

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6472999号  
(P6472999)

(45) 発行日 平成31年2月20日(2019.2.20)

(24) 登録日 平成31年2月1日(2019.2.1)

(51) Int.Cl.	F I
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 Z N A N
A 6 1 P 3/00 (2006.01)	A 6 1 P 3/00
A 6 1 P 3/04 (2006.01)	A 6 1 P 3/04
A 6 1 P 3/06 (2006.01)	A 6 1 P 3/06
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P 3/10

請求項の数 7 (全 78 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2014-519139 (P2014-519139)	(73) 特許権者	504389991
(86) (22) 出願日	平成24年6月29日 (2012.6.29)		ノバルティス アーゲー
(65) 公表番号	特表2014-523902 (P2014-523902A)		スイス国 バーゼル リヒトシュトラッセ
(43) 公表日	平成26年9月18日 (2014.9.18)		35
(86) 国際出願番号	PCT/US2012/044929	(74) 代理人	100092783
(87) 国際公開番号	W02013/006437		弁理士 小林 浩
(87) 国際公開日	平成25年1月10日 (2013.1.10)	(74) 代理人	100095360
審査請求日	平成27年6月29日 (2015.6.29)		弁理士 片山 英二
審判番号	不服2017-10525 (P2017-10525/J1)	(74) 代理人	100149010
審判請求日	平成29年7月14日 (2017.7.14)		弁理士 星川 亮
(31) 優先権主張番号	61/503, 656	(74) 代理人	100104282
(32) 優先日	平成23年7月1日 (2011.7.1)		弁理士 鈴木 康仁
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	61/524, 448		
(32) 優先日	平成23年8月17日 (2011.8.17)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 代謝障害を治療するための方法

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

対象における代謝障害の治療において使用するための、A c t R I I B と結合するアンタゴニスト抗体を含む組成物であって、組成物が、前記対象における赤血球レベルを増大させることなく褐色脂肪組織を増大させるように用いられ、

抗 A c t R I I B 抗体が、配列番号 1 8 1 のアミノ酸 1 9 ~ 1 3 4 (配列番号 1 8 2) からなる結合ドメインと結合し、

配列番号 9 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 2 3 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 3 7 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 5 1 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 6 5 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 7 9 の軽鎖可変領域 C D R 3 を含み、

代謝障害が肥満、2 型糖尿病、メタボリックシンドローム、血漿中インスリン濃度上昇、インスリン抵抗性、および高脂血症からなる群から選択される、組成物。

## 【請求項 2】

代謝障害が、平均血漿中グルコース濃度増大、グルコースホメオスタティス異常および/または血漿中インスリン濃度上昇をもたらすか、これによって引き起こされる、請求項 1 に記載の組成物。

## 【請求項 3】

対象が代謝障害および筋肉障害に罹患している、請求項 1 または 2 に記載の組成物。

## 【請求項 4】

筋肉障害が、肥満関連筋肉減少症、筋肉減少症および糖尿病関連筋萎縮症からなる群か

ら選択される筋萎縮症である、請求項 3 に記載の組成物。

【請求項 5】

抗体が A c t R I I A と結合する 10 倍以上のアフィニティーで A c t R I I B と結合する、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6】

抗 A c t R I I B 抗体が、配列番号 146 の重鎖配列および配列番号 141 の軽鎖配列を含む、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7】

前記組成物中に含まれる抗 A c t R I I B 抗体が、F c 領域の突然変異により改変されたエフェクター機能を有する、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の組成物。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、抗アクチビン受容体 I I B ( A c t R I I B ) 抗体の分野に属する。特に本発明は、抗 A c t R I I B 抗体を含む組成物、ならびに血液学的パラメータに著しく影響を与えずに、げっ歯類および霊長類を含めた脊椎動物、特にヒトにおける褐色脂肪を増大させるための、その使用に関する。

【背景技術】

【0002】

非常に異なる特徴および機能を有する 2 タイプの脂肪組織、異なる解剖学的位置に主にトリグリセリドとしてエネルギーを蓄える白色脂肪組織 ( W A T ) と、熱産生による基礎エネルギー消費および誘導性エネルギー消費に特化した褐色脂肪組織 ( B A T ) を区別することができる。B A T と W A T は、解剖学的、組織学的および機能的に異なる。近年まで、褐色脂肪組織 ( B A T ) は少数の哺乳動物およびヒト新生児においてのみ代謝上重要であると考えられていた。ヒトでは出生後に急速に消失すると考えられていたからである。しかしながら、機能的な褐色脂肪組織が成人において同定および特徴付けされており、非震え熱産生、ならびに肥満および代謝疾患の薬理的治療のため B A T を標的化する将来的見通しの進展における新たな関心を助長している。

20

【0003】

ここ 10 年の間、明らかに成人に重点を置いた B A T 研究の顕著な復活を目の当たりにした。このような劇的な増大の必要性は、世界的なヒトの肥満に関してこれまで増大している傾向に由来する。実際、米国などの先進国における肥満の割合は人口の 35% を超えると現在推定されている (Flegal, et al 2010)。肥満の高い発生率は、特に糖尿病、高血圧症、および冠動脈性心疾患を含めたメタボリックシンドロームの高い罹患率と関係がある (Alberti, et al 2009, Bruce and Hanson 2010)。その前例のない代謝能力を考慮すると、B A T は肥満との戦いにおいて非常に有望である。幾つかの初期の解剖学的研究は、褐色脂肪組織が成人において存在することを示唆したが (Astrup, et al 1985)、その生理学的関連は重要ではないと考えられた。近年における対照のある研究は、軽度の低温に曝された後の細身、肥満および病的肥満の成人において機能性 B A T が検出可能であることを示した (Saito, et al 2009, van Marken Lichtenbelt, et al 2009, Vijgen, et al 2011, Virtanen, et al 2009)。低温に誘導される B A T 活性は、ボディマスインデックス ( B M I ) および体脂肪率 ( B F % ) に反比例する (van Marken Lichtenbelt, et al 2009, Saito, et al 2009, Virtanen, et al 2009, Yoneshiro, et al., Obesity, Vol.19, No.1, January 2011)。2 タイプの褐色脂肪細胞、すなわち筋細胞に一般的な M y f 5 + 祖先細胞に由来し、肩甲骨間などの古典的部位にある褐色脂肪細胞によって代表される褐色脂肪細胞と、別系統に由来し、休眠状態前駆細胞または白色脂肪からの分化転換から生じ得る、W A T 内に散在する褐色脂肪細胞が報告されている (Perwitz, et al 2010, Seale, et al 2008)。

30

40

【0004】

B A T の熱産生表現型は、脱共役タンパク質 1 ( U C P 1 ) によって本来与えられる。

50

UCP1は、褐色脂肪細胞において、アデノシン-5'-三リン酸(ATP)合成を基質酸化から脱共役させる。

【0005】

褐色脂肪組織(BAT)は、マウス、ラット、およびハムスターなどの少なくとも少数のげっ歯類における体温およびエネルギー消費の制御に有意に貢献する、低温および食事誘導性熱産生の主要部位である(Cannon and Nedergaard 2004)、(Klingenspor 2003)、(Himms-Hagen 1990)。ヒトでは、BATは新生児に存在するが、出生後期に急速に消失し、成人では従来の解剖実験によって確認するのはむしろ困難である。

【0006】

褐色脂肪組織には組織1グラム当たりで非常に多量のグルコース摂取があり、これは、たとえ体内の褐色脂肪組織の合計量が多くないとしても、それがおそらく顕著なグルコースクリアランス器官であり得ることを意味する。血漿中インスリンレベルが上昇する生理的条件は、褐色脂肪組織へのグルコース摂取の増大を示す。褐色脂肪組織は、グルコース摂取の刺激に関して最もインスリン応答性がある組織の1つである(Cannon, Barbara, and Jan Nedergaard. Brown Adipose Tissue: Function and Physiological Significance; Physiol Rev 84:277-359, 2004)。グルコース摂取のシンクとしての褐色脂肪組織の重要性のため、BATの操作によって、肥満および2型糖尿病などの代謝疾患用の新たな治療剤の開発に関する新たな機会が開かれる(Kajimura et al., Nature 460, 1154-1158., 2009)。

【0007】

熱産生褐色脂肪細胞の形成および/または活性は、ActRIIBアンタゴニストで治療したマウスの白色脂肪組織において増大したことが発見されている(WO 2010144452)。しかしながら、ActRIIBアンタゴニスト、例えば可溶性ActRIIBタンパク質を用いた治療が、網状赤血球レベルの上昇および赤血球の分布幅値を含めた、統計学的に有意な血液学的変化を引き起こすことも発見されている。赤血球レベルまたは細胞幅、ヘモグロビンレベル、またはヘマトクリットレベルの過度な増大は、(i)血圧の増大を引き起こす、(ii)血流速度が低下する、および(iii)血球凝集、血栓または脳卒中のリスクを増大させる可能性がある。したがって、適切な血液学的パラメータを有する患者、または貧血と筋肉消失の両方がある患者への、ActRIIBアンタゴニストの用量を制限することが奨励されている(WO/2009/158025)。さらに、増大した赤血球レベルと相関がある血液学的パラメータのモニタリングを含む、ActRIIBアンタゴニストで治療した患者を管理する方法が開発されている(WO/2009/158025)。したがって、患者におけるメタボリックシンドローム、肥満、インスリン抵抗性、2型糖尿病のような代謝障害の治療、および/または褐色脂肪組織(BAT)の増大を、前記対象における重大な血液学的変化を誘導せずに行うための、新規な方法を開発する必要がある。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

患者におけるメタボリックシンドローム、肥満、インスリン抵抗性、2型糖尿病のような代謝障害の治療、および/または褐色脂肪組織(BAT)の増大を、前記対象における重大な血液学的変化を誘導せずに行うための、新規な医薬組成物および方法を開発する必要がある。この目的は、本開示内に提供する方法および組成物によって達成される。

【課題を解決するための手段】

【0009】

したがって、本開示の第一の主題は、代謝障害に罹患した対象の治療において使用するための、ActRIIBと結合する抗体を含む組成物であって、前記対象における赤血球レベルを増大させることなく、および/またはヘマトクリットもしくは他の血液パラメータレベルの臨床許容できない変化をもたらすことなく、抗ActRIIB抗体治療が褐色脂肪組織を増大させる組成物に関する。ある特定の実施形態では、代謝障害は平均血漿

10

20

30

40

50

中グルコース濃度の増大もしくは血漿中インスリン濃度の上昇をもたらすか、これによって引き起こされる。

【0010】

前述の組成物を使用して、肥満、2型糖尿病、メタボリックシンドローム、リポジストロフィー、耐糖能異常、血漿中インスリン濃度上昇、インスリン抵抗性、脂質異常症、高血糖症、高脂血症、高血圧症、心血管疾患または呼吸器の状態のような代謝障害を治療することが好ましい。開示する組成物は、代謝および筋肉障害に罹患した対象の治療にも適している。一実施形態では、筋肉障害は、肥満関連筋肉減少症、筋肉減少症、または糖尿病関連筋萎縮症からなる群から選択される筋萎縮症である。

【0011】

別の実施形態では、組成物は、配列番号181のアミノ酸19~134(配列番号182)からなる結合ドメイン、または(a)配列番号181のアミノ酸78~83(WLDDFN-配列番号188);(b)配列番号181のアミノ酸76~84(GCWLDDFNC-配列番号186);(c)配列番号181のアミノ酸75~85(KGCWLDDFNCY-配列番号190);(d)配列番号181のアミノ酸52~56(EQDKR-配列番号189);(e)配列番号181のアミノ酸49~63(CEGEQDKRLHCYASW-配列番号187);(f)配列番号181のアミノ酸29~41(CIYYNANWELERT-配列番号191);(g)配列番号181のアミノ酸100~110(YFCCCEGNFCN-配列番号192);もしくは(h)配列番号181のアミノ酸78~83(WLDDFN)および配列番号181のアミノ酸52~56(EQDKR)を含むもしくはこれらからなるエピトープと結合する抗ActRIIB抗体を含む。

【0012】

さらに別の代替実施形態では、前述の組成物は、ActRIIAと結合する10倍以上のアフィニティーでActRIIBと結合する抗ActRIIB抗体を含む。

【0013】

さらに本開示は、抗ActRIIB抗体が配列番号1~14からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域CDR1、配列番号15~28からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域CDR2、配列番号29~42からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域CDR3、配列番号43~56からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域CDR1、配列番号57~70からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域CDR2、および配列番号71~84からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域CDR3を含む組成物に関する。

【0014】

ある特定の実施形態では、本開示は、抗ActRIIB抗体が(a)配列番号1の重鎖可変領域CDR1、配列番号15の重鎖可変領域CDR2、配列番号29の重鎖可変領域CDR3、配列番号43の軽鎖可変領域CDR1、配列番号57の軽鎖可変領域CDR2、および配列番号71の軽鎖可変領域CDR3、(b)配列番号2の重鎖可変領域CDR1、配列番号16の重鎖可変領域CDR2、配列番号30の重鎖可変領域CDR3、配列番号44の軽鎖可変領域CDR1、配列番号58の軽鎖可変領域CDR2、および配列番号72の軽鎖可変領域CDR3、(c)配列番号3の重鎖可変領域CDR1、配列番号17の重鎖可変領域CDR2、配列番号31の重鎖可変領域CDR3、配列番号45の軽鎖可変領域CDR1、配列番号59の軽鎖可変領域CDR2、および配列番号73の軽鎖可変領域CDR3、(d)配列番号4の重鎖可変領域CDR1、配列番号18の重鎖可変領域CDR2、配列番号32の重鎖可変領域CDR3、配列番号46の軽鎖可変領域CDR1、配列番号60の軽鎖可変領域CDR2、および配列番号74の軽鎖可変領域CDR3、(e)配列番号5の重鎖可変領域CDR1、配列番号19の重鎖可変領域CDR2、配列番号33の重鎖可変領域CDR3、配列番号47の軽鎖可変領域CDR1、配列番号61の軽鎖可変領域CDR2、および配列番号75の軽鎖可変領域CDR3、(f)配列番号6の重鎖可変領域CDR1、配列番号20の重鎖可変領域CDR2、配列番号34の重

10

20

30

40

50

鎖可変領域 C D R 3、配列番号 4 8 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 6 2 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 7 6 の軽鎖可変領域 C D R 3、( g ) 配列番号 7 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 2 1 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 3 5 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 4 9 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 6 3 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 7 7 の軽鎖可変領域 C D R 3、( h ) 配列番号 8 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 2 2 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 3 6 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 5 0 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 6 4 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 7 8 の軽鎖可変領域 C D R 3、( i ) 配列番号 9 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 2 3 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 3 7 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 5 1 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 6 5 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 7 9 の軽鎖可変領域 C D R 3、( j ) 配列番号 1 0 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 2 4 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 3 8 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 5 2 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 6 6 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 8 0 の軽鎖可変領域 C D R 3、( k ) 配列番号 1 1 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 2 5 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 3 9 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 5 3 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 6 7 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 8 1 の軽鎖可変領域 C D R 3、( l ) 配列番号 1 2 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 2 6 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 4 0 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 5 4 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 6 8 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 8 2 の軽鎖可変領域 C D R 3、( m ) 配列番号 1 3 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 2 7 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 4 1 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 5 5 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 6 9 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 8 3 の軽鎖可変領域 C D R 3、または( n ) 配列番号 1 4 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 2 8 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 4 2 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 5 6 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 7 0 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 8 4 の軽鎖可変領域 C D R 3を含む組成物を提供する。

#### 【 0 0 1 5 】

さらに別の実施形態では、前述の抗 A c t R I I B 抗体は、( i ) 配列番号 1 4 6 ~ 1 5 0 および 1 5 6 ~ 1 6 0 からなる群から選択される少なくとも 1 つの配列と少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する完全長重鎖アミノ酸配列、( i i ) 配列番号 1 4 1 ~ 1 4 5 および 1 5 1 ~ 1 5 5 からなる群から選択される少なくとも 1 つの配列と少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する完全長軽鎖アミノ酸配列、または( i i i ) ( a ) 配列番号 9 9 の可変重鎖配列および配列番号 8 5 の可変軽鎖配列、( b ) 配列番号 1 0 0 の可変重鎖配列および配列番号 8 6 の可変軽鎖配列、( c ) 配列番号 1 0 1 の可変重鎖配列および配列番号 8 7 の可変軽鎖配列、( d ) 配列番号 1 0 2 の可変重鎖配列および配列番号 8 8 の可変軽鎖配列、( e ) 配列番号 1 0 3 の可変重鎖配列および配列番号 8 9 の可変軽鎖配列、( f ) 配列番号 1 0 4 の可変重鎖配列および配列番号 9 0 の可変軽鎖配列、( g ) 配列番号 1 0 5 の可変重鎖配列および配列番号 9 1 の可変軽鎖配列、( h ) 配列番号 1 0 6 の可変重鎖配列および配列番号 9 2 の可変軽鎖配列、( i ) 配列番号 1 0 7 の可変重鎖配列および配列番号 9 3 の可変軽鎖配列、( j ) 配列番号 1 0 8 の可変重鎖配列および配列番号 9 4 の可変軽鎖配列、( k ) 配列番号 1 0 9 の可変重鎖配列および配列番号 9 5 の可変軽鎖配列、( l ) 配列番号 1 1 0 の可変重鎖配列および配列番号 9 6 の可変軽鎖配列、( m ) 配列番号 1 1 1 の可変重鎖配列および配列番号 9 7 の可変軽鎖配列、もしくは( n ) 配列番号 1 1 2 の可変重鎖配列および配列番号 9 8 の可変軽鎖配列を含む。

#### 【 0 0 1 6 】

ある特定の態様では、本開示は、前に記載した組成物であって、含まれる抗 A c t R I I B 抗体が( a ) 配列番号 1 4 6 の重鎖配列および配列番号 1 4 1 の軽鎖配列、( b ) 配列番号 1 4 7 の重鎖配列および配列番号 1 4 2 の軽鎖配列、( c ) 配列番号 1 4 8 の重鎖配列および配列番号 1 4 3 の軽鎖配列、( d ) 配列番号 1 4 9 の重鎖配列および配列番号 1 4 4 の軽鎖配列、( e ) 配列番号 1 5 0 の重鎖配列および配列番号 1 4 5 の軽鎖配列、( f ) 配列番号 1 5 6 の重鎖配列および配列番号 1 5 1 の軽鎖配列、( g ) 配列番号 1 5

10

20

30

40

50

7の重鎖配列および配列番号152の軽鎖配列、(h)配列番号158の重鎖配列および配列番号153の軽鎖配列、(i)配列番号159の重鎖配列および配列番号154の軽鎖配列、または(j)配列番号160の重鎖配列および配列番号155の軽鎖配列を含む組成物に関する。

【0017】

本開示の別の主題は、(i)抗A c t R I I B抗体が、前に記載した抗体の1つを交差遮断する、もしくはそれによって交差遮断される、(i i)Fc領域の突然変異により改変されたエフェクター機能を有する、および/または(i i i)前に記載した抗体の1つによって認識されるエピトープと結合する組成物に関する。

【0018】

さらに別の実施形態では、開示する組成物は、p B W 5 2 2 ( D S M 2 2 8 7 3 ) または p B W 5 2 4 ( D S M 2 2 8 7 4 ) によってコードされる抗A c t R I I B抗体を含む。

【0019】

本開示は、対象における代謝障害を治療する方法であって、A c t R I I Bと結合する抗体、好ましくは本明細書で開示するA c t R I I B抗体の1つを前記対象に投与することを含み、前記対象における赤血球レベルを増大させることなく、および/またはヘマトクリットもしくは他の血液パラメータレベルの臨床上許容できない変化をもたらすことなく、抗A c t R I I B抗体が褐色脂肪組織(B A T)を増大させる、方法をさらに提供する。本開示の一態様では、開示する治療法において使用されるA c t R I I B抗体は、本明細書で開示する組成物中に含まれる。ある特定の態様では、前述の代謝障害は平均血漿中グルコース濃度の増大もしくは血漿中インスリン濃度の上昇をもたらすか、これによって引き起こされる。別の実施形態では、代謝障害は、肥満、2型糖尿病、メタボリックシンドローム、リポジストロフィー、耐糖能異常、血漿中インスリン濃度上昇、インスリン抵抗性、脂質異常症、高血糖症、高脂血症、高血圧症、心血管疾患または呼吸器の問題からなる群から選択される。本発明のさらに別の態様では、本開示は、赤血球レベルを増大させることなく、および/またはヘマトクリットもしくは他の血液パラメータレベルの臨床上許容できない変化をもたらすことなく、対象におけるB A Tを増大させる方法であって、A c t R I I Bと結合する抗体を前記対象に投与することを含む方法を提供する。

【0020】

さらに本開示は、赤血球レベルを増大させることなく、および/またはヘマトクリットもしくは他の血液パラメータレベルの臨床上許容できない変化をもたらすことなく、対象における平均血漿中グルコース濃度を低下させるための方法であって、A c t R I I Bと結合する抗体を前記対象に投与するステップを含む方法を提供する。ある特定の態様では、糖化ヘモグロビン(グリコシル化ヘモグロビン)レベルを測定することによって、平均血漿中グルコース濃度を検出する。

【0021】

別の態様では、本開示は、代謝障害および筋肉障害に罹患した対象における、前に記載したような代謝障害の治療法を提供する。別の実施形態では、前述の筋肉障害は、肥満関連筋肉減少症、筋肉減少症、または糖尿病関連筋萎縮症からなる群から選択される筋萎縮症である。

【図面の簡単な説明】

【0022】

【図1】アクチビン受容体I I Bは、初代褐色脂肪細胞の分化を阻害することを示す図である。マウス肩甲骨間褐色脂肪組織から単離した初代褐色前駆脂肪細胞を、全プロトコールにわたってインスリンおよび甲状腺ホルモンを含有し、最初の2日間には、I B M X、3-イソブチル-1-メチルキサンチン、デキサメタゾンおよびインドメタシンを含有する古典的脂肪分化培地(A M)を使用して9日間の間に分化させた。脂肪分化培地(A M)、A M + ミオスタチン(M s t n ; 1 0 n g / m l)、アクチビン受容体I I Bに対するモノクローナル抗体(A M + M O R 0 8 1 5 9 (配列番号146の重鎖配列と配列番号

10

20

30

40

50

141の軽鎖配列を含む抗体) ; 10  $\mu$ g / ml )、または両方の組合せ ( AM + MOR 08159 + Mstn ) を脂肪分化培地に加え、新たな培地と治療剤は2日毎に交換した。分化のレベルは、各条件に関する2つの別個の培養物 ( PRDM16 : 16、PGC-1a / bを含有するPRドメイン : ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体、 $\alpha$ -コアクチベータ1 ) からUCP1のような古典的褐色脂肪マーカーのmRNA発現を測定することによって評価した。

【図2】マウスにおけるActRIIB阻害は、白色脂肪ではなく褐色脂肪の量を増大させることを示す図である。SCID (重症複合型免疫不全症) マウス ( n = 12 / 群 ) を、週一回の対照抗体 ( IgG1 ; 20 mg / kg / 週 ) または増大量のActRIIBに対するヒトモノクローナル抗体 ( MOR08159 ; 2、6および20 mg / kg / 週 ) の皮下注射で4週間治療した。ひ腹筋、肩甲骨間褐色脂肪組織 ( BAT ) および精巣上体白色脂肪組織 ( WAT ) の湿潤重量を測定し、対照群の平均からの変化の割合 ( % ) として表した。

10

【図3】ActRIIB阻害は、低温耐性を増大させることを示す図である。低温耐性は、賦形薬またはActRIIBに対するモノクローナル抗体のマウス変異体 ( 配列番号194の重鎖配列と配列番号193の軽鎖配列を含むキメラ抗体、20 mg / kg / 週 ) の週一回の皮下注射で3週間治療したC57BL6 / Jマウス ( n = 11 / 群 ) を10で4時間放置し、1時間毎に直腸温を測定することによって評価した。

【図4】ActRIIB阻害によって、褐色脂肪の細胞呼吸が増大することを示す図である。初代褐色脂肪細胞を分化させ、図1中に記載したように治療し ( 条件当たり n = 10 ~ 20 )、酸素消費速度を基礎条件下、または2.5  $\mu$ g / ml のオリゴマイシン ( 非結合 ) もしくは500 nMの最終FCCP ( カルボニルシアニド - p - (トリフルオロメトキシ) - フェニルヒドラゾン ) ( 最大 ) の存在下で測定した。

20

【発明を実施するための形態】

【0023】

一般的な定義

本発明のさらに容易な理解を可能にするために、ある特定の用語を最初に定義する。さらなる定義は詳細な説明を通じて述べる。

【0024】

用語「含む ( comprising ) 」は「含む ( including ) 」を意味する。例えば、Xを「含む」組成物 ( a composition "comprising" X ) はXのみからなっても、追加の何か、例えばXおよびYを含んでもよい。

30

【0025】

数値xに関する用語「約」は、例えば $x \pm 10\%$ を意味する。

【0026】

用語「血液学的変化」は、赤血球レベル ( RBC : 赤血球絶対数 )、赤血球分布幅 ( RDW ) または平均赤血球ヘモグロビン濃度 ( MCHC ) のような血液学的パラメータの変化を指す。好ましい実施形態では、この用語は、前述のパラメータの少なくとも1つの増大を指す。言い換えると、開示する教示の文脈における「血液学的変化」は、開示する組成物を用いた対象の治療は、前記対象においてRBC、RDWおよび/またはMCHCの統計学的に有意な増大をもたらさないという事実を指す。RBC、RDWおよび/またはMCHC値は、当技術分野で認められている方法を使用して決定することができる。生理的に正常な赤血球数は当業者に知られている。RBCレベルは、( 市販のCoulterカウンターを使用して ) 赤血球を計数することによって、ヘモグロビンまたはヘマトクリットレベルの測定によって決定することができる。ヘマトクリット ( Hct ) または充填赤血球量 ( PCV ) は、赤血球の体積と全血の体積の割合を指す。ヘマトクリットは、例えば血液サンプルの遠心分離、次に生成した層の分析によって決定することができる。男性および女性に関するヘマトクリットの生理的正常範囲は、当業者に知られている。

40

【0027】

ヒトまたは哺乳動物体内中のヘマトクリットレベルは主に、ある特定量の血漿中の赤血

50

球の割合(%)である。例えば、血液検査を実施すると、読み取り値は40%でのHCTレベルとして血液検査の報告値を示す。これは、患者の身体中の血液100ミリリットル毎に関して、その約40ミリリットルが主として赤血球であるという事実を示す。ヘモグロビンレベルは、赤血球の溶解、およびシアノメトヘモグロビンへのヘモグロビンの転換、および比色計を用いたヘモグロビンの測定によって決定することができる。成人男性および女性のヘモグロビンの生理的正常レベルは、当業者に知られている。

#### 【0028】

語句、対象中の「赤血球レベルを増大させず」または「赤血球レベルを増大させることなく」は、赤血球レベル(例えばRBC)、ヘマトクリットレベルまたはヘモグロビンレベルが、治療開始後最大3ヶ月の一回または多数回投与治療前の前記患者における赤血球レベル、ヘマトクリットレベル、またはヘモグロビンレベルと比較して有意に増大していない状態を指す。したがって、赤血球レベルの増大は、対象中のヘマトクリットレベルまたは他の血液パラメータレベルの臨床上許容できない変化をもたらし得る。

#### 【0029】

許容可能または正常赤血球レベルを有する対象中の「赤血球レベルを増大させず」または「赤血球レベルを増大させることなく」は、赤血球レベル、ヘマトクリットレベル、またはヘモグロビンレベルが許容範囲または正常を超えて増大しない状態も指す。約10才の年齢での子供における正常ヘマトクリットレベルは約36%と約40%の間であり、一方成人女性は約36%と約46%の間の読み取り値を示し、成人男性は約41%と約54%の間の読み取り値を反映する。これらの正常範囲外の任意の読み取り値が、治療前の治療個体の値が前記範囲を超えないという条件で、赤血球レベルが増大する状態として考えられる。ヘモグロビンレベルは全血1デシリットル(dL)当たりのヘモグロビンのグラム量(gm)として表し、1デシリットルは100ミリリットルである。ヘモグロビンの正常範囲は、人間の年齢、および思春期の開始、性別に依存する。正常範囲は、子供：約11~13 gm/dL、成人男性：約14~18 gm/dL、成人女性：約12~16 gm/dL、中年期後の男性：約12.4~14.9 gm/dL、中年期後の女性：約11.7~13.8 gm/dLである。これらの正常範囲外の任意のヘモグロビンレベルが、治療前の治療個体の値が前記範囲を超えないという条件で、赤血球レベルが増大する状態として考えられる。語句、対象中の「赤血球レベルを増大させず」または「赤血球レベルを増大させることなく」は、正常範囲から正常の許容範囲を超えるヘマトクリットの増大が回避される状態を指す。

#### 【0030】

以下は、ActRIIB抗体を用いた治療の考えられる影響を評価するための、考えられる前臨床治療レジメンを例示する。カニクイザルを使用することによって治療を例示するが、記載する実験はサルに限られず、当業者は、他種、特にヒトに適した実験または用量レジメンの設定の仕方を知っている。静脈内注射によりオスとメスのカニクイザルに、3ヶ月間週に1回ActRIIB抗体を投与することができる。32匹のカニクイザル(16匹/各性別)を4治療群の1つに割り当てることができ(3~5匹の動物/各性別/群)、13週間にわたり週に1回10、30、または100 mg/kgで、賦形薬またはActRIIB抗体のいずれかを静脈内注射により投与することができる(合計14投与；投与はサルにおける筋肥大活性に基づいて選択されるものとする)。

#### 【0031】

語句、「平均血漿中グルコース濃度の増大」は、血漿中グルコース濃度(ヒトまたは動物の血液中の血糖濃度または血中グルコースレベルまたはグルコースの存在)が、健常個体の正常範囲外にあるとして当業者に考えられる、患者における生理的状态を指す。血中グルコースレベルは、モル濃度(1リットル当たりのミリモル；またはミリモル濃度、略してmM)で測定する。当業者は、代謝恒常性の一部として綿密に制御される、哺乳動物における正常血中グルコースレベルを理解している。しかしながら、血中グルコースレベルは一日を通じて変動する(朝最も低く食後に上昇する)。

#### 【0032】

10

20

30

40

50



糖化ヘモグロビン（グリコシル化ヘモグロビン、ヘモグロビン A 1 c、H b A 1 c、A 1 C、または H b 1 c；時折さらに H b A 1 c）は、長期間にわたる平均血漿中グルコース濃度を確認するために主に測定されるヘモグロビンの一型である。それは、血漿中グルコースへのヘモグロビンの曝露によって、非酵素的糖化経路で形成される。正常レベルのグルコースは正常量の糖化ヘモグロビンをもたらす。血漿中グルコースの平均量が増大すると、糖化ヘモグロビンの割合は予想される形式で増大する。したがって糖化ヘモグロビンは、平均血中グルコースレベルのマーカーとして働く。血糖制御を評価する信頼性の高い方法として、糖化ヘモグロビンレベルを決定するための方法は、当技術分野でよく知られている（H.B.Chandalia and P.R.Krishnaswamy, Current Science, Vol.83, No.12, 25 December 2002）。

10

**【 0 0 3 3 】**

語句、「褐色脂肪組織を増大させる」または「褐色脂肪組織（B A T）の増大」は、（i）定義した対照群の平均から測定し変化の割合として表した肩甲骨間褐色脂肪組織（B A T）の湿潤重量の増大であって、統計学的に有意であり投与する A c t R I I B 抗体およびそれを含む組成物の量によって影響を受ける増大、または（i i）U C P - 1 などの熱産生遺伝子の発現の増大によって反映される初代褐色脂肪細胞の分化の亢進を指す。さらに褐色脂肪組織は、ポジトロンエミッショントモグラフィーおよびコンピュータトモグラフィーを使用して分析することができる（Cypess et al., 2009, N Engl J Med 360:1509-1517）。

20

**【 0 0 3 4 】**

本発明の文脈における用語、「褐色脂肪組織」は、互換的に使用される用語「褐色脂肪」、「褐色脂肪細胞」および「熱産生脂肪細胞」をさらに指す、またはこれらを包含するとして理解されたい。

**【 0 0 3 5 】**

本発明の文脈において使用する用語「代謝障害」は、褐色脂肪組織の存在、レベルもしくは活性、血漿中グルコース濃度、血漿中インスリンレベルおよび／または体脂肪含有率によって影響を受ける疾患または状態を指す。代謝障害または疾患は、メタボリックシンドローム、耐糖能異常、血漿中インスリン濃度上昇およびインスリン抵抗性、脂質異常症、高血糖症、高脂血症、高血圧症、リポジストロフィー、心血管疾患、呼吸器の問題または状態を含むが、これらに限られない。特に対象となる代謝障害は、インスリン抵抗性および相対的インスリン不足の文脈で血中グルコース上昇によって特徴付けられる（インスリン非依存型糖尿病または成人発症型糖尿病としても知られる）2 型糖尿病、肥満、心血管疾患、脳卒中、呼吸器の問題である。2 型糖尿病、またはインスリン依存型糖尿病（すなわちインスリン非依存型糖尿病）は正常、またはさらに高いレベルのインスリンに直面して生じることが多く、組織がインスリンに適切に応答できない結果であると思われる。大部分の I I 型糖尿病患者は肥満でもある。

30

**【 0 0 3 6 】**

用語「肥満」は、内科医によって診断された、過剰な体脂肪が存在する個体の生理的状态を指す。ボディマスインデックス（B M I：体重／身長（メートル）<sup>2</sup>）を使用して、肥満を計算することができる。このシステムによれば、3 0 k g / m 2 以上の B M I を有するそれ以外は健常な対象、または少なくとも 1 つの同時罹患状態がある対象が 2 7 k g / m 2 以上の B M I を有する状態として、肥満は定義される。

40

**【 0 0 3 7 】**

用語「A c t R I I A」および「A c t R I I B」はアクチビン受容体を指す。アクチビンは、少なくとも 2 つの I 型（I と I B）および 2 つの I I 型（I I と I I B、a k a A C V R 2 A と A C V R 2 B）受容体を含む受容体セリンキナーゼのヘテロ二量体複合体を介してシグナル伝達を行う。これらの受容体はいずれも、システイン多量領域を有するリガンド結合細胞外ドメイン、膜貫通型ドメイン、および予想されるセリン／スレオニン特異性を有する細胞質ドメインで構成される膜貫通型タンパク質である。I 型受容体はシグナル伝達に必須であり、一方 I I 型受容体はリガンド結合および I 型受容体の発現／動

50

員に必要とされる。I 型受容体とII 型受容体はリガンド結合後に安定した複合体を形成し、II 型受容体によるI 型受容体のリン酸化をもたらす。アクチビン受容体II B ( A c t R I I B ) はミオスタチンの受容体である。

#### 【 0 0 3 8 】

用語「免疫応答」は、侵襲病原体、病原体に感染した細胞もしくは組織、癌細胞、または自己免疫もしくは病的炎症の場合、正常なヒト細胞もしくは組織の選択的損傷、破壊、またはそれらのヒト身体からの除去をもたらす、例えばリンパ球、抗原提示細胞、食細胞、顆粒球、および前述の細胞もしくは肝臓によって生成する可溶性マクロ分子（例えば抗体、サイトカイン、および補体）の作用を指す。

#### 【 0 0 3 9 】

「シグナル伝達活性」は、受容体と増殖因子の結合などのタンパク質 - タンパク質相互作用によって一般に開始され、細胞の一部分から細胞の別部分へのシグナル伝達をもたらす生化学上の因果関係を指す。一般に伝達は、シグナル変換を引き起こす一連の反応中の1つまたは複数のタンパク質における1つまたは複数のチロシン、セリン、またはスレオニン残基の特異的リン酸化を含む。最後から二番目のプロセスは、遺伝子発現の変化をもたらす核の事象を典型的に含む。

#### 【 0 0 4 0 】

用語 A c t R I I B または A c t I I B 受容体は、配列番号 1 8 1 ( A A C 6 4 5 1 5 . 1 , G I : 3 7 6 9 4 4 3 ) で定義されるヒト A c t R I I B を指す。R & D S y s t e m s (登録商標)、M N、U S A によって作製された抗体などの、研究等級のポリクローナルおよびモノクローナル抗 A c t R I I B 抗体が当技術分野で知られている。当然ながら、他種由来の A c t R I I B に対して抗体を産生することが可能であり、抗体を使用してこれらの種における病状を治療することが可能である。

#### 【 0 0 4 1 】

本明細書で使用する用語「抗体」は、完全抗体および任意の抗原結合断片（すなわち、「抗原結合部分」）またはそれらの単鎖を含む。天然に存在する「抗体」は、ジスルフィド結合によって相互結合した少なくとも2つの重鎖（H）と2つの軽鎖（L）を含む糖タンパク質である。それぞれの重鎖は、重鎖可変領域（本明細書では略して V<sub>H</sub>）と重鎖定常領域で構成される。重鎖定常領域は、3ドメイン、C H 1、C H 2 および C H 3 で構成される。それぞれの軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書では略して V<sub>L</sub>）と軽鎖定常領域で構成される。軽鎖定常領域は1ドメイン、C<sub>L</sub> で構成される。V<sub>H</sub> 領域と V<sub>L</sub> 領域は、フレームワーク領域（F R）と呼ばれるより保存的である領域が散在した、相補性決定領域（C D R）と呼ばれる超可変性の領域にさらに細かく分けることができる。それぞれの V<sub>H</sub> と V<sub>L</sub> は、以下の順：F R 1、C D R 1、F R 2、C D R 2、F R 3、C D R 3、F R 4 でアミノ末端からカルボキシ末端に配置された3つの C D R および4つの F R で構成される。重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含有する。抗体の定常領域は、免疫系の様々な細胞（例えば、エフェクター細胞）および古典的補体系の第一成分（C 1 q）を含めた、宿主組織または因子と免疫グロブリンの結合を媒介することができる。

#### 【 0 0 4 2 】

本明細書で使用する用語、抗体の「抗原結合部分」（または単に「抗原部分」）は、抗原（例えば、A c t R I I B の一部分）と特異的に結合する能力を保持する、抗体の完全長または1つもしくは複数の断片を指す。抗体の抗原結合機能は、完全長抗体の断片によって実施され得ることが示されている。用語、抗体の「抗原結合部分」内に包含される結合断片の例には、F a b 断片、V<sub>L</sub>、V<sub>H</sub>、C<sub>L</sub> および C H 1 ドメインからなる一価断片、F ( a b )<sub>2</sub> 断片、その各々が同じ抗原と結合しヒンジ領域でジスルフィド架橋によって結合した2つの F a b 断片を含む二価断片、V<sub>H</sub> および C H 1 ドメインからなる F d 断片、抗体の1アームの V<sub>L</sub> および V<sub>H</sub> ドメインからなる F v 断片、V<sub>H</sub> ドメインからなる d A b 断片 (Ward et al., 1989 Nature 341:544-546)、および単離相補性決定領域（C D R）がある。

10

20

30

40

50

## 【0043】

さらに、F<sub>v</sub>断片の2つのドメイン、V<sub>L</sub>およびV<sub>H</sub>は別々の遺伝子によってコードされているが、組換え法を使用して、V<sub>L</sub>領域とV<sub>H</sub>領域が対になり一価分子を形成する1つのタンパク質鎖（単鎖F<sub>v</sub>（scF<sub>v</sub>）としても知られる；例えば、Bird et al., 1988 Science 242:423-426; およびHuston et al., 1988 Proc.Natl.Acad.Sci.85:5879-5883 参照）としてそれらを作製することができる合成リンカーによって、それらを連結することが可能である。このような単鎖抗体も、用語、抗体の「抗原結合領域」内に包含されるものとする。これらの抗体断片は当業者に知られている従来の技法を使用して得られ、完全抗体と同じ方法で、これらの断片を有用性に関してスクリーニングする。

## 【0044】

本明細書で使用する用語「単離抗体」は、異なる抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含まない抗体を指す（例えば、ActRIIBと特異的に結合する単離抗体は、ActRIIB以外の抗原と特異的に結合する抗体を実質的に含まない）。しかしながら、ActRIIBと特異的に結合する単離抗体は、他種由来のActRIIB分子などの他の抗原と交差反応性を有する可能性がある。さらに単離抗体は、他の細胞性物質および/または化学物質を実質的に含まない可能性がある。

## 【0045】

用語「交差遮断する」、「交差遮断された」および「交差遮断」は本明細書中で互換的に使用され、標準競合結合アッセイにおけるActRIIB、特にリガンド結合ドメインと他の抗体または結合剤の結合に干渉する、抗体または他の結合剤の能力を意味する。

## 【0046】

本明細書で使用する用語「モノクローナル抗体」または「モノクローナル抗体組成物」は、1分子組成の抗体分子の調製物を指す。モノクローナル抗体組成物は、特定エピトープに対して1つの結合特異性とアフィニティを示す。

## 【0047】

本明細書で使用する用語「ヒト抗体」は、フレームワーク領域とCDR領域の両方がヒト起源の配列に由来する可変領域を有する抗体を含むものとする。さらに、抗体が定常領域を含有する場合、その定常領域も、このようなヒト配列、例えばヒト生殖細胞系列配列、または突然変異型のヒト生殖細胞系列配列、または例えばKnappik, et al. (2000. J Mol Biol 296, 57-86)中に記載されたようなヒトフレームワーク配列分析に由来するコンセンサスフレームワーク配列を含有する抗体に由来する。

## 【0048】

本発明のヒト抗体は、ヒト配列によってコードされないアミノ酸残基（例えば、in vitroランダムもしくは部位特異的突然変異誘発またはin vivo体細胞突然変異によって導入された突然変異体）を含み得る。しかしながら、本明細書で使用する用語「ヒト抗体」は、マウスなどの別の哺乳動物種の生殖細胞系列由来のCDR配列がヒトフレームワーク配列に移植された抗体は含まないものとする。

## 【0049】

用語「ヒトモノクローナル抗体」は、1つの結合特異性を示し、フレームワーク領域とCDR領域の両方がヒト配列に由来する可変領域を有する抗体を指す。一実施形態では、ヒトモノクローナル抗体は、不死化細胞と融合したヒト重鎖導入遺伝子と軽鎖導入遺伝子を含むゲノムを有するトランスジェニック非ヒト動物、例えばトランスジェニックマウスから得たB細胞を含むハイブリドーマによって産生される。

## 【0050】

本明細書で使用する用語「組換えヒト抗体」は、ヒト免疫グロブリン遺伝子に関してトランスジェニックもしくはトランスクロモソーマルである動物（例えばマウス）から単離された抗体またはそこから調製したハイブリドーマ、ヒト抗体を発現するよう形質転換された宿主細胞から、例えばトランスフェクトマから単離された抗体、組換え、コンビナトリアルヒト抗体ライブラリーから単離された抗体、および他のDNA配列とヒト免疫グロブリン遺伝子配列の全部または一部のスプライシングを伴う任意の他の手段によって調

10

20

30

40

50

製、発現、作製または単離された抗体などの、組換え手段によって調製、発現、作製または単離された全てのヒト抗体を含む。このような組換えヒト抗体は、フレームワークおよびCDR領域がヒト生殖細胞系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域を有する。しかしながらある特定の実施形態では、このような組換えヒト抗体に、*in vitro*突然変異誘発（または、ヒトIg配列に関してトランスジェニックな動物を使用するときは、*in vivo*体細胞突然変異誘発）を施すことができ、したがって、組換え抗体のV<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖細胞系列V<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>配列に由来しそれらと関連する一方で、*in vivo*でヒト抗体生殖細胞系列レパートリー内に本来存在し得ない配列である。

【0051】

10

本明細書で使用する「アイソタイプ」は、重鎖定常領域遺伝子によって与えられる抗体クラス（例えば、IgM、IgE、IgG1またはIgG2などのIgG）を指す。

【0052】

語句「抗原を認識する抗体」および「抗原に特異的な抗体」は、本明細書において用語「抗原と特異的に結合する抗体」と互換的に使用される。

【0053】

本明細書で使用する、「ActRIIBポリペプチドと特異的に結合する」抗体は、100nM以下、10nM以下、1nM以下のK<sub>D</sub>でヒトActRIIBポリペプチドと結合する抗体を指すものとする。「ActRIIB以外の抗原と交差反応する」抗体は、 $10 \times 10^{-9}$  M以下、 $5 \times 10^{-9}$  M以下、または $2 \times 10^{-9}$  M以下のK<sub>D</sub>でその抗原と結合する抗体を指すものとする。「特定抗原と交差反応しない」抗体は、 $1.5 \times 10^{-8}$  M以上のK<sub>D</sub>、または $5 \sim 10 \times 10^{-8}$  M、もしくは $1 \times 10^{-7}$  M以上のK<sub>D</sub>でその抗原と結合する抗体を指すものとする。ある特定の実施形態では、抗原と交差反応しないこのような抗体は、標準的結合アッセイにおいて、これらのタンパク質に対してほぼ検出不能な結合を示す。Biacore（登録商標）システムなどのバイオセンサーシステム、または溶液平衡滴定を使用してK<sub>D</sub>を決定することができる。

20

【0054】

本明細書で使用する用語「アンタゴニスト抗体」は、アクチビンもしくはGDF-11などのミオスタチンまたは他のActRIIBリガンドの存在下で、ActRIIB誘導型シグナル伝達活性を阻害する抗体を指すものとする。これを検出するためのアッセイの例には、（例えばSmad依存性レポーター遺伝子アッセイによる）ミオスタチン誘導型シグナル伝達の阻害、ミオスタチン誘導型Smadリン酸化の阻害（P-Smad ELISA）、および（例えばクレアチンキナーゼアッセイによる）骨格筋細胞分化のミオスタチン誘導型阻害の阻害がある。

30

【0055】

幾つかの実施形態では、抗体は、Smad依存性レポーター遺伝子アッセイで測定して、10nM以下、1nM以下、または100pM以下のIC<sub>50</sub>で、ミオスタチン誘導型シグナル伝達を阻害する。

【0056】

本明細書で使用する「アゴニスト活性がない」抗体は、（例えばSmad依存性レポーター遺伝子アッセイによる）ミオスタチン誘導型シグナル伝達の阻害、ミオスタチン誘導型Smadリン酸化の阻害（P-Smad ELISA）、および（例えばクレアチンキナーゼアッセイによる）骨格筋細胞分化のミオスタチン誘導型阻害の阻害などの細胞ベースのアッセイで、ミオスタチンの不在下においてActRIIB媒介シグナル伝達活性を有意に増大しない抗体を指すものとする。このようなアッセイは、以下の実施例中にさらに詳細に記載する。

40

【0057】

本明細書で使用する用語「K<sub>assoc</sub>」または「K<sub>a</sub>」は、特定の抗体-抗原相互作用の会合速度を指すものとし、一方本明細書で使用する用語「K<sub>diss</sub>」または「K<sub>d</sub>」は、特定の抗体-抗原相互作用の解離速度を指すものとする。本明細書で使用する用語「

50

$K_D$ 」は、 $K_d$ と $K_a$ の比（すなわち $K_d / K_a$ ）から得てモル濃度（ $M$ ）として表す、解離定数を指すものとする。当技術分野で十分確立した方法を使用して、抗体に関する $K_D$ 値を決定することができる。抗体の $K_D$ を決定するための方法は、Biacore（登録商標）のバイオセンサーシステムなどの表面プラズモン共鳴、または溶液平衡滴定（SET）を使用することによる方法である（Friguet B et al.(1985)J.Immunol Methods;77(2):305-319、およびHanel C et al.(2005)Anal Biochem;339(1):182-184参照）。

#### 【0058】

本明細書で使用する用語「アフィニティー」は、1つの抗原部位における抗体と抗原の間の相互作用強度を指す。それぞれの抗原部位内では、抗体「アーム」の可変領域が、わずかな非共有結合的力を介して、多数の部位で抗原と相互作用する。相互作用が増すほど、アフィニティーは強くなる。

10

#### 【0059】

本明細書で使用する用語「アビディティー」は、抗体-抗原複合体の全体的な安定性または強度の有益な指標を指す。それは3つの主要な要因、抗体エピトープのアフィニティー、抗原と抗体両方の結合価、および相互作用部分の構造配置によって制御される。最終的にこれらの要因が、抗体の特異性、すなわち特定の抗体が正確な抗原エピトープと結合する可能性を定義する。

#### 【0060】

本明細書で使用する用語「ADCC」または「抗体依存性細胞傷害作用」活性は、ヒトB細胞枯渇活性を指す。当技術分野で知られているヒトB細胞枯渇アッセイによって、ADCC活性を測定することができる。

20

#### 【0061】

高アビディティープローブを得るため、二量体コンジュゲート（FACSマーカーと結合した2分子の抗体タンパク質）を構築することができ、これによってFACSにより一層容易に検出される（生殖細胞系列抗体などとの）低アフィニティー相互作用を可能にする。さらに、抗原結合のアビディティーを増大させるための別の手段は、本明細書に記載する抗AcctRIIB抗体の任意の構築物の二量体、三量体または多量体の生成を含む。このような多量体は、例えば天然C末端とN末端の結合を模倣することによって、またはそれらの定常領域を介して一緒に保たれる抗体二量体を模倣することによって、個々の分子間の共有結合を介して生成することができる。Fc/Fc界面に操作処理される結合は、共有結合または非共有結合であってよい。さらに、Fc以外の二量体化または多量体化パートナーをAcctRIIBハイブリッドにおいて使用して、このような高次構造を作製することができる。例えば、WO2004/039841中に記載された三量体化ドメインまたはWO98/18943中に記載された五量体化ドメインなどの、多量体化ドメインを使用することができる。

30

#### 【0062】

本明細書で使用する用語、抗体に対する「選択性」は、ある特定の標的ポリペプチドと結合するが、近縁のポリペプチドには結合しない抗体を指す。

#### 【0063】

本明細書で使用する用語、抗体に対する「高アフィニティー」は、標的抗原に対して1nM以下の $K_D$ を有する抗体を指す。本明細書で使用する用語「対象」は、任意のヒトまたは非ヒト動物を含む。

40

#### 【0064】

用語「非ヒト動物」は、全ての脊椎動物、例えば哺乳動物および非哺乳動物、例えば非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ニワトリ、両生類、爬虫類などを含む。

#### 【0065】

本明細書で使用する用語「最適化」は、生産細胞または生物、一般に真核生物細胞、例えばピキア酵母（Pichia）の細胞、トリコデルマ属（Trichoderma）の細胞、チャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO）またはヒト細胞において好ましいコドンを使用して、ヌクレオチド配列がアミノ酸配列をコードするように改変されていることを意味する。最適

50

化ヌクレオチド配列を操作処理して、「親」配列としても知られる開始ヌクレオチドによって本来コードされるアミノ酸配列を、完全にまたは可能な限り多く保持する。本明細書の最適化配列はCHO哺乳動物細胞において好ましいコドン有するように操作処理しているが、しかしながら、他の真核生物細胞におけるこれらの配列の最適化発現も本明細書では想定する。最適化ヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列も、最適化状態であると言える。

#### 【0066】

ActRIIB受容体を対象とする抗体はミオスタチンが受容体と結合するのを妨げることができ、したがって、対象において血液学的パラメータに悪影響を与えずに、前記対象におけるグルコース恒常性および/または脂質代謝に影響を与え得ることが発見されている。

10

#### 【0067】

これは、患者/対象における褐色脂肪組織の増大、グルコース恒常性の改善、インスリンレベルの正常化、平均血漿中グルコース濃度の低下および/またはグリコシル化ヘモグロビンの低下のような、代謝的または生理学的影響をもたらす。開示する教示の1つのさらなる利点は、本発明の組成物の投与の前、最中または後に、必ずしも血液学的パラメータをモニタリングする必要がないという事実にある。さらに、従来技術の方法と比較して、適切な血液学的パラメータを有する患者/対象に対しての、開示する組成物の治療を制限する必要がない。例えば、正常を超える赤血球レベル、ヘモグロビンまたはヘマトクリットレベルを有する患者/対象も治療することができる。

20

#### 【0068】

したがって、一態様において本発明は、代謝または生理学的障害に罹患した対象の治療において使用するための、抗ActRIIB抗体、または前記抗体の抗原結合部分を含む機能性タンパク質を含む組成物であって、前記抗体が前記対象における赤血球レベルを増大させることなく褐色脂肪組織(BAT)を増大させる組成物を提供する。一実施形態では、ActRIIBはヒトActRIIBである。ヒトActRIIBのポリペプチド配列は配列番号181(AAC64515.1、GI:3769443)に示す。一実施形態では、抗体または機能性タンパク質は、ヒトまたはラクダなどの起源を有する哺乳動物に由来する。したがって、開示する組成物中に含まれる抗体はキメラ、ヒトまたはヒト化抗体であってよい。特定の実施形態では、開示する組成物中に含まれる抗ActRIIB抗体は、標的タンパク質ActRIIBに特異的でありActRIIBまたはActRIIBの断片と結合する、抗原結合領域を有することを特徴とする。開示する組成物は、代謝または生理学的障害に罹患した対象の治療において使用するのに適しており、代謝障害は平均血漿中グルコース濃度増大、グルコースホメオスタティス異常、血漿中インスリン濃度上昇および/またはインスリン抵抗性をもたらすか、これによって引き起こされる。さらに、開示する組成物を使用して、肥満、2型糖尿病、メタボリックシンドローム、リポジストロフィー、耐糖能異常、血漿中インスリン濃度上昇、インスリン抵抗性、脂質異常症、高血糖症、高脂血症、高血圧症、心血管疾患または呼吸器の問題を含むが、これらには限られない、代謝または生理学的障害を治療することができる。ある特定の態様において本発明は、前記対象における赤血球レベルを増大させることなく、体重増加および肥満を制御するための方法および作用物質を提供する。

30

40

#### 【0069】

一実施形態では、開示する組成物中に含まれる抗体は、アゴニスト活性がゼロであるかまたは低いActRIIBアンタゴニストである。別の実施形態では、開示する組成物中に含まれる抗体または機能性断片は標的タンパク質ActRIIBと結合し、ミオスタチンとActRIIBの結合を基礎レベルまで低下させる。この実施形態のさらなる態様では、開示する組成物中に含まれる抗体または機能性断片は、ActRIIBとの結合からミオスタチンを完全に妨げる。さらなる実施形態では、開示する組成物中に含まれる抗体または機能性断片はSmad活性化を阻害する。さらなる実施形態では、開示する組成物中に含まれる抗体または機能性断片は、Smad依存性経路を介して骨格分化のアクチビ

50

ン受容体 I I B 型媒介ミオスタチン誘導型阻害を阻害する。

【 0 0 7 0 】

抗体によるアンタゴニズムまたはアゴニズムのいずれかである活性を測定するために使用することができる 1 つまたは複数のアッセイによって、結合を決定することができる。アッセイは、E L I S A による A c t R I I B とのミオスタチン結合の阻害、（例えば S m a d 依存性レポーター遺伝子アッセイによる）ミオスタチン誘導型シグナル伝達の阻害、ミオスタチン誘導型 S m a d リン酸化の阻害（P - S m a d E L I S A ）および（例えばクレアチンキナーゼアッセイによる）骨格筋細胞分化のミオスタチン誘導型阻害の阻害を含めた A c t R I I B に対する抗体の影響の少なくとも 1 つを測定することが好ましい。

10

【 0 0 7 1 】

一実施形態では本発明は、A c t R I I B のミオスタチン結合領域（すなわち、リガンド結合ドメイン）と特異的に結合する抗体を含む組成物を提供する。このリガンド結合ドメインは配列番号 1 8 1 のアミノ酸 1 9 ~ 1 3 4 からなり、本明細書では配列番号 1 8 2 を割り当てている。リガンド結合ドメインは、幾つかの以下に記載するエピトープを含む。

【 0 0 7 2 】

一実施形態では、開示する組成物中に含まれる抗体は、1 0 0 n M 以下、1 0 n M 以下、1 n M 以下の  $K_D$  で A c t R I I B と結合する。開示する組成物中に含まれる抗体は、1 0 0 p M 以下（すなわち 1 0 0 p M、5 0 p M、1 0 p M、1 p M 以下）のアフィニティーで A c t R I I B と結合することが好ましい。一実施形態では、開示する組成物中に含まれる抗体は、1 0 p M と 2 0 p M の間のアフィニティーで A c t R I I B と結合する。

20

【 0 0 7 3 】

一実施形態では、開示する組成物中に含まれる抗体は A c t R I I B 関連タンパク質と交差反応しない、特にヒト A c t R I I A （N P \_ 0 0 1 6 0 7 . 1、G I : 4 5 0 1 8 9 7 ）と交差反応しない、より詳細には開示する組成物中に含まれる抗体は、それらが A c t R I I A と結合するより 5 倍、より好ましくは 1 0 倍、さらにより好ましくは 5 0 倍、さらにより好ましくは 1 0 0 倍を超えるアフィニティーで A c t R I I B と結合する。

【 0 0 7 4 】

一実施形態では、開示する組成物中に含まれる抗体は、1 0 0 p M 以上（すなわち 2 5 0 p M、5 0 0 p M、1 n M、5 n M 以上）のアフィニティーで A c t R I I A と結合する。

30

【 0 0 7 5 】

一実施形態では、開示する組成物中に含まれる抗体は I g G 2 アイソタイプの抗体である。

【 0 0 7 6 】

別の実施形態では、開示する組成物中に含まれる抗体は I g G 1 アイソタイプの抗体である。さらなる実施形態では、開示する組成物中に含まれる抗体は I g G 1 アイソタイプの抗体であり、F c 領域の突然変異により改変されたエフェクター機能を有する。前記改変されたエフェクター機能は、低下した A D C C および C D C 活性であり得る。一実施形態では、前記改変されたエフェクター機能は、抑制された A D C C および C D C 活性である。

40

【 0 0 7 7 】

別の関連実施形態では、開示する組成物中に含まれる抗体は、抗体依存性細胞傷害作用（A D C C ）活性または C D C 活性がない完全ヒトまたはヒト化 I g G 1 抗体であり、配列番号 1 8 1 のアミノ酸 1 9 ~ 1 3 4 からなる A c t R I I B の領域と結合する。

【 0 0 7 8 】

別の関連実施形態では、開示する組成物中に含まれる抗体は、抗体依存性細胞傷害作用（A D C C ）活性または C D C 活性が低下した完全ヒトまたはヒト化 I g G 1 抗体であり

50

、配列番号181のアミノ酸19～134からなるA c t R I I Bの領域と結合する。

【0079】

本開示は、赤血球レベルを増大させることなく褐色脂肪組織を増大させる対象における治療において使用するための、ヒトまたはヒト化A c t R I I B抗体を含む組成物に関する。

【0080】

本開示は、患者において平均血漿中グルコース濃度増大、グルコースホメオスタティス異常、血漿中インスリン濃度上昇および/またはインスリン抵抗性によって引き起こされる代謝障害を治療する際に使用するための、ヒトまたはヒト化A c t R I I B抗体を含む組成物に関する。開示する組成物の施用は、前記対象における赤血球レベルを増大させることなく、平均血漿中グルコース濃度の低下、グルコース恒常性および/または血漿中インスリン濃度の正常化をもたらす。平均血漿中グルコース濃度は、糖化ヘモグロビン(グリコシル化ヘモグロビン、ヘモグロビンA1c、HbA1c、A1C、Hb1cまたはHbA1c)のレベルを決定することにより測定することができる(H.B.Chandalia and P. R.Krishnaswamy, Current Science, Vol.83, No.12, 25 December 2002)。

【0081】

本開示は、前記対象における赤血球レベルを増大させることなく、褐色脂肪組織を増大させる、および/または平均血漿中グルコース濃度を低下させる(例えば、高血糖症)ヒトまたはヒト化A c t R I I B抗体を含む組成物に関する。ある特定の実施形態では、開示する組成物中に含まれる抗体は特定重鎖および軽鎖配列に由来する、および/または特定アミノ酸配列を含むCDR領域などの特定構造特徴を含む。本開示は、単離A c t R I I B抗体、このような抗体の作製法、このような抗体を含むイムノコンジュゲートおよび多価または多重特異性分子、および抗体、イムノコンジュゲートまたは二重特異性分子を含有する医薬組成物を提供する。

【0082】

別の実施形態では、本開示は、赤血球レベルを増大させることなく、対象において平均血漿中グルコース濃度を低下させるため、対象を治療する際に使用するための、A c t R I I Bと結合する抗体を含む組成物に関する。

【0083】

開示する組成物によって治療される代謝または生理的障害は、肥満、2型糖尿病、メタボリックシンドロームまたはリポジストロフィー、耐糖能異常、血漿中インスリン濃度上昇、インスリン抵抗性、脂質異常症、高血糖症、高脂血症、高血圧症、心血管疾患および呼吸器の問題からなる群から選択することができる。別の実施形態では、開示する組成物で治療する患者は、代謝または生理的および筋肉障害に罹患している。コルチゾール、デキサメタゾン、ベタメタゾン、プレドニゾン、メチルプレドニゾロン、またはプレドニゾロンなどの糖質コルチコイドを用いた治療の結果としての障害を含めた、筋肉障害(例えば萎縮)の多くの原因が存在する。筋萎縮症は、神経外傷が原因の脱神経の結果、または変性、代謝性、もしくは炎症性神経障害(例えば、ギランバレー症候群、末梢性神経障害、または環境中毒素もしくは薬剤への曝露)の結果でもあり得る。

【0084】

さらに筋萎縮症は、ミオトニー、ネマリンミオパチー、多核/小核ミオパチーおよび筋細管(中心核)ミオパチーを含めた先天性ミオパチー、ミトコンドリアミオパチー、家族性周期性四肢麻痺、炎症性ミオパチー、グリコーゲンまたは脂質貯蔵疾患などによって引き起こされる代謝性ミオパチー、皮膚筋炎、多発性筋炎、封入体筋炎、骨化性筋炎、横紋筋融解およびミオグロビン尿症などのミオパチーの結果であり得る。さらに、用語筋萎縮症は、肥満関連筋肉減少症、筋肉減少症、または糖尿病関連筋萎縮症にも関する。

【0085】

ミオパチーは、デュシェンヌ型、ベッカー型、ミオトニー性、顔面肩甲上腕型、エメリー・ドレイフス型、眼咽頭型、肩甲上腕型筋、肢帯型筋、フクヤマ型、先天性筋ジストロフィー、または遺伝性遠位型ミオパチーなどの筋ジストロフィー症候群によって引き起こさ

10

20

30

40

50



れる可能性がある。筋骨格疾患は骨粗しょう症、骨折、低身長、または小人症である可能性もある。

【 0 0 8 6 】

さらに筋萎縮症は、成人発症運動ニューロン疾患、小児脊髄性筋萎縮症、筋萎縮性側索硬化症、若年性脊髄性筋萎縮症、多巣性コンダクターブロック (conductor block) を伴う自己免疫運動ニューロパチー、脳卒中または脊髄損傷が原因の麻痺、外傷、長期間のベッドでの安静、随意的不活動、不随意的不活動が原因の骨格固定、代謝ストレスまたは栄養不足、癌、A I D S、飢餓、甲状腺障害、良性先天性筋緊張低下、中心核病、熱傷、慢性閉塞性肺疾患、肝臓疾患 (線維症、肝硬変など数例)、敗血症、腎不全、うっ血性心不全、加齢、宇宙旅行または無重力環境での時間消費の結果であり得る。

10

【 0 0 8 7 】

治療することができる加齢状態の例には、筋肉減少症、皮膚萎縮症または筋消耗がある。

【 0 0 8 8 】

治療は、代謝障害の完全な不在をもたらすことができる。本文脈において、用語「完全な不在」は、関連する生理的 / 代謝パラメータの測定に基づき、当業者により健康である (全てのパラメータが正常範囲内にある) と考えられる、人間の生理的条件または状態を指す。当業者は、関連する生理的 / 代謝パラメータおよびそれらの決定法を十分理解している。前記パラメータは、調べた加齢状態または代謝障害に基づき、当業者 (例えば内科医) によって選択される。対象における代謝障害の特性が本発明の組成物を与えなかった対象より有意に明白性が低いように、治療結果は部分的である可能性もある。部分的治療結果は、疾患症状の重症度の低減、無疾患症状期の頻度および期間の増大、または疾患による苦痛が原因である欠陥もしくは身体障害の予防であり得る。本文脈において、用語「有意に明白性が低い代謝障害」は、関連する生理的 / 代謝パラメータの測定に基づき、本発明の組成物を用いた治療後、当業者により完全に健康であるとは考えられない (パラメータが依然正常範囲外である可能性がある) が、(ある特定のパラメータの増大もしくは減少であり得る) 関連する生理的 / 代謝パラメータの有意な改善が観察された、人間の生理的条件または状態を指す。有意な改善または減少は、例えば対照群またはプラセボ群の個体と比較した、個々の患者の治療結果の比較によって確認することができる。

20

【 0 0 8 9 】

本発明の様々な態様を、以下の小区分においてさらに詳細に記載する。例えば E L I S A、ウエスタンブロットおよび R I A を含めた、様々な種の A c t R I I B に対する抗体の結合能力を評価するための標準的アッセイが当技術分野で知られている。適切なアッセイは実施例中に詳細に記載する。抗体の結合アフィニティーも、B i a c o r e 分析または溶液平衡滴定などにより、当技術分野で知られている標準的アッセイによって評価することができる。B i a c o r e などの表面プラズモン共鳴ベースの技法は、結合アフィニティーの計算を可能にする結合キネティクスを決定することができる。A c t R I I B の機能性 (例えば、受容体結合、ヒト B 細胞増殖または I g G 産生の予防または誘導) に対する抗体の影響を評価するためのアッセイは、実施例中にさらに詳細に記載する。

30

【 0 0 9 0 】

したがって、当技術分野で知られており本明細書中に記載する方法に従い決定される 1 つまたは複数のこれらの A c t R I I B 機能性 (例えば、生化学的、免疫化学的、細胞学的、生理学的または他の生物学的活性など) を「阻害する」抗体は、抗体の不在下 (例えば、または無関係な特異性の対照抗体の存在時) において見られるそれと比較した、特定活性の統計学上有意な低下と関連があることは理解されよう。A c t R I I B 活性を阻害する抗体は、測定パラメータの少なくとも 10 %、少なくとも 50 %、80 % または 90 % このような統計学上有意な低下に影響を与え、ある特定の実施形態では、本発明の抗体は 95 %、98 % または 99 % を超える A c t R I I B の機能活性を阻害することができる。

40

【 0 0 9 1 】

50

抗体または他の結合剤が A c t R I I B と別の抗体または結合分子の結合に干渉することができる能力または程度、したがって本開示に従いそれを交差遮断とすることができるかどうかは、標準的競合結合アッセイを使用して決定することができる。1つの適切なアッセイは、表面プラズモン共鳴技術を使用して相互作用の程度を測定することができる、(例えば、B I A c o r e 機器 (B i a c o r e、U p p s a l a、スウェーデン)の使用による) B i a c o r e 技術の使用を含む。交差遮断を測定するための別のアッセイは、E L I S A ベースの手法を使用する。さらなるアッセイは、(実施例中に記載するように) A c t R I I B 発現細胞との結合に関する様々な抗体の競合を試験する、F A C S 分析を使用する。

#### 【0092】

本開示によれば、本開示による交差遮断抗体または他の結合剤は、抗体または結合剤の組合せ(混合物)の記録する結合値が、組み合わせた2つの抗体または結合剤の(前に定義した)、理論上の最大結合の80%と0.1%の間(例えば、80%~4%)、具体的には理論上の最大結合の75%と0.1%の間(例えば、75%~4%)、およびより具体的には理論上の最大結合の70%と0.1%の間(例えば、70%~4%)、およびより具体的には理論上の最大結合の65%と0.1%の間(例えば、65%~4%)であるように、記載する B I A c o r e 交差遮断アッセイにおいて A c t R I I B と結合する。

#### 【0093】

陽性対照ウエル(すなわち、同じ抗 A c t R I I B 抗体および A c t R I I B、ただし「試験」交差遮断抗体なし)と比較して、試験抗体が60%と100%の間、具体的には70%と100%の間、およびより具体的には80%と100%の間の A c t R I I B と抗 A c t R I I B 抗体の結合の低減を引き起こすことができる場合、E L I S A アッセイにおいて本開示の抗 A c t R I I B 抗体を交差遮断するとして抗体を定義する。本明細書に引用する交差遮断抗体の例は、M O R 0 8 1 5 9 および M O R 0 8 2 1 3 である。したがって本発明は、A c t R I I B との結合に関して M O R 0 8 1 5 9 または M O R 0 8 2 1 3 を交差遮断する抗体を含む組成物を提供する。

#### 【0094】

##### 組換え抗体

本発明の組成物中に含まれる抗体は、実施例中に記載したように単離し構造的に特徴付けた、ヒト組換え抗体を含む。本発明の組成物中に含まれる抗体の V<sub>H</sub> アミノ酸配列は、配列番号99~112で示す。本発明の組成物中に含まれる抗体の V<sub>L</sub> アミノ酸配列は、それぞれ配列番号85~98で示す。本発明の組成物中に含まれる抗体の好ましい完全長重鎖アミノ酸配列の例は、配列番号146~150および156~160で示す。本発明の組成物中に含まれる抗体の好ましい完全長軽鎖アミノ酸配列の例は、それぞれ配列番号141~145および151~155で示す。本発明の組成物中に含まれる他の抗体は、アミノ酸欠失、挿入または置換によって突然変異しており、前に記載した配列中に示す C D R 領域と少なくとも60、70、80、90、95、97または99%の C D R 領域の同一性を依然として有するアミノ酸を含む。幾つかの実施形態では、それは、前に記載した配列中に示す C D R 領域と比較したとき、C D R 領域中の1、2、3、4または5個を超えないアミノ酸がアミノ酸欠失、挿入または置換によって突然変異している、突然変異型アミノ酸配列を含む。

#### 【0095】

さらに、可変重鎖親ヌクレオチド配列は配列番号127~140で示す。可変軽鎖親ヌクレオチド配列は配列番号113~126で示す。哺乳動物細胞中での発現に最適化した完全長軽鎖ヌクレオチド配列は、配列番号161~165および171~175で示す。哺乳動物細胞中での発現に最適化した完全長重鎖ヌクレオチド配列は、配列番号166~170および176~180で示す。本発明の組成物中に含まれる他の抗体は、突然変異しており前に記載した配列と少なくとも60%以上(すなわち80、90、95、97、99%以上)の同一性を依然として有するアミノ酸を含むか、そのような核酸によってコードされている。幾つかの実施形態では、それは、前に記載した配列中に示す可変領域と

10

20

30

40

50

比較したとき、可変領域中の 1、2、3、4 または 5 個を超えないアミノ酸がアミノ酸欠失、挿入または置換によって突然変異している、突然変異型アミノ酸配列を含む。

【0096】

これらの抗体の各々は同じエピトープと結合し、同じ親抗体からの子孫であるので、 $V_H$ 、 $V_L$ 、完全長軽鎖、および完全長重鎖配列（ヌクレオチド配列とアミノ酸配列）を「混合および合致」させて、本発明の他の抗 A c t R I I B 結合分子を作製することができる。このような「混合および合致」抗体の A c t R I I B 結合は、前および実施例中に記載した結合アッセイ（例えば E L I S A）を使用して試験することができる。これらの鎖を混合および合致させるとき、特定  $V_H$  /  $V_L$  対からの  $V_H$  配列は構造上類似した  $V_H$  配列で置換しなければならない。同様に、特定完全長重鎖 / 完全長軽鎖対からの完全長重鎖配列は、構造上類似した完全長重鎖配列で置換しなければならない。同様に、特定  $V_H$  /  $V_L$  対からの  $V_L$  配列は、構造上類似した  $V_L$  配列で置換しなければならない。同様に、特定完全長重鎖 / 完全長軽鎖対からの完全長軽鎖配列は、構造上類似した完全長軽鎖配列で置換しなければならない。したがって一態様では、本発明は、配列番号 99 ~ 112 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号 85 ~ 98 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する、組換え抗 A c t R I I B 抗体またはその抗原結合領域を含む組成物を提供する。

10

【0097】

別の態様では、本発明は、

(i) 配列番号 99 ~ 112 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む完全長重鎖、および配列番号 85 ~ 98 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む完全長軽鎖を有する単離組換え抗 A c t R I I B 抗体、または

20

(ii) その抗原結合部分を含む機能性タンパク質を含む組成物を提供する。

【0098】

別の態様では、本発明は、

(i) 配列番号 127 ~ 140 からなる群から選択される哺乳動物細胞中での発現に最適化したヌクレオチド配列によってコードされる完全長重鎖、および配列番号 113 ~ 126 からなる群から選択される哺乳動物細胞中での発現に最適化したヌクレオチド配列によってコードされる完全長軽鎖を有する単離組換え抗 A c t R I I B 抗体、または

30

(ii) その抗原結合部分を含む機能性タンパク質を含む組成物を提供する。

【0099】

本発明の組成物中に含まれる抗体の  $V_H$  C D R 1 のアミノ酸配列の例は、配列番号 1 ~ 14 で示す。抗体の  $V_H$  C D R 2 のアミノ酸配列は配列番号 15 ~ 28 で示す。抗体の  $V_H$  C D R 3 のアミノ酸配列は配列番号 29 ~ 42 で示す。抗体の  $V_L$  C D R 1 のアミノ酸配列は配列番号 43 ~ 56 で示す。抗体の  $V_L$  C D R 2 のアミノ酸配列は配列番号 57 ~ 70 で示す。抗体の  $V_L$  C D R 3 のアミノ酸配列は配列番号 71 ~ 84 で示す。C D R 領域は K a b a t のシステム (Kabat, E.A., et al., 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S.Department of Health and Human Services, NIH Publication No.91-3242) を使用して示す。C D R 領域を決定する別の方法は、C h o t h i a (Chothia et al.1989, Nature, 342:877-883) によって考案された方法を使用する。C h o t h i a の定義は構造ループ領域の位置に基づく。しかしながら、C h o t h i a により使用されたナンバリングシステムの変更が原因で（例えば、<http://www.biochem.ucl.ac.uk/~martin/abs/GeneralInfo.html> および <http://www.bioinf.org.uk/abs/>（参照））、このシステムは現在あまり一般的には使用されていない。C D R を定義するための他のシステムが存在し、この 2 つのウェブサイト中でも言及されている。

40

【0100】

これらの抗体の各々が A c t R I I B と結合可能であること、および抗原結合特異性が主に C D R 1、2 および 3 領域によって与えられることを仮定すると、 $V_H$  C D R 1、2

50

および3配列とV<sub>L</sub>CDR1、2および3配列を「混合および合致」させることが可能である(すなわち、異なる抗体由来のCDRを混合および合致させることが可能であり、V<sub>H</sub>CDR1、2および3ならびにV<sub>L</sub>CDR1、2および3を含有する各々の抗体が本発明の他の抗A c t R I I B結合分子を形成する)。このような「混合および合致」型抗体のA c t R I I B結合は、前および実施例中に記載した結合アッセイ(例えばE L I S A)を使用して試験することができる。V<sub>H</sub>CDR配列を混合および合致させるとき、特定のV<sub>H</sub>配列由来のCDR1、CDR2および/またはCDR3配列は、構造上類似したCDR配列(複数可)で置換しなければならない。

【0101】

同様に、V<sub>L</sub>CDR配列を混合および合致させるとき、特定のV<sub>L</sub>配列由来のCDR1、CDR2および/またはCDR3配列は、構造上類似したCDR配列(複数可)で置換しなければならない。モノクローナル抗体に関して本明細書に示すCDR配列由来の構造上類似した配列で1つまたは複数のV<sub>H</sub>および/またはV<sub>L</sub>CDR領域配列を置換することによって、新規なV<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>配列を作製することができることは、当業者には容易に明らかとなる。

【0102】

本発明の組成物中に含まれる抗A c t R I I B抗体、またはその抗原結合領域は、配列番号1~14からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域CDR1、配列番号15~28からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域CDR2、配列番号29~42からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域CDR3、配列番号43~56からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域CDR1、配列番号57~70からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域CDR2、および配列番号71~84からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域CDR3を有する。

【0103】

一実施形態では、本発明の組成物中に含まれる抗体は、配列番号1の重鎖可変領域CDR1、配列番号15の重鎖可変領域CDR2、配列番号29の重鎖可変領域CDR3、配列番号43の軽鎖可変領域CDR1、配列番号57の軽鎖可変領域CDR2、および配列番号71の軽鎖可変領域CDR3を含む。

【0104】

一実施形態では、本発明の組成物中に含まれる抗体は、配列番号2の重鎖可変領域CDR1、配列番号16の重鎖可変領域CDR2、配列番号30の重鎖可変領域CDR3、配列番号44の軽鎖可変領域CDR1、配列番号58の軽鎖可変領域CDR2、および配列番号72の軽鎖可変領域CDR3を含む。

【0105】

一実施形態では、本発明の組成物中に含まれる抗体は、配列番号3の重鎖可変領域CDR1、配列番号17の重鎖可変領域CDR2、配列番号31の重鎖可変領域CDR3、配列番号45の軽鎖可変領域CDR1、配列番号59の軽鎖可変領域CDR2、および配列番号73の軽鎖可変領域CDR3を含む。

【0106】

一実施形態では、本発明の組成物中に含まれる抗体は、配列番号4の重鎖可変領域CDR1、配列番号18の重鎖可変領域CDR2、配列番号32の重鎖可変領域CDR3、配列番号46の軽鎖可変領域CDR1、配列番号60の軽鎖可変領域CDR2、および配列番号74の軽鎖可変領域CDR3を含む。

【0107】

一実施形態では、本発明の組成物中に含まれる抗体は、配列番号5の重鎖可変領域CDR1、配列番号19の重鎖可変領域CDR2、配列番号33の重鎖可変領域CDR3、配列番号47の軽鎖可変領域CDR1、配列番号61の軽鎖可変領域CDR2、および配列番号75の軽鎖可変領域CDR3を含む。

【0108】

一実施形態では、本発明の組成物に含まれる抗体は、配列番号 6 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 2 0 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 3 4 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 4 8 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 6 2 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 7 6 の軽鎖可変領域 C D R 3 を含む。

【 0 1 0 9 】

一実施形態では、本発明の組成物に含まれる抗体は、配列番号 7 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 2 1 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 3 5 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 4 9 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 6 3 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 7 7 の軽鎖可変領域 C D R 3 を含む。

【 0 1 1 0 】

一実施形態では、本発明の組成物に含まれる抗体は、配列番号 8 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 2 2 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 3 6 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 5 0 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 6 4 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 7 8 の軽鎖可変領域 C D R 3 を含む。

【 0 1 1 1 】

一実施形態では、本発明の組成物に含まれる抗体は、配列番号 9 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 2 3 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 3 7 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 5 1 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 6 5 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 7 9 の軽鎖可変領域 C D R 3 を含む。

【 0 1 1 2 】

一実施形態では、本発明の組成物に含まれる抗体は、配列番号 1 0 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 2 4 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 3 8 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 5 2 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 6 6 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 8 0 の軽鎖可変領域 C D R 3 を含む。

【 0 1 1 3 】

一実施形態では、本発明の組成物に含まれる抗体は、配列番号 1 1 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 2 5 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 3 9 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 5 3 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 6 7 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 8 1 の軽鎖可変領域 C D R 3 を含む。

【 0 1 1 4 】

一実施形態では、本発明の組成物に含まれる抗体は、配列番号 1 2 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 2 6 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 4 0 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 5 4 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 6 8 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 8 2 の軽鎖可変領域 C D R 3 を含む。

【 0 1 1 5 】

一実施形態では、本発明の組成物に含まれる抗体は、配列番号 1 3 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 2 7 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 4 1 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 5 5 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 6 9 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 8 3 の軽鎖可変領域 C D R 3 を含む。

【 0 1 1 6 】

一実施形態では、本発明の組成物に含まれる抗体は、配列番号 1 4 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 2 8 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 4 2 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 5 6 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 7 0 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 8 4 の軽鎖可変領域 C D R 3 を含む。

【 0 1 1 7 】

一実施形態では、本発明は、( a ) 配列番号 8 5 の可変重鎖配列および配列番号 9 9 の可変軽鎖配列、( b ) 配列番号 8 6 の可変重鎖配列および配列番号 1 0 0 の可変軽鎖配列、( c ) 配列番号 8 7 の可変重鎖配列および配列番号 1 0 1 の可変軽鎖配列、( d ) 配列番号 8 8 の可変重鎖配列および配列番号 1 0 2 の可変軽鎖配列、( e ) 配列番号 8 9 の可変重鎖配列および配列番号 1 0 3 の可変軽鎖配列、( f ) 配列番号 9 0 の可変重鎖配列お

10

20

30

40

50

および配列番号 104 の可変軽鎖配列、(g) 配列番号 91 の可変重鎖配列および配列番号 105 の可変軽鎖配列、(h) 配列番号 92 の可変重鎖配列および配列番号 106 の可変軽鎖配列、(i) 配列番号 93 の可変重鎖配列および配列番号 107 の可変軽鎖配列、(j) 配列番号 94 の可変重鎖配列および配列番号 108 の可変軽鎖配列、(k) 配列番号 95 の可変重鎖配列および配列番号 109 の可変軽鎖配列、(l) 配列番号 96 の可変重鎖配列および配列番号 110 の可変軽鎖配列、(m) 配列番号 97 の可変重鎖配列および配列番号 111 の可変軽鎖配列、または(n) 配列番号 98 の可変重鎖配列および配列番号 112 の可変軽鎖配列を含む抗体を含む組成物を提供する。

【0118】

一実施形態では、本発明は、(a) 配列番号 146 の重鎖配列および配列番号 141 の軽鎖配列、(b) 配列番号 147 の重鎖配列および配列番号 142 の軽鎖配列、(c) 配列番号 148 の重鎖配列および配列番号 143 の軽鎖配列、(d) 配列番号 149 の重鎖配列および配列番号 144 の軽鎖配列、(e) 配列番号 150 の重鎖配列および配列番号 145 の軽鎖配列、(f) 配列番号 156 の重鎖配列および配列番号 151 の軽鎖配列、(g) 配列番号 157 の重鎖配列および配列番号 152 の軽鎖配列、(h) 配列番号 158 の重鎖配列および配列番号 153 の軽鎖配列、(i) 配列番号 159 の重鎖配列および配列番号 154 の軽鎖配列、または(j) 配列番号 160 の重鎖配列および配列番号 155 の軽鎖配列を含む抗体を含む組成物を提供する。

【0119】

本明細書で使用するように、ヒト抗体は、ヒト生殖細胞系列免疫グロブリン遺伝子を使用するシステムから抗体の可変領域または完全長鎖を得る場合、特定生殖細胞系列配列の「産物」であるかまたはそれに「由来する」重鎖もしくは軽鎖可変領域または完全長の重鎖もしくは軽鎖を含む。このようなシステムは、対象とする抗原を用いたヒト免疫グロブリン遺伝子を有するトランスジェニックマウスの免疫処置、または対象とする抗原を用いたファージ上に提示されるヒト免疫グロブリン遺伝子ライブラリーのスクリーニングを含む。ヒト生殖細胞系列免疫グロブリン配列の「産物」であるかまたはそれに「由来する」ヒト抗体は、ヒト抗体のアミノ酸配列とヒト生殖細胞系列免疫グロブリンのアミノ酸配列の比較、およびヒト抗体の配列と配列が最も類似した(すなわち、同一性%が最大の)ヒト生殖細胞系列免疫グロブリン配列の選択などによって同定することができる。特定のヒト生殖細胞系列免疫グロブリン配列の「産物」であるかまたはそれに「由来する」ヒト抗体は、例えば天然に存在する体細胞突然変異または意図的な部位特異的突然変異の導入により、生殖細胞系列配列との比較におけるアミノ酸差異を含有し得る。しかしながら、選択するヒト抗体は、典型的には、ヒト生殖細胞系列免疫グロブリン遺伝子によってコードされるアミノ酸配列とアミノ酸配列が少なくとも90%同一であり、他種の生殖細胞系列免疫グロブリンアミノ酸配列(例えば、マウス生殖細胞系列配列)と比較したとき、ヒトのものとしてヒト抗体を同定するアミノ酸残基を含有する。ある特定の場合、ヒト抗体は生殖細胞系列免疫グロブリン遺伝子によってコードされるアミノ酸配列とアミノ酸配列が少なくとも80%、90%、または少なくとも95%、またはさらに少なくとも96%、97%、98%、または99%同一であってよい。典型的には、特定ヒト生殖細胞系列配列に由来するヒト抗体は、ヒト生殖細胞系列免疫グロブリン遺伝子によってコードされるアミノ酸配列と、10個を超えないアミノ酸差異を示す。ある特定の場合、ヒト抗体は、生殖細胞系列免疫グロブリン遺伝子によってコードされるアミノ酸配列と、5個を超えない、またはさらに4、3、2、または1個を超えないアミノ酸差異を示し得る。

【0120】

一実施形態では、本発明の組成物中に含まれる抗体は、(それぞれ寄託番号DSM22873およびDSM22874の下、2009年8月18日にDSMZ、Inhoffenstr. 7B、D-38124 Braunschweig、ドイツにおいて寄託された)pBW522またはpBW524によってコードされる抗体である。

【0121】

相同抗体

さらに別の実施形態では、本発明の組成物に含まれる抗体は、完全長重鎖および軽鎖アミノ酸配列、完全長重鎖および軽鎖ヌクレオチド配列、可変領域重鎖および軽鎖ヌクレオチド配列、または本明細書に記載する抗体のアミノ酸およびヌクレオチド配列と相同的な可変領域重鎖および軽鎖アミノ酸配列を有し、これらの抗体は本発明の抗 A c t R I I B 抗体の望ましい機能性を保持する。

#### 【 0 1 2 2 】

例えば、本発明は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、単離組換え抗 A c t R I I B 抗体、（またはその抗原結合部分を含む機能性タンパク質）を含む組成物を提供し、重鎖可変領域は配列番号 99 ~ 112 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 80 %、または少なくとも 90 %（好ましくは少なくとも 95、97 または 99 %）同一であるアミノ酸配列を含み、軽鎖可変領域は、配列番号 85 ~ 98 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 80 %、または少なくとも 90 %（好ましくは少なくとも 95、97 または 99 %）同一であるアミノ酸配列を含み、あるいは組成物は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、組換え抗 A c t R I I B 抗体、（またはその抗原結合部分を含む機能性タンパク質）を含み、重鎖可変領域は配列番号 99 ~ 112 からなる群から選択されるアミノ酸配列と比較して、5 個を超えないアミノ酸、または 4 個を超えないアミノ酸、または 3 個を超えないアミノ酸、または 2 個を超えないアミノ酸、または 1 個を超えないアミノ酸変化を含み、軽鎖可変領域は配列番号 85 ~ 98 からなる群から選択されるアミノ酸配列と比較して、5 個を超えないアミノ酸、または 4 個を超えないアミノ酸、または 3 個を超えないアミノ酸、または 2 個を超えないアミノ酸、または 1 個を超えないアミノ酸変化を含み、抗体は、以下の機能性：（i）in vitro もしくは in vivo でのミオスタチン結合の阻害、（ii）Smad 依存性経路を介した筋肉分化の阻害の低下、および / または（iii）血液学的変化を誘導しないこと、特に RBC の変化がないことの少なくとも 1 つを示す。本文脈において、用語「変化」は挿入、欠失および / または置換を指す。

#### 【 0 1 2 3 】

さらなる例では、本発明は、完全長重鎖および完全長軽鎖を含む、単離組換え抗 A c t R I I B 抗体、（またはその抗原結合部分を含む機能性タンパク質）を含む組成物を提供し、完全長重鎖は配列番号 146 ~ 150 および 156 ~ 160 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 80 %、または少なくとも 90 %（好ましくは少なくとも 95、97 または 99 %）同一であるアミノ酸配列を含み、完全長軽鎖は、配列番号 141 ~ 145 および 151 ~ 155 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 80 %、または少なくとも 90 %（好ましくは少なくとも 95、97 または 99 %）同一であるアミノ酸配列を含み、あるいは組成物は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、組換え抗 A c t R I I B 抗体（またはその抗原結合部分を含む機能性タンパク質）を含み、重鎖可変領域は配列番号 146 ~ 150 および 156 ~ 160 からなる群から選択されるアミノ酸配列と比較して、5 個を超えないアミノ酸、または 4 個を超えないアミノ酸、または 3 個を超えないアミノ酸、または 2 個を超えないアミノ酸、または 1 個を超えないアミノ酸変化を含み、軽鎖可変領域は配列番号 141 ~ 145 および 151 ~ 155 からなる群から選択されるアミノ酸配列と比較して、5 個を超えないアミノ酸、または 4 個を超えないアミノ酸、または 3 個を超えないアミノ酸、または 2 個を超えないアミノ酸、または 1 個を超えないアミノ酸変化を含み、抗体は、以下の機能性：（i）in vitro もしくは in vivo でのミオスタチン結合の阻害、（ii）Smad 依存性経路を介した筋肉分化の阻害の低下、および / または（iii）血液学的変化を誘導しないこと、特に RBC の変化がないことの少なくとも 1 つを示す。このような抗体は、A c t R I I B のリガンド結合ドメインと結合することが好ましい。本文脈において、用語「変化」は挿入、欠失および / または置換を指す。

#### 【 0 1 2 4 】

別の例では、本発明は、完全長重鎖および完全長軽鎖を含む、単離組換え抗 A c t R I I B 抗体、（またはその抗原結合部分を含む機能性タンパク質）を含む組成物を提供し、

完全長重鎖は、配列番号 166 ~ 170 および 176 ~ 180 からなる群から選択されるヌクレオチド配列と少なくとも 80 %、または少なくとも 90 % (好ましくは少なくとも 95、97 または 99 %) 同一であるヌクレオチド配列によってコードされ、完全長軽鎖は、配列番号 161 ~ 165 および 171 ~ 175 からなる群から選択されるヌクレオチド配列と少なくとも 80 %、または少なくとも 90 % (好ましくは少なくとも 95、97 または 99 %) 同一であるヌクレオチド配列によってコードされる。あるいは組成物は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、組換え抗 A c t R I I B 抗体、(またはその抗原結合部分を含む機能性タンパク質) を含み、重鎖可変領域は配列番号 166 ~ 170 および 176 ~ 180 からなる群から選択されるアミノ酸配列と比較して、5 個を超えないアミノ酸、または 4 個を超えないアミノ酸、または 3 個を超えないアミノ酸、または 2 個を超えないアミノ酸、または 1 個を超えないアミノ酸変化を含み、軽鎖可変領域は配列番号 161 ~ 165 および 171 ~ 175 からなる群から選択されるアミノ酸配列と比較して、5 個を超えないアミノ酸、または 4 個を超えないアミノ酸、または 3 個を超えないアミノ酸、または 2 個を超えないアミノ酸、または 1 個を超えないアミノ酸変化を含み、抗体は、以下の機能性: (i) *in vitro* もしくは *in vivo* でのミオスタチン結合の阻害、(ii) S m a d 依存性経路を介した筋肉分化の阻害の低下、および / または (iii) 血液学的変化を誘導しないこと、特に R B C の変化がないことの少なくとも 1 つを示す。このような抗体は、A c t R I I B のリガンド結合ドメインと結合することが好ましい。本文脈において、用語「変化」は挿入、欠失および / または置換を指す。

#### 【0125】

様々な実施形態において、本発明の組成物中に含まれる抗体は、1 つまたは複数の、2 つ以上の、または 3 つの前に論じた機能性を示し得る。抗体は、例えば、ヒト抗体、ヒト化抗体またはキメラ抗体であってよい。抗体は、完全ヒト I g G 1 抗体であることが好ましい。

#### 【0126】

他の実施形態では、V<sub>H</sub> および / または V<sub>L</sub> アミノ酸配列は、前述の配列と 80 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 % または 99 % 同一であってよい。他の実施形態では、V<sub>H</sub> および / または V<sub>L</sub> アミノ酸配列は、1、2、3、4 または 5 を超えないアミノ酸位置におけるアミノ酸置換以外は同一であってよい。それぞれ配列番号 99 ~ 112 および配列番号 85 ~ 98 の V<sub>H</sub> および V<sub>L</sub> 領域と高い (すなわち、80 % 以上の) 同一性を有する V<sub>H</sub> および V<sub>L</sub> 領域を有する抗体は、それぞれ配列番号 127 ~ 140 および 113 ~ 126 の核酸分子の突然変異誘発 (例えば、部位特異的または P C R 媒介突然変異誘発)、次に本明細書に記載する機能アッセイを使用して、保持される機能 (すなわち、前述の機能) に関するコード改変抗体の試験によって得ることができる。

#### 【0127】

他の実施形態では、完全長重鎖および / または完全長軽鎖アミノ酸配列は、前述の配列と 80 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 % または 99 % 同一であってよく、または 1、2、3、4 または 5 を超えないアミノ酸位置におけるアミノ酸変化以外は同一であってよい。それぞれ配列番号 146 ~ 150 および 156 ~ 160 のいずれかの完全長重鎖および配列番号 141 ~ 145 および 151 ~ 155 のいずれかの完全長軽鎖と高い (すなわち、80 % 以上の) 同一性を有する完全長重鎖および完全長軽鎖を有する抗体は、それぞれ核酸分子配列番号 166 ~ 170 および 176 ~ 180 ならびに配列番号 161 ~ 165 および 171 ~ 175 の突然変異誘発 (例えば、部位特異的または P C R 媒介突然変異誘発)、次に本明細書に記載する機能アッセイを使用して、保持される機能 (すなわち、前述の機能) に関するコード改変抗体の試験によって得ることができる。

#### 【0128】

他の実施形態では、完全長重鎖および / または完全長軽鎖ヌクレオチド配列は、前述の配列と 80 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 % または 99 % 同一であってよい。

#### 【0129】



他の実施形態では、重鎖および／または軽鎖ヌクレオチド配列の可変領域は前述の配列と80%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一であってよく、または1、2、3、4または5を超えないアミノ酸位置におけるアミノ酸変化以外は同一であってよい。

#### 【0130】

本明細書で使用するように、2配列間の同一率は、2配列の最適アラインメントのために導入する必要がある、ギャップの数、および各ギャップの長さを考慮に入れた、それらの配列によって共有される同一位置の数の関数（すなわち、同一率＝同一位置の数／位置の合計数×100）である。2配列間の配列の比較と同一率の決定は、以下に記載するように数学的アルゴリズムを使用して実施することができる。

10

#### 【0131】

2アミノ酸配列間の同一率は、PAM120重み付き残基テーブル（weight residue table）、12のギャップ長ペナルティーおよび4のギャップペナルティーを使用するALIGNプログラム（バージョン2.0）に組み込まれた、E.Meyers and W.Miller(Comput. Appl. Biosci., 4:11-17, 1988)のアルゴリズムを使用して決定することができる。さらに、2アミノ酸配列間の同一率は、Blossom62マトリクスまたはPAM250マトリクス的一方、ならびに16、14、12、10、8、6、または4のギャップ加重、および1、2、3、4、5、または6の長さ加重を使用するGCGソフトウェアパッケージ（<http://www.gcg.com>で利用可能）内のGAPプログラムに組み込まれた、Needleman and Wunsch(J.Mol. Biol.48:444-453, 1970)のアルゴリズムを使用して決定することができる。

20

#### 【0132】

保存的修飾を有する抗体

ある特定の実施形態では、本発明の組成物中に含まれる抗体は、CDR1、CDR2、およびCDR3配列を含む重鎖可変領域、ならびにCDR1、CDR2、およびCDR3配列を含む軽鎖可変領域を有し、1つまたは複数のこれらのCDR配列は、1、2、3、4もしくは5個のアミノ酸変化またはその保存的修飾を含む、本明細書に記載する抗体に基づく指定アミノ酸配列またはその変異体配列を有し、抗体は本発明の抗AcetRIB抗体の望ましい機能性を保持する。したがって本発明は、CDR1、CDR2、およびCDR3配列を含む重鎖可変領域、ならびにCDR1、CDR2、およびCDR3配列を含む軽鎖可変領域からなる、単離組換え抗AcetRIB抗体、またはその抗原結合部分を含む機能性タンパク質を含む組成物を提供し、重鎖可変領域CDR1のアミノ酸配列は、1、2、3、4もしくは5個のアミノ酸変化、およびその保存的修飾を含む配列番号1～14またはその変異体配列からなる群から選択される。重鎖可変領域CDR2のアミノ酸配列は、1、2、3、4もしくは5個のアミノ酸変化、およびその保存的修飾を含む配列番号15～28またはその変異体配列からなる群から選択される。重鎖可変領域CDR3のアミノ酸配列は、1、2、3、4もしくは5個のアミノ酸変化、およびその保存的修飾を含む配列番号29～42またはその変異体配列からなる群から選択される。軽鎖可変領域CDR1のアミノ酸配列は、1、2、3、4もしくは5個のアミノ酸変化、およびその保存的修飾を含む配列番号43～56またはその変異体配列からなる群から選択される。軽鎖可変領域CDR2のアミノ酸配列は、1、2、3、4もしくは5個のアミノ酸変化、およびその保存的修飾を含む配列番号57～70またはその変異体配列からなる群から選択される。軽鎖可変領域CDR3のアミノ酸配列は、1、2、3、4もしくは5個のアミノ酸変化、およびその保存的修飾を含む配列番号71～84またはその変異体配列からなる群から選択される。抗体は、以下の機能性：(i) *in vitro*もしくは*in vivo*でのミオスタチン結合の阻害、(ii) Smad依存性経路を介した筋肉分化の阻害の低下、および／または(iii) 血液学的変化を誘導しないこと、特にRBCの変化がないことの少なくとも1つを示すことが好ましい。

30

40

#### 【0133】

様々な実施形態において、抗体は前述の機能性の一方または両方を示し得る。このよう

50

な抗体は、例えば、ヒト抗体、ヒト化抗体またはキメラ抗体であってよい。

【0134】

他の実施形態では、哺乳動物細胞中での発現に最適化した、本発明の組成物に含まれる抗体は、完全長重鎖配列および完全長軽鎖配列を有し、1つまたは複数のこれらの配列は、本明細書に記載する抗体に基づく指定アミノ酸配列またはその保存的修飾を有し、抗体は本発明の抗A c t R I I B抗体の望ましい機能性を保持する。したがって本発明は、完全長重鎖および完全長軽鎖からなる、哺乳動物細胞中での発現に最適化した単離モノクローナル抗A c t R I I B抗体を含む組成物を提供し、完全長重鎖は、1、2、3、4もしくは5個のアミノ酸変化、およびその保存的修飾を含む、配列番号146～150および156～160からなる群から選択されるアミノ酸配列、またはその変異体配列を有し、完全長軽鎖は、1、2、3、4もしくは5個のアミノ酸変化、およびその保存的修飾を含む、配列番号141～145および151～155からなる群から選択されるアミノ酸配列、またはその変異体配列を有し、抗体は、以下の機能性：(i) *in vitro*もしくは*in vivo*でのミオスタチン結合の阻害、(ii) Smad依存性経路を介した筋肉分化の阻害の低下、および/または(iii)血液学的変化を誘導しないこと、特にRBCの変化がないことの少なくとも1つを示す。

10

【0135】

様々な実施形態において、抗体は前述の機能性の一方または両方を示し得る。このような抗体は、例えば、ヒト抗体、ヒト化抗体またはキメラ抗体であってよい。

【0136】

20

本明細書で使用する用語「保存的配列修飾」は、アミノ酸配列を含有する抗体の結合特性に著しく影響を与えないまたはそれらを改変しない、アミノ酸修飾を指すものとする。このような保存的修飾には、アミノ酸置換、付加および欠失がある。部位特異的突然変異誘発およびPCR媒介突然変異誘発などの、当技術分野で知られている標準的技法によって、本発明の抗体に修飾を導入することができる。

【0137】

保存的アミノ酸置換は、アミノ酸残基が類似の側鎖を有するアミノ酸残基に置換された置換である。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当技術分野で定義されている。これらのファミリーには、塩基性側鎖を有するアミノ酸（例えば、リシン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非電荷極性側鎖を有するアミノ酸（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン、トリプトファン）、非極性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン）、 $\gamma$ -分岐側鎖を有するアミノ酸（例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン）、および芳香族側鎖を有するアミノ酸（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）がある。したがって、本発明の抗体のCDR領域内の1つまたは複数のアミノ酸残基は、同じ側鎖ファミリー由来の他のアミノ酸残基に置換することができ、本明細書に記載する機能アッセイを使用して、保持される機能に関して改変抗体を試験することができる。

30

【0138】

40

本発明の組成物に含まれる抗A c t R I I B抗体と同じエピトープに結合する抗体別の実施形態では、本発明は、本明細書に記載する様々な特異的抗A c t R I I B抗体と同じエピトープに結合する抗体を含む組成物を提供する。A c t R I I Bとのミオスタチン結合を遮断することができる実施例中に記載する全ての抗体は、高いアフィニティーでA c t R I I B中のエピトープの1つと結合し、前記エピトープは配列番号181のアミノ酸19～134の間に含まれる。

【0139】

したがって、標準的A c t R I I B結合アッセイにおいて、本開示の他の抗体と交差競合する（例えば、統計学的に有意な様式で結合を競合的に阻害する）それらの能力に基づいて、さらなる抗体を同定することができる。ヒトA c t R I I Bと本発明の組成物中に

50

含まれる抗体の結合を阻害する試験抗体の能力は、その試験抗体がヒト A c t R I I B との結合に関して前記抗体と競合することができ、非制限的な理論に従い、このような抗体は、それが競合する抗体と同じヒト A c t R I I B 上の同じまたは関連（例えば、構造上類似または空間的に隣接した）エピトープと結合することができることを実証する。ある特定の実施形態では、本発明の組成物に含まれる抗体と同じヒト A c t R I I B 上のエピトープに結合する抗体は、ヒト組換え抗体である。このようなヒト組換え抗体は、実施例中に記載するように調製および単離することができる。

【 0 1 4 0 】

したがって本発明は、配列番号 8 5 に示す可変重鎖配列、および配列番号 9 9 に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるおよび / または抗体との結合に関して競合するエピトープと結合する抗体を含む、組成物を提供する。

10

【 0 1 4 1 】

したがって本発明は、配列番号 8 6 に示す可変重鎖配列、および配列番号 1 0 0 に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

【 0 1 4 2 】

したがって本発明は、配列番号 8 7 に示す可変重鎖配列、および配列番号 1 0 1 に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

【 0 1 4 3 】

20

したがって本発明は、配列番号 8 8 に示す可変重鎖配列、および配列番号 1 0 2 に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

【 0 1 4 4 】

したがって本発明は、配列番号 8 9 に示す可変重鎖配列、および配列番号 1 0 3 に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

【 0 1 4 5 】

したがって本発明は、配列番号 9 0 に示す可変重鎖配列、および配列番号 1 0 4 に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

30

【 0 1 4 6 】

したがって本発明は、配列番号 9 1 に示す可変重鎖配列、および配列番号 1 0 5 に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

【 0 1 4 7 】

したがって本発明は、配列番号 9 2 に示す可変重鎖配列、および配列番号 1 0 6 に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

【 0 1 4 8 】

40

したがって本発明は、配列番号 9 3 に示す可変重鎖配列、および配列番号 1 0 7 に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

【 0 1 4 9 】

したがって本発明は、配列番号 9 4 に示す可変重鎖配列、および配列番号 1 0 8 に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

【 0 1 5 0 】

したがって本発明は、配列番号 9 5 に示す可変重鎖配列、および配列番号 1 0 9 に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を

50

提供する。

【 0 1 5 1 】

したがって本発明は、配列番号 9 6 に示す可変重鎖配列、および配列番号 1 1 0 に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

【 0 1 5 2 】

したがって本発明は、配列番号 9 7 に示す可変重鎖配列、および配列番号 1 1 1 に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

【 0 1 5 3 】

したがって本発明は、配列番号 9 8 に示す可変重鎖配列、および配列番号 1 1 2 に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

【 0 1 5 4 】

より詳細なエピトープマッピング実験の後、本発明の組成物の好ましい抗体の結合領域がより明確に定義された。

【 0 1 5 5 】

したがって本発明は、配列番号 1 8 1 のアミノ酸 7 8 ~ 8 3 ( W L D D F N - 配列番号 1 8 8 ) を含むエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

【 0 1 5 6 】

本発明は、配列番号 1 8 1 のアミノ酸 7 6 ~ 8 4 ( G C W L D D F N C - 配列番号 1 8 6 ) を含むエピトープと結合する抗体を含む組成物も提供する。

【 0 1 5 7 】

本発明は、配列番号 1 8 1 のアミノ酸 7 5 ~ 8 5 ( K G C W L D D F N C Y - 配列番号 1 9 0 ) を含むエピトープと結合する抗体を含む組成物も提供する。

【 0 1 5 8 】

本発明は、配列番号 1 8 1 のアミノ酸 5 2 ~ 5 6 ( E Q D K R - 配列番号 1 8 9 ) を含むエピトープと結合する抗体を含む組成物も提供する。

【 0 1 5 9 】

本発明は、配列番号 1 8 1 のアミノ酸 4 9 ~ 6 3 ( C E G E Q D K R L H C Y A S W - 配列番号 1 8 7 ) を含むエピトープと結合する抗体を含む組成物も提供する。

【 0 1 6 0 】

本発明は、配列番号 1 8 1 のアミノ酸 2 9 ~ 4 1 ( C I Y Y N A N W E L E R T - 配列番号 1 9 1 ) を含むエピトープと結合する抗体を含む組成物も提供する。

【 0 1 6 1 】

本発明は、配列番号 1 8 1 のアミノ酸 1 0 0 ~ 1 1 0 ( Y F C C C E G N F C N - 配列番号 1 9 2 ) を含むエピトープと結合する抗体を含む組成物も提供する、または

【 0 1 6 2 】

本発明は、これらの配列からなるエピトープ、またはこれらのエピトープ領域の組合せを含むエピトープと結合する抗体を含む組成物も提供する。

【 0 1 6 3 】

したがって本発明は、配列番号 1 8 1 のアミノ酸 7 8 ~ 8 3 ( W L D D F N ) および配列番号 1 8 1 のアミノ酸 5 2 ~ 5 6 ( E Q D K R ) を含むまたはこれらからなるエピトープと結合する抗体を含む組成物も提供する。

【 0 1 6 4 】

操作処理および修飾した抗体

開始物質として本明細書に示す 1 つまたは複数の  $V_H$  および / または  $V_L$  配列を有する抗体を使用して、開始抗体から改変された性質を有し得る修飾抗体を操作処理することによって、本発明の組成物中に含まれる抗体をさらに調製することができる。 1 つまたは 2 つの可変領域 ( すなわち、  $V_H$  および / または  $V_L$  ) 内、例えば 1 つまたは複数の C D R

10

20

30

40

50

領域内、および／または１つまたは複数のフレームワーク領域内の１つまたは複数の残基を修飾することによって、抗体を操作処理することができる。追加的または代替的に、定常領域（複数可）内の残基を修飾し、例えば抗体のエフェクター機能（複数可）を改変することによって、抗体を操作処理することができる。

#### 【 0 1 6 5 】

実施することができる１タイプの可変領域の操作処理はＣＤＲ移植である。主に６つの重鎖および軽鎖相補性決定領域（ＣＤＲ）内に位置するアミノ酸残基を介して、抗体は標的抗原と相互作用する。この理由で、ＣＤＲ内のアミノ酸配列は、ＣＤＲ外の配列より個々の抗体間でさらに多様である。ＣＤＲ配列は大部分の抗体－抗原相互作用を担うので、異なる性質を有する異なる抗体由来のフレームワーク配列に移植した特異的天然抗体由来のＣＤＲ配列を含む発現ベクターの構築によって、特異的天然抗体の性質を模倣した組換え抗体を発現させることが可能である（例えば、Riechmann, L. et al., 1998 Nature 332: 323-327; Jones, P. et al., 1986 Nature 321: 522-525; Queen, C. et al., 1989 Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86: 10029-10033、Winterへの米国特許第 5, 225, 539 号、ならびに Queen et al. への米国特許第 5, 530, 101 号、同第 5, 585, 089 号、同第 5, 693, 762 号および同第 6, 180, 370 号を参照）。

#### 【 0 1 6 6 】

したがって、本発明の別の実施形態は、それぞれ配列番号 1～14 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ 1 配列、配列番号 15～28 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ 2 配列、配列番号 29～42 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ 3 配列を含む重鎖可変領域、ならびにそれぞれ配列番号 43～56 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ 1 配列、配列番号 57～70 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ 2 配列、および配列番号 71～84 からなる群から選択されるアミノ酸配列からなるＣＤＲ 3 配列を有する軽鎖可変領域を含む、モノクローナル抗 A c t R I I B 抗体、またはその抗原結合部分を含む機能性タンパク質を含む組成物に関するものである。したがって、このような抗体はモノクローナル抗体の V<sub>H</sub> および V<sub>L</sub> のＣＤＲ配列を含有し、これらの抗体と異なるフレームワーク配列を依然含有し得る。

#### 【 0 1 6 7 】

このようなフレームワーク配列は、生殖細胞系列抗体遺伝子配列を含む、公共の DNA データベースまたは公開済みの参照文献から得ることができる。例えば、ヒト重鎖および軽鎖可変領域遺伝子に関する生殖細胞系列 DNA 配列は、（[www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase](http://www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase)）においてインターネットで利用可能な）「V B a s e」ヒト生殖細胞系列配列データベース中、ならびに Kabat, E.A., et al., [ 上記 ]; Tomlinson, I.M., et al., 1992 J. Mol. Biol. 227: 776-798; および Cox, J.P.L. et al., 1994 Eur. J. Immunol. 24: 827-836 中で見ることができる。本発明の抗体中で使用するためのフレームワーク配列の一例は、本発明の選択抗体によって使用されるフレームワーク配列、例えば本発明のモノクローナル抗体によって使用されるコンセンサス配列および／またはフレームワーク配列と構造上類似した配列である。V<sub>H</sub> のＣＤＲ 1、2 および 3 配列、ならびに V<sub>L</sub> のＣＤＲ 1、2 および 3 配列は、フレームワーク配列が由来する生殖細胞系列免疫グロブリン遺伝子で見られるのと同じの配列を有するフレームワーク領域に移植することができ、またはＣＤＲ配列は、生殖細胞系列配列と比較して１つまたは複数の突然変異を含有するフレームワーク領域に移植することができる。例えば幾つの場合、フレームワーク領域内の残基を突然変異させて、抗体の抗原結合能力を維持または増大させることが有益であることが分かっている（例えば、Queen et al. への米国特許第 5, 530, 101 号、同第 5, 585, 089 号、同第 5, 693, 762 号および同第 6, 180, 370 号を参照）。

#### 【 0 1 6 8 】

別タイプの可変領域の修飾は、V<sub>H</sub> および／または V<sub>L</sub> のＣＤＲ 1、ＣＤＲ 2 および／またはＣＤＲ 3 領域内のアミノ酸残基を突然変異させ、それによって「アフィニティ成熟」として知られる、対象とする抗体の１つまたは複数の結合性（例えば、アフィニティ

ー)を改善することである。部位特異的突然変異誘発またはPCR媒介突然変異誘発を実施して突然変異(複数可)を導入することができ、対象とする抗体結合、または他の機能性に対する影響を、本明細書に記載し実施例中に提供する*in vitro*または*in vivo*アッセイにおいて評価することができる。(前に論じたような)保存的修飾を導入することができる。突然変異は、アミノ酸の置換、付加または欠失であってよい。さらに典型的には、CDR領域内の1、2、3、4または5個を超えない残基を改変する。

#### 【0169】

したがって、別の実施形態において本発明は、配列番号1~14を有する群から選択されるアミノ酸配列または配列番号1~14と比較して1、2、3、4もしくは5個のアミノ酸置換、欠失もしくは付加を有するアミノ酸配列からなるV<sub>H</sub>CDR1領域、配列番号15~28からなる群から選択されるアミノ酸配列または配列番号15~28と比較して1、2、3、4もしくは5個のアミノ酸置換、欠失もしくは付加を有するアミノ酸配列を有するV<sub>H</sub>CDR2領域を有する重鎖可変領域からなる、単離抗ActRIIBモノクローナル抗体、またはその抗原結合部分を含む機能性タンパク質を提供する。配列番号29~42からなる群から選択されるアミノ酸配列または配列番号29~42と比較して1、2、3、4もしくは5個のアミノ酸置換、欠失もしくは付加を有するアミノ酸配列を有するV<sub>H</sub>CDR3領域、配列番号43~56からなる群から選択されるアミノ酸配列または配列番号43~56と比較して1、2、3、4もしくは5個のアミノ酸置換、欠失もしくは付加を有するアミノ酸配列を有するV<sub>L</sub>CDR1領域、配列番号52~70からなる群から選択されるアミノ酸配列または配列番号52~70と比較して1、2、3、4もしくは5個のアミノ酸置換、欠失もしくは付加を有するアミノ酸配列を有するV<sub>L</sub>CDR2領域、配列番号71~84からなる群から選択されるアミノ酸配列または配列番号71~84と比較して1、2、3、4もしくは5個のアミノ酸置換、欠失もしくは付加を有するアミノ酸配列を有するV<sub>L</sub>CDR3領域

#### 【0170】

別のフレームワークまたは足場への抗原結合ドメインの移植

生成するポリペプチドがActRIIBと特異的に結合する少なくとも1つの結合領域を含む限り、広く様々な抗体/免疫グロブリンフレームワークまたは足場を利用することができる。このようなフレームワークまたは足場は、(本明細書の他の箇所で開示するような)5つの主要イディオタイプのヒト免疫グロブリン、またはそれらの断片を含み、好ましくはヒト化態様を有する他の動物種の免疫グロブリンを含む。ラクダにおいて同定された抗体などの単鎖重鎖抗体はこの点で特に興味深い。新規なフレームワーク、足場および断片は、当業者により発見および開発され続けている。

#### 【0171】

一態様では、本発明の組成物は、開示する抗体のCDRをその上に移植することができる非免疫グロブリン足場を使用して、非免疫グロブリンベースの抗体を含むことができる。それらが配列番号181の標的タンパク質(好ましくは、配列番号182で示すそのリガンド結合ドメイン)に特異的な結合領域を含む限り、既知または将来の非免疫グロブリンフレームワークおよび足場を利用することができる。このような化合物は、「標的的特異的な結合領域を含むポリペプチド」として本明細書では知られている。非免疫グロブリンフレームワークの例は、以下のセクション(ラクダ抗体および非抗体足場)中でさらに記載する。

#### 【0172】

ラクダ抗体

ラマ種(ラマ・パコス(Lama paccos)、ラマ・グラマ(Lama glama)およびラマ・ビクーニャ(Lama vicugna))などの新世界のメンバーを含めた、ラクダおよびヒトコブラクダ科のメンバー(キャメルス・バクトリアノス(Camelus bactrianus)およびキャメルス・ドロマデリウス(Camelus dromaderius))から得た抗体タンパク質は、大きさ、構造の複雑性およびヒト対象に対する抗原性に関して特徴付けられている。天然で見られるこの哺乳動物科由来のある特定のIgG抗体は軽鎖を欠いており、したがって他動物由来

の抗体に関する2本の重鎖と2本の軽鎖を有する典型的な4本鎖4次構造とは構造的に異なる(WO 94/04678参照)。

【0173】

V<sub>H</sub>Hとして同定した低分子単鎖可変ドメインであるラクダ抗体の領域を遺伝子操作処理によって得て、標的に対する高アフィニティを有する低分子タンパク質を生成することができ、「ラクダナノボディ」として知られる低分子量抗体由来タンパク質をもたらすことができる(米国特許第5,759,808号;Stijlemans, B.et al., 2004 J Biol Chem 279:1256-1261;Dumoulin, M.et al., 2003 Nature424:783-788;Pleschberger, M.et al.2003 Bioconjugate Chem14:440-448;Cortez-Retamozo, V.et al.2002 Int J Cancer89:456-62;およびLauwereys, M.et al.1998 EMBO J17:3512-3520参照)。ラクダ抗体および抗体断片の遺伝子操作処理済みライブラリーは、例えばAblynx、Ghent、ベルギーから市販されている。非ヒト起源の他の抗体と同様に、ラクダ抗体のアミノ酸配列を組換えにより改変して、ヒト配列とよりよく似た配列を得ることができる。すなわちナノボディは「ヒト化」することができる。したがって、ヒトに対するラクダ抗体の天然で低い抗原性をさらに低減することができる。

10

【0174】

ラクダナノボディはヒトIgG分子の約10分の1の分子量を有し、このタンパク質はわずか数ナノメートルの物理的直径を有する。大きさが小さいことの1つの結果は、より高分子の抗体タンパク質には機能的に不可視の抗原部位と結合するラクダナノボディの能力である。すなわちラクダナノボディは、古典的な免疫学的技法を使用する他の場合には隠れている抗原を検出する試薬として、および潜在的治療剤として有用である。したがって、大きさが小さいことのさらに別の結果は、標的タンパク質の溝または狭い割れ目中の特異的部位との結合の結果として、ラクダナノボディは阻害することができ、したがって、古典的抗体のそれより古典的低分子量薬剤の機能によく似た能力で働くことができることである。

20

【0175】

低分子量とコンパクトな大きさは、非常に熱耐性があり、極値pHおよびタンパク質分解消化に対して安定状態であり、抗原性が低いラクダナノボディをさらにもたらし。別の結果は、ラクダナノボディは循環系から組織中に容易に移動し、さらに血液脳関門さえ越えて、神経組織に影響を与える障害を治療することができることである。さらにナノボディは、血液脳関門を越える薬剤輸送を容易にすることができる(US 2004/0161738参照)。ヒトに対する低い抗原性と組み合わせたこれらの特徴は、多大な治療の可能性を示す。さらにこれらの分子は、大腸菌(E.coli)などの原核生物細胞において完全に発現させることが可能であり、バクテリオファージとの融合タンパク質として発現され機能的である。

30

【0176】

したがって一実施形態では、本発明は、ActRIIBに対して高いアフィニティを有するラクダ抗体またはナノボディを含む組成物に関した。本明細書のある特定の実施形態では、ラクダ抗体またはナノボディはラクダ科動物において自然に産生される、すなわち、他の抗体に関して本明細書に記載する技法を使用して、ActRIIBまたはそのペプチド断片を用いた免疫処置に従い、ラクダ科の動物によって産生される。あるいは、抗ActRIIBラクダナノボディを操作処理する、すなわち、本明細書の実施例中に記載するように標的としてActRIIBを用いるパンニング手順を使用して、例えばファージディスプレイし適切に突然変異誘発したラクダナノボディタンパク質のライブラリーからの選択によって産生する。レシピエント対象において45分~2週間の半減期を有するように遺伝子操作処理によって、操作処理したナノボディをさらに調整することができる。具体的な実施形態では、例えばWO 94/04678中に記載されたように、本発明のヒト抗体の重鎖または軽鎖のCDR配列をナノボディまたは1ドメイン抗体フレームワーク配列に移植することによって、ラクダ抗体またはナノボディを得る。

40

【0177】

50

## 非抗体足場

知られている非免疫グロブリンフレームワークまたは足場には、アドネクチン（フィブロネクチン）（Compound Therapeutics, Inc., Waltham, MA）、アンキリン（Molecular Partners AG、チューリッヒ、スイス）、ドメイン抗体（Domantis, Ltd (Cambridge, MA) および Ablynx nv (Zwijnaarde、ベルギー)）、リボカリン（Anticalin）（Pieris Proteolab AG, Freising、ドイツ）、低分子免疫製剤（Trubion Pharmaceuticals Inc., Seattle, WA）、マキシボディ（Avidia, Inc. (Mountain View, CA)）、プロテインA（Affibody AG、スウェーデン）およびアフィリン（クリスタリンまたはユビキチン）（Scil Proteins GmbH, Halle、ドイツ）、タンパク質エピトープ模倣体（Polyphor Ltd, Allschwil、スイス）があるが、これらだけには限られない。

10

### 【0178】

#### （i）フィブロネクチン足場

フィブロネクチン足場は、フィブロネクチンIII型ドメイン（例えば、フィブロネクチンIII型の第10モジュール（10Fn3ドメイン））をベースとすることが好ましい。フィブロネクチンIII型ドメインは2シート間に分布した7または8の鎖を有し、それら自体は互いに密着したタンパク質のコアを形成し、鎖を互いに連結する、溶媒に露出した（CDRと類似の）ループをさらに含有する。シートサンドウィッチの各縁には少なくとも3個のこのようなループが存在し、ここで、縁は鎖の方向と垂直にあるタンパク質の境界である（米国特許第6,818,418号）。

20

### 【0179】

これらのフィブロネクチンベースの足場は免疫グロブリンではないが、全体的なフォールディングは、最小機能性抗体断片、ラクダおよびラマIgGの抗原認識単位全体を含む重鎖の可変領域のそれと密接に関連している。この構造のため、非免疫グロブリン抗体は、これらの抗体と本来類似した抗原結合性およびアフィニティーが似ている。ループランダム化、およびin vivoでの抗体のアフィニティー成熟のプロセスと類似したin vitroシャッフリング戦略において、これらの足場を使用することができる。これらのフィブロネクチンベースの分子は足場として使用することができ、分子のループ領域は、標準的なクローニング技法を使用して本発明のCDRで置換することができる。

30

### 【0180】

#### （ii）アンキリン - Molecular Partners

この技術は、異なる標的との結合に使用可能である可変領域を支持するための足場としてアンキリン由来反復モジュールを含む、タンパク質の使用に基づく。アンキリン反復モジュールは、2つのアンチパラレル - ヘリックスと - ターンからなる33アミノ酸ポリペプチドである。可変領域の結合は、リボソームディスプレイを使用して大部分は最適化される。

### 【0181】

#### （iii）マキシボディ / アヴィマー - Avidia

アヴィマーは、LRP-1などのタンパク質を含有する天然A - ドメインに由来する。これらのドメインは本来タンパク質 - タンパク質相互作用に使用され、ヒト中では250を超えるタンパク質がA - ドメインに構造上基づく。アヴィマーは、アミノ酸リンカーを介して結合した数個の異なる「A - ドメイン」モノマー（2 ~ 10）からなる。例えばUS2004/0175756、US2005/0053973、US2005/0048512、およびUS2006/0008844中に記載された方法を使用して、標的抗原と結合することができるアヴィマーを作製することができる。

40

### 【0182】

#### （vi）プロテインA - Affibody

Affibody（登録商標）アフィニティーリガンドは、プロテインAのIgG結合

50



ドメインの1つの足場をベースとする3本ヘリックスバンドルで構成される、低分子の、単純なタンパク質である。プロテインAは、細菌、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) 由来の表面タンパク質である。この足場ドメインは58個のアミノ酸からなり、その13個をランダム処理して多数のリガンド変異体を含む *A f f i b o d y* (登録商標) ライブラリーを作製する (例えば、米国特許第5,831,012号参照)。 *A f f i b o d y* (登録商標) 分子は抗体と似ており、150 kDaである抗体の分子量と比較して、それらは6 kDaの分子量を有する。その大きさは小さいにもかかわらず、 *A f f i b o d y* (登録商標) 分子の結合部位は抗体のそれと類似している。

【0183】

(v) *A n t i c a l i n - P i e r i s*

*A n t i c a l i n* (登録商標) は、 *P i e r i s P r o t e o L a b A G* 社によって開発された製品である。それらはリポカリン、化学的感受性または不溶性化合物の生理的輸送または貯蔵に通常関与する低分子で強固なタンパク質の広汎な一群に由来する。幾つかの天然リポカリンは、ヒトの組織または体液中に存在する。

【0184】

このタンパク質の構造は、剛直なフレームワークの上部に超可変ループを有する免疫グロブリンを暗示する。しかしながら、抗体またはそれらの組換え断片とは対照的に、リポカリンは160~180個のアミノ酸残基を含む1ポリペプチド鎖で構成され、1免疫グロブリンドメインよりごくわずかに大きい。

【0185】

結合ポケットを構成する4ループのセットは顕著な構造可塑性を示し、様々な側鎖を許容する。したがって、結合部位は、専有のプロセスで再形成され、異なる形状の所定の標的分子を、高いアフィニティーおよび特異性で認識することができる。

【0186】

リポカリンファミリーの1タンパク質、*ピエリス・ブラシカエ* (*Pieris brassicae*) のピリン結合タンパク質 (BBP) を使用して、それらの4ループのセットを突然変異誘発することによって、 *A n t i c a l i n* が開発された。「 *A n t i c a l i n* 」について記載する特許出願の一例はWO1999/16873である。

【0187】

(vi) *アフィリン - S c i l P r o t e i n s*

*A F F I L I N* (商標) 分子は、タンパク質および小分子に対する特異的アフィニティーのため設計された低分子の非免疫グロブリンタンパク質である。新たな *A F F I L I N* (商標) 分子は、その各々が異なるヒト由来足場タンパク質に基づく2つのライブラリーから、非常に迅速に選択することができる。

【0188】

*A F F I L I N* (商標) 分子は、免疫グロブリンタンパク質とはいかなる構造相同性も示さない。 *S c i l P r o t e i n s* は2つの *A F F I L I N* (商標) 足場を利用し、その1つは クリスタリン、ヒトの目のレンズ構造タンパク質であり、もう1つは「ユビキチン」スーパーファミリータンパク質である。いずれのヒト足場も非常に小さく、高温安定性を示し、pH変化および変性剤に対して大部分は耐性がある。この高い安定性は、主にタンパク質の膨張した シート構造によるものである。 クリスタリン由来タンパク質の例はWO2001/004144中に記載されており、「ユビキチン様」タンパク質の例はWO2004/106368中に記載されている。

【0189】

(vii) タンパク質エピトープ模倣体 (PEM)

PEMは、タンパク質の - ヘアピン二次構造、タンパク質 - タンパク質相互作用に関与する主要二次構造を模倣した、中程度の大きさの、環状、ペプチド様分子 (MW、1~2 kDa) である。

【0190】

フレームワークまたはFc操作処理

10

20

30

40

50

本発明の組成物中に含まれる操作処理抗体には、 $V_H$  および / または  $V_L$  内のフレームワーク残基に、例えば抗体の性質を改善するための修飾が施された抗体がある。典型的には、このようなフレームワーク修飾を施して抗体の免疫原性を低下させる。例えば、1つの手法は、1つまたは複数のフレームワーク残基を対応する生殖細胞系列配列に「復帰突然変異させる」ことである。より詳細には、体細胞突然変異を経た抗体は、その抗体が由来する生殖細胞系列配列と異なるフレームワーク残基を含有し得る。抗体フレームワーク配列とその抗体が由来する生殖細胞系列配列を比較することによって、このような残基を同定することができる。フレームワーク領域配列をそれらの生殖細胞系列配置に戻すため、体細胞突然変異は、例えば部位特異的突然変異誘発またはPCR媒介突然変異誘発による、生殖細胞系列配列への「復帰突然変異」であってよい。このような「復帰突然変異」抗体も本発明の組成物中に含まれ得る。

10

#### 【0191】

別型のフレームワーク修飾は、フレームワーク領域内、またはさらに1つまたは複数のCDR領域内の1つまたは複数の残基を突然変異させて、T細胞エпитープを除去し、それによって抗体の潜在的免疫原性を低下させることに關する。この手法は「免疫除去」とも呼ばれ、US 2003 / 0153043中にさらに詳細に記載される。

#### 【0192】

フレームワークまたはCDR領域内に施される修飾以外またはそれらの代替で、本発明の抗体を操作処理してFc領域内に修飾を含めることができ、典型的には、血清中半減期、補体結合、Fc受容体結合、および / または抗原依存性細胞傷害作用などの、抗体の1つまたは複数の機能性を改変することができる。さらに、本発明の組成物中に含まれる抗体を化学的に修飾することができ(例えば、1つまたは複数の化学成分を抗体に付けることが可能であり)、または修飾してそのグリコシル化を改変することができ、抗体の1つまたは複数の機能性を再度改変することができる。これらの実施形態の各々は、以下でさらに詳細に記載する。Fc領域中の残基のナンバリングは、KabatのEUインデックスのナンバリングである。

20

#### 【0193】

一実施形態では、CH1のヒンジ領域を、ヒンジ領域中のシステイン残基の数が変わる、例えば増大または減少するように修飾する。この手法は米国特許第5,677,425号中にさらに記載される。CH1のヒンジ領域中のシステイン残基の数を変えて、例えば軽鎖および重鎖の構築を容易にする、または抗体の安定性を増大もしくは減少させる。

30

#### 【0194】

別の実施形態では、抗体のFcヒンジ領域を突然変異させて、抗体の生物学的半減期を低下させる。より具体的には、天然FcヒンジドメインのスタフィロコッカスプロテインA(SpA)結合と比較して、その抗体のSpA結合が損なわれるように、Fcヒンジ断片のCH2-CH3ドメイン界面領域中に1つまたは複数のアミノ酸突然変異を導入する。この手法は米国特許第6,165,745号中でさらに詳細に記載される。

#### 【0195】

別の実施形態では、抗体を修飾してその生物学的半減期を増大させる。様々な手法が考えられる。例えば、米国特許第6,277,375号中に記載されたように、1つまたは複数の以下の突然変異、T252L、T254S、T256Fを導入することができる。あるいは、生物学的半減期を増大させるため、米国特許第5,869,046号および米国特許第6,121,022号中に記載されたように、CH1またはCL領域内で抗体を改変して、IgGのFc領域CH2ドメインの2ループから得たサルベージ受容体結合エпитープを含有することができる。

40

#### 【0196】

さらに他の実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸残基を異なるアミノ酸残基で置換して抗体のエフェクター機能を変えることにより、Fc領域を改変する。例えば、抗体はエフェクターリガンドに対して改変されたアフィニティーを有するが親抗体の抗原結合能力を保持するように、1つまたは複数のアミノ酸を異なるアミノ酸残基で置換することが

50

できる。アフィニティーが変わるエフェクターリガンドは、例えば、F c 受容体または補体のC 1要素であってよい。この手法は、いずれもWinter et al.による米国特許第5, 624, 821号および米国特許第5, 648, 260号中でさらに詳細に記載される。特に、残基234および235を突然変異させることが可能である。特に、これらの突然変異はアラニンへの突然変異であってよい。したがって一実施形態では、本発明の組成物中に含まれる抗体は、アミノ酸234および235の一方または両方でF c領域の突然変異を有する。別の実施形態では、アミノ酸234および235の一方または両方をアラニンに置換することができる。アミノ酸234と235の両方のアラニンへの置換は、ADCC活性の低下をもたらす。

【0197】

10

別の実施形態では、記載する抗体のアミノ酸残基から選択される1つまたは複数のアミノ酸は、抗体が改変されたC 1q結合および/または低下したもしくは無効化された補体依存性細胞傷害作用(CDC)を有するように、異なるアミノ酸残基で置換することができる。この手法は米国特許第6, 194, 551号中でさらに詳細に記載される。

【0198】

別の実施形態では、記載する抗体の1つまたは複数のアミノ酸残基を改変し、それによって補体と結合する抗体の能力を変える。この手法はWO 94/29351中でさらに記載される。

【0199】

さらに別の実施形態では、記載する抗体のF c領域を修飾して、抗体依存性細胞傷害作用(ADCC)を媒介する抗体の能力を増大させる、および/または1つまたは複数のアミノ酸の修飾によってF c受容体に対する抗体のアフィニティーを増大させる。この手法はWO 00/42072中でさらに記載される。さらに、F c R1、F c RI I、F c RI I IおよびF c Rnに関するヒトIg G1における結合部位はマッピングされており、結合が改善された変異体が記載されている(Shields, R.L.et al., 2001 J.Biol.Chen.276:6591-6604参照)。

20

【0200】

さらに別の実施形態では、本発明の組成物中に含まれる抗体のグリコシル化を修飾する。例えば、脱グリコシル化抗体を作製することができる(すなわち、その抗体はグリコシル化がない)。グリコシル化を改変して、例えば抗原に対する抗体のアフィニティーを増大させることができる。このような炭水化物の修飾は、例えば抗体配列内の1つまたは複数のグリコシル化部位を改変することによって実施することができる。例えば、1つまたは複数の可変領域フレームワークグリコシル化部位を除去して、それによってその部位におけるグリコシル化の除去をもたらす、1つまたは複数のアミノ酸置換を施すことができる。このような脱グリコシル化は、抗原に対する抗体のアフィニティーを増大させることができる。このような手法は、Co et al.による米国特許第5, 714, 350号および米国特許第6, 350, 861号中でさらに詳細に記載される。

30

【0201】

追加的または代替的に、少量のフコシル残基を有する低フコシル化抗体、または増大した二分G1cNa c構造を有する抗体などの、改変型のグリコシル化を有する抗体を使用することができる。このような改変型グリコシル化パターンは、抗体のADCC能力を増大させることが実証されている。このような炭水化物修飾は、例えば、改変型グリコシル化機構を有する宿主細胞中で抗体を発現させることによって実施することができる。改変型グリコシル化機構を有する細胞は当技術分野で記載されており、その中で開示する組換え抗体を発現させ、それによって改変型グリコシル化を有する抗体を産生する宿主細胞として使用することができる。例えば、Hang et al.によるEP 1, 176, 195は、フコシルトランスフェラーゼをコードする機能的に破壊されたFUT8遺伝子を有する細胞系を記載し、したがって、このような細胞系中で発現される抗体は低フコシル化を示す。したがって一実施形態では、本発明の組成物中に含まれる抗体は、低フコシル化パターンを示す細胞系、例えば、フコシルトランスフェラーゼをコードするFUT8遺伝子の発現

40

50

に欠陥がある哺乳動物細胞系中での組換え発現によって産生する。WO 03 / 035835は、フコースをAsn(297)連結炭水化物に付ける能力が低下し、さらにその宿主細胞中で発現される抗体の低フコシル化をもたらす、変異体CHO細胞系、Lec13細胞を記載する(Shields, R.L.et al., 2002 J.Biol.Chem.277:26733-26740も参照)。WO 99 / 54342は、糖タンパク質修飾グリコシルトランスフェラーゼ(例えば、(1,4)-NアセチルグルコサミニルトランスフェラーゼIII(GnTIII))を発現するように操作処理した細胞系を記載し、したがって、その操作処理した細胞系において発現される抗体は、抗体のADCC活性の増大をもたらす増大した二分GlcNac構造を示す(Umana et al., 1999 Nat.Biotech.17:176-180も参照)。あるいは、本発明の組成物中に含まれる抗体は、哺乳動物に似たグリコシル化パターンに操作処理し、グリコシル化パターンとしてフコースを欠く抗体を産生することができる、酵母または繊維状真菌において産生することができる(例えば、EP 1297172 B1参照)。

10

#### 【0202】

本発明によって企図される本明細書における抗体の別の修飾は、ペグ化である。抗体をペグ化して、例えば抗体の生物学的(例えば血清中)半減期を増大させることができる。抗体をペグ化するため、典型的には抗体、またはその断片を、1つまたは複数のポリエチレングリコール(PEG)基が抗体または抗体断片に付いている状態になる条件下で、反応性エステルまたはPEGのアルデヒド誘導体などのPEGと反応させる。反応性PEG分子(または類似の反応性がある水溶性ポリマー)とのアシル化反応またはアルキル化反応によって、ペグ化を実施することができる。本明細書で使用する用語「ポリエチレングリコール」は、モノ(C1~C10)アルコキシ-またはアリアルコキシ-ポリエチレングリコールまたはポリエチレングリコール-マレイミドなどの、他のタンパク質を誘導体化するために使用されている任意の型のPEGを包含するものとする。ある特定の実施形態では、ペグ化するために使用する抗体は脱グリコシル化抗体である。タンパク質をペグ化するための方法は当技術分野で知られており、開示する抗体に適用することができる(例えば、EP 0154316およびEP 0401384参照)。

20

#### 【0203】

本発明によって企図される抗体の別の修飾は、生成する分子の半減期を増大させるための、ヒト血清アルブミンまたはその断片などの血清タンパク質と、本発明の組成物中に含まれる抗体の少なくとも抗原結合領域との結合またはタンパク質融合である(例えば、EP 0322094参照)。

30

#### 【0204】

別の可能性は、生成する分子の半減期を増大させるための、ヒト血清アルブミンなどの血清タンパク質と結合可能なタンパク質と、本発明の組成物中に含まれる抗体の少なくとも抗原結合領域との融合である(例えば、EP 0486525参照)。

#### 【0205】

改変型抗体を操作処理する方法

前に論じたように、本明細書に示すCDR配列、V<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>配列、または完全長重鎖および軽鎖配列を有する抗A<sub>c</sub>tR<sub>I</sub>I<sub>I</sub>B抗体を使用して、CDR配列、完全長重鎖および/もしくは軽鎖配列、V<sub>H</sub>および/もしくはV<sub>L</sub>配列、またはそれらと結合した定常領域(複数可)を修飾することによって、新たな抗A<sub>c</sub>tR<sub>I</sub>I<sub>I</sub>B抗体を作製することができる。したがって、本発明の別の態様では、本発明の組成物中に含まれる抗A<sub>c</sub>tR<sub>I</sub>I<sub>I</sub>B抗体の構造特徴を使用して、ヒトA<sub>c</sub>tR<sub>I</sub>I<sub>I</sub>Bとの結合などの本発明の組成物中に含まれる抗体の少なくとも1つの機能性を保持するだけでなく、A<sub>c</sub>tR<sub>I</sub>I<sub>I</sub>Bの1つまたは複数の機能性も阻害する(例えば、S<sub>m</sub>a<sub>d</sub>活性化の阻害)、構造上関連した抗A<sub>c</sub>tR<sub>I</sub>I<sub>I</sub>B抗体を作製する。

40

#### 【0206】

例えば、本発明の組成物中に含まれる抗体の1つまたは複数のCDR領域、またはその突然変異体を、前に論じたように、知られているフレームワーク領域および/または他のCDRと組換えにより組み合わせて、本発明の組成物中に含まれる別の組換え操作処理型

50

抗 A c t R I I B 抗体を作製することができる。他のタイプの修飾には前のセクションで記載した修飾がある。操作処理法の出発材料は、本明細書で提供する 1 つもしくは複数の V<sub>H</sub> および / もしくは V<sub>L</sub> 配列、またはその 1 つもしくは複数の C D R 領域である。操作処理型抗体を作製するために、本明細書で提供する 1 つもしくは複数の V<sub>H</sub> および / もしくは V<sub>L</sub> 配列、またはその 1 つもしくは複数の C D R 領域を有する抗体を実際調製する (すなわち、タンパク質として発現させる) ことは必ずしも必要ではない。そうではなく、出発材料として配列 (複数可) 中に含有される情報を使用して、原型配列 (複数可) 由来の「第二世代の」配列 (複数可) を作製し、次いで「第二世代の」配列 (複数可) を調製しタンパク質として発現させる。

#### 【0207】

改変型抗体配列は、配列番号 29 ~ 42 および配列番号 71 ~ 84、または U S 2 0 0 5 / 0 2 5 5 5 2 中に記載された最小必須結合抗原決定基からなる群から選択される固定 C D R 3 配列、ならびに C D R 1 および C D R 2 配列における多様性を有する抗体ライブラリーのスクリーニングによって調製することもできる。ファージディスプレイ技術などの、抗体ライブラリー由来の抗体のスクリーニングに適した任意のスクリーニング技術に従い、スクリーニングを実施することができる。

#### 【0208】

標準的な分子生物学の技法を使用して、改変型抗体配列を調製し発現させることが可能である。改変型抗体配列 (複数可) によってコードされる抗体は、本明細書に記載する抗 A c t R I I B 抗体の機能性の 1 個、数個または全てを保持する抗体であり、それらの機能性には、ヒト A c t R I I B への特異的結合および S m a d 活性化の阻害があるが、これらだけには限られない。

#### 【0209】

改変型抗体は、1 つまたは複数、2 つ以上、または 3 つ以上の前に論じた機能性を示し得る。

#### 【0210】

改変型抗体の機能性は、実施例中に述べるアッセイ (例えば E L I S A) などの、当技術分野で利用可能なおよび / または本明細書に記載する標準的なアッセイを使用して評価することができる。

#### 【0211】

突然変異は抗 A c t R I I B 抗体コード配列の全体または一部分に沿ってランダムまたは選択的に導入することができ、生成する修飾型抗 A c t R I I B 抗体は、結合活性および / または本明細書に記載する他の機能性に関してスクリーニングすることができる。突然変異の方法は当技術分野で記載されている。例えば W O 0 2 / 0 9 2 7 8 0 は、飽和突然変異誘発、合成連結構築体、またはこれらの組合せを使用した、抗体の突然変異を作製およびスクリーニングするための方法を記載する。あるいは W O 0 3 / 0 7 4 6 7 9 は、コンピュータによるスクリーニング法を使用して、抗体の物理化学的性質を最適化するための方法を記載する。

#### 【0212】

本発明の組成物中に含まれる抗体をコードする核酸分子

哺乳動物細胞中での発現に最適化した完全長軽鎖ヌクレオチド配列の例は、配列番号 161 ~ 165 および 171 ~ 175 で示す。哺乳動物細胞中での発現に最適化した完全長重鎖ヌクレオチド配列の例は、配列番号 166 ~ 170 および 176 ~ 180 で示す。

#### 【0213】

核酸は完全細胞中、細胞溶解物中に存在する可能性があり、または部分的に精製されたもしくは実質的に純粋な形の核酸であってよい。アルカリ / S D S 処理、C s C l バンディング、カラムクロマトグラフィー、アガロースゲル電気泳動および他の当技術分野でよく知られている技法を含めた、標準的な技法によって、他の細胞要素または他の汚染物質、例えば、他の細胞核酸またはタンパク質から精製除去したとき、核酸は「単離状態」または「実質的に純粋な状態」である。F. Ausubel, et al., ed.1987 Current Protocols

10

20

30

40

50

in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York参照。標準的な分子生物学の技法を使用して核酸を得ることができる。ハイブリドーマ（例えば、以下でさらに記載するヒト免疫グロブリン遺伝子を有するトランスジェニックマウスから調製したハイブリドーマ）によって発現される抗体用に、ハイブリドーマによって作製した抗体の軽鎖および重鎖をコードするcDNAは、標準的なPCR増幅またはcDNAクローニング技法によって得ることができる。（例えば、ファージディスプレイ技法を使用して）免疫グロブリン遺伝子ライブラリーから得た抗体に関して、抗体をコードする核酸を、ライブラリーのメンバーである様々なファージクローンから回収することができる。

#### 【0214】

V<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>セグメントをコードするDNA断片を得た後、これらのDNA断片を標準的な組換えDNA技法によりさらに操作して、例えば可変領域遺伝子を完全長抗体鎖遺伝子、Fab断片遺伝子またはscFv遺伝子に転換することができる。これらの操作では、V<sub>L</sub>またはV<sub>H</sub>コードDNA断片を、別のDNA分子、または抗体定常領域などの別のタンパク質をコードする断片、または柔軟なリンカーに作動可能に連結させる。本文脈中で使用する用語「～に作動可能に連結した」は、2つのDNA断片が、例えばその2つのDNA断片によってコードされるアミノ酸配列がインフレーム状態に保たれるように、または望ましいプロモーターの調節下でタンパク質が発現されるように、機能的に接合したことを意味するものとする。

#### 【0215】

V<sub>H</sub>領域をコードする単離DNAは、V<sub>H</sub>コードDNAを重鎖定常領域（CH1、CH2およびCH3）をコードする別のDNA分子に作動可能に連結させることによって、完全長重鎖遺伝子に転換することができる。ヒト重鎖定常領域遺伝子の配列は当技術分野で知られており（例えば、Kabat, E.A., et al. [上記]参照）、これらの領域を包含するDNA断片は標準的なPCR増幅によって得ることができる。重鎖定常領域は、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgMまたはIgD定常領域であってよい。重鎖定常領域はIgG1アイソタイプ間で選択することができる。Fab断片重鎖遺伝子用に、V<sub>H</sub>コードDNAを、重鎖CH1定常領域のみをコードする別のDNA分子に作動可能に連結させることが可能である。

#### 【0216】

V<sub>L</sub>領域をコードする単離DNAは、V<sub>L</sub>コードDNAを軽鎖定常領域、CLをコードする別のDNA分子に作動可能に連結させることによって、完全長軽鎖遺伝子に（およびFab軽鎖遺伝子に）転換することができる。ヒト軽鎖定常領域遺伝子の配列は当技術分野で知られており（例えば、Kabat, E.A., et al. [上記]参照）、これらの領域を包含するDNA断片は標準的なPCR増幅によって得ることができる。軽鎖定常領域はカップまたはラムダ定常領域であってよい。

#### 【0217】

scFv遺伝子を作製するため、V<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>コードDNA断片を、V<sub>H</sub>配列とV<sub>L</sub>配列を隣接単鎖タンパク質として発現することができ、V<sub>L</sub>領域とV<sub>H</sub>領域が柔軟なリンカーによって接合するように、柔軟なリンカーをコードする、例えばアミノ酸配列（Gly<sub>4</sub>-Ser）<sub>3</sub>をコードする別の断片に作動可能に連結させる（例えば、Bird et al., 1988 Science242:423-426;Huston et al., 1988 Proc.Natl.Acad.Sci.USA85:5879-5883; McCafferty et al., 1990 Nature348:552-554参照）。

#### 【0218】

##### モノクローナル抗体の作製

モノクローナル抗体（mAb）は、従来のモノクローナル抗体法、例えば、Kohler and Milstein (1975 Nature256:495)の標準的な体細胞ハイブリダイゼーション技法を含めた様々な技法によって産生することができる。モノクローナル抗体を産生するための多くの技法、例えばBリンパ球のウイルスまたは癌遺伝子形質転換を利用することができる。

#### 【0219】

ハイブリドーマを調製するための動物系はマウス系である。マウスにおけるハイブリド

10

20

30

40

50

ーマ産生は十分確立した手順である。融合用に免疫処置脾臓細胞を単離するための免疫処置プロトコールおよび技法は、当技術分野で知られている。融合パートナー（例えば、マウスミエローマ細胞）および融合手順も知られている。

#### 【0220】

本発明の組成物中に含まれるキメラまたはヒト化抗体は、前に記載したように調製したマウスモノクローナル抗体の配列に基づいて調製することができる。重鎖および軽鎖免疫グロブリンをコードするDNAは対象とするマウスハイブリドーマから得ることが可能であり、標準的な分子生物学の技法を使用し、これらを操作処理して非マウス（例えばヒト）免疫グロブリン配列を含有させることが可能である。例えば、キメラ抗体を作製するため、当技術分野で知られている方法を使用して、マウス可変領域をヒト定常領域と連結させることが可能である（例えば、米国特許第4,816,567号参照）。ヒト化抗体を作製するため、当技術分野で知られている方法を使用して、マウスCDR領域をヒトフレームワークに挿入することができる（例えば、米国特許第5,225,539号、同第5,530,101号、同第5,585,089号、同第5,693,762号、および同第6,180,370号参照）。

10

#### 【0221】

ある特定の実施形態では、本発明の組成物中に含まれる抗体はヒトモノクローナル抗体である。Ac t R I I Bに対するこのようなヒトモノクローナル抗体は、マウス系ではなくヒト免疫系の一部分を有する、トランスジェニックまたは染色体導入マウスを使用して作製することができる。これらのトランスジェニックおよび染色体導入マウスには、それぞれHuMAbマウスおよびKMマウスと本明細書で呼ぶマウスがあり、本明細書では集合的に「ヒトIgマウス」と呼ぶ。

20

#### 【0222】

HuMAbマウス（登録商標）（Medarex, Inc.）は、内生 $\mu$ および鎖遺伝子座を不活性化する標的突然変異と一緒に、非再編成ヒト重鎖（ $\mu$ および）および軽鎖免疫グロブリン配列をコードするヒト免疫グロブリン遺伝子のミニ遺伝子座を含有する（例えば、Lonberg, et al., 1994 Nature368(6474):856-859参照）。したがって、このマウスはマウスIgMまたはの発現の低下を示し、免疫処置に応答して、導入したヒト重鎖および軽鎖導入遺伝子がクラススイッチおよび体細胞突然変異を経て、高アフィニティーヒトIgGモノクローナル抗体が生じる（Lonberg, N. et al., 1994 [上記]; Lonberg, N., 1994 Handbook of Experimental Pharmacology 113:49-101中に総説された、Lonberg, N. and Huszar, D., 1995 Intern.Rev.Immunol.13:65-93、およびHarding, F. and Lonberg, N., 1995 Ann.N.Y.Acad.Sci.764:536-546）。HuMAbマウスの調製および使用、ならびにこのようなマウスによって実施されるゲノム修飾は、Taylor, L. et al., 1992 Nucleic Acids Research20:6287-6295; Chen, J. et al., 1993 International Immunology5:647-656; Tuailon et al., 1993 Proc.Natl.Acad.Sci.USA94:3720-3724; Choi et al., 1993 Nature Genetics4:117-123; Chen, J. et al., 1993 EMBO J.12:821-830; Tuailon et al., 1994 J.Immunol.152:2912-2920; Taylor, L. et al., 1994 International Immunology 579-591; およびFishwild, D. et al., 1996 Nature Biotechnology14:845-851中でさらに詳細に記載され、これら全ての参照文献の内容はその全容が参照として本明細書に具体的に組み込まれる。さらに、米国特許第5,545,806号、同第5,569,825号、同第5,625,126号、同第5,633,425号、同第5,789,650号、同第5,877,397号、同第5,661,016号、同第5,814,318号、同第5,874,299号、同第5,770,429号、および同第5,545,807号、ならびにWO92/103918、WO93/12227、WO94/25585、WO97/113852、WO98/24884、WO99/45962、およびWO01/14424を参照。

30

40

#### 【0223】

別の実施形態では、本発明の組成物中に含まれるヒト抗体は、ヒト重鎖導入遺伝子およびヒト軽鎖導入染色体を有するマウスなどの、導入遺伝子および導入染色体においてヒト

50

免疫グロブリン配列を有するマウスを使用して産生することができる。「KMマウス」と本明細書で呼ぶこのようなマウスは、WO 02 / 43478 中で詳細に記載される。

【0224】

ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現する、他のさらなる、別のトランスジェニック動物系は当技術分野で入手可能であり、これらを使用して本発明の抗 A c t R I I B 抗体を産生することができる。例えば、X e n o m o u s e ( A b g e n i x 、 I n c . ) と呼ばれる別のトランスジェニック系を使用することができる。このようなマウスは、例えば米国特許第 5 , 939 , 598 号、同第 6 , 075 , 181 号、同第 6 , 114 , 598 号、同第 6 , 150 , 584 号、および同第 6 , 162 , 963 号中で記載される。

【0225】

さらに、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現する、別の導入染色体動物系が当技術分野で入手可能であり、これらを使用して本発明の抗 A c t R I I B 抗体を産生することができる。例えば、「TCマウス」と呼ばれるヒト重鎖導入染色体とヒト軽鎖導入染色体との両方を有するマウスを使用することができ、このようなマウスは Tomizuka et al., 2000 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:722-727 中で記載される。さらに、ヒト重鎖および軽鎖導入染色体を有するウシが当技術分野で記載されており (Kuroiwa et al., 2002 Nature Biotechnology 20:889-894)、これらを使用して抗 A c t R I I B 抗体を産生することができる。

【0226】

本発明の組成物中に含まれるヒト組換え抗体は、ヒト免疫グロブリン遺伝子のライブラリーをスクリーニングするためのファージディスプレイ法を使用して調製することもできる。ヒト抗体を単離するためのこのようなファージディスプレイ法は当技術分野で確立しており、または以下の実施例中で記載する。例えば、米国特許第 5 , 223 , 409 号、同第 5 , 403 , 484 号、同第 5 , 571 , 698 号、同第 5 , 427 , 908 号、同第 5 , 580 , 717 号、同第 5 , 969 , 108 号、同第 6 , 172 , 197 号、同第 5 , 885 , 793 号、同第 6 , 521 , 404 号、同第 6 , 544 , 731 号、同第 6 , 555 , 313 号、同第 6 , 582 , 915 号および同第 6 , 593 , 081 号参照。

【0227】

本発明の組成物中に含まれるヒトモノクローナル抗体は、免疫処置によってヒト抗体応答が生じ得るように、ヒト免疫細胞が再構築された S C I D マウスを使用して調製することもできる。このようなマウスは、例えば米国特許第 5 , 476 , 996 号および米国特許第 5 , 698 , 767 号中で記載される。

【0228】

ヒトモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマの作製

本発明の組成物中に含まれるヒトモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを作製するため、免疫処置マウスから脾臓細胞および/またはリンパ節細胞を単離し、マウスミエローマ細胞系などの適切な不死化細胞系と融合させることが可能である。生成するハイブリドーマは、抗原特異的抗体の産生に関してスクリーニングすることができる。例えば、免疫処置マウス由来の脾臓細胞リンパ球の単細胞懸濁物は、50% P E G で 6 分の 1 の数の P 3 X 6 3 - A g 8 . 6 5 3 非分泌マウスミエローマ細胞 ( A T C C 、 C R L 1 5 8 0 ) と融合させることが可能である。細胞は平底マイクロタイタープレート中に約 2 × 1 4 5 でプレーティングし、次に 2 週間、20% 胎児クローン血清、18% 「653」条件付け培地、5% オリゲン (origen) ( I G E N ) 、4 mM の L - グルタミン、1 mM のピルビン酸ナトリウム、5 mM の H E P E S 、0 : 0 5 5 mM の 2 - メルカプトエタノール、50 単位 / m l のペニシリン、50 m g / m l のストレプトマイシン、50 m g / m l のゲンタマイシンおよび 1 X H A T ( S i g m a ; H A T は融合後 24 時間で加える ) を含有する選択培地中でインキュベートする。約 2 週間後、H A T を H T に置換した培地中で細胞を培養することができる。次いで個々のウエルを、E L I S A によりヒトモノクローナル I g M および I g G 抗体に関してスクリーニングすることができる。広範囲のハイブリドーマ増殖が起こった後、通常 10 ~ 14 日後に培地を観察することができる。抗体分泌ハイブリドーマは再度平板培養し、再度スクリーニングすることができ、ヒト I g

10

20

30

40

50



Gに対して依然陽性である場合、モノクローナル抗体は限界希釈によって少なくとも2回サブクロニングすることができる。次いで安定したサブクローンを*in vitro*で培養して、特徴付け用の組織培養培地中で少量の抗体を生成することができる。ヒトモノクローナル抗体を精製するため、選択したハイブリドーマを、モノクローナル抗体精製の2リットルのスピナーフラスコ中で増殖することができる。上清は濾過し、プロテインA-セファロース(Pharmacia)によるアフィニティークロマトグラフィーの前に濃縮することができる。溶出したIgGはゲル電気泳動および高速液体クロマトグラフィーによって調べ、純度を保証することができる。バッファー溶液はPBSに交換することができ、1.43の消費係数を使用しOD<sub>280</sub>によって濃度を決定することができる。モノクローナル抗体は等分し、-80℃で保存することができる。

10

## 【0229】

モノクローナル抗体を産生するトランスフェクトーマの作製

本発明の組成物中に含まれる抗体は、当技術分野でよく知られているように(例えば、Morrison, S.(1985)Science 229:1202)、例えば組換えDNA技法と遺伝子トランスフェクション法の組合せを使用して、宿主細胞トランスフェクトーマ中で産生することもできる。

## 【0230】

例えば、抗体、またはその抗体断片を発現するため、部分的または完全長軽鎖および重鎖をコードするDNAを、標準的な分子生物学の技法(例えば、対象とする抗体を発現するハイブリドーマを使用するPCR増幅またはcDNAクローニング)によって得ることができ、遺伝子が転写および翻訳調節配列に作動可能に連結するように、DNAを発現ベクターに挿入することができる。本文脈では、用語「～に作動可能に連結した」は、ベクター内の転写および翻訳調節配列が、抗体遺伝子の転写および翻訳を制御するそれらの目的とする機能を果たすように、抗体遺伝子がベクター中に連結することを意味するものとする。発現ベクターおよび発現調節配列は、使用する発現宿主細胞と適合性があるように選択する。抗体の軽鎖遺伝子と抗体の重鎖遺伝子は別々のベクターに挿入することができ、またはより典型的には、両方の遺伝子を同じ発現ベクターに挿入する。標準的な方法(例えば、抗体遺伝子断片上の相補的制限部位とベクターの連結、または制限部位が存在しない場合は平滑末端連結)によって、抗体の遺伝子を発現ベクターに挿入する。本明細書に記載する抗体の軽鎖および重鎖可変領域を使用して、V<sub>H</sub>セグメントがベクター内のC<sub>H</sub>セグメント(複数可)に作動可能に連結しV<sub>L</sub>セグメントがベクター内のC<sub>L</sub>セグメントに作動可能に連結するように、望ましいアイソタイプの重鎖定常領域と軽鎖定常領域を既にコードする発現ベクターにそれらを挿入することによって、任意の抗体アイソタイプの完全長抗体遺伝子を作製することができる。追加的または代替的に、組換え発現ベクターは、宿主細胞からの抗体鎖の分泌を容易にするシグナルペプチドをコードすることができる。シグナルペプチドが抗体鎖遺伝子のアミノ末端とインフレームで連結するように、抗体鎖遺伝子をベクターにクローニングすることができる。シグナルペプチドは、免疫グロブリンシグナルペプチドまたは異種シグナルペプチド(すなわち、非免疫グロブリンタンパク質由来のシグナルペプチド)であってよい。

20

30

## 【0231】

抗体鎖遺伝子以外に、本発明の組換え発現ベクターは、宿主細胞中で抗体鎖遺伝子の発現を調節する制御配列を有する。用語「制御配列」は、抗体鎖遺伝子の転写または翻訳を調節する、プロモーター、エンハンサーおよび他の発現調節エレメント(例えば、ポリ阿德ニル化シグナル)を含むものとする。このような制御配列は、例えばGoeddel(Gene Expression Technology. Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA1990)中に記載されている。制御配列の選択を含めた発現ベクターの設計は、例えば形質転換する宿主細胞の選択、望ましいタンパク質の発現レベルなどの要因に依存し得ることは当業者によって理解される。哺乳動物宿主細胞発現に関する制御配列には、サイトメガロウイルス(CMV)、サルウイルス40(SV40)、アデノウイルス(例えば、アデノウイルス後期主要プロモーター(AdMLP))、およびポリオーマ由来のプロモーターお

40

50

よび/またはエンハンサーなどの、哺乳動物細胞中で高レベルのタンパク質発現を誘導するウイルスエレメントがある。あるいは、ユビキチンプロモーターまたはP-グロビンプロモーターなどの、非ウイルス制御配列を使用することができる。他にさらに、SV40初期プロモーター由来の配列とヒトT細胞白血病ウイルス1型の長鎖末端反復単位を含有するSRαプロモーター系などの、異なる供給源由来の配列で構成される制御エレメント (Takebe, Y. et al., 1988 Mol. Cell. Biol. 8:466-472)。

#### 【0232】

抗体鎖遺伝子および制御配列以外に、組換え発現ベクターは、宿主細胞中のベクターの複製を制御する配列 (例えば、複製起点) などの別の配列、および選択マーカー遺伝子を有することができる。選択マーカー遺伝子は、その中にベクターが導入された宿主細胞の選択を容易にする (例えば、米国特許第4,399,216号、同第4,634,665号および同第5,179,017号参照)。例えば典型的には、選択マーカー遺伝子は、その中にベクターが導入された宿主細胞において、G418、ヒグロマイシンまたはメトトレキサートなどの薬剤に対する耐性をもたらす。選択マーカー遺伝子には、(メトトレキサート選択/増幅でdhfr-宿主細胞において使用するための)ジヒドロ葉酸レダクターゼ(DHFR)遺伝子および(G418選択に関する)neo遺伝子がある。

#### 【0233】

軽鎖および重鎖の発現用に、重鎖および軽鎖をコードする発現ベクター(複数可)を、標準的な技法によって宿主細胞にトランスフェクトする。様々な型の用語「トランスフェクション」は、例えばエレクトロポレーション、リン酸カルシウム沈殿法、DEAE-デキストラントランスフェクションなどの、原核生物または真核生物宿主細胞中への外来DNAの導入のために一般に使用される広く様々な技法を包含するものとする。原核生物または真核生物宿主細胞中のいずれかにおいて、本発明の抗体を発現させることが理論上可能である。真核生物細胞中、特に哺乳動物宿主細胞中での抗体の発現を論じる。このような真核生物細胞、および特に哺乳動物細胞は、適切にフォールディングされ免疫学的活性がある抗体を構築し分泌する可能性が原核生物細胞より高いからである。原核生物における抗体遺伝子の発現は、高収率の活性抗体の産生に関して無効であることが報告されている (Boss, M.A. and Wood, C.R., 1985 Immunology Today 6:12-13)。

#### 【0234】

本発明の組成物中に含まれる組換え抗体を発現させるための哺乳動物宿主細胞には、(例えばR.J.Kaufman and P.A.Sharp, 1982 Mol. Biol. 159:601-621中に記載されたようなDHFR選択マーカーを使用する、Urlaub and Chasin, 1980 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220に記載されたdhfr-CHO細胞を含めた)チャイニーズハムスター卵巣(CHO細胞)、NSOミエローマ細胞、COS細胞およびSP2細胞がある。一実施形態では、宿主細胞はCHO K1PD細胞である。特に、NSOミエローマ細胞を用いる使用に関しては、別の発現系は、WO87/04462、WO89/01036およびEP338,841中に示されたGS遺伝子発現系である。本発明の組成物中に含まれる組換え抗体を発現させるための哺乳動物宿主細胞は、例えばUS6,946,292B2中に記載されたような、FUT8遺伝子発現に欠陥がある哺乳動物細胞系を含む。抗体遺伝子をコードする組換え発現ベクターを哺乳動物宿主細胞に導入するとき、宿主細胞中での抗体の発現、または宿主細胞が増殖する培養培地中への抗体の分泌を可能にするのに十分な時間の間、宿主細胞を培養することによって抗体が産生される。標準的なタンパク質精製法を使用して、培養培地から抗体を回収することができる。

#### 【0235】

##### イムノコンジュゲート

別の態様では本発明は、細胞毒素、薬剤(例えば、免疫抑制剤)または放射性毒素などの治療成分とコンジュゲートした、抗AcetRIB抗体、またはその断片を含む組成物を特徴とする。このようなコンジュゲートを本明細書では「イムノコンジュゲート」と呼ぶ。1つまたは複数の細胞毒素を含むイムノコンジュゲートは「イムノトキシン」と呼ぶ。細胞毒素または細胞毒性物質は、細胞に有害な(例えば殺傷する)任意の作用物質を含

む。

【 0 2 3 6 】

当技術分野で利用可能なリンカー技術を使用して、細胞毒素を本発明の抗体にコンジュゲートさせることが可能である。抗体に細胞毒素をコンジュゲートさせるために使用されているリンカータイプの例には、ヒドラゾン、チオエーテル、エステル、ジスルフィド、およびペプチド含有リンカーがあるが、これらだけには限られない。例えばリソソーム区画内の低い pH による切断の影響を受けやすい、または例えばカテプシン（例えば、カテプシン B、C、D）などの腫瘍組織内で優先的に発現されるプロテアーゼなどの、プロテアーゼによる切断の影響を受けやすい、リンカーを選択することができる。

【 0 2 3 7 】

細胞毒素、リンカーの型、および抗体と治療剤を結合させるための方法のさらなる考察に関しては、Saito, G. et al., 2003 Adv. Drug Deliv. Rev. 55:199-215; Trail, P.A. et al., 2003 Cancer Immunol. Immunother. 52:328-337; Payne, G. 2003 Cancer Cell 3: 207-212; Allen, T.M., 2002 Nat. Rev. Cancer 2:750-763; Pastan, I. and Kreitman, R.J., 2002 Curr. Opin. Investig. Drugs 3:1089-1091; Senter, P.D. および Springer, C.J., 2001 Adv. Drug Deliv. Rev. 53:247-264 も参照。

【 0 2 3 8 】

本発明の組成物中に含まれる抗体を放射性同位体とコンジュゲートさせて、ラジオイムノコンジュゲートとも呼ばれる細胞毒性放射性製剤を生成することも可能である。診断または治療に使用するために抗体とコンジュゲートさせることが可能な放射性同位体の例には、ヨウ素<sup>131</sup>、インジウム<sup>111</sup>、イットリウム<sup>90</sup>、およびルテチウム<sup>177</sup>があるが、これらだけには限られない。ラジオイムノコンジュゲートを調製するための方法は当技術分野で確立している。Zevalin（商標）（DEC Pharmaceuticals）および Bexxar（商標）（Corixa Pharmaceuticals）を含めた、数例のラジオイムノコンジュゲートが市販されており、本発明の抗体を使用して、類似の方法を使用してラジオイムノコンジュゲートを調製することができる。

【 0 2 3 9 】

本発明の組成物中に含まれる抗体コンジュゲートを使用して所与の生物反応を修飾することができる。薬剤成分は古典的な化学治療剤に限られるとは解釈すべきでない。例えば薬剤成分は、望ましい生物活性を有するタンパク質またはポリペプチドであってよい。このようなタンパク質は、例えばアブリン、リシン A、シュードモナスエキソトキシン、またはジフテリア毒素などの酵素活性毒素、またはその活性断片、腫瘍壊死因子もしくはインターフェロン - などのタンパク質、または、例えば、リンホカイン、インターロイキン - 1（「IL - 1」）、インターロイキン - 2（「IL - 2」）、インターロイキン - 6（「IL - 6」）、顆粒球マクロファージ - コロニー刺激因子（「GM - CSF」）、顆粒球コロニー刺激因子（「G - CSF」）、もしくは他の増殖因子などの生物反応修飾物質を含むことができる。

【 0 2 4 0 】

抗体とこのような治療成分をコンジュゲートさせるための技法はよく知られており、例えば、Amon et al., 「Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy」、Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld et al. (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985) 中、Hellstrom et al., 「Antibodies For Drug Delivery」、Controlled Drug Delivery (2nd Ed.), Robinson et al. (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987) 中、Thorpe, 「Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review」、Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications, Pinchera et al. (eds.), pp. 475-506 (1985) 中、「Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy」、Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwin et al. (eds.), pp. 303-16 (Academic Press 1985) 中、および Thorpe et al., 「The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates」、Immunol. Rev., 62:119-58 (

10

20

30

40

50

1982)を参照。

【0241】

二重特異性分子

別の態様において本発明は、本発明の抗 A c t R I I B 抗体、またはその断片を含む、二重特異性または多重特異性分子を含む組成物を特徴とする。本発明の組成物中に含まれる抗体、またはその抗原結合領域を誘導体化、または別の機能性分子、例えば別のペプチドもしくはタンパク質（例えば、受容体に対する別の抗体もしくはリガンド）と連結させて、少なくとも2つの異なる結合部位もしくは標的分子と結合する二重特異性分子を作製することが可能である。実際、本発明の抗体を誘導体化、または2つ以上の他の機能性分子と連結させて、3つ以上の異なる結合部位および/または標的分子と結合する多重特異性分子を作製することが可能であり、このような多重特異性分子も、本明細書で使用する用語「二重特異性分子」によって包含されるものとする。本発明の二重特異性分子を作製するため、本発明の抗体を、別の抗体、抗体断片、ペプチドまたは結合模倣体などの1つまたは複数の他の結合分子と（例えば、化学的カップリング、遺伝子融合、非共有結合またはその他によって）機能的に連結させることが可能であり、したがって二重特異性分子が生成する。

10

【0242】

したがって本発明は、A c t R I I B に対する少なくとも1つの第一結合特異性および第二標的エピトープに対する第二結合特異性を含む、二重特異性分子を含む組成物を含む。例えば第二標的エピトープは、第一標的エピトープと異なる A c t R I I B の別のエピトープであってよい。

20

【0243】

さらに、二重特異性分子が多重特異的である組成物に関しては、分子は第一および第二標的エピトープ以外に、第三結合特異性をさらに含むことができる。

【0244】

一実施形態では、開示する組成物の二重特異性分子は、結合特異性として、例えば F a b、F a b'、F ( a b' )<sub>2</sub>、F v、もしくは単鎖 F v を含めた、少なくとも1つの抗体、またはその抗体断片を含む。抗体は、軽鎖もしくは重鎖二量体、または F v などのそれらの任意の最小断片、またはその全容が参照として本明細書に明確に組み込まれる Ladner et al. の米国特許第 4, 9 4 6, 7 7 8 号中に記載された単鎖構築物であってもよい。

30

【0245】

二重特異性分子において利用することができる他の抗体は、マウス、キメラおよびヒト化モノクローナル抗体である。

【0246】

本発明の組成物中に含まれる二重特異性分子は、当技術分野で知られている方法を使用して、構成成分の結合特異性をコンジュゲートすることによって調製することができる。例えば、各々の結合特異性の二重特異性分子を別々に生成させ、次いで互いにコンジュゲートさせることが可能である。結合特異性がタンパク質またはペプチドであるとき、様々なカップリングまたは架橋剤を共有結合に使用することができる。架橋剤の例には、プロテイン A、カルボジイミド、N - スクシンイミジル - S - アセチル - チオアセテート ( S A T A )、5, 5' - ジチオビス ( 2 - ニトロ安息香酸 ) ( D T N B )、o - フェニレンジマレイミド ( o P D M )、N - スクシンイミジル - 3 - ( 2 - ビリジルジチオ ) プロピオネート ( S P D P )、およびスルホスクシンイミジル 4 - ( N - マレイミドメチル ) シクロヘキサン - 1 - カルボキシレート ( スルホ - S M C C ) がある (例えば、Karpovsky et al., 1984 J. Exp. Med. 160:1686; Liu, MA et al., 1985 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:86 48 参照)。他の方法には、Paulus, 1985 Behring Ins. Mitt. No. 78, 118-132; Brennan et al., 1985 Science 229:81-83)、および Glennie et al., 1987 J. Immunol. 139:2367-2375) 中に記載された方法がある。コンジュゲーション剤は、いずれも P i e r c e C h e m i c a l C o . ( R o c k f o r d , I L ) から入手可能な S A T A とスルホ - S M

40

50

ＣＣである。

【０２４７】

結合特異性が抗体であるとき、２つの重鎖のＣ末端ヒンジ領域のスルフヒドリル結合によって、それらをコンジュゲートさせることが可能である。特定の実施形態では、コンジュゲーション前に、奇数、例えば１個のスルフヒドリル残基を含有するようにヒンジ領域を修飾する。

【０２４８】

あるいは、両方の結合特異性が同じベクターでコードされ、同じ宿主細胞で発現および構築される可能性がある。二重特異性分子が $mAb \times mAb$ 、 $mAb \times Fab$ 、 $Fab \times F(ab')_2$ またはリガンド $\times Fab$ 融合タンパク質である場合、この方法は特に有用である。本発明の組成物中に含まれる二重特異性分子は、１つの単鎖抗体と結合決定基を含む単鎖分子、または２つの結合決定基を含む単鎖二重特異性分子であってよい。二重特異性分子は、少なくとも２つの単鎖分子を含むことができる。二重特異性分子を調製するための方法は、例えば米国特許第５，２６０，２０３号、同第５，４５５，０３０号、同第４，８８１，１７５号、同第５，１３２，４０５号、同第５，０９１，５１３号、同第５，４７６，７８６号、同第５，０１３，６５３号、同第５，２５８，４９８号、および同第５，４８２，８５８号中で記載されている。

【０２４９】

二重特異性分子とそれらの特異的標的との結合は、例えば、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）、ＦＡＣＳ分析、バイオアッセイ（例えば、増殖阻害）、またはウエスタンブロットアッセイによって確認することができる。これらのアッセイの各々は、対象とする特定の複合体に特異的な標識試薬（例えば抗体）を利用することによって、対象とするタンパク質－抗体複合体の存在を一般に検出する。

【０２５０】

多価抗体

別の態様において本発明は、 $ActRIIB$ と結合する開示する抗体の少なくとも２つの同一または異なる抗原結合部分を含む、多価抗体を含む組成物に関する。一実施形態では多価抗体は、少なくとも２つ、３つまたは４つの抗体の抗原結合部分をもたらし。抗原結合部分は、タンパク質融合または共有結合または非共有結合を介して１つに連結させることが可能である。あるいは、二重特異性分子に関する連結法が記載されている。様々な実施形態において、組成物は、（例えば、１個、２個または数個の抗原と結合することができる）一価、二価、もしくは多価、および／または（例えば、１個、２個または数個の異なる抗原と結合することができる結合領域（複数可）を有する）一種、二種、もしくは多種特異的であってよい。組成物は、これらの任意の組合せ、例えば（１個の抗原もしくはエピトープと結合する１個の結合領域を有する）一価と一種特異的、または（そのそれぞれが異なる抗原もしくはエピトープと結合する２個の結合領域を有する）二価と二種特異的、または（そのそれぞれが同じ抗原もしくはエピトープと結合する２個の結合領域を有する）二価と一種特異的、または（全てが同じ抗原もしくはエピトープと結合する数個の結合領域を有する）多価と一種特異的、または（数個の異なる抗原もしくはエピトープと結合する数個の結合領域を有する）多価と多種特異的であってよい。

【０２５１】

医薬組成物

別の態様において本発明は、薬学的に許容される担体と共に製剤化した、前に記載した抗体／モノクローナル抗体、またはその抗原結合部分（複数可）の１つまたは組合せを含有する、組成物、例えば医薬組成物を提供する。このような組成物は、（例えば、２つ以上の異なる）記載した抗体、またはイムノコンジュゲートもしくは二重特異性分子の１つまたは組合せを含むことができる。例えば、本発明の医薬組成物は、標的抗原において異なるエピトープと結合する抗体、または相補的活性を有する抗体の組合せを含むことができる。

【０２５２】

本発明の医薬組成物は、併用療法において、すなわち他の作用物質と併用して投与することもできる。例えば併用療法は、少なくとも1つの他の筋肉重量/強度増強剤、例えばIGF-1、IGF-2、またはIGF-1もしくはIGF-2の変異体、抗ミオスタチン抗体、ミオスタチンプロペプチド、ActRIIBと結合するがそれを活性化しないミオスタチン擬似タンパク質、2アゴニスト、Ghrelinアゴニスト、SARM、GHアゴニスト/模倣体またはフォリスタチンと併用する、本発明の抗ActRIIB抗体を含むことができる。併用療法において使用することができる治療剤の例は、本発明の抗体の使用に関するセクションで、以下にさらに詳細に記載する。

#### 【0253】

本明細書で使用する「薬学的に許容される担体」は、生理的に適合性がある、任意および全ての溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤などを含む。担体は、（例えば、注射または注入による）静脈内、筋肉内、皮下、非経口、脊髄または表皮投与に適していなければならない。投与の経路に応じて、活性化化合物、すなわち抗体、イムノコンジュゲート、または二重特異性分子を材料でコーティングして、化合物を不活性化し得る酸の作用および他の天然条件から化合物を保護することができる。

#### 【0254】

本発明の医薬組成物は、1つまたは複数の薬学的に許容される塩を含むことができる。「薬学的に許容される塩」は、親化合物の望ましい生物活性を保持し、いかなる望ましくない毒性効果をも与えない塩を指す（例えば、Berge, S.M., et al., 1977 J.Pharm.Sci. 66:1-19参照）。このような塩の例には、酸付加塩および塩基付加塩がある。酸付加塩には、例えば塩酸、硝酸、リン酸、硫酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、亜リン酸などの無毒な無機酸由来、ならびに例えば脂肪族モノ-およびジカルボン酸、フェニル置換アルカン酸、ヒドロキシアルカン酸、芳香族酸、脂肪族および芳香族スルホン酸などの無毒な有機酸由来の塩がある。塩基付加塩には、例えばナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウムなどのアルカリ土類金属由来、ならびに例えばN,N'-ジベンジルエチレンジアミン、N-メチルグルカミン、クロロプロカイン、コリン、ジエタノールアミン、エチレンジアミン、プロカインなどの無毒な有機アミン由来の塩がある。

#### 【0255】

本発明の医薬組成物は、薬学的に許容される抗酸化剤を含むこともできる。薬学的に許容される抗酸化剤の例には、例えばアスコルビン酸、システイン塩酸塩、重硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、硫酸ナトリウムなどの水溶性抗酸化剤、例えばパルミチン酸アスコルビル、ブチル化ヒドロキシアニソール(BHA)、ブチル化ヒドロキシトルエン(BHT)、レシチン、没食子酸プロピル、-トコフェロールなどの油溶性抗酸化剤、および例えば、クエン酸、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)、ソルビトール、酒石酸、リン酸などの金属キレート剤がある。

#### 【0256】

本発明の医薬組成物において利用することができる適切な水性および非水性担体の例には、水、エタノール、（例えばグリセロール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなどの）ポリオール、およびこれらの適切な混合物、オリーブ油などの植物油、およびオレイン酸エチルなどの注射用有機エステルがある。例えばレシチンなどのコーティング物質の使用によって、分散剤の場合は必要な粒径の維持によって、および界面活性剤の使用によって、適切な流動性を維持することができる。

#### 【0257】

これらの組成物は、防腐剤、湿潤剤、乳化剤および分散剤などの補助剤を含有することもできる。微生物の存在の予防は、前述の滅菌手順と、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノールソルビン酸などの、様々な抗菌剤および抗真菌剤の封入の両方によって確実にすることができる。例えば糖、塩化ナトリウムなどの等張剤を組成物中に含めることが望ましい可能性もある。さらに、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンなどの吸収を遅延する作用物質の封入によって、注射用剤形の長期の吸収をもたらすことがで

10

20

30

40

50

きる。

【0258】

薬学的に許容される担体には、滅菌水溶液または分散剤、および滅菌注射溶液または分散剤の即時調製物用の滅菌粉末がある。薬学的活性物質用のこのような媒体および作用物質の使用は、当技術分野で知られている。いかなる従来の媒体または作用物質も活性化化合物と不適合である場合を除いて、本発明の医薬組成物におけるその使用が企図される。補助活性化化合物を組成物中に取り込むこともできる。

【0259】

典型的には治療用組成物は、製造および保存の条件下において滅菌および安定状態でなければならない。組成物は、高い薬剤濃度に適した溶液、マイクロエマルジョン、リボソーム、または他の規則的構造として製剤化することができる。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えばグリセロール、プロピレングリコール、および液状ポリエチレングリコールなど）、ならびにこれらの適切な混合物を含有する溶媒または分散媒であってよい。例えばレシチンなどのコーティングの使用によって、分散剤の場合は必要な粒径の維持によって、および界面活性剤の使用によって、適切な流動性を維持することができる。多くの場合、等張剤、例えば糖、マンニトール、ソルビトールなどのポリアルコール、または塩化ナトリウムを組成物中に含めることができる。吸収を遅延する作用物質、例えばモノステアリン酸塩およびゼラチンを組成物中に封入することによって、注射用組成物の長期の吸収をもたらすことができる。

【0260】

滅菌注射溶液は、必要量の活性化化合物を、必要に応じて前に列挙した作用物質の1つまたは組合せを含む適切な溶媒中に取り込み、次に滅菌精密濾過によって調製することができる。一般に、基礎分散媒および前に列挙した作用物質由来の他の必要な作用物質を含有する滅菌ビヒクル中に活性化化合物を取り込むことによって、分散剤を調製する。滅菌注射溶液の調製物用の滅菌粉末の場合、調製の方法は、事前に滅菌濾過したその溶液から活性剤および任意の他の望ましい作用物質の粉末を生成する、真空乾燥および凍結-乾燥（凍結乾燥法）である。

【0261】

担体物質と併用して単一剤形をもたらすことができる活性剤の量は、治療する対象、および個々の投与形式に応じて変わり得る。担体物質と併用して単一剤形をもたらすことができる活性剤の量は、一般に治療効果をもたらす組成物の量である。一般に100パーセント中で、この量は、薬学的に許容される担体と併用して、約0.01パーセント～約99パーセントの活性剤、約0.1パーセント～約70パーセント、または約1パーセント～約30パーセントの活性剤の範囲であり得る。

【0262】

投与レジメンを調整して、最適な望ましい応答（例えば、治療応答）をもたらす。例えば、単回ボーススを投与することができ、数回の分割用量を経時的に投与することができる、または治療状況の緊急性によって示されるとき、用量を比例的に低下または増大することができる。投与のしやすさおよび用量の均一性のため、単位剤形で非経口組成物を製剤化することは非常に有利である。本明細書で使用する単位剤形は、治療する対象に関する単回用量として適した物理的に別個の単位を指し、それぞれの単位は、必要な医薬担体と共に望ましい治療効果をもたらすと計算された所定量の活性化化合物を含有する。本発明の単位剤形に関する仕様は、活性化化合物の独自の特性および得られる特定の治療効果、ならびに個体の感受性を治療するような活性化化合物の配合の分野における固有の制約によって示され、これらに直接依存する。

【0263】

抗体を含む組成物の投与に関して、抗体用量は、約0.0001～100mg/宿主体重1kg、およびより通常は0.01～30mg/宿主体重1kgの範囲である。例えば用量は、約0.3mg/体重1kg、約1mg/体重1kg、約3mg/体重1kg、約5mg/体重1kgまたは約10mg/体重1kgまたは約30mg/体重1kg、約1

10

20

30

40

50

～ 10 mg / kg または約 3 ～ 7 mg / kg の範囲内であってよい。例示的な治療レジメは、週に 1 回、2 週に 1 回、3 週に 1 回、4 週に 1 回、1 ヶ月に 1 回、3 ヶ月に 1 回または 3 ～ 6 ヶ月に 1 回の投与を伴う。あるいは抗体は、1 年にほぼ 1 回または 1 回のみ投与することができる。このような投与は、静脈内または皮下に実施することができる。本発明の抗 A c t R I I B 抗体に関する投与レジメンは、静脈内投与による 1 mg / 体重 1 kg または 3 mg / 体重 1 kg を含み、以下の投与スケジュール、4 週毎に 6 投与、次いで 3 ヶ月毎、3 週毎、3 mg / 体重 1 kg を 1 回、次に 1 mg / 体重 1 kg を 3 週毎の 1 つを使用して抗体を与える。

【 0 2 6 4 】

用量は、対象における赤血球レベルを増大させることなく、B A T の増大を引き起こす用量でなければならない。幾つかの方法では、異なる結合特異性を有する 2 つ以上のモノクローナル抗体が本発明の組成物中に含まれ、したがって同時に投与すると、その場合、投与するそれぞれの抗体の用量は示す範囲内にある。抗体は通常複数回投与する。1 回投与間の間隔は、例えば週に 1 回、1 ヶ月に 1 回、3 ヶ月毎、6 ヶ月毎または 1 年に 1 回であってよい。患者における標的抗原に対する抗体の血中レベルの測定によって示されるように、間隔は不定期であってよい。用量を調整して幾つかの方法では約 1 ～ 1000 μg / ml、および幾つかの方法では約 25 ～ 300 μg / ml の血漿中抗体濃度を得る。例えば、本発明の A c t R I I B 抗体は抗ミオスタチン抗体と同時投与することが可能である。

【 0 2 6 5 】

あるいは、組成物は徐放性製剤であってよく、その場合は低頻度の投与が必要とされる。用量および頻度は、患者における抗体の半減期に応じて変わる。一般に、ヒト抗体が最も、次にヒト化抗体、キメラ抗体、および非ヒト抗体が長い半減期を示す。投与の用量および頻度は、治療が予防的または療法的であるかどうかに応じて変えることができる。予防用途では、比較的少ない用量を、長時間にわたり比較的低頻度の間隔で投与する。一部の患者には、その生涯の残り期間にわたり治療を施し続ける。療法用途では、疾患の進行が低減もしくは終了するまで、または患者が疾患症状の部分的もしくは完全な改善を示すまで、比較的短い間隔での比較的高用量が時折必要とされる。その後、患者に予防的レジメを施すことができる。

【 0 2 6 6 】

本発明の医薬組成物中の活性剤の実際の用量レベルを変えて、特定の患者、組成物に関する望ましい治療応答、および患者に対して毒性がない投与形式を達成するのに有効な活性剤の量を得ることができる。選択する用量レベルは、利用する本発明の特定の組成物、またはそのエステル、塩もしくはアミドの活性、利用する特定の化合物の投与経路、投与時間、排出速度、治療期間、利用する特定の組成物と併用して使用する他の薬剤、化合物および/または物質、治療する患者の年齢、性別、体重、状態、一般的な健康状態および以前の病歴、ならびに医療分野でよく知られている同様の要因を含めた、様々な薬物動態的要因に依存する。

【 0 2 6 7 】

「治療有効量」の本発明の組成物に含まれる抗 A c t R I I B 抗体の投与は、疾患症状の重症度の低下、無疾患症状期の頻度および期間の増大、または疾患の苦痛が原因の欠陥もしくは身体障害の予防、すなわち、筋肉重量および/もしくは強度の増大をもたらすことができる。

【 0 2 6 8 】

当技術分野で知られている 1 つまたは複数の様々な方法を使用して、1 つまたは複数の投与経路によって本発明の組成物を投与することができる。当業者によって理解されるように、投与の経路および/または形式は望む結果に応じて変わり得る。本発明の抗体に関する投与の経路には、例えば注射または注入による、静脈内、筋肉内、皮内、腹腔内、皮下、脊髄または他の非経口投与経路がある。本明細書で使用する語句「非経口投与」は、通常は注射による、腸溶性および局所投与以外の投与の形式を意味し、静脈内、筋肉内、

10

20

30

40

50



動脈内、髄腔内、包内、眼窩内、心臓内、真皮内、腹腔内、気管経由、皮下、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、脊髄内、硬膜外および幹内（intrastemal）注射および注入を非制限的に含む。一実施形態では、抗体を含む組成物を静脈内投与する。別の実施形態では、抗体を皮下投与する。

#### 【0269】

あるいは、本発明の抗体を含む組成物は、局所などの非経口経路、表皮または粘膜投与経路、例えば、鼻腔内、経口、膣内、直腸、舌下または局所に投与することができる。

#### 【0270】

急速な放出に対して化合物を保護する担体を用いて、インプラント、経皮パッチ、およびマイクロカプセル化送達系を含めた徐放性製剤などの、活性化合物を調製することができる。エチレン酢酸ビニル、ポリ酸無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、およびポリ乳酸などの、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くの方法が特許されており、または当業者には一般に知られている。例えば、Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R.Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978参照。

#### 【0271】

治療用組成物は、当技術分野で知られている医療用デバイスを用いて投与することができる。例えば一実施形態では、本発明の治療用組成物は、米国特許第5,399,163号、同第5,383,851号、同第5,312,335号、同第5,064,413号、同第4,941,880号、同第4,790,824号または同第4,596,556号中に示されたデバイスなどの、ニードルレス皮下注射用デバイスを用いて投与することができる。本発明において有用なよく知られているインプラントおよびモジュールの例には、制御速度で医薬品を分配するためのインプラント用マイクロ注入ポンプを示す米国特許第4,487,603号、皮膚を介して医薬品を投与するための治療用デバイスを示す米国特許第4,486,194号、正確な注入速度で医薬品を送達するための医薬品注入ポンプを示す米国特許第4,447,233号、連続的薬剤送達のための様々な流速でインプラント可能な注入装置を示す米国特許第4,447,224号、マルチチャンバーコンパートメントを有する浸透性薬剤送達系を示す米国特許第4,439,196号、および浸透性薬剤送達系を示す米国特許第4,475,196号がある。多くの他のこのようなインプラント、送達系、およびモジュールは当業者には知られており、MicroCHIP S（商標）（Bedford, MA）によって製造されたものを含む。

#### 【0272】

ある特定の実施形態では、本発明のヒトモノクローナル抗体を含む組成物を製剤化して、in vivoでの適切な分布を確実にすることができる。例えば、血液脳関門（BBB）は多くの高親水性化合物を排除する。（望ましい場合）本発明の治療用化合物がBBBを越えることを確実にするため、それらは例えばリポソームで製剤化することができる。リポソームの製造法に関しては、例えば、米国特許第4,522,811号、同第5,374,548号、および同第5,399,331号参照。リポソームは、特定細胞または器官に選択的に運ばれ、したがって標的化薬剤送達が増大する1つまたは複数の成分を含むことができる（例えば、V.V.Ranade, 1989 J.Clin Pharmacol.29:685参照）。例示的な標的成分には、葉酸またはピオチン（例えば、米国特許第5,416,016号参照）、マンノシド（Umezawa et al., 1988 Biochem.Biophys.Res.Commun.153:1038）、抗体（P.G.Bloeman et al., 1995 FEBS Lett.357:140;M.Owais et al., 1995 Antimicrob.Agent s Chemother.39:180）、サーファクタントプロテインA受容体（Briscoe et al., 1995 Am.J.Physiol.1233:134）、p120（Schreier et al., 1994 J.Biol.Chem.269:9090）がある。K.Keinanen;M.L.Laukkanen, 1994 FEBS Lett.346:123;J.J.Killion;I.J.Fidler, 1994 Immunomethods4:273も参照。

#### 【0273】

本発明の使用および方法

本発明の組成物および開示する抗体には、それらは、個体において血液学的パラメータ

10

20

30

40

50

に悪影響を与えずに、褐色脂肪組織および／または平均血漿中グルコース恒常性に対する影響があるので治療有用性がある。例えば、開示する組成物または分子を対象に投与して、様々な代謝障害を治療または予防することができる。したがって本開示は、褐色脂肪組織の活性、血漿中グルコース恒常性／濃度および／もしくは血漿中インスリン濃度の存在によって影響を受ける、またはそれらと関係がある疾患または状態を治療または予防するための、A c t R I I B 抗体の使用を企図する。したがって、本発明の組成物および開示する抗体は、熱産生脂肪細胞の活性、血漿中グルコース濃度、グルコース恒常性および／もしくは血漿中インスリン濃度によって影響を受ける、またはそれらによって引き起こされる、またはそれらと関係がある代謝障害の治療、前記障害またはその症状の発症の予防および遅延において使用することができる。本明細書で使用する、用語「対象」または「個体」はヒトおよび非ヒト動物を含むものとする。非ヒト動物は、全ての脊椎動物、例えば哺乳動物および非哺乳動物、例えば非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ニワトリ、両生類、および爬虫類などを含む。

10

**【 0 2 7 4 】**

したがって、本開示はさらに、本発明の組成物または開示する抗 A c t R I I B 抗体が、A c t R I I B の機能を阻害、すなわちアンタゴナイズし、それによって代謝効果を誘導する、例えば代謝障害の緩和をもたらす治療法に関する。本発明は、治療有効量の抗 A c t R I I B 抗体または開示する組成物を患者に投与することを含む、代謝障害に罹患した患者の治療法を提供する。

**【 0 2 7 5 】**

20

ある特定の実施形態では、本開示は、対象における代謝障害を治療する方法であって、前記対象における赤血球レベルを増大させることなく、A c t R I I B と結合する抗体を前記対象に投与し、褐色脂肪組織 ( B A T ) の増大をもたらすことを含む方法に関する。開示する治療法において使用することができる A c t R I I B 抗体の例は、前で詳細に開示または記載した抗体である。ある特定の実施形態では、A c t R I I B 抗体は本明細書に開示する本発明の組成物中に含まれる。

**【 0 2 7 6 】**

ある特定の態様では、前述の代謝障害は、平均血漿中グルコース濃度増大、異常なグルコース恒常性および／または血漿中インスリン濃度の結果であるか、またはこれらによって引き起こされる。別の実施形態では、代謝障害は、肥満、2 型糖尿病、メタボリックシンドローム、リポジストロフィー、耐糖能異常、血漿中インスリン濃度上昇、インスリン抵抗性、脂質異常症、高血糖症、高脂血症、高血圧症、心血管疾患および呼吸器の疾患または問題からなる群から選択される。

30

**【 0 2 7 7 】**

本発明のさらに別の態様では、本開示は、赤血球レベルを増大させることなく、対象における B A T を増大させる方法であって、A c t R I I B と結合する抗体を前記対象に投与することを含む、方法を提供する。

**【 0 2 7 8 】**

さらに本開示は、赤血球レベルを増大させることなく、対象における平均血漿中グルコース濃度を低下させる、またはグルコース恒常性もしくはインスリン感受性を制御するための方法であって、A c t R I I B と結合する抗体を前記対象に投与することを含む、方法を提供する。ある特定の態様では、糖化ヘモグロビン ( グリコシル化ヘモグロビン ) レベルを測定することによって、平均血漿中グルコース濃度を検出する。

40

**【 0 2 7 9 】**

本発明はさらに、代謝障害、特に肥満、2 型糖尿病、メタボリックシンドローム、リポジストロフィー、耐糖能異常、血漿中インスリン濃度上昇、インスリン抵抗性、脂質異常症、高血糖症、高脂血症、高血圧症、心血管疾患または呼吸器の問題の治療用の医薬を製造する際の、または平均血漿中グルコース濃度を低下させる、グルコース恒常性もしくはインスリン感受性を制御するための、抗 A c t R I I B 抗体の使用に関する。

**【 0 2 8 0 】**

50

本発明の方法は、代謝障害を治療、予防または改善するのに特に適している。

【0281】

本開示はさらに、代謝障害、および筋萎縮症などの筋骨格疾患または障害に罹患した対象の治療法に関する。筋萎縮症は、肥満関連筋肉減少症、筋肉減少症、または糖尿病関連筋萎縮症であってよい。

【0282】

コルチゾール、デキサメタゾン、ベタメタゾン、プレドニゾン、メチルプレドニゾロン、またはプレドニゾロンなどの糖質コルチコイドを用いた治療の結果を含めた、筋萎縮症の多くの原因が存在する。筋萎縮症は、神経外傷が原因の脱神経の結果、または変性、代謝性、もしくは炎症性神経障害（例えば、ギランバレー症候群、末梢性神経障害、または環境中毒素もしくは薬剤への曝露）の結果でもあり得る。さらに筋萎縮症は、ミオトニー、ネマリンミオパチー、多核/小核ミオパチーおよび筋細管（中心核）ミオパチーを含めた先天性ミオパチー、ミトコンドリアミオパチー、家族性周期性四肢麻痺、炎症性ミオパチー、グリコーゲンまたは脂質貯蔵疾患などによって引き起こされる代謝性ミオパチー、皮膚筋炎、多発性筋炎、封入体筋炎、骨化性筋炎、横紋筋炎およびミオグロビン尿症などのミオパチーの結果であり得る。筋骨格疾患または筋萎縮症につながる他の状態は、前で詳細に記載している。治療の結果は完全、例えば代謝障害の完全な不在であってよい。対象における代謝障害の特性が本発明の組成物を与えなかった対象より統計学上有意に明白性が低いように、結果は部分的である可能性もある。部分的治療結果は、疾患症状の重症度の低減、無疾患症状期の頻度および期間の増大、または疾患による苦痛が原因である欠陥もしくは身体障害の予防であり得る。本明細書で言及する加齢状態は、50才以上の年齢（すなわち60、70、80才以上）で始まる可能性がある。

【0283】

一実施形態では、強制的休養/活動停止が予想される期間の前に、本発明の抗ActRIIB抗体または組成物で患者を事前に治療することができる。例えば臀部または脚部の外科手術のため患者が入院するとき、このような期間が生じ得る。負傷した肢もしくは関節をギプスで固定すること、または麻酔薬の投与などによって、活動停止を限定させることが可能である。

【0284】

さらなる実施形態では、患者は以前の治療に応答性がなかった患者であってよい。例えば患者は、IGF-1、IGF-2、またはIGF-1もしくはIGF-2の変異体、抗ミオスタチン抗体、ミオスタチンプロペプチド、ActRIIBと結合するがそれを活性化しないミオスタチン擬似タンパク質、2アゴニスト、Ghrelinアゴニスト、SARM、GHアゴニスト/模倣体またはフォリスタチンを用いた治療に応答性がなかった可能性がある。治療に対する患者の応答性を測定する簡潔な方法は、患者が既知の高さの階段を上するのに要する時間を計測し、治療前後でその結果を比較することであり得る。

【0285】

ActRIIB抗体は、唯一の活性剤として、または例えばアジュバントと共に、または他の薬剤、例えばIGF-1、IGF-2、またはIGF-1もしくはIGF-2の変異体、抗ミオスタチン抗体、ミオスタチンプロペプチド、ActRIIBと結合するがそれを活性化しないミオスタチン擬似タンパク質、2アゴニスト、Ghrelinアゴニスト、SARM、GHアゴニスト/模倣体またはフォリスタチンと併用して投与することができる。例えば、本発明の抗体は、WO2007/146689中に開示されたようにIGF-1模倣体と併用して使用することができる。

【0286】

前述の事項に従い、本発明は、他のさらなる態様において、治療有効量のActRIIB抗体、および少なくとも1つの第二の薬剤物質の、例えば同時または連続共投与を含む、前に定義した方法または使用を提供し、前記第二の薬剤物質はIGF-1、IGF-2、またはIGF-1もしくはIGF-2の変異体、抗ミオスタチン抗体、ミオスタチンプロペプチド、ActRIIBと結合するがそれを活性化しないミオスタチン擬似タンパク

質、 2 アゴニスト、Ghrelin アゴニスト、SARM、GH アゴニスト / 模倣体またはフォリスタチンである。

配列

【 0 2 8 7 】

【 表 1 】

表1:配列表

配列番号	抗体領域	配列
配列番号1	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号2	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号3	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号4	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号5	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号6	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号7	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号8	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号9	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号10	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号11	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号12	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号13	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号14	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号15	HCDR2	TINPVSGNTSYAQKFQG
配列番号16	HCDR2	TINPVSGNTSYAQKFQG
配列番号17	HCDR2	TINPVSGNTSYAQKFQG
配列番号18	HCDR2	TINPVSGNTSYAQKFQG
配列番号19	HCDR2	MINAPIGTTRYAQKFQG
配列番号20	HCDR2	QINAASGMTRYAQKFQG
配列番号21	HCDR2	MINAPIGTTRYAQKFQG
配列番号22	HCDR2	TINPVSGNTRYAQKFQG
配列番号23	HCDR2	TINPVSGSTSYAQKFQG
配列番号24	HCDR2	QINAASGMTRYAQKFQG
配列番号25	HCDR2	NINAAAGITLYAQKFQG
配列番号26	HCDR2	TINPPTGGTYAQKFQG
配列番号27	HCDR2	GINPPAGTTSYAQKFQG
配列番号28	HCDR2	NINPATGHADY AQKFQG
配列番号29	HCDR3	GGWFDY
配列番号30	HCDR3	GGWFDY
配列番号31	HCDR3	GGWFDY
配列番号32	HCDR3	GGWFDY
配列番号33	HCDR3	GGWFDY
配列番号34	HCDR3	GGWFDY
配列番号35	HCDR3	GGWFDY
配列番号36	HCDR3	GGWFDY
配列番号37	HCDR3	GGWFDY
配列番号38	HCDR3	GGWFDY
配列番号39	HCDR3	GGWFDY
配列番号40	HCDR3	GGWFDY

10

20

30

40

配列番号41	HCDR3	GGWFDY
配列番号42	HCDR3	GGWFDY
配列番号43	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号44	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号45	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号46	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号47	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号48	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号49	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号50	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号51	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号52	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号53	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号54	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号55	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号56	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号57	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号58	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号59	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号60	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号61	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号62	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号63	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号64	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号65	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号66	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号67	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号68	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号69	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号70	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号71	LCDR3	QAWTSKMAG
配列番号72	LCDR3	SSYTRMGHP
配列番号73	LCDR3	ATYGKGVTPP
配列番号74	LCDR3	GTFAGGSYYG
配列番号75	LCDR3	QAWTSKMAG
配列番号76	LCDR3	QAWTSKMAG
配列番号77	LCDR3	GTFAGGSYYG
配列番号78	LCDR3	GTFAGGSYYG
配列番号79	LCDR3	GTFAGGSYYG
配列番号80	LCDR3	GTFAGGSYYG
配列番号81	LCDR3	GTFAGGSYYG
配列番号82	LCDR3	GTFAGGSYYG
配列番号83	LCDR3	GTFAGGSYYG
配列番号84	LCDR3	GTFAGGSYYG
配列番号85	VL	DIALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQQHPGKAPKLMIYGVSKRPSGV SNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCQAWTSKMAGVFGGGTKLTVLGQ
配列番号86	VL	DIALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQQHPGKAPKLMIYGVSKRPSGV SNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTRMGHPVFGGGTKLTVLGQ

10

20

30

40

配列番号37	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQQHPGKAPKLMYGVSKRPSGV SNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCATYKGVTTPVFGGGTKLTVLGQ
配列番号38	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQQHPGKAPKLMYGVSKRPSGV SNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGTKLTVLGQ
配列番号39	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQQHPGKAPKLMYGVSKRPSGV SNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCQAWTSKMAGVFGGGTKLTVLGQ
配列番号40	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQQHPGKAPKLMYGVSKRPSGV SNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCQAWTSKMAGVFGGGTKLTVLGQ
配列番号41	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQQHPGKAPKLMYGVSKRPSGV SNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGTKLTVLGQ
配列番号42	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQQHPGKAPKLMYGVSKRPSGV SNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGTKLTVLGQ
配列番号43	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQQHPGKAPKLMYGVSKRPSGV SNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGTKLTVLGQ
配列番号44	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQQHPGKAPKLMYGVSKRPSGV SNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGTKLTVLGQ
配列番号45	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQQHPGKAPKLMYGVSKRPSGV SNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGTKLTVLGQ
配列番号46	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQQHPGKAPKLMYGVSKRPSGV SNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGTKLTVLGQ
配列番号47	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQQHPGKAPKLMYGVSKRPSGV SNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGTKLTVLGQ
配列番号48	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQQHPGKAPKLMYGVSKRPSGV SNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGTKLTVLGQ
配列番号49	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYINWVRQAPGGLEWMGTINPVSGNT SYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGWFYWGQGLTVTVSS
配列番号 100	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYINWVRQAPGGLEWMGTINPVSGNT SYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGWFYWGQGLTVTVSS
配列番号 101	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYINWVRQAPGGLEWMGTINPVSGNT SYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGWFYWGQGLTVTVSS
配列番号 102	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYINWVRQAPGGLEWMGTINPVSGNT SYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGWFYWGQGLTVTVSS
配列番号 103	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYINWVRQAPGGLEWMGMINAPIGTTR YAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGWFYWGQGLTVTVSS
配列番号 104	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYINWVRQAPGGLEWMGMINAAAGMT RYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGWFYWGQGLTVTVSS
配列番号 105	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYINWVRQAPGGLEWMGMINAPIGTTR YAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGWFYWGQGLTVTVSS
配列番号 106	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYINWVRQAPGGLEWMGTINPVSGNT RYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGWFYWGQGLTVTVSS
配列番号 107	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYINWVRQAPGGLEWMGTINPVSGST SYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGWFYWGQGLTVTVSS
配列番号 108	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYINWVRQAPGGLEWMGMINAAAGMT RYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGWFYWGQGLTVTVSS
配列番号 109	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYINWVRQAPGGLEWMGNINAAAGITL YAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGWFYWGQGLTVTVSS
配列番号 110	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYINWVRQAPGGLEWMGTINPPTGGT YYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGWFYWGQGLTVTVSS
配列番号	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYINWVRQAPGGLEWMGGINPPAGTT

10

20

30

40

111		SYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGWFYWGQGLTVTVSS	
配列番号 112	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYINWVRQAPGQGLEWMGNINPATGHA DYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGWFYWGQGLTVTVSS	
配列番号 113	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACC ATCTCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACC AGCAGCATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTTTCTAAGCGTCCCT CAGGCGTGAGCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACC ATTAGCGGCCTGCAAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCCAGGCTTGGACTTCT AAGATGGCTGGTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTTCTTGCCAG	
配列番号 114	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACC ATCTCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACC AGCAGCATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTTTCTAAGCGTCCCT CAGGCGTGAGCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACC ATTAGCGGCCTGCAAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCTCTTCTTATACTCGTA TGGGTCATCCTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTTCTTGCCAG	10
配列番号 115	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACC ATCTCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACC AGCAGCATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTTTCTAAGCGTCCCT CAGGCGTGAGCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACC ATTAGCGGCCTGCAAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGCTACTTATGGTAAG GGTGTACTCCTCCTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTTCTTGCCAG	20
配列番号 116	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACC ATCTCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACC AGCAGCATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTTTCTAAGCGTCCCT CAGGCGTGAGCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACC ATTAGCGGCCTGCAAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGGTACTTTGCTGGT GGTTCTTATTATGGTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTTCTTGCCAG	
配列番号 117	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACC ATCTCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACC AGCAGCATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTTTCTAAGCGTCCCT CAGGCGTGAGCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACC ATTAGCGGCCTGCAAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCCAGGCTTGGACTTCT AAGATGGCTGGTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTTCTTGCCAG	30
配列番号 118	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACC ATCTCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACC AGCAGCATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTTTCTAAGCGTCCCT CAGGCGTGAGCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACC ATTAGCGGCCTGCAAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCCAGGCTTGGACTTCT AAGATGGCTGGTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTTCTTGCCAG	
配列番号 119	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACC ATCTCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACC AGCAGCATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTTTCTAAGCGTCCCT CAGGCGTGAGCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACC ATTAGCGGCCTGCAAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGGTACTTTGCTGGT GGTTCTTATTATGGTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTTCTTGCCAG	40
配列番号 120	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACC ATCTCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACC AGCAGCATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTTTCTAAGCGTCCCT CAGGCGTGAGCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACC	

		ATTAGCGGCCTGCAAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGGTACTTTTGCTGGT GGTTCTTATTATGGTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTTCTTGGCCAG	
配列番号 121	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACC ATCTCGGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACC AGCAGCATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTTTCTAAGCGTCCCT CAGGCGTGAGCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACC ATTAGCGGCCTGCAAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGGTACTTTTGCTGGT GGTTCTTATTATGGTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTTCTTGGCCAG	
配列番号 122	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACC ATCTCGGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACC AGCAGCATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTTTCTAAGCGTCCCT CAGGCGTGAGCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACC ATTAGCGGCCTGCAAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGGTACTTTTGCTGGT GGTTCTTATTATGGTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTTCTTGGCCAG	10
配列番号 123	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACC ATCTCGGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACC AGCAGCATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTTTCTAAGCGTCCCT CAGGCGTGAGCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACC ATTAGCGGCCTGCAAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGGTACTTTTGCTGGT GGTTCTTATTATGGTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTTCTTGGCCAG	20
配列番号 124	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACC ATCTCGGTACTGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACCA GCAGCATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTTTCTAAGCGTCCCTC AGGCGTGAGCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACCAT TAGCGGCCTGCAAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGGTACTTTTGCTGGTGG TTCTTATTATGGTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTTCTTGGCCAG	
配列番号 125	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACC ATCTCGGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACC AGCAGCATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTTTCTAAGCGTCCCT CAGGCGTGAGCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACC ATTAGCGGCCTGCAAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGGTACTTTTGCTGGT GGTTCTTATTATGGTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTTCTTGGCCAG	30
配列番号 126	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACC ATCTCGGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACC AGCAGCATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTTTCTAAGCGTCCCT CAGGCGTGAGCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACC ATTAGCGGCCTGCAAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGGTACTTTTGCTGGT GGTTCTTATTATGGTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTTCTTGGCCAG	
配列番号 127	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTCAGAGCGGCGCGGAAGTAAAAAACC GGCGCGAGCGTGAA AGTGAGCTGCAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTATATTAATTGGGTCCGCC AAGCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCACTATCAATCCGGTTTCTGGCAATA CGTCTTACGCGCAGAAGTTTCAGGGCCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAAGCATT GCACCGCGTATATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGATTATT GCGCGCGTGGTGGTTGGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCT CA	40
配列番号 128	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTCAGAGCGGCGCGGAAGTAAAAAACC GGCGCGAGCGTGAA AGTGAGCTGCAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTATATTAATTGGGTCCGCC AAGCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCACTATCAATCCGGTTTCTGGCAATA	



		CGTCTTACGCGCAGAAGTTTCAGGGCCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACC GCACCGCGTATATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGATTATT GCGCGCGTGGTGGTTGGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCT CA
配列番号 129	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAA AGTGAGCTGCAAAGCCTCCGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCC AAGCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCACTATCAATCCGGTTTCTGGCAATA CGTCTTACGCGCAGAAGTTTCAGGGCCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACC GCACCGCGTATATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGATTATT GCGCGCGTGGTGGTTGGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCT CA
配列番号 130	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAA AGTGAGCTGCAAAGCCTCCGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCC AAGCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCACTATCAATCCGGTTTCTGGCAATA CGTCTTACGCGCAGAAGTTTCAGGGCCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACC GCACCGCGTATATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGATTATT GCGCGCGTGGTGGTTGGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCT CA
配列番号 131	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAA AGTGAGCTGCAAAGCCTCCGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCC AAGCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCATGATTAATGCTCCTATTGGTACTA CTCGTTATGCTCAGAAGTTTCAGGGTCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACC GCACCGCGTATATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGATTATT GCGCGCGTGGTGGTTGGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCT CA
配列番号 132	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAA AGTGAGCTGCAAAGCCTCCGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCC AAGCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCCAGATTAATGCTGCTTCTGGTATGA CTCGTTATGCTCAGAAGTTTCAGGGTCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACC GCACCGCGTATATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGATTATT GCGCGCGTGGTGGTTGGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCT CA
配列番号 133	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAA AGTGAGCTGCAAAGCCTCCGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCC AAGCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCATGATTAATGCTCCTATTGGTACTA CTCGTTATGCTCAGAAGTTTCAGGGTCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACC GCACCGCGTATATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGATTATT GCGCGCGTGGTGGTTGGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCT CA
配列番号 134	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAA AGTGAGCTGCAAAGCCTCCGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCC AAGCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCACTATCAATCCGGTTTCTGGCAATA CGCGTTACGCGCAGAAGTTTCAGGGCCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACC GCACCGCGTATATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGATTATT GCGCGCGTGGTGGTTGGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCT CA
配列番号 135	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAA AGTGAGCTGCAAAGCCTCCGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCC AAGCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCACTATCAATCCGGTTTCTGGCTCTA CGTCTTACGCGCAGAAGTTTCAGGGCCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACC

10

20

30

40

		GCACCGCGTATATGGAAGCTGAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATT GCGCGCGTGGTGGTTGGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCT CA
配列番号 136	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAA AGTGAGCTGCAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCC AAGCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCCAGATTAATGCTGCTTCTGGTATGA CTCGTTATGCTCAGAAGTTTCAGGGTCGGGTACCATGACCCGTGATACCAGCATTAG GCACCGCGTATATGGAAGCTGAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATT GCGCGCGTGGTGGTTGGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCT CA
配列番号 137	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAA AGTGAGCTGCAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCC AAGCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCAATTAATGCTGCTGCTGGTATTA CTCTTTATGCTCAGAAGTTTCAGGGTCGGGTACCATGACCCGTGATACCAGCATTAG CACCGCGTATATGGAAGCTGAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTG CGCGCGTGGTGGTTGGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTC A
配列番号 138	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAA AGTGAGCTGCAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCC AAGCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCACTATTAATCCTCCTACTGGAGGTA CTTATTATGCTCAGAAGTTTCAGGGTCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAG CACCGCGTATATGGAAGCTGAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTG CGCGCGTGGTGGTTGGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTC A
配列番号 139	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAA AGTGAGCTGCAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCC AAGCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCGGTATTAATCCTCCTGCTGGTACTA CTTCTTATGCTCAGAAGTTTCAGGGTCGGGTACCATGACCCGTGATACCAGCATTAG CACCGCGTATATGGAAGCTGAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTG CGCGCGTGGTGGTTGGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTC A
配列番号 140	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAA AGTGAGCTGCAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCC AAGCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCAATTAATCCTGCTACTGGTCATG CTGATTATGCTCAGAAGTTTCAGGGTCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAG GCACCGCGTATATGGAAGCTGAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATT GCGCGCGTGGTGGTTGGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCT CA
配列番号 141	軽鎖	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSG VSNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGTKLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYA ASSYLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
配列番号 142	軽鎖	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSG VSNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGTKLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYA ASSYLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
配列番号 143	軽鎖	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSG VSNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGTKLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYA

10

20

30

40

		ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	
配列番号 144	軽鎖	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQQHPGKAPKLMYGVSKRPSG VSNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGTKLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKNYA ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	
配列番号 145	軽鎖	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQQHPGKAPKLMYGVSKRPSG VSNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGTKLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKNYA ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	
配列番号 146	重鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSYINWVRQAPGQGLEWMGTINPVSGST SYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGGWFDYWGQGLTVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	10
配列番号 147	重鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSYINWVRQAPGQGLEWMGTINPVSGST RYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGGWFDYWGQGLTVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	20
配列番号 148	重鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSYINWVRQAPGQGLEWMGTINPVSGST YKQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGGWFDYWGQGLTVTVSSA TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	30
配列番号 149	重鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSYINWVRQAPGQGLEWMGTINPVSGST SYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGGWFDYWGQGLTVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
配列番号 150	重鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSYINWVRQAPGQGLEWMGTINPVSGST DYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGGWFDYWGQGLTVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	40

配列番号 151	軽鎖	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQQHPGKAPKLMYGVSKRPSG VSNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGKTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTSPKQSNKYA ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
配列番号 152	軽鎖	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQQHPGKAPKLMYGVSKRPSG VSNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGKTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTSPKQSNKYA ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
配列番号 153	軽鎖	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQQHPGKAPKLMYGVSKRPSG VSNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGKTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTSPKQSNKYA ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
配列番号 154	軽鎖	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQQHPGKAPKLMYGVSKRPSG VSNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGKTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTSPKQSNKYA ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
配列番号 155	軽鎖	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQQHPGKAPKLMYGVSKRPSG VSNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGKTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTSPKQSNKYA ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
配列番号 156	重鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTSSYINWVRQAPGQGLEWMGTINPVSGST SYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRRLSDDTAVYYCARGGWFDYWGQGLTVTVSSA STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFR VVSVLTVVHQDWLNGKEYCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
配列番号 157	重鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTSSYINWVRQAPGQGLEWMGQINAAAGMT RYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRRLSDDTAVYYCARGGWFDYWGQGLTVTVSSA STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFR VVSVLTVVHQDWLNGKEYCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
配列番号 158	重鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTSSYINWVRQAPGQGLEWMGNINAAAGITL YAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRRLSDDTAVYYCARGGWFDYWGQGLTVTVSSA TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV VSVLTVVHQDWLNGKEYCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
配列番号 159	重鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTSSYINWVRQAPGQGLEWMGINPPAGTT SYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRRLSDDTAVYYCARGGWFDYWGQGLTVTVSSA STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFR VVSVLTVVHQDWLNGKEYCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN

10

20

30

40

		QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
配列番号 160	重鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSYINWVRQAPGQGLEWMGNINPATGHA DYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYCARGGWFDYWGQGLTVTVSSA STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPAPPPVAGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFR VVSFLTIVHQQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	10
配列番号 161	DNA 軽鎖	CAGAGCGCCCTGACCCAGCCCGCCAGCGTGTCCGGCAGCCAGGCCAGTCTATCAC AATCAGCTGCACCGGCACCTCCAGCGACGTGGGCAGCTACAACCTACGTGAACCTGGTA TCAGCAGCACCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGATGATCTACGGCGTGAGCAAGAGGC CCAGCGGCGTGTCCAACAGGTTTCAGCGGCAGCAAGAGCGGCAACACCGCCAGCCTG ACAATCAGTGGGCTGCAGGCTGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCGGCACCTTTGC CGGCGGATCATACTACGGCGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTGCTGGGCC AGCCTAAGGCTGCCCCAGCGTGACCCCTGTTCCCCCCCAGCAGCGAGGAGCTGCAG GCCAACAAGGCCACCCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCAGGCGCCGTGAC CGTGGCCTGGAAGGCCGACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTGGAGACCACCACC CCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCC CGAGCAGTGGAAGAGCCACAGGTCTACAGCTGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCA CCGTGGAAAAGACCGTGGCCCCAACCGAGTGCAGC	20
配列番号 162	DNA 軽鎖	CAGAGCGCCCTGACCCAGCCCGCCAGCGTGTCCGGCAGCCAGGCCAGTCTATCAC AATCAGCTGCACCGGCACCTCCAGCGACGTGGGCAGCTACAACCTACGTGAACCTGGTA TCAGCAGCACCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGATGATCTACGGCGTGAGCAAGAGGC CCAGCGGCGTGTCCAACAGGTTTCAGCGGCAGCAAGAGCGGCAACACCGCCAGCCTG ACAATCAGTGGGCTGCAGGCTGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCGGCACCTTTGC CGGCGGATCATACTACGGCGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTGCTGGGCC AGCCTAAGGCTGCCCCAGCGTGACCCCTGTTCCCCCCCAGCAGCGAGGAGCTGCAG GCCAACAAGGCCACCCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCAGGCGCCGTGAC CGTGGCCTGGAAGGCCGACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTGGAGACCACCACC CCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCC CGAGCAGTGGAAGAGCCACAGGTCTACAGCTGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCA CCGTGGAAAAGACCGTGGCCCCAACCGAGTGCAGC	30
配列番号 163	DNA 軽鎖	CAGAGCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTAC CATCTCGTGACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTCTTATAATTATGTGAATTGGTAC CAGCAGCATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTATGGTGTCTTAAGCGTCCC TCAGGCGTGAGCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGAC CATTAGCGGCCTGCAAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGGTACTTTTGCTGG TGGTCTTATTATGGTGTGTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTCTAGTGCAGCC CAAGGCTGCCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAA CAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGC CTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGGCCGGGAGTGGAGACCACCACACCCTCCA AACAAAGCAACAACAAGTACGCCGCCAGCAGCTATCTGAGCCTGACGCTGAGCAGT GGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAG AAGACAGTGGCCCCCTACAGAATGTTCA	40

[illegible]

配列番号 167	DNA 重鎖	<p>CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCAGGCGCCAGCGTCAA GGTGTCTCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCAGCTACATCAACTGGGTGCG CCAGGCTCCAGGGCAGGGACTGGAGTGGATGGGCCAGATCAACGCCGCCAGCGGC ATGACCAGATACGCCCAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACAATGACCAGGGACACCTCT ATCAGCACCGCTACATGGAGCTGTCCAGGCTGAGAAGCGACGACACCGCGTGTA CTACTGCGCCAGGGGCGGCTGGTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACCG TGTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAG AGCACCTCCGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGA GCCCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCC CCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACAGTGCCC AGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCC CCCCTGCCCAGCCCCGAAGCTGCAGGCGGCCCTTCCGTGTTCTGTTCCCCCCCCA AGCCCCAAGGACACCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTG GACGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGA GGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGG TGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATAACAAGT GCAAGGTCTCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCA AGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTTCTCGGGAGGAGATG ACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATC GCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCCC AGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAG CAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACA ACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCAACCCGGCAAG</p>	10
配列番号 168	DNA 重鎖	<p>CAGGTGCAATTGGTTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAA AGTGAGCTGCAAAGCCTCCGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCC AAGCCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCAATATTAATGCTGCTGCTGGTATTA CTCTTTATGCTCAGAAGTTTCAGGGTCCGGTACCATGACCCGTGATACCAGCATTAG CACCGCGTATATGGAAGTGAAGCGCCTGCGTAGCGATGATACGGCCGTGTATTATTG CGCGCGTGGTGGTTGGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTC AGCCTCCACCAAGGGTCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTC TGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGA CGGTGTCGTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTC CTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGC TTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTG GACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCCA GCACCTGAAGCAGCGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGA CACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGAGGTGCATAATG CCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTC CTACCGTCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCC AACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCA GGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTG GGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACT CCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA</p>	30 40
配列番号 169	DNA 重鎖	<p>CAGGTGCAATTGGTTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAA AGTGAGCTGCAAAGCCTCCGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCC</p>	

		<p>AAGCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCGGTATTAATCCTCCTGCTGGTACTA  CTTCTTATGCTCAGAAGTTTCAGGGTCGGGTACCATGACCCGTGATACCAGCATTAG  CACCGCGTATATGGAAGTGAAGCCGCTGCGTAGCGATGATACGGCCGTGTATTATTG  CGCGCGTGGTGGTTGGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTC  AGCCTCCACCAAGGGTCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTC  TGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGA  CGGTGTCTGTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCGGCTGTC  CTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGC  TTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTG  GACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCCA  GCACCTGAAGCAGCGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGA  CACCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC  ACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATG  CCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTC  CTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCC  AACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCTCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCC  CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCA  GGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTG  GGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACT  CCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC  AGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC  AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA</p>	10
配列番号 170	DNA 重鎖	<p>CAGGTGCAATTGGTTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAA  AGTGAGCTGCAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTTATTAATTGGGTCCGCC  AAGCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCAATTAATCCTGCTACTGGTCATG  CTGATTATGCTCAGAAGTTTCAGGGTCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATT  GCACCGCGTATATGGAAGTGAAGCCGCTGCGTAGCGATGATACGGCCGTGTATTATT  GCGCGCGTGGTGGTTGGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCT  CAGCCTCCACCAAGGGTCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCT  CTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTG  ACGGTGTCTGTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCGGGTGT  CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAG  CTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGT  GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCC  AGCACCTGAAGCAGCGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGA  CACCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC  ACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATG  CCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTC  CTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCC  AACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCTCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCC  CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCA  GGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTG  GGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACT  CCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC  AGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC  AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA</p>	20
配列番号 170	DNA 重鎖	<p>CAGGTGCAATTGGTTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAA  AGTGAGCTGCAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTTATTAATTGGGTCCGCC  AAGCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCAATTAATCCTGCTACTGGTCATG  CTGATTATGCTCAGAAGTTTCAGGGTCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATT  GCACCGCGTATATGGAAGTGAAGCCGCTGCGTAGCGATGATACGGCCGTGTATTATT  GCGCGCGTGGTGGTTGGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCT  CAGCCTCCACCAAGGGTCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCT  CTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTG  ACGGTGTCTGTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCGGGTGT  CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAG  CTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGT  GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCC  AGCACCTGAAGCAGCGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGA  CACCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC  ACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATG  CCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTC  CTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCC  AACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCTCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCC  CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCA  GGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTG  GGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACT  CCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC  AGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC  AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA</p>	30
配列番号 171	DNA 軽鎖	<p>CAGAGCGCCCTGACCCAGCCCGCCAGCGTGTCCGGCAGCCAGGCCAGTCTATCAC  AATCAGCTGCACCGGCACCTCCAGCGACGTGGGCAGCTACAACCTACGTGAAGTGGTA  TCAGCAGCACCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGATGATCTACGGCGTGAGCAAGAGGC  CCAGCGGCGTGTCCAACAGGTTCAAGCGGCAGCAAGAGCGGCAACACCGCCAGCCTG</p>	40



		ACAATCAGTGGGCTGCAGGCTGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCGGCACCTTTGC CGGCGGATCATACTACGGCGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTGCTGGGCC AGCCTAAGGCTGCCCCAGCGTGACCCTGTTCCCCCCCAGCAGCGAGGAGCTGCAG GCCAACAGGCCACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCAGGCGCCGTGAC CGTGGCCTGGAAGGCCGACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTGAGACCACCACC CCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCC CGAGCAGTGAAGAGCCACAGGTCTACAGCTGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCA CCGTGGAAAAGACCGTGGCCCCAACCGAGTGCAGC	
配列番号 172	DNA 軽鎖	CAGAGCGCCCTGACCCAGCCGCCAGCGTGTCCGGCAGCCAGGCCAGTCTATCAC AATCAGCTGCACCGGCACCTCCAGCGACGTGGGCAGCTACAACCTACGTGAAGTGGTA TCAGCAGCAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGATGATCTACGGCGTGAGCAAGAGGC CCAGCGGCGTGTCCAACAGGTTTCAGCGGCAGCAAGAGCGGCAACACCGCCAGCCTG ACAATCAGTGGGCTGCAGGCTGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCGGCACCTTTGC CGGCGGATCATACTACGGCGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTGCTGGGCC AGCCTAAGGCTGCCCCAGCGTGACCCTGTTCCCCCCCAGCAGCGAGGAGCTGCAG GCCAACAGGCCACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCAGGCGCCGTGAC CGTGGCCTGGAAGGCCGACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTGAGACCACCACC CCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCC CGAGCAGTGAAGAGCCACAGGTCTACAGCTGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCA CCGTGGAAAAGACCGTGGCCCCAACCGAGTGCAGC	10
配列番号 173	DNA 軽鎖	CAGAGCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTGAGAGCATTAC CATCTCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTAC CAGCAGCATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTCTTAAGCGTCCC TCAGGCGTGAGCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGAC CATTAGCGGCCTGCAAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGGTACTTTTGCTGG TGGTTCTTATTATGGTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTCCTAGGTCAGCC CAAGGCTGCCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAA CAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGC CTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACCACCACACCCTCCA AACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTATCTGAGCCTGACGCCTGAGCAGT GGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAG AAGACAGTGGCCCCCTACAGAATGTTCA	20
配列番号 174	DNA 軽鎖	CAGAGCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTGAGAGCATTAC CATCTCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTAC CAGCAGCATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTCTTAAGCGTCCC TCAGGCGTGAGCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGAC CATTAGCGGCCTGCAAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGGTACTTTTGCTGG TGGTTCTTATTATGGTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTCCTAGGTCAGCC CAAGGCTGCCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAA CAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGC CTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACCACCACACCCTCCA AACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTATCTGAGCCTGACGCCTGAGCAGT GGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAG AAGACAGTGGCCCCCTACAGAATGTTCA	30
配列番号 175	DNA 軽鎖	CAGAGCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTGAGAGCATTAC CATCTCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTAC CAGCAGCATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTCTTAAGCGTCCC TCAGGCGTGAGCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGAC CATTAGCGGCCTGCAAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGGTACTTTTGCTGG TGGTTCTTATTATGGTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTCCTAGGTCAGCC CAAGGCTGCCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAA CAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGC CTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACCACCACACCCTCCA AACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTATCTGAGCCTGACGCCTGAGCAGT GGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAG AAGACAGTGGCCCCCTACAGAATGTTCA	40

		CAAGGCTGCCCTCGGTCACTGTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAA CAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGC CTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACCACACACCCTCCA AACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTATCTGAGCCTGACGCCTGAGCAGT GGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAG AAGACAGTGGCCCCCTACAGAATGTTCA
配列番号 176	DNA 重鎖	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCAGGCGCCAGCGTCAA GGTGTCTCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCAGCTACATCAACTGGGTCCG CCAGGCTCCTGGGCAGGGACTGGAGTGGATGGGCACCATCAACCCCGTGTCCGGCA GCACCAGCTACGCCCAGAAGTTCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACCAGC ATCAGCACCGCCTACATGGAGCTGTCCAGGCTGAGAAGCGACGACACCGCCGTGTA CTACTGCGCCAGGGGCGGCTGGTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCG TGTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCTGGCCCCCTGCAGCAGA AGCACCAGCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGA GCCAGTGACCGTGTCTTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCC CCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACCGTGCCC AGCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTGGACCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAGAGGAAGTGCTGCGTGGAGTGCCCCCCTGCC AGCCCCCAGTGCGCCGACCCCTCCGTGTTCTGTTCCCCCCAAGCCCAAGGACA CCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGACGTGAGCCAC GAGGACCCAGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGC CAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTTTAACAGCACCTTCAGGGTGGTGCCGTGCT GACCGTGGTGACCCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCA ACAAGGGCCTGCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCAGCAAGACCAAGGGCCAGCCA CGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCAGCCGGGAGGAAATGACCAAGAACCA GGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGT GGGAGAGCAACGGCCAGCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCCCATGCTGGAC AGCGACGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGGTGGCA GCAGGGCAACGTGTTGAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACA CCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCGGCAAG
配列番号 177	DNA 重鎖	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCAGGCGCCAGCGTCAA GGTGTCTCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCAGCTACATCAACTGGGTGCG CCAGGCTCCAGGGCAGGGACTGGAGTGGATGGGCCAGATCAACGCCGCCAGCGGC ATGACCAGATACGCCCAGAAGTTCAGGGCAGAGTCACAATGACCAGGGACACCTCT ATCAGCACCGCCTACATGGAGCTGTCCAGGCTGAGAAGCGACGACACCGCCGTGTA CTACTGCGCCAGGGGCGGCTGGTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCG TGTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCTGGCCCCCTGCAGCAGA AGCACCAGCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGA GCCAGTGACCGTGTCTTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCC CCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACCGTGCCC AGCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTGGACCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAGAGGAAGTGCTGCGTGGAGTGCCCCCCTGCC AGCCCCCAGTGCGCCGACCCCTCCGTGTTCTGTTCCCCCCAAGCCCAAGGACA CCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGACGTGAGCCAC GAGGACCCAGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGC CAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTTTAACAGCACCTTCAGGGTGGTGCCGTGCT GACCGTGGTGACCCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCA ACAAGGGCCTGCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCAGCAAGACCAAGGGCCAGCCA CGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCAGCCGGGAGGAAATGACCAAGAACCA GGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGT

		GGGAGAGCAACGGCCAGCCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCATGCTGGAC AGCGACGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGGTGGCA GCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACA CCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCGGCAAG
配列番号 178	DNA 重鎖	CAGGTGCAATTGGTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAA AGTGAGCTGCAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCC AAGCCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCAATATTAATGCTGCTGCTGGTATTA CTCTTTATGCTCAGAAGTTTCAGGGTCGGGTACCATGACCCGTGATACCAGCATTAG CACCGCGTATATGGAAGTGAAGCGCCTGCGTAGCGATGATACGGCCGTGTATTATTG CGCGCGTGGTGGTTGGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCCTGGTGACGGTTAGCTC AGCTTCCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCTGCAGCAGAAGCACCA GCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTG ACCGTGAGCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCCGCCGT GCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCA ACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTGGACCACAAGCCCAGCAACACCAAGG TGACAAGACCGTGGAGCGGAAGTGCTGCGTGGAGTGCCCCCCTGCCCTGCCCT CCTGTGGCCGACCCCTCCGTGTTCTGTTCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATG ATCAGCCGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCC CGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCA AGCCCCGGGAGGAACAGTTCAACAGCACCTTCCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTG GTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGG CCTGCCCTGCCCCATCGAGAAAACCATCAGCAAGACAAAGGGCCAGCCAGGGAAC CCCAGGTGTACACCCTGCCCCCAGCCGGGAGGAAATGACCAAGAACCAGGTGTCC CTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAG CAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCATGCTGGACAGCGACG GCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGCAGGGC AACGTGTTGAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAG AGCCTGAGCCTGTCCCCCGGCAAA
配列番号 179	DNA 重鎖	CAGGTGCAATTGGTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAA AGTGAGCTGCAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCC AAGCCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCGGTATTAATCCTCTGCTGGTACTA CTTCTTATGCTCAGAAGTTTCAGGGTCGGGTACCATGACCCGTGATACCAGCATTAG CACCGCGTATATGGAAGTGAAGCGCCTGCGTAGCGATGATACGGCCGTGTATTATTG CGCGCGTGGTGGTTGGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCCTGGTGACGGTTAGCTC AGCTTCCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCTGCAGCAGAAGCACCA GCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTG ACCGTGAGCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCCGCCGT GCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCA ACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTGGACCACAAGCCCAGCAACACCAAGG TGACAAGACCGTGGAGCGGAAGTGCTGCGTGGAGTGCCCCCCTGCCCTGCCCT CCTGTGGCCGACCCCTCCGTGTTCTGTTCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATG ATCAGCCGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCC CGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCA AGCCCCGGGAGGAACAGTTCAACAGCACCTTCCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTG GTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGG CCTGCCCTGCCCCATCGAGAAAACCATCAGCAAGACAAAGGGCCAGCCAGGGAAC CCCAGGTGTACACCCTGCCCCCAGCCGGGAGGAAATGACCAAGAACCAGGTGTCC CTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAG CAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCATGCTGGACAGCGACG GCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGCAGGGC

10

20

30

40

		AACGTGTTGAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAG AGCCTGAGCCTGTCCCCGGCAAA
配列番号 180	DNA 重鎖	CAGGTGCAATTGTTTCAGAGCGGCGCGGAAGTAAAAAACCGGGCGGAGCGTGAA AGTGAGCTGCAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTATATTAATTGGGTCCGCC AAGCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCAATTAATCCTGCTACTGGTCATG CTGATTATGCTCAGAAGTTTCAGGGTCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATT GCACCGCGTATATGGAAGTGAAGCGCCTGCGTAGCGATGATACGGCCGTGTATTATT GCGCGCGTGGTGGTTGGTTTATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCT CAGCTTCACCAAGGGCCCCAGCGTGTCCCCCTGGCCCCCTGCAGCAGAAGCACC AGCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCGAGCCCGT GACCGTGAGCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGCCG TGCTGCAGAGCAGCGGCCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCAGCAGC AACTTCGGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTGGACCACAAGCCCAGCAACACCAAG GTGACAAGACCGTGGAGCGGAAGTGCTGCGTGAGTGCCCCCCTGCCCTGCCCC TCCTGTGGCCGGACCCTCCGTGTTCTGTTCCCCCAAGCCAAGGACACCCTGAT GATCAGCCGGACCCCCAGGTGACCTGCGTGGTGGTGACGTGAGCCACGAGGAC CCCGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGAGGTGCACAACGCCAAGAC CAAGCCCCGGGAGGAACAGTTCAACAGCACCTTCCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCG TGGTGCAACAGGACTGGCTGAACGGCAAGAATACAAGTGAAGGTGTCCAACAAGG GCCTGCCTGCCCCATCGAGAAAACCATCAGCAAGACAAAGGGCCAGCCAGGGAA CCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCAGCCGGGAGGAAATGACCAAGAACCAGGTGTC CCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA GCAACGGCCAGCCGAGAACAATAAGACACCCCCCATGCTGGACAGCGAC GGCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGCAGGG CAACGTGTTGAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GAGCCTGAGCCTGTCCCCGGCAAA
配列番号 181	ActRIIB	MTAPWVALALLWGS LCAGSGRGEAETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLH CYASWRNSSGTIELVKKGWLDFFN CYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHL PEAGGPEVTYEPPTAPTLLTVLAYSLLPIGGLSLIVLLAFWMYRHRKPPYGHVDIHDPG PPPPSPLVGLKPLQLLEIKARGRFGCVWKAQLMNDFAVKIFPLQDKQSWQSEREIFSTP GMKHENLLQFIAAEKGRSNLEVELWLITAFHDKGSLTDYLGNIITWNELCHVAETMSRGL SYLHEDVPWCRGEGHKPSIAHRDFKSKNVLLKSDLTAVLADFLAVRFEPGKPPGDTHG QVGTRRYMAPEVLEGAINFQRDAFLRIDMYAMGLVLWELVSRCKAADGPVDEYMLPFEE EIQHPSLEELQEVVHHKMRPTIKDHWLKHPLGLAQLCVTIEACWDHDAEARLSAGCVVEE RVSLIRRSVNGTSDCLVSLVTSVTVNDLPPKESSI
配列番号 182	ActRIIB リガンド 結合 ドメイン (アミノ 酸19～ 134)	SGRGEAETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKG WLDFFN CYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT
配列番号 183	抗体 結合 領域	IELVKKGWLDFFNS
配列番号 184	抗体 結合 領域	VKKGWLDFFNSYDR
配列番号 185	抗体 結合 領域	GSWLDFFNSYDRQES

10

20

30

40

配列番号 186	抗体 結合 領域	GCWLDDFNC
配列番号 187	抗体 結合 領域	CEGEQDKRLHCYASW
配列番号 188	抗体 結合 領域	WLDDFN
配列番号 189	抗体 結合 領域	EQDKR
配列番号 190	抗体 結合 領域	KGCWLDDFNCY
配列番号 191	抗体 結合 領域	CIYYNANWELERT
配列番号 192	抗体 結合 領域	YFCCCEGNFCN
配列番号 193	軽 h/mIgG2 aLALA 鎖	DIALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQQHPGKAPKLMYGVSKRPSGV SNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGTKLTVLGQPKSTPTL TVFPPSSEELKENKATLVCLISNFSPSGVTVAWKANGTPTQGVDTSNPTKEGNKFMASS FLHLTSDQWRSHNSFTCQVTHEGDTVEKSLSPAEC
配列番号 194	重 h/mIgG2 aLALA 鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSYINWVRQAPGGGLEWM GTINPVSGSTSYAQKFQGRVTMTDRDTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGWFDYWGQ GTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDGTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHT FPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCP APNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQT HREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSRAPQVYVL PPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTPEVLDSGGSYFMYSKL RVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK

10

20

30

## 【 0 2 8 8 】

完全に記載してきた本発明を、例示的でありさらに制限することは意味しない、以下の実施例および特許請求の範囲によってさらに例示する。

## 【 実施例 】

## 【 0 2 8 9 】

## 一般的な方法

ActRIIB 抗体、( i ) 機能アッセイ、( i i ) レポーター遺伝子アッセイ ( R G A )、( i i i ) HEK293T / 17 細胞系の培養、( i v ) ミオスタチン誘導型ルシフェラーゼレポーター遺伝子アッセイ、( v ) 特異性 E L I S A、( v i ) ActRIIB / Fc - ミオスタチン結合相互作用 E L I S A、( v i i ) h A c t R I I B および h A c t R I I A 発現細胞における F A C S 滴定、( v i i i ) 初代ヒト骨格筋細胞との結合、( i x ) 表面プラズモン共鳴 ( B i a c o r e ) を使用する選択した抗ヒト A c t R I I B F a b のアフィニティー決定、( x ) C K アッセイ、( x i ) 動物モデル、( x i i ) 処置プロトコル、( x i i i ) 統計解析、( x i i i i ) パンニング、( x v ) 抗体の同定および特徴付け、( x v i ) 第一回アフィニティー成熟由来の抗体の最適化、( x v i i ) アフィニティー成熟 F a b ( 第一回成熟 ) の I g G 2 転換、( x v i i i ) 第二回アフィニティー成熟、( x x ) I g G 2 転換および I g G 2 ( 第二回成熟 ) の特徴付け、( x x i ) i n v i v o マウス試験における抗 A c t R I I B 抗体の特徴付け、

40

50

( x x i i ) S E T によるアフィニティーの確認、( x x i i i ) 交差遮断試験および ( x x i v ) W O 2 0 1 0 / 1 2 5 0 0 3 中に記載されたエピトープマッピングの詳述および技術のような、それらの特徴付けおよびそれらに関連する方法。

#### 【 0 2 9 0 】

実施例：分子生物学

褐色脂肪細胞の分化。初代褐色前駆脂肪細胞を、以前に記載されたように ( Feige, et al 2008 ) コラゲナーゼ解離を使用して、5週齢のオス C 5 7 B L 6 / J マウスの肩甲骨間褐色脂肪組織から単離した。細胞は 1 0 % ウシ胎児血清 ( S i g m a )、3 n M インスリン ( S i g m a ) および抗生物質カクテル ( I n v i t r o g e n ) を補充したダルベッコ改変イーグル培地 ( D M E M ; I n v i t r o g e n ) 中で培養した。融合状態に達した後、褐色前駆脂肪細胞を、全プロトコールを通して 2 0 n M のインスリンおよび 1 n M のトリヨードチロニン ( T 3 ; S i g m a ) を使用し、最初の 2 日間は、0 . 5 m M の I B M X ( S i g m a )、0 . 5  $\mu$  M のデキサメタゾン ( S i g m a )、および 0 . 1 2 5 m M のインドメタシン ( S i g m a ) を使用して、9 日間の間 1 2 ウエルプレート中で分化させた。培地と治療剤は 2 日毎に交換した。

#### 【 0 2 9 1 】

動物実験。マウスの実験は、スイス連邦州の獣医師会により承認された後、スイスの動物実験に関する法令に従って実施した。10週齢のオス C 5 7 B L 6 / J オスマウス ( J a n v i e r l a b o r a t o r i e s、フランス) または C B 1 7 / I C R - P r k d c <sup>s c i d</sup> / C r l メスマウス ( S c i d マウス; C h a r l e s R i v e r、ドイツ) を、通常の食餌および水へのアクセスを制限せずに、12時間の明暗サイクルで 2 2 に保った。他に言及しない限り、5 m L / k g の体積および 2 0 m g / k g の用量での週一回の皮下注射により 4 週間、抗体を用いて動物を処置した。低温耐性は、個々のケージ中に動物を 1 0 で 4 時間放置し、結腸用温度計 ( B i o s e b ) を用いて 1 時間毎に体温を測定することによって評価した。全ての動物は C O <sub>2</sub> で屠殺し、低温に曝した動物は 2 4 時間低温状態曝露の直後に屠殺した。

#### 【 0 2 9 2 】

遺伝子発現プロファイリング。T r i z o l 試薬 ( I n v i t r o g e n ) を使用して R N A を抽出する。高性能逆転写キット ( A p p l i e d B i o s y s t e m s ) を使用して、1  $\mu$  g の合計 R N A でランダムヘキサマーを用いて逆転写を実施し、反応物は増幅用に 1 0 0 倍に希釈した。特異的 t a q m a n プローブ ( A p p l i e d B i o s y s t e m s ) を使用して C F X 3 8 4 サイ클ー ( B i o R a d ) で、3 8 4 ウエルプレートにおいて、P C R 反応を二連で実施した。C t 法を使用して、データを 1 つまたは 2 つのハウスキーピング遺伝子に標準化した。

#### 【 0 2 9 3 】

非ヒト霊長類における血液学的プロファイリング。M O R 0 8 1 5 9 を、静脈内注射によりオスとメスのカニクイザルに、3ヶ月間週に 1 回投与した。32匹のカニクイザル ( 1 6 匹 / 各性別 ) を 4 つの処置群の 1 つに割り当て ( 3 ~ 5 匹の動物 / 各性別 / 群 )、13週間にわたり週に 1 回 1 0、3 0、または 1 0 0 m g / k g で、ビヒクルまたは M O R 0 8 1 5 9 のいずれかを静脈内注射により投与した ( 合計 1 4 投与 )。評価したパラメータには、一般的臨床病状 ( 血液学的、臨床化学的、および凝固 ) があつた。M O R 0 8 1 5 9 は、試験を通じてオスとメスのカニクイザルにおいて赤血球、赤血球分布幅、平均血球ヘモグロビン濃度の有意な血液学的変化を引き起こさなかった ( オスのデータに関しては表 2 参照 )。

#### 【 0 2 9 4 】

健常ボランティアにおける血液学的プロファイリング。M O R 0 8 1 5 9 を男性と女性の健常ボランティアに 0 ( プラセボ )、0 . 1、0 . 3、1、3、1 0、または 3 0 m g / k g の一回静脈内注入として投与した。女性は注入前に閉経後または外科手術によって不妊状態のいずれかであると確認した。赤血球数を含めた血液学的パラメータを、ベースラインとして投与前、および投与後第 4 週と第 8 週で評価した。M O R 0 8 1 5 9 は、試

験期間を通じプラセボと比較して、赤血球パラメータの有意な変化を引き起こさなかった（表3参照）。

#### 【0295】

##### 結果

褐色脂肪組織および血液学的パラメータに対する影響。

A c t R I I B抗体（A b）によるA c t R I I Bシグナル伝達経路の阻害は、U C P - 1などの熱産生遺伝子の増加によって反映される初代褐色脂肪細胞の分化を劇的に増大させる。対照的に、ミオスタチン、A c t R I I Bリガンドは、初代褐色脂肪細胞の分化、A c t R I I B抗体などのA c t R I I B経路阻害剤の投与により妨げることができる影響を阻害することができる（図1）。

10

#### 【0296】

非投薬マウスへの4週間のA c t R I I B抗体の投与による、A c t R I I Bシグナル伝達の阻害は、白色脂肪の有意な変化を検出せずに、骨格筋重量だけでなく肩甲骨間褐色脂肪も有意に増大させた（図2）。

#### 【0297】

褐色脂肪組織の機能に対するA c t R I I B阻害の影響を、低温状態への曝露によりマウスを攻撃することによりi n v i v oにおいて評価した。4週間A c t R I I B抗体で処置したマウスは、ビヒクルで処置したマウスと比較すると、低温状態への曝露による低体温症から有意に保護された（図3）。これは、A c t R I I B阻害は適応性熱産生を増大させることを実証した。

20

#### 【0298】

この機能保護は、A c t R I I B抗体で処置した初代褐色脂肪細胞の細胞呼吸の増大が、少なくとも一部分は原因であり得る（図3）。重要なことに、A c t R I I B抗体を使用したA c t R I I Bシグナル伝達の薬理的阻害は成体動物における褐色脂肪量の増大をもたらし、エネルギー消費および熱産生の増大に変換された（図2および3）。

#### 【0299】

カニクイザルにおける13週間にわたる（合計14投与の）A c t R I I B抗体の週一回投与によってもたらしたA c t R I I B阻害は、試験を通じて赤血球、赤血球分布幅、および平均血球ヘモグロビン濃度の有意な血液学的変化を引き起こしてはいない（表2参照）。同様に、ヒト健常ボランティアにおける最大30mg/kgのA c t R I I B抗体の1回の静脈内投与は、投与後第10週まで赤血球/血液学的パラメータの、いかなる有意な変化も誘導しなかった（表3参照）。

30

#### 【0300】

##### 【表2】

表2:カニクイザルにおけるMOR08159施用13週間後の血液学的パラメータ(E3=10<sup>3</sup>およびE6=10<sup>6</sup>)

		用量(mg/kg)、静脈内			
		0 (n=5)	10 (n=3)	30 (n=3)	100 (n=5)
RBC (E6/ul)	投与前	5.97±0.388	5.98±0.255	5.70 ±0.353	5.74 ±0.161
RBC (E6/ul)	第92日	5.97±0.536	5.77 ±0.206	5.27 ±0.215	5.55 ±0.151
MCHC (g/dL)	投与前	30.2 ±1.65	30.1 ±0.55	29.9±1.46	31.4±1.34
MCHC (g/dL)	第92日	28.8±1.59	30.1 ±0.40	29.4±0.40	30.4±1.07
RDW (%)	投与前	12.6±0.79	11.9±0.78	12.1 ±1.27	11.9±0.59
RDW (%)	第92日	12.8 ±0.53	11.6±0.67	12.0 ±1.06	12.1±0.43

40

#### 【0301】

## 【表 3】

表3: ヒト健常ボランティアにおけるMOR08159の一回注射後の赤血球数( $E6=10^6$ )

	RBC (E6/ul)		
	投与前 (ベースライン)	第4週(第29日)	第8週(第57日)
プラセボ(n=12)	4.87±0.45	4.85 ±0.51	4.81 ±0.35
1 mg/kg (n=6)	5.05 ±0.24	4.88 ±0.36	5.03 ±0.26
3 mg/kg (n=6)	5.22 ±0.41	5.12±0.22	5.40±0.24
10 mg/kg (n=6)	5.12 ±0.38	5.07±0.51	5.05±0.44
30 mg/kg (n=6)	5.12±0.29	5.12 ±0.27	5.17±0.31

10

## 【 0 3 0 2 】

高脂肪食を与えたマウスにおける代謝パラメータおよび褐色脂肪細胞に対する影響。

高脂肪食を与えたマウスにおける A c t R I I B 抗体による A c t R I I B シグナル伝達経路の阻害の影響は、処置モダリティで調べることができる。数週間高脂肪食を消費しある程度の代謝機能障害を示すマウスを、A c t R I I B 抗体または合致したピヒクルで処置して、血液パラメータ、グルコースおよびインスリンレベル、組織分布、特に熱産生褐色脂肪組織、および組織特異的遺伝子シグネチャーに対する代謝的利点を調べる。

(参考文献)

20



## 【表 4】

Alberti KGMM, Eckel RH, Grundy SM, et al (2009) Harmonizing the Metabolic Syndrome: A Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. <i>Circulation</i> ; 120 (16):1640-1645.	
Astrup A, Bulow J, Madsen J, et al (1985) Contribution of BAT and skeletal muscle to thermogenesis induced by ephedrine in man. <i>American Journal of Physiology - Endocrinology And Metabolism</i> ; 248 (5):E507-E515.	10
Bruce KD, Hanson MA (2010) The Developmental Origins, Mechanisms, and Implications of Metabolic Syndrome. <i>The Journal of Nutrition</i> ; 140 (3):648-652.	
Cannon B, Nedergaard J (2004) Brown adipose tissue: function and physiological significance. <i>Physiol Rev.</i> ; 84 (1):277-359.	
Feige JN, Lagouge M, Canto C, et al (2008) Specific SIRT1 activation mimics low energy levels and protects against diet-induced metabolic disorders by enhancing fat oxidation. <i>Cell Metab</i> ; 8 (5):347-358.	
Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, et al (2010) Prevalence and Trends in Obesity Among US Adults, 1999-2008. <i>JAMA: The Journal of the American Medical Association</i> ; 303 (3):235-241.	20
Himms-Hagen J (1990) Brown adipose tissue thermogenesis: interdisciplinary studies. <i>FASEB J</i> ; 4 (11):2890-2898.	
Klingenspor M (2003) Cold-induced recruitment of brown adipose tissue thermogenesis. <i>Exp.Physiol</i> ; 88 (1):141-148.	
Perwitz N, Wenzel J, Wagner I, et al Cannabinoid type 1 receptor blockade induces transdifferentiation towards a brown fat phenotype in white adipocytes. <i>Diabetes obesity metabolism</i> (2010) Volume: 12, Issue: 2, Publisher: John Wiley & Sons, Pages: 158-166	
Saito M, Okamatsu-Ogura Y, Matsushita M, et al (2009) High incidence of metabolically active brown adipose tissue in healthy adult humans: effects of cold exposure and adiposity. <i>Diabetes</i> ; 58 (7):1526-1531.	30
Seale P, Bjork B, Yang W, et al (2008) PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. <i>Nature</i> ; 454 (7207):961-967.	
van Marken Lichtenbelt WD, Vanhommerig JW, Smulders NM, et al (2009) Cold-activated brown adipose tissue in healthy men. <i>N.Engl.J Med.</i> ; 360 (15):1500-1508.	
Vijgen GH, Bouvy ND, Teule GJ, et al (2011) Brown adipose tissue in morbidly obese subjects. <i>PLoS.ONE.</i> ; 6 (2):e17247.	
Virtanen KA, Lidell ME, Orava J, et al (2009) Functional brown adipose tissue in healthy adults. <i>N.Engl.J Med.</i> ; 360 (15):1518-1525.	40

〔 1 〕 対象における代謝障害の治療において使用するための、A c t R I I B と結合する抗体を含む組成物であって、抗 A c t R I I B 抗体が、前記対象における赤血球レベルを増大させることなく褐色脂肪組織を増大させる、組成物。

〔 2 〕 代謝障害が、平均血漿中グルコース濃度増大、グルコースホメオスタティス異常および／または血漿中インスリン濃度上昇をもたらすか、これによって引き起こされる、上記〔 1 〕に記載の組成物。

〔 3 〕 代謝障害が肥満、2 型糖尿病、メタボリックシンドローム、リポジストロフィー、耐糖能異常、血漿中インスリン濃度上昇、インスリン抵抗性、脂質異常症、高血糖症、

高脂血症、高血圧症、心血管疾患および呼吸器の状態からなる群から選択される、上記 [ 1 ] または [ 2 ] に記載の組成物。

[ 4 ] 対象が代謝障害および筋肉障害に罹患している、上記 [ 1 ] から [ 3 ] に記載の組成物。

[ 5 ] 筋肉障害が、肥満関連筋肉減少症、筋肉減少症および糖尿病関連筋萎縮症からなる群から選択される筋萎縮症である、上記 [ 4 ] に記載の組成物。

[ 6 ] 抗 A c t R I I B 抗体が、配列番号 1 8 1 のアミノ酸 1 9 ~ 1 3 4 ( 配列番号 1 8 2 ) からなる結合ドメインと結合する、上記 [ 1 ] から [ 5 ] に記載の組成物。

[ 7 ] 抗 A c t R I I B 抗体が、

( a ) 配列番号 1 8 1 のアミノ酸 7 8 ~ 8 3 ( W L D D F N - 配列番号 1 8 8 ) 、

( b ) 配列番号 1 8 1 のアミノ酸 7 6 ~ 8 4 ( G C W L D D F N C - 配列番号 1 8 6 )

、  
( c ) 配列番号 1 8 1 のアミノ酸 7 5 ~ 8 5 ( K G C W L D D F N C Y - 配列番号 1 9 0 ) 、

( d ) 配列番号 1 8 1 のアミノ酸 5 2 ~ 5 6 ( E Q D K R - 配列番号 1 8 9 ) 、

( e ) 配列番号 1 8 1 のアミノ酸 4 9 ~ 6 3 ( C E G E Q D K R L H C Y A S W - 配列番号 1 8 7 ) 、

( f ) 配列番号 1 8 1 のアミノ酸 2 9 ~ 4 1 ( C I Y Y N A N W E L E R T - 配列番号 1 9 1 ) 、

( g ) 配列番号 1 8 1 のアミノ酸 1 0 0 ~ 1 1 0 ( Y F C C C E G N F C N - 配列番号 1 9 2 ) 、または

( h ) 配列番号 1 8 1 のアミノ酸 7 8 ~ 8 3 ( W L D D F N ) および配列番号 1 8 1 のアミノ酸 5 2 ~ 5 6 ( E Q D K R )

を含むまたはこれらからなるエピトープと結合する、上記 [ 6 ] に記載の組成物。

[ 8 ] 抗体が A c t R I I A と結合する 1 0 倍以上のアフィニティーで A c t R I I B と結合する、上記 [ 1 ] から [ 7 ] のいずれか一項に記載の組成物。

[ 9 ] 抗 A c t R I I B 抗体が、配列番号 1 ~ 1 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 1 5 ~ 2 8 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 2 9 ~ 4 2 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 4 3 ~ 5 6 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 5 7 ~ 7 0 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 7 1 ~ 8 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 C D R 3 を含む、上記 [ 1 ] から [ 8 ] のいずれか一項に記載の組成物。

[ 1 0 ] 抗 A c t R I I B 抗体が、

( a ) 配列番号 1 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 1 5 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 2 9 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 4 3 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 5 7 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 7 1 の軽鎖可変領域 C D R 3、

( b ) 配列番号 2 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 1 6 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 3 0 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 4 4 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 5 8 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 7 2 の軽鎖可変領域 C D R 3、

( c ) 配列番号 3 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 1 7 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 3 1 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 4 5 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 5 9 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 7 3 の軽鎖可変領域 C D R 3、

( d ) 配列番号 4 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 1 8 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 3 2 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 4 6 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 6 0 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 7 4 の軽鎖可変領域 C D R 3、

( e ) 配列番号 5 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 1 9 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 3 3 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 4 7 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 6 1 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 7 5 の軽鎖可変領域 C D R 3、

(f) 配列番号 6 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 20 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 34 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 48 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 62 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 76 の軽鎖可変領域 C D R 3、

(g) 配列番号 7 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 21 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 35 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 49 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 63 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 77 の軽鎖可変領域 C D R 3、

(h) 配列番号 8 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 22 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 36 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 50 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 64 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 78 の軽鎖可変領域 C D R 3、

(i) 配列番号 9 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 23 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 37 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 51 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 65 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 79 の軽鎖可変領域 C D R 3、

(j) 配列番号 10 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 24 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 38 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 52 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 66 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 80 の軽鎖可変領域 C D R 3、

(k) 配列番号 11 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 25 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 39 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 53 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 67 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 81 の軽鎖可変領域 C D R 3、

(l) 配列番号 12 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 26 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 40 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 54 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 68 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 82 の軽鎖可変領域 C D R 3、

(m) 配列番号 13 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 27 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 41 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 55 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 69 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 83 の軽鎖可変領域 C D R 3、または

(n) 配列番号 14 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 28 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 42 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 56 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 70 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 84 の軽鎖可変領域 C D R 3

を含む、上記 [ 1 ] から [ 9 ] のいずれか一項に記載の組成物。

[ 11 ] 抗 A c t R I I B 抗体が、配列番号 146 ~ 150 および 156 ~ 160 からなる群から選択される少なくとも 1 つの配列と少なくとも 95 % の配列同一性を有する完全長重鎖アミノ酸配列を含む、上記 [ 1 ] から [ 10 ] のいずれか一項に記載の組成物。

[ 12 ] 抗 A c t R I I B 抗体が、配列番号 141 ~ 145 および 151 ~ 155 からなる群から選択される少なくとも 1 つの配列と少なくとも 95 % の配列同一性を有する完全長軽鎖アミノ酸配列を含む、上記 [ 1 ] から [ 11 ] のいずれか一項に記載の組成物。

[ 13 ] 抗 A c t R I I B 抗体が、

(a) 配列番号 99 の可変重鎖配列および配列番号 85 の可変軽鎖配列、

(b) 配列番号 100 の可変重鎖配列および配列番号 86 の可変軽鎖配列、

(c) 配列番号 101 の可変重鎖配列および配列番号 87 の可変軽鎖配列、

(d) 配列番号 102 の可変重鎖配列および配列番号 88 の可変軽鎖配列、

(e) 配列番号 103 の可変重鎖配列および配列番号 89 の可変軽鎖配列、

(f) 配列番号 104 の可変重鎖配列および配列番号 90 の可変軽鎖配列、

(g) 配列番号 105 の可変重鎖配列および配列番号 91 の可変軽鎖配列、

(h) 配列番号 106 の可変重鎖配列および配列番号 92 の可変軽鎖配列、

(i) 配列番号 107 の可変重鎖配列および配列番号 93 の可変軽鎖配列、

(j) 配列番号 108 の可変重鎖配列および配列番号 94 の可変軽鎖配列、

(k) 配列番号 109 の可変重鎖配列および配列番号 95 の可変軽鎖配列、

(l) 配列番号 110 の可変重鎖配列および配列番号 96 の可変軽鎖配列、

(m) 配列番号 111 の可変重鎖配列および配列番号 97 の可変軽鎖配列、または

(n) 配列番号 112 の可変重鎖配列および配列番号 98 の可変軽鎖配列

を含む、上記 [ 1 ] から [ 12 ] のいずれか一項に記載の組成物。

[ 1 4 ] 抗 A c t R I I B 抗体が、

- ( a ) 配列番号 1 4 6 の重鎖配列および配列番号 1 4 1 の軽鎖配列、
- ( b ) 配列番号 1 4 7 の重鎖配列および配列番号 1 4 2 の軽鎖配列、
- ( c ) 配列番号 1 4 8 の重鎖配列および配列番号 1 4 3 の軽鎖配列、
- ( d ) 配列番号 1 4 9 の重鎖配列および配列番号 1 4 4 の軽鎖配列、
- ( e ) 配列番号 1 5 0 の重鎖配列および配列番号 1 4 5 の軽鎖配列、
- ( f ) 配列番号 1 5 6 の重鎖配列および配列番号 1 5 1 の軽鎖配列、
- ( g ) 配列番号 1 5 7 の重鎖配列および配列番号 1 5 2 の軽鎖配列、
- ( h ) 配列番号 1 5 8 の重鎖配列および配列番号 1 5 3 の軽鎖配列、
- ( i ) 配列番号 1 5 9 の重鎖配列および配列番号 1 5 4 の軽鎖配列、または
- ( j ) 配列番号 1 6 0 の重鎖配列および配列番号 1 5 5 の軽鎖配列

を含む、上記 [ 1 ] から [ 1 3 ] のいずれか一項に記載の組成物。

[ 1 5 ] 前記組成物中に含まれる抗 A c t R I I B 抗体が、A c t R I I B との結合から、上記 [ 1 0 ] に記載の少なくとも 1 つの抗体を交差遮断する、またはそれによって交差遮断される、上記 [ 1 ] から [ 1 4 ] のいずれか一項に記載の組成物。

[ 1 6 ] 前記組成物中に含まれる抗 A c t R I I B 抗体が、F c 領域の突然変異により改変されたエフェクター機能を有する、上記 [ 1 ] から [ 1 5 ] のいずれか一項に記載の組成物。

[ 1 7 ] 前記組成物中に含まれる抗 A c t R I I B 抗体が、上記 [ 8 ] から [ 1 4 ] のいずれか一項に記載の抗体によって認識されるエピトープと結合する、上記 [ 1 ] から [ 1 6 ] のいずれか一項に記載の組成物。

[ 1 8 ] 前記組成物中に含まれる抗 A c t R I I B 抗体が、p B W 5 2 2 ( D S M 2 2 8 7 3 ) または p B W 5 2 4 ( D S M 2 2 8 7 4 ) によってコードされる、上記 [ 1 ] から [ 7 ] のいずれか一項に記載の組成物。

[ 1 9 ] 対象における代謝障害を治療する方法であって、A c t R I I B と結合する抗体を前記対象に投与することを含み、抗 A c t R I I B 抗体が、前記対象における赤血球レベルを増大させることなく褐色脂肪組織 ( B A T ) を増大させる、方法。

[ 2 0 ] 代謝障害が、平均血漿中グルコース濃度増大、グルコースホメオスタティス異常および/もしくは血漿中インスリン濃度上昇をもたらすか、これによって引き起こされる、上記 [ 1 9 ] に記載の方法。

[ 2 1 ] 代謝障害が、肥満、2 型糖尿病、メタボリックシンドロームまたはリポジトロフィー、耐糖能異常、血漿中インスリン濃度上昇、インスリン抵抗性、脂質異常症、高血糖症、高脂血症、高血圧症、心血管疾患および呼吸器の状態からなる群から選択される、上記 [ 1 9 ] または [ 2 0 ] に記載の方法。

[ 2 2 ] 赤血球レベルを増大させることなく、対象における B A T を増大させるための方法であって、A c t R I I B と結合する抗体を前記対象に投与することを含む、方法。

[ 2 3 ] 赤血球レベルを増大させることなく、対象における平均血漿中グルコース濃度を低下させるための方法であって、A c t R I I B と結合する抗体を前記対象に投与することを含む、方法。

[ 2 4 ] 平均血漿中グルコース濃度が、糖化ヘモグロビン ( グリコシル化ヘモグロビン ) レベルを測定することによって検出される、上記 [ 2 0 ] または [ 2 3 ] に記載の方法。

[ 2 5 ] 上記 [ 6 ] から [ 1 8 ] のいずれか一項に記載の抗 A c t R I I B 抗体が使用される、上記 [ 1 9 ] から [ 2 4 ] のいずれか一項に記載の方法。

[ 2 6 ] 対象が、上記 [ 1 ] から [ 1 8 ] のいずれか一項に記載の組成物で治療される、上記 [ 2 5 ] に記載の方法。

[ 2 7 ] 対象が代謝障害および筋肉障害に罹患している、上記 [ 1 9 ] から [ 2 6 ] のいずれか一項に記載の方法。

[ 2 8 ] 筋肉障害が、肥満関連筋肉減少症、筋肉減少症、および糖尿病関連筋萎縮症からなる群から選択される筋萎縮症である、上記 [ 2 7 ] に記載の方法。

10

20

30

40

50



## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 P	9/10	(2006.01)	A 6 1 P 9/10
A 6 1 P	21/00	(2006.01)	A 6 1 P 21/00
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 0 5

- (72)発明者 フェイグ, ジェロメ  
スイス国 ツェーハー - 4 0 0 2 パーゼル, ポストファッチ, ノバルティス ファーマ アーゲ  
ー
- (72)発明者 グラス, デイビット  
アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州, ケンブリッジ, テクノロジー スクエア 1  
0 0, ノバルティス インスティテュート フォー バイオメディカル リサーチ インコーポレ  
イテッド
- (72)発明者 畠山 慎二  
スイス国 ツェーハー - 4 0 0 2 パーゼル, ポストファッチ, ノバルティス ファーマ アーゲ  
ー
- (72)発明者 リチャードソン, ブライアン ピーター  
スイス国 ツェーハー - 4 0 0 2 パーゼル, ポストファッチ, ノバルティス ファーマ アーゲ  
ー
- (72)発明者 トリフィリエフ, エステル  
スイス国 ツェーハー - 4 0 0 2 パーゼル, ポストファッチ, ノバルティス ファーマ アーゲ  
ー

## 合議体

審判長 阪野 誠司  
審判官 井上 明子  
審判官 大久保 元浩

- (56)参考文献 国際公開第2010/125003 (WO, A1)  
国際公開第2010/144452 (WO, A1)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 39/00-39/44

CAPLUS/REGISTRY/BIOSIS/EMBASE/MEDLINE (STN)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)