



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0120601
 (43) 공개일자 2017년10월31일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 31/573* (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2839 (2013.01)
A61K 31/573 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2017-7023210
- (22) 출원일자(국제) 2016년02월25일
 심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2017년08월21일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2016/019468
- (87) 국제공개번호 WO 2016/138207
 국제공개일자 2016년09월01일
- (30) 우선권주장
 62/121,290 2015년02월26일 미국(US)

- (71) 출원인
제넨테크, 인크.
 미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우
 스샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
- (72) 발명자
하썬날리, 아즈라
 미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
 엔에이 웨이 1 제넨테크 인크. 내
마시우카, 로메오
 미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
 엔에이 웨이 1 제넨테크 인크. 내
 (뒷면에 계속)
- (74) 대리인
양영준, 이귀동

전체 청구항 수 : 총 60 항

(54) 발명의 명칭 **인테그린 베타7 길항제 및 크론병을 치료하는 방법**

(57) 요약

위장 염증성 장애, 예컨대 염증성 장 질환, 예컨대 크론병을 치료하는 방법이 제공된다. 인테그린 베타7 길항제, 예컨대 항인테그린 베타7 항체를 투여하고 투약하는 방법이 또한 제공된다. 또한, 관해를 유도하거나 크론병의 관해를 유도하고 유지하기 위한 이러한 인테그린 베타7 길항제를 투여하고 투약하는 방법이 제공된다.

(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/24 (2013.01)

C07K 2317/56 (2013.01)

(72) 발명자

탕, 메이나 타오

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크 인크. 내

틀레, 스와티

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크 인크. 내

웨이, 샤오후이

미국 20850 메릴랜드주 록빌 그랜드 챔피언 드라이브
851

명세서

청구범위

청구항 1

크론병을 가지는 환자에서 관해를 유도하는 방법으로서, 치료적 유효량의 인테그린 베타7 길항제를 상기 환자에게 피하로 투여하는 단계를 포함하되, 상기 치료적 유효량은 제1 용량의 투여 후 14주에 관해를 유도하는, 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 인테그린 베타7 길항제는 단일클론 항인테그린 베타7 항체인, 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 항인테그린 베타7 항체는 키메라 항체, 인간 항체 및 인간화 항체로부터 선택된, 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 항인테그린 베타7 항체는 항체 단편인, 방법.

청구항 5

제3항에 있어서, 상기 항-베타7 항체는 6개의 초가변 영역(hypervariable region; HVR)을 포함하되,

(i) HVR-L1은 아미노산 서열 A1-A11을 포함하고, A1-A11은 RASESVDTYLH(서열 번호 1); RASESVDLLH(서열 번호 7), RASESVDTLH(서열 번호 8) 또는 RASESVDLLH(서열 번호 9), 또는 서열 번호 1, 7, 8 또는 9의 변이체(서열 번호 26)이고, 아미노산 A2는 A, G, S, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A3은 S, G, I, K, N, P, Q, R 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, A4는 E, V, Q, A, D, G, H, I, K, L, N 및 R로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A5는 S, Y, A, D, G, H, I, K, N, P, R, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A6은 V, R, I, A, G, K, L, M 및 Q로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A7은 D, V, S, A, E, G, H, I, K, L, N, P, S 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A8은 D, G, N, E, T, P 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A9는 L, Y, I 및 M으로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A10은 L, A, I, M 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A11은 H, Y, F 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고;

(ii) HVR-L2는 아미노산 서열 B1-B8을 포함하고, B1-B8은 KYASQSSIS(서열 번호 2), RYASQSSIS(서열 번호 20) 또는 XaaYASQSSIS(서열 번호 21, Xaa는 임의의 아미노산을 나타냄), 또는 서열 번호 2, 20 또는 21의 변이체(서열 번호 27)이고, 아미노산 B1은 K, R, N, V, A, F, Q, H, P, I, L, Y 및 Xaa(Xaa는 임의의 아미노산을 나타냄)로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 B4는 S 및 D로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 B5는 Q 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 B6은 S, D, L 및 R로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 B7은 I, V, E 및 K로 이루어진 군으로부터 선택되고;

(iii) HVR-L3은 아미노산 서열 C1-C9를 포함하고, C1-C9는 QQGNSLPNT(서열 번호 3) 또는 서열 번호 3의 변이체(서열 번호 28)이고, 아미노산 C8은 N, V, W, Y, R, S, T, A, F, H, I, L 및 M으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

(iv) HVR-H1은 아미노산 서열 D1-D10을 포함하고, D1-D10은 GFFITNNYWG(서열 번호 4)이고;

(v) HVR-H2는 아미노산 서열 E1-E17을 포함하고, E1-E17은 GYISYSGSTSYNPSLKS(서열 번호 5) 또는 서열 번호 5의 변이체(서열 번호 29)이고, 아미노산 E2는 Y, F, V 및 D로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E6은 S 및 G로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E10은 S 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E12는 N, T, A 및 D로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E13은 P, H, D 및 A로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E15는 L 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E17은 S 및 G로 이루어진 군으로부터 선택되고;

(vi) HVR-H3은 아미노산 서열 F2-F11을 포함하고, F2-F11은 MTGSSGYFDF(서열 번호 6) 또는 RTGSSGYFDF(서열 번호

호 19)이거나; 아미노산 서열 F1-F11을 포함하고, F1-F11은 AMTGSSGYFDF(서열 번호 16), ARTGSSGYFDF(서열 번호 17), 또는 AQTGSSGYFDF(서열 번호 18), 또는 서열 번호 6, 16, 17, 18 또는 19의 변이체(서열 번호 30)이고, 아미노산 F2는 R, M, A, E, G, Q, S이고/이거나, 아미노산 F11은 F 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택된, 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 항인테그린 베타7 항체는 3개의 중쇄 추가변 영역(HVR-H1-H3) 서열 및 3개의 경쇄 추가변 영역(HVR-L1-L3) 서열을 포함하되,

- (i) HVR-L1은 서열 번호 7, 서열 번호 8 또는 서열 번호 9를 포함하고;
- (ii) HVR-L2는 서열 번호 2를 포함하고;
- (iii) HVR-L3은 서열 번호 3을 포함하고;
- (iv) HVR-H1은 서열 번호 4를 포함하고;
- (v) HVR-H2는 서열 번호 5를 포함하고;
- (vi) HVR-H3은 서열 번호 6 또는 서열 번호 16 또는 서열 번호 17 또는 서열 번호 19를 포함하는, 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 항인테그린 베타7 항체는 서열 번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄 및 서열 번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄를 포함하는, 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 항인테그린 베타7 항체는 에트롤리주맙인, 방법.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 인테그린 베타7 길항제의 제1 용량의 투여 전에 중증도 내지는 중증의 활성 크론병을 가지는, 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 환자는 제1 용량의 투여 전 7일에 임의의 시간에 220 이상 및 480 이하의 크론병 활성 지수(Crohn's Disease Activity Index; CDAI) 점수를 가지는 것으로 결정된, 방법.

청구항 11

제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 환자는 제1 용량의 투여 전 7일에 임의의 시간에 14 이상의 환자 보고된 결과 2(Patient Reported Outcomes 2; PRO2) 점수를 가지는 것으로 결정된, 방법.

청구항 12

제9항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 활성 염증을 가지는 것으로 결정되고, 상기 활성 염증은 회결장내시경술에 의해 결정된 바대로 7 이상의 크론병에 대한 단순화 내시경술 지수(Simplified Endoscopic Index for Crohn's Disease; SES-CD) 점수로서 결정된, 방법.

청구항 13

제9항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 단리 회장염 또는 회맹부 후절제를 가지고, 상기 환자는 활성 염증을 가지는 것으로 결정되고, 상기 활성 염증은 회결장내시경술에 의해 결정된 바대로 4 이상의 SES-CD 점수로서 결정된, 방법.

청구항 14

제9항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 부적절한 반응, 반응 소실 또는 종래의 치료제에 대한 불내증을 가지는, 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 종래의 치료제는 면역억제제 치료제, 코티코스테로이드 치료제 및 항-TNF 치료제 중 하나 이상으로부터 선택된, 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 면역억제제 치료제는 6-머캅토피린, 아자티오프린 및 메토트렉세이트로부터 선택된, 방법.

청구항 17

제15항에 있어서, 상기 코티코스테로이드 치료제는 프레드니손, 프레드니손 등가물 및 부테소나이드로부터 선택된, 방법.

청구항 18

제15항에 있어서, 상기 항-TNF 치료제는 인플릭시맵, 아달리무맵 및 세르톨리주맵 페골로부터 선택된, 방법.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항인테그린 베타7 항체는 4주마다 105mg의 고른 용량으로 또는 4주마다 210mg의 고른 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 20

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항인테그린 베타7 항체는 제1 용량에서 210mg, 제1 용량 후 2주에 210mg, 제1 용량 후 4주에 210mg, 제1 용량 후 8주에 210mg 및 제1 용량 후 12주에 210mg의 고른 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 관해는 크론병 활성 지수(CDAI) 점수에 의해 결정되고, 상기 CDAI 점수는 150 미만인, 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 치료적 유효량은 제1 용량의 투여 후 10주에 관해를 유도하는, 방법.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 관해는 환자 보고된 결과 2(PRO2) 점수에 의해 결정되고, 상기 PRO2 점수는 11 이하인, 방법.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 치료적 유효량은 크론병에 대한 단순화 내시경술 지수(SES-CD) 점수에 의해 결정된 바대로 내시경술 개선을 유도하는, 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 제1 용량의 투여 후 14주에 결정된 상기 SES-CD 점수는 기준선에서 결정된 SES-CD 점수와 비교하여 50% 감소한, 방법.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 치료적 유효량은 반응을 유도하고, 상기 반응은 기준선에서 결정된 CDAI 점수와 비교하여 적어도 70점의 CDAI 점수의 감소에 의해 결정된, 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 반응은 기준선에서 결정된 CDAI 점수와 비교하여 적어도 100점의 CDAI 점수의 감소에 의해 결정된, 방법.

청구항 28

크론병을 가지는 환자에서 관해를 유지시키는 방법으로서, 치료적 유효량의 인테그린 베타7 길항제를 상기 환자에게 피하로 투여하는 단계를 포함하고, 상기 치료적 유효량은 제1 용량의 투여 후 적어도 52주 동안, 또는 적어도 66주 동안, 또는 적어도 70주 동안, 또는 적어도 74주 동안 관해를 유지하는, 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, 상기 치료적 유효량은 제1 용량의 투여 후 적어도 74주 동안 관해를 유지하고, 상기 환자는 제1 용량의 투여 후 14주 동안 코티코스테로이드 치료제를 받고, 상기 코티코스테로이드 치료제는 중단까지 제1 용량의 투여 후 14주에 시작하는 시간에 걸쳐 감소하는, 방법.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 코티코스테로이드 치료제는 (i) 매일 20mg 이하의 프레드니손이고, 상기 코티코스테로이드 치료제는 중단까지 주마다 2.5mg의 프레드니손으로 감소하고, 또는 (ii) 매일 20mg 이하의 프레드니손 등가물이고, 상기 코티코스테로이드 치료제는 중단까지 주마다 2.5mg의 프레드니손 등가물로 감소하는, 방법.

청구항 31

제29항에 있어서, 상기 코티코스테로이드 치료제는 매일 6mg 이하의 경구 부테소나이드이고, 상기 코티코스테로이드 치료제는 중단까지 주마다 3mg의 경구 부테소나이드로 감소하는, 방법.

청구항 32

제28항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 치료적 유효량은 지속적인 관해를 유지하고, 지속적인 관해는 제1 용량의 투여 후 24주, 제1 용량의 투여 후 28주, 제1 용량의 투여 후 32주, 제1 용량의 투여 후 44주, 제1 용량의 투여 후 56주, 제1 용량의 투여 후 66주, 제1 용량의 투여 후 70주 및 제1 용량의 투여 후 74주로부터 선택된 6회 이상의 시점의 각각에서 150 미만의 CDAI 점수에 의해 결정된, 방법.

청구항 33

제28항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인테그린 베타7 길항제는 단일클론 항인테그린 베타7 항체인, 방법.

청구항 34

제33항에 있어서, 상기 항인테그린 베타7 항체는 키메라 항체, 인간 항체 및 인간화 항체로부터 선택된, 방법.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 항인테그린 베타7 항체는 항체 단편인, 방법.

청구항 36

제34항에 있어서, 상기 항-베타7 항체는 6개의 추가변 영역(HVR)을 포함하되,

(i) HVR-L1은 아미노산 서열 A1-A11을 포함하고, A1-A11은 RASESVDTYLH(서열 번호 1); RASESVDLLH(서열 번호 7), RASESVDTLH(서열 번호 8) 또는 RASESVDLLH(서열 번호 9), 또는 서열 번호 1, 7, 8 또는 9의 변이체(서열 번호 26)이고, 아미노산 A2는 A, G, S, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A3은 S, G, I, K, N, P, Q, R 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, A4는 E, V, Q, A, D, G, H, I, K, L, N 및 R로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A5는 S, Y, A, D, G, H, I, K, N, P, R, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A6은 V, R, I, A, G, K, L, M 및 Q로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A7은 D, V, S, A, E, G, H, I, K, L, N, P, S 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A8은 D, G, N, E, T, P 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A9는 L, Y, I 및 M으로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A10은 L, A, I, M 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나,

거나, 아미노산 A11은 H, Y, F 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고;

(ii) HVR-L2는 아미노산 서열 B1-B8을 포함하고, B1-B8은 KYASQISIS(서열 번호 2), RYASQISIS(서열 번호 20) 또는 XaaYASQISIS(서열 번호 21, Xaa는 임의의 아미노산을 나타냄), 또는 서열 번호 2, 20 또는 21의 변이체(서열 번호 27)이고, 아미노산 B1은 K, R, N, V, A, F, Q, H, P, I, L, Y 및 Xaa(Xaa는 임의의 아미노산을 나타냄)로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 B4는 S 및 D로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 B5는 Q 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 B6은 S, D, L 및 R로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 B7은 I, V, E 및 K로 이루어진 군으로부터 선택되고;

(iii) HVR-L3은 아미노산 서열 C1-C9를 포함하고, C1-C9는 QQGNLNPNT(서열 번호 3) 또는 서열 번호 3의 변이체(서열 번호 28)이고, 아미노산 C8은 N, V, W, Y, R, S, T, A, F, H, I, L 및 M으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

(iv) HVR-H1은 아미노산 서열 D1-D10을 포함하고, D1-D10은 GFFITNNYWG(서열 번호 4)이고;

(v) HVR-H2는 아미노산 서열 E1-E17을 포함하고, E1-E17은 GYISYSGSTSYNPSLKS(서열 번호 5) 또는 서열 번호 5의 변이체(서열 번호 29)이고, 아미노산 E2는 Y, F, V 및 D로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E6은 S 및 G로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E10은 S 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E12는 N, T, A 및 D로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E13은 P, H, D 및 A로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E15는 L 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E17은 S 및 G로 이루어진 군으로부터 선택되고;

(vi) HVR-H3은 아미노산 서열 F2-F11을 포함하고, F2-F11은 MTGSSGYFDF(서열 번호 6) 또는 RTGSSGYFDF(서열 번호 19)이거나; 아미노산 서열 F1-F11을 포함하고, F1-F11은 AMTGSSGYFDF(서열 번호 16), ARTGSSGYFDF(서열 번호 17), 또는 AQTGSSGYFDF(서열 번호 18), 또는 서열 번호 6, 16, 17, 18 또는 19의 변이체(서열 번호 30)이고, 아미노산 F2는 R, M, A, E, G, Q, S이고/이거나, 아미노산 F11은 F 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택된, 방법.

청구항 37

제36항에 있어서, 항인테그린 베타7 항체는 3개의 중쇄 추가변 영역(HVR-H1-H3) 서열 및 3개의 경쇄 추가변 영역(HVR-L1-L3) 서열을 포함하되,

(i) HVR-L1은 서열 번호 7, 서열 번호 8 또는 서열 번호 9를 포함하고;

(ii) HVR-L2는 서열 번호 2를 포함하고;

(iii) HVR-L3은 서열 번호 3를 포함하고;

(iv) HVR-H1은 서열 번호 4를 포함하고;

(v) HVR-H2는 서열 번호 5를 포함하고;

(vi) HVR-H3은 서열 번호 6 또는 서열 번호 16 또는 서열 번호 17 또는 서열 번호 19를 포함하는, 방법.

청구항 38

제37항에 있어서, 상기 항인테그린 베타7 항체는 서열 번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄 및 서열 번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄를 포함하는, 방법.

청구항 39

제38항에 있어서, 상기 항인테그린 베타7 항체는 에트롤리주맙인, 방법.

청구항 40

제28항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 인테그린 베타7 길항제의 제1 용량의 투여 전에 중증도 내지는 중증의 활성 크론병을 가지는, 방법.

청구항 41

제40항에 있어서, 상기 환자는 제1 용량의 투여 전 7일에 임의의 시간에 220 이상 및 480 이하의 CDAI 점수를

가지는 것으로 결정된, 방법.

청구항 42

제40항 또는 제41항에 있어서, 상기 환자는 제1 용량의 투여 전 7일에 임의의 시간에 14 이상의 PR02 점수를 가지는 것으로 결정된, 방법.

청구항 43

제40항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 활성 염증을 가지는 것으로 결정되고, 상기 활성 염증은 회결장내시경술에 의해 결정된 바대로 7 이상의 SES-CD 점수로서 결정된, 방법.

청구항 44

제40항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 단리 회장염 또는 회맹부 후절제를 가지고, 상기 환자는 활성 염증을 가지는 것으로 결정되고, 상기 활성 염증은 회결장내시경술에 의해 결정된 바대로 4 이상의 SES-CD 점수로서 결정된, 방법.

청구항 45

제40항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 부적절한 반응, 반응 소실 또는 종래의 치료제에 대한 불내증을 가지는, 방법.

청구항 46

제45항에 있어서, 상기 종래의 치료제는 면역억제제 치료제, 코티코스테로이드 치료제 및 항-TNF 치료제 중 하나 이상으로부터 선택된, 방법.

청구항 47

제46항에 있어서, 상기 면역억제제 치료제는 6-머캅토피린, 아자티오프린 및 메토트렉세이트로부터 선택된, 방법.

청구항 48

제46항에 있어서, 상기 코티코스테로이드 치료제는 프레드니손, 프레드니손 등가물 및 부테소나이드로부터 선택된, 방법.

청구항 49

제46항에 있어서, 상기 항-TNF 치료제는 인플릭시맵, 아달리무맵 및 세르톨리주맵 페골로부터 선택된, 방법.

청구항 50

제28항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항인테그린 베타7 항체는 4주마다 105mg의 고른 용량으로 또는 4주마다 210mg의 고른 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 51

제28항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항인테그린 베타7 항체는 제1 용량에서 210mg, 제1 용량 후 2주에 210mg, 제1 용량 후 4주에 210mg, 제1 용량 후 8주에 210mg, 제1 용량 후 12주에 210mg 및 이후 4주마다 105mg의 고른 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 52

제28항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 관해는 크론병 활성 지수(CDAI) 점수에 의해 결정되고, 상기 CDAI 점수는 150 미만인, 방법.

청구항 53

제52항에 있어서, 상기 환자는 적어도 52주 동안 코티코스테로이드 비투여인, 방법.

청구항 54

제28항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 관해는 환자 보고된 결과 2(PR02) 점수에 의해 결정되고, 상기 PR02 점수는 11 이하인, 방법.

청구항 55

제28항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 치료적 유효량은 크론병에 대한 단순화 내시경술 지수(SES-CD) 점수에 의해 결정된 바대로 내시경술 개선을 유도하는, 방법.

청구항 56

제55항에 있어서, 제1 용량의 투여 후 66주에 결정된 상기 SES-CD 점수는 기준선에서 결정된 SES-CD 점수와 비교하여 50% 감소한, 방법.

청구항 57

제55항에 있어서, 제1 용량의 투여 후 66주에 상기 내시경술 개선은 점막 염증의 해소이고, 점막 염증의 해소는 0으로서 결정된 SES-CD 점수인, 방법.

청구항 58

제28항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 치료적 유효량은 제1 용량의 투여 후 14주에 반응을 유도하고, 상기 반응은 기준선에서 결정된 CDAI 점수와 비교하여 적어도 70점의 CDAI 점수의 감소에 의해 결정된, 방법.

청구항 59

제28항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 치료적 유효량은 제1 용량의 투여 후 66주에 반응을 유도하고, 상기 반응은 기준선에서 결정된 CDAI 점수와 비교하여 적어도 100점의 CDAI 점수의 감소에 의해 결정된, 방법.

청구항 60

제1항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인테그린 베타7 길항제는 프리필드 주사기 또는 프리필드 주사기 및 오토인젝터 조합을 사용하여 투여되는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] **관련 출원에 대한 상호 참조**

[0002] 본원은 2015년 2월 26일에 출원된 미국 가출원 제62/121,290호(그 전문이 본 명세서에 참고로 포함됨)의 우선권의 이익을 주장한다.

[0003] **서열 목록**

[0004] 본원은 EFS 웹을 통해 제출되고 그 전문이 본 명세서에 참고문헌으로 포함된 서열 목록을 함유한다. 2016년 2월 24일에 생성된 상기 ASCII 카피는 명칭이 P32628WO_PCTSL.txt이고, 크기가 22,201바이트이다.

[0005] **기술분야**

[0006] 위장 염증성 장애, 예컨대 염증성 장 질환, 예컨대 크론병을 치료하는 방법이 제공된다. 인테그린 베타7 길항제, 예컨대 항인테그린 베타7 항체를 투여하고 투약하는 방법이 또한 제공된다. 또한, 관해를 유도하거나 크론병의 관해를 유도하고 유지하기 위한 이러한 인테그린 베타7 길항제를 투여하고 투약하는 방법이 제공된다.

배경 기술

[0007] 염증성 장 질환(inflammatory bowel disease; IBD)은 궤양성 결장염(ulcerative colitis; UC) 또는 크론병(Crohn's disease; CD)으로서 임상적으로 제시된 위장(GI)관의 만성 염증성 자가면역 병태이다. CD는 전체 GI

관의 임의의 일부에 영향을 미칠 가능성을 가지는 만성 경벽성 염증성 질환이고, UC는 결장의 점막 염증이다. 병태 둘 다는, 매일의 삶의 활동의 파괴와 함께, 빈번한 장 이동, 영양부족 및 탈수를 임상적으로 특징으로 한다. IBD의 병인론은 복잡하고, 발병의 많은 양태는 불명확하게 남아 있다.

[0008] CD는 위장관의 임의의 일부에 영향을 미칠 수 있는 만성 재발성 형태이고, 사례의 40% 내지 50%는 소장(소장에 영향을 미친다. CD는 군데군데 있는 경벽성 염증, 궤양 및 장의 건강한 구역(구역성 병변)에 배치된 육아종 병변을 특징으로 한다. 질환은 진행성이고; 비조절된 염증은 협착성 또는 침투성 합병증, 예컨대 협착전 팽창, 폐색(협착성), 및 복부내 또는 항문주위 누공 및 농양(침투성)으로 발전한다. 임상 징후 및 증상은 만성 설사, 복통, 악액질, 복부 종괴 또는 압통, 및 누공의 표면화된 징후를 포함한다. 질환 과정은 가변적이고; 환자는 심각한 초기 발작, 이어서 다음 10년에 걸쳐 약간의 증상(43%), 또는 만성 및 지속성(19%) 또는 재발 이장성(32%)인 증상을 경험할 수 있다(Baumgart DC, et al., Lancet 380:1590-605, 2012).

[0009] 유럽, 아시아 및 중앙아시아, 및 북미에서 보고된 CD의 연간 발병률은 각각 100,000인년(person-year)마다 12.7, 5.0 및 20.2이다(Molodecky NA, et al., Gastroenterology 142:46-54, 2012). 북미에서의 현재의 이환율은 100,000인년마다 319인 것으로 보고되었다(*Id.*). CD에서의 질환 관련 사망률은 이 집단에서 사망의 대략 30%를 차지하고, 이 사망은 질환 과정에서 초기에 발생하는 임상 및/또는 수술 합병증 또는 후에 발생하는 장암으로부터 생긴다. CD의 전체 발병률은 실질적으로 계속해서 증가할 것으로 예상되어, 삶의 가장 성격형성적 및 생산적 시기에서 개인에게 영향을 미치고, 환자, 건강관리 시스템 및 사회에 장기간 비용이 든다(Duricova D. et al., Inflamm Bowel Dis 16:347-53, 2010).

[0010] 현재까지, CD에 대한 치유는 없다. 따라서, CD에 대한 현재의 치료 목표는 증상 개선을 유도하고 유지하고, 점막 치유를 유도하고, 수술을 피하고, 삶의 질을 개선하는 것이다(Lichtenstein GR, et al., Am J Gastroenterol 104:465-83, 2009; Van Assche G, et al., J Crohns Colitis. 4:63-101, 2010).

[0011] 전신 코티코스테로이드(systemic corticosteroid; CS)는 관해를 유도하기 위한 중추 치료이고, 환자의 대략 80%에서 효과적이다(Summers RW, et al., Gastroenterology 77:847-69, 1979; Malchow H, et al., Gastroenterology 86:249-66, 1984). 그러나, 이것은 유지 치료로서 덜 효과적이고, 불과 28%의 환자가 치료의 1년 후 연장된 반응을 달성하고, 32%의 환자가 스테로이드 의존적이 된다(Faubion WA, et al., Gastroenterology 121:255-60, 2001; Peyrin-Biroulet L, et al., Am J Gastroenterol 105:289-97, 2010). 환자의 증상이 개선하는 경우에도, 30% 미만이 스테로이드 치료에 의해 내시경술 개선을 달성할 것으로 예상된다(Modigliani R, et al., Gastroenterology 98:811-8, 1990). 스테로이드의 부작용은 널리 입증되었고, 50%의 환자는 이것 때문에 치료를 중단할 것이고; 장기간 안전성 결과는 골다공증, 백내장 및 당뇨병을 포함한다.

[0012] 면역억제제(immunosuppressant; IS)(예를 들어, 아자티오프린[AZA], 6-머캅토피린[6-MP], 또는 메토크세이트[MTX])는 스테로이드에 불응용 또는 불응성인 환자에서 관해를 유도하고 휴지 CD를 달성하는 환자에서 관해를 유지시키도록 통상적으로 투여된다. 면역억제제는 IS 효능의 2-4개월 발생 동안 환자의 증상에 따라 스테로이드 브릿지와 함께 또는 이것 없이 제공된다. 회장 또는 상행 결장 질환을 가지는 환자에서, 부테소나이드는 신속한 제1 통과 기전으로부터 생긴 이의 낮은 전신 생체이용률 때문에 덜 독성인, 더 관용성인 브릿지를 제시한다. 염증성 질환 과정을 변경하기 위한 IS의 이른 개시는 과거 20년에 걸쳐 지지되었다. 그러나, 장 절제 및 합병증의 비율의 감소는 이때 동안 관찰되지 않았다(Cosnes J, et al., Gut 54:237-41, 2005). 이것은 백혈구 감소증, 혈소판 감소증, 및 AZA 및 6-MP에 의한 림프종의 위험 증가를 포함하는 전신 독성에 대한 문제에 비해 이 하향식 치료의 불량한 채택을 반영할 수 있다(Prefontaine E, et al., Cochrane Database Syst Rev (4):CD000545, 2009) 및 hepatotoxicity and hair loss with MTX (Hausmann J, et al., Inflamm Bowel Dis 16:1195-202, 2010).

[0013] 종양 괴사 인자(tumor necrosis factor; TNF)- α 에 대한 단일클론 항체(mAb)의 개발은 추가의 치료 옵션을 제공한다. 항-TNF가 상당한 비율의 환자에서 효과적이지만, 효능은 준최적이고; 유도 치료의 4주 후 관해율은 35% 미만이고, 유도 치료에 반응한 환자 중에서 20-30주에 유지에서 평가될 때 50% 미만이 관해를 달성한다(Peyrin-Biroulet L, et al., Aliment Pharmacol Ther 33:870-9, 2011). 더욱이, 가능하게는 TNF- α 추진되지 않고 그러므로 약물의 상이한 기계론적 종류로부터 이익을 얻을 수 있는 기초하는 병리생물학 때문에, 30%의 환자는 유도 치료의 4주 후 평가될 때 항-TNF 치료에 대한 1차 비반응자인 것으로 보고되었다(Targan SR, et al., N Engl J Med 337:1029-35, 1997; Sandborn WJ, et al., Ann Intern Med 2007;19;146:829-38. Epub 2007 Apr 30). 30%-40%의 환자가 2차 비반응자(즉, 초기에 반응성)이지만, 치료의 초년에 반응을 잃거나 불관용성이 되는 것으로 예상된다(Colombel JF, et al., Gastroenterology 132:52-65, 2007). 2차 비반응은 낮은 약물 혈청 수준을

발생시키는 중화 항체의 발생, 가속 약물 청소, 또는 상이한 약리학적 표적에 의한 치료로부터 이익을 얻을 생물학적 도피 기전에 기인한다. 항-TNF는 심각한 감염, 기회감염성 감염, 루푸스양 반응 및 증가한 림프종 위험을 포함하는 상당한 부작용과 또한 연관된다(Siegal CA, et al., Therap Adv Gastroenterol 2:245-51, 2009). 관용성 우려는 점적주사 반응(인플릭시맵을 받는 환자의 9%-17%에서 발생, 문헌[de Vries HS, et al., Br J Clin Pharmacol 71:7-19, 2011] 참조) 및 주사 부위 반응(아달리무맵을 받는 환자의 10%에서 발생, 문헌[van der Heijde D, et al., Arthritis Rheum. 54:2136-46, 2006] 참조)을 포함한다. 전체적으로, 이익 대 위험은 이 약물 종류에 대해 허용 가능하다고 생각되지만, 염증 및 임상 후유증을 약화시키고, CD를 가지는 환자의 장기간 예후를 개선하는, 더 우수한 이익-위험 프로필을 가지는 치료에 대한 수요가 계속된다.

[0014] 인테그린은 백혈구 부착, 신호전달, 증식 및 이동을 포함하는 수많은 세포 과정에서, 및 유전자 조절에서 역할을 하는 알파/베타 이중이합체 세포 표면 당단백질 수용체이다(Hynes, R. O., Cell, 1992, 69:11-25; and Hemler, M. E., Annu. Rev. Immunol., 1990, 8:365-368). 이것은 내피, 상피 및 세포의 매트릭스 단백질에서 구별되는 세포 부착 분자(cell adhesion molecule; CAM)에 특이적으로 결합하는 2개의 이중이합체성, 비공유 상호작용 α 및 β 막관통 아단위로 이루어진다. 이러한 방식으로, 인테그린은 매우 조절된 방식으로 혈액으로부터 거의 모든 조직 부위의 백혈구의 동원을 돕고, 정상 조직 및 염증의 부위의 백혈구의 호밍에서 역할을 하는, 조직 특이적 세포 부착 수용체로서 작용할 수 있다(von Andrian et al., N Engl J Med 343:1020-34 (2000)). 면역계에서, 인테그린은 염증성 과정 동안 백혈구 통행, 부착 및 침윤에 관여된다(Nakajima, H. et al., J. Exp. Med., 1994, 179:1145-1154). 인테그린의 차등 발현은 세포의 부착 특성을 조절하고, 상이한 인테그린은 상이한 염증성 반응에 관여된다. (Butcher, E. C. et al., Science, 1996, 272:60-66). 베타7 함유 인테그린(즉, 알파4베타7 및 알파E베타7)은 호중구에서가 아니라 단핵구, 림프구, 호산구, 호염구 및 대식세포에서 주로 발현된다(Elices, M. J. et al., Cell, 1990, 60:577-584).

[0015] 항인테그린은 CD의 치료에 허가된 생물물질의 또 다른 종류이다. 나탈리주맵은 중증도 내지는 중증의 활성 CD의 치료를 위해 오직 미국에서 허가된 항인테그린이다. $\alpha 4\beta 1$ 및 $\alpha 4\beta 7$ 둘 다를 차단하는 나탈리주맵의 사용은, $\alpha 4\beta 1$ /VCAM-1 결합의 저해가 CNS의 희귀하지만 심각한 감염에서 진행성 다초점 백질뇌증(progressive multifocal leukoencephalopathy; PML)의 위험을 증가시킨다는 우려로 인해, 제한된다. 베돌리주맵은 CD에 대한 가장 최근에 허가된 장 선택적 항인테그린이지만, 이것은 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 수용체를 오직 표적화하여서, 부착 분자 MAdCAM-1에 대한 T 림프구 결합을 저해하고, 정맥내(IV) 점적주사로서 투여된다. 베돌리주맵에 대한 중심 실험에서, 31%의 환자는 기준선으로부터 크론병 활성 지수[CAI] 점수의 100점 이상의 감소로 정의된, 유도 치료의 6주에 의한 임상 반응을 가지고; 39% 이하의 베돌리주맵 반응자는, 위약 제공된 환자의 22%와 비교하여, 유지 치료의 46주에 의한 관해(150 이하의 CAI 점수로 정의됨)를 달성하였다(Sandborn WJ, et al., N Engl J Med 369(8):711-721, 2013; Sandborn WJ, et al., Aliment Pharmacol Ther 37:204-13, 2013). 베돌리주맵이 CD에 대한 새로운 치료로서 가능성을 보여주지만, 장 선택적이고 더 우수한 반응 및 관해율을 달성하는 더 편리한 치료에 대한 수요가 존재한다.

[0016] $\alpha 4\beta 7$ 인테그린(베돌리주맵의 표적)은 장 점막 및 연관 림프성 조직, 예컨대 소장에서의 파이어판, 대장에서의 림프 여포 및 장관막 림프절에 대한 세포의 이동에 주요한 백혈구 호밍 수용체이다. 장에서, 백혈구 회전 및 점막 내피에 대한 확고한 부착은 케모카인으로부터의 신호에 의해 개시되고, 점막 접착 세포 부착 분자(MAdCAM)-1-연관 시알릴 루이스 X를 통해 매개된다. 케모카인 신호전달은 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린이 저로부터 고의 MAdCAM-1 결합 친화도의 변화를 겪도록 유도한다. 이후, 백혈구는 정지하고, 혈관 내피를 통해 밑에 있는 조직으로의 혈관 외유출의 과정을 시작한다. 이 혈관외유출 과정은 정상 면역 세포 재순환 상태 및 염증성 병태 둘 다에서 발생하는 것으로 생각된다(von Andrian et al., 상기 참조). 침윤액에서의 $\alpha 4\beta 7^+$ 세포의 수 및 리간드 MAdCAM-1의 발현은 만성 염증의 부위에서, 예컨대 UC 또는 CD를 가지는 환자의 장관에서 더 높다(Briskin et al., Am J Pathol 151:97-110 (1997); Souza et al., Gut 45:856-63 (1999)). $\alpha 4\beta 7$ 은 MAdCAM-1 및 혈관 세포 부착 분자(VCAM)-1을 발현하는 고내피세포, 및 세포의 매트릭스 분자 피브로넥틴 단편 CS-1에 우선적으로 결합한다(Chan et al., J Biol Chem 267:8366-70 (1992); Ruegg et al., J Cell Biol 17:179-89 (1992); Berlin et al., Cell 74:185-95 (1993)). 장 점막 혈관에서 구성적으로 발현된 MAdCAM-1과 함께, $\alpha 4\beta 7$ 인테그린은 백혈구 장 굴광성에서 선택적 역할을 하고, 말초 조직 또는 CNS로의 백혈구의 호밍에 기여하는 것으로 보이지 않는다. 대신에, 말초 림프성 통행은 VCAM-1과의 $\alpha 4\beta 1$ 상호작용과 연관된다(Yednock et al., Nature 356:63-6 (1992); Rice et al., Neurology 64:1336-42 (2005)).

[0017] T 림프구에서 배타적으로 발현되고 점막 조직과 연관된, $\beta 7$ 인테그린 패밀리의 또 다른 구성원은 CD103으로 달리 공지된 $\alpha E\beta 7$ 인테그린이다. $\alpha E\beta 7$ 인테그린은 상피 세포에서 E-카데린에 선택적으로 결합하고, 상피내 림

프구 구획에서 점막 조직에서 T 세포의 보유에서 역할을 하는 것으로 제안되었다(Cepek et al., J Immunol 150:3459-70 (1993); Karecla et al. Eur J Immunol 25:852-6 (1995)). 프로프리야층에서의 $\alpha E\beta 7^+$ 세포는 스트레스의 또는 감염된 상피 세포에 대해 세포독성을 나타내는 것으로 보고되었다(Hadley et al., J Immunol 159:3748-56 (1997); Buri et al., J Pathol 206:178-85 (2005)). $\alpha E\beta 7$ 의 발현은 CD에서 증가하고(Elwaut et al., Acta Gastroenterol Belg 61:288-94 (1998); Oshitani et al., Int J Mol Med 12:715-9 (2003)), 항- $\alpha E\beta 7$ 항체 치료는 마우스에서 실험적 결장염을 약화시키는 것으로 보고되어서, IBD의 실험적 모델에서 $\alpha E\beta 7^+$ 림프구에 대한 역할을 보여준다(Ludviksson et al., J Immunol 162:4975-82 (1999)).

[0018] $\beta 7$ 인테그린 아단위에 대해 표적화된 인간화 단일클론 항체는 이전에 기재되어 있다. 예를 들어, 국제 특허 공보 제W02006/026759호를 참조한다. 에트물리주맵(rhuMAB 베타7)인 하나의 이러한 항체는 랫트 항마우스/인간 단일클론 항체 FIB504로부터 유래한다(Andrew DP, et al., J Immunol 153:3847-61, 1994). 이것은 인간 IgG1-중쇄 및 $\kappa 1$ -경쇄 프레임워크를 포함하도록 조작되었다. 국제 특허 공보 제W02006/026759호를 참조한다.

[0019] 피하로 투여된 mAb인, 에트물리주맵은, 베톨리주맵과 달리, 각각 장 점막에서의 T 세포 부분집합의 통행 및 보유를 조절하는 $\alpha 4\beta 7$ 및 $\alpha E\beta 7$ 수용체 둘 다를 표적화하는 새로운 항인테그린이다. 따라서, 에트물리주맵은 일반화된 면역억제 없이 이중 작용 기전(MOA)을 통해 CD에서 상가적 치료 효과의 가능성을 제공한다. 에트물리주맵은 $\alpha 4\beta 7$ (Holzmann B, et al., Cell 56:37-46, 1989; Hu M, et al., Proc Natl Acad Sci USA 89:8254-8, 1992) 및 $\alpha E\beta 7$ (Cepek KL, et al., J Immunol 150:3459-70, 1993)에 고친화도로 결합한다. 이 이전에 의해, 이것은, 각각 세포 부착 분자(MAdCAM-1) 및 E-카데린과의 결합을 통해 생기는, 장 점막에서의 백혈구 하위집단의 호밍 및 보유를 차단한다. 그러므로, 이것은, 다른 장기 및 조직보다 장에 대한 통행을 우선적으로 표적화함으로써 선택도가 일반화된 면역억제를 제거할 수 있는, 새로운 장 점막 선택적 통행방지 물질을 나타낸다. 6개월 기간까지의 다수의 비임상 일반 독성 연구로부터의 데이터는 에트물리주맵이 임의의 장기 시스템에서 부작용을 가지지 않는다는 것을 입증한다. 예를 들어, 문헌[Stefanich et al., British Journal of Pharmacology 162:1855-1870, 2011]; 국제 특허 공보 제W0 2009/140684호를 참조한다.

[0020] 나탈리주맵과 달리, 에트물리주맵이 $\alpha 4\beta 1$ 에 결합하거나 $\alpha 4\beta 1$ 과 VCAM-1의 상호작용 및 림프구의 CNS 및 말초 림프성 조직으로의 분포 및 호밍을 저해하지 않는다는 것을 주목하는 것이 중요하다. 그러므로, 에트물리주맵은 진행성 다초점 백질뇌증(PML)의 위험을 증가시키는 것으로 예상되지 않는다. 에트물리주맵에 대한 안전성 평가는 성인 1상 및 2상 연구에서 완료되었고, 여기서 중증도 내지는 중증의 활성 UC를 가지는 환자는 IV 또는 피하(SC) 에트물리주맵의 단일 또는 다중 용량을 받았다. 전체 158명의 환자는, 에트물리주맵 치료와 연관된, 심각한 또는 기회감염성 감염의 증가하는 비율의 임의의 증거를 포함하는, 상당한 불리한 안전성 신호 없이, 에트물리주맵에 노출되었다. 에트물리주맵에 의한 임상 경험이 제한된다는 것을 인지하여, 에트물리주맵에 의해 치료된 환자에서 PML의 사건이 보고되지 않았다.

[0021] 현재까지, 크론병 임상 실험에서의 1차 결과 측정치는, 예를 들어 베톨리주맵 및 나탈리주맵을 포함하는 다중 약물 치료의 승인을 위한 기준으로서 작용하는, 크론병 활성 지수(Crohn's Disease Activity Index; CDAI)이다. CDAI는 환자 보고된 결과(patient reported outcome; PRO)(즉, 복통, 수면으로부터 환자가 깨는 통증, 식욕), 신체 징후(즉, 평균 매일의 온도, 복부 종괴), 약제 사용(즉, 설사를 위한 로피아마이드 또는 아편제 사용) 및 실험실 시험(즉, 헤마토크리트)을 나타내는 18개의 가능한 항목에서 질환 활성의 임상적 전반적 평가를 회귀시킴으로써 개발되었다. 후방 단계별 회귀 분석은 점액 또는 묽은 대변의 수, 복통의 중증도, 일반 웰빙, 장외 증상의 발생, 지사제 약물의 필요, 복부 종괴의 존재, 헤마토크리트 및 체중인 8개의 독립적 예측변수를 확인하였다. 최종 점수는 회귀 계수 및, 0 내지 600의 범위인(더 높은 점수는 더 큰 질환 활성을 나타냄), 전체 CDAI 점수를 구성하기 위한 표준화를 이용하여 조정된, 이 8개의 항목의 복합이다. 널리 사용되는 벤치마크는 하기이다: 150 미만의 CDAI는 임상 관해로 정의되고, 150 내지 219는 경증 활성 질환으로 정의되고, 220 내지 450는 중증도 활성 질환으로 정의되고, 450 초과는 매우 중증 질환으로 정의된다(Best WR, et al., Gastroenterology 77:843-6, 1979). 베톨리주맵 및 나탈리주맵은 입증된 임상 관해, 즉 150 이하의 CDAI의 기준으로 허가되었다.

[0022] CDAI가 40년 넘게 사용되고, 약물 허가를 위한 기준으로서 제공되었지만, 이것은 임상 실험에 대한 결과 측정치로서 여러 제한을 가진다. 예를 들어, 대부분의 전체 점수는 모호하게 정의되고 표준화되지 않은 용어인 환자 다이어리 카드 항목(통증, 액체 장 이동의 수 및 일반 웰빙)으로부터 생긴다(Sandler et al., J. Clin. Epidemiol 41:451-8, 1988; Thia et al., Inflamm Bowel Dis 17:105-11, 2011). 또한, 통증의 측정법은 업데이트된 7점 스케일보다는 4점 스케일에 기초한다. 남은 5 지수 항목은 효능 신호의 확인에 매우 적게 기여하고, 측

정 노이즈의 소스일 수 있다. 더욱이, CDAI에 대한 불량한 기준 타당성, CDAI와 염증의 내시경술 측정치 사이의 상관관계의 보고된 부족(CDAI를 활성 CD 및 자극성 장 증후군의 불량한 구분자로서 만들 수 있음) 및 높은 보고된 위약 비율에 대한 우려가 제기된다(Korzenik et al., N Engl J Med. 352:2193-201, 2005; Sandborn WJ, et al., N Engl J Med 353:1912-25, 2005; Sandborn WJ, et al., Ann Intern 19;146:829-38, 2007, Epub 2007 Apr 30; Kim et al., Gastroenterology 146: (5 부록 1) S-368, 2014).

[0023] CD 증상의 추가의 또는 대안적인 측정치, 예컨대 새로운 PRO를 도출하기 위한 새로운 PRO 도구 또는 CDAI의 채택이 필요하다는 것이 따라서 일반적으로 인정된다. PRO2 및 PRO3 도구는 CDAI의 이러한 채택이고, 문헌[Khanna et al., Aliment Pharmacol. Ther. 41:77-86, 2015]에 최근에 기재되어 있다. PRO2는 묽은/점액 대변의 빈도 및 복통을 평가한다(*Id.*). 이 항목은 CDAI로부터 도출되고 이에 따라 가중되고, CDAI에 의해 측정된 관찰된 임상 이익에 가장 기여하는, 일반 웰빙에 따른, CDAI 다이어리 카드 항목이다(Sandler et al., J. Clin. Epidemiol 41:451-8, 1988; Thia et al., Inflamm Bowel Dis 17:105-11, 2011; Kim et al., Gastroenterology 146: (5 부록 1) S-368, 2014). 11 이하의 관해 점수는 7일 기간에 평균 배변 빈도 및 통증 점수의 CDAI 가중 합계이고, 이것은 II상 임상 연구에서 중증도 내지는 중증의 CD에 대한 우스테키누맙 유도 치료의 후향적 데이터 분석에서 CDAI 관해(150 미만의 점수)의 확인을 위한 최적 선택도 및 특이성을 생성시킨다(Gasink C, et al., [요약] ACG Annual Meeting 2014). PRO2는, CDAI에 의해 측정된, 활성 CD에서의 MTX 치료의 후향적 데이터 분석에서 연속 결과 측정치로서 사용될 때(Khanna R, et al., Inflamm Bowel Dis 20:1850-61, 2014) 민감성 및 반응성인 것으로 나타났다.

[0024] 크론병의 정도 및 중증도를 평가하는 추가의 수단은 내시경술이다. 크론병에 통상적인 내시경술 병변은 수많은 연구에 기재되어 있고, 예를 들어 아프타모양 궤양, "찍어낸 듯한 궤양", 조약돌화 및 협착증을 포함한다. 이러한 병변의 내시경술 평가는 크론병의 중증도의 내시경술 지수(Crohn's Disease Endoscopic Index of Severity; CDEIS)인 처음에 검증된 내시경술 점수를 개발하도록 사용된다(Mary et al., Gut 39:983-9, 1989). 더욱 최근 에, CDEIS가 일상적 사용을 위해 시간 소모적이고 복잡하고 비현실적이므로, 크론병에 대한 단순화 내시경술 활성 점수(Simplified Endoscopic Index for Crohn's Disease; SES-CD)가 개발되고 검증되었다(Daperno et al., Gastrointest. Endosc. 60(4):505-12, 2004). SES-CD는, 각각의 변수 또는 평가에 의해, 0 내지 3의 점수인, 5 개의 회결장 분절에서 점수화된 4개의 내시경술 변수로 이루어진다(궤양의 크기, 궤양에 의해 덮인 표면의 비율, 임의의 다른 병변(예를 들어, 염증)을 가지는 표면의 비율 및 좁아짐의 존재[협착증]).

[0025] 새로운 PRO 측정치 및 CD에서의 질환 정도 및 중증도의 새로운 내시경술 측정치의 개발 및 검증에서의 이 최근의 진전에도 불구하고, 치료학적 후보물질의 특정한 투약 섭생의 효능을 평가할 목적을 위해, III상 임상 연구의 설계 및 실행에서 이러한 새로운 측정치를 어떻게 전향적으로 이용할지를 결정하기 위해 현재까지 공개된 전향적 임상 연구, 즉 중추 또는 등록 연구가 이용 가능하지 않다. 따라서, 항인테그린을 포함하는, 치료학적 후보물질의 다양한 종류에 대한 최적 효능 중점을 한정하기 위한 이 측정치의 개선된 사용에 대한 필요가 존재한다. 최적화된 효능 중점을 만족시키는, 항인테그린 β7 항체를 포함하는, 예를 들어 항인테그린의 특정한 투약 섭생을 한정하는 것과 관련하여, 이러한 개선이 또한 필요하다.

[0026] 본 명세서에 기재된 본 발명은 상기 기재된 수요 중 일부를 만족시키고 다른 이익을 제공한다.

[0027] 특허 출원 및 공보를 포함하는 본 명세서에 인용된 모든 참고문헌은 임의의 목적을 위해 그 전문이 참고문헌으로 포함된다.

발명의 내용

[0028] 본 발명의 방법은, 에트롤리주맙(rhuMAb 베타7)을 포함하는, 항인테그린 베타7 항체라 본 명세서에서 또한 칭해지는, 항-베타7 항체와 같은, 인테그린 베타7 길항제의 치료적 유효량이, 본 명세서에 기재된 바대로, 소정의 효능 결과 측정치를 측정함으로써 결정되는 바대로, 효능을 나타낸, 소정의 투약 섭생에 따라 피하로 투여될 수 있다는 발견에 적어도 부분적으로 기초한다.

[0029] 따라서, 일 양태에서, 치료적 유효량의 인테그린 베타7 길항제를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 포유류 대상체에서 크론병(CD)을 치료하는 방법이 제공된다. 소정의 실시형태에서, 포유류 대상체는 환자이다. 소정의 실시형태에서, 환자는 인간이다. 소정의 실시형태에서, 인테그린 베타7 길항제는 피하로 투여된다. 소정의 실시형태에서, 인테그린 베타7 길항제는 항-베타7 항체라 또한 칭해지는 단일클론 항인테그린 베타7 아단위 항체이다. 소정의 이러한 실시형태에서, 항-베타7 항체는 키메라 항체, 인간 항체 및 인간화 항체로부터 선택된다. 소정의 실시형태에서, 항-베타7 항체는 항체 단편이다. 소정의 실시형태에서, 항-베타7 항체는 6개의 추가변 영역

(hypervariable region; HVR)을 포함하고, 여기서

- [0030] (i) HVR-L1은 아미노산 서열 A1-A11을 포함하고, A1-A11은 RASESVDTYLH(서열 번호 1); RASESVDSLH(서열 번호 7), RASESVDTLH(서열 번호 8) 또는 RASESVDLLH(서열 번호 9), 또는 서열 번호 1, 7, 8 또는 9의 변이체(서열 번호 26)이고, 아미노산 A2는 A, G, S, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A3은 S, G, I, K, N, P, Q, R 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, A4는 E, V, Q, A, D, G, H, I, K, L, N 및 R로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A5는 S, Y, A, D, G, H, I, K, N, P, R, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A6은 V, R, I, A, G, K, L, M 및 Q로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A7은 D, V, S, A, E, G, H, I, K, L, N, P, S 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A8은 D, G, N, E, T, P 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A9는 L, Y, I 및 M으로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A10은 L, A, I, M 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A11은 H, Y, F 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0031] (ii) HVR-L2는 아미노산 서열 B1-B8을 포함하고, B1-B8은 KYASQSSIS(서열 번호 2), RYASQSSIS(서열 번호 20) 또는 XaaYASQSSIS(서열 번호 21, 여기서 Xaa는 임의의 아미노산을 나타냄), 또는 서열 번호 2, 20 또는 21의 변이체(서열 번호 27)이고, 아미노산 B1은 K, R, N, V, A, F, Q, H, P, I, L, Y 및 Xaa(여기서, Xaa는 임의의 아미노산을 나타냄)로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 B4는 S 및 D로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 B5는 Q 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 B6은 S, D, L 및 R로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 B7은 I, V, E 및 K로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0032] (iii) HVR-L3은 아미노산 서열 C1-C9를 포함하고, C1-C9는 QQGNLSPNT(서열 번호 3) 또는 서열 번호 3의 변이체(서열 번호 28)이고, 아미노산 C8은 N, V, W, Y, R, S, T, A, F, H, I, L 및 M으로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0033] (iv) HVR-H1은 아미노산 서열 D1-D10을 포함하고, D1-D10은 GFFITNNYWG(서열 번호 4)이고;
- [0034] (v) HVR-H2는 아미노산 서열 E1-E17을 포함하고, E1-E17은 GYISYSGSTSYNPSLKS(서열 번호 5) 또는 서열 번호 5의 변이체(서열 번호 29)이고, 아미노산 E2는 Y, F, V 및 D로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E6은 S 및 G로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E10은 S 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E12는 N, T, A 및 D로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E13은 P, H, D 및 A로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E15는 L 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E17은 S 및 G로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0035] (vi) HVR-H3은 아미노산 서열 F2-F11을 포함하고, F2-F11은 MTGSSGYFDF(서열 번호 6) 또는 RTGSSGYFDF(서열 번호 19)이거나; 아미노산 서열 F1-F11을 포함하고, F1-F11은 AMTGSSGYFDF(서열 번호 16), ARTGSSGYFDF(서열 번호 17), 또는 AQTGSSGYFDF(서열 번호 18), 또는 서열 번호 6, 16, 17, 18 또는 19의 변이체(서열 번호 30)이고, 아미노산 F2는 R, M, A, E, G, Q, S이고/이거나, 아미노산 F11은 F 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0036] 소정의 실시형태에서, 항-베타7 항체는 3개의 중쇄 추가변 영역(HVR-H1-H3) 서열 및 3개의 경쇄 추가변 영역(HVR-L1-L3) 서열을 포함하고, 여기서
- [0037] (i) HVR-L1은 서열 번호 7, 서열 번호 8 또는 서열 번호 9를 포함하고;
- [0038] (ii) HVR-L2는 서열 번호 2를 포함하고;
- [0039] (iii) HVR-L3은 서열 번호 3을 포함하고;
- [0040] (iv) HVR-H1은 서열 번호 4를 포함하고;
- [0041] (v) HVR-H2는 서열 번호 5를 포함하고;
- [0042] (vi) HVR-H3은 서열 번호 6 또는 서열 번호 16 또는 서열 번호 17 또는 서열 번호 19를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항-베타7 항체는 서열 번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄 및 서열 번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄를 포함한다.
- [0043] 소정의 실시형태에서, 항-베타7 항체는 rhuMAb 베타7이라 또한 칭해지는 에트롤리주맙이다.
- [0044] 또 다른 양태에서, 크론병을 가지는 환자에서 관해를 유도하는 방법이 제공된다. 소정의 실시형태에서, 상기 방

법은 치료적 유효량의 인테그린 베타7 길항제를 환자에게 피하로 투여하는 단계를 포함하고, 치료적 유효량은 제1 용량의 투여 후 14주에 관해를 유도한다. 몇몇 실시형태에서, 인테그린 베타7 길항제는 단일클론 항인테그린 베타7 항체이다. 몇몇 실시형태에서, 항인테그린 베타7 항체는 키메라 항체, 인간 항체 및 인간화 항체로부터 선택된다. 몇몇 실시형태에서, 항인테그린 베타7 항체는 항체 단편이다. 소정의 실시형태에서, 항-베타7 항체는 6개의 추가변 영역(HVR)을 포함하고, 여기서

- [0045] (i) HVR-L1은 아미노산 서열 A1-A11을 포함하고, A1-A11은 RASESVDTYLH(서열 번호 1); RASESVDSLH(서열 번호 7), RASESVDTLH(서열 번호 8) 또는 RASESVDLLH(서열 번호 9), 또는 서열 번호 1, 7, 8 또는 9의 변이체(서열 번호 26)이고, 아미노산 A2는 A, G, S, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A3은 S, G, I, K, N, P, Q, R 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, A4는 E, V, Q, A, D, G, H, I, K, L, N 및 R로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A5는 S, Y, A, D, G, H, I, K, N, P, R, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A6은 V, R, I, A, G, K, L, M 및 Q로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A7은 D, V, S, A, E, G, H, I, K, L, N, P, S 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A8은 D, G, N, E, T, P 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A9는 L, Y, I 및 M으로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A10은 L, A, I, M 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A11은 H, Y, F 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0046] (ii) HVR-L2는 아미노산 서열 B1-B8을 포함하고, B1-B8은 KYASQISIS(서열 번호 2), RYASQISIS(서열 번호 20) 또는 XaaYASQISIS(서열 번호 21, 여기서 Xaa는 임의의 아미노산을 나타냄), 또는 서열 번호 2, 20 또는 21의 변이체(서열 번호 27)이고, 아미노산 B1은 K, R, N, V, A, F, Q, H, P, I, L, Y 및 Xaa(여기서, Xaa는 임의의 아미노산을 나타냄)로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 B4는 S 및 D로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 B5는 Q 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 B6은 S, D, L 및 R로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 B7은 I, V, E 및 K로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0047] (iii) HVR-L3은 아미노산 서열 C1-C9를 포함하고, C1-C9는 QQGNLSPNT(서열 번호 3) 또는 서열 번호 3의 변이체(서열 번호 28)이고, 아미노산 C8은 N, V, W, Y, R, S, T, A, F, H, I, L 및 M으로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0048] (iv) HVR-H1은 아미노산 서열 D1-D10을 포함하고, D1-D10은 GFFITNNYWG(서열 번호 4)이고;
- [0049] (v) HVR-H2는 아미노산 서열 E1-E17을 포함하고, E1-E17은 GYISYSGSTSYNPSLKS(서열 번호 5) 또는 서열 번호 5의 변이체(서열 번호 29)이고, 아미노산 E2는 Y, F, V 및 D로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E6은 S 및 G로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E10은 S 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E12는 N, T, A 및 D로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E13은 P, H, D 및 A로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E15는 L 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E17은 S 및 G로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0050] (vi) HVR-H3은 아미노산 서열 F2-F11을 포함하고, F2-F11은 MTGSSGYFDF(서열 번호 6) 또는 RTGSSGYFDF(서열 번호 19)이거나; 아미노산 서열 F1-F11을 포함하고, F1-F11은 AMTGSSGYFDF(서열 번호 16), ARTGSSGYFDF(서열 번호 17), 또는 AQTGSSGYFDF(서열 번호 18), 또는 서열 번호 6, 16, 17, 18 또는 19의 변이체(서열 번호 30)이고, 아미노산 F2는 R, M, A, E, G, Q, S이고/이거나, 아미노산 F11은 F 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0051] 소정의 실시형태에서, 항인테그린 베타7 항체는 3개의 중쇄 추가변 영역(HVR-H1-H3) 서열 및 3개의 경쇄 추가변 영역(HVR-L1-L3) 서열을 포함하고, 여기서
- [0052] (i) HVR-L1은 서열 번호 7, 서열 번호 8 또는 서열 번호 9를 포함하고;
- [0053] (ii) HVR-L2는 서열 번호 2를 포함하고;
- [0054] (iii) HVR-L3은 서열 번호 3을 포함하고;
- [0055] (iv) HVR-H1은 서열 번호 4를 포함하고;
- [0056] (v) HVR-H2는 서열 번호 5를 포함하고;
- [0057] (vi) HVR-H3은 서열 번호 6 또는 서열 번호 16 또는 서열 번호 17 또는 서열 번호 19를 포함한다.
- [0058] 소정의 실시형태에서, 항인테그린 베타7 항체는 서열 번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄 및 서열

번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항인테그린 베타7 항체는 에 트롤리주맙이다.

[0059] 훨씬 또 다른 양태에서, 환자는 인테그린 베타7 길항제의 제1 용량의 투여 전에 중증도 내지는 중증의 활성 크론병을 가진다. 몇몇 실시형태에서, 환자는 제1 용량의 투여 전 7일에 임의의 시간에 220 이상 및 480 이하의 크론병 활성 지수(CDAI) 점수를 가지는 것으로 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 환자는 제1 용량의 투여 전 7일에 임의의 시간에 14 이상의 환자 보고된 결과 2(Patient Reported Outcomes 2; PRO2) 점수를 가지는 것으로 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 환자는 활성 염증을 가지는 것으로 결정되고, 활성 염증은 회결장내시경술에 의해 결정된 바대로 7 이상의 크론병에 대한 단순화 내시경술 지수(SES-CD) 점수로서 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 환자는 단리 회장염 또는 회장부 후절제를 가지고, 환자는 활성 염증을 가지는 것으로 결정되고, 활성 염증은 회결장내시경술에 의해 결정된 바대로 4 이상의 SES-CD 점수로서 결정된다. 소정의 실시형태에서, 환자는 상기에 따라 CDAI 점수 및 PRO2 점수를 가진다. 소정의 실시형태에서, 환자는 상기에 따라 CDAI 점수, PRO2 점수 및 SES-CD 점수를 가진다.

[0060] 더욱 훨씬 또 다른 양태에서, 환자는 부적절한 반응, 반응 소실 또는 종래의 치료제에 대한 불내증을 가진다. 몇몇 실시형태에서, 종래의 치료제는 면역억제제 치료제, 코티코스테로이드 치료제 및 항-TNF 치료제 중 하나 이상으로부터 선택된다. 몇몇 실시형태에서, 면역억제제 치료제는 6-머캅토피린, 아자티오프린 및 메토트렉세이트로부터 선택된다. 몇몇 실시형태에서, 코티코스테로이드 치료제는 프레드니손(또는 프레드니손 등가물) 및 부테소나이드로부터 선택된다. 몇몇 실시형태에서, 항-TNF 치료제는 인플릭시맙, 아달리무맙 및 세르톨리주맙 펩타이드로부터 선택된다.

[0061] 더욱 훨씬 또 다른 추가의 양태에서, 항인테그린 베타7 항체는 4주마다 105mg의 고른 용량으로 투여된다. 소정의 실시형태에서, 항인테그린 베타7 항체는 4주마다 210mg의 고른 용량으로 투여된다. 몇몇 실시형태에서, 항인테그린 베타7 항체는 제1 용량에서 210mg, 제1 용량 후 2주에 210mg, 제1 용량 후 4주에 210mg, 제1 용량 후 8주에 210mg 및 제1 용량 후 12주에 210mg의 고른 용량으로 투여된다. 몇몇 실시형태에서, 항인테그린 베타7 항체는 제1 용량에서 210mg, 제1 용량 후 2주에 210mg, 제1 용량 후 4주에 210mg, 제1 용량 후 8주에 210mg 및 제1 용량 후 12주에 210mg의 고른 용량으로 투여된다. 몇몇 실시형태에서, 관해는 크론병 활성 지수(CDAI) 점수에 의해 결정되고, CDAI 점수는 150 미만이다. 몇몇 실시형태에서, 치료적 유효량은 제1 용량의 투여 후 10주에 관해를 유도한다. 몇몇 실시형태에서, 관해는 환자 보고된 결과 2(PRO2) 점수에 의해 결정되고, PRO2 점수는 11 이하이다. 몇몇 실시형태에서, 치료적 유효량은 크론병에 대한 단순화 내시경술 지수(SES-CD) 점수에 의해 결정된 바대로 내시경술 개선을 유도한다. 몇몇 실시형태에서, 제1 용량의 투여 후 14주에 결정된 SES-CD 점수는 기준선에서 결정된 SES-CD 점수와 비교하여 50% 감소한다. 몇몇 실시형태에서, 치료적 유효량은 반응을 유도하고, 반응은 기준선에서 결정된 CDAI 점수와 비교하여 적어도 70점의 CDAI 점수의 감소로서 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 반응은 기준선에서 결정된 CDAI 점수와 비교하여 적어도 100점의 CDAI 점수의 감소로서 결정된다.

[0062] 일 양태에서, 크론병을 가지는 환자에서 관해를 유지시키는 방법이 제공된다. 소정의 실시형태에서, 상기 방법은 치료적 유효량의 인테그린 베타7 길항제를 환자에게 피하로 투여하는 단계를 포함하고, 치료적 유효량은 제1 용량의 투여 후 적어도 52주 동안, 또는 적어도 66주 동안, 또는 적어도 70주 동안, 또는 적어도 74주 동안 관해를 유지한다. 몇몇 실시형태에서, 치료적 유효량은 제1 용량의 투여 후 적어도 74주 동안 관해를 유지하고, 환자는 제1 용량의 투여 후 14주 동안 코티코스테로이드 치료제를 받고, 코티코스테로이드 치료제는 중단까지 제1 용량의 투여 후 14주에 시작하는 시간에 걸쳐 감소한다. 몇몇 실시형태에서, 코티코스테로이드 치료제는 매일 20mg 이하의 프레드니손 또는 프레드니손 등가물이고, 코티코스테로이드 치료제는 중단까지 주마다 2.5mg의 프레드니손 또는 프레드니손 등가물로 감소한다. 몇몇 실시형태에서, 코티코스테로이드 치료제는 매일 6mg 이하의 경구 부테소나이드이고, 코티코스테로이드 치료제는 중단까지 2주마다 3mg의 경구 부테소나이드로 감소한다. 소정의 실시형태에서, 치료적 유효량은 지속적인 관해를 유지하고, 지속적인 관해는 제1 용량의 투여 후 24주, 제1 용량의 투여 후 28주, 제1 용량의 투여 후 32주, 제1 용량의 투여 후 44주, 제1 용량의 투여 후 56주, 제1 용량의 투여 후 66주, 제1 용량의 투여 후 70주 및 제1 용량의 투여 후 74주로부터 선택된 6회 이상의 시점의 각각에서 150 미만의 CDAI 점수에 의해 결정된다. 소정의 실시형태에서, 인테그린 베타7 길항제는 단일클론 항인테그린 베타7 항체이다. 몇몇 실시형태에서, 항인테그린 베타7 항체는 키메라 항체, 인간 항체 및 인간화 항체로부터 선택된다. 몇몇 실시형태에서, 항인테그린 베타7 항체 is 항체 단편. 몇몇 실시형태에서, 항-베타7 항체는 6개의 추가변 영역(HVR)을 포함하고, 여기서

[0063] (i) HVR-L1은 아미노산 서열 A1-A11을 포함하고, A1-A11은 RASESVDTYLH(서열 번호 1); RASESVDLLH(서열 번호 7), RASESVDTLH(서열 번호 8) 또는 RASESVDLLH(서열 번호 9), 또는 서열 번호 1, 7, 8 또는 9의 변이체(서열

번호 26)이고, 아미노산 A2는 A, G, S, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A3은 S, G, I, K, N, P, Q, R 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, A4는 E, V, Q, A, D, G, H, I, K, L, N 및 R로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A5는 S, Y, A, D, G, H, I, K, N, P, R, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A6은 V, R, I, A, G, K, L, M 및 Q로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A7은 D, V, S, A, E, G, H, I, K, L, N, P, S 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A8은 D, G, N, E, T, P 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A9는 L, Y, I 및 M으로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A10은 L, A, I, M 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 A11은 H, Y, F 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0064] (ii) HVR-L2는 아미노산 서열 B1-B8을 포함하고, B1-B8은 KYASQSSIS(서열 번호 2), RYASQSSIS(서열 번호 20) 또는 XaaYASQSSIS(서열 번호 21, 여기서 Xaa는 임의의 아미노산을 나타냄), 또는 서열 번호 2, 20 또는 21의 변이체(서열 번호 27)이고, 아미노산 B1은 K, R, N, V, A, F, Q, H, P, I, L, Y 및 Xaa(여기서, Xaa는 임의의 아미노산을 나타냄)로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 B4는 S 및 D로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 B5는 Q 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 B6은 S, D, L 및 R로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 B7은 I, V, E 및 K로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0065] (iii) HVR-L3은 아미노산 서열 C1-C9를 포함하고, C1-C9는 QQGNLSPNT(서열 번호 3) 또는 서열 번호 3의 변이체(서열 번호 28)이고, 아미노산 C8은 N, V, W, Y, R, S, T, A, F, H, I, L 및 M으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0066] (iv) HVR-H1은 아미노산 서열 D1-D10을 포함하고, D1-D10은 GFFITNNYWG(서열 번호 4)이고;

[0067] (v) HVR-H2는 아미노산 서열 E1-E17을 포함하고, E1-E17은 GYISYSGSTSYNPSLKS(서열 번호 5) 또는 서열 번호 5의 변이체(서열 번호 29)이고, 아미노산 E2는 Y, F, V 및 D로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E6은 S 및 G로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E10은 S 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E12는 N, T, A 및 D로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E13은 P, H, D 및 A로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E15는 L 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고/되거나, 아미노산 E17은 S 및 G로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0068] (vi) HVR-H3은 아미노산 서열 F2-F11을 포함하고, F2-F11은 MTGSSGYFDF(서열 번호 6) 또는 RTGSSGYFDF(서열 번호 19)이거나; 아미노산 서열 F1-F11을 포함하고, F1-F11은 AMTGSSGYFDF(서열 번호 16), ARTGSSGYFDF(서열 번호 17), 또는 AQTGSSGYFDF(서열 번호 18), 또는 서열 번호 6, 16, 17, 18 또는 19의 변이체(서열 번호 30)이고, 아미노산 F2는 R, M, A, E, G, Q, S이고/이거나, 아미노산 F11은 F 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택된다. 몇몇 실시형태에서, 항인테그린 베타7 항체는 3개의 중쇄 추가변 영역(HVR-H1-H3) 서열 및 3개의 경쇄 추가변 영역(HVR-L1-L3) 서열을 포함하고, 여기서

[0069] (i) HVR-L1은 서열 번호 7, 서열 번호 8 또는 서열 번호 9를 포함하고;

[0070] (ii) HVR-L2는 서열 번호 2를 포함하고;

[0071] (iii) HVR-L3은 서열 번호 3을 포함하고;

[0072] (iv) HVR-H1은 서열 번호 4를 포함하고;

[0073] (v) HVR-H2는 서열 번호 5를 포함하고;

[0074] (vi) HVR-H3은 서열 번호 6 또는 서열 번호 16 또는 서열 번호 17 또는 서열 번호 19를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 항인테그린 베타7 항체는 서열 번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄 및 서열 번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 항인테그린 베타7 항체는 에트롤리주맙이다.

[0075] 이전 문단의 방법의 또 다른 양태에서, 환자는 인테그린 베타7 길항제의 제1 용량의 투여 전에 증중도 내지는 증중의 활성 크론병을 가진다. 몇몇 실시형태에서, 환자는 제1 용량의 투여 전 7일에 임의의 시간에 220 이상 및 480 이하의 CDAI 점수를 가지는 것으로 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 환자는 제1 용량의 투여 전 7일에 임의의 시간에 14 이상의 PRO2 점수를 가지는 것으로 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 환자는 활성 염증을 가지는 것으로 결정되고, 활성 염증은 회결장내시경술에 의해 결정된 바대로 7 이상의 SES-CD 점수를 가지는 것으로 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 환자는 단리 회장염 또는 회맹부 후절제를 가지고, 환자는 활성 염증을 가지는 것으로 결정되고, 활성 염증은 회결장내시경술에 의해 결정된 바대로 4 이상의 SES-CD 점수로서 결정된다. 소정의 실시형태에서, 환자는 상기에 따라 CDAI 점수 및 PRO2 점수를 가진다. 소정의 실시형태에서, 환자는 상기에 따

라 CDAI 점수, PRO2 점수 및 SES-CD 점수를 가진다.

[0076] 이전 문단의 방법의 훨씬 또 다른 양태에서, 환자는 부적절한 반응, 반응 소실 또는 종래의 치료제에 대한 불내증을 가진다. 몇몇 실시형태에서, 종래의 치료제는 면역억제제 치료제, 코티코스테로이드 치료제 및 항-TNF 치료제 중 하나 이상으로부터 선택된다. 몇몇 실시형태에서, 면역억제제 치료제는 6-머캅토피린, 아자티오프린 및 메토트렉세이트로부터 선택된다. 몇몇 실시형태에서, 코티코스테로이드 치료제는 프레드니손, 프레드니손 등가물 및 부데소나이드로부터 선택된다. 몇몇 실시형태에서, 항-TNF 치료제는 인플릭시맙, 아달리무맙 및 세르톨리주맙 페골로부터 선택된다.

[0077] 관해를 유지시키는 것의 훨씬 더욱 추가의 양태에서, 항인테그린 베타7 항체는 4주마다 105mg의 고른 용량으로 투여된다. 몇몇 실시형태에서, 항인테그린 베타7 항체는 4주마다 210mg의 고른 용량으로 투여된다. 몇몇 실시형태에서, 항인테그린 베타7 항체는 제1 용량에서 210mg, 제1 용량 후 2주에 210mg, 제1 용량 후 4주에 210mg, 제1 용량 후 8주에 210mg, 제1 용량 후 12주에 210mg 및 이후 4주마다 105mg의 고른 용량으로 투여된다. 몇몇 실시형태에서, 관해는 크론병 활성 지수(CDAI) 점수에 의해 결정되고, CDAI 점수는 150 미만이다. 몇몇 실시형태에서, 환자는 적어도 52주 동안 코티코스테로이드 비투여이다. 몇몇 실시형태에서, 관해는 환자 보고된 결과 2(PRO2) 점수에 의해 결정되고, PRO2 점수는 11 이하이다. 몇몇 실시형태에서, 치료적 유효량은 크론병(SES-CD) 점수에 대해 단순화 내시경술 지수에 의해 결정된 바대로 내시경술 개선을 유도한다. 몇몇 실시형태에서, 제1 용량의 투여 후 66주에 결정된 SES-CD 점수는 기준선에서 결정된 SES-CD 점수와 비교하여 50% 감소한다. 몇몇 실시형태에서, 제1 용량의 투여 후 66주에 내시경술 개선은 점막 염증의 해소이고, 점막 염증의 해소는 0으로 결정된 SES-CD 점수이다. 몇몇 실시형태에서, 치료적 유효량은 제1 용량의 투여 후 14주에 반응을 유도하고, 반응은 기준선에서 결정된 CDAI 점수와 비교하여 적어도 70점의 CDAI 점수의 감소로서 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 치료적 유효량은 제1 용량의 투여 후 66주에 반응을 유도하고, 반응은 기준선에서 결정된 CDAI 점수와 비교하여 적어도 100점의 CDAI 점수의 감소로서 결정된다.

[0078] 임의의 상기 실시형태의 훨씬 추가의 양태에서, 인테그린 베타7 길항제는 프리필드 주사기 또는 프리필드 주사기 및 오토인젝터 조합을 사용하여 투여된다.

도면의 간단한 설명

[0079] **도 1a** 및 **도 1b**는 하기 공통 서열 및 항-베타7 아단위 항체 서열에 대한 가변 경쇄 및 중쇄의 서열의 정렬을 보여준다: 경쇄 인간 하위군 카파 I 공통 서열(도 1a, 서열 번호 12), 중쇄 인간 하위군 III 공통 서열(도 1b, 서열 번호 13), 랫트 항마우스 베타7 항체(Fib504) 가변 경쇄(도 1a, 서열 번호 10), 랫트 항마우스 베타7 항체(Fib504) 가변 중쇄(도 1b, 서열 번호 11), 및 인간화 항체 변이체: 인간화 hu504K그래프트 가변 경쇄(도 1a, 서열 번호 14), 인간화 hu504K 그래프트 가변 중쇄(도 1b, 서열 번호 15), 변이체 hu504-5, hu504-16 및 hu504-32(인간화 hu504K 그래프트로부터의 아미노산 변이는 도 1a에 표시됨)(경쇄)(각각 출현 순서로 서열 번호 22-24), 및 변이체 hu504-5, hu504-16 및 hu504-32(서열 번호 25)에 대한 도 1b(중쇄).

도 2a는 가변 경쇄 영역(서열 번호 31)을 보여주고, **도 2b**는 에트롤리주맙의 가변 중쇄 영역(서열 번호 32)을 보여준다.

도 3은 실시예 1에 기재된 바와 같은 III상 임상 연구의 유도 단계에 대한 연구 도식을 보여준다. 항-TNF = 항중양 피사 인자; CD = 크론병; ETRO = 에트롤리주맙; IS = 면역억제제; SC = 피하; Wk = 주.

도 4는 실시예 1에 기재된 바와 같은 III상 임상 연구의 유지 단계에 대한 연구 도식을 보여준다. CS = 코티코스테로이드; ETRO = 에트롤리주맙; OLE = 오픈 라벨 연장 단계; PBO = 위약; q4w = 4주마다; Re-Rx = 재무작위화.

도 5는 실시예 1에 기재된 바와 같은 브리스톨 대변 스케일로서 공지된 의학 도움을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0080] 달리 정의되지 않은 한, 본 명세서에 사용된 기술 용어 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 분야의 당업자가 흔히 이해하는 바와 동일한 의미를 가진다. 문헌[Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 2nd ed., J. Wiley & Sons (New York, N.Y. 1994), 및 March, Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure 4th ed., John Wiley & Sons (New York, N.Y. 1992)]은 본원에 사용된 많은 용어에 대한 일반 가이드를 당업자에게 제공한다.

- [0081] 소정의 정의
- [0082] 본 명세서를 해석할 목적을 위해, 하기 정의가 적용될 것이고, 적절한 경우마다, 단수로 사용된 용어는 또한 단수를 포함하고 그 반대일 것이다. 하기 기재된 임의의 정의가 본 명세서에 참고문헌으로 포함된 임의의 문헌과 상충하는 경우, 하기 기재된 정의가 지배해야 한다.
- [0083] 본 명세서 및 첨부된 청구항에 사용된 바대로, 단수 형태 "일", "하나" 및 "이"는, 문맥이 달리 명확히 표시하지 않은 한, 복수 지시를 포함한다. 따라서, 예를 들어 "단백질"의 언급은 복수의 단백질을 포함하고; "세포"의 언급은 세포의 혼합물을 포함하고, 기타 등등이다.
- [0084] 본 명세서 및 첨부된 청구항에 제공된 범위는 종점 및 종점 사이의 모든 점 둘 다를 포함한다. 따라서, 예를 들어 2.0 내지 3.0의 범위는 2.0, 3.0, 및 2.0 내지 3.0의 모든 점을 포함한다.
- [0085] "치료", "치료하는" 및 이의 문법적 변형어는 치료되는 개체 또는 세포의 자연 과정을 변경하려는 시도에서의 임상 중재를 의미하고, 예방 동안 또는 임상 병리학의 과정 동안 수행될 수 있다. 치료의 원하는 효과는 질환의 발생 또는 재발의 예방, 증상의 완화, 질환의 임의의 직접 또는 간접 병리학적 결과의 감소, 질환 진행의 속도의 감소, 질환 상태의 경감 또는 완화, 및 관해 또는 개선된 예후를 포함한다.
- [0086] "치료 섭생"은 제2 약제의 첨가가 있거나 없는 투약량의 조합, 투여 빈도 또는 치료 기간을 의미한다.
- [0087] "효과적인 치료 섭생"은 치료를 받는 환자에게 유리한 반응을 제공할 치료 섭생을 의미한다.
- [0088] "치료의 변형"은 투약량, 투여 빈도 또는 치료 기간 및/또는 제2 약제의 첨가의 변경을 포함하는 치료 섭생의 변경을 의미한다.
- [0089] "환자 반응" 또는 "환자 반응성"은 환자에 대한 이익, 예컨대, 제한 없이, (1) 감속 및 완전한 중단을 포함하는, 약간의 정도의, 질환 진행의 저해; (2) 질환 에피소드 및/또는 증상의 수의 감소; (3) 병변 크기의 감소; (4) 인접한 말초 장기 및/또는 조직으로의 질환 세포 침윤의 저해(즉, 감소, 감속 또는 완전한 중지); (5) 질환 확산의 저해(즉, 감소, 감속 또는 완전한 중지); (6) 질환 병변의 회귀 또는 절제를 발생시킬 수 있는(그러나, 그럴 필요는 없음), 자가면역 반응의 감소; (7) 장애와 연관된 하나 이상의 증상의, 약간의 정도의, 완화; (8) 치료 후 질환 무 제시의 길이의 증가; 및/또는 (9) 치료 후 소정의 시점에 사망률의 감소를 나타내는, 임의의 종점을 이용하여 평가될 수 있다. 용어 "반응성"은 완전한 반응(CR) 및 부분 반응(PR)을 포함하는 측정 가능한 반응을 의미한다.
- [0090] 본 명세서에 사용된 바대로, "완전한 반응" 또는 "CR"은 치료에 반응한 염종의 모든 징후의 소실 또는 관해를 의미한다. 이것은 질환이 치유되었다는 것을 반드시 의미하지는 않는다.
- [0091] "부분 반응" 또는 "PR"은 치료에 반응한 염종의 중증도의 적어도 50%의 감소를 의미한다.
- [0092] 인테그린 베타7 길항제에 의한 치료에 대한 환자의 "유리한 반응" 및 유사한 표현은, 길항제, 예컨대 항-베타7 인테그린 항체에 의한 치료로부터의 또는 이의 결과로서의, 위장관 염증성 장애의 위험이 있거나 이를 겪는 환자에게 부여된, 임상 또는 치료 이익을 의미한다. 이러한 이익은, 길항제에 의한 치료로부터의 또는 이의 결과로서의, 세포 또는 생물학적 반응, 완전한 반응, 부분 반응, 안정한 질환(진행 또는 재발 없이), 또는 환자의 추후 재발에 의한 반응을 포함한다.
- [0093] 환자의 반응성이 치료의 과정 동안 시간에 따라 감소하지 않을 때, "환자는 치료에 대한 반응성을 유지한다".
- [0094] 본 명세서에 사용된 바대로, "기준선"은 소정의 치료제, 예를 들어 인테그린 베타7 길항제의 투여 전에 결정된 환자의 병태를 기술하는 임상(예를 들어, 징후 또는 증상) 또는 실험실 값을 의미한다. 기준선 값이 결정될 수 있는 임상 또는 실험실 값의 예는 혈액학 및 임상 화학 값, 예컨대 헤모글로빈, 헤마토크리트, 혈소판수, 나트륨, 칼륨, 클로라이드 등, CDAI 점수, SES-CD 점수, PRO2 점수, 또는 다른 환자 보고된 결과 측정치, 예컨대 IBDQ 또는 CD-PRO/SS를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0095] 용어 "샘플"은, 본 명세서에 사용된 바대로, 예를 들어 물리적, 생화학적, 화학적 및/또는 생리학적 특징에 기초하여 규명되고/되거나 확인되어야 하는 세포 및/또는 다른 분자 집합체를 함유하는 관심 있는 대상체로부터 얻어지거나 유래한 조성물을 의미한다. 예를 들어, 구절 "질환 샘플" 및 이의 변형어는 규명되어야 하는 세포 및/또는 분자 집합체를 함유하는 것으로 예상되거나 알려진 관심 있는 대상체로부터 얻어진 임의의 샘플을 의미한다. 샘플은 관심 있는 대상체에 대한 조직 또는 대상체의 말초 혈액으로부터 얻어질 수 있다.

- [0096] "베타7 인테그린 길항제" 또는 "베타7 길항제"는 하나 이상의 생물학적 활성을 저해하거나, 베타7 인테그린과 하나 이상의 이의 연관 분자의 결합을 차단하는 임의의 분자를 의미한다. 본 발명의 길항제는 알파4 인테그린 아단위와의 회합, 알파E 인테그린 아단위와의 회합, MAdCAM, VCAM-1 또는 피브로넥틴에 대한 알파4베타7 인테그린의 결합, 및 E-카데린에 대한 알파E베타7 인테그린의 결합을 포함하는, 인테그린 베타7 연관 효과의 하나 이상의 양태를 조절하도록 사용될 수 있다. 이 효과는 베타7 아단위 또는 알파4베타7 또는 알파E베타7 이합체 인테그린에 대한 리간드 결합의 파괴 및/또는 알파 인테그린 아단위와 베타 인테그린 아단위 사이의 회합의 파괴를 포함하는 임의의 생물학적 관련 기전에 의해 조절될 수 있어서, 이합체 인테그린의 형성은 저해된다. 본 발명의 일 실시형태에서, 베타7 길항제는 항-베타7 인테그린 항체(또는 항-베타7 항체)이다. 일 실시형태에서, 항-베타7 인테그린 항체는 인간화 항-베타7 인테그린 항체, 더 특히 재조합 인간화 단일클론 항-베타7 항체(또는 rhuMAb 베타7)이다. 몇몇 실시형태에서, 항-베타7 본 발명의 항체는 베타7 아단위와 알파4 인테그린 아단위의 결합, 알파E 인테그린 아단위와의 회합, MAdCAM, VCAM-1 또는 피브로넥틴에 대한 알파4베타7 인테그린의 결합, 및 E-카데린에 대한 알파E베타7 인테그린의 결합을 저해하거나 차단하는 항인테그린 베타7 길항제 항체이다.
- [0097] "베타7 아단위" 또는 "β7 아단위"란 인간 β7 인테그린 아단위를 의미한다(Erle *et al.*, (1991) *J. Biol. Chem.* 266:11009-11016). 베타7 아단위는 알파4 인테그린 아단위, 예컨대 인간 알파4 아단위와 회합한다(Kilger and Holzmann (1995) *J. Mol. Biol.* 73:347-354). 알파4베타7 인테그린은 보고에 의하면 대부분의 성숙 림프구, 및 흉선세포, 골수 세포 및 비만 세포의 적은 집단에서 발견된다. (Kilshaw and Murant (1991) *Eur. J. Immunol.* 21:2591-2597; Gurish *et al.*, (1992) 149: 1964-1972; 및 Shaw, S. K. and Brenner, M. B. (1995) *Semin. Immunol.* 7:335). 베타7 아단위는 또한 알파E 아단위, 예컨대 인간 알파E 인테그린 아단위와 회합한다(Cepek, K. L., *et al.* (1993) *J. Immunol.* 150:3459). 알파E베타7 인테그린은 장내 상피 림프구(intra-intestinal epithelial lymphocyte; iIEL)에서 발견된다(Cepek, K. L. (1993) 상기 참조).
- [0098] "알파E 아단위" 또는 "알파E 인테그린 아단위" 또는 "αE 아단위" 또는 "αE 인테그린 아단위" 또는 "CD103"이란 상피 내 림프구 상의 베타7 인테그린과 연관된 것으로 밝혀진 인테그린 아단위를 의미하고, 알파E베타7 인테그린은 E-카데린을 발현하는 장 상피에 대한 iEL의 결합을 매개한다(Cepek, K. L. *et al.* (1993) *J. Immunol.* 150:3459; Shaw, S. K. and Brenner, M. B. (1995) *Semin. Immunol.* 7:335).
- [0099] "MAdCAM" 또는 "MAdCAM-1"은 본 발명의 맥락에서 상호 교환되어 사용되고, 짧은 세포질 꼬리, 막관통 영역 및 3개의 면역글로불린 유사 도메인으로 이루어진 세포의 서열을 포함하는 단일 사슬 폴리펩타이드인 단백질 접착 세포 부착 분자-1을 의미한다. 쥐과, 인간 및 마카크 MAdCAM-1에 대한 cDNA가 클로닝되었다(Briskin, *et al.*, (1993) *Nature*, 363:461-464; Shyjan *et al.*, (1996) *J. Immunol.* 156:2851-2857).
- [0100] "VCAM-1" 또는 "혈관 세포 부착 분자-1", "CD106"은 활성화 내피에서 발견되고 내피-백혈구 상호작용, 예컨대 염증 동안 백혈구의 결합 및 이동에 중요한 알파4베타7 및 알파4베타1의 리간드를 의미한다.
- [0101] "CD45"는 단백질 타이로신 포스파타제(protein tyrosine phosphatase; PTP) 패밀리의 단백질을 의미한다. PTP는 세포 성장, 분화, 분열 주기 및 종양원성 형질전환을 포함하는 다양한 세포 과정을 조절하는 신호전달 분자인 것으로 공지되어 있다. 이 PTP는 세포의 도메인, 단일 막관통 분획 및 2개의 텐덤 세포질내 촉매 도메인을 함유하고, 따라서 수용체 유형 PTP에 속한다. 이 유전자는 조혈 세포에서 특이적으로 발견된다. 이 PTP는 T 및 B 세포 항원 수용체 신호전달의 필수적 조절자인 것으로 나타났다. 이것은 항원 수용체 복합체의 성분과의 직접 상호작용을 통해, 또는 항원 수용체 신호전달에 필요한 다양한 Src 패밀리의 키나제를 활성화함으로써 작용한다. 이 PTP는 또한 JAK 키나제를 억제하고, 따라서 수용체 신호전달의 조절자로서 작용한다. 구별되는 아이소폼을 코딩하는, 이 유전자의 4개의 대안적으로 스플라이싱된 전사체 변이체가 보고되었다. (Tchilian EZ, Beverley PC (2002). "CD45 in memory and disease." *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)* 50 (2): 85-93. Ishikawa H, Tsuyama N, Abroun S, *et al.* (2004). "Interleukin-6, CD45 and the src-kinases in myeloma cell proliferation." *Leuk. Lymphoma* 44 (9):1477-81).
- [0102] CD45의 다양한 아이소폼이 존재한다: CD45RA, CD45RB, CD45RC, CD45RAB, CD45RAC, CD45RBC, CD45RO, CD45R(ABC). CD45는 또한 매우 글라이코실화된다. CD45R은 가장 긴 단백질이고, T 세포로부터 단리될 때 200kDa에서 이동한다. B 세포는 또한 더 무거운 글라이코실화를 가지는 CD45R을 발현하여서, 분자량이 220kDa가 되게 하고, 그래서 명칭 B220이다; 220kDa의 B 세포 아이소폼. B220 표현은 B 세포로 제한되지 않고, 수지상 세포 및 다른 항원 제시 세포의 부분집합에서 활성화 T 세포에서 또한 발견될 수 있다. Stanton T, Boxall S, Bennett A, *et al.* (2004). "CD45 variant alleles: possibly increased frequency of a novel exon 4 CD45 polymorphism in HIV seropositive Ugandans." *Immunogenetics* 56 (2): 107-10.

- [0103] "장 호밍 림프구"는 말초 림프절 및 조직으로 호밍이 아니라 장 림프절 및 조직으로 선택적으로 호밍하는 특징을 가지는 림프구의 하위군을 의미한다. 림프구의 이 하위군은 CD4, CD45RA 및 베타7의 조합(이들로 제한되지는 않음)을 포함하는 다중 세포 표면 분자의 조합의 독특한 발현 패턴을 특징으로 한다. 통상적으로, 말초 혈액 CD4⁺ 림프구의 적어도 2개의 부분집합은 CD45RA 및 베타7, CD45RA⁻ β7^{high} 및 CD45RA⁻ β7^{low} CD4⁺ 세포의 마커에 기초하여 세분될 수 있다. CD45RA⁻ β7^{high} CD4⁺ 세포는 장 림프절 및 조직에서 우선적으로 호밍하지만, CD45RA⁻ β7^{low} CD4⁺ 세포는 말초 림프절 및 조직에 우선적으로 호밍한다(Rott *et al.* 1996; Rott *et al.* 1997; Williams *et al.* 1998; Rose *et al.* 1998; Williams and Butcher 1997; Butcher *et al.* 1999). 장 호밍 림프구는 따라서 유세포분석법 검정에서 CD45RA⁻ β7^{high} CD4⁺로 확인된 림프구의 구별되는 하위군이다. 림프구의 이 군을 확인하는 방법은 당해 분야에 널리 공지되어 있고, 본원의 실시예에 자세히 또한 개시되어 있다.
- [0104] 세포 표면 마커와 관련하여 본 명세서에 사용된 바대로, 기호 "+"는 세포 표면 마커의 양성 발현을 나타낸다. 예를 들어, CD4⁺ 림프구는 세포 표면에서 발현된 CD4를 가지는 림프구의 군이다.
- [0105] 세포 표면 마커와 관련하여 본 명세서에 사용된 바대로, 기호 "-"는 세포 표면 마커의 음성 발현을 나타낸다. 예를 들어, CD45RA⁻ 림프구는 세포 표면에서 발현된 CD45RA를 가지는 림프구의 군이다.
- [0106] 세포 표면 마커와 관련하여 본 명세서에 사용된 바대로, 기호 "low"는 림프구 상의 세포 표면 마커의 비교적 낮은 수준의 발현을 나타내지만, "high"는 림프구 상의 세포 표면 마커의 비교적 높은 수준의 발현을 나타낸다. 유세포분석법에서, β7^{high}의 강도는 β7^{low}보다 적어도 약 10배 또는 100배 높다. 따라서, 예시적인 실시형태에서 본 명세서에 제공된 바대로, CD45RA⁻ β7^{low} CD4⁺ 및 CD45RA⁻ β7^{high} CD4⁺ 림프구는 유세포분석법 분석의 점도표 또는 히스토그램의 구별되는 부분에 위치하고, 여기서 X 축은 CD45AR의 발현의 강도이고, Y 축은 베타7의 발현의 강도이다.
- [0107] "말초 호밍 림프구"는 말초 림프절 및 조직으로 호밍하는 것 및 장 림프절 및 조직으로 호밍하지 않는 것의 특징을 가지는 림프구의 하위군을 의미한다. 예시적인 실시형태에서, 상기 설명된 바대로, 말초 호밍 림프구는 유세포분석법 검정에서 CD45RA⁻ β7^{low} CD4⁺ 세포로서 확인된 림프구의 구별되는 군이다. 림프구의 이 군을 확인하는 방법은 당해 분야에 공지되어 있다.
- [0108] "위장관 염증성 장애"는 점막에서 염증 및/또는 궤양을 발생시키는 만성 장애의 군이다. 이 장애는 예를 들어 염증성 장 질환(예를 들어, 크론병, 궤양성 결장염, 불확정 결장염 및 감염성 결장염), 점막염(예를 들어, 경구 점막염, 위장관 점막염, 비점막염 및 직장염), 괴사성 장염 및 식도염을 포함한다.
- [0109] "염증성 장 질환" 또는 "IBD"는 염증 및/또는 궤양을 발생시키고, 제한 없이 크론병 및 궤양성 결장염을 포함하는 장의 질환을 의미하도록 본 명세서에서 상호 교환되어 사용된다.
- [0110] "크론병(CD)" 및 "궤양성 결장염(UC)"은 미지의 병인학의 만성 염증성 장 질환이다. 궤양성 결장염과 달리 크론병은 장의 임의의 부분에 영향을 미칠 수 있다. 가장 눈에 띄는 특징의 크론병은 장벽의 과립상 적자색 부종성 비후이다. 염증의 발생에 의해, 이 육아종은 대개 이의 둘레가 있는 가장자리를 잃어버리고 주변 조직과 통합된다. 설사 및 장 폐색은 주요한 임상 특징이다. 궤양성 결장염에서처럼, 크론병의 과정은 연속적 또는 재발성, 경증 또는 중증일 수 있지만, 궤양성 결장염과 달리, 크론병은 장의 관여한 분절의 절제에 의해 치유 가능하지 않다. 대부분의 크론병을 가지는 환자는 일정 시점에 수술을 요하지만, 후속하는 재발이 흔하고 지속적인 의학 치료가 일반적이다.
- [0111] 크론병은 입으로부터 항문으로의 소화관의 임의의 일부를 포함할 수 있지만, 통상적으로 이것은 회결장, 소장 또는 결장-항문직장 영역에서 보인다. 조직병리학적으로, 질환은 불연속 육아종, 음와 농양, 열상 및 헛비늘로 증상발현된다. 염증성 침윤액은 혼합되어, 림프구(T 및 B 세포 둘 다), 혈장 세포, 대식세포 및 호중구로 이루어진다. IgM 및 IgG 분비 혈장 세포, 대식세포 및 호중구에서 불균등 증가가 있다.
- [0112] 소염 약물 설파살라진 및 5-아미노살리실산(5-ASA)은 약간 활성인 결장 크론병을 치료하는 데 사용되고, 질환의 관해를 유지하려는 시도로 흔히 처방된다. 메트로니다졸 및 시프로프록사신은 설파살라진과 효능이 유사하고, 특히 항문주위 질환을 치료하도록 처방된다. 더 중증의 경우에, 코티코스테로이드는 활성 약화를 치료하도록 처방되고, 때때로 관해를 유지할 수 있다. 아자티오프린 및 6-머캅토피린은 코티코스테로이드의 만성 투여를 요하는 환자에서 또한 사용된다. 이들 약물이 장기간 예방에서 역할을 할 수 있는 것으로 제안된다. 불행하게도, 몇

몇 환자에서 작용의 개시 전에 매우 긴 지연(6개월 이하)이 있을 수 있다. 지사제 약물은 몇몇 환자에서 증상 완화를 또한 제공할 수 있다. 영양학적 치료 또는 식이요법 기본은 환자의 영양 상태를 개선하고, 급성 질환의 증상 개선을 유도할 수 있지만, 이것은 지속적인 임상 관해를 포함하지 않는다. 항생제는 2차 소장 박테리아 과성장의 치료 및 화농성 합병증의 치료에 사용된다.

- [0113] "유효 투약량"은 원하는 치료학적 또는 예방학적 결과를 달성하기 위해 필요한 시간의 기간 동안 및 그러한 투약량에서 효과적인 양을 의미한다.
- [0114] 본 명세서에 사용된 바대로, 용어 "환자"는 치료가 원해지는 임의의 단일 대상체를 의미한다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서 환자는 인간이다.
- [0115] 본 명세서에서 "대상체"는 통상적으로 인간이다. 소정의 실시형태에서, 대상체는 비인간 포유류이다. 예시적인 비인간 포유류는 실험실, 가축, 애완동물, 스포츠 및 가축동물, 예를 들어 마우스, 고양이, 개, 말 및 소를 포함한다. 통상적으로, 대상체는 위장관 염증성 장애의 치료와 같은 치료에 적격이다.
- [0116] 본 명세서에 사용된 바대로, 대상체의 "수명"은 치료 시작 후 대상체의 삶의 나머지를 의미한다.
- [0117] 용어 "부적절한 반응", "반응 소실" 및 "난치성"은 본 명세서에서 상호 교환되어 사용되고, 하나 이상의 치료제, 예를 들어 코티코스테로이드, 면역억제제 및/또는 항-TNF에 의한 치료의 병력에도 불구하고 활성 질환의 징후 또는 증상의 지속성 또는 재출현을 의미한다.
- [0118] 용어 "항체" 및 "면역글로불린"은 광의로 상호 교환되어 사용되고, 단일클론 항체(예를 들어, 전장 또는 온전한 단일클론 항체), 다중클론 항체, 다가 항체, 다중특이적 항체(예를 들어, 이것이 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한, 이중특이적 항체)를 포함하고, 소정의 항체 단편(본 명세서에 아주 자세히 기재된 바와 같음)을 또한 포함할 수 있다. 항체는 인간, 인간화 및/또는 친화도 성숙될 수 있다.
- [0119] "항체 단편"은 오직 온전한 항체의 일부를 포함하고, 이 부분은 바람직하게는 온전한 항체에 존재할 때 그 부분과 보통 연관된 기능 중 적어도 하나, 및 통상적으로 대부분 또는 모두를 보유한다. 일 실시형태에서, 항체 단편은 온전한 항체의 항원 결합 부위를 포함하고, 따라서 항원에 결합하는 능력을 보유한다. 또 다른 실시형태에서, 항체 단편, 예를 들어 Fc 영역을 포함하는 것은 온전한 항체에 존재할 때 Fc 영역과 보통 연관된 생물학적 기능, 예컨대 FcRn 결합, 항체 반감기 조절, ADCC 기능 및 보체 결합 중 적어도 하나를 보유한다. 일 실시형태에서, 항체 단편은 온전한 항체와 실질적으로 유사한 생체내 반감기를 가지는 1가 항체이다. 예를 들어, 이러한 항체 단편은 단편에 생체내 안정성을 부여할 수 있는 Fc 서열에 연결된 항원 결합 암 상에 포함할 수 있다.
- [0120] 용어 "단일클론 항체"는, 본 명세서에 사용된 바대로, 실질적으로 동종 항체의 집단으로부터 얻어진 항체를 의미하고, 즉 집단을 포함하는 개별 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연 발생 돌연변이를 제외하고 동일하다. 단일클론 항체는 매우 특이적이어서, 단일 항원에 대해 지향된다. 더욱이, 상이한 결정부위(에피토프)에 대해 지향된 상이한 항체를 통상적으로 포함하는 다중클론 항체 제제와 반대로, 각각의 단일클론 항체는 항원 상의 단일 결정부위에 대해 지향된다.
- [0121] 본 명세서에서 단일클론 항체는 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정한 종으로부터 유래하거나 특정한 항체 종류 또는 하위종류에 속하는 항체에서 상응하는 서열과 동일하거나 이와 상동성이지만, 사슬(들)의 나머지가 또 다른 종으로부터 유래하거나 또 다른 항체 종류 또는 하위종류에 속하는 항체에서 상응하는 서열과 동일하거나 이와 상동성인 "키메라" 항체, 및 이러한 항체의 단편(이것이 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한)을 구체적으로 포함한다(미국 특허 제4,816,567호; 및 Morrison *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855 (1984)).
- [0122] 비인간(예를 들어, 쥐과) 항체의 "인간화" 형태는 비인간 면역글로불린으로부터 유래한 최소 서열을 함유하는 키메라 항체이다. 대부분, 인간화 항체는 수혜자의 추가 변 영역으로부터의 잔기가 원하는 특이성, 친화도 및 역량을 가지는 비인간 중(도너 항체), 예컨대 마우스, 랫트, 토끼 또는 비인간 영장류의 추가 변 영역으로부터의 잔기에 의해 대체된 인간 면역글로불린(수혜자 항체)이다. 몇몇 경우에, 인간 면역글로불린의 프레임워크 영역(FR) 잔기는 상응하는 비인간 잔기에 의해 대체된다. 더욱이, 인간화 항체는 수혜자 항체 또는 도너 항체에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 항체 성능을 더 개선하도록 이 변형이 이루어진다. 일반적으로, 인간화 항체는 적어도 1개, 및 통상적으로 2개의 가변 도메인의 실질적으로 모두를 포함할 것이고, 여기서 추가 변 루프의 모두 또는 실질적으로 모두는 비인간 면역글로불린의 것에 상응하고, FR의 모두 또는 실질적으로 모두는 인간 면역글로불린 I₀ 서열의 것이다. 인간화 항체는 임의로 면역글로불린 불변 영역(Fc)의 적어도 일부, 통상적으로 인간 면역글로불린의 것을 또한 포함할 것이다. 추가의 상세내용을 위해, 문헌[Jones *et al.*, Nature 321:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, Nature 332:323-329 (1988); 및 Presta, Curr. Op. Struct. Biol.

2:593-596 (1992)]을 참조한다. 하기 검토 논문 및 이것 내 참고문헌을 또한 참조한다: Vaswani and Hamilton, *Ann. Allergy, Asthma & Immunol.* 1: 105-115 (1998); Harris, *Biochem. Soc. Transactions* 23:1035-1038 (1995); Hurlle and Gross, *Curr. Op. Biotech.* 5:428-433 (1994).

[0123] "인간 항체"는 인간에 의해 생성된 항체의 것에 상응하는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 본 명세서에 개시된 바와 같은 인간 항체를 제조하는 임의의 기법을 사용하여 제조된 것이다. 이러한 기법은 스크리닝 인간 유래 조합 라이브러리, 예컨대 파지 디스플레이 라이브러리(예를 들어, 문헌[Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 222: 581-597 (1991) 및 Hoogenboom *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 19: 4133-4137 (1991)] 참조); 인간 단일클론 항체의 생성을 위한 인간 골수종 및 마우스-인간 이종골수종 세포주를 사용하는 것(예를 들어, 문헌[Kozbor *J. Immunol.*, 133: 3001 (1984); Brodeur *et al.*, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 55-93 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 및 Boerner *et al.*, *J. Immunol.*, 147: 86 (1991)] 참조); 및 내인성 면역글로불린 생성의 부재 하에 인간 항체의 완전 레퍼토리를 생성할 수 있는 형질전환 동물(예를 들어, 마우스)에서 단일클론 항체를 생성하는 것(예를 들어, 문헌[Jakobovits *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 90: 2551 (1993); Jakobovits *et al.*, *Nature*, 362: 255 (1993); Bruggermann *et al.*, *Year in Immunol.*, 7: 33 (1993)] 참조)을 포함한다. 인간 항체의 이 정의는 비인간 동물로부터의 항원-결합 잔기를 포함하는 인간화 항체를 구체적으로 배제한다.

[0124] "단리된" 항체는 확인되고 이의 자연 환경의 성분으로부터 분리되고/되거나 회수된 것이다. 이의 자연 환경의 오염물질 성분은 항체에 대한 진단학적 또는 치료학적 사용을 방해하는 재료이고, 효소, 호르몬, 및 다른 단백질성 또는 비단백질성 용질을 포함할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 항체는 (1) Lowry 방법에 의해 결정된 바대로 항체의 95중량% 초과, 및 대개는 99중량% 초과로, (2) 스피닝 컵 서열분석장치의 사용에 의해 N 말단 또는 내부 아미노산 서열의 적어도 15개의 잔기를 얻기에 충분한 정도로, 또는 (3) 쿠마시 블루 또는 은 염색을 이용한 환원 또는 비환원 조건 하의 SDS-PAGE에 의한 동종성으로 정제될 것이다. 단리된 항체는 항체의 자연 환경의 적어도 하나의 성분이 존재하지 않으므로 제조할 세포 내에 인시츄로 항체를 포함한다. 그러나, 보통, 단리된 항체는 적어도 하나의 정제 단계에 의해 제조될 것이다.

[0125] 용어 "초가변 영역", "HVR" 또는 "HV"는, 본 명세서에서 사용될 때, 서열이 초가변이고/이거나, 구조적으로 한정된 루프를 형성하는 항체 가변 도메인의 영역을 의미한다. 일반적으로, 항체는 VH에서 3개(H1, H2, H3), 및 VL에서 3개(L1, L2, L3)의 6개의 초가변 영역을 포함한다. 다수의 초가변 영역 기술은 사용 중이고 본 명세서에 포함된다. 카뱃 상보성 결정 영역(Complementarity Determining Region; CDR)은 서열 가변성에 기초하고, 가장 흔히 사용되는 것이다(Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). 초티아는 대신에 구조적 루프의 위치에 관한 것이다(Chothia and Lesk *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)). AbM 초가변 영역은 카뱃 CDR과 초티아 구조 루프 사이의 절충을 나타내고, 옥스포드 모레큘러(Oxford Molecular)의 AbM 항체 모델링 소프트웨어에 의해 사용된다. "접촉" 초가변 영역은 이용 가능한 복잡한 결정 구조의 분석에 기초한다. 이들 HVR의 각각으로부터의 잔기가 하기 기재되어 있다.

[0126] 루프카뱃 AbM 초티아 접촉

[0127] L1 L24-L34 L24-L34 L26-L32 L30-L36

[0128] L2 L50-L56 L50-L56 L50-L52 L46-L55

[0129] L3 L89-L97 L89-L97 L91-L96 L89-L96

[0130] H1 H31-H35B H26-H35B H26-H32 H30-H35B(카뱃 넘버링)

[0131] H1 H31-H35 H26-H35 H26-H32 H30-H35(초티아 넘버링)

[0132] H2 H50-H65 H50-H58 H53-H55 H47-H58

[0133] H3 H95-H102 H95-H102 H96-H101 H93-H101

[0134] 초가변 영역은 하기한 바대로 "연장된 초가변 영역"을 포함할 수 있다: VL에서 24-36 또는 24-34(L1), 46-56 또는 49-56 또는 50-56 또는 52-56(L2) 및 89-97(L3), 및 VH에서 26-35(H1), 50-65 또는 49-65(H2) 및 93-102, 94-102 또는 95-102(H3). 가변 도메인 잔기는 이들 정의의 각각에 대해 상기 카뱃 등에 따라 넘버링된다.

[0135] "프레임워크" 또는 "FR" 잔기는 본 명세서에 정의된 바와 같은 초가변 영역 잔기 이외의 가변 도메인 잔기이다.

- [0136] "인간 공통 프레임워크"는 인간 면역글로불린 VL 또는 VH 프레임워크 서열의 선택에서 가장 흔히 생기는 아미노산 잔기를 나타내는 프레임워크이다. 일반적으로, 인간 면역글로불린 VL 또는 VH 서열의 선택은 가변 도메인 서열의 하위군으로부터 얻어진다. 일반적으로, 서열의 하위군은 카뱃 등에서처럼 하위군이다. 일 실시형태에서, VL의 경우, 하위군은 카뱃 등에서처럼 하위군 카파 I이다. 일 실시형태에서, VH의 경우, 하위군은 카뱃 등에서처럼 하위군 III이다.
- [0137] "친화도 성숙된" 항체는, 이 변경(들)을 보유하지 않는 모 항체와 비교하여, 항원에 대한 항체의 친화도를 개선시키는, 하나 이상의 CDR에서 하나 이상의 변경을 가지는 것이다. 소정의 실시형태에서, 친화도 성숙된 항체는 표적 항원에 대해 나노몰 또는 심지어 피코몰 친화도를 가질 것이다. 친화도 성숙된 항체는 당해 분야에 공지된 절차에 의해 제조된다. 문헌[Marks *et al.* Bio/Technology 10:779-783 (1992)]은 VH 및 VL 도메인 서플링에 의한 친화도 성숙을 기재한다. CDR 및/또는 프레임워크 잔기의 랜덤 돌연변이유발은 문헌[Barbas *et al.* Proc Nat. Acad. Sci, USA 91:3809-3813 (1994); Schier *et al.* Gene 169:147-155 (1996); Yelton *et al.* J. Immunol. 155:1994-2004 (1995); Jackson *et al.*, J. Immunol. 154(7):3310-9 (1995); 및 Hawkins *et al.* J. Mol. Biol. 226:889-896 (1992)]에 의해 기재되어 있다.
- [0138] 구절 "실질적으로 유사한" 또는 "실질적으로 동일한"은, 본 명세서에 사용된 바대로, 2개의 숫자 값(일반적으로 본 발명의 항체와 연관된 것 및 기준/비교기 항체와 연관된 다른 것) 사이의 충분하게 높은 유사성 정도를 나타내어서, 당해 분야의 당업자는 상기 값(예를 들어, Kd 값)에 의해 측정된 생물학적 특성의 맥락 내에 생물학적 및/또는 통계 유의성이 거의 없거나 없는 2개의 값 사이의 차이를 고려할 것이다. 상기 2개의 값 사이의 차이는 기준/비교기 항체에 대한 값의 함수로서 약 50% 미만, 약 40% 미만, 약 30% 미만, 약 20% 미만, 약 10% 미만이다.
- [0139] "결합 친화도"는 일반적으로 분자의 단일 결합 부위(예를 들어, 항체)와 이의 결합 파트너(예를 들어, 항원) 사이의 비공유 상호작용의 합 전체의 강도를 의미한다. 달리 표시되지 않은 한, 본 명세서에 사용된 바대로, "결합 친화도"는 결합 쌍의 구성원(예를 들어, 항체 및 항원) 사이의 1:1 상호작용을 반영하는 고유 결합 친화도를 의미한다. 파트너 Y에 대한 분자 X의 친화도는 해리 상수(Kd)에 의해 일반적으로 표시될 수 있다. 친화도는 본 명세서에 기재된 것을 포함하는 당해 분야에 공지된 흔한 방법에 의해 측정될 수 있다. 저친화도 항체는 일반적으로 항원에 천천히 결합하고, 신속히 해리하는 경향이 있지만, 고친화도 항체는 일반적으로 항원에 더 빨리 결합하고, 더 길게 결합한 채 있는 경향이 있다. 결합 친화도를 측정하는 다양한 방법이 당해 분야에 공지되어 있고, 이들 중 임의는 본 발명의 목적을 위해 사용될 수 있다.
- [0140] 용어 "가변"은 가변 도메인의 소정의 부분이 항체 중에 서열이 광범위하게 다르고, 특정한 항원에 대한 각각의 특정한 항체의 결합 및 특이성에서 사용된다는 사실을 의미한다. 그러나, 가변성은 항체의 가변 도메인에 걸쳐 균등하게 분포되지 않는다. 이것은 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 둘 다에서 초가변 영역이라 불리는 3개의 분절에 집중된다. 가변 도메인의 더 매우 보존된 부분은 프레임워크 영역(FR)이라 불린다. 네이티브 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인은 각각, 루프 연결을 형성하고, 몇몇 경우에 β -시트 구조의 일부를 형성하는, 3개의 초가변 영역에 의해 연결된, β -시트 구성을 주로 채택하는, 4개의 FR을 포함한다. 각각의 사슬에서의 초가변 영역은 FR과 매우 근접하게 함께 있고, 다른 사슬로부터의 초가변 영역에 의해, 항체의 항원-결합 부위의 형성에 기여한다 (Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)] 참조). 불변 도메인은 항원에 대한 항체의 결합에서 직접적으로 관여되지 않지만, 다양한 이펙터 기능, 예컨대 항체 의존적 세포 세포독성(antibody dependent cellular cytotoxicity; ADCC)에서 항체의 참여를 나타낸다.
- [0141] 항체의 파파인 분해는, 각각 단일 항원-결합 부위, 및 잔류 "Fc" 단편(이 명칭은 용이하게 결정화하는 이의 능력을 반영함)에 의해, "Fab" 단편이라 불리는 2개의 동일한 항원-결합 단편을 생성한다. 펩신 처리는 2개의 항원-결합 부위를 가지는 F(ab')₂ 단편을 생성하고, 항원과 여전히 가교결합할 수 있다.
- [0142] "Fv"는 완전한 항원 인식 및 항원 결합 부위를 함유하는 최소 항체 단편이다. 이 영역은 단단한 비공유 회합에서 1개의 중쇄 및 1개의 경쇄 가변 도메인의 이합체로 이루어진다. 각각의 가변 도메인의 3개의 초가변 영역이 V_H-V_L 이합체의 표면에서 항원-결합 부위를 한정하도록 상호작용하는 것은 이 구성에서이다. 총체적으로, 6개의 초가변 영역은 항체에 항원-결합 특이성을 부여한다. 그러나, 심지어 단일 가변 도메인(또는 항원에 특이적인 오직 3개의 초가변 영역을 포함하는 Fv의 절반)은 항원을 인식하고 이에 결합하는 능력을 가지지만, 전체 결합 부위보다 더 낮은 친화도에서이다.

- [0143] Fab 단편은 경쇄의 불변 도메인 및 중쇄의 제1 불변 도메인(CH1)을 또한 함유한다. Fab= 단편은, 항체 힌지 영역으로부터의 하나 이상의 시스테인을 포함하는 중쇄 CH1 도메인의 카복시 말단에서의 몇몇 잔기의 첨가에 의해, Fab 단편과 다르다. Fab'-SH는 본 명세서에서 Fab'에 대한 지칭이고, 여기서 불변 도메인의 시스테인 잔기(들)는 적어도 1개의 유리 티올 기를 보유한다. F(ab')₂ 항체 단편은 원래 이들 사이에 힌지 시스테인을 가지는 Fab' 단편의 쌍으로서 제조된다. 항체 단편의 다른 화학 커플링이 또한 공지되어 있다.
- [0144] 임의의 척추동물 중으로부터의 항체의 "경쇄"는, 이의 불변 도메인의 아미노산 서열에 기초하여, 카파(κ) 및 람다(λ)라 불리는 2개의 명확히 구별되는 유형 중 하나로 배정된다.
- [0145] 중쇄의 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라, 항체(면역글로불린)는 상이한 종류로 배정될 수 있다. IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM의 면역글로불린의 5개의 주요 종류가 있고, 이들 중 몇몇은 하위종류(아이소타입), 예를 들어 IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 및 IgA₂로 추가로 분할될 수 있다. 면역글로불린의 상이한 종류에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 α , δ , ϵ , γ 및 μ 라 불린다. 면역글로불린의 상이한 종류의 아단위 구조 및 3차원 구성은 널리 공지되어 있고, 일반적으로 예를 들어 문헌[Abbas *et al. Cellular and Mol. Immunology*, 4th ed. (W. B. Saunders, Co., 2000)]에 기재되어 있다. 항체는 하나 이상의 다른 단백질 또는 펩타이드와의 항체의 공유 또는 비공유 회합에 의해 형성된 더 큰 융합 분자의 일부일 수 있다.
- [0146] 용어 "전장 항체", "온전한 항체" 및 "전체 항체"는 하기 정의된 바와 같은 항체 단편이 아니라 이의 실질적으로 온전한 형태의 항체를 의미하도록 본 명세서에서 상호 교환되어 사용된다. 상기 용어는 특히 Fc 영역을 함유하는 중쇄를 가지는 항체를 의미한다.
- [0147] "네이티브 항체"는 본 명세서에서의 목적을 위해 세포독성 모이어티 또는 방사선 동위원소에 접합되지 않은 항체이다.
- [0148] 용어 "Fc 영역"은 네이티브 서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함하는 면역글로불린 중쇄의 C 말단 영역을 한정하도록 본 명세서에서 사용된다. 면역글로불린 중쇄의 Fc 영역의 가장자리가 변할 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 Cys226 위치에서의 아미노산 잔기 또는 Pro230으로부터 이의 카복실 말단으로의 스트레치로 보통 정의된다. Fc 영역의 C 말단 라이신(EU 넘버링 시스템에 따른 잔기 447)은 예를 들어 항체의 생성 또는 정제 동안 또는 항체의 중쇄를 코딩하는 핵산을 재조합으로 조작함으로써 제거될 수 있다. 따라서, 온전한 항체의 조성은 모든 K447 잔기가 제거된 항체 집단, K447 잔기가 제거되지 않은 항체 집단 및 K447 잔기를 가지는 항체 및 갖지 않는 항체의 혼합물을 가지는 항체 집단을 포함할 수 있다.
- [0149] 달리 표시되지 않은 한, 본 명세서에서 면역글로불린 중쇄 내의 잔기의 넘버링은 문헌[Kabat *et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)](본 명세서에 참고문헌으로 명확히 포함됨)]에서처럼 EU 지수의 것이다. "카밧에서처럼 EU 지수"는 인간 IgG1 EU 항체의 잔기 넘버링을 의미한다.
- [0150] "기능적 Fc 영역"은 네이티브 서열 Fc 영역의 "이펙터 기능"을 보유한다. 예시적인 "이펙터 기능"은 C1q 결합; 보체 의존적 세포독성; Fc 수용체 결합; 항체 의존적 세포 매개 세포독성(ADCC); 식세포작용; 세포 표면 수용체(예를 들어, B 세포 수용체; BCR)의 하향조절 등을 포함한다. 이러한 이펙터 기능은 일반적으로 결합 도메인(예를 들어, 항체 가변 도메인)과 조합되는 Fc 영역을 요하고, 예를 들어 본 명세서에 개시된 바와 같은 다양한 검정을 이용하여 평가될 수 있다.
- [0151] "네이티브 서열 Fc 영역"은 자연에서 발견된 Fc 영역의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 네이티브 서열 인간 Fc 영역은 네이티브 서열 인간 IgG1 Fc 영역(비-A 및 A 알로타입); 네이티브 서열 인간 IgG2 Fc 영역; 네이티브 서열 인간 IgG3 Fc 영역; 및 네이티브 서열 인간 IgG4 Fc 영역, 및 이의 자연 발생 변이체를 포함한다.
- [0152] "변이체 Fc 영역"은 적어도 하나의 아미노산 변형에 의해 네이티브 서열 Fc 영역의 것과 다른 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 변이체 Fc 영역은 네이티브 서열 Fc 영역 또는 모 폴리펩타이드의 Fc 영역과 비교하여 적어도 1개의 아미노산 치환, 예를 들어 네이티브 서열 Fc 영역 또는 모 폴리펩타이드의 Fc 영역에서 약 1개 내지 약 10개의 아미노산 치환, 및 소정의 실시형태에서 약 1개 내지 약 5개의 아미노산 치환을 가진다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서 변이체 Fc 영역은 네이티브 서열 Fc 영역 및/또는 모 폴리펩타이드의 Fc 영역과 적어도 약 80%의 상동성, 또는 적어도 약 90%의 상동성, 또는 적어도 약 95%의 상동성을 보유할 것이다.
- [0153] 중쇄의 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라, 온전한 항체는 상이한 "종류"로 배정될 수 있다. IgA, IgD, IgE,

IgG 및 IgM의 온전한 항체의 5개의 주요 종류가 있고, 이들 중 몇몇은 "하위종류"(아이소타입), 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA 및 IgA2로 추가로 분할될 수 있다. 항체의 상이한 종류에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 α , δ , ϵ , γ 및 μ 라 불린다. 면역글로불린의 상이한 종류의 아단위 구조 및 3차원 구성은 널리 공지되어 있다.

- [0154] "항체 의존적 세포 매개 세포독성" 및 "ADCC"는 Fc 수용체(FcR)(예를 들어, 자연 살해(NK) 세포, 호중구 및 대식세포)를 발현하는 비특이적 세포독성 세포가 표적 세포 상의 결합된 항체를 인식하고 후속하여 표적 세포를 용해시키는 세포 매개 반응을 의미한다. NK 세포인 ADCC를 매개하기 위한 1차 세포는 오직 Fc γ RIII을 발현하지만, 단핵구는 Fc γ RI, Fc γ RII 및 Fc γ RIII을 발현한다. 조혈 세포 상의 FcR 발현은 문헌[Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92 (1991)]의 464페이지의 표 3에 요약되어 있다. 관심 있는 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위해, 시험관내 ADCC 검정, 예컨대 미국 특허 제5,500,362호 또는 제5,821,337호에 기재된 것을 수행할 수 있다. 이러한 검정에 유용한 이펙터 세포는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC) 및 자연 살해(NK) 세포를 포함한다. 대안적으로, 또는 추가로, 관심 있는 분자의 ADCC 활성은 예를 들어 동물 모델, 예컨대 문헌[Clynes *et al. PNAS (USA)* 95:652-656 (1998)]에 개시된 것에서 생체내 평가될 수 있다.
- [0155] "인간 이펙터 세포"는 하나 이상의 FcR을 발현하고 이펙터 기능을 수행하는 백혈구이다. 소정의 실시형태에서, 세포는 적어도 Fc γ RIII을 발현하고 ADCC 이펙터 기능을 수행한다. ADCC를 매개하는 인간 백혈구의 예는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC), 자연 살해(NK) 세포, 단핵구, 세포독성 T 세포 및 호중구를 포함한다. 이펙터 세포는 이의 네이티브 소스, 예를 들어 본 명세서에 기재된 바대로 혈액 또는 PBMC로부터 단리될 수 있다.
- [0156] 용어 "Fc 수용체" 또는 "FcR"은 항체의 Fc 영역에 결합하는 수용체를 기술하도록 사용된다. 소정의 실시형태에서, FcR은 네이티브 서열 인간 FcR이다. 게다가, FcR은 IgG 항체(감마 수용체)에 결합하는 것이고, Fc γ RI, Fc γ RII, 및 Fc γ RIII 하위종류의 수용체, 예컨대 이들 수용체의 대립형질 변이체 및 대안적으로 스플라이싱된 형태를 포함한다. Fc γ RII 수용체는 세포질 도메인이 주로 다른 유사한 아미노산 서열을 가지는 Fc γ RIIA("활성화 수용체") 및 Fc γ RIIB("저해 수용체")를 포함한다. 활성화 수용체 Fc γ RIIA는 이의 세포질 도메인에서 면역수용체 타이로신 기반 활성화 모티프(ITAM)를 함유한다. 저해 수용체 Fc γ RIIB은 이의 세포질 도메인에서 면역수용체 타이로신 기반 저해 모티프(immunoreceptor tyrosine-based activation motif; ITIM)를 함유한다(문헌[M. in Daeron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234 (1997)] 참조 검토). FcR은 문헌[Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92 (1991); Capel *et al.*, *Immunomethods* 4:25-34 (1994); 및 de Haas *et al.*, *J. Lab. Clin. Med.* 126:330-41 (1995)]에 검토되어 있다. 미래에 확인되는 것을 포함하는 다른 FcR은 본 명세서에서 용어 "FcR"에 의해 포함된다. 상기 용어는 또한 태아로의 모계 IgG의 전달을 담당하는 FcRn인 신생아 수용체를 포함하고(Guyer *et al.*, *J. Immunol.* 117:587 (1976) and Kim *et al.*, *J. Immunol.* 24:249 (1994)), 면역글로불린의 항상성을 조절한다. 신생아 Fc 수용체(FcRn)에 대한 개선된 결합, 및 증가한 반감기를 가지는 항체는 WO00/42072(Presta, L.) 및 US2005/0014934A1(Hinton 등)에 기재되어 있다. 이 항체는 FcRn에 대한 Fc 영역의 결합을 개선하는 내부의 하나 이상의 치환을 가지는 Fc 영역을 포함한다. 예를 들어, Fc 영역은 238, 250, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 314, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424, 428 또는 434 위치(잔기의 Eu 넘버링) 중 하나 이상에서 치환을 가질 수 있다. 소정의 실시형태에서, 개선된 FcRn 결합을 가지는 Fc 영역 함유 항체 변이체는 307, 380 및 434 of Fc 영역 위치 (잔기의 Eu 넘버링) 중 1개, 2개 또는 3개에서 아미노산 치환을 포함한다.
- [0157] "단쇄 Fv" 또는 "scFv" 항체 단편은 항체의 V_H 및 V_L 도메인을 포함하고, 이 도메인은 단일 폴리펩타이드 사슬에 존재한다. 소정의 실시형태에서, Fv 폴리펩타이드는 V_H 도메인과 V_L 도메인 사이에 폴리펩타이드 링커를 추가로 포함하고, 이것은 scFv가 항원 결합에 원하는 구조를 형성하게 한다. scFv의 검토를 위해, 문헌[Pluckthun in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)]을 참조한다. HER2 항체 scFv 단편은 제W093/16185호; 미국 특허 제5,571,894호; 및 미국 특허 제5,587,458호에 기재되어 있다.
- [0158] 용어 "다이아바디"는 2개의 항원-결합 부위를 가지는 작은 항체 단편을 의미하고, 단편은 동일한 폴리펩타이드 사슬(V_H-V_L)에서 가변 경쇄 도메인(V_L)에 연결된 가변 중쇄 도메인(V_H)을 포함한다. 동일한 사슬 상의 2개의 도메인 사이의 쌍 지음을 허용하기에 너무 짧은 링커를 사용함으로써, 도메인은 또 다른 사슬의 상보성 도메인과 쌍 짓도록 강요되고, 2개의 항원-결합 부위를 생성한다. 다이아바디는 예를 들어 EP 제404,097호; WO 제 93/11161호; 및 문헌[Hollinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993)]에 더 자세히 기재되어 있다.

- [0159] "친화도 성숙된" 항체는, 이 변경(들)을 보유하지 않는 모 항체와 비교하여, 항원에 대한 항체의 친화도를 개선시키는, 하나 이상의 초가변 영역에서 하나 이상의 변경을 가지는 것이다. 소정의 실시형태에서, 친화도 성숙된 항체는 표적 항원에 대해 나노몰 또는 심지어 피코몰 친화도를 가질 것이다. 친화도 성숙된 항체는 당해 분야에 공지된 절차에 의해 제조된다. 문헌[Marks *et al. Bio/Technology* 10:779-783 (1992)]은 VH 및 VL 도메인 서플링에 의한 친화도 성숙을 기재한다. CDR 및/또는 프레임워크 잔기의 랜덤 돌연변이유발은 문헌[Barbas *et al. Proc Nat. Acad. Sci, USA* 91:3809-3813 (1994); Schier *et al. Gene* 169:147-155 (1995); Yelton *et al. J. Immunol.* 155:1994-2004 (1995); Jackson *et al., J. Immunol.* 154(7):3310-9 (1995); 및 Hawkins *et al, J. Mol. Biol.* 226:889-896 (1992)]에 의해 기재되어 있다.
- [0160] 본 명세서에서 "아미노산 서열 변이체" 항체는 주요 종 항체와 다른 아미노산 서열을 가지는 항체이다. 소정의 실시형태에서, 아미노산 서열 변이체는 주요 종 항체와 적어도 약 70%의 상동성을 보유하거나, 주요 종 항체와 적어도 약 80% 또는 적어도 약 90%의 상동성일 것이다. 아미노산 서열 변이체는 주요 종 항체의 아미노산 서열에 인접하거나 이것 내의 소정의 위치에서 치환, 결실 및/또는 부가를 보유한다. 본 명세서에서 아미노산 서열 변이체의 예는 산성 변이체(예를 들어, 탈아미드화 항체 변이체), 염기성 변이체, 1개 또는 2개의 경쇄 상의 아미노 말단 리더 연장(예를 들어, VHS-)을 가지는 항체, 1개 또는 2개의 중쇄 상의 C 말단 라이신 잔기를 가지는 항체 등을 포함하고, 중쇄 및/또는 경쇄의 아미노산 서열의 변이의 조합을 포함한다. 본 명세서에서 특히 관심 있는 항체 변이체는, 주요 종 항체에 비해 다른 아미노산 서열 및/또는 글라이코실화 차이를 임의로 추가로 포함하는, 1개 또는 2개의 경쇄 상의 아미노 말단 리더 연장을 포함하는 항체이다.
- [0161] 본 명세서에서 "글라이코실화 변이체" 항체는, 주요 종 항체에 부착된 하나 이상의 탄수화물 모이어티가 다른, 하나 이상의 탄수화물 모이어티가 부착된 항체이다. 본 명세서에서 글라이코실화 변이체의 예는, Fc 영역에 부착된 G0 올리고사카라이드 구조 대신에 G1 또는 G2 올리고사카라이드 구조를 가지는 항체, 1개 또는 2개의 탄수화물 모이어티가 1개 또는 2개의 경쇄에 부착된 항체, 탄수화물이 항체의 1개 또는 2개의 중쇄에 부착되지 않은 항체 등, 및 글라이코실화 변경의 조합을 포함한다. 항체가 Fc 영역을 가지는 경우, 올리고사카라이드 구조는 예를 들어 잔기 299(298, 잔기의 Eu 넘버링)에서 항체의 1개 또는 2개의 중쇄에 부착될 수 있다.
- [0162] 용어 "세포독성제"는, 본 명세서에 사용된 바대로, 세포의 기능을 저해하거나 예방하고/하거나, 세포의 파괴를 발생시키는 물질을 의미한다. 상기 용어는 방사능 동위원소(예를 들어, At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³² 및 방사능 Lu의 동위원소), 화학치료제 및 독소, 예컨대 박테리아, 균류, 식물 또는 동물 기원의 소분자 독소 또는 효소 활성 독소, 예컨대 이의 단편 및/또는 변이체를 포함하도록 의도된다.
- [0163] 용어 "사이토카인"은 세포간 중재자로서 또 다른 세포에 작용하는 하나의 세포 집단에 의해 방출된 단백질에 대한 일반 용어이다. 이러한 사이토카인의 예는 림포카인, 모노카인 및 전통적인 폴리펩타이드 호르몬이 있다. 사이토카인 중에 성장 호르몬, 예컨대 인간 성장 호르몬, N-메티오닐 인간 성장 호르몬 및 소 성장 호르몬; 부갑상선 호르몬; 티록신; 인슐린; 프로인슐린; 렐락신; 프로렐락신; 당단백질 호르몬, 예컨대 난포 자극 호르몬(FSH), 갑상선 자극 호르몬(TSH) 및 황체형성 호르몬(LH); 간 성장 인자; 섬유아세포 성장 인자; 프로락틴; 태반성 락토겐; 중앙 괴사 인자- α 및 - β ; 필러식 저해 물질; 마우스 고나도트로핀 연관 펩타이드; 인히빈; 액티빈; 혈관 내피 성장 인자; 인테그린; 트롬보포이에틴(TPO); 신경 성장 인자, 예컨대 NGF- β ; 혈소판 성장 인자; 형질전환 성장 인자(TGF), 예컨대 TGF- α 및 TGF- β ; 인슐린양 성장 인자-I 및 -II; 에리트르포이에틴(EPO); 골유도성 인자; 인터페론, 예컨대 인터페론- α , - β , 및 - γ ; 콜로니 자극 인자(CSF), 예컨대 대식세포-CSF(M-CSF); 과립구-대식세포-CSF(GM-CSF); 및 과립구-CSF(G-CSF); 인터류킨(IL), 예컨대 IL-1, IL-1 α , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12; 중앙 괴사 인자, 예컨대 TNF- α 또는 TNF- β ; 및 다른 폴리펩타이드 인자, 예컨대 LIF 및 kit 리간드(KL)가 포함된다. 본 명세서에 사용된 바대로, 용어 사이토카인은 천연 소스 또는 제조합 세포 배양으로부터의 단백질 및 네이티브 서열 사이토카인의 생물학적 활성 등가물을 포함한다.
- [0164] 용어 "면역억제제"는, 본 명세서에 사용된 바대로, 보조 치료에 대해 본 명세서에서 치료되는 대상체의 면역계를 억제하거나 마스킹하도록 작용하는 물질을 의미한다. 이것은 사이토카인 생성을 억제하거나, 자가-항원 발현을 하향조절하거나 억제하거나, MHC 항원을 마스킹하는 물질을 포함할 것이다. 이러한 물질의 예는 2-아미노-6-아릴-5-치환된 피리미딘(미국 특허 제4,665,077호 참조); 비스테로이드성 소염 약물(NSAID); 간시클로버; 타크롤리무스; 글루코코티코이드, 예컨대 코티솔 또는 알도스테론; 소염제, 예컨대 사이클로옥시게나제 저해제; 5-리폭시게나아제 저해제; 또는 류코트리엔 수용체 길항제; 퓨린 길항제, 예컨대 아자티오프린 또는 마이코페놀레이트 모페틸(MMF); 알킬화제, 예컨대 사이클로포스파마이드; 브로모크립틴; 다나졸; 답손; (미국 특허 제

4,120,649호에 기재된 바와 같은, MHC 항원을 마스킹하는) 글루타르알데하이드; MHC 항원 및 MHC 단편에 대한 항이디오타입 항체; 사이클로스포린; 6 머캡토피린; 스테로이드, 예컨대 코티코스테로이드 또는 글루코코르티코스테로이드 또는 글루코코르티코이드 유사체, 예를 들어 프레드니손(예를 들어, 메틸프레드니솔론, 예컨대 SOLU-MEDROL.RTM. 메틸프레드니솔론 나트륨 숙시네이트 및 코르테프[하이드로코르티손](이들로 제한되지는 않음)를 포함하는 프레드니손 등가물 포함), 부데소나이드, 및 텍사메타손; 다이하이드로엽산 환원효소 저해제, 예컨대 메토티렉세이트(경구 또는 피하); 항말라리아제, 예컨대 클로로퀸 및 하이드록시클로로퀸; 설과살라진; 레플루노미드; 사이토카인 또는 사이토카인 수용체 항체 또는 길항제, 예컨대 항인터페론-알파, -베타, 또는 -감마 항체, 항종양 괴사 인자(TNF)-알파 항체(인플릭시맵(REMICADE.RTM.) 또는 아달리무맵), 항-TNF-알파 면역접합체(에타네르셉트), 항-TNF-베타 항체, 항-인터류킨-2(IL-2) 항체 및 항-IL-2 수용체 항체 및 항-인터류킨-6(IL-6) 수용체 항체 및 길항제; 항-LFA-1 항체, 예컨대 항-CD11a 및 항-CD18 항체; 항-L3T4 항체; 이중성 항-림프구 글로불린; pan-T 항체, 항-CD3 또는 항-CD4/CD4a 항체; LFA-3 결합 도메인을 함유하는 가용성 펩타이드(WO 90/08187(1990년 7월 26일 공개)); 스트렙토키나제; 형질전환 성장 인자-베타(TGF-베타); 스트렙토도마제; 숙주로부터의 RNA 또는 DNA; FK506; RS-61443; 클로르암부실; 데옥시스페르구알린; 라파마이신; T 세포 수용체(Cohen 등, 미국 특허 제5,114,721호); T 세포 수용체 단편(Offner *et al.*, Science, 251: 430-432 (1991); WO 90/11294; Ianeway, Nature, 341: 482 (1989); 및 WO 91/01133); BAFF 길항제, 예컨대 BAFF 또는 BR3 항체 또는 면역접합체 및 zTNF4 길항제(검토를 위해, 문헌[Mackay and Mackay, Trends Immunol., 23:113-5 (2002)] 참조 및 또한 하기 정의 참조); T 세포 헬퍼 신호를 방해하는 생물물질, 예컨대 항-CD40 수용체 또는 항-CD40 리간드(CD154), 예컨대 CD40-CD40 리간드에 대한 차단 항체(예를 들어, Durie *et al.*, Science, 261: 1328-30 (1993); Mohan *et al.*, J. Immunol., 154: 1470-80 (1995)) 및 CTLA4-Ig(Finck *et al.*, Science, 265: 1225-7 (1994)); 및 T 세포 수용체 항체(EP 340,109), 예컨대 T10B9를 포함한다.

- [0165] 본 명세서에 사용된 바대로, "코티코스테로이드 무"는 환자가 코티코스테로이드 무일 때인 기간 동안 환자, 예를 들어 크론병을 가지는 환자가 질환 또는 질환의 증상을 치료하기 위해 코티코스테로이드를 사용하지 않는다는 것을 의미한다. 예를 들어, 12개월 동안 코티코스테로이드 무인 크론병을 가지는 환자는 크론병의 증상을 치료하기 위해 12개월 동안 코티코스테로이드를 사용하지 않는다.
- [0166] 용어 "경감한다" 또는 "경감"은 본 명세서에 사용된 바대로 비정상 또는 증상을 포함하는 병태, 질환, 장애 또는 표현형의 감소, 저하 또는 제거를 의미한다.
- [0167] 질환 또는 장애(예를 들어, 염증성 장 질환, 예를 들어 궤양성 결장염 또는 크론병)의 "증상"은, 대상체가 경험하고, 질환을 나타내는, 임의의 병적인 현상 또는 구조, 기능 또는 감각의 정상으로부터의 일탈이다.
- [0168] 표현 "치료적 유효량"은 질환 또는 장애(예를 들어, 염증성 장 질환, 예를 들어 궤양성 결장염 또는 크론병)의 예방, 경감 또는 치료에 효과적인 양을 의미한다. 예를 들어, 항체의 "치료적 유효량"은 기재된 질환 또는 장애의 예방, 경감 또는 치료에 효과적인 항체의 양을 의미한다. 유사하게, 항체 및 제2 화합물의 조합의 "치료적 유효량"은, 조합으로, 기재된 질환 또는 장애의 예방, 경감 또는 치료에 효과적인 항체의 양 및 제2 화합물의 양을 의미한다.
- [0169] 전문용어 2개의 화합물의 "조합"은 화합물이 서로와의 혼합물로 투여되어야 한다는 것을 의미하지 않는 것으로 이해되어야 한다. 따라서, 이러한 조합의 사용에 의한 치료는 화합물의 혼합물 또는 화합물의 별개의 투여를 포함하고, 동일 일자 또는 다른 일자의 투여를 포함한다. 따라서, 전문용어 "조합"은 2개 이상의 화합물이 개별적으로 또는 서로와의 혼합물로 치료에 사용된다는 것을 의미한다. 항체 및 제2 화합물이 예를 들어 대상체에게 조합으로 투여될 때, 항체는, 항체 및 제2 화합물이 대상체에게 개별적으로 또는 혼합되어 투여되든, 제2 화합물이 대상체에 또한 존재할 때의 시간에 대상체에 존재한다. 소정의 실시형태에서, 항체 이외의 화합물은 항체 전에 투여된다. 소정의 실시형태에서, 항체 이외의 화합물은 항체 후에 투여된다.
- [0170] 본 명세서에서의 목적을 위해, "종양 괴사 인자-알파(TNF-알파)"는 문헌[Pennica *et al.*, Nature, 312:721 (1984) 또는 Aggarwal *et al.*, JBC, 260:2345 (1985)]에 기재된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 인간 TNF-알파 분자를 의미한다.
- [0171] 본 명세서에서 "TNF-알파 저해제"는 일반적으로 TNF-알파에 대한 결합 및 이의 활성의 중화를 통해 TNF-알파의 생물학적 기능을 어느 정도로 저해하는 물질이다. 본 명세서에서 구체적으로 고려되는 TNF 저해제의 예는 에타네르셉트(ENBREL(등록상표)), 인플릭시맵(REMICADE(등록상표)), 아달리무맵(HUMIRA(등록상표)), 골리무맵(SIMPONITM), 및 세르톨리주맵 페글(CIMZIA(등록상표))이다.

- [0172] "코티코스테로이드"는 자연 발생 코티코스테로이드의 효과를 모방하거나 증가시키는 스테로이드의 일반 화학 구조를 가지는 몇몇 합성 또는 자연 발생 물질 중 임의의 하나를 의미한다. 합성 코티코스테로이드의 예는 프레드니손, 프레드니솔론(메틸프레드니솔론 포함), 텍사메타손 트리암시놀론, 부데소나이드 및 베타메타손을 포함한다.
- [0173] "길항제"는 리간드의 경우에 하나 이상의 수용체에 대한 이의 결합 또는 수용체의 경우에 하나 이상의 리간드에 대한 결합을 포함하는, 특정한 또는 기재된 단백질의 활성을 중화시키거나 차단하거나 저해하거나 무효화하거나 감소시키거나 방해할 수 있는 분자를 의미한다. 길항제는 항체 및 이의 항원-결합 단편, 단백질, 펩타이드, 당 단백질, 당펩타이드, 당지질, 폴리사카라이드, 올리고사카라이드, 핵산, 생물 유기 분자, 펩티도미메틱, 약리학적 물질 및 이의 대사물질, 전사 및 번역 조절 서열 등을 포함한다. 길항제는 또한 단백질의 소분자 저해제, 및 융합 단백질, 수용체 분자 및 유도체(단백질에 특이적으로 결합하여 이의 표적에 대한 이의 결합을 방해함), 단백질의 길항제 변이체, 단백질에 지향된 안티센스 분자, RNA 압타머, 및 단백질에 대한 리보자임을 포함한다.
- [0174] "자가 주사 장치"는 치료제의 예를 들어 환자 또는 가정 요양사에 의한 자가 투여를 위한 의학 장치를 의미한다. 자가 주사 장치는 오토인젝터 장치 및 자가 투여에 설계된 다른 장치를 포함한다.
- [0175] 다양한 추가의 용어는 본 명세서에 정의되거나 그렇지 않으면 규명된다.
- [0176] 조성물 및 방법
- [0177] A. 베타7 인테그린 길항제
- [0178] 베타7 인테그린 길항제를 투여함으로써 대상체, 예를 들어 인간에서 위장관 염증성 장애를 치료하는 방법이 제공된다. 잠재적인 길항제의 예는 면역글로불린과 베타7 인테그린의 융합을 차단하는 올리고뉴클레오타이드, 및, 특히, 항체, 예컨대 제한 없이, 다중클론 및 단일클론 항체 및 항체 단편, 단쇄 항체, 항이디오타입 항체, 및 이러한 항체 또는 단편의 키메라 또는 인간화 버전, 및 인간 항체 및 항체 단편을 포함한다. 대안적으로, 잠재적인 길항제는 밀접한 관련 단백질, 예를 들어 리간드를 인식하지만 효과를 부여하지 않아서, 베타7 인테그린의 작용을 경쟁적으로 저해하지 않는, 베타7 인테그린의 돌연변이된 형태일 수 있다.
- [0179] 또 다른 잠재적인 베타7 인테그린 길항제는 안티센스 기술을 이용하여 제조된 안티센스 RNA 또는 DNA 작제물이고, 예를 들어 안티센스 RNA 또는 DNA 분자는 표적화된 mRNA에 하이브리드화하고 단백질 번역을 방지함으로써 mRNA의 번역을 직접적으로 차단하도록 작용한다. 안티센스 기술은 삼중 나선 형성 또는 안티센스 DNA 또는 RNA를 통해 유전자 발현을 조절하도록 이용될 수 있고, 이들 방법 둘 다는 DNA 또는 RNA에 대한 폴리뉴클레오타이드의 결합에 기초한다. 예를 들어, 본 명세서에서 베타7 인테그린을 코딩하는, 폴리뉴클레오타이드 서열의 5' 코딩 부분은 약 10개 내지 40개의 길이의 염기 쌍의 안티센스 RNA 올리고뉴클레오타이드를 설계하도록 사용된다. DNA 올리고뉴클레오타이드는 전사에 관여한 유전자의 영역에 상보성이도록 설계되어서(삼중 나선 -- [Lee *et al.*, Nucl. Acids Res., 6:3073 (1979); Cooney *et al.*, Science, 241: 456 (1988); Dervan *et al.*, Science, 251:1360 (1991)] 참조), 베타7 인테그린의 전사 및 생성을 방지한다. 안티센스 RNA 올리고뉴클레오타이드는 생체내 mRNA에 하이브리드화하고, 베타7 인테그린 단백질로의 mRNA 분자의 번역을 차단한다(안티센스-- Okano, Neurochem., 56:560 (1991); Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression (CRC Press: Boca Raton, Fla., 1988). 안티센스 RNA 또는 DNA가 PRO 폴리펩타이드의 생성을 저해하도록 생체내 발현될 수 있도록, 상기 기재된 올리고뉴클레오타이드는 세포로 또한 전달될 수 있다. 안티센스 DNA가 사용될 때, 번역 개시 부위, 예를 들어 표적 유전자 뉴클레오타이드 서열의 약 -10 및 +10 위치로부터 유래한 올리고데옥시리보뉴클레오타이드가 통상적이다.
- [0180] 다른 잠재적인 길항제는 활성 부위, 리간드 또는 결합 분자 결합 부위에 결합하여, 베타7 인테그린의 정상 생물학적 활성을 차단하는 소분자를 포함한다. 소분자의 예는 작은 펩타이드 또는 펩타이드 유사 분자, 통상적으로 가용성 펩타이드, 및 합성 비펩티딜 유기 또는 무기 화합물을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0181] 리보자임은 RNA의 특이적 절단을 촉매화할 수 있는 효소 RNA 분자이다. 리보자임은 상보성 표적 RNA에 대한 서열 특이적 하이브리드화, 이어서 엔도핵산분해 절단에 의해 작용한다. 잠재적인 RNA 표적 내의 특이적 리보자임 절단 부위는 공지된 기법에 의해 확인될 수 있다. 추가의 상세내용을 위해, 예를 들어 문헌[Rossi, Current Biology, 4:469-471 (1994)], 및 PCT 공보 제WO 97/33551호(1997년 9월 18일 공개)를 참조한다.
- [0182] 전사를 저해하기 위해 사용된 삼중 나선 형성에서의 핵산 분자는 단일 가닥이고 데옥시뉴클레오타이드로 이루어져야 한다. 이 올리고뉴클레오타이드의 기본 조성은, 이중나선의 하나의 가닥에서 퓨린 또는 피리미딘의 꽤 큰

스트레치를 일반적으로 요하는, Hoogsteen 염기 쌍 지움 규칙을 통해 삼중 나선 형성을 촉진하도록 설계된다. 추가의 상세내용을 위해, 예를 들어 PCT 공보 제WO 97/33551호를 참조한다. 이 소분자는 상기 기재된 스크리닝 검정 중 임의의 하나 이상 및/또는 당해 분야의 당업자에 대해 널리 공지된 임의의 다른 스크리닝 기법에 의해 확인될 수 있다.

[0183] 길항제에 대한 스크리닝 검정은 본 명세서에서 확인된 유전자에 의해 코딩된 베타7 인테그린에 결합하거나 이와 복합체화하거나, 그렇지 않으면 코딩된 폴리펩타이드와 다른 세포 단백질의 상호작용을 방해하는 화합물을 확인하도록 설계된다. 이러한 스크리닝 검정은 화학 라이브러리의 고속 스크리닝에 수정 가능하여서, 소분자 약물 후보물질을 확인하기에 특히 적합하게 만드는 검정을 포함할 것이다.

[0184] 당해 분야에 잘 규명된 단백질-단백질 결합 검정, 생화학 스크리닝 검정, 면역검정 및 세포 기반 검정을 포함하는 다양한 포맷에서 검정을 수행할 수 있다.

[0185] B. 항-베타7 인테그린 항체

[0186] 일 실시형태에서, 베타7 인테그린 길항제는 항-베타7 항체이다. 예시적인 항체는 하기 기재된 바와 같은 다중클론, 단일클론, 인간화, 인간, 이종특이적 및 이종접합체 항체 등을 포함한다.

[0187] 1. 다중클론 항체

[0188] 다중클론 항체는 관련 항원 및 아주번트의 다중 피하(SC) 또는 복강내(IP) 주사에 의해 동물에서 키워질 수 있다. 이작용화제 또는 유도체화제, 예를 들어 말레이미도벤조일 설포숙신이미드 에스테르(시스테인 잔기를 통한 접합), N-하이드록시숙신이미드(라이신 잔기를 통한), 글루타르알데하이드, 숙신산 무수물, SOCl_2 또는 $\text{R}^1\text{N}=\text{C}=\text{NR}$ (여기서, R 및 R^1 은 상이한 알킬기임)을 사용하여, 키홀 림팻 헤모사이아닌, 혈청 알부민, 소 사이로글로불린 또는 대두 트립신 저해제와 같은, 면역화하고자 하는 종에서 면역원성인 단백질에 관련 항원을 접합하는 것이 유용할 수 있다.

[0189] 동물은 예를 들어 (각각 토끼 또는 마우스에 대해) 100 μg 또는 5 μg 의 단백질 또는 접합체를 3 용적의 프로인트 완전 아주번트와 합하고, 다수의 부위에 용액을 진피내로 주사함으로써 항원, 면역원성 접합체, 또는 유도체에 대해 면역화된다. 1개월 후, 다중 부위에서 피하 주사에 의해 프로인트 완전 아주번트 중에 펩타이드 또는 접합체의 원래 양의 1/5 내지 1/10에 의해 동물을 부스팅한다. 7일 내지 14일 후, 동물을 사혈시키고, 항체 역가에 대해 혈청을 평가한다. 역가 플래토까지 동물을 부스팅한다. 소정의 실시형태에서, 동물을 동일한 항원의 접합체(그러나, 상이한 단백질에 및/또는 상이한 가교결합 시약을 통해 접합됨)에 의해 부스팅한다. 단백질 융합으로서 재조합 세포 배양에서 접합체를 또한 만들 수 있다. 또한, 면역 반응을 증대시키기 위해 응집제, 예컨대 명반을 적절하게 사용한다.

[0190] 2. 단일클론 항체

[0191] 단일클론 항체는 문헌[Kohler *et al.*, Nature, 256:495 (1975)]에 처음에 기재된 하이브리도마 방법을 이용하여 만들어질 수 있거나, 재조합 DNA 방법에 의해 만들어질 수 있다(예를 들어, 미국 특허 제4,816,567호 참조).

[0192] 하이브리도마 방법에서, 마우스 또는 다른 적절한 숙주 동물, 예컨대 햄스터는 면역화에 사용된 단백질에 특이적으로 결합하는 항체를 생성하거나 생성할 수 있는 림프구를 유발하도록 상기 기재된 바대로 면역화된다. 대안적으로, 림프구는 시험관내 면역화될 수 있다. 면역화 후, 림프구는 단리되고 적합한 융합체, 예컨대 폴리에틸렌 글라이콜을 사용하여 골수종 세포주와 융합되어, 하이브리도마 세포를 형성한다(Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp. 59-103 (Academic Press, 1986)).

[0193] 이렇게 제조된 하이브리도마 세포는 적합한 배양 배지 중에 시딩되고 성장하고, 배지는 비융합된 모 골수종 세포(융합 파트너라 또한 칭함)의 성장 또는 생존을 저해하는 하나 이상의 물질을 함유할 수 있다. 예를 들어, 모 골수종 세포가 효소 하이포산틴 구아닌 포스포리보실 트랜스퍼라제(HGPRT 또는 HPRT)가 부족한 경우, 하이브리도마에 대한 선택적 배양 배지는 통상적으로 하이포산틴, 아미노프테린 및 티미딘(HAT 배지)(이 물질은 HGPRT 결핍 세포의 성장을 막음)을 포함할 것이다.

[0194] 소정의 실시형태에서, 융합 파트너 골수종 세포는 효과적으로 융합하고, 분비된 항체 생성 세포에 의해 항체의 안정한 높은 수준 생성을 지지하고, 비융합된 모 세포에 대해 선택된 선택적 배지에 민감한 것이다. 소정의 실시형태에서, 골수종 세포주는 쥐과 골수종 세포주, 예컨대 Salk Institute Cell Distribution Center(미국 캘리포니아주 샌디에고)사로부터 구입 가능한 MOPC-21 및 MPC-11 마우스 종양으로부터 유래한 것, 및 American

Type Culture Collection(미국 버지니아주 머내서스)사로부터 구입 가능한 SP-2 및 유도체, 예를 들어 X63-Ag8-653 세포이다. 인간 골수종 및 마우스-인간 이종골수종 세포주는 인간 단일클론 항체의 생성에 또한 기재되어 있다(Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984); 및 Brodeur *et al.*, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)).

- [0195] 하이브리도마 세포가 성장하는 배양 배지는 항원에 대해 지향된 단일클론 항체의 생성에 대해 평가된다. 소정의 실시형태에서, 하이브리도마 세포에 의해 생성된 단일클론 항체의 결합 특이성은 면역침전 또는 시험관내 결합 검정, 예컨대 방사선면역검정(RIA) 또는 효소 연결 면역흡착 검정(ELISA)에 의해 결정된다.
- [0196] 단일클론 항체의 결합 친화도는 예를 들어 문헌[Munson *et al.*, Anal. Biochem., 107:220 (1980)]에 기재된 Scatchard 분석에 의해 결정될 수 있다. 원하는 특이성, 친화도 및/또는 활성의 항체를 생성하는 하이브리도마 세포가 확인되면, 클론은 제한 희석 절차에 의해 서브클로닝되고 표준 방법에 의해 성장할 수 있다(Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp. 59-103 (Academic Press, 1986)). 이 목적을 위한 적합한 배양 배지는 예를 들어 D-MEM 또는 RPMI-1640 배지를 포함한다. 또한, 하이브리도마 세포는 예를 들어 마우스로의 세포의 i.p. 주사에 의해 동물에서 복수 종양으로서 생체내 성장할 수 있다. 서브클론에 의해 분비된 단일클론 항체는 예를 들어 친화도 크로마토그래피(예를 들어, 단백질 A 또는 단백질 G-세파로스 사용) 또는 이온 교환 크로마토그래피, 수산화인회석 크로마토그래피, 겔 전기영동, 투석 등과 같은 종래의 항체 정제 절차에 의해 배양 배지, 복수액 또는 혈청으로부터 적합하게 분리된다.
- [0197] 단일클론 항체를 코딩하는 DNA는 종래의 절차를 이용하여(예를 들어, 젓과 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 사용함으로써) 용이하게 단리되고 서열분석된다. 하이브리도마 세포는 이러한 DNA의 소스로서 작용한다. 단리되면, DNA는 발현 벡터에 위치할 수 있고, 이것은 이후 재조합 숙주 세포에서 단일클론 항체의 합성을 얻기 위해 숙주 세포, 예컨대 이. 콜라이 세포, 유인원 COS 세포, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, 또는 항체 단백질을 달리 생성하지 않는 골수종 세포로 형질감염된다. 항체를 코딩하는 DNA의 박테리아에서의 재조합 발현에 대한 검토 논문은 문헌[Skerra *et al.*, Curr. Opinion in Immunol., 5:256-262 (1993) and Pluckthun, Immunol. Revs. 130:151-188 (1992)]을 포함한다.
- [0198] 추가의 실시형태에서, 단일클론 항체 또는 항체 단편은 예를 들어 문헌[McCafferty *et al.*, Nature, 348:552-554 (1990)]에 기재된 기법을 이용하여 생성된 항체 파지 라이브러리로부터 단리될 수 있다. 문헌[Clackson *et al.*, Nature, 352:624-628 (1991) 및 Marks *et al.*, J. Mol. Biol., 222:581-597 (1991)]은 각각 파지 라이브러리를 사용한 젓과 및 인간 항체의 단리를 기재한다. 후속하는 공보는 사슬 서플링에 의한 고친화도(nM 범위) 인간 항체에 의한 고친화도(nM 범위) 인간 항체의 제조(Marks *et al.*, Bio/Technology, 10:779-783 (1992)), 및 매우 큰 파지 라이브러리를 구성하기 위한 전략으로서 조합 감염 및 생체내 재조합(Waterhouse *et al.*, Nuc. Acids. Res. 21:2265-2266 (1993))을 기재한다. 따라서, 이들 기법은 단일클론 항체의 단리를 위한 전통적인 단일클론 항체 하이브리도마 기법에 대한 실행가능 대안이다.
- [0199] 항체를 코딩하는 DNA는 예를 들어 상동성 젓과 서열에 대해 인간 중쇄 및 경쇄 불변 도메인(CH 및 CL) 서열을 치환함으로써(미국 특허 제4,816,567호; 및 Morrison, *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851 (1984)), 또는 면역글로불린 코딩 서열을 비면역글로불린 폴리펩타이드(이종성 폴리펩타이드)에 대한 코딩 서열의 전부 또는 일부와 융합함으로써 키메라 또는 융합 항체 폴리펩타이드를 생성하도록 변형될 수 있다. 비면역글로불린 폴리펩타이드 서열은 항체의 불변 도메인에 대해 치환할 수 있거나, 이것은, 항원에 대해 특이성을 가지는 항원 조합 부위 및 상이한 항원에 대해 특이성을 가지는 또 다른 항원 조합 부위를 포함하는 키메라 2가 항체를 생성하기 위해, 항체의 하나의 항원 조합 부위의 가변 도메인에 대해 치환된다.
- [0200] 예시적인 항-베타7 항체는 Fib504, Fib 21, 22, 27, 30(Tidswell, M. J Immunol. 1997 Aug 1;159(3):1497-505) 또는 이의 인간화 유도체이다. Fib504의 인간화 항체는 미국 특허 공보 제20060093601호(미국 특허 제 7,528,236호로 등록)(이의 내용은 그 전문이 참고문헌으로 포함됨)(또한 하기 토의 참조)에 자세히 개시되어 있다.
- [0201] 3. 인간 및 인간화 항체
- [0202] 본 발명의 항체 항-베타7 인테그린은 인간화 항체 또는 인간 항체를 추가로 포함할 수 있다. 비인간(예를 들어, 젓과) 항체의 인간화 형태는 키메라 면역글로불린, 면역글로불린 사슬 또는 이의 단편(예컨대, Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ 또는 항체의 다른 항원-결합 하위서열)(비인간 면역글로불린으로부터 유래한 최소 서열을 함유)이다. 인간화 항체는 수혜자의 상보성 결정 영역(CDR)으로부터의 잔기가 원하는 특이성, 친화도 및 역량을 가지는 비

인간 중(도너 항체), 예컨대 마우스, 랫트 또는 토끼의 CDR로부터의 잔기에 의해 대체된 인간 면역글로불린(수혜자 항체)을 포함한다. 몇몇 경우에, 인간 면역글로불린의 Fv 프레임워크 잔기는 상응하는 비인간 잔기에 의해 대체된다. 인간화 항체는 수혜자 항체에서도 유입된 CDR 또는 프레임워크 서열에서도 발견되지 않는 잔기를 또한 포함할 수 있다. 일반적으로, 인간화 항체는 적어도 1개, 및 통상적으로 2개의 가변 도메인의 실질적으로 모두를 포함할 것이고, 여기서 CDR 영역의 모두 또는 실질적으로 모두는 비인간 면역글로불린의 것에 상응하고, FR 영역의 모두 또는 실질적으로 모두는 인간 면역글로불린 공통 서열의 것이다. 인간화 항체는 최적으로 또한 면역글로불린 불변 영역(Fc), 통상적으로 인간 면역글로불린의 적어도 일부를 포함할 것이다[Jones *et al.*, Nature, 321:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, Nature 332:323-329 (1988); 및 Presta, Curr. Op. Struct. Biol., 2:593-596 (1992)].

[0203] 비인간 항체를 인간화하는 방법은 당해 분야에 널리 공지되어 있다. 일반적으로, 인간화 항체는 비인간인 소스로부터 이것으로 도입된 하나 이상의 아미노산 잔기를 가진다. 이 비인간 아미노산 잔기는 대개 통상적으로 "유입" 가변 도메인으로부터 취해지는 "유입" 잔기라 칭해진다. 인간화는 인간 항체의 상응하는 서열에 대해 설치류 CDR 또는 CDR 서열을 치환함으로써 Winter 및 동료의 방법에 따라 본질적으로 수행될 수 있다[Jones *et al.*, Nature, 321:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, Nature, 332:323-327 (1988); Verhoeyen *et al.*, Science, 239:1534-1536 (1988)]. 따라서, 이러한 "인간화" 항체는 키메라 항체이고(미국 특허 제4,816,567호), 여기서 온전보다 실질적으로 적은 인간 가변 도메인은 비인간 종으로부터의 상응하는 서열에 의해 치환된다. 실제로, 인간화 항체는 통상적으로 몇몇 CDR 잔기 및 가능하게는 몇몇 FR 잔기가 설치류 항체에서의 유사한 부위로부터의 잔기에 의해 치환된 인간 항체이다. 인간화 항체를 조제하는 데 사용되는 경쇄 및 중쇄 둘 다의 인간 가변 도메인의 선택은 항체가 인간 치료학적 용도에 의도될 때 항원성 및 HAMA 반응(인간 항마우스 항체)을 감소시키는 것이 매우 중요하다. 소위 "최고 일치(best-fit)" 방법에 따라, 설치류 항체의 가변 도메인의 서열은 공지된 인간 가변 도메인 서열의 전체 라이브러리에 대해 스크리닝된다. 설치류와 가장 가까운 인간 V 도메인 서열이 확인되고, 이것 내의 인간 프레임워크 영역(FR)은 인간화 항체에 인정된다(Sims *et al.*, J. Immunol. 151:2296 (1993); Chothia *et al.*, J. Mol. Biol., 196:901 (1987)). 또 다른 방법은 경쇄 또는 중쇄의 특정한 하위군의 모든 인간 항체의 공통 서열로부터 유래한 특정한 프레임워크 영역을 사용한다. 동일한 프레임워크는 여러 상이한 인간화 항체에 사용될 수 있다(Carter *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992); Presta *et al.*, J. Immunol. 151:2623 (1993)). 항체가 항원에 대한 높은 결합 친화도의 보유 및 다른 양호한 생물학적 특성에 의해 인간화되는 것이 추가로 중요하다. 이 목표를 달성하기 위해, 소정의 실시형태에 따라, 인간화 항체는 모 및 인간화 서열의 3차원 모델을 이용한 모 서열 및 다양한 개념적 인간화 생성물의 분석의 과정에 의해 제조된다. 3차원 면역글로불린 모델은 흔히 이용 가능하고, 당해 분야의 당업자에게 친숙하다. 선택된 후보물질 면역글로불린 서열의 가능성 있는 3차원 배좌 구조를 예시하고 디스플레이하는 컴퓨터 프로그램이 이용 가능하다. 이 디스플레이의 검사는 후보물질 면역글로불린 서열의 기능에서의 잔기의 가능할 것 같은 역할의 분석, 즉 항원에 결합하는 후보물질 면역글로불린의 능력에 영향을 미치는 잔기의 분석을 허용한다. 이러한 방식으로, FR 잔기는 수혜자 및 유입 서열로부터 선택되고 조합될 수 있어서, 원하는 항체 특징, 예컨대 표적 항원(들)에 대한 친화도의 증가가 달성된다. 일반적으로, 초가변 영역 잔기는 항원 결합에 영향을 미치는 데 직접적으로 및 가장 실질적으로 관여된다.

[0204] 인간화 항-베타7 인테그린 항체의 다양한 형태가 고안된다. 예를 들어, 인간화 항체는 항체 단편, 예컨대 면역 접합체를 생성하기 위해 하나 이상의 세포독성제(들)와 임의로 접합된 Fab일 수 있다. 대안적으로, 인간화 항체는 온전한 항체, 예컨대 온전한 IgG1 항체일 수 있다.

[0205] 예시적인 인간화 항-베타7 항체는 rhuMab 베타7를 포함하지만, 이것으로 제한되지는 않고, 이것은 인테그린 아단위 $\beta 7$ 에 대한 인간화 단일클론 항체이고, 랫트 항마우스/인간 단일클론 항체 FIB504로부터 유래한다(Andrew *et al.*, 1994 J Immunol 1994;153:3847-61). 이것은 인간 면역글로불린 IgG1 중쇄 및 $\kappa 1$ 경쇄 프레임워크를 포함하도록 조작되고 중국 햄스터 난소 세포에 의해 제조된다. 이 항체는, 위장관에서 림프구 부분집합의 통행 및 보유를 조절하고 염증성 장 질환(IBD), 예컨대 궤양성 결장염(UC) 및 크론병(CD)에 관여한, $\alpha 4\beta 7$ (Holzmann *et al.* 1989 Cell, 1989;56:37-46; Hu *et al.*, 1992, Proc Natl Acad Sci USA 1992;89:8254-8) 및 $\alpha E\beta 7$ (Cepek *et al.*, 1993 J Immunol 1993;150:3459-70)인, 2개의 인테그린에 결합한다. rhuMab 베타7은 $\alpha 4\beta 7$ 과 이의 리간드 사이의 세포 상호작용(점막 접착 세포 부착 분자-1[MAcAM]-1, 혈관 세포 부착 분자[VCAM]-1, 및 피브로넥틴), 및 $\alpha E\beta 7$ 과 이의 리간드(E-카드린) 사이의 상호작용의 강력한 시험관내 차단제이다. rhuMab 베타7은 토끼, 사이노노거스 원숭이 및 인간으로부터의 림프구 상의 $\beta 7$ 에, 유사한 높은 친화도로, 가역적으로 결합한다. 이것은 또한 높은 친화도로 마우스 $\beta 7$ 에 결합한다. 아미노산 서열, 및 rhuMab 베타7 및 이의 변이체를 제조하고 사용하는 것은 예를 들어 미국 특허 출원 공보 제20060093601호(미국 특허 제7,528,236호로 등록)(이

의 내용은 그 전문이 포함됨)에 자세히 개시되어 있다.

[0206] 도 1a 및 도 1b는 하기에 대한 가변 경쇄 및 중쇄의 서열의 정렬을 보여준다: 경쇄 인간 하위군 카파 I 공통 서열(도 1a, 서열 번호 12), 중쇄 인간 하위군 III 공통 서열(도 1b, 서열 번호 13), 랫트 항마우스 베타7 항체(Fib504) 가변 경쇄(도 1a, 서열 번호 10), 랫트 항마우스 베타7 항체(Fib504) 가변 중쇄(도 1b, 서열 번호 11), 및 인간화 항체 변이체: 인간화 hu504K그래프트 가변 경쇄(도 1a, 서열 번호 14), 인간화 hu504K 그래프트 가변 중쇄(도 1b, 서열 번호 15), 변이체 hu504-5, hu504-16 및 hu504-32(인간화 hu504K 그래프트로부터의 아미노산 변이는 도 1a(경쇄)에 표시되고(출현 순서에서 각각 서열 번호 22-24), 변이체 hu504-5, hu504-16 및 hu504-32(서열 번호 25)에 대한 도 1b(중쇄).

[0207] 4. 인간 항체

[0208] 인간화에 대한 대안으로서, 인간 항체가 생성될 수 있다. 예를 들어, 번역화 시, 내인성 번역글로불린 생성의 부재 하에 인간 항체의 완전 레퍼토리를 생성할 수 있는 형질전환 동물(예를 들어, 마우스)을 제조하는 것이 이제 가능하다. 예를 들어, 키메라 및 생식선 돌연변이 마우스에서의 항체 중쇄 연결 영역(J_H) 유전자의 동형접합식 결실이 내인성 항체 생성의 완전한 저해를 발생시킨다는 것이 기재되어 있다. 이러한 생식선 돌연변이체 마우스로의 인간 생식선 번역글로불린 유전자 어레이의 전달은 항원 시험감염 시 인간 항체를 생성시킬 것이다. 예를 들어, 문헌[Jakobovits *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:2551 (1993); Jakobovits *et al.*, Nature, 362:255-258 (1993); Bruggemann *et al.*, Year in Immuno. 7:33 (1993)]; 미국 특허 제5,545,806호, 제5,569,825호, 제5,591,669호(모두 GenPharm); 미국 특허 제5,545,807호; 및 WO 제97/17852호를 참조한다.

[0209] 대안적으로, 파지 디스플레이 기술(McCafferty *et al.*, Nature 348:552-553[1990])은 비면역화된 도너로부터의 번역글로불린 가변(V) 도메인 유전자 레퍼토리로부터 시험관내 인간 항체 및 항체 단편을 생성하도록 사용될 수 있다. 이 기법에 따라, 항체 V 도메인 유전자는 섬질 박테리오파지, 예컨대 M13 또는 fd의 주 또는 부 코트 단백질 유전자로 인프레임 클로닝되고, 파지 입자의 표면 상의 기능성 항체 단편으로서 발현된다. 섬질 입자가 파지 게놈의 단일 가닥 DNA 카피를 함유하므로, 항체의 기능성 특성에 기초한 선택은 이 특성을 나타내는 항체를 코딩하는 유전자의 선택을 또한 발생시킨다. 따라서, 파지는 B 세포의 특성 중 일부를 모방한다. 파지 디스플레이는 예를 들어 문헌[Johnson, Kevin S. and Chiswell, David J., Current Opinion in Structural Biology 3:564-571 (1993)]에 검토된 다양한 포맷으로 수행될 수 있다. V-유전자 분질의 몇몇 소스는 파지 디스플레이에 사용될 수 있다. Clackson *et al.*, Nature, 352:624-628(1991) 면역화된 마우스의 비장으로부터 유래한 V 유전자의 작은 랜덤 조합 라이브러리로부터의 항옥사졸론 항체의 다양한 어레이를 단리시킨다. 비면역화된 인간 도너로부터의 V 유전자의 레퍼토리가 구성될 수 있고, 항원의 다양한 어레이(자가 항원 포함)에 대한 항체는 본질적으로 문헌[Marks *et al.*, J. Mol. Biol. 222:581-597 (1991), 또는 Griffith *et al.*, EMBO J. 12:725-734 (1993)]에 의해 기재된 기법에 따라 단리될 수 있다. 또한, 미국 특허 제5,565,332호 및 제5,573,905호를 참조한다.

[0210] 상기 기재된 바대로, 인간 항체는 시험관내 활성화 B 세포에 의해 또한 생성될 수 있다(미국 특허 제5,567,610호 및 제5,229,275호 참조).

[0211] 5. 항체 단편

[0212] 소정의 상황에서, 전체 항체보다는 항체 단편을 사용하는 것의 이익이 존재한다. 더 작은 크기의 단편은 신속한 청소를 허용하고, 고형 종양에 대한 접근을 개선할 수 있다.

[0213] 항체 단편의 제조를 위한 다양한 기법이 개발되었다. 전통적으로, 이들 단편은 온전한 항체의 단백질분해성 분해를 통해 유래한다(예를 들어, 문헌[Morimoto *et al.*, Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24:107-117 (1992) 및 Brennan *et al.*, Science, 229:81 (1985)] 참조). 그러나, 이들 단편은 재조합 숙주 세포에 의해 이제 직접적으로 제조될 수 있다. 예를 들어, 항체 단편은 상기 기재된 항체 파지 라이브러리로부터 단리될 수 있다. 대안적으로, Fab'-SH 단편은 이. 콜라이로부터 직접적으로 회수되고 F(ab')₂ 단편을 형성하도록 화학적으로 커플링될 수 있다(Carter *et al.*, Bio/Technology 10:163-167 (1992)). 또 다른 접근법에 따르면, F(ab')₂ 단편은 재조합 숙주 세포 배양물로부터 직접적으로 단리될 수 있다. 항체 단편의 제조를 위한 다른 기법은 숙련 의사에게 명확할 것이다. 다른 실시형태에서, 선택의 항체는 단일 사슬 Fv 단편(scFv)이다. WO 제 93/16185호; 미국 특허 제5,571,894호; 및 US 특허 제5,587,458호를 참조한다. 항체 단편은 또한 예를 들어 미국 특허 제5,641,870호에 기재된 바와 같은 예를 들어 "선형 항체"일 수 있다. 이러한 선형 항체 단편은 단일특

이적 또는 이중특이적일 수 있다.

[0214] 6. 이중특이적 항체

[0215] 이중특이적 항체는 적어도 2개의 상이한 에피토프에 대한 결합 특이성을 가지는 항체이다. 예시적인 이중특이적 항체는 본 명세서에 기재된 바와 같은 베타7 인테그린의 2개의 상이한 에피토프에 결합할 수 있다. 다른 이러한 항체는 TAT 결합 부위를 또 다른 단백질에 대한 결합 부위와 조합할 수 있다. 대안적으로, 항-베타7 인테그린 암은, TAT 발현 세포에 대한 세포 방어 기전에 초점을 두고 국소화하도록, 백혈구 상의 촉발 분자, 예컨대 T 세포 수용체 분자(예를 들어, CD3), 또는 IgG에 대한 Fc 수용체(Fc.γ.R), 예컨대 Fc.γRI(CD64), Fc.γRII(CD32) 및 Fc.γ.RIII(CD16)에 결합하는 암과 조합될 수 있다. 이중특이적 항체는 TAT를 발현하는 세포에 세포독성제를 국소화하도록 또한 사용될 수 있다. 이 항체는 TAT-결합 암 및 세포독성제(예를 들어, 사포린, 항인테페론-α알파., 빈카 알칼로이드, 리신 A 사슬, 메토타렉세이트 또는 방사능 동위원소 합텐)에 결합하는 암을 포함한다. 이중특이적 항체는 전장 항체 또는 항체 단편(예를 들어, F(ab')₂ 이중특이적 항체)으로서 제조될 수 있다.

[0216] 이중특이적 항체를 제조하는 방법이 당해 분야에 공지되어 있다. 전장 이중특이적 항체의 전통적인 제조는 2개의 면역글로불린 중쇄-경쇄 쌍의 동시발현에 기초하고, 2개의 사슬은 상이한 특이성을 가진다(Millstein *et al.*, Nature 305:537-539 (1983)). 면역글로불린 중쇄 및 경쇄의 랜덤 모음 때문에, 이 하이브리도마(쿼드로마(quadroma))는 10개의 상이한 항체 분자의 잠재적인 혼합물을 생성하고, 이 중 오직 하나가 정확한 이중특이적 구조를 가진다. 보통 친화도 크로마토그래피 단계에 의해 수행된 정확한 분자의 정제는 다소 번거롭고, 생성물 수율은 낮다. 유사한 절차는 WO 93/08829, 및 문헌[Traunecker *et al.*, EMBO J. 10:3655-3659 (1991)]에 개시되어 있다.

[0217] 상이한 접근법에 따르면, 원하는 결합 특이성을 가지는 항체 가변 도메인(항체-항원 조합 부위)은 면역글로불린 불변 도메인 서열에 융합된다. 소정의 실시형태에서, 융합은 힌지, C_{H2}, 및 C_{H3} 영역의 적어도 일부를 포함하는 Ig 중쇄 불변 도메인에 의한 것이다. 소정의 실시형태에서, 경쇄 결합에 필요한 부위를 함유하는 제1 중쇄 불변 영역(C_{H1})은 융합의 적어도 하나에 존재한다. 면역글로불린 중쇄 융합 및, 원하는 경우, 면역글로불린 경쇄를 코딩하는 DNA는 별개의 발현 벡터로 삽입되고, 적합한 숙주 세포로 동시형질감염된다. 이것은, 구성에서 사용된 3개의 폴리펩타이드 사슬의 불균등한 비율이 원하는 이중특이적 항체의 최적 수율을 제공할 때, 실시형태에서 3개의 폴리펩타이드 단편의 상호 비율을 조정하는 데 있어서 더 큰 융통성을 제공한다. 그러나, 균등한 비율의 적어도 2개의 폴리펩타이드 사슬의 발현이 높은 수율을 발생시킬 때 또는 그 비율이 원하는 사슬 조합의 생성에 유의미한 영향을 가지지 않을 때, 단일 발현 벡터로 2개 또는 모든 3개의 폴리펩타이드 사슬에 대한 코딩 서열을 삽입할 수 있다.

[0218] 소정의 실시형태에서, 이중특이적 항체는 일 암에서 제1 결합 특이성을 가지는 하이브리드 면역글로불린 중쇄, 및 다른 암에서 하이브리드 면역글로불린 중쇄-경쇄 쌍(제2 결합 특이성 제공)으로 이루어진다. 이중특이적 분자의 오직 절반에서의 면역글로불린 경쇄의 존재가 손쉬운 분리 방식을 제공하므로, 이 비대칭 구조가 원치 않는 면역글로불린 사슬 조합으로부터 원하는 이중특이적 화합물의 분리가 수월하게 한다는 것이 밝혀졌다. 이 접근법은 WO 94/04690에 개시되어 있다. 이중특이적 항체의 생성의 추가의 상세내용을 위해, 예를 들어 문헌[Suresh *et al.*, Methods in Enzymology 121:210 (1986)]을 참조한다.

[0219] 미국 특허 제5,731,168호에 기재된 다른 접근법에 따르면, 한 쌍의 항체 분자 사이의 계면은 재조합 세포 배양으로부터 회수된 이중이합체의 백분율을 최대화하도록 조작될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 계면은 C_{H3} 도메인의 적어도 일부를 포함한다. 이 방법에서, 제1 항체 분자의 계면으로부터의 하나 이상의 작은 아미노산 측쇄는 더 큰 측쇄(예를 들어, 타이로신 또는 트립토판)에 의해 대체된다. 큰 측쇄(들)에 대한 동일한 또는 유사한 크기의 보상성 "캐비티"는 큰 아미노산 측쇄를 작은 것(예를 들어, 알라닌 또는 트레오닌)에 의해 대체함으로써 제2 항체 분자의 계면에서 생성된다. 이것은 다른 원치 않는 최종 생성물, 예컨대 동중이합체에 비해 이중이합체의 수율을 증가시키기 위한 기전을 제공한다.

[0220] 이중특이적 항체는 가교결합된 또는 "이중접합체" 항체를 포함한다. 예를 들어, 이중접합체 내의 항체 중 하나는 아비딘에 커플링되고, 다른 것은 바이오틴에 커플링될 수 있다. 이러한 항체는 예를 들어 원치 않는 세포에 대한 면역계 세포를 표적화하도록(미국 특허 제4,676,980호), 및 HIV 감염의 치료에 대해(WO 제91/00360호, WO 제92/200373호 및 EP 제03089호) 제안되었다. 이중접합체 항체는 임의의 편리한 가교결합 방법을 이용하여 제조될 수 있다. 적합한 가교결합제는 당해 분야에 널리 공지되어 있고, 다수의 가교결합 기법과 함께 미국 특허 제

4,676,980호에 개시되어 있다.

[0221] 항체 단편으로부터 이중특이적 항체를 생성하는 기법이 또한 문헌에 기재되어 있다. 예를 들어, 이중특이적 항체는 화학 연결을 이용하여 제조될 수 있다. 문헌[Brennan *et al.*, Science 229:81 (1985)]은 온전한 항체가 F(ab')₂ 단편을 생성하도록 단백질분해로 절단되는 절차를 기재한다. 이 단편은 인근 다이티올을 안정화시키고 분자간 다이설파이드 형성을 막도록 다이티올 복합체화제, 나트륨 아르세나이트의 존재 하에 환원된다. 생성된 Fab' 단편은 이후 티오나이트로벤조에이트(TNB) 유도체로 전환된다: Fab'-TNB 유도체 중 하나는 이후 머캅토에틸아민에 의한 환원에 의해 Fab'-티올로 재전환되고, 등몰량의 다른 Fab'-TNB 유도체와 혼합되어 이중특이적 항체를 형성한다. 생성된 이중특이적 항체는 효소의 선택적 부동화를 위한 물질로서 사용될 수 있다.

[0222] 최근의 진행은 이중특이적 항체를 형성하기 위해 화학적으로 커플링될 수 있는, 이. 콜라이로부터의 Fab'-SH 단편의 직접 회수를 수월하게 한다. 문헌[Shalaby *et al.*, J. Exp. Med. 175: 217-225 (1992)]은 완전 인간화 이중특이적 항체 F(ab')₂ 분자의 제조를 기재한다. 각각의 Fab' 단편은 이. 콜라이로부터 별개로 분비되고, 시험관내 지향된 화학 커플링으로 처리되어 이중특이적 항체를 형성한다. 이렇게 형성된 이중특이적 항체는 ErbB2 수용체를 과발현하는 세포 및 정상 인간 T 세포에 결합할뿐만 아니라 인간 유방 종양 표적에 대한 인간 세포독성 림프구의 용해 활성을 촉발할 수 있다. 재조합 세포 배양물로부터 직접적으로 이중특이적 항체 단편을 제조하고 단리시키기 위한 다양한 기법이 또한 기재되어 있다. 예를 들어, 이중특이적 항체는 류신 지퍼를 사용하여 제조된다. Kostelny *et al.*, J. Immunol. 148(5):1547-1553 (1992). Fos 및 Jun 단백질로부터의 류신 지퍼 펩타이드는 유전자 융합에 의해 2개의 상이한 항체의 Fab' 부분에 연결된다. 항체 동종이합체는 현지 영역에서 환원되어 단량체를 형성하고, 이후 재산화되어 항체 이종이합체를 형성한다. 이 방법은 항체 동종이합체의 제조에 또한 사용될 수 있다. Hollinger 등에 의해 기재된 "다이아바디 기술[Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993)]은 이중특이적 항체 단편을 제조하기 위한 대안적인 기전을 제공한다. 단편은 동일한 사슬 상의 2개의 도메인 사이의 쌍 짓기를 허용하기에 너무 짧은 링커에 의해 V_L에 연결된 V_H를 포함한다. 따라서, 하나의 단편의 V_H 및 V_L 도메인은 또 다른 단편의 상보성 V_L 및 V_H 도메인과 쌍 짓도록 강요되어서, 2개의 항원-결합 부위를 형성한다. 단쇄 Fv(sFv) 이합체의 사용에 의해 이중특이적 항체 단편을 제조하기 위한 또 다른 전략이 또한 기록되었다. 문헌[Gruber *et al.*, J. Immunol., 152:5368 (1994)]을 참조한다.

[0223] 2 이상의 원자가를 가지는 항체가 고안된다. 예를 들어, 3중특이적 항체가 제조될 수 있다. Tutt *et al.*, J. Immunol. 147:60 (1991).

[0224] 7. 이중접합체 항체

[0225] 이중접합체 항체는 또한 본 발명의 범위 내에 있다. 이중접합체 항체는 2개의 공유 연결된 항체로 이루어진다. 이러한 항체는 예를 들어 원치 않는 세포로 면역계 세포를 표적화하도록[미국 특허 제4,676,980호], 및 HIV 감염의 치료에 대해[WO 제91/00360호; WO 제92/200373호; EP 제03089호]에 제안되었다. 항체가 가교결합체를 수반하는 것을 포함하는 합성 단백질 화학에서 공지된 방법을 이용하여 시험관내 제조될 수 있다는 것이 고려된다. 예를 들어, 면역독소는 다이설파이드 교환 반응을 사용하여 또는 티오에테르 결합을 형성함으로써 구축될 수 있다. 이 목적에 적합한 시약의 예는 이미노티올레이트 및 메틸-4-머캅토부티르이미테이트 및 예를 들어 미국 특허 제4,676,980호에 개시된 것을 포함한다.

[0226] 8. 다가 항체

[0227] 다가 항체는 항체가 결합하는 항원을 발현하는 세포에 의해 2가 항체보다 빨리 내재화(및/또는 이화작용)될 수 있다. 본 발명의 항체는, 항체의 폴리펩타이드 사슬을 코딩하는 핵산의 재조합 발현에 의해 용이하게 제조될 수 있는, 3개 이상의 항원 결합 부위(예를 들어, 4가 항체)를 가지는 (IgM 종류 이외인) 다가 항체일 수 있다. 다가 항체는 이합체화 도메인 및 3개 이상의 항원 결합 부위를 포함할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 이합체화 도메인은 Fc 영역 또는 현지 영역을 포함한다(또는 이들로 이루어진다). 이 시나리오에서, 항체는 Fc 영역 및 Fc 영역에 대한 3개 이상의 항원 결합 부위 아미노 말단을 포함할 것이다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서 다가 항체는 3개 내지 약 8개, 그러나 통상적으로 4개의 항원 결합 부위를 포함한다(또는 이들로 이루어진다). 다가 항체는 적어도 1개의 폴리펩타이드 사슬(및 통상적으로 2개의 폴리펩타이드 사슬)을 포함하고, 폴리펩타이드 사슬(들)은 2개 이상의 가변 도메인을 포함한다. 예를 들어, 폴리펩타이드 사슬(들)은 VD1-(X1).sub.n-VD2-(X2).sub.n-Fc를 포함할 수 있고, 여기서 VD1은 제1 가변 도메인이고, VD2는 제2 가변 도메인이고, Fc는 Fc 영역의 1개의 폴리펩타이드 사슬이고, X1 및 X2는 아미노산 또는 폴리펩타이드를 나타내고, n은 0 또는 1이다. 예를 들어, 폴리펩타이드 사슬(들)은 VH-CH1-가요성 링커-VH-CH1-Fc 영역 사슬; 또는 VH-CH1-VH-CH1-Fc 영역 사

슬을 포함할 수 있다. 본 명세서에서 다가 항체는 적어도 2개(및 통상적으로 4개)의 경쇄 가변 도메인 폴리펩타이드를 추가로 포함할 수 있다. 본 명세서에서 다가 항체는 예를 들어 약 2개 내지 약 8개의 경쇄 가변 도메인 폴리펩타이드를 포함할 수 있다. 본 명세서에서 고려되는 경쇄 가변 도메인 폴리펩타이드는 경쇄 가변 도메인을 포함하고, 임의로, CL 도메인을 추가로 포함한다.

[0228] 9. 이펙터 기능 조작

[0229] 예를 들어, 항체의 항원 의존적 세포 매개 세포독성(ADCC) 및/또는 보체 의존적 세포독성(CDC)을 증대시키도록, 이펙터 기능과 관련하여 본 발명의 항체를 변형시키는 것이 바람직할 수 있다. 이것은 항체의 Fc 영역에서 하나 이상의 아미노산 치환을 도입함으로써 달성될 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 시스테인 잔기(들)는 Fc 영역에서 도입될 수 있어서, 이 영역에서 사슬간 다이설파이드 결합 형성을 허용한다. 이렇게 생성된 동종이합체 항체는 개선된 내재화 역량 및/또는 증가한 보체 매개 세포 사멸 및 항체 의존적 세포 세포독성(ADCC)을 가질 수 있다. 문헌[Caron *et al.*, *J. Exp Med.* 176:1191-1195 (1992) 및 Shopes, B. J. *Immunol.* 148:2918-2922 (1992)]을 참조한다. 증대된 항종양 활성을 가지는 동종이합체 항체는 문헌[Wolff *et al.*, *Cancer Research* 53:2560-2565 (1993)]에 기재된 바대로 이중작용성 가교결합제를 사용하여 또한 제조될 수 있다. 대안적으로, 이중 Fc 영역을 가지는 항체가 조작될 수 있고, 이로써 증대된 보체 용해 및 ADCC 역량을 가질 수 있다. 문헌[Stevenson *et al.*, *Anti-Cancer Drug Design* 3:219-230 (1989)]을 참조한다. 항체의 혈청 반감기를 증가시키기 위해, 예를 들어 미국 특허 제5,739,277호에 기재된 바대로 구조 수용체 결합 에피토프를 항체(특히 항체 단편)로 혼입할 수 있다. 본 명세서에 사용된 바대로, 용어 "구조 수용체 결합 에피토프"는 IgG 분자의 생체내 혈청 반감기의 증가를 담당하는 IgG 분자(예를 들어, IgG₁, IgG₂, IgG₃, 또는 IgG₄)의 Fc 영역의 에피토프를 의미한다.

[0230] 10. 면역접합체

[0231] 본 명세서에서의 방법에 사용된 길항제 또는 항체는 또 다른 물질, 예컨대 세포독성제 또는 사이토카인에 임의로 접합된다.

[0232] 접합은 보통 공유 연결을 통해 달성될 것이고, 이의 정확한 성질은 인테그린 베타7 길항제 또는 항체 폴리펩타이드 상의 연결 부위 및 표적화 분자에 의해 결정될 것이다. 통상적으로, 비펩타이드 물질은, 아미노산 측쇄, 탄수화물 사슬, 또는 화학 변형에 의해 항체 상에 도입된 반응성 기를 통해 항-베타7 인테그린 항체에 대한 접합을 허용하는, 링커의 첨가에 의해 변형된다. 예를 들어, 약물은 라이신 잔기의 ε-아미노기를 통해, 유리 α-아미노기를 통해, 시스테인 잔기에 대한 다이설파이드 교환에 의해, 또는 과요오드산에 의한 탄수화물 사슬 내의 1,2-다이올의 산화(슈트(Schiff) 염기 연결을 통해 다양한 친핵체를 함유하는 약물의 부착을 허용함)에 의해 부착될 수 있다. 예를 들어 미국 특허 제4,256,833호를 참조한다. 단백질 변형제는 아민 반응성 시약(예를 들어, 반응성 에스테르, 아이소티오시아나이드, 알데하이드 및 설포닐 할라이드), 티올 반응성 시약(예를 들어, 할로아세틸 유도체 및 말레이미드), 및 카복실산 및 알데하이드 반응성 시약을 포함한다. 인테그린 베타7 길항제 또는 항체 폴리펩타이드는 이작용성 가교결합 시약의 사용을 통해 펩타이드 물질에 공유로 연결될 수 있다. 이중작용성 시약은 더 흔히 사용되고, 2개의 상이한 반응성 모이어티(예를 들어, 아민 반응성 플러스 티올, 요오도아세틸아마이드 또는 말레이미드)의 사용을 통해 2개의 상이한 단백질의 제어 커플링을 허용한다. 이러한 연결 물질의 사용은 당해 분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들어 상기 Brinkley 문헌 및 미국 특허 제4,671,958호를 참조한다. 펩타이드 링커가 또한 사용될 수 있다. 대안에서, 항-베타7 인테그린 항체 폴리펩타이드는 융합 폴리펩타이드의 제조를 통해 펩타이드 모이어티에 연결될 수 있다.

[0233] 추가의 이작용성 단백질 커플링제의 예는 N-숙신이미딜-3-(2-피리딜다이티올) 프로피오네이트(SPDP), 숙신이미딜-4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트, 이미노티올란(IT), 이미도에스테르의 이작용성 유도체(예컨대, 디메틸 아디피미데이트 HCL), 활성 에스테르(예컨대, 다이숙신이미딜 수베레이트), 알데하이드(예컨대, 글루타르알데하이드), 비스-아지도 화합물(예컨대, 비스(p-아지도벤조일) 헥사다이아민), 비스-다이아조늄 유도체(예컨대, 비스-(p-다이아조늄벤조일)-에틸렌다이아민), 다이아이소사이아나이드(예컨대, 툴리엔 2,6-다이아이소사이아나이드), 및 비스-활성 불소 화합물(예컨대, 1,5-다이플루오로-2,4-다이아이트로벤젠)을 포함한다.

[0234] 11. 면역리포솜

[0235] 본 명세서에 개시된 항-베타7 인테그린 항체는 면역리포솜으로서 또한 제제화될 수 있다. "리포솜"은 지질, 인지질 및/또는 포유류에 대한 약물의 전달에 유용한 계면활성제의 다양한 유형으로 이루어진 작은 수소포이다.

리포솜의 성분은, 생물학적 막의 지질 배열과 유사한, 이중층 형성에서 흔히 배열된다. 항체를 함유하는 리포솜은 예컨대 문헌[Epstein *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:3688 (1985); Hwang *et al.*, Proc. Natl Acad. Sci. USA 77:4030 (1980)]; 미국 특허 제4,485,045호 및 제4,544,545호; 및 W097/38731(1997년 10월 23일 공개)에 기재된 당해 분야에 공지된 방법에 의해 제조된다. 증대된 순환 시간을 가지는 리포솜은 미국 특허 제5,013,556호에 개시되어 있다.

- [0236] 특히 유용한 리포솜은 포스파티딜콜린, 콜레스테롤 및 PEG 유도체화 포스파티딜에탄올아민(PEG-PE)을 포함하는 지질 조성물에 의해 역상 증발 방법에 의해 생성될 수 있다. 리포솜은 원하는 직경을 가지는 리포솜을 생성하도록 한정된 기공 크기의 필터를 통해 압출된다.
- [0237] 본 발명의 항체의 Fab' 단편은 다이설파이드 교환 반응을 통해 문헌[Martin *et al.*, J. Biol. Chem. 257:286-288 (1982)]에 기재된 바대로 리포솜에 접합될 수 있다. 화학치료제는 리포솜 내에 임의로 함유된다. 문헌[Gabizon *et al.*, J. National Cancer Inst. 81(19):1484 (1989)]을 참조한다.
- [0238] 12. **백터, 숙주 세포 및 항체 제조를 위한 제조합 방법**
- [0239] 본 명세서에 기재된 항-베타7 항체 또는 폴리펩타이드 물질을 코딩하는 단리된 핵산, 핵산을 포함하는 백터 및 숙주 세포 및 항체의 제조를 위한 제조합 기법이 또한 제공된다.
- [0240] 항체의 제조합 제조를 위해, 이를 코딩하는 핵산은 단리되고 추가의 클로닝(DNA의 증폭) 또는 발현을 위해 복제 가능한 백터로 삽입될 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 항체는 예를 들어 미국 특허 제5,204,244호(본 명세서에 참고문헌으로 구체적으로 포함됨)에 기재된 바대로 상동성 제조합에 의해 제조될 수 있다. 단일클론 항체를 코딩하는 DNA는 종래의 절차를 이용하여(예를 들어, 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 사용함으로써) 용이하게 단리되고 서열분석된다. 많은 백터가 이용 가능하다. 백터 성분은 일반적으로 하기 중 하나 이상을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다: 예를 들어 미국 특허 제5,534,615호(1996년 7월 9일 등록, 본 명세서에 참고문헌으로 구체적으로 포함됨)에 기재된 바대로, 신호 서열, 복제 기원, 하나 이상의 마커 유전자, 인핸서 구성요소, 프로모터, 및 전사 종결 서열.
- [0241] 본 명세서에서 백터 중에 DNA를 클로닝하고 발현하기에 적합한 숙주 세포는 원핵생물, 효모 또는 상기 기재된 고등 진핵생물 세포이다. 이 목적에 적합한 원핵생물은 유박테리아, 예컨대 그람 음성 또는 그람 양성 유기체, 예를 들어 엔테로박테리아세아에, 예컨대 에스체리치아, 예를 들어 이. 콜라이, 엔테로박터, 에르비니아, 클레브시엘라, 프로테우스, 살모넬라, 예를 들어 살모넬라 티피무리움, 세라티아, 예를 들어 세라티아 마르세스칸스 및 쉬겔라, 및 바실리, 예컨대 비. 서브틸리스 및 비. 리헤니포르미스(예를 들어, DD 266,710(1989년 4월 12일 공개)에 개시된 비. 리헤니포르미스 41P), 슈도모나스, 예컨대 피. 아에루기노사 및 스트렙토마이세스를 포함한다. 하나의 이. 콜라이 클로닝 숙주는 이. 콜라이 294(ATCC 31,446)이지만, 다른 균주, 예컨대 이. 콜라이 B, 이. 콜라이 X1776(ATCC 31,537) 및 이. 콜라이 W3110(ATCC 27,325)이 적합하다. 이 예는 제한이기보다는 예시적이다.
- [0242] 원핵생물 이외에, 진핵생물 미생물, 예컨대 섬질 균류 또는 효모가 항-베타7 인테그린 항체 코딩 백터에 대한 적합한 클로닝 또는 발현 숙주이다. 사카로마이세스 세레비시아에, 또는 흔한 베이커 효모는 저등 진핵생물 숙주 미생물 중에서 가장 흔히 사용된다. 그러나, 다수의 다른 속, 종, 및 균주, 예컨대 스킨조사카로마이세스 폼베(Schizosaccharomyces pombe); 클루이베로마이세스(Kluyveromyces) 숙주, 예를 들어 케이. 락티스(K. lactis), 케이. 프라질리스(K. fragilis)(ATCC 12,424), 케이. 불가리쿠스(K. bulgaricus)(ATCC 16,045), 케이. 비케라미(K. wickeramii)(ATCC 24,178), 케이. 발티(K. waltii)(ATCC 56,500), 케이. 드로스필라룸(K. drosophilum)(ATCC 36,906), 케이. 쉐르모톨레란스(K. thermotolerans) 및 케이. 마르시아누스(K. marxianus); 야로위아(yarrowia)(EP 402,226); 피치아 파스토리스(Pichia pastoris)(EP 183,070); 칸디다(Candida); 트리초데르마 레시아(Trichoderma reesia)(EP 244,234); 뉴로스포라 크라사(Neurospora crassa); 쉬반니오마이세스(Schwanniomyces), 예컨대 쉬반니오마이세스 오시덴탈리스(Schwanniomyces occidentalis); 및 섬질 균류, 예를 들어 뉴로스포라(Neurospora), 페니실륨(Penicillium), 톨리포클라디움(Tolypocladium) 및 아스퍼질러스(Aspergillus) 숙주, 예컨대 에이. 니들란스(A. nidulans) 및 에이. 니게르(A. niger)가 본 명세서에서 흔히 이용 가능하고 유용하다.
- [0243] 글라이코실화 항-베타7 항체의 발현에 적합한 숙주 세포는 다세포 유기체로부터 유래한다. 무척추동물 세포의 예는 식물 및 곤충 세포를 포함한다. 숙주로부터의 수많은 바칼로바이러스 균주 및 변이체 및 상응하는 허용가능 곤충 숙주 세포, 예컨대 스포돔테라 프루기페르다(Spodoptera frugiperda)(애벌레), 아에데스 아에깃티

(*Aedes aegypti*)(모기), 아에데스 알보픽투스(*Aedes albopictus*)(모기), 드로스필라 멜라노가스터(*Drosophila melanogaster*)(초파리) 및 bombyx 모리(*Bombyx mori*)가 확인되었다. 형질감염에 대한 다양한 바이러스 균주, 예를 들어 bombyx 모리의 아우토그라파 칼리포르니카 NPV 및 Bm-5 균주의 L-1 변이체가 공중에서 이용 가능하고, 이러한 바이러스는, 특히 스포도테라 프루기페르다 세포의 형질감염에, 본 발명에 따라 본 명세서에서 바이러스로서 사용될 수 있다. 면, 옥수수, 감자, 대두, 피튜니아, 토마토 및 담배의 식물 세포 배양물이 숙주로서 또한 사용될 수 있다.

[0244] 그러나, 척추동물 세포에 더 큰 관심이 있고, 배양(조직 배양)에서의 척추동물 세포의 전파는 일상 절차가 된다. 유용한 포유류 숙주 세포주의 예는 SV40에 의해 형질감염된 원숭이 신장 CV1 세포주(COS-7, ATCC CRL 1651); 인간 배아 신장 세포주(현탁 배양에서 성장을 위해 서브클로닝된 293 또는 293 세포, Graham *et al.*, J. Gen Virol. 36:59 (1977)); 베이비 햄스터 신장 세포(BHK, ATCC CCL 10); 중국 햄스터 난소 세포/-DHFR(CHO, Urlaub *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)); 마우스 세르톨리 세포(TM4, Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)); 원숭이 신장 세포(CV1 ATCC CCL 70); 아프리카 그린 원숭이 신장 세포(VERO-76, ATCC CRL-1587); 인간 자궁경부 암종 세포(HELA, ATCC CCL 2); 개과 신장 세포(MDCK, ATCC CCL 34); 버팔로 랫트 간 세포(BRL 3A, ATCC CRL 1442); 인간 폐 세포(W138, ATCC CCL 75); 인간 간 세포(Hep G2, HB 8065); 마우스 유방 종양(MMT 060562, ATCC CCL51); TRI 세포(Mather *et al.*, Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982)); MRC 5 세포; FS4 세포; 및 인간 간세포암주(Hep G2)이다.

[0245] 숙주 세포는 항-베타7 인테그린 항체 제조를 위해 상기 기재된 발현 또는 클로닝 벡터에 의해 형질전환되고, 프로모터를 유도하거나, 형질전환체를 선택하거나, 원하는 서열을 코딩하는 유전자를 증폭시키기 위해 적절한 배대로 변형된 종래의 영양소 배지 중에 배양된다.

[0246] 본 발명의 항-베타7 인테그린 항체를 제조하기 위해 사용된 숙주 세포는 다양한 배지 중에 배양될 수 있다. 상업적으로 구입 가능한 배지, 예컨대 햄(Ham) F10(시그마(Sigma)), 최소 필수 배지(MEM), (시그마), RPMI-1640(시그마), 및 둘베코 변형 이글 배지(DMEM), 시그마)는 숙주 세포를 배양하기에 적합하다. 또한, 문헌[Ham *et al.*, Meth. Enz. 58:44 (1979), Barnes *et al.*, Anal. Biochem. 102:255 (1980)], 미국 특허 제4,767,704호; 제4,657,866호; 제4,927,762호; 제4,560,655호; 또는 제5,122,469호; WO 제90/03430호; WO 제87/00195호; 또는 미국 특허 제30,985호에 기재된 임의의 배지는 숙주 세포에 대한 배양 배지로서 사용될 수 있다. 임의의 이들 배지는 호르몬 및/또는 다른 성장 인자(예컨대, 인슐린, 트랜스페린 또는 표피 성장 인자), 염(예컨대, 염화나트륨, 칼슘, 마그네슘 및 포스페이트), 완충제(예컨대, HEPES), 뉴클레오타이드(예컨대, 아데노신 및 티미딘), 항생제(예컨대, GENTAMYCIN(상표명) 약물), 미량 원소(마이크로물 범위로 최종 농도로 보통 존재하는 무기 화합물로서 정의됨), 및 글루코스 또는 균등한 에너지원에 의해 필요한 배대로 보충될 수 있다. 임의의 다른 필요한 보충제는 당해 분야의 당업자에게 공지된 적절한 농도로 또한 포함될 수 있다. 배양 조건, 예컨대 온도, pH 등은 발현에 선택된 숙주 세포와 이전에 사용된 것이고, 보통의 당업자에게 명확할 것이다.

[0247] 제조법 기법을 이용할 때, 항체는 주변세포질 공간에서 세포내 제조되거나 배지로부터 직접적으로 분비될 수 있다. 항체가 세포내 제조되는 경우, 제1 단계로서, 숙주 세포 또는 용리된 단편의, 미립자 조각이 예를 들어 원심분리 또는 한외여과에 의해 제거된다. 문헌[Carter *et al.*, Bio/Technology 10:163-167 (1992)]은 이. 콜라이의 주변세포질 공간으로 분비된 항체를 단리시키기 위한 절차를 기재한다. 간단히 말하면, 세포 페이스트는 약 30분에 걸쳐 아세트산나트륨(pH 3.5), EDTA 및 페닐메틸설포닐플루오라이드(PMSF)의 존재 하에 해동된다. 세포 조각은 원심분리에 의해 제거될 수 있다. 항체가 배지로 분비될 때, 이러한 발현 시스템으로부터의 상청액은 일반적으로 상업적으로 구입 가능한 단백질 농도 필터, 예를 들어 아미콘(Amicon) 또는 밀리포어 펠리콘(Millipore Pellicon) 한외여과 유닛을 사용하여 처음에 노출된다. 프로테아제 저해제, 예컨대 PMSF는 단백분해를 저해하기 위해 임의의 이전 단계에 포함될 수 있고, 항생제는 우연한 오염물질의 성장을 방지하도록 포함될 수 있다.

[0248] 세포로부터 제조된 항체 조성물은 예를 들어 수산화인회석 크로마토그래피, 겔 전기영동, 투석 및 친화도 크로마토그래피를 사용하여 정제될 수 있고, 친화도 크로마토그래피는 통상적인 정제 기법이다. 친화도 리간드로서 단백질 A의 적합성은 항체에 존재하는 임의의 면역글로불린 Fc 도메인의 중 및 아이소타입에 따라 달라진다. 단백질 A는 인간 $\gamma 1$, $\gamma 2$ 또는 $\gamma 4$ 중쇄에 기초한 항체를 정제하기 위해 사용될 수 있다 (Lindmark *et al.*, J. Immunol. Meth. 62:1-13 (1983)). 단백질 G는 모든 마우스 아이소타입 및 인간 $\gamma 3$ 에 추천된다(Guss *et al.*, EMBO J. 5:15671575 (1986)). 친화도 리간드가 부착된 매트릭스는 가장 대개 아가로스이지만, 다른 매트릭스가 이용 가능하다. 기계적으로 안정한 매트릭스, 예컨대 제어 기공 유리 또는 폴리(스타이렌다이비닐)벤젠은

아가로스에 의해 성취될 수 있는 것보다 더 빠른 유속 및 더 짧은 가공 시간을 허용한다. 항체가 C₄₃ 도메인을 포함하는 경우, Bakerbond ABX(상표명) 수지(J. T. Baker(뉴저지주 필립스버그))가 정제에 유용하다. 단백질 정제를 위한 다른 기법, 예컨대 이온 교환 칼럼 상의 분별화, 에탄올 침전, 역상 HPLC, 실리카 상의 크로마토그래피, 헤파린 세파로스(상표명) 상의 크로마토그래피, 음이온 또는 양이온 교환 수지 상의 크로마토그래피(예컨대, 폴리아스파르트산 칼럼), 크로마토 초점 맞춤, SDS-PAGE 및 황산암모늄 침전은 회수되는 항체에 따라 또한 이용 가능하다. 임의의 예비 정제 단계(들) 후, 관심 있는 항체 및 오염물질을 포함하는 혼합물은, 낮은 염 농도(예를 들어, 약 0-0.25M 염)에서 통상적으로 수행되는, 약 2.5-4.5의 pH에서 용리 완충제를 사용하여 낮은 pH 소수성 상호작용 크로마토그래피로 처리될 수 있다.

[0249] C. 약제학적 제제

[0250] 본 발명의 치료제, 길항제 또는 항체를 포함하는 치료학적 제제는 원하는 순도 수준을 가지는 항체를 임의의 생리학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 안정화제와 혼합함으로써 수용액, 동결건조된 또는 다른 건조된 제제의 형태로 저장에 대해 준비된다(Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)). 허용 가능한 담체, 부형제 또는 안정화제는 사용된 투약량 및 농도에서 수혜자에게 비독성이고, 완충제, 예컨대 포스페이트, 시트레이트, 히스티딘 및 다른 유기 산; 항산화제, 예컨대 아스코르브산 및 메티오닌; 보존제(예컨대, 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 뷰틸 또는 벤질 알콜; 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레소르시놀; 사이클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레솔); 저분자량(약 10개 미만의 잔기) 폴리펩타이드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글라이신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌, 또는 라이신; 모노사카라이드, 다이사카라이드, 및 다른 탄수화물, 예컨대 글루코스, 만노스 또는 텍스트린; 킬레이트화제, 예컨대 EDTA; 당, 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염 형성 반대이온, 예컨대 나트륨; 금속 착체(예를 들어, Zn-단백질 착체); 및/또는 비이온성 계면활성제, 예컨대 TWEEN(상표명), PLURONICS(상표명) 또는 폴리에틸렌 글라이콜(PEG)을 포함한다.

[0251] 본 명세서에서 제제는 치료되는 특정한 적응증에 필요한 바대로 하나 초과와 활성 화합물, 통상적으로 서로 부정적으로 영향을 미치지 않는 상보성 활성을 가지는 것을 또한 함유할 수 있다. 이러한 분자는 의도되는 목적에 효과적인 양으로 조합되어 적합하게 존재한다.

[0252] 활성 성분은 예를 들어 코아세르베이션 기법에 의해 또는 계면 중합에 의해 제조된 마이크로캡슐, 예를 들어 콜로이드성 약물 전달 시스템(예를 들어, 리포솜, 알부민 마이크로구, 마이크로에멀션, 나노입자 및 나노캡슐) 또는 마크로에멀션 중의 각각 하이드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타실레이트) 마이크로캡슐 중에 또한 포획될 수 있다. 이러한 기법은 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)]에 개시되어 있다.

[0253] 생체내 투여에 사용되는 제제는 무균이어야 한다. 이것은 무균 여과 막을 통해 여과에 의해 신속히 달성된다.

[0254] 지속 방출 제제가 제조될 수 있다. 지속 방출 제제의 적합한 예는 본 발명의 면역글로불린을 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스를 포함하고, 매트릭스는 성형 물품, 예를 들어 필름 또는 마이크로캡슐의 형태이다. 지속 방출 매트릭스의 예는 폴리에스테르, 하이드로겔(예를 들어, 폴리(2-하이드록시에틸-메타크릴레이트), 또는 폴리(비닐알콜)), 폴리락타이드(미국 특허 제3,773,919호), L-글루탐산 및 .감마. 에틸-L-글루타메이트의 공중합체, 비분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 락트산-글라이콜산 공중합체, 예컨대 LUPRON DEPOT(상표명)(락트산-글라이콜산 공중합체 및 류프롤라이드 아세테이트로 이루어진 주사용 마이크로구), 및 폴리-D-(-)-3-하이드록시뷰티르산을 포함한다. 중합체, 예컨대 에틸렌-비닐 아세테이트 및 락트산-글라이콜산이 100일 초과 동안 분자의 방출이 가능하게 하지만, 소정의 하이드로겔은 더 짧은 시간 기간 동안 단백질을 방출한다. 캡슐화된 면역글로불린이 장시간 신체에 잔류할 때, 이것은 37°C에서 수분에 대한 노출의 결과로서 변성되거나 응집할 수 있어서, 생물학적 활성의 소실 및 면역원성의 가능한 변화를 발생시킨다. 관여한 기전에 따라 안정화를 위해 합리적인 전략이 고안될 수 있다. 예를 들어, 응집 기전이 티오-다이설파이드 상호변화를 통해 분자 간 S-S 결합 형성인 것으로 발견된 경우, 설프하이드릴 잔기를 변형시키고, 산성 용액으로부터 동결건조시키고, 수분 함량을 제어하고, 적절한 첨가제를 사용하고, 특정한 중합체 매트릭스 조성물을 개발함으로써 안정화가 달성될 수 있다.

[0255] D. 투여

[0256] 치료제를 투여하는 의사는 라벨에 있는 지시에 따라 개별 대상체에 대한 적절한 용량을 결정할 수 있을 것이다.

인테그린 베타7 길항제와 조합되어 또는 수반되어 투여되는 상업적으로 구입 가능한 제2 치료제 및 다른 화합물에 대한 제조 및 투약 스케줄은 제조사의 지시에 따라 사용되거나, 숙련 의사에 의해 경험적으로 결정될 수 있다.

- [0257] 소정의 실시형태에서, 인테그린 베타7 길항제는 4주마다 또는 0주, 2주 및 4주에 1회, 이어서 1개월(4주), 또는 2개월, 3개월, 또는 6개월, 또는 12개월, 또는 18개월, 또는 24개월의 기간 동안, 또는 환자의 평생 동안 만성으로 4주마다 1회 투여된다. 소정의 실시형태에서, 치료제는 환자에 의해 자가투여된다. 소정의 실시형태에서, 환자는 프리필드 주사기를 함유하는 자가주사 장치를 사용하여 자가투여한다.
- [0258] 소정의 실시형태에서, 항-베타7 항체의 고른 용량은 환자에게 투여된다. 고른 용량은 체중과 무관하게 모든 환자에게 투여되는 항-베타7 항체의 특정한 양이다. 질환의 유형 및 중증도에 따라, 하나 이상의 별개의 주사 또는 점적주사 또는 투여일 수 있는, 항-베타7 항체의 약 50mg 및 450mg의 고른 용량이 환자에게 투여된다. 이러한 고른 용량은 피하로 투여될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 고른 용량은 약 100mg 또는 약 200mg 또는 약 300mg 또는 약 400mg 또는 약 450mg이다. 소정의 실시형태에서, 고른 용량은 약 105mg 또는 약 210mg이다. 소정의 실시형태에서, 고른 용량은 105mg이다. 소정의 실시형태에서, 고른 용량은 210mg이다. 소정의 실시형태에서, 고른 용량은 4주마다 1회 피하로 투여된다.
- [0259] 소정의 실시형태에서, 항-베타7 항체의 초기 고른 로딩 용량에 항-베타7 항체의 하나 이상의 고른 유지 용량이 뒤따른다. 로딩 용량은 유지 용량보다 더 많은 분량의 항-베타7 항체이다. 소정의 실시형태에서, 로딩 용량은 약 200mg 또는 약 210mg이다. 소정의 실시형태에서, 로딩 용량은 210mg이다. 소정의 실시형태에서, 항-베타7 항체의 210mg은 at 0주, 2주, 4주, 8주 및 12주에 투여되고, 유지 용량은 이후 4주마다 1회 투여된다. 소정의 실시형태에서, 유지 용량은 약 100mg 또는 약 105mg이다. 소정의 실시형태에서, 유지 용량은 105mg이다.
- [0260] 소정의 실시형태에서, 항-베타7 항체는 14주의 기간 동안 투여된다. 소정의 실시형태에서, 항-베타7 항체는 3개월의 기간 동안 투여된다. 소정의 실시형태에서, 항-베타7 항체는 6개월의 기간 동안 투여된다. 소정의 실시형태에서, 항-베타7 항체는 적어도 12개월(52주)의 기간 동안 투여된다. 소정의 실시형태에서, 항-베타7 항체는 적어도 66주의 기간 동안 투여된다. 소정의 실시형태에서, 항-베타7 항체는 적어도 70주의 기간 동안 투여된다. 소정의 실시형태에서, 항-베타7 항체는 적어도 74주의 기간 동안 투여된다. 소정의 실시형태에서, 항-베타7 항체는 대상체의 평생 동안 투여된다.
- [0261] 통상적으로, 임상되는 원하는 생물학적 효과를 제공하는 투약량(들)이 도달할 때까지 본 발명의 항체(단독으로 또는 제2 화합물과 조합으로)를 투여할 것이다. 본 발명의 치료의 진행은 예를 들어 크론병 활성 지수(CDAI) 점수, 환자 보고된 결과 2(PRO2) 점수 및 크론병에 대한 단순화 내시경술 지수(SES-CD) 점수(이들로 제한되지는 않음)를 포함하는 본 명세서에 기재된 방법에 의해 모니터링될 수 있다.
- [0262] 소정의 실시형태에서, 항-베타7 항체는 예를 들어 자가 주사 장치, 오토인젝터 장치, 또는 자가 투여에 설계된 다른 장치를 사용하여 투여된다. 오토인젝터 장치를 포함하는 다양한 자가 주사 장치가 당해 분야에 공지되어 있고, 상업적으로 구입 가능하다. 예시적인 장치는 프리필드 주사기(예컨대, Becton Dickinson사제의 BD HYPACK SCF(등록상표), READYFILL™ 및 STERIFILL SCFTM; Baxter사제의 CLEARSHOT™ 공중합체 프리필드 주사기; 및 West Pharmaceutical Services사로부터 구입 가능한 Daikyo Seiko CRYSTAL ZENITH(등록상표) 프리필드 주사기); 1회용 펜 주사 장치, 예컨대 Becton Dickinson사제의 BD Pen; 매우 날카로운(ultra-sharp) 및 미세침 장치(예컨대, Becton Dickinson사제의 INJECT-EASE™ 및 마이크로인퓨저 장치; 및 Valeritas사로부터 구입 가능한 H-PATCH™), 및 무침 주사 장치(예컨대, Bioject사로부터 구입 가능한 BIOJECTOR(등록상표) 및 IJECT(등록상표); 및 Medtronic사로부터 구입 가능한 SOF-SERTER(등록상표) 및 패치 장치)를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 소정의 실시형태에서, 에트롤리주맙의 단일 용량을 포함하는 프리필드 주사기를 포함하는 제조 물품이 제공된다. 소정의 실시형태에서, 프리필드 주사기 및 에트롤리주맙의 단일 용량을 포함하는 오토인젝터 조합을 포함하는 제조 물품이 제공된다.
- [0263] 기재된 바대로, 인테그린 베타7 길항제는 단독으로 또는 적어도 제2 치료 화합물과 조합되어 투여될 수 있다. 이들 제2 치료 화합물은 이전에 사용된 바와 같은 투여 경로로 동일한 투약량으로, 또는 이전에 사용된 투약량의 약 1 내지 99%로 일반적으로 사용된다. 이러한 제2 화합물이 사용되는 경우, 이것은 소정의 실시형태에서 이것에 의해 생긴 부작용을 제거하거나 감소시키기 위해 인테그린 베타7 길항제가 존재하지 않는 경우보다 적은 양으로 사용된다.
- [0264] 또한 기재된 바대로(예를 들어, 하기 참조), IBD, 예를 들어 궤양성 결장염 및 크론병의 치료를 위한 다양한 적

합한 제2 치료 화합물이 당해 분야에 공지되어 있고, 이러한 제2 치료 화합물에 대한 투약량 및 투여 방법은 마 찬가지로 기재되어 있다.

- [0265] 인테그린 베타7 길항제 및 임의의 제2 치료 화합물의 투여는 동일한 또는 상이한 투여 경로를 사용하여 예를 들 어 단일 조성물 또는 2개 이상의 구별되는 조성물로서 동시에 수행될 수 있다. 대안적으로, 또는 추가로, 투여 는 임의의 순서로 순차적으로 수행될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 분 내지 일, 내지는 주 내지 개월의 범위 의 간격은 2개 이상의 조성물의 투여 사이에 존재할 수 있다. 예를 들어, 인테그린 베타7 길항제가 처음에, 이 어서 제2 치료 화합물이 투여될 수 있다. 그러나, 동시 투여 또는 인테그린 베타7 길항제 전에 제2 치료 화합물 의 투여가 또한 고려된다.
- [0266] 중증도 내지는 중증의 활성 CD를 가지는 대상체에 대한 치료 표준은 전신 코티코스테로이드, 예를 들어 프레드 니손(또는 프레드니손 등가물) 또는 부테소나이드, 면역억제제, 예컨대 아자티오프린, 6-머캅토피린, 또는 메토 트렉세이트, 또는 종양 괴사 인자 저해제(항-TNF), 예컨대 인플릭시맵, 아달리무맵 또는 세르톨리주맵 페골의 표준 용량에 의한 치료를 수반한다. 다른 항인테그린 치료제는 CD의 치료에 허가되고, 이것은 나탈리주맵 및 베 들리주맵이다. 인테그린 베타7 길항제, 예컨대 본 명세서에 개시된 바와 같은 항-베타7 인테그린 항체에 의한 치료는, 이러한 대상체에 대해 항-TNF를 포함하는 치료 표준에 의해 달성된 것보다 탁월한, 질환 관해의 유도 및/또는 유지(질환의 신속 제어 및/또는 연장된 관해), 및/또는 임상 반응의 개선을 발생시킬 것이다.
- [0267] 일 실시형태에서, CD를 가지는 인간 대상체에서의 크론병(CD)에 대한 본 발명의 치료는 유효량의 치료제, 예컨 대 항-베타7 인테그린 항체를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하고, 면역억제제, 코티코스테로이드, 항-TNF, 통증 조절 물질, 지사제, 항생제 또는 이들의 조합인 유효량의 제2 약제를 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0268] 예시적인 실시형태에서, 상기 제2 약제는 6-머캅토피린, 아자티오프린, 메토트렉세이트, 프레드니손(또는 프레 드니손 등가물), 부테소나이드, 인플릭시맵, 아달리무맵 및 세르트리주맵 페골로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0269] 모든 이들 제2 약제는 서로의 또는 이들과 제1 약제의 조합으로 사용될 수 있어서, 본 명세서에 사용된 바와 같 은 표현 "제2 약제"는 이것이 각각 제1 약제 이외에 유일한 약제라는 것을 의미하지 않는다. 따라서, 제2 약제 는 하나의 약제일 필요는 없고, 하나 초과와 이러한 약물을 구성하거나 포함할 수 있다.
- [0270] 본 명세서에서 병용 투여는 별개의 제제 또는 단일 약제학적 제제를 사용한 동시투여, 및 어떤 순서의 연속적 투여를 포함하고, 여기서 일반적으로 활성제(약제) 둘 다(또는 모두)가 이의 생물학적 활성을 동시에 발휘하면 서 시간 기간이 존재한다.
- [0271] 제2 약제의 병용 투여는 별개의 제제 또는 단일 약제학적 제제를 사용한 동시투여(공존 투여), 및 어떤 순서의 연속적 투여를 포함하고, 여기서 일반적으로 활성제(약제) 둘 다(또는 모두)가 이의 생물학적 활성을 동시에 발 휘하면서 시간 기간이 존재한다.
- [0272] E. 설계 치료 섭생
- [0273] 약물 개발은 복잡하고 값비싼 과정이다. 새로운 약물을 시장에 내놓는 가격은 80000만 달러 내지 10억 달러인 것으로 예상된다. I상 임상 실험 중의 약물의 10% 미만은 이것이 허가 단계가 되게 한다. 약물이 후기 단계에서 실패하는 2개의 주요 이유는 용량-농도 반응과 예상치 못한 안전성 사건 사이의 관계의 이해의 부족이다. 이 시 나리오를 고려하면, 어떻게 약물이 생체내 수행하고 임상 치료학적 후보물질의 성공을 보조하는지를 예측하는 것을 돕는 권한부여 도구를 가지는 것이 중요하다(Lakshmi Kamath, Drug Discovery and Development; Modeling Success in PK/PD Testing Drug Discovery & Development (2006)).
- [0274] 약동학(PK)은 약물의 흡수, 분포, 대사 및 제거 특성을 규명한다. 약력학(PD)은 투여된 약물에 대한 생리학적 및 생물학적 반응을 한정한다. PK/PD 모델링은 이 2개의 과정 사이의 수학 및 이론적 연결을 확립하고, 약물 작 용을 더 잘 예측하는 것을 돕는다. 모의를 통한 통합 PK/PD 모델링 및 컴퓨터 보조 실험 설계는 많은 약물 개발 프로그램으로 통합되고, 점점 더 영향을 가진다(Lakshmi Kamath, Drug Discovery and Development; Modeling Success in PK/PD Testing Drug Discovery & Development (2006)).
- [0275] PK/PD 시험은 약물 개발 과정의 모든 단계에서 통상적으로 수행된다. 개발이 점점 더 복잡해지고 시간 소모적이 고 비용 소비되므로, 시작 시 결함 있는 후보물질을 제거하고 임상 성공의 최고의 기회를 가지는 것을 확인하기 위해 PK/PD 데이터를 더 우수하게 사용하고자 회사들이 찾고자 한다. (Lakshmi Kamath, 상기 참조).

- [0276] PK/PD 모델링 접근법은 바이오마커 반응, 약물 수준과 투약 섭생 사이의 관계를 결정하는 데 있어서 유용한 것으로 입증되었다. 약물 후보물질의 PK/PD 프로파일 및 이것에 대한 환자의 반응을 예측하는 능력은 임상 실험의 성공에 중요하다. 분자 생물학 기법의 최근의 진전 및 다양한 질환에 대한 표적의 더 우수한 이해는 약물의 치료 효능의 우수한 임상 표시자로서 바이오마커를 검증하였다. 바이오마커 검증은 약물 후보물질에 대한 생물학적 반응을 확인하는 것을 돕는다. 바이오마커가 임상적으로 검증되면, 실험 모의가 효과적으로 모델링될 수 있다. 바이오마커는 언젠가 약물 개발에서 임상 결과에 대한 대체물일 수 있다는 대리 지위를 달성할 가능성을 가진다. (Lakshmi Kamath, 상기 참조).
- [0277] 말초 혈액 중의 바이오마커의 양은 인테그린 베타7 길항제에 의한 치료에 대한 생물학적 반응을 확인하는 데 사용될 수 있고, 따라서 후보물질 치료의 치료 효능에 대한 우수한 임상 표시자로서 작용할 수 있다.
- [0278] 약물 개발에서의 전통적인 PK/PD 모델링은 매개변수, 예컨대 약물 용량 농도, 약물 노출 효과, 약물 반감기, 시간에 대한 약물 농도 및 시간에 대한 약물 효과를 한정한다. 더 광범위하게 사용될 때, 정량적 기법, 예컨대 약물 모델링, 질환 모델링, 실험 모델링 및 시장 모델링은 전체 개발 과정을 지지할 수 있고, 이것은 분명한 위험의 고려를 통한 더 우수한 결정 및 더 우수한 지식 이용을 발생시킨다. 다양한 PK/PD 모델링 도구, 예를 들어 Pharsight, Inc.(캘리포니아주 마운틴 뷰)가 개발한 WinNonlin 및 Knowledgebase Server(PKS)는 약물 개발 조사자에게 이용 가능하다.
- [0279] 이전 서면 명세서 및 하기 실시예는 당해 분야의 당업자가 본 발명을 실행하기에 충분한 것으로 고려된다. 본 명세서에 표시되고 기재된 것에 대한 본 발명의 다양한 변형은 또한 상기 설명 및 하기 실시예로부터 당해 분야의 당업자에게 명확해 질 것이고, 첨부된 청구항의 범위 내에 있다.
- [0280] 특정한 문제 또는 상황에 대한 본 발명의 교시내용의 적용은 본 명세서에 함유된 교시내용의 견지에서 당업자의 역량 내에 있을 것으로 이해된다.
- [0281] 본 발명의 추가의 상세내용은 하기 비제한적인 예에 의해 예시된다. 명세서에서의 모든 인용의 개시내용은 본 명세서에 참고문헌으로 명확히 포함된다.
- [0282] **실시예**
- [0283] **실시예 1**
- [0284] 중증도 내지는 중증의 활성 크론병을 가지는 환자에 대한 유도 및 유지 치료로서 에트롤리주맙의 효능 및 안전성을 평가하기 위한 III상, 무작위화, 이중 맹검, 위약 조절, 다기관 연구
- [0285] **연구의 설명**
- [0286] **연구 이유**
- [0287] 이 연구의 목적은 $\alpha 4\beta 7$ /MAdCAM-1의 파괴 및 $\alpha E\beta 7$ /E-카데린 결합을 통해 장 점막에서의 염증성 T 세포의 통행 및 보유를 저해하는 것으로 나타난, 독특한 작용 기전(MOA)을 가지는, 항인테그린인 에트롤리주맙의 효능 및 안전성을 평가하는 것이다.
- [0288] 에트롤리주맙이 CD를 가지는 인간에서 연구되지 않았지만, UC를 가지는 환자 및 CD를 가지는 환자의 절체로부터 단리된 장 CD4+ 및 CD8+ T 세포에서, 인테그린 $\beta 7$ 수용체인 에트롤리주맙에 대한 약리학적 표적의 예비 발현 연구는 발현 수준이 질환 둘 다 사이에 유사하다는 것을 제시한다. CD에서의 항- $\alpha 4\beta 7$ mAb인 베톨리주맙의 보고된 효능은 이 질환의 병리생물학에서 $\alpha 4\beta 7$ 에 대한 역할을 입증하고(Sandborn WJ, et al., Aliment Pharmacol Ther 37:204-13, 2013), 이것은 에트롤리주맙이 CD에서 효과적일 것이라는 이러한 연구에 따른다. 또한, 원위 장으로부터 근위 장으로 발현의 증가가 관찰되면서, $\alpha E\beta 7$ 발현이 보고에 의하면 CD를 가지는 환자에서 상승하므로(Elewaut D, et al., Acta Gastroenterol Belg 61:288-94, 1998; Oshitani N, et al., Int J Mol Med 12:715-9, 2003), 에트롤리주맙의 이중 MOA는, 이용 가능한 항인테그린 및 항-TNF 치료제와 비교하여, 일반화된 면역억제 없이 CD에서 증대된 효능을 발생시킬 수 있다.
- [0289] 또한, UC 환자에서의 전체 II상 연구에서, 에트롤리주맙은 중증도 내지는 중증의 UC를 치료하는 데 있어서 효과적이고, 모든 신청자 집단에서 4주마다(Q4W) 치료 개시(105mg(100mg 공칭 용량) 후 10주에 20.5%의 위약 보정된 임상 관해율(p = 0.058) 및 10.3%의 내시경술 관해율(p = 0.004)을 달성하였다(Vermeire S, et al., Gastroenterology 144,S1:S-36, 2013; Vermeire S, et al., Lancet 384: 309-18, 2014; Lin et al., Gastroenterology 146:307-315, 2014). 또한, 에트롤리주맙은 관찰된 임상적으로 유의미한 안전성 신호 없이

허용 가능한 안전성 프로필을 가졌다.

[0290] 연구 설계

[0291] 이것은 중증도 내지는 중증의 활성 CD의 유도 및 유지 치료 동안 위약과 비교하여 에트롤리주맙의 효능, 안전성 및 관용성을 평가하는 다기관, III상, 이중 맹검, 위약 조절 연구일 것이다.

[0292] 연구 설계는 1) 연구에 대한 환자의 적격성을 결정하기 위한 스크리닝 단계(28일 이하), 2) 유도 단계(14주), 이어서 3) 유도 단계의 종료 시 CDAI-70 반응(CDAI 기준선 점수로부터의 적어도 70점의 감소로 정의됨)을 나타낸 환자에서의 유지 단계(60주), 및 4) 에트롤리주맙 치료를 받도록 연구의 오픈 라벨 연장 1 파트에 참여하지 않은 환자에 대한 유지 단계에서의 연구 약물의 마지막 용량의 투여 후 안전성 추적관찰 단계(12주)를 포함할 것이다(도 3 및 도 4 참조). 안전성 추적관찰 단계의 완료 시, 환자는 92주 동안 연장된 PML-모니터링 단계(오픈 라벨 연장 연구)에 진입할지에 대해 질의 받을 것이다. 독립 데이터 모니터링 위원회(independent Data Monitoring Committee; iDMC)는 계속 기준으로 안전성 및 연구 진행을 모니터링할 것이다.

[0293] 중증도 내지는 중증의 활성 CD는 220 이상 내지 480 이하의 CDAI 점수, 및, 무작위화 전 7일에 계산된, 14 이상의 PRO2 점수를 발생시키는, 임상 징후 및 증상에 의한 스크리닝 단계에서 정의될 것이다. 관련하여, 단리 회장염 또는 회맹부 후절제의 경우에 7 이상 또는 4 이상의 SES-CD 점수로 정의된, 활성 염증의 존재가 필요하고, 중앙 관독에 의해 점수 매겨진 스크리닝 회결장내시경술에 의해 결정될 것이다.

[0294] 연구 집단은 이전의 항-TNF 치료제를 받지 않았지만(TNF 미경험), 코티코스테로이드(CS) 및/또는 면역억제제(IS) 치료에 난치성 또는 불관용성인 환자, 및 (하기 추가로 기재된 바대로) 항-TNF 치료제에 난치성 또는 불관용성인 환자로 이루어질 것이다. 적격 환자는 하기 기재된 바대로 무작위화 전에 적어도 8주 동안 안정적인 IS 및 CS의 안정한 용량에 있어야 한다. 항-TNF 치료제에 비반응성 또는 난치성(TNF-IR) 또는 항-TNF 치료에 불관용성인 환자는 무작위화 전에 적어도 12주의 기간 동안 이 치료를 중단해야 한다.

[0295] 대략 1250명의 환자는 3개 중 1개의 코호트의 등록을 통해 대략 380개의 전체 조사 사이트로부터 연구로 무작위화될 것이다. 등록은 처음에 코호트 1로, 이어서 코호트 2로, 마지막으로 코호트 3으로 순차적일 것이다.

[0296] 스크리닝 단계

[0297] 환자는 28일 스크리닝 단계에서 적격성에 대해 평가될 것이다(도 3 및 도 4 참조). 주요 적격성 기준은 하기 기재되어 있다.

[0298] 스크리닝 단계 동안, CS 치료제를 받는 환자는 무작위화 직전에 적어도 2주 동안 20mg/일 이하의 프레드니손(또는 균등물) 또는 6mg/일 이하의 경구 부데소나이드의 안정한 용량에 있어야 한다. 유사하게, 배경 IS 치료제(예를 들어, 6-MP, 또는 MTX)를 요하는 적격 환자는 무작위화 직전에 적어도 8주 동안 안정한 IS 용량 섭생을 받아야 한다. TNF-IR 또는 항-TNF 치료제에 불관용성인 환자는 무작위화 전에 적어도 12주의 기간 동안 이 치료를 중단해야 한다.

[0299] 회결장내시경술은 중앙 관독장치 스코어링 및 적격성의 결정에 충분한 시간을 허용하고, 기준선 PRO2 및 CDAI 점수(즉, 복통, 일반 웰빙, 및 배변 빈도)의 결정에 사용된 환자 보고된 결과에 영향을 미치는 회결장내시경술 장 정결을 피하기 위해 스크리닝 단계의 -3주 내지 -2주 사이에 수행되어야 한다.

[0300] 유도 단계

[0301] 적격 환자는 14주 유도 단계 동안 3개 중 1개의 코호트로 순차적으로 등록될 것이다(도 3 참조).

[0302] 코호트 1(이중 맹검, 위약 조절, 탐색적 코호트; n = 300)에 등록한 환자는 14주 유지 단계 내에 0주, 2주, 4주, 8주 및 12주에 위약, 에트롤리주맙 105mg SC Q4W(저용량), 또는 에트롤리주맙 210mg SC(고용량)를 받도록 1:2:2 비율로 무작위화될 것이다(저용량 에트롤리주맙으로 무작위화된 환자는 2주에 위약 주사를 받을 것임에 주목한다 - 하기 참조). 코호트 2(에트롤리주맙 용량 맹검, 활성 치료 코호트; n = 350)에 등록한 환자는 에트롤리주맙의 저용량 또는 고용량 섭생을 받도록 1:1 비율로 무작위화될 것이다. 코호트 3(이중 맹검, 위약 조절, 중추 코호트; n = 600)에 등록한 환자는 위약 또는 에트롤리주맙 저용량 또는 고용량을 받도록 2:3:3 비율로 무작위화될 것이다. 에트롤리주맙의 저용량 및 고용량은 맹검을 보존하도록 상이한 용적의 주사기에 있으므로, 모든 3개의 코호트에서의 환자는 0주, 4주, 8주 및 12주에 2의 주사를 받을 것이다. 저용량 에트롤리주맙으로 무작위화된 환자는, 1개의 위약 주사를 받을 때, 2주를 제외하고 각 투여 시 1개의 위약(고용량 프리필드 주사기와 일치) 및 1개의 저용량 에트롤리주맙 주사를 받을 것이다. 고용량 에트롤리주맙으로 무작위화된 환자는, 1개

의 고용량 주사를 받을 때, 2주를 제외하고 각 투여 시 1개의 위약 및 1개의 고용량 에트롤리주맙 주사를 받을 것이다. 마지막으로, 위약으로 무작위화된 환자는, 1개의 위약 주사를 받을 때, 2주를 제외하고 매 투여 시 2개의 위약 주사를 받을 것이다.

- [0303] 모든 코호트에서의 무작위화는 공존 경구 CS 치료(예 대 아니오), 공존 IS 치료(예 대 아니오), 330 이하의 기준선 CDAI(예 대 아니오), 및 TNF-IR 환자(예 대 아니오)에 의해 계층화될 것이다. 등록은 코호트 3에서의 TNF-IR 환자의 비율이 대략 75%를 초과하지 않고, 450 초과 내지 480 이하의 CDAI 점수를 가지는 환자의 비율이 각각의 코호트에서 대략 10%를 초과하지 않는다는 것을 보장하도록 관리될 것이다.
- [0304] 유도 단계 동안, 모든 코호트에서의 환자는 (기준선에서 CS/IS를 요하는 경우) CS 및 IS 치료제의 용량(들)을 안정하게 유지시켜야 한다. 이들 약제에 대한 조정은 구조 치료로 생각될 것이다. 구조 치료는 새로운 또는 악화된 CD 증상에 처방된 약제를 의미하고, CD에 대한 임의의 새로운 약제 또는 기준선 CD 약제의 용량 또는 섭생의 임의의 증가를 포함한다. 또한, 필요한 경우, 고정된 용량에서 지사제 약제를 유지시키고자 하는 모든 시도가 이루어져야 한다. PRO2에 대한 위약 반응률에 지사제 약제를 적정하는 것의 영향은 중증도 내지는 중증의 활성 CD 집단에서 연구되지 않았다.
- [0305] 10주에, 오픈 라벨 연장(OLE) 연구(1 파트)에 대한 임의의 도피가 있고, 여기서 환자는 오픈 라벨 에트롤리주맙을 받을 수 있다. 이것은, 환자가 환자의 기준선(0주) 점수보다 큰 CDAI 및 PRO2 10주 점수 둘 다로 정의된, 질환 악화를 경험한 경우 오직 실행될 수 있다. 10주에서, 질환 진행을 경험하고 OLE에 진입하지 않은 환자는 구조 치료를 이용할 수 있다.
- [0306] 14주에, 구조 치료의 이용 없이 CDAI-70 반응을 달성한 환자는 유지 단계를 계속할 것이다. 미국 조사 사이트에 참여한 환자는 14주에 IS 치료를 중단해야 한다. 14주에 CDAI-70 반응을 달성하지 않고/않거나, 유도 단계 동안 구조 치료를 이용한 환자는 비반응자로 생각될 것이고, 유지 단계를 위해 비적격일 것이다. 14주에 비반응자는 (상기 정의된 바와 같은) 질환 악화의 부재 하에 구제 약제를 사용하지 않는 경우 오픈 라벨 연장(Open Label Extension: OLE) 연구(1 파트)에 진입할 옵션을 가질 것이다. OLE에 진입하지 않은 비반응자는 12주 안전성 추적관찰 단계에 진입할 것이고, 이후 92주 동안 연장된 PML-모니터링 단계(OLE 연구, 파트 2)에 등록할지를 질의 받을 것이다.
- [0307] **유지 단계**
- [0308] 유도 단계(14주)의 종료 시, 환자는 CDAI 점수에 대해 평가될 것이고, SES-CD 점수를 결정하기 위해 중앙 판독에 의해 전체 내시경술(회결장검사술)을 겪을 것이다. 14주 방문에 또는 이 방문 후 달력 5일 이하에 회결장내시경술이 일어나도록 스케줄 하도록 모든 시도가 이루어져야 하고; 절차는 14주 전에 스케줄 되지 않아야 한다. 장 정결 전 7일에 포획된 환자 보고된 결과(즉, 복통, 일반 웰빙 및 배변 빈도)는 14주 PRO2 및 CDAI 점수를 계산하도록 이용될 것이고, 따라서 이 결과에 대한 장 정결의 임의의 영향을 제거한다.
- [0309] 유도 단계 동안 위약을 받고 14주 구조 치료의 이용 없이 CDAI-70 반응을 달성한 환자는 유지 단계 동안 명검 위약 치료로 삼 무작위화를 겪을 것이다. 에트롤리주맙을 받고 구조 치료의 이용 없이 14주에 CDAI-70 반응을 달성한 환자는 위약 또는 에트롤리주맙 105mg SC Q4W에 의한 치료에 1:1 비율로 유지 단계로 무작위화될 것이다 (도 4 참조).
- [0310] 무작위화는 유지 단계를 위해 제1 유지 용량이 투여될 때인 16주 클리닉 방문 시 발생한다. 무작위화 쿨은 14주 (유도 단계에서 마지막 방문)와 16주 사이에 발생할 수 있고, 단 환자는 유지 단계를 위해 적극적으로 평가된다. 무작위화는 10주 및 14주 둘 다에서 CDAI 관해(예 대 아니오), 유도 용량 섭생(저용량 대 고용량), 공존 경구 CS 치료(예 대 아니오) 및 이전의 TNF-IR 환자(예 대 아니오)에 의해 계층화될 것이다.
- [0311] 유지 단계 동안, 미국에서의 환자는 유지 단계 동안 임의의 공존 IS 치료를 받지 않아야 하고, 미국 밖의 환자는, 약제와 관련된 독성으로 인해 용량 감소 또는 중단이 필요하지 않는 한, 연구에 걸쳐 IS 치료의 안정한 용량에 있어야 한다. CS 용량은 14주에 시작하여 감량될 것이다. CS 용량은 하기 스케줄에 따라 감량될 것이다: 20mg/일 이하의 프레드니손(또는 균등물); 중단까지 2.5mg/주의 용량 감소를 통해 적정됨; 및 6mg/일 이하의 경구 부테소나이드: 중단까지 2주마다 3mg의 용량 감소를 통해 적정됨. CD 증상 또는 스테로이드 금단의 증상의 재발 없이 CS 감량에 관용성일 수 없는 환자는 CS 용량의 증가를 받을 수 있지만, 이것은 무작위화 시 투여된 용량을 초과하지 않아야 한다. 용량 감량 섭생은 2주 내에 재개시되어야 한다.
- [0312] 2회 연속적 방문(스케줄 되지 않은 방문을 포함할 수 있음)에 14주 CDAI 점수로부터 CDAI 점수의 100점 이상의 증가 및 220점 이상의 CDAI 점수로 정의된, 임상 재발을 경험한 환자는 유지 단계 동안 OLE 연구를 도피할 옵션

을 가질 것이다.

[0313] 74주에 이의 최종 유지 단계 방문을 완료한 환자는 적극적인 경우 OLE 연구(파트 2)에 등록하거나, 12주 안전성 추적관찰 단계에 진입할 수 있고, 이후 이들은 92주 동안 연장된 PML-모니터링 단계(OLE 연구, 파트 2)에 등록할지를 질의 받을 것이다. CD에 대한 수술 중재를 요하는 환자는 연구 치료를 중단하고, 안전성 추적관찰 단계에 진입할 것이고, PML 모니터링을 위해 OLE 연구 파트 2에 진입할지에 질의 받을 것이다. 실험으로부터 자가 배제되거나, OLE 치료에 대한 적격성 기준을 만족시키지 않은 환자는 또한 안전성 추적관찰 단계에 진입할 것이고, PML 모니터링을 위해 OLE 연구 파트 2에 진입할지에 질의 받을 것이다.

[0314] **결과 측정치**

[0315] 별개의 결과 측정치는 하기 추가로 기재된 바대로 미국 식품 의약청(United States Food and Drug Administration; FDA) 및 유럽 의약품청(European Medicines Agency; EMA), 및 잠재적으로 미국 밖의 다른 건강 기관(미국 외)에 대해 평가될 것이다.

[0316] 주요 효능 결과 측정치(미국)

[0317] 유도 단계를 위해 주요 효능 결과 측정치는 14주에 PRO2 관해이다. PRO2 관해는 11 이하의 PRO2로서 정의된다.

[0318] 유지 단계를 위해 주요 효능 결과 측정치는 14주에 PRO2 관해를 달성한 환자 중에서 66주에 PRO2 관해이다. PRO2 관해는 11 이하의 PRO2로서 정의된다.

[0319] 주요 효능 결과 측정치(미국 외)

[0320] 유도 단계를 위해 주요 효능 결과 측정치는 14주에 CDAI 관해이다. CDAI 관해는 150 미만의 CDAI로서 정의된다.

[0321] 유지 단계를 위해 주요 효능 결과 측정치는 10주 및 14주에 CDAI 관해를 달성한 환자 중에서 적어도 52주 후에, 및 코티코스테로이드 무 전체에 CDAI 관해의 유지이다.

[0322] 2차 효능 결과 측정치

[0323] 상기 기재된 유도 및 유지 단계에 대한 미국 주요 효능 결과 측정치는 각각 유도 및 유지를 위한 2차 효능 결과 측정치이다(미국 외). 상기 기재된 유도 및 유지 단계에 대한 미국 외 주요 효능 결과 측정치는 각각 유도 및 유지를 위한 2차 효능 결과 측정치이다(미국).

[0324] 이 연구의 유도 단계를 위해 추가의 전체 2차 효능 결과 측정치는 (1) 14주에서의 내시경술 개선(여기서, 내시경술 개선은 기준선 SES-CD 점수의 50% 감소로 정의됨); (2) 14주에서의 CDAI-100 반응(여기서, CDAI-100 반응은 CDAI 기준선 점수로부터의 적어도 100점의 감소로 정의됨); (3) 10주 및 14주에서의 CDAI 관해(여기서, CDAI 관해는 150 미만의 CDAI 점수로 정의됨); (4) IBDQ(HRQOL = 건강 관련 삶의 질; IBDQ = 염증성 장 질환 설문)에 의해 평가된 바와 같은, 환자 보고된 HRQOL에서의 14주로의 기준선으로부터의 변화; 및 (5) CD-PRO/SS 측정치(CD-PRO/SS = 크론병-환자 보고된 결과 징후 및 증상)에 의해 평가된 바와 같은, CD 징후 및 증상에서의 기준선으로부터의 14주로의 변화이다.

[0325] 이 연구의 유지 단계를 위해 추가의 전체 2차 효능 결과 측정치는 (1) (0주와 비교된) 66주에서의 내시경술 개선(여기서, 내시경술 개선은 기준선 SES-CD 점수의 50% 감소로 정의됨); (2) 14주에 CDA 관해를 달성한 환자 중에서 66주에서의 CDAI 관해(여기서, CDAI 관해는 150 미만의 CDAI 점수로 정의됨); (3) 14주에 임상 반응을 달성한 환자 중에서 66주에서의 CDAI 관해(여기서, CDAI 관해는 150 미만의 CDAI 점수로 정의됨); (4) (0주와 비교된) 66주에서의 CDAI-100 반응(여기서, CDAI-100 반응은 CDAI 기준선 점수로부터의 적어도 100점의 감소로 정의됨); (5) 지속적인 CDAI 관해(24주, 28주, 32주, 44주, 56주, 66주, 70주 및 74주의 6 이상에서 달성)(여기서, 지속적인 CDAI 관해는 유지 단계 동안 8회 중 적어도 6회 CDAI 평가 방문에서 150 미만의 CDAI 점수로 정의됨); (6) 14주에 임상 반응을 달성한 환자 중에서 66주에서의 CS 무 CDAI 관해(여기서, CS 무 CDAI 관해는 코티코스테로이드 사용이 없는 CDAI 관해(150 미만의 CDAI 점수)를 의미함); (7) 10주 및 14주에 CDAI 관해를 달성한 환자 중에서 66주에서의 CDAI 관해(150 미만의 CDAI 점수) 및 66주 전 24주 동안 CS 무; (8) 14주에 내시경술 개선 및 CDAI-70 반응을 달성한 환자 중에서 66주에서의 내시경술 개선의 유지(여기서, 결과 측정치는 상기 정의된 바와 같음); (9) 66주에서의 점막 염증(SES-CD 점수 0)의 해소; (10) IBDQ에 의해 평가된 바와 같은, 14주로부터 66주로의 환자 보고된 HRQOL의 변화; 및 (11) CD-PRO/SS 측정치에 의해 평가된 바와 같은, 14주로부터 66주로의 CD 징후 및 증상의 변화이다.

[0326] 탐색적 결과 측정치

[0327] 이 연구에 대한 전체 탐색적 결과 측정치는 (1) 0주로부터 14주로의 대변 칼프로텍틴 수준의 변화; (2) 14주에 CDAI-70 반응을 달성한 환자 중에서 14주로부터 66주로의 대변 칼프로텍틴 수준의 변화; (3) 0주로부터 14주로의 CRP 수준의 변화; (4) 14주에 CDAI-70 반응을 달성한 환자 중에서 14주로부터 66주로의 CRP 수준의 변화; 및 (5) 14주에 CDAI-70 반응을 달성한 환자 중에서 14주로부터 주요 CD 관련 사건(입원, 장 수술 및 비연구 절차 포함)으로의 시간이다.

[0328] 안전성 결과 측정치

[0329] 이 연구에 대한 안전성 결과 측정치는 부작용의 발병률 및 중증도, 심각한 부작용의 발병률, 감염 관련 부작용의 발병률 및 중증도, 감염 관련 심각한 부작용의 발병률, 주사 부위 반응의 발병률 및 중증도, 과민증 반응의 발병률 및 중증도, 연구 약물 중단을 발생시키는 부작용의 발병률, 특정한 실험실 비정상치의 발병률, 악성종양의 발병률 및 에트롤리주맙에 대한 항치료학적 항체(anti-therapeutic antibody; ATA)의 발병률이다.

[0330] 약동학 결과 측정치

[0331] 이 연구에 대한 약동학 결과 측정치는 16주로부터 66주로의 투약 기간 동안 특정 시점에서 14주 및 66주에 에트롤리주맙 혈청 농도 및 관찰된 예비용량 트로프 혈청 농도 C_{min} 이다.

[0332] **연구 집단; 환자**

[0333] 표적 집단은 (하기 정의된 바와 같은) 중증도 내지는 중증의 활성 CD를 가지고, 코티코스테로이드 및/또는 면역억제제 치료 및/또는 항-TNF에 대한 부적절한 반응, 난치성 반응 또는 불관용성을 가지는 환자이다. 중증도 내지는 중증의 활성 CD는 하기 3개의 징후 및 증상 측정치의 각각을 만족시킴으로써 스크리닝 단계에서 결정된 중증도 내지는 중증의 활성 질환을 의미한다:

[0334] 1. 무작위화 전 7일에 계산된 220 이상 내지 480 이하의 CDAI 점수를 발생시키는 임상 징후 및 증상; 및

[0335] 2. 무작위화 전 7일에 계산된 14 이상의 PRO2 점수; 및

[0336] 3. 중앙 판독자에 의해 점수 매겨진 회결장내시경술을 스크리닝함으로써 결정된 바와 같은 단리 회장염 또는 회장부 후절제의 경우에 7 이상 또는 4 이상의 SES-CD 점수로 정의된 활성 염증의 존재.

[0337] 포함 기준

[0338] 환자는 연구 목록에 대해 하기 기준을 만족시켜야 한다: (1) 서면 동의서를 제공할 수 있고 이의 의향이 있음; (2) 18-80세; (3) 남성 및 폐경 후가 아닌 여성: 치료 기간 동안 및 연구 약물의 마지막 용량 후 적어도 24주 동안 효과적인 피임의 사용; (4) 스크리닝 방문 전 3개월 이상에서 확립된 임상 및 내시경술 증거에 기초한 CD의 진단; (5) 스크리닝 단계에서 결정된, 상기 정의된 바와 같은, 중증도 내지는 중증의 활성 질환; (6) 소아 내시경에 의해 횡단 가능한 적어도 4개의 결장 분절 또는 CD에 대한 장 절제를 겪은 환자에 대해 3개의 분절(결장 및/또는 회장)을 가지는 회장 및/또는 결장의 관여; (7) 10년 초과 기간의 결장 질환의 경우 스크리닝 전 12개월 이하에 또는 환자가 장암에 대한 임의의 위험 인자를 가지는 경우 스크리닝 전 5년 이하에 감시 결장경 검사를 완료함(감시는 스크리닝 동안 수행될 수 있음); (8) 스크리닝으로부터 5년 내에 하기 치료 중 적어도 하나에 대한 불관용성, 난치성 질환 또는 (하기 정의된 바와 같은) 반응 무를 경험함:

[0339] CS 치료: CS 난치성은 환자는, 경구인 경우 2주 동안 또는 IV인 경우 1주 동안 30mg/일 이상의 프레드니손(또는 균등물)에 동등한 용량을 포함하는 적어도 하나의 4주 유도 섭생의 병력에도 불구하고, 지속적으로 활성인 질환의 징후/증상을 가진다는 것을 의미한다. CS 치료에 대한 불관용성은 환자가 쿠싱 증후군, 골감소증/골다공증, 고혈당증, 불면 및 감염(이들로 제한되지는 않음)을 포함하는 병력을 가진다는 것을 의미한다.

[0340] IS 치료: IS 난치성은 환자가, 경구 AZA(1.5mg/kg 이상) 또는 6-MP(0.75mg/kg 이상) 또는 MTX(15mg/주 이상)의 적어도 하나의 12주 섭생의 병력에도 불구하고, 지속적으로 활성인 질환의 징후/증상을 가진다는 것을 의미한다. IS 치료제(6-MP, AZA 또는 MTX)에 대한 불관용성은 환자가 상기(감염, 구역/구토, 복통, 췌장염, 간기능 시험 비정상, 림프구 감소증 및 티오펜린 메틸트랜스퍼라제 유전적 다형(이들로 제한되지는 않음) 포함)의 1 이상으로 불관용성의 병력을 가진다는 것을 의미한다.

[0341] 항-TNF 치료: 부적절한 1차 비반응은 환자가 (인플릭시맙[5mg/kg 이상] 또는 아달리무맙[160mg/80mg 또는 80mg/40mg] 또는 세르톨리주맙 페골[400mg 이상])의 2 이상의 유도 용량을 받은 후 CD와 관련한 지속적인 징후/증상에 의해 입증된 바와 같이) 반응하지 않는다는 것을 의미한다. 부적절한 2차 비반응은 환자가 초기에 인플릭시

맵(5mg/kg 이상) 또는 아달리무맵(40mg 이상) 또는 세르톨리주맵 페골(400mg 이상)에 의한 유도 치료에 반응하지 않지만, 유지 동안 CD의 재발과 관련한 징후/증상을 경험한다는 것을 의미한다. 불관용성은 환자가 유의미한 주사 부위 반응, 탈수초화, 울혈성 심부전, 감염, 또는 임의의 시간에 항-TNF 치료의 계속을 배제하는 다른 병태를 경험한다는 것을 의미한다.

[0342] 배제 기준

[0343] 임의의 하기 기준을 만족시키는 환자는 연구 목록으로부터 배제될 것이다. 위장관 건강에 관한 배제 기준은 하기를 포함한다: (1) 회장직장 문합과 함께 부분 결장절제술을 겪음 또는 전체 결장절제술을 겪음; (2) 단장 증후군; (3) 회장조루술 또는 결장조루술을 가짐; (4) 누공 질환 및/또는, 장의 적절한 내시경술 평가를 배제하는 협착전 확장과 함께, 소장 협착증 또는 고정된 협착증의 증거를 가짐; (5) UC 또는 불확정 결장염의 진단; (6) 허혈성 결장염, 방사선 결장염 또는 현미경적 결장염의 의심; (7) 복부 또는 항문주위 농양의 증거; (8) 연구 동안 CD 관련 합병증을 관리하도록 수술을 요하는 것으로 예상됨; (9) 과거 또는 현재의 선종성 결장 폴립; (10) 과거 또는 현재의 질환 관련 결장 점막 이형성(이전의 연령 관련 폴립이 허용 가능).

[0344] 이전의 또는 공존 치료에 관한 배제 기준은 하기를 포함한다: (1) 무작위화 전 12주 이하 내에 CD에 대해 임의의 아달리무맵, 세르톨리주맵 페골 또는 인플릭시맵을 받음; (2) 에트롤리주맵 또는 다른 항인테그린제(베돌리주맵, 나탈리주맵 및 에팔리주맵 포함)에 의한 임의의 이전의 치료; (3) 무작위화 전 12주 이하 내에 T 세포 또는 B 세포 고갈제(예를 들어, 리툭시맵, 알렘투주맵 또는 비실리주맵)에 의한 이전의 치료; (4) 연구에서 무작위화 전 12주 또는 조사 제품의 5 반감기(어느 것이 크든) 내에 조사 백신을 포함하는 임의의 조사 치료제를 받음; (5) 경증 또는 중증의 알레르기 또는 키메라, 인간 또는 인간화 항체, 융합 단백질, 또는 컷과 단백질에 대한 아나필락시스/아나필락시스모양 반응 또는 에트롤리주맵(활성 약물 물질) 또는 임의의 부형제에 대한 과민증의 병력; (6) 무작위화 전 2주 이하에 코티코스테로이드 관장제/좌제 및/또는 국소(직장) 5-아미노살리실레이트(5-ASA) 제제에 의한 치료; (7) 무작위화 전 3주 이상에 CD에 대한 치료로서 경관 영양, 규정 처방 식이, 및/또는 비경구 영양법/영양을 중단하지 않은 환자; (8) 연구 동안 CD에 대한 치료로서 경관 영양, 규정 처방 식이, 및/또는 비경구 영양법/영양을 요하는 것으로 예상된 환자; (9) 무작위화 전 4주 이하에 임의의 생 또는 약독화 백신을 받음; (10) 응급실에서 투여된 단일 IV 스테로이드 용량을 제외하고, 스크리닝 동안 IV 스테로이드의 사용; (11) 무작위화 전 4주 이하에 사이클로스포린, 타크롤리무스, 시롤리무스 또는 마이코페놀레이트 모페틸; (12) 비스테로이드성 소염 약물(NSAID)의 만성 사용. 두통, 관절염, 근육통 및 월경통과 같은 병태에 대해 NSAID의 때때로의 사용처럼, 325mg/일까지의 예방학적 아스피린 사용이 허용됨; (13) 경구 CS를 받는 경우, 환자는 무작위화 직전에 2주 이상 동안 용량이 20mg/일 프레드니손(또는 균등물)에서 안정하지 않은 경우 배제될 것임; (14) 경구 또는 직장 5 아미노살리실레이트(5-ASA)에 의한 진행 중 치료를 받는 경우, 환자는 무작위화 직전에 4주 이상 동안 용량이 안정하지 않은 경우 배제될 것임; (15) IS에 의한 진행 중 치료를 받는 경우, 환자는 무작위화 직전에 8주 이상 동안 용량이 안정하지 않은 경우 배제될 것임; (16) CD의 치료를 위해 항생제에 의한 진행 중 치료를 받는 경우, 환자는 무작위화 직전에 2주 이상 동안 용량이 안정하지 않은 경우 배제될 것임.

[0345] 감염 위험에 관한 배제 기준은 하기를 포함한다: (1) 선천성 또는 후천성 면역 결핍; (2) 웨스턴 블롯에 의해 확인된, HIV에 대한 양성 ELISA 시험 결과; (3) HCV 항바이러스 치료의 성공적인 과정을 완료한 후 6개월 초과 동안 HCV RNA가 검출 불가능하다는 것을 환자가 입증하지 않는 한, 양성 C형 간염 바이러스(HCV) 항체 시험 결과; (4) 스크리닝 시 B형 간염 평가, HBsAg에 대한 양성인 시험한 환자는 연구로부터 배제됨; B형 간염 코어 항체(HBcAb)에 대한 양성이지만 B형 간염 표면 항원(HBsAg)에 대한 음성 시험한 환자는 연구에 적극적인 확진된 음성 B형 간염 바이러스(HBV) DNA 시험 결과를 가져야 하고, 연구 동안 HBV DNA에 대한 정기적인 모니터링을 겪는 것이 필요할 것임; (5) 스크리닝 시 난자 또는 기생충에 대한 양성 대변 시험 결과 또는 병원균에 대한 양성 대변 배양; (6) 기준선 방문 전 8주 내에 클로스트리듬 디피실에 의한 감염 및/또는 이에 대한 치료 또는 씨. 디피실 감염에 의한 다른 장 병원균 치료의 증거; (7) 무작위화의 3개월 내에 취해진 흉부 방사선사진에서 활성 또는 잠재 결핵의 병력 또는 활성 결핵의 의심; (8) 재발성 기회감염성 감염의 병력 및/또는 심각한 또는 파종성 바이러스 감염의 병력; (9) 스크리닝 전 6개월 이하에 발생한 임의의 심각한 기회감염성 감염; (10) (스크리닝 전 8주 이하에) 임의의 현재의 또는 최근의 감염의 징후 또는 증상; (11) 스크리닝 전 8주 이하에 정맥내 항생제 또는 스크리닝 전 4주 이하에 경구 항생제에 의한 치료 또는 입원을 요하는 감염의 임의의 주요 에피소드.

[0346] 일반적인 안전성에 관한 배제 기준은 하기를 포함한다: (1) 임신 또는 수유; (2) 말초 정맥 접근의 결여; (3) 무작위화 전 8주 내에 입원; (4) 조사자의 의견으로 연구 프로토콜에 부합하지 못함; (5) 유의미한 비조절 동방이환, 예컨대 신경학적, 심장, 폐, 신장, 간, 내분비 또는 GI 장애(CD 이외); (6) PML에 대한 모니터링을 방해

할 수 있는 신경학적 병태 또는 질환; (7) 스크리닝 신경학적 검사 시 임상적으로 유의미한 비정상; (8) 탈수초성 질환의 병력; (9) 뇌졸중, MS, 뇌 종양, 신경퇴행성 질환, 또는 불량하게 조절되는 간질을 포함하는 주요 신경학적 장애의 병력; (10) 스크리닝 전 6개월 이하에 알콜, 약물 또는 화학물질 남용의 병력; (11) 연구 과정 동안 20mg/일 초과인 프레드니손(또는 균등물)에 의한 치료를 요할 수 있는 CD 이외의 병태; (12) 스크리닝 전 5년 내에 혈액암, 고형 종양 및 상피내 암종을 포함하는 암의 병력; (13) 이전의 년도 내에 또는 스크리닝 시 자궁 경관 도말을 갖지 않은 여성 환자; (14) 장기 이식 또는 세포 이식의 병력; (15) 임의의 잠재적인 스캐닝 동안 독 위험일 수 있는 신체에서의 금속의 존재로 인해 자기 공명 영상화(MRI) 스캔이 불안정한 것으로 생각되는 환자.

[0347] **재료 및 방법**

[0348] 연구 치료

[0349] 에트롤리주맵은 피하(SC) 투여를 위해 150mg/ml의 에트롤리주맵을 함유하는 단일 사용 PFS로 제공될 것이다. 유도 단계에서의 용량 배정에 따라, 환자는 치료 스케줄에 따라 0.7ml의 에트롤리주맵(105mg 용량)을 함유하는 1ml의 PFS 또는 1.4ml의 에트롤리주맵(210mg 용량)을 함유하는 2.25ml의 PFS 중의 연구 약물을 받는다. 유도 단계에서 연구 약물 배정에 대한 맹검을 보존하도록, 0주, 4주, 8주 및 12주에 모든 환자는 2개의 주사를 받는다: 하나의 0.7ml 용량 및 두번째 1.4ml 용량, 및 어느 하나(연구 약물 암 중 하나인 경우) 또는 둘 다(위약 암 중 하나인 경우)는 위약을 함유할 것이다. 2주에, 모든 환자는, 저용량 에트롤리주맵 및 위약 암에서 환자를 위한 위약 및 고용량 에트롤리주맵 암에 대한 연구 약물을 함유하는, 하나의 1.4ml 용량 주사를 받을 것이다. 유지 단계에서, 환자는 치료 스케줄에 따라 에트롤리주맵 또는 위약을 함유하는 단일 0.7ml 용량(105mg 용량)을 받는다.

[0350] 위약의 경우, 조성은 에트롤리주맵의 존재 없이 활성 약물 제품과 정확히 동일하다.

[0351] 크론병 활성 평가

[0352] 각각의 환자에 대한, 진단 일자, 질환 중증도, 입원 및 스크리닝 시 장외 증상발현을 포함하는 CD의 상세한 병력이 수집될 것이다. 질환 중증도는 상기 기재된 바와 같은 CDAI, PRO2 및 SES-CD를 이용하여 평가될 것이다. CDAI에 대한 추가의 상세내용은 하기 표 1에 제공되고, SES-CD에 대한 추가의 상세내용은 하기 표 2에 제공된다. PRO2에 대한 추가의 상세내용은 하기와 같다.

[0353] 상기 및 문헌[Khanna et al., Aliment Pharmacol Ther 41:77-86, 2015, PRO2]에 기재된 바대로, PRO2는 2개의 환자 보고된 인자, 점액 또는 무른 대변의 빈도 및 복통을 평가한다. PRO2 점수는 7일 기간에 측정된 평균 빈도 및 통증 점수를 취하고, 기재된 가중에 의해 각각의 평균 점수를 곱하여(CDAI 점수[하기 표 1 참조])에 사용된 동일한 가중 및 함께 가중 평균을 합함) 계산된다. Khanna 등(*Id.*)은 150 미만의 CDAI 점수로 벤치마킹된, 임상 관해와의 가장 민감하고 특이적인 상관관계를 발생시킨, 점수의 각각의 성분에 대한 컷 포인트를 확인하였다. Khanna 등에 의해 정의된 최적 컷 포인트는 1.5 이하의 매일 배변 빈도, 1 이하의 복통을 의미한다. 문헌 [Gasink et al., [요약] ACG Annual Meeting 2014]에 공개된 결과에 기초하여, 본 발명자들은 Khanna 등(*Id.*)과 다른 평균 매일 배변 빈도의 컷 포인트를 정의하였고, 컷 포인트는 (Khanna 등(*Id.*)에서 정의된 1.5 이하와 비교하여) 중증도 내지는 중증의 CD 집단에서 점액/무른 대변의 임상 관해를 나타내는 3 미만이다. 복통에 대한 컷 포인트는 1 이하이다. 따라서, PRO2 점수로 정의된 관해는 11 이하이다(3의 배변 빈도 x 2의 CDAI 다중 인자 = 6 + [1 이하의 복통 x 5의 CDAI 다중 인자] ≤ 5; 2개의 점수의 조합은 11 이하를 발생시킴). 본 발명자들은 이 연구가 관해를 정의하기 위해 이 컷 포인트에 기초한 이 특정한 PRO2 점수의 전향적 연구에서 처음의 사용이라고 믿는다.

표 1

크론병 활성 지수(CDAI)

카테고리	계수	초기 전체	다중 인자	전체
점액 또는 매우 무른 대변의 수	점액 또는 매우 무른 대변의 7점 전체 점수 (연구 방문의 직전 7일에 보고됨)		× 2	
복통	3점 스케일로 매일의 복통 점수의 7점 전체: 0 = 무, 1 = 경증, 2 = 중증도, 3 = 중증 (연구 방문의 직전 7일에 보고됨)		× 5	
일반 웰빙	4점 스케일로 매일의 일반 웰빙의 7점 전체: 0 = 일반적으로 좋음, 1 = 약간 보통 이하, 2 = 나쁨, 3 = 매우 나쁨, 4 = 끔찍 (연구 방문의 직전 7일에 보고됨)		× 7	
크론병의 정의 증상발현	체크 박스의 전체 수 (적용되는 모두에 체크) <input type="checkbox"/> 관절염/관절통 <input type="checkbox"/> 홍채염/포도막염 <input type="checkbox"/> 결절성 홍반/괴저성 농피증/헛바늘 <input type="checkbox"/> 치열, 누공 또는 농양 <input type="checkbox"/> 다른 누공 <input type="checkbox"/> 이전 몇주 동안 37.8℃가 넘는 열		× 20	
설사에 대해 라모탈/이모디움/아편계	예 = 1 아니오 = 0		× 30	
복부 종괴	아니오 = 0 의심스러운 = 2 확실 = 5		× 10	
헤마토크리트(%) ^a	남성: 47로부터 값을 뺀 여성: 42로부터 값을 뺀		× 6	
체중 ^b	(1 - (체중 / 체중 표준)) × 100		× 1	
최종 점수				전체를 합함:

a 헤마토크리트 하위값이 0 미만인 경우, 0 입력
 b 체중 하위값이 -10 미만인 경우, -10 입력

문헌 [Best WR, Bectel JM, Singleton JW, Kern F, Jr. Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study. Gastroenterology 1976; 70 (3):439-44]로부터 적용됨

[0354]

표 2

SES-CD의 정의(Daperno et al., Gastrointest. Endosco. 60:606, 2004)

변수	크론병에 대한 단순 내시경술 점수 값			
	0	1	2	3
궤양의 크기	무	헛바늘 (Ø 0.1 내지 0.5cm)	큰 궤양 (Ø 0.5 내지 2cm)	매우 큰 궤양 (Ø > 2cm)
궤양이 있는 표면	무	<10%	10-30%	>30%
이환된 표면	비이환된 표면	<50%	50-75%	>75%
좁아짐의 존재	무	단일, 통과될 수 있음	다중, 통과될 수 있음	통과될 수 없음

Ø, 직경.

[0355]

[0356] 1차 및 중요한 2차 연구 중점에 대한 이유

- [0357] 연구는 CD에서의 적절한 치료학적 1차 결과 측정치에 대한 정부기관의 별개의 권고에 반응하여 별개의 EMA 및 FDA 주요 종점에 대한 데이터를 생성하도록 설계된다(GREAT2 Workshop 2013, 2013년 10월 21일-22일. great2.org. <http://www.fda.gov/drugs/newsevents/ucm362766.htm>으로부터 이용 가능). 이 접근법은 에트롤리주맙이 CD의 치료에서 전체 사용에 개발되게 한다. 150 이하의 CDAI 점수로 정의된 임상 관해는 EMA 및 세계 나머지(미국 외)에 대한 주요 종점 분석으로 사용될 것이다. 11 이하의 PRO2 점수로 정의된 징후 및 증상 관해는 FDA(미국)에 대한 주요 종점으로 사용될 것이다.
- [0358] CDAI는 환자에 대한 의사의 전체 CD 중증도 순위를 가장 잘 예측한 식을 생성하도록 다변수 회귀 분석을 이용하여 개발되었다(Best WR, et al., *Gastroenterology* 77:843-6, 1979). (구성 및 내용 검증의 면에서) 기구의 검증은 25년 기간에 걸쳐 다중 임상 실험 동안 전향적으로 수행되었고, 여기서 CDAI는 재현 가능하게 수행되고 변화에 반응성이다. 중증도 내지는 중증의 CD의 치료에 적응증이 있는 모든 라이선스 받은 생물물질 치료제의 치료 효능은 관해를 정의하기 위해 150 미만의 CDAI 점수에 기초하여 일관되게 평가되었다. 그러나, CDAI에 대한 불량한 기준 검증, CDAI와 염증의 내시경술 측정치 사이의 상관관계의 보고된 결여(CDAI가 활성 CD 및 자극성 장 증후군의 불량한 판별기로서 되게 할 수 있음) 및 높은 보고된 위약 비율(Korzenik et al., *N Engl J Med.* 352:2193-201, 2005; Sandborn WJ, et al., *N Engl J Med* 353:1912-25, 2005; Sandborn WJ, et al., *Ann Intern* 19:146:829-38, 2007, *Epub* 2007 Apr 30; Kim et al., *Gastroenterology* 146: (5 부록 1) S-368, 2014)에 대한 우려가 제기된다. 이 우려를 해소하기 위해, 현재의 연구 설계는 내시경술 평가에 의해 활성 염증을 가지는 환자의 질을 높인다. FDA 권고와 일치하게, CDAI는 환자가 대변 형태를 일관되게 포획하게 하는 위학 도구로서 브리스톨 대변 스케일과 함께 사용될 것이다(Lewis et al., *Scandinavian Journal of Gastroenterology Vol* 32(9): 920-924, 1997)(도 5). 이것은 CDAI의 투여에서 방법론적 변화를 평가하도록 수행된 조사에서 동이가 부족한 특정 구역인 것으로 보고되었다(Sands et al., *Inflammatory Bowel Disease* 11:133-8, 2005).
- [0359] CD의 치료를 위한 새로운 약제 제품의 개발에서 EMA 가이드라인에 일치하게, 미국 외 분석에 대한 1차 연구 목적은 유지 단계의 시작 시 관해에 있는 환자 중에서 1년(52주) 동안 CS 무 CDAI 관해를 유지하는 데 있어서 위약과 비교된 에트롤리주맙의 효능을 평가하는 것이다. 이 분석에 포함된 환자는 유도 단계에서 10주 및 14주 둘 다에서 150 미만의 CDAI 점수에 기초한 관해에서처럼 확증되었다. 적어도 52주 후, 및 CS 무 전체에 CDAI 관해의 유지의 결과는, 장기간 CS 사용이 체중 증가, 백내장, 고혈당증, 골다공증 및 증가한 감염의 위험과 같은 심각한 부작용과 연관된다는 것을 고려하여, 이전에 연구되지 않았지만 치료 성공의 임상적으로 의미 있는 측정치이다. 하위군 분석은 기준선에서 CS를 요하는 환자의 군에서 이 결과를 평가할 것이다. 52주 동안 CDAI 관해의 유지 및 24주 전 CS 무는 2차 결과로서 평가될 것이다.
- [0360] PRO2는 무른/점액 대변의 빈도 및 복통을 평가하는 PRO 측정치이다(Khanna et al., *Aliment Pharmacol. Ther.* 41:77-86, 2015). 이 항목은 CDAI로부터 도출되고 이에 따라 가중되고, 일반 웰빙과 함께, 대부분 CDAI에 의해 측정된 관찰된 임상 이익에 기여하는 CDAI 다이어리 카드 항목이다(Sandler et al., *J. Clin. Epidemiol* 41:451-8, 1988; Thia et al., *Inflamm Bowel Dis* 17:105-11, 2011; Kim et al., *Gastroenterology* 146: (5 부록 1) S-368, 2014). 11 이하의 관해 점수는 7일 기간에 평균 배변 빈도 및 통증 점수의 CDAI 가중 합이고, 이것은 II상 CERTIFI 연구에서 중증도 내지는 중증의 CD에 대한 우스테키누맙 유도 치료의 후향적 데이터 분석에서 CDAI 관해(150 미만의 점수)의 확인을 위해 최적 민감도 및 특이성을 생성하였다(Gasink et al., [요약] ACG Annual Meeting 2014). PRO2는 CDAI에 의해 측정된 활성 CD에서 MTX 치료의 후향적 데이터 분석에서 연속적 결과 측정치로서 사용될 때 민감성 및 반응성인 것으로 나타났고(Khanna et al., *Aliment Pharmacol. Ther.* 41:77-86, 2015); 치료 효과의 예측치는 일반 웰빙이 점수에서 통합될 때 개선되지 않았다.
- [0361] PRO2의 사용은 CDAI 관해와 상관된 무른/점액 배변 빈도 및 복통의 7일 점수를 사용한다. 또한, 복합 점수로서, PRO2는 근위 대 원위 질환 제시(여기서, 무른/점액 대변 및 복통은 이의 증상 기여에서 다를 수 있음)의 스펙트럼에 걸쳐 임상 관해를 측정할 수 있다. 복통에 대한 4점 서수 스케일의 사용은 이 점수가 CDAI로부터 직접적으로 도출되게 허용하고, 하나의 프로토콜에서 불균일 통증 점수의 고유 복잡성을 피한다.
- [0362] 기준선 점수로부터 50% 이상의 SES-CD 점수의 변화로 정의된 내시경술 개선(Ferrante M, et al., *Gastroenterology* 145:978-86, 2013)은 중요한 2차 종점이다. SES-CD는 5개의 회절장 분절에서 점수화된 4개의 내시경술 변수(퀘양, 퀘양이 생긴 표면, 염증이 생긴 표면 및 좁아짐의 존재)로 이루어진다. SES-CD는 문헌 [Daperno et al., *Gastrointest. Endosc.* 60(4):505-12, 2004]에 의해 (CDAI에 따라) 경증 내지 중증의 CD를 가지는 환자에서 전향적으로 개발되고 검증되었다. 이 스코어링 시스템은 FDA에 의해 추천되고, (퀘양 특징의 정성적 평가보다는) 퀘양 크기의 정량화, (가시적 아날로그 스케일에 의한 결정보다는) 분절에서의 퀘양의 백분

율의 결정 때문에, 및 더 우수한 평가자 간 신뢰도를 위해 의사에 의해 일반적으로 다른 측정치에 선호된다(종류 간 상관관계 계수는 각각 SES-CD 및 크론병의 중증도의 내시경술 지수에 대해 0.83 및 0.71임; Khanna et al., *Aliment Pharmacol. Ther.* 41:77-86, 2015). 점수가 가시적인 분절의 수에 대해 조정되지 않으므로, 기준선에서 가시화된 유일한 분절은 중점 평가에 포함될 것이다. 이것은 연구 치료가 2차 중점 분석을 위해 내시경술 개선을 달성하지 않은 것으로 환자에 자격을 준 후 분절이, 스코어링에 대해 평가 불가능하게 하는, 염증으로 인한 임의의 새로운 좁아짐을 의미한다. 유사하게, 연구 치료 후 분절이 스코어링에 대해 평가 가능하게 하는 염증의 임의의 개선은 중점 평가에 반영될 것이다. 통계 분석 계획은 중점에서 이 손실 데이터의 영향을 평가하도록 계획된 임의의 민감도 분석을 기술할 것이다. 일반적인 소화기내과 실행에서 내시경술 스코어링 시스템에 의한 제한된 경험을 고려하면, 연구에서의 모든 회결장경 검사는 조사 사이트에서 기록될 것이지만, 중앙 판독자는 SES-CD 점수를 결정할 것이다.

[0363] 공개된 연구는 임의로 정의된 것으로 보이는 효능을 평가하도록 다수의 내시경술 중점을 사용하였다. 점막 궤양의 부재 하에 정성적으로 정의된, 점막 치유는 다수의 IV상 연구에서 1차 또는 2차 중점으로 연구되었다 (Rutgeerts P, et al., *Gastro* 126:1593-610, 2004 [나탈리주맵]; Rutgeerts P, et al., *Gastrointest Endosc* 63:433-42, 2006 [인플릭시맵]; Colombel JF, Sandborn WJ, Reinisch W, et al. *Infliximab, azathioprine, or combination therapy for Crohn's disease.* et al., *N Engl J Med* 362:1383-95, 2010 [인플릭시맵 및 아자티오프린]; Hebuterne et al., *Gut* 62:201-8, 2013 [세르톨리주맵]; Rutgeerts P, et al., *Gastroenterology* 142(5):1047-9, 2012 [아달리무맵]). 몇몇 연구는 이 점수의 임상 유의도에 대한 명확성 없이 내시경술 관해를 나타내는 내시경술 한계치를 정의하였다(Hebuterne et al., *Id.* [세르톨리주맵]; Rutgeerts et al., *Id.* 2012 [아달리무맵]). 이 연구에서, 내시경술 개선은 예비치료 기준선 점수에 대해 SES-CD 점수의 50% 이상의 감소를 나타낸 환자의 비율로서 정의된다. 14주에 임상 반응을 달성한 환자 중에서, 이 중점은 유도를 위해 14주 그리고 유지를 위해 66주에 측정될 것이다. 중점은 생물물질 치료제에 의한 치료의 50주 후 CS 무 CDAI 관해를 예측하는 SES-CD 점수의 50% 이상의 감소로 결정된 SONIC 실험의 최근의 사후 분석에 기초한다(Ferrante, *Id.*, 2013). 이 정의는, 신규한 생물물질의 2개 중 1개의 실험에 참여한 24명의 위약 환자(중증도 내지는 중증의 활성 CD)의 샘플에서 측정된 6주 유도 단계의 종료 시 SES-CD 점수 변화의 큰 변동을 또한 고려할 때, 적절하다 (Ferrante et al. *Gastroenterology* 138, Issue 5, 부록 1, S-358, 2010). 데이터세트는 6명의 환자는 SES-CD 또는 CDEIS 점수의 둘 다의 50% 감소, 및 CDEIS 또는 SES-CD 점수의 적어도 5점 감소를 달성한다는 것을 보여준다.

[0364] **환자 집단에 대한 이유**

[0365] 조절되지 않는 중증도 내지는 중증의 활성 CD를 가지는 환자는 염증의 협착 또는 침투 합병증, 및 삶의 질을 나쁘게 하는 증상을 발생시킬 위험에 있다. CD에 대한 치료 목적은 증상 개선을 유도하고 유지하고, 점막 치유를 유도하고, 삶의 질을 개선하는 것이다. 그러나, 유의미한 비율의 환자의 경우, 이 목적은 현재의 치료에 의해 충족되지 않았다(섹션 **오류! 참고문헌 소스가 발견되지 않음.** 참조). 그러므로, 연구 집단은 종래의 치료제(IS 및/또는 CS) 또는 항-TNF 저해제에 의한 임상 관해를 달성하거나 유지하지 않는 환자를 포함할 것이다. 궤양성 결장염에서의 에트롤리주맵의 이전의 연구(Rutgeerts, PJ et al., *Gut* 62:1122-1130, 2013; Vermeire et al., *Lancet* 384:309-18, 2014) 및 베돌리주맵 GEMINI 2 및 3 연구(Sandborn WJ, et al., *Aliment Pharmacol Ther* 37:204-13, 2013; Sands BE, et al., *Gastroenterology* 147:618-27, 2014)로부터의 데이터는 이 환자 하위군에서 항- $\alpha 4\beta 7$ 작용 기전의 양호한 효능을 입증하였다. 각각의 하위군에 속하는 환자는 본 명세서에 기재된 난치성 및 부적절한-반응 기준에 기초하여 확인될 것이다.

[0366] 18세 내지 80세의 중증도 내지는 중증의 활성 CD를 가지는 환자를 연구할 것이다. 이 연령 범위는 CD에 대한 새로운 조사 물질의 임상 실험에 등록된 환자에 통상적이고, 성인 CD가 어떤 연령에 중증도 내지는 중증의 활성 질환으로서 되거나 지속할 수 있는지의 관찰을 반영한다. 에트롤리주맵에 대한 1차 청소 기전이 신장 제거와 1차 통과 대사가 아니라는 것을 고려하면, 65세 초과와 환자의에서의 축적의 위험은 낮은 것으로 생각되고, 불량한 신장 및 간 기능과 관련된 실험실 배제에 의해 또한 완화된다.

[0367] EMA 가이드라인과 일치하게, 적격 환자는 적어도 3개월 동안 CD의 진단을 확립해야 하고, 중증도 내지는 중증의 활성 질환은 염증의 내시경술에 의해 확증된다. 이것은 CDAI 및 PRO2 평가의 개선된 특이성을 허용하고, 또한 내시경술 개선 중점의 평가를 허용할 것이다. SES-CD 점수의 구성에 기초하여, 단리 회장염 또는 회맹부 후절제를 가지는 환자는, 염증 및 궤양의 정도가 이환된 분절에서 동일한지와 무관하게, 회결장 질환을 가지는 환자와 비교하여 더 낮은 기준선 점수를 가지는 것으로 예상될 수 있다. 그러므로, 상이한 SES-CD 목록 점수는 환자의

이 하위군에 제안되어 있다.

[0368] **유도 및 유지 단계의 설계에 대한 이유**

[0369] EMA 가이드라인과 일치하게, 유지 단계로의 무작위화는 330 이하 또는 330 초과 CDAI 점수에 의한 질환 활성화 (생물물질 치료에 의한 CDAI 반응 및 관해율을 예측; Sandborn WJ, et al., *Aliment Pharmacol Ther* 37:204-13, 2013; Sands BE, et al., *Gastroenterology* 147:618-27, 2014), CS 사용, IS 사용 및 이전의 항-TNF 실패 (질환 활성의 모든 표시자)에 의해 계층화될 것이다. 이 인자는 치료 암에 걸친 질환 중증도의 불균형의 위험을 완화하기에 충분한 것으로 생각된다.

[0370] 14주에 임상 관해의 유도 및 내시경술 개선의 평가는 항인테그린 치료제가 항-TNF 치료제와 비교하여 더 느린 작용 발생을 가진다는 관찰(Sandborn WJ, et al., *N Engl J Med* 353:1912-25, 2005; Sandborn WJ, et al., *Aliment Pharmacol Ther* 37:204-13, 2013), 및 내시경술 개선의 발생이 특히 치료 난치성 환자에서 유도 치료 후 16-24주에 통상적으로 관찰된다는 임상 의견(에트롤리주맵에 의한 메이요 임상 점수(Mayo Clinic Score) 관해가 UC를 가지는 TNF-IR 환자에서 14주까지 발생한다는 것을 보여주는 관찰된 데이터에 의해 지원된 의견)(문헌[Vermeire et al., *Lancet* 384:309-18, 2014] 참조)에 기초하여 정당화된다. 14주 유도 단계의 도전은 중점 분석을 혼동시키지 않도록 공존 CD 치료제를 기간 동안 안정하게 유지시키는 요건이다. 발적을 치료하기 위해 구조 치료를 요하는 환자 및 치료에 반응하지만 CS 용량을 감량할 수 없는 환자의 맥락에서 이것은 문제가 된다. 연구 설계는 질환 악화의 경우에 구조 치료의 사용을 허용하고(이 경우에 환자는 1차 분석에 대한 비반응자로서 분류됨), 최대 기준선 CS를 20mg/일 이하의 프레드니손 동등 용량으로 제한함으로써 이를 해소한다. 치료학적 조정이 금지되지 않았지만, 지사제 약물의 용량의 증가가 피해야 한다. 환자는 지사제 약제의 용량을 가능한 더 안정하게 유지시켜야 한다. 지사제 약제의 사용은 CDAI에 대한 위약 반응율과 비교하여 PRO2에 대한 불균등하게 높은 위약 반응율을 생성하는 것으로 보이지 않았다. 이 결과는, PRO2 또는 CDAI에 의해 측정될 때, MTX 및 위약에 대한 유사한 관해율을 검출한, 경증 내지는 보통의 활성 CD에서 MTX의 무작위화 조절된 실험으로부터 후향적 데이터의 사용에 의해 PRO2의 민감도 분석에서 관찰되었다(Khanna et al., *Aliment Pharmacol Ther.* 41:77-86, 2015). 중증도 내지는 중증의 활성 집단에서 PRO2에 대한 위약 반응율에 대한 지사제 약제의 감량의 영향은 그러나 공지되어 있지 않다.

[0371] PRO2 관해 및 내시경술 개선이 CD에 대한 새로운 치료학적 결과 측정치를 한정하도록 FDA의 접근법을 통합하지만, CDAI는 CD에 대한 유일한 전향적으로 검증된 중점이다. 이러한 이유, 및 중추 유도 코호트(코호트 3)를 위해, 유도 단계는 새로운 중점에 대한 통계 계획 추정치의 정확성 및 효과 크기, 이항 중점 정의의 임상 검증, 및 중점의 시험 체계를 평가하도록 적절히 크기화된 탐색적 코호트(코호트 1)를 포함한다. 활성 치료 유도 코호트(코호트 2)는 관해의 유지의 통계적으로 검정력 있는 평가에 대해 암당 대략 160명의 임상 관해자를 생성하도록 이 연구에 또한 포함된다. 최종 코호트(코호트 3)는 유도 연구의 중점 분석을 위해 데이터를 생성하는 중추 유도 코호트이다.

[0372] EMA 가이드라인에 따라, 유지 단계에서의 관해의 유지는 10주 및 14주 둘 다에서 CDAI 관해에서의 환자의 비율을 평가하는 2차 중점에 의해 확인될 것이다. 구조 치료 사용 없이 14주에 CDAI-70 반응을 달성한 환자는 유지 단계로 재무작위화될 것이다. PRO2 관해 및 내시경술 개선을 달성한 환자는 이 그룹 내에 하위집단인 것으로 가정된다. 유지 단계로의 무작위화는 질환 활성의 사용에 의해 계층화될 것이다(330 이하 또는 330 초과 CDAI 대신에 10주 및 14주 둘 다에서 CDAI-관해(150 미만의 점수)가 사용된다는 것을 제외하고는, 유도 단계에 대해 기재됨). 또한, 무작위화는 저용량 또는 고용량 에트롤리주맵에 대한 배정으로서 계층화될 것이다(유지 중점에서 저용량 또는 고용량 유도 치료의 영향의 평가를 허용). 많은 수의 계층을 고려하면, 14주에 내시경술 개선자의 비율의 임의의 잠재적인 불균형은 66주 내시경술 개선 중점에 대한 공변량 조정된 분석을 이용하여 취급될 것이다.

[0373] 유지 단계의 기간(60주)은 임상 관해의 유지를 확립하도록 FDA 및 EMA에 의해 적절한 기간으로 생각된다. 유지 단계의 처음의 8주 동안, 유도 단계 동안 CS를 받은 환자는 현재의 미국 소화기 학회(American College of Gastroenterology) 및 유럽 크론병 및 결장염 위원회(European Crohn's and Colitis Organization) 가이드라인에서 CS 감량에 관한 권고에 따라 그리고 신속한 감량을 피하라는 EMA 권고에 따라 주마다의 용량 감소를 겪을 것이다. 감량 스케줄은 10주 및 14주에 CDAI 관해를 달성한 환자 중에서 적어도 52주 후, 및 CS 무 전체에 CDAI 관해의 유지의 미국 외 1차 결과에 대해 환자가 평가되게 한다.

[0374] **에트롤리주맵 용량, 용량 범위 및 스케줄에 대한 이유**

[0375] 에트롤리주맵이 II상 연구(여기서, 질환 관해의 임상적으로 의미 있는 유도는 유의미한 안전성 우려 없이 4주마다(Q4W)(0주, 4주 및 8주에 3개의 용량) 투여된 105mg(0.7ml의 150mg/ml 에트롤리주맵 제제의 공칭 용량) 및 315mg Q4W + 로딩 용량(LD[0주에 420mg, 2주, 4주 및 8주에 315mg의 LD])에서 달성됨)에서 중증도 내지는 중증의 활성 UC를 가지는 환자에서 평가되므로(Vermeire et al., Lancet 384:309-18, 2014), 에트롤리주맵의 용량 섭생(105mg SC Q4W)은 이 연구에서 시험되는 용량 중 하나로서 또한 제안된다. 또한, 유도 단계에서, 환자는 위약, 저용량 에트롤리주맵 또는 고용량 에트롤리주맵으로 무작위화될 것이다.

[0376] 저용량 에트롤리주맵(105mg)은 Q4W SC(0주, 4주, 8주 및 12주) 투여될 것이다. Q4W에서 105mg SC의 저용량 섭생은 하기 고려사항에 기초하여 유도 단계에서 용량 범위에 대해 기재된다: (1) II상 UC 실험에서, 100mg의 공칭 용량(바이알 및 주사기를 통한 0.7ml의 150mg/ml 용액), 105mg의 실제 용량, 투여된 Q4W SC는 UC를 가지는 환자에서 임상적으로 의미 있는 관해의 유도를 나타내고, II상 실험에서 양호한 안전성 프로필을 가졌다(Vermeire et al., Lancet 384:309-18, 2014); (2) 105mg의 노출, 투여된 Q4W SC는 II상 실험에서 평가 가능한 샘플을 제공한 모든 환자로부터 혈액 및 결장 조직 둘 다에서 최대 β7-수용체 점유에 충분한 것으로 밝혀졌다, *Id.*, (3) 집단 PK/PD 모델링은 105mg SC Q4W 섭생(예를 들어, 50mg Q4W SC)보다 낮은 용량이 환자의 대략 44%에서 Q4W 투약 간격 동안 최대 β7-수용체 점유를 소실시킬 것이고, 노출이 비선형 PK 범위일 것이라는 것을 예측한다.

[0377] 105mg Q4W 용량 이외에, 0주, 2주, 4주, 8주 및 12주에 210mg SC의 더 높은 용량 섭생은 하기 고려사항에 기초하여 유도 단계에서 용량 범위에 기재된다: (1) 발병의 유사성에도 불구하고, CD는 UC와 비교될 때 GI 관에 걸쳐 더 복잡한 해부학적 질환 제시(즉, 경벽성 염증, 고르지 못한 분포 및 협착)를 나타낸다. 양성 노출-반응 관계식은 CD를 가지는 환자에서 III상 임상 실험의 유도 단계 후 베톨리주맵, 인클래스, 항인테그린 항체에 대해 최근에 보고되었다. 결과는 유도 용량이 모든 환자에서 완전한 수용체 점유에 도달하기에 충분하다는 것을 보여 주었지만(Rosario M, et al., (요약) Crohn's and Colitis Foundation of America, Advances in Inflammatory Bowel Diseases, Abstract P-140, 2013), 임상 반응/관해의 증가는 더 높은 약물 농도를 가지는 환자에서 관찰되었다(Sandborn WJ, et al., Aliment Pharmacol Ther 37:204-13, 2013; Rosario M, et al., (요약), European Crohn's and Colitis Organisation Congress, abstract P489, 2014). 베톨리주맵 연구로부터의 이 관찰은 더 높은 에트롤리주맵 노출이 이 환자 집단에서 더 큰 임상 이익을 제공할 가능성을 가질 수 있다는 것을 제안하고; (2) 210mg의 Q4W 용량 이외에, 2주에 추가의 210mg 용량은 에트롤리주맵 노출 최전방을 로딩하도록 의도되어서, 노출이 정상 상태를 더 빨리 달성하게 허용한다. 항-TNF 물질 또는 항인테그린 항체의 더 이른 로딩 용량(Rutgeerts P, et al., Gastro 126:1593-610, 2004)은 임상 관해를 유도하는 데 있어서 효과적인 것으로 밝혀졌고, 이러한 로딩 용량 전략은 이 연구에서 또한 실행되었다; (3) CD를 가지는 환자에서 (0주, 2주, 4주, 8주 및 12주에) 210mg x 5 용량 SC의 제안된 더 높은 용량은 105mg Q4W x 4 용량 섭생으로부터 2.5배 전체 용량 분리를 발생시킬 것이고, 허용 가능한 안전성/관용성 프로필을 가지는 UC II상 실험에서 연구된 315mg + 420mg LD 코호트로부터의 것보다 30% 낮은 노출 수준을 달성하는 것으로 예상된다(상기 참조). 요약하면, 에트롤리주맵 UC II상 연구에서 공칭 100mg Q4W 코호트(실제 용량 105mg)에서 관찰된 양호한 안전성 프로필 및 양성 임상 결과를 고려하면, CD 유도 치료에 대해 105mg Q4W 용량을 평가하는 것이 적절하다. 또한, CD의 복잡한 병리생리학, 혈액 중의 완전 수용체 포화에도 불구하고, 베톨리주맵 치료에 대한 관찰된 양성 노출-효능 관계식, 에트롤리주맵의 이용 가능한 안전성 커버리지 및 허용 가능한 안전성 프로필을 고려하면, 유도 단계 동안 CD를 가지는 환자에서 용량-반응 관계식을 추가로 이해하도록 210mg의 더 높은 용량 섭생을 평가하는 것(0주, 2주, 4주, 8주 및 12주)이 과학적으로 합당한다.

[0378] **유지 용량 섭생에 대한 이유**

[0379] 유도 단계에서 에트롤리주맵 치료에 반응한 환자(CDAI 기준선 점수로부터 적어도 70점의 감소를 달성, "CDAI-70 반응")는 유지 단계에서 105mg 에트롤리주맵 또는 위약 Q4W를 받도록 재무작위화될 것이고; 유도 단계에서 위약에 반응한 환자는 유지 단계에서 계속해서 위약을 받을 것이다. Q4W에서 105mg SC의 저용량 섭생은 하기 고려사항에 기초하여 유지 단계에 규정된다: (1) CD에서의 III상 연구에 계획된 105mg Q4W SC 용량은 85% 초과환자에서 모든 시간에 완전 β7-수용체 점유를 유지하는 것으로 (집단 모델링에 의해) 기대된다. UC II상 연구에서 투여된 100mg Q4W SC(105mg 실제 용량)의 공칭 용량은 허용 가능한 안전성 프로필을 나타냈다(상기 참조); (2) 인클래스 항인테그린 베톨리주맵은 최대 수용체 점유를 유지하기에 충분한 평균 정상 상태 트로프 혈청 농도를 제공한 8주마다의 섭생에 의해 관해를 유지하는 데 있어서 성공적이었다(Rosario M, et al., (요약) Crohn's and Colitis Foundation of America, Advances in Inflammatory Bowel Diseases, Abstract P-140, 2013; Sandborn WJ, et al., Aliment Pharmacol Ther 37:204-13, 2013).

[0380] **환자 보고된 결과 평가**

[0381] PRO(IBDQ, CD-PRO/SS, EQ-5D, PRO2 및 무른 배변 빈도, 복통 및 CDAI의 일반 웰빙 성분)는 에트롤리주맙의 환자 보고된 임상 프로필을 규명하는 것을 돕도록 수집될 것이다. 기구는 국소 언어로 필요한 바대로 번역될 것이다. PRO 데이터는 전자 PRO(ePRO) 장치(즉, e-다이어리 및 태블릿)의 사용에 의해 전자로 수집된다. 조사자 직원은 클리닉의 밖에서 완료할 것을 요하는 이 PRO에 대해 전자적으로 PRO 설문을 완료하기 위해 e-다이어리 및 지시를 환자에게 제공할 것이다. 환자는 스크리닝 동안 또는 연구 동안 임의의 시간에 e-다이어리의 사용에 관한 어떤 질문을 가지는 경우 즉시 사이트에 접속하도록 또한 지시될 것이다. 예를 들어, PRO가 클리닉에서 완료될 때, 환자는 태블릿에서 작성할 것이다. 각각의 클리닉 방문에서 환자에 의한 이전의 연구 방문 이후로 환자에 의해 포획된 전자 데이터를 참조한다. ePRO 데이터는 방문 시 수집되고 평가된다. 스크리닝 동안, 환자는 e-다이어리에 대한 질문을 어떻게 적절하게 사용하고 완료할지에 대해 지시될 것이다. CD의 징후 및 증상, 구체적으로 점액 또는 무른 대변의 수, 복통 및 일반 웰빙은 스크리닝 기간을 포함하는 연구에 걸쳐 매일 기록되어야 한다. 기구 검증 및 데이터 표준이 건강 정부기관(Health Authority) 요건을 충족하는지를 보장하도록, 사이트에서 완료된 PRO(IBDQ 및 EQ-5D)는 다른 비-PRO 평가의 완료 전에 및 그 방문 동안 환자가 임의의 질환 상태 정보 또는 연구 약물을 받기 전에 조사 사이트에서 투여되어야 한다.

[0382] 상기 기재된 바대로, CDAI는 CD를 가지는 환자의 징후 및 증상을 정량화한다(표 1). CDAI는 8개의 인자로 이루어지고; 각각의 인자는 가중 인자에 의한 조정 후 합계된다(표 1). CDAI의 성분은 점액 또는 무른 대변의 수, 복통, 일반 웰빙, 합병증의 존재, 설사에 대한 로미틸 또는 다른 아편제의 사용, 복부 종괴의 존재, 헤마토크리트 및 표준 중량으로부터의 편차 백분율을 포함한다. 환자는 매일 기준으로 e-다이어리에서 이의 복통 중증도, 무른 배변 빈도 및 일반 웰빙을 보고한다. 브리스톨 대변 스케일은 무른 대변을 결정하기 위한 참고로서 환자에게 제공된다(도 5). 회결장내시경술 제제는 다른 임상 매개변수의 평가를 방해할 수 있으므로, 완전한 CDAI를 계산하기 위해 사용된 e-다이어리 목록은 장 정결의 일자(들), 내시경술 또는 내시경술 후의 일자에 상응하지 않아야 한다.

[0383] 상기 기재된 바대로, PRO2는 2개의 환자 보고된 인자를 평가한다: 점액 또는 무른 대변의 빈도 및 복통. 점수는 7일 기간에 평균 빈도 및 통증 점수의 CDAI 가중 합계를 이용하여 계산된다. 환자는 매일 기준으로 e-다이어리에서 이의 무른 배변 빈도(브리스톨 대변 스케일[도 5]이 제공될 것임) 및 복통 중증도를 보고한다. CDAI에서처럼, PRO2 점수는 회결장내시경술과 관련한 방해물을 피하기 위해 장 정결의 일자(들), 내시경술 또는 내시경술 후의 일자에 상응하는 e-다이어리 목록을 사용하지 않아야 한다.

[0384] CD-PRO/SS 측정치는 환자 보고된 CD 징후 및 증상을 평가하도록 이용될 것이다. 14항목 설문(일부 질의는 중증도/빈도에 관한 보충 질의를 함유함)은 2개의 도메인을 함유한다: CD 징후 및 증상, 및 전신 증상. CD-PRO/SS는 CD 징후 및 증상의 존재, 및 몇몇 경우에, 증상의 중증도 또는 빈도를 평가한다. CD-PRO/SS 측정치는 24시간의 리콜 사양을 가진다. 환자는 0주에 시작하여 및 이후 전체 연구에 걸쳐 각각의 클리닉 또는 전화 방문 전에 연속 9일 동안 e-다이어리에서 CD-PRO/SS를 완료한다.

[0385] IBDQ는 환자의 건강 관련 삶의 질을 평가한다(HRQOL; Guyatt G, et al., J Clin Epidemiol 42(5):403-408, 1989; Irvine EJ, J Pediatr Gastroenterol Nutr 28:S23-7, 1999). 32항목 설문은 4개의 도메인을 함유한다: 장 증상(10항목), 전신 증상(5항목), 감정 기능(12항목) 및 사회 기능(5항목). 항목은 7점 Likert 스케일에서 점수 매겨지고, 더 높은 점수는 더 우수한 HRQOL을 나타낸다. IBDQ는 2주의 리콜 사양을 가진다. 환자는 기준선, 다른 비-PRO 평가의 완료 전 0주, 14주, 44주 및 74주에 및 그 방문 동안 환자가 임의의 질환 상태 정보 또는 연구 약물을 받기 전에 조사 사이트에서 태블릿에서 IBDQ를 완료한다.

[0386] EuroQol 5차원 설문(EuroQol Five Dimension Questionnaire; EQ-5D)은 건강 상태에 대한 단일 지수 값을 제공하는 일반 선호도 기반 HRQOL이다(Rabin R, et al., Enn Med 33:337-43, 2001). 이 도구는 환자의 건강 상태의 혼합양식을 구축하도록 사용된 이동, 자기 관리, 일반 활성, 통증/불편, 및 불안/우울에 대한 질문을 포함한다. 환자는 다른 비-PRO 평가의 완료 전 0주, 14주, 44주 및 74주(또는 조기 중단 방문)에 및 그 방문 동안 환자가 임의의 질환 상태 정보 또는 연구 약물을 받기 전에 조사 사이트에서 태블릿에서 EQ-5D를 완료한다.

[0387] **통계 고려 및 분석 계획**

[0388] 유도 단계를 위해, 전체 대략 1250명의 환자는 3개 중 1개의 유도 코호트로 무작위화될 것이다. 각각의 코호트의 샘플 크기는 표 3에 요약되어 있고 하기 기재되어 있다.

표 3

각각의 코호트에 대한 유도 단계 샘플 크기

코호트	환자의 수			
	총	위약	저용량(105mg)	고용량(210mg)
탐색적 유도 코호트 (코호트 1)	약 300	약 60	약 120	약 120
활성 치료 유도 코호트 (코호트 2)	약 350	NA	약 175	약 175
중추 유도 코호트 (코호트 3)	약 600	약 150	약 225	약 225

NA = 적용 불가

[0389]

[0390]

코호트 1에 대한 샘플 크기(표 3 참조)는 각각의 에트롤리주맙과 위약 사이의 PRO2 또는 CDAI 관해율의 20% 이상의 차이를 검출하는 대략 90%의 검정력(CD를 가지는 환자에서의 베돌리주맙의 GEMINI 2 실험에 보고된 결과와 유사한, 15% 이하의 위약 관해율의 가정 하에; Sandborn WJ, et al., Aliment Pharmacol Ther 37:204-13, 2013) 및 내시경술 반응(10% 이하의 위약 반응률의 가정 하에) 및 0.1 유의도 수준에서의 2측 카이 자승 시험에서 위약에 대한 15%의 차이를 검출하는 대략 80%의 검정력을 제공한다.

[0391]

코호트 3에 대한 샘플 크기는 15% 이하의 위약 관해율 및 0.025 유의도 수준에서의 2측 χ^2 시험의 가정 하에 각각의 에트롤리주맙 암과 위약 사이의 PRO2 또는 CDAI 관해율의 15% 이상의 차이를 검출하는 85% 이상의 검정력을 또한 제공하는 것으로 예상된다(표 4 참조).

[0392]

또한, 이 샘플 크기는, 10% 이하의 위약 반응률 및 0.025 유의도 수준에서의 2측 카이 자승 시험의 가정 하에, 내시경술 개선의 중요한 2차 종점에 대해 위약에 대해 15%의 차이를 검출하는 90% 이상의 검정력을 또한 제공할 것이다. 14주에서의 위약 반응률이 10%라는 가정 하에, 위약에 대해 15% 이상의 차이(10% 대 25%)를 검출하는 검정력은 0.025 유의도 수준에서 93%인 것으로 예측된다(표 4 참조).

[0393]

코호트 2는 충분한 환자 유지 단계를 위해 분석을 제공하도록 크기화된다. 추가의 환자는, 모든 유도 코호트(1, 2 및 3)에 걸쳐 14주에 PRO2 관해에서 대략 326명 환자의 표적 수를 달성하도록, 필요한 바대로, 코호트 2로 무작위화될 수 있다.

표 4

중추 유도 단계 및 유지 단계에서 1차 및 중요한 2차 효능 분석에 대한 검정력 예측치.

연구	중점	검정력	추정된 반응률	그룹마다의 샘플 크기
유도	PRO2 또는 CDAI	87% ^a	위약 = 15%	위약 = 150
	관해		에트롤리주맙 = 30%	에트롤리주맙 = 225
	내시경술 개선	80% ^a	위약 = 5%	위약 = 150
			에트롤리주맙 = 15%	에트롤리주맙 = 225
유지	PRO2 관해	80% ^b	위약 = 30% 이하	163
			에트롤리주맙 = 45%	
	52 주 후 CS 무	80% ^b	위약 = 10%	100
	CDAI 관해		에트롤리주맙 = 25%	
	내시경술 개선	94% ^b	위약 = 30% 이하	260
			에트롤리주맙 = 45%	

CDAI = 크론병 활성 지수; PRO2 = 환자 보고된 결과 2 점수.

^a I 형 오류, $\alpha = 2.5\%$.

^b I 형 오류, $\alpha = 5.0\%$.

[0394]

[0395]

유지 단계를 위해, 주요 중점은 유지 단계를 위해 14주에 PRO2 관해(FDA 오직)에서의 에트롤리주맙 환자 중에서 66주에 PRO2 관해, 및 10주 및 14주 둘 다에 CDAI 관해를 달성한 환자 중에서, 적어도 52주 동안 스테로이드 휴약이면서, 유지 치료의 적어도 52주 후 CS 무 CDAI 관해이다. 14주 관해자 중에서 30% 이하의 위약 PRO2 66주 관해율을 가정하여, 14주에 PRO2 관해인 전체 대략 326명의 에트롤리주맙 환자는 0.05 유의도 수준에서 2측 카이 자승 시험을 이용하여 15% 치료 차이를 검출하는 대략 80% 이상의 검정력을 제공할 것이다. 14주에서의 PRO2 관해율이 적어도 31%인 경우, 이 샘플 크기는 1040명의 계획된 수의 에트롤리주맙 유도 환자에 의해 달성되는 것으로 예상된다. 14주에서의 PRO2 관해율이 CDAI 관해와 비교하여 유사한 또는 더 높은 관해율을 가정하여 적어도 30%일 것으로 계획된다.

[0396]

10% 이하의 CS 무 CDAI 관해 유지 주요 중점에 대한 위약 관해율을 가정하여, 10주 및 14주에 CDAI 관해에서의 전체 대략 200명의 환자는 0.05 유의도 수준에서 2측 카이 자승 시험을 이용하여 15% 치료 차이를 검출하는 대략 80% 이상의 검정력을 제공할 것이다. 에트롤리주맙에 의한 10주 및 14주에 CDAI 관해율이 적어도 20%라는 것을 가정하여, 이 샘플 크기는 계획된 수의 에트롤리주맙 유도 환자(n = 1040)에 의해 달성되는 것으로 예상된다.

[0397]

유도 단계에서 에트롤리주맙에 의해 치료된 환자(코호트 1, 2 및 3) 중 적어도 50%가 14주에 CDAI-70 반응을 달성한다는 가정 하에, 전체 대략 520명의 환자(암담 대략 260명)는 중추 유지 코호트로 재무작위화될 것이다. 이 샘플 크기는 0.05 유의도 수준에서 2차 내시경술 개선 시험에 대해 위약에 대해 15% 이상의 차이를 검출하는 대략 95%의 검정력을 또한 제공할 것이다(표 4 참조).

[0398]

효능 분석

[0399]

통계 분석의 목적을 위해, 유도 및 유지 단계는 독립 연구로서 치료될 것이다. 손실 데이터로 인해 특정 시점에 효능에 평가 불가능한 환자는 모든 분류학적 중점에 대해 비반응자로 생각될 것이다. 또한, 허용된 구제 약제를 요하고/요하거나, CD의 악화에 대한 임의의 CS 증가의 2주 내에 스테로이드 감량 섭생 및/또는 CD에 대한 수술

중재를 재개시하지 않고/않거나, 금지된 약제(예를 들어, 항인테그린, T 또는 B 세포 고갈제, TNF 길항제, 항대사물질, 사이클로스포린, 타크롤리무스 및 14주 후, 면역억제제 약제, 예컨대 AZA, 6-MP 및 MTX)를 받은 환자는 분석에 대해 비반응자로 생각될 것이다. 하기 분석은 주요 효능 종점 및 중요한 2차 효능 종점에 대해 수행될 것이다: (1) 미리 기재된 하위군에 걸친 결과의 일관성을 평가하기 위한 하위군 분석(기준선 항-TNF-상태[미경험 대 IR], 기준선 CS 상태[CS 섭취 대 CS 비섭취], 기준선 IS 상태[IS 섭취 대 IS] 비섭취, 연령, 성별, 인종/민족성 등 포함) 및 (2) 1차 분석 방법에 대한 결과의 강인함을 평가하기 위한 민감도 분석(예를 들어, 탈락의 취급).

[0400] 유도 단계

[0401] 유도 단계를 위해 효능 분석은 각각의 코호트에 대해 별도로 수행될 것이고, 무작위화되고 연구의 적어도 하나의 용량을 받는 모든 환자(변형 치료 의향 집단[mITT])를 포함할 것이다. 환자는 무작위화 시 배정된 치료에 따라 그룹화될 것이다.

[0402] 코호트 1: 종점의 탐색적 분석은 코호트 1(n = 300)에서의 모든 환자가 14주 방문을 완료한 때 또는 완료하지 않은 경우 연구를 중단한 때 일어날 것이다. 이때, 스폰서는 코호트 1에서 개체 치료 배정에 비맹검일 것이다. 환자, 사이트 모니터 및 조사자는 환자 특이적 치료 배정에 맹검인 채 있을 것이다.

[0403] 이 탐색적 분석은 필요한 바대로 중추 코호트 3에 대한 분석 계획을 통지하고, PRO2 및 SES-CD 종점 정의의 통계 추정치를 평가하고, 통계 방법론을 개선하는 것이다. 코호트 1의 탐색적 분석은 코호트 2 또는 3의 연구 설계/수행, 또는 유지 연구를 통지하도록 의도되지 않고; 이것은 따라서 코호트 2가 등록하면서 수행될 것이다.

[0404] 주요 효능 평가는, 0.10 유의도 수준에서 무작위화 시 사용된 계층화 인자에 따른 계층화에 의해, Cochran-Mantel-Haenszel(CMH) 시험을 이용하여 각각의 에트롤리주맙 용량 암 대 위약에서 14주에 각각 CDAI 관해 및 PRO2 관해를 달성한 환자의 비율의 차이에 대해 시험할 것이다. 절대 치료 차이는 90% 2측 CI 예측치에 따라 제공될 것이다.

[0405] 모든 분류학적 2차 종점은 주요 종점과 동일한 방법론을 이용하여 분석될 것이다.

[0406] 연속 종점은 무작위화 시 사용된 계층화 변수 및 공변량으로서 연구된 측정치의 기준선 값을 가지는 ANCOVA 모델을 이용하여 분석될 것이다.

[0407] 연속 종점의 요약 통계는 절대 변화 및 원값에 대해 각각의 치료 암에 대해 계산될 것이다. 평균, SD, 중앙치 및 아래 및 위 사분위수 및 최소 및 최대가 기록될 것이다. 기준선으로부터의 변화를 포함하는 모든 요약에 대해, 기준선 값이 없는 환자는 분석으로부터 배제될 것이다. 95% CI 이외에, 2측 p-값은 모든 2차 효능 종점에 대해 기록될 것이다. 다중도에 대한 조정이 이루어지지 않을 것이다.

[0408] 코호트 2: 코호트 2는 유지 연구에 필요한 샘플 크기를 달성하도록 돕는 "피더(feeder)" 코호트로 생각된다. 모든 1차 및 2차 효능 매개변수는 각각의 치료 암에 대해 서술적으로 요약될 것이다. 인구학적 및 기준선 특징, 예컨대 연령, 성별, 인종, 지역, 코티코스테로이드 및 면역억제제의 사용, 질환의 기간 및 CD 활성 점수는 기술적 통계의 사용에 의해 각각의 치료 그룹에 대해 요약될 것이다.

[0409] 코호트 3: 주요 종점 분석은 환자의 비율이 14주에 PRO2 관해(FDA에 대한 분석) 또는 CDAI 관해(미국 외에 대한 분석)를 달성한 각각의 에트롤리주맙 용량 암 대 위약 암에 대해 비교할 것이다. 주요 종점 분석은 환자의 비율이 14주에 PRO2 관해(FDA에 대한 분석) 또는 CDAI 관해(미국 외에 대한 분석)를 달성한 각각의 에트롤리주맙 용량 암 대 위약 암에 대해 비교할 것이다.

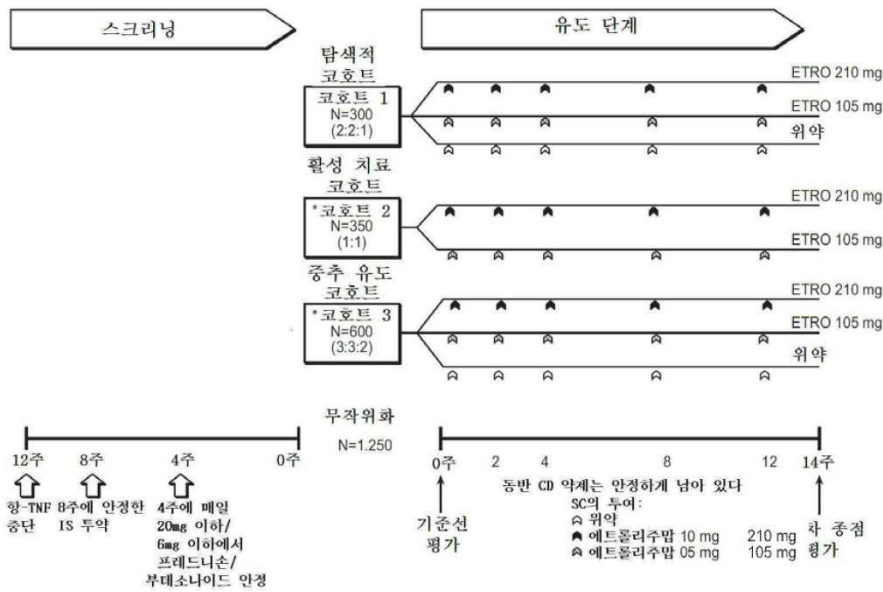
[0410] 각각의 에트롤리주맙 암과 위약 암 사이의 차이는 무작위화 시 사용된 인자에 의해 계층화된 CMH 시험을 이용하여 평가될 것이다. 절대 치료 차이는 95% 2측 CI 예측치에 따라 제공될 것이다.

[0411] 모든 분류학적 2차 종점은 주요 종점과 동일한 방법론을 이용하여 분석될 것이다. 모든 효율 종점에 대해, 기술적 요약 통계는 각각의 치료 암에 대해 제공될 것이다.

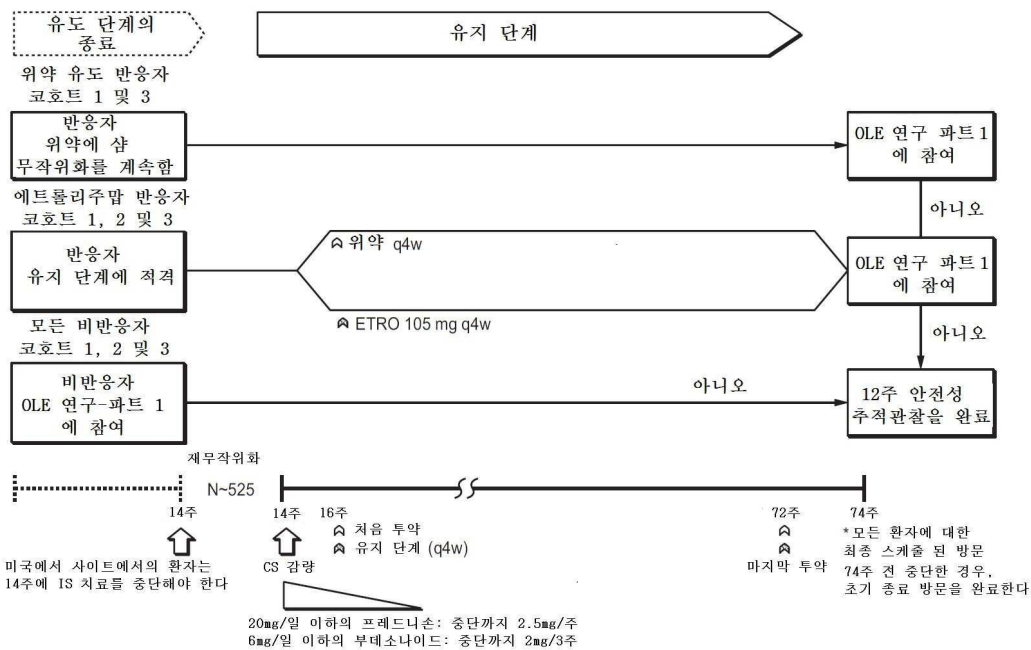
[0412] 연속 종점은 무작위화 시 사용된 계층화 변수 및 공변량으로서 연구된 측정치의 기준선 값을 가지는 ANCOVA 모델을 이용하여 분석될 것이다.

[0413] 주요 종점의 2개의 비교(저용량 대 위약 및 고용량 대 위약)의 각각에 대해, 본페로니 조정된 0.025 2측 유의도 수준이 사용될 것이다. 어느 용량도 주요 종점에 대한 유의미하다고 말하지 않는 경우, 모든 다른 가설 시험은 탐색적으로 생각될 것이다. 2측 0.025 수준에서 유의미한 임의의 용량 섭생의 경우, 중요한 2차 종점은 순차적

도면3







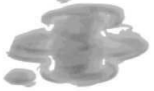


도면4



도면5

브리스톨 대변 차트

타입 1		넙츠같은 별개의 딱딱한 덩어리 (통과하기 어려움)
타입 2		소세지 형상이지만 덩어리가 많음
타입 3		표면에 틈이 있는 것을 제외하곤 소세지 같음
타입 4		소세지 또는 뱀 (매끄럽고 부드러움) 같음
타입 5		명백한 테두리가 있는 부드러운 방울
타입 6		누더기같은 테두리의 솜털 같은 조각, 곤죽 같은 대변
타입 7		물기가 많은 고체가 없는 조각 완전 점액성

서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> GENENTECH, INC. ET AL.

<120> INTEGRIN BETA7 ANTAGONISTS AND METHODS OF TREATING CROHN'S DISEASE

<130> WO2016/138207

<140> PCT/US2016/019468

<141> 2016-02-25

<150> US 62/121,290

<151> 2015-02-26

<160> 32

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
<400> 1
Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Thr Tyr Leu His

1 5 10

<210> 2
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
<400> 2
Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser

1 5

<210> 3
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
<400> 3
Gln Gln Gly Asn Ser Leu Pro Asn Thr

1 5

<210> 4
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 4

Gly Phe Phe Ile Thr Asn Asn Tyr Trp Gly

1 5 10

<210> 5

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 5

Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

1 5 10 15

Ser

<210> 6

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 6

Met Thr Gly Ser Ser Gly Tyr Phe Asp Phe

1 5 10

<210> 7

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 7

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Leu Leu His

1 5 10

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 8

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Thr Leu Leu His

1 5 10

<210> 9

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 9

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asp Leu Leu His

1 5 10

<210> 10

<211> 108

<212> PRT

<213> Rattus sp.

<400> 10

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asn Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Gly Val Glu Leu

65 70 75 80

Glu Asp Leu Ser Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Ser Leu Pro Asn

85 90 95

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

100 105

<210> 11

<211> 117

<212> PRT

<213> Rattus sp.

<400> 11

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

1 5 10 15

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Phe Phe Ile Thr Asn Asn

20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Phe Pro Gly Asn Lys Met Glu Trp Met

35 40 45

Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe Leu

65 70 75 80

Gln Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Met Thr Gly Ser Ser Gly Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Pro Gly Thr Met

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 12

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Leu Pro Trp
 85 90 95

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

<210> 13

<211> 113

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Val Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ser

<210> 14

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 14

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Thr Tyr

20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Ser Leu Pro Asn

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 15

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 15

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Phe Ile Thr Asn Asn

20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 16

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 16

Ala Met Thr Gly Ser Ser Gly Tyr Phe Asp Phe

1 5 10

<210

> 17

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 17
 Ala Arg Thr Gly Ser Ser Gly Tyr Phe Asp Phe
 1 5 10
 <210> 18
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 18
 Ala Gln Thr Gly Ser Ser Gly Tyr Phe Asp Phe
 1 5 10
 <210> 19
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 19
 Arg Thr Gly Ser Ser Gly Tyr Phe Asp Phe
 1 5 10
 <210> 20
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 20

Arg Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser

1 5

<210> 21

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<220><221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Any amino acid

<400> 21

Xaa Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser

1 5

<210> 22

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 22

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Leu

20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 24

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

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

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

<210> 25

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 25

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

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

Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

Ser Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Phe Tyr Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 26

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(2)

<223> /replace="Gly" or "Ser" or "Thr" or "Val"

<220><221> VARIANT

<222> (3)..(3)

<223> /replace="Gly" or "Ile" or "Lys" or "Asn" or "Pro" or "Gln"
 or "Arg" or "Thr"

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> /replace="Val" or "Gln" or "Ala" or "Asp" or "Gly" or "His"
 or "Ile" or "Lys" or "Leu" or "Asn" or "Arg"

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> /replace="Tyr" or "Ala" or "Asp" or "Gly" or "His" or "Ile"
 or "Lys" or "Asn" or "Pro" or "Arg" or "Thr" or "Val"

<220><221> VARIANT
 <222> (6)..(6)
 <223> /replace="Arg" or "Ile" or "Ala" or "Gly" or "Lys" or "Leu"
 or "Met" or "Gln"
 <220><221> VARIANT
 <222> (7)..(7)
 <223> /replace="Val" or "Ser" or "Ala" or "Glu" or "Gly" or "His"
 or "Ile" or "Lys" or "Leu" or "Asn" or "Pro" or "Ser" or "Thr"
 <220><221> VARIANT
 <222> (8)..(8)
 <223> /replace="Gly" or "Asn" or "Glu" or "Thr" or "Pro" or "Ser"
 <220><221> VARIANT
 <222> (9)..(9)
 <223> /replace="Tyr" or "Ile" or "Met"
 <220><221> VARIANT

 <222> (10)..(10)
 <223> /replace="Ala" or "Ile" or "Met" or "Val"
 <220><221> VARIANT
 <222> (11)..(11)
 <223> /replace="Tyr" or "Phe" or "Ser"
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(11)
 <223> /note="Variant residues given in the sequence have no
 preference with respect to those in the annotations
 for variant positions"
 <400> 26
 Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asp Leu Leu His
 1 5 10
 <210> 27
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <
 220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<220><221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Any amino acid

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> /replace="Asp"

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> /replace="Ser"

<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> /replace="Asp" or "Leu" or "Arg"

<220><221> VARIANT

<222> (7)..(7)

<223> /replace="Val" or "Glu" or "Lys"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(8)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no preference with respect to those in the annotations for variant positions"

<220>

<223> See specification as filed for detailed description of substitutions and certain embodiments

<400> 27

Xaa Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser

1 5

<210> 28

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<220><221> VARIANT

<222> (8)..(8)

<223> /replace="Val" or "Trp" or "Tyr" or "Arg" or "Ser" or "Thr"

or "Ala" or "Phe" or "His" or "Ile" or "Leu" or "Met"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(9)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no preference with respect to those in the annotations for variant positions"

<400> 28

Gln Gln Gly Asn Ser Leu Pro Asn Thr

1 5

<210> 29

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<220><221>

> VARIANT

<222> (2)..(2)

<223> /replace="Phe" or "Val" or "Asp"

<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> /replace="Gly"

<220><221> VARIANT

<222> (10)..(10)

<223> /replace="Tyr"

<220><221> VARIANT

<222> (12)..(12)

<223> /replace="Thr" or "Ala" or "Asp"

<220><221> VARIANT

<222> (13)..(13)
 <223> /replace="His" or "Asp" or "Ala"
 <220><221> VARIANT
 <222> (15)..(15)
 <223> /replace="Val"
 <220><221> VARIANT
 <222> (17)..(17)
 <223> /replace="Gly"
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222>
 (1)..(17)
 <223> /note="Variant residues given in the sequence have no
 preference with respect to those in the annotations
 for variant positions"
 <400> 29
 Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 1 5 10 15
 Ser
 <210> 30
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <220><221> VARIANT
 <222> (1)..(1)

 <223> /replace=" "
 <220><221> VARIANT
 <222> (2)..(2)
 <223> /replace="Met" or "Ala" or "Glu" or "Gly" or "Gln" or "Ser"
 <220><221> VARIANT
 <222> (11)..(11)
 <223> /replace="Tyr"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(11)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no preference with respect to those in the annotations for variant positions"

<400> 30

Ala Arg Thr Gly Ser Ser Gly Tyr Phe Asp Phe

1 5 10

<210> 31

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 31

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asp Leu

 20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

 35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

 50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Ser Leu Pro Asn

 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

 100 105

<210> 32

<211

> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 32

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Phe Ile Thr Asn Asn

 20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

 35 40 45

Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

 50 55 60

Ser Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Phe Tyr Leu

65 70 75 80

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

 85 90 95

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

 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

 115