

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2024-516595

(P2024-516595A)

(43)公表日 令和6年4月16日(2024.4.16)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13	4 B 0 6 4
C 0 7 K 16/24 (2006.01)	C 0 7 K 16/24	Z N A 4 B 0 6 5
C 0 7 K 16/46 (2006.01)	C 0 7 K 16/46	4 C 0 8 5
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/63	Z 4 H 0 4 5
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全58頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2023-563978(P2023-563978)	(71)出願人	500049716 アムジェン・インコーポレーテッド アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 1 3 2 0 , サウザンド オークス , ワン ア ムジェン センター ドライブ
(86)(22)出願日	令和4年4月22日(2022.4.22)	(74)代理人	110001173 弁理士法人川口国際特許事務所
(85)翻訳文提出日	令和5年11月16日(2023.11.16)	(72)発明者	ボンダレンコ , パベル アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 1 3 2 0 - 1 7 9 9、サウザンド・オーク ス、メール・ストップ・2 8 - 5 - エイ 、ワン・アムジェン・センター・ドライ ブ、アムジェン・インコーポレイテッド 気付
(86)国際出願番号	PCT/US2022/025999	(72)発明者	シー , リウチン
(87)国際公開番号	WO2022/226342		
(87)国際公開日	令和4年10月27日(2022.10.27)		
(31)優先権主張番号	63/178,915		
(32)優先日	令和3年4月23日(2021.4.23)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA ,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 修飾された抗 T S L P 抗体

(57)【要約】

本出願は、概して、長期間にわたって保存された場合にテゼベルマブと比較して上昇した安定性を有する抗 T S L P 抗体テゼベルマブの組成物又はバリエーションに関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片であって、

(A) 軽鎖可変ドメインであって、

(i) 配列番号 3 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1 配列；

(i i) 配列番号 4 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2 配列；及び

(i i i) 配列番号 5 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3 配列

を含む軽鎖可変ドメイン；並びに

(B) 重鎖可変ドメインであって、

(i) 配列番号 6 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1 配列；

(i i) 配列番号 7 で示される以下の残基 D 5 4 又は G 5 5 の 1 つに変異を有するアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2 配列、及び

(i i i) 配列番号 8 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3 配列

を含む重鎖可変ドメイン

を含む抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

【請求項 2】

H C D R 2 の前記変異は、D 5 4 E である、請求項 1 に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

【請求項 3】

H C D R 2 の前記変異は、G 5 5 A である、請求項 1 に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

【請求項 4】

前記 H C D R 2 は、配列 V I W Y X₁ X₂ S N K H Y A D S V K G (ここで、X₁は、D 又は E であり、及び X₂は、G 又は A である) (配列番号 1 3) を有し、任意選択的に、前記 H C D R 2 は、以下の配列：V I W Y E G S N K H Y A D S V K G (配列番号 1 4)、V I W Y D A S N K H Y A D S V K G (配列番号 1 5) 又は V I W Y E A S N K H Y A D S V K G (配列番号 1 6) を有する、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

【請求項 5】

任意選択的に、配列番号 4 の以下の残基 L C D R 2 D 4 9、D 5 0 又は S 5 1 の少なくとも 1 つに変異を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

【請求項 6】

前記変異は、D 4 9 E、D 5 0 E 及び / 又は S 5 1 A のいずれか 1 つである、請求項 5 に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

【請求項 7】

前記 L C D R 2 は、配列 X₁ X₂ X₃ D R P S (ここで、X₁は、D 又は E であり、X₂は、D 又は E であり、及び X₃は、S 又は A である) (配列番号 1 7) を有し、任意選択的に、前記 L C D R 2 は、以下の配列：E D S D R P S (配列番号 1 8)、D E S D R P S (配列番号 1 9)、E E S D R P S (配列番号 2 0)、D D A D R P S (配列番号 2 1)、D E A D R P S (配列番号 2 2)、E D A D R P S (配列番号 2 3) 又は E E A D R P S (配列番号 2 4) を有する、請求項 5 又は 6 に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

【請求項 8】

抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片であって、

(A) 軽鎖可変ドメインであって、

10

20

30

40

50

(i) 配列番号 3 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1 配列 ;
 (i i) 配列番号 4 の以下の残基 D 4 9、D 5 0 又は S 5 1 の少なくとも 1 つに変異を有するアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2 配列 ; 及び
 (i i i) 配列番号 5 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3 配列を含む軽鎖可変ドメイン ; 並びに
 (B) 重鎖可変ドメインであって、
 (i) 配列番号 6 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1 配列 ;
 (i i) 配列番号 7 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2 配列、及び
 (i i i) 配列番号 8 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3 配列を含む重鎖可変ドメイン
 を含む抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

10

【請求項 9】

L C D R 2 の前記変異は、D 4 9 E、D 5 0 E 及び / 又は S 5 1 A である、請求項 8 に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

【請求項 10】

L C D R 2 の前記変異は、D 4 9 E である、請求項 8 又は 9 に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

【請求項 11】

L C D R 2 の前記変異は、D 5 0 E である、請求項 8 又は 9 に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

20

【請求項 12】

L C D R 2 の前記変異は、S 5 1 A である、請求項 8 又は 9 に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

【請求項 13】

前記 L C D R 2 は、配列 X₁X₂X₃D R P S (ここで、X₁は、D 又は E であり、X₂は、D 又は E であり、及び X₃は、S 又は A である) (配列番号 17) を有し、任意選択的に、前記 L C D R 2 は、以下の配列 : E D S D R P S (配列番号 18)、D E S D R P S (配列番号 19)、E E S D R P S (配列番号 20)、D D A D R P S (配列番号 21)、D E A D R P S (配列番号 22)、E D A D R P S (配列番号 23) 又は E E A D R P S (配列番号 24) を有する、請求項 8 ~ 12 のいずれか一項に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

30

【請求項 14】

任意選択的に、配列番号 7 で示される H C D R 2 の以下の残基 D 5 4 又は G 5 5 の 1 つ以上に変異を含む、請求項 8 ~ 13 のいずれか一項に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

【請求項 15】

前記変異は、配列番号 7 で示される H C D R 2 の D 5 4 E 及び / 又は G 5 5 A のいずれか 1 つである、請求項 14 に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

40

【請求項 16】

前記 H C D R 2 は、配列 V I W Y X₁X₂S N K H Y A D S V K G (ここで、X₁は、D 又は E であり、及び X₂は、G 又は A である) (配列番号 13) を有し、任意選択的に、前記 H C D R 2 は、以下の配列 : V I W Y E G S N K H Y A D S V K G (配列番号 14)、V I W Y D A S N K H Y A D S V K G (配列番号 15) 又は V I W Y E A S N K H Y A D S V K G (配列番号 16) を有する、請求項 14 又は 15 に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

【請求項 17】

(A) 軽鎖可変ドメインであって、

50

i . 配列番号 1 2 に対して少なくとも 8 0 % 同一のアミノ酸配列 ;
 i i . 配列番号 1 1 に対して少なくとも 8 0 % 同一のポリヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列 ; 若しくは
 i i i . 配列番号 1 1 からなるポリヌクレオチドの相補体と中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるアミノ酸配列からなる群から選択される軽鎖可変ドメイン ; 又は
 (B) 重鎖可変ドメインであって、
 i . 配列番号 1 0 に対して少なくとも 8 0 % 同一のアミノ酸配列 ;
 i i . 配列番号 9 に対して少なくとも 8 0 % 同一のポリヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列 ; 若しくは
 i i i . 配列番号 9 からなるポリヌクレオチドの相補体と中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるアミノ酸配列からなる群から選択される重鎖可変ドメイン ; 又は
 (C) (A) の軽鎖可変ドメイン及び (B) の重鎖可変ドメイン
 を含み、前記抗 T S L P 抗原結合タンパク質又はその断片の前記 C D R を保持する、請求項 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

10

【請求項 1 8】

前記抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片は、配列番号 1 0 又は配列番号 2 5 ~ 2 8 のアミノ酸配列を含む重鎖、配列番号 1 2 又は配列番号 2 9 ~ 3 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、請求項 1 ~ 1 7 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質又はその断片。

20

【請求項 1 9】

ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、組換え抗体、抗原結合抗体断片、一本鎖抗体、単量体抗体、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、F a b 断片、I g M 抗体、I g G 1 抗体、I g G 2 抗体、I g G 3 抗体及び I g G 4 抗体からなる群から選択される、請求項 1 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

【請求項 2 0】

前記抗原結合タンパク質は、ヒト抗体である、請求項 1 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

30

【請求項 2 1】

I g G 2 抗体である、請求項 1 9 又は 2 0 に記載の抗体。

【請求項 2 2】

前記抗 T S L P 抗原結合タンパク質又はその断片は、配列番号 2 のアミノ酸 2 9 ~ 1 5 9 で示される T S L P ポリペプチドに特異的に結合する、請求項 1 ~ 2 1 のいずれか一項に記載の免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

【請求項 2 3】

前記抗 T S L P 抗原結合タンパク質又はその断片の両方の結合部位は、T S L P に対する同一の結合を有する、請求項 1 ~ 2 2 のいずれか一項に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

40

【請求項 2 4】

数値的に $1 0^{-8} M$ K d 以下の親和性で T S L P に結合する、請求項 1 ~ 2 3 のいずれか一項に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

【請求項 2 5】

請求項 1 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片と、薬学的に許容される担体、賦形剤又は

50

希釈剤とを含む組成物。

【請求項 26】

請求項 1 ~ 24 のいずれか一項に記載の免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片の前記軽鎖可変ドメイン、前記重鎖可変ドメイン又は両方をコードするポリヌクレオチド配列を含む単離された核酸。

【請求項 27】

請求項 26 に記載の核酸を含む組換え発現ベクター。

【請求項 28】

請求項 27 に記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項 29】

配列番号 2 のアミノ酸 29 ~ 159 を含む T S L P ポリペプチドに特異的に結合する免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片を産生する方法であって、請求項 28 に記載の宿主細胞を、それが前記免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片を発現することを可能にする条件下でインキュベートすることを含み、前記宿主細胞は、(i) 請求項 1 ~ 24 のいずれか一項に記載の免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片の前記軽鎖可変ドメインをコードする組換え発現ベクター及び請求項 1 ~ 24 のいずれか一項に記載の免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片の前記重鎖可変ドメインをコードする組換え発現ベクター、又は (i i) 請求項 1 ~ 24 のいずれか一項に記載の免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片の前記軽鎖可変ドメインと前記重鎖可変ドメインとの両方をコードする組換え発現ベクターを含む、方法。

【請求項 30】

配列番号 10 及び配列番号 12 で示されるアミノ酸配列を有する抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片と比較して、25 で上昇した安定性を有する、請求項 1 ~ 24 のいずれか一項に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

【請求項 31】

配列番号 10 及び配列番号 12 で示されるアミノ酸配列を有する抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片と比較して、4 週間後に 40 で上昇した安定性を有する、請求項 1 ~ 24 のいずれか一項に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

【請求項 32】

配列番号 10 及び配列番号 12 で示されるアミノ酸配列を有する抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片と比較して、4 週間後に 40 で減少した高分子量種を有する、請求項 1 ~ 24 のいずれか一項に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

【請求項 33】

配列番号 10 及び配列番号 12 で示されるアミノ酸配列を有する抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片と比較して、50 で減少した異性を有する、請求項 1 ~ 24 のいずれか一項に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

【請求項 34】

前記抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片の 2 % 未満は、S E C によって決定されるとき、約 25 で少なくとも 2 週間 (任意選択的に少なくとも 1 ヶ月、少なくとも 2 ヶ月、少なくとも 3 ヶ月、少なくとも 4 ヶ月、少なくとも 5 ヶ月又は少なくとも 6 ヶ月) の貯蔵後に異性化及び / 又は脱アミドを示す、請求項 1 ~ 24 のいずれか一項に記載の抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

10

20

30

40

50

【請求項 35】

前記免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片の2%未満は、SECによって決定されるとき、約22ヶ月～約36ヶ月の2～8での貯蔵、続いて少なくとも2週間又は少なくとも1ヶ月若しくは少なくとも2ヶ月の約25での貯蔵後に異性化及び/又は脱アミドを示す、請求項1～24のいずれか一項に記載の抗TSLP免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片。

【請求項 36】

対象の炎症性疾患を治療する方法であって、治療有効量の、請求項1～24のいずれか一項に記載の免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片或いは請求項25に記載の組成物を前記対象に投与することを含む方法。

10

【請求項 37】

前記炎症性疾患は、喘息、アトピー性皮膚炎、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、好酸球性食道炎(EOE)、鼻茸、慢性自然発症蕁麻疹、Ig駆動疾患、IgA腎症、ループス腎炎、好酸球性胃炎、鼻茸を伴わない慢性副鼻腔炎及び特発性肺線維症(IPF)からなる群から選択される、請求項36に記載の方法。

【請求項 38】

2週間ごと又は4週間ごとの間隔で前記組成物を投与することを含む、請求項36又は37に記載の方法。

【請求項 39】

前記組成物は、少なくとも4ヶ月、6ヶ月、9ヶ月、1年又はそれを超える期間にわたって投与される、請求項36～38のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 40】

前記喘息は、重症喘息である、請求項37～39のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 41】

前記喘息は、好酸球性又は非好酸球性喘息である、請求項37～40のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 42】

複数の抗TSLPモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を含む組成物を製造する方法であって、前記複数の抗TSLPモノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、

30

配列番号3で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1配列；
配列番号4で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2配列；
配列番号5で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3配列；
配列番号6で示されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR1配列；
配列番号7で示されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR2配列；及び
配列番号8で示されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR3配列

をそれぞれ含み、前記方法は、以下の属性：

HC位置54のイソアスパラギン酸(isoAsp)若しくは環状アスパラギン酸(cAsp)と比較したHC位置54のL-アスパラギン酸；

酸化HC W102と比較した非酸化HC W102；

40

LC位置49若しくは位置50のisoAsp若しくはcAspと比較したLC位置49若しくは位置50のL-アスパラギン酸；

脱アミド化LC N65と比較したLC N65；又は

LC位置91のisoAsp若しくはcAspと比較したLC位置91のL-アスパラギン酸

の少なくとも1つのために、IgG2抗TSLPモノクローナル抗体又はその抗原結合断片について前記組成物を濃縮することを含む、方法。

【請求項 43】

前記抗TSLPモノクローナル抗体の0.9%以下は、異性化HC D54を含む、請求項42に記載の方法。

50

【請求項 44】

前記抗 T S L P モノクローナル抗体の 2 % 以下は、酸化 H C W 1 0 2 を含む、請求項 4 2 又は 4 3 に記載の方法。

【請求項 45】

前記抗 T S L P モノクローナル抗体の 0 . 9 % 以下は、異性化 L C D 5 0 又は L C D 4 9 を含む、請求項 4 2 ~ 4 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 46】

前記抗 T S L P モノクローナル抗体の 0 . 5 % 以下は、脱アミド化 L C N 6 5 を含む、請求項 4 2 ~ 4 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 47】

前記抗 T S L P モノクローナル抗体の 0 . 9 % 以下は、異性化 L C D 9 1 を含む、請求項 4 2 ~ 4 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 48】

前記抗 T S L P 抗体は、I g G 2 抗体である、請求項 4 2 ~ 4 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 49】

前記抗 T S L P 抗体は、(i) H C D 5 4 の L - アスパラギン酸、並びに (i i) L C D 4 9 及び / 又は D 5 0 の L - アスパラギン酸を含む、請求項 4 2 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 50】

前記抗 T S L P 抗体は、H C D 5 4 の L - アスパラギン酸において、i s o A s p のレベルよりも少なくとも 6 倍濃縮される、請求項 4 2 ~ 4 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 51】

前記抗 T S L P 抗体は、配列番号 1 0 で示される重鎖可変領域と、配列番号 1 2 で示される軽鎖可変領域とを含む、請求項 4 2 ~ 5 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 52】

配列番号 3 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1 配列；
配列番号 4 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2 配列；
配列番号 5 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3 配列；
配列番号 6 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1 配列；
配列番号 7 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2 配列；及び
配列番号 8 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3 配列
をそれぞれ含む抗 T S L P モノクローナル抗体を含む組成物であって、前記組成物の前記抗 T S L P モノクローナル抗体が数値的に 10^{-8} M 以下の K d で T L S P に結合するために有効である、制限された含有量の異性化 H C D 5 4 及び / 又は制限された含有量の異性化 L C D 4 9 若しくは D 5 0 を含む組成物。

【請求項 53】

配列番号 3 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1 配列；配列番号 4 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2 配列；配列番号 5 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3 配列；配列番号 6 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1 配列；配列番号 7 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2 配列；及び配列番号 8 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3 配列をそれぞれ含む I g G 2 抗 T S L P モノクローナル抗体を含む組成物であって、

前記抗 T S L P モノクローナル抗体の 0 . 9 % 以下は、異性化 H C D 5 4 を含むか；

前記抗 T S L P モノクローナル抗体の 2 % 以下は、酸化 H C W 1 0 2 を含むか；

前記抗 T S L P モノクローナル抗体の 0 . 9 % 以下は、異性化 L C D 4 9 若しくは L C D 5 0 を含むか；

前記抗 T S L P モノクローナル抗体の 0 . 5 % 以下は、脱アミド化 L C N 6 5 を含むか；又は

10

20

30

40

50

前記抗 T S L P モノクローナル抗体の 0.9% 以下は、異性化 L C D 9 1 を含むかの少なくとも 1 つである、組成物。

【請求項 5 4】

前記抗 T S L P モノクローナル抗体の 0.9% 以下は、異性化 H C D 5 4 を含む、請求項 5 3 に記載の組成物。

【請求項 5 5】

前記抗 T S L P モノクローナル抗体の 2% 以下は、酸化 H C W 1 0 2 を含む、請求項 5 3 又は 5 4 に記載の組成物。

【請求項 5 6】

前記抗 T S L P モノクローナル抗体の 0.9% 以下は、異性化 L C D 4 9 又は L C D 5 0 を含む、請求項 5 3 ~ 5 5 のいずれか一項に記載の組成物。 10

【請求項 5 7】

前記抗 T S L P モノクローナル抗体の 0.5% 以下は、脱アミド化 L C N 6 5 を含む、請求項 5 3 ~ 5 6 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 5 8】

前記抗 T S L P モノクローナル抗体の 0.9% 以下は、異性化 L C D 9 1 を含む、請求項 5 3 ~ 5 7 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 5 9】

前記抗 T S L P 抗体は、I g G 2 抗体である、請求項 5 3 ~ 5 8 のいずれか一項に記載の組成物。 20

【請求項 6 0】

前記抗 T S L P 抗体は、H C 5 4 の L - アスパラギン酸と L C 4 9 及び / 又は L C 5 0 の L - アスパラギン酸との組合せを含む、請求項 5 3 ~ 5 9 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6 1】

前記抗 T S L P 抗体は、H C 5 4 の L - アスパラギン酸において、i s o A s p のレベルよりも少なくとも 6 倍濃縮される、請求項 5 3 ~ 6 0 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6 2】

前記抗 T S L P 抗体は、配列番号 1 0 で示される重鎖可変領域と、配列番号 1 2 で示される軽鎖可変領域とを含み、 30

前記抗 T S L P モノクローナル抗体の 0.9% 以下は、異性化 H C D 5 4 を含むか；

前記抗 T S L P モノクローナル抗体の 2% 以下は、酸化 H C W 1 0 2 を含むか；

前記抗 T S L P モノクローナル抗体の 0.9% 以下は、異性化 L C D 4 9 若しくは L C D 5 0 を含むか；

前記抗 T S L P モノクローナル抗体の 0.5% 以下は、脱アミド化 L C N 6 5 を含むか；又は

前記抗 T S L P モノクローナル抗体の 0.9% 以下は、異性化 L C D 9 1 を含むかの少なくとも 1 つである、請求項 5 3 ~ 6 1 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6 3】

配列番号 3 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1 配列；配列番号 4 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2 配列；配列番号 5 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3 配列；配列番号 6 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1 配列；配列番号 7 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2 配列；及び配列番号 8 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3 配列をそれぞれ含む抗 T S L P モノクローナル抗体を含む組成物であって、 40

前記組成物の前記抗 T S L P モノクローナル抗体の 98% 超は、H C 位置 5 4 の i s o A s p 若しくは c A s p と比較して H C 位置 5 4 に L - アスパラギン酸を含むか；

前記組成物の前記抗 T S L P モノクローナル抗体の少なくとも 99% は、酸化 H C W 1 0 2 と比較した非酸化 H C W 1 0 2 を含むか；

前記組成物の前記抗 T S L P モノクローナル抗体の少なくとも 97% は、L C 位置 4 9 若 50

しくは50のiso Asp若しくはc Aspと比較してLC位置49若しくは50にL-アスパラギン酸を含むか；

前記組成物の前記抗TSLPモノクローナル抗体の少なくとも99.1%は、脱アミド化LC N65と比較したLC N65を含むか；又は

前記組成物の前記抗TSLPモノクローナル抗体の少なくとも99.1%は、LC位置91のiso Asp若しくはc Aspと比較してLC位置91にL-アスパラギン酸を含むか

の少なくとも1つである、組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2021年4月23日に出願された米国仮特許出願第63/178,915号明細書の優先権の利益を主張し、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

電子的に提出された資料の参照による組み込み

本開示の一部である配列表は、テキストファイルとして本明細書と同時に提出される。配列表を含むテキストファイルの名称は、「55581__SeqListing.txt」であり、2022年4月12日に作成されたものであり、サイズが32,649バイトである。配列表の内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

20

【0003】

本出願は、概して、長期間にわたって保存された場合にテゼベルマブと比較して上昇した安定性を有する抗TSLP抗体テゼベルマブの組成物及びバリエーションに関する。

【背景技術】

【0004】

環境刺激及び炎症誘発性刺激に応答して産生される上皮細胞由来サイトカインである胸腺間質性リンパ球新生因子(TSLP)は、複数の炎症細胞及び下流の経路の活性化をもたらす(Soumelis et al. Nat Immunol 2002; 3: 673-80; Allakhverdi et al. J Exp Med 2007; 204: 253-8)。TSLPは、喘息患者の気道で増加し、Th2サイトカイン及びケモカインの発現(Shikotra et al. J Allergy Clin Immunol 2012; 129: 104-11 e1-9)並びに疾患重症度(Ying et al. J Immunol 2005; 174: 8183-90; Ying et al. J Immunol 2008; 181: 2790-8)と相関する。TSLPは、Th2免疫の調節の中心であるが、それは、炎症の他の経路でも重要な役割を果たし得、したがって複数の喘息表現型と関連し得る。

30

【0005】

テゼベルマブは、TSLPに結合し、そのTSLP受容体複合体との相互作用を妨げるヒト免疫グロブリンG2(IgG2)モノクローナル抗体(mAb)である。軽症のアトピー性喘息患者を対象とした概念実証試験では、テゼベルマブは、早期及び後期の喘息反応を阻害し、吸入アレルゲン曝露後のTh2炎症のバイオマーカーを抑制することが示された(Gauvreau, et al. N Engl J Med 2014; 370: 2102-10)。

40

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】Soumelis et al. Nat Immunol 2002; 3: 673-80

【非特許文献2】Allakhverdi et al. J Exp Med 2007; 204: 253-8

50

【非特許文献3】Shikotra et al. J Allergy Clin Immunol 2012; 129: 104-111 e1-9

【非特許文献4】Ying et al. J Immunol 2005; 174: 8183-90

【非特許文献5】Ying et al. J Immunol 2008; 181: 2790-8

【非特許文献6】Gauvreau, et al. N Engl J Med 2014; 370: 2102-10

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0007】

製剤中の抗体治療薬を経時的に監視することは、治療薬の分解を減少させ、製品の完全性を維持する貯蔵条件を決定するために重要である。本開示は、貯蔵中に経時的に変化し得る抗TSLP抗体の属性及び抗体安定性に有益又は有害であり得る属性の研究を提供する。

【0008】

一態様では、本開示は、抗TSLP免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片を提供し、これは、(A)軽鎖可変ドメインであって、(i)配列番号3で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1配列、(ii)配列番号4で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2配列、及び(iiii)配列番号5で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3配列を含む軽鎖可変ドメイン、並びに(B)重鎖可変ドメインであって、(i)配列番号6で示されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR1配列；(ii)配列番号7で示される以下の残基D54又はG55の少なくとも1つに変異を有するアミノ酸配列を含む重鎖CDR2配列、及び(iii)配列番号8で示されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR3配列を含む重鎖可変ドメインを含む。様々な実施形態では、HCDR2は、配列VIWYX₁X₂SNKH YADSVKG(配列番号13)(ここで、X₁は、D又はEであり、及びX₂は、G又はAである)を有する。様々な実施形態では、HCDR2は、以下の配列を有する：VIWYEGSNKH YADSVKG(配列番号14)、VIWYDASNKH YADSVKG(配列番号15)又はVIWYEAASNKH YADSVKG(配列番号16)。

【0009】

様々な実施形態において、HCDR2における変異は、D54Eである。様々な実施形態において、HCDR2における変異は、G55Aである。様々な実施形態では、抗TSLP抗原結合タンパク質又はその断片は、任意選択的に、配列番号4のLCDR2 D49、D50又はS51の残基の少なくとも1つに変異を含む。様々な実施形態では、LCDR2の変異は、D49E、D50E又はS51Aの1つ以上である。様々な実施形態では、LCDR2は、配列X₁X₂X₃DRPS(ここで、X₁は、D又はEであり、X₂は、D又はEであり、及びX₃は、S又はAである)(配列番号17)を有する。様々な実施形態では、LCDR2は、以下の配列を有する：EDSDRPS(配列番号18)、DESDRPS(配列番号19)、EESDRPS(配列番号20)、DDADRPS(配列番号21)、DEADRPS(配列番号22)、EDADRPS(配列番号23)又はEEADRPS(配列番号24)。

【0010】

様々な実施形態では、本開示は、抗TSLP免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片を提供し、これは、(A)軽鎖可変ドメインであって、(i)配列番号3で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1配列；(ii)配列番号4の以下の残基D49、D50又はS51の少なくとも1つに変異を有するアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2配列；(iii)配列番号5で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3配列を含む軽鎖可変ドメイン；並びに(B)重鎖可変ドメインであって、(i)配列番号6で示されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR1配列；(ii)配列番号7で示さ

10

20

30

40

50

れるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2 配列、及び (i i i) 配列番号 8 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3 配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

【 0 0 1 1 】

様々な実施形態では、L C D R 2 は、配列 X₁ X₂ X₃ D R P S (ここで、X₁ は、D 又は E であり、X₂ は、D 又は E であり、及び X₃ は、S 又は A である) (配列番号 1 7) を有する。任意選択的に、L C D R 2 は、以下の配列を有する：E D S D R P S (配列番号 1 8)、D E S D R P S (配列番号 1 9)、E E S D R P S (配列番号 2 0)、D D A D R P S (配列番号 2 1)、D E A D R P S (配列番号 2 2)、E D A D R P S (配列番号 2 3) 又は E E A D R P S (配列番号 2 4)。様々な実施形態において、L C D R 2 における変異は、D 4 9 E である。様々な実施形態において、L C D R 2 における変異は、D 5 0 E である。様々な実施形態において、L C D R 2 における変異は、S 5 1 A である。様々な実施形態では、抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片は、任意選択的に、配列番号 7 で示される H C D R 2 の以下の残基 D 5 4 又は G 5 5 の 1 つに変異を含む。様々な実施形態では、H C D R 2 の変異は、配列番号 7 の D 5 4 E 又は G 5 5 A の 1 つ以上である。様々な実施形態では、H C D R 2 は、配列 V I W Y X₁ X₂ S N K H Y A D S V K G (配列番号 1 3) (ここで、X₁ は、D 又は E であり、及び X₂ は、G 又は A である) を有する。様々な実施形態では、H C D R 2 は、以下の配列を有する：V I W Y E G S N K H Y A D S V K G (配列番号 1 4)、V I W Y D A S N K H Y A D S V K G (配列番号 1 5) 又は V I W Y E A S N K H Y A D S V K G (配列番号 1 6)。

10

20

【 0 0 1 2 】

様々な実施形態では、本開示は、抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片を提供し、これは、(A) 軽鎖可変ドメインであって、i . 配列番号 1 2 に対して少なくとも 8 0 % 同一のアミノ酸の配列；i i . 配列番号 1 1 に対して少なくとも 8 0 % 同一のポリヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸の配列；又は i i i . 配列番号 1 1 からなるポリヌクレオチドの相補体に中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるアミノ酸の配列からなる群から選択される軽鎖可変ドメイン；又は (B) 重鎖可変ドメインであって、i . 配列番号 1 0 に対して少なくとも 8 0 % 同一のアミノ酸の配列；i i . 配列番号 9 に対して少なくとも 8 0 % 同一のポリヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸の配列；又は i i i . 配列番号 9 からなるポリヌクレオチドの相補体に中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるアミノ酸の配列からなる群から選択される重鎖可変ドメイン；又は (C) (A) の軽鎖可変ドメイン及び (B) の重鎖可変ドメインを含み、抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片は、抗 T S L P 抗原結合タンパク質若しくはその断片の C D R の 1 つ以上を保持し、且つ配列番号 7 の H C D R 2 D 5 4 若しくは G 5 5 又は配列番号 4 の L C D R 2 D 4 9、D 5 0 若しくは S 5 1 の 1 つ以上に変異を含む。

30

【 0 0 1 3 】

様々な実施形態では、抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片は、配列番号 1 0 又は配列番号 2 5 ~ 2 8 のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号 1 2 又は配列番号 2 9 ~ 3 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。

40

【 0 0 1 4 】

種々の実施形態では、抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片は、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、組換え抗体、抗原結合抗体断片、一本鎖抗体、単量体抗体、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、F a b 断片、I g M 抗体、I g G 1 抗体、I g G 2 抗体、I g G 3 抗体及び I g G 4 抗体からなる群から選択される抗 T S L P 抗原結合タンパク質を含む。

【 0 0 1 5 】

様々な実施形態において、免疫グロブリン、抗原結合タンパク質又は抗体は、ヒト抗体

50

である。様々な実施形態では、抗体は、IgG2抗体である。様々な実施形態では、抗TSLP免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片は、配列番号2のアミノ酸29~159で示されるTSLPポリペプチドに特異的に結合する。様々な実施形態では、抗TSLP免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片の両方の結合部位は、TSLPに対する同一の結合を有する。

【0016】

様々な実施形態では、抗TSLP免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片は、数値的に 10^{-8} M Kd以下の親和性でTSLPに結合する。

10

【0017】

本明細書に記載の抗TSLP免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片と、薬学的に許容される担体、賦形剤又は希釈剤とを含む組成物がさらに企図される。

【0018】

本開示は、本明細書に記載の免疫グロブリン、抗原結合タンパク質又は抗体の軽鎖可変ドメイン、重鎖可変ドメイン又は両方をコードするポリヌクレオチド配列を含む単離された核酸も提供する。

【0019】

本開示は、本明細書に記載の抗TSLP免疫グロブリン、抗原結合タンパク質又は抗体をコードする核酸を含む組換え発現ベクターをさらに企図する。発現ベクターを含む宿主細胞も提供される。

20

【0020】

配列番号2のアミノ酸29~159を含むTSLPポリペプチドに特異的に結合する免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片を産生する方法であって、宿主細胞を、それが免疫グロブリン、抗原結合タンパク質又はその断片を発現することを可能にする条件下でインキュベートすることを含み、前記宿主細胞は、(i)本明細書に記載の抗原結合タンパク質の軽鎖可変ドメインをコードする組換え発現ベクター及び本明細書に記載の抗原結合タンパク質の重鎖可変ドメインをコードする組換え発現ベクター、又は(ii)本明細書に記載の免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくは抗体の軽鎖可変ドメインと重鎖可変ドメインとの両方をコードする組換え発現ベクターを含む、方法が本明細書でさらに企図される。

30

【0021】

様々な実施形態では、抗TSLP免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片は、配列番号10及び配列番号12で示されるアミノ酸配列を有する抗TSLP免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片と比較して、25で上昇した安定性を有する。様々な実施形態では、抗TSLP免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片は、配列番号10及び配列番号12で示されるアミノ酸配列を有する抗TSLP免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片と比較して、4週間後に40で上昇した安定性を有する。様々な実施形態では、抗TSLP免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片は、配列番号10及び配列番号12で示されるアミノ酸配列を有する抗TSLP抗原結合タンパク質又はその断片と比較して、4週間後に40で減少した高分子量種を有する。

40

【0022】

様々な実施形態では、抗TSLP免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片は、配列番号10及び配列番号12で示されるアミノ酸配列を有する抗TSLP免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片と比較して、50で減少した異性を有する。

【0023】

50

様々な実施形態では、抗TSLP免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片の2%未満は、SEC、例えば抗体-抗原複合体のSECによって決定されるとき、約25で少なくとも2週間（任意選択的に少なくとも1ヶ月、少なくとも2ヶ月、少なくとも3ヶ月、少なくとも4ヶ月、少なくとも5ヶ月又は少なくとも6ヶ月）の貯蔵後に異性を示す。様々な実施形態では、抗原結合タンパク質又はその断片の2%未満は、SECによって決定されるとき、約22ヶ月～約36ヶ月の2～8での貯蔵、続いて少なくとも2週間又は少なくとも1ヶ月、若しくは少なくとも2ヶ月、若しくは少なくとも3ヶ月の約25での貯蔵後に異性を示す。

【0024】

対象の炎症性疾患を治療する方法であって、治療有効量の、本明細書に記載の免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片或いはその組成物を対象に投与する工程を含む方法も本明細書で提供される。種々の態様では、炎症性疾患は、喘息、アトピー性皮膚炎、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、好酸球性食道炎（EoE）、鼻茸、慢性自然発症蕁麻疹、Ig駆動疾患、IgA腎症、ループス腎炎、好酸球性胃炎、鼻茸を伴わない慢性副鼻腔炎及び特発性肺線維症（IPF）からなる群から選択される。様々な実施形態において、喘息は、軽度、中等度又は重度の喘息である。種々の実施形態では、喘息は、重度の喘息である。様々な実施形態では、喘息は、好酸球性又は非好酸球性喘息である。

10

【0025】

様々な実施形態では、方法は、2週間ごと又は4週間ごとの間隔で組成物を投与することを含む。様々な実施形態では、組成物は、少なくとも4ヶ月、6ヶ月、9ヶ月、1年又はそれを超える期間にわたって投与される。

20

【0026】

様々な実施形態では、本開示は、複数の抗TSLPモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を含む組成物を製造する方法を提供し、複数の抗TSLPモノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号3で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1配列；配列番号4で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2配列；配列番号5で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3配列；配列番号6で示されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR1配列；配列番号7で示されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR2配列；及び配列番号8で示されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR3配列をそれぞれ含み、方法は、配列番号7で示されるHC DR2のイソアスパラギン酸（isoAsp）若しくは環状アスパラギン酸（cAsp）と比較したHC位置54のL-アスパラギン酸；配列番号8で示されるHC DR3中の酸化W102と比較した非酸化HC W102；配列番号4で示されるLC DR2のisoAsp若しくはcAspと比較したLC位置49若しくは位置50のL-アスパラギン酸；LC配列番号12で示される脱アミド化N65と比較したLC N65；又はisoAsp若しくはcAspと比較した配列番号5で示されるLC DR3のLC位置91のL-アスパラギン酸の少なくとも1つを含むIgG2抗TSLPモノクローナル抗体について組成物を濃縮することを含む。cAspは、Asp又はisoAspと比較してH₂Oの損失を特徴とするスクシンイミドとしても公知である。

30

【0027】

様々な実施形態では、抗TSLPモノクローナル抗体の2.0%未満は、異性化HC D54を含む。様々な実施形態では、抗TSLPモノクローナル抗体の0.9%以下は、異性化HC D54を含む。様々な実施形態では、抗TSLPモノクローナル抗体の2%以下は、酸化HC W102を含む。様々な実施形態では、抗TSLPモノクローナル抗体の2.0%未満は、異性化LC D49又はD50を含む。様々な実施形態では、抗TSLPモノクローナル抗体の0.9%以下は、異性化LC D49又はD50を含む。様々な実施形態では、抗TSLPモノクローナル抗体の0.5%以下は、脱アミド化LC N65を含む。様々な実施形態では、抗TSLPモノクローナル抗体の0.9%以下は、異性化LC D91を含む。

40

【0028】

50

抗 T S L P モノクローナル抗体を含む組成物がさらに企図され、抗 T S L P モノクローナル抗体は、配列番号 3 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1 配列；配列番号 4 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2 配列；配列番号 5 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3 配列；配列番号 6 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1 配列；配列番号 7 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2 配列；及び配列番号 8 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3 配列をそれぞれ含み、組成物は、前記組成物の前記抗 T S L P モノクローナル抗体が数値的に 10^{-8} M 以下の K_d で T L S P に結合するために有効である、限定された含有量の異性化 H C D 5 4（配列番号 7）及び/又は限定された含有量の異性化 L C D 4 9 若しくは D 5 0（配列番号 4）を含む。

【 0 0 2 9 】

I g G 2 抗 T S L P モノクローナル抗体を含む組成物も提供され、I g G 2 抗 T S L P モノクローナル抗体は、配列番号 3 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1 配列；配列番号 4 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2 配列；配列番号 5 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3 配列；配列番号 6 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1 配列；配列番号 7 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2 配列；及び配列番号 8 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3 配列をそれぞれ含み；抗 T S L P モノクローナル抗体の 0 . 9 % 以下は、異性化 H C D 5 4 を含むか；抗 T S L P モノクローナル抗体の 2 % 以下は、酸化 H C W 1 0 2 を含むか；抗 T S L P モノクローナル抗体の 6 . 7 % 以下は、異性化 L C D 4 9 又は D 5 0 を含むか；抗 T S L P モノクローナル抗体の 0 . 5 % 以下は、脱アミド化 L C N 6 5 を含むか；又は抗 T S L P モノクローナル抗体の 0 . 9 % 以下は、異性化 L C D 9 1 を含むかの少なくとも 1 つである。様々な実施形態では、抗 T S L P モノクローナル抗体の 0 . 9 % 以下は、異性化 H C D 5 4 を含む。様々な実施形態では、抗 T S L P モノクローナル抗体の 2 % 以下は、酸化 H C W 1 0 2 を含む。様々な実施形態では、抗 T S L P モノクローナル抗体の 0 . 9 % 以下は、異性化 L C D 4 9 又は L C D 5 0 を含む。様々な実施形態では、抗 T S L P モノクローナル抗体の 0 . 5 % 以下は、脱アミド化 L C N 6 5 を含む。様々な実施形態では、抗 T S L P モノクローナル抗体の 0 . 9 % 以下は、異性化 L C D 9 1 を含む。

【 0 0 3 0 】

I g G 2 抗 T S L P モノクローナル抗体を含む組成物も提供され、I g G 2 抗 T S L P モノクローナル抗体は、配列番号 3 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1 配列；配列番号 4 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2 配列；配列番号 5 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3 配列；配列番号 6 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1 配列；配列番号 7 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2 配列；及び配列番号 8 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3 配列をそれぞれ含み；抗 T S L P モノクローナル抗体の 0 . 9 % 以下は、異性化 H C D 5 4 を含むか；抗 T S L P モノクローナル抗体の 2 % 以下は、酸化 H C W 1 0 2 を含むか；抗 T S L P モノクローナル抗体の 1 2 . 9 % 以下は、異性化 L C D 4 9 又は D 5 0 を含むか；抗 T S L P モノクローナル抗体の 0 . 5 % 以下は、脱アミド化 L C N 6 5 を含むか；又は抗 T S L P モノクローナル抗体の 0 . 9 % 以下は、異性化 L C D 9 1 を含むかの少なくとも 1 つである。様々な実施形態では、抗 T S L P モノクローナル抗体の 0 . 9 % 以下は、異性化 H C D 5 4 を含む。様々な実施形態では、抗 T S L P モノクローナル抗体の 2 % 以下は、酸化 H C W 1 0 2 を含む。様々な実施形態では、抗 T S L P モノクローナル抗体の 0 . 9 % 以下は、異性化 L C D 4 9 又は L C D 5 0 を含む。様々な実施形態では、抗 T S L P モノクローナル抗体の 0 . 5 % 以下は、脱アミド化 L C N 6 5 を含む。様々な実施形態では、抗 T S L P モノクローナル抗体の 0 . 9 % 以下は、異性化 L C D 9 1 を含む。

【 0 0 3 1 】

様々な実施形態では、抗 T S L P 抗体は、H C D 5 4 の L - アスパラギン酸と L C D 4 9 又は D 5 0 の L - アスパラギン酸との組合せを含む。様々な実施形態では、抗 T S L P 抗体は、H C D 5 4 の L - アスパラギン酸において、i s o A s p のレベルよりも少なくとも 6 倍濃縮される。

10

20

30

40

50

【0032】

種々の実施形態では、抗体は、IgG2抗体である。様々な実施形態では、抗TSLP抗体は、配列番号10又は配列番号25～28で示される重鎖可変領域と、配列番号12又は配列番号29～36で示される軽鎖可変領域とを含み、且つ本明細書に記載される配列修飾の1つ以上を含む。

【0033】

本開示は、抗TSLPモノクローナル抗体を含む組成物も提供し、抗TSLPモノクローナル抗体は、配列番号3で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1配列；配列番号4で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2配列；配列番号5で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3配列；配列番号6で示されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR1配列；配列番号7で示されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR2配列；及び配列番号8で示されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR3配列をそれぞれ含み；組成物の抗TSLPモノクローナル抗体の98%超は、位置54（配列番号7）のisoAsp若しくはcAspと比較してHC位置54にL-アスパラギン酸を含むか；組成物の抗TSLPモノクローナル抗体の少なくとも99%は、酸化W102と比較した非酸化HC W102（配列番号8）を含むか；組成物の抗TSLPモノクローナル抗体の少なくとも97%は、位置49若しくは50（配列番号4）のisoAsp若しくはcAspと比較してLC位置49若しくは50にL-アスパラギン酸を含むか；組成物の抗TSLPモノクローナル抗体の少なくとも99.1%は、脱アミド化LC N65（配列番号12）と比較したLC N65を含むか；又は組成物の抗TSLPモノクローナル抗体の少なくとも99.1%は、位置91（配列番号5）のisoAsp若しくはcAspと比較してLC位置91にL-アスパラギン酸を含むかの少なくとも1つである。

【0034】

本開示は、本明細書に記載の炎症性疾患の治療に使用するための、本明細書に記載の抗TSLP抗体又はその抗原結合断片を含む組成物も提供する。特定の実施形態において、本開示は、炎症性疾患を治療するための薬剤の調製における、本明細書に記載される抗TSLP抗体又はその抗原結合断片を含む組成物の使用を提供する。

【0035】

シリンジ、例えば単回使用又は予め充填されたシリンジ、滅菌密封容器、例えばバイアル、ボトル、容器及び/又は前述の抗体若しくは組成物のいずれかを含むキット若しくはパッケージも、任意選択的に使用のための適切な説明書と共に企図される。

【0036】

本明細書に記載される各特徴若しくは実施形態又は組合せは、本発明の態様のいずれかの非限定的で例示的な例であり、したがって本明細書に記載される任意の他の特徴若しくは実施形態又は組合せと組み合わせることが可能であると意図されることが理解される。例えば、特徴が「一実施形態」、「ある実施形態」、「特定の実施形態」、「さらなる実施形態」、「特定の例示的な実施形態」及び/又は「他の実施形態」などの用語を用いて記載される場合、これらのタイプの実施形態のそれぞれは、あらゆる可能な組合せを列挙する必要なく、本明細書に記載される任意の他の特徴又は特徴の組合せと組み合わせることが意図される特徴の非限定的な例である。このような特徴又は特徴の組合せは、本発明の態様のいずれかに適用される。範囲内に含まれる値の例が開示される場合、これらの例のいずれも範囲の可能な端点として考えられ、このような端点間のあらゆる数値が想定され、上端点及び下端点のあらゆる組合せが想定される。

【0037】

本明細書における見出しは、読者の便宜のためのものであり、限定的であることを意図されない。本発明のさらなる態様、実施形態及び変形形態は、詳細な説明、及び/又は図面、及び/又は特許請求の範囲から明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0038】

【図1】熱ストレスAMG157（40C4W）及びTSLPのSEC親和性結合によつ

10

20

30

40

50

て決定される結合に潜在的に影響を与える残基及び修飾を特徴付けるためのワークフローを示す。インシリコ配列分析を示す(上)。修飾を有する残基のいくつかの変異は、室温でAMG157の安定性を改善すると考えられた(下)。

【図2】抗原抗体複合体のSECによって決定されたAMG157のT0、40C4W及び22M5C+2M25C試料の潜在的属性の相対的存在量を示す。これらの属性は、インシリコ配列によるTSLP安定性に潜在的に影響を与えると予測された(図1に示す)。白色、黒色及び灰色のバーは、それぞれAMG157 T0、40C4W及び22M5C+2M25C試料修飾率を表す。破線は、2%を表すように示されている。

【図3A】AMG157 T0、AMG157 40C4W、TSLP、AMG157 T0+TSLP混合物及びAMG157 40C4W+TSLP混合物のSEC-UVプロファイルを示す。5つのSEC-UVピーク領域は、ピーク形状及び分子量に基づいて割り当てられる。ピーク3は、TSLPとのAMG157の結合画分を表し、ピーク5は、AMG157の非結合画分に対応する。割り当てられた各ピークのイラストは、対応するピークの上に示されている。

【図3B】SEC結合の結合画分及び非結合画分における5つの属性の修飾率を示す。

【図4】TSLP結合に影響を与えるためにAMG157の属性が統計学的にどのように分布するかを示すボルケーノプロットである。右上隅に示される属性は、TSLP結合に潜在的に影響を与えるAMG157の修飾である。X軸は、非結合と結合との間の変化倍数の \log_2 値であり、y軸は、統計学的有意性を表すp値の $-\log_{10}$ 値である。灰色の領域は、バックグラウンドと見なされる。

【図5A】インシリコ配列分析に基づいて潜在的に重要であると考えられた10残基中の結合AMG157画分及び非結合AMG157画分の修飾率を示す。しかし、抗体-抗原のSECにより、非結合画分と結合画分との修飾の比は、統計的に異なることが明らかになった。修飾は、抗体-抗原法のSECによって測定される結合に影響を及ぼさないと仮定される。図5A及び図5Bは、それぞれ0~50%及び0~1%のパーセンテージスケールを有する。

【図5B】インシリコ配列分析に基づいて潜在的に重要であると考えられた10残基中の結合AMG157画分及び非結合AMG157画分の修飾率を示す。しかし、抗体-抗原のSECにより、非結合画分と結合画分との修飾の比は、統計的に異なることが明らかになった。修飾は、抗体-抗原法のSECによって測定される結合に影響を及ぼさないと仮定される。図5A及び図5Bは、それぞれ0~50%及び0~1%のパーセンテージスケールを有する。

【図6】AMG157 T0、40C4W及び50C1WのSEC-UVプロファイルを示す。AMG157 T0、40C4W及び50C1WのSEC-UVプロファイルは、それぞれ黒色実線、青色点線及び赤色破線で示されている。AMG157の溶出時間及び理論分子量に基づいて、約10.5分で溶出するピークは、AMG157(HMW)の高分子量種として割り当てられ、約15.5分で溶出するピークは、AMG157のモノマーとして割り当てられる。積分ピーク面積によれば、40C4W及び50C1WにおけるHMW種の割合は、それぞれ約9%及び6.7%であり、図の左上に示されている。

【図7A】50C1Wストレス後のAMG157の属性がHMWとモノマー種との間でどのように分布するかを示し、統計学的有意性を示すボルケーノプロットを示す。右上隅に示される属性は、50C1WにおけるHMWの形成に相関するAMG157の修飾である。X軸は、HMWとモノマー種との間の倍数変化の \log_2 値であり、y軸は、統計学的有意性を表すp値の $-\log_{10}$ 値である。灰色領域は、バックグラウンドノイズと見なされるが、より低い信頼度を有する真値を含み得る。

【図7B】AMG157 50C1W試料のHMW種及びモノマーにおける20の修飾の割合を示す。これらの20個の修飾には、右上の白いコーナからの統計的に有意な修飾(アスタリスクを有する7個の修飾市場)及び隣接する「統計的に有意性に近い灰色領域」からの修飾が含まれる。これらの20個の修飾のそれぞれは、倍数変化及び有意性の比較的高い値を有する。これらの20個の修飾についての倍数変化のp値の $-\log_{10}$ 及び1

10

20

30

40

50

o g 2 値の合計は、4 . 6 超であった。

【図 8 A】ペプチドマッピングによる異性化レベル測定並びに 4 0 で 4 週間ストレスをかけた抗体原薬及び抗体の効力測定を示す。

【図 8 B】抗体の C E X - H P L C プロファイルを示す。

【図 8 C】ペプチドマッピングによる化学修飾及び相対効力についての A M G 1 5 7 4 0 4 W 試料の C E X 画分の特性評価の従来の方法の結果を示す。

【図 8 D】貯蔵寿命の終わりに近い長期安定性研究の結果を示す。

【発明を実施するための形態】

【0039】

テゼベルマブによる治療は、日々の疾患活動を除去し、より多くの患者をステロイド不使用とすることができるか、又は喘息などの炎症性疾患の治療でのステロイドの使用の必要性を減少させることができるとさらに考えられる。

【0040】

特に明記しない限り、本明細書及び特許請求の範囲を含む本出願で使用される以下の用語は、下記の定義を有する。

【0041】

本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用される場合、不定冠詞「1つの(a)」及び「1つの(an)」並びに定冠詞「その」は、文脈が明確に別段の指示をしない限り、複数及び単数の指示対象を含む。

【0042】

他に定義されない限り、本明細書で使用する全ての技術用語及び科学用語は、本開示が属する技術分野の当業者によって一般に理解される意味と同じ意味を有する。以下の参考文献は、本開示で使用される多くの用語の一般的な定義を当業者に提供するが、これらに限定されるものではない：Singleton et al., DICTIONARY OF MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY (2d Ed., 1994); THE CAMBRIDGE DICTIONARY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY (Walker Ed., 1988); THE GLOSSARY OF GENETICS, 5th Ed., R. Rieger et al. (Eds.), Springer Verlag (1991); 及び Hale & Marham, THE HARPER COLLINS DICTIONARY OF BIOLOGY (1991)。

【0043】

「約」又は「略」という用語は、当業者によって決定される特定の値に対する許容可能な誤差を意味し、これは、値がどのように測定又は決定されるかに部分的に依存する。特定の実施形態では、「約」又は「略」という用語は、1、2、3又は4標準偏差内であることを意味する。特定の実施形態では、「約」又は「略」という用語は、与えられた数値又は範囲の30%、25%、20%、15%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%又は0.05%内であることを意味する。「約」又は「略」という用語が一連の2つ以上の数値中の第1の数値に先行する場合には常に、「約」又は「略」という用語は、その一連の数値のそれぞれに適用されると理解される。

【0044】

用語「炎症性疾患」は、免疫系が自らの細胞又は組織を攻撃して異常な炎症を起こし、慢性的な痛み、発赤、腫れ、こわばり及び正常な組織の損傷などを引き起こす病状を指す。炎症性疾患としては、例えば、喘息、慢性消化性潰瘍、結核、歯周炎、副鼻腔炎、活動性肝炎、強直性脊椎炎、関節リウマチ、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、クローン病、潰瘍性大腸炎、変形性関節症、アテローム性動脈硬化症、全身性エリテマトーデス、アトピー性皮膚炎、好酸球性食道炎(EoE)、鼻茸、慢性自然発症蕁麻疹、Ig駆動疾患(IgA腎症及びループス腎炎など)、好酸球性胃炎、鼻茸を伴わない慢性副鼻腔炎、特発性肺線維症(IPF)などが挙げられる。例示的な態様では、炎症性疾患は、喘息、アトピー性皮膚炎又はCOPDである。例示的な態様では、炎症性は、喘息であり、いくつかの

場合、喘息は、重症喘息、好酸球性喘息、非好酸球性喘息又は低好酸球性喘息である。

【0045】

本明細書では、「喘息」という用語は、アレルギー性、非アレルギー性、好酸球性及び非好酸球性喘息を指す。

【0046】

本明細書では、「アレルギー性喘息」という用語は、1つ以上の吸入したアレルゲンによって誘発される喘息を指す。そのような患者は、喘息反応を誘発する1つ以上のアレルゲンに対して陽性のIgE蛍光酵素免疫アッセイ(FEIA)レベルを有する。ほとんどのアレルギー性喘息は、通常、Th2型炎症に関連する。

【0047】

「非アレルギー性喘息」という用語は、診断時に低好酸球、低Th2又は低IgEを有する患者を指す。「非アレルギー性喘息」を有する患者は、通常、地域に固有のアレルゲンを含むアレルゲンパネルに反応するIgE蛍光酵素免疫アッセイ(FEIA)で陰性である。低IgEに加えて、これらの患者は、多くの場合、診断時、好酸球数が低いか又は全くなく、且つTh2数が低い。

【0048】

本明細書では、「重度の喘息」という用語は、良好な制御を維持するために、高強度の治療(例えば、GINAステップ4及びステップ5)を必要とするか、又は高強度の治療にもかかわらず良好な制御が達成されない喘息を指す(GINA, Global Strategy for Asthma Management and Prevention, Global Initiative for Asthma (GINA) December 2012)。

【0049】

本明細書で使用される「好酸球性喘息」という用語は、スクリーニング血中好酸球数が300細胞/ μ L以下又は250細胞/ μ L以下である喘息患者を指し、「低好酸球性」喘息は、250細胞/ μ L未満の血液又は血清を有する喘息患者を指す。代わりに、「低好酸球性」喘息は、300細胞/ μ L未満の血液又は血清を有する喘息患者を指す。

【0050】

「Thヘルパー(Th)1サイトカイン」又は「Th1特異的サイトカイン」は、Th1 T細胞によって発現され(細胞内に、且つ/又は分泌される)、IFN-g、TNF-a及びIL-12を含むサイトカインを指す。「Th2サイトカイン」又は「Th2特異的サイトカイン」は、Th2 T細胞によって発現される(細胞内に、且つ/又は分泌される)、IL-4、IL-5、IL-13及びIL-10を含むサイトカインを指す。「Th17サイトカイン」又は「Th17特異的サイトカイン」は、Th17 T細胞によって発現され(細胞内に、且つ/又は分泌される)、IL-17A、IL-17F、IL-22及びIL-21を含むサイトカインを指す。Th17細胞の特定の集団は、本明細書中に列挙したTh17サイトカインに加えてIFN-g及び/又はIL-2を発現する。多機能性CTLサイトカインには、IFN-g、TNF-a、IL-2及びIL-17が含まれる。

【0051】

「特異的に結合する」という用語は「抗原特異的」であり、「特異的」、「選択的結合剤」、「特異的結合剤」、「抗原標的」であるか又は抗原に対して「免疫反応性」があり、類似配列の他の抗原よりも高い親和性で標的抗原に結合する抗体又はポリペプチドを指す。本明細書では、本薬剤は、免疫細胞型、例えば、表面抗原(例えば、T細胞受容体、CD3)、サイトカイン(例えば、TSLP、IL-4、IL-5、IL-13、IL-17、IFN-g、TNF-a)などを同定するのに有用な標的タンパク質に特異的に結合すると考えられる。種々の実施形態では、抗体は、標的抗原に特異的に結合するが、密接に関連する種のオルソログと交差反応することができ、例えば、抗体はヒトタンパク質であり得、密接に関連する霊長類タンパク質にも結合し得る。様々な実施形態では、TSLPに特異的な免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはは

10

20

30

40

50

その断片は、数値的に 10^{-8} M 以下の K_d で結合する。様々な実施形態では、本明細書に記載される抗 T S L P 抗体は、少なくとも 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M、 10^{-12} M、 10^{-13} M 以下の親和性 (K_d) で結合する。

【0052】

「抗体」という用語は、それぞれ可変領域及び定常領域を含む、2本の重鎖及び2本の軽鎖からなる四量体糖タンパク質を指す。「重鎖」及び「軽鎖」は、実質的に完全長のカノニカル免疫グロブリンの軽鎖及び重鎖を指す(例えば、Immunobiology, 5th Edition (Janeway and Travers et al., Eds., 2001)を参照されたい)。抗原結合部分は、組換えDNA技術又は無傷の抗体に酵素的若しくは化学的切断によって生成され得る。

10

【0053】

抗原結合タンパク質には、カノニカル四量体抗体の構造に構造変化を有し得る抗体、抗体断片及び抗体様タンパク質が含まれる。抗体「バリエーション」は、公知の配列を有する親抗体と比較して抗体配列又は機能に構造変化を有し得る抗原結合タンパク質又はその断片を指す。抗体バリエーションとしては、定常領域に変化を有するV領域又は代わりに任意選択的に非カノニカル法で、V領域を定常領域に付加することが挙げられる。例としては、多重特異性抗体(例えば、余分なV領域を有する二重特異性抗体)、抗原に結合することができる抗体断片(例えば、Fab'、F'(ab)2、Fv、一本鎖抗体、ダイアボディ)、所望の生物学的活性を示す限り、上記を含むパイラトピックペプチド及び組換えペプチドが挙げられる。

20

【0054】

抗体断片には、とりわけ、Fab、Fab'、F(ab')2、Fv、ドメイン抗体(dAb)、相補性決定領域(CDR)断片、CDRグラフト化抗体結合領域、一本鎖抗体(scFv)、一本鎖抗体の断片、キメラ抗体、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ミニボディ、線状抗体;キレート化組換え抗体、トリボディ若しくはバイボディ、イントラボディ、ナノボディ、小モジュラー免疫薬(SMIP)、抗原結合ドメイン免疫グロブリン融合タンパク質、単ドメイン抗体(ラクダ化抗体を含む)、VHH含有抗体又はこれらの変異体若しくは誘導體並びに抗体が所望の生物学的活性を保持する限り、ポリペプチドに特異的抗原結合を付与するのに十分な免疫グロブリンの少なくとも一部を含むポリペプチド、例えば1、2、3、4、5又は6個のCDR配列を含む抗体の抗原結合部分が含まれる。

30

【0055】

「結合価」は、エピトープを標的とする各抗体又は抗体断片上の抗原結合部位の数を指す。典型的な完全長IgG分子又はF(ab)2は、2つの同一の標的結合部位を有するという点で「二価」である。単一の抗原結合部位を有するF(ab)'又はscFcなどの「一価」抗体断片。三価又は四価の抗原結合タンパク質は、多価となるように操作することもできる。

【0056】

「モノクローナル抗体」は、実質的に均質な抗体の集団から得られる抗体を指し、すなわち、集団を構成する個々の抗体は、少量で存在し得る天然に発生する可能な突然変異を除いて同一である。

40

【0057】

「TSLP活性を阻害する」という用語は、以下の任意の1つ以上を阻害することを含む:TSLPのその受容体への結合;TSLP存在下のTSLPR発現細胞の増殖、活性化又は分化;TSLP存在下の分極アッセイにおけるTh2サイトカイン産生の阻害;TSLP存在下の樹状細胞の活性化又は成熟;及びTSLP存在下の肥満細胞サイトカインの放出。例えば、米国特許第7982016B2号明細書、カラム6及び実施例8並びに米国特許出願公開第2012/0020988A1号明細書、実施例7~10を参照されたい。

【0058】

50

「試料」又は「生体試料」という用語は、本方法で使用するために対象から得た標本を指し、尿、全血、血漿、血清、唾液、痰、組織生検、脳脊髄液、インビトロ刺激を伴う末梢血単核細胞、インビトロ刺激を伴わない末梢血単核細胞、インビトロ刺激を伴う腸リンパ組織、インビトロ刺激を伴わない腸リンパ組織、腸洗浄、細気管支肺胞洗浄、鼻洗浄及び誘発痰を含む。

【0059】

「治療する」、「治療すること」及び「治療」という用語は、本明細書に記載の炎症性障害に関連する事象、疾患又は状態の臨床症状、発症又は進行を一時的又は永久的に部分的又は完全に排除、減少、抑制又は改善することを指す。関連分野で認識されているように、治療剤として使用される薬物は、所与の病状の重症度を低下させ得るが、有用な治療薬と見なされるために、疾患のあらゆる症状を消失させる必要はない。同様に、予防的に投与される治療は、存続可能な予防剤を構成するために、状態の発症を予防するのに完全に有効である必要はない。単に、疾患の影響を軽減すること（例えば、その症状の数又は重症度を軽減するか、又は別の処置の有効性を増大させるか、又は別の有益な効果を生じさせることにより）又は疾患が対象において発症するか若しくは悪化する可能性を低下させることで十分である。本発明の一実施形態は、特定の障害の重症度を反映する指標の、ベースラインを超える持続的改善を誘導するのに十分な量及び時間で、患者に治療薬を投与することを含む、治療の有効性を決定するための方法に関する。

10

【0060】

「治療有効量」という用語は、疾患又は障害に関連する疾患の症状又は兆候を改善又は軽減するのに有効な治療薬の量を指す。

20

【0061】

T S L P

胸腺間質性リンパ球新生因子 (T S L P) は、炎症誘発刺激に応答して産生され、主に樹状細胞 (Gilliet, J Exp Med. 197: 1059 - 1067, 2003; Soumelis, Nat Immunol. 3: 673 - 680, 2002; Reche, J Immunol. 167: 336 - 343, 2001), mast cells (Allakhverdi, J Exp Med. 204: 253 - 258, 2007) and CD34 + progenitor cells (Swedin et al. Pharmacol Ther. 2017; 169: 13 - 34)。T S L P は、インターロイキン (I L) - 7 受容体アルファ (I L - 7 R) 鎖及び一般的な鎖様受容体 (T S L P R) からなるヘテロダイマー受容体を介してシグナル伝達する (Pandey, Nat Immunol. 1: 59 - 64, 2000; Park, J Exp Med. 192: 659 - 669, 2000)。

30

【0062】

ヒト T S L P mRNA (Brightling et al., J Allergy Clin Immunol. 2008; 121: 5 - 10; quiz 1 - 2; Ortega et al. N Engl J Med. 2014; 371: 1198 - 207) 及びタンパク質レベル (前出の Ortega et al.) は、対照と比較して喘息個体の気道で増加し、この発現の大きさは疾患重症度と相関する (前出の Brightling et al.)。最近の研究は、ヒト T S L P 遺伝子座における一塩基多型と、喘息、アトピー性喘息及び気道過敏症からの保護との関連を実証しており、これは T S L P 遺伝子発現の差次的調節が疾患感受性に影響を及ぼし得ることを示唆している (Ortega et al. N Engl J Med. 2014; 371: 1198 - 207; To et al. BMC Public Health. 2012; 12: 204)。これらのデータは、T S L P を標的とすることで、喘息に関与する複数の生物学的経路を阻害し得ることを示唆している。

40

【0063】

T S L P の初期の非臨床研究では、T S L P が気道上皮細胞又は間質細胞から解放された後、それが肥満細胞、樹状細胞及び T 細胞を活性化して T h 2 サイトカイン (例えば、

50

IL - 4 / 13 / 5) を放出すると示唆されていた。最近発表されたヒトデータでは、重度の喘息において、組織 T S L P 遺伝子と、タンパク質発現、Th 2 遺伝子シグネチャスコア及び組織好酸球との間に良好な相関が示された。したがって、抗 T S L P 標的療法は、Th 2 型炎症を有する喘息患者に有効であり得る (Shikotra et al, J Allergy Clin Immunol. 129 (1) : 104 - 111, 2012)。
【0064】

他の研究からのデータでは、T S L P は気道平滑筋と肥満細胞との間のクロストークなどの Th 2 非依存経路を介して気道炎症を促進し得ることが示唆されている (Allakhverdi et al, J Allergy Clin Immunol. 123 (4) : 958 - 60, 2009; Shikotra et al., 上掲)。T S L P は、T 細胞の誘導も促進して、Th - 17 - サイトカイン産生細胞に分化させ、その結果、より重度の喘息で一般的に見られる好中球性炎症を増加させ得る (Tanaka et al, Clin Exp Allergy. 39 (1) : 89 - 100, 2009)。これらのデータ及び他の新たな証拠は、T S L P を遮断することが、限定されないが、Th 2 サイトカイン (IL - 4 / 13 / 5) を含むものを含む複数の生物学的経路を抑制するのに役立つことを示唆する。

【0065】

抗体

T S L P に特異的な抗体又は抗体バリエーション又は抗原結合タンパク質は、重度の喘息、好酸球性喘息、非好酸球性 / 低好酸球性及び本明細書に記載の他の形態の喘息を含む喘息、アトピー性皮膚炎及び COPD の治療において有用であると考えられる。

【0066】

標的抗原、例えば T S L P に結合する抗体及び抗体変異体又は断片などの特異的結合剤は、本発明の方法において有用である。一実施形態では、特異的結合剤は抗体である。抗体は、モノクローナル (M A b) ; 組換え ; キメラ ; 相補性決定領域 (C D R) グラフト化などのヒト化 ; ヒト ; 鎖鎖を含む抗体変異体 ; 及び / 又は二重特異性 ; 並びにそれらの断片 ; 変異体 ; 又は誘導体であり得る。抗体断片は、目的のポリペプチド上のエピトープに結合する抗体のそうした部分を含む。このような断片の例としては、完全長抗体の酵素的切断によって生成された F a b 及び F (a b ') 断片が挙げられる。他の結合断片としては、抗体可変領域をコードする核酸配列を含む組換えプラスミドの発現などの、組換え DNA 手法によって生成される断片が挙げられる。

【0067】

モノクローナル抗体は、治療薬又は診断薬として使用するために修飾され得る。一実施形態は、重鎖 (H) 及び / 又は軽鎖 (L) の一部が特定の種に由来するか、又は特定の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一であるか、又は相同であり、鎖の残りは、別の種に由来するか、又は別の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一であるか、又は相同である「キメラ」抗体である。所望の生物学的活性を示す限り、そのような抗体の断片も含まれる。米国特許第 4, 816, 567 号明細書 ; Morrison et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. 81 : 6851 - 55 を参照されたい。

【0068】

別の実施形態では、モノクローナル抗体は、「ヒト化」抗体である。非ヒト抗体をヒト化するための方法は、当技術分野でよく知られている。米国特許第 5, 585, 089 号明細書及び同第 5, 693, 762 号明細書を参照されたい。一般的に、ヒト化抗体は、非ヒトである供給源から導入された 1 つ以上のアミノ酸残基を有する。ヒト化は、例えば、齧歯動物の相補性決定領域の少なくとも一部をヒト抗体の対応する領域に置換することにより、当技術分野で記述されている方法を使用して (Jones et al., 1986, Nature 321 : 522 - 25 ; Riechmann et al., 1998, Nature 332 : 323 - 27 ; Verhoeyen et al., 1988, Science 239 : 1534 - 36) 実施することができる。

【0069】

T S L P に結合するヒト抗体バリエーション（抗体断片を含む）も本発明に包含される。内因性免疫グロブリンを産生せずにヒト抗体のレパートリーを産生できる遺伝子導入動物（例えば、マウス）を使用して、そのような抗体は、任意選択的に担体に結合体化されたポリペプチド抗原（すなわち少なくとも6つの連続するアミノ酸を有する）による免疫化によって産生される。例えば、Jakobovits et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. 90: 2551-55; Jakobovits et al., 1993, Nature 362: 255-58; Bruggermann et al., 1993, Year in Immuno. 7: 33を参照されたい。PCT出願PCT/米国特許第96/05928号明細書及びPCT/米国特許第93/06926号明細書も参照されたい。さらなる方法は、米国特許第5,545,807号明細書、PCT出願PCT/米国特許出願公開第91/245号明細書及びPCT/英国特許出願公開第89/01207号明細書並びに欧州特許第546073B1号明細書及び欧州特許出願公開第546073A1号明細書に記載されている。ヒト抗体は、宿主細胞中で組換えDNAの発現又は本明細書に記載のハイブリドーマ細胞中での発現によって産生することもできる。

【0070】

キメラ、CDRグラフト化及びヒト化抗体並びに/又は抗体変異体は、通常、組換え法によって生成される。抗体をコードする核酸を宿主細胞に導入し、本明細書に記載の材料及び手順を用いて発現させる。好ましい実施形態では、抗体は、CHO細胞などの哺乳動物宿主細胞中で産生される。モノクローナル（例えば、ヒト）抗体は、宿主細胞中で組換えDNAの発現又は本明細書に記載のハイブリドーマ細胞中での発現によって産生し得る。

【0071】

抗T S L P抗体テゼベルマブは、米国特許第7,982,016号明細書及び米国特許出願公開第15/951,602号明細書に記載されている。ストレスを受けた貯蔵条件下、例えば40℃で4週間（40C4W）又は50℃で1週間（50C1W）では、テゼベルマブ抗体上の残基は、抗体安定性に有害な異性化、脱アミド又は酸化などの変化を受けることが本明細書で発見された。抗T S L P抗体テゼベルマブCDR（配列番号3~8）又は可変領域（配列番号10及び12）の安定性低下の原因として同定された残基には、CDRH1 M34、CDRH2 W52、CDRH2 D54、CDRH2 N57、CDRH2 D62、CDRH3 W102、FRH1 N25、FRH1 N26、CDRL2 D49、CDRL2 D50、FRL2 N65、CDRL3 W90、CDRL3 D91、CDRL3 S92、S93、S94、CDRL3 D95が含まれる。テゼベルマブ中の残基の番号付けは、それぞれ配列番号10及び12に記載の重鎖及び軽鎖配列に基づく。

【0072】

本方法において有用な抗T S L P抗原結合タンパク質（その断片を含む）は、抗T S L P抗体であって、a. 軽鎖可変ドメインであり：i. 配列番号3で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1配列；ii. 配列番号4で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2配列；iii. 配列番号5で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3配列を含む軽鎖可変ドメイン、並びにb. 重鎖可変ドメインであり：i. 配列番号6で示されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR1配列；ii. 配列番号7で示されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR2配列；及びiii. 配列番号8で示されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR3配列を含む重鎖可変ドメインを含む抗体を含み、抗体又は抗体バリエーションは、配列番号2のアミノ酸29~159で示されるT S L Pポリペプチドに特異的に結合する。

【0073】

抗体又は抗体バリエーションも企図され、抗体又は抗体バリエーションは、a. 軽鎖可変ドメインであって、以下からなる群：i. 配列番号12に対して少なくとも80%同一のアミノ酸の配列；ii. 配列番号11に対して少なくとも80%同一のポリヌクレオチド配列に

よってコードされるアミノ酸の配列；i i i . 配列番号 11 からなるポリヌクレオチドの相補体に中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるアミノ酸の配列から選択される軽鎖可変ドメイン；並びに b . 重鎖可変ドメインであり、以下からなる群：i . 配列番号 10 に対して少なくとも 80 % 同一のアミノ酸配列；i i . 配列番号 9 に対して少なくとも 80 % 同一のポリヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸の配列；i i i . 配列番号 9 からなるポリヌクレオチドの相補体と中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるアミノ酸配列から選択される重鎖可変ドメイン；又は c . (a) の軽鎖可変ドメイン及び (b) の重鎖可変ドメインを含み、抗体又は抗体バリエーションは、配列番号 2 のアミノ酸 29 ~ 159 で示される T S L P ポリペプチドに特異的に結合する。

10

【 0 0 7 4 】

テゼベルマブは、例示的な抗 T S L P 抗体であり、a . i . 配列番号 3 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1 配列；i i . 配列番号 4 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2 配列；i i i . 配列番号 5 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3 配列を含む軽鎖可変ドメイン、並びに b . i . 配列番号 6 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1 配列；i i . 配列番号 7 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2 配列、及び i i i . 配列番号 8 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3 配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

【 0 0 7 5 】

テゼベルマブは、配列番号 11 で示されるポリヌクレオチド配列によってコードされる、配列番号 12 で示されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変ドメイン；及び配列番号 9 で示されるポリヌクレオチド配列によってコードされる、配列番号 10 で示されるアミノ酸配列を有する重鎖可変ドメインも含む。

20

【 0 0 7 6 】

テゼベルマブは、I g G 2 抗体である。I g G 2 鎖を含むテゼベルマブの完全長重鎖及び軽鎖の配列は、それぞれ配列番号 37 及び 38 に記載されている。

【 0 0 7 7 】

種々の実施形態では、抗 T S L P 抗体又はその抗体変異体は、二価であり、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、組換え抗体、抗原結合抗体断片、一本鎖抗体、単量体抗体、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、F a b 断片、I g G 1 抗体、I g G 2 抗体、I g G 3 抗体及び I g G 4 抗体からなる群から選択される。

30

【 0 0 7 8 】

種々の実施形態では、抗 T S L P 抗体変異体は、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、F a b 断片、単ドメイン抗体、s c F v からなる群から選択され、その用量は結合部位が二価抗体によって投与される場合と等モルであるように調節される。

【 0 0 7 9 】

抗体又は抗体変異体は、I g G 2 抗体であると考えられる。ヒト I g G 2 定常領域の例示的な配列は、U n i p r o t データベースから U n i p r o t 番号 P 0 1 8 5 9 として入手可能であり、参照により本明細書に組み込まれる。他の抗体の重鎖及び軽鎖の定常領域に関する配列情報を含む情報は、U n i p r o t データベースを介して並びに抗体工学及び産生の分野の技術者によく知られた他のデータベースを介して公に利用可能でもある。

40

【 0 0 8 0 】

特定の実施形態では、抗体の誘導体は、親ポリペプチドのアミノ酸配列と比較してグリコシル化部位の数及び / 又はタイプが変化した、四量体型のグリコシル化抗体を含む。ある特定の実施形態では、バリエーションは、天然タンパク質よりも数が多い又は少ない N 結合グリコシル化部位を含む。代わりに、この配列を削除する置換によって既存の N 結合糖鎖が除去される。また、1 つ以上の N 結合グリコシル化部位 (典型的には天然に存在するもの) が削除されて、1 つ以上の新しい N 結合部位が生成される、N 結合糖鎖の再配置がもたらされる。さらなる好ましい抗体変異体には、親アミノ酸配列と比較して、1 つ以上の

50

システイン残基が別のアミノ酸（例えば、セリン）から削除されているか、又は別のアミノ酸（例えば、セリン）に置換されているシステイン変異体が含まれる。システイン変異体は、不溶性封入体の単離後など、抗体が生物学的に活性な立体構造に再折り畳みしなければならない場合に有用であり得る。システインバリエーションは一般に、天然タンパク質よりも少ないシステイン残基を有し、典型的には不對システインから生じる相互作用を最小限に抑えるために偶数個のシステイン残基を有する。

【0081】

所望のアミノ酸置換（保存的であるか又は非保存的であるかにかかわらず）は、そのような置換を所望する時点で当業者が決定し得る。特定の実施形態では、アミノ酸置換は、ヒト T S L P に対する抗体の重要な残基を同定するか、又は本明細書に記載のヒト T S L P に対する抗体の親和性を増加又は減少させるために使用することができる。

10

【0082】

特定の実施形態によれば、好ましいアミノ酸置換は、（１）タンパク質分解に対する感受性を低下させ、（２）酸化に対する感受性を低下させ、（３）結合親和性を変化させ、（４）高分子量（H M W）種の形成を阻害し、且つ/又は（５）そのようなポリペプチドに他の物理化学的又は機能的特性を付与又は修飾する。特定の実施形態によれば、単一又は複数のアミノ酸置換（ある特定の実施形態では保存的アミノ酸置換）は、天然の配列（ある特定の実施形態では、分子間接触を形成するドメインの外側のポリペプチドの部分）において行われ得る。特定の実施形態では、保存的アミノ酸置換は、典型的には、親配列の構造的特徴を実質的に変化させ得ない（例えば、置換アミノ酸により、親配列中に存在するヘリックスが破壊されるか、又は親配列を特徴付ける他のタイプの二次構造が破壊される傾向があるべきではない）。当業者に認識されるポリペプチドの二次構造及び三次構造の例は、Proteins, Structures and Molecular Principles (Creighton, Ed., W. H. Freeman and Company, New York (1984)); Introduction to Protein Structure (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N. Y. (1991)); 及び Thornton et al. Nature 354: 105 (1991) に記載があり、それぞれが参照により本明細書中に組み込まれる。

20

【0083】

安定性及びタンパク質結合に寄与する属性の同定

タンパク質の結合及び活性に寄与する属性を決定するために、本明細書に記載の抗 T S L P 抗原結合タンパク質は、その構造の変化、例えば治療用タンパク質のアミノ酸の構造の変化をもたらす状態に置かれる。例示的な態様では、アミノ酸の変化した構造は、「属性」と呼ばれ、その化学的同一性又は属性型及び抗原結合タンパク質のアミノ酸配列内の位置（例えば、その属性が存在するアミノ酸の位置）に関して特徴付けられ得る。例えば、アスパラギン残基及びグルタミン残基は、脱アミド化に対する感受性を示す。タンパク質のアミノ酸配列の 10 位の脱アミド化アスパラギンは、属性の一例である。特定のアミノ酸の例示的な属性型の一覧を表 A に示す。したがって、本明細書で使用される「構造」は、表 A に列挙した属性型又は表 A に列挙した 2 つ以上の属性型の組合せを含み得るか、実質的にそれから構成され得るか又はそれから構成され得る。属性は、構造の例であり、特に明記しない限り、本明細書で「構造」に言及する場合には常に、構造の例として属性が企図されることが理解されるであろう。例えば、高分子量種（H M W）及び断片も属性の例である。

30

40

【0084】

50

【表 1】

表 A

<u>例示的な属性タイプ</u>	<u>アミノ酸残基</u>
脱アミド	Asn, Gln
脱アミノ化	Glu, Ser, Gly
糖化、ヒドロキシリジン	Lys
グリコシル化	Asn
環化	N 末端 Gln, N 末端 Glu
酸化	Met, Trp, His
異性化	Asp
断片化/クリッピング	Asp/Pro

10

20

【0085】

免疫グロブリン又はその断片として、抗体又は抗原結合タンパク質は複数のアミノ酸を含み、本明細書に記載の抗体又は抗原結合タンパク質は、2つ以上の属性（例えば、変更された構造を有する2つ以上のアミノ酸）を有し得、その属性プロファイルに関して記載され得る。本明細書で使用される場合、用語「属性プロファイル」は、抗原結合タンパク質の属性の一覧を指す。様々な例において、属性プロファイルは、任意選択的に、治療用タンパク質の天然構造に対して化学的同一性又は属性型、例えば脱アミドを提供する。様々な例において、属性プロファイルは、属性の位置、例えば属性が存在するアミノ酸の位置を提供する。いくつかの態様における属性プロファイルは、抗原結合タンパク質に存在する全ての属性の説明を提供する。他の態様では、属性プロファイルは、タンパク質に存在する一部の属性の説明を提供する。例えば、属性プロファイルは、タンパク質の特定の部分、例えば定常領域、可変領域、CDRに存在する属性のみを提供し得る。抗体又は抗原結合タンパク質などの治療用タンパク質の種は、タンパク質上に存在する属性によって特徴付けられる。標的結合タンパク質の種は、異なる属性プロファイルを有することにより、同じタンパク質の別の種と異なり得る。2つの治療用タンパク質が異なる属性プロファイルを有する場合、これらの治療用タンパク質は、治療用タンパク質の2つの異なる種を表す。2つの治療用タンパク質が同一の属性プロファイルを有する場合、これらの治療用タンパク質は、治療用タンパク質の同じ種と見なされる。

30

40

【0086】

様々な例において、免疫グロブリン、抗体又は抗原結合タンパク質は、その構造の変化、例えば1つ以上の属性の形成をもたらす状態に置かれ、構造の変化は、その標的に対する治療用タンパク質の親和性を変化させる。様々な態様において、免疫グロブリン、抗体又は抗原結合タンパク質は、その構造の変化、例えば1つ以上の属性の形成をもたらす状態に置かれ、構造の変化は、その標的に対する抗原結合タンパク質の親和性を低下させる

50

。いくつかの態様における低下した親和性は、免疫グロブリン、抗体又は抗原結合タンパク質が標的と相互作用する（例えば、結合する）能力の部分的又は全体的な喪失をもたらす。様々な例では、免疫グロブリン、抗体又は抗原結合タンパク質が標的と相互作用する（例えば、結合する）能力の部分的又は全体的な喪失は、最終的に抗原結合タンパク質の有効性を低下させる。代替的な例では、免疫グロブリン、抗体又は抗原結合タンパク質は、その構造の変化、例えば1つ以上の属性の形成をもたらす状態に置かれ、構造の変化は、その標的に対する免疫グロブリン、抗体又は抗原結合タンパク質の親和性を変化させない。種々の態様において、構造の変化は、その標的に対するタンパク質の親和性を低下させない。いかなる特定の理論にも束縛されないが、本開示の方法は、免疫グロブリン、抗体又は抗原結合タンパク質と標的との間の相互作用に影響を及ぼす免疫グロブリン、抗体又は抗原結合タンパク質の属性を、相互作用に影響を及ぼさない属性から精密且つ正確に好都合に区別する。

10

【0087】

様々な態様では、本明細書の組成物は、免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片の種の集団を含む。様々な例では、集団は、免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片の均一な集団であり、任意選択的に、組成物試料中に存在する各タンパク質は同じ種である。様々な例において、集団は、本明細書に記載の属性を有する免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片の少なくとも2つの異なる種を含む不均一な集団である。様々な態様では、不均一集団は、免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片の少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つ又はそれを超える異なる種を含む。任意選択的に、異種集団は、タンパク質の7つを超える、8つを超える、9つを超える、10を超える、20を超える、30を超える、40を超える、50を超える異なる種を含む。いくつかの態様では、集団の各種は、固有の属性プロファイルを有する。例示的な例では、免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片の種が、組成物中に存在する唯一のタンパク質である。いくつかの態様では、組成物は、(i) 集団免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片、及び(ii) 薬学的に許容される担体、希釈剤、賦形剤又はその組合せを含む。いくつかの実施形態では、不均一集団の免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片の少なくとも80%、85%、90%、95%又は99%が、本明細書に記載の属性を含む。いくつかの実施形態では、不均一集団の免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片の20%、15%、10%、5%又は1%以下が、本明細書に記載の属性を含む。

20

30

【0088】

例示的な態様において、本方法は、免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片試料にストレスを印加することを含む。様々な場合、ストレスは、免疫グロブリンのアミノ酸、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片若しくは標的の構造の少なくとも1つの変化をもたらす任意の状態であり得、例えば、ストレスは、免疫グロブリンのアミノ酸、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片若しくは標的において少なくとも1つの属性の形成をもたらす任意の状態であり得る。任意選択的に、ストレスは、免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片若しくは標的の2つ以上のアミノ酸の構造の変化をもたらす、例えば、ストレスは、形成又は2つ以上の属性（例えば、少なくとも若しくは約2、少なくとも若しくは約3、少なくとも若しくは約4、少なくとも若しくは約5、少なくとも若しくは約6、少なくとも若しくは約7、少なくとも若しくは約8、少なくとも若しくは約9、少なくとも若しくは約10又はそれを超える属性）をもたらす。様々な例におけるストレスは、ストレスの印加前に免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片若しくは標的に存在しない1つ以上の属性の

40

50

形成をもたらす。したがって、いくつかの態様では、ストレスの印加は、ストレスの印加前に試料中に存在しなかった免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片若しくは標的の種の形成をもたらす。

【0089】

例示的な態様では、ストレスは、任意選択的に、1つ以上の緩衝剤又は製剤中における、例えば25、40、50の高温への暴露である。例示的な例では、このような高温への暴露は、加速ストレスプログラムを模倣する。

【0090】

任意選択的に、ストレスは、免疫グロブリン、抗体又は抗原結合タンパク質と標的との間で形成された複合体の約5%~約30%、約10%~約30%、約15%~約30%、約20%~約30%、約25%~約30%、約5%~約25%、約5%~約20%、約5%~約15%又は約5%~約10%を分解又は解離させる。様々な態様では、ストレスは、免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片とその標的との間の相互作用レベルの低下を引き起こす。いくつかの態様では、ストレスは、ストレスのない対応する条件における相互作用と比較して、相互作用を約10%~約50%（例えば、約10%~約45%、約10%~約40%、約10%~約35%、約10%~約30%、約10%~約25%、約10%~約20%、約10%~約15%、約10%~約40%、約10%~約35%、約10%~約30%、約10%~約25%、約10%~約20%又は約10%~約15%）減少させる。いくつかの態様では、ストレスは、抗体又は抗原結合タンパク質のその標的に対する K_D を増加させ、この K_D は、より弱い結合に関連する。いくつかの態様では、ストレスは、非結合抗体又は抗原結合タンパク質の量を10%~約50%（例えば、約10%~約45%、約10%~約40%、約10%~約35%、約10%~約30%、約10%~約25%、約10%~約20%、約10%~約15%、約10%~約40%、約10%~約35%、約10%~約30%、約10%~約25%、約10%~約20%又は約10%~約15%）増加させる。特定の理論に束縛されるものではないが、本明細書に開示される方法において加えられるストレスは、製造中、貯蔵中及びヒト循環（ヒト対象における静脈内空間又は皮下空間）において作製され得る種の検出を増強させるための豊富且つ多様な種を得る抗体又は抗原結合タンパク質種のより迅速且つより強固で再現可能な方法での生成をもたらす。

【0091】

分離

例示的な態様において、本開示の方法は、異なる種の抗原を含む混合物を少なくとも2つの画分に分離することを含む。いくつかの態様では、混合物を複数（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10以上）の画分に分離する。いくつかの態様では、本明細書中に開示される方法の分離工程は、抗原結合タンパク質及びその標的の天然のフォールディング、高次構造及び結合能力を保存する。様々な態様では、混合物は、非結合抗体又は抗原結合タンパク質又は標的を含む非結合画分と、抗体/抗原結合タンパク質-標的複合体を含む結合画分とに分離される。

【0092】

混合物を画分に分離する好適な方法及び技術は、当技術分野で知られている。例えば、Coskun, North Clin Istanbul 3(2): 156-160 (2016); Snyder et al., Practical HPLC Method Development, 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc. 1997; Snyder et al., Introduction to Modern Liquid Chromatography, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, 2010; Heftmann, Chromatography: Fundamentals and applications of chromatography and related differential migration methods, 6th ed., Volume 69A, Elsevier, Amsterdam, Netherlands, 2004; Mori and Ba

r t h , S i z e E x c l u s i o n C h r o m a t o g r a p h y , S p r i n g e r - V e r l a g , B e r l i n , 1 9 9 9 を 参 照 さ れ たい。いくつかの態様では、分離は、例えば、イオン交換クロマトグラフィー、キャピラリー等電点電気泳動 (c I E F) 及び / 又はキャピラリーゾーン電気泳動 (C Z E) など、電荷に基づくか、又は例えば逆相 (R P ; 例 えば、R P - H P L C) 及び疎水性相互作用クロマトグラフィー (H I C - H P L C) など、疎水性に基づく。種々の態様では、分離は、例えば、サイズ排除クロマトグラフィー (S E C ; 例 えば、S E - H P L C) 、ドデシル硫酸ナトリウム - ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (S D S - P A G E) 、ドデシル硫酸ナトリウムを用いるキャピラリー電気泳動 (C E - S D S) など、サイズに基づく。本明細書に記載の方法は、M e t 又は T r p 残基の生成物酸化、断片化 / クリッピング、A s p の異性化、脱アミド化、N 末端でのピログルタミン酸の形成を検出するために使用される。種々の実施形態において、混合物は、サイズ、電荷、疎水性、捕捉分子に対する親和性又はそれらの組合せに基づいて混合物の成分を分離する技術を使用して少なくとも 2 つの画分に分離される。種々の例において、この技術は、サイズ排除クロマトグラフィー (S E C) 、アフィニティクロマトグラフィー、ビーズ若しくは細胞を使用する沈殿、フリーフロー分画 (F F F) 、イオン交換クロマトグラフィー (I E X) 、陽イオン交換クロマトグラフィー (C E X) 、疎水性相互作用クロマトグラフィー (H I C) 又は超遠心分離 (U C) である。任意選択的に、混合物は、サイズに基づいて混合物の成分を分離する技術を使用して少なくとも 2 つの画分に分離され、任意選択的に、この技術は、サイズ排除クロマトグラフィー (S E C) である。

10

20

【 0 0 9 3 】

種々の態様では、混合物は、固体支持体、任意選択的にビーズ又は細胞に結合された捕捉分子に対する親和性に基づいて混合物の成分を分離する技術を使用して少なくとも 2 つの画分に分離される。種々の例において、混合物は、(i) 捕捉分子に結合されたビーズ又は細胞であって、その表面において捕捉分子を発現する細胞を含む容器、例えばチューブに混合物を加え、(i i) 容器 (例 えば、チューブ) を遠心分離にかけて上清及びペレットを得、(i i i) ペレットから上清を回収して非結合画分を得、(i v) ペレットから結合画分を溶液で放出させ、(v) ペレット及び溶液を含む容器 (例 えば、チューブ) を遠心分離にかけて、結合画分を含む第 2 の上清及びビーズ又は細胞を含む第 2 のペレットを得、及び (v i) 第 2 の上清を回収して結合画分を得ることによって分離される。いくつかの態様では、混合物は、(i) 捕捉分子に結合されたビーズを含む混合物をカラムに加えて、フロースルー及び結合画分を得、(i i) フロースルーを回収して非結合画分を得、(i i i) ビーズから結合画分を溶液で放出させ、且つ結合画分を含む溶液を回収することによって分離される。好適な固体支持体としては、例 えば、任意選択的にセルロース、シリカ、アルミナ、ガラス、プラスチック又はこれらの組合せから作製されたビーズ、樹脂、紙が挙げられる。例示的な態様では、固体支持体に結合された捕捉分子は、タンパク質である。捕捉分子は、標的と同一であり得る。有利には、捕捉分子は、特定の分子に限定されない。

30

【 0 0 9 4 】

抗原結合タンパク質と標的との間の相互作用に影響を及ぼす免疫グロブリン、抗原結合タンパク質又は標的の属性を同定する方法の様々な実施形態では、非結合画分及び結合画分のそれぞれについて、方法は、抗原結合タンパク質又は標的の種に存在する各属性の存在量を同定及び定量することを含み、非結合画分中の属性の存在量が結合画分中の属性の存在量よりも大きい場合、属性は抗原結合タンパク質と標的との間の相互作用に悪影響を及ぼす。種々の態様において、方法は、質量分析計を使用して、非結合画分及び結合画分のそれぞれにおける抗原結合タンパク質又は標的の種の各属性の存在量を特定及び定量する工程を含む。

40

【 0 0 9 5 】

抗原結合タンパク質又は標的の種に存在する公知の属性が抗原結合タンパク質と標的との間の相互作用に及ぼす影響を決定する方法の様々な実施形態において、方法は、非結合

50

画分及び結合画分のそれぞれについて、公知の属性の存在量を定量化することを含み、非結合画分中の公知の属性の存在量が結合画分中の公知の属性の存在量よりも大きい場合、公知の属性は、抗原結合タンパク質と標的との間の相互作用に悪影響を及ぼす。種々の態様において、この方法は、質量分析計を使用して、非結合画分及び結合画分のそれぞれにおける既知の属性の存在量を定量する工程を含む。

【0096】

安定性は、アミノ酸残基の化学修飾及び生物物理学的タンパク質修飾、例えば、製造、貯蔵及び/又は追加の若しくは代替のストレス条件中に起こり得るストレス条件中のHMW種の形成に対する耐性を指す。本明細書に記載される実施形態の方法及び免疫グロブリン、抗原結合タンパク質及びそれらの断片について、「安定性」及び/又は「HMW」種は、サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)を使用して決定し得る。免疫グロブリン、抗原結合タンパク質又は断片を含む組成物は、SEC-UVなどのSECによって分離し得る。SECは、100mMリン酸ナトリウム及び250mM NaClを含む移動相(pH6.8)を使用し得、流速は、0.5ml/分に設定され得、カラム温度は、37に設定され得、実行時間は、35分であり得、オートサンプラーは、4に設定され得る。SECに適したカラムの例には、ジオール官能基を含み、平均直径が5µmであり、平均孔径が約25nm(例えば、TOSOH BioscienceからG3000SWx1カラムとして市販されている)のシリカ粒子を含むゲルカラムが含まれる。SEC-UVの場合、紫外/可視分光法(UV/VIS)検出は、214nm及び280nmで実行することができる。分離後、モノマー及びHMW種を表すピークは、SEC溶出プロファイルの異なる時間に溶出することができることが理解されるであろう。

10

20

【0097】

安定性の測定の場合、SEC分析のための組成物は、ストレス負荷された免疫グロブリン、抗原結合タンパク質又は断片を含み得、これらは、高温で一定期間、例えば40で4週間ストレス負荷され得る。40で4週間は、一般的に、免疫グロブリン、抗原結合タンパク質及びその断片(貯蔵寿命安定性は、典型的には、2~8で2年(2Y4C)、その後、地理的位置に応じて25又は30である室温で1ヶ月である)の貯蔵寿命安定性に十分に外挿されることに留意されたい。追加的又は代替的に、紫外光(25で7日間、klux/hr冷却白色光及び10W/m²UVA光)、極端なpH(pH8以上又は3.6以下)又は酸化試薬(例えば、0.1% H₂O₂、25で5時間)をストレス源として使用し得る。本明細書で別段の記載がない限り又は科学的文脈により別段の必要がない限り、「安定性」の目的のためのストレスは、40で4週間を指すと理解される。ストレス要因及びSEC分析に関する追加の情報は、例えば参照によりその全体が本明細書に組み込まれる国際公開第2020/247790号パンフレットに見出すことができる。

30

【0098】

SEC分析に続いて、ペプチドマッピングを任意選択的に行うことができ、結合種及び非結合種に関連するペプチド修飾を、例えば本明細書及び/又は国際公開国際公開第2020/247790号パンフレットに記載されているように特定し得る。ペプチドマッピングのために、溶出画分を、分子量カットオフ(例えば、10kDa超)を有するフィルターを用いて回収し、7.5Mグアニジン溶出緩衝液で溶出し得る。抗原への結合に影響を及ぼす化学修飾を決定するために、ストレス負荷された免疫グロブリン(又は抗原結合タンパク質若しくはその断片)及び抗原と一緒に混合し、抗原結合複合体を先に溶出し、非結合免疫グロブリン(又は抗原結合タンパク質若しくはその断片)を後に溶出する際に分離することができる。HMWに影響を与えるか又はHMWと相関する化学修飾を決定するために、モノマー種及びHMW種を収集することができる。記載された研究では、40で1ヶ月間(40C1M)の熱的強制ストレス及び関連する抗体の分解を使用した。ストレス負荷した抗体をその標的(TSLP)と混合し、混合物を抗体-標的複合体及び非結合抗体についてSECによって分離した。この適用されるSEC抗体-抗原法の2つの制限に留意すべきである。40C1Mストレスは、25C又は30Cでの室温劣化と比較

40

50

してより大きい劣化をもたらし得る。また、ある残基の分解/修飾は、別の残基の修飾を長距離のアロステリック相互作用によって引き起こされ得る。この効果は、構造が動的運動により適しているため、より高い温度で増加し得る。また、記載されたSEC抗原抗体法は、試料中の全ての種を分析する。これは、個々のピークでのCEX分離、それに続く特性評価を含む従来の方法と異なり、収集された種がより明確に定義され、1分子あたり2つ以上の修飾を有する「主ピーク間」の種が回避される。

【0099】

「親和性」又は「結合」は、表面プラズモン共鳴(SPR)、バイオレイヤー干渉法又は本明細書に記載のSEC結合親和性実験によっても決定し得ることが理解されるであろう。本明細書で別段の記載がない限り又は科学的文脈によってそうでないことが必要とされない限り、「親和性」は、SPRによって測定される親和性を指すと理解される。Kd値は、BIAcore(登録商標)システムなどのバイオセンサシステムを使用してSPRによって測定することができる。BIAcore(登録商標)システムによる分析は、表面に固定化分子(例えば、本明細書中に記載されるような抗TSLP免疫グロブリン、抗原結合タンパク質又はその断片)を有するチップからの抗原(例えば、TSLP)の結合及び解離を分析することを含み得る。10⁻⁶M未満の結合複合体は、SPRを用いて検出することができる。様々な実施形態では、SPRは、20、25、30又は37で行われ得る。

10

【0100】

組成物

様々な実施形態では、配列番号3で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1配列；配列番号4で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2配列；配列番号5で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3配列；配列番号6で示されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR1配列；配列番号7で示されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR2配列；及び配列番号8で示されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR3配列をそれぞれ含む複数の抗TSLP免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片を含む組成物が提供され、イソアスパラギン酸(isoAsp)も環状アスパラギン酸(cAsp)も含まない、配列番号7のHC位置54のL-アスパラギン酸；配列番号8の非酸化HCW102；isoAspもcAspも含まない、配列番号7のLC位置49又は50にあるL-アスパラギン酸；脱アミド化N65を含まない、配列番号12で示されるLCN65；又はisoAspもcAspも含まない、配列番号5のLC位置91のL-アスパラギン酸の少なくとも1つを含む。

20

30

【0101】

様々な実施形態では、複数の抗TSLPモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を含む組成物が提供され、複数の抗TSLPモノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号3で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1配列；配列番号4で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2配列；配列番号5で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3配列；配列番号6で示されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR1配列；配列番号7で示されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR2配列；及び配列番号8で示されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR3配列をそれぞれ含み；イソアスパラギン酸(isoAsp)も環状アスパラギン酸(cAsp)も含まない、配列番号7のHC位置54のL-アスパラギン酸；配列番号8の非酸化HCW102；isoAspもcAspも含まない、配列番号4のLC位置49又は50にあるL-アスパラギン酸；配列番号12の脱アミド化LCN65；又はisoAspもcAspも含まない、配列番号5のLC位置91のL-アスパラギン酸の少なくとも1つを含む。

40

【0102】

様々な実施形態では、0.9%以下の抗TSLPモノクローナル抗体が異性化HC D54を含む。様々な実施形態では、2%以下の抗TSLPモノクローナル抗体が酸化HCW102を含む。様々な実施形態では、0.9%以下の抗TSLPモノクローナル抗体が異性化LC D50を含む。様々な実施形態では、0.5%以下の抗TSLPモノクロー

50

ナル抗体が脱アミド化 LC N 6 5 を含む。様々な実施形態では、0.9%以下の抗 T S L P モノクローナル抗体が異性化 H C D 9 1 を含む。様々な実施形態では、抗 T S L P 抗体は、H C 5 4 の L - アスパラギン酸と L C 4 9 又は 5 0 の L - アスパラギン酸との組合せを含む。様々な実施形態では、抗 T S L P 抗体は、H C 5 4 の L - アスパラギン酸において、i s o A s p のレベルよりも少なくとも 6 倍濃縮される。種々の実施形態では、抗 T S L P 抗体は、I g G 2 抗体である。

【0103】

一態様では、組成物は、抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片を含み、これは、(A)軽鎖可変ドメインであって、(i)配列番号3で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1 配列、(ii)配列番号4で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2 配列、及び(iii)配列番号5で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3 配列を含む軽鎖可変ドメイン、並びに(B)重鎖可変ドメインであって、(i)配列番号6で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1 配列；(ii)配列番号7で示される以下の残基 D 5 4 又は G 5 5 の少なくとも1つに変異を有するアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2 配列、及び(iii)配列番号8で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3 配列を含む重鎖可変ドメインを含む。様々な実施形態では、H C D R 2 は、配列 V I W Y X₁ X₂ S N K H Y A D S V K G (ここで、X₁は、D又はEであり、及びX₂は、G又はAである)(配列番号13)を有する。任意選択的に、H C D R 2 は、以下の配列を有する：V I W Y E G S N K H Y A D S V K G (配列番号14)、V I W Y D A S N K H Y A D S V K G (配列番号15)又はV I W Y E A S N K H Y A D S V K G (配列番号16)。

10

20

【0104】

様々な実施形態において、H C D R 2 における変異は、D 5 4 E である。様々な実施形態において、H C D R 2 における変異は、G 5 5 A である。様々な実施形態では、抗 T S L P 抗原結合タンパク質又はその断片は、任意選択的に、配列番号4の L C D R 2 D 4 9、D 5 0 又は S 5 1 の残基の少なくとも1つに変異を含む。様々な実施形態では、L C D R 2 の変異は、D 4 9 E、D 5 0 E 又は S 5 1 A の1つ以上である。様々な実施形態では、L C D R 2 は、配列 X₁ X₂ X₃ D R P S (ここで、X₁は、D又はEであり、X₂は、D又はEであり、及びX₃は、S又はAである)(配列番号17)を有する。任意選択的に、L C D R 2 は、以下の配列を有する：E D S D R P S (配列番号18)、D E S D R P S (配列番号19)、E E S D R P S (配列番号20)、D D A D R P S (配列番号21)、D E A D R P S (配列番号22)、E D A D R P S (配列番号23)又はE E A D R P S (配列番号24)。

30

【0105】

様々な実施形態では、組成物は、抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片を含み、これは、(A)軽鎖可変ドメインであって、(i)配列番号3で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1 配列；(ii)配列番号4の以下の残基 D 4 9、D 5 0 又は S 5 1 の少なくとも1つに変異を有するアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2 配列；(iii)配列番号5で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3 配列を含む軽鎖可変ドメイン；並びに(B)重鎖可変ドメインであって、(i)配列番号6で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1 配列；(ii)配列番号7で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2 配列、及び(iii)配列番号8で示されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3 配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

40

【0106】

様々な実施形態では、L C D R 2 は、配列 X₁ X₂ X₃ D R P S (配列番号17)(ここで、X₁は、D又はEであり、X₂は、D又はEであり、及びX₃は、S又はAである)を有する。任意選択的に、L C D R 2 は、以下の配列を有する：E D S D R P S (配列番号18)、D E S D R P S (配列番号19)、E E S D R P S (配列番号20)、D D A D R P S (配列番号21)、D E A D R P S (配列番号22)、E D A D R P S (配列番号23)又はE E A D R P S (配列番号24)。様々な実施形態において、L C D R 2

50

における変異は、D 4 9 Eである。様々な実施形態において、L C D R 2における変異は、D 5 0 Eである。様々な実施形態において、L C D R 2における変異は、S 5 1 Aである。様々な実施形態では、抗T S L P免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片は、任意選択的に、配列番号7で示されるH C D R 2の以下の残基D 5 4又はG 5 5の1つに変異を含む。様々な実施形態では、H C D R 2の変異は、配列番号7のD 5 4 E又はG 5 5 Aの1つ以上である。様々な実施形態では、H C D R 2は、配列V I W Y X₁ X₂ S N K H Y A D S V K G（ここで、X₁は、D又はEであり、及びX₂は、G又はAである）（配列番号13）を有する。任意選択的に、H C D R 2は、以下の配列を有する：V I W Y E G S N K H Y A D S V K G（配列番号14）、V I W Y D A S N K H Y A D S V K G（配列番号15）又はV I W Y E A S N K H Y A D S V K G（配列番号16）。

10

【0107】

様々な実施形態では、組成物は、抗T S L P免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片を含み、これは、（A）軽鎖可変ドメインであって、i . 配列番号12に対して少なくとも80%同一のアミノ酸の配列；i i . 配列番号11に対して少なくとも80%同一のポリヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸の配列；又はi i i . 配列番号11からなるポリヌクレオチドの相補体に中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるアミノ酸の配列からなる群から選択される軽鎖可変ドメイン；又は（B）i . 配列番号10に対して少なくとも80%同一のアミノ酸の配列；i i . 配列番号9に対して少なくとも80%同一のポリヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸の配列；又はi i i . 配列番号9からなるポリヌクレオチドの相補体に中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるアミノ酸の配列からなる群から選択される重鎖可変ドメイン；又は（C）（A）の軽鎖可変ドメイン及び（B）の重鎖可変ドメインを含み、抗T S L P免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片は、抗T S L P抗原結合タンパク質若しくはその断片のC D Rの1つ以上を保持し、且つ配列番号7のH C D R 2 D 5 4若しくはG 5 5又は配列番号4のL C D R 2 D 4 9、D 5 0若しくはS 5 1の1つ以上に変異を含む。

20

【0108】

様々な実施形態では、抗T S L P免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片は、

30

【化1】

QMQLVESGGGVVQPGRSLRLSLSAASGFTFRITYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWIYX₁X₂SNKHAYADSVKGRFTITRDNSK
NTLNLMNSLRAEDTAVYYCARAPQWELVHEAFDIWGQGTMTVTVSS（配列番号25）

（H C D R 2に下線を付す）

（式中、X₁は、D又はEであり、X₂は、G又はAであり、任意選択的に、

【化2】

QMQLVESGGGVVQPGRSLRLSLSAASGFTFRITYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWIYEGSNKHAYADSVKGRFTITRDNSKN
TLNLQMNSLRAEDTAVYYCARAPQWELVHEAFDIWGQGTMTVTVSS（配列番号26）；又は、
QMQLVESGGGVVQPGRSLRLSLSAASGFTFRITYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWIYDASNKHAYADSVKGRFTITRDNSKN
TLNLQMNSLRAEDTAVYYCARAPQWELVHEAFDIWGQGTMTVTVSS（配列番号27）；又は、
QMQLVESGGGVVQPGRSLRLSLSAASGFTFRITYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWIYEASNKHAYADSVKGRFTITRDNSKN
TLNLQMNSLRAEDTAVYYCARAPQWELVHEAFDIWGQGTMTVTVSS（配列番号28）

40

又はそれらの混合物である）のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。

【0109】

50

様々な実施形態では、抗 T S L P 免疫グロブリン、抗原結合タンパク質若しくはその断片又は抗体若しくはその断片は、

【化 3】

SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNLGSKSVHWYQQKPGQAPVLLVYX₁X₂X₃DRPSWIPERFSGSNSGNTATLTISR
GEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVF~~GGG~~GKLTVL (配列番号29)

(L C D R 1 ~ 3 に下線を付す)

(式中、X₁ は、D 又は E であり、X₂ は、D 又は E であり、X₃ は、S 又は A であり、任意選択的に、

10

【化 4】

SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNLGSKSVHWYQQKPGQAPVLLVYEDSDRPSWIPERFSGSNSGNTATLTISRG
EAGDEADYYCQVWDSSSDHVVF~~GGG~~GKLTVL (配列番号30); 又は、

SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNLGSKSVHWYQQKPGQAPVLLVYD~~ES~~DRPSWIPERFSGSNSGNTATLTISRG
EAGDEADYYCQVWDSSSDHVVF~~GGG~~GKLTVL (配列番号31); 又は、

SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNLGSKSVHWYQQKPGQAPVLLVY~~EE~~SDRPSWIPERFSGSNSGNTATLTISRG
EAGDEADYYCQVWDSSSDHVVF~~GGG~~GKLTVL (配列番号32); 又は、

20

SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNLGSKSVHWYQQKPGQAPVLLVYD~~AD~~RPSWIPERFSGSNSGNTATLTISRG
EAGDEADYYCQVWDSSSDHVVF~~GGG~~GKLTVL (配列番号33); 又は、

SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNLGSKSVHWYQQKPGQAPVLLVYD~~EA~~DRPSWIPERFSGSNSGNTATLTISRG
EAGDEADYYCQVWDSSSDHVVF~~GGG~~GKLTVL (配列番号34); 又は、

SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNLGSKSVHWYQQKPGQAPVLLVY~~EA~~DRPSWIPERFSGSNSGNTATLTISRG
EAGDEADYYCQVWDSSSDHVVF~~GGG~~GKLTVL (配列番号35); 又は、

SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNLGSKSVHWYQQKPGQAPVLLVY~~EEA~~DRPSWIPERFSGSNSGNTATLTISRG
EAGDEADYYCQVWDSSSDHVVF~~GGG~~GKLTVL (配列番号36)

30

又はそれらの混合物である) のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0110】

本明細書に記載の配列、例えば配列番号 3 ~ 8 及び配列番号 13 ~ 24 に記載の 1 つ以上の C D R 並びに配列番号 10 及び 12 及び配列番号 25 ~ 36 に記載の 1 つ以上の可変領域を有する T S L P 抗体をそれぞれ含む抗 T S L P モノクローナル抗体を含む組成物も提供され、組成物は、組成物の抗 T S L P モノクローナル抗体が 10^{-8} M 以下の数値 K d で T L S P に結合するのに有効な、制限された含有量の異性化 H C D 5 4 及び / 又は制限された含有量の異性化 L C D 4 9 又は D 5 0 を含む。様々な実施形態では、本明細書に記載の抗 T S L P 抗体は、少なくとも 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M、 10^{-12} M、 10^{-13} M 以下の親和性 (K d) で結合する。

40

【0111】

本明細書に記載の配列、例えば、配列番号 3 ~ 8 若しくは配列番号 13 ~ 24 で示される C D R 及び / 又は配列番号 10 及び 12 若しくは配列番号 25 ~ 36 で示される可変領域を有する T S L P 抗体をそれぞれ含む抗 T S L P モノクローナル抗体を含む組成物も提供され、組成物は、I g G 2 抗 T S L P モノクローナル抗体を含み、抗 T S L P モノクローナル抗体の 0 . 9 % 以下は、異性化 H C D 5 4 を含むか ; 抗 T S L P モノクローナル抗体の 2 % 以下は、酸化 H C W 1 0 2 を含むか ; 抗 T S L P モノクローナル抗体の 0 .

50

9%以下は、異性化LC D50を含むか；抗TSLPモノクローナル抗体の0.5%以下は、脱アミド化LC N65を含むか；又は抗TSLPモノクローナル抗体の0.9%以下は、異性化LC D91を含むかの少なくとも1つである。

【0112】

いくつかの実施形態では、組成物は、本明細書に記載の製剤の一部である。いくつかの実施形態では、組成物は、本明細書に記載の製剤を製造するために使用される原薬である。

【0113】

投与方法

一態様では、本開示の方法は、本明細書に記載の治療用抗TSLP抗体又は抗体変異体を、任意選択的に薬学的に許容される担体又は賦形剤中に入れて投与することを含む。特定の実施形態において、医薬組成物は、滅菌組成物である。

【0114】

喘息、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、アトピー性皮膚炎、好酸球性食道炎(EoE)、鼻ポリープ、慢性自発性蕁麻疹、Ig誘発性疾患、IgA腎症、ループス腎炎、好酸球性胃炎、鼻ポリープを伴わない慢性副鼻腔炎及び特発性肺線維症(IPF)などの炎症性疾患、状態又は障害を、本明細書に記載の抗TSLP抗体又は抗原結合タンパク質又はその断片で治療する方法が本明細書で企図される。様々な実施形態において、疾患、状態又は障害は、重症喘息、好酸球性又は非好酸球性喘息及び低好酸球性喘息を含む喘息である。

【0115】

喘息は、気道の慢性炎症性障害である。毎年、喘息は、推定110万人の外来患者の診療、160万人の救急外来患者の診療、444,000人の入院(Defrances et al., 2008)を占めている。Centers for Disease Controlのウェブサイト、www.cdc.gov/nchs/data/nhsr/nhsr005.pdf、で入手可能であり、米国では3,500人が死亡している。感受性個体において、喘息性炎症は、喘鳴、息切れ、胸部圧迫及び咳の再発性エピソードを引き起こす。喘息の病因は、両方の遺伝的環境機構(To et al., BMC Public Health 2012; 12: 204; Chung et al. Eur Respir J 2014; 43: 343-73)に影響される多因子性であると考えられ、環境アレルゲンが重要な原因である(前出Chung et al., ; Pavorid ID, et al., NPJ Prim Care Respir Med 2017; 27: 17)。症例の大部分は、人がアレルゲンに対して過敏になるときに生じる(アトピー)。アトピーは、Th2細胞及びTh2サイトカイン発現の増加及びIgE産生の増加を特徴とする。米国では略1000万人の患者がアレルギー誘発性喘息に罹患していると考えられている。利用可能な治療選択肢があるにもかかわらず、喘息は、依然として主要な健康問題である。世界中で、現在略3億人が喘息に罹患しており、2020年までに、4億人が喘息に罹患すると予想されている(Partridge, Eur Res p Rev. 16: 67-72, 2007)。

【0116】

アトピー性喘息患者によるアレルゲン吸入は、可逆性気流閉塞、気道過敏性、好酸球性及び好塩基性気道炎症を含む喘息の症状のいくつかを誘発する。アレルゲン吸入チャレンジは、多くの種において喘息の優勢なモデルになっている(Bates et al., Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 297(3): L401-10, 2009; Diamant et al., J Allergy Clin Immunol. 132(5): 1045-1055, 2013)。

【0117】

ステロイド治療では効果がない、様々な喘息サブタイプが確認されている。好酸球は、Th2型CD4+T細胞によって特徴的に媒介される、アレルギー性喘息の重要な炎症細胞である。好中球性気道炎症は、重度喘息のコルチコステロイド治療と関連し、またTh

10

20

30

40

50

1型又はTh17型T細胞によって媒介され得る(Mishra et al., Dis. Model. Mech. 6: 877-888, 2013)。

【0118】

喘息の診断及び評価の尺度には、以下のものが含まれる：標準化した単回呼吸画分の呼気一酸化窒素濃度(FENO)(American Thoracic Society; ATS, Am J Respir Crit Care Med. 171(8): 912-30, 2005)試験を使用して評価した気道炎症。肺活量測定は、ATS/European Respiratory Society(ERS)のガイドライン((Miller et al, Eur Respir J. 26(1): 153-61, 2005)に従って行われる。気管支拡張薬後(BD後)肺活量測定試験は、対象がBD前肺活量測定を行った後で評価される。最大気管支拡張は、アルブテロール(90µgの計量用量)又はサルブタモール(100µgの計量用量)などのSABA又は最大8回の全パフ用のスプレー装置と同等のものを使用して誘導される(Sorkness et al, J Appl Physiol. 104(2): 394-403, 2008)。4回、6回又は8回のパフの後に得られた最高のBD前及びBD後FEV₁は、可逆性の決定及び分析に使用される。喘息コントロール質問票(ACQ)6は、喘息症状(すなわち夜間の目覚め、目覚めた時の症状、活動制限、息切れ、喘鳴)及び毎日のレスキュー気管支拡張薬の使用及びFEV₁を評価する患者報告の質問票である(Juniper et al, Oct 1999)。ACQ-6は、元のACQスコアからFEV₁測定を省略したACQの短縮版である。平均ACQスコアは、応答の平均である。平均スコア0.75は、よく制御された喘息を示し、スコア0.75~1.5は部分的に制御された喘息を示し、スコア>1.5は制御されていない喘息を示す(Juniper et al, Respir Med. 100(4): 616-21, 2006)。少なくとも0.5の個々の変化は、臨床的に有意であると考えられる(Juniper et al, Respir Med. 99(5): 553-8, 2005)。喘息生活の質質問票、標準化(AQLQ[S])+12(AQLQ(S)+12)は、喘息患者が経験するHRQoLを評価する32項目の質問票である(Juniper et al, Chest. 115(5): 1265-70, May 1999)。喘息日報も評価に用いられる。

【0119】

関連する米国特許出願公開第2018-0296669号明細書(参照により本明細書に組み込まれる)は、抗TSLP抗体による治療が、無好酸球/低好酸球集団において喘息症状を減少させるのに有効であることを、高好酸球集団においてそのまま開示している。また、対象の喘息増悪の頻度を減少させる方法が企図されている。

【0120】

また、本明細書では、高Th2喘息プロファイル又は低Th2喘息プロファイルを有する対象の喘息を治療する方法も企図されている。TSLPタンパク質がその受容体複合体と結合することを阻害するTSLPアンタゴニストは、本明細書中に記載の抗体と同様に、低好酸球性喘息集団を効果的に治療すると考えられる。同様に、TSLPがその受容体複合体と結合することを阻害するTSLPアンタゴニストは、Th2低喘息集団の治療に有効であると考えられる。また、抗TSLP抗体又は抗体バリエーション又は抗原結合タンパク質を投与することを含む、対象の慢性閉塞性肺疾患(COPD)を治療するための方法が企図されている。治療される対象は、ヒトであることが考えられる。対象は、成人、青年又は小児であり得る。

【0121】

治療用抗体(又は抗体変異体)組成物は、複数の部位で患者に送達され得る。複数の投与は、同時に行われ得るか又はある期間にわたって投与され得る。特定の場合、治療組成物の連続流を提供することが有益である。追加の治療は例えば、毎時、毎日、毎週、2週間毎、3週間毎、毎月又はより長い間隔にわたって期間ベースで行われ得る。

【0122】

種々の実施形態では、2つのTSLP結合部位を有する二価抗体など、所定用量中の治

療薬の量は、治療が行われる個体の大きさ及び治療される障害の特徴によって変化し得る。

【0123】

例示的な治療では、抗TSLP抗体又は抗体変異体は、1日用量あたり約70mg～約280mgの用量範囲で投与される。例えば、用量は、約70mg、210mg又は280mgで与えられ得る。種々の実施形態において、抗TSLP抗体又は抗体バリエーションは、1回の投与あたり70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270又は280mgの用量で投与し得る。これらの濃縮物は、単回投与形態又は反復投与で投与され得る。上記の用量は、2週間毎又は4週間毎に与えられる。種々の実施形態では、抗TSLP抗体又は抗体変異体は、2週間毎又は4週間毎に70mgの単回用量で投与される。種々の実施形態では、抗TSLP抗体又は抗体変異体は、2週間毎又は4週間毎に210mgの単回用量で投与される。種々の実施形態では、抗TSLP抗体又は抗体変異体は、2週間毎又は4週間毎に280mgの単回用量で投与される。

10

【0124】

抗体変異体について、抗体変異体の量は、用量中にあるTSLP結合部位の数が上記のカノニカル二価抗体に対して等モル数のTSLP結合部位を有するような量であるべきである。

【0125】

抗TSLP抗体又は抗体変異体は、少なくとも4ヶ月、6ヶ月、9ヶ月、1年又はそれを超える期間、2週間毎又は4週間毎に投与されると考えられる。種々の実施形態では、投与は、皮下又は静脈内投与である。

20

【0126】

抗TSLP抗体又は抗体変異体による治療は、対象の血液、痰、気管支肺胞液又は肺中の好酸球を減少させることが考えられる。投与は、高Th2集団から低Th2集団の対象の細胞数を変化させるとも考えられる。さらに、抗TSLP抗体又は抗体変異体の投与は、努力呼気肺活量(FEV)、FEV1可逆性、努力肺活量(FVC)、FeNO、喘息コントロール質問票-6のスコア及びAQLQ(S)+12のスコアからなる群から選択される、対象の喘息の1つ以上の尺度を改善すると考えられる。

【0127】

喘息の改善は、以下の1つ以上として評価し得る：AERの減少（年換算増悪率）、喘息での入院/重度の増悪の減少、最初の喘息増悪までの時間のベースラインからの変化（増加）（抗TSLP抗体による治療開始後）、治療の過程、例えば52週間にわたって、プラセボと比較して1回以上の喘息増悪があった対象又は重度の増悪があった対象の割合の減少、ベースラインからのFEV1及びFVCの変化（増加）（気管支拡張薬前及び気管支拡張薬後）、ベースラインからの血液又は痰の好酸球（又は生検若しくはBAL液が得られる場合には肺の好酸球）の変化（減少）、ベースラインからのFeNOの変化（減少）、ベースラインからのIGEの変化（減少）、ACQ及び変形版、AQLQ及び変形版、SGRQ並びに喘息症状日誌PROにより評価された喘息症状及び制御の改善、SGRQ、レスキュー薬の使用の変化（減少）、全身性コルチコステロイドの使用の減少、血中のTh2/Th1細胞比の減少。これらの評価のほとんど/全ては、高及び低好酸球（250以上が高く、250未満が低い）、アレルギー性及び非アレルギー性、高及び低Th2、高及び低ペリオスチン（中央値と比較して）並びに高及び低FeNO（24以上又は24未満）を含む全集団及び亜集団におけるべきものである。

30

40

【0128】

本開示では、限定されないが、抗炎症剤又は喘息治療を含む、本明細書に記載の第2の薬剤と併用した抗体組成物などの複数の薬剤の投与も企図されている。

【0129】

しかしながら、種々の実施形態では、その投与は、対象における同時投与治療の頻度又はレベルを減少させると考えられる。例示的な同時投与治療には、吸入コルチコステロイ

50

ド (I C S)、長時間作用型 2 アゴニスト (L A B A)、ロイコトリエン受容体アンタゴニスト [L T R A]、長時間作用型抗ムスカリン薬 [L A M A]、クロモン、短時間作用型 2 アゴニスト (S A B A) 及びテオフィリン又は経口コルチコステロイドが含まれるが、これらに限定されない。種々の実施形態では、投与は、コルチコステロイド治療の必要性を排除する。

【 0 1 3 0 】

製剤

いくつかの実施形態では、本開示は、薬学的に許容される希釈剤、担体、可溶化剤、乳化剤、保存料及び / 又はアジュバントと共に、治療有効量の抗 T S L P 抗体又は抗体変異体を含む医薬組成物の使用を考える。さらに、本開示は、そのような医薬組成物を投与することによって対象を治療する方法を提供する。

10

【 0 1 3 1 】

特定の実施形態では、許容可能な製剤材料は、好ましくは使用する用量及び濃度でレシピエントに対して無毒である。ある特定の実施形態では、医薬組成物は、例えば、この組成物の pH、モル浸透圧濃度、粘度、透明度、色、等張性、匂い、無菌状態、安定性、溶解又は放出の速度、吸着又は浸透性を修正、維持又は保存するための製剤材料を含み得る。そのような実施形態では、適切な製剤材料として下記が挙げられるが、これらに限定されない：アミノ酸（例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニン又はリシン）；抗菌剤；抗酸化剤（例えば、アスコルビン酸、亜硫酸ナトリウム又は亜硫酸水素ナトリウム）；緩衝剤（例えば、ホウ酸塩、重炭酸塩、トリス - H C l、クエン酸塩、リン酸塩又は他の有機酸）；増量剤（例えば、マンニトール又はグリシン）；キレート剤（例えば、エチレンジアミン四酢酸 (E D T A)) ；錯化剤（例えば、カフェイン、ポリビニルピロリドン、ベータ - シクロデキストリン又はヒドロキシプロピル - ベータ - シクロデキストリン）；充填剤；単糖類；二糖類；及び他の炭水化物（例えば、グルコース、スクロース、マンノース又はデキストリン）；タンパク質（例えば、血清アルブミン、ゼラチン又は免疫グロブリン）；着色、香味及び希釈剤；乳化剤；親水性ポリマー（例えば、ポリビニルピロリドン）；低分子量ポリペプチド；塩形成対イオン（例えば、ナトリウム）；保存料（例えば、塩化ベンザルコニウム、安息香酸、サリチル酸、チメロサル、フェネチルアルコール、メチルパラベン、プロピルパラベン、クロルヘキシジン、ソルビン酸又は過酸化水素）；溶媒（例えば、グリセリン、プロピレングリコール又はポリエチレングリコール）；糖アルコール（例えば、マンニトール又はソルビトール）；懸濁剤；界面活性剤又は湿潤剤（例えば、プルロニック、PEG、ソルビタンエステル、ポリソルベート、例えば、ポリソルベート 2 0、ポリソルベート、トリトン、トロメタミン、レシチン、コレステロール、チロキサパール）；安定性促進剤（例えば、スクロース又はソルビトール）；等張化促進剤（例えば、アルカリ金属ハロゲン化物、好ましくは塩化ナトリウム又は塩化カリウム、マンニトールソルビトール）；送達ビヒクル；希釈剤；賦形剤及び / 又は医薬アジュバント。R E M I N G T O N ' S P H A R M A C E U T I C A L S C I E N C E S , 1 8 ' ' E d i t i o n , (A . R . G e n r m o , e d .) , 1 9 9 0 , M a c k P u b l i s h i n g C o m p a n y を参照されたい。

20

30

【 0 1 3 2 】

好適なビヒクル又は担体は、注射用水、生理食塩水溶液又は人工脳脊髄液であり得、場合により非経口投与用組成物で一般的な他の材料が補充される。中性緩衝生理食塩水又は血清アルブミンと混合された生理食塩水は、さらなる例示的なビヒクルである。特定の実施形態では、医薬組成物は、約 pH 7 . 0 ~ 8 . 5 のトリス緩衝液又は約 pH 4 . 0 ~ 5 . 5 の酢酸塩緩衝液を含み、ソルビトール又はその適切な代替物をさらに含み得る。

40

【 0 1 3 3 】

製剤構成成分は、好ましくは、投与部位に許容可能な濃度で存在する。ある特定の実施形態では、緩衝液は、本組成物を、生理学的 pH 又はわずかに低い pH (典型的には約 4 . 5 ~ 約 8 の pH 範囲内) に維持するために使用される。約 4 . 5、約 4 . 6、約 4 . 7、約 4 . 8、約 4 . 9、約 5 . 0、約 5 . 1、約 5 . 2、約 5 . 3、約 5 . 4、約 5 . 5

50

、約 5.6、約 5.7、約 5.8、約 5.9、約 6.0、約 6.1、約 6.2、約 6.3、約 6.4、約 6.5、約 6.6、約 6.7、約 6.8、約 6.9、約 7.0、約 7.1、約 7.2、約 7.3、約 7.4、約 7.5、約 7.6、約 7.7、約 7.8、約 7.9 及び約 8.0 を含む。

【0134】

種々の実施形態では、抗 T S L P 抗体又は抗体変異体は、酢酸塩及びプロリン、スクロース、ポリソルベート 20 又はポリソルベート 80 の 1 つ以上を含有する製剤中に存在する。種々の実施形態では、製剤は、pH が 4.9 ~ 6.0 で、5 ~ 50 mM の酢酸塩、3 % (w/v) 未満のプロリン、0.015 % (w/v) ± 0.005 % (w/v) のポリソルベート 20 又はポリソルベート 80 を含む。任意選択的に、抗体又は抗体断片は、約 100 ~ 約 150 mg/ml の濃度である。製剤を -20 ~ -70 で保存し得る。これらの賦形剤を含む例示的な抗 T S L P 製剤は、参照により本明細書に組み込まれる国際出願第 P C T / 米国特許出願公開第 2021 / 018561 号明細書に記載されている。

10

【0135】

代替的な実施形態では、抗 T S L P 抗体又は抗体変異体は、界面活性剤と、少なくとも 1 つの塩基性アミノ酸又はその塩とを含有する製剤中にある。例示的な例では、塩基性アミノ酸はアルギニン又はヒスチジンである。様々な実施形態では、塩は、任意選択的に 10 ~ 200 mM の濃度のグルタミン酸アルギニン又はグルタミン酸ヒスチジンである。任意選択的に、製剤はプロリンをさらに含む。代替的な実施形態では、抗 T S L P 抗体又は抗体バリエーションは、界面活性剤及びカルシウム又はその塩を含有する製剤中にある。様々な実施形態では、塩は、任意選択的に 15 mM ~ 約 150 mM の濃度のグルタミン酸カルシウムである。任意選択的に、製剤はプロリンをさらに含む。様々な実施形態では、界面活性剤は、ポリソルベート 20 若しくはポリソルベート 80 又はそれらの混合物である。任意選択的に、抗体又は抗体断片は、約 110 mg/ml 超又は約 140 mg/ml 超の濃度である。これらの賦形剤を含む例示的な抗 T S L P 製剤は、参照により本明細書に組み込まれる国際特許出願第 P C T / 米国特許出願公開第 2021 / 017880 号明細書に記載されている。

20

【0136】

非経口投与が考えられる場合、使用のための治療組成物は、薬学的に許容されるビヒクル中に、所望の抗 T S L P 抗体を含み、発熱物質を含まない、非経口的に許容される水溶液の形態で提供し得る。非経口注射のための特に適切なビヒクルは、無菌の蒸留水であり、その中では、抗体は、適切に保存された無菌の等張溶液として処方される。ある特定の実施形態では、製剤は、デポ注射を介して送達できる産物の制御性又は持続放出を提供し得る薬剤、例えば注射可能なマイクロスフェア、生体内分解性粒子、ポリマー性化合物（ポリ乳酸若しくはポリグリコール酸など）、ビーズ又はリポソームと、所望の分子との製剤を含み得る。ある特定の実施形態では、循環中の持続期間を増進する効果を有するヒアルロン酸も使用され得る。特定の実施形態では、抗体を導入するために、インプラント可能な薬剤送達デバイスを使用し得る。様々な実施形態では、投与は、プレフィルドシリンジ又は自動注射器を介したものであり得る。様々な実施形態では、自動注入装置は、Ypsomed Ypsomate（登録商標）デバイスである。種々の実施形態では、自動注入装置は、国際公開第 2018 / 226565 号パンフレット、同第 2019 / 094138 号パンフレット、同第 2019 / 178151 号パンフレット、同第 20120 / 072577 号パンフレット、同第 2020 / 081479 号パンフレット、同第 2020 / 081480 号パンフレット、P C T / 米国特許出願公開第 20 / 70590 号明細書、P C T / 米国特許出願公開第 20 / 70591 号明細書、P C T / 米国特許出願公開第 20 / 53180 号明細書、P C T / 米国特許出願公開第 20 / 53179 号明細書、P C T / 米国特許出願公開第 20 / 53178 号明細書又は P C T / 米国特許出願公開第 20 / 53176 号明細書で開示されている。

30

40

【0137】

キット

50

さらなる態様として、本開示は、本開示の方法を実施するためのそれらの使用を容易にする方法で包装された1つ以上の化合物又は組成物を含むキットを含む。一実施形態では、そのようなキットは、本明細書に記載の化合物又は組成物を含み、密封されたボトル又は容器などの容器に包装され、容器に貼付されるか、又は方法を実施する際の化合物又は組成物の使用を記載する包装に含まれるラベルを有する。好ましくは、化合物又は組成物は、単位剤形で包装される。キットは、特定の投与経路に従って組成物を投与するか又はスクリーニングアッセイを実施するために適したデバイスをさらに含み得る。好ましくは、キットは、抗体組成物の使用を記載するラベルを含む。

【0138】

本開示のさらなる態様及び詳細は、限定ではなく、例示を目的とする以下の実施例から明らかになるであろう。 10

【実施例】

【0139】

実施例 1 :

テゼベルマブ (AMG 157) を、高いストレス温度においてその安定性及びHMW種を形成する能力について試験した。テゼベルマブを温度ストレス条件に供し、抗体を37で製剤に入れ、温度を以下に記載される条件まで上昇させた。結合及び安定性に影響を与える属性を、サイズ排除クロマトグラフィー及びペプチドマッピングを用いて決定した。

【0140】

材料及び方法 20

AMG 157 及び潜在的に結合に影響を及ぼす不安定な残基：配列 A 5 (及び鎖 H 5、L 5 として) としての AMG 157 のアミノ酸配列及びいくつかの他の T S L P 結合抗体も、米国特許第 7, 982, 016 B 2 号明細書に以前に記載されていた。

【0141】

A 2 G 0 F / A 2 G 0 F グリコシル化を有する抗体 (C 6 5 0 0 H 9 9 9 8 O 2 0 6 8 N 1 7 3 4 S 5 2) の分子量は 1 4 7 1 8 9 . 4 D a であり、重鎖 N 末端ピログルタメートが含まれており、且つ C 末端 K が除去されている。T S L P は、7 4 % の単量体種、2 3 % の二量体種及び 3 % の四量体種を含有した。

【0142】

分子評価に続く配列のインシリコ評価では、結合及び効力に影響を及ぼし得る化学修飾を潜在的に受けやすい C D R 中のいくつかの残基が同定された。それらの C D R 残基並びにフレームワークからのいくつかの他の残基が考慮され、それらは現在の理解に基づいて (図 1、上部) 目標範囲を含む。C D R 中の残基及びそれらの共通の修飾は、標的への結合及び効力に潜在的に影響を及ぼし得るため、可能な属性として選択される。 30

【0143】

結合に影響を及ぼす化学修飾の同定方法；サイズ排除クロマトグラフィー (S E C) 及び画分収集：インキュベーション後、AMG 157 混合物を、G 3 0 0 0 S W x 1 T O S O H B i o s c i e n c e、7 . 8 m m I D x 3 0 c m カラム (カタログ番号 0 8 5 4 1、T O S O H B i o s c i e n c e、S a n F r a n c i s c o、C A) を使用する S E C によって分離し、移動相は、1 0 0 m M リン酸ナトリウム及び 2 5 0 m M N a C l (p H 6 . 8) を含んだ。流量を 0 . 5 m l / 分に設定し、カラム温度を 3 7 に設定し、実行時間を 3 5 分に設定し、オートサンプラーを 4 に設定した。紫外 / 可視分光法 (U V / V I S) 検出を 2 1 4 n m 及び 2 8 0 n m で行った。溶出画分は、1 0 k D a 超の分子量カットオフを有するフィルターを用いて収集し、7 . 5 M グアニジン溶出緩衝剤で溶出した。溶出された画分を、以下に記載するペプチドマッピングのための試料調製に供した。 40

【0144】

リガンド複合体を有する抗体の S E C とそれに続く L C - M S / M S 特性評価は、抗体の非結合画分及び結合画分における修飾の比を決定する。この方法は、抗体自体の凝集だ 50

けでなく、抗体とリガンドとの間の結合を検出するため、典型的にはタンパク質の凝集、例えばモノマーとダイマーとの間の分化などを検出するSEC法と異なる。SEC結合親和性実験は、AMG157タンパク質をその標的と混合することによって開始した。SEC-UVによって抗体-抗原混合物を分離すると、治療用タンパク質、リガンド及び非結合治療用タンパク質含有属性の結合複合体を表すピークが、SEC溶出プロファイルの異なる時間に溶出した。これにより、結合した抗体-抗原複合体及び結合していない抗体の画分の収集が可能になった。回収した画分をトリプシンによって消化し、LC-MS/MS法を用いて分析すると、結合画分及び非結合画分中の治療用タンパク質の属性の存在量プロットが生成された。x軸を \log_2 倍、y軸を $-\log_{10}$ p値としてボルケーノプロットも作成した。 \log_2 倍数変化は、非結合/結合画分における属性の比を表し、これは、属性が治療用タンパク質のリガンドへの結合にどの程度影響するかを示す。p値のマイナス \log_{10} は、変化倍数がどの程度確信的に表されるかを表す。

10

【0145】

50 で凝集に影響を及ぼす化学修飾の同定方法：同様のアプローチを使用して、AMG157の50 1W試料の高分子量(HMW)種及びモノマー種の属性を研究した。AMG157 50 1WのSEC-UV後のLC-MS/MS特性評価により、抗体のHMW及びモノマー画分中の修飾の比率が決定される。SEC分離時、同定された属性を有するモノマー及びHMW種を表すピークは、SEC溶出プロファイルの異なる時間に溶出することができる。AMG157 50 1WのHMW及びモノマー画分を収集し、消化し、LC-MS/MS法を使用して分析した。HMW及びモノマー画分における治療用タンパク質の属性の存在プロットを作成した。x軸を \log_2 倍数変化、y軸を $-\log_{10}$ p値としてボルケーノプロットも作成した。 \log_2 倍数変化は、HMW/モノマー画分における属性の比を表し、これは、属性がHMW抗体の形成をどの程度引き起こすかを示す。p値のマイナス \log_{10} は、変化倍数がどの程度確信的であるかを表す。

20

【0146】

ペプチドマッピング：(Ren et al., Anal. Biochem. 392 : 12 - 21 (2009))に記載されているように、LC-MS分析に適したペプチドに対するグアニジンによるリフォルディング、ジスルフィド結合の還元及びアルキル化、緩衝液交換及びトリプシンによる消化を含む試料調製手順を使用して、収集した画分のペプチドマッピングを行った。簡潔に記載すると、AMG157を含む試料を0.5 mlのpH 7.5の変性緩衝剤(7.5 M塩酸グアニジン(GdnHCl)及び0.25 Mトリス)で約1 mg/mlに希釈した。還元は、3 μ lの0.5 Mジチオトレイトール(DTT)を添加し、続いて室温で30分間インキュベートすることによって達成した。カルボキシメチル化は、7 μ lの0.5 Mヨード酢酸(IAA)の添加により達成した。反応は、暗所において室温で15分間行った。4 μ lの0.5 M DTTを添加して、過剰のIAAをクエンチした。還元し、アルキル化したAMG157試料を、NAP-5カラム(GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA)を用いてpH 7.5の消化バッファ(0.1 Mトリス又は0.1 M重炭酸アンモニウム)にバッファ交換した。凍結乾燥トリプシンを水に溶解し、最終濃度を1 mg/mlとした。還元、アルキル化及び緩衝剤交換された抗体1試料に1 mg/mlのトリプシン溶液を添加することにより、消化を開始し、1 : 25の酵素/基質比を達成した。消化を37 で30分間行った。最終消化物を、5 μ lの20%FAを添加してクエンチした。消化された抗体試料のLC-MS/MSペプチドマッピング分析を、Thermo Scientific Q-ExactiVe Biopharma質量分析計に接続されたAgilent 1290 UHPLCシステムにより、(Ren et al., Anal. Biochem. 392 : 12 - 21, 2009)に記載のように実施した。得られたLC-MS/MS生データ並びにAMG157の配列を使用して、MassAnalyzerソフトウェアによって修飾を同定及び定量化した(Zhang, Anal. Chem. 81 : 8354 - 8364 (2009))。

30

40

【0147】

50

表面プラズモン共鳴 (SPR) は、結合複合体に対する結合親和性を測定することができる伝統的なアプローチの1つである。 10^{-6} M未満の結合複合体は、SPRを用いて検出することができる。対照的に、SEC結合親和性実験は、 10^{-8} M未満の K_d で抗体/リガンド複合体を測定することができる。弱く結合した複合体 (10^{-8} M超の K_d) は、SECカラムで解離する。結果として、抗体分子及びリガンド分子は、非結合種として別々に溶出する。

【0148】

テゼペルマブの50 1週間 (1W) ストレスは、非常に大きい割合 (約67%) の高分子量 (HMW) 種を産生した。HMW種は、いくつかの残基上の異性化及び脱アミド化、特にLC D91の異性化を含む高い割合の化学修飾を含んでいた。D91異性化は、HMW画分では約23%に劇的に増加したのに対して、モノマーでは1%であった。

10

【0149】

TSLPへのテゼペルマブ結合に対する40 で4週間の4週間のストレス (40C4W) の影響も評価した。SEC親和性結合、引き続いてペプチドマッピングを使用することにより、TSLP結合に影響を与える可能性があるAMG157の5つの属性 (例えば、化学修飾) を分析のために選択した: HC D54異性化、HC W102酸化、LC D49又はD50異性化、LC N65脱アミド及びLC D91異性化 (図3)。D49又はD50対について、2つの残基の両方が結合に寄与するため、それらの間の結合に対する影響を区別することは、困難であった。結合に対する影響は、D54 > W102 > D49 / D50 > N65 > D91の順序であった。5 で2年、続いて25 で2ヶ月 (2Y5C + 2M25C) として確立された貯蔵寿命条件の試験終了後、修飾の1つ (LC D49又はD50異性化) のみが2%の検出可能レベルを超え得る。結合は、 $K_d = 10^{-10}$ Mの典型的な抗体-抗原平衡解離定数から、 $K_d = 10^{-8}$ Mより弱くなり、SECカラムでの抗体-抗原複合体の解離及び2つの分子の分離溶出をもたらした。この方法は、CEX画分の特性評価の従来の方法と良好な相関を示し、これにより、HC D54異性化が、細胞ベースのアッセイによって測定される効力の喪失と強く相関することが明らかになった。

20

【0150】

ペプチドマッピング方法の適合性を検証するために、CDR及び隣接領域の不安定な残基がインシリコで予測されており、テゼペルマブ (AMG157) の16個の修飾 (属性) が起こる可能性があり、TSLPへのAMG157の結合に影響を及ぼし得ることを示唆している。ペプチドマッピングをAMG157 T0及び40C4W試料で実施し、16の予測される修飾を同定した。HC D62含有ペプチドは回収率が悪く、HC D62の異性化を確実に定量化することができなかった。ペプチドマッピング結果は、ペプチドマッピング方法が、HC D62を除く全ての修飾を検出することができ、研究に適していることを確認した (図2)。

30

【0151】

HC D54E、HC G55A、LC D49E又はD50E、LC S51Aを含む、可能性のある抗体属性のいくつかの変異 (化学修飾及び後続の残基を有する残基) が室温安定性を高めるために提案された。米国特許第7,982,016号明細書は、配列A5 (また鎖H5、L5) としての抗TSLP抗体を開示しており、これは配列番号3~8のCDRに記載されている。

40

【0152】

テゼペルマブの50C1Wストレスは、非常に大きい割合 (約67%) のHMW種を産生した。HMW種は、いくつかの残基上の異性化及び脱アミド化、特にLC D91及びHC D54の異性化を含む、高い割合の化学修飾を含んでおり、HMW画分が、結合に影響を及ぼす化学修飾 (属性) のために、より低い効力を有し得ることを示唆している。また、テゼペルマブ40C4W試料のHMW種は、結合後も同じままであり、TSLP結合に関与しなかったことを示唆した。

【0153】

50

結果

合計で15個の修飾が、インシリコ配列分析に基づくTSLPへのAMG157の結合における潜在的な修飾属性と考えられる(図1)。ペプチドマッピングを適用して、AMG157 T0及び40 4W試料における予測された属性のパーセンテージを測定した(図2)。40 4Wは、液体製剤(4 2Y)の貯蔵寿命に対応し、製造及び貯蔵の合理的な条件と考えられる。合理的な製造及び貯蔵条件下での2%を超える修飾は、HCD54異性化、HCN57脱アミド、HCD62異性化及びLCD49D50異性化であるが、これらの修飾の全てがTSLPへの結合に影響を及ぼすわけではない。

【0154】

TSLPへの結合に影響を与えるAMG157の化学修飾：AMG157 40 4W及びTSLPのSEC親和性結合を使用して、結合に影響する残基及び修飾を実験的に決定した。SEC-UVPロファイルは、40 4Wストレス後、15.5分で溶出する非結合AMG157が10%未満を構成することを示唆しており、効力の喪失が10%未満であるべきであることを示しており、これは効力測定値とよく一致する(図8A)。AMG157(147kDa)及びTSLP(16kDa)の溶出時間及び理論分子量に基づいて、14分で溶出するピークを1つの抗体及び2つのTSLT分子を含む複合体とし、15分のピークを1つの抗体及び1つのTSLP分子を含むものとした。同じSEC条件及び多角度光散乱(MALS)検出器を使用した他の実験では、これらの時間に溶出する質量複合体において同様のものが同定された。AMG157 T0又は40 4WがTSLPに結合した場合、約10.5~12.5分で溶出する大きい複合体も観察された(図3A)。それらは、TSLPが23%の二量体種及び3%の四量体種を含有し(材料及び方法の節を参照されたい)、いくつかの抗体を潜在的に架橋し、より大きい複合体をもたらすことができるという事実によって説明することができる。CEX塩基性画分の生物学的特徴付けは、受容体-リガンド結合及び細胞ベースのレポーター遺伝子効力の減少を明らかにしたことに留意されたい(図8C)。生化学的特徴付け(ペプチドマッピングを含む)により、CDRアスパラギン酸異性化と、断片化種(HMW)の凝集、部分的に還元された種、高マンノース及びフコシル化グリカン、非CDR Met酸化、重鎖C末端リジン及びN末端シグナル伝達ペプチド、ジスルフィドアイソフォームAを含む塩基性CEX画分が濃縮されたいくつかの他の修飾とが同定された。抗体-抗原のSECを含む方法を直交アプローチとして利用して、TSLPへの結合に影響を与える抗体の化学修飾を、結合に影響を与えない修飾から評価及び区別した。

【0155】

AMG157 40 4W及びTSLP複合体のSECとそれに続くLC-MS/MS特性評価により、AMG157の非結合画分(5)及び結合画分(3)における修飾の比を決定した。統計学的有意性 $p < 0.03$ で、以下の5つの残基を関連属性と見なした：HCD54異性化、HCW102酸化、LCD49又はD50異性化、LCN65脱アミド及びLCD91異性化。D49 D50対について、2つの残基のいずれが変異しているかの影響を区別することは、困難であり、両方が結合に寄与する。各修飾の相対的存在量を図3Bに要約する。AMG157の結合画分及び非結合画分では、5つの属性は、全て10%未満である。結合画分と非結合画分との間の修飾率の最大の差(比又は倍率変化)は、AMG157のHCD54異性化に見られる。結合画分及び非結合画分中のHCD54異性化の存在量は、それぞれ約0.5%及び約3.5%である。LCD49D50異性化は、AMG157 40 4Wの非結合画分中で最も高いパーセンテージ(約6.2%)を示す。

【0156】

アスパラギン酸(D)は、HCDR2の現在のDGモチーフにおける異性化を受けやすいが、残基の1つが、例えば、GからA又はDからEに変更される場合、異なる立体配置はそれほどではない。同様に、LCDR2は、アスパラギン酸が異性化しやすいモチーフDDSDRPSを有するため、残基への変化が、安定性、例えばDからE又はSからAを改善するために提案される。

【0157】

図4は、T S L PへのA M G 1 5 7 4 0 4 W結合における関連属性を決定するためのボルケーノプロットを示す。統計プロットにおいて、 $\log 2$ （非結合/結合）は結合の強度を示し、 $D 5 4 > W 1 0 2 > D 4 9 D 5 0 > N 6 5 > D 9 1$ である。T S L Pに対する非結合A M G 1 5 7の平衡解離定数（ K_d ）は K_d が 10^{-8} Mになると推定され、その時点で分解抗体はT S L Pからカラム上で解離した。非結合A M G 1 5 7は、n M範囲の典型的なA M G 1 5 7 K_d と比較してはるかに弱い結合を示した。S E C親和性結合法では、D 5 4異性化は、非結合%/結合%の最大倍率変化（6の値）を示し、同定の信頼性が高かった（ p 値 = 4×10^{-4} ）。A M G 1 5 7の属性モデリングと組み合わせ、S E C親和性結合実験は、関連する属性のいくつかの変異（化学修飾及び後続の残基を有する残基）が、H C D 5 4 E、H C G 5 5 A、L C D 4 9 D 5 0 E及びL C S 5 1 A（図1、下パネル）を含む室温安定性を向上させ得ることを示した。

【0158】

結合に潜在的な影響を示す残基及び修飾（H C D 5 4異性化、H C W 1 0 2酸化、L C D 4 9 D 5 0異性化、L C N 6 5脱アミド及びL C D 9 1異性化）を可能な属性として列挙した。一方、可能な属性と考えられるいくつかの他の残基は、S E C親和性法による結合に影響を及ぼさなかった。図5は、結合画分と非結合画分との間で統計的に有意に変化しなかった11の修飾について、A M G 1 5 7 4 0 4 Wにおける結合画分と非結合画分の相対存在量を要約している（図1及び図4）。また、H C M 3 4酸化及びH C D 6 2異性化を除いて、全ての修飾率は、製剤中40で4週間のストレス後に1%未満であり、有意な割合の修飾を構成しないことを示す。

【0159】

15.6分で溶出する非結合抗体（ピーク5）対10.5~12.5分で溶出する複合体（ピーク1+2）の属性は、ピーク5対ピーク3と同じであったが、統計は劣っていた。これは、大きい複合体が抗体-T S L P複合体であることを示している。

【0160】

本所見は、T S L Pに結合するA M G 1 5 7 F a bの結晶構造と一致し、H C D 5 4、H C W 1 0 2及びL C D 4 9がT S L Pと近接しており（6以内）、直接結合に関与する可能性が非常に高いことを示唆する。イソアスパラギン酸形成（H C D 5 4、L C D 4 9 D 5 0、D 9 1）は、主鎖の伸長（及び短縮側鎖）をもたらし、これにより、これら及び近傍の残基の位置及び配向が変化することに留意すべきである。これは、結合の喪失をもたらす得る。複合体中の最も近い原子を選択して、相互作用の可能性のある性質（疎水性、水素結合、塩橋）を考慮せずに距離を測定した。要約すると、L C D 4 9 D 5 0、L C N 6 5及びL C D 9 1での異性化後に長距離のアロステリック効果が起こり、T S L Pへの結合の喪失をもたらす得る。

【0161】

従来手法との相関：従来のアプローチに従って、A M G 1 5 7 4 0 4 W試料を主画分及び3つの塩基性画分上のC E Xによって分離し、それらを収集し、ペプチドマッピングによる化学修飾及び相対効力について特徴付けた。相対効力を細胞ベースのアッセイ及び結合アッセイによって測定した。アッセイの結果は、塩基性画分3が39%のD 5 4異性化を含有し、その細胞ベースの効力がわずかに61%であることを示し、この化学修飾がこの細胞ベースのアッセイにおける効力に影響を及ぼすことを示した。この結果は、T S L PへのS E C親和性結合と良好に一致しており、これにより、非結合画分対結合画分の比が最も高く、結合に最も影響を与えるH C D 5 4異性化が特定された。

【0162】

50での凝集と相関する化学修飾：H M W種の割合は、A M G 1 5 7 4 0 4 W試料で約9%であった。A M G 1 5 7の50 1 Wストレスは、非常に大きい割合（約67%）のH M W種を産生し、これは、この温度での抗体分子の部分的なアンフォールディングを示唆した。S E Cによる分離時、A M G 1 5 7 5 0 1 W中のH M W及びモノマー種を収集し、ペプチドマッピングを使用して分析した。S E C親和性結合測定で使用され

る同様の統計的手法を使用することにより、ボルケーノプロットを作成して、AMG157のHMW種の形成に關与する属性を評価した(図6A)。ボルケーノプロットの右上隅では、7つの属性がHMW形成に關連していると思われ、統計学的有意性がある(図6Bにおいてアスタリスクで示されている)。「略統計学的に有意な灰色領域」からのこれら及びいくつかの他の修飾の存在をHMW及びモノマーについてプロットした(図6B)。異性化、脱アミド及びスクシニミド形成(H₂O損失)は、HMW形成と強く相関する修飾の大部分を構成する。例えば、LCD91異性化は、HMW画分で約23%に劇的に増加したのに対して、モノマーでは1%であった。結合に影響を与える可能性のある別の修飾、HCD54異性化は、単量体中2%に対してHMW画分中10%であった。すなわち、LCD91異性化及びHCD54異性化は、それぞれHMW種の形成と相関していた。HMW画分中の結合に影響を与える高レベルの化学修飾は、それがモノマーと比較してより低い効力を有し得ることを示唆している。また、10.5分でSECから溶出するAMG157のHMW種は、TSLPへの結合後も「未消費」のままであり、HMW種が弱い結合を有することをさらに示唆した。AMG157 40C4W HMW種はサイズが大きく、サイズ分離の極端で溶出することに留意されたい。

10

【0163】

50 1W後のAMG157で部分的なアンフォールディングが疑われ、劇的なHMW種形成が観察され、典型的なプロセスで曝露及び修飾されていない残基が曝露された可能性がある。HMW種及び改質がより少ない40 4Wストレス材料の利用は、典型的なプロセスをより代表的に表すはずである。

20

【0164】

全体として、SEC親和性結合法は、AMG157のTSLPへの結合に影響する残基及び修飾を実験的に決定した。統計的有意性が $p < 0.03$ である場合、HCD54異性化、HCW102酸化、LCD49又はD50異性化、LCN65脱アミド及びLCD91異性化が、TSLPへのAMG157結合の関連属性であると思われる。40 4W後に高い統計的有意性及び2%超で結合に影響を与える修飾は、HCD54及びLCD50異性化である。D49/50異性化は、生物学的アッセイなどの他の研究における効力の喪失と相関せず、高ストレス条件下での本知見は、本方法のアーチファクトであり得ることに留意されたい。化学修飾は、50 1Wストレス後のHMW種の形成、特にLCD91異性化と相関する。これらの結果を考慮して、室温安定性を改善するために、HCD54E、HCG55A、LCD49E又はLCD50E、LCS51Aを含むAMG157属性のいくつかの変異(化学修飾及び後続残基を有する残基)が提案された。

30

【0165】

本明細書において論じられ、且つ引用された全ての刊行物、特許及び特許出願は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。開示した本発明は、記載された特定の方法論、プロトコル及び材料に限定されず、これらは、変化し得ることが理解される。本明細書中で用いられる専門用語は、特定の実施形態を説明するためのものに過ぎず、添付の特許請求の範囲を限定することを意図するものではないことも理解される。

【0166】

当業者は、本明細書に記載の本発明の特定の実施形態に対する多くの均等物を認識又は確認することができるであろう。そのような均等物は、以下の特許請求の範囲によって包含されることが意図される。

40

50

【 図 面 】

【 図 1 】

図 1

テゼベルマブの可能な修飾/属性

CDR#及びFR#	モチーフ	予測される修飾
CDR H1	M34	酸化
CDR H2	W52	酸化
CDR H2	D54	異性化
CDR H2	N57	脱アミド化
CDR H2	D62	異性化
CDR H3	W102	酸化
FR L1	N25	脱アミド化
FR L1	N26	脱アミド化
CDR L2	D49D50	異性化
CDR L2	D52	異性化
FR L2	N65	脱アミド化
CDR L3	W90	酸化
CDR L3	D91	異性化
CDR L3	S92S93S94	マンノシール化
CDR L3	D95	異性化

特性決定方法

40C4Wでストレスを受けた AMG157及びその標的 TSLPのSEC親和性結合、その後の結合及び非結合 AMG157画分の属性の同定及び定量化。

⇒ TSLPへの結合に潜在的に影響を与える実験的に測定された属性

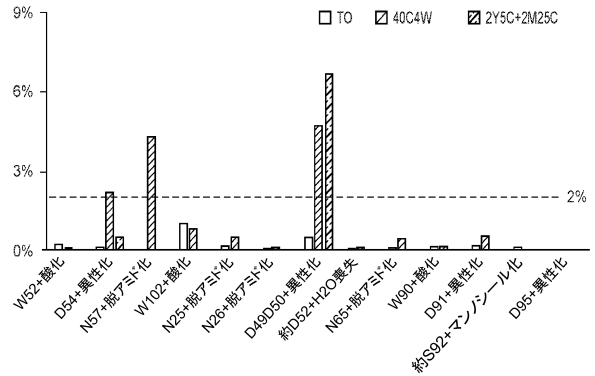
⇒ 室温安定性を改善するための残基/属性の提案される変異

40C4W後の HC D54 iso>2%、40C4W LC N65 deam LC D91 iso後の >2%HC W102 ox LC D49 及びD50 iso

⇒ HC D54E、HC G55A、LC D49E、D50E、LC S81A

【 図 2 】

図 2



10

20

【 図 3 A 】

図3A及び3B

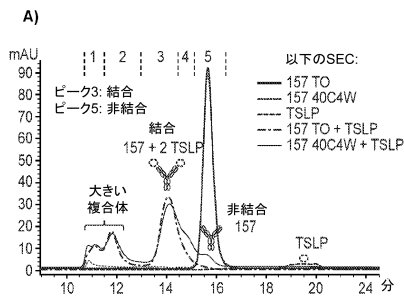


図 3A

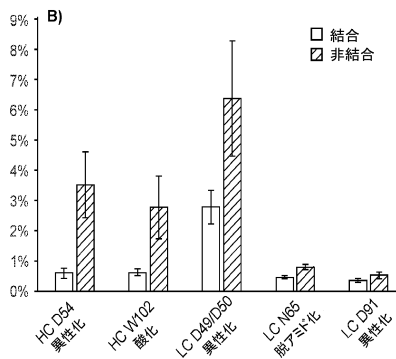


図 3B

【 図 3 B 】

図3A及び3B

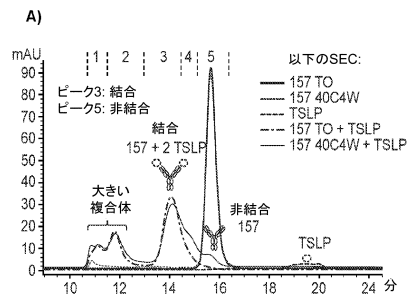


図 3A

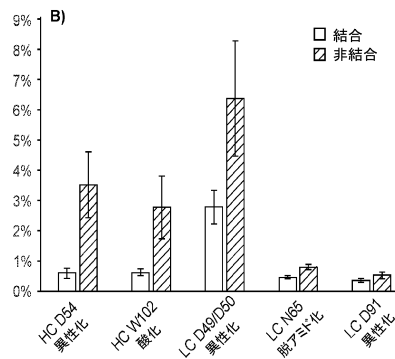


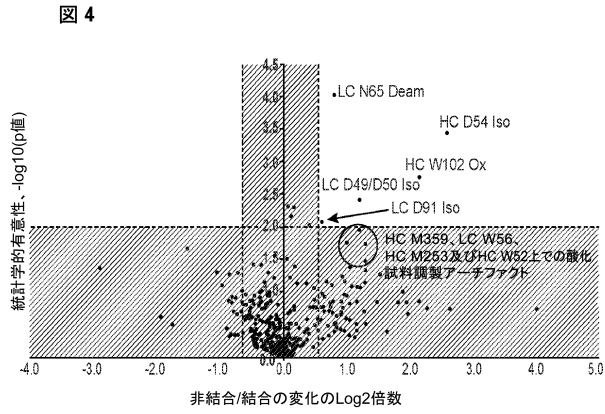
図 3B

30

40

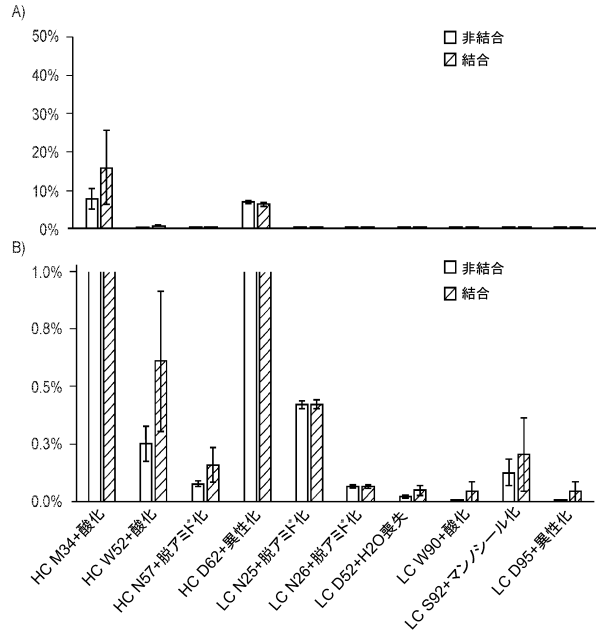
50

【 図 4 】



【 図 5 A 】

図 5A 及び 図 5B

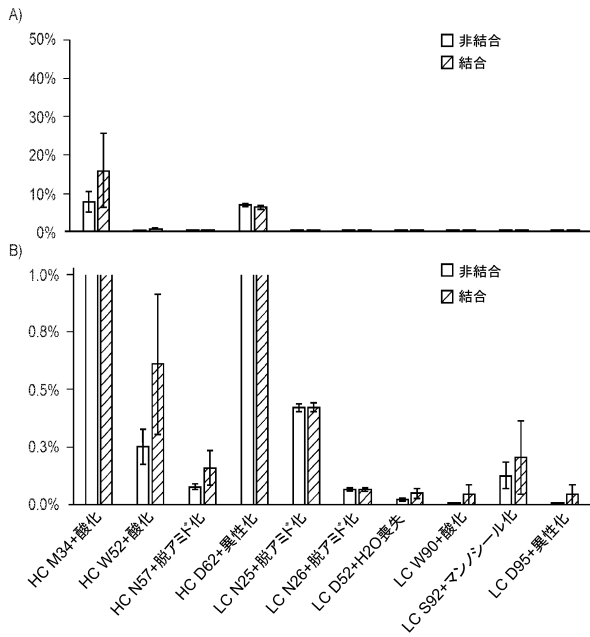


10

20

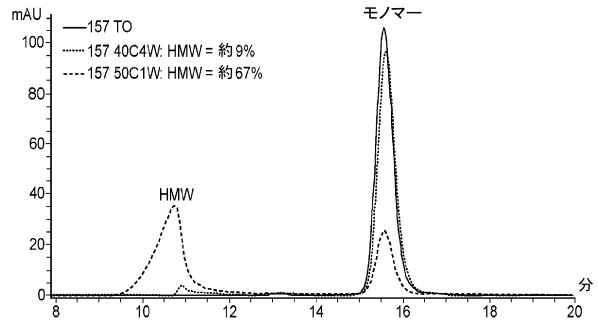
【 図 5 B 】

図 5A 及び 図 5B



【 図 6 】

図 6



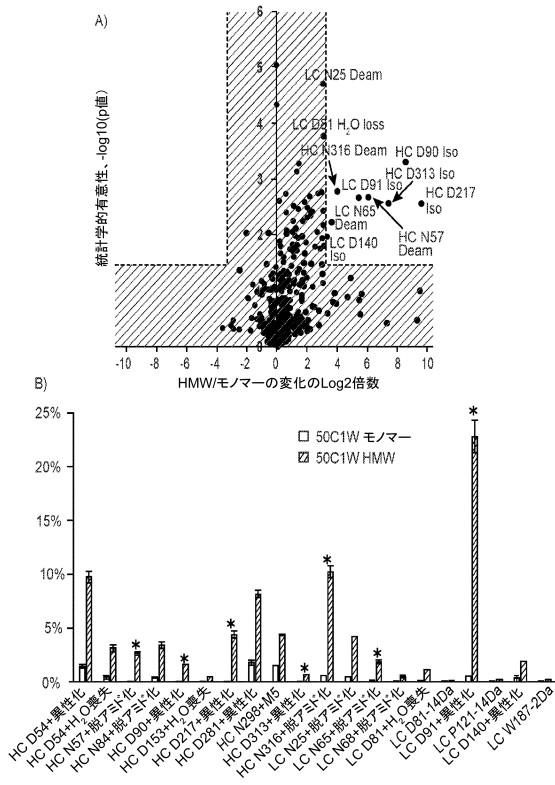
30

40

50

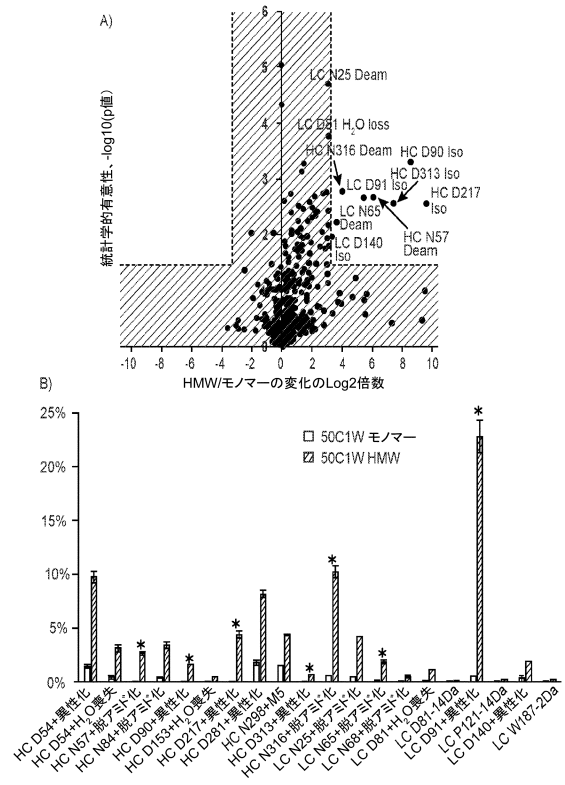
【 図 7 A 】

図 7A 及び 図 7B



【 図 7 B 】

図 7A 及び 図 7B



10

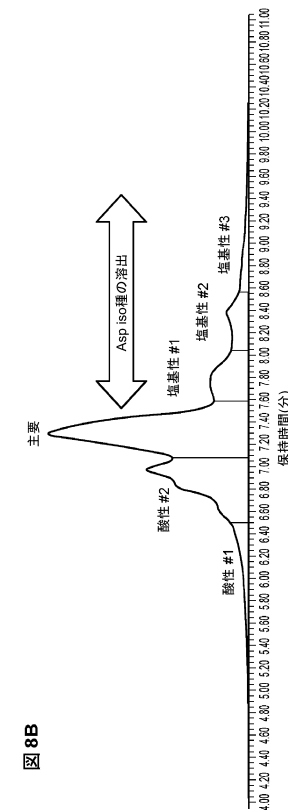
20

【 図 8 A 】

図 8A

試料ID/説明	%異性化			%相対的効力 (%CV)	
	D54 HC	D49/50 LC	D81/95 LC	溶剤体リポソーム結合	細胞ベースの変容体遺伝子ハイオアッセイ
AMG157原薬	0.0	0.2	0.0	102	102
ストレス負荷AMG157試料 (4週間@40°C)	1.8	5.4	0.3	104	91

【 図 8 B 】



30

40

50

【 8 C 】

図 8C

試料ID/説明	%異性化			%相対的効力(%CV)
	D54 HC	D49/50 LC	D81/95 LC	
対照	0.0	0.2	0.0	102
ストレス負荷試料(4週間@40℃)	1.8	5.4	0.3	104
ストレス負荷試料塩基性画分1	0.1	12	0.1	101%(11%)
ストレス負荷試料塩基性画分2	0.6	8.3	0.1	83%(8%)
ストレス負荷試料塩基性画分3	39.2	1.6	0	78%(8%)
ストレス負荷試料塩基性画分4	ペプチドマップングによって試験するには区別できない			59%(9%)
				102
				91
				94%(3%)
				86%(5%)
				59%(7%)
				15%(13%)

【 配列表 】

2024516595000001.app

【 8 D 】

図 8D

修飾	参照標準	ハイアルゲラン生成物 A, 12M 5°C	ハイアルゲラン生成物 B, 12M 5°C	ペンチスケール DP T=0	ペンチスケール 18M 5°C	ペンチスケール DP 25°C	ペンチスケール DP 6M 25°C	DS安定性 22M 5°C	DS安定性 2M 30°C
Asp異性化 (LC CDR, D49/D50)	0.2%	2.2%	2.7%	0.6%	3.7%	6.9%	6.7%	9.1%	1.4%
Asp異性化 (HC CDR, D54)	0.0%	0.1%	0.1%	0.0%	0.1%	0.6%	0.5%	1.4%	0.5%

10

20

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/025999

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K16/06 C07K16/24 A61P11/06
ADD.
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07K A61P
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2014/227250 A1 (LI YUNSONG [US] ET AL) 14 August 2014 (2014-08-14) e.g. paragraph 49; example 2; the whole document -----	1-7, 17-41
A	US 2018/296669 A1 (PARNES JANE R [US] ET AL) 18 October 2018 (2018-10-18) e.g. SEQ ID NO: 105 and 106; claims 1-54; the whole document ----- -/--	1-7, 17-41

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 23 August 2022	Date of mailing of the international search report 26/10/2022
--	---

Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Gruber, Andreas
--	--

1

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/025999

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DICK L W ET AL: "Identification and measurement of isocaspatic acid formation in the complementarity determining region of a fully human monoclonal antibody", JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY B, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 877, no. 30, 15 November 2009 (2009-11-15), pages 3841-3849, XP026708812, ISSN: 1570-0232, DOI: 10.1016/J.JCHROMB.2009.09.031 [retrieved on 2009-09-25] e.g. abstract; section 'Conclusion' on page 3849; the whole document	1-7, 17-41
A	WO 2019/028187 A1 (AMGEN INC [US]) 7 February 2019 (2019-02-07) e.g. paragraphs 55, 62; the whole document	1-7, 17-41
A	Arthur Hinterholzer ET AL: "Detecting aspartate isomerization and backbone cleavage after aspartate intact proteins by NMR spectroscopy", Journal of Biomolecular NMR, 21 January 2021 (2021-01-21), pages 71-82, XP055947105, Retrieved from the Internet: URL: https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10858-020-00356-4.pdf [retrieved on 2022-07-28] e.g. abstract; page ; page 71, right-hand column; page 78, left-hand column, paragraph 1; the whole document	1-7, 17-41
A	VENKATARAMANI SATHYADEVI ET AL: "Design and characterization of Zweimab and Doppelmab, high affinity dual antagonistic anti-TSLP/IL13 bispecific antibodies", BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, vol. 504, no. 1, 1 September 2018 (2018-09-01), pages 19-24, XP055784581, Amsterdam NL ISSN: 0006-291X, DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.08.064 e.g. table 3; page 20, left-hand column, paragraph 1; page 22, right-hand column; the whole document	1-7, 17-41

10

20

30

40

-/--

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/025999

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2016/264658 A1 (AHMED FARHEEN [GB] ET AL) 15 September 2016 (2016-09-15) e.g. paragraph 8; the whole document -----	1-7, 17-41
Y	US 9 096 651 B2 (IGAWA TOMOYUKI [JP]; TSUNODA HIROYUKI [JP] ET AL.) 4 August 2015 (2015-08-04) e.g. claim 1; example 31; column 75 and following; the whole document -----	1-7, 17-41
A	US 2008/138335 A1 (TAKAHASHI NOBUAKI [JP] ET AL) 12 June 2008 (2008-06-12) e.g. claims 1-3; the whole document -----	1-7, 17-41

10

20

30

40

1

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2022/025999

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. forming part of the international application as filed:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - on paper or in the form of an image file.
 - b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
 - on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/025999

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

10

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

20

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

30

3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims;; it is covered by claims Nos.:

1-7 (completely) ; 17-41 (partially)

40

Remark on Protest

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2022/025999

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-7(completely); 17-41(partially)

anti-TSLP immunoglobulin of claim 1, composition of claim 25, nucleic acid of claim 26, vector of claim 27, cell of claim 28, method of claim 29,36, all comprising an anti-TSLP immunoglobulin, antigen binding protein or fragment thereof, or

antibody or fragment thereof comprising

(A) a light chain variable domain comprising:

(i) a light chain CDR1 sequence comprising the amino acid sequence set forth in SEQ ID

NO:3;

(ii) a light chain CDR2 sequence comprising the amino acid sequence set forth in SEQ

ID NO:4; and

(iii) a light chain CDR3 sequence comprising the amino acid sequence set forth in SEQ

ID NO:5; and

(B) a heavy chain variable domain comprising:

(i) a heavy chain CDR1 sequence comprising the amino acid sequence set forth in SEQ

IDNO:6;

(ii) a heavy chain CDR2 sequence comprising an amino acid sequence with a mutation

at one of the following residues, D54 or G55 set forth in SEQ ID NO:7, and

(iii) a heavy chain CDR3 sequence comprising the amino acid sequence set forth in SEQ

IDNO:8.

2. claims: 8-16(completely); 17-41(partially)

anti-TSLP immunoglobulin of claim 8, composition of claim 25, nucleic acid of claim 26, vector of claim 27, cell of claim 28, method of claim 29,36, all comprising an anti-TSLP immunoglobulin, antigen binding protein or fragment thereof, or

antibody or fragment thereof comprising

(A) a light chain variable domain comprising:

(i) a light chain CDR1 sequence comprising the amino acid sequence set forth in SEQ ID

NO:3;

(ii) a light chain CDR2 sequence comprising an amino acid sequence with a mutation in

at least one of the following residues D49, D50, or S51 of SEQ ID NO: 4; and

(iii) a light chain CDR3 sequence comprising the amino acid sequence set forth in SEQ

ID NO:5; and

(B) a heavy chain variable domain comprising:

(i) a heavy chain CDR1 sequence comprising the amino acid

10

20

30

40

50

International Application No. PCT/US2022/025999

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

sequence set forth in SEQ

IDNO:6;

(ii) a heavy chain CDR2 sequence comprising the amino acid sequence set forth in SEQ

ID NO:7 and

(iii) a heavy chain CDR3 sequence comprising the amino acid sequence set forth in SEQ

IDNO:8.

3. claims: 42-63

method of claim 42, composition of claim 52,53,63, all comprising anti-TSLP monoclonal antibodies, each comprising

a

light chain CDR1 sequence comprising the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 3; a

light chain CDR2 sequence comprising the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 4; a

light chain CDR3 sequence comprising the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 5; a

heavy chain CDR1 sequence comprising the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 6; a

heavy chain CDR2 sequence comprising the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 7;

and a heavy chain CDR3 sequence comprising the amino acid sequence set forth in SEQ ID

NO: 8, wherein at least one of:

greater than 98% of the anti-TSLP monoclonal antibodies of the composition comprise

L-aspartate at HC position 54, relative to isoAsp or cAsp at HC position 54;

at least 99% of the anti-TSLP monoclonal antibodies of the composition comprise nonoxidized

HC W102 relative to oxidized HC W102;

at least 97% of the anti-TSLP monoclonal antibodies of the composition comprise L-aspartate

at LC position 49 or 50, relative to isoAsp or cAsp at LC position 49 or position 50;

at least 99.1 % of the anti-TS LP monoclonal antibodies of the composition comprise LC

N65 relative to deamidated LC N65; or

at least 99.1 % of the anti-TS LP monoclonal antibodies of the composition comprise L-aspartate

at LC position 91, relative to isoAsp or cAsp at LC position 91.

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2022/025999

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2014227250	A1	14-08-2014	AR 092216 A1	08-04-2015
			TW 201420601 A	01-06-2014
			US 2014227250 A1	14-08-2014
			WO 2014031718 A1	27-02-2014

US 2018296669	A1	18-10-2018	AU 2018253118 A1	24-10-2019
			BR 112019021482 A2	12-05-2020
			CA 3059364 A1	18-10-2018
			CL 2019002897 A1	06-03-2020
			CN 110573525 A	13-12-2019
			CO 2019011462 A2	31-10-2019
			EP 3609917 A1	19-02-2020
			IL 269791 A	28-11-2019
			JP 2020516647 A	11-06-2020
			KR 20190140956 A	20-12-2019
			PE 20200484 A1	03-03-2020
			PH 12019502331 A1	28-09-2020
			SG 11201909322V A	28-11-2019
			TW 201838652 A	01-11-2018
			US 2018296669 A1	18-10-2018
			US 2021052726 A1	25-02-2021
UY 37676 A	31-10-2018			
WO 2018191479 A1	18-10-2018			

WO 2019028187	A1	07-02-2019	AU 2018309027 A1	16-01-2020
			BR 112020001885 A2	04-08-2020
			CA 3071676 A1	07-02-2019
			CL 2020000248 A1	14-08-2020
			CN 110869768 A	06-03-2020
			EA 202090399 A1	20-05-2020
			EP 3662287 A1	10-06-2020
			IL 271499 A	27-02-2020
			JP 2020530103 A	15-10-2020
			KR 20200035093 A	01-04-2020
			MA 49757 A	10-06-2020
			SG 112020007278 A	27-02-2020
			US 2020355582 A1	12-11-2020
			WO 2019028187 A1	07-02-2019

US 2016264658	A1	15-09-2016	AR 103891 A1	14-06-2017
			AU 2016231122 A1	07-09-2017
			BR 112017019412 A2	02-05-2018
			CA 2978026 A1	15-09-2016
			CN 107428828 A	01-12-2017
			EP 3268032 A1	17-01-2018
			JP 2018509153 A	05-04-2018
			KR 20170123315 A	07-11-2017
			RU 2017134274 A	03-04-2019
			TW 201643179 A	16-12-2016
			US 2016264658 A1	15-09-2016
			UY 36578 A	30-09-2016
			WO 2016142426 A1	15-09-2016

US 9096651	B2	04-08-2015	AR 070633 A1	21-04-2010
			AR 070716 A1	28-04-2010
			AU 2008304778 A1	02-04-2009
			BR PI0817294 A2	17-03-2015
			CA 2700701 A1	02-04-2009

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2022/025999

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
		CL 2009000441 A1	02-07-2010	
		CN 101874042 A	27-10-2010	
		CN 106519025 A	22-03-2017	
		DK 2202245 T3	21-11-2016	
		EP 2202245 A1	30-06-2010	
		EP 3127921 A1	08-02-2017	
		EP 3689912 A1	05-08-2020	
		ES 2595638 T3	02-01-2017	
		HU E029635 T2	28-03-2017	
		IL 204242 A	29-05-2017	
		IL 267546 A	29-08-2019	
		JP 5334319 B2	06-11-2013	
		JP 5731573 B2	10-06-2015	
		JP 6232009 B2	15-11-2017	
		JP 6605435 B2	13-11-2019	
		JP 2013216660 A	24-10-2013	
		JP 2015130883 A	23-07-2015	
		JP 2017093444 A	01-06-2017	
		JP 2019176871 A	17-10-2019	
		JP 2021129579 A	09-09-2021	
		JP WO2009041643 A1	27-01-2011	
		KR 20100074220 A	01-07-2010	
		MX 336725 B	28-01-2016	
		MX 369784 B	21-11-2019	
		PE 20100268 A1	21-04-2010	
		PL 2202245 T3	28-02-2017	
		RU 2010116208 A	10-11-2011	
		TW 201738270 A	01-11-2017	
		US 2011076275 A1	31-03-2011	
		US 2015284465 A1	08-10-2015	
		US 2018142027 A1	24-05-2018	
		WO 2009041643 A1	02-04-2009	
		ZA 201804148 B	25-09-2019	
<hr/>				
US 2008138335	A1	12-06-2008	EP 1847602 A1	24-10-2007
			JP 4986633 B2	25-07-2012
			JP WO2006075668 A1	12-06-2008
			US 2008138335 A1	12-06-2008
			US 2014335563 A1	13-11-2014
			WO 2006075668 A1	20-07-2006
<hr/>				

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	U
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 37/08 (2006.01)	A 6 1 P 37/08	
A 6 1 P 11/06 (2006.01)	A 6 1 P 11/06	
A 6 1 P 1/04 (2006.01)	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 11/02 (2006.01)	A 6 1 P 11/02	
A 6 1 P 13/12 (2006.01)	A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 17/00 (2006.01)	A 6 1 P 17/00	

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,
CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JM,JO,J
P,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,N
A,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,
TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. プルロニック

アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 1 3 2 0 - 1 7 9 9、サウザンド・オークス、メール・スト
ップ・2 8 - 5 - エイ、ワン・アムジェン・センター・ドライブ、アムジェン・インコーポレイテ
ッド気付

(72)発明者 ジャン, ハオ

アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 1 3 2 0 - 1 7 9 9、サウザンド・オークス、メール・スト
ップ・2 8 - 5 - エイ、ワン・アムジェン・センター・ドライブ、アムジェン・インコーポレイテ
ッド気付

F ターム (参考) 4B064 AG27 CA19 CC24 DA01 DA08
4B065 AA01X AA57X AA72X AA87X AA94Y AB01 AC14 BA02 CA25 CA44
4C085 AA13 AA14 AA16 BB11 BB17 DD62 EE01 GG01
4H045 AA11 AA30 DA76 EA20 EA22 FA74