



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년01월25일

(11) 등록번호 10-1588061

(24) 등록일자 2016년01월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 39/395 (2006.01) C07K 16/18 (2006.01)
C12N 5/0787 (2010.01)

(21) 출원번호 10-2009-7025886

(22) 출원일자(국제) 2008년05월14일

심사청구일자 2013년05월13일

(85) 번역문제출일자 2009년12월11일

(65) 공개번호 10-2010-0022468

(43) 공개일자 2010년03월02일

(86) 국제출원번호 PCT/US2008/006156

(87) 국제공개번호 WO 2008/143878

국제공개일자 2008년11월27일

(30) 우선권주장

60/924,422 2007년05월14일 미국(US)

(뒷면에 계속)

(56) 선행기술조사문헌

EP1266663 A1*

EP1688437 A1*

J Allergy Clin Immunol, 2004, Vol.113,
p.115-119

US6538111 B1

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

메디뮨 엘엘씨

미국 20878 메릴랜드주 게이테르스부르크 원 메디뮨 웨이

바이오와 인코포레이티드

미국 08540 뉴저지주 프린스톤 스위트 101 카네기 센터 212

(72) 발명자

고이케 마사미치

미국 뉴저지주 08550 웨스트 원저 기니 레인 32

스피탈니 조지 엘

미국 팬실베니아주 19067 앤들리 레이크 쇼어 드 라이브 2321

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김진희

전체 청구항 수 : 총 12 항

심사관 : 신원혜

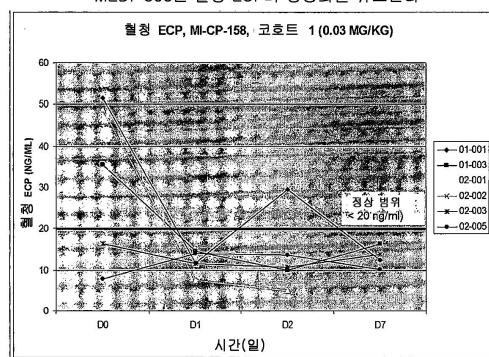
(54) 발명의 명칭 호산구 수준을 감소시키는 방법

(57) 요약

본 발명은 대상에게 (a) IL-5R에 특이적으로 결합하는 영역 및 (b) 면역글로불린 Fc 영역을 포함하는 IL-5R 결합 분자를 투여하는 단계를 포함하는 인간 대상 내 호산구의 수를 감소시키는 방법에 관한 것이다. 한 특정 실시양태에서, 본 발명의 방법은 혈액, 골수, 위장관(예를 들어, 식도, 위, 소장 및 대장) 또는 폐 내 호산구의 수를 감소시킨다.

대 표 도

MEDI-563은 혈청 ECP의 정상화를 유도한다



(72) 발명자

월러 앤리스테어

미국 매사추세츠주 01532 노쓰보로우 휘트니 스트리트 268

화이트 바바라

미국 메릴랜드주 21048 평크스버그 드러몬드 드라이브 3031

(30) 우선권주장

60/924,832 2007년06월01일 미국(US)

60/935,005 2007년07월20일 미국(US)

61/064,612 2008년03월14일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

서열 번호 1 및 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 항-IL-5R 항체를 포함하는, 인간 대상에서 호산구의 수를 감소시키기 위한 의약으로서, 상기 항체는 약 0.01 mg/kg~약 0.25 mg/kg으로 상기 대상에 비경구 투여되고, 상기 항체는 푸코즈를 포함하지 않는 면역글로불린 Fc 영역을 포함하는 것인 의약.

청구항 2

삭제

청구항 3

제1항에 있어서, 호산구 감소는 투여 후 처음 48시간 이내에 일어나는 것인 의약.

청구항 4

제1항에 있어서, 호산구 감소는 가역적인 것인 의약.

청구항 5

제1항에 있어서, 호산구의 수는 50개 호산구/mm³ 보다 적은 수준으로 감소하는 것인 의약.

청구항 6

제1항에 있어서, 약 25개 호산구/mm³ 이상, 약 50개 호산구/mm³ 이상, 약 75개 호산구/mm³ 이상, 약 100개 호산구/mm³ 이상, 약 125개 호산구/mm³ 이상, 약 150개 호산구/mm³ 이상, 약 175개 호산구/mm³ 이상, 약 200개 호산구/mm³ 이상, 약 225개 호산구/mm³ 이상, 약 250개 호산구/mm³ 이상, 약 275개 호산구/mm³ 이상, 약 300개 호산구/mm³ 이상, 약 325개 호산구/mm³ 이상, 약 350개 호산구/mm³ 이상, 약 375개 호산구/mm³ 이상, 약 400개 호산구/mm³ 이상, 약 425개 호산구/mm³ 이상, 약 450개 호산구/mm³ 이상, 약 475개 호산구/mm³ 이상 또는 약 500개 호산구/mm³ 이상의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 것인 의약.

청구항 7

제1항에 있어서, 약 50~약 500개(한계치 포함) 호산구/mm³의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 것인 의약.

청구항 8

제1항에 있어서, 투여 후 호산구 절대 계수가 약 100개 호산구/mm³ 보다 적거나, 약 75개 호산구/mm³ 보다 적거나, 약 50개 호산구/mm³ 보다 적거나 또는 약 25개 호산구/mm³ 보다 적은 것인 의약.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수는 약 50~약 500개 호산구/mm³인 것인 의약.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수는 약 25개, 약 50개, 약 75개, 약 100개, 약 125개, 약 150개, 약 175개, 약 200개, 약 225개, 약 250개, 약 275개, 약 300개, 약 325개, 약 350개, 약 375개, 약 400개, 약 450개, 약 475개 또는 약 500개 호산구/mm³인 의약.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 대상의 투여 후 호염기구(basophil) 절대 계수는 약 5개 호염기구/mm³ 이상, 약 10개 호염

기구/■ 이상, 약 15개 호염기구/■ 이상, 약 20개 호염기구/■ 이상, 약 25개 호염기구/■ 이상, 약 30개 호염기구/■ 이상, 약 35개 호염기구/■ 이상, 약 40개 호염기구/■ 이상, 약 45개 호염기구/■ 이상, 약 50개 호염기구/■ 이상, 약 55개 호염기구/■ 이상, 약 60개 호염기구/■ 이상, 약 65개 호염기구/■ 이상 또는 약 70개 호염기구/■ 이상 감소되는 것인 의약.

청구항 12

제1항에 있어서, 상기 호산구 감소가 천식 증상의 감소를 유도하는 것인 의약.

청구항 13

제1항에 있어서, 상기 호산구 감소가 COPD 증상의 감소를 유도하는 것인 의약.

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 인간 대상 내 호산구의 수준을 감소시키는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 호산구는 알레르기성 질병을 포함한 각종 질병들에 연루되어 있고, 알레르기성 질병, 예컨대 만성 기관지 천식 및 아토피성 피부염에 이병률(morbidity)을 발생시키는 데 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다(문헌 [Adv. Immunol., 39, 177(1986), Immunol. Today, 13, 501(1992)]). 상기 질병들에 부가하여, 호산구는 또한 과호산 구성 증후군(HES)으로 일반적으로 칭해지는 질병들, 예컨대 호산구증가증, 호산구성 위장관염, 호산구성 백혈병, 호산구성 육아종 및 기무라병에 연루되어 있다(문헌 [Ann. Intern. Med. 97, 78(1982)]).

[0003] 호산구성 육아종은, 골용해성이고 국소성인 비신생물성 원인불명 병변이고, 현저한 조직 호산구증가증과 관련된

것으로 알려져 있다(문헌 [U.S. Armed Forces Med. J., 2, 1085(1951)]). 일본에서의 골 종양 환자의 등록(1972~1984)에 따르면, 404명의 골 종양 환자들 중 379명(93.8%)이 호산구성 육이종을 않았다. 초기 단계의 호산구성 육아종은 주로 호산구 및 조직구를 포함하고, 전전 단계에서의 육이종은 섬유종을 포함하거나, 섬유성 폐로 진행될 수 있다. 그러므로, 염증성 질병, 예컨대 알레르기기에 부가하여, 호산구는 다른 각종 질병들을 유발할 수 있다.

[0004] 사이토카인 계열의 구성원인, 인터류킨-5(이후 IL-5로 칭해짐), 인터류킨-3(이후 IL-3로 칭해짐) 및 과립구-대식세포 콜로니-자극 인자(이후 GM-CSF로 칭해짐)는 호산구의 분화, 증식 및 활성화 조절에 관여한다. 이 사이토카인들 중, IL-5은 호산구에 특이적으로 작용하고 말단 분화를 특이적으로 유도하는 것으로 알려져 있다(문헌 [Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 85, 2288(1988)]).

[0005] 시험관내, IL-3 및/또는 GM-CSF는 호산구를 활성화하거나 그것의 생존을 연장시킬 수 있다(문헌 [J. Clin. Invest., 81, 1986(1988)]). 또한, IL-3 및/또는 GM-CSF는 골수양 줄기 세포로부터의 미성숙 호산구의 유도에도 우세하게 작용한다(문헌 [Blood, 76, 1956(1990)]). 또한, 에오틱신 및 RANTES(발현되고 분비된 정상 T-세포 상에서 조절됨)와 같은 케모카인은 염증 부위로의 호산구의 화학주성을 유도한다(문헌 [Clin. Exp. Allergy, 26, 1005(1996)]). 줄기 세포 인자(이후 SCF로 칭해짐)는 알레르기성 기관지 내 호산구의 축적에 관여한다. IL-5에 부가하여, 호산구의 기능에 영향을 주는 많은 인자들이 있다.

[0006] 호산구는 정상밀도 호산구 및 저밀도 호산구의 하위군들로 세분된다. 호산구는 활성화 시에 저밀도 호산구인 것으로 나타났다(문헌 [Immunology, 47, 531(1982)]). 저밀도 호산구는 또한 활성화된 호산구로 칭해진다. HES 환자의 말초혈에서 호산구의 정량적 변화에 부가하여 정성적 변화가 일어나는 것으로 보고되었다(문헌 [Clin. Exp. Immunol., 24, 423(1976)]). 활성화된 호산구는 HES 증상의 심각도에 연루되었다(문헌 [Am. J. Cardiol., 52, 321(1983)]). HES 환자와는 별도로, 활성화된 호산구는 또한 기관지 천식을 앓는 환자의 말초혈 및 폐포세척액(BALF)에서도 발견되었다(문헌 [Am. Rev. Respir. Dis., 132, 981(1985)]). 각종 수용체, 예컨대 사이토카인의 수용체가 활성화된 호산구(저밀도 호산구) 상에서 발현된다(문헌 [J. Immunol., 142, 4416(1989)]). 정상밀도 호산구에 비교하여, 이 저밀도 호산구들은 IL-5에 대해 상승된 감도를 나타낸다(문헌 [Clin. Exp. Immunol., 85, 3 12(1991)]; 문헌 [J. Exp. Med., 172, 1347(1990)]).

[0007] 상기 활성화된 호산구는 또한 호산구의 분화 및 증식을 유도하는 사이토카인 없이 시험관내 생존하는 것으로 알려져 있다(문헌 [J. Exp. Med., 170, 343(1989)]). 따라서, 활성화된 호산구의 성질은 조직, 예컨대 치조에 침투하는 호산구의 성질과 유사하다(문헌 [Int. Arch. Allergy Immunol., 120, 91(1999)]). 활성화된 호산구가 사이토카인-비의존성이 되는 이유에 대한 상세한 설명은 알려져 있지 않은 상태로 남아있으나, 이들의 탈과립화 및 연장된 생존은 IL-5 외의 각종 중요 작용성 분자들에 의해 유도되기 쉽다.

[0008] 호산구의 분화 또는 증식에 관여하는 사이토카인 또는 케모카인에 대해 억제 활성을 가지는 물질은 호산구 기능을 억제하는 작용제로서 간주되었다. 그러나, 대부분의 경우들에서, 이 작용제들은, 활성화되어 염증 부위로 침투된 사이토카인-비의존성 호산구에 대해서는 작용하지 않는다. 그러므로, 호산구-특이적 억제 및 활성화된 호산구의 세포 사멸의 유도는 임의의 호산구의 기능을 억제하기 위해 필요하다. 그러나, 지금까지 어떠한 항염증제도 활성화된 호산구의 아포프토시스를 유도하는 것으로 알려지지 않았다.

[0009] 현재, 호산구성 질병을 앓는 환자에 대한 치료는 스테로이드의 투여로 이루어진다. 그러나, 스테로이드 투여는 종종 부작용과 결부된다. 구체적으로, 치료는 일부 다른 문제들을 가지고 있어, 스테로이드 투여를 중지할 때 환자의 병리학적 상태가 원래의 상태로 돌아갈 수 있고, 연장된 스테로이드 투여가 스테로이드 내성을 유도할 수 있다. 따라서, 호산구 매개 질병 및 장애에 대한 안전하고 유효한 치료에 대한 필요성이 있다.

발명의 개요

[0011] 본 발명은 인간 대상 내 호산구의 수를 감소시키는 방법으로서, 상기 환자에게 (a) IL-5R에 특이적으로 결합하는 영역 및 (b) 면역글로불린 Fc 영역을 포함하는 IL-5R 결합 분자를 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

발명의 상세한 설명

[0044] 상기 논의된 바와 같이, 또한 특별한 가설 또는 이론에 의해 국한되지 않도록 할 때, 호산구는 다수의 질병 및 장애의 병인에 연루되었다. 이 질병 또는 장애들 중 다수가 호산구의 과다증(호산구증가증)을 특징으로 하고, 과호산구증증후군으로 칭해진다.

[0045] 호산구가 작용하는 질병 및 장애의 비제한적 예는 천식, 면역글로불린(IgE)-매개 식품 알레르기, 호산구성 식도 염(식도의 염증), 염증성 장 질환, COPD, 알레르기성 대장염, 위식도 역류, 호산구성 위장관병(EGID), 호산구성 위장염, 심내막심근 섬유증, 뢰플러 심장내막염, 데이비스병, 호산구증가증과 관련된 간헐 맥관부종, 호산구증 가증-근육통 증후군/스페인 독성 오일 증후군(Spanish Toxic Oil Syndrome), 간경변증, 피부염 농가진, 수포성 유천포창, 척-스트라우스 증후군, 급성 골수성 호산구성 백혈병, 급성 팀프구성 호산구성 백혈병, 호산구증가증 동반의 전신성 비만세포병, 알레르기성 비염, 습진, 베그너 육이종증, 결절다발 동맥염, 호산구성 혈관염, 및 류마티스성 관절염이다.

[0046] 따라서, 본 발명은 인간 대상 내 호산구의 수를 감소시키는 방법으로서, 상기 환자에게 (a) IL-5R에 특이적으로 결합하는 영역 및 (b) 면역글로불린 Fc 영역을 포함하는 IL-5R 결합 분자를 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0047] 한 실시양태에서, 본 발명은 인간 대상 내 호산구의 수를 감소시키는 방법으로서, 상기 환자에게 (a) IL-5R에 특이적으로 결합하는 영역 및 (b) 면역글로불린 Fc 영역을 포함하는 IL-5R 결합 분자를 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 한 특정 실시양태에서, 본 발명의 방법은 혈액, 골수, 위장관(예를 들어, 식도, 위, 소장 및 대장), 또는 폐 내 호산구의 수를 감소시킨다. 또 다른 특정 실시양태에서, 본 발명의 방법은 혈액 호산구의 수를 감소시킨다. 다른 한 특정 실시양태에서, 본 발명의 방법은 폐 호산구의 수를 감소시킨다. 한 특정 실시양태에서, 본 발명의 방법은 호산구 전구체 세포의 수를 감소시킨다.

[0048] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 방법은 호산구의 수를 약 10% 이상, 약 20% 이상, 약 30% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 또는 약 99% 이상 감소시킨다. 한 특정 실시양태에서, 본 발명의 방법은 호산구 수를 검출 한도 미만으로 감소시킨다.

[0049] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 방법은 호산구 전구체의 수를 약 10% 이상, 약 20% 이상, 약 30% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 또는 약 99% 이상 감소시킨다. 한 특정 실시양태에서, 본 발명의 방법은 호산구 전구체의 수를 검출 한도 미만으로 감소시킨다.

[0050] 다른 한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 IL-5R 결합 분자의 단일 투여 후에 모든 검출가능한 호산구를 제거한다. 한 특정 실시양태에서, IL-5R 결합 분자의 단일 투여는 약 1일 이상, 약 2일 이상, 약 3일 이상, 약 4일 이상, 약 5일 이상, 약 6일 이상, 약 7일 이상, 약 2주 이상, 약 3주 이상, 약 4주 이상, 약 5주 이상, 약 6주 이상, 약 7주 이상, 약 8주 이상, 약 9주 이상, 약 10주 이상, 약 12주 이상, 약 14주 이상, 약 16주 이상, 약 20주 이상, 또는 약 25주 이상 동안, 모든 검출가능한 호산구를 제거한다.

[0051] 다른 한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 IL-5R 결합 분자의 단일 투여 후에 모든 검출가능한 호산구 전구체를 제거한다. 한 특정 실시양태에서, IL-5R 결합 분자의 단일 투여는 약 1일 이상, 약 2일 이상, 약 3일 이상, 약 4일 이상, 약 5일 이상, 약 6일 이상, 약 7일 이상, 약 2주 이상, 약 3주 이상, 약 4주 이상, 약 5주 이상, 약 6주 이상, 약 7주 이상, 약 8주 이상, 약 9주 이상, 약 10주 이상, 약 12주 이상, 약 14주 이상, 약 16주 이상, 약 20주 이상, 또는 약 25주 이상 동안, 모든 검출가능한 호산구 전구체를 제거한다.

[0052] 한 특정 실시양태에서, 본 발명의 방법은 대상에게 (a) IL-5R에 특이적으로 결합하는 영역 및 (b) 면역글로불린 Fc 영역을 포함하는 IL-5R 결합 분자의 0.03 mg/kg의 단일 용량을 투여하는 단계(여기에서, IL-5R 결합 분자의 투여는 대상의 순환으로부터의 호산구의 약 99% 이상의 고갈을 초래하고, 고갈은 투약후 24시간에 완료되며, 고갈은 투약후 약 28일 이상 동안 지속됨)를 포함한다.

[0053] 한 특정 실시양태에서, 본 발명의 방법은 대상에게 (a) IL-5R에 특이적으로 결합하는 영역 및 (b) 면역글로불린 Fc 영역을 포함하는 IL-5R 결합 분자를 0.1 mg/kg의 단일 용량으로 투여하는 단계(여기에서, IL-5R 결합 분자의 투여는 대상의 순환으로부터의 호산구의 약 99% 이상의 고갈을 초래하고, 고갈은 투약후 24시간까지 완료되며, 고갈은 투약후 약 84일 이상 동안 지속됨)를 포함한다.

[0054] 한 실시양태에서, 본 발명의 IL-5R 결합 분자는 융합 단백질을 포함한다. 일부 실시양태들에서, 융합 단백질은 IL-5R에 특이적으로 결합하는 폴리펩티드 영역을 포함하고, 면역글로불린 Fc 영역을 추가로 포함한다. IL-5R에 특이적으로 결합하는 폴리펩티드 영역의 비제한적 예를 미국 특허 제7,109,299호 및 제5,677,280호, 미국 특허 출원 공개 제2006/0014680 A1호에서 찾아볼 수 있다. 다른 실시양태들에서, IL-5R에 특이적으로 결합하는 폴리펩티드 영역은 인간 IL-5(예를 들어, 문헌 [Tanabi et al., Journal of Biological Chemistry, 1987, Vol. 262, No. 34, pp. 16580-16584]을 참조한다), 또는 이의 단편, 유도체 또는 변이체(예를 들어, 미국 특허 제

6,465,616호를 참조한다)이다.

[0055] 한 실시양태에서, 본 발명의 IL-5R 결합 분자는 항체를 포함한다. 본 발명의 항체에는 단클론 항체, 합성 항체, 다중특이적 항체(이중특이적 항체 포함), 인간 항체, 인간화 항체, 키메라 항체, 단체 Fv(scFv)(이중특이적 scFv 포함), 단체 항체, Fab 단편, F(ab') 단편, 이황화-결합 Fv(sdFv), 및 이들 중 임의의 것의 에피토프-결합 단편이 포함되나, 이들에 국한되지 않는다. 특히, 본 발명의 항체에는 면역글로불린 분자, 및 면역글로불린 분자의 면역학적 활성 부분, 즉 항원에 특이적으로 결합하는 항원 결합 부위를 함유하는 분자가 포함된다. 본 발명의 면역글로불린 분자는 면역글로불린 분자의 임의의 유형의 것(예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 임의의 부류의 것(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 임의의 하위부류의 것일 수 있다.

[0056] 본 발명에 유용한 항체는 조류 및 포유동물(예를 들어, 단 이들에 국한되는 것은 아니나, 인간, 쥐, 당나귀, 양, 토끼, 염소, 기니어피그, 낙타, 말 또는 닭)을 포함한 임의의 동물 기원으로부터의 것일 수 있다. 특정 실시양태에서, 항체는 인간 또는 인간화 단클론 항체이다.

[0057] 본 발명에 유용한 항체는 단일특이적, 이중특이적, 삼중특이적이거나, 보다 큰 차수의 다중특이적일 수 있다. 다중특이적 항체는 폴리펩티드의 상이한 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있거나, 폴리펩티드뿐만 아니라 이종 에피토프, 예컨대 이종 폴리펩티드 또는 고체 지지체 물질에 특이적으로 결합할 수 있다. 예를 들어, 국제 특허 공개 제WO 93/17715호, 제WO 92/08802호, 제WO 91/00360호 및 제WO 92/05793호; 문헌 [Tutt, et al., 1991, J. Immunol. 147:60-69]; 미국 특허 제4,474,893호, 제4,714,681호, 제4,925,648호, 제5,573,920호 및 제5,601,819호; 및 문헌 [Kostelnik et al., 1992, J. Immunol. 148:1547-1553]를 참조한다.

[0058] 본 발명에 유용한 항체는 단체 항체일 수 있다. 단체 항체의 고안 및 작제가 문헌 [Marasco et al., 1993, Proc Natl Acad Sci 90:7889-7893]에 기재되어 있다.

[0059] 본 발명의 항체의 비제한적 예를 미국 특허 제7,179,464호, 제6,538,111호, 제6,018,032호, 및 미국 특허 출원 공개 제2004/0136996 A1호, 제2005/0226867 A1호에서 찾아볼 수 있다.

[0060] 한 실시양태에서, 본 발명의 IL-5R 결합 분자는 항체를 포함한다. 다른 한 실시양태에서, 본 발명의 IL-5R 결합 분자는 서열 번호 1 내지 4의 아미노산 서열들 중 임의의 하나를 포함하는 항체이다. 한 특정 실시양태에서, 본 발명의 IL-5R 결합 분자는 서열 번호 1 및 3의 아미노산 서열을 포함하는 항체이다. 한 특정 실시양태에서, 본 발명의 IL-5R 결합 분자는 서열 번호 2 및 4의 아미노산 서열을 포함하는 항체이다.

[0061] 한 실시양태에서, 본 발명의 IL-5R 결합 분자는 MEDI-563와 동일한 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체이다. 다른 한 특정 실시양태에서, 항체는 MEDI-563이다. 다른 한 특정 실시양태에서, 본 발명의 IL-5R 결합 분자는 MEDI-563과 동일한 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체이나, 단 그 항체는 MEDI-563이 아니다.

[0062] 한 실시양태에서, 본 발명의 IL-5R 결합 분자는 서열 번호 5의 잔기 1 내지 102를 포함하는 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체이다. 한 특정 실시양태에서, 항체는 MEDI-563이다. 다른 한 특정 실시양태에서, 본 발명의 IL-5R 결합 분자는 서열 번호 5의 잔기 1 내지 102를 포함하는 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체이나, 단 그 항체는 MEDI-563이 아니다.

[0063] 한 실시양태에서, 본 발명의 IL-5R 결합 분자는 서열 번호 5의 잔기 40 내지 67을 포함하는 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체이다. 한 특정 실시양태에서, 항체는 MEDI-563이다. 다른 한 특정 실시양태에서, 본 발명의 IL-5R 결합 분자는 서열 번호 5의 잔기 40 내지 67을 포함하는 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체이나, 단 그 항체는 MEDI-563이 아니다.

[0064] 한 실시양태에서, 본 발명의 IL-5R 결합 분자는 서열 번호 5의 잔기 52 내지 67을 포함하는 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체이다. 한 특정 실시양태에서, 항체는 MEDI-563이다. 다른 한 특정 실시양태에서, 본 발명의 IL-5R 결합 분자는 서열 번호 5의 잔기 52 내지 67을 포함하는 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체이나, 단 그 항체는 MEDI-563이 아니다.

[0065] 한 실시양태에서, 본 발명의 IL-5R 결합 분자는 서열 번호 5의 잔기 61을 포함하는 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체이다. 한 특정 실시양태에서, 항체는 MEDI-563이다. 다른 한 특정 실시양태에서, 본 발명의 IL-5R 결합 분자는 서열 번호 5의 잔기 61을 포함하는 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체이나, 단 그 항체는 MEDI-563이 아니다.

[0066] 한 실시양태에서, 본 발명의 IL-5R 결합 분자는 서열 번호 5의 잔기 1 내지 102를 포함하는 제1 항원에 특이적

으로 결합하나 서열 번호 5의 잔기 1 내지 102의 변이체(여기에서, 변이체는 I61K 치환을 포함함)를 포함하는 제2 항원에는 특이적으로 결합하지 않는 항체이다. 한 특정 실시양태에서, 항체는 MEDI-563이다. 다른 한 특정 실시양태에서, 본 발명의 IL-5R 결합 분자는 서열 번호 5의 잔기 1 내지 102를 포함하는 제1 항원에 특이적으로 결합하나 서열 번호 5의 잔기 1 내지 102의 변이체(여기에서, 변이체는 I61K 치환을 포함함)를 포함하는 제2 항원에는 특이적으로 결합하지 않는 항체이나, 단 그 항체는 MEDI-563이 아니다.

[0067] 한 실시양태에서, 본 발명의 IL-5R 결합 분자는 서열 번호 5의 잔기 40 내지 67을 포함하는 제1 항원에 특이적으로 결합하나 서열 번호 5의 잔기 40 내지 67의 변이체(여기에서, 변이체는 I61K 치환을 포함함)를 포함하는 제2 항원에는 특이적으로 결합하지 않는 항체이다. 한 특정 실시양태에서, 항체는 MEDI-563이다. 다른 한 특정 실시양태에서, 본 발명의 IL-5R 결합 분자는 서열 번호 5의 잔기 40 내지 67을 포함하는 제1 항원에 특이적으로 결합하나 서열 번호 5의 잔기 40 내지 67의 변이체(여기에서, 변이체는 I61K 치환을 포함함)를 포함하는 제2 항원에는 특이적으로 결합하지 않는 항체이나, 단 그 항체는 MEDI-563이 아니다.

[0068] 한 실시양태에서, 본 발명의 IL-5R 결합 분자는 인간 IL-5R알파(서열 번호 5)에는 특이적으로 결합하나, I61K 치환을 포함하는 돌연변이체 인간 IL-5R알파(서열 번호 5)에는 특이적으로 결합하지 않는 항체이다. 한 특정 실시양태에서, 항체는 MEDI-563이다. 다른 한 특정 실시양태에서, 본 발명의 IL-5R 결합 분자는 인간 IL-5R알파(서열 번호 5)에는 특이적으로 결합하나, I61K 치환을 포함하는 돌연변이체 인간 IL-5R알파(서열 번호 5)에는 특이적으로 결합하지 않는 항체이나, 단 그 항체는 MEDI-563이 아니다.

[0069] 본 발명은 IL-5R 결합 분자에 증가된 이펙터 기능을 제공한다. 이펙터 기능을 증가시키는 방법의 비제한적 예를 미국 특허 제5,624,821호, 제6,602,684호, 제7,029,872호, 미국 특허 출원 공개 제2006/0067930 A1호, 제2005/0272128 A1호, 제2005/0079605 A1호, 제2005/0123546 A1호, 제2004/0072290 A1호, 제2006/0257399 A1호, 제2004/0261148 A1호, 제2007/0092521호, 제2006/0040325 A1호, 및 제2006/0039904 A1호, 및 국제 특허 출원 공개 제WO 04/029207호, 제WO 03011878호, 제WO 05044859호, 제WO 06071856호 및 제WO 06071280호에서 찾을 수 있다.

[0070] 이펙터 기능을 변경시키기 위해 항체의 Fc 영역을 조작하는 방법이 당업계에 공지되어 있다(예를 들어, FC γ RIIA에 대한 결합 친화도 대비, Fc γ RIIB에 대한 결합 친화도를 증진시키기 위해 Fc 영역을 변경시키는 것을 기재하고 있는, 미국 특허 공개 제20040185045호 및 PCT 공개 제WO 2004/016750호(양자 모두 Koenig et al.)를 참조하고; 또한 PCT 공개 제WO 99/58572호(Armour et al.), 제WO 99/51642호(Idusogie et al.), 및 미국 특허 제6,395,272호(Deo et al.)도 참조하며; 이들의 개시내용은 전문이 본원에 참조 인용됨). Fc γ RIIB에 대한 결합 친화도를 감소시키기 위해 Fc 영역을 변형시키는 방법도 또한 당업계에 공지되어 있다(예를 들어, 미국 특허 공개 제20010036459호 및 PCT 공개 제WO 01/79299호(양자 모두 Ravetch et al.), 이의 개시내용은 전문이 본원에 참조 인용됨). 야생형 Fc 영역에 비해 FC γ RIIIA 및/또는 FC γ RIIA에 대한 결합 친화도가 증진된 변이체 Fc 영역을 갖는 변형된 항체가 또한 기재되었다[예를 들어, PCT 공개 제WO 2004/063351호(Stavenhagen et al.)(이의 개시내용은 전문이 본원에 참조 인용됨)을 참조한다].

[0071] 항체 이펙터 기능은 또한 변경된 당화 패턴을 갖는 항체의 생산을 통해 변형될 수 있다. 예를 들어, 변경된 유형의 당화를 가지는 항체, 예컨대 감소된 양의 푸코실 잔기를 가지는 비푸코실화/저푸코실화 항체 또는 증가된 양분 GlcNac 구조를 가지는 항체가 제조될 수 있다. 그러한 변경된 당화 패턴은 항체의 ADCC 능력을 증가시키는 것으로 입증되었다. 그러한 탄수화물 변형은 변경된 당화 기구를 갖는 숙주 세포에서 항체를 발현함으로써 달성될 수 있다. 변경된 당화 기구를 갖는 세포가 당업계에 기재되었고 본 발명의 재조합 항체를 발현함으로써 변경된 당화를 갖는 항체를 생성시키는 숙주 세포로서 사용될 수 있다. 예를 들어, EP 1,176,195(Hanai et al.)는 푸코실 트랜스퍼라제를 코딩하는, 작용적으로 저해된 FUT8 유전자를 가짐으로써 저푸코실화를 나타내는 세포주를 기재한다. PCT 공개 WO 03/035835(Presta)는 Asn(297)-결합 탄수화물에 푸코스를 부착시키는 능력이 감소되어, 이에 따라 또한 그 숙주 세포 내에 발현되는 항체의 저푸코실화를 초래하는 변이체 CHO 세포주, Led 3 세포를 기재한다(문헌 [Shields, R. L. et al.(2002) J. Biol. Chem. 277:26733-26740]도 또한 참조한다). PCT 공개 WO 99/54342(Umana et al.)는, 당단백질-변형 글리코실 트랜스퍼라제(예를 들어, 베타(1,4)-N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라제 III(GnTIII))를 발현하도록 조작되어, 조작된 세포주 내에 발현된 항체가 증가된 양분 GlcNac 구조를 나타내고, 이에 항체의 증가된 ADCC 활성이 초래되도록 하는 세포주를 기재한다(또한 문헌 [Umana et al.(1999) Nat. Biotech. 17:176-180]을 참조한다).

[0072] 변경된 당형태를 가지는 항체를 생성시키는 방법이 당업계에 공지되어 있고, 이에는 문헌 [Umana et al., 1999, Nat. Biotechnol 17: 176-180]; 문헌 [Davies et al., 20017 Biotechnol Bioeng 74:288-294]; 문헌 [Shields

et al., 2002, J Biol Chem 277:26733-26740]; 문현 [Shinkawa et al., 2003, J Biol Chem 278:3466-3473]; 미국 특허 제6,602,684호; 미국 연속 출원 제10/277,370호; 미국 연속 출원 제10/113,929호; PCT WO 00/61739 A1; PCT WO 01/292246 A1; PCT WO 02/311140 A1; PCT WO 02/30954 A1; 포틸레전트(Potillegent)™ 테크놀로지(바이오와 인코포레이티드(Biowa, Inc.; 미국 뉴저지주 프린스톤 소재); 글리코맵(GlycoMAb)™ 당화 조작 기술(글리카트 바이오테크놀로지 아게(GLYCART biotechnology AG, 스위스 쥐리히 소재)에 기재된 것들이 포함되나, 이들에 국한되지 않는다. 예를 들어, WO 00061739; EA 01229125; US 2003/0115614; 문현 [Okazaki et al., 2004, JMB, 336: 1239-49]를 참조한다. 변경된 푸코실화 패턴을 갖는 항체는 또한 (예를 들어, 푸코시다제 효소를 이용하여) 푸코스의 번역후 제거에 의해 제조될 수 있다.

[0073] 본 발명은 생체내 연장된 반감기를 가지는, IL-5R에 특이적으로 결합하는 항체 및 항체 단편을 제공한다. 특히, 본 발명은 포유동물(예를 들어, 단 이에 국한되는 것은 아니나, 인간)에서 3일 초파, 7일 초파, 10일 초파, 15일 초파, 25일 초파, 30일 초파, 35일 초파, 40일 초파, 45일 초파, 2개월 초파, 3개월 초파, 4개월 초파, 또는 5개월 초파의 반감기를 가지는 항체 및 항체 단편을 제공한다.

[0074] 생체내 항체(예를 들어, 단 이들에 국한되는 것은 아니나, 단클론 항체 및 단쇄 항체) 또는 항체 단편(예를 들어, 단 이들에 국한되는 것은 아니나, Fab 단편)의 혈청 순환을 연장하기 위해, 예를 들어 고분자량 폴리에틸렌 글리콜(PEG)과 같은 불활성 중합체 분자는 항체의 N- 또는 C-말단에의 PEG의 부위-특이적 접합을 통해, 또는 리신 잔기 상에 존재하는 앱실론-아미노기를 통해 다중작용성 링커를 이용하여 또는 이를 이용하지 않으면서, 항체(이의 항체 단편 포함)에 부착될 수 있다. 생물학적 활성의 최소 손실을 초래하는 선형 또는 분지형 중합체 유도체화가 이용될 것이다. 항체로의 PEG 분자의 적절한 접합을 확실히 하기 위해, 접합도가 SDS-PAGE 및 질량 분석법에 의해 면밀히 모니터링될 수 있다. 미반응 PEG는 크기-배제 또는 이온-교환 크로마토그래피에 의해 항체-PEG 접합체로부터 분리될 수 있다. PEG-유도체화 항체(이의 항체 단편 포함)는 당업자에게 공지된 방법을 이용하여, 예를 들어 본원에 기재된 면역검정에 의해 생체내 효능에 대해서뿐만 아니라 결합 활성에 대해 시험될 수 있다.

[0075] 생체내 증가된 반감기를 갖는 항체는 또한 하나 이상의 아미노산 변형(즉, 치환, 삽입 또는 결실)을 IgG 불변 도메인, 또는 이의 FcRn 결합 단편(예를 들어, Fc 또는 헌지-Fc 도메인 단편)에 도입함으로써 생성될 수 있다. 예를 들어, 국제 특허 공개 제WO 98/23289호; 국제 특허 공개 제WO 97/34631호; 및 미국 특허 제6,277,375호(이들은 각기 전문이 본원에 참조 인용됨)를 참조한다.

[0076] 또한, 항체(이의 항체 단편 포함)는 항체(이의 항체 단편 포함)를, 생체내 더욱 안정하도록 하거나 생체내 보다 긴 반감기를 가지도록 하기 위해, 일부만에 접합될 수 있다. 그 기법들이 당업계에 공지되어 있고, 이에 대해 예를 들어, 국제 특허 공개 제WO 93/15199호, 제WO 93/15200호 및 제WO 01/77137호; 및 유럽 특허 제EP 413,622호(이들은 각기 전문이 본원에 참조 인용됨)를 참조한다.

[0077] 본 발명은, 결합 분자가 이종 단백질 또는 폴리펩티드 (또는 10개 이상, 20개 이상, 30개 이상, 40개 이상, 50개 이상, 60개 이상, 70개 이상, 80개 이상, 90개 이상 또는 100개 이상의 아미노산의 폴리펩티드의 단편)에 재조합 융합되거나 또는 화학적으로 접합(공유 접합 및 비공유 접합 모두 포함)되어 융합 단백질을 생성시키는, IL-5R에 특이적으로 결합하는 IL-5R 결합 분자를 제공한다. 특히, 본 발명은 본원에 기재된 항체의 항원-결합 단편(예를 들어, 단 이들에 국한되는 것은 아니나, Fab 단편, Fd 단편, Fv 단편, F(ab)2 단편, VH 도메인, VH CDR, VL 도메인 또는 VL CDR) 및 이종 단백질, 폴리펩티드, 또는 웹티드를 포함하는 융합 단백질의 제제를 제공한다. 단백질, 폴리펩티드, 또는 웹티드를 항체(이의 항체 단편 포함)에 융합 또는 접합시키는 방법이 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 미국 특허 제5,336,603호, 제5,622,929호, 제5,359,046호, 제5,349,053호, 제5,447,851호 및 제5,112,946호; 유럽 특허 제EP 307,434호 및 제EP 367,166호; 국제 특허 공개 제WO 96/04388 호 및 제WO 91/06570호; 문현 [Ashkenazi et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:10535-10539]; 문현 [Zheng et al., 1995, J. Immunol. 154:5590-5600]; 및 문현 [Vil et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:11337- 11341](상기 참조문헌들은 전문이 본원에 참조 인용됨)을 참조한다.

[0078] 부가적 융합 단백질은 유전자-셔플링, 모티프-셔플링, 엑손-셔플링 및/또는 코돈-셔플링("DNA 셔플링"으로 총칭됨)의 기법을 통해 생성될 수 있다. DNA 셔플링은 본 발명의 항체 또는 이의 단편(예를 들어, 단 이들에 국한되는 것은 아니나, 친화도는 보다 높고 해리 속도는 보다 낮은 항체 또는 이의 단편)의 활성을 변경하기 위해 이용될 수 있다. 일반적으로, 미국 특허 제5,605,793호, 제5,811,238호, 제5,830,721호, 제5,834,252호 및 제5,837,458호; 및 문현 [Patten et al., 1997, Curr. Opinion Biotechnol. 8:724-33]; 문현 [Harayama, 1998, Trends Biotechnol. 16(2):76-82]; 문현 [Hansson et al., 1999, J. Mol. Biol. 287:265-76]; 및 문현

[Lorenzo 및 Blasco, 1998, *Biotechniques* 24(2):308-313] (상기 특허 및 공보는 각각 전문이 본원에 참조 인용됨)을 참조한다. 항체(이의 항체 단편 포함), 또는 코딩된 항체 또는 이의 단편은 재조합하기 전에 에러-프론(error-prone) PCR, 무작위적인 뉴클레오티드 삽입 또는 기타 방법에 의해 무작위 돌연변이유발시킴으로써 변경될 수 있다. 항체(이의 항체 단편 포함)을 코딩하는 폴리뉴클레오티드는 하나 이상의 이종 분자의 하나 이상의 성분, 모티프, 절편, 부분, 도메인, 단편 등과 재조합될 수 있다.

[0079] 또한, 항체(이의 항체 단편 포함)는 마커 서열, 예컨대 웨პ티드에 융합되어 정제를 용이하게 할 수 있다. 마커 아미노산 서열은 시판되는 다수의 벡터 중에서도 pQE 벡터(키아젠 인코포레이티드(QIAGEN, Inc.), 미국 91311 캘리포니아주 체츠워쓰 에톤 애비뉴 9259 소재)에 제공된 태그와 같은 헥사-히스티딘 웨პ티드일 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Gentz et al., 1989, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:821-824]에 기재된 바와 같이, 헥사-히스티딘은 융합 단백질의 정제를 용이하게 한다. 정제에 유용한 다른 웨პ티드 태그에는 인플루엔자 해마글루터닌 단백질로부터 유래된 에피토프에 상응하는 해마글루터닌("HA") 태그(문헌 [Wilson et al., 1984, 세포 37:767]), 및 "플래그(flag)" 태그가 포함되나, 이들에 국한되지 않는다.

[0080] 다른 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 이의 단편은 진단 또는 검출가능한 작용제에 접합된다. 그러한 항체는 특정 요법의 효능을 결정하는 것과 같은 임상 시험 절차의 일부로서, 질병 또는 장애(예를 들어, 단 이에 국한되는 것은 아니나, 자가면역 장애)의 발병, 발달, 진전 및/또는 심각도를 모니터하거나 예후진단하는 데 유용할 수 있다. 그러한 진단 및 검출은 각종 효소들, 예컨대 단, 이들에 국한되는 것은 아니나 호스래디쉬 페옥시다제, 알칼리성 포스파타제, 베타-갈락토시다제 또는 아세틸콜린에스터라제; 보철기, 예컨대 단, 이들에 국한되는 것은 아니나, 스트렙타비딘/비오틴 및 아비딘/비오틴; 형광 물질, 예컨대 단, 이들에 국한되는 것은 아니나, 움벨리페론, 플루오레신, 플루오레신 이소티오시아네이트, 로다민 디클로로트리아지닐아민 플루오레신, 단실 염화물 또는 파이코에리트린; 발광 물질, 예컨대 단, 이들에 국한되는 것은 아니나, 루미돌; 생체발광 물질, 예컨대 단, 이들에 국한되는 것은 아니나, 루시퍼라제, 루시페린 및 아에쿠오린; 방사능 물질, 예컨대 단, 이들에 국한되는 것은 아니나, 요오드(^{131}I , ^{125}I , ^{123}I , 및 ^{121}I), 탄소(^{14}C), 황(^{35}S), 트리튬(^3H), 인듐(^{115}In , ^{113}In , ^{112}In , 및 ^{111}In), 테크네튬(^{99}Tc), 탈륨(^{201}Ti), 갈륨(^{68}Ga , ^{67}Ga), 팔라듐(^{103}Pd), 몰리브데늄(^{99}Mo), 제논(^{133}Xe), 불소(^{18}F), ^{153}Sm , ^{177}Lu , ^{159}Gd , ^{149}Pm , ^{140}La , ^{175}Yb , ^{166}Ho , ^{90}Y , ^{47}Sc , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{142}Pr , ^{105}Rh , ^{97}Ru , ^{68}Ge , ^{57}Co , ^{65}Zn , ^{85}Sr , ^{32}P , ^{153}Gd , ^{169}Yb , ^{51}Cr , ^{54}Mn , ^{75}Se , ^{113}Sn , 및 ^{117}Sn ; 및 각종 양전자 방출 단층촬영을 이용한 양전자 방출 금속, 및 비방사능 상자성 금속 이온을 포함하나 이들에 국한되지 않는 검출가능한 물질에 항체를 커플링함으로써 달성될 수 있다.

[0081] 대안적으로, 미국 특허 제4,676,980호(Segal)(이는 전문이 본원에 참조 인용됨)에 기재된 바와 같이, 항체는 제2 항체에 접합되어, 항체 이종접합체를 형성할 수 있다.

[0082] 관심 항원(예를 들어, IL-5R)에 결합된 치료 부분 또는 약물, 또는 이의 단편은 대상에서 특정 질병 또는 장애, 예를 들어 인터페론 알파 폴리펩티드의 이상 발현 및/또는 활성과 관련되거나 인터페론 알파 폴리펩티드의 이상 발현 및/또는 활성을 특징으로 하는 질병 또는 장애, 인터페론 알파 수용체 또는 이의 하나 이상의 서브유닛의 이상 발현 및/또는 활성을 특징으로 하는 질병 또는 장애, 자가면역 질병, 자가면역 질병, 이식 거부, 이식편 대 숙주 질병, 또는 이의 하나 이상의 증상에 대한 요망되는 예방 또는 치료 효과(들)를 달성하도록 선택되어야 한다. 임상의 또는 다른 의료 인력은, 관심 항원, 예를 들어 인터페론 알파 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편에 접합시킬 대상을 결정할 때, 질병의 속성, 질병의 심각도 및 대상의 상태를 고려해야 한다.

[0083] 항원에 특이적으로 결합하는 항체(이의 항체 단편 포함)는 항체의 합성을 위해 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해, 특히 화학적 합성 또는 재조합 발현 기법에 의해 생성될 수 있다(미국 특허 공개 제2007/0014724 A1호를 참조한다).

[0084] 항원에 대해 특이적인 다클론 항체는 당업계에 공지된 각종 절차들에 의해 생성될 수 있다. 예를 들어, 인간 항원은 토끼, 마우스, 래트 등을 포함하나 이들에 국한되지 않는 각종 숙주 동물들에게 투여되어, 인간 항원에 대해 특이적인 다클론 항체를 함유하는 혈청의 생성을 유도할 수 있다. 숙주 종에 따라, 면역학적 반응을 증가시키기 위해 각종 아주반트들이 사용될 수 있고, 이에는 프로인트 아주반트(완전 및 불완전), 미네랄 젤, 예컨대 수산화알루미늄, 표면 활성 물질, 예컨대 리소레시틴, 플루로닉 폴리올, 다가음이온, 웨პ티드, 오일 유화액, 키홀 립펫 헤모시아닌, 디니트로페놀, 및 잠재적으로 유용한 인간 아주반트, 예컨대 BCG(바실 칼메뜨-게랭(bacille Calmette-Guerin)) 및 코리네박테리움 파르룸(*corynebacterium parvum*)이 포함된다. 그러한 아주반트

도 또한 당업계에 공지되어 있다.

[0085] 단클론 항체는 하이브리도마, 재조합 및 파지 디스플레이 기법, 또는 이들의 조합의 사용을 포함한, 당업계에 공지된 매우 다양한 기법들을 이용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 단클론 항체는 당업계에 공지되어 있고, 예를 들어 문헌 [Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988)]; 문헌 [Hammerling, et al., in: *Monoclonal Antibodies* 및 *T-cell Hybridomas* 563-681(Elsevier, N.Y., 1981)], 및 문헌 [Harlow et al., *Using Antibodies: A laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press(1999)](상기 참조문헌들은 전문이 참조 인용됨)에 교시된 것들을 포함한 하이브리도마 기법을 이용하여 생성될 수 있다. 본원에 사용되는 용어 "단클론 항체"는 하이브리도마 기술을 통해 생성된 항체에 국한되지 않는다. 용어 "단클론 항체"는 임의의 진핵 클론, 원핵 클론 또는 파지 클론을 포함한 단일 클론으로부터 유래되나, 생산 방법에 의한 것은 아닌 항체를 지칭한다.

[0086] 하이브리도마 기술을 이용한 특정 항체를 생성시키고 선별하는 방법은 통상적이며, 당업계에 공지되어 있다. 간략히 설명하면, 마우스를 쥐가 아닌 동물의 항원으로 면역화할 수 있고, 일단 면역 반응이 검출되면, 예를 들어 항원에 대해 특이적인 항체가 마우스 혈청에서 검출되고, 마우스 비장을 수거하고, 비장세포를 단리한다. 이어서, 비장세포를 임의의 적당한 골수종 세포, 예를 들어 ATCC로부터 입수가능한 세포주 SP20으로부터의 세포에 공지된 기법에 의해 융합시킨다. 하이브리도마를 선택하여 제한된 희석법에 의해 클로닝한다. 부가적으로, RIMMS(반복 면역화 다중 부위) 기법을 사용하여, 동물을 면역화할 수 있다(문헌 [Kilpatrick et al., 1997, *Hybridoma* 16:381-9](이는 전문이 본원에 참조 인용됨)). 이어서, 당업계에 공지된 방법에 의해 하이브리도마 클론을, 본 발명의 폴리펩티드와 결합할 수 있는 항체를 분비하는 세포인지 여부에 대해 검정한다. 일반적으로 고수준의 항체를 함유하는 복수액은 양성 하이브리도마 클론으로 마우스를 면역화함으로써 생성될 수 있다.

[0087] 본 발명은 단클론 항체의 생산 방법, 및 본 발명의 항체를 분비하는 하이브리도마 세포를 배양하는 단계를 포함하는 방법에 의해 생산된 항체를 제공하는데, 여기에서 하이브리도마는 쥐가 아닌 동물의 항원으로 면역화된 마우스로부터 단리된 비장세포를 골수종 세포와 융합한 후, 항원에 결합할 수 있는 항체를 분비하는 하이브리도마 클론에 대해 융합체로부터 수득되는 하이브리도마를 선별함으로써 생성된다.

[0088] 특이적인 특정 에피토프를 인식하는 항체 단편은 당업자에게 공지된 임의의 기법에 의해 생성될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 Fab 및 F(ab')2 단편은 효소, 예를 들어, 파파인(Fab 단편 생산) 또는 웨신(F(ab')2 단편 생산)을 이용하여, 면역글로불린 분자의 단백분해 절단에 의해 생성될 수 있다. F(ab')2 단편은 중쇄의 CH1 도메인, 가변적 영역, 및 경쇄 불변 영역을 함유한다. 추가로, 본 발명의 항체는 또한 당업계에 공지된 다양한 파지 디스플레이 방법을 이용하여 생성될 수 있다.

[0089] 파지 디스플레이 방법에 있어서, 작용성 항체 도메인은 이 도메인을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 가지는 파지 입자의 표면 상에서 디스플레이된다. 특히, VH 및 VL 도메인을 코딩하는 DNA 서열은 동물 cDNA 라이브러리(예를 들어, 영향을 받는 조직의 인간 또는 쥐 cDNA 라이브러리)로부터 증폭된다. VH 및 VL 도메인을 코딩하는 DNA는 PCR에 의해 scFv 링커와 함께 재조합되어, 파지미드 벡터 내로 클로닝된다. 벡터를 *E. coli*(*E. coli*) 내로 전기천공시키고, *E. coli*를 헤파 파지로 감염시킨다. 이들 방법에서 사용된 파지는 전형적으로 fd 및 M13을 포함한 섬유상 파지이고, VH 및 VL 도메인은 일반적으로 파지 유전자 III 또는 유전자 VIII와 재조합적으로 융합된다. 특정 항원에 결합하는 항원 결합 도메인을 발현하는 파지는 표지된 항원 또는 고체 표면이나 비드에 결합되거나 포획된 항체로 선택되거나 동정될 수 있다. 본 발명의 항체 생산에 사용될 수 있는 파지 디스플레이법의 예에는 문헌 [Brinkman et al., 1995, *J. Immunol. Methods* 182:41-50]; 문헌 [Ames et al., 1995, *J. Immunol. Methods* 184:177-186]; 문헌 [Kettleborough et al., 1994, *Eur. J. Immunol.* 24:952-958]; 문헌 [Persic et al., 1997, *Gene* 187:9-18]; 문헌 [Burton et al., 1994, *Advances in Immunology* 57:191-280]; 국제 특허 출원 제PCT/GB91/01134호; 국제 특허 공개 제WO 90/02809호, 제WO 91/10737호, 제WO 92/01047호, 제WO 92/18619호, 제WO 93/11236호, 제WO 95/15982호, 제WO 95/20401호, 및 제WO97/13844호; 및 미국 특허 제5,698,426호, 제5,223,409호, 제5,403,484호, 제5,580,717호, 제5,427,908호, 제5,750,753호, 제5,821,047호, 제5,571,698호, 제5,427,908호, 제5,516,637호, 제5,780,225호, 제5,658,727호, 제5,733,743호, 제5,969,108호, 제6,33,187호, 제5,824,520호, 및 제5,702,892호(이들 각각은 전문이 본원에 참조 인용됨)에 개시된 방법들이 포함된다.

[0090] 상기 참조문헌에 기재된 바와 같이, 파지 선택 후, 파지로부터 유래하는 항체 코딩 영역을 단리하여, 인간 항체를 비롯한 전체 항체, 또는 기타 임의의 원하는 항원 결합 단편을 생성시키기 위해 사용할 수 있으며, 또한 예를 들어 이하 기재되는 바와 같이, 포유동물 세포, 곤충 세포, 식물 세포, 효모 및 세균을 포함한, 임의의 원하

는 속주 내에서 발현될 수 있다. 예를 들어, Fab, Fab' 및 F(ab')2 단편을 재조합 생성하는 기법도 또한 당업계에 공지된 방법, 예컨대 PCT 특허 공개 제WO 92/22324호; 문헌 [Mullinax et al., 1992, BioTechniques 12(6):864-869]; 문헌 [Sawai et al., 1995, AJRI 34:26-34]; 및 문헌 [Better et al., 1988, Science 240:1041-1043](이들 참조문헌들은 전문이 본원에 참조 인용됨)에 개시된 방법들을 이용하여 수행될 수 있다.

[0091] 전체 항체를 생성시키기 위하여, VH 또는 VL 뉴클레오티드 서열, 제한효소 부위, 및 제한효소 부위를 보호하기 위한 인접(flanking) 서열을 포함하는 PCR 프라이머를 이용하여 scFv 클론내 VH 또는 VL 서열을 증폭시킬 수 있다. 당업자에게 공지된 클로닝 기법을 이용하여, PCR 증폭된 VH 도메인을, 예를 들어 VH 불변 영역, 예컨대 인간 감마 4 불변 영역을 발현시키는 벡터 내로 클로닝할 수 있고, PCR 증폭된 VL 도메인은 VL 불변 영역, 예컨대 인간 카파 또는 람다 불변 영역을 발현시키는 벡터 내로 클로닝할 수 있다. VH 또는 VL 도메인을 발현시키기 위한 벡터는 EF-1 α 프로모터, 분비 신호, 가변적 도메인을 위한 클로닝 부위, 불변 도메인, 및 네오마이신과 같은 선택적 마커를 포함한다. VH 및 VL 도메인은 또한 필요한 불변 영역을 발현시키는 하나의 벡터내로 클로닝될 수 있다. 이어서, 당업자에게 공지된 기법을 이용하여, 상기 중쇄 전환 벡터 및 경쇄 전환 벡터를 세포주에 함께 형질감염시켜, 전장 항체, 예를 들어 단, 이들에 국한되는 것은 아니나 IgG를 발현시키는 안정하거나 일과성인 세포주를 생성한다.

[0092] 인간에서의 항체의 생체내 용도 및 시험관내 검출 검정을 비롯한 일부 용도에서는, 인간 또는 키메라 항체를 사용하는 것이 적절할 수 있다. 인간 대상의 치료를 위해서는 완전 인간 항체가 특히 바람직하다. 인간 항체는, 상기 기술한 바와 같이 인간 면역글로불린 서열로부터 유도된 항체 라이브러리를 이용하는 과지 디스플레이 방법을 비롯한, 당업계에 공지된 다양한 방법으로 제조될 수 있다. 또한 미국 특허 번호 제4,444,887호 및 제4,716,111호; 및 국제 특허 공개 제WO 98/46645호, 제WO 98/50433호, 제WO 98/24893호, 제WO 98/16654호, 제WO 96/34096호, 제WO 96/33735호 및 제WO 91/10741호(이들 각각은 전문이 본원에 참조 인용됨)를 참조한다.

[0093] 인간 항체는 또한 작용성의 내인성 면역글로불린을 발현시킬 수 없으나, 인간 면역글로불린은 발현시킬 수 있는 형질전환 마우스를 이용하여 생성될 수 있다. 예를 들어, 인간 중쇄 및 경쇄 면역글로불린 유전자 복합체는 무작위적으로 또는 상동성 재조합에 의해 마우스 배아 줄기 세포로 도입될 수 있다. 대안적으로, 인간 중쇄 및 경쇄 유전자 이외에도, 인간 가변적 영역, 불변 영역 및 다양성 영역이 마우스 배아 줄기 세포에 도입될 수 있다. 마우스 중쇄 및 경쇄 면역글로불린 유전자는 인간 면역글로불린 좌우가 상동성 재조합에 의해 도입됨과 동시에 또는 별도로 비작용성이 될 수 있다. 특히, JH 영역의 동형 결실(homozygous deletion)은 내인성 항체 생산을 억제한다. 변형된 배아 줄기 세포를 증식시켜, 상실배기 세포에 미세주사하여, 키메라 마우스를 생산한다. 이어서, 키메라 마우스를 번식시켜 인간 항체를 발현시키는 동종 자손을 생산한다. 선택된 항원, 예를 들면, 본 발명의 폴리펩티드 모두 또는 이의 일부를 사용하여 일반 방식으로 형질전환 마우스를 면역화시킨다. 그 항원에 대한 단클론 항체는 면역화된 형질전환 마우스로부터 통상적인 하이브리도마 기술을 사용하여 수득할 수 있다. 형질전환 마우스가 갖고 있는 인간 면역글로불린 도입유전자는 B 세포 분화 도중에 재배열하고, 그 후에 클래스 스위칭(class switching) 및 체세포 돌연변이를 거친다. 따라서, 이러한 기법을 이용하여, 치료적으로 유용한 IgG, IgA, IgM 및 IgE 항체를 생산할 수 있다. 인간 항체 생산을 위한 이 기술의 고찰을 위해, 문헌 [Lonberg 및 Huszar(1995, Int. Rev. Immunol. 13:65-93)]을 참조한다. 인간 항체 및 인간 단클론 항체 생산을 위한 상기 기술 및 이러한 항체 생산 프로토콜에 대한 보다 상세한 논의를 위해, 예를 들어 국제 특허 공개 제WO 98/24893호, 제WO 96/34096호 및 제WO 96/33735호; 및 미국 특허 제5,413,923호, 제5,625,126호, 제5,633,425호, 제5,569,825호, 제5,661,016호, 제5,545,806호, 제5,814,318호 및 제5,939,598호(이들은 전문이 본원에 참조 인용됨)를 참조할 수 있다. 또한 압제닉스 인코포레이티드(Abgenix, Inc.)(미국 캘리포니아주 프리몬트 소재) 및 젠팜(Genpharm)(미국 캘리포니아주 산호세 소재)과 같은 회사가 상기한 바와 유사한 기술을 이용하여, 선택된 항원에 대한 인간 항체를 제공하는데 관여할 수 있다.

[0094] 키메라 항체는 항체의 상이한 부분들이 상이한 면역글로불린 분자들로부터 유래된 것인 분자이다. 키메라 항체의 생산 방법이 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Morrison, 1985, Science 229:1202]; 문헌 [Oi et al., 1986, BioTechniques 4:214]; 문헌 [Gillies et al., 1989, J. Immunol. Methods 125:191-202]; 및 미국 특허 제5,807,715호, 제4,816,567호, 제4,816,397호 및 제6,331,415호(이들은 전문이 본원에 참조 인용됨)를 참조한다.

[0095] 인간화 항체는, 소정의 항원에 결합할 수 있고 실질적으로 인간 면역글로불린의 아미노산 서열을 갖는 프레임워크 영역, 및 실질적으로 인간을 제외한 면역글로불린의 아미노산 서열을 갖는 CDR을 포함하는 항체, 또는 이의 변이체 또는 이의 단편이다. 인간화 항체는 실질적으로 하나 이상, 전형적으로는 두 개의 가변적 도메인(Fab, Fab', F(ab')2, Fabc, Fv)(여기서, 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역들이 비인간 면역글로불린(즉, 도너 항

제)의 그것들에 해당하고, 모든 또는 실질적으로 모든 프레임워크 영역들이 인간 면역글로불린 공통 서열의 그 것임)을 실질적으로 모두 포함한다. 한 실시양태에서, 인간화 항체는 또한 면역글로불린 불변 영역(Fc)의 적어도 일부분, 전형적으로는 인간 면역글로불린의 적어도 일부분을 포함한다. 보통, 항체는 양 경쇄 및 중쇄 중 1개 이상의 가변적 도메인을 함유할 것이다. 항체는 또한 중쇄의 CH1, 헌지, CH2, CH3 및 CH4 영역을 포함할 수 있다. 인간화 항체는 IgM, IgG, IgD, IgA 및 IgE, 및 임의의 이소타입, 예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4를 포함하는 임의의 부류의 면역글로불린으로부터 선택될 수 있다. 통상적으로, 인간화 항체가 세포독성 활성을 나타내는 것이 요구되는 경우, 불변 도메인은 보체 고정 불변 도메인이고, 이 부류는 전형적으로 IgG1이다. 이러한 세포독성이 바람직하지 않는다면, 불변 도메인은 전형적으로 IgG2 부류의 것일 수 있다. 인간화 항체는 1초과의 부류 또는 이소형의 서열을 함유할 수 있고, 요망되는 이펙터 기 작용을 최적화하는 특정 불변 도메인을 선택하는 것은 당업자의 통상적인 기술에 속한다. 인간화 항체의 프레임워크 및 CDR 영역이 모(parent) 서열과 정확히 일치할 필요는 없고, 예를 들면, 도너 CDR 또는 공통 프레임워크가 하나 이상의 잔기의 치환, 삽입 또는 결실로 돌연변이가 유발됨으로써 그 부위의 CDR 또는 프레임워크 잔기가 공통 또는 유입된 항체의 것에 상응하지 않는다. 그러나 이러한 돌연변이가 광범위한 것은 아닐 것이다. 통상적으로, 인간화 항체 잔기의 75% 이상이, 더욱 종종은 90%, 가장 바람직하게는 95% 초과의 서열이 모 프레임워크 영역 및 CDR 서열에 상응할 것이다. 인간화 항체는, CDR-그래프팅(유럽 특허 제EP 239,400호; 국제 특허 공개 제WO 91/09967호; 및 미국 특허 제5,225,539호, 제5,530,101호, 및 제5,585,089호), 베니어링(veneering) 또는 표면 재생(resurfacing)(제EP 592,106호; 제EP 519,596호; 문헌 [Padlan, 1991, Molecular Immunology 28(4/5):489-498]; 문헌 [Studnicka et al., 1994, Protein Engineering 7(6):805-814]; 및 문헌 [Roguska et al., 1994, PNAS 91:969-973]), 사슬 셔플링(미국 특허 제5,565,332호), 및 예를 들어 미국 특허 제6,407,213호, 미국 특허 제5,766,886호, 제WO 9317105호, 문헌 [Tan et al., J. Immunol. 169:1119-25(2002)], 문헌 [Caldas et al., Protein Eng. 13(5):353-60(2000)], 문헌 [Morea et al., Methods 20(3):267-79(2000)], 문헌 [Baca et al., J. Biol. Chem. 272(16): 10678-84(1997)], 문헌 [Roguska et al., Protein Eng. 9(10):895-904(1996)], 문헌 [Couto et al., Cancer Res. 55(23 Supp):5973s-5977s(1995)], 문헌 [Couto et al., Cancer Res. 55(8):1717-22(1995)], 문헌 [Sandhu JS, Gene 150(2):409-10(1994)], 및 문헌 [Pedersen et al., J. Mol. Biol. 235(3):959-73(1994)]에 기재된 기법들을 포함하나 이들에 국한되지 않는, 당업자에게 공지된 다양한 방법들에 의해 생성될 수 있다. 종종, 프레임워크 영역 내의 프레임워크 잔기는 CDR 도너 항체로부터의 상응하는 잔기로 치환되어, 항원 결합을 변형, 바람직하게는 개선시킬 것이다. 이와 같은 프레임워크 치환은 당업계에 잘 공지된 방법, 예를 들어 단 이에 국한되는 것은 아니나, 항원 결합에 중요한 프레임워크 잔기를 확인하기 위해 CDR 및 프레임워크 잔기의 상호 반응을 모델링하고, 특정 위치에 있는 특이한 프레임워크 잔기를 확인하기 위해 서열 비교를 수행함으로써 확인된다(예를 들어, 미국 특허 제5,585,089호(Queen et al.); 및 문헌 [Riechmann et al., 1988, Nature 332:323](이들은 전문이 본원에 참조 인용됨)을 참조한다).

[0096] 단일 도메인 항체, 예를 들어 경쇄 결핍 항체는 당업계에 공지된 방법에 의해 생산될 수 있다. 문헌 [Riechmann et al., 1999, J. Immuno. 231:25-38]; 문헌 [Nuttall et al., 2000, Curr. Pharm. Biotechnol. 1(3):253-263]; 문헌 [Muylderman, 2001, J. Biotechnol. 74(4):277302]; 미국 특허 제6,005,079호; 및 국제 특허 공개 제WO 94/04678호, 제WO 94/25591호 및 제WO 01/44301호(이들 각각은 전문이 본원에 참조 인용됨)를 참조한다.

[0097] 또한, 항원(예를 들어, IL-5R)에 특이적으로 결합하는 항체는 이어서 당업자에게 공지된 방법을 이용하여 항원을 "모방하는" 항-유전자형 항체를 생산하는 데 이용될 수 있다(예를 들어, 문헌 [Greenspan & Bona, 1989, FASEB J. 7(5):437-444]; 및 문헌 [Nissinoff, 1991, J. Immunol. 147(8):2429-2438]을 참조한다).

[0098] 본 발명의 항체(예를 들어, 본 발명의 항체 또는 이의 단편의 중쇄 또는 경쇄, 또는 본 발명의 단쇄 항체)의 재조합 발현은 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 함유하는 밸현 벡터의 작제를 필요로 할 수 있다. 일단 항체 분자, 항체의 경쇄 또는 중쇄, 또는 이의 단편을 코딩하는 폴리펩티드가 수득되면, 당업계에 공지된 기법을 이용하여 항체 분자를 생산하는 벡터를 재조합 DNA 기술로 생산할 수 있다. 따라서, 항체를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 폴리뉴클레오티드를 밸현시킴으로써 단백질을 제조하는 방법이 본원에 기재되어 있다. 당업자에게 공지된 방법을 사용하여, 항체 코딩 서열 및 적절한 전사 및 번역 조절 신호를 함유하는 밸현 벡터를 제작할 수 있다. 이 방법에는 예를 들어 시험관내 재조합 DNA 기법, 합성 기법 및 생체내 유전자 재조합이 포함된다. 따라서, 본 발명은 프로모터에 작동가능하게 연결된, 본 발명의 항체 분자, 항체의 중쇄 또는 경쇄, 항체(이의 항체 단편 포함)의 중쇄 또는 경쇄 가변적 도메인, 또는 중쇄 또는 경쇄 CDR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 복제가능한 벡터를 제공한다. 그러한 벡터는 항체 분자의 불변 영역을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있고(예를 들어, 국제 특허 공개 제WO 86/05807호; 국제 특허 공개 제WO 89/01036호; 및 미국 특허 제5,122,464호를 참조한다), 전체 중쇄, 전체 경쇄, 또는 전체 중쇄 및 경쇄 모두를 밸현시키기 위해, 그

러한 벡터 내로 항체의 가변적 도메인을 클로닝할 수 있다.

[0099] 발현 벡터를 통상적 기법에 의해 숙주 세포로 전달한 후, 형질감염된 세포를 통상적 기법에 의해 배양하여, 본 발명의 항체를 생산한다. 따라서, 본 발명은 이종 프로모터에 작동가능하게 연결된, 본 발명의 항체 또는 이의 단편, 또는 이의 중쇄 또는 경쇄, 또는 이의 단편, 또는 본 발명의 단쇄 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 함유하는 숙주 세포를 포함한다. 이중쇄 항체의 발현을 위한 특정 실시양태에서는, 이후 상세히 설명되는 바와 같이, 중쇄 및 경쇄를 모두 코딩하는 벡터들이 전체 면역글로불린 분자의 발현을 위해 숙주 세포 내에서 동시 발현될 수 있다.

[0100] 각종 숙주-발현 벡터 시스템들을 이용하여, 본 발명의 항체 분자를 발현시킬 수 있다(예를 들어, 미국 특허 제 5,807,715호를 참조한다). 그러한 숙주-발현 시스템은 관심 코딩 서열을 생성시킨 후, 정제할 수 있는 비히클을 나타내나 적절한 뉴클레오티드 코딩 서열로 형질전환되거나 형질감염될 때, 본 발명의 항체 분자를 인시츄(*in situ*) 발현시킬 수 있는 세포를 나타낸다. 이에는 항체 코딩 서열을 함유하는 재조합 박테리오파지 DNA, 플라스미드 DNA 또는 코스미드 DNA 발현 벡터로 형질전환된 세균(예를 들어, 단 이들에 국한되는 것은 아니나, *E. coli* 및 *B. subtilis*)과 같은 미생물; 항체 코딩 서열을 함유하는 재조합 효모 발현 벡터로 형질전환된 효모(예를 들어, 단 이들에 국한되는 것은 아니나, 사카로마이세스 퍼치아(*Saccharomyces Pichia*)); 항체 코딩 서열을 함유하는 재조합 바이러스 발현 벡터(예를 들어, 단 이들에 국한되는 것은 아니나, 바큘로바이러스)로 감염된 곤충 세포 시스템; 항체 코딩 서열을 포함하는 재조합 바이러스 발현 벡터(예를 들어, 단 이들에 국한되는 것은 아니나, 바큘로바이러스)로 감염된 콜라이 세포 시스템; 또는 포유동물 세포의 게놈로부터 유도된 프로모터(예를 들어, 단 이에 국한되는 것은 아니나, 메탈로티오네인 프로모터) 또는 포유동물 바이러스에서 유래된 프로모터(예를 들어, 단 이들에 국한되는 것은 아니나, 아데노바이러스 후기 프로모터; 박시니아(*vaccinia*) 바이러스 7.5K 프로모터)를 함유하는 재조합 발현 작제물을 갖는 포유동물 세포 시스템(예를 들어, 단 이들에 국한되는 것은 아니나, COS, CHO, BHK, 293, NS0, 및 3T3 세포)이 포함되나, 이들에 국한되지 않는다. 바람직하게는, 에쉐리키아 콜라이과 같은 세균 세포, 및 특히 전체 재조합 항체 분자의 발현을 위해서는 진핵 세포가 재조합 항체 분자의 발현에 사용된다. 예를 들어, 차이니즈 햄스터 난소 세포(*Chinese hamster ovary cells: CHO*)가, 인간 사이토메갈로바이러스로부터의 주요 중간 초기 유전자 프로모터 요소(major intermediate early gene promoter element)와 같은 벡터와 함께, 항체의 효과적인 발현 시스템일 수 있다(문헌 [Foecking et al., 1986, Gene 45:101]; 및 문헌 [Cockett et al., 1990, Bio/Technology 8:2]). 한 특정 실시양태에서, 본 발명의 항체, 유도체, 유사체 또는 이의 단편을 코딩하는 뉴클레오티드 서열의 발현은 구성 프로모터, 유도성 프로 모터 또는 조작 특이적 프로모터에 의해 조절된다.

[0101] 세균 시스템에서, 발현되는 항체 분자에 대해 의도된 용도에 따라, 다수의 발현 벡터들이 유리하게 선택될 수 있다. 예를 들어, 항체 분자의 약학적 조성물의 생성을 위해 다양한의 상기 항체를 생산하고자 할 때는, 용이하게 정제되는 고수준의 융합 단백질 산물을 발현시키도록 지정하는 벡터가 바람직할 수 있다. 그러한 벡터에는, 항체 코딩 서열이 lac Z 코딩 영역과 인프레임(in frame)으로 벡터 내로 개별적으로 결찰되어 융합 단백질이 생산될 수 있는 *E. coli* 발현 벡터 pUR278(문헌 [Ruther et al., 1983, EMBO 12:1791]); pIN 벡터(문헌 [Inouye & Inouye, 1985, Nucleic Acids Res. 13:3101-3109]; 문헌 [Van Heeke & Schuster, 1989, J. Biol. Chem. 24:5503-5509]); 등이 포함되나, 이들에 국한되지 않는다. pGEX 벡터를 또한 사용하여, 글루타티온 5-트랜스퍼라제(GST)와의 융합 단백질로서 외부 폴리펩ти드를 발현시킬 수도 있다. 일반적으로, 그러한 융합 단백질들은 가용성이고, 매트릭스 글루타티온 아가로스 비드에 흡착하고 결합시킨 후, 유리 글루타티온의 존재 하에 용출시킴으로써, 용혈된 세포로부터 용이하게 정제될 수 있다. pGEX 벡터는 클로닝된 표적 유전자 산물이 GST 부분으로부터 유리될 수 있도록, 트롬빈 또는 인자 Xa 프로테아제 절단 부위를 포함하도록 설계된다.

[0102] 곤충 시스템에서, 오토그라파 캘리포니카(*Autographa californica*) 핵 다각체병 바이러스(AcNPV)가 외래 유전자를 발현하는 벡터로서 사용된다. 그 바이러스는 스포도프테라 프루기페르다(*Spodoptera frugiperda*) 세포 중에서 성장한다. 항체 코딩 서열은 개별적으로 바이러스의 비필수 영역(예를 들어, 다각체단백질 유전자)으로 클로닝되어 AcNPV 프로모터(예를 들어, 다각체단백질 프로모터)의 조절 하에 놓일 수 있다.

[0103] 포유동물 숙주 세포에서, 다수의 바이러스-기재 발현 시스템이 이용될 수 있다. 아데노바이러스가 발현 벡터로 사용되는 경우, 관심의 항체 코딩 서열을 아데노바이러스 전사/번역 제어 복합체, 예를 들어, 후기 프로모터 및 3부분(tripartite) 리더 서열에 결찰시킬 수 있다. 이어서, 이 키메라 유전자를 시험관내 또는 생체내 재조합에 의해 아데노바이러스 게놈에 삽입할 수 있다. 바이러스 게놈의 비필수 영역(예를 들어, 영역 E1 또는 E3)중의 삽입은, 감염 숙주 중에서 생존 가능하며 항체분자를 발현시킬 수 있는 재조합 바이러스를 초래할 것이다(예를

들어, 문헌 [Logan & Shenk, 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:355-359]를 참조한다). 또한, 특정 개시 신호는 삽입된 항체 코딩 서열의 효율적인 번역을 위해 요구될 수 있다. 이들 신호는 ATG 개시 코돈 및 인접 서열들을 포함한다. 또한, 전체 삽입물의 번역을 확실히 하기 위하여, 개시 코돈은 원하는 코딩 서열의 리딩 프레임과 상(phase)이 일치해야 한다. 이들 외인성 번역 제어 신호 및 개시 코돈은 천연 및 합성 양자의 각종 기원들을 가질 수 있다. 발현 효율은 적절한 전사 인핸서 요소, 전사 종결자 등을 포함시킴으로써 향상될 수 있다(예를 들어, 문헌 [Bittner et al., 1987, Methods in Enzymol. 153:51-544]를 참조할 수 있다).

[0104] 또한, 삽입된 서열의 발현을 조정하거나, 원하는 특정 방식으로 유전자 산물을 변형시키고 조작하는 숙주 세포 군주를 선택할 수 있다. 그러한 단백질 산물의 변형(예를 들어, 단 이에 국한되는 것은 아니라, 당화) 및 처리(예를 들어, 단 이에 국한되는 것은 아니라, 절단)은 이 단백질의 기능을 위해 중요할 수 있다. 상이한 숙주 세포는 단백질 및 유전자 산물의 번역후 처리 및 변형을 위한 특징적이고 특이적인 기전을 가진다. 적절한 세포주 또는 숙주 시스템을 선택하여, 발현되는 외래 단백질의 올바른 변형 및 처리를 확실히 할 수 있다. 이 목적으로, 유전자 산물의 1차 전사체, 당화, 및 인산화의 적절한 처리를 위한 세포 장치를 가지는 진핵 숙주 세포를 사용할 수 있다. 그러한 포유류 숙주 세포에는 CHO, VERY, BHK, HeLa, COS, MDCK, 293, 3T3, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT20 및 T47D, NS0(내인성으로 임의의 면역글로불린 사슬을 생산하지 않는 쥐 골수종 세포주), CRL7030 및 HsS78Bst 세포가 포함되나, 이들에 국한되지 않는다.

[0105] 재조합 단백질의 장기간 고수율 생산을 위해, 안정한 발현을 이용할 수 있다. 예를 들어, 항체 분자를 안정적으로 발현하는 세포주를 조작할 수 있다. 바이러스 복제 기점을 함유하는 발현 벡터를 사용하기보다는, 적절한 발현 제어 요소(예를 들어, 프로모터, 인핸서, 서열, 전사 종결자, 폴리아데닐화 부위 등)에 의해 제어되는 DNA, 및 선택가능한 마커로 숙주 세포를 형질전환시킬 수 있다. 외래 DNA의 도입에 이어, 조작된 세포를 강화 배지에서 1 내지 2일간 성장시킨 후, 선택 배지로 교체할 수 있다. 재조합 플라스미드 중의 선택가능한 마커는 선택에 내성을 부여하며 세포가 플라스미드를 그들의 염색체 내로 안정하게 통합하고 성장하여, 클로닝되어 세포주 내로 확장될 수 있는 포커스를 형성하도록 한다. 이 방법은 항체 분자를 발현하는 세포주를 조작하기 위해 유리하게 사용될 수 있다. 그러한 조작된 세포주는, 항체 분자와 직접적으로 또는 간접적으로 상호작용하는 조성물의 선별 및 평가에 특히 유용할 수 있다.

[0106] 한 실시양태에서, IL-5R 결합 분자를 발현시키는 데 사용되는 세포주는 IL-5R 결합 분자의 Fc 영역을 푸코실화 하지 않는 세포이다. 이러한 유형의 세포의 비제한적 예가 미국 특허 제6,946,292호 및 미국 특허 출원 공개 제2006/0078991 A1호, 제2004/0110282 A1호, 제2006/0024800 A1호, 제2005/0216958 A1호, 제2004/0132140호, 및 제2004/0259150호에 나와 있다. 한 특정 실시양태에서, IL-5R 결합 분자는 인간화, 비푸코실화 IgG1 항-IL-5R α 사슬 단클론 항체이다. 다른 한 특정 실시양태에서, 항체는 MEDI-563(BIW-8405로도 알려짐)이다. 다른 한 특정 실시양태에서, 항체는 MEDI-563이 아니다.

[0107] 단순포진 바이러스 티미딘 키나제(문헌 [Wigler et al., 1977, Cell 11: 223]), 하이포잔틴구아닌 포스포리보실 트랜스퍼라제(문헌 [Szybalska & Szybalski, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:202]), 및 아데닌 포스포리보실트랜스퍼라제(문헌 [Lowy et al., 1980, Cell 22: 8-17]) 유전자를 포함하나, 이들에 국한되지 않는 다수의 선택 시스템을 사용할 수 있으며, 이에는 tk-, hgprt- 또는 aprt-세포에 각각 이용될 수 있다. 또한, 하기 유전자들의 선택을 위한 기초로서 항대사물질 내성을 이용할 수 있다: 메토트렉세이트에 내성을 부여하는 dhfr (문헌 [Wigler et al., 1980, Natl. Acad. Sci. USA 77:357]; 문헌 [O'Hare et al., 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:1527]); 미코페놀산에 내성을 부여하는 gpt(문헌 [Mulligan & Berg, 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:2072]; 아미노글리코사이드 G-418에 내성을 부여하는 neo(문헌 [Wu and Wu, 1991, Biotherapy 3:87-95]; 문헌 [Tolstoshev, 1993, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32: 573-596]; 문헌 [Mulligan, 1993, Science 260:926-932]; 및 문헌 [Morgan and Anderson, 1993, Ann. Rev. Biochem. 62:191-217]; [May, 1993, TIB TECH 11:155-215]); 및 히그로마이신에 내성을 부여하는 hygro(문헌 [Santerre et al., 1984, Gene 30:147]. 재조합 DNA 기술 분야에 보편적으로 공지되어 있는 방법을 통상적으로 적용하여 원하는 재조합 클론을 선택할 수 있으며, 그러한 방법은 예를 들어, 문헌 [Ausubel et al.(eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY(1993)]; 문헌 [Kriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY(1990)]; 및 [Chapters 12 and 13, Dracopoli et al.(eds), Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY(1994)]; 문헌 [Colberre-Garapin et al., 1981, J. Mol. Biol. 150:1](이들은 전문이 본원에 참조 인용됨)에 기재되어 있다.

[0108] 항체 분자의 발현 수준은 벡터 증폭에 의해 증가될 수 있다(고찰을 위해, 문헌 [Bebbington and Hentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in

DNA cloning, Vol. 3. (Academic Press, New York, 1987)]을 참조한다). 항체를 발현하는 벡터 시스템 중의 마커가 증폭가능한 경우, 숙주 세포 배양물 중 존재하는 저해제의 수준의 증가는 마커 유전자의 카피 수를 증가시킬 것이다. 증폭된 영역이 항체 유전자와 관련되어 있기 때문에, 항체의 생산도 또한 증가할 것이다(문헌 [Crouse et al., 1983, Mol. Cell. Biol. 3:257]).

[0109] 숙주 세포는 본 발명의 두 발현 벡터, 즉, 중쇄 유래 폴리펩티드를 코딩하는 제1 벡터 및 경쇄 유래 폴리펩티드를 코딩하는 제2 벡터와 함께 공동 형질감염될 수 있다. 두 벡터는 중쇄 및 경쇄 폴리펩티드의 동등한 발현을 가능케 하는 동일한 선택가능한 마커를 함유할 수 있다. 대안적으로, 중쇄 및 경쇄 폴리펩티드 양자 모두를 코딩하고 발현시킬 수 있는 단일 벡터가 사용될 수 있다. 그러한 상황에서, 경쇄는 중쇄 앞에 위치하여 과량의 독성 유리 중쇄를 예방해야 한다(문헌 [Proudfoot, 1986, Nature 322:52]; 및 문헌 [Kohler, 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:2 197]). 중쇄 및 경쇄를 위한 코딩 서열은 cDNA 또는 게놈 DNA를 포함할 수 있다.

[0110] 일단 본 발명의 항체 분자가 재조합 발현에 의해 생산되었으면, 그것은 면역글로불린 분자의 정제를 위한 기술 분야에 공지된 임의의 방법, 예를 들어 크로마토그래피(예를 들어, 이온 교환, 친화도, 특히 단백질 A 이후의 특정 항원에 대한 친화도, 및 사이징 칼럼 크로마토그래피), 원심분리, 분별 용해도에 의해, 또는 단백질 정제를 위한 임의의 기타 표준 기술에 의해 정제될 수 있다. 또한, 본 발명의 항체 또는 이의 단편은 본원에 기재되거나 또는 달리 당업계에 공지된 이종 폴리펩티드 서열에 융합되어, 정제를 용이하게 할 수 있다.

[0111] 본 발명에 의해 포괄되는 IL-5R 결합 분자(예를 들어 항체, 단백질, 폴리펩티드, 펩티드 및 융합 단백질)의 경우, 환자에게 투여되는 투약량은 전형적으로 환자의 체중 기준, 0.0001 mg/kg 내지 100 mg/kg이다. 바람직하게, 환자에게 투여되는 투약량은 환자의 체중 기준, 0.0001 mg/kg 내지 20 mg/kg, 0.0001 mg/kg 내지 10 mg/kg, 0.0001 mg/kg 내지 5 mg/kg, 0.0001 내지 2 mg/kg, 0.0001 내지 1 mg/kg, 0.0001 mg/kg 내지 0.75 mg/kg, 0.0001 mg/kg 내지 0.5 mg/kg, 0.0001 mg/kg 내지 0.25 mg/kg, 0.0001 내지 0.15 mg/kg, 0.0001 내지 0.10 mg/kg, 0.001 내지 0.5 mg/kg, 0.01 내지 0.25 mg/kg, 또는 0.01 내지 0.10 mg/kg이다. 일반적으로, 인간 항체는 외래 폴리펩티드에 대한 면역 반응으로 인해 다른 종으로부터의 항체보다 인간 신체 내에서 더 긴 반감기를 가진다. 따라서, 인간 항체의 보다 낮은 투약량 및 보다 낮은 빈도의 투여가 종종 가능하다. 또한, 본 발명의 항체 또는 이의 단편의 투약량 및 투여 빈도는 예를 들어 감소된 예를 들어, 지질화와 같은 변형에 의해 항체의 흡수 및 조직 통과를 증진시킴으로써 감소될 수 있다.

[0112] 한 특정 실시양태에서, 환자에서의 질병 또는 이의 하나 이상의 증상을 예방, 치료, 관리 및/또는 경감시키기 위해 투여되는 IL-5R 결합 분자의 투약량은 환자의 체중 기준, 150 µg/kg 이하, 바람직하게는 125 µg/kg 이하, 100 µg/kg 이하, 95 µg/kg 이하, 90 µg/kg 이하, 85 µg/kg 이하, 80 µg/kg 이하, 75 µg/kg 이하, 70 µg/kg 이하, 65 µg/kg 이하, 60 µg/kg 이하, 55 µg/kg 이하, 50 µg/kg 이하, 45 µg/kg 이하, 40 µg/kg 이하, 35 µg/kg 이하, 30 µg/kg 이하, 25 µg/kg 이하, 20 µg/kg 이하, 15 µg/kg 이하, 10 µg/kg 이하, 5 µg/kg 이하, 2.5 µg/kg 이하, 2 µg/kg 이하, 1.5 µg/kg 이하, 1 µg/kg 이하, 0.5 µg/kg 이하, 또는 0.5 µg/kg 이하이다. 또 다른 실시양태에서, 환자에서의 과다증식 질병 또는 이의 하나 이상의 증상을 예방, 치료, 관리 및/또는 경감시키기 위해 투여되는 IL-5R 결합 분자의 투약량은 환자의 체중 기준, 0.1 mg 내지 20 mg, 0.1 mg 내지 15 mg, 0.1 mg 내지 12 mg, 0.1 mg 내지 10 mg, 0.1 mg 내지 8 mg, 0.1 mg 내지 7 mg, 0.1 mg 내지 5 mg, 0.1 내지 2.5 mg, 0.25 mg 내지 20 mg, 0.25 내지 15 mg, 0.25 내지 12 mg, 0.25 내지 10 mg, 0.25 내지 8 mg, 0.25 mg 내지 7 mg, 0.25 mg 내지 5 mg, 0.5 mg 내지 2.5 mg, 1 mg 내지 20 mg, 1 mg 내지 15 mg, 1 mg 내지 12 mg, 1 mg 내지 10 mg, 1 mg 내지 8 mg, 1 mg 내지 7 mg, 1 mg 내지 5 mg, 또는 1 mg 내지 2.5 mg의 단위 용량이다.

[0113] 다른 실시양태들에서, 대상에게 본 발명의 하나 이상의 요법제가 유효량의 1 이상의 용량으로 투여되는데, 여기에서 유효량의 용량은 본 발명의 요법제의 0.1 µg/ml 이상, 0.5 µg/ml 이상, 1 µg/ml 이상, 2 µg/ml 이상, 5 µg/ml 이상, 6 µg/ml 이상, 10 µg/ml 이상, 15 µg/ml 이상, 20 µg/ml 이상, 25 µg/ml 이상, 50 µg/ml 이상, 100 µg/ml 이상, 125 µg/ml 이상, 150 µg/ml 이상, 175 µg/ml 이상, 200 µg/ml 이상, 225 µg/ml 이상, 250 µg/ml 이상, 275 µg/ml 이상, 300 µg/ml 이상, 325 µg/ml 이상, 350 µg/ml 이상, 375 µg/ml 이상, 또는 400 µg/ml 이상의 혈청 역가를 달성한다. 다른 실시양태들에서, 대상에게 IL-5R 결합 분자의 0.1 µg/ml 이상, 0.5 µg/ml 이상, 1 µg/ml 이상, 2 µg/ml 이상, 5 µg/ml 이상, 6 µg/ml 이상, 10 µg/ml 이상, 15 µg/ml 이상, 20 µg/ml 이상, 25 µg/ml 이상, 50 µg/ml 이상, 100 µg/ml 이상, 125 µg/ml 이상, 150 µg/ml 이상, 175 µg/ml 이상, 200 µg/ml 이상, 225 µg/ml 이상, 250 µg/ml 이상, 275 µg/ml 이상, 300 µg/ml 이상, 325 µg/ml 이상, 350 µg/ml 이상, 375 µg/ml 이상, 또는 400 µg/ml 이상의 혈청 역가를 달성하기 위한, 본 발명의 IL-5R 결합 분자를 중 하나의 유효량의 용량이 투여되고, 0.1 µg/ml 이상, 0.5 µg/ml 이상, 1 µg/ml 이상, 2 µg/ml 이상, 5 µg/ml

이상, 6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상, 15 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상, 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상, 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상, 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상, 150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상, 175 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상, 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상, 225 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상, 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상, 275 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상, 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상, 325 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상, 350 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상, 375 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상, 또는 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상의 혈청 역가를 유지하기 위해, 본 발명의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자의 유효량의 후속 용량이 투여된다. 이 실시양태들에 따라, 대상에게 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12회 또는 그 이상의 후속 용량이 투여될 수 있다.

[0114] 한 특정 실시양태에서, 본 발명은 본 처리가 필요한 대상에게 10 μg 이상, 바람직하게는 15 μg 이상, 20 μg 이상, 25 μg 이상, 30 μg 이상, 35 μg 이상, 40 μg 이상, 45 μg 이상, 50 μg 이상, 55 μg 이상, 60 μg 이상, 65 μg 이상, 70 μg 이상, 75 μg 이상, 80 μg 이상, 85 μg 이상, 90 μg 이상, 95 μg 이상, 100 μg 이상, 105 μg 이상, 110 μg 이상, 115 μg 이상, 또는 120 μg 이상의 용량의, 본 발명의 하나 이상의 요법제(예를 들어, 치료제 또는 예방제), 조합 요법제 또는 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 호산구 매개 질병 또는 이의 하나 이상의 증상을 예방, 치료, 관리 또는 경감시키는 방법을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 본 처리가 필요한 대상에게 10 μg 이상, 바람직하게는 15 μg 이상, 20 μg 이상, 25 μg 이상, 30 μg 이상, 35 μg 이상, 40 μg 이상, 45 μg 이상, 50 μg 이상, 55 μg 이상, 60 μg 이상, 65 μg 이상, 70 μg 이상, 75 μg 이상, 80 μg 이상, 85 μg 이상, 90 μg 이상, 95 μg 이상, 100 μg 이상, 105 μg 이상, 110 μg 이상, 115 μg 이상, 또는 120 μg 이상의 용량의 본 발명의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자, 조합 요법제 또는 조성물을 매3일 1회, 바람직하게는 매4 일 1회, 매5일 1회, 매6일 1회, 매7일 1회, 매8일 1회, 매10일 1회, 매2주 1회, 매3주 1회, 또는 매월 1회 투여하는 단계를 포함하는, 호산구 매개 질병 또는 이의 하나 이상의 증상을 예방, 치료, 관리 또는 경감시키는 방법을 제공한다.

[0115] 본 발명은 (a) 본 처리가 필요한 대상에게 예방 또는 치료 유효량의 1 이상의 용량으로 본 발명의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자, 조합 요법제 또는 조성물을 투여하는 단계; 및 (b) 특정 회수의 용량의 상기 요법제(예를 들어, 치료제 또는 예방제)를 투여한 후, 상기 대상 내 상기 투여된 IL-5R 결합 분자의 혈장 수준/농도를 모니터링하는 단계를 포함하는, 호산구 매개 장애 또는 질병, 또는 이의 하나 이상의 증상을 예방, 치료, 관리 또는 예방하는 방법을 제공한다. 또한, 바람직하게 상기 특정 회수의 용량은 예방 또는 치료 유효량의 본 발명의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자, 조성물 또는 조합 요법제의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12회 용량이다.

[0116] 한 특정 실시양태에서, 본 발명은 (a) 본 처리가 필요한 대상에게 1회 용량의 10 μg 이상(바람직하게는 15 μg 이상, 20 μg 이상, 25 μg 이상, 30 μg 이상, 35 μg 이상, 40 μg 이상, 45 μg 이상, 50 μg 이상, 55 μg 이상, 60 μg 이상, 65 μg 이상, 70 μg 이상, 75 μg 이상, 80 μg 이상, 85 μg 이상, 90 μg 이상, 95 μg 이상, 또는 100 μg 이상)의 본 발명의 하나 이상의 요법제(예를 들어, 치료제 또는 예방제)를 투여하는 단계; 및 (b) 상기 대상 내 투여된 IL-5R 결합 분자의 혈장 수준이 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 미만, 바람직하게는 0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 미만, 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 미만, 0.75 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 미만, 또는 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 미만일 때, 1회 이상의 후속 용량을 상기 대상에게 투여하는 단계를 포함하는, 호산구 매개 장애 또는 질병, 또는 이의 하나 이상의 증상을 예방, 치료, 관리 및/또는 경감시키는 방법을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 (a) 본 처리가 필요한 대상에게 1회 이상 용량의 10 μg 이상(바람직하게는 15 μg 이상, 20 μg 이상, 25 μg 이상, 30 μg 이상, 35 μg 이상, 40 μg 이상, 45 μg 이상, 50 μg 이상, 55 μg 이상, 60 μg 이상, 65 μg 이상, 70 μg 이상, 75 μg 이상, 80 μg 이상, 85 μg 이상, 90 μg 이상, 95 μg 이상, 또는 100 μg 이상)의 본 발명의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하는 단계; (b) 특정 회수의 용량의 투여 후, 상기 대상 내 투여된 IL-5R 결합 분자의 혈장 수준을 모니터링하는 단계; 및 (c) 상기 대상 내 투여된 IL-5R 결합 분자의 수준이 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 미만, 바람직하게는 0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 미만, 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 미만, 0.75 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 미만, 또는 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 미만일 때, 후속 용량의 본 발명의 IL-5R 결합 분자를 투여하는 단계를 포함하는, 호산구 매개 장애 또는 질병, 또는 이의 하나 이상의 증상을 예방, 치료, 관리 및/또는 경감시키는 방법을 제공한다. 일부 실시양태들에서, 상기 특정 회수의 용량은 유효량의 본 발명의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12회 용량이다.

[0117] 과다증식 질병 또는 이의 하나 이상의 증상을 예방, 치료, 관리 및/또는 경감시키기 위해 사용되었거나 현재 사용 중인 본 발명의 IL-5R 결합 분자 외의 요법제(예를 들어, 예방제 또는 치료제)가, 호산구 매개 장애 또는 질병, 또는 이의 하나 이상의 증상을 치료, 관리, 예방 및/또는 경감시키기 위한 본 발명의 방법에 따라, 하나 이상의 IL-5R 결합 분자와 조합하여 투여될 수 있다. 바람직하게, 본 발명의 조합 요법제에 사용되는 예방제 또는 치료제의 투약량은 호산구 매개 장애 또는 질병, 또는 이의 하나 이상의 증상을 예방, 치료, 관리 및/또는 경감시키기 위해 사용되었거나 현재 사용 중인 투약량보다 적다. 과다증식 질병 또는 이의 하나 이상의 증상을

예방, 치료, 관리 및/또는 경감시키기 위해 현재 사용 중인 작용제의 권장 투약량은 문헌 [Hardman et al., eds., 2001, Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis Of Basis Of Therapeutics, 10th ed., McGraw-Hill, New York]; 문헌 [Physician's Desk Reference(PDR) 58th ed., 2004, Medical Economics Co., Inc., Montvale, NJ](이들은 전문이 본원에 참조 인용됨)을 포함하나 이들에 국한되지 않는 당업계에서의 임의의 참조 문헌으로부터 수득될 수 있다.

[0118] 각종 실시양태들에서, 요법제(예를 들어, 예방제 또는 치료제)는 5분 미만의 간격, 30분 미만의 간격, 1시간의 간격, 약 1시간의 간격, 약 1 내지 약 2시간의 간격, 약 2시간 내지 약 3시간의 간격, 약 3시간 내지 약 4시간의 간격, 약 4시간 내지 약 5시간의 간격, 약 5시간 내지 약 6시간의 간격, 약 6시간 내지 약 7시간의 간격, 약 7시간 내지 약 8시간의 간격, 약 8시간 내지 약 9시간의 간격, 약 9시간 내지 약 10시간의 간격, 약 10시간 내지 약 11시간의 간격, 약 11시간 내지 약 12시간의 간격, 약 12시간 내지 18시간의 간격, 18시간 내지 24시간의 간격, 24시간 내지 36시간의 간격, 36시간 내지 48시간의 간격, 48시간 내지 52시간의 간격, 52시간 내지 60시간의 간격, 60시간 내지 72시간의 간격, 72시간 내지 84시간의 간격, 84시간 내지 96시간의 간격, 또는 96시간 내지 120시간의 간격을 두고 투여된다. 다른 실시양태들에서, 2개 이상의 요법제가 동일 환자 방문 내에 투여된다.

[0119] 일부 실시양태들에서, 본 발명의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자 및 하나 이상의 기타 요법제(예를 들어, 예방제 또는 치료제)는 사이클링 방식으로 투여된다. 사이클링 요법은 일정 시간 동안 제1 요법제(예를 들어, 제1 예방제 또는 치료제)를 투여하고, 이에 이어 일정 기간 동안 제2 요법제(예를 들어, 제2 예방제 또는 치료제)를 투여하며, 임의적으로 이에 이어 일정 기간 동안 제3 요법제(예를 들어, 예방제 또는 치료제)를 투여하고, 이 후 속 투여를 반복하여, 즉 순서대로 사이클링하여, 요법제들 중 하나에 대한 내성의 발달을 감소시키고/거나, 요법제들 중 하나의 부작용을 피하거나 감소시키고/거나, 요법제의 효능을 향상시키는 것을 수반한다.

[0120] 일부 실시양태들에서, 본 발명의 동일 IL-5R 결합 분자의 투여가 반복될 수 있고, 투여는 적어도 1일, 2일, 3일, 5일, 10일, 15일, 30일, 45일, 2개월, 75일, 3개월, 또는 적어도 6개월 떨어져 있을 수 있다. 다른 실시양태들에서, 본 발명의 IL-5R 결합 분자 이외의 동일 요법제(예를 들어, 예방제 또는 치료제)의 투여가 반복될 수 있고, 투여는 적어도 1일, 2일, 3일, 5일, 10일, 15일, 30일, 45일, 2개월, 75일, 3개월, 또는 적어도 6개월 떨어져 있을 수 있다.

[0121] 한 특정 실시양태에서, IL-5R 결합 분자는 0.03 mg/kg의 단일 정맥내 용량으로서 투여된다.

[0122] 본 발명은, (a) 본 처리가 필요한 대상에게 예방 또는 치료 유효량의 1 이상의 용량으로 본 발명의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자, 조합 요법제 또는 조성물을 투여하는 단계; 및 (b) 상기 요법제(예를 들어, 치료제 또는 예방제)의 1 이상의 용량을 투여하기 전 및 후에 대상에서의 하나 이상의 질병 지시자 또는 증상을 모니터링하는 단계를 포함하는, 호산구 매개 장애 또는 질병, 또는 이의 하나 이상의 증상을 예방, 치료, 관리 또는 예방하는 방법을 제공한다.

[0123] 한 실시양태에서, 대상은 COPD를 앓는다.

[0124] 한 실시양태에서, 대상은 NAEPP의 2002 전문가 패널 리포트에 의해 정의되는 경증 지속성 또는 경증 간헐성 천식을 앓을 수 있다.

[0125] 한 실시양태에서, 대상에서의 질병 지시자 또는 증상은 1회 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자의 투여 전 및 후에 모니터링된다. 또 다른 실시양태에서, 대상 내 질병 지시자 또는 증상은 다회 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자의 투여 전 및 후에 모니터링된다.

[0126] 한 실시양태에서, 질병 지시자 또는 증상은 자가-평가 천식 증상 스코어이다. 천식 증상 스코어의 비제한적 예는 집에서 대상이 매일 기록하는 자가-평가 스코어이다. 스코어는 조간, 야간 및 주간 증상에 기초하여, 지난 24시간 동안의 천식 증상을 등급 분류한다. 증상 및 선정 스코어가 표 1에 기재되어 있다. 일일 최대 스코어는 9이고, 최소는 0이다. 대상은 연속식에 기초하여 자가-평가하고 기록한다.

표 1

[0127] 천식 증상 스코어 키(key). 야간은 잘 때부터 조간에 눈뜰 때까지 지속된다. 조간은 눈뜬 때부터 눈뜬 후 1시간 후까지 지속된다. 야간은 눈뜬 후 1시간부터 시작하여 취침 시간에 끝난다.

	야간 증상
0	나는 나의 호흡 문제로 인해 잠에서 깨지 않았다.

1	나는 나의 호흡 문제로 인해 한 번 잠에서 깼으나, 나의 구급약을 사용하지 않았다.
2	나는 나의 호흡 문제로 인해 한 번 잠에서 깼으나, 나의 구급약으로 나의 증상이 억제되었다.
3	나는 나의 호흡 문제로 인해 한 번 초과하여 잠에서 깼으나, 나의 구급약으로 나의 증상이 억제되었다.
4	나는 나의 구급약을 사용했으나, 나의 호흡 문제로 인해 수면 곤란을 겪었다.
	조간 증상
0	없음
1	있음
	주간 증상
0	전혀 증상이 없음; 비제한 활성
1	증상이 적은 불안을 유발하였거나 전혀 유발하지 않음; 비제한 활성
2	증상이 약간의 불안을 유발함; 때때로 제한적 활발한 활성
3	증상이 보통 정도의 불안을 유발함; 때때로 제한적 통상의 활성
4	증상이 휴지 시에 일어났고, 현저한 불안을 유발하였으며, 주로 제한된 통상의 활성을 가짐

[0128] 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, X의 천식 증상 스코어를 가지고, 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, X-Y의 천식 증상 스코어를 가지는데, 여기에서 X는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9이고, Y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9이며, 투여 후 스코어는 결코 0 미만이 아니다.

[0129] 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 0 내지 9의 천식 증상 스코어를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 0 내지 3, 1 내지 4, 2 내지 5, 3 내지 5, 4 내지 7, 5 내지 8, 또는 6 내지 9의 천식 증상 스코어를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9의 천식 증상 스코어를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 1의 천식 증상 스코어를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 2의 천식 증상 스코어를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 3의 천식 증상 스코어를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 4의 천식 증상 스코어를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 5의 천식 증상 스코어를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 6의 천식 증상 스코어를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 7의 천식 증상 스코어를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 8의 천식 증상 스코어를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 9의 천식 증상 스코어를 가진다.

[0130] 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 0 내지 9의 천식 증상 스코어를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 0 내지 3, 1 내지 4, 2 내지 5, 3 내지 5, 4 내지 7, 5 내지 8, 또는 6 내지 9의 천식 증상 스코어를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9의 천식 증상 스코어를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 1의 천식 증상 스코어를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 2의 천식 증상 스코어를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 3의 천식 증상 스코어를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 4의 천식 증상 스코어를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 5의 천식 증상 스코어를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 6의 천식 증상 스코어를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 7의 천식 증상 스코어를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 8의 천식 증상 스코어를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 9의 천식 증상 스코어를 가진다.

[0131] 한 실시양태에서, 대상의 천식 증상 스코어는 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전보다 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후에 더 낮고, 여기에서 투여 후 스코어는 결코 0 미만이 아니다. 한 특정 실시양태에서, 천식 증상 스코어는 1점 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 천식 증상 스코어

는 9점 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 천식 증상 스코어는 2점 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 천식 증상 스코어는 3점 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 천식 증상 스코어는 4점 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 천식 증상 스코어는 5점 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 천식 증상 스코어는 6점 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 천식 증상 스코어는 7점 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 천식 증상 스코어는 8점 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 천식 증상 스코어는 적어도 1점 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 천식 증상 스코어는 적어도 9점 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 천식 증상 스코어는 적어도 2점 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 천식 증상 스코어는 적어도 3점 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 천식 증상 스코어는 적어도 4점 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 천식 증상 스코어는 적어도 5점 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 천식 증상 스코어는 적어도 6점 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 천식 증상 스코어는 적어도 7점 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 천식 증상 스코어는 적어도 8점 더 낮다.

[0132]

한 실시양태에서, 질병 지시자 또는 증상은 방출 산화질소 분율(FENO)이다. FENO는 유럽 호흡기 학회 및 미국 흉부 학회([American Thoracic Society, European Respiratory Society.(2005) ATS/ERS Recommendations for Standardized Procedures for the Online and Offline Measurements of Exhaled Lower Respiratory Nitric Oxide and Nasal Nitric Oxide, 2005. Am J Respir Crit Care Med. 171 : 912-930])의 조합 권장에 따라 측정될 수 있다. FENO 측정은 50 ml/s 유속에서 NIOX를 이용하여 수행될 수 있다(ATS 표준).

[0133]

한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 20 내지 500 ppb의 FENO를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 20 내지 500 ppb, 20 내지 400 ppb, 20 내지 300 ppb, 20 내지 200 ppb, 50 내지 500 ppb, 100 내지 500 ppb, 150 내지 500 ppb, 200 내지 500 ppb, 20 내지 50 ppb, 50 내지 100 ppb, 100 내지 200 ppb, 200 내지 300 ppb, 300 내지 500 ppb의 FENO를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 50 ppb 이상, 100 ppb 이상, 150 ppb 이상, 200 ppb 이상, 250 ppb 이상, 300 ppb 이상, 350 ppb 이상, 400 ppb 이상의 FENO를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 50 ppb의 FENO를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 100 ppb의 FENO를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 150 ppb의 FENO를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 200 ppb의 FENO를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 250 ppb의 FENO를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 300 ppb의 FENO를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 350 ppb의 FENO를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 400 ppb의 FENO를 가진다.

[0134]

한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 20 내지 500 ppb의 FENO를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 20 내지 500 ppb, 20 내지 400 ppb, 20 내지 300 ppb, 20 내지 200 ppb, 50 내지 500 ppb, 100 내지 500 ppb, 150 내지 500 ppb, 200 내지 500 ppb, 20 내지 50 ppb, 50 내지 100 ppb, 100 내지 200 ppb, 200 내지 300 ppb, 300 내지 500 ppb의 FENO를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 50 ppb 이하, 100 ppb 이하, 150 ppb 이하, 200 ppb 이하, 250 ppb 이하, 300 ppb 이하, 350 ppb 이하, 400 ppb 이하의 FENO를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 20 ppb 이하의 FENO를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 50 ppb 이하의 FENO를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 100 ppb 이하의 FENO를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 150 ppb 이하의 FENO를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 200 ppb 이하의 FENO를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 250 ppb 이하의 FENO를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 300 ppb 이하의 FENO를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 350 ppb 이하의 FENO를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 400 ppb 이하의 FENO를 가진다.

[0135]

한 실시양태에서, 대상의 FENO는 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전보다 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후에 더 낮고, 여기에서 FENO는 결코 0 ppb 미만이 아니다. 한 특정 실시양태에서, FENO는 적어도 50 ppb 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, FENO는 적어도 100 ppb 더 낮다. 한

특정 실시양태에서, FENO는 적어도 150 ppb 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, FENO는 적어도 200 ppb 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, FENO는 적어도 250 ppb 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, FENO는 적어도 300 ppb 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, FENO는 적어도 10% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, FENO는 적어도 20% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, FENO는 적어도 30% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, FENO는 적어도 40% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, FENO는 적어도 50% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, FENO는 적어도 60% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, FENO는 적어도 70% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, FENO는 적어도 80% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, FENO는 적어도 90% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, FENO는 10% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, FENO는 20% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, FENO는 30% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, FENO는 40% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, FENO는 50% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, FENO는 60% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, FENO는 70% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, FENO는 80% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, FENO는 90% 더 낮다.

[0136] 한 실시양태에서, 질병 지시자 또는 증상은 호산구 양이온성 단백질(ECP)이다. 혈청 ECP 수준은 당업자에게 공지된 임의의 방법, 예를 들어, 단 이에 국한되지 않으나 ELISA 검정, 방사면역검정을 이용하여 평가될 수 있다. 혈청 ECP 수준은 상업적으로 이용가능한 검정들 중 임의의 하나에 의해 측정될 수 있다.

[0137] 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 20 내지 500 ng/ml의 혈청 ECP를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 20 내지 200 ng/ml, 20 내지 150 ng/ml, 20 내지 100 ng/ml, 20 내지 50 ng/ml, 30 내지 200 ng/ml, 40 내지 200 ng/ml, 50 내지 200 ng/ml, 30 내지 100 ng/ml, 30 내지 80 ng/ml, 30 내지 70 ng/ml, 20 내지 80 ng/ml, 20 내지 70 ng/ml, 20 내지 60 ng/ml의 혈청 ECP를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 20 ng/ml 이상, 30 ng/ml 이상, 40 ng/ml 이상, 50 ng/ml 이상, 60 ng/ml 이상, 100 ng/ml 이상, 150 ng/ml 이상, 200 ng/ml 이상의 혈청 ECP를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 25 ng/ml의 혈청 ECP를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 30 ng/ml의 혈청 ECP를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 35 ng/ml의 혈청 ECP를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 40 ng/ml의 혈청 ECP를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 50 ng/ml의 혈청 ECP를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 60 ng/ml의 혈청 ECP를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 70 ng/ml의 혈청 ECP를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 80 ng/ml의 혈청 ECP를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 100 ng/ml의 혈청 ECP를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 150 ng/ml의 혈청 ECP를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 200 ng/ml의 혈청 ECP를 가진다.

[0138] 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 검출가능한 혈청 ECP를 가지지 않는다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 1 내지 500 ng/ml의 혈청 ECP를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 1 내지 200 ng/ml, 1 내지 150 ng/ml, 1 내지 100 ng/ml, 1 내지 50 ng/ml, 1 내지 20 ng/ml, 10 내지 200 ng/ml, 10 내지 100 ng/ml, 10 내지 50 ng/ml, 20 내지 100 ng/ml, 20 내지 50 ng/ml의 혈청 ECP를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 1 ng/ml 이하, 5 ng/ml 이하, 10 ng/ml 이하, 20 ng/ml 이하, 30 ng/ml 이하, 50 ng/ml 이하의 혈청 ECP를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 1 ng/ml 이하의 혈청 ECP를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 5 ng/ml 이하의 혈청 ECP를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 10 ng/ml 이하의 혈청 ECP를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 15 ng/ml 이하의 혈청 ECP를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 20 ng/ml 이하의 혈청 ECP를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 25 ng/ml 이하의 혈청 ECP를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 30 ng/ml 이하의 혈청 ECP를 가진다.

[0139] 한 실시양태에서, 대상의 혈청 ECP는 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전보다 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후에 더 낮고, 여기에서 혈청 ECP은 결코 0 ng/ml 미만이 아

니다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 적어도 50 ng/ml 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 적어도 100 ng/ml 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 적어도 150 ng/ml 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 적어도 200 ng/ml 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 적어도 250 ng/ml 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 적어도 300 ng/ml 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 적어도 10% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 적어도 20% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 적어도 30% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 적어도 40% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 적어도 50% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 적어도 60% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 적어도 70% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 적어도 80% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 적어도 90% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 적어도 95% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 10% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 20% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 30% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 40% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 50% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 60% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 70% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 80% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 90% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 95% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP은 99% 더 낮다.

[0140]

한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 검출가능한 혈청 ECP를 가지지 않는다. 한 특정 실시양태에서, 혈청 ECP 수준은 약 1일 이상, 약 2일 이상, 약 3일 이상, 약 4일 이상, 약 5일 이상, 약 6일 이상, 약 7일 이상, 약 2주 이상, 약 3주 이상, 약 4주 이상, 약 5주 이상, 약 6주 이상, 약 7주 이상, 약 8주 이상, 약 9주 이상, 약 10주 이상, 약 12주 이상, 약 14주 이상, 약 16주 이상, 약 20주 이상, 또는 약 25주 이상 동안 검출불가능한 상태로 남는다.

[0141]

한 실시양태에서, 질병 지시자 또는 증상은 메타콜린 유발 시험(Methacholine Challenge Test)(MCT)이다. MCT는 즉시 이용가능한 적절한 치료제와 함께, 또한 기관지연축의 관리에 경험이 있는 의사의 존재 하에, 미국 흉부 학회(ATS) 지침(문헌 [Guidelines for Methacholine and Exercise Testing-1999. (2000) Am J Respir Crit Care Med. 161:309-329])에 따라 수행될 수 있다. 간략히 말해, 사용된 폐활량계는 ATS의 지침에 따라 보정된다. 사용되는 네뷸라이저는 1 내지 4 마이크론의 질량 중위 공기역학 직경(MMAD) 및 $0.13 \pm 10\% \text{ mL/min}$ 의 유속으로 입자 크기를 생성시켜야 한다. FDA 승인 공급원으로부터의 메타콜린을 사용하고, 무균 정상 식염수로 희석한다. 흡입 공격은 2분의 상시 호흡 또는 인용된 발행물에 기재된 바와 같은 5-호흡 약량계를 이용하여 수행될 수 있다. 메타콜린의 농도는 연구자의 확립된 실무에 따라 투여되나, 0.06 mg/dL 내지 25.0 mg/dL의 범위 내이다. FEV₁가 각 투약 완료 후 30초 및 90초에 측정되고, 두 값 중 높은 값을 기록한다. FEV₁가 기준선 값에서 20% 이상 떨어진 것으로 나타났을 때까지, 증가하는 농도를 투여한다. PC20은 기준선 값으로부터 FEV₁의 20% 이상 하락을 초래하는 메타콜린의 농도이다. 최종 투약 완료 후, 대상에게 주 연구자의 판단 하에 계량-용량 흡입기 또는 네뷸라이저에 의해 일부테를을 제공할 수 있다.

[0142]

한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 0.06 내지 25 mg/dL의 PC20을 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 0.06 내지 25 mg/dL, 0.1 내지 10 mg/dL, 0.06 내지 3 mg/dL, 0.06 내지 2 mg/dL, 0.06 내지 1 mg/dL, 0.1 내지 3 mg/dL, 0.1 내지 2 mg/dL, 0.1 내지 1 mg/dL, 0.2 내지 10 mg/dL, 0.5 내지 10 mg/dL, 1 내지 10 mg/dL, 0.1 내지 5 mg/dL, 0.2 내지 5 mg/dL, 0.5 내지 5 mg/dL, 0.1 내지 2 mg/dL, 0.2 내지 2 mg/dL, 0.5 내지 2 mg/dL, 0.06 내지 0.1 mg/dL, 0.1 내지 0.2 mg/dL, 0.2 내지 0.5 mg/dL, 0.5 내지 1 mg/dL, 1 내지 2 mg/dL, 2 내지 5 mg/dL, 5 내지 10 mg/dL의 PC20을 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 0.1 mg/dL 이하, 0.2 mg/dL 이하, 0.4 mg/dL 이하, 0.5 mg/dL 이하, 1 mg/dL 이하, 2 mg/dL 이하, 5 mg/dL 이하, 10 mg/dL 이하의 PC20을 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 10 mg/dL의 PC20을 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 5 mg/dL의 PC20을 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 2 mg/dL의 PC20을 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 1 mg/dL의 PC20을 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 0.5 mg/dL의 PC20을 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 0.2 mg/dL의 PC20을 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 0.1 mg/dL의 PC20을 가진다.

[0143]

한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 0.5 내지 25 mg/dL의

PC20을 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 1 내지 25 mg/dL, 2 내지 25 mg/dL, 5 내지 25 mg/dL, 10 내지 25 mg/dL, 1 내지 10 mg/dL, 2 내지 10 mg/dL의 PC20을 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 1 mg/dL 이상, 2 mg/dL 이상, 5 mg/dL 이상, 10 mg/dL 이상, 20 mg/dL 이상의 PC20을 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 0.2 mg/dL 이상의 PC20을 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 0.3 mg/dL 이상의 PC20을 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 0.4 mg/dL 이상의 PC20을 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 0.5 mg/dL 이상의 PC20을 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 0.7 mg/dL 이상의 PC20을 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 1 mg/dL 이상의 PC20을 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 2 mg/dL 이상의 PC20을 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 5 mg/dL 이상의 PC20을 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 10 mg/dL 이상의 PC20을 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 20 mg/dL 이상의 PC20을 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 25 mg/dL 이상의 PC20을 가진다.

[0144] 한 실시양태에서, 대상의 PC20은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전보다 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후에 더 높다. 한 특정 실시양태에서, PC20은 적어도 0.3 mg/dL 더 높다. 한 특정 실시양태에서, PC20은 적어도 0.5 mg/dL 더 높다. 한 특정 실시양태에서, PC20은 적어도 0.7 mg/dL 더 높다. 한 특정 실시양태에서, PC20은 적어도 1 mg/dL 더 높다. 한 특정 실시양태에서, PC20은 적어도 3 mg/dL 더 높다. 한 특정 실시양태에서, PC20은 적어도 5 mg/dL 더 높다. 한 특정 실시양태에서, PC20은 적어도 10 mg/dL 더 높다. 한 특정 실시양태에서, PC20은 적어도 15 mg/dL 더 높다. 한 특정 실시양태에서, PC20은 적어도 20 mg/dL 더 높다. 한 특정 실시양태에서, PC20은 적어도 2배 더 높다. 한 특정 실시양태에서, PC20은 적어도 4배 더 높다. 한 특정 실시양태에서, PC20은 적어도 8배 더 높다. 한 특정 실시양태에서, PC20은 적어도 10배 더 높다. 한 특정 실시양태에서, PC20은 적어도 12배 더 높다. 한 특정 실시양태에서, PC20은 적어도 15배 더 높다. 한 특정 실시양태에서, PC20은 적어도 20배 더 높다. 한 특정 실시양태에서, PC20은 2배 더 높다. 한 특정 실시양태에서, PC20은 4배 더 높다. 한 특정 실시양태에서, PC20은 8배 더 높다. 한 특정 실시양태에서, PC20은 10배 더 높다. 한 특정 실시양태에서, PC20은 15배 더 높다. 한 특정 실시양태에서, PC20은 60% 더 높다. 한 특정 실시양태에서, PC20은 20배 더 높다.

[0145] 한 실시양태에서, 질병 지시자 또는 증상은 순환 호산구 계수이다. 순환 호산구 계수는 당업자에게 공지된 임의의 방법, 예를 들어, 단 이에 국한되지 않으나 조직학, 유세포분석을 이용하여 평가될 수 있다. 순환 호산구 계수는 상업적으로 이용가능한 키트들 중 임의의 하나에 의해 측정될 수 있다.

[0146] 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 50 내지 1000 세포/ μ L의 순환 호산구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 50 내지 1000 세포/ μ L, 100 내지 1000 세포/ μ L, 150 내지 1000 세포/ μ L, 200 내지 1000 세포/ μ L, 250 내지 1000 세포/ μ L, 300 내지 1000 세포/ μ L, 400 내지 1000 세포/ μ L, 500 내지 1000 세포/ μ L, 50 내지 500 세포/ μ L, 100 내지 500 세포/ μ L, 100 내지 400 세포/ μ L, 150 내지 500 세포/ μ L, 200 내지 500 세포/ μ L의 순환 호산구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 50 세포/ μ L 이상, 100 세포/ μ L 이상, 150 세포/ μ L 이상, 200 세포/ μ L 이상, 250 세포/ μ L 이상, 300 세포/ μ L 이상, 400 세포/ μ L 이상, 500 세포/ μ L 이상의 순환 호산구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 50 세포/ μ L의 순환 호산구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 100 세포/ μ L의 순환 호산구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 150 세포/ μ L의 순환 호산구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 200 세포/ μ L의 순환 호산구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 250 세포/ μ L의 순환 호산구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 300 세포/ μ L의 순환 호산구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 350 세포/ μ L의 순환 호산구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 400 세포/ μ L의 순환 호산구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상

의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 500 세포/ μL 의 순환 호산구 계수를 가진다.

[0147] 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 1 내지 400 세포/ μL 의 순환 호산구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 1 내지 200 세포/ μL , 1 내지 100 세포/ μL , 1 내지 50 세포/ μL , 1 내지 40 세포/ μL , 10 내지 200 세포/ μL , 10 내지 100 세포/ μL , 10 내지 40 세포/ μL , 20 내지 200 세포/ μL , 20 내지 100 세포/ μL , 20 내지 50 세포/ μL 의 순환 호산구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 1 세포/ μL 이하, 5 세포/ μL 이하, 10 세포/ μL 이하, 20 세포/ μL 이하, 30 세포/ μL 이하, 40 세포/ μL 이하, 50 세포/ μL 이하, 60 세포/ μL 이하, 80 세포/ μL 이하, 100 세포/ μL 이하의 순환 호산구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 1 세포/ μL 이하의 순환 호산구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 5 세포/ μL 이하의 순환 호산구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 10 세포/ μL 이하의 순환 호산구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 20 세포/ μL 이하의 순환 호산구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 30 세포/ μL 이하의 순환 호산구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 40 세포/ μL 이하의 순환 호산구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 50 세포/ μL 이하의 순환 호산구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 60 세포/ μL 이하의 순환 호산구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 80 세포/ μL 이하의 순환 호산구 계수를 가진다.

[0148] 한 실시양태에서, 대상의 순환 호산구 계수는 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전보다 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후에 더 낮고, 여기에서 순환 호산구 계수는 결코 0 세포/ μL 미만이 아니다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 적어도 50 세포/ μL 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 적어도 100 세포/ μL 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 적어도 150 세포/ μL 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 적어도 200 세포/ μL 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 적어도 250 세포/ μL 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 적어도 300 세포/ μL 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 적어도 10% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 적어도 20% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 적어도 30% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 적어도 40% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 적어도 50% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 적어도 60% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 적어도 70% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 적어도 80% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 적어도 90% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 적어도 95% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 적어도 99% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 10% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 20% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 30% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 40% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 50% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 60% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 70% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 80% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 90% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 95% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수는 99% 더 낮다.

[0149] 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 검출가능한 순환 호산구 계수를 가지지 않는다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호산구 계수 수준은 약 1일 이상, 약 2일 이상, 약 3일 이상, 약 4일 이상, 약 5일 이상, 약 6일 이상, 약 7일 이상, 약 2주 이상, 약 3주 이상, 약 4주 이상, 약 5주 이상, 약 6주 이상, 약 7주 이상, 약 8주 이상, 약 9주 이상, 약 10주 이상, 약 12주 이상, 약 14주 이상, 약 16주 이상, 약 20주 이상, 또는 약 25주 이상 동안 검출불가능한 상태로 남는다.

[0150] 한 실시양태에서, 질병 지시자 또는 증상은 유도 객담 내 % 호산구이다. 유도 객담 내 % 호산구는 당업자에게 임의의 공지된 방법, 예를 들어, 단 이에 국한되지 않으나 문헌 [Belda et al. (2000) Am J Respir Crit Care Med 161:475-478]에 기재된 방법을 이용하여 평가될 수 있다. 유도 객담 내 % 호산구는 상업적으로 이용가능한 키트들 중 임의의 하나에 의해 결정될 수 있다.

[0151] 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 0.1% 내지 10%의 유도

상, 약 6주 이상, 약 7주 이상, 약 8주 이상, 약 9주 이상, 약 10주 이상, 약 12주 이상, 약 14주 이상, 약 16주 이상, 약 20주 이상, 또는 약 25주 이상 동안 검출불가능한 상태로 남는다.

[0155] 한 실시양태에서, 질병 지시자 또는 증상은 순환 호염기구 계수이다. 순환 호염기구 계수는 당업자에게 임의의 공지된 방법, 예를 들어, 단 이에 국한되지 않으나 조직학, 유세포분석을 이용하여 평가될 수 있다. 순환 호염기구 계수는 상업적으로 이용가능한 키트들 중 임의의 하나에 의해 측정될 수 있다.

[0156] 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 5 내지 500 세포/ μL 의 순환 호염기구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 50 내지 500 세포/ μL , 10 내지 500 세포/ μL , 20 내지 500 세포/ μL , 30 내지 500 세포/ μL , 40 내지 500 세포/ μL , 50 내지 500 세포/ μL , 10 내지 400 세포/ μL , 10 내지 300 세포/ μL , 10 내지 200 세포/ μL , 10 내지 100 세포/ μL , 20 내지 100 세포/ μL , 30 내지 100 세포/ μL , 10 내지 75 세포/ μL 의 순환 호염기구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 5 세포/ μL 이상, 10 세포/ μL 이상, 15 세포/ μL 이상, 20 세포/ μL 이상, 30 세포/ μL 이상, 50 세포/ μL 이상, 60 세포/ μL 이상, 100 세포/ μL 이상의 순환 호염기구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 5 세포/ μL 의 순환 호염기구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 10 세포/ μL 의 순환 호염기구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 15 세포/ μL 의 순환 호염기구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 20 세포/ μL 의 순환 호염기구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 30 세포/ μL 의 순환 호염기구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 50 세포/ μL 의 순환 호염기구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 60 세포/ μL 의 순환 호염기구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전, 100 세포/ μL 의 순환 호염기구 계수를 가진다.

[0157] 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 1 내지 100 세포/ μL 의 순환 호염기구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 1 내지 100 세포/ μL , 1 내지 50 세포/ μL , 1 내지 30 세포/ μL , 1 내지 20 세포/ μL , 1 내지 10 세포/ μL , 5 내지 100 세포/ μL , 5 내지 50 세포/ μL , 5 내지 20 세포/ μL , 5 내지 10 세포/ μL , 10 내지 30 세포/ μL 의 순환 호염기구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 1 세포/ μL 이하, 5 세포/ μL 이하, 10 세포/ μL 이하, 20 세포/ μL 이하, 30 세포/ μL 이하, 50 세포/ μL 이하, 100 세포/ μL 이하의 순환 호염기구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 1 세포/ μL 이하의 순환 호염기구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 5 세포/ μL 이하의 순환 호염기구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 10 세포/ μL 이하의 순환 호염기구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 20 세포/ μL 이하의 순환 호염기구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 30 세포/ μL 이하의 순환 호염기구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 40 세포/ μL 이하의 순환 호염기구 계수를 가진다. 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 50 세포/ μL 이하의 순환 호염기구 계수를 가진다.

[0158] 한 실시양태에서, 대상의 순환 호염기구 계수는 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여하기 전보다 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후에 더 낮고, 여기에서 순환 호염기구 계수는 결코 0% 미만이 아니다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 적어도 10 세포/ μL 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 적어도 20 세포/ μL 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 적어도 30 세포/ μL 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 적어도 50 세포/ μL 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 적어도 75 세포/ μL 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 적어도 100 세포/ μL 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 적어도 10% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 적어도 20% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 적어도 30% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 적어도 40% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 적어도 50% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 적어도 60% 더 낮다. 한 특

정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 적어도 70% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 적어도 80% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 적어도 90% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 적어도 95% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 적어도 99% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 10% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 20% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 30% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 40% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 50% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 60% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 70% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 80% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 90% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 95% 더 낮다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수는 99% 더 낮다.

[0159] 한 실시양태에서, 대상은 1회 이상 용량의 하나 이상의 IL-5R 결합 분자를 투여한 후, 검출가능한 순환 호염기구 계수를 가지지 않는다. 한 특정 실시양태에서, 순환 호염기구 계수 수준은 약 1일 이상, 약 2일 이상, 약 3일 이상, 약 4일 이상, 약 5일 이상, 약 6일 이상, 약 7일 이상, 약 2주 이상, 약 3주 이상, 약 4주 이상, 약 5주 이상, 약 6주 이상, 약 7주 이상, 약 8주 이상, 약 9주 이상, 약 10주 이상, 약 12주 이상, 약 14주 이상, 약 16주 이상, 약 20주 이상, 또는 약 25주 이상 동안 검출불가능한 상태로 남는다.

구체적 실시양태

[0160] 1. 인간 대상 내 호산구의 수를 감소시키는 방법으로서, 상기 대상에게 (a) IL-5R에 특이적으로 결합하는 영역 및 (b) 면역글로불린 Fc 영역을 포함하는 IL-5R 결합 분자를 투여하는 단계를 포함하는 방법.

[0161] 2. 실시양태 1에 있어서, 상기 IL-5R 결합 분자가 항체인 방법.

[0162] 3. 실시양태 2에 있어서, 상기 항체가 단클론 항체인 방법.

[0163] 4. 실시양태 3에 있어서, 상기 항체가 키메라 항체인 방법.

[0164] 5. 실시양태 3에 있어서, 상기 항체가 인간화 항체인 방법.

[0165] 6. 실시양태 3에 있어서, 상기 항체가 인간 항체인 방법.

[0166] 7. 실시양태 1에 있어서, IL-5R에 특이적으로 결합하는 상기 영역이 IL-5의 아미노산 서열, 또는 이의 단편, 치환, 또는 유도체를 포함하는 방법.

[0167] 8. 실시양태 7에 있어서, IL-5R에 특이적으로 결합하는 상기 영역이 IL-5의 비작용성 변이체를 포함하는 방법.

[0168] 9. 실시양태 1 내지 8 중 임의의 실시양태에 있어서, 상기 IL-5R 결합 분자가 IL-5R a 사슬에 특이적으로 결합하는 방법.

[0169] 10. 실시양태 1에 있어서, 상기 면역글로불린 Fc 영역이 이펙터 기능을 증가시키는 방식으로 변경된 방법.

[0170] 11. 실시양태 1에 있어서, 상기 면역글로불린 Fc 영역이 감소된 수준의 푸코스를 포함하는 방법.

[0171] 12. 실시양태 11에 있어서, 상기 면역글로불린 Fc 영역이 푸코스를 포함하지 않는 방법.

[0172] 13. 실시양태 1에 있어서, 상기 면역글로불린 Fc 영역이 증가된 이펙터 기능을 발생시키는 아미노산 치환을 포함하는 방법.

[0173] 14. 실시양태 1에 있어서, 상기 아미노산 치환이, 카밧(Kabat)에 나와 있는 EU 인덱스에 의해 넘버링할 때, Fc 영역 내 332E, 239D 및 330L의 아미노산 서열의 함유물을 포함하는 방법.

[0174] 15. 실시양태 1에 있어서, 상기 호산구의 감소가 말초혈 순환에서 일어나는 방법.

[0175] 16. 실시양태 1에 있어서, 호산구의 수가 $50\text{개 호산구}/\text{mm}^3$ ³ 미만의 수준으로 감소되는 방법.

[0176] 17. 실시양태 1에 있어서, 호산구의 감소가 투여 후 첫 48시간에 일어나는 방법.

[0177] 18. 실시양태 1에 있어서, 호산구의 감소가 투여 후 첫 24시간에 일어나는 방법.

[0178] 19. 실시양태 1에 있어서, 호산구의 감소가 가역적인 방법.

[0179] 20. 실시양태 1에 있어서, 약 25개 호산구/ mm^3 ³ 이상의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.

- [0181] 21. 실시양태 1에 있어서, 약 50개 호산구/ mm^3 이상의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.
- [0182] 22. 실시양태 1에 있어서, 약 75개 호산구/ mm^3 이상의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.
- [0183] 23. 실시양태 1에 있어서, 약 100개 호산구/ mm^3 이상의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.
- [0184] 24. 실시양태 1에 있어서, 약 125개 호산구/ mm^3 이상의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.
- [0185] 25. 실시양태 1에 있어서, 약 150개 호산구/ mm^3 이상의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.
- [0186] 26. 실시양태 1에 있어서, 약 175개 호산구/ mm^3 이상의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.
- [0187] 27. 실시양태 1에 있어서, 약 200개 호산구/ mm^3 이상의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.
- [0188] 28. 실시양태 1에 있어서, 약 225개 호산구/ mm^3 이상의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.
- [0189] 29. 실시양태 1에 있어서, 약 250개 호산구/ mm^3 이상의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.
- [0190] 30. 실시양태 1에 있어서, 약 275개 호산구/ mm^3 이상의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.
- [0191] 31. 실시양태 1에 있어서, 약 300개 호산구/ mm^3 이상의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.
- [0192] 32. 실시양태 1에 있어서, 약 325개 호산구/ mm^3 이상의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.
- [0193] 33. 실시양태 1에 있어서, 약 350개 호산구/ mm^3 이상의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.
- [0194] 34. 실시양태 1에 있어서, 약 375개 호산구/ mm^3 이상의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.
- [0195] 35. 실시양태 1에 있어서, 약 400개 호산구/ mm^3 이상의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.
- [0196] 36. 실시양태 1에 있어서, 약 425개 호산구/ mm^3 이상의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.
- [0197] 37. 실시양태 1에 있어서, 약 450개 호산구/ mm^3 이상의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.
- [0198] 38. 실시양태 1에 있어서, 약 475개 호산구/ mm^3 이상의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.
- [0199] 39. 실시양태 1에 있어서, 약 500개 호산구/ mm^3 이상의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.
- [0200] 40. 실시양태 1에 있어서, 약 50 내지 약 500개(한계치 포함) 호산구/ mm^3 의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.
- [0201] 41. 실시양태 1에 있어서, 약 75 내지 약 250개(한계치 포함) 호산구/ mm^3 의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.
- [0202] 42. 실시양태 1에 있어서, 약 100 내지 약 200개(한계치 포함) 호산구/ mm^3 의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.
- [0203] 43. 실시양태 1에 있어서, 약 50 내지 약 250개(한계치 포함) 호산구/ mm^3 의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.
- [0204] 44. 실시양태 1에 있어서, 약 50 내지 약 200개(한계치 포함) 호산구/ mm^3 의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.
- [0205] 45. 실시양태 1에 있어서, 약 50 내지 약 150개(한계치 포함) 호산구/ mm^3 의, 투여 후 호산구 절대 계수의 감소가 있는 방법.

- [0206] 46. 실시양태 1에 있어서, 투여 후 호산구 절대 계수가 약 100개 호산구/ mm^3 미만인 방법.
- [0207] 47. 실시양태 1에 있어서, 투여 후 호산구 절대 계수가 약 75개 호산구/ mm^3 미만인 방법.
- [0208] 48. 실시양태 1에 있어서, 투여 후 호산구 절대 계수가 약 50개 호산구/ mm^3 미만인 방법.
- [0209] 49. 실시양태 1에 있어서, 투여 후 호산구 절대 계수가 약 25개 호산구/ mm^3 미만인 방법.
- [0210] 50. 실시양태 1에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수가 약 50 내지 약 500개 호산구/ mm^3 인 방법.
- [0211] 51. 실시양태 1에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수가 약 75 내지 약 475개 호산구/ mm^3 인 방법.
- [0212] 52. 실시양태 1에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수가 약 75 내지 약 200개 호산구/ mm^3 인 방법.
- [0213] 53. 실시양태 1에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수가 약 100 내지 약 200개 호산구/ mm^3 인 방법.
- [0214] 54. 실시양태 1에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수가 약 25개 호산구/ mm^3 인 방법.
- [0215] 55. 실시양태 1에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수가 약 50개 호산구/ mm^3 인 방법.
- [0216] 56. 실시양태 1에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수가 약 75개 호산구/ mm^3 인 방법.
- [0217] 57. 실시양태 1에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수가 약 100개 호산구/ mm^3 인 방법.
- [0218] 58. 실시양태 1에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수가 약 125개 호산구/ mm^3 인 방법.
- [0219] 59. 실시양태 1에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수가 약 150개 호산구/ mm^3 인 방법.
- [0220] 60. 실시양태 1에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수가 약 175개 호산구/ mm^3 인 방법.
- [0221] 61. 실시양태 1에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수가 약 200개 호산구/ mm^3 인 방법.
- [0222] 62. 실시양태 1에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수가 약 225개 호산구/ mm^3 인 방법.
- [0223] 63. 실시양태 1에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수가 약 250개 호산구/ mm^3 인 방법.
- [0224] 64. 실시양태 1에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수가 약 275개 호산구/ mm^3 인 방법.
- [0225] 65. 실시양태 1에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수가 약 300개 호산구/ mm^3 인 방법.
- [0226] 66. 실시양태 1에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수가 약 325개 호산구/ mm^3 인 방법.
- [0227] 67. 실시양태 1에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수가 약 350개 호산구/ mm^3 인 방법.
- [0228] 68. 실시양태 1에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수가 약 375개 호산구/ mm^3 인 방법.
- [0229] 69. 실시양태 1에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수가 약 400개 호산구/ mm^3 인 방법.
- [0230] 70. 실시양태 1에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수가 약 425개 호산구/ mm^3 인 방법.
- [0231] 71. 실시양태 1에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수가 약 450개 호산구/ mm^3 인 방법.
- [0232] 72. 실시양태 1에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수가 약 475개 호산구/ mm^3 인 방법.
- [0233] 73. 실시양태 1에 있어서, 상기 대상의 투여 전 호산구 절대 계수가 약 500개 호산구/ mm^3 인 방법.
- [0234] 74. 실시양태 1 내지 73 중 임의의 실시양태에 있어서, 상기 대상의 투여 후 호염기구 절대 계수가 약 5개 호염

기구/ mm^3 이상 감소되는 방법.

[0235] 75. 실시양태 1 내지 73 중 임의의 실시양태에 있어서, 상기 대상의 투여 후 호염기구 절대 계수가 약 10개 호염기구/ mm^3 이상 감소되는 방법.

[0236] 76. 실시양태 1 내지 73 중 임의의 실시양태에 있어서, 상기 대상의 투여 후 호염기구 절대 계수가 약 15개 호염기구/ mm^3 이상 감소되는 방법.

[0237] 77. 실시양태 1 내지 73 중 임의의 실시양태에 있어서, 상기 대상의 투여 후 호염기구 절대 계수가 약 20개 호염기구/ mm^3 이상 감소되는 방법.

[0238] 78. 실시양태 1 내지 73 중 임의의 실시양태에 있어서, 상기 대상의 투여 후 호염기구 절대 계수가 약 25개 호염기구/ mm^3 이상 감소되는 방법.

[0239] 79. 실시양태 1 내지 73 중 임의의 실시양태에 있어서, 상기 대상의 투여 후 호염기구 절대 계수가 약 30개 호염기구/ mm^3 이상 감소되는 방법.

[0240] 80. 실시양태 1 내지 73 중 임의의 실시양태에 있어서, 상기 대상의 투여 후 호염기구 절대 계수가 약 35개 호염기구/ mm^3 이상 감소되는 방법.

[0241] 81. 실시양태 1 내지 73 중 임의의 실시양태에 있어서, 상기 대상의 투여 후 호염기구 절대 계수가 약 40개 호염기구/ mm^3 이상 감소되는 방법.

[0242] 82. 실시양태 1 내지 73 중 임의의 실시양태에 있어서, 상기 대상의 투여 후 호염기구 절대 계수가 약 45개 호염기구/ mm^3 이상 감소되는 방법.

[0243] 83. 실시양태 1 내지 73 중 임의의 실시양태에 있어서, 상기 대상의 투여 후 호염기구 절대 계수가 약 50개 호염기구/ mm^3 이상 감소되는 방법.

[0244] 84. 실시양태 1 내지 73 중 임의의 실시양태에 있어서, 상기 대상의 투여 후 호염기구 절대 계수가 약 55개 호염기구/ mm^3 이상 감소되는 방법.

[0245] 85. 실시양태 1 내지 73 중 임의의 실시양태에 있어서, 상기 대상의 투여 후 호염기구 절대 계수가 약 60개 호염기구/ mm^3 이상 감소되는 방법.

[0246] 86. 실시양태 1 내지 73 중 임의의 실시양태에 있어서, 상기 대상의 투여 후 호염기구 절대 계수가 약 65개 호염기구/ mm^3 이상 감소되는 방법.

[0247] 87. 실시양태 1 내지 73 중 임의의 실시양태에 있어서, 상기 대상의 투여 후 호염기구 절대 계수가 약 70개 호염기구/ mm^3 이상 감소되는 방법.

[0248] 88. 실시양태 1 내지 73 중 임의의 실시양태에 있어서, 상기 대상의 투여 후 호염기구 절대 계수가 0 내지 약 10개 호염기구/ mm^3 인 방법.

[0249] 89. 실시양태 1 내지 73 중 임의의 실시양태에 있어서, 상기 대상의 투여 후 호염기구 절대 계수가 약 2개 호염기구/ mm^3 인 방법.

[0250] 90. 실시양태 1 내지 73 중 임의의 실시양태에 있어서, 상기 대상의 투여 후 호염기구 절대 계수가 약 5개 호염기구/ mm^3 인 방법.

[0251] 91. 실시양태 1 내지 73 중 임의의 실시양태에 있어서, 상기 대상의 투여 후 호염기구 절대 계수가 약 7개 호염기구/ mm^3 인 방법.

[0252] 92. 실시양태 1 내지 73 중 임의의 실시양태에 있어서, 상기 대상의 투여 후 호염기구 절대 계수가 약 9개 호염

기구/ mm^3 ³인 방법.

- [0253] 93. 실시양태 1 내지 73 중 임의의 실시양태에 있어서, 호염기구 감소가 투여 후 48시간 내에 일어나는 방법.
- [0254] 94. 실시양태 1 내지 73 중 임의의 실시양태에 있어서, 호염기구 감소가 투여 후 24시간 내에 일어나는 방법.
- [0255] 95. 실시양태 1 내지 94 중 임의의 실시양태에 있어서, 상기 IL-5R 결합 분자가 약 0.001 내지 약 100 mg/kg 범위의 용량으로 상기 대상에게 투여되는 방법.
- [0256] 96. 실시양태 95에 있어서, 상기 용량이 약 0.03 mg/kg인 방법.
- [0257] 97. 실시양태 95에 있어서, 상기 용량이 0.03 mg/kg인 방법.
- [0258] 98. 실시양태 1 내지 97 중 임의의 실시양태에 있어서, 상기 IL-5R 결합 분자가 비경구 투여되는 방법.
- [0259] 99. 실시양태 98에 있어서, 상기 IL-5R 결합 분자가 정맥내 투여되는 방법.
- [0260] 100. 실시양태 1 내지 99 중 임의의 실시양태에 있어서, 다만 IL-5R 결합 분자가 MEDI-563이 아닌 방법.
- [0261] 101. 실시양태 1 내지 100 중 임의의 실시양태에 있어서, 상기 호산구의 감소가 천식 증상의 감소를 초래하는 방법.
- [0262] 102. 실시양태 1 내지 100 중 임의의 실시양태에 있어서, 상기 호산구의 감소가 COPD 증상의 감소를 초래하는 방법.

실시 예

[0263] 이제 본 발명이 하기 실시예를 참조하여 기재된다. 본 실시예는 단지 예시하기 위한 목적으로 제공된 것으로, 본 발명은 어떠한 식으로도 이 실시예에 제한되는 것으로 간주되어서는 안되며, 보원에 제공된 교시내용의 결과로서 자명하게 되는 임의의 모든 변형양태를 포괄하는 것으로 간주되어야 한다.

실시예 1

[0265] MEDI-563, 항-인터류킨 S-수용체 항체는 양호한 내성을 가지고, 제1기 시험에 있어 경증 천식에서 가역적 혈액 호산구감소증을 유도한다.

[0266] **배경:** 호산구는 천식의 병인에 핵심적 역할을 하는 것으로 밝혀진다. 인터류킨-5(IL-5)는 호산구 생물학에 있어 주요 사이토카인이고, 그것의 수용체(IL-5R)의 β발현은 대체로 호산구, 호염기구 및 비만 세포에 국한된다. 천식에 있어서의 IL-5-표적화 요법제의 최적 효능은 폐 조직 내 호산구의 불완전 고갈에 기인한 것이었다. 완전한 폐 호산구 고갈은 천식에서의 상기 세포의 역할을 더욱 통찰할 수 있도록 하며, 신규 치료법을 나타낼 수 있다.

[0267] **목적:** 인간화 비푸코실화 IgG1 항-IL-5R 알파 사슬 단클론 항체인 MEDI-563(과거 BIW-8405로도 알려짐)의 안전성 및 생물학적 활성을 평가하기 위한 것임. 항체-의존성 세포내 세포독성을 유의적으로 증진시키는 자산 포텔리전트(Potelligent)[®] 기술을 통해 바이오와 인코포레이티드(BioWa, Inc.)에 의해 MEDI-563이 개발되었다. MEDI-563은 IL-5 활성을 중화하고, 허용가능한 독성학 프로파일과 함께 예비-임상 모델에서 조직 호산구를 고갈 시킨다.

[0268] **방법:** 경증 천식을 가지고 코르티코스테로이드 요법을 받지 않은 6명의 대상을, MEDI-563을 이용하는 개방-표지 최초의 인간 대상 연구인 연구 BIW-8405-001의 첫 번째 코호트에 등록시켰다. 환자에게 1회 정맥내 용량의 0.03 mg/kg MEDI-563을 주입하였고, 84일 동안 추적하였다.

[0269] **결과:** MEDI-563은 양호한 내성을 가졌으며, 심각한 유해 사례가 보고되지 않았다. 모든 유해 사례(adverse event; AE)은 경증이었고, 가장 빈번히 보고되는 AE는 투여 후 투약일에서의 피로였다(3/6 대상). 순환 호산구는 모든 6명의 대상들 중 투약 24 내지 48시간 내에 검출 한도 미만으로 감소하였다(투약 전 평균값을 포함할 것임). 이 효과는 8 내지 12주 동안 지속되었고, 호산구는 투약후 58일째에 일부 대상들에게 검출가능하게 되었으며, 분석한 모든 대상들에 있어 투약후 84일에는 기준선 수준의 ≥70%에 도달하였다. 순환 호염기구는 유사한 추세를 따랐다. MEDI-563의 예상 작용 기전과 가능히 연결된 바, 호중구 수준은 투약후 72시간 내에 약간의 일과성 감소를 겪었고, 2/6 대상에서 경증 호중구감소증 수준에 도달하였고, 이는 3일 내에 치유되었다. MEDI-563 투여는 혈청 C-반응성 단백질(2/6 대상) 및 IL-6(2/3)의 즉시(6시간 이내), 보통(<10× 기준선) 및 일과성(<1주 지속) 증가와 관련되었다.

[0270] 결론: 1회 0.03 mg/kg IV 용량의 MEDI-563은 지금까지 허용가능한 안전성 프로파일과 함께 강한 혈액 호산구감소증을 유도한다.

실시예 2

항체 의존성 세포-매개 세포독성

[0273] KC1333 이펙터 세포(인간 FcgRIIIa 및 FcεRIg를 과발현하는 인간 NK 세포)를, MEDI-563 또는 대조군 항체의 존재 하에 5 이펙터:1 표적의 비로, 표적 CTL-2 세포주(인간 IL-5Ra를 과발현하도록 유전적으로 변형된 마우스 림프종)와 함께 4시간 동안 동시에 인큐베이션하였다. 칼세인(Calcein) AM 세포 생존능 검정을 이용하여, 항체 매개 세포독성을 평가하였다. 결과가 도 9A에 요약되어 있다. 유사한 방법을 이용하여, 다른 한 대조군(푸코실화 MEDI-563)을 분석하였다. 결과가 도 9B에 요약되어 있다.

실시예 3

IL-5R에 대한 MEDI-563의 평형 결합의 표면 플라즈몬 공명 평가

[0276] 운반체 불포함의 가용성 인간 IL-5Ra 세포의 도메인을 상업적 공급원(R+D 시스템즈(R+D Systems))으로부터 수득하였다. 재조합 huIL-5Ra를 표준 프로토콜을 이용하여 아민 연결기를 통해 센서 칩에 직접 고정화하였다. MEDI-563의 고정화 huIL-5Ra와의 경시적 상호작용을 굴절율 변화에 의해 평가하였고, 이로부터 표준 기법을 이용하여 k_{on} , k_{off} 및 K_D 값을 계산하였다. 결과가 도 10에 요약되어 있다.

실시예 4

Fc γ Rs에 대한 MEDI-563의 평형 결합의 표면 플라즈몬 공명 평가

[0279] MEDI-563을 표준 프로토콜을 이용하여 아민 연결기를 통해 센서 칩에 직접 고정화하였다. 가용성 인간 Fc γ Rs (메드이뮨(MedImmune))의 고정화 MEDI-563과의 경시적 상호작용을 굴절율 변화에 의해 평가하였고, 이로부터 표준 기법을 이용하여 k_{on} , k_{off} 및 K_D 값을 계산하였다. 결과가 도 11에 요약되어 있다.

실시예 5

IL-5R a 면역조직화학

[0282] 절개된 비풀립 조직을 24시간 동안 포름알데히드 중에 고정하여, 파라핀 중에 포매하였다. 표준 기법을 이용하여, 상업적으로 이용가능한 IL-5R 지정 다클론 항체(R+D 시스템즈, 산타 크루즈 바이오테크놀로지(Santa Cruz Biotechnology))를 사용하여 인간 IL-5Ra, IL-9R, CCR3 및 c-카트에 대해 연속 구획을 염색하였다. IL-9 형질 전환 마우스 또는 야생형 균주 부합 FVB 대조군 마우스로부터의 폐 조직을 24시간 동안 포름알데히드 중에 고정하여, 파라핀 중에 포매하였다. 표준 면역조직화학 기법을 이용하여 IL-9R(pAb, 산타 크루즈 바이오테크놀로지) 및 IL-5R(pAb, R+D 시스템즈) 발현에 대해 구획을 분석하였다. 결과가 도 12 및 13에 요약되어 있다.

실시예 6

MEDI-563은 건강한 도너의 전혈 내 호산구에 결합한다

[0285] 과립구를 밀도 구배 원심분리에 의해 정상 도너의 인간 전혈로부터 단리하였다. CD16(FITC 형광색소) 및 MEDI-563F(ab)'2(Alexa-647 형광색소) 발현의 분석을 위해 직접 표지된 일차 항체 시약을 사용하였다. CD16-FITC + MEDI-563-Alexa647 또는 CD16-FITC + Alexa647-표지 이소타입 대조군 항체의 칵테일을 10^6 개 세포 당 1 마이크로그램으로 과립구 제제에 첨가하였다. 빙상에서 45분 동안 인큐ベ이션한 후, 세포를 냉 염수 중에 3회 세정하였고, 세포 표면 항체 결합을 유세포분석에 의해 평가하였다. CD16에 대해 음성인 호산구를 분석하였다. CD16-음성 과립구 집합 내 MEDI-563 대 이소타입 대조군 항체의 결합이 표시된다. 결과가 도 15에 요약되어 있다.

실시예 7

유세포분석에 의한 마우스 백혈구 IL-5R a 염색

[0288] IL-5 형질전환 마우스의 혈액, 골수, 폐 및 비장으로부터 백혈구를 단리하였다. 세포 혼탁액을 1% FCS 함유 PBS 중에 염색하였다. 비특이적 결합을 감소시키기 위해, 세포를 염색 전 15분 동안 Fc 블록(Fc Block)(BD 사이언시스(BD Biosciences))과 함께 인큐ベ이션하였다. 사용된 항체는 항-마우스 CCR3(R&D 시스템즈), 항-마우스 Siglec F(BD 바이오사이언시스) 및 항-마우스 IL-5R(H7)였다. 세포를 빙상에서 30분 동안 염색하고, 2회 세정하

며, 사이토픽스 완충액(BD 바이오사이언시스) 중에 고정하였다. FACS 디바(Diva) 소프트웨어(베톤 덕킨슨(Becton Dickinson))와 함께 LSRII(베톤 덕킨슨)를 이용하여 유세포분석법을 수행하였다. 플로우조(FlowJo) 소프트웨어(트리스타 인코포레이티드(TreeStar Inc.))를 이용하여 결과를 분석하였다. 결과가 도 16A 및 16B에 요약되어 있다.

[0289] 실시예 8

[0290] Medi-563은 골수로부터의 IL-5Ra 양성 단핵 세포를 고갈시킨다.

[0291] 냉동된 골수 단핵 세포(BM MNC; 롬자(Lonza))를 해동하고, 세정하며, 도말하고, 37°C에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 비고착 골수 단핵 세포(NA BM MNC)를 인큐베이션 후 플레이트로부터 수집하였다. 10 ug/ml Medi-563 항체의 존재 하에 96 웰 TC 플레이트 내에서 200 ul 10% FBS/RPMI 1640 중 웰 당, 100,000개 NA BM MNC 및 50,000개 KC1333 이펙터 세포를 동시에 인큐베이션함으로써, ADCC 검정을 수행하였다. 비관련 특이성의 R347 aFuc 이소타입 대조군 항체를 이용하여, 음성 대조군 반응을 수행하였다. ADCC 검정에 사용된 KC1333 이펙터 세포를 CFDA SE로 염색하였다. 18시간 인큐베이션한 후, 각 반응으로부터의 세포를 따뜻한 매질로 3회 세정하고, 유세포분석을 위해 면역염색하였다. KM1257 일차 항체/PE 접합 염소 항-Mu IgG Fcg 특이적 2차 항체 염색에 의해 IL-5Ra 양성 세포를 검출하였다. PE 접합 염소 항-Mu IgG Fcg 특이적 2차 항체와 조합하여 IA7 이소타입 부합 대조군 일차 항체를 이용하여, 샘플의 대조군 염색을 행하였다. 표준 프로토콜을 이용하여, 면역염색 및 유세포분석을 수행하였다. 럼프구 게이트 내 KM1257 양성 세포의 수를 계수함으로써, ADCC 후 샘플 내에 남아있는 IL-5Ra 양성 세포의 수를 확인하였다. 인간 IL-5Ra 도입유전자를 발현하는 CTL-L-2 세포주를 이용하여, 면역염색 및 유세포분석 절차를 보정하였다. MEDI-563 매개 ADCC는 NA BM MNC 샘플로부터의 실질적으로 모든 IL-5Ra 양성 세포를 고갈시켰다. 결과가 도 17A 및 17B에 요약되어 있다.

[0292] 실시예 9

[0293] 말초혈 호산구의 MEDI-563 매개 고갈

[0294] 경증 천식을 갖는 6 대상의 두 코호트를 MEDI-563의 개방-표지 연구에 등록하였다. 코호트 1 및 2의 대상들에 각기 1회 정맥내 용량의 0.03 mg/kg 및 0.1 mg/kg MEDI-563을 주입하였고, 그것의 말초혈 호산구 수준의 선별 시, 투약전 0일째, 및 84일째까지 규칙적 간격으로, 또한 추적 조사 시에 계수하였다. 유세포분석에 의해 순환 호산구를 검출하였다. 순환 호산구는 양 코호트의 모든 6명 대상들에서 투약 24시간 내에 검출 한도 미만으로 감소하였다. MEDI-563은 8 내지 12주 동안 지속되는 호산구감소증을 유도하였다. 코호트 1에서, 84일 연구를 완수한 5명 대상들에게 1회 용량의 0.03 mg/kg MEDI-563을 투여한 후, 호산구는 58일째에 1명의 대상에서, 또한 84일째에는 3명의 대상에서 검출가능하게 되었고; 다섯 번째 대상은 84일째에 검출가능한 순환 호산구를 가지지 않았다. 코호트 2에서, 1회 용량의 0.1 mg/kg MEDI-563의 투여 후, 대상은 모두 84일째에 검출가능한 순환 호산구를 가지지 않았다. 그러나, 말초혈 호산구가 후속 추적 조사 연구에서 코호트 2의 모든 6명의 대상들에서 검출가능했다. 1회 용량의 MEDI-563을 투여한 후 각종 시간 간격으로 코호트 1 및 2에서 검출된 말초혈 호산구 수준이 도 18A 및 18B에 나와 있다.

[0295] 실시예 10

[0296] IL-5R α 면역조직화학

[0297] 건강한 인간 대상으로부터의 폐 구획을 표준 조직화학 기법을 이용하여 MEDI-563으로 염색하였다. 결과가 도 19에 요약되어 있다. IL-5R알파 발현 세포가 이미지에서 흑색으로 나타난다.

[0298] 천식 환자의 기관지 또는 경기관지 생검으로부터 수득된 폐 조직 샘플을 표준 조직화학 기법을 이용하여 MEDI-563으로 염색하였다. 결과가 도 20에 요약되어 있다. IL-5R알파 발현 세포가 이미지에서 암회색/흑색으로 나타난다.

[0299] 실시예 11

[0300] 시험관내 ADCC 검정에서 MEDI-563은 단리된 호염기구 및 호산구를 효율적으로 표적화한다.

[0301] 상업적으로 이용가능한 키트(로보셉(RoboSep) NK/호산구/호염기구 음성 선택 키트, 스템 셀 테크놀로지즈(Stem Cell Technologies, 캐나다 벤쿠버 소재))를 이용하여, 건강한 도너로부터 호염기구 및 호산구를 단리하였다. 단리된 세포의 IL-5R알파 발현을 유세포분석에 의해 확인하였다. 세포를 표준 프로토콜에 따라 비관련 특이성의 이소타입 대조군 항체 또는 MEDI-563 항체에 의해 염색하였다. 면역염색된 세포를 유세포분석에 의해 염색하였

다. 염색 프로파일이 도 21에 나와 있다. 단리된 호염기구 및 호산구 모두가 이소타입 대조군 항체에서 관찰되는 것보다 높은 MEDI-563 염색 수준을 나타냈다. 인간 IL-5R알파/베타 도입유전자를 발현하는 세포주의 염색 패턴이 양성 대조군으로 나와 있다.

[0302] 단리된 호산구 및 자가 NK 세포를 이용하여, 시험관내 ADCC 검정에서 푸코실화 및 비푸코실화 MEDI-563의 활성을 확인하였다. 상업적으로 이용가능한 키트(로보셉 NK/호산구/호염기구 음성 선택 키트, 스템 셀 테크놀로지즈(캐나다 벤쿠버 소재))를 이용하여, 건강한 도너로부터 호산구 및 NK 세포를 단리하였다. 단리된 NK 세포 및 호산구를 5:1 비의 이펙터 세포 및 표적 세포로서 이용하여, ADCC 검정을 수행하였다. 검정된 항체 농도는 10^{-15} 내지 10^{-7} M 범위 내이다. 유세포분석 기재 아넥신 V 검정을 이용하여, 24시간 동안 인큐베이션한 후, 세포독성을 측정하였다. 비푸코실화 MEDI-563의 ADCC 활성은 푸코실화 MEDI-563 항체의 ADCC 활성보다 수차원 등급 더 높았다. 비푸코실화 MEDI-563의 EC₅₀ 값은 이 검정에서 0.965 pM였다. 대표적 실험의 결과가 도 22에 나와 있다.

[0303] 단리된 호염기구 및 자가 NK 세포를 이용하여, 시험관내 ADCC 검정에서 비푸코실화 MEDI-563의 활성을 확인하였다. 상업적으로 이용가능한 키트(로보셉 NK/호산구/호염기구 음성 선택 키트, 스템 셀 테크놀로지즈(캐나다 벤쿠버 소재))를 이용하여, 건강한 도너로부터 호염기구 및 NK 세포를 단리하였다. 단리된 NK 세포 및 호산구를 5:1 비의 이펙터 세포 및 표적 세포로서 이용하여, ADCC 검정을 수행하였다. 검정된 항체 농도는 10^{-15} 내지 10^{-11} M 범위 내이다. 유세포분석에 의해 아넥신 V 양성 세포를 결정함으로써, 24시간 동안 인큐베이션한 후, 세포독성을 측정하였다. 비푸코실화 MEDI-563의 EC₅₀ 값은 이 검정에서 0.561 pM였다. 대표적 실험의 결과가 도 23에 나와 있다.

실시예 12

[0305] 호산구는 MEDI-563 매개 ADCC 검정에서 세포독성 과립을 방출하지 않는다.

[0306] MEDI-563 표적화 ADCC에 노출된 호산구의 탈과립화를, 상등액 내로의 EDN(호산구 유래 신경독소) 방출을 측정함으로써 확인하였다. 사용된 시험관내 ADCC 조건은 실시예 11에 기재된 상기 조건과 유사하였다. 건강한 도너로부터 단리된 호산구 및 NK 또는 PBMC 세포를 각기 표적 세포 및 이펙터 세포로 사용하였다. 푸코실화 MEDI-563, 비푸코실화 MEDI-563 또는 비푸코실화 R347 이소타입 대조군 항체를 이용하여, 검정을 수행하였다. 호산구를 1% 트리톤 X-100에 노출함으로써 최대 탈과립화를 달성하였고; 세포의 최대 탈과립화 시에 EDN 농도 >220 ng/ml가 검출되었다. 대표적 실험의 결과가 도 24에 나와 있다. MEDI-563 매개 ADCC 후, EDN 수준은 25 ng/ml(기준선) 미만으로 남았다. 항체의 MEDI-563 농도(33 또는 100 μ g/ml) 또는 푸코실화 상태는 탈과립화 수준에 유의적으로 영향을 주지 않았다.

실시예 13

[0308] MEDI-563 에피토프 맵핑(mapping).

[0309] MEDI-563은 인간 IL-5R알파 단백질을 발현하는 형질전환 세포에 특이적으로 결합한다. MEDI-563은 마우스 IL-5R 알파 단백질을 발현하는 세포에 결합하지 않는다. 도 25B 및 26C를 참조한다. 마우스 및 인간 IL-5R알파 단백질의 아미노산 서열은 매우 유사하다. MEDI-563의 마우스-인간 키메라 IL-5R알파 단백질의 큰 패널로의 결합 특성을 분석함으로써, MEDI-563의 에피토프 특이성을 결정하였다(도 25 내지 27). 실험은 자신의 세포 표면 상에 키메라 IL-5R알파 단백질을 발현하는 형질전환 세포를 이용하였다. 도입유전자 자체물을 생성시켜, 표준 분자 방법을 이용하여 발현시켰다. 형질전환 세포의 표면 상에 발현된 키메라 IL-5R알파 단백질에 대한 항체 결합을 유세포분석에 의해 확인하였다. 형광 염색 프로파일이 도 25 내지 27에 나와 있다. "다클론" 및 "MEDI-563"은 각기 다클론 항-인간 IL-5R알파 항체 및 MEDI-563을 이용하여 관찰된 염색 프로파일을 의미한다. MEDI-563은 인간 IL-5R알파 단백질의 단일 에피토프에 대해 특이적인 반면, 다클론 항체는 인간 IL-5R알파의 다중 에피토프를 인식한다(도 25B 및 26C). "이중 염색"은 다클론(x 축) 및 MEDI-563(y 축) 항체에 대한 형광 염색 프로파일을 나타낸다.

[0310] 첫 번째로, MEDI-563 에피토프를 IL-5R알파의 세포외 도메인의 D1 영역에 맵핑하였다. IL-5R알파는 3개의 세포외 도메인(D1, D2 및 D3), 막투과 도메인 및 세포내 도메인을 포함하였다(도 25A). MEDI-563이 비변형(intact) 세포상의 IL-5R알파를 인식하기 때문에, 그것의 에피토프는 세포외 도메인들 중 하나에 위치해야 한다. MEDI-563 에피토프를 3개의 세포외 도메인들 중 하나에 맵핑하기 위해, 표준 분자 클로닝 방법을 이용하여, 마우스 및 인간 세포외 도메인을 포함하는 IL-5R알파 단백질을 발현하는 형질전환 세포를 생성시켰다. 시험한 키메라

단백질의 도시적 표시가 도 25A에 나와 있다. "녹-아웃" 변이체는 다른 식의 인간 백그라운드 내 단일 마우스 세포와 도메인을 포함하는 키메라 IL-5R알파 단백질이었다. "녹-인" 변이체는 다른 식의 마우스 백그라운드 내 단일 인간 세포와 도메인을 포함하는 키메라 IL-5R알파 단백질이었다.

[0311] 도 25B-C는 대표적 실험의 결과를 보여준다. MEDI-563 및 다클론 항체 모두는 인간 IL-5R알파 단백질을 발현하는 형질전환 세포를 염색시켰고; 어떠한 항체도 마우스 IL-5R알파를 발현하는 형질전환 세포를 염색시키지 않았다(도 25B). MEDI-563은 마우스 D1 및 인간 D2-D3 세포와 도메인을 포함하는 키메라 IL-5R알파 도입유전자를 발현하는 형질전환 세포에 결합하지 않았다(도 25C; "녹-아웃 D1"). MEDI-563은 인간 백그라운드 내 마우스 D2 또는 D3 세포와 도메인을 포함하는 키메라 IL-5R알파 도입유전자를 발현하는 형질전환 세포에 특이적으로 결합하였다(도 25C; "녹-아웃 D2 또는 D3"). MEDI-563은 인간 D1 및 마우스 D2-D3 세포와 도메인을 포함하는 키메라 IL-5R알파 도입유전자를 발현하는 형질전환 세포에 특이적으로 결합하였다(도 25D; "녹-인 D1"). MEDI-563은 인간 D2 또는 D3 세포와 도메인을 포함하는 마우스 IL-5R알파 기재 키메라 도입유전자를 발현하는 형질전환 세포에 결합하지 않았다(도 25D; "녹-인 D2 또는 D3"). 인간 단백질의 하나 이상의 세포와 도메인을 포함하는 키메라 IL-5R알파 단백질을 발현하는 모든 세포들은 다클론 항-인간 IL-5R알파 항체에 의해 염색되었고, 이는 형질전환 세포들 간의 MEDI-563 염색 패턴의 차이가 키메라 단백질 발현 수준의 차이로 인한 것이 아니었음을 보여준다.

[0312] 두 번째로, MEDI-563 에피토프를 인간 IL-5R알파의 D1 세포와 도메인의 분절 B에 맵핑하였다(도 26). IL-5R알파의 D1 세포와 도메인을 3개의 분절들로 나누었다(도 26A; 분절 A, B 및 C). D1 세포와 도메인의 각종 조합의 인간 및 마우스 분절을 포함하는 일련의 인간-마우스 키메라 IL-5R알파 도입유전자를 생성시켰고; 이 단계에 사용된 키메라 단백질은 D1 세포와 도메인 외측에 모든 인간 서열들을 포함하였다. "녹-아웃" 도입유전자는 다른 식의 인간 백그라운드 내 D1 세포와 도메인의 단일 마우스 분절을 포함하는 키메라 IL-5R알파 작제물이었다. "녹-인" 도입유전자는 마우스 D1-인간 D2-마우스 D3-마우스 TM 백그라운드 내 D1 세포와 도메인의 단일 인간 분절을 포함하는 키메라 IL-5R알파 작제물이었다(도 26B). 도 26C는 대조군 실험의 결과를 보여준다. MEDI-563은, (i) 인간 IL-5R알파 도입유전자 또는 (ii) 인간 D1 세포와 도메인("인간 IL-5Ra" 및 "녹-인 D1")을 포함하는 마우스 IL-5R알파 키메라 도입유전자를 발현하는 형질전환 세포를 특이적으로 인식하였다. MEDI-563은, (i) 마우스 IL-5R알파 수용체 도입유전자 또는 (ii) 마우스 D1 세포와 도메인("마우스 IL-5Ra", "녹 아웃-D1")을 포함하는 인간 키메라 IL-5R알파 도입유전자를 발현하는 형질전환 세포에 결합하지 않았다. 도 26D 및 E는 대표적 맵핑 실험의 결과를 보여준다. MEDI-563은 다른 식의 인간 백그라운드 내 D1 세포와 도메인의 마우스 분절 B("녹-아웃 B")를 포함하는 키메라 IL-5R알파 도입유전자를 포함하는 형질전환 세포에 결합하지 않았다. MEDI-563은 인간 백그라운드 내 D1 세포와 도메인의 마우스 분절 A 또는 C("녹-아웃 A", "녹 아웃-C")를 포함하는 키메라 IL-5R알파 도입유전자를 발현하는 형질전환 세포에 특이적으로 결합하였다. 도 26E는 녹 인 작제물로 수득된 결과의 한 예를 보여준다. MEDI-563은 마우스 D1-인간 D2-마우스 D3-마우스 TM 백그라운드 내 D1 세포와 도메인의 인간 분절 B("녹-인 B")를 포함하는 키메라 IL-5R알파 도입유전자를 발현하는 형질전환 세포에 특이적으로 결합하였다. MEDI-563은 마우스 D1-인간 D2-마우스 D3-마우스 TM 백그라운드 내 D1 세포와 도메인의 인간 분절 A 또는 C("녹-인 A 또는 C")를 포함하는 키메라 IL-5R알파 도입유전자를 발현하는 형질전환 세포에 결합하지 않았다. 키메라 IL-5R알파 단백질을 발현하는 모든 세포들은 다클론 항-인간 IL-5R알파 항체에 의해 염색되었고, 이는 형질전환 세포들 간의 MEDI-563 염색 패턴의 차이가 키메라 단백질 발현 수준의 차이로 인한 것이 아니었음을 보여준다.

[0313] 세 번째로, MEDI-563 에피토프를 인간 IL-5R알파의 D1 세포와 도메인의 분절 B1 내에 특정 아미노산 잔기에 맵핑하였다. D1 세포와 도메인의 분절 B1 내 하나 이상의 돌연변이체 아미노산 잔기를 포함하는 일련의 IL-5R알파 수용체 변이체들을 형질전환 세포에서 발현시켰다. 마우스 아미노산 서열과 인간 아미노산 서열을 비교함으로써, 돌연변이체 잔기의 위치를 선택하였다. 시험한 변이체 단백질의 모식도가 도 27A에 나와 있다.

"녹-아웃" IL-5R알파 변이체는 인간 잔기를 상응하는 마우스 잔기로 교환하는 하나 이상의 치환을 포함하는 돌연변이체 인간 단백질이었다. 예를 들어, "녹-아웃 DE" 변이체는 D56E 및 E58D 아미노산 치환을 포함하는 인간 IL-5R알파 단백질이었다. "녹-인" IL-5R알파 변이체는 마우스 D1, 인간 D2, 마우스 D3, 및 마우스 TM을 포함하는 키메라 단백질이었는데, 여기에서 마우스 D1 도메인은 마우스 잔기를 상응하는 인간 잔기로 교환하는 하나 이상의 치환을 가지는 마우스 분절 B의 돌연변이체 양태를 포함하였다. 예를 들어, "녹-인 DE" 변이체는 마우스 D1-인간 D2-마우스 D3-마우스 TM 백그라운드 내 돌연변이체 마우스 분절 B를 포함하는 키메라 IL-5R알파 단백질이었는데, 여기에서 돌연변이체 마우스 분절 B는 E56D 및 D58E 아미노산 치환을 포함하였다. 도 27B는 녹 아웃 작제물을 이용하여 수득된 결과의 한 예를 보여준다. MEDI-563은 K53Q, D56E, E58D, I61K 아미노산 치환("녹 아웃-KDEI")을 포함하는 돌연변이체 인간 IL-5R알파 단백질을 발현하는 형질전환 세포에 결합하지 않았다. MEDI-

563은 N40H, N42D, Q46H("녹 아웃-NNQ") 또는 D56E, E58D("녹 아웃-DE"), 또는 N40H, N42D, D56E, E58D("녹 아웃-NNDE") 아미노산 치환을 포함하는 돌연변이체 인간 IL-5R알파 단백질을 발현하는 형질전환 세포에 특이적으로 결합하였다. 도 27C는 녹 인 작제물을 이용하여 수득된 결과의 한 예를 보여준다. MEDI-563은 Q53K, E56D, D58E, K61I 아미노산 치환("녹 인-KDEI")을 가지는 D1의 돌연변이체 마우스 분절 B를 포함하는 변이체 IL-5R알파 5 단백질을 발현하는 형질전환 세포에 특이적으로 결합하였다. 도 27D는 녹 아웃 작제물을 이용하여 수득된 결과의 한 예를 보여준다. MEDI-563은 I61K 아미노산 치환을 포함하는 돌연변이체 인간 IL-5R알파 단백질("녹 아웃-I61")을 발현하는 형질전환 세포에 결합하지 않았다. MEDI-563은 K53Q("녹 아웃-K53") 아미노산 치환을 포함하는 돌연변이체 인간 IL-5R알파 단백질을 발현하는 형질전환 세포에 특이적으로 결합하였다. (E) 도 27E는 녹 인 작제물을 이용하여 수득된 결과의 한 예를 보여준다. MEDI-563은 K61I 아미노산 치환("녹 인-I61")을 갖는 D1의 돌연변이체 마우스 분절 B를 포함하는 변이체 IL-5R알파 단백질을 발현하는 형질전환 세포에 특이적으로 결합하였다. MEDI-563은 Q53K 아미노산 치환("녹 인-K53")을 갖는 D1의 돌연변이체 마우스 분절 B를 포함하는 변이체 IL-5R알파 단백질을 발현하는 형질전환 세포에 결합하지 않았다. 키메라 IL-5R알파 단백질을 발현하는 모든 세포들은 다클론 항-인간 IL-5R알파 항체에 의해 염색되었고, 이는 형질전환 세포들 간의 MEDI-563 염색 패턴의 차이가 키메라 단백질 발현 수준의 차이로 인한 것이 아니었음을 보여준다.

[0314] 실시예 14

[0315] 각종 조직들로부터의 호산구의 생체내 고갈

본 발명자들은 푸코실화 H7(fuc H7)과 대비하여, 생체내 각종 조직들로부터의 호산구를 선택적으로 고갈시키는 비푸코실화 항-마우스IL-5Ra 항체(afuc H7)의 효능을 평가하였다.

방법: 단클론 항체 H7: H7의 가변적 영역을 hIgG1 Fc에 이식하였다. Fuc H7을 야생형 CHO 세포에서 발현시켰고, afuc H7은 FUT8 결핍의 CHO 세포 내 발현시켰다.

항체 친화도(KD): 표면 플라즈몬 공명 기술을 이용하여 친화도를 측정하였다.

마우스: 6 내지 8주령의 IL-5 형질전환 마우스 및 BALB/c 마우스를 사용하였다.

IL-5Tg 마우스에서의 호산구의 고갈: 마우스에 0.01 내지 10 mg/kg의 afuc 및 fuc H7를 i.p. 투약하였고, 호산구 수를 48시간 후에 분석하였다.

알레르기성 기도 염증의 유도: BALB/c 마우스를 명반 내 OVA에 감작화하였고, 17 내지 22일째에 OVA로 공격하였다. 마우스에 22일째에 0.1 mg/kg의 afuc H7를 i.p. 투약하였고, 최종 공격 후 1시간, 24시간 및 72시간에 분석을 수행하였다. 이는 항체 처리 후 25시간, 48시간 및 96시간에 상응하였다.

백혈구의 단리: i) 혈액 심장 천자(cardiac puncture)에 의해 혈액을 수집하여, 해파린-처리 관에 보관하였다. 시스멕스 혈액학 분석기(Sysmex Hematology Analyser)(시스멕스 코포레이션(Sysmex Corp.))를 이용하거나 유세포분석에 의해, 혈액 백혈구를 표현형화하였다.

ii) 기도 루멘 기도를 $3 \times 0.6 \text{ ml}$ PBS로 세척하였다. BAL 샘플을 1200 rpm에서 원심분리하였고, 상등액을 제거하였으며, 세포를 RPMI 중에 재현탁하였다. 세포를 코울터(Coulter) Z2 계수기(벡크만-코울터(Beckman-Coulter))를 이용하여 계수하여, 유세포분석에 의해 표현형화하였다.

iii) 폐 조직 폐의 한 엽(lobe)을, RPMI/10% FCS 중, 분해 시약($18 \mu\text{g/ml}$ 리버라제(Liberase)[블렌자임(Blenzyme) 2; 로쉐(Roche)], $25 \mu\text{g/ml}$ DNase[1형; 로쉐]) 중에서 1시간 동안 37°C 에서 인큐베이션하였다. 회수된 세포를 $70-\mu\text{m}$ 나일론 체(팔콘(Falcon))를 통해 여과하여, 2회 세정하였으며, 계수하고, BAL에 대해 표현형화하였다.

iv) 골수 도너 마우스로부터의 대퇴골을 단리하였고, 골수를 PBS(칼슘/마그네슘 불포함) 함유의 25-케이지 침부착 주사기로 플러싱하였다. 골수를 22-케이지 침 부착 주사기로 완만하게 상하 플러싱함으로써, 단일 세포 혼탁액을 제조하였다. 골수 세포를 5분 동안 1200 rpm에서 원심분리하고, 첨가제 없이 PBS로 2회 세정하며, RPMI 중에 재현탁하고, 계수하여, 유세포분석에 의해 표현형화하였다.

v) 비장 비장을 제거하였고, $70-\mu\text{m}$ 나일론 체를 이용하여 단일 세포 혼탁액을 제조하였다. 백혈구를 RPMI 중에 재현탁하고, 계수하여, BAL에 대해 표현형화하였다.

유세포분석 유세포분석법을 이용하여 세포를 표현형화하였다. 사용된 항체는 항-마우스 CD4, CD19, CD11b, Siglec-F, Gr-1, IL-5R, c-키트(BD 바이오사이언시스), Fc ε R1(e바이오사이언시스), 및 CCR-3(R 앤드 D 시스템

즈), 및 이의 관련 이소타입 대조군이었다. LSRII 유세포분석기 및 FACS 디바 소프트웨어(BD 바이오사이언스)를 이용하여, 샘플을 분석하였다. 플로우조(트리스타 코포레이션)를 이용하여, 결과를 추가 분석하였다.

[0328] **호산구의 확인:** 호산구는 유세포분석법에 의해 CCR3 및 Siglec-F에 대해 양성으로 염색되는, 고 측면 산란을 갖는 세포로 확인되었다.

[0329] **결과:** IL-5R는 IL-5Tg 마우스의 골수, 혈액, 비장 및 폐 조직 내 호산구에 의해 선택적으로 발현되었다. IL-5R 발현은 호산구에 국한되었고, 비만 세포 또는 호염기구를 포함한 어떠한 다른 세포 유형에서도 검출되지 않았다. 항-IL-5R 항체는 IL-5Tg 마우스의 비장, 폐 조직 및 혈액 내 호산구를 선택적으로 고갈시킨다. 비푸코 실화 및 푸코실화 항-IL-5R 모두가 호중구(Gr-Ihi); 대식세포/단핵구(CD11b+); T 세포(CD3+); B 세포(CD19+)를 고갈시키지 않았다. afuc 및 fuc H7 모두가 IL-5Tg 마우스의 비장, 폐 조직 및 혈액 내 호산구를 고갈시켰다. 골수에서는 고갈이 검출되지 않았다. afuc H7은 fuc H7에 비해, 특히 보다 낮은 항체 용량에서, 호산구 제거에 있어 더욱 강력하였다.

[0330] afuc H7은 또한 알레르겐 공격 모델에서 호산구를 선택적으로 고갈시킨다. afuc H7은 기도 루멘, 폐 조직, 혈액 및 골수 내 호산구를 고갈시켰다. 고갈은 최종 공격 후 72시간(항체 전달 후 96시간)에 모든 구획들에서 가장 높았다.

[0331] 본 발명의 특정 실시양태가 설명하기 위한 목적으로 상기 기재되었으나, 첨부된 특허청구범위에 기재된 바와 같은 발명으로부터 이탈하지 않는 한, 상세한 설명의 다수의 변형양태들이 이루어질 수 있음이 당업자에 의해 인지될 것이다.

[0332] 본 명세서 내 모든 공보, 특히 및 특허 출원은, 각각의 개별 공보, 특히 및 특허 출원이 구체적으로 또한 개별적으로 본원에 참조 인용되는 것으로 나타내어진 것과 같이, 동일한 정도로 본 명세서 내에 본원에 참조 인용된다. 또한, 미국 가특허출원 제60/924,422호(2007년 5월 14일 출원), 제60/924,832호(2007년 6월 1일 출원), 제60/935,005호(2007년 7월 20일 출원), 및 제61/064,612호(2008년 3월 14일 출원)가 모든 목적들을 위해 본원에 참조 인용된다.

도면의 간단한 설명

[0012] 본 발명을 설명하기 위한 목적으로, 본 발명에 대한 특정 실시양태들이 도면에 도시되어 있다. 그러나, 본 발명은 도면에 도시된 실시양태들의 정확한 배치 및 수단에 국한되지 않는다.

[0013] **도 1.** 혈청 내 호산구 양이온성 단백질(ECP)의 감소: ECP는 호산구에 의해 생성되는 마커이다. 환자 코호트 1에서, 이러한 ECP 수준 감소는 도 1에서 관찰되는 호산구 감소를 추적한다 y-축은 ECP 수준(ng/ml)을 요약하고, x-축은 시간(일)을 요약한다.

[0014] **도 2.** 가역적 말초혈 호염기구 고갈: 환자 코호트 1에서 순환 호염기구를 측정한다. y-축은 호염기구 계수(호염기구/mm³)를 요약하고, x-축은 시간(일)을 요약한다. 말초혈 중 호염기구의 급속 감소는 투여 후 24시간에 관찰되었다.

[0015] **도 3.** 기준선에서 호산구증가증을 갖는 환자에서의 증가된 (가역적) hsCRP(고감도 c-반응성 단백질). 환자 코호트 1에서의 이 마커의 측정은, IL-5R 발현 세포에 대한 예상 면역 매개 반응이 일어나고 있음을 입증한다. y-축은 hsCRP 수준(mg/dl)을 요약하고, x-축은 시간(일)을 요약한다.

[0016] **도 4.** 혈청 IL-6의 최소 감소. 환자 코호트 1에서의 IL-6 사이토카인의 측정이 요약되어 있다. y-축은 IL-6 수준(pg/ml)을 요약하고, x-축은 시간(hr)을 요약한다.

[0017] **도 5.** 순환 호중구의 가변적 감소. 환자 코호트 1에서의 호중구 수준이 측정되었고, 양 패널에 요약되어 있다.

[0018] **도 6.** 순환 림프구의 가변적 감소. 환자 코호트 1에서의 림프구 수준이 측정되었고, 양 패널에 요약되어 있다.

[0019] **도 7.** 1일째의 %NK의 지속되는 보통 정도의 감소. 환자 코호트 1에서의 NK 세포 수준을 처리전, 투여 후 1일째, 및 투여 후 28일째에 측정하였다.

[0020] **도 8.** 보다 높은 기준선에서의 대상 내 감소된 FE_{NO}. 환자 코호트 1에서 방출된 산화질소의 분율을 측정하였다. 이 측정은 폐 염증의 비침습성 측정이고, 이 때 데이터는 염증이 감소하는 쪽으로의 추세를 가리킨다.

[0021] **도 9.** 시험관내 세포독성 측정: IL-5R(A)에도 결합하지 않고, 또한 푸코실화 MEDI-563의 부가적 대조군(B)에도

결합하지 않는 대조군 항체와 대비하여, 시험관내 세포독성 검정으로 MEDI-563을 검정하였다. KC1333 이펙터 세포를 CTL2 표적 세포에 대해 5:1 비로 사용하였다. 4시간째에 세포독성을 측정하였다. Y 축은 % 세포독성을 측정하고, X 축은 항체의 농도이다.

[0022] **도 10.** rhuIL-5R α 에 대한 MEDI-563 결합: 재조합 인간 IL-5R α 에 대한 MEDI-563의 결합 친화도가 3개의 분리된 실험들에서 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정되었고, 본 도면에 요약되어 있다.

[0023] **도 11.** rhuFc γ Rs에 대한 MEDI-563 결합: 수가지 상이한 로트들의 재조합 인간 Fc γ Rs에 대한 MEDI-563의 결합 친화도가 이소타입-부합 푸코실화 대조군 항체와 대비하여 측정되었고, 본 도면에 요약되어 있다. MEDI-563이 5 내지 10배 더 높은 친화도로 huFc γ RIIIa 및 muFc γ IV에 결합함을 주목한다.

[0024] **도 12.** IL-9tg 마우스 폐 내 IL-5R α 발현이 면역조직화학법을 통해 분석되었고, 본 도면에 시작화되어 있다.

[0025] **도 13.** 비폴립(nasal polyp) 내 IL-5R α 발현이 MEDI-563을 이용하여 면역조직화학법을 통해 분석되었고, 본 도면에 시작화되어 있다. MEDI-563은 비폴립 내 모든 호산구들을 염색한다.

[0026] **도 14.** 대상에서의 최소 일파성 호중구감소증: 절대적 호중구 계수가 코호트 1 내 대상들에 대해 취해졌고, 본 도면에 요약되어 있다. Y-축은 호중구 계수(호중구/mm³)를 요약하고, X-축은 시간(일)을 요약한다.

[0027] **도 15.** MEDI-563은 건강한 도너의 전혈 내 호산구에 결합한다: 본원의 실시예 6에 기재된 바와 같이 전혈 샘플에 대해 유세포분류법을 수행하였다. 데이터의 3개 폐널, 특히 제목 "MEDI-563이 호산구에 결합한다" 하의 세 번째 폐널은 FACS에 의해 MEDI-563이 호산구에 결합함을 입증한다.

[0028] **도 16.** IL-5 형질전환 마우스로부터의 백혈구의 FACS 분석: 실시예 7에 기재된 바와 같이 IL-5 형질전환 마우스로부터의 백혈구에 대해 유세포분류법을 수행하였다. 도 16A는 SigIecF+CCR3+ 호산구의 FACS 분석을 요약한다. 도 16B는 골수, 비장, 혈액 및 폐 내 모든 호산구(SigIecF+CCR3+)가 항-IL-5R α mAb H7을 이용하여 IL-5R α +를 발현함을 입증한다.

[0029] **도 17.** 시험관내 ADCC 검정에서 MEDI-563은 골수로부터의 IL-5Ra 양성 단핵 세포를 고갈시킨다. 단리된 비부착 골수 단핵 세포를 CFSE 염색 이펙터 세포의 존재 하에 MEDI-563 또는 이소타입 대조군 항체(R347)에 노출시켰다. IL-5Ra 양성 세포를 KM1257 항체/PE 접합 염소 항-Mu IgG에 의해 시작화하였다. IA7 이소타입 대조군 항체/PE 접합 염소 항-Mu IgG를 이용하여 샘플의 대조 염색을 행하였다. MEDI-563 또는 R347 매개 고갈에 따른 샘플 세포 접합의 염색 프로파일이 KM1257/PE 대 CFSE 또는 IA7/PE 대 CFSE 접 플롯으로 나타내져 있다. MEDI-563 및 R347 처리 샘플 대해 수득된 KM1257/PE 대 CFSE 접 플롯의 비교는, MEDI-563 매개 ADCC가 샘플로부터의 실질적으로 모든 IL-5Ra 양성 세포를 고갈시킴을 나타낸다.

[0030] **도 18.** MEDI-563은 경증 천식에서 말초혈 호산구를 가역적으로 고갈시킨다. 경증 아토피성 천식을 앓는 6명의 지원자에게 1회 IV 용량의, (A) 0.03 mg/kg 또는 (B) 0.1 mg/kg MEDI-563을 주입하였다. 말초혈 호산구의 선별 시, 투약전 0일째, 또한 84일까지 규칙적 간격으로 또한 추적 조사(follow-up)에서, 유세포분석에 의해 계수하였다. y-축은 호산구 계수(호산구/mm³)를 요약하고, x-축은 시간(일)을 요약한다. 말초혈 중 호산구의 급감소가 투여 후 24시간에 관찰되었다. MEDI-563 유도 호산구감소증은 가역적이었다.

[0031] **도 19.** MEDI-563을 이용하여 면역조직화학을 통해 분석하고 본 도면에 시작화한 바와 같이, IL-5R α 가 정상 인간 폐 내 모든 호산구들에서 발현된다.

[0032] **도 20.** MEDI-563을 이용하여 면역조직화학을 통해 분석하고 본 도면에 시작화한 바와 같이, IL-5R α 가 천식 인간 환자로부터의 폐 생검 내 모든 호산구들에서 발현된다.

[0033] **도 21.** 건강한 도너로부터 단리된 일차 호염기구 및 호산구에 의한 IL-5R α 발현을 유세포분석에 의해 분석하였다. MEDI 563 항-IL5R알파 항체 및 비관련 특이성의 이소타입 대조군 항체를 이용하여 수득한 염색 프로파일이나와 있고, 이 때 CTLh5r 세포(IL-5R알파/베타 형질감염된 종양 세포)이 양성 대조군으로서 작용하였다.

[0034] **도 22.** 시험관내 항체 의존성 세포-매개 세포독성(ADCC) 검정: 비푸코실화 및 푸코실화 MEDI-563의 비교를 시험관내 ADCC 검정으로 수행하였다. 단리된 일차 NK 세포 및 호산구를 각기 5:1의 비로 이펙터 및 표적 세포로서 사용하였다. 1 ng/ml 인간 IL-2의 존재 하에 검정을 수행하였다. 아넥신(Annexin) V 염색에 기초한 유세포분석에 의해 세포 사멸을 평가하였다. Y 및 X 축은 각기 % 최대 세포독성 및 항체 농도를 나타낸다. 비푸코실화 MEDI-563 항체에 대한 EC50 값은 0.965 pm이었다.

[0035]

도 23. 시험관내 항체 의존성 세포-매개 세포독성(ADCC) 검정: 비푸코실화 MEDI-563의 활성을 시험관내 ADCC 검정으로 분석하였다. 단리된 일차 NK 세포 및 호염기구를 각기 이펙터 및 표적 세포로 사용하였다. Y 및 X 축은 각기 % 최대 세포독성 및 항체 농도를 나타낸다. 이 검정에서 비푸코실화 MEDI-563 항체에 대한 EC₅₀ 값은 0.561 pM이었다.

[0036]

도 24. 시험관내 항체 의존성 세포-매개 세포독성(ADCC) 검정에서의 호산구 탈과립화: 각종 수준의 푸코실화 (MEDI-563F) 및 비푸코실화(MEDI-563) 항-IL5R알파 항체를 이용한 시험관내 ADCC 검정에서 호산구에 의한 EDN (호산구 유래 신경독소) 방출을 분석하였다. 검정에서는 새로 단리된 호산구 및 NK 또는 PBMC 세포가 각기 표적 세포 및 이펙터 세포로서 이용되었다. 1% 트리톤(Triton) X-100을 이용한 처리에 대한 반응으로 검출된 최대 호산구 탈과립화가 비교를 위해 나와 있다.

[0037]

도 25. MEDI-563 인간 IL-5R알파의 세포외 영역의 D1 도메인 내의 에피토프에 특이적으로 결합한다. 키메라 IL-5R알파 단백질을 일과성으로 발현하는 형질전환 세포에 대한 항체 결합이 유세포분석에 의해 확인되었다. 형광 염색 프로파일이 나와 있다. "다클론" 및 "MEDI-563"은 각기 다클론 항-인간 IL-5R알파 항체 및 MEDI-563 항체를 이용하여 관찰된 염색 프로파일을 나타낸다. "이중 염색"은 "다클론"(x 축) 및 MEDI-563(y 축) 항체에 대한 형광 염색 프로파일을 나타낸다. (A) 일련의 인간-마우스 키메라 IL-5R알파 도입유전자가 일과성으로 발현되었다. "녹-아웃(knock-out)" 도입유전자는 다른 식의 인간 백그라운드 내 단일 마우스 세포외 도메인을 포함하는 키메라 IL-5R알파 작제물이었다. "녹-인(knock-in)" 도입유전자는 다른 식의 마우스 백그라운드 내 단일 인간 세포외 도메인을 포함하는 키메라 IL-5R알파 작제물이었다. (B) MEDI-563은 인간 IL-5R알파를 발현하는 형질전환 세포에 특이적으로 결합하였다. MEDI-563은 마우스 IL-5R알파를 발현하는 형질전환 세포에 결합하지 않았다. (C) MEDI-563은 마우스 D1 및 인간 D2-D3 세포외 도메인("녹-아웃 D1")을 포함하는 키메라 IL-5R알파를 발현하는 형질전환 세포에 결합하지 않았다. MEDI-563은 인간 백그라운드 내 마우스 D2 또는 D3 세포외 도메인("녹-아웃 D2 또는 D3")을 포함하는 키메라 IL-5R알파 도입유전자를 발현하는 형질전환 세포에 특이적으로 결합하였다. (D) MEDI-563은 인간 D1 및 마우스 D2-D3 세포외 도메인("녹-인 D1")을 포함하는 키메라 IL-5R알파 도입유전자를 발현하는 형질전환 세포에 특이적으로 결합하였다. MEDI-563은 인간 D2 또는 D3 세포외 도메인("녹-인 D2 또는 D3") 중 하나를 포함하는 마우스 IL-5R알파 기재 키메라 도입유전자를 발현하는 형질전환 세포에 결합하지 않았다.

[0038]

도 26. MEDI-563은 인간 IL-5R알파의 D1 세포외 도메인의 분절 B 내의 에피토프에 특이적으로 결합한다. 키메라 IL-5R알파 단백질을 발현하는 형질전환 세포에 대한 항체 결합이 유세포분석에 의해 확인되었다. 형광 염색 프로파일이 나와 있다. "다클론" 및 "MEDI-563"은 각기 다클론 항-인간 IL-5R알파 항체 및 MEDI-563 항체를 이용하여 관찰된 염색 프로파일을 나타낸다. "이중 염색"은 다클론(x 축) 및 MEDI-563(y 축) 항체에 대한 형광 염색 프로파일을 나타낸다. (A) 마우스 IL-5R알파의 D1 세포외 도메인의 아미노산 서열은 인간 IL-5R알파 단백질의 아미노산 서열과 75% 동일하다. IL-5R알파의 D1 세포외 도메인은 분절 A, B 및 C로 나누어졌다. 나와 있는 인간 및 마우스 IL-5R알파 아미노산 서열은 각기 서열 번호 5 및 6의 잔기 1 내지 102이다. (B) 일련의 인간-마우스 키메라 IL-5R알파 도입유전자가 일과성으로 발현되었다. "녹-아웃" 도입유전자는 다른 식의 인간 백그라운드 내 D1 세포외 도메인의 단일 마우스 분절을 포함하는 키메라 IL-5R알파 작제물이었다. "녹-인" 도입유전자는 마우스 D1-인간 D2-마우스 D3-마우스 TM 백그라운드 내 D1 세포외 도메인의 단일 인간 분절을 포함하는 키메라 IL-5R알파 작제물이었다. (C) MEDI-563은, (i) 인간 IL-5R알파 도입유전자 또는 (ii) 인간 D1 세포외 도메인("녹-인 D1")을 포함하는 마우스 IL-5R알파 키메라 도입유전자를 발현하는 형질전환 세포를 특이적으로 인식하였다. MEDI-563은, (i) 마우스 IL-5R알파 수용체 도입유전자 또는 (ii) 마우스 D1 세포외 도메인을 포함하는 인간 키메라 IL-5R알파 도입유전자를 발현하는 형질전환 세포에 결합하지 않았다. (D) MEDI-563은 다른 식의 인간 백그라운드 내 D1 세포외 도메인의 마우스 분절 B("녹-아웃 B")를 포함하는 키메라 IL-5R알파 도입유전자를 발현하는 형질전환 세포에 결합하지 않았다. MEDI-563은 인간 백그라운드 내 D1 세포외 도메인의 마우스 분절 A 또는 C("녹-아웃 A 또는 C")를 포함하는 키메라 IL-5R알파 도입유전자를 발현하는 형질전환 세포에 특이적으로 결합하였다. (E) MEDI-563은 마우스 D1-인간 D2-마우스 D3-마우스 TM 백그라운드 내 D1 세포외 도메인의 인간 분절 B("녹-인 B")를 포함하는 키메라 IL-5R알파 도입유전자를 발현하는 형질전환 세포에 특이적으로 결합하였다. MEDI-563은 마우스 D1-인간 D2-마우스 D3-마우스 TM 백그라운드 내 인간 분절 A 또는 C("녹-인 A 또는 C")를 포함하는 키메라 IL-5R알파 도입유전자를 발현하는 형질전환 세포에 결합하지 않았다.

[0039]

도 27. MEDI-563은 D1 세포외 도메인의 아미노산 잔기 I1e61을 포함하는 인간 IL-5R알파의 에피토프에 특이적으로 결합한다. 변이체 IL-5R알파 단백질을 발현하는 형질전환 세포에 대한 항체 결합이 유세포분석에 의해 확인되었다. 형광 염색 프로파일이 나와 있다. "다클론" 및 "MEDI-563"은 각기 다클론 항-인간 IL-5R알파 항체 및

MEDI1-563 항체를 이용하여 관찰된 염색 프로파일을 나타낸다. "이중 염색"은 다클론(x 축) 및 MEDI-563(y 축) 항체에 대한 형광 염색 프로파일을 나타낸다. (A) 인간 IL-5R알파의 D1 세포와 도메인의 잔기 50 내지 61이 나와 있다(서열 번호 5의 잔기 40-61). 이탈릭체로 나타낸 잔기는 마우스 IL-5R알파 단백질의 상응하는 영역이 상이하다. 하나 이상의 돌연변이체 아미노산 잔기를 포함하는 일련의 IL-5R알파 수용체 변이체가 형질전환 세포에서 발현되었다. "녹-아웃" IL-5R알파 변이체는 인간 잔기를 상응하는 마우스 잔기로 교환하는 하나 이상의 치환을 포함하는 돌연변이체 인간 단백질이었다. 예를 들어, "녹-아웃 DE" 변이체는 D56E 및 E58D 아미노산 치환을 포함하는 인간 IL-5R알파 단백질이다. "녹-인" IL-5R알파 변이체는 마우스 D1, 인간 D2, 마우스 D3 및 마우스 TM 도메인(여기에서, 마우스 D1 도메인은 상응하는 인간 잔기에 대해 마우스 잔기를 교환하는 하나 이상의 치환을 가지는 돌연변이체 분절 B를 포함함)을 포함하는 키메라 단백질이었다. 예를 들어, "녹-인 DE" 변이체는 돌연변이체 마우스 분절 B(여기에서, 돌연변이체 마우스 분절 B는 E56D 및 D58E 아미노산 치환을 포함함)를 포함하는 키메라 IL-5R알파 단백질이었다. (B) MEDI1-563은 K53Q, D56E, E58D, I61K 아미노산 치환("녹 아웃-KDEI")을 포함하는 돌연변이체 인간 IL-5R알파 단백질을 발현하는 형질전환 세포에 결합하지 않았다. MEDI-563은 N40H, N42D, Q46H("녹 아웃-NNQ") 또는 D56E, E58D("녹 아웃-DE"), 또는 N40H, N42D, D56E, E58D("녹 아웃-NNDE") 아미노산 치환을 포함하는 돌연변이체 인간 IL-5R알파 단백질을 발현하는 형질전환 세포에 특이적으로 결합한다. (C) MEDI-563은 돌연변이체 마우스 분절 B(여기에서, 돌연변이체 마우스 분절 B는 Q53K, E56D, D58E, K61I 아미노산 치환("녹 인-KDEI")을 포함함)를 포함하는 키메라 IL-5R알파 단백질을 발현하는 형질전환 세포에 특이적으로 결합하였다. (D) MEDI-563은 I61K 아미노산 치환("녹 아웃-16I")을 포함하는 돌연변이체 인간 IL-5R알파 단백질을 발현하는 형질전환 세포에 결합하지 않았다. MEDI-563은 K53Q("녹 아웃-K53") 아미노산 치환을 포함하는 돌연변이체 인간 IL-5R알파 단백질을 발현하는 형질전환 세포에 특이적으로 결합한다. (E) MEDI-563은 돌연변이체 마우스 분절 B(여기에서, 돌연변이체 마우스 분절 B는 K61I 아미노산 치환("녹 인-I61")을 포함함)을 포함하는 키메라 IL-5R알파 단백질을 발현하는 형질전환 세포에 특이적으로 결합하였다. MEDI-563은 돌연변이체 마우스 분절 B(여기에서, 돌연변이체 마우스 분절 B는 Q53K 아미노산 치환("녹 인-K53")을 포함함)를 포함하는 키메라 IL-5R알파 단백질을 발현하는 형질전환 세포에 결합하지 않았다.

[0040] **도 28.** 쥐 Fc γ Rs에 대한 키메라 항-마우스 IL-5R α(H7)의 결합: 재조합 쥐 Fc γ Rs(H7)에 대한 키메라 항-마우스 IL-5R α의 결합 친화도가 이소타입-부합 푸코실화 대조군 항체와 대비하여 측정되었고, 본 도면에 요약되어 있다. 해리 상수(nM)가 나와 있다. 측정은 표면 플라즈몬 공명에 의해 행해졌다.

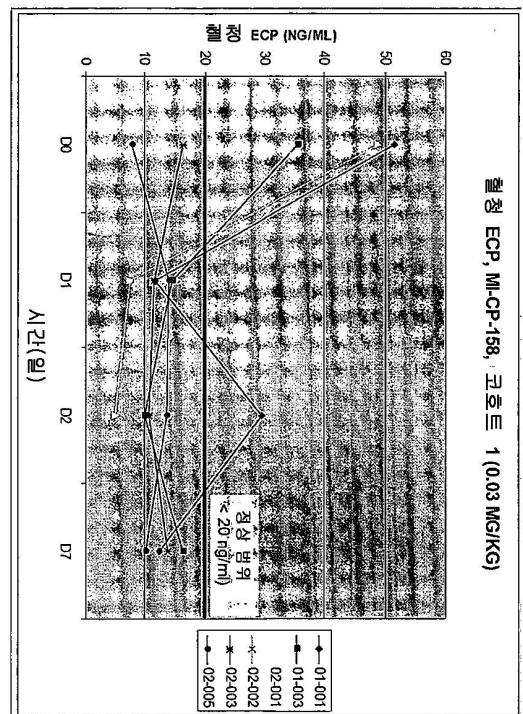
[0041] **도 29.** (A) 호산구는 유세포분석법에 의해, CCR3 및 Siglec-F에 대해 양성으로 염색한, 고 측면 분산을 가지는 세포로 확인되었다. (B) IL-5R은 IL-5Tg 마우스의 골수, 혈액, 비장 및 폐 조직에서 호산구에 의해 선택적으로 발현되었다.

[0042] **도 30.** afuc 및 fuc H7 모두는 IL-5Tg 마우스의 비장(A), 폐 조직(A) 및 혈액(B) 내의 호산구를 고갈시켰다. 골수(B)에서 고갈이 검출되지 않았다. afuc H7은 fuc H7 대비 호산구 제거에 있어, 특히 보다 낮은 항체 용량에서, 더욱 강력하였다. 데이터는 만-휘트니(Mann-Whitney) U 검증법을 이용하여, 처리 대조군 IgG 대비, 처리 항체의 평균±SEM, n=6-8 마우스/군, *p<0.05로 표시된다.

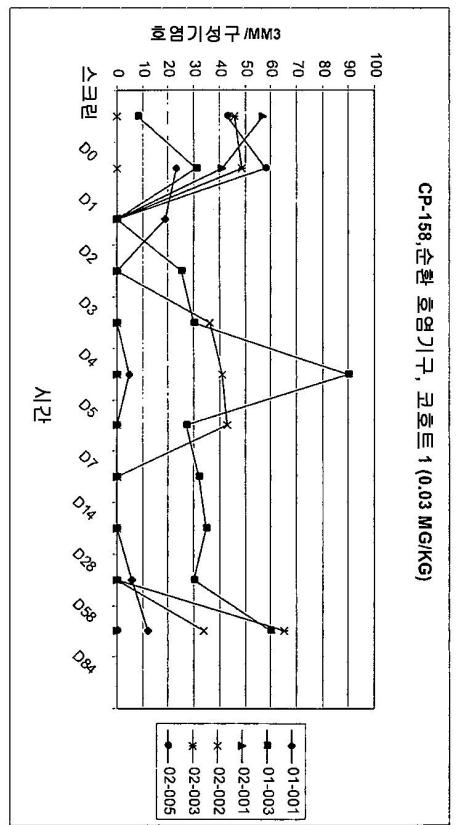
[0043] **도 31.** afuc H7은 또한 알레르겐 공격(challenge) 모델에서 호산구를 고갈시킨다. afuc H7은 기도 루멘, 폐 조직, 혈액 및 골수 내의 호산구를 고갈시켰다. 고갈은 최종 공격시험 후 72시간(항체 전달 후 96시간)에 모든 구획들에서 최고였다. 데이터는 만-휘트니 U 검증법을 이용하여, 처리 대조군 IgG 대비, 처리 항체의 평균±SEM, n=6 마우스/군, *p<0.05로 표시된다.

도면

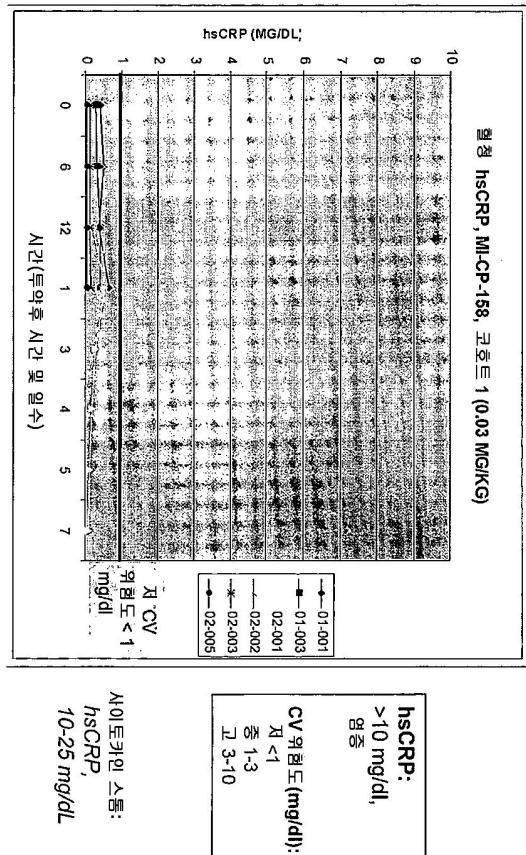
도면1



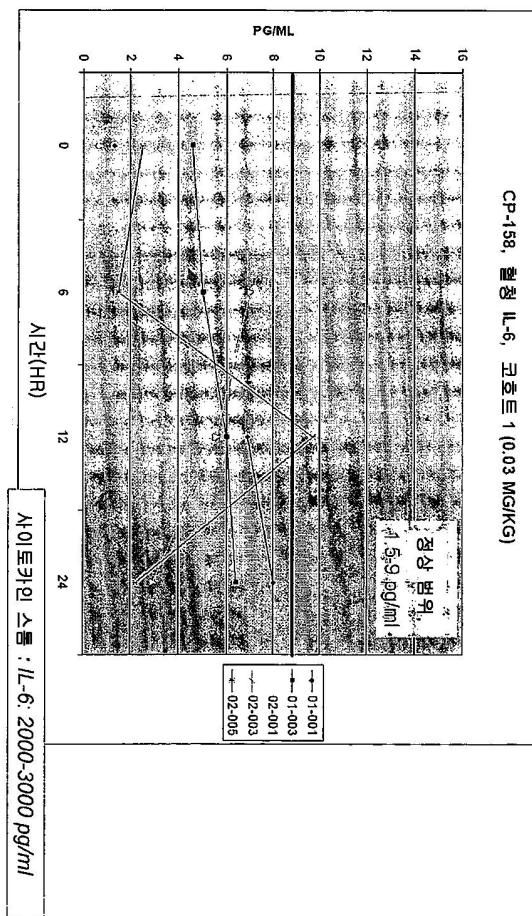
도면2



도면3

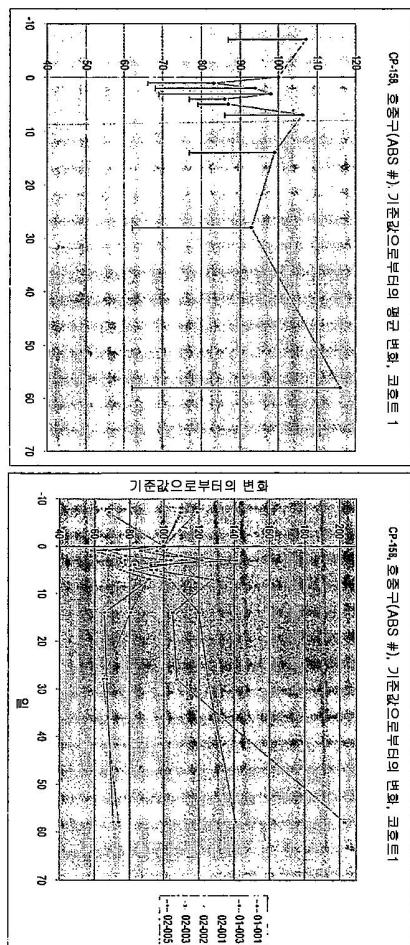


도면4



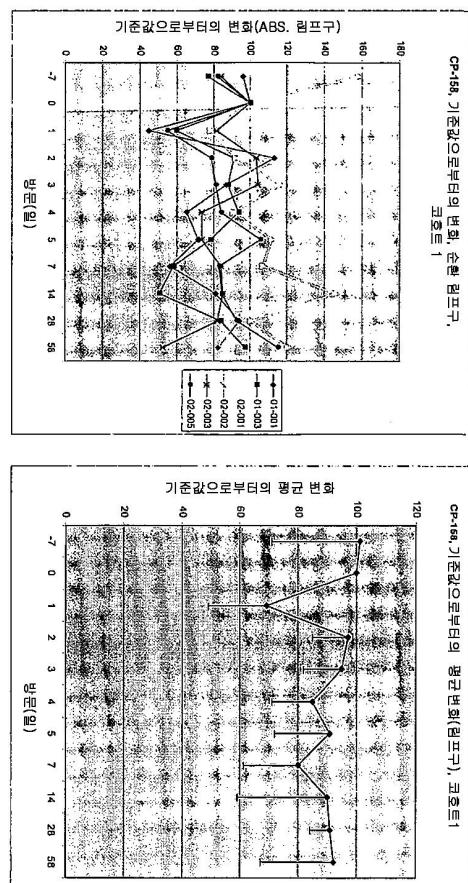
도면5

순환 호중구의 가변적 감소

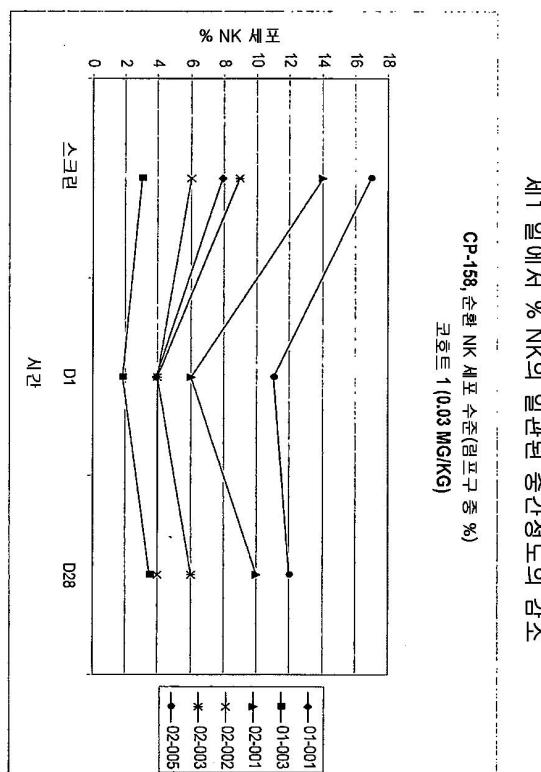


도면6

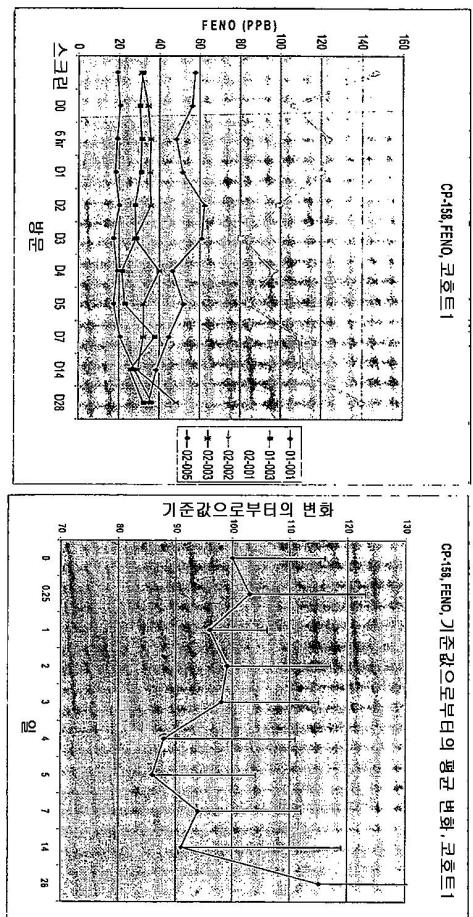
순환 림프구의 가변적 감소



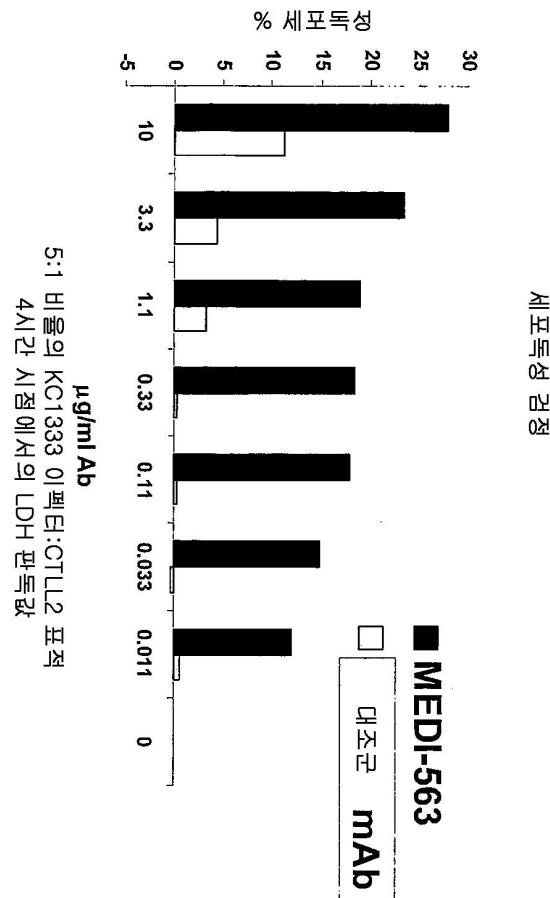
도면7



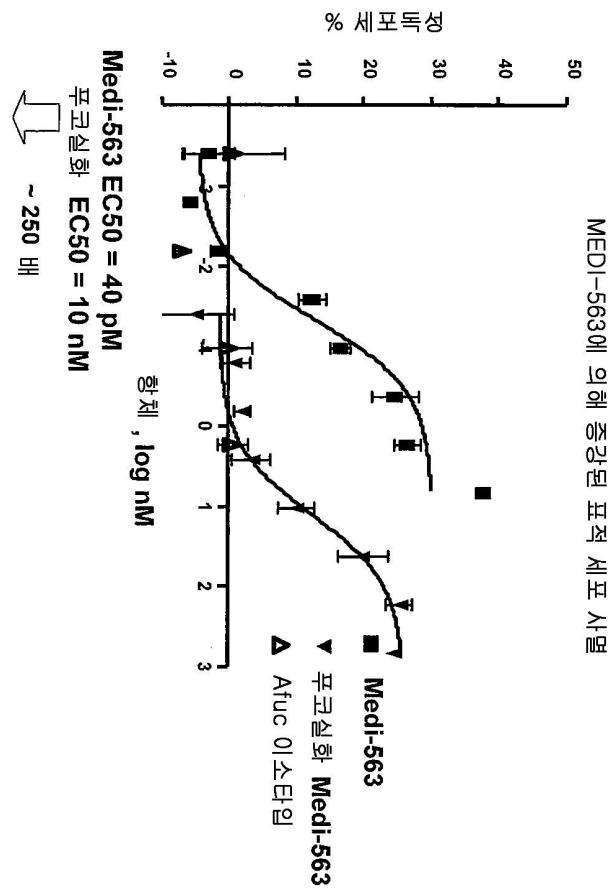
도면8



도면9a



도면9b



도면10

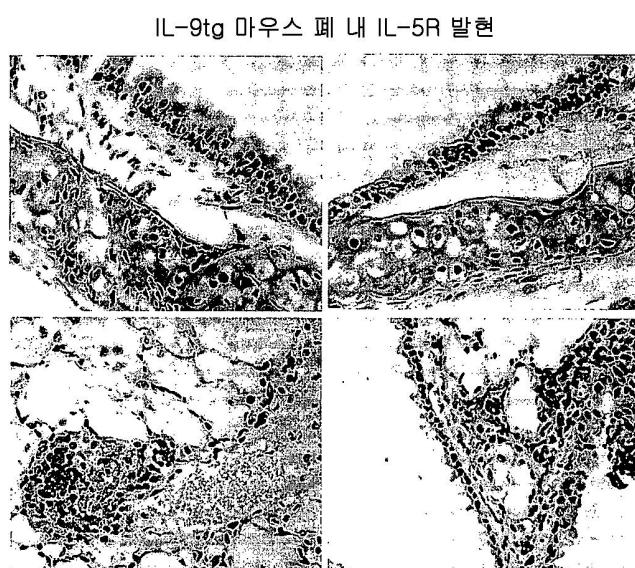
rhull-5Ra에 대한 MED1-563 결합성

	<u>포맷</u>	<u>기기</u>	<u>kon (1/Ms)</u>	<u>koff (1/sec)</u>	<u>K_D(nM)</u>
			(xe+5)	(xe-3)	
실험 0	캡처	3000	7.4	2.1	2.9
실험 1	rhull-5Ra- 다운	3000	5.16* (5.06/5.26)	1.11* (0.79/1.42)	2.13* (1.57/2.69)
실험 2	캡처	T100	3.03* (2.79/3.27)	1.92* (1.82/2.02)	6.35* (6.52/6.18)

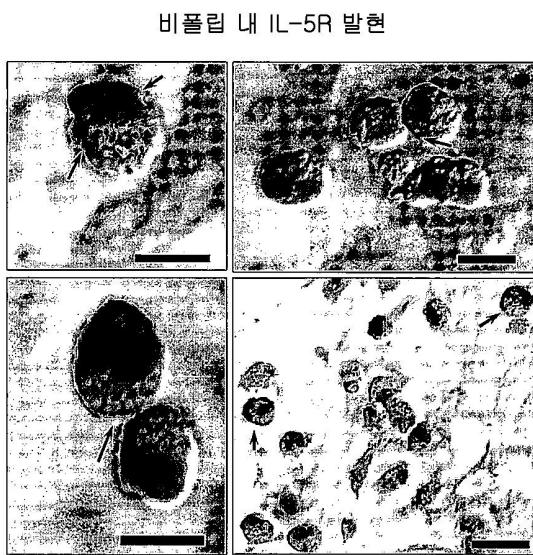
도면11

rhuFcγRs에 대한 MEDI-563 결합성				
시험 시약	[벳치]	Fc 수용체	Fc로트	K _d (nM)
BIW8405	5ng/mL	huFcgrIIb-	57/07	5730
BIW8405	5ng/mL	huFcgrIIIA - 158F	57/06	4760
BIW8405	5ng/mL	huFcgrIIIA - 158V	R22K ZZ3401-03	46
BIW8405	5ng/mL	huFcRI-	37/06	16
BIW8405	5ng/mL	huFcRIIA -	37/06	1290
BIW8405	5ng/mL	muFcgrIIb-	KB031407	1100
BIW8405	5ng/mL	muFcgrIIIA -	KS032307	4930
BIW8405	5ng/mL	muFcgrIV -	KS032307	32
대조군	5ng/mL	huFcgrIIb -	57/07	14500
대조군	5ng/mL	huFcgrIIIA - 158F	57/06	0
대조군	5ng/mL	huFcgrIIIA - 158V	R22K ZZ3401-03	574
대조군	5ng/mL	huFcRI -	37/06	19
대조군	5ng/mL	huFcRIIA -	37/06	1280
대조군	5ng/mL	muFcgrIIb -	KB031407	1470
대조군	5ng/mL	muFcgrIIIA -	KS032307	6360
대조군	5ng/mL	muFcgrIV -	KS032307	329

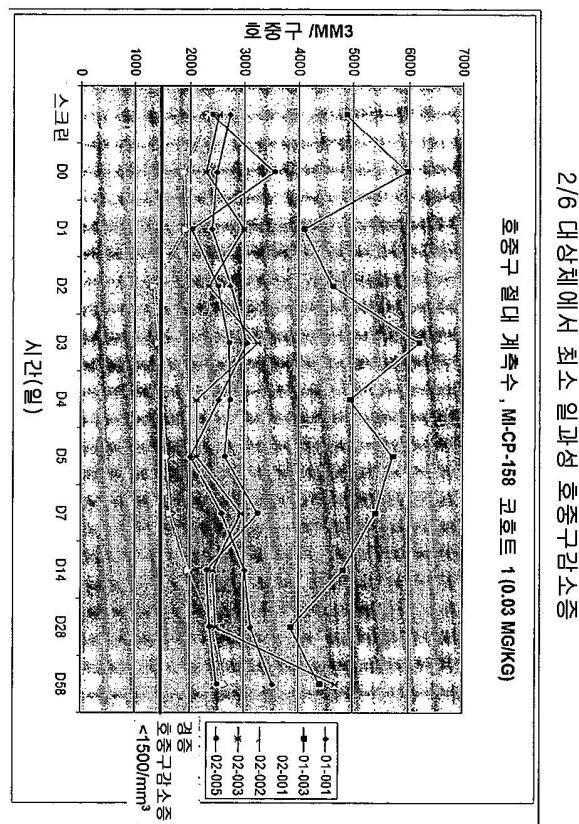
도면12



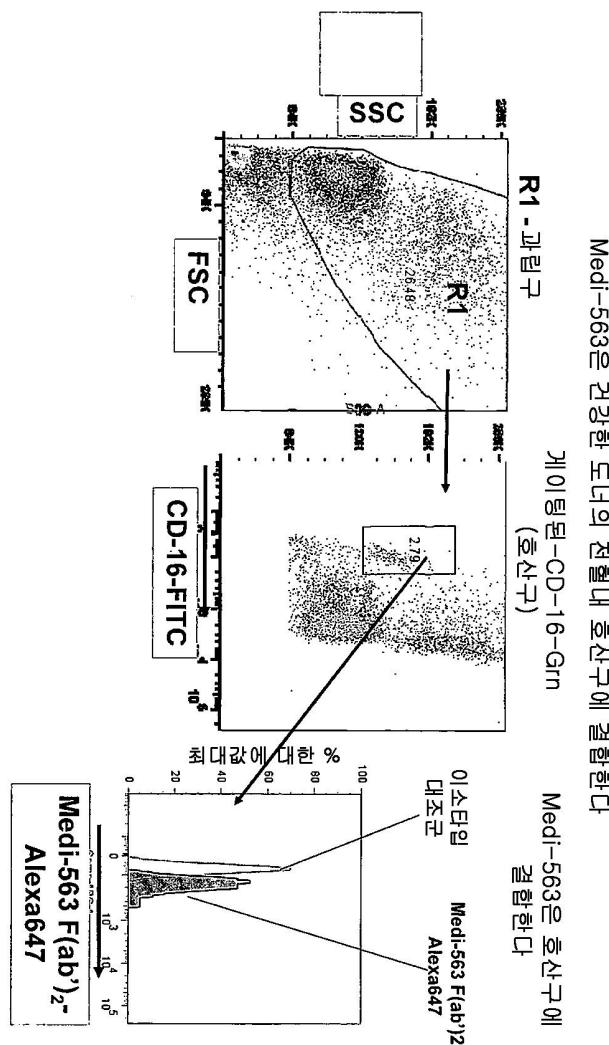
도면13



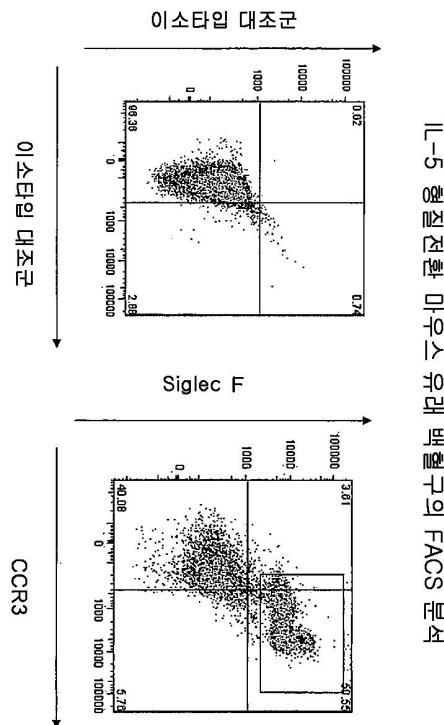
도면14



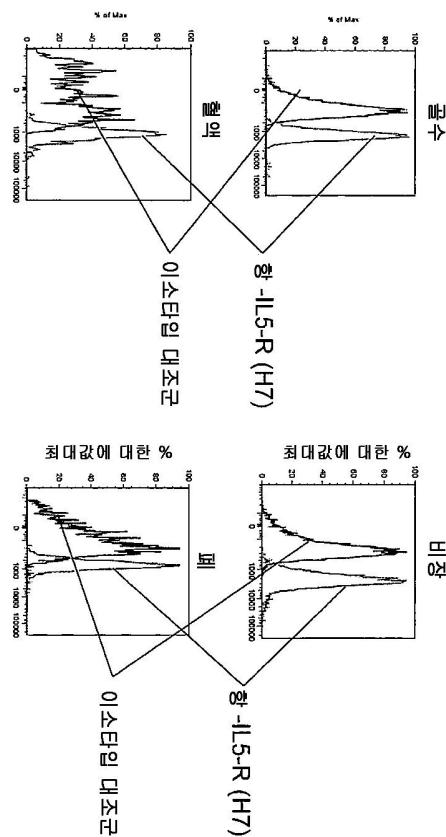
도면15



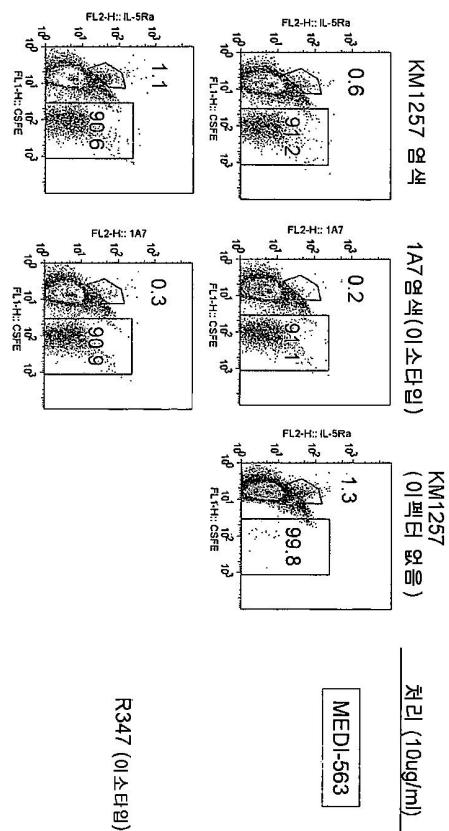
도면16a



도면16b



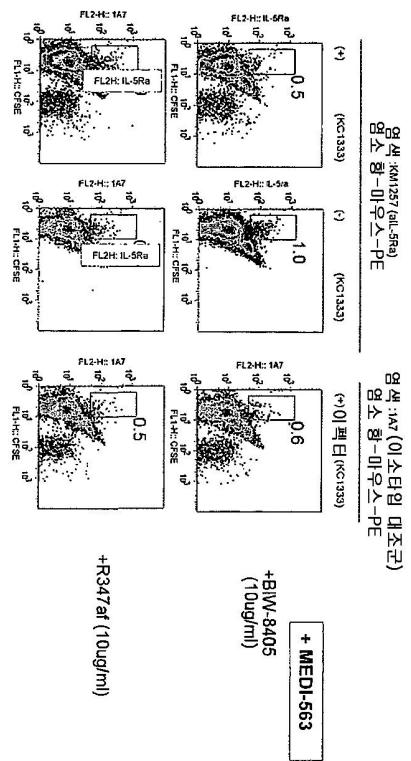
도면17a



도면17b

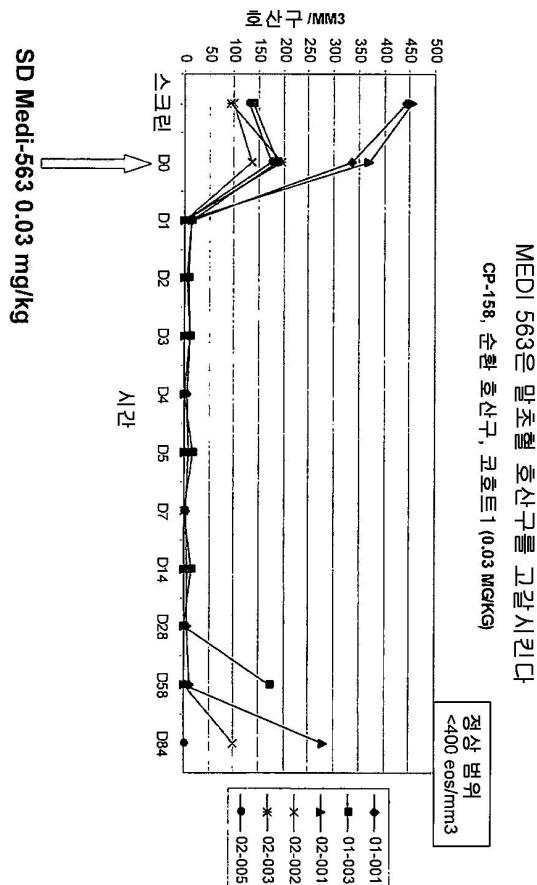
Medi-563은 글수로부터 IL-5Ra 양성 단핵 세포를 고갈시킨다

BM MNC ADCC 검정 #2
(MEDI-563)

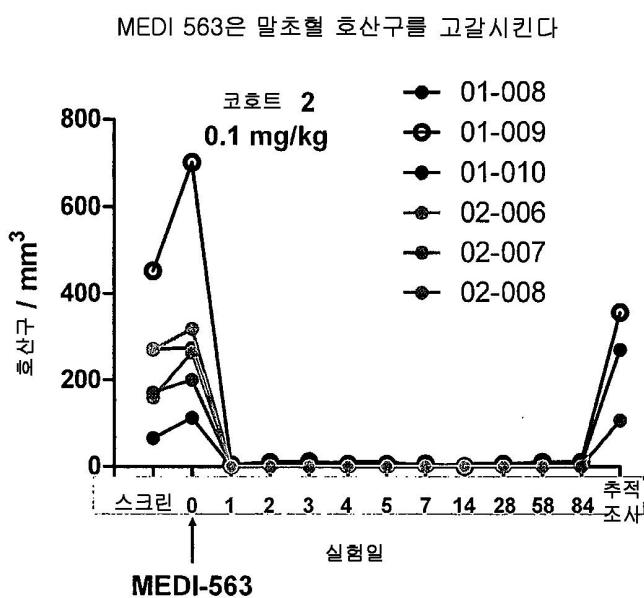


50,000 CFSE 표지원 KC1333
100,000 BM MNC 표적

도면18a

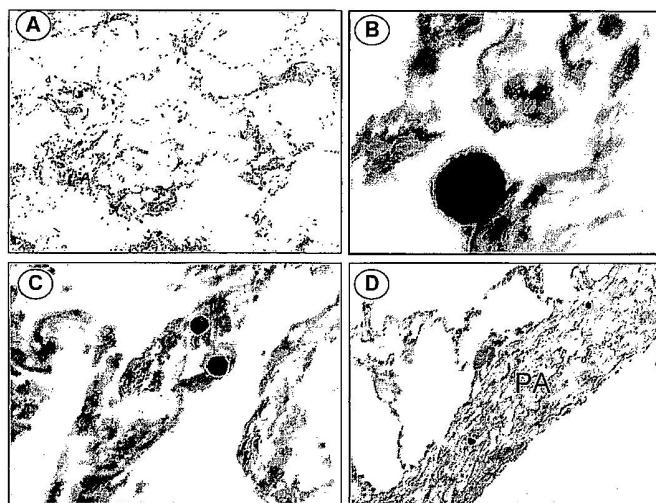


도면18b



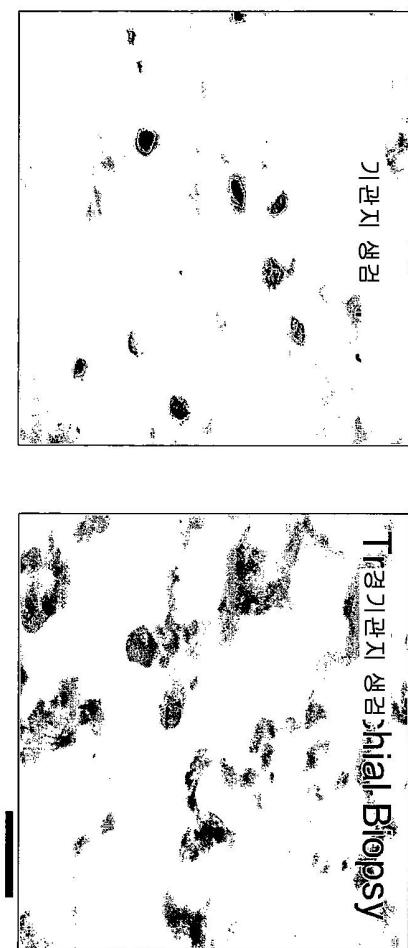
도면19

Medi-563은 정상 인간 폐 내 호산구에 결합한다

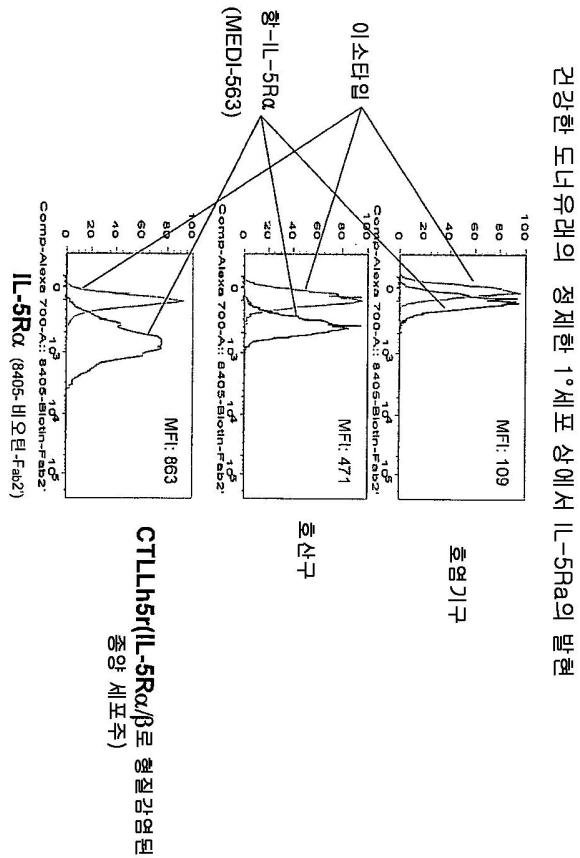


도면20

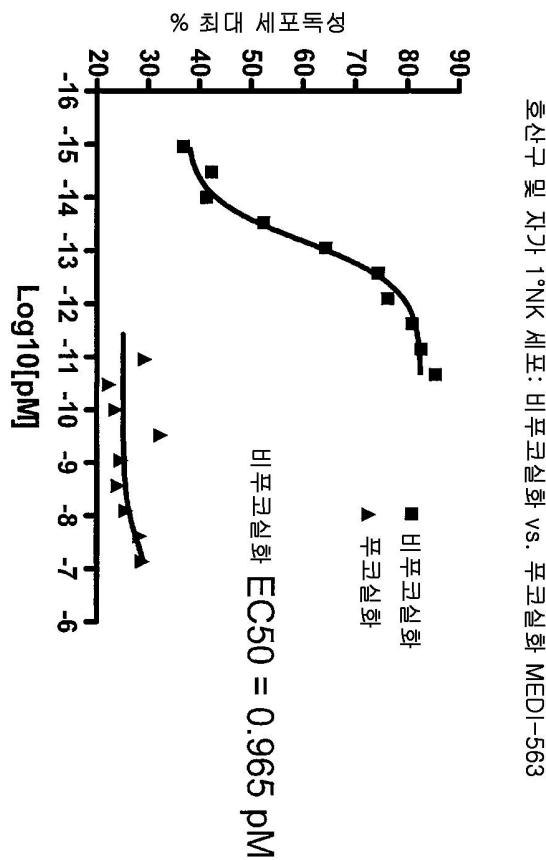
Medi-563은 천식 폐 생검 내 모든 호산구들을 염색시킨다



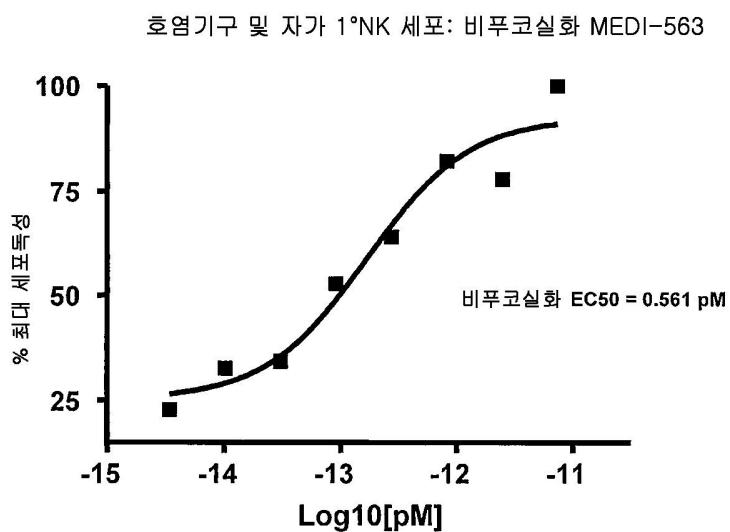
도면21



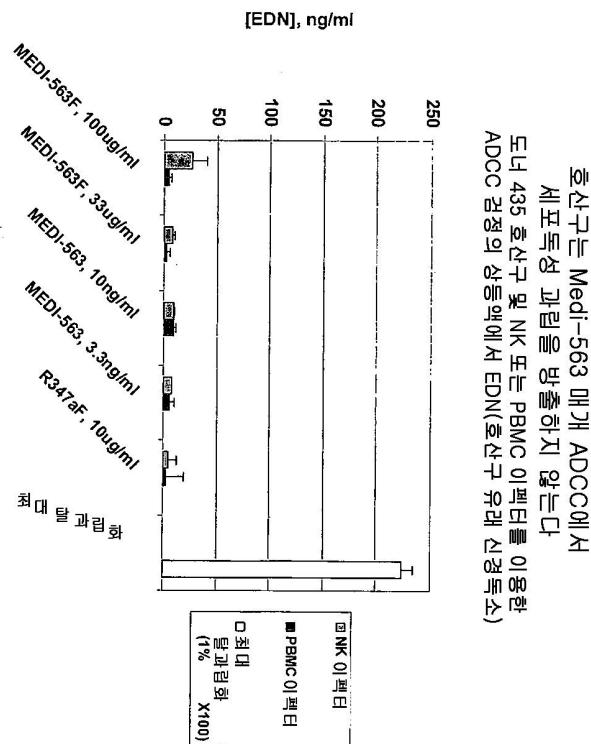
도면22



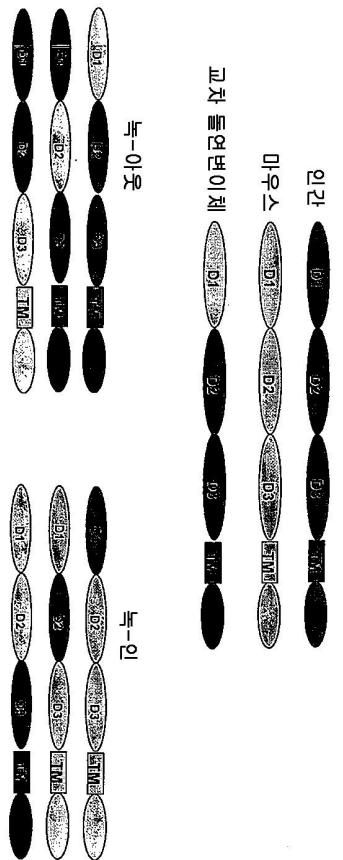
도면23



도면24

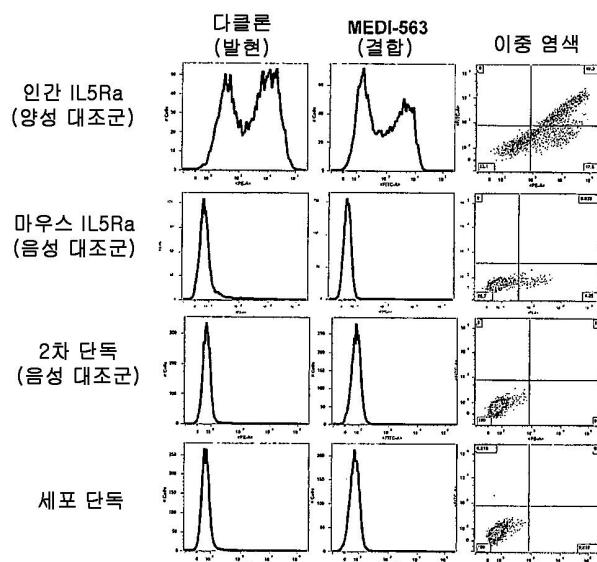


도면25a

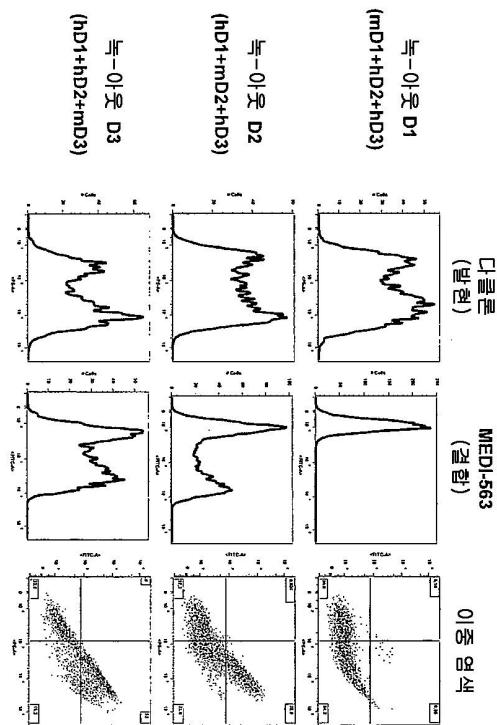


MEDI-563 결합 애피토프를 국지화하기 위한 교차 들연변이체 조작

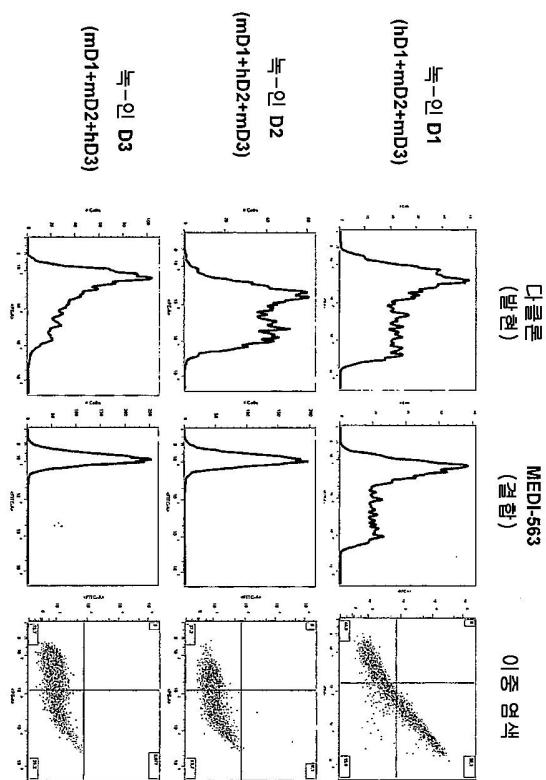
도면25b



도면25c



도면25d



도면26a

		분절 A	분절 B		
인간 1		DLLPBEKISLPPVNFTIKAQVLLQWK DLL +K LLPPVNFTIKAQVLL W	NVNLEYQVKINAPKEDDYETR PNPDEQR+V+LEY VIKINAP+ED+Y+TR		
마우스 1		DLLNHHKFLLPPVNFTIKAQVLLHWDPNPDOEQRHVDLEYHVKINAQDEDEYDTR			
인간 61		[IT]ESKCVT [LHKGFSASVRTIQLNDHSLLASSWASAEIAPP	[분절 C]		
마우스 61		TESKCVT LH+GF+ASVRTIIL++ H+ LASSM SAEI APP	102		
		KTESKCVTPLHEGFAASVRTIILKSSHTLASSWASAEIAPP	102		

인간과 마우스 간 IL5Ra의 도메인 1 비교: 75%(동일성)

도면26b

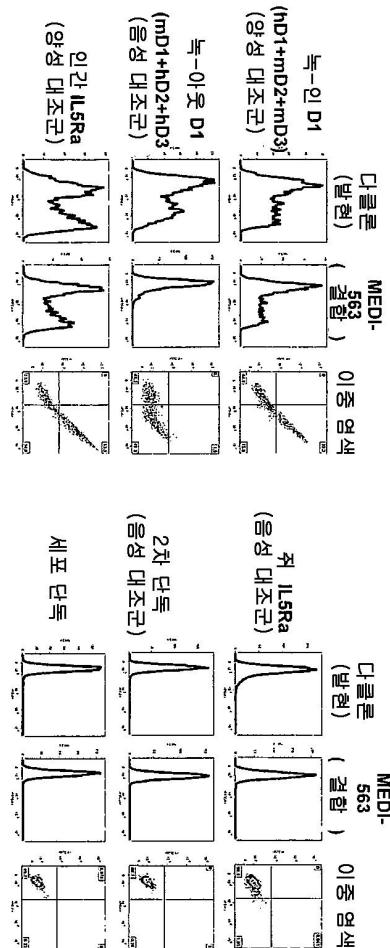
녹-아웃 돌연변이체 – 분절 A, B, C의 인간(hu)
잔기를 마우스 대응물로 치환

$$\left\{ \begin{array}{lll} \mathbf{muA} & \mathbf{huB} & \mathbf{huC} \\ \mathbf{huA} & \mathbf{muB} & \mathbf{huC} \\ \mathbf{huA} & \mathbf{huB} & \mathbf{muC} \end{array} \right.$$

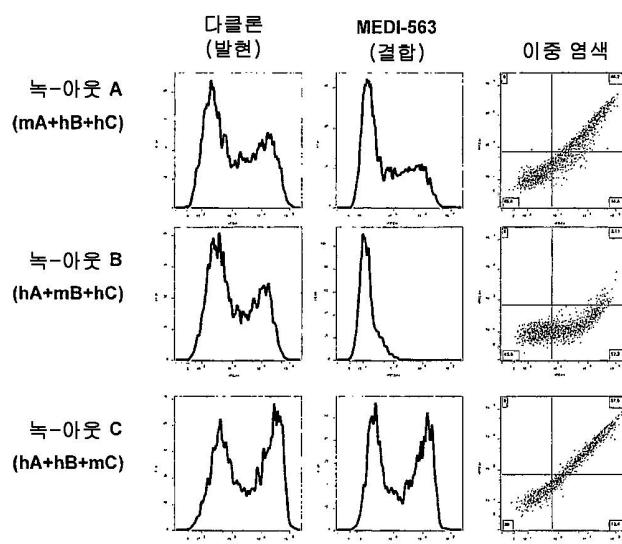
녹-인 돌연변이체 – 분절 A, B, C의 쥐(mu)
잔기를 인간 대응물로 치환

$$\left\{ \begin{array}{lll} \mathbf{huA} & \mathbf{muB} & \mathbf{muC} \\ \mathbf{muA} & \mathbf{huB} & \mathbf{muC} \\ \mathbf{muA} & \mathbf{muB} & \mathbf{huC} \end{array} \right.$$

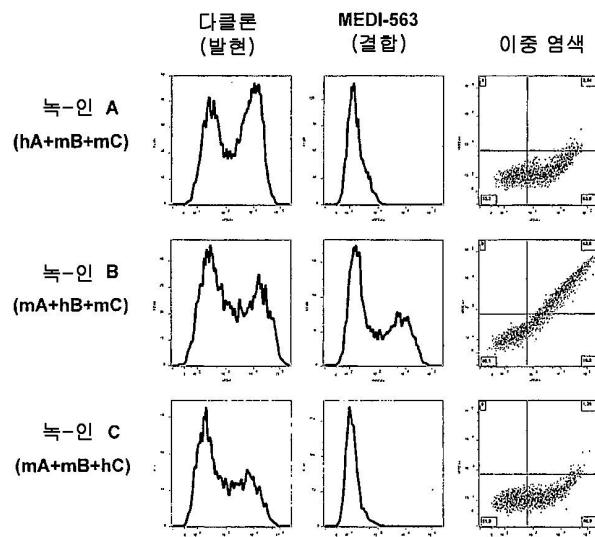
도면26c



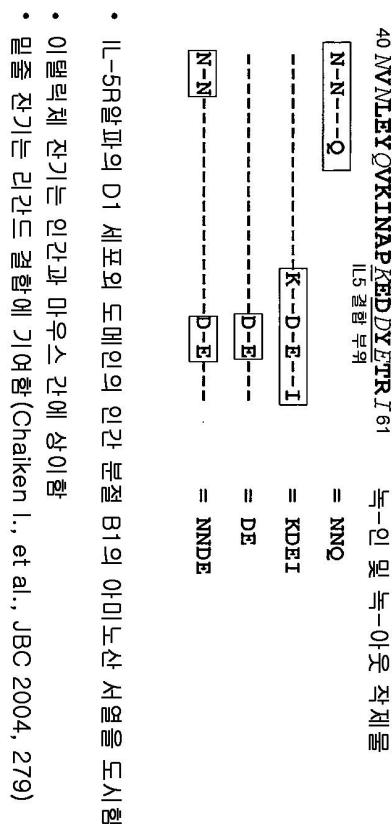
도면26d



도면26e

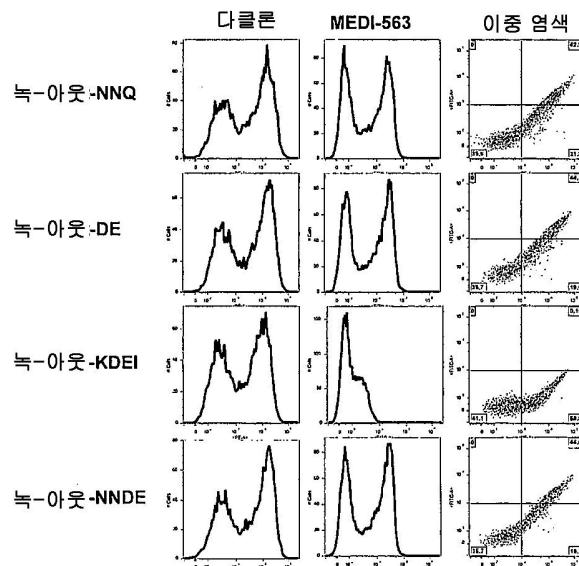


도면27a

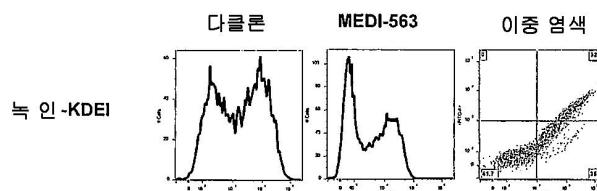


- IL-5R알파의 D1 세포와 도메인의 인간 분절 B1의 아미노산 서열을 도시함
- 이 멀티체 전기는 인간과 마우스 간에 상이함
- 밀줄 전기는 리간드 결합에 기여함 (Chaiken I., et al., JBC 2004, 279)

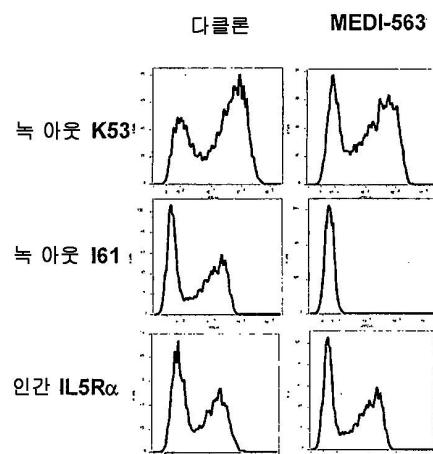
도면27b



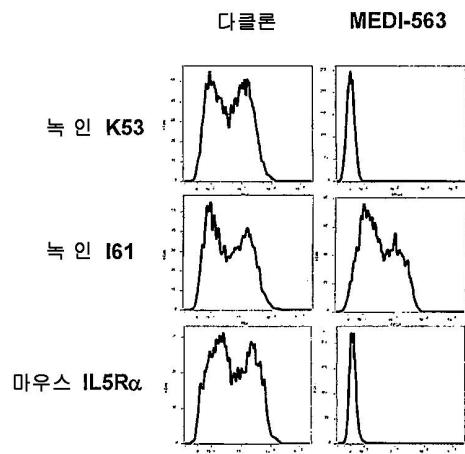
도면27c



도면27d



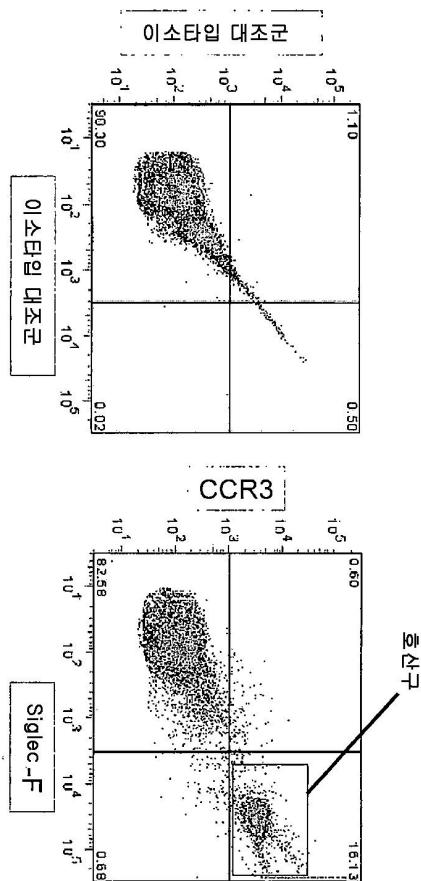
도면27e



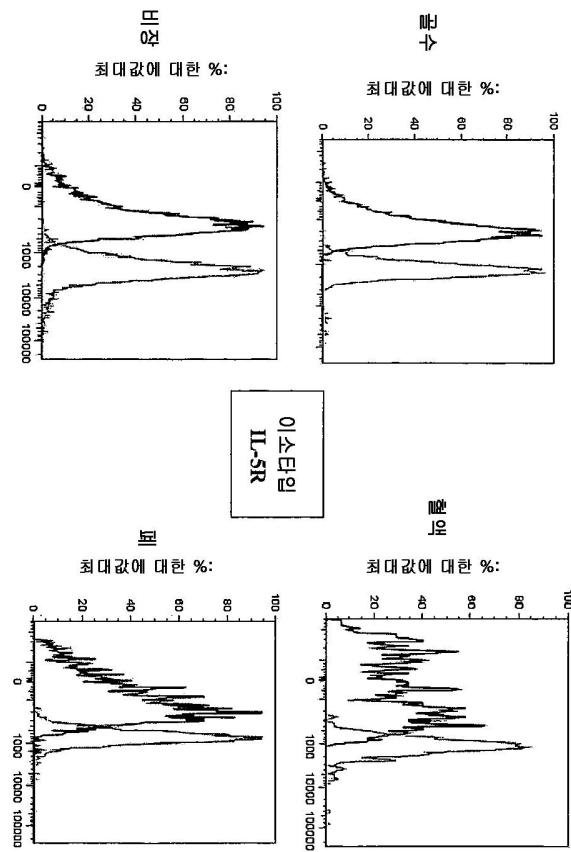
도면28

	muFcgrIV	muFcgrIII	muFcgrIIb	muFcgrI
Hu IgG₁	253	3660	1240	280
Hu IgG₁ afuc	43	3960	1260	397

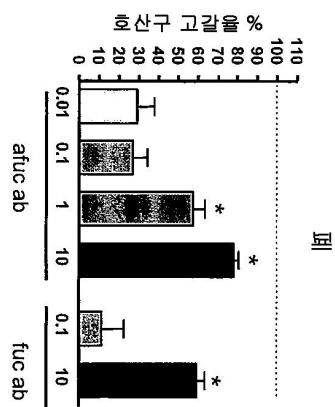
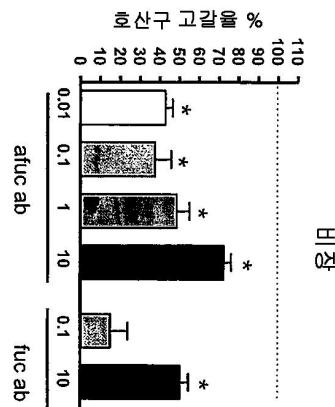
도면29a



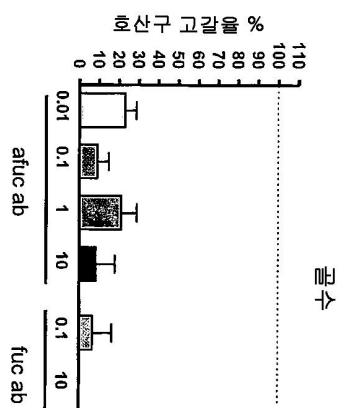
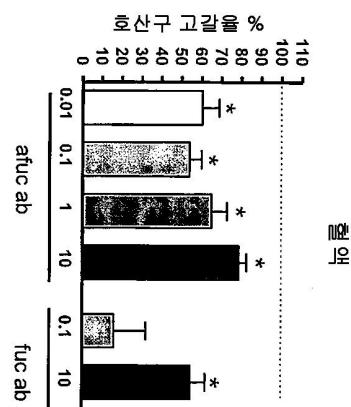
도면29b



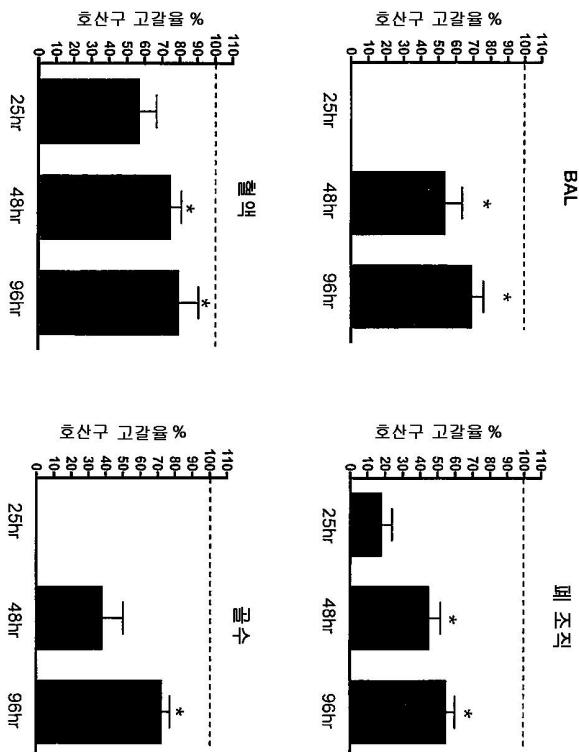
도면30a



도면30b



도면31



서 열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> BioWa, Inc.
MedImmune LLC
Koike, Masamichi
Spiralny, George
Wheeler, Alistair
White, Barbara

<120> METHODS OF REDUCING EOSINOPHIL LEVELS

<130> IR400PCT

<150> 60/924,422
<151> 2007-05-14

<150> 60/924,832
<151> 2007-06-01

<150> 60/935,005
<151> 2007-07-20

<150> 61/064,612
<151> 2008-03-14

<160> 6

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 1

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Thr Ser Glu Asp Ile Ile Asn Tyr
20 25 30

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

Tyr His Thr Ser Arg 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 Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 2
<211> 214
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 2

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Thr Ser Glu Asp Ile Ile Asn Tyr
20 25 30

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

Tyr His Thr Ser Arg 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 Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val 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> 3
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 3

Glu 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 Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

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

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Arg Phe
 50 55 60

Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ser Asp Arg Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80

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

Gly Arg Glu Gly Ile Arg Tyr Tyr Gly Leu Leu Gly Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 4
 <211> 451
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 4

Glu 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 Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

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

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Arg Phe
 50 55 60

Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ser Asp Arg Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80

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

Gly Arg Glu Gly Ile Arg Tyr Tyr Gly Leu Leu Gly Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

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

130	135	140	
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val			
145	150	155	160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala			
165	170	175	
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val			
180	185	190	
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His			
195	200	205	
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys			
210	215	220	
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly			
225	230	235	240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met			
245	250	255	
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His			
260	265	270	
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val			
275	280	285	
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr			
290	295	300	
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly			
305	310	315	320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile			
325	330	335	

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

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

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

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

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

Pro Gly Lys
450

<210> 5
<211> 400
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 5

Asp Leu Leu Pro Asp Glu Lys Ile Ser Leu Leu Pro Pro Val Asn Phe
1 5 10 15

Thr Ile Lys Val Thr Gly Leu Ala Gln Val Leu Leu Gln Trp Lys Pro
20 25 30

Asn Pro Asp Gln Glu Gln Arg Asn Val Asn Leu Glu Tyr Gln Val Lys
 35 40 45

Ile Asn Ala Pro Lys Glu Asp Asp Tyr Glu Thr Arg Ile Thr Glu Ser
 50 55 60

Lys Cys Val Thr Ile Leu His Lys Gly Phe Ser Ala Ser Val Arg Thr
 65 70 75 80

Ile Leu Gln Asn Asp His Ser Leu Leu Ala Ser Ser Trp Ala Ser Ala
 85 90 95

Glu Leu His Ala Pro Pro Gly Ser Pro Gly Thr Ser Ile Val Asn Leu
 100 105 110

Thr Cys Thr Thr Asn Thr Thr Glu Asp Asn Tyr Ser Arg Leu Arg Ser
 115 120 125

Tyr Gln Val Ser Leu His Cys Thr Trp Leu Val Gly Thr Asp Ala Pro
 130 135 140

Glu Asp Thr Gln Tyr Phe Leu Tyr Tyr Arg Tyr Gly Ser Trp Thr Glu
 145 150 155 160

Glu Cys Gln Glu Tyr Ser Lys Asp Thr Leu Gly Arg Asn Ile Ala Cys
 165 170 175

Trp Phe Pro Arg Thr Phe Ile Leu Ser Lys Gly Arg Asp Trp Leu Ala
 180 185 190

Val Leu Val Asn Gly Ser Ser Lys His Ser Ala Ile Arg Pro Phe Asp
 195 200 205

Gln Leu Phe Ala Leu His Ala Ile Asp Gln Ile Asn Pro Pro Leu Asn

210

215

220

Val Thr Ala Glu Ile Glu Gly Thr Arg Leu Ser Ile Gln Trp Glu Lys
 225 230 235 240

Pro Val Ser Ala Phe Pro Ile His Cys Phe Asp Tyr Glu Val Lys Ile
 245 250 255

His Asn Thr Arg Asn Gly Tyr Leu Gln Ile Glu Lys Leu Met Thr Asn
 260 265 270

Ala Phe Ile Ser Ile Ile Asp Asp Leu Ser Lys Tyr Asp Val Gln Val
 275 280 285

Arg Ala Ala Val Ser Ser Met Cys Arg Glu Ala Gly Leu Trp Ser Glu
 290 295 300

Trp Ser Gln Pro Ile Tyr Val Gly Asn Asp Glu His Lys Pro Leu Arg
 305 310 315 320

Glu Trp Phe Val Ile Val Ile Met Ala Thr Ile Cys Phe Ile Leu Leu
 325 330 335

Ile Leu Ser Leu Ile Cys Lys Ile Cys His Leu Trp Ile Lys Leu Phe
 340 345 350

Pro Pro Ile Pro Ala Pro Lys Ser Asn Ile Lys Asp Leu Phe Val Thr
 355 360 365

Thr Asn Tyr Glu Lys Ala Gly Ser Ser Glu Thr Glu Ile Glu Val Ile
 370 375 380

Cys Tyr Ile Glu Lys Pro Gly Val Glu Thr Leu Glu Asp Ser Val Phe
 385 390 395 400

<210> 6
 <211> 398
 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 6

Asp	Leu	Leu	Asn	His	Lys	Lys	Phe	Leu	Leu	Leu	Pro	Pro	Val	Asn	Phe
1					5			10					15		

Thr	Ile	Lys	Ala	Thr	Gly	Leu	Ala	Gln	Val	Leu	Leu	His	Trp	Asp	Pro
	20					25						30			

Asn	Pro	Asp	Gln	Glu	Gln	Arg	His	Val	Asp	Leu	Glu	Tyr	His	Val	Lys
	35				40				45						

Ile	Asn	Ala	Pro	Gln	Glu	Asp	Glu	Tyr	Asp	Thr	Arg	Lys	Thr	Glu	Ser
	50				55			60							

Lys	Cys	Val	Thr	Pro	Leu	His	Glu	Gly	Phe	Ala	Ala	Ser	Val	Arg	Thr
	65			70		75			80						

Ile	Leu	Lys	Ser	Ser	His	Thr	Thr	Leu	Ala	Ser	Ser	Trp	Val	Ser	Ala
	85				90			95							

Glu	Leu	Lys	Ala	Pro	Pro	Gly	Ser	Pro	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Asn	Leu
	100			105				110							

Thr	Cys	Thr	Thr	His	Thr	Val	Val	Ser	Ser	His	Thr	His	Leu	Arg	Pro
	115				120			125							

Tyr	Gln	Val	Ser	Leu	Arg	Cys	Thr	Trp	Leu	Val	Gly	Lys	Asp	Ala	Pro
	130			135			140								

Glu	Asp	Thr	Gln	Tyr	Phe	Leu	Tyr	Tyr	Arg	Phe	Gly	Val	Leu	Thr	Glu
	145			150		155			160						

Lys	Cys	Gln	Glu	Tyr	Ser	Arg	Asp	Ala	Leu	Asn	Arg	Asn	Thr	Ala	Cys
	165			170			175								

Trp Phe Pro Arg Thr Phe Ile Asn Ser Lys Gly Phe Glu Gln Leu Ala
 180 185 190

Val His Ile Asn Gly Ser Ser Lys Arg Ala Ala Ile Lys Pro Phe Asp
 195 200 205

Gln Leu Phe Ser Pro Leu Ala Ile Asp Gln Val Asn Pro Pro Arg Asn
 210 215 220

Val Thr Val Glu Ile Glu Ser Asn Ser Leu Tyr Ile Gln Trp Glu Lys
 225 230 235 240

Pro Leu Ser Ala Phe Pro Asp His Cys Phe Asn Tyr Glu Leu Lys Ile
 245 250 255

Tyr Asn Thr Lys Asn Gly His Ile Gln Lys Glu Lys Leu Ile Ala Asn
 260 265 270

Lys Phe Ile Ser Lys Ile Asp Asp Val Ser Thr Tyr Ser Ile Gln Val
 275 280 285

Arg Ala Ala Val Ser Ser Pro Cys Arg Met Pro Gly Arg Trp Gly Glu
 290 295 300

Trp Ser Gln Pro Ile Tyr Val Gly Lys Glu Arg Lys Ser Leu Val Glu
 305 310 315 320

Trp His Leu Ile Val Leu Pro Thr Ala Ala Cys Phe Val Leu Leu Ile
 325 330 335

Phe Ser Leu Ile Cys Arg Val Cys His Leu Trp Thr Arg Leu Phe Pro
 340 345 350

Pro Val Pro Ala Pro Lys Ser Asn Ile Lys Asp Leu Pro Val Val Thr
 355 360 365

Glu Tyr Glu Lys Pro Ser Asn Glu Thr Lys Ile Glu Val Val His Cys
 370 375 380

Val Glu Glu Val Gly Phe Glu Val Met Gly Asn Ser Thr Phe
385 390 395