

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2012-516158

(P2012-516158A)

(43) 公表日 平成24年7月19日(2012.7.19)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C 1 2 N 15/09 (2006.01)</b>	C 1 2 N 15/00 A	4 B 0 2 4
<b>A 6 1 K 39/395 (2006.01)</b>	A 6 1 K 39/395 N	4 B 0 6 4
<b>A 6 1 P 25/04 (2006.01)</b>	A 6 1 P 25/04	4 B 0 6 5
<b>A 6 1 P 29/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 29/00 1 0 1	4 C 0 8 5
<b>A 6 1 P 19/02 (2006.01)</b>	A 6 1 P 19/02	4 H 0 4 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 135 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2011-548315 (P2011-548315)	(71) 出願人	504333972 メディミュン、エルエルシー アメリカ合衆国 20878 メリーラン ド州、ゲイサーズバーグ、ワン メディミ ュン ウェイ
(86) (22) 出願日	平成22年1月29日 (2010.1.29)	(74) 代理人	100091096 弁理士 平木 祐輔
(85) 翻訳文提出日	平成23年9月27日 (2011.9.27)	(74) 代理人	100118773 弁理士 藤田 節
(86) 国際出願番号	PCT/US2010/022478	(74) 代理人	100122389 弁理士 新井 栄一
(87) 国際公開番号	W02010/088444	(74) 代理人	100111741 弁理士 田中 夏夫
(87) 国際公開日	平成22年8月5日 (2010.8.5)		
(31) 優先権主張番号	61/184, 182		
(32) 優先日	平成21年6月4日 (2009.6.4)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	61/148, 106		
(32) 優先日	平成21年1月29日 (2009.1.29)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 延長したインビボ半減期を有するヒト抗IL-6抗体ならびに腫瘍学、自己免疫疾患、および炎症性疾患の治療におけるそれらの使用

## (57) 【要約】

本発明は、延長したインビボ半減期を有するヒト抗IL-6抗体を提供する。さらに、本発明は、IL-6に結合し、炎症性疾患および障害、自己免疫疾患および障害、ならびに腫瘍等であるが、これらに限定されない、IL-6媒介性疾患および障害を治療および予防するための延長したインビボ半減期を有する、治療的抗体を用いた、薬学的組成物、治療的組成物、および方法に関する。

【選択図】なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

I L - 6 に特異的に結合する単離抗体であって、前記抗体は、可変ドメインと、野生型ヒト I g G 定常ドメインと比べて 1 つ以上のアミノ酸置換を有するヒト I g G 定常ドメインとを含み、前記抗体は、前記可変ドメインおよび前記野生型ヒト I g G 定常ドメインを含む抗体の半減期と比較して半減期が増加している、抗体。

## 【請求項 2】

前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換は、M 2 5 2 Y、M 2 5 2 F、M 2 5 2 W、M 2 5 2 T、S 2 5 4 T、T 2 5 6 S、T 2 5 6 R、T 2 5 6 Q、T 2 5 6 E、T 2 5 6 D、T 2 5 6 T、L 3 0 9 P、Q 3 1 1 S、H 4 3 3 R、H 4 3 3 K、H 4 3 3 S、H 4 3 3 I、  
H 4 3 3 P、H 4 3 3 Q、N 4 3 4 H、N 4 3 4 F、N 4 3 4 Y、および N 4 3 6 H、またはこれらの組み合わせからなる群から選択され、アミノ酸残基は、カバットの E U インデックスに従って番号付けされる、請求項 1 に記載の抗体。

10

## 【請求項 3】

前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換は、M 2 5 2 Y、S 2 5 4 T、T 2 5 6 E、H 4 3 3 K、N 4 3 4 F、および N 4 3 6 H、またはこれらの組み合わせからなる群から選択され、アミノ酸残基は、カバットの E U インデックスに従って番号付けされる、請求項 2 に記載の抗体。

## 【請求項 4】

前記修飾された I g G 定常ドメインは、M 2 5 2 Y、S 2 5 4 T、および T 2 5 6 E のアミノ酸置換を含み、アミノ酸残基は、カバットの E U インデックスに従って番号付けされる、請求項 1 に記載の抗体。

20

## 【請求項 5】

前記修飾された I g G 定常ドメインは、前記野生型 I g G 定常ドメインよりも F c R n に対する親和性が高い、請求項 1 に記載の抗体。

## 【請求項 6】

前記ヒト I g G 定常ドメインは、ヒト I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 定常ドメインである、請求項 1 に記載の抗体。

## 【請求項 7】

I g G は、I g G 1 である、請求項 1 に記載の抗体。

30

## 【請求項 8】

前記可変ドメインは、

( a ) 配列番号 1 と同一の、または配列番号 1 と比べて 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有する V H C D R 1、

( b ) 配列番号 2 と同一の、または配列番号 2 と比べて 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有する V H C D R 2、

( c ) 配列番号 3 と同一の、または配列番号 3 と比べて 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有する V H C D R 3、

( d ) 配列番号 4 と同一の、または配列番号 4 と比べて 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有する V L C D R 1、

40

( e ) 配列番号 5 と同一の、または配列番号 5 と比べて 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有する V L C D R 2、および

( f ) 配列番号 6 と同一の、または配列番号 6 と比べて 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有する V L C D R 3 を含む、請求項 1 に記載の抗体。

## 【請求項 9】

前記可変ドメインは、

( a ) 配列番号 1 のアミノ酸配列を有する V H C D R 1、

( b ) 配列番号 2 のアミノ酸配列を有する V H C D R 2、

( c ) 配列番号 3 のアミノ酸配列を有する V H C D R 3、

50

- (d) 配列番号4のアミノ酸配列を有するV L C D R 1、
- (e) 配列番号5のアミノ酸配列を有するV L C D R 2、および
- (f) 配列番号6のアミノ酸配列を有するV L C D R 3を含む、請求項8に記載の抗体。

【請求項10】

前記可変ドメインは、3つのC D Rを含むV Hドメイン、および3つのC D Rを含むV Lドメインを含み、前記V Hドメインの前記3つのC D Rは、

- a) 配列番号1のアミノ酸配列を含むV H C D R 1、
- b) 配列番号2のアミノ酸配列を含むV H C D R 2、および
- c) 配列番号3のアミノ酸配列を含むV H C D R 3を含む、請求項1に記載の抗体。

10

【請求項11】

前記可変ドメインは、3つのC D Rを含むV Lドメイン、および3つのC D Rを含むV Lドメインを含み、前記V Lドメインの前記3つのC D Rは、

- (a) 配列番号4のアミノ酸配列を含むV L C D R 1、
- (b) 配列番号5のアミノ酸配列を含むV L C D R 2、および
- (c) 配列番号6のアミノ酸配列を含むV L C D R 3を含む、請求項1に記載の抗体。

【請求項12】

前記可変ドメインは、配列番号7と同一の、または配列番号7と比べて1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、もしくは10のアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有するV Hドメインを含み、配列番号8と同一の、または配列番号8と比べて1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、もしくは10のアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有するV Lドメインを含む、請求項1に記載の抗体。

20

【請求項13】

前記可変ドメインは、配列番号7の前記V Hドメインおよび配列番号8の前記V Lドメインを含む、請求項1に記載の抗体。

【請求項14】

請求項12に記載の前記V Hドメインおよび/または前記V Lドメインの前記アミノ酸配列をコードする、単離核酸。

【請求項15】

配列番号11、12、13、および14からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、請求項14に記載の核酸。

30

【請求項16】

請求項14に記載の核酸を含む、ベクター。

【請求項17】

請求項16に記載のベクターを含む、単離細胞。

【請求項18】

請求項17に記載の抗体を発現する、単離細胞株。

【請求項19】

薬学的に許容される担体中に請求項1に記載の抗体を含む、薬学的組成物。

【請求項20】

ヒトにおける疼痛を治療する、および/または予防する方法であって、それを必要とするヒトに、治療有効量の抗I L - 6抗体を投与することを含み、前記抗I L - 6抗体は、

40

- (a) 配列番号1と同一の、または配列番号1と比べて1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有するV H C D R 1、
- (b) 配列番号2と同一の、または配列番号2と比べて1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有するV H C D R 2、
- (c) 配列番号3と同一の、または配列番号3と比べて1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有するV H C D R 3、
- (d) 配列番号4と同一の、または配列番号4と比べて1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有するV L C D R 1、

50

(e) 配列番号 5 と同一の、または配列番号 5 と比べて 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有する V L C D R 2、および

(f) 配列番号 6 と同一の、または配列番号 6 と比べて 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有する V L C D R 3 を含む、可変ドメインを含む、方法。

【請求項 2 1】

前記可変ドメインは、

(a) 配列番号 1 のアミノ酸配列を有する V H C D R 1、

(b) 配列番号 2 のアミノ酸配列を有する V H C D R 2、

(c) 配列番号 3 のアミノ酸配列を有する V H C D R 3、

(d) 配列番号 4 のアミノ酸配列を有する V L C D R 1、

(e) 配列番号 5 のアミノ酸配列を有する V L C D R 2、および

(f) 配列番号 6 のアミノ酸配列を有する V L C D R 3 を含む、請求項 2 0 に記載の方法。

10

【請求項 2 2】

前記可変ドメインは、3 つの C D R を含む V H ドメイン、および 3 つの C D R を含む V L ドメインを含み、前記 V H ドメインの前記 3 つの C D R は、

a) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1、

b) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2、および

c) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3 を含む、請求項 2 0 に記載の方法。

20

【請求項 2 3】

前記可変ドメインは、3 つの C D R を含む V L ドメイン、および 3 つの C D R を含む V L ドメインを含み、前記 V L ドメインの前記 3 つの C D R は、

(a) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1、

(b) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2、および

(c) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3 を含む、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記可変ドメインは、配列番号 7 と同一の、または配列番号 7 と比べて 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、6 つ、7 つ、8 つ、9 つ、もしくは 1 0 のアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有する V H ドメインを含み、配列番号 8 と同一の、または配列番号 8 と比べて 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、6 つ、7 つ、8 つ、9 つ、もしくは 1 0 のアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有する V L ドメインを含む、請求項 2 0 に記載の方法。

30

【請求項 2 5】

前記可変ドメインは、配列番号 7 の前記 V H ドメインおよび配列番号 8 の前記 V L ドメインを含む、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記抗体は、野生型ヒト I g G 定常ドメインと比べて 1 つ以上のアミノ酸置換を有するヒト I g G 定常ドメインを含み、前記抗体は、前記可変ドメインおよび前記野生型ヒト I g G 定常ドメインを含む抗体の半減期と比較して半減期が増加している、請求項 2 0 に記載の方法。

40

【請求項 2 7】

前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換は、M 2 5 2 Y、M 2 5 2 F、M 2 5 2 W、M 2 5 2 T、S 2 5 4 T、T 2 5 6 S、T 2 5 6 R、T 2 5 6 Q、T 2 5 6 E、T 2 5 6 D、T 2 5 6 T、L 3 0 9 P、Q 3 1 1 S、H 4 3 3 R、H 4 3 3 K、H 4 3 3 S、H 4 3 3 I、H 4 3 3 P、H 4 3 3 Q、N 4 3 4 H、N 4 3 4 F、N 4 3 4 Y、および N 4 3 6 H、またはこれらの組み合わせからなる群から選択され、前記アミノ酸残基は、カバットの E U インデックスに従って番号付けされる、請求項 2 6 に記載の抗体。

【請求項 2 8】

前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換は、M 2 5 2 Y、S 2 5 4 T、T 2 5 6 E、H 4 3 3

50

K、N 4 3 4 F、および N 4 3 6 H、またはこれらの組み合わせからなる群から選択され、前記アミノ酸残基は、カバットの E U インデックスに従って番号付けされる、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

前記修飾された I g G 定常ドメインは、前記 M 2 5 2 Y、S 2 5 4 T、および T 2 5 6 E のアミノ酸置換を含み、前記アミノ酸残基は、カバットの E U インデックスに従って番号付けされる、請求項 28 に記載の抗体。

【請求項 30】

前記修飾された I g G 定常ドメインは、前記野生型 I g G 定常ドメインよりも F c R n に対する親和性が高い、請求項 26 に記載の方法。

10

【請求項 31】

前記ヒト I g G 定常ドメインは、ヒト I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 定常ドメインである、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 32】

I g G は、I g G 1 である、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 33】

前記疼痛は、炎症性および/または自己免疫障害と関連するか、またはその結果である、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 34】

前記炎症性および/または自己免疫障害は、リウマチ性関節炎、変形性関節炎、悪液質、慢性閉塞性肺疾患 (COPD)、若年性特発性関節炎、喘息、全身性エリテマトーデス、炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、およびアテローム性動脈硬化症からなる群から選択される、請求項 33 に記載の方法。

20

【請求項 35】

前記炎症性および/または自己免疫障害は、全身性エリテマトーデス、変形性関節炎、またはリウマチ性関節炎である、請求項 34 に記載の方法。

【請求項 36】

前記疼痛は、I L - 6 レベルの増加と関連する状態と関連するか、またはその結果である、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 37】

前記疼痛は、強直性脊椎炎、炎症性腰痛、神経障害、痛風、神経腫、線維筋痛、急性および/もしくは慢性頭痛、片頭痛、膵臓炎、脊髄神経圧迫、非悪性骨格痛、または癌と関連する、またはその結果である、請求項 20 に記載の方法。

30

【請求項 38】

前記疼痛は、創傷、医学的手技、手術、損傷、または外傷と関連するか、またはその結果である、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 39】

前記抗体は、前記創傷、医学的手技、手術、損傷、または外傷を受ける前に、前記ヒトに投与される、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 40】

血清中の遊離 I L - 6 の少なくとも 90% が中和される、請求項 20 に記載の方法。

40

【請求項 41】

罹患組織における、I L - 6 媒介性シグナル伝達の少なくとも 90% が、標的組織において阻害される、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 42】

ヒトにおけるうつ病を治療する、および/または予防する方法であって、それを必要とするヒトに、治療有効量の抗 I L - 6 抗体を投与することを含み、前記抗 I L - 6 抗体は、(a) 配列番号 1 と同一の、または配列番号 1 と比べて 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有する V H C D R 1、(b) 配列番号 2 と同一の、または配列番号 2 と比べて 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミ

50

ノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有するVH CDR2、  
 (c) 配列番号3と同一の、または配列番号3と比べて1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有するVH CDR3、  
 (d) 配列番号4と同一の、または配列番号4と比べて1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有するVL CDR1、  
 (e) 配列番号5と同一の、または配列番号5と比べて1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有するVL CDR2、および  
 (f) 配列番号6と同一の、または配列番号6と比べて1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有するVL CDR3を含む、可変ドメインを含む、方法。

10

## 【請求項43】

前記可変ドメインは、

(a) 配列番号1のアミノ酸配列を有するVH CDR1、  
 (b) 配列番号2のアミノ酸配列を有するVH CDR2、  
 (c) 配列番号3のアミノ酸配列を有するVH CDR3、  
 (d) 配列番号4のアミノ酸配列を有するVL CDR1、  
 (e) 配列番号5のアミノ酸配列を有するVL CDR2、および  
 (f) 配列番号6のアミノ酸配列を有するVL CDR3を含む、請求項42に記載の方法。

20

## 【請求項44】

前記可変ドメインは、3つのCDRを含むVHドメイン、および3つのCDRを含むVLドメインを含み、前記VHドメインの前記3つのCDRは、

a) 配列番号1のアミノ酸配列を含むVH CDR1、  
 b) 配列番号2のアミノ酸配列を含むVH CDR2、および  
 c) 配列番号3のアミノ酸配列を含むVH CDR3を含む、請求項42に記載の方法。

## 【請求項45】

前記可変ドメインは、3つのCDRを含むVLドメイン、および3つのCDRを含むVLドメインを含み、前記VLドメインの前記3つのCDRは、

(a) 配列番号4のアミノ酸配列を含むVL CDR1、  
 (b) 配列番号5のアミノ酸配列を含むVL CDR2、および  
 (c) 配列番号6のアミノ酸配列を含むVL CDR3を含む、請求項42に記載の方法。

30

## 【請求項46】

前記可変ドメインは、配列番号7と同一の、または配列番号7と比べて1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、もしくは10のアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有するVHドメインを含み、配列番号8と同一の、または配列番号8と比べて1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、もしくは10のアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有するVLドメインを含む、請求項42に記載の方法。

## 【請求項47】

前記可変ドメインは、配列番号7の前記VHドメインおよび配列番号8の前記VLドメインを含む、請求項46に記載の方法。

40

## 【請求項48】

前記抗体は、野生型ヒトIgG定常ドメインと比べて1つ以上のアミノ酸置換を有するヒトIgG定常ドメインを含み、前記抗体は、前記可変ドメインおよび前記野生型ヒトIgG定常ドメインを含む抗体の半減期と比較して半減期が増加している、請求項42に記載の方法。

## 【請求項49】

前記少なくとも1つのアミノ酸置換は、M252Y、M252F、M252W、M252T、S254T、T256S、T256R、T256Q、T256E、T256D、T256T、L309P、Q311S、H433R、H433K、H433S、H433I、

50

H 4 3 3 P、H 4 3 3 Q、N 4 3 4 H、N 4 3 4 F、N 4 3 4 Y、および N 4 3 6 H、またはこれらの組み合わせからなる群から選択され、前記アミノ酸残基は、カバットの E U インデックスに従って番号付けされる、請求項 4 8 に記載の方法。

【請求項 5 0】

前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換は、M 2 5 2 Y、S 2 5 4 T、T 2 5 6 E、H 4 3 3 K、N 4 3 4 F、および N 4 3 6 H、またはこれらの組み合わせからなる群から選択され、前記アミノ酸残基は、カバットの E U インデックスに従って番号付けされる、請求項 4 9 に記載の方法。

【請求項 5 1】

前記修飾された I g G 定常ドメインは、前記 M 2 5 2 Y、S 2 5 4 T、および T 2 5 6 E のアミノ酸置換を含み、前記アミノ酸残基は、カバットの E U インデックスに従って番号付けされる、請求項 4 9 に記載の方法。

10

【請求項 5 2】

前記修飾された I g G 定常ドメインは、前記野生型 I g G 定常ドメインよりも F c R n に対する親和性が高い、請求項 4 8 に記載の方法。

【請求項 5 3】

前記ヒト I g G 定常ドメインは、ヒト I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 定常ドメインである、請求項 4 8 に記載の方法。

【請求項 5 4】

I g G は、I g G 1 である、請求項 4 8 に記載の方法。

20

【請求項 5 5】

血清中の遊離 I L - 6 の少なくとも 9 0 % が中和される、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 5 6】

脳中の I L - 6 媒介性シグナル伝達の少なくとも 9 0 % が阻害される、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 5 7】

前記うつ病は、大うつ病性障害である、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 5 8】

前記抗体は、抗うつ剤と組み合わせて投与される、請求項 4 2 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

30

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、I L - 6 の生物学的効果を阻害し、延長したインビボ半減期を有する、抗 I L - 6 抗体分子に関する。抗 I L - 6 抗体は、炎症性障害、自己免疫障害、腫瘍、およびうつ病を含む、I L - 6 と関連する障害の治療に有用である。

【背景技術】

【0 0 0 2】

インターロイキン 6 ( I L - 6 ) は、種々の細胞型によって産生される 2 6 k D a の多面的な炎症性サイトカインであり、これには、刺激された線維芽細胞、単球、および内皮細胞が含まれ、それらはインビボで I L - 6 の主要な供給源を形成する。T 細胞、B 細胞、マクロファージ、ケラチノサイト、骨芽細胞、および幾つかの他の細胞等の細胞は、刺激されると I L - 6 を産生することができる。I L - 6 はまた、腫瘍細胞株および腫瘍細胞、例えば、肺癌、前立腺癌、骨髄腫、副腎腫、および心臓粘液腫由来の細胞から発現される ( K i s h i m o t o , T . , ( 1 9 8 9 ) B l o o d 7 4 : 1 - 1 0 、 S m i t h P . C . e t a l . ( 2 0 0 1 ) C y t o k i n e a n d G r o w t h f a c t o r R e v i e w s 1 2 : 3 3 - 4 0 ) 。非炎症条件下では、脂肪組織から I L - 6 が分泌される ( W a l l e n i u s e t a l . , ( 2 0 0 2 ) N a t . M e d . 8 : 7 5 ) 。

40

【0 0 0 3】

細胞のシグナル伝達を開始させるために、I L - 6 は、膜貫通受容体である I L - 6 受

50

容体アルファ (IL-6R、IL-6Ra、IL-6R、gp80、またはCD126とも称される) に対して低親和性で結合し、複合体「IL-6:IL-6Ra」を形成する。この複合体は、gp130シグナル受容体に結合し、IL-6およびgp130は一緒になって、高親和性のIL-6結合部位を形成し、IL-6、IL-6Ra、およびgp130のそれぞれの2つのコピーから構成される六量体の形成を導く (Somers, W., et al (1997) 1.9 EMBO J. 16:989-997)。IL-6Raの膜貫通および細胞質ドメインは、IL-6Raが可溶性分泌型 (sIL-6RまたはsIL-6Ra) としても存在するため、シグナル変換に必要とされない。可溶性受容体は、IL-6Raメッセージの異なったスプライシングまたはタンパク質分解による分断によって産生される。sIL-6Rは、IL-6とのリガンド受容体複合体「IL-6:sIL-6Ra」を形成することができる。この複合体は、細胞上のgp130に結合することができ、それによって、これらの細胞がIL-6Raを発現しない場合でさえ、gp130陽性細胞での細胞のシグナル伝達を開始させる。ゆえに、sIL-6Rは、IL-6に応答する細胞のレパートリーを広げる潜在性を有し、IL-6媒介性炎症において重要な役割を果たすと考えられる (Jones, S. A et al. (2001) FASEB J. 15:43-58)。

#### 【0004】

ヒトIL-6リガンドの結晶構造は、解明されている (Somers, W., et al (1997) 1.9 EMBO J. 16:989-997)。ヒトIL-6Raの細胞外ドメインの結晶構造 (Varghese et al. (2002) PNAS USA 99:15959-15964)、およびIL-6/IL-6R/gp130複合体の六量体構造 (Boulangier et al (2003) Science 300:2101-2104) も解明されている。これらの構造は、突然変異誘発研究と組み合わせられて、種々の受容体構成要素と複合したIL-6の機能的活性に關与するIL-6の表面上の3つの部位を同定している。部位1の残基は、IL-6とIL-6Raの間の相互作用に關与する。部位2の残基は、IL-6とgp130サイトカイン結合ドメインの間の相互作用に關与する。IL-6の部位3中の残基は、六量体複合体中の第2のgp130のIg様ドメインとの相互作用に關与する。六量体のIL-6/IL-6R/gp130複合体中で、IL-6がIL-6の第2の分子と相互作用する、IL-6上の第4の部位も同定されている (Menziani et al (1997) Proteins: Structure Function and Genetics 29, 528)。

#### 【0005】

多くの抗IL-6リガンドモノクローナル抗体が単離されている。マッピング研究が実施され、上記のように、ヒトIL-6の表面上の異なる結合部位にこれらが結合することを示している (Brakenhoff et al. (1990) J. Immunol. 145:561-568、Wijdenes et al. (1991) Mol Immunol. 28:1183-1191、Brakenhoff et al. (1994) JBC 269:86、Kalai et al. (1996) Eur J Biochem 238 714-723、Kalai et al. (1997) Blood 89:1319-1333)。

#### 【0006】

IL-6の増加は、種々の疾患徴候において重要なサイトカインとしてかかわることが示されている。循環IL-6のレベルは、リウマチ性関節炎、キャスルマン病、若年性特発性関節炎、およびクローン病等の疾患において増加することが示されている (Nishimoto N, and Kishimoto T. (2004) Curr Opin Pharmacology 4:386-391)。このため、IL-6は、これらの炎症性徴候での病理の駆動に關係するとされている。さらにまた、種々の腫瘍型がIL-6によって刺激されることが示されており、これには、黒色腫、腎細胞癌、カボジ肉腫、卵巣癌、リンパ腫、白血病、多発性骨髄腫、および前立腺癌が含まれる (Keller E. T. et al. (1996) Front Biosci. 1:340-57)。

10

20

30

40

50



さらに、IL - 6の循環レベルの増加が、幾つかの癌で報告されている。幾つかの癌徴候では、IL - 6レベルの増加が該疾患の予後指標として使用されている。

【0007】

疾患でのIL - 6の役割に起因して、種々のマウス、キメラ、ヒト化、およびヒト抗ヒトIL - 6モノクローナル抗体が、可能性のある治療法として開発されている（例えば、US 5 8 5 6 1 3 5号、WO 2 0 0 4 / 0 2 0 6 3 3号、US 2 0 0 6 0 2 5 7 4 0 7 A 1号、US 7 2 9 1 7 2 1号）。キメラヒト - マウス抗IL - 6抗体であるcCLB8（CNT0328として知られている）は、多発性骨髄腫を有する患者を治療するために使用されていて（van Zaanen et al. (1998) Brit. Journal Haematology 102:783）、大多数の患者で疾患安定化が観察されている。

10

【0008】

癌および炎症性疾患でのIL - 6シグナル伝達を阻害する陽性結果はまた、ヒト化抗IL - 6 Ra抗体であるトシリズマブ（Tocilizumab）（hPM - 1、MRA、およびActemraとしても知られている）の使用によってさらに脚光を浴びている。これは、マウス抗IL6 Ra抗体であるPM - 1のヒト化型である。この抗体による患者の治療は、多くの疾患において有効であることが証明されていて、これには、リウマチ性関節炎、若年性特発性関節炎、クローン病、骨髄増殖性疾患、キャスルマン病、および全身性エリテマトーデス（SLE）が含まれる（Mihara et al. (2005) Expert Opinion on Biological Therapy. 5: 683 - 90）。

20

【先行技術文献】

【特許文献】

【0009】

【特許文献1】US 5 8 5 6 1 3 5

【特許文献2】WO 2 0 0 4 / 0 2 0 6 3 3

【特許文献3】US 2 0 0 6 0 2 5 7 4 0 7 A 1

【特許文献4】US 7 2 9 1 7 2 1

【非特許文献】

【0010】

【非特許文献1】Kishimoto, T., (1989) Blood 74:1 - 10

【非特許文献2】Smith P.C. et al. (2001) Cytokine and Growth factor Reviews 12:33 - 40

【非特許文献3】Wallenius et al., (2002) Nat. Med. 8:75

【非特許文献4】Somers, W., et al (1997) 1.9 EMBO J. 16:989 - 997

【非特許文献5】Jones, S.A et al. (2001) FASEB J. 15:43 - 58

【非特許文献6】Somers, W., et al (1997) 1.9 EMBO J. 16:989 - 997

【非特許文献7】Varghese et al. (2002) PNAS USA 99:15959 - 15964

【非特許文献8】Boulangier et al (2003) Science 300:2101 - 2104

【非特許文献9】Menziani et al (1997) Proteins: Structure Function and Genetics 29, 528

【非特許文献10】Brakenhoff et al. (1990) J. Immunol. 145:561 - 568

【非特許文献11】Wijdenes et al. (1991) Mol Immunol

30

40

50

1.28:1183-1191

【非特許文献12】Brakenhoff et al. (1994) JBC 269:86

【非特許文献13】Kalai et al. (1996) Eur J Biochem 238 714-723

【非特許文献14】Kalai et al. (1997) Blood 89:1319-1333

【非特許文献15】Nishimoto N, and Kishimoto T. (2004) Curr Opin Pharmacology 4:386-391

【非特許文献16】Keller E.T. et al. (1996) Front Biosci. 1:340-57 10

【非特許文献17】van Zaanen et al. (1998) Brit. Journal Haematology 102:783

【非特許文献18】Mihara et al. (2005) Expert Opinion on Biological Therapy. 5:683-90

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

抗体に基づいた療法における1つの重要な問題は、循環中の免疫グロブリンの持続性である。免疫グロブリンのクリアランス率は、免疫グロブリンの投与量および投与頻度に直接的に影響を及ぼす。投与量および投与頻度の増加は、患者に悪影響を及ぼすことがあり、医療コストを増加させ得る。抗IL-6抗体に基づいた療法の薬学的重要性を考慮すると、増加したインビボ半減期を有する修飾された高親和性ヒト抗IL-6抗体を開発することが必要とされる。 20

【課題を解決するための手段】

【0012】

本発明は、ヒトIL-6に特異的に結合し、延長したインビボ半減期を有する高親和性ヒト抗IL-6抗体に関する。一実施形態において、本明細書中に記載の抗IL-6抗体のインビボ半減期は、10日間から40日間である。特定の実施形態において、本明細書中に記載の抗IL-6抗体のインビボ半減期は、25日間から35日間である。一実施形態において、本明細書中に記載の抗IL-6抗体は、PCT公開WO2008/065378号に記載の抗IL-6抗体のVHおよび/またはVLドメインを含む。一実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、野生型ヒトIgG定常ドメインと比べて1つ以上のアミノ酸置換を有するヒトIgG定常ドメインを含む。特定の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、M252Y、S254T、およびT256Eのアミノ酸置換を有するヒトIgG定常ドメインを含み、アミノ酸残基は、カバットのEUIンデックスに従って番号付けされる。別の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、配列番号9の重鎖配列および配列番号10の軽鎖配列を含む。 30

【0013】

本発明は、さらに、延長した半減期を有するヒト抗IL-6抗体をコードする核酸、この核酸を含むベクター、このベクターを含む細胞、および延長した半減期を有するヒト抗IL-6抗体を作製する方法に関する。 40

【0014】

さらなる態様において、本発明は、本発明による延長した半減期を有するヒト抗IL-6抗体をコードする配列を含む単離核酸、および延長した半減期を有するヒト抗IL-6抗体を調製する方法を提供し、これには、該ヒト抗IL-6抗体の産生をもたらす条件下で、該核酸を発現することと、それを回収することと、を含む。

【0015】

さらなる態様は、本発明の核酸を含有するか、またはそれに変換される、宿主細胞を提供する。

## 【0016】

本発明のさらなる態様は、本発明の抗IL-6抗体を含む組成物、ならびにIL-6に結合する、阻害する、および/または中和する方法におけるそれらの使用を提供し、これには、療法によるヒトまたは動物の体を治療する方法が含まれる。一実施形態において、本発明の組成物は、滅菌された液体製剤である。特定の実施形態において、本発明の組成物は、少なくとも100mg/mLの本発明の抗IL-6抗体を含む。別の実施形態において、本発明の組成物は、凍結乾燥製剤である。さらなる実施形態において、本発明の製剤は、薬学的製剤である。

## 【0017】

本発明による抗体は、ヒトまたは動物の体における（例えば、ヒト患者における）、疾患または障害を治療する方法（予防のための治療を含み得る）等の治療または診断の方法に使用され得、これには、有効量の本発明の結合性メンバーを該患者に投与することを含む。本発明に従って治療可能な状態は、本明細書の他の箇所で詳細に論じられる、IL-6が役割を果たすいずれも含む。

10

## 【0018】

本発明はまた、IL-6活性を中和することを、それを必要とするヒト患者の血清中において行う方法も包含し、これには、有効量の本発明の抗IL-6抗体をヒト患者に投与することを含む。本発明は、炎症性疾患もしくは障害、自己免疫疾患もしくは障害、増殖性疾患、IL-6の異常な発現および/もしくは活性と関連する、またはこれらによって特徴付けられる疾患もしくは障害、IL-6受容体の異常な発現および/もしくは活性と関連する、またはこれらによって特徴付けられる疾患もしくは障害、あるいは、これらの1つ以上の症状を予防する、管理する、治療する、または緩和する方法をさらに提供し、該方法には、予防、もしくは治療有効量の本発明の抗IL-6抗体を、それを必要とする対象に投与することを含む。

20

## 【0019】

本発明の一態様は、IL-6に特異的に結合する単離された修飾抗体に関し、該修飾抗体は、可変ドメインと、野生型ヒトIgG定常ドメインと比べて1つ以上のアミノ酸置換を有するヒトIgG定常ドメインとを含み、該抗体は、該可変ドメインおよび野生型ヒトIgG定常ドメインを含む親抗体の半減期と比較して半減期が増加している。本発明のこの態様の一実施形態において、該修飾抗体の半減期は、該野生型抗体の半減期よりも少なくとも2倍、少なくとも3倍、少なくとも4倍、少なくとも5倍、少なくとも10倍、または少なくとも20倍長い。別の実施形態において、該修飾抗体の半減期は、該野生型抗体の半減期よりも2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、または20倍長い。さらなる実施形態において、該修飾抗体の半減期は、該野生型抗体の半減期よりも2倍～3倍、2倍～5倍、2倍～10倍、3倍～5倍、または3倍～10倍長い。さらに別の実施形態において、該修飾抗体の半減期は、少なくとも10日間、少なくとも15日間、少なくとも20日間、少なくとも25日間、少なくとも26日間、少なくとも27日間、少なくとも28日間、少なくとも29日間、少なくとも30日間、少なくとも35日間、少なくとも40日間、少なくとも45日間、または少なくとも50日間である。なおさらなる実施形態において、該修飾抗体の半減期は、10日間、15日間、20日間、25日間、26日間、27日間、28日間、29日間、30日間、35日間、40日間、45日間、または50日間である。なおさらなる実施形態において、該修飾抗体の半減期は、10日間～20日間、10日間～30日間、10日間～40日間、10日間～50日間、20日間～30日間、20日間～40日間、20日間～50日間、25日間～30日間、25日間～40日間、25日間～50日間、30日間～40日間、30日間～50日間、または40日間～50日間である。またさらなる実施形態において、該修飾抗体の半減期は、哺乳類において測定された半減期である。別の実施形態において、該修飾抗体の半減期は、非ヒト霊長類において測定された半減期である。さらなる実施形態において、該修飾抗体は、ヒト対象において測定された半減期である。

30

40

## 【0020】

50

本発明の別の態様は、I L - 6 に特異的に結合する単離された修飾抗体に関し、該修飾抗体は、野生型ヒト I g G 定常ドメインと比べて1つ以上のアミノ酸置換を有するヒト I g G 定常ドメインを含み、該抗体は、該野生型ヒト I g G 定常ドメインを含む野生型抗体のクリアランス率と比較して、クリアランス率が低下している。本発明のこの態様の一実施形態において、該修飾抗体のクリアランス率は、該野生型抗体のクリアランス率よりも少なくとも2倍、少なくとも3倍、少なくとも4倍、少なくとも5倍、少なくとも10倍、または少なくとも20倍低い。別の実施形態において、該修飾抗体のクリアランス率は、該野生型抗体のクリアランス率よりも2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、または20倍低い。なおさらなる実施形態において、該修飾抗体のクリアランス率は、該野生型抗体のクリアランス率よりも2倍～3倍、2倍～5倍、2倍～10倍、3倍～5倍、または3倍～10倍低い。別の実施形態において、該修飾抗体のクリアランス率は、最大で1 mL / kg / 日、最大で2 mL / kg / 日、最大で3 mL / kg / 日、最大で4 mL / kg / 日、最大で5 mL / kg / 日、最大で7 mL / kg / 日、最大で10 mL / kg / 日、最大で15 mL / kg / 日、または最大で20 mL / kg / 日である。さらなる実施形態において、該修飾抗体のクリアランス率は、1 mL / kg / 日、2 mL / kg / 日、3 mL / kg / 日、4 mL / kg / 日、5 mL / kg / 日、7 mL / kg / 日、10 mL / kg / 日、15 mL / kg / 日、または20 mL / kg / 日である。さらに別の実施形態において、該修飾抗体のクリアランス率は、1 mL / kg / 日～2 mL / kg / 日、1 mL / kg / 日～3 mL / kg / 日、1 mL / kg / 日～5 mL / kg / 日、1 mL / kg / 日～10 mL / kg / 日、1 mL / kg / 日～15 mL / kg / 日、2 mL / kg / 日～5 mL / kg / 日、2 mL / kg / 日～10 mL / kg / 日、3 mL / kg / 日～5 mL / kg / 日、3 mL / kg / 日～10 mL / kg / 日、または5 mL / kg / 日～10 mL / kg / 日である。またさらなる実施形態において、該修飾抗体のクリアランス率は、哺乳類において測定されたクリアランス率である。別の実施形態において、該修飾抗体は、非ヒト霊長類において測定されたクリアランス率である。さらなる実施形態において、該修飾抗体のクリアランス率は、ヒト対象において測定されたクリアランス率である。またさらなる実施形態において、該アミノ酸置換は、M 2 5 2 Y、M 2 5 2 F、M 2 5 2 W、M 2 5 2 T、S 2 5 4 T、T 2 5 6 S、T 2 5 6 R、T 2 5 6 Q、T 2 5 6 E、T 2 5 6 D、T 2 5 6 T、L 3 0 9 P、Q 3 1 1 S、H 4 3 3 R、H 4 3 3 K、H 4 3 3 S、H 4 3 3 I、H 4 3 3 P、H 4 3 3 Q、N 4 3 4 H、N 4 3 4 F、N 4 3 4 Y、およびN 4 3 6 H からなる群から選択され、アミノ酸残基は、カバットのE U インデックスに従って番号付けされる。別の実施形態において、該アミノ酸置換のうち少なくとも1つは、M 2 5 2 Y、S 2 5 4 T、T 2 5 6 E、H 4 3 3 K、N 4 3 4 F、およびN 4 3 6 H からなる群から選択され、アミノ酸残基は、カバットのE U インデックスに従って番号付けされる。さらに別の実施形態において、該修飾されたI g G 定常ドメインは、M 2 5 2 Y、S 2 5 4 T、およびT 2 5 6 E のアミノ酸置換を含み、アミノ酸残基は、カバットのE U インデックスに従って番号付けされる。なお別の実施形態において、該修飾されたI g G 定常ドメインは、該野生型I g G 定常ドメインよりもF c R n に対する親和性が高い。さらなる実施形態において、該ヒトI g G 定常ドメインは、ヒトI g G 1、I g G 2、I g G 3、またはI g G 4 定常ドメインである。なおさらなる実施形態において、該I g G は、I g G 1 である。

#### 【0021】

本発明の別の態様は、上記の修飾抗体に関し、該可変ドメインは、配列番号1と同一の、または配列番号1と比べて1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有するV H C D R 1、配列番号2と同一の、または配列番号2と比べて1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有するV H C D R 2、配列番号3と同一の、または配列番号3と比べて1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有するV H C D R 3、配列番号4と同一の、または配列番号4と比べて1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有するV L C D R 1、配列番号5と同一の、または配列番号5と比べて1つ、2つ、も

しくは3つのアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有するV L C D R 2、および配列番号6と同一の、または配列番号6と比べて1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有するV L C D R 3を含む。一実施形態において、請求項1~26のいずれか1項に記載の修飾抗体であって、該可変ドメインは、配列番号1のアミノ酸配列を有するV H C D R 1、配列番号2のアミノ酸配列を有するV H C D R 2、配列番号3のアミノ酸配列を有するV H C D R 3、配列番号4のアミノ酸配列を有するV L C D R 1、配列番号5のアミノ酸配列を有するV L C D R 2、および配列番号6のアミノ酸配列を有するV L C D R 3を含む。別の実施形態において、該可変ドメインは、3つのC D Rを含むV Hドメインおよび3つのC D Rを含むV Lドメインを含み、該V Hドメインのこれらの3つのC D Rは、配列番号1のアミノ酸配列を含むV H C D R 1、配列番号2のアミノ酸配列を含むV H C D R 2、および配列番号3のアミノ酸配列を含むV H C D R 3を含む。さらなる実施形態において、該可変ドメインは、3つのC D Rを含むV Hドメイン、および3つのC D Rを含むV Lドメインを含み、該V Lドメインのこれらの3つのC D Rは、配列番号4のアミノ酸配列を含むV L C D R 1、配列番号5のアミノ酸配列を含むV L C D R 2、および配列番号6のアミノ酸配列を含むV L C D R 3を含む。またさらなる実施形態において、該可変ドメインは、配列番号7と同一の、または配列番号7と比べて1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、もしくは10のアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有するV Hドメインを含み、配列番号8と同一の、または配列番号8と比べて1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、もしくは10のアミノ酸残基置換を含む、アミノ酸配列を有するV Lドメインを含む。別の実施形態において、該可変ドメインは、配列番号7のV Hドメインおよび配列番号8のV Lドメインを含む。

【0022】

本発明の別の態様は、前述の修飾抗体をコードするアミノ酸配列をコードする核酸に関する。一実施形態において、該核酸は、配列番号11~14からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む。

【0023】

本発明の別の態様は、前述の核酸を含むベクターに関する。

【0024】

本発明の別の態様は、前述のベクターを含む単離細胞に関する。

【0025】

本発明の別の態様は、前述の修飾抗体を発現する単離細胞に関する。

【0026】

本発明の別の態様は、修飾抗体を産生する方法に関し、抗体を産生するのに十分な条件下で、前述の単離細胞を培養することと、この培養物から抗体を回収することと、を含む。

【0027】

本発明の別の態様は、前述の修飾抗体を含む薬学的組成物に関する。

【0028】

本発明の別の態様は、必要とするヒトの血清中の遊離I L - 6の少なくとも90%を中和する方法に関し、これには、有効量の前述の修飾抗体を投与することを含む。

【0029】

本発明の別の態様は、必要とするヒトの血清中のI L - 6媒介性シグナル伝達の少なくとも90%を阻害する方法に関し、これには、有効量の前述の修飾抗体をヒトに投与することを含む。

【0030】

本発明の別の態様は、必要とするヒトの滑液中の遊離I L - 6の少なくとも90%を中和する方法に関し、これには、有効量の該修飾抗体をヒトに投与することを含む。

【0031】

本発明の別の態様は、必要とするヒトの滑液中のI L - 6媒介性シグナル伝達の少なく

とも90%を阻害する方法に関し、これには、有効量の前述の抗体をヒトに投与することを含む。

【0032】

本発明の別の態様は、ヒトにおける滑膜細胞増殖を低下させる方法に関し、これには、それを必要とするヒトに、治療有効量の前述の抗体を投与することを含む。

【0033】

本発明の別の態様は、ヒトにおける滑膜炎を軽減させる方法に関し、これには、それを必要とするヒトに、治療有効量の前述の抗体を投与することを含む。

【0034】

本発明の別の態様は、ヒトにおける自己免疫疾患または障害を治療する方法に関し、これには、それを必要とするヒトに、治療有効量の前述の抗体を投与することを含む。

10

【0035】

本発明の別の態様は、ヒトにおける悪性腫瘍を治療する方法に関し、これには、それを必要とするヒトに、治療有効量の前述の抗体を投与することを含む。

【0036】

本発明の別の態様は、ヒトにおける炎症性疾患または障害を治療する方法に関し、これには、それを必要とするヒトに、治療有効量の前述の抗体を投与することを含む。

【0037】

本発明の別の態様は、ヒトにおける全身性エリテマトーデス、リウマチ性関節炎、または炎症性腸疾患を治療する方法に関し、これには、それを必要とするヒトに、治療有効量の前述の抗体を投与することを含む。一実施形態において、請求項40~49のいずれか1項に記載の方法であって、該治療有効量は、約0.1~5mg/kg、約0.1~2mg/kg、約0.1~1mg/kg、約0.3~2mg/kg、約0.3~1mg/kg、約0.5~2mg/kg、または約0.5~1mg/kgの修飾抗体の単回または分割量を含む。別の実施形態において、該治療有効量は、約20~500mg、約20~200mg、約20~100mg、約50~500mg、約50~200mg、または約50~100mgの修飾抗体の単回または分割量を含む。なお別の実施形態において、該治療有効量の修飾抗体は、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、4週間に1回、8週間に1回、または12週間に1回投与される。なおさらなる実施形態において、該治療有効量の修飾抗体は、静脈内または皮下投与される。別の実施形態において、該患者は、単一の負荷用量の修飾抗体が投与され、その後少なくとも1回の維持用量の修飾抗体を投与される。なおさらなる実施形態において、該負荷用量は、約0.1~5mg/kg、約0.1~2mg/kg、約0.1~1mg/kg、約0.3~2mg/kg、約0.3~1mg/kg、約0.5~2mg/kg、または約0.5~1mg/kgの修飾抗体の単回または分割量を含む。なおさらなる実施形態において、該負荷用量は、約20~500mg、約20~200mg、約20~100mg、約50~500mg、約50~200mg、または約50~100mgの修飾抗体の単回または分割量を含む。さらに別の実施形態において、該維持用量は、約0.1~5mg/kg、約0.1~2mg/kg、約0.1~1mg/kg、約0.3~2mg/kg、約0.3~1mg/kg、約0.5~2mg/kg、または約0.5~1mg/kgの修飾抗体の単回または分割量を含む。なお別の実施形態において、該維持用量は、約20~500mg、約20~200mg、約20~100mg、約50~500mg、約50~200mg、または約50~100mgの修飾抗体の単回または分割量を含む。別の実施形態において、該維持用量は、負荷用量を投与してから1週間後、2週間後、3週間後、4週間後、8週間後、または12週間後に投与される。さらに別の実施形態において、該少なくとも2回の維持用量が、該患者に投与され、該維持用量は、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、4週間に1回、8週間に1回、または12週間に1回、投与される。なお別の実施形態において、該負荷用量の修飾抗体は、静脈内または皮下投与される。別の実施形態において、該維持用量は、静脈内または皮下投与される。さらなる実施形態において、該治療有効量の該修飾抗体は、第2の治療剤と組み合わせて投与される。

20

30

40

50

## 【0038】

本発明の別の態様は、前述の抗体を含む滅菌された安定な水性製剤に関する。本発明のこの態様の一実施形態において、該抗体は、凍結乾燥に供さなかった。別の実施形態において、該抗体は、凍結乾燥に供した。別の実施形態において、当該修飾抗体の濃度は、少なくとも約5 mg/mL、少なくとも約10 mg/mL、少なくとも約15 mg/mL、少なくとも約20 mg/mL、少なくとも約50 mg/mL、少なくとも約100 mg/mL、少なくとも約120 mg/mL、少なくとも約150 mg/mL、少なくとも約160 mg/mL、少なくとも約180 mg/mL、少なくとも約200 mg/mL、少なくとも約250 mg/mL、または少なくとも約300 mg/mLである。さらなる実施形態において、該製剤は、少なくとも約1つの緩衝成分をさらに含む。別の実施形態において、該製剤は、少なくとも1つの賦形剤をさらに含む。さらに別の実施形態において、該緩衝成分は、ヒスチジン、クエン酸塩、リン酸塩、グリシン、および酢酸塩からなる群から選択される。なお別の実施形態において、該緩衝成分は、約1 mM ~ 約200 mM、約1 mM ~ 約50 mM、または約5 mM ~ 約20 mMの濃度のものである。さらに別の実施形態において、該緩衝成分は、約10 mM、約15 mM、約20 mM、または約25 mMの濃度のものである。さらなる実施形態において、該賦形剤は、糖類である。さらに別の実施形態において、糖類は、二糖類である。さらに別の実施形態において、該二糖類は、トレハロースまたはスクロースである。さらなる実施形態において、該二糖類は、約1% ~ 約40%、約2% ~ 約20%、または約2% ~ 約10%の濃度のものである。なおさらなる実施形態において、該二糖類は、約2%、約4%、または約8%の濃度のものである。さらなる実施形態において、該賦形剤は、塩類である。なお別の実施形態において、該塩類は、塩化ナトリウムである。さらなる実施形態において、該塩化ナトリウムは、約50 mM ~ 約200 mMの濃度のものである。別の実施形態において、該塩化ナトリウムは、約70 mM、約75 mM、約80 mM、約100 mM、約120 mM、または約150 mMの濃度のものである。さらなる実施形態において、該賦形剤は、界面活性剤である。さらなる実施形態において、該界面活性剤は、ポリソルベートである。なおさらなる実施形態において、該ポリソルベートは、ポリソルベート20またはポリソルベート80である。またさらなる実施形態において、該界面活性剤は、約0.001% ~ 約2%の濃度のものである。別の実施形態において、該界面活性剤は、約0.01%、約0.02%、約0.04%、または約0.08%の濃度のものである。なおさらなる実施形態において、該賦形剤は、アミノ酸である。さらに別の実施形態において、該アミノ酸は、グリシン、ヒスチジン、またはアルギニンからなる群から選択される。なお別の実施形態において、該アミノ酸は、約10 mM ~ 約400 mMの範囲の濃度のものである。さらに別の実施形態において、該アミノ酸は、約25 mM、約50 mM、約100 mM、約150 mM、約200 mM、約250 mM、約300 mM、約350 mM、または約400 mMの濃度のものである。またさらなる実施形態において、該製剤は、約5.5 ~ 約6.5の範囲のpHを有する。さらに別の実施形態において、当該製剤は、約6.0のpHを有する。さらに別の実施形態において、該製剤は、等張性である。別の実施形態において、該製剤は、40 °Cでの保存時に、少なくとも約4週間安定している。さらに別の実施形態において、該製剤は、5 °Cでの保存時に、少なくとも約3ヶ月間安定している。別の実施形態において、該製剤は、5 °Cでの保存時に、少なくとも約12ヶ月間安定している。さらに別の実施形態において、該抗体は、40 °Cで少なくとも約4週間にわたる該製剤の保存時に、そのIL-6結合活性を最大で20%損失する。またさらなる実施形態において、該抗体は、5 °Cで少なくとも約3ヶ月間にわたる該製剤の保存時に、そのIL-6結合活性を最大で20%損失する。さらに別の実施形態において、該抗体は、5 °Cで少なくとも約12ヶ月間にわたる該製剤の保存時に、そのIL-6結合活性を最大で20%損失する。さらに別の実施形態において、該抗体は、40 °Cで少なくとも約4週間にわたる該製剤の保存時に、そのIL-6結合活性を最大で10%損失する。別の実施形態において、請求項64 ~ 93のいずれか1項に記載の製剤であって、該抗体は、5 °Cで少なくとも約3ヶ月間にわたる該製剤の保存時に、そのIL-6結合活性を最大で10%損失する。別の実施

10

20

30

40

50

形態において、抗体は、5 で少なくとも約12ヶ月間にわたる該製剤の保存時に、そのIL-6結合活性を最大で10%損失する。別の実施形態において、該抗体は、40 で少なくとも約4週間にわたる該製剤の保存時に、そのIL-6結合活性を最大で5%損失する。別の実施形態において、該抗体は、5 で少なくとも約3ヶ月間にわたる該製剤の保存時に、そのIL-6結合活性を最大で5%損失する。別の実施形態において、該抗体は、5 で少なくとも約12ヶ月間にわたる該製剤の保存時に、そのIL-6結合活性を最大で5%損失する。別の実施形態において、該抗体は、凝集、または断片化の影響を受けやすい。別の実施形態において、当該抗体の約2%未満が、HPSECによって測定して、40 での少なくとも約4週間にわたる保存時に凝集体を形成する。別の実施形態において、当該抗体の約2%未満が、HPSECによって測定して、5 での少なくとも約3ヶ月間にわたる保存時に凝集体を形成する。別の実施形態において、当該抗体の約2%未満が、HPSECによって測定して、5 での少なくとも約12ヶ月間にわたる保存時に凝集体を形成する。別の実施形態において、当該抗体の約5%未満が、SECによって測定して、40 での少なくとも約4週間保存時に断片化される。別の実施形態において、当該抗体の約5%未満が、SECによって測定して、5 での少なくとも約3ヶ月間にわたる保存時に断片化される。別の実施形態において、当該抗体の約5%未満が、SECによって測定して、5 での少なくとも約12ヶ月間にわたる保存時に断片化される。別の実施形態において、該製剤は、注射製剤である。別の実施形態において、該製剤は、静脈内、皮下、または筋肉内投与に適している。別の実施形態において、該製剤は、エアロゾル投与に適している。

#### 【0039】

本発明の別の態様は、ヒトへの非経口投与に適している薬学的単位投与剤形に関し、好適な容器内に前述の抗体製剤のいずれかを含む。一実施形態において、該抗体製剤は、静脈内、皮下、または筋肉内に投与される。

#### 【0040】

本発明の別の態様は、ヒトへのエアロゾル投与に適している薬学的単位剤形に関し、前述の抗体製剤のいずれかを含む。本発明のこの態様の一実施形態において、該抗体製剤は、鼻腔内に投与される。

#### 【0041】

本発明の別の態様は、前述の製剤のいずれかを含む密閉された容器に関する。

#### 【0042】

本発明の別の態様は、前述の製剤のいずれかを含むあらかじめ充填された注射器 (pre-filled syringe) に関する。

#### 【0043】

本発明の別の態様は、前述の製剤のいずれかを含むキットに関する。

#### 【0044】

これらの態様および本発明の他の態様は、以下にさらに詳細に記載される。

#### 【0045】

#### 用語

ここで、本明細書で使用される「および/または」は、2つの指定された特徴または構成要素のそれぞれが、他方を含む場合と含まない場合とを含めて具体的に開示されているものと解釈されるべきであることを指摘しておくのが便宜である。例えば、「Aおよび/またはB」は、本明細書で個々に示されているかのように、(i) A、(ii) B、ならびに(iii) AおよびBのそれぞれの特定の開示と解釈されるべきである。

#### 【0046】

#### IL-6およびIL-6受容体

IL-6は、インターロイキン6である。IL-6はまた、「抗原」として本明細書に称され得る。

#### 【0047】

ヒトIL-6の全長アミノ酸配列は、配列番号15である。この配列は、インビボで切



断されて、N末端リーダーペプチドが除去され、成熟IL-6を産生する。成熟ヒトIL-6は、アミノ酸配列の配列番号16を有する。成熟配列は、インビボ循環IL-6を示し、これは、本明細書中に記載の治療およびインビボ診断用途の標的抗原である。したがって、本明細書中で言及されるIL-6は、通常、文脈によって特に示されない限り、成熟ヒトIL-6である。

【0048】

IL-6は、例えば、本明細書中に記載のアッセイで使用するために、HIS FLAG等の検出可能な標識に結合してもよい。例えば、HIS FLAG配列に結合したIL-6を含む融合タンパク質を使用してもよい。

【0049】

IL-6受容体 $\alpha$ すなわちIL-6Raは、インターロイキン6の受容体である。IL-6Raはまた、IL-6R、IL-6Ra、IL-6R、およびCD126としても知られている。IL-6Raは、膜貫通型および可溶性型の形態でインビボに存在する。IL-6Raへの言及は、文脈によって特に指定されない限り、膜貫通IL-6Raおよび/または可溶性IL-6Raであり得る。

【0050】

本明細書で言及されるIL-6受容体は、特に指定されない限り、通常、ヒトIL-6受容体である。ヒト可溶性IL-6Ra (sIL-6Ra、sIL-6R)のアミノ酸配列は、配列番号17である。ヒト膜貫通IL-6Raのアミノ酸配列は、配列番号18である。

【0051】

IL-6は、IL-6Raに結合し、複合体のIL-6:IL-6Raを形成する。この複合体は、可溶性(sIL-6Raを含む)または膜結合型(膜貫通IL-6Raを含む)のいずれかであり得る。IL-6Raが可溶性型である場合、この複合体は、IL-6:sIL-6Raと示される。IL-6:IL-6Raへの言及には、文脈によって特に指定されない限り、膜貫通IL-6Raまたは可溶性IL-6Raと複合体を形成したIL-6が含まれ得る。

【0052】

gp130

gp130は、IL-6:IL-6Ra複合体の受容体である。gp130のクローニングおよび特徴付けは、Hibi et al, Cell 63:1149-1157 (1990)に報告されている。ヒトgp130の配列は、配列番号19で示される。

【0053】

結合性メンバー

ここで、互いに結合する分子対の1つのメンバーを説明する。結合対のメンバーは、天然由来であっても、全体的または部分的に合成によって生成してもよい。該分子対の1つのメンバーは、その表面上にある領域または空洞を有し、これは、分子対の他方のメンバーの特定の空間的および極性構成に結合し、したがって、それに相補的である。結合対の型の例は、抗原-抗体、ビオチン-アビジン、ホルモン-ホルモン受容体、受容体-リガンド、酵素-基質である。本発明は、抗原-抗体型の反応に関係している。

【0054】

結合性メンバーは、通常、抗原結合部位を有する分子を含む。例えば、結合性メンバーは、抗体分子、または抗原結合部位を含む非抗体タンパク質であり得る。

【0055】

抗原結合部位は、非抗体タンパク質骨格(scaffold)上、例えば、フィブロネクチンまたはシトクロムB等上でのCDRの配置を用いて(Haan & Maggos (2004) BioCentury, 12(5):A1-A6、Koide et al. (1998) Journal of Molecular Biology, 284:1141-1151、Nygren et al. (1997) Curr. Op. Structural Biology, 7:463-469)、または所望の標的に対して結

10

20

30

40

50

合特異性を付与するようにタンパク質骨格内ループのアミノ酸残基を無作為化するか、もしくは突然変異させることによって提供され得る。タンパク質中の新規結合部位を工学操作するための骨格は、Nygrenらによって詳細に概説されている(Nygren et al. (1997) Curr. Op. Structural Biology, 7: 463 - 469)。擬似抗体(antibody mimics)のためのタンパク質骨格は、WO/0034784号(参照することによりその全体が本明細書中に組み入れられる)に開示されており、そこで発明者は、少なくとも1つの無作為化されたループを有するフィブロネクチンIII型ドメインを含むタンパク質(擬似抗体)を説明している。1つ以上のCDR、例えば、HCDRセットを移植するために好適な骨格は、免疫グロブリン遺伝子スーパーファミリーの任意のドメインメンバーによって提供することができる。この骨格は、ヒトまたは非ヒトタンパク質であり得る。非抗体タンパク質骨格の利点は、それが、少なくとも幾つかの抗体分子より小さくかつ/または製造が容易な骨格分子中に抗原結合部位を提供することができることである。結合性メンバーのサイズが小さいと、有用な生理学的特性、例えば、細胞に入る能力、組織に深く浸透する能力、または他の構造内の標的に到達する能力、または標的抗原のタンパク質空洞内に結合する能力がもたらされ得る。非抗体タンパク質骨格中の抗原結合部位の使用は、Wessにおいて概説されている(Wess, L. (2004) In: BioCentury, The Bernstein Report on BioBusiness, 12(42), A1 - A7)。安定な主鎖および1つ以上の可変ループを有するタンパク質が典型的であり、該ループまたは複数のループのアミノ酸配列が、標的抗原に結合する抗原結合部位を作り出すように特異的にまたはランダムに突然変異させられている。このようなタンパク質には、S. aureus由来のプロテインAのIgG結合ドメイン、トランスフェリン、テトラネクチン(tetranectin)、フィブロネクチン(例えば、第10フィブロネクチンIII型ドメイン)、リポカリン(lipocalins)、ならびにガンマクリスタリン(gamma-crystalline)および他のAffilin(商標)骨格(Scil Proteins)が含まれる。他のアプローチの例には、分子内ジスルフィド結合を有するサイクロチド-小タンパク質に基づく合成「マイクロボディ(Microbodies)」、Microproteins (Versabodies(商標), Amunix)、およびアンキリン反復タンパク質(DARPs, Molecular Partners)が含まれる。

#### 【0056】

抗体配列および/または抗原結合部位に加えて、本発明による結合性メンバーは、例えば、折り畳まれたドメイン等のペプチドまたはポリペプチドを形成するか、または抗原に結合する能力に加えて、別の機能的特徴を分子に付与する他のアミノ酸を含み得る。本発明の結合性メンバーは、検出可能な標識を保持してよく、毒素または標的部分または酵素に(例えば、ペプチジル結合またはリンカーを介して)共役してもよい。例えば、結合性メンバーは、触媒部位(例えば、酵素ドメイン中)ならびに抗原結合部位を含んでよく、該抗原結合部位は、抗原に結合し、ゆえに触媒部位を抗原に標的とする。この触媒部位は、例えば、切断によって抗原の生物学的機能を阻害し得る。

#### 【0057】

上記のように、CDRを非抗体骨格によって担持させることができるが、本発明のCDRまたはCDRセットを担持するための構造は、概して、抗体重鎖もしくは軽鎖配列またはその実質的な部分であり、CDRまたはCDRセットは、再配置された免疫グロブリン遺伝子によってコードされる天然に存在するVHおよびVL抗体可変ドメインのCDRまたはCDRセットに対応する位置に位置する。免疫グロブリン可変ドメインの構造および位置は、Kabataら(Kabat, E. A. et al, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 4<sup>th</sup> Edition, US Department of Health and Human Services, (1987))、およびこの最新版を参照することによって決定され得る。このデータベースに問い合わせるために、多くの学術的および商業的オンラインリ

ソースが利用可能である。例えば、参考文献 Martin, A. C. R. (Accessing the Kabat Antibody Sequence Database by Computer PROTEINS: Structure, Function and Genetics, 25 (1996), 130-133)、および関連オンラインリソース、現在のワールドワイドウェブアドレスの [bioinf.org.uk/abs/simkab.html](http://bioinf.org.uk/abs/simkab.html) を参照のこと。

【0058】

CDR領域またはCDRとは、Kabatら (Kabat, E. A. et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Edition. US Department of Health and Human Services, Public Service, NIH, Washington または改訂版)、または Chothia and Lesk (J. Mol. Biol., 196:901-917 (1987)) によって定義される免疫グロブリンの重鎖および軽鎖の超可変領域を示すことを意図する。抗体は、一般的に、3つの重鎖CDRおよび3つの軽鎖CDRを含有する。「CDRまたは複数のCDR」という用語は、場合により、それが認識する抗原またはエピトープに対する抗体の親和性による結合を担うアミノ酸残基の大部分を含有するこれらの領域の1つ、またはこれらの領域の数個、さらにはその全体を示すために、本明細書中で使用される。

10

【0059】

6つの短いCDR配列のうち、重鎖の第3のCDR (HCDR3) は、より高いサイズ可変性 (それを生じさせる遺伝子の配置機構に本質的に起因する大きな多様性) を有する。それは、短ければ2アミノ酸であり得るが、既知の最長サイズは26である。また、CDRの長さは、具体的な基礎となるフレームワークによって収容できる長さに従って変動し得る。機能上、HCDR3は、抗体の特異性の決定に部分的に役割を果たす (Segal et al., (1974) PNAS, 71:4298-4302、Amit et al., (1986) Science, 233:747-753、Chothia et al., (1987) J. Mol. Biol., 196:901-917、Chothia et al., (1989) Nature, 342:877-883、Caton et al., (1990) J. Immunol., 144:1965-1968、Sharon et al., (1990) PNAS, 87:4814-4817、Sharon et al., (1990) J. Immunol., 144:4863-4869、Kabat et al., (1991) J. Immunol., 147:1709-1719、Holliger & Hudson, Nature Biotechnology 23(9):1126-1136 (2005))。

20

30

【0060】

HCDR1は、カバット残基31~35からなる、5アミノ酸長であり得る。

【0061】

HCDR2は、カバット残基50~65からなる、17アミノ酸長であり得る。

【0062】

HCDR3は、カバット残基95~102からなり、任意にカバット残基100Dを含む、11または12アミノ酸長であり得る。

40

【0063】

LCDR1は、カバット残基24~34からなる、11アミノ酸長であり得る。

【0064】

LCDR2は、カバット残基50-56からなる、7アミノ酸長であり得る。

【0065】

LCDR3は、カバット残基89~97からなり、任意にカバット残基95を含む、8または9アミノ酸長であり得る。

【0066】

抗体分子

50

ここでは、天然であるか、または部分的もしくは完全に合成によって生成される、免疫グロブリンを説明する。この用語はまた、抗体抗原結合部位を含む任意のポリペプチドまたはタンパク質も含む。本発明は、天然の形態での抗体に関するものではなく、すなわち、それらは、それらの天然環境中に存在しないが、それらは、天然供給源から単離することができたか、または精製によって得ることができたか、または遺伝子組換え、もしくは化学合成によって得ることができたものであり、かつ後に記載されるように、それらは、非天然アミノ酸を含有できることが理解されなければならない。抗体抗原結合部位を含む抗体断片としては、Fab、Fab'、Fab'-SH、scFv、Fv、dAb、およびFd等の分子が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、Fab2、Fab3、ダイアボディ(diabodies)、トリアボディ(triabodies)、テトラボディ(tetrabodies)、およびミニボディー(minibodies)を含む、1つ以上の抗体抗原結合部位を含む種々の他の抗体分子が、作製されている。抗体分子およびそれらの構築および使用のための方法は、Holliger & Hudson (Nature Biotechnology 23(9): 1126-1136(2005))に記載されている。

10

**【0067】**

モノクローナル抗体および他の抗体を使用し、かつ組換えDNA技術の技術を使用して標的抗原に結合する他の抗体またはキメラ分子を製造することが可能である。このような技術は、抗体の免疫グロブリン可変領域、またはCDRをコードするDNAを異なる免疫グロブリンの定常領域、または定常領域とフレームワーク領域に導入することを含み得る。例えば、EP-A-184187、GB 2188638A、またはEP-A-239400、およびそれに続く多くの文献を参照のこと。ハイブリドーマまたは、抗体を産生する他の細胞を、遺伝子突然変異または他の変化に供してもよく、これらは、産生される抗体の結合特異性を変化させてもさせなくてもよい。

20

**【0068】**

抗体は、多くの方法で改変できるので、「抗体分子」という用語は、必要な特異性を有する抗体抗原結合部位を有し、かつ/または抗原に結合する、任意の結合性メンバーまたは物質を含むと解釈されるべきである。したがって、この用語は、抗体断片および誘導体を含み、これには、天然であるか完全または部分的に合成されたものであるかにかかわらず、抗体抗原結合部位を含む任意のポリペプチドが含まれる。したがって、別のポリペプチド(例えば、別の種由来または別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する)に融合された、抗体抗原結合部位または等価物を含むキメラ分子が含まれる。キメラ抗体のクローニングおよび発現は、EP-A-0120694およびEP-A-0125023、およびそれに続く多くの文献に記載されている。

30

**【0069】**

抗体工学分野で利用可能なさらなる技術によって、ヒト抗体およびヒト化抗体を単離することが可能になった。例えば、ヒトハイブリドーマは、Kontermann & Dubel (Kontermann, R & Dubel, S, Antibody Engineering, Springer-Verlag New York, LLC; 2001, ISBN: 3540413545)によって記載されるように作製することができる。結合性メンバーを作製するための別の既存技術であるファージディスプレイは、Kontermann & Dubel (Kontermann, R & Dubel, S, Antibody Engineering, Springer-Verlag New York, LLC; 2001, ISBN: 3540413545)および第WO92/01047号(さらに以下で考察される)、ならびに米国特許第US5969108号、第US5565332号、第US5733743号、第US5858657号、第US5871907号、第US5872215号、第US5885793号、第US5962255号、第US6140471号、第US6172197号、第US6225447号、第US6291650号、第US6492160号、第US6521404号等の多くの刊行物で詳細に記載されている。

40

50

## 【0070】

トランスジェニックマウス、例えばマウス抗体遺伝子が不活性化され、ヒト抗体遺伝子で機能的に置換されつつ、マウス免疫系の無傷の他の構成要素を残しているマウスを、ヒト抗体の単離に使用することができる (Mendez, M. et al. (1997) *Nature Genet*, 15 (2): 146 - 156)。ヒト化抗体は、例えば、WO第91/09967号、US第5,585,089号、EP第592106号、US第565,332号、およびWO第93/17105号に開示されるもの等の当該技術分野において公知の技術を使用して生成することができる。さらに、WO第2004/006955号は、非ヒト抗体の変領域のCDR配列の標準的CDR構造型を、ヒト抗体配列、例えば、生殖細胞系抗体遺伝子セグメントのライブラリーからの対応するCDRの標準的CDR構造型と比較することによる、ヒト抗体遺伝子由来の変領域フレームワーク配列の選択に基づいて、抗体をヒト化するための方法を記載している。非ヒトCDRと類似の標準的CDR構造型を有するヒト抗体変領域は、ヒトフレームワーク配列が選択される、メンバーヒト抗体配列のサブセットを構成する。該サブセットメンバーを、ヒトおよび非ヒトCDR配列間のアミノ酸類似性によってさらに分類してよい。WO第2004/006955号の方法においては、選択したサブセットメンバーヒトフレームワークを用いて、ヒトCDR配列を非ヒトCDR対応物で機能的に置換するキメラ抗体を構築するためのフレームワーク配列を提供するために、最高位にランキングされたヒト配列を選択し、それによって、非ヒト抗体とヒト抗体との間のフレームワーク配列を比較する必要なく、高親和性かつ低免疫原性のヒト化抗体を提供する。この方法に従って作製されたキメラ抗体もまた開示される。

10

20

## 【0071】

合成抗体分子は、例えば、Knappikら (Knappik et al. (2000) *J. Mol. Biol.* 296, 57 - 86) または Krebsら (Krebs et al. (2001) *J. Immunological Methods* 254 67 - 84) によって記載されるように、合成されかつ好適な発現ベクター内に組み立てられたオリゴヌクレオチドを用いて作製された遺伝子から発現させることによって作製してよい。

## 【0072】

全抗体の断片は、抗原に結合する機能を達成できることが示されている。結合性断片の例は、(i) VL、VH、CL、およびCH1ドメインからなるFab断片、(ii) VHおよびCH1ドメインからなるFd断片、(iii) 単一抗体のVLおよびVHドメインからなるFv断片、(iv) dAb断片 (Ward, E. S. et al., (1989) *Nature* 341, 544 - 546、McCafferty et al (1990) *Nature*, 348, 552 - 554、Holt et al (2003) *Trends in Biotechnology* 21, 484 - 490)、(VHまたはVLドメインからなる)、(v) 単離されたCDR領域、(vi) F(ab')<sub>2</sub>断片 (2つの連結されたFab断片を含む二価断片) (vii) 一本鎖Fv分子 (scFv) (VHドメインとVLドメインが、2つのドメインが結合して抗原結合部位を形成することを可能にするペプチドリンカーによって連結されている) (Bird et al, (1988) *Science*, 242, 423 - 426、Houston et al, (1988) *PNAS USA*, 85, 5879 - 5883)、(viii) 二重特異性一本鎖Fv二量体 (PCT/US92/09965) および (ix) 遺伝子融合によって構築された、多価、または多重特異性断片である「ダイアボディ」 (WO第94/13804号、Holliger, P. et al, (1993) *PNAS USA* 90 6444 - 6448) である。VHおよびVLドメインを連結するジスルフィド架橋を組み込むことによって、Fv、scFv、またはダイアボディ分子を安定化することができる (Reiter, Y. et al, (1996) *Nature Biotech*, 14, 1239 - 1245)。また、CH3ドメインに連結されたscFvを含むミニボディを作製することもできる (Hu, S. et al, (1996) *Cancer Res.*, 56, 3

30

40

50

055-3061)。結合断片の他の例は、Fab' (重鎖CH1ドメインのカルボキシル末端に少数の残基が付加されていることによって、Fab断片と異なり、抗体ヒンジ領域由来の1つ以上のシステインを含む)およびFab'-SH (定常ドメインのシステイン残基(群)が遊離のチオール基を担持するFab'断片)である。

【0073】

Quira (Quiret al., (2007) Nat. Biotechnol. 25: 921-929) は、フレームワーク領域によって連結されている2つのCDRのみ含有する抗体分子を説明した。VHまたはVLドメイン由来のCDR3が、他方のドメインのCDR1またはCDR2ループに連結された。選択されたCDR1またはCDR2のC末端とCDR3のN末端がFR領域を介して連結された。Quiraは、最少の疎水性部分を有するFR領域を選択した。試験した抗体の最良の組み合わせは、VH FR2によってVH CDR3に連結されたVL CDR1であることが見出された(VHCDR1-VHFR2-VLCDR3)。約3kDaの分子量で、これらの抗体分子は、完全免疫グロブリン(約150kDa)またはscFv(約28kDa)と比較して改善された組織浸透性の点で利点を提供する。

10

【0074】

本発明の抗体断片は、酵素、例えば、ペプシンもしくはパインによる消化等の方法、および/または化学的還元によるジスルフィド架橋の切断によって、親抗体分子、または抗体分子2、3、4、5、7、8、10、14、16、17、18、19、21、22、および23のいずれかから出発して得ることができる。別の様式では、本発明に含まれる抗体断片は、同様に、当業者に周知の遺伝子組換え技術、または例えば、Applied Biosystems等の企業によって供給されるような自動ペプチドシンセサイザーを用いるペプチド合成、または核酸合成および発現によって得ることができる。

20

【0075】

本発明による機能的抗体断片には、化学修飾、特にペグ化によって、またはアルブミンもしくはその断片への融合によるリボソームへの取り込みによって、半減期を増加した任意の機能的断片が含まれる。

【0076】

dAb (ドメイン抗体) は、抗体の単量体の抗原結合小断片であり、すなわち抗体重鎖または軽鎖の可変領域である(Holt et al (2003) Trends in Biotechnology 21, 484-490)。VH dAbは、ラクダ科動物(例えばラクダ、ラマ)に天然に存在し、ラクダ科動物を標的抗原で免疫化し、抗原特異的B細胞を単離し、個々のB細胞からdAb遺伝子を直接クローニングすることによって生成することができる。dAbはまた、細胞培養で生成可能である。それらの小さいサイズ、良好な溶解度、および温度安定性によって、それらは、特に生理学的に有用であり、かつ選択および親和性成熟に好適である。ラクダ科動物のVH dAbは、「nanobody (商標)」の名称で治療用途に開発中である。本発明の結合性メンバーは、実質的に本明細書中に示されているVHもしくはVLドメイン、または実質的に本明細書中に示されているCDRセットを含むVHもしくはVLドメインを含むdAbであり得る。

30

【0077】

二重特異性または二機能性抗体は、2つの異なる可変領域が同一分子中で組み合わされている第2世代のモノクローナル抗体を形成する(Holliger and Bohlen (1999) Cancer & Metastasis Rev. 18: 411-419)。それらの使用は、新規エフェクター機能を動員するか、または腫瘍細胞の表面上の幾つかの分子を標的にするそれらの能力から、診断分野および治療分野でともに実証されている。二重特異性抗体が使用される場合、これらは、従来の二重特異性抗体であり得、種々の方法で製造することができ(Holliger, P. and Winter G. (1993) Curr. Op. Biotech. 4, 446-449)、例えば、化学的にまたはハイブリッドハイブリドーマから調製することができるか、または上述の二重特異性抗体断片のいずれかであり得る。これらの抗体は、化学的方法(Glennie

40

50

M J et al. (1987) J. Immunol. 139, 2367 - 2375、  
Repp R. et al. (1995) J. Hematother. 4: 415 - 21  
) または身体的方法 (somatic methods) (Staerz U. D. and  
Bevan M. J. (1986) PNAS USA 83: 1453 - 7、Suresh  
M. R. et al. (1986) Method Enzymol. 121: 2  
10 - 228) によって取得することができるか、同様かつ優先的に、ヘテロ二量体化を  
強制することが可能で、ゆえに求められる抗体の精製プロセスを容易にする遺伝子工学技術  
によって得ることができる (Merchand et al. (1998) Nature  
Biotech. 16: 677 - 681)。二重特異性抗体の例には、BiTE (商  
標) 技術の二重特異性抗体が含まれ、その技術では異なる特異性を有する2つの抗体の結  
合ドメインを使用し、かつ短い柔軟なペプチドを介して直接連結することができる。これ  
は、短い単一ポリペプチド鎖上で2つの抗体を組み合わせる。ダイアボディおよび scFv  
は、可変ドメインのみを用いて、Fc 領域を用いずに構築することができ、抗イディオ  
型反応の影響を低減する可能性がある。

10

**【0078】**

二重特異性抗体は、完全 IgG として、二重特異性 Fab' 2 として、Fab' PEG  
として、ダイアボディとして、または二重特異性 scFv として構築することができる。  
さらに、当該技術分野において公知の慣用の方法を用いて、2つの二重特異性抗体を連結  
し、四価抗体を形成することができる。

20

**【0079】**

二重特異性完全抗体とは対照的に、二重特異性ダイアボディは、容易に構築することが  
でき、かつ大腸菌で発現することができるため、これらは、特に有用であり得る。適切な  
結合特異性のダイアボディ (および抗体断片等の多数の他のポリペプチド) は、ファージ  
ディスプレイ (WO 第 94 / 13804 号) を用いて、ライブラリーから容易に選択する  
ことができる。ダイアボディの一方のアームが一定に保たれて、例えば、IL-6 に対す  
る特異性を有する場合、他方のアームが変動するライブラリーを作製することができ、適  
切な特異性の抗体を選択することができる。Ridgeway ら (Ridgeway, J.  
B. B. et al (1996) Protein Eng., 9, 616 - 621) に  
記載されるような、代替の操作方法によって、二重特異性完全抗体を作製し得る。

30

**【0080】**

当該技術分野において、IL-6 に対する抗体を取得するための種々の方法が利用可能  
である。抗体は、特にヒト、マウス、キメラ、またはヒト化起源のモノクローナル抗体で  
あり得、それは当業者に周知の標準的方法に従って取得することができる。

**【0081】**

一般に、特にマウス起源のモノクローナル抗体またはそれらの機能的断片の調製では、  
特に手引「Antibodies」(Harlow and Lane, Antibod  
ies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harb  
or Laboratory, Cold Spring Harbor N.Y., pp  
. 726, 1988) に記載される技術または Koehler and Milstei  
n (Koehler and Milstein (1975) Nature, 256: 4  
95 - 497) によって記載されるハイブリドーマからの調製技術を参照することが可能  
である。

40

**【0082】**

モノクローナル抗体は、例えば、IL-6、または該モノクローナル抗体によって認識  
されるエピトープを含有するその断片の1つに対して免疫化された動物のB細胞から取得  
することができる。それらを含む好適な断片およびペプチドまたはポリペプチドは、本明  
細書中に記載されており、それを使用して、動物を免疫し、IL-6 に対する抗体を作製  
することができる。該 IL-6、またはその断片の1つは、特に、IL-6 またはその断  
片をコードする cDNA 配列に含有される核酸配列から出発する遺伝子組換えによって、  
IL-6 および / またはその断片のペプチド配列に含まれるアミノ酸配列から出発するペ

50

プチド合成によって、通常の作業方法に従って製造することができる。

【0083】

モノクローナル抗体は、例えば、アフィニティーカラムで精製することができ、これには、IL-6、または該モノクローナル抗体によって認識されるエピトープを含有するその断片の1つが予め固定されている。さらに具体的には、モノクローナル抗体は、プロテインAおよび/またはGでのクロマトグラフィーによって精製することができ、その後、残留するタンパク質混入物ならびにDNAおよびLPS自体を排除するためのイオン交換クロマトグラフィーを行うかまたは行わずに、その後、二量体または他の多量体の存在に起因する潜在的凝集物を排除するために、セファロースゲルでの排除クロマトグラフィーを行うかまたは行わずに精製することができる。一実施形態において、これらの全技術を、同時にまたは順次使用することができる。

10

【0084】

抗原結合部位

ここでは、標的抗原の全体または部分に結合し、それと相補的な分子の部分を説明する。抗体分子では、それは、抗体抗原結合部位と称され、標的抗原の全体または部分に結合し、それと相補的な抗体の部分を含む。抗原が大きい場合、抗体は、抗原の特定部分にしか結合せず、該部分は、エピトープと称される。抗体抗原結合部位は、1つ以上の抗体可変ドメインによって提供され得る。抗体抗原結合部位は、抗体軽鎖可変領域(VL)および抗体重鎖可変領域(VH)を含み得る。

20

【0085】

WO第2006/072620号は、免疫グロブリンドメインのベータ鎖間に延在する構造的(非CDR)ループ中での抗原結合部位の操作を説明する。抗原結合部位は、CDRの天然の位置から分離する抗体分子の領域中、例えば、VHもしくはVLドメインのフレームワーク領域中、または抗体定常ドメイン中、例えば、CH1および/もしくはCH3中で操作され得る。構造的領域中で操作される抗原結合部位は、VHおよびVLドメインのCDRのセットによって形成される抗原結合部位に加えられるか、またはその代わりであり得る。複数の抗原結合部位が、抗体分子中に存在する場合、それらは、同一の抗原(IL-6)に結合し、それによって、結合性メンバーの結合価を増加し得る。代替として、複数の抗原結合部位は、異なる抗原(IL-6および1つ以上の別の抗原)に結合し得、これを使用して、エフェクター機能を追加し得るか、半減期を延長し得るか、または抗体分子のインピボの送達を改善し得る。

30

【0086】

単離された

これは、本発明の結合性メンバー、またはかかる結合性メンバーをコードする核酸が、概して、本発明に合っている状態を指す。ゆえに、本発明による結合性メンバー、VHおよび/もしくはVLドメイン、およびコード核酸分子およびベクターは、実質的に純粋または均質な形態で、例えば、それらの天然環境から単離および/もしくは精製されている状態、または核酸の場合、必要な機能を有するポリペプチドをコードする配列以外の起源の核酸または遺伝子を含まないか、または実質的に含まない状態で提供することができる。単離されたメンバーおよび単離された核酸は、それらに天然に付随している物質、例えば、それらの天然環境、またはかかる調製が体外もしくはインピボで実行される組み換えDNA技術に基づく場合には、それらが調製される環境(例えば、細胞培養)中で、それらと共に見出される他のポリペプチドまたは核酸等を含まないか、または実質的に含まない。メンバーおよび核酸は、希釈剤またはアジュバントと共に製剤化することができ、それでも事実上単離されていることができ、例えば、該メンバーは、イムノアッセイで用いるためのマイクロタイタープレートをコーティングするために使用される場合、通常、ゼラチンまたは他の担体と混合されるか、または診断もしくは治療で使用される場合、薬学的に許容される担体または希釈剤と混合される。結合性メンバーは、天然に、または異種真核細胞(例えば、CHOもしくはNS0(ECACC85110503)細胞)の系によってグリコシル化され得るか、または(例えば、原核細胞での発現によって生成される

40

50



場合)非グリコシル化され得る。

【0087】

また、抗IL-6抗体分子を含む不均一調製物も、本発明の部分を形成する。例えば、このような調製物は、完全長重鎖およびC末端リシンを欠いている重鎖を有し、種々の程度のグリコシル化を有し、かつ/または誘導体化アミノ酸、例えば、ピログルタミン酸残基を形成するN末端グルタミン酸の環化等を有する抗体の混合物であり得る。

【0088】

本明細書中で使用される、「実質的に示されているように」という語句は、本明細書中に記載の結合性メンバーのVHまたはVLドメインの関連CDRの特徴が、本明細書中に配列が示されている特定領域と同一であるか、または非常に類似していることを指す。本明細書中で使用される、1つ以上の可変ドメインの特定領域に関する「非常に類似している」という語句は、CDRおよび/またはVHまたはVLドメイン中で1~約5、例えば、1~4(例えば、1~3、または1もしくは2、または3もしくは4を含む)のアミノ酸置換を行い得ることが企図される。

10

【図面の簡単な説明】

【0089】

【図1】抗体18ではない、抗体18EのFc領域は、YTEエピトープを含む。Fc領域内のYTEエピトープの存在は、ELISAアッセイにおいて、抗YTE捕捉抗体を用いることによって検出された。抗体18および抗体18Eに対するELISA滴定曲線を示す。

20

【図2】抗体18、抗体18E、IL-6抗体A(ABA)、およびIL-6抗体B(ABB)によって結合するIL-6が、ELISAアッセイを用いてモニターされた。大腸菌由来の組換えIL-6が、捕捉試薬として使用された。抗体18および抗体18Eは、実質的には同一のIL-6の結合活性を示した。抗体18および抗体18Eに対して検出されたEC<sub>50</sub>は、それぞれ、6.1pMおよび6.5pMであった。

【図3】抗体18および抗体18Eは、IL-6によって誘発されるTF-1細胞増殖を、実質的に同一の有効性で阻害する。IC<sub>50</sub>値は、抗体18、抗体18E、IL-6抗体A(ABA)、およびIL-6抗体B(ABB)に対して決定された。抗体濃度の関数として最大阻害%曲線を示す。抗体18および抗体18Eに対して検出されたIC<sub>50</sub>は、それぞれ、4.5pMおよび5.2pMであった。

30

【図4】抗体18および抗体18Eは、IL-6によって誘発される、ヒト滑液線維芽細胞からのVEGFの内因性放出を、実質的には同一の有効性で阻害する。IC<sub>50</sub>値は、抗体18、抗体18E、IL-6抗体A(ABA)、およびIL-6抗体B(ABB)に対して決定された。抗体濃度の関数として最大阻害%曲線を示す。抗体18および抗体18Eに対して検出されたIC<sub>50</sub>は、それぞれ、1.3pMおよび1.2pMであった。

【図5】抗体18および抗体18Eの薬物動態学的プロファイル 5mg/kgの単回用量の抗体18または抗体18Eを、カニクイザルに皮下または静脈内に投与した。抗体投与後に検出された血漿抗体レベルを、時間の関数として示す。静脈内および皮下投与後の抗体18の半減期は、それぞれ、約8.5日間および9.1日間である。静脈内および皮下投与後の抗体18Eの半減期は、それぞれ、約28.4日間および28.8日間である。

40

【図6】抗体18および抗体18Eの薬物動態学的および薬力学的プロファイル 5mg/kgの抗体18または抗体18E抗体を、カニクイザルに皮下投与した。抗体投与後に検出された血漿抗体レベルおよび総血漿IL-6レベルを、時間の関数として示す。記号は、実験に基づくPKおよびPDデータを示し、点線は、PKおよびPDデータに同時にフィットしたPKPDモデルである。抗体18および抗体18Eの推定された半減期は、それぞれ、9.1日間および28.8日間である。抗体18および抗体18Eの推定されたクリアランスは、それぞれ、13.1mL/日/kgおよび2.8mL/日/kgである。

50

【図7】種々の用量の抗体18Eの皮下投与後のRA患者の血漿中の遊離IL-6レベルの模擬実験。この模擬実験は、IL-6媒介性シグナル伝達の持続した少なくとも90%の阻害が、100mgの抗体18Eの8週間ごとの皮下投与によって、または50mgの抗体18Eの4週間ごとの皮下投与によって達成されることを予測する。100mgの抗体18Eの12週間ごとの皮下投与は、IL-6媒介性シグナル伝達の持続した少なくとも90%の阻害を達成しないことを予測する。

【図8】抗体18または抗体18Eの皮下投与後のRA患者の血漿中の遊離IL-6レベルの模擬実験。この模擬実験は、IL-6媒介性シグナル伝達の持続した少なくとも90%の阻害が、200mgの抗体18Eの単回負荷用量を投与し、続いて、100mgの維持用量の抗体18Eを8週間ごとに投与することによって達成されることを予測する。この模擬実験は、500mgの抗体18の8週間ごとの投与が、IL-6媒介性シグナル伝達の持続した少なくとも90%の阻害を達成しないことを予測する。

【図9】種々の用量の抗体18または抗体18Eの皮下投与後のRA患者の血漿中の遊離IL-6レベルの模擬実験。この模擬実験は、IL-6媒介性シグナル伝達の持続した少なくとも90%の阻害が、100mgの抗体18Eの単回負荷用量を皮下投与し、続いて、50mgの維持用量の抗体18Eを月1回皮下投与することによって達成されることを示す。この模擬実験は、IL-6媒介性シグナル伝達の持続した少なくとも90%の阻害が、100mgの抗体18の隔週の皮下投与によって達成されるであろうが、100mgの抗体18の月1回の皮下投与によってでは達成されないことを予測する。

【図10】種々の用量の抗体18または抗体18Eの皮下投与後のRA患者の血漿中の遊離IL-6レベルの模擬実験。この模擬実験は、IL-6媒介性シグナル伝達の持続した少なくとも90%の阻害が、200mgの抗体18Eの単回負荷用量を皮下投与し、続いて、100mgの維持用量の抗体18Eを4週間ごとまたは8週間ごとに皮下投与することによって達成されることを予測する。この模擬実験は、IL-6媒介性シグナル伝達の持続した少なくとも90%の阻害が、100mgの抗体18を4週間ごとまたは8週間ごとに投与することによって達成され得ないことをさらに予測する。

【図11】マウスFCA尾部のモデルにおいて、46での熱に対する過敏症におけるmAb406の効果を示す。

【図12】マウスFCA尾部のモデルにおいて、機械的圧力に対する過敏症におけるmAb406の効果を示す。

【図13】マウスFCAの24時間モデルにおいて、熱に対する過敏症におけるmAb406の効果を示す。

【図14】マウスFCAの48時間モデルにおいて、熱に対する過敏症におけるmAb406の用量依存性効果を示す。

【図15】マウスFCAの24時間モデルにおいて、機械的圧力に対する過敏症におけるmAb406の用量依存性効果を示す。

【図16】マウスFCAの48時間モデルにおいて、機械的圧力に対する過敏症におけるmAb406の用量依存性効果を示す。

【図17】48時間でのマウスFCAの尾部モデルにおいて、熱に対する過敏症における小分子ナプロキセンの効果を示す。

【図18】48時間でのマウスFCAの尾部モデルにおいて、機械的圧力に対する過敏症における小分子ナプロキセンの効果を示す。

【発明を実施するための形態】

【0090】

本発明は、延長したインビボ半減期を有する抗IL-6抗体を作製するための方法に関する。本発明の方法を用いて、抗IL-6親抗体を修飾して、延長したインビボ半減期を有する抗IL-6抗体を作製し得る。ヒトIL-6抗原に特異的に結合する任意の抗IL-6抗体は、本発明の方法を実行する目的で、使用され得る。一実施形態において、PCT公開第WO2008/065378号に開示される抗IL-6抗体は、本発明の方法を実行する目的で、修飾または使用され得る。特定の実施形態において、抗体18(以下、

10

20

30

40

50

抗体 18 または Ab 18 ) として PCT 公開第 WO 2008 / 065378 号に表される抗 IL - 6 抗体は、本発明の方法を実行する目的で、修飾または使用され得る。

【 0091 】

本発明は、延長したインビボ半減期を有する抗 IL - 6 抗体を提供する。一実施形態において、本明細書中に記載の抗 IL - 6 抗体は、同一の変域ドメインおよび野生型定域ドメインを有する抗体の半減期よりも長い延長したインビボ半減期を有する。特定の実施形態において、本発明の抗 IL - 6 抗体は、抗体 18 の半減期よりも長い延長したインビボ半減期を有する。

【 0092 】

本発明は、延長したインビボ半減期を有する抗 IL - 6 抗体を提供する。一実施形態において、本発明の抗 IL - 6 抗体の半減期は、哺乳類において測定された半減期である。別の実施形態において、本発明の抗 IL - 6 抗体の半減期は、非ヒト霊長類（例えば、カニクイザルまたはマカク ( macaque ) ）であるが、これに限定されない）において測定された半減期である。さらなる実施形態において、本発明の抗 IL - 6 抗体の半減期は、ヒト対象において測定された半減期である。

10

【 0093 】

一実施形態において、本発明の抗 IL - 6 抗体の半減期は、同一の変域ドメインおよび野生型定域ドメインを有する抗体の半減期よりも少なくとも 2 倍、少なくとも 3 倍、少なくとも 4 倍、少なくとも 5 倍、少なくとも 10 倍、または少なくとも 20 倍長い。別の実施形態において、本発明の抗 IL - 6 抗体の半減期は、同一の変域ドメインおよび野生型定域ドメインを有する抗体の半減期よりも 2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、10 倍、または 20 倍長い。さらなる実施形態において、本発明の抗 IL - 6 抗体の半減期は、同一の変域ドメインおよび野生型定域ドメインを有する抗体の半減期よりも 2 倍 ~ 3 倍、2 倍 ~ 5 倍、2 倍 ~ 10 倍、3 倍 ~ 5 倍、または 3 倍 ~ 10 倍長い。

20

【 0094 】

一実施形態において、本発明の抗 IL - 6 抗体の半減期は、同一の変域ドメインおよび野生型定域ドメインを有する抗体の半減期よりも少なくとも約 2 倍、少なくとも約 3 倍、少なくとも約 4 倍、少なくとも約 5 倍、少なくとも約 10 倍、少なくとも約 20 倍長い。別の実施形態において、本発明の抗 IL - 6 抗体の半減期は、同一の変域ドメインおよび野生型定域ドメインを有する抗体の半減期よりも約 2 倍、約 3 倍、約 4 倍、約 5 倍、約 10 倍、または約 20 倍長い。さらなる実施形態において、本発明の抗 IL - 6 抗体の半減期は、同一の変域ドメインおよび野生型定域ドメインを有する抗体の半減期よりも約 2 倍 ~ 約 3 倍、約 2 倍 ~ 約 5 倍、約 2 倍 ~ 約 10 倍、約 3 倍 ~ 約 5 倍、または約 3 倍 ~ 約 10 倍長い。

30

【 0095 】

一実施形態において、本発明の抗 IL - 6 抗体の半減期は、少なくとも 10 日間、少なくとも 15 日間、少なくとも 20 日間、少なくとも 25 日間、少なくとも 26 日間、少なくとも 27 日間、少なくとも 28 日間、少なくとも 29 日間、少なくとも 30 日間、少なくとも 35 日間、少なくとも 40 日間、少なくとも 45 日間、または少なくとも 50 日間である。別の実施形態において、本発明の抗 IL - 6 抗体の半減期は、10 日間、15 日間、20 日間、25 日間、28 日間、29 日間、30 日間、35 日間、40 日間、45 日間、または 50 日間である。さらなる実施形態において、本発明の抗 IL - 6 抗体の半減期は、10 日間 ~ 20 日間、10 日間 ~ 30 日間、10 日間 ~ 40 日間、10 日間 ~ 50 日間、20 日間 ~ 30 日間、20 日間 ~ 40 日間、20 日間 ~ 50 日間、25 日間 ~ 30 日間、25 日間 ~ 40 日間、25 日間 ~ 50 日間、30 日間 ~ 40 日間、30 日間 ~ 50 日間、または 40 日間 ~ 50 日間である。

40

【 0096 】

一実施形態において、本発明の抗 IL - 6 抗体の半減期は、少なくとも約 10 日間、少なくとも約 15 日間、少なくとも約 20 日間、少なくとも約 25 日間、少なくとも約 26 日間、少なくとも約 27 日間、少なくとも約 28 日間、少なくとも約 29 日間、少なくと

50

も約30日間、少なくとも約35日間、少なくとも約40日間、少なくとも約45日間、または少なくとも約50日間である。別の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体の半減期は、約10日間、約15日間、約20日間、約25日間、約28日間、約29日間、約30日間、約35日間、約40日間、約45日間、または約50日間である。さらなる実施形態において、本発明の抗IL-6抗体の半減期は、約10日間～約20日間、約10日間～約30日間、約10日間～約40日間、約10日間～約50日間、約20日間～約30日間、約20日間～約40日間、約20日間～約50日間、約25日間～約30日間、約25日間～約40日間、約25日間～約50日間、約30日間～約40日間、約30日間～約50日間、または約40日間～約50日間である。

【0097】

本発明は、クリアランス率が低下している抗IL-6抗体をさらに提供する。本明細書中に使用される、クリアランスという用語は、薬物材料、すなわち、抗IL-6抗体が、単位時間当たり完全に除去される、血漿量を示すことが理解される。一実施形態において、本明細書中に記載の抗IL-6抗体は、親抗IL-6抗体のクリアランス率と比較して、クリアランス率が低下している。特定の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、抗体18のクリアランス率と比較して、クリアランス率が低下している。

【0098】

本発明は、クリアランス率が低下している抗IL-6抗体を提供する。一実施形態において、本発明の抗IL-6抗体のクリアランス率は、哺乳類において測定されたクリアランス率である。別の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体のクリアランス率は、非ヒト霊長類（例えば、カニクイザルまたはマカク（*macaque*））に限定されない）において測定されたクリアランス率である。さらなる実施形態において、本発明の抗IL-6抗体のクリアランス率は、ヒト対象において測定されたクリアランス率である。

【0099】

一実施形態において、本発明の抗IL-6抗体のクリアランス率は、同一的可変ドメインおよび野生型定常ドメインを有する抗体のクリアランス率よりも少なくとも2倍、少なくとも3倍、少なくとも4倍、少なくとも5倍、少なくとも10倍、または少なくとも20倍低い。別の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体のクリアランス率は、同一的可変ドメインおよび野生型定常ドメインを有する抗体のクリアランス率よりも2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、または20倍低い。さらなる実施形態において、本発明の抗IL-6抗体のクリアランス率は、同一的可変ドメインおよび野生型定常ドメインを有する抗体のクリアランス率よりも2倍～3倍、2倍～5倍、2倍～10倍、3倍～5倍、または3倍～10倍低い。

【0100】

一実施形態において、本発明の抗IL-6抗体のクリアランス率は、同一的可変ドメインおよび野生型定常ドメインを有する抗体のクリアランス率よりも少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約10倍、または少なくとも約20倍低い。別の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体のクリアランス率は、同一的可変ドメインおよび野生型定常ドメインを有する抗体のクリアランス率よりも約2倍、約3倍、約4倍、約5倍、約10倍、または約20倍低い。さらなる実施形態において、本発明の抗IL-6抗体のクリアランス率は、同一的可変ドメインおよび野生型定常ドメインを有する抗体のクリアランス率よりも約2倍～約3倍、約2倍～約5倍、約2倍～約10倍、約3倍～約5倍、または約3倍～約10倍低い。

【0101】

一実施形態において、本発明の抗IL-6抗体のクリアランス率は、最大で1 mL/kg/日、最大で2 mL/kg/日、最大で3 mL/kg/日、最大で4 mL/kg/日、最大で5 mL/kg/日、最大で7 mL/kg/日、最大で10 mL/kg/日、最大で15 mL/kg/日、または最大で20 mL/kg/日である。別の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体のクリアランス率は、1 mL/kg/日、2 mL/kg/日、3 mL/kg/日、4 mL/kg/日、5 mL/kg/日、7 mL/kg/日、10 mL/kg/日、

10

20

30

40

50

kg / 日、15 mL / kg / 日、または20 mL / kg / 日である。さらなる実施形態において、本発明の抗IL-6抗体のクリアランス率は、1 mL / kg / 日~2 mL / kg / 日、1 mL / kg / 日~3 mL / kg / 日、1 mL / kg / 日~5 mL / kg / 日、1 mL / kg / 日~10 mL / kg / 日、1 mL / kg / 日~15 mL / kg / 日、2 mL / kg / 日~5 mL / kg / 日、2 mL / kg / 日~10 mL / kg / 日、3 mL / kg / 日~5 mL / kg / 日、3 mL / kg / 日~10 mL / kg / 日、または5 mL / kg / 日~10 mL / kg / 日である。

**【0102】**

一実施形態において、本発明の抗IL-6抗体のクリアランス率は、最大で約1 mL / kg / 日、最大で約2 mL / kg / 日、最大で約3 mL / kg / 日、最大で約4 mL / kg / 日、最大で約5 mL / kg / 日、最大で約7 mL / kg / 日、最大で約10 mL / kg / 日、最大で約15 mL / kg / 日、または最大で約20 mL / kg / 日である。別の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体のクリアランス率は、約1 mL / kg / 日、約2 mL / kg / 日、約3 mL / kg / 日、約4 mL / kg / 日、約5 mL / kg / 日、約7 mL / kg / 日、約10 mL / kg / 日、約15 mL / kg / 日、または約20 mL / kg / 日である。さらなる実施形態において、本発明の抗IL-6抗体のクリアランス率は、約1 mL / kg / 日~約2 mL / kg / 日、約1 mL / kg / 日~約3 mL / kg / 日、約1 mL / kg / 日~約5 mL / kg / 日、約1 mL / kg / 日~約10 mL / kg / 日、約1 mL / kg / 日~約15 mL / kg / 日、約2 mL / kg / 日~約5 mL / kg / 日、約2 mL / kg / 日~約10 mL / kg / 日、約3 mL / kg / 日~約5 mL / kg / 日、約3 mL / kg / 日~約10 mL / kg / 日、または約5 mL / kg / 日~約10 mL / kg / 日である。

10

20

**【0103】**

一実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、変異型Fc領域を含む。別の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、Fcリガンドタンパク質に対する親和性を变化させた変異型Fc領域を含む。特定の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、FcRnに対する親和性を变化させた変異型Fc領域を含む。特定の実施形態において、FcRnは、マウス、ヒト、または霊長類（例えば、カニクイザル）FcRnタンパク質であり得る。

**【0104】**

一実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、Fcリガンドタンパク質に対する親和性が増加している変異型Fc領域を含む。特定の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、FcRnに対する親和性が増加している変異型Fc領域を含む。特定の実施形態において、FcRnは、マウス、ヒト、または霊長類（例えば、カニクイザル）FcRnタンパク質であり得る。

30

**【0105】**

一実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、Fcリガンドタンパク質に対する結合親和性がpH依存的な変異型Fc領域を含む。特定の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、FcRnに対するpH依存的な結合親和性を有する変異型Fc領域を含む。特定の実施形態において、FcRnは、マウス、ヒト、または霊長類（例えば、カニクイザル）FcRnタンパク質であり得る。

40

**【0106】**

一実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、野生型ヒトIgG定常ドメインと比べて1つ以上のアミノ酸置換を有するヒトIgG定常ドメインを含む。様々な実施形態において、該ヒトIgG定常ドメインは、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4定常ドメインであり得る。特定の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、野生型ヒトIgG1定常ドメインと比べて1つ以上のアミノ酸置換を有するヒトIgG1定常ドメインを含む。

**【0107】**

一実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、M252Y、M252F、M252

50

W、M252T、S254T、T256S、T256R、T256Q、T256E、T256D、T256T、L309P、Q311S、H433R、H433K、H433S、H433I、H433P、H433Q、N434H、N434F、N434Y、およびN436Hからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有するヒトIgG定常ドメインを含み、アミノ酸残基は、カバットのEUインデックスに従って番号付けされる。別の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、M252Y、S254T、T256E、H433K、N434F、およびN436Hからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有するヒトIgG定常ドメインを含み、アミノ酸残基は、カバットのEUインデックスに従って番号付けされる。別の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、M252Y、S254T、およびT256Eからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有するヒトIgG定常ドメインを含み、アミノ酸残基は、カバットのEUインデックスに従って番号付けされる。特定の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、M252Y、S254T、およびT256Eのアミノ酸置換を含むヒトIgG定常ドメインを含み、アミノ酸残基は、カバットのEUインデックスに従って番号付けされる。様々な実施形態において、該ヒトIgG定常ドメインは、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4定常ドメインであり得る。特定の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、M252Y、S254T、およびT256Eのアミノ酸置換を含むヒトIgG1定常ドメインを含み、アミノ酸残基は、カバットのEUインデックスに従って番号付けされる。

10

20

**【0108】**

一実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、抗体18の1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つ全てのCDRを含む（PCT公開第WO2008/065378号を参照のこと）。

**【0109】**

カバットに従って定義された抗体18の重鎖可変領域のCDR1、CDR2、およびCDR3に対するアミノ酸配列は、それぞれ、配列番号1、配列番号2、および配列番号3として特定される。カバットに従って定義された抗体18の軽鎖可変領域のCDR1、CDR2、およびCDR3に対するアミノ酸配列は、それぞれ、配列番号4、配列番号5、および配列番号6として特定される。

30

**【0110】**

カバットの番号付けは、国立衛生研究所（National Institutes of Health）、技術情報局（National Technical Information Service）による3巻セットとして刊行される、Kabataら（1991）Sequences of Proteins of Immunological Interest, Publication No. 91-3242の影響の大きい研究に基づいている（以下、「カバット」）。カバットは、多種多様な抗体アイソタイプからの免疫グロブリン鎖の多重配列アラインメントを提供する。整列された配列は、単一のナンバリングシステム、すなわちカバットナンバリングシステムに従って、番号付けされる。カバット配列は、1991年の刊行以来更新されてきており、電子配列データベースとして利用可能である（最新ダウンロード可能なバージョン1997）。いかなる免疫グロブリン配列も、カバット参照配列を用いてアラインメントを行うことによってカバットに従って番号付けすることができる。したがって、カバットナンバリングシステムは、免疫グロブリン鎖を番号付けするための統一システムを提供する。特に示されない限り、本明細書中に記載の全ての免疫グロブリンアミノ酸配列は、カバットナンバリングシステムに従って番号付けされる。同様に、本明細書中に言及される全ての単一のアミノ酸の位置は、カバットナンバリングシステムに従って番号付けされる。

40

**【0111】**

ある実施形態において、本明細書中に記載の抗IL-6抗体は、配列番号1、配列番号2、および配列番号3からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する少なくとも1つのCDRを含む、重鎖可変領域のVHを含み得る。ある実施形態において、本発明の抗IL

50

- 6抗体は、配列番号7のアミノ酸配列を有するVHドメインを含み得る。

【0112】

ある実施形態において、本明細書中に記載の抗IL-6抗体は、配列番号4、配列番号5、および配列番号6からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する少なくとも1つのCDRを含む、軽鎖可変領域のVLを含み得る。ある実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、配列番号8のアミノ酸配列を有するVLドメインを含み得る。

【0113】

一実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、配列番号8のアミノ酸配列を有するVLドメインを含み、配列番号7のアミノ酸配列を有するVHドメインをさらに含む。

【0114】

本発明は、ヒトIL-6に結合する抗体を包含し、これには、ヒトIL-6に結合し得る本明細書中に記載のVHドメイン、VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VLドメイン、VL CDR1、VL CDR2、またはVL CDR3の誘導体を含む。当業者に公知の標準的技術を使用して、例えば、アミノ酸置換を生成するために通常使用される部位指定突然変異誘発およびPCR介在性突然変異誘発を含む、抗体をコードするヌクレオチド配列において、突然変異（例えば、付加、欠失、および/または置換）を導入することができる。一実施形態において、このVHおよび/またはVL CDR誘導体は、抗体18の抗IL-6抗体の元のVHおよび/またはVL CDRと比べて、25個未満のアミノ酸置換、20個未満のアミノ酸置換、15個未満のアミノ酸置換、10個未満のアミノ酸置換、5個未満のアミノ酸置換、4個未満のアミノ酸置換、3個未満のアミノ酸置換、2個未満のアミノ酸置換、または1個未満のアミノ酸置換を含み得る。別の実施形態において、このVHおよび/またはVL CDR誘導体は、1つ以上の予測される非必須アミノ酸残基（すなわち、抗体がヒトIL-6に特異的に結合するのに重要ではないアミノ酸残基）においてなされる保存的アミノ酸置換（例えば、上記を参照）を有し得る。また、飽和突然変異誘発等によってVHおよび/またはVL CDRコード配列の全てまたは一部に沿って突然変異をランダムに導入することもでき、得られる突然変異を生物学的活性についてスクリーニングして、活性を保つ突然変異を特定することができる。突然変異誘発後、コードされた抗体を発現させることができ、抗体の活性を決定することができる。

【0115】

本発明は、ヒトIL-6に結合する抗体をさらに包含し、該抗体または抗体断片は、1つ以上のCDRを含み、該CDRは、抗体18の1つ以上のCDRのアミノ酸配列に少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%同一のアミノ酸配列を含む。2つのアミノ酸配列の同一性パーセントは、BLASTタンパク質検索が挙げられるが、これに限定されない、当業者に公知の任意の方法によって決定することができる。

【0116】

本発明は、ヒトIL-6に結合する抗体をさらに包含し、該抗体または抗体断片は、VHおよび/またはVLドメインを含み、該VHおよび/またはVLドメインは、抗体18のVHおよび/またはVLドメインのアミノ酸配列に少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%同一のアミノ酸配列を含む。2つのアミノ酸配列の同一性パーセントは、BLASTタンパク質検索が挙げられるが、これに限定されない、当業者に公知の任意の方法によって決定することができる。

【0117】

一実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、抗体18の親和性と同等の親和性を有するヒトIL-6に結合し得る。

【0118】

一実施形態において、本発明の抗 I L - 6 抗体は、抗体 1 8 と同一の I L - 6 のエピトープに特異的に結合する。

【 0 1 1 9 】

一実施形態において、抗 I L - 6 抗体は、I L - 6 結合に対して抗体 1 8 と特異的に競合する。競合アッセイは、例えば、E L I S A アッセイまたはラジオイムノアッセイに限定されない、当該技術分野において公知の任意の結合アッセイを用いて、行われ得る。

【 0 1 2 0 】

本発明は、延長したインビボ半減期を有する抗 I L - 6 抗体をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドをさらに提供する。本発明はまた、本明細書中に定義される、厳密な、または低い厳密性ハイブリダイゼーション条件下で、延長したインビボ半減期を有する抗 I L - 6 抗体をコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチドも包含する。

10

【 0 1 2 1 】

一実施形態において、本明細書中に記載の延長したインビボ半減期を有する抗 I L 6 抗体をコードする本発明のポリヌクレオチドは、最適化されたポリヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態において、本明細書中に記載の抗 I L - 6 抗体の V H ドメインをコードする本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 1 1 のヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態において、本明細書中に記載の抗 I L - 6 抗体の V L ドメインの本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 1 2 のヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態において、本明細書中に記載の抗 I L - 6 抗体の重鎖をコードする本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 1 3 のヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態において、本明細書中に記載の抗 I L - 6 抗体の軽鎖の本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 1 4 のヌクレオチド配列を含む。

20

【 0 1 2 2 】

本発明の別の実施形態は、延長したインビボ半減期を有する抗 I L - 6 抗体をコードする 1 つ以上のヌクレオチド配列を含むベクターである。

【 0 1 2 3 】

一実施形態において、本発明のベクターは、延長したインビボ半減期を有する抗 I L - 6 抗体をコードする 1 つ以上のヌクレオチド配列を含み、このヌクレオチド配列は、最適化されたヌクレオチド配列である。特定の実施形態において、本発明のベクターは、配列番号 1 1 ~ 1 4 のヌクレオチド配列のうちのいずれか 1 つを含む。さらなる特定の実施形態において、本発明のベクターは、延長したインビボ半減期を有する抗 I L - 6 抗体をコードする 1 つ以上のヌクレオチド配列を含み、このヌクレオチド配列は、配列番号 1 1 ~ 1 4 を含む群から選択される。

30

【 0 1 2 4 】

本発明は、さらに、ベクターを含む単離細胞に関し、該ベクターは、延長したインビボ半減期を有する抗 I L - 6 抗体をコードする 1 つ以上のヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態において、本発明の単離細胞は、配列番号 1 1 ~ 1 4 からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを含む。

【 0 1 2 5 】

本発明の抗 I L - 6 抗体は、I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 ヒトアイソタイプの抗体を含む。

40

【 0 1 2 6 】

本発明は、さらに、配列番号 1 ~ 1 0 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つを含む抗 I L - 6 抗体を含む薬学的組成物に関する。

【 0 1 2 7 】

本明細書中に記載の抗 I L - 6 抗体は、ヒト I L - 6 抗原に対して高い結合親和性を有し得る。例えば、本明細書中に記載の抗体は、少なくとも  $2 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも  $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも  $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも  $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも  $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも  $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、または少なくとも  $10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  の会合速度定数または  $k_{on}$  速度 (抗体 (A b) + 抗

50



原 ( A g ) k<sub>o n</sub> A b - A g ) を有し得る。

【 0 1 2 8 】

別の実施形態において、抗 I L - 6 抗体は、 $5 \times 10^{-1} s^{-1}$  未満、 $10^{-1} s^{-1}$  未満、 $5 \times 10^{-2} s^{-1}$  未満、 $10^{-2} s^{-1}$  未満、 $5 \times 10^{-3} s^{-1}$  未満、 $10^{-3} s^{-1}$  未満、 $5 \times 10^{-4} s^{-1}$  未満、または  $10^{-4} s^{-1}$  未満の k<sub>o f f</sub> 速度 ( ( A b - A g ) k<sub>o f f</sub> 抗体 ( A b ) + 抗原 ( A g ) ) を有し得る。別の実施形態において、本発明の抗体は、 $5 \times 10^{-5} s^{-1}$  未満、 $10^{-5} s^{-1}$  未満、 $5 \times 10^{-6} s^{-1}$  未満、 $10^{-6} s^{-1}$  未満、 $5 \times 10^{-7} s^{-1}$  未満、 $10^{-7} s^{-1}$  未満、 $5 \times 10^{-8} s^{-1}$  未満、 $10^{-8} s^{-1}$  未満、 $5 \times 10^{-9} s^{-1}$  未満、 $10^{-9} s^{-1}$  未満、または  $10^{-10} s^{-1}$  未満の k<sub>o f f</sub> を有する。

10

【 0 1 2 9 】

別の実施形態において、抗 I L - 6 抗体は、少なくとも  $10^2 M^{-1}$ 、少なくとも  $5 \times 10^2 M^{-1}$ 、少なくとも  $10^3 M^{-1}$ 、少なくとも  $5 \times 10^3 M^{-1}$ 、少なくとも  $10^4 M^{-1}$ 、少なくとも  $5 \times 10^4 M^{-1}$ 、少なくとも  $10^5 M^{-1}$ 、少なくとも  $5 \times 10^5 M^{-1}$ 、少なくとも  $10^6 M^{-1}$ 、少なくとも  $5 \times 10^6 M^{-1}$ 、少なくとも  $10^7 M^{-1}$ 、少なくとも  $5 \times 10^7 M^{-1}$ 、少なくとも  $10^8 M^{-1}$ 、少なくとも  $5 \times 10^8 M^{-1}$ 、少なくとも  $10^9 M^{-1}$ 、少なくとも  $5 \times 10^9 M^{-1}$ 、少なくとも  $10^{10} M^{-1}$ 、少なくとも  $5 \times 10^{10} M^{-1}$ 、少なくとも  $10^{11} M^{-1}$ 、少なくとも  $5 \times 10^{11} M^{-1}$ 、少なくとも  $10^{12} M^{-1}$ 、少なくとも  $5 \times 10^{12} M^{-1}$ 、少なくとも  $10^{13} M^{-1}$ 、少なくとも  $5 \times 10^{13} M^{-1}$ 、少なくとも  $10^{14} M^{-1}$ 、少なくとも  $5 \times 10^{14} M^{-1}$ 、少なくとも  $10^{15} M^{-1}$ 、または少なくとも  $5 \times 10^{15} M^{-1}$  の親和定数または K<sub>a</sub> ( k<sub>o n</sub> / k<sub>o f f</sub> ) を有し得る。なお別の実施形態において、抗 I L - 6 抗体は、 $5 \times 10^{-2} M$  未満、 $10^{-2} M$  未満、 $5 \times 10^{-3} M$  未満、 $10^{-3} M$  未満、 $5 \times 10^{-4} M$  未満、 $10^{-4} M$  未満、 $5 \times 10^{-5} M$  未満、 $10^{-5} M$  未満、 $5 \times 10^{-6} M$  未満、 $10^{-6} M$  未満、 $5 \times 10^{-7} M$  未満、 $10^{-7} M$  未満、 $5 \times 10^{-8} M$  未満、 $10^{-8} M$  未満、 $5 \times 10^{-9} M$  未満、 $10^{-9} M$  未満、 $5 \times 10^{-10} M$  未満、 $10^{-10} M$  未満、 $5 \times 10^{-11} M$  未満、 $10^{-11} M$  未満、 $5 \times 10^{-12} M$  未満、 $10^{-12} M$  未満、 $5 \times 10^{-13} M$  未満、 $10^{-13} M$  未満、 $5 \times 10^{-14} M$  未満、 $10^{-14} M$  未満、 $5 \times 10^{-15} M$  未満、または  $10^{-15} M$  未満の解離定数または K<sub>d</sub> ( k<sub>o f f</sub> / k<sub>o n</sub> ) を有し得る。

20

30

【 0 1 3 0 】

本明細書中に記載の方法に従って使用される抗体は、I L - 6 に免疫特異的に結合し得、本明細書中に記載の方法、または当業者に公知の方法 ( 例えば、B I A c o r e アッセイ、E L I S A ) ( B i a c o r e I n t e r n a t i o n a l A B , U p p s a l a , S w e d e n ) を用いて評価して、 $3000 pM$  未満、 $2500 pM$  未満、 $2000 pM$  未満、 $1500 pM$  未満、 $1000 pM$  未満、 $750 pM$  未満、 $500 pM$  未満、 $250 pM$  未満、 $200 pM$  未満、 $150 pM$  未満、 $100 pM$  未満、 $75 pM$  未満の解離定数 ( K<sub>d</sub> ) を有し得る。特定の実施形態において、本明細書中に記載の方法に従って使用される抗体は、ヒト I L - 6 抗原に免疫特異的に結合し得、本明細書中に記載の方法または当業者に公知の方法 ( 例えば、B I A c o r e アッセイ、E L I S A ) を用いて評価して、 $25 \sim 3400 pM$ 、 $25 \sim 3000 pM$ 、 $25 \sim 2500 pM$ 、 $25 \sim 2000 pM$ 、 $25 \sim 1500 pM$ 、 $25 \sim 1000 pM$ 、 $25 \sim 750 pM$ 、 $25 \sim 500 pM$ 、 $25 \sim 250 pM$ 、 $25 \sim 100 pM$ 、 $25 \sim 75 pM$ 、 $25 \sim 50 pM$  の解離定数 ( K<sub>d</sub> ) を有し得る。別の実施形態において、本明細書中に記載の方法に従って使用される抗体は、I L - 6 に免疫特異的に結合し得、本明細書中に記載の方法または当業者に公知の方法 ( 例えば、B I A c o r e アッセイ、E L I S A ) を用いて評価して、 $500 pM$ 、 $100 pM$ 、 $75 pM$ 、または  $50 pM$  の解離定数 ( K<sub>d</sub> ) を有し得る。

40

【 0 1 3 1 】

本発明は、延長したインピボ半減期を有する抗 I L - 6 抗体をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドをさらに提供する。本発明はまた、例えば、本明細書中に定

50

義される、厳密な、または低い厳密性ハイブリダイゼーション条件下で、延長したインピボ半減期を有する抗IL-6抗体をコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチドも包含する。

【0132】

厳密なハイブリダイゼーション条件としては、6倍塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム(SSC)中、約45でフィルター結合DNAにハイブリダイゼーション、続いて、0.2倍SSC/0.1% SDS中、約50~65で1回以上の洗浄、6倍SSC中、約45でフィルター結合DNAにハイブリダイゼーション、続いて、0.1倍SSC/0.2% SDS中、約60で1回以上の洗浄等の高度に厳密な条件、または当業者に公知の任意の他の厳密なハイブリダイゼーション条件が挙げられるが、これらに限定されない(例えば、Ausubel, F.M. et al., eds. 1989 Current Protocols in Molecular Biology, vol. 1, Green Publishing Associates, Inc. and John Wiley and Sons, Inc., NY at pages 6.3.1 to 6.3.6 and 2.10.3を参照のこと)。

10

【0133】

当該技術分野において公知の任意の方法によって、ポリヌクレオチドを取得し、ポリヌクレオチドのヌクレオチド配列を決定し得る。例えば、抗体のヌクレオチド配列が公知である場合、抗体をコードするポリヌクレオチドは、化学的に合成されたオリゴヌクレオチドから組み立てられ得(例えば、Kutmeier et al., BioTechniques 17:242(1994)に記載されるような)、これには、簡潔に言えば、抗体をコードする配列の一部を含む重複オリゴヌクレオチドの合成、これらのオリゴヌクレオチドをアニーリングし、連結すること、およびそれに続くPCRによって連結したオリゴヌクレオチドの増幅を含む。

20

【0134】

抗体をコードするポリヌクレオチドはまた、好適な源からの核酸から生成され得る。特定の抗体をコードする核酸を含むクローンが入手できないが、抗体分子の配列がわかっている場合、配列の3'および5'末端にハイブリダイズ可能な合成プライマーを用いたPCR増幅によって、または例えば、抗体をコードするcDNAライブラリーからのcDNAクローンを特定するために特定の遺伝子配列に特異的なオリゴヌクレオチドプローブを用いてクローニングすることによって、免疫グロブリンをコードする核酸を、好適な源(例えば、抗体を発現するために選択されたハイブリドーマ細胞等の抗体を発現する任意の細胞または組織から生成されたcDNAライブラリーまたは抗体cDNAライブラリー、またはそれから単離された核酸、好ましくはポリA<sup>+</sup>RNA)から得るか、または化学合成することができる。次いで、PCRによって生成した増幅核酸は、当該技術分野において公知の任意の方法を用いて、複製可能なクローニングベクターにクローン化され得る。

30

【0135】

IL-6は、多くの疾患および状態に関連付けられている。この疾患および状態としては、炎症、疼痛、および癌が挙げられるが、これらに限定されない。本明細書中に記載の本発明の抗IL-6抗体は、好ましくは、例えば、IL-6を中和し、体内のIL-6レベルを低下させ、IL-6のシグナル伝達を拮抗することができる。したがって、本発明の抗IL-6抗体は、好ましくは、これらの状態および疾患を治療するための薬物としての役割を果たすことができる。

40

【0136】

本発明は、さらに、長期間、対象における、IL-6活性を効果的に中和する抗体を提供する。作用の特定の機構に拘束されるものではないが、本発明の抗IL-6抗体は、IL-6に結合することによってIL-6を中和し、それによって、IL-6が、IL-6媒介性シグナル変換に必要なタンパク質相互作用に参与することを妨げ得る。一実施形態において、本発明の抗体は、遊離(すなわち、抗IL-6抗体によって結合されない)IL-6の血漿濃度を低下させることができる。生体液(例えば、血漿)中の遊離IL-6

50

レベルは、例えば、Papadopoulos et al, Journal of Clinical Laboratory Analysis 9:234-37 (1995)に記載のバイオアッセイに限定されない、定量的バイオアッセイを用いて、決定され得る。簡潔に言えば、バイオアッセイは、特定のハイブリドーマ細胞（例えば、B9ハイブリドーマ細胞）のIL-6によって誘発される増殖を測定する。遊離IL-6の濃度はまた、サンドイッチイムノアッセイによっても判定され得る。簡潔に言えば、血清中の遊離IL-6は、抗IL-6捕捉抗体によって捕捉される。この捕捉抗体は、抗体18Eおよび可溶性IL-6受容体の不在下でのみ、IL-6に結合する。この捕捉されたIL-6は、捕捉抗体と競合しない、ルテニウムあるいはHRPのいずれかで標識される、検出抗体によって検出される。測定される電気化学発光または比色シグナルは、血清中の遊離IL-6の濃度に比例する。血清中の遊離IL-6の濃度は、標準曲線に基づいて算出される。

10

20

30

40

50

**【0137】**

一実施形態において、本発明の抗体は、遊離（すなわち、抗IL-6抗体によって結合されない）IL-6の血清濃度を低下させることができる。有効量の本発明の抗IL-6抗体の投与は、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の遊離IL-6の血清濃度の低下を達成し得る。有効量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの本明細書中に記載の抗IL-6抗体を含み得る。遊離IL-6レベルの低下は、少なくとも約1日間、少なくとも約2日間、少なくとも約3日間、少なくとも約4日間、少なくとも約5日間、少なくとも約6日間、少なくとも約7日間、少なくとも約10日間、少なくとも約15日間、または少なくとも約20日間持続し得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

**【0138】**

別の実施形態において、1を超える用量の本発明の抗IL-6抗体の投与は、持続した少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の遊離IL-6の血清濃度の低下を達成し得る。一実施形態において、1を超える用量のそれぞれは、同量の抗IL-6抗体を含む。有効量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの本明細書中に記載の抗IL-6抗体を含み得る。別の実施形態において、初期負荷用量の後に、その後の維持用量が続く。初期負荷用量は、この維持用量よりも2倍、3倍、4倍、5倍、または10倍以上の抗IL-6抗体を含み得る。一実施形態において、投与量を分ける時間間隔は、一定である。抗IL-6抗体の用量は、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、4週間に1回、8週間に1回、または12週間に1回投与され得る。特定の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体の50mgの用量の4週間ごとの投与は、遊離IL-6の血清濃度の持続した少なくとも約90%の低下を達成する。特定の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体の100mgの用量の8週間ごとの投与は、遊離IL-6の血清濃度の持続した少なくとも約90%の低下を達成する。特定の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体の200mgの用量の12週間ごとの投与は、遊離IL-6の血清濃度の持続した少なくとも約90%の低下を達成する。抗IL-6抗体は、例えば、皮下または静脈注射であるが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法によって投与され得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

**【0139】**

一実施形態において、本発明の抗体は、対象における、血清IL-6を中和することができる。有効量の本発明の抗IL-6抗体の投与は、少なくとも約20%、少なくとも約

30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の血清IL-6の中和を達成し得る。有効量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの本明細書中に記載の抗IL-6抗体を含み得る。血清IL-6の中和は、少なくとも約1日間、少なくとも約2日間、少なくとも約3日間、少なくとも約4日間、少なくとも約5日間、少なくとも約6日間、少なくとも約7日間、少なくとも約10日間、少なくとも約15日間、または少なくとも約20日間持続し得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

10

**【0140】**

別の実施形態において、1を超える用量の本発明の抗IL-6抗体の投与は、持続した少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の血清IL-6の中和を達成し得る。一実施形態において、1を超える用量のそれぞれは、同量の抗IL-6抗体を含む。有効量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの本明細書中に記載の抗IL-6抗体を含み得る。別の実施形態において、初期負荷用量の後に、その後の維持用量が続く。初期負荷用量は、この維持用量よりも2倍、3倍、4倍、5倍、または10倍以上の抗IL-6抗体を含み得る。一実施形態において、投与量を分ける時間間隔は、一定である。抗IL-6抗体の用量が、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、4週間に1回、8週間に1回、または12週間に1回投与され得る。特定の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体の50mgの用量の4週間ごとの投与は、血清IL-6の持続した少なくとも約90%の中和を達成する。特定の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体の100mgの用量の8週間ごとの投与は、血清IL-6の持続した少なくとも約90%の中和を達成する。特定の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体の200mgの用量の12週間ごとの投与は、血清IL-6の持続した少なくとも約90%の中和を達成する。抗IL-6抗体は、例えば、皮下または静脈注射であるが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法によって投与され得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

20

30

**【0141】**

一実施形態において、本発明の抗体は、対象における、IL-6媒介性シグナル伝達を阻害することができる。有効量の本発明の抗IL-6抗体の投与は、対象における、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%のIL-6媒介性シグナル伝達の阻害を達成し得る。有効量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの本明細書中に記載の抗IL-6抗体を含み得る。対象における、IL-6媒介性シグナル伝達の阻害は、少なくとも約1日間、少なくとも約2日間、少なくとも約3日間、少なくとも約4日間、少なくとも約5日間、少なくとも約6日間、少なくとも約7日間、少なくとも約10日間、少なくとも約15日間、または少なくとも約20日間持続し得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

40

**【0142】**

別の実施形態において、1を超える用量の本発明の抗IL-6抗体の投与は、対象における、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも

50

も約100%のIL-6媒介性シグナル伝達の阻害を達成し得る。一実施形態において、1を超える用量のそれぞれは、同量の抗IL-6抗体を含む。有効量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの本明細書中に記載の抗IL-6抗体を含み得る。別の実施形態において、初期負荷用量の後に、その後の維持用量が続く。初期負荷用量は、この維持用量よりも2倍、3倍、4倍、5倍、または10倍以上の抗IL-6抗体を含み得る。一実施形態において、投与量を分ける時間間隔は、一定である。抗IL-6抗体の用量は、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、4週間に1回、8週間に1回、または12週間に1回投与され得る。特定の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体の50mgの用量の4週間ごとの投与は、対象における、持続した少なくとも90%のIL-6媒介性シグナル伝達の阻害を達成する。特定の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体の100mgの用量の8週間ごとの投与は、対象における、持続した少なくとも90%のIL-6媒介性シグナル伝達の阻害を達成する。特定の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体の200mgの用量の12週間ごとの投与は、対象における、持続した少なくとも90%のIL-6媒介性シグナル伝達の阻害を達成する。抗IL-6抗体は、例えば、皮下または静脈注射であるが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法によって投与され得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

10

#### 【0143】

一実施形態において、本発明の抗体は、対象における、滑膜細胞増殖を低下させることができる。有効量の本発明の抗IL-6抗体の投与は、対象における、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の滑膜細胞増殖の低下を達成し得る。有効量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの本明細書中に記載の抗IL-6抗体を含み得る。対象における、滑膜細胞増殖の低下は、少なくとも約1日間、少なくとも約2日間、少なくとも約3日間、少なくとも約4日間、少なくとも約5日間、少なくとも約6日間、少なくとも約7日間、少なくとも約10日間、少なくとも約15日間、または少なくとも約20日間持続し得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

20

30

#### 【0144】

別の実施形態において、1を超える用量の本発明の抗IL-6抗体の投与は、対象における、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の滑膜細胞増殖の低下を達成し得る。一実施形態において、1を超える用量のそれぞれは、同量の抗IL-6抗体を含む。有効量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの本明細書中に記載の抗IL-6抗体を含み得る。別の実施形態において、初期負荷用量の後に、その後の維持用量が続く。初期負荷用量は、この維持用量よりも2倍、3倍、4倍、5倍、または10倍以上の抗IL-6抗体を含み得る。一実施形態において、投与量を分ける時間間隔は、一定である。抗IL-6抗体の用量は、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、4週間に1回、8週間に1回、または12週間に1回投与され得る。特定の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体の50mgの用量の4週間ごとの投与は、対象における、持続した少なくとも90%の滑膜細胞増殖の低下を達成する。特定の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体の100mgの用量の8週間ごとの投与は、対象における、持続した少なくとも90%の滑膜細胞増殖の低下を達成する。特定の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体の200mgの用量の12週間ごとの投与は、対象における、持続した少なくとも90%の滑膜細胞

40

50

胞増殖の低下を達成する。抗IL-6抗体は、例えば、皮下または静脈注射であるが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法によって投与され得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

【0145】

一実施形態において、本発明の抗体は、対象における、滑膜炎を軽減させることができる。有効量の本発明の抗IL-6抗体の投与は、対象における、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の滑膜炎の軽減を達成し得る。有効量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの本明細書中に記載の抗IL-6抗体を含み得る。対象における、滑膜炎の軽減は、少なくとも約1日間、少なくとも約2日間、少なくとも約3日間、少なくとも約4日間、少なくとも約5日間、少なくとも約6日間、少なくとも約7日間、少なくとも約10日間、少なくとも約15日間、または少なくとも約20日間持続し得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

10

【0146】

別の実施形態において、1を超える用量の本発明の抗IL-6抗体の投与は、対象における、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の滑膜炎の軽減を達成し得る。一実施形態において、1を超える用量のそれぞれは、同量の抗IL-6抗体を含む。有効量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの本明細書中に記載の抗IL-6抗体を含み得る。別の実施形態において、初期負荷用量の後に、その後の維持用量が続く。初期負荷用量は、この維持用量よりも2倍、3倍、4倍、5倍、または10倍以上の抗IL-6抗体を含み得る。一実施形態において、投与量を分ける時間間隔は、一定である。抗IL-6抗体の用量は、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、4週間に1回、8週間に1回、または12週間に1回投与され得る。特定の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体の50mgの用量の4週間ごとの投与は、対象における、持続した少なくとも90%の滑膜炎の軽減を達成する。特定の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体の100mgの用量の8週間ごとの投与は、対象における、持続した少なくとも90%の滑膜炎の軽減を達成する。特定の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体の200mgの用量の12週間ごとの投与は、対象における、持続した少なくとも90%の滑膜炎の軽減を達成する。抗IL-6抗体は、例えば、皮下または静脈注射であるが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法によって投与され得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

20

30

【0147】

本発明は、対象における、遊離IL-6の血清濃度を低下させ、対象における、血清IL-6を中和し、対象における、IL-6を中和し、対象における、IL-6媒介性シグナル伝達を阻害し、対象における、滑膜細胞増殖を低下させ、対象における、滑膜炎を軽減するための方法をさらに提供する。

40

【0148】

一実施形態において、対象における、遊離IL-6（すなわち、抗IL-6抗体によって結合されない）の血清濃度を低下させる方法は、有効量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。有効量の抗IL-6抗体の投与は、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の遊離IL

50

- 6の血清濃度の低下を達成し得る。有効量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの本明細書中に記載の抗IL-6抗体を含み得る。遊離IL-6レベルの低下は、少なくとも約1日間、少なくとも約2日間、少なくとも約3日間、少なくとも約4日間、少なくとも約5日間、少なくとも約6日間、少なくとも約7日間、少なくとも約10日間、少なくとも約15日間、または少なくとも約20日間持続し得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。特定の実施形態において、対象における、遊離IL-6の血清濃度を少なくとも約90%低下させる方法は、有効量の1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含み、少なくとも約90%の遊離IL-6の血清濃度の低下は、少なくとも約1日間、少なくとも約2日間、少なくとも約3日間、少なくとも約4日間、少なくとも約5日間、少なくとも約6日間、少なくとも約7日間、少なくとも約10日間、少なくとも約15日間、または少なくとも約20日間持続する。

10

20

30

40

50

**【0149】**

一実施形態において、対象における、遊離IL-6の血清濃度を低下させる方法は、1を超える用量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。1を超える用量の抗IL-6抗体の投与は、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の遊離IL-6の血清濃度を低下させ得る。一実施形態において、対象における、遊離IL-6の血清濃度の低下を維持する方法は、1を超える用量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。1を超える用量の抗IL-6抗体の投与は、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の遊離IL-6の血清濃度の低下を維持し得る。一実施形態において、対象における、持続した遊離IL-6の血清濃度の低下を達成する方法は、1を超える用量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。1を超える用量の抗IL-6抗体の投与は、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の持続した遊離IL-6の血清濃度の低下を達成し得る。一実施形態において、1を超える用量のそれぞれは、同量の抗IL-6抗体を含む。単回量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの本明細書中に記載の抗IL-6抗体を含み得る。別の実施形態において、初期負荷用量の後に、その後の維持用量が続く。初期負荷用量は、この維持用量よりも2倍、3倍、4倍、5倍、または10倍以上の抗IL-6抗体を含み得る。一実施形態において、投与量を分ける時間間隔は、一定である。抗IL-6抗体の用量は、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、4週間に1回、8週間に1回、または12週間に1回投与され得る。抗IL-6抗体は、例えば、皮下または静脈注射であるが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法によって投与され得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

**【0150】**

特定の実施形態において、対象における、遊離IL-6の血清濃度を少なくとも約90%低下させる方法は、50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、遊離IL-6の血清濃度を少なくとも約90%低下させる方法は、100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、遊離IL-6の血清濃度を少なくとも約90

%低下させる方法は、200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の遊離IL-6の血清濃度の低下を維持する方法は、50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の遊離IL-6の血清濃度の低下を維持する方法は、100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の遊離IL-6の血清濃度の低下を維持する方法は、200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%の遊離IL-6の血清濃度の低下を達成する方法は、50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%の遊離IL-6の血清濃度の低下を達成する方法は、100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%の遊離IL-6の血清濃度の低下を達成する方法は、200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することを含む。抗IL-6抗体は、例えば、皮下または静脈注射であるが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法によって投与され得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

10

20

30

40

50

**【0151】**

特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の遊離IL-6の血清濃度を低下させる方法は、(a)100mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の遊離IL-6の血清濃度を低下させる方法は、(a)200mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の遊離IL-6の血清濃度を低下させる方法は、(a)400mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の遊離IL-6の血清濃度の低下を維持する方法は、(a)100mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の遊離IL-6の血清濃度の低下を維持する方法は、(a)200mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の遊離IL-6の血清濃度の低下を維持する方法は、(a)400mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%の遊離IL-6の血清濃度の低下を達成する方法は、(a)100mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%の遊離IL-6の血清濃度の低下を達成する方法は、(a)200mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%の遊離IL-6の血清濃度の低下を達成する方法は、(a)400mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することと、を含む。抗IL-6抗体は、例えば、皮下または静脈注射であるが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法によって投与され得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

**【0152】**

一実施形態において、対象における、血清IL-6を中和する方法は、有効量の延長し



た半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。有効量の抗IL-6抗体の投与は、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の血清IL-6の中和を達成し得る。有効量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの本明細書中に記載の抗IL-6抗体を含み得る。血清IL-6の中和は、少なくとも約1日間、少なくとも約2日間、少なくとも約3日間、少なくとも約4日間、少なくとも約5日間、少なくとも約6日間、少なくとも約7日間、少なくとも約10日間、少なくとも約15日間、または少なくとも約20日間持続し得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。特定の実施形態において、対象における、少なくとも約90%の血清IL-6を中和する方法は、有効量の1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含み、血清IL-6の少なくとも約90%の中和は、少なくとも約1日間、少なくとも約2日間、少なくとも約3日間、少なくとも約4日間、少なくとも約5日間、少なくとも約6日間、少なくとも約7日間、少なくとも約10日間、少なくとも約15日間、または少なくとも約20日間持続する。

10

20

30

40

50

**【0153】**

一実施形態において、対象における、血清IL-6を中和する方法は、1を超える用量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。1を超える用量の抗IL-6抗体の投与は、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の血清IL-6の中和を達成し得る。一実施形態において、対象における、血清IL-6の中和を維持する方法は、1を超える用量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。1を超える用量の抗IL-6抗体の投与は、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の血清IL-6の中和を維持し得る。一実施形態において、対象における、持続した血清IL-6の中和を達成する方法は、1を超える用量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。1を超える用量の抗IL-6抗体の投与は、持続した少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の血清IL-6の中和を達成し得る。一実施形態において、1を超える用量のそれぞれは、同量の抗IL-6抗体を含む。単回量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの本明細書中に記載の抗IL-6抗体を含み得る。別の実施形態において、初期負荷用量の後に、その後の維持用量が続く。初期負荷用量は、この維持用量よりも2倍、3倍、4倍、5倍、または10倍以上の抗IL-6抗体を含み得る。一実施形態において、投与量を分ける時間間隔は、一定である。抗IL-6抗体の用量は、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、4週間に1回、8週間に1回、または12週間に1回投与され得る。抗IL-6抗体は、例えば、皮下または静脈注射であるが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法によって投与され得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

**【0154】**

特定の実施形態において、対象における、少なくとも約90%の血清IL-6を中和する方法は、50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することを含む。特定の

実施形態において、対象における、少なくとも約90%の血清IL-6を中和する方法は、100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも約90%の血清IL-6を中和する方法は、200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の血清IL-6の中和を維持する方法は、50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の血清IL-6の中和を維持する方法は、100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の血清IL-6の中和を維持する方法は、200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%の血清IL-6の中和を達成する方法は、50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%の血清IL-6の中和を達成する方法は、100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%の血清IL-6の中和を達成する方法は、200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することを含む。抗IL-6抗体は、例えば、皮下または静脈注射であるが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法によって投与され得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

10

20

**【0155】**

特定の実施形態において、対象における、少なくとも約90%の血清IL-6を中和する方法は、(a)100mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも約90%の血清IL-6を中和する方法は、(a)200mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも約90%の血清IL-6を中和する方法は、(a)400mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の血清IL-6の中和を維持する方法は、(a)100mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の血清IL-6の中和を維持する方法は、(a)200mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の血清IL-6の中和を維持する方法は、(a)400mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%の血清IL-6の中和を達成する方法は、(a)100mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%の血清IL-6の中和を達成する方法は、(a)200mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%の血清IL-6の中和を達成する方法は、(a)400mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することと、を含む。抗IL-6抗体は、例えば、皮下または静脈注射であるが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法によって投与され得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

30

40

**【0156】**

一実施形態において、対象における、IL-6を中和する方法は、有効量の延長した半

50

減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。有効量の抗IL-6抗体の投与は、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%のIL-6の中和を達成し得る。有効量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの本明細書中に記載の抗IL-6抗体を含み得る。IL-6の中和は、少なくとも約1日間、少なくとも約2日間、少なくとも約3日間、少なくとも約4日間、少なくとも約5日間、少なくとも約6日間、少なくとも約7日間、少なくとも約10日間、少なくとも約15日間、または少なくとも約20日間持続し得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。特定の実施形態において、対象における、少なくとも約90%のIL-6を中和する方法は、有効量の1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含み、IL-6の少なくとも約90%の中和は、少なくとも約1日間、少なくとも約2日間、少なくとも約3日間、少なくとも約4日間、少なくとも約5日間、少なくとも約6日間、少なくとも約7日間、少なくとも約10日間、少なくとも約15日間、または少なくとも約20日間持続する。

10

**【0157】**

一実施形態において、対象における、IL-6を中和する方法は、1を超える用量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。1を超える用量の抗IL-6抗体の投与は、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%のIL-6の中和を達成し得る。一実施形態において、対象における、IL-6の中和を維持する方法は、1を超える用量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。1を超える用量の抗IL-6抗体の投与は、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%のIL-6の中和を維持し得る。一実施形態において、対象における、持続したIL-6の中和を達成する方法は、1を超える用量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。1を超える用量の抗IL-6抗体の投与は、持続した少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%のIL-6の中和を達成し得る。一実施形態において、1を超える用量のそれぞれは、同量の抗IL-6抗体を含む。単回量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの本明細書中に記載の抗IL-6抗体を含み得る。別の実施形態において、初期負荷用量の後に、その後の維持用量が続く。初期負荷用量は、この維持用量よりも2倍、3倍、4倍、5倍、または10倍以上の抗IL-6抗体を含み得る。一実施形態において、投与量を分ける時間間隔は、一定である。抗IL-6抗体の用量は、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、4週間に1回、8週間に1回、または12週間に1回投与され得る。抗IL-6抗体は、例えば、皮下または静脈注射であるが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法によって投与され得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

20

30

40

**【0158】**

特定の実施形態において、対象における、少なくとも約90%のIL-6を中和する方法は、50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することを含む。特定の実施

50

形態において、対象における、少なくとも約90%のIL-6を中和する方法は、100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも約90%のIL-6を中和する方法は、200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも約90%のIL-6の中和を維持する方法は、50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも約90%のIL-6の中和を維持する方法は、100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%のIL-6の中和を達成する方法は、50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%のIL-6の中和を達成する方法は、100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%のIL-6の中和を達成する方法は、200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することを含む。抗IL-6抗体は、例えば、皮下または静脈注射であるが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法によって投与され得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

**【0159】**

特定の実施形態において、対象における、少なくとも約90%のIL-6を中和する方法は、(a)100mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも約90%のIL-6を中和する方法は、(a)200mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも約90%のIL-6を中和する方法は、(a)400mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、IL-6の少なくとも90%の中和を維持する方法は、(a)100mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%のIL-6の中和を維持する方法は、(a)200mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%のIL-6の中和を維持する方法は、(a)400mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%のIL-6の中和を達成する方法は、(a)100mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%のIL-6の中和を達成する方法は、(a)200mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%のIL-6の中和を達成する方法は、(a)400mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することと、を含む。抗IL-6抗体は、例えば、皮下または静脈注射であるが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法によって投与され得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

**【0160】**

一実施形態において、対象における、IL-6媒介性シグナル伝達を阻害する方法は、有効量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。有効量の抗IL

- 6 抗体の投与は、少なくとも約 20%、少なくとも約 30%、少なくとも約 40%、少なくとも約 50%、少なくとも約 60%、少なくとも約 70%、少なくとも約 80%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 97%、少なくとも約 99%、または少なくとも約 100% の IL-6 媒介性シグナル伝達の阻害を達成し得る。有効量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または 500mg の本明細書中に記載の抗 IL-6 抗体を含み得る。IL-6 媒介性シグナル伝達の阻害は、少なくとも約 1 日間、少なくとも約 2 日間、少なくとも約 3 日間、少なくとも約 4 日間、少なくとも約 5 日間、少なくとも約 6 日間、少なくとも約 7 日間、少なくとも約 10 日間、少なくとも約 15 日間、または少なくとも約 20 日間持続し得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。特定の実施形態において、対象における、少なくとも約 90% の IL-6 媒介性シグナル伝達を阻害する方法は、有効量の 1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または 500mg の延長した半減期を有する抗 IL-6 抗体を投与することを含み、少なくとも約 90% の IL-6 媒介性シグナル伝達の阻害は、少なくとも約 1 日間、少なくとも約 2 日間、少なくとも約 3 日間、少なくとも約 4 日間、少なくとも約 5 日間、少なくとも約 6 日間、少なくとも約 7 日間、少なくとも約 10 日間、少なくとも約 15 日間、または少なくとも約 20 日間持続する。

10

20

30

40

50

**【0161】**

一実施形態において、対象における、IL-6 媒介性シグナル伝達を阻害する方法は、1 を超える用量の延長した半減期を有する抗 IL-6 抗体を投与することを含む。1 を超える用量の抗 IL-6 抗体の投与は、少なくとも約 20%、少なくとも約 30%、少なくとも約 40%、少なくとも約 50%、少なくとも約 60%、少なくとも約 70%、少なくとも約 80%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 97%、少なくとも約 99%、または少なくとも約 100% の IL-6 媒介性シグナル伝達の阻害を達成し得る。一実施形態において、対象における、IL-6 媒介性シグナル伝達の阻害を維持する方法は、1 を超える用量の延長した半減期を有する抗 IL-6 抗体を投与することを含む。1 を超える用量の抗 IL-6 抗体の投与は、少なくとも約 20%、少なくとも約 30%、少なくとも約 40%、少なくとも約 50%、少なくとも約 60%、少なくとも約 70%、少なくとも約 80%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 97%、少なくとも約 99%、または少なくとも約 100% の IL-6 媒介性シグナル伝達の阻害を達成し得る。一実施形態において、対象における、IL-6 媒介性シグナル伝達の持続した阻害を達成する方法は、1 を超える用量の延長した半減期を有する抗 IL-6 抗体を投与することを含む。1 を超える用量の抗 IL-6 抗体の投与は、持続した少なくとも約 20%、少なくとも約 30%、少なくとも約 40%、少なくとも約 50%、少なくとも約 60%、少なくとも約 70%、少なくとも約 80%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 97%、少なくとも約 99%、または少なくとも約 100% の IL-6 媒介性シグナル伝達の阻害を達成し得る。一実施形態において、1 を超える用量のそれぞれは、同量の抗 IL-6 抗体を含む。単回量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または 500mg の本明細書中に記載の抗 IL-6 抗体を含み得る。別の実施形態において、初期負荷用量の後に、その後の維持用量が続く。初期負荷用量は、この維持用量よりも 2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、または 10 倍以上の抗 IL-6 抗体を含み得る。一実施形態において、投与量を分ける時間間隔は、一定である。抗 IL-6 抗体の用量は、1 週間に 1 回、2 週間に 1 回、3 週間に 1 回、4 週間に 1 回、8 週間に 1 回、または 12 週間に 1 回投与され得る。抗 IL-6 抗体は、例えば、皮下または静脈注射であるが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法によって投与され得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

**【0162】**

特定の実施形態において、対象における、少なくとも約 90% の IL-6 媒介性シグナ

ル伝達を阻害する方法は、50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも約90%のIL-6媒介性シグナル伝達を阻害する方法は、100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも約90%のIL-6媒介性シグナル伝達を阻害する方法は、200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%のIL-6媒介性シグナル伝達の阻害を維持する方法は、50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%のIL-6媒介性シグナル伝達の阻害を維持する方法は、100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%のIL-6媒介性シグナル伝達の阻害を維持する方法は、200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%のIL-6媒介性シグナル伝達の阻害を達成する方法は、50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%のIL-6媒介性シグナル伝達の阻害を達成する方法は、100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%のIL-6媒介性シグナル伝達の阻害を達成する方法は、200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することを含む。抗IL-6抗体は、例えば、皮下または静脈注射であるが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法によって投与され得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

10

20

**【0163】**

特定の実施形態において、対象における、少なくとも約90%のIL-6媒介性シグナル伝達を阻害する方法は、(a)100mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも約90%のIL-6媒介性シグナル伝達を阻害する方法は、(a)200mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも約90%のIL-6媒介性シグナル伝達を阻害する方法は、(a)400mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%のIL-6媒介性シグナル伝達の阻害を維持する方法は、(a)100mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%のIL-6媒介性シグナル伝達の阻害を維持する方法は、(a)200mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%のIL-6媒介性シグナル伝達の阻害を維持する方法は、(a)400mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%のIL-6媒介性シグナル伝達の阻害を達成する方法は、(a)100mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%のIL-6媒介性シグナル伝達の阻害を達成する方法は、(a)200mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%のIL-6媒介性シグナル伝達の阻害を達成する方法は、(a)400mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することと、を含む。抗IL-6抗体は、例えば、皮下または静脈注射であ

30

40

50

るが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法によって投与され得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

【0164】

一実施形態において、対象における、滑膜細胞増殖を低下させる方法は、有効量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。有効量の抗IL-6抗体の投与は、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の滑膜細胞増殖の低下を達成し得る。有効量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの本明細書中に記載の抗IL-6抗体を含み得る。滑膜細胞増殖の低下は、少なくとも約1日間、少なくとも約2日間、少なくとも約3日間、少なくとも約4日間、少なくとも約5日間、少なくとも約6日間、少なくとも約7日間、少なくとも約10日間、少なくとも約15日間、または少なくとも約20日間持続し得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。特定の実施形態において、対象における、滑膜細胞増殖を少なくとも約90%低下させる方法は、有効量の1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含み、少なくとも90%の滑膜細胞増殖の低下は、少なくとも約1日間、少なくとも約2日間、少なくとも約3日間、少なくとも約4日間、少なくとも約5日間、少なくとも約6日間、少なくとも約7日間、少なくとも約10日間、少なくとも約15日間、または少なくとも約20日間持続する。

10

20

【0165】

一実施形態において、対象における、滑膜細胞増殖を低下させる方法は、1を超える用量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。1を超える用量の抗IL-6抗体の投与は、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の滑膜細胞増殖の低下を達成し得る。一実施形態において、対象における、滑膜細胞増殖の低下を維持する方法は、1を超える用量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。1を超える用量の抗IL-6抗体の投与は、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の滑膜細胞増殖の低下を維持し得る。一実施形態において、対象における、持続した滑膜細胞増殖の低下を達成する方法は、1を超える用量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。1を超える用量の抗IL-6抗体の投与は、持続した少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の滑膜細胞増殖の低下を達成し得る。一実施形態において、1を超える用量のそれぞれは、同量の抗IL-6抗体を含む。単回量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの本明細書中に記載の抗IL-6抗体を含み得る。別の実施形態において、初期負荷用量の後に、その後の維持用量が続く。負荷用量は、この維持用量よりも2倍、3倍、4倍、5倍、または10倍以上の抗IL-6抗体を含み得る。一実施形態において、投与量を分ける時間間隔は、一定である。抗IL-6抗体の用量は、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、4週間に1回、8週間に1回、または12週間に1回投与され得る。抗IL-6抗体は、例えば、皮下または静脈注射であるが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法によって投与され得

30

40

50

る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

【0166】

特定の実施形態において、対象における、滑膜細胞増殖を少なくとも約90%低下させる方法は、50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、滑膜細胞増殖を少なくとも約90%低下させる方法は、100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、滑膜細胞増殖を少なくとも約90%低下させる方法は、200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の滑膜細胞増殖の低下を維持する方法は、50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の滑膜細胞増殖の低下を維持する方法は、100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の滑膜細胞増殖の低下を維持する方法は、200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%の滑膜細胞増殖の低下を達成する方法は、50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%の滑膜細胞増殖の低下を達成する方法は、100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%の滑膜細胞増殖の低下を達成する方法は、200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することを含む。抗IL-6抗体は、例えば、皮下または静脈注射であるが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法によって投与され得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

10

20

【0167】

特定の実施形態において、対象における、滑膜細胞増殖を少なくとも約90%低下させる方法は、(a)100mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、滑膜細胞増殖を少なくとも約90%低下させる方法は、(a)200mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、滑膜細胞増殖を少なくとも約90%低下させる方法は、(a)400mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の滑膜細胞増殖の低下を維持する方法は、(a)100mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の滑膜細胞増殖の低下を維持する方法は、(a)200mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の滑膜細胞増殖の低下を維持する方法は、(a)400mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%の滑膜細胞増殖の低下を達成する方法は、(a)100mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%の滑膜細胞増殖の低下を達成する方法は、(a)200mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%の滑膜細胞増殖の低下を達成する方法は、(a)400mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することと、を含む。抗IL-6抗体

30

40

50



は、例えば、皮下または静脈注射であるが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法によって投与され得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

【0168】

一実施形態において、対象における、滑膜炎を軽減させる方法は、有効量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。有効量の抗IL-6抗体の投与は、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の滑膜炎の軽減を達成し得る。有効量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの本明細書中に記載の抗IL-6抗体を含み得る。滑膜炎の軽減は、少なくとも約1日間、少なくとも約2日間、少なくとも約3日間、少なくとも約4日間、少なくとも約5日間、少なくとも約6日間、少なくとも約7日間、少なくとも約10日間、少なくとも約15日間、または少なくとも約20日間持続し得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。特定の実施形態において、対象における、滑膜炎を少なくとも約90%軽減させる方法は、有効量の1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含み、少なくとも約90%の滑膜炎の軽減は、少なくとも約1日間、少なくとも約2日間、少なくとも約3日間、少なくとも約4日間、少なくとも約5日間、少なくとも約6日間、少なくとも約7日間、少なくとも約10日間、少なくとも約15日間、または少なくとも約20日間持続する。

10

20

【0169】

一実施形態において、対象における、滑膜炎を軽減させる方法は、1を超える用量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。1を超える用量の抗IL-6抗体の投与は、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の滑膜炎の軽減を達成し得る。一実施形態において、対象における、滑膜炎の軽減を維持する方法は、1を超える用量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。1を超える用量の抗IL-6抗体の投与は、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の滑膜炎の軽減を維持し得る。一実施形態において、対象における、持続した滑膜炎の軽減を達成する方法は、1を超える用量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。1を超える用量の抗IL-6抗体の投与は、持続した少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の滑膜炎の低下を達成し得る。一実施形態において、1を超える用量のそれぞれは、同量の抗IL-6抗体を含む。単回量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの本明細書中に記載の抗IL-6抗体を含み得る。別の実施形態において、初期負荷用量の後に、その後の維持用量が続く。初期負荷用量は、この維持用量よりも2倍、3倍、4倍、5倍、または10倍以上の抗IL-6抗体を含み得る。一実施形態において、投与量を分ける時間間隔は、一定である。抗IL-6抗体の用量は、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、4週間に1回、8週間に1回、または12週間に1回投与され得る。抗IL-6抗体は、例えば、皮下または静脈注射であるが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法によって投与され得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長

30

40

50

類であり得る。

【0170】

特定の実施形態において、対象における、滑膜炎を少なくとも約90%軽減させる方法は、50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、滑膜炎を少なくとも約90%軽減させる方法は、100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、滑膜炎を少なくとも約90%軽減させる方法は、200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の滑膜炎の軽減を維持する方法は、50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の滑膜炎の軽減を維持する方法は、100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の滑膜炎の軽減を維持する方法は、200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%の滑膜炎の軽減を達成する方法は、50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%の滑膜炎の軽減を達成する方法は、100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することを含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%の滑膜炎の軽減を達成する方法は、200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することを含む。抗IL-6抗体は、例えば、皮下または静脈注射であるが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法によって投与され得る。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類であり得る。

10

20

【0171】

特定の実施形態において、対象における、滑膜炎を少なくとも約90%軽減させる方法は、(a)100mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、滑膜炎を少なくとも約90%軽減させる方法は、(a)200mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、滑膜炎を少なくとも約90%軽減させる方法は、(a)400mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の滑膜炎の軽減を維持する方法は、(a)100mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の滑膜炎の軽減を維持する方法は、(a)200mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、少なくとも90%の滑膜炎の軽減を維持する方法は、(a)400mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%の滑膜炎の軽減を達成する方法は、(a)100mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%の滑膜炎の軽減を達成する方法は、(a)200mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することと、を含む。特定の実施形態において、対象における、持続した少なくとも90%の滑膜炎の軽減を達成する方法は、(a)400mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することと、を含む。抗IL-6抗体は、例えば、皮下または静脈注射であるが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法によって投与され得る。対象は、ヒトまた

30

40

50

は非ヒト霊長類であり得る。

【0172】

本発明のさらなる態様は、本発明の結合性メンバーを含む組成物、ならびにIL-6を結合する、阻害する、および/または中和する方法におけるそれらの使用を提供し、これには、療法によるヒトまたは動物の体を治療する方法が含まれる。

【0173】

本発明による結合性メンバーは、ヒトまたは動物の体における（例えば、ヒト患者における）、疾患または障害を治療する方法（予防のための治療を含み得る）等の治療または診断の方法に使用され得、これには、有効量の本発明の結合性メンバーを該患者に投与することを含む。本発明に従って治療可能な状態は、本明細書中の他の箇所で詳細に論じられる、IL-6が役割を果たすいずれをも含む。

10

【0174】

一実施形態において、治療を必要とするヒトを治療する方法は、治療有効量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。一実施形態において、ヒトにおける、リウマチ性関節炎、若年性慢性関節炎、全身性発症若年性関節炎、血清反応陰性脊椎関節症（強直性脊椎炎、乾癬性関節炎、およびライター病を含む）、乾癬、またはSLEを治療する方法は、治療有効量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。特定の実施形態において、ヒトにおける、リウマチ性関節炎を治療する方法は、治療有効量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。特定の実施形態において、ヒトにおける、炎症性腸疾患またはSLEを治療する方法は、治療有効量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。一実施形態において、治療有効量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの本明細書中に記載の抗IL-6抗体を含み得る。一実施形態において、治療有効量は、約0.1~5mg/kg、約0.1~2mg/kg、約0.1~1mg/kg、約0.3~2mg/kg、約0.3~1mg/kg、約0.5~2mg/kg、または約0.5~1mg/kgの抗IL-6抗体を含み得る。別の実施形態において、治療有効量は、約20~500mg、約20~200mg、約20~100mg、約50~500mg、約50~200mg、または約50~100mgの抗IL-6抗体を含み得る。抗IL-6抗体は、例えば、皮下または静脈注射であるが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法を用いて、投与され得る。特定の実施形態において、ヒトにおける、リウマチ性関節炎、炎症性腸疾患、またはSLEを治療する方法は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。特定の実施形態において、ヒトにおける、リウマチ性関節炎、炎症性腸疾患、またはSLEを治療する方法は、約0.1~5mg/kg、約0.1~2mg/kg、約0.1~1mg/kg、約0.3~2mg/kg、約0.3~1mg/kg、約0.5~2mg/kg、または約0.5~1mg/kgの延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。特定の実施形態において、ヒトにおける、リウマチ性関節炎、炎症性腸疾患、またはSLEを治療する方法は、約20~500mg、約20~200mg、約20~100mg、約50~500mg、約50~200mg、または約50~100mgの延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。

20

30

40

【0175】

一実施形態において、治療を必要とするヒトを治療する方法は、1を超える用量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。一実施形態において、ヒトにおける、リウマチ性関節炎、若年性慢性関節炎、全身性発症若年性関節炎、血清反応陰性脊椎関節症（強直性脊椎炎、乾癬性関節炎、およびライター病を含む）、乾癬、またはSLEを治療する方法は、1を超える用量の延長した半減期を有する抗IL-6抗体を投与することを含む。特定の実施形態において、ヒトにおける、リウマチ性関節炎、炎症性腸疾患、またはSLEを治療する方法は、1を超える用量の延長した半減期を有する抗IL

50

- 6抗体を投与することを含む。一実施形態において、1を超える用量のそれぞれは、同量の抗IL-6抗体を含む。一実施形態において、単回量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの本明細書中に記載の抗IL-6抗体を含み得る。一実施形態において、単回量は、約0.1~5mg/kg、約0.1~2mg/kg、約0.1~1mg/kg、約0.3~2mg/kg、約0.3~1mg/kg、約0.5~2mg/kg、または約0.5~1mg/kgの抗IL-6抗体を含み得る。別の実施形態において、単回量は、約20~500mg、約20~200mg、約20~100mg、約50~500mg、約50~200mg、または約50~100mgの抗IL-6抗体を含み得る。一実施形態において、1を超える用量のそれぞれは、同量の抗IL-6抗体を含む。一実施形態において、初期負荷用量の後に、その後の維持用量が続く。一実施形態において、初期負荷用量は、この維持用量よりも2倍、3倍、4倍、5倍、または10倍以上の抗IL-6抗体を含み得る。一実施形態において、負荷用量は、1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、400mg、または500mgの本明細書中に記載の抗IL-6抗体を含み得る。一実施形態において、負荷用量は、約0.1~5mg/kg、約0.1~2mg/kg、約0.1~1mg/kg、約0.3~2mg/kg、約0.3~1mg/kg、約0.5~2mg/kg、または約0.5~1mg/kgの抗IL-6抗体を含み得る。別の実施形態において、負荷用量は、約20~500mg、約20~200mg、約20~100mg、約50~500mg、約50~200mg、または約50~100mgの抗IL-6抗体を含み得る。一実施形態において、用量の投与を分割する時間間隔は、一定である。抗IL-6抗体の用量は、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、4週間に1回、8週間に1回、12週間に1回、16週間に1回、または6ヶ月に1回投与され得る。抗IL-6抗体は、例えば、皮下または静脈注射であるが、それに限定されない、当該技術分野において公知の任意の方法を用いて、投与され得る。

#### 【0176】

一実施形態において、治療を必要とするヒトを治療する方法は、50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することを含む。一実施形態において、治療を必要とするヒトを治療する方法は、100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することを含む。一実施形態において、治療を必要とするヒトを治療する方法は、200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することを含む。一実施形態において、治療を必要とするヒトを治療する方法は、(a)負荷用量の100mgの抗IL-6抗体を投与することと、(b)50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することと、を含む。一実施形態において、治療を必要とするヒトを治療する方法は、(a)200mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することと、を含む。一実施形態において、治療を必要とするヒトを治療する方法は、(a)400mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、(b)200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することと、を含む。

#### 【0177】

一実施形態において、リウマチ性関節炎、若年性慢性関節炎、全身性発症若年性関節炎、血清反応陰性脊椎関節症(強直性脊椎炎、乾癬性関節炎、およびライター病を含む)、乾癬、またはSLEを治療する方法は、50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することを含む。一実施形態において、リウマチ性関節炎、若年性慢性関節炎、全身性発症若年性関節炎、血清反応陰性脊椎関節症(強直性脊椎炎、乾癬性関節炎、およびライター病を含む)、乾癬、またはSLEを治療する方法は、100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することを含む。一実施形態において、リウマチ性関節炎、若年性慢性関節炎、全身性発症若年性関節炎、血清反応陰性脊椎関節症(強直性脊椎炎、乾癬性関節炎、およびライター病を含む)、乾癬、またはSLEを治療する方法は、200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することを含む。一実施形態において、リウマチ性関節炎、若年性慢性関節炎、全身性発症若年性関節炎、血清反応陰性脊椎関

10

20

30

40

50

節症（強直性脊椎炎、乾癬性関節炎、およびライター病を含む）、乾癬、またはSLEを治療する方法は、（a）100mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、（b）50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することと、を含む。一実施形態において、リウマチ性関節炎、若年性慢性関節炎、全身性発症若年性関節炎、血清反応陰性脊椎関節症（強直性脊椎炎、乾癬性関節炎、およびライター病を含む）、乾癬、またはSLEを治療する方法は、（a）200mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、（b）100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することと、を含む。一実施形態において、リウマチ性関節炎、若年性慢性関節炎、全身性発症若年性関節炎、血清反応陰性脊椎関節症（強直性脊椎炎、乾癬性関節炎、およびライター病を含む）、乾癬、またはSLEを治療する方法は、（a）400mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、（b）200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することと、を含む。

10

## 【0178】

一実施形態において、ヒトにおける、リウマチ性関節炎、炎症性腸疾患、またはSLEを治療する方法は、50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することを含む。一実施形態において、ヒトにおける、リウマチ性関節炎、炎症性腸疾患、またはSLEを治療する方法は、100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することを含む。一実施形態において、ヒトにおける、リウマチ性関節炎、炎症性腸疾患、またはSLEを治療する方法は、200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することを含む。一実施形態において、ヒトにおける、リウマチ性関節炎、炎症性腸疾患、またはSLEを治療する方法は、（a）100mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、（b）50mgの用量の抗IL-6抗体を4週間ごとに投与することと、を含む。一実施形態において、ヒトにおける、リウマチ性関節炎、炎症性腸疾患、またはSLEを治療する方法は、（a）200mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、（b）100mgの用量の抗IL-6抗体を8週間ごとに投与することと、を含む。一実施形態において、ヒトにおける、リウマチ性関節炎、炎症性腸疾患、またはSLEを治療する方法は、（a）400mgの負荷用量の抗IL-6抗体を投与することと、（b）200mgの用量の抗IL-6抗体を12週間ごとに投与することと、を含む。

20

## 【0179】

抗IL-6抗体

本発明による結合性メンバーは、高い効力でIL-6を中和することを示している。中和とは、IL-6の生物学的活性の阻害を意味する。本発明の結合性メンバーは、IL-6の1つ以上の活性を中和し得る。阻害される生物学的活性は、一般的に、1つ以上のその結合パートナーに対するIL-6の結合である。例えば、阻害される生物学的活性は、膜貫通および/または可溶性IL-6Rに対するIL-6の結合であり得る。このことは、ここで簡潔に記載され、以下でさらに詳細に記載される、以下のアッセイにおいて実証されている：TF-1アッセイは、TF-1細胞が、可溶性IL-6Raを産生しないと思われるために、本発明による結合性メンバーが膜IL-6Raに対するIL-6の結合を阻害することを示す。したがって、本発明の結合性メンバーは、膜受容体に対するIL-6の結合を阻害する。滑膜線維芽細胞アッセイにおいて、それが機能するためにsIL-6Raをこのアッセイに加える必要があることから、本発明による結合性メンバーは、可溶性IL-6Raに対するIL-6の結合を阻害する。添加したIL-1ベータにより内因性IL-6の産生が誘発され、該IL-6は、本発明の結合性メンバーによって阻害されると、VEGF産生を妨げる。

30

40

## 【0180】

本発明に従って、IL-6Rに対するヒトまたは非ヒト霊長類の、例えば、カニクイザルのIL-6の結合を阻害し得、例えば、結合性メンバーは、IL-6Rに対する成熟ヒトIL-6の結合を阻害し得る。

## 【0181】

生物学的活性の阻害は、部分的または完全であり得る。結合性メンバーは、IL-6の

50

生物学的活性を、結合性メンバーの不在下での活性の100%、または少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも85%、少なくとも80%、少なくとも75%、少なくとも70%、少なくとも60%、または少なくとも50%阻害し得る。

【0182】

結合性メンバーの中和効力が決定され得る。特に記述がない限り、効力は、通常 $IC_{50}$ 値としてnM単位で表記される。機能的アッセイでは、 $IC_{50}$ は、生物学的応答をその最大応答の50%低下させる結合性メンバーの濃度である。リガンド結合研究では、 $IC_{50}$ は、リガンド-受容体複合体の形成を最大特異的結合レベルを50%低下させる濃度である。 $IC_{50}$ は、最大生物学的応答の%を結合性メンバー濃度の対数の関数としてプロットし、かつPrism(GraphPad)またはOrigin(Origin Labs)等のソフトウェアプログラムを使用してシグモイド関数をデータにフィッティングし、 $IC_{50}$ 値を得ることによって算出され得る。効力は、当業者に公知のおよび/または本明細書中に記載のもしくは本明細書中で言及される1つ以上のアッセイを使用して決定または測定され得る。

10

【0183】

本明細書中に記載のアッセイ、例えば、TF-1増殖アッセイまたは下記の他の細胞ベースのアッセイでの結合性メンバーによるIL-6活性の中和は、結合性メンバーがIL-6に結合し、中和することを示す。結合性メンバーのIL-6への結合を決定するために使用され得る他の方法には、ELISA、ウエスタンブロット法、免疫沈降、アフィニティークロマトグラフィー、および生化学アッセイが含まれる。

20

【0184】

本明細書中に記載の結合性メンバーは、内因性ヒトIL-6に結合し、かつその生物学的効果を中和することが実証され、本明細書中の実施例1.7および2.7で報告される、内因性ヒトIL-6に応答したヒト滑膜線維芽細胞からのVEGF放出の阻害についてのアッセイで示される通りである。このアッセイでは、リウマチ性関節炎患者由来の滑膜線維芽細胞が、IL-1 および可溶性IL-6R での刺激に応答してIL-6を産生し、IL-6誘発性のVEGF分泌を生じる。ゆえに、ヒト滑膜線維芽細胞によって産生されたIL-6は、内因性ヒトIL-6を示す。内因性IL-6は、ヒトにおける医療処置の分子標的であるから、内因性IL-6の中和は、該結合性メンバーの治療能力の重要な指標である。該アッセイは、リウマチ性関節炎患者から得られた滑膜線維芽細胞を用いて行われたため、その結果は、リウマチ性関節炎を治療するための結合性メンバーの使用に特に関連する。VEGF放出アッセイで試験した最適化抗体分子の中和効力は、既知の抗IL-6抗体CNTO-328の効力に勝るものであった。

30

【0185】

本発明による結合性メンバーは、0.6pM ヒトIL-1 および2.4nM 可溶性ヒトIL-6R で刺激されたヒト滑膜線維芽細胞からのVEGF放出の阻害についてのアッセイにおいて、50nM未満、例えば、5nM未満、例えば、1nM未満の $IC_{50}$ を有し得る。

【0186】

内因性IL-6は、グリコシル化および非グリコシル化形態の混合物であることが知られている。本発明の結合性メンバーの内因性IL-6への結合は、このアッセイでは、ヒト滑膜線維芽細胞由来のIL-6、すなわち内因性IL-6を利用するため、滑膜線維芽細胞アッセイで実証されている。

40

【0187】

本発明の結合性メンバーは、IL-6によって誘発されるTF-1細胞の増殖を阻害し得る。TF-1は、赤白血病に罹患する患者から確立されたヒト前骨髄(premyeloid)細胞株である(Kitamura et al 1989)。TF-1細胞株は、生存および増殖に成長因子の存在を必要とする。TF-1細胞が応答できる個々の成長因子には、IL-6、GM-CSF、およびオンコスタチンMが含まれる。本発明の結合性メンバーは、20pM ヒトIL-6に応答したTF-1細胞の増殖の阻害に関するア

50

ッセイにおいて、100 nM未満、例えば、20 nM未満、10 nM、または1 nM、例えば、100 pM、70 pM、50 pM、40 pM、30 pM、20 pM、または10 pM未満のIC<sub>50</sub>を有し得る。本明細書中に記載の(実施例1.5を参照のこと)、親IgG「CAN022D10」は、TF-1増殖アッセイにおいて、約93 nMのIC<sub>50</sub>を有することが示され、その後、発明者らは、実質的に増加した効力(概して、100 pM未満のIC<sub>50</sub>)を有するCAN022D10の最適化変異体を作製し、このことは、実施例2.2、2.5、および2.6(それぞれ、表3、4、および5)に示される通りである。特に、最適化クローンの幾つか、例えば、生殖細胞系列化IgG抗体7、抗体17、および抗体18に関するIC<sub>50</sub>値は、5 pM以下程度の低い値であることが測定され、これは、これらの抗体の極めて高い中和効力を示した。

10

【0188】

本発明の結合性メンバーは、IL-6によって誘発されるB9細胞の増殖を阻害し得る。B9細胞は、IL-6に対するその特異的応答に基づいて選択されたマウスB細胞ハイブリドーマ細胞株B13.29のサブクローンである。B9細胞は、生存および増殖にIL-6を必要とし、非常に低濃度のIL-6に応答する。したがって、IL-6抗体の存在下で、これらの細胞の増殖を評価し、該抗体の親和性を決定することができる。本明細書中の実施例2.10は、抗体18がIL-6に応答したB9細胞の増殖を阻害し、このアッセイにおいて高親和性を示したことを示す。

【0189】

リウマチ性関節炎での自己抗体産生は、ほとんどがIgMクラスのものである。SKW6.4は、クローン性IgM分泌ヒトリンパ芽球様B細胞株である。IL-6で刺激されると、これらの細胞は、IgMを分泌し、ゆえにこのアッセイは、リウマチ性関節炎に対して適切であると理解された。SKW6.4細胞をアッセイにおいて使用し、IL-6に応答したIgM分泌の阻害を決定することによって、IL-6の中和についての結合性メンバーの効力を決定することができる。本発明の結合性メンバーは、100 pM ヒトIL-6に応答したIgM分泌の阻害についてのSKW6.4細胞アッセイにおいて、10 pM未満、例えば、5 pM未満のIC<sub>50</sub>を有し得る。抗体18は、このアッセイでIL-6の作用を中和することが示された(実施例2.11(表9)を参照のこと)。

20

【0190】

本発明は、ヒトIL-6に対する高親和性結合性メンバーを提供する。カニクイザル由来のIL-6に対する高親和性も実証された。本発明の結合性メンバーは、1 nM以下、例えば、100 pM、50 pM、30 pM、または10 pM以下のK<sub>D</sub>でヒトIL-6および/またはカニクイザルIL-6に結合し得る。該K<sub>D</sub>は、表面プラズモン共鳴、例えば、BIAcore(登録商標)によって決定され得る。親和性のBIAcore(登録商標)測定については、本明細書中の実施例2.9に記載されている。注目すべきほどに、抗体7および18の親和性は、BIAcore(登録商標)機器を使用して測定可能な限界を超えることが見出され、これは、10 pM未満のK<sub>D</sub>値を示した。

30

【0191】

本明細書中の他の箇所で記載されるように、表面プラズモン共鳴は、支持体に付着させたリガンド上に液体相のアナライトを通過させて、アナライトとリガンドとの間の結合を判定することを含む。表面プラズモン共鳴は、例えば、支持体に付着させた結合性メンバー上の液体相においてIL-6を通過させることにより実施され得る。表面プラズモン共鳴データを、一価アナライトデータモデルにフィッティングすることができる。親和性定数K<sub>d</sub>は、一価アナライトデータモデルを使用して、表面プラズモン共鳴によって測定される速度定数k<sub>d</sub>/k<sub>a</sub>の比から算出され得る。

40

【0192】

代替として、IL-6に対する結合性メンバーの親和性は、例えば、種々の濃度のヒトIL-6に応答したTF-1細胞の増殖の阻害についてのアッセイに基づいて、シルド分析(Schild analysis)によって算出され得る。本発明の結合性メンバーは、シルド分析によって算出すると、10 pM未満、例えば、1 pM未満の親和性を有し

50

得る。本明細書中の実施例 2 . 1 0 で報告されるように、ヒト I L - 6 に対する抗体 1 8 の親和性は、シルド分析を使用して、0 . 4 p M であると算出された。

【 0 1 9 3 】

本発明の結合性メンバーは、任意に、以下のもののうちの 1 つ以上、または全てと交差反応しないものであり得る：白血球阻害因子 ( L I F )、毛様体神経栄養因子 ( C N T F )、I L - 1 1、またはオンコスタチン M。

【 0 1 9 4 】

本発明の結合性メンバーは、任意に、ラット I L - 6、マウス I L - 6、および / またはイヌ I L - 6 と交差反応しないものであり得る。

【 0 1 9 5 】

他のタンパク質または非ヒト I L - 6 に結合するための結合性メンバーの交差反応性は、例えば、実施例 1 . 6 に記載の D E L F I A (登録商標) エピトープ競合アッセイ等の、支持体上に固定された結合性メンバーに対するヒト I L - 6 結合の阻害に関する時間分解蛍光アッセイにおいて試験され得る。例えば、L I F、C N T F、I L - 1 1、オンコスタチン M、ラット I L - 6、およびマウス I L - 6 のいずれか、または全ては、支持体上に固定化され結合性メンバーに対する標識ヒト I L - 6 結合の阻害に関する時間分解蛍光アッセイにおいて、阻害を示さないか、5 0 % 未満の阻害を示すか、または 0 . 5 m M より大きいか、もしくは 1 m M より大きい I C <sub>50</sub> を有し得る。例えば、L I F、C N T F、I L - 1 1、オンコスタチン M、ラット I L - 6、およびマウス I L - 6 のいずれか、または全ては、交差反応性を試験するための時間分解蛍光アッセイにおいて、阻害を示さないか、または非標識ヒト I L - 6 の I C <sub>50</sub> の少なくとも 1 0 倍または 1 0 0 倍の I C <sub>50</sub> を有し得る。このアッセイでは、標識野生型成熟ヒト I L - 6 が、結合性メンバーとのその相互作用の K d である最終濃度で使用される。

【 0 1 9 6 】

本発明の結合性メンバーは、カニクイザル I L - 6 と交差反応し得る。交差反応性は、上記の時間分解蛍光アッセイにおいて、支持体上に固定された結合性メンバーに対する標識ヒト I L - 6 結合の阻害として決定され得る。例えば、カニクイザル I L - 6 は、この時間分解蛍光アッセイにおいて、5 n M 未満、例えば、2 . 5 n M 未満、例えば、約 1 n M の I C <sub>50</sub> を有し得る。カニクイザル I L - 6 は、このアッセイにおいて、非標識ヒト I L - 6 の I C <sub>50</sub> とは 1 0 倍未満の差、例えば、5 倍未満の差を示す I C <sub>50</sub> を有し得る。

【 0 1 9 7 】

一実施形態において、抗 I L - 6 抗体は、ヒトおよびカニクイザル I L - 6 配列間で保存されているが、ヒト配列と比較してマウス、ラット、およびイヌ I L - 6 配列では異なっている、I L - 6 上のエピトープに結合する。

【 0 1 9 8 】

一実施形態において、結合性メンバーは、I L - 6 の「部位 1」領域に結合し、これは、I L - 6 R と相互作用する領域である。ゆえに、本発明の結合性メンバーは、I L - 6 R に結合する I L - 6 を競合的に阻害し、それによって、I L - 6 R を通して媒介される I L - 6 の生物学的効果を中和する。

【 0 1 9 9 】

本発明の結合性メンバーは、P h e 1 0 2 および / または S e r 2 0 4 でヒト I L - 6 に結合し得る。本発明の結合性メンバーはまた、A r g 2 0 7 でヒト I L - 6 に結合し得る。任意に、結合性メンバーは、P h e 1 0 2 および / または S e r 2 0 4 での結合に加えて、I L - 6 分子中の隣接残基または構造的に近接する残基に結合し得る。慣例によると、残基の番号付けは、完全長ヒト I L - 6 (配列番号 1 5) に対応する。しかしながら、成熟ヒト I L - 6 を使用して結合を決定することができる。I L - 6 残基に対する結合は、以下で説明されるように、部位特異的突然変異誘発によって決定される。

【 0 2 0 0 】

構造を活性と関連させるためのタンパク質の単一のアミノ酸および領域の突然変異誘発

10

20

30

40

50



は、当業者に周知であり、抗体に結合するタンパク質の領域を画定するために使用されている (Lu et al., (2005) Biochemistry 44:11106-14)。突然変異体ヒトIL-6に対する結合および/またはその中和は、結合性メンバーが、Phe102、Ser204、および/またはArg207に結合するかどうか評価をするために使用され得る。野生型と比較して、突然変異体IL-6を用いた場合、結合もしくは中和の不存在、または結合もしくは中和の顕著な低下は、結合性メンバーがその突然変異残基に結合することを示す。

#### 【0201】

IL-6中の残基に対する結合は、支持体上に固定される結合性メンバーに対する標識野生型ヒトIL-6の結合の阻害についての時間分解蛍光アッセイにおいて、選択した残基で突然変異させたIL-6を使用して決定され得、標識された野生型成熟ヒトIL-6は、結合性メンバーとのその相互作用のK<sub>d</sub>と等しい最終濃度のものである。突然変異体IL-6が、結合性メンバーに対する標識された野生型IL-6の結合を阻害しない場合、または突然変異体IL-6が、非標識の野生型IL-6のIC<sub>50</sub>より大きい(例えば、10倍または100倍より大きい)IC<sub>50</sub>を有する場合、このことは、その突然変異残基が結合性メンバーに結合することを示す。

10

#### 【0202】

本発明の結合性メンバーは、任意に、残基Phe102、Ser204、および/またはArg207での変異、例えば、変異Phe102Glu、Ser204Glu、Ser204Tyr、および/またはArg207Gluを有する変異体ヒトIL-6と結合せず、かつ/またはそれを中和しないものであり得る。

20

#### 【0203】

本発明の結合性メンバーは、抗体分子、例えば、ヒト抗体分子を含み得る。該結合性メンバーは、通常、抗体VHおよび/またはVLドメインを含む。結合性メンバーのVHおよびVLドメインもまた、本発明の部分として提供される。各VHおよびVLドメインには、相補性決定領域(「CDR」)およびフレームワーク領域(「FR」)が含まれる。VHドメインは、HCDRセットを含み、VLドメインは、LCDRセットを含む。抗体分子は、VH CDR1、CDR2、およびCDR3、ならびにフレームワークを含む抗体VHドメインを含み得る。それは、代替として、またはさらに、VL CDR1、CDR2およびCDR3、ならびにフレームワークを含む抗体VLドメインを含み得る。VHまたはVLドメインフレームワークは、以下の構造でCDRが組み入れられている4つのフレームワーク領域FR1、FR2、FR3、およびFR4を含む：FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。

30

#### 【0204】

本発明による抗体VHおよびVLドメインおよびCDRの例は、本開示の一部を構成する配列表に列挙されている通りである。さらなるCDRは、PCT公開WO第2008/065378号に開示される。本明細書、およびPCT公開WO第2008/065378号に開示される、全てのVHおよびVL配列、CDR配列、CDRセット、およびHCDRセット、およびLCDRセットは、本発明の態様および実施形態である。本明細書中に記載の「CDRセット」は、CDR1、CDR2、およびCDR3を含む。ゆえに、HCDRセットとは、HCDR1、HCDR2、およびHCDR3を指し、LCDRセットとは、LCDR1、LCDR2、およびLCDR3を指す。特に記述がない限り、「CDRセット」には、HCDRおよびLCDRが含まれる。典型的には、本発明の結合性メンバーは、モノクローナル抗体である。

40

#### 【0205】

本発明の結合性メンバーは、さらに以下で考察されるように、非抗体タンパク質骨格(scaffold)中の1つ以上のCDR、例えば、CDRセットによって通常提供される、非抗体分子内の抗原結合部位を含み得る。

#### 【0206】

上記のように、本発明に従う結合性メンバーは、IL-6の生物学的活性を調節し、か

50

つ I L - 6 の生物学的活性を中和し得る。本明細書中に記載するとおり、本発明の I L - 6 結合性メンバーは、中和効力に対して最適化され得る。一般に、効力の最適化は、選択された結合性メンバーの配列（通常は抗体の可変ドメイン配列）を突然変異させて、結合性メンバーのライブラリーを作製することを含み、該ライブラリーを効力に関してアッセイし、より強力な結合性メンバーを選択する。ゆえに、選択された「効力最適化」結合性メンバーは、ライブラリーを作製した結合性メンバーより高い効力を有する傾向がある。それでもなお、高い効力の結合性メンバーはまた、最適化されずに取得され得、例えば、高い効力の結合性メンバーは、初期スクリーニング、例えば、生化学的中和アッセイから直接、取得され得る。「効力最適化」結合性メンバーとは、I L - 6 の特定の活性または下流の機能の中和効力が最適化されている結合性メンバーを指す。アッセイおよび効力は、本明細書中の他の箇所より詳細に記載されている。本発明は、効力最適化および非最適化結合性メンバーの両方、ならびに選択された結合性メンバーから効力を最適化するための方法を提供する。ゆえに、本発明は、当業者が、高い効力を有する結合性メンバーを作製することを可能にする。

10

**【0207】**

さらなる態様において、本発明は、抗原に結合可能な1つ以上の結合性メンバーを取得する方法を提供し、該方法には、本発明による結合性メンバーのライブラリーおよび該抗原を接触させることと、該抗原に結合可能なライブラリーの1つ以上の結合性メンバーを選択することと、を含む。

20

**【0208】**

該ライブラリーは、粒子または分子複合体、例えば、複製可能な遺伝的パッケージ、例えば、酵母粒子、細菌粒子、またはバクテリオファージ（例えば、T7）粒子、ウイルス、細胞、または共有結合性、リボソーム性、または他のインビトロディスプレイ系上で提示され得、各粒子または分子複合体は、その上に提示される抗体VH可変ドメイン、およびさらに、任意に、存在する場合には提示されるVLドメイン、をコードする核酸を含有する。ファージディスプレイは、国際公開第92/01047号、および例えば、米国特許第5969108号、第5565332号、第5733743号、第5858657号、第5871907号、第5872215号、第5885793号、第5962255号、第6140471号、第6172197号、第6225447号、第6291650号、第6492160号、および第6521404号に記載され、これらのそれぞれは、参照によりその全体が本明細書中に組み込まれる。

30

**【0209】**

抗原に結合可でき、かつバクテリオファージまたは他のライブラリー粒子もしくは分子複合体上に提示される結合性メンバーの選択後に、核酸は、該選択した結合性メンバーを提示するバクテリオファージまたは他の粒子もしくは分子複合体から採取され得る。このような核酸は、該選択した結合性メンバーを提示するバクテリオファージまたは他の粒子もしくは分子複合体から採取された核酸の配列を有する核酸からの発現によって、結合性メンバーまたは抗体VHもしくはVL可変ドメインのその後の製造に使用され得る。

**【0210】**

本発明のVHおよびVLドメインおよびCDRの変異体（アミノ酸配列が本明細書中に記載されているもの、および本発明の結合性メンバーで用いることができるものを含む）は、配列を改変または突然変異させ、かつ所望の特性を有する抗原結合性メンバーをスクリーニングする方法を用いて取得することができる。所望の特性の例には、以下のものが挙げられるが、これらに限定されない。

40

**【0211】**

抗原に特異的な既知の抗体と比較して高い、抗原に対する結合親和性  
抗原活性が既知である場合、抗原に特異的な既知の抗体と比較して高い、抗原活性の中和性  
特定モル比での、抗原に対する既知の抗体またはリガンドとの、所定の競合能力  
複合体を免疫沈降させる能力

50

指定エピトープに結合する能力

線形エピトープ、例えば、本明細書中に記載のペプチド結合スキャンを使用して（例えば、線形および/または拘束コンフォメーションでスクリーニングされたペプチドを使用する）特定されるペプチド配列

不連続残基によって形成される立体構造エピトープ

IL-6または下流の分子の新規生物学的活性を調節する能力。

【0212】

このような方法もまた、本明細書に提供される。

【0213】

本明細書中に開示される抗体分子の変異体を生成し、本発明において使用することができる。多変量データ解析技術を構造/特性-活性関係に対して適用する場合の計算化学の手引 (Wold, et al. Multivariate data analysis in chemistry. Chemometrics - Mathematics and Statistics in Chemistry (Ed.: B. Kowalski), D. Reidel Publishing Company, Dordrecht, Holland, 1984 (ISBN 90-277-1846-6)) に従って、周知の数学的手法、例えば、統計回帰、パターン認識、および分類 (Norman et al. Applied Regression Analysis. Wiley-Interscience; 3rd edition (April 1998) ISBN: 0471170828、Kandel, Abraham & Backer, Eric. Computer-Assisted Reasoning in Cluster Analysis. Prentice Hall PTR, (May 11, 1995), ISBN: 0133418847、Krzanowski, Wojtek. Principles of Multivariate Analysis: A User's Perspective (Oxford Statistical Science Series, No 22 (Paper)). Oxford University Press; (December 2000), ISBN: 0198507089、Witten, Ian H. & Frank, Eibe. Data Mining: Practical Machine Learning Tools and Techniques with Java Implementations. Morgan Kaufmann; (October 11, 1999), ISBN: 1558605525、Denison David G. T. (Editor), Christopher C. Holmes, Bani K. Mallik, Adrian F. M. Smith. Bayesian Methods for Nonlinear Classification and Regression (Wiley Series in Probability and Statistics). John Wiley & Sons; (July 2002), ISBN: 0471490369、Ghose, Arup K. & Viswanadhan, Vellarkad N.. Combinatorial Library Design and Evaluation Principles, Software, Tools, and Applications in Drug Discovery. ISBN: 0-8247-0487-8) を使用して、抗体の定量的活性-特性関係を導き出すことができる。抗体の特性は、抗体配列、機能的、および3次元構造の経験的および理論的モデル（例えば、接触候補残基の分析または計算上の物理化学的特性）から導き出すことができ、これらの特性は単一でおよび組み合わせて考慮することができる。

【0214】

VHドメインおよびVLドメインからなる抗体抗原結合部位は、典型的に、6つのポリペプチドループ、すなわち軽鎖可変ドメイン (VL) 由来の3つおよび重鎖可変ドメイン (VH) 由来の3つによって形成される。既知の原子構造の抗体についての分析により、抗体結合部位の配列と3次元構造との間の関係が解明されている (Chothia C.

10

20

30

40

50

et al. (1992) *J. Molecular Biology* 227, 799 - 817、Al-Lazikani, et al. (1997) *J. Molecular Biology* 273 (4), 927 - 948)。これらの関係は、VHドメイン中の第3領域(ループ)を除いて、結合部位ループが少数の主鎖コンフォメーション、すなわち標準構造のうちの一つを有することを意味する。特定のループ中で形成される標準構造は、そのサイズ、ならびに、ループおよびフレームワークの両方の領域中の重要部位での特定の残基の存在によって決定されることが示されている(Chothia C. et al. (1992) *J. Molecular Biology* 227, 799 - 817、Al-Lazikani, et al. (1997) *J. Molecular Biology* 273 (4), 927 - 948)。

10

**【0215】**

配列-構造関係についてのこの研究は、そのCDRループの3次元構造の維持に重要な、ひいては、結合特異性を維持する、配列が既知で3次元構造が未知の抗体中のこれらの残基を予測するために使用することができる。これらの予測は、先のリード最適化実験からの出力と該予測を比較することによって確認することができる。構造的アプローチでは、任意の無料で利用可能な、または市販パッケージ、例えば、WAM (Whitelegg, N. R. u. & Rees, A. R (2000) *Prot. Eng.*, 12, 815 - 824)等を使用して、抗体分子のモデルを作製することができる(Chothia, et al. (1986) *Science*, 223, 755 - 758)。次いで、タンパク質視覚化および解析ソフトウェアパッケージ、例えば、Insight II (Accelrys, Inc.)、またはDeep View (Guex, N. and Peitsch, M. C. (1997) *Electrophoresis* 18, 2714 - 2723)等を使用して、CDR中の各位置での置換候補を評価し得る。次いで、この情報を使用して、活性に関して最小または有益な効果を有する可能性が高い置換を施し得る。

20

**【0216】**

CDR、抗体VHまたはVLドメイン、および結合性メンバーのアミノ酸配列内で置換を施すために必要とされる技術は、概して、当該技術分野において利用可能である。活性に関して最小または有益な効果を有すると予測され得るか、またはされ得ない置換を施して変異体配列を作製し、IL-6に結合し、かつ/もしくはそれを中和する能力、および/または任意の他の所望の特性に関して試験し得る。

30

**【0217】**

本明細書中で配列が具体的に開示されている任意のVHおよびVLドメインの可変ドメインアミノ酸配列変異体を、考察されるように、本発明に従って用いてよい。

**【0218】**

本発明のVLドメインの変異体、およびそれらを含む結合性メンバーまたは抗体分子には、カバット残基108位にアルギニンが存在しない(例えば、カバット残基108位が異なる残基であるか、または欠失している)VLドメインが含まれる。例えば、定常ドメインを欠いている抗体分子、例えば、scFv等の抗体分子は、本明細書中に記載のVLドメイン配列またはその変異体を有するVLドメインであって、カバット残基108位のアルギニンが、アルギニン以外のアミノ酸残基であるか、または欠失しているVLドメインを含み得る。

40

**【0219】**

本発明のさらなる態様は、添付の配列表に示される抗体18のVHドメインと、少なくとも60、70、80、85、90、95、98、または99%のアミノ酸配列同一性を有するVHドメインを含み、かつ/または、添付の配列表に示される抗体18のVLドメインと、少なくとも60、70、80、85、90、95、98、または99%のアミノ酸配列同一性を有するVLドメインを含む抗体分子である。2つのアミノ酸配列の%同一性を算出するために使用できるアルゴリズムには、例えば、BLAST (Altschul et al. (1990) *J. Mol. Biol.* 215: 405 - 410)、FASTA (Pearson and Lipman (1988) *PNAS USA* 85:

50

2444 - 2448)、またはSmith-Watermanアルゴリズム(Smith and Waterman(1981) J. Mol Biol. 147:195-197)(例えば、デフォルトパラメータを用いる)が含まれる。

【0220】

特定の変異体は、1つ以上のアミノ酸配列改変(アミノ酸残基の付加、欠失、置換、および/または挿入)を含み得る。

【0221】

1つ以上のフレームワーク領域および/または1つ以上のCDRにおいて改変を施し得る。該改変は、通常、機能喪失を生じさせず、したがって、そのように改変されたアミノ酸配列を含む結合性メンバーは、IL-6に結合し、かつ/またはそれらを中和する能力を保持し得る。それは、例えば、本明細書中に記載のアッセイにおいて測定された場合に、改変が施されていない結合性メンバーと同一の定量的結合および/または中和能力を保持し得る。そのように改変されたアミノ酸配列を含む結合性メンバーは、IL-6に結合し、かつ/またはそれらを中和する改善された能力を有し得る。

10

【0222】

改変は、1つ以上のアミノ酸残基を、天然に存在しないか、もしくは非標準アミノ酸で置換すること、1つ以上のアミノ酸残基を修飾して、天然に存在しない型か、もしくは非標準型にすること、または1つ以上の天然に存在しないか、もしくは非標準アミノ酸を配列内に挿入することを含み得る。本発明の配列中の改変の数および位置の例は、本明細書中の他の箇所で記載されている。天然に存在するアミノ酸には、20種の「標準」L-アミノ酸が含まれ、その標準一文字コードによってG、A、V、L、I、M、P、F、W、S、T、N、Q、Y、C、K、R、H、D、Eとして特定される。非標準アミノ酸には、ポリペプチド骨格に組み込まれ得るか、または既存のアミノ酸残基の修飾から生じる任意の他の残基が含まれる。非標準アミノ酸は、天然に存在しても、天然に存在しなくてもよい。幾つかの天然に存在する非標準アミノ酸は、当該技術分野において公知であり、例えば、4-ヒドロキシプロリン、5-ヒドロキシリシン、3-メチルヒスチジン、N-アセチルセリン等である(Voet & Voet, Biochemistry, 2nd Edition, (Wiley) 1995)。N-アルファ位置で誘導体化されているこれらのアミノ酸残基は、アミノ酸配列のN末端にのみ位置する。本発明では、通常、アミノ酸は、L-アミノ酸であるが、D-アミノ酸であってもよい。したがって、改変は、L-アミノ酸を修飾してD-アミノ酸にするか、またはL-アミノ酸をD-アミノ酸で置換することを含む。メチル化、アセチル化、および/またはリン酸化型のアミノ酸もまた既知であり、本発明のアミノ酸は、このような修飾に供し得る。

20

30

【0223】

本発明の抗体ドメインおよび結合性メンバー中のアミノ酸配列は、上記の非天然または非標準アミノ酸を含み得る。非標準アミノ酸(例えば、D-アミノ酸)は、合成中に、またはアミノ酸配列の合成後に「元の」標準アミノ酸の修飾または置換によってアミノ酸配列に組み込まれ得る。

【0224】

非標準および/または天然に存在しないアミノ酸の使用により、構造的および機能的多様性が高まり、ゆえに本発明の結合性メンバーにおける所望のIL-6結合および中和特性を達成するための潜在能力を高めることができる。さらに、D-アミノ酸および類似体は、動物、例えば、ヒトへの投与後のL-アミノ酸を有するポリペプチドのインビボ分解により、標準L-アミノ酸と比較して異なる薬物動態学的プロファイルを有することが示されており、このことは、幾つかのインビボ適用では、D-アミノ酸が有益であることを意味する。

40

【0225】

本発明のCDR由来配列を保持する新規VHまたはVL領域は、可変ドメイン全体内の突然変異を生じさせる1つ以上の選択されるVHおよび/またはVL遺伝子のランダム突然変異誘発を使用して作製され得る。このような技術は、Gramら(Gram et

50

al., (1992) PNAS USA, 89:3576-3580) によって記載され、変異性PCR法 (error-prone PCR) を使用した。幾つかの実施形態において、可変ドメイン全体またはCDRセット内で1つまたは2つのアミノ酸置換がなされる。

【0226】

使用され得る別の方法は、VHまたはVL遺伝子のCDR領域に対する直接突然変異誘発である。このような技術は、Barbasら (Barbas et al., (1994) PNAS USA, 91:3809-3813) およびSchierら (Schier et al., (1996) J. Mol. Biol. 263:551-567) によって開示されている。

【0227】

全ての上記の技術は、当該技術分野においてそのような技術として公知であり、当業者は、該技術を使用し、当該技術分野の所定の方法論を使用して本発明の結合性メンバーを得ることができる。

【0228】

本発明のさらなる態様は、IL-6に対する抗体抗原結合部位を得るための方法を提供し、該方法には、本明細書中に記載のVHドメインのアミノ酸配列中の1つ以上のアミノ酸の付加、欠失、置換、または挿入を用いて、該VHドメインのアミノ酸配列変異体であるVHドメインを提供すること、任意に、そのように提供されたVHドメインを1つ以上のVLドメインと組み合わせること、およびVHドメインまたはVH/VLの組み合わせ、または複数の組み合わせを試験して、IL-6に対する結合性メンバーまたは抗体抗原結合部位 (任意に、1つ以上の所望の特性、例えばIL-6活性を中和する能力を有する) を特定することが含まれる。該VLドメインは、本明細書中に実質的に記載されるアミノ酸配列を有し得る。本明細書中で開示されるVLドメインの1つ以上の配列変異体を1つ以上のVHドメインと組み合わせる類似の方法が用いられ得る。

【0229】

上記のように、本明細書中に実質的に記載されるCDRアミノ酸配列は、ヒト抗体可変ドメイン、またはその本質的部分中のCDRとして保持され得る。本明細書中に実質的に記載されるHCDR3配列は、本発明の実施形態であり、これらのそれぞれは、ヒト重鎖可変ドメインまたはその本質的部分中のHCDR3として保持され得る。

【0230】

本発明で用いられる可変ドメインは、任意の生殖細胞系列または再配置 (rearranged) ヒト可変ドメインから取得し得るか、もしくはそれに由来し得るか、または既知のヒト可変ドメインのコンセンサス配列または実際の配列に基づく合成可変ドメインであり得る。可変ドメインは、非ヒト抗体に由来することができる。本発明のCDR配列 (例えば、CDR3) は、組換えDNA技術を使用して、CDR (例えば、CDR3) を欠いている可変ドメインのレパートリーに導入され得る。例えば、Marksら (Marks et al. (1992) Bio/Technology 10:779-783) は、該可変ドメイン領域の5'末端に対するか、またはそれに隣接するコンセンサスプライマーを、ヒトVH遺伝子の第3フレームワーク領域に対するコンセンサスプライマーと共に用いて、CDR3を欠いているVH可変ドメインのレパートリーを得る、抗体可変ドメインのレパートリーを製造する方法を記載している。Marksらは、このレパートリーを特定の抗体のCDR3とどのように組み合わせ得るかを示している。類似の技術を用いて、本発明のCDR3由来配列を、CDR3を欠いているVHまたはVLドメインのレパートリーとシャッフルし、シャッフルされた完全なVHまたはVLドメインを同族 (cognate) VLまたはVHドメインと組み合わせる本発明の結合性メンバーを得ることができる。次いで、このレパートリーは、好適な宿主系、例えば、WO第92/01047号 (参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)、または後の多数の文献のいずれか (Kay, Winter & McCafferty (Kay, B. K., Winter, J., and McCafferty, J. (1996) Phage D

10

20

30

40

50

isplay of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual, San Diego: Academic Press)を含む)のファージディスプレイ系等でディスプレイされ得、それにより好適な結合性メンバーが選択され得る。レパートリーは、104の個別のメンバー以上、例えば、少なくとも105、少なくとも106、少なくとも107、少なくとも108、少なくとも109、または少なくとも1010メンバーまたはそれ以上のいずれかから構成され得る。他の好適な宿主系としては、酵母ディスプレイ、細菌ディスプレイ、T7ディスプレイ、ウイルスディスプレイ、細胞ディスプレイ、リボソームディスプレイ、および共有結合ディスプレイが含まれるが、これらに限定されない。

#### 【0231】

IL-6抗原に対する結合性メンバーを調製する方法が提供され、該方法には、  
(a)置換すべきCDR3を含むか、またはCDR3コード領域を欠いているVHドメインをコードする核酸の出発レパートリーを提供すること、  
(b)該レパートリーを、VH CDR3に関して本明細書中に実質的に記載されるアミノ酸配列をコードするドナー核酸と組み合わせて、該ドナー核酸をレパートリー中のCDR3領域に挿入し、それによりVHドメインをコードする核酸の生成物レパートリーを得ること、  
(c)該生成物レパートリーの核酸を発現させること、  
(d)IL-6に対する結合性メンバーを選択すること、および  
(e)該結合性メンバーまたはそれをコードする核酸を回収することを含む。

10

20

#### 【0232】

さらに、本発明のVL CDR3を、置換すべきCDR3を含むか、あるいはCDR3コード領域を欠いているVLドメインをコードする核酸のレパートリーと組み合わせる、類似の方法が使用され得る。

#### 【0233】

同様に、1つ以上の、または全ての3つのCDRを、VHまたはVLドメインのレパートリーに移植し、次いで、IL-6に対する結合性メンバーまたは複数の結合性メンバーに関してスクリーニングしてよい。

#### 【0234】

同様に、本明細書中に開示されている他のVHおよびVLドメイン、CDRセットおよびHC DRセット、および/またはLC DRセットを用いてよい。

30

#### 【0235】

免疫グロブリン可変ドメインの大部分は、少なくとも3つのCDR領域をそれらの間のフレームワーク領域と共に含み得る。また、該部分は、第1および第4フレームワーク領域の一方、または両方の少なくとも約50%を含んでもよく、該50%は第1フレームワーク領域のC末端の50%であり、第4フレームワーク領域のN末端の50%である。可変ドメインの本質的部分のN末端またはC末端の追加の残基は、天然に存在する可変ドメイン領域に通常付随しない残基であってよい。例えば、組換えDNA技術によって作製される本発明の結合性メンバーの構築は、クローニングまたは他の操作ステップを容易にするために導入されるリンカーによってコードされるNまたはC末端残基を導入してよい。他の操作ステップには、抗体定常領域、他の可変ドメイン(例えば、ダイアボディを製造する場合)または本明細書中の他の箇所ですらに詳細に考察される検出可能/機能的標識を含むさらなるタンパク質配列への、本発明の可変ドメインを付着させるためのリンカーの導入が含まれる。

40

#### 【0236】

本発明の幾つかの態様において、結合性メンバーは、一对のVHおよびVLドメインを含むが、VHまたはVLドメイン配列のいずれかに基づく単一の結合ドメインは、本発明のさらなる態様を形成する。単一の免疫グロブリンドメイン、特に、VHドメインは、特異的様式で標的抗原と結合可能であることが知られている。例えば、上記のdAbについての考察を参照のこと。

50

## 【0237】

いずれの単一結合ドメインの場合でも、これらのドメインを使用して、IL-6に結合することができる2つのドメイン結合性メンバーを形成可能な相補的ドメインに関してスクリーニングすることができる。これは、WO第92/01047号(参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)に開示されるいわゆる階層的二重コンビナトリアルアプローチ(hierarchical dual combinatorial approach)を使用するファージディスプレイスクリーニング法によって達成され得、HまたはL鎖クローンのいずれかを含有する個々のコロニーを使用して、他方の鎖(LまたはH)をコードするクローンの完全ライブラリーを感染させ、得られた2重鎖結合性メンバーが、該参考文献に記載のようなファージディスプレイ技術に従って選択される。この技術はまた、Marksらの同書(Marks et al (1992) Bio/Technology 10:779-783)に開示されている。

10

## 【0238】

本発明の結合性メンバーは、抗体定常領域またはそれらの一部、例えば、ヒト抗体定常領域またはそれらの一部をさらに含み得る。例えば、VLドメインは、そのC末端で、ヒトC またはC 鎖を含む抗体軽鎖定常ドメインに結合し得る。同様に、VHドメインに基づく結合性メンバーは、そのC末端で、任意の抗体アイソタイプ、例えば、IgG、IgA、IgE、およびIgM、ならびにアイソタイプのサブクラス、特に、IgG1およびIgG4のいずれかに由来する免疫グロブリン重鎖の全てのまたは一部(例えば、CH1ドメイン)に結合し得る。IgG1は、そのエフェクター機能および製造の容易さのため、有益である。これらの特性を有し、可変領域を安定化する任意の合成または他の定常領域変異体もまた、本発明において有用であり得る。

20

## 【0239】

本発明の結合性メンバーは、検出可能または機能的標識で標識され得る。ゆえに、結合性メンバーまたは抗体分子は、検出可能および/または定量化可能なシグナルを得るために、イムノコンジュゲートの形態で存在させることができる。イムノコンジュゲートは、検出可能または機能的標識とコンジュゲートされた本発明の抗体分子を含み得る。標識は、シグナルを生じさせるか、またはシグナルの発生を誘発できる任意の分子であり得、それには、蛍光剤、放射性標識、酵素、化学発光剤(chemiluminescers)、または光増感剤が含まれるが、これらに限定されない。ゆえに、結合は、蛍光または発光、放射能、酵素活性または吸光度を検出することによって検出および/または測定され得る。

30

## 【0240】

好適な標識は、限定的ではなく例示的に、以下のものがふくまれる。

## 【0241】

- 酵素、例えば、アルカリホスファターゼ、グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ(「G6PDH」)、アルファ-D-ガラクトシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、グルコースアミラーゼ、炭酸脱水酵素、アセチルコリンエステラーゼ、リゾチーム、リンゴ酸デヒドロゲナーゼ、およびペルオキシダーゼ、例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、
- 色素、
- 蛍光標識または蛍光剤、例えば、フルオレセインおよびその誘導体、蛍光色素、ローダミン化合物および誘導体、GFP(GFPは「緑色蛍光タンパク質」を表す)、ダンシル、ウンベリフェロン、フィコエリトリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン、o-フタルデヒド(o-phthaldehyde)、およびフルオレサミン;フルオロフォア、例えば、ランタニドクリプタートおよびキレート、例えば、ユーロピウム等(Perkin ElmerおよびCis Biointernational)、
- イソルミノール、ルミノールおよびジオキセタン等の化学発光標識または化学発光剤、
- ルシフェラーゼおよびルシフェリン等の生物発光標識、
- 増感剤、

40

50



- 補酵素、  
 - 酵素基質、  
 - 臭素 77、炭素 14、コバルト 57、フッ素 8、ガリウム 67、ガリウム 68、水素 3 (トリチウム)、インジウム 111、インジウム 113m、ヨウ素 123m、ヨウ素 125、ヨウ素 126、ヨウ素 131、ヨウ素 133、水銀 107、水銀 203、リン 32、レニウム 99m、レニウム 101、レニウム 105、ルテニウム 95、ルテニウム 97、ルテニウム 103、ルテニウム 105、スカンジウム 47、セレン 75、イオウ 35、テクネチウム 99、テクネチウム 99m、テルル 121m、テルル 122m、テルル 125m、ツリウム 165、ツリウム 167、ツリウム 168、イットリウム 199、および本明細書中に記載の他の放射性標識が挙げられるが、これらに限定されない、放射性標識

10

- 例えば、ラテックスまたは炭素粒子；金属ゾル；微結晶；リボソーム；細胞、等の粒子（色素、触媒、または他の検出可能な基でさらに標識してよい）、  
 - ビオチン、ジゴキシゲニン (digoxigenin)、または 5 - プロモデオキシウリジン等の分子、  
 - 毒素成分、例えば、シュドモナス外毒素 (PE またはその細胞傷害性断片もしくは突然変異体)、ジフテリア (Diphtheria) 毒素またはその細胞傷害性断片もしくは突然変異体、ボツリヌス毒素 A、B、C、D、E、もしくは F、リシンまたはその細胞傷害性断片、例えば、リシン A、アプリンまたはその細胞傷害性断片、サポリン (saporin) またはその細胞傷害性断片、ポークウィード (pokeweed) 抗ウイルス毒素またはその細胞傷害性断片、およびブリヨジン (bryodin) 1 またはその細胞傷害性断片の群から選択される毒素部分。

20

#### 【0242】

好適な酵素および補酵素は、Litman らの US 第 4275149 号、および Boguslaski らの US 第 4318980 号に開示されており、これらのそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。好適な蛍光剤および化学発光剤は、Litman らの US 第 4275149 号に開示されており、これは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。標識には、特定の同起源の検出可能部分、例えば、標識アビジンまたはストレプトアビジンとの結合を介して検出され得る化学的部分、例えば、ビオチンがさらに含まれる。検出可能な標識は、当該技術分野において公知の従来化学を用いて本発明の抗体に結合し得る。

30

#### 【0243】

イムノコンジュゲートまたはその機能的断片は、当業者に公知の方法によって調製することができる。それらは、直接、または、スパーサー基もしくは連結基、例えば、ポリアルデヒド、例えば、グルタルアルデヒド、エチレンジアミン四酢酸 (EDTA)、ジエチレン - トリアミン五酢酸 (DPTA) の仲介によって、または治療用コンジュゲートに関して上に記載されるようなカップリング剤の存在下で、酵素または蛍光標識にカップリングすることができる。フルオレセインタイプの標識を含有するコンジュゲートは、イソチオシアン酸と反応させることによって調製することができる。

40

#### 【0244】

直接、または上記のキレート剤、例えば、EDTA、DTPA を介して治療用放射性同位体を抗体にカップリングするための既存の当業者に公知の方法を、診断で使用できる放射性元素に関して使用することができる。同様に、クロラミン T 法 (Hunter W. M. and Greenwood F. C. (1962) Nature 194: 495) によるナトリウム 125 での標識化、または Crockford ら (US 第 4424200 号、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる) の技術によるか、もしくは Hnatowich (US 第 4479930 号、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる) によって記載されるように、DTPA を介して結合させるテクネチウム 99m での標識化を実施することが可能である。

#### 【0245】

50

標識が、外部手段、例えば、視覚的試験、電磁放射線、熱、および化学試薬によって検出可能なシグナルを生成できる多数の方法がある。本発明の抗体に結合する別の結合性メンバー、または支持体に標識を結合させることもできる。

【0246】

標識は、シグナルを直接生成することができ、したがって、シグナルの生成に追加の成分は必要とされない。多数の有機分子、例えば、蛍光剤は、紫外光および可視光を吸収することができ、光吸収は、これらの分子にエネルギーを移し、それらを励起エネルギー状態に高める。次いで、この吸収エネルギーは、第2の波長での光の放出によって消散される。この第2の波長での発光もまた、標識受容体分子にエネルギーを移し、得られるエネルギーは、光の放出、例えば、蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)によって受容体分子から消散する。シグナルを直接生成する他の標識には、放射性同位体および色素が含まれる。

10

【0247】

代替として、標識は、シグナルを生成するために他の成分を必要とすることがあり、該シグナル生成系は、測定可能なシグナルを生成するために必要とされる全ての成分を含み、それには、基質、補酵素、エンハンサー、追加の酵素、酵素産物と反応する物質、触媒、アクチベーター、補助因子、阻害剤、スカベンジャー、金属イオン、およびシグナル生成物質の結合に必要とされる特定の結合物質が含まれ得る。好適なシグナル生成系についての詳細な考察は、UllmanらのUS第5185243号に見出され得、これは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

20

【0248】

本発明は、本明細書で提供されるIL-6に対する結合性メンバーを結合することを含む方法を提供する。上記のように、そのような結合は、インビボで、例えば、結合性メンバー、または結合性メンバーをコードする核酸の投与後に生じ得るか、またはそれはインビトロで、例えば、ELISA、ウエスタンブロッティング、免疫細胞化学、免疫沈降、アフィニティークロマトグラフィー、および生化学的または細胞に基づくアッセイ、例えば、TF-1細胞増殖アッセイにおいて生じ得る。

【0249】

本発明はまた、例えば、バイオセンサー系で本発明による結合性メンバーを用いることによって抗原レベルを直接測定することを提供する。例えば、本発明は、IL-6に対する結合の検出および/または測定方法を含み、該方法には、(i)IL-6に対する該結合性メンバーを曝露することと、(ii)IL-6に対する該結合性メンバーの結合を検出することと、を含み、ここで、結合は、本明細書中に記載の任意の方法または検出可能な標識を使用して検出される。この方法、および本明細書中に記載の任意の他の結合検出方法は、方法を実施する者が、例えば、検出可能な標識を視覚的に観察することによって直接解釈し得る。代替として、この方法、または本明細書中に記載の任意の他の結合検出方法では、オートラジオグラフ、写真、コンピュータプリントアウト、フローサイトメトリレポート、グラフ、チャート、結果を含有する試験管もしくは容器もしくはウェル、または本方法の結果についての任意の他の視覚的または物理的表現の形式でレポートを得ることができる。

30

40

【0250】

IL-6に対する結合性メンバーの結合の量が、測定され得る。定量化は、診断上対象となり得る、試験試料中の抗原の量に関するものであってよい。IL-6結合に関するスクリーニングおよび/またはその定量化は、例えば、本明細書中で言及される疾患もしくは障害、および/または、異常なIL-6発現および/もしくは活性を伴って生じる任意の他の疾患もしくは障害についての患者のスクリーニングにおいて有用であり得る。

【0251】

本発明の診断方法は、(i)被験体から組織または液体試料を取得することと、(ii)該本発明の組織または液体試料を1つ以上の本発明の結合性メンバーに曝露することと、(iii)対照試料と比較して、結合したIL-6を検出することと、を含み得、こ

50

で、対照試料と比較してIL-6結合の量の増加は、IL-6の異常なレベルの発現または活性を示し得る。試験すべき組織または液体試料には、血液、血清、尿、生検材料、腫瘍、または異常なIL-6レベルを含有すると疑われる任意の組織が含まれる。異常なIL-6レベルまたは活性に関して陽性であると試験された被験体はさらに、本明細書中で後に開示される治療方法によって恩恵を受け得る。

【0252】

当業者は、本明細書中で開示される方法を考慮して、その好みおよび一般的知識に従って、抗原に対する結合性メンバーの結合を測定する好適な様式を選択することができる。

【0253】

試料中の結合性メンバーの反応性は、任意の適切な手段によって測定され得る。ラジオイムノアッセイ(RIA)は一候補である。放射性標識抗原は、非標識抗原(試験試料)と混合させ、結合性メンバーに結合させる。結合した抗原は、非結合抗原から物理的に分離し、結合性メンバーに結合している放射性抗原の量を測定する。試験試料中に多くの抗原が存在するほど、少ない放射性抗原しか結合性メンバーに結合しない。レポーター分子に連結された抗原または類似体を使用して、非放射性抗原での競合結合アッセイを使用してもよい。該レポーター分子は、スペクトルによって分離される吸収または発光特性を有する蛍光色素、リン光体、またはレーザー色素であり得る。好適な蛍光色素には、フルオレセイン、ローダミン、フィコエリトリン、およびテキサスレッド、ならびにランタニドキレートまたはクリプタートが含まれる。好適な発色色素には、ジアミノベンジジンが含まれる。

10

20

【0254】

他のレポーターには、高分子コロイド粒子または微粒子材料、例えば、有色、磁気、または常磁性のラテックスビーズ、および視覚的に観察されるか、電子的に検出されるか、または別の方法で記録される検出可能なシグナルを直接または間接的に生じさせることができる生物学的または化学的に活性な薬剤が含まれる。これらの分子は、例えば、発色させるか、または変色させるか、または電気的特性の変化を生じさせる反応を触媒する酵素であってよい。それらは、エネルギー状態間の電子遷移が特徴的スペクトル吸収または発光を生じさせるよう分子的に励起可能であり得る。それらには、バイオセンサーと共に使用される化学物質が含まれ得る。ピオチン/アビジンまたはピオチン/ストレプトアビジンおよびアルカリホスファターゼ検出系が用いられ得る。

30

【0255】

個々の結合性メンバー-レポーターコンジュゲートによって生成されるシグナルを使用して、試料(正常および試験試料)中の関連する結合性メンバーの結合についての定量可能な絶対的または相対的データを導き出し得る。

【0256】

また、本発明の任意の態様または実施形態による結合性メンバーを含むキットが本発明の態様として提供される。該キットでは、例えば、以下でさらに記載されるように、結合性メンバーを標識して、試料中のその反応性の測定を可能にしてよい。さらに、結合性メンバーを固体支持体に付着させても付着させなくてもよい。キットの構成要素は、概して、滅菌されていて、密封バイアルまたは他の容器内である。キットは、結合性メンバーが有用である診断解析または他の方法において用いられ得る。キットは、方法、例えば、本発明に従う方法での構成要素の使用に関する説明書を含む。このような方法を支援するか、またはその実施を可能にするための付属材料が本発明のキット内に含まれ得る。該付属材料には、第1の結合性メンバーに結合する第2の異なる結合性メンバーが含まれ、検出可能な標識(例えば、蛍光標識、放射性同位体、または酵素)にコンジュゲートされる。抗体に基づくキットはまた、免疫沈降を実施するためのビーズを含み得る。キットの各構成要素は、概して、それ自体の好適な容器内にある。ゆえに、これらのキットは、概して、各結合性メンバーに好適な個別の容器を含む。さらに、該キットは、アッセイを実施するための指示書、および該アッセイの実施から得られたデータを解釈および解析するための方法を含み得る。

40

50

## 【0257】

本発明はまた、競合アッセイにおいて抗原レベルを測定するための上記結合性メンバーの使用、すなわち、本発明によって提供される結合性メンバーを競合アッセイで用いることによって試料中の抗原レベルを測定する方法を提供する。これは、結合した抗原を非結合抗原から物理的に分離することが必要とされない場合であり得る。レポーター分子を結合性メンバーに連結し、結合時に、物理的または光学的变化が生じるようにすることが一候補である。該レポーター分子は、直接的または間接的に検出可能なシグナルを生成してよく、これは、定量可能であってよい。レポーター分子の連結は、直接的または間接的に、例えば、ペプチド結合を介して、共有結合的に、または非共有結合的に行われ得る。ペプチド結合を介した連結は、抗体およびレポーター分子をコードする融合遺伝子の組み換え発現の結果として生じ得る。

10

## 【0258】

種々の態様および実施形態において、本発明は、本明細書中で定義される任意の結合性メンバー、本発明は、例えば、抗体18の、例えば、IgG1形態のもの、によるIL-6への結合に関して競合する結合性メンバーにまで及ぶ。結合性メンバー間の競合は、例えば、タグが付いていない他方の結合性メンバーの存在下で検出できる特定のレポーター分子を一方の結合性メンバーにタグ付けすることによって、インビトロで容易にアッセイされ得、同一エピトープまたはオーバーラップエピトープに結合する結合性メンバーの同定が可能になる。競合は、例えば、ELISAを使用して測定され得、IL-6をプレートに固定し、タグが付いているか、または標識されている第1の結合性メンバーを、タグが付いていないか、または標識されていない1つ以上の他の結合性メンバーと共に該プレートに加える。タグが付いている結合性メンバーと競合する、タグが付いていない結合性メンバーの存在は、タグが付いている結合性メンバーによって放出されるシグナルの低下によって観察される。

20

## 【0259】

例えば、本発明は、IL-6結合化合物を同定する方法を含み、これには、(i) IL-6を支持体に固定することと、(ii) 該固定したIL-6を、タグが付いているか、または標識されている少なくとも1つの本発明の結合性メンバーおよびタグが付いていないか、または標識されていない1つ以上の試験結合化合物と、同時に、または段階的様式で接触させることと、(iii) タグが付いている結合性メンバーからの結合タグ量の低下を観察することによって、新規IL-6結合化合物を特定することと、を含む。マルチウェルまたはアレイ形式を使用して、このような方法をハイスループット様式で実施することができる。また、このようなアッセイは、溶液中で実施され得る。例えば、U.S. 第5,814,468号を参照されたく、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。上記のように、結合の検出は、該方法の実施者が直接、例えば、検出可能な標識またはその存在の減少を視覚的に観察することによって解釈することができる。代替として、本発明の結合方法は、オートラジオグラフ、写真、コンピュータプリントアウト、フローサイトメトリーレポート、グラフ、チャート、結果を含有する試験管もしくは容器もしくはウェル、または本方法の結果についての任意の他の視覚的または物理的表現の形式でレポートを得ることができる。

30

40

## 【0260】

また、エピトープマッピングにおいて競合アッセイを使用することもできる。ある例において、エピトープマッピングを使用して、任意に、最適化された中和および/または調節特性を有し得る、IL-6結合性メンバーが結合するエピトープを同定することができる。このようなエピトープは、線形または立体構造エピトープであり得る。立体構造エピトープは、IL-6の少なくとも2つの異なる断片を含むことができ、該断片は、IL-6がその三次元または四次元構造に折り畳まれる場合に、互いに接近して位置して立体構造エピトープを形成し、それが、例えば、IL-6結合性メンバー等のIL-6の阻害剤によって認識される。競合試験では、抗原のペプチド断片、特に、対象となるエピトープを含むか、または本質的にそれから構成されるペプチドを用いてよい。エピトープ配列に

50

加えていずれかの末端に1つ以上のアミノ酸を有するペプチドを使用してよい。本発明による結合性メンバーは、抗原に対するその結合が、所与の配列を有するか、または所与の配列を含むペプチドによって阻害されるようにしてよい。

【0261】

本発明は、本発明の結合性メンバーをコードする単離された核酸をさらに提供する。核酸は、DNAおよび/またはRNAを含み得る。一方で、本発明は、上で定義される本発明のCDRまたはCDRセットまたはVHドメインまたはVLドメインまたは抗体抗原結合部位または抗体分子、例えば、scFvまたはIgG1をコードする核酸を提供する。

【0262】

本発明はまた、上記の少なくとも1つのポリヌクレオチドを含むプラスミド、ベクター、転写、または発現カセットの形態の構築物を提供する。

10

【0263】

本発明はまた、上記の1つ以上の構築物を含む組換え宿主細胞を提供する。提供される任意のCDRまたはCDRセットまたはVHドメインまたはVLドメインまたは抗体抗原結合部位または抗体分子、例えば、scFvまたはIgG1をコードする核酸は、それ自体が、コード核酸からの発現を含むコード産物の産生方法と同様、本発明の態様を形成する。核酸を含有する組換え宿主細胞を適切な条件下で培養することによって、発現は、好都合に達成され得る。発現による産生後、VHまたはVLドメイン、または結合性メンバーは、任意の好適な技術を用いて、単離および/または精製され得、次いで、必要に応じて使用され得る。

20

【0264】

本発明による核酸は、DNAまたはRNAを含み得、完全にまたは部分的に合成され得る。本明細書中に記載のヌクレオチド配列への言及は、文脈上特に要求されない限り、指定配列を有するDNA分子を包含し、かつ、Tの代わりにUが用いられる指定配列を有するRNA分子を包含する。

【0265】

なおさらなる態様は、抗体VH可変ドメインの産生方法を提供し、該方法には、コード核酸からの発現を生じさせることが含まれる。このような方法は、該抗体VH可変ドメインの産生条件下で宿主細胞を培養することを含み得る。

【0266】

VL可変ドメインおよび、VHおよび/またはVLドメインを含む結合性メンバーを産生するための類似の方法は、本発明のさらなる態様として提供される。

30

【0267】

産生方法は、生成物を単離および/または精製するステップを含み得る。産生方法は、この生成物を、薬学的に許容される賦形剤等の少なくとも1つの追加の成分を含む組成物に製剤化するステップを含み得る。

【0268】

種々の異なる宿主細胞におけるポリペプチドのクローニング系および発現系は周知である。好適な宿主細胞には、細菌、哺乳類細胞、植物細胞、糸状菌、酵母およびバキュロウイルス系およびトランスジェニック植物および動物が含まれる。原核細胞での抗体および抗体断片の発現は、当該技術分野において確立されている。概説に関しては、例えば、Pluckthun (Pluckthun, A. (1991) *Bio/Technology* 9: 545 - 551) を参照のこと。一般的な細菌宿主は、大腸菌である。

40

【0269】

培養中の真核細胞での発現もまた、結合性メンバーを産生するための選択肢として当業者に利用可能である (Chadd HE and Chamow SM (2001) *Current Opinion in Biotechnology* 12: 188 - 194, Andersen DC and Krummen L (2002) *Current Opinion in Biotechnology* 13: 117, Larrick JW and Thomas DW (2001) *Current Opinion i*

50

n Biotechnology 12:411-418)。当該技術分野において、異種ポリペプチドの発現に利用可能な哺乳類細胞株には、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、HeLa細胞、ベビーハムスター腎細胞、NS0マウス黒色腫細胞、YB2/0ラット骨髄腫細胞、ヒト胚性腎細胞、ヒト胚性網膜細胞、および多数の他の細胞が含まれる。

#### 【0270】

プロモーター配列、ターミネーター配列、ポリアデニル化配列、エンハンサー配列、マーカー遺伝子、および必要に応じて他の配列を含む、好適な調節配列を含有する好適なベクターは、選択または構築され得る。ベクターは、必要に応じて、プラスミド、例えば、ファージミド、またはウイルス、例えば「ファージ」であり得る（Sambrook and Russell, Molecular Cloning: a Laboratory Manual: 3rd edition, 2001, Cold Spring Harbor Laboratory Press）。核酸を操作するための多数の公知技術およびプロトコル、例えば、核酸構築物の調製における、突然変異誘発、シークエンシング、細胞へのDNAの導入および遺伝子発現、ならびにタンパク質の分析は、Ausubelら（Ausubel et al. eds., Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, 4<sup>th</sup> edition 1999）に詳細に記載されている。

10

20

#### 【0271】

本発明のさらなる態様は、本明細書中で開示される核酸を含有する宿主細胞を提供する。このような宿主細胞は、インピトロであってよく、培養中であってよい。このような宿主細胞は、インピボであってよい。宿主細胞のインピボでの存在により、本発明の結合性メンバーを「イントラボディ」または細胞内抗体として細胞内で発現することが可能になる。イントラボディは、遺伝子治療に使用され得る。

#### 【0272】

なおさらなる態様は、本発明の核酸を宿主細胞内に導入することを含む方法を提供する。該導入では、任意の利用可能な技術を用いてよい。真核細胞では、好適な技術には、リン酸カルシウムトランスフェクション、DEAEデキストラン、エレクトロポレーション、リポソーム媒介トランスフェクション、およびレトロウイルスまたは他のウイルス、例えば、ワクシニアまたは、昆虫細胞では、バキュロウイルスを用いる形質導入が含まれる。宿主細胞、特に、真核細胞での核酸の導入では、ウイルスまたはプラスミドに基づく系が使用され得る。プラスミド系は、エピソームとして維持され得るか、または宿主細胞内もしくは人工染色体内に組み込まれ得る。取り込みは、単一または複数の遺伝子座で1つ以上のコピーのランダムな組込み、または標的組込み（targeted integration）によって行われ得る。細菌細胞では、好適な技術には、塩化カルシウム形質転換、エレクトロポレーション、およびバクテリオファージを用いたトランスフェクションが含まれる。

30

40

#### 【0273】

導入後に、例えば、該遺伝子の発現条件下で宿主細胞を培養することによって、核酸からの発現を生じさせるか、または可能にしてよい。発現産物の精製は、当業者に公知の方法によって達成され得る。

#### 【0274】

本発明の核酸は、宿主細胞のゲノム（例えば、染色体）に組み込まれ得る。標準的技術に従って、ゲノムとの組換えを促進する配列を含めることによって、組込みは促進され得る。

#### 【0275】

本発明はまた、上記結合性メンバーまたはポリペプチドを発現するために、発現系で上記構築物を用いることを含む方法を提供する。

50

## 【 0 2 7 6 】

本明細書中の他の箇所では考察されるように、種々の障害でのIL-6の関与に関する証拠が存在する。したがって、本発明の結合性メンバーは、IL-6と関連している障害の診断または治療方法において使用され得る。このような障害は、例えば、炎症性および/または自己免疫性障害、例えば、リウマチ性関節炎、変形性関節炎、悪液質、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、若年性特発性関節炎、喘息、全身性エリテマトーデス、炎症性腸疾患、クローン病、またはアテローム性動脈硬化症であり得る。また、本発明の結合性メンバーは、腫瘍および/または癌等の障害を治療するために使用され得る。さらに、本発明の結合性メンバーは、本明細書中に列記される疾患および病態から生じる、またはそれらと関連する疼痛を治療するおよび/または予防するために使用され得る。また、本発明の結合性メンバーは、患者、動物、器官、組織、または細胞において、少なくとも1つのIL-6関連疾患を診断または治療する方法に使用され得、これには、以下の疾患が挙げられるが、これらに限定されない。慢性閉塞性肺疾患(COPD)を含む閉塞性気道疾患；気管支、アレルギー性、内因性、外因性、および塵埃喘息、特に慢性または難治性喘息(例えば遅発型喘息および気道応答性亢進)等の喘息；気管支炎；乾酪性鼻炎(rhinitis caseosa)、肥厚性鼻炎、化膿性鼻炎(rhinitis purulenta)、乾性鼻炎(rhinitis sicca)および薬物性鼻炎(rhinitis medicamentosa)を含む急性、アレルギー性、萎縮性鼻炎、および慢性鼻炎；クループ性、線維索性および偽膜性鼻炎および腺病性鼻炎を含む膜性鼻炎；神経性鼻炎(枯草熱)および血管運動性鼻炎、副鼻腔炎、特発性肺線維症(IPF)を含む季節性鼻炎；サルコイドーシス、農夫肺および関連疾患、成人呼吸促迫症候群、過敏性肺炎、肺線維症、および特発性間質性肺炎；リウマチ性関節炎、若年性慢性関節炎、全身性発症若年性関節炎、血清反応陰性脊椎関節症(強直性脊椎炎、乾癬性関節炎、およびライター病を含む)、ベーチェット病、シェーグレン(Sjogren)症候群および全身性硬化症、痛風、骨粗鬆症、および変形性関節炎；乾癬、アトピー性皮膚炎、接触皮膚炎および他の湿疹性(eczematous)皮膚疾患、アレルギー性接触皮膚炎、脂漏性(seborrheotic)皮膚炎、扁平苔癬、強皮症、天疱瘡、水疱性類天疱瘡、表皮水疱症、じんま疹、皮膚脈管炎、脈管炎、紅斑、皮膚好酸球増加症、ブドウ膜炎、円形脱毛症、アレルギー性結膜炎、および春季結膜炎(vernalvernal conjunctivitis)；(消化管)胃潰瘍、セリアック病、直腸炎、好酸球性胃腸炎(eosinophilic gastro-enteritis)、肥満細胞症、炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、抗リン脂質症候群)、腸から遠隔の影響を有する食物関連アレルギー、例えば、片頭痛、鼻炎、および湿疹；悪液質、多発性硬化症、アテローム性動脈硬化症、後天性免疫不全症候群(AIDS)、メサングウム増殖性糸球体腎炎、ネフローゼ症候群、腎炎、糸球体腎炎、急性腎不全、血液透析、尿毒症、局所または円板状エリテマトーデス、全身性エリテマトーデス、キャスルマン病、ハシモト甲状腺炎、重症筋無力症、I型糖尿病、B型インスリン抵抗性糖尿病、鎌状赤血球貧血、虹彩毛様体炎/ブドウ膜炎/視神経炎、腎炎症候群、好酸球増加症筋膜炎、ハイパーIgE症候群、全身性血管炎/ウェグナー肉芽腫症、睾丸炎/精管切除回復術、らい腫らい、アルコール誘発肝炎、セザリ-症候群、および特発性血小板減少症紫斑病；術後接着、ネフローゼ、全身性炎症反応症候群、敗血症症候群、グラム陽性敗血症、グラム陰性敗血症、培養陰性敗血症、真菌敗血症、好中球減少性発熱、急性膵炎、尿性敗血症、グレーブス病、レイノー病、抗体媒介細胞傷害性、III型過敏性反応、POEMS症候群(多発神経障害、臓器巨大症、内分泌障害、単クローン性免疫グロブリン血症、および皮膚変化症候群)、混合結合組織病、特発性アジソン病、真性糖尿病、慢性活動性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、白斑、MI(心臓切開)後症候群、IV型過敏症、細胞内生物に起因する肉芽腫、ウィルソン病、ヘモクロマトーシス、アルファ-I-アンチトリプシン欠乏症、糖尿病網膜症、ハシモト甲状腺炎、視床下部・下垂体・副腎軸評価、甲状腺炎、脳脊髄炎、新生児慢性肺疾患、家族性食血細胞リンパ組織球増多症、脱毛症、放射線療法(例えば、無力症、貧血、悪液質等が含まれるが、これらに限定されない)、慢性サリチル酸中毒、睡眠時無呼吸、肥満

10

20

30

40

50

症、心不全、および髄膜炎菌性敗血症；例えば、腎臓、心臓、肝臓、肺、膵臓、骨髄、骨、小腸、皮膚、軟骨、および角膜の移植後の急性および慢性拒絶；および慢性移植片対宿主病；白血病、急性リンパ性白血病（ALL）、急性白血病、T細胞、B細胞、またはFAB ALL、慢性骨髄性白血病（CML）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性リンパ性白血病（CLL）、有毛細胞白血病、脊髄形成異常（myelodysplastic）症候群（MDS）、任意のリンパ腫、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、任意の悪性リンパ腫、パーキットリンパ腫、多発性骨髄腫、カボジ肉腫、腎細胞癌、結腸直腸癌、前立腺癌、膵癌、上咽頭癌、悪性組織球増殖症、悪性腫瘍の腫瘍随伴症候群／高カルシウム血症、固形腫瘍、腺癌、肉腫、悪性黒色腫、血管腫、転移性疾患、癌関連骨吸収、癌関連骨痛；癌転移の抑制；癌悪液質の改善；嚢胞性線維症、脳卒中、心臓、脳、末梢肢（peripheral limbs）および他の器官の再灌流傷害；やけど創傷、外傷／出血、電離放射線曝露、慢性皮膚潰瘍；生殖疾患（例えば、排卵、月経および着床の障害、早期陣痛、子癩前症、子宮内膜症）；急性または慢性細菌感染、細菌、ウイルスおよび真菌感染を含む急性および慢性寄生もしくは感染プロセス、HIV感染／HIV神経障害、髄膜炎、肝炎（A、B、もしくはC、または他のウイルス性肝炎等）、敗血性関節炎、腹膜炎、肺炎、喉頭蓋炎、大腸菌O157:h7、溶血性尿毒症症候群／血栓性血小板減少性紫斑病、マラリア、デング出血熱、レーシュマニア症、ハンセン病、中毒性ショック症候群、連鎖球菌性筋炎、ガス壊疽、ヒト型結核菌、マイコバクテリウム・アビウム・イントラセルラーレ（mycobacterium avium intracellulare）、カリニ肺炎、骨盤内炎症性疾患、睾丸炎／エピディディミティス（epididymitis）、レジオネラ、ライム病、インフルエンザA、エプスタイン・バーウイルス、生命関連赤血球貪食症候群（vital-associated hemaphagocytic syndrome）、ウイルス性脳炎／無菌性髄膜炎、うつ病等。したがって、本発明は、IL-6関連障害を治療する方法を提供し、これには、治療を必要としている患者に、有効量の本発明の1つ以上の結合性メンバーを、単独で、または、当該技術分野において公知、もしくは本明細書中に記載の別の適切な医薬と併用療法レジメンで投与することを含む。

#### 【0277】

一実施形態において、IL-6関連障害はうつ病であり、大うつ病性障害として本明細書中に称される。大うつ病性障害（臨床的うつ病、大うつ病、単極性うつ病、または単極性障害としても知られ、本明細書中に称される）は、低い自尊心、および通常の楽しい活動における興味や喜びの損失を伴う、全ての包括的な気分の低下を特徴とする、精神障害である。「大うつ病性障害」という用語は、1980年版の精神障害の診断と統計の手引（DSM-III）の分類で、この症状群を気分障害として指定するために米国精神医学会によって選択され、以来、幅広く使用されている。一般用語のうつ病は、この障害を示すために使用されることが多いが、心理的うつ状態の他のタイプに関連して使用することができる場合、臨床的および研究用途におけるこの障害に対するさらに正確な専門用語が、好ましい。大うつ病は、個人の家族、仕事、または学校生活、睡眠および食習慣、ならびに総体的な健康に悪影響を及ぼす身体に障害を引き起こす状態（disabling condition）である。

#### 【0278】

うつ病は、全身性炎症を伴って生じる疾患と極めて併存する。全身性炎症は、炎症の血漿バイオマーカーの上昇に反映される場合、多くのうつ病患者において観察される。さらに、活性化したサイトカインシグナル経路は、うつ病患者の血液およびCSF中に検出され得る。さらに、サイトカイン（IFN-a、IL-2）は、精神病の病歴のない医学的に病気の患者において、大うつ病性障害の症状を誘発し得る。したがって、本発明は、うつ病を治療する方法を提供し、これには、有効量の本発明の1つ以上の結合性メンバーを単独で、または当該技術分野において公知の、例えば、セルトラリン、エスシタロプラム、フルオキセチン、パロキセチン、およびシタロプラム等の選択的セロトニン再取り込み阻害剤（SSRI）等の抗うつ剤；または本明細書中に記載の、別の適切な医薬と組み合



わせた治療レジメンにおいて、治療を必要とする患者に投与することを含む。

【0279】

本発明の結合性メンバーはまた、鎮痛特性を有する。このように、本明細書中に列記される疾患と関連する疼痛、ならびに、創傷、医学的手技、手術、損傷、外傷等から生じるか、またはそれらと関連する、慢性および急性疼痛を治療するおよび/または予防するための鎮痛剤として適切である。例えば、結合性メンバーは、術後の鎮痛剤として使用され得る。また、それらは、強直性脊椎炎、炎症性腰痛、神経因性疼痛、疼痛性神経腫、線維筋痛、頭痛、例えば、慢性頭痛および肩頭痛、膵臓炎、脊髄圧迫症候群および非悪性骨格痛、炎症性骨関節炎疼痛、リウマチ性関節炎、癌性疼痛、例えば、骨肉腫疼痛から生じる、またはそれらと関連する疼痛を治療する、または予防するために、使用され得る。

10

【0280】

本発明の結合性メンバーはまた、COPD、硬皮症、全身性エリテマトーデス、PEM、ならびに特発性肺高血圧症があるが、これらに限定されない、幾つかの疾患と関連する肺高血圧症を治療するためにも使用され得る。IL-6レベルの上昇は、これらの病態の多くと関連する肺高血圧症に罹患している患者において報告されている(Savale, L. et al. *Respir. Res.* (2009) 10, 6およびこの中の参考文献、Steiner, M. K. et al. *Circ. Res.* (2009) 104(2) 236-244およびこの中の参考文献)。低酸素症に曝したIL-6欠損マウスは、低酸素症に曝したWTマウスと比較した場合、右心室最大血圧の低下および右心室肥大の軽減を示す(Savale, L. et al. *Respir. Res.* (2009) 10, 6およびこの中の参考文献)。さらに、IL-6-過剰発現遺伝子導入マウスは、非遺伝子導入対照と比較した場合、低酸素条件下で、右心室最大血圧の上昇および右心室肥大の増大に発展し(Steiner, M. K. et al. *Circ. Res.* (2009) 104(2) 236-244およびこの中の参考文献)、体外から投与されたIL-6は、慢性酸素欠乏に曝したマウスにおいて、肺高血圧症の発症を悪化させる(Golembski, S. M. et al. *Chest* (2005) 128(6追加) 572S-573S)。

20

【0281】

さらに、安定COPD患者は、健常な対照を超えるIL-6の血清レベルの増加を有することが観察されている(Yanbaeva, D. G. et al. *BMC Med Genet* (2009) 10, 23、Savale, L. et al. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* (2009) 179(7), 566-571、Eickhoff, P. et al. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* (2008) 178(12) 1211-1218)。IL-6レベルの上昇は、COPD患者において、肺機能障害と関連している(R. E. et al. *Chest* (2008) 133(1) 19-25、Thorleifsson, S. J. et al. *Respir. Med.* (2009) 103(10) 1548-1553)。また、幾つかの研究は、再燃への変換で測定されたIL-6レベルまたは安定COPD患者において、測定されたIL-6レベルと比較した場合、COPDの再燃の発病で、痰および/または血清中のIL-6レベルの上昇が報告されている(Valipour, A. et al. *Clinical Science* (2008) 115(7), 225-232、Groenewegen, K. H. et al. *Respir. Med.* (2007) 101(11) 2409-2415、Perera, W. R. et al. *Eur. Respir. J.* (2007) 29(3), 527-534)。また、IL-6レベルの上昇は、さらに高頻度の悪化因子と関連している(Bhowmik, A. et al. *Thorax* (2000) 55(2) 114-120)。抗IL-6抗体を有するマウスまたはIL-6の欠損したマウスの処置は、ある動物モデルにおいて、肺炎症、例えば、オゾン誘発性肺炎症およびブレオマイシン誘発性肺炎症および線維症の軽減を示す(Saito, F. et al. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* (2008) 38(5) 566-571、Lang, J. E. et al. *Am. J. Physiol. Lu*

30

40

50

ng Cell Mol. Physiol. (2008) 294 (5) L1013 - L1020、Johnston, R. A. et al Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. (2005) 288 (2) L390 - L397)。また、高いIL-6レベルは、COPD、例えば、肺高血圧症のある併存障害と関連している(Chaouat, A. et al Chest (2009) 136 (3) 678 - 687、Eddahibi, S. et al Proceedings of the American Thoracic Society (2006) 3 (6), 475 - 476)。

#### 【0282】

ある他の障害におけるIL-6の関与の証拠は、十分に理解される。本明細書およびPCT公開WO第2008/065378号に示されるデータは、さらに、本発明の結合性メンバーが、予防的処置および障害の重症度の軽減を含む、このような障害を治療するために使用することができることを示す。したがって、本発明は、本明細書中に言及される障害のいずれかの少なくとも1つの症状を治療する、または重症度を軽減する方法を提供し、これには、上記の障害のいずれかの少なくとも1つの症状の重症度が軽減されるように、有効量の本発明の1つ以上の結合性メンバーを単独で、または当該技術分野において公知の、または本明細書中に記載の別の適切な医薬と共に組み合わせた治療レジメンにおいて、治療を必要とする患者に投与することを含む。

10

#### 【0283】

ゆえに、本発明の結合性メンバーは、IL-6および/またはIL-6Raの発現および/または活性、特に、異常な発現/活性を伴って生じる疾患または障害の治療において、治療剤として有用である。治療の方法は、有効量の本発明の結合性メンバーを、治療を必要とする患者に投与することを含み得、これにより、IL-6および/またはIL-6Raの異常な発現/活性が軽減される。治療の方法は、(i)例えば、上記の診断方法を用いて、異常なIL-6:IL-6Raレベルまたは活性を示す患者を特定することと、(ii)有効量の本発明の結合性メンバーを、治療を必要とする患者に投与することと、を含み得、これにより、IL-6および/またはIL-6Raの異常な発現/活性が軽減される。本発明による有効量とは、治療すべき特定の疾患または障害の少なくとも1つの症状の重症度を軽減または低減するために、IL-6および/またはIL-6Raの異常な発現および/または活性を軽減するが、必ずしもこの疾患または障害を治癒するとは限らない、量である。

20

30

#### 【0284】

本発明はまた、IL-6の少なくとも1つの作用を拮抗する方法を提供し、これには、該IL-6の少なくとも1つの作用が拮抗するように、有効量の本発明の1つ以上の結合性メンバーと接触させること、または投与することを含む。本発明の方法によって拮抗され得るIL-6の作用には、gp130へのIL-6結合、およびこの結合の結果として生じる下流作用が含まれる。

#### 【0285】

したがって、本発明のさらなる態様は、提供される結合性メンバー、このような結合性メンバーを含む薬学的組成物を投与すること、ならびに、投与のために医薬の製造において、例えば、薬学的に許容される賦形剤と共に結合性メンバーを製剤化することを含む、医薬または薬学的組成物を作製する方法において、このような結合性メンバーを使用することを含む、治療の方法を提供する。薬学的に許容される賦形剤は、二次反応を引き起こすことなく、薬学的組成物に入る化合物または化合物の組み合わせであり得、これらは、例えば、活性化化合物の投与を促進する、体内でのその寿命および/またはその有効性の増加、溶液中のその溶解度の増加、またはその保存を改善させる。これらの薬学的に許容されるビヒクルは、選択される活性化化合物の性質および投与様式の機能として、当業者には周知であり、適用される。

40

#### 【0286】

本発明の結合性メンバーは、通常、薬学的組成物の形態で投与され、これには、結合性

50

メンバーに加えて少なくとも1つの成分を含み得る。ゆえに、本発明による薬学的組成物、および本発明に従って使用する薬学的組成物は、活性成分に加えて、薬学的に許容される賦形剤、担体、緩衝剤、安定剤、または当業者に周知の他の材料を含み得る。このような材料は、非毒性であり、活性成分の有効性を妨げてはいけない。担体または他の材料の正確な性質は、以下に論じられるように、経口、吸入、気管内、局所、小胞内、または注射によるものであり得る、投与の経路に依存する。

【0287】

本発明は、本発明の抗体を含む、滅菌された安定な薬学的製剤に関する。

【0288】

本発明は、本発明の抗体を安定化する方法を提供する。

10

【0289】

本発明は、さらに、本発明の抗体を含む、滅菌された安定な製剤を作製するプロセスに関する。

【0290】

本明細書中に記載の本発明の抗体の全ての製剤は、集合的に、「本発明の製剤」、「本発明の液体製剤」、「本発明の高濃度の安定な液体製剤」、「本発明の抗体液体製剤」、「本発明の再構成された液体製剤」、または「本発明の抗体製剤」として称される。

【0291】

本明細書中で使用される、「薬学的に許容される」という語句は、連邦政府または州政府の監督官庁によって承認されているか、または米国薬局方、欧州薬局方、もしくは、動物での使用、およびさらに特にヒトでの使用に関する他の一般に認識されている薬局方に列挙されていることを意味する。

20

【0292】

本発明の抗体（その抗体断片を含む）を含む液体製剤の文脈において、本明細書中で使用される、「安定性」および「安定な」という用語は、所与の製造、調製、輸送、および保存条件下での、製剤中の抗体（その抗体断片を含む）に対する、または凝集、分解、または断片化に対する抵抗を指す。本発明の「安定な」製剤は、所与の製造、調製、輸送、および保存条件下での、生物学的活性を保持する。該抗体（その抗体断片を含む）の安定性は、参照製剤と比較して、HPSEC、逆相クロマトグラフィー、静的光散乱（SLS）、フーリエ変換赤外分光（Fourier Transform Infrared Spectroscopy）（FTIR）、円偏光二色性（CD）、尿素アンフォールディング技術（urea unfolding techniques）、固有トリプトファン蛍光（intrinsic tryptophan fluorescence）、示差走査熱量測定、および/またはANS結合技術によって測定される凝集、分解、または断片化の程度によって評価することができる。例えば、参照製剤は、ヒスチジン、pH 6.0~6.5中の10mg/mLの抗体（その抗体断片を含む）、任意に、1つ以上の賦形剤からなる-70で凍結された参照標準であり得、この参照製剤は、通常、HPSECにより単独のモノマーピーク（例えば、97%面積）を示す。抗体（その抗体断片を含む）を含む製剤の全般的安定性は、例えば、単離された抗原分子を用いて、ELISAおよびラジオイムノアッセイを含む、種々の免疫学的アッセイにより評価することができる。

30

40

【0293】

本明細書中で使用される、「低レベルから検出不可能なレベルの凝集」という語句は、高性能サイズ排除クロマトグラフィー（HPSEC）または静的光散乱（SLS）技術によって測定された場合、タンパク質の重量で、約5%以下、約4%以下、約3%以下、約2%以下、約1%以下、約0.5%以下の凝集しか含有しない試料を指す。

【0294】

本明細書中で使用される、「低レベルから検出不可能なレベルの断片化」という語句は、例えば、HPSEC、または逆相クロマトグラフィーによって測定される場合には、単一ピークにて、または、還元キャピラリーゲル電気泳動（rCGE）によって測定される

50

場合には、2つのピーク（例えば、重鎖および軽鎖）（またはサブユニットが存在する場合は多くのピーク）にて、総タンパク質の約80%、約85%、約90%、約95%、約98%、もしくは約99%またはそれ以上を含有し、非分解抗体またはその非分解断片を示し、かつ各ピーク中に総タンパク質の約5%超、約4%超、約3%超、約2%超、約1%超、または約0.5%超を有する他の単一ピークを含有しない試料を指す。本明細書中で使用される、「還元キャピラリーゲル電気泳動」という語句は、抗体のジスルフィド結合を還元するのに十分な還元条件下でのキャピラリーゲル電気泳動を指す。

【0295】

本発明は、本発明の抗体の安定な、高濃度の製剤に関する。一実施形態において、本発明の製剤は、液体製剤である。別の実施形態において、本発明の製剤は、凍結乾燥製剤である。さらなる実施形態において、本発明の製剤は、再構成された液体製剤である。

10

【0296】

一実施形態において、本発明の製剤は、安定な液体製剤である。一実施形態において、本発明の液体製剤は、水性製剤である。特定の実施形態において、本発明の液体製剤は、水性製剤であり、この水性担体は、蒸留水である。

【0297】

一実施形態において、本発明の製剤は、滅菌されている。

【0298】

一実施形態において、本発明の製剤は、均質である。

【0299】

一実施形態において、本発明の製剤は、等張性である。

20

【0300】

本発明は、対象となる単一抗体（その抗体断片を含む）、例えば、IL-6に特異的に結合する抗体を含む安定な液体製剤を包含する。本発明はまた、対象となる2つ以上の抗体（その抗体断片を含む）、例えば、IL-6ポリペプチドに特異的に結合する抗体を含む安定な液体製剤も包含する。

【0301】

一実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも約1mg/mL、少なくとも約5mg/mL、少なくとも約10mg/mL、少なくとも約20mg/mL、少なくとも約30mg/mL、少なくとも約40mg/mL、少なくとも約50mg/mL、少なくとも約60mg/mL、少なくとも約70mg/mL、少なくとも約80mg/mL、少なくとも約90mg/mL、少なくとも約100mg/mL、少なくとも約110mg/mL、少なくとも約120mg/mL、少なくとも約130mg/mL、少なくとも約140mg/mL、少なくとも約150mg/mL、少なくとも約160mg/mL、少なくとも約170mg/mL、少なくとも約180mg/mL、少なくとも約190mg/mL、少なくとも約200mg/mL、少なくとも約250mg/mL、または少なくとも約300mg/mLの本発明の抗IL-6抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも約100mg/mLの本発明の抗IL-6抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも約125mg/mLの本発明の抗IL-6抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも約130mg/mLの本発明の抗IL-6抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも約150mg/mLの本発明の抗IL-6抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも約90mg/mLの本発明の抗IL-6抗体を含む。別の実施形態において、本発明の製剤は、約1mg/mL～約25mg/mLの範囲、約1mg/mL～約200mg/mLの範囲、約25mg/mL～約200mg/mLの範囲、約50mg/mL～約200mg/mLの範囲、約75mg/mL～約200mg/mLの範囲、約100mg/mL～約200mg/mLの範囲、約125mg/mL～約200mg/mLの範囲、約150mg/mL～約200mg/mLの範囲、約25mg/mL～約150mg/mLの範囲、約50mg/mL～約150mg/mLの範囲、約75mg/mL～約150mg/mLの範囲、約100mg/mL～約150mg/mLの範囲、約12

30

40

50

5 mg / mL ~ 約 150 mg / mL の範囲、約 25 mg / mL ~ 約 125 mg / mL の範囲、約 50 mg / mL ~ 約 125 mg / mL の範囲、約 75 mg / mL ~ 約 125 mg / mL の範囲、約 100 mg / mL ~ 約 125 mg / mL の範囲、約 25 mg / mL ~ 約 100 mg / mL の範囲、約 50 mg / mL ~ 約 100 mg / mL の範囲、約 75 mg / mL ~ 約 100 mg / mL の範囲、約 25 mg / mL ~ 約 75 mg / mL の範囲、約 50 mg / mL ~ 約 75 mg / mL、または約 25 mg / mL ~ 約 50 mg / mL の範囲の本発明の抗 I L - 6 抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、約 90 mg / mL ~ 約 110 mg / mL の範囲の本発明の抗 I L - 6 抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、約 100 mg / mL ~ 約 210 mg / mL の範囲の本発明の抗 I L - 6 抗体を含む。さらなる実施形態において、本明細書中に記載の製剤は、約 20 mg / mL、約 30 mg / mL、約 40 mg / mL、約 50 mg / mL、約 60 mg / mL、約 70 mg / mL、約 80 mg / mL、約 90 mg / mL、約 100 mg / mL、約 110 mg / mL、約 120 mg / mL、約 130 mg / mL、約 140 mg / mL、約 150 mg / mL、約 160 mg / mL、約 170 mg / mL、約 180 mg / mL、約 190 mg / mL、約 200 mg / mL、約 250 mg / mL、または約 300 mg / mL の本発明の抗 I L - 6 抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、約 100 mg / mL の本発明の抗 I L - 6 抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、約 125 mg / mL の本発明の抗 I L - 6 抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、約 130 mg / mL の本発明の抗 I L - 6 抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、約 150 mg / mL の本発明の抗 I L - 6 抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、約 200 mg / mL の本発明の抗 I L - 6 抗体を含む。

#### 【 0 3 0 2 】

一実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも 1 mg / mL、少なくとも 5 mg / mL、少なくとも 10 mg / mL、少なくとも 20 mg / mL、少なくとも 30 mg / mL、少なくとも 40 mg / mL、少なくとも 50 mg / mL、少なくとも 60 mg / mL、少なくとも 70 mg / mL、少なくとも 80 mg / mL、少なくとも 90 mg / mL、少なくとも 100 mg / mL、少なくとも 110 mg / mL、少なくとも 120 mg / mL、少なくとも 130 mg / mL、少なくとも 140 mg / mL、少なくとも 150 mg / mL、少なくとも 160 mg / mL、少なくとも 170 mg / mL、少なくとも 180 mg / mL、少なくとも 190 mg / mL、少なくとも 200 mg / mL、少なくとも 250 mg / mL、または少なくとも 300 mg / mL の本発明の抗 I L - 6 抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも 100 mg / mL の本発明の抗 I L - 6 抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも 125 mg / mL の本発明の抗 I L - 6 抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも 150 mg / mL の本発明の抗 I L - 6 抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも 175 mg / mL の本発明の抗 I L - 6 抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも 200 mg / mL の本発明の抗 I L - 6 抗体を含む。別の実施形態において、本発明の製剤は、1 mg / mL ~ 25 mg / mL の範囲、1 mg / mL ~ 200 mg / mL の範囲、25 mg / mL ~ 200 mg / mL の範囲、50 mg / mL ~ 200 mg / mL の範囲、75 mg / mL ~ 200 mg / mL の範囲、100 mg / mL ~ 200 mg / mL の範囲、125 mg / mL ~ 200 mg / mL の範囲、150 mg / mL ~ 200 mg / mL の範囲、25 mg / mL ~ 150 mg / mL の範囲、50 mg / mL ~ 150 mg / mL の範囲、75 mg / mL ~ 150 mg / mL の範囲、100 mg / mL ~ 150 mg / mL の範囲、125 mg / mL ~ 150 mg / mL の範囲、25 mg / mL ~ 125 mg / mL の範囲、50 mg / mL ~ 125 mg / mL の範囲、75 mg / mL ~ 125 mg / mL の範囲、100 mg / mL ~ 125 mg / mL の範囲、25 mg / mL ~ 100 mg / mL の範囲、50 mg / mL ~ 100 mg / mL の範囲、75 mg / mL ~ 100 mg / mL の範囲、25 mg / mL ~ 75 mg / mL の範囲、50 mg / mL ~ 75 mg / mL の範囲、または 25 mg / mL ~ 50 mg / mL の範囲の本発明の抗 I L - 6 抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤

は、90 mg/mL ~ 110 mg/mL の範囲の本発明の抗IL-6抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、100 mg/mL ~ 210 mg/mL の範囲の本発明の抗IL-6抗体を含む。さらなる実施形態において、本明細書中に記載の製剤は、20 mg/mL、30 mg/mL、40 mg/mL、50 mg/mL、60 mg/mL、70 mg/mL、80 mg/mL、90 mg/mL、100 mg/mL、110 mg/mL、120 mg/mL、130 mg/mL、140 mg/mL、150 mg/mL、160 mg/mL、170 mg/mL、180 mg/mL、190 mg/mL、200 mg/mL、250 mg/mL、または300 mg/mLの本発明の抗IL-6抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、100 mg/mLの本発明の抗IL-6抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、125 mg/mLの本発明の抗IL-6抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、150 mg/mLの本発明の抗IL-6抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、175 mg/mLの本発明の抗IL-6抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、200 mg/mLの本発明の抗IL-6抗体を含む。

10

#### 【0303】

任意に、本発明の製剤は、一般的な賦形剤、ならびに/または緩衝剤、サッカライド、塩、および界面活性剤等の添加剤をさらに含み得る。さらに、または代替として、本発明の製剤は、一般的な賦形剤、ならびに/または可溶化剤、希釈剤、結合剤、安定剤、塩、親油性溶媒、アミノ酸、キレート剤、保存剤等の添加剤をさらに含み得る。

20

#### 【0304】

ある実施形態において、緩衝剤は、ヒスチジン、クエン酸塩、リン酸塩、グリシン、および酢酸塩からなる群から選択される。他の実施形態において、サッカライド賦形剤は、トレハロース、スクロース、マンニトール、マルトース、およびラフィノースからなる群から選択される。さらに他の実施形態において、界面活性剤は、ポリソルベート20、ポリソルベート40、ポリソルベート80、およびPluronic F68からなる群から選択される。なお他の実施形態において、この塩は、NaCl、KCl、MgCl<sub>2</sub>、およびCaCl<sub>2</sub>からなる群から選択される。

#### 【0305】

任意に、本発明の製剤は、好適な賦形剤、ポリオール、可溶化剤、希釈剤、結合剤、安定剤、親油性溶媒、キレート剤、保存剤等であるが、これらに限定されない、他の一般的な補助成分をさらに含み得る。

30

#### 【0306】

本発明の製剤は、改善されたpH制御を提供するために緩衝剤またはpH調整剤を含む。一実施形態において、本発明の製剤は、約3.0 ~ 約9.0の範囲、約4.0 ~ 約8.0の範囲、約5.0 ~ 約8.0の範囲、約5.0 ~ 約7.0の範囲、約5.0 ~ 約6.5の範囲、約5.5 ~ 約8.0の範囲、約5.5 ~ 約7.0、または約5.5 ~ 約6.5の範囲のpHを有する。さらなる実施形態において、本発明の製剤は、約3.0、約3.5、約4.0、約4.5、約5.0、約5.1、約5.2、約5.3、約5.4、約5.5、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7.5、約8.0、約8.5、または約9.0のpHを有する。特定の実施形態において、本発明の製剤は、約6.0のpHを有する。

40

#### 【0307】

本発明の製剤は、改善されたpH制御を提供するために緩衝剤またはpH調整剤を含む。一実施形態において、本発明の製剤は、3.0 ~ 9.0の範囲、4.0 ~ 8.0の範囲、5.0 ~ 8.0の範囲、5.0 ~ 7.0の範囲、5.0 ~ 6.5の範囲、5.5 ~ 8.0の範囲、5.5 ~ 7.0の範囲、または5.5 ~ 6.5の範囲のpHを有する。さらなる実施形態において、本発明の製剤は、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.5

50

5、8.0、8.5、または9.0のpHを有する。特定の実施形態において、本発明の製剤は、6.0のpHを有する。当業者により、製剤のpHは、一般には、製剤に使用されるべき特定の抗体（その抗体断片を含む）の等電点と等しいべきではないことが理解されよう。

#### 【0308】

典型的には、緩衝剤は、有機または無機の酸または塩基から調製された塩である。代表的な緩衝剤としては、クエン酸、アスコルビン酸、グルコン酸、炭酸、酒石酸、コハク酸、酢酸、またはフタル酸の塩等の有機酸の塩；トリス、トロメタミン塩酸塩、またはリン酸緩衝液が挙げられるが、これらに限定されない。加えて、アミノ酸成分は、緩衝化能において機能することもできる。本発明の製剤中で緩衝剤として利用され得る代表的なアミノ酸成分としては、グリシンおよびヒスチジンが挙げられるが、これらに限定されない。ある実施形態において、緩衝剤は、ヒスチジン、クエン酸塩、リン酸塩、グリシン、および酢酸塩からなる群から選択される。特定の実施形態において、緩衝剤はヒスチジンである。別の特定の実施形態において、緩衝剤はクエン酸塩である。緩衝剤の純度は、少なくとも98%、または少なくとも99%、または少なくとも99.5%であるべきである。ヒスチジンの文脈において、本明細書中で使用される「純度」という用語は、例えば、The Merck Index, 13th ed., O'Neil et al. ed. (Merck & Co., 2001)に記載されるように、当該技術分野で理解されるヒスチジンの化学的純度を指す。

10

#### 【0309】

緩衝剤は、典型的には、所望のイオン強度および必要とされる緩衝能に応じて、約1mM~約200mMの範囲または該範囲内の任意の範囲もしくは値の濃度で使用される。非経口製剤中で用いられる従来の緩衝剤の通常濃度は、Pharmaceutical Dosage Form: Parenteral Medications, Volume 1, 2nd Edition, Chapter 5, p. 194, De Luca and Boylan, "Formulation of Small Volume Parenterals", Table 5: Commonly used additives in Parenteral Productsに見出すことができる。一実施形態において、緩衝剤は、約1mM、または約5mM、または約10mM、または約15mM、または約20mM、または約25mM、または約30mM、または約35mM、または約40mM、または約45mM、または約50mM、または約60mM、または約70mM、または約80mM、または約90mM、または約100mMの濃度である。一実施形態において、緩衝剤は、1mM、または5mM、または10mM、または15mM、または20mM、または25mM、または30mM、または35mM、または40mM、または45mM、または50mM、または60mM、または70mM、または80mM、または90mM、または100mMの濃度である。特定の実施形態において、緩衝剤は、約5mM~約50mMの範囲の濃度である。別の特定の実施形態において、緩衝剤は、5mM~20mMの範囲の濃度である。

20

30

#### 【0310】

さらなる実施形態において、緩衝剤は、1mM、または5mM、または10mM、または15mM、または20mM、または25mM、または30mM、または35mM、または40mM、または45mM、または50mM、または60mM、または70mM、または80mM、または90mM、または100mMの濃度である。一実施形態において、緩衝剤は、1mM、または5mM、または10mM、または15mM、または20mM、または25mM、または30mM、または35mM、または40mM、または45mM、または50mM、または60mM、または70mM、または80mM、または90mM、または100mMの濃度である。特定の実施形態において、緩衝剤は、5mM~50mMの範囲の濃度である。別の特定の実施形態において、緩衝剤は、5mM~20mMの範囲の濃度である。

40

#### 【0311】

50

ある実施形態において、本発明の製剤は、緩衝剤を含む。一実施形態において、該緩衝剤は、ヒスチジン、クエン酸塩、リン酸塩、グリシン、および酢酸塩からなる群から選択される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、緩衝剤としてヒスチジンを含む。

【0312】

一実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも約1 mM、少なくとも約5 mM、少なくとも約10 mM、少なくとも約20 mM、少なくとも約30 mM、少なくとも約40 mM、少なくとも約50 mM、少なくとも約75 mM、少なくとも約100 mM、少なくとも約150 mM、または少なくとも約200 mMのヒスチジンを含む。別の実施形態において、本発明の製剤は、約1 mM～約200 mMの範囲、約1 mM～約150 mMの範囲、約1 mM～約100 mMの範囲、約1 mM～約75 mMの範囲、約10 mM～約200 mMの範囲、約10 mM～約150 mMの範囲、約10 mM～約100 mMの範囲、約10 mM～約75 mMの範囲、約10 mM～約50 mMの範囲、約10 mM～約40 mMの範囲、約10 mM～約30 mMの範囲、約20 mM～約75 mMの範囲、約20 mM～約50 mMの範囲、約20 mM～約40 mMの範囲、または約20 mM～約30 mMの範囲のヒスチジンを含む。本発明のさらなる実施形態において、約1 mM、約5 mM、約10 mM、約20 mM、約25 mM、約30 mM、約35 mM、約40 mM、約45 mM、約50 mM、約60 mM、約70 mM、約80 mM、約90 mM、約100 mM、約150 mM、または約200 mMのヒスチジンを含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、約10 mMのヒスチジンを含む。

10

【0313】

一実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも1 mM、少なくとも5 mM、少なくとも10 mM、少なくとも20 mM、少なくとも30 mM、少なくとも40 mM、少なくとも50 mM、少なくとも75 mM、少なくとも100 mM、少なくとも150 mM、または少なくとも200 mMのヒスチジンを含む。別の実施形態において、本発明の製剤は、1 mM～200 mMの範囲、1 mM～150 mMの範囲、1 mM～100 mMの範囲、1 mM～75 mMの範囲、10 mM～200 mMの範囲、10 mM～150 mMの範囲、10 mM～100 mMの範囲、10 mM～75 mMの範囲、10 mM～50 mMの範囲、10 mM～40 mMの範囲、10 mM～30 mMの範囲、20 mM～75 mMの範囲、20 mM～50 mMの範囲、20 mM～40 mMの範囲、または20 mM～30 mMの範囲のヒスチジンを含む。本発明のさらなる実施形態において、1 mM、5 mM、10 mM、20 mM、25 mM、30 mM、35 mM、40 mM、45 mM、50 mM、60 mM、70 mM、80 mM、90 mM、100 mM、150 mM、または200 mMのヒスチジンを含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、10 mMのヒスチジンを含む。

20

30

【0314】

ある実施形態において、本発明の製剤は、炭水化物賦形剤を含む。炭水化物賦形剤は、例えば、増粘剤 (viscosity enhancing agents)、安定剤、増量剤、可溶化剤等として作用し得る。炭水化物賦形剤は、一般に、重量または容量単位で約1%～約99%の範囲で存在する。一実施形態において、炭水化物賦形剤は、約0.1%～約20%の範囲で存在する。別の実施形態において、炭水化物賦形剤は、約0.1%～約15%の範囲で存在する。特定の実施形態において、炭水化物賦形剤は、約0.1%～約5%の範囲、または約1%～約20%の範囲、または約5%～約15%の範囲、または約8%～約10%の範囲、または約10%～約15%の範囲、または約15%～約20%の範囲で存在する。別の特定の実施形態において、炭水化物賦形剤は、0.1%～20%の範囲、または5%～15%の範囲、または8%～10%の範囲、または10%～15%の範囲、または15%～20%の範囲で存在する。なお別の特定の実施形態において、炭水化物賦形剤は、約0.1%～約5%の範囲で存在する。なお別の特定の実施形態において、炭水化物賦形剤は、約5%～約10%の範囲で存在する。さらに別の特定の実施形態において、炭水化物賦形剤は、約15%～約20%の範囲で存在する。さらに他の特定の実施形態において、炭水化物賦形剤は、1%、または1.5%、または2%、または2.5%、または3%、または4%、または5%、または10%、または15%、または

40

50



20%で存在する。

【0315】

ある実施形態において、本発明の製剤は、炭水化物賦形剤を含む。炭水化物賦形剤は、例えば、増粘剤 (viscosity enhancing agents)、安定剤、増量剤、可溶化剤等として作用し得る。炭水化物賦形剤は、一般に、重量または容量単位で1%~99%の範囲で存在する。一実施形態において、炭水化物賦形剤は、0.1%~20%の範囲で存在する。別の実施形態において、炭水化物賦形剤は、0.1%~15%の範囲で存在する。特定の実施形態において、炭水化物賦形剤は、0.1%~5%の範囲、または1%~20%の範囲、または5%~15%の範囲、または8%~10%の範囲、または10%~15%の範囲、または15%~20%の範囲で存在する。別の特定の実施形態において、炭水化物賦形剤は、0.1%~20%の範囲、または5%~15%の範囲、または8%~10%の範囲、または10%~15%の範囲、または15%~20%の範囲で存在する。なお別の特定の実施形態において、炭水化物賦形剤は、0.1%~5%の範囲で存在する。なお別の特定の実施形態において、炭水化物賦形剤は、5%~10%の範囲で存在する。さらに別の特定の実施形態において、炭水化物賦形剤は、15%~20%の範囲で存在する。さらに他の特定の実施形態において、炭水化物賦形剤は、1%、または1.5%、または2%、または2.5%、または3%、または4%、または5%、または10%、または15%、または20%で存在する。

10

【0316】

本発明の製剤中で用いるのに好適な炭水化物賦形剤には、例えば、フルクトース、マルトース、ガラクトース、グルコース、D-マンノース、ソルボース等の単糖類；例えば、ラクトース、ショ糖、トレハロース、セロビオース等の二糖類；例えば、ラフィノース、メレジットース、マルトデキストリン、デキストラン、デンプン等の多糖類；および例えば、マンニトール、キシリトール、マルチトール、ラクチトール、キシリトールソルビトール (グルシトール) 等のアルジトールが含まれる。一実施形態において、本発明で用いる炭水化物賦形剤は、スクロース、トレハロース、ラクトース、マンニトール、およびラフィノースからなる群から選択される。特定の実施形態において、炭水化物賦形剤は、トレハロースである。別の特定の実施形態において、炭水化物賦形剤は、マンニトールである。さらに別の特定の実施形態において、炭水化物賦形剤は、スクロースである。なお別の特定の実施形態において、炭水化物賦形剤は、ラフィノースである。炭水化物賦形剤の純度は、少なくとも98%、または少なくとも99%、または少なくとも99.5%であるべきである。

20

30

【0317】

一実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも約1%、少なくとも約2%、少なくとも約4%、少なくとも約8%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、または少なくとも約40%のトレハロースを含む。別の実施形態において、本発明の製剤は、約1%~約40%の範囲、約1%~約30%の範囲、約1%~約20%の範囲、約2%~約40%の範囲、約2%~約30%の範囲、約2%~約20%の範囲、約4%~約40%の範囲、約4%~約30%の範囲、または約4%~約20%の範囲のトレハロースを含む。さらなる実施形態において、本発明の製剤は、約1%、約2%、約4%、約8%、約20%、約30%、または約40%のトレハロースを含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、約4%のトレハロースを含む。

40

【0318】

一実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも1%、少なくとも2%、少なくとも4%、少なくとも8%、少なくとも20%、少なくとも30%、または少なくとも40%のトレハロースを含む。別の実施形態において、本発明の製剤は、1%~40%の範囲、1%~30%の範囲、1%~20%の範囲、2%~40%の範囲、2%~30%の範囲、2%~20%の範囲、4%~40%の範囲、4%~30%の範囲、または4%~20%の範囲のトレハロースを含む。さらなる実施形態において、本発明の製剤は、1%、2%、4%、8%、20%、30%、または40%のトレハロースを含む。

50

## 【0319】

一実施形態において、本発明の製剤は、賦形剤を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、糖、塩、界面活性剤、アミノ酸、ポリオール、キレート剤、乳化剤、および保存剤からなる群から選択される少なくとも1つの賦形剤を含む。一実施形態において、本発明の製剤は、塩を含む。一実施形態において、本発明の製剤は、NaCl、KCl、CaCl<sub>2</sub>、およびMgCl<sub>2</sub>からなる群から選択される塩を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、NaClを含む。

## 【0320】

一実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも約10mM、少なくとも約25mM、少なくとも約50mM、少なくとも約75mM、少なくとも約80mM、少なくとも約100mM、少なくとも約125mM、少なくとも約150mM、少なくとも約175mM、少なくとも約200mM、または少なくとも約300mMの塩化ナトリウムを含む。さらなる実施形態において、本明細書中に記載の製剤は、約10mM～約300mMの範囲、約10mM～約200mMの範囲、約10mM～約175mMの範囲、約10mM～約150mMの範囲、約25mM～約300mMの範囲、約25mM～約200mMの範囲、約25mM～約175mMの範囲、約25mM～約150mMの範囲、約50mM～約300mMの範囲、約50mM～約200mMの範囲、約50mM～約175mMの範囲、約50mM～約150mMの範囲、約75mM～約300mMの範囲、約75mM～約200mMの範囲、約75mM～約175mMの範囲、約75mM～約150mMの範囲、約100mM～約300mMの範囲、約100mM～約200mMの範囲、約100mM～約175mM、または約100mM～約150mMの範囲の塩化ナトリウムを含む。さらなる実施形態において、本発明の製剤は、約10mM、約25mM、約50mM、約75mM、約80mM、約100mM、約125mM、約150mM、約175mM、約200mM、または約300mMの塩化ナトリウムを含む。

## 【0321】

一実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも10mM、少なくとも25mM、少なくとも50mM、少なくとも75mM、少なくとも80mM、少なくとも100mM、少なくとも125mM、少なくとも150mM、少なくとも175mM、少なくとも200mM、または少なくとも300mMの塩化ナトリウムを含む。さらなる実施形態において、本明細書中に記載の製剤は、10mM～300mMの範囲、10mM～200mMの範囲、10mM～175mMの範囲、10mM～150mMの範囲、25mM～300mMの範囲、25mM～200mMの範囲、25mM～175mMの範囲、25mM～150mMの範囲、50mM～300mMの範囲、50mM～200mMの範囲、50mM～175mMの範囲、50mM～150mMの範囲、75mM～300mMの範囲、75mM～200mMの範囲、75mM～175mMの範囲、75mM～150mMの範囲、100mM～300mMの範囲、100mM～200mMの範囲、100mM～175mMの範囲、または100mM～150mMの範囲の塩化ナトリウムを含む。さらなる実施形態において、本発明の製剤は、10mM、25mM、50mM、75mM、80mM、100mM、125mM、150mM、175mM、200mM、または300mMの塩化ナトリウムを含む。

## 【0322】

一実施形態において、本発明の製剤は、アミノ酸を含む。一実施形態において、本発明の製剤は、アミノ酸塩を含む。一実施形態において、本発明の製剤は、リシン、アルギニン、およびヒスチジンからなる群から選択されるアミノ酸を含む。一実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも約25mMのアミノ酸、少なくとも約50mMのアミノ酸、少なくとも約100mMのアミノ酸、少なくとも約150mMのアミノ酸、少なくとも約200mMのアミノ酸、少なくとも約250mMのアミノ酸、少なくとも約300mMのアミノ酸、少なくとも約350mMのアミノ酸、または少なくとも約400mMのアミノ酸を含む。別の実施形態において、本発明の製剤は、約25mM～約250mMの範囲、約25mM～約300mMの範囲、約25mM～約350mMの範囲、約25mM～約4

10

20

30

40

50

0 0 m M の 範 囲、 約 5 0 m M ~ 約 2 5 0 m M の 範 囲、 約 5 0 m M ~ 約 3 0 0 m M の 範 囲、 約 5 0 m M ~ 約 3 5 0 m M の 範 囲、 約 5 0 m M ~ 約 4 0 0 m M の 範 囲、 約 1 0 0 m M ~ 約 2 5 0 m M の 範 囲、 約 1 0 0 m M ~ 約 3 0 0 m M の 範 囲、 約 1 0 0 m M ~ 約 4 0 0 m M の 範 囲、 約 1 5 0 m M ~ 約 2 5 0 m M の 範 囲、 約 1 5 0 m M ~ 約 3 0 0 m M の 範 囲、 または 約 1 5 0 m M ~ 約 4 0 0 m M の 範 囲 の ア ミ ノ 酸 を 含 む。 さ ら な る 実 施 形 態 に お い て、 本 発 明 の 製 剤 は、 約 2 5 m M、 約 5 0 m M、 約 1 0 0 m M、 約 1 5 0 m M、 約 2 0 0 m M、 約 2 5 0 m M、 約 3 0 0 m M、 約 3 5 0 m M、 または 約 4 0 0 m M の ア ミ ノ 酸 を 含 む。 特 定 の 実 施 形 態 に お い て、 本 発 明 の 製 剤 は、 約 2 5 m M の ア ミ ノ 酸 を 含 む。 特 定 の 実 施 形 態 に お い て、 本 発 明 の 製 剤 は、 約 5 0 m M の ア ミ ノ 酸 を 含 む。 特 定 の 実 施 形 態 に お い て、 本 発 明 の 製 剤 は、 約 7 5 m M の ア ミ ノ 酸 を 含 む。 特 定 の 実 施 形 態 に お い て、 本 発 明 の 製 剤 は、 約 1 0 0 m M の ア ミ ノ 酸 を 含 む。 特 定 の 実 施 形 態 に お い て、 本 発 明 の 製 剤 は、 約 2 0 0 m M の ア ミ ノ 酸 を 含 む。

10

## 【0323】

一 実 施 形 態 に お い て、 本 発 明 の 製 剤 は、 ト レ ハ ロ ー ス お よ び ア ミ ノ 酸 を 含 む。 一 実 施 形 態 に お い て、 本 発 明 の 製 剤 は、 約 0 . 1、 約 0 . 5、 約 0 . 7 5、 約 1、 約 5、 約 1 0、 約 2 0、 約 3 0、 約 4 0、 約 5 0、 約 6 0、 約 7 0、 約 8 0、 約 9 0、 約 1 0 0、 約 2 0 0、 または 約 3 0 0 の モ ル 比 の ト レ ハ ロ ー ス お よ び ア ミ ノ 酸 を 含 む。 一 実 施 形 態 に お い て、 本 発 明 の 製 剤 は、 約 1 . 5、 約 1 . 7、 約 1 . 8、 約 1 . 9、 約 2、 約 2 . 1、 約 2 . 2、 約 2 . 3、 約 2 . 4、 約 2 . 5、 約 2 . 6、 約 2 . 7、 約 2 . 8、 約 2 . 9、 約 3、 約 3 . 1、 約 3 . 2、 約 3 . 3、 約 3 . 4、 約 3 . 5、 または 約 4 の モ ル 比 の ト レ ハ ロ ー ス お よ び ア ミ ノ 酸 を 含 む。 特 定 の 実 施 形 態 に お い て、 本 発 明 の 製 剤 は、 約 2 . 1 の モ ル 比 の ト レ ハ ロ ー ス お よ び ア ミ ノ 酸 を 含 む。 特 定 の 実 施 形 態 に お い て、 本 発 明 の 製 剤 は、 約 2 . 2 の モ ル 比 の ト レ ハ ロ ー ス お よ び ア ミ ノ 酸 を 含 む。 特 定 の 実 施 形 態 に お い て、 本 発 明 の 製 剤 は、 約 2 . 4 の モ ル 比 の ト レ ハ ロ ー ス お よ び ア ミ ノ 酸 を 含 む。 特 定 の 実 施 形 態 に お い て、 本 発 明 の 製 剤 は、 約 2 . 5 の モ ル 比 の ト レ ハ ロ ー ス お よ び ア ミ ノ 酸 を 含 む。 特 定 の 実 施 形 態 に お い て、 本 発 明 の 製 剤 は、 約 2 . 6 の モ ル 比 の ト レ ハ ロ ー ス お よ び ア ミ ノ 酸 を 含 む。 特 定 の 実 施 形 態 に お い て、 本 発 明 の 製 剤 は、 約 2 . 7 の モ ル 比 の ト レ ハ ロ ー ス お よ び ア ミ ノ 酸 を 含 む。

20

## 【0324】

本 発 明 の 製 剤 は、 界 面 活 性 剤 を さ ら に 含 み 得 る。 本 明 細 書 で 使 用 さ れ る 「 界 面 活 性 剤 」 と い う 用 語 は、 両 親 媒 性 構 造 を 有 す る 有 機 物 質 を 指 し、 す な わ ち、 そ れ ら は、 反 対 の 溶 解 度 傾 向 の 基、 典 型 的 に 油 溶 性 炭 化 水 素 鎖 お よ び 水 溶 性 イ オン 基 か ら な る。 界 面 活 性 剤 は、 界 面 活 性 部 分 の 電 荷 に 応 じ て、 ア ニ オン 性、 カ チ オン 性、 お よ び 非 イ オン 性 界 面 活 性 剤 に 分 類 す る こ と が で き る。 界 面 活 性 剤 は、 大 抵、 生 物 学 的 物 質 の 種 々 の 薬 学 的 組 成 物 お よ び 調 製 物 の た め の 湿 潤 剤、 乳 化 剤、 可 溶 化 剤、 お よ び 分 散 剤 と し て 使 用 さ れ る。 薬 学 的 に 許 容 さ れ る 界 面 活 性 剤、 ポ リ ソ ル ベ ー ト ( 例 え ば、 ポ リ ソ ル ベ ー ト 2 0 ま た は 8 0 ) ; ポ リ オ キ サ マ ー ( p o l y o x a m e r ) ( 例 え ば、 ポ ロ キ サ マ ー 1 8 8 ) ; T r i t o n ; オ ク チ ル グ リ コ シ ド ナ ト リ ウ ム ; ラ ウ リ ル -、 ミ リ ス チ ル -、 リ ノ レ イ ル -、 ま た は ス テ ア リ ル - ス ル ホ ベ タ イ ン ; ラ ウ リ ル -、 ミ リ ス チ ル -、 リ ノ レ イ ル - ま た は ス テ ア リ ル - サ ル コ シ ン ; リ ノ レ イ ル -、 ミ リ ス チ ル -、 ま た は セ チ ル - ベ タ イ ン ; ラ ウ ロ ア ミ ド プ ロ ピ ル ( l a u r o a m i d o p r o p y l ) -、 コ カ ミ ド プ ロ ピ ル ( c o c a m i d o p r o p y l ) -、 リ ノ レ ア ミ ド プ ロ ピ ル ( l i n o l e a m i d o p r o p y l ) -、 ミ リ ス タ ミ ド プ ロ ピ ル ( m y r i s t a m i d o p r o p y l ) -、 パ ル ミ ド プ ロ ピ ル ( p a l m i d o p r o p y l ) -、 ま た は イ ソ ス テ ア ラ ミ ド プ ロ ピ ル ( i s o s t e a r a m i d o p r o p y l ) - ベ タ イ ン ( 例 え ば、 ラ ウ ロ ア ミ ド プ ロ ピ ル ) ; ミ リ ス タ ミ ド プ ロ ピ ル -、 パ ル ミ ド プ ロ ピ ル -、 ま た は イ ソ ス テ ア ラ ミ ド プ ロ ピ ル - ジ メ チ ル ア ミ ン ; ナ ト リ ウ ム メ チ ル コ コ イ ル -、 ま た は ジ ナ ト リ ウ ム メ チ ル オ レ イ ル - タ ウ ラ ー ト ; お よ び M O N A Q U A ( 商 標 ) シ リ ー ズ ( M o n a I n d u s t r i e s , I n c . , P a t e r s o n , N . J . )、 ポ リ エ チ ル グ リ コ ー ル、 ポ リ プ ロ ピ ル グ リ コ ー ル、 な ら び に エ チ レ ン お よ び プ ロ ピ レ ン グ リ コ ー ル の コ ポ リ マ ー ( 例 え ば、 P l u r o n i c s , P F 6 8

30

40

50

等)を、任意に、本発明の製剤に加えて、凝集を減少させることができる。界面活性剤は、ポンプまたはプラスチック容器を使用して、製剤を投与する場合に特に有用である。薬学的に許容される界面活性剤が存在すると、タンパク質が凝集する性向が緩和される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、約0.001%~約1%、または約0.001%~約0.1%、または約0.01%~約0.1%の濃度のポリソルベートを含む。他の特定の実施形態において、本発明の製剤は、0.001%、または0.002%、または0.003%、または0.004%、または0.005%、または0.006%、または0.007%、または0.008%、または0.009%、または0.01%、または0.015%、または0.02%の濃度のポリソルベートを含む。別の特定の実施形態において、ポリソルベートは、ポリソルベート80である。特定の実施形態において、本発明の製剤は、0.001%~1%、または0.001%~0.1%、または0.01%~0.1%の濃度のポリソルベートを含む。他の特定の実施形態において、本発明の製剤は、0.001%、または0.002%、または0.003%、または0.004%、または0.005%、または0.006%、または0.007%、または0.008%、または0.009%、または0.01%、または0.015%、または0.02%の濃度のポリソルベートを含む。別の特定の実施形態において、ポリソルベートは、ポリソルベート80である。

10

#### 【0325】

一実施形態において、本発明の製剤は、界面活性剤を含む。一実施形態において、本発明の製剤は、ポリソルベート20、ポリソルベート40、ポリソルベート60、またはポリソルベート80を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、ポリソルベート80を含む。

20

#### 【0326】

一実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも約0.001%、少なくとも約0.002%、少なくとも約0.005%、少なくとも約0.01%、少なくとも約0.02%、少なくとも約0.05%、少なくとも約0.1%、少なくとも約0.2%、または少なくとも約0.5%のポリソルベート80を含む。別の実施形態において、本発明の製剤は、約0.001%~約0.5%の範囲、約0.001%~約0.2%の範囲、約0.001%~約0.1%の範囲、約0.001%~約0.05%の範囲、約0.002%~約0.5%の範囲、約0.002%~約0.2%の範囲、約0.002%~約0.1%の範囲、約0.002%~約0.05%の範囲、約0.005%~約0.5%の範囲、約0.005%~約0.2%の範囲、約0.005%~約0.1%の範囲、約0.005%~約0.05%の範囲、約0.01%~約0.5%の範囲、約0.01%~約0.2%の範囲、約0.01%~約0.1%、または約0.01%~約0.05%の範囲のポリソルベート80を含む。さらなる実施形態において、本発明の製剤は、約0.001%、約0.002%、約0.005%、約0.01%、約0.02%、約0.05%、約0.1%、約0.2%、および約0.5%のポリソルベート80を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、約0.02%のポリソルベート80を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、約0.04%のポリソルベート80を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、約0.05%のポリソルベート80を含む。

30

40

#### 【0327】

一実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも0.001%、少なくとも0.002%、少なくとも0.005%、少なくとも0.01%、少なくとも0.02%、少なくとも0.05%、少なくとも0.1%、少なくとも0.2%、または少なくとも0.5%のポリソルベート80を含む。別の実施形態において、本発明の製剤は、0.001%~0.5%の範囲、0.001%~0.2%の範囲、0.001%~0.1%の範囲、0.001%~0.05%の範囲、0.002%~0.5%の範囲、0.002%~0.2%の範囲、0.002%~0.1%の範囲、0.002%~0.05%の範囲、0.005%~0.5%の範囲、0.005%~0.2%の範囲、0.005%~0.1%の範囲、0.005%~0.05%の範囲、0.01%~0.5%の範囲、0.01%~0.2%

50

の範囲、0.01%~0.1%の範囲、または0.01%~0.05%の範囲のポリソルベート80を含む。さらなる実施形態において、本発明の製剤は、0.001%、0.002%、0.005%、0.01%、0.02%、0.05%、0.1%、0.2%、および0.5%のポリソルベート80を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、0.02%のポリソルベート80を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、0.04%のポリソルベート80を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、0.05%のポリソルベート80を含む。

#### 【0328】

任意に、本発明の製剤は、他の一般的な賦形剤、および/または希釈剤、結合剤、安定剤、親油性溶媒、保存剤、アジュバント等が挙げられるが、これらに限定されない、添加物をさらに含み得る。薬学的に許容される賦形剤および/または添加物は、本発明の製剤中で使用され得る。一般に使用される賦形剤/添加物、例えば、薬学的に許容されるキレート剤(例えば、EDTA、DTPAまたはEGTAに限定されない)は、任意に、本発明の製剤に加えて、凝集を減少させることができる。これらの添加物は、ポンプまたはプラスチック容器を使用して、製剤を投与する場合に、特に有用である。

10

#### 【0329】

保存剤、例えば、フェノール、m-クレゾール、p-クレゾール、o-クレゾール、クロロクレゾール、ベンジルアルコール、亜硝酸フェニル水銀、フェノキシエタノール、ホルムアルデヒド、クロロブタノール、塩化マグネシウム(例えば、六水和物に限定されない)、アルキルパラベン(メチル、エチル、プロピル、ブチル等)、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、デヒドロ酢酸ナトリウムおよびチメロサル、またはその混合物は、任意に、約0.001%~約5%の範囲、または該範囲内の任意の範囲または値の濃度のような任意の好適な濃度で本発明の製剤に加えることができる。本発明の製剤中で使用される保存剤の濃度は、微生物効果(an microbial effect)を得るために十分な濃度である。このような濃度は、選択された保存剤に依存し、当業者によって容易に決定される。

20

#### 【0330】

本発明の製剤中で利用され得る他の企図される賦形剤/添加物には、例えば、香味物質、抗菌剤、甘味料、酸化防止剤、帯電防止剤、リン脂質または脂肪酸等の脂質、コレステロール等のステロイド、血清アルブミン(ヒト血清アルブミン(HSA)、組換えヒトアルブミン(rHA))等のタンパク質賦形剤、ゼラチン、カゼイン、ナトリウム等の塩形成対イオンが含まれる。本発明の製剤での使用に好適なこれらの、および追加の公知の薬学的賦形剤および/または添加物は、当該技術分野において公知であり、例えば、Remington: "The Science & Practice of Pharmacy, 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins, (2005)、および"Physicians Desk Reference", 60th ed., Medical Economics, Montvale, N.J. (2005)に列挙されている。当該技術分野において周知であるような、または本明細書中に記載の投与様式、Fc変異体タンパク質の溶解度、および/または安定性に好適な薬学的に許容される担体は、通常、選択することができる。

30

40

#### 【0331】

本発明の製剤は、ヒト血液と等張であり得ること、すなわち本発明の製剤は、ヒト血液と本質的に同じ浸透圧を有することが当業者に理解されよう。このような等張製剤は、一般に、約250mOsm~約350mOsmの範囲の浸透圧を有する。等張性は、例えば、蒸気圧または製氷型浸透圧計を使用することによって測定することができる。製剤の張性は、張性調節因子(tonicity modifiers)の使用によって調節される。「張性調節因子」は、製剤に加えて該製剤の等張性を提供することができる薬学的に許容される不活性物質である。本発明に好適な張性調節因子には、サッカライド、塩、およびアミノ酸が含まれるが、これらに限定されない。

#### 【0332】

50

ある実施形態において、本発明の製剤は、約100mOsm～約1200mOsmの範囲、または約200mOsm～約1000mOsmの範囲、または約200mOsm～約800mOsmの範囲、または約200mOsm～約600mOsmの範囲、または約250mOsm～約500mOsmの範囲、または約250mOsm～約400mOsmの範囲、または約250mOsm～約350mOsmの範囲の浸透圧を有する。

【0333】

ある実施形態において、本発明の製剤は、100mOsm～1200mOsmの範囲、または200mOsm～1000mOsmの範囲、または200mOsm～800mOsmの範囲、または200mOsm～600mOsmの範囲、または250mOsm～500mOsmの範囲、または250mOsm～400mOsmの範囲、または250mOsm～350mOsmの範囲の浸透圧を有する。

10

【0334】

本発明の製剤の種々の成分のうちのいずれか1つまたは任意の組み合わせの濃度を調節して、最終製剤の所望の張性を達成する。例えば、抗体に対する炭水化物賦形剤のモル比は、当該技術分野において周知の方法に従って調節され得る（例えば、米国特許第6,685,940号）。ある実施形態において、抗体に対する炭水化物賦形剤のモル比は、約1モルの抗体に対して約100モル～約1000モルの炭水化物賦形剤、または約1モルの抗体に対して約200モル～約6000モルの炭水化物賦形剤、または約1モルの抗体に対して約100モル～約510モルの炭水化物賦形剤、または約1モルの抗体に対して約100モル～約600モルの炭水化物賦形剤であり得る。

20

【0335】

本発明の製剤の種々の成分のうちのいずれか1つまたは任意の組み合わせの濃度を調節して、最終製剤の所望の張性を達成する。例えば、抗体に対する炭水化物賦形剤のモル比は、当該技術分野において周知の方法に従って調節され得る（例えば、米国特許第6,685,940号）。ある実施形態において、抗体に対する炭水化物賦形剤のモル比は、1モルの抗体に対して100モル～1000モルの炭水化物賦形剤、または1モルの抗体に対して200モル～6000モルの炭水化物賦形剤、または1モルの抗体に対して100モル～510モルの炭水化物賦形剤、または1モルの抗体に対して100モル～600モルの炭水化物賦形剤であり得る。

【0336】

最終製剤の所望の等張性はまた、製剤の塩濃度を調節することによっても達成され得る。薬学的に許容され、かつ張性調節因子として本発明に適している塩としては、塩化ナトリウム、コハク酸ナトリウム、硫酸ナトリウム、塩化カリウム、塩化マグネシウム、硫酸マグネシウム、および塩化カルシウムが挙げられるが、これらに限定されない。特定の実施形態において、本発明の製剤は、NaCl、MgCl<sub>2</sub>、および/またはCaCl<sub>2</sub>を含む。一実施形態において、NaClの濃度は、約75mM～約150mMの範囲である。別の実施形態において、MgCl<sub>2</sub>の濃度は、約1mM～約100mMの範囲である。薬学的に許容され、かつ張性調節因子として本発明に適しているアミノ酸としては、プロリン、アラニン、L-アルギニン、アスパラギン、L-アスパラギン酸、グリシン、セリン、リジン、およびヒスチジンが挙げられるが、これらに限定されない。

30

40

【0337】

一実施形態において、本発明の製剤は、内毒素および/または関連する発熱物質が実質的にないピロゲンを含まない製剤である。内毒素は、微生物の内側に閉じ込められている毒素を含み、微生物が分解し、または死滅した場合のみ放出される。発熱性物質はまた、細菌および他の微生物の外膜からの発熱を誘発する、熱安定性の物質（糖タンパク質）を含む。これらの物質は両方とも、ヒトに投与した場合に、発熱、血圧低下、およびショックを引き起こし得る。潜在的に有害な効果があるので、少量の内毒素でも、静脈内投与する薬剤の薬物溶液から除去しなければならない。食品医薬品局（「FDA」）は、静脈内への薬物適用に対して、1回1時間に1キログラム体重あたり1用量につき、5内毒素単位（EU）の上限を設定している（The United States Pharma

50

copeial Convention, Pharmacopeial Forum 26(1):223(2000)。1キログラム体重あたり数百または数千ミリグラムの量の治療用タンパク質を投与する場合、抗体の場合と同じであり得るように、痕跡量であっても有害かつ危険な内毒素は、除去しなければならない。ある特定の実施形態において、組成物における内毒素および発熱レベルは、10EU/mg未満、または5EU/mg未満、または1EU/mg未満、または0.1EU/mg未満、または0.01EU/mg未満、または0.001EU/mg未満である。

【0338】

インピボで投与するために用いる場合は、本発明の製剤は、滅菌されていなければならない。本発明の製剤は、滅菌濾過、放射線療法等を含む、種々の滅菌方法によって滅菌され得る。一実施形態において、抗体製剤は、あらかじめ滅菌された0.22ミクロンのフィルターを用いて濾過滅菌する。注射用の滅菌組成物は、“Remington: The Science & Practice of Pharmacy”, 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins, (2005)に記載の慣用の薬務に従って製剤化することができる。本明細書で開示されるような抗体を含む製剤は、通常、凍結乾燥形式または溶液中で保存される。抗体を含む滅菌組成物を、滅菌取り出し口を有する容器、例えば、製剤の回収を可能にするアダプター、例えば、皮下注射針によって穴をあけることができるストッパー等を有する静脈内用溶液バッグまたはバイアルに入れることが企図される。一実施形態において、本発明の組成物は、あらかじめ充填された注射器として提供される。

10

20

【0339】

一実施形態において、本発明の製剤は、凍結乾燥製剤である。「凍結乾燥(lyophilized)」または「フリーズドライ(freeze-dried)」という用語は、凍結乾燥法等の乾燥手順に供した物質の状態を含み、水分の少なくとも50%が除去されている。

【0340】

「充填剤」という語句は、薬学的に許容され、かつリオケーキ(lyocake)に容積を追加する化合物を含む。当業者に公知の充填剤には、例えば、デキストロース、リボース、フルクトース等の単糖を含む炭水化物、マンニトール、イノシトール、およびソルビトール等のアルコール糖、トレハロース、スクロース、およびラクトースを含む二糖類、デンプン、デキストラン、キトサン、ヒアルロン酸、タンパク質(例えば、ゼラチンおよび血清アルブミン)、グリコーゲン等の天然のポリマー、ならびに合成モノマーおよびポリマーが含まれる。

30

【0341】

「リオプロテクタント(lyoprotectant)」は、対象となるタンパク質と混合された場合に、凍結乾燥およびその後の保存時のタンパク質の化学的および/または物理的不安定性を顕著に防止するか、または減少させる分子である。リオプロテクタントとしては、糖およびその対応する糖アルコール；グルタミン酸ナトリウムまたはヒスチジン等のアミノ酸；ベタイン等のメチルアミン；硫酸マグネシウム等の離液性の塩；例えば、グリセリン、デキストラン、エリスリトール、グリセロール、アラビトール、キシリトール、ソルビトール、およびマンニトール等の3価またはさらに高分子量の糖アルコールのポリオール；プロピレングリコール；ポリエチレングリコール；Pluronic(商標)；およびその組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。リオプロテクタントの追加の例には、グリセリンおよびゼラチン、および糖メリビオース(melibiose)、メレジトース、ラフィノース、マンノトリオース(mannotriose)、およびスタキオースが含まれるが、これらに限定されない。還元糖の例には、グルコース、マルトース、ラクトース、マルツロース、イソマルツロース、およびラクツロースが含まれるが、これらに限定されない。非還元糖の例には、糖アルコールおよび他の直鎖ポリアルコールから選択されるポリヒドロキシ化合物の非還元グリコシドが含まれるが、これらに限定されない。糖アルコールの例には、モノグリコシド、ラクトース、マルトー

40

50

ス、ラクツロース、およびマルツロース等の二糖類の還元によって得られる化合物が含まれるが、これらに限定されない。グリコシド側基は、グルコシドまたはガラクトシドのいずれかであり得る。糖アルコールの追加の例には、グルシトール、マルチトール、ラクチトール、およびイソマルツロースが含まれるが、これらに限定されない。特定の実施形態において、トレハロースまたはスクロースを、リオプロテクタントとして使用する。

#### 【0342】

「リオプロテクト量」のリオプロテクタントを、あらかじめ凍結乾燥した製剤に加えるが、この「リオプロテクト量」とは、リオプロテクト量のリオプロテクタントの存在下でタンパク質を凍結乾燥すると、凍結乾燥および保存時にタンパク質がその物理的および化学的安定性および完全性を本質的に保持することを意味する。

10

#### 【0343】

一実施形態において、本発明の製剤のリオプロテクタント（例えば、トレハロース）と抗IL-6抗体分子のモル比は、少なくとも約10、少なくとも約50、少なくとも約100、少なくとも約200、または少なくとも約300である。別の実施形態において、本発明の製剤のリオプロテクタント（例えば、トレハロース）と抗IL-6抗体分子のモル比は、約1、約2、約5、約10、約50、約100、約200、または約300である。

#### 【0344】

「再構成された」製剤は、希釈剤中に凍結乾燥した抗体製剤を溶解させて、再構成された製剤中で抗体が分散するようにすることによって調製される製剤である。再構成された製剤は、対象となるタンパク質で治療される患者に投与（例えば、非経口投与）するのに適し、本発明のある実施形態において、皮下投与に適するものであり得る。

20

#### 【0345】

本明細書の対象となる「希釈剤」は、薬学的に許容され（ヒトへの投与に関して安全かつ無毒で）、かつ凍結乾燥後に再構成される製剤等の液体製剤の調製に有用な希釈剤である。幾つかの実施形態において、希釈剤には、滅菌水、注射用静菌水（BWF I）、pH緩衝液（例えば、リン酸緩衝生理食塩水）、滅菌生理食塩水溶液、リンゲル液、またはブドウ糖液が含まれるが、これらに限定されない。代替的な実施形態において、希釈剤には、塩および/または緩衝剤の水性溶液が含まれ得る。

#### 【0346】

一実施形態において、本発明の製剤は、本発明のIL-6抗体を含む凍結乾燥製剤であり、400シェイク/分の速度で4時間、該バイアルを振とうした際に、該抗体の少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%がバイアルから回収され、該バイアルは、その容量の半分まで該製剤で満たされている。別の実施形態において、本発明の製剤は、本発明のIL-6抗体を含む凍結乾燥製剤であり、該製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際に、該抗体の少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%がバイアルから回収され、該バイアルは、その容量の半分まで該製剤で満たされている。さらなる実施形態において、本発明の製剤は、本発明のIL-6抗体を含む凍結乾燥製剤であり、該製剤から作製された凍結乾燥ケーキを再構成することによって、該抗体の少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%が回収される。

30

40

#### 【0347】

一実施形態において、本発明の製剤は、本発明のIL-6抗体を含む凍結乾燥製剤であり、400シェイク/分の速度で4時間、該バイアルを振とうした際に、該抗体の少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%がバイアルから回収され、該バイアルは、その容量の半分まで該製剤で満たされている。別の実施形態において、本発明の製剤は、本発明のIL-6抗体を含む凍結乾燥製剤であり、該製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際に、該抗体の少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、また

50



は少なくとも約 99% がバイアルから回収され、該バイアルは、その容量の半分まで該製剤で満たされている。さらなる実施形態において、本発明の製剤は、本発明の IL-6 抗体を含む凍結乾燥製剤であり、該製剤から作製された凍結乾燥ケーキを再構成することによって、該抗体の少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99% が回収される。

【0348】

一実施形態において、本発明の凍結乾燥製剤は、本発明の抗 IL-6 抗体分子を含み、少なくとも約 1 週間、少なくとも約 2 週間、少なくとも約 3 週間、少なくとも約 4 週間、少なくとも約 5 週間、または少なくとも約 6 週間の約 40 での保存時に、該凍結乾燥製剤を再構成することによって、該抗体の少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99% が回収される。一実施形態において、本発明の凍結乾燥製剤は、本発明の抗 IL-6 抗体分子を含み、少なくとも約 1 ヶ月、少なくとも約 2 ヶ月、少なくとも約 3 ヶ月、少なくとも約 4 ヶ月、少なくとも約 5 ヶ月、または少なくとも約 6 ヶ月の約 40 での保存時に、該凍結乾燥製剤を再構成することによって、該抗体の少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99% が回収される。

10

【0349】

一実施形態において、本発明の凍結乾燥製剤は、本発明の抗 IL-6 抗体分子を含み、少なくとも約 1 ヶ月、少なくとも約 2 ヶ月、少なくとも約 3 ヶ月、少なくとも約 4 ヶ月、少なくとも約 5 ヶ月、少なくとも約 6 ヶ月、少なくとも約 7 ヶ月、少なくとも約 8 ヶ月、少なくとも約 9 ヶ月、少なくとも約 10 ヶ月、少なくとも約 11 ヶ月、または少なくとも約 12 ヶ月の約 5 での保存時に、該凍結乾燥製剤を再構成することによって、該抗体の少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99% が回収される。一実施形態において、本発明の凍結乾燥製剤は、本発明の抗 IL-6 抗体分子を含み、少なくとも約 1 年間、少なくとも約 2 年間、少なくとも約 3 年間、少なくとも約 4 年間、または少なくとも約 5 年間の約 5 での保存時に、該凍結乾燥製剤を再構成することによって、該抗体の少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99% が回収される。

20

【0350】

一実施形態において、本発明の凍結乾燥製剤は、本発明の抗 IL-6 抗体分子を含み、約 1 週間、約 2 週間、約 3 週間、約 4 週間、約 5 週間、または約 6 週間の約 40 での保存時に、該凍結乾燥製剤を再構成することによって、該抗体の少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99% が回収される。一実施形態において、本発明の凍結乾燥製剤は、本発明の抗 IL-6 抗体分子を含み、約 1 ヶ月間、約 2 ヶ月間、約 3 ヶ月間、約 4 ヶ月間、約 5 ヶ月間、または約 6 ヶ月間の約 40 での保存時に、該凍結乾燥製剤を再構成することによって、該抗体の少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99% が回収される。

30

【0351】

一実施形態において、本発明の凍結乾燥製剤は、本発明の抗 IL-6 抗体分子を含み、約 1 ヶ月間、約 2 ヶ月間、約 3 ヶ月間、約 4 ヶ月間、約 5 ヶ月間、約 6 ヶ月間、約 7 ヶ月間、約 8 ヶ月間、約 9 ヶ月間、約 10 ヶ月間、約 11 ヶ月間、または約 12 ヶ月間の約 5 での保存時に、該凍結乾燥製剤を再構成することによって、該抗体の少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99% が回収される。一実施形態において、本発明の凍結乾燥製剤は、本発明の抗 IL-6 抗体分子を含み、約 1 年間、約 2 年間、約 3 年間、約 4 年間、または約 5 年間の約 5 での保存時に、該凍結乾燥製剤を再構成することによって、該抗体の少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99% が回収される。

40

50

## 【0352】

一実施形態において、本発明の製剤は、再構成された製剤である。ある実施形態において、本発明の再構成された液体製剤は、本明細書中に記載の凍結乾燥製剤から調製される。

## 【0353】

一実施形態において、本発明の再構成された液体製剤は、あらかじめ凍結乾燥した液体製剤と同じ濃度の本発明の抗IL-6抗体を含む。

## 【0354】

一実施形態において、本発明の再構成された液体製剤は、あらかじめ凍結乾燥した液体製剤よりも高い濃度の本発明の抗IL-6抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の再構成された液体製剤は、あらかじめ凍結乾燥した液体製剤よりも、約2倍、約3倍、約4倍、約5倍、約6倍、約7倍、約8倍、約9倍、約10倍、約15倍、約20倍、約30倍、約40倍高い濃度の本発明の抗IL-6抗体を含む。

10

## 【0355】

一実施形態において、本発明の再構成された液体製剤は、あらかじめ凍結乾燥した液体製剤よりも低い濃度の本発明の抗IL-6抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の再構成された液体製剤は、あらかじめ凍結乾燥した液体製剤よりも、約2倍、約3倍、約4倍、約5倍、約6倍、約7倍、約8倍、約9倍、約10倍、約15倍、約20倍、約30倍、約40倍低い濃度の本発明の抗IL-6抗体を含む。

20

## 【0356】

一実施形態において、本発明の再構成された液体製剤は、水性製剤である。特定の実施形態において、本発明の再構成された液体製剤は、水性製剤であり、水性担体は、蒸留水である。

## 【0357】

一実施形態において、本発明の再構成された製剤は、滅菌されている。

## 【0358】

一実施形態において、本発明の再構成された製剤は、均質である。

## 【0359】

一実施形態において、本発明の再構成された製剤は、等張性である。一実施形態において、本発明の再構成された製剤は、低張性である。一実施形態において、本発明の再構成された製剤は、高張性である。

30

## 【0360】

ある実施形態において、本発明の再構成された製剤は、パーティクルマルチサイザー (particle multisizer) によって測定された場合に、直径2~4 $\mu$ mの約3.4E+5粒子/mL未満、直径4~10 $\mu$ mの約4.0E+4粒子/mL未満、直径10~20 $\mu$ mの約4.2E+3粒子/mL未満、直径20~30 $\mu$ mの約5.0E+2粒子/mL未満、直径30~40 $\mu$ mの約7.5E+1粒子/mL未満、および直径40~60 $\mu$ mの約9.4粒子/mL未満の粒子プロファイルを含む(か、または凝集フラクションとして該粒子プロファイルからなる)。ある実施形態において、本発明の再構成された製剤は、40 $\mu$ mより大きい、または30 $\mu$ mより大きい検出可能な粒子を含有しない。

40

## 【0361】

ある実施形態において、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の保存後の本発明の再構成された液体製剤は、パーティクルマルチサイザー (particle multisizer) によって測定された場合に、直径2~4 $\mu$ mの約3.4E+5粒子/mL未満、直径4~10 $\mu$ mの約4.0E+4粒子/mL未満、直径10~20 $\mu$ mの約4.2E+3粒子/mL未満、直径20~30 $\mu$ mの約5.0E+2粒子/mL未満、直径30~40 $\mu$ mの約7.5E+1粒子/mL未満、および直径40~60 $\mu$ mの約9.4粒子/mL未満の粒子プロファイルを含む(か、または凝集フラク

50

ションとして該粒子プロファイルからなる)。ある実施形態において、本発明の液体製剤は、40 μmより大きい、または30 μmより大きい検出可能な粒子を含有しない。

【0362】

特定の実施形態において、薬学的組成物には、

(a) pH 6.0で、100 mg/mLの抗体、25 mM ヒスチジン、1.6 mM グリシンからなる滅菌された液体製剤、

(b) pH 6.0で、100 mg/mLの抗体、25 mM ヒスチジンからなる滅菌された液体製剤、

(c) pH 6.0で、5 mg/mLの抗体、20 mM クエン酸、100 mM NaCl、1.5% マンニトール、50 mM DTPA、および0.02% PS80からなる滅菌された液体製剤、

(d) pH 6.0で、100 mg/mLの抗体、25 mM ヒスチジン、8% トレハロース、および0.02% PS80からなる滅菌された液体製剤、

(e) pH 6.0で、20 mg/mLの抗体、10 mM His、2.35% (w/v) リシン-HCl、および0.02% PS-80 (w/v) からなる滅菌された液体製剤、

(f) pH 6.0で、5 mg/mLの抗体、10 mM クエン酸ナトリウム緩衝剤、NaCl (0.15 M)、およびTween 80 (0.02%) からなる滅菌された液体製剤、

(g) pH 6.0で、100 mg/mLの抗体、10 mM ヒスチジン、および150 mM NaClからなる滅菌された液体製剤が含まれるが、これらに限定されない。

【0363】

一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を安定化する。一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体の凝集を防ぐ。別の実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体の断片化を防ぐ。

【0364】

一実施形態において、本発明の製剤は、約40 °Cでの保存時に、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、または少なくとも約4週間安定である。一実施形態において、本発明の製剤は、約40 °Cでの保存時に、少なくとも約1ヶ月間、少なくとも約2ヶ月間、少なくとも約3ヶ月間、少なくとも約4ヶ月間、少なくとも約5ヶ月間、または少なくとも約6ヶ月間安定である。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中での保存時に、安定である。

【0365】

一実施形態において、本発明の製剤は、約25 °Cでの保存時に、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、または少なくとも約4週間安定である。一実施形態において、本発明の製剤は、約25 °Cでの保存時に、少なくとも約1ヶ月間、少なくとも約2ヶ月間、少なくとも約3ヶ月間、少なくとも約4ヶ月間、少なくとも約5ヶ月間、または少なくとも約6ヶ月間安定である。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中での保存時に、安定である。

【0366】

一実施形態において、本発明の製剤は、約5 °Cでの保存時に、少なくとも約1ヶ月間、少なくとも約2ヶ月間、少なくとも約3ヶ月間、少なくとも約4ヶ月間、少なくとも約5ヶ月間、少なくとも約6ヶ月間、少なくとも約7ヶ月間、少なくとも約8ヶ月間、少なくとも約9ヶ月間、少なくとも約10ヶ月間、少なくとも約11ヶ月間、または少なくとも約12ヶ月間安定である。一実施形態において、本発明の製剤は、約5 °Cでの保存時に、少なくとも約1年間、少なくとも約2年間、少なくとも約3年間、少なくとも約4年間、少なくとも約5年間、少なくとも約6年間、少なくとも約7年間、少なくとも約8年間、少なくとも約9年間、少なくとも約10年間、少なくとも約11年間、または少なくとも約12年間安定である。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中での保存時に、安定である。

10

20

30

40

50

## 【0367】

一実施形態において、本発明の製剤は、約40での保存時に、約1週間、約2週間、約3週間、または約4週間安定である。一実施形態において、本発明の製剤は、約40での保存時に、約1ヶ月間、約2ヶ月間、約3ヶ月間、約4ヶ月間、約5ヶ月間、または約6ヶ月間安定である。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中での保存時に、安定である。

## 【0368】

一実施形態において、本発明の製剤は、約25での保存時に、約1週間、約2週間、約3週間、または約4週間安定である。一実施形態において、本発明の製剤は、約25での保存時に、約1ヶ月間、約2ヶ月間、約3ヶ月間、約4ヶ月間、約5ヶ月間、または約6ヶ月間安定である。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中での保存時に、安定である。

## 【0369】

一実施形態において、本発明の製剤は、約5での保存時に、約1ヶ月間、約2ヶ月間、約3ヶ月間、約4ヶ月間、約5ヶ月間、約6ヶ月間、約7ヶ月間、約8ヶ月間、約9ヶ月間、約10ヶ月間、約11ヶ月間、または約12ヶ月間安定である。一実施形態において、本発明の製剤は、約5での保存時に、約1年間、約2年間、約3年間、約4年間、約5年間、約6年間、約7年間、約8年間、約9年間、約10年間、約11年間、または約12年間安定である。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中での保存時に、安定である。

## 【0370】

本発明は、本発明の抗IL-6抗体を含む安定な製剤を提供する。該抗体の安定性は、参照抗体を含む参照製剤と比較して、HPSEC、逆相クロマトグラフィー、静的光散乱(SLS)、フーリエ変換赤外分光(Fourier Transform Infrared Spectroscopy)(FTIR)、円偏光二色性(CD)、尿素アンフォールディング技術(urea unfolding techniques)、固有トリプトファン蛍光(intrinsic tryptophan fluorescence)、示差走査熱量測定、および/またはANS結合技術によって測定される凝集、分解または断片化の程度によって評価することができる。例えば、参照製剤は、75mM NaClおよび4%トレハロースを含有する10mMヒスチジン(pH6.0)中の10mg/mLの参照抗体(その抗体断片を含む)(例えば、16C4可変領域、およびフコースが糖鎖中の還元末端においてN-アセチルグルコサミンに結合していない、複合型N-グリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗体であるが、これに限定されない)からなる、-70で凍結された参照標準であり得、この参照製剤は、通常、HPSECにより単一のモノマーピーク(例えば、95%の領域)を示す。ある実施形態において、参照製剤は、安定性が試験される製剤と同一であり、安定性試験中、-70で凍結された参照製剤を保存し、その元の状態において、この参照製剤を保持し得る。例えば、40で保存された製剤中のIL-6抗原の結合活性のいかなる喪失を評価するための参照標準は、-70で30日間保存された同一の製剤であり得る。抗体(その抗体断片を含む)を含む製剤の全体的な安定性はまた、単離された抗原分子を用いて、例えば、ELISAおよびラジオイムノアッセイを含む種々の免疫学的アッセイによって評価され得る。さらに、抗体を含む製剤の安定性はまた、例えば、抗原結合アフィニティー、インビトロADCC活性、インビボ枯渇活性、インビトロCDC活性、阻害アッセイ、細胞増殖アッセイ等の抗体の機能特性を測定するように設計される種々のアッセイを用いて評価され得る。

## 【0371】

一実施形態において、本発明の製剤は、参照抗体のIL-6結合活性の少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%のIL-6結合活性を有する本発明の抗IL-6抗体を含み、該製剤は、約40で、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なく

とも約3週間、または少なくとも約4週間保存されたものである。一実施形態において、本発明の製剤は、参照抗体のIL-6結合活性の少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%のIL-6結合活性を有する本発明の抗IL-6抗体を含み、該製剤は、約40 で、少なくとも約1ヶ月間、少なくとも約2ヶ月間、少なくとも約3ヶ月間、少なくとも約4ヶ月間、少なくとも約5ヶ月間、または少なくとも約6ヶ月間保存されたものである。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗IL-6抗体を含む。

【0372】

一実施形態において、本発明の製剤は、参照抗体のIL-6結合活性の少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%のIL-6結合活性を有する本発明の抗IL-6抗体を含み、該製剤は、約25 で、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、または少なくとも約4週間保存されたものである。一実施形態において、本発明の製剤は、参照抗体のIL-6結合活性の少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%のIL-6結合活性を有する本発明の抗IL-6抗体を含み、該製剤は、約25 で、少なくとも約1ヶ月間、少なくとも約2ヶ月間、少なくとも約3ヶ月間、少なくとも約4ヶ月間、少なくとも約5ヶ月間、または少なくとも約6ヶ月間保存されたものである。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗IL-6抗体を含む。

【0373】

一実施形態において、本発明の製剤は、参照抗体のIL-6結合活性の少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%の本発明の抗IL-6抗体を含み、該製剤は、約5 で、少なくとも約1ヶ月間、少なくとも約2ヶ月間、少なくとも約3ヶ月間、少なくとも約4ヶ月間、少なくとも約5ヶ月間、少なくとも約6ヶ月間、少なくとも約7ヶ月間、少なくとも約8ヶ月間、少なくとも約9ヶ月間、少なくとも約10ヶ月間、少なくとも約11ヶ月間、または少なくとも約12ヶ月間保存されたものである。一実施形態において、本発明の製剤は、参照抗体のIL-6結合活性の少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%の本発明の抗IL-6抗体を含み、該製剤は、約5 で、少なくとも約1年間、少なくとも約2年間、少なくとも約3年間、少なくとも約4年間、少なくとも約5年間、少なくとも約6年間、少なくとも約7年間、少なくとも約8年間、少なくとも約9年間、少なくとも約10年間、少なくとも約11年間、または少なくとも約12年間保存されたものである。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗IL-6抗体を含む。

【0374】

一実施形態において、本発明の製剤は、参照抗体のIL-6結合活性の少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%の本発明の抗IL-6抗体を含み、該製剤は、約40 で、約1週間、約2週間、約3週間、または約4週間保存されたものである。一実施形態において、本発明の製剤は、参照抗体のIL-6結合活性の少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%の本発明の抗IL-6抗体を含み、該製剤は、約40 で、約1ヶ月間、約2ヶ月間、約3ヶ月間、約4ヶ月間、約5ヶ月間、または約6ヶ月間保存されたものである。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗IL-6抗体を含む。

10

20

30

40

50

## 【0375】

一実施形態において、本発明の製剤は、参照抗体のIL-6結合活性の少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%の本発明の抗IL-6抗体を含み、該製剤は、約25で、約1週間、約2週間、約3週間、または約4週間保存されたものである。一実施形態において、本発明の製剤は、参照抗体のIL-6結合活性の少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%の本発明の抗IL-6抗体を含み、該製剤は、約25で、約1ヶ月間、約2ヶ月間、約3ヶ月間、約4ヶ月間、約5ヶ月間、または約6ヶ月間保存されたものである。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗IL-6抗体を含む。

10

## 【0376】

一実施形態において、本発明の製剤は、参照抗体のIL-6結合活性の少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%の本発明の抗IL-6抗体を含み、該製剤は、約5で、約1ヶ月間、約2ヶ月間、約3ヶ月間、約4ヶ月間、約5ヶ月間、約6ヶ月間、約7ヶ月間、約8ヶ月間、約9ヶ月間、約10ヶ月間、約11ヶ月間、または約12ヶ月間保存されたものである。一実施形態において、本発明の製剤は、参照抗体のIL-6結合活性の少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%の本発明の抗IL-6抗体を含み、該製剤は、約5で、約1年間、約2年間、約3年間、約4年間、約5年間、約6年間、約7年間、約8年間、約9年間、約10年間、約11年間、または約12年間保存されたものである。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗IL-6抗体を含む。

20

## 【0377】

一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を含み、該抗体は、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、または少なくとも約4週間の約40での製剤の保存時に、そのIL-6結合活性の最大で50%、最大で40%、最大で30%、最大で20%、最大で10%、最大で5%、または最大で1%を損失する。一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を含み、該抗体は、少なくとも約1ヶ月間、少なくとも約2ヶ月間、少なくとも約3ヶ月間、少なくとも約4ヶ月間、少なくとも約5ヶ月間、または少なくとも約6ヶ月間の約40での製剤の保存時に、そのIL-6結合活性の最大で50%、最大で40%、最大で30%、最大で20%、最大で10%、最大で5%、または最大で1%を損失する。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗IL-6抗体を含む。本明細書で使用される「最大で(at most)」および「~を超えない(no more than)」という用語は、同一の意味を有する。

30

## 【0378】

一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を含み、該抗体は、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、または少なくとも約4週間の約40での製剤の保存時に、そのIL-6結合活性の最大で50%、最大で40%、最大で30%、最大で20%、最大で10%、最大で5%、または最大で1%損失する。一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を含み、該抗体は、少なくとも約1ヶ月間、少なくとも約2ヶ月間、少なくとも約3ヶ月間、少なくとも約4ヶ月間、少なくとも約5ヶ月間、または少なくとも約6ヶ月間の約40での製剤の保存時に、そのIL-6結合活性の最大で50%、最大で40%、最大で30%、最大で20%、最大で10%、最大で5%、または最大で1%損失する。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。特定の実施形態において、

40

50

本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗IL-6抗体を含む。

【0379】

一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を含み、該抗体は、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、または少なくとも約4週間の約25%での製剤の保存時に、そのIL-6結合活性の最大で50%、最大で40%、最大で30%、最大で20%、最大で10%、最大で5%、または最大で1%損失する。一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を含み、該抗体は、少なくとも約1ヶ月間、少なくとも約2ヶ月間、少なくとも約3ヶ月間、少なくとも約4ヶ月間、少なくとも約5ヶ月間、または少なくとも約6ヶ月間の約25%での製剤の保存時に、そのIL-6結合活性の最大で50%、最大で40%、最大で30%、最大で20%、最大で10%、最大で5%、または最大で1%損失する。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗IL-6抗体を含む。

10

【0380】

一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を含み、該抗体は、少なくとも約1ヶ月間、少なくとも約2ヶ月間、少なくとも約3ヶ月間、少なくとも約4ヶ月間、少なくとも約5ヶ月間、少なくとも約6ヶ月間、少なくとも約7ヶ月間、少なくとも約8ヶ月間、少なくとも約9ヶ月間、少なくとも約10ヶ月間、少なくとも約11ヶ月間、または少なくとも約12ヶ月間の約5%での製剤の保存時に、そのIL-6結合活性の最大で50%、最大で40%、最大で30%、最大で20%、最大で10%、最大で5%、または最大で1%損失する。一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を含み、該抗体は、少なくとも約1年間、少なくとも約2年間、少なくとも約3年間、少なくとも約4年間、少なくとも約5年間、少なくとも約6年間、少なくとも約7年間、少なくとも約8年間、少なくとも約9年間、少なくとも約10年間、少なくとも約11年間、または少なくとも約12年間の約5%での製剤の保存時に、そのIL-6結合活性の最大で50%、最大で40%、最大で30%、最大で20%、最大で10%、最大で5%、または最大で1%損失する。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗IL-6抗体を含む。

20

【0381】

一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を含み、該抗体は、約1週間、約2週間、約3週間、または約4週間の約40%での製剤の保存時に、そのIL-6結合活性の最大で50%、最大で40%、最大で30%、最大で20%、最大で10%、最大で5%、または最大で1%損失する。一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を含み、該抗体は、約1ヶ月間、約2ヶ月間、約3ヶ月間、約4ヶ月間、約5ヶ月間、または約6ヶ月間の約40%での製剤の保存時に、そのIL-6結合活性の最大で50%、最大で40%、最大で30%、最大で20%、最大で10%、最大で5%、または最大で1%損失する。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗IL-6抗体を含む。

30

【0382】

一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を含み、該抗体は、約1週間、約2週間、約3週間、または約4週間の約25%での製剤の保存時に、そのIL-6結合活性の最大で50%、最大で40%、最大で30%、最大で20%、最大で10%、最大で5%、または最大で1%損失する。一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を含み、該抗体は、約1ヶ月間、約2ヶ月間、約3ヶ月間、約4ヶ月間、約5ヶ月間、または約6ヶ月間の約25%での製剤の保存時に、そのIL-6結合活性の最大で50%、最大で40%、最大で30%、最大で20%、最大で10%、最大で5%、または最大で1%損失する。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗IL-6抗体を含む。

40

【0383】

一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を含み、該抗体は、約

50

1ヶ月間、約2ヶ月間、約3ヶ月間、約4ヶ月間、約5ヶ月間、約6ヶ月間、約7ヶ月間、約8ヶ月間、約9ヶ月間、約10ヶ月間、約11ヶ月間、または約12ヶ月間の約5での製剤の保存時に、そのIL-6結合活性の最大で50%、最大で40%、最大で30%、最大で20%、最大で10%、最大で5%、または最大で1%損失する。一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を含み、該抗体は、約1年間、約2年間、約3年間、約4年間、約5年間、約6年間、約7年間、約8年間、約9年間、約10年間、約11年間、または約12年間の約5での製剤の保存時に、そのIL-6結合活性の最大で50%、最大で40%、最大で30%、最大で20%、最大で10%、最大で5%、または最大で1%損失する。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗IL-6抗体を含む。

10

**【0384】**

一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、または少なくとも約4週間の約40での保存時に、HPSECによって測定された場合に、1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、5%未満、7%未満、または10%未満の該抗体が、凝集体を形成する。一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を含み、少なくとも約1ヶ月間、少なくとも約2ヶ月間、少なくとも約3ヶ月間、少なくとも約4ヶ月間、少なくとも約5ヶ月間、または少なくとも約6ヶ月間の約40での保存時に、HPSECによって測定された場合に、1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、5%未満、7%未満、または10%未満の該抗体が、凝集体を形成する。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗IL-6抗体を含む。

20

**【0385】**

一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、または少なくとも約4週間の約25での保存時に、HPSECによって測定された場合に、1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、5%未満、7%未満、または10%未満の該抗体が、凝集体を形成する。一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を含み、少なくとも約1ヶ月間、少なくとも約2ヶ月間、少なくとも約3ヶ月間、少なくとも約4ヶ月間、少なくとも約5ヶ月間、または少なくとも約6ヶ月間の約25での保存時に、HPSECによって測定された場合に、1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、5%未満、7%未満、または10%未満の該抗体が、凝集体を形成する。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗IL-6抗体を含む。

30

**【0386】**

一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を含み、少なくとも約1ヶ月間、少なくとも約2ヶ月間、少なくとも約3ヶ月間、少なくとも約4ヶ月間、少なくとも約5ヶ月間、少なくとも約6ヶ月間、少なくとも約7ヶ月間、少なくとも約8ヶ月間、少なくとも約9ヶ月間、少なくとも約10ヶ月間、少なくとも約11ヶ月間、または少なくとも約12ヶ月間の約5での保存時に、HPSECによって測定された場合に、1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、5%未満、7%未満、または10%未満の該抗体が、凝集体を形成する。一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を含み、少なくとも約1年間、少なくとも約2年間、少なくとも約3年間、少なくとも約4年間、少なくとも約5年間、少なくとも約6年間、少なくとも約7年間、少なくとも約8年間、少なくとも約9年間、少なくとも約10年間、少なくとも約11年間、または少なくとも約12年間の約5での保存時に、HPSECによって測定された場合に、1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、5%未満、7%未満、または10%未満の該抗体が、凝集体を形成する。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したイン

40

50



ピボ半減期を有する本発明の抗 I L - 6 抗体を含む。

【 0 3 8 7 】

一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗 I L - 6 抗体を含み、約 1 週間、約 2 週間、約 3 週間、または約 4 週間の約 4 0 での保存時に、H P S E C によって測定された場合に、1 % 未満、2 % 未満、3 % 未満、4 % 未満、5 % 未満、7 % 未満、または 1 0 % 未満の該抗体が、凝集体を形成する。一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗 I L - 6 抗体を含み、約 1 ヶ月間、約 2 ヶ月間、約 3 ヶ月間、約 4 ヶ月間、約 5 ヶ月間、または約 6 ヶ月間の約 4 0 での保存時に、H P S E C によって測定された場合に、1 % 未満、2 % 未満、3 % 未満、4 % 未満、5 % 未満、7 % 未満、または 1 0 % 未満の該抗体が、凝集体を形成する。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したイン

10

【 0 3 8 8 】

一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗 I L - 6 抗体を含み、約 1 週間、約 2 週間、約 3 週間、または約 4 週間の約 2 5 での保存時に、H P S E C によって測定された場合に、1 % 未満、2 % 未満、3 % 未満、4 % 未満、5 % 未満、7 % 未満、または 1 0 % 未満の該抗体が、凝集体を形成する。一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗 I L - 6 抗体を含み、約 1 ヶ月間、約 2 ヶ月間、約 3 ヶ月間、約 4 ヶ月間、約 5 ヶ月間、または約 6 ヶ月間の約 2 5 での保存時に、H P S E C によって測定された場合に、1 % 未満、2 % 未満、3 % 未満、4 % 未満、5 % 未満、7 % 未満、または 1 0 % 未満の該

20

【 0 3 8 9 】

一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗 I L - 6 抗体を含み、約 1 ヶ月間、約 2 ヶ月間、約 3 ヶ月間、約 4 ヶ月間、約 5 ヶ月間、約 6 ヶ月間、約 7 ヶ月間、約 8 ヶ月間、約 9 ヶ月間、約 1 0 ヶ月間、約 1 1 ヶ月間、または約 1 2 ヶ月間の約 5 での保存時に、H P S E C によって測定された場合に、1 % 未満、2 % 未満、3 % 未満、4 % 未満、5 % 未満、7 % 未満、または 1 0 % 未満の該抗体が、凝集体を形成する。一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗 I L - 6 抗体を含み、約 1 年間、約 2 年間、約 3 年間、約 4 年間、約 5 年間、約 6 年間、約 7 年間、約 8 年間、約 9 年間、約 1 0 年間、約 1 1 年間、または約 1 2 年間の約 5 での保存時に、H P S E C によって測定された場合に、1 % 未満、2 % 未満、3 % 未満、4 % 未満、5 % 未満、7 % 未満、または 1 0 % 未満の該

30

【 0 3 9 0 】

一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗 I L - 6 抗体を含み、少なくとも約 1 週間、少なくとも約 2 週間、少なくとも約 3 週間、または少なくとも約 4 週間の約 4 0 での保存時に、R P - H P L C または S E C によって測定された場合に、1 % 未満、2 % 未満、3 % 未満、4 % 未満、5 % 未満、7 % 未満、または 1 0 % 未満の該抗体が、断片化される。一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の製剤は、本発明の抗 I L - 6 抗体を含み、少なくとも約 1 ヶ月間、少なくとも約 2 ヶ月間、少なくとも約 3 ヶ月間、少なくとも約 4 ヶ月間、少なくとも約 5 ヶ月間、または少なくとも約 6 ヶ月間の約 4 0 での保存時に、R P - H P L C または S E C によって測定された場合に、1 % 未満、2 % 未満、3 % 未満、4 % 未満、5 % 未満、7 % 未満、または 1 0 % 未満の該抗体が、断片化される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したイン

40

【 0 3 9 1 】

50

一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗 I L - 6 抗体を含み、少なくとも約 1 週間、少なくとも約 2 週間、少なくとも約 3 週間、または少なくとも約 4 週間の約 25 での保存時に、R P - H P L C または S E C によって測定された場合に、1 % 未満、2 % 未満、3 % 未満、4 % 未満、5 % 未満、7 % 未満、または 10 % 未満の該抗体が、断片化される。一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗 I L - 6 抗体を含み、少なくとも約 1 ヶ月間、少なくとも約 2 ヶ月間、少なくとも約 3 ヶ月間、少なくとも約 4 ヶ月間、少なくとも約 5 ヶ月間、または少なくとも約 6 ヶ月間の約 25 での保存時に、R P - H P L C または S E C によって測定された場合に、1 % 未満、2 % 未満、3 % 未満、4 % 未満、5 % 未満、7 % 未満、または 10 % 未満の該抗体が、断片化される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗 I L - 6 抗体を含む。

10

**【0392】**

一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗 I L - 6 抗体を含み、少なくとも約 1 ヶ月間、少なくとも約 2 ヶ月間、少なくとも約 3 ヶ月間、少なくとも約 4 ヶ月間、少なくとも約 5 ヶ月間、少なくとも約 6 ヶ月間、少なくとも約 7 ヶ月間、少なくとも約 8 ヶ月間、少なくとも約 9 ヶ月間、少なくとも約 10 ヶ月間、少なくとも約 11 ヶ月間、または少なくとも約 12 ヶ月間の約 5 での保存時に、R P - H P L C または S E C によって測定された場合に、1 % 未満、2 % 未満、3 % 未満、4 % 未満、5 % 未満、7 % 未満、または 10 % 未満の該抗体が、断片化される。一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗 I L - 6 抗体を含み、少なくとも約 1 年間、少なくとも約 2 年間、少なくとも約 3 年間、少なくとも約 4 年間、少なくとも約 5 年間、少なくとも約 6 年間、少なくとも約 7 年間、少なくとも約 8 年間、少なくとも約 9 年間、少なくとも約 10 年間、少なくとも約 11 年間、または少なくとも約 12 年間の約 5 での保存時に、R P - H P L C または S E C によって測定された場合に、1 % 未満、2 % 未満、3 % 未満、4 % 未満、5 % 未満、7 % 未満、または 10 % 未満の該抗体が、断片化される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗 I L - 6 抗体を含む。

20

**【0393】**

一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗 I L - 6 抗体を含み、約 1 週間、約 2 週間、約 3 週間、または約 4 週間の約 40 での保存時に、R P - H P L C または S E C によって測定された場合に、1 % 未満、2 % 未満、3 % 未満、4 % 未満、5 % 未満、7 % 未満、または 10 % 未満の該抗体が、断片化される。一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗 I L - 6 抗体を含み、約 1 ヶ月間、約 2 ヶ月間、約 3 ヶ月間、約 4 ヶ月間、約 5 ヶ月間、または約 6 ヶ月間の約 40 での保存時に、R P - H P L C または S E C によって測定された場合に、1 % 未満、2 % 未満、3 % 未満、4 % 未満、5 % 未満、7 % 未満、または 10 % 未満の該抗体が、断片化される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗 I L - 6 抗体を含む。

30

**【0394】**

一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗 I L - 6 抗体を含み、約 1 週間、約 2 週間、約 3 週間、または約 4 週間の約 25 での保存時に、R P - H P L C または S E C によって測定された場合に、1 % 未満、2 % 未満、3 % 未満、4 % 未満、5 % 未満、7 % 未満、または 10 % 未満の該抗体が、断片化される。一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗 I L - 6 抗体を含み、約 1 ヶ月間、約 2 ヶ月間、約 3 ヶ月間、約 4 ヶ月間、約 5 ヶ月間、または約 6 ヶ月間の約 25 での保存時に、R P - H P L C または S E C によって測定された場合に、1 % 未満、2 % 未満、3 % 未満、4 % 未満、5 % 未満、7 % 未満、または 10 % 未満の該抗体が、断片化される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗 I L - 6 抗体を含む。

40

50

## 【0395】

一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を含み、約1ヶ月間、約2ヶ月間、約3ヶ月間、約4ヶ月間、約5ヶ月間、約6ヶ月間、約7ヶ月間、約8ヶ月間、約9ヶ月間、約10ヶ月間、約11ヶ月間、または約12ヶ月間の約5での保存時に、RP-HPLCまたはSECによって測定された場合に、1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、5%未満、7%未満、または10%未満の該抗体が、断片化される。一実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を含み、約1年間、約2年間、約3年間、約4年間、約5年間、約6年間、約7年間、約8年間、約9年間、約10年間、約11年間、または約12年間の約5での保存時に、RP-HPLCまたはSECによって測定された場合に、1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、5%未満、7%未満、または10%未満の該抗体が、断片化される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗IL-6抗体を含む。

10

## 【0396】

一実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、または少なくとも約4週間の約40での保存時に、目視検査によって測定された場合に無色透明である。一実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも約1ヶ月間、少なくとも約2ヶ月間、少なくとも約3ヶ月間、少なくとも約4ヶ月間、少なくとも約5ヶ月間、または少なくとも約6ヶ月間の約40での保存時に、目視検査によって測定された場合に無色透明である。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗IL-6抗体を含む。

20

## 【0397】

一実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、または少なくとも約4週間の約25での保存時に、目視検査によって測定された場合に無色透明である。一実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも約1ヶ月間、少なくとも約2ヶ月間、少なくとも約3ヶ月間、少なくとも約4ヶ月間、少なくとも約5ヶ月間、または少なくとも約6ヶ月間の約25での保存時に、目視検査によって測定された場合に無色透明である。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗IL-6抗体を含む。

30

## 【0398】

一実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも約1ヶ月間、少なくとも約2ヶ月間、少なくとも約3ヶ月間、少なくとも約4ヶ月間、少なくとも約5ヶ月間、少なくとも約6ヶ月間、少なくとも約7ヶ月間、少なくとも約8ヶ月間、少なくとも約9ヶ月間、少なくとも約10ヶ月間、少なくとも約11ヶ月間、または少なくとも約12ヶ月間の約5での保存時に、目視検査によって測定された場合に無色透明である。一実施形態において、本発明の製剤は、少なくとも約1年間、少なくとも約2年間、少なくとも約3年間、少なくとも約4年間、少なくとも約5年間、少なくとも約6年間、少なくとも約7年間、少なくとも約8年間、少なくとも約9年間、少なくとも約10年間、少なくとも約11年間、または少なくとも約12年間の約5での保存時に、目視検査によって測定された場合に無色透明である。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗IL-6抗体を含む。

40

## 【0399】

一実施形態において、本発明の製剤は、約1週間、約2週間、約3週間、または約4週間の約40での保存時に、目視検査によって測定された場合に無色透明である。一実施形態において、本発明の製剤は、約1ヶ月間、約2ヶ月間、約3ヶ月間、約4ヶ月間、約5ヶ月間、または約6ヶ月間の約40での保存時に、目視検査によって測定された場合に無色透明である。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注

50

射器中で保存される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗IL-6抗体を含む。

#### 【0400】

一実施形態において、本発明の製剤は、約1週間、約2週間、約3週間、または約4週間の約25%での保存時に、目視検査によって測定された場合に無色透明である。一実施形態において、本発明の製剤は、約1ヶ月間、約2ヶ月間、約3ヶ月間、約4ヶ月間、約5ヶ月間、または約6ヶ月間の約25%での保存時に、目視検査によって測定された場合に無色透明である。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗IL-6抗体を含む。

10

#### 【0401】

一実施形態において、本発明の製剤は、約1ヶ月間、約2ヶ月間、約3ヶ月間、約4ヶ月間、約5ヶ月間、約6ヶ月間、約7ヶ月間、約8ヶ月間、約9ヶ月間、約10ヶ月間、約11ヶ月間、または約12ヶ月間の約5%での保存時に、目視検査によって測定された場合に無色透明である。一実施形態において、本発明の製剤は、約1年間、約2年間、約3年間、約4年間、約5年間、約6年間、約7年間、約8年間、約9年間、約10年間、約11年間、または約12年間の約5%での保存時に、目視検査によって測定された場合に無色透明である。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗IL-6抗体を含む。

20

#### 【0402】

ある実施形態において、本発明の製剤は、例えば、室温もしくは4℃で、延長した期間中（例えば、1週間、1ヶ月間、6ヶ月間、1年間、2年間、3年間、または5年間であるが、これらに限定されない）、または38℃～42℃の高温で、期間中（1週間、2週間、3週間、1ヶ月間、2ヶ月間、3ヶ月間、または6ヶ月間であるが、これらに限定されない）、保存時での改善された凝集プロファイルを維持する。ある実施形態において、該製剤は、保存時に改善された凝集プロファイルを維持する一方、最大で10%、または最大で20%、または最大で30%、または最大で40%、または最大で50%、または最大で60%、または最大で70%、または最大で80%、または最大で90%、または最大で100%の相対湿度が挙げられるが、これらに限定されない、種々の湿度条件下で、光に曝されるか、または暗所に保存される。「周囲」条件という用語は、一般に、光への曝露を伴って、10%～60%の範囲の相対湿度で、約20℃の温度を指すことを当該技術分野において理解されよう。同様に、約10%未満の相対湿度で、約2℃～約8℃の温度は、集合的に、「4℃」または「5℃」として称され、約60%の相対湿度で、約23℃～約27℃の温度は、集合的に、「25℃」として称され、約75%の相対湿度で、約38℃～約42℃の温度は、集合的に、「40℃」として称される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。

30

#### 【0403】

ある実施形態において、少なくとも1ヶ月間の4℃での保存後に、本発明の製剤は、パーティクルマルチサイザー（particle multisizer）によって測定された場合に、直径2～4μmの約3.4E+5粒子/mL未満、直径4～10μmの約4.0E+4粒子/mL未満、直径10～20μmの約4.2E+3粒子/mL未満、直径20～30μmの約5.0E+2粒子/mL未満、直径30～40μmの約7.5E+1粒子/mL未満、および直径40～60μmの約9.4粒子/mL未満の粒子プロファイルを含む（か、または凝集フラクションとして該粒子プロファイルからなる）。ある実施形態において、本発明の製剤は、40μmより大きい、または30μmより大きい検出可能な粒子を含有しない。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。

40

#### 【0404】

タンパク質製剤（例えば、本発明の抗体製剤）に存在する凝集体の程度、および/また

50

は凝集体の種類、および/または大きさを測定するために有用な多数の方法が、当該技術分野において公知であり、サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）、高性能サイズ排除クロマトグラフィー（HPSEC）、静的光散乱（SLS）、フーリエ変換赤外分光（FTIR）、円偏光二色性（CD）、尿素誘発タンパク質アンフォールディング技術（urea-induced protein unfolding techniques）、固有トリプトファン蛍光、示差走査熱量測定、および1-アニリノ-8-ナフタレンスルホン酸（ANS）タンパク質結合技術が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）を実施し、適切な樹脂で充填されたカラムに対して分子を通過させることによって、それらのサイズに基づいて分子を分離することができ、大きい分子（例えば、凝集体）は、小さい分子（例えば、モノマー）より先に溶出する。分子は、一般に、280nmでのUV吸光度によって検出され、さらなる特性評価のために回収され得る。SEC分析では、高圧液体クロマトグラフィーカラムが利用されることが多い（HP-SEC）。具体的なSEC法は、以下の「実施例」と題されるセクションで詳説する。代替として、分析用超遠心（AUC）を利用してよい。AUCは、液体試料中の高分子の沈降係数（Svedberg, Sに報告される）を測定する直交技術である。SECと同様に、AUCでは、モノマーから抗体断片/凝集体を分離および検出することが可能であり、さらに、分子量に関する情報を提供することができる。また、製剤中のタンパク質凝集は、コールターカウンターを使用するパーティクルカウンター分析によって、または濁度計を使用する濁度測定によって特徴付けられ得る。濁度は、溶液中の粒子が光を散乱する量の尺度であり、ゆえに、タンパク質凝集の一般的指標として使用され得る。加えて、非還元ポリアクリルアミドゲル電気泳動（PAGE）またはキャピラリーゲル電気泳動（CGE）を使用して、本発明の製剤中の抗体またはその断片の凝集および/または断片化状態を特徴付けることができる。

#### 【0405】

一実施形態において、本発明の製剤は、非経口投与用である。一実施形態において、本発明の製剤は、注射製剤である。特定の実施形態において、本発明の製剤は、静脈内、筋肉内、動脈内、くも膜下腔内、関節包内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、神経周囲、経気管、皮下、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、脊髄内、硬膜外、ならびに胸骨下の注射および注入に適している。一実施形態において、本発明の製剤は、静脈内、皮下、または筋肉内投与用である。特定の実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を含み、該製剤は、皮下注射用である。特定の実施形態において、本発明の製剤は、本発明の抗IL-6抗体を含み、該製剤は、膀胱内注射用である。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中で保存される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗IL-6抗体を含む。

#### 【0406】

一実施形態において、本発明の製剤は、静脈内投与用であり、該製剤は、約1mg/mL～約60mg/mLの範囲、約1mg/mL～約50mg/mLの範囲、約1mg/mL～約40mg/mLの範囲、約10mg/mL～約60mg/mLの範囲、約10mg/mL～約50mg/mLの範囲、約10mg/mL～約40mg/mLの範囲、約20mg/mL～約60mg/mLの範囲、約20mg/mL～約50mg/mLの範囲、約20mg/mL～約40mg/mLの範囲、約30mg/mL～約60mg/mLの範囲、約30mg/mL～約50mg/mLの範囲、または約30mg/mL～約40mg/mLの範囲の本発明の本発明の抗IL-6抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗IL-6抗体を含む。

#### 【0407】

一実施形態において、本発明の製剤は、神経周囲またはくも膜下腔内投与用であり、該製剤は、約0.01μg/mL～約50μg/mLの範囲、約0.05μg/mL～約45μg/mLの範囲、約0.1μg/mL～約30μg/mLの範囲、約0.15μg/mL～約25μg/mLの範囲、約0.2μg/mL～約20μg/mLの範囲、約0.

25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ~ 約 17.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の範囲、約 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ~ 約 15  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の範囲、約 0.75  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ~ 約 12.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の範囲、約 0.6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ~ 約 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の範囲、約 1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ~ 約 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の範囲、約 1.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ~ 約 7.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の範囲、または約 1.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ~ 約 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の本発明の抗 IL - 6 抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の本発明の抗 IL - 6 抗体を含む。

【0408】

一実施形態において、本発明の製剤は、皮下投与用であり、該製剤は、約 1  $\text{mg}/\text{mL}$  ~ 約 100  $\text{mg}/\text{mL}$  の範囲、約 1  $\text{mg}/\text{mL}$  ~ 約 150  $\text{mg}/\text{mL}$  の範囲、約 1  $\text{mg}/\text{mL}$  ~ 約 200  $\text{mg}/\text{mL}$  の範囲、約 25  $\text{mg}/\text{mL}$  ~ 約 100  $\text{mg}/\text{mL}$  の範囲、約 25  $\text{mg}/\text{mL}$  ~ 約 150  $\text{mg}/\text{mL}$  の範囲、約 25  $\text{mg}/\text{mL}$  ~ 約 200  $\text{mg}/\text{mL}$  の範囲、約 50  $\text{mg}/\text{mL}$  ~ 約 100  $\text{mg}/\text{mL}$  の範囲、約 50  $\text{mg}/\text{mL}$  ~ 約 150  $\text{mg}/\text{mL}$  の範囲、約 50  $\text{mg}/\text{mL}$  ~ 約 200  $\text{mg}/\text{mL}$  の範囲、約 75  $\text{mg}/\text{mL}$  ~ 約 100  $\text{mg}/\text{mL}$  の範囲、約 75  $\text{mg}/\text{mL}$  ~ 約 150  $\text{mg}/\text{mL}$  の範囲、または約 75  $\text{mg}/\text{mL}$  ~ 約 200  $\text{mg}/\text{mL}$  の範囲の本発明の抗 IL - 6 抗体を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中に提供される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の本発明の抗 IL - 6 抗体を含む。

10

【0409】

一実施形態において、本発明の製剤は、エアロゾル投与用である。

20

【0410】

本発明はまた、ヒトへの非経口投与に適している薬学的単位剤形を提供し、これは、好適な容器内に本発明の抗 IL - 6 抗体製剤を含む。一実施形態において、本発明の薬学的単位投与量は、静脈内、皮下、または筋肉内送達される本発明の抗 IL - 6 抗体製剤を含む。別の実施形態において、本発明の薬学的単位投与量は、エアロゾル送達される本発明の抗 IL - 6 抗体製剤を含む。特定の実施形態において、本発明の薬学的単位投与量は、皮下送達される本発明の抗 IL - 6 抗体製剤を含む。別の実施形態において、本発明の薬学的単位投与量は、エアロゾル送達される本発明の抗 IL - 6 抗体製剤を含む。さらなる実施形態において、本発明の薬学的単位投与量は、鼻腔内投与される本発明の抗 IL - 6 抗体製剤を含む。一実施形態において、好適な容器は、あらかじめ充填された注射器である。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗 IL - 6 抗体を含む。

30

【0411】

一実施形態において、本発明の製剤は、密閉された容器内に提供される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中に提供される。特定の実施形態において、本発明の製剤は、延長したインビボ半減期を有する本発明の抗 IL - 6 抗体を含む。

【0412】

本発明は、さらに、本発明の抗 IL - 6 抗体製剤を含むキットを提供した。本発明は、本発明の液体製剤または凍結乾燥製剤で充填された1つ以上の容器を含む薬学的バックまたはキットを提供する。一実施形態において、本発明の液体製剤で充填された容器は、あらかじめ充填された注射器である。特定の実施形態において、本発明の製剤は、異種タンパク質、異種ポリペプチド、異種ペプチド、巨大分子、小分子、マーカー配列、診断もしくはは検出可能な薬剤、治療的部分、薬物部分、放射性金属イオン、二次抗体、および固相支持体が含まれるが、これらに限定されない、別の部分へ組換えにより融合された、または化学的に複合された抗体（その抗体断片を含む）を含む。特定の実施形態において、本発明の製剤は、滅菌した液体として、単回量バイアル中に製剤化される。本発明の製剤は、1.2 mL の標的容積で、3 c c の USP の I 型ハウケイ酸褐色バイアル (West Pharmaceutical Services - 部品番号 6800 - 0675) 中で供給され得る。任意に、このような容器（複数）は、医薬品または生物学的製品の製造、使

40

50

用、または販売を規制する政府機関により規定された形式の注意書きを伴い、この注意書きは、ヒト投与に関する製造、使用、または販売の監督官庁による承認を反映するものである。別の実施形態において、本発明の製剤は、あらかじめ充填された注射器中に供給され得る。

#### 【0413】

一実施形態において、本発明の液体製剤で充填された容器は、あらかじめ充填された注射器である。当業者に公知の任意のあらかじめ充填された注射器は、本発明の液体製剤と組み合わせて使用され得る。使用され得るあらかじめ充填された注射器は、例えば、PCT公開WO第05032627号、WO第08094984号、WO第9945985号、WO第03077976号、US特許US第6792743号、US第5607400号、US第5893842号、US第7081107号、US第7041087号、US第5989227号、US第6807797号、US第6142976号、US第5899889号、US特許公開US第20070161961A1号、US第20050075611A1号、US第20070092487A1号、US第20040267194A1号、US第20060129108A1号に記載されているが、これらに限定されない。あらかじめ充填された注射器は、種々の材料から作製され得る。一実施形態において、あらかじめ充填された注射器は、ガラス製注射器である。別の実施形態において、あらかじめ充填された注射器は、プラスチック製注射器である。当業者は、注射器を製造するために使用される材料の性質および/または品質は、注射器中に保存されるタンパク質製剤の安定性に影響を及ぼし得ることが理解されよう。例えば、注射器チャンバーの内面に付着させるシリコンベースの潤滑剤は、タンパク質製剤中の粒子形成に作用し得る。一実施形態において、あらかじめ充填された注射器は、シリコンベースの潤滑剤を含む。一実施形態において、あらかじめ充填された注射器は、シリコン焼成(baked on silicone)を含む。別の実施形態において、あらかじめ充填された注射器は、シリコンベースの潤滑剤が存在しない。また、当業者は、注射器バレル、注射器先端キャップ、プランジャー、またはストッパーから製剤に浸出する少量の汚染成分が、製剤の安定性に影響を及ぼし得ることを理解されよう。例えば、製造プロセス時に導入されるタングステンは、製剤の安定性に悪影響を及ぼし得ることを理解されよう。一実施形態において、あらかじめ充填された注射器は、500ppbを超えるレベルのタングステンを含み得る。別の実施形態において、あらかじめ充填された注射器は、低タングステンの注射器である。別の実施形態において、あらかじめ充填された注射器は、約500ppb~約10ppbの範囲、約400ppb~約10ppbの範囲、約300ppb~約10ppbの範囲、約200ppb~約10ppbの範囲、約100ppb~約10ppbの範囲、約50ppb~約10ppbの範囲、約25ppb~約10ppbの範囲のレベルでタングステンを含み得る。

#### 【0414】

##### 製品

本発明はまた、完成され、包装され、およびラベルが付けられた医薬品を包含する。この製品は、密封されたガラス製バイアル、あらかじめ充填された注射器、または他の容器等の適切な瓶または容器中の適切な単位投与剤形を含む。一実施形態において、この単位投与剤形は、非経口投与に適している抗IL-6抗体を含む滅菌粒子フリーの溶液として提供される。別の実施形態において、この単位投与剤形は、再構成に適している抗IL-6抗体を含む滅菌凍結乾燥粉末として提供される。

#### 【0415】

一実施形態において、この単位投与剤形は、静脈内、筋肉内、鼻腔内、経口、局所、または皮下送達に適している。ゆえに、本発明は、各送達経路に適した滅菌溶液を包含する。本発明は、さらに、再構成に適している滅菌凍結乾燥粉末を包含する。

#### 【0416】

任意の医薬品と同様に、包装材料および容器は、保存および出荷時の製品の安定性を保護するように設計される。さらに、本発明の製品は、使用のための指示書、または、問題

10

20

30

40

50

の疾患または障害を適切に予防または治療するための手引を医師、技術者、もしくは患者に助言する他の情報資料を含む。換言すれば、該製品は、実際の用量、モニタリング手順、および他のモニタリング情報が含まれるが、これらに限定されない、投薬レジメンを示すかまたは示唆する指示手段を含む。

【0417】

特に、本発明は、箱、瓶、チューブ、バイアル、容器、あらかじめ充填された注射器、噴霧器、吸入器、静脈内(i.v.)バッグ、エンベロープ等の包装材料；および該包装材料内に含有される医薬品の少なくとも1つの単位投与剤形を含む製品を提供し、該医薬品は、抗体を含有する液体製剤を含む。包装材料は、該抗体を使用して、疾患または障害と関連する1つ以上の症状をいかに予防、治療、および/または管理することができるかを示す指示手段を含む。

10

【0418】

また、経口投与用の薬学的組成物、例えば、単ドメイン抗体分子(例えば、「nanobody(商標)」)等は、本発明において想定される。このような経口製剤は、錠剤、カプセル、粉末、液体、または半固体の剤形であり得る。錠剤は、ゼラチンまたはアジュバント等の固体担体を含み得る。液体薬学的組成物は、概して、水、石油、動物もしくは植物油、鉱油または合成油等の液体担体を含む。生理食塩水溶液、デキストロース、または他のサッカライド溶液、またはエチレングリコール、プロピレングリコールもしくはポリエチレングリコール等のグリコールが含まれ得る。

【0419】

静脈内注射、または苦痛部位での注射では、活性成分は、ピロゲンを含まず、好適なpH、等張性、および安定性を有する、非経口的に許容される水性溶液の剤形である。当業者は、例えば、塩化ナトリウム液、リンガー液、乳酸加リンガー液等の等張性ビヒクルを使用して、好適な溶液を調製することが十分に可能である。保存剤、安定剤、緩衝剤、酸化防止剤、および/または他の添加物を必要に応じて用いることができ、これには、リン酸塩、クエン酸塩、および他の有機酸等の緩衝剤；アスコルビン酸およびメチオニン等の酸化防止剤；保存剤(例えば、オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロライド；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム；塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチル、もしくはベンジルアルコール；メチルまたはプロピルパラベン等のアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3'-ペンタノール；およびm-クレゾール)；低分子量ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、もしくは免疫グロブリン等のタンパク質；ポリビニルピロリドン等の親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、もしくはリシン等のアミノ酸；単糖類、二糖類、およびグルコース、マンノース、もしくはデキストリンを含む他の炭水化物；EDTA等のキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロース、もしくはソルビトール等の糖；ナトリウム等の塩形成カウンターイオン；金属複合体(例えば、Zn-タンパク質複合体)；ならびに/またはTWEEN(商標)、PLURONICS(商標)、もしくはポリエチレングリコール(PEG)等の非イオン性界面活性剤が含まれる。

20

30

【0420】

本発明の結合性メンバーは、分子の物理化学的特性および送達経路に応じて、液体、半固体、または固体剤形で製剤化され得る。製剤には、賦形剤、または賦形剤の組み合わせ、例えば：糖、アミノ酸および界面活性剤を含み得る。液体製剤には、広範囲の抗体濃度およびpHを含み得る。固体製剤は、例えば、凍結乾燥、スプレー乾燥、または超臨界流体技術による乾燥によって製造され得る。結合性メンバーの製剤は、意図される送達経路に依存する。例えば、肺送達用製剤は、吸入時に肺に深く浸透することを保証する物理的特性を有する粒子からなり得；局所製剤(例えば、瘢痕、例えば真皮瘢痕治療用)には、薬物が作用点に留まる期間を延長する粘性調節剤を含み得る。結合性メンバーは、制御放出製剤等の、急速な放出から該結合性メンバーを保護する担体と共に調製され得、これには、移植片、経皮パッチ、およびマイクロカプセル化送達系が含まれる。エチレン酢酸ビニル、ポリ無水物(polyanhydrides)、ポリグリコール酸、コラーゲン、

40

50



ポリオルトエステル、およびポリ乳酸等の生分解性、生体適合性ポリマーを使用することができる。このような製剤を調製するための多数の方法は、当業者に公知である (Robinson, J. R. ed., (1978) Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, Marcel Dekker, Inc., New York)。

【0421】

治療は、経口で (例えば、単一ドメイン抗体分子 (例えば、「nanobodies (商標)」) 等)、注射によって (例えば、皮下、関節内、静脈内、腹膜内、動脈内、または筋肉内注射によって)、気管内の吸入によって、小胞内経路 (膀胱内への点滴注入) によって、または局所的に (例えば、眼球内、鼻腔内、経直腸、創傷内、皮膚上) 施してよい。該治療は、パルス注入によって、特に、少ない用量の結合性メンバーで投与され得る。投与経路は、治療の物理化学的特性によって、疾患に関する特別な配慮によって、または効力を最適化するか、もしくは副作用を最小にする必要性によって、決定することができる。特定の一投与経路は、静脈内である。本発明の薬学的組成物を投与する別の経路は、皮下である。治療は、診療所での使用に制限されないことが想定される。したがって、無針注射デバイスを用いた皮下注射も有益である。

10

【0422】

組成物は、単独で、または他の治療と組み合わせて、治療されるべき症状に応じて同時に、もしくは順次に投与され得る。

20

【0423】

本発明の結合性メンバーは、追加の薬用成分と組み合わせた併用療法の部分として使用され得る。併用治療、特に、本発明の結合性メンバーと1つ以上の他の薬物を併用して、大きな相乗効果を得ることができる。本発明の結合性メンバーは、本明細書で列挙されている1つ以上の症状の治療のために、別の治療物質または物質群と同時に、または連続して、または混合調製物として投与され得る。

【0424】

本発明の結合性メンバーは、細胞毒性剤の治療効力を高めることができる化学増感剤として使用され得、ゆえに、1つ以上の細胞毒性剤と組み合わせて、同時に、または連続して投与するために提供され得る。また、結合性メンバーは、放射線の効力を向上させることができる放射線増感剤として使用され得、ゆえに、放射線と組み合わせて、同時に、または連続して投与するために提供され得る。

30

【0425】

本発明による結合性メンバーは、1つ以上の以下の薬剤と組み合わせて、またはそれらと共に提供され得る。

【0426】

- サイトカインまたはサイトカイン機能のアゴニストもしくはアンタゴニスト (例えば、SOC S系のモジュレーター等のサイトカインシグナル伝達経路に作用する薬剤)、例えば、アルファ - 、ベータ - 、および/またはガンマ - インターフェロン; インシュリン様成長因子I型 (IGF - 1)、その受容体および関連結合タンパク質; インターロイキン (IL)、例えば、1つ以上のIL - 1 ~ 33、および/またはインターロイキンアンタゴニストもしくは阻害剤、例えば、アナキンラ (anakinra); インターロイキンファミリーメンバーの受容体の阻害剤、またはこのような受容体の特定サブユニットの阻害剤、腫瘍壊死因子アルファ (TNF - ) 阻害剤、例えば、抗TNFモノクローナル抗体 (例えば、インフリキシマブ、アダリムマブ (adalimumab)、および/もしくはCDP - 870) および/またはTNF受容体アンタゴニスト、例えば、免疫グロブリン分子 (例えば、エタネルセプト (etanercept)) および/または低分子量薬剤、例えば、ペントキシフィリン (pentoxifylline);

40

- B細胞のモジュレーター、例えば、Bリンパ球を標的にするモノクローナル抗体 (CD20 (リツキシマブ) もしくはMRA - aIL16R等) またはTリンパ球を標的にするもの (例えば、CTLA4 - Ig、HuMax IL - 15、もしくはアバタセプト (

50

A b a t a c e p t ) )、

- 破骨細胞活性を阻害するモジュレーター、例えば、RANKLに対する抗体、
- ケモカインまたはケモカイン受容体機能のモジュレーター、例えば、CCR1、CCR2、CCR2A、CCR2B、CCR3、CCR4、CCR5、CCR6、CCR7、CCR8、CCR9、CCR10、およびCCR11 (C-Cファミリー)；CXCR1、CXCR2、CXCR3、CXCR4、およびCXCR5、およびCXCR6 (C-X-Cファミリー)、ならびにCX<sub>3</sub>CR1 (C-X<sub>3</sub>-Cファミリー)のアンタゴニスト

- マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP)、すなわち、1つ以上のストロメライシン、コラゲナーゼおよびゼラチナーゼ、ならびにアグレカナーゼ (aggreccanase)、特に、コラゲナーゼ-1 (MMP-1)、コラゲナーゼ-2 (MMP-8)、コラゲナーゼ-3 (MMP-13)、ストロメライシン-1 (MMP-3)、ストロメライシン-2 (MMP-10) および/またはストロメライシン-3 (MMP-11) および/またはMMP-9 および/またはMMP-12の阻害剤、例えば、ドキシサイクリン等の薬剤、

- ロイコトリエン生合成阻害剤、5-リボキシゲナーゼ (5-LO) 阻害剤、またはジレウトン (zileuton) 等の5-リボキシゲナーゼ活性化タンパク質 (FLAP) アンタゴニスト；ABT-761；フェンレウトン (fenleuton)；テポキサリン (tepoxalin)；Abbott-79175；Abbott-85761；N-(5-置換)-チオフェン-2-アルキルスルホンアミド；2,6-ジ-tert-ブチルフェノールヒドラゾン；Zeneca ZD-2138等のメトキシテトラヒドロピラン；化合物SB-210661；L-739,010等のピリジニル置換2-シアノナフタレン化合物；L-746,530等の2-シアノキノリン化合物；インドールおよび/またはMK-591、MK-886 および/またはBAY x 1005等のキノリン化合物、

- 例えば、L-651,392等のフェノチアジン-3-1；CGS-25019c等のアミジノ化合物；オンタゾラスト (ontazolast) 等のベンゾキサラミン (benzoxalamines)；BIIL284/260等のベンゼンカルボキシミドアミド (benzenecarboximidamides)；およびザフィルルカスト (zafirlukast)、アブルカスト (ablukast)、モンテルカスト (montelukast)、プラナルカスト (pranlukast)、ベルルカスト (verlukast) (MK-679)、RG-12525、Ro-245913、イラルカスト (iralukast) (CGP 45715A) およびBAY x 7195等の化合物からなる群から選択されるロイコトリエン (LT) B4、LTC4、LTD4、およびLTE4の受容体アンタゴニスト、

- ホスホジエステラーゼ (PDE) 阻害剤、例えば、メチルキサンタニン (methylxanthanine)、例えば、テオフィリンおよび/もしくはアミノフィリン；および/または選択的PDEアイソザイム阻害剤、例えば、PDE4阻害剤および/もしくはアイソフォームPDE4Dの阻害剤および/もしくはPDE5の阻害剤；

- ヒスタミン1型受容体アンタゴニスト、例えば、セチリジン (cetirizine)、ロラタジン (loratadine)、デスロラタジン (desloratadine)、フェキソフェナジン、アクリバステイン (acrivastine)、テルフェナジン、アステミゾール、アゼラスチン、レボカバステイン (levocabastine)、クロルフェニラミン、プロメタジン、シクリジン、および/またはミゾラスチン (mizolastine) (概して、経口で、局所的に、もしくは非経口で投与される)、

- プロトンポンプ阻害剤 (例えば、オメプラゾール) または胃保護性ヒスタミン2型受容体アンタゴニスト、

- ヒスタミン4型受容体のアンタゴニスト、

- アルファ-1/アルファ-2アドレナリン受容体アゴニスト血管収縮性交感神経様作用薬、例えば、プロピルヘキセドリン、フェニレフリン、フェニルプロパノールアミン、

10

20

30

40

50

エフェドリン、シュードエフェドリン、塩酸ナファゾリン、塩酸オキシメタゾリン、塩酸テトラヒドロゾリン、塩酸キシロメタゾリン、塩酸トラマゾリン、および塩酸エチルノルエピネフリン、

- 抗コリン作動薬、例えば、ムスカリン受容体 (M1、M2、およびM3) アンタゴニスト、例えば、アトロピン、ヒヨスチン、グリコピロレート、イプラトロピウムブロミド、チオトロピウムブロミド (tiotropium bromide)、オキシトロピウムブロミド、ピレンゼピン、およびテレンゼピン (telenzepine)、

- ベータ-アドレナリン受容体アゴニスト (ベータ受容体サブタイプ1-4を含む)、例えば、イソプレナリン、サルブタモール、フォルモテロール、サルメテロール、テルブタリン、オルシプレナリン、ピトルテロールメシレート、および/またはビルブテロール、例えば、そのキラリエナンチオマー、

- クロモン、例えば、クロモグリク酸ナトリウムおよび/またはネドクロミルナトリウム、

- 糖質コルチコイド、例えば、フルニソリド、トリアムシノロンアセトニド、ジプロピオン酸ベクロメタゾン、ブデソニド、プロピオン酸フルチカゾン (fluticasone propionate)、シクレソニド (ciclesonide)、および/またはフランカルボン酸モメタゾン (mometasone furoate)、

- PPAR等の核ホルモン受容体をモジュレートする薬剤、

- 免疫グロブリン (Ig) またはIg調製物または抗IgE (例えば、オマリズマブ (omalizumab)) 等のIg機能を調節するアンタゴニストもしくは抗体、

- 他の全身または局所適用の抗炎症剤、例えば、サリドマイドまたはその誘導体、レチノイド、ジトラノール (dithranol) および/またはカルシポトリオール (calcipotriol)、

- アミノサリチル酸およびスルファピリジンの組み合わせ、例えば、スルファサラジン、メサラジン、バルサラジド (balsalazide)、およびオルサラジン (olsalazine); およびチオプリン (thiopurines) 等の免疫調節剤; およびブデソニド等のコルチコステロイド、

- 抗菌剤、例えば、ペニシリン誘導体、テトラサイクリン、マクロライド、ベータ-ラクタム、フルオロキノロン、メトロニダゾール、および/または吸入アミノグリコシド; および/または抗ウイルス剤、例えば、アシクロビル、ファミシクロビル (famciclovir)、パラシクロビル (valaciclovir)、ガンシクロビル、シドフォビル (cidofovir); アマンタジン、リマンタジン; リバビリン; ザナマビル (zanamavir) および/またはオセルタマビル (oseltamavir); プロテアーゼ阻害剤、例えば、インジナビル、ネルフィナビル、リトナビル、および/またはサキナビル; ジダノシン、ラミブジン、スタブジン、ザルシタピン、ジドブジン等のヌクレオシド逆転写酵素阻害剤; ネビラピン、エファビレンツ等の非ヌクレオシド逆転写酵素阻害剤、

- 心血管作動薬、例えば、カルシウムチャネル遮断薬、ベータ-アドレナリン受容体遮断薬、アンギオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害剤、アンギオテンシン-2受容体アンタゴニスト; スタチンおよび/またはフィブラート (fibrate) 等の脂質低下剤; 血液細胞形態のモジュレーター、例えば、ペントキシフィリン (pentoxifylline); 血栓溶解剤および/または抗凝血剤、例えば、血小板凝集阻害剤、

- 中枢神経系薬、例えば、抗うつ剤 (セルトラリン等)、抗パーキンソン薬 (例えば、デプレニル、L-ドーパ、ロピニロール (ropinirole)、プラミペキソール; MAOB阻害剤、例えば、セレギン (selegine) およびラサギリン (rasagiline); COMT阻害剤、例えば、タスマル (tasmar); A-2阻害剤、ドーパミン再摂取阻害剤、NMDAアンタゴニスト、ニコチンアゴニスト、ドーパミンアゴニストおよび/もしくはニューロン-酸化窒素シンターゼの阻害剤) および抗アルツハイマー薬、例えば、ドネペジル、リバスティグミン、タクリン、COX-2阻害剤、プロベントフィリン、もしくはメトリホナート、

10

20

30

40

50

- 急性および慢性疼痛を治療するための薬剤、例えば、中枢または末梢作用鎮痛剤、例えば、オピオイド類似体もしくは誘導体、カルバマゼピン、フェニトイン、バルプロ酸ナトリウム、アミトリプチリン (amitryptiline) または他の抗うつ剤、パラセタモール、または非ステロイド性抗炎症剤、

- 非経口または局所適用 (吸入を含む) 局所麻酔剤、例えば、リグノカインまたはその類似体、

- 抗骨粗鬆症剤、例えば、ホルモン剤、例えば、ラロキシフェン、またはビホスホナート、例えば、アレンドロナート (alendronate)、

- (i) トリプターゼ阻害剤、(ii) 血小板活性化因子 (PAF) アンタゴニスト、(iii) インターロイキン変換酵素 (ICE) 阻害剤、(iv) IMPDH 阻害剤、(v) VLA-4 アンタゴニストを含む接着分子阻害剤、(vi) カテプシン、(vii) キナーゼ阻害剤、例えば、チロシンキナーゼの阻害剤 (例えば、Btk、Itk、Jak3 MAP 阻害剤の例には、ゲフィチニブ、メシル酸イマチニブが含まれ得る)、セリン/スレオニンキナーゼ (例えば、p38、JNK、プロテインキナーゼ A、B および C および IKK 等の MAP キナーゼの阻害剤)、または細胞周期調節に關与するキナーゼ (例えば、サイクリン依存性キナーゼ)、(viii) グルコース-6リン酸デヒドロゲナーゼ阻害剤、(ix) キニン-B<sub>1</sub>-および/もしくは B<sub>2</sub>-受容体アンタゴニスト、(x) 抗痛風剤、例えば、コルヒチン、(xi) キサンチンオキシダーゼ阻害剤、例えば、アロプリノール、(xii) 尿酸排泄剤、例えば、プロベネシド、スルフィンピラゾン、および/もしくはベンズプロマロン、(xiii) 成長ホルモン分泌促進剤、(xiv) トランスフォーミング成長因子 (TGF)、(xv) 血小板由来成長因子 (PDGF)、(xvi) 線維芽細胞成長因子、例えば、塩基性線維芽細胞成長因子 (bFGF)、(xvii) 顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF)、(xviii) カプサイシンクリーム、(xix) タキキニン NK<sub>1</sub> および/または NK<sub>3</sub> 受容体アンタゴニスト、例えば、NKP-608C、SB-233412 (タルネタント (talnetant)) および/もしくは D-4418、(xx) エラスターゼ阻害剤、例えば、UT-77 および/もしくは ZD-0892、(xxi) TNF-アルファ変換酵素阻害剤 (TACE)、(xxii) 誘導性一酸化窒素シンターゼ (iNOS) 阻害剤、または (xxiii) TH2 細胞上で発現される化学誘引物質受容体相同分子 (例えば、CRTTH2 アンタゴニスト)、(xxiv) P38 の阻害剤 (xxv) トール (Toll) 様受容体 (TLR) の機能を調節する薬剤および (xxvi) P2X7 等のプリン受容体の活性を調節する薬剤、(xxvii) NFκB、API、および/または STATs 等の転写因子活性化の阻害剤。

#### 【0427】

阻害剤は、特異的であるか、または混合阻害剤、例えば、上述の1つ以上の分子 (例えば、受容体) または分子クラスを標的にする阻害剤であり得る。

#### 【0428】

結合性メンバーはまた、化学療法剤または別のチロシンキナーゼ阻害剤と共に、同時投与で、または免疫複合体の形態で使用することができる。該抗体の断片はまた、組換え機構または生化学的カップリング、および次いで上記抗体の特異性を、IL-6 が關連している活性に關与する他の分子を認識可能な他の抗体の特異性と結び付けることによって取得される二重特異性抗体において使用することができる。

#### 【0429】

炎症性疾患の治療では、本発明の結合性メンバーを、1つ以上の薬剤、例えば、局所適用であるか全身適用であるかにかかわらず、非ステロイド性抗炎症剤 (以下、NSAID)、例えば、非選択的シクロオキシゲナーゼ (COX) - 1 / COX - 2 阻害剤、例えば、ピロキシカム、ジクロフェナク、プロピオン酸、例えば、ナプロキセン、フルルビプロフェン、フェノプロフェン、ケトプロフェン、およびイブプロフェン、フェナマート、例えば、メフェナム酸、インドメタシン、スリダク、アザプロパゾン、ピラゾロン、例えば、フェニルブタゾン、サリチラート、例えば、アスピリン) ; 選択的 COX - 2 阻害剤

10

20

30

40

50

(メロキシカム、セレコキシブ、ロフェコキシブ、バルデコキシブ、ルマロコキシブ (lumarocoxib)、パレコキシブ (parecoxib)、およびエトリコキシブ (etoricoxib) 等); シクロオキシゲナーゼ阻害性一酸化窒素ドナー (CINOD); グルココルチコステロイド (局所、経口、筋肉内、静脈内、もしくは関節内経路による投与のいずれでもよい); メトトレキセート、レフルノミド (leflunomide); ヒドロキシクロロキン、d-ペニシラミン、オーラノフィン、または他の非経口もしくは経口金製剤; 鎮痛剤; ジアセレイン (diacerein); ヒアルロン酸誘導体等の関節内治療薬; ならびにグルコサミン等の栄養補助食品と組み合わせる。

#### 【0430】

また、本発明の結合性メンバーは、癌を治療するための既存の治療剤と組み合わせることもできる。組み合わせるために好適な薬剤には、以下の薬剤が含まれる。

10

#### 【0431】

(i) 内科的腫瘍学において使用される抗増殖性/抗悪性腫瘍薬およびその組み合わせ、例えば、Gleevec (メシル酸イマチニブ)、アルキル化剤 (例えば、シスプラチン、カルボプラチン、シクロホスファミド、ナイトロジェンマスタード、メルファラン、クロランブシル、ブスルファン、およびニトロソ尿素); 代謝拮抗剤 (例えば、葉酸拮抗剤、例えばフルオロピリミジン、例えば、5-フルオロウラシルおよびテガフル、ラルチトレキセド、メトトレキセート、シトシンアラビノシド、ヒドロキシ尿素、ゲムシタピン、およびパクリタキセル); 抗腫瘍性抗生物質 (例えば、アントラサイクリン、例えば、

20

アドリアマイシン、ブレオマイシン、ドキシソルピシン、ダウノマイシン、エピルピシン、イダルピシン、マイトマイシン-C、ダクチノマイシン、およびミトラマイシン); 抗分裂剤 (例えば、ピンカアルカロイド、例えば、ピンクリスチン、ピンブラスチン、ピンデシン、およびビノレルピン、ならびにタキソイド (taxoids)、例えば、タキソールおよびタキソテール); およびトポイソメラーゼ阻害剤 (例えば、エポドフィロトキシン、例えば、エトポシドおよびテニポシド、アムサクリン、トポテカン、およびカンプトセシン)、

30

(ii) 細胞増殖抑制剤、例えば、抗エストロゲン剤 (例えば、タモキシフェン、トレミフェン、ラロキシフェン、ドロロキシフェン (droloxifene)、およびイオドキシフェン (iodoxyfene)、エストロゲン受容体下方制御因子 (例えば、フルベストラント)、抗アンドロゲン剤 (例えば、ピカルタミド、フルタミド、ニルタミド、および酢酸シプロテロン)、LHRHアンタゴニストもしくはLHRHアゴニスト (例えば、ゴセレリン、ロイプロレリン (leuprorelin)、およびブセレリン)、

プロゲステゲン (例えば、酢酸メゲストロール)、アロマターゼ阻害剤 (例えば、アナストロゾール、レトロゾール、ボラゾール (vorazole)、およびエキセメスタン)、

(iii) 癌細胞侵襲を阻害する薬剤 (例えば、メタロプロテイナーゼ阻害剤、例えば、マリマスタット (marimastat) およびウロキナーゼプラスミノゲンアクチベーター受容体機能の阻害剤)、

(iv) 成長因子機能の阻害剤、例えば、成長因子抗体、成長因子受容体抗体 (例えば、抗erbB2抗体トラスツズマブおよび抗erbB1抗体セツキシマブ [C225])、

40

ファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤およびセリン/スレオニンキナーゼ阻害剤、例えば、上皮細胞成長因子ファミリーの阻害剤 (例えば、EGFRファミリーチロシンキナーゼ阻害剤、例えば、N-(3-クロロ-4-フルオロフェニル)-7-メトキシ-6-(3-ホルホルノプロポキシ)キナゾリン-4-アミン (ゲフィチニブ、AZD1839)、N-(3-エチルフェニル)-6,7-ビス(2-メトキシエトキシ)キナゾリン-4-アミン (エルロチニブ (erlotinib)、OSI-774) および6-アクリルアミド-N-(3-クロロ-4-フルオロフェニル)-7-(3-ホルホルノプロポキシ)キナゾリン-4-アミン (CI 1033))、例えば、

50

血小板由来成長因子ファミリーの阻害剤、および例えば肝細胞成長因子ファミリーの阻害

剤、

(v) 血管新生阻害剤、例えば、血管内皮増殖因子の効果を阻害するもの（例えば、抗血管内皮細胞増殖因子抗体ベバシズマブ (bevacizumab)、国際特許出願WO第97/22596号、WO第97/30035号、WO第97/32856号およびWO第98/13354号（これらのそれぞれはその全体が本明細書に組み込まれる））に開示される化合物等の化合物、および他の機構で機能する化合物（例えば、リノミド (linomide)、インテグリン v<sub>3</sub> 機能の阻害剤およびアンジオスタチン)、

(vi) 血管損傷剤、例えば、コンブレタスタチン (combretastatin) A4、ならびに国際特許出願WO第99/02166号、WO第00/40529号、WO第00/41669号、WO第01/92224号、WO第02/04434号、およびWO第02/08213号（これらのそれぞれはその全体が本明細書に組み込まれる））に開示される化合物、

(vii) アンチセンス治療薬、例えば、上で列記される標的に対するアンチセンス治療薬、例えば、ISIS 2503、抗rasアンチセンス、

(viii) 例えば、異常p53または異常BRCA1もしくはBRCA2等の異常遺伝子を置換するアプローチ、GDEPT（遺伝子指向性酵素プロドラッグ治療 (gene directed enzyme pro-drug therapy)）アプローチ、例えば、シトシンデアミナーゼ、チミジンキナーゼ、もしくは細菌性ニトロレダクターゼ酵素を使用するアプローチ、および多剤耐性遺伝子治療等の化学療法または放射線療法に対する患者の耐性を高めるアプローチを含む、遺伝子治療アプローチ、ならびに

(ix) 患者腫瘍細胞の免疫原性を高めるエクスピボおよびインピボアプローチ、例えば、サイトカイン、例えば、インターロイキン2、インターロイキン4、または顆粒球マクロファージコロニー刺激因子のトランスフェクション、T細胞アレルギーを低下させるアプローチ、トランスフェクトされた免疫細胞、例えば、サイトカインでトランスフェクトされた樹状細胞を使用するアプローチ、サイトカインでトランスフェクトされた腫瘍細胞株を使用するアプローチ、および抗イディオタイプ抗体を使用するアプローチを含む、免疫療法アプローチ。

#### 【0432】

本発明の結合性メンバーおよび1つ以上の上記の追加の薬用成分は、医薬品の製造に使用され得る。該医薬品は、個体に対する単独または複合投与用であり得、したがって、結合性メンバーおよび追加の成分を複合調製物または単独調製物として含み得る。単独調製物を使用して、別々かつ連続した投与または同時投与を容易にし、異なる経路、例えば、経口および非経口投与による成分の投与を可能にし得る。

#### 【0433】

本発明に従って、提供される組成物は、哺乳類に投与され得る。投与は、通常、「治療有効量」で行われ、これは患者に利益を示すために十分である。このような利益は、少なくとも1つの症状の少なくとも改善であり得る。実際の投与量、ならびに投与の割合および経時変化は、治療されるべき性質および重症度、治療される具体的な哺乳類、個々の患者の臨床症状、障害の原因、組成物の送達部位、結合性メンバーのタイプ、投与方法、投与計画、および医師に公知の他の要因に依存する。治療の処方、例えば、投与量等の決定は、一般の開業医および他の医学博士の責任の範囲内であり、症状の重症度および/または治療すべき疾患の進行度に依存する。抗体の適切な用量は、当該技術分野において周知である (Ledermann J. A. et al. (1991) Int. J. Cancer 47: 659 - 664、Bagshawe K. D. et al. (1991) Antibody, Immunoc conjugates and Radiopharmaceuticals 4: 915 - 922)。投与される医薬品のタイプに応じて本明細書またはPhysician's Desk Reference (2003) に示される具体的投与量が使用され得る。本発明の結合性メンバーの治療有効量または好適な用量は、そのインビトロ活性と動物モデルにおけるインピボ活性を比較することによって決定することができる。マウスおよび他の試験動物での有効量をヒトに対して外挿するための

方法が公知である。厳密な用量は、幾つかの要因に依存し、これには、抗体が診断用であるか、予防用であるか、または治療用であるか、治療すべき領域のサイズおよび位置、抗体の厳密な性質（例えば、完全抗体、断片、またはダイアボディ）、および抗体に結合されている任意の検出可能な標識または他の分子の性質が含まれる。典型的な抗体用量は、全身適用では、 $100\mu\text{g} \sim 1\text{g}$ の範囲であり、局所適用では、 $1\mu\text{g} \sim 1\text{mg}$ の範囲である。最初に高負荷量を投与し、続いて、1回以上の低用量が投与され得る。典型的に、抗体は、完全抗体であり、例えば、IgG1アイソタイプである。これは、成人患者の効果的な治療に対する用量であり、子供および乳児に対して比例的に調節され得、また、分子量に比例して他の抗体形態に応じて調節され得る。治療は、医師の裁量で、毎日、週2回、毎週、または毎月の間隔で反復してよい。治療は、皮下投与では、2～4週毎であってよく、静脈内投与では、4～8週毎であってよい。治療は、定期的であってよく、投与間の期間は、約2週間以上、例えば、約3週間以上、約4週間以上、または約月一回である。治療は、外科手術前および/または後に施してよく、かつ/または外科治療の解剖部位に直接投与または適用してよい。

#### 【0434】

本発明のIL-6結合性メンバーは、sIL-6Raに対する抗体と比較して、用量および投与要件に関する利点を提供し得る。本明細書の他の箇所で記載されるように、疾患におけるIL-6の循環レベルは、sIL-6Raの循環レベルよりかなり低い。したがって、IL-6結合性メンバーを使用すると、抗IL-6R結合性メンバーと対照的に、患者への各投与用に製造されるべき薬物の量がより少ない点で大きな利点を有する。また、抗IL-6治療薬の用量が少なければ、低用量によって皮下注射ならびに静脈内(i.v.)注射が容易になる点において大きな利点があり得る。皮下投与は、投与あたりに必要とされる結合性メンバー、例えば、抗体分子の量によって制限され得ることが当業者に周知である。これは、皮膚の一部に注射することができる容量によって皮下注射が制限されるためである。1.2mL以下の皮下注射容量が典型的に利用される。50mg/mLより高濃度で皮下注射用に結合性メンバーを製剤化することはますます困難であるため、この経路により100mgを超える用量は、通常、複数回の注射を必要とし、患者にとってより不快である。

#### 【0435】

また、低用量の抗IL-6治療薬を有するということは、全身的sIL-6Raと比較して、これはより高濃度であるため、全ての全身的IL-6を阻害するために、より低い「負荷」用量の抗体を必要とし得る。

#### 【0436】

追加の利益は、IL-6受容体というよりも、IL-6のターゲティングに関するものであり得、それは、IL-6Raに対する結合性メンバーと比較して、本発明の結合性メンバーのさらなる利点である。

#### 【0437】

例えば、疾患においてIL-6の循環レベルが、sIL-6Raの循環レベルよりかなり低いことを示す文献報告がある(Desgeorges et al. (1997) J. Rheumatol 24:1510、Yokota et al. (2005) Arth & Rheum 52(3):818-25)。sIL-6Rのレベルは、IL-6レベルよりかなり高いので、IL-6を中和するために必要とされる抗IL-6結合性メンバーの量と比較して、sIL-6Raを中和するためにはより多量の抗sIL-6R結合性メンバーが必要とされ得る。ゆえに、抗受容体結合性メンバーが使用される場合と比較して、より低量の抗リガンド結合性メンバーが必要とされ得る。

#### 【0438】

IL-6受容体というよりも、IL-6リガンドのターゲティングにより、疾患におけるIL-6のレベルを低減させ得るが、免疫応答の一部としてIL-6が上方制御される感染時には、IL-6レベルの増加が依然として可能である。

#### 【0439】

10

20

30

40

50

Kawanoら (Nature (1988) 332: 83) は、IL-6が、強力な成長因子であることを示し、また、患者から新たに単離された骨髄腫細胞がIL-6を産生し、かつその受容体を発現することを示した。さらに、抗IL-6抗体は、骨髄腫細胞のインビトロ増殖を阻害する。これは、自己分泌ループが、ヒト骨髄腫の発癌において機能していることの直接的証拠である。その研究に続いて、Van Zaanenら (J. Clin. Invest. (1996) 98: 1441-1448) は、抗IL-6リガンド抗体で処置された場合に、多発性骨髄腫患者でのIL-6の産生が減少することを実証した。

#### 【0440】

多くの追加の研究で、他の細胞タイプ、例えば、平滑筋細胞 (SMC) (Klouch et al., (1999) J. Immunol. 163 (8) 4583-9)、U373-MG星細胞腫細胞 (Oh et al., (2001) J. Immunol. 166: 2695-704)、3T3脂肪細胞 (Fasshauer et al., (2003) Horm. Metab. Res. 35 (3) 147-52)、ニューロン (Marz et al., (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95 (6) 3251-6)、内皮細胞 (Modur et al., (1997) J. Clin. Invest. 100 (1) 2752-6)、およびカボジ肉腫細胞 (Murakami-Morlet et al., (1996) Cell Growth Differ. 7 (12) 1697-703) において、IL-6が自己分泌フィードバックループに関与することが示されている。したがって、疾患において、抗IL6結合性メンバーを使用してIL-6を阻害することにより、基礎的な疾患IL-6の産生を減少させることができる。

10

20

#### 【0441】

さらに、抗IL-6結合性メンバーは、体循環中のIL-6に結合するが、これは治療すべき疾患の病理に関与する細胞の表面上の受容体を占有するために組織に浸透することを必要とするIL-6受容体に対する結合性メンバーとは対照的である。

#### 【0442】

IL-6に対する結合性メンバーは、体循環中でIL-6と平衡状態を形成し、障壁、例えば、滑膜を横切って勾配を生じさせる効果を有し、その関節から活性IL-6を除去し、かつ該結合性メンバーと不活性複合体を形成させる正味の効果を有する。その結果、IL-6結合性メンバーは即座の作用発現を示すことができ、投与レジメンは、IL-6R結合性メンバーと比較して異なり、かつ最適化がより容易である可能性があり得る。

30

#### 【0443】

IL-6シグナル伝達は、IL-6Rに対するIL-6結合およびgp130に対する該複合体の結合によって媒介される。IL-6とIL-6Raの結合が、ナノモル親和性 (約5 nM) での結合であり、かつIL6:IL6R複合体とgp130の結合が、ピコモル親和性での結合であることを考慮すると、IL-6を標的とする結合性メンバーは、IL-6結合に関して少量の競合に直面し、そのため、IL-6シグナル伝達を高い割合で抑制することができる。このことは、可溶性IL-6Raを標的とし、かつIL-6:IL-6Ra複合体形成を妨げる結合性メンバーにも適用し得るが、IL-6Raが膜結合型である場合、立体障害のせいで、抗IL-6Raが、膜上に存在するIL-6Raに結合してそれを阻害することはより困難であり得る。

40

#### 【0444】

本発明は、障害、例えば、IL-6の異常な発現および/もしくは活性と関連する、またはこれらによって特徴付けられる障害、IL-6受容体の異常な発現および/もしくは活性と関連する、またはこれらによって特徴付けられる障害、自己免疫障害、炎症性障害、増殖性障害、感染、またはそれらの1つ以上の症状を、有効量の本発明の組成物を対象に投与することによって、予防する、治療する、および/または管理する方法を提供する。種々の送達系は、周知であり、本発明の組成物または予防薬もしくは治療剤を投与するために使用することができる。本発明の組成物を投与する方法または療法 (例えば、予防

50



薬または治療剤)としては、非経口投与(例えば、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、神経周囲、および皮下)、硬膜外投与、局所投与、および粘膜投与(例えば、鼻腔内および経口経路であるが、これらに限定されない)が含まれるが、これらに限定されない。特定の実施形態において、本発明の組成物は、筋肉内、静脈内、または皮下に投与される。一実施形態において、本発明の組成物は、皮下投与される。製剤は、任意の簡便な経路、例えば、注入もしくは静脈内ポータスによって、上皮もしくは皮膚粘膜内面(例えば、口腔粘膜、直腸、および腸粘膜等)を介した吸収によって投与され得、他の生理活性薬剤と一緒に投与され得る。投与は、全身または局所であり得る。

#### 【0445】

本発明はまた、本発明の組成物が、抗体(その抗体断片を含む)の分量を示すアンプルまたはシシ剤等の密封されている容器中に包装されることを提供する。一実施形態において、本発明の組成物は、抗体(その抗体断片を含む)の分量および濃度を示す密封されている容器中にある。一実施形態において、本発明の組成物は、密封されている容器中に供給され、約1 mL、約2 mL、約3 mL、約4 mL、約5 mL、約6 mL、約7 mL、約8 mL、約9 mL、約10 mL、約15 mL、または約20 mLの分量で、約10 mg/mL、約15 mg/mL、約20 mg/mL、約30 mg/mL、約40 mg/mL、約50 mg/mL、約60 mg/mL、約70 mg/mL、約80 mg/mL、約90 mg/mL、約100 mg/mL、約150 mg/mL、約175 mg/mL、約200 mg/mL、約250 mg/mL、または約300 mg/mLのIL-6に特異的に結合する抗体(その抗体断片を含む)を含む。本発明の特定の実施形態において、本発明の組成物は、密封されている容器中に供給され、少なくとも約15 mg/mL、少なくとも約20 mg/mL、少なくとも約25 mg/mL、少なくとも約50 mg/mL、少なくとも約100 mg/mL、少なくとも約150 mg/mL、少なくとも約175 mg/mL、少なくとも約200 mg/mL、少なくとも約250 mg/mL、または少なくとも約300 mg/mLの、静脈注射用のIL-6に特異的に結合する抗体(その抗体断片を含む)(例えば、抗体18Eであるが、これに限定されない)、ならびに、少なくとも約15 mg/mL、少なくとも約20 mg/mL、少なくとも約50 mg/mL、少なくとも約80 mg/mL、少なくとも約100 mg/mL、少なくとも約150 mg/mL、少なくとも約175 mg/mL、少なくとも約200 mg/mL、少なくとも約250 mg/mL、または少なくとも約300 mg/mLの、反復皮下投与用のIL-6に特異的に結合する抗体(例えば、抗体18Eであるが、これに限定されない)を含む。

#### 【0446】

IL-6の異常な発現および/もしくは活性と関連する、またはこれらによって特徴付けられる疾患もしくは障害、IL-6受容体またはそれらの1つ以上のサブユニットの異常な発現および/もしくは活性と関連する、またはこれらによって特徴付けられる疾患もしくは障害、自己免疫疾患、自己免疫疾患、移植片拒絶反応、移植片対宿主拒絶反応、またはそれらの1つ以上の症状を予防する、治療する、および/または管理するのに有効である本発明の組成物の量は、当該技術分野に公知の、または本明細書中に記載の標準的な臨床技術によって決定することができる。本組成物に利用される正確な用量はまた、投与経路、および炎症性障害、または自己免疫障害の重症度に依存しており、医師の判断およびそれぞれの患者の状況に応じて決定しなければならない。有効量は、インビトロまたは動物モデルの試験系で得た用量反応曲線から外挿してもよい。

#### 【0447】

本発明によって包含される抗体の組成物に関して、患者に投与される用量は、患者のキログラム(kg)での体重に、mg/kgでの投与される用量を乗じることによって算出することができる。次いで、与えられる必要とされる容量(mL)は、必要とされるmgでの用量を、抗体製剤の濃度で除することによって決定される。最終的に算出された必要とされる容量は、本発明の抗体製剤を投与するための注射器に必要な数のバイアルの内容物をプールすることによって得られる。最終的に算出された必要とされる容量は、薬物を投与するための注射器に必要な数のバイアルの内容物をプールすることによって得られる

。部位当たり最大容量の2.0 mLの抗体製剤を注射することができる。この用量(mL)は、以下の式を用いて算出することができる：用量(mL) = [志願者の体重](kg) × [用量] mg/kg ÷ 100 mg/mLの抗体製剤。本発明の抗体は、ヒトの体内で延長した半減期を有する。ゆえに、低用量の本発明の抗体および投与頻度の低減が、大抵、可能である。さらに、本発明の組成物の投与の投与量、容量、および頻度は、組成物中の抗体の濃度を増大させる、抗体の親和性および/もしくは結合活性を増強することによって減少させることができる。

**【0448】**

特定の実施形態において、患者に投与される投与量は、患者のキログラム(kg)での体重に、mg/kgでの投与される用量を乗じることによって算出される。次いで、与えられる必要とされる容量(mL)は、必要とされるmgでの用量を、製剤(100 mg/mL)中の抗体(その抗体断片を含む)の濃度で除することによって決定される。最終的に算出された必要とされる容量は、薬物を投与するための注射器に必要な数のバイアルの内容物をプールすることによって得られる。製剤において、部位当たり最大容量の2.0 mLの抗体(その抗体断片を含む)を注射することができる。

10

**【0449】**

特定の実施形態において、本発明の組成物において、0.1~20 mg/kg/週、1~15 mg/kg/週、2~8 mg/週、3~7 mg/kg/週、または4~6 mg/kg/週の、IL-6に特異的に結合する抗体(その抗体断片を含む)(例えば、抗体18Eであるが、これに限定されない)が、炎症性障害または自己免疫障害に罹患している対象に投与される。別の実施形態において、対象は、1つ以上の用量の予防的もしくは治療有効量の本発明の組成物が投与され、ここで、この予防的もしくは治療有効量は、それぞれの用量に対して同一ではない。

20

**【0450】**

一実施形態において、本発明の組成物は、所望のレベル(例えば、約0.1~100 μg/mLの範囲)で、IL-6に特異的な抗体の血漿濃度を維持する投与レジメンにおいて投与され、これは、IL-6活性を連続的に遮断する。特定の実施形態において、抗体の血漿濃度は、約0.2 μg/mL、約0.5 μg/mL、約1 μg/mL、約2 μg/mL、約3 μg/mL、約4 μg/mL、約5 μg/mL、約6 μg/mL、約7 μg/mL、約8 μg/mL、約9 μg/mL、約10 μg/mL、約15 μg/mL、約20 μg/mL、約25 μg/mL、約30 μg/mL、約35 μg/mL、約40 μg/mL、約45 μg/mL、または約50 μg/mLで維持される。対象における望ましい血漿濃度は、疾患もしくは障害の性質、疾患もしくは障害の重症度、および対象の病態が挙げられるが、これらに限定されない、幾つかの要因に応じて異なる。このような投与レジメンは、特に、慢性疾患または障害の予防、治療、および/または管理において、有益である。

30

**【0451】**

特定の実施形態において、IL-6に特異的な共役抗体(その抗体断片を含む)を含む本発明の組成物は、断続的に投与される。本明細書で使用される、「共役抗体または抗体断片」とは、異種ペプチド、ポリペプチド、別の抗体(その抗体断片を含む)、マーカー配列、診断用薬剤、ポリマー、アルブミン、および固体支持体が挙げられるが、これらに限定されない、別の部分に共役されるか、または融合される抗体(その抗体断片を含む)を指す。

40

**【0452】**

別の実施形態において、ヒト対象は、本発明の組成物において、1つ以上の用量の予防的もしくは治療有効量のIL-6に特異的に結合する抗体(例えば、抗体18Eであるが、これに限定されない)が投与され、本発明の組成物において、該対象に投与される予防的もしくは治療有効量の抗体の用量は、治療が進行するにつれて、例えば、約0.01 μg/kg、約0.02 μg/kg、約0.04 μg/kg、約0.05 μg/kg、約0.06 μg/kg、約0.08 μg/kg、約0.1 μg/kg、約0.2 μg/kg、

50

約 0.25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 0.75  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 1.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 4  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 15  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 35  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 40  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 45  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 55  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 60  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 65  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 70  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 75  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 80  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 85  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 90  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 95  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、または約 125  $\mu\text{g}/\text{kg}$  で増加される。

#### 【0453】

別の実施形態において、対象（例えば、ヒト）は、本発明の組成物において、1つ以上の用量の予防的もしくは治療有効量の IL-6 に特異的に結合する抗体（例えば、抗体 18E であるが、これに限定されない）が投与され、本発明の組成物において、該対象に投与される予防的もしくは治療有効量の抗体の用量は、治療が進行するにつれて、例えば、約 0.01  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 0.02  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 0.04  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 0.05  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 0.06  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 0.08  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 0.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 0.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 0.25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 0.75  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 1.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 4  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 15  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 35  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 40  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 45  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 55  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 60  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 65  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 70  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 75  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 80  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 85  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 90  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 95  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、または約 125  $\mu\text{g}/\text{kg}$  で減少される。

#### 【0454】

##### 抗体半減期

ある実施形態において、本発明の組成物および方法の抗 IL-6 抗体の半減期は、少なくとも約 10 日間である。ある実施形態において、本発明の組成物および方法の抗 IL-6 抗体の平均半減期は、少なくとも約 20 ~ 40 日間の範囲、25 ~ 40 日間の範囲、26 ~ 40 日間の範囲、20 ~ 30 日間の範囲、25 ~ 30 日間の範囲、26 ~ 30 日間の範囲、または 26 ~ 29 日間の範囲である。なおさらなる実施形態において、本発明の組成物および方法の抗 ICOS 抗体の半減期は、約 50 日間までであり得る。ある実施形態において、本発明の組成物および方法の抗体の半減期は、当該技術分野において公知の方法によって延長させることができる。同様に、このような延長は、抗体組成物の投与の量および/または頻度を低減させることができる。改善されたインビボ半減期を有する抗体およびそれらを調製するための方法は、米国特許第 6,277,375 号、ならびに国際公開 WO 第 98/23289 号および WO 第 97/3461 号に開示されている。

#### 【0455】

また、抗 IL-6 抗体のインビボでの血清循環は、高分子量のポリエチレングリコール (PEG) 等の不活性ポリマー分子を、多機能リンカーを用いて、または用いないで、PEG と抗体の N もしくは C 末端との部位特異的共役を介して、またはリシン残基に存在する - アミノ基を介して、抗体と結合させることによって、延長させることができる。生物学的活性の低下を最小限に抑える直鎖または分枝鎖ポリマー誘導体化が、使用される。共役の程度は、SDS-PAGE および質量分析により綿密にモニターして、PEG 分子と抗体との適切な共役を確保することができる。未反応 PEG は、サイズ排除またはイオン交換クロマトグラフィーにより、抗体-PEG 共役から分離することができる。PEG 誘導体化抗体は、結合活性ならびにインビボ効力について、当業者に公知の方法を用いて、例えば、本明細書中に記載のイムノアッセイによって、試験することができる。

#### 【0456】

さらに、本発明の組成物および方法の抗体を、抗体をインビボでより安定にする、あるいはインビボにおける半減期をより長くするために、アルブミンに共役させることができる。その技術は、当分野において周知であり、例えば、国際公開 WO 第 93/15199 号、WO 第 93/15200 号、WO 第 01/77137 号、ならびに欧州特許 EP 第 4

10

20

30

40

50

13, 622号を参照されたく、これらの全ては、参照により本明細書に組み込まれる。

【0457】

さらに、抗体におけるインビボ半減期の増加をもたらす変異Fc領域が、記載されている(米国特許公開US第2003/0190311 A1号を参照のこと)。本発明の組成物および方法と組み合わせた延長したインビボ半減期を有するFc変異体の使用が企図される。一実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、インビボ半減期の増加を有する変異Fc領域を含む。さらなる実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、残基252、254、および256からなる群から選択されるアミノ酸残基の少なくとも1つの置換を含む変異Fc領域を含み、該アミノ酸残基位置は、EU慣例に従って決定される。特定の実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、M252Y、S254T、およびT256Eからなる群から選択される少なくとも1つのアミノ酸置換を含む変異Fc領域を含み、該アミノ酸残基位置は、EU慣例に従って決定される。さらなる実施形態において、本発明の抗IL-6抗体は、252位でY、254位でT、および256位でEからなる群から選択される少なくとも1つのアミノ酸残基を含む変異Fc領域を含み、該アミノ酸残基位置は、EU慣例に従って決定される。

10

【0458】

Fc変異体

本発明は、変異Fc領域を含む抗IL-6抗体を提供する。すなわち、天然に存在しないFc領域、例えば、1つ以上の天然に存在しないアミノ酸残基を含むFc領域である。また、アミノ酸の欠失、付加、および/または修飾を含むFc領域は、本発明の変異Fc領域によって包含される。

20

【0459】

本明細書に使用されるFc領域は、第1の定常領域免疫グロブリンドメインを含まない、抗体の定常領域を含むポリペプチドを含む。ゆえに、Fcとは、IgA、IgD、およびIgGの最後の2つの定常領域免疫グロブリンドメイン、およびIgEおよびIgMの最後の3つの定常領域免疫グロブリンドメイン、およびこれらのドメインに柔軟なヒンジN末端を指す。IgAおよびIgMでは、Fcは、J鎖を含み得る。IgGでは、Fcは、免疫グロブリンドメインCガンマ2およびCガンマ3(C<sub>2</sub>およびC<sub>3</sub>)、およびCガンマ1(C<sub>1</sub>)とCガンマ2(C<sub>2</sub>)との間のヒンジを含む。Fc領域の境界は、異なり得るが、ヒトIgGの重鎖Fc領域は、通常、残基C226またはP230をそのカルボキシル末端に含まれるように定義され、番号付けは、Kabatra(1991, NIH Publication 91-3242, National Technical Information Service, Springfield, VA)のEUインデックスに従う。「カバットに記載のEUインデックス」とは、Kabatraに記載される(上記参照)、ヒトIgG1EU抗体の残基の番号付けを指す。Fcとは、単離するこの領域、または抗体、抗体断片またはFc融合タンパク質におけるこの領域を指し得る。Fc変異タンパク質は、天然に存在しないFcの変異体である、変異Fc領域を含むタンパク質が挙げられるが、これに限定されない、Fc領域を含む抗体、Fc融合、または任意のタンパク質、またはタンパク質ドメインであり得る。注記：幾つかのFc位置で多型が観察されており、これには、カバット270、272、312、315、356、および358が挙げられるが、これらに限定されず、ゆえに、提示される配列と先行技術中の配列との間にわずかな差異が存在することもある。

30

40

【0460】

本発明は、同様の分子(例えば、野生型Fc領域を有することを除いて同一のアミノ酸配列を有するタンパク質)と比較して、Fcリガンド(例えば、Fc受容体、C1q)に対する改変された結合特性を有するFc変異タンパク質を包含する。結合特性の例としては、結合特異性、平衡解離定数(K<sub>D</sub>)、解離および会合速度(それぞれ、k<sub>off</sub>およびk<sub>on</sub>)、結合親和性、および/または結合活性が含まれるが、これらに限定されない。一般に、低いK<sub>D</sub>を有する結合分子(例えば、抗体等のFc変異体タンパク質)が、高いK<sub>D</sub>を有する結合分子より好ましいことが理解されよう。しかしながら、場合によって

50

は、 $k_{on}$ または $k_{off}$ の値が、 $K_D$ の値よりさらに関連性があり得る。当業者は、所与の抗体適用に関して、どの動態パラメータが最も重要であるかを決定することができる。

【0461】

Fcドメインのそのリガンドに対する親和性および結合特性は、Fc-FcR相互作用、すなわち、FcRに対するFc領域の特異的結合を決定するための当該技術分野において公知の種々のインビトロアッセイ法（生化学または免疫学ベースのアッセイ）によって決定することができ、これには、平衡法（例えば、酵素結合免疫吸収アッセイ（ELISA）、またはラジオイムノアッセイ（RIA））、または速度論（例えば、BIACORE（登録商標）解析）、および他の方法、例えば、間接結合アッセイ、競合阻害アッセイ、蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）、ゲル電気泳動、およびクロマトグラフィー（例えば、ゲル濾過）が含まれるが、これらに限定されない。これらのおよび他の方法では、色素生産、蛍光、発光、または同位体標識が含まれるが、これらに限定されない、検査される1つ以上の成分に対する標識を利用し、かつ/または種々の検出方法を用いられ得る。結合親和性および速度論についての詳細な説明は、Paul, W. E., ed., *Fundamental Immunology*, 4th Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999)に見出すことができ、抗体免疫原相互作用に焦点を当てる。

10

【0462】

一実施形態において、Fc変異体タンパク質は、同等の分子と比べて1つ以上のFcリガンドに対する増強された結合性を有する。別の実施形態において、Fc変異体タンパク質は、同等の分子の親和性より、少なくとも2倍、または少なくとも3倍、または少なくとも5倍、または少なくとも7倍、または少なくとも10倍、または少なくとも20倍、または少なくとも30倍、または少なくとも40倍、または少なくとも50倍、または少なくとも60倍、または少なくとも70倍、または少なくとも80倍、または少なくとも90倍、または少なくとも100倍、または少なくとも200倍高いFcリガンドに対する親和性を有する。特定の実施形態において、Fc変異体タンパク質は、Fc受容体に対する増強された結合性を有する。特定の実施形態において、Fc変異体タンパク質は、Fc受容体FcRnに対する増強された結合性を有する。

20

【0463】

Fc領域を含むタンパク質の血清半減期は、FcRnに対するFc受容体の結合親和性を増加することによって増加され得る。一実施形態において、Fc変異体タンパク質は、同等の分子と比べて増強された血清半減期を有する。

30

【0464】

一実施形態において、本発明は、組成物を提供し、カバットに記載のEUインデックスによって番号付けされた場合、234、235、236、237、238、239、240、241、243、244、245、247、251、252、254、255、256、262、263、264、265、266、267、268、269、279、280、284、292、296、297、298、299、305、313、316、325、326、327、328、329、330、332、333、334、339、341、343、370、373、378、392、416、419、421、440、および443からなる群から選択される1つ以上の位置で、Fc領域が、天然に存在しないアミノ酸残基を含む。任意に、Fc領域は、当業者に公知の追加および/または代替の位置で天然に存在しないアミノ酸残基を含み得る（例えば、米国特許第5,624,821号、第6,277,375号、第6,737,056号、PCT特許公開WO第01/58957号、WO第02/06919号、WO第04/016750号、WO第04/029207号、WO第04/035752号、WO第04/074455号、WO第04/099249号、WO第04/063351号、WO第05/070963号、WO第05/040217号、WO第05/092925号、およびWO第06/020114号を参照のこと）。

40

50

## 【0465】

特定の実施形態において、本発明は、Fc変異体タンパク質組成物を提供し、該Fc領域は、カバットに記載のEUインデックスによって番号付けされた場合、234D、234E、234N、234Q、234T、234H、234Y、234I、234V、234F、235A、235D、235R、235W、235P、235S、235N、235Q、235T、235H、235Y、235I、235V、235F、236E、239D、239E、239N、239Q、239F、239T、239H、239Y、240I、240A、240T、240M、241W、241L、241Y、241E、241R、243W、243L、243Y、243R、243Q、244H、245A、247L、247V、247G、251F、252Y、254T、255L、256E、256M、262I、262A、262T、262E、263I、263A、263T、263M、264L、264I、264W、264T、264R、264F、264M、264Y、264E、265G、265N、265Q、265Y、265F、265V、265I、265L、265H、265T、266I、266A、266T、266M、267Q、267L、268E、269H、269Y、269F、269R、270E、280A、284M、292P、292L、296E、296Q、296D、296N、296S、296T、296L、296I、296H、269G、297S、297D、297E、298H、298I、298T、298F、299I、299L、299A、299S、299V、299H、299F、299E、305I、313F、316D、325Q、325L、325I、325D、325E、325A、325T、325V、325H、327G、327W、327N、327L、328S、328M、328D、328E、328N、328Q、328F、328I、328V、328T、328H、328A、329F、329H、329Q、330K、330G、330T、330C、330L、330Y、330V、330I、330F、330R、330H、332D、332S、332W、332F、332E、332N、332Q、332T、332H、332Y、332A、339T、370E、370N、378D、392T、396L、416G、419H、421K、440Y、および434Wからなる群から選択される少なくとも1つの天然に存在しないアミノ酸残基を含む。任意に、Fc領域は、当業者に公知の追加および/または代替の天然に存在しないアミノ酸残基を含み得る（例えば、米国特許第5,624,821号、第6,277,375号、第6,737,056号、PCT特許公開WO第01/58957号、WO第02/06919号、WO第04/016750号、WO第04/029207号、WO第04/035752号、およびWO第05/040217号を参照のこと）。

10

20

30

## 【0466】

別の実施形態において、本発明は、Fc変異体タンパク質組成物を提供し、該Fc領域は、カバットに記載のEUインデックスによって番号付けされた場合、239、330、および332からなる群から選択される1つ以上の位置で、少なくとも1つの天然に存在しないアミノ酸を含む。特定の実施形態において、本発明は、Fc変異体タンパク質製剤を提供し、該Fc領域は、カバットに記載のEUインデックスによって番号付けされた場合、239D、330L、および332Eからなる群から選択される少なくとも1つの天然に存在しないアミノ酸を含む。任意に、該Fc領域は、さらに、カバットに記載のEUインデックスによって番号付けされた場合、252、254、および256からなる群から選択される1つ以上の位置で、追加の天然に存在しないアミノ酸を含み得る。特定の実施形態において、本発明は、Fc変異体タンパク質製剤を提供し、該Fc領域は、カバットに記載のEUインデックスによって番号付けされた場合、239D、330L、および332Eからなる群から選択される少なくとも1つの天然に存在しないアミノ酸を含み、1つ以上の位置で少なくとも1つの天然に存在しないアミノ酸は、カバットに記載のEUインデックスによって番号付けされた場合、252Y、254T、および256Eからなる群から選択される。

40

## 【0467】

50

一実施形態において、本発明のFc変異体は、Ghetie et al., 1997, Nat Biotech. 15: 637-40、Duncan et al., 1988, Nature 332: 563-564、Lund et al., 1991, J. Immunol 147: 2657-2662、Lund et al., 1992, Mol Immunol 29: 53-59、Alegre et al., 1994, Transplantation 57: 1537-1543、Hutchins et al., 1995, Proc Natl. Acad Sci USA 92: 11980-11984、Jefferis et al., 1995, Immunol Lett. 44: 111-117、Lund et al., 1995, Faseb J 9: 115-119、Jefferis et al., 1996, Immunol Lett 54: 101-104、Lund et al., 1996, J Immunol 157: 4963-4969、Armour et al., 1999, Eur J Immunol 29: 2613-2624、Idusogie et al., 2000, J Immunol 164: 4178-4184、Reddy et al., 2000, J Immunol 164: 1925-1933、Xu et al., 2000, Cell Immunol 200: 16-26、Idusogie et al., 2001, J Immunol 166: 2571-2575、Shields et al., 2001, J Biol Chem 276: 6591-6604、Jefferis et al., 2002, Immunol Lett 82: 57-65、Presta et al., 2002, Biochem Soc Trans 30: 487-490)、米国特許第5,624,821号、第5,885,573号、第5,677,425号、第6,165,745号、第6,277,375号、第5,869,046号、第6,121,022号、第5,624,821号、第5,648,260号、第6,528,624号、第6,194,551号、第6,737,056号、第6,821,505号、第6,277,375号、米国特許公開第2004/0002587号、およびPCT公開WO第94/29351号、WO第99/58572号、WO第00/42072号、WO第02/060919号、WO第04/029207号、WO第04/099249号、WO第04/063351号に開示されているもののような、他の公知のFc変異体と組み合わせられ得る。欠失、付加、および/または修飾を含むFc領域もまた、本発明によって包含される。Fcドメインのさらに他の修飾/置換/付加/欠失は、当業者には、容易に明らかであろう。

#### 【0468】

天然に存在しないFc領域を作製するための方法は、当該技術分野において公知である。例えば、アミノ酸置換および/または欠失は、部位特異的突然変異誘発(Kunkel, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82: 488-492 (1985))、PCR突然変異誘発(Higuchi, in "PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications", Academic Press, San Diego, pp. 177-183 (1990))、およびカセット突然変異誘発(Wells et al., Gene 34: 315-323 (1985))が含まれるが、これらに限定されない、突然変異誘発法によって作製することができる。好ましくは、部位特異的突然変異誘発は、重複伸長PCR法によって実施される(Higuchi, in "PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification", Stockton Press, New York, pp. 61-70 (1989))。また、重複伸長PCR(Higuchi、同書)の技術を使用して、任意の所望の突然変異(群)を標的配列(出発DNA)に導入することもできる。例えば、重複伸長法のPCRの第1ラウンドは、外部プライマー(プライマー1)と内部突然変異誘発プライマー(プライマー3)を用い、また別途、第2の外部プライマー(プライマー4)と内部プライマー(プライマー2)を用いて、標的配列を増幅することと、2つのPCRセグメント(セグメントAおよびB)を得ることと、を含む。内部突然変異誘発プライマー(プライマ

ー 3 ) は、所望の突然変異 ( 群 ) を指定する、標的配列に対するミスマッチを含有するように設計される。PCR の第 2 ラウンドでは、2 つの外部プライマー ( プライマー 1 および 4 ) を用いる PCR によって、PCR の第 1 ラウンドの産物 ( セグメント A および B ) を増幅する。得られる完全長 PCR セグメント ( セグメント C ) を制限酵素で消化し、得られる制限酵素断片を適切なベクターにクローニングする。突然変異誘発の第 1 ステップとして、出発 DNA ( 例えば、Fc 融合タンパク質、抗体、または単に Fc 領域をコードする ) を、突然変異誘発ベクターに作動可能にクローニングする。プライマーは、所望のアミノ酸置換を反映するように設計される。変異 Fc 領域の生成に有用な他の方法は、当該技術分野において公知である ( 例えば、米国特許第 5, 624, 821 号、第 5, 885, 573 号、第 5, 677, 425 号、第 6, 165, 745 号、第 6, 277, 375 号、第 5, 869, 046 号、第 6, 121, 022 号、第 5, 624, 821 号、第 5, 648, 260 号、第 6, 528, 624 号、第 6, 194, 551 号、第 6, 737, 056 号、第 6, 821, 505 号、第 6, 277, 375 号、米国特許公開第 2004/0002587 号および PCT 公開 WO 第 94/29351 号、WO 第 99/58572 号、WO 第 00/42072 号、WO 第 02/060919 号、WO 第 04/029207 号、WO 第 04/099249 号、WO 第 04/063351 号を参照のこと ) 。

#### 【 0 4 6 9 】

幾つかの実施形態において、Fc 変異体タンパク質は、1 つ以上の改変されたグリコフォーム、すなわち、Fc 領域を含む分子に共有結合している炭水化物組成物を含む。改変されたグリコフォームは、種々の目的のために有用であり、これには、エフェクター機能の増強または低減が含まれるが、これらに限定されない。改変されたグリコフォームは、当業者に公知の任意の方法、例えば、改変された、または変異発現菌株を使用することによって、1 つ以上の酵素、例えば、DI N - アセチルグルコサミン転移酵素 III ( G n T I 1 1 ) との共発現によって、種々の生物もしくは種々の生物由来の細胞株中で Fc 領域を含む分子を発現させることによって、または Fc 領域を含む分子が発現された後に炭水化物 ( 群 ) を修飾することによって、作製され得る。改変されたグリコフォームを作製するための方法は、当該技術分野において公知であり、Umana et al, 1999, Nat. Biotechnol 17:176-180、Davies et al., 20017 Biotechnol Bioeng 74:288-294、Shields et al, 2002, J Biol Chem 277:26733-26740、Shinkawa et al., 2003, J Biol Chem 278:3466-3473 ) 米国特許第 6, 602, 684 号、米国出願第 10/277, 370 号、米国出願第 10/113, 929 号、PCT WO 第 00/61739 A1 号、PCT WO 第 01/292246 A1 号、PCT WO 第 02/311140 A1、PCT WO 第 02/30954 A1 号、Potillegent ( 商標 ) テクノロジー ( Biowa, Inc. Princeton, N. J. )、GlycoMAb ( 商標 ) グリコシル化改変テクノロジー ( GLYCART biotechnology AG, Zurich, Switzerland ) が含まれるが、これらに限定されない。例えば、WO 第 00061739 号、EA 第 01229125 号、US 第 20030115614 号、Okazaki et al., 2004, JMB, 336:1239-49 を参照のこと。

#### 【 実施例 】

#### 【 0 4 7 0 】

本発明は、ここで、以下の実施例を参照して記載される。これらの実施例は、例示的な目的のみで提供され、本発明は、これらの実施例に制限されるものではないが、むしろ、本明細書に提供される教示の結果として明白である任意かつ全ての変形物を包含するように解釈されるものとする。

#### 【 0 4 7 1 】

#### 実施例 1 . 抗 I L - 6 抗体の単離

10

20

30

40

50



本明細書中に記載の本発明を実施するために使用され得る抗体18および他の抗IL-6抗体の単離の詳細な説明は、PCT公開WO第2008/065378号に提供される。簡単に言えば、抗体18の前駆体は、標的として組換えヒトIL-6を用いて、ファージディスプレイライブラリースクリーニングを通して単離された。前駆体は、幾つかの高親和性ヒト抗IL-6抗体を生成するために、親和性最適化に供された。これらの抗体の特徴付けは、PCT公開WO第2008/065378号に記載されている。抗体18は、IL-6Rに結合するIL-6を遮断することができる。抗体18は、ヒトおよびカニクイザルIL-6に結合するが、ネズミ、ラット、またはイヌ由来のIL-6に結合しない。抗体18は、BIACOREアッセイの10pM検出レベルよりも高い親和性を有するヒトIL-6に結合する。ヒトIL-6に対する抗体18の親和性は、TF-1細胞増殖アッセイを用いて、0.40pM(95% CI 0.12pM~0.69pM)と推定された。

【0472】

#### 実施例2. 半減期の増加を有する抗IL-6抗体

##### 2.1 M252Y、S254T、およびT256E置換を有するFc領域を含む変異体抗IL-6 IgG1抗体の生成

抗体18をコードする発現ベクターを、M252Y、S254T、およびT256E置換をFc領域に導入するために、標準的な実験室方式を用いて、修飾した。M252Y、S254T、およびT256E置換を含む修飾抗体18は、以後、抗体18Eまたは18Eと称される。

【0473】

抗IL6抗体の重鎖および軽鎖をコードするポリヌクレオチドは、核酸配列最適化に供され得る。配列最適化プロセスの最終目標は、可能な最高効率で、転写および翻訳されるコーディング領域を作成することである。配列最適化は、(i)コドン使用最適化、(ii)G/C含量適応、(iii)内部スプライシング部位および未熟ポリアデニル化部位(premature polyadenylation sites)の排除、(iv)安定なRNA二次構造の破壊、(v)直接反復配列の排除、(vi)宿主細胞転写物との安定なdsRNAを形成し得る配列の排除、(vii)宿主細胞マイクロRNAにより標的とされる配列の排除、および(viii)RNA安定化およびRNA転位シグナルの導入、の組み合わせによって達成される。詳細な配列最適化法は、WO第2004059556A2号、WO第2006015789A2号、Bradell-Tretheway et al., J. Virol. Methods 111:145-56(2003), Valencik & McDonald, Transgenic Res. 3:269-75(2001)に記載されている。代替として、配列は、商業供給元(例えば、GENEART Inc.)によって最適化され得る。

【0474】

抗体18EのVH、VL、重鎖、および軽鎖をコードするヌクレオチド配列は、本明細書中に記載の方法に従って、最適化された。この18EのVH、VL、重鎖、および軽鎖をコードする最適化されたヌクレオチド配列は、それぞれ、配列番号:11~14として開示される。

【0475】

抗体18Eは、完全長18E抗体のコーディング領域を含む発現ベクターを用いて安定にトランスフェクトされたCHO-K1細胞のプール中に発現させた。抗体18Eは、標準的な実験室技術を用いて、上清から精製した。

【0476】

##### 2.2 M252Y、S254T、およびT256E置換を有するFc領域を含む変異体抗IL-6 IgG1抗体のインビトロ特徴づけ

抗体18Eは、M252Y、S254T、およびT256E置換を有するFc領域を含む。抗体18EのFc領域における、M252Y、S254T、およびT256E置換の存在は、ELISAアッセイを用いて確認された。このアッセイは、M252Y、S25

10

20

30

40

50

4 T、および T 2 5 6 E 置換を含む F c ポリペプチドに特異的に結合するが、対応する野生型 F c ポリペプチドに特異的に結合しない、2つのモノクローナル抗体を捕捉試薬として利用した。E L I S A アッセイは、標準プロトコルに従って実施された。特異的モノクローナル抗体の置換の1つで得られた E L I S A 滴定曲線を、図 1 に示す。抗体 1 8 ではなく、抗体 1 8 E が、M 2 5 2 Y、S 2 5 4 T、および T 2 5 6 E の F c 領域置換に特異的な抗体によって E L I S A アッセイ中に捕捉された。したがって、抗体 1 8 は、M 2 5 2 Y、S 2 5 4 T、および T 2 5 6 E 置換を含む F c 領域を含む。

【 0 4 7 7 】

M 2 5 2 Y、S 2 5 4 T、および T 2 5 6 E 置換を含む F c ポリペプチドは、野生型 F c ポリペプチドの結合親和性と比較して、F c R n に対して p H 6 で結合親和性を増加する。精製された抗体 1 8 および抗体 1 8 E の F c R n 結合親和性は、B I A c o r e アッセイを用いて決定された。アッセイは、標準プロトコルに従って実施された。抗体 1 8 E は、p H 6 で、抗体 1 8 の親和性よりもかなり高い親和性を有するヒトおよびカニクイザル F c R n の両方に結合する。B I A c o r e によって決定された K d 値を表 1 に示す。

【表 1】

表 1. 抗体 1 8 および 1 8 E の F c R n 結合親和性

抗体	KD ヒトFcRn (nM)	KD カニクイザルFcRn (nM)
18	2610	1160
18E	226	365

【 0 4 7 8 】

抗体 1 8 および 1 8 E は、実質的に同等の親和性で I L - 6 に結合する。抗体 1 8 および 1 8 E の I L - 6 結合親和性は、E L I S A アッセイによって確認された。大腸菌で発現した組換えヒト I L - 6 調製物 ( r h u I L - 6 ) を、捕捉試薬として使用した。E L I S A アッセイは、標準プロトコルに従って実施された。抗体 1 8 および 1 8 E に加えて、2つの競合抗 I L - 6 抗体 ( A B A および A B B ) も、陽性対照としてアッセイに含められた。得られたデータの一例を図 2 に示す。抗体 1 8 および 1 8 E に対する E C <sub>50</sub> 値は、それぞれ、6 . 1 p M および 6 . 5 p M であった。

【 0 4 7 9 】

抗体 1 8 および 1 8 E は、実質的には同一の有効性で I L - 6 によって誘発される T F - 1 細胞増殖を阻害する。I L - 6 によって誘発される T F - 1 細胞増殖アッセイは、実質的に本明細書に記載されるように実施された。抗体 1 8 および 1 8 E に加えて、2つの競合抗 I L - 6 抗体 ( A B A および A B B ) も、陽性対照としてアッセイに含められた。代表的なデータを図 3 に示す。抗体 1 8 および 1 8 E に対して算出された I C <sub>50</sub> は、それぞれ、4 . 5 p M および 5 . 2 p M であった。

【 0 4 8 0 】

抗体 1 8 および 1 8 E は、実質的には同一の有効性でヒト滑液線維芽細胞から放出する内因性 I L - 6 によって誘発される V E G F を阻害する。アッセイは、実質的に本明細書に記載されるように実施された。抗体 1 8 および 1 8 E に加えて、2つの競合抗 I L - 6 抗体 ( A B A および A B B ) も、陽性対照としてアッセイに含められた。代表的なデータを図 4 に示す。抗体 1 8 および 1 8 E に対して算出された I C <sub>50</sub> は、それぞれ、1 . 3 p M および 1 . 2 p M であった。

【 0 4 8 1 】

2 . 3 M 2 5 2 Y、S 2 5 4 T、および T 2 5 6 E 置換を有する F c 領域を含む変異体抗 I L - 6 I g G 1 抗体のインビボ特徴付け

カニクイザルにおける単回量の薬物動態的薬力学的研究を、抗体 1 8 および 1 8 E の血清半減期およびクリアランスを決定するために実施した。研究設計を表 2 にまとめる。

## 【表 2】

表 2. 単回量の薬物動態学的実験の研究設計

群	治療	用量(mg/kg)	投薬経路	数
1	18	5	IV	雄3匹
2	18	5	SC	雄3匹
3	18E	5	IV	雄3匹
4	18E	5	SC	雄3匹
5	18E	50	SC	雄3匹

10

## 【0482】

カニクイザルの血漿における、抗体 18 または抗体 18 E の定量化に対する I L - 6 抗原捕捉 P K アッセイ ( E C L ) : M A 2 4 0 0 9 6 ウェルプレート ( M S D ) を、2 ~ 8 で、2 . 5 g / m L 組換えヒト I L - 6 ( R & D S y s t e m s ) で一晚被覆し、0 . 0 5 % T w e e n 2 0 を含有する P B S で洗浄し、I - B l o c k B u f f e r ( T r o p i x ) を用いて、室温で 1 ~ 2 時間遮断した。抗体 18 および抗体 18 E の標準曲線、品質管理 ( Q C )、および試験試料希釈剤は、1 % カニクイザルの血漿中で調製され、室温で 1 時間遮断プレートに添加した。プレートは上記のように洗浄し、検出抗体 ( 結合部位 ) を吸着させた 1 μ g / m L M S D - T A G ( R u t h e n i u m ) 標識されたヒツジ抗ヒト I g G ( H + L ) サルを用いて、さらに 1 時間インキュベートした。非結合検出抗体は、洗浄することによって除去し、1 5 0 マイクロリットルの 1 X R e a d B u f f e r T ( M S D ) を添加し、ウェルを平板培養した。プレートは、M S D S e c t o r I m a g e r 2 4 0 0 を用いて、直ちに読み込み、それぞれのプレート上の Q C および試験試料希釈剤中の抗体 18 および抗体 18 E 濃度を、そのプレートに対する標準曲線を用いて定量化した。全ての分析は、S o f t m a x P r o G x P ソフトウェア ( M o l e c u l a r D e v i c e s ) の L o g - L o g の曲線フィッティングにおいて、標準曲線濃度対 E C L シグナルをプロットすることによって実施された。抗体 18 および抗体 18 E の両方の定量化に対するアッセイ範囲は、1 0 0 % 血漿中の 1 0 , 0 0 0 ~ 1 3 . 7 n g / m L ( 1 0 ~ 0 . 0 1 3 7 マイクログラム / m L ) の範囲である。

20

30

## 【0483】

P K データ解析 : M e d I m m u n e 社の標準操作手順に従って、W i n N o n l i n P r o f e s s i o n a l ( パージョン 5 . 2、P h a r s i g h t C o r p . , M o u n t a i n V i e w , C A ) を用いて、全ての動物からの個々の P K データにおける、非コンパートメントトキシコキネティクス解析を実施した。

## 【0484】

得られた結果を図 5 および 6 に示す。図 5 は、単回の 5 m g / m L 抗体用量の皮下または静脈内投与後の抗体 18 および 18 E の経時血清濃度を示す。抗体 18 および 18 E は共に、線形 P K プロファイルを示した。静脈内および皮下投与後の抗体 18 の血清半減期は、それぞれ、約 8 . 5 日間および 9 . 1 日間である。静脈内および皮下投与後の抗体 18 E の血清半減期は、それぞれ、約 2 8 . 4 日間および 2 8 . 8 日間である。静脈内および皮下投与後の抗体 18 のクリアランスは、それぞれ、約 1 2 . 1 m L / 日 / k g および 1 3 . 1 m L / 日 / k g である。静脈内および皮下投与後の抗体 18 E のクリアランスは、それぞれ、約 2 . 8 m L / 日 / k g および 3 . 0 m L / 日 / k g である。皮下投与された抗体 18 および 18 E のバイオアベイラビリティは、それぞれ、9 4 % および 9 6 % であった。

40

## 【0485】

図 6 は、単回の 5 m g / k g 抗体用量の皮下投与後の抗体 18 および 18 E の経時血清濃度を示す。図 6 は、さらに、抗体 18 または 18 E の単回の 5 m g / k g 用量の皮下投与後の動物において検出された総血清 I L - 6 濃度を示す。I L - 6 の総レベルは、基線

50

を約3対数超えて増加した。総IL-6の大幅な集積が、抗体18Eで観察された。総IL-6レベルの勾配は、PKの勾配に対してほぼ平行であった。

【0486】

### 2.3 皮下投与された抗IL-6抗体による血漿遊離IL-6の中和率(%)のモデリング

遊離IL-6濃度は、健常な動物における基線で非常に低い。したがって、遊離IL-6レベルを測定することによって、抗IL-6抗体投与後の標的中和率(%)を直接評価することは困難である。PDマーカーとして総IL-6を用いた抗体PKに関して、遊離IL-6の中和の速度論を予測するために、SAAIソフトウェアパッケージにおいて、PK/PDモデルを開発した。PK/PDモデルは、抗体、遊離IL-6、IL-6と抗体の複合体、可溶性受容体、およびIL-6と可溶性受容体の複合体の速度論を説明する。開発したモデルは、サルの研究から生成した抗体のPKおよび総IL-6の速度論を適切に説明し、標準相対成長スケリングの仮定を用いて、異なる用量レジメン後のヒトRA患者における、PK/PD時間プロファイルを想定するために、使用された。ヒト血漿遊離IL-6レベルの90%阻害レベルは、リウマチ性関節炎患者において検出された血清遊離IL-6濃度に基づいて設定された(Uson et al., J. of Rheumatology (1997) 24(11)2069-75)。

【0487】

PDモデリングの結果を図7~10および表3に示す。このモデルは、遊離IL-6(すなわち、sIL-6RまたはIL-6Rに結合しない)の持続した少なくとも90%阻害は、以下の投薬レジメンのうちのいずれか1つに従って、抗体18Eを投与することによって達成され得ることを予測する。

【0488】

- 100mgの抗体18Eを8週間ごとに皮下送達する、
- 50mgの抗体18Eを4週間ごとに皮下送達する、
- 200mgの単回負荷用量の抗体18Eを皮下送達し、続いて、100mgの抗体18Eを8週間ごとに皮下送達する、
- 100mgの単回負荷用量の抗体18Eを皮下送達し、続いて、50mgの抗体18Eを4週間ごとに皮下送達する。

【0489】

このモデルは、さらに、血清遊離IL-6の持続した阻害の同様のレベルのために、さらに高頻度および/または高用量の抗体18Eを必要とすることを予測する。例えば、遊離IL-6(すなわち、sIL-6RまたはIL-6Rに結合しない)の持続した少なくとも90%阻害は、100mgの抗体18Eを2週間ごとに皮下投与することによって達成され得る。

【表3】

表3. 血漿遊離IL-6の中和モデルからの結果の要約

投薬間隔	抗体18E用量	抗体18E用量
2週間	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 100mgの皮下投与</li> <li>• IL-6阻害<math>\geq</math>90%</li> </ul>	
4週間	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 100mgの皮下投与</li> <li>• IL-6阻害<math>\leq</math>90%</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 50mgの皮下投与または2x 負荷用量 + 50mgの皮下投与の維持用量</li> <li>• IL-6阻害<math>\geq</math>90%</li> </ul>
8週間	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 500mgの皮下投与</li> <li>• IL-6阻害<math>\leq</math>90%</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 100mgの皮下投与または2x 負荷用量 + 100mgの皮下投与の維持用量</li> <li>• IL-6阻害<math>\geq</math>90%</li> </ul>
12週間		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 100mg SC</li> <li>• IL-6阻害<math>\leq</math>90%</li> </ul>

【0490】

これらの結果は、インビボのIL-6の全身的作用を阻害する抗IL-6抗体の能力を示す。一方、本発明の特定の実施形態は、説明の目的のために上記されており、多くの変形例の詳細は、添付された特許請求の範囲に記載される本発明から逸脱することなくなされ得ることは、当業者により理解されよう。

【0491】

#### 実施例3．FCAによって誘発される炎症性疼痛マウスモデルにおける有効性

マウス尾部（尾部の遠位端から3cm）における、フロイント完全アジュバント（「FCA」）の局所皮下投与（20マイクロリットル）によって誘発される炎症性疼痛を覆すその能力に対して、mAb406（抗マウスIL-6、モノクローナルIgG1から精製、クローンMP5-20F3、ロットAHV100904A, R&D Systems）を、試験した。この物質は、時間に伴って徐々に生じ、投与から24時間～48時間後の安定期に達する、局所炎症性反応を引き起こす。結果の炎症は、尾部の熱による、または機械的な刺激に対する過敏症を引き起こす。温熱性痛覚過敏は、熱刺激（温水、46℃）からの尾退避反応潜時を記録することによって評価され、一方、機械的痛覚過敏は、analgesy meter（Randall Selitto apparatus）によって生じる漸増圧迫からの尾退避反応閾値によって評価される。IgG1アイソタイプ対照（mAb005、モノクローナルIgG1から精製、クローン43414、ロットCAN04904A、R&D Systemsから購入）およびmAb406を、FCA処置後、6時間、腹腔内（ip）に投与した。炎症反応が明らかに開始していることを示唆する証拠には、サイトカインレベルの上昇、一酸化窒素の産生、および過敏症から軽度の有害刺激が含まれる。初期検査は、mAb406の単回量（20mg/kg）を評価した。この用量は、熱痛覚過敏アッセイにおいて、24時間および48時間の両方で、50%のE-maxを生じ（図11を参照のこと）、24時間および48時間で、機械的痛覚過敏の40%の反転を生じた（図12を参照のこと）。これらの動物における、IL-6の全身血漿レベルのインビトロプロファイリングは、全てのIL-6が、中和されていたことを示した。続いて、種々の用量のmAb406（および高用量のIgG1対照）は、疼痛阻害および痛覚過敏の反転に対して、有効性およびIL-6中和を特徴付けるために評価された。1～20mg/kgの範囲の同一の実験的パラダイム用量を用いて、熱痛覚過敏および機械的痛覚過敏の両方に対して、24時間および48時間の両方で、腹腔内（ip）が試験された。図13は、熱痛覚過敏は、24時間で、抗IL6処置によって用量依存的に反転したことを示し、同様の結果が、48時間で得られた（図14を参照のこと）。この第2の検査における、E-maxは、64%の反転であり、これは、わずかに高いが、上で得られた反転と同様である。図15および図16は、それぞれ、24時間および48時間での、機械的痛覚過敏に対する結果を示す。また、用量依存的反転は、48時間で、91%のE-maxに達することが観察され、これは、第1の検査において得られた反転よりも高い。副作用は、いずれの試験用量でも、いずれの検査においても、観察されなかった。概して、mAb406を用いたインビボ有効性は、同一のモデルにおいて、ベンチマークの小分子化合物のナプロキセンに対して、同等であるか、または高い（熱に対する痛覚過敏におけるナプロキセンに対して図17、および機械的圧力に対する痛覚過敏におけるナプロキセンに対して図18を参照のこと）。

【0492】

本明細書に引用される全ての刊行物、特許、および特許出願は、それぞれ個々の刊行物、特許、または特許出願を参照により組み込んでいることを具体的、かつ個別に示す場合と同じ範囲まで、参照により本明細書に組み込まれる。

【0493】

#### 材料および方法

##### 精製したscFvおよびIgGによるIL-6によって誘発されるTF-1細胞の増殖の阻害

TF-1細胞は、R&D Systemsからの贈答物であり、供給されたプロトコルに従って維持された。アッセイ培地は、5% 胎児ウシ血清（JRH）および1% ビル

10

20

30

40

50

ビン酸ナトリウム (Sigma) を含有する GLUTAMAX I (Invitrogen) を伴う RPMI - 1640 を含んだ。それぞれのアッセイ前に、300 x g で5分間、遠心分離によって TF - 1 細胞をペレットにし、吸引によって培地を除去し、アッセイ培地中で細胞を再懸濁した。このプロセスは、 $5 \times 10^5$  細胞 / mL の最終濃度で、アッセイ培地中で再懸濁した細胞を用いて2回繰り返された。細胞は、96ウェルアッセイプレート中で100  $\mu$ l / ウェルを用いて、平板培養した。プレートは、GM - CSF の細胞を枯渇させるために、37 で24時間、および5% CO<sub>2</sub> でインキュベートした。精製した scFv または IgG (二重で) の試験溶液は、アッセイ培地中で所望の濃度まで希釈した。IL - 6 に向けられない無関連抗体を、陰性対照として使用した。100  $\mu$ l / ウェルの合計容量で適切な試験抗体と混合した際、20 pM (ヒトIL - 6) または100 pM (カニクイザル) のいずれかの最終濃度まで、組換えバクテリア由来のヒト (R & D) およびカニクイザル (室内) のIL - 6 を添加した。アッセイにおいて使用したIL - 6 の濃度は、最終アッセイ濃度で、約80% の最大増殖反応を得た用量として選択された。全ての試料は、室温で30分間インキュベートした。次いで、100  $\mu$ l のIL - 6 と抗体の混合物を、100  $\mu$ l の細胞に添加し、合計アッセイ容量を200  $\mu$ l / ウェルとした。プレートは、37 で24時間、および5% CO<sub>2</sub> でインキュベートした。次いで、20  $\mu$ l のトリチウム化したチミジン (5  $\mu$  Ci / mL) を、それぞれのアッセイポイントに添加し、プレートは、さらに24時間、インキュベーターに戻した。細胞採取機 (cell harvester) を用いて、ガラス繊維フィルタープレート (Perkin Elmer) 上に細胞を採取した。Packard TopCount マイクロプレート液体シンチレーション計数器を用いて、チミジン取込みを測定した。次いで、Graphpad Prism ソフトウェアを用いてデータを分析した。

#### 【0494】

精製した IgG によりヒト滑液線維芽細胞から放出する内因性 IL - 6 によって誘発された VEGF の阻害

全関節置換手術からのリウマチ性関節炎膝の試料を、抗生物質を含有する DMEM 中に入れた。培地中に浸潤させた滑膜を関節から切開し、細かく刻んだ。10% FCS を補充した培地で、滑膜組織を洗浄した。37 のCO<sub>2</sub> のインキュベーター中で、2時間、コラゲナーゼ溶液中の細胞懸濁液をインキュベートした。10 mL のピペットで、繰り返し吸引することによって、消化された滑膜細胞懸濁液を分裂し、細胞を染色し、400 g で、室温で5分間遠心分離を行った。10% FCS を補充したDMEM中で細胞を再懸濁し、cell strainer を通過させ、 $1 \times 10^6$  細胞 / mL まで調整し、37 のCO<sub>2</sub> のインキュベーター中で、225 cm<sup>2</sup> 細胞培養フラスコ (3001, Corning Corning Inc.) 中でインキュベートした。附着後、培地の大部分は、廃棄し、新しいものと取り替え、長期のインキュベーションのためにインキュベーターに戻した。細胞は、週毎に検査し、1 / 3 の通過率で、トリプシン処理によって、コンフルエンスでパッセージした。

#### 【0495】

フラスコ当たり10 mL の0.1% トリプシンEDTA溶液 (25300 - 054, Gibco Life Sciences) を用いて、37 で5 ~ 10分間インキュベートすることによって、コンフルエンスで線維芽細胞 (P3 - 5) をフラスコから除去した。10% FCS を補充した等量のDMEMベースの培養培地を、細胞に添加し、次いで、330 g で、室温で5分間遠心分離によってこれらをペレットにした。10% FCS を補充したDMEMベースの培養培地を用いた1回の洗浄ステップ後、細胞懸濁液 ( $1 \times 10^5$  細胞 / mL) を、 $1.5 \times 10^4$  細胞 / ウェルで、滅菌96ウェル細胞培養クワスター、平底ポリスチレンプレート (3598, Corning Costar) のウェルに添加した (150  $\mu$ l / ウェル)。10% FCS を補充したさらに追加したDMEMベースの培養培地を、それぞれのウェルに添加し (100  $\mu$ l / ウェル)、1ウェル当たりの合計容量を250  $\mu$ l にした。附着および休止させるために、細胞を37 で一晩インキュベートした。

## 【0496】

細胞がコンフルエントに達し、良好な状態（例えば、汚染のない）であることが確実にあるように、96ウェルプレートを検査した。次いで、培地をウェルから吸引し、100  $\mu$ Lの、10% FCSを補充したDMEMベースの培養培地を直ちに添加した。これに、試料IgG、または培地のみのもいづれかを含有する、10% FCSを補充した50  $\mu$ LのDMEMベースの培養培地を、ウェルに添加した（アッセイへと1:5に希釈）。

## 【0497】

これに続いて、組換えヒト可溶性（rh s）IL-6R（500 ng/mL、12 nM）およびrh IL-1（50 pg/mL、2.95 pM、アッセイへと1:5に希釈）を含有する10% FCSを補充した1ウェル当たり50  $\mu$ LのDMEMベースの培養培地を添加した。

10

## 【0498】

別々のウェルに、rh-IL-6（0、100 ng/mL、21.5 nM）、sIL-6R（500 ng/mL、12 nM）、rh IL-1（50 pg/mL、2.95 pM）、または培地のみのもいづれかを含有する、10% FCSを補充した50  $\mu$ LのDMEMベースの培養培地を添加した（アッセイへと1:5に希釈）。それぞれのウェル中の最終容量は、250  $\mu$ Lであった。

## 【0499】

プレートは、37 で48時間インキュベートした。インキュベーションは、プレート形式に記載の二重または三重ウェルにおいて実施された。プレートは、330 gで、室温で5分間遠心分離し、上清培地を除去し、マイクロタイター平底プレート（611F96、Sterilin）中で、-40 で保存した。

20

## 【0500】

VEGFは、製造業者の説明書に従って、ELISA（DY293B、R&D Systems）を用いて測定された。簡潔に言えば、ELISAプレートを、4 で一晚、マウス抗ヒトVEGF抗体で被覆し、1% BSA/PBSで遮断した。プレートは、0.05% Tween 20/PBSで洗浄し、ヒト滑膜由来の線維芽細胞およびビオチン化ヤギ抗ヒトVEGF抗体の培養上清を用いて、室温で一晩インキュベートした。洗浄後、ストレプトアビジン西洋ワサビペルオキシダーゼを用いることによってVEGFを検出した。プレートを、1:1のH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:テトラメチルベンジジンを用いて発色させた。2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>を用いて反応を停止させ、光学密度は、540 nmで設定された補正波長を用いて450 nmで測定された。

30

## 【0501】

総血漿IL-6レベルの測定

全てのIL-6は、製造業者の推奨に従って、Milliplex（商標）MAPキット（MPXHCYT060K）を用いて測定される。全ての必要とされる試薬は、アッセイキットにおいて供給される。簡潔に言えば、アッセイフィルタープレートは、200  $\mu$ Lのアッセイ緩衝液で水和し、液体は、真空除去される。以下の試薬のそれぞれを、25  $\mu$ L/ウェルでプレートに添加する：（a）アッセイ緩衝液（b）血漿試料、標準またはQC、および（c）アッセイマトリックス中で抗IL-6捕捉抗体を用いて共役されるビーズ。最終アッセイ容量は、75  $\mu$ Lであり、最終アッセイマトリックスは、25%のIL-6を枯渇した正常なカニクイザルEDTA血漿中の133.3  $\mu$ g/mLの薬物候補（抗体18または抗体18E）である。プレートは、密閉され、4 で一晚インキュベートする。洗浄緩衝液で2回洗浄した後、25  $\mu$ L/ウェルのビオチン化抗IL6検出抗体を添加する。30分間のインキュベーション後、25  $\mu$ L/ウェルのSA-PEをウェルに添加し、プレートは、さらに30分間インキュベートする。プレートは、2回洗浄し、ビーズは、150  $\mu$ L/ウェルのLuminesx Sheath Fluidで再懸濁する。ビーズと関連する蛍光強度は、Luminesx 200プレートリーダーによって測定される。捕捉および検出抗IL-6抗体は共に、抗体18または抗体18Eの存在下で、IL-6に結合することができるため、蛍光強度は、試料中の全IL-6濃度に比例する

40

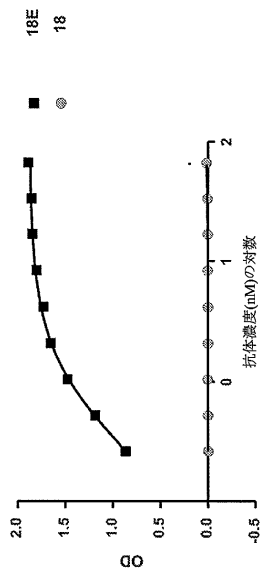
50

。IL - 6の濃度は、BeadView Software (Upstate Cell Signaling Solutions) でプロットされる標準曲線から外挿される。100%のカニクイザル血漿中のIL - 6に対する検出範囲は、1.8 pg/mL ~ 5769 pg/mLである。

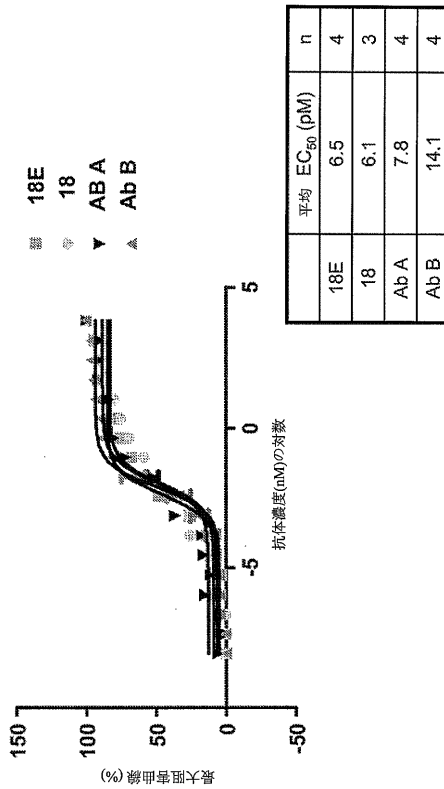
【0502】

上記の他の箇所で言及されるものを含む、本明細書の他の箇所で言及された全ての参照は、参照によりその全体が全ての目的のために本明細書に組み込まれる。

【図1】

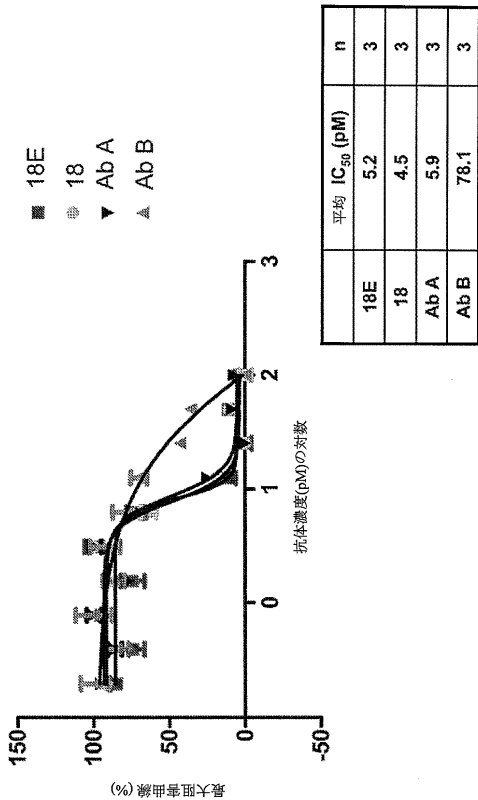


【図2】

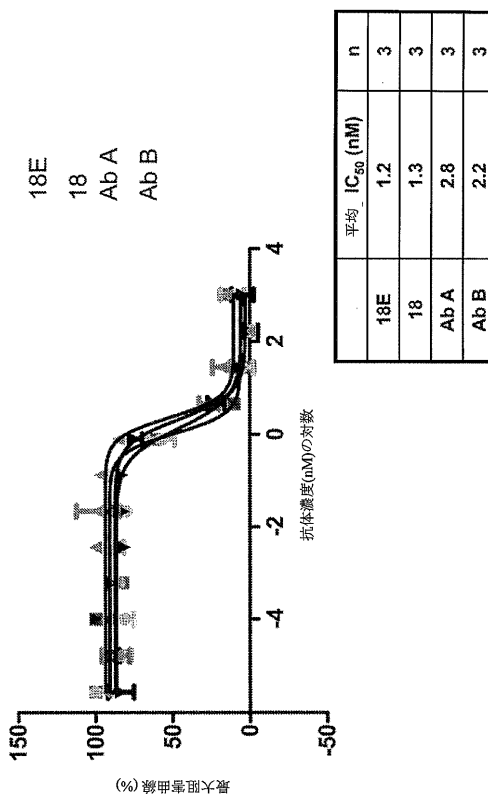




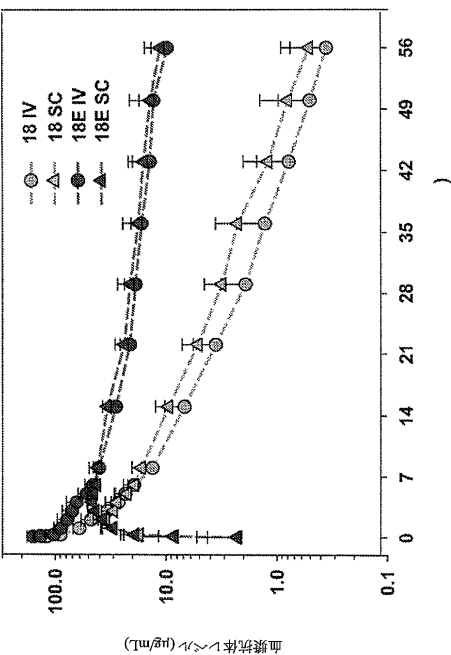
【 図 3 】



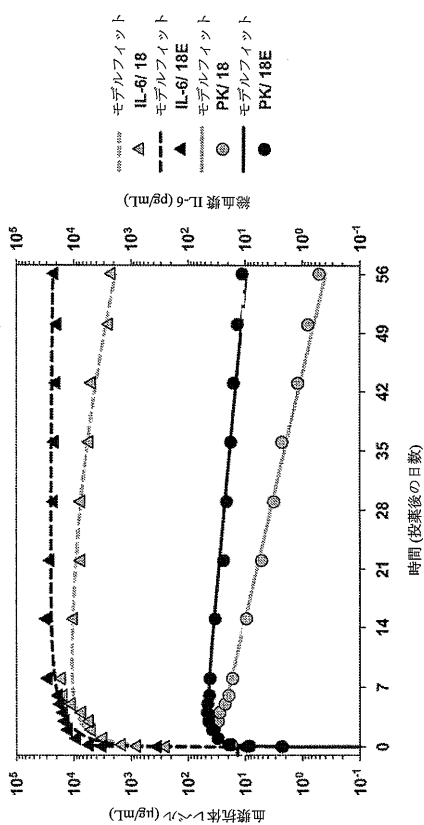
【 図 4 】



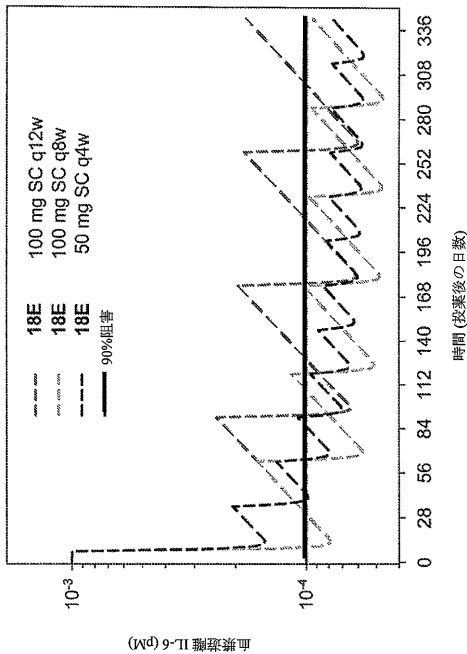
【 図 5 】



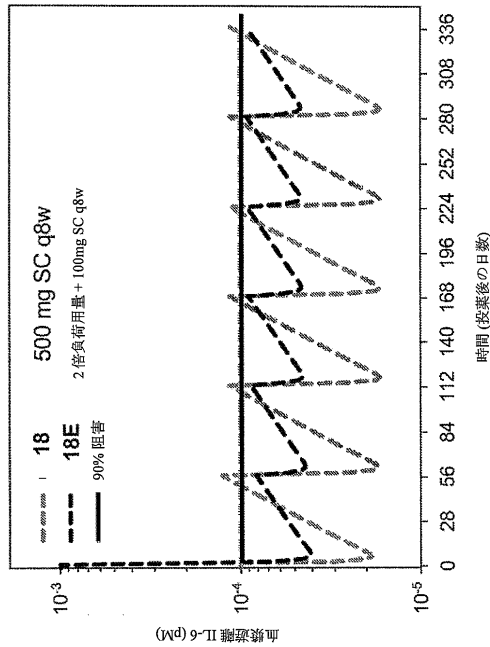
【 図 6 】



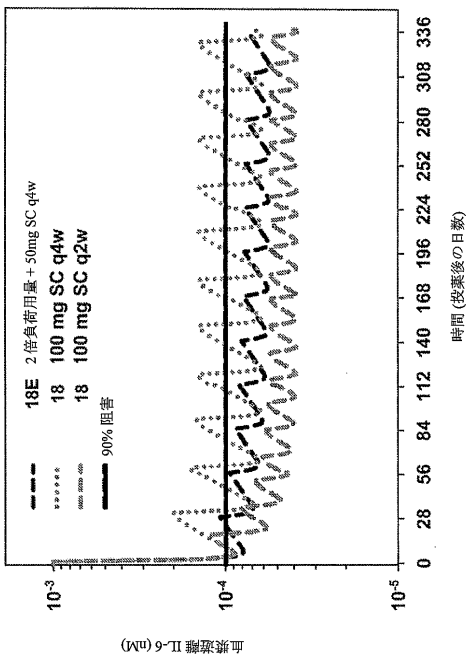
【 図 7 】



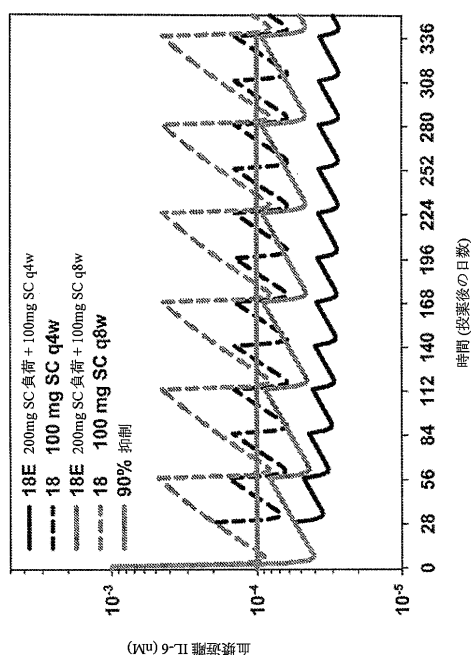
【 図 8 】



【 図 9 】

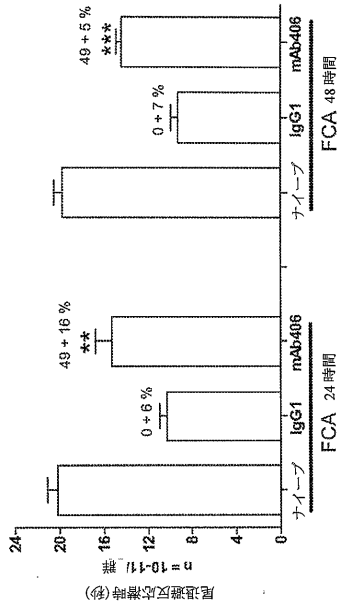


【 図 10 】



【 図 1 1 】

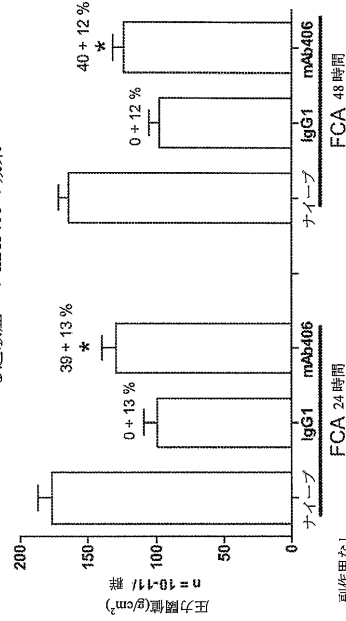
マウス FCA 尾部モデルにおける、熱(46°C)に対する過敏症への mAb406 の効果



副作用なし  
\*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001. それぞれの時点で対し試験(IgG1対 mAb406)  
IgG1 対照または mAb406 を FCA の 6 時間後に腹腔内投与した

【 図 1 2 】

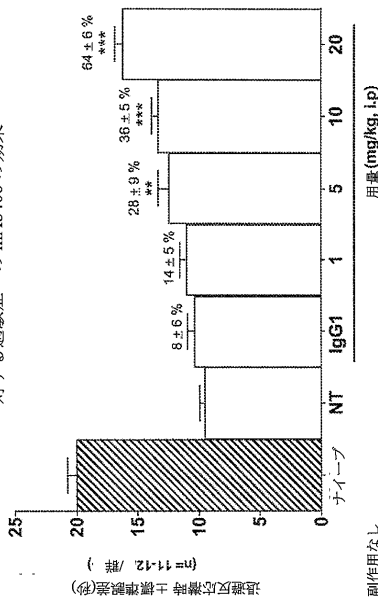
マウス FCA 尾部モデルにおける、機械的圧力に対する過敏症への mAb406 の効果



副作用なし  
\* = p < 0.05, それぞれの時点で対し試験(IgG1対 mAb406)  
IgG1 対照または mAb406 を FCA の 6 時間後に腹腔内投与した

【 図 1 3 】

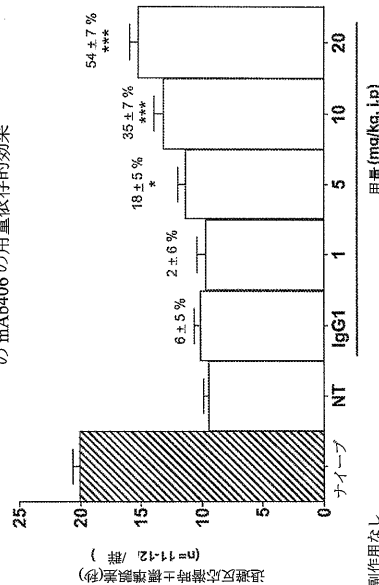
マウス FCA の 24 時間マウスモデルにおける、熱に対する過敏症への mAb406 の効果



副作用なし  
有意水準: \*p < 0.01, \*\*p < 0.001  
統計: 一元配置分散分析、続いて、Holm-Sidak の事後検定  
IgG1 対照アインタイプまたは mAb406 を FCA チャレンジの 6 時間後に腹腔内投与した。NT とは、「未処置」マウスを指す。

【 図 1 4 】

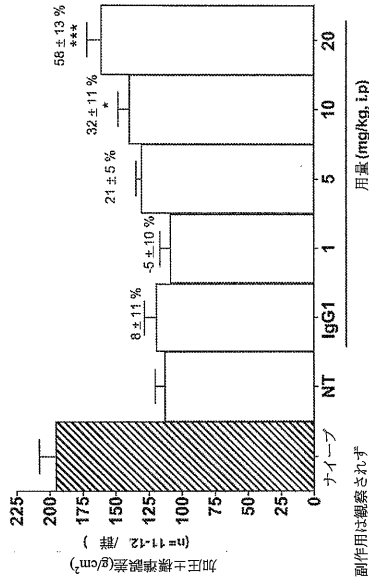
マウス FCA の 48 時間モデルにおける、熱に対する過敏症への mAb406 の用量依存効果



副作用なし  
有意水準: \*p < 0.05, \*\*p < 0.001  
統計: 一元配置分散分析、続いて、Holm-Sidak の事後検定  
IgG1 対照アインタイプまたは mAb406 を FCA チャレンジの 6 時間後に腹腔内投与した。NT とは、「未処置」マウスを指す。

【 図 1 5 】

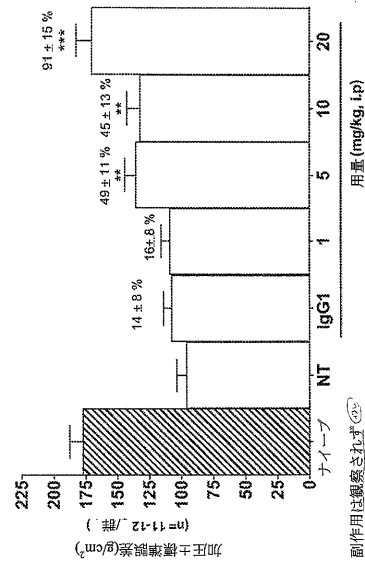
マウス FCA の 24 時間モデルにおける、機械的圧力に対する過敏症への mAb406 の用量依存的効果



副作用は観察されず  
 有意水準: \*p<0.05, \*\*p<0.001  
 統計一元配置分散分析、続いて、Holm Sidak の事後検定  
 IgG1 対照アインタイプまたは mAb406 を FCA チャレンジの 6 時間後に腹腔内投与した。NT とは、「未処置」マウスを指す。

【 図 1 6 】

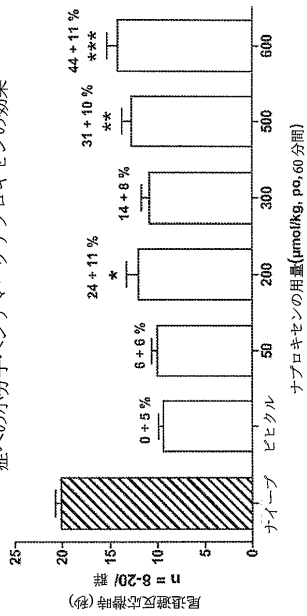
マウス FCA の 48 時間モデルにおける、機械的圧力に対する過敏症への mAb406 の用量依存的効果



副作用は観察されず  
 有意水準: \*p<0.01, \*\*p<0.001  
 統計一元配置分散分析、続いて、Holm Sidak の事後検定  
 IgG1 対照アインタイプまたは mAb406 を FCA チャレンジの 6 時間後に腹腔内投与した。NT とは、「未処置」マウスを指す。

【 図 1 7 】

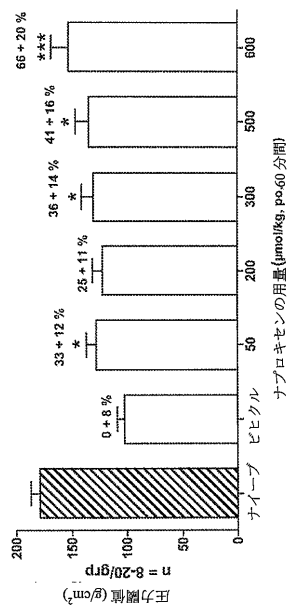
48 時間でのマウス FCA 尾部モデルにおける、熱に対する過敏症への小分子ベンチマークナプロキセンの効果



副作用なし  
 \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001, 一元配置分散分析、片側 Holm Sidak の事後検定

【 図 1 8 】

48 時間でのマウス FCA 尾部モデルにおける、機械的圧力に対する過敏症への小分子ベンチマークナプロキセンの効果



副作用なし  
 \*p<0.05, \*\*p<0.001, 一元配置分散分析、片側 Holm Sidak の事後検定

【配列表】

2012516158000001.app

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 10/22478
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC(8) - A81K 39/395, C07K 16/24 (2010.01) USPC - 424/133.1, 530/388.15, 536/23.53 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) USPC: 424/133.1, 530/388.15, 536/23.53 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC: 424/130.1 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Electronic data bases searched: PubWEST (PGPB, USPT, JPAB, EPAB); Google Scholar, GenCore Sequence Search (NT, AA) Search terms: IL-6, anti-IL-6, monoclonal antibody (mAb, mAbs), antibody therapy, antibody half-life, FcRn, constant region Fc, pain, depression, SEQ ID NOs: 1-8, 11-14		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y — A	US 2008/0188401 A1 (CRUWYS et al.). 7 August 2008 (07.08.2008). Especially abstract, para [0044], [0251], [0252], [0253], [0268], [0360], SEQ ID NOs : 3,4,8,9,111,112,115, 117, 120, claims 8, 35, sheet 1 fig 1.	20-25,36-41 <hr/> 1-14,16-19,26-35,42-58 <hr/> 15
Y	US 2008/0181887 A1 (DALL-ACQUA et al.). 31 July 2008 (31.07.2008). Especially para [0015], [0016], [0043].	1-14,16-19,26-35,48-54
Y	ILLMAN et al., Are inflammatory cytokines the common link between cancer-associated cachexia and depression? J Support Oncol, January-February 2005, Vol 3, No 1, Pages 37-50. Especially pg 37 fig 1, pg 47 right col para 1.	42-58
A	US 2008/0279851A1 (COYLE et al). 13 November 2008 (13.11.2008) Especially SEQ ID NO: 29,30,31	15
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "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) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "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 "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 "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 "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 3 May 2010 (05.03.2010)		Date of mailing of the international search report 01 JUN 2010
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSF: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2009)

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
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 9/10 (2006.01)	A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 37/04	
A 6 1 P 19/06 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 19/06	
A 6 1 P 25/06 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 1/18 (2006.01)	A 6 1 P 25/06	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 1/18	
A 6 1 P 25/24 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
C 0 7 K 16/24 (2006.01)	A 6 1 P 25/24	
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 0 7 K 16/24	Z N A
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 N 5/00	1 0 1
	C 1 2 P 21/08	

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

- (72) 発明者 ボーウェン, マイケル  
 アメリカ合衆国 2 0 8 5 5 メリーランド州, ロックヴィル, ポララ プレイス 7 8 1 2
- (72) 発明者 ウー, ヘレン  
 アメリカ合衆国 メリーランド州, ボイズ, ハーベスト ムーン ロード 1 4 4 0 5
- (72) 発明者 ダラキュア, ウィリアム  
 アメリカ合衆国 2 0 8 7 8 メリーランド州, ゲーザーズバーグ, チェスタータウン ストリート 5 6 4
- (72) 発明者 キーナー, ピーター  
 アメリカ合衆国 2 0 8 5 4 メリーランド州, ポトマック, ゴーキー ドライブ 1 4 0 1 7
- (72) 発明者 ジャラル, バイジャ  
 アメリカ合衆国 2 0 8 5 4 メリーランド州, ポトマック, スモーキー クウォーツ 1 1 1 6
- (72) 発明者 コイル, アンソニー  
 アメリカ合衆国 2 0 0 3 7 コロンビア特別区, ワシントン, 2 3 アールディー ストリート 1 1 5 5

Fターム(参考) 4B024 AA01 BA44 CA01 GA11 HA01  
 4B064 AG27 CA19 CC24 DA01  
 4B065 AA93Y AB01 AC14 BA02 CA25 CA44  
 4C085 AA14 BB36 CC23 DD62 EE01  
 4H045 AA11 BA10 CA40 DA76 EA20 FA74