다. 이는 본 실시예에 따른 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편을 인간에게 투여할 때, 이들 항체 또는 이의 단편이 원하는 표적에만 특이적으로 결합하여 중화시키는 것이 예상되는 반면, 원하지 않는 다른 표적에는 결합하지도, 중화시키지도 않는 것을 의미한다. 결국, 이는 생체내에서의 치료적 작용 모드에 관하여 고도의 예측성을 부여한다.

[0134] 둘째, 본 발명의 특히 바람직한 실시예에 따른 결합자는 비인간 영장류 및 인간 GM-CSF에 매우 높은 친화성으로 결합한다. 이러한 클래스의 분자에 대해 약 4 x 10^{-9}M 내지 0.04 x 10^{-9}M(이는 약 40 pM에 상당함)의 K_D 값이 관찰되었다. 수성 매질 내에서 상기 분자의 키네틱 온 속도(kinetic on-rate)는 주로 확산에 의해 조절되므로 생리학적 조건하에서 국소 확산 조건이 허용하는 것 이상으로 개선될 수 없기 때문에, 낮은 K_D는 주로 키네틱 오프 속도(kinetic off-rate; k_{off})의 결과로서 발생되며, 가장 높은 친화력의 항체 결합자의 경우 약 10^{-5} s^{-1}이다. 이는 일단 복합체가 한 쪽으로는 상기 실시예 중 어느 하나에 따른 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편과 다른 쪽으로는 GM-CSF 사이에 형성된다면, 이들 복합체는 용이하게 분리되지 않거나, 적어도 빠르게 분리되지 않음을 의미한다. 생물학적 활성의 중화제로 사용되는 결합 분자의 경우, 이러한 특성은 매우 유리하며, 그 이유는 중화시키고자 하는 분자(여기에서는 비인간 영장류 및 인간 GM-CSF)의 생물학적 활성이 중화 결합 분자에 의해 결합되어 있는 동안에 한해서만 원하는 중화 효과가 통상 지속되기 때문이다. 따라서, 오랜 시간 동안 원하는 표적에 대해 결합을 유지하는 중화 분자는 그에 상응하는 오랜 시간 동안 중화가 지속될 것이다.

[0136] 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편이 높은 결합 친화성으로 비인간 영장류 및 인간 GM-CSF와 결합하는 것은 추가적인 이점을 제공한다. 통상적으로, 항체 또는 이의 기능성 단편은 크기-의존적 방식으로 환자의 혈류에서 제거되며, 더 작은 분자가 더 큰 분자보다 먼저 배출 및 제거된다. 두 개의 폴리펩티드-항체 또는 항체 단편 및 결합된 GM-CSF-의 복합체는 명백하게 항체 단독보다 더 크기 때문에, 앞서 언급한 낮은 k_{off}로 인해 치료적 중화제는 GM-CSF에 결합되지 않은 경우보다 더 느리게 환자의 신체에서 배출 및 제거되게 된다. 따라서, 중화 활성의 크기 뿐만 아니라 생체내에서의 지속 기간도 증가하게 된다.

[0137] 상기 실시예에 따른 결합자에 대해 측정된 중화 활성은 놀라울 정도로 높다. 하기에서 더 자세히 기재하겠지만, GM-CSF-중화 활성은 시험관내에서 TF-1 성장 억제 어세이(Kitamura, T. 등. (1989). J Cell Physiol 140, 323-34)를 사용하여 측정되었다. 중화력의 지표로서 IC_{50} 값이 측정되었으며, IC_{50}은 TF-1 세포 증식의 억제의 최대의 반을 유발하는데 요구되는 상기 실시예 중 어느 하나에 따른 인간 모노클로날 항체 또는 이의 기능성 단편의 농도를 의미한다. 상기 기재된 인간 모노클로날 항-GM-CSF 항체 또는 이의 기능성 단편에 대해, IC_{50} 값은 약 3 x 10^{-10} M, 또는 약 0.3 nM으로 측정되었다. 따라서, 상기 결합분자는 비인간 영장류 및 인간 GM-CSF의 활성의

매우 강력한 중화제이다.

[0138] 요약하면, 본 발명의 인간 모노클로날 항-GM-CSF 항체 또는 이의 기능성 단편은 원하는 항원에 대하여 고도의 식별력을 나타내며, 이 항원에 극히 견고하게 그리고 장시간 동안 결합하며, 결합되어 있는 장시간 동안 매우 강력한 중화 활성을 나타낸다. 이와 동시에, 결합자-항원 복합체는 오래 지속되므로 신체로부터 결합자가 천천히 제거되고, 이에 따라 생체내에서의 원하는 치료적 효과의 지속기간이 길어진다.

[0139] 중화/억제 모노클로날 항-IL-17 항체에 대해서도 유사하게 적용된다.

[0140] 본 발명에 따르면, 용어 "약학적 조성물"은 환자, 바람직하게는 인간 환자에 투여하기 위한 조성물을 의미한다. 바람직하게는, 약학적 조성물에는 담체, 안정화제 및/또는 부형제의 적절한 제형이 포함된다. 바람직한 실시예에서, 약학적 조성물은 비경구적, 경피, 강내, 동맥내, 척수강내 및/또는 비강내 투여를 위한 조성물, 또는 조직으로 직접적인 주사를 위한 조성물을 포함한다. 특히, 상기 약학적 조성물은 주입(infusion) 또는 주사(injection)에 의해 환자에게 투여되는 것이 고려된다. 적합한 조성물의 투여는 다양한 방법, 예를 들면 정맥내, 복강내, 피하, 근육내, 국소 또는 피부내 투여에 의해 시행될 수 있다. 본 발명의 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체를 추가적으로 포함할 수 있다. 적합한 약학적 담체의 예는 본 기술분야에 잘 알려져 있으며, 여기에는 인산 완충 식염수, 물, 오일/물 에멀젼과 같은 에멀젼, 다양한 형태의 습윤제, 멸균 용액, 리포좀 등이 포함된다. 이러한 담체를 포함하는 조성물은 공지된 종래 방법에 의해 제형화될 수 있다. 이러한 약학적 조성물은 대상체에 적합한 용량으로 투여될 수 있다. 투여량 계획은 담당 의사 및 임상적 요인에 의해 결정될 것이다. 의학 분야에서 잘 알려져 있는 바와 같이, 임의의 환자에 대한 투여량은 환자의 크기, 신체 표면적, 나이, 투여될 특정 화합물, 성별, 투여 시간 및 경로, 일반적 건강 상태 및 동시에 투여되는 다른 약물 등과 같은 다수의 인자에 의존한다. 비경구 투여용 제제에는 멸균 수성 또는 비수성 용액, 현탁액 및 에멀젼이 포함된다. 비수성 용매의 예에는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 오일, 및 에틸 올레이트와 같은 주사가능한 유기 에스테르가 있다. 수성 담체는 물, 알코올성/수성 용액, 에멀젼 또는 현탁액을 포함하며, 이는 식염수 및 완충 매질을 포함한다. 비경구 매질은 염화나트륨 용액, 링거 덱스트로스, 덱스트로스 및 염화나트륨, 유당화된 링거액 또는 고정 오일을 포함한다. 정맥내 매질은 유체 영양성 보충액, 전해질 보충액(예컨대, 링거 덱스트로스에 기초한 것들) 등을 포함한다. 또한, 보존제 및 기타 첨가제는 예를 들어 항미생물제, 항산화제, 킬레이트화제, 불활성 가스 등일 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 약학적 조성물은 단백질성 담체, 예를 들면 혈청 알부민 또는 면역글로불린 등을 포함할 수 있으며, 바람직하게는 인간을 기원으로 한 것이다. 본 발명에 따른 약학적 조성물은 상기에서 기재된 화합물 이외에, 상기 약학적 조성물을 사용하고자 하는 용도에 따라, 생물학적으로 활성인 제제를 추가적으로 포함할 수 있다. 이러한 제제는 위장관 시스템에 작용하는 약물, 세포증식억제제로서 작용하는 약물, 고뇨산혈증을 방지하는 약물, 면역 반응을 억제하는 약물(예컨대, 코르티코스테로이드), 염증 반응을 조절하는 약물, 순환계에 작용하는 약물 및/또는 본 기술분야에 공지된 시토킨과 같은 제제일 수 있다.

[0141] 본 명세서에서 정의된 약학적 조성물의 생물학적 활성은 예를 들면 하기의 실시예들, WO 99/54440 또는 Schlereth 등(Cancer Immunol. Immunother. 20 (2005), 1 - 12)에 의해 기재된 바에 따라, 세포독성 어세이에 의해 측정될 수 있다. 본 명세서에 사용된 "효능" 또는 "생체내 효능"은 예컨대 표준화된 NCI 반응 기준을 이용하여 본 발명의 약학적 조성물에 의한 요법에 대한 반응을 나타낸다. 본 발명에 따른 약학적 조성물을 사용한 요법의 성공 또는 생체내 효능은, 그 의도된 목적을 위한 조성물의 유효성, 즉 병적 세포, 예컨대 종양 세포의 감소와 같은 원하는 효과를 야기하는 조성물의 능력을 나타낸다. 상기 생체내 효능은 백혈구 수치, 감별, 형광 활성 세포 분류, 골수 흡인검사를 포함하는 각각의 질환 실체에 대해 확립된 표준 방법에 의해 모니터링될 수 있으며, 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 다양한 질환 특이적 임상 화학 파라미터 및 다른 확립된 표준 방법들이 이용될 수 있다. 또한, 컴퓨터보조 단층촬영, X-선, 핵자기공명 단층촬영(예컨대, 국립 암 연구소-기준에 기초한 반응 평가), 양전자-방출 단층촬영 스캐닝, 백혈구 수치, 감별, 형광 활성 세포 분류, 골수 흡인검사, 림프절 생검/조직학 및 다양한 림프종 특이적 임상 화학 파라미터들(예컨대, 젖산 탈수소효소) 및 다른 확립된 표준 방법들이 이용될 수 있다.

[0142] 본 발명에 따른 약학적 조성물과 같은 약물의 개발에 있어서 맞이하게 되는 다른 주요 장애물은 약동학적 특성의 예측가능한 조절이다. 본 목적을 위하여, 약물 후보의 약동학적 프로파일, 즉, 주어진 상태를 치료하기 위한 특정 약물의 능력에 영향을 주는 약동학적 파라미터의 프로파일이 확립되어 있다. 특정 질환 실체를 치료하기 위한 약물의 능력에 영향을 주는 약물의 약동학적 파라미터에는 반감기, 분포 용적, 간의 초회-통과 대사 및 혈청 결합 정도가 포함되지만, 이에 한정되지 않는다. 주어진 약제의 효능은 전술한 파라미터 각각에 의해 영향받

을 수 있다.

[0143] "반감기"는 투여된 약물의 50%가 대사, 분비 등과 같은 생물학적 과정들을 통하여 제거되는 시간을 의미한다.

[0144] "간의 초회-통과 대사(hepatic first-pass metabolism)"는 약물이 간에 최초 접촉시, 즉 간을 통한 약물의 최초 통과가 이루어지는 동안에, 약물이 대사되는 경향을 의미한다.

[0145] "분포 용적"은 예컨대 세포내 및 세포외 공간, 조직 및 기관 등과 같은 신체의 다양한 구획들을 통한 약물의 보유 정도 및 이러한 구획들 내에서 약물의 분포를 의미한다.

[0146] "혈청 결합 정도"는 약물이 알부민과 같은 혈청 단백질들과 상호작용하고 이에 결합하여 약물의 생물학적 활성의 감소 또는 소실을 야기하는 약물의 경향을 의미한다.

[0147] 또한, 약동학적 파라미터에는 생체이용률, 지체 시간(Tlag), Tmax, 흡수율, 더 많은 개시 및/또는 투여된 약물의 주어진 양에 대한 Cmax가 포함된다.

[0148] "생체이용률(bioavailability)"은 혈액의 구획에 있는 약물의 양을 의미한다.

[0149] "지체 시간"은 약물의 투여와 혈액 또는 혈장에서 약물의 검출 및 측정가능함 사이의 지연된 시간을 의미한다.

[0150] "Tmax"는 약물의 혈중 농도가 최대에 도달한 후의 시간이며, "Cmax"는 주어진 약물을 사용하여 최대로 획득되는 혈중 농도이다. 생물학적 효과에 요구되는 약물의 혈중 또는 조직 농도에 도달하는 시간은 모든 파라미터들에 의해 영향받는다.

[0151] 본 명세서에 사용된 용어 "독성"은 이상 반응(adverse event) 또는 중대한 이상 반응으로 나타나는 약물의 유독한 효과를 가리킨다. 이러한 부작용들은 일반적으로 약물의 내약성의 결핍 및/또는 투여 후 국소적 내성의 결핍을 가리킬 수 있다. 또한, 독성은 약물에 의해 야기되는 기형발생 또는 발암 효과를 포함할 수 있다.

[0152] 본 명세서에 사용된 용어 "안전성", "생체내 안전성" 또는 "내약성(tolerability)"이라는 용어는 투약 직후(국소적 내성) 및 약물의 오랜 복용 기간 동안에 중대한 이상 반응을 유도하지 않는 약물의 투여를 의미한다. "안전성", "생체내 안전성" 또는 "내약성"은 예컨대 치료 및 후속 조치 기간 동안에 정기적인 시간 간격으로 평가될 수 있다. 측정에는 임상 평가, 예컨대 기관 징후발현, 및 실험실 검사결과 이상의 스크리닝이 포함된다. 임상 평가가 수행될 수 있으며, NCI-CTC 및/또는 MedDRA 표준에 따라 기록되고/코드화되는 정상적인 발견으로 벗어날 수 있다. 기관 징후발현은 알레르기/면역학, 혈액/골수, 심부정맥, 응집 및 예컨대 이상 반응에 대한 공통 용어 기준(Common Terminology Criteria) v3.0(CTCAE)에 제시된 것과 같은 기준을 포함할 수 있다. 테스트될 수 있는 실험실 파라미터에는 예를 들면 혈액학, 임상 화학, 응집 프로파일 및 소변 분석 및 혈청, 혈장, 림프구 또는 척수액, 분비액 등과 같은 다른 체액들의 검사가 포함된다. 따라서, 안전성은 예컨대 신체 검사, 영상 기술(즉, 초음파, X-선, CT 스캔, 자기공명영상(MRI)), 기술적 장치에 의한 다른 측정(예컨대, 심전도), 활력 징후에 의하여, 실험실 파라미터를 측정하고 이상 반응을 기록함으로써 평가될 수 있다. 본 명세서에 사용된 용어 "유효한 비독성 투여량"은 주요한 독성 효과가 없거나 또는 본질적으로 없이 병적 세포의 감소, 종양의 제거, 종양의 수축 또는 질환의 안정화를 야기하기에 충분히 높은, 본 명세서에서 정의된 이중특이적 단일 사슬 항체의 허용 투여량을 가리킨다. 상기 유효한 비독성 투여량은 예컨대 본 기술분야에 공지된 투여량 단계적 확대 연구에 의하여 결정될 수 있으며, 이는 심각하고 불리한 이상 반응(투여량 제한적 독성, DLT)을 유도하는 투여량 미만이어야 한다.

발명의 효과

[0153] 본 발명의 약학적 수단 및 방법은 특히 관절염의 치료에 관한 것이지만, 다발성 경화증, 건선 및 폐 염증, 예컨대 천식 및 만성 폐쇄성 폐 질환(COPD)을 포함하는 다른 염증성 질환에도 적용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0154] 본 출원은 하기와 같이 도시된 도면들을 포함한다.

도 1: 만성 SCW 염증에서 관절 팽창에 대해, GM-CSF 중화 mAb 22E9 (A), IL-1β 중화 mAb 1400.24.17 (B), 및 TNFα 길항제 에타너셉트 (C)에 의한 처리의 효과. 관절염은 실시예의 방법에 기재된 바에 따라 유도되었다. 14, 17, 21 및 24일째에 300 mg의 투여량으로 복강내에 처리되었다. 염증은 무릎으로 ^{99m}Tc 흡수에 의해 측정되었으며, 우측(관절염 무릎)/좌측(PBS 대조군 무릎) 비율로 표현되었다. 1.10을 초과하는 비율은 관절 팽창으로

여겨졌다. Mann-Whitney U-테스트에 군들이 비교되었다 (* 0.05 > p > 0.01; ** 0.01 > p > 0.001); n = 군 당 7.

도 2: 활막으로 염증성 세포의 유입(A) 및 연골 손상(B)에 대해, GM-CSF 중화 mAb (22E9 mAb), IL-1β 중화 mAb (1400.24.17) 및 TNFα 길항제 에타너셉트에 의한 처리의 효과. 질환 유도 및 처리는 실시예의 방법에 기재된 바에 따라 수행되었다. 마우스는 28일째에 안락사되었으며, 조직학적 구획이 준비되고 시각적으로 스코어링되었다. Mann-Whitney U-테스트, n=7에 의해 군들이 대조군 처리와 비교되었다.

도 3: GM-CSF 중화 mAb (22E9) (A), α-IL-1β mAb (1400.24.17) (B), TNFα 길항제 에타너셉트 (C) 및 대조군 mAb (D)에 의해 처리된, 만성 SCW 관절염을 갖는 마우스의 대표적인 무릎의 현미경사진. 최초 SCW 관절염의 유도로부터 28일 후에 구획이 제조되었으며, 사프라닌 O/패스트 그린으로 염색되었다. P = 무릎뼈; F = 대퇴골; C = 연골. (A) 및 (B)에서 잘 보존된 연골이 관찰되었으며, (C) 및 (D)에서 연골 프로테오글리칸 손실 및 침식이 관찰되었다. 원 배율은 200x이었다.

도 4: SCW 관절염의 첫번째 유도로부터 21일째에 설정된 무릎뼈의 1시간-배양으로부터 상청액 중 루미넥스 비드(Luminex beads)에 의해 측정된 국소 IL-1β (A) 및 KC (GroαS 등가) (B)의 수준. 도 1에 기재된 바에 따라 처리되었다.

도 5: 대조군 항체 또는 항-GM-CSF로 처리된 야생형 및 IL-17R-결핍 마우스에서 만성 SCW-유도 관절염. (A) 야생형(WT) 및 IL-17R-/- 마우스에서 관절 팽창. 이미 보여진 바와 같이, WT 마우스에서 22, 23 및 28일째에 대조군-처리 마우스와 항-GM-CSF-처리 마우스 사이에 관절 팽창에서 유의적인 차이가 발견되었다. (B) 28일째에 관절 염증 및 연골 프로테오글리칸(PG) 파괴. (C) 대조군 항체로 처리된, WT 마우스의 무릎뼈 및 대퇴골의 연골층에서 연골 손상 (침식 및 연골세포 사멸). (D) 항-GM-CSF 항체로 처리된 IL-17R-/- 마우스에서 연골 손상의 감소. (E) 대조군 항체로 처리된, WT 마우스의 무릎뼈 및 대퇴골의 연골층에서 연골 PG 손실. (F) 항-GM-CSF로 처리된, IL-17R-/- 마우스에서 연골 PG 손실. 자세한 사항은 도 3 참조. 데이터는 군 당 적어도 6마리의 마우스의 평균±SD로서 표현된다. 실험은 한 번 반복되었으며, 유사한 결과를 나타내었다. * P < 0.01, 대조군 항체로 처리된 WT 대조군 마우스와 비교됨, ** P < 0.01, 항-GM-CSF 항체로 처리된 IL-17R-/- 마우스와 비교됨, Mann-Whitney U-테스트.

도 6: 처리를 시작한지 10일 후에, 콜라겐-유도 관절염을 갖는 마우스의 육안적 스코어. 관절염의 첫번째 징후가 나타남에 따라(이는 도 6에서 1일째에 대응함), 마우스는 (i) 항-IL17 모노클로날 항체: mAb421 1.5 mg/kg 단독, (ii) 항-GM-CSF 모노클로날 항체 22E9 3 mg/kg 단독, 또는 (iii) mAb421 1.5 mg/kg 및 22E9 3 mg/kg의 조합의 하나의 단일 투여에 의해 복강내 처리되었다 (이것도 또한 도 6에서 1일째에). 22E9의 사용에 의한 GM-CSF의 중화와 조합하여 mAb421에 의해 IL-17을 차단하는 것은 콜라겐-유도 관절염의 임상적 스코어를 유의적으로 감소시킨 반면, mAb421 또는 22E9 단독의 처리는 질환의 중증도를 유의적으로 감소시키지 않았다. 마우스에서 관절염 징후가 덱사메타손(2 mg/kg, 양성 대조군)의 복강내 투여로부터 2 내지 3일 후에 사라졌다. IgG2A 항체(이소타입 대조군)가 음성 대조군으로서 사용되었다. 그 결과는 n=9-10 마우스/군의 평균+SEM이다. * P < 0.05, ** P < 0.01 대 IgG2A 이소타입 음성 대조군-처리 마우스, 단방향 ANOVA 및 Dunnett의 다중 비교 테스트에 의해 측정됨.

도 7: 22E9 3mg/kg (A), mAb421 1.5mg/kg (B), 22E9 3mg/kg 및 mAb 421 1.5mg/kg의 조합 (C), 또는 이소타입 대조군 (D)의 단일 투여로부터 10일 후의 대표적인 관절 구획. 관절은 4% 포르말린에서 고정되고, 탈회되고, 구획되고, 헤마톡실린/에오신으로 염색되었다. 이소타입 대조군 래트 IgG2a를 투여받은 마우스(도 7D)는 활액막에서 다량의 세포 침투와 함께 뚜렷한 관절 염증(*), 및 연골 및 골 침식과 함께 관절 파괴(↑)를 나타낸다. 중증도가 약간 덜하지만, 22E9 3 mg/kg (도 7A) 또는 mAb 421 1.5 mg/kg (도 7B)의 용량으로 투여받은 마우스도 역시 심각한 염증 및 관절 파괴를 나타낸 반면, 22E9 3 mg/kg과 함께 mAb421 1,5 mg/kg의 조합된 처리의 단일 투여를 받은 마우스는 매우 유의적으로 감소된 염증(*) (도 7C), 및 도 7C에서 (↑)에 의해 보여지는 정상 연골 표면에 가까운 관절 완전성의 우수한 보존을 나타내었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0155] 하기 실험의 자세한 내용은 당업자가 본 발명의 요지를 더 자세하게 이해할 수 있도록 할 것이다.

[0157] **동물**

[0158] 수컷 C57Bl/6 마우스는 Charles River(Sulzfeld, 독일)에서 획득되었다. IL-17R-결핍 마우스는 J. Peschon, Amgen(미국 워싱턴주 시애틀)에 의해 제공되었다. 마우스는 필터 탑 케이지(filter top cage)에 수용되었으며, 물과 음식은 임의로 제공되었다. 마우스는 10-12 주령의 것이 사용되었다. 모든 동물의 처리절차는 기관 윤리 위원회로부터 승인받았다.

[0160] **SCW 제제 및 SCW 관절염의 유도**

[0161] 화농성연쇄상구균 T12 유기체가 Todd-Hewitt 브로스(broth)에서 밤새 배양되었다. 세포벽은 van den Broek 등의 Am J Pathol 133(1), 139-149 (1988)에 기재된 바에 따라 제조되었다. 생성된 10,000 x g 상청액이 본 실험을 하는 동안 사용되었다. 제제는 11% 무람산을 포함하였다. Joosten 등의 Ann Rheum Dis 59(3),196-205 (2000)에 기재된 바에 따라, 나이브(naive) 마우스의 우측 무릎 관절로 6 ml 인산완충식염수(PBS) 중 25μg SCW (람노스(rhamnose) 함량)를 관절내(i.a.) 주사함으로써, 일축성(unilateral) 관절염이 유도되었다. 만성 연쇄상구균세포벽(SCW)-유도 관절염을 생성하기 위하여, 우측 무릎 관절에 대한 관절내 주사가 0, 7, 14 및 21일째에 수행되었다. 이러한 반복된 주사는 만성 관절염을 야기하였다. 대조군으로서, PBS가 좌측 무릎 관절에 주사되었다.

[0163] **시약 및 처리 프로토콜**

[0164] GM-CSF는 래트 mAb 22E9(MM500CS, Perbio Science, Bonn, 독일)를 사용하여 중화되었다. 에타너셉트(etanercept)(Enbrel®; Wyeth Pharma, Munster, 독일)가 TNFα 차단을 위해 사용되었다. CIA를 포함하는 다양한 마우스 모델에서 이러한 인간 가용성 TNF 수용체 Fc 융합 단백질의 유효성이 몇몇 연구에서 보고되었다. 래트 IgG2a 이소타입(isotype) 대조군(BLD-400516-bulk, Biozol Diagnostica, Eching, 독일) 및 Humira®(Abbott, Wiesbaden-Delkenheim, 독일)이 이소타입 대조군으로서 사용되었다. IL-1β는 래트 항-마우스 IL-1β mAb 1400.24.17(MM425, Perbio Science, Bonn, 독일)에 의해 중화되었다. 300 mg의 용량으로 복강내 투여되는 모든 처리는 4회 이루어졌다: i) 3번째 재활성화(reactivation)에 앞서 2시간(14일째), ii) 17일째, iii) 4번째 재활성화에 앞서 2시간(21일째), 및 iv) 최초로 질환이 유도된 후 24일째.

[0166] **관절 팽창의 측정**

[0167] SCW 관절염 동안 관절 팽창은 Kruijsen 등의 Agents Actions 11(6-7),640-2 (1981)에 기재된 ^{99m}Tc-흡수 방법에 의해 정량화되었다. 이러한 입증 방법은 국소적으로 증가된 혈류 및 조직 팽창에 기인한 염증 부위에서 방사성 동위원소의 축적을 계산하는 외부 감마선에 의해 측정한다. 팽창의 중증도는 좌측 무릎 관절(대조군)에 대해 우측 무릎 관절(염증이 생긴 것)에서 ^{99m}Tc-흡수의 비로서 표현된다. 1.10을 초과하는 모든 값은 관절 팽창으로 간주되었다.

[0169] **시토킨 및 케모킨 측정**

[0170] IL-1β, IL-6, TNFα, RANTES, KC 및 MIP-1α를 포함하는 수개의 시토킨 및 케모킨의 수준은 무릎뼈 세척(washout)에서 측정되었다. 주위에 활액 조직이 있는 무릎뼈가 염증이 생긴 무릎 관절로부터 분리되었으며, Joosten 등의 J Immunol 165(11), 6553-8 (2000)에 이전에 기재된 바에 따라 실온에서 1시간 동안 0.1% BSA를 함유하는 RPMI 1640 배지에서 배양되었다 (200 ml/무릎뼈). 그 후에, 상청액이 수확되었으며, 1000 x g에서 5분 동안 원심분리되었다. 시토킨 및 케모킨의 수준은 루미넥스 다중-분석 기법(Luminex multi-analyte technology)을 사용하여 측정되었다. 본 발명자는 멀티플렉스(multiplex) 시토킨 및 케모킨 키트와 조합하여 BioRad(Munich, 독일)의 BioPlex 시스템을 사용하였다.

[0172] **조직학적 분석**

[0173] 마우스는 28일째에 경추탈골에 의해 희생시켰다. 전체 무릎 관절이 제거되었으며, 5% 포름산에서의 탈회 과정과 파라핀 포매를 위한 과정 전에 7일 동안 4% 포름알데히드에서 고정되었다. 조직 구획(7μm)이 헤마톡실린/에오신(H/E) 또는 사프라닌 O/패스트 그린(SO)으로 염색되었다. 무릎 관절에서 조직병리학적 변화는 무릎뼈/대퇴골

영역에서 140μm 떨어져 위치된 5개의 반-연속(semi-serial) 구획상에서 스코어링되었다. 스코어링은 하기의 파라미터를 사용하여 두 명의 별도의 관찰자에 의해 코드화된 슬라이드 상에서 수행되었다. H/E 염색된 슬라이드에서, 활액막을 침투하는 세포의 양은 0-3으로 스코어링되었다. 연골 손상은 0-3의 등급으로 SO 염색된 슬라이드에서 스코어링되었다.

[0175] **통계학적 분석**

[0176] 실험군 사이의 차이는 Mann-Whitney U 테스트를 사용하고 GraphPad Prism 4 소프트웨어를 사용하여 테스트되었다. 유의성 판독은 하기와 같이 분류되었다: * = 0.05 > p > 0.01; ** = 0.01 > p > 0.001; 및 *** = p < 0.001.

[0178] 하기의 실시예는 당업자로 하여금 본 발명의 요지를 상세하게 이해할 수 있도록 할 것이다.

[0179] **실시예 1:**

[0180] **전신적(systemic) GM-CSF 중화는 만성 SCW 모델에서 관절 팽창을 감소시킨**다.

[0181] C57Bl/6 마우스에서 SCW 관절염의 만성 시기 동안, GM-CSF(mAb 22E9), TNFα(에타너셉트) 또는 IL-1β(mAb 1400.24.17)를 중화시키는 생물학적 제제에 의한 치료 후에 관절 팽창에 대한 효과가, 무릎 관절로 ^{99m}Tc의 차등 흡수에 의해 15, 16, 22, 23 및 28일째에 조사되었다. 그 결과는 관절염 SCW-주사된 무릎과 PBS-주사된 대조군 무릎 사이의 ^{99m}Tc 흡수의 비로서 나타난다.

[0182] GM-CSF-중화 항체의 전신 투여는 관절 팽창을 강하고 유의적으로 감소시켰으며, 16, 22, 23 및 28일째에 각각 p-값 0.018, 0.004, 0.004 및 0.002로 나타났따 (도 1A). IL-b 중화는 무릎 대 대조군 무릎의 ^{99m}Tc 흡수에서 유의적인 감소가 22일째(p=0.011)와 23일째(p=0.001)에서만 관찰되었을지라도 (도 1B), IL-b 중화도 역시 관절 팽창을 감소시켰다. 예상된 바와 같이, 인간 뿐만 아니라 뮤린 TNFα도 중화시킬 수 있는 에타너셉트에 의한 TNFα 차단은 만성 SCW 모델에서 관절 팽창에 대해 효과를 나타내지 않았다 (도 1C). 반면, 에타너셉트는 이러한 질환 모델의 급성 시기에서 활성인 것으로 이미 나타났다. 따라서, 만성 SCW 관절염 동안 GM-CSF의 중화는 IL-1β의 중화보다 더 강한 것으로 나타났으며, 그의 효과는 28일째까지, 즉 항체를 마지막으로 투여한 후에 4일째 지속되었다. 두번째 독립된 연구로부터, 만성 SCW 모델에서 관절 팽창의 감소에 대한 GM-CSF 중화의 효능이 확인되었다.

[0184] **실시예 2:**

[0185] **GM-CSF 중화는 활막으로의 염증성 세포의 유입을 감소시키고, 연골의 손상을** 감소시킨다.

[0186] 다른 군의 마우스의 관절로부터 조직병리학적 구획이 28일째 실험의 종료 이후에 준비되었다. 활막으로의 염증성 세포의 유입 정도와 연골의 손상 정도는 블라인드된 H/E-염색 조직 구획과 SO-염색 조직 구획상에서 두 명의 관찰자에 의해 독립적으로 스코어링되었다.

[0187] 총 세 개의 처리, 즉 mAb 22E9에 의한 GM-CSF 중화, mAb1400.24.17에 의한 IL-1β 중화, 및 에타너셉트에 의한 TNFα 차단은 활막으로의 염증성 세포의 유입을 유의적으로 감소시키는데 효과적이었다 (도 2A). TNFα 차단은 유의적으로 효과적이기는 하였으나, 대조군에 대해 p-값이 각각 0.042, 0.004 및 0.001인 GM-CSF 또는 IL-1β 중화에 비해서는 덜 강한 것으로 나타났다. 또한, 에타너셉트-처리된 마우스의 무릎 관절에서 염증성 세포의 유입이 감소되었음에도 불구하고, 연골의 완전성(integrity)은 보존되지 않았다 (도 2B). 반면, GM-CSF 중화는 연골의 손상으로부터 유의적으로 보호되었다 (p=0.02; mAb 22E9 대 이소타입 대조군 mAb) (도 2B). 이미 보고된 바와 같이, IL-1β 중화는 연골의 손상에 대한 보호에 매우 강하게 작용하였다 (p=0.004, 항-IL-1β 대 대조군; 도 2B).

[0188] 연골의 완전성에 대한 다양한 처리의 영향은 3개의 처리군 각각에 대해 한 마리의 대표 마우스로부터 무릎 관절의 사프라닌 O/패스트 그린 염색의 현미경 사진을 도시한 도 3에 나타난다. mAb 22E9-처리된 마우스에서 관찰되는 강한 연골 염색 및 우수한 조직 보존(도 3A)은 연골 완전성의 보호에 대한 GM-CSF 중화의 효과를 강조한다.

반면, 이소타입 대조군 항체를 수용한 마우스의 연골(도 3D)은 관절연골의 주성분 중의 하나인 프로테오글리칸의 손실을 입증하는 염색 강도의 감소 및 파괴적인 침식을 보여준다. 이와 유사하게, 프로테오글리칸의 손실 및 증가된 연골 손상이 에타너셉트-처리 마우스에서 관찰된다 (도 3C). 이는 TNFα의 독립성을 보여주는 관절염의 만성 SCW 모델에서 앞선 연구와 일치한다. IL-1β는 관절염의 실험 모델에서 연골에 대해 현저한 파괴 효과를 갖는 것으로 알려져 있다. 따라서, 항체에 의한 IL-1β의 중화는 본 발명자의 본 연구에서 연골에 대해 확연한 보호 효과를 갖는 것이다 (도 3B).

[0190] **실시예 3:**

[0191] **GM-CSF 중화는 무릎 관절에서 IL-1β 및 KC의 생성을 감소시킨다.**

[0192] GM-CSF의 보호 효과 및 IL-1β에 대한 그의 관계를 보다 잘 이해하기 위하여, 본 발명자는 무릎뼈 세척(washout)에서 다양한 시토킨 및 케모킨의 농도를 조사하였다. 영향받지 않은 대조군 무릎(좌측)에서의 수준은 이전 실험에서 검출 한계 미만인 것으로 반복되어 나타났기 때문에, 관절염 (우측)무릎만 관찰되었다.

[0193] mAb 22E9에 의한 GM-CSF 중화는 이소타입 대조군 항체가 처리된 마우스의 관절에서 검출된 수준에 비해 국소적 IL-1β의 유의적인 감소를 야기하였다 (p=0.042; 22E9-처리군 대 대조군) (도 4). 에타너셉트에 의한 TNFα 차단은 관절에서 IL-1β의 수준에 대해 영향을 미치지 않은 반면 (도 4), 예상되는 바와 같이 IL-1β-중화 mAb를 수용한 마우스에서 IL-1β의 수준은 기준선에 가까웠다. 케모킨 KC (마우스 GRO-α)의 수준은 3개의 모든 처리에 의해 관절염 무릎 관절에서 유의적으로 감소되었다 (22E9 대 대조군의 경우 p=0.0047; 에타너셉트 대 대조군의 경우 p=0.0007; 항-IL-1β 대 대조군의 경우 p=0.007). IL-6 및 RANTES의 국소적 수준은 조사된 어떠한 처리에 의해서도 영향받지 않았다 (데이터는 나타내지 않음). IL-2, TNFα 및 GM-CSF의 수준은 어세이의 검출 한계 미만, 예컨대 10 pg/ml 미만이었다.

[0195] **실시예 4:**

[0196] **IL-17 신호(signaling)의 부재하에서 GM-CSF 중화는 연골 파괴에 대한 보호** 효과를 증대시킨다.

[0197] GM-CSF 중화는 IL-1β 중화에서 관찰되는 것과 유사한 효능으로 연골을 손상으로부터 보호하였으며 관절 팽창을 감소시켰다. 이어서, 만성 SCW 관절염에서 항-GM-CSF mAb를 사용한 유사한 연구가 IL-17R이 결핍된 마우스에서 수행되었다. IL-17R-결핍은 만성 SCW 관절염 동안 억제된 관절 팽창 및 연골 파괴를 야기한다 (도 5A). 이러한 관절염 모델에서 GM-CSF 및 IL-17 신호 모두의 조합된 표적화(targeting)는 관절 팽창의 억제를 강하게 하고 증대시켰다 (도 5A). 항-GM-SCF 처리 뿐만 아니라 IL-17R-결핍도 세포 유입의 감소를 야기하였지만, 조합된 표적화는 유의적으로 감소된 관절 염증을 야기하지는 않았다 (도 5B). 그러나, 흥미롭게도 프로테오글리칸 손실 및 연골 손상(연골세포 사멸 및 침식)은 항-GM-CSF 처리된 IL-17R-결핍 마우스에서 현저하게 감소되었다 (도5B-E). 이러한 결과는 항-GM-CSF의 연골에 대한 보호 효과는 T 세포 시토킨 IL-17의 추가적 표적화에 의해 더욱 증대될 수 있다는 것을 입증한다.

[0199] **실시예 5:**

[0200] 관절염의 만성 재발성 SCW 마우스 모델은 인간의 만성 RA의 뒤의 단계에서 전형적인 관절의 심각한 파괴를 특징으로 한다. 관절염의 CIA 마우스 모델 및 급성 SCW 모델에서 관찰되는 것과 달리, TNFα 중화는 IL-1β가 주요한 병원성 역할을 하는 것으로 나타나는 만성 SCW 관절염을 제어하는데 더 이상 효과적이지 않다 (72). TNFα의 독립성 및 만성 SCW 관절염의 연골 파괴에서 IL-1β에 대한 중요한 역할은 본 발명자의 연구에서 확인되었다.

[0201] GM-CSF 차단은 이러한 특정 모델에서 처음으로 연구되었으며, 300μg 용량의 항체가 질환의 만성 시기에서 복강내(i.p.) 투여되었을 때, SCW-주사된 무릎에서 관절 팽창 및 연골 파괴에 대해 현저한 억제 효과를 나타낸다는 것이 발견되었다. 이러한 점으로부터, (상대 교정(allometric correction) 이후의) 인간에서 약 1 mg/kg의 항체 투여량과 등가인 투여량으로 마우스에서 항-GM-CSF 항체는 관절염 무릎 관절에서 GM-CSF 수준을 교정하는데 충분하다는 것이 입증된다. 만성 관절염 모델에서 GM-CSF 중화의 치료적 효능은 현저하였다. 관절 팽창은 항-IL-1β 처리를 한 것보다 항-GM-CSF 처리를 한 것에서 더 잘 제어되었으며, TNFα 차단은 비효과적이었다. TNFα의 중화는 염증성 세포의 유입 및 KC 케모킨 수준에 대해 효과를 갖기 때문에, 이상 TNFα 생성은 만성 SCW 관절염

에서 여전히 일부 역할을 할 수 있다. 그러나, 이러한 만성 질환이 진행됨에 있어서 TNFα의 역할은 질환의 급성 시기와 대조적으로, 그리고 관절염의 다른 마우스 모델과 대조적으로 약화된다. 연골 보호와 관련하여, 항-GM-CSF 및 항-IL-1β 처리 모두는 매우 효과적이었다. GM-CSF 및 IL-1β의 작용 사이의 상호의존도는 관절염의 다른 모델에서 이미 보고되었다. mBSA 주사 이후에 IL-1-유도 관절염의 이러한 모델에서, GM-CSF는 중요한 병원성 역할을 한다. GM-CSF KO 마우스에서와 같이, 또는 WT 동물에서 GM-CSF 중화에 의한, GM-CSF의 부재는 관절염을 현저하게 감소시켰다. 그러나, 만성 SCW 관절염 동안, GM-CSF는 IL-1β의 업스트림(upstream)에서 작용하는 것으로 여겨지는데, 그 이유는 그의 중화가 관절염 관절에서 IL-1β 수준을 감소시켰기 때문이다. 활성화된 대식세포 및 다른 GM-CSF-자극된 면역세포에 의한 IL-1 생성의 이러한 감소는, 항-GM-CSF 처리가 본 발명의 모델에서 연골에 대해 보호 효과를 갖는 이유를 또한 설명할 수 있다. 급성 SCW 모델에서, 본 발명자는 또한 항-GM-CSF 항체가 IL-1β 수준을 감소시킬 수 있는 반면 TNFα 차단제 에타너셉트는 IL-1β 수준을 감소시킬 수 없다는 점을 발견하였다. RA의 CIA 마우스 모델에서, GM-CSF 차단은 매우 유의적인 면에서 IL-1β 및 TNFα의 수준을 모두 감소시켰다.

[0202] GM-CSF 발현이 전사인자 NF-kappaB 등의 활성화를 통해 TNFα 및 IL-1β와 같은 전-염증성 시토킨에 의해 다양한 면역세포에서 강하게 유도되는 경우, 시토킨의 계층(hierarchy)은 염증의 이후의 단계에서 뒤집어지는 것으로 나타나며 GM-CSF는 TNFα 및 IL-1β 생성, 및 아마도 다른 시토킨 및 케모킨의 제어를 대체한다. 관절염 조직에서 TNFα 및 IL-1β의 억제와 동시에, GM-CSF 차단은 또한 GM-CSF-의존성 면역세포, 예컨대 과립구, 호중구, 대식세포의 활성 및 생존율을 감소시키는 기능을 갖는다. GM-CSF는 IL-1β 및 TNFα 발현을 직접적으로 유도할 뿐만 아니라, 선천적 면역계의 복수의 세포의 조정된 항-세포자멸 작용 및 지속적인 활성화를 야기하며, 이에 따라 IL-1β 및 TNFα 생성을 간접적으로 증대시킨다는 것이 고려될 수 있다. 세포 주기 및 생존에 대한 상기 효과는 생체내 GM-CSF 중화가 관절염 관절에서 전체 세포질 뿐만 아니라 순환하는 세포의 수에 대해 현저한 감소를 가져온 mBSA 관절염 모델에서 입증되었다.

[0204] **실시예 6:**

[0205] WT 동물에서 만성 SCW 관절염 동안 GM-CSF를 차단하는 것 이외에, IL-17R-결핍 마우스에서 실험들이 또한 수행되었다. IL-17은 Th17 세포에 의해 생성되며, 이는 동시에 TNFα 및 GM-CSF를 생성할 수 있다. TNFa의 존재하에서, IL-17은 활막세포를 촉발시켜 GM-CSF를 생성하며, 이는 GM-CSF의 IL-17의 업스트림에 대한 역할을 제시한다. 한편, LPS에 의해 자극된 GM-CSF-처리 골수 세포는 IL-23을 생성하며, 이는 IL-17-생성 Th17 세포에 대해 중요한 생존인자이다. 본 발명 이전에는 IL-17 및 GM-CSF의 조합된 차단이 시험관내 또는 생체내에서 연구된 적이 없었다. 본 발명자의 본 연구는 GM-CSF 및 IL-17 경로 모두를 동시에 차단하는 것이 단일 경로를 차단하는 것에 비해 상대적으로 관절 팽창의 억제가 우수하며 연골 파괴의 보호를 증가시킨다는 점을 최초로 나타내었다. 연골에 대한 이러한 강한 효과는 IL-17 및 (GM-CSF-유도된) IL-1β 사이의 상승 효과에 의해 설명될 수 있으며, 그 이유는 이러한 두 개의 시토킨이 환자의 활막에 의한 시토킨 생성과 골관절염 연골에서 PGE_2 및 NO 생성에 대해 상승 효과를 이미 보여주었기 때문이다. 본 연구 및 이전의 연구는 GM-CSF의 중화가 인간 RA 환자에서 뿐만 아니라 TNFα 차단에 대해 더 이상 반응하지 않거나 최초에 반응하지 않았던 환자에서도 치료적 능력을 가질 수 있다는 점을 강하게 입증한다. 또한, 이러한 연구는 항-IL-17과 조합된 항-GM-CSF 처리가 RA 뿐만 아니라 다른 자가면역 및 염증성 질환 환경에서도 현저한 치료적 효과를 갖는다는 점을 입증한다.

[0207] **실시예 7:**

[0208] 콜라겐-유도 관절염(CIA)은 연골 콜라겐 유형 II(CII)에 대한 T 세포- 및 항체-매개 자가면역 반응성에 기초하여 널리 받아들여진 관절염 마우스 모델이다. 이러한 모델은 인간 RA와 수 개의 임상적, 조직병리학적 및 면역학적 특징을 공유하며, 활액 염증 뒤의 심각한 연골 및 골 침식을 주 특징으로 한다. 여기에 기재되는 본 연구의 목적은 CIA 마우스 모델 시스템에서 GM-CSF 중화 화합물 및 IL-17 중화 화합물의 조합 투여의 치료적 효과에 대한 평가였다. 특히, (i) 항-IL-17 모노클로날 항체(mAb 421) 단독, (ii) 항-GM-CSF 모노클로날 항체(mAb 22E9) 단독, 및 (iii) 두 개의 항체의 조합을 사용하여 마우스를 처리한 효과는 음성 대조군(IgG2A) 및 양성 대조군(덱사메타손)과 비교하여 CIA의 발생 후에 연구되었다. 항-IL-17 항체 mAb421는 R&D Systems에서 획득된 반면, mAb 22E9는 Perbio Science에서 획득되었다. 래트 IgG2a 이소타입 대조군 항체는 Biolegend에서 유도되었다. 모든 항체는 -80℃에서 저장되었다. 덱사메타손은 Centrafarm에서 유도되었으며, 실온에서 저장되었다. 모

든 화합물이 투여를 위해 멸균 PBS에서 희석되었다.

[0209] CIA 마우스에 대해 상기 기재된 화합물에 의한 치료 효과는 7주 연구 설계에서 연구되었다. 0일째에, 수컷 DBA/1J 마우스는 이소플루란 마취하에 소의 CII 100㎍으로 꼬리의 기부에서 면역되었다. 21일째에, 마우스는 인산완충식염수(PBS)에 용해된 100㎍의 CII의 복강내 보강 주사를 맞았으며, 관절염의 개시가 상기 보강 주사로부터 수일 후에 발생되었다. 0.05M 아세트산 중 2 mg/ml 농도의 소 유형 II 콜라겐(CII)이 동일한 부피의 프로인트 완전 아쥬반트(2 mg/ml의 결핵균 균주 H37Ra)에서 에멀젼화되었다. 관절염(스코어 0.25 이상)의 첫번째 징후에서, 마우스는 순차적으로 하기 기재된 다른 실험군들에 배정되었으며, 연구의 다른 10일 동안 관찰되었다.

[0210] 마우스는 적색 및/또는 팽창이 유의적인 변화가 발가락 또는 발의 다른 부분에서 관찰되었을 때 관절염을 갖는 것으로 여겨졌다. 각각의 발에서 관절 염증이 시각적으로 스코어링되었으며, 이 때 R. Smeets 등의 Arthritis Rheum 2003에 0 = 염증이 없음, 1 = 약한 염증, 1.5 = 뚜렷한 염증, 및 2 = 심각한 염증이라고 기재된 바와 같이, 발 당 0-2 등급을 사용하여 동물 당 최대 스코어 8(관절염 징후를 갖는 4개의 발 및 각각 2까지의 등급)을 사용하였다. 스코어링은 실험군에 대한 지식이 없는 독립적인 관찰자들에 의해 21일째부터 45일째까지 일주일에 3회 수행되었다.

[0211] 항체는 관절염 징후의 발생에 대해 하나의 단일 용량으로서 투여되었다. 덱사메타손은 일주일에 3회(월요일, 수요일 및 금요일) 복강내로 2 mg/kg의 투여량이 주어졌다. 본 연구의 35일째까지 관절염의 어떠한 징후도 나타내지 않는 마우스는 비-반응자로 간주되었으며, 추가적인 연구 분석으로부터 제거되었다.

[0212] 이전의 실험 결과에 기초하여, 본 연구에 대한 투여량은 1.5 mg/kg mAb421로 설정되었다. 항-GM-CSF 항체 22E9의 투여량은 3mg/kg으로 설정되었다. 이러한 투여량을 사용하여 본 연구를 수행하여, 콜라겐-유도 관절염 동안 IL-17 및 GM-CSF의 조합된 차단 효과를 평가하였다. 덱사메타손이 양성 대조군으로 사용되었으며, 래트 IgG2a 항체가 음성 대조군으로서 사용되었다. 또한, 본 연구에는 항-IL-17 (mAb421), 항-GM-CSF (22E9) 및 이들의 조합을 상기 기재된 투여량 모두를 사용하여 처리하기 위한 실험군이 포함되었다.

[0213] 실험군:

[0214] mAb421 1.5 mg/kg + 래트 IgG2a 3 mg/kg (총 4.5 mg/kg)

[0215] 22E9 3 mg/kg + 래트 IgG2a 1.5 mg/kg

[0216] mAb421 1.5 mg/kg + 22E9 3 mg/kg

[0217] 래트 IgG2a 15 mg/kg

[0218] 덱사메타손 2 mg/kg

[0220] 도 6에 도시된 바와 같이, 22E9의 사용에 의한 GM-CSF의 중화와 mAb421에 의한 IL-17의 중화의 조합은 콜라겐-유도 관절염의 임상적 스코어를 유의적으로 감소시켰다. 반면, mAb421 또는 22E9 단독에 의한 처리는 질환의 중증도를 유의적으로 감소시키지 않았다. 관절염 징후는 덱사메타손(2 mg/kg, 양성 대조군)의 복강내 투여로부터 2 내지 3일 후에 없어졌다. IgG2A 항체-처리 마우스(음성 대조군)는 관절염 중증도의 진전을 명백하게 보여주었다.

[0221] 조직병리학적 분석을 위해, 앞발과 뒷발(좌측 및 우측; 4개의 샘플/마우스)이 준비되었다. 상기 발은 4% 포름알데히드 용액에서 고정되었다. 3일 동안 EDTA 또는 표준 탈회 용액에서 탈회된 후에, 발은 파라핀(paraplast®)에서 포매되고, H&E로 염색되고, 광학 현미경으로 평가되었다. 조직학적 평가는 발의 말단 관절(족근/발목 및 발가락)로 한정되었다. 조직학적 평가는 발의 더 낮은 관절(발목뼈/팔목뼈, 발가락)의 만성 관절염에 아급성(subacute)을 나타내었다. 관절염은 활막의 두꺼워짐(활액 과형성), 관절내 삼출물 및 관절낭에서 주로 현저한 혼합된 세포 침투를 특징으로 한다. 뚜렷한 경우에, 염증성 세포 반응은 또한 결합 조직 및 힘줄에서 관찰되었다. 또한, 더 만성인 경우에, 주로 단핵 세포 및 섬유 조직으로 이루어진 통상의 육아 조직이 관찰되었다. 말단 관절의 연골의 침식적 변화가 또한 발견되었다. 대부분의 경우에, 하나보다 많은 관절들이 영향을 받았다 (다발성 관절염). 도 7은 22E9 3mg/kg (A), mAb421 1.5mg/kg (B), 22E9 3mg/kg 및 mAb 421 1.5mg/kg의 조합 (C), 또는 이소타입 대조군 15mg/kg (D)의 단회 투여로부터 10일 후의 대표적인 관절 구획을 나타낸다. 관절은 4% 포르말린에서 고정되었으며, 탈회되었으며, 구획되었으며, 헤마톡실린/에오신으로 염색되었다. 이소타입 대조군을

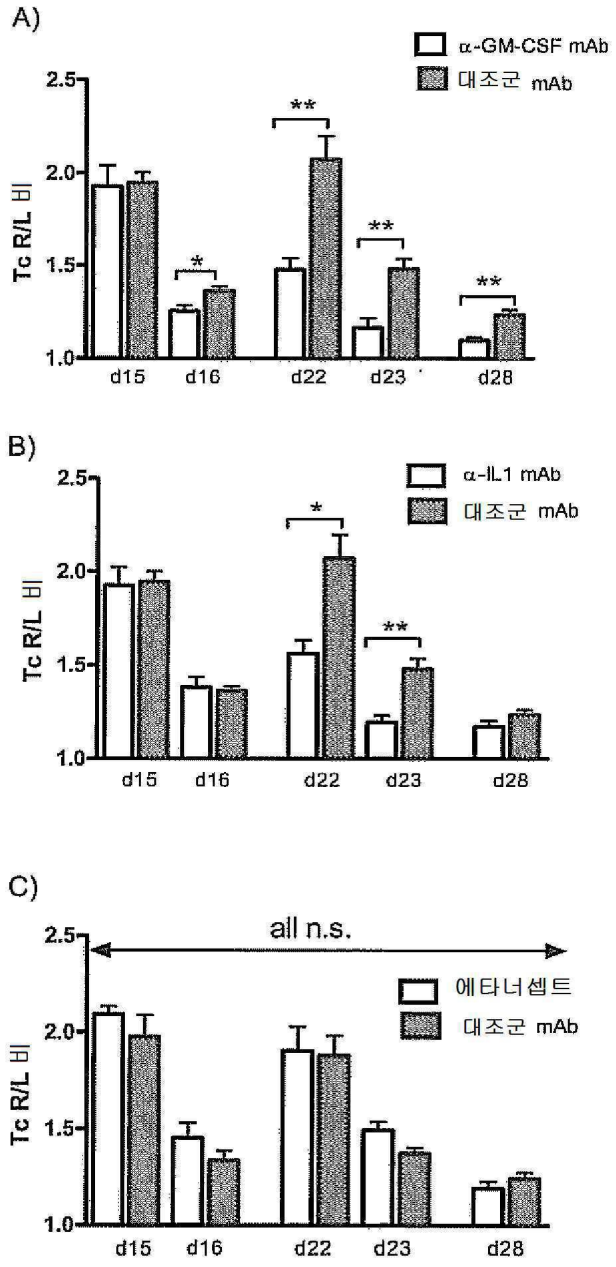
투여받은 마우스(도 7D)는 활액막에서 대량의 세포 침투와 함께 뚜렷한 관절 염증, 및 연골 및 골 침식과 함께 관절 파괴를 나타내었다. 조금은 덜 심각하더라도, 22E9 3 mg/kg을 투여받은 마우스(도 7A) 또는 mAb 421 1.5 mg/kg을 투여받은 마우스(도 7B)도 역시 심각한 염증 및 관절 파괴를 나타낸 반면, 22E9 3 mg/kg과 함께 mAb421 1.5 mg/kg의 조합된 처치의 단일 투여를 받은 마우스는 염증이 매우 유의적으로 감소되었으며 정상 연골 표면에 가까운 관절 완전성의 우수한 보존성이 입증되었다 (도 7C). 그 결과, 관절염을 갖는 대부분의 경우가 음성 대조군(래트 IgG2A)에서 관찰되었다. 덱사메타손(양성 대조군)의 투여로부터 2 내지 3일 후에 어떠한 관절염도 관찰될 수 없었다. mAb421 또는 mAb 22E9 단독으로 처리된 CIA 마우스와 비교해볼 때, 또는 음성 대조군과 비교해볼 때, 관절염의 발생 및 중증도에 관한 최선의 결과는 mAb22E9와 조합된 mAb421로 처리된 군에서 발견되었다.

[0223] 결과:

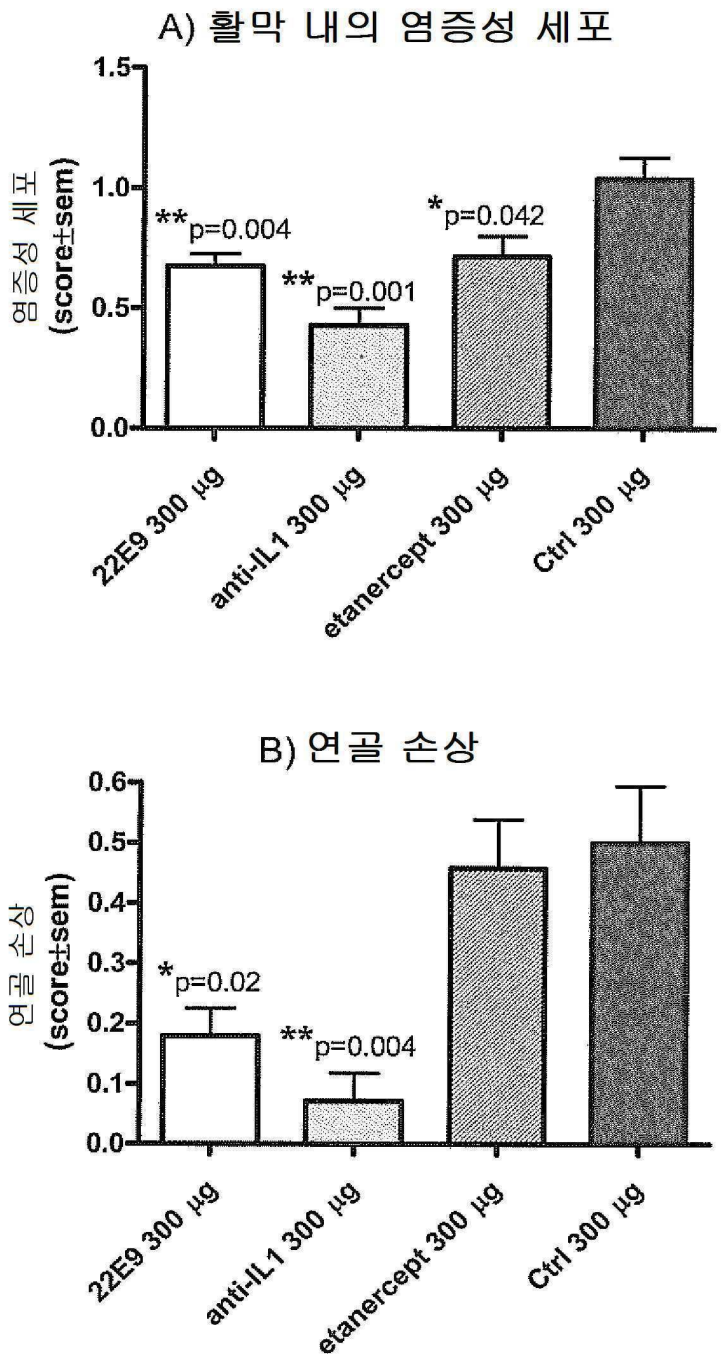
[0224] 본 발명자는 2개의 상이한 관절염 모델 시스템, 즉 (i) TNFα-독립적 만성 SCW 관절염 모델 및 (ii) TNFα-의존적 CIA 모델에서, GM-CSF 중화의 치료적 효능을 조사하였다. 또한, GM-CSF 및 IL-17 경로를 억제함으로써, 선천적 및 후천적 면역 모두를 차단하는 효과가 연구되었다. 이는 IL-17 수용체가 유전적으로 결핍된 마우스(IL-17R-KO 마우스)에서 GM-CSF를 중화시키는 것에 의해, 또는 GM-CSF 및 IL-17을 중화시키는 모노클로날 항체에 의한 조합 처리에 의해 수행되었다. 본 발명자는 예상외로 염증성 질환의 두 개의 타입 모두 GM-CSF 및 IL-17 경로의 조합된 차단에 의해 매우 효과적인 방식으로 치료될 수 있다는 점을 발견하였다. CIA 모델에서, GM-CSF 억제 화합물 및 IL-17 억제 화합물의 조합된 투여는 콜라겐-유도 관절염의 임상적 스코어를 유의적으로 감소시킨 반면, GM-CSF 억제 화합물 또는 IL-17 억제 화합물 단독에 의한 처리는 관절염의 중증도를 유의적으로 감소시키지 않았다. 또한, 상세한 조직학적 분석은 관절 염증 및 연골과 골의 파괴에 대해 조합 치료의 유익한 효과를 입증하였다. 따라서, 두 개의 경로의 조합된 차단은 염증 및 관절 파괴로부터 매우 효과적으로 보호될 수 있도록 하였다. 이러한 결과는 매우 최근까지도 GM-CSF가 IL-17의 다운스트림(downstream)에 놓여있다고 가정되었기 때문에 (예컨대, Kawaguchi M. 등의 J. Allergy Clin. Immunol. 114 (2004), 444-450; Starnes T. 등의 The Journal of Immunology 169 (2002), 642-646; Laan M. 등의 Eur. Respir. J. 21 (2003), 387-393 참조), 특히 놀라운 것이었다. 따라서, 이러한 두 개의 경로의 차단을 조합한 치료로부터 어떠한 부가적 또는 상승적 효과도 예측될 수 없었다. 본 출원에서는 생체 내 IL-17 및 GM-CSF의 조합된 차단의 유리한 효과가 최초로 입증되었다. IL-17 및 GM-CSF 경로의 동시 차단은 단일 경로의 차단에 비해 관절 팽창을 우수하게 억제하고 연골 파괴에 대해 보호가 증대되는 결과를 가져왔다. 본원에 제시된 데이터는 상술된 바와 같이 항-IL-17과 조합된 항-GM-CSF 처리가 RA에서 뿐만 아니라 다른 자가면역 및 염증성 질환 상태에 대해서도 현저한 치료적 효과를 가진다는 점을 강하게 입증한다.

도면

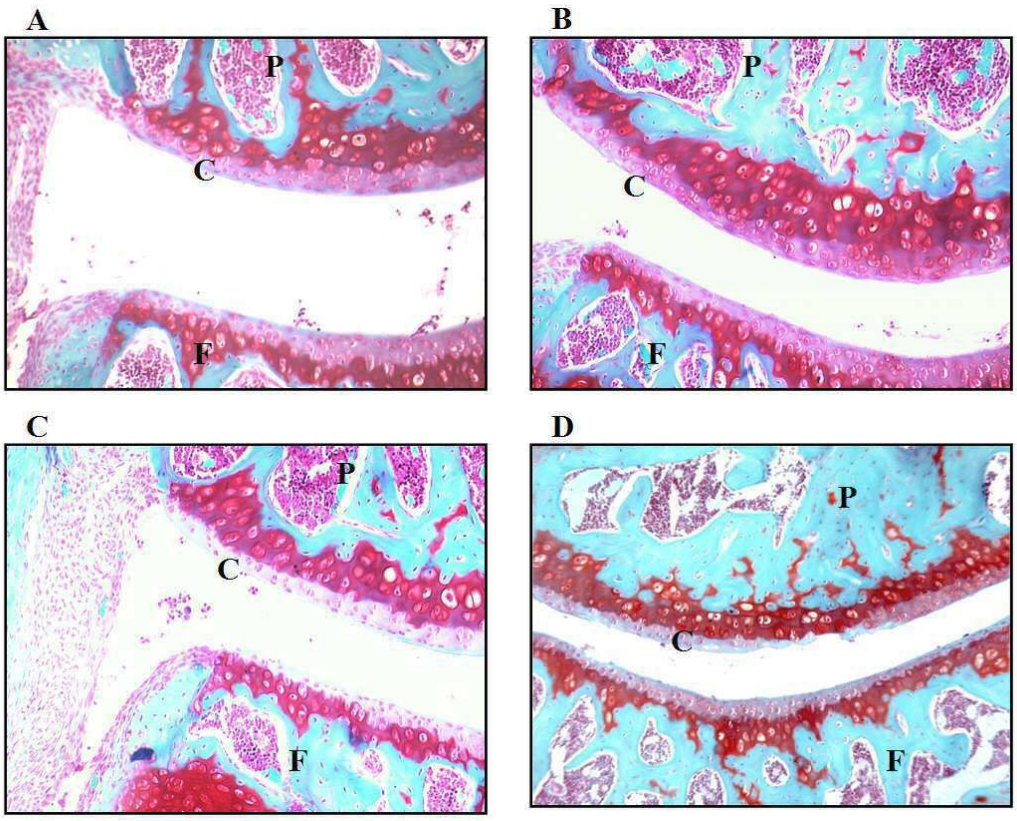
도면1


A)
α-GM-CSF mAb
대조군 mAb
Tc R/L 비
2.5
2.0
1.5
1.0
*
**
**
**
d15
d16
d22
d23
d28
B)
α-IL1 mAb
대조군 mAb
Tc R/L 비
2.5
2.0
1.5
1.0
*
**
d15
d16
d22
d23
d28
C)
all n.s.
에타너셉트
대조군 mAb
Tc R/L 비
2.5
2.0
1.5
1.0
d15
d16
d22
d23
d28

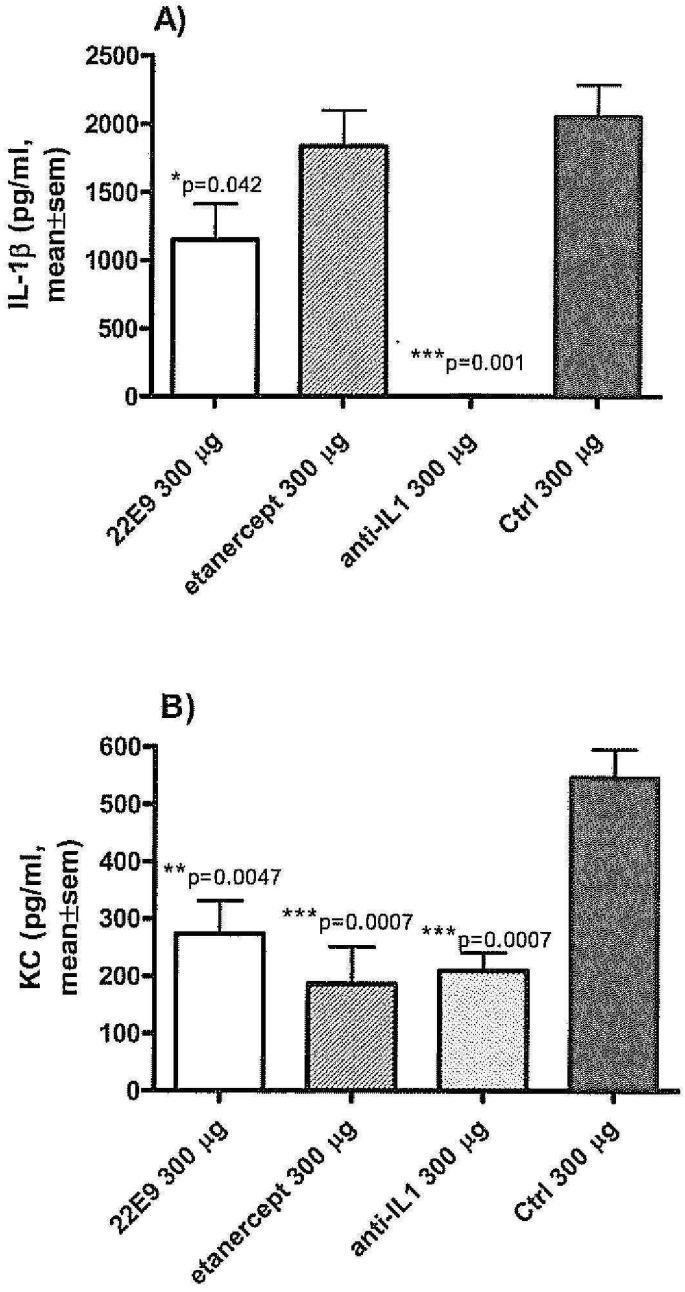
도면2


A) 활막 내의 염증성 세포
염증성 세포 (score±sem)
1.5
1.0
0.5
0.0
**p=0.004
**p=0.001
*p=0.042
22E9 300 μg
anti-IL1 300 μg
etanercept 300 μg
Ctrl 300 μg
B) 연골 손상
연골 손상 (score±sem)
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
*p=0.02
**p=0.004
22E9 300 μg
anti-IL1 300 μg
etanercept 300 μg
Ctrl 300 μg

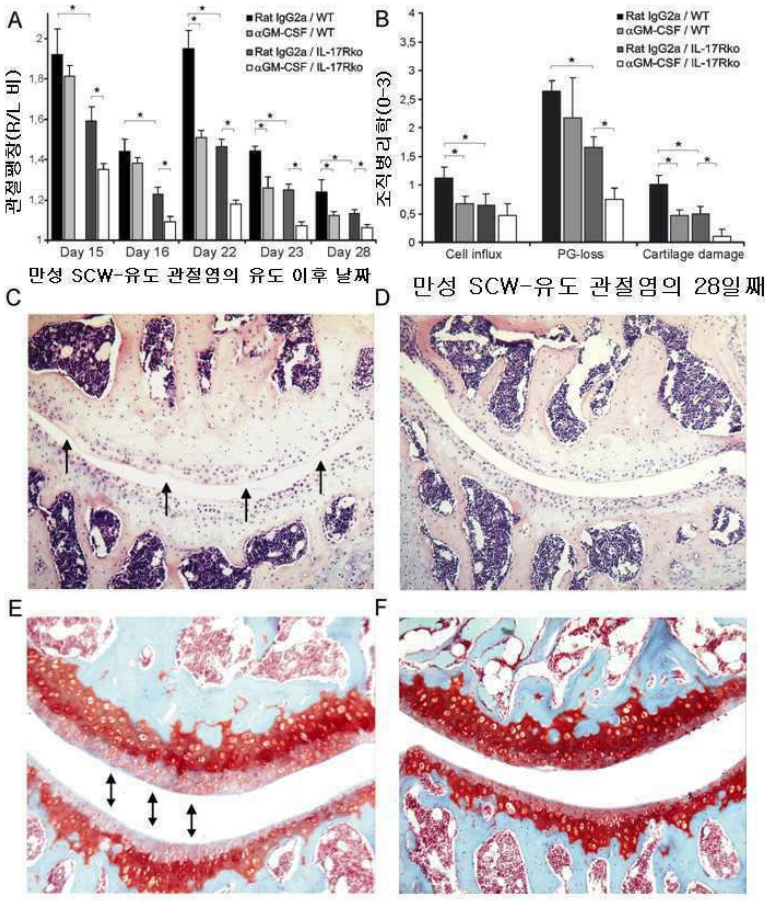
도면3



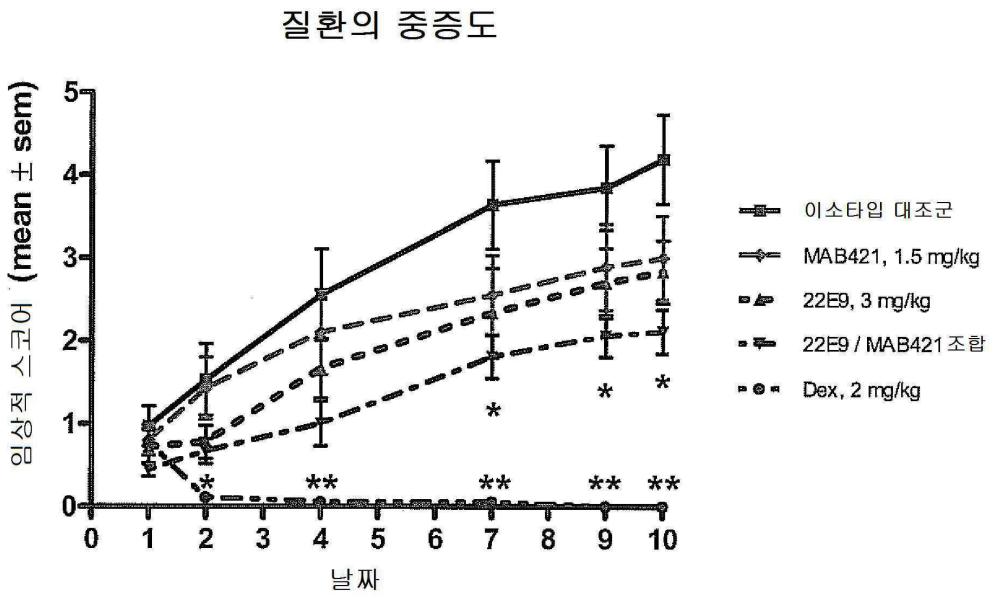
도면4


A)
IL-1β (pg/ml, mean±sem)
2500
2000
1500
1000
500
0
*p=0.042
***p=0.001
22E9 300 µg
etanercept 300 µg
anti-IL1 300 µg
Ctrl 300 µg
B)
KC (pg/ml, mean±sem)
600
500
400
300
200
100
0
**p=0.0047
***p=0.0007
***p=0.0007
22E9 300 µg
etanercept 300 µg
anti-IL1 300 µg
Ctrl 300 µg

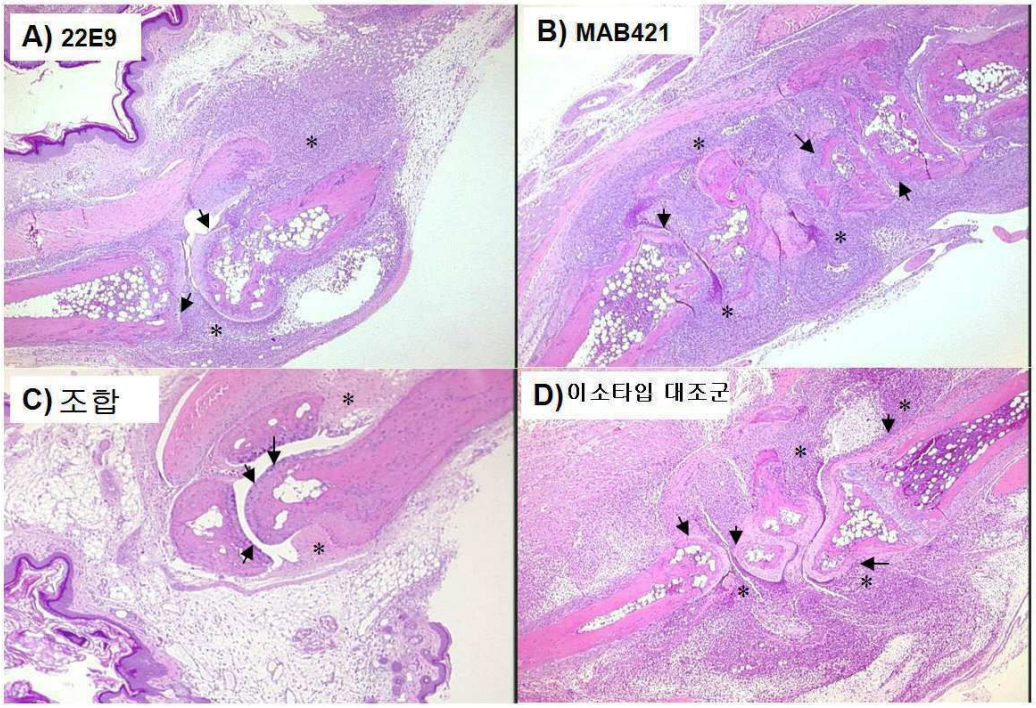
도면5


A
관절팽창(R/L 비)
Rat IgG2a / WT
αGM-CSF / WT
Rat IgG2a / IL-17Rko
αGM-CSF / IL-17Rko
Day 15
Day 16
Day 22
Day 23
Day 28
만성 SCW-유도 관절염의 유도 이후 날짜
B
조직병리학(0-3)
Cell influx
PG-loss
Cartilage damage
C
D
만성 SCW-유도 관절염의 28일째
E
F

도면6


질환의 중증도
임상적 스코어 (mean ± sem)
날짜
이소타입 대조군
MAB421, 1.5 mg/kg
22E9, 3 mg/kg
22E9 / MAB421 조합
Dex, 2 mg/kg

도면7



서 열 목 록

<110> Amgen Research (Munich) GmbH

<120> Inhibitors of GM-CSF and IL-17 for Therapy

<130> IPA110267-DE-D1

<150> US 61/125,880

<151> 2008-04-29

<160> 60

<170> KopatentIn 1.71

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR-H3 7A-701

<400> 1

Ser Gly Leu Ile Ala Asn His Met Thr Pro

1 5 10

<210> 2

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR-H3 7B1-502

<400> 2

Thr Thr Leu Ile Ser Val Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR-H3 L38-A1

<400> 3

Ser Gly Leu Ile Phe Asp Tyr Trp Leu Asp

1 5 10

<210> 4

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR-H3 L38-A12

<400> 4

Ser Gly Leu Ile Ile Asp Ala Leu Ser Pro

1 5 10

<210> 5

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR-H3 L38-G7

<400> 5

Thr Ser Leu Met Ser Ile Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 6

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR-H3 L39-D11

<400> 6

Ser Gly Leu Leu Phe Leu Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 7

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR-H3 E1-37-E7

<400> 7

Ser Gly Leu Ile Asn Leu Gly Met His Pro

1 5 10

<210> 8

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR-H3 M1_3-82

<400> 8

Ser Gly Leu Ile Phe Asp Ala Leu Arg Asp

1 5 10

<210> 9

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR-H3 Ln4p-23

<400> 9

Ser Gly Leu Ile Phe Asp Lys Leu Thr Ser

1 5 10

<210> 10

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR-H3 Ln4p-28

<400> 10

Ser Gly Leu Ile Asn Leu His Phe Asp Thr

1 5 10

<210> 11

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR-H3 Ln4p-50

<400> 11

Ser Thr His Phe Ser Ala Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 12

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR-H3 Ln4p-65

<400> 12

Ser Gly Leu Ile Met Asp Lys Leu Asp Asn

1 5 10

<210> 13

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR-H3 Ln4p-90

<400> 13

Ser Gly Leu Ile Ile Asp Asn Leu Asn Pro

1 5 10

<210> 14

<211> 5

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR-H1 7B1-502

<400> 14

Asp Tyr Leu Leu His

1 5

<210> 15

<211> 17

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR-H2 7B1-502

<400> 15

Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 16

<211> 11

<212> PRT

<213> artificial sequence

<

220><223> CDR-L1 5-306

<400> 16

Arg Ala Ser Gln Asn Ile Arg Asn Ile Leu Asn

1 5 10

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR-L2 5-306

<400> 17

Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser

1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR-L3 5-306

<400> 18

Gln Gln Ser Tyr Ser Met Pro Arg Thr

1 5

<210> 19

<211> 107

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> VL 5-306* L-version

<400> 19

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

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

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

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Met Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 20

<211> 119

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> VH with CDR-H3 = 7A-701

<400> 20

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

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

Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Arg Ser Gly Leu Ile Ala Asn His Met Thr Pro Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 21

<211> 119

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> VH with CDR-H3 = 7B1-502*

<400> 21

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Arg Thr Thr Leu Ile Ser Val Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 22

<211> 119

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> VH with CDR-H3 = 3077*

<400> 22

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

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

Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Ser Gly Leu Ile Ala Val Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 23

<211> 119

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> VH with CDR-H3 = L38-A1

<400> 23

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Phe Asp Tyr Trp Leu Asp Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 24

<211> 119

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> VH with CDR-H3 = L38-A12

<400> 24

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Ile Asp Ala Leu Ser Pro Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 25
<211> 119
<212> PRT
<213> artificial sequence
<220><223> VH with CDR-H3 = L38-G7
<400> 25

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Thr Ser Leu Met Ser Ile Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 26
<211> 119
<212> PRT
<213> artificial sequence
<220><223> VH with CDR-H3 = L39-D11
<400> 26

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Arg Ser Gly Leu Leu Phe Leu Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 27

<211> 119

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> VH with CDR-H3 = E1-37-E7

<400> 27

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Asn Leu Gly Met His Pro Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 28

<211> 119

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> VH with CDR-H3 = M1_3-82

<400> 28

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Phe Asp Ala Leu Arg Asp Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 29

<211> 119

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> VH with CDR-H3 = Ln4p-23

<400> 29

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ser Gly Leu Ile Phe Asp Lys Leu Thr Ser Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 30

<211> 119

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> VH with CDR-H3 = Ln4p-28

<400> 30

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Asn Leu His Phe Asp Thr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 31

<211> 119

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> VH with CDR-H3 = Ln4p-50

<400> 31

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Arg Ser Thr His Phe Ser Ala Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 32

<211> 119

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> VH with CDR-H3 = Ln4p-65

<400> 32

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

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

Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Met Asp Lys Leu Asp Asn Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 33

<211> 119

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> VH with CDR-H3 = Ln4p-90

<400> 33

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

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

Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Ile Asp Asn Leu Asn Pro Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 34

<211> 214

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Light Chain 5-306* L-version

<400> 34

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Met Pro Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

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

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 35

<211> 449

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Heavy Chain with CDR-H3 = 7B1-502*

<400> 35

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Arg Thr Thr Leu Ile Ser Val Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 36
<211> 449
<212> PRT
<213> artificial sequence
<220><223> Heavy Chain with CDR-H3 =7A-701*
<400> 36
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445
Lys

<210> 37
<211> 449
<212> PRT
<213> artificial sequence
<220><223> Heavy Chain with CDR-H3 = L38-A1*
<400> 37
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Phe Asp Tyr Trp Leu Asp Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445
Lys

<210> 38
<211> 449
<212> PRT
<213> artificial sequence
<220><223> Heavy Chain with CDR-H3 = L38-A12*
<400> 38
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ser Gly Leu Ile Ile Asp Ala Leu Ser Pro Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

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

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445
Lys

<210> 39
<211> 449
<212> PRT
<213> artificial sequence
<220><223> Heavy Chain with CDR-H3 = L38-G7*

<400> 39
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Thr Ser Leu Met Ser Ile Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 40
<211> 449
<212> PRT
<213> artificial sequence
<220><223> Heavy Chain with CDR-H3 = L39-D11*
<400> 40
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Ser Gly Leu Leu Phe Leu Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

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

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445
Lys

<210> 41
<211> 449
<212> PRT
<213> artificial sequence
<220><223> Heavy Chain with CDR-H3 = E1-37-E7*
<400> 41
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

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

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Asn Leu Gly Met His Pro Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

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

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445
Lys

<210> 42
<211> 449
<212> PRT
<213> artificial sequence
<220><223> Heavy Chain with CDR-H3 = M1_3-82*
<400> 42
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

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

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ser Gly Leu Ile Phe Asp Ala Leu Arg Asp Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

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

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445
Lys

<210> 43
<211> 449
<212> PRT
<213> artificial sequence
<220><223> Heavy Chain with CDR-H3 = Ln4p-23*

<400> 43

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ser Gly Leu Ile Phe Asp Lys Leu Thr Ser Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 44
<211> 449
<212> PRT
<213> artificial sequence

<220><223> Heavy Chain with CDR-H3 = Ln4p-28*

<400> 44

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

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

Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Asn Leu His Phe Asp Thr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445
Lys

<210> 45
<211> 449

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Heavy Chain with CDR-H3 = Ln4p-50*

<400> 45

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

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

Thr Arg Ser Thr His Phe Ser Ala Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445
Lys

<210> 46

<211> 449

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Heavy Chain with CDR-H3 = Ln4p-65*

<400> 46

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

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

Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Met Asp Lys Leu Asp Asn Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

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

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 47

<211> 449

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Heavy Chain with CDR-H3 = Ln4p-90*

<400> 47

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

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

Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Ile Asp Asn Leu Asn Pro Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

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

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 48
<211> 449
<212> PRT
<213> artificial sequence
<220><223> Heavy Chain with CDR-H3 = 3077*
<400> 48
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Ser Gly Leu Ile Ala Val Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445
Lys

<210> 49
<211> 127
<212> PRT
<213> human GM-CSF
<400> 49
Ala Pro Ala Arg Ser Pro Ser Pro Ser Thr Gln Pro Trp Glu His Val
1 5 10 15
Asn Ala Ile Gln Glu Ala Arg Arg Leu Leu Asn Leu Ser Arg Asp Thr
20 25 30
Ala Ala Glu Met Asn Glu Thr Val Glu Val Ile Ser Glu Met Phe Asp

35 40 45
Leu Gln Glu Pro Thr Cys Leu Gln Thr Arg Leu Glu Leu Tyr Lys Gln
50 55 60
Gly Leu Arg Gly Ser Leu Thr Lys Leu Lys Gly Pro Leu Thr Met Met
65 70 75 80
Ala Ser His Tyr Lys Gln His Cys Pro Pro Thr Pro Glu Thr Ser Cys
85 90 95
Ala Thr Gln Ile Ile Thr Phe Glu Ser Phe Lys Glu Asn Leu Lys Asp

100 105 110
Phe Leu Leu Val Ile Pro Phe Asp Cys Trp Glu Pro Val Gln Glu
115 120 125
<210> 50
<211> 127
<212> PRT
<213> macaca GM-CSF
<400> 50

Ala Pro Ala Arg Ser Pro Ser Pro Gly Thr Gln Pro Trp Glu His Val
1 5 10 15
Asn Ala Ile Gln Glu Ala Arg Arg Leu Leu Asn Leu Ser Arg Asp Thr
20 25 30

Ala Ala Glu Met Asn Lys Thr Val Glu Val Val Ser Glu Met Phe Asp
35 40 45
Leu Gln Glu Pro Ser Cys Leu Gln Thr Arg Leu Glu Leu Tyr Lys Gln
50 55 60
Gly Leu Gln Gly Ser Leu Thr Lys Leu Lys Gly Pro Leu Thr Met Met
65 70 75 80
Ala Ser His Tyr Lys Gln His Cys Pro Pro Thr Pro Glu Thr Ser Cys
85 90 95

Ala Thr Gln Ile Ile Thr Phe Gln Ser Phe Lys Glu Asn Leu Lys Asp
100 105 110
Phe Leu Leu Val Ile Pro Phe Asp Cys Trp Glu Pro Val Gln Glu
115 120 125
<210> 51
<211> 127
<212> PRT
<213> gibbon GM-CSF
<400> 51
Ala Pro Ser Arg Ser Pro Ser Pro Ser Thr Gln Pro Trp Glu His Val
1 5 10 15
Asn Ala Ile Gln Glu Ala Arg Arg Leu Leu Asn Leu Ser Arg Asp Thr

20 25 30
Ala Ala Glu Ile Asn Glu Thr Val Glu Val Val Ser Glu Met Phe Asp
35 40 45
Leu Gln Glu Pro Thr Cys Leu Gln Thr Arg Leu Glu Leu Tyr Lys Gln
50 55 60
Gly Leu Arg Gly Ser Leu Thr Lys Leu Lys Gly Pro Leu Thr Met Met
65 70 75 80

Ala Ser His Tyr Lys Gln His Cys Pro Pro Thr Pro Glu Thr Ser Cys

85 90 95

Ala Thr Gln Ile Ile Ile Phe Glu Ser Phe Lys Glu Asn Leu Lys Asp

100 105 110

Phe Leu Leu Val Ile Pro Phe Asp Cys Trp Glu Pro Val Gln Gly

115 120 125

<210> 52

<211> 119

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> VH with CDR-H3 7B1-502

<400> 52

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Arg Thr Thr Leu Ile Ser Val Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 53

<211> 119

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> VH with CDR-H3 3077

<400> 53

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

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

Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Ser Gly Leu Ile Ala Val Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 54

<211> 107

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> VL 5-306

<400> 54

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

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

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Met Pro Arg
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 55
<211> 107
<212> PRT
<213> artificial sequence
<220><223> VL 5-306* V-version
<400> 55
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Ala Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Arg Asn Ile

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

85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 56
<211> 10
<212> PRT
<213> artificial sequence
<220><223> CDR-H3 3077
<400> 56

Ser Gly Leu Ile Ala Val Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 57

<211> 127

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 57

Ala Pro Ala Arg Ser Pro Ser Pro Ser Thr Gln Pro Trp Glu His Val

1 5 10 15

Asn Ala Ile Gln Glu Ala Arg Arg Leu Leu Asn Leu Ser Arg Asp Thr

20 25 30

Ala Ala Glu Met Asn Glu Thr Val Glu Val Ile Ser Glu Met Phe Asp

35 40 45

Leu Gln Glu Pro Thr Cys Leu Gln Thr Arg Leu Glu Leu Tyr Lys Gln

50 55 60

Gly Leu Arg Gly Ser Leu Thr Lys Leu Lys Gly Pro Leu Thr Met Met

65 70 75 80

Ala Ser His Tyr Lys Gln His Cys Pro Pro Thr Pro Glu Thr Ser Cys

85 90 95

Ala Thr Gln Ile Ile Thr Phe Glu Ser Phe Lys Glu Asn Leu Lys Asp

100 105 110

Phe Leu Leu Val Ile Pro Phe Asp Cys Trp Glu Pro Val Gln Glu

115 120 125

<210> 58

<211> 127

<212> PRT

<213> Hylobates sp.

<400> 58

Ala Pro Ala Arg Ser Pro Ser Pro Ser Thr Gln Pro Trp Glu His Val

1 5 10 15

Asn Ala Ile Gln Glu Ala Arg Arg Leu Leu Asn Leu Ser Arg Asp Thr

20 25 30

Ala Ala Glu Met Asn Glu Thr Val Glu Val Ile Ser Glu Met Phe Asp
35 40 45
Leu Gln Glu Pro Thr Cys Leu Gln Thr Arg Leu Glu Leu Tyr Lys Gln
50 55 60
Gly Leu Arg Gly Ser Leu Thr Lys Leu Lys Gly Pro Leu Thr Met Met

65 70 75 80
Ala Ser His Tyr Lys Gln His Cys Pro Pro Thr Pro Glu Thr Ser Cys
85 90 95
Ala Thr Gln Ile Ile Thr Phe Glu Ser Phe Lys Glu Asn Leu Lys Asp
100 105 110
Phe Leu Leu Val Ile Pro Phe Asp Cys Trp Glu Pro Val Gln Glu
115 120 125

<210> 59
<211> 127
<212> PRT
<213> Macaca mulatta

<400> 59
Ala Pro Ala Arg Ser Pro Ser Pro Gly Thr Gln Pro Trp Glu His Val
1 5 10 15
Asn Ala Ile Gln Glu Ala Arg Arg Leu Leu Asn Leu Ser Arg Asp Thr
20 25 30
Ala Ala Glu Met Asn Lys Thr Val Glu Val Val Ser Glu Met Phe Asp
35 40 45
Leu Gln Glu Pro Ser Cys Leu Gln Thr Arg Leu Glu Leu Tyr Lys Gln
50 55 60

Gly Leu Gln Gly Ser Leu Thr Lys Leu Lys Gly Pro Leu Thr Met Met
65 70 75 80
Ala Ser His Tyr Lys Gln His Cys Pro Pro Thr Pro Glu Thr Ser Cys
85 90 95
Ala Thr Gln Ile Ile Thr Phe Gln Ser Phe Lys Glu Asn Leu Lys Asp
100 105 110
Phe Leu Leu Val Ile Pro Phe Asp Cys Trp Glu Pro Val Gln Glu

115 120 125

<210> 60

<211> 127

<212> PRT

<213> Macaca fascicularis

<400> 60

Ala Pro Ala Arg Ser Pro Ser Pro Gly Thr Gln Pro Trp Glu His Val
1 5 10 15

Asn Ala Ile Gln Glu Ala Arg Arg Leu Leu Asn Leu Ser Arg Asp Thr
20 25 30

Ala Ala Glu Met Asn Lys Thr Val Glu Val Val Ser Glu Met Phe Asp
35 40 45

Leu Gln Glu Pro Ser Cys Leu Gln Thr Arg Leu Glu Leu Tyr Lys Gln

50 55 60

Gly Leu Gln Gly Ser Leu Thr Lys Leu Lys Gly Pro Leu Thr Met Met
65 70 75 80

Ala Ser His Tyr Lys Gln His Cys Pro Pro Thr Pro Glu Thr Ser Cys
85 90 95

Ala Thr Gln Ile Ile Thr Phe Gln Ser Phe Lys Glu Asn Leu Lys Asp
100 105 110

Phe Leu Leu Val Ile Pro Phe Asp Cys Trp Glu Pro Val Gln Glu

115 120 125