(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년11월19일
(11) 등록번호 10-2046666
(24) 등록일자 2019년11월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) *A61P 29/00* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-7033948
(22) 출원일자(국제) 2012년05월25일
심사청구일자 2017년05월25일
(85) 번역문제출일자 2013년12월20일
(65) 공개번호 10-2014-0058445
(43) 공개일자 2014년05월14일
(86) 국제출원번호 PCT/IB2012/001512
(87) 국제공개번호 WO 2012/160448
국제공개일자 2012년11월29일
(30) 우선권주장
61/489,806 2011년05월25일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
PNAS. 2009, 106(31):12879-12884.
WO2007042573 A1
WO2007042573 A2*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
이나뜨 파르마
프랑스 에프-13009 마르세유 아베뉘 드 루미니 117
(72) 발명자
로마나, 프랑수아
프랑스 에프-13009 마르세유 불바드 펠리브리지 12
안드레, 파스칼
프랑스 에프-13006 마르세유 뤼 드 라 루비에르 38
(74) 대리인
양영준, 김영

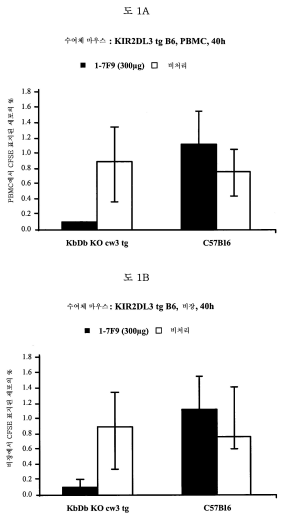
전체 청구항 수 : 총 14 항 심사관 : 이현지

(54) 발명의 명칭 **염증성 장애의 치료를 위한 항-KIR 항체**

(57) 요 약

본 발명은 NK 세포 억제성 수용체를 중화하는 화합물 (예를 들어, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체)를 포함하는, KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물, 및 염증성 또는 자가면역 장애의 치료 및 예방에서 상기 화합물 및 그를 함유하는 조성물을 사용하는 방법에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



명 세 서

청구범위

청구항 1

천연 킬러(NK) 세포 상에 발현되는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 군으로부터 선택된 적어도 하나에 의해 매개되는 NK 세포 억제를 차단 또는 중화함으로써 NK 세포의 세포독성 활성을 증강시키고, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 군으로부터 선택된 적어도 하나에 결합하며, 염증성 장애 또는 자가면역 장애를 매개하는 것과 관련된 T 세포 수의 NK 세포-매개 감소를 증강시키고, 인간 IgG2 또는 인간 IgG4 불변 영역을 포함하는 항체를 포함하고,

인간 대상체에서 자가면역 장애 또는 염증성 장애의 치료에 사용하기 위한 제약 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 염증성 장애 또는 자가면역 장애의 존재, 병기 및 진전의 군으로부터 선택된 적어도 하나가 자가항체 수준, CRP 수준, 단백질분해 효소 수준, 염증성 매개체 수준, 및 진행중인 염증의 마커(들)의 수준의 군으로부터 선택된 적어도 하나의 분석에 의해 결정되는 것인 제약 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 T 세포가

염증유발성 T 세포, 활성화 T 세포, 증식성 T 세포, $CD4^+$ T 세포, 침윤성 T 세포, HLA-cw3를 발현하는 T세포, HLA-cw4를 발현하는 T 세포, HLA-cw3 및 HLA-cw4를 모두 발현하는 T세포, 순환계 내의 T 세포, 질환 또는 염증이 생긴 조직 내에 포함된 T 세포, 질환 조직 내로 침윤된 T 세포, 활막 관절 조직 또는 활막액 내에 포함된 T 세포, 및 중추신경계, 결장, 또는 피부 조직 내에 포함된 T 세포의 군으로부터 선택된 적어도 하나를 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 자가면역 장애가 급성 부비동염, 만성 부비동염, 애디슨 (Addison) 질환, 자가면역 간염, 베체트 (Behcet) 질환, 복강 질환, 만성 활성 간염, 접촉성 피부염, 피부근염, 습진, 굿패스쳐 (Goodpasture) 증후군, 길랑-바레 (Guillain-Barre) 증후군, 하시모토 (Hashimoto) 뇌염, 하시모토 갑상선염, 홍반성 루푸스, 척수-눈 다발성 경화증, 안진전 근간대성경련 증후군 (OMS), 부신생물성 소뇌 변성, 악성 빈혈, 다발근염, 원발성 담즙성 간경변증, 사르코이드증, 경피증, 측두 동맥염/거대 세포 동맥염, 및 궤양성 결장염으로부터 선택된 것인 제약 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 염증성 장애, 임의로는 확립된 염증성 장애가 골관절염, 건선성 관절염, 강직성 척추염, 반응성 관절염, 라이터 (Reiter) 증후군, 통풍, 가성통풍, 칼슘 피로인산염 침착 질환, 라임 (Lyme) 병, 류마티스성 다발근육통, 전신 홍반성 루푸스, 전신 경화증, 다발근염, 피부근염, 쇼그렌 (Sjogren) 증후군, 결절성 다발동맥염, 베게너 (Wegener) 육아종증, 처그-스트라우스 (Churg-Strauss) 증후군, 아테롬성동맥경화성 혈관 질환, 혈관 폐쇄성 질환, 허혈성 심장 질환, 포도막염, 각막 질환, 홍채염, 홍채모양체염, 복강 질환, 결장염, 습진, 섬유근육통, 사구체신염, 간질성 방광염, 다발동맥염, 다발연골염, 류마티스성 다발근육통, 사르코이드증, 경피증, 및 혈관염으로부터 선택된 것인 제약 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 항체가 키메릭, 인간화, 항-이디오타입, 단일-쇄, 이작용성, 또는 공동-특이적인 항체인 제약 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체가

(i) 서열 1의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역 및 서열 2의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역;

(ii) 서열 3의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역 및 서열 4의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역;

(iii) 서열 3의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역 및 서열 4의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역,

상기 서열 3의 아미노산 서열의 위치 3, 4, 9, 24, 32, 41, 47, 50, 55, 71, 및 74에서의 잔기가 각각 Q, L, S, R, A, G, L, D, E, F, 및 A로 바뀜;

(iv) 서열 5의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역 및 서열 6의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역;

(v) 서열 1의 잔기 24-34에 대응하는 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR1; 서열 1의 잔기 50-56에 대응하는 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR2; 서열 1의 잔기 89-97에 대응하는 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR3; 서열 2의 잔기 31-35에 대응하는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR1; 서열 2의 잔기 50-65에 대응하는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR2; 및 서열 2의 잔기 99-112에 대응하는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3; 또는

(vi) 서열 3의 잔기 24-34에 대응하는 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR1; 서열 3의 잔기 50-56에 대응하는 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR2; 서열 3의 잔기 89-97에 대응하는 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR3; 서열 4의 잔기 31-35에 대응하는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR1; 서열 4의 잔기 50-66에 대응하는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR2; 및 서열 4의 잔기 99-113에 대응하는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3;

를 포함하는 것인, 제약 조성물.

청구항 8

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체가

(i) 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 또는 24의 아미노산 서열 내의 에피토프;

(ii) 서열 7의 잔기 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 127, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 181, 및 192로 이루어진 군 중에서 선택된 아미노산 잔기 중 적어도 하나에 의해 규정되는 영역 내에서의 KIR2DL1;

(iii) 서열 8 또는 서열 9의 잔기 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 127, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 181, 및 192로 이루어진 군 중에서 선택된 아미노산 잔기 중 적어도 하나에 의해 규정되는 영역 내에서의 KIR2DL2, KIR2DL3 또는 둘 다;

(iv) NK 세포의 표면에서 적어도 2개의 상이한 억제성 KIR 수용체; 및

(v) 인간 KIR2DL 수용체의 공통적인 항원 결정 영역

의 군으로부터 선택된 적어도 하나에 결합하는 것인, 제약 조성물.

청구항 9

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체가 표지, 치료제, 또는 면역억제제에 직접 또는 간접적으로 접합되며,

상기 표지는 화학발광 표지, 상자성 (paramagnetic) 표지, MRI 조영제, 형광 표지, 생물발광 표지, 또는 방사성 표지이고, 여기서, 상기 상자성 표지는 알루미늄, 망가니즈, 백금, 산소, 란타넘, 루테늄, 스칸듐, 이트륨, 또는 갈륨인 것인,

제약 조성물.

청구항 10

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체가

(i) KIR2DL1, KIR2DL2 및 KIR2DL3의 군으로부터 선택된 적어도 하나에 대한 동일한 항원 결정 영역에의 결합을 위해 모노클로날 항체 1-7F9, DF200, 및 NKVSF1의 군으로부터 선택된 적어도 하나와 경쟁하거나;

(ii) 적어도 10^{7} 내지 10^{10} M^{-1}, 또는 적어도 10^{8} 내지 10^{9} M^{-1}의 KIR2DL1, KIR2DL2 및 KIR2DL3의 군으로부터 선택된 적어도 하나에 대한 친화도를 갖거나;

(iii) 100 nM 미만의 해리 상수로 KIR2DL1, KIR2DL2 및 KIR2DL3의 군으로부터 선택된 적어도 하나와 결합하거나;

(iv) KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3와 교차반응 하거나; KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, 및 KIR2DS4와 교차반응하거나; 또는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3과 교차반응하지만 KIR2DS4와는 교차반응하지 않거나;

(v) DF200, 1-7F9, 및 NKVSF1로부터 선택되거나;

(vi) 단독요법으로서 투여되거나;

(vii) 제2치료제와 조합으로 투여되며, 임의로 (a) 염증을 감소시키는 작용제; (b) 소분자 화학 작용제; (c) DMARD, 항-TNFα 항체, 소분자 티로신 키나제 억제제, 또는 메토트렉세이트 (MTX); 및 (d) IgG1 또는 IgG3 이소형을 갖는 항체 이외의 다른 작용제로부터 선택되거나; 또는

(viii) 자가면역 장애의 공격, 위기, 악화 또는 표출을 겪는 동안 투여되며, 임의로 상기 자가면역 장애의 공격, 위기, 악화 또는 표출이 염증성 또는 자가면역 반응의 마커를 검출하는 화합물을 사용하여 검출되는 것인,

제약 조성물.

청구항 11

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 다른 제약상 활성제가 존재하지 않는 제약 조성물.

청구항 12

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

(i) 적어도 1주, 적어도 2주, 또는 적어도 1개월의 기간 동안 NK 세포 상의 KIR2DL1, KIR2DL2 및 KIR2DL3의 군으로부터 선택된 적어도 하나의 실질적으로 완전한 포화를 야기하는 양으로 투여되거나;

(ii) 2주마다 1회, 1개월마다 1회, 2개월마다 1회, 또는 2개월 초과의 기간마다 1회의 투여 빈도로 수차례 투여되거나;

또는 둘 다로 투여되는,

제약 조성물.

청구항 13

(a) 비-인간 포유동물을 KIR2DL1, KIR2DL2 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 군으로부터 선택된 적어도 하나를 포함하는 면역원으로 면역화하는 단계;

(b) 상기 KIR2DL1, KIR2DL2 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 군으로부터 선택된 적어도 하나에 결합하는 항체를 상기 면역화된 포유동물로부터 선택하는 단계; 및

(c) T 세포의 NK 세포-매개 제거를 증강시키는 (b)의 항체를 선택하는 단계

를 포함하는, 염증성 또는 자가면역 장애의 치료를 위한 항체의 생산 방법.

청구항 14

파지 디스플레이 기술에 의해 KIR2DL1, KIR2DL2 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 군으로부터 선택된 적어도 하나에 결합하는 항체의 라이브러리를 제공하고, NK 세포에 의한 T 세포의 제거 또는 고갈을 증강시키는 항체를 선택하는

것을 포함하는, 염증성 또는 자가면역 장애의 치료를 위한 항체의 생산 방법.

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

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

청구항 108

삭제

청구항 109

삭제

청구항 110

삭제

청구항 111

삭제

청구항 112

삭제

청구항 113

삭제

청구항 114

삭제

청구항 115

삭제

청구항 116

삭제

청구항 117

삭제

청구항 118

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원에 대한 상호-참조**

[0002] 본원은 2011년 5월 25일자로 출원된 미국 특허 가출원 61/489,806에 대한 우선권을 주장하며, 상기 가출원의 개시내용은 그 전문이 포함된다.

[0003] **발명의 분야**

[0004] 본 발명은 염증성 질환 및 자가면역 질환, 특히 적어도 부분적으로 염증유발성 (proinflammatory) T 세포에 의해 매개된 질환을 치료 또는 예방하기 위해 면역조절 항-KIR 항체를 사용하는 NK 세포 활성의 조절에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0005] 천연 킬러 (NK) 세포는 세포독성 면역 세포로서 작용하는 큰 과립 림프구의 하위세트이다. 천연적으로 표적 세포 (예를 들어, 암세포, 바이러스로 감염된 세포)에 대해 NK 세포에 의해 매개된 세포독성 활성은 일반적으로 활성화 및 억제성 세포 표면 수용체에 의해 각각 전달된 양성 및 음성 신호의 "균형"의 결과인 것으로 표현된다.

[0006] NK 세포는 종들 사이에서 상이한 임의의 많은 공지의 세포 표면 마커에 의해 확인할 수 있다 (예를 들어, 인간에서 CD56, CD16, NKp44, NKp46, 및 NKp30가 종종 이용되고; 마우스에서 NK1.1, Ly49A-W, CD49b가 종종 이용된다). 활성 상태에서, NK 세포는 특정 자가, 동종 및 심지어 이종 종양 세포, 바이러스 감염된 세포, 특정 세균 (예를 들어, 살모넬라 티피 (*Salmonella typhi*)), 및 다른 표적 세포를 치사시킬 수 있다. NK 세포는 그들의 표면 상에 주조직적합성 클래스 I (MHCI 또는 MHC-I) 분자를 거의 또는 전혀 발현하지 않는 표적 세포를 우선적으로 치사시키는 것으로 보인다. NK 세포는 또한 항체 분자가 부착된 표적 세포를 치사시킨다 (항체-의존적 세포 세포독성 (ADCC)으로서 공지된 메카니즘). 표적 세포에 대해 작용할 때, NK 세포는 퍼포린으로 불리는 구멍

-형성 단백질, 그랜자임으로 불리는 단백질분해 효소, 및 직접적으로 표적 세포 아폽토시스 또는 용해를 일으키거나 또는 다른 면역 반응을 조절하는 시토카인/케모카인 (예를 들어, TNFα, IFNɣ)을 방출한다. 활성화시에, NK 세포는 또한 Fas 리간드 (FasL)를 발현할 수 있어서, 이들 세포가 Fas를 발현하는 세포에서 아폽토시스를 유도할 수 있도록 한다.

[0007] 충분한 NK 세포 활성 및 NK 세포수는 대개 둘 모두가 적당한 NK 세포-매개 면역 반응을 일으키기 위해 필요하다. NK 세포는 개체에서 정상적인 수로 존재할 수 있지만, 활성화되지 않으면 이들 세포는 비정상적인 세포를 제거하는 것과 같은 필수 면역계 기능을 수행하는데 효과가 없을 것이다. 감소된 NK 세포 활성은 많은 질환의 발생 및 진행과 연관된다. 예를 들어, 연구에서는 낮은 NK 세포 활성이 질환, 예컨대 만성 피로 증후군 (CFS), 바이러스 감염, 및 암의 발생에 대해 보다 큰 감수성을 일으킴을 입증하였다.

[0008] NK 세포 활성은 다양한 리간드, 예컨대 MHC-I 분자, MHC-I 상동체, 또는 표적 세포 상에 발현된 다른 생물학적 분자에 대해 특이적일 수 있는 NK 세포 활성-조절 수용체 (NKCAMR)에 의해 조절된다. 개체에서 NK 세포는 대개 많은 활성화 및 억제성 수용체를 제시한다. NK 세포의 활성은 이들 활성화 및 억제성 수용체를 통해 전달된 신호들의 균형에 의해 조절된다. 대부분의 NK 세포 활성-조절 수용체는 다음과 같은 2가지 클래스의 단백질 중 하나에 속하는 것으로 보인다: 이뮤노글로불린 (Ig)-유사 수용체 수퍼패밀리 (IgSF) 또는 C-타입 렉틴-유사 수용체 (CTLR) 수퍼패밀리 (예를 들어, [Radaev and Sun (2003) Annu. Rev. Biomol. Struct. 32: 93-114] 참조). 그러나, 다른 형태의 NKCAMR이 공지되어 있다.

[0009] 많은 NK 세포 활성화 수용체는 Ig 수퍼패밀리 (IgSF)에 속한다 (그러한 수용체는 또한 본원에서 Ig-유사 수용체 또는 "ILR"로서 칭할 수 있다). 활성화 ILR NK 수용체 (AILR)는 예를 들어, CD2, CD16, CD69, DNAX 액세서리 (accessory) 분자-1 (DNAM-1), 2B4, NK1.1; 킬러 이뮤노글로불린 (Ig)-유사 활성화 수용체 (KAR); ILT/LIR; 및 천연 세포독성 수용체 (NCR), 예컨대 NKp44, NKp46, 및 NKp30을 포함한다. 몇몇 다른 활성화 수용체는 CLTR 수퍼패밀리에 속한다 (예를 들어, NKRP-1, CD69; CD94/NKG2C 및 CD94/NKG2E 이종이량체, NKG2D 동종이량체, 및 마우스에서 Ly49의 활성화 이소형, 예컨대 Ly49A-D). 또다른 활성화 수용체 (예를 들어, LFA-1 및 VLA-4)는 인테그린 단백질 수퍼패밀리에 속하고, 다른 활성화 수용체는 심지어 다른 구분가능한 구조를 가질 수 있다. 많은 활성화 수용체는 MHC-I 분자에 결합하는 세포외 도메인, 및 비교적 짧고 억제성 NK 수용체의 특징적인 면역수용체 티로신-기반 억제 모티프 (motif) (ITIM) 신호전달 모티프가 결여된 세포질 도메인을 가진다. 이들 수용체의 막횡단 도메인은 대개 NK 세포-활성화 신호를 전파하는 "면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프 (ITAM)로 불리는 짧은 아미노산 서열을 함유하는, 신호 전달-연관 분자, 예를 들어, CD3제타, FcεRIɣ, DAP12, 및 DAP10 (그러나, 2B4는 상기 일반적인 규칙에 대한 예외로 보인다)와 그들의 회합을 용이하게 하는 전하를 띈 아미노산 잔기를 포함한다. 수용체 2B4는 그의 세포질 꼬리 (tail) 내에 4개의 면역수용체 티로신-기반 스위치 모티프 (ITSM)를 함유한다. ITSM 모티프는 또한 NKCAR인 CS1/CRACC 및 NTB-A에서 발견될 수 있다. 2B4 및 SLAM의 세포질 도메인은 활성화 및 억제성 수용체에서 제시된 모티프를 흉내내고 SH2-도메인 함유 단백질 SHP-2 및 SLAM-회합 단백질 (SAP)을 동원할 수 있는 2개 이상의 특유한 티로신-기반 모티프를 함유한다.

[0010] 스트레스-유도된 분자, 예를 들어, MIC-A, MIC-B, 및 ULBP (인간에서), 및 Rae-1 및 H-60 (마우스에서)는 NKG2D 동종이량체와 같은 활성화 수용체에 대한 리간드로서 작용할 수 있다. 세포성 탄수화물, 병원성 항원, 및 항체가 또한 활성화 수용체 리간드일 수 있다. 예를 들어, NKR-P1은 탄수화물 리간드에 결합하고, 특히 이상 (aberrant) 당화 패턴을 보이는 종양 세포에 대해 NK 세포 활성화를 촉발할 수 있다. 바이러스 적혈구응집소는 천연 세포독성 수용체 (NCR), 예컨대 ILR NKCAR NKp30, NKp44, NKp46, 및 NKp80에 대한 리간드로서 작용할 수 있다.

[0011] 활성화 수용체는 활성화 신호를 직접 전달할 수 있거나, 때때로 단독으로 효과적인 수용체들 사이의 공동 (coordinated) 반응의 측면에서 또는 공수용체-수용체 쌍형성 (pairing)의 측면에서 어댑터 (adaptor) 분자 또는 다른 수용체와 연관하여 작용할 수 있다. 예를 들어, NCR은 일반적으로 ITAM이 결여되고, 따라서, 그들의 막횡단 도메인 내의 전하를 띈 잔기를 통해 어댑터 분자에 결합하고 (예를 들어, NKp30은 CD3 제타 사슬과 결합하고; NKp44는 DAP12 및/또는 KARAP와 결합하고; NKp46은 CD3 제타 사슬 및 FcRIɣ 사슬에 커플링된다), 이것은 다시 NK 세포-활성화 신호를 전파하기 위해 단백질 티로신 키나제 (PTK)를 동원할 수 있다. NK 세포-매개 ADCC 및 시토카인 생산에 중요한 활성화 수용체인 CD16은 CD3 제타 및/또는 감마 사슬로 형성된 동종이량체 또는 이종이량체와 결합한다. NKG2D는 NK 세포 활성화시에 NCR 및 활성화 수용체와 상보성 및/또는 상승적인 역할을 수행하는 것으로 보인다. 특정 표적에 대한 NK 세포의 활성화는 다수의 활성화 수용체 또는 NCR의 공동 활성화를 필요로 하거나, 또는 단일 수용체의 작용만을 필요로 할 수 있다. 2B4 및 NKp80을 포함하는 다른 촉

발성 표면 분자는 NK 세포 활성화를 위한 공수용체로서 기능하는 것으로 보인다.

[0012] 인간 킬러 이뮤노글로불린-유사 수용체 (KIR) (예를 들어, KIR2DS 및 KIR3DS) 및 뮤린 (murine) Ly-49 단백질 (예를 들어, Ly-49D 및 Ly-49H)의 활성화 이소형은 몇몇의 NK 세포에 의해 발현된다. 천연 킬러 (NK) 세포의 자극 또는 관용 (tolerance)은 세포 표면 활성화 및 억제성 수용체로부터 유래된 신호의 크로스-토크 (cross-talk)를 통해 달성된다. 킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체 (KIR)는 인간 NK 세포 기능의 핵심 조절제로서 기능하는 고 다형성 (polymorphic) 활성화 및 억제성 수용체의 패밀리이다. 상이한 KIR 패밀리 구성원 내의 별개의 구조적 도메인은 리간드 또는 신호전달 단백질에 대한 결합 (docking) 부위를 제공함으로써 기능한다 ([Campbell & Purdy (2011) Immunology 132(3): 315-25] 참조). 이들 분자는 그의 비교적 보다 짧은 세포질 도메인에 ITIM이 결여되고 신호-전달성 폴리펩티드, 예컨대 DAP12의 디술피드-연결 이량체와 결합하는 전하를 띈 막횡단 영역을 가짐으로써 아래에서 논의되는 그의 억제성 대응물과 상이하다.

[0013] ILR (IgSF) NK 세포 억제성 수용체는 HLA-A, -B, 또는 -C 동종이형에 대해 특이적인 많은 상이한 인간 KIR을 포함한다. KIR은 특정 동종이형 내의 다수의 대립유전자 (allele)를 인식할 수 있고, 예를 들어, KIR2DL1은 HLA-Cw2, Cw4, 및 Cw6 동종이형을 인식한다. CTLR 수퍼패밀리 억제성 수용체는, NKG2 패밀리의 다양한 구성원, 예컨대 NKG2A와 함께 렉틴-유사 CD94에 의해 형성된 수용체를 포함하고 비고전적 MCH-I 분자 HLA-E 및 Qa-1 (각각 인간 및 마우스에서)을 인식하는 CD94/NKG2 단백질 패밀리의 구성원 및 마우스에서 고전적 MHC-I 분자를 인식하는 뮤린 Ly49 분자를 포함한다. 더욱 대조적으로, NKRP1A, Nkrp1f 및 Nkrp1d는 그의 리간드가 MHC와 관련되지 않지만, 다양한 세포 종류, 예컨대 수지상 세포, 대식세포, 및 림프구에서 발현되는 CTLR 패밀리 구성원인 억제성 수용체이다.

[0014] MHC 클래스 I-특이적 NKCIR은 CTLR Ly-49 수용체 (마우스에서); IgSF 수용체 백혈구 이뮤노글로불린-유사 수용체 (LIR)(인간에서), KIR (예를 들어, p58 및 p70 킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체) (인간에서), 및 CTLR CD94/NKG2 수용체 (마우스 및 인간에서)를 포함한다. 모든 MHC-I-특이적 NKCIR은 NKCAR을 통한 NK 활성화에 관여하는 근위 (proximal) 단백질 티로신 키나제 (PTK)의 억제를 야기하는, MHC-I 결합 과정에서 그의 세포질 도메인 내의 ITIM의 인산화, 및 인산화된 ITIM에 대한 티로신 포스파타제 (예를 들어, SHP-1 및 SHP-2)의 동원을 분명하게 수반하는 공통적인 억제 메카니즘을 사용하는 것으로 보인다. 활성-조절 수용체, 예컨대 KIR에 대한 항체는 이전에 설명된 바 있다. 또한, 항-NK 수용체 항체, 예컨대 항-KIR 항체를 다른 항암제와 조합하는 적어도 몇몇의 제안이 선행 기술에 존재하였다. 예를 들어, WO 2004/056392에는 인터류킨-2 (IL-2)와 혼합되어 사용되는 항-NKp30 및/또는 항-NKp46 항체가 설명되어 있다. WO 2008/084106에는 항-KIR 제제, 투여량 및 투여법이 설명되어 있다. 또한, WO 2005/079766에는 암 요법에 사용하기 위한 항-KIR 항체를 포함하는 항체 (예를 들어, 항-조직 인자 항체)의 조합이 설명되어 있다. WO 2005/003168 및 WO 2005/003172에는 많은 항-KIR 항체와 IL-2 및 인터류킨-21 (IL-21)을 포함하는 다양한 작용제의 조합이 설명되어 있다. 유사하게, WO 2005/037306에는 IL-21, IL-21 유도체, 및 IL-21 유사체와 항-KIR 항체의 조합물이 설명되어 있다. WO 2005/009465에는 인간 대상체에서 치료 항체를 사용한 치료의 효율을 향상시키기 위해 NK 세포의 억제성 수용체를 차단하거나 활성화 수용체를 자극하는 화합물 (예를 들어, 항-KIR 모노클로날 항체, 예컨대 모노클로날 항체 DF200, 또는 항-NKp30 모노클로날 항체)과 조합된 치료 항체 (예를 들어, 리툭산 (Rituxan))의 조합물이 설명되어 있다.

[0015] **자가면역 질환**

[0016] 자가면역 장애는 면역계가 착오로 건강한 신체 조직을 공격하고 파괴할 때 발생하는 병태이다. 80개를 초과하는 상이한 종류의 자가면역 장애가 존재한다. 정상적으로, 면역계의 백혈구는 항원으로 불리는 유해한 물질로부터 신체를 보호하는 것을 돕는다. 항원의 예는 세균, 바이러스, 독소, 암세포, 및 또다른 사람 또는 종으로부터의 혈액 또는 조직을 포함한다. 면역계는 이들 유해한 물질을 파괴하는 항체를 생산한다.

[0017] 그러나, 자가면역 장애가 있는 환자에서, 면역계는 자기와 비-자기 (예를 들어, 건강한 조직 및 외래 항원)을 구분할 수 없다. 그 결과는 정상적인 신체 조직을 파괴하는 면역 반응이다. 상기 반응은 알레르기성 병태에서의 반응과 유사한 과민 반응이다. 알레르기에서, 면역계는 정상적으로는 무시할 외부 물질에 대해 반응한다. 자가면역 장애에서, 면역계는 정상적으로는 무시할 정상적인 신체 조직에 대해 반응한다.

[0018] 면역계가 건강한 신체 조직과 항원 사이의 차이를 더 이상 식별하지 못하록 하는 것은 알려져 있지 않다. 한 가지 이론은 몇몇 미생물 (예컨대 세균 또는 바이러스) 또는 약물이, 특히 자가면역 장애를 가질 가능성을 보다 크게 만드는 유전자를 갖는 사람에서 이들 변화의 일부를 촉발한다는 것이다.

[0019] 자가면역 장애는 하나 이상의 종류의 신체 조직의 파괴, 장기의 비정상적인 성장, 및 장기 기능의 변화를 야기할 수 있다. 자가면역 장애는 하나 이상의 장기 또는 조직 종류에 영향을 줄 수 있다. 자가면역 장애에 통상적으로 영향받는 장기 및 조직은 혈관, 결합 조직, 내분비선 (예를 들어, 갑상선 또는 췌장), 관절, 근육, 적혈구, 및 피부를 포함한다. 사람은 동시에 하나 초과의 자가면역 장애를 가질 수 있다.

[0020] 자가면역 질환의 증상은 질환 및 비정상적인 면역 반응의 위치에 따라 상이하다. 종종 자가면역 질환에서 발생하는 통상적인 증상은 피로, 열, 및 전반적인 아픈 느낌 (권태감)을 포함한다. 자가면역 장애를 진단하기 위해 수행될 수 있는 시험은 항핵 항체 시험, 자가항체 시험, CBC, C-반응성 단백질 (CRP), 및 적혈구 침강 속도 (ESR)를 포함할 수 있다.

[0021] 종종 면역계의 반응을 제어하거나 감소시키기 위해 의약이 처방된다. 의약은 종종 면역억제 의약으로 불린다. 그러한 의약은 코르티코스테로이드 (예컨대 프레드니손) 및 비스테로이드 약물, 예컨대 아자티오프린, 시클로포스파미드, 미코페놀레이트, 시롤리무스, 또는 타크롤리무스를 포함할 수 있다.

[0022] 합병증은 흔하고, 질환에 따라 결정된다. 면역계를 억제하기 위해 사용되는 의약의 부작용은 조절이 어려울 수 있는 감염과 같이 중증일 수 있다 ("Autoimmune disorders." MedlinePlus - U.S. National Library of Medicine (April 19, 2012)).

[0023] **염증성 병태**

[0024] 염증은 유해한 자극, 예컨대 병원체, 손상된 세포, 또는 자극물에 대한 혈관 조직의 복잡한 생물학적 반응의 일부이다. 염증은 해로운 자극을 제거하고 치유 과정을 개시하기 위한 유기체의 보호를 위한 시도이다. 염증이 없다면, 상처 및 감염은 치유되지 않을 것이다. 유사하게, 조직의 점진적인 파괴는 유기체의 생존을 위태롭게 할 것이다. 그러나, 만성 염증은 또한 다수의 질환, 예컨대 건초열, 치주염, 아테롬성동맥경화증, 류마티스 관절염, 및 심지어 암 (예를 들어, 담낭 암종)을 야기할 수 있다. 이것은 염증이 신체에 의해 정상적으로 밀접하게 조절되기 때문이다.

[0025] 염증은 급성 또는 만성으로서 분류될 수 있다. 급성 염증은 유해한 자극에 대한 신체의 초기 반응이고, 혈액으로부터 손상된 조직 내로 혈장 및 백혈구 (특히 과립구)의 이동 증가에 의해 달성된다. 다수의 생화학적 사건이 국소 혈관계, 면역계, 및 손상된 조직 내의 다양한 세포를 수반하는 염증 반응을 전파하고 성숙시킨다. 만성 염증으로 공지된 장기간 염증은 염증 부위에 존재하는 세포 종류의 점진적인 이동을 야기하고, 염증 과정으로부터 조직의 동시 파괴 및 치유를 특징으로 한다 (Kindt, et al. (2006) Kuby Immunology [6th Ed.]).

[0026] T-세포는 염증 전파에 관련된다. 나이브 (^{naïve}) T 세포의 분화는 각각 상이한 면역 기능을 위한 별개의 시토카인 발현 프로필을 갖는 T-세포 하위세트의 생성을 야기한다. 별개의 신호전달 경로의 활성화를 통해, 상기 과정은 Th1, Th2 및 Th17로 명명된 분화된 헬퍼 T (Th) 세포, 및 Th 세포를 억제하는 유도된 조절성 T 세포 둘 모두를 생성한다. 이들 상이한 세포는 감염성 질환 및 암의 격퇴를 위해 중요하지만; 이상 상태가 될 때, 이들은 만성 염증성 질환의 원인이 될 수 있다. 상기 질환의 하나는 각각의 T-세포 하위세트가 질환에서 작용하는 염증성 장 질환 (IBD)이다 (Zenewicz, et al. (2009) Trends in Molecular Medicine 15(5): 199-207).

[0027] NK 세포가 항-종양 및 항-바이러스 반응에 대한 그의 잠재적인 기여 때문에 학술 문헌에서 많은 주목을 끌었지만, 염증 및 자가면역성에서 NK 세포, 특히 KIR2DL1, 2 및/또는 3-발현 하위세트의 역할을 조사하는 연구는 거의 수행되지 않았다. 있는 경우에도, 이들 NK 세포에 대한 방식은 이들이 염증 및 자가면역에 기여할 수 있다는 사실을 기초로 하여 NK 세포를 제거 또는 억제하기 위한 것이었다. 염증성 환경에서 NK 세포 세포독성의 KIR2DL1, 2 및/또는 3-매개 강화 효과는 현재까지 조사되지 않았다.

[0028] 따라서, 환자에게 개선된 유용성을 제공하기 위해 NK 세포 조절을 사용하는 방법이 당업계에서 요구되고 있다.

발명의 내용

[0029] **발명의 개요**

[0030] 인간 KIR2DL1, 2 및 3 차단을 연구하기 위해 특이적으로 개발된 생체내 모델 (KIR2DL3 및 그의 HLA 리간드 둘 모두에 대해 트랜스제닉 (transgenic)인 마우스)은 항-KIR2DL1, 2, 또는 3 항체의 투여가 콘카나발린 A (Con A) 블라스트 (blast)를 효율적으로 감소시키거나 제거하기 위해 NK 세포를 유도할 수 있음을 보여주었다. Con A는 주로 T-림프구에 대해 작용하고, 림프구의 성장 및 분열을 유발하고, 따라서 종종 염증의 모델로서 사용되

었다. 그 결과는 염증 및 자가면역에서 KIR2DL1, 2 및/또는 3-양성 NK 세포의 감소 또는 제거를 추구하기보다는, 이들 세포가 자가반응성-관련 독성을 유도하지 않으면서 순환계 내의 염증유발성 T 세포 (T 세포를 포함하나 이로 제한되지 않음)의 제거에 기여할 수 있기 때문에 그의 활성을 증강시키는 것이 유익할 수 있음을 시사한다.

[0031] 본 발명은 염증성 또는 자가면역 장애를 갖는 개체의 치료 방법을 제공한다. 이 방법은 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 개체는 T 세포에 의해 매개된 염증성 또는 자가면역 장애, 예를 들어, 염증유발성, 활성화 및/또는 증식성 T 세포 (예를 들어, 순환계 내의 또는 질환 또는 염증이 생긴 조직 내의), CD4+ T 세포, 침윤성 T 세포, 및/또는 HLA-cw3 및/또는 HLA-cw4를 발현하는 T 세포를 수반하는 장애를 가질 수 있다. 한 실시양태에서, 개체는 전신 홍반성 루푸스, 베게너 (Wegener) 육아종증, 자가면역 간염, 크론 (Crohn) 질환, 경피증, 궤양성 결장염, 쇼그렌 (Sjogren) 증후군, 제1형 당뇨병, 포도막염, 심근염, 류마티스성 열, 강직성 척추염, 류마티스 관절염, 다발성 경화증, 및 건선으로 이루어진 군 중에서 선택되는 염증성 또는 자가면역 장애를 가질 수 있다.

[0032] 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 KIR2DL1, 2 및/또는 3-매개 NK 억제를 차단 또는 중화하여, 그렇지 않으면 차단되는 표적 세포에 대한 NK 세포 활성을 증강시키는 그들의 능력에 기초하여 특성화될 수 있다.

[0033] 한 실시양태에서, 항체는 단일 항-KIR 항체 또는 항-KIR 항체의 조합물일 수 있다. 또다른 실시양태에서, 항체는 항-KIR2DL1 항체와 항-KIR2DL2 항체, 또는 항-KIR2DL1 항체와 항-KIR2DL3 항체, 또는 항-KIR2DL1 항체, 항-KIR2DL2 항체와 항-KIR2DL3 항체의 조합물, 또는 KIR2DL1, 2 및/또는 3으로 이루어진 군 중에서 선택되는 적어도 2개의 상이한 인간 억제성 KIR 수용체 유전자 생성물에 결합하는 항-KIR 항체, 또는 KIR2DL1, 2 및 3 각각에 결합하는 항-KIR 항체일 수 있고, 여기서 상기 항체는 특정 KIR2DL1, 2 및/또는 3 수용체를 발현하는 NK 세포에서 NK 세포 세포독성의 KIR-매개 억제를 중화할 수 있다.

[0034] 한 실시양태에서, 하나 이상의 KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체의 유효량은 항체의 투여 후에 적어도 약 1주, 임의로 약 2주, 임의로 약 3주, 임의로 약 1개월 기간 동안 NK 세포 상의 KIR2DL1, 2 및/또는 3의 실질적으로 완전한 포화 (90%, 임의로 95% 수용체 점유)를 야기하는 항체의 양일 수 있다.

[0035] 한 실시양태에서, 항체는 치료 기간 동안 유의한 "탈-포화"를 보이지 않으면서 적어도 약 1주의 기간 동안 NK 세포 상의 KIR2DL1, 2 및/또는 3의 실질적으로 완전한 포화 (90%, 임의로 95% 수용체 점유)를 야기하는 양 및 빈도로 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 하나 이상의 KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체의 유효량은 항체의 투여 후에 적어도 약 2주, 임의로 약 3주, 임의로 약 1개월 기간 동안 순환하는 NK 세포 상의 실질적으로 완전한 KIR2DL1, 2 및/또는 3 포화 (90% KIR2DL1, 2 및/또는 3 점유, 임의로 95% KIR2DL1, 2 및/또는 3 점유)를 야기하는 항체의 양일 수 있고, 항체는 적어도 2회 투여될 수 있고, 여기서 투여는 약 2주 1회, 3주 1회, 또는 매월 1회 실시된다 (후속 투여는 약 2주, 3주 또는 1개월 간격으로 실시된다).

[0036] 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 적어도 약 1주의 기간 동안 NK 세포 상의 KIR2DL1, 2 및/또는 3의 실질적으로 완전한 포화 (90%, 임의로 95% 수용체 점유)를 야기하고 치료 기간 동안 유의한 "탈-포화"를 허용하는 양 및 빈도로 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 하나 이상의 KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체의 유효량은 항체의 투여 후에 적어도 약 2주, 임의로 약 3주, 임의로 약 1개월 기간 동안 순환하는 NK 세포 상의 실질적으로 완전한 KIR2DL1, 2 및/또는 3 포화 (90% KIR2DL1, 2 및/또는 3 점유, 임의로 95% KIR2DL1, 2 및/또는 3 점유)를 야기하는 항체의 양일 수 있고, 항체는 적어도 2회 투여될 수 있고, 여기서 투여는 약 2개월마다 1회 실시된다 (후속 투여는 약 2개월 간격으로 실시된다).

[0037] 한 실시양태에서, 항체의 생산 방법은 (a) 비-인간 포유동물을 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 포함하는 면역원으로 면역화하고; (b) 상기 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드에 결합하는 항체를 상기 면역화된 포유동물로부터 선택하고, (c) NK 세포의 T 세포, 특히 활성화된 CD4+ T 세포 제거를 증강시키는 (b)의 항체를 선택하는 것을 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 단계 (c)에서 선택된 항체는 염증성 또는 자가면역 장애의 치료에 적합한 것으로 결정될 수 있다. 추가의 실시양태에서, 항체의 생산 방법은 항체의 라이브러리를, 임의로 파지 디스플레이 기술에 의해 제공하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 항체의 생산 방법은 (a) 파지 디스플레이 기술에 의해 항체의 라이브러리를 제공하고; (b) 상기 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드에 결합하는 항체를 상기 라이브러리로부터 선택하고, (c) NK 세포의 T 세포, 특히 활성화된 CD4+ T 세포 제거를 증강시키는 (b)의 항체를 선택하는 것을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 단계 (c)에서 선택된 항체는 염증성 또는 자가면역 장애의 치료에 적합한 것으로 결정될 것이다.

[0038] 한 실시양태에서, 시험관 내 또는 생체 내에서 T 세포를 감소시키거나 제거하는 방법은 T 세포를 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 발현하는 세포 (예를 들어, NK 세포)의 존재 하에 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물과 접촉시키는 것을 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, T 세포는 염증유발성, 활성화 및/또는 증식성 T 세포, CD4+ T 세포, 침윤성 T 세포, 및/또는 HLA-cw3 및/또는 HLA-cw4를 발현하는 T 세포일 수 있다.

[0039] 한 실시양태에서, 생체 내에서 T 세포를 감소시키거나 제거하는 방법은 염증성 또는 자가면역 장애, 바람직하게는 적어도 부분적으로 상기 T 세포에 의해 매개된 질환을 갖는 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, T 세포는 활성화 및/또는 증식성 T 세포, CD4+ T 세포, 염증유발성 T 세포 (예를 들어, 순환계 내의 또는 질환 또는 염증이 생긴 조직 내의), HLA-cw3 및/또는 HLA-cw4를 발현하는 T 세포, 또는 침윤성 T 세포일 수 있다. 추가의 실시양태에서, 침윤성 T 세포는 활막 관절 조직 또는 활막액을 포함하고 이로 제한되지 않는 질환 조직 내로, 중추신경계, 결장 또는 피부 조직 내로 침윤할 수 있다. 한 실시양태에서, T 세포를 감소시키거나 제거하는 방법은 염증성 또는 자가면역 장애를 갖는 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 또다른 실시양태에서, 상기 T 세포는 활성화 및/또는 증식성 T 세포, CD4+ T 세포, 염증유발성 T 세포 (예를 들어 순환계 내의 또는 질환 또는 염증이 생긴 조직 내의), 침윤성 T 세포 (질환 조직, 예를 들어 활막 관절 조직 또는 활막액 내로의, 중추신경계, 결장, 피부 조직 내로의 침윤), 및/또는 HLA-cw3 및/또는 HLA-cw4를 발현하는 T 세포이다. 또다른 실시양태에서, 상기 환자는 적어도 부분적으로 상기 T 세포에 의해 매개된 질환을 가질 수 있다. 추가의 실시양태에서, 유효량은 상기 T 세포의 수를 감소시키는데 유효한, KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 양일 수 있다.

[0040] 한 실시양태에서, 활성화 및/또는 증식성 T 세포에 대한 방법은 염증성 또는 자가면역 장애, 바람직하게는 적어도 부분적으로 상기 T 세포에 의해 매개된 질환을 갖는 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, T 세포 CD4+ T 세포를 감소시키거나 제거하는 방법은 염증성 또는 자가면역 장애, 바람직하게는 적어도 부분적으로 상기 T 세포에 의해 매개된 질환을 갖는 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 염증유발성 T 세포 (예를 들어, 순환계 내의 또는 질환 또는 염증이 생긴 조직 내의)에 대한 방법은 염증성 또는 자가면역 장애, 바람직하게는 적어도 부분적으로 상기 T 세포에 의해 매개된 질환을 갖는 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 침윤성 T 세포 (질환 조직, 예를 들어 활막 관절 조직 또는 활막액 내로의, 중추신경계, 결장, 피부 조직 내로의 침윤)를 감소시키거나 제거하는 방법은 염증성 또는 자가면역 장애, 바람직하게는 적어도 부분적으로 상기 T 세포에 의해 매개된 질환을 갖는 개체에게, KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 추가의 실시양태에서, KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 상기 화합물은 항체, 항체 단편, 펩티드, 글리코알코이드, 안티센스 핵산, 리보자임, 레티노이드, 아베미르 (avemir), 소분자, 또는 이들의 임의의 조합물이다. 추가의 실시양태에서, 상기 화합물은 키메릭 (chimeric), 인간화, 항-이디오타입 (idiotypic), 단일-쇄, 이작용성, 또는 공동-특이적 항체 또는 그의 항체 단편이다.

[0041] 한 실시양태에서, HLA-cw3 및/또는 HLA-cw4를 발현하는 T 세포를 감소시키거나 제거하는 방법은 염증성 또는 자가면역 장애, 바람직하게는 적어도 부분적으로 상기 T 세포에 의해 매개된 질환을 갖는 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 추가의 실시양태에서, KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 상기 화합물은 항체, 항체 단편, 펩티드, 글리코알코이드, 안티센스 핵산, 리보자임, 레티노이드, 아베미르, 소분자, 또는 이들의 임의의 조합물이다. 추가의 실시양태에서, 상기 화합물은 키메릭, 인간화, 항-이디오타입, 단일-쇄, 이작용성, 또는 공동-특이적 항체 또는 그의 항체 단편이다.

[0042] 추가의 실시양태에서, KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 상기 화합물은 항체, 항체 단편, 펩티드, 글리코알코이드, 안티센스 핵산, 리보자임, 레티노이드, 아베미르, 소분자, 또는 이들의 임의의 조합물이다. 추가의 실시양태에서, 상기 화합물은 키메릭, 인간화, 항-이디오타입, 단일-쇄, 이작용성, 또는 공동-특이적 항체 또는 그의 항체 단편이다.

[0043] 추가의 실시양태에서, KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 상기 화합물은 항체, 항체 단편, 펩티드, 글리코알코이드, 안티센스 핵산, 리보자임, 레티노이드, 아베미르, 소분자, 또는 이들의 임의의 조합물이다. 추가의 실시양태에서, 상기 화합물은 키메릭, 인간화, 항-이디오타입, 단일-쇄, 이작용성, 또는 공동-특이적 항

체 또는 그의 항체 단편이다.

[0044] 한 실시양태에서, 염증성 장애의 치료 방법은 (a) 개체가 염증성 또는 자가면역 장애를 갖는지 결정하고, (b) 개체가 염증성 또는 자가면역 장애를 가지면, 개체를 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량으로 치료하는 것을 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 자가면역 장애의 치료 방법은 (a) 개체가 염증성 또는 자가면역 장애를 갖는지 결정하고, (b) 개체가 염증성 또는 자가면역 장애를 가지면, 개체를 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량으로 치료하는 것을 포함할 수 있다. 추가의 실시양태에서, KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 상기 화합물은 항체, 항체 단편, 펩티드, 글리코알코이드, 안티센스 핵산, 리보자임, 레티노이드, 아베미르, 소분자, 또는 이들의 임의의 조합물이다. 추가의 실시양태에서, 상기 화합물은 키메릭, 인간화, 항-이디오타입, 단일-쇄, 이작용성, 또는 공동-특이적 항체 또는 그의 항체 단편이다.

[0045] 한 실시양태에서, 염증성 장애의 치료 방법은 (a) 개체가 적어도 부분적으로 T 세포, 예를 들어, 염증유발성, 활성화 및/또는 증식성 T 세포 (예를 들어, 순환계 내의 또는 질환 또는 염증이 생긴 조직 내의), CD4+ T 세포, 침윤성 T 세포, 및/또는 HLA-cw3 및/또는 HLA-cw4를 발현하는 T 세포에 의해 매개된 염증성 장애를 갖는지 결정하고, (b) 개체가 적어도 부분적으로 상기 T 세포에 의해 매개된 염증성 장애를 가지면, 개체를 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량으로 치료하는 것을 포함할 수 있다. 추가의 실시양태에서, KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 상기 화합물은 항체, 항체 단편, 펩티드, 글리코알코이드, 안티센스 핵산, 리보자임, 레티노이드, 아베미르, 소분자, 또는 이들의 임의의 조합물이다. 추가의 실시양태에서, 상기 화합물은 키메릭, 인간화, 항-이디오타입, 단일-쇄, 이작용성, 또는 공동-특이적 항체 또는 그의 항체 단편이다.

[0046] 한 실시양태에서, 자가면역 장애의 치료 방법은 (a) 개체가 적어도 부분적으로 T 세포, 예를 들어, 염증유발성, 활성화 및/또는 증식성 T 세포 (예를 들어, 순환계 내의 또는 질환 또는 염증이 생긴 조직 내의), CD4+ T 세포, 침윤성 T 세포, 및/또는 HLA-cw3 및/또는 HLA-cw4를 발현하는 T 세포에 의해 매개된 자가면역 장애를 갖는지 결정하고, (b) 개체가 적어도 부분적으로 상기 T 세포에 의해 매개된 자가면역 장애를 가지면, 개체를 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량으로 치료하는 것을 포함할 수 있다. 추가의 실시양태에서, KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 상기 화합물은 항체, 항체 단편, 펩티드, 글리코알코이드, 안티센스 핵산, 리보자임, 레티노이드, 아베미르, 소분자, 또는 이들의 임의의 조합물이다. 추가의 실시양태에서, 상기 화합물은 키메릭, 인간화, 항-이디오타입, 단일-쇄, 이작용성, 또는 공동-특이적 항체 또는 그의 항체 단편이다.

[0047] 한 실시양태에서, 개체에서 염증성 질환을 치료하는 방법은 (a) 개체에서 염증성 질환의 존재, 병기 및/또는 진전을 평가하고, (b) 상기 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효 용량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 임의로, 개체에서 질환의 존재, 병기 및/또는 진전을 평가하는 것은 자가항체, CRP, 또는 임의의 단백질분해 효소, 염증성 매개체, 또는 진행중인 염증의 마커의 수준을 분석하는 것을 포함할 수 있다. 상기 개체가 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물을 사용한 치료에 적합한 것으로 결정되면 (예를 들어 개체가 관절염, 악화를 갖는다면), 상기 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효 용량이 투여된다. 추가의 실시양태에서, KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 상기 화합물은 항체, 항체 단편, 펩티드, 글리코알코이드, 안티센스 핵산, 리보자임, 레티노이드, 아베미르, 소분자, 또는 이들의 임의의 조합물이다. 추가의 실시양태에서, 상기 화합물은 키메릭, 인간화, 항-이디오타입, 단일-쇄, 이작용성, 또는 공동-특이적 항체 또는 그의 항체 단편이다.

[0048] 한 실시양태에서, 개체에서 자가면역 질환을 치료하는 방법은 (a) 개체에서 자가면역 질환의 존재, 병기 및/또는 진전을 평가하고, (b) 상기 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효 용량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 임의로, 개체에서 질환의 존재, 병기 및/또는 진전을 평가하는 것은 자가항체, CRP, 또는 임의의 단백질분해 효소, 염증성 매개체 또는 진행중인 염증의 마커의 수준을 분석하는 것을 포함할 수 있다. 상기 개체가 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물을 사용한 치료에 적합한 것으로 결정되면 (예를 들어 개체가 관절염, 악화를 갖는다면), 상기 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효 용량이 투여된다. 추가의 실시양태에서, KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 상기 화합물은 항체, 항체 단편, 펩티드, 글리코알코이드, 안티센스 핵산, 리보자임, 레티노이드, 아베미르, 소분자, 또는 이들의 임의의 조합물이다. 추가의 실시양태에서, 상기 화합물은 키메릭, 인간화, 항-이디오타입, 단일-쇄, 이작용성, 또는 공동-특이적 항체 또는 그의 항체 단편이다.

[0049] 한 실시양태에서, 개체에서 염증성 질환을 치료하는 방법은 (a) 상기 개체가 확립된 염증성 질환을 갖는지 결정하고, (b) 상기 개체가 확립된 염증성 질환을 가지면, 상기 환자에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효 용량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 개체에서 자가면역 질환을 치료하는 방법은 (a) 상기 개체가 확립된 자가면역 질환을 갖지 결정하고, (b) 상기 개체가 확립된 자가면역 질환을 가지면, 상기 환자에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효 용량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 화합물은 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체이다.

[0050] 한 실시양태에서, 개체에서 염증성 질환의 치료를 위한 방법은 (a) 상기 개체가 확립된 염증성 질환을 갖는지 결정하고, (b) 상기 개체가 확립된 염증성 질환을 가지면, 상기 환자에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효 용량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 개체에서 자가면역 질환의 치료를 위한 방법은 (a) 상기 개체가 확립된 자가면역 질환을 갖는지 결정하고, (b) 상기 개체가 확립된 자가면역 질환을 가지면, 상기 환자에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효 용량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 화합물은 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체이다.

[0051] 한 실시양태에서, 개체에서 염증성 질환을 치료하기 위한 방법은 (a) 상기 개체가 염증성 질환의 공격, 위기(crisis), 악화 또는 표출 (flare)을 겪고 있는지 결정하고, (b) 상기 개체가 염증성 질환의 공격, 위기, 악화 또는 표출을 겪는다면, 상기 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효 용량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 화합물은 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체이다. 한 실시양태에서, 개체에서 자가면역 질환의 치료를 위한 방법은 (a) 상기 개체가 자가면역 질환의 공격, 위기, 악화 또는 표출을 겪고 있는지 결정하고, (b) 상기 개체가 자가면역 질환의 공격, 위기, 악화 또는 표출을 겪는다면, 상기 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효 용량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 화합물은 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체이다.

[0052] 한 실시양태에서, 개체에서 염증성 질환의 치료를 위한 방법은 (a) 상기 개체가 T 세포의 존재를 특징으로 하는 염증성 질환을 갖는지 결정하고, (b) 상기 개체가 상기 T 세포의 존재를 특징으로 하는 염증성 질환을 갖는다면, 상기 환자에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효 용량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 상기 T 세포는 활성화 및/또는 증식성 T 세포, CD4+ T 세포, 염증유발성 T 세포, 침윤성 T 세포, 및/또는 HLA-cw3 및/또는 HLA-cw4를 발현하는 T 세포일 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 화합물은 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체이다. 한 실시양태에서, 개체에서 자가면역 질환의 치료를 위한 방법은 (a) 상기 개체가 T 세포의 존재를 특징으로 하는 자가면역 질환을 갖는지 결정하고, (b) 상기 개체가 상기 T 세포의 존재를 특징으로 하는 자가면역 질환을 갖는다면, 상기 환자에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효 용량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 상기 T 세포는 활성화 및/또는 증식성 T 세포, CD4+ T 세포, 염증유발성 T 세포, 침윤성 T 세포, 및/또는 HLA-cw3 및/또는 HLA-cw4를 발현하는 T 세포일 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 화합물은 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체이다.

[0053] 한 실시양태에서, 염증성 질환, 특히 확립된 염증성 질환을 갖거나, 또는 염증성 질환의 공격, 위기, 악화 또는 표출을 겪는 개체의 치료 방법은 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 자가면역 질환, 특히 확립된 자가면역 질환을 갖거나, 또는 자가면역 질환의 공격, 위기, 악화 또는 표출을 겪는 개체의 치료 방법은 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 화합물은 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체이다.

[0054] 한 실시양태에서, 염증성 질환의 치료 방법은 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 화합물은 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체이다. 한 실시양태에서, 자가면역 질환의 치료 방법은 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 화합물은 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체이다.

[0055] 한 실시양태에서, 개체의 치료 방법은 (a) 개체가 염증성 또는 자가면역 장애를 갖는지 결정하고, (b) 개체가 염증성 또는 자가면역 장애를 가지면, 개체를 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량으로 치료하는 것을 포함할 수 있다.

[0056] 한 실시양태에서, 개체의 치료 방법은 (a) 개체가 적어도 부분적으로 T 세포에 의해 매개된 염증성 또는 자가면역 장애를 갖는지 결정하고, (b) 개체가 적어도 부분적으로 상기 T 세포에 의해 매개된 염증성 또는 자가면역 장애를 가지면, 개체를 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량으로 치료하는 것을 포함

할 수 있다.

[0057] 한 실시양태에서, 개체의 치료 방법은 (a) 개체에서 염증성 또는 자가면역 질환의 존재, 병기 및/또는 진전을 평가하고, (b) 상기 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효 용량을 투여하는 것을 포함할 수 있다.

[0058] 한 실시양태에서, 개체의 치료 방법은 (a) 상기 개체가 확립된 염증성 또는 자가면역 질환을 갖는지 결정하고, (b) 상기 개체가 확립된 염증성 또는 자가면역 질환을 가지면, 상기 환자에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효 용량을 투여하는 것을 포함할 수 있다.

[0059] 한 실시양태에서, 개체의 치료 방법은 (a) 개체가 염증성 또는 자가면역 질환의 공격, 위기, 악화 또는 표출을 겪고 있는지 결정하고, (b) 상기 개체가 염증성 또는 자가면역 질환의 공격, 위기, 악화 또는 표출을 겪는다면, 상기 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효 용량을 투여하는 것을 포함할 수 있다.

[0060] 한 실시양태에서, KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물은 단독요법으로서 투여되고, 즉, 치료에서 단일 작용제로서 사용된다. 예를 들어, 의약은 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물을 포함할 수 있고, 임의의 다른 제약상 활성제가 존재하지 않고/않거나 추가의 제약상 활성제가 특정 질환 병태에 대해 개체를 치료하기 위해 사용되지 않는다. 시험관 내 방법에서, KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물은 다른 활성제를 첨가하지 않거나 또는 존재하지 않은 상태에서 사용될 수 있다.

[0061] 본 발명의 치료 방법의 한 실시양태에서, KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물은 제2 치료제와 조합하여, 즉, 제2 치료제 투여 전에, 이와 함께, 또는 투여 후에 투여될 수 있다.

[0062] 한 실시양태에서, KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물은 제2 치료제, 임의로 일반적으로 특정 질환 병태의 맥락에서 사용되는 임의의 작용제와 조합하여 투여될 수 있다. 바람직하게는, 제2 치료제는 ADCC를 통해 제2 치료제가 결합하는 항원을 발현하는 세포의 사멸을 유도하는 치료 항체 이외의 다른 작용제일 수 있다. 바람직하게는, 제2 치료제는, 그의 작용 방식이 항체가 결합하는 세포에 대한 ADCC의 유도를 수반하는 IgG1 또는 IgG3 이소형을 갖는 항체 이외의 다른 작용제일 수 있다. 한 실시양태에서, 제2 치료제는 IgG4 이소형의 불변 영역을 갖는 항체 또는 항체 단편 (예를 들어, Fab 또는 F(ab)'2 단편)일 수 있다. 한 실시양태에서, 제2 치료제는 세포독성 모이어티 (moiety)에 연결된 항체일 수 있다. 한 실시양태에서, 제2 치료제는 비-항체 폴리펩티드일 수 있다. 한 실시양태에서, 제2 치료제는 합성 소분자 작용제일 수 있다. 또다른 실시양태에서, 제2 치료제는 소분자 화학치료제일 수 있다. 또다른 실시양태에서, 제2 치료제는 DMARD일 수 있다. 추가의 실시양태에서, 제2 치료제는.

[0063] 임의로, 임의의 치료 방법에서, 방법은 개체에게 DMARD를 투여하는 것을 추가로 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 개체에게 (a) KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량, 및 (b) DMARD를 투여하는 것을 포함할 수 있는, 자가면역 또는 염증성 질환을 갖는 개체의 치료 방법이 제공될 수 있다.

[0064] 바람직하게는, 화합물은 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하고, 상기 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드 억제의 결과로서 NK 세포 세포독성을 조절한다. 바람직하게는, 화합물은 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드에 결합하는 항체를 포함할 수 있다.

[0065] 한 실시양태에서, 환자에 대한 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물을 사용한 치료의 적합성을 결정하는 방법은 상기 환자가 확립된 염증성 질환을 갖는지, 상기 환자가 공격, 위기, 악화 또는 표출을 겪고 있을 수 있는지, 및/또는 상기 환자가 T 세포, 예를 들어, 활성화 및/또는 증식성 T 세포, CD4+ T 세포, 염증유발성 T 세포, 침윤성 T 세포, 및/또는 HLA-cw3 및/또는 HLA-cw4를 발현하는 T 세포의 존재를 특징으로 하는 질환을 갖는지 결정하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 환자에 대한 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물을 사용한 치료의 적합성을 결정하는 방법은 상기 환자가 확립된 자가면역 질환을 갖는지, 상기 환자가 공격, 위기, 악화 또는 표출을 겪고 있을 수 있는지, 및/또는 상기 환자가 T 세포, 예를 들어, 활성화 및/또는 증식성 T 세포, CD4+ T 세포, 염증유발성 T 세포, 침윤성 T 세포, 및/또는 HLA-cw3 및/또는 HLA-cw4를 발현하는 T 세포의 존재를 특징으로 하는 질환을 갖는지 결정하는 것을 포함할 수 있다.

[0066] 한 실시양태에서, 자가면역 장애의 치료 방법은 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 투여를 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 상기 화합물은 항체, 항체 단편, 펩티드, 글리코알코이드, 안티센스 핵산, 리보자임, 레티노이드, 아베미르, 소분자, 또는 이들의 임의의 조합물이다. 또다른 실시양태에서, 화합물은 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체이다. 한 실시양태에서, 개체는 T 세포에 의해 매개된 자가면역 장애를 갖는

다. 추가의 실시양태에서, 자가면역 장애는 후천성 면역 결핍 증후군 (AIDS), 후천성 비장 위축, 급성 전방 포도막염, 급성 파종 뇌척수염 (ADEM), 급성 통풍성 관절염, 급성 괴사성 출혈성 백질뇌염, 급성 또는 만성 부비동염, 급성 화농성 수막염 (또는 다른 중추신경계 염증성 장애), 급성의 심각한 염증, 애디슨 (Addison) 질환, 부신염, 성인 발병 당뇨병 (제II형 당뇨병), 성인-발병 특발성 부갑상선기능저하증 (AOIH), 무감마글로불린혈증, 무과립구증, 혈관병증 (vasculitides), 예를 들어 혈관염 (거대 혈관 혈관염 (류마티스성 다발근육통 및 거대 세포 (다카야스 (Takayasu)) 관절염 포함), 알레르기성 병태, 알레르기성 접촉성 피부염, 알레르기성 피부염, 알레르기성 육아종성 혈관염, 알레르기성 과민성 장애, 알레르기성 신경염, 알레르기 반응, 원형 탈모증, 전두 탈모증, 알포트 (Alport) 증후군, 폐포염 (예를 들어, 알레르기성 폐포염 및 섬유화 폐포염), 알츠하이머 (Alzheimer) 질환, 아밀로이드증, 근위축 측삭 경화증 (ALS; 루 게릭 (Lou Gehrig) 질환), 호산구-관련 장애 (예를 들어, 호산구증가증), 아나필락시스, 강직성 척추염, 혈관확장증, 항체-매개 신염, 항-GBM/항-TBM 신염, 항원-항체 복합체-매개 질환, 항사구체 기저막 질환, 항-인지질 항체 증후군, 항인지질 증후군 (APS), 아프타, 아프타성 구내염, 재생불량성 빈혈, 부정맥, 동맥경화증, 동맥경화성 장애, 관절염 (예를 들어, 류마티스 관절염, 예컨대 급성 관절염, 만성 류마티스 관절염), 만성 진행성 관절염, 변형성 관절염, 회충증, 아스페르길루스종 (또는 호산구 함유 육아종), 아스페르길루스증, 무정액증, 천식 (예를 들어, 기관지성 천식 (asthma bronchiale), 기관지 천식 (bronchial asthma), 및 자가면역 천식), 모세혈관확장성 운동실조, 운동실조성 경화증, 아테롬성동맥경화증, 자폐증, 자가면역 혈관부종, 자가면역 재생불량성 빈혈, 자가면역 위축성 위염, 자가면역 당뇨병, 고환 및 난소의 자가면역 질환, 예를 들어 자가면역 고환염 및 난소염, 콜라겐 질환과 연관된 자가면역 장애, 자가면역 자율신경실조증, 자가면역 귀 질환 (예를 들어, 자가면역 내이 질환 (AGED)), 자가면역 내분비 질환, 예를 들어 갑상선염, 예컨대 자가면역 갑상선염, 자가면역 장병증 증후군, 자가면역 생식선 부전, 자가면역 청각 상실, 자가면역 용혈, 자가면역 간염, 자가면역 간 장애, 자가면역 고지혈증, 자가면역 면역결핍, 자가면역 내이 질환 (AIED), 자가면역 심근염, 자가면역 호중구감소증, 자가면역 췌장염, 자가면역 다발내분비병증, 자가면역 다선성 증후군 유형 I, 자가면역 망막병증, 자가면역 혈소판감소성 자반증 (ATP), 자가면역 갑상선 질환, 자가면역 두드러기, 자가면역-매개 위장관 질환, 축삭 & 뉴런 신경병증, 발로 (Balo) 질환, 베체트 (Behcet) 질환, 양성 가족성 및 허혈-재관류 손상, 양성 림프구성 혈관염, 베르게르 (Berger) 질환 (IgA 신병증), 조류 사육자 폐, 실명, 뵈크 (Boeck) 질환, 폐쇄성 세기관지염 (비-이식) 대 NSIP, 기관지염, 기관지폐렴성 아스페르길루스증, 브루톤 (Bruton) 증후군, 수포성 유천포창, 카플란 (Caplan) 증후군, 심근병증, 심혈관 허혈, 캐슬맨 (Castleman) 증후군, 복강 질환, 복강 스프루 (sprue) (글루텐 장병증), 소뇌 변성, 뇌 허혈, 및 혈관화를 동반하는 질환, 샤가스 (Chagas) 질환, 채널병증 (예를 들어, 간질), CNS의 채널병증, 맥락망막염, 맥락막염, 자가면역 혈액 장애, 만성 활성 간염 또는 자가면역 만성 활성 간염, 만성 접촉성 피부염, 만성 호산구성 폐렴, 만성 피로 증후군, 만성 간염, 만성 과민성 폐렴, 만성 염증성 관절염, 만성 염증성 탈수초성 다발신경병증 (CIDP), 만성 난치성 염증, 만성 점막피부 칸디다증, 만성 신경병증 (예를 들어, IgM 다발신경병증 또는 IgM-매개 신경병증), 만성 폐쇄성 기도 질환, 만성 폐 염증성 질환, 만성 재발성 다초점 골수염 (CRMO), 만성 갑상선염 (하시모토 (Hashimoto) 갑상선염) 또는 아급성 갑상선염, 처그-스트라우스 (Churg-Strauss) 증후군, 반흔성 유천포창/양성 점막 유천포창, CNS 염증성 장애, CNS 혈관염, 복강 질환, 코간 (Cogan) 증후군, 한랭 응집소 질환, 폴립성 결장염, 결장염, 예컨대 궤양 결장염 (ulcerative colitis), 궤양성 결장염 (colitis ulcerosa), 콜라겐성 결장염, T 세포의 침윤 및 만성 염증 반응을 수반하는 병태, 선천성 심장 차단, 선천성 풍진 감염, 쿰스 (Coombs) 양성 빈혈, 관상 동맥 질환, 콕사키 (Coxsackie) 심근염, CREST 증후군 (석회증, 레이노 (Raynaud) 현상), 크론 질환, 한랭글로불린혈증, 쿠싱 (Cushing) 증후군, 모양체염 (예를 들어, 만성 모양체염, 이색성 모양체염, 홍채모양체염, 또는 푹스 (Fuchs) 모양체염), 낭성 섬유증, 시토카인-유도된 독성, 난청, 퇴행 관절염, 탈수초성 질환 (예를 들어, 자가면역 탈수초성 질환), 탈수초성 신경병증, 뎅기 (dengue), 포진성 피부염 및 아토피성 피부염, 피부염, 예를 들어 접촉성 피부염, 피부근염, 급성 염증 요인이 있는 피부병, 데빅 (Devic) 질환 (시신경척수염), 당뇨병성 거대 동맥 장애, 당뇨병성 신병증, 당뇨병성 망막병증, 다이아몬드 블랙판 (Diamond Blackfan) 빈혈, 미만성 간질성 폐 섬유증, 확장형 심근병증, 원반모양 루푸스, 백혈구 누출이 관련된 질환, 드레슬러 (Dressler) 증후군, 듀피트렌 (Dupuytren) 구축, 에코바이러스 감염, 습진, 예를 들어 알레르기성 또는 아토피성 습진, 뇌염, 예컨대 라스무센 (Rasmussen) 뇌염 및 변연 및/또는 뇌간 뇌염, 뇌척수염 (예를 들어, 알레르기 뇌척수염 (allergic encephalomyelitis) 또는 알레르기성 뇌척수염 (encephalomyelitis allergica) 및 실험적 알레르기 뇌척수염 (EAE)), 동맥내막 증식증, 심내막염, 내분비 안병증, 자궁내막증, 심내막심근 섬유증, 수정체과민 안내염, 안내염, 알레르기성 장염, 호산구증가증-근육통 증후군, 호산구성 근막염, 유행성 각결막염, 후천성 수포성 표피박리증 (EBA), 상공막 (episclera), 상공막염, 엡스타인-바르 (Epstein-Barr) 바이러스 감염, 장기 융기성 홍반, 다형성 홍반, 나병 결절성 홍반, 결절성 홍반, 태아 적모구증, 식도 운동장애, 원발성 혼합 한랭글로불린혈증, 벌집뼈, 에반스

(Evan's) 증후군, 실험적 알레르기 뇌척수염 (EAE), 인자 VIII 결핍, 농부폐, 류마티스성 열, 펠티 (Felty) 증후군, 섬유근육통, 섬유화 폐포염, 사상충증, 초점성 분절성 사구체경화증 (FSGS), 식중독, 전두, 위 위축, 거대 세포 관절염 (측두 관절염), 거대 세포 간염, 거대 세포 다발근육통, 사구체신염, 신증후군이 있는 또는 없는 사구체신염 (GN), 예컨대 만성 또는 급성 사구체신염 (예를 들어, 원발성 GN), 굿패스처 (Goodpasture) 증후군, 통풍성 관절염, 과립구 수혈-연관 증후군, 육아종증, 예를 들어 림프종성 육아종증, 다발혈관염이 있는 육아종증 (GPA), 육아종성 포도막염, 그레이브 (Grave) 질환, 길랑-바레 (Guillain-Barre) 증후군, 적상 건선, 발작성 혈색소뇨, 해먼-리치 (Hamman-Rich) 질환, 하시모토 질환, 하시모토 뇌염, 하시모토 갑상선염, 혈색소증, 용혈성 빈혈 또는 면역 용혈성 빈혈, 예를 들어 자가면역 용혈성 빈혈 (AIHA), 용혈성 빈혈, A형 혈우병, 헤노흐-쉔라인 (Henoch-Schonlein) 자반증, 임신 헤르페스, 인간 면역결핍 바이러스 (HIV) 감염, 통각과민, 저감마글로불린혈증, 생식선기능저하증, 부갑상선기능저하증, 특발성 요붕증, 특발성 안면 마비, 특발성 갑상선기능저하증, 특발성 IgA 신병증, 특발성 막성 GN 또는 특발성 막성 신병증, 특발성 신염성 증후군, 특발성 폐 섬유증, 특발성 스프루, 특발성 혈소판감소성 자반증 (ITP), IgA 신병증, IgE-매개 질환 (예를 들어, 아나필락시스, 및 알레르기성 및 아토피성 비염), IgG4-관련 경화 질환, 국한성 회장염, 면역 복합체 신염, 시토카인 및 T-림프구에 의해 매개된 급성 및 지연형 과민증과 연관된 면역 반응, 면역-매개 GN, 면역조절 지단백질, 예를 들어 성인 또는 급성 호흡 곤란 증후군 (ARDS), 봉입체 근염, 감염성 관절염, 항정자 항체로 인한 불임, 포도막 전부 또는 일부의 염증, 염증성 장 질환 (IBD), 염증성 과다증식성 피부 질환, 염증성 근병증, 인슐린-의존성 당뇨병 (제1형), 췌도염, 간질성 방광염, 간질성 폐 질환, 간질성 폐 섬유증, 홍채염, 허혈성 재관류 장애, 관절 염증, 소아 관절염, 소아 피부근염, 소아 당뇨병, 소아 발병 (제I형) 당뇨병, 예를 들어 소아성 인슐린-의존성 당뇨병 (IDDM), 소아-발병 류마티스 관절염, 가와사키 (Kawasaki) 증후군, 건성 각결막염, 키파노소미아시스 (kypanosomiasis), 램버트-이튼 (Lambert-Eaton) 증후군, 리슈마니아증, 나병, 백혈구감소증, 백혈구 부착 결핍, 백혈구파쇄성 혈관염, 백혈구감소증, 편평 태선, 경화 태선, 목질 결막염, 선형 IgA 피부병, 선형 IgA 질환 (LAD), 뢰플러 (Loffler) 증후군, 루프스양 간염, 루푸스 (신염, 뇌염, 소아성, 비신성, 신장외, 원반모양, 탈모증 포함), 루푸스 (SLE), 파종상 홍반성 루푸스, 라임 (Lyme) 관절염, 라임병, 림프성 간질성 폐렴, 말라리아, 남성 및 여성 자가면역 불임, 상악, 중간 혈관 혈관염 (가와사키 질환 및 결절성 다발동맥염 포함), 막- 또는 막성 증식성 GN (MPGN), 예를 들어 제I형 및 제II형, 및 급속 진행성 GN, 막성 GN (막성 신병증), 메니에르 (Meniere) 질환, 수막염, 현미경적 결장염, 현미경적 다발혈관염, 편두통, 미세 변화 신병증, 혼합 결합 조직 질환 (MCTD), 감염성 단핵구증, 무렌 (Mooren) 궤양, 무카-하버만 (Mucha-Habermann) 질환, 다초점성 운동 신경병증, 다발성 내분비 부전, 다발성 기관 손상 증후군, 예컨대 패혈증, 외상 또는 출혈에 이차적인 것, 다발성 기관 손상 증후군, 다발성 경화증 (MS), 예컨대 척수-눈 MS, 다발성 경화증, 멈프스, 근육 장애, 중증 근무력증, 예컨대 흉선종-연관 중증 근무력증, 중증 근무력증, 심근염, 근염, 기면증, 괴사성 소장결장염, 및 경벽성 결장염, 및 자가면역 염증성 장 질환, 괴사성, 피부 또는 과민성 혈관염, 신생아 루푸스 증후군 (NLE), 신증, 신증후군, 신경계 질환, 시신경척수염 (데빅 질환), 시신경척수염, 신경근긴장증, 호중구감소증, 비-암성 림프구증가증, 비육아종성 포도막염, 비-악성 흉선종, 안구 및 안와 염증성 장애, 안구 반흔성 유천포창, 난소염, 교감신경성 안염, 안진전 근간대성경련 증후군 (OMS), 안진전 또는 안진전 근간대성경련 증후군 (OMS), 및 감각 신경병증, 시신경염, 육아종성 고환염, 골관절염, 재발성 류마티즘, 췌장염, 범혈구감소증, PANDAS (스트렙토코쿠스 (Streptococcus) 연관 소아성 자가면역 신경정신 장애), 부신생물성 소뇌 변성, 부신생물성 증후군, 부신생물성 증후군들, 예를 들어 신경계 부신생물성 증후군 (예를 들어, 램버트-이튼 근무력 증후군 또는 이튼-램버트 (Eaton-Lambert) 증후군), 기생충 질환, 예컨대 레슈마니아 (Lesihmania), 발작성 야간 혈색소뇨 (PNH), 패리 롬버그 (Parry Romberg) 증후군, 주변부 포도막염 (말초 포도막염), 파르소니지-터너 (Parsonnage-Turner) 증후군, 파르보바이러스 감염, 유천포창, 예컨대 수포성 유천포창 및 피부 유천포창, 천포창 (심상성 천포창 포함), 홍반성 천포창, 낙엽상 천포창, 천포창 점액-막 유천포창, 천포창, 소화성 궤양, 주기성 마비, 말초 신경병증, 정맥주변 뇌척수염, 악성 빈혈 (악성 빈혈증), 악성 빈혈, 수정체항원성 포도막염, 폐경변증, POEMS 증후군, 결절성 다발동맥염, 제I형, 제II형, & 제III형, 만성 원발성 다발관절염, 다발연골염 (예를 들어, 불응성 또는 재발성 다발연골염), 다발내분비 자가면역 질환, 다발내분비 부전, 다선성 증후군 (예를 들어, 자가면역 다선성 증후군 (또는 다분비선 내분비병증 증후군)), 류마티스성 다발근육통, 다발근염, 다발근염/피부근염, 다발신경병증, 급성 다발신경근염, 심장절개술후 증후군, 후방 포도막염, 또는 자가면역 포도막염, 심근 경색후 증후군, 심장막절개술후 증후군, 스트렙토코쿠스 감염후 신염, 백신접종 후 증후군, 초로기 치매, 원발성 담즙성 간경변증, 원발성 갑상선기능저하증, 원발성 특발성 점액수종, 원발 림프구증가증, 예를 들어 모노클로날 B 세포 림프구증가증 (예를 들어, 양성 모노클로날 감마병증 및 의미 불명 모노클로날 감마병증, MGUS), 원발성 점액수종, 원발성 진행성 MS (PPMS), 및 재발 완화형 MS (RRMS), 원발성 경화성 담관염, 프로게스테론 피부염, 진행성 전신 경화증, 증식성 관절염, 건선, 예컨대 판상 건선, 건선, 건선성 관절염, 폐포

단백증, 폐 침윤 호산구증가증, 순수 적혈구 빈혈 또는 무형성증 (PRCA), 순수 적혈구 무형성증, 화농성 또는 비화농성 부비동염, 농포성 건선 및 손발톱 건선, 신우염, 괴저성 농피증, 퀘르뱅 (Quervain) 갑상선염, 레이노 현상, 반응성 관절염, 반복 유산, 혈압 반응의 감소, 반사 교감신경 이영양증, 불응성 스프루, 라이터 (Reiter) 질환 또는 증후군, 재발성 다발연골염, 심근 또는 다른 조직의 재관류 손상, 재관류 손상, 호흡 곤란 증후군, 하지 불안 증후군, 망막 자가면역, 복막후 섬유증, 레이노 (Reynaud) 증후군, 류마티스성 질환, 류마티스성 열, 류마티즘, 류마티스 관절염, 류마티스 척추염, 풍진 바이러스 감염, 샘프터 (Sampter) 증후군, 사르코이드증, 주혈흡충증, 슈미트 (Schmidt) 증후군, SCID 및 엡스타인-바르 바이러스-연관 질환, 공막, 공막염, 손발가락경화증, 경피증 (전신 경피증 포함), 경화성 담관염, 파종성 경화증, 경화증, 예컨대 전신 경화증, 감각신경성 청각 상실, 혈청음성 척추관절염, 쉬한 (Sheehan) 증후군, 슐만 (Shulman) 증후군, 규폐증, 쇼그렌 증후군, 정자 & 고환 자가면역, 접형 부비동염, 스티븐스-존슨 (Stevens-Johnson) 증후군, 강직-인간 (또는 강직-사람) 증후군, 아급성 박테리아성 심내막염 (SBE), 아급성 피부 홍반성 루푸스, 돌발성 난청, 수삭 (Susac) 증후군, 시데남 (Sydenham) 무도병, 교감신경성 안염, 전신 홍반성 루푸스 (SLE) 또는 전신 루푸스 홍반증 (예를 들어, 피부 SLE), 전신 괴사성 혈관염, 및 ANCA-연관 혈관염, 예컨대 처그-스트라우스 혈관염 또는 증후군 (CSS)), 척수로, 다카야스 동맥염, 모세혈관확장증, 측두 동맥염/거대 세포 동맥염, 폐쇄성 혈전혈관염, 혈소판감소증 (예를 들어, 심근 경색 환자가 발병하는), 예를 들어 혈전성 혈소판감소성 자반증 (TTP) 및 자가면역 또는 면역-매개 혈소판감소증, 예컨대 특발성 혈소판감소성 자반증 (ITP), 예를 들어 만성 또는 급성 ITP, 혈소판감소성 자반증 (TTP), 갑상선중독증, 조직 손상, 톨로사-헌트 (Tolosa-Hunt) 증후군, 독성 표피 괴사용해, 독성 쇼크 증후군, 수혈 반응, 유아의 일과성 저감마글로불린혈증, 횡단성 척수염, 횡단 척수염, 열대성 폐 호산구증가증, 결핵, 궤양 결장염, 미분화 결합 조직 질환 (UCTD), 두드러기 (예를 들어, 만성 알레르기성 두드러기 및 만성 특발성 두드러기, 예를 들어 만성 자가면역 두드러기), 포도막염 (예를 들어, 전방 포도막염), 포도막망막염, 판막염, 혈관 기능장애, 혈관염, 척추 관절염, 수포성 피부병, 백반증, 베게너 육아종증 (현재 다발혈관염이 있는 육아종증 (GPA)으로 부름), 비스코트-알드리치 (Wiskott-Aldrich) 증후군, 또는 x-연관 과다 IgM 증후군이다.

[0067] 한 실시양태에서, 염증성 장애의 치료 방법은 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 투여를 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 상기 화합물은 항체, 항체 단편, 펩티드, 글리코알코이드, 안티센스 핵산, 리보자임, 레티노이드, 아베미르, 소분자, 또는 이들의 임의의 조합물이다. 또다른 실시양태에서, 화합물은 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체이다. 한 실시양태에서, 개체는 T 세포에 의해 매개된 염증성 장애를 갖는다.

[0068] 추가의 실시양태에서, 염증성 장애는 류마티스성 질환 (예를 들어, 류마티스 관절염, 골관절염, 건선성 관절염), 척추관절병증 (예를 들어, 강직성 척추염, 반응성 관절염, 라이터 증후군), 결정성 관절병증 (예를 들어, 통풍, 가성통풍, 칼슘 피로인산염 침착 질환), 다발성 경화증, 라임병, 류마티스성 다발근육통; 결합 조직 질환 (예를 들어, 전신 홍반성 루푸스, 전신 경화증, 다발근염, 피부근염, 쇼그렌 증후군); 혈관병증 (예를 들어, 결절성 다발동맥염, 베게너 육아종증, 처그-스트라우스 증후군); 염증성 병태, 예를 들어 외상 또는 허혈의 결과, 사르코이드증; 혈관 질환, 예를 들어 아테롬성동맥경화성 혈관 질환, 아테롬성동맥경화증, 및 혈관 폐쇄성 질환 (예를 들어, 아테롬성동맥경화증, 허혈성 심장 질환, 심근 경색, 졸중, 말초 혈관 질환), 혈관 스텐트 재협착; 자가면역 질환, 기관지염, 암, 심장염, 백내장, 복강 질환, 만성 통증, 만성 전립선염, 간경변증, 결장염, 결합 조직 질환 (예를 들어, 전신 홍반성 루푸스, 전신 경화증, 다발근염, 피부근염, 쇼그렌 증후군), 각막 질환, 크론 질환, 결정성 관절병증 (예를 들어, 통풍, 가성통풍, 칼슘 피로인산염 침착 질환), 치매, 피부염, 당뇨병, 안구 건조, 습진, 부종, 기종, 섬유근육통, 위장염, 치은염, 사구체신염, 심장 질환, 간염, 고혈압, 과민성, 염증성 장 질환, 염증성 병태, 예를 들어 외상 또는 허혈의 결과, 인슐린 저항성, 간질성 방광염, 홍채모양체염, 홍채염, 관절통/관절염/류마티스 관절염, 라임병, 대사 증후군 (증후군 X), 다발성 경화증, 근염, 신염, 비만, 안구 질환, 예를 들어 포도막염, 골감소증, 골다공증, 파킨슨 (Parkinson) 질환, 골반 염증성 질환, 치주 질환, 다발동맥염, 다발연골염, 류마티스성 다발근육통, 건선, 재관류 손상, 류마티스 관절염, 류마티스성 질환 (예를 들어, 류마티스 관절염, 골관절염, 건선성 관절염), 류마티스 관절염, 사르코이드증, 경피증, 부비동염, 쇼그렌 증후군, 경직성 결장, 척추관절병증 (예를 들어, 강직성 척추염, 반응성 관절염, 라이터 증후군), 전신 칸디다증, 건염, 이식 거부, UTI, 질염, 혈관 질환, 예를 들어 아테롬성동맥경화성 혈관 질환, 혈관병증 (예를 들어, 결절성 다발동맥염, 베게너 육아종증, 처그-스트라우스 증후군), 및 혈관염이다.

[0069] 또다른 실시양태에서, 화합물은 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체일 수 있다. 한 실시양태에서, 항체는 키메릭, 인간화, 항-이디오타입, 단일-쇄, 이작용성, 또는 공동-특이적 항체일 수 있다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 1, 3, 또는 5의 아미노산 서열의 VL의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 서열 3의 잔기 3, 4, 9, 24, 32, 41, 47, 50, 55, 71, 및 74는 각각 Q, L, S, R, A, G, L, D, E, F, 및 A일 수 있다. 한 실시양

태에서, 항체는 서열 2, 4, 또는 6의 아미노산 서열의 VH의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 서열 3의 잔기 3, 4, 9, 24, 32, 41, 47, 50, 55, 71, 및 74는 각각 R, M, F, W, Y, A, F, Y, Q, Y, 및 T일 수 있다.

[0070] 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 서열 1의 잔기 24-34에 대응하는 경쇄 CDR1 아미노산 서열; 서열 1의 잔기 50-56에 대응하는 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 서열 1의 잔기 89-97에 대응하는 경쇄 CDR3 아미노산 서열; 서열 2의 잔기 31-35에 대응하는 중쇄 CDR1 아미노산 서열; 서열 2의 잔기 50-65에 대응하는 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 또는 서열 2의 잔기 99-112에 대응하는 중쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0071] 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 서열 3의 잔기 24-34에 대응하는 경쇄 CDR1 아미노산 서열; 서열 3의 잔기 50-56에 대응하는 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 서열 3의 잔기 89-97에 대응하는 경쇄 CDR3 아미노산 서열; 서열 4의 잔기 31-35에 대응하는 중쇄 CDR1 아미노산 서열; 서열 4의 잔기 50-66에 대응하는 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 또는 서열 4의 잔기 99-113에 대응하는 중쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0072] 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 각각 서열 1 및 서열 2, 각각 서열 3 및 서열 4, 또는 각각 서열 5 및 6의 아미노산 서열을 포함하는 VL 및 VH 서열을 포함할 수 있다.

[0073] 한 실시양태에서, 본 발명의 치료 방법에 사용되는 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 다음 CDR 영역을 포함할 수 있다: 대략 서열 1의 잔기 24-34에 대응하는 경쇄 CDR1 아미노산 서열; 대략 서열 1의 잔기 50-56에 대응하는 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 대략 서열 1의 잔기 89-97에 대응하는 경쇄 CDR3 아미노산 서열; 대략 서열 2의 잔기 31-35에 대응하는 중쇄 CDR1 아미노산 서열; 대략 서열 2의 잔기 50-65에 대응하는 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 또는 대략 서열 2의 잔기 99-112에 대응하는 중쇄 CDR3 아미노산 서열.

[0074] 한 실시양태에서, 본 발명의 치료 방법에 사용되는 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 다음 CDR 영역을 포함할 수 있다: 대략 서열 3의 잔기 24-34에 대응하는 경쇄 CDR1 아미노산 서열; 대략 서열 3의 잔기 50-56에 대응하는 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 대략 서열 3의 잔기 89-97에 대응하는 경쇄 CDR3 아미노산 서열; 대략 서열 4의 잔기 31-35에 대응하는 중쇄 CDR1 아미노산 서열; 대략 서열 4의 잔기 50-66에 대응하는 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 또는 대략 서열 4의 잔기 99-113에 대응하는 중쇄 CDR3 아미노산 서열.

[0075] 한 실시양태에서, 본 발명의 치료 방법에 사용되는 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 서열 1의 잔기 24-34로 본질적으로 이루어지는 경쇄 CDR1 아미노산 서열; 서열 1의 잔기 50-56으로 본질적으로 이루어지는 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 서열 1의 잔기 89-97로 본질적으로 이루어지는 경쇄 CDR3 아미노산 서열; 서열 2의 잔기 31-35로 본질적으로 이루어지는 중쇄 CDR1 아미노산 서열; 서열 2의 잔기 50-65로 본질적으로 이루어지는 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 또는 서열 2의 잔기 99-112로 본질적으로 이루어지는 중쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0076] 한 실시양태에서, 본 발명의 치료 방법에 사용되는 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 다음 CDR 영역을 포함할 수 있다: 서열 3의 잔기 24-34로 본질적으로 이루어지는 경쇄 CDR1 아미노산 서열; 서열 3의 잔기 50-56으로 본질적으로 이루어지는 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 서열 3의 잔기 89-97로 본질적으로 이루어지는 경쇄 CDR3 아미노산 서열; 서열 4의 잔기 31-35로 본질적으로 이루어지는 중쇄 CDR1 아미노산 서열; 서열 4의 잔기 50-66으로 본질적으로 이루어지는 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 또는 서열 4의 잔기 99-113으로 본질적으로 이루어지는 중쇄 CDR3 아미노산 서열.

[0077] 한 실시양태에서, 본 발명의 치료 방법에 사용되는 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 서열 7, 8, 9, 또는 10의 아미노산 서열 내의 에피토프에 결합할 수 있다. 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 127, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 181, 및 192로 이루어진 군 중에서 선택된 적어도 하나의 아미노산 잔기에 의해 규정되는 영역 내에서 KIR2DL1에 결합할 수 있다. 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 127, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 181, 및 192로 이루어진 군 중에서 선택된 적어도 하나의 아미노산 잔기에 의해 규정되는 영역 내에서 KIR2DL1 및 KIR2DL2/3에 결합할 수 있다.

[0078] 한 실시양태에서, 본 발명의 치료 방법에 사용되는 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체 또는 그의 항체 단편은 표지, 세포독성제, 치료제, 또는 면역억제제에 직접 또는 간접적으로 접합될 수 있다. 한 실시양태에서, 표지는 화학발광 표지, 상자성 (paramagnetic) 표지, MRI 조영제, 형광 표지, 생물발광 표지, 또는 방사성 표지일 수 있다. 한 실시양태에서, 상자성 표지는 알루미늄, 망가니즈, 백금, 산소, 란타넘, 루테튬, 스칸듐, 이트륨, 또는 갈륨일 수 있다. 한 실시양태에서, 세포독성제는 DNA, RNA, 또는 단백질 합성을 억제하는 모이어티, 방사성핵종,

또는 리보솜 억제 단백질일 수 있다. 한 실시양태에서, 세포독성제는 ^{212}Bi, ^{131}I, ^{188}Re, ^{90}Y, 빈데신, 메토트렉세이트, 아드리아마이신, 시스플라틴, 미국자리공 (pokeweed) 항바이러스 단백질, 슈도모나스 (*Pseudomonas*) 내독소 A, 리신, 디프테리아 (*diphtheria*) 독소, 리신 A 쇄, 또는 세포독성 포스포리파제 효소일 수 있다.

[0079] 한 실시양태에서, 본 발명의 치료 방법에 사용되는 항-KIR2DL1, 2, 또는 3 항체는 NK 억제를 차단 또는 중화한다. 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2, 또는 3 항체는 KIR2DL1, 2 또는 3 중 적어도 하나에 결합하여 NK 세포 세포독성의 KIR2DL1, 2 및/또는 3-매개된 억제를 중화할 수 있다. 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2, 또는 3 항체 중화는 NK 표적 세포의 NK 세포-매개 특이적 용해의 적어도 약 20% 증가를 포함할 수 있다.

[0080] 한 실시양태에서, 본 발명의 치료 방법에 사용되는 항-KIR2DL1, 2, 또는 3 항체는 모노클로날 항체 1-7F9, DF200, 및/또는 NKVSF1의 동일한 항원 결정 영역과 결합을 위해 경쟁할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 치료 방법에 사용되는 항-KIR2DL1, 2, 또는 3 항체는 NK 세포의 표면에서 적어도 2개의 억제성 KIR 수용체에 결합할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 치료 방법에 사용되는 항-KIR2DL1, 2, 또는 3 항체는 인간 KIR2DL 수용체의 공통적인 항원 결정 영역에 결합할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 치료 방법에 사용되는 항-KIR2DL1, 2, 또는 3 항체는 KIR2DL1, 2 및/또는 3 수용체에 결합할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 치료 방법에 사용되는 항-KIR2DL1, 2, 또는 3 항체의 KIR2DL1, 2 및/또는 3에 대한 친화도는 적어도 약 10^4 내지 약 10^{10} M^{-1}이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 치료 방법에 사용되는 항-KIR2DL1, 2, 또는 3 항체의 KIR2DL1, 2 및/또는 3에 대한 친화도는 적어도 약 10^7 내지 약 10^9 M^{-1}일 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 치료 방법에 사용되는 항-KIR2DL1, 2, 또는 3 항체는 약 100 nM 미만의 해리 상수에서 KIR 결합을 보일 수 있다. 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2, 또는 3 항체는 KIR 2DL1 + 2DL2/3, 3DL1 + 3DL2, 2DL1 (및 2DL2/3) + 2DS4, 및 2DL1 (및 2DL2/3)과 교차반응할 수 있지만, 2D24와는 그렇지 않다. 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2, 또는 3 항체는 DF200, 1-7F9, 또는 NKVSF1 항체일 수 있다.

[0081] 한 실시양태에서, 본 발명의 치료 방법에 사용되는, KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물은 단독요법으로서 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 치료 방법에 사용되는, KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물은 제2 치료제와 조합으로 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 제2 치료제는 염증을 감소시키는 작용제일 수 있다. 한 실시양태에서, 제2 치료제는 소분자 화학 작용제일 수 있다. 한 실시양태에서, 제2 치료제는 DMARD, 임의로 항-TNFα 항체, 소분자 티로신 키나제 억제제, 또는 메토트렉세이트 (MTX)일 수 있다. 한 실시양태에서, 제2 치료제는 IgG1 또는 IgG3 이소형을 갖는 항체 이외의 다른 작용제일 수 있다.

[0082] 한 실시양태에서, 본 발명의 치료 방법에 사용되는 KIR2DL1, 2 및/또는 3을 억제하는 화합물은 KIR2DL1, 2 및/또는 3-매개 NK 억제를 차단 또는 중화하여, 그렇지 않으면 차단되는 표적 세포에 대한 NK 세포 활성을 증강시키는 능력을 갖는 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체일 수 있다. 한 실시양태에서, 항체는 KIR2DL1 및 KIR2DL2/3에 결합할 수 있는 항-KIR 항체일 수 있다. 한 실시양태에서, 항-KIR 항체는 KIR2DL1, 2 및/또는 3에 결합하기 위해 1-7F9와 경쟁할 수 있다.

[0083] 한 실시양태에서, 항체는 1-7F9일 수 있다. 한 실시양태에서, 항체는 1-7F9의 VL 및 VH 도메인을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 항체는 1-7F9의 VL 및 VH CDR을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 유효량의 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 포함할 수 있는 제약상 허용되는 조성물로서 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 조성물에는 임의의 다른 제약상 활성제가 존재하지 않을 수 있다.

[0084] 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 적어도 약 1주의 기간 동안 NK 세포 상의 KIR2DL1, 2 및/또는 3의 실질적으로 완전한 포화를 야기하는 양으로 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 적어도 약 2주의 기간 동안 NK 세포 상의 KIR2DL1, 2 및/또는 3의 실질적으로 완전한 포화를 야기하는 양으로 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 적어도 약 1개월 기간 동안 NK 세포 상의 KIR2DL1, 2 및/또는 3의 실질적으로 완전한 포화를 야기하는 양으로 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 약 2주마다 1회의 투여 빈도로 수차례 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 약 1개월마다 1회의 투여 빈도로 수차례 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 약 2개월마다 1회 또는 2개월 초과의 기간마다 1회의 투여 빈도로 수차례 투여될 수 있다.

[0085] 한 실시양태에서, 본 발명은 항-KIR2DL1 항체 및 임의로 또다른 활성제를 포함할 수 있는, 자가면역 또는 염증성 장애의 치료를 위한 조성물을 제공한다. 또다른 실시양태에서, 조성물은 항-KIR2DL2 항체를 포함할 수

있다. 또다른 실시양태에서, 본 발명에 사용하기 위한 조성물은 항-KIR2DL3 항체 및 임의로 또다른 활성제를 포함할 수 있다. 추가의 실시양태에서, 조성물은 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체 및 임의로 또다른 활성제를 포함할 수 있다.

[0086] 한 실시양태에서, 자가면역 장애의 치료에 사용하기 위한 조성물은 유효량의 항-KIR2DL1 항체를 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 자가면역 장애의 치료에 사용하기 위한 조성물은 유효량의 항-KIR2DL2 항체를 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 자가면역 장애의 치료에 사용하기 위한 조성물은 유효량의 항-KIR2DL3 항체를 투여하는 것을 포함할 수 있다. 추가의 실시양태에서, 자가면역 장애의 치료에 사용하기 위한 조성물은 유효량의 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 투여하는 것을 포함할 수 있다.

[0087] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 염증성 장애의 치료에 사용하기 위한 조성물은 항-KIR2DL1 항체를 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 염증성 장애의 치료에 사용하기 위한 조성물은 항-KIR2DL2 항체를 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 염증성 장애의 치료에 사용하기 위한 조성물은 항-KIR2DL3 항체를 포함할 수 있다. 추가의 실시양태에서, 본 발명에 따른 염증성 장애의 치료에 사용하기 위한 조성물은 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 포함할 수 있다.

[0088] 한 실시양태에서, 본 발명은 (a) 동물을 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드로 면역화하고; (b) 상기 동물의 비장을 제거하고, 단일 세포 현탁액을 제조하고; (c) 비장 세포를 골수종 세포와 융합시키고; (d) 융합후 세포를 하이브리도마 선택 배지에서 배양하고; (e) 생성된 하이브리도마를 배양하고; (f) 특이적 항체 생산에 대해 스크리닝하고; (g) 목적하는 항체를 생산하는 하이브리도마를 선택하는 것을 포함하는, 항체의 생산 방법을 제공한다.

[0089] 한 실시양태에서, 본 발명은 (a) 비-인간 포유동물을 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 포함하는 면역원으로 면역화하고; (b) 상기 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드에 결합하는 항체를 상기 면역화된 포유동물로부터 선택하고, (c) NK 세포의 T 세포 제거를 증강시키는 (b)의 항체를 선택하는 것을 포함하는, 염증성 또는 자가면역 장애의 치료를 위한 항체의 생산 방법을 제공한다.

[0090] 한 실시양태에서, 본 발명은 (a) 파지 디스플레이 기술에 의해 항체의 라이브러리를 제공하고; (b) 상기 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드에 결합하는 항체를 상기 라이브러리로부터 선택하고, (c) NK 세포의 T 세포 제거를 증강시키는 (b)의 항체를 선택하는 것을 포함하는, 염증성 또는 자가면역 장애의 치료를 위한 항체의 생산 방법을 제공한다.

[0091] 또다른 실시양태에서, 상기 설명한 다양한 방법 중의 임의의 하나는 하나 이상의 추가의 치료제, 예를 들어 소분자 작용제, DMARDS (바람직하게는 그의 1차 작용 방식이 ADCC를 유도할 수 있는 항체 이외의 다른)를 사용하여 치료의 적용에 의해 임의로 추가로 변형될 수 있다.

[0092] 한 실시양태에서, 본 발명은 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함할 수 있는 자가면역 장애의 치료 방법을 제공한다. 또다른 실시양태에서, 염증성 장애의 치료 방법은 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 질환 병태에 관련되는 T 세포를 제거하거나 그 수를 감소시키는 방법은 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 발현하는 세포의 존재 하에 상기 T 세포를 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물과 접촉시키는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 발현하는 세포는 NK 세포이다. 한 실시양태에서, 이것은 생체 외에서 수행된다. 한 실시양태에서, 이것은 생체 내에서 수행된다. 한 실시양태에서, T 세포는 하나 이상의 염증유발성, 활성화 및/또는 증식성 T 세포, CD4+ T 세포, 침윤성 T 세포, 및/또는 HLA-cw3 및/또는 HLA-cw4를 발현하는 T 세포를 포함한다.

[0093] 또다른 실시양태에서, 염증성 장애의 병리상태에 관련되는 T 세포를 제거하거나 그 수를 감소시키는 방법은 염증성 장애를 갖는 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물을 상기 T 세포의 수를 감소시키는데 유효한 양으로 투여하는 것을 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 자가면역 장애의 병리상태에 관련되는 T 세포를 제거하거나 그 수를 감소시키는 방법은 자가면역 장애를 갖는 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물을 상기 T 세포의 수를 감소시키는데 유효한 양으로 투여하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, T 세포는 활성화 및/또는 증식성 T 세포, CD4+ T 세포, 염증유발성 T 세포, 및/또는 HLA-cw3 및/또는 HLA-cw4를 발현하는 T 세포를 포함한다. 한 실시양태에서, T 세포는 순환계 내의 T 세포, 질환 또는 염증이 생긴 조직 내에 포함된 T 세포, 침윤성 T 세포, 질환 조직 내로 침윤된 T 세포, 활막 관절 조직 또는 활막액 내에 포함된 T 세포, 또는 중추신경계, 결장 또는 피부 조직 내에 포함된 T 세포 중 하나 이상을

포함한다. 한 실시양태에서, 개체는 적어도 부분적으로 상기 T 세포에 의해 매개된 질환을 갖는다.

[0094] 또다른 실시양태에서, 생체 내에서 염증성 또는 자가면역 장애의 병리상태에 관련되는 활성화 및/또는 증식성 T 세포를 제거하거나 그 수를 감소시키는 방법은 염증성 또는 자가면역 장애를 갖는 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물을 상기 T 세포의 수를 감소시키는데 유효한 양으로 투여하는 것을 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 염증성 또는 자가면역 장애의 병리상태에 관련되는 CD4+ T 세포를 제거하거나 그 수를 감소시키는 방법은 염증성 또는 자가면역 장애를 갖는 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물을 상기 T 세포의 수를 감소시키는데 유효한 양으로 투여하는 것을 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 염증유발성 T 세포를 제거하거나 그 수를 감소시키는 방법은 염증성 또는 자가면역 장애를 갖는 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물을 상기 T 세포의 수를 감소시키는데 유효한 양으로 투여하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 질환은 적어도 부분적으로 상기 T 세포에 의해 매개된다.

[0095] 또다른 실시양태에서, 침윤성 T 세포를 제거하거나 그 수를 감소시키는 방법은 염증성 또는 자가면역 장애를 갖는 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물을 상기 T 세포의 수를 감소시키는데 유효한 양으로 투여하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 질환은 적어도 부분적으로 상기 T 세포에 의해 매개된다. 한 실시양태에서, 침윤성 T 세포는 질환 조직 내로 침윤된 세포, 활막 관절 조직 또는 활막액 내로 침윤된 세포, 또는 중추신경계, 결장 또는 피부 조직 내로 침윤된 세포 중 하나 이상을 포함한다.

[0096] 또다른 실시양태에서, HLA-cw3 및/또는 HLA-cw4를 발현하는 T 세포를 제거하거나 그 수를 감소시키는 방법은 염증성 또는 자가면역 장애를 갖는 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물을 상기 T 세포의 수를 감소시키는데 유효한 양으로 투여하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, T 세포는 적어도 부분적으로 상기 장애를 매개한다.

[0097] 또다른 실시양태에서, 염증성 장애의 치료 방법은 (a) 개체가 염증성 또는 자가면역 장애를 갖는지 결정하고, (b) 개체가 염증성 또는 자가면역 장애를 가지면, 개체를 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량으로 치료하는 것을 포함할 수 있다.

[0098] 또다른 실시양태에서, 자가면역 장애의 치료 방법은 (a) 개체가 염증성 또는 자가면역 장애를 갖는지 결정하고, (b) 개체가 염증성 또는 자가면역 장애를 가지면, 개체를 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량으로 치료하는 것을 포함할 수 있다.

[0099] 또다른 실시양태에서, 염증성 장애의 치료 방법은 (a) 개체가 적어도 부분적으로 T 세포에 의해 매개된 염증성 장애를 갖는지 결정하고, (b) 개체가 적어도 부분적으로 상기 T 세포에 의해 매개된 염증성 장애를 가지면, 개체를 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량으로 치료하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, T 세포는 염증유발성, 활성화 및/또는 증식성 T 세포, 순환계 내의 또는 질환 또는 염증이 생긴 조직 내의 T 세포, CD4+ T 세포, 침윤성 T 세포, 및/또는 HLA-cw3 및/또는 HLA-cw4를 발현하는 T 세포 중 하나 이상을 포함한다.

[0100] 또다른 실시양태에서, 자가면역 장애의 치료 방법은 (a) 개체가 적어도 부분적으로 T 세포에 의해 매개된 자가면역 장애를 갖는지 결정하고, (b) 개체가 적어도 부분적으로 상기 T 세포에 의해 매개된 자가면역 장애를 가지면, 개체를 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량으로 치료하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, T 세포는 염증유발성, 활성화 및/또는 증식성 T 세포, 순환계 내의 또는 질환 또는 염증이 생긴 조직 내의 T 세포, CD4+ T 세포, 침윤성 T 세포, 및/또는 HLA-cw3 및/또는 HLA-cw4를 발현하는 T 세포 중 하나 이상을 포함한다.

[0101] 또다른 실시양태에서, 개체에서 염증성 질환을 치료하는 방법은 (a) 개체에서 염증성 질환의 존재, 병기 및/또는 진전을 평가하고, (b) 상기 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 개체에서 자가면역 질환을 치료하는 방법은 (a) 개체에서 자가면역 질환의 존재, 병기 및/또는 진전을 평가하고, (b) 상기 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 개체에서 질환의 존재, 병기 및/또는 진전을 평가하는 것은 자가항체, CRP, 또는 임의의 단백질분해 효소, 염증성 매개체, 또는 진행중인 염증의 마커의 수준을 분석하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 개체가 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물을 사용한 치료에 적합하다고 결정되면, 상기 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량을 투여한다. 또다른 실시양태에서, 개체에서 염증성 질환을 치료하는 방법은 (a) 상기 개체가 확립된 염증성 질환을 갖는지 결정하고, (b) 상기 개체가 확립된 염증성 질환을 가지면, 상기 환자에

게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 개체에서 자가면역 질환을 치료하는 방법은 (a) 상기 개체가 확립된 자가면역 질환을 갖는지 결정하고, (b) 상기 개체가 확립된 자가면역 질환을 가지면, 상기 환자에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 개체에서 염증성 질환을 치료하는 방법은 (a) 상기 개체가 염증성 질환의 공격, 위기, 악화 또는 표출을 겪고 있는지 결정하고, (b) 상기 개체가 염증성 질환의 공격, 위기, 악화 또는 표출을 겪는다면, 상기 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 개체에서 자가면역 질환을 치료하는 방법은 (a) 상기 개체가 자가면역 질환의 공격, 위기, 악화 또는 표출을 겪고 있는지 결정하고, (b) 상기 개체가 자가면역 질환의 공격, 위기, 악화 또는 표출을 겪는다면, 상기 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 개체에서 염증성 질환을 치료하는 방법은 (a) 상기 개체가 T 세포의 존재를 특징으로 하는 염증성 질환을 갖는지 결정하고, (b) 상기 개체가 상기 T 세포의 존재를 특징으로 하는 염증성 질환을 갖는다면, 상기 환자에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 개체에서 자가면역 질환을 치료하는 방법은 (a) 상기 개체가 T 세포의 존재를 특징으로 하는 자가면역 질환을 갖는지 결정하고, (b) 상기 개체가 상기 T 세포의 존재를 특징으로 하는 자가면역 질환을 갖는다면, 상기 환자에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함할 수 있다.

[0102] 한 실시양태에서, T 세포는 활성화 및/또는 증식성 T 세포, CD4+ T 세포, 염증유발성 T 세포, 침윤성 T 세포, 및 또는 HLA-cw3 및/또는 HLA-cw4를 발현하는 T 세포일 수 있다.

[0103] 한 실시양태에서, 본 발명은 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함할 수 있는, 염증성 질환의 공격, 위기, 악화 또는 표출을 겪는 개체의 치료 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 개체는 확립된 염증성 질환을 갖는다. 또다른 실시양태에서, 자가면역 질환의 공격, 위기, 악화 또는 표출을 겪는 개체의 치료 방법은 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 개체는 자가면역 염증성 질환을 갖는다. 또다른 실시양태에서, 개체의 치료 방법은 (a) 개체가 염증성 또는 자가면역 장애를 갖는지 결정하고, (b) 개체가 염증성 또는 자가면역 장애를 가지면, 개체를 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량으로 치료하는 것을 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 개체의 치료 방법은 (a) 개체가 적어도 부분적으로 T 세포에 의해 매개된 염증성 또는 자가면역 장애를 갖는지 결정하고, (b) 개체가 적어도 부분적으로 상기 T 세포에 의해 매개된 염증성 또는 자가면역 장애를 가지면, 개체를 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량으로 치료하는 것을 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 개체의 치료 방법은 (a) 개체에서 염증성 또는 자가면역 질환의 존재, 병기 및/또는 진전을 평가하고, (b) 상기 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 개체의 치료 방법은 (a) 상기 개체가 확립된 염증성 또는 자가면역 질환을 갖는지 결정하고, (b) 상기 개체가 확립된 염증성 또는 자가면역 질환을 가지면, 상기 환자에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함할 수 있다.

[0104] 또다른 실시양태에서, 개체의 치료 방법은 (a) 개체가 염증성 또는 자가면역 질환의 공격, 위기, 악화 또는 표출을 겪고 있는지 결정하고, (b) 상기 개체가 염증성 또는 자가면역 질환의 공격, 위기, 악화 또는 표출을 겪는다면, 상기 개체에게 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 화합물은 항체, 항체 단편, 펩티드, 글리코알코이드, 안티센스 핵산, 리보자임, 레티노이드, 아베미르, 소분자, 또는 이들의 임의의 조합물이다. 한 실시양태에서, 개체는 T 세포에 의해 매개된 염증성 또는 자가면역 장애가 있다. 한 실시양태에서, 자가면역 장애는 후천성 면역 결핍 증후군 (AIDS), 후천성 비장 위축, 급성 전방 포도막염, 급성 파종 뇌척수염 (ADEM), 급성 통풍성 관절염, 급성 괴사성 출혈성 백질뇌염, 급성 또는 만성 부비동염, 급성 화농성 수막염 (또는 다른 중추신경계 염증성 장애), 급성의 심각한 염증, 애디슨 질환, 부신염, 성인 발병 당뇨병 (제II형 당뇨병), 성인-발병 특발성 부갑상선기능저하증 (AOIH), 무감마글로불린혈증, 무과립구증, 혈관병증, 예를 들어 혈관염 (거대 혈관 혈관염 (류마티스성 다발근육통 및 거대 세포 (다카야스) 관절염 포함), 알레르기성 병태, 알레르기성 접촉성 피부염, 알레르기성 피부염, 알레르기성 육아종성 혈관염, 알레르기성 과민성 장애, 알레르기성 신경염, 알레르기 반응, 원형 탈모증, 전두 탈모증, 알포트 증후군, 폐포염 (예를 들어, 알레르기성 폐포염 및 섬유화 폐포염), 알츠하이머 질환, 아밀로이드증, 근위축 측삭 경화증 (ALS; 루 게릭 질환), 호산구-관련 장애 (예를 들어, 호산구증가증), 아나필락시스, 강직성 척추염, 혈관확장증, 항체-매개 신염, 항-GBM/항-TBM 신염, 항원-항체 복합체-매개 질환, 항사구체 기저막 질환, 항-인지질 항체 증후군, 항인지질 증후군 (APS), 아프타, 아프타성 구내염, 재생불량성 빈혈, 부정맥,

동맥경화증, 동맥경화성 장애, 관절염 (예를 들어, 류마티스 관절염, 예컨대 급성 관절염, 만성 류마티스 관절염), 만성 진행성 관절염, 변형성 관절염, 회충증, 아스페르길루스종 (또는 호산구 함유 육아종), 아스페르길루스증, 무정액증, 천식 (예를 들어, 기관지성 천식, 기관지 천식, 및 자가면역 천식), 모세혈관확장성 운동실조, 운동실조성 경화증, 아테롬성동맥경화증, 자폐증, 자가면역 혈관부종, 자가면역 재생불량성 빈혈, 자가면역 위축성 위염, 자가면역 당뇨병, 고환 및 난소의 자가면역 질환, 예를 들어 자가면역 고환염 및 난소염, 콜라겐 질환과 연관된 자가면역 장애, 자가면역 자율신경실조증, 자가면역 귀 질환 (예를 들어, 자가면역 내이 질환 (AGED)), 자가면역 내분비 질환, 예를 들어 갑상선염, 예컨대 자가면역 갑상선염, 자가면역 장병증 증후군, 자가면역 생식선 부전, 자가면역 청각 상실, 자가면역 용혈, 자가면역 간염, 자가면역 간 장애, 자가면역 고지혈증, 자가면역 면역결핍, 자가면역 내이 질환 (AIED), 자가면역 심근염, 자가면역 호중구감소증, 자가면역 췌장염, 자가면역 다발내분비병증, 자가면역 다선성 증후군 유형 I, 자가면역 망막병증, 자가면역 혈소판감소성 자반증 (ATP), 자가면역 갑상선 질환, 자가면역 두드러기, 자가면역-매개 위장관 질환, 축삭 & 뉴런 신경병증, 발로 질환, 베체트 질환, 양성 가족성 및 허혈-재관류 손상, 양성 림프구성 혈관염, 베르게르 질환 (IgA 신병증), 조류 사육자 폐, 실명, 뵈크 질환, 폐쇄성 세기관지염 (비-이식) 대 NSIP, 기관지염, 기관지폐렴성 아스페르길루스증, 브루톤 증후군, 수포성 유천포창, 카플란 증후군, 심근병증, 심혈관 허혈, 캐슬맨 증후군, 복강 질환, 복강 스프루 (글루텐 장병증), 소뇌 변성, 뇌 허혈, 및 혈관화를 동반하는 질환, 샤가스 질환, 채널병증 (예를 들어, 간질), CNS의 채널병증, 맥락망막염, 맥락막염, 자가면역 혈액 장애, 만성 활성 간염 또는 자가면역 만성 활성 간염, 만성 접촉성 피부염, 만성 호산구성 폐렴, 만성 피로 증후군, 만성 간염, 만성 과민성 폐렴, 만성 염증성 관절염, 만성 염증성 탈수초성 다발신경병증 (CIDP), 만성 난치성 염증, 만성 점막피부 칸디다증, 만성 신경병증 (예를 들어, IgM 다발신경병증 또는 IgM-매개 신경병증), 만성 폐쇄성 기도 질환, 만성 폐 염증성 질환, 만성 재발성 다초점 골수염 (CRMO), 만성 갑상선염 (하시모토 갑상선염) 또는 아급성 갑상선염, 처그-스트라우스 증후군, 반흔성 유천포창/양성 점막 유천포창, CNS 염증성 장애, CNS 혈관염, 복강 질환, 코간 증후군, 한랭 응집소 질환, 폴립성 결장염, 결장염, 예컨대 궤양성 결장염, 궤양성 결장염, 콜라겐성 결장염, T 세포의 침윤 및 만성 염증 반응을 수반하는 병태, 선천성 심장 차단, 선천성 풍진 감염, 쿰스 양성 빈혈, 관상 동맥 질환, 콕사키 심근염, CREST 증후군 (석회증, 레이노 현상), 크론 질환, 한랭글로불린혈증, 쿠싱 증후군, 모양체염 (예를 들어, 만성 모양체염, 이색성 모양체염, 홍채모양체염, 또는 푹스 모양체염), 낭성 섬유증, 시토카인-유도된 독성, 난청, 퇴행 관절염,탈수초성 질환환 (예를 들어, 자가면역 탈수초성 질환), 탈수초성 신경병증, 뎅기, 포진성 피부염 및 아토피성 피부염, 피부염, 예를 들어 접촉성 피부염, 피부근염, 급성 염증 요인이 있는 피부병, 데빅 질환 (시신경척수염), 당뇨병성 거대 동맥 장애, 당뇨병성 신병증, 당뇨병성 망막병증, 다이아몬드 블랙판 빈혈, 미만성 간질성 폐 섬유증, 확장형 심근병증, 원반모양 루푸스, 백혈구 누출이 관련된 질환, 드레슬러 증후군, 듀피트렌 구축, 에코바이러스 감염, 습진, 예를 들어 알레르기성 또는 아토피성 습진, 뇌염, 예컨대 라스무센 뇌염 및 변연 및/또는 뇌간 뇌염, 뇌척수염 (예를 들어, 알레르기 뇌척수염 또는 알레르기성 뇌척수염 및 실험적 알레르기 뇌척수염 (EAE)), 동맥내막 증식증, 심내막염, 내분비 안병증, 자궁내막증, 심내막심근 섬유증, 수정체과민 안내염, 안내염, 알레르기성 장염, 호산구증가증-근육통 증후군, 호산구성 근막염, 유행성 각결막염, 후천성 수포성 표피박리증 (EBA), 상공막, 상공막염, 엡스타인-바르 바이러스 감염, 장기 융기성 홍반, 다형성 홍반, 나병 결절성 홍반, 결절성 홍반, 태아 적모구증, 식도 운동장애, 원발성 혼합 한랭글로불린혈증, 벌집뼈, 에반스 증후군, 실험적 알레르기 뇌척수염 (EAE), 인자 VIII 결핍, 농부폐, 류마티스성 열, 펠티 증후군, 섬유근육통, 섬유화 폐포염, 사상충증, 초점성 분절성 사구체경화증 (FSGS), 식중독, 전두, 위 위축, 거대 세포 관절염 (측두 관절염), 거대 세포 간염, 거대 세포 다발근육통, 사구체신염, 신증후군 동반 및 비동반 사구체신염 (GN), 예컨대 만성 또는 급성 사구체신염 (예를 들어, 원발성 GN), 굿패스처 증후군, 통풍성 관절염, 과립구 수혈-연관 증후군, 육아종증, 예를 들어 림프종성 육아종증, 다발혈관염이 있는 육아종증 (GPA), 육아종성 포도막염, 그레이브 질환, 길랑-바레 증후군, 적상 건선, 발작성 혈색소뇨, 해먼-리치 질환, 하시모토 질환, 하시모토 뇌염, 하시모토 갑상선염, 혈색소증, 용혈성 빈혈 또는 면역 용혈성 빈혈, 예를 들어 자가면역 용혈성 빈혈 (AIHA), 용혈성 빈혈, A형 혈우병, 헤노흐-쉔라인 자반증, 임신 헤르페스, 인간 면역결핍 바이러스 (HIV) 감염, 통각과민, 저감마글로불린혈증, 생식선기능저하증, 부갑상선기능저하증, 특발성 요붕증, 특발성 안면 마비, 특발성 갑상선기능저하증, 특발성 IgA 신병증, 특발성 막성 GN 또는 특발성 막성 신병증, 특발성 신염성 증후군, 특발성 폐 섬유증, 특발성 스프루, 특발성 혈소판감소성 자반증 (ITP), IgA 신병증, IgE-매개 질환 (예를 들어, 아나필락시스, 및 알레르기성 및 아토피성 비염), IgG4-관련 경화 질환, 국한성 회장염, 면역 복합체 신염, 시토카인 및 T-림프구에 의해 매개된 급성 및 지연형 과민증과 연관된 면역 반응, 면역-매개 GN, 면역조절 지단백질, 예를 들어 성인 또는 급성 호흡 곤란 증후군 (ARDS), 봉입체 근염, 감염성 관절염, 항정자 항체로 인한 불임, 포도막 전부 또는 일부의 염증, 염증성 장 질환 (IBD), 염증성 과다증식성 피부 질환, 염증성 근병증, 인슐린-의존성 당뇨병 (제1형), 췌도염, 간질성 방광염, 간질성 폐 질환, 간질성 폐 섬유증, 홍

채염, 허혈 재-관류 장애, 관절 염증, 소아 관절염, 소아 피부근염, 소아 당뇨병, 소아 발병 (제I형) 당뇨병, 예를 들어 소아성 인슐린-의존성 당뇨병 (IDDM), 소아-발병 류마티스 관절염, 가와사키 증후군, 건성 각결막염, 키파노소미아시스, 램버트-이튼 증후군, 리슈마니아증, 나병, 백혈구감소증, 백혈구 부착 결핍, 백혈구파쇄성 혈관염, 백혈구감소증, 편평 태선, 경화 태선, 목질 결막염, 선형 IgA 피부병, 선형 IgA 질환 (LAD), 뢰플러 증후군, 루프스양 간염, 루푸스 (신염, 뇌염, 소아성, 비신성, 신장외, 원반모양, 탈모 포함), 루푸스 (SLE), 파종상 홍반성 루푸스, 라임 관절염, 라임병, 림프성 간질성 폐렴, 말라리아, 남성 및 여성 자가면역 불임, 상악, 중간 혈관 혈관염 (가와사키 질환 및 결절성 다발동맥염 포함), 막- 또는 막성 증식성 GN (MPGN), 예를 들어 제I형 및 제II형, 및 급속 진행성 GN, 막성 GN (막성 신병증), 메니에르 질환, 수막염, 현미경적 결장염, 현미경적 다발혈관염, 편두통, 미세 변화 신병증, 혼합 결합 조직 질환 (MCTD), 감염성 단핵구증, 무렌 궤양, 무카-하버만 질환, 다초점성 운동 신경병증, 다발성 내분비 부전, 다발성 기관 손상 증후군, 예컨대 패혈증, 외상 또는 출혈에 이차적인 것, 다발성 기관 손상 증후군, 다발성 경화증 (MS), 예컨대 척수-눈 MS, 다발성 경화증, 멈프스, 근육 장애, 중증 근무력증, 예컨대 흉선종-연관 중증 근무력증, 중증 근무력증, 심근염, 근염, 기면증, 괴사성 소장결장염, 및 경벽성 결장염, 및 자가면역 염증성 장 질환, 괴사성, 피부 또는 과민성 혈관염, 신생아 루푸스 증후군 (NLE), 신증, 신증후군, 신경계 질환, 시신경척수염 (데빅 질환), 시신경척수염, 신경근긴장증, 호중구감소증, 비-암성 림프구증가증, 비육아종성 포도막염, 비-악성 흉선종, 안구 및 안와 염증성 장애, 안구 반흔성 유천포창, 난소염, 교감신경성 안염, 안진전 근간대성경련 증후군 (OMS), 안진전 또는 안진전 근간대성경련 증후군 (OMS), 및 감각 신경병증, 시신경염, 육아종성 고환염, 골관절염, 재발성 류마티즘, 췌장염, 범혈구감소증, PANDAS (스트렙토코쿠스 연관 소아성 자가면역신경정신 장애), 부신생물성 소뇌 변성, 부신생물성 증후군, 부신생물성 증후군들, 예를 들어 신경계 부신생물성 증후군 (예를 들어, 램버트-이튼 근무력 증후군 또는 이튼-램버트 증후군), 기생충 질환, 예컨대 레슈마니아, 발작성 야간 혈색소뇨 (PNH), 패리 롬버그 증후군, 주변부 포도막염 (말초 포도막염), 파르소니지-터너 증후군, 파르보바이러스 감염, 유천포창, 예컨대 수포성 유천포창 및 피부 유천포창, 천포창 (심상성 천포창 포함), 홍반성 천포창, 낙엽상 천포창, 천포창 점액-막 유천포창, 천포창, 소화성 궤양, 주기성 마비, 말초 신경병증, 정맥주변 뇌척수염, 악성 빈혈 (악성 빈혈증), 악성 빈혈, 수정체항원성 포도막염, 폐경변증, POEMS 증후군, 결절성 다발동맥염, 제I형, 제II형, & 제III형, 만성 원발성 다발관절염, 다발연골염 (예를 들어, 불응성 또는 재발성 다발연골염), 다발내분비 자가면역 질환, 다발내분비 부전, 다선성 증후군 (예를 들어, 자가면역 다선성 증후군 (또는 다분비선 내분비병증 증후군)), 류마티스성 다발근육통, 다발근염, 다발근염/피부근염, 다발신경병증, 급성 다발신경근염, 심장절개술후 증후군, 후방 포도막염, 또는 자가면역 포도막염, 심근 경색후 증후군, 심장막절개술 후 증후군, 스트렙토코쿠스 감염후 신염, 백신접종 후 증후군, 초로기 치매, 원발성 담즙성 간경변증, 원발성 갑상선기능저하증, 원발성 특발성 점액수종, 원발 림프구증가증, 예를 들어 모노클로날 B 세포 림프구증가증 (예를 들어, 양성 모노클로날 감마병증 및 의미 불명 모노클로날 감마병증, MGUS), 원발성 점액수종, 원발성 진행성 MS (PPMS), 및 재발 완화형 MS (RRMS), 원발성 경화성 담관염, 프로게스테론 피부염, 진행성 전신 경화증, 증식성 관절염, 건선, 예컨대 판상 건선, 건선, 건선성 관절염, 폐포 단백증, 폐 침윤 호산구증가증, 순수 적혈구 빈혈 또는 무형성증 (PRCA), 순수 적혈구 무형성증, 화농성 또는 비화농성 부비동염, 농포성 건선 및 손발톱 건선, 신우염, 괴저성 농피증, 퀘르뱅 갑상선염, 레이노 현상, 반응성 관절염, 반복 유산, 혈압 반응의 감소, 반사 교감신경 이영양증, 불응성 스프루, 라이터 질환 또는 증후군, 재발성 다발연골염, 심근 또는 다른 조직의 재관류 손상, 재관류 손상, 호흡곤란 증후군, 하지 불안 증후군, 망막 자가면역, 복막후 섬유증, 레이노 증후군, 류마티스성 질환, 류마티스성 열, 류마티즘, 류마티스 관절염, 류마티스 척추염, 풍진 바이러스 감염, 샘프터 증후군, 사르코이드증, 주혈흡충증, 슈미트 증후군, SCID 및 엡스타인-바르 바이러스-연관 질환, 공막, 공막염, 손발가락경화증, 경피증 (전신 경피증 포함), 경화성 담관염, 파종성 경화증, 경화증, 예컨대 전신 경화증, 감각신경성 청각 상실, 혈청음성 척추관절염, 쉬한 증후군, 슐만 증후군, 규폐증, 쇼그렌 증후군, 정자 & 고환 자가면역, 접형 부비동염, 스티븐스-존슨 증후군, 강직-인간 (또는 강직-사람) 증후군, 아급성 박테리아성 심내막염 (SBE), 아급성 피부 홍반성 루푸스, 돌발성 난청, 수삭 증후군, 시데남 무도병, 교감신경성 안염, 전신 홍반성 루푸스 (SLE) 또는 전신 루푸스 홍반증 (예를 들어, 피부 SLE), 전신 괴사성 혈관염, 및 ANCA-연관 혈관염, 예컨대 처그-스트라우스 혈관염 또는 증후군 (CSS)), 척수로, 다카야스 동맥염, 모세혈관확장증, 측두 동맥염/거대 세포 동맥염, 폐쇄성 혈전혈관염, 혈소판감소증 (예를 들어, 심근 경색 환자가 발병하는), 예를 들어 혈전성 혈소판감소성 자반증 (TTP) 및 자가면역 또는 면역-매개 혈소판감소증, 예컨대 특발성 혈소판감소성 자반증 (ITP), 예를 들어 만성 또는 급성 ITP, 혈소판감소성 자반증 (TTP), 갑상선중독증, 조직 손상, 톨로사-헌트 증후군, 독성 표피 괴사용해, 독성 쇼크 증후군, 수혈 반응, 유아의 일과성 저감마글로불린혈증, 횡단성 척수염, 횡단 척수염, 열대성 폐호산구증가증, 결핵, 궤양 결장염, 미분화 결합 조직 질환 (UCTD), 두드러기 (예를 들어, 만성 알레르기성 두드러기 및 만성 특발성 두드러기, 예를 들어 만성 자가면역 두드러기), 포도막염 (예를 들어, 전방 포도막염), 포

도막망막염, 판막염, 혈관 기능장애, 혈관염, 척추 관절염, 수포성 피부병, 백반증, 베게너 육아종증 (현재 다발혈관염이 있는 육아종증 (GPA)으로 부름), 비스코트-알드리치 증후군, 또는 x-연관 과다 IgM 증후군이다.

[0105] 한 실시양태에서, 염증성 장애는 류마티스성 질환 (예를 들어, 류마티스 관절염, 골관절염, 건선성 관절염), 척추관절병증 (예를 들어, 강직성 척추염, 반응성 관절염, 라이터 증후군), 결정성 관절병증 (예를 들어, 통풍, 가성통풍, 칼슘 피로인산염 침착 질환), 다발성 경화증, 라임병, 류마티스성 다발근육통; 결합 조직 질환 (예를 들어, 전신 홍반성 루푸스, 전신 경화증, 다발근염, 피부근염, 쇼그렌 증후군); 혈관병증 (예를 들어, 결절성 다발동맥염, 베게너 육아종증, 처그-스트라우스 증후군); 염증성 병태, 예를 들어 외상 또는 허혈의 결과, 사르코이드증; 혈관 질환, 예를 들어 아테롬성동맥경화성 혈관 질환, 아테롬성동맥경화증, 및 혈관 폐쇄성 질환 (예를 들어, 아테롬성동맥경화증, 허혈성 심장 질환, 심근 경색, 졸중, 말초 혈관 질환), 혈관 스텐트 재협착; 안구 질환, 예를 들어 포도막염, 각막 질환, 홍채염, 홍채모양체염, 백내장, 산 역류/가슴쓰림, 여드름, 심상성 여드름, 알레르기 및 예민성, 알츠하이머 질환, 천식, 아테롬성동맥경화증 및 혈관 폐쇄성 질환 (예를 들어, 아테롬성동맥경화증, 허혈성 심장 질환, 심근 경색, 졸중, 말초 혈관 질환) 및 혈관 스텐트 재협착, 자가면역 질환, 기관지염, 암, 심장염, 백내장, 복강 질환, 만성 통증, 만성 전립선염, 간경변증, 결장염, 결합 조직 질환 (예를 들어, 전신 홍반성 루푸스, 전신 경화증, 다발근염, 피부근염, 쇼그렌 증후군), 각막 질환, 크론 질환, 결정성 관절병증 (예를 들어, 통풍, 가성통풍, 칼슘 피로인산염 침착 질환), 치매, 피부염, 당뇨병, 안구 건조, 습진, 부종, 기종, 섬유근육통, 위장염, 치은염, 사구체신염, 심장 질환, 간염, 고혈압, 과민성, 염증성 장 질환, 염증성 병태, 예를 들어 외상 또는 허혈의 결과, 인슐린 저항성, 간질성 방광염, 홍채모양체염, 홍채염, 관절통/관절염/류마티스 관절염, 라임병, 대사 증후군 (증후군 X), 다발성 경화증, 근염, 신염, 비만, 안구 질환, 예를 들어 포도막염, 골감소증, 골다공증, 파킨슨 질환, 골반 염증성 질환, 치주 질환, 다발동맥염, 다발연골염, 류마티스성 다발근육통, 건선, 재관류 손상, 류마티스 관절염, 류마티스성 질환 (예를 들어, 류마티스 관절염, 골관절염, 건선성 관절염), 류마티스 관절염, 사르코이드증, 경피증, 부비동염, 쇼그렌 증후군, 경직성 결장, 척추관절병증 (예를 들어, 강직성 척추염, 반응성 관절염, 라이터 증후군), 전신 칸디다증, 건염, 이식 거부, UTI, 질염, 혈관 질환, 예를 들어 아테롬성동맥경화성 혈관 질환, 혈관병증 (예를 들어, 결절성 다발동맥염, 베게너 육아종증, 처그-스트라우스 증후군), 및 혈관염이다.

[0106] 한 실시양태에서, 화합물은 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체일 수 있다. 한 실시양태에서, 항체는 키메릭, 인간화, 항-이디오타입, 단일-쇄, 이작용성, 또는 공동-특이적 항체일 수 있다.

[0107] 한 실시양태에서, 상기 항체의 경쇄는 서열 1, 3, 또는 5의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 서열 3의 아미노산 서열의 잔기 3, 4, 9, 24, 32, 41, 47, 50, 55, 71, 및 74는 각각 Q, L, S, R, A, G, L, D, E, F, 및 A이다. 한 실시양태에서, 서열 3의 아미노산 서열의 잔기 3, 4, 9, 24, 32, 41, 47, 50, 55, 71, 및 74는 각각 R, M, F, W, Y, A, F, Y, Q, Y, 및 T이다. 한 실시양태에서, 상기 항체의 중쇄는 서열 2, 4, 또는 6의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 1의 아미노산 서열의 잔기 24-34에 대응하는 경쇄 CDR1 아미노산 서열; 서열 1의 아미노산 서열의 잔기 50-56에 대응하는 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 또는 서열 1의 아미노산 서열의 잔기 89-97에 대응하는 경쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 3의 아미노산 서열의 잔기 24-34에 대응하는 경쇄 CDR1 아미노산 서열; 서열 3의 아미노산 서열의 잔기 50-56에 대응하는 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 또는 서열 3의 아미노산 서열의 잔기 89-97에 대응하는 경쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0108] 한 실시양태에서, 항체는 서열 2의 아미노산 서열의 잔기 31-35에 대응하는 중쇄 CDR1 아미노산 서열; 서열 2의 아미노산 서열의 잔기 50-65에 대응하는 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 또는 서열 2의 아미노산 서열의 잔기 99-112에 대응하는 중쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 4의 아미노산 서열의 잔기 31-35에 대응하는 중쇄 CDR1 아미노산 서열; 서열 4의 아미노산 서열의 잔기 50-66에 대응하는 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 또는 서열 4의 아미노산 서열의 잔기 99-113에 대응하는 중쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0109] 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 1 및 서열 2를 포함할 수 있는 가변 경쇄 및 가변 중쇄 서열을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 3 및 서열 4의 아미노산 서열을 포함할 수 있는 가변 경쇄 및 가변 중쇄 서열을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 5 및 서열 6의 아미노산 서열을 포함할 수 있는 가변 경쇄 및 가변 중쇄 서열을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 또는 24의 아미노산 서열 내의 에피토프에 결합한다. 한 실시양태에서, 항체는 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 127, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 181, 및 192로 이루어진 군 중에서 선택된 적어도

하나의 아미노산 잔기에 의해 규정되는 영역 내에서 KIR2DL1에 결합할 수 있다. 한 실시양태에서, 항체는 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 127, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 181, 및 192로 이루어진 군 중에서 선택된 적어도 하나의 아미노산 잔기에 의해 규정되는 영역 내에서 KIR2DL1 및 KIR2DL2/3에 결합할 수 있다.

[0110] 한 실시양태에서, 항체 또는 단편은 표지, 세포독성제, 치료제, 또는 면역억제제에 직접 또는 간접적으로 접합될 수 있다. 한 실시양태에서, 표지는 화학발광 표지, 상자성 표지, MRI 조영제, 형광 표지, 생물발광 표지, 또는 방사성 표지일 수 있다. 한 실시양태에서, 상자성 표지는 알루미늄, 망가니즈, 백금, 산소, 란타넘, 루테튬, 스칸듐, 이트륨, 또는 갈륨일 수 있다. 한 실시양태에서, 세포독성제는 DNA, RNA, 또는 단백질 합성을 억제하는 모이어티, 방사성핵종, 또는 리보솜 억제 단백질일 수 있다. 한 실시양태에서, 세포독성제는 ^{212}Bi, ^{131}I, ^{188}Re, ^{90}Y, 빈데신, 메토트렉세이트, 아드리아마이신, 시스플라틴, 미국자리공 항바이러스 단백질, 슈도모나스 내독소 A, 리신, 디프테리아 독소, 리신 A 쇄, 또는 세포독성 포스포리파제 효소일 수 있다.

[0111] 한 실시양태에서, 항체는 NK 억제를 차단 또는 중화한다. 한 실시양태에서, 항체는 KIR2DL1, 2 또는 3 중 적어도 하나에 결합하여 NK 세포 세포독성의 KIR2DL1, 2 및/또는 3-매개 억제를 중화한다. 한 실시양태에서, 항체 중화는 NK 표적 세포의 NK 세포-매개 특이적 용해의 적어도 약 20% 증가를 포함할 수 있다.

[0112] 한 실시양태에서, 항체는 모노클로날 항체 1-7F9, DF200, 및/또는 NKVSF1의 동일한 항원 결정 영역과 결합을 위해 경쟁할 수 있다. 한 실시양태에서, 항체는 NK 세포의 표면에서 적어도 2개의 억제성 KIR 수용체에 결합한다. 한 실시양태에서, 항체는 인간 KIR2DL 수용체의 공통적인 항원 결정 영역에 결합한다. 한 실시양태에서, 항체는 KIR2DL1, 2 및/또는 3 수용체에 결합한다.

[0113] 한 실시양태에서, 항체의 KIR2DL1, 2 및/또는 3에 대한 친화도는 적어도 약 10^{4} 내지 약 10^{10} M^{-1}이다. 한 실시양태에서, 항체의 KIR2DL1, 2 및/또는 3에 대한 친화도는 적어도 약 10^{7} 내지 약 10^{9} M^{-1}이다. 한 실시양태에서, 항체는 약 100 nM 미만의 해리 상수에서 KIR 결합을 보인다.

[0114] 한 실시양태에서, 항체는 KIR 2DL1 + 2DL2/3, 3DL1 + 3DL2, 2DL1 (및 2DL2/3) + 2DS4, 및 2DL1 (및 2DL2/3)과 교차반응하지만, 2D24와는 그렇지 않다.

[0115] 한 실시양태에서, 항체는 DF200, 1-7F9, 또는 NKVSF1 항체일 수 있다.

[0116] 한 실시양태에서, KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물은 단독요법으로서 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 화합물은 제2 치료제와 조합하여 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 제2 치료제는 염증을 감소시키는 작용제일 수 있다. 한 실시양태에서, 제2 치료제는 소분자 화학 작용제일 수 있다. 한 실시양태에서, 제2 치료제는 DMARD, 임의로 항-TNFα 항체, 소분자 티로신 키나제 억제제, 또는 메토트렉세이트 (MTX)일 수 있다. 한 실시양태에서, 제2 치료제는 IgG1 또는 IgG3 이소형을 갖는 항체 이외의 다른 작용제일 수 있다.

[0117] 한 실시양태에서, KIR2DL1, 2 및/또는 3을 억제하는 화합물은 KIR2DL1, 2 및/또는 3-매개 NK 억제를 차단 또는 중화하여, 그렇지 않으면 차단되는 표적 세포에 대한 NK 세포 활성을 증강시키는 능력을 갖는 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체일 수 있다. 한 실시양태에서, 항체는 KIR2DL1 및 KIR2DL2/3에 결합할 수 있는 항-KIR 항체일 수 있다. 한 실시양태에서, 항-KIR 항체는 KIR2DL1, 2 및/또는 3에 결합하기 위해 1-7F9와 경쟁할 수 있다. 한 실시양태에서, 항체는 1-7F9일 수 있다. 한 실시양태에서, 항체는 1-7F9의 VL 및 VH 도메인을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 항체는 1-7F9의 VL 및 VH CDR을 포함할 수 있다.

[0118] 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 유효량의 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 포함하는 제약상 허용되는 조성물로서 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 조성물에는 임의의 다른 제약상 활성제가 존재하지 않을 수 있다.

[0119] 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 적어도 약 1주의 기간 동안 NK 세포 상의 KIR2DL1, 2 및/또는 3의 실질적으로 완전한 포화를 야기하는 양으로 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 적어도 약 2주의 기간 동안 NK 세포 상의 KIR2DL1, 2 및/또는 3의 실질적으로 완전한 포화를 야기하는 양으로 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 적어도 약 1개월 기간 동안 NK 세포 상의 KIR2DL1, 2 및/또는 3의 실질적으로 완전한 포화를 야기하는 양으로 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 약 2주마다 1회의 투여 빈도로 수차례 투여될 수 있다. 한 실

시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 약 1개월마다 1회의 투여 빈도로 수차례 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 약 2개월마다 1회 또는 2개월 초과의 기간마다 1회의 투여 빈도로 수차례 투여될 수 있다.

[0120] 본 발명은 또한 자가면역 장애의 치료에 사용하기 위한, 항-KIR2DL1 항체를 포함할 수 있는 조성물을 제공한다. 또다른 실시양태에서, 자가면역 장애의 치료에 사용하기 위한 조성물은 항-KIR2DL2 항체를 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 자가면역 장애의 치료에 사용하기 위한 조성물은 항-KIR2DL3 항체를 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 염증성 장애의 치료에 사용하기 위한 조성물은 항-KIR2DL1 항체를 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 염증성 장애의 치료에 사용하기 위한 조성물은 항-KIR2DL2 항체를 포함할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 염증성 장애의 치료에 사용하기 위한 조성물은 항-KIR2DL3 항체를 포함할 수 있다.

[0121] 추가의 실시양태에서, 본 발명은 자가면역 장애의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서 항-KIR2DL1 항체의 용도를 제공한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 자가면역 장애의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서 항-KIR2DL2 항체의 용도를 제공한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 자가면역 장애의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서 항-KIR2DL3 항체의 용도를 제공한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 염증성 장애의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서 항-KIR2DL1 항체의 용도를 제공한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 염증성 장애의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서 항-KIR2DL2 항체의 용도를 제공한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 염증성 장애의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서 항-KIR2DL3 항체의 용도를 제공한다.

[0122] 한 실시양태에서, 본 발명은 (a) 비-인간 포유동물을 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 포함할 수 있는 면역원으로 면역화하는 단계; (b) 상기 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드에 결합하는 항체를 상기 면역화된 포유동물로부터 선택하는 단계; 및 (c) NK 세포의 T 세포 제거를 증강시키는 (b)의 항체를 선택하는 단계를 포함할 수 있는, 염증성 또는 자가면역 장애의 치료를 위한 항체의 생산 방법을 제공한다.

[0123] 한 실시양태에서, 본 발명은 파지 디스플레이 기술에 의해 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드에 결합하는 항체의 라이브러리를 제공하고, NK 세포에 의한 T 세포의 제거 또는 고갈을 증강시키는 항체를 선택하는 것을 포함할 수 있는, 염증성 또는 자가면역 장애의 치료를 위한 항체의 생산 방법을 제공한다.

[0124] 이들 측면은 본원에 제공되는 본 발명의 설명에서 보다 충분히 설명되고, 본 발명의 추가의 측면, 특징, 및 잇점은 본원에 제공되는 본 발명의 설명으로부터 자명할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0125] 도 1A는 비처리된 KIR2DL3tg B6 마우스, 및 처리된 및 비처리된 C57B16 마우스에 비해, 항체 1-7F9로 처리할 때 KIR2DL3tg B6 마우스 내의 PBMC에서 CSFE-표지된 세포 (Con A 블라스트) 비율의 감소를 도시한 것이다.

도 1B는 비처리된 KIR2DL3tg B6 마우스, 및 처리된 및 비처리된 C57B16 마우스에 비해, 항체 1-7F9로 처리할 때 KIR2DL3tg B6 마우스 내의 CSFE-표지된 비장 세포 비율의 감소를 도시한 것이다.

도 2는 비처리된 KbDb KO cw3 tg 마우스에 비해 항체 1-7F9로 처리할 때 KIR2DL3tg B6 마우스 내의 PBMC 및 비장에서 KbDb-/- cw3 ConA 블라스트의 생존 감소를 도시한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0126] 본 발명을 충분히 이해할 수 있도록 하기 위해, 다음 상세한 설명이 제시된다. 본 발명의 다양한 실시양태는 상세하게 설명되고, 제공된 실시예에 의해 추가로 예시될 수 있다.

[0127] **정의**

[0128] 달리 규정하지 않으면, 본원에서 사용되는 모든 기술 및 학술 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야의 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 본원에서 설명된 것과 유사한 또는 동등한 방법 및 물질이 본 발명에서 또는 본 발명의 시험에서 사용될 수 있지만, 적합한 방법 및 물질이 본원에서 설명된다. 물질, 방법 및 예는 단지 예시적인 것으로서, 본 발명을 제한하고자 의도되지 않는다.

[0129] 본원 명세서 및 첨부하는 청구의 범위 전체에 걸쳐 사용되는 바와 같이, 부정관사 ("a", "an") 및 정관사 ("the")의 의미는 문맥이 명백하게 달리 지시하지 않으면 복수의 참조물을 포함한다.

[0130] "항원 제시 세포"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 전문 항원 제시 세포 (예를 들어, B 림프구, 단핵구, 수지상 세포, 및 랑게르한스 세포) 및 다른 항원 제시 세포 (예를 들어, 각질세포, 내피 세포, 성상세포, 섬유모세포,

및 희소돌기아교세포)를 넓게 의미한다.

[0131] "아미노산"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 천연 생성 및 합성 아미노산, 및 천연 생성 아미노산과 유사한 방식으로 기능하는 아미노산 유사체 및 아미노산 모방체를 넓게 의미한다. 천연 생성 아미노산은 유전자 코드에 의해 코딩되는 것, 및 나중에 변형된 아미노산 (예를 들어, 히드록시프롤린, γ-카르복시글루타메이트, 및 O-포스포세린)이다. 아미노산 유사체는 천연 생성 아미노산과 동일한 기본 화학 구조 (즉, 수소, 카르복실기, 아미노기에 결합된 탄소), 및 R기 (예를 들어, 호모세린, 노르류신, 메티오닌 술폭시드, 메티오닌 메틸 술포늄)를 갖는 화합물을 의미한다. 그러한 유사체는 변형된 R기 (예를 들어, 노르류신) 또는 변형된 펩티드 백본을 갖지만, 천연 생성 아미노산과 동일한 기본 화학 구조를 보유한다. 아미노산 모방체는 아미노산의 일반적인 화학 구조와 상이한 구조를 갖지만 천연 생성 아미노산과 유사한 방식으로 기능하는 화학적 화합물을 의미한다.

[0132] "무반응 (anergy)" 또는 "관용"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 활성화 수용체-매개된 자극에 대한 굴절성 (refractivity)을 넓게 의미한다. 상기 굴절성은 일반적으로 항원-특이적이고, 관용 항원 소실 후에 지속된다.

[0133] "항체"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 항체의 "항원-결합 부분" (또한 "항체 부분", "항원-결합 단편", "항체 단편"과 교환가능하게 사용됨), 및 전체 항체 분자를 넓게 의미한다. 용어 "항원-결합 부분"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 항원 (예를 들어, KIR2DL1, 2 및/또는 3)에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 항체의 하나 이상의 단편을 의미한다. 항체의 항원-결합 기능은 전장 항체의 단편에 의해 수행될 수 있음이 밝혀졌다. 용어 항체의 "항원-결합 부분"에 포함되는 항원-결합 단편의 예는 (a) VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 이루어지는 1가 단편인 Fab 단편; (b) 힌지 (hinge) 영역에서 디술피드 다리에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인 F(ab')2 단편; (c) VH 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 단편; (d) 항체의 단일 아암 (arm)의 VL 및 VH 도메인으로 이루어진 Fv 단편; (e) VH 도메인으로 이루어진 dAb 단편 (Ward, et al. (1989) Nature 341: 544-546); 및 (f) 단리된 상보성 결정 영역 (CDR)을 포함한다. 또한, Fv 단편의 두 도메인인 VL 및 VH는 별개의 유전자에 의해 코딩되지만, 이들은 재조합 방법을 이용하여, VL 및 VH 영역을 쌍을 이루어 1가 분자 (단일 사슬 Fv (scFv)로서 공지됨; 예를 들어, [Bird, et al. (1988) Science 242: 423-426]; [Huston, et al. (1988) Proc Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879-5883]; 및 [Osbourn, et al. (1998) Nat. Biotechnol. 16: 778] 참조)를 형성하는 단일 단백질 사슬로 만들 수 있는 합성 링커 (linker)에 의해 연결될 수 있다. 그러한 단일 사슬 항체도 용어 항체의 "항원-결합 부분" 내에 포함되는 것으로 의도된다. 특정 scFv의 임의의 VH 및 VL 서열은 인간 이뮤노글로불린 불변 영역 cDNA 또는 게놈 서열에 연결되어, 완전한 IgG 분자 또는 다른 이소형을 코딩하는 발현 벡터를 생성할 수 있다. VH 및 VL은 또한 단백질 화학 또는 재조합 DNA 기술을 이용하여 Fab, Fv, 또는 이뮤노글로불린의 다른 단편의 생성에 사용될 수 있다. 다른 형태의 단일 사슬 항체, 예컨대 디아바디 (diabody)도 포함된다. 디아바디는 VH 및 VL 도메인이 단일 폴리펩티드 사슬에 발현되지만 동일한 사슬 상의 2개의 도메인 사이의 쌍형성을 허용하기에는 너무 짧은 링커를 사용함으로써 도메인이 또다른 사슬의 상보성 도메인과 쌍형성하여 2개의 항원 결합 부위를 생성하게 되는 2가의 이중특이적 항체이다. 예를 들어, 문헌 [Holliger, et al. (1993) Proc Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448]; [Poljak, et al. (1994) Structure 2: 1121-1123]을 참조한다.

[0134] 추가로, 항체 또는 그의 항원-결합 부분 (항원-결합 단편, 항체 단편, 항체 부분)은 항체 또는 항체 부분과 하나 이상의 다른 단백질 또는 펩티드의 공유 또는 비공유 회합에 의해 형성된 보다 큰 면역부착 분자의 일부일 수 있다. 그러한 면역부착 분자의 예는 사량체 scFv 분자의 제조를 위한 스트렙타비딘 코어 영역의 사용 (Kipriyanov, et al. (1995) Hum. Antibodies Hybridomas 6: 93-101) 및 이가 및 비오티닐화 scFv 분자의 제조를 위한 시스테인 잔기, 마커 펩티드 및 C-말단 폴리히스티딘 태그의 사용 (Kipriyanov, et al. (1994) Mol Immunol. 31: 1047-1058)를 포함한다. 항체 부분, 예컨대 Fab 및 F(ab')2 단편은 통상적인 기술, 예컨대 각각 전체 항체의 파파인 또는 펩신 소화를 사용하여 전체 항체로부터 제조될 수 있다. 또한, 항체, 항체 부분 및 면역부착 분자는 본원에 설명된 표준 재조합 DNA 기술을 사용하여 얻을 수 있다.

[0135] 항체는 폴리클로날, 모노클로날, 이종성, 동종이형, 동계 (syngeneic), 또는 그의 변형된 형태, 예를 들어, 인간화된, 키메릭 항체일 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 항체는 KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드에 특이적으로 또는 실질적으로 특이적으로 결합한다. 용어 "모노클로날 항체" 및 "모노클로날 항체 조성물"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 항원의 특정 에피토프와 면역반응할 수 있는 항원 결합 부위의 단지 하나의 종만을 함유하는 항체 분자의 집단을 의미하고, 용어 "폴리클로날 항체" 및 "폴리클로날 항체 조성물"은 특정 항원과 상호작용할 수 있는 항원 결합 부위의 다수의 종을 함유하는 항체 분자의 집단을 의미한다. 모노클로날 항체 조성물은 일반적으로 그가 면역반응하는 특정 항원에 대해 단일 결합 친화도를 보인다.

[0136] "항원"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 추가로 항원의 에피토프에 결합할 수 있는 항체를 생산하도록 동물을 유도할 수 있는, 항체에 의해 결합될 수 있는 분자 또는 분자의 일부를 넓게 의미한다. 항원은 하나의 에피토프를 가질 수 있거나, 또는 하나 초과의 에피토프를 가질 수 있다. 본원에서 언급되는 특이적 반응은 항원이 고도로 선택적인 방식으로 그의 상응하는 항체와 반응하지만 다른 항원에 의해 유도될 수 있는 많은 다른 항체와는 그렇지 않음을 나타낸다. 관심 있는 특정 항원에 대한 목적하는 향상된 면역 반응의 경우에, 그러한 항원은 예를 들어 그에 대한 보호 면역 반응이 유도될 수 있는 감염성 질환 항원을 포함하고 이로 제한되지 않는다.

[0137] "안티센스 핵산 분자"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 단백질을 코딩하는 "센스" 핵산에 상보성인 (예를 들어, 이중 가닥 cDNA 분자의 코딩 가닥에 상보성인), mRNA 서열에 상보성인 또는 유전자의 코딩 가닥에 상보성인 뉴클레오티드 서열을 넓게 의미한다. 따라서, 안티센스 핵산 분자는 센스 핵산 분자에 수소 결합할 수 있다.

[0138] "아폽토시스"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 당업계에 공지된 기술을 사용하여 특성화될 수 있는 프로그래밍된 세포 사멸을 넓게 의미한다. 아폽토시스성 세포 사멸은 세포 수축, 막 기포형성 (blebbing), 및 세포 단편화시에 정점에 달한 염색질 응축에 의해 특징지을 수 있다. 아폽토시스를 겪는 세포는 또한 뉴클레오솜 사이 (internucleosomal) DNA 절단의 특징적인 패턴을 보인다.

[0139] "자가면역" 또는 "자가면역 질환 또는 병태"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 개체 자신의 조직 또는 공동 분리물로부터 발생하고 그에 대해 유발된 질환 또는 장애 또는 그의 소견 또는 그로부터 생성된 병태를 넓게 의미한다.

[0140] "키메릭 항체"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 항원 결합 부위 (가변 영역)가 상이한 또는 변형된 클래스, 이펙터 기능 및/또는 종의 불변 영역, 또는 키메릭 항체에 새로운 특성을 부여하는 완전히 상이한 분자, 예를 들어, 효소, 독소, 호르몬, 성장 인자, 약물이 연결되도록 불변 영역, 또는 그의 일부가 변형된, 교체된 또는 교환되고 가변 영역 또는 그의 일부가 상이한 또는 변형된 항원 특이성을 갖는 가변 영역으로 변형된, 교체된 또는 교환된 항체 분자를 넓게 의미한다.

[0141] "코딩 영역"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 아미노산 잔기로 변역되는 코돈을 포함하는 뉴클레오티드 서열의 영역을 넓게 의미하고, 용어 "비코딩 영역"은 아미노산으로 번역되지 않는 뉴클레오티드 서열의 영역 (예를 들어, 5' 및 3' 비번역 영역)을 의미한다.

[0142] "보존적으로 변형된 변이체"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 아미노산 및 핵산 서열에 적용되고, 특정 핵산 서열에 대해, 동일한 또는 본질적으로 동일한 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 또는 핵산이 아미노산 서열을 코딩하지 않는 경우에는 본질적으로 동일한 서열을 넓게 의미한다. 유전자 코드의 축퇴성 (degeneracy) 때문에, 다수의 기능상 동일한 핵산은 임의의 제시된 단백질을 코딩한다. 그러한 핵산 변이는 "침묵 (silent) 변이"이고, 이것은 보존적으로 변형된 변이의 일종이다. 본원에서 폴리펩티드를 코딩하는 모든 핵산 서열은 또한 핵산의 모든 가능한 침묵 변이를 설명한다. 당업자는 핵산 내의 각각의 코돈 (통상 메티오닌의 유일한 코돈인 AUG, 및 통상 트립토판의 유일한 코돈인 TGG 제외)은 기능적으로 동일한 분자를 생성하도록 변형될 수 있음을 알 것이다.

[0143] "상보성 결정 영역", "초가변 영역", 또는 "CDR"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 항체의 경쇄 또는 중쇄의 가변 영역에서 발견되는 하나 이상의 초가변 또는 상보성 결정 영역 (CDR)을 넓게 의미한다 (Kabat, et al. (1987) "Sequences of Proteins of Immunological Interest" National Institutes of Health, Bethesda, MD). 이들 표현은 문헌 [Kabat, et al. (1983) "Sequences of Proteins of Immunological Interest" U.S. Dept. of Health and Human Services]에 규정된 초가변 영역 또는 항체의 3차원 구조 내의 초가변 루프를 포함한다 (Chothia and Lesk (1987) J Mol. Biol. 196: 901-917). 각각의 사슬 내의 CDR은 프레임워크 영역에 의해 매우 근접하게 유지되고, 다른 사슬로부터의 CDR과 함께 항원 결합 부위의 형성에 기여한다. CDR 내에는 항체-항원 상호작용에서 CDR에 의해 사용되는 중요한 접촉 잔기를 나타내는 선택성 결정 영역 (SDR)으로서 설명된 선택된 아미노산이 존재한다 (Kashmiri (2005) Methods 36: 25-34).

[0144] 마커에 대해 본원에서 사용되는 바와 같이 "대조군 양"은 시험량의 마커에 대해 비교되는 임의의 양 또는 범위를 넓게 의미한다. 예를 들어, 마커의 대조군 양은 특정 질환 또는 병태가 있는 환자 또는 상기 질환 또는 병태가 없는 사람 내의 마커의 양일 수 있다. 대조군 양은 절대적인 양 (예를 들어, 마이크로그램/ml) 또는 상대적인 양 (예를 들어, 신호의 상대적인 강도)일 수 있다.

[0145] "진단"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 병리 상태의 존재 또는 특성의 확인을 넓게 의미한다. 진단 방법은 그의 감수성 및 특이성이 상이하다. 진단 검정의 "감수성"은 양성의 시험된 이환된 개체의 비율 ("진 양성 (true

positive)"의 비율)이다. 검정에 의해 검출되지 않은 이환된 개체는 "위 음성 (false negative)"이다. 이환되지 않고 검정에서 음성으로 시험된 대상체는 "진 음성"으로 명명된다. 진단 검정의 "특이성"은 1 - 위 양성 비율이고, 여기서 "위 양성" 비율은 양성으로 시험된 질환이 없는 대상체의 비율로서 규정된다. 특정 진단 방법이 병태의 명확한 진단을 제공하지 않을 수 있지만, 방법이 진단을 돕는 양성 징후를 제공하면 충분하다.

[0146] "진단하는"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 질환 또는 증상을 분류하고, 질환의 중증도를 결정하고, 질환 진행을 모니터링하고/하거나, 질환의 결과 및/또는 회복 가능성을 예측하는 것을 넓게 의미한다. 용어 "검출하는"은 또한 임의의 상기 내용을 임의로 포함할 수 있다. 본 발명에 따른 질환의 진단은 몇몇 실시양태에서 대상체로부터 얻은 생물학적 샘플에서 본 발명의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드의 수준을 결정함으로써 영향받을 수 있다, 여기서 결정된 수준은 질환에 대한 소인, 또는 질환의 존재 또는 부재와 연관성이 있을 수 있다. 또한, "대상체로부터 얻은 생물학적 샘플"은 대상체로부터 물리적으로 제거되지 않은 샘플을 임의로 포함할 수 있음을 주목하여야 한다.

[0147] "유효량"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 질환 치료를 위해 환자에게 투여될 때 상기 질환 치료를 달성하기에 충분한 화합물, 항체, 항원, 또는 세포의 양을 넓게 의미한다. 유효량은 예방에 유효한 양, 및/또는 억제에 유효한 양일 수 있다. 유효량은 징후/증상의 발생 방지, 징후/증상의 중증도 감소, 징후/증상의 발생 제거, 징후/증상의 발생 전개 지연, 징후/증상의 발생 전개 예방 및/또는 징후/증상의 발생 예방에 유효한 양일 수 있다. "유효량"은 질환 및 그의 중증도 및 치료되는 환자의 연령, 체중, 의료력, 감수성, 및 기존재하는 병태에 따라 상이할 수 있다. 용어 "유효량"은 본 발명의 목적을 위한 "치료 유효량"과 동의어이다.

[0148] "세포외 도메인"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 세포의 표면으로부터 연장되는 단백질의 부분을 넓게 의미한다.

[0149] "발현 벡터"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 시험관 내에서 또는 생체 내에서, 구성적으로 또는 유도가능하게, 원핵, 효모, 진균, 식물, 곤충 또는 포유동물 세포를 포함하는 임의의 세포에서 본 발명의 핵산 서열을 발현하기 위한 임의의 재조합 발현 시스템을 넓게 의미한다. 이 용어는 선형 또는 원형 발현 시스템을 포함한다. 이 용어는 에피좀 상태로 유지되거나 또는 숙주 세포 게놈 내로 통합된 발현 시스템을 포함한다. 발현 시스템은 자가복제하는 능력을 갖거나 갖지 않을 수 있고, 즉, 세포에서 일시적 발현만을 유도할 수 있다. 이 용어는 재조합 핵산의 전사에 필요한 최소 요소만을 함유하는 재조합 발현 카세트를 포함한다.

[0150] "Fc 수용체" (FcR)는 본원에서 사용되는 바와 같이, 이뮤노글로불린 분자 (Ig)의 Fc 부분에 대한 세포 표면 수용체를 넓게 의미한다. Fc 수용체는 면역 반응에 참여하는 많은 세포 상에서 발견된다. 지금까지 확인된 인간 FcR은 IgG (FcγR로 지정됨), IgE (FcεR1), IgA (FcαR), 및 중합된 IgM/A (FcμαR)을 인식하는 것이다. FcR은 다음 세포 종류에서 발견된다: FcεRI (비만 세포), FcεRII (많은 백혈구), FcαR (호중구), 및 FcμαR (선상피, 간세포) (Hogg (1988) Immunol. Today 9: 185-86). 널리 연구된 FcγR은 세포 면역 방어에서 핵심이고, 염증의 매개체 및 자가면역 질환의 발병기전에 관련되는 가수분해 효소의 방출의 자극을 담당한다 (Unkeless (1988) Annu. Rev. Immunol. 6: 251-87). FcγR은 이펙터 세포와 Ig를 분비하는 림프구 사이의 중요한 연결을 제공하고, 이것은 대식세포/단핵구, 다형핵 백혈구, 및 천연 킬러 (NK) 세포 FcγR이 IgG에 의해 매개되는 특이적 인식의 요소를 제공하기 때문이다. 인간 백혈구는 다음과 같은, IgG에 대한 적어도 3개의 상이한 수용체를 갖는다: hFcγRI (단핵구/대식세포 상에서 발견), hFcγRII (단핵구, 호중구, 호산구, 혈소판, 가능하게는 B 세포, 및 K562 세포주 상의), 및 FcγRIII (NK 세포, 호중구, 호산구, 및 대식세포 상의).

[0151] T 세포에 대해, 동시자극 신호의 T 세포로의 전달은 시클로스포린 A에 의해 억제되지 않는 신호전달 경로를 수반한다. 추가로, 동시자극 신호는 T 세포에서 시토카인 (예를 들어, IL-2 및/또는 IL-10) 분비를 유도할 수 있고/있거나, 항원에 대한 비반응성의 유도, 무반응의 유도, 또는 T 세포에서 세포 사멸의 유도를 방지할 수 있다.

[0152] "프레임워크 영역" 또는 "FR"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 항체의 경쇄 및 중쇄의 가변 영역 내의 하나 이상의 프레임워크 영역을 넓게 의미한다 ([Kabat, et al. (1987) "Sequences of Proteins of Immunological Interest" National Institutes of Health, Bethesda, MD] 참조). 이들 표현은 항체의 경쇄 및 중쇄의 가변 영역 내의 CDR 사이에 개재된 아미노산 서열 영역을 포함한다.

[0153] "이종성"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 자연에서 서로 동일한 관계로 발견되지 않는 2 이상의 하위서열을 포함하는 핵산의 일부를 넓게 의미한다. 예를 들어, 새로운 기능적 핵산을 만들기 위해 배열된 비관련된 유전자로부터의 2 이상 서열 (예를 들어, 하나의 공급원으로부터의 프로모터 및 또다른 공급원으로부터의 코딩 영역)

을 갖는 핵산은 일반적으로 재조합 방식으로 생산된다. 이와 유사하게, 이종성 단백질은 단백질이 자연에서 서로 동일한 관계로 발견되지 않는 2 이상의 하위서열 (예를 들어, 융합 단백질)을 포함함을 나타낸다.

[0154] "고 친화도"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 표적 항원에 대한 KD가 적어도 10^{-8} M, 보다 바람직하게는 적어도 10^{-9} M, 훨씬 더 바람직하게는 적어도 10^{-10} M인 항체를 넓게 의미한다. 그러나, "고 친화도" 결합은 다른 항체 이소형에 대해 상이할 수 있다. 예를 들어, IgM 이소형에 대한 "고 친화도" 결합은 KD가 적어도 10^{-7} M, 보다 바람직하게는 적어도 10^{-8} M인 항체를 의미한다.

[0155] "상동성"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 핵산 서열과 참조 핵산 서열 사이 또는 폴리펩티드 서열과 참조 폴리펩티드 서열 사이의 유사성의 정도를 넓게 의미한다. 상동성은 부분적이거나 완전할 수 있다. 완전한 상동성은 핵산 또는 아미노산 서열이 동일함을 나타낸다. 부분적으로 상동성인 핵산 또는 아미노산 서열은 참조 핵산 또는 아미노산 서열과 동일하지 않은 것이다. 상동성의 정도는 서열 비교에 의해 결정될 수 있다. 용어 "서열 동일성"은 "상동성"과 교환가능하게 사용될 수 있다.

[0156] "숙주 세포"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 본 발명의 핵산 분자, 예컨대 본 발명의 재조합 발현 벡터가 도입된 세포를 넓게 의미한다. 숙주 세포는 원핵 세포, 예컨대 이. 콜라이 (*E. coli*), 또는 진핵 세포, 예컨대 효모, 곤충 (예를 들어, SF9), 양서류, 또는 포유동물 세포, 예컨대 CHO, HeLa, HEK-293, 예를 들어, 배양된 세포, 체외이식편, 및 생체내 세포일 수 있다. 용어 "숙주 세포" 및 "재조합 숙주 세포"는 본원에서 교환가능하게 사용된다. 상기 용어는 특정 대상체 세포뿐만 아니라 상기 세포의 자손체 또는 잠재적인 자손체도 의미함이 이해되어야 한다. 특정 변형이 돌연변이 또는 환경적 영향 때문에 후속 세대에서 발생할 수 있기 때문에, 상기 자손체는 사실상 모 세포와 동일하지 않을 수 있지만 본원에서 사용되는 용어의 범위에 계속 포함된다.

[0157] "인간화 항체"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 인간 세포에 의해 제조된 항체에 대해 보다 밀접하게 유사하도록 변형된 가변 및 불변 영역을 갖는, 비-인간 세포에 의해 제조된 항체를 포함하도록 넓게 의미한다 (예를 들어, 비-인간 항체 아미노산 서열을 인간 생식계열 (germline) 이뮤노글로불린 서열에서 발견되는 아미노산을 포함하도록 변경함으로써). 본 발명의 인간화 항체는 예를 들어 CDR에서 인간 생식계열 이뮤노글로불린 서열에 의해 코딩되지 않는 아미노산 잔기 (예를 들어, 시험관 내 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이 유발 또는 생체내 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를 포함할 수 있다. 용어 "인간화 항체"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 또다른 포유동물 종, 예컨대 마우스의 생식계열로부터 유래된 CDR 서열이 인간 프레임워크 서열 상에 그라프팅된 항체를 또한 포함한다.

[0158] "혼성화"는 본원에서 사용되는 바와 같이 가닥들이 서로 역평행으로 배열될 때 상보성 뉴클레오티드 사이의 수소 결합의 형성에 의한 상보성 (부분적 상보성 포함) 폴리뉴클레오티드 가닥의 물리적 상호작용을 넓게 의미한다.

[0159] "면역 세포"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 조혈 기원의 세포이고 면역 반응에서 기능을 수행하는 세포를 넓게 의미한다. 면역 세포는 림프구, 예컨대 B 세포 및 T 세포; 천연 킬러 세포; 및 골수 세포, 예컨대 단핵구, 대식세포, 호산구, 비만 세포, 호염기구, 및 과립구를 포함한다.

[0160] "면역검정"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 항원에 특이적으로 결합하는 항체를 사용하는 검정을 넓게 의미한다. 면역검정은 항원의 단리, 표적화, 및/또는 정량을 위한 특정 항체의 특이적 결합 특성의 사용을 특징으로 할 수 있다.

[0161] "면역 반응"은 본원에서 사용되는 바와 같이, T 세포 동시자극의 조절에 의해 영향을 받는 T 세포-매개 및/또는 B 세포-매개 면역 반응을 넓게 의미한다. 예시적인 면역 반응은 B 세포 반응 (예를 들어, 항체 생산), T 세포 반응 (예를 들어, 시토카인 생산, 및 세포 세포독성) 및 시토카인 반응성 세포, 예를 들어, 대식세포의 활성화를 포함한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 면역 반응에 대한 용어 "하향조절"은 임의의 하나 이상의 면역 반응의 감소를 포함하고, 면역 반응에 대한 용어 "상향조절"은 임의의 하나 이상의 면역 반응의 증가를 포함한다. 한 종류의 면역 반응의 상향조절은 또다른 종류의 면역 반응의 상응하는 하향조절을 야기할 수 있음이 이해될 것이다. 예를 들어, 특정 시토카인 (예를 들어, IL-10)의 생산의 상향조절은 세포 면역 반응의 하향조절을 유도할 수 있다.

[0162] "염증성 병태 또는 염증성 질환"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 만성 또는 급성 염증성 질환을 넓게 의미한다.

[0163] "단리된"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 천연적으로 생성되는 그의 본래의 환경으로부터 제거되고 따라서 그의 천연 환경으로부터 인간에 의해 변형된 물질을 넓게 의미한다. 단리된 물질은 당업계에 잘 공지된 표준 기술을 사용하여 다른 세포 성분 또는 다른 오염물질, 예를 들어, 다른 세포 핵산 또는 단백질이 실질적으로 존재하지 않도록 정제될 수 있다. 단리된 물질은 예를 들어 벡터 시스템에 포함된 외인성 핵산, 숙주 세포 내에 포함된 외인성 핵산, 또는 그의 본래 환경으로부터 제거되고 사람에 의해 변형된 임의의 물질 (예를 들어, "단리된 항체")일 수 있다. 예를 들어, "단리된" 또는 "정제된"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 생물학적 물질이 유래되는 세포 또는 조직 공급원으로부터의 세포 물질 또는 다른 오염 단백질이 실질적으로 존재하지 않거나, 또는 화학적으로 합성될 때 화학적 전구체 또는 다른 화학물질이 실질적으로 존재하지 않는 단백질, DNA, 항체, RNA, 또는 그의 생물학적 활성 부분을 넓게 의미한다. 용어 "세포 물질이 실질적으로 존재하지 않는"은 단백질이 그가 단리되는 세포의 세포 성분으로부터 분리되거나 재조합 방식으로 생산되는, KIR2DL1, 2 및/또는 3 단백질의 제제를 포함한다.

[0164] "K-assoc" 또는 "Ka"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 특정 항체-항원 상호작용의 회합 속도를 넓게 의미하고, 용어 "Kdiss" 또는 "Kd"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 특정 항체-항원 상호작용의 해리 속도를 의미한다. 용어 "KD"는 본원에서 사용되는 바와 같이, Kd 대 Ka (즉, Kd/Ka)로부터 얻고 몰 농도 (M)로 표현되는 해리 상수를 나타내는 것이 의도된다. 항체의 KD 값은 당업계에 잘 확립된 방법을 이용하여 결정될 수 있다.

[0165] "표지" 또는 "검출가능한 모이어티"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 분광, 광화학, 생화학, 면역화학, 화학, 또는 다른 물리적 수단에 의해 검출가능한 조성물을 넓게 의미한다.

[0166] "저 엄격성", "중간 엄격성", "고 엄격성", 또는 "초고 엄격성 조건"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 핵산 혼성화 및 세척 조건을 넓게 의미한다. 혼성화 반응의 수행을 위한 지침은 문헌 [Ausubel, et al. (2002) Short Protocols in Molecular Biology (5^{th} Ed.) John Wiley & Sons, NY]에서 볼 수 있다. 예시적인 구체적인 혼성화 조건은 다음을 포함하고 이로 제한되지 않는다: (1) 저 엄격성 혼성화 조건: 약 45℃에서 6X 염화나트륨/시트르산나트륨 (SSC), 이어서 적어도 50℃에서 0.2XSSC, 0.1% SDS로 2회 세척 (세척액의 온도는 저 엄격성 조건을 위해 55℃로 올릴 수 있다); (2) 중간 엄격성 혼성화 조건: 약 45℃에서 6XSSC, 이어서 60℃에서 0.2XSSC, 0.1% SDS로 1회 이상의 세척; (3) 고 엄격성 혼성화 조건: 약 45℃에서 6XSSC, 이어서 65℃에서 0.2XSSC, 0.1% SDS로 1회 이상의 세척; 및 (4) 초고 엄격성 혼성화 조건: 65℃에서 0.5M 인산나트륨, 7% SDS, 이어서 65℃에서 0.2XSSC, 1% SDS로 1회 이상의 세척.

[0167] "포유동물"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 피부의 체모, 암컷에서 새끼에게 영양분을 공급하기 위한 젖 생성 유선을 특징으로 하는, 인간을 포함하는 포유류의 임의의 모든 온혈 척추 동물을 넓게 의미한다. 포유동물의 예는 알파카, 아르마딜로, 카피바라, 고양이, 낙타, 침팬지, 친칠라, 소, 개, 염소, 고릴라, 햄스터, 말, 인간, 여우원숭이, 라마, 마우스, 비-인간 영장류, 돼지, 래트, 양, 뒤쥐 (shrew), 다람쥐, 및 맥을 포함하고 이로 제한되지 않는다. 포유동물은 소, 개, 말, 고양이, 뮤린, 양, 돼지, 영장류, 및 설치류 종을 포함하고 이로 제한되지 않는다. 포유동물은 또한 미국 워싱턴 디씨의 스미스소니언 국립 자연사 박물관 (National Museum of Natural History, Smithsonian Institution)에 의해 유지되는 세계의 포유동물 종 (Species of the World)에 제시된 임의의 모든 동물을 포함한다.

[0168] "천연 생성 핵산 분자"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 자연에서 생성되는 뉴클레오티드 서열 (예를 들어, 천연 단백질을 코딩하는)을 갖는 RNA 또는 DNA 분자를 넓게 의미한다.

[0169] "핵산" 또는 "핵산 서열"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 단일 가닥 또는 이중 가닥 형태의 데옥시-리보뉴클레오티드 또는 리보뉴클레오티드 올리고뉴클레오티드를 넓게 의미한다. 이 용어는 천연 뉴클레오티드의 공지의 유사체를 포함하는 핵산, 즉, 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 이 용어는 또한 합성 백본을 갖는 핵산-유사 구조를 포함한다. 달리 지시하지 않으면, 특정 핵산 서열은 또한 보존적으로 변형된 그의 변이체 (예를 들어, 축퇴성 코돈 치환) 및 상보성 서열, 및 명백하게 나타낸 서열을 함축적으로 포함한다. 용어 핵산은 유전자, cDNA, mRNA, 올리고뉴클레오티드, 및 폴리뉴클레오티드와 교환가능하게 사용된다.

[0170] "작동가능하게 연결된"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 2개의 DNA 단편에 의해 코딩되는 아미노산 서열이 인-프레임 (in-frame)으로 유지되도록 2개의 DNA 단편이 연결되는 경우를 넓게 의미한다.

[0171] "파라토프 (paratope)"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 항원 (예를 들어, 항체의 항원-결합 부위)을 인식하는 항체의 일부를 넓게 의미한다. 파라토프는 항체의 Fv 영역의 작은 영역 (예를 들어, 15-22 아미노산)일 수 있고, 항체의 중쇄 및 경쇄의 일부를 포함할 수 있다 (문헌 [Goldsby, et al. Antigens (Chapter 3) Immunology

(5th Ed.) New York: W.H. Freeman and Company, pages 57-75] 참조).

[0172] "환자"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 질환 상태를 완화하거나 또는 질환 상태의 발생 또는 재발을 방지하기 위해 치료를 필요로 하는 임의의 동물을 넓게 의미한다. 또한, "환자"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 질환의 위험 인자, 질환력, 감수성, 징후, 증상을 갖거나, 이전에 그 질환으로 진단되었거나, 질환의 위험이 있거나, 또는 질환에 대한 환자 집단의 구성원인 임의의 동물을 넓게 의미한다. 환자는 임상 환자, 예컨대 인간 또는 수의 환자, 예컨대 반려, 사육, 가축, 외래종, 또는 동물원 동물일 수 있다. 용어 "대상체"는 용어 "환자"와 교환가능하게 사용될 수 있다.

[0173] "폴리펩티드", "펩티드" 및 "단백질"은 교환가능하게 사용되고, 아미노산 잔기의 중합체를 넓게 의미한다. 이 용어는 하나 이상의 아미노산 잔기가 상응하는 천연 생성 아미노산의 유사체 또는 모방체인 아미노산 중합체, 및 천연 생성 아미노산 중합체에 적용된다. 이 용어는 하나 이상의 아미노산 잔기가 상응하는 천연 생성 아미노산의 인공 화학적 모방체인 아미노산 중합체, 및 천연 생성 아미노산 중합체 및 비-천연 생성 아미노산 중합체에 적용된다. 폴리펩티드는 예를 들어 탄수화물 잔기의 부가를 통한 당단백질 형성에 의해 변형될 수 있다. 용어 "폴리펩티드", "펩티드" 및 "단백질"은 당단백질, 및 비-당단백질을 포함한다.

[0174] "프로모터"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 핵산의 전사를 유도하는 핵산 서열의 어레이를 넓게 의미한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 프로모터는 전사 개시 부위 근처에 필요한 핵산 서열, 예컨대, 중합효소 제II형 프로모터의 경우에 TATA 요소를 포함한다. 프로모터는 또한 임의로 전사 개시 부위로부터 수천 염기쌍만큼 멀리 위치할 수 있는 먼 인핸서 또는 리프레서 요소를 포함한다. "구성적" 프로모터는 대부분의 환경 및 발생 조건 하에서 활성을 갖는 프로모터이다. "유도가능한" 프로모터는 환경적 또는 발생적 조절 하에서 활성을 갖는 프로모터이다.

[0175] "예방 유효량"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 질환의 예방 또는 질환 재발의 억제를 위해 환자에게 투여될 때 상기 질환 또는 재발의 예방을 달성하기에 충분한 화합물의 양을 넓게 의미한다. 예방 유효량은 징후 및/또는 증상의 발생을 예방하기 위해 유효한 양일 수 있다. "예방 유효량"은 질환 및 그의 중증도 및 치료되는 환자의 연령, 체중, 의료력, 병태에 대한 소인, 기존 병태에 따라 상이할 수 있다.

[0176] "예방"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 징후 및/또는 증상이 환자에 존재하지 않거나, 완화되거나, 또는 환자에 이전에 존재하지 않은 요법의 경과를 넓게 의미한다. 예방은 환자에서 질환의 치료 후에 발생하는 질환의 예방을 포함한다. 추가로, 예방은 잠재적으로 질환이 발생할 수 있는 환자, 특히 질환에 감수성인 환자 (예를 들어, 환자 집단의 구성원, 질환의 위험 인자를 갖거나 위험이 있는 환자)의 처리를 포함한다.

[0177] "재조합"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 생성물, 예를 들어 세포, 또는 핵산, 단백질, 또는 벡터에 대해, 세포, 핵산, 단백질 또는 벡터가 이종성 핵산 또는 단백질의 도입 또는 천연 핵산 또는 단백질의 변경에 의해 변형되었거나, 또는 이와 같이 변형된 세포로부터 세포가 유래됨을 넓게 의미한다. 따라서, 예를 들어, 재조합 세포는 천연 (비-재조합) 형태의 세포에서 발견되지 않는 유전자를 발현하거나 또는 달리 비정상적으로 발현되거나 과소 발현되거나 전혀 발현되지 않는 천연 유전자를 발현한다.

[0178] 항체에 "특이적으로 (또는 선택적으로) 결합하다" 또는 "특이적으로 (또는 선택적으로) 면역반응성인", 또는 "특이적으로 상호작용하거나 결합하다"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 단백질 또는 펩티드 (또는 다른 에피토프)에 대해서, 몇몇 실시양태에서 단백질 및 다른 생물학적 물질의 불균일한 집단 내의 단백질의 존재를 결정하는 결합 반응을 넓게 의미한다. 예를 들어, 지정된 면역검정 조건 하에서, 특정된 항체는 배경 (비-특이적 신호)보다 적어도 2배 더 크게 특정 단백질에 결합하고, 샘플에 존재하는 다른 단백질에 유의한 양으로 실질적으로 결합하지 않는다. 일반적으로, 특이적 또는 선택적 반응은 배경 신호 또는 노이즈 (noise)의 적어도 2배, 보다 일반적으로는 배경의 약 10 내지 100배 초과일 것이다.

[0179] "특이적으로 혼성화가능한" 및 "상보성"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 핵산이 전통적인 왓슨-크릭 (Watson-Crick) 또는 다른 비-전통적인 종류에 의해 또다른 핵산 서열과 수소 결합(들)을 형성할 수 있음을 넓게 의미한다. 핵산 분자와 그의 상보성 서열의 결합 자유 에너지는 핵산의 관련된 기능, 예를 들어, RNAi 활성이 나타나도록 하기에 충분하다. 핵산 분자의 결합 자유 에너지는 당업계에 잘 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Turner, et al. (1987) CSH Symp. Quant. Biol. LII: 123-33]; [Frier, et al. (1986) PNAS 83: 9373-77]; [Turner, et al. (1987) J. Am. Chem. Soc. 109: 3783-85]을 참조한다. 상보성 비율은 제2 핵산 서열과 수소 결합 (예를 들어, 왓슨-크릭 염기 쌍형성)을 형성할 수 있는 핵산 분자 내의 인접하는 잔기의 비율을 나타낸다 (예를 들어, 10개 중 약 적어도 5, 6, 7, 8, 9, 10개는 약 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 및 100%

상보성임). "완벽하게 상보성인" 또는 100% 상보성은 핵산 서열의 모든 인접하는 잔기가 제2 핵산 서열 내의 동일한 수의 인접하는 잔기와 수소 결합하함을 넓게 의미한다. "실질적인 상보성"은 비상보성이 되도록 선택된 폴리뉴클레오티드 가닥의 영역, 예컨대 오버행 (overhang)을 제외하고 약 적어도 90% 상보성을 보이는 폴리뉴클레오티드 가닥을 의미한다. 특이적인 결합은 특이적 결합이 요구되는 조건 하에, 즉, 생체내 검정 또는 치료적 처치의 경우에 생리학적 조건 하에, 또는 시험관내 검정의 경우에 검정이 수행되는 조건 하에 올리고머 화합물의 비-표적 서열에 대한 비-특이적 결합을 방지하기 위해 충분한 정도의 상보성을 필요로 한다. 비-표적 서열은 일반적으로 적어도 5개의 뉴클레오티드가 상이할 수 있다.

[0180] 질환의 "징후"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 질환의 주관적인 표시인 증상에 대조적으로, 환자 검사시에 발견가능한, 질환을 나타내는 임의의 비정상; 즉 질환의 객관적인 표시를 넓게 의미한다.

[0181] "고체 지지체", "지지체", 및 "기재"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 또다른 물질이 그를 사용하여 부착될 수 있는 고체 또는 반-고체 구조를 제공하는 임의의 물질을 넓게 의미하고, 평탄 지지체 (예를 들어, 금속, 유리, 플라스틱, 실리콘, 및 세라믹 표면) 및 특정 질감이 나게 만든 (textured) 및 다공성 물질을 포함하고 이로 제한되지 않는다.

[0182] "대상체"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 본 발명에 따른 치료에 적합한, 조류 및 포유동물 대상체를 포함하고 이로 제한되지 않는 임의의 대상을 넓게 의미하고, 바람직하게는 포유동물이다. 본 발명의 포유동물은 개, 고양이, 소, 염소, 말, 양, 돼지, 설치류 (예를 들어, 래트 및 마우스), 토끼목 동물, 영장류, 인간을 포함하고 이로 제한되지 않는다. 본 발명에 따른 치료가 필요한 임의의 포유동물 대상체가 적합하다. 두 성별 및 임의의 발달기 (즉, 신생아, 유아, 소아, 청소년, 성인)의 인간 대상체가 본 발명에 따라 치료될 수 있다. 본 발명은 또한 동물 대상체, 특히 포유동물 대상체, 예컨대 마우스, 래트, 개, 고양이, 소, 염소, 양, 및 말에 대해 수의 목적으로, 및 약물 스크리닝 및 약물 개발 목적으로 수행될 수 있다. "대상체"는 "환자"와 교환가능하게 사용된다.

[0183] 질환의 "증상"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 환자에 의해 경험되고 질환을 나타내는, 임의의 병적인 현상 또는 정상 구조, 기능, 또는 감각으로부터의 이탈을 넓게 의미한다.

[0184] "T 세포"는 본원에서 사용되는 바와 같이, CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포를 넓게 의미한다. 용어 T 세포는 또한 T 헬퍼 1 타입 T 세포 및 T 헬퍼 2 타입 T 세포 둘 모두를 포함한다.

[0185] "요법", "처치", "치료하는", 또는 "치료"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 질환의 치료, 질환 또는 그의 임상 증상의 발생의 정지 또는 감소, 및/또는 질환의 구제, 질환 또는 그의 임상 증상의 퇴행의 유도를 넓게 의미한다. 요법은 질환, 질환의 징후, 및/또는 증상의 예방, 치료, 개선, 감소, 완화, 및/또는 구제 제공을 포함한다. 요법은 진행 중의 질환 징후 및/또는 증상 (예를 들어, 염증, 통증)이 있는 환자에서 징후 및/또는 증상의 완화를 포함한다. 요법은 또한 "예방"을 포함한다. 요법을 위해 용어 "감소된"은 징후 및/또는 증상의 임상적으로 유의한 감소를 넓게 의미한다. 요법은 재발 또는 재발되는 징후 및/또는 증상 (예를 들어, 염증, 통증)의 치료를 포함한다. 요법은 어느 시기에서든 징후 및/또는 증상의 발생 방지 및 존재하는 징후 및/또는 증상의 감소 및 존재하는 징후 및/또는 증상의 감소 또는 제거를 포함하고 이로 제한되지 않는다. 요법은 만성 질환 ("유지") 및 급성 질환의 치료를 포함한다. 예를 들어, 치료는 징후 및/또는 증상 (예를 들어, 염증, 통증)의 재발 또는 반복의 치료 또는 예방을 포함한다.

[0186] "가변 영역" 또는 "VR"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 항원에 대한 항체의 결합시에 직접 관여하는 항체 내의 경쇄 및 중쇄의 각각의 쌍 내의 도메인을 넓게 의미한다. 각각의 중쇄는 한 말단에 가변 도메인 (V_H), 이어서 많은 불변 도메인을 갖는다. 각각의 경쇄는 한 말단에 가변 도메인 (V_L) 및 그의 다른 말단에 불변 도메인을 갖고; 경쇄의 불변 도메인은 중쇄의 제1 불변 도메인과 정렬되고, 경쇄 가변 도메인은 중쇄의 가변 도메인과 정렬된다.

[0187] "벡터"는 본원에서 사용되는 바와 같이, 그에 연결된 또다른 핵산 분자를 수송할 수 있는 핵산 분자를 넓게 의미한다. 한 종류의 벡터는 "플라스미드"이고, 이것은 추가의 DNA 절편이 라이게이션될 수 있는 환상 이중 가닥 DNA 루프를 의미한다. 또다른 종류의 벡터는 바이러스 벡터이고, 여기서 추가의 DNA 절편은 바이러스 게놈 내에 라이게이션될 수 있다. 특정 벡터는 이들이 도입되는 숙주 세포에서 자가 복제가 가능하다 (예를 들어, 세균 복제 기점을 갖는 세균 벡터 및 에피좀 포유동물 벡터). 다른 벡터 (예를 들어, 비-에피좀 포유동물 벡터)는 숙주 세포 내로 도입시에 숙주 세포의 게놈 내로 통합되고, 이에 의해 숙주 게놈과 함께 복제된다. 또한, 특정 벡터는 작동가능하게 연결된 유전자의 발현을 지시할 수 있다. 그러한 벡터는 본원에서 "재조합 발현 벡

터" 또는 간단히 "발현 벡터"로 언급된다. 일반적으로, 재조합 DNA 기술에서 유용한 발현 벡터는 종종 플라스미드의 형태이다. 본원 명세서에서, "플라스미드" 및 "벡터"는 교환가능하게 사용될 수 있고, 그 이유는 플라스미드가 가장 흔하게 사용되는 형태의 벡터이기 때문이다. 그러나, 본 발명은 동등한 기능을 하는 다른 형태의 상기 발현 벡터, 예컨대 바이러스 벡터 (예를 들어, 복제 결함 레트로바이러스, 아데노바이러스 및 아데노-연관 바이러스)를 포함하고자 의도된다. 기술 및 절차는 일반적으로 당업계에 공지되고 본원 명세서 전체에 걸쳐서 언급되고 논의된 다양한 일반적이고 보다 구체적인 참고문헌에서 설명된 통상적인 방법에 따라 수행된다. 예를 들어, 문헌 [Sambrook, et al. (2001) Molec. Cloning: Lab. Manual [3rd Ed] Cold Spring Harbor Laboratory Press]을 참조한다. 표준 기술이 재조합 DNA, 올리고뉴클레오티드 합성, 및 조직 배양, 및 형질전환을 위해 사용될 수 있다 (예를 들어, 전기천공, 리포펙션 (lipofection)). 효소 반응 및 정제 기술은 제조자의 설명서에 따라 또는 당업계에서 통상 수행되거나 또는 본원에 설명된 바와 같이 수행될 수 있다. 본원에 설명된 분석 화학, 합성 유기 화학, 및 의약 및 제약 화학과 연관하여 사용되는 명명법 및 실험 절차 및 기술은 당업계에 공지되고 통상 사용되는 것이다. 표준 기술은 화학적 합성, 화학 분석, 제약 제제, 제제화, 및 전달, 및 환자의 치료를 위해 이용될 수 있다.

[0188] **NK 세포 억제성 수용체 KIR2DL1, 2, 및 3**

[0189] KIR은 몇몇의 T 세포 및 대부분의 인간 NK 세포에 의해 발현되는 1 내지 3개의 세포외 이뮤노글로불린-유사 도메인을 포함하는 세포 표면 당단백질이다. 많은 KIR의 특성이 잘 확립되었다 (예를 들어, 문헌 [Carrington and Norman, The KIR Gene Cluster, May 28, 2003] 참조 (National Center for Biotechnology Information (NCBI) 웹사이트로부터 이용가능함)). 인간 KIR은 KIR2DL 및 KIR3DL을 포함한다 (KIR은 또한 다양한 다른 명칭, 예컨대 CD158e1, CD158k, CD158z, p58 KIR CD158e1 (p70), CD244로 언급될 수 있다) (예를 들어, 각각 그 전부가 본원에 참고로 포함된 미국 특허 출원 공개 2004/0038894, 문헌 [Radaev et al., Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct., 32:93-114 (2003)], [Cerweknka et al., Nat. Rev. Immunol. 1:41-49 (2001)]; [Farag et al., Expert Opin. Biol. Ther., 3(2):237-250 (2003)]; [Biassoni et al., J. Cell. Mol. Med., 7(4):376-387 (2003)]; 및 [Warren et al., British J. Haematology, 121:793-804 (2003)] 참조). 많은 KIR의 구조가 규명되었고, 이들 단백질 사이의 현저한 구조적 유사성이 밝혀졌다. 예를 들어, 문헌 [Radaev et al., 상기 문헌]을 참조한다.

[0190] KIR은 구조적으로 및 기능적으로 분류될 수 있다. 예를 들어, 대부분의 KIR은 2개의 Ig 도메인 (58 kDa KIR2D KIR)을 갖지만, 다른 것들은 3개의 Ig 도메인 (70 kDa KIR3D KIR) (때때로 각각 p58 및 p70 분자로서 칭함)을 갖는다. KIR은 또한 세포질 꼬리 길이가 상이하다. 일반적으로, 비교적 긴 세포질 꼬리 (L)를 갖는 KIR은 억제 신호를 전달하는 반면, 짧은 세포질 꼬리 (S)를 갖는 KIR은 NK 또는 T 세포 반응을 활성화할 수 있다. KIR에 대한 명명법은 따라서 세포외 도메인 (KIR2D 또는 KIR3D)의 수 및 세포질 꼬리가 길고 (KIR2DL 또는 KIR3DL) 또는 짧음 (KIR2DS 또는 KIR3DS)을 기초로 할 수 있다. KIR에 대한 추가의 명명법 정보는 본 발명의 다음 상세한 설명에서 제공한다. "KIR 패밀리"의 일부 구성원은 NKCAR, 또는 보다 특히 "KAR" (예를 들어, KIR2DS2 및 KIR2DS4)이고; 이들은 일반적으로 면역자극성 모티프 (ITAM)를 갖는 어댑터 (adapter) 분자 (예를 들어, DAP12)와 결합하는 하나 이상의 전하를 띈 막횡단 잔기 (예를 들어, Lys)를 포함한다. 억제성 KIR의 세포질내 부분은 일반적으로 포스파타제를 동원하는 하나 이상의 ITIM을 포함한다. 억제성 KIR은 HLA 분자의 알파1/알파2 도메인에 결합한다. 억제성 KIR은 일반적으로 활성을 위해 어댑터-분자 결합을 필요로 하는 것으로 보이지 않는다. 달리 언급하지 않으면, "KIR", "KIR들" 등과 같은 용어는 "KIR 패밀리"의 KIR2DL1, 2 및/또는 3 구성원을 의미하고, "KAR", "KAR들" 등과 같은 용어는 "KIR 패밀리"의 NKCAR 구성원을 의미한다.

[0191] KIR은 MHC-I 분자 (예를 들어, 특정 HLA 클래스 I 동종이형)에 결합하여, 일반적으로 상쇄하는 음성 신호를 전달할 수 있고, NK 세포에 대한 자극성 활성화 신호(들)을 무효화함으로써, NK 세포가 관련된 잠재적인 표적 세포를 치사시키는 것을 방지할 수 있다 (분명히 PTK (예를 들어, Syk, TcR 및/또는 ZAP70) 탈인산화 및/또는 LAT/PLC 복합체 형성 억제 및 연관된 ITAM 케스케이드(들)의 붕괴를 야기하는 ITIM 인산화 및 티로신 포스파타제 (예를 들어, SH2-도메인 함유 단백질 티로신 포스파타제, 예컨대 SHP-1 및 SHP-2) 동원을 통한). 바이러스는 종종 감염시키는 세포에서 클래스 I MHC 발현을 억제하므로, 상기 바이러스-감염 세포는 NK 세포에 의한 사멸에 취약하게 된다. 암세포도 종종 클래스 I MHC 발현이 감소되거나 전혀 이를 발현하지 않기 때문에, 이들 세포도 NK 세포에 의한 사멸에 취약하게 될 수 있다. 감염된 세포는 또한 당화의 측면에서 MHC에 결합된 단백질을 변경할 수 있다. 변경이 발생하면, 세포가 발현하는 MHC-I:단백질 복합체는 변형될 것이다. NK-결합 KIR이 이들 "외래" 복합체에 결합할 수 없으면, 억제 신호가 생성될 수 없고, 용해가 진행될 것이다.

[0192] 모든 확인된 억제성 KIR은 KIR 아형에 따라 HLA/MHC 항원의 상이한 하위세트와 상호작용하는 것으로 보인다. 인간에서, 2개의 Ig 도메인 (KIR2D)을 갖는 KIR은 HLA-C 동종이형을 인식하고; KIR2DL2 (이전에 p58.2로 명명됨) 및 밀접하게 관련된 유전자 생성물 KIR2DL3 둘 모두는 그룹 1 HLA-C 동종이형 (Cw1, 3, 7, 및 8)에 의해 공유되는 에피토프를 인식하는 반면, KIR2DL1 (p58.1)은 상반된 (reciprocal) 그룹 2 HLA-C 동종이형 (Cw2, 4, 5, 및 6)에 의해 공유되는 에피토프를 인식한다. KIR2DL1의 특이성은 그룹 2 HLA-C 대립유전자의 위치 80에서의 Lys 잔기의 존재에 의해 좌우되는 것으로 보인다. KIR2DL2 및 KIR2DL3 인식은 위치 80에서의 Asn 잔기의 존재에 의해 좌우되는 것으로 보인다. 실질적으로 대다수의 HLA-C 대립유전자는 위치 80에 Asn 또는 Lys 잔기를 갖는다. 3개의 Ig 도메인을 갖는 KIR인 KIR3DL1 (p70)은 HLA-Bw4 대립유전자에 의해 공유되는 에피토프를 인식한다. 마지막으로, 3개의 Ig 도메인을 갖는 분자의 동종이량체인 KIR3DL2 (p140)는 HLA-A3 및 -A11을 인식한다.

[0193] 어느 한 종류 (활성화 또는 억제성)의 개개의 MHC-I-특이적 NK 세포 수용체는 일반적으로 모든 MHC 클래스 I 분자와 상호작용하는 것은 아니지만, 특정 동종이형 (단일 유전자좌의 상이한 변이체에 의해 코딩되는 단백질)에 특이적으로 결합한다. 또한, 개별 NK 세포는 서로 독립적으로 기능하는 몇몇의 상이한 억제성 및/또는 활성화 수용체를 발현할 수 있다. 예를 들어, 인간에서 제시된 KIR의 존재 또는 부재는 단일 개체 내의 한 NK 세포로부터 또다른 세포에 이르기까지 상이할 수 있다. 또한, 인간에서 KIR의 비교적 높은 수준의 다형성이 존재하고, 특정 KIR 분자는 모든 개체가 아니라 일부에 존재한다. KIR 및 다른 MHC-인식 억제성 수용체는 NK 세포에 의해 동시에 발현될 수 있지만, 임의의 제시된 개체의 NK 레퍼토리에는 일반적으로 단일 KIR을 발현하는 세포가 존재하고; 따라서, 상기 후자의 종류의 NK 세포에서 상응하는 NK 세포 활성은 특이적인 MHC-I 대립유전자 군을 발현하는 세포에 의해서만 억제된다. 사실상, 집단 내의 KIR 유전자형 다양성의 정도에 대한 최근의 추정치는 <0.24%의 비관련된 개체가 동일한 유전자형을 갖는 것으로 예상할 수 있음을 제시한다. 가장 흔한 백인 (Caucasian) 일배체형인 "A" 일배체형 (빈도: ~47-59%)은 단지 하나의 활성화 KIR 유전자 (KIR2DS4) 및 6개의 억제성 KIR 유전자좌 (KIR3DL3, -2DL3, -2DL1, -2DL4, -3DL1, 및 -3DL2)를 함유한다. 나머지 "B" 일배체형은 매우 다양하고, 2-5개의 활성화 KIR 유전자좌 (KIR2DS1, -2DS2, -2DS3, 및 -2DS5 포함)를 함유한다.

[0194] KIR은 표 1 및 표 2에서 제시되는 바와 같이 몇몇 통칭에 의해 알려져 있음을 유의하여야 한다:

표 1

KIR 명명법

KIR	전체 명칭	통칭	등록 ID	서열 번호
KIR2DL1	킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체, 2개의 도메인, 긴 세포질 꼬리, 1	cl-42, nkat1, 47.11, p58.1, CD158a	L41267	11
KIR2DL2	킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체, 2개의 도메인, 긴 세포질 꼬리, 2	cl-43, nkat6, CD158b1	L76669	12
KIR2DL3	킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체, 2개의 도메인, 긴 세포질 꼬리, 3	cl-6, nkat2, nkat2a, nkat2b, p58, CD158b2	L41268	13

[0195]

[0196]

KIR	전체 명칭	통칭	등록 ID	서열 번호
KIR2DL4	킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체, 2개의 도메인, 긴 세포질 꼬리, 4	103AS, 15.212, CD158d	X97229	14
KIR2DL5A	킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체, 2개의 도메인, 긴 세포질 꼬리, 5A	KIR2DL5.1, CD158f	AF217485	15
KIR2DL5B	킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체, 2개의 도메인, 긴 세포질 꼬리, 5B	KIR2DL5.2, KIR2DL5.3, KIR2DL5.4	AF217486	
KIR2DS1	킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체, 2개의 도메인, 짧은 세포질 꼬리, 1	EB6ActI, EB6ActII, CD158h	X89892	16
KIR2DS2	킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체, 2개의 도메인, 짧은 세포질 꼬리, 2	cl-49, nkat5, 183ActI, CD158j	L76667	17
KIR2DS3	킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체, 2개의 도메인, 짧은 세포질 꼬리, 3	nkat7	L76670	18
KIR2DS4	킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체, 2개의 도메인, 짧은 세포질 꼬리, 4	cl-39, KKA3, nkat8,CD158i	L76671	19
KIR2DS5	킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체, 2개의 도메인, 짧은 세포질 꼬리, 5	nkat9, CD158g	L76672	20
KIR2DP1	킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체, 2개의 도메인, 위유전자 1	KIRZ, KIRY, KIR15, KIR2DL6	AF204908	
KIR3DL1	킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체, 3개의 도메인, 긴 세포질 꼬리, 1	cl-2, NKB1, cl-11, nkat3, NKB1B, AMB11, KIR, CD158e1	L41269	21
KIR3DL2	킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체, 3개의 도메인, 긴 세포질 꼬리, 2	cl-5, nkat4, nkat4a,	L41270	22

KIR	전체 명칭	통칭	등록 ID	서열 번호
		nkat4b, CD158k		
KIR3DL3	킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체, 3개의 도메인, 긴 세포질 꼬리, 3	KIRC1, KIR3DL7, KIR44, CD158z	AF352324	23
KIR3DS1	킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체, 3개의 도메인, 긴 세포질 꼬리, 1	nkat10, CD158e2	L76661	24
KIR3DP1	킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체, 3개의 도메인, 위유전자 1	KIRX, KIR48, KIR2DS6, KIR3DS2P, CD158c	AF204919, AF204915 – AF204917	

[0197]

[0198] 휴고 유전자 명명 위원회 (Hugo Gene Nomenclature Committee) 웹사이트로 얻음.

표 2

KIR CD 명명법

일반 명칭 1	일반 명칭 2	CD 명칭
KIR3DL7	KIRC1	CD158z
KIR2DL2/L3	p58.2/p58.3	CD158b1/b2
KIR2DL1	p58.1	CD158z
KIR2DS6	KIRX	CD158b1/b2
KIR2DL4	-	CD158c
KIR3DL1/S1	p70	CD158d
KIR2DL5	-	CD158e1/e2
KIR2DS5	-	CD158f
KIR2DS1	p50.1	CD158h
KIR2DS4	p50.3	CD158i
KIR2DS2	p50.2	CD158j
KIR3DL2	p140	Cd158k

[0199]

[0200] Andre, et al. Nature Immunol. 2(8):661 (2001).

[0201] 예시적인 KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, 및 KIR2DS4 분자는 다음과 같은 각각의 아미노산 서열을 포함한다:

[0202] KIR2DL1 세포외 도메인:

HEGVHRKPSLLAHPGXLVKSEETVILQCWSDVMFEHFLLHREGMFNDTLRLIGEHH
DGVSKANFSISRMTQDLAGTYRCYGSVTHSPYQVSAPSDPLDIVIIGLYEKPSLSAQXGPTVL
AGENVTLSCSSRSSYDMYHLSREGEAHERRLPAGPKVNGTFQADFPLGPATHGGTYRCFGSF
HDSPYEWSKSSDPLLVSVTGNPSNSWPSPTEPSSKTGNPRHLH (서열 7)

[0203]

[0204] 여기서, 위치 16의 "X"는 P 또는 R이고, 위치 114의 "X"는 P 또는 L이고, 이것은 대립유전자 변이체를 나타낸다.

[0205] KIR2DL2 세포외 도메인:

HEGVHRKPSLLAHPGRLVKSEETVILQCWSDVRFEHFLLHREGKFKDTLHLIGEHH
DGVSKANFSIGPMMQDLAGTYRCYGSVTHSPYQLSAPSDPLDIVITGLYEKPSLSAQPGPTVL
AGESVTLSCSSRSSYDMYHLSREGEAHECRFSAGPKVNGTFQADFPLGPATHGGTYRCFGSF
RDSPYEWSNSSDPLLVSVIGNPSNSWPSPTEPSSKTGNPRHLH (서열 8).

[0206]

[0207] KIR2DL3 세포외 도메인:

HEGVHRKPSLLAHPGPLVKSEETVILQCWSDVRFQHFLLHREGKFKDTLHLIGEHH
DGVSKANFSIGPMMQDLAGTYRCYGSVTHSPYQLSAPSDPLDIVITGLYEKPSLSAQPGPTVL
AGESVTLSCSSRSSYDMYHLSREGEAHERRFSAGPKVNGTFQADFPLGPATHGGTYRCFGSF
RDSPYEWSNSSDPLLVSVTGNPSNSWPSPTEPSSETGNPRHLH (서열 9).

[0208]

[0209] KIR2DS4 세포외 도메인:

QEGVHRKPSFLALPGHLVKSEETVILQCWSDVMFEHFLLHREGKFNNTLHLIGEHH
DGVSKANFSIGPMMPVLAGTYRCYGSVPHSPYQLSAPSDPLDMV (서열 10).

[0210]

[0211] **KIR2DL1, 2 및/또는 3-연관 NK 세포 억제의 중화**

[0212] 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 NK 억제를 차단 또는 중화함으로써, 그렇지 않으면 차단되는 표적 세포 (예를 들어, T 세포, CD4+ T 세포)에 대한 NK 세포 활성을 증강시키는 그들의 능력에 기초하여 특성화될 수 있다. 상기에서 나타낸 바와 같이, NK 세포에서 NK 세포 세포독성의 KIR2DL1, 2 및/또는 3-매개 억제를 중화하기에 충분한 시간 동안 적어도 하나의 KIR2DL1, 2 및/또는 3에 결합하는 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체가 본 발명의 측면에서 사용될 수 있다. 그러한 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 천연 형태로 직접 치료제로서 사용될 수 있다. 본 발명의 보다 유리한 특징은 2개 이상의 KIR2DL1, 2 및/또는 3과 교차반응하고, 몇몇의 또는 모든 (일반적으로 바람직하게는 모든) 상기 KIR2DL1, 2 및/또는 3과 연관된 억제 활성을 중화하는 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체이다.

[0213] 중화성 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 NK 세포 세포독성의 KIR2DL1, 2 및/또는 3-매개 억제를 부분적으로 또는 완전히 중화할 수 있다. 중화는 달리 존재하는 억제 신호의 임의의 실질적인 차단을 의미한다. 중화는 임의의 적합한 방법에 의해 측정될 수 있다. 한 측면에서, 억제의 중화는 중화성 항-KIR 항체가 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체(들)가 존재하지 않는 실질적으로 동일한 환경에서 일반적으로 발생하는 특이적 용해의 양에 비해, NK 및 NK 표적 세포의 특정 혼합물에서 NK 세포-매개된 특이적 용해의 적어도 약 20%, 바람직하게는 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 75% 이상 (예를 들어, 약 25-100%) 증가를 야기한다는 점에 반영된다. 상기 측면에서 증가 백분율은 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 또는 다른 항체를 고려할 때, 예를 들어 연관된 KIR2DL1, 2 및/또는 3을 차단하지 않은, NK 표적 세포 (예를 들어, T 세포, 임의의 적합한 세포주)와 NK 세포의 혼합물 (100%) 및 KIR2DL1, 2 및/또는 3에 대한 리간드를 제시하는 NK 표적 세포와 NK 세포의 혼합물 (0%)로부터 얻은 크롬 방출 독성 시험 검정의 결과의 비교에 의해 결정할 수 있다. 항-KIR 항체의 경우에, 비교는 연관된 KIR을 차단하지 않은, NK 표적 세포와 NK 세포의 혼합물 (100%) 및 NK 세포 상의 억제성 KIR에 대한 동족 (cognate) MHC 클래스 I 분자를 제시하는 NK 표적 세포와 NK 세포의 혼합물 (0%)로부터 얻은 크롬 방출 독성 시험 검정의 결과를 사용하여 수행할 수 있다. 유리한 측면에서, 본 발명은 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체의 부재 하에 효과적으로 용해되지 않는 세포(들)의 용해를 유도하는 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 제공한다. 별법으로, KIR2DL1, 2 및/또는 3 억제 활성의 중화는 예를 들어 하나의 또는 몇몇의 억제성 KIR2DL1, 2 및/또는 3 (예를 들어, KIR, NKG2, NKG2A, LIR (예를 들어, LILRB1, LILRB5)을 발현하는 NK 세포 클론 또는 형질감염체 및 NK 세포 상의 KIR2DL1, 2 및/또는 3 중의 하나에 의해 인식되는 단지 하나의 리간드 (예를 들어, HLA 폴리펩티드 또는 대립유전자, HLA-E)를 발현하는 표적 세포를 사용하는 크롬 검정의 결과에 의해 표시될 수 있고, 여기서 항체를 사용하여 얻은 세포독성의 수준은 KIR2DL1, 2 및/또는 3의 리간드에 대한 공지된 차단성 항체를 사용하여 관찰된 세포독성의 적어도 약 20%, 예컨대 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 이상 (예를 들어, 약 25-100%)이다. 예를 들어, 항-KIR 항체를 시험할 때, 항-MHC 클래스 I 분자, 예컨대 W6/32 항-MHC 클래스 I 항체 (현재 예를 들어, 리써치 다이어그노스틱스 (Research Diagnostics, 미국 뉴저지주 플랜더스))로부터 이용가능하고, 예를 들어, 문헌 [Shields et al., Tissue Antigens. 1998 May;51(5):567-70]에 기재되어 있다)가 실질적으로 동일한 환경에서 투여된다.

[0214] 크롬 방출 검정 및 NK 세포 세포용해 활성의 평가를 위한 다른 방법은 당업계에 공지되어 있다. 그러한 검정을 위한 적합한 조건은 또한 잘 공지되어 있다. 전형적인 크롬 방출 검정은 표적 세포 (예를 들어, Cw3 및/또는 Cw4 양성 세포주 - 예를 들어, 미량역가 플레이트 내의 약 5000 세포/웰)를 $Na_2{}^{51}CrO_4$ (^{51}Cr이 생존가능한 표적 세포에 의해 흡수되고 보유되도록)로 표지하고, 과량의 방사성을 제거하기 위해 세척한 후, 적합한 이펙터:표적 비 (예를 들어, 약 4:1)에서 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체(들)의 존재 또는 부재 하에 약 4시간 동안 NK 세포에 노출시키고, 표적 세포 사멸 및 용해를 반영하는 후속적인 ^{51}Cr 수준을 측정함으로써 수행한다. 그러한 검정의 한 예는 예를 들어, 문헌 [Moretta et al. (1993) J Exp Med 178: 597-604]에 기재되어 있다. 유사한 검정에서, 증식성 표적 세포는 복제하는 DNA 내로 포함되는 ^{3}H-티미딘으로 표지될 수 있다. NK 세포에 의한 세포용해 작용시에, 표적 세포의 DNA는 빠르게 단편화되고, 여액에 보유되는 반면, 큰 비단편화된 DNA는 이들 단편의 방출 또는 세포 DNA 내의 ^{3}H-티미딘의 보유를 측정할 수 있도록 필터 상에 수집될 수 있다. 그러한 검정에 관련된 다른 예 및 관련된 논의는 예를 들어 WO 2006/072625에서 볼 수 있다.

[0215] 또다른 측면에서, 본 발명은 동족 KIR2DL1, 2 및/또는 3에 대한 결합을 위해 교차-반응성 및/또는 중화 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체와 경쟁하고/하거나 그러한 공지의 항체와 동일한 항원 결정 영역/에피토프에 결합하는 능력을 특징으로 하는 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 제공한다. 특정 모노클로날 항체 (예를 들어, 1-7F9)를 언급할 때 구문 "와 경쟁하는"은 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체가 재조합 KIR2DL1, 2 및/또는 3 분자 또는 표면 발현된 KIR2DL1, 2 및/또는 3 분자를 사용한 결합 검정에서 언급된 항체 또는 다른 분자와 경쟁함을 의미한다. 예를 들어, 항-KIR 항체가 결합 검정에서 1-7F9가 정상적으로 결합되는 KIR 분자에 대한 1-7F9의 결합을 검출가능하게 감소시킨다면, 항-KIR 항체는 1-7F9와 "경쟁한다"고 언급될 수 있다. 1-7F9와 "경쟁하는" 항-KIR 항체는 KIR2DL1 인간 수용체, KIR2DL2/3 인간 수용체, 또는 KIR2DL1 및 KIR2DL2/3 인간 수용체 둘 모두에 대한 결합을 위해 1-7F9와 경쟁할 수 있다.

[0216] 종종 관련되지만, 참조 결합 단백질과의 경쟁 대 몇몇 경우에 참조 단백질과 동일한 또는 실질적으로 유사한 에피토프에 결합하는 단백질의 능력의 측면에서 단백질을 설명하는 것은 유의하게 상이한 생물학적 및 물리화학적 특성을 시사한다. 결합 단백질 사이의 경쟁은 시험 항-KIR2DL1, 2 및 또는 3 항체가, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체에 의해 결합되는 에피토프와 적어도 부분적으로 중첩되거나 또는 상기 항-KIR 항체가 입체 장애 때문에 공지의 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체와 경쟁하도록 상기 에피토프에 충분히 가까이 위치하는 에피토프에 결합함을 시사한다. 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 항체의 큰 크기 때문에 동일한 또는 유사한 에피토프에 결합하지 않으면서 참조 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체와 경쟁할 수 있다. 그러한 경쟁하는 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 상이한 항원 결정에 결합하는 경우에도 참조 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체와 동일한 항원 결정 영역과 연관된 상호작용을 차단하는데 유용할 수 있다.

[0217] 또다른 예시적인 측면에서, 본 발명은 이용가능한 항-KIR 항체, 예컨대 1-7F9, DF200 및/또는 NKVSF1과 실질적으로 동일한 항원 결정 영역에 결합하는 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 제공한다. 예를 들어, WO 2006/003179 참조.

[0218] 경쟁은 결합 파트너에 결합하는 또다른 분자의 존재 하에 특정 결합 파트너에 결합하는 특정 분자의 경향의 임의의 유의한 감소를 의미한다. 일반적으로, 경쟁은 경쟁 분자, 예를 들어, 항-KIR 항체의 존재 하에 예를 들어, 항-KIR 항체 및 적어도 하나의 KIR 사이에 결합의 적어도 약 15% 감소, 예컨대 결합의 적어도 약 20% 감소 (예를 들어, 결합의 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 15-35% 감소)를 의미한다. 특정 상황에서, 예컨대 경쟁 항체에 속하는 에피토프가 항원 내에 가깝게 위치하는 경우에, 경쟁은 수용체 (예를 들어, KIR) 결합의 약 40% 초과의 상대적인 억제, 적어도 약 50% 억제, 적어도 약 55% 억제, 적어도 약 60% 억제, 적어도 약 75% 억제, 또는 더 높은 수준의 억제 (예컨대, 약 45-95%의 억제 수준)에 의해 표시될 수 있다.

[0219] 경쟁 평가는 일반적으로 제1량의 제1 분자 (예를 들어, 항-KIR 항체); 제2량의 제2 분자 (예를 들어, 공지의 항-KIR 항체); 및 제3량의 제3 분자 (예를 들어, KIR)를 사용한 상대적인 억제성 결합의 평가를 수반하고, 여기서 제1, 제2, 및 제3량은 모두 다른 존재하는 분자에 관하여 논의 중인 분자의 선택성 및/또는 특이성에 대한 정보를 제시하는 비교를 수행하기에 충분하다. 대체로, ELISA 경쟁 검정을 위해, 약 5-50 ㎍ (예를 들어, 약 10-50 ㎍, 약 20-50 ㎍, 약 5-20 ㎍, 약 10-20 ㎍)의 항-KIR 항체, 공지의 항-KIR 항체, 및 적어도 하나의 KIR이 경쟁 존재 여부를 평가하기 위해 사용된다. 조건은 또한 그의 추정/공지의 표적에 대한 경쟁하는 분자의 결합에 적합하여야 한다. 생리학적 조건 또는 거의 생리학적 조건 (예를 들어, 약 20-40℃의 온도, 약 7-8의 pH)이 일반적으로 항-KIR 항체: KIR에 대해 적합할 수 있다.

[0220] 2개 이상의 분자 사이의 경쟁 (또는 상대적인 결합의 억제)의 결정은 대조군 KIR2DL1, 2 및/또는 3-결합 분자 (예를 들어, 항체 1-7F9) 및 시험 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체가 혼합되고 (또는 사전 흡착되고), 관련 KIR, 예컨대 KIR2DL1 및 KIR2DL2/3 (각각 DF200에 의해 결합되는 것으로 공지됨) 둘 모두를 함유하는 샘플에 적용되는 면역검정의 사용에 의해 이루어질 수 있다. ELISA, 방사성면역검정, 웨스턴 블로팅 (Western blotting) 등을 기초로 한 프로토콜은 상기 경쟁 연구에 사용하기 적합하다. 경쟁 ELISA는 일반적으로 분자의 결합에 적합한 조건 (예를 들어, 특히 입체형태적/비선형 에피토프에 결합하는 항체의 경우에, 생리학적 조건) 하에 수행된다. 경쟁은 또한 예를 들어 유동 세포측정 시험, SPR 분석 및 예를 들어, 문헌 [Harlow, et al., Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1988)], [Colligan et al., eds., Current Protocols in Immunology, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience, N.Y., (1992, 1993)], [Ausubel et al., Eds., Short Protocols in Molecular Biology, (5^{th} edition), John Wiley & Sons (2002)], 및 [Muller, Meth. Enzymol. 92:589-601 (1983)]에서 제시되는 다른 기술에 의해 평가될 수 있다.

[0221] 항원 결정 영역 또는 에피토프는 많은 공지의 기술에 의해 확인될 수 있다. 예를 들어, 항원 결정 영역은 예컨대 표적 KIR2DL1, 2 및/또는 3 단백질 내의 노출된 아민/카르복실의 화학적 변형을 통해 "풋 프린팅 (foot printing)" 검정에 의해 신속하게 확인될 수 있다. 그러한 풋 프린팅 기술의 하나의 구체적인 예는 HXMS (질량 분광법에 의해 검출된 수소-중수소 교환)의 사용이고, 여기서 수용체 및 리간드 단백질 아미드 양성자의 수소/중수소 교환, 결합, 및 역교환이 발생하고, 단백질 결합에 참여하는 백본 아미드기는 역교환으로부터 보호되고, 따라서 중수소화 상태로 유지될 것이다. 관련 영역은 이 때 펩신 단백질분해, 신속한 소구경 (microbore) 고성능 액체 크로마토그래피 분리, 및/또는 전기분무 이온화 질량 분광법에 의해 확인될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Ehring H, Analytical Biochemistry, Vol. 267 (2) pp. 252-259 (1999)] 및/또는 [Engen, J.R. and Smith, D.L. (2001) Anal. Chem. 73, 256A-265A] 참조).

[0222] 적합한 에피토프 확인 기술의 또다른 예는 핵 자기 공명 (NMR) 에피토프 맵핑 (mapping)이고, 여기서 일반적으로 유리 항원 및 항원-결합 펩티드, 예컨대 항체와 복합체화된 항원의 2차원 NMR 스펙트럼 내의 신호의 위치가 비교된다. 항원은 일반적으로 항원에 상응하는 신호만 NMR-스펙트럼에서 관찰되고 항원 결합 펩티드로부터의 신호는 관찰되지 않도록 ^{15}N로 선택적으로 동위원소로 표지된다. 항원 결합 펩티드와의 상호작용에 관련되는 아미노산에 의해 발생하는 항원 신호는 일반적으로 유리 항원의 스펙트럼에 비해 복합체의 스펙트럼에서 위치가 이동할 것이고, 결합에 관련되는 아미노산은 이와 같은 방식으로 확인될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Ernst Schering Res Found Workshop. 2004;(44): 149-67]; [Huang, et al., Journal of Molecular Biology 281(1): 61-67 (1998)]; 및 [Saito and Patterson, Methods. 1996 Jun;9(3):516-24]을 참조한다.

[0223] 에피토프 맵핑/특성화는 또한 질량 분광법 방법을 이용하여 수행할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Downward, J Mass Spectrom. 2000 Apr; 35(4):493-503] 및 [Kiselar and Downard, Anal Chem. 1999 May 1;71(9):1792-801] 참조).

[0224] 프로테아제 소화 기술은 또한 에피토프 맵핑 및 확인의 측면에서 유용할 수 있다. 항원 결정-관련 영역/서열은 예를 들어 37℃ 및 pH 7-8에서 소화시에 KIR2DL1, 2 및/또는 3에 대해 약 1:50의 비율로 트립신을 사용한 프로테아제 소화, 이어서 펩티드 확인을 위한 질량 분광법 (MS) 분석에 의해 결정할 수 있다. 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3-바인더에 의해 트립신 절단으로부터 보호된 펩티드는 후속적으로 트립신 소화에 적용한 샘플 및 항체와 함께 인큐베이팅한 후, 예를 들어 트립신 소화에 적용된 샘플 (이에 의해 바인더에 대한 풋 프린트를 보임)의 비교에 의해 확인될 수 있다. 키모트립신, 펩신과 같은 다른 효소가 추가로 또는 별법으로 유사한 에피토프 특성화 방법에 사용될 수 있다. 또한, 효소에 의한 소화는 잠재적인 항원 결정 서열이, 표면 노출되지 않고 따라서 항원성 측면에서 가장 관련되지 않을 가능성이 있는 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드의 맥락에서 KIR2DL1, 2 및/또는 3의 영역 내에 있는지 분석하기 위한 신속한 방법을 제공할 수 있다. 예를 들어, 유사한 기술의 논의에 대해서는 문헌 [Manca, Ann 1st Super Sanita. 1991;27(1): 15-9]을 참조한다.

[0225] 다양한 파지 디스플레이 기술이 또한 에피토프를 확인하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Wang and Yu, Curr Drug Targets. 2004 Jan;5(1): 1-15]; [Burton, Immunotechnology. 1995 Aug; 1(2):87-94]; [Cortese et al., Immunotechnology. 1995 Aug; 1(2):87-94]; 및 [Irving et al., Curr Opin Chem Biol. 2001 Jun;5(3):314-24]을 참조한다. 컨센서스 에피토프는 또한 변형된 파지 디스플레이-관련 기술을 통해 확인될 수 있다 (논의에 대해서는 문헌 [Mumey et al., J. Comput. Biol. 10:555-567] 및 [Mumey, Proceedings of the Sixth Annual International Conference on Computational Molecular Biology (RECOMB-02), pp. 233-240 (ACM

Press, New York)]을 참조하고, 또한 문헌 [Bailey et al., Protein Science (2003), 12:2453-2475]; [Dromey et al., J Immunol. 2004 Apr 1; 172(7):4084-90]; [Parker et al., Mol Biotechnol. 2002 Jan;20(1):49-62]; 및 [Czompoly et al., Biochem Biophys Res Commun. 2003 Aug 8; 307(4):791-6] 참조).

[0226] 하나가 비오티닐화되거나 (예를 들어, 공지의 항-KIR 항체) 또는 달리 유사하게 표지된 2개의 KIR-결합 분자를 사용한 KIR에 대한 경쟁적 결합에 의한 에피토프 맵핑은 관련된 항원 결정 영역을 확인하기 위한 또다른 방법이다.

[0227] 맵핑 에피토프에서 잠재적으로 도움이 되는 다른 방법은 결정학 기술, X-선 회절 기술 (예컨대 1970-1980년대에 폴작 (Poljak) 등에 의해 개발된 X-선 회절/서열 연구 기술), 및 멀티핀 (Multipin) 펩티드 합성 기술의 적용을 포함한다.

[0228] 컴퓨터-기반 방법, 예컨대 서열 분석 및 3차원 구조 분석 및 결합은 또한 항원 결정을 확인하기 위해 사용할 수 있다. 예를 들어, 에피토프는 또한 개별 mAb의 Fab 단편의 구조의 결합과 함께 KIR2DL1, 2 및/또는 3 또는 그의 일부의 구조를 사용한 분자 모델링에 의해 결정될 수 있다. 필요한 경우, KIR2DL1, 2 및/또는 3의 모델은 프로그램, 예컨대 케미칼 컴퓨팅 그룹 (Chemical Computing Group (캐나다 퀘벡주 몬트리올 - www.chemcomp.com))으로부터 이용가능한 MOE (Molecular Operating Environment)를 사용하여 구조-특성화된 KIR2DL1, 2 및/또는 3을 사용한 상동성 모델링에 의해 생성될 수 있다. 이들 및 다른 맵핑 방법은 문헌 [Epitope Mapping A Practical Approach (Westwood and Hay Eds.) 2001 Oxford University Press]에 논의되어 있다 (또한, 문헌 [Cason (1994) J Virol Methods. 49(2): 209-19] 참조).

[0229] **항-KIR 항체의 특징**

[0230] 유리한 항-KIR 항체는 기능적 특징, 특히 그의 1 초과의 KIR, 예컨대 1 초과의 종류의 억제성 KIR과 교차 반응하거나 교차 결합하는 능력, 및/또는 NK 억제 신호를 효과적으로 중화하는 능력에 대해 분류될 수 있다.

[0231] 1 초과의 종류의 KIR에 효과적으로 결합하는 항-KIR 항체는 본 발명의 특히 유리한 특징이다. 특정 예시적인 측면에서, 본 발명은 NK 세포의 표면의 적어도 2개의 억제성 KIR 수용체에 결합하는 항-KIR 항체를 제공한다. 훨씬 더 특정한 예시적인 측면에서, 본 발명은 인간 KIR2DL 수용체의 공통적인 항원 결정 영역에 결합하는 항-KIR 항체를 제공한다. 또다른 추가의 구체적인 측면에서, 본 발명은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 수용체에 결합하는 항-KIR 항체를 제공한다.

[0232] 용어 "KIR2DL2/3"은 KIR2DL2 및 KIR2DL3 수용체 중의 하나 또는 둘 모두를 의미하기 위해 사용될 수 있다. 이들 2개의 수용체는 매우 높은 상동성을 갖고, 동일한 유전자의 대립유전자 형태이고, 당업계에서 많은 면에서 교환가능한 것으로 간주된다. 따라서, KIR2DL2/3은 특정 측면에서 단일 억제성 KIR 분자인 것으로 간주될 수 있다. KIR2DL2/3과 교차 반응하는 항-KIR 항체는 본 발명에 포함되지만, 단지 KIR2DL2 및 KIR2DL3을 포함한 KIR-결합 프로필을 갖는 항-KIR 항체는 "교차-반응성"인 것으로 간주되지 않는다.

[0233] 적어도 하나의 KIR2DL1 또는 KID2DL2/3이 적어도 약 90%의 인간 집단에 존재하기 때문에, KIR2DL1 - KIR2DL2/3 교차-반응성 항-KIR 항체는 대부분의 HLA-C 동종이형-연관 세포, 각각 그룹 2 HLA-C 동종이형 및 그룹 1 HLA-C 동종이형에 대한 NK 활성을 촉진하거나 향상시킬 수 있다. 그러한 교차-반응성을 갖는 단일 교차 반응성 KIR 항체를 포함하는 조성물은 대부분의 인간 대상체의 치료 및/또는 진단에서 사용될 수 있고, 따라서 이것은 환자의 유전자 프로파일링의 필요성을 제거하고 효과적인 결과를 보장하기 위해 환자에게 투여될 필요가 있는 상이한 항체의 양을 감소시킬 수 있다.

[0234] 교차반응성 항-KIR 항체는 임의의 적합한 조성을 가질 수 있고, 많은 적합한 기술에 의해 얻을 수 있다. 예를 들어, 교차-반응성 항-KIR 항체는 많은 KIR 리간드 및/또는 상이한 KIR에 결합하는 항-항-KIR 항체 서열을 포함할 수 있고, 이들은 접합, 다량체화에 의해, 또는 (펩티드 리간드의 경우) 융합 단백질에 포함됨으로써 결합될 수 있다. 또다른 측면에서, 교차 반응성 항-항-KIR 항체로부터의 항-항-KIR 항체 서열을 포함하는 항-KIR 항체가 제공된다.

[0235] 그로부터 KIR-결합 서열을 얻거나 유도할 수 있는 교차 반응성 항-항-KIR 항체는 공지되어 있다. 그러한 항체의 예는 예를 들어 WO2006/003179 (이나뜨 파르마 (Innate Pharma); 노보 노르디스크 (Novo Nordisk); 유니버시티 오브 제노아 (University of Genoa))의 도 15에 제시된 가변 영역 및 CDR 서열을 갖는 항체 NKVSF1 (pan2D mAb로도 언급됨; CD158a (KIR2DL1), CD158b (KIR2DL2) 및 p50.3 (KIR2DS4)의 공통적인 에피토프를 인식)이다. KIR2DL1 및 KIR2DL2/3을 포함하는 KIR 패밀리의 다양한 구성원과 반응하는 모노클로날 항체 DF200은 그러한 교차반응성 항체의 또다른 예이다. DF200을 생성하는 하이브리도마는 2004년 6월 10일에 식별 번호

"DF200", 등록 번호 CNCM I-3224로서 CNCM 컬쳐 컬렉션 (Collection Nationale de Cultures de Microorganismes, 프랑스 에프-75724 파리 세덱스 15 뤼 두 독토 루 에스테튜 파스퇴르 25)에 기탁되었다. 몇몇의 추가의 모노클로날 항체가 생성되고, 교차-반응성 항-항-KIR 항체로 입증될 수 있다. 또다른 예는 WO2006/003179에 기재된 항체 1-7F9 및 1-4F1이다.

[0236] 교차-반응성 항-KIR 항체는 항체가 결합하는 2 이상의 KIR에 대한 임의의 적합한 친화도 및/또는 결합력(avidity)을 가질 수 있다. 친화도는 에피토프 또는 항원 결정자에 대한 항-KIR 항체 또는 다른 항원-결합 단백질의 결합 강도를 의미한다. 일반적으로, 친화도는 [Ab] x [Ag] / [Ab-Ag]로 규정되는 해리 상수 K_d의 측면에서 측정되고, 여기서 [Ab-Ag] 항체-항원 복합체의 몰 농도이고, [Ab]는 비결합된 항체의 몰 농도이고, [Ag]는 비결합된 항원의 몰 농도이다. 친화도 상수 K_a는 $1/K_d$로 규정된다. 경쟁적 억제, 평형 투석 등에 의해 결합 펩티드 특이성 및 친화도를 결정하기 위한 적합한 방법은 예를 들어 문헌 [Harlow, et al., Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1988)]; [Colligan et al., eds., Current Protocols in Immunology, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience, N.Y., (1992, 1993)], 및 [Muller, Meth. Enzymol. 92:589-601 (1983)]에서 볼 수 있다.

[0237] 일반적으로, 본 발명에서 제공되는 항-KIR 항체의 적어도 하나의 KIR에 대한 친화도는 약 10^4 내지 약 10^{10} M^{-1} (예를 들어, 약 10^7 내지 약 10^9 M^{-1})이다. 본원에서 용어 면역반응하다는 일반적으로 항-KIR 항체가 KIR에 약 10^{-4} M 미만의 해리 상수 K_d로 결합함을 의미한다. 예를 들어, 특정 측면에서, 본 발명은 예를 들어, 표면 플라스몬 공명 (SPR) 스크리닝 (예컨대 BIAcore® SPR 분석 장치를 사용한 분석에 의해)에 의해 결정시에 KIR2DL1 및 KIR2DL2/3에 대해 약 7 x 10^{-9} M 이상의 평균 해리 상수 (K_D)를 갖는 항-KIR 항체를 제공한다. 보다 구체적인 예시적인 측면에서, 본 발명은 KIR2DL2/3에 대해 약 2 x 10^{-9} M (예를 들어, 약 0.1-4x 10^{-9} M) 이상 및 KIR2DL1에 대해 약 11 x 10^{-9} M (예를 들어, 약 7-15 x 10^{-9} M) 이상의 KD를 갖는 항-KIR 항체를 제공한다.

[0238] 친화도는 본원에 설명된 임의의 방법 또는 그의 당업계에 공지된 동등한 방법에 의해 결정할 수 있다. 친화도를 결정하기 위해 사용할 수 있는 방법의 일례는 문헌 [Munson & Pollard, Anal. Biochem. 107:220 (1980)]의 스캐차드 (Scatchard) 분석에서 제시된다. 결합 친화도는 또한 평형 방법 (예를 들어, 효소 결합 면역흡수 검정 (ELISA) 또는 방사성면역검정 (RIA)) 또는 동역학 분석 (예를 들어, BIAcore® 분석)에 의해 결정할 수 있다.

[0239] 항-KIR 항체는 또한 또는 별법으로 약 100 nM 미만, 약 50 nM 미만, 약 10 nM 미만, 약 5 nM 이하, 약 1 nM 이하, 약 0.5 nM 이하, 약 0.1 nM 이하, 약 0.01 nM 이하, 또는 심지어 약 0.001 nM 이하의 해리 상수에서 KIR 결합을 보인다는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0240] 결합력은 결합 단백질과 항원 사이의 총 상호작용의 총 강도 (예를 들어, 항-KIR 항체와 KIR 사이의 상호작용의 총 강도)를 의미한다. 친화도는 항체 또는 다른 결합 펩티드 상의 단일 항원-결합 부위와 단일 에피토프 또는 항원 결정자 사이의 총 비공유 상호작용의 강도이다. 결합력은 일반적으로 다음과 같은 3개의 주요 인자에 의해 좌우된다: 결합 단백질이 결합하는 에피토프(들) 또는 항원 결정자(들)에 대한 그의 고유한 친화도, 항체 또는 결합 단백질 및 항원의 결합가 (예를 들어, 3, 4 또는 그 초과의 결합가를 갖는 항-KIR 항체는 일반적으로 2가 항체보다 항원에 대한 보다 높은 수준의 결합력을 보일 것이고, 2가 항체는 특히 항원 내에 반복된 에피토프가 존재할 경우에 1가 항체보다 항원에 대한 보다 높은 결합력을 가질 수 있을 것이다), 및/또는 상호작용 성분의 기하학적 배치. 결합력은 일반적으로 친화도를 평가하기 위해 사용된 것과 동일한 종류의 기술에 의해 측정된다.

[0241] 또다른 측면에서, 본 발명은 2 이상의 종으로부터의 KIR과 교차반응하는 항-KIR 항체를 제공한다. 예를 들어, 한 측면에서, 본 발명은 인간 및 시노몰거스 원숭이의 KIR과 교차반응하는 항-KIR 항체를 제공한다. 특정 측면에서, 본 발명은 적어도 2개의 인간 KIR과 교차반응하고 또한 시노몰거스 원숭이의 NK 세포에도 결합하는 항-KIR 항체를 제공한다. 상기 항-KIR 항체는 그러한 교차-반응성 프로필을 보이는 항체 NKVSF1로부터의 또는 이로부터 유래된 서열을 포함할 수 있다. 상기 항-KIR 항체는 필요한 경우에 시노몰거스 원숭이에서 독성 시험 및 다른 유용한 연구에 적용될 수 있다.

[0242] 다양한 KIR과 교차-반응성인 항체는 본 발명의 조합 조성물 및 방법에서 사용될 수 있다. 그러한 항체의 예시

적인 교차-반응성 프로필은 KIR 2DL1 + 2DL2/3, 3DL1 + 3DL2, 2DL1 (및 2DL2/3) + 2DS4, 및 2DL1 (및 2DL2/3)과 교차반응하지만 2DS4와는 그렇지 않은 항체를 포함한다.

[0243] 따라서, 예를 들어, 본 발명의 방법 또는 조성물은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 결합하고, 예를 들어, WO2005003168에 기재된 바와 같이 KIR-매개된 NK 세포 세포독성의 억제를 감소시키거나 차단하는 항-KIR 항체를 포함할 수 있다.

[0244] 본 발명의 조합 방법 및 조성물에 유용한 예시적인 항-KIR 항체는 항-KIR 항체 DF200의 것에 대응하거나 본질적으로 상기 VL 영역으로 이루어지는 VL 영역 (실질적으로 유사하고 유사한 결합 프로필 및 친화도 보유), 또는 DF200의 VL 서열에 고도로 유사한 (예를 들어, 적어도 약 90% 동일한 또는 95% 동일한) VL 서열/도메인을 포함하는 항-KIR 항체를 포함한다. DF200의 VL 서열은 WO2006/3179에 제시되어 있다. 또한, 상기 항-KIR 항체는 별법으로 DF200의 경쇄 가변 CDR의 세트 (또한 WO2006/3179에 제시됨)를 포함하는 것으로 규정될 수 있다. 또한, 상기 항체는 일반적으로 DF200의 VH 도메인 또는 고도로 유사한 서열 (예를 들어, DF200 VH 도메인에 대해 높은 동일성을 갖거나 본질적으로 상기 서열로 이루어지는 서열) 또는 DF200의 적어도 중쇄 가변 CDR (WO2006/3179에 제시됨)을 포함할 것이다.

[0245] 또다른 예시적인 측면에서, 본 발명의 조합 조성물 또는 방법은 항체 1-7F9의 VH 및 VL 서열 (WO2006/3179에 제시됨)에 대응하거나 고도로 유사한 (예를 들어, 본질적으로 이로 이루어지는) VH 및 VL 서열을 포함하거나 또는 적어도 1-7F9의 VL 및 VH CDR을 포함하는 항-KIR 항체를 포함한다.

[0246] *교차반응성 및/또는 중화성 항-KIR 항체와의 경쟁*

[0247] 또다른 측면에서, 본 발명의 방법 또는 조성물은 상기 항체 중의 하나 또는 본원에 포함된 참고문헌에서 설명된 다른 항-KIR 항체 중의 하나 (예를 들어, 1-7F9)와 경쟁하는 항-KIR 항체를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0248] 예시적인 항-KIR 항체, 예컨대 DF200, 1-7F9, 및/또는 NKVSF1과 경쟁하는 항체는 공지의 스크리닝 검정을 사용하여 확인할 수 있다. 많은 상기 검정은 통상적으로 실시되고 당업계에 잘 공지되어 있다 (예를 들어, 본원에 구체적으로 참고로 포함된 미국 특허 5,660,827 참조). 예를 들어, ELISA, 방사성면역검정, 웨스턴 블로팅, 및 BIACORE 분석의 사용을 기초로 한 프로토콜이 상기 경쟁 연구에 사용하기 적합하다.

[0249] 예를 들어, KIR 항원 샘플 적용 전에 일정 시간 동안 대조군 항체 (예를 들어, DF200, NKVSF1, 또는 1-7F9)를 상이한 양의 시험 항체 (예를 들어, 약 1:1, 1:2, 1:10 또는 약 1:100의 비)와 미리 혼합할 수 있다. 별법으로, 대조군 및 상이한 양의 시험 항체는 단순히 KIR 항원 샘플에 노출되는 동안 별개로 첨가되어 혼합될 수 있다. 결합된 항체를 유리 항체로부터 (예를 들어, 비결합된 항체를 제거하기 위해 분리 또는 세척 기술을 사용함으로써) 및 대조군 항체를 시험 항체로부터 (예를 들어, 종 특이적 또는 이소형 특이적 2차 항체를 사용함으로써 또는 대조군 항체를 검출가능한 표지로 특이적으로 표지함으로써) 구분할 수 있다면, 시험 항체가 상이한 KIR2DL 항원에 대한 대조군 항체의 결합을 감소시키는지 결정할 수 있을 것이고, 이것은 시험 항체가 대조군과 실질적으로 동일한 에피토프를 인식한다는 것을 나타낸다. 완전하게 무관한 항체 (KIR에 결합하지 않는)의 존재 하에 (표지된) 대조군 항체의 결합은 높은 대조군 값으로서 기능할 수 있다. 낮은 대조군 값은 표지된 대조군 항체를 동일하지만 비표지된 대조군 항체와 함께 인큐베이팅함으로써 얻을 수 있고, 여기서 경쟁이 발생하고, 표지된 항체의 결합을 감소시킨다. 시험 검정에서, 시험 항체의 존재 하에 표지된 항체 반응성의 유의한 감소는 시험 항체가 실질적으로 동일한 에피토프를 인식함을, 즉, 표지된 대조군 항체와 경쟁함을 나타낸다. 예를 들어, 약 1:1 또는 1:10 내지 약 1:100의 대조군:시험 항체의 임의의 비에서 KIR2DL1 및 KIR2DL3 항원 중의 하나 또는 둘 모두에 대한 대조군 항체의 결합을 적어도 약 50%, 예컨대 적어도 약 60%, 또는 보다 바람직하게는 적어도 약 70% (예를 들어, 약 65-100%) 감소시키는 임의의 시험 항체는 대조군과 경쟁하는 항체로 간주된다.

[0250] 경쟁은 또한 예를 들어 유동 세포측정에 의해 평가할 수 있다. 그러한 시험에서, 제시된 KIR을 보유하는 세포를 먼저 대조군 항체와 함께, 이어서 형광색소 (fluorochrome) 또는 비오틴으로 표지된 시험 항체와 함께 인큐베이팅할 수 있다. 항체는 포화량의 대조군 항체와 함께 예비-인큐베이션시에 얻어진 결합이, 대조군 항체와 함께 예비인큐베이션하지 않고 시험 항체에 의해 얻은 결합 (형광에 의해 측정된)의 약 80%, 바람직하게는 약 50%, 약 40% 이하 (예를 들어, 약 30%)일 경우 대조군 항체와 경쟁하는 것으로 언급된다. 별법으로, 항체는 포화량의 시험 항체와 함께 예비-인큐베이션된 세포에 대해 표지된 대조군 항체 (형광색소 또는 비오틴에 의해)를 사용하여 얻어진 결합이, 시험 항체와 함께 예비인큐베이션하지 않고 얻은 결합의 약 80%, 바람직하게는 약 50%, 약 40% 이하 (예를 들어, 약 30%)일 경우 대조군 항체와 경쟁하는 것으로 언급된다.

[0251] 시험 항체가 예비 흡착되고, KIR2DL1 또는 KIR2DL2/3, 또는 둘 모두가 그 위에 고정된 표면에 포화 농도로 적용된 단순 경쟁 검정도 유리하게 사용될 수 있다. 단순 경쟁 검정에서 표면은 바람직하게는 BIACORE 칩 (또는 표면 플라스몬 공명 분석을 위한 적합한 다른 매체)이다. 대조군 항체의 KIR-코팅된 표면에 대한 결합이 측정된다. 대조군 항체 단독의 KIR-함유 표면에 대한 상기 결합은 시험 항체의 존재 하의 대조군 항체의 결합과 비교된다. 시험 항체의 존재 하에 대조군 항체에 의한 KIR2DL1 및 KIR2DL2/3-함유 표면에 대한 결합의 유의한 감소는 시험 항체가 대조군 항체와 실질적으로 동일한 에피토프를 인식하여, 시험 항체가 대조군 항체와 "경쟁함"을 나타낸다. KIR2DL1 및 KIR2DL2/3 항원 둘 모두에 대한 대조군 항체의 결합을 적어도 약 20% 이상, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 70%, 또는 그 초과로 감소시키는 임의의 시험 항체는 대조군 항체와 경쟁하는 항체로 간주될 수 있다. 바람직하게는, 상기 시험 항체는 각각의 적어도 KIR2DL1, 2, 및 3 항원에 대한 대조군 항체의 결합을 적어도 약 50% (예를 들어, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 또는 그 초과로) 감소시킬 것이다. 대조군 및 시험 항체의 순서는 역전될 수 있고; 즉, 대조군 항체를 먼저 표면에 결합시킬 수 있고, 이어서 시험 항체가 경쟁 검정에서 표면과 접촉됨이 이해될 것이다. 바람직하게는, KIR2DL1 및 KIR2DL2/3 항원에 대한 보다 높은 친화도를 갖는 항체는, 제2 항체에 대해 관찰된 결합의 감소 (항체가 경쟁하는 것으로 가정함) 규모가 더 클 것으로 예상되기 때문에 KIR2DL1 및 KIR2DL2/3-함유 표면에 먼저 결합한다. 그러한 검정의 추가의 예는 본원의 실시예 및 예를 들어 그 개시내용이 본원에 참고로 포함된 문헌 [Saunal and Regenmortel, (1995) J. Immunol. Methods 183:33-41]에 제공되어 있다.

[0252] 또다른 측면에서, 본 발명의 방법 또는 조성물은 하나 초과의 KIR과 교차-반응성이 아닌 항체만을 포함함을 특징으로 한다. 예를 들어, KIR2DL1에 대해서만 특이적인 모노클로날 항체는 KIR2DL1 및 HLA-Cw4 동종이형, 및 Cw4와 동일한 군에 속하는 유사한 HLA-C 동종이형 사이의 상호작용을 차단하는 것으로 나타났다 (본원에 참고로 포함된 문헌 [Moretta et al., J Exp Med. 1993;178(2):597-604] 참조). 또다른 예에서, KIR2DL2/3과 HLACw3 (등의) 동종이형의 상호작용을 차단하는 KIR2DL2/3에 대한 모노클로날 항체도 설명되었다 (Moretta et al., 1993, 상기 문헌). 임의로, 항체는 GL183 (KIR2DL2/3/S2-특이적, 이뮤노테크 (Immunotech, 프랑스) 및 벡톤 디킨슨 (Beckton Dickinson, 미국)로부터 이용가능함); EB6 (KIR2DL1/s1-특이적, 이뮤노테크 (프랑스) 및 벡톤 디킨슨 (미국)으로부터 이용가능함)로 이루어진 군 중에서 선택될 수 있다.

[0253] *에피토프*

[0254] 추가의 측면에서, 본 발명은 다양한 KIR 상에 제시되는 특정 항원성 영역 및/또는 에피토프에 대해 작용하는 항-KIR 항체를 제공한다. 한 예시적인 측면에서, 본 발명은 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 127, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 181, 및 192로 이루어진 군 중에서 선택된 적어도 하나의 (또는 전부의) 아미노산 잔기에 의해 규정되는 영역 내에서 KIR2DL1에 특이적으로 결합하는 항-KIR 항체를 제공한다. 또다른 실시양태에서, 본 발명은 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 127, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 181, 및 192로 이루어진 군 중에서 선택된 적어도 하나의 (또는 전부의) 아미노산 잔기에 의해 규정되는 영역 내에서 KIR2DL1 및 KIR 2DL2/3에 특이적으로 결합하는 항-KIR 항체를 제공한다.

[0255] 추가의 측면에서, 본 발명은 KIR2DL1에 결합하지만, 그에 비해 유의하게 감소된 결합 친화도 (KIR2DL1에 대해 제시된 친화도의 약 20% 이하, 약 30% 이하, 약 40% 이하, 약 50% 이하, 약 60% 이하, 약 70% 이하)로 R131이 Ala인 KIR2DL1의 돌연변이체에 결합하는 항-KIR 항체를 제공한다. 또다른 측면에서, 본 발명은 KIR2DL1에 결합하지만, 비교적 감소된 결합 친화도 (KIR2DL1에 대해 제시된 친화도의 약 20% 이하, 약 30% 이하, 약 40% 이하, 약 50% 이하, 약 60% 이하, 약 70% 이하)로 R157이 Ala인 KIR2DL1의 돌연변이체에 결합하는 항-KIR 항체를 제공한다. 또다른 측면에서, 본 발명은 KIR2DL1에 결합하지만, 비교적 감소된 결합 친화도 (KIR2DL1에 대해 제시된 친화도의 약 20% 이하, 약 30% 이하, 약 40% 이하, 약 50% 이하, 약 60% 이하, 약 70% 이하)로 R158이 Ala인 KIR2DL1의 돌연변이체에 결합하는 항-KIR 항체를 제공한다.

[0256] 본 발명은 KIR2DL1 잔기 131, 157, 및 158에 결합하는 항-KIR 항체를 제공한다.

[0257] 본 발명은 KIR2DS3(R131W)에 결합하지만 야생형 KIR2DS3에 결합하지 않는 항-KIR 항체를 제공한다. 또다른 측면에서, 본 발명은 KIR2DL1 및 KIR2DL2/3 및 KIR2DS4에 결합하는 항-KIR 항체를 제공한다. 또다른 측면에서, 본 발명은 KIR2DL1 및 KIR2DL2/3 둘 모두에 결합하지만 KIR2DS4에는 결합하지 않는 항-KIR 항체를 제공한다.

[0258] 항-KIR 항체의 조성물 및 제조에서 항-KIR 항체 서열의 사용을 예시하기 위해, 예시적인 항-KIR 항체 서열 및 항체 서열 변이체가 본원에서 설명될 것이다. 예시적인 KIR 항체 DF200 및 1-7F9의 가변 영역 및 CDR의 아미노

산 및 핵산 서열은 또한 WO 2006/003179에 개시되어 있다.

[0259] 예시적인 항-KIR mAb은 다른 항-KIR 항체에 비해 몇몇 잇점을 갖는 mAb 1-7F9 및 1-4F1을 포함한다. 예를 들어, 1-7F9 및 1-4F1은 완전 인간 항체이고, 따라서 대상체에게 투여시에 항체에 대한 임의의 면역 반응을 감소시키거나 최소화한다. 또한, 1-7F9 및 1-4F1 둘 모두는 아래에서 설명되는 치료 항-KIR 항체에 대한 적합한 이소형 (각각 IgG4 및 IgG2)이다. 1-7F9는 또한 KIR2DL1, -2, 및/또는 -3을 발현하는 NK 세포에 의한 사멸 유도시에 뮤린 mAb EB6, GL183, DF200, 및 NKVSF1 (Pan2D)보다 효과적이다. 1-7F9는 추가로 이전에 공지된 항-KIR mAb에 비해 KIR에 대한 보다 높은 친화도를 갖는다. 예를 들어, 1-7F9는 각각 0.43 nM 및 0.025 nM의 해리 상수 (K_d)로 KIR2DL1 및 KIR2DL3에 결합하고, 이것은 예를 들어 DF200보다 두 항원 모두에 대한 보다 높은 친화도를 나타낸다. 따라서, 본 발명에 따라 특히 바람직한 항체는 1-7F9 및/또는 1-4F1와 동일하거나 유사한 항원-특이성을 갖는다. 예를 들어, 1-7F9와 동일하거나 유사한 VH 및 VL 영역을 포함하는 항체는 1-7F9와 동일하거나 유사한 항원-결합 및/또는 NK-자극성 특성을 가질 수 있고; 1-4F1과 동일하거나 유사한 VH 및 VL 영역을 포함하는 항체는 1-4F1과 동일하거나 유사한 항원-결합 특성을 가질 수 있다.

[0260] 항체는 다음과 같은 1-7F9의 VL 및/또는 VH 영역의 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0261] 1-7F9 VL 영역 (서열 1):

[0262] EIVLTQSPVTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGI
PARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWMYTFGQGTKLEIKRT

[0263] 1-7F9 VH 영역 (서열 2):

[0264] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSFYAISWVRQAPGQGLEWMGGFIPIFG
AANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSDDTAVYYCARIPSGSYYYDYDMDVWGQGT
TVTVSS.

[0265] 1-4F1 VL 및 VH 영역의 아미노산 서열은 각각 서열 3 및 4에 제시된다. 특정 실시양태에서, 서열 3의 잔기 3, 4, 9, 24, 32, 41, 47, 50, 55, 71, 및 74는 각각 Q, L, S, R, A, G, L, D, E, F, 및 A이다. 또다른 특정 실시양태에서, 서열 3의 잔기 3, 4, 9, 24, 32, 41, 47, 50, 55, 71, 및 74는 각각 R, M, F, W, Y, A, F, Y, Q, Y, 및 T이다.

[0266] 1-7F9 CDR의 아미노산 서열은 다음과 같다: 경쇄 CDR1 아미노산 서열은 서열 1의 잔기 24-34에 대응하고; 경쇄 CDR2 아미노산 서열은 서열 1의 잔기 50-56에 대응하고; 경쇄 CDR3 아미노산 서열은 서열 1의 잔기 89-97에 대응하고; 중쇄 CDR1 아미노산 서열은 서열 2의 잔기 31-35에 대응하고; 중쇄 CDR2 아미노산 서열은 서열 2의 잔기 50-65에 대응하고; 중쇄 CDR3 아미노산 서열은 서열 2의 잔기 99-112에 대응한다. 1-4F1 CDR의 아미노산 서열은 다음과 같이 확인되었다: 경쇄 CDR1 아미노산 서열은 서열 3의 잔기 24-34에 대응하고; 경쇄 CDR2 아미노산 서열은 서열 3의 잔기 50-56에 대응하고; 경쇄 CDR3 아미노산 서열은 서열 3의 잔기 89-97에 대응하고; 중쇄 CDR1 아미노산 서열은 서열 4의 잔기 31-35에 대응하고; 중쇄 CDR2 아미노산 서열은 서열 4의 잔기 50-66에 대응하고; 중쇄 CDR3 아미노산 서열은 서열 4의 잔기 99-113에 대응한다

[0267] 전체 1-7F9 경쇄 및 중쇄에 대한 아미노산 서열은 각각 서열 5 및 6에 제시된다.

[0268] 따라서, 예를 들어, 다양한 인간 항체 하위클래스의 추가의 항체; 항체 단편, 항체 유도체, 및 다른 KIR-결합 펩티드는 예를 들어 상기 정보를 기초로 하여 재조합 기술에 의해 쉽게 생산될 수 있다. 예를 들어, 한 측면에서, 본 발명은 본질적으로 각각 서열 1 및 서열 2로 이루어지는 VL 및 VH 서열을 갖는 항체, 및/또는 본질적으로 각각 서열 3 및 서열 4로 이루어지는 VL 및 VH 서열을 갖는 항체를 제공한다. 또다른 측면에서, 본 발명은 본질적으로 상기한 1-7F9 또는 1-4F1 VH CDR 1-3 및 VL CDR 1-3으로 이루어지는 CDR 영역을 포함하는 항체, 또는 본질적으로 각각 서열 5 및 6의 1-7F9 경쇄 및 중쇄로 이루어지는 경쇄 및 중쇄를 갖는 항체를 제공한다. 또다른 측면에서, 본 발명은 다음 CDR 영역을 포함하는 항체를 제공한다: 대략 서열 1의 잔기 24-34에 대응하는 경쇄 CDR1 아미노산 서열; 대략 서열 1의 잔기 50-56에 대응하는 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 대략 서열 1의 잔기 89-97에 대응하는 경쇄 CDR3 아미노산 서열; 대략 서열 2의 잔기 31-35에 대응하는 중쇄 CDR1 아미노산 서열; 대략 서열 2의 잔기 50-65에 대응하는 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 및 대략 서열 2의 잔기 99-112에 대응하는 중쇄 CDR3 아미노산 서열. 또다른 측면에서, 본 발명은 다음 CDR 영역을 포함하는 항체를 제공한다: 대략 서열 3의 잔기 24-34에 대응하는 경쇄 CDR1 아미노산 서열; 대략 서열 3의 잔기 50-56에 대응하는 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 대략 서열 3의 잔기 89-97에 대응하는 경쇄 CDR3 아미노산 서열; 대략 서열 4의 잔기 31-35에 대응하

는 중쇄 CDR1 아미노산 서열; 대략 서열 4의 잔기 50-66에 대응하는 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 및 대략 서열 4의 잔기 99-113에 대응하는 중쇄 CDR3 아미노산 서열. 또다른 측면에서, 본 발명은 서열 1의 잔기 24-34로 본질적으로 이루어지는 경쇄 CDR1 아미노산 서열; 서열 1의 잔기 50-56으로 본질적으로 이루어지는 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 서열 1의 잔기 89-97로 본질적으로 이루어지는 경쇄 CDR3 아미노산 서열; 서열 2의 잔기 31-35로 본질적으로 이루어지는 중쇄 CDR1 아미노산 서열; 서열 2의 잔기 50-65로 본질적으로 이루어지는 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 및 서열 2의 잔기 99-112로 본질적으로 이루어지는 중쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 또다른 측면에서, 본 발명은 다음 CDR 영역을 포함하는 항체를 제공한다: 서열 3의 잔기 24-34로 본질적으로 이루어지는 경쇄 CDR1 아미노산 서열; 서열 3의 잔기 50-56으로 본질적으로 이루어지는 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 서열 3의 잔기 89-97로 본질적으로 이루어지는 경쇄 CDR3 아미노산 서열; 서열 4의 잔기 31-35로 본질적으로 이루어지는 중쇄 CDR1 아미노산 서열; 서열 4의 잔기 50-66으로 본질적으로 이루어지는 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 및 서열 4의 잔기 99-113으로 본질적으로 이루어지는 중쇄 CDR3 아미노산 서열.

[0269] 본 발명은 또한 1-7F9 또는 1-4F1 VH 또는 VL 서열, 또는 그 내의 CDR-영역에 실질적으로 동일한 적어도 하나의 변이체 아미노산 서열을 포함하는 항-KIR 항체, 항체 단편, 또는 항체 유도체, 또는 KIR-결합 폴리펩티드의 용도를 포함한다. 변이체 아미노산 서열은 1-7F9 또는 1-4F1 CDR, VH, 또는 VL 영역, 또는 중쇄 또는 경쇄 서열에 적어도 약 50, 80, 90, 95, 98, 또는 99% (예를 들어, 약 50-99, 약 65-99, 약 75-99, 또는 약 85-99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 본질적으로 이로 이루어질 수 있다. 항체는 예를 들어 각각 서열 5 및 6에 적어도 약 50, 80, 90, 95, 98, 또는 99% (예를 들어, 약 50-99, 약 65-99, 약 75-99, 또는 약 85-99%) 동일한 서열을 각각 갖는 1-7F9 경쇄 및 중쇄를 포함할 수 있다. 변이체 아미노산 서열은 예를 들어 1-7F9 또는 1-4F1 CDR에 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지는 1, 2, 또는 3개의 CDR을 포함할 수 있다. 변이체 아미노산 서열은 또한 또는 별법으로 1-7F9 또는 1-4F1 CDR에 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지는 1, 2, 또는 3개의 CDR을 포함할 수 있다. 따라서, 한 측면에서, 본 발명은 서열 1 또는 서열 3의 잔기 24-34에 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95% 동일한 경쇄 CDR1 아미노산 서열; 서열 1 또는 서열 3의 잔기 50-56에 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95% 동일한 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 서열 1 또는 서열 3의 잔기 89-97에 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95% 동일한 경쇄 CDR3 아미노산 서열; 서열 2 또는 서열 4의 잔기 31-35에 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95% 동일한 중쇄 CDR1 아미노산 서열; 서열 2의 잔기 50-65 또는 서열 4의 잔기 50 내지 66에 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95% 동일한 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 및 서열 2의 잔기 99-112 또는 서열 4의 잔기 99-113에 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95% 동일한 중쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함하는 인간 항체를 제공한다. 상기 변이체 아미노산 서열에 보유되는 1-7F9- 또는 1-4F1-유래 KIR-결합 아미노산 서열의 기본 특성은 바람직하게는 하나 이상의 KIR에 대한 1-7F9 또는 1-4F1 서열의 특이성 및/또는 결합력을 포함하고, 또한 또는 별법으로 KIR/HLA-C 상호작용을 차단하고 NK 세포의 용해 활성을 강화시키는데 있어서의 1-7F9의 능력을 포함할 수 있다.

[0270] 또다른 측면에서, 본 발명은 하나 이상의 잔기 삽입, 결실, 및/또는 치환에 의해 하나 이상의 아미노산 잔기 (예를 들어, 적어도 2, 3, 5, 적어도 약 10, 적어도 약 15, 적어도 약 20, 적어도 약 25, 적어도 약 30, 적어도 약 35, 적어도 약 40, 적어도 약 50, 또는 그 초과의 아미노산 잔기)가 1-7F9 또는 1-4F1 KIR-결합 서열과 상이한 KIR-결합 아미노산 서열을 포함하는 항-KIR 항체, 항체 단편, 또는 항체 유도체, 또는 KIR-결합 폴리펩티드의 용도를 제공한다. 그러한 변이체 KIR-결합 서열은 천연 1-7F9 또는 1-4F1 서열을 포함하는 본질적으로 동일한 아미노산 서열보다 더 큰 친화도; 더 큰 또는 상이한 특이성; 더 작은 면역원성 (서열에 대한 숙주 반응의 측면에서); 더 큰 생체내 안정성; 및/또는 다른 유익한 특성을 변이체 서열에 부여한다. 적합한 서열 변이는 본원의 다른 곳에서 추가로 설명된다. 항-KIR 항체, 항체 단편, 또는 항체 유도체, 또는 KIR-결합 폴리펩티드의 KIR-결합 부분은 또한 KIR 결합을 용이하게 하고/하거나 다른 유리한 물리화학적 또는 면역학적 특성을 제공하는 임의의 적합한 많은 비-아미노산 성분 또는 치환체, 예컨대 비-아미노산 유기 모이어티를 포함할 수 있다.

[0271] 이미 언급된 바와 같이, 항원-결합 항체 서열, 예컨대 항-KIR 항체 서열의 적합한 서열 변이체가 본 발명의 항체에 포함될 수 있다. 대부분의 종류의 항체 서열의 변이가 적합할 수 있다. 따라서, 예를 들어, 항-KIR 항체는 변이체 불변 서열 및/또는 변이체 프레임워크 서열을 포함할 수 있다.

[0272] 본 발명은 하나 이상의 변이체 CDR 서열 (즉, 그의 상대적인 야생형 서열에 대해 서열의 생물학적 및/또는 물리화학적 특성에 영향을 주는 하나 이상의 아미노산 삽입, 결실, 부가, 및/또는 치환에 의해 유사한 야생형 CDR 서열과 상이한 CDR 서열)을 포함하는 항-KIR 항체를 제공한다. 예를 들어, WO 2006/072625에 개시된 기술을 참

고한다. CDR, VH, 및 VL 서열 변이체는 각각 하나 이상의 "모" CDR, VH, 및 VL 서열, 예컨대 항-KIR mAb DF200 및/또는 항-KIR mAb NKVSF1의 CDR, VH, 및 VL 서열에 대한 임의의 적합한 수준의 동일성을 보일 수 있다. 일반적으로, 모 서열과 본질적으로 동일한 항원 결정 영역에 결합하는 변이체 서열은 모 서열에 대해 적어도 약 40% 아미노산 서열 동일성, 예컨대 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 또는 적어도 약 95% (예를 들어, 약 45-99%, 약 55-99%, 또는 약 65-99%) 동일성을 보유할 것이다. 그러나, 몇몇 경우에, 특히 본질적으로 동일한 에피토프를 표적으로 하는 CDR 서열에 대해, 훨씬 더 낮은 수준의 동일성을 갖는 변이체가 적합할 수 있다.

[0273] 상이한 항원 결정 영역 또는 상이한 세트 (또는 "프로필")의 항원 결정 영역에 결합하는 CDR, VH, 및 VL 서열 변이체도 본원의 다른 곳에서 설명되는 임의의 기술 (합리적인 설계 (rational design), 돌연변이 유발, 유도 진화 (directed evolution))에 의해 생성할 수 있다. 이 예에서, 모 서열에 대한 유의하게 더 낮은 수준의 아미노산 서열 동일성이 예상될 수 있다. 예를 들어, 모 서열과 상이한 에피토프 결합 프로필을 갖는 CDR-L1, CDR-H1, CDR-H2, 또는 CDR H3 변이체의 측면에서, 모 CDR 서열에 대해 약 20-30%의 낮은 아미노산 서열 동일성이 NKCAMR, 예컨대 KIR에 대한 결합에 기여하는 변이체에서 보일 수 있다.

[0274] WO 2006/072625는 CDR 및 가변 영역 서열에 대한 특정 방식을 포함하는 항-KIR 항체 서열의 변이체를 추가로 제공하고, 그 개시내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0275] 일반적으로, 변이체는 대부분 보존적 치환을 통해 "모" 서열과 상이하고; 예를 들어, 변이체 내의 적어도 약 35%, 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상 (예를 들어, 약 65-99%)의 치환은 보존적 아미노산 잔기 교체이다. 본 발명의 측면에서, 보존적 치환은 WO 2006/072625 (노보 노르디스크 에이에스 및 이나뜨 파르마 에스에이)의 하나 이상의 표 4, 5 및 6에 반영된 아미노산의 클래스 내의 치환에 의해 규정될 수 있다. WO 2006/072625에는 또한 추가의 보존적 치환 분류; 덜 보존적인 치환을 선택함으로써 기능의 실질적인 변화 유도; 펩티드 변이체의 설계 및 선택에 유용한 원리; 친수성 특성의 보존; 보존적 치환, 소수성 (hydropathic) 특성, 중요성 보존 (weight conservation), 2차 구조 비교 또는 유사성 점수 (BLAST 프로그램을 사용하여 결정)의 측면에서 펩티드의 유사성을 평가하기 위한 방법을 비롯한, 모 펩티드의 구조와 실질적으로 유사한 변이체 펩티드의 구조 유지; 변이체와 모 서열 사이의 다른 변이/상이점이 허용될 수 있음; CDR의 유리한 서열 변화; 변경된 당화를 유도하는 서열 변이; 초가변 영역 삽입 및 변이체 항체 및 보다 일반적으로 CDR 변이체의 생성이 설명되어 있다.

[0276] 본 발명의 아미노산 서열의 측면에서 동일성은 초기 갭 (gap) 페널티 -12 및 연장 페널티 -2를 사용하는 BLOSUM50 채점 매트릭스를 사용한 ALIGN 2.0를 사용한 분석을 통해 제시되는 바와 같은 임의의 적합한 기술, 일반적으로 니들만-분쉬 (Needleman-Wunsch) 정렬 분석 (Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. (1970) 48:443-453)에 의해 결정할 수 있다 (ALIGN 프로그램에 포함되는 전체적인 정렬 기술의 논의에 대해서는 문헌 [Myers and Miller, CABIOS (1989) 4:11-17] 참조). ALIGN 2.0 프로그램의 복사본은 예를 들어 샌 디에고 수퍼컴퓨터 (San Diego Supercomputer) (SDSC) 바이올로지 워크벤치 (Biology Workbench)를 통해 이용가능하다. 니들만-분쉬 정렬은 2개의 서열 사이의 종합적인 또는 전체적인 동일성 측정을 제공하기 때문에, 보다 큰 펩티드 서열의 일부 또는 하위서열일 수 있는 표적 서열이 완전한 서열과 유사한 방식으로 사용될 수 있거나, 또는 별법으로, 국소 (local) 정렬 값은 예를 들어 이용가능한 프로그램 (동일성을 분석하기 위해 적합할 수 있는 다른 국소 정렬 방법은 경험적 (heuristic) 국소 정렬 알고리즘, 예컨대 FastA 및 BLAST 프로그램을 적용하는 프로그램을 포함함)을 통해 얻을 수 있는 스미쓰-워터만 (Smith-Waterman) 정렬 (J. Mol. Biol. (1981) 147: 195-197)에 의해 결정할 때 하위서열들 사이의 관계를 평가하기 위해 사용될 수 있음을 알아야 한다. 동일성을 평가하기 위한 추가의 관련 방법은 예를 들어 국제 특허 출원 2003/048185에 설명되어 있다. 니들만-분쉬 알고리즘에 대한 개선을 모색하는 고토 (Gotoh) 알고리즘이 별법으로 전체적인 서열 정렬을 위해 사용될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Gotoh, J. Mol. Biol. 162: 705-708 (1982)] 참조).

[0277] KIR2DL1, 2 및/또는 3 폴리펩티드를 억제하는 항체를 포함하는 화합물은 염증에 능동적으로 기여할 수 있는 T 세포의 제거를 향상시킬 수 있고, 이에 의해 항체를 포함하는 이들 화합물은 만성 환경 및 급성 염증 둘 모두에 사용하기에, 및 염증성 환경에서 사용되는 제2 치료제와 조합하여 사용하기에 적합하다. 특히, 제2 치료제는 염증을 감소시키고, 예를 들어, 만성 및 급성 환경에서 사용되는 작용제, 예컨대 류마티스 관절염 및 그 약물이 사용되는 다른 병태의 경우에 질환 변형 항류마티스 약물 (DMARD), 예컨대 항-TNFα 및 MTX이다. 염증 - 특히 급성 및 만성 염증-을 유발하는 메카니즘은 종종 아주 많은 것으로 생각되기 때문에, 본 발명의 항체는 T 세포의 직접적인 사멸 (예를 들어, ADCC를 통해) 이외의 다른 염증 메카니즘에 대해 작용하지만 유사한 생물학적 목적, 예컨대 염증유발성 시토카인 생산 또는 작용의 감소, 특히 TNFα의 감소 또는 억제를 갖는 작용제와 조합하

여 사용하기에 특히 유용할 것이다.

[0278] **항체의 생산**

[0279] 특히 모노클로날 항체는 문헌 [Kohler et al., Nature, 256:495 (1975)]에 처음 설명된 하이브리도마 방법, 또는 다른 공지된, 후에 개발된 방법 (예를 들어, 문헌 [Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pages 59-103 (Academic Press, 1986)] 참조)을 이용하여 제조할 수 있다. 하이브리도마 및 다른 융합 세포는 임의의 적합한 종류의 골수종, 이종골수종, 림프아구성 세포, 형질세포종 또는 유사한 불멸화 (immortalized) 세포 및 임의의 적합한 종류의 항체-발현 세포(들)를 사용하여 화학적 융합, 전기적 융합, 또는 임의의 다른 적합한 기술에 의해 형성될 수 있다.

[0280] 형질전환된 불멸화 B 세포도 또한 항체를 효율적으로 생산하기 위해 사용될 수 있다. 형질전환된 B 세포는 표준 기술, 예컨대 엡스타인 바 (Epstein Barr) 바이러스 또는 형질전환성 유전자를 사용한 형질전환에 의해 생산될 수 있다 (예를 들어, 문헌 ["Continuously Proliferating Human Cell Lines Synthesizing Antibody of Predetermined Specificity", Zurawaki, V. R. et al., in Monoclonal Antibodies, ed. by Kennett R. H. et al., Plenum Press, N.Y. 1980, pages 19-33] 참조). 따라서, 안정하고 연속적인 및/또는 불멸화 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체-발현 세포 및 세포주는 본 발명의 또다른 특징이다. 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 생산하기 위한 방법의 단계는 예를 들어 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체(들)을 생산하기 위해 적절한 파트너에 융합되거나 또는 재조합 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 생산하기 위해 사용되는 서열을 서열결정된 항체를 생산하는 불멸화 B 세포를 생산하는 단계를 포함할 수 있다.

[0281] 재조합 단백질 발현을 위한 숙주로서 이용가능한 세포주는 당업계에 잘 공지되어 있고, 아메리칸 타입 컬쳐 컬렉션 (American Type Culture Collection) (ATCC)으로부터 이용가능한 많은 불멸화 세포주를 포함한다. 이들은 특히 차이니즈 (Chinese) 햄스터 난소 (CHO) 세포, NSO, SP2 세포, HeLa 세포, 새끼 햄스터 신장 (BHK) 세포, 원숭이 신장 세포 (COS), 인간 간세포 암종 세포 (예를 들어, Hep G2), A549 세포, 및 많은 다른 세포주를 포함한다. 사용할 수 있는 다른 세포주는 곤충 세포주, 예컨대 Sf9 세포이다. 항체 유전자를 코딩하는 핵산 (또는 핵산-함유 벡터)이 포유동물 숙주 세포 내로 도입될 때, 항체는 숙주 세포를 숙주 세포 내에서 항체의 발현, 또는 보다 바람직하게는, 숙주 세포가 성장하는 배양 배지 내로 항체의 분비를 허용하는 충분한 기간 동안 배양함으로써 생산될 수 있다. 항체는 표준 단백질 정제 방법을 이용하여 배양 배지로부터 회수될 수 있다. 또한, 항체는 분비 신호 없이 직접 발현될 때 숙주 세포 용해물로부터 회수될 수 있다.

[0282] 세포 배양액, 세포 용해물 및 트랜스제닉 동물 또는 그로부터 (예를 들어 항체를 생산하는 트랜스제닉 동물의 복수액으로부터) 얻어진 생물학적 물질로부터의 항체의 정제는 예를 들어, 면역친화도 컬럼 정제; 술페이트 침전; 크로마토포커싱 (chromatofocusing); 예비 SDS-PAGE 등을 비롯하여 당업계에 공지된 임의의 많은 적합한 기술에 의해 달성될 수 있다.

[0283] 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 또한 세균 세포 및 진핵 단세포 미생물, 예컨대 효모에서 생산될 수 있다. 세균 세포 생산 항체는 정상적인 당화가 결여되고, 따라서 ADCC 기능, 및 그렇지 않으면 포유동물 세포 및 또는 동물에서 생산된 본질적으로 동일한 항체와 관련될 수 있는 면역 반응의 다른 측면이 결핍될 수 있다.

[0284] WO 2006/072625에 기재된 것을 비롯하여 항체의 정제, 스크리닝 및 선택을 위해 적합한 방법이 사용될 수 있다. 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체의 스크리닝 및 선택은 임의의 적합한 기술 또는 기술의 조합에 의해 달성할 수 있다. 예를 들어, 다양한 면역검정 형식이 특정 단백질, 변이체, 또는 단편과 선택적으로 결합하는 항체를 선택하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 고체상 ELISA 면역검정은 단백질, 단백질 변이체, 또는 그의 단편과 선택적으로 면역반응성인 항체를 선택하기 위해 통상적으로 사용된다 (Harlow and Lane, 상기 문헌). 모노클로날 항체의 결합 친화도는 예를 들어 문헌 [Munson et al., Anal. Biochem., 107:220 (1980)]의 스캐차드 분석에 의해 결정할 수 있다.

[0285] 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 일반적으로 예컨대 KIR2DL1, 2 및/또는 3-매개 신호를 억제하고 NK 활성화 수용체-매개 신호를 통한 NK 세포의 활성화를 촉진함으로써 NK 세포 활성을 조절하는 능력에 대해 스크리닝한다. 예를 들어, 유동 세포측정 스크리닝 방법을 비롯하여 상기 측면에서 유용할 수 있는 많은 NK 세포 검정이 개발되었다 (예를 들어, 문헌 [McGinnes, et al. (1984) J Immunol Methods 80: 70-85]). NK 세포를 배양하고 NK 세포를 평가하는 것 등과 관련된 방법은 당업계에 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Campbell and Colonna, Natural Killer Cell Protocols (Methods in Molecular Biology Series vol. 121) (2000)] 참조).

[0286] 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체의 측면에서, NK 세포 중화 활성은 KIR2DL1, 2 및/또는 3-양성 NK 세포에 의한

표적 세포의 용해를 재구성하는 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체의 능력에 의해 입증될 수 있다. 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체-연관 NK 세포 조절 (예를 들어, KIR 억제)는 또한 다양한 세포 기반 세포독성 검정에 의해 평가될 수 있다. 재유도 (redirected) 사멸은 세포독성을 유도하는 NK-세포 수용체의 능력을 결정하기 위한 한 실험 시스템이다. 후보 수용체에 특이적인 항체로 코팅한 NK 세포는 항체가 결합하는 Fc 수용체를 발현하는 표적 세포를 사멸시키는 그의 능력에 대해 평가된다. 또다른 변이체에서, 항-KIR 항체와 연관된 NK 세포 활성 조절은 시토카인-방출 검정으로 평가될 수 있다. 다양한 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체와 연관된 다른 생물학적 활성은 또한 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 평가하기 위해 사용될 수 있다.

[0287] 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 일반적으로 실질적으로 순수한 형태로 사용되고 제공된다. 실질적으로 순수한 분자는 그가 속하는 분자의 클래스에 대해서 발견되는 조성물 내의 우세한 종인 분자이다 (예를 들어, 실질적으로 순수한 항체는 그가 발견되는 조성물 내의 우세한 단백질 종이다). 실질적으로 순수한 종은 조성물 내 분자 종류의 적어도 약 50%를 구성할 것이고, 일반적으로 중량 기준으로 조성물 내의 종의 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 그 초과의 비율을 구성할 것이다. 통상적으로, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 포함하는 조성물은 조성물에 존재하는 모든 펩티드 종의 측면에서 또는 제안된 용도의 맥락에서 적어도 실질적으로 활성인 펩티드 종에 관하여 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체에 대해 적어도 약 98%, 98%, 또는 99% 균일성을 보일 것이다. 예를 들어, 펩티드 안정화제/완충제, 예컨대 알부민은 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체의 활성을 방해하지 않으면서 최종 제약 제제에 의도적으로 포함될 수 있고, 따라서 상기 순도 계산으로부터 배제될 수 있다. 근본적인 활성을 저해하지 않는 불순물의 존재도 실질적으로 순수한 조성물의 맥락에서 허용될 수 있다. 순도는 제시된 화합물에 대해 적절한 방법에 의해 측정할 수 있다 (예를 들어, 크로마토그래피 방법; 아가로스 및/또는 폴리아크릴아미드 겔 전기영동; HPLC 분석 등).

[0288] 단리된 분자는 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체가 생산된 세포, 세포 배양액, 화학적 배지 또는 동물 내에 함유된 유의한 수준 (예를 들어, 약 1% 초과, 약 2% 초과, 약 3% 초과, 또는 약 5% 초과)의 임의의 외부의 및 바람직하지 않은 생물학적 분자, 예컨대 비-항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체 생물학적 분자와 결합되지 않은 분자를 의미한다. 단리된 분자는 또한 유의한 시간 (예를 들어, 적어도 약 10분, 적어도 약 20분, 적어도 약 1시간, 또는 그 초과의 시간) 동안 인간의 개입 (자동, 수동, 또는 둘 모두)에 의해 상기 순도 단계를 통과한 임의의 분자를 의미한다. 본 발명에 의해 제공되는 많은 다양한 조성물에서, 예컨대 하나 이상의 제약상 허용되는 담체를 포함하는 조성물에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 조성물 내의 총 분자 종의 수의 측면에서 비교적 소량으로 존재할 수 있다 (예를 들어, 다량의 제약상 허용되는 담체, 안정화제, 및/또는 보존제를 포함하는 조성물의 경우에). 몇몇 경우에, 추가의 펩티드, 예컨대 BSA는 이전에 정제된 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체와 함께 상기 조성물에 포함될 수 있다. 그러나, 상기 조성물의 추가의 성분이 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체의 의도된 용도에 대해 허용가능하다면, 그러한 조성물은 단리된 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 포함하는 것으로서 계속 설명될 수 있다. 즉, 용어 "단리된"은 제약상 허용되는 제제의 일부를 형성할 수 있는 것과 같은 다른 화합물 또는 물질과의 인공 또는 합성 혼합물을 배제하는 의미가 아니다.

[0289] *제약상 허용되는 담체*

[0290] 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 제약상 허용되는 조성물을 제공하기 위해 하나 이상의 의도된 투여 경로에 적절한 하나 이상의 담체 (희석제, 부형제 등) 및/또는 아주반트 (adjuvant)와 조합될 수 있다.

[0291] 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 예를 들어 락토스, 수크로스, 분말 (예를 들어, 전분 분말), 알칸산의 셀룰로스 에스테르, 스테아르산, 탈크, 스테아르산마그네슘, 산화마그네슘, 인산 및 황산의 나트륨 및 칼슘염, 아카시아, 젤라틴, 알긴산나트륨, 폴리비닐피롤리딘, 및/또는 폴리비닐 알콜과 혼합되고, 임의로 통상적인 투여를 위해 추가로 정제 또는 캡슐화될 수 있다. 별법으로, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 염수, 물, 폴리에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 카르복시메틸 셀룰로스 콜로이드 용액, 에탄올, 옥수수 기름, 땅콩 기름, 면실유, 참기름, 트라가칸트 검, 및/또는 다양한 완충제에 용해될 수 있다. 다른 담체, 아주반트, 및 투여 방식은 제약 기술에 잘 공지되어 있다. 담체 또는 희석제는 시간 지연 물질, 예컨대 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 디스테아레이트를 단독으로 또는 왁스, 또는 다른 기능적으로 유사한 물질과 함께 포함할 수 있다.

[0292] 제약상 허용되는 담체는 일반적으로 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체와 생리학상 상용성인 임의의 및 모든 적합한 용매, 분산매, 코팅, 항균 및 항진균제, 등장화 및 흡수 지연제 등을 포함한다. 제약상 허용되는 담체의 예는 물, 염수, 인산염 완충 염수, 덱스트로스, 글리세롤, 에탄올 등, 및 이들의 임의의 조합물을 포함한다. 많은 경우에, 담체는 그러한 조성물에 등장화제, 예를 들어, 당, 다가알콜, 예컨대 만니톨, 소르비톨, 또는 염화나트륨을 포함하는 것이 바람직할 수 있다. 제약상 허용되는 물질, 예컨대 습윤제 또는 미소량의 보조 물질, 예컨

대 습윤제 또는 유화제, 보존제 또는 완충제는 바람직하게는 항-KIR 항체, 관련 조성물, 또는 조합물의 저장 수명 또는 유효성을 향상시킬 수 있다. 제약 조성물의 담체 및 다른 성분의 적합성은 항체의 목적하는 생물학적 특성에 대한 유의한 부정적인 영향의 결여를 기초로 하여 결정된다.

[0293] 본 발명에 따른 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체 조성물, 관련 조성물, 및 조합물은 다양한 적합한 형태일 수 있다. 상기 형태는 예를 들어 액체, 반-고체 및 고체 투여 형태, 예컨대 액체 용액 (예를 들어, 주사가능 및 주입가능 용액), 분산액 또는 현탁액, 에멀젼, 미세에멀젼, 정제, 알약, 분말, 리포좀, 덴드리머 (dendrimer) 및 다른 나노입자 (예를 들어, 문헌 [Baek et al., Methods Enzymol. 2003; 362:240-9]; [Nigavekar et al., Pharm Res. 2004 Mar;21(3):476-83] 참조), 미세입자, 및 좌제를 포함한다. 제제화, 염은 WO2006/072625에 추가로 설명되어 있다.

[0294] 일반적으로, 주사가능 또는 주입가능 용액 형태의 조성물, 예컨대 다른 항체를 사용한 인간의 수동 면역화를 위해 사용된 것과 유사한 조성물이 본 발명의 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체의 전달을 위해 사용된다. 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체 조성물의 대표적인 전달 방식은 비경구 투여 (예를 들어, 정맥내, 피하, 복강내, 및/또는 근육내 투여)이다. 한 측면에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 인간 환자에게 정맥내 주입 또는 주사에 의해 투여된다.

[0295] 제약 용도를 위한 조성물은 또한 다양한 희석제, 충전제, 염, 완충제, 세제 (예를 들어, 비이온계 세제, 예컨대 트윈 (Tween)-80), 안정화제 (예를 들어, 당 또는 단백질-미함유 아미노산), 보존제, 조직 고정제, 안정화제, 및/또는 제약 용도를 위한 조성물에 포함하기 적합한 다른 물질을 포함할 수 있다. 적합한 성분의 예는 또한 예를 들어 문헌 [Berge et al., J. Pharm. Sci., 6661, 1-19 (1977)]; [Wang and Hanson, J. Parenteral. Sci. Tech: 42, S4-S6 (1988)]; 미국 특허 6,165,779 및 6,225,289에 기재되어 있다. 상기 제약 조성물은 또한 보존제, 항산화제, 또는 당업자에게 공지된 다른 첨가제를 포함할 수 있다. 추가의 제약상 허용되는 담체는 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, WO2006/072625를 참조한다.

[0296] **KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드**

[0297] 본 발명은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 및 자가면역 및 염증성 장애의 치료 또는 예방에 사용하기 위한, 상기 폴리펩티드를 억제하는 화합물을 함유하는 조성물을 제공한다. 예시적인 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드는 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열에 제시되어 있다. 표 1 참조.

[0298] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드를 코딩하는 핵산은 적어도 하나의 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 아미노산 서열의 결실, 부가 및 치환을 포함하고 이로 제한되지 않는 변형을 포함하고 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 특이적 항원성 (예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드는 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체에 의해 결합됨)을 보유하는 변이체 폴리펩티드를 생성하는 표준 분자 생물학 기술을 사용하여 변형될 수 있다. 추가로, 적어도 하나의 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드를 포함하는 변이체 폴리펩티드는 또한 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 항원성을 보유할 수 있다 (예를 들어, 대상체에서 면역화 시에 각각 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 및 변이체 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드에 대한 특이적 면역 반응을 유도할 수 있다). KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드는 "암 백신"으로서 유용한 항원 조성물 (예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 (예를 들어, 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열)에 대한 특이적 면역 반응을 유도하는, 대상체에서 면역화 후에 항-KIRD2L1, 2, 및/또는 3 항체를 생산하는 제약 조성물)의 제조를 위해 제약 담체와 함께 제제화될 수 있다.

[0299] **폴리펩티드 유도체 및 유사체**

[0300] 본원에 설명되는 폴리펩티드는 분해 생성물, 합성 펩티드 또는 재조합 펩티드 및 펩티드 모방체, 합성 펩티드, 펩토이드 (peptoid), 및 반-펩토이드 (예를 들어, 예를 들어 펩티드를 신체 내에 있으면서 보다 안정하거나 세포 내로 투과할 수 있도록 만드는 변형을 가질 수 있는 펩티드 유사체)일 수 있음이 이해될 것이다. 본원에 설명된 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 변형은 N-말단 변형, C-말단 변형, 펩티드 결합 변형 (예를 들어, CH_2-NH, CH_2-S, CH_2-S=O, O=C-NH, CH_2-O, CH_2-CH_2, S=C-NH, CH=CH 또는 CF=CH), 백본 변형, 및 잔기 변형을 포함하고 이로 제한되지 않는다. 펩티드 모방체 화합물의 제조 방법은 당업계에 잘 공지되어 있다 (Martin, (2010) Quantitative Drug Design: A Critical Introduction [2nd Ed.] CRC Press).

[0301] 펩티드 내의 펩티드 결합 (-CO-NH-)은 예를 들어 N-메틸화 결합 (-N(CH_3)-CO-), 에스테르 결합 (-C(R)H-C-O-O-C(R)-N-), 케토메틸렌 결합 (-CO-CH_2-), α-아자 결합 (-NH-N(R)-CO-) (여기서, R은 임의의 알킬, 예를 들어, 메틸, 카르바 결합 (-CH_2-NH-), 히드록시에틸렌 결합 (-CH(OH)-CH_2-), 티오아미드 결합 (-CS-NH-), 올레핀 이중 결합 (-CH=CH-), 레트로 아미드 결합 (-NH-CO-), 펩티드 유도체 (-N(R)-CH_2-CO-) (여기서, R은 천연적으로 탄소 원자 상에 존재하는 "정상" 측쇄에 의해 치환될 수 있다)에 의해 치환될 수 있다. 이들 변형은 펩티드 사슬을 따라 임의의 결합에서 및 심지어 몇몇 (2-3) 결합에서 동시에 발생할 수 있다.

[0302] 천연 방향족 아미노산 Trp, Tyr 및 Phe는 합성 비-천연 산, 예컨대 페닐글라이신, TIC, 나프틸알라닌 (Nol), 페닐알라닌의 고리-메틸화 유도체, 페닐알라닌의 할로겐화 유도체 또는 o-메틸-티로신에 의해 치환될 수 있다. 여기에 추가로, 본 발명의 폴리펩티드는 또한 하나 이상의 변형된 아미노산 또는 하나 이상의 비-아미노산 단량체 (예를 들어, 지방산, 복합체 탄수화물), 예를 들어, 히드록시프롤린, 포스포세린 및 포스포트레오닌; 및 2-아미노아디프산, 히드록시라이신, 이소데스모신, 노르-발린, 노르-류신 및 오르니틴을 포함하고 이로 제한되지 않는 다른 흔치 않은 아미노산을 포함할 수 있다. 또한, 용어 "아미노산"은 D- 및 L-아미노산 둘 모두를 포함한다.

[0303] 본 발명의 폴리펩티드는 바람직하게는 펩티드가 가용성 형태일 것을 필요로 하는 치료제에 이용되기 때문에, 본 발명의 폴리펩티드는 그의 히드록실-함유 측쇄 때문에 펩티드 용해도를 증가시킬 수 있는 세린 및 트레오닌을 포함하고 이로 제한되지 않는 하나 이상의 비-천연 또는 천연 극성 아미노산을 포함할 수 있다.

[0304] 본 발명의 폴리펩티드는 선형 형태일 수 있지만, 이 경우도 이용될 수 있음이 이해될 것이다.

[0305] 본원에 설명되는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드는 그를 발현하도록 변형된 (예를 들어, 재조합) 세포로부터 정제할 수 있다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드를 코딩하는 DNA 서열은 발현 벡터 내로 삽입되고 이어서 적절한 숙주 세포 내에 형질전환 (또는 형질감염)되고/되거나 트랜스제닉 동물 내에서 발현될 수 있다. 이와 같이 발현된 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 (예를 들어, 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열)는 이어서 당업계에 공지된 방법에 의해 단리할 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Maniatis, et al. (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual [3rd Ed.] Cold Spring Harbor Laboratory Press]을 참조한다.

[0306] 본 발명의 폴리펩티드는 예컨대 표준 고체상 기술을 사용하여 생화학적으로 합성될 수 있다. 이들 방법은 고체상 전용 합성, 부분적인 고체상 합성 방법, 단편 축합, 고전적 용액 합성을 포함한다. 이들 방법은 바람직하게는 펩티드가 비교적 짧은 경우 (즉, 10 kDa) 및/또는 재조합 기술에 의해 생산될 수 없고 (즉, 핵산 서열에 의해 코딩되지 않고) 및 따라서 상이한 화학을 수반할 때 사용된다. 고체상 펩티드 합성 절차는 당업계에 공지되어 있고, 추가로 문헌 [Stewart (1984) Solid Phase Peptide Syntheses [2nd Ed.] Pierce Chemical Company and Benoiton (2005) Chemistry of Peptide Synthesis CRC Press]에 기재되어 있다. 합성 펩티드는 예비 고성능 액체 크로마토그래피에 의해 정제될 수 있고, 그의 조성은 아미노산 서열결정을 통해 확인될 수 있다. 문헌 [Creighton (1992) [2nd Ed.] Proteins, Structures and Molecular Principles W.H. Freeman and Company]; [Aguilar (2004) [Ed.] HPLC of Peptides and Proteins: Methods and Protocols Humana Press]; [Simpson (2002) Protein Sequencing Protocols [2nd Ed.] Humana Press]을 참조한다.

[0307] 다량의 본 발명의 폴리펩티드가 요구되는 경우에, 본 발명의 폴리펩티드는 예컨대 문헌 [Invitrogen (2002) "Guide to Baculovirus Expression Vector Systems (BEVs) and Insect Culture Techniques" Instruction Manual]; [Hatti-Kaul and Mattiasson (2003) [Eds] Isolation and Purification of Proteins]; [Ahmed (2004) Principles and Reactions of Protein Extraction, Purification and Characterization CRC Press]에 기재된 재조합 기술을 이용하여 생성할 수 있다. 추가의 재조합 기술은 예를 들어 문헌 [Bitter, et al. (1987) Methods in Enzymol. 153: 516-544], [Studier, et al. (1990) Methods in Enzymol. 185: 60-89], [Brisson, et al. (1984) Nature 310: 511-514], [Takamatsu, et al. (1987) EMBO J. 6: 307-311], [Coruzzi, et al. (1984) EMBO J. 3: 1671-1680] 및 [Brogli, et al. (1984) Science 224: 838-843], [Gurley, et al. (1986) Mol. Cell. Biol. 6: 559-565] 및 [Weissbach & Weissbach (1988) Methods for Plant Molecular Biology, Academic Press, NY, Section VIII, pages 421-463]에 기재되어 있다.

[0308] **폴리펩티드 서열 변이체**

[0309] 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열의 임의의 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 서열에 대해, 추가의 특성화 또는 최적화는 보다 긴 또는 보다 짧은 펩티드를 생성하도록 체계적으로 아미노산 잔기를 부가 또는 제거하고 상기 서열 및 그 지점으로부터 항원의 위아래로 보다 긴 또는 보다 짧은 크기의 윈도우 (window)로 이동함으로써 생성된 서열을 시험함으로써 달성할 수 있다. 새로운 후보 표적을 생성하는 상기 방안을, 당업계에 공지된 또는 본원에 설명된 면역원성 검정에서 해당 서열을 기초로 한 항원성 분자의 유효성에 대한 시험과 결합함으로써 항원을 추가로 조작할 수 있다. 추가로, 상기 최적화된 서열은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3을 추가로 최적화 (예를 들어, 혈청 안정성 또는 순환 반감기 증가, 열 안정성 증가, 전달 향상, 면역원성 증강, 용해도 증가, 특정 생체내 위치 또는 세포 종류의 표적화)하기 위해, 예를 들어 당업계에 공지된 및/또는 본원에서 논의된 바와 같이 부가, 결실, 또는 다른 돌연변이에 의해 조절될 수 있다.

[0310] 본원에 설명되는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드는 보존적 치환 돌연변이 (즉, 유사한 아미노산에 의한 하나 이상의 아미노산의 치환)를 포함할 수 있다. 예를 들어, 보존적 치환은 아미노산의 동일한 일반적인 클래스 내의 또다른 아미노산으로의 치환, 예를 들어, 한 산성 아미노산의 또다른 산성 아미노산으로의, 한 염기성 아미노산의 또다른 염기성 아미노산으로의, 또는 한 중성 아미노산의 또다른 중성 아미노산으로의 치환을 의미한다.

[0311] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 서열은 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열 중 임의의 하나 이상의 서열에 적어도 약 60, 65, 70, 75, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100% 서열 상동성을 가질 수 있다. 보다 바람직하게는, 본 발명은 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열의 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 서열 중 임의의 하나 이상의 폴리펩티드 서열에 대해 적어도 약 95% 서열 상동성, 훨씬 더 바람직하게는 적어도 약 98% 서열 상동성, 및 보다 더 바람직하게는 적어도 약 99% 서열 상동성을 갖는 폴리펩티드 서열을 고려한다. 아미노산 서열들 및 핵산 서열들 사이의 상동성을 결정하는 방법은 당업자에게 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Nedelkov & Nelson (2006) New and Emerging Proteomic Techniques Humana Press] 참조.

[0312] 따라서, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드는 폴리펩티드 서열과 적어도 약 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 상동성을 가질 수 있다. 예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드는 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 상동성을 가질 수 있다.

[0313] 용어 상동성, 또는 동일성은 %로 표현된, 다른 단백질과 일치하는 아미노산의 수 (동일성)를 의미하는 것으로 이해된다. 동일성은 바람직하게는 컴퓨터 프로그램의 도움으로 제시된 서열을 다른 단백질과 비교함으로써 결정한다. 서로 비교되는 서열의 길이가 상이한 경우에, 동일성은 짧은 서열이 보다 긴 서열과 공유하는 아미노산의 수가 동일성 %를 결정하는 방식으로 결정될 수 있다. 동일성은 공개적으로 이용가능한 공지의 컴퓨터 프로그램, 예를 들어 ClustalW에 의해 통상적으로 결정할 수 있다 (Thompson, et al. (1994) Nucleic Acids Research 22: 4673-4680). ClustalW는 유러피언 몰레큘라 바이올로지 래보러토리 (European Molecular Biology Laboratory)로부터 공개적으로 이용가능하고, 다양한 인터넷 페이지, 특히 IGBMC (Institut de Genetique et de Biologie Moleculaire et Cellulaire) 및 EBI 및 모든 미러 (mirrored) EBI (유러피언 바이오인포매틱스 인스티튜트 (European Bioinformatics Institute)) 인터넷 페이지로부터 내려받을 수 있다. 예를 들어 본원의 참조 단백질과 다른 단백질 사이의 동일성을 결정하기 위해 ClustalW 컴퓨터 프로그램 버전 1.8을 사용할 경우, 다음 파라미터가 설정되어야 한다: KTUPLE=1, TOPDIAG=5, WINDOW=5, PAIRGAP=3, GAPOPEN=10, GAPEXTEND=0.05, GAPDIST=8, MAXDIV=40, MATRIX=GONNET, ENDGAPS(OFF), NOPGAP, NOHGAP. 또한, 온라인으로 이용가능한 유러피언 바이오인포매틱스 인스티튜트 (EBI) 툴박스 (toolbox) 및 문헌 [Smith (2002) Protein Sequencing Protocols [2nd Ed.] Humana Press]을 참조한다.

[0314] 유사한 서열을 발견할 수 있는 한 가지 가능성은 서열 데이타베이스 조사를 수행하는 것이다. 여기서, 하나 이상의 서열은 질의로 알려진 것으로서 입력된다. 이어서, 상기 질의 서열은 통계적 컴퓨터 프로그램을 사용하여 선택된 데이타베이스에 존재하는 서열과 비교된다. 상기 데이타베이스 질의 (blast 검색)는 숙련된 당업자에게 공지되어 있고, 상이한 공급처에서 수행될 수 있다. 예를 들어, 상기 데이타베이스 질의가 NCBI (National Center for Biotechnology Information)에서 수행될 경우, 각각의 비교 질의에 대한 표준 환경이 사용되어야

한다. 단백질 서열 비교 (blastp)를 위해, 이들 환경은 다음과 같다: Limit entrez = 활성화되지 않음; 필터 = 낮은 복합도 활성화됨; 기대 값 = 10; 워드 크기 = 3; 매트릭스 = BLOSUM62; 갭 코스트: 존재 = 11, 연장 = 1. 그러한 질의의 결과는 다른 파라미터 중에서도, 질의 서열과 데이타베이스에서 발견된 유사한 서열 사이의 동일성의 정도이다.

[0315] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드는 상기 폴리펩티드의 기능적 단편을 포함한다. 상기 폴리펩티드의 "기능적 단편"은 면역 반응 (예를 들어, 체액성 또는 세포 면역 반응)을 유도할 수 있는, 상기 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3을 코딩하는 유전자 또는 cDNA의 단편을 포함한다. 따라서, 예를 들어, 본 발명에 따른 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 단편은 항원의 면역원성에 기여하는 아미노산 잔기에 대응하고 면역 반응 (예를 들어, 체액성 또는 세포 면역 반응)을 유도하는 항원으로서 기능할 수 있다. 본 발명의 상기 측면은 또한 본 발명에 따른 폴리펩티드의 차별적으로 스플라이싱된 이소형 및 전사 개시형을 포함한다. 본 발명에 따른 폴리펩티드는 또한 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 단편, 유도체 및 대립유전자 변이체를 포함할 수 있다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 단편 제조를 위한 방법 및 물질은 당업계에 잘 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Maniatis, et al. (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual [3rd Ed.] Cold Spring Harbor Laboratory Press] 참조).

[0316] 변이체 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드는 그들의 각각의 항체에 결합하는 항원 특이성을 보유할 수 있다 (예를 들어, 변이체 KIR2DL1, KIR2DL2, 또는 KIR2DL3 폴리펩티드는 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 또는 KIR2DL3 항체에 의해 결합될 것이다). 완전 항원성 변이체는 비-중대한 잔기 또는 비-중대한 영역에 단지 보존적 변이 또는 변이들을 보유할 수 있다. 항원성 변이체는 또한 항원성에 변화를 야기하지 않거나 유의하지 않은 변화를 야기하는 유사한 아미노산의 치환을 보유할 수 있다. 별법으로, 그러한 치환은 어느 정도 항원성에 양성 또는 음성 영향을 줄 수 있다. 비-항원성 변이체는 일반적으로 하나 이상의 비-보존적 아미노산 치환, 결실, 삽입, 역위, 또는 말단절단 (truncation) 또는 에피토프의 중대한 잔기 또는 중대한 영역의 치환, 삽입, 역위, 또는 결실을 보유한다. 그들의 각각의 항체에 대한 폴리펩티드의 특이적 항원성을 보존하면서 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드를 변형시키기 위한 분자 생물학 및 생물화학 기술은 당업계에 잘 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Ho, et al. (1989) Gene 77(1): 51-59]; [Landt, et al. (1990) Gene 96(1): 125-128]; [Hopp & Woods (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78(6): 3824-3828]; [Kolaskar & Tongaonkar (1990) FEBS Letters 276(1-2): 172-174]; 및 [Welling, et al. (1985) FEBS Letters 188(2): 215-218] 참조).

[0317] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 변이체는 KIR2DL1, KIR2DL2, 또는 KIR2DL3 작용제 (모방체)로서 또는 KIR2DL1, KIR2DL2, 또는 KIR2DL3 길항제로서 기능한다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 변이체는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 돌연변이 유발, 예를 들어, 별개의 점 돌연변이 또는 말단절단에 의해 생성할 수 있다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 작용제는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 천연 생성 형태의 생물학적 활성과 실질적으로 동일한 활성, 또는 그의 하위세트를 보유할 수 있다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 길항제는 예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3-매개 활성을 경쟁적으로 조절함으로써 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 천연 생성 형태의 하나 이상의 활성을 억제할 수 있다. 따라서, 특이적 생물학적 효과는 제한된 기능의 변이체를 사용한 처리에 의해 유도될 수 있다. 예를 들어, 대상체는 천연 생성 형태의 폴리펩티드의 생물학적 활성의 하위세트를 갖는 변이체로 치료될 수 있고, 이 치료는 천연 생성 형태의 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드를 사용한 치료에 비해 대상체에서 부작용이 더 적다.

[0318] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 작용제 (모방체)로서 또는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 길항제로서 기능하는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 변이체는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 돌연변이체, 예를 들어, 말단절단 돌연변이체의 조합 라이브러리를 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 작용제 또는 길항제 활성에 대해 스크리닝함으로써 확인할 수 있다.

[0319] **펩티드 모방체**

[0320] 천연 생성 아미노산으로만 이루어진 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드에 추가로, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 펩티드 모방체도 제공된다. 펩티드 유사체는 원형 펩티드와 유사한 특성을 갖는 비-펩티드 약물로서 제약 산업에서 통상적으로 사용된다. 이들 종류의 비-펩티드 화합물은 "펩티드 모방체" 또는 "펩티드모방체"로서 불리고 ([Fauchere (1986) Adv. Drug Res. 15: 29; Advances in Amino Acid Mimetics and Peptidomimetics (Volume 2) Andrew Abell (Ed.) (1999) JAI Press, Inc.] 및 [Evans et al. (1987) J. Med. Chem 30: 1229]), 대체로 전산화 분자 모델링의 도움으로 개발된다. 치료상 유용한 펩티드와 구조상 유사한 펩

티드 모방체는 동등한 치료 또는 예방 효과를 생성하기 위해 사용될 수 있다. 일반적으로, 펩티드 모방체는 패러다임 (paradigm) 폴리펩티드 (즉, 생물학적 또는 약물학적 활성을 갖는 폴리펩티드), 예컨대 인간 또는 마우스 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3과 구조상 유사하지만, 당업계에 공지되고 다음 참고문헌에 추가로 설명되어 있는 방법에 의해 $-CH_2NH-$, $-CH_2S-$, $-CH_2-CH_2-$, -CH=CH- (시스 및 트랜스), $-COCH_2-$, $-CH(OH)CH_2-$, 및 $-CH_2SO-$로 이루어진 군 중에서 선택되는 연결에 의해 임의로 교체된 하나 이상의 펩티드 연결을 갖는다 [Spatola in Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides, and Proteins Weinstein, B., ed., Marcel Dekker, New York, p. 267 (1983)]; [Spatola, Vega Data (March 1983), Vol. 1, Issue 3, "Peptide Backbone Modification"]; [Morley (1980) Trends. Pharm. Sci. pp.463-468]; [Hudson, et al. (1979) Int. J. Pept. Prot. Res. 14: 177-185 ($-CH_2NH-CH_2CH_2-$)]; [Spatola, et al. (1986) Life. Sci. 38: 1243-1249 ($-CH_2-S$)]; [Hann, (1982) J. Chem. SoC Perkin. Trans. I 307-314 (-CH-CH-, cis and trans)]; [Almquist, et al. (1980) J. Med. Chem. 23: 1392-1398 ($-COCH_2-$)]; [Jennings-White, et al. (1982) Tetrahedron Lett. 23:2533 ($-COCH_2-$); ($-CH(OH)CH_2-$)]; [Holladay, et al. (1983) Tetrahedron. Lett. 24:4401-4404 ($-C(OH)CH_2-$)]; 및 [Hruby (1982) Life Sci. 31:189-199 ($-CH_2-S-$)]. 특히 바람직한 비-펩티드 연결은 $-CH_2NH-$이다. 상기 펩티드 모방체는 폴리펩티드 실시양태에 비해 예를 들어 다음을 포함하는 유의한 잇점을 가질 수 있다: 보다 경제적인 생산, 보다 큰 화학적 안정성, 향상된 약물학적 특성 (반감기, 흡수, 효력, 효능), 변경된 특이성 (예를 들어, 넓은 스펙트럼의 생물학적 활성), 감소된 항원성 등. 펩티드 모방체의 표지는 대체로 정량적 구조-활성 데이타 및/또는 분자 모델링에 의해 예측된 펩티드 모방체 상의 비-간섭 위치(들)에 하나 이상의 표지를 직접 또는 스페이서 (예를 들어, 아미드기)를 통해 공유 부착하는 것을 수반한다. 상기 비-간섭 위치는 일반적으로 펩티드 모방체가 치료 효과를 생성하기 위해 결합하는 거대분자(들)과 직접적인 접촉을 형성하지 않는 위치이다. 펩티드 모방체의 유도체화 (예를 들어, 표지화)는 펩티드 모방체의 목적하는 생물학적 또는 약물학적 활성을 실질적으로 저해하지 않아야 한다.

[0321] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 아미노산 서열의 하나 이상의 아미노산의 동일한 종류의 D-아미노산으로의 체계적인 치환 (예를 들어, L-라이신 대신에 D-라이신)이 보다 안정한 펩티드를 생성하기 위해 사용될 수 있다. 추가로, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 아미노산 서열 또는 실질적으로 동일한 서열 변이를 포함하는 속박된 (constrained) 펩티드는 당업계에 공지된 방법 (Rizo and Gierasch (1992) Annu. Rev. Biochem. 61:387)에 의해; 예를 들어, 펩티드를 고리화하는 분자내 디술피드 다리를 형성할 수 있는 내부 시스테인 잔기를 첨가함으로써 생성할 수 있다. 본원에서 확인된 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 아미노산 서열을 사용하여 당업자는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 펩티드 서열에 상응하는 폴리펩티드 및 그의 서열 변이체를 생산할 수 있다. 상기 폴리펩티드는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 펩티드 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 발현에 의해, 종종 보다 큰 폴리펩티드의 일부로서 원핵 또는 진핵 숙주 세포에서 생산될 수 있다. 별법으로, 그러한 펩티드는 화학적 방법에 의해 합성할 수 있다. 재조합 숙주에서 이종성 폴리펩티드의 발현, 폴리펩티드의 화학적 합성, 및 시험관내 번역을 위한 방법은 당업계에 잘 공지되어 있다. 특정 아미노-말단 및/또는 카르복시-말단 변형 및/또는 코어 서열에 대한 펩티드 연장은 유리한 물리적, 화학적, 생화학적, 및 약리학적 특성, 예컨대 향상된 안정성, 증가된 효력 및/또는 효능, 혈청 프로테아제에 대한 내성, 바람직한 약동학적 특성 등을 제공할 수 있다. 펩티드는 예를 들어 환자에서 동시자극을 변경함으로써 질환을 치료하기 위해 치료 목적으로 사용될 수 있다.

[0322] 기능에 필수적인 아미노산은 당업계에 공지된 방법, 예컨대 부위-지정 돌연변이 유발 또는 알라닌-스캐닝 돌연변이 유발에 의해 확인할 수 있다 (Cunningham, et al. (1989) Sci. 244: 1081-85). 후자의 절차는 분자 내의 모든 잔기에서 단일 알라닌 돌연변이를 도입한다. 이어서, 생성되는 돌연변이체 분자는 생물학적 활성, 예컨대 에피토프 결합 또는 시험관내 ADCC 활성에 대해 시험된다. 리간드-수용체 결합에 중대한 부위도 구조 분석, 예컨대 결정학, 핵 자기 공명, 또는 광친화도 표지화에 의해 결정할 수 있다 ([Smith, et al. (1992) J. Mol. Biol. 224: 899-904]; [de Vos, et al. (1992) Sci. 255: 306-12]).

[0323] 예를 들어, 치환의 한 클래스는 보존된 아미노산 치환이다. 그러한 치환은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 내의 제시된 아미노산을 유사한 특징의 또다른 아미노산으로 치환하는 것이다. 보존적 치환으로서 일반적으로 관찰되는 것은 지방족 아미노산 Ala, Val, Leu, 및 Ile 중의 한 아미노산의 또다른 아미노산으로의 교체; 히드록실 잔기 Ser 및 Thr의 교환, 산성 잔기 Asp 및 Glu의 교환, 아미드 잔기 Asn 및 Gln의 치환, 염기성 잔기 Lys 및 Arg의 교환, 방향족 잔기 Phe, Tyr의 교체이다. 어느 아미노산 변화가 표현형상 침묵인지에 대한 지침은 예를 들어 문헌 [Bowie, et al. (1990) Sci. 247: 1306-10]에서 제시된다. 따라서, 당업자는 본 발

명자들이 모든 특이적 변이체를 설명하지 않아도 펩티드 변이체를 갖는다는 것을 이해할 것이다. 아미노산 서열에 대해, 당업자는 코딩된 서열 내의 아미노산의 단일 아미노산 또는 작은 비율의 아미노산을 변경, 부가 또는 결실시키는, 핵산, 펩티드, 폴리펩티드, 또는 단백질 서열에 대한 개별 치환, 결실 또는 부가가, 화학적으로 유사한 아미노산으로의 아미노산의 치환을 야기하는 "보존적으로 변형된 변이체"임을 알 것이다. 기능적으로 유사한 아미노산을 제공하는 보존적 치환 표는 당업계에 잘 공지되어 있다. 상기 보존적으로 변형된 변이체는 본 발명의 다형성 변이체, 종간 상동체, 및 대립유전자에 추가적인 것으로서 이를 배제하지 않는다 (예를 들어, 문헌 [Creighton (1992) Proteins: Structures and Molecular Properties [2nd Ed.] W.H. Freeman] 참조).

[0324] 또한, 폴리펩티드는 종종 20개의 "천연 생성" 아미노산 이외의 다른 아미노산을 함유한다. 추가로, 말단 아미노산을 포함하는 많은 아미노산은 천연 과정, 예컨대 프로세싱 (processing) 및 다른 번역후 변형, 또는 당업계에 잘 공지된 화학적 변형 기술에 의해 변형될 수 있다. 공지의 변형은 아세틸화, 아실화, ADP 리보실화, 아미드화, 플라빈의 공유 부착, 헴 모이어티의 공유 부착, 뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드 유도체의 공유 부착, 지질 또는 지질 유도체의 공유 부착, 포스포티딜이노시톨의 공유 부착, 가교연결, 고리화, 디술피드 결합 형성, 탈메틸화, 공유 가교연결의 형성, 시스틴의 형성, 피로글루타메이트의 형성, 포르밀화, g-카르복실화, 당화, GPI 앵커 (anchor) 형성, 히드록실화, 아이오딘화, 메틸화, 미리스토일화, 산화, 단백질분해 프로세싱, 인산화, 프레닐화, 라세미화, 셀레노일화, 황산화, 아미노산의 단백질에 대한 t-RNA 매개 부가, 예컨대 아르기닐화, 및 유비퀴틴화를 포함하고 이로 제한되지 않는다. 문헌 [Creighton (1992) Proteins: Structure and Molecular Properties [2nd Ed.] and Lundblad (1995) Techniques in Protein Modification [1st Ed.]. 상기 주제에 대한 많은 상세한 리뷰가 이용가능하다 (예를 들어, 문헌 [Wold (1983) Posttranslational Covalent Modification of Proteins Acad. Press, NY]; [Seifter, et al. (1990) Meth. Enzymol. 182: 626-46]; 및 [Rattan, et al. (1992) Ann. NY Acad. Sci. 663: 48-62] 참조).

[0325] **단편**

[0326] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 생물학적 활성 부분은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 분자 및 비-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 분자, 예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 천연 리간드 사이의 상호작용에 참여하는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 단편을 포함한다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 생물학적 활성 부분은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 아미노산 서열, 예를 들어, 서열 2, 4 또는 5에 제시된 아미노산 서열에 충분히 동일하거나 이로부터 유래된, 전장 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드보다 더 적은 아미노산을 포함하고 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 적어도 하나의 활성을 보이는 아미노산 서열을 포함하는 펩티드를 포함한다. 일반적으로, 생물학적 활성 부분은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 적어도 하나의 활성, 예를 들어, 항-CD3에 대한 CD4 T 세포 증식 반응의 조절 (억제), 동족 CD4 T 세포의 항원 특이적 방식의 증식 반응의 억제, 특이적 시토카인의 발현에 대한 영향을 갖는 도메인 또는 모티프를 포함한다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 생물학적 활성 부분은 아미노산 서열의 길이가, 예를 들어 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 또는 24의 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225개 이상의 아미노산인 폴리펩티드일 수 있다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 생물학적 활성 부분은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3-매개 활성, 예를 들어, 면역 세포 활성화를 조절하는 작용제를 개발하기 위한 표적으로서 사용될 수 있다.

[0327] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 생물학적 활성 부분은 세포외 도메인의 적어도 일부를 포함할 수 있다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 생물학적 활성 부분은 세포외 도메인의 적어도 일부 및 하나 이상의 다음 도메인을 함유할 수 있다: 신호 펩티드 도메인, 막횡단 도메인, 및 세포질 도메인. 또한, 폴리펩티드의 다른 영역이 결실된 다른 생물학적 활성 부분은 재조합 기술에 의해 제조하고, 천연 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 하나 이상의 기능적 활성에 대해 평가할 수 있다.

[0328] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드는 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 서열을 가질 수 있다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드는 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열에 실질적으로 동일할 수 있고, 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열의 폴리펩티드의 기능적 활성을 보유하지만, 본원에서 설명되는 천연 대립유전자 변이 또는 돌연변이 유발에 의해 아미노산 서열과 상이하다.

[0329] **융합 단백질**

[0330] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드를 포함하는 융합체도 본 발명의 범위 내에 포함된다. 예를 들어, 융합 단백질은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 서열이 GST 서열의 C-말단에 융합된 GST 융합 단백질에 연결될 수 있다. 상기 융합 단백질은 재조합 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 정제를 용이하게 할 수 있다. 별법으로, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드는 B-세포 소포에 결합하는 단백질에 융합되어 T 세포의 체액성 면역 반응 및 활성화를 개시할 수 있다 (Berney, et al. (1999) J. Exp. Med. 190: 851-60). 별법으로, 예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드는 항원을 면역계에 전달하고 세포 면역 반응을 자극하기 위해 항-수지상 세포 항체와 유전적으로 연결될 수 있다 (He, et al. (2004) Clin. Cancer Res. 10: 1920-27). 본 발명의 키메릭 또는 융합 단백질은 표준 재조합 DNA 기술에 의해 생산될 수 있다. 예를 들어, 상이한 폴리펩티드 서열을 코딩하는 DNA 단편은 통상적인 기술에 따라, 예를 들어, 라이게이션을 위한 블런트 단부 (blunt-ended) 또는 스태거 단부 (stagger-ended) 말단의 사용, 적절한 말단을 제공하기 위한 제한 효소 소화, 적절한 코헤시브 (cohesive) 말단의 충전, 바람직하지 않은 연결을 방지하기 위한 알칼리성 포스파타제 처리, 및 효소에 의한 라이게이션에 의해 인-프레임으로 함께 라이게이팅된다. 융합 유전자는 자동화 DNA 합성기를 포함한 통상적인 기술에 의해 합성할 수 있다.

[0331] 융합 단백질은 C-말단 또는 N-말단 전위 서열을 포함할 수 있다. 또한, 융합 단백질은 예를 들어 단백질 검출, 정제, 또는 다른 용도를 위한 추가의 요소를 포함할 수 있다. 검출 및 정제를 용이하게 하는 도메인은 금속 킬레이팅 펩티드, 예컨대 폴리히스티딘 구역 (tract), 히스티딘-트립토판 모듈 (module), 또는 고정된 금속 상의 정제를 허용하는 다른 도메인; 말토스 결합 단백질; 고정된 이뮤노글로불린 상의 정제를 허용하는 단백질 A 도메인; 또는 FLAG 연장/친화도 정제 시스템 (시그마-알드리치 (Sigma-Aldrich, 미국 미주리주 세인트루이스))에 이용되는 도메인을 포함하고 이로 제한되지 않는다.

[0332] 융합 단백질은 이뮤노글로불린의 불변 영역을 포함하는 이뮤노글로불린의 일부와의 융합에 의해 본 발명의 단백질로부터 제조될 수 있다. 보다 바람직하게는, 이뮤노글로불린의 일부는 임의로 및 보다 바람직하게는 인간 중쇄 불변 영역인 중쇄 불변 영역을 포함한다. 중쇄 불변 영역은 가장 바람직하게는 IgG 중쇄 불변 영역이고, 임의로 및 가장 바람직하게는 Fc 사슬, 가장 바람직하게는 CH2 및 CH3 도메인을 포함하는 IgG Fc 단편이다. 임의의 IgG 아형이 임의로 사용될 수 있지만, IgG1 아형이 바람직하다. Fc 사슬은 임의로 공지의 또는 "야생형" Fc 사슬일 수 있거나, 또는 별법으로 돌연변이될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 출원 공개 2006/0034852를 참조한다. 용어 "Fc 사슬"은 또한 임의의 종류의 Fc 단편을 임의로 포함한다. IgG 하위클래스에서 항체 불변 영역-매개 활성에 관여하는 몇몇의 특이적 아미노산 잔기가 확인되었다. 이들 특이적 아미노산의 포함, 치환 또는 배제는 따라서 특이적 이뮤노글로불린 불변 영역-매개 활성의 포함 또는 배제를 허용한다. 또한, 특이적 변화는 예를 들어 Fc 사슬에 비당화 (aglycosylation) 및/또는 다른 목적하는 변화를 야기할 수 있다. 적어도 몇몇의 변화는 바람직하지 않은 것으로 간주되는 Fc의 기능, 예컨대 바람직하지 않은 면역계 효과를 차단하기 위해 임의로 이루어질 수 있다. 문헌 [McCafferty, et al. (2002) Antibody Engineering: A Practical Approach (Eds.) Oxford University Press]을 참조한다.

[0333] 전위 도메인 (효율적인 혈장 막 발현을 위한)과 새로 번역되는 폴리펩티드 사이의 절단가능 링커 서열, 예컨대 인자 Xa (예를 들어, 문헌 [Ottavi, (1998) Biochimie 80: 289-93] 참조), 섭틸리신 프로테아제 인식 모티프 (예를 들어, 문헌 [Polyak (1997) Protein Eng. 10: 615-19] 참조); 엔테로키나제 (인비트로겐 (Invitrogen, 미국 캘리포니아주 샌 디에고))의 도입은 정제를 용이하게 하기 위해 유용할 수 있다. 예를 들어, 한 구축물은 6개의 히스티딘 잔기에 연결된 핵산 서열에 의해 코딩되는 폴리펩티드, 이어서 티오레독신, 엔테로키나제 절단 부위 (예를 들어, 문헌 [Williams (1995) Biochemistry 34: 1787-97] 참조), 및 C-말단 전위 도메인을 포함할 수 있다. 히스티딘 잔기는 검출 및 정제를 용이하게 하고, 엔테로키나제 절단 부위는 융합 단백질의 나머지 부분으로부터 목적하는 단백질(들)을 정제하기 위한 수단을 제공한다. 융합 단백질을 코딩하는 벡터에 관한 기술 및 융합 단백질의 용도는 학술 및 특허 문헌에 잘 설명되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Kroll (1993) DNA Cell. Biol. 12: 441-53] 참조).

[0334] 융합 단백질은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 서열이 GST 서열의 C-말단에 융합된 GST-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 융합 단백질일 수 있다. 상기 융합 단백질은 재조합 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 정제를 용이하게 한다. 또다른 실시양태에서, 융합 단백질은 그의 N-말단에 이종성 신호 서열을 함유하는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드이다. 특정 숙주 세포 (예를 들어, 포유동물 숙주 세포)에서, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 발현 및/또는 분비는 이종성 신호 서열의 사용을 통해 증가될 수 있다. 한 실시양태에서, 융합 단백질은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 서열이 Ig 분자의 일부에 융합되어 있는 Ig-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 융합 단백질이다. 융합 단백질의 Ig 부분은 이뮤노글로불린 불변 영역, 예를 들어, 인간 C감마1 도메인 또는 C

감마4 도메인, 예를 들어, 인간 IgC감마1 또는 인간 IgC감마4의 힌지, CH2, 및 CH3 영역을 포함할 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 5, 116,964; 5,580,756; 5,844,095 참조). 생성되는 융합 단백질은 변형된 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 용해도, 결합 친화도, 안정성 및/또는 결합가 (즉, 결합 부위의 수/분자)를 가질 수 있고, 단백질 정제의 효율을 증가시킬 수 있다.

[0335] 특히 바람직한 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 Ig 융합 단백질은 이뮤노글로불린 불변 영역 (예를 들어, Fc 영역)에 연결된 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 세포외 도메인 부분을 포함한다. 이뮤노글로불린 불변 영역은 이뮤노글로불린 구조에 고유한 이펙터 활성을 감소시키거나 제거하는 유전적 변형을 함유할 수 있다. 예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 세포외 부분을 코딩하는 DNA는 예를 들어 WO 97/28267에 개시된 바와 같이 부위-지정 돌연변이 유발에 의해 변형된 인간 IgG감마1 및/또는 IgG감마4의 힌지, CH2, 및 CH3 영역을 코딩하는 DNA을 코딩하는 DNA에 연결될 수 있다. 본 발명의 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 융합 단백질은 제약 조성물에 포함되어 대상체의 생체 내에 투여될 수 있다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 융합 단백질은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 결합 파트너의 생체이용률에 영향을 미치기 위해 사용될 수 있다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 융합 단백질의 사용은 면역 반응의 조절이 유익한 효과를 주는 병태 또는 장애의 치료를 위해 치료상 유용할 수 있다. 또한, 본 발명의 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3-융합 단백질은 대상체에서 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체를 생산하기 위한 면역원으로서, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3-결합 단백질을 정제하기 위해, 및 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3과 그의 천연 결합 파트너의 상호작용을 억제하는 분자를 확인하기 위해 스크리닝 검정에서 사용될 수 있다.

[0336] **접합체**

[0337] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드는 다른 모이어티에 접합될 수 있다. 상기 접합체는 백신의 제조에 종종 사용된다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드는 수지상 세포 및 대식세포 상에 존재하는 만노스 수용체에 의해 인식되는 탄수화물 (예를 들어, 만노스, 푸코스, 글루코스, GlcNA, 말토스)에 접합될 수 있다. 뒤이은 결합, 응집, 및 수용체-매개 세포내이입 (endocytosis) 및 포식작용 (phagocytosis) 기능은 향상된 선천 및 적응 면역을 제공한다 (문헌 [Mahnke, et al. (2000) J. Cell Biol. 151: 673-84]; [Dong, et al. (1999) J. Immonol. 163: 5427-34] 참조). 면역 반응 유도를 위한 접합에 적합한 다른 모이어티는 키홀 림펫 헤모시아닌 (KLH), 디프테리아 톡소이드, 콜레라 톡소이드, 슈도모나스 세포외단백질 A, 및 미생물 외피 막 단백질 (OMPS)을 포함하고 이로 제한되지 않는다.

[0338] **폴리펩티드 단리**

[0339] 본 발명은 또한 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 (예를 들어, 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열)의 단리를 위한 방법을 제공한다. 예를 들어, 관련된 세포주는 자가면역 또는 염증성 장애에 걸린 환자로부터 얻을 수 있다. 세제 내의 균질화 및 가용화 후에, 항원을 크로마토그래피에 의해 정제한다. 이를 위해 크기-배제 또는 친화도 크로마토그래피가 사용될 수 있고, 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체와 함께 사용될 수 있다. 예를 들어, 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체는 단순 항원 흡착, 세척, 및 고체 지지체로부터의 용리를 위해 고체 지지체 상에 고정될 수 있다 (예를 들어, 수지, 자기 비드에 연결될 수 있다). 이어서, 용리된 단백질은 항원 존재, 특성화, 및 확인을 위해 추가로 연구된다 ([Walker (2002) Protein Protocols Handbook [2nd Ed.] Humana Press] 및 [Culture (2003) [Ed.] Protein Purification Protocols Humana Press] 참조).

[0340] 상기 방식으로 단리된 항원은 통상적인 제약 부형제 및 담체 물질을 사용하여 제약물질을 제조하기 위해 사용될 수 있다 (예를 들어, 생리학적 NaCl 용액 내의 정제된 항원의 생체내 투여).

[0341] 추가로, 본 발명에 따른 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드는 고-처리량 스크리닝의 일부로서 활성의 확인시에 항원으로 작용할 수 있다. 고-처리량 스크리닝 방법은 당업자에게 공지되어 있다 (Wells (2002) High Throughout Bioanalytical Sample Preparation Elsevier Health Sciences).

[0342] **KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3을 코딩하는 폴리뉴클레오티드**

[0343] 본 발명은 또한 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3을 코딩하는 뉴클레오티드를 제공한다. 본 발명은 또한 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열의 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 본 발명은 또한 단편, 본원에 설명되는 폴리뉴클레오티드 서열에 혼성화가능한 서열 및 상기 폴리뉴클레오티드에 적어도 약 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 상동성인 서열

을 제공한다.

[0344] 본 발명은 또한 천연 생성 또는 무작위로 또는 표적화된 방식으로 인위적으로 유도된 하나 이상의 뉴클레오티드의 돌연변이, 예컨대 결실, 삽입 또는 치환을 특징으로 하는 변형된 서열인, 상이한 코돈 사용빈도로 유사한 폴리펩티드를 코딩하는 적어도 하나의 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 본 발명은 또한 본 발명의 폴리뉴클레오티드에 특유한 서열 영역을 포함하는 상동성 핵산 서열 (예를 들어, 본 발명의 폴리뉴클레오티드 서열의 일부를 형성하는)을 포함한다.

[0345] 본 발명은 또한 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 상동체를 코딩하는 핵산을 포함하고, 상기 상동체는 디폴트 파라미터를 사용하는 내셔날 센터 오브 바이오테크놀로지 인포메이션 (National Center of Biotechnology Information) (NCBI)의 BlastP 소프트웨어를 사용하여 결정할 수 있는 바와 같이 본원에서 제시된 아미노산 서열에 적어도 약 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다. 본 발명은 또한 천연 생성 또는 무작위로 또는 표적화된 방식으로 인위적으로 유도된 하나 이상의 핵산의 돌연변이, 예컨대 결실, 삽입 또는 치환을 갖는 상기 설명된 폴리뉴클레오티드 및 폴리펩티드의 단편을 포함한다.

[0346] 핵산 분자 또는 상기 핵산 분자의 기능적 단편은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3을 코딩할 수 있다. 상기 핵산의 "기능적 단편"은 면역 반응 (예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 선택적으로 결합하는 항체)을 유도할 수 있는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3을 생산하기 위해 발현될 수 있는, 상기 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3을 코딩하는 유전자 또는 cDNA의 단편을 포함한다. 따라서, 예를 들어, 본 발명에 따른 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 단편은 항원의 면역원성에 기여하는 아미노산 잔기에 대응하고 면역 반응 (예를 들어, 체액성 또는 세포 면역 반응)을 유도하는 항원으로서 기능할 수 있다. 본 발명의 상기 측면은 또한 본 발명에 따른 핵산의 차별적으로 스플라이싱된 이소형 및 전사 개시형을 포함한다. 본 발명에 따른 핵산 분자는 또한 본 발명에 따른 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3을 코딩하는 상기 설명한 핵산 분자의 단편, 유도체 및 대립유전자 변이체를 포함할 수 있다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 단편을 코딩하는 핵산의 제조를 위한 방법 및 물질은 당업계에 잘 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Maniatis, et al. (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual [3rd Ed.] Cold Spring Harbor Laboratory Press] 참조).

[0347] 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 전부 또는 일부를 포함하는 핵산 분자, 또는 이종상동 유전자 (ortholog) 또는 변이체는 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 서열에 기반하여 설계된 합성 올리고뉴클레오티드 프라이머를 사용하여 중합효소 연쇄 반응 (PCR)에 의해 단리될 수 있다.

[0348] 본 발명의 핵산 분자는 표준 PCR 증폭 기술에 따라 주형으로서 cDNA, mRNA 또는, 별법으로, 게놈 DNA 및 적절한 올리고뉴클레오티드 프라이머를 사용하여 증폭될 수 있다. 이렇게 증폭된 핵산 분자는 적절한 벡터 내로 클로닝하고, DNA 서열 분석에 의해 서열 결정할 수 있다. 또한, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 뉴클레오티드 서열에 상응하는 올리고뉴클레오티드는 표준 합성 기술에 의해, 예를 들어, 자동화 DNA 합성기를 사용하여 제조할 수 있다.

[0349] 한 실시양태에서, 본 발명의 단리된 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 코딩 핵산 분자는 서열 1, 또는 3에 제시된 뉴클레오티드 서열, 또는 그의 단편을 포함한다. 또다른 실시양태에서, 본 발명의 핵산 분자는 서열 1, 또는 3에 제시된 뉴클레오티드 서열의 상보체, 또는 임의의 이들 뉴클레오티드 서열의 일부인 핵산 분자를 포함한다. 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드에 상보성인 핵산 분자는 각각 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 뉴클레오티드 서열에 혼성화하여 안정한 이중체를 형성하도록, 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 뉴클레오티드 서열에 충분히 상보성인 것이다.

[0350] 또다른 실시양태에서, 본 발명의 단리된 핵산 분자는 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 전체 길이에 적어도 약 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99.5% 동일한 뉴클레오티드 서열, 또는 임의의 이들 뉴클레오티드 서열의 일부를 포함한다.

[0351] 또한, 본 발명의 핵산 분자는 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24

의 아미노산 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 일부, 예를 들어, 프로브 또는 프라이머로서 사용될 수 있는 단편 또는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 일부, 예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3-폴리펩티드의 생물학적 활성 부분을 코딩하는 단편만을 포함할 수 있다. 인간 PD-L2 유전자의 클로닝으로부터 결정된 뉴클레오티드 서열을 사용함으로써, 다른 PD-L2 패밀리 구성원, 및 다른 종으로부터의 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 상동체의 확인 및/또는 클로닝에 사용하기 위해 설계된 프로브 및 프라이머의 생성이 가능하다. 프로브/프라이머는 일반적으로 실질적으로 정제된 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 올리고뉴클레오티드는 일반적으로 엄격한 조건 하에 서열 1, 또는 3의 센스 서열의; 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 안티센스 서열, 또는 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 천연 생성 대립유전자 변이체 또는 돌연변이체의 적어도 약 12 또는 15, 바람직하게는 약 20 또는 25, 보다 바람직하게는 약 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 또는 75개의 연속적인 뉴클레오티드에 혼성화하는 뉴클레오티드 서열의 영역을 포함한다.

[0352] 한 실시양태에서, 본 발명의 핵산 분자는, 약 50-100, 100-150, 150-200, 200-250, 250-300, 300-350, 350-400, 400-450, 450-500, 500-550, 550-600, 600-650, 650-700, 700-750, 750-800, 800-850, 850-900, 900-950개 또는 그 초과의 뉴클레오티드의 길이이고 엄격한 혼성화 조건 하에 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열을 코딩하는 혼성화, 또는 그의 상보체에 혼성화하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 추가의 실시양태에서, 본 발명의 핵산 분자는, 약 880-900, 900-950, 950-1000, 1000-1050, 1050-1100, 1100-1150개 또는 그 초과의 뉴클레오티드의 길이이고 엄격한 혼성화 조건 하에 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드, 또는 그의 상보체에 혼성화하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 또다른 실시양태에서, 본 발명의 핵산 분자는, 50-100, 100-150, 150-200, 200-250, 250-300개 또는 그 초과의 뉴클레오티드의 길이이고 엄격한 혼성화 조건 하에 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 코딩 영역, 또는 그의 상보체에 혼성화하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 추가의 실시양태에서, 본 발명의 핵산 분자는, 약 50-100, 100-150, 150-200, 200-250, 250-300, 300-350, 350-400, 400-450, 450-500, 500-550, 550-600, 600-650, 650-700, 700-750, 750-800, 850-900, 900-950개 또는 그 초과의 뉴클레오티드의 길이이고 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 코딩 영역을 포함하는 서열의 적어도 약 15개의 (즉, 15개의 인접하는) 뉴클레오티드, 또는 그의 상보체를 포함하고 엄격한 혼성화 조건 하에 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드, 또는 그의 상보체를 포함하는 핵산 분자에 혼성화하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0353] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 뉴클레오티드 서열에 기반한 프로브는 동일한 또는 상동성 폴리펩티드를 코딩하는 전사체 또는 게놈 서열을 검출하기 위해 사용될 수 있다. 한 실시양태에서, 프로브는 그에 부착된 표지기를 추가로 포함하고, 예를 들어, 표지 기는 방사성 동위원소, 형광 화합물, 효소, 또는 효소 보조인자일 수 있다. 상기 프로브는 예컨대 대상체로부터의 세포의 샘플 내의 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3-코딩 핵산의 수준을 측정함으로써, 예를 들어 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 mRNA 수준을 검출하거나 또는 게놈 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 유전자가 돌연변이되었거나 결실되었는지를 결정함으로써, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드를 오발현하는 세포 또는 조직을 확인하기 위한 진단 시험 키트의 일부로서 사용될 수 있다.

[0354] 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 뉴클레오티드 서열에 추가로, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 아미노산 서열의 변화를 야기하는 DNA 서열 다형성이 집단 (예를 들어, 인간 집단) 내에 존재할 수 있음을 당업자는 이해할 것이다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 유전자 내의 상기 유전적 다형성은 천연 대립유전자 변이 때문에 집단 내의 개인 사이에 존재할 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "유전자" 및 "재조합 유전자"는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드, 바람직하게는 포유동물 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드를 코딩하는 개방 해독 프레임 (open reading frame)을 포함하고, 비-코딩 조절 서열, 및 인트론을 추가로 포함할 수 있는 핵산 분자를 의미한다.

[0355] 인간 또는 마우스 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 대립유전자 변이체는 기능적 및 비-기능적 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드를 모두 포함한다. 기능적 대립유전자 변이체는 천연 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 결합 파트너(들)에 결합하고/하거나 CD4+ 및 CD8+ T 세포 증식 및 시토카인 생산 및 림프구 활성화를 조절하는 능력을 유지하는 인간 또는 마우스 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 천연 생성 아미노산

서열 변이체이다. 기능적 대립유전자 변이체는 일반적으로 단지 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열의 하나 이상의 아미노산의 보존적 치환, 또는 폴리펩티드의 비-중대한 영역 내의 비-중대한 잔기의 치환, 결실 또는 삽입만을 함유할 것이다.

[0356] 비-기능적 대립유전자 변이체는 천연 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 결합 파트너에 결합하고/하거나 본원에서 설명되는 임의의 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 활성을 조절하는 능력을 갖지 않는, 인간 또는 마우스 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 천연 생성 아미노산 서열 변이체이다. 비-기능적 대립유전자 변이체는 일반적으로 서열 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 및 24의 아미노산 서열의 비-보존적 치환, 결실, 또는 삽입 또는 조기 말단절단, 또는 폴리펩티드의 중대한 잔기 또는 중대한 영역의 치환, 결실 또는 삽입을 함유할 것이다.

[0357] 본 발명은 추가로 인간 또는 마우스 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 비-인간, 비-마우스 이종상동 유전자를 제공한다. 인간 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 이종상동 유전자는 비-인간, 비-마우스 유기체로부터 단리되고 본원에 개시된 인간 및 뮤린 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드와 동일한 결합 활성 및/또는 림프구 활성화-조절 활성, 및 CD4+ 및 CD8+ T 세포 증식 및 시토카인 생산을 조절하는 능력을 갖는 폴리펩티드이다.

[0358] 돌연변이체 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드는 천연 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 결합 파트너에 결합하고/하거나 그의 활성을 조절하고/하거나, 세포내 또는 세포간 신호전달을 조절하고/하거나, T 림프구의 활성화를 조절하고/하거나, 유기체의 면역 반응을 조절하는 능력에 대해 검정될 수 있다.

[0359] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 또는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 융합 단백질을 코딩하는 단리된 핵산 분자. 비-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 단백질, 폴리펩티드 또는 펩티드를 코딩하는 적어도 제2 뉴클레오티드 서열에 작동가능하게 연결된, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 또는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 단백질, 폴리펩티드 또는 펩티드를 코딩하는 적어도 제1 뉴클레오티드 서열을 포함하는 상기 핵산 분자는 표준 재조합 DNA 기술에 의해 제조될 수 있다.

[0360] 또한, 동일성은 관련 핵산 분자 또는 이들에 의해 코딩된 단백질 사이에 존재하는 기능적 및/또는 구조적 동등성을 넓게 의미한다. 상기 설명된 분자에 상동성이고 이들 분자의 유도체를 구성하는 핵산 분자는 일반적으로 동일한 생물학적 기능을 실행하는 변형을 구성하는 상기 분자의 변이체이다. 이와 동시에, 변이는 천연적으로 발생할 수 있고, 예를 들어 이들은 다른 종으로부터의 서열일 수 있거나, 또는 돌연변이체일 수 있고, 여기서 이들 돌연변이체는 천연 방식으로 발생하거나 객관적인 돌연변이 유발에 의해 도입될 수 있다. 변이는 또한 합성에 의해 제조된 서열일 수 있다. 대립유전자 변이체는 천연 생성 변이체, 또한 합성에 의해 제조된 변이체 또는 재조합 DNA 기술에 의해 생산된 변이체일 수 있다. 유전자 코드의 변성 때문에 본 발명에 따른 핵산 분자로부터 벗어난 핵산 분자는 특수한 형태의 유도체를 구성한다.

[0361] 또한, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 아미노산 서열을 코딩하는 임의의 뉴클레오티드 서열이 본 발명의 범위 내에 포함된다. 유전자 코드는 축퇴성이므로, 하나 초과의 코돈이 특정 아미노산을 코딩하기 위해 사용될 수 있다. 유전자 코드를 사용하여, 각각 아미노산을 코딩할 수 있는 하나 이상의 상이한 뉴클레오티드를 확인할 수 있다. 특정 뉴클레오티드가 실제로 서열을 코딩하는 실제 코돈을 구성할 확률은 비정상적인 염기 쌍형성 관계 및 특정 코돈이 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3을 발현하는 진핵 또는 원핵 세포에서 실제로 사용되는 (특정 아미노산을 코딩하기 위해) 빈도를 고려함으로써 추정될 수 있다. 상기 "코돈 사용빈도 규칙"은 문헌 [Lathe, et al. (1985) J. Molec. Biol. 183: 1-12]에 개시되어 있다.

[0362] **변형된 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리뉴클레오티드**

[0363] 본 발명의 뉴클레오티드는 변형된 폴리뉴클레오티드일 수 있다. 비변형된 뉴클레오티드는 예를 들어 세포 뉴클레아제에 의한 분해에 취약한 몇몇의 용도에서 종종 최적이 아니다. 올리고뉴클레오티드의 하나 이상의 서브유닛에 대한 화학 변형은 개선된 특성을 부여할 수 있고, 예를 들어 폴리뉴클레오티드를 뉴클레아제에 대해 보다 안정하게 만들 수 있다. 전형적인 올리고뉴클레오티드 변형은 당업계에 공지되어 있고, 다음 중 하나 이상을 포함할 수 있다: (i) 포스포디에스테르 당간 연결 내의 비-연결 인산염 산소 및/또는 하나 이상의 연결 인산염 산소 중의 하나 또는 둘 모두의 변경, 예를 들어, 교체; (ii) 리보스 당의 구성분의 변경, 예를 들어, 교체, 예를 들어, 리보스 당 상의 2' 히드록실의 변형, 예를 들어, 교체; (iii) 인산염 모이어티의 대량 교체; (iv) 천연 생성 염기의 비-천연 염기로의 변형 또는 교체; (v) 리보스-인산염 백본의, 예를 들어 펩티드 핵산 (PNA)으로의 교체 또는 변형; (vi) 올리고뉴클레오티드의 3' 말단 또는 5' 말단의 변형; 및 (vii) 당, 예를 들어, 6원

고리의 변형. 본 발명에 따라 사용되는 폴리뉴클레오티드는 당업계에 공지된 임의의 수의 수단에 의해 합성되거나, 또는 다양한 상업적인 공급처 (엘씨 사이언시스 (LC Sciences, 미국 텍사스주 휴스턴); 프로메가 (Promega, 미국 위스콘신주 매디슨); 인비트로겐 (Invitrogen, 미국 캘리포니아주 칼스바드))로부터 구입할 수 있다.

[0364] **안티센스**

[0365] 상기 설명된 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 분자에 추가로, 본 발명의 또다른 측면은 그에 대해 안티센스인 단리된 핵산 분자에 관한 것이다. "안티센스" 핵산은 폴리펩티드를 코딩하는 "센스" 핵산에 상보성인, 예를 들어, 이중 가닥 cDNA 분자의 코딩 가닥에 상보성인 또는 mRNA 서열에 상보성인 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 따라서, 안티센스 핵산은 센스 핵산에 대해 수소 결합할 수 있다. 안티센스 핵산은 전체 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 코딩 가닥에 대해, 또는 단지 그의 일부에만 상보성일 수 있다. 한 실시양태에서, 안티센스 핵산 분자는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3을 코딩하는 뉴클레오티드 서열의 코딩 가닥의 "코딩 영역"에 안티센스이다. 용어 "코딩 영역"은 아미노산 잔기로 번역되는 코돈을 포함하는 뉴클레오티드 서열의 영역을 의미한다. 또다른 실시양태에서, 안티센스 핵산 분자는 PD-L을 코딩하는 뉴클레오티드 서열의 코딩 가닥의 "비코딩 영역"에 대해 안티센스이다. 용어 "비코딩 영역"은 아미노산으로 번역되지 않는 코딩 영역에 인접하는 5' 및 3' 서열을 의미한다 (5' 및 3' 비번역 영역으로도 칭함). 본원에 개시된 인간 또는 마우스 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3을 코딩하는 코딩 가닥 서열을 감안하여, 본 발명의 안티센스 핵산은 왓슨-크릭 염기 쌍형성 규칙에 따라 설계될 수 있다. 안티센스 핵산 분자는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 mRNA의 전체 코딩 영역에 상보성일 수 있지만, 보다 바람직하게는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 mRNA의 코딩 또는 비코딩 영역의 일부에만 안티센스인 올리고뉴클레오티드이다. 예를 들어, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 또는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 mRNA의 번역 개시 부위를 둘러싼 영역에 상보성일 수 있다. 안티센스 올리고뉴클레오티드의 길이는 예를 들어, 약 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 또는 50개 뉴클레오티드일 수 있다. 본 발명의 안티센스 핵산 분자는 당업계에 공지된 절차를 이용하여 화학적 합성 및 효소에 의한 라이게이션 반응을 사용하여 구축할 수 있다. 예를 들어, 안티센스 핵산 분자 (예를 들어, 안티센스 올리고뉴클레오티드)는 천연 생성 뉴클레오티드 또는 분자의 생물학적 안정성을 증가시키기 위해 또는 안티센스 핵산과 센스 핵산 사이에 형성된 이중체의 물리적 안정성을 증가시키기 위해 설계된 다양하게 변형된 뉴클레오티드를 사용하여 화학적으로 합성될 수 있고, 예를 들어, 포스포로티오에이트 유도체 및 아크리딘 치환된 뉴클레오티드가 사용될 수 있다. 안티센스 핵산을 생성하기 위해 사용될 수 있는 변형된 뉴클레오티드의 예는 5-플루오로우라실, 5-브로모우라실, 5-클로로우라실, 5-아이오도우라실, 히포잔틴, 잔틴, 4-아세틸시토신, 5-(카르복시히드록실메틸) 우라실, 5-카르복시메틸아미노메틸-2-티오우리딘, 5-카르복시메틸아미노메틸우라실, 디히드로우라실, 베타-D-갈락토실쿠에오신, 이노신, N6-이소펜테닐아데닌, 1-메틸구아닌, 1-메틸이노신, 2,2-디메틸구아닌, 2-메틸아데닌, 2-메틸구아닌, 3-메틸시토신, 5-메틸시토신, N6-아데닌, 7-메틸구아닌, 5-메틸아미노메틸우라실, 5-메톡시아미노메틸-2-티오우라실, 베타-D-만노실쿠에오신, 5'-메톡시카르복시메틸우라실, 5-메톡시우라실, 2-메틸티오-N6-이소펜테닐아데닌, 우라실-5-옥시아세트산 (v), 와이부톡소신, 슈도우라실, 쿠에오신, 2-티오시토신, 5-메틸-2-티오우라실, 2-티오우라실, 4-티오우라실, 5-메틸우라실, 우라실-5-옥시아세트산 메틸에스테르, 우라실-5-옥시아세트산 (v), 5-메틸-2-티오우라실, 3-(3-아미노-3-N-2-카르복시프로필) 우라실, (acp3)w, 및 2,6-디아미노퓨린을 포함한다. 별법으로, 안티센스 핵산은 핵산이 안티센스 배향으로 서브클로닝된 발현 벡터를 사용하여 생물학적으로 생산될 수 있다 (즉, 삽입된 핵산으로부터 전사된 RNA는 다음 하위섹션에서 추가로 설명되는 관심있는 표적 핵산에 안티센스 배향으로 존재할 것이다).

[0366] 본 발명의 안티센스 핵산 분자는 일반적으로 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드를 코딩하는 세포 mRNA 및/또는 게놈 DNA에 혼성화하거나 그에 결합하여, 예를 들어 전사 및/또는 번역을 억제함으로써 폴리펩티드의 발현을 억제하도록 대상체에게 투여되거나 계내에서 생성된다. 혼성화는 안정한 이중체를 형성하는 통상적인 뉴클레오티드 상보성에 의해, 또는, 예를 들어 DNA 이중체에 결합하는 안티센스 핵산 분자의 경우에, 이중 나선의 주요 그루브 (groove) 내의 특이적 상호작용을 통해 이루어질 수 있다. 본 발명의 안티센스 핵산 분자의 투여 경로의 한 예는 조직 부위의 직접 주사를 포함한다. 별법으로, 안티센스 핵산 분자는 선택된 세포를 표적화하도록 변형된 후, 전신 투여될 수 있다. 예를 들어, 전신 투여를 위해, 안티센스 분자는 예를 들어 안티센스 핵산 분자를 세포 표면 수용체 또는 항원에 결합하는 펩티드 또는 항체에 연결함으로써 이들이 선택된 세포 표면 상에 발현된 수용체 또는 항원에 특이적으로 결합하도록 변형될 수 있다. 안티센스 핵산 분자는 또한 본원에 설명되는 벡터를 사용하여 세포에 전달될 수 있다. 안티센스 분자의 충분한 세포내 농도를 달성하기 위해, 안티센스 핵산 분자가 강한 pol II 또는 pol III 프로모터의 제어 하에 위치하는 벡터 구축물이 바람직하다.

[0367] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 안티센스 핵산 분자는 α-아노머 (anomeric) 핵산 분자일 수 있다. α-아노머 핵산 분자는 통상적인 β-단위와 달리 가닥이 서로 평행하게 존재하는, 상보성 RNA와 특이적 이중 가닥 하이브리드를 형성한다 (Gaultier, et al. (1987) Nucleic Acids Res. 15: 6625-6641). 안티센스 핵산 분자는 또한 2'-O-메틸리보뉴클레오티드 (Inoue, et al. (1987) Nucleic Acids Res. 15: 6131-6148) 또는 키메릭 RNA-DNA 유사체 (Inoue, et al. (1987) FEBS Lett. 215: 327-330)를 포함할 수 있다.

[0368] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 안티센스 핵산은 리보자임일 수 있다. 리보자임은 그에 대한 상보성 영역을 갖는 단일 가닥 핵산, 예컨대 mRNA를 절단할 수 있는 리보뉴클레아제 활성을 갖는 촉매적 RNA 분자이다. 따라서, 리보자임 (예를 들어, 해머헤드 (hammerhead) 리보자임 ([Haseloff and Gerlach (1988) Nature 334: 585-591]에 설명됨)은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 mRNA 전사체를 촉매적으로 절단하여 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 mRNA의 번역을 억제하기 위해 사용될 수 있다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3-코딩 핵산에 대한 특이성을 갖는 리보자임은 본원에 개시된 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 cDNA의 뉴클레오티드 서열을 기초로 하여 설계될 수 있다. 예를 들어, 활성 부위의 뉴클레오티드 서열이 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3-코딩 mRNA 내의 절단되는 뉴클레오티드 서열에 상보성인 테트라히메나 (Tetrahymena) L-19 IVS RNA의 유도체가 구축될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 4,987,071 및 미국 특허 5,116,742를 참조한다. 별법으로, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 mRNA는 RNA 분자의 풀 (pool)로부터 특이적 리보뉴클레아제 활성을 갖는 촉매적 RNA를 선택하기 위해 사용될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Bartel and Szostak (1993) Science 261: 1411-1418] 참조).

[0369] 별법으로, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 유전자 발현은 표적 세포에서 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 유전자의 전사를 방지하는 3중 나선 구조를 형성하기 위해 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 조절성 영역 (예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 프로모터 및/또는 인핸서)에 상보성인 뉴클레오티드 서열을 표적화함으로써 억제될 수 있다 (일반적으로, 문헌 [Helene (1991) Anticancer Drug Des. 6(6):569-84]; [Helene, et al. (1992) Ann. N.Y. Acad. Sci. 660:27-36]; 및 [Maher, L. J. (1992) Bioessays 14(12):807-15] 참조.

[0370] **펩티드 핵산**

[0371] 또다른 실시양태에서, 본 발명의 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 핵산 분자는 예를 들어 분자의 안정성, 혼성화, 또는 용해도를 개선하기 위해 염기 모이어티, 당 모이어티 또는 인산염 백본에서 변형될 수 있다. 예를 들어, 핵산 분자의 데옥시리보스 인산염 백본은 펩티드 핵산을 생성하도록 변형될 수 있다 (Hyrup and Nielsen (1996) Bioorg. Med. Chem. 4(1): 5-23). 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "펩티드 핵산" 또는 "PNA"는 데옥시리보스 인산염 백본이 슈도펩티드 백본으로 교체되고 단지 4가지 천연 핵염기만이 유지되는 핵산 모방체, 예를 들어, DNA 모방체를 의미한다. PNA의 중성 백본은 저이온 강도의 조건 하에 DNA 및 RNA에 대한 특이적 혼성화를 허용하는 것으로 밝혀졌다. PNA 올리고머의 합성은 문헌 [Hyrup and Nielsen (1996) 상기 문헌], 및 [Perry-O'Keefe, et al. (1996) Proc Natl. Acad. Sci. USA 93: 14670-675]에 설명된 바와 같이 표준 고체상 펩티드 합성 프로토콜을 이용하여 수행할 수 있다.

[0372] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 핵산 분자의 PNA는 치료 및 진단 용도로 사용될 수 있다. 예를 들어, PNA는 예를 들어 전사 또는 번역 정지를 유도하거나 복제를 억제함으로써 유전자 발현의 서열-특이적 조절을 위한 안티센스 또는 항유전자 작용제로서 사용될 수 있다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 핵산 분자의 PNA는 또한 유전자 내의 단일 염기쌍 돌연변이의 분석에 (예를 들어, PNA-유도 PCR 클램핑 (clamping)에 의한); 다른 효소 (예를 들어, S1 뉴클레아제 (Hyrup and Nielsen (1996) 상기 문헌))와 조합 사용될 때 '인공 제한 효소'로서; 또는 DNA 서열결정 또는 혼성화를 위한 프로브 또는 프라이머로서 ([Hyrup and Nielsen (1996) 상기 문헌]; [Perry-O'Keefe et al. (1996) 상기 문헌]) 사용될 수 있다.

[0373] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 PNA는 친지성 또는 다른 헬퍼 기를 PNA에 부착시킴으로써, PNA-DNA 키메라의 형성에 의해, 또는 리포좀 또는 당업계에 공지된 다른 약물 전달 기술의 사용에 의해 변형될 수 있다 (예를 들어, 그의 안정성 또는 세포 흡수 향상을 위해). 예를 들어, PNA 및 DNA의 유리한 특성을 조합할 수 있는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 핵산 분자의 PNA-DNA 키메라를 생성할 수 있다. 상기 키메라는 PNA 부분이 높은 결합 친화도 및 특이성을 제공하면서 DNA 인식 효소 (예를 들어, RNAse H 및 DNA 중합효소)가 DNA 부분과 상호작용할 수 있도록 허용한다. PNA-DNA 키메라는 염기 적층 (stacking), 핵염기 사이의 결합의 수, 및 배향의 측면에서 선택된 적절한 길이의 링커를 사용하여 연결될 수 있다 (Hyrup and Nielsen (1996) 상기 문헌). PNA-DNA 키메라의 합성은 문헌 ([Hyrup and Nielsen (1996) 상기 문헌] 및 [Finn P. J. et al. (1996) Nucleic Acids Res. 24 (17):3357-63])에 설명된 바와 같이 수행할 수 있다. 예를 들어, DNA 쇄는 표준 포스포르아미다이트 결합 화학을 사용하여 고체 지지체 상에 합성될 수 있고, 변형된 뉴클레오시드 유사체, 예를 들어, 5'-

(4-메톡시트리틸)아미노-5'-데옥시-티미딘 포스포르아미다이트가 PNA와 DNA의 5' 말단부 사이에 가교로서 사용될 수 있다 (Mag, M. et al. (1989) Nucleic Acids Res. 17:5973-88). 이어서, PNA 단량체는 5' PNA 절편 및 3' DNA 절편을 사용하여 키메릭 분자를 생산하기 위해 단계적인 방식으로 연결된다 (Finn P. J. et al. (1996) 상기 문헌). 별법으로, 키메릭 분자는 5' DNA 절편 및 3' PNA 절편을 사용하여 합성될 수 있다 (Peterser, et al. (1975) Bioorganic Med. Chem. Lett. 5: 1119-11124).

[0374] **올리고뉴클레오티드**

[0375] 올리고뉴클레오티드는 다른 부가된 기, 예컨대 펩티드 (예를 들어, 생체 내에서 숙주 세포 수용체를 표적화하기 위한), 또는 세포막 (예를 들어, 문헌 [Letsinger et al. (1989) Proc Natl. Acad. Sci. USA 86:6553-6556]; [Lemaitre et al. (1987) Proc Natl. Acad. Sci. USA 84:648-652]; PCT 공개 WO 88/09810 참조) 또는 혈액-뇌 장벽 (예를 들어, PCT 공개 WO 89/10134 참조)을 가로지른 수송을 용이하게 하는 작용제를 포함할 수 있다. 추가로, 올리고뉴클레오티드는 혼성화-촉발 절단제 (예를 들어, 문헌 [Krol et al. (1988) Biotechniques 6:958-976] 참조) 또는 삽입제 (intercalating agent) (예를 들어, 문헌 [Zon (1988) Pharm. Res. 5:539-549] 참조)로 변형될 수 있다. 이를 위해, 올리고뉴클레오티드는 또다른 분자 (예를 들어, 펩티드, 혼성화 촉발 가교결합제, 수송제, 또는 혼성화-촉발된 절단제)에 접합될 수 있다.

[0376] **발현**

[0377] 본 발명의 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 단리 및 발현은 본원에 개시된 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 핵산 서열을 기초로 하여 제작된 프로브 또는 프라이머를 사용하는 잘 확립된 클로닝 절차에 의해 실시될 수 있다. 관련 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 서열은 또한 본원에 개시된 서열 및 공지의 컴퓨터-기반 검색 기술, 예를 들어, BLAST 서열 검색을 사용하여 인간 또는 다른 종 게놈 데이타베이스로부터 확인될 수 있다. 본원에 개시된 위유전자 (pseudogene)는 기능적 대립유전자 또는 관련 유전자를 확인하기 위해 사용될 수 있다.

[0378] 이어서, 발현 벡터는 이들 서열의 기능적 발현을 위해 숙주 세포를 감염 또는 형질감염시키기 위해 사용될 수 있다. 이들 유전자 및 벡터는 제조되어 시험관 내에서 또는 생체 내에서 발현될 수 있다. 핵산 발현을 변경하고 제어하기 위한 목적하는 표현형은 본 발명의 벡터 내의 유전자 및 핵산 (예를 들어, 프로모터, 인핸서)의 발현 또는 활성을 조절함으로써 얻을 수 있음을 당업자는 알 것이다. 발현 또는 활성을 증가 또는 감소시키기 위해 설명된 임의의 공지의 방법이 사용될 수 있다.

[0379] 또다른 실시양태에서, 재조합 포유동물 발현 벡터는 특정 세포 종류 내에서 핵산의 발현을 우선적으로 유도할 수 있다 (예를 들어, 조직-특이적 조절 요소가 핵산 발현을 위해 사용된다). 조직-특이적 조절 요소는 당업계에 공지되어 있다. 적합한 조직-특이적 프로모터의 비제한적인 예는 알부민 프로모터 (간-특이적; [Pinkert et al. (1987) Genes Dev. 1:268-277]), 림프구-특이적 프로모터 (Calame and Eaton (1988) Adv. Immunol. 43:235-275), T 세포 수용체 (Winoto and Baltimore (1989) EMBO J. 8:729-733) 및 이뮤노글로불린의 특정 프로모터 ([Banerji et al. (1983) Cell 33:729-740]; [Queen and Baltimore (1983) Cell 33:741-748]), 뉴런-특이적 프로모터 (예를 들어, 신경미세섬유 프로모터; [Byrne and Ruddle (1989) Proc Natl. Acad. Sci. USA 86:5473-5477]), 췌장-특이적 프로모터 (Edlund et al. (1985) Science 230:912-916), 및 유선-특이적 프로모터 (예를 들어, 유장 (milk whey) 프로모터; 미국 특허 4,873,316 및 유럽 특허 출원 공개 264,166)를 포함한다. 발생적으로 조절되는 프로모터, 예를 들어 뮤린 혹스 (hox) 프로모터 (Kessel and Gruss (1990) Science 249:374-379) 및 α-페토단백질 프로모터 (Campes and Tilghman (1989) Genes Dev. 3: 537-546)도 포함된다.

[0380] 본원에서 제공되는 폴리뉴클레오티드 서열은 당업계에 공지된 임의의 올리고뉴클레오티드 합성 방법, 예컨대 효소에 의한 합성 또는 고체상 합성에 따라 생성할 수 있다. 고체상 합성을 수행하기 위한 장비 및 시약은 예를 들어 어플라이드 바이오시스템즈 (Applied Biosystems)로부터 상업적으로 이용가능하다. 상기 합성을 위한 임의의 다른 수단도 사용될 수 있고; 폴리뉴클레오티드의 실제 합성은 당업자의 능력으로 잘 수행될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Maniatis, et al. (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual [3rd Ed.] Cold Spring Harbor Laboratory Press]; [Swamy (2008) Laboratory Manual on Biotechnology Rastogi Publications]; [Herdewijn (2005) [Ed.] Methods in Molecular Biolog: Oligonucleotide Synthesis: Methods and Applications Volume 288 Humana Press]; 및 [Rapley (2000) [Ed.] The Nucleic Acid Protocols Handbook Humana Press]을 참조한다. 이중 가닥 DNA 단편은 이어서 상보성 가닥을 합성하고 가닥들을 적절한 조건 하에 함께 어닐링 (annealing)함으로써, 또는 적절한 프라이머 서열을 사용하고 DNA 중합효소를 사용하여 상보성 가닥을 첨가함으로써 얻을 수 있다.

[0381] 핵산의 조작, 예컨대, 예를 들어 서열 내의 돌연변이 생성, 계대배양, 프로브 표지, 서열결정, 혼성화를 위한 기술은 학술 및 특허 문헌에 잘 설명되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Sambrook, et al. (2001) (Eds.) Molecular Cloning: A Laboratory Manual (3rd Ed.) Cold Spring Harbor Laboratory]; [Ausubel, et al. (2011) Ed., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc., New York]; [Tijssen (1993) [Ed.] Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology: Hybridization With Nucleic Acid Probes, Part I, Theory and Nucleic Acid Preparation, Elsevier, NY] 참조).

[0382] 혼성화 및 혼성화 강도 (예를 들어, 폴리뉴클레오티드 사이의 결합의 강도)는 폴리뉴클레오티드 사이의 상보성의 정도, 및 염의 농도, 다른 성분의 존재 (예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜의 존재 또는 부재), 혼성화 가닥의 몰농도 및 폴리뉴클레오티드 가닥의 G+C 함량과 같은 조건에 의해 영향받는 관련된 조건의 엄격성 (이 모두는 형성되는 하이브리드의 특징적인 용융 온도 (T_m)를 생성함)을 비롯하여 당업계에 공지된 많은 인자에 의해 영향받는다. 핵산 혼성화 기술은 문헌 [Sambrook, et al. (2001) (Eds.) Molecular Cloning: A Laboratory Manual [3rd Ed.] Cold Spring Harbor Laboratory], 및 [Hayrnes, et al. (1985) in Nucleic Acid Hybridization, a Practical Approach (IRL Press, DC)]에 개시되어 있다. 혼성화 세척 조건은 0.2 x SSC/0.1% SDS의 세척 용액 및 10분 동안 실온에서 회전하면서 인큐베이션, (저 엄격성 세척), 예온된 (42℃) 0.2 x SSC/0.1% SDS의 세척 용액 및 15분 동안 42℃에서 회전하면서 인큐베이션 (중간 엄격성 세척) 및 예온된 (68℃) 0.1 x SSC/0.1% SDS의 세척 용액 및 15분 동안 68℃에서 회전하면서 인큐베이션 (고 엄격성 세척)을 포함할 수 있다 ([Ausubel, et al. (2011) [Ed.] Current Protocols in Molecular Biology John Wiley & Sons, Inc.] 참조).

[0383] 올리고뉴클레오티드 프라이머는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3을 코딩하는 핵산을 증폭하기 위해 사용될 수 있다. 본원에 설명되는 핵산은 또한 증폭 기술을 사용하여 정량적으로 클로닝 또는 측정될 수 있다. 증폭 방법은 또한 당업계에 공지되어 있고, 예를 들어, 중합효소 연쇄 반응 (PCR) ([Innis (1990) [Ed.] PCR Protocols, a Guide to Methods and Applications, Academic Press, NY.]; [Innis (1995) [Ed.] PCR Strategies, Academic Press, Inc., NY.]); 리가제 사슬 반응 (LCR) ([Wu (1989) Genomics 4: 560]; [Landegren (1988) Science 241: 1077]; [Barringer (1990) Gene 89: 117]); 전사 증폭 (Kwoh (1989) PNAS 86: 1173); 자가-지속 서열 복제 (Guatelli (1990) PNAS 87: 1874); Q 베타 복제효소 증폭 (Smith (1997) J. Clin. Microbiol. 35: 1477-91); 자동화 Q-베타 복제효소 증폭 검정 (Burg (1996) Mol. Cell. Probes 10: 257-71); 및 다른 RNA 중합효소 매개 기술 (예를 들어, [NASBA, Cangene, Mississauga, Ontario])을 포함한다. 또한, 문헌 [Berger (1987) Methods Enzymol. 152: 307-16]; [Sambrook, et al. (2001) (Eds.) Molecular Cloning: A Laboratory Manual (3rd Ed.) Cold Spring Harbor Laboratory]; [Ausubel, et al. (2011) [Ed.] Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc., New York]; [Maniatis, et al. (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual [3rd Ed.] Cold Spring Harbor Laboratory Press]; 미국 특허 4,683,195 및 4,683,202; [Sooknanan (1995) Biotechnology 13: 563-64]을 참조한다.

[0384] 축퇴성 프라이머쌍을 설계하기 위한 전형적인 예는 당업계에 잘 공지되어 있다. 예를 들어, 컨센서스-디제너러트 하이브리드 올리고뉴클레오티드 프라이머 (CODEHOP) 전략 컴퓨터 프로그램은 쉽게 이용가능하고, 관련 단백질 서열의 세트, 예컨대 본원에 제공된 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 서열로 시작하는 하이브리드 프라이머 예측을 위해 블록메이커 (BlockMaker) 다수 서열 정렬 부위로부터 직접 연결된다 (예를 들어, [Rose (1998) Nucleic Acids Res. 26: 1628-35]; [Singh (1998) Biotechniques 24: 318-19] 참조).

[0385] 본원에 개시된 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 실질적으로 동일한 다형성 변이체, 대립유전자, 및 종간 상동체는 상기 설명된 핵산 프로브를 사용하여 단리할 수 있다. 별법으로, 발현 라이브러리는, 또한 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 상동체를 인식하고 그에 대해 선택적으로 결합하는, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 대해 제조된 항혈청 또는 정제된 항체를 사용하여 발현된 상동체를 면역학적으로 검출함으로써 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 및 그의 다형성 변이체, 대립유전자, 및 종간 상동체를 클로닝하기 위해 사용될 수 있다.

[0386] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3을 코딩하는 핵산은 적절한 (완벽한 또는 축퇴성) 프라이머 쌍을 사용한 적절한 핵산 서열의 증폭 (예를 들어, PCR)에 의해 생성할 수 있다. 증폭된 핵산은 임의의 세포 또는 조직으로부터의 게놈 DNA, 또는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 발현 세포로부터 유래된 mRNA 또는 cDNA일 수 있다. 숙주 세포에서 이종성 서열의 발현을 위한 방법은 당업계에 잘 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Maniatis, et al. (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual [3rd Ed.] Cold Spring Harbor Laboratory Press]을

참조한다.

[0387] **KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3을 포함하는 융합 단백질**

[0388] 전위 서열에 융합된 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3을 코딩하는 핵산을 포함하는 하이브리드 단백질-코딩 서열을 제작할 수 있다. 또한, 모티프 및 항원성 영역을 포함하는 하이브리드 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3이 제공된다. 이들 핵산 서열은 전사 또는 번역 제어 요소, 예를 들어, 전사 및 번역 개시 서열, 프로모터 및 인핸서, 전사 및 번역 종료자 (terminator), 폴리아데닐화 서열, 및 DNA를 RNA로 전사하기 위해 유용한 다른 서열에 작동가능하게 연결될 수 있다. 재조합 발현 카세트, 벡터, 및 트랜스제닉 세포의 제작시에, 모든 목적하는 세포 또는 조직에서 목적하는 핵산의 발현을 지시하기 위해 프로모터 단편이 사용될 수 있다.

[0389] 융합 단백질은 C-말단 또는 N-말단 전위 서열을 포함할 수 있다. 또한, 융합 단백질은 예를 들어 단백질 검출, 정제, 또는 다른 용도를 위한 추가의 요소를 포함할 수 있다. 검출 및 정제를 용이하게 하는 도메인은 예를 들어 금속 킬레이팅 펩티드, 예컨대 폴리히스티딘 구역, 히스티딘-트립토판 모듈, 또는 고정된 금속 상의 정제를 허용하는 다른 도메인; 말토스 결합 단백질; 고정된 이뮤노글로불린 상의 정제를 허용하는 단백질 A 도메인; 또는 FLAG 연장/친화도 정제 시스템 (시그마-알드리치)에 이용되는 도메인을 포함한다.

[0390] 전위 도메인 (효율적인 혈장 막 발현을 위한)과 새로 번역되는 폴리펩티드 사이의 절단가능 링커 서열, 예컨대 인자 Xa (예를 들어, 문헌 [Ottavi, (1998) Biochimie 80: 289-93] 참조), 섭틸리신 프로테아제 인식 모티프 (예를 들어, 문헌 [Polyak (1997) Protein Eng. 10: 615-19] 참조); 엔테로키나제 (인비트로겐, 미국 캘리포니아주 샌 디에고)의 도입은 정제를 용이하게 하기 위해 유용할 수 있다. 예를 들어, 한 구축물은 6개의 히스티딘 잔기에 연결된 핵산 서열에 의해 코딩되는 폴리펩티드, 이어서 티오레독신, 엔테로키나제 절단 부위 (예를 들어, 문헌 [Williams (1995) Biochemistry 34: 1787-97] 참조), 및 C-말단 전위 도메인을 포함할 수 있다. 히스티딘 잔기는 검출 및 정제를 용이하게 하고, 엔테로키나제 절단 부위는 융합 단백질의 나머지 부분으로부터 목적하는 단백질(들)을 정제하기 위한 수단을 제공한다. 융합 단백질을 코딩하는 벡터에 관한 기술 및 융합 단백질의 용도는 학술 및 특허 문헌에 잘 설명되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Kroll (1993) DNA Cell. Biol. 12: 441-53] 참조).

[0391] **KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 및 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체의 재조합 발현을 위한 시스템**

[0392] 리간드-결합 영역 코딩 서열을 포함하는 개별 발현 벡터로서 또는 발현 벡터의 라이브러리로서의 발현 벡터는 게놈 내로 또는 세포의 세포질 또는 핵 내로 도입되고, 학술 및 특허 문헌에 잘 설명된 다양한 통상적인 기술에 의해 발현될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Sambrook, et al. (2001) [Eds.] Molecular Cloning: A Laboratory Manual (3rd Ed.) Cold Spring Harbor Laboratory]; [Ausubel, et al. (2011) [Ed.] Current Protocols in Molecular Biology John Wiley & Sons, Inc]을 참조한다.

[0393] 핵산은 세포에서 안정적으로 또는 일시적으로 발현되는 발현 카세트, 벡터 또는 바이러스에서 발현될 수 있다 (예를 들어, 에피좀 발현 시스템). 선택 마커는 형질전환된 세포 및 서열에 대한 선택가능한 표현형을 부여하기 위해 발현 카세트 및 벡터 내에 포함될 수 있다. 예를 들어, 선택 마커는 숙주 게놈 내로의 통합이 필요하지 않도록 에피좀 유지 및 복제를 코딩할 수 있다. 예를 들어, 마커는 목적하는 DNA 서열을 사용하여 형질전환된 세포를 선택할 수 있도록 항생제 내성 (예를 들어, 클로람페니콜, 카나마이신, G418, 블레오마이신, 히그로마이신) 또는 제초제 내성 (예를 들어, 클로로술푸론 또는 바스타 (Basta))을 코딩할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Ausubel, et al. (2011) [Ed.] Current Protocols in Molecular Biology John Wiley & Sons, Inc.]; 및 [Walker & Papley (2009) Molecular Biology and Biotechnology [5th Ed.] Royal Society of Chemistry] 참조). 네오마이신 또는 히그로마이신과 같은 물질에 내성을 부여하는 선택가능 마커 유전자는 조직 배양에서만 이용될 수 있기 때문에, 화학적 내성 유전자는 또한 선택가능 마커로서 시험관 내에서 및 생체 내에서 사용될 수 있다.

[0394] 본 발명의 폴리뉴클레오티드의 세포 발현이 가능하도록 하기 위해, 적어도 상기 핵산 서열 중의 하나의 코딩 영역을 포함하고 적어도 하나의 시스 작용 조절 요소를 추가로 포함하는 본 발명에 따른 핵산 구축물이 사용될 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 핵산 구축물에 의해 이용되는 프로모터는 형질전환된 특이적 세포 집단에서 활성을 갖는다. 세포 종류-특이적 및/또는 조직-특이적 프로모터의 예는 당업계에 잘 공지되어 있다 ([Bernardi (2003) [Ed.] Gene Transfer and Expression in Mammalian Cells Volume 38 Elsevier Science B.V] 참조). 본 발명의 핵산 구축물은 프로모터 서열에 인접하거나 멀리 위치할 수 있고 그로부터의 전사를 상향조절하는 기

능을 수행할 수 있는 인핸서를 추가로 포함할 수 있다.

[0395] 본 발명의 핵산 구축물은 바람직하게는 적절한 선택가능 마커 및/또는 복제 기점을 추가로 포함한다. 바람직하게는, 사용된 핵산 구축물은 이. 콜라이에서 증식할 수 있고 (여기서, 구축물은 적절한 선택가능 마커 및 복제 기점을 포함한다) 세포 내 증식, 또는 선택된 유전자 및 조직 내로의 통합에 적합할 수 있는 셔틀 벡터이다. 본 발명에 따른 구축물은 예를 들어 플라스미드, 박미드 (bacmid), 파지미드 (phagemid), 코스미드, 파지, 바이러스 또는 인공 염색체일 수 있다.

[0396] 적합한 구축물의 예는 pcDNA3, pcDNA3.1 (+/-), pGL3, PzeoSV2 (+/-), pDisplay, pEF/myc/cyto, pCMV/myc/cyto를 포함하고 이로 제한되지 않으며, 이들은 각각 인비트로겐 코. (Invitrogen Co. (미국 캘리포니아주 칼스바드))로부터 상업적으로 이용가능하다. 레트로바이러스 벡터 및 패키징 (packaging) 시스템의 예는 다수 클로닝 부위 내로의 클로닝을 허용하고 도입유전자가 CMV 프로모터로부터 전사되는 레트로-X 벡터 pLNCX 및 pLXSN을 비롯하여 클론테크 (Clontech, 미국 캘리포니아주 샌 디에고)에 의해 판매되는 것이다. 또한, Mo-MuLV로부터 유래된 벡터, 예컨대 도입유전자가 5' LTR 프로모터로부터 전사되는 pBabe가 포함된다.

[0397] 본 발명의 재조합 발현 벡터는 숙주 세포에서 핵산의 발현에 적합한 형태의 본 발명의 핵산을 포함하고, 이것은 재조합 발현 벡터가, 발현되는 핵산 서열에 작동가능하게 연결된 발현을 위해 사용되는 숙주 세포를 기초로 하여 선택된 하나 이상의 조절 서열을 포함함을 의미한다. 재조합 발현 벡터 내에서, "작동가능하게 연결된"은 관심있는 뉴클레오티드 서열이 뉴클레오티드 서열의 발현을 허용하는 방식으로 (예를 들어, 시험관내 전사/번역 시스템에서 또는 벡터가 숙주 세포 내로 도입될 때 숙주 세포 내에서) 조절 서열(들)에 연결됨을 의미하는 것이 의도된다.

[0398] 용어 "조절 서열"은 프로모터, 인핸서 및 다른 발현 제어 요소 (예를 들어, 폴리아데닐화 신호)를 포함하고자 의도된다. 상기 조절 서열은 예를 들어 문헌 [Goeddel (1990) Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA]에 기재되어 있다. 조절 서열은 많은 종류의 숙주 세포에서 뉴클레오티드 서열의 구성적 발현을 지시하는 것 및 특정 숙주 세포에서만 뉴클레오티드 서열의 구성적 발현을 지시하는 것 (예를 들어, 조직-특이적 조절 서열)을 포함한다. 당업자는 발현 벡터의 설계가 형질전환시킬 숙주 세포의 선택, 요구되는 단백질의 발현 수준과 같은 인자에 따라 결정될 수 있음을 이해할 것이다. 본 발명의 발현 벡터는 본원에 설명된 핵산에 의해 코딩되는 융합 단백질 또는 펩티드를 포함하는 단백질 또는 펩티드를 생산하기 위해 숙주 세포 내로 도입될 수 있다.

[0399] 본 발명의 재조합 발현 벡터는 원핵 또는 진핵 세포 내에서 변이체 단백질의 생산을 위해 설계될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 단백질은 세균 세포, 예컨대 에스케리키아 콜라이 (*Escherichia coli*), 곤충 세포 (예를 들어, 바큘로바이러스 발현 벡터를 이용하여), 효모 세포, 또는 포유동물 세포 내에서 발현될 수 있다. 적합한 숙주 세포는 문헌 [Goeddel (1990) Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA]에서 추가로 논의된다. 별법으로, 재조합 발현 벡터는 예를 들어 T7 프로모터 조절 서열 및 T7 중합효소를 사용하여 시험관 내에서 전사 및 번역될 수 있다.

[0400] 원핵세포에서 단백질의 발현은 가장 흔하게는 융합 또는 비-융합 단백질의 발현을 지시하는 구성적 또는 유도가능한 프로모터를 함유하는 벡터를 사용하여 에스케리키아 콜라이에서 수행된다. 융합 벡터는 그에 의해 코딩되는 단백질에, 재조합 단백질의 아미노 또는 C 말단에 많은 아미노산을 부가한다. 상기 융합 벡터는 일반적으로 (i) 재조합 단백질의 발현을 증가시키고; (ii) 재조합 단백질의 용해도를 증가시키기 위해; 및 (iii) 친화도 정제시에 리간드로서 작용함으로써 재조합 단백질의 정제를 돕기 위한 것과 같은 3가지의 목적을 위한 것이다. 종종, 융합 발현 벡터에서, 융합 단백질의 정제 후에 융합 모이어티로부터 재조합 단백질의 분리가 가능하도록 하기 위해, 단백질분해에 의한 절단 부위가 융합 모이어티 및 재조합 단백질의 연결부에 도입된다. 상기 효소, 및 그의 동족 인식 서열은 인자 Xa, 트롬빈, 프리시젼 (PreScission), TEV 및 엔테로키나제를 포함한다. 전형적인 융합 발현 벡터는 각각 글루타치온 S-트랜스퍼라제 (GST), 말토스 E 결합 단백질, 또는 단백질 A를 표적 재조합 단백질에 융합시키는 pGEX (파마시아 바이오테크 인크 (Pharmacia Biotech Inc); Smith and Johnson (1988) Gene 67: 31-40), pMAL (뉴 잉글랜드 바이오랩스 (New England Biolabs, 미국 매사추세츠주 버벌리)) 및 pRIT5 (파마시아 (Pharmacia, 미국 뉴저지주 피스카타웨이))를 포함한다.

[0401] 재조합 포유동물 발현 벡터는 특정 세포 종류에서 핵산의 발현을 지시할 수 있다 (예를 들어, 조직-특이적 조절 요소가 핵산 발현을 위해 사용된다). 조직-특이적 조절 요소는 당업계에 공지되어 있다. 단백질의 효율적인 생산을 위해, 본 발명의 단백질을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 목적하는 숙주 내에서의 발현에 최적화된 발현 제어 서열의 제어 하에 배치하는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 서열은 최적화된 전사 및/또는 번역 조절

서열 (예를 들어, 변형된 코작 (Kozak))을 포함할 수 있다.

[0402] 이. 콜라이에서 재조합 단백질 발현을 최대화하기 위한 한 가지 전략은 재조합 단백질을 단백질분해 방식으로 절단하는 능력이 손상된 숙주 세균에서 단백질을 발현시키는 것이다. 예를 들어, 문헌 [Gottesman (1990) Gene Expression Technology: Methods in Enzymology Academic Press, San Diego, CA. 185: 119-128]을 참조한다. 또다른 전략은 각각의 아미노산에 대한 개별 코돈이 이. 콜라이에서 우선적으로 이용되는 코돈이 되도록 발현 벡터 내로 삽입되는 핵산의 핵산 서열을 변경하는 것이다. 예를 들어, 문헌 [Wada, et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20: 2111-2118]을 참조한다. 본 발명의 핵산 서열의 그러한 변경은 표준 DNA 합성 기술에 의해 수행할 수 있다. 코돈 편향 (bias)을 해결하기 위한 또다른 전략은 BL21-코돈 + 세균 균주 (인비트로겐) 또는 로제타 (Rosetta) 세균 균주 (노바겐 (Novagen))를 사용함으로써 수행되고, 이들 균주는 희귀한 이. 콜라이 tRNA 유전자의 추가의 카피를 포함한다.

[0403] 본 발명의 단백질을 코딩하는 발현 벡터는 효모 발현 벡터일 수 있다. 효모 사카로마이세스 세레비지애 (*Saccharomyces cerevisiae*)에서의 발현을 위한 벡터의 예는 pYepSec1 (Baldari, et al. (1987) EMBO J. 6: 229-234), pMFa (Kurjan and Herskowitz (1982) Cell 30: 933-943), pJRY88 (Schultz, et al. (1987) Gene 54: 113-123), pYES2 (인비트로겐 코퍼레이션 (Invitrogen Corporation), 미국 캘리포니아주 샌 디에고.), 및 picZ (인비트로겐 코퍼레이션, 미국 캘리포니아주 샌 디에고)를 포함한다.

[0404] 별법으로, 본 발명의 폴리펩티드는 바큘로바이러스 발현 벡터를 사용하여 곤충 세포 내에서 생산될 수 있다. 배양된 곤충 세포 (예를 들어, SF9 세포)에서 단백질의 발현을 위해 이용가능한 바큘로바이러스 벡터는 pAc 시리즈 (Smith, et al. (1983) Mol. Cell. Biol. 3: 2156-2165) 및 pVL 시리즈 (Lucklow and Summers (1989) Virology 170: 31-39)를 포함한다. 또다른 실시양태에서, 본 발명의 핵산은 포유동물 발현 벡터를 이용하여 포유동물 세포에서 발현된다. 포유동물 발현 벡터의 예는 pCDM8 (Seed (1987) Nature 329: 840) 및 pMT2PC (Kaufman, et al. (1987) EMBO J. 6: 187-195), pIRESpuro (클론테크), pUB6 (인비트로겐), pCEP4 (인비트로겐), pREP4 (인비트로겐), pcDNA3 (인비트로겐)을 포함한다. 포유동물 세포에서 사용될 때, 발현 벡터의 제어 기능은 종종 바이러스 조절 요소에 의해 제공된다. 예를 들어, 통상적으로 사용되는 프로모터는 폴리오마, 아데노바이러스 2, 사이토메갈로바이러스, 라우스 (Rous) 육종 바이러스, 및 원숭이 (simian) 바이러스 40으로부터 유래한다. 원핵 및 진핵 세포 둘 모두를 위한 다른 적합한 발현 시스템에 대해서는 예를 들어, 문헌 [Sambrook, et al. (2001) (Eds.) Molecular Cloning: A Laboratory Manual (3rd Ed.) Cold Spring Harbor Laboratory]을 참조한다.

[0405] 숙주 세포는 임의의 원핵 또는 진핵 세포일 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 단백질은 세균 세포, 예컨대 이. 콜라이, 곤충 세포, 효모, 식물 또는 포유동물 세포 (예를 들어, 차이니즈 햄스터 난소 세포 (CHO), COS, HEK293 세포) 내에서 생산될 수 있다. 다른 적합한 숙주 세포는 당업자에게 공지되어 있다.

[0406] 벡터 DNA는 통상적인 형질전환 또는 형질감염 기술을 통해 원핵 또는 진핵 세포 내로 도입될 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "형질전환" 및 "형질감염"은 인산칼슘 또는 염화칼슘 공-침전, DEAE-덱스트란-매개 형질감염, 리포펙션, 또는 전기천공을 비롯하여 외래 핵산 (예를 들어, DNA)을 숙주 세포에 도입하기 위한 다양한 당업계에 인정되는 기술을 의미하는 것을 의도한다. 숙주 세포를 형질전환 또는 형질감염시키기 위한 적합한 방법은 문헌 [Sambrook, et al. (2001) [Eds.] Molecular Cloning: A Laboratory Manual (3rd Ed.) Cold Spring Harbor Laboratory] 및 다른 실험실 매뉴얼에서 찾을 수 있다.

[0407] 외래 뉴클레오티드 서열을 숙주 세포 내로 도입하기 위한 임의의 잘 공지된 절차를 사용할 수 있다. 이들은 인산칼슘 형질감염, 폴리브렌, 원형질체 융합, 전기천공, 리포좀, 미세주사, 혈장 벡터, 바이러스 벡터, 및 클로닝된 게놈 DNA, cDNA, 합성 DNA 또는 다른 외래 유전 물질을 숙주 세포 내로 도입하기 위한 임의의 다른 잘 공지된 방법의 사용을 포함한다. 예를 들어, 문헌 [Sambrook, et al. (2001) (Eds.) Molecular Cloning: A Laboratory Manual (3rd Ed.) Cold Spring Harbor Laboratory] 및 [Walker & Papley (2009) Molecular Biology and Biotechnology [5th Ed.] Royal Society of Chemistry]을 참조한다. 단지, 사용된 특정 유전 공학 절차가 적어도 하나의 핵산 분자를 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3, 단편, 또는 관심있는 변이체를 발현할 수 있는 숙주 세포 내로 성공적으로 도입할 수 있는 것이 필요할 뿐이다.

[0408] 포유동물 세포의 안정한 형질감염을 위해, 발현 벡터 및 사용되는 형질감염 기술에 따라, 단지 작은 세포 분획만이 외래 DNA를 그들의 게놈 내로 통합할 수 있음이 알려져 있다. 이들 통합제를 확인하고 선택하기 위해, 선

택가능 마커 (예를 들어, 항생제 내성)를 코딩하는 유전자가 일반적으로 관심있는 유전자와 함께 숙주 세포 내로 도입된다. 다양한 선택가능 마커는 약물, 예컨대 G418, 히그로마이신, 퓨로마이신, 블라스티시딘 및 메토트렉세이트에 대한 내성을 부여하는 것을 포함한다. 선택가능 마커를 코딩하는 핵산은 본 발명의 단백질을 코딩하는 동일한 벡터 상에서 숙주 세포 내로 도입될 수 있거나 또는 별개의 벡터 상에 도입될 수 있다. 도입된 핵산으로 안정하게 형질감염된 세포는 약물 선택에 의해 확인할 수 있다 (예를 들어, 선택가능 마커 유전자를 포함한 세포는 생존하지만, 다른 세포는 죽는다).

[0409] 배양액 내의 본 발명의 숙주 세포, 예컨대 원핵 또는 진핵 숙주 세포는 본 발명의 단백질을 생산 (즉, 발현)하기 위해 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 본 발명의 숙주 세포를 이용하여 본 발명의 단백질을 생산하기 위한 방법을 추가로 제공한다. 한 실시양태에서, 방법은 본 발명의 숙주 세포 (그 내부로 본 발명의 단백질을 코딩하는 재조합 발현 벡터를 도입한)를 본 발명의 단백질이 생성되도록 적합한 배지 내에서 배양하는 것을 포함한다. 또다른 실시양태에서, 방법은 배지 또는 숙주 세포로부터 본 발명의 단백질을 단리하는 것을 추가로 포함한다.

[0410] 발현 벡터를 세포 내로 도입한 후, 형질감염된 세포를 수용체, 단편, 또는 관심있는 변이체의 발현에 유리한 조건 하에 배양한 후, 표준 기술을 사용하여 배양액으로부터 회수한다. 그러한 기술의 예는 당업계에 잘 공지되어 있다. 예를 들어, WO 00/06593 참조.

[0411] 예를 들어, 본원에서 설명된 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 모노클로날 항체의 생산은 중쇄 및 경쇄 유전자 둘 모두의 삽입을 허용하는 벡터를 사용하여 실시될 수 있고, CHO 세포에 대한 형질감염이 생산을 최적화하기 위해 사용될 수 있다. 본 발명자들이 사용한 플라스미드 벡터 pRc/CMV는 본 발명의 키메릭 모노클로날 항체의 높은 발현을 목적으로 설계되었다. 벡터는 중쇄 및 경쇄 유전자를 인간 CMV로부터 하류에 삽입하는 클로닝 부위를 갖는다. 벡터는 250-500 mg의 치료 용량이 전달될 수 있도록 항체를 생물반응기 배지 내에 1000 mg/L 초과의 수준으로 생산하도록 할 수 있다.

[0412] 2주마다 I.V. 전달된 200 mg 내지 400 mg의 용량에서 최소 HAMA를 보이는 모노클로날 항체는 전이성 암을 제어하는데 효과적일 수 있다. 현재 본 발명자들은 중쇄 및 경쇄 유전자의 유사한 삽입을 허용하지만 1000 mg/L (생물반응기 유체)를 초과하는 생산 능력을 갖는 보다 새로운 벡터를 선택하였다. 두 플라스미드 벡터는 인핸서-결핍 SV40 조기 프로모터에 의해 유도되는 dhfr 발현 단위를 보유한다. 벡터는 1.0 μg/ml의 메토트렉세이트 (MTX)를 보충한 거의 혈청-미함유 배지에서 CHO-D-SFM (디히드로폴레이트 리덕타제 (dhfr)-결핍 차이니즈 햄스터 난소) 세포 내로 삽입될 수 있다. 생산 종료시에, 세포는 항체의 최종 정제 전에 혈청 미함유 배지에 적응될 수 있다.

[0413] **KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 결합하는 항체**

[0414] 본 발명은 또한 모노클로날 및 인간화된 모노클로날 항체를 포함하고 이로 제한되지 않는, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 선택적으로 결합하는 항체를 제공한다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 선택적으로 결합하는 항체는 제약 담체 및 추가의 작용제 (예를 들어, 하나의 소염제, 진통제, 또는 질환-변형 항류마티스 약물 (DMARD))와 조성물 내에서 혼합될 수 있다.

[0415] 단리된 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드, 또는 그의 일부 또는 단편은 폴리클로날 및 모노클로날 항체 제조를 위해 표준 기술을 이용하여 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 결합하는 항체를 생성하기 위해 면역원으로서 사용될 수 있다. 전장 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드가 사용될 수 있거나, 별법으로, 본 발명은 면역원으로서 사용하기 위한 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 항원성 펩티드 단편을 제공한다. 한 실시양태에서, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 항원성 펩티드는 서열 7-24 중의 임의의 하나에 제시된 아미노산 서열의 적어도 8개의 아미노산 잔기를 포함하고, 펩티드에 대해 발생된 항체가 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드와 함께 특이적 면역 복합체를 형성하도록 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 에피토프를 포함한다. 바람직하게는, 항원성 펩티드는 적어도 10개의 아미노산 잔기, 보다 바람직하게는 적어도 15개의 아미노산 잔기, 훨씬 더 바람직하게는 적어도 20개의 아미노산 잔기, 가장 바람직하게는 적어도 30개의 아미노산 잔기를 포함한다. 항원성 펩티드에 의해 포함되는 바람직한 에피토프는 폴리펩티드의 세포외 도메인에 위치하는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 영역, 예를 들어, 친수성 영역, 및 높은 항원성을 갖는 영역이다.

[0416] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 면역원은 일반적으로 적합한 대상체 (예를 들어, 토끼, 염소, 마우스, 또는 다른 포유동물)를 면역원으로 면역화시킴으로써 항체를 제조하기 위해 사용된다. 적절한 면역원성 제제는 예를 들어, 재조합 방식으로 발현된 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 또는 화학적으로 합성된 KIR2DL1,

KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드를 함유할 수 있다. 예를 들어, 제제는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 세포외 도메인 (예를 들어, 서열 7-24의 아미노산 서열)을 포함할 수 있다. 제제는 아주반트, 예컨대 프로인트 (Freund) 완전 또는 불완전 아주반트, 또는 유사한 면역자극제를 추가로 포함할 수 있다. 면역원성 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 제제를 사용한 적합한 대상체의 면역화는 폴리클로날 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체 반응을 유도한다.

[0417] 항체는 분자량 약 23,000 달톤의 2개의 동일한 경쇄 폴리펩티드 ("경쇄"), 및 분자량 53,000-70,000의 2개의 동일한 중쇄 ("중쇄")를 포함할 수 있다 (Edelman (1971) Ann. NY. Acad. Sci. 190: 5). 4개의 사슬은 경쇄가 "Y" 입체형태의 입 (mouth)에서 출발하는 중쇄를 둘러싸는 "Y" 입체형태에서 디술피드 결합에 의해 연결된다. "Y" 입체형태의 "가지" 부분은 F_{ab} 영역으로 지정되고; "Y" 입체형태의 줄기 부분은 Fc 영역으로 지정된다. 아미노산 서열 배향은 "Y" 입체형태 상부의 N-말단부로부터 각각의 사슬의 하부의 C-말단부로 이어진다. N-말단부는 그를 유도하는 항원에 대한 특이성을 갖는 가변 영역을 보유하고, 약 100개 아미노산의 길이이고, 항체마다 경쇄와 중쇄 사이에 경미한 변이가 존재한다.

[0418] 가변 영역은 각각의 사슬에서 사슬의 나머지 길이를 연장하고 특정 종류의 항체 내에서 항체의 특이성 (즉, 그를 유도하는 항원)에 따라 변하지 않는 불변 영역에 연결된다. 이뮤노글로불린 분자의 클래스를 결정하는 불변 영역의 5개의 공지된 주요 클래스 (예를 들어, γ, μ, α, δ, 및 ε 중쇄 불변 영역에 상응하는 IgG, IgM, IgA, IgD, 및 IgE)가 존재한다. 불변 영역 또는 클래스는 보체의 활성화 ([Kabat (1976) Structural Concepts in Immunology and Immunochemistry [2nd Ed.] pages 413-436]; [Holt, Rinehart, Winston]) 및 다른 세포 반응 ([Andrews, et al. (1980) Clinical Immunobiology 1-18]; [Kohl, et al. (1983) Immunology 48: 187])비롯한 항체의 후속 이펙터 기능을 결정하고, 가변 영역은 이들이 반응할 항원을 결정한다. 경쇄는 κ (카파) 또는 λ (람다)로서 분류된다. 각각의 중쇄 클래스는 카파 또는 람다 경쇄를 사용하여 제조할 수 있다. 경쇄 및 중쇄는 서로 공유 결합되고, 2개의 중쇄의 "꼬리" 부분은 이뮤노글로불린이 하이브리도마 또는 B 세포에 의해 생성될 때 공유 디술피드 연결에 의해 서로 결합된다.

[0419] 상기 조건 하에서 항체에 대한 특이적 결합은 특정 단백질에 대한 그의 특이성에 대해 선택되는 항체를 필요로 할 수 있다. 예를 들어, 특이적 종, 예컨대 래트, 마우스, 또는 인간으로부터의 중요한 기본적인 (seminal basic) 단백질에 대해 생성된 폴리클로날 항체는 중요한 기본적인 단백질과는 특이적으로 면역반응성이지만 중요한 기본적인 단백질의 다형성 변이체 및 대립유전자를 제외하고 다른 단백질과는 그렇지 않은 폴리클로날 항체만을 얻기 위해 선택될 수 있다. 상기 선택은 다른 종으로부터의 중요한 기본적인 단백질 분자와 교차 반응하는 항체를 제외함으로써 달성할 수 있다. 다양한 면역검정 형식이 특정 단백질과 특이적으로 면역반응성인 항체를 선택하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 고체상 ELISA 면역검정은 단백질과 특이적으로 면역반응성인 항체를 선택하기 위해 통상적으로 사용된다. 예를 들어, 특이적 면역반응성을 결정하기 위해 사용될 수 있는 면역검정 형식 및 조건의 설명에 대해서는 문헌 [Harlow & Lane (1998) USING ANTIBODIES: A LABORATORY MANUAL Cold Spring Harbor Laboratory]을 참조한다. 일반적으로, 특이적 또는 선택적 반응은 배경 신호 또는 노이즈의 적어도 2배, 보다 일반적으로는 배경의 약 10 내지 100배 초과일 것이다.

[0420] 또다른 실시양태에서, 재조합 포유동물 발현 벡터는 특정 세포 종류 내에서 핵산의 발현을 우선적으로 유도할 수 있다 (예를 들어, 조직-특이적 조절 요소가 핵산 발현을 위해 사용된다). 조직-특이적 조절 요소는 당업계에 공지되어 있다. 적합한 조직-특이적 프로모터의 비제한적인 예는 알부민 프로모터 (간-특이적; [Pinkert et al. (1987) Genes Dev. 1:268-277]), 림프구-특이적 프로모터 (Calame and Eaton (1988) Adv. Immunol. 43:235-275), T 세포 수용체 (Winoto and Baltimore (1989) EMBO J. 8:729-733) 및 이뮤노글로불린의 특정 프로모터 ([Banerji et al. (1983) Cell 33:729-740]; [Queen and Baltimore (1983) Cell 33:741-748]), 뉴런-특이적 프로모터 (예를 들어, 신경미세섬유 프로모터; [Byrne and Ruddle (1989) Proc Natl. Acad. Sci. USA 86:5473-5477]), 췌장-특이적 프로모터 (Edlund et al. (1985) Science 230:912-916), 및 유선-특이적 프로모터 (예를 들어, 유장 프로모터; 미국 특허 4,873,316 및 유럽 특허 출원 공개 264,166)를 포함한다. 발생적으로 조절되는 프로모터, 예를 들어 뮤린 혹스 프로모터 (Kessel and Gruss (1990) Science 249:374-379) 및 α-페토단백질 프로모터 (Campes and Tilghman (1989) Genes Dev. 3: 537-546)도 포함된다.

[0421] **폴리클로날 항체**

[0422] 폴리클로날 항체는 항원으로 면역화시킨 동물의 혈청으로부터 유래된 항체 분자의 불균일한 집단이다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 선택적으로 결합하는 폴리클로날 항체는 당업계에 잘 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Howard & Kaser (2007) Making and Using Antibodies: A Practical Handbook

CRC Press] 참조).

[0423] **모노클로날 항체**

[0424] 모노클로날 항체는 실질적으로 유사한 에피토프 결합 부위를 함유하는, 항원에 특이적인 항체의 실질적으로 균일한 집단을 함유한다. 모노클로날 항체는 당업자에게 공지된 방법에 의해 얻을 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Kohler and Milstein (1975) Nature 256: 495-497]; 미국 특허 4,376,110; [Ausubel, et al. [Eds.] (2011) CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience, NY.]; 및 [Harlow & Lane (1998) USING ANTIBODIES: A LABORATORY MANUAL Cold Spring Harbor Laboratory; Colligan, et al. (2005) [Eds.] Current Protocols in Immunology Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience, NY]을 참조한다. 그러한 항체는 IgG, IgM, IgE, IgA, GILD 및 그의 임의의 하위클래스를 비롯한 임의의 이뮤노글로불린 클래스일 수 있다. 본 발명의 항체를 생산하는 하이브리도마를 시험관 내에서, 계내에서, 또는 생체 내에서 배양할 수 있다.

[0425] **키메릭 항체**

[0426] 키메릭 항체는 그의 상이한 부분이 상이한 동물 종으로부터 유래되는 분자, 예를 들어 뮤린 모노클로날 항체가 하이브리도마로부터 더 높은 수율을 갖지만 인간에서 보다 높은 면역원성을 갖는 경우에 인간 뮤린 키메릭 모노클로날 항체가 사용되도록, 적용시에 면역원성을 감소시키고 생산 수율을 증가시키기 위해 일차적으로 사용되는, 뮤린 항체로부터 유래된 가변 영역 및 인간 이뮤노글로불린 불변 영역을 갖는 분자이다. 키메릭 항체 및 그들의 생산 방법은 당업계에 공지되어 있다 (문헌 [Cabilly, et al. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 3273-3277]; [Morrison, et al. (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 6851-6855], [Boulianne, et al. (1984) Nature 312: 643-646]; [Neuberger, et al. (1985) Nature 314: 268-270]; 유럽 특허 출원 173494 (1986); WO 86/01533 (1986); 유럽 특허 출원 184187 (1986); 유럽 특허 출원 73494 (1986); [Sahagan, et al. (1986) J. Immunol. 137: 1066-1074]; [Liu, et al. (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 3439-3443]; [Sun, et al. (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 214-218]; [Better, et al. (1988) Science 240: 1041-1043]; 및 [Harlow & Lane (1998) USING ANTIBODIES: A LABORATORY MANUAL Cold Spring Harbor Laboratory]; 미국 특허 5,624,659 참조).

[0427] **인간화 항체**

[0428] 인간화 항체는 훨씬 더 많은 인간-유사 이뮤노글로불린 도메인을 함유하고 동물-유도 항체의 상보성 결정 영역만을 포함하도록 조작된다. 이것은 모노클로날 항체의 가변 영역의 초가변 루프의 서열을 조사하고, 이를 인간 항체 사슬의 구조에 피팅함으로써 달성할 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 6,187,287 참조. 마찬가지로, 인간화 항체의 생산을 위한 다른 방법은 현재 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 미국 특허 5,225,539; 5,530,101; 5,585,089; 5,693,762; 6,054,297; 6,180,370; 6,407,213; 6,548,640; 6,632,927; 및 6,639,055; 문헌 [Jones, et al. (1986) Nature 321: 522-525]; [Reichmann, et al. (1988) Nature 332: 323-327]; [Verhoeyen, et al. (1988) Science 239: 1534-36]; 및 [Zhiqiang An (2009) [Ed.] Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic John Wiley & Sons, Inc.]을 참조한다.

[0429] **항체 단편**

[0430] 전체 이뮤노글로불린 (또는 그들의 재조합 대응물)에 추가로, 에피토프 결합 부위 (예를 들어, Fab', $F(ab')_2$, 또는 다른 단편)를 포함하는 이뮤노글로불린 단편은 합성될 수 있다. 재조합 이뮤노글로불린 기술을 사용하여 "단편", 또는 최소 이뮤노글로불린을 설계할 수 있다. 예를 들어, 본 발명에서 사용하기 위한 "Fv" 이뮤노글로불린은 융합된 가변 경쇄 영역 및 가변 중쇄 영역을 합성함으로써 생산될 수 있다. 항체의 조합, 예를 들어 2 가지의 별개의 Fv 특이성을 포함하는 디아바디도 관심의 대상이다. 이뮤노글로불린의 항원-결합 단편은 SMIP (소분자 면역제약물질), 카멜바디 (camelbody), 나노바디 (nanobody), 및 IgNAR을 포함하고 이로 제한되지 않는다.

[0431] **항-이디오타입 항체**

[0432] 항-이디오타입 (항-Id) 항체는 일반적으로 항체의 항원-결합 부위와 회합되는 특유한 결정자를 인식하는 항체이다. Id 항체는 항-Id가 그에 대해 제조되는 항체로 항체의 공급원으로서 동일한 종 및 유전적 종류의 동물 (예를 들어, 마우스 동물주)을 면역화시킴으로써 제조할 수 있다. 면역화된 동물은 이들 개별특이형 결정자에 대한 항체 (항-Id 항체)를 생산함으로써 면역화시키는 항체의 개별특이형 결정자를 인식하고 반응할 것이다 (예를

들어, 미국 특허 4,699,880 참조). 항-Id 항체는 또한 소위 항-항-Id 항체를 생산하는 또다른 동물에서 면역 반응을 유도하기 위한 "면역원"으로서 사용될 수 있다. 항-항-Id는 항-Id를 유도한 본래의 항체에 대해 에피토프가 동일할 수 있다. 따라서, 항체의 개별특이형 결정자에 대한 항체를 사용함으로써, 동일한 특이성의 항체를 발현하는 다른 클론을 확인하는 것이 가능하다.

[0433] **조작된 및 변형된 항체**

[0434] 본 발명의 항체는 추가로 출발 항체로부터 변형된 특성을 가질 수 있는 변형된 항체를 조작하기 위해 항체 출발 물질로부터 유래된 하나 이상의 VH 및/또는 VL 서열을 갖는 항체를 사용하여 제조할 수 있다. 항체는 하나 또는 두 가변 영역 (즉, VH 및/또는 VL), 예를 들어 하나 이상의 CDR 영역 및/또는 하나 이상의 프레임워크 영역 내에서 하나 이상의 잔기를 변형함으로써 조작될 수 있다. 추가로 또는 별법으로, 항체는 예를 들어 항체의 이펙터 기능(들)을 변경하기 위해 불변 영역(들) 내의 잔기를 변형함으로써 조작될 수 있다.

[0435] 수행할 수 있는 1가지 종류의 가변 영역 조작은 CDR 이식이다. 항체는 우세하게 6개의 중쇄 및 경쇄 상보성 결정 영역 (CDR) 내에 위치하는 아미노산 잔기를 통해 표적 항원과 상호작용한다. 이 때문에, CDR 내의 아미노산 서열은 CDR 외부의 서열보다 개별 항체 사이에서 더 다양하다. CDR 서열은 대부분의 항체-항원 상호작용을 담당하기 때문에, 상이한 특성을 갖는 상이한 항체로부터의 프레임워크 서열 상에 이식된, 특이적 천연 생성 항체로부터의 CDR 서열을 포함하는 발현 벡터를 제작함으로써 특이적 천연 생성 항체의 특성을 모방하는 재조합 항체를 발현하는 것이 가능하다. 예를 들어, 문헌 [Riechmann, et al. (1998) Nature 332: 323-327]; [Jones, et al. (1986) Nature 321: 522-525]; [Queen, et al. (1989) Proc. Natl. Acad. U.S.A. 86: 10029-10033]; 미국 특허 5,225,539; 5,530,101; 5,585,089; 5,693,762; 및 6,180,370을 참조한다.

[0436] 적합한 프레임워크 서열은 생식계열 항체 유전자 서열을 포함하는 공공 DNA 데이타베이스 또는 공개된 참고문헌으로부터 얻을 수 있다. 예를 들어, 인간 중쇄 및 경쇄 가변 영역 유전자에 대한 생식계열 DNA 서열은 "VBase" 인간 생식계열 서열 데이타베이스 (인터넷에서 이용가능함), 및 문헌 [Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest [5th Ed.] U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242]; [Tomlinson, et al. (1992) "The Repertoire of Human Germline VH Sequences Reveals about Fifty Groups of VH Segments with Different Hypervariable Loops" J. Mol. Biol. 227: 776-798]; 및 [Cox, et al. (1994) Eur. J Immunol. 24: 827-836]에서 볼 수 있다.

[0437] 또다른 종류의 가변 영역 변형은 VH 및/또는 VL CDR 1, CDR2 및/또는 CDR3 영역 내의 아미노산 잔기를 돌연변이시켜, 관심있는 항체의 하나 이상의 결합 특성 (예를 들어, 친화도)을 개선하기 위한 것이다. 부위-지정 돌연변이 유발 또는 PCR-매개 돌연변이 유발은 돌연변이(들)를 도입하기 위해 수행할 수 있고, 항체 결합에 대한 효과, 또는 관심있는 다른 기능적 특성은 적절한 시험관내 또는 생체내 검정으로 평가할 수 있다. 바람직하게는, 보존적 변형 (본원에 논의된 바와 같이)이 도입될 수 있다. 돌연변이는 아미노산 치환, 부가 또는 결실일 수 있지만, 바람직하게는 치환이다. 또한, 일반적으로 CDR 영역 내의 1, 2, 3, 4 또는 5개 이하의 잔기가 변형된다.

[0438] 본 발명의 조작된 항체는 예를 들어 항체의 특성을 개선하기 위해서 VH 및/또는 VL 내의 프레임워크 잔기에 변형이 이루어진 항체를 포함한다. 일반적으로, 상기 프레임워크 변형은 항체의 면역원성을 감소시키기 위해 시행된다. 예를 들어, 하나의 방안은 하나 이상의 프레임워크 잔기를 상응하는 생식계열 서열로 "역돌연변이"시키는 것이다. 보다 구체적으로, 체세포 돌연변이를 겪은 항체는 그로부터 항체가 유래되는 생식계열 서열과 상이한 프레임워크 잔기를 함유할 수 있다. 상기 잔기는 항체 프레임워크 서열을 그로부터 항체가 유래되는 생식계열 서열과 비교함으로써 확인할 수 있다.

[0439] 프레임워크 또는 CDR 영역 내에 이루어진 변형에 추가로 또는 별법으로, 본 발명의 항체는 일반적으로 항체의 하나 이상의 기능적 특성, 예컨대 혈청 반감기, 보체 고정, Fc 수용체 결합, 및/또는 항원-의존적 세포 세포독성을 변경하기 위해 Fc 영역 내에 변형을 포함하도록 조작될 수 있다. 또한, 본 발명의 항체는 그의 당화를 변경하고, 다시 항체의 하나 이상의 기능적 특성을 변경하기 위해 화학적으로 변형되거나 (예를 들어, 하나 이상의 화학적 모이어티가 항체에 부착된다) 또는 변형될 수 있다. 상기 실시양태는 아래에서 추가로 설명된다. Fc 영역 내의 잔기의 넘버링은 카바트 (Kabat)의 EU 인덱스의 것이다.

[0440] CH1의 힌지 영역은 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 수가 변형되도록, 예를 들어, 증가 또는 감소되도록 변형될 수 있다. 미국 특허 5,677,425 참조. CH1의 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 수는 예를 들어 경쇄 및 중쇄의 조립을 용이하게 하거나 또는 항체의 안정성을 증가 또는 감소시키기 위해 변형될 수 있다.

[0441] 항체의 Fc 힌지 영역은 항체의 생물학적 반감기를 감소시키기 위해 돌연변이될 수 있다. 보다 구체적으로, 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 항체가 천연 Fc-힌지 도메인 스타필로코커스 (*Staphylococcyl*) 단백질 (SpA) 결합에 비해 손상된 SpA 결합을 갖도록 Fc-힌지 단편의 CH2-CH3 도메인 계면 영역 내에 도입될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 6,165,745 참조.

[0442] 항체는 그의 생물학적 반감기를 증가시키도록 변형될 수 있다. 다양한 방안이 가능하다. 예를 들어, 하나 이상의 다음 돌연변이가 도입될 수 있다: T252L, T254S, T256F (미국 특허 6,277,375 참조). 별법으로, 생물학적 반감기를 증가시키기 위해, 항체는 IgG의 Fc 영역의 CH2 도메인의 2개의 루프로부터 취한 샐비지 (salvage) 수용체 결합 에피토프를 포함하기 위해 CH1 또는 CL 영역 내에서 변형될 수 있다. 미국 특허 5,869,046 및 6,121,022 참조.

[0443] Fc 영역은 항체의 이펙터 기능(들)을 변경하기 위해 적어도 하나의 아미노산 잔기를 상이한 아미노산 잔기로 교체함으로써 변형될 수 있다. 예를 들어, 아미노산 잔기 234, 235, 236, 237, 297, 318, 320 및 322로부터 선택된 하나 이상의 아미노산은 항체가 이펙터 리간드에 대한 변형된 친화도를 갖지만 모 항체의 항원-결합 능력을 보유하도록 상이한 아미노산 잔기로 교체될 수 있다. 그에 대한 친화도가 변형될 수 있는 이펙터 리간드는 예를 들어, Fc 수용체 또는 보체의 C1 성분일 수 있다. 미국 특허 5,624,821 및 5,648,260 참조.

[0444] 항체의 당화는 변형된다. 예를 들어, 비당화 항체가 제조될 수 있다 (즉, 항체에는 당화가 결여된다). 당화는 예를 들어 항원에 대한 항체의 친화도를 증가시키기 위해 변형될 수 있다. 그러한 탄수화물 변형은 예를 들어 항체 서열 내에서 하나 이상의 당화 부위를 변경함으로써 달성할 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 가변 영역 프레임워크 당화 부위를 제거하여 그 부위에서 당화를 제거하는 하나 이상의 아미노산 치환이 이루어질 수 있다. 그러한 비당화는 항원에 대한 항체의 친화도를 증가시킬 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 5,714,350 및 6,350,861 참조).

[0445] 추가로 또는 별법으로, 변형된 종류의 당화를 갖는 항체, 예컨대 감소된 양의 푸코실 잔기를 갖는 저푸코실화 항체 또는 증가하는 이분 GlcNac 구조를 갖는 항체가 제조될 수 있다. 그러한 변경된 당화 패턴은 항체의 ADCC 능력을 증가시키는 것으로 입증되었다. 그러한 탄수화물 변형은 예를 들어 변경된 당화 기구를 갖는 숙주 세포에서 항체를 발현시킴으로써 달성할 수 있다. 변형된 당화 기구를 가진 세포는 당업계에 설명되었고, 본 발명의 재조합 항체를 발현하여 변형된 당화를 가진 항체를 생산하기 위한 숙주 세포로서 사용될 수 있다 (미국 특허 출원 공개 2004/0110704 및 문헌 [Yamane-Ohnuki, et al. (2004) Biotechnol Bioeng. 87: 614-22]; EP 1,176,195; WO 2003/035835; [Shields, et al. (2002) J. Biol. Chem. 277: 26733-26740]; WO 99/54342; [Umana, et al. (1999) Nat. Biotech. 17: 176-180]; 및 [Tarentino, et al. (1975) Biochem. 14: 5516-23] 참조).

[0446] 항체는 예를 들어 항체의 생물학적 (예를 들어, 혈청) 반감기를 증가시키기 위해 페길화 (pegylation)될 수 있다. 항체의 페길화를 위해, 항체, 또는 그의 단편은 일반적으로 하나 이상의 PEG기가 항체 또는 항체 단편에 부착되는 조건 하에 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 예컨대 PEG의 반응성 에스테르 또는 알데히드 유도체와 반응한다. 바람직하게는, 페길화는 반응성 PEG 분자 (또는 유사한 반응성 수용성 중합체)와의 아실화 반응 또는 알킬화 반응을 통해 수행된다.

[0447] 본 발명은 또한 본원에서 제시된 항체, 항체 단편, 디아바디, SMIP, 카멜바디, 나노바디, IgNAR, 폴리펩티드, 가변 영역 및 CDR에 실질적으로 상동성인 변이체 및 동등물을 제공한다. 이들은 예를 들어 보존적 치환 돌연변이 (즉, 유사한 아미노산에 의한 하나 이상의 아미노산의 치환)를 포함할 수 있다. 예를 들어, 보존적 치환은 아미노산의 동일한 일반적인 클래스 내의 또다른 아미노산으로의 치환, 예를 들어, 하나의 산성 아미노산을 또다른 산성 아미노산으로, 하나의 염기성 아미노산을 또다른 염기성 아미노산으로, 또는 하나의 중성 아미노산을 또다른 중성 아미노산으로 치환하는 것을 나타낸다.

[0448] **항체의 생산**

[0449] 특히 모노클로날 항체는 문헌 [Kohler et al., Nature, 256:495 (1975)]에 처음 설명된 하이브리도마 방법, 또는 다른 공지된, 후에 개발된 방법 (예를 들어, 문헌 [Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pages 59-103 (Academic Press, 1986)] 참조)을 이용하여 제조할 수 있다. 하이브리도마 및 다른 융합 세포는 임의의 적합한 종류의 골수종, 이종골수종, 림프아구성 세포, 형질세포종 또는 유사한 불멸화 세포 및 임의의 적합한 종류의 항체-발현 세포(들)를 사용하여 화학적 융합, 전기적 융합, 또는 임의의 다른 적합한 기술에 의해 형성될 수 있다.

[0450] 형질전환된 불멸화 B 세포도 또한 항체를 효율적으로 생산하기 위해 사용될 수 있다. 형질전환된 B 세포는 표준 기술, 예컨대 엡스타인 바 바이러스 또는 형질전환성 유전자를 사용한 형질전환에 의해 생산될 수 있다 (예를 들어, 문헌 ["Continuously Proliferating Human Cell Lines Synthesizing Antibody of Predetermined Specificity", Zurawaki, V. R. et al., in Monoclonal Antibodies, ed. by Kennett R. H. et al., Plenum Press, N.Y. 1980, pages 19-33] 참조). 따라서, 안정하고 연속적인 및/또는 불멸화 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체-발현 세포 및 세포주는 본 발명의 또다른 특징이다. 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 생산하기 위한 방법의 단계는 예를 들어 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체(들)을 생산하기 위해 적절한 파트너에 융합되거나 또는 재조합 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 생산하기 위해 사용되는 서열을 서열결정된 항체를 생산하는 불멸화 B 세포를 생산하는 단계를 포함할 수 있다.

[0451] 재조합 단백질 발현을 위한 숙주로서 이용가능한 세포주는 당업계에 잘 공지되어 있고, 아메리칸 타입 컬쳐 컬렉션 (ATCC)으로부터 이용가능한 많은 불멸화 세포주를 포함한다. 이들은 특히 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포, NSO, SP2 세포, HeLa 세포, 새끼 햄스터 신장 (BHK) 세포, 원숭이 신장 세포 (COS), 인간 간세포 암종 세포 (예를 들어, Hep G2), A549 세포, 및 많은 다른 세포주를 포함한다. 사용할 수 있는 다른 세포주는 곤충 세포주, 예컨대 Sf9 세포이다. 항체 유전자를 코딩하는 핵산 (또는 핵산-함유 벡터)이 포유동물 숙주 세포 내로 도입될 때, 항체는 숙주 세포를 숙주 세포 내에서 항체의 발현, 또는 보다 바람직하게는, 숙주 세포가 성장하는 배양 배지 내로 항체의 분비를 허용하는 충분한 기간 동안 배양함으로써 생산될 수 있다. 항체는 표준 단백질 정제 방법을 이용하여 배양 배지로부터 회수될 수 있다. 또한, 항체는 분비 신호 없이 직접 발현될 때 숙주 세포 용해물로부터 회수될 수 있다.

[0452] 세포 배양액, 세포 용해물 및 트랜스제닉 동물 또는 그로부터 (예를 들어 항체를 생산하는 트랜스제닉 동물의 복수액으로부터) 얻어진 생물학적 물질로부터의 항체의 정제는 예를 들어, 면역친화도 컬럼 정제; 술페이트 침전; 크로마토포커싱; 예비 SDS-PAGE 등을 비롯하여 당업계에 공지된 임의의 많은 적합한 기술에 의해 달성될 수 있다.

[0453] 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 또한 세균 세포 및 진핵 단세포 미생물, 예컨대 효모에서 생산될 수 있다. 세균 세포 생산 항체는 정상적인 당화가 결여되고, 따라서 ADCC 기능, 및 그렇지 않으면 포유동물 세포 및/또는 동물에서 생산된 본질적으로 동일한 항체와 관련될 수 있는 면역 반응의 다른 측면이 결핍될 수 있다.

[0454] WO 2006/072625에 기재된 것을 비롯하여 항체의 정제, 스크리닝 및 선택을 위한 적합한 방법을 사용할 수 있다. 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체의 스크리닝 및 선택은 임의의 적합한 기술 또는 기술의 조합에 의해 달성할 수 있다. 예를 들어, 다양한 면역검정 형식이 특정 단백질, 변이체 또는 단편과 선택적으로 결합하는 항체를 선택하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 고체상 ELISA 면역검정은 단백질, 단백질 변이체 또는 그의 단편과 선택적으로 면역반응성인 항체를 선택하기 위해 통상적으로 사용된다 (Harlow and Lane, 상기 문헌). 모노클로날 항체의 결합 친화도는 예를 들어, 문헌 [Munson et al., Anal. Biochem., 107:220 (1980)]의 스캐차드 분석에 의해 결정할 수 있다.

[0455] 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 대개 예컨대 KIR2DL1, 2 및/또는 3-매개 신호를 억제하고, NK 활성화 수용체-매개 신호를 통한 NK 세포의 활성화를 촉진함으로써 NK 세포 활성을 조절하는 능력에 대해 스크리닝한다. 예를 들어, 유동 세포측정 스크리닝 방법을 비롯한, 그러한 측면에 유용할 수 있는 많은 NK 세포 검정이 개발되었다 (예를 들어, 문헌 [McGinnes, et al. (1984) J Immunol Methods 80: 70-85] 참조). NK 세포를 배양하고 NK 세포를 평가하는 등과 관련된 방법은 당업계에 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Campbell and Colonna, Natural Killer Cell Protocols (Methods in Molecular Biology Series vol. 121)(2000)] 참조).

[0456] 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체의 측면에서, NK 세포 중화 활성은 KIR2DL1, 2 및/또는 3-양성 NK 세포에 의한 표적 세포의 용해를 재구성하는 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체의 능력에 의해 입증할 수 있다. 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체-연관 NK 세포 조절 (예를 들어, KIR 억제)는 또한 다양한 세포 기반 세포독성 검정에 의해 평가할 수 있다. 재유도 사멸은 세포독성을 유도하는 NK-세포 수용체의 능력을 결정하기 위한 하나의 실험 시스템이다. 후보 수용체에 특이적인 항체로 코팅된 NK 세포를 항체가 결합하는 Fc 수용체를 발현하는 표적 세포를 사멸시키는 그의 능력에 대해 평가한다. 또다른 변이체에서, 항-KIR 항체와 연관된 NK 세포 활성 조절은 시토카인-방출 검정으로 평가할 수 있다. 다양한 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체와 연관된 다른 생물학적 활성은 또한 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 평가하기 위해 사용될 수 있다.

[0457] **항체 접합체**

[0458] 항체 (또는 그의 단편)는 치료제 모이어티, 예컨대 세포독소, 치료제 또는 방사성 금속 이온에 접합될 수 있다. 세포독소 또는 세포독성제는 세포에 유해한 임의의 작용제를 포함한다. 그 예는 탁솔, 시토칼라신 B, 그라미시딘 D, 에티듐 브로마이드, 에메틴, 미토마이신, 에토포시드, 테노포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜키신, 독소루비신, 다우노루비신, 디히드록시 안트라신 디온, 미톡산트론, 미트라마이신, 악티노마이신 D, 1-데히드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀올, 및 퓨로마이신 및 그의 유사체 또는 상동체를 포함하고 이로 제한되지 않는다. 치료제는 항대사물질 (예를 들어, 메토트렉세이트, 6-메르캅토퓨린, 6-티오구아닌, 시타라빈, 5-플루오로우라실 데카르바진), 알킬화제 (예를 들어, 메클로레타민, 티오에파 클로람부실, 멜팔란, 카르무스틴 (BSNU) 및 로무스틴 (CCNU), 시클로포스파미드, 부술판, 디브로모만니톨, 스트렙토조토신, 미토마이신 C, 및 시스-디클로로디아민 백금 (II) (DDP) 시스플라틴), 안트라사이클린 (예를 들어, 다우노루비신 (이전에 다우노마이신) 및 독소루비신), 항생제 (예를 들어, 닥티노마이신 (이전에 악티노마이신), 블레오마이신, 미트라마이신 및 안트라마이신 (AMC)), 및 항-유사분열제 (예를 들어, 빈크리스틴 및 빈블라스틴)를 포함하고 이로 제한되지 않는다.

[0459] **항체 조작 방법**

[0460] 본원에 개시된 VH 및 VL 서열을 갖는 항체는 VH 및/또는 VL 서열 또는 그에 부착된 불변 영역(들)을 변형함으로써 새로운 변이체 항체를 생성하기 위해 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명의 변이체 항체의 구조적 특징은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 대한 결합과 같은 본 발명의 항체의 적어도 하나의 기능적 특성을 보유하는 구조상 관련된 변이체 항체를 생성하기 위해 사용된다. 예를 들어, 하나의 항-KIR2DL1, KIR2DL2 및 KIR2DL3 변이체 항체 또는 그의 돌연변이의 하나 이상의 CDR 영역은 공지의 프레임워크 영역 및/또는 다른 CDR과 재조합 방식으로 조합되어, 본원에 논의된 바와 같이 본 발명의 추가의 재조합 방식으로 조작된 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체 (예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, 및/또는 KIR2DL3에 결합하는 항체)를 생성할 수 있다. 조작 방법을 위한 출발 물질은 본원에 제공된 하나 이상의 VH 및/또는 VK 서열, 또는 그의 하나 이상의 CDR 영역일 수 있다. 조작된 항체를 생성하기 위해, 본원에 제공된 하나 이상의 VH 및/또는 VK 서열, 또는 그의 하나 이상의 CDR 영역을 갖는 항체를 실제로 제조하는 (즉, 단백질로서 발현하는) 것은 필요하지 않다. 대신에, 서열(들) 내에 담긴 정보를 출발 물질로서 사용하여 원래의 서열(들)로부터 유래된 "제2 세대" 서열(들)을 생성하고, 이어서 "제2 세대" 서열(들)을 제조하고 단백질로서 발현시킨다. 변형된 항체 서열을 제조 및 발현하기 위해 표준 분자 생물학 기술을 사용할 수 있다.

[0461] 변형된 항체 서열(들)에 의해 코딩된 항체는 본원에 제공된 서열을 사용하여 본원에 제공된 방법에 의해 생산된 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체의 기능적 특성 중 하나, 일부 또는 전부를 보유할 수 있고, 여기서 기능적 특성은 변이체 KIR2DL1, KIR2DL2 및 KIR2DL3, 또는 특이적 KD 수준을 갖는 변이체 KIR2DL1, KIR2DL2 및 KIR2DL3 접합체에 대한 결합, 및/또는 면역 세포 활성의 조절, 및/또는 예를 들어, 결장직장 암종, 폐암, 전립선암, 췌장암, 난소암, 위암 및 간암과 같은 목적하는 표적 세포에 대한 선택적 결합을 포함한다. 변형된 항체의 기능적 특성은 당업계에서 이용가능하고/하거나 본원에 기재된 표준 검정을 이용하여 평가할 수 있다.

[0462] 돌연변이는 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체 코딩 서열의 전부 또는 일부를 따라 무작위로 또는 선택적으로 도입될 수 있고, 생성되는 변형된 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체는 결합 활성 및/또는 다른 목적하는 기능적 특성에 대해 스크리닝할 수 있다 (WO 2011/120013 참조).

[0463] **KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 선택적으로 결합하는 항체를 코딩하는 핵산**

[0464] 본 발명의 또다른 측면은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 결합하는 본 발명의 항체를 코딩하는 핵산 분자에 관한 것이다. 핵산은 전체 세포 내에, 세포 용해물 내에, 또는 부분적으로 정제된 또는 실질적으로 순수한 형태로 존재할 수 있다. 핵산은 알칼리성/SDS 처리, CsCl 밴딩 (banding), 컬럼 크로마토그래피, 아가로스 겔 전기영동 및 당업계에 잘 공지된 다른 것을 비롯한 표준 기술에 의해 다른 세포 성분 또는 다른 오염물질 (예를 들어, 다른 세포 핵산 또는 단백질)에서 정제에 의해 단리할 수 있다 ([Ausubel, et al. (2011) Current Protocols in Molecular Biology John Wiley & Sons, Inc.]). 본 발명의 핵산은 예를 들어, DNA 또는 RNA일 수 있고, 인트론 서열을 함유하거나 함유하지 않을 수 있다. 핵산은 cDNA 분자일 수 있다.

[0465] 본 발명의 핵산은 표준 분자 생물학 기술을 이용하여 얻을 수 있다. 하이브리도마 (예를 들어, 아래에 추가로 설명하는 바와 같이 인간 이뮤노글로불린 유전자를 보유하는 트랜스제닉 마우스로부터 제조된 하이브리도마)에 의해 발현된 항체에 대해, 하이브리도마에 의해 제조된 항체의 경쇄 및 중쇄를 코딩하는 cDNA는 표준 PCR 증폭 또는 cDNA 클로닝 기술에 의해 얻을 수 있다. 이뮤노글로불린 유전자 라이브러리 (예를 들어, 파지 디스플레이

기술을 이용하여)로부터 얻어진 항체에 대해, 항체를 코딩하는 핵산은 라이브러리부터 회수할 수 있다.

[0466] 구체적으로, 축퇴성 코돈 치환은 예를 들어, 하나 이상의 선택된 코돈의 제3 위치가 혼합된-염기 및/또는 데옥시이노신 잔기로 치환되는 서열을 생성함으로써 달성할 수 있다 ([Batzer, et al. (1991) Nucleic Acid Res. 19: 5081]; [Ohtsuka, et al. (1985) J. Biol. Chem. 260: 2605-08]; [Rossolini, et al. (1994) Mol. Cell. Probes 8: 91-98].

[0467] 일단 VH 및 VL 절편을 코딩하는 DNA 단편이 얻어지면, 이들 DNA 단편은 예를 들어 가변 영역 유전자를 전장 항체 사슬 유전자로, Fab 단편 유전자로 또는 scFv 유전자로 전환시키기 위해 표준 재조합 DNA 기술에 의해 추가로 조작될 수 있다. 이들 조작에서, VL- 또는 VH-코딩 DNA 단편은 또다른 단백질, 예컨대 항체 불변 영역 또는 가요성 링커를 코딩하는 또다른 DNA 단편에 작동가능하게 연결된다.

[0468] VH 영역을 코딩하는 단리된 DNA는 VH-코딩 DNA를 중쇄 불변 영역 (CH1, CH2 및 CH3)을 코딩하는 또다른 DNA 분자에 작동가능하게 연결함으로써 전장 중쇄 유전자를 전환될 수 있다. 인간 중쇄 불변 영역 유전자의 서열은 당업계에 공지되어 있고 (예를 들어, 문헌 [Kabat, et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242] 참조), 이들 영역을 포함하는 DNA 단편은 표준 PCR 증폭에 의해 얻을 수 있다. 중쇄 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgE, IgM 또는 IgD 불변 영역일 수 있지만, 가장 바람직하게는 IgG1 또는 IgG4 불변 영역이다. Fab 단편 중쇄 유전자에 대해, VH-코딩 DNA는 중쇄 CH1 불변 영역만을 코딩하는 또다른 DNA 분자에 작동가능하게 연결될 수 있다.

[0469] VL 영역을 코딩하는 단리된 DNA는 VL-코딩 DNA를 경쇄 불변 영역, CL을 코딩하는 또다른 DNA 분자에 작동가능하게 연결함으로써 전장 경쇄 유전자 (및 Fab 경쇄 유전자)로 전환될 수 있다. 인간 경쇄 불변 영역 유전자의 서열은 당업계에 공지되어 있고 (예를 들어, [Kabat, et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242] 참조), 이들 영역을 포함하는 DNA 단편은 표준 PCR 증폭에 의해 얻을 수 있다. 경쇄 불변 영역은 카파 또는 람다 불변 영역일 수 있지만, 가장 바람직하게는 카파 불변 영역이다.

[0470] scFv 유전자를 생성하기 위해, VH- 및 VL-코딩 DNA 단편은 가요성 링커를 코딩하는, 예를 들어, 아미노산 서열 $(Gly4-Ser)_3$을 코딩하는 또다른 단편에 작동가능하게 연결되어, VH 및 VL 서열은 인접하는 단일-쇄 단백질로서 발현될 수 있고, 여기서 VL 및 VH 영역은 가요성 링커에 의해 연결된다 (예를 들어, [Bird, et al. (1988) Science 242: 423-426]; [Huston, et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879-5883]; [McCafferty, et al. (1990) Nature 348: 552-554] 참조).

[0471] **항체 및 그의 단편의 생산 방법**

[0472] 본 발명은 또한 항체 및 그의 단편을 생산하기 위한 방법을 제공한다. 항체의 생산 방법은 당업자에게 잘 공지되어 있다. 예를 들어, 키메릭 항체의 생산 방법은 현재 당업계에 잘 공지되어 있다 (예를 들어, 미국 특허 4,816,567; [Morrison, et al. (1984) PNAS USA 81: 8651-55]; [Neuberger, et al. (1985) Nature 314: 268-270]; [Boulianne, et al. (1984) Nature 312: 643-16] 참조).

[0473] 예를 들어, 항체 또는 항원 결합 단편은 유전 공학처리에 의해 생산할 수 있다. 다른 방법에서와 같이 상기 기술에서, 항체-생산 세포를 목적하는 항원 또는 면역원에 감작시킨다. 항체 생산 세포로부터 단리된 메신저 RNA를 PCR 증폭을 이용하여 cDNA를 제조하기 위한 주형으로서 사용한다. 초기 항원 특이성을 보유하는, 각각 하나의 중쇄 유전자 및 하나의 경쇄 유전자를 함유하는 벡터의 라이브러리는 발현 벡터 내로 증폭된 이뮤노글로불린 cDNA의 적절한 절편의 삽입에 의해 생산한다. 조합 라이브러리는 중쇄 유전자 라이브러리를 경쇄 유전자 라이브러리와 조합함으로써 제작한다. 이것은 중쇄 및 경쇄를 동시-발현하는 클론의 라이브러리를 생성시킨다 (항체 분자의 Fab 단편 또는 항원 결합 단편을 모방하는). 이들 유전자를 보유하는 벡터들을 숙주 세포 내로 동시-형질감염시킨다. 항체 유전자 합성이 형질감염된 숙주 내에서 유도되면, 중쇄 및 경쇄 단백질은 자가조립하여 활성 항체를 생산하고, 이것은 항원 또는 면역원을 사용한 스크리닝에 의해 검출할 수 있다.

[0474] 본 발명의 항체 및 그의 단편은 또한 당업자에게 잘 공지된 통상적인 기술을 이용하여, 오페론 (operon) 및 항체 중쇄를 코딩하는 DNA 서열을 함유하는 발현 벡터를 제작함으로써 생산할 수 있고, 여기서 항체 특이성을 위해 요구되는 CDR을 코딩하는 DNA 서열은 비-인간 세포원으로부터 유래하는 반면, 항체 사슬의 나머지 부분을 코딩하는 DNA 서열은 인간 세포원으로부터 유래한다. 또한, 본 발명은 본 발명의 상기 언급된 핵산 분자를 함유하는, 유전 공학처리에서 일반적인 벡터, 특히 플라스미드, 코스미드, 바이러스, 박테리오파지 및 다른 벡터에

관한 것이다. 벡터 내에 함유된 핵산 분자는 원핵 및 진핵 세포 내에서 전사를 보장하는 조절 요소에 연결될 수 있다.

[0475] 벡터는 표적 숙주 세포 내에서 외래 단백질의 발현을 위한 조작을 용이하게 하는 요소를 함유한다. 편리하게는, 서열의 조작 및 형질전환을 위한 DNA의 생산을 먼저 세균 숙주 (예를 들어, 이. 콜라이) 내에서 수행하고, 대체로 벡터는 세균 복제 기점 및 적절한 세균 선택 마커를 비롯한, 상기 조작을 이용하게 하는 서열을 포함할 것이다. 선택 마커는 선택 배양 배지 내에서 성장하는 형질전환된 숙주 세포의 생존 또는 성장에 필요한 단백질을 코딩한다. 선택 유전자를 함유하는 벡터로 형질전환되지 않은 숙주 세포는 배양 배지 내에서 생존하지 않을 것이다. 대표적인 선택 유전자는 항생제 또는 다른 독소, 보체 영양요구 결핍에 대한 내성을 부여하거나, 복합 배지로부터 이용가능하지 않은 중대한 영양소를 공급하는 단백질을 코딩한다. 예시적인 벡터 및 효모의 형질전환을 위한 방법은 당업계에 설명되어 있다 (예를 들어, [Burke, et al. (2000) Methods in Yeast Genetics Cold Spring Harbor Laboratory Press] 참조).

[0476] 관심있는 폴리펩티드 코딩 서열은 효모 세포 내에 폴리펩티드의 발현을 제공하는 전사 및 번역 조절 서열에 작동가능하게 연결될 수 있다. 이들 벡터 성분은 다음 중 하나 이상을 포함할 수 있고 이로 제한되지 않는다: 인핸서 요소, 프로모터, 및 전사 종결 서열. 폴리펩티드의 분비를 위한 서열이 또한 포함될 수 있다 (예를 들어, 신호 서열).

[0477] 핵산은 또다른 핵산 서열과 기능적 관계로 배치될 때 "작동가능하게 연결된다". 예를 들어, 신호 서열을 위한 DNA는 폴리펩티드의 분비에 참여하는 프리단백질 (preprotein)로서 발현되면 폴리펩티드를 위한 DNA에 작동가능하게 연결되고; 프로모터 또는 인핸서는 서열의 전사에 영향을 미치면 코딩 서열에 작동가능하게 연결된다. 일반적으로, "작동가능하게 연결된"은 인접하는 연결된 DNA 서열, 및 분비 리더의 경우에, 인접하는 및 해독 프레임까지 넓게 의미한다. 그러나, 인핸서는 인접할 필요는 없다.

[0478] 프로모터는 그가 작동가능하게 연결된 특정 핵산 서열의 전사 및 번역을 제어하는, 구조적 유전자의 개시 코돈의 상류 (5')에 위치하는 비번역 서열 (일반적으로 약 100 내지 1000 bp 내의)이다. 그러한 프로모터는 몇몇 클래스로 분류된다: 유도가능한, 구성적, 및 억제성 프로모터 (예를 들어, 리프레서의 부재에 반응하여 전사 수준을 증가시키는). 유도가능한 프로모터는 배양 조건의 몇몇 변화 (예를 들어, 영양소의 존재 또는 부재 또는 온도의 변화)에 반응하여 그들의 제어 하에 DNA로부터 증가된 수준의 전사를 개시할 수 있다.

[0479] 제2 발현 벡터는 당업자에게 잘 공지된 동일한 통상의 수단을 이용하여 생산할 수 있고, 상기 발현 벡터는 오페론 및 항체 경쇄를 코딩하는 DNA 서열을 함유하고, 여기서 항체 특이성을 위해 요구되는 CDR을 코딩하는 DNA 서열은 비-인간 세포원, 바람직하게는 토끼 B-세포원으로부터 유래한 반면, 항체 사슬의 나머지 부분을 코딩하는 DNA 서열은 인간 세포원으로부터 유래한다.

[0480] 발현 벡터를 당업자에게 잘 공지된 통상의 기술에 의해 숙주 세포 내로 형질감염시켜 형질감염된 숙주 세포를 생산하고, 상기 형질감염된 숙주 세포를 당업자에게 잘 공지된 통상의 기술에 의해 배양하여 상기 항체 폴리펩티드를 생산한다.

[0481] 숙주 세포는 상기 설명된 2개의 발현 벡터로 동시-형질감염시킬 수 있다 (여기서, 제1 발현 벡터는 오페론 및 경쇄-유래 폴리펩티드를 코딩하는 DNA를 함유하고, 제2 벡터는 오페론 및 중쇄-유래 폴리펩티드를 코딩하는 DNA를 함유한다). 2개의 벡터는 상이한 선택가능한 마커를 함유하지만, 바람직하게는 중쇄 및 경쇄 폴리펩티드의 실질적으로 동일한 발현을 달성한다. 별법으로, 단일 벡터 (중쇄 및 경쇄 폴리펩티드 모두를 코딩하는 DNA를 포함하는 벡터)를 사용할 수 있다. 중쇄 및 경쇄에 대한 코딩 서열은 cDNA, 게놈 DNA 또는 둘 모두를 포함할 수 있다.

[0482] 항체 및 그의 단편을 발현하기 위해 사용된 숙주 세포는 세균 세포, 예컨대 이. 콜라이, 또는 진핵 세포일 수 있다. 본 목적을 위한 잘 규정된 종류의 포유동물 세포, 예컨대 골수종 세포, 차이니즈 햄스터 난소 (CHO), NSO, 또는 HEK293 세포주를 사용할 수 있다.

[0483] 벡터를 제작할 수 있는 일반적인 방법, 숙주 세포를 생산하기 위해 요구되는 형질감염 방법, 및 상기 숙주 세포로부터 항체 및 그의 단편을 생산하기 위해 요구되는 배양 방법은 모두 통상적인 기술이다. 바람직하게는 항체를 생산하기 위해 사용되는 세포주는 포유동물 세포주이지만, 임의의 다른 적합한 세포주, 예컨대 세균 세포주, 예컨대 이. 콜라이-유래 세균 균주 또는 효모 세포주를 사용할 수 있다.

[0484] 유사하게, 일단 생산되면 항체는 예를 들어 횡류 (cross-flow) 여과, 황산암모늄 침전 및 친화도 컬럼 크로마토

그래피와 같은 당업계의 표준 절차에 따라 정제할 수 있다.

[0485] **동물을 이용하는 항-KIR2DL1, 2, 및 3 항체의 생성**

[0486] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 선택적으로 결합하는 본 발명의 항체는 인간 모노클로날 항체일 수 있다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 대해 작용성인 그러한 인간 모노클로날 항체는 마우스 시스템보다는 인간 면역계의 일부를 보유하는 트랜스제닉 또는 트랜스크로모조믹 (transchromosomic) 마우스를 이용하여 생성할 수 있다. 이들 트랜스제닉 및 트랜스크로모조믹 마우스는 본원에서 각각 HuMAb 마우스(Mouse)® 및 KM 마우스(Mouse)®로 칭하는 마우스를 포함하고, 본원에서 "인간 Ig 마우스"로서 총칭한다. HuMAb 마우스® (메다렉스, 인크. (Medarex. Inc.))는 내인성 μ 및 κ 사슬 유전자좌를 불활성화시키는 표적화된 돌연변이와 함께, 재배열되지 않은 인간 중쇄 (μ 및 γ) 및 κ 경쇄 이뮤노글로불린 서열을 코딩하는 인간 이뮤노글로불린 유전자 미니유전자좌를 보유한다 (예를 들어, [Lonberg, et al. (1994) Nature 368(6474): 856-859] 참조). 따라서, 마우스는 마우스 IgM 또는 κ의 감소된 발현을 보이고, 면역화에 반응하여, 도입된 인간 중쇄 및 경쇄 도입유전자가 클래스 스위칭 (switching) 및 체세포 돌연변이를 거쳐 고 친화도 인간 IgGκ 모노클로날 항체를 생성한다 ([Lonberg (1994) Handbook of Experimental Pharmacology 113: 49-101]; [Lonberg and Huszar (1995) Intern. Rev. Immunol. 13: 65-93], 및 [Harding and Lonberg (1995) Ann. NY. Acad. Sci. 764: 536-546). HuMab 마우스®의 제조 및 사용, 및 상기 마우스가 보유한 게놈 변형은 문헌 ([Taylor, et al. (1992) Nucleic Acids Research 20: 6287-6295]; [Chen, et al. (1993) International Immunology 5: 647-656]; [Tuaillon, et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 3720-3724]; [Choi, et al. (1993) Nature Genetics 4: 117-123]; [Chen, et al. (1993) EMBO J. 12: 821-830]; [Tuaillon, et al. (1994) J. Immunol. 152: 2912-2920]; [Taylor, et al. (1994) International Immunology 6: 579-591]; 및 [Fishwild, et al. (1996) Nature Biotechnology 14: 845-851]에 추가로 설명되어 있다. 추가로, 미국 특허 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 5,789,650; 5,877,397; 5,661,016; 5,814,318; 5,874,299; 5,770,429; 및 5,545,807; WO 92/03918, WO 93/12227, WO 94/25585; WO 97/13852; WO 98/24884; WO 99/45962; 및 WO 01/14424를 참조한다.

[0487] 본 발명의 인간 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체 (예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, 또는 KIR2DL3에 선택적으로 결합하는 항체)는 도입유전자 및 트랜스크로모좀 상에 인간 이뮤노글로불린 서열을 보유하는 마우스, 예컨대 인간 중쇄 도입유전자 및 인간 경쇄 트랜스크로모좀을 보유하는 마우스를 사용하여 생성될 수 있다. 본원에서 "KM 마우스®"로서 칭하는 그러한 마우스는 WO 02/43478에 상세히 설명되어 있다.

[0488] 또한 추가로, 인간 이뮤노글로불린 유전자를 발현하는 별도의 트랜스제닉 동물 시스템이 당업계에서 이용가능하고, 본 발명의 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체를 생성하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 제노마우스 (Xenomouse) (압제닉스, 인크. (Abgenix, Inc.))로서 칭해지는 별도의 트랜스제닉 시스템을 사용될 수 있고; 그러한 마우스는 예를 들어, 미국 특허 5,939,598; 6,075,181; 6,114,598; 6,150,584 및 6,162,963에 기재되어 있다.

[0489] 또한, 인간 이뮤노글로불린 유전자를 발현하는 별도의 트랜스크로모조믹 동물 시스템이 당업계에서 이용가능하고, 본 발명의 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체를 생성하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 인간 중쇄 트랜스크로모좀 및 인간 경쇄 트랜스크로모좀을 모두 보유하는 마우스 ("TC 마우스"로서 칭함)을 사용할 수 있다 (Tomizuka, et al. (2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97: 722-727 참조). 또한, 인간 중쇄 및 경쇄 트랜스크로모좀을 보유하는 소가 당업계에 설명되었고 (Kuroiwa, et al. (2002) Nature Biotechnology 20: 889-894), 본 발명의 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및/또는 KIR2DL3 항체를 생성하기 위해 사용될 수 있다.

[0490] 본 발명의 인간 모노클로날 항체는 또한 인간 이뮤노글로불린 유전자의 라이브러리를 스크리닝하기 위한 파지 디스플레이 방법을 이용하여 제조할 수 있다. 인간 항체를 단리하기 위한 그러한 파지 디스플레이 방법은 당업계에 확립되어 있다 (예를 들어, 미국 특허 5,223,409; 5,403,484; 5,571,698; 5,427,908 5,580,717; 5,969,108; 6,172,197; 5,885,793; 6,521,404; 6,544,731; 6,555,313; 6,582,915 및 6,593,081 참조).

[0491] 본 발명의 인간 모노클로날 항체는 또한 면역화 시에 인간 항체 반응이 생성될 수 있도록 그 내부로 인간 면역세포가 재구성된 SCID 마우스를 이용하여 제조할 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 5,476,996 및 5,698,767 참조).

[0492] 인간 Ig 마우스가 본 발명의 인간 항체를 생성하기 위해 사용될 때, 상기 마우스를 문헌 ([Lonberg, et al. (1994) Nature 368(6474): 856-859]; [Fishwild, et al. (1996) Nature Biotechnology 14: 845-851]); WO

98/24884 및 WO 01/14424에 설명된 바와 같이 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 정제된 또는 농축 제제로 면역화시킬 수 있다. 바람직하게는, 마우스는 제1 주입 시에 6-16주령일 것이다. 예를 들어, 인간 Ig 마우스를 복강내 면역화시키기 위해 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 정제된 또는 재조합 제제 (5-50 μg)를 사용할 수 있다.

[0493] 다른 연구자들에 의한 다양한 항원을 사용한 선행 경험은 트랜스제닉 마우스가 완전 프로인트아주반트 내에서 항원으로 초기에 복강내 (IP) 면역화시킨 후, 불완전 프로인트 아주반트 내의 항원으로 격주 IP 면역화 (총 6회까지)시킬 때 반응함을 보여주었다. 그러나, 프로인트 이외의 아주반트도 또한 효과적인 것으로 밝혀졌다. 추가로, 아주반트의 부재 하에 전체 세포는 고도로 면역원성인 것으로 밝혀졌다. 면역 반응은 안와후방 출혈에 의해 얻은 혈장 샘플을 사용하여 면역화 프로토콜의 경과에 걸쳐 모니터링할 수 있다. 혈장을 ELISA (아래 설명된 바와 같이)에 의해 스크리닝할 수 있고, 충분한 역가의 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 인간 이뮤노글로불린을 갖는 마우스를 융합에 사용할 수 있다. 마우스를 희생 및 비장 제거 3일 전에 항원으로 정맥내 추가접종할 수 있다. 각각의 면역화를 위해 2-3회 융합을 수행할 필요가 있을 수 있는 것으로 예상된다. 각각의 항원에 대해 대개 6 내지 24마리 마우스를 면역화시킨다. 대체로 HCo7 및 HCo12 동물주가 모두 사용된다. 추가로, HCo7 및 HCo12 도입유전자 모두가 2개의 상이한 인간 중쇄 도입유전자를 갖는 단일 마우스 내로 함께 심어질 수 있다 (HCo7/HCo12). 별법으로 또는 추가로, KM 마우스® 동물주를 사용할 수 있다.

[0494] **본 발명의 인간 모노클로날 항체를 생산하는 하이브리도마의 생성**

[0495] 본 발명의 인간 모노클로날 항체를 생산하는 하이브리도마를 생성하기 위해, 면역화된 마우스로부터 비장세포 및/또는 림프절 세포를 단리하고 적절한 불멸화 세포주, 예컨대 마우스 골수종 세포주에 융합시킬 수 있다. 생성되는 하이브리도마를 항원-특이적 항체의 생산에 대해 스크리닝할 수 있다. 예를 들어, 면역화된 마우스로부터 비장 림프구의 단일 세포 현탁액을 50% PEG를 사용하여 P3X63-Ag8.653 비분비성 마우스 골수종 세포 (ATCC, CRL 1580)의 수의 1/6에 융합시킬 수 있다. 세포를 평저 마이크로타이터 플레이트에 약 $2X10^{-5}$로 플레이팅한 후, 20% 태아 클론 혈청, 18% "653" 조건화 배지, 5% 오리겐 (IGEN), 4 mM L-글루타민, 1 mM 피루브산나트륨, 5 mM HEPES, 0.055 mM 2-메르캅토에탄올, 50 단위/ml 페니실린, 50 mg/ml 스트렙토마이신, 50 mg/ml 겐타마이신 및 1X HAT (시그마 (Sigma); HAT는 융합 24시간 후에 첨가된다)을 함유하는 선택 배지 내에서 2주 인큐베이션할 수 있다. 약 2주 후에, 세포를 HAT를 HT로 교체한 배지 내에서 배양할 수 있다. 이어서, 개별 웰을 ELISA에 의해 인간 모노클로날 IgM 및 IgG 항체에 대해 스크리닝할 수 있다. 일단 광범한 하이브리도마 성장이 일어나면, 배지를 대체로 10-14일 후에 관찰할 수 있다. 항체 분비 하이브리도마를 재플레이팅하고, 다시 스크리닝하고, 인간 IgG에 대한 여전히 양성이면, 모노클로날 항체를 제한 희석에 의해 적어도 2회 계대배양할 수 있다. 이어서, 특성화를 위해 조직 배양 배지 내에 소량의 항체를 생성하기 위해 안정한 하위클론을 시험관 내에서 배양할 수 있다.

[0496] 인간 모노클로날 항체를 정제하기 위해, 선택된 하이브리도마를 모노클로날 항체 정제를 위한 2-리터 스피너-플라스크 내에서 성장시켰다. 상청액을 여과하고 농축시킨 후, 단백질 A-세파로스 (Sepharose) (파마시아, 미국 뉴저지주 피스카타웨이)를 사용한 친화도 크로마토그래피를 수행하였다. 순도를 보장하기 위해 용리된 IgG를 겔 전기영동 및 고성능 액체 크로마토그래피에 의해 검토하였다. 완충제 용액을 PBS 내로 교환할 수 있고, 1.43 흡광 계수를 사용하여 OD280에 의해 농도를 결정할 수 있다. 모노클로날 항체를 분취하고 -80℃에서 저장할 수 있다.

[0497] **표지**

[0498] 본원에 설명된 항원, 항체 및 그의 단편은 이펙터 모이어티, 예컨대 화학적 링커, 검출가능한 모이어티, 예컨대 예를 들어 형광 염료, 효소, 기질, 생물발광 물질, 방사성 물질, 화학발광 모이어티, 세포독성제, 방사성 물질, 또는 기능적 모이어티를 추가하기 위해 번역 후 변형될 수 있다.

[0499] 매우 다양한 엔티티 (entity), 예를 들어, 리간드는 당업계에 공지된 올리고뉴클레오티드에 연결될 수 있다. 리간드는 천연 생성 분자, 또는 재조합 또는 합성 분자를 포함할 수 있다. 예시적인 리간드는 아비딘, 비오틴, 펩티드, 펩티드 모방체, 폴리라이신 (PLL), 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), mPEG, 양이온성 기, 스페르민, 스페르미딘, 폴리아민, 티로트로핀, 멜라노트로핀, 렉틴, 당단백질, 계면활성제 단백질 A, 뮤신, 당화된 폴리아미노산, 트랜스페린, 앱타머, 이뮤노글로불린 (예를 들어, 항체), 인슐린, 트랜스페린, 알부민, 당, 친지성 분자 (예를 들어, 스테로이드, 담즙산, 콜레스테롤, 콜산 및 지방산), 비타민 A, 비타민 E, 비타민 K, 비타민 B, 엽산, B12, 리보플라빈, 비오틴, 피리독살, 비타민 보조인자, 리포폴리사카라이드, 호르몬 및 호르몬 수용체, 렉틴,

탄수화물, 다가 탄수화물, 방사성 표지된 마커, 형광 염료 및 그의 유도체를 포함하고 이로 제한되지 않는다. 예를 들어, 미국 특허 6,153,737; 6,172,208; 6,300,319; 6,335,434; 6,335,437; 6,395,437; 6,444,806; 6,486,308; 6,525,031; 6,528,631; 및 6,559,279 참조.

[0500] 추가로, 생체내 반감기를 증가시키기 위해 모이어티가 항원 또는 에피토프에 첨가될 수 있다 (예를 들어, 혈류로부터 청소를 위한 시간을 연장함으로써). 그러한 기술은 예를 들어, PEG 모이어티를 추가하는 것 (또한 peg화로 부름)을 포함하고, 당업계에 잘 공지되어 있다 (미국 특허 출원 공개 2003/0031671 참조).

[0501] 본원에 설명된 항원, 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 비-무작위 화학적 또는 물리적 상호작용을 통해 고체 표지와 연합될 때 기질에 "부착될" 수 있다. 부착은 공유 결합을 통할 수 있다. 그러나, 부착은 공유 부착 또는 영구적일 필요는 없다. 물질은 "스페이서 분자" 또는 "링커기"를 통해 표지에 부착될 수 있다. 그러한 스페이서 분자는 생물학적 물질에 부착되는 제1 부분 및 표지에 부착되는 제2 부분을 갖는 분자이다. 따라서, 표지에 부착될 때, 스페이서 분자는 표지 및 생물학적 물질을 분리시키지만 둘 모두에 부착된다. 생물학적 물질 (예를 들어, 표지)을 표지에 부착시키는 방법은 당업계에 잘 공지되어 있고, 화학적 결합을 포함하고 이로 제한되지 않는다.

[0502] **검출가능 표지**

[0503] 본원에 설명된 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체는 이펙터 표지, 예컨대 화학적 링커, 검출가능한 표지, 예컨대 예를 들어 형광 염료, 효소, 기질, 생물발광 물질, 방사성 물질, 및 화학발광 표지, 또는 기능적 표지, 예컨대 예를 들어 스트렙타비딘, 아비딘, 비오틴, 세포독소, 세포독성제 및 방사성 물질을 추가하기 위해 번역 후 변형될 수 있다. 추가의 예시적인 효소는 양고추냉이 퍼옥시다제, 아세틸콜린에스테라제, 알칼리성 포스파타제, β-갈락토시다제 및 루시퍼라제를 포함하고 이로 제한되지 않는다. 추가의 예시적인 형광 물질은 로다민, 플루오레세인, 플루오레세인 이소티오시아네이트, 움벨리페론, 디클로로티아지닐아민, 피코에리트린 및 단실 클로라이드를 포함하고 이로 제한되지 않는다. 추가의 예시적인 화학발광 표지는 루미놀을 포함하고 이로 제한되지 않는다. 추가의 예시적인 생물발광 물질은 루시페린, 루시퍼라제, 및 아쿠오린을 포함하고 이로 제한되지 않는다. 추가의 예시적인 방사성 물질은 비스무스-213 (^{213}Bs), 탄소-14 (^{14}C), 탄소-11 (^{11}C), 염소-18 (Cl^{18}), 크롬-51 (^{51}Cr), 코발트-57 (^{57}Co), 코발트-60 (^{60}Co), 구리-64 (^{64}Cu), 구리-67 (^{67}Cu), 디스프로슘-165 (^{165}Dy), 에르븀-169 (^{169}Er), 불소-18 (^{18}F), 갈륨-67 (^{67}Ga), 갈륨-68 (^{68}Ga), 게르마늄-68 (^{68}Ge), 홀뮴-166 (^{166}Ho), 인듐-111 (^{111}In), 아이오딘-125 (^{125}I), 아이오딘-123 (^{123}I), 아이오딘-124 (^{124}I), 아이오딘-131 (^{131}I), 이리듐-192 (^{192}Ir), 철-59 (^{59}Fe), 크립톤-81 (^{81}Kr), 납-212 (^{212}Pb), 루테튬-177 (^{177}Lu), 몰리브덴-99 (^{99}Mo), 질소-13 (^{13}N), 산소-15 (^{15}O), 팔라듐-103 (^{103}Pd), 인-32 (^{32}P), 칼륨-42 (^{42}K), 레늄-186 (^{186}Re), 레늄-188 (^{188}Re), 루비듐-81 (^{81}Rb), 루비듐-82 (^{82}Rb), 사마륨-153 (^{153}Sm), 셀레늄-75 (^{75}Se), 나트륨-24 (^{24}Na), 스트론튬-82 (^{82}Sr), 스트론튬-89 (^{89}Sr), 황 35 (^{35}S), 테크네튬-99m (^{99}Tc), 탈륨-201 (^{201}Tl), 트리튬 (^{3}H), 제늄-133 (^{133}Xe), 이터븀-169 (^{169}Yb), 이터븀-177 (^{177}Yb), 및 이트륨-90 (^{90}Y)을 포함하고 이로 제한되지 않는다.

[0504] **세포독성제**

[0505] 본원에 설명된 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체는 세포독성제, 비제한적인 예를 들어 메토트렉세이트, 아미노프테린, 6-메르캅토퓨린, 6-티오구아닌, 시타라빈, 5-플루오로우라실 데카르바진; 알킬화제, 예컨대 메클로레타민, 티오에파 클로람부실, 멜팔란, 카르무스틴 (BSNU), 미토마이신 C, 로무스틴 (CCNU), 1-메틸니트로소우레아, 시클로포스파미드, 메클로레타민, 부술판, 디브로모만니톨, 스트렙토조토신, 미토마이신 C, 시스-디클로로디아민 백금 (II) (DDP), 시스플라틴 및 카르보플라틴 (파라플라틴); 안트라사이클린, 예를 들어 다우노루비신 (이전에 다우노마이신), 독소루비신 (아드리아마이신), 데토루비신, 카르미노마이신, 이다루비신, 에피루비신, 미톡산트론 및 비산트렌; 항생제, 예를 들어 닥티노마이신 (악티노마이신 D), 블레오마이신, 칼리케아미신, 미트라마이신, 및 안트라마이신 (AMC); 및 항유사분열제, 예컨대 빙카 알칼로이드, 빈크리스틴 및 빈블라스틴에 접합될 수 있다. 다른 세포독성제는 파클리탁셀 (탁솔(TAXOL)®), 리신, 슈도모나스 내독소, 젬시타빈, 시토칼라신 B, 그라미시딘 D, 에디듐 브로마이드, 에메틴, 에토포시드, 테노포시드, 콜키신, 디히드록시 안트라신 디온, 1-데히드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀올, 퓨로마이신, 프로카르바진, 히드록시우레아, 아스파라기나제, 코르티코스테로이드, 미토탄 (O,P'-(DDD)), 인터

페론, 및 이들 세포독성제의 혼합물을 포함한다.

[0506] 추가의 세포독성제는 화학치료제, 예컨대 카르보플라틴, 시스플라틴, 파클리탁셀, 젬시타빈, 칼리케아미신, 독소루비신, 5-플루오로우라실, 미토마이신 C, 악티노마이신 D, 시클로포스파미드, 빈크리스틴, 블레오마이신, VEGF 길항제, EGFR 길항제, 플라틴, 탁솔, 이리노테칸, 5-플루오로우라실, 겜시타빈, 류코보린, 스테로이드, 시클로포스파미드, 멜팔란, 빈카 알칼로이드 (예를 들어, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신 및 비노렐빈), 무스틴, 티로신 키나제 억제제, 방사선 요법, 성 호르몬 길항제, 선택적 안드로겐 수용체 조절제, 선택적 에스트로겐 수용체 조절제, PDGF 길항제, TNF 길항제, IL-1 길항제, 인터류킨 (예를 들어, IL-12 또는 IL-2), IL-12R 길항제, 얼비툭스(Erbitux)®, 아바스틴(Avastin)®, 퍼투주맙, 항-CD20 항체, 리툭산®, 오크레리주맙, 오파투무맙, DXL625, 허셉틴(Herceptin)®, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하고 이로 제한되지 않는다. 식물 및 세균으로부터 독성 효소, 예컨대 리신, 디프테리아 독소 및 슈도모나스 독소가 인간화 항체 또는 그의 결합 단편에 접합되어, 세포 종류 특이적 치사 시약을 생성할 수 있다 ([Youle, et al. (1980) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 77: 5483]; [Gilliland, et al. (1980) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 77: 4539]; [Krolick, et al. (1980) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 77: 5419]). 다른 세포독성제는 세포독성 리보뉴클레아제를 포함한다 (미국 특허 6,653,104 참조).

[0507] 본원에 설명된 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체는 알파 또는 베타 입자를 방출하는 방사성핵종에 접합될 수 있다 (예를 들어, 방사성면역접합체). 그러한 방사성 동위원소는 베타-방출물질, 예컨대 인-32 (^{32}P), 스칸듐-47 (^{47}Sc), 구리-67 (^{67}Cu), 갈륨-67 (^{67}Ga), 이트륨-88 (^{88}Y), 이트륨-90 (^{90}Y), 아이오딘-125 (^{125}I), 아이오딘-131 (^{131}I), 사마륨-153 (^{153}Sm), 루테튬-177 (^{177}Lu), 레늄-186 (^{186}Re), 레늄-188 (^{188}Re), 및 알파-방출물질, 예컨대 아스타틴-211 (^{211}At), 납-212 (^{212}Pb), 비스무쓰-212 (^{212}Bi), 비스무쓰-213 (^{213}Bi) 또는 악티늄-225 (^{225}Ac)을 포함하고 이로 제한되지 않는다.

[0508] 본원에 설명된 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3을 표지에 접합시키기 위한 방법, 예컨대 문헌 ([Hunter, et al (1962) Nature 144: 945]; [David, et al. (1974) Biochemistry 13: 1014]; [Pain, et al. (1981) J. Immunol. Meth. 40: 219]; 및 [Nygren (1982) Histochem and Cytochem, 30: 407])은 당업계에 공지되어 있다.

[0509] **기질**

[0510] 본원에 설명된 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체는 기질에 부착될 수 있다. 당업계에 공지된 많은 기질 (예를 들어, 고체 지지체)이 본원에 설명된 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체에서 사용하기에 적합하다. 기질은 채널 (channel) 또는 다른 입체형태를 갖도록 변형될 수 있다 ([Fung (2004) [Ed.] Protein Arrays: Methods and Protocols Humana Press] 및 [Kambhampati (2004) [Ed.] Protein Microarray Technology John Wiley & Sons] 참조).

[0511] 기질 물질은 아크릴 중합체, 아가로스, 보로실리케이트 유리, 탄소 (예를 들어, 탄소 나노섬유 시트 또는 펠렛), 셀룰로스 아세테이트, 셀룰로스, 세라믹, 겔, 유리 (예를 들어, 무기, 공극 제어, 변형된, 소다회, 또는 기능화 유리), 라텍스, 자기 비드, 막, 금속, 메탈로이드, 니트로셀룰로스, 나일론®, 광섬유 다발, 유기 중합체, 종이, 플라스틱, 폴리아크릴로일몰포라이드, 폴리(4-메틸부텐), 폴리(에틸렌 테레프탈레이트), 폴리(비닐 부티레이트), 폴리아크릴아미드, 폴리부틸렌, 폴리카르보네이트, 폴리에틸렌, 폴리에틸렌글리콜 테레프탈레이트, 폴리포름알데히드, 폴리메타크릴레이트, 폴리메틸메타크릴레이트, 폴리프로필렌, 폴리사카라이드, 폴리스티렌, 폴리우레탄, 폴리비닐아세테이트, 폴리비닐클로라이드, 폴리비닐리덴 디플루오라이드 (PVDF), 폴리비닐피롤리돈, 레이온, 수지, 고무, 반도체 물질, 세파로스®, 실리카, 실리콘, 스티렌 공중합체, 테플론(TEFLON)® 및 다양한 다른 중합체를 포함하고 이로 제한되지 않는다.

[0512] 기질은 평평할 필요가 없고, 구형 형상 (예를 들어, 비드) 또는 원통형 형상 (예를 들어, 섬유)을 비롯한 임의의 형태의 형상을 포함할 수 있다. 고체 지지체에 부착된 물질은 고체 지지체의 임의의 부분에 부착될 수 있다 (예를 들어, 다공성 고체 지지체 물질의 내부 부분에 부착될 수 있다).

[0513] 기질 몸체는 비드, 상자, 컬럼, 실린더 (cylinder), 디스크 (disc), 접시 (예를 들어, 유리 접시, PETRI 접시), 섬유, 필름, 필터, 마이크로타이터 플레이트 (예를 들어, 96-웰 마이크로타이터 플레이트), 날이 많은 스틱 (stick), 네트 (net), 펠렛, 플레이트, 고리, 막대, 롤 (roll), 시트, 슬라이드, 스틱, 트레이, 튜브, 또는

바이알 형태일 수 있다. 기질은 단수의 구분된 몸체 (예를 들어, 단일 튜브, 단일 비드), 임의의 많은 다수의 기질 몸체 (예를 들어, 10개 튜브의 랙 (rack), 몇몇 비드), 또는 이들의 조합일 수 있다 (예를 들어, 트레이는 다수의 마이크로타이터 플레이트, 비드로 충전된 컬럼, 비드로 충전된 마이크로타이터 플레이트를 포함한다).

[0514] 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체는 비-무작위 화학적 또는 물리적 상호작용을 통해 고체 기질과 연합될 때 기질에 "부착될" 수 있다. 부착은 공유 결합을 통할 수 있다. 그러나, 부착은 공유 부착 또는 영구적일 필요는 없다. 물질은 "스페이서 분자" 또는 "링커기"를 통해 기질에 부착될 수 있다. 그러한 스페이서 분자는 생물학적 물질에 부착되는 제1 부분 및 기질에 부착되는 제2 부분을 갖는 분자이다. 따라서, 기질에 부착될 때, 스페이서 분자는 기질 및 생물학적 물질을 분리시키지만 둘 모두에 부착된다. 생물학적 물질 (예를 들어, 표지)을 기질에 부착시키는 방법은 당업계에 잘 공지되어 있고, 화학적 결합을 포함하고 이로 제한되지 않는다.

[0515] 고체상 합성 반응을 위한 고체상을 지지하고 함유하는, 마이크로타이터 플레이트와 같은 플레이트를 사용할 수 있다. 마이크로타이터 플레이트는 고체상으로서 사용되는 비드를 수용할 수 있다. "입자" 또는 "미세입자" 또는 "나노입자" 또는 "비드" 또는 "마이크로비드" 또는 "미세구"는 본원에서 임의의 다양한 형상 또는 크기의 미세입자 물질을 의미한다. 형상은 일반적으로 구형일 수 있지만, 구형일 필요는 없고, 예를 들어, 원통형 또는 다면체일 수 있다. 당업자가 이해할 바와 같이, 입자는 그 용도에 따라 비제한적으로 가교결합된 전분, 덱스트란, 셀룰로스, 단백질, 유기 중합체, 예를 들어 스티렌 중합체, 예컨대 폴리스티렌 및 메틸스티렌뿐만 아니라 다른 스티렌 공중합체, 플라스틱, 유리, 세라믹, 아크릴 중합체, 자기 반응성 물질, 콜로이드, 토리아솔 (thoriasol), 탄소 흑연, 이산화티타늄, 나일론, 라텍스 및 테플론®을 포함한 매우 다양한 물질을 포함할 수 있다 (예를 들어, 뱅스 래보래토리스 (Bangs Laboratories, 미국 인디애나주 피셔스)의 "Microsphere Detection Guide" 참조).

[0516] 본원에 설명된 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체는 본원에 설명된 임의의 형태의 기질 (예를 들어, 비드, 상자, 컬럼, 실린더, 디스크, 접시 (예를 들어, 유리 접시, PETRI 접시), 섬유, 필름, 필터, 마이크로타이터 플레이트 (예를 들어, 96-웰 마이크로타이터 플레이트), 날이 많은 스틱, 네트, 펠렛, 플레이트, 고리, 막대, 롤, 시트, 슬라이드, 스틱, 트레이, 튜브 또는 바이알)에 부착될 수 있다. 특히, 입자 또는 비드는 겔화 물질의 성분일 수 있거나, 별개의 성분, 예컨대 다양한 합성 플라스틱 (예를 들어, 폴리스티렌)으로 제조된 라텍스 비드일 수 있다. 표지 (예를 들어, 스트렙타비딘)이 기질 (예를 들어, 비드)에 결합될 수 있다.

[0517] **제약 조성물**

[0518] "제약 조성물"은 포유동물에 투여하기 위해 적합한 화학적 또는 생물학적 조성물을 나타낸다. 그러한 조성물은 구체적으로 구강, 피부외, 경막외, 흡입, 동맥내, 심장내, 뇌실내, 피부내, 근육내, 코 안, 안내, 복강내, 척수내, 경막내, 정맥내, 경구, 비경구, 관장액 또는 좌제를 통해 직장으로, 피하, 피부하, 설하, 경피, 및 경점막을 포함하고 이로 제한되지 않는 하나 이상의 많은 경로를 통한 투여를 위해 제제화될 수 있다. 추가로, 투여는 주사, 분말, 액체, 겔, 점적액 (drop), 또는 다른 투여 수단에 의해 일어날 수 있다.

[0519] "제약 부형제" 또는 "제약상 허용되는 부형제"는 활성 치료제가 제제화되는 담체, 대체로 액체이다. 본 발명의 한 실시양태에서, 활성 치료제는 본원에 설명된 인간화 항체, 또는 그의 하나 이상의 단편이다. 부형제는 일반적으로 제제에 임의의 약물학적 활성을 제공하지 않지만, 화학적 및/또는 생물학적 안정성 및 방출 특징을 제공할 수 있다. 예시적인 제제화는 예를 들어, 문헌 [Grennaro (2005) [Ed.] Remington: The Science and Practice of Pharmacy [21st Ed.]]에서 찾을 수 있다

[0520] 제약 조성물은 대개 제조 및 저장 조건 하에 무균이고 안정해야 한다. 본 발명에서는 제약 조성물이 동결건조 형태로 존재하는 것을 고려한다. 조성물은 용액, 미세에멀젼, 리포좀, 또는 높은 약물 농도에 적합한 다른 규칙적인 구조로서 제제화될 수 있다. 담체는 예를 들어, 물, 에탄올, 폴리올 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 및 액체 폴리에틸렌 글리콜) 및 그의 적합한 혼합물을 포함한 용매 또는 분산매일 수 있다. 본 발명은 제약 조성물 내에 안정화제 포함을 추가로 고려한다.

[0521] 본원에 설명된 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체는 다양한 투여 형태의 제약 조성물로 제제화될 수 있다. 본 발명의 제약 조성물을 제조하기 위해, 활성 성분으로서 적어도 하나의 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3을 당업자에게 잘 공지된 제약 제제화 기술을 사용하여 적절한 담체 및 첨가제와 친밀하게 혼합할 수 있다 ([Grennaro (2005) [Ed.] Remington: The Science and Practice of Pharmacy [21st Ed.]] 참조). 예를 들어, 본원에 설명된 항체는 인산염 완충 염수 (pH 7.2) 내에 제제화하고 5.0 mg/mL 무색 투명한 액체 용액으로 공급할 수 있다.

[0522] 유사하게, 액체 제제를 위한 조성물은 비제한적으로 물, 알콜, 오일, 글리콜, 보존제, 향미제, 착색제 및 현탁제를 포함하는 적합한 담체 및 첨가제를 갖는 용액, 에멀젼, 분산액, 액체, 시럽 및 엘릭시르 (elixir)를 포함한다. 비경구 투여를 위한 전형적인 제제는 활성 성분을 담체, 예컨대 멸균수 또는 비제한적으로 폴리에틸렌 글리콜, 폴리비닐 피롤리돈, 레시틴, 땅콩 기름 또는 참기름을 포함하고 이로 제한되지 않는 비경구 허용가능한 오일과 함께 포함하고, 여기서 용해 또는 보존을 돕기 위한 다른 첨가제가 또한 포함될 수 있다. 용액의 경우에 분말로 동결건조시킨 후 사용 직전에 재구성할 수 있다. 분산액 및 현탁액에 대해, 적절한 담체 및 첨가제는 수성 검, 셀룰로스, 실리케이트 또는 오일을 포함한다.

[0523] 각각의 언급된 실시양태에 대해, 본원에 설명된 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체는 다양한 투여 형태에 의해 투여될 수 있다. 당업자에게 공지된 임의의 생물학상 허용되는 투여 형태 및 그의 조합이 고려된다. 그러한 투여 형태의 예는 비제한적으로 재구성가능 분말, 엘릭시르, 액체, 용액, 현탁액, 에멀젼, 분말, 과립, 입자, 미세입자, 분산성 과립, 샤세 (cachet), 흡입제, 에어로졸 흡입제, 패치 (patch), 입자 흡입제, 임플란트 (implant), 데포 (depot) 임플란트, 주사가능제 (피하, 근육내, 정맥내 및 피부내 포함), 주입 및 이들의 조합을 포함한다.

[0524] 많은 경우에, 조성물 내에 등장화제, 예를 들어, 당, 다가알콜, 예컨대 만니톨, 소르비톨, 또는 염화나트륨을 포함하는 것이 바람직할 것이다. 주사가능 조성물의 장기 흡수는 조성물 내에 흡수를 지연시키는 작용제, 예를 들어, 모노스테아레이트염 및 젤라틴을 포함시킴으로써 일어날 수 있다. 또한, 본원에 설명되는 화합물은 시간 방출 제제로, 예를 들어 서방성 중합체를 포함하는 조성물로 제제화될 수 있다. 본원에 설명된 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체는 임플란트 및 미세캡슐화된 전달 시스템을 비롯한 제어 방출 제제와 같은, 급속한 방출에 대해 화합물을 보호할 담체를 사용하여 제조할 수 있다. 생분해성 생체적합성 중합체, 예컨대 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리무수물, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르, 폴리락트산 및 폴리락트산, 폴리글리콜산 공중합체 (PLG)를 사용할 수 있다. 상기 제제의 제조를 위한 많은 방법이 당업자에게 공지되어 있다.

[0525] 보충 활성 화합물이 또한 조성물 내에 포함될 수 있다.

[0526] 주지된 바와 같이, 상기 조성물은 목적하는 항원, 예를 들어, 종양 항원 또는 또다른 면역 조절 화합물, 예컨대 Toll 유사 수용체 작용제, 타입 1 인터페론, 예컨대 알파 및 베타 인터페론 및 CD40 작용제, 예컨대 작용성 CD40 항체 및 항체 단편, 바람직하게는 항-인간 CD40 작용성 항체 및 항체 단편 또는 다른 면역 인핸서 또는 억제제, 예컨대 PD-L1, PD-L2, CTLA4 융합 단백질 및 그에 특이적인 항체를 추가로 포함할 수 있다.

[0527] 본원에 설명된 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체를 포함하는 조성물은 항원 또는 다른 면역 작용제를 추가로 포함할 수 있다. 항원은 조성물의 다른 성분과 조합으로, 항원에 대한 면역 반응을 생성하기 위해 유효한 양으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 항원은 약 100 ㎍/kg 내지 약 100 mg/kg의 양으로 투여될 수 있다. 몇몇 실시양태에서, 항원은 약 10 ㎍/kg 내지 약 10 mg/kg의 투여될 수 있다. 몇몇 실시양태에서, 항원은 약 1 mg/kg 내지 약 5 mg/kg의 양으로 투여될 수 있다. 그러나, 면역 반응을 생성하기 위해 유효한 양을 구성하는 항원의 특정량은 어느 정도 예를 들어, 투여되는 특정 항원; 투여되는 특정 작용제 및 그의 양; 투여되는 특정 작용제 및 그의 양; 면역계의 상태; 작용제 및 항원의 투여 방법 및 순서; 제제가 투여되는 종; 및 목적하는 치료 결과와 같은 특정 인자에 따라 결정된다. 따라서, 일반적으로 유효량의 항원을 구성하는 양을 제시하는 것을 실용적이지 않다. 그러나, 당업자는 그러한 인자를 적당히 고려하여 적절한 양을 쉽게 결정할 수 있다.

[0528] **제약상 허용되는 담체**

[0529] 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 제약상 허용되는 조성물을 제공하기 위해 하나 이상의 의도된 투여 경로에 적절한 하나 이상의 담체 (희석제, 부형제 등) 및/또는 아주반트와 조합될 수 있다.

[0530] 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 예를 들어 락토스, 수크로스, 분말 (예를 들어, 전분 분말), 알칸산의 셀룰로스 에스테르, 스테아르산, 탈크, 스테아르산마그네슘, 산화마그네슘, 인산 및 황산의 나트륨 및 칼슘염, 아카시아, 젤라틴, 알긴산나트륨, 폴리비닐피롤리딘 및/또는 폴리비닐 알콜과 혼합되고, 임의로 통상적인 투여를 위해 추가로 정제화 또는 캡슐화될 수 있다. 별법으로, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 염수, 물, 폴리에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 카르복시메틸 셀룰로스 콜로이드 용액, 에탄올, 옥수수 기름, 땅콩 기름, 면실유, 참기름, 트라가칸트 검 및/또는 다양한 완충제에 용해될 수 있다. 다른 담체, 아주반트 및 투여 방식은 제약 분야에 잘 공지되어 있다. 담체 또는 희석제는 시간 지연 물질, 예컨대 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 디스테아레이트를 단독으로, 또는 왁스 또는 다른 기능상 유사한 물질과 함께 포함할 수 있다.

[0531] 제약상 허용되는 담체는 일반적으로 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체와 생리학상 상용성인 임의의 및 모든 적합한

용매, 분산매, 코팅, 항균 및 항진균제, 등장화 및 흡수 지연제 등을 포함한다. 제약상 허용되는 담체의 예는 물, 염수, 인산염 완충 염수, 덱스트로스, 글리세롤, 에탄올 등과 이들의 임의의 조합물을 포함한다. 많은 경우에, 그러한 조성물 내에 등장화제, 예를 들어, 당, 다가알콜, 예컨대 만니톨, 소르비톨, 또는 염화나트륨을 포함하는 것이 바람직할 수 있다. 제약상 허용되는 물질, 예컨대 습윤제 또는 미소량의 보조 물질, 예컨대 습윤제 또는 유화제, 보존제 또는 완충제는 바람직하게는 항-KIR 항체, 관련 조성물 또는 조합물의 저장 수명 또는 유효성을 향상시킬 수 있다. 제약 조성물의 담체 및 다른 성분에 대한 적합성은 항체의 목적하는 생물학적 특성에 대한 유의한 부정적 영향의 결여에 기초하여 결정된다.

[0532] 본 발명에 따른 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체 조성물, 관련 조성물, 및 조합물은 다양한 적합한 형태일 수 있다. 그러한 형태는 예를 들어 액체, 반-고체 및 고체 투여 형태, 예컨대 액체 용액 (예를 들어, 주사가능 및 주입가능 용액), 분산액 또는 현탁액, 에멀젼, 미세에멀젼, 정제, 알약, 분말, 리포좀, 덴드리머 및 다른 나노입자 (예를 들어, 문헌 [Baek et al., Methods Enzymol. 2003; 362:240-9]; [Nigavekar et al., Pharm Res. 2004 Mar;21(3):476-83] 참조), 미세입자 및 좌제를 포함한다. 제제화, 염은 WO2006/072625에 추가로 설명되어 있다.

[0533] 일반적으로, 주사가능 또는 주입가능 용액 형태의 조성물, 예컨대 다른 항체를 사용한 인간의 수동 면역화를 위해 사용된 것과 유사한 조성물이 본 발명의 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체의 전달을 위해 사용된다. 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체 조성물의 대표적인 전달 방식은 비경구 투여 (예를 들어, 정맥내, 피하, 복강내, 및/또는 근육내 투여)이다. 한 측면에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 정맥내 주입 또는 주사에 의해 인간 환자에게 투여된다.

[0534] 제약 용도를 위한 조성물은 또한 다양한 희석제, 충전제, 염, 완충제, 세제 (예를 들어, 비이온계 세제, 예컨대 트윈-80), 안정화제 (예를 들어, 당 또는 단백질-미함유 아미노산), 보존제, 조직 고정제, 안정화제, 및/또는 제약 용도를 위한 조성물에 포함하기 적합한 다른 물질을 포함할 수 있다. 적합한 성분의 예는 또한 예를 들어 문헌 ([Berge et al., J. Pharm. Sci., 6661, 1-19 (1977)]; [Wang and Hanson, J. Parenteral. Sci. Tech: 42, S4-S6 (1988)]); 미국 특허 6,165,779 및 6,225,289에 기재되어 있다. 그러한 제약 조성물은 또한 보존제, 항산화제, 또는 당업자에게 공지된 다른 첨가제를 포함할 수 있다. 추가의 제약상 허용되는 담체는 당업계에 공지되어 있다 (예를 들어, WO2006/072625 참조).

[0535] 당업자는 예를 들어 본원의 개시내용 및 문헌 ([Goodman, et al. (2011) Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics [12th Ed.]; Howland, et al. (2005) Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology [2nd Ed.]]; 및 [Golan, (2008) Principles of Pharmacology: The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy [2nd Ed.])에 교시된 바와 같이 일상 실험을 통해 유효 투여량 및 투여 빈도를 결정할 수 있을 것이다 (또한, [Grennaro (2005) [Ed.] Remington: The Science and Practice of Pharmacy [21st Ed.]] 참조).

[0536] **투여 경로**

[0537] 본원에 설명되는 조성물은 임의의 다음 경로로 투여될 수 있다: 구강, 피부외, 경막외, 주입, 흡입, 동맥내, 심장내, 뇌실내, 피부내, 근육내, 코 안, 안내, 복강내, 척수내, 경막내, 정맥내, 경구, 비경구, 폐, 관장액 또는 좌제를 통해 직장으로, 피하, 피부하, 설하, 경피, 및 경점막. 바람직한 투여 경로는 정맥내 주사 또는 주입이다. 투여는 국소적이거나 (여기서 조성물은 질환의 부위(들)에 직접, 가까이, 인근에, 부근에, 부위에, 대략 부위에, 또는 그에 인접하여 투여된다), 예를 들어, 국소화되거나, 전신적일 수 있다 (여기서 조성물은 환자에게 제공되고, 신체를 통해 넓게 통과하여, 질환의 부위(들)에 도달한다). 국소 투여 (예를 들어, 주사)는 질환을 포함하고/하거나 질환에 의해 침범된, 및/또는 질환 징후 및/또는 증상이 활동성이거나 발생할 것 같은 (예를 들어, 종양 부위) 세포, 조직, 장기, 및/또는 장기 시스템에의 투여에 의해 달성할 수 있다. 투여는 국소 효과를 가진 국소적일 수 있고, 조성물은 그의 작용이 요구되는 곳 (예를 들어, 염증 또는 통증의 부위)에 직접 도포된다.

[0538] 각각의 언급된 실시양태에 대해, 화합물은 당업계에 공지된 다양한 투여 형태에 의해 투여될 수 있다. 당업자에게 공지된 임의의 생물학상 허용되는 투여 형태 및 그의 조합이 고려된다. 그러한 투여 형태의 예는 비제한적으로 씹어먹을 수 있는 정제, 신속 용해 정제, 발포 정제, 재구성가능 분말, 엘릭시르, 액체, 용액, 현탁액, 에멀젼, 정제, 다층 정제, 이중층 정제, 캡슐, 연질 젤라틴 캡슐, 경질 젤라틴 캡슐, 캐플릿 (caplet), 로젠지

(lozenge), 씹어먹을 수 있는 로젠지, 비드, 분말, 검, 과립, 입자, 미세입자, 분산성 과립, 샤세, 관수제(douche), 좌제, 크림, 국소용제 (topicals), 흡입제, 에어로졸 흡입제, 패치, 입자 흡입제, 임플란트, 데포 임플란트, 섭취가능제, 주사가능제 (피하, 근육내, 정맥내, 및 피부내 포함), 주입, 및 이들의 조합물을 포함한다.

[0539] 혼합에 의해 포함될 수 있는 다른 화합물은 예를 들어, 의학상 불활성 성분 (예를 들어, 고체 및 액체 희석제), 예컨대 정제 또는 캡슐을 위한 락토스, 덱스트로스사카로스, 셀룰로스, 전분 또는 인산칼슘, 연질 캡슐을 위한 올리브 오일 또는 에틸 올레에이트, 및 현탁액 또는 에멀젼을 위한 물 또는 식물유; 윤활제, 예컨대 실리카, 탈크, 스테아르산, 스테아르산마그네슘 또는 스테아르산칼슘 및/또는 폴리에틸렌 글리콜; 겔화제, 예컨대 콜로이드 점토; 비후제, 예컨대 트라가칸트 검 또는 알긴산나트륨, 결합제, 예컨대 전분, 아라비아검, 젤라틴, 메틸셀룰로스, 카르복시메틸셀룰로스 또는 폴리비닐피롤리돈; 붕해제, 예컨대 전분, 알긴산, 알기네이트 또는 나트륨 전분 글리콜레이트; 발포 혼합물; 염료; 감미제; 습윤제, 예컨대 레시틴, 폴리소르베이트 또는 라우릴술페이트; 및 다른 치료상 허용가능한 보조 성분, 예컨대 습윤제, 보존제, 완충제 및 항산화제 (이들은 그러한 제제화를 위한 공지의 첨가제임)이다.

[0540] 경구 투여를 위한 액체 분산액은 시럽, 에멀젼, 용액, 또는 현탁액일 수 있다. 시럽은 담체로서 예를 들어 사카로스, 또는 글리세롤 및/또는 만니톨 및/또는 소르비톨과 함께 사카로스를 함유할 수 있다. 현탁액 및 에멀젼은 담체, 예를 들어, 천연 검, 아가, 알긴산나트륨, 펙틴, 메틸셀룰로스, 카르복시메틸셀룰로스, 또는 폴리비닐 알콜을 함유할 수 있다.

[0541] 추가의 실시양태에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 하나 이상의 항체 및 그의 단편을 포함하는 제약 투여 단위를 포함하는 하나 이상의 용기를 포함하는 키트를 제공한다. 키트는 지시서, 지시, 표지, 시판 정보, 경고, 또는 정보 팜플렛을 포함할 수 있다.

[0542] **투여량**

[0543] 본 발명의 임의의 실시양태에 따른 치료 조성물 내의 본원에 설명된 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체의 양은 질환 상태, 연령, 성별, 체중, 환자 병력, 위험 인자, 질환에 대한 소인, 투여 경로, 기존의 치료 요법(예를 들어, 다른 의약과의 가능한 상호작용), 및 개체의 체중과 같은 인자들에 따라 변할 수 있다. 투여량 요법은 최적 치료 반응을 제공하도록 조절될 수 있다. 예를 들어, 단일 볼러스 (bolus)가 투여될 수 있거나, 몇몇 분할 용량이 시간에 걸쳐 투여될 수 있거나, 용량은 치료 상황의 응급성이 지시할 때 비례적으로 감소 또는 증가될 수 있다.

[0544] 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 투여 단위 형태로 비경구 조성물을 제제화하는 것이 특히 유리하다. 본원에서 사용될 때 투여 단위 형태는 치료할 포유동물 대상체에 대한 단위 투여량으로서 적합한 물리적으로 구분된 단위를 나타내고; 여기서 각각의 단위는 요구되는 제약 담체와 함께 목적하는 치료 효과를 생성하기 위해 계산된 소정량의 항체 및 그의 단편을 포함한다. 본 발명의 투여 단위 형태를 위한 상세한 내역은 개체에서 예민성의 치료를 위해 항체 및 그의 단편의 특유한 특성, 및 달성할 특정 치료 효과, 및 그러한 항체 및 그의 단편의 조제 분야에 고유한 제한점에 의해 결정되고 그에 직접 의존적이다. 본 발명의 항체 및 그의 단편 또는 그의 적절한 제약 조성물이 효과적인 포유동물 (예를 들어, 인간)에서 병태의 치료를 위한 치료 용도에서, 본 발명의 항체 및 그의 단편은 유효량으로 투여될 수 있다. 본 발명에 적합한 투여형은 본원에 설명되는 조성물, 제약 조성물 또는 임의의 다른 조성물일 수 있다.

[0545] 투여량은 단일 용량, 이중 용량, 3중 용량, 4중 용량, 및/또는 5중 용량으로 투여될 수 있다. 투여량은 단독으로, 동시에, 및 순차적으로 투여될 수 있다.

[0546] 투여 형태는 당업자에게 공지된 임의의 방출 형태일 수 있다. 본 발명의 조성물은 활성 성분의 즉시 방출 또는 활성 성분의 지속 또는 제어 방출을 제공하도록 제제화될 수 있다. 지속 방출 또는 제어 방출 제제에서, 활성 성분의 방출은 혈액 수준이 연장된 기간 (예를 들어, 4 내지 24시간)에 걸쳐 치료 범위 내에, 그러나 독성 수준 미만으로 유지되는 속도로 일어날 수 있다. 바람직한 투여 형태는 즉시 방출, 연장된 방출, 펄스 방출, 가변 방출, 제어 방출, 시간지정 방출, 지속 방출, 지연 방출, 장시간 작용, 및 이들의 조합을 포함하고, 당업계에 공지되어 있다.

[0547] 본원에 규정된 바와 같이, 단백질 또는 폴리펩티드의 치료 유효량 (즉, 유효 투여량)은 약 0.001 내지 30 mg/kg 체중, 바람직하게는 약 0.01 내지 25 mg/kg 체중, 보다 바람직하게는 약 0.1 내지 20 mg/kg 체중, 훨씬 더 바람직하게는 약 1 내지 10 mg/kg, 2 내지 9 mg/kg, 3 내지 8 mg/kg, 4 내지 7 mg/kg, 또는 5 내지 6 mg/kg 체중

범위이다. 숙련된 당업자는 질환 또는 장애의 중증도, 선행 치료, 대상체의 전반적인 건강 및/또는 연령, 및 존재하는 다른 질환을 포함하고 이로 제한되지 않는 특정 인자들이 대상체를 효과적으로 치료하기 위해 요구되는 투여량에 영향을 미칠 수 있음을 이해할 것이다. 또한, 치료 유효량의 단백질, 폴리펩티드, 또는 항체를 사용하는 대상체의 치료는 단일 치료를 포함할 수 있거나, 바람직하게는 일련의 치료를 포함할 수 있다.

[0548] 바람직한 예에서, 대상체는 약 1 내지 10주, 바람직하게는 2 내지 8주, 보다 바람직하게는 약 3 내지 7주, 훨씬 더 바람직하게는 약 4, 5, 또는 6주 동안 매주 1회 약 0.1 내지 20 mg/kg 체중의 범위의 항체, 단백질, 또는 폴리펩티드를 사용하여 치료한다. 치료를 위해 사용된 항체, 단백질, 또는 폴리펩티드의 유효 투여량은 특정 치료의 경과에 걸쳐 증가 또는 감소할 수 있음이 또한 이해될 것이다. 투여량 변화는 본원에 설명된 진단 검정의 결과로부터 일어나고 명백해질 수 있다.

[0549] 조성물의 약물학적 활성은 당업계에 공지되어 있는 표준 약물학적 모델을 이용하여 모니터링될 수 있음이 이해될 것이다. 또한, 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 포함하는 조성물은 부위-특이적 전달을 위해 적합한 중합체 매트릭스 또는 막 내에 포함되거나 캡슐화될 수 있거나, 부위 특이적 전달을 수행할 수 있는 특이적 표적화제를 사용하여 기능화될 수 있음이 이해될 것이다. 이들 기술, 및 다른 약물 전달 기술은 당업계에 잘 공지되어 있다. 특정 상황에 대한 최적 투여량의 결정은 당업자의 능력 내에 있다 (예를 들어, Grennaro (2005) [Ed.] Remington: The Science and Practice of Pharmacy [21st Ed.] 참조).

[0550] **염증성 및 자가면역 장애의 치료**

[0551] 본 발명은 염증성 또는 자가면역 장애가 있는 또는 그에 감수성이 있는 개체에서 염증성 또는 자가면역 장애를 치료 또는 예방하기 위한 치료 방법을 제공하고, 여기서 치료는 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체 조성물, 및/또는 관련 조성물을 포함한다.

[0552] 예를 들어, 상승된 수준의 KIR2DL2의 발현은 염증성 장 질환 (IBD) 및 크론 질환에 걸린 환자에서 보고되었다 ([Wilson, et al. (2010) Human Immunol. 71(3): 293-7] 참조).

[0553] 본원에 설명되는 KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 T 세포 매개된 염증성 및 자가면역 장애, 예컨대 전신 홍반성 루푸스, 베게너 육아종증, 자가면역 간염, 크론 질환, 경피증, 궤양성 결장염, 쇼그렌 증후군, 포도막염, 1형 당뇨병, 심근염, 류마티스성 열, 강직성 척추염, 류마티스 관절염, 다발성 경화증, 또는 건선의 치료를 위한 조성물, 용도, 및 방법에서 사용될 수 있다.

[0554] 본원에 설명되는 KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 자가면역 질환 또는 장애의 치료를 위한 조성물, 용도, 및 방법에서 사용될 수 있다. 자가면역 질환 또는 장애의 예는 후천성 면역 결핍 증후군 (AIDS), 후천성 비장 위축, 급성 전방 포도막염, 급성 파종 뇌척수염 (ADEM), 급성 통풍성 관절염, 급성 괴사성 출혈성 백질뇌염, 급성 또는 만성 부비동염, 급성 화농성 수막염 (또는 다른 중추신경계 염증성 장애), 급성의 심각한 염증, 애디슨 질환, 부신염, 성인 발병 당뇨병 (제II형 당뇨병), 성인-발병 특발성 부갑상선기능저하증 (AOIH), 무감마글로불린혈증, 무과립구증, 혈관병증, 예를 들어 혈관염 (거대 혈관 혈관염 (류마티스성 다발근육통 및 거대 세포 (다카야스) 관절염 포함), 알레르기성 병태, 알레르기성 접촉성 피부염, 알레르기성 피부염, 알레르기성 육아종성 혈관염, 알레르기성 과민성 장애, 알레르기성 신경염, 알레르기 반응, 원형 탈모증, 전두 탈모증, 알포트 증후군, 폐포염 (예를 들어, 알레르기성 폐포염 및 섬유화 폐포염), 알츠하이머 질환, 아밀로이드증, 근위축 측삭 경화증 (ALS; 루 게릭 질환), 호산구-관련 장애 (예를 들어, 호산구증가증), 아나필락시스, 강직성 척추염, 혈관확장증, 항체-매개 신염, 항-GBM/항-TBM 신염, 항원-항체 복합체-매개 질환, 항사구체 기저막 질환, 항-인지질 항체 증후군, 항인지질 증후군 (APS), 아프타, 아프타성 구내염, 재생불량성 빈혈, 부정맥, 동맥경화증, 동맥경화성 장애, 관절염 (예를 들어, 류마티스 관절염, 예컨대 급성 관절염, 만성 류마티스 관절염), 만성 진행성 관절염, 변형성 관절염, 회충증, 아스페르길루스종 (또는 호산구 함유 육아종), 아스페르길루스증, 무정액증, 천식 (예를 들어, 기관지성 천식, 기관지 천식, 및 자가면역 천식), 모세혈관확장성 운동실조, 운동실조성 경화증, 아테롬성동맥경화증, 자폐증, 자가면역 혈관부종, 자가면역 재생불량성 빈혈, 자가면역 위축성 위염, 자가면역 당뇨병, 고환 및 난소의 자가면역 질환, 예를 들어 자가면역 고환염 및 난소염, 콜라겐 질환과 연관된 자가면역 장애, 자가면역 자율신경실조증, 자가면역 귀 질환 (예를 들어, 자가면역 내이 질환 (AGED)), 자가면역 내분비 질환, 예를 들어 갑상선염, 예컨대 자가면역 갑상선염, 자가면역 장병증 증후군, 자가면역 생식선 부전, 자가면역 청각 상실, 자가면역 용혈, 자가면역 간염, 자가면역 간 장애, 자가면역 고지혈증, 자가면역 면역결핍, 자가면역 내이 질환 (AIED), 자가면역 심근염, 자가면역 호중구감소증, 자가면역 췌장염, 자가면역 다발내분비병증, 자가면역 다선성 증후군 유형 I, 자가면역 망막병증, 자가면역 혈소판감소성 자반증 (ATP), 자가면역 갑상선 질환, 자가면역 두드러기, 자가면역-매개 위장관 질환, 축삭 & 뉴런 신경병증, 발로 질환, 베

체트 질환, 양성 가족성 및 허혈-재관류 손상, 양성 림프구성 혈관염, 베르게르 질환 (IgA 신병증), 조류 사육자 폐, 실명, 뵈크 질환, 폐쇄성 세기관지염 (비-이식) 대 NSIP, 기관지염, 기관지폐렴성 아스페르길루스증, 브루톤 증후군, 수포성 유천포창, 카플란 증후군, 심근병증, 심혈관 허혈, 캐슬맨 증후군, 복강 질환, 복강 스프루 (글루텐 장병증), 소뇌 변성, 뇌 허혈, 및 혈관화를 동반하는 질환, 샤가스 질환, 채널병증 (예를 들어, 간질), CNS의 채널병증, 맥락망막염, 맥락막염, 자가면역 혈액 장애, 만성 활성 간염 또는 자가면역 만성 활성 간염, 만성 접촉성 피부염, 만성 호산구성 폐렴, 만성 피로 증후군, 만성 간염, 만성 과민성 폐렴, 만성 염증성 관절염, 만성 염증성 탈수초성 다발신경병증 (CIDP), 만성 난치성 염증, 만성 점막피부 칸디다증, 만성 신경병증 (예를 들어, IgM 다발신경병증 또는 IgM-매개 신경병증), 만성 폐쇄성 기도 질환, 만성 폐 염증성 질환, 만성 재발성 다초점 골수염 (CRMO), 만성 갑상선염 (하시모토 갑상선염) 또는 아급성 갑상선염, 처그-스트라우스 증후군, 반흔성 유천포창/양성 점막 유천포창, CNS 염증성 장애, CNS 혈관염, 복강 질환, 코간 증후군, 한랭 응집소 질환, 폴립성 결장염, 결장염, 예컨대 궤양성 결장염, 궤양성 결장염, 콜라겐성 결장염, T 세포의 침윤 및 만성 염증 반응을 수반하는 병태, 선천성 심장 차단, 선천성 풍진 감염, 쿰스 양성 빈혈, 관상 동맥 질환, 콕사키 심근염, CREST 증후군 (석회증, 레이노 현상), 크론 질환, 한랭글로불린혈증, 쿠싱 증후군, 모양체염 (예를 들어, 만성 모양체염, 이색성 모양체염, 홍채모양체염, 또는 폭스 모양체염), 낭성 섬유증, 시토카인-유도된 독성, 난청, 퇴행 관절염탈수초성 질환환 (예를 들어, 자가면역 탈수초성 질환), 탈수초성 신경병증, 뎅기, 포진성 피부염 및 아토피성 피부염, 피부염, 예를 들어 접촉성 피부염, 피부근염, 급성 염증 요인이 있는 피부병, 데빅 질환 (시신경척수염), 당뇨병성 거대 동맥 장애, 당뇨병성 신병증, 당뇨병성 망막병증, 다이아몬드 블랙판 빈혈, 미만성 간질성 폐 섬유증, 확장형 심근병증, 원반모양 루푸스, 백혈구 누출이 관련된 질환, 드레슬러 증후군, 듀피트렌 구축, 에코바이러스 감염, 습진, 예를 들어 알레르기성 또는 아토피성 습진, 뇌염, 예컨대 라스무센 뇌염 및 변연 및/또는 뇌간 뇌염, 뇌척수염 (예를 들어, 알레르기 뇌척수염 또는 알레르기성 뇌척수염 및 실험적 알레르기 뇌척수염 (EAE)), 동맥내막 증식증, 심내막염, 내분비 안병증, 자궁내막증, 심내막심근 섬유증, 수정체과민 안내염, 안내염, 알레르기성 장염, 호산구증가증-근육통 증후군, 호산구성 근막염, 유행성 각결막염, 후천성 수포성 표피박리증 (EBA), 상공막, 상공막염, 엡스타인-바르 바이러스 감염, 장기 융기성 홍반, 다형성 홍반, 나병 결절성 홍반, 결절성 홍반, 태아 적모구증, 식도 운동장애, 원발성 혼합 한랭글로불린혈증, 벌집뼈, 에반스 증후군, 실험적 알레르기 뇌척수염 (EAE), 인자 VIII 결핍, 농부폐, 류마티스성 열, 펠티 증후군, 섬유근육통, 섬유화 폐포염, 사상충증, 초점성 분절성 사구체경화증 (FSGS), 식중독, 전두, 위 위축, 거대 세포 관절염 (측두 관절염), 거대 세포 간염, 거대 세포 다발근육통, 사구체신염, 신증후군 동반 및 비동반 사구체신염 (GN), 예컨대 만성 또는 급성 사구체신염 (예를 들어, 원발성 GN), 굿패스쳐 증후군, 통풍성 관절염, 과립구 수혈-연관 증후군, 육아종증, 예를 들어 림프종성 육아종증, 다발혈관염이 있는 육아종증 (GPA), 육아종성 포도막염, 그레이브 질환, 길랑-바레 증후군, 적상 건선, 발작성 혈색소뇨, 해먼-리치 질환, 하시모토 질환, 하시모토 뇌염, 하시모토 갑상선염, 혈색소증, 용혈성 빈혈 또는 면역 용혈성 빈혈, 예를 들어 자가면역 용혈성 빈혈 (AIHA), 용혈성 빈혈, A형 혈우병, 헤노흐-쉔라인 자반증, 임신 헤르페스, 인간 면역결핍 바이러스 (HIV) 감염, 통각과민, 저감마글로불린혈증, 생식선기능저하증, 부갑상선기능저하증, 특발성 요붕증, 특발성 안면 마비, 특발성 갑상선기능저하증, 특발성 IgA 신병증, 특발성 막성 GN 또는 특발성 막성 신병증, 특발성 신염성 증후군, 특발성 폐 섬유증, 특발성 스프루, 특발성 혈소판감소성 자반증 (ITP), IgA 신병증, IgE-매개 질환 (예를 들어, 아나필락시스, 및 알레르기성 및 아토피성 비염), IgG4-관련 경화 질환, 국한성 회장염, 면역 복합체 신염, 시토카인 및 T-림프구에 의해 매개된 급성 및 지연형 과민증과 연관된 면역 반응, 면역-매개 GN, 면역조절 지단백질, 예를 들어 성인 또는 급성 호흡 곤란 증후군 (ARDS), 봉입체 근염, 감염성 관절염, 항정자 항체로 인한 불임, 포도막 전부 또는 일부의 염증, 염증성 장 질환 (IBD), 염증성 과다증식성 피부 질환, 염증성 근병증, 인슐린-의존성 당뇨병 (제1형), 췌도염, 간질성 방광염, 간질성 폐 질환, 간질성 폐 섬유증, 홍채염, 허혈 재-관류 장애, 관절 염증, 소아 관절염, 소아 피부근염, 소아 당뇨병, 소아 발병 (제I형) 당뇨병, 예를 들어 소아성 인슐린-의존성 당뇨병 (IDDM), 소아-발병 류마티스 관절염, 가와사키 증후군, 건성 각결막염, 키파노소미아시스, 램버트-이튼 증후군, 리슈마니아증, 나병, 백혈구감소증, 백혈구 부착 결핍, 백혈구파쇄성 혈관염, 백혈구감소증, 편평 태선, 경화 태선, 목질 결막염, 선형 IgA 피부병, 선형 IgA 질환 (LAD), 뢰플러 증후군, 루프스양 간염, 루푸스 (신염, 뇌염, 소아성, 비신성, 신장외, 원반모양, 탈모 포함), 루푸스 (SLE), 파종상 홍반성 루푸스, 라임 관절염, 라임병, 림프성 간질성 폐렴, 말라리아, 남성 및 여성 자가면역 불임, 상악, 중간 혈관 혈관염 (가와사키 질환 및 결절성 다발동맥염 포함), 막- 또는 막성 증식성 GN (MPGN), 예를 들어 제I형 및 제II형, 및 급속 진행성 GN, 막성 GN (막성 신병증), 메니에르 질환, 수막염, 현미경적 결장염, 현미경적 다발혈관염, 편두통, 미세 변화 신병증, 혼합 결합 조직 질환 (MCTD), 감염성 단핵구증, 무렌 궤양, 무카-하버만 질환, 다초점성 운동 신경병증, 다발성 내분비 부전, 다발성 기관 손상 증후군, 예컨대 패혈증, 외상 또는 출혈에 이차적인 것, 다발성 기관 손상 증후군, 다발성 경화증 (MS), 예컨대 척수-눈 MS, 다발성 경화증, 멈프스, 근육

장애, 중증 근무력증, 예컨대 흉선종-연관 중증 근무력증, 중증 근무력증, 심근염, 근염, 기면증, 괴사성 소장 결장염, 및 경벽성 결장염, 및 자가면역 염증성 장 질환, 괴사성, 피부 또는 과민성 혈관염, 신생아 루푸스 증후군 (NLE), 신증, 신증후군, 신경계 질환, 시신경척수염 (데빅 질환), 시신경척수염, 신경근긴장증, 호중구감소증, 비-암성 림프구증가증, 비육아종성 포도막염, 비-악성 흉선종, 안구 및 안와 염증성 장애, 안구 반흔성 유천포창, 난소염, 교감신경성 안염, 안진전 근간대성경련 증후군 (OMS), 안진전 또는 안진전 근간대성경련 증후군 (OMS), 및 감각 신경병증, 시신경염, 육아종성 고환염, 골관절염, 재발성 류마티즘, 췌장염, 범혈구감소증, PANDAS (스트렙토코쿠스 연관 소아성 자가면역신경정신 장애), 부신생물성 소뇌 변성, 부신생물성 증후군, 부신생물성 증후군들, 예를 들어 신경계 부신생물성 증후군 (예를 들어, 램버트-이튼 근무력 증후군 또는 이튼-램버트 증후군), 기생충 질환, 예컨대 레슈마니아, 발작성 야간 혈색소뇨 (PNH), 패리 롬버그 증후군, 주변부 포도막염 (말초 포도막염), 파르소니지-터너 증후군, 파르보바이러스 감염, 유천포창, 예컨대 수포성 유천포창 및 피부 유천포창, 천포창 (심상성 천포창 포함), 홍반성 천포창, 낙엽상 천포창, 천포창 점액-막 유천포창, 천포창, 소화성 궤양, 주기성 마비, 말초 신경병증, 정맥주변 뇌척수염, 악성 빈혈 (악성 빈혈증), 악성 빈혈, 수정체항원성 포도막염, 폐경변증, POEMS 증후군, 결절성 다발동맥염, 제I형, 제II형, & 제III형, 만성 원발성 다발관절염, 다발연골염 (예를 들어, 불응성 또는 재발성 다발연골염), 다발내분비 자가면역 질환, 다발내분비 부전, 다선성 증후군 (예를 들어, 자가면역 다선성 증후군 (또는 다분비선 내분비병증 증후군)), 류마티스성 다발근육통, 다발근염, 다발근염/피부근염, 다발신경병증, 급성 다발신경근염, 심장절개술후 증후군, 후방 포도막염, 또는 자가면역 포도막염, 심근 경색후 증후군, 심장막절개술 후 증후군, 스트렙토코쿠스 감염후 신염, 백신접종 후 증후군, 초로기 치매, 원발성 담즙성 간경변증, 원발성 갑상선기능저하증, 원발성 특발성 점액수종, 원발 림프구증가증, 예를 들어 모노클로날 B 세포 림프구증가증 (예를 들어, 양성 모노클로날 감마병증 및 의미 불명 모노클로날 감마병증, MGUS), 원발성 점액수종, 원발성 진행성 MS (PPMS), 및 재발 완화형 MS (RRMS), 원발성 경화성 담관염, 프로게스테론 피부염, 진행성 전신 경화증, 증식성 관절염, 건선, 예컨대 판상 건선, 건선, 건선성 관절염, 폐포 단백증, 폐 침윤 호산구증가증, 순수 적혈구 빈혈 또는 무형성증 (PRCA), 순수 적혈구 무형성증, 화농성 또는 비화농성 부비동염, 농포성 건선 및 손발톱 건선, 신우염, 괴저성 농피증, 퀘르뱅 갑상선염, 레이노 현상, 반응성 관절염, 반복 유산, 혈압 반응의 감소, 반사 교감신경 이영양증, 불응성 스프루, 라이터 질환 또는 증후군, 재발성 다발연골염, 심근 또는 다른 조직의 재관류 손상, 재관류 손상, 호흡 곤란 증후군, 하지 불안 증후군, 망막 자가면역, 복막후 섬유증, 레이노 증후군, 류마티스성 질환, 류마티스성 열, 류마티즘, 류마티스 관절염, 류마티스 척추염, 풍진 바이러스 감염, 샘프터 증후군, 사르코이드증, 주혈흡충증, 슈미트 증후군, SCID 및 엡스타인-바르 바이러스-연관 질환, 공막, 공막염, 손발가락경화증, 경피증 (전신 경피증 포함), 경화성 담관염, 파종성 경화증, 경화증, 예컨대 전신 경화증, 감각신경성 청각 상실, 혈청음성 척추관절염, 쉬한 증후군, 슐만 증후군, 규폐증, 쇼그렌 증후군, 정자 & 고환 자가면역, 접형 부비동염, 스티븐스-존슨 증후군, 강직-인간 (또는 강직-사람) 증후군, 아급성 박테리아성 심내막염 (SBE), 아급성 피부 홍반성 루푸스, 돌발성 난청, 수삭 증후군, 시데남 무도병, 교감신경성 안염, 전신 홍반성 루푸스 (SLE) 또는 전신 루푸스 홍반증 (예를 들어, 피부 SLE), 전신 괴사성 혈관염, 및 ANCA-연관 혈관염, 예컨대 처그-스트라우스 혈관염 또는 증후군 (CSS)), 척수로, 다카야스 동맥염, 모세혈관확장증, 측두 동맥염/거대 세포 동맥염, 폐쇄성 혈전혈관염, 혈소판감소증 (예를 들어, 심근 경색 환자가 발병하는), 예를 들어 혈전성 혈소판감소성 자반증 (TTP) 및 자가면역 또는 면역-매개 혈소판감소증, 예컨대 특발성 혈소판감소성 자반증 (ITP), 예를 들어 만성 또는 급성 ITP, 혈소판감소성 자반증 (TTP), 갑상선중독증, 조직 손상, 톨로사-헌트 증후군, 독성 표피 괴사용해, 독성 쇼크 증후군, 수혈 반응, 유아의 일과성 저감마글로불린혈증, 횡단성 척수염, 횡단 척수염, 열대성 폐 호산구증가증, 결핵, 궤양 결장염, 미분화 결합 조직 질환 (UCTD), 두드러기 (예를 들어, 만성 알레르기성 두드러기 및 만성 특발성 두드러기, 예를 들어 만성 자가면역 두드러기), 포도막염 (예를 들어, 전방 포도막염), 포도막망막염, 판막염, 혈관 기능장애, 혈관염, 척추 관절염, 수포성 피부병, 백반증, 베게너 육아종증 (현재 다발혈관염이 있는 육아종증 (GPA)으로 부름), 비스코트-알드리치 증후군, 및 x-연관 과다 IgM 증후군을 포함하고 이로 제한되지 않는다.

[0555] 본원에 설명되는 KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 염증성 병태 및 염증성 질환의 치료를 위한 조성물, 용도, 및 방법에서 사용될 수 있다.

[0556] 염증성 병태 및 염증성 질환은 류마티스성 질환 (예를 들어, 류마티스 관절염, 골관절염, 건선성 관절염), 척추관절병증 (예를 들어, 강직성 척추염, 반응성 관절염, 라이터 증후군), 결정성 관절병증 (예를 들어, 통풍, 가성통풍, 칼슘 피로인산염 침착 질환), 다발성 경화증, 라임병, 류마티스성 다발근육통; 결합 조직 질환 (예를 들어, 전신 홍반성 루푸스, 전신 경화증, 다발근염, 피부근염, 쇼그렌 증후군); 혈관병증 (예를 들어, 결절성 다발동맥염, 베게너 육아종증, 처그-스트라우스 증후군); 염증성 병태, 예를 들어 외상 또는 허혈의 결과, 사르

코이드증; 혈관 질환, 예를 들어 아테롬성동맥경화성 혈관 질환, 아테롬성동맥경화증, 및 혈관 폐쇄성 질환 (예를 들어, 아테롬성동맥경화증, 허혈성 심장 질환, 심근 경색, 졸중, 말초 혈관 질환), 및 혈관 스텐트 재협착; 안구 질환, 예를 들어 포도막염, 각막 질환, 홍채염, 홍채모양체염, 및 백내장을 포함하고 이로 제한되지 않는다.

[0557] 염증성 병태는 또한 산 역류/가슴쓰림, 여드름, 심상성 여드름, 알레르기 및 예민성, 알츠하이머 질환, 천식, 아테롬성동맥경화증 및 혈관 폐쇄성 질환 (예를 들어, 아테롬성동맥경화증, 허혈성 심장 질환, 심근 경색, 졸중, 말초 혈관 질환) 및 혈관 스텐트 재협착, 자가면역 질환, 기관지염, 암, 심장염, 백내장, 복강 질환, 만성 통증, 만성 전립선염, 간경변증, 결장염, 결합 조직 질환 (예를 들어, 전신 홍반성 루푸스, 전신 경화증, 다발근염, 피부근염, 쇼그렌 증후군), 각막 질환, 크론 질환, 결정성 관절병증 (예를 들어, 통풍, 가성통풍, 칼슘 피로인산염 침착 질환), 치매, 피부염, 당뇨병, 안구 건조, 습진, 부종, 기종, 섬유근육통, 위장염, 치은염, 사구체신염, 심장 질환, 간염, 고혈압, 과민성, 염증성 장 질환, 염증성 병태, 예를 들어 외상 또는 허혈의 결과, 인슐린 저항성, 간질성 방광염, 홍채모양체염, 홍채염, 관절통/관절염/류마티스 관절염, 라임병, 대사 증후군 (증후군 X), 다발성 경화증, 근염, 신염, 비만, 안구 질환, 예를 들어 포도막염, 골감소증, 골다공증, 파킨슨 질환, 골반 염증성 질환, 치주 질환, 다발동맥염, 다발연골염, 류마티스성 다발근육통, 건선, 재관류 손상, 류마티스 관절염, 류마티스성 질환 (예를 들어, 류마티스 관절염, 골관절염, 건선성 관절염), 류마티스 관절염, 사르코이드증, 경피증, 부비동염, 쇼그렌 증후군, 경직성 결장, 척추관절병증 (예를 들어, 강직성 척추염, 반응성 관절염, 라이터 증후군), 전신 칸디다증, 건염, 이식 거부, UTI, 질염, 혈관 질환, 예를 들어 아테롬성동맥경화성 혈관 질환, 혈관병증 (예를 들어, 결절성 다발동맥염, 베게너 육아종증, 처그-스트라우스 증후군), 및 혈관염을 포함하고 이로 제한되지 않는다.

[0558] 용어 "치료"는 본원에서 임의의 증상 또는 질환 상태가 발생하는 것을 예방할 목적으로 또는 이미 발생한 그러한 증상 또는 질환 상태를 예방하거나 (예를 들어, 진행을 예방 또는 연기하거나, 완화하거나, 개선하거나, 근절하는 (치유하는) 목적으로 유효량의 그러한 제제의 전달을 나타낸다. 따라서, 용어 "치료"는 예를 들어, 제1 치료 후에 치료 반응을 겪는 개체에서 최소의 또는 검출불가능한 질환의 치료, 또는 확립된 및/또는 급성기의 치료를 포함하는 것을 의미한다.

[0559] 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 대상체에 전달하고 (직접 투여에 의해 또는 그 내부의 핵산, 예컨대 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체-코딩 핵산 서열(들)을 포함하는 수두 바이러스 유전자 전달 벡터로부터 발현에 의해), 본 발명의 다른 방법을 실시하는 것은 이미 발생한 그러한 증상 또는 질환 상태를 예방하거나 (예를 들어, 진행을 예방 또는 연기하거나), 완화하거나, 개선하거나, 근절하는 (치유하는) 목적으로 사용될 수 있다.

[0560] 본 발명의 방법은 T 세포 활성, 증식 또는 수 (예를 들어, 순환계 내에서 또는 염증의 부위의 부위에서 활성화된 염증유발성 T 세포 (예를 들어, CD4+ T 세포, HLA-cw3 및/또는 HLA-cw4-양성 T 세포)의 수), 및 그와 연관된 임의의 파라미터 또는 증상 (예를 들어, 염증 마커 수준)의 감소 및/또는 개선에 특히 유용할 수 있다. 염증성 또는 자가면역 장애의 그러한 측면을 감소, 예방 또는 달리 개선하는 방법은 독립적으로 및 종합적으로 본 발명의 유리한 특징이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "T 세포"는 흉선에서 성숙하고, 그들의 표면 상에 다른 분자들 사이에서 T 세포 수용체를 나타내는 림프구의 하위-집단을 나타낸다. T 세포는 TCR, CD4 또는 CD8을 비롯한 특이적 표면 항원의 발현, 종양 또는 감염된 세포를 사멸시키는 특정 T 세포의 능력, 면역계의 다른 세포를 활성화시키는 특정 T 세포의 능력, 및 면역 반응을 자극 또는 억제하는 시토카인으로 불리는 단백질 분자를 방출하는 능력과 같은 특정 특징 및 생물학적 특성에 의해 확인할 수 있다. 임의의 이들 특징 및 활성이 당업계에 잘 공지된 방법을 이용하여 T 세포를 확인하기 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 문맥 내에서, "활성" 또는 "활성화된" T 세포는 생물학적 활성 T 세포, 보다 특히 세포용해 능력을 갖거나 예를 들어, 시토카인을 분비함으로써 면역 반응을 자극하는 T 세포를 나타낸다. 활동성 세포는 기능적 검정 및 발현-기반 검정, 예컨대 시토카인, 예컨대 TNF-알파의 발현을 비롯한 임의의 많은 잘 공지된 방법으로 검출할 수 있다.

[0561] 자가면역 또는 염증성 질환을 갖는 개체의 치료를 위한 방법은 개체에게 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 투여하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 개체는 확립된 (예를 들어, 연장된 기간, 예를 들어 1년 초과 동안 선고된) 자가면역 또는 염증성 질환을 갖거나, 진행중의 또는 활동성 염증의 징후가 있고, 질환의 신체 징후 (예를 들어, 관절 종창, 병변, 신경학적 증상)을 갖거나, 만성 질환을 갖거나, 중증 질환을 갖거나 (류마티스 관절염에서 적용가능한 기준, 예를 들어 DAS 또는 ACR 기준에 의해 평가할 때), 진행하는 질환을 갖는다.

[0562] 확립된 자가면역 또는 염증성 질환을 갖는 개체의 치료를 위한 방법은 개체에게 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 투여하는 것을 포함할 수 있다. 본 발명은 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체 (또는 관련 조성물)을 사용하는

자가면역 또는 염증성 질환의 급성기, 또는 공격, 위기, 악화 또는 표출의 치료를 위한 방법을 제공하고, 바람직하게는 항체는 자가면역 또는 염증성 질환의 급성기 동안 또는 공격, 위기, 악화 또는 표출 동안 개체에게 투여된다. 질환은 류마티스 관절염, 소아 특발성 관절염, 다발성 경화증, 크론 질환 또는 직장결장염, 홍반성 루푸스, 강직성 척추염 및 관련 질환으로 이루어진 군 중에서 선택될 수 있다. 한 실시양태에서, 질환은 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 리간드 (예를 들어, HLA-cw3 또는 HLA-cw4)를 발현하는 세포의 존재, 바람직하게는 HLA-cw3 및/또는 HLA-cw4를 발현하는 CD4+ T 세포의 존재를 특징으로 한다. 질환은 검출가능한 수준의 단백질분해효소, 염증성 매개체, 진행중인 염증의 마커, 또는 염증유발성 시토카인 (예를 들어, TNF-α 및/또는 인터류킨-1 (IL-1))의 존재를 특징으로 한다.

[0563] 질환 진단, 진전 및 등급 결정 (또는 병기 결정)은 개체가 확립된 질환을 갖는, 급성기인, 진행하는, 만성인, 신체 증상을 갖는, 또는 특정 수준의 중증도인지 결정하기 위해 특정 종류의 질환에 대한 표준 의학 기준에 의해 규정할 수 있다. 마찬가지로, 임의의 적합한 의학 기준에 의해 공격, 위기, 악화 또는 표출을 확인할 수 있다.

[0564] 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 확립된 질환을 치료하기 위해 유리하게 사용될 수 있다. "확립된 질환"은 연장된 기간, 예를 들어 1년 초과 동안 선고된 자가면역 또는 염증성 질환을 나타낸다. 구체적인 질환에 따라, 확립된 질환은 또한 치료의 존재 또는 부재 하에 제어되지 않은 질환, 예를 들어 여전히 진행하는 질환 또는 그에 대해 환자가 완화를 겪지 않는 질환을 의미한다. 한 측면에서, 본 발명은 (a) 환자가 확립된 질환을 갖는지 결정하고, (b) 상기 환자가 확립된 질환을 가지면, 상기 환자에게 유효 용량의 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 자가면역 또는 염증성 질환의 치료를 위한 방법을 제공한다.

[0565] 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 만성 질환을 치료하기 위해 또한 유리하게 사용될 수 있다. "만성 질환"은 연장된 기간 동안 지속하는 질환을 나타낸다. 예를 들어, 만성 질환은 미국 보건 통계 센터 (U.S. National Center for Health Statistics)에 의해 규정될 때 3개월 이상 지속하는 질환일 수 있다. 한 측면에서, 본 발명은 (a) 환자가 만성 질환을 갖는지 결정하고, (b) 상기 환자가 만성 질환을 가지면, 상기 환자에게 유효 용량의 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 자가면역 또는 염증성 질환의 치료 방법을 제공한다.

[0566] 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 공격, 위기, 악화 또는 표출이 있는 개체를 치료하기 위해 또한 유리하게 사용될 수 있다. 용어 "공격", "위기", "악화" 및 "표출"은 염증성 또는 자가면역 질환에 관련된 새로운 증상의 보다 급속한 진전 또는 오래된 증상의 악화를 나타낸다. 수개월 및 수년에 걸쳐 일어나는 질환의 느린 진행과 반대로, 상기 시기는 수시간 또는 수일 기간에 걸쳐 지속한다. 그러한 공격 동안, 환자는 열, 통증, 염증성 증후군을 겪는다 (독감-유사 증후군). RA에서, 환자의 관절은 부어오르고 고통스럽다. 환자는 독감-유사 증후군을 겪을 수 있다. 위기는 수시간 내지 수주 지속할 수 있다. 다발성 경화증에서, 급표출 (flare-up)은 새로운 증상 또는 기존의 증상의 악화를 특징으로 할 수 있지만 진정한 악화로 여겨지기 위해서는 적어도 24시간 지속해야 하고, 급표출은 신경 전달을 파괴하는 뇌 또는 척수에 형성되는 새로운 병변을 나타낸다. 대부분의 급표출은 수일 또는 수주 지속하지만 수개월 동안 지속할 수 있다. 그 영향은 예를 들어 운동 곤란 또는 연축 (spasm), 균형 및 협조기능 문제; 급표출 동안 시력 문제, 협조되지 않은 눈 운동, 흐린 시력 또는 복시, 부분 실명; 방광 및 장 증상; 성기능 문제, 정신 기능의 변화: 기억 소실, 부주의 및 불량한 판단 또는 우울증일 수 있다. 크론 질환 또는 직장결장염에서, 급표출은 주로 통상의 크론 질환 증상의 악화이다: 설사, 경련 복통, 열, 식욕 상실. 한 측면에서, 본 발명은 (a) 환자가 공격, 위기, 악화 또는 표출을 겪고 있는지 결정하고, (b) 상기 환자가 공격, 위기, 악화 또는 표출을 겪는다면, 상기 환자에게 유효 용량의 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 자가면역 또는 염증성 질환의 치료 방법을 제공한다.

[0567] 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 재발이 있는 개체를 치료하기 위해 또한 유리하게 사용될 수 있다. 용어 "재발"은 환자 증상의 개선 또는 안정화를 나타낸다. 질환은 환자의 건강 또는 상태가 개선할 때 재발성이다. 한 측면에서, 본 발명은 (a) 환자가 재발, 위기, 악화 또는 표출을 겪고 있는지 결정하고, (b) 상기 환자가 재발을 겪으면, 상기 환자에게 유효 용량의 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 자가면역 또는 염증성 질환의 치료 방법을 제공한다.

[0568] 임의로, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 사용한 치료에 앞서 환자에서 HLA-cw3 및/또는 HLA-cw4의 존재를 검출하는 것을 포함하는, HLA-cw3 및/또는 HLA-cw4 검출 단계를 수행할 수 있다. 일반적으로, 상기 단계에서, 생물학적 샘플을 환자로부터 취하고, 예를 들어 류마티스 관절염 환자에서 예를 들어 활막액의 샘플을 취한다. 생물학적 샘플을 HLA-cw3 및/또는 HLA-cw4 폴리펩티드 또는 핵산의 존재에 대해 평가한다. 생물학적 샘플이 HLA-

cw3 및/또는 HLA-cw4의 존재에 대해 양성이면, 환자는 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 사용하여 유리하게 치료될 수 있다.

[0569] 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 단독요법 (단독 치료제)으로 사용된다. 본 발명의 치료 방법은 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체, 및 그를 위해 항체가 투여되는 특정 치료 목적에 보통 사용되는 작용제를 비롯한 제2 치료제를 사용하여 개체를 치료하는 것을 추가로 포함할 수 있다. 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체 및 제2 치료제는 따로, 함께 또는 순차적으로, 또는 칵테일 (cocktail)로 투여될 수 있다. 제2 치료제는 보통 치료되는 특정 질환 또는 병태에 대한 단독요법에서 그 작용제에 대해 전형적으로 사용되는 양으로 투여될 것이다. 한 실시양태에서, 제2 치료제는 일반적으로 인정되는 유효 용량 미만의 용량으로 투여되고; 예를 들어, 다양한 실시양태에서, 조성물은 일반적으로 인정되는 요효 용량의 약 10% 내지 75% 미만인 투여량을 포함한다. 바람직하게는, 제2 치료제는 단백질분해 효소, 염증성 매개체, 또는 염증유발성 시토카인, 예컨대 TNF-α 및/또는 인터류킨-1 (IL-1)을 감소시키는 작용제이다. 바람직하게는, 제2 치료제는 DMARD 또는 DMD이고, 여기서 임의로 추가로 제2 치료제는 메토트렉세이트 (류마트렉스(Rheumatrex)®, 트렉살(Trexall)®), 히드록시클로로퀸 (플라퀘닐(Plaquenil)®), 설파살라진 (아줄피딘(Azulfidine)®), 레플루노미드 (아라바 (Arava)®), 종양 괴사 인자 억제제 (예를 들어, 가용형 TNFα 수용체, 예컨대 에타너셉트 (엔브렐(Enbrel)®), 중화성 (바람직하게는 비-고갈성) 항-TNFα 항체, 예컨대 아달리무맙 (휴미라 (Humira)®) 또는 세르톨리주맙 페골 (심지아(Cimzia)®)), T-세포 동시자극 차단제 (예를 들어, 아바타셉트 (오렌시아(Orencia)®)), 인터류킨-1 (IL-1) 수용체 길항제 요법 (아나킨라 (키너렛(Kineret)®)), 항-BlyS 항체 (벤리스타(Benlysta)®), 프로테오솜 억제제 (예를 들어, 보르테조밉), 티로신 키나제 억제제, 근육내 금, 또는 또다른 면역조절 또는 세포독성제 (예를 들어, 아자티오프린 (이뮤란(Imuran)®), 시클로포스파미드, 시클로스포린 A (네오랄(Neoral)®, 산디문(Sandimmune)®)) 또는 키나제 억제제 (예를 들어, SYK 키나제 억제제, 예컨대 포스티마티닙 (R788) 또는 JAK1, JAK2 억제제, 예컨대 INCB28050, 타네주맙 또는 타소시티닙 (CP-690,550))이다.

[0570] 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 제2 치료제의 투여 전에 투여된다. 예를 들어, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 제2 치료제의 투여 약 0 내지 30일 전에 투여될 수 있다. 몇몇 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 제2 치료제의 투여 약 30분 내지 약 2주, 약 30분 내지 약 1주, 약 1시간 내지 약 2시간, 약 2시간 내지 약 4시간, 약 4시간 내지 약 6시간, 약 6시간 내지 약 8시간, 약 8시간 내지 1일, 또는 약 1 내지 5일 전에 투여된다. 몇몇 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 치료제 투여와 동시에 투여된다. 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 제2 치료제의 투여 후에 투여된다. 예를 들어, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 제2 치료제의 투여 약 0 내지 30일 후에 투여될 수 있다. 몇몇 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 제2 치료제의 투여 약 30분 내지 약 2주, 약 30분 내지 약 1주, 약 1시간 내지 약 2시간, 약 2시간 내지 약 4시간, 약 4시간 내지 약 6시간, 약 6시간 내지 약 8시간, 약 8시간 내지 1일, 또는 약 1 내지 5일 후에 투여된다.

[0571] 조성물은 적어도 하나의 소염제, 진통제, 또는 질환-변형 항류마티스 약물 (DMARD)을 추가로 포함할 수 있다.

[0572] 소염제는 스테로이드, 코르티손, 글루코코르티코이드, 프레드니손, 프레드니솔론, 히드로코르티손 (코르티솔), 코르티손 아세테이트, 메틸프레드니솔론, 덱사메타손, 베타메타손, 트리암시놀론, 베클로메타손, 및 플루드로코르티손 아세테이트, 비-스테로이드성 소염 약물 (NSAID), 이부프로펜, 나프록센, 멜록시캄, 에토돌락, 나부메톤, 술린닥, 톨레멘틴, 콜린 마그네슘 살리실레이트, 디클로페낙, 디플루시날, 인도메티신, 케토프로펜, 옥사프로진, 피록시캄, 및 니메술리드, 살리실레이트, 아스피린 (아세틸살리실산), 디플루니살, 살살레이트, p-아미노 페놀 유도체, 파라세타몰, 페나세틴, 프로피온산 유도체, 이부프로펜, 나프록센, 페노프로펜, 케토프로펜, 플루르비프로펜, 옥사프로진, 록소프로펜, 아세트산 유도체, 인도메타신, 술린닥, 에토돌락, 케토롤락, 디클로페낙, 나부메톤, 에놀산 (옥시캄) 유도체, 피록시캄, 멜록시캄, 테녹시캄, 드록시캄, 로르녹시캄, 이속시캄, 페남산 유도체 (페나메이트), 메페남산, 메클로페남산, 플루페남산, 톨페남산, 선택적 COX-2 억제제 (콕시브), 세레콕시브, 로페콕시브, 발데콕시브, 파레콕시브, 루미라콕시브, 에토리콕시브, 피로콕시브, 술폰아닐리드, 니메술리드, 및 리코펠론으로 이루어진 군 중에서 선택될 수 있다.

[0573] *류마티스 관절염*

[0574] 류마티스 관절염 (RA)은 만성인 대개 진행성인 염증성 질환이고, 여기서 활막이 주요 염증 부위이다. 염증의 진행과 함께 뼈 파괴가 일어나, 뼈 및 연골의 변형 또는 손상을 일으킨다. 류마티스 관절염 (RA)는 기별로 진행한다. 제1기는 활막 내층의 종창이고, 이것은 관절 주위에 통증, 온열감, 강직, 발적 및 종창을 일으킨다.

제2기는 세포, 또는 판누스 (pannus)의 급속한 분할 및 성장이고, 이것은 활막을 비후하게 한다. 제3기에 염증이 생긴 세포는 뼈 및 연골을 소화시키는 효소를 방출하여, 종종 침범된 관절이 그 형상과 정렬을 잃도록 하고, 보다 통증이 있고, 운동 상실을 일으킨다. 질환에 침범된 환자는 통증이 없는 완화 기간, 이어서 통증이 증가할 류마티스 관절염 위기 (또한 표출 또는 공격으로 칭함)를 겪을 수 있다. 본 발명에 따른 방법은 통증을 처리하는 것을 돕도록 위기를 겪는 그러한 환자를 치료하는 것을 제안한다.

[0575] RA 질환의 수준은 상이한 기준을 이용하여 평가할 수 있다. 가장 공지된 기준은 ACR (미국 류마티스 학회; American College of Rheumatology)에서 수립되었다. ACR 기준은 ACR 20, ACR 50, 및 ACR 70으로 지시된다. ACR 기준은 압통 또는 종창 관절 계수의 개선 및 다음 5가지 파라미터 중 3개에서 개선을 측정한다: 급성기 반응물질 (예컨대 침강 속도), 환자 평가, 의사 평가, 통증 스케일 및 장애/기능 설문.

[0576] 질환의 중증도는 또한 DAS (Disease Activity Score: 질환 활성도 점수)로서 공지된 점수에 의해 측정할 수 있다. DAS는 활막염이 있는 관절의 수에 대한 44개 관절에 대해 처음에 개발된 EULAR (European League Against Rheumatism: 유럽 류마티스 학회)에 의해 도출된 RA 활성도 및 53개 리트시 (Ritchie) 지수 부위의 복합적인 지수이다. DAS는 다음 식에 따라 계산한다:

[0577] DAS = [0.553938 √ 리트시 지수] + [0.06465 √ (활막염이 있는 관절의 수)] + [0.330 Ln (적혈구 침강 속도)] + 0.024

[0578] 리트시 지수는 53개 관절을 포함한다: 측두하악, 견쇄, 흉골늑쇄, 어깨, 팔꿈치, 손목, 중수수지 (MCP), 손가락에서 근위지간 (PIP), 엉덩이, 무릎, 발목, 거골하, 횡족근, 및 중족지절 (MTP) 관절.

[0579] DAS의 값에 따라 3가지 활성도 수준이 확인되었다: 낮은 활성도 수준을 갖는 RA; DAS ≤ 2.4, 중등도 활성도 RA 2.4 < DAS ≤ 3.7, 활성도 RA > 3.7. DAS에 대해 규정된 완화 역치 값은 < 1.6이다.

[0580] 본 발명에 따른 치료 방법의 1차 목적은 질환 활성도를 제어하고 또한 완화를 달성하고, 통증을 감소시키고, 관절 파괴를 예방 및 제어하고, 일상 활동 및 작업시 기능 손실을 예방하고, 환자의 삶의 질을 최적화하기 위한 것이다.

[0581] *현재의 치료 선택*

[0582] RA의 치료를 위한 현재의 권장요법은 진단이 확립된 후에 질환 변형 항류마티스 약물 (DMARD)을 사용한 조기 치료를 포함한다. 비-스테로이드성 소염 약물 (NSAID) 및 최근까지 COX-2 억제제가 진단을 확인하기를 기다리면서 또는 질환의 경과에서 나중에 DMARD와 함께 널리 사용되었다. 메토트렉세이트가 가장 널리 사용되는 DMARD이지만, 히드록시클로로퀸, 설파살라진, 금, 미노사이클린, 및 레플루노미드를 비롯한 다른 작용제가 또한 처방된다. 코르티코스테로이드가 DMARD와 조합으로 사용될 수 있지만, 일반적으로 유해 사건을 최소화하기 위해 단지 저용량으로 사용된다 (O'Dell, New Engl. J. Med. 350:2591-2603, 2004). 최근에, 염증성 시토카인을 표적으로 하는 항-시토카인 요법이 주목을 받고 있고, 효과적인 항류마티스 작용을 갖는 신규한 생물약제, 예컨대 인플릭시맙, 에타너셉트, 아나킨라 및 아틀리주맙이 개발되었다. 그러나, 현재 완전히 효과적인 치료제는 없고, 질환의 효율적인 치료 및 환자의 편안함 개선과 통증 경감이 요구되고, 환자의 일상 생활을 개선하기 위해 대체 치료법이 필요하다. 주요 치료제 중 일부를 아래에서 검토한다.

[0583] 비-스테로이드성 소염제 (NSAID). 이들 약물은 시클로옥시게나제 효소, COX-1 및 COX-2를 차단함으로써 프로스타글란딘의 생성을 억제한다. 프로스타글란딘은 염증 및 통증의 매개체이지만, 또한 위산으로부터 보호, 신장 혈류의 유지, 및 혈소판 점착성 및 혈관 기능에 기여하는 것을 포함하여 정상적인 신체 기능 유지에서 중요한 역할을 한다. COX-2 선택적 억제제는 염증에 현저한 역할을 하는 COX-2를 통해 생성된 프로스타글란딘을 선택적으로 차단한다. 많은 상이한 NSAID가 이용가능하고, 아스피린, 이부프로펜 (애드빌(Advil)®, 모트린(Motrin)®, 누프린(Nuprin)®) 및 나프록센 (알리브(Alleve)®)를 비롯한 몇몇은 일반의약품 (over the counter)이고, 멜록시캄 (모빅(Mobic)®), 에토돌락 (로딘(Lodine)®), 나부메톤(렐라펜(Relafen)®), 술린닥 (크리노릴(Clinoril)®), 톨레멘틴 (톨렉틴(Tolectin)®), 콜린 마그네슘 살리실레이트 (트리라세이트(Trilasate)®), 디클로페낙 (카타후람(Cataflam)®, 볼타렌(Voltaren)®, 아스로텍(Arthrotec)®), 디플루니살 (돌로비드(Dolobid)®), 인도메타신 (인도신(Indocin)®), 케토프로펜 (오루디스(Orudis)®, 오루베일(Oruvail)®), 옥사프로진 (데이프로(Daypro)®), 및 피록시캄 (훼덴(Feldene)®)을 비롯한 많은 다른 것들은 처방에 의해 이용가능하다. 매

일, 또는 1일 2회 투여를 허용하는 보다 장시간 작용성 NSAID는 순응도 (compliance)를 개선할 수 있다. NSAID 클래스는 또한 염증을 제어하는데 또한 효과적인 COX-2 억제제로서 공지된 약물을 포함한다 (세레콕시브, 쎄레브렉스(Celebrex)®; 에토리콕시브, 아르콕시아(Arcoxia)®; 유미라콕시브, 프렉시게(Prexige)®).

[0584] 코르티코스테로이드 (프레드니손; 메틸프레드니솔론, 메드롤(Medrol)®)는 소염 및 면역조절 활성을 모두 가진다. 이들은 경구, 정맥내, 근육내 제공될 수 있거나, 관절에 직접 주사될 수 있다. 코르티코스테로이드는 DMARD가 소염 효과를 발휘하기를 기다리는 동안 임시 보조 (adjunctive) 요법으로서 조기 질환에서 유용하다. 코르티코스테로이드는 NSAID 및 DMARD에서 잘 제어되지 않는 중증 질환에 걸린 환자에서 장기 보조 요법으로서 또한 유용하다. 프레드니손의 상용량은 1일 5 내지 10 mg이다. 프레드니손은 보다 고용량 (1일 15 내지 20 mg)에서 시작될 수 있지만, 1일 10 mg 미만으로 수주에 걸쳐 용량을 테이퍼링 (tapering)하는 시도가 이루어져야 한다. 일단 시작하면, 코르티코스테로이드 요법은 중단하기가 매우 어려울 수 있고 심지어 저용량에서도 그러하다. 일부 환자는 일반적으로 수조에 걸쳐 느리게 이루어지는 프레드니손의 테이퍼링에 매우 예민하다.

[0585] 질환 변형 항류마티스 약물 (DMARD): NSAID 및 DMARD 작용제가 모두 활동성 류마티스 관절염의 증상을 개선하지만, DMARD 작용제만이 질환 경과를 변경시키고, 방사선촬영상의 결과를 개선하는 것으로 나타났다. DMARD는 상이한 류마티스 관절염에 대해 효과가 있고, NSAID 또는 코르티코스테로이드보다 발병을 더 지연시킬 수 있다. 대부분 경우에 류마티스 관절염의 진단이 확인되면 DMARD 작용제를 시작해야 한다. 침범된 관절의 x-선 상의 침식증 (erosion) 또는 관절 공간 협소화의 존재는 DMARD 요법에 대한 명백한 지시이지만, x-선 변화가 일어나도록 기다리지 않아야 한다. 현재 이용가능한 약물은 메토트렉세이트 (류마트렉스®, 트렉살®), 히드록시클로로퀸 (플라퀘닐®), 설파살라진 (아줄피딘®), 레플루노미드 (아라바®), 종양 괴사 인자 억제제 - 에타너셉트 (엔브렐®, 아달리무맙 (휴미라®), 및 인플릭시맙 (레미케이드(Remicade)®), T-세포 동시자극 차단제 - 아바타셉트 (오렌시아®), B 세포 고갈제 - 리툭시맙 (리툭산®), 인터류킨-1 (IL-1) 수용체 길항제 요법 - 아나킨라 (키너렛®), 근육내 금, 다른 면역조절 및 세포독성제 - 아자티오프린 (이뮤란®), 시클로포스파미드, 및 시클로스포린 A (네오랄®, 산디문®)을 포함한다.

[0586] 메토트렉세이트는 현재 대부분의 RA 환자에 대한 제1선 DMARD 작용제로 간주된다. 이것은 치료 용량에서 비교적 빠른 작용 개시 (6-8주), 우수한 효능, 양호한 독성 프로필, 투여의 용이성 및 비교적 저렴한 비용의 장점을 가진다. 메토트렉세이트는 RA의 징후 및 증상을 감소시키고, 방사선촬영상의 손상을 느리게 하거나 중지시키는데 효과적이다. 메토트렉세이트는 건선성 관절염 및 다른 척추관절병증를 비롯한 많은 다른 형태의 염증성 관절염에서 또한 효과적이고, 많은 다른 자가면역 질환에서 사용된다. 투여량: 조기 RA에서 메토트렉세이트를 에타너셉트에 비교한 연구에서, 메토트렉세이트를 10 mg/주의 용량으로 시작하고, 제8주까지 20 mg/주로 증가시켰다. 훨씬 더 고용량 (15 mg/주까지)에서 시작하고 처음 3개월 이내에 20 mg로 용량 상승시키는 상기 투여 방식(들)이 현재 임상 실무에서 제법 잘 받아들여진다. 최대 용량은 대체로 25 mg/주이지만 때때로 추가로 증가된다. 메토트렉세이트는 경구로 또는 피하 주사에 의해 제공될 수 있다. 후자의 투여 경로가 메토트렉세이트-연관 메스꺼움이 있는 환자에게 유익할 수 있다. 메토트렉세이트를 시작하는 환자는 신부전, 급성 또는 만성 간 질환, 유의한 알콜 섭취 또는 알콜 남용, 백혈구감소증 (낮은 백혈구 계수), 혈소판감소증 (낮은 혈소판 계수), 또는 비치료된 폴레이트 결핍에 대해 주의깊게 평가되어야 한다. NSAID와 메토트렉세이트의 동시투여는 류마티스 관절염 환자에게 통상적이고, 간 기능 검사를 면밀하게 모니터링하는 한 류마티스학자들이 안전한 것으로 간주한다. 메토트렉세이트는 RA에 대해 거의 모든 다른 FDA 승인된 DMARD, 예를 들어 설파살라진, 히드록시클로로퀸, TNF 억제제, 아바타셉트, 리툭시맙, 아나킨라, 및 레플루노미드와 안전하게 조합될 수 있다. 메토트렉세이트를 이들 DMARD와 조합한 모든 임상 시험에서, 간에 의해 또한 대사되는 레플루노미드의 경우에 보다 큰 간독성을 제외하고는 예기치 않은 독성 또는 상승적인 독성이 관찰되지 않았다.

[0587] 히드록시클로로퀸 및 클로로퀸은 류마티스 관절염의 치료를 위한 비교적 안전하고 내약성이 좋은 작용제인 항말라리아 약물이다. 이들 약물은 단독으로는 관절 손상을 예방하는 능력이 제한되기 때문에, 이들의 사용은 아마도 매우 경증의 비침식성 질환의 환자에게 제한될 것이다. 히드록시클로로퀸은 때때로 징후 및 증상에 대한 추가의 이익을 위해 메토트렉세이트와 조합되거나 메토트렉세이트 및 설파살라진과의 "3중 요법"의 방식의 일부로서 조합된다.

[0588] 설파살라진 (아줄피딘®)은 RA의 치료를 위한 효과적인 DMARD이다. 이것은 "3중 요법"의 방식의 일부로서 메토

트렉세이트 및 히드록시클로로퀸과 함께 제공되고, 이것은 메토트렉세이트 단독에 대해 부적당한 반응을 한 환자에게 이익을 제공하는 것으로 나타났다. 설파살라진은 염증성 장 질환 및 척추관절병증의 치료에 또한 사용된다. RA에서 그의 작용 메카니즘은 알려지지 않았다. 그의 효과의 일부는 폴레이트 결핍으로 인한 것일 수 있다. 투여량: 상용량은 1일 2회 투여 방식으로 2-3 g/일이다. 용량은 1 g/일로 개시되고 견뎌질 때 증가될 수 있다.

[0589] 레플루노미드 (아라바®)는 또한 효과적인 DMARD이다. 그의 효능은 징후 및 증상의 면에서 메토트렉세이트와 유사하고, 메토트렉세이트에 실패한 또는 비내성인 환자에게 실행가능한 대안이다. 레플루노미드는 방사선촬영상의 진행을 느리게 하는 것으로 입증되었다. 연구에서는 이것은 또한 간 기능 시험을 주의깊게 모니터링하는 한 기존 간 질환이 없는 환자에서 메토트렉세이트와 주의깊게 조합될 수 있음을 입증하였다. 레플루노미드는 또한 건선성 관절염에서 연구되었고, 몇몇 효능이 입증되었다. 투여량: 레플루노미드의 활성 대사체의 반감기는 매우 길다. 레플루노미드 및 그의 대사체는 광범하게 단백질 결합되고, 분비 전에 추가의 대사를 거친다. 초기에 승인될 때, 의약은 3일 동안 1일 100 mg의 부하 (loading) 용량을 사용하여 제공된 후, 1일 20 mg 제공된다. GI 부작용 및 설사의 유의한 발병 때문에, 대부분의 의사는 현재 보다 저용량으로 보다 짧은 부하 기간을 이용하거나, 부하 용량 없이 10-20 mg/일에서 치료를 개시한다. 20 mg 용량에서 견뎌지지 않으면 용량을 1일 10 mg로 감소시킬 수 있다.

[0590] 종양 괴사 인자 (TNF) 억제제. TNF는 류마티스 관절에서 대량으로 발견되고, 관절 활막을 침윤하는 활막 대식세포 및 림프구에 의해 관절 내에서 국소 생산된다. TNF는 관절에서 많은 세포에 대한 그의 활성 및 다른 장기 및 신체 시스템에 대한 효과 때문에 관절 손상 및 파괴를 매개하는 중대한 시토카인 중 하나이다. TNF 길항제는 RA의 치료를 위해 승인된 생물학적 DMARD 중 최초 것이고, 또한 이들을 메토트렉세이트, 레플루노미드 또는 설파살라진과 같은 다른 DMARD와 구별하기 위해 생물학적 반응 변경제 또는 "생물학제"로서 언급되었다. 3가지 TNF 길항제가 RA의 치료를 위해 승인되어 있고, 추가의 작용제가 조사되고 있다. 이들 약물은 RA의 징후 및 증상을 감소시키고, 방사선촬영상의 손상을 느리게 하거나 중지시키고, 기능 및 삶의 질을 개선하는데 있어서 그들의 효능이 유사하다. 이들 작용제는 또한 건선성 관절염, 소아 특발성 관절염 및 강직성 척추염을 비롯한 다른 형태의 염증성 관절염의 치료를 위해 현재 승인되어 있다. RA의 치료를 위해 FDA 승인된 3개의 TNF 억제제가 현재 존재한다 (RA에 대해 승인된 순서로 나열한다); 에타너셉트 (엔브렐®), 인플릭시맙 (레미케이드®), 및 아달리무맙 (휴미라®).

[0591] 에타너셉트 (엔브렐®)은 단독요법으로서 또는 메토트렉세이트와 조합으로 사용될 때 RA의 징후 및 증상을 감소시키는데 및 방사선촬영상의 손상을 느리게 하거나 중지시키는데 효과적이다. 에타너셉트는 또한 건선성 관절염의 치료를 위해 및 강직성 척추염 및 건선에 대해 승인되어 있다. 에타너셉트는 p75 형태의 TNF 수용체의 2개의 세포외 결합 도메인을 인간 IgG1 항체 분자의 Fc 부분과 결합시킨 융합 단백질이다. 단백질의 성분들은 전적으로 인간의 것이고, 항-에타너셉트 항체는 비교적 일반적이지 않다. 투여량: 현재 사용되는 가장 일반적인 용량은 피하 주사에 의해 매주 1회 자가-투여된 50 mg이다. Both 프리필드 시린지 (prefilled syringe) 및 자가주사 시스템 (슈어클릭(SureClick)®)이 이용가능한. 에타너셉트는 또한 25 mg 용량으로 이용가능하고, 이것은 상기 용량에서 매주 2회 투여된다. 간헐적 또는 때때로 투여는 연구되지 않았다. 50 mg/주를 초과하는 용량에서 안전성 또는 효능에 대한 정보는 제한된다. 에타너셉트는 25 mg 용량 후에 반감기가 70시간이다.

[0592] 인플릭시맙 (레미케이드®): 메토트렉세이트와 조합으로, RA의 치료를 위해 및 건선성 관절염 및 강직성 척추염 뿐만 아니라 건선 및 크론 질환의 치료를 위해 승인되어 있다. 인플릭시맙은 높은 친화도 및 특이성으로 TNF에 결합하는 키메릭 모노클로날 항체이다. TNF에 대한 항체 결합 부위는 마우스 기원의 것이고, 나머지 75%의 인플릭시맙 항체는 인간 IgG1 항체 서열로부터 유래한다. 인플릭시맙은 단독요법으로서 RA의 징후 및 증상을 감소시키는데 효과적이지만, 항-인플릭시맙 항체가 나타날 수 있고, 이것은 다시 반응의 지속성을 감소시킬 수 있는. 메토트렉세이트와의 동시-치료는 이들 항체의 빈도를 감소시키고, 따라서 인플릭시맙과 함께 권장된다. 인플릭시맙 및 메토트렉세이트의 조합은 질환의 임상 소견을 감소시키는데 및 RA에서 질환의 방사선촬영상의 진행을 느리게 하거나 중지시키는데 매우 효과적이다. 투여량: 인플릭시맙은 정맥내 경로로 투여된다. 주입은 대개 2-3시간 소요된다. 인플릭시맙의 권장 출발 용량은 정맥내 주입으로서 RA에 대해 3 mg/kg이고, 이어서 2주 및 6주에 추가 투여한 후, 그 후 8주마다 투여한다. 인플릭시맙은 메토트렉세이트와 조합으로 제공되어야 한다. 출발 용량에서 임상 반응이 부적당하면, 인플릭시맙은 점증적으로 10 mg/kg의 최대 용량으로 증가될 수 있고, 주입 빈도는 4-6주마다로 증가될 수 있다.

[0593] 아달리무맙 (휴미라®)는 TNF에 대한 높은 특이성을 갖는 완전 인간 항-TNF 모노클로날 항체이다. 다른 TNF 길항제처럼, 이것은 RA의 징후 및 증상을 감소시키는데 및 질환의 방사선촬영상의 진행을 느리게 하거나 정지시키는데 단독요법으로서 및 메토트렉세이트와 조합으로 효과적이다. 이것은 피하 주사로 2주마다 투여되지만, 필요한 경우에 매주 투여로 증가될 수 있다. 아달리무맙은 RA, 건선성 관절염 및 강직성 척추염과 크론 질환에 효과적이다. 투여량: 아달리무맙은 현재 40 mg 용량으로 이용가능하고, 2주마다 자가-투여되는 피하 (SC) 주사로 제공된다. 프리필드 시린지 및 자가주사기 시스템 (휴미라 펜(Huimira Pen)®)이 모두 이용가능하다. 상기 용량의 반응이 부적당하면, 주사 빈도를 매주로 증가시킬 수 있다. 아달리무맙은 표준 40 mg 용량에서 반감기가 약 2주 (10-20일 범위)이다.

[0594] T-세포 동시자극 차단: 아바타셉트 (오렌시아®): 아바타셉트는 T-세포 동시자극 차단제로서 공지된 작용제 클래스의 최초이다. 이들 작용제는 항원-제시 세포 및 T 림프구 사이의 상호작용을 저해하고, 류마티스 관절염에서 발병 사건 케스케이드의 조기 기에 영향을 미친다. T 림프구는 미지의 자극 때문에 활성화되지만, 아마도 항원 제시 세포의 표면 상의 클래스 II 주조직적합성 복합체 분자의 맥락에서 제시된 항원 사이의 상호작용을 수반한다. T 세포는 항원을 외래의 것으로 인식하고, 이들이 제2 자극을 받으면 활성이 되고, 증식하고, 염증이 생긴 부위로 몰리고, TNF를 비롯한 염증유발성 시토카인을 분비할 것이다. T 세포 활성화에 대한 중요한 제2 신호 중 하나는 항원 제시 세포 상에서 발견된 분자 CD80 및 CD86, 및 T 세포 표면 상의 CD28 분자에 의해 매개된다. 투여량: 아바타셉트는 기준선, 2주 및 4주에서 초기 투여 후 매달 1회 정맥내 주입을 통해 투여된다. 용량은 체중을 기반으로 하고, 이때 <60 kg의 환자는 500 mg을, 60-100 kg의 환자는 750 mg을, >100 kg의 환자는 1000 mg을 투여받는다. 의약은 약 30분 내지 1시간에 걸쳐 투여된다.

[0595] B-세포 고갈: 리툭시맙 (리툭산®): B 세포는 면역 반응에서 다수의 기능을 하는 중요한 염증성 세포이다. 이들은 항원 제시 세포로서 역할을 하고, 시토카인을 분비할 수 있고, 항체-형성 혈장 세포로 분화한다. B 세포의 고갈은 RA의 징후 및 증상을 감소시키고 방사선촬영상의 진행을 느리게 하는데 효과적인 것으로 나타났다. 한 가지 B 세포 고갈제인 리툭시맙이 류마티스 관절염의 치료를 위해 현재 이용가능하다. 리툭시맙 (리툭산®)은 원래 비-호지킨 (non-Hodgkin) 림프종을 치료하기 위해 개발되었고, 수년 동안 림프구 및 림프절의 상기 악성 병태를 치료하기 위해 사용되어 왔다. 류마티스 관절염 환자에서 조기 연구는 리툭시맙이 순환계에서 순환 B 세포의 빠르고 지속적인 고갈을 일으켰고 많은 환자에서 임상 개선을 또한 일으킴을 보여주었다. 추가의 임상 연구는 현재 리툭시맙이 다른 DMARD 요법에 실패한 RA 환자에서 징후 및 증상을 감소시키고 방사선촬영상의 진행을 느리게 하는데 효과적임을 입증하였다. 상기 작용제는 US에서 현재 승인되어 있지만, 단지 TNF 길항제에 실패한 환자에 대해서이다. 투여량: 현재 승인된 용량은 2주 간격으로 2회 투여되는, 3-4시간에 걸쳐 정맥내 투여되는 1000 mg이다. 환자는 대개 각각의 주입에 정맥내 코르티코스테로이드를 투여받고, 디펜히드라민 및 아세트아미노펜을 예비투여한다. 재투여를 위한 최적 시간은 아직 명확하지 않다. 몇몇은 6개월마다 고정된 투여 방식을 주장하고, 다른 몇몇은 재치료 전에 환자가 표출하기 시작할 때까지 기다리도록 주장한다. 재투여 스케쥴을 평가하기 위해 연구가 진행중이다. B 세포 고갈의 정도 및 지속기간은 효능과 명백하게 상호관련되지 않았다. 또한, 정상적인 수준의 B 세포의 재구성은 효능의 상실과 잘 상호관련되지 않았다.

[0596] 인터류킨-1 (IL-1)은 RA의 발병기전에 관련되는 또다른 염증유발성 시토카인이다. IL-1 수용체 길항제 (IL1ra)는 시토카인의 내인성 차단제이다. 생체 내에서 IL-1ra의 소염 역할을 지지하는 증거는 that IL-1ra 결핍 마우스가 자발적으로 류마티스 관절염 및 혈관염과 유사한 자가면역 질환을 발병한다는 관찰에 의해 입증된다. IL1은 복구를 억제할 뿐만 아니라 손상을 일으키는 연골 파괴에 효과가 있고, 뼈 침식증을 일으키는 파골세포에 대한 강력한 자극이다. 한가지 IL1 길항제인 아나킨라 (키너렛®)가 RA의 치료를 위해 현재 승인되어 있다. 다른 작용제가 RA에서 또한 연구되고 있다.

[0597] 아나킨라 (키너렛®): 인간 재조합 IL-1 수용체 길항제 (hu rIL-1ra)는 RA의 치료를 위해 승인되어 있다. 아나킨라는 단독으로, 또는 TNF 차단제 (에타너셉트, 인플릭시맙, 아달리무맙) 이외의 DMARD와 조합으로 사용될 수 있다. 연구에서 추가의 임상적 이익 없이 감염 증가를 보여주었으므로 아나킨라는 TNF 억제제와 조합으로 사용하도록 권장되지 않는다. 투여량: 아나킨라의 권장 용량은 피하 주사에 의해 매일 투여되는 100 mg/일이다. 용량은 매일 대략 동일한 시간에 투여되어야 한다. 의약에 대해 자가주사 시스템이 이용가능하다.

[0598] 근육내 금이 류마티스 관절염의 치료에 효과적이다. 근육내 금염은 1990년대까지 가장 자주 사용된 DMARD 작용제이지만, RA를 치료하기 위한 바람직한 작용제로서 메토트렉세이트 및 다른 DMARD에 의해 대체되었다. 2가지

주사가능 화합물이 이용가능하다 (미오크리신(Myochrysine)® 및 솔가날(Solganal)®). 금 화합물은 그들의 수많은 부작용 및 모니터링 요건, 제한된 효능, 및 매우 느린 작용 개시 때문에 현재 드물게 사용된다. 경구 금 화합물 (오라노핀 (Auranofin)®)이 또한 이용가능하지만, 그 효능은 주사가능 화합물보다 훨씬 더 제한된다. 투여량: 미오크리신 또는 솔가날 요법은 근육내 10 mg에서 시작하고, 이어서 제2주에 25 mg을, 이어서 반응이 일어날 때까지 또는 총 1 g이 제공될 때까지 50 mg을 매주 제공한다. 양호한 반응이 있으면, 요법을 3개월 동안 2주마다, 이어서 3개월 동안 3주마다 50 mg, 이어서 마지막으로 매달 유지 용량으로 테이퍼링한다. 총 1 g 후에 반응이 없으면 치료 실패로서 간주해야 한다. 매달 금은 무기한 지속해야 한다.

[0599] 다른 면역조절 및 세포독성제: 가장 흔히 사용되는 세포독성 약물은 아자티오프린 (이뮤란®), 시클로스포린 A (산디문®, 네오랄®), 시클로포스파미드 (싸이톡산(Cytoxan)®) 및 디-페니실아민 (d-Penicill아민)이다. 높은 독성 가능성 때문에, 이들 작용제는 대개 RA의 생명을 위협하는 관절외 소견, 예컨대 전신 혈관염에 대해 또는 다른 요법에 불응성인 중증 관절 질환에 사용된다.

[0600] 아자티오프린 (이뮤란®)은 류마티스 관절염에 일부 활성을 갖지만, 효과를 보기 위해 8-12주 투여해야 한다. 이것은 골수 억제 및 특히 신부전 환자에서 또는 알로푸리놀 또는 ACE 억제제를 병용할 때 혈액 세포 계수 (백혈구, 적혈구 및 혈소판)의 저하를 일으킬 수 있는 퓨린 유사체이다. 아자티오프린으로 인한 2차 악성종양의 위험 증가가 논란이 되고 있다. 아자티오프린을 사용한 요법을 개시하기 전에 효소 티오퓨린 메틸트랜스퍼라제 (TPMT) 수준에 대한 스크리닝이 권장된다. 특정 개체는 아자티오프린을 대사시키는 상기 효소가 결핍되고, 따라서 의약에 대한 독성의 위험 증가가 수반된다. 부작용은 메스꺼움 및 탈모를 포함한다. 아자티오프린을 사용 중인 환자에 대해 혈액 계수를 모니터링하기 위한 혈액 시험 및 간 기능 검사가 필요하다.

[0601] 시클로스포린 (산디문®, 네오랄®)은 류마티스 관절염에 질환 변형 요법으로서 일부 활성을 갖는다. 연구에서는 시클로스포린이 임상 반응을 얻기 위해 RA 환자에서 메토트렉세이트와 조합될 수 있음을 입증하였다. 이것은 신장 및 간 이식 거부를 예방하는데 사용하기 위해 승인된 면역억제제이고, 또한 건선 및 다른 자가면역 질환에 활성이 있다. 시클로스포린은 인터류킨-2의 전사를 억제함으로써 T 세포 기능을 억제한다. 주요 독성은 감염 및 신부전을 포함한다. 혈압 증가가 흔하고 치료를 필요로 할 수 있다. 환자가 시클로스포린을 투여받는 전체 기간에 대해 신장 기능 및 혈압의 주의깊은 모니터링이 필요하다. 수많은 의약 상호작용이 시클로스포린의 혈액 수준에 영향을 미치고 더 많은 독성을 일으킬 수 있다. 포장 삽입물은 이들 의약 상호작용에 관한 중요한 정보를 포함하고 있다. 시클로스포린은 감염 위험을 증가시키고, 또한 림프종을 포함한 악성종양의 위험을 증가시킬 수 있다.

[0602] 시클로포스파미드 (싸이톡산®)는 불응성 류마티스 관절염의 중증 사례 및 혈관염과 같은 소견이 있는 사람에 대해 지정된 강력한 면역억제제이다. 이것은 루푸스 및 혈관염을 비롯한 다른 자가면역 병태의 치료에 사용된다. 시클로포스파미드는 골수 억제, 출혈성 방광염, 조기 난소 기능상실, 감염 및 2차 악성종양, 특히 방광암의 위험 증가를 비롯한 중증 독성을 갖는 알킬화제이다. 상기 의약의 사용 시에 혈액 계수를 주의깊게 모니터링해야 한다.

[0603] 디-페니실아민 (큐프리민(Cuprimine)®, 데펜(Depen)®)은 조직학상으로 류마티스 관절염에 대한 치료제로서 일부 활성이 있다. 이것은 다른 이용가능한 DMARD에 실패한 지속적인 침습 질환이 있는 환자에 대해 주로 처방된다. 금처럼, 이것은 다른 현재 이용가능한 작용제만큼 강건하지 않은 효능 및 내약성 문제 때문에 제한된 효용성을 갖는 비교적 독성 약물이다. 주요 부작용은 중증 발진 및 신장 기능에 대한 영향을 포함한다. 상기 약물 사용 시에 신장 기능의 주의깊은 모니터링이 요구된다. 디-페니실아민을 섭취할 때 환자는 루푸스 유사 질병 또는 다른 자가면역 질환을 발병할 수 있다.

[0604] 현재 개발중인 다른 DMARD 화합물, 예컨대 VX-702, 오크레리주맙, SYK 키나제를 표적으로 하는 화합물, 예컨대 포스티마티닙 (R788) 및 JAK1, JAK2 억제제, 예컨대 INCB28050, 타네주맙 또는 타소시티닙 (CP-690,550)이 또한 본 발명에 따른 치료 방법와 조합에 적합하다.

[0605] DMARD는 미코페놀레이트 모페틸 (셀셉트(CellCept)), 칼시뉴린 억제제, 시클로스포린, 시롤리무스, 에베로리무스, 경구 레티노이드, 아자티오프린, 푸메르산 에스테르, 디-페니실아민, 시클로포스파미드, 면역흡착 컬럼, 프로소르바(Prosorba)® 컬럼, 금염, 오라노핀, 나트륨 오로치오말레이트 (미오크리신(Myocrisin)), 히드록시클로로퀸, 클로로퀸, 레플루노미드, 메토트렉세이트 (MTX), 미노사이클린, 설파살라진 (SSZ), 종양 괴사 인자 알파

(TNFα) 차단제, 에타너셉트 (엔브렐), 인플릭시맙 (레미케이드), 아달리무맙 (휴미라), 세르톨리주맙 페골 (심지아), 골리무맙 (심퍼니(Simponi)), 인터류킨 1 (IL-1) 차단제, 예를 들어, 아나킨라 (키너렛), B 세포에 대한 모노클로날 항체, 리툭시맙 (리툭산), T 세포 동시자극 차단제, 아바타셉트 (오렌시아), 인터류킨 6 (IL-6) 차단제, 토실리주맙 (로악템라(RoActemra) 및 악템라(Actemra))로 이루어진 군 중에서 선택될 수 있다.

[0606] *항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 사용한 치료*

[0607] 질환의 존재, 병기, 진전 또는 등급 결정을 평가하기 위해 RA가 있는 환자를 평가할 수 있다. 임의로, 생물학적 샘플 (예를 들어, 활막액)을 얻고, 염증유발성 매개체 또는 활동성 염증의 다른 마커의 존재, 및/또는 T 세포 (예를 들어, CD4+ T 세포)의 존재에 대해 평가한다. 한 실시양태에서, 자가항체의 존재는 예를 들어, 류마티스 인자 (RhF), 항-환식 시트룰린화 펩티드 항체, 항-ssRNA, 항-dsRNA, 항-스미쓰 (Smith), 항-인지질, 항-핵 및/또는 항-액틴 항체를 검출함으로써 검출된다. 한 실시양태에서, 방법은 단백질분해 효소, 염증성 매개체, 진행중인 염증의 마커, 또는 염증유발성 시토카인의 수준을 평가하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 방법은 c-반응성 단백질 (CRP) 수준 및/또는 적혈구 침강 속도를 결정하는 것을 포함한다. 환자가 RA가 있다는, 또는 염증유발성 매개체 또는 활동성 염증의 다른 마커, 및/또는 T 세포 (예를 들어, 침윤성 T 세포, HLA-cw3 및/또는 cw4 양성 T 세포)가 존재한다는 (예를 들어, 염증이 생긴 조직 내에), 또는 그 질환이 급성, 만성, 표출을 겪거나 진행한다는 결정은 환자가 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 사용하여 치료될 수 있음을 나타낸다.

[0608] RA가 있고/있거나, 임의로 활동성 염증 및/또는 확립된 또는 만성 RA가 있고/있거나, 표출을 겪는 환자는 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 사용하여 치료된다. 바람직하게는, 확립된 RA는 1년에 걸쳐 진행되는, 또는 1년 미만 동안 진행되었지만 제1 질환 변형 항류마티스 약물 (DMARD)에 비반응성인 RA로서 특징지을 수 있다. 확립된 RA는 또한 DAS 또는 CAS 기준을 이용하여 평가할 수 있다. "RA 및 관련 질환"은 예를 들어 상공막염, 기흉, 색전증 및 허혈 피부 궤양과 같은 류마티스 관절염의 발병 또는 진전으로부터 유발 또는 유래할 수 있는 질환을 나타낸다.

[0609] 본 발명에 따른 항체는 상기 나열한 것과 같은 또다른 RA 치료와 조합으로 투여될 수 있다.

[0610] 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 피하, 정맥내, 근육내, 관절내, 활막내, 흉골내, 경막내, 간내, 병변내 및 두개내 경로를 통해 주사 또는 주입될 수 있다. 한 실시양태에서, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 바람직하게는 염증의 부위에서 관절내 투여된다.

[0611] 다발성 경화증

[0612] 다발성 경화증 (MS)은 중추신경계 (CNS)의 만성 염증성 질환이고, 여기서 뇌 및 척수의 액손 둘레의 지방 수초가 손상되어, 탈수초 및 흉터형성과 광범한 징후 및 증상을 일으킨다. 병태생리적 원인은 알려지지 않고 남아 있지만, 상이한 이론들은 유전학 또는 감염에 원인을 두고 있다. 상이한 환경적 위험 인자가 또한 제안되었다. 임상 소견은 면역-적격 세포에 의한 중추신경계의 침윤과 연관된다. 미엘린 염기성 단백질과 같은, 신경항원을 향해 작용성인 특이적 T 세포 집단이 말초에서 나타날 수 있다. 대부분의 임의의 신경학적 증상이 질환과 함께 나타날 수 있고, 종종 신체 및 인지 장애로 진행한다. MS는 2가지 형태로 진행한다: 새로운 증상이 분리된 공격으로 일어남 (재발 형태) 또는 시간에 걸쳐 느리게 누적함 (진행 형태). 공격들 사이에, 증상은 완전히 사라질 수 있지만, 특히 질환이 진전함에 따라 영구적인 신경학적 문제가 종종 일어난다.

[0613] *질환 평가 및 등급 결정*

[0614] 몇 가지 아형, 또는 진행의 패턴이 설명되었다. 아형은 미래의 경과를 예측하기 위한 시도로 질환의 과거 경과를 이용한다. 이것은 예후뿐만 아니라 치료 결정을 위해서도 중요하다. 1996년에, 미국 국립 다발성 경화증 협회 (United States National Multiple Sclerosis Society)에서는 4가지 아형 정의를 표준화하였다: 재발 완화형, 2차 진행형, 원발성 진행성, 및 진행성 재발.

[0615] 재발-완화형 아형은 예측가능하지 않은 재발에 이어 질환 활성의 새로운 징후가 없는 수개월 내지 수년의 완화 기간을 특징으로 한다. 이것은 MS가 있는 개체의 80%의 초기 경과를 설명한다. 2차 진행형 MS는 초기 재발-완화형 MS가 있는 개체의 대략 65%를 설명하고, 이후 임의의 분명한 완화 기간 없이 급성 공격 사이에 진행성 신경학적 감퇴가 나타나기 시작한다. 때때로 재발 및 근소한 완화가 나타날 수 있다. 질환 발병 및 재발-완화형으로부터 2차 진행형 MS로의 전환 사이의 중간 시간은 19년이다. 1차 진행형 아형은 그의 초기 MS 증상 후 완화를 겪지 않은 개체의 약 10-15%를 설명한다. 이것은 때때로 및 근소한 완화 및 개선만 있거나 없이 발병부터 장애의 진행을 특징으로 한다. 1차 진행형 아형의 발병 연령은 재발-완화형보다 더 늦지만, 재발-완화형 및 2

차 진행형 사이에서 진행의 평균 연령은 유사하다. 두 경우 모두에서 대략 40세이다. 진행성 재발 MS는 발병부터 꾸준한 신경학적 감퇴를 겪지만 또한 명백한 중첩된 공격으로 고통받는 개체를 설명한다. 이것은 모든 아형 중 가장 적은 것이다. 다발성 경화증은 진행성 신경학적 감퇴에 의해 또는 급성 공격에 의해, 또는 MS 종류에 따라 둘의 조합에 의해 발달한다. MS의 증상은 피로, 시력 문제, 예컨대 흐린 시력 또는 복시, 저림, 마비, 또는 작열감, 근육 쇠약, 강직, 진전 (tremor), 및 연축, 걸음 및 보행 문제, 방광 및 장 기능장애, 성기능장애, 인지 및 기억 문제, 삼킴 및 언어 문제, 통증 또는 우울증을 포함한다. 이들 증상은 공격 동안 악화하는 반면, 환자의 전반적인 상태는 감퇴한다. 비-표준 행동을 갖는 MS의 대표적인 변이형이 설명되었고; 이들은 데빅 질환, 발로 동심 경화증, 쉴더 (Schilder) 광범위 경화증 및 발버그 (Marburg) 다발성 경화증을 포함한다.

[0616] 다발성 경화증 진단은 상이한 기준을 이용하여 확립된다. 조직학상으로, 슈마허 (Schumacher) 및 포저 (Poser) 기준이 널리 사용되었다. 현재, IMR 영상화를 이용하는 미국 국립 다발성 경화증 협회 (NMSS)에 의해 확립된 맥도날드 (McDonald) 기준이 보다 오래된 기준을 대체하는 경향이 있다 (McDonald WI, Compston A, Edan G, et al. (2001), Ann. Neurol. 50(1): 121-7).

[0617] *현재 치료 선택*

[0618] 다발성 경화증을 치료하는데 환자 및 의사가 고려하는 많은 문제가 존재한다. 목표는 공격으로부터 회복의 속도를 개선하고 (예를 들어 스테로이드 약물을 사용한 치료); 공격의 수 또는 MRI 병변의 수를 감소시키고; 질환의 진행을 느리게 하기 위한 시도하는 (질환 변형 약물 또는 DMD를 사용한 치료) 것을 포함할 수 있고, 하나의 추가의 목표는 침범된 장기의 기능 상실로 인한 합병증으로부터 경감이다.

[0619] 대부분의 신경학자는 일단 재발 완화형 다발성 경화증의 진단이 확립되면 DMD를 사용한 치료를 고려할 것이다. 임상 시험에서 치료가 지연된 환자는 조기에 치료한 환자만큼 이익을 받지 못할 수 있음을 제안하므로, 많은 사람이 최초 다발성 경화증 공격의 시점에 치료를 시작할 것이다.

[0620] 환자는 염증 과정의 정도를 제한하기 위해 아자티오프린 및 코르티코스테로이드를 비롯한 면역억제 요법을 받는다. 그러나, 다발성 경화증의 면역억제 요법은 단지 부분적으로 효과적이고, 대부분 경우에 소염 및 면역억제 치료에도 불구하고 질환 진행의 지연만을 제공한다. MS에 대한 현재의 질환-변형 치료는 특히 IFNβ-1a (아보넥스(Avonex)®, 시노벡스(CinnoVex)®, 레시젠(ReciGen)®, 레비프(Rebif)®), IFNβ-1b (베타세론(Betaseron)®, 베타페론(Betaferon)®), 비-인터페론, 비-스테로이드성 면역조절제인 글라티라머 아세테이트 (코팍손(Copaxone)®), 미톡산트론, 면역억제제, 나탈리주맙 (타이사브리 (Tysabri)®), 핀골리모드 (길레니아(Gilenia)®)이다. 많은 치료제가 조사되고 있다. 2상 시험에서 유망한 것으로 나타난 RRMS에 대해 유망한 작용제는 알렘투주맙 (캠파스(Campath)®), 다클리주맙 (제나팍스(Zenapax)®), 리툭시맙, 디루코티드, BHT-3009, 클라드리빈, 디메틸 푸마레이트, 에스트리올, 핀골리모드, 라퀴니모드, 미노사이클린, 스타틴, 템시롤리무스 및 테리플루노미드를 포함한다.

[0621] *항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 사용한 치료*

[0622] 임의로, 제1 단계에서 환자의 질환을 평가할 수 있다. 이어서, 환자를 적절한 방식으로 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체로 치료한다. 질환의 존재, 병기, 진전 또는 등급 결정을 평가하기 위해 MS가 있는 환자를 평가할 수 있다. 한 유리한 측면에서, 활동성 염증, 및/또는 확립된 또는 만성 MS가 있는 것으로 결정되고/되거나 표출을 겪는 환자를 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체로 치료한다. 바람직하게는, 확립된 MS는 진행성 신경학적 감퇴가 있는 MS, 예컨대 2차 진행형, 원발성 진행성 또는 진행성 재발형 질환으로서 특징지을 수 있다. 별법으로, "확립된 MS"는 1년에 걸쳐 진행되는, 또는 1년 미만 동안 진행되었지만 제1선 치료제에 비반응성인 MS를 나타낸다. 바람직하게는, 표출은 다발성 경화증에 관련된 증상의 악화로서 규정되고, 임의로 상기 표출은 환자의 전반적인 상태의 감퇴를 일으킨다. 본 발명의 또다른 측면은 확립된 MS를 치료하거나, MS 공격을 감소 또는 폐지시켜, 환자의 건강 및 편안함을 개선할 수 있는 조성물을 제공하는 것이다.

[0623] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 상기 나열된 것과 같은 또다른 MS 치료제와 조합으로 투여된다.

[0624] 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 피하, 정맥내, 근육내, 관절내, 활막내, 흉골내, 경막내, 간내, 병변내 및 두개내 경로를 통해 주사 또는 주입될 수 있다.

[0625] *장의 만성 염증성 질환 (CIDI) - 크론 질환 - 직장결장염*

[0626] 장의 만성 염증성 질환은 위장관에 침범하는 일련의 질환이다. 가장 일반적인 CIDI는 궤양성 결장염, 크론 질환, 염증성 장 질환, 국소 장염, 직장결장염 및 육아종성 회장결장염이다.

[0627] *질환 평가 및 등급 결정*

[0628] 진단 시험은 비침습적 검사실 시험 (빈혈 및 감염, 간 및 담관 문제에 대한 스크리닝을 위한 간 기능 시험, 및 세균, 바이러스 및 기생충 감염을 배제하기 위한 대변 연구), 내시경, 내시경 초음파 (EUS), 캡슐 내시경, 방사성촬영, 예컨대 다위상 CT 장운동기록법, MR 장운동기록법 (MRE)을 포함한다.

[0629] 장의 만성 염증성 질환은 채점하기가 다소 어렵다. 직장결장염에서, 대장내시경은 대장 내에서 상처의 꽤 안전한 관찰을 제공할 수 있지만, 크론 질환에서 상처가 식도로부터 직장까지 어디에나 나타날 수 있기 때문에, 환자 평가는 얻기가 훨씬 더 어렵다. 크론 질환을 평가하기 위한 채점 시스템이 설정되었다: 크론 질환 활성 지수 (CDAI, 검토를 위해 문헌 [Sandborn WJ et al. Gastroenterology 2002; 112: 512] 참조). 점수는 0 내지 600 범위이다. 150점 미만에서, 환자는 "매우 양호한" 것으로 채점된다. 150 내지 219점에서 질환은 경등 활동성이고, 220 내지 449점에서 질환은 중등도 활동성이다. 450점 초과에서 질환은 매우 중증인 것으로 등급 결정된다. 그러나, 상기 채점은 환자 의존적일 수 있고, 보다 최근에 단층음영측정 (tomodensitometry)에 의해 확립된 점수와 같은 보다 정확한 과학적인 값을 통해 환자의 질환을 채점하기 위해 또다른 채점 시스템인 크론 질환 소화성 손상 점수 (CD_3S) 또는 레만 (Lemann) 점수가 확립되었다 (Pariente B. et al. Development of the Crohn's Disease Digestive Damage score, the Lemann score Innflamm Bowel Dis 2010; Nov 28).

[0630] 크론 질환은 또한 급표출로서 공지된 위기로부터 전개한다. 급표출은 경증이거나 중증, 일시적이거나 장기적일 수 있다. 상기 급표출 또는 공격은 150점 초과, 219점 초과, 449점 초과의 CDAI 점수와 연관될 수 있다. 중증 급표출은 격통, 탈수 및 혈액 손실을 일으킬 수 있다. 재발 염증은 장의 동일한 영역에 나타나는 경향이 있지만, 이환된 절편을 수술에 의해 제거한 후에 인접한 영역으로 퍼질 수 있다. 크론 질환이 위장관 증상의 급표출을 일으킬 때, 사람은 또한 관절의 염증 (관절염), 눈 흰자위의 염증 (상공막염), 구내염 (아프타성 구내염), 팔 및 다리에 염증이 생긴 피부 결절 (결절성 홍반), 및 고름을 담은 청홍 피부 욕창 (괴저성 농피증)을 겪을 수 있다. 심지어 크론 질환이 위장관 증상의 급표출을 일으키지 않는 경우에도, 사람은 여전히 괴저성 농피증을 겪을 수 있는 한편, 전적으로 장 질환의 임상 활성과 관련없이 척추의 염증 (강직성 척추염), 골반 관절의 염증 (천골장골염), 눈 내부의 염증 (포도막염), 또는 담관의 염증 (원발성 경화성 담관염)이 일어나기 쉽다.

[0631] *현재 치료 선택*

[0632] 현재 치료 선택은 증상을 제어하고, 완화를 유지하고, 재발을 방지하는 것으로 제한된다. 크론 질환의 치료는 먼저 질환의 급성 증상을 치료한 후, 완화를 유지하는 것을 포함한다. 치료는 처음에 감염을 제거하고 (일반적으로 항생제), 염증을 감소시키기 (일반적으로 아미노살리실레이트 소염 약물 및 코르티코스테로이드) 위해 의약의 사용을 포함한다. 폐쇄 또는 농양과 같은 합병증에 대해, 또는 질환이 적당한 시간 내에 약물에 반응하지 않으면 수술이 요구될 수 있다.

[0633] 아미노살리실레이트 소염 약물: 메살라진 또는 메살라민 (리알다(Lialda)®, 아사콜(Asacol)®, 펜타사(Pentasa)®, 살로팔크(Salofalk)®, 디펜텀(Dipentum)® 및 로와사(Rowasa)®), 설파살라진 (장 세균에 의해 5-ASA 및 설파피리딘으로 전환됨). 설파피리딘은 류마티스 관절염에서 일부 치료 효과가 있을 수 있다. 그러나, 설파피리딘 성분은 높은 부작용 프로필 때문에 크론 질환의 치료에서 종종 제한 인자이다. 5-ASA 화합물은 경증-내지-중등도 크론 질환의 치료에 유용한 것으로 나타났다. 이들은 특히 코르티코스테로이드에 비해 더 적은 부작용 프로필 때문에 대체로 대장의 우측면 및 회장의 질환에 대한 제1선 요법인 것으로 간주된다.

[0634] 코르티코스테로이드 소염 약물: 직장 질환 증상의 치료에 스테로이드 관장액이 사용될 수 있다. 코르티코스테로이드는 주로 크론 질환의 중등도 내지 중증 표출 또는 공격의 치료를 위해 사용되는 소염 약물의 종류이다. 부작용이 더 적은 효과적인 치료제의 이용가능성 때문에 이들은 보다 적게 사용된다. 가장 흔히 처방되는 경구 스테로이드는 프레드니손이고, 완화의 유도를 위해 대개 0.5 mg/kg로 투여된다. 정맥내 스테로이드는 경구 스테로이드에 불응성인 경우에 또는 경구 스테로이드를 섭취할 수 없는 경우에 사용된다. 코르티코스테로이드는 감염에 대해 싸우는 능력을 감소시키기 때문에, 스테로이드의 개시 전에 활동성 감염, 특히 복강내 농양이 없는지 확인하도록 주의해야 한다. 부데소니드는 제한된 흡수 및 높은 수준의 초회 통과 대사 (이것은 보다 적은 양의 스테로이드가 혈류로 들어감을 의미한다)가 있는 경구 코르티코스테로이드이다. 이것은 경증-내지-중등도 크론 질환의 치료에서, 및 크론 질환에서 완화의 유지를 위해 유용한 것으로 밝혀졌다. 엔토코트(Entocort)®로

서 제제화된 부데소니드는 회장 및 우측 대장에서 방출되고, 따라서 그 영역의 질환에 대한 국소 효과를 가진다. 부데소니드는 활동성 크론 질환에 대해 항생제와 조합으로 사용될 때 또한 유용하다.

[0635] 메르캅토퓨린 면역억제성 약물: 아자티오프린 (본원에 정제 형태로 제시됨)은 제1선 스테로이드-보존 면역억제제이다. 아자티오프린 및 6-메르캅토퓨린 (6-MP)은 크론 질환의 유지 요법을 위해 가장 많이 사용되는 면역억제제이다. 이들은 퓨린 항대사물질 (염증성 세포에 요구되는 퓨린의 합성을 저해하는 것을 의미함)이다. 이들은 작용 지속기간가 수개월이고, 따라서 완화의 유도를 위해 이들을 사용하기에는 거추장스럽다. 두 약물은 1.5 내지 2.5 mg/kg로 투여되지만, 문헌에서는 보다 고용량 사용을 지지한다. 아자티오프린 및 6-MP는 다음 적응증에 유용한 것으로 밝혀졌다: 스테로이드에 의존성인 사람에 대한 유지 요법, 누공성 질환, 스테로이드 불응성 질환에서 완화의 유도, 크론 질환에 대한 수술 후 완화의 유지. 그러나, 아자티오프린은 많은 잠재적으로 치명적인 감염을 일으킬 가능성이 큰 특히 위험한 약물이고, 또한 FDA에서 인간 발암원으로서 열거하고 있다.

[0636] 인플릭시맙 (레미케이드®로서 시판됨)은 염증 반응의 시토카인인 종양 괴사 인자를 표적으로 하는 마우스-인간 키메릭 항체이다. 이것은 염증유발성 시토카인 종양 괴사 인자 알파를 억제하는 모노클로날 항체이다. 이것은 정맥내 투여되고, 체중당 5 mg/kg로 투여하고 질환의 특성에 따라 증가시킨다. 인플릭시맙은 다음과 같은 효용을 가진다: 크론 질환이 있는 사람에 대한 완화의 유지, 크론 질환이 있는 사람에 대한 완화의 유도, 누공성 크론 질환에 대한 유지, TNF 클래스의 다른 면역억제제처럼 인플릭시맙의 부작용은 심각하고 잠재적으로 치명적일 수 있고, 인플릭시맙은 라벨 상에 FDA 블랙박스 (black-box) 경고를 싣고 있다. 열거된 부작용은 과민성 및 알레르기 반응, 결핵의 재-활성화의 위험, 혈청병, 및 다발성 경화증의 위험을 포함한다.

[0637] 아달리무맙 (휴미라®로서 시판됨)은 인플릭시맙처럼 종양 괴사 인자를 표적으로 하는 항체이다. 아달리무맙은 중등도 내지 중증 크론 질환 (CD)의 징후 및 증상을 감소시키는 것으로 나타났고, 통상적인 치료제에 잘 반응하지 않은, 및 인플릭시맙에 대한 반응을 소실하거나 내약성이 없는 성인에서 그에 대한 치료를 위해 승인되었다.

[0638] 나탈리주맙 (타이사브리®로서 시판됨)은 중등도 내지 중증 크론 질환에 대한 유도 및 유지 치료로서 효용을 나타낸 항-인테그린 모노클로날 항체이다. 나탈리주맙은 인플릭시맙과 같은 종양 괴사 인자-알파를 차단하는 의약에 반응하지 않는 환자에 적절할 수 있다.

[0639] *항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 사용한 치료*

[0640] 본 발명의 한 측면은 크론 질환, 임의로 확립된 크론 질환을 치료할 수 있는 조성물을 제공하는 것이다. 본 발명에서, "확립된 크론 질환"은 1년 초과 동안 선고된 크론 질환을 나타낸다.

[0641] 본 발명의 또다른 측면은 크론 질환 공격을 감소 또는 폐지하여, 환자의 건강 및 편안함을 개선하기 위해 치료 방법을 제공하는 것이다. 질환 공격은 CDAI 점수가 150점 초과, 219점 초과, 449점 초과인 환자를 나타낼 수 있다. 따라서, 본 발명은 또한 환자가 급표출 또는 공격을 겪는지 평가하고, 상기 환자가 공격을 겪으면, 상기 환자를 유효량의 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체로 치료하는 단계를 포함하는, 장의 만성 염증성 질환이 있는 환자를 치료하기 위한 방법을 제공한다.

[0642] 본 발명의 또다른 측면은 급표출을 피하도록, 크론 질환에 걸린 환자의 예방적 치료를 위한 방법을 제공하는 것이다.

[0643] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 상기 나열된 것과 같은 또다른 크론 질환 치료제와 조합으로 투여된다.

[0644] *홍반성 루푸스*

[0645] 4가지 주요 종류의 루푸스가 존재한다 - 전신 홍반성 루푸스, 원반모양 홍반성 루푸스, 약물-유도된 홍반성 루푸스, 및 신생아 홍반성 루푸스. 이들 중에서 전신 홍반성 루푸스가 가장 흔하고 중증 형태의 루푸스이다.

[0646] 원반모양 홍반성 루푸스 (DLE)는 얼굴, 귀, 및 두피에 호발하고 때때로 다른 신체 부위에 염증 및 흉터형성이 있는 욕창의 만성 피부 병태이다. 이들 병변은 비늘과 껍질이 있는 외형이 있는 붉은 염증이 생긴 패치로서 발생한다. 중심 부위는 색상이 보다 밝고, 가장자리는 정상 피부보다 더 어둡게 보일 수 있다.

[0647] 약물-유도된 홍반성 루푸스 (DIL 또는 DILE)는 특정 약물의 장기 사용에 의해 유발되는 자가면역 장애이다. 이들 약물은 SLE와 유사한 증상을 발생시키는 자가면역 반응을 유발한다. DIL을 일으키는 것으로 공지된 38가지의 의약이 존재하지만, 최다수의 사례를 일으키는 3가지가 보고되어 있다: 히드랄라진, 프로카인아미드, 및 이

소니아지드. DIL을 진단하기 위한 기준은 완전히 확립되지 않았지만, DIL의 증상은 일반적으로 근육통 및 관절통으로서 존재한다. 일반적으로, 증상은 약물 사용 중단 후에 사라진다.

[0648] 신생아 홍반성 루푸스는 Ro/SSA 항체를 보유하는 모체에서 태어난 유아, 가장 종종 여아에서 존재한다. 유아는 출생시에 피부 병변이 없지만, 출생 후 제1주 동안 발생한다.

[0649] 전신 홍반성 루푸스는 신체의 어떠한 부위에도 침범할 수 있는 만성 전신성 자가면역 질환이다. 다른 자가면역 질환에서 나타나는 것처럼, 면역계는 신체의 세포 및 조직을 공격하여, 염증 및 조직 손상을 일으킨다. SLE는 가장 종종 심장, 관절, 피부, 폐, 혈관, 간, 신장, 및 신경계에 유해하다. 질환의 경과는 예측가능하지 않고, 병의 기간 (표출)과 완화가 교대로 일어난다. 질환은 남성보다 여성, 특히 15-35세의 가임기 여성에게서 9배 더 자주 발생하고, 또한 비-유럽계에서 더 흔하다. SLE는 주로 시클로포스파미드, 코르티코스테로이드 및 면역억제제를 사용하여 그 증상을 처리하는 것을 통해 치료가능하고; 현재 치유하지는 못한다. 최근의 의학 진보에도 불구하고 SLE는 치명적일 수 있고, 치명률은 점점 줄어들고 있다. SLE는 치유가능하지 않은 것으로 여겨지지만, 대단히 치료가능하다. 1950년대에, SLE로 진단받은 대부분의 사람은 5년 미만 생존하였다. 진단 및 치료의 진보가 90% 초과의 사람이 10년 초과 동안 현재 생존하는 점까지 생존율을 개선하였고, 많은 사람은 비교적 증상이 없이 생존할 수 있다.

[0650] *질환 평가 및 등급 결정*

[0651] 스테로이드는 심혈관 문제에 대한 가능성을 감소시키기 위해 최저 용량으로 가능한 가장 짧은 기간 동안 사용되어야 하고, 가능할 때마다 증상을 감소시킬 수 있는 다른 약물을 사용해야 한다. 높은 혈청 크레아티닌, 고혈압, 신증후군, 빈혈 및 저알부민혈증은 불량한 예후 인자이다. ANA는 평가를 위한 가장 예민한 스크리닝 시험인 반면, 항-Sm (항-스미쓰)은 가장 특이적이다. dsDNA 항체가 또한 꽤 특이적이고 종종 질환 활성에 따라 변동하고; 따라서, dsDNA 역가는 질환 표출 또는 치료에 대한 반응을 모니터링하기 위해 때때로 유용하다.

[0652] 일부 의사는 미국 류마티스 학회 (ACR) 분류 기준에 기초하여 진단한다. 그러나, 상기 기준은 주로 보다 높은 신뢰 수준을 요구하는 무작위 대조 시험에서 사용을 포함한 과학 연구에 사용하기 위해 확립되었고, 따라서, SLE가 있는 몇몇 사람은 완전한 기준을 통과하지 않을 수 있다.

[0653] 미국 류마티스 학회는 1982년에 11개 기준을 확립하고, 1997년에 임상 시험에서 SLE의 정의를 운용하기 위한 분류 도구로서 개정하였다. 임상 연구를 위해 환자를 확인하기 위한 목적에서, 사람은 11가지 증상 중 임의의 4가지 증상이 2가지 별개의 경우로 동시에 또는 연속적으로 존재하는 경우에 SLE가 있다: 장막염: 흉막염 또는 심장주위염, 구강 궤양, 관절염: 압통, 종창, 또는 삼출이 있는 2개 이상의 말초 관절의 비침식성 관절염, 광과민성, 혈액 (거부 약물의 부재 하에 혈액학적 장애, 용혈성 빈혈 (낮은 적혈구 계수) 또는 백혈구감소증 (백혈구 계수 <4000/㎕), 림프구감소증 (<1500/㎕) 또는 혈소판감소증 (<100000/㎕); 신장 장애; 항핵 항체 시험 양성; 면역학적 장애: 양성 항-스미쓰, 항-ds DNA, 항인지질 항체, 및/또는 매독에 대한 위양성 혈청 시험; 사례의 70%에서 항-ss DNA의 존재, 신경학적 장애: 발작 또는 정신병, 뺨 (Malar) 발진, 원반모양 발진.

[0654] *현재 치료 선택*

[0655] SLE의 치료는 표출을 방지하고 일어날 때 그의 중증도 및 지속기간을 감소시키는 것을 포함한다. 치료는 코르티코스테로이드 및 항-말라리아 약물을 포함할 수 있다. 특정 종류의 루푸스 신염, 예컨대 광범위 증식성 사구체신염은 한차례의 세포독성 약물을 필요로 한다. 이들 약물은 시클로포스파미드 및 미코페놀레이트를 포함한다.

[0656] 질환-변형 항류마티스 약물 (DMARD)이 질환의 과정인 표출의 개시를 감소시키고 스테로이드 사용에 대한 필요를 낮추기 위해 예방으로 사용되고; 표출이 일어났을 때 코르티코스테로이드를 사용하여 치료한다. 흔히 사용되는 DMARD는 항말라리아제, 예컨대 플라퀘닐 및 면역억제제 (예를 들어, 메토트렉세이트 및 아자티오프린)이다. 히드록시클로로퀸 (HCQ)은 1955년에 루푸스에 대해 FDA에 의해 승인된 마지막 의약이었다. 항-BlyS 항체 (벤리스타®, 휴먼 게노믹 사이언스, 인크. (Human Genomce Science, Inc.))를 또한 DMARD로서 사용할 수 있다. 히드록시클로로퀸은 체질, 피부, 및 관절 소견에 대해 사용되는 항말라리아제이다. 히드록시클로로퀸은 부작용이 비교적 적고, SLE가 있는 사람들 사이에서 생존율을 개선한다는 증거가 있다. 시클로포스파미드는 중증 사구체신염 또는 다른 장기-손상 합병증에 대해 사용된다. 다른 질환에 대해 승이된 승인된 일부 약물이 SLE에 대해 '오프-라벨 (off-label)'로 사용되고; 면역억제 약물이 또한 질환을 제어하고 증상의 재발 (표출로서 공지된)을 방지하기 위해 사용된다. 투여량에 따라, 스테로이드를 필요로 하는 사람은 쿠싱 증후군을 발병할 수 있고, 그 부작용은 비만, 부은 둥근 얼굴, 당뇨병, 식욕 과다, 수면 곤란 및 골다공증을 포함할 수 있다. 이들 부작용은

큰 개시 투여량을 감소시키거나 감소시킬 때 진정될 수 있지만, 심지어 저용량의 장기 사용이 혈압 상승 및 백내장을 일으킬 수 있다. 수많은 새로운 면역억제 약물이 SLE에 대해 활발하게 시험되고 있다. 코르티코스테로이드와 같이 면역계를 비특이적으로 억제하기 보다, 이들은 개별 면역 세포의 코르티코스테로이드을 표적으로 하고; 일반의약품 (주로 비스테로이드 소염 약물)이 효과적인 경감을 제공하지 않는 경우에는 인도메타신 및 디클로페낙과 같은 진통제를 사용할 수 있다. 통증은 대개 처방약으로 치료된다. SLE의 다양한 증상 및 장기 시스템 관련성 때문에, SLE를 성공적으로 치료하기 위해 개체에서 그의 중증도가 평가되어야 한다. 경증 또는 완화 질환은 때때로 치료하지 않은 상태로 안전하게 방치될 수 있다.

[0657] *항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 사용한 치료*

[0658] 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 확립된 루푸스를 포함하고 이로 제한되지 않는 루푸스를 치료하기 위해 또는 루푸스 표출을 감소 또는 폐지하여, 환자의 건강 및 편안함의 개선하기 위해 사용될 수 있다. "확립된 루푸스"는 1년에 걸쳐 진행된 또는 1년 초과 동안 선고된 루푸스 질환을 나타낸다. 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 상기 나열된 것과 같은 또다른 루푸스 치료제와 조합으로 투여된다.

[0659] *기타 자가면역 및 염증성 장애*

[0660] 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 적합한 자가면역 및 염증성 장애, 바람직하게는 T 세포 관련 장애를 치료하기 위해 사용될 수 있다. 자가면역 및 염증성 질환은 다음과 같을 수 있고 이로 제한되지 않는다: 무위산증, 자가면역 활동성 만성 간염, 급성 파종 뇌척수염, 급성 출혈성 백질뇌염, 애디슨 질환, 무감마글로불린혈증, 원형 탈모증, 근위축 측삭 경화증, 강직성 척추염, 항-GBM/TBM 신염, 항인지질 증후군, 항합성효소 증후군, 관절염, 아토피 알레르기, 아토피성 피부염, 자가면역 재생불량성 빈혈, 자가면역 심근병증, 자가면역 용혈성 빈혈, 자가면역 간염, 자가면역 내이 질환, 자가면역 림프구증식 증후군, 자가면역 말초 신경병증, 자가면역 췌장염, 자가면역다발내분비 증후군, 미지의 또는 다발 자가면역 프로게스테론 피부염, 자가면역 혈소판감소성 자반증, 자가면역 포도막염, 발로 질환/발로 동심 경화증, 베체트 (Bechets) 증후군, 베르게르 질환, 빅커스탭 (Bickerstaff) 뇌염, 블라우 (Blau) 증후군, 수포성 유천포창, 캐슬맨 질환, 샤가스 질환, 만성 피로 면역 기능 장애 증후군, 만성 염증성 탈수초성 다발신경병증, 만성 재발성 다초점 골수염, 만성 라임병, 만성 폐쇄성 폐 질환, 처그-스트라우스 증후군, 반흔성 유천포창, 복강 질환, 코간 증후군, 한랭 응집소 질환, 보체 성분 2 결핍, 두개 동맥염, CREST 증후군, 크론 질환 (2가지 종류의 특발성 염증성 장 질환 "IBD" 중 하나), 쿠싱 증후군, 피부 백혈구파쇄성 혈관염, 데고 (Dego) 질환, 더쿰 (Dercum) 질환, 포진성 피부염, 피부근염, 1형 당뇨병, 광범위 피부 전신 경화증, 드레슬러 증후군, 원반모양 홍반성 루푸스, 습진, 자궁내막증, 부착부염-관련 관절염, 호산구성 근막염, 후천성 수포성 표피박리증, 결절성 홍반, 원발성 혼합 한랭글로불린혈증, 에반스 증후군, 진행성 골화 섬유형성이상, 섬유근육통, 섬유근염, 섬유화 폐포염, 위염, 위장관 유천포창, 거대 세포 동맥염, 사구체신염, 굿패스처 증후군, 그레이브 질환, 길랑-바레 증후군 (GBS), 하시모토 뇌염, 하시모토 갑상선염, 용혈성 빈혈, 헤노흐-쉔라인 자반증, 임신 헤르페스, 화농성 한선염, 휴즈 (Hughes) 증후군, 저감마글로불린혈증, 특발성 염증성 탈수초성 질환, 특발성 폐 섬유증, 특발성 혈소판감소성 자반증, IgA 신병증, 봉입체 근염, 염증성 탈수초성 다발신경병증, 간질성 방광염, 과민성 장 증후군 (IBS), 소아 특발성 관절염, 소아 류마티스 관절염, 가와사키 질환, 램버트-이튼 근무력 증후군, 백혈구파쇄성 혈관염, 편평 태선, 경화 태선, 선형 IgA 질환 (LAD), 루 게릭 질환, 루프스양 간염, 홍반성 루푸스, 마지드 (Majeed) 증후군, 메니에르 질환, 현미경적 다발혈관염, 밀러-피셔 (Miller-Fisher) 증후군, 혼합 결합 조직 질환, 반상경피증, 무카-하버만 질환, 머클-웰스 (Muckle-Wells) 증후군, 다발 골수종, 다발성 경화증, 중증 근무력증, 근염, 기면증, 시신경척수염, 신경근 긴장증, 안구 반흔성 유천포창, 안진전 근간대성경련 증후군, 오드 (Ord) 갑상선염, 재발성 류마티즘, PANDAS (스트렙토코쿠스 연관 소아성 자가면역신경정신 장애), 부신생물성 소뇌 변성, 발작성 야간 혈색소뇨 (PNH), 패리 롬버그 증후군, 파르소니지-터너 증후군, 주변부 포도막염, 천포창, 심상성 천포창, 악성 빈혈, 정맥주변 뇌척수염, POEMS 증후군, 결절성 다발동맥염, 류마티스성 다발근육통, 다발근염, 원발성 담즙성 간경변증, 원발성 경화성 담관염, 진행성 염증성 신경병증, 건선, 건선성 관절염, 괴저성 농피증, 순수 적혈구 무형성증, 라스무센 뇌염, 레이노 현상, 재발성 다발연골염, 라이터 증후군, 하지 불안 증후군, 복막후 섬유증, 류마티스 관절염, 류마티스성 열, 사르코이드증, 정신분열병, 슈미트 증후군, 스니즐러 (Schnitzler) 증후군, 공막염, 경피증, 쇼그렌 증후군, 척추관절병증, 점착성 혈액 증후군, 스틸 (Still) 질환, 강직 인간 증후군, 아급성 박테리아성 심내막염 (SBE), 수삭 증후군, 스위트 (Sweet) 증후군, 시데남 무도병, 교감신경성 안염, 다카야스 동맥염, 측두 동맥염, 톨로사-헌트 증후군, 횡단성 척수염, 궤양성 결장염, 미분화 결합 조직 질환, 미분화형 척추관절병증, 혈관염, 백반증, 베게너 육아종증, 윌슨 (Wilson) 증후군 및 비스코트-알드리치 증후군.

[0661] **항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체의 투여 및 투여 요법**

[0662] 한 측면에서, 본 발명의 치료 방법은 개체에게 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 포함하는 조성물을 치료 유효량으로 투여하는 것을 포함한다. 치료 유효량은 예를 들어 약 0.0003 mg (항체)/kg (환자 체중) 내지 약 3 mg/kg (예를 들어, 약 0.003 mg/kg 내지 약 3 mg/kg, 예컨대 약 0.015 내지 약 3 mg/kg, 예를 들어, 약 0.075 mg 내지 약 3 mg/kg, 약 0.3 mg/kg 내지 약 3 mg/kg, 및 약 1 mg/kg 내지 약 3 mg/kg 중 임의의 투여량, 또는 약 0.0003 mg/kg, 약 0.003 mg/kg, 약 0.015 mg/kg, 약 0.075 mg/kg, 약 0.3 mg/kg, 약 1 mg/kg, 및 약 3 mg/kg 중 임의의 투여량)의 투여량일 수 있다. 항-KIR 항체의 용량 및 제제화는 본원에 참고로 포함된 WO2008/084106에 설명되어 있다. 한 실시양태에서, 방법은 예를 들어 1일 3회 내지 2개월마다 1회 범위의 투여 빈도로 투여를 적어도 1회 반복하는 것을 포함한다. 용량은 또한 예를 들어 적어도 3회, 적어도 6회 또는 적어도 10회 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 항체는 정맥내 투여된다. 또다른 실시양태에서, NK 세포의 표면 상에서 억제성 KIR에 대한 항체의 결합은 NK 세포의 세포독성 활성을 증강시킨다. 또다른 실시양태에서, 항체는 교차-반응성 항-KIR 항체이다. 예를 들어, 항체는 WO2008/084106에 설명된 바와 같이 제제화된 항체 1-7F9일 수 있다.

[0663] 한 바람직한 실시양태에서, 용량은 인간 환자에서 완전 포화 (표적화된 KIR2DL1, 2 및/또는 3의 적어도 90% 점유)를 제공하도록 선택된다. 방법은 임의로 환자를 NK 세포 강화 및/또는 소염 (또는 항-T 세포) 활성에 대해 평가하는 것을 포함한다 (이것은 예를 들어, 본원에 설명된 바와 같이 KIR2DL1, 2 및/또는 3 점유 수준, CD107a 마커를 비롯한 몇몇이 당업계에 공지되어 있는 임의의 적합한 기술을 사용하여 수행할 수 있다). 제제는 대개 적합한 기간, 예컨대 약 1시간에 걸쳐 i.v. 투여에 의해 투여된다.

[0664] 예를 들어, 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 적어도 약 1, 2, 3 또는 6개월 동안 혈장 내에서 NK 세포 상에서 적어도 약 90%, 바람직하게는 적어도 약 95% KIR2DL1, 2 및/또는 3 점유를 달성하여, 연장된 기간 (예를 들어, 적어도 3개월, 6개월) 동안 포화를 지속시키는 용량 및 투여 빈도로 투여될 수 있다. 별개의 실시양태에서, 용량은 약 0.1 내지 약 3 mg/kg, 약 0.3 내지 약 3 mg/kg, 약 0.1 내지 약 1 mg/kg 및 약 1 내지 약 3 mg/kg 범위이고, 추가로 바람직하게는 항체는 항-KIR 항체이고, 추가로 바람직하게는 항체는 1-7F9이다. 투여 빈도는 1일 1회 내지 2개월마다 1회, 약 매주 1회 내지 약 2개월마다 1회; 또는 약 매월 1회일 수 있다. 별법으로, 투여 빈도는 약 1일 3회, 약 2회, 및 약 1회; 매주 약 5회, 약 4회, 약 3회, 및 약 2회; 및 약 2, 4 및 6주마다 1회 중에서 선택될 수 있다.

[0665] 한 바람직한 실시양태에서, 실질적으로 완전한 수용체 포화 (예를 들어, 적어도 약 90% 또는 95% 수용체 점유)를 일으키는 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체의 용량이 약 매주 2회 내지 약 매월 1회, 또는 약 매월 1회 내지 약 2개월마다 1회 투여된다. 용량은 예를 들어, 적어도 3회, 적어도 6회 이상 투여될 수 있다. 예를 들어, 방법은 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 적어도 약 2주, 1개월, 6개월, 9개월 또는 12개월 동안 NK 세포 상에서 적어도 약 90% 또는 95% KIR2DL1, 2 및/또는 3 점유를 달성하는 용량 및 투여 빈도로 투여하는 것을 포함할 수 있다.

[0666] 한 바람직한 실시양태에서, 요법은 지속적인 실질적으로 완전한 수용체 포화를 일으킨다. 적어도 약 1주, 2주 또는 1개월 기간 동안 실질적으로 완전한 수용체 포화를 일으키는 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체의 용량이 투여된다. 용량이 약 1주 동안 실질적으로 완전한 수용체 포화 (예를 들어, 적어도 약 90% 또는 95% 수용체 점유)를 일으킬 때, 용량은 예를 들어 매주 1회 내지 2주마다 1회 투여될 수 있고; 용량이 약 2주 동안 실질적으로 완전한 수용체 포화를 일으킬 때, 용량은 예를 들어 2주마다 1회 내지 매월 1회 투여될 수 있다. 용량이 약 2주 내지 약 1개월 동안 실질적으로 완전한 수용체 포화를 일으킬 때, 용량은 예를 들어 약 매월 1회 투여될 수 있다. 각각의 요법에서, 용량은 예를 들어 적어도 3회, 적어도 6회 이상 투여될 수 있다. 예를 들어, 방법은 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 적어도 약 6개월, 9개월 또는 12개월 동안 NK 세포 상에서 적어도 약 95% KIR 점유를 달성하는 용량 및 투여 빈도로 투여하는 것을 포함할 수 있다.

[0667] 또다른 바람직한 실시양태에서, 요법은 간헐적인 실질적으로 완전한 수용체 포화를 일으킨다. 적어도 약 1주, 2주 또는 1개월 기간 동안 실질적으로 완전한 수용체 포화 (예를 들어, 적어도 약 90% 또는 95% 수용체 점유)를 일으키는 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체의 용량이 투여된다. 용량이 약 1 내지 2주 동안 실질적으로 완전한 수용체 포화를 일으킬 때, 용량은 예를 들어 약 매월 1회 또는 적어도 2개월 기간마다 1회 (예를 들어, 2개월마다 1회) 투여될 수 있다. 용량이 약 2주 내지 약 1개월 동안 실질적으로 완전한 수용체 포화를 일으킬 때, 용량은 예를 들어 약 적어도 2개월 기간마다 1회 (예를 들어, 2개월마다 1회) 투여될 수 있다. 별개의 실시양태에서, 용량은 약 매월 1회 투여되는 약 0.1 내지 약 0.3 mg/kg 범위이고; 한 실시양태에서, 용량은 약 2개월마다 약 1회 (또는 2개월 초과 기간마다 1회, 즉, 2개월 기간마다 1회 미만) 투여되는 약 0.1 내지 약 3 mg/kg, 바람직하

게는 1 내지 약 3 mg/kg 범위이고, 추가로 바람직하게는 항체는 항-KIR 항체이고, 추가로 바람직하게는 항체는 1-7F9이다. 치료는 치료 요법이 적어도 6개월, 9개월 또는 12개월 기간 동안 간헐적인 실질적으로 완전한 수용체 포화를 일으키도록 반복될 수 있다.

[0668] 항체는 대개 정맥내 투여되지만, 다른 적합한 투여 방식이 공지되어 있고, 또한 예를 들어, WO2008/084106에 설명되어 있다.

[0669] 항-KIR (1-7F9) 또는 그의 S241P 변이체가 NK 세포 활성의 조절 및/또는 질환의 치료를 위해 바람직한 항체이지만, 다른 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 및 항-KIR 항체가 본 발명에 따른 방법에서 또한 사용될 수 있다. 그러나, 그러한 항체는 항-KIR(1-7F9)와 유사한 Kd 값, 환자에서 유사한 청소율, 및 유사한 분포 용적을 가져야 하고, 여기서 "유사한"은 상응하는 항-KIR(1-7F9) 파라미터의 약 50% 내, 바람직하게는 약 30% 내를 의미한다. 항-KIR(1-7F9)는 0.015 mg/kg까지의 용량에 대해 약 4 ng/ml의 고친화도 Kd, 및 약 20 ng/ml의 저친화도 Kd; 약 0.5 ml/h/kg의 청소율, 및 약 115 ml/kg의 분포 용적을 가진다 (WO2008/084106 참조). 본 발명의 하나 이상의 방법에서 유용한 예시적인 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체는 다음 특성을 가질 수 있다: (a) NK 세포 상에서 억제성 KIR2DL1, 2 및/또는 3의 신호전달을 감소 또는 차단함; (b) 약 2 내지 약 6 ng/ml의 고친화도 Kd; (c) 약 10 내지 약 30 ng/ml의 저친화도 Kd; (d) 약 0.25 내지 약 0.75 ml/h/kg의 청소율, (e) 약 50 ml/kg 내지 약 175 ml/kg의 분포 용적. 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체의 수용체 점유는 항체가 결합한 특정 KIR2DL1, 2 및/또는 3에 대해 채택된 본 발명에 설명된 것과 같은 검정을 이용하여 결정할 수 있다. 예를 들어, 실시예 2를 참조한다. 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체의 약동학적 특성은 특정 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체에 대해 채택된 본 발명에 설명된 것과 같은 검정을 이용하여 결정할 수 있다. 예를 들어, 실시예 1을 참조한다.

[0670] **자가면역 질환**

[0671] 본원에 설명된 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체는 자가면역 질환의 치료를 위한 조성물, 용도, 및 방법에서 사용될 수 있다.

[0672] 자가면역 질환 또는 장애의 예는 후천성 면역 결핍 증후군 (AIDS), 후천성 비장 위축, 급성 전방 포도막염, 급성 파종 뇌척수염 (ADEM), 급성 통풍성 관절염, 급성 괴사성 출혈성 백질뇌염, 급성 또는 만성 부비동염, 급성 화농성 수막염 (또는 다른 중추신경계 염증성 장애), 급성의 심각한 염증, 애디슨 질환, 부신염, 성인 발병 당뇨병 (제II형 당뇨병), 성인-발병 특발성 부갑상선기능저하증 (AOIH), 무감마글로불린혈증, 무과립구증, 혈관병증, 예를 들어 혈관염 (거대 혈관 혈관염 (류마티스성 다발근육통 및 거대 세포 (다카야스) 관절염 포함), 알레르기성 병태, 알레르기성 접촉성 피부염, 알레르기성 피부염, 알레르기성 육아종성 혈관염, 알레르기성 과민성 장애, 알레르기성 신경염, 알레르기 반응, 원형 탈모증, 전두 탈모증, 알포트 증후군, 폐포염 (예를 들어, 알레르기성 폐포염 및 섬유화 폐포염), 알츠하이머 질환, 아밀로이드증, 근위축 측삭 경화증 (ALS; 루 게릭 질환), 호산구-관련 장애 (예를 들어, 호산구증가증), 아나필락시스, 강직성 척추염, 혈관확장증, 항체-매개 신염, 항-GBM/항-TBM 신염, 항원-항체 복합체-매개 질환, 항사구체 기저막 질환, 항-인지질 항체 증후군, 항인지질 증후군 (APS), 아프타, 아프타성 구내염, 재생불량성 빈혈, 부정맥, 동맥경화증, 동맥경화성 장애, 관절염 (예를 들어, 류마티스 관절염, 예컨대 급성 관절염, 만성 류마티스 관절염), 만성 진행성 관절염, 변형성 관절염, 회충증, 아스페르길루스종 (또는 호산구 함유 육아종), 아스페르길루스증, 무정액증, 천식 (예를 들어, 기관지성 천식, 기관지 천식, 및 자가면역 천식), 모세혈관확장성 운동실조, 운동실조성 경화증, 아테롬성동맥경화증, 자폐증, 자가면역 혈관부종, 자가면역 재생불량성 빈혈, 자가면역 위축성 위염, 자가면역 당뇨병, 고환 및 난소의 자가면역 질환, 예를 들어 자가면역 고환염 및 난소염, 콜라겐 질환과 연관된 자가면역 장애, 자가면역 자율신경실조증, 자가면역 귀 질환 (예를 들어, 자가면역 내이 질환 (AGED)), 자가면역 내분비 질환, 예를 들어 갑상선염, 예컨대 자가면역 갑상선염, 자가면역 장병증 증후군, 자가면역 생식선 부전, 자가면역 청각 상실, 자가면역 용혈, 자가면역 간염, 자가면역 간 장애, 자가면역 고지혈증, 자가면역 면역결핍, 자가면역 내이 질환 (AIED), 자가면역 심근염, 자가면역 호중구감소증, 자가면역 췌장염, 자가면역 다발내분비병증, 자가면역 다선성 증후군 유형 I, 자가면역 망막병증, 자가면역 혈소판감소성 자반증 (ATP), 자가면역 갑상선 질환, 자가면역 두드러기, 자가면역-매개 위장관 질환, 축삭 & 뉴런 신경병증, 발로 질환, 베체트 질환, 양성 가족성 및 허혈-재관류 손상, 양성 림프구성 혈관염, 베르게르 질환 (IgA 신병증), 조류 사육자 폐, 실명, 뵈크 질환, 폐쇄성 세기관지염 (비-이식) 대 NSIP, 기관지염, 기관지폐렴성 아스페르길루스증, 브루톤 증후군, 수포성 유천포창, 카플란 증후군, 심근병증, 심혈관 허혈, 캐슬맨 증후군, 복강 질환, 복강 스프루 (글루텐 장병증), 소뇌 변성, 뇌 허혈, 및 혈관화를 동반하는 질환, 샤가스 질환, 채널병증 (예를 들어, 간질), CNS의 채널병증, 맥락망막염, 맥락막염, 자가면역 혈액 장애, 만성 활성 간염 또는 자가면역 만성 활성 간염, 만성 접촉성 피부염, 만성 호산구성 폐렴, 만성 피로 증후군, 만성 간염, 만성 과민성 폐렴, 만성 염증성 관절염, 만성 염증성 탈수초성 다발

신경병증 (CIDP), 만성 난치성 염증, 만성 점막피부 칸디다증, 만성 신경병증 (예를 들어, IgM 다발신경병증 또는 IgM-매개 신경병증), 만성 폐쇄성 기도 질환, 만성 폐 염증성 질환, 만성 재발성 다초점 골수염 (CRMO), 만성 갑상선염 (하시모토 갑상선염) 또는 아급성 갑상선염, 처그-스트라우스 증후군, 반흔성 유천포창/양성 점막 유천포창, CNS 염증성 장애, CNS 혈관염, 복강 질환, 코간 증후군, 한랭 응집소 질환, 폴립성 결장염, 결장염, 예컨대 궤양성 결장염, 궤양성 결장염, 콜라겐성 결장염, T 세포의 침윤 및 만성 염증 반응을 수반하는 병태, 선천성 심장 차단, 선천성 풍진 감염, 쿰스 양성 빈혈, 관상 동맥 질환, 콕사키 심근염, CREST 증후군 (석회증, 레이노 현상), 크론 질환, 한랭글로불린혈증, 쿠싱 증후군, 모양체염 (예를 들어, 만성 모양체염, 이색성 모양체염, 홍채모양체염, 또는 푹스 모양체염), 낭성 섬유증, 시토카인-유도된 독성, 난청, 퇴행성 관절염, 탈수초성 질환 (예를 들어, 자가면역 탈수초성 질환), 탈수초성 신경병증, 뎅기, 포진성 피부염 및 아토피성 피부염, 피부염, 예를 들어 접촉성 피부염, 피부근염, 급성 염증 요인이 있는 피부병, 데빅 질환 (시신경척수염), 당뇨병성 거대 동맥 장애, 당뇨병성 신병증, 당뇨병성 망막병증, 다이아몬드 블랙판 빈혈, 미만성 간질성 폐 섬유증, 확장형 심근병증, 원반모양 루푸스, 백혈구 누출이 관련된 질환, 드레슬러 증후군, 듀피트렌 구축, 에코바이러스 감염, 습진, 예를 들어 알레르기성 또는 아토피성 습진, 뇌염, 예컨대 라스무센 뇌염 및 변연 및/또는 뇌간 뇌염, 뇌척수염 (예를 들어, 알레르기 뇌척수염 또는 알레르기성 뇌척수염 및 실험적 알레르기 뇌척수염 (EAE)), 동맥내막 증식증, 심내막염, 내분비 안병증, 자궁내막증, 심내막심근 섬유증, 수정체과민 안내염, 안내염, 알레르기성 장염, 호산구증가증-근육통 증후군, 호산구성 근막염, 유행성 각결막염, 후천성 수포성 표피박리증 (EBA), 상공막, 상공막염, 엡스타인-바르 바이러스 감염, 장기 융기성 홍반, 다형성 홍반, 나병 결절성 홍반, 결절성 홍반, 태아 적모구증, 식도 운동장애, 원발성 혼합 한랭글로불린혈증, 벌집뼈, 에반스 증후군, 실험적 알레르기 뇌척수염 (EAE), 인자 VIII 결핍, 농부폐, 류마티스성 열, 펠티 증후군, 섬유근육통, 섬유화 폐포염, 사상충증, 초점성 분절성 사구체경화증 (FSGS), 식중독, 전두, 위 위축, 거대 세포 관절염 (측두 관절염), 거대 세포 간염, 거대 세포 다발근육통, 사구체신염, 신증후군 동반 및 비동반 사구체신염 (GN), 예컨대 만성 또는 급성 사구체신염 (예를 들어, 원발성 GN), 굿패스쳐 증후군, 통풍성 관절염, 과립구 수혈-연관 증후군, 육아종증, 예를 들어 림프종성 육아종증, 다발혈관염이 있는 육아종증 (GPA), 육아종성 포도막염, 그레이브 질환, 길랑-바레 증후군, 적상 건선, 발작성 혈색소뇨, 해먼-리치 질환, 하시모토 질환, 하시모토 뇌염, 하시모토 갑상선염, 혈색소증, 용혈성 빈혈 또는 면역 용혈성 빈혈, 예를 들어 자가면역 용혈성 빈혈 (AIHA), 용혈성 빈혈, A형 혈우병, 헤노흐-쉔라인 자반증, 임신 헤르페스, 인간 면역결핍 바이러스 (HIV) 감염, 통각과민, 저감마글로불린혈증, 생식선기능저하증, 부갑상선기능저하증, 특발성 요붕증, 특발성 안면 마비, 특발성 갑상선기능저하증, 특발성 IgA 신병증, 특발성 막성 GN 또는 특발성 막성 신병증, 특발성 신염성 증후군, 특발성 폐 섬유증, 특발성 스프루, 특발성 혈소판감소성 자반증 (ITP), IgA 신병증, IgE-매개 질환 (예를 들어, 아나필락시스, 및 알레르기성 및 아토피성 비염), IgG4-관련 경화 질환, 국한성 회장염, 면역 복합체 신염, 시토카인 및 T-림프구에 의해 매개된 급성 및 지연형 과민증과 연관된 면역 반응, 면역-매개 GN, 면역조절 지단백질, 예를 들어 성인 또는 급성 호흡 곤란 증후군 (ARDS), 봉입체 근염, 감염성 관절염, 항정자 항체로 인한 불임, 포도막 전부 또는 일부의 염증, 염증성 장 질환 (IBD), 염증성 과다증식성 피부 질환, 염증성 근병증, 인슐린-의존성 당뇨병 (제1형), 췌도염, 간질성 방광염, 간질성 폐 질환, 간질성 폐 섬유증, 홍채염, 허혈 재-관류 장애, 관절 염증, 소아 관절염, 소아 피부근염, 소아 당뇨병, 소아 발병 (제I형) 당뇨병, 예를 들어 소아성 인슐린-의존성 당뇨병 (IDDM), 소아-발병 류마티스 관절염, 가와사키 증후군, 건성 각결막염, 키파노소미아시스, 램버트-이튼 증후군, 리슈마니아증, 나병, 백혈구감소증, 백혈구 부착 결핍, 백혈구파쇄성 혈관염, 백혈구감소증, 편평 태선, 경화 태선, 목질 결막염, 선형 IgA 피부병, 선형 IgA 질환 (LAD), 뢰플러 증후군, 루프스양 간염, 루푸스 (신염, 뇌염, 소아성, 비신성, 신장외, 원반모양, 탈모 포함), 루푸스 (SLE), 파종상 홍반성 루푸스, 라임 관절염, 라임병, 림프성 간질성 폐렴, 말라리아, 남성 및 여성 자가면역 불임, 상악, 중간 혈관 혈관염 (가와사키 질환 및 결절성 다발동맥염 포함), 막- 또는 막성 증식성 GN (MPGN), 예를 들어 제I형 및 제II형, 및 급속 진행성 GN, 막성 GN (막성 신병증), 메니에르 질환, 수막염, 현미경적 결장염, 현미경적 다발혈관염, 편두통, 미세 변화 신병증, 혼합 결합 조직 질환 (MCTD), 감염성 단핵구증, 무렌 궤양, 무카-하버만 질환, 다초점성 운동 신경병증, 다발성 내분비 부전, 다발성 기관 손상 증후군, 예컨대 패혈증, 외상 또는 출혈에 이차적인 것, 다발성 기관 손상 증후군, 다발성 경화증 (MS), 예컨대 척수-눈 MS, 다발성 경화증, 멈프스, 근육 장애, 중증 근무력증, 예컨대 흉선종-연관 중증 근무력증, 중증 근무력증, 심근염, 근염, 기면증, 괴사성 소장결장염, 및 경벽성 결장염, 및 자가면역 염증성 장 질환, 괴사성, 피부 또는 과민성 혈관염, 신생아 루푸스 증후군 (NLE), 신증, 신증후군, 신경계 질환, 시신경척수염 (데빅 질환), 시신경척수염, 신경근긴장증, 호중구감소증, 비-암성 림프구증가증, 비육아종성 포도막염, 비-악성 흉선종, 안구 및 안와 염증성 장애, 안구 반흔성 유천포창, 난소염, 교감신경성 안염, 안진전 근간대성경련 증후군 (OMS), 안진전 또는 안진전 근간대성경련 증후군 (OMS), 및 감각 신경병증, 시신경염, 육아종성 고환염, 골관절염, 재발성 류마티즘, 췌장염, 범혈구감소증, PANDAS (스트렙토코쿠스 연관

소아성 자가면역 신경정신과 장애), 부신생물성 소뇌 변성, 부신생물성 증후군, 부신생물성 증후군들, 예를 들어 신경계 부신생물성 증후군 (예를 들어, 램버트-이튼 근무력 증후군 또는 이튼-램버트 증후군), 기생충 질환, 예컨대 레슈마니아, 발작성 야간 혈색소뇨 (PNH), 패리 롬버그 증후군, 주변부 포도막염 (말초 포도막염), 파르소니지-터너 증후군, 파르보바이러스 감염, 유천포창, 예컨대 수포성 유천포창 및 피부 유천포창, 천포창 (심상성 천포창 포함), 홍반성 천포창, 낙엽상 천포창, 천포창 점액-막 유천포창, 천포창, 소화성 궤양, 주기성 마비, 말초 신경병증, 정맥주변 뇌척수염, 악성 빈혈 (악성 빈혈증), 악성 빈혈, 수정체항원성 포도막염, 폐경변증, POEMS 증후군, 결절성 다발동맥염, 제I형, 제II형, & 제III형, 만성 원발성 다발관절염, 다발연골염 (예를 들어, 불응성 또는 재발성 다발연골염), 다발내분비 자가면역 질환, 다발내분비 부전, 다선성 증후군 (예를 들어, 자가면역 다선성 증후군 (또는 다분비선 내분비병증 증후군)), 류마티스성 다발근육통, 다발근염, 다발근염/피부근염, 다발신경병증, 급성 다발신경근염, 심장절개술후 증후군, 후방 포도막염, 또는 자가면역 포도막염, 심근 경색후 증후군, 심장막절개술 후 증후군, 스트렙토코쿠스 감염후 신염, 백신접종 후 증후군, 초로기 치매, 원발성 담즙성 간경변증, 원발성 갑상선기능저하증, 원발성 특발성 점액수종, 원발 림프구증가증, 예를 들어 모노클로날 B 세포 림프구증가증 (예를 들어, 양성 모노클로날 감마병증 및 의미 불명 모노클로날 감마병증, MGUS), 원발성 점액수종, 원발성 진행성 MS (PPMS), 및 재발 완화형 MS (RRMS), 원발성 경화성 담관염, 프로게스테론 피부염, 진행성 전신 경화증, 증식성 관절염, 건선, 예컨대 판상 건선, 건선, 건선성 관절염, 폐포 단백증, 폐 침윤 호산구증가증, 순수 적혈구 빈혈 또는 무형성증 (PRCA), 순수 적혈구 무형성증, 화농성 또는 비화농성 부비동염, 농포성 건선 및 손발톱 건선, 신우염, 괴저성 농피증, 퀘르뱅 갑상선염, 레이노 현상, 반응성 관절염, 반복 유산, 혈압 반응의 감소, 반사 교감신경 이영양증, 불응성 스프루, 라이터 질환 또는 증후군, 재발성 다발연골염, 심근 또는 다른 조직의 재관류 손상, 재관류 손상, 호흡 곤란 증후군, 하지 불안 증후군, 망막 자가면역, 복막후 섬유증, 레이노 증후군, 류마티스성 질환, 류마티스성 열, 류마티즘, 류마티스 관절염, 류마티스 척추염, 풍진 바이러스 감염, 샘프터 증후군, 사르코이드증, 주혈흡충증, 슈미트 증후군, SCID 및 엡스타인-바르 바이러스-연관 질환, 공막, 공막염, 손발가락경화증, 경피증 (전신 경피증 포함), 경화성 담관염, 파종성 경화증, 경화증, 예컨대 전신 경화증, 감각신경성 청각 상실, 혈청음성 척추관절염, 쉬한 증후군, 슐만 증후군, 규폐증, 쇼그렌 증후군, 정자 & 고환 자가면역, 접형 부비동염, 스티븐스-존슨 증후군, 강직-인간 (또는 강직-사람) 증후군, 아급성 박테리아성 심내막염 (SBE), 아급성 피부 홍반성 루푸스, 돌발성 난청, 수삭 증후군, 시데남 무도병, 교감신경성 안염, 전신 홍반성 루푸스 (SLE) 또는 전신 루푸스 홍반증 (예를 들어, 피부 SLE), 전신 괴사성 혈관염, 및 ANCA-연관 혈관염, 예컨대 처그-스트라우스 혈관염 또는 증후군 (CSS)), 척수로, 다카야스 동맥염, 모세혈관확장증, 측두 동맥염/거대 세포 동맥염, 폐쇄성 혈전혈관염, 혈소판감소증 (예를 들어, 심근 경색 환자가 발병하는), 예를 들어 혈전성 혈소판감소성 자반증 (TTP) 및 자가면역 또는 면역-매개 혈소판감소증, 예컨대 특발성 혈소판감소성 자반증 (ITP), 예를 들어 만성 또는 급성 ITP, 혈소판감소성 자반증 (TTP), 갑상선중독증, 조직 손상, 톨로사-헌트 증후군, 독성 표피 괴사용해, 독성 쇼크 증후군, 수혈 반응, 유아의 일과성 저감마글로불린혈증, 횡단성 척수염, 횡단 척수염, 열대성 폐 호산구증가증, 결핵, 궤양 결장염, 미분화 결합 조직 질환 (UCTD), 두드러기 (예를 들어, 만성 알레르기성 두드러기 및 만성 특발성 두드러기, 예를 들어 만성 자가면역 두드러기), 포도막염 (예를 들어, 전방 포도막염), 포도막망막염, 판막염, 혈관 기능장애, 혈관염, 척추 관절염, 수포성 피부병, 백반증, 베게너 육아종증 (현재 다발혈관염이 있는 육아종증 (GPA)으로 부름), 비스코트-알드리치 증후군, 및 x-연관 과다 IgM 증후군을 포함하고 이로 제한되지 않는다.

[0673] **암의 치료**

[0674] 본원에 설명된 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체는 암 (예를 들어, 종양)의 치료를 위한 조성물, 용도, 및 방법에서 사용될 수 있다.

[0675] 암의 예는 암종, 림프종, 모세포종, 육종, 및 백혈병을 포함하고 이로 제한되지 않는다. 그러한 암의 보다 특정한 예는 편평세포암, 폐암 (소세포 폐암, 비-소세포 폐암, 폐의 선암종, 및 폐의 편평세포암종 포함), 복막의 암, 간세포암, 소화성암 또는 위암 (위장관암 포함), 췌장암, 교모세포종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간세포종, 유방암, 대장암, 결장직장암, 자궁내막 또는 자궁 암종, 타액선 암종, 신장 또는 신암, 간암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 간 암종 및 다양한 종류의 두경부암, 및 B-세포 림프종 (저등급/소포 비-호지킨 림프종 (NHL); 작은 림프구성 (SL) NHL; 중간등급/소포 NHL; 중간등급 광범위 NHL; 고등급 면역모구 NHL; 고등급 림프모구 NHL; 고등급 작은 비-절단된 세포 NHL; 큰 (bulky) 질환 NHL; 외투 세포 림프종; AIDS-관련 림프종; 및 발덴스트롬 (Waldenstrom) 마크로글로불린혈증 포함); 만성 림프구성 백혈병 (CLL); 급성 림프모구 백혈병 (ALL); 털세포 백혈병; 만성 골수모구 백혈병; 다발 골수종 및 이식후 림프구증식 장애 (PTLD)를 포함한다.

[0676] 용어 본 발명에 의한 치료에 적합한 암은 암종, 림프종, 모세포종, 육종, 및 백혈병 또는 림프구 악성종양을 포함하고 이로 제한되지 않는다. 그러한 암의 보다 특정한 예는 방광암, 난소암, 흑색종, 편평세포암, 폐암 (소세포 폐암, 비-소세포 폐암, 폐의 선암종, 및 폐의 편평세포 암종 포함), 복막의 암, 간세포암, 소화성암 또는 위암 (위장관암 포함), 췌장암, 교모세포종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간세포종, 유방암, 대장암, 결장직장암, 자궁내막 또는 자궁 암종, 타액선 암종, 신장 또는 신암, 간암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 간암종 및 다양한 종류의 두경부암, 및 B-세포 림프종 (저등급/소포 비-호지킨 림프종 (NHL); 작은 림프구성 (SL) NHL; 중간등급/소포 NHL; 중간등급 광범위 NHL; 고등급 면역모구 NHL; 고등급 림프모구 NHL; 고등급 작은 비-절단된 세포 NHL; 큰 질환 NHL; 외투 세포 림프종; AIDS-관련 림프종; 및 발덴스트롬 마크로글로불린혈증 포함); 만성 림프구성 백혈병 (CLL); 급성 림프모구 백혈병 (ALL); 털세포 백혈병; 만성 골수모구 백혈병; 및 이식후 림프구증식 장애 (PTLD), 및 모반증과 연관된 비정상적인 혈관 증식, 부종 (예컨대 뇌 종양과 연관된 것), 및 메이그스 (Meigs') 증후군을 포함한다. 바람직하게는, 암은 유방암, 결장직장암, 직장암, 비-소세포 폐암, 비-호지킨 림프종 (NHL), 신세포암, 전립선암, 간암, 췌장암, 연조직 육종, 카포시 (kaposi) 육종, 카시노이드 암종, 두경부암, 흑색종, 난소암, 중피종 및 다발 골수종으로 이루어진 군 중에서 선택된다. 예시적인 실시양태 (실행 실시예 참조)에서, 암은 조기 진행된 (전이성 포함) 방광암, 난소암 또는 흑색종이다. 또다른 실시양태에서, 암은 결장직장암이다. 본 발명의 치료에 적합한 암성 병태는 전이암을 포함하고, 여기서 골수 유래된 억제제 세포에 의한 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 발현은 항종양 반응 및 항-침습적 면역 반응을 억제한다. 본 발명의 방법은 혈관발달된 종양의 치료에 특히 적합하다.

[0677] 본 발명은 화학요법 또는 방사선요법 또는 다른 생물학제와 조합으로 암을 치료하기 위해 및 그의 활성을 향상시키기 위해, 즉, 골수 유래된 억제제 세포에 의한 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 발현이 항종양 반응 및 화학요법 또는 방사선 요법의 효능 또는 생물학제 효능을 억제하는 개체에서 또한 적합하다. 항암 활성을 보이는 임의의 화학치료제를 본 발명에 따라 사용할 수 있다. 바람직하게는, 화학치료제는 알킬화제, 항대사물질, 엽산 유사체, 피리미딘 유사체, 퓨린 유사체 및 관련 억제제, 빈카 알칼로이드, 에피포도필로톡신, 항생제, L-아스파라기나제, 토포이소머라제 억제제, 인터페론, 백금 배위 복합체, 안트라센디온 치환 우레아, 메틸 히드라진 유도체, 부신피질 억제제, 부신피질 스테로이드, 프로게스틴, 에스트로겐, 항에스트로겐, 안드로겐, 항안드로겐, 및 고나도트로핀-방출 호르몬 유사체로 이루어진 군 중에서 선택될 수 있다. 보다 바람직하게는, 화학치료제는 5-플루오로우라실 (5-FU), 류코보린 (LV), 이리노테칸, 옥살리플라틴, 카페시타빈, 파클리탁셀 및 독세탁셀로 이루어진 군 중에서 선택될 수 있다. 2가지 이상 화학치료제를 항-VEGF 항체 투여와 조합으로 투여되는 칵테일로 사용할 수 있다. 하나의 바람직한 조합 화학요법은 5-FU 및 하나 이상의 다른 화학치료제(들)을 포함하는 플루오로우라실-기반 요법이다. 조합 화학요법의 적합한 투여 방식은 당업계에 공지되어 있고, 예를 들어, 문헌 ([Saltz, et al. (1999) Proc ASCO 18:233a] 및 [Douillard, et al. (2000) Lancet 355: 1041-7])에 설명되어 있다. PD-L1, PD-L2, CTLA-4 및 PD-L1, PD-L2, CTLA-4 융합 단백질 및 시토카인에 대한 항체, 성장 인자 길항제 및 작용제, 호르몬 및 항-시토카인 항체와 같은 생물학제는 또다른 면역 강화제일 수 있다.

[0678] **알레르기**

[0679] 본원에 설명된 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체는 알레르기 (예를 들어, 알레르기원에 대한 알레르기 반응)의 치료를 위한 조성물, 용도, 및 방법에서 사용될 수 있다.

[0680] 알레르기원의 예는 진드기 항원 및 꽃가루 항원을 포함한다.

[0681] 대표적인 알레르기 질환은 기관지 천식, 알레르기 비염, 아토피성 피부염, 및 꽃가루 및 곤충 알레르기를 포함한다. 알레르기 체질은 알레르기 부모의 자녀에 의해 물려받을 수 있는 유전 인자이다. 가족성 알레르기 질환은 또한 아토피 질환으로 불리고, 원인이 되는 유전적으로 전달된 인자는 아토피 체질이다. "아토피성 피부염"은 아토피 질환에 대한, 특히 피부염 증상을 동반하는 질환에 대한 일반적인 용어이다. 알레르기성 병태의 바람직한 예는 습진, 알레르기 비염, 건초열, 두드러기, 및 음식 알레르기로 이루어진 군 중에서 선택된다. 알레르기성 병태는 습진, 알레르기 비염 또는 코감기, 건초열, 기관지 천식, 두드러기 (hive) 및 음식 알레르기, 및 다른 아토피 병태를 포함한다.

[0682] **염증성 병태 및 염증성 질환**

[0683] 본원에 설명된 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체는 염증성 병태 및 염증성 질환의 치료를 위한 조성물, 용도, 및 방법에서 사용될 수 있다.

[0684] 염증성 병태 및 염증성 질환은 류마티스성 질환 (예를 들어, 류마티스 관절염, 골관절염, 건선성 관절염), 척추

관절병증 (예를 들어, 강직성 척추염, 반응성 관절염, 라이터 증후군), 결정성 관절병증 (예를 들어, 통풍, 가성통풍, 칼슘 피로인산염 침착 질환), 다발성 경화증, 라임병, 류마티스성 다발근육통; 결합 조직 질환 (예를 들어, 전신 홍반성 루푸스, 전신 경화증, 다발근염, 피부근염, 쇼그렌 증후군); 혈관병증 (예를 들어, 결절성 다발동맥염, 베게너 육아종증, 처그-스트라우스 증후군); 염증성 병태, 예를 들어 외상 또는 허혈의 결과, 사르코이드증; 혈관 질환, 예를 들어 아테롬성동맥경화성 혈관 질환, 아테롬성동맥경화증, 및 혈관 폐쇄성 질환 (예를 들어, 아테롬성동맥경화증, 허혈성 심장 질환, 심근 경색, 졸중, 말초 혈관 질환), 및 혈관 스텐트 재협착; 안구 질환, 예를 들어 포도막염, 각막 질환, 홍채염, 홍채모양체염 및 백내장을 포함하고 이로 제한되지 않는다.

[0685] 염증성 병태는 또한 산 역류/가슴쓰림, 여드름, 심상성 여드름, 알레르기 및 예민성, 알츠하이머 질환, 천식, 아테롬성동맥경화증 및 혈관 폐쇄성 질환 (예를 들어, 아테롬성동맥경화증, 허혈성 심장 질환, 심근 경색, 졸중, 말초 혈관 질환) 및 혈관 스텐트 재협착, 자가면역 질환, 기관지염, 암, 심장염, 백내장, 복강 질환, 만성 통증, 만성 전립선염, 간경변증, 결장염, 결합 조직 질환 (예를 들어, 전신 홍반성 루푸스, 전신 경화증, 다발근염, 피부근염, 쇼그렌 증후군), 각막 질환, 크론 질환, 결정성 관절병증 (예를 들어, 통풍, 가성통풍, 칼슘 피로인산염 침착 질환), 치매, 피부염, 당뇨병, 안구 건조, 습진, 부종, 기종, 섬유근육통, 위장염, 치은염, 사구체신염, 심장 질환, 간염, 고혈압, 과민성, 염증성 장 질환, 염증성 병태, 예를 들어 외상 또는 허혈의 결과, 인슐린 저항성, 간질성 방광염, 홍채모양체염, 홍채염, 관절통/관절염/류마티스 관절염, 라임병, 대사 증후군 (증후군 X), 다발성 경화증, 근염, 신염, 비만, 안구 질환, 예를 들어 포도막염, 골감소증, 골다공증, 파킨슨 질환, 골반 염증성 질환, 치주 질환, 다발동맥염, 다발연골염, 류마티스성 다발근육통, 건선, 재관류 손상, 류마티스 관절염, 류마티스성 질환 (예를 들어, 류마티스 관절염, 골관절염, 건선성 관절염), 류마티스 관절염, 사르코이드증, 경피증, 부비동염, 쇼그렌 증후군, 경직성 결장, 척추관절병증 (예를 들어, 강직성 척추염, 반응성 관절염, 라이터 증후군), 전신 칸디다증, 건염, 이식 거부, UTI, 질염, 혈관 질환, 예를 들어 아테롬성동맥경화성 혈관 질환, 혈관병증 (예를 들어, 결절성 다발동맥염, 베게너 육아종증, 처그-스트라우스 증후군), 및 혈관염을 포함하고 이로 제한되지 않는다.

[0686] **진단 방법**

[0687] 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3, 및 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 선택적으로 결합하는 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체 및 그의 항원-결합 단편은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 존재 또는 부재를 검출하기 위한 진단 방법에서 사용될 수 있다. 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 및 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체는 (a) 시험 샘플을 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 결합하는 항체 또는 그의 단편, 또는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3과 접촉시키고, (b) 항체-에피토프 복합체에 대해 검정하는 것을 포함하는 방법에서 사용될 수 있다. 항체-에피토프 복합체는 웨스턴 블롯, 방사성면역검정, ELISA (효소 결합 면역흡착 검정), "샌드위치 (sandwich)" 면역검정, 면역침전 검정, 침전 반응, 겔 확산 침전 반응, 면역확산 검정, 응집 검정, 보체-고정 검정, 면역조직화학 검정, 형광 면역검정, 및 단백질 A 면역검정에 의해 검출할 수 있다. 샘플은 조직 생검, 림프액, 소변, 뇌척수액, 양수, 염증성 삼출물, 혈액, 혈청, 대변, 또는 결장직장관으로부터 수집한 액체일 수 있다.

[0688] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 선택적으로 결합하는 항체는 재조합 항체일 수 있다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 선택적으로 결합하는 항체의 단편은 Fab, Fab', F(ab')2, Fv, CDR, 파라토프, 또는 항원에 결합할 수 있는 항체의 일부일 수 있다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 선택적으로 결합하는 항체는 키메릭, 인간화, 항-이디오타입, 단일-쇄, 이작용성, 또는 공동-특이적 항체일 수 있다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 선택적으로 결합하는 항체는 화학발광 표지, 상자성 표지 (예를 들어, 알루미늄, 망가니즈, 백금, 산소, 란타넘, 루테튬, 스칸듐, 이트륨, 또는 갈륨), MRI 조영제, 형광 표지, 생물발광 표지, 또는 방사성 표지를 포함하고 이로 제한되지 않는 표지에 접합된 단편일 수 있다.

[0689] 추가로, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3, 및 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 선택적으로 결합하는 항체 및 그의 항원-결합 단편은 고체 지지체 (예를 들어, 비드, 시험관, 시트, 배양 접시 또는 시험 스트립), 예컨대 어레이에 부착될 수 있다.

[0690] 방법은 양전자 방출 단층촬영 (PET), CCD 저조도 (low-light) 모니터링 시스템, x-선, CT 스캐닝, 섬광조영술 (scintigraphy), 광음향 영상화, 단일 광자 방출 전산화 단층촬영 (SPECT), 자기 공명 영상화 (MRI), 초음파, 상자성 영상화, 및 내시경 광 간섭 단층촬영에 의해 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드를 영상화하는 것을 포함할 수 있다.

[0691] 본 발명은 질환의 존재, 병기, 진전 또는 등급 결정을 평가하기 위해 평가 또는 시험 단계를 수행하는 단계를 포함할 수 있다. 따라서, 환자에서 자가면역 또는 염증성 질환의 치료를 위한 방법은 (a) 환자에서 질환의 평가를 수행하고; (b) 상기 환자가 본 발명의 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 사용한 치료에 적합한 질환을 가지면, 상기 환자에게 유효 용량의 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 투여하는 것을 포함할 수 있다. 임의로 상기 평가 단계는 자가면역 또는 염증성 질환이 있는 것으로 의심되는 환자로부터 생물학적 샘플을 얻는 것을 포함할 수 있다. 예를 들어, 류마티스 관절염 환자의 KIR 및 HLA-C 유전자형은 항-TNF-α 요법에의 반응에 대한 예측적 정보를 제공할 수 있다 ([McGeough, et al. (2011) Rheumatology International] 참조. 또한, KIR2DL 이소형의 발현은 염증성 장 질환에 대한 감수성과 연관된다 (Zhang, et al. (2008) Life Science Journal 5(4): 17-22). 질환을 평가 (예를 들어, 진단, 병기 결정)하기 위한 방법은 예를 들어 실험실-기반 시험을 수행함으로써 당업계에 공지된 임의의 적합한 기술에 의해 달성할 수 있다. 적합한 기술의 예는 PCR 또는 RT-PCR 기반 검정 (예를 들어, 종종 "마커" 또는 "생체마커"로서 언급되는 핵산 또는 유전자와 연관된 질환을 검출하기 위해), 생검, 내시경, 대변 연구, 임의의 비침습적 검사실 시험 (예를 들어, 빈혈 및 감염, 및 간 및 담관 문제에 대해 스크리닝하기 위한 간 기능 시험, 세균, 바이러스 및 기생충 감염에 대한 검사), 초음파, CT, MRE, MRI 및 다른 영상화 기술, 염색체 분석, 면역검정/면역세포화학적 검출 기술 (예를 들어, 자가항체의 존재), 조직학상 및/또는 조직병리학상 검정, 혈청 단백질 전기영동, 유동 세포측정 (예를 들어, 면역 세포, T 세포의 검출), 동맥 혈액 기체 (ABG) 분석 (천식 또는 COPD에서), 및 신체 검사 기술 (예를 들어, 신체적 증상, 활막염이 있는 관절의 수)을 수행하는 것을 포함한다.

[0692] 추가로, 활성화 KIR2DS1 및/또는 KIR2DS2 유전자가 있는 대상체는 그들의 상동성 억제성 수용체, KIR2DL1 및 KIR2DL2/3에 대한 HLA 리간드가 상실될 때에만 건선성 관절염을 발병할 감수성이 있다. 억제성 KIR에 대한 리간드의 부재는 잠재적으로 그에 의해 건선성 관절염의 발병기전에 기여하는 활성화 수용체를 통해 매개된 NK (및/또는 T) 세포 활성화에 대한 역치를 낮춘다 (Martin, et al. (2002) The Journal of Immunology 169: 2818-2822). 방법은 자가-항체의 존재를 검출하는, 예를 들어 류마티스 인자 (RhF), 항-환식 시트룰린화 펩티드 항체, 항-ssRNA, 항-dsRNA, 항-스미쓰, 항-인지질, 항-핵 및/또는 항-액틴 항체를 검출하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 방법은 단백질분해 효소, 염증성 매개체, 진행중인 염증의 마커, 또는 염증유발성 시토카인의 수준을 평가하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 방법은 c-반응성 단백질 (CRP) 수준 및/또는 적혈구 침강 속도를 결정하는 것을 포함한다. 개체가 비정상적인 결과 (질환, 악화, 진행중인 염증의 표시임)를 갖는, 예를 들어 비정상적인 수준의 ABG, 자가항체, CRP, 임의의 단백질분해 효소, 염증성 매개체, 또는 진행중인 염증의 마커를 갖는다는 결정은 개체가 항-KIR2DL1, 2 및/또는 3 항체를 사용한 치료에 적합하다는 것을 나타낸다. 환자로부터의 생물학적 샘플을 T 세포, 바람직하게는 CD4+ T 세포 및/또는 활성화된 및/또는 증식 T 세포)의 존재에 대해 평가한다.

[0693] **스크리닝 검정**

[0694] 본 발명은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드에 결합하고, 예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 발현 또는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 활성에 대해 자극 또는 억제 효과를 갖거나, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 및 그의 천연 결합 파트너(들) 사이의 상호작용에 대해 자극 또는 억제 효과를 갖는 조절제 ("스크리닝 검정"), 즉, 후보 또는 시험 화합물 또는 작용제 (예를 들어, 펩티드, 펩티드 모방체, 소분자 또는 다른 약물)를 확인하는 방법을 제공한다.

[0695] 본 발명은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 단백질 또는 폴리펩티드 또는 그의 생물학적 활성 부분에 결합하는, 예를 들어, 그의 천연 결합 파트너(들)과 상호작용하는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 능력을 조절하는 후보 또는 시험 화합물을 스크리닝하기 위한 검정을 제공한다. 또다른 실시양태에서, 본 발명은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 단백질 또는 폴리펩티드 또는 그의 생물학적 활성 부분에 결합하거나 그의 활성을 조절하는 후보 또는 시험 화합물을 스크리닝하기 위한 검정을 제공한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 본원에서 또는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 및 그의 천연 결합 파트너(들) 사이의 상호작용에 대한 그의 효과에 기반하여 확인되는 것과 같은, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 의해 부정적으로 조절된 면역 기능에 대한 자극 또는 억제 효과를 갖는 후보 또는 시험 화합물을 스크리닝하기 위한 검정을 제공한다. 이들 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 관련 기능은 예로서 시토카인 생산 (예를 들어, T 세포에 의한 Il-2, 감마 인터페론)을 억제하고, 중등도 CD28 동시자극을 억제하고, CD4+ 및 CD8+ T 세포 증식을 억제하고, 나이브 및 기억 CD4+ T 세포의 증식을 억제하고, 아폽토시스를 유도하지 않으면서 TCR 활성화를 억제하는 것을 포함한다. 본 발명의 시험 화합물은 당업계에 공지된 조합 라이브러리 방법에서 임의의 수많은 방안, 예를 들어 생물학적 라이브러리; 공간적으로 접근가능한 평행 고체상 또는 용액상 라이브러리; 디컴볼루션 (deconvolution)을 요구하는 합성 라이브러리

방법; "1-비드 1-화합물" 라이브러리 방법; 및 친화도 크로마토그래피 선택을 이용하는 합성 라이브러리 방법을 이용하여 얻을 수 있다. 생물학적 라이브러리 방안은 펩티드 라이브러리에 제한되지만, 다른 4가지 방안은 화합물의 펩티드, 비-펩티드 올리고머 또는 소분자 라이브러리에 적용가능하다 (Lam (1997) Anticancer Drug Des. 12: 145).

[0696] 한 실시양태에서, 검정은 세포 기반 검정이고, 여기서 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 또는 그의 생물학적 활성 부분을 발현하는 세포를 시험 화합물과 접촉시키고, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 활성을 조절하는 시험 화합물의 능력을 결정한다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 활성을 조절하는 시험 화합물의 능력을 결정하는 것은 예를 들어, 그의 천연 결합 파트너(들)에 결합하고 면역 세포 활성을 조절하는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 능력을 모니터링함으로써 달성할 수 있다. 면역 세포는 T 세포, B 세포, 또는 골수 세포일 수 있다. 그의 반대-수용체에 대한 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 결합을 조절하는 시험 화합물의 능력을 결정하는 것은 예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 반대-수용체를 발현하는 T 세포에 대한 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 결합을 조절하는 시험 화합물의 능력을 모니터링하기 위해 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3을 방사성 동위원소 또는 효소에 의한 표지와 결합시킴으로써 달성할 수 있다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 결합하는 시험 화합물의 능력을 결정하는 것은 예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 대한 화합물의 결합이 복합체 내의 표지된 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 화합물을 검출함으로써 결정될 수 있도록 화합물을 방사성 동위원소 또는 효소에 의한 표지에 결합시킴으로써 달성할 수 있다.

[0697] 임의의 상호작용물을 표지하지 않으면서 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3과 상호작용하는 화합물의 능력을 결정하는 것이 또한 본 발명의 범위 내에 있다. 화합물 또는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3을 표지하지 않으면서 화합물과 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 상호작용을 검출하기 위해 예를 들어, 마이크로피지오미터 (microphysiometer)를 사용할 수 있다 (McConnell, H. M. et al. (1992) Science 257: 1906-1912). 마이크로피지오미터 (예를 들어, 사이토센서 (Cytosensor))는 세포가 그의 환경을 산성화시키는 속도를 광지시형 (light-addressable) 전위차 센서 (LAPS)를 이용하여 측정하는 분석 기기이다. 상기 산성화 속도의 변화는 화합물 및 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 사이의 상호작용의 지표로서 사용될 수 있다.

[0698] 검정은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 결합 파트너를 발현하는 T 세포를 시험 화합물과 접촉시키고, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 결합 파트너의 활성을 조절 (예를 들어, 자극 또는 억제)하는 시험 화합물의 능력을 결정하는 것을 포함하는 세포 기반 검정일 수 있다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 결합 파트너의 활성을 조절하는 시험 화합물의 능력을 결정하는 것은 예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 결합 파트너에 결합하거나 그와 상호작용하는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 능력을 결정함으로써 달성할 수 있다.

[0699] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 결합 파트너에 결합하거나 그와 상호작용하는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드, 또는 그의 생물학적 활성 단편의 능력을 결정하는 것은 직접 결합을 결정하기 위한 상기 설명된 방법 중 하나에 의해 달성할 수 있다. 한 실시양태에서, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 결합 파트너에 결합하거나 그와 상호작용하는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 능력을 결정하는 것은 결합 파트너의 활성을 결정함으로써 달성할 수 있다. 예를 들어, 결합 파트너의 활성은 세포성 제2 메신저 (예를 들어, 티로신 키나제 또는 포스파타제 활성)의 유도를 검출하거나, 적절한 기질의 촉매적/효소적 활성을 검출하거나, 리포터 (reporter) 유전자 (검출가능한 마커, 예를 들어, 루시퍼라제를 코딩하는 핵산에 작동가능하게 연결된 표적-반응성 조절 요소를 포함하는)의 유도를 검출하거나, 또는 표적-조절된 세포성 반응을 검출함으로써 결정할 수 있다. 예를 들어, 천연 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 결합 파트너에 결합하거나 그와 상호작용하는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 능력을 결정하는 것은 증식 검정에서 면역 세포 동시자극 또는 억제를 조절하는 화합물의 능력을 측정함으로써, 또는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 일부를 인식하는 항체에 결합하는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 능력을 저해함으로써 달성할 수 있다. 한 실시양태에서, T 세포 활성화를 조절하는 화합물은 T 세포 증식 또는 시토카인 생산을 조절하는 화합물의 능력을 결정함으로써 확인할 수 있다. 한 실시양태에서, T 세포 활성화를 조절하는 화합물은 하나 초과의 항원 농도에서 T 세포 증식 또는 시토카인 생산을 조절하는 화합물의 능력을 결정함으로써 확인할 수 있다.

[0700] 검정은 무세포 (cell-free) 검정일 수 있고, 여기서 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 또는 그의 생물학적 활성 부분을 시험 화합물과 접촉시키고, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 또는 그의 생물학적 활성 부분에 결합하는 시험 화합물의 능력을 결정한다. 본 발명의 검정에 사용할 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 바람직한 생물학적 활성 부분은 비-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 분자와의 상호작용에 참여하는 단편, 예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 결합 파트너에 결합하는 세포외 도메인의 적어도 일부를 포함한다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드에 대한 시험 화합물의 결합은 상기 설명된 바와 같이 직접 또

는 간접적으로 결정할 수 있다.

[0701] 검정은 무세포 검정일 수 있고, 여기서 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 또는 그의 생물학적 활성 부분을 시험 화합물과 접촉시키고, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 또는 그의 생물학적 활성 부분의 활성을 조절하는 (예를 들어, 자극 또는 억제하는) 시험 화합물의 능력을 결정한다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 활성을 조절하는 시험 화합물의 능력을 결정하는 것은 예를 들어, 직접 결합을 결정하기 위해 상기 설명된 방법 중 하나에 의해 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 결합 파트너에 결합하는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 능력을 결정함으로써 달성할 수 있다. 본 발명의 무세포 검정은 가용형 및/또는 막-결합형의 폴리펩티드 모두의 사용 (예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 또는 그의 생물학적 활성 부분, 또는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3이 결합하는 결합 파트너)에 적합하다. 막-결합된 형태의 폴리펩티드가 사용되는 무세포 검정의 경우에 (예를 들어, 세포-표면 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3), 막-결합된 형태의 폴리펩티드가 용액 내에 유지되도록 가용화제를 이용하는 것이 바람직할 수 있다. 그러한 가용화제의 예는 비-이온계 세제, 예컨대 n-옥틸글루코시드, n-도데실글루코시드, n-도데실말토시드, 옥타노일-N-메틸글루카미드, 데카노일-N-메틸글루카미드, 트리톤(Triton)® X-100, 트리톤® X-114, 테지트(Thesit), 이소트리데시폴리(에틸렌 글리콜 에테르)n, 3-[(3-콜아미도프로필)디메틸암모니오]-1-프로판 술포네이트 (CHAPS), 3-[(3-콜아미도프로필)디메틸암모니오]-2-히드록시-1-프로판 술포네이트 (CHAPSO), 또는 N-도데실-N,N-디메틸-3-암모니오-1-프로판 술포네이트를 포함한다.

[0702] 검정 방법에서, 하나 또는 두 폴리펩티드의 복합체화되지 않은 형태로부터 복합체화된 형태의 분리를 용이하게 하기 위해 및 검정의 자동화를 수행하기 위해 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 또는 그의 결합 파트너를 고정하는 것이 바람직할 수 있다. 후보 화합물의 존재 및 부재 하에 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드에 대한 시험 화합물의 결합, 또는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드와 그의 결합 파트너의 상호작용은 반응물을 담기 위해 적합한 임의의 반응용기 내에서 달성할 수 있다. 그러한 반응용기의 예는 미량역가 플레이트, 시험관, 및 미세원심분리관을 포함한다. 하나의 또는 두 폴리펩티드가 매트릭스에 결합되도록 허용하는 도메인을 부가하는 융합 단백질이 제공될 수 있다. 예를 들어, 글루타치온-S-트랜스퍼라제/KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 융합 단백질 또는 글루타치온-S-트랜스퍼라제/결합 파트너 융합 단백질을 글루타치온 세파로스(SEPHAROSE)® 비드 (시그마 케미컬 (Sigma Chemical, 미국 미주리주 세인트루이스)) 또는 글루타치온 유도체화 미량역가 플레이트 상에 흡착시킬 수 있고, 이어서, 이를 시험 화합물 또는 시험 화합물, 및 비-흡착된 결합 파트너 폴리펩티드 또는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드와 합하고, 혼합물을 복합체 형성에 유리한 조건 하에 (예를 들어, 염 및 pH에 대해 생리학적 조건에서) 인큐베이팅한다. 인큐베이션 후에, 비드 또는 미량역가 플레이트 웰을 세척하여 임의의 비결합된 성분을 제거하고, 비드의 경우에 매트릭스를 고정하고, 복합체 형성을 예를 들어, 상기 설명된 바와 같이 직접 또는 간접적으로 결정한다. 별법으로, 복합체를 매트릭스로부터 해리시키고, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 결합 또는 활성의 수준을 표준 기술을 이용하여 결정할 수 있다. 매트릭스 상에 폴리펩티드를 고정하는 다른 기술을 또한 본 발명의 스크리닝 검정에 사용할 수 있다. 별도의 실시양태에서, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 활성을 조절하는 시험 화합물의 능력을 결정하는 것은 예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 결합 파트너의 세포질 도메인과 상호작용함으로써, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 하류에서 기능하는 분자의 활성을 조절하는 시험 화합물의 능력을 결정함으로써 달성할 수 있다. 예를 들어, 제2 메신저의 수준, 적절한 표적에 대한 상호작용성 분자의 활성, 또는 적절한 표적에 대한 상호작용물의 결합을 앞서 설명된 바와 같이 결정할 수 있다.

[0703] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 발현의 조절제는 세포를 후보 화합물과 접촉시키고, 세포 내에서 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 mRNA 또는 폴리펩티드의 발현을 결정하는 방법으로 확인할 수 있다. 후보 화합물의 존재 하에 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 mRNA 또는 폴리펩티드의 발현 수준을 후보 화합물의 부재 하에 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 mRNA 또는 폴리펩티드의 발현 수준에 비교한다. 이어서, 변화가 통계상 유의하면 후보 화합물은 상기 비교에 기반하여 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 발현의 조절제로서 확인될 수 있다.

[0704] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 결합하거나 그와 상호작용하고 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 활성에 관여하는 다른 폴리펩티드 ("KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3-결합 단백질", "KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 결합 파트너", 또는 "KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3-bp")를 확인하기 위해 2-하이브리드 검정 또는 3-하이브리드 검정에서 "미끼 (bait) 단백질"로서 사용될 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 5,283,317; [Zervos, et al. (1993) Cell 72:223-232]; [Madura, et al. (1993) J. Biol. Chem. 268: 12046-12054]; [Bartel, et al. (1993) Biotechniques 14:920-924]; [Iwabuchi, et al. (1993) Oncogene

8:1693-1696]; 및 WO 94/10300 참조). 그러한 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3-결합 단백질은 또한 아마도 예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3-매개 신호전달 경로의 하류 요소로서 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 또는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 표적에 의한 신호의 전파에 관여하는 것 같다. 별법으로, 그러한 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3-결합 폴리펩티드는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 억제제일 수 있다. 2-하이브리드 시스템은 대부분의 전사 인자의 모듈 성질에 기반하고, 이것은 분리가능한 DNA-결합 및 활성화 도메인으로 이루어진다. 간단히 설명하면, 검정에서 2개의 상이한 DNA 구축물을 사용한다. 하나의 구축물에서, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드를 코딩하는 유전자가 공지의 전사 인자 (예를 들어, GAL-4)의 DNA 결합 도메인을 코딩하는 유전자에 융합된다. 다른 구축물에서, 미확인된 폴리펩티드 ("먹이 (prey)" 또는 "샘플")을 코딩하는, DNA 서열의 라이브러리로부터 DNA 서열이 공지의 전사 인자의 활성화 도메인을 코딩하는 유전자에 융합된다. "미끼" 및 "먹이" 폴리펩티드가 생체 내에서 상호작용하여 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3-의존적 복합체를 형성할 수 있으면, 전사 인자의 DNA-결합 및 활성화 도메인은 밀접한 근접성에 놓인다. 상기 근접성은 전사 인자에 반응성인 전사 조절 부위에 작동가능하게 연결된 리포터 유전자 (예를 들어, LacZ)의 전사를 허용한다. 리포터 유전자의 발현을 검출할 수 있고, 기능적 전사 인자를 함유하는 세포 콜로니를 단리하여, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드와 상호작용하는 폴리펩티드를 코딩하는 클로닝된 유전자를 얻기 위해 사용할 수 있다.

[0705] 본원에 설명된 2가지 이상의 검정의 조합. 예를 들어, 조절제는 세포 기반 또는 무세포 검정을 이용하여 확인할 수 있고, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 활성을 조절하는 작용제의 능력은 세포 형질전환 및/또는 종양발생에 대해 생체 내에서, 예를 들어, 동물, 예컨대 동물 모델에서 확인될 수 있다.

[0706] 본 발명은 추가로 상기한 스크리닝 검정에 의해 확인된 신규한 작용제에 관한 것이다. 적절한 동물 모델에서 본원에 설명된 방법으로 확인된 작용제, 예를 들어, 본원에 설명된 바와 같이 확인된 작용제 (예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 조절제, 안티센스 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 핵산 분자, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3-특이적 항체, 또는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 결합 파트너)는 그러한 작용제를 사용한 치료의 효능, 독성, 또는 부작용을 결정하기 위해 동물 모델에서 사용될 수 있다. 별법으로, 본원에 설명된 바와 같이 확인된 작용제는 상기 작용제의 작용 메카니즘을 결정하기 위해 동물 모델에서 사용될 수 있다. 또한, 본 발명은 본원에 설명된 바와 같은 치료를 위한 상기한 스크리닝 검정에 의해 확인된 신규한 작용제의 용도에 관한 것이다.

[0707] **검출 검정**

[0708] 본원에서 확인된 cDNA 서열 (및 상응하는 완전 유전자 서열)의 일부 또는 단편은 폴리뉴클레오티드 시약으로서 수많은 방식으로 사용될 수 있다. 예를 들어, 이들 서열은 (i) 그들의 각각의 유전자를 염색체 상에 맵핑하고; 따라서 유전적 질환과 연관된 유전자 영역을 위치 결정하기 위해; (ii) 미세한 생물학적 샘플로부터 개체를 확인 (조직형 검사 (typing))하기 위해; 및 (iii) 생물학적 샘플의 법의학적 확인을 돕기 위해 사용될 수 있다. 이들 용도는 아래 하위섹션에서 설명한다.

[0709] **염색체 맵핑**

[0710] 일단 유전자의 서열 (또는 서열의 일부)가 단리되면, 상기 서열을 염색체 상에 유전자의 위치를 맵핑하기 위해 사용할 수 있다. 상기 과정은 염색체 맵핑으로 불린다. 따라서, 본원에 설명된 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 뉴클레오티드 서열의 일부 또는 단편은 염색체 상에 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 유전자의 위치를 맵핑하기 위해 사용될 수 있다. 염색체에 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 서열의 맵핑은 이들 서열을 질환과 연관된 유전자와 상호관련시키는데 있어서 중요한 첫 번째 단계이다. 간단히 설명하면, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 유전자는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 뉴클레오티드 서열로부터 PCR 프라이머 (바람직하게는 15-25 bp 길이)를 제조함으로써 염색체에 맵핑될 수 있다. 증폭 과정을 복잡하게 하는 게놈 DNA 내의 하나 초과의 엑손에 걸치지 않는 프라이머를 예측하기 위해 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 서열의 컴퓨터 분석을 이용할 수 있다. 이어서, 이들 프라이머를 개별 인간 염색체를 함유하는 체세포 하이브리드의 PCR 스크리닝을 위해 사용할 수 있다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 서열에 상응하는 인간 유전자를 함유하는 하이브리드만이 증폭된 단편을 생성할 것이다. 체세포 하이브리드는 상이한 포유동물 (예를 들어, 인간 및 마우스 세포)로부터의 체세포들을 융합시킴으로써 제조된다. 인간 및 마우스 세포의 하이브리드가 성장하고 분할할 때 무작위 순서로 점차 인간 염색체를 잃지만 마우스 염색체를 보유한다. 특정 효소가 결여되므로 마우스 세포는 성장할 수 없지만 인간 세포는 성장할 수 있는 배지를 사용함으로써, 필요한 효소를 코딩하는 유전자를 포함하는 하나의 인간 염색체가 보유될 것이다. 다양한 배지를 사용함으로써, 하이브리드 세포주들의 패널 (panel)을 확립할 수 있다. 패널 내

의 각각의 세포주는 단일 인간 염색체 또는 소수의 인간 염색체, 및 전체 세트의 마우스 염색체를 함유하여, 특이적 인간 염색체에 대한 개별 유전자의 쉬운 맵핑을 허용한다 (D'Eustachio, et al. (1983) Science 220: 919-924). 인간 염색체의 단편만을 함유하는 체세포 하이브리드는 또한 전위 및 결실을 갖는 인간 염색체를 사용함으로써 생산할 수 있다.

[0711] 체세포 하이브리드의 PCR 맵핑은 특정 서열을 특정 염색체에 배정하기 위한 빠른 절차이다. 단일 열 사이클러 (cycler)를 사용하여 1일 3개 이상의 서열이 배정될 수 있다. 올리고뉴클레오티드 프라이머를 설계하기 위해 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 뉴클레오티드 서열을 사용함으로써, 특이적 염색체로부터 단편들의 패널을 사용하여 하위위치결정 (sublocalization)을 달성할 수 있다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 서열을 그의 염색체에 맵핑하기 위해 유사하게 사용할 수 있는 다른 맵핑 전략은 계내 혼성화 ([Fan, et al. (1990) Proc Natl. Acad. Sci. USA 87:6223-27]에 설명된), 표지된 유동-분류된 (flow-sorted) 염색체를 사용한 사전-스크리닝, 및 염색체 특이적 cDNA 라이브러리에의 혼성화에 의한 사전-선택을 포함한다.

[0712] 중기 염색체 확산 (spread)을 위한 DNA 서열의 형광 계내 혼성화 (FISH)가 하나의 단계로 정확한 염색체 위치를 제공하기 위해 추가로 사용될 수 있다. 염색체 확산은 유사분열 방추체를 파괴하는 콜세미드와 같은 화학물에 의해 중기에 분할이 차단된 세포를 사용하여 이루어질 수 있다. 염색체를 트립신으로 잠깐 동안 처리한 후 김자 (Giemsa)로 염색할 수 있다. 밝은 및 어두운 밴드의 패턴이 각각의 염색체 상에 나타나고, 따라서 염색체를 개별적으로 확인할 수 있다. FISH 기술은 500 또는 600개 염기 정도로 짧은 DNA 서열에서 사용될 수 있다. 그러나, 1,000개 염기보다 더 큰 클론은 단순 검출을 위해 충분한 신호 강도를 가지면서 특유한 염색체 위치에 결합할 가능성이 더 크다. 적당한 시간에 우수한 결과를 얻기 위해 바람직하게는 1,000개의 염기, 보다 바람직하게는 2,000개의 염기가 충분할 것이다. 상기 기술의 검토를 위해 문헌 [Verma et al., Human Chromosomes: A Manual of basic Techniques (Pergamon Press, New York 1988)]을 참조한다. 염색체 맵핑을 위한 시약은 단일 염색체 또는 그 염색체 상의 단일 부위를 표시하기 위해 개별적으로 사용될 수 있거나, 시약들의 패널이 다수 부위 및/또는 다수 염색체를 표시하기 위해 사용될 수 있다. 유전자의 비코딩 영역에 상응하는 시약이 실제로 맵핑 목적을 위해 바람직하다. 코딩 서열은 유전자 패밀리 내에서 보존될 가능성이 더 크고, 따라서 염색체 맵핑 동안 교차 혼성화의 기회를 증가시킨다.

[0713] 일단 서열이 정확한 염색체 위치에 맵핑되면, 염색체 상의 서열의 물리적 위치는 유전자 지도 데이타와 상호관련될 수 있다. 궁극적으로, 돌연변이의 존재를 확인하고 다형성으로부터 돌연변이를 구분하기 위해 몇몇 개체로부터 유전자의 완전한 서열 결정을 수행할 수 있다.

[0714] **조직형 검사**

[0715] 본 발명의 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 서열은 또한 미세한 생물학적 샘플로부터 개체를 확인하기 위해 사용될 수 있다. 또한, 본 발명의 서열은 개체의 게놈의 선택된 부분의 실제 염기별 (base-by-base) DNA 서열을 결정하는 대체 기술을 제공하기 위해 사용될 수 있다. 따라서, 본원에 설명되는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 뉴클레오티드 서열은 서열의 5' 및 3' 단부로부터 2개의 PCR 프라이머를 제조하기 위해 사용될 수 있다. 이어서, 이들 프라이머는 개체의 DNA를 증폭하고 후속적으로 서열 결정하기 위해 사용될 수 있다.

[0716] 각각의 개체는 대립유전자 차이 때문에 그러한 DNA 서열의 특유한 세트를 가질 것이기 때문에, 상기 방식으로 제조된 개체로부터 상응하는 DNA 서열들의 패널은 특유한 개체 확인을 제공할 수 있다. 본 발명의 서열은 개체로부터 및 조직으로부터 그러한 확인 서열을 얻기 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 뉴클레오티드 서열은 인간 게놈의 부분들을 특유하게 나타낸다. 대립유전자 변이는 이들 서열의 코딩 영역 내에서 어느 정도 및 비코딩 영역 내에서 더 큰 정도로 일어난다. 개별 인간 사이에서 대립유전자 변이는 각각 500 염기당 대략 하나의 빈도로 일어나는 것으로 추정된다. 본원에 설명되는 각각의 서열은 어느 정도, 확인 목적을 위해 개체로부터의 DNA가 비교될 수 있는 표준물로서 사용될 수 있다. 비코딩 영역에서 더 많은 다형성이 일어나므로, 개체를 구별하기 위해 더 적은 서열이 필요하다. 서열 1 또는 4의 비코딩 서열은 편리하게 아마도 각각 100 염기의 비코딩 증폭된 서열을 생성시키는 10 내지 1,000 프라이머의 패널을 사용하여 양성 개체 확인을 제공할 수 있다. 서열 3 또는 6과 같은 예측된 코딩 서열이 사용되면, 양성 개체 확인을 위한 보다 적절한 수의 프라이머는 500-2000일 것이다.

[0717] 본원에 설명되는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 뉴클레오티드 서열로부터 시약의 패널을 개체에 대한 특유한 확인 데이타베이스를 생성하기 위해 사용되면, 이들 동일한 시약은 그 개체로부터의 조직을 확인하기 위해 나중에 사용될 수 있다. 특유한 확인 데이타베이스를 사용하여, 극도로 작은 조직 샘플로부터 개체 (생존 또는 사망)의 양성 확인을 수행할 수 있다.

[0718] **법의 생물학에서 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 서열의 이용**

[0719] DNA-기반 확인 기술은 또한 법의 생물학에서 사용될 수 있다. 본 발명의 서열은 인간 게놈 내의 특이적 유전자좌에 표적화된 폴리뉴클레오티드 시약, 예를 들어, PCR 프라이머를 제공하기 위해 사용될 수 있고, 이것은 예를 들어, 또다른 "확인 마커" (즉, 특정 개체에 특유한 또다른 DNA 서열)을 제공함으로써 DNA-기반 법의학적 확인의 신뢰성을 향상시킬 수 있다. 상기 언급된 바와 같이, 확인을 위해 실제 염기 서열 정보가 제한 효소에 의해 생성된 단편에 의해 형성된 패턴에 대한 정확한 대체물로서 사용될 수 있다. 서열 1 또는 3의 비코딩 영역에 표적화된 서열이 비코딩 영역 내에 보다 많은 수의 다형성이 일어나, 상기 기술을 이용하여 개체를 구별하기 쉽도록 하므로 상기 용도에 특히 적절하다. 폴리뉴클레오티드 시약의 예는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 뉴클레오티드 서열 또는 그의 일부, 예를 들어, 적어도 20 염기, 바람직하게는 적어도 30 염기 길이를 갖는 서열 1 또는 3의 비코딩 영역으로부터 유래한 단편을 포함한다. 본원에 설명되는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 뉴클레오티드 서열은 예를 들어, 특이적 조직, 예를 들어, 림프구를 확인하기 위해 계내 혼성화 기술에서 사용할 수 있는 폴리뉴클레오티드 시약, 예를 들어, 표지된 또는 표지가능한 프로브를 제공하기 위해 추가로 사용될 수 있다. 이것은 법의 병리학자가 미지의 기원의 조직을 받는 경우에 매우 유용할 수 있다. 종에 의해 및/또는 장기 종류에 의해 조직을 확인하기 위해 상기 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 프로브의 패널을 사용할 수 있다. 유사한 방식으로, 이들 시약, 예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 프라이머 또는 프로브는 조직 배양액을 오염에 대해 스크리닝하기 위해 사용될 수 있다 (즉, 배양액 내의 상이한 종류의 세포의 혼합물의 존재에 대한 스크리닝).

[0720] **진단 검정**

[0721] 생물학적 샘플 내에서 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 또는 핵산의 존재 또는 부재를 검출하기 위한 예시적인 방법은 시험 대상체로부터 생물학적 샘플을 얻고, 생물학적 샘플을 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 또는 핵산의 존재가 생물학적 샘플 내에서 검출되도록 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드, 또는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 (예를 들어, mRNA 또는 게놈 DNA)을 검출할 수 있는 화합물 또는 작용제와 접촉시키는 것을 포함한다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 mRNA 또는 게놈 DNA를 검출하기 위한 바람직한 작용제는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 mRNA 또는 게놈 DNA에 혼성화할 수 있는 표지된 핵산 프로브이다. 핵산 프로브는 예를 들어, 서열 1 또는 3 또는 그의 일부에 기재된 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 핵산, 예컨대 적어도 15, 30, 50, 100, 250 또는 500개 뉴클레오티드의 길이이고 엄격한 조건 하에 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 mRNA 또는 게놈 DNA에 특이적으로 혼성화하기 위해 충분한 올리고뉴클레오티드일 수 있다. 본 발명의 진단 검정에 사용하기 위한 다른 적합한 프로브는 본원에서 설명한다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드를 검출하기 위한 바람직한 작용제는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드에 결합할 수 있는 항체, 바람직하게는 검출가능한 표지를 갖는 항체이다. 항체는 폴리클로날, 또는 보다 바람직하게는 모노클로날 항체일 수 있다. 무손상 항체, 또는 그의 단편 (예를 들어, Fab 또는 $F(ab')_2$)가 사용될 수 있다.

프로브 또는 항체와 관련하여 용어 "표지된"은 검출가능한 물질을 프로브 또는 항체에 결합시키는 (즉, 물리적으로 연결시키는) 프로브 또는 항체의 직접 표지, 및 직접 표지된 또다른 시약과의 반응에 의한 프로브 또는 항체의 간접 표지를 포함하는 것으로 의도된다. 간접 표지의 예는 형광 표지된 2차 항체를 사용한 1차 항체의 검출, 및 형광 표지된 스트렙타비딘을 사용하여 검출될 수 있도록 비오틴을 사용한 DNA 프로브의 최종-표지를 포함한다. 용어 "생물학적 샘플"은 대상체로부터 단리된 조직, 세포, 및 생물학적 유체뿐만 아니라 대상체 내에 존재하는 조직, 세포, 및 유체를 포함하는 것으로 의도된다. 즉, 본 발명의 검출 방법은 시험관 내에서 및 생체 내에서 생물학적 샘플 내에서 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 mRNA, 폴리펩티드, 또는 게놈 DNA를 검출하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, PD-L2 mRNA의 검출을 위한 시험관내 기술은 노던 (Northern) 혼성화 및 계내 혼성화를 포함한다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 검출을 위한 시험관내 기술은 효소 결합 면역흡착 검정 (ELISA), 웨스턴 블롯, 면역침전 및 면역형광을 포함한다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 게놈 DNA의 검출을 위한 시험관내 기술은 서던 (Southern) 혼성화를 포함한다. 또한, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 검출을 위한 생체내 기술은 대상체 내로 표지된 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체를 도입하는 것을 포함한다. 예를 들어, 항체는 대상체 내의 그의 존재 및 위치가 표준 영상화 기술에 의해 검출될 수 있는 방사성 마커로 표지될 수 있다. 생물학적 샘플은 시험 대상체로부터 폴리펩티드 분자를 함유한다. 별법으로, 생물학적 샘플은 시험 대상체로부터 mRNA 분자 또는 시험 대상체로부터 게놈 DNA 분자를 함유할 수 있다. 바람직한 생물학적 샘플은 대상체로부터 통상적인 수단에 의해 단리된 혈청 샘플이다. 또다른 실시양태에서, 방법은 대조군 대상체로부터 대조군 생물학적 샘플을 얻고, 대조군 샘플을 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드, mRNA 또는 게놈 DNA의 존재가 생물학적 샘플 내에서 검출되도록 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩

티드, mRNA, 또는 게놈 DNA를 검출할 수 있는 화합물 또는 작용제와 접촉시키고, 대조군 샘플 내의 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드, mRNA 또는 게놈 DNA의 존재를 시험 샘플 내의 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드, mRNA 또는 게놈 DNA의 존재와 비교하는 것을 추가로 포함한다.

[0722] 본 발명은 또한 생물학적 샘플 내에서 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 존재를 검출하기 위한 키트를 포함한다. 예를 들어, 키트는 생물학적 샘플 내에서 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 또는 mRNA를 검출할 수 있는 표지된 화합물 또는 작용제; 샘플 내에서 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 양을 결정하기 위한 수단; 및 샘플 내의 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 양을 표준물과 비교하기 위한 수단을 포함할 수 있다. 화합물 또는 작용제는 적합한 용기 내에 포장될 수 있다. 키트는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 또는 핵산을 검출하기 위해 키트를 사용하기 위한 지시서를 추가로 포함할 수 있다.

[0723] **예후 검정**

[0724] 본원에 설명된 진단 방법은 또한 이상 또는 원치 않는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 발현 또는 활성과 연관된 질환 또는 장애가 있거나 발병할 위험이 있는 대상체를 확인하기 위해 이용될 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "이상"은 야생형 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 발현 또는 활성으로부터 벗어난 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 발현 또는 활성을 포함한다. 이상 발현 또는 활성은 증가 또는 감소된 발현 또는 활성, 및 발현의 야생형 발생 패턴 또는 발현의 세포하기관 패턴에 따르지 않는 발현 또는 활성을 포함한다. 예를 들어, 이상 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 발현 또는 활성은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 유전자 내의 돌연변이가 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 유전자를 과소-발현 또는 과다-발현시키는 사례, 및 그러한 돌연변이가 비-기능적 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 또는 야생형 방식으로 기능하지 않는 폴리펩티드, 예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 결합 파트너와 상호작용하지 않는 폴리펩티드, 또는 비-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 결합 파트너와 상호작용하는 폴리펩티드를 생성시키는 상황을 포함하는 것으로 의도된다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "원치 않는"은 생물학적 반응, 예컨대 면역 세포 활성화에서 원치 않는 현상을 포함한다. 예를 들어, 용어 원치 않는은 대상체에서 바람직하지 않은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 발현 또는 활성을 포함한다.

[0725] 본원에 설명되는 검정, 예컨대 상기한 진단 검정 또는 다음 검정은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 활성 또는 핵산 발현에서 조절이상과 연관된 장애, 예컨대 자가면역 장애, 면역결핍 장애, 면역계 장애, 예컨대 자가면역, 알레르기 또는 염증성 장애 또는 암이 있거나 발병할 위험이 있는 대상체를 확인하기 위해 이용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 이상 또는 원치 않는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 발현 또는 활성과 연관된 질환 또는 장애를 확인하는 방법을 제공하고, 여기서 시험 샘플을 대상체로부터 얻고, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 또는 핵산 (예를 들어, mRNA 또는 게놈 DNA)을 검출하고, 여기서 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 또는 핵산의 존재는 이상 또는 원치 않는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 발현 또는 활성과 연관된 질환 또는 장애가 있거나 발병할 위험이 있는 대상체에 대한 진단이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "시험 샘플"은 관심있는 대상체로부터 얻어진 생물학적 샘플을 나타낸다. 예를 들어, 시험 샘플은 생물학적 유체 (예를 들어, 뇌척수액 또는 혈청), 세포 샘플, 또는 조직일 수 있다.

[0726] 또한, 본원에 설명되는 예후 검정은 이상 또는 원치 않는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 발현 또는 활성과 연관된 질환 또는 장애를 치료하기 위해 대상체에게 작용제 (예를 들어, 작용제, 길항제, 펩티드 모방체, 폴리펩티드, 펩티드, 핵산, 소분자, 또는 다른 약물 후보)를 투여할 수 있는지 결정하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 상기 방법은 대상체가 자가면역 장애, 면역결핍 장애, 면역계 암, 또는 알레르기 또는 염증성 장애에 대해 작용제를 사용하여 효과적으로 치료될 수 있는지 결정하기 위해 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 대상체가 작용제를 사용하여 이상 또는 원치 않는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 발현 또는 활성과 연관된 장애에 대해 효과적으로 치료될 수 있는지 결정하는 방법을 제공하고, 여기서 시험 샘플을 얻고 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 또는 핵산 발현 또는 활성을 검출한다 (예를 들어, 여기서 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 또는 핵산 발현 또는 활성의 과다는 이상 또는 원치 않는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 발현 또는 활성과 연관된 장애를 치료하기 위해 작용제를 투여할 수 있는 대상체에 대한 진단이다). 본 발명의 방법은 또한 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 유전자에서 유전적 변경을 검출하고, 그에 의해 변형된 유전자를 가진 대상체가 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 활성 또는 핵산 발현의 조절이상과 연관된 장애, 예컨대 자가면역 장애, 면역결핍 장애, 면역계 암, 알레르기 장애, 또는 염증성 장애에 대한 위험이 있는지 결정하기 위해 사용될 수 있다. 본원에 설명되는 방법은 예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 유전자를 수반하는 질환 또는 병의 증상 또는 가족력을 보이는 환자를 진단하기 위해 임상 환경에서 편리하게 사용될 수 있는, 예를 들어, 본원에 설명되는 적어도 하나의 프로브 핵산 또는 항체 시약을 포함하는 예비-포장된 진단 키트를 사용함으로써

수행할 수 있다. 또한, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3이 발현되는 임의의 세포 종류 또는 조직을 본원에 설명되는 예후 검정에서 이용할 수 있다.

[0727] **면역검정**

[0728] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3; KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 결합하는 항체 및 항원-결합 단편은 샘플 내에서 마커를 정성적으로 또는 정량적으로 검출하고 분석하기 위해 면역검정에서 사용할 수 있다. 상기 방법은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하고; 샘플을 항체와 접촉시키고; 샘플 내에서 마커에 결합된 항체의 복합체의 존재를 검출하는 것을 포함한다.

[0729] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3은 임의의 많은 잘 인정되는 면역학적 결합 검정을 이용하여 검출 및/또는 정량할 수 있다. 유용한 검정은 예를 들어, 효소 면역 검정 (EIA), 예컨대 효소 결합 면역흡착 검정 (ELISA), 방사성 면역검정 (RIA), 웨스턴 블롯 검정, 또는 슬롯 (slot) 블롯 검정을 포함한다. 예를 들어, 미국 특허 4,366,241; 4,376,110; 4,517,288; 및 4,837,168을 참조한다. 일반적으로, 대상체로부터 얻은 샘플을 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 특이적으로 결합하는 항체와 접촉시킬 수 있다.

[0730] 임의로, 항체를 샘플과 접촉시키기 전에 항체는 세척 및 복합체의 후속적인 단리를 용이하게 하기 위해 고체 지지체에 고정될 수 있다. 고체 지지체의 예는 예를 들어, 마이크로타이터 플레이트, 스틱, 비드, 또는 마이크로비드 형태의 유리 또는 플라스틱을 포함하고 이로 제한되지 않는다. 항체는 고체 지지체에 부착될 수 있다.

[0731] 샘플을 항체와 함께 인큐베이팅한 후에, 혼합물을 세척하고, 형성된 항체-마커 복합체를 검출할 수 있다. 이것은 세척한 혼합물을 검출 시약과 함께 인큐베이팅함으로써 달성할 수 있다. 별법으로, 샘플 내의 마커는 예를 들어, 결합된 마커-특이적 항체를 검출하기 위해 제2의 표지된 항체를 사용한 간접 검정을 이용하여, 및/또는 예를 들어, 마커의 별개의 에피토프에 결합하는 모노클로날 항체를 혼합물과 동시에 인큐베이팅하는 경쟁 또는 억제 검정으로 검출할 수 있다.

[0732] 검정 내내, 시약의 각각의 조합 후에 인큐베이션 및/또는 세척 단계가 요구될 수 있다. 인큐베이션 단계는 약 5초 내지 수시간, 바람직하게는 약 5분 내지 약 24시간일 수 있다. 그러나, 인큐베이션 시간은 검정 형식, 마커, 용액의 부피, 농도에 따라 결정될 것이다. 대체로, 검정은 주변 온도에서 수행될 것이지만 일정 범위의 온도 (예를 들어, 10℃-40℃)에 걸쳐 수행될 수 있다.

[0733] 대상체로부터 샘플 내의 시험량의 마커를 결정하기 위해 면역검정을 이용할 수 있다. 먼저, 샘플 내의 시험량의 마커를 상기 설명된 면역검정 방법을 이용하여 검출할 수 있다. 마커가 샘플 내에 존재하는 경우에 상기 설명된 적합한 인큐베이션 조건 후에 마커에 특이적으로 결합하는 항체와 항체-마커 복합체를 형성할 것이다. 항체-마커 복합체의 양은 표준물에 비교함으로써 임의로 결정할 수 있다. 상기한 바와 같이, 측정의 단위가 대조군 양 및/또는 신호에 비교될 수 있는 한 시험량의 마커는 절대 단위로 측정될 필요는 없다. 몇몇 면역검정이 당업계에 공지되어 있고, 본원에 설명되는 KIR2DL1, KIR2DL2 및 KIR2DL3 폴리펩티드는 방사성면역검정 (RIA), 효소 결합 면역흡착 검정 (ELISA), 자기 면역검정, 면역블롯, 웨스턴 블롯, 면역침전 검정, 면역조직화학 분석, 및 형광 활성화된 세포 분류 (FACS)를 포함하고 이로 제한되지 않는 그러한 면역검정에서 사용될 수 있다 ([Wild, (2008) [Ed.] The Immunoassay Handbook [3rd Ed.] Elsevier] 참조).

[0734] **방사성-영상화 방법**

[0735] 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체는 췌장암 및 결장직장암을 포함한 암을 진단하거나, 종양의 진행을 모니터링하기 위해 방사성-영상화 방법에서 사용할 수 있다. 이들 방법은 양전자 방출 단층촬영 (PET), 단일 광자 방출 전산화 (SPECT)을 포함하고 이로 제한되지 않는다. 이들 기술은 둘 모두 비-침습적이고, 예를 들어 암성 세포를 검출하는 것과 같은, 매우 다양한 조직 사건 및/또는 기능을 검출 및/또는 측정하기 위해 사용될 수 있다. SPECT는 임의로 동시에 2개의 표지를 사용하여 사용될 수 있다 (미국 특허 6,696,686 참조).

[0736] **상업적인 용도 및 방법**

[0737] 본 발명은 상업적인 양에 도달하기 위해 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체의 생산을 추가로 제공한다. 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체는 대규모로 생산되고, 필요한 경우에 저장되고, 병원, 임상의 또는 다른 의료 시설에 공급될 수 있다.

[0738] 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체의 생산, 저장 및 분배 방법은 본원에 개시된 방법에 의해 이루어질 수 있다. 생산 후에, 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체는 수거되고, 정제되고, 환자 치료 전에 임의로 저장

될 수 있다. 예를 들어, 일단 환자가 예를 들어, 암, 자가면역 질환, 또는 염증성 병태와 같은 징후를 나타내면, 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체를 처방하고 적시에 제공할 수 있다. 따라서, 본 발명은 항체를 상업적인 규모로 얻기 위한 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3의 생산 방법, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3에 선택적으로 결합하는 항체 및 그의 항원 결합 단편을 포함하는 제약 조성물, 및 병원 및 임상의에 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체를 제공하는 (즉, 생산하고, 임의로 저장하고, 판매하는) 방법에 관한 것이다. 항-KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 항체의 생산은 상업적인 용도를 위해 확대될 수 있다.

[0739] 본 발명은 또한 판매를 위해 제제를 분배하기 위한 분배 시스템을 확립하는 것을 포함하는 제약 사업을 수행하는 방법을 제공하거나, 제약 제제를 시판하기 위해 판매 집단을 확립하는 것을 포함할 수 있다.

[0740] **핵산의 라이브러리**

[0741] KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 변이체의 여러 가지 라이브러리는 핵산 수준에서 조합 돌연변이 유발에 의해 생성할 수 있고, 여러 가지 유전자 라이브러리에 의해 코딩된다. KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 변이체의 여러 가지 라이브러리는 예를 들어, 잠재적인 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 서열의 축퇴성 세트 개별 폴리펩티드로서 또는 별법으로, 그 내부에 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 서열의 세트를 함유하는 보다 큰 융합 단백질 (예를 들어, 파지 디스플레이에 대해)의 세트로서 발현가능하도록 합성 올리고뉴클레오티드의 혼합물을 유전자 서열 내로 효소에 의해 라이게이팅함으로써 생산할 수 있다. 축퇴성 올리고뉴클레오티드 서열로부터 잠재적인 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 변이체의 라이브러리를 생산하기 위해 사용될 수 있는 다양한 방법이 존재한다. 축퇴성 유전자 서열의 화학적 합성은 자동 DNA 합성기에서 수행할 수 있고, 이어서, 합성 유전자는 적절한 발현 벡터 내로 라이게이팅될 수 있다. 유전자의 축퇴성 세트의 사용에 의해 하나의 혼합물 내에, 목적하는 세트의 잠재적인 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 서열을 코딩하는 모든 서열을 제공할 수 있다. 축퇴성 올리고뉴클레오티드의 합성 방법은 당업계에 공지되어 있다 (예를 들어, [Narang (1983) Tetrahedron 39:3]; [Itakura, et al. (1984) Annu. Rev. Biochem. 53:323]; [Itakura, et al. (1984) Science 198: 1056]; [Ike, et al. (1983) Nucleic Acids Res. 11:477] 참조).

[0742] 추가로, KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드 코딩 서열의 단편의 라이브러리는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 변이체의 스크리닝 및 후속적인 선택을 위해 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 단편의 여러 가지 집단을 생성하기 위해 사용될 수 있다. 코딩 서열 단편의 라이브러리는 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 코딩 서열의 이중 가닥 PCR 단편을 분자당 약 1회만 니킹 (nicking)이 일어나는 조건 하에 뉴클레아제로 처리하고, 이중 가닥 DNA를 변성시키고, DNA를 탈변성시켜 상이한 니킹된 생성물로부터 센스/안티센스 쌍을 포함할 수 있는 이중 가닥 DNA를 형성시키고, S1 뉴클레아제를 사용한 처리에 의해 변형된 이중체로부터 단일 가닥 부분을 제거하고, 생성되는 단편 라이브러리를 발현 벡터 내로 라이게이팅함으로써 생성할 수 있다. 상기 방법에 의해, 다양한 크기의 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 N-말단, C-말단 및 내부 단편을 코딩하는 발현 라이브러리가 유도될 수 있다.

[0743] 점 돌연변이 또는 말단절단에 의해 제조된 조합 라이브러리의 유전자 생성물을 스크리닝하기 위한, 및 선택된 특성을 갖는 유전자 생성물에 대해 cDNA 라이브러리를 스크리닝하기 위한 몇몇 기술은 당업계에 공지되어 있다. 그러한 기술은 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 폴리펩티드의 조합 돌연변이 유발에 의해 생성된 유전자 라이브러리의 빠른 스크리닝에 적용가능하다. 큰 유전자 라이브러리를 스크리닝하기 위한 고-처리량 (high through-put) 분석에 적합한 가장 널리 사용되는 기술은 일반적으로 유전자 라이브러리를 복제가능 발현 벡터 내로 클로닝하고, 적절한 세포를 생성되는 벡터의 라이브러리를 형질전환시키고, 목적하는 활성의 검출이 그의 생성물이 검출된 유전자를 코딩하는 벡터의 단리를 용이하게 하는 조건 하에 조합 유전자를 발현시키는 것을 포함한다. 순환 앙상블 (recursive ensemble) 돌연변이 유발 (REM; 라이브러리에서 기능적 돌연변이체의 빈도를 향상시키는 새로운 기술)을 KIR2DL1, KIR2DL2, 및 KIR2DL3 변이체를 확인하기 위해 스크리닝 검정과 조합으로 사용할 수 있다 ([Arkin and Youvan (1992) Proc Natl. Acad. Sci. USA 89:7811-7815]; [Delagrave et al. (1993) Protein Eng. 6(3):327-331]).

[0744] 본 명세서에 언급된 모든 공개문 (예를 들어, 비-특허 문헌), 특허, 특허 출원 공개, 및 특허 출원은 본 발명이 속하는 분야의 당업자의 기술 수준을 표시한다. 그러한 모든 공개문 (예를 들어, 비-특허 문헌), 특허, 특허 출원 공개, 및 특허 출원은 각각의 개별 공개, 특허, 특허 출원 공개, 또는 특허 출원이 참조로 포함되는 것으로 구체적으로 및 개별적으로 지시되는 것과 동일한 정도로 본원에 참조로 포함된다.

[0745] **실시예**

[0746] 본 발명을 이제 일반적으로 설명하지만, 단지 본 발명의 특정 측면 및 실시양태를 예시하기 위한 목적을 위한 것이고 본 발명을 제한하려는 의도가 없는 다음 실시예를 참조로 하여 보다 쉽게 이해될 것이다.

[0747] **실시예 1**

[0748] **환자에서 약동학**

[0749] 항-KIR (1-7F9)의 혈장 농도를 아래에 간단히 설명한 바와 같이 ELISA에 의해 결정하였다.

[0750] 플레이트를 KIR2DL3 코팅 용액 (100 ㎕/웰)으로 코팅하고, 약 +4℃에서 밤새 인큐베이팅하였다. 이어서, 플레이트를 자동화 플레이트 세척기를 이용하여 세척 완충제로 3회 세척하였다 (400 ㎕/웰). 차단 완충제를 첨가하고 (200 ㎕/웰), 플레이트를 약 2시간 동안 플레이트 진탕기 상에서 실온에서 인큐베이팅하였다. 이후, 플레이트를 세척 완충제로 다시 3회 세척하였다 (400 ㎕/웰).

[0751] 표준물, 품질 대조군 및 샘플을 플레이트에 첨가한 (100 ㎕/웰) 후, 약 2시간 동안 플레이트 진탕기 상에서 실온에서 인큐베이팅하였다. 마우스 항-인간 IgG4:퍼옥시다제 작업 용액 (100 ㎕/웰)을 첨가하기 전에, 플레이트를 추가로 3회 세척하였다 (상기한 바와 같이). 이어서, 플레이트를 다시 약 2시간 동안 플레이트 진탕기 상에서 실온에서 인큐베이팅하고, 이후 다시 1회 세척하였다.

[0752] TMB를 플레이트 (100 ㎕/웰)에 첨가한 후, 약 30분 동안 플레이트 진탕기 상에서 실온에서 인큐베이팅하였다. 중지 용액 (50 ㎕/웰)을 첨가하여 효소 반응을 중지시켰다. 흡광도를 450 nm에서 판독하였다 (참조 필터 650 nm). 본 연구에 대한 정량 하한은 5.000 ng/mL이고, 본 연구에 대한 정량 상한은 110.0 ng/mL이다.

[0753] **실시예 2**

[0754] **KIR 점유 검정**

[0755] 수용체 점유를 4-색상 형광 분석에 의해 인간 전혈 샘플에 대해 평가하였다. 간단히 설명하면, 유리형 및 결합형 KIR2D 수용체 수준을 EDTA 항응고제 처리한 말초 혈액에서 T 및 NK 림프구 상에서 평가하였다. 유리 부위 검정은 KIR2D 분자에 결합하는 PE-접합된 1-7F9로 염색함으로써 비결합된 KIR2D를 평가할 것이다. 결합된 부위 검정은 KIR2D 수용체에 결합된 1-7F9를 인식하는 PE-접합된 마우스 항-인간 IgG4 모노클로날 항체로 염색함으로써 1-7F9에 의해 점유된 KIR2D 수용체를 평가할 것이다. 유리형 및 결합형 검정은 1-7F9-PE 또는 항-hIgG4-PE에 대한 % 양성 염색 및 형광 강도 [MESF] 모두의 평가를 허용할 것이다. 다음 접합된 항체의 조합을 다음 2가지 검정에서 사용한다:

[0756] 유리 부위 검정: CD3/1-7F9/CD45/CD56

[0757] 결합형 검정: CD3/hIgG4/CD45/CD56.

[0758] 샘플을 벡톤 디킨슨 (Becton Dickinson) 셀퀘스트 (Cellquest) 소프트웨어를 이용하여 벡톤 디킨슨 FACScalibur 상에서 분석하였다. T 세포는 CD45+CD3+ 림프구로서 규정되고, NK 세포는 CD45+CD3-CD56+ 세포로서 규정된다.

[0759] **실시예 3**

[0760] **임상적 안전성 및 자가-반응성**

[0761] 유도 및 강화 화학요법 후 최초로 완전 완화했지만 골수 이식에 적격이 아닌 급성 골수 백혈병 (AML)의 노인 환자 (>60세)에서 단일 용량 상승 시험을 수행하였다. 표준 3+3 설계를 적용하고, 총 7회 용량 수준을 연구하였다: 용량은 0.0003 mg/kg 내지 3 mg/kg 범위임. 투여 후에, KIR 점유가 더 이상 검출가능하지 않을 때까지 환자를 안전성, PK 및 KIR 점유에 대해 모니터링하였다.

[0762] 연장 시험을 또한 수행하였다. 용량-상승 시험을 완료하였고 여전히 완전 완화 상태인 AML 환자를 연장 시험에 참여시켰고, 여기서 환자는 월별 기초로 6회까지 투여하였다. 환자에게 선행 시험에서 투여받은 것과 동일한 용량을 투여하였다.

[0763] *환자, 물질 및 방법*

[0764] 두 시험 모두에서, 최초로 완전 완화 (CR)하고 이식에 적격이 아닌 노인 AML 환자 (>60세)가 연구에 적격이었다. AML은 WHO 기준에 따랐다 (Brunning RD, Matutes E, Harris NL et al.: Acute myeloid leukaemia: Introduction. In Jaffe ES, Harris NL, Stein H, et al. Eds.: Pathology and Genetics of

Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: IARC Press, 2001. World Health Organization Classification of Tumors, 3, pp 77-80). 완화는 NCI 기준 (Cheson et al. JCO, 21(24): 4642-4649 (2003))에 따라 규정된 형태학적 완전 완화 (CR), 또는 단지 1 또는 2 사이클의 유도 화학요법, 및 적어도 1 및 최대 6 사이클의 강화 화학요법 후의 불완전한 혈소판 계수 회복을 갖는 CRi이었다.

[0765] 용량-상승 시험의 스크리닝에서, 화학요법의 마지막 투여 후로부터 시간은 적어도 30일 및 120일 이내였다. 다른 적격성 기준은 NK-세포 상에 KIR2DL1 및 2/3의 발현, ECOG (Oken, et al. Toxicity And Response Criteria Of The Eastern Cooperative Oncology Group. Am J Clin Oncol 5:649-655, 1982) 상태 0-2, 및 선행 치료로부터의 모든 독성의 회복을 포함하였다 (이로 제한되지 않았다).

[0766] 연장 시험을 위해, 허용가능한 안전성 프로필을 갖는 용량-상승 시험의 완료가 추가의 적격성 기준이었다.

[0767] 추가의 기준은 절대 호중구 계수 > $1x10^9$/L, 혈소판 > $80x10^9$/L, 질환의 증상 없음, 모든 선행 항-백혈병 요법의 급성 독성의 회복, 환자 NK-세포 상에서 KIR-발현 (항-KIR (1-7F9)에 결합하는 능력), 연구자가 판단할 때 주요 관련 장기 기능장애 없음, 및 다음과 같은 임상 실험실 값을 포함하였다: (a) 혈청 크레아티닌 ≤ 2 mg/dL, (b) 총 빌리루빈 ≤ 정상치의 상한 1.5x, 및 (c) AST ≤ 정상치의 상한 3x.

[0768] *연구 설계*

[0769] 용량-상승 시험은 다기관, 개방-라벨, 단일 용량-상승 안전성 및 내약성 시험이었다. 7가지 용량 수준을 연구하였다; 0.0003 mg/kg, 0.003 mg/kg, 0.015 mg/kg, 0.075 mg/kg, 0.3 mg/kg, 1 mg/kg 및 3 mg/kg. 본 시험을 위해 일반적 (3+3) 설계를 선택하였다. 각각의 환자를 하나의 용량에 할당하고, 환자 NK-세포 상에서 검출가능한 KIR-점유가 없을 때까지 안전성, 약동학 및 약력학에 대해 모니터링하였다. 안전성, PK 및 KIR-점유는 진행성 연구로 분석하였고, 각각의 용량군으로부터 투여 후 처음 4주 동안 얻어진 데이타가 일반적으로 용량-상승 결정의 기초를 형성한다.

[0770] 연장 시험은 반복 투여, 다기관, 개방-라벨, 안전성 및 내약성 시험으로 설계하였다. 개별 환자에게 제공된 용량은 단일 용량 시험에서 환자가 제공받은 것과 동일하였다. 환자는 4주 간격으로 6회 투여, 즉, 최대 6개월 지속기간으로 6회 투여 사이클로 투여받았다. 각각의 투여 사이클은 투여 방문 및 안전성 모니터링 방문으로 이루어진다. 마지막 투여 후, 환자 NK-세포 상에 검출가능한 KIR-점유가 없을 때까지 환자를 안전성에 대해 모니터링하였다. 상기 안전성 추적 기간의 지속기간은 아마도 투여된 용량에 따라 결정되고, 마지막 투여 후 최대 24주인 것으로 예상된다.

[0771] 항-KIR (1-7F9) 투여에 대한 안전성 (즉, 임의의 관찰된 독성)은 US National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) 버전 3.0을 이용하여 평가하였다. 약동학 종점, KIR-점유, NK- 및 T-세포 활성화의 마커, WT-1 종양 마커, 진행이 없는 생존 및 총 생존을 또한 평가하였다.

[0772] *결과*

[0773] 수용체 포화는 0.0003 mg/kg, 0.003 mg/kg, 0.015 mg/kg, 0.075 mg/kg, 0.3 mg/kg, 1 mg/kg 및 3 mg/kg의 각각의 용량 수준을 제공한 환자들 사이에서 용량 상승 시험으로 평가하였다. 요약하면, 용량 0.0003 mg/kg는 약 2시간 동안 부분적 KIR 포화 (50% 점유)를 일으키고; 용량 0.003 mg/kg는 24시간 미만의 기간 동안 완전 KIR 포화 (90% 점유)를 일으키고; 용량 0.015 mg/kg는 7일 미만의 기간 동안 완전 KIR 포화를 일으키고; 용량 0.075 mg/kg는 거의 7일의 기간 동안 완전 KIR 포화를 일으키고; 용량 0.3 mg/kg는 7일 초과 및 14일 미만의 기간 동안 완전 KIR 포화를 일으키고; 용량 1 mg/kg는 3주 미만 (약 2주 내지 3주)의 기간 동안 완전 KIR 포화를 일으키고; 용량 3 mg/kg는 4주 초과의 기간 동안 완전 KIR 포화를 일으켰다.

[0774] 자가-반응성 (예컨대 피부 발진 및 위장관 증상), 주입 (예컨대 발진, 가려움, 홍반, 피로, 두통, 발열) 또는 시토카인 방출 (예컨대 발열, 피로, 권태감, 및 두통)에 관련된 유해 사건은 어떠한 안전성 문제를 제기할 정도로 발생하지 않았다.

[0775] **실시예 4**

[0776] **트랜스제닉 마우스 모델에서 ConA 블라스트의 제거의 생체내 효능**

[0777] cw3-발현 conA 블라스트의 NK-매개된 생체내 사멸의 유도를 항-KIR2DL1, 2 및 3 항체 1-7F9를 투여한 KIR2DL3 트랜스제닉 마우스에서 평가하였다.

[0778] *물질 및 방법*

[0779] 항체: KIR2DL1로 안정하게 형질감염된 BW5417 세포로 인간 게놈 IgG 유전자좌를 보유하는 마우스 (메다렉스, 인크.)를 면역화시킨 후, WO 2006/003179에 설명된 바와 같이 에스케리키아 콜라이 내에서 생산된 KIR2DL3의 가용형 세포외 부분으로 3회 추가접종 면역화시켜 완전 인간 항-KIR2DL1, 2 및 3 모노클로날 항체 1-7F9를 생성하였다. 항체를 효소 결합 면역흡착 검정에 의해 재조합, 가용형 KIR에 대한 결합에 대해 스크리닝하고, 양성 클론을 유동 세포측정에 의해 YTS-KIR2DL1 세포에 대한 결합에 대해 시험하였다. 안정한 세포주를 얻을 때까지 선택된 하이브리도마를 계대배양하였다.

[0780] 트랜스제닉 마우스: Rag-/- 마우스 및 KIR2DL3 트랜스제닉 (tg) 마우스를 교배하여 KIR2DL3tg, Rag-/- 마우스를 얻었다. HLA-Cw3 트랜스제닉 마우스를 KbDb-/- 마우스와 교배하여 Cw3tg, KbDb-/- 마우스를 얻었다. 상기 마우스는 문헌 ([Romagne et al., (2009) Blood 114: 2667-2677] 및 [Sola et al. (2009) P.N.A.S. U.S.A 106(31): 12879-12884])에 기재되어 있다.

[0781] 형광-기반 거부 검정: 검정은 카르 (K. Karr)의 실험실 ([Oberg et al. Eur. J. Immunol (2004) 34: 1646]; [S. Johansson, et al. J. Exp. Med (2005) 201: 1145])의 방법에 따라 수행하였다. CFSE-표지된 표적 세포 (표적 세포 시험 및 동계 (syngenic)/대조군 표적 세포, 비 1:1)의 주입에 이어 1 또는 2일 후 상이한 장기를 분석하였다. 표적 세포는 새로 단리된 비장 세포, 종양 세포 또는 ConA 블라스트 (48h, ConA 2 ㎍/ml)이었다.

[0782] *결과*

[0783] 실험의 목표는 1-7F9가 KIR2DL3 tg 마우스에서 cw3-표적 ConA 블라스트의 NK 사멸을 유도하는지 여부를 시험하기 위한 것이었다. 간단히 설명하면, 수여체 마우스 및 공여자 세포는 다음과 같았다:

[0784] (1) 수여체 마우스: KIR2DL3tg B6, KIR2DL3 tg Rag-/- 및 C57/BL6 마우스.

[0785] (2) 공여자 세포:

[0786] (a) KbDb KO 마우스, KbDb KO cw3 tg 마우스, C57/BL6 마우스로부터의 나이브 비장 세포, 및

[0787] (b) KbDb KO 마우스, KbDb KO cw3 tg 마우스, C57/BL6 마우스로부터의 ConA 블라스트.

[0788] C57/BL6 및 KbDb-/--cw3 tg 마우스로부터의 비장 세포를 2일 동안 ConA (2 ㎍/10^7 세포/ml)로 자극하였다. 세포를 0.5 μM (B6) 및 3 μM (KbDb-/-cw3) CFSE로 표지하고, 1:1의 비로 혼합한 후, 1-7F9 mAb (300 ㎍)을 미리 주입한 (또는 주입하지 않은) KIR2DL3tg B6 마우스에 주입하였다. 따라서, 항체 1-7F9는 cw3-표적 세포 용해를 유도하기 위해 세포 주입 약 6시간 전에 투여되었다. 세포 주입 24h 전에 투여된 항-NK1.1 항체 PK136 (비디 바이오사이언시즈 (BD Biosciences))는 NK 세포 고갈을 유도하기 위해 대조군으로서 사용되었다.

[0789] 결과를 도 1A, 1B 및 2에 제시한다. 도 1A 및 1B는 세포의 주입 40시간 후에 CSFE-표지된 세포의 백분율을 시험한다. 주입 20시간 후에 CSFE-표지된 세포에 대해 유사한 결과가 얻어졌다. 도 1A는 비처리된 KIR2DL3tg B6 마우스 및 처리된 및 비처리된 C57B16 마우스에 비해, 항체 1-7F9로 처리할 때 KIR2DL3tg B6 마우스에서 PBMC에서 CSFE-표지된 세포의 백분율의 극적인 감소를 보여준다. 도 1B는 비처리된 KIR2DL3tg B6 마우스 및 처리된 및 비처리된 C57B16 마우스에 비해, KIR2DL3tg B6 마우스로부터의 비장에서 항체 1-7F9로 처리할 때 CSFE-표지된 비장 세포의 백분율의 극적인 감소를 보여준다. 도 2는 세포의 주입 40시간 후에 CSFE-표지된 세포의 상대적인 세포 생존을 시험한다. 도 2는 비처리된 KbDb KO cw3 tg 마우스에 비해, 항체 1-7F9로 처리할 때 KIR2DL3tg B6 마우스에서 PBMC 및 비장에서 KbDb-/- cw3 ConA 블라스트의 생존의 극적인 감소를 보여준다.

[0790] NK 세포는 자가-관용을 보장하는 메카니즘을 갖는 것으로 일반적으로 공지되어 있다 ([Raulet and Vance (2006) Nature Immuno. Rev. 6: 520-531] 참조). 특히, 모든 NK 세포는 억제성 KIR 또는 억제성 CD94/NKG2A 분자를 발현한다. 종양학에서 항-KIR 항체 1-7F9의 현재 I상 임상 시험에서 관찰된 바와 같은 KIR 수용체의 차단은 항체가 일반적으로 모노클로날 항체에 대해 관찰된 것 이외의 특정 염증 또는 자가면역을 유도하지 않는 것으로 지시한다. 그러나, 생체 내에서 활성화된 또는 증식성 T 세포의 제거에 대한 KIR2DL1, 2 또는 3 차단의 효과에 대해 연구되지 않았다. 본 발명의 결과는 KIR2DL3-발현 NK 세포가 생체 내에서, KIR2DL3이 차단되는 한 그렇지 않으면 그들의 HLA-cw3 리간드에 의해 차단될 것인 활성화된 T 세포를 감소 또는 제거할 수 있음을 지시한다. 따라서, KIR2DL1, 2 및/또는 세포의 집단은 KIR이 생체 내에서 차단될 때 자가 활성화된 염증유발성 세포를 제거하는 잠재력을 가진다.

[0791] 본원에 언급된 공개, 특허 출원, 및 특허를 비롯한 모든 참고문헌은 본원에서 다른 곳에서 이루어진 특정 문서

의 임의의 따로 제공된 포함에 상관없이 각각의 참조문이 참조로 포함되는 것으로 구체적으로 및 개별적으로 지시되는 것과 동일한 정도로 그 전문이 본원에 참조로 포함되고, 그 전문이 본원에 기재되었다 (법적으로 허용되는 최대의 정도로).

[0792] 달리 언급하지 않으면, 본원에 제공된 모든 정확한 값은 상응하는 대략적인 값을 대표한다 (예를 들어, 특정 인자 또는 측정치에 관하여 제공된 모든 정확한 예시적인 값은 적절한 경우에 "약"으로 수식된 상응하는 대략적인 측정치를 또한 제공하는 것으로 간주할 수 있다).

[0793] 요소(들)에 관하여 "이루어지는", "갖는", "포함하는", 또는 "함유하는"과 같은 용어를 사용하는 본 발명의 임의의 측면 또는 실시양태의 설명은 달리 언급하거나 문맥상 명백하게 반박하지 않으면 그 특정 요소(들)"로 이루어지는, "로 본질적으로 이루어지는, 또는 "을 실질적으로 포함하는" 본 발명의 유사한 측면 또는 실시양태에 대한 지지를 제공하는 것으로 의도된다 (예를 들어, 특정 요소로 이루어지는 것으로 본원에 설명된 조성물은 달리 언급하거나 문맥상 명백하게 반박하지 않으면 그 요소로 이루어지는 조성물을 또한 설명하는 것으로서 이해되어야 한다).

[0794] 임의의 및 모든 실시예 또는 본원에 제공된 예시적 언어 (예를 들어, "예컨대")의 사용은 단지 본 발명을 보다 명확하게 하기 위해 의도되고, 달리 청구되지 않으면 본 발명의 범위를 제한하지 않는다. 명세서 내의 언어는 임의의 비-청구된 요소를 본 발명의 실시에 필수적인 것으로서 지시하는 것으로서 해석되어서는 안 된다.

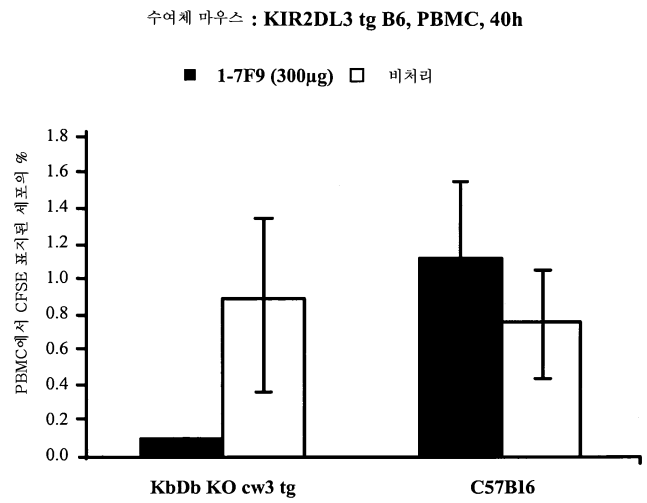
[0795] 모든 공개, 특허 및 특허 출원은 각각의 개별 공개, 특허 또는 특허 출원이 그 전문이 참조로 포함되는 것으로 구체적으로 및 개별적으로 지시되는 것과 동일한 정도로 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0796] 당업자는 단지 통상적인 실험을 이용하여, 본원에 기재된 본 발명의 구체적인 실시양태에 대한 많은 동등물을 알 것이거나 확인할 수 있다. 그러한 동등물은 다음 특허청구범위에 포함되는 것으로 의도된다.

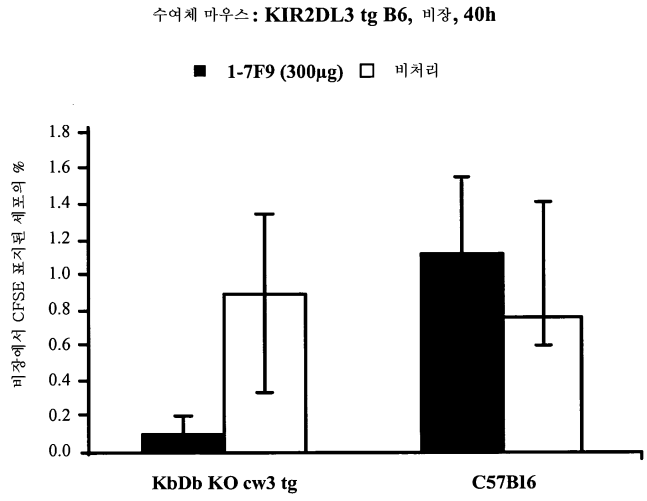
도면

도면1

도 1A

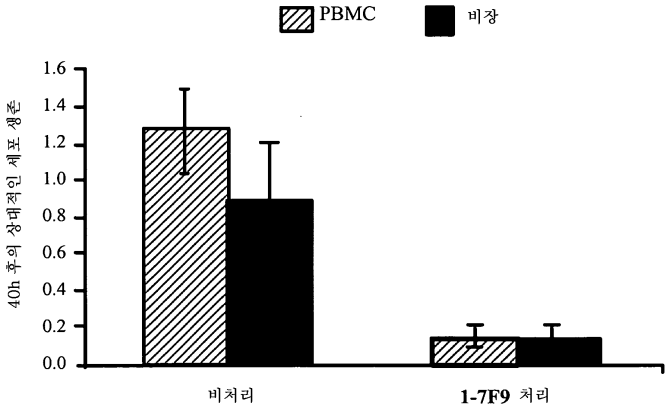


도 1B



도면2

300 ㎍의 1-7F9 모노클로날 항체를 주사한
KIR2DL3tg B6 마우스 내의 KbDb -/- cw3 ConA 블라스트 세포의 거부



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> INNATE PHARMA S.A.

Andre, Pascale

Romagne, Francois

<120> ANTI-KIR ANTIBODIES FOR THE TREATMENT OF INFLAMMATORY AND AUTOIMMUNE DISORDERS

<130> 44292.118702

<140> PCT/IB2012/001512

2012-05-25

<150> 61/489,806

<151> 2011-05-25

<160> 24

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Val Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Met Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr

100 105

<210> 2

<211> 123

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 2

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Phe Ile Pro Ile Phe Gly Ala Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ile Pro Ser Gly Ser Tyr Tyr Tyr Asp Tyr Asp Met Asp Val

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 3

<211> 109

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> VARIANT

<222> (3)..(3)

<223> Xaa can be Gln or Arg

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> Xaa can be Leu or Met

<220><221> VARIANT

<222> (9)..(9)

<223> Xaa can be Ser or Phe

<220><221> VARIANT

<222> (24)..(24)

<223> Xaa can be Arg or Trp

<220><221> VARIANT

<222> (32)..(32)

<223> Xaa can be Ala or Tyr

<220><221> VARIANT

<222> (41)..(41)

<223> Xaa can be Gly or Ala

<220><221> VARIANT

<222> (47)..(47)

<223> Xaa can be Leu or Phe

<220><221> VARIANT

<222> (50)..(50)

<223> Xaa can be Asp or Tyr

<220><221> VARIANT

<222> (55)..(55)

<223> Xaa can be Glu or Gln

<220><221> VARIANT

<222> (71)..(71)

<223> Xaa 71 can be Phe or Tyr

<220><221> VARIANT

<222> (74)..(74)
<223> Xaa 74 can be Ala or Thr
<400> 3

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

<210> 4
<211> 124
<212> PRT
<213> homo sapiens
<400> 4

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

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Tyr Asp Ile Phe Lys Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp

100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 5

<211> 214

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Val Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Met Tyr

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 6
<211> 450
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 6
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Phe Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

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

100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser

130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val

145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe

165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val

180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val

195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys

210 215 220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly

225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu

260 265 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg

290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu

325 330 335

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

340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp

405 410 415

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

420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Gly Lys

450

<210> 7

<211> 224

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220><221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (114)..(114)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 7

His Glu Gly Val His Arg Lys Pro Ser Leu Leu Ala His Pro Gly Xaa

1 5 10 15

Leu Val Lys Ser Glu Glu Thr Val Ile Leu Gln Cys Trp Ser Asp Val

20 25 30

Met Phe Glu His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly Met Phe Asn Asp Thr

35 40 45

Leu Arg Leu Ile Gly Glu His His Asp Gly Val Ser Lys Ala Asn Phe

50 55 60

Ser Ile Ser Arg Met Thr Gln Asp Leu Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Tyr

65 70 75 80

Gly Ser Val Thr His Ser Pro Tyr Gln Val Ser Ala Pro Ser Asp Pro

85 90 95

Leu Asp Ile Val Ile Ile Gly Leu Tyr Glu Lys Pro Ser Leu Ser Ala

100 105 110

Gln Xaa Gly Pro Thr Val Leu Ala Gly Glu Asn Val Thr Leu Ser Cys

115 120 125

Ser Ser Arg Ser Ser Tyr Asp Met Tyr His Leu Ser Arg Glu Gly Glu

130 135 140

Ala His Glu Arg Arg Leu Pro Ala Gly Pro Lys Val Asn Gly Thr Phe

145 150 155 160

Gln Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His Gly Gly Thr Tyr Arg

165 170 175

Cys Phe Gly Ser Phe His Asp Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Lys Ser Ser

180 185 190

Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Pro Ser Asn Ser Trp Pro

195 200 205

Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Lys Thr Gly Asn Pro Arg His Leu His

210 215 220

<210> 8

<211> 224

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 8

His Glu Gly Val His Arg Lys Pro Ser Leu Leu Ala His Pro Gly Arg

1 5 10 15

Leu Val Lys Ser Glu Glu Thr Val Ile Leu Gln Cys Trp Ser Asp Val

20 25 30

Arg Phe Glu His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly Lys Phe Lys Asp Thr

35 40 45

Leu His Leu Ile Gly Glu His His Asp Gly Val Ser Lys Ala Asn Phe

50 55 60

Ser Ile Gly Pro Met Met Gln Asp Leu Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Tyr

65 70 75 80

Gly Ser Val Thr His Ser Pro Tyr Gln Leu Ser Ala Pro Ser Asp Pro
85 90 95

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

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

<210> 9
<211> 224
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 9
His Glu Gly Val His Arg Lys Pro Ser Leu Leu Ala His Pro Gly Pro
1 5 10 15
Leu Val Lys Ser Glu Glu Thr Val Ile Leu Gln Cys Trp Ser Asp Val
20 25 30
Arg Phe Gln His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly Lys Phe Lys Asp Thr
35 40 45
Leu His Leu Ile Gly Glu His His Asp Gly Val Ser Lys Ala Asn Phe

50 55 60

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

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

180 185 190
Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Pro Ser Asn Ser Trp Pro
195 200 205
Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Glu Thr Gly Asn Pro Arg His Leu His
210 215 220

<210> 10
<211> 100
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 10

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

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

50 55 60

Ser Ile Gly Pro Met Met Pro Val Leu Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Tyr

65 70 75 80

Gly Ser Val Pro His Ser Pro Tyr Gln Leu Ser Ala Pro Ser Asp Pro

85 90 95

Leu Asp Met Val

100

<210> 11

<211> 348

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Met Ser Leu Leu Val Val Ser Met Ala Cys Val Gly Phe Phe Leu Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Cys Trp Ser Asp Val Met Phe Glu His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly

50 55 60

Met Phe Asn Asp Thr Leu Arg Leu Ile Gly Glu His His Asp Gly Val

65 70 75 80

Ser Lys Ala Asn Phe Ser Ile Ser Arg Met Thr Gln Asp Leu Ala Gly

85 90 95

Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Val Thr His Ser Pro Tyr Gln Val Ser

100 105 110

Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Val Ile Ile Gly Leu Tyr Glu Lys

115 120 125

Pro Ser Leu Ser Ala Gln Pro Gly Pro Thr Val Leu Ala Gly Glu Asn

130 135 140

Val Thr Leu Ser Cys Ser Ser Arg Ser Ser Tyr Asp Met Tyr His Leu

145 150 155 160

Ser Arg Glu Gly Glu Ala His Glu Arg Arg Leu Pro Ala Gly Pro Lys

165 170 175

Val Asn Gly Thr Phe Gln Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His

180 185 190

Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Phe His Asp Ser Pro Tyr Glu

195 200 205

Trp Ser Lys Ser Ser Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Pro

210 215 220

Ser Asn Ser Trp Pro Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Lys Thr Gly Asn

225 230 235 240

Pro Arg His Leu His Ile Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Ile Ile Leu

245 250 255

Phe Ile Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Ser Asn Lys Lys

260 265 270

Asn Ala Ala Val Met Asp Gln Glu Ser Ala Gly Asn Arg Thr Ala Asn

275 280 285

Ser Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp Pro Gln Glu Val Thr Tyr Thr Gln

290 295 300

Leu Asn His Cys Val Phe Thr Gln Arg Lys Ile Thr Arg Pro Ser Gln

305 310 315 320

Arg Pro Lys Thr Pro Pro Thr Asp Ile Ile Val Tyr Thr Glu Leu Pro

325 330 335

Asn Ala Glu Ser Arg Ser Lys Val Val Ser Cys Pro

340 345

<210> 12

<211> 348

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Met Ser Leu Met Val Val Ser Met Ala Cys Val Gly Phe Phe Leu Leu

1 5 10 15

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

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

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

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

260 265 270

Asn Ala Ala Val Met Asp Gln Glu Ser Ala Gly Asn Arg Thr Ala Asn

275 280 285

Arg Gln Asp Ser Asp Glu Gln Asp Pro Gln Glu Val Thr Tyr Thr Gln

290 295 300

Leu Asn His Cys Val Phe Thr Gln Arg Lys Ile Thr Arg Pro Ser Gln

305 310 315 320

Arg Pro Lys Thr Pro Pro Thr Asp Ile Ile Val Tyr Ala Glu Leu Pro

325 330 335

Asn Ala Glu Ser Arg Ser Lys Val Val Ser Cys Pro

340 345

<210> 13

<211> 341

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

Met Ser Leu Met Val Val Ser Met Val Cys Val Gly Phe Phe Leu Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Cys Trp Ser Asp Val Arg Phe Gln His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly

50 55 60

Lys Phe Lys Asp Thr Leu His Leu Ile Gly Glu His His Asp Gly Val

65 70 75 80

Ser Lys Ala Asn Phe Ser Ile Gly Pro Met Met Gln Asp Leu Ala Gly

85 90 95

Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Val Thr His Ser Pro Tyr Gln Leu Ser

100 105 110

Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Val Ile Thr Gly Leu Tyr Glu Lys

115 120 125

Pro Ser Leu Ser Ala Gln Pro Gly Pro Thr Val Leu Ala Gly Glu Ser
130 135 140
Val Thr Leu Ser Cys Ser Ser Arg Ser Ser Tyr Asp Met Tyr His Leu
145 150 155 160
Ser Arg Glu Gly Glu Ala His Glu Arg Arg Phe Ser Ala Gly Pro Lys

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

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

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

<210> 14
<211> 377
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 14

Met Ser Met Ser Pro Thr Val Ile Ile Leu Ala Cys Leu Gly Phe Phe

1 5 10 15

Leu Asp Gln Ser Val Trp Ala His Val Gly Gly Gln Asp Lys Pro Phe

20 25 30

Cys Ser Ala Trp Pro Ser Ala Val Val Pro Gln Gly Gly His Val Thr

35 40 45

Leu Arg Cys His Tyr Arg Arg Gly Phe Asn Ile Phe Thr Leu Tyr Lys

50 55 60

Lys Asp Gly Val Pro Val Pro Glu Leu Tyr Asn Arg Ile Phe Trp Asn

65 70 75 80

Ser Phe Leu Ile Ser Pro Val Thr Pro Ala His Ala Gly Thr Tyr Arg

85 90 95

Cys Arg Gly Phe His Pro His Ser Pro Thr Glu Trp Ser Ala Pro Ser

100 105 110

Asn Pro Leu Val Ile Met Val Thr Gly Leu Tyr Glu Lys Pro Ser Leu

115 120 125

Thr Ala Arg Pro Gly Pro Thr Val Arg Ala Gly Glu Asn Val Thr Leu

130 135 140

Ser Cys Ser Ser Gln Ser Ser Phe Asp Ile Tyr His Leu Ser Arg Glu

145 150 155 160

Gly Glu Ala His Glu Leu Arg Leu Pro Ala Val Pro Ser Ile Asn Gly

165 170 175

Thr Phe Gln Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His Gly Glu Thr

180 185 190

Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Phe His Gly Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Asp

195 200 205

Pro Ser Asp Pro Leu Pro Val Ser Val Thr Gly Asn Pro Ser Ser Ser

210 215 220

Trp Pro Ser Pro Thr Glu Pro Ser Phe Lys Thr Gly Ile Ala Arg His

225 230 235 240

Leu His Ala Val Ile Arg Tyr Ser Val Ala Ile Ile Leu Phe Thr Ile
245 250 255
Leu Pro Phe Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Ser Lys Lys Lys Asn Ala

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

325 330 335
Glu Pro Arg Ala Leu Ser Pro Ala His Glu His His Ser Gln Ala Leu
340 345 350
Met Gly Ser Ser Arg Glu Thr Thr Ala Leu Ser Gln Thr Gln Leu Ala
355 360 365
Ser Ser Asn Val Pro Ala Ala Gly Ile
370 375

<210> 15
<211> 375
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 15
Met Ser Leu Met Val Ile Ser Met Ala Cys Val Gly Phe Phe Leu Leu

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

Gly Val Pro Val Pro Glu Leu Tyr Asn Lys Ile Phe Trp Lys Ser Ile

65 70 75 80

Leu Met Gly Pro Val Thr Pro Ala His Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Arg

85 90 95

Gly Ser His Pro Arg Ser Pro Ile Glu Trp Ser Ala Pro Ser Asn Pro

100 105 110

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

115 120 125

Gln Pro Gly Pro Thr Val Arg Thr Gly Glu Asn Val Thr Leu Ser Cys

130 135 140

Ser Ser Arg Ser Ser Phe Asp Met Tyr His Leu Ser Arg Glu Gly Arg

145 150 155 160

Ala His Glu Pro Arg Leu Pro Ala Val Pro Ser Val Asn Gly Thr Phe

165 170 175

Gln Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His Gly Gly Thr Tyr Thr

180 185 190

Cys Phe Gly Ser Leu His Asp Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Asp Pro Ser

195 200 205

Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Ser Ser Ser Ser Ser Ser

210 215 220

Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Lys Thr Gly Ile Arg Arg His Leu His

225 230 235 240

Ile Leu Ile Gly Thr Ser Val Ala Ile Ile Leu Phe Ile Ile Leu Phe

245 250 255

Phe Phe Leu Leu His Cys Cys Cys Ser Asn Lys Lys Asn Ala Ala Val

260 265 270

Met Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asp Arg Thr Val Asn Arg Glu Asp Ser

275 280 285

Asp Asp Gln Asp Pro Gln Glu Val Thr Tyr Ala Gln Leu Asp His Cys

290 295 300

Val Phe Thr Gln Thr Lys Ile Thr Ser Pro Ser Gln Arg Pro Lys Thr

305 310 315 320

Pro Pro Thr Asp Thr Thr Met Tyr Met Glu Leu Pro Asn Ala Lys Pro

325 330 335

Arg Ser Leu Ser Pro Ala His Lys His His Ser Gln Ala Leu Arg Gly

340 345 350

Ser Ser Arg Glu Thr Thr Ala Leu Ser Gln Asn Arg Val Ala Ser Ser

355 360 365

His Val Pro Ala Ala Gly Ile

370 375

<210> 16

<211> 304

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

Met Ser Leu Thr Val Val Ser Met Ala Cys Val Gly Phe Phe Leu Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala His Pro Gly Arg Leu Val Lys Ser Glu Glu Thr Val Ile Leu Gln

35 40 45

Cys Trp Ser Asp Val Met Phe Glu His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly

50 55 60

Met Phe Asn Asp Thr Leu Arg Leu Ile Gly Glu His His Asp Gly Val

65 70 75 80

Ser Lys Ala Asn Phe Ser Ile Ser Arg Met Arg Gln Asp Leu Ala Gly

85 90 95

Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Val Thr His Ser Pro Tyr Gln Leu Ser

100 105 110

Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Val Ile Ile Gly Leu Tyr Glu Lys

115 120 125

Pro Ser Leu Ser Ala Gln Pro Gly Pro Thr Val Leu Ala Gly Glu Asn

130 135 140

Val Thr Leu Ser Cys Ser Ser Arg Ser Ser Tyr Asp Met Tyr His Leu

145 150 155 160

Ser Arg Glu Gly Glu Ala His Glu Arg Arg Leu Pro Ala Gly Thr Lys

165 170 175

Val Asn Gly Thr Phe Gln Ala Asn Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His

180 185 190

Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Phe Arg Asp Ser Pro Tyr Glu

195 200 205

Trp Ser Lys Ser Ser Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Pro

210 215 220

Ser Asn Ser Trp Pro Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Glu Thr Gly Asn

225 230 235 240

Pro Arg His Leu His Val Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Lys Ile Pro

245 250 255

Phe Thr Ile Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Ser Asp Lys

260 265 270

Lys Asn Ala Ala Val Met Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val

275 280 285

Asn Ser Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp His Gln Glu Val Ser Tyr Ala

290 295 300

<210> 17

<211> 206

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

Met Ser Leu Met Val Val Ser Met Ala Cys Val Gly Phe Phe Leu Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Cys Trp Ser Asp Val Arg Phe Glu His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly
50 55 60
Lys Tyr Lys Asp Thr Leu His Leu Ile Gly Glu His His Asp Gly Val
65 70 75 80

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

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

<210> 18
<211> 304
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 18
Met Ser Leu Met Val Ile Ser Met Ala Cys Val Gly Phe Phe Trp Leu
1 5 10 15
Gln Gly Ala Trp Pro His Glu Gly Phe Arg Arg Lys Pro Ser Leu Leu
20 25 30
Ala His Pro Gly Arg Leu Val Lys Ser Glu Glu Thr Val Ile Leu Gln
35 40 45

Cys Trp Ser Asp Val Met Phe Glu His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly

50 55 60

Thr Phe Asn Asp Thr Leu Arg Leu Ile Gly Glu His Ile Asp Gly Val
65 70 75 80

Ser Lys Ala Asn Phe Ser Ile Gly Arg Met Arg Gln Asp Leu Ala Gly
85 90 95

Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Val Pro His Ser Pro Tyr Gln Phe Ser
100 105 110

Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Val Ile Thr Gly Leu Tyr Glu Lys

115 120 125

Pro Ser Leu Ser Ala Gln Pro Gly Pro Thr Val Leu Ala Gly Glu Ser
130 135 140

Val Thr Leu Ser Cys Ser Ser Trp Ser Ser Tyr Asp Met Tyr His Leu
145 150 155 160

Ser Thr Glu Gly Glu Ala His Glu Arg Arg Phe Ser Ala Gly Pro Lys
165 170 175

Val Asn Gly Thr Phe Gln Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr Gln

180 185 190

Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Phe His Asp Ser Pro Tyr Glu
195 200 205

Trp Ser Lys Ser Ser Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Pro
210 215 220

Ser Asn Ser Trp Pro Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Lys Thr Gly Asn
225 230 235 240

Pro Arg His Leu His Val Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Lys Leu Pro

245 250 255

Phe Thr Ile Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Ser Asp Lys
260 265 270

Lys Asn Ala Ser Val Met Asp Gln Gly Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val
275 280 285

Asn Arg Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp His Gln Glu Val Ser Tyr Ala

290 295 300

<210> 19

<211> 304

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

Met Ser Leu Met Val Ile Ile Met Ala Cys Val Gly Phe Phe Leu Leu
1 5 10 15

Gln Gly Ala Trp Pro Gln Glu Gly Val His Arg Lys Pro Ser Phe Leu
20 25 30

Ala Leu Pro Gly His Leu Val Lys Ser Glu Glu Thr Val Ile Leu Gln
35 40 45

Cys Trp Ser Asp Val Met Phe Glu His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly
50 55 60

Lys Phe Asn Asn Thr Leu His Leu Ile Gly Glu His His Asp Gly Val
65 70 75 80

Ser Lys Ala Asn Phe Ser Ile Gly Pro Met Met Pro Val Leu Ala Gly
85 90 95

Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Val Pro His Ser Pro Tyr Gln Leu Ser
100 105 110

Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Met Val Ile Ile Gly Leu Tyr Glu Lys
115 120 125

Pro Ser Leu Ser Ala Gln Pro Gly Pro Thr Val Gln Ala Gly Glu Asn
130 135 140

Val Thr Leu Ser Cys Ser Ser Arg Ser Ser Tyr Asp Met Tyr His Leu
145 150 155 160

Ser Arg Glu Gly Glu Ala His Glu Arg Arg Leu Pro Ala Val Arg Ser
165 170 175

Ile Asn Gly Thr Phe Gln Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His
180 185 190

Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Phe Arg Asp Ala Pro Tyr Glu

195 200 205

Trp Ser Asn Ser Ser Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Pro

210 215 220

Ser Asn Ser Trp Pro Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Lys Thr Gly Asn

225 230 235 240

Pro Arg His Leu His Val Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Lys Ile Pro

245 250 255

Phe Thr Ile Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Ser Asp Lys

260 265 270

Lys Asn Ala Ala Val Met Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val

275 280 285

Asn Ser Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp His Gln Glu Val Ser Tyr Ala

290 295 300

<210> 20

<211> 304

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 20

Met Leu Leu Met Val Ile Ser Met Ala Cys Val Ala Phe Phe Leu Leu

1 5 10 15

Gln Gly Ala Trp Pro His Glu Gly Phe Arg Arg Lys Pro Ser Leu Leu

20 25 30

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

35 40 45

Cys Trp Ser Asp Val Met Phe Glu His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly

50 55 60

Thr Phe Asn His Thr Leu Arg Leu Ile Gly Glu His Ile Asp Gly Val

65 70 75 80

Ser Lys Gly Asn Phe Ser Ile Gly Arg Met Thr Gln Asp Leu Ala Gly

85 90 95

Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Val Thr His Ser Pro Tyr Gln Leu Ser

100 105 110

Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Val Ile Thr Gly Leu Tyr Glu Lys
115 120 125
Pro Ser Leu Pro Ala Gln Pro Gly Pro Thr Val Leu Ala Gly Glu Ser

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

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

260 265 270
Lys Asn Ala Ser Val Met Asp Gln Gly Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val
275 280 285
Asn Arg Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp His Gln Glu Val Ser Tyr Ala
290 295 300
<210> 21
<211> 444
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 21
Met Ser Leu Met Val Val Ser Met Ala Cys Val Gly Leu Phe Leu Val
1 5 10 15

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

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

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

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

260 265 270

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

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

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

<210> 22
<211> 455
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 22
Met Ser Leu Thr Val Val Ser Met Ala Cys Val Gly Phe Phe Leu Leu
1 5 10 15

Gln Gly Ala Trp Pro Leu Met Gly Gly Gln Asp Lys Pro Phe Leu Ser

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

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

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

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

Asn Arg Thr Phe Gln Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His Gly
275 280 285

Gly Thr Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Phe Arg Ala Leu Pro Cys Val Trp
290 295 300

Ser Asn Ser Ser Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Pro Ser
305 310 315 320

Ser Ser Trp Pro Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Lys Ser Gly Ile Cys
325 330 335

Arg His Leu His Val Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Ile Phe Leu Phe
340 345 350

Ile Leu Leu Leu Phe Phe Leu Leu Tyr Arg Trp Cys Ser Asn Lys Lys
355 360 365

Asn Ala Ala Val Met Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asp Arg Thr Val Asn
370 375 380

Arg Gln Asp Ser Asp Glu Gln Asp Pro Gln Glu Val Thr Tyr Ala Gln
385 390 395 400

Leu Asp His Cys Val Phe Ile Gln Arg Lys Ile Ser Arg Pro Ser Gln
405 410 415

Arg Pro Lys Thr Pro Leu Thr Asp Thr Ser Val Tyr Thr Glu Leu Pro
420 425 430

Asn Ala Glu Pro Arg Ser Lys Val Val Ser Cys Pro Arg Ala Pro Gln
435 440 445

Ser Gly Leu Glu Gly Val Phe
450 455

<210> 23

<211> 410

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Met Ser Leu Met Val Val Ser Met Ala Cys Val Gly Phe Phe Leu Leu
1 5 10 15

Glu Gly Pro Trp Pro His Val Gly Gly Gln Asp Lys Pro Phe Leu Ser

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

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

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

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

Arg Glu Ala Glu Ala Gly Glu Leu Arg Leu Thr Ala Val Leu Arg Val
            260                 265                 270
```

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

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

Asn His Cys Val Phe Thr Gln Arg Lys Ile Thr Arg Pro Ser Gln Arg
385 390 395 400
Pro Lys Thr Pro Pro Thr Asp Thr Ser Val
405 410

<210> 24
<211> 387
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 24
Met Ser Leu Met Val Val Ser Met Ala Cys Val Gly Leu Phe Leu Val
1 5 10 15
Gln Arg Ala Gly Pro His Met Gly Gly Gln Asp Lys Pro Phe Leu Ser
20 25 30

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

65 70 75 80

Asn Met Ser Pro Val Thr Thr Ala His Ala Gly Asn Tyr Thr Cys Arg
85 90 95

Gly Ser His Pro His Ser Pro Thr Gly Trp Ser Ala Pro Ser Asn Pro
100 105 110

Met Val Ile Met Val Thr Gly Asn His Arg Lys Pro Ser Leu Leu Ala
115 120 125

His Pro Gly Pro Leu Val Lys Ser Gly Glu Arg Val Ile Leu Gln Cys
130 135 140

Trp Ser Asp Ile Met Phe Glu His Phe Phe Leu His Lys Glu Trp Ile
145 150 155 160

Ser Lys Asp Pro Ser Arg Leu Val Gly Gln Ile His Asp Gly Val Ser
165 170 175

Lys Ala Asn Phe Ser Ile Gly Ser Met Met Arg Ala Leu Ala Gly Thr
180 185 190

Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Val Thr His Thr Pro Tyr Gln Leu Ser Ala
195 200 205

Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Val Val Thr Gly Leu Tyr Glu Lys Pro
210 215 220

Ser Leu Ser Ala Gln Pro Gly Pro Lys Val Gln Ala Gly Glu Ser Val
225 230 235 240

Thr Leu Ser Cys Ser Ser Arg Ser Ser Tyr Asp Met Tyr His Leu Ser
245 250 255

Arg Glu Gly Gly Ala His Glu Arg Arg Leu Pro Ala Val Arg Lys Val
260 265 270

Asn Arg Thr Phe Gln Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His Gly
275 280 285

Gly Thr Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Phe Arg His Ser Pro Tyr Glu Trp
290 295 300

Ser Asp Pro Ser Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Pro Ser
305 310 315 320

Ser Ser Trp Pro Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Lys Ser Gly Asn Leu
325 330 335
Arg His Leu His Ile Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Lys Ile Pro Phe
340 345 350

Thr Ile Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Ser Asn Lys Lys
355 360 365
Asn Ala Ala Val Met Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asn Arg Ser Glu Gln
370 375 380
Arg Gly Phe
385