

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-508835
(P2025-508835A)

(43)公表日 令和7年4月10日(2025.4.10)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N Z N A	4 C 0 8 4
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	Y	4 C 0 8 5
A 6 1 P	37/08 (2006.01)	A 6 1 K	45/00		
A 6 1 P	17/04 (2006.01)	A 6 1 P	37/08		
A 6 1 P	1/04 (2006.01)	A 6 1 P	17/04		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全76頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2024-550197(P2024-550197)	(71)出願人	524147203
(86)(22)出願日	令和5年2月23日(2023.2.23)		シノマブ バイオサイエンス リミテッド
(85)翻訳文提出日	令和6年9月26日(2024.9.26)		中華人民共和国 ホンコン ニューテリト
(86)国際出願番号	PCT/CN2023/077870		リーズ パクシェクコク ホンコン サイ
(87)国際公開番号	WO2023/160610		エンス パーク サイエンス パーク ウェ
(87)国際公開日	令和5年8月31日(2023.8.31)		スト アベニュー ナンバー15 ユニッツ
(31)優先権主張番号	63/313,483		3 0 3, 3 0 5-3 0 7
(32)優先日	令和4年2月24日(2022.2.24)	(74)代理人	100102978
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		弁理士 清水 初志
	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ	(74)代理人	100205707
	,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),		弁理士 小寺 秀紀
(81)指定国・地域	EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(	(74)代理人	100160923
	AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,		弁理士 山口 裕孝
	FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV	(74)代理人	100119507
			弁理士 刑部 俊

最終頁に続く

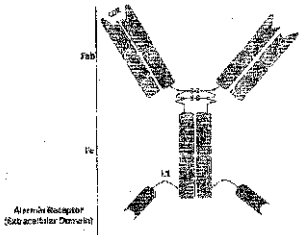
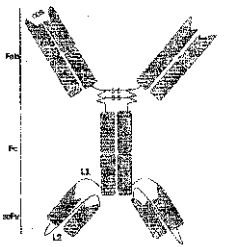
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 アラーミンに対する二重特異性結合タンパク質およびその使用

(57)【要約】

本明細書において、アレルギー性疾患、例えば中等症から重症の喘息およびアトピー性皮膚炎を処置する方法、経口コルチコステロイド使用の1日投薬量を低減する方法、自然リンパ球の増殖を抑制する方法、2つの異なるアラーミンを中和することができる特定の二重特異性結合タンパク質 (bsBp) を用いて1型および2型の免疫応答を損なう方法を提供する。また、例示的なbsBp、その特徴、およびさらなる治療用bsBpのスクリーニング方法も本明細書に記載している。

Figure 15A: The design of bispecific binding protein (bispecific antibody and antibody-receptor fusion protein)



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

その必要がある対象において、アレルギーに関連する疾患または障害を処置する方法であって、該対象の細胞または組織に、2つの異なるアラミンXおよびYに対する二重特異性結合タンパク質の治療上有効な量を送達する工程を含み、該二重特異性結合タンパク質が、(a) 抗アラミンX受容体IgG、および(b) 抗アラミンY scFv、および(c) ポリペプチドリンカーからなる、方法。

【請求項 2】

その必要がある対象において、アレルギーに関連する疾患または障害を処置する方法であって、該対象の細胞または組織に、2つの異なるアラミンXおよびYに対する二重特異性結合タンパク質の治療上有効な量を送達する工程を含み、該二重特異性結合タンパク質が、(a) 抗アラミンX受容体IgG、および(b) アラミンY受容体、および(c) ポリペプチドリンカーからなる、方法。

10

【請求項 3】

アラミンX受容体がIL-17RBである、請求項1または2記載の方法。

【請求項 4】

アラミンYがTSLPである、請求項1記載の方法。

【請求項 5】

アラミンYがIL-33である、請求項1記載の方法。

【請求項 6】

アラミンY受容体がST2である、請求項2記載の方法。

20

【請求項 7】

アラミンY受容体がTSLPRである、請求項2記載の方法。

【請求項 8】

抗アラミンX受容体IgGが、IgG1抗体、IgG2抗体、IgG3抗体およびIgG4抗体からなる群より選択される抗体である、請求項1または2記載の方法。

【請求項 9】

前記対象が、発症後の(clinical)または発症前の(preclinical)喘息、アトピー性皮膚炎、線維性疾患、炎症性腸疾患(IBD)、クローン病、潰瘍性大腸炎、慢性閉塞性肺疾患、慢性副鼻腔炎、鼻茸を伴う慢性副鼻腔炎を有している、請求項1または2記載の方法。

30

【請求項 10】

その必要がある対象において、アレルギーに関連する疾患または障害を処置する方法であって、該対象の細胞または組織に、(a) IL-25およびIL-33のシグナル伝達ならびに/または(b) IL-25およびTSLPのシグナル伝達をブロックする二重特異性結合タンパク質の治療上有効な量を送達する工程を含む、方法。

【請求項 11】

対象が、発症後のまたは発症前の喘息、アトピー性皮膚炎、線維性疾患、炎症性腸疾患(IBD)、クローン病、潰瘍性大腸炎、慢性閉塞性肺疾患、慢性副鼻腔炎、鼻茸を伴う慢性副鼻腔炎を有している、請求項10記載の方法。

40

【請求項 12】

二重特異性結合タンパク質が抗IL-17RB/抗ヒトTSLP二重特異性抗体である、請求項10記載の方法。

【請求項 13】

二重特異性結合タンパク質が抗IL-17RB/抗ヒトIL-33二重特異性抗体である、請求項10記載の方法。

【請求項 14】

二重特異性結合タンパク質が抗IL-17RB/ヒトST2抗体-受容体融合タンパク質である、請求項10記載の方法。

【請求項 15】

50

二重特異性結合タンパク質が抗IL-17RB/ヒトTSLPR抗体-受容体融合タンパク質である、請求項10記載の方法。

【請求項16】

二重特異性結合タンパク質が、それぞれSEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4およびSEQ ID NO:5のアミノ酸配列を有するVL CDR1、VL CDR2およびVL CDR3を含む軽鎖可変領域(VL);ならびにそれぞれSEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2およびSEQ ID NO:3のアミノ酸配列を有するVH CDR1、VH CDR2およびVH CDR3を含む重鎖可変領域(VH)を含む、請求項10～15のいずれか一項記載の方法。

【請求項17】

抗IL-17RB抗体のVLおよびVHが、それぞれSEQ ID NO:33およびSEQ ID NO:32のアミノ酸配列を有する、請求項16記載の方法。

10

【請求項18】

二重特異性結合タンパク質が、SEQ ID NO:33の軽鎖配列およびSEQ ID NO:60～75からなる群より選択される重鎖配列を含む、請求項10～15記載の方法。

【請求項19】

二重特異性結合タンパク質が、前記細胞または組織に、静脈内、筋肉内、皮下、頭蓋内、髄腔内、脳室内、腹腔内、鼻腔内、非経口、局所または皮内にて送達される、請求項1～17のいずれか一項記載の方法。

【請求項20】

二重特異性結合タンパク質が第2の治療剤と組合せて送達される、請求項1～19のいずれか一項記載の方法。

20

【請求項21】

第2の治療剤が、コルチコステロイド、DNAメチルトランスフェラーゼ(DNMT)阻害剤、抗IL17A抗体、抗IL12/IL23抗体、抗IL23抗体、抗IL17RA抗体およびチロシンキナーゼ阻害剤からなる群より選択される、請求項20記載の方法。

【請求項22】

対象がヒト対象であり、該対象の細胞または組織が該対象から採取および単離された免疫細胞である、請求項1～21のいずれか一項記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

30

【0001】

1. 発明の分野:

本発明は分子生物学およびアレルギー性疾患に関し、具体的には、種々のアレルギー性疾患、例えば中等症から重症の喘息およびアトピー性皮膚炎の処置のための、アラーミン受容体結合免疫グロブリンG抗体(IgG)とアラーミン結合タンパク質を含む二重特異性抗体の同定および使用に関する。

【0002】

2. 優先権:

本出願は、2022年2月24日に提出された米国特許仮出願第63/313,483号の優先権を主張するものであり、この仮出願の全内容は参照により本明細書に組み入れられる。

40

【0003】

3. 配列表:

本出願はWIPO標準ST.26に準拠した配列表を含み、配列表は名称が「SBL009PCTS L.xml」であり、2023年2月14日に作成され、サイズが93,089バイトであり、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。

【背景技術】

【0004】

4. 発明の背景:

アラーミンは、内因的に構成的に発現される走化性で免疫活性化性のタンパク質/ペプチドであり、脱顆粒、細胞傷害もしくは細胞死の結果として、または免疫誘導に応答して

50

放出される。

【0005】

特に、「アラーミン」である胸腺間質性リンパ球新生因子（TSLP）、インターロイキン-33（IL-33）およびインターロイキン-25（IL-25）は、アレルゲンに反応してバリア組織（例えば、気道上皮）から放出される。これらのアラーミンは、2型自然リンパ球（ILC2）およびTh2細胞の活性化によってIL-4、IL-5、IL-13およびIgEの放出などの事象のカスケードをもたらして数多くのアレルギー性反応の顕在化をもたらすTh2免疫応答の起始を担う上流要素としての機能を果たす。これらのアラーミンおよびサイトカインのうちのいずれか1つを標的化する生物製剤でもたらされる喘息およびアトピー性皮膚炎などのアレルギー性反応の症状スコアの改善にはばらつきがある。喘息の処置における抗TSLPまたは抗IL-33抗体の単回使用は臨床的に検証されているが、とはいえ完全な有効性に欠けるのは、各療法が、2型炎症を調節する経路の一部の要素のみを標的化し、その疾患病理生理学の他の要素が放置されたままであるためかもしれない。これらのアラーミンは潜在的に互いに相互作用してそれぞれの炎症反応に寄与しているはずである。蠕虫感染および2型サイトカイン駆動性肺炎症の慢性期モデルを使用し、3つすべてのアラーミン（TSLP、IL-25およびIL-33）を標的化する方がいずれか1つの単一のアラーミンのみをブロックするより効果があるようであることが実証された[Vannella, Kevin M et al. Science Translational Medicine vol.8, 337 (2016): 337ra65. (非特許文献1)]。さらに、慢性室内塵ダニ誘発性アレルギー性肺炎症のモデルにおける3つすべてのメディエータの破壊により炎症、粘液産生および肺リモデリングの低減がもたらされ、これらのアラーミンは互いに相互作用し、2型の病態の維持におけるその個々の効果を増強することが示唆された。したがって、疾患の原因となるこれらのアラーミンのうちの2つ以上を抑制し、それによりアレルギー性疾患に対する臨床転帰を改善する、例えばステロイド使用を低減させる、および長期疾患寛解を維持する新規な臨床的方法の必要性が大いにある。本開示において提供される方法によりこの必要性が満たされ、疾患進行の減衰において関連する利点をもたらされる。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】 Vannella, Kevin M et al. Science Translational Medicine vol.8, 337 (2016): 337ra65.

【発明の概要】

【0007】

5. 発明の概要:

アレルギー性の疾患および障害を処置する新しい方法が当技術分野において明らかに必要であることを念頭に、本発明の目的は、以下の活性: i) 精製されたヒトIL-17RBおよびIL-33タンパク質に 10^{-8} Mより小さい K_D で結合する; ii) 精製されたヒトIL-17RBおよびTSLPタンパク質に 10^{-8} Mより小さい K_D で結合する; iii) Th2関連サイトカインの放出を、抗IL17RBモノクローナル抗体と比べて大きい程度まで阻害する; iv) ILC2の増殖および活性化を、抗IL17RBモノクローナル抗体と比べて大きい程度まで阻害する、のうちの1つまたは複数の特徴とする、2つの異なるアラーミンに対する二重特異性抗体（bsBp）または抗体-受容体融合タンパク質を提供することである。

【0008】

本明細書において実証されたように、かかる二重特異性抗体（bsBp）または抗体-受容体融合タンパク質は、アレルギー性疾患、例えば喘息およびアトピー性皮膚炎（AD）を予防する潜在能、抑制する潜在能または/およびその進行を遅延させる潜在能を有する。したがって、本発明の目的は、その必要がある対象において、アレルギーに関連する疾患または障害を処置する方法であって、2つの異なるアラーミンXおよびYに対する二重特異性結合タンパク質の治療上有効な量を該対象に投与する工程を含み、該二重特異性結合タンパク質が（a）抗アラーミンX受容体IgGおよび（b）抗アラーミンY scFvおよび

(c) ポリペプチドリンカーで構成されている、方法を提供することである。

【0009】

好ましい一態様では、対象が、発症後の（clinical）または発症前の（preclinical）喘息、アトピー性皮膚炎、線維性疾患、炎症性腸疾患（IBD）、クローン病、潰瘍性大腸炎、慢性閉塞性肺疾患、慢性副鼻腔炎、鼻茸を伴う慢性副鼻腔炎に罹患しているヒトである。

【0010】

特に好ましい態様では、アラーミンX受容体がIL-17RBであり、アラーミンY受容体がTSLPまたはIL-33であり、アラーミン受容体がST2またはTSLPRである。

【0011】

他の好ましい態様では、抗アラーミンX IgGが、IgG1抗体、IgG2抗体、IgG3抗体およびIgG4抗体の中から選択される。

【0012】

本発明の別の目的は、その必要がある対象において、アレルギーに関連する疾患または障害を処置する方法であって、（a）IL-25およびIL-33のシグナル伝達をブロックすること、ならびに/または（b）IL-25およびTSLPのシグナル伝達をブロックすることができる二重特異性結合タンパク質の治療上有効な量を該対象に投与する工程を含む、方法を提供することである。

【0013】

好ましい一態様では、対象、好ましくはヒトが、発症後のまたは発症前の喘息、アトピー性皮膚炎、線維性疾患、炎症性腸疾患（IBD）、クローン病、潰瘍性大腸炎、慢性閉塞性肺疾患、慢性副鼻腔炎、鼻茸を伴う慢性副鼻腔炎に罹患している。

【0014】

特に好ましい態様では、二重特異性結合タンパク質が、抗IL-17RB/抗ヒトTSLP二重特異性抗体、抗IL-17RB/抗ヒトIL-33二重特異性抗体、抗IL-17RB/ヒトST2抗体-受容体融合タンパク質および抗IL-17RB/ヒトTSLPR抗体-受容体融合タンパク質の中から選択される。

【0015】

他の好ましい態様では、二重特異性結合タンパク質が、それぞれSEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4およびSEQ ID NO:5のアミノ酸配列を有するVL CDR1、VL CDR2およびVL CDR3で構成された軽鎖可変領域（VL）ならびにそれぞれSEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2およびSEQ ID NO:3のアミノ酸配列を有するVH CDR1、VH CDR2およびVH CDR3で構成された重鎖可変領域（VH）を含む。

【0016】

特に好ましい態様では、抗IL-17RB抗体のVLおよびVHが、それぞれSEQ ID NO:33およびSEQ ID NO:32のアミノ酸配列を有し、および/またはSEQ ID NO:33の軽鎖配列とSEQ ID NO:60～75から選択されるいずれか1つの重鎖配列を有する。

【0017】

好ましい態様では、二重特異性抗体（bsBp）および/または抗体-受容体融合タンパク質が、静脈内、筋肉内、皮下、頭蓋内、髄腔内、脳室内、腹腔内、鼻腔内、非経口、局所または皮内にて、任意で第2の治療剤と併せて、投与され、第2の治療剤の例としては、限定するわけではないが、コルチコステロイド、DNAMT阻害剤、抗IL17A抗体、抗IL12/IL23抗体、抗IL23抗体、抗IL17RA抗体およびチロシンキナーゼ阻害剤が挙げられる。

【0018】

本発明のこれらおよび他の目的および特徴は、以下の詳細な説明を添付の図および実施例と併せて読むと、より充分に明らかとなろう。しかしながら、前述の発明の概要および以下の詳細な説明はどちらも好ましい一態様であり、本発明または本発明の他の代替の態様を制限するものでないことを理解されたい。特に、本発明を本明細書においていくつかの具体的な態様に関して記載したが、本記載は本発明の実例を示すものであり、本発明の

10

20

30

40

50

限定を構成するものでないことは認識されよう。当業者には、添付の特許請求の範囲に記載のような本発明の趣旨および範囲から逸脱することなく種々の修正例および応用例が思いつくかもしれない。

【図面の簡単な説明】

【0019】

6. 図面の簡単な説明:

【図1】異なる種に由来するIL-17RBに対するSM17結合の用量依存曲線を示す。

【図2】IL-17受容体ファミリーメンバーに対するSM17の結合特異性を示す。

【図3】天然状態のヒトIL-17RBに対するSM17結合を示す。

【図4】ヒトPBMC培養物におけるSM17によるIL-5の用量依存的阻害を示す。

10

【図5】TK-10細胞からのIL-8産生がSM17によって阻害されたことを示す。

【図6】OVA誘発性マウス実験喘息の気道過敏性の抑制におけるSM-17の効果を示す。

【図7】OVA誘発性マウス実験喘息でのBALFのIL-5およびIL-13のレベルの抑制におけるSM-17の効果を示す。

【図8】OVA誘発性マウス実験喘息でのBALFの好酸球細胞数の抑制におけるSM-17の効果を示す。

【図9】IL25/SM17相互作用の様式および考えられ得る疾患適応症を示す。

【図10A】二重特異性結合タンパク質（二重特異性抗体および抗体-受容体融合タンパク質）のデザインを示す。

【図10B】ExpichOー過性トランスフェクションシステムから精製されたSM17、SM17-抗TSLPおよびSM17-抗IL-33 bsBpのSDS-PAGEを示す。

20

【図11】抗アラーミン二重特異性結合タンパク質の抗原結合を示す。

【図12】アラーミンによるヒトPBMCからのIFN γ 、CCL8、CCL17、IL-5およびIL-13の誘導ならびにサイトカイン放出に対するSM17の阻害効果を示す。

【図13】誘導ヒトPBMCからのサイトカインおよび走化性因子の放出に対する異なる二重特異性結合タンパク質の効力を示す。

【図14】ILC2に対するアラーミンの増殖促進効果の結果を示す。

【図15】ステロイドホルモンおよびbsBpに対するILC2およびTh2細胞の応答の結果を示す。

【図16】樹状細胞効力アッセイの結果を示す。

30

【発明を実施するための形態】

【0020】

7. 好ましい態様の詳細な説明:

II型炎症性疾患は、アレルゲンによる抗原刺激を受けると大量の刺激性のアラーミンおよびサイトカインを伴い、アトピー性皮膚炎（AD）および喘息はこの分類の代表的な疾患である。

【0021】

ADは、激しい痒みを特徴とする慢性の炎症性皮膚疾患である。これは、重度に損なわれた生活の質によって小児の15～30%および成人の2～10%に影響を及ぼす。ADの病因の免疫学的要因としては、数多くのTh2リンパ球の障害ならびに関連サイトカイン、例えばIL-4、IL-5およびIL-13の放出が挙げられる。これらの要因によってIgE産生が高値になり、皮膚の炎症の増大がもたらされ、ADの患者の皮膚バリア欠陥が悪化する。

40

【0022】

特に重要なのはインターロイキン-4（IL-4）およびインターロイキン-13（IL-13）であり、これらは、侵入した寄生動物またはアレルゲンのいずれかによって誘発される、ADでのII型炎症反応のシグネチャーサイトカインである。IL-4およびIL-13の受容体はどちらも共通の受容体鎖、すなわちIL-4R α を有し；IL-4R α /IL-2R γ c（ γ c）ヘテロ二量体はIL-4の受容体を構成し、一方、IL-4R α /IL-13R α 1ヘテロ二量体はIL-13の受容体を構成する。IL-4R α 受容体鎖へのIL-4またはIL-13の結合は、それぞれ、 γ c受容体鎖へのIL-4/IL-4R α 複合体のさらなる会合またはIL-13R α 1受容体鎖へのIL-13/

50

IL-4R α 複合体のさらなる会合を可能にする。受容体鎖IL-4R α は、一部の細胞型では低レベルとはいえ広く発現されるが、 γc またはIL-13R $\alpha 1$ 受容体鎖の発現は細胞型限定性である。例えば、非造血細胞において、IL-13R $\alpha 1$ はいささか高発現を示すが、 γc 発現は低値であるか、または無いかのいずれかである [Junttila, Ilkka S et al. The Journal of Experimental Medicine, vol.205,11 (2008):2595-608.]。最近の研究で、リンパ節におけるT2応答に対してIL-4がIgEを伴う体液性免疫の生成および調節において果たす中心的役割が示された;一方、IL-13は末梢組織においてより著明な役割を果たした。IL-4およびIL-13はどちらも、フィラグリン、フィラグリン2、ロリクリン、インボルクリン、ケラチン1、ケラチン10、ホルネリン、デスモグレインおよびデスモコリン1などの基本的な構造タンパク質ならびに正常な皮膚のバリア機能に重要な脂質組成物の発現を有意に低減させ、これにより、重症度を表すために典型的に測定されかつADの発症を予測するために使用されることさえある経表皮水分蒸散量 (TEWL) の増大をもたらす。さらに、ケラチノサイトにおけるAMP産生を抑制することにより、IL-4およびIL-13はどちらも、典型的には黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus) による強力なコロニー形成を特徴とする皮膚のディスバイオシスの発生を担うことが報告された;この発症は、AD病変の出現より前に起こることが最近、示された。このような目的に向けて、これらの経路に対処する2つの生物製剤が開発され、中等症から重症のADの処置に対して承認された。すなわち、これらはデュピルマブ (IL-4応答とIL-13応答の両方を阻害する抗IL-4Ra抗体) およびトラロキヌマブ (抗IL-13抗体) である。しかしながら、AD患者の約50%はこれらの抗体に対して処置後1年目に不応答性となっている。

10

20

[Bangert, Christine et al. Science Immunology, vol.6,55 (2021):eabe2749; Wollenberg, A et al., The British Journal of Dermatology vol.184,3 (2021):437-449]。

【0023】

喘息は、気管支過敏性および変動性の気流制限を特徴とする、気道の慢性炎症性障害である。喘息は、世界中で3億人を超える人々が罹患している [Braman, Sidney S. Chest, vol.130,1 Suppl (2006):4S-12S.]。喘息の患者の大部分は標準コントローラ療法で病勢コントロールを達成できているが、およそ5~10%は重症喘息を有し、これは、標準的な処置 (高用量吸入コルチコステロイド (ICS) + 長時間作用型ベータ-刺激薬 (LABA)) を順守しているにもかかわらずコントロールが不十分なままである。標準的な処置でコントロール不能な重症喘息では、喘息管理の国際指針 (Global Initiative for Asthma) (GINA) ガイドラインにより、維持療法に経口コルチコステロイド (OCS) の使用が推奨されている。しかしながら、OCS関連有害事象、例えば心血管系、胃腸系および筋骨格の系を障害するもの、ならびに感染症が一般的にみられ、場合によっては致命的となり得る。したがって、重症喘息患者は、最も緊急のアプローチを有すると特徴付けられ、アドオン生物学的療法に対する候補となり得る。

30

40

【0024】

喘息には主に2つのカテゴリーTh2 high型とTh2 low型がある。Th2 high型喘息では、2型免疫のサイトカイン、例えばIL-4、IL-5およびIL-13の過大産生により肺好酸球増多症、免疫グロブリン (Ig) E-レベルの上昇、粘液産生の増加および呼吸における生命を脅かす問題がもたらされ得る [Kuruvilla, Merin E et al., Clinical Reviews in Allergy & Immunology, vol.56,2 (2019):219-233]。したがって、IgE、IL-4、IL-5およびIL-13を標的化する生物製剤が最近、Th2 high型表現型を有するコントロール不能な重症喘息に対する有望なアドオン療法として登場している。

【0025】

またIL-4およびIL-13は、アレルギーおよび喘息においていくつかの非冗長機能を有すると考えられている。特に、IL-4は主に喘息発症の初期において、T細胞の増殖および生存の調節ならびにIgEの合成におけるその役割により作用すると思われる。対照的に、IL13Ra1の表面発現がないため、ヒトT細胞がIL-13に応答することはあり得ない。IL-4とは異なり、IL-13は、より多くは主に後期のアレルギー反応、例えば杯細胞による気

50

道リモデリングおよび粘液過分泌、線維症、平滑筋の変化ならびに気道過敏症の亢進に関与している [Gour,N., & Wills-Karp,M. (2015) .Cytokine,75 (1) ,68-78] 。

【0026】

しかしながら、喘息の処置のための、IL-4のみを標的化する抗体（アルトラキンセプト、パスコリズマブ）またはIL-13のみを標的化する抗体（トラロキヌマブ）についての臨床転帰は、残念なものだった [Panettieri,Reynold A Jr et al. The Lancet. Respiratory Medicine vol.6,7 (2018) :511-525;Bagnasco,Diego et al. International Archives of Allergy and Immunology,vol.170,2 (2016) :122-31.]。しかし、IL-4とIL-13の両方を標的化した場合、デュピルマブの場合のように、Th2媒介性喘息の有効な処置が臨床的に実証された [Maspero,Jorge F et al. The Journal Of Allergy And Clinical Immunology. In practice,vol.8,2 (2020) :527-539.e9.]。この結果は、Th2媒介性喘息の処置にはIL-4とIL-13の二重ブロックが必要であることを示唆する。

【0027】

IL-5は好酸球の分化、動員、生存および脱顆粒において中心的な病因性の役割を果たす [Pelaia,Corrado et al. Frontiers in Physiology,vol.10 1514.17 Dec.2019]。相当数の重症喘息患者は、好酸球性炎症を特徴とするTh2-high表現型を示す。気道好酸球増多症は喘息対象の過半数に起こり得、高い好酸球レベルは反復性喘息増悪および重症気管支閉塞と関連している。好酸球増多症を伴うTh2-high型喘息は多くの場合、おそらくコルチコステロイド誘導性アポトーシスによる好酸球の除去によりコルチコステロイドに対して治療応答性である。しかしながら、重症の好酸球性喘息は、過剰な気管支IL-5量のため吸入コルチコステロイドおよび全身性コルチコステロイドの両方に抵抗性であるかもしれない。過剰な気管支IL-5量は、好酸球に対するコルチコステロイドのアポトーシス促進効果に勝る場合があり得る。したがって、抗IL-5抗体によるIL-5活性のブロックはコルチコステロイド処置薬の治療応答性を持続させる一助となり得、実際、IL-5経路をブロックする3つの抗体がコルチコステロイドと併せてTh2 high型喘息の処置に使用されている;例えば、レスリズマブ（抗IL-5抗体）、メポリズマブ（抗IL-5抗体）およびベンラリズマブ（抗IL-5Ra抗体）。

【0028】

Th2-high型喘息のサブタイプであるアレルギー性喘息は、1つまたは複数の一般的な環境アレルゲン、例えば室内塵ダニに対するIgE抗体の存在を特徴とする。アレルギー性喘息の患者において、抗アレルゲンIgEがマスト細胞の表面上のIgE受容体（FcεRI）に結合する。アレルゲン抗原に曝露されるとマスト細胞表面のFcεRIの架橋がもたらされ得;マスト細胞は、かかるFcεRI架橋が十分な強度と持続性のものである場合に活性化されてオータコイドメディエータであるヒスタミン、プロスタグランジン（PG）D2およびロイコトリエン（LT）C4の放出をもたらし、最終的に気管支収縮、粘液分泌および粘膜の浮腫をもたらす。また、活性化されたマスト細胞によって多数の炎症誘発性サイトカイン（例えば、IL-4、IL-5およびIL-13）が合成されて分泌され得、これらによってさらにIgEの合成および好酸球性炎症の発生の両方が調節され得る。抗IgE抗体であるオマリズマブは重症アレルギー性喘息のアドオン処置のための最初のモノクローナル抗体であり、長い間、利用可能な唯一のモノクローナル抗体であった。オマリズマブは、ヒトIgEがその受容体に結合するのを選択的に阻害することによって、およびしたがってマスト細胞の活性化を抑制することによって、機能を果たす。

【0029】

Th2-high型炎症経路の解明およびTh2-high型喘息を処置するための関連生物製剤の開発は大きく進歩してきたが、Th2-low型喘息に対処する有効なアプローチはまだない。この問題は、コルチコステロイドに対するTh2-low型喘息患者の応答が不良であるという事実によってさらに深刻になっている。したがって、Th2-low型喘息の有効な処置のための処置モダリティに対するアンメットメディカルニーズが存在している。

【0030】

喘息の標準治療における別の問題は、OCSに対する過度の依存である。重症喘息の成人患者のおよそ30%は、喘息コントロールを許容レベルに維持するためにICSに加えてOCS療法に依存している [Chung, Kian Fan et al. The European Respiratory Journal, vol.43, 2 (2014) :343-73.]。喘息管理の国際指針 (GINA) グループは、維持療法のための「許容」OCS用量を設定することを約束し、ステロイド産生の生理学的レベルに相当するため許容レベルとして1日7.5 mgを提案した。しかしながら、最近の研究により、有害事象のリスクが累積的であり、処置のたびに上昇するため、害のないOCS処方はない。わずか4クルの短期間のOCS後に死亡率の上昇がみられることが明らかになっている [Sullivan, Patrick W et al. The Journal of Allergy and Clinical Immunology, vol.141, 1 (2018) :110-116.e7.]。生涯累積用量の観点において、大部分の副作用は、患者が1~2.5 gのコルチコステロイドで処置された後に現れ、糖尿病の発生率が、わずか0.5 gのコルチコステロイドの投与を受けた患者で上昇し始めた [Price, David B et al. Journal of Asthma and Allergy, vol.11 193-204. 29 Aug. 2018,]。

10

【0031】

デュピルマブ、メボリズマブ、レスリズマブ、オマリズマブおよびベンラリズマブのOCS節約効果が臨床的に評価された。これらの生物製剤での処置により1日のOCS用量を50%に低減させることができたが、5%~20%の重症喘息患者しかOCSの使用を中止することができなかった。OCSに対する依存をなくすことができ得るか、またはもっと軽減でき得る、喘息を処置するための新しい処置モダリティまたは生物製剤を開発するという非常に大きなアンメットメディカルニーズが依然として存在している [Cataldo, Didier et al. The Journal of Asthma: Official Journal Of The Association For The Care Of Asthma, vol.58, 4 (2021) :448-458.]。

20

【0032】

喘息およびADを処置するための現在FDAで承認済の生物製剤はすべて、Th2型炎症の下流経路を標的化するものである。しかしながら、このような生物製剤で処置された患者において対処される必要がある臨床的不十分さ、例えば高い再発率、非Th2型炎症に対する限定的な有効性および低レベルではあるが継続的なOCS使用に対する依存がみられる。最近、アラーミン、例えばIL-25、TSLPおよびIL-33を標的化する新しい生物製剤が開発中である。これは、Th2型炎症性の経路に影響を及ぼす上流要素であり、潜在的に、Th2型および非Th2型の両方の炎症反応に寄与することができよう。したがって、抗アラーミン生物製剤により、ADの患者およびTh2-high型/low型の重症喘息に対する現状の臨床的不十分さに対処することができ得るさらなるオプションがもたらされ得る。

30

【0033】

IL-25 (IL-17Eとしても公知) は、IL-17A~IL-17Fを範囲に含むIL-17サイトカインファミリーのメンバーである。IL-25はシグナル伝達のために、IL-17受容体A (IL-17RA) とIL-17受容体B (IL-17RB) で構成されたその受容体に結合する [Borowczyk, Julia et al. The Journal Of Allergy And Clinical Immunology, vol.148, 1 (2021) :40-52.]。IL-25は、Th2細胞によって産生される2型サイトカインであり、IL-4、IL-5およびIL-13の遺伝子発現を誘導すること、さらには肺および消化管におけるアレルギー性炎症反応を増幅させることができる。IL-25は、さまざまな細胞型、例えば上皮細胞、Th2細胞およびILC2においてIL-17RA/IL-17RB複合体を活性化させるため、2型免疫応答において重要である。IL-25は、CD4⁺ T細胞の活性化およびTh17細胞への分化を阻害すること、ならびに自己免疫疾患および炎症性疾患においてTh1およびTh17の細胞応答の下方調節によって抗炎症的役割を果たすことが報告されている。

40

【0034】

胸腺間質性リンパ球新生因子 (TSLP) はIL-2サイトカインファミリーのメンバーであり、IL-7の遠縁のパラログである。TSLPは、TSLP特異的TSLPRサブユニットとIL-7Rシグナル伝達鎖とによって形成されたヘテロ二量体型受容体に結合し、いくつかの免疫細胞型、例えば樹状細胞、ILC2、マスト細胞、好塩基球およびT細胞に作用する。アレル

50

ギー性の炎症時、TSLPの主な産生体は上皮細胞、ケラチノサイトおよび間質細胞である。TSLPは、抗原提示細胞（例えば、樹状細胞）をモジュレーションしてT細胞および自然リンパ球による2型サイトカインを増幅させることにより、Th2媒介性炎症の駆動に極めて重要な役割を有する [Ito,Tomoki et al. The Journal Of Experimental Medicine,vol.202,9 (2005):1213-23]。

【0035】

IL-33はIL-1ファミリーのメンバーであり、最近、IL-1受容体ファミリーのメンバーであるT1/ST2 (ST2) のリガンドとして同定された。IL-33は、炎症誘発性サイトカインおよび転写調節特性を有する細胞内核内因子の両方として作用するデュアル機能タンパク質である。細胞のストレスまたは壊死後、IL-33が細胞外空間に放出され、免疫系に外傷または感染時の組織損傷を警告する内因性危険シグナルとしての機能を果たす。IL-33は、ヒト好塩基球、アレルゲン反応性Th2細胞、iNKTおよびNK細胞に対するその活性によりTh1型応答およびTh2型応答の両方を増幅させる。IL-33はカノニカルには2型サイトカイン応答を誘発するが、このサイトカインはまた、IL-12などの1型サイトカインと相乗作用してインターフェロン-ガンマ (IFN γ) を誘発することもできる [Komai-Koma,Mousa et al. Immunobiology,vol.221,3 (2016):412-7]。IL-33は、このように、アレルギー性疾患、線維化性疾患、感染性疾患および慢性炎症性疾患において重要な役割を有する極めて重要な免疫モジュレーターとして登場してきている。

【0036】

IL-25、TSLPおよびIL-33（集合的にアラミンとして公知）はTh2免疫応答以外にも広範な機能を示すため、これらのアラミンに対する生物製剤は、Th2経路の下流の標的と相互作用する生物製剤について承認された適応症以外のさらなるアレルギー性疾患サブタイプに有効であると考えられる。抗TSLP抗体および抗IL33抗体はどちらも喘息およびADにおいて臨床的に評価されている [Simpson,Eric L et al. Journal of the American Academy of Dermatology,vol.80,4 (2019):1013-1021;Chen,Yi-Ling et al. Science Translational Medicine,vol.11,515 (2019):eaax2945]。テゼベルマブ (AMG 157/MEDI9929) は、TSLPに特異的に結合してTSLPがその受容体複合体と相互作用することを妨げる完全ヒト免疫グロブリンG2-ラムダモノクローナル抗体である。フェーズIIの無作為二重盲検プラセボ対照試験 (ALLEVIAD;NCT02525094) では、中等症から重症のADの患者において、テゼベルマブ+コルチコステロイドのトピック (topic) 使用 (TCS) で処置するとプラセボ+TCSと比べてすべてのエンドポイントで改善の傾向が示されたが、かかる改善は、12週目にEASI50によって推定した際、統計学的有意性を得ることができなかった。2つの別々のフェーズIIIの治験 (SOURCEおよびNAVIGATOR) が、中等症から重症の喘息を処置するためのテゼベルマブの臨床的有効性を評価するために行われた。NAVIGATOR試験では、中等症から重症の喘息の患者はテゼベルマブ+OCSまたはプラセボ+OCSのいずれかで処置された。プライマリーエンドポイントは、処置群ではプラセボ群と比べて統計学的有意性を伴って基準を満たし、AAER (年間喘息増悪率 (Annual Asthma Exacerbation Rate)) の臨床的に意義のある低下が示された [Menzies-Gow,Andrew et al. The New England Journal of Medicine,vol.384,19 (2021):1800-1809]。NAVIGATOR試験では、テゼベルマブ (OCSと併用) はTh2-high型およびTh2-low型の重症喘息の抑制に対して等しく有効である。しかしながら、SOURCE試験では、テゼベルマブはプライマリーエンドポイント、すなわち、喘息コントロールの不良がなくプラセボと比べて統計学的有意性を伴った1日分のOCSの低減という基準を満たすことができなかった。この結果により、単独療法として使用されるテゼベルマブは中等症から重症の喘息の処置には充分でないかもしれないことが示唆された。

【0037】

抗IL-33ヒト化IgG1モノクローナル抗体であるエトキマブ (ABN020) はADの処置について臨床的に評価された。フェーズ1の治験において、ABN020の投与により血液中の好酸球数の大きな低減がもたらされた。ABN020は、室内塵ダニ誘発性皮膚炎の症状

を有意に緩和し、好中球の皮膚浸潤（非Th2型炎症のホールマーク）を低減させることがフェーズIIa試験においてわかった [Chen, Yi-Ling et al. Science Translational Medicine, vol.11, 515 (2019) : eaax2945]。このような結果により、ABN020はTh2型および非Th2型の両方の炎症を抑制できることが示唆された。しかしながら、ABN020は中等症から重症のADの処置について、後続のフェーズIIb試験ではそのプライマリーエンドポイント基準を満たすことができなかった。別の抗IL-33抗体であるイテペキマブ（REGN3500）は喘息の処置について臨床的に評価された。フェーズIIの概念実証（POC）試験において、ICSおよび長時間作用型気管支拡張薬の吸入（LABA）の使用を中止した患者はデュピルマブまたはイテペキマブのいずれかでの処置を12週間受けた [Wechsler, Michael E et al. The New England Journal Of Medicine, vol.385, 18 (2021) : 1656-1668.]。イテペキマブで処置された患者の喘息コントロール不良率（22%）はプラセボ処置を受けた患者（41%）より有意に低い。このデータにより、イテペキマブはICSおよびLABAなしの単独療法として有効であるかもしれないことが示唆された。しかしながら、イテペキマブの有効性は抗IL4Ra抗体デュピルマブ（19%）よりわずかに劣っていた。したがって、喘息に対するイテペキマブのさらなる臨床開発は科学的配慮ではなく戦略的配慮から中止された。それでもなお、イテペキマブは後に、増悪率を低下させ、好中球性炎症を特徴とする疾患である慢性閉塞性肺疾患（COPD）を有する喫煙経験者の肺機能を改善することがわかった [Rabe, Klaus F et al. The Lancet. Respiratory Medicine, vol.9, 11 (2021) : 1288-1298]。喫煙経験者のCOPDの処置についてイテペキマブを用いた2つのフェーズIIIの臨床試験が継続中である。【0038】

これまで、IL-25/IL-17RB経路を遮断することの免疫学的疾患、例えば喘息およびADに対する有効性は臨床的に検証されたことがない。最新の抗IL25抗体は、Kanovabio pharma社によって開発され、現在、フェーズIの治験で評価されているXKH001である。LNR 125.38は、Lanier Biotherapeutics社によって開発され、現在、前臨床段階の別の抗IL-25抗体である；LNR 125.38は、アレルギーのマウスおよびライノウイルス誘発性喘息増悪を有するマウスにおいて2型サイトカインおよび炎症細胞の増加を有意に低減させる。SinoMab BioScience Limited社によって開発されたSM17は、フェーズIの臨床試験に入っているファーストインクラスのヒト化抗IL17RBモノクローナル抗体である。SM17は、IL-25がIL-17RBに結合するのをブロックするのではなく、IL-25/IL-17RB経路を介するシグナル伝達を阻害する。SM17は、炎症性腸疾患、特発性肺線維症、喘息およびライノウイルス誘発性喘息増悪の処置についてのマウスでの前臨床試験において治療能が実証された親マウス抗体D9.2をヒト化したものである。【0039】

Th2型および非Th2型の両方の炎症の低減におけるこのような抗アラミン抗体（特に、抗TSLP抗体および抗IL33抗体）の実証された前臨床および臨床での有効性にもかかわらず、喘息の処置および/またはADに対するアドオン療法または単独療法として使用した場合のその治療応答はいささか最適下限である。考えられ得る説明は、TSLP、IL-33、そしておそらくIL-25が喘息およびADの病因に冗長性の重複する機能/役割を果たしているということである。そのため、これらのうちのいずれか1つだけをブロックすることは至適臨床応答を得るには不十分である。【0040】

分子レベルでは、これらの3つのアラミンはすべて、自然リンパ球（ILC）のファミリーメンバーであるILC2を直接活性化させる。ILC2は、その環境に対して可溶性炎症メディエータ、神経栄養因子および細胞間相互作用を介して速やかに応答する組織存在型センチネルである。ILC2は、IL-25、IL-33およびTSLPの受容体を発現し、IL-5およびIL-13を分泌してこれらのシグナルに応答し、これにより続いてアレルギー性反応を増強することが示されている。ILC2が調節不全である場合、これはTh2型炎症性サイトカインの過剰産生の一因となり、アレルギー性喘息、AD、アレルギー性鼻炎、潰瘍性大腸炎および多くの慢性線維増殖性障害の発症がもたらされ得る。また、ILC2はADにおける

急速な疾患再発および重症喘息におけるOCS依存とも密接に関連している。

【0041】

重症の好酸球性喘息の患者において、1クルルのOCSにより、循環好酸球、Th2細胞、Tc2細胞の減少がもたらされたがILC2の減少はもたらされなかった。これは、ILC2の方がTh2細胞と比べてOCSに抵抗性であることを示唆する(Hynes,G.,et al.2018)。臨床的に、IL-13⁺ILC2は、Th2細胞と比べた場合、患者の喘息コントロール状態とより強い正相関を示し、グルココルチコイド誘発性細胞死および2型サイトカイン放出の抑制に対してより抵抗性であった[Jia,Yi et al. American Journal Of Respiratory Cell And Molecular Biology,vol.55,5 (2016):675-683]。最近の研究により、3つのアラミンはすべて、ILC2のコルチコステロイド耐性に重要な役割を果たしていることがさらに示された。IL-33は、マウスモデルにおいて、気管支周囲/血管周囲の領域においてにおいてILC2の数を急速に増加させるが、ILC2の肺内蓄積はCCL8-CCR8シグナル伝達経路に依存性であることが実証された。IL-33処置によって主に肺の気道のマクロファージからのCCL8の産生がもたらされることは公知である。CCL8-CCR8経路を介するシグナル伝達がさらには、ILC2サイトカイン(IL-13およびIL-5)産生ならびにIL-13⁺活性化型ILC2運動性に極めて重要な役割を果たしていた[Puttur,Franz et al. Science Immunology,vol.4,36 (2019):eaav7638]。「炎症性」ILC2(iILC2)として公知のILC2の亜集団は後に、コルチコステロイド耐性の発現に関与していることがわかった。疾患重症度とコルチコステロイド療法に対する耐性との相関が慢性副鼻腔炎または喘息の患者において、特に、循環iILC2および炎症粘膜組織内の常在性iILC2の数が増加している場合に確立された。興味深いことに、iILC2の発生および遊走はIL-25依存性である[Miller,Mindy M et al. Science Immunology,vol.5,43 (2020):eaay3994;van der Ploeg,Esmee K et al. Science Immunology,vol.6,55 (2021):eabd3489]。また、TSLP処置はILC2のステロイド耐性を増大させることが報告されている。高いTSLPレベルを有する喘息患者から採集された気管支肺胞洗浄液(BALF)ILC2はステロイド抵抗性であった。IL-7およびTSLPは血中ILC2からの2型サイトカイン産生に対するデキサメタゾンの阻害を失効させた[Liu,Sucaï et al. The Journal Of Allergy And Clinical Immunology,vol.141,1 (2018):257-268.e6]。

【0042】

また、アラミンは、Th2メモリー細胞によって媒介されるAD再発にも極めて重要な役割を果たす。ADにおいて持続性の皮膚常在性処置抵抗性の免疫記憶Th2がデュピルマブで1年間処置された患者において同定された。このようなメモリーTh2細胞はIL-13⁺、IL-17RB⁺、ST2⁺、TSLPR⁺であり、これらがアラミンに応答している可能性があり得ることが示唆される。以前の研究で、IL-33がTh2メモリー細胞に、ADにおいてひどい痒みをもたらすサイトカインであるIL-31を産生するように誘導している可能性があり得ることが報告された[Maier,Elisabeth et al. Journal of Immunology (Baltimore,Md.:1950) vol.193,2 (2014):645-54;Stott,Bryony et al. The Journal Of Allergy And Clinical Immunology,vol.132,2 (2013):446-54.e5]。別の報告では、ADの皮膚病変部内へのCRTH2⁺CD4⁺ Th2メモリー細胞の浸潤が、TSLPによって活性化されたDC(TSLP-DC)と関連していた[Wang,Yui-I et al. Immunity,vol.24,6 (2006):827-838]。さらに、IL-25は、TSLP-DCによって刺激されたTh2メモリー細胞の増殖を増強させた[Wang,YIHsi et al. The Journal of Experimental Medicine,vol.204,8 (2007):1837-47]。このような研究により、デュピルマブによるIL-4およびIL-13の中和はTh2メモリー細胞の活性を抑制するには不十分であるのかもしれないことが示された。このことは、なぜ、デュピルマブで処置した場合、相当な割合のAD患者が部分奏効および非永続的奏効であるのかを説明するのに役立ち得る[Bangert,Christine et al. Science Immunology,vol.6,55 (2021):eabe2749][Wollenberg,A et al. The British Journal Of Dermatology,vol.184,3 (2021):437-449]。IL-4およびIL-13とは異なり、アラミンはAD

において短期Th2エフェクター機能および長期持続性Th2記憶の両方を調節する。したがって、アラミンの中和は、AD処置のための新規なアプローチとして有用である。

【0043】

3つのアラミンは2型免疫において冗長性の重複する役割を果たしているため、これらの3つのアラミンのいずれか1つをブロックすることは、Th2の活性とILC2の活性の両方を十分に抑制するのに充分であるとは考えにくい。これにより、なぜ、テゼペルマブおよびイテペキマブで、Th2型および非Th2型の両方の炎症反応が阻害されるにもかかわらず喘息およびADに対して限定的な臨床的有効性しか示されなかったのかが説明され得る。

【0044】

冗長性ではあるが、これらのアラミン間でTh2応答ならびに非Th2応答において重複しない機能がある。IL-33はIL-12と協調し、炎症性腸疾患（IBD）の病因の周知の疾患原因因子であるヒトNK細胞からのインターフェロンガンマ（IFN γ ）の産生を直接誘導するように作用する。患者の生検材料の研究により、活動期IBD、特に潰瘍性大腸炎（UC）の患者ではIL-33レベルの上昇が示されている [Kobori, Ayako et al. *Journal of Gastroenterology*, vol.45, 10 (2010) :999-1007]。さらに、UC関連IL-33が、UCの患者の炎症性潰瘍形成部の基部に局在する傾向にある筋線維芽細胞においてみられる [Sponheim, Jon et al. *The American Journal Of Pathology*, vol.177, 6 (2010) :2804-15]。IL-33/ST2経路のブロックは、マウスにおいて粘膜治癒を向上させることによって実験的大腸炎を軽快させ、ヒトにおいて活動期疾患を緩和することが示され、IBDにおけるIL-33の病因性の役割が示唆された [Sedhom, Mamdouh A K et al. *Gut*, vol.62, 12 (2013) :1714-23]。対照的に、TSLPは、tregIナীবCD4+ T細胞がIL-4、IL-5およびIL-13を産生する前提条件、ヒトDCがIL-12ではなくOX40リガンド（OX40L）を発現することを誘導する。さらに、TSLP活性化型DCはケモカイン、例えばCCL17/TARCおよびCCL22/MDCを産生し、これらはナীবT細胞を誘引する。TSLPRによる直接的またはOX40リガンド（DC上のTSLPによって誘導）とT細胞上のOX40との結合による間接的のいずれかによるナীবCD4+ T細胞のTSLP刺激によって特殊なTh2の極性化が誘導される。

【0045】

興味深いことに、DC活性化により、ヒトTSLPおよびTLR3のリガンドは、セントラルメモリーT細胞表現型を有するTh17細胞の分化を促進させる。同様に、皮膚局在マスト細胞由来のIL-25は、接触性皮膚炎の惹起相において皮膚のDCを刺激してIL-1 β を産生させ、それによりTh2細胞ではなくTh17の活性化に寄与する。乾癬の皮膚では、STAT3転写因子の活性化により、IL-25がケラチノサイトの増殖を刺激し、炎症性サイトカインおよびケモカインの産生を誘導する。また、ケラチノサイトにおけるIL-25発現は乾癬状の炎症の増幅に寄与する。さらに、IL-25は、ヒト末梢血単核細胞（PBMC）からのIL-5およびIL-13の分泌の誘導においてIL-33よりも強力であった [Bartemes, Kathleen R et al. *The Journal Of Allergy And Clinical Immunology*, vol.134, 3 (2014) :671-678.e4]。

【0046】

冗長性のように見えるが、3つのアラミンはILC2、Th1、Th2およびTh17の活性および応答の調節に異なる役割を果たし得る。実際、これらは、中枢系および末梢系の異なる細胞型、例えば限定するわけではないが、好塩基球、マクロファージ、好酸球、マスト細胞、線維芽細胞およびケラチノサイトを標的化することが報告されている。アレルギー性疾患（例えば、接触性皮膚炎、AD、Th2-high型/low型の喘息）および自己免疫疾患（例えば、炎症性腸疾患、乾癬）の不均一性のため、単一のアラミンのブロックは特定の患者群に対してのみ有効であり得る。例えば、Th1とTh2の混合型の表現型は欧米のADにおいて最も一般的であり、一方、Th17とTh2の混合型の表現型はアジア系および小児のADにおいて最も一般的である [Renert-Yuval, Yael, and Emma Guttman-Yassky. *Annals Of Allergy, Asthma & Immunology: Official Publication Of*

10

20

30

40

50

The American College Of Allergy, Asthma, & Immunology, vol. 124, 1 (2020): 28-35]。そのことから、このような免疫学的疾病の対処にはまだ改善の余地があり、異なるサブタイプの免疫学的疾患に応じた新規なアプローチおよび療法に対するアンメットメディカルニーズが提示される。

【0047】

かかる代替療法に対するアプローチの一例として、異なる様相のアレルギー性疾患（例えば、小児ADおよび成人AD）を処置する2つ以上のアラーミンに対する生物製剤（例えば、抗体）の共投与が挙げられ得る。共投与には、2つの別々の製品の注射、または、2つの異なる生物製剤による共製剤の単回注射のいずれかが必要とされる。2回の注射は投与の量とタイミングの柔軟性を可能にするが、患者にとってはコンプライアンス上、不便である。さらに、共製剤は投与の量にいくらかの柔軟性を提供し得るが、2種類以上の抗アラーミン生物製剤の分子的特徴が異なるため、許容粘度（比較的高濃度での）を有し化学的および物理的安定性を促進する製剤化条件を見い出すことは、多くの場合かなり困難であるかまたは不可能である。さらに、共投与および共製剤は2種類以上の異なる薬物療法の追加的費用を伴い、これにより患者および/または支払い人の費用負担が大きくなる場合があり得る。したがって、疾患修飾を有するアレルギー性疾患の処置のための代替療法の必要性が依然として存在しており、かつ好ましくは、かかる代替療法は異なるアラーミンに対する二重特異性または多重特異性の結合タンパク質を含むものである。

【0048】

実例を示す目的で、本発明により、2つの異なるアラーミンに対する二重特異性結合タンパク質を提供する；これは、一方でIL-17RBに対する、他方で可溶性アラーミンに対する特異性を有する二重特異性タンパク質の形態であり得る。具体的には、この二重特異性タンパク質は、C末端に（a）IL-33もしくはTSLPアラーミンを標的化する単鎖Fv（scFv）；または（b）IL-33受容体（ST2）もしくはTSLP受容体（TSLPR）の細胞外ドメインのいずれかが融合された抗IL17RB（IL-25の受容体）抗体であり得る。本発明においてアラーミン受容体と異なるアラーミンとに対する二重特異性結合タンパク質の使用を開示するが、本アプローチは、異なるアラーミン受容体、アラーミン、および他の下流サイトカインを標的化する多重特異性結合タンパク質に小区分することができる。

【0049】

本開示をさらに説明する前に、本開示は、本明細書に示した具体的な態様に限定されないことを理解されたく、また、本明細書において使用する専門用語は具体的な態様を説明する目的のためのものであり、限定を意図するものではないことも理解されたい。

【0050】

本明細書において特に定義していない限り、本開示において使用している科学技術用語は、当業者に一般的に理解されている意味を有するものとする。さらに、文脈から特に必要とされない限り、単数形の用語は複数を含んでいるものとし、複数形の用語は単数を含んでいるものとする。一般的に、本明細書に記載の細胞および組織の培養、分子生物学、免疫学、遺伝学ならびにタンパク質および核酸の化学およびハイブリダイゼーションとの関連において使用している命名法ならびにその手法は、当技術分野において周知で一般的に使用されているものである。

【0051】

用語「1つの」（「a」または「an」）実体は、1つの実体を示す；例えば、「1つのベクター」（「a vector」）は1つのベクターを表すと理解されたい。

【0052】

用語「および/または」は、本明細書において使用する場合、2つの明記された特徴または構成要素の各々が他方を伴う場合または伴わない場合の具体的な開示であると解釈されたい。したがって、フレーズ内に使用されている場合の用語「および/または」、例えば本明細書における「Aおよび/またはB」は、「AおよびB」、「AまたはB」、「A」（単独）および「B」（単独）を含むことを意図する。同様に、フレーズ内に使用されている場合の用語「および/または」、例えば「A、Bおよび/またはC」は、以下の局面：A、

10

20

30

40

50

BおよびC; A、BまたはC; AまたはC; AまたはB; BまたはC; AおよびC; AおよびB; BおよびC; A (単独); B (単独); ならびにC (単独) の各々を包含していることを意図する。

【0053】

範囲: 本開示全体を通して、本発明の種々の局面を範囲形式で示している場合があり得る。範囲形式での記載は、便宜上、略しているにすぎないことを理解されたく、本発明の範囲に対する柔軟性のない限定であると解釈されるべきでない。したがって、範囲の記載は、具体的に開示された考えられ得るあらゆる部分範囲ならびに該範囲内の個々の数値を有するとみなされたい。例えば、範囲の記載、例えば1~6は、具体的に開示された部分範囲、例えば1~3、1~4、1~5、2~4、2~6、3~6など、ならびに該範囲内の個々の数値、例えば、1、2、2.7、3、4、5、5.3および6を有するとみなされたい。これは、範囲の広さに関係なく適用される。

10

【0054】

例示的な遺伝子およびポリペプチドは本明細書において、GenBank番号、GI番号および/またはSEQ ID NO.に言及して記載している。当業者は、配列の情報源、例えば限定するわけではないがGenBank (ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) およびEMBL (embl.org/) を参照することによって容易に相同配列を特定できることは理解されよう。

【0055】

7.1 IL17RBタンパク質

ヒトIL17RBは、IL-17受容体ファミリーに属する47.9 kDaの膜貫通型タンパク質 (462 aa) である。IL-17RBは、種々の内分泌組織において、および異なる器官、例えば腎臓および肝臓ならびに粘膜組織の上皮細胞において発現される。また、高IL-17RB発現が喘息患者の肺組織およびADの患者の皮膚病変においてみられる。ヒトILC2、ナチュラルキラーT (NKT) 細胞およびTh2細胞におけるIL-17RB発現は免疫細胞における潜在的役割を示唆する。IL-17RBは2つのリガンド、IL-17BおよびIL-25 (IL-17Eとしても公知) に共有される。IL-25はヘテロ二量体型IL-17RA/IL-17RB複合体に結合し、一方、IL-17Bは、ヘテロ二量体型受容体およびIL-17RBホモ二量体型受容体の両方に結合することが報告されている [Wu, Heng-Hsiung et al. Science Translational Medicine, vol.13, 583 (2021): eabc2823]。IL-17RBに対するIL-17Bの結合親和性 (K_D) は、IL-25 (IL-17E) よりおよそ30倍低く、結合速度 (K_{on}) は同様であるが解離速度 (K_{off}) はかなり速い。ヒトIL-17RBに関するさらなる情報、例えばその例示的なアミノ酸配列は、公開データベース、例えばGENEBANK (NCBI Ref. NP_061195.2) をみるとよい。また、例示的な配列を以下に示す。

20

30

```
1 MSLVLLSLAA LCRSAVPREP TVQCGSETGP SPEWMLQHDLPDGLRDRLV EPVTTTSVATG
61 DYSILMNVSWS VLRADASIRL LKATKICVTG KSNFQSYSCV RCNYTEAFQT QTRPSGGKWT
121 FSYIGFPVEL NTVYFIGAHN IPNANMNEDG PMSVNFSTSP GCLDHIMKYK KKCVCAGSLW
181 DPNITACKKN EETVEVNFST TPLGNRYMAL IQHSTHIGFS QVFEPHQKKQ TRASVVIPVT
241 GDSEGATVQL TPYFPTCGSD CIRHKGTVVL CPQTGVPPFL DNNKSKPGGW LPLLLLSLLV
301 ATWVLVAGIY LMWRHERIKK TSFSTTTLLP PIKVLVVYPS EICFHHTICY FTEFLQNHCR
361 SEVILEKWQK KKIAEMGPVQ WLATQKKAAD KVVFLLSNDV NSVCDGTGCGK SEGSPSENSQ
421 DLFPLAFNLF CSDLRSQIHL HKYVVVYFRE IDTKDDYNAL SVC PKYHLMK DATAFCAELL
481 HVKQQVSAGK RSQACHDGCC SL (SEQ ID NO: 88)
```

40

【0056】

7.2 二重特異性結合タンパク質

本開示により、2つの抗原に特異的に結合することができる二重特異性結合タンパク質を提供する。この結合タンパク質は一般的に、免疫グロブリンの軽鎖可変領域またはドメインおよび重鎖可変領域またはドメインに対応する軽鎖可変領域またはドメインおよび重鎖可変領域またはドメインを含む。該結合タンパク質の少なくとも1つの抗原結合部分は、当技術分野においてscFvとして公知の単鎖形式である。いくつかの態様では、他方の抗原結合部分がIgGを含む。他の態様では、他方の抗原結合部分がscFvを含む。

【0057】

50

いくつかの態様では、本明細書において、アラミンの受容体、アラミンまたは両方に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片の方法および使用を提供する。用語「抗体」およびその文法的に等価な用語は、本明細書において使用する場合、標的、例えばタンパク質、ポリペプチド、ペプチド、糖鎖、ポリヌクレオチド、脂質または前述の任意のものの組合せを認識し、少なくとも1つの抗原結合部位によって特異的に結合する免疫グロブリン分子を示し、ここで、抗原結合部位は通常、免疫グロブリン分子の可変領域に存在している。本明細書において使用する場合、この用語は、抗体が所望の生物学的活性を示す限り、インタクトなポリクローナル抗体、インタクトなモノクローナル抗体、シングルドメイン抗体 (sdAb; 例えば、ラクダ科抗体、アルパカ抗体)、単鎖Fv (scFv) 抗体、重鎖抗体 (HCAb)、軽鎖抗体 (LCAb)、多重特異性抗体、二重特異性抗体、単一特異性抗体、一価抗体および抗原結合部位を含む任意の他の修飾免疫グロブリン分子 (例えば、二重可変ドメイン免疫グロブリン分子) を包含している。また、抗体としては、限定するわけではないが、マウス抗体、ウサギ抗体、ラクダ抗体、霊長類抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体およびヒト抗体も挙げられる。抗体は、主要な5つの免疫グロブリンクラスであるIgA、IgD、IgE、IgGおよびIgMまたはそれぞれアルファ、デルタ、イプシロン、ガンマおよびミューと称される重鎖定常ドメインの実体に基づいたそのサブクラス (アイソタイプ) (例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1およびIgA2) のいずれのものであってもよい。いくつかの態様では、抗体が、ジスルフィド結合によって相互に連結された4つのポリペプチド鎖、2つの重 (H) 鎖および2つの軽 (L) 鎖を含むものであり得る。各重鎖は重鎖可変領域 (本明細書においてHCVRまたはVHと略記) と重鎖定常領域で構成される。各軽鎖は軽鎖可変領域 (本明細書においてLCVRまたはVLと略記) と軽鎖定常領域で構成される。特に明示していない限り、用語「抗体」は、本明細書において使用する場合、インタクトな抗体の「抗原結合断片」を含む。用語「抗原結合断片」は、本明細書において使用する場合、インタクトな抗体の抗原決定可変領域であるインタクトな抗体の一部分または断片を示す。抗原結合断片の例としては、限定するわけではないが、Fab (VL、VH、CLおよびヒンジ領域なしのCH1ドメインからなる一価断片)、Fab' (VL、VH、CLおよびヒンジ領域に結合しているCH1ドメインからなる一価断片)、F(ab')₂ (ヒンジ領域でジスルフィド結合によって連結された2つのFab断片を含む二価断片)、Fd (VHおよびCH1ドメインからなる断片)、Fv (抗体の単一アームのVLおよびVHドメインからなる断片)、線状抗体、単鎖抗体分子 (例えばscFv、これは、組換え手段によって結合されたVL領域とVH領域を有する単一のポリペプチド鎖である)、重鎖抗体 (HCAb)、軽鎖抗体 (LCAb)、ジスルフィド結合型scFv (dsscFv)、ダイアボディ (二価の二重特異性抗体)、トリボディ、テトラボディ、ミニボディ、二重可変ドメイン抗体 (DVD)、シングル可変ドメイン抗体 (sdAbまたはdAb; 例えば、ラクダ科抗体、アルパカ抗体)、および重鎖抗体のシングル可変ドメイン (VHH)、ならびに抗体断片から形成された二重特異性または多重特異性の抗体が挙げられる。「二重特異性の」抗体または結合タンパク質は、2つの異なる標的を認識して特異的に結合する2つの異なる抗原結合部位を有する人工的なハイブリッド抗体である。二重特異的結合性の抗体およびタンパク質は、さまざまな方法、例えばハイブリドーマの融合またはFab'断片の連結によって作製され得る。例えば、Kostelny, S A et al. Journal of Immunology (Baltimore, Md.:1950) vol.148,5 (1992):1547-53; Songsivilai, S, and P J Lachmann. Clinical And Experimental Immunology, vol.79,3 (1990):315-21を参照のこと。

【0058】

用語「重鎖」は、抗体に関して使用する場合、約50~70 kDaのポリペプチド鎖であって、アミノ末端部分が約120~130個またはそれより多くのアミノ酸の可変領域 (VH) と定常領域を含むカルボキシ末端部分とを含むものを示す。いくつかの態様では、重鎖定常領域が3つのドメインCH1、CH2およびCH3で構成され、CH1ドメインとCH2ドメインを連結している短いフレキシブルなヒンジ領域が存在する。定常領域は、重鎖定常領域のアミノ酸配列に基づいたアルファ (α)、デルタ (δ)、イプシロン (ε)、ガンマ

10

20

30

40

50

(γ) およびミュー (μ) と称される5つの相違する型のうちの1つであり得る。この相違する重鎖はサイズが異なる： α 、 δ および γ はおよそ450個のアミノ酸を含み、一方、 μ および ϵ はおよそ550個のアミノ酸を含む。軽鎖と組み合わせると、この相違する型の重鎖により、IgGの4つのサブクラス、すなわちIgG1、IgG2、IgG3およびIgG4を含む、それぞれIgA、IgD、IgE、IgGおよびIgMの5つの周知の抗体クラスが生じる。重鎖はヒト重鎖であり得る。

【0059】

用語「軽鎖」は、抗体に関して使用する場合、約25 kDaのポリペプチド鎖であって、アミノ末端部分が約100～約110個またはそれより多くのアミノ酸の可変領域と定常領域を含むカルボキシ末端部分とを含むものを示す。軽鎖定常領域は1つのドメインCLで構成される。軽鎖のおよその長さは211～217個のアミノ酸である。定常ドメインのアミノ酸配列に基づいたラムダ (λ) のカッパ (κ) と称される2つの相違する型がある。軽鎖のアミノ酸配列は当技術分野において周知である。軽鎖はヒト軽鎖であり得る。

【0060】

用語「可変ドメイン」または「可変領域」は、一般的には軽鎖または重鎖のアミノ末端に位置し、重鎖では約120～130個のアミノ酸および軽鎖では約100～110個のアミノ酸の長さを有する、抗体の軽鎖または重鎖の一部を示し、具体的な各抗体のその具体的な抗原に対する結合および特異性において使用される。可変ドメインは、異なる抗体間で配列が広く異なる。配列の可変性はCDRに集中しており、一方、可変ドメイン内のあまり可変性でない部分はフレームワーク領域 (FR) と称される。軽鎖および重鎖のCDRは主に、その抗体の抗原との相互作用を担う。いくつかの態様では、各VHおよびVLが、アミノ末端からカルボキシ末端に向かって以下の順：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4に配列される3つのCDRと4つのFRで構成される。本明細書において使用しているアミノ酸の位置のナンバリングは、Kabat et al. (1991) Sequences of proteins of immunological interest. (U.S.Department of Health and Human Services, Washington, D.C.) 5th edにおけるようなEU Indexによるものである。

【0061】

CDRは、免疫グロブリン (Igもしくは抗体) のVH β -シートフレームワーク部の非フレームワーク領域内の3つの超可変領域のうちの1つ (H1、H2もしくはH3) または抗体のVL β -シートフレームワーク部の非フレームワーク領域内の3つの超可変領域のうちの1つ (L1、L2もしくはL3) を示す。したがって、CDRはフレームワーク領域配列内に散在する可変領域配列である。CDR領域は当業者に周知であり、さまざまな方法/システムによって規定されている。このようなシステムおよび/または規定は長年にわたって開発され、修正されており、Kabat、Chothia、IMGT、AbMおよびContactが挙げられる。例えば、Kabatでは、最も超可変性の領域は抗体の可変 (V) ドメイン内に規定される (Kabat, E A et al. The Journal Of Biological Chemistry, vol.252,19 (1977):6609-16.;Kabat, E A. Advances in protein chemistry vol.32 (1978):1-75.)。Chothiaの規定は構造的ループ領域の場所に基づいており、CDR領域配列は保存された β -シートフレームワーク部の一部でない残基であると規定され、したがって、異なるコンフォメーションを適合させることができる [Chothia, C, and A M Lesk. Journal of Molecular Biology, vol.196,4 (1987):901-17]。どちらの専門用語も当技術分野において十分に認知されている。さらに、IMGTシステムは配列の可変性および構造内における可変領域の場所に基づいている。AbMの規定はKabatとChothiaとの折衷法である。Contactの規定は入手可能な抗体の結晶構造の解析に基づいている。抗体配列の解析およびCDRの決定にはソフトウェアプログラム (例えば、abYsis) が利用可能であり、当業者に公知である。カノニカル抗体可変ドメイン内におけるCDRの位置は、数多くの構造の比較によって決定されている [Al-Lazikani, B et al. Journal Of Molecular Biology, vol.273,4 (1997):927-48] [Morea, V et al. Methods (San Diego, Calif.) vol.20,3 (2000):267-79]。超可変領域内の残基の数は抗体によって異なるため、カノニカルな位置に対する追加の残基は、カノニカルな可変ド

10

20

30

40

50

メインナンバリングスキームにおける残基番号の次にa、b、cなどで慣用的にナンバリングされる。かかる命名法も同様に当業者に周知である。

【0062】

例えば、Kabat（超可変基準）またはChothia（構造基準）のいずれかの表記に従って規定されるCDRを以下の表に示す。

	Kabat ¹	Chothia ²	ループの場所
VHCDR1	31-35	26-32	B鎖とC鎖を連結
VHCDR2	50-65	53-55	C'鎖とC''鎖を連結
VHCDR3	95-102	96-101	F鎖とG鎖を連結
VLCDR1	24-34	26-32	B鎖とC鎖を連結
VLCDR2	50-56	50-52	C'鎖とC''鎖を連結
VLCDR3	89-97	91-96	F鎖とG鎖を連結

10

¹残基のナンバリングはKabat et al., 上掲の命名法に従う

²残基のナンバリングはChothia et al., 上掲の命名法に従う

【0063】

また、1つまたは複数のCDRを分子内に共有結合または非共有結合のいずれかによって組み込み、イムノアドヘンシにしてもよい。イムノアドヘンシにはCDRが大きなポリペプチド鎖の一部として組み込まれ得、該CDRに別のポリペプチド鎖が共有結合により連結されてもよく、該CDRが非共有結合により組み込まれてもよい。CDRによりイムノアドヘンシが関心対象の特定の抗原に結合することが可能になる。

20

【0064】

用語「エピトープ」および「抗原決定基」は、本明細書において互換的に使用しており、標的分子の表面上の抗体または抗原結合断片が結合する部位、例えば抗原の表面上の限局的な領域を示す。標的分子にはタンパク質、ペプチド、核酸、糖鎖または脂質が含まれ得る。免疫原性活性を有するエピトープは、動物において免疫応答を誘起する標的分子の一部である。抗原性活性を有する標的分子のエピトープは、抗体が結合する標的分子の一部であり、当技術分野において周知の任意の方法によって、例えばイムノアッセイなどによって決定される。抗原のエピトープは必ずしも免疫原性である必要はない。エピトープは多くの場合、化学的に活性な表面分子群、例えばアミノ酸または糖側鎖からなり、特異的な三次元構造の特徴ならびに特異的な電荷の特徴を有する。用語「エピトープ」は線状エピトープおよび構造的エピトープを含む。エピトープに寄与する標的分子（例えば、ポリペプチド）の領域はポリペプチドの連続したアミノ酸であり得るか、またはエピトープは標的分子の2つ以上の非連続領域が一体になったものであり得る。エピトープは標的分子の三次元の表面形体であってもよく、そうでなくてもよい。連続したアミノ酸で形成されるエピトープ（線状エピトープとも称される）は、タンパク質が変性すると典型的には保持されるが、三次元構造へのフォールディングによって形成されるエピトープ（構造的エピトープとも称される）は、タンパク質が変性すると典型的には損なわれる。エピトープは典型的には、特有の空間的コンフォメーション内に少なくとも3個、より通常には少なくとも5、6、7または8～10個のアミノ酸を含む。

30

40

【0065】

用語「特異的に結合する」とは、本明細書において使用する場合、ポリペプチドまたは分子がエピトープ、タンパク質または標的分子と、別の物質、例えば関連タンパク質および無関連タンパク質より高頻度に、より速やかに、より長い持続時間で、より大きな親和性で、または上記のうちのなんらかの組合せで相互作用することを意味する。標的分子（例えば、抗原）に特異的に結合する結合部分（例えば、抗体）は、例えばイムノアッセイ、ELISA、Bio-Layer Interferometry（「BLI」）、SPR（例えば、Biacore）また

50

は当業者に公知の他の手法によって同定され得る。典型的には、特異的反応は少なくともバックグラウンドシグナルまたはノイズの2倍であり、バックグラウンド10倍を超える場合もあり得る。例えば、抗体の特異性に関する論考についてのPaul, ed., 1989, FUNDAMENTAL IMMUNOLOGY SECOND EDITION, Raven Press, New Yorkの第332～336頁を参照のこと。標的分子に特異的に結合する結合部分は標的分子に、異なる分子に対する親和性より高い親和性で結合し得る。いくつかの態様では、標的分子に特異的に結合する結合部分が標的分子に、異なる分子に対する親和性より少なくとも20倍大きい、少なくとも30倍大きい、少なくとも40倍大きい、少なくとも50倍大きい、少なくとも60倍大きい、少なくとも70倍大きい、少なくとも80倍大きい、少なくとも90倍大きい、または少なくとも100倍大きい親和性で結合し得る。いくつかの態様では、特定の標的分子に特異的に結合する結合部分は異なる分子に、本明細書に記載のアッセイあるいは当技術分野において公知のアッセイを用いて結合を検出することができないような低い親和性で結合する。いくつかの態様では、「特異的に結合する」とは、例えば、結合部分が分子標的に約0.1 mM以下の K_D で結合することを意味する。

10

【0066】

いくつかの態様では、「特異的に結合する」とは、ポリペプチドまたは分子が標的に約10 μ M以下または約1 μ M以下の K_D で結合することを意味する。いくつかの態様では、「特異的に結合する」とは、ポリペプチドまたは分子が標的に約0.1 μ M以下、約0.01 μ M以下または約1 nM以下の K_D で結合することを意味する。異なる種における相同タンパク質間の配列同一性のため、特異的結合は、ポリペプチドまたは分子が1つより多くの種において、あるタンパク質または標的を認識することを含み得る。同様に、異なるタンパク質のポリペプチド配列のある特定の領域における相同性のため、特異的結合は、ポリペプチドまたは分子が1つより多くのタンパク質または標的を認識することを含み得る。いくつかの態様では、第1の標的に特異的に結合する結合部分（例えば、抗体）が第2の標的に特異的に結合するかもしれない、そうでないかもしれないことは理解されよう。そのため、「特異的結合」は必ずしも排他的結合、すなわち単一の標的に結合することを要するものでない（が、これを含み得る）。したがって、結合部分（例えば、抗体）は、いくつかの態様では、1つより多くの標的に特異的に結合し得る。例えば、抗体は、一部の特定の場において、各々が2種類以上のタンパク質上の同じエピトープ特異的に結合する2つの同一の抗原結合部位を含む場合があり得る。一部の特定の択一的な態様において、抗体は二重特異性であり得、特異性が異なる少なくとも2つの抗原結合部位を含むものであり得る。

20

30

【0067】

用語「結合親和性」は、本明細書において使用する場合、一般的に、結合部分と標的分子（例えば、抗原）との間の非共有結合性相互作用の総体的結果の強度を示す。結合部分と標的分子との結合は可逆的プロセスであり、結合の親和性は典型的には、平衡解離定数（ K_D ）として報告される。 K_D は結合速度（ k_{on} または k_a ）に対する解離速度（ k_{off} または k_d ）の比である。結合ペアの K_D が小さいほど、親和性が高い。 K_A は平衡結合定数であり、また、これは平衡解離定数の逆数である、すなわち $=1/K_D$ 。抗体-抗原相互作用について、 K_D は、抗体-抗原複合体の濃度に対する遊離抗体および遊離抗原の濃度の積の比、すなわち、 $[\text{抗原}] \times [\text{抗体}] / [\text{抗原-抗体}]$ として計算され得る。

40

【0068】

結合親和性を測定するさまざまな方法が当技術分野において公知であり、そのいずれかが本開示の目的のために使用され得る。具体的な例示としての態様は以下のものを含む。いくつかの態様では、「 K_D 」または「 K_D 値」は、当技術分野において公知のアッセイによって、例えば結合アッセイによって測定され得る。 K_D を、放射性標識抗原結合アッセイ（RIA）（Chen, Y et al. *Journal of Molecular Biology*, vol.293,4 (1999):865-81）において測定してもよい。また、 K_D または K_D の値は、例えばGatorシステム（Probe Life）またはOctet-96システム（Sartorius, Gottingen, Germany）を使用するバイオレイヤー干渉法（BLI）を使用することによっても測定され得る。また、

50

K_DまたはK_Dの値は、BIAcoreシステム（例えば、Pharmacia Biosensor AB,Uppsala,Sweden and Piscataway,NJ）を使用することによる表面プラズモン共鳴アッセイを使用することによっても測定され得る。

【0069】

用語「バリエーション」は本明細書において、特定の配列特徴を有するタンパク質またはポリペプチド（「参照タンパク質」または「参照ポリペプチド」）との関連において使用する場合、参照タンパク質または参照ポリペプチドと比べて1個または複数（例えば、約1～約25、約1～約20、約1～約15、約1～約10または約1～約5個など）のアミノ酸の置換、欠失、および/または付加を有する異なるタンパク質またはポリペプチドを示す。アミノ酸配列の変化はアミノ酸置換であり得る。アミノ酸配列の変化は保存的アミノ酸置換であり得る。タンパク質またはポリペプチドの機能性断片または機能性バリエーションは、参照タンパク質またはポリペプチドの基本的な構造的および機能的特性が維持されている。

10

【0070】

用語「ポリペプチド」、「ペプチド」、「タンパク質」およびその文法的に等価な用語は本明細書において互換的に使用しており、線状であっても分枝鎖であってもよい任意の長さのアミノ酸の重合体を示す。これは、非天然アミノ酸または修飾アミノ酸を含むものであってもよく、非アミノ酸が介在していてもよい。また、ポリペプチド、ペプチドまたはタンパク質は、例えばジスルフィド結合の形成、グリコシル化、脂質化、アセチル化、リン酸化または任意の他の操作もしくは修飾により修飾され得る。

20

【0071】

用語「ポリヌクレオチド」、「核酸」およびその文法的に等価な用語は本明細書において互換的に使用しており、任意の長さのヌクレオチドの重合体を意味し、DNAおよびRNAを含む。ヌクレオチドはデオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、修飾されたヌクレオチドもしくは塩基および/またはそのアナログあるいはDNAポリメラーゼまたはRNAポリメラーゼによって重合体に合成され得る任意の物質であり得る。核酸分子は一本鎖または二本鎖であり得る。

【0072】

本明細書において使用する場合、用語「～をコードする」およびその文法的に等価な用語は、ポリヌクレオチドまたは核酸、例えば遺伝子、cDNAまたはmRNA内のヌクレオチドの特定の配列が、規定のヌクレオチド配列（すなわち、rRNA、tRNAおよびmRNA）または規定のアミノ酸配列およびそれに由来する生物学的特性のいずれかを有する生物学的プロセスの他の重合体および巨大分子の合成のための鋳型としての機能を果たすという固有の特性を示す。したがって、遺伝子は、該遺伝子に対応するmRNAの転写および翻訳によってタンパク質が産生される場合、該タンパク質をコードする。特に記載のない限り、「アミノ酸配列をコードしているヌクレオチド配列」は、互いに縮重型であり同じアミノ酸配列をコードするあらゆるヌクレオチド配列を含む。タンパク質およびRNAをコードするヌクレオチド配列はイントロンを含み得る。

30

【0073】

「単離された」ポリペプチド、ペプチド、タンパク質、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞または組成物は、自然状態ではみられない形態であるポリペプチド、ペプチド、タンパク質、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞または組成物である。単離されたポリペプチド、ペプチド、タンパク質、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞または組成物は、自然状態でみられる形態ではない度合いまで精製されているものを含む。いくつかの態様では、単離されたポリペプチド、ペプチド、タンパク質、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞または組成物が実質的に純粋である。いくつかの態様では、単離されたポリペプチド、ペプチド、タンパク質、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞または組成物が、他の細胞材料および/または化学物質を実質的に無含有である。

40

【0074】

用語「同一の」、「同一性」パーセントおよびその文法的に等価な用語は本明細書にお

50

いて、2つ以上のポリヌクレオチドまたはポリペプチドとの関連において使用する場合、最大限に一致するように、いずれの保存的アミノ酸置換も配列同一性の一部として考慮せずに比較およびアラインメント（必要であれば、ギャップを導入）したとき、2つ以上の配列または部分配列が同じであるか、または指定されたパーセンテージの同じヌクレオチド残基もしくはアミノ酸残基を有することを示す。同一性パーセントは、配列比較ソフトウェアもしくはアルゴリズムを用いて、または目視検査によって測定され得る。アミノ酸配列またはヌクレオチド配列のアラインメントを得るために使用され得る種々のアルゴリズムおよびソフトウェアが当技術分野において周知である。このようなものとしては、限定するわけではないが、BLAST、ALIGN、Megalign、BestFit、GCG Wisconsin Packageおよびその変形法が挙げられる。いくつかの態様では、本明細書において提供される2つのポリヌクレオチドまたはポリペプチドが実質的に同一であり、これは、最大限に一致するように比較およびアラインメントしたとき、配列比較アルゴリズムを用いて、または目視検査による測定時、これらが少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、いくつかの態様では少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%のヌクレオチド残基またはアミノ酸残基の同一性を有することを意味する。いくつかの態様では、同一性が、少なくとも約10個の残基、少なくとも約20個の残基、少なくとも約40~60個の残基、少なくとも約60~80個の残基の長さまたはその間の任意の整数値の個数の残基のアミノ酸配列の領域にわたって存在する。いくつかの態様では、同一性が、60~80個の残基より長い領域、例えば少なくとも約80~100個の残基にわたって存在し、いくつかの態様では、配列が、比較されている配列、例えば標的タンパク質または抗体のコード領域の全長にわたって実質的に同一である。いくつかの態様では、同一性が、少なくとも約10個の塩基、少なくとも約20個の塩基、少なくとも約40~60個の塩基、少なくとも約60~80個の塩基の長さまたはその間の任意の整数値の個数の残基のヌクレオチド配列の領域にわたって存在する。いくつかの態様では、同一性が、60~80個の塩基より長い領域、例えば少なくとも約80~1000個の塩基またはそれより多くにわたって存在し、いくつかの態様では、配列が、比較されている配列、例えば関心対象のタンパク質をコードしているヌクレオチド配列の全長にわたって実質的に同一である。

10

20

30

40

50

【0075】

「保存的アミノ酸置換」は、本明細書において使用する場合、あるアミノ酸残基が、同類の側鎖を有する別のアミノ酸残基と置き換えられていることである。「保存的に同類」であるアミノ酸または残基は、本明細書において使用する場合、同類の側鎖を有する非同類アミノ酸残基を示す。同類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において規定されており、例えば、塩基性側鎖（例えば、リシン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、無電荷極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖（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、トリプトファン）、ベータ分枝鎖側鎖（例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン）および芳香族側鎖（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）である。

【0076】

用語「ベクター」およびその文法的に等価な用語は、本明細書において使用する場合、遺伝物質を運ぶために使用される媒体（例えば、ポリヌクレオチド配列）であって、宿主細胞内に導入され得、そこで複製および/または発現され得るものを示す。使用のために適用可能なベクターとしては、例えば、発現ベクター、プラスミド、ファージベクター、ウイルスベクター、エピソームおよび人工染色体が挙げられ、これらには、宿主細胞の染色体内への安定な組込みに機能的な選択配列またはマーカーが含まれ得る。さらに、ベクターには、1つまたは複数の選択可能マーカー遺伝子および適切な発現制御配列が含まれ得る。含まれ得る選択可能マーカー遺伝子は、例えば抗生物質もしくは毒素に対する耐性をもたらすか、栄養要求性の欠損を補うか、または培養培地中にない重要な栄養素

を供給する。発現制御配列としては、構成的および誘導性プロモーター、転写エンハンサー、転写ターミネーターなどが挙げられ得、これらは当技術分野において周知である。2種類以上のポリヌクレオチドを共発現させる場合、両ポリヌクレオチドは、例えば単一の発現ベクター内に、または別々の発現ベクター内に挿入され得る。単一ベクターでの発現では、コードポリヌクレオチドは、共通の1つの発現制御配列に操作的に連結され得るか、または異なる発現制御配列、例えば1つの誘導性プロモーターと1つの構成的プロモーターに連結され得る。宿主細胞内へのポリヌクレオチドの導入は、当技術分野において周知の方法を用いて確認され得る。当業者には、ポリヌクレオチドは所望の産物（例えば、IgG含有型（consisting）二重特異性結合タンパク質）が産生されるのに十分な量で発現されることが理解され、発現レベルは十分な発現が得られるように当技術分野において周知の方法を用いて最適化され得ることがさらに理解されよう。

10

【0077】

本明細書において使用する場合、用語「宿主細胞」は、遺伝子材料、例えば組換え発現ベクターが導入され得るか、または導入されている細胞を示す。宿主細胞としては、外来性の遺伝物質が導入される対象の細胞だけでなく、かかる細胞の子孫も挙げられる。変異または環境の影響のいずれかにより、ある種の修飾が後継世代において起こり得るため、かかる子孫は親細胞と同一でない場合もあり得る。

【0078】

本明細書において使用する場合、および当技術分野において理解されているように、「EC」は、剤（例えば、抗体）の有効な濃度を意味し、用量応答曲線において一般的に使用される。剤の「効果」は正（賦活性）の効果または負の効果であり得る。用語「EC50」は、半数最大効果をもたらす活性剤（例えば、抗体）の濃度を示す。また、本明細書において使用する場合、および当技術分野において理解されているように、「IC」は阻害効果を有する剤の濃度を意味し、これもまた用量応答曲線に一般的に使用される。用語「IC50」は、阻害する活性が半減する剤（例えば、抗体）の濃度を示す。

20

【0079】

上記のセクションに記載のように、二重特異性結合タンパク質は、ジスルフィド結合によって一体に連結された2つのポリペプチドを含むものであり得、各ポリペプチドは、第1のscFv領域と第2のscFv領域をそのそれぞれのN末端とC末端に含む。この2つのscFv領域は異なる抗原に特異的に結合する。各ポリペプチドの第1のscFv領域と第2のscFv領域との間には免疫グロブリンのヒンジ、CH2、およびCH3ドメインを含む配列が存在する。

30

【0080】

あるいはまた、二重特異性結合タンパク質は、各CH3ドメインのC末端に連結されたscFv領域を有するIgGを含むものであり得る。この場合、IgGのFab領域の重鎖と軽鎖の可変部は、ある1つの抗原に特異的に結合し、C末端側のscFv領域は、第2の抗原に特異的に結合する異なる重鎖と軽鎖の可変部を含む。

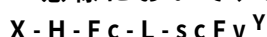
【0081】

上記のように、二重特異性結合タンパク質は、一方がN末端にあり抗原Xに結合し、他方がC末端にあり抗原Yに結合する2つのドメインを介して、2つの異なる抗原に結合し得る。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質が、アラミン受容体の第1のドメインおよびアラミンの第2のドメインに結合する。特定の一態様において、二重特異性結合タンパク質は、第1のドメインを介して結合することによってIL17RBの活性化を抑制し、第2のドメインを介してTSLPに結合する。別の態様では、二重特異性結合タンパク質が、第1のドメインを介して結合することによってIL17RBの活性化を抑制し、第2のドメインを介してIL33に結合する。

40

【0082】

一態様において、二重特異性結合タンパク質は、式：



の2つのポリペプチドを含み、式中、XはscFv^XまたはFab領域であり、ここで、Xは第1

50

の抗原に特異的に結合し、 $scFv^Y$ は第2の抗原に特異的に結合し、Hはヒンジ領域であり、Fcは、免疫グロブリンのCH2およびCH3領域を含み、 $scFv^X$ および $scFv^Y$ は各々、独立して単鎖可変領域フラグメントであり、Lはポリペプチドリンカーである。いくつかの態様では、2つの抗原のうち的一方が免疫調節タンパク質であり、他方がアラミンである。いくつかの態様では、XがFab領域である場合、第1の抗原が免疫調節タンパク質であり、他方がアラミンである。いくつかの態様では、XがFab領域である場合、第1の抗原がアラミンであり、他方が免疫調節タンパク質である。

【0083】

一態様において、二重特異性結合タンパク質は、式：

$X-H-Fc-L-ECD^Y$

の2つのポリペプチドを含み、式中、Xは $scFv^X$ またはFab領域であり、ここで、Xは第1の抗原に特異的に結合し、 ECD^Y はアラミン受容体の細胞外ドメインであり、Hはヒンジ領域であり、Fcは、免疫グロブリンのCH2およびCH3領域を含み、 $scFv^X$ は単鎖可変領域フラグメントであり、Lはポリペプチドリンカーである。いくつかの態様では、2つの抗原のうち的一方が免疫調節タンパク質であり、他方がアラミン受容体の細胞外ドメインである。いくつかの態様では、XがFab領域である場合、第1の抗原が免疫調節タンパク質であり、他方がアラミンである。いくつかの態様では、 ECD^Y がTSLP受容体の細胞外ドメインである。いくつかの態様では、 ECD^Y がIL-33受容体の細胞外ドメインである。

【0084】

二重特異性結合タンパク質に組み込まれるVH鎖およびVL鎖は、多くの供給源、例えば既存の抗体、新しく作り出された抗体ならびにVH鎖およびVL鎖のライブラリーに由来し得る。二重特異性結合タンパク質に組み込まれ得るVH鎖およびVL鎖の具体的な例示的な態様、ならびに免疫調節タンパク質、例えばIL17RBまたはTSLPRとの結合について競合する二重特異性結合タンパク質の具体的な例示的な態様を詳細な説明のセクションに示す。

【0085】

本開示のポリペプチドをコードしているヌクレオチド配列を含む核酸を本明細書において提供する。また、ポリペプチドの作製、宿主細胞の培養およびポリペプチドの回収の方法も以下の詳細な説明に示し、さらに論考する。

【0086】

別の局面において、本開示は、本明細書に記載の二重特異性結合タンパク質を含む組成物を提供する。該組成物は一般的に、本明細書に記載の1種または複数種の二重特異性結合タンパク質、および/またはその塩、ならびに1種または複数種の賦形剤、担体または希釈剤を含む。

【0087】

現在使用されている抗アラミン抗体療法が有するADおよび中等症から重症の喘息に対する効果は限定的である。具体的には、抗TSLP抗体であるテゼペルマブおよび抗IL-33抗体であるエトキマブはADのフェーズII臨床試験で、そのそれぞれのプライマリーエンドポイントの基準を満たすことができなかった。しかしながら、喘息の処置では、テゼペルマブおよびイテベキマブはどちらも、その限定的な治療効果（テゼペルマブはOCS使用の日用量を低減させることができず、イテベキマブはデュピルマブと比較すると劣っていた）にもかかわらず、フェーズIIおよびフェーズIIIの両方の治験において、そのプライマリーエンドポイントの基準を満たした。本明細書に記載の二重特異性タンパク質は、2つの抗原、例えばアラミン受容体とアラミンに特異的に結合し、2つの異なるアラミンによって誘発される免疫応答をブロックする。アラミン誘発性応答のかかる阻害により、アレルギー性の疾患または障害において投薬頻度の低減および長期持続性の疾患寛解が潜在的に可能になる。

【0088】

いくつかの態様では、本明細書において、Th2-high型および/またはTh2-low型の免

10

20

30

40

50

疫学的障害、例えば喘息の処置におけるOCSの日用量の低減のための医薬の調製のための、アラミンおよび/またはアラミンの受容体に特異的に結合するその二重特異性結合タンパク質の使用を提供する。上記の使用において、二重特異性結合タンパク質は(a) IL-25シグナル伝達とTSLPシグナル伝達の両方をブロックする、および/または(b) IL-25シグナル伝達とIL-33シグナル伝達の両方をブロックする。いくつかの態様では、その二重特異性結合タンパク質はヒトIL-17RBとTSLPに特異的に結合する。いくつかの態様では、その二重特異性結合タンパク質はヒトIL-17RBおよびIL-33に特異的に結合する。

【0089】

本明細書において、その必要がある対象においてアレルギー性の疾患または障害を処置する方法であって、IL-17RBとTSLPまたはIL-17RBとIL-33に特異的に結合するその二重特異性結合タンパク質の治療上有効な量を該対象に投与する工程を含み、該二重特異性結合タンパク質が、(a) IL-25シグナル伝達とTSLPシグナル伝達の両方をブロックする、および/または(b) IL-25シグナル伝達とIL-33シグナル伝達の両方をブロックする、方法もまた提供する。いくつかの態様では、その二重特異性結合タンパク質がヒトのIL-17RBとTSLPまたはヒトのIL-17RBとIL-33に特異的に結合する。いくつかの態様では、アレルギー性の疾患または障害がADおよび喘息である。いくつかの態様では、アレルギー性の疾患または障害が発症前のADおよび喘息である。

【0090】

本明細書において使用する場合、用語「処置する」およびその文法的に等価な用語は、疾患もしくは病状または疾患もしくは病状を有する対象との関連において、処置されている疾患または障害と関連している症状、症状の重症度および/または症状の頻度を抑制する、解消する、低減させる、および/または軽快させる行為を示す。例えば、ADに関して使用する場合、用語「処置する」およびその文法的に等価な用語は、疾患の重症度を低減させるか、または疾患の進行を遅滞もしくは減速させる行為、例えば限定するわけではないが(a) 疾患寛解に到達するため、もしくは疾患の再発の発生を減少させるための投薬頻度を減らすこと、または(b) 湿疹面積・重症度指数(Eczema Area and Severity Index) (EASI) によって定められたADと関連している1つもしくは複数の症状を遅延させること、軽快させること、もしくは最小限にすること、(c) OCS使用の量および頻度を低減させることを示す。

【0091】

用語「ブロックする」およびその文法的に等価な用語は、アラミンの生物学的機能をなんらかの方法で低減させる作用、例えば限定するわけではないが(a) 対応する受容体上のアラミンの結合部位に対して直接競合させること、または(b) 対応する受容体のヘテロ二量体化を抑制し、アラミン占有によって誘発される生物学的効果を低減させることを示す。

【0092】

本明細書において使用する場合、用語「投与する」およびその文法的に等価な用語は、治療用組成物または薬学的組成物を対象の身体に、本明細書に記載の方法あるいは当技術分野において公知の方法によって送達する行為、またはその送達を引き起こす行為を示す。該治療用物質は化合物、ポリペプチドまたは細胞であり得る。治療用組成物または薬学的組成物の投与は、対象の身体に送達されるべき治療用組成物または薬学的組成物を処方することを含む。例示的な投与形態としては、経口投薬形態、例えば錠剤、カプセル剤、シロップ剤、懸濁剤;注射用投薬形態、例えば静脈内(IV)、筋肉内(IM)または腹腔内(IP);皮下(SC)、経皮投薬形態、例えばクリーム剤、ゼリー剤、パウダーまたは貼付剤;口腔内投薬形態;吸入粉末剤、スプレー剤、懸濁剤および直腸用坐剤が挙げられる。

【0093】

本明細書において使用する場合、用語「有効な量」、「治療上有効な量」およびその文法的に等価な用語は、単独または薬学的組成物の一部としてのいずれか、および単回用量または一連の用量の一部としてのいずれかでの対象への剤の投与において、該対象に投与

10

20

30

40

50

したとき、疾患、障害または病状の任意の症状、様相または特徴に対して任意の検出可能なプラスの効果をもつ得る量を示す。治療上有効な量は、関連する生理学的効果測定することによって確認することができる。必要とされる厳密な量は、対象の年齢、体重および一般健康状態、処置されている病状の重症度、臨床医の判断などに応じて対象ごとに異なる。また、治療上有効な量は、治療剤の任意の毒性効果または有害効果が治療上有益な効果を上回らない量である。任意の個体の症例における適切な「有効な量」は、該個体の疾患の状態、年齢、性別および体重などの要素に応じて異なり得、当業者により常套的な実験手法を用いて決定され得る。「予防上有効な量」は、必要な投薬量および期間において、所望の予防成果、例えば疾患または障害の発症の遅延または抑制を得るために有効な量を示す。典型的には、予防用量は疾患前または疾患の初期段階の対象において使用されるため、予防上有効な量は一般的に治療上有効な量より少ない。

10

【0094】

用語「対象」は、本明細書において使用する場合、具体的な処置のレシピエントとなる任意の動物（例えば、哺乳動物）、例えば限定するわけではないが、ヒト、非ヒト霊長類、イヌ、ネコ、齧歯類などを示す。

【0095】

いくつかの態様では、本明細書に開示の二重特異性結合タンパク質が（a）ヒトPBMCからのIL5/CCL17/IL13/CCL8/IFN γ の分泌を阻害する/または（b）ILC2の遊走および増殖を阻害する。そのため、本明細書に開示の二重特異性結合タンパク質は、ILC2の活性を直接抑制することによって長期持続性の有効性を示す。さらに、本明細書に開示の方法は、Th2およびILC2の細胞遊走を低減させるという付加的治療有益性を有する。いくつかの態様では、本明細書において、OCS抵抗性の関連疾患または障害を、本明細書に開示の抗IL17RB/抗TSLPまたは抗IL17RB/抗IL33二重特異性結合タンパク質を用いて処置する方法を提供する。

20

【0096】

本明細書において提供される方法によりアレルギー性の疾患または障害を処置することができる。アレルギー性の疾患または障害は、発症後のまたは発症前のアレルギー性喘息、アレルギー性副鼻腔炎、アレルギー性結膜炎またはADであり得る。

【0097】

上記の適応症が好ましいが、他の疾患、障害または病状が、対象への本明細書に開示のような二重特異性抗原結合タンパク質の投与による処置の対象となってもよく、または該投与によって予防されてもよい。かかる疾患、障害および病状としては、限定するわけではないが、炎症、自己免疫疾患、軟骨の炎症、線維性疾患および/または骨の老化、関節炎、関節リウマチ、若年性関節炎、若年性関節リウマチ、少関節型若年性関節リウマチ、多関節型若年性関節リウマチ、全身発症型若年性関節リウマチ、若年性強直性脊椎炎、若年性腸炎性関節炎、若年性反応性関節炎、若年性Reter症候群、SEA症候群（血清反応陰性（Seronegativity）、筋腱付着部症（Enthesopathy）、関節症（Arthropathy）症候群）、若年性皮膚筋炎、若年性乾癬性関節炎、若年性強皮症、若年性全身性エリテマトーデス、若年性血管炎、少関節型関節リウマチ、多関節型関節リウマチ、全身発症型関節リウマチ、強直性脊椎炎、腸炎性関節炎、反応性関節炎、Reter症候群、SEA症候群（血清反応陰性、筋腱付着部症、関節症症候群）、皮膚筋炎、乾癬性関節炎、強皮症、全身性エリテマトーデス、血管炎、脊髄炎、多発筋炎、皮膚筋炎、変形性関節症、結節性多発性動脈炎、ヴェグナー肉芽腫症、動脈炎、リウマチ性多発筋痛症、サルコイドーシス、強皮症、硬化症、原発性胆汁性硬化症、硬化性胆管炎、シェーグレン症候群、乾癬、斑状乾癬、滴状乾癬、逆乾癬、膿疱性乾癬、乾癬性紅皮症、皮膚炎、AD、アテローム性動脈硬化、狼瘡、スティル病、全身性エリテマトーデス（SLE）、重症筋無力症、炎症性腸疾患（IBD）、クローン病、潰瘍性大腸炎、セリアック病、多発性硬化症（MS）、喘息、COPD、ギラン・バレー病、I型真性糖尿病、グレーブス病、アジソン病、レイノー現象、自己免疫性肝炎、GVHDなどが挙げられる。具体的な態様において、治療上有効な量の抗IL17RB/抗TSLP二重特異性結合タンパク質を含む薬学的組成物を提供する。別の具体的

30

40

50

な態様では、治療上有効な量の抗IL17RB/抗IL33二重特異性結合タンパク質を含む薬学的組成物を提供する。

【0098】

本明細書において提示したデータに基づくと、アレルギー性の疾患または障害を有する対象を、本明細書に記載の二重特異性結合タンパク質を用いて処置することで、治療有益性がもたらされることが期待される。

【0099】

7.2.1 例示的な抗IL17RB/抗アラミン二重特異性結合タンパク質

本発明により、アラミン受容体に対する特異性を有する免疫グロブリンG抗体 (IgG) を含む二重特異性結合タンパク質であって、該免疫グロブリンG抗体 (IgG) が免疫グロブリン鎖の各C末端において (a) 特定のアラミンに特異的な単鎖可変領域フラグメント (scFv) または (b) アラミン受容体の細胞外ドメインのいずれかと融合された、二重特異性結合タンパク質を提供する。

【0100】

いくつかの態様では、本発明により、IgGと2つのscFvを含む二重特異性抗体であって、(a) 前記IgGが2つの重鎖 (HC) と2つの軽鎖 (LC) を含み、各HCが、重鎖CDR (HCDR) 1~3を含む重鎖可変領域 (HCVR1) を含み、各軽鎖が、軽鎖CDR (LCDR) 1~3を含む軽鎖可変領域 (LCVR1) を含み、HCDR1のアミノ酸配列がSEQ ID NO:1であり、HCDR2のアミノ酸配列がSEQ ID NO:2であり、HCDR3のアミノ酸配列がSEQ ID NO:3であり、LCDR1のアミノ酸配列がSEQ ID NO:4であり、LCDR2のアミノ酸配列がSEQ ID NO:5であり、LCDR3のアミノ酸配列がSEQ ID NO:6であり; (b) 各scFvが重鎖可変領域 (HCVR2) と軽鎖可変領域 (LCVR2) を含み、HCVR2はHCDR4~6を含み、LCVR2はLCDR4~6を含み、HCDR4のアミノ酸配列がSEQ ID NO:7であり、HCDR5のアミノ酸配列がSEQ ID NO:8であり、HCDR6のアミノ酸配列がSEQ ID NO:9であり、LCDR4のアミノ酸配列がSEQ ID NO:10であり、LCDR5のアミノ酸配列がSEQ ID NO:11であり、LCDR6のアミノ酸配列がSEQ ID NO:12であり、各scFvは各scFvのHCVR2のN末端で、各IgG HCのC末端の前記IgG抗体にポリペプチドリンカー (L1) を介して連結されており、各scFvのHCVR2はHCVR2のC末端で、同じscFvのLCVR2のN末端の同じscFvのLCVR2に第2のポリペプチドリンカー (L2) を介して連結されている、二重特異性抗体を提供する。いくつかの態様では、そのHCDRバリエーションが、最大で約3個、約5個、約8個、約10個、約12個または約15個のアミノ酸の置換、付加および/または欠失をSEQ ID NO:1~3において有する。いくつかの態様では、そのLCDRバリエーションが、最大で約3個、約5個、約8個、約10個、約12個または約15個のアミノ酸の置換、付加および/または欠失をSEQ ID NO:4~6において有する。

【0101】

いくつかの態様では、本発明により、IgGと2つのscFvを含む二重特異性抗体であって、(a) 前記IgGが2つの重鎖 (HC) と2つの軽鎖 (LC) を含み、各HCが、重鎖CDR (HCDR) 1~3を含む重鎖可変領域 (HCVR1) を含み、各軽鎖が、軽鎖CDR (LCDR) 1~3を含む軽鎖可変領域 (LCVR1) を含み、HCDR1のアミノ酸配列がSEQ ID NO:1であり、HCDR2のアミノ酸配列がSEQ ID NO:2であり、HCDR3のアミノ酸配列がSEQ ID NO:3であり、LCDR1のアミノ酸配列がSEQ ID NO:4であり、LCDR2のアミノ酸配列がSEQ ID NO:5であり、LCDR3のアミノ酸配列がSEQ ID NO:6であり; (b) 各scFvが重鎖可変領域 (HCVR2) と軽鎖可変領域 (LCVR2) を含み、HCVR2はHCDR4~6を含み、LCVR2はLCDR4~6を含み、HCDR4のアミノ酸配列がSEQ ID NO:36であり、HCDR5のアミノ酸配列がSEQ ID NO:37であり、HCDR6のアミノ酸配列がSEQ ID NO:38であり、LCDR4のアミノ酸配列がSEQ ID NO:39であり、LCDR5のアミノ酸配列がSEQ ID NO:40であり、LCDR6のアミノ酸配列がSEQ ID NO:41であり、各scFvは各scFvのHCVR2のN末端で、各IgG HCのC末端の前記IgG抗体にポリペプチドリンカー (L1) を介して連結されており、各scFvのHCVR2はHCVR2のC末端で、同じscFvのLCVR2のN末端の同じscFvのLCVR2に第2のポリペプチドリンカー (L2) を介して

連結されている、二重特異性抗体を提供する。いくつかの態様では、そのHCDRバリエーションが、最大で約3個、約5個、約8個、約10個、約12個または約15個のアミノ酸の置換、付加および/または欠失をSEQ ID NO:1~3において有する。いくつかの態様では、そのLCDRバリエーションが、最大で約3個、約5個、約8個、約10個、約12個または約15個のアミノ酸の置換、付加および/または欠失をSEQ ID NO:4~6において有する。

【0102】

いくつかの態様では、本発明により、IgGと2つのscFvを含む二重特異性抗体であって、(a) 前記IgGが2つの重鎖(HC)と2つの軽鎖(LC)を含み、各HCが、重鎖CDR(HCDR) 1~3を含む重鎖可変領域(HCVR1)を含み、各軽鎖が、軽鎖CDR(LCDR) 1~3を含む軽鎖可変領域(LCVR1)を含み、HCDR1のアミノ酸配列がSEQ ID NO:1であり、HCDR2のアミノ酸配列がSEQ ID NO:2であり、HCDR3のアミノ酸配列がSEQ ID NO:3であり、LCDR1のアミノ酸配列がSEQ ID NO:4であり、LCDR2のアミノ酸配列がSEQ ID NO:5であり、LCDR3のアミノ酸配列がSEQ ID NO:6であり; (b) 各scFvが重鎖可変領域(HCVR2)と軽鎖可変領域(LCVR2)を含み、HCVR2はHCDR4~6を含み、LCVR2はLCDR4~6を含み、HCDR4のアミノ酸配列がSEQ ID NO:42であり、HCDR5のアミノ酸配列がSEQ ID NO:43であり、HCDR6のアミノ酸配列がSEQ ID NO:44であり、LCDR4のアミノ酸配列がSEQ ID NO:45であり、LCDR5のアミノ酸配列がSEQ ID NO:46であり、LCDR6のアミノ酸配列がSEQ ID NO:47であり、各scFvは各scFvのHCVR2のN末端で、各IgG HCのC末端の前記IgG抗体にポリペプチドリンカー(L1)を介して連結されており、各scFvのHCVR2はHCVR2のC末端で、同じscFvのLCVR2のN末端の同じscFvのLCVR2に第2のポリペプチドリンカー(L2)を介して連結されている、二重特異性抗体を提供する。いくつかの態様では、そのHCDRバリエーションが、最大で約3個、約5個、約8個、約10個、約12個または約15個のアミノ酸の置換、付加および/または欠失をSEQ ID NO:1~3において有する。いくつかの態様では、そのLCDRバリエーションが、最大で約3個、約5個、約8個、約10個、約12個または約15個のアミノ酸の置換、付加および/または欠失をSEQ ID NO:4~6において有する。

【0103】

いくつかの態様では、本発明により、IgGと2つのscFvを含む二重特異性抗体であって、(a) 前記IgGが2つの重鎖(HC)と2つの軽鎖(LC)を含み、各HCが、重鎖CDR(HCDR) 1~3を含む重鎖可変領域(HCVR1)を含み、各軽鎖が、軽鎖CDR(LCDR) 1~3を含む軽鎖可変領域(LCVR1)を含み、HCDR1のアミノ酸配列がSEQ ID NO:1であり、HCDR2のアミノ酸配列がSEQ ID NO:2であり、HCDR3のアミノ酸配列がSEQ ID NO:3であり、LCDR1のアミノ酸配列がSEQ ID NO:4であり、LCDR2のアミノ酸配列がSEQ ID NO:5であり、LCDR3のアミノ酸配列がSEQ ID NO:6であり; (b) 各scFvが重鎖可変領域(HCVR2)と軽鎖可変領域(LCVR2)を含み、HCVR2はHCDR4~6を含み、LCVR2はLCDR4~6を含み、HCDR4のアミノ酸配列がSEQ ID NO:13であり、HCDR5のアミノ酸配列がSEQ ID NO:14であり、HCDR6のアミノ酸配列がSEQ ID NO:15であり、LCDR4のアミノ酸配列がSEQ ID NO:16であり、LCDR5のアミノ酸配列がSEQ ID NO:17であり、LCDR6のアミノ酸配列がSEQ ID NO:18であり、各scFvは各scFvのHCVR2のN末端で、各IgG HCのC末端の前記IgG抗体にポリペプチドリンカー(L1)を介して連結されており、各scFvのHCVR2はHCVR2のC末端で、同じscFvのLCVR2のN末端の同じscFvのLCVR2に第2のポリペプチドリンカー(L2)を介して連結されている、二重特異性抗体を提供する。いくつかの態様では、そのHCDRバリエーションが、最大で約3個、約5個、約8個、約10個、約12個または約15個のアミノ酸の置換、付加および/または欠失をSEQ ID NO:1~3において有する。いくつかの態様では、そのLCDRバリエーションが、最大で約3個、約5個、約8個、約10個、約12個または約15個のアミノ酸の置換、付加および/または欠失をSEQ ID NO:4~6において有する。

【0104】

いくつかの態様では、本発明により、IgGと2つのscFvを含む二重特異性抗体であって、(a) 前記IgGが2つの重鎖(HC)と2つの軽鎖(LC)を含み、各HCが、重鎖CDR(

HCDR) 1~3を含む重鎖可変領域 (HCVR1) を含み、各軽鎖が、軽鎖CDR (LCDR) 1~3を含む軽鎖可変領域 (LCVR1) を含み、HCDR1のアミノ酸配列がSEQ ID NO:1であり、HCDR2のアミノ酸配列がSEQ ID NO:2であり、HCDR3のアミノ酸配列がSEQ ID NO:3であり、LCDR1のアミノ酸配列がSEQ ID NO:4であり、LCDR2のアミノ酸配列がSEQ ID NO:5であり、LCDR3のアミノ酸配列がSEQ ID NO:6であり; (b) 各scFvが重鎖可変領域 (HCVR2) と軽鎖可変領域 (LCVR2) を含み、HCVR2はHCDR4~6を含み、LCVR2はLCDR4~6を含み、HCDR4のアミノ酸配列がSEQ ID NO:48であり、HCDR5のアミノ酸配列がSEQ ID NO:49であり、HCDR6のアミノ酸配列がSEQ ID NO:50であり、LCDR4のアミノ酸配列がSEQ ID NO:51であり、LCDR5のアミノ酸配列がSEQ ID NO:52であり、LCDR6のアミノ酸配列がSEQ ID NO:53であり、各scFvは各scFvのHCVR2のN末端で、各IgG HCのC末端の前記IgG抗体にポリペプチドリンカー (L1) を介して連結されており、各scFvのHCVR2はHCVR2のC末端で、同じscFvのLCVR2のN末端の同じscFvのLCVR2に第2のポリペプチドリンカー (L2) を介して連結されている、二重特異性抗体を提供する。いくつかの態様では、そのHCDRバリエーションが、最大で約3個、約5個、約8個、約10個、約12個または約15個のアミノ酸の置換、付加および/または欠失をSEQ ID NO:1~3において有する。いくつかの態様では、そのLCDRバリエーションが、最大で約3個、約5個、約8個、約10個、約12個または約15個のアミノ酸の置換、付加および/または欠失をSEQ ID NO:4~6において有する。

10

【0105】

いくつかの態様では、本発明により、IgGと2つのscFvを含む二重特異性抗体であって、(a) 前記IgGが2つの重鎖 (HC) と2つの軽鎖 (LC) を含み、各HCが、重鎖CDR (HCDR) 1~3を含む重鎖可変領域 (HCVR1) を含み、各軽鎖が、軽鎖CDR (LCDR) 1~3を含む軽鎖可変領域 (LCVR1) を含み、HCDR1のアミノ酸配列がSEQ ID NO:1であり、HCDR2のアミノ酸配列がSEQ ID NO:2であり、HCDR3のアミノ酸配列がSEQ ID NO:3であり、LCDR1のアミノ酸配列がSEQ ID NO:4であり、LCDR2のアミノ酸配列がSEQ ID NO:5であり、LCDR3のアミノ酸配列がSEQ ID NO:6であり; (b) 各scFvが重鎖可変領域 (HCVR2) と軽鎖可変領域 (LCVR2) を含み、HCVR2はHCDR4~6を含み、LCVR2はLCDR4~6を含み、HCDR4のアミノ酸配列がSEQ ID NO:54であり、HCDR5のアミノ酸配列がSEQ ID NO:55であり、HCDR6のアミノ酸配列がSEQ ID NO:56であり、LCDR4のアミノ酸配列がSEQ ID NO:57であり、LCDR5のアミノ酸配列がSEQ ID NO:58であり、LCDR6のアミノ酸配列がSEQ ID NO:59であり、各scFvは各scFvのHCVR2のN末端で、各IgG HCのC末端の前記IgG抗体にポリペプチドリンカー (L1) を介して連結されており、各scFvのHCVR2はHCVR2のC末端で、同じscFvのLCVR2のN末端の同じscFvのLCVR2に第2のポリペプチドリンカー (L2) を介して連結されている、二重特異性抗体を提供する。いくつかの態様では、そのHCDRバリエーションが、最大で約3個、約5個、約8個、約10個、約12個または約15個のアミノ酸の置換、付加および/または欠失をSEQ ID NO:1~3において有する。いくつかの態様では、そのLCDRバリエーションが、最大で約3個、約5個、約8個、約10個、約12個または約15個のアミノ酸の置換、付加および/または欠失をSEQ ID NO:4~6において有する。

20

30

【0106】

いくつかの態様では、本発明により、IgGとアラミン受容体の細胞外ドメインを含む二重特異性抗体であって、(a) 前記IgGが2つの重鎖 (HC) と2つの軽鎖 (LC) を含み、各HCが、重鎖CDR (HCDR) 1~3を含む重鎖可変領域 (HCVR1) を含み、各軽鎖が、軽鎖CDR (LCDR) 1~3を含む軽鎖可変領域 (LCVR1) を含み、HCDR1のアミノ酸配列がSEQ ID NO:1であり、HCDR2のアミノ酸配列がSEQ ID NO:2であり、HCDR3のアミノ酸配列がSEQ ID NO:3であり、LCDR1のアミノ酸配列がSEQ ID NO:4であり、LCDR2のアミノ酸配列がSEQ ID NO:5であり、LCDR3のアミノ酸配列がSEQ ID NO:6であり; (b) 前記アラミン受容体の細胞外ドメインは、そのアミノ酸配列がSEQ ID NO:19またはSEQ ID NO:34であり、該アラミン細胞外ドメインの各々は、各ドメインのアミノ酸配列のC末端で各IgG HCのC末端の前記IgG抗体にポリペプチドリンカー

40

50

(L1)を介して連結されている、二重特異性抗体を提供する。いくつかの態様では、そのHCDRバリエーションが、最大で約3個、約5個、約8個、約10個、約12個または約15個のアミノ酸の置換、付加および/または欠失をSEQ ID NO:1～3において有する。

【0107】

いくつかの態様では、本発明により、IgGとアラミン受容体の細胞外ドメインを含む二重特異性抗体であって、(a)前記IgGが2つの重鎖(HC)と2つの軽鎖(LC)を含み、各HCが、重鎖CDR(HCDR)1～3を含む重鎖可変領域(HCVR1)を含み、各軽鎖が、軽鎖CDR(LCDR)1～3を含む軽鎖可変領域(LCVR1)を含み、HCDR1のアミノ酸配列がSEQ ID NO:1であり、HCDR2のアミノ酸配列がSEQ ID NO:2であり、HCDR3のアミノ酸配列がSEQ ID NO:3であり、LCDR1のアミノ酸配列がSEQ ID NO:4であり、LCDR2のアミノ酸配列がSEQ ID NO:5であり、LCDR3のアミノ酸配列がSEQ ID NO:6であり；(b)前記アラミン受容体の細胞外ドメインは、そのアミノ酸配列がSEQ ID NO:20またはSEQ ID NO:35であり、該アラミン細胞外ドメインの各々は、各ドメインのアミノ酸配列のC末端で各IgG HCのC末端の前記IgG抗体にポリペプチドリンカー(L1)を介して連結されている、二重特異性抗体を提供する。いくつかの態様では、そのHCDRバリエーションが、最大で約3個、約5個、約8個、約10個、約12個または約15個のアミノ酸の置換、付加および/または欠失をSEQ ID NO:1～3において有する。

10

【0108】

いくつかの態様では、本開示の二重特異性結合タンパク質がポリペプチドリンカー(L1および/またはL2)を含み、該リンカーが、以下の表の配列のうちの1つから選択される配列に相当する配列を有する。

20

配列(N→C)	識別表示
VDGASSPVNVSSPSVQDI	SEQ ID NO: 21
VDGASSPVNVGSPSVQDI	SEQ ID NO: 22
GASSPVNVSSPSV	SEQ ID NO: 23
GGGSGGGNGTGSGGGGS	SEQ ID NO: 24
LSAGGHGGLDNDTSAFHL	SEQ ID NO: 25
SDKTHTSPSPAPESSGG	SEQ ID NO: 26
VTTTDFQIQTEMAATMET	SEQ ID NO: 27
DFLPTTAQPTKKSTLKKR	SEQ ID NO: 28
TESRSPPAENEVSTPMQA	SEQ ID NO: 29
GGGSGGGNGSGSGGGGS	SEQ ID NO: 30
GGGSGGGSGGGSGGGGS	SEQ ID NO: 31

30

【0109】

本発明の二重特異性結合タンパク質のさらなる一態様において、各HCのアミノ酸配列はSEQ ID NO:32であり、各LCのアミノ酸配列はSEQ ID NO:33である。本発明の二重特異性結合タンパク質のなおさらなる一態様において、ポリペプチドリンカーL1はSEQ ID NO:30の配列を有する。

40

【0110】

本発明の二重特異性結合タンパク質のいくつかの態様において、各LCのアミノ酸配列はSEQ ID NO:33である。さらなる一態様において、各HCのアミノ酸配列はSEQ ID NO:60～75から選択されるいずれか1つであり得る。

【0111】

いくつかの態様では、本明細書に開示の方法に使用され得る抗IL17RB IgG含有型二重特異性結合タンパク質はIgA、IgD、IgE、IgGまたはIgM抗体である。いくつかの態様では、該抗体はIgA抗体である。いくつかの態様では、該抗体はIgD抗体である。いくつかの態様では、該抗体はIgE抗体である。いくつかの態様では、該抗体はIgG抗体である。いくつかの態様では、該抗体はIgM抗体である。いくつかの態様では、本明細書に

50

において提供される抗体はIgG1抗体、IgG2抗体、IgG3抗体またはIgG4抗体であり得る。いくつかの態様では、該抗体はIgG1抗体である。いくつかの態様では、該抗体はIgG2抗体である。いくつかの態様では、該抗体はIgG3抗体である。いくつかの態様では、該抗体はIgG4抗体である。一部の特定の態様では、該抗体は、重鎖定常領域、例えばIgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgMまたはIgDの定常領域あるいはグリコシル化部位、および/またはグリコシル化部位に修飾された糖型を有する上記のいずれかの定常領域を含む。

【0112】

いくつかの態様では、本明細書に開示の方法に使用される二重特異性結合タンパク質の抗IL17RB結合部分は、IgA、IgD、IgE、IgGまたはIgM抗体の定常領域と融合されたシングルドメイン抗体(sdAb)、重鎖抗体(HCAb)、Fv、単鎖可変領域フラグメント(scFv)または(scFv)2の形態である。いくつかの態様では、該抗体はIgA抗体である。いくつかの態様では、該抗体はIgD抗体である。いくつかの態様では、該抗体はIgE抗体である。いくつかの態様では、該抗体はIgG抗体である。いくつかの態様では、該抗体はIgM抗体である。いくつかの態様では、本明細書において提供される抗体はIgG1抗体、IgG2抗体、IgG3抗体またはIgG4抗体であり得る。いくつかの態様では、該抗体はIgG1抗体である。いくつかの態様では、該抗体はIgG2抗体である。いくつかの態様では、該抗体はIgG3抗体である。いくつかの態様では、該抗体はIgG4抗体である。一部の特定の態様では、該抗体は、重鎖定常領域、例えばIgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgMまたはIgDの定常領域あるいはグリコシル化部位、および/またはグリコシル化部位に修飾された糖型を有する上記のいずれかの定常領域を含む。

【0113】

いくつかの態様において、本明細書に開示の方法に使用されるのは抗アラーミン抗体の抗原結合断片である。いくつかの態様では、本明細書において提供される抗原結合断片はシングルドメイン抗体(sdAb)、重鎖抗体(HCAb)、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、単鎖可変領域フラグメント(scFv)または(scFv)2であり得る。いくつかの態様では、抗アラーミン抗体の抗原結合断片はシングルドメイン抗体(sdAb)である。いくつかの態様では、抗アラーミン抗体の抗原結合断片は重鎖抗体(HCAb)である。いくつかの態様では、抗アラーミン抗体の抗原結合断片はFabである。いくつかの態様では、抗アラーミン抗体の抗原結合断片はFab'である。いくつかの態様では、抗アラーミン抗体の抗原結合断片はF(ab')₂である。いくつかの態様では、抗アラーミン抗体の抗原結合断片はFvである。いくつかの態様では、抗アラーミン抗体の抗原結合断片はscFvである。いくつかの態様では、抗アラーミン抗体の抗原結合断片はジスルフィド結合型scFv[(scFv)₂]である。いくつかの態様では、抗アラーミン抗体の抗原結合断片はダイアボディ(dAb)である。さらなる一態様において、抗アラーミン抗原結合断片は、アラーミン、例えばIL-25、IL-33およびTSLPの活性を中和する。

【0114】

用語「活性」は、例えば、標的タンパク質に特異性を伴って結合できる能力、あるタンパク質に対する抗体または結合タンパク質の親和性、標的タンパク質の生物学的活性を中和できる能力、標的タンパク質とその天然受容体または天然リガンドとの相互作用を阻害できる能力などの特性を含む。

【0115】

いくつかの態様において、本明細書に開示の方法に使用されるのは組換え抗IL17RB/抗TSLP二重特異性抗体である。いくつかの態様において、本明細書に開示の方法に使用されるのは組換え抗IL17RB/抗IL33二重特異性抗体である。いくつかの態様において、本明細書に開示の方法に使用されるのは組換え抗IL17RB/TSLP受容体二重特異性結合タンパク質である。いくつかの態様において、本明細書に開示の方法に使用されるのは組換え抗IL17RB/IL33受容体二重特異性結合タンパク質である。

【0116】

いくつかの態様では、本明細書において提供されるIgG含有型二重特異性結合タンパク

質はキメラ抗体である。いくつかの態様では、本明細書において提供されるIgG含有型二重特異性結合タンパク質はヒト化抗体である。いくつかの態様では、本明細書において提供されるIgG含有型二重特異性結合タンパク質はヒト抗体である。いくつかの態様では、本明細書において提供されるscFv含有型二重特異性結合タンパク質はキメラscFvである。いくつかの態様では、本明細書において提供されるscFv含有型二重特異性結合タンパク質はヒト化scFvである。いくつかの態様では、本明細書において提供されるscFv含有型二重特異性結合タンパク質はヒトscFvである。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法に使用される二重特異性結合タンパク質は単離されている。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法に使用される二重特異性結合タンパク質は実質的に純粋である。

10

【0117】

ヒト化型の抗体およびscFvを作成するための種々の方法が当技術分野において公知である。ヒト化抗体を用いて高親和性結合を得るための方法が当技術分野において公知である。かかる方法の非限定的な一例は可変領域の超変異およびかかる高親和性抗体を発現している細胞の選択（親和性成熟）である。ディスプレイライブラリーの使用に加え、指定の抗原（例えば、組換えIL17RBまたはそのエピトープ）を用いて非ヒト動物、例えば齧歯類を免疫処置することができる。一部の特定の態様では、齧歯類抗原結合断片（例えば、マウス抗原結合断片）が、当技術分野において公知の方法および/または本明細書に開示の方法を用いて作成され、単離され得る。いくつかの態様では、マウスが、抗原（例えば、組換えIL17RBまたはそのエピトープ）を用いて免疫処置され得る。

20

【0118】

ヒト型の抗体およびscFvは、当技術分野において公知の種々の手法を用いて調製され得る。いくつかの態様では、ヒト抗体は、インビトロで免疫処置された不死化ヒトBリンパ球から作成される。いくつかの態様では、ヒト抗体は、免疫処置された個体から単離されたリンパ球から作成される。どのような場合も、標的抗原に対する抗体を産生する細胞が作成され得、単離され得る。いくつかの態様では、ヒト抗体は、ヒト抗体を発現するファージライブラリーから選択される。あるいはまた、ファージディスプレイ技術が、ヒト型の抗体および抗体断片をインビトロで非免疫処置ドナー由来の免疫グロブリン可変領域遺伝子レパートリーから作製するために使用され得る。抗体ファージライブラリーの作成および使用のための技術は当技術分野において周知である。抗体が同定されたら、当技術分野において公知の親和性成熟ストラテジー、例えば限定するわけではないが、鎖シャフリングおよび部位特異的変異導入を用いてより高い親和性のヒト抗体が作成され得る。いくつかの態様では、ヒト抗体を、ヒト免疫グロブリン遺伝子座を含むトランスジェニックマウスにおいて産生させる。免疫処置したら、このようなマウスは、内因性免疫グロブリンの産生なしで十分なヒト抗体レパートリーを産生させることができる。

30

【0119】

いくつかの態様では、本明細書において提供される方法に使用されるIgG含有型二重特異性結合タンパク質は一価の抗原結合部位を含む。いくつかの態様では、該IgG含有型二重特異性結合タンパク質は単一特異性の結合部位を含む。いくつかの態様では、該IgG含有型二重特異性結合タンパク質は二価の結合部位を含む。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法に使用されるscFv含有型二重特異性結合タンパク質は一価の抗原結合部位を含む。いくつかの態様では、該scFv含有型二重特異性結合タンパク質は単一特異性の結合部位を含む。いくつかの態様では、該scFv含有型二重特異性結合タンパク質は二価の結合部位を含む。

40

【0120】

いくつかの態様において、本明細書において提供される方法に使用されるIgG含有型二重特異性結合タンパク質はSM17である。用語「SM17」は、ヒトIL17RB（hIL17RB）に対するヒト化抗体を示す。SM17の配列特徴を以下の表に示す。SM17の構造的特徴および機能的特徴のさらなる説明は、参照によりその全体が本明細書に組み入れられるWO2020115319A1において知得され得る。SM17のHC配列はSEQ ID NO:32である。

50

SM17のLC配列はSEQ ID NO:32である。SM17 HCDR1のアミノ酸配列はSEQ ID NO:1であり、SM17 HCDR2のアミノ酸配列はSEQ ID NO:2であり、SM17 HCDR3のアミノ酸配列はSEQ ID NO:3であり、SM17 LCDR1のアミノ酸配列はSEQ ID NO:4であり、SM17 LCDR2のアミノ酸配列はSEQ ID NO:5であり、SM17 LCDR3のアミノ酸配列はSEQ ID NO:6である。

【0121】

いくつかの態様では、本明細書において提供される方法に使用され得るIgG含有型二重特異性結合タンパク質はSM17の1、2、3、4、5および/または6個のCDRを含む。いくつかの態様では、該IgG含有型二重特異性結合タンパク質は、SM17の1、2および/または3個のVL CDRを含むVLを含む。いくつかの態様では、本明細書において提供されるIgG含有型二重特異性結合タンパク質は、SM17の1、2および/または3個のVH CDRを含むVHを含む。いくつかの態様では、本明細書において提供されるIgG含有型二重特異性結合タンパク質は、SM17の1、2および/または3個のVL CDRと1、2および/または3個のVH CDRを含む。

【0122】

VH CDR3ドメインとVL CDR3ドメインが抗体の抗原に対する結合特異性/親和性に重要な役割を果たすことは当技術分野において周知である。したがって、いくつかの態様では、本明細書に開示の方法に使用され得るそのIgG含有型二重特異性結合タンパク質がヒトIL17RBとの適切な結合/解離速度論を有し得、SM17のものと構造的に同一または関連しているVH CDR3とVL CDR3を有し得る。アミノ酸配列SEQ ID NO:6を含むSM17 VL CDR3のコンセンサスモチーフは、結合特異性が変わることなく抗体親和性が調整されるように1個または複数のアミノ酸を置換することによって修飾され得るか、あるいはまた、参照により本明細書に組み入れられる中国特許第ZL200880024788.2号に記載のような基準を用いてSM17 VL CDR3と十分な類似性を示す無関連のヒト抗体のVL CDR3で置き換えられ得る。同様に、アミノ酸配列SEQ ID NO:3を含むSM17 VH CDR3のコンセンサスモチーフは、結合特異性が変わることなく抗体親和性が調整されるように1個または複数のアミノ酸を置換することによって修飾され得るか、あるいはまた、参照により本明細書に組み入れられる中国特許第ZL200880024788.2号に記載のような基準を用いてSM17 VH CDR3と十分な類似性を示す無関連のヒト抗体のVH CDR3で置き換えられ得る。

【0123】

当業者であれば、CDR3ドメイン内のアミノ酸の特定の置換、特に保存的アミノ酸での置換は、抗体のエピトープ特異性を変化させないことが認識され得よう。そのため、いくつかの態様では、本明細書において提供される抗体または抗原結合断片（例えば、SM17または）のCDR3が、

(1) 残基の数が同一であり、SM17 CDR3と50%以上の配列相同性を示す、

(2) SM17 CDR3の対応する位置の残基と同一であるかもしくはは保存的に同類である少なくとも1個、好ましくはより多くの芳香族残基を含む、

(3) SM17 CDR3の対応する位置の残基と同一であるかもしくはは保存的に同類である少なくとも1個、好ましくはより多くの荷電性残基を含む、および/または

(4) SM17 CDR3の対応する位置の残基と同一であるかもしくはは保存的に同類である少なくとも1個、好ましくはより多くのアミノ酸残基を含む、ヒトまたは霊長類の抗体に由来するCDR3で、結晶構造および/またはコンピュータデータベース解析により決定される抗IL17RB抗体の結合部位の構造/接触の維持に重要であることが公知である位置において、置き換えられ得る。いくつかの態様では、1個以下～5個の保存的アミノ酸置換がSM17 VLおよび/またはVH CDR3ドメインで行われるか、あるいは1個以下～5個の保存的に同類の残基を含む無関連の霊長類またはヒトの抗体に由来するVLおよび/またはVH CDR3がSM17のVLおよび/またはVH CDR3の置き換えに使用される。いくつかの態様では、1個以下～3個の保存的アミノ酸置換がSM17 VLおよび/またはVH CDR3ドメイン内で行われるか、あるいは1個以下～3個の保存的に同類の残基を含む無関連の

霊長類またはヒトの抗体に由来するVLおよび/またはVH CDR3がSM17のVLおよび/またはVH CDR3の置き換えに使用される。

【0124】

いくつかの態様では、本明細書において提供される方法に使用されるIgG含有型二重特異性結合タンパク質が、SEQ ID NO:33のアミノ酸配列に対して少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%の配列同一性を有するVLを含むIL17RBに特異的に結合する。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法に使用されるIgG含有型二重特異性結合タンパク質が、SEQ ID NO:32のアミノ酸配列に対して少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%の配列同一性を有するVHを含むIL17RBに特異的に結合する。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法に使用されるIgG含有型二重特異性結合タンパク質が、(a) SEQ ID NO:33のアミノ酸配列に対して少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%の配列同一性を有するVL; および (b) SEQ ID NO:32のアミノ酸配列に対して少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%の配列同一性を有するVHを含むIL17RBに、特異的に結合する。

10

20

【0125】

いくつかの態様では、本明細書において提供される方法に使用されるIgG含有型二重特異性結合タンパク質が、VLを含むIL17RBに特異的に結合し、該VLはSEQ ID NO:33に対して少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%の配列同一性を有する。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法に使用されるIgG含有型二重特異性結合タンパク質が、SEQ ID NO:33に対して少なくとも85%の配列同一性を有するVLを有する。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法に使用されるIgG含有型二重特異性結合タンパク質が、SEQ ID NO:33に対して少なくとも90%の配列同一性を有するVLを有する。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法に使用されるIgG含有型二重特異性結合タンパク質が、SEQ ID NO:33に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVLを有する。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法に使用されるIgG含有型二重特異性結合タンパク質が、SEQ ID NO:33に対して少なくとも98%の配列同一性を有するVLを有する。いくつかの態様では、SEQ ID NO:33のアミノ酸配列を有するVLを含むIL17RBに特異的に結合する本明細書において提供される方法に使用されるIgG含有型二重特異性結合タンパク質。

30

40

【0126】

いくつかの態様では、本明細書において提供される方法に使用されるIgG含有型二重特異性結合タンパク質が、VHを含むIL17RBに特異的に結合し、該VHはSEQ ID NO:32に対して少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%の配列同一性を有する。いくつかの態様では

50

、本明細書において提供される方法に使用されるIgG含有型二重特異性結合タンパク質が、SEQ ID NO:32に対して少なくとも85%の配列同一性を有するVHを有する。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法に使用されるIgG含有型二重特異性結合タンパク質が、SEQ ID NO:32に対して少なくとも90%の配列同一性を有するVHを有する。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法に使用されるIgG含有型二重特異性結合タンパク質が、SEQ ID NO:32に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVHを有する。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法に使用されるIgG含有型二重特異性結合タンパク質が、SEQ ID NO:32に対して少なくとも98%の配列同一性を有するVHを有する。いくつかの態様では、SEQ ID NO:32のアミノ酸配列を有するVHを含むIL17RBに特異的に結合する本明細書において提供される方法に使用されるIgG含有型二重特異性結合タンパク質。

10

【0127】

いくつかの態様では、VLとVHを含むIL17RBに特異的に結合するそのIgG含有型二重特異性結合タンパク質、該VLとVHは、それぞれSEQ ID NO:32と33のアミノ酸配列を有する。IL17RBに特異的に結合するそのIgG含有型二重特異性結合タンパク質は、本明細書に開示の任意のVLと本明細書に開示の任意のVHの組合せを含むものであり得る。

【0128】

いくつかの態様では、(a) SEQ ID NO:33のアミノ酸配列を有するVLに由来するVL CDR1、2および3を含むVL;および/または(b) SEQ ID NO:32のアミノ酸配列を有するVHに由来するVH CDR1、2および3を含むVHを含むIL17RBに特異的に結合するそのIgG含有型二重特異性結合タンパク質。

20

【0129】

いくつかの態様では、VLを含むIL17RBに特異的に結合するそのIgG含有型二重特異性結合タンパク質、該VLは、SEQ ID NO:33のアミノ酸配列を有するVLに由来するVL CDR1、2および3を含む。

【0130】

いくつかの態様では、VHを含むIL17RBに特異的に結合するそのIgG含有型二重特異性結合タンパク質、該VHは、SEQ ID NO:32のアミノ酸配列を有するVHに由来するVH CDR1、2および3を含む。

【0131】

いくつかの態様では、VLとVHを含むIL17RBに特異的に結合するそのIgG含有型二重特異性結合タンパク質、該VLは、SEQ ID NO:33のアミノ酸配列を有するVLに由来するVLのCDR1、CDR2およびCDR3を含み、該VHは、SEQ ID NO:32のアミノ酸配列を有するVHに由来するVHのCDR1、CDR2およびCDR3を含む。

30

【0132】

いくつかの態様では、本明細書において提供されるそのIgG含有型二重特異性結合タンパク質がSM17のバリエーションである。SM17バリエーションは、SEQ ID NO:33において最大約5個のアミノ酸の置換、付加および/または欠失を有するSM17のVLのバリエーションであるVLを有し得る。SM17バリエーションは、SEQ ID NO:32において最大約5個のアミノ酸の置換、付加および/または欠失を有するSM17のVHのバリエーションであるVHを有し得る。アミノ酸の置換、付加および/または欠失はVHのCDRまたはVLのCDRに存在し得る。いくつかの態様では、アミノ酸の置換、付加および/または欠失がCDRに存在するものでない。いくつかの態様では、SM17のバリエーションが最大約5個の保守的アミノ酸置換を有する。いくつかの態様では、SM17のバリエーションが最大3個の保守的アミノ酸置換を有する。

40

【0133】

いくつかの態様では、本明細書に開示の方法に使用され得るIgG含有型二重特異性結合タンパク質は、少なくとも1つのフレームワーク(FR)領域を有するVHまたはVLを含む。いくつかの態様では、VLのFR1(FR one)領域がV_K IDヒト生殖細胞系列ファミリー由来であり得、VLのFR2(FR two)領域がV_K 1ヒト生殖細胞系列ファミリー由来であ

50

り得、VLのFR3 (FR three) 領域がV_K1ヒト生殖細胞系列ファミリー由来であり得、VLのFR4 (FR four) 領域がV_KJ1ヒト生殖細胞系列ファミリー由来であり得る。いくつかの態様では、VLのFR1、FR2、FR3およびFR4が、それぞれSEQ ID NO:36、37、38および39のアミノ酸配列 (参照により本明細書に組み入れられるWO2020115319A1に示されたフレームワーク配列) を有し得る。いくつかの態様では、VHのフレームワーク1 (FR1) 領域がV_H3ヒト生殖細胞系列ファミリー由来であり得;VHのフレームワーク2 (FR2) 領域がV_H3ヒト生殖細胞系列ファミリー由来であり得;VHのフレームワーク3 (FR3) 領域がV_H3ヒト生殖細胞系列ファミリー由来であり得;VHのフレームワーク4 (FR4) 領域がV_HJ5ヒト生殖細胞系列ファミリー由来であり得る。いくつかの態様では、VHのFR1、FR2、FR3およびFR4が、それぞれSEQ ID NO:40、41、42および43 (WO2020115319A1に示されたフレームワーク配列) のアミノ酸配列を有し得る。

10

【0134】

本開示では、本明細書に記載の組換え抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体およびヒト抗体またはその抗体断片と実質的に相同であるさらなるバリエーションおよび均等物がさらに想定される。いくつかの態様では、抗体の結合親和性を改善することが望ましい。いくつかの態様では、抗体の生物学的特性、例えば限定するわけではないが、特異性、耐熱性、発現レベル、エフェクター機能、グリコシル化、免疫原性および/または可溶性を調節することが望ましい。当業者には、グリコシル化部位の数もしくは位置の変化または膜アンカリングの特徴の変更などのアミノ酸変化によって、抗体の翻訳後プロセスが変わる場合があり得ることが認識されよう。

20

【0135】

バリエーションとは、天然状態の抗体またはポリペプチド配列と比べたときアミノ酸配列の変化をもたらす抗体またはポリペプチドをコードしている1個または複数のヌクレオチドの置換、欠失または挿入であり得る。いくつかの態様では、アミノ酸置換は、あるアミノ酸の、類似の構造的および/または化学的特性を有する別のアミノ酸での置き換え、例えばロイシンのセリンでの置き換え、例えば、アミノ酸の保存的置き換の結果である。挿入または欠失は約1~5個のアミノ酸の範囲であり得る。いくつかの態様では、置換、欠失または挿入としては、親分子と比べて25個未満のアミノ酸置換、20個未満のアミノ酸置換、15個未満のアミノ酸置換、10個未満のアミノ酸置換、5個未満のアミノ酸置換、4個未満のアミノ酸置換、3個未満のアミノ酸置換または2個未満のアミノ酸置換が挙げられる。いくつかの態様では、生物学的に有用な、および/または関連性のあるアミノ酸配列のバリエーションは、配列において体系的に挿入、欠失または置換を行ない、得られたバリエーションタンパク質を活性について親タンパク質と比べて試験することによって、決定され得る。

30

【0136】

抗体の定常領域がいくつかのエフェクター機能を媒介することは当技術分野において公知であり、このようなエフェクター機能は抗体のアイソタイプによって異なり得る。例えば、補体のC1成分がIgGまたはIgM抗体 (抗原に結合している) のFc領域に結合すると補体系が活性化される。補体の活性化は細胞病原体のオプソニン化および溶解において重要である。また、補体の活性化は炎症反応を刺激し、自己免疫性過敏症に関与し得る。また、抗体のFc領域は、Fc受容体 (FcR) を発現している細胞に結合し得る。異なる抗体クラスに、例えば、IgG (ガンマ受容体)、IgE (イプシロン受容体)、IgA (アルファ受容体) およびIgM (ミュー受容体) などの特異的なFc受容体がいくつか存在する。細胞表面上のFc受容体に対する抗体の結合により、多くの重要で多様な生物学的応答、例えば、抗体被覆粒子の抱込みおよび破壊、免疫複合体のクリアランス、キラー細胞による抗体被覆標的細胞の溶解 (抗体依存性細胞傷害またはADCCと称される)、炎症メディエータの放出、胎盤移行ならびに免疫グロブリン産生の制御が誘発される。いくつかの態様では、本明細書に記載の二重特異性結合タンパク質はヒトIgA抗体の少なくとも1つの定常領域を含む。いくつかの態様では、本明細書に記載の二重特異性結合タンパク質はヒトIgD抗体の少なくとも1つの定常領域を含む。いくつかの態様では、本明細書に記載の二

40

50

重特異性結合タンパク質はヒトIgE抗体の少なくとも1つの定常領域を含む。いくつかの態様では、本明細書に記載の二重特異性結合タンパク質は、ヒトIgG抗体の少なくとも1つの定常領域を含む。いくつかの態様では、本明細書に記載の二重特異性結合タンパク質はヒトIgM抗体の少なくとも1つの定常領域を含む。いくつかの態様では、本明細書に記載の二重特異性結合タンパク質はヒトIgG1抗体の少なくとも1つの定常領域を含む。いくつかの態様では、本明細書に記載の二重特異性結合タンパク質はヒトIgG2抗体の少なくとも1つの定常領域を含む。いくつかの態様では、本明細書に記載の二重特異性結合タンパク質はヒトIgG3抗体の少なくとも1つの定常領域を含む。いくつかの態様では、本明細書に記載の二重特異性結合タンパク質はヒトIgG4抗体の少なくとも1つの定常領域を含む。

10

【0137】

いくつかの態様では、本明細書に記載の二重特異性結合タンパク質において少なくとも1つまたは複数の定常領域が修飾されているか、または欠失している。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質は、3つの重鎖定常領域（CH1、CH2もしくはCH3）のうちの1つもしくは複数および/または軽鎖定常領域（CL）に対する修飾を含む。いくつかの態様では、修飾された二重特異性結合タンパク質の重鎖定常領域は少なくとも1つのヒト定常領域を含む。いくつかの態様では、修飾された二重特異性結合タンパク質の重鎖定常領域は1つより多くのヒト定常領域を含む。いくつかの態様では、定常領域に対する修飾は、1つまたは複数の領域内の1個または複数のアミノ酸の付加、欠失または置換を含む。

20

【0138】

いくつかの態様では、1つまたは複数の領域が、修飾された二重特異性結合タンパク質の定常領域から部分的または完全に欠失している。いくつかの態様では、CH2ドメイン全体が二重特異性結合タンパク質から除去されている（ Δ CH2構築物）。いくつかの態様では、欠失した定常領域が、存在しない定常領域によって典型的にはもたらされる分子柔軟性の一部を提供する短鎖アミノ酸スペーサーで、置き換えられている。いくつかの態様では、修飾された二重特異性結合タンパク質が、二重特異性結合タンパク質のヒンジ領域と直接融合されるCH3ドメインを含む。いくつかの態様では、修飾された二重特異性結合タンパク質は、ヒンジ領域と修飾されたCH2および/またはCH3ドメイン間に挿入されたペプチドスペーサーを含む。

30

【0139】

いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質はFc領域を含む。いくつかの態様では、Fc領域はヒンジを介して融合される。ヒンジはIgG1ヒンジ、IgG2ヒンジまたはIgG3ヒンジであり得る。ヒトIgG1、IgG2、IgG3およびIgG4のFc領域のアミノ酸配列は当業者に公知である。いくつかの場合では、アミノ酸のバリエーションを有するFc領域が天然状態の抗体において同定されている。いくつかの態様では、修飾された二重特異性結合タンパク質（例えば、修飾されたFc領域）がエフェクター機能の改変をもたらす、これがさらには、二重特異性結合タンパク質の生物学的プロファイルに影響を及ぼす。例えば、いくつかの態様では、定常領域の欠失または失活（点変異または他の手段による）により、循環中における修飾された二重特異性結合タンパク質のFc受容体結合が低減される。いくつかの態様では、定常領域の修飾により二重特異性結合タンパク質の免疫原性が低下する。いくつかの態様では、定常領域の修飾により二重特異性結合タンパク質の血清半減期が長くなる。いくつかの態様では、定常領域の修飾により二重特異性結合タンパク質の血清半減期が短くなる。いくつかの態様では、定常領域の修飾により二重特異性結合タンパク質のADCCおよび/または補体依存性細胞傷害（CDC）が減少するか、または除去される。いくつかの態様では、ヒトIgG1 Fc領域における、対応するIgG2またはIgG4の残基による特定のアミノ酸置換が、修飾された二重特異性結合タンパク質のエフェクター機能（例えば、ADCCおよびCDC）を低下させる。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質は1つまたは複数のエフェクター機能を有するものでない（例えば、「エフェクターレス」抗体）。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質はADCC活

40

50

性を有しない、および/またはCDC活性を有しない。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質はFc受容体および/または補体因子に結合しない。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質は、エフェクター機能を有するものでない。いくつかの態様では、定常領域の修飾により二重特異性結合タンパク質のADCCおよび/またはCDCが増大または向上する。いくつかの態様では、定常領域は、ジスルフィド結合またはオリゴ糖部分が消失するように修飾される。いくつかの態様では、定常領域は、1個または複数のアミノ酸が付加/置換されて1つまたは複数の細胞毒、オリゴ糖または糖鎖の結合部位がもたらされるように修飾される。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質は、天然状態のFc領域と比べてとき特定のアミノ酸の位置における置換により操作されているバリエーションFc領域を含む。いくつかの態様では、本明細書に記載の二重特異性結合タンパク質は、EUナンバリングによるK214R、L234A、L235E、G237A、D356EおよびL358Mからなる群より選択される1個または複数のアミノ酸置換を含むIgG1重鎖定常領域を含む。いくつかの態様では、IgG1重鎖定常領域は、EUナンバリングによるK214R、L234A、L235E、G237A、A330S、P331S、D356EおよびL358Mからなる群より選択される1個または複数のアミノ酸置換を含む。いくつかの態様では、IgG1重鎖定常領域は、EUナンバリングによるK214R、C226S、C229SおよびP238Sからなる群より選択される1個または複数のアミノ酸置換を含む。いくつかの態様では、IgG1重鎖定常領域は、EUナンバリングによるK214R、D356EおよびL358Mからなる群より選択される1個または複数のアミノ酸置換を含む。いくつかの態様では、IgG1重鎖定常領域は、EUナンバリングによるS131C、K133R、G137E、G138S、Q196K、I199T、N203D、K214R、C226S、C229SおよびP238Sからなる群より選択される1個または複数のアミノ酸置換を含む。いくつかの態様では、本明細書に記載の二重特異性結合タンパク質は、V234A、G237A、P238S、H268A、V309L、A330SおよびP331Sからなる群より選択される1個または複数のアミノ酸置換を含むIgG2重鎖定常領域を含む。いくつかの態様では、本明細書に記載の二重特異性結合タンパク質は、S228P、L234AおよびL235Aからなる群より選択される1個または複数のアミノ酸置換を含むIgG4重鎖定常領域を含む。

10

20

30

40

50

【0140】

いくつかの態様では、バリエーションは、抗体またはポリペプチドのアミノ末端および/またはカルボキシル末端にアミノ酸残基の付加を含み得る。付加アミノ酸残基の長さは1個の残基〜100個以上の残基の範囲であり得る。いくつかの態様では、バリエーションはN末端メチオニル残基を含む。いくつかの態様では、バリエーションは、融合タンパク質を作り出すためにさらなるポリペプチド/タンパク質（例えば、Fc領域）を含む。いくつかの態様では、バリエーションは、検出可能となるように操作されており、検出可能な標識および/またはタンパク質（例えば、蛍光タグまたは酵素）を含み得る。

【0141】

本明細書に記載のバリエーション抗体または抗原結合断片は、当技術分野において公知の方法、例えば限定するわけではないが、部位特異的変異導入、アラニンスキャニング変異導入およびPCR変異導入を用いて作成され得る。

【0142】

いくつかの態様では、本明細書に開示のIgG含有型二重特異性結合タンパク質のバリエーションは、IL17RBに結合できる能力を、親の抗体または抗原結合断片と類似した程度、同程度、またはより高い程度まで、保持することができる。いくつかの態様では、該バリエーションは、アミノ酸配列が親の抗体または抗原結合断片と少なくとも約80%、約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%以上、同一であり得る。一部の特定の態様では、IgG含有型二重特異性結合タンパク質のバリエーションは、1個または複数の保存的アミノ酸置換を有する親のIgG含有型二重特異性結合タンパク質のアミノ酸配列を含む。保存的アミノ酸置換は当技術分野において公知であり、ある特定の物理的および/または化学的特性を有する1アミノ酸が、同じまたは類似の化学的または物理的特性を有する別のアミノ酸と交換される、アミノ酸置換を

含む。

【0143】

いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質のバリエーションは、1個または複数の非保存的アミノ酸置換を有する親の抗体または抗原結合断片のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質のバリエーションは、1個または複数の非保存的アミノ酸置換を有する親の結合抗体または抗原結合断片のアミノ酸配列を含み、該1個または複数の非保存的アミノ酸置換は、該バリエーションの1つまたは複数の生物学的活性（例えば、IL17RB結合）に支障を来さない、または該生物学的活性を阻害しない。一部の特定の態様では、該1個または複数の保存的アミノ酸置換および/または該1個または複数の非保存的アミノ酸置換によりバリエーションの生物学的活性が向上し得、そのため、この機能性バリエーションの生物学的活性は親結合部分と比べてとき増大している。

10

【0144】

いくつかの態様では、本明細書に記載の二重特異性結合タンパク質は、天然にまたは介入によって化学修飾される。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質は、公知の保護基/ブロック基、タンパク質分解的切断および/または細胞のリガンドもしくは他のタンパク質との連結によるグリコシル化、アセチル化、ペグ化、リン酸化、アミド化、誘導体化によって化学修飾される。数多くの任意の化学修飾は公知の手法によって行なわれ得る。二重特異性結合タンパク質は、1個または複数のアミノ酸アナログ（例えば、非天然アミノ酸など）ならびに当技術分野において公知の他の修飾を含むものであり得る。

【0145】

本開示の二重特異性結合タンパク質は、その物理的、化学的および/または生物学的特性について当技術分野において公知の種々の方法によって解析され得る。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質が、2つの異なるアラミン（例えば、ヒトIL17RBとTSLP）に結合できる能力について試験される。結合アッセイとしては、限定するわけではないが、表面プラズモン共鳴（例えば、BIAcore）、ELISAおよびFACSが挙げられる。いくつかの態様では、アラミンに対する結合剤（例えば、抗体）の解離定数は表面プラズモン共鳴（例えば、BIAcore）によって求められる解離定数である。また、抗体は、可溶性、安定性、耐熱性、粘度、発現レベル、発現の質および/または精製効率について評価され得る。

20

【0146】

SM17はヒトIL17RBに約1 pMの解離定数（ K_D ）で結合する。いくつかの態様では、本明細書に開示の方法に使用される二重特異性結合タンパク質がIL17RB（例えば、ヒトIL17RB）に約100 nM以下、約40 nM以下、約20 nM以下、約10 nM以下、約1 nM以下、約0.1 nM以下、50 pM以下、10 pM以下、または1 pM以下の解離定数（ K_D ）で結合する。いくつかの態様では、 K_D が約20 nM以下である。いくつかの態様では、 K_D が約10 nM以下である。いくつかの態様では、 K_D が約5 nM以下である。いくつかの態様では、 K_D が約2 nM以下である。いくつかの態様では、 K_D が約1.5 nM以下である。いくつかの態様では、 K_D が約1 nM以下である。いくつかの態様では、 K_D が約0.5 nM以下である。いくつかの態様では、 K_D が約0.1 nM以下である。いくつかの態様では、 K_D が約50 pM以下である。いくつかの態様では、 K_D が約10 pM以下である。

30

40

【0147】

いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質がIL17RB（例えば、ヒトIL17RB）に0.1~1 nM、0.5~5 nM、1~10 nM、1~5 nM、5~50 nM、10~100 nMまたは50~500 nMの範囲内の K_D で結合する。いくつかの態様では、 K_D が0.1~1 nMの範囲内である。いくつかの態様では、 K_D が0.5~5 nMの範囲内である。いくつかの態様では、 K_D が1~10 nMの範囲内である。いくつかの態様では、 K_D が1~5 nMの範囲内である。いくつかの態様では、 K_D が5~50 nMの範囲内である。いくつかの態様では、 K_D が10~100 nMの範囲内である。いくつかの態様では、 K_D が50~500 nMの範囲内である。

【0148】

50

いくつかの態様では、本明細書に開示の方法に使用される二重特異性結合タンパク質が IL17RB（例えば、ヒト IL17RB）に約 $0.8 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ の結合定数 (K_A) で結合する。いくつかの態様では、本明細書に開示の方法に使用される二重特異性結合タンパク質が IL17RB（例えば、ヒト IL17RB）に約 $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 以上、約 $1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ 以上、約 $1 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 以上、約 $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 以上、約 $8 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 以上、約 $1 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 以上、約 $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 以上、約 $1 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 以上、約 $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 以上、約 $1 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 以上、約 $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 以上または約 $1 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ 以上の K_A で結合する。いくつかの態様では、 K_A が約 $1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ 以上である。いくつかの態様では、 K_A が約 $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ 以上である。いくつかの態様では、 K_A が約 $1 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 以上である。いくつかの態様では、 K_A が約 $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 以上である。いくつかの態様では、 K_A が約 $8 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 以上である。いくつかの態様では、 K_A が約 $1 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 以上である。いくつかの態様では、 K_A が約 $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 以上である。いくつかの態様では、 K_A が約 $1 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 以上である。

10

【0149】

いくつかの態様では、本明細書に開示の方法に使用される二重特異性結合タンパク質が IL17RB（例えば、ヒト IL17RB）に約 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ 、 $5 \times 10^6 \sim 5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、 $5 \times 10^7 \sim 5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^8 \sim 5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、 $5 \times 10^8 \sim 1 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、 $5 \times 10^8 \sim 5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、 $5 \times 10^9 \sim 5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、 $5 \times 10^{10} \sim 5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^{11} \sim 1 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ または $5 \times 10^{11} \sim 5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ の範囲内の K_A で結合する。いくつかの態様では、 K_A が約 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ の範囲内である。いくつかの態様では、 K_A が約 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ の範囲内である。いくつかの態様では、 K_A が約 $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ の範囲内である。いくつかの態様では、 K_A が約 $5 \times 10^8 \sim 1 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ の範囲内である。いくつかの態様では、 K_A が約 $5 \times 10^8 \sim 5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ の範囲内である。いくつかの態様では、 K_A が約 $1 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ の範囲内である。

20

【0150】

いくつかの態様では、本明細書に開示の方法に使用される二重特異性結合タンパク質が ヒト IL17RB から、Octet（例えば、Bio-layer Interferometry）による測定時、 $1.38 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ 以下の k_d で解離する。いくつかの態様では、本明細書に開示の方法に使用される二重特異性結合タンパク質が ヒト IL17RB から約 $5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 以下、約 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 以下、約 $2 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 以下、約 $4 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 以下、約 $8 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ 以下、約 $2 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ 以下、約 $4 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$ 以下の k_d で解離する。いくつかの態様では、本明細書に開示の方法に使用される二重特異性結合タンパク質が ヒト IL17RB から約 $5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 以下の k_d で解離する。いくつかの態様では、 k_d が約 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 以下である。いくつかの態様では、 k_d が約 $2 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 以下である。いくつかの態様では、 k_d が約 $4 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 以下である。いくつかの態様では、 k_d が約 $8 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ 以下である。いくつかの態様では、 k_d が約 $2 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ 以下である。いくつかの態様では、 k_d が約 $4 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$ 以下である。

30

【0151】

エピトープマッピングは、標的タンパク質上の二重特異性結合タンパク質が結合する結合部位、領域またはエピトープを同定する方法である。標的タンパク質上のエピトープをマッピングするためのさまざまな方法が当技術分野において公知である。このような方法としては、限定するわけではないが、ショットガン変異導入、部位特異的変異導入およびアラニンスキャニング；ドメインまたは断片のスキャニング；ペプチドスキャニング（例えば、Pepscan technology）；ディスプレイ法（例えば、ファージディスプレイ、微生物ディスプレイおよびリボソーム/mRNAディスプレイ）；タンパク質分解および質量分析を伴う方法；ならびに構造決定（例えば、X線結晶学およびNMR）が挙げられる。いくつかの態様では、本明細書に記載の二重特異性結合タンパク質は、限定するわけではないが、N末端シーケンシング、アミノ酸解析、HPLC、質量分析、イオン交換クロマトグラフィーおよびパepsin消化などのアッセイによって特性評価される。

40

【0152】

いくつかの態様では、本明細書に開示の方法に使用され得る二重特異性結合タンパク質

50

がこの構造的エピトープに約 $0.8 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ の K_A で結合し得る。いくつかの態様では、本明細書に開示の方法に使用される二重特異性結合タンパク質がこの構造的エピトープに約 $1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ 以上、約 $1 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 以上、約 $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 以上、約 $1 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 以上、約 $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 以上、約 $1 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 以上、約 $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 以上、約 $1 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 以上、約 $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 以上または約 $1 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ 以上の K_A で結合する。いくつかの態様では、 K_A が約 $1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ 以上である。いくつかの態様では、 K_A が約 $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ 以上である。いくつかの態様では、 K_A が約 $1 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 以上である。いくつかの態様では、 K_A が約 $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 以上である。いくつかの態様では、 K_A が約 $8 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 以上である。いくつかの態様では、 K_A が約 $1 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 以上である。いくつかの態様では、 K_A が約 $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 以上である。いくつかの態様では、本明細書に開示の方法に使用される二重特異性結合タンパク質がこの構造的エピトープに約 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ 、 $5 \times 10^6 \sim 5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、 $5 \times 10^7 \sim 5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^8 \sim 5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、 $5 \times 10^8 \sim 1 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、 $5 \times 10^8 \sim 5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、 $5 \times 10^9 \sim 5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、 $5 \times 10^{10} \sim 5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^{11} \sim 1 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ または $5 \times 10^{11} \sim 5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ の範囲内の K_A で結合する。いくつかの態様では、 K_A が約 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ の範囲内である。いくつかの態様では、 K_A が約 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ の範囲内である。いくつかの態様では、 K_A が約 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ の範囲内である。いくつかの態様では、 K_A が約 $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ の範囲内である。いくつかの態様では、 K_A が約 $5 \times 10^8 \sim 1 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ の範囲内である。いくつかの態様では、 K_A が約 $5 \times 10^8 \sim 5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ の範囲内である。いくつかの態様では、 K_A が約 $1 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ の範囲内である。

10

20

30

40

50

【0153】

いくつかの態様では、本明細書において、アラミンに対する結合に関して別の二重特異性結合タンパク質（例えば、ヒトIL17RB）と競合する二重特異性結合タンパク質を提供する。「標的に対する結合に関して別の抗体と競合する」二重特異性結合タンパク質は、同じ標的に対する他方の二重特異性結合タンパク質の結合を（一部または完全に）阻害する二重特異性結合タンパク質を示す。標的に対する結合に関して互いに競合するかどうか、すなわち、二重特異性結合タンパク質が標的に対する別の二重特異性結合タンパク質の結合を阻害するかどうか、およびどの程度阻害するかは公知の競合実験、例えば、Bio-layer Interferometry Kinetic Analysisを用いて判定され得る。いくつかの態様において、含有型二重特異性結合タンパク質はアラミン（例えば、ヒトIL17RB）に対する別の二重特異性結合タンパク質の結合と競合し、少なくとも50%、60%、70%、80%、90%または100%阻害する。競合アッセイは、例えば、Ed Harlow and David Lane, Cold Spring Harb Protoc; 2006; doi:10.1093/csb/prot4277またはEd Harlow and David Laneによる“Using Antibodies”, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA 1999の第11章に記載のようにして実施され得る。

【0154】

いくつかの態様では、本明細書に開示の方法に使用される二重特異性結合タンパク質が腎癌細胞（例えば、TK-10細胞）上の天然状態のIL17RBに対する放射性標識I¹²⁵-SM17の結合と約 $0.1 \mu\text{g/ml}$ 以下、約 $0.2 \mu\text{g/ml}$ 以下、約 $0.5 \mu\text{g/ml}$ 以下、約 $0.8 \mu\text{g/ml}$ 以下、約 $1 \mu\text{g/ml}$ 以下、約 $2 \mu\text{g/ml}$ 以下、約 $5.0 \mu\text{g/ml}$ 以下、約 $8 \mu\text{g/ml}$ 以下、約 $10 \mu\text{g/ml}$ 以下または約 $50 \mu\text{g/ml}$ 以下の EC_{50} で競合する。いくつかの態様では、 EC_{50} が約 $0.1 \mu\text{g/ml}$ 以下である。いくつかの態様では、 EC_{50} が約 $0.2 \mu\text{g/ml}$ 以下である。いくつかの態様では、 EC_{50} が約 $0.5 \mu\text{g/ml}$ 以下である。いくつかの態様では、 EC_{50} が約 $1 \mu\text{g/ml}$ 以下である。いくつかの態様では、 EC_{50} が約 $2 \mu\text{g/ml}$ 以下である。いくつかの態様では、 EC_{50} が約 $5 \mu\text{g/ml}$ 以下である。いくつかの態様では、 EC_{50} が約 $10 \mu\text{g/ml}$ 以下である。いくつかの態様では、本明細書に開示の方法に使用される二重特異性結合タンパク質が腎癌細胞（例えば、TK-10細胞）上の天然状態のIL17RBに対する放射性標識I

¹²⁵S-M17の結合と約0.1~50 µg/ml、約0.1~10 µg/ml、約0.1~5 µg/ml、約0.5~10 µg/ml、約0.5~5 µg/ml、約1~10 µg/mlまたは約1~5 µg/mlの範囲内のEC₅₀で競合する。いくつかの態様では、EC₅₀が約0.1~50 µg/mlの範囲内である。いくつかの態様では、EC₅₀が約0.1~10 µg/mlの範囲内である。いくつかの態様では、EC₅₀が約0.1~5 µg/mlの範囲内である。いくつかの態様では、EC₅₀が約0.5~10 µg/mlの範囲内である。いくつかの態様では、EC₅₀が約0.5~5 µg/mlの範囲内である。いくつかの態様では、EC₅₀が約1~10 µg/mlの範囲内である。いくつかの態様では、EC₅₀が約1~5 µg/mlの範囲内である。

【0155】

いくつかの態様では、本明細書において提供される二重特異性結合タンパク質が誘導体化されるかまたは別の機能性分子（例えば、別のペプチドまたはタンパク質）に連結されることができ、本明細書に開示の方法に使用され得る。したがって、いくつかの態様では、本明細書に開示の方法に使用される抗体および抗原結合断片は、本明細書に記載のヒト抗IL17RB抗体の誘導体化された形態および他の方法で修飾された形態、例えば免疫粘着分子を含む。例えば、該抗体および抗原結合断片は、（部位特異的コンジュゲーションに適した人工アミノ酸/官能基の、化学的カップリング、遺伝子融合、非共有結合性の結合または導入によって）1つまたは複数の他の分子実体、例えば別の抗体（例えば、二重特異性抗体もしくはダイアボディ）、検出可能な剤、細胞毒性剤、薬学的剤および/または該抗体もしくは抗原結合断片の別の分子との結合を媒介し得るタンパク質もしくはペプチド（例えば、ストレプトアビジンコア領域もしくはポリヒスチジンタグ）に機能的に連結され得る。

【0156】

いくつかの態様では、本明細書に記載の二重特異性結合タンパク質は、該剤が診断および/または検出に使用されることを可能にする検出可能な物質または分子にコンジュゲートされる。また、検出可能な物質としては、限定するわけではないが、酵素、例えばホースラディッシュペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、グルコースオキシダーゼ、ベータ-ガラクトシダーゼおよびアセチルコリンエステラーゼ;補欠分子族、例えばビオチンおよびフラビン;蛍光物質、例えばウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアナート（FITC）、ローダミン、テトラメチルローダミンイソチオシアナート（TRITC）、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、ダンシルクロリド、シアニン（Cy3）、5-ジメチルアミン-1-ナフタレンスルホニルクロリドならびにフィコエリトリン;生物発光物質、例えばルシフェラーゼ;放射性物質、例えば²¹²Bi、¹⁴C、⁵⁷Co、⁵¹Cr、⁶⁷Cu、¹⁸F、⁶⁸Ga、⁶⁷Ga、¹⁵³Gd、¹⁵⁹Gd、⁶⁸Ge、³H、¹⁶⁶Ho、¹³¹I、¹²⁵I、¹²³I、¹²¹I、¹¹⁵In、¹¹³In、¹¹²In、¹¹¹In、¹⁴⁰La、¹⁷⁷Lu、⁵⁴Mn、⁹⁹Mo、³²P、¹⁰³Pd、¹⁴⁹Pm、¹⁴²Pr、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、¹⁰⁵Rh、⁹⁷Ru、³⁵S、⁴⁷Sc、⁷⁵Se、¹⁵³Sm、¹¹³Sn、¹¹⁷Sn、⁸⁵Sr、^{99m}Tc、²⁰¹Ti、¹³³Xe、⁹⁰Y、⁶⁹Yb、¹⁷⁵Yb、⁶⁵Zn;ポジトロン放出金属;および磁性金属イオンポジトロン放出金属;ならびに磁性金属イオンも挙げられ得る。

【0157】

本明細書に記載の二重特異性結合タンパク質を固相支持体に結合させてもよい。かかる固相支持体としては、限定するわけではないが、ガラス、セルロース、ポリアクリルアミド、ナイロン、ポリスチレン、塩化ポリビニルまたはポリプロピレンが挙げられる。いくつかの態様では、固定化された二重特異性結合タンパク質がイムノアッセイにおいて使用される。いくつかの態様では、固定化されたIgG含有型二重特異性結合タンパク質が標的抗原（例えば、ヒトIL17RB）の精製において使用される。

【0158】

7.3 作製方法

本明細書に開示の方法に使用され得る二重特異性結合タンパク質およびその抗体、例えば限定するわけではないが二重特異性抗体、抗体-アラミン受容体融合タンパク質、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト抗体およびヒト化抗体は、本明細書に開示の、ある

いは当技術分野において公知の任意の方法によって調製され得る。抗体の作製方法は当技術分野において周知である。例えば、Harlow et al., ANTIBODIES: A LABORATORY MANUAL, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling et al.: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563, 681 (Elsevier, N.Y., 1981) を参照されたく、これらは各々、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。

【0159】

いくつかの態様では、本明細書において提供される方法に使用され得る二重特異性結合タンパク質は、組換え体である、すなわち、組換え手段によって調製、発現、作製または単離される。いくつかの態様では、本明細書に開示の二重特異性結合タンパク質は、例えば、組換え発現ベクターを宿主細胞内に導入すること、組換えコンビナトリアルヒト抗体ライブラリー、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な動物（例えば、マウス）から単離された抗体 [Taylor, L D et al. Nucleic Acids Research, vol. 20, 23 (1992): 6287-95]、または他のDNA配列へのヒト免疫グロブリン遺伝子配列のスプライシングを伴う任意の他の手段によって調製、発現、産生または単離された抗体によって、調製され得る。

【0160】

いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質は、宿主細胞における免疫グロブリン軽鎖および重鎖の遺伝子の組換え発現によって調製され得る。二重特異性結合タンパク質を発現させるため、宿主細胞に、二重特異性結合タンパク質の免疫グロブリンの軽鎖および重鎖をコードしているDNA断片を担持している1つまたは複数の組換え発現ベクターを、該軽鎖および重鎖が該宿主細胞内で発現されかつ好ましくは該宿主細胞が培養される培地中に分泌されるように導入し、該培地から該二重特異性結合タンパク質が回収され得る。二重特異性結合タンパク質の重鎖および軽鎖の遺伝子を得、これらの遺伝子を組換え発現ベクター内に組み込み、該ベクターを宿主細胞内に導入するために、標準的な組換えDNA方法論、例えば Sambrook, Fritsch and Maniatis (eds), MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, Second Edition, Cold Spring Harbor, N.Y., (1989), Ausubel et al. (eds.) CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, Greene Publishing Associates, (1989) および米国特許第4,816,397号に記載のものが使用される。

【0161】

組換え二重特異性結合タンパク質、例えば SM17 関連二重特異性結合タンパク質を発現させるため、まず、軽鎖および重鎖の可変領域をコードしているDNA断片を得る。これらのDNAは、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) を用いたマウス抗体の軽鎖および重鎖の可変配列のハイブリドーマの増幅および修飾によって、または設計した軽鎖および重鎖の可変配列をコードアミノ酸配列に基づいた当業者に公知である標準的な方法を用いたオリゴ合成によって、得られ得る。得られる抗体の哺乳動物での発現を容易にするために、コードDNA配列をさらに最適化してもよい。

【0162】

マウス抗体のVH断片とVL断片が得られたら、これらの配列は、フレームワーク結合 (-patched) 型をコードするように変異され得、その方法は、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる WO2020115319A1 に記載されたものである。

【0163】

二重特異性結合タンパク質のVHおよびVLのセグメントをコードしているDNA断片が得られたら（例えば、上記のような、元のマウスのVHおよびVLの遺伝子の増幅および変異導入により）、これらのDNA断片は、標準的な組換えDNA手法により、例えば、可変領域の遺伝子を完全長の抗体鎖遺伝子、Fab断片遺伝子またはscFv遺伝子に変換するためにさらに操作され得る。このような操作において、VLコードDNA断片またはVHコードDNA断片は、別のタンパク質、例えば抗体定常領域またはフレキシブルリンカーをコードしている別のDNA断片に機能的に連結される。用語「機能的に連結される」とは、

この状況で使用する場合、2つのDNA断片が、この2つのDNA断片にコードされたアミノ酸配列がインフレームのままとなるように結合されることを意味することを意図する。

【0164】

単離されたVH領域コードDNAは、このVHコードDNAを、重鎖定常領域（CH1、CH2およびCH3）をコードしている別のDNA分子に機能的に連結することによって完全長の重鎖遺伝子に変換され得る。ヒト重鎖定常領域の遺伝子の配列は当技術分野において公知であり（例えば、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.91-3242参照）、この領域を含むDNA断片は標準的なPCR増幅によって得られ得る。重鎖定常領域はIgG1、IgG2、IgG3、Ig4、IgA、IgE、IgMまたはIgDの定常領域であり得るが、最も好ましくはIgG1またはIgG4の定常領域である。Fab断片の重鎖遺伝子では、VHコードDNAは、重鎖のCH1定常領域のみをコードしている別のDNA分子に機能的に連結され得る。

10

【0165】

単離されたVL領域コードDNAは、このVLコードDNAを、軽鎖定常領域CLをコードしている別のDNA分子に機能的に連結することによって、完全長の軽鎖遺伝子（ならびにFab軽鎖遺伝子）に変換され得る。ヒト軽鎖定常領域の遺伝子の配列は当技術分野において公知であり（例えば、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.91-3242参照）、この領域を含むDNA断片は標準的なPCR増幅によって得られ得る。軽鎖定常領域はカッパ定常領域またはラムダ定常領域であり得るが、最も好ましくはカッパ定常領域である。

20

【0166】

scFv遺伝子を調製するため、VHコードDNA断片とVLコードDNA断片は、フレキシブルリンカーをコードしている別の断片、例えばアミノ酸配列（Gly4-Ser）3をコードしている別の断片に、VHとVLの配列が、VL領域とVH領域が該フレキシブルリンカーによって結合されて連続した一本の鎖のタンパク質として発現され得るように機能的に連結される[Bird,R E et al.Science, (New York,N.Y.) vol.242,4877 (1988):423-6;Huston,J S et al.Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,vol.85,16 (1988):5879-83;McCafferty,J et al.Nature,vol.348,6301 (1990):552-4]。

30

【0167】

本明細書に開示の方法に使用され得る二重特異性結合タンパク質を発現させるため、上記のようにして得た軽鎖および重鎖の一部または完全長の軽鎖および重鎖をコードしているDNAは発現ベクター内に、該遺伝子が転写制御配列および翻訳制御配列に機能的に連結されるように挿入される。この状況において、用語「機能的に連結される」とは、抗体遺伝子がベクター内に、該ベクター内の転写制御配列および翻訳制御配列が該抗体遺伝子の転写および翻訳を調節するという意図された機能を発揮するようにライゲーションされることを意味することを意図する。発現ベクターおよび発現制御配列は、使用される発現宿主細胞と適合性であるように選択される。抗体軽鎖の遺伝子および二重特異性結合タンパク質の重鎖の遺伝子は別々のベクター内に挿入され得るか、またはより典型的には両方の遺伝子は同じ発現ベクター内に挿入される。抗体遺伝子は発現ベクター内に、標準的な方法（例えば、抗体遺伝子断片上の相補的な制限部位とベクターのライゲーション、または制限部位が存在しない場合は平滑末端ライゲーション）によって挿入される。いくつかの態様では、SM17関連二重特異性結合タンパク質の軽鎖または重鎖の配列の挿入前に、発現ベクターに既に二重特異性結合タンパク質の定常領域配列を担持させる。例えば、SM17関連二重特異性結合タンパク質のVHおよびVLの配列を完全長の二重特異性結合タンパク質遺伝子に変換させるためのアプローチの一例は、これらを、それぞれ重鎖定常領域および軽鎖定常領域を既にコードしている発現ベクター内に、VHセグメントが該ベクター内のCHセグメントに機能的に連結されかつVLセグメントが該ベクター内のCLセグ

40

50

メントに機能的に連結されるように挿入することである。追加的または択一的に、組換え発現ベクターが、宿主細胞からの抗体鎖の分泌を助長するシグナルペプチドをコードしていてもよい。抗体鎖の遺伝子はベクター内に、シグナルペプチドが該抗体鎖の遺伝子のアミノ末端にインフレームに連結されるように、クローニングされ得る。シグナルペプチドは、免疫グロブリンの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）であり得る。

【0168】

二重特異性結合タンパク質鎖の遺伝子に加えて、本明細書において提供される組換え発現ベクターに、宿主細胞内での二重特異性結合タンパク質鎖の遺伝子の発現を制御する調節配列を担持させてもよい。用語「調節配列」は、プロモーター、エンハンサーおよび二重特異性結合タンパク質鎖の遺伝子の転写または翻訳を制御する他の発現制御エレメント（例えば、ポリアデニル化シグナル）を含むことを意図する。かかる調節配列は、例えば、Goeddel; GENE EXPRESSION TECHNOLOGY: METHODS IN ENZYMOLOGY 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990) に記載されている。当業者であれば、発現ベクターの設計、例えば調節配列の選択は、例えば形質転換させる宿主細胞の選択、所望されるタンパク質の発現レベルなどの要素に依存することが認識され得よう。哺乳動物宿主細胞での発現のために好ましい調節配列としては、哺乳動物細胞において高レベルのタンパク質発現を指令するウイルス系エレメント、例えば、免疫グロブリン重鎖（IgH）エンハンサー（Gillies, S D et al. Cell, vol. 33, 3 (1983): 717-28. doi: 10.1016/0092-8674(83)90014-4）メタロチオネイン（MT）、サイトメガロウイルス（CMV）（例えば、CMVプロモーター/エンハンサー）、シミアンウイルス40（SV40）（例えば、SV40プロモーター/エンハンサー）、アデノウイルス（例えば、アデノウイルス主要後期プロモーター（AdMLP））およびポリオーマに由来するプロモーターおよび/またはエンハンサーが挙げられる。ウイルス系の調節エレメントおよびその配列のさらなる説明については、例えば、米国特許第5,665,578号；同第5,168,062号；同第4,510,245号；および同第4,968,615号を参照のこと。

【0169】

二重特異性結合タンパク質鎖の遺伝子および調節配列に加えて、本明細書において提供される組換え発現ベクターに、さらなる配列、例えば、宿主細胞内でのベクターの複製を調節する配列（例えば、複製起点）および選択可能マーカー遺伝子を担持させてもよい。選択可能マーカー遺伝子は、ベクターが導入されている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、典型的には選択可能マーカー遺伝子は、ベクターが導入されている宿主細胞に対して薬物、例えばG418、ハイグロマイシンまたはメトトレキサートに対する耐性を付与する。好ましい選択可能マーカー遺伝子としては、ジヒドロ葉酸レダクターゼ（DHFR）遺伝子（メトトレキサート選択/増幅を用いるdhfr-宿主細胞における使用の場合）、グルタミン酸シンターゼ（GS）遺伝子およびneo遺伝子（G418選択の場合）が挙げられる。

【0170】

軽鎖および重鎖の発現では、該重鎖および軽鎖をコードしている発現ベクターが、宿主細胞内に標準的な手法によってトランスフェクトされる。種々の形態の「トランスフェクション」という用語は、原核生物または真核生物の宿主細胞内への外来性DNAの導入のために一般的に使用される多種多様な手法、例えばエレクトロポレーション、リン酸カルシウム沈殿、DEAE-デキストラントランスフェクション、リポフェクション、プロトプラスト融合などを包含していることを意図する。二重特異性結合タンパク質は原核生物宿主細胞または真核生物宿主細胞のいずれかにおいて産生され得るが、真核生物細胞、特に哺乳動物宿主細胞における二重特異性結合タンパク質の発現が好ましく、なぜなら、かかる宿主細胞の方が原核生物細胞よりも、適正にフォールディングされた免疫学的に活性な二重特異性結合タンパク質が合成および分泌されやすいためである。

【0171】

本明細書に記載の方法に使用される組換え二重特異性結合タンパク質を発現させるのに好ましい哺乳動物宿主細胞としては、SP2/0ミエローマ細胞、NS0ミエローマ細胞、COS細胞およびチャイニーズハムスター卵巣（CHO細胞）（例えばR.J.Kaufman and P. A.Sharp (1982) J.Mol.Biol.159:601-621に記載のようなDHFR選択可能マーカーとともに使用されるUrlaub and Chasin, (1980) Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216-4200に記載のdfhr-CHO細胞など）が挙げられる。組換えタンパク質コード発現ベクターが哺乳動物宿主細胞内に導入されると、宿主細胞を、該宿主細胞内での二重特異性結合タンパク質の発現が可能となるのに十分な期間または、より好ましくは、該宿主細胞を培養している培養培地中への二重特異性結合タンパク質の分泌が可能となるのに十分な期間培養することによって、二重特異性結合タンパク質が産生される。二重特異性結合タンパク質は培養培地から標準的タンパク質精製方法を用いて回収され得る。

10

【0172】

また、宿主細胞は、インタクトな抗体の一部分、例えばFab断片またはscFv分子を産生させるためにも使用され得る。上記の手順のバリエーションが本明細書において明らかに想定される。例えば、宿主細胞を、本明細書に開示の方法に使用される抗体の軽鎖または重鎖のいずれか（だが両方ではない）をコードしているDNAを用いてトランスフェクトすることが望ましい場合があり得る。また、組換えDNA技術を使用し、アラミンへの結合に必要でない軽鎖および重鎖のいずれかまたは両方をコードしているDNAの一部または全部を除去してもよい。かかる短縮型DNA分子から発現される分子もまた、本明細書において提供される抗体に包含される。また、一方の重鎖と一方の軽鎖がヒトIL17RBに特異的に結合する抗体であり他方の重鎖と軽鎖がIL17RB以外の抗原に特異的である二重特異性結合タンパク質が、本発明の抗体を標準的な化学的架橋法によって第2の抗体と架橋することにより作製され得る。

20

【0173】

本明細書に開示の方法に使用され得るその二重特異性結合タンパク質の組換え発現の系のいくつかの態様では、重鎖および抗体軽鎖の両方をコードしている組換え発現ベクターがSP2/0細胞内にエレクトロポレーションによって導入される。発現系のいくつかの態様では、重鎖および抗体軽鎖の両方をコードしている組換え発現ベクターがCHO細胞内に標準的な手法、例えばリポフェクションによって導入される。

【0174】

組換え発現ベクター内において、重鎖と軽鎖の遺伝子は各々、マウスまたはヒトの免疫グロブリン重鎖（IgH）、CMVエンハンサー、メタロチオネインまたはAdMLPプロモーター調節エレメントに機能的に連結され、高レベルの該遺伝子の転写を駆動する。また、組換え発現ベクターには、該ベクターによりトランスフェクトされているSP2/0細胞をメトトレキサート選択/増幅を用いて選択することを可能にするDHFR遺伝子も担持される。あるいは、マウスまたはヒトのIgH、CMVエンハンサー/AdMLP/メタロチオネインプロモーター調節エレメントに機能的に連結された重鎖と軽鎖の遺伝子、およびDHFR遺伝子を含む組換え発現ベクターが、dhfr-であるSP2/0細胞またはCHO細胞をトランスフェクトするために使用され得る。該ベクターでトランスフェクトされたSP2/0細胞またはCHO細胞が選択され得、ベクターにおける遺伝子発現レベルは、培養液中のメトトレキサートレベルを高めることによって増幅される。選択された形質転換体宿主細胞を培養して重鎖および軽鎖を発現させ、インタクトな二重特異性結合タンパク質を培養培地から回収する。組換え発現ベクターの調製、宿主細胞のトランスフェクション、形質転換体の選択、宿主細胞の培養および培養培地からの二重特異性結合タンパク質の回収には標準的な分子生物学手法が使用される。

30

40

【0175】

7.4 薬学的組成物

本明細書において、本明細書に開示の方法に使用され得る二重特異性結合タンパク質を含む薬学的組成物もまた提供する。いくつかの態様では、薬学的組成物は、治療上有効な量の本明細書に開示の二重特異性結合タンパク質および薬学的に許容される担体を含む。

50

いくつかの態様では、該薬学的組成物はADおよび喘息を処置するのに有用である。いくつかの態様では、該薬学的組成物は対象（例えば、ヒト患者）においてADおよび喘息の進行を阻止するのに有用である。

【0176】

本明細書に開示の薬学的組成物中において担体物質と合わせられ得る治療用二重特異性結合タンパク質の量はさまざまであり得る。いくつかの態様では、薬学的組成物中に存在させる二重特異性結合タンパク質の量は、治療効果をもたらす量である。一般的に、100パーセントのうち、この量は、薬学的に許容される担体との組合せで活性成分が約0.01パーセント～約99パーセント、活性成分が約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パーセントの範囲である。

10

【0177】

本明細書において提供される薬学的組成物は、本明細書において提供される二重特異性結合タンパク質、例えばSM17関連二重特異性結合タンパク質を含む。該二重特異性結合タンパク質は種々の濃度で存在させ得る。いくつかの態様では、本明細書において提供される薬学的組成物は、1～1000 mg/mlの本明細書において提供される可溶性二重特異性結合タンパク質を含む。いくつかの態様では、薬学的組成物は10～500 mg/ml、10～400 mg/ml、10～300 mg/ml、10～200 mg/ml、10～100 mg/ml、20～100 mg/mlまたは50～100 mg/mlの本明細書において提供される可溶性二重特異性結合タンパク質を含む。いくつかの態様では、本明細書において提供される薬学的組成物は約10 mg/ml、約20 mg/ml、約30 mg/ml、約40 mg/ml、約50 mg/ml、約60 mg/ml、約70 mg/ml、約80 mg/ml、約90 mg/ml、約100 mg/ml、約120 mg/ml、約150 mg/ml、約180 mg/ml、約200 mg/ml、約300 mg/ml、約500 mg/ml、約800 mg/mlまたは約1000 mg/mlの本明細書において提供される二重特異性結合タンパク質を含む。投薬量は当業者によって容易に調整され得る；例えば、純度が低いと多くの投薬量が必要とされる。

20

【0178】

本明細書において提供される薬学的組成物はさまざまな形態であり得る。このようなものとしては、例えば液状、半固形および固形の投薬形態、例えば液状の液剤（例えば、注射用および輸注用の液剤）、分散剤または懸濁剤、錠剤、丸剤、散剤、リポソームならびに坐剤が挙げられる。好ましい形態は、意図される投与様式および治療適用に依存する。本明細書に記載の薬学的組成物または製剤において使用され得る好適な水性および非水性の担体の例としては、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、ポリエチレングリコールなど）およびその適当な混合物、植物油、例えばオリーブ油ならびに注射用有機エステル、例えばオレイン酸エチルが挙げられる。

30

【0179】

適正な流動性は、例えばコーティング物質、例えばレシチンの使用によって、分散剤の場合は必要とされる粒径を維持することによって、および界面活性剤の使用によって維持され得る。いくつかの態様では、本明細書において提供される薬学的組成物は注射用または輸注用の液剤の形態である。いくつかの態様では、該薬学的組成物は水性製剤である。かかる製剤は典型的には液剤または懸濁剤であるが、コロイド液、分散液、乳液および多相物質を含む場合もあり得る。用語「水性製剤」は少なくとも50%w/wの水を含む製剤と定義する。同様に、用語「水性液剤」は、少なくとも50%w/wの水を含む液剤と定義し、用語「水性懸濁剤」は、少なくとも50%w/wの水を含む懸濁剤と定義する。該組成物は液剤、マイクロエマルジョン剤、リポソーム剤または高い薬物濃度に適した他の規則的な構造物として製剤化され得る。

40

【0180】

いくつかの態様では、本明細書に開示の薬学的組成物は、医師または患者が使用前に溶媒および/または希釈剤を添加するフリーズドライ型である。

【0181】

本明細書において提供される薬学的組成物には薬学的に許容される担体が含まれ得る

50

。薬学的に許容される担体としては、生理学的に適合性である任意のあらゆる溶媒、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が挙げられる。例としては、水、生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノールなどのうちの1つまたは複数ならびにその組合せが挙げられる。いくつかの態様では、薬学的に許容される担体としては、組成物中の等張剤、例えば、糖類、ポリアルコール、例えばマンニトール、ソルビトールまたは塩化ナトリウムが挙げられる。

【0182】

いくつかの態様では、薬学的に許容される担体は、抗体または抗原結合断片の貯蔵寿命または有効性を向上させる少量の補助物質、例えば湿潤剤または乳化剤、防腐剤またはバッファをさらに含む。いくつかの態様では、担体は静脈内、筋肉内、皮下、非経口、脊椎、または表皮投与（例えば、注射もしくは輸注による）に適したものである。投与経路によっては、活性成分（すなわち、二重特異性結合タンパク質）は、酸の作用および該活性成分を不活性化し得る他の自然条件から該活性成分を保護するための物質でコーティングされ得る。

【0183】

本明細書において、本明細書に開示の二重特異性結合タンパク質、例えばSM17関連二重特異性結合タンパク質を有する薬学的組成物の調製のためのキットもまた提供する。いくつかの態様では、キットは、本明細書に開示の二重特異性結合タンパク質および薬学的に許容される担体を1つまたは複数の容器内に含む。別の態様では、キットは、対象への投与のための本明細書に開示の結合タンパク質を含むものであり得る。具体的な態様において、キットは、二重特異性結合タンパク質の調製および/または投与に関する使用説明書を備えている。

【0184】

いくつかの態様では、本明細書に開示の薬学的組成物または製剤は、(a) 本明細書に開示の二重特異性結合タンパク質；(b) 緩衝剤；(c) 安定化剤；(d) 塩；(e) 充填剤；および/または (f) 界面活性剤を含む。いくつかの態様では、薬学的組成物または製剤は少なくとも1ヶ月間、少なくとも2ヶ月間、少なくとも3ヶ月間、少なくとも6ヶ月間、少なくとも1年間、少なくとも2年間、少なくとも3年間、少なくとも5年間またはそれより長く安定である。いくつかの態様では、薬学的組成物または製剤は4℃、25℃または40℃で保存した場合、安定である。いくつかの態様では、本明細書において、二重特異性結合タンパク質の安定性を改善してその長期保存を可能にする薬学的組成物または製剤もまた提供する。本明細書に開示の薬学的組成物は、防腐剤、等張化剤、キレート剤、安定剤および/または界面活性剤のうちの1つまたは複数ならびにその種々の組合せをさらに含む得る。薬学的組成物における防腐剤、等張剤、キレート剤、安定剤および界面活性剤の使用は当業者に周知である。Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th edition, 1995を参照されたい。

【0185】

本明細書に開示の薬学的組成物または製剤に有用な緩衝剤は、別の酸または塩基の添加後に溶液の酸性度（pH）を選択した値付近に維持するために使用される弱酸または弱塩基であり得る。好適な緩衝剤は、製剤のpH制御を維持することによって薬学的製剤の安定性を最大限にするものであり得る。また、好適な緩衝剤は、生理学的適合性を確実にするもの、または可溶性を最適化するものであり得る。また、レオロジー、粘度および他の特性は製剤のpHに依存し得る。一般的な緩衝剤としては、限定するわけではないが、ヒスチジン、クエン酸塩、コハク酸塩、酢酸塩およびリン酸塩が挙げられる。いくつかの態様では、緩衝剤は、等張剤とともにヒスチジン（例えば、L-ヒスチジン）を含み、当技術分野において公知の酸または塩基での潜在的なpH調整を含む。一部の特定の態様では、緩衝剤がL-ヒスチジンである。一部の特定の態様では、製剤のpHは約2～約10または約4～約8に維持される。

【0186】

安定化剤は薬学的製品に該製品を安定化させるために添加される。かかる剤は、タンパ

10

20

30

40

50

ク質をいろいろな様式で安定化させ得る。一般的な安定化剤としては、限定するわけではないが、アミノ酸、例えばグリシン、アラニン、リシン、アルギニンもしくはトレオニン、糖質、例えばグルコース、スクロース、トレハロース、ラフィノースもしくはマルトース、ポリオール、例えばグリセロール、マンニトール、ソルビトール、任意の種類および分子量のシクロデキストリンもしくはデキストランまたはPEGが挙げられる。いくつかの態様では、安定化剤は、凍結乾燥調製物の状態のFIXポリペプチドの安定性が最大限となるように選択される。一部の特定の態様では、安定化剤はスクロースおよび/またはアルギニンである。

【0187】

充填剤は、製品に体積および質量を付加し、それによりその正確な計量および取り扱いを容易にするために、薬学的組成物または製剤に添加され得る。一般的な充填剤としては、限定するわけではないが、ラクトース、スクロース、グルコース、マンニトール、ソルビトール、炭酸カルシウムまたはステアリン酸マグネシウムが挙げられる。

【0188】

界面活性剤は、親液性基と疎液性基を有する両親媒性物質である。界面活性剤は陰イオン性、陽イオン性、両性イオン性または非イオン性であり得る。非イオン性界面活性剤の例としては、限定するわけではないが、アルキルエトキシレート、ノニルフェノールエトキシレート、アミンエトキシレート、ポリエチレンオキシド、ポリプロピレンオキシド、脂肪族アルコール、例えばセチルアルコールもしくはオレイルアルコール、コカミドMEA、コカミドDEA、ポリソルベートまたはドデシルジメチルアミノオキシドが挙げられる。いくつかの態様では、界面活性剤はポリソルベート20またはポリソルベート80である。

【0189】

また、本明細書に開示の薬学的組成物に、薬学的に許容される酸化防止剤が含まれる場合もあり得る。薬学的に許容される酸化防止剤の例としては、(1) 水溶性酸化防止剤、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、亜硫酸ナトリウムなど; (2) 油溶性酸化防止剤、例えばパルミチン酸アスコルビル、ブチルヒドロキシアニソール(BHA)、ジブチルヒドロキシトルエン(BHT)、レシチン、没食子酸プロピル、アルファ-トコフェロールなど; および (3) 金属キレート剤、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、リン酸などが挙げられる。

【0190】

また、このような組成物にはアジュバント、例えば防腐剤、湿潤剤、乳化剤および分散化剤が含まれる場合もあり得る。微生物の存在の防止は上掲の滅菌手順および種々の抗菌剤および抗真菌剤、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を含めることのどちらによっても確実となり得る。また、等張剤、例えば糖類、塩化ナトリウムなどを該組成物中に含めることが望ましい場合もあり得る。また、注射用薬学的形態の長期間吸収は、吸収を遅延させる剤、例えばモノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンを含めることによってもたらされ得る。

【0191】

薬学的組成物または製剤は典型的には、製造および保存の条件下で滅菌されていて安定でなければならない。薬学的に許容される担体としては、滅菌水溶液または水性懸濁液および滅菌された注射用の液剤または懸濁剤の即時調製のための滅菌された粉末剤が挙げられる。滅菌された注射用液剤は、必要量の治療用抗体または抗原結合断片を適切な溶媒中に、必要に応じて上記に列挙した1種類または組合せの成分を組み込んだ後、滅菌濾過することによって調製され得る。薬学的に活性な物質に対してかかる媒体および剤を使用することは当技術分野において公知である。一般的に、分散剤は、活性化化合物を、基剤となる分散媒および上記に列挙したもののうちの必要とされる他の成分を含有している滅菌されたビヒクル中に組み込むことによって調製される。滅菌された注射用液剤の調製のための滅菌された粉末剤の場合、調製方法の一例は、活性成分+任意のさらなる所望の成分の

粉末を事前に滅菌濾過したその溶液から得る真空乾燥およびフリーズドライ（凍結乾燥）である。

【0192】

本明細書に開示の薬学的組成物は、急速放出に対して活性成分を防御する担体とともに調製され得、例えば制御放出製剤、例えば留置用剤、経皮パッチおよびマイクロカプセル封入送達系であり得る。生分解性生体適合性のポリマー、例えばエチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、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が使用され得る。かかる製剤の調製のための多くの方法が特許を受けているか、または一般的に当業者に公知である。例えば、SUSTAINED AND CONTROLLED RELEASE DRUG DELIVERY SYSTEMS, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978を参照のこと。

10

【0193】

いくつかの態様では、本明細書に記載の二重特異性結合タンパク質は、インビボでの適正な分布が確実となるように製剤化され得る。例えば、血液脳関門（BBB）は多くの高度に親水性の化合物を排除する。本明細書に記載の治療用抗体がBBBを通過するのを容易にするため、これは例えばリポソームに製剤化され得る。リポソームの製造方法については、例えば米国特許4,522,811;同5,374,548;および同5,399,331を参照のこと。リポソームは、特定の細胞または器官内に選択的に輸送され、したがって標的化薬物送達を向上させる1つまたは複数の部分を含むものであってもよい（例えば、V.V. Ranade (1989) J.Clin.Pharmacol.29:685を参照のこと）。例示的な標的化部分としては、葉酸（folate）またはビオチン [例えば、Low et alに対する米国特許5,416,016を参照のこと] マンノシド [Umezawa, F, and Y Eto. Biochemical And Biophysical Research Communications vol.153,3 (1988) :1038-44.] ;抗体 [Bloemen, P G et al. FEBS letters vol.357,2 (1995) :140-4.] [Owais, M et al. Antimicrobial Agents And Chemotherapy vol.39,1 (1995) :180-4.] ;界面活性剤プロテインA受容体 [Briscoe, P et al. The American Journal Of Physiology vol.268,3 Pt 1 (1995) :L374-80] ;pl20 [Schreier, H et al. The Journal Of Biological Chemistry vol.269,12 (1994) :9090-8] [Keinanen, K, and M L Laukkanen. FEBS letters vol.346,1 (1994) :123-6] [Killian, J J, and I J Fidler. ImmunMethods vol.4,3 (1994) :273-9] が挙げられる。

20

30

【0194】

7.5 処置方法

上記のセクションに記載のように、本明細書において、アレルギー性の疾患または障害の処置における二重特異性結合タンパク質（例えば、SM17関連二重特異性結合タンパク質）の医学的使用を提供する。本明細書に開示の任意の二重特異性結合タンパク質が本明細書に開示の方法に使用され得る。いくつかの態様において、本明細書に開示の方法に使用されるのは組換え抗IL17RB/抗TSLP二重特異性抗体である。いくつかの態様において、本明細書に開示の方法に使用されるのは組換え抗IL17RB/抗IL33二重特異性抗体である。いくつかの態様において、本明細書に開示の方法に使用されるのは組換え抗IL17RB/TSLP受容体二重特異性結合タンパク質である。いくつかの態様において、本明細書に開示の方法に使用されるのは組換え抗IL17RB/IL33受容体二重特異性結合タンパク質である。

40

【0195】

いくつかの態様では、本明細書において、その必要がある対象において、肺ILC2増殖を低減する方法を提供する。いくつかの態様では、本明細書において、その必要がある対象において、アレルギーに関連する疾患または障害を処置する方法もまた提供する。いくつかの態様では、本明細書において、その必要がある対象において、好酸球性炎症を低減する方法もまた提供する。いくつかの態様では、本明細書において、その必要がある対象において、好中球性炎症と関連する疾患または障害を処置する方法もまた提供する。いくつかの態様では、OCSの日用量を少なくとも20%、少なくとも50%または少なくとも7

50

5%超、それを必要とする対象において低減することによる疾患または障害の処置方法が本明細書において提供される。いくつかの態様では、対象がヒトである。

【0196】

肺ILC2増殖を低減させる方法、好中球性炎症と関連する疾患または障害を処置する方法、好酸球性炎症と関連する疾患または障害を処置する方法、およびOCSの日用量を低減させることにより疾患または障害を処置する方法は、(a) IL17RB and TSLPおよび/または(b) IL17RBおよびIL-33を特異的に結合する二重特異性結合タンパク質の治療上有効な量を対象に投与することを含む。

【0197】

本方法に適した対象としては、アラミンの活性のブロックが望ましいであろうヒト患者が挙げられる。いくつかの態様では、本明細書に開示の方法で処置されるべき対象は、発症後のまたは発症前の喘息であり得るアレルギーに関連する疾患または障害、AD、線維性疾患、炎症性腸疾患(IBC)、クローン病、潰瘍性大腸炎、慢性閉塞性肺疾患、慢性副鼻腔炎、鼻茸を伴う慢性副鼻腔炎と診断されている。いくつかの態様では、対象が哺乳動物であり得る。いくつかの態様では、対象がヒトである。いくつかの態様では、本明細書に開示の方法で処置されるべき対象はOCSを継続している。いくつかの態様では、対象がこれまでに処置を受けたことがない。

【0198】

本明細書において提供される二重特異性結合タンパク質(例えば、SM17関連二重特異性結合タンパク質)または薬学的組成物は、当技術分野において公知の任意の方法、例えば限定するわけではないが、静脈内投与、皮下投与、筋肉内投与、頭蓋内投与、髄腔内投与、脳室内投与、腹腔内投与、脊椎の投与、鼻腔内投与、胸膜腔内投与、局所投与または皮内投与によって、対象に投与され得る。

【0199】

いくつかの態様では、本明細書において提供される二重特異性結合タンパク質(例えば、SM17関連二重特異性結合タンパク質)または薬学的組成物は非経口投与を用いて対象に投与され得る。語句「非経口投与」は、本明細書において使用する場合、経腸投与および局所投与以外の、通常、注射による投与様式を意味し、限定するわけではないが、静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内、関節包内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、被膜下、クモ膜下、脊椎内、硬膜外および胸骨内(intrasternal)への注射および輸注を含む。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質が静脈内への輸注または注射によって投与される。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質が筋肉内注射によって投与される。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質が皮下注射によって投与される。

【0200】

本明細書において提供される二重特異性結合タンパク質(例えば、SM17関連二重特異性結合タンパク質)または薬学的組成物は、当技術分野において公知の医療用デバイスを用いて投与され得る。例えば、いくつかの態様では、無針皮下注射デバイス、例えば米国特許第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号に開示されたデバイスが使用され得る。本明細書に記載の使用のための周知の留置物およびモジュールの例としては、米国特許第4,487,603号、これには、投薬物を制御速度で施薬するための埋込み可能な輸液マイクロポンプが開示されている;米国特許第4,486,194号、これには、皮膚を通して医薬を投与するための治療デバイスが開示されている;米国特許第4,447,233号、これには、投薬物を正確な輸注速度で送達するための投薬物輸液ポンプが開示されている;米国特許第4,447,224号、これには、連続薬物送達のための埋込み可能な可変流量輸注装置が開示されている;米国特許第4,439,196号、これには、多数のチャンパーコンパートメントを有する浸透圧による薬物送達系が開示されている;および米国特許第4,475,196号、これには浸透圧による薬物送達系が開示されている、が挙げられる。これらの特許は参照により本明細書に組み入れられる。多くの他のかかる留置物、送達系およびモジ

10

20

30

40

50

ルールは当業者に公知である。

【0201】

いくつかの態様では、本明細書に開示の二重特異性結合タンパク質は、例えば、不活性希釈剤または吸収性の可食担体とともに経口投与され得る。また、治療用二重特異性結合タンパク質は、ゼラチンシエルの硬カプセル剤または軟カプセル剤に封入されてもよく、錠剤に圧縮されてもよく、対象の食事に直接組み込まれてもよい。経口での治療的投与では、二重特異性結合タンパク質は賦形剤とともに組み込まれ、摂取可能な錠剤、口腔内錠剤、トローチ剤、カプセル剤、エリキシル剤、懸濁剤、シロップ剤、オブラート薬などの形態で使用され得る。

【0202】

本明細書において提供される方法は、治療上有効な量の本明細書に記載の二重特異性結合タンパク質（例えば、SM17関連二重特異性結合タンパク質）を投与することを含む。治療用抗体の実際の投薬量レベルは、具体的な患者に対して該患者に毒性となることなく所望の治療奏効が得られるのに有効な量が得られるように変更され得る。選択される投薬量レベルは、さまざまな薬物動態学的要素、例えば本明細書に記載の具体的な組成物の活性、投与経路、投与期間、排出速度、処置の持続期間、使用される具体的な組成物と組合せて使用される他の薬物、化合物および/または物質、処置されている患者の年齢、性別、体重、病状、一般健康状態および既往歴などの医療分野で周知の要素に依存する。

【0203】

一般的に、投薬量は、例えば、単回用量で約0.1~100 mg/kg宿主体重の範囲であり得る。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質（例えば、SM17関連二重特異性結合タンパク質）が約1 mg/kg、約2 mg/kg、約3 mg/kg、約4 mg/kg、約5 mg/kg、約6 mg/kg、約7 mg/kg、約8 mg/kg、約9 mg/kg、約10 mg/kg、約20 mg/kg、約30 mg/kg、約40 mg/kg、約50 mg/kg、約60 mg/kg、約70 mg/kg、約80 mg/kg、約90 mg/kgで投与される。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質が約1 mg/kgで投与される。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質が約5 mg/kgで投与される。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質が約10 mg/kgで投与される。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質が約20 mg/kgで投与される。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質が約40 mg/kgで投与される。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質が約60 mg/kgで投与される。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質が約100 mg/kgで投与される。

【0204】

いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質（例えば、SM17関連二重特異性結合タンパク質）が約1~5 mg/kg、約1~10 mg/kg、約1~20 mg/kg、約1~50 mg/kg、約1~100 mg/kg、約5~10 mg/kg、約5~20 mg/kg、約5~50 mg/kg、約5~100 mg/kg、約10~50 mg/kgまたは約10~100 mg/kgの範囲内の用量で投与される。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質が約1~5 mg/kgの範囲内の用量で投与される。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質が約1~10 mg/kgの範囲内の用量で投与される。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質が約1~50 mg/kgの範囲内の用量で投与される。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質が約10~50 mg/kgの範囲内の用量で投与される。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質が約10~100 mg/kgの範囲内の用量で投与される。

【0205】

いくつかの態様では、本明細書において提供される方法が、二重特異性結合タンパク質（例えば、SM17関連二重特異性結合タンパク質）を約10~2000 mgの用量で投与することを含む。いくつかの態様では、用量が約10 mg、約50 mg、約100 mg、約200 mg、約300 mg、約400 mg、約500 mg、約600 mg、約700 mg、約800 mg、約900 mg、約1000 mg、約1100 mg、約1200 mg、約1300 mg、約1400 mg、約1500 mg、約1600 mg、約1700 mg、約1800 mg、約1900 mgまたは約2000 mgである。いくつかの態様では、該抗体が100 mgの用量で投与される。いくつかの態様

では、該抗体が300 mgの用量で投与される。いくつかの態様では、該抗体が600 mgの用量で投与される。いくつかの態様では、該抗体が900 mgの用量で投与される。いくつかの態様では、該抗体が1200 mgの用量で投与される。

【0206】

いくつかの態様では、本明細書において提供される方法がIgG含有型二重特異性結合タンパク質（例えば、SM17関連二重特異性結合タンパク質）を約10～50 mg、10～100 mg、10～200 mg、100～300 mg、100～500 mg、300～600 mg、300～900 mg、300～1200 mg、600～1200 mg、600～1800 mgまたは1000～2000 mgの範囲内の用量で投与することを含む。いくつかの態様では、該抗体が100～500 mgの範囲内の用量で投与される。いくつかの態様では、該抗体が300～600 mgの範囲内の用量で投与される。いくつかの態様では、該抗体が300～900 mgの範囲内の用量で投与される。いくつかの態様では、該抗体が600～1200 mgの範囲内の用量で投与される。

10

【0207】

処置の際、低用量で開始し、後に用量を目標用量まで直線的に漸増させることは一般的である。実例を示す目的で、いくつかの態様では、本明細書において提供される方法が二重特異性結合タンパク質を約100 mgの用量で投与することを含み、用量を徐々に約600 mgの目標用量まで直線的に漸増させる。

【0208】

かかる用量が毎日、隔日、毎週、隔週、毎月、または実証的分析によって判断される任意の他のスケジュールに従って、対象に投与され得る。例示的な処置は、例えば少なくとも6ヶ月間の長期間にわたる反復投薬量での投与を含む。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法が、二重特異性結合タンパク質を毎週投与することを含む。いくつかの態様では、該方法が隔週投与を含む。いくつかの態様では、該方法が毎月投与を含む。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質（例えば、SM17関連二重特異性結合タンパク質）が毎週、隔週または毎月、皮下投与される。いくつかの態様では、IgG含有型二重特異性結合タンパク質（例えば、SM17関連二重特異性結合タンパク質）が毎週、隔週または毎月、静脈内投与される。

20

【0209】

二重特異性結合タンパク質（例えば、SM17関連二重特異性結合タンパク質）は、必要に応じて適宜、最長で3ヶ月間、6ヶ月間、9ヶ月間、12ヶ月間、18ヶ月間、24ヶ月間、30ヶ月間または36ヶ月間、投与され得る。いくつかの態様では、処置が少なくとも3ヶ月間持続される。いくつかの態様では、処置が少なくとも6ヶ月間持続される。いくつかの態様では、処置が少なくとも12ヶ月間持続される。いくつかの態様では、処置が少なくとも24ヶ月間持続される。

30

【0210】

種々の態様、例えば投与回数、投薬量、処置頻度および処置の長さのあらゆる並べ替えおよび組合せが本明細書において明白に想定され、本明細書に開示の治療方法において採用され得る。

【0211】

例示の目的で、以下の処置レジメンが、本明細書に開示されているもの（例えば、SM17関連二重特異性結合タンパク質）か、または本明細書に開示の方法において同定されるもののいずれかである抗IL17RB抗体または抗原結合断片を投与することを含む本明細書に開示の方法に採用され得る。

40

【0212】

いくつかの態様では、治療用抗体が約10 mg/kgの用量で4週間ごとに少なくとも21日間あけて静脈内または皮下に投与される。いくつかの態様では、以下の用量調節スケジュール、すなわち、輸注1～2回目: 1 mg/kg IV; 輸注3～4回目: 3 mg/kg IV; 輸注5～6回目: 6 mg/kg IV; 輸注7回目以降: 10 mg/kg IVを含める。

【0213】

50

いくつかの態様では、治療用抗体が、単回用量10、20または40 mg/kg、隔週で24週間にわたり第2の用量10 mg/kg、および毎月16ヶ月間にわたり第3の用量10または20 mg/kgで、静脈内または皮下に投与される。

【0214】

いくつかの態様では、治療用抗体が毎週約250 mgまたは隔週500 mgの用量で最長2年間、静脈内または皮下に投与される。いくつかの態様では、処置を約120 mgの月1回の注射で開始する。

【0215】

投薬レジメンは、所望の至適奏効（例えば、治療的または予防的奏効）がもたらされるように調整され得る。例えば、単回ボースを施行してもよく、数回の分割用量を経時的に投与してもよく、治療状況の緊急性に指示されるとおりに用量を比例的に減らしたり、増やしたりしてもよい。容易な投与および均一な投薬量のために非経口組成物を単位投薬形態に製剤化することは特に好都合である。単位投薬形態は、本明細書において使用する場合、処置される哺乳動物対象に対する1単位の投薬量として適した物理的に独立した単位を示し；各単位には、所望の治療効果がもたらされるように計算された所定量の治療用抗体が必要とされる薬学的担体とともに含まれる。適正な投薬は、緩和されるべき病状の型および重症度に応じて異なることに注意されたい。任意の具体的な対象について、具体的な投薬レジメンは、個体の必要性および組成物の投与を施行または管理する人の専門的な判断に応じて経時的に調整されるべきであること、ならびに本明細書に示した投薬量の範囲は例示にすぎず、請求項に記載の組成物の範囲または実施を限定することを意図しないこともさらに理解されたい。

【0216】

アレルギーに関連する疾患または障害の処置において、場合によっては該疾患または障害が本明細書において提供される方法により治療し得るが、いずれの臨床的改善も有益性を構成する。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法により、毎日のOCS使用が平均約2.5 mg/日、約5 mg/日、約10 mg/日、約20 mg/日、約40 mg/日、約95 CL低減される。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法により、毎日使用するOCS用量が平均25パーセンテージ低減される。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法により、毎日使用するOCS用量が平均50パーセンテージ低減される。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法により、毎日使用するOCS用量が平均75パーセンテージ低減される。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法により、毎日使用するOCS用量が平均100パーセンテージ低減される。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法により、毎日使用するOCS用量が平均25～50パーセンテージ低減される。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法により、毎日使用するOCS用量が平均50～75パーセンテージ低減される。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法により、毎日使用するOCS用量が平均75～100パーセンテージ低減される。

【0217】

いくつかの態様では、本明細書において提供される方法により、肺内のILC2増殖が低減される。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法により肺へのILC2遊走が低減される。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法により気管支肺胞液中のIL-5レベルが低下する。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法により気管支肺胞液中のIL-13レベルが低下する。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法により肺の好酸球性炎症が低減される。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法により肺の好中球性炎症が低減される。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法により年間喘息増悪率が低下する。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法により呼気一酸化窒素濃度が低下する。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法により血液中の好酸球数が低減される。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法により経表皮水分蒸散量が低減される。

【0218】

いくつかの態様では、本明細書において提供される方法によりADの発症が予防されるか、またはADの進行が遅延もしくは停止される。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法によりADの症状が軽快する。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法により喘息の発症が予防されるか、または進行の喘息が遅延もしくは停止される。いくつかの態様では、本明細書において提供される方法により喘息の症状が軽快する。

【0219】

本明細書に開示の二重特異性結合タンパク質は、当技術分野において公知のさまざまな方法によって投与され得る。当業者には認識されるように、投与の経路および/または様式は所望される結果に応じて異なる。いくつかの態様では、二重特異性結合タンパク質が、急速放出に対して防御する担体とともに調製され得、例えば制御放出製剤、例えば留置用剤、経皮パッチおよびマイクロカプセル封入送達系であり得る。生分解性生体適合性のポリマー、例えばエチレン酢酸ビニル、ポリエチレングリコール（PEG）、ポリ無水物、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が使用され得る。かかる製剤の調製のための多くの方法が特許を受けているか、または一般的に当業者に公知である。例えば、SUSTAINED AND CONTROLLED RELEASE DRUG DELIVERY SYSTEMS, J.R. Robinson ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978を参照のこと。治療適用では、場合によっては、疾患の進行が低減または終結するまで、および患者が疾患の症状の部分軽快または完全軽快を示すまで比較的短期間で比較的高い投薬量が必要とされる。

【0220】

異なる作用機序を有する剤を使用する併用療法により相加効果または相乗効果がもたらされ得る。併用療法により、各剤の用量が単独療法で使用されるより少なくなり、それにより本明細書に開示の剤の毒性副作用の低減および/または治療指数の上昇が可能となり得る。併用療法により、薬物耐性が発現し得る尤度が低下し得る。いくつかの態様では、さらなる療法により、本明細書に記載の二重特異性結合タンパク質または薬学的組成物の治療指数の上昇がもたらされる。いくつかの態様では、さらなる療法により、本明細書に記載の二重特異性結合タンパク質または薬学的組成物の毒性および/または副作用の低減がもたらされる。いくつかの態様では、本明細書に記載の二重特異性結合タンパク質または薬学的組成物がさらなる療法と組合せて投与され得る。

【0221】

いくつかの態様では、第2の治療剤がコルチコステロイド、DNAメチルトランスフェラーゼ（DNMT）阻害剤、抗IL4抗体、抗IL5抗体、抗IL4Ra抗体、抗IL13抗体および抗IgE抗体、抗IL17A抗体、抗IL12/IL23抗体、抗IL23抗体、抗IL17RA抗体、チロシンキナーゼ阻害剤である。いくつかの態様では、第2の治療剤が、炎症誘発性サイトカインの放出を抑制する第2の抗体であり得る。

【0222】

第2の治療剤は、本明細書に記載の二重特異性結合タンパク質または薬学的組成物の投与の前、該投与と並行して、または該投与の後に投与され得る。併用投与は、単一の薬学的製剤もしくは別々の製剤の使用のいずれかでの共投与、またはいずれの順序でもよいが一般的にすべての活性剤がその生物学的活性を同時に奏することができるといえるような期間内における連続投与を含み得る。当業者は、本明細書に記載の薬学的組成物とさらなる療法を併用で投与するための適切なレジメン、例えば併用療法に使用される追加の剤のタイミングおよび投薬を、処置されている対象のニーズに基づいて容易に決定することができる。

【0223】

本明細書に挙げた論文、刊行物および特許はすべて、あたかも個々の論文、刊行物または特許が、参照により具体的に個々に示されて組み入れられているかのように参照により本明細書に組み入れられ、刊行物を挙げたことに関連する方法および/または材料を開示および説明するために参照により本明細書に組み入れられる。しかしながら、本明細書に

において挙げた参考文献、論文雑誌、刊行物、特許、特許公開公報および特許出願の言及はいずれも、これらが世界のいずれかの国の有効な先行技術を構成するか、または共通の一般的知識の一部を形成しているという是認またはなんらかの形態の示唆ではなく、そう解釈されるべきでない。

【0224】

本文中にそうでないことが示されていない限り、本明細書に記載の種々の特徴が任意の組合せで使用され得ることを具体的に意図する。

【0225】

特に定義していない限り、あらゆる本明細書において使用している科学技術用語は、本開示が属する技術分野の当業者に一般的に理解されているものと同じ意味を有するものとする。

【実施例】

【0226】

7.6 実験に基づく実施例

実施例1: SM17は外来性のマウス、サルおよびヒトのIL-17RBタンパク質に結合する

標準的な酵素結合イムノソルベントアッセイ (ELISA) 方法を使用し、IL-17RBタンパク質に対するSM17の種特異性を測定した。簡単には、ヒト、マウス、カニクイザルまたはアカゲザル由来のIL-17RBタンパク質 (R&D systems, Minneapolis, MN) をPBS中で2.5 µg/mlに希釈し、50 µlのIL-17RBタンパク質をELISAストリップの各ウェルに添加した。ストリップをパラフィルムで密封し、コーティングのために4℃で一晩インキュベートした。

翌日、ストリップを洗浄バッファー (PBS中0.05%のTween 20) で3回洗浄し、ウェル1つあたり100 µlのブロックバッファー (PBS中3%のBSA) で室温にて2時間ブロックした後、段階希釈SM17 (それぞれ10、2、0.4、0.08、0.016、0.0032および0.00064 µg/mlの終濃度の) を添加した。室温で2時間のインキュベーション期間後、結合されたSM17の量を、ペルオキシダーゼコンジュゲートヤギ抗ヒトF(ab')₂特異的抗体 (Jackson ImmunoResearch) およびTMB物質 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) の添加により、OD 450 nmにおいて、当業者に公知の標準的なELISAプロトコルに従って可視化した。

結果は、SM17がマウス、ヒト、カニクイザルおよびアカゲザル由来のIL-17RBタンパク質に同等の親和性で、用量応答様式で結合することを示す (表1および図1参照)。

【0227】

(表1) 異なる種に由来するIL-17RBに対する抗原結合の450nmにおける光学濃度

SM17 (µg/mL)	OD 450nm吸光度							
	マウス IL17RB		ヒト IL17RB		アカゲザル IL17RB		カニクイザル IL17RB	
10	2.67	2.61	1.82	1.88	1.57	1.59	1.33	1.37
2	2.46	2.44	1.74	1.61	1.40	1.45	1.13	1.12
0.4	1.68	1.61	1.10	1.14	1.12	1.17	0.89	0.97
0.08	0.78	0.64	0.58	0.44	0.51	0.58	0.72	0.74
0.016	0.25	0.31	0.17	0.13	0.27	0.17	0.34	0.35
0.0032	0.12	0.19	-0.07	-0.06	-0.09	0.01	0.04	0.13
0.00064	0.04	0.11	-0.16	-0.21	-0.10	-0.09	-0.06	0.11

【0228】

実施例2: SM17は他のIL17受容体サブユニットと交差反応しない

標準的なELISA法を使用し、他のヒトIL17受容体サブユニットに対するSM17の特異

性を測定した。同様に、異なる濃度（それぞれ0.4、0.08、0.016、0.0032および0.00064 $\mu\text{g/ml}$ の終濃度）の段階希釈SM17を、ヒトIL-17受容体サブユニットA、C、DおよびE（IL17RA、IL17RC、IL17RDおよびIL17RE）（R&D systems）のいずれかでコーティングされたELISAプレートのウェルに添加した。他の公知のヒトIL-17受容体サブユニット（IL17RA、IL17RC、IL17RDおよびIL17RE）に対するSM17の明瞭な結合は検出されなかった（表2および図2参照）。

【0229】

（表2）IL-17受容体ファミリーメンバーに対する抗原結合の450nmにおける光学濃度

SM17 ($\mu\text{g/ml}$)	OD 450nm吸光度									
	hIL17RA		hIL17RB		hIL17RC		hIL17RD		hIL17RE	
	ウェル 1	ウェル 2	ウェル 1	ウェル 2	ウェル 1	ウェル 2	ウェル 1	ウェル 2	ウェル 1	ウェル 2
0.4	0.21	0.22	1.26	1.31	0.25	0.18	0.22	0.08	0.08	0.05
0.08	0.00	0.06	0.79	0.64	0.02	-0.02	0.03	0.01	-0.04	0.00
0.016	0.01	-0.04	0.35	0.30	0.09	0.02	0.07	0.02	0.00	-0.04
0.0032	0.20	-0.03	0.16	0.07	0.03	-0.04	0.04	-0.04	-0.01	-0.02
0.00064	0.00	0.05	0.13	0.07	0.13	0.08	0.08	0.02	0.09	-0.16

10

20

【0230】

実施例3：SM17は、HEK293細胞の表面上に発現されたヒトおよびアカゲザル由来の天然状態のIL-17RBに結合する

完全長のヒトまたはアカゲザルのいずれかのIL-17RB（SinoBiological, 北京, 中国）でトランスフェクトされたHEK293細胞（ATCC, Manassas, VA）をSM17に対する結合について、フローサイトメトリーの標準的なプロトコルに従って調べた。IgG4アイソタイプ対照（Sino Biological）で染色した野生型HEK293を陰性対照として、およびゲーティング目的のために使用した。簡単には、 3×10^5 細胞の密度のHEK293細胞を6ウェルプレートの各ウェル内に播種した。翌日、ヒトまたはアカゲザルのIL-17RBの完全長のcDNAをまず、pCMV3-untagged発現プラスミド内に標準的な分子クローニング手法によってクローニングし、次いで、ヒトまたはアカゲザルのIL-17RBの発現プラスミドでHEK293細胞をリポフェクション（Lipofectamine 3000試薬; Thermo Fisher Scientific）によってトランスフェクトした。トランスフェクトされた細胞をトリプシン処理し、採集し、4%のパラホルムアルデヒドで固定した（5分間）。洗浄バッファー（PBS中3%のBSA）中1 $\mu\text{g/ml}$ のSM17またはヒトIgG4対照を、室温で30分間のインキュベーションのために懸濁細胞に添加した後、Alexa Fluor（登録商標）647コンジュゲートヤギ抗ヒトIgG特異的抗体（洗浄バッファー中1:2000の希釈度）（Jackson ImmunoResearch）を、BD FACSVerserセルアナライザー（Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ）を用いたフローサイトメトリー解析のために添加した。

30

40

ヒトIL17RB（hIL17RB-HEK293:46%）およびアカゲザルIL17RB（RhIL17RB-HEK293:39%）でトランスフェクトされたHEK293に対するSM17の結合が野生型HEK293（約7%）と比べて向上していることにより、SM17は、HEK293細胞上に発現された天然状態のヒトまたはアカゲザルIL17RBに結合することが示された（図3）。

【0231】

実施例4：SM17は、IL-2およびIL-25とともに共培養されたヒトPBMCからのIL-5放出を阻害する

IL-2およびIL-25（PeproTech, Cranbury, NJ）とともに共培養されたPBMC（Ixc

50

ells, San Diego, CA) は、喘息の病状を悪化させることが公知のサイトカインである IL-5 の放出をもたらす得る。したがって、IL-2/IL-25 処理したヒト PBMC からの IL-5 放出に対する SM17 の阻害効果を評価した。簡単には、凍結保存されたヒト PBMC を解凍し、10% のウシ胎仔血清 (Thermo Fisher Scientific) を補給した RPMI-1640 培地で培養した。0.16 ng/mL ~ 5 mg/mL の範囲の濃度の段階希釈 SM17 を 4×10^5 個のヒト PBMC に、10 単位/mL の IL-2 および 10 μ g/mL の IL-25 の存在下で添加した。非特異的ヒト IgG4 (SinoBiological) を対照抗体として使用した。処理した細胞を 72 時間、37°C でインキュベートし、培養上清中の IL-5 の放出レベルを標準的な ELISA アッセイ (R&D systems) によって測定した。結果により、SM17 は、IL-2 および IL-25 により誘導されるヒト PBMC からの IL-5 の放出を用量依存的様式で抑制することが示された (図 4)。結果を平均 $\pm$ SEM として示す。一元配置 ANOVA、ダネットの多重比較検定、*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$ 。

10

【0232】

実施例 5: 腎癌細胞株 TK-10 における SM17 による IL-8 放出の阻害

ヒト IL-25 (PeproTech) および TNF α (R&D systems) で処理されたヒト腎癌細胞株 TK-10 (NCI-60, NIH, Bethesda, MD) は、自然免疫系の応答における免疫反応の重要なメディエータである、好中球走化性因子としても公知の IL-8 の放出をもたらす得る。したがって、IL-25/TNF α 処理 TK-10 細胞からの IL-8 放出に対する SM17 およびそのマウス対応物 (D9.2) の阻害効果を評価した。簡単には、1 mg/mL の濃度の SM17 (ヒト IgG4 アイソタイプ、SinoMab BioScience Limited, 香港, 中国)、SM17-IgG1 (ヒト IgG1 アイソタイプ、SinoMab BioScience Limited) およびそのマウス対応物 (D9.2、SinoMab BioScience Limited) を 2×10^4 個の TK-10 細胞に、100 ng/mL の IL-25 および 10 ng/mL の TNF α の存在下で添加した。非特異的ヒト IgG1 (SM03、抗 CD22 キメラ抗体、SinoMab BioScience Limited) を対照抗体として使用した。処理した細胞を OptiMEM (Thermo Fisher Scientific) 中で 24 時間または 48 時間、37°C で培養し、培養上清中の IL-8 のレベル放出を標準的な ELISA アッセイにより市販のキット (R&D systems) を用いて測定した。結果により、1 mg/mL では、SM17、SM17-IgG1 または D9.2 のいずれも両方の時間点において、IL-25/TNF α 誘発 TK-10 細胞による IL-8 の放出を効率的に抑制し得ることが示された (図 5)。

20

【0233】

実施例 6: SM17 の抗原 (IL17RB) 結合速度論の測定

Bio-Layer Interferometry 解析 (Octet Red96 system, Sartorius) を使用し、ヒトおよびカニクイザルの IL17RB タンパク質 (R&D systems) に対する SM17 の結合親和性を測定した。簡単には、SM17 (20 μ g/mL) をバイオセンサー上に抗ヒト Fab CH1 との相互作用によって固定化し、段階希釈した Cyno-IL17RB および Human-IL17RB (それぞれ 158.7 nM、79.4 nM および 39.7 nM の濃度の) を、会合曲線および解離曲線をプロットするための Octet Red96 システムの標準的な操作プロトコルに従って逐次添加した。無関連の抗体 (SM03、抗ヒト CD22 キメラ IgG1 抗体、SinoMab BioScience Limited) を対照参照として使用した。それぞれの抗体の K_a 、 K_{dis} および K_D の値を以下の表 3 にまとめる。注目すべきことに、 K_D はピコモル濃度から一桁ナノモル濃度の範囲内である。

30

40

【0234】

(表 3) ヒトおよびカニクイザルの IL-17RB に対する SM17 の結合速度論

50

IL17RB	治験	K_a (1/Ms)	K_{dis} (1/s)	K_D (nM)	範囲 (nM)
ヒト	1	2.22×10^5	4.30×10^{-5}	0.194	0.194-0.546
	2	1.83×10^5	9.98×10^{-5}	0.546	
カニクイザル	1	3.21×10^4	2.73×10^{-5}	0.852	0.852-5.11
	2	4.21×10^4	2.15×10^{-4}	5.11	

【0235】

10

実施例7: マウスにおけるオボアルブミン誘発性喘息に対するSM17の治療効果

メスBALB/cマウスをオボアルブミンにより、マウスにおいて喘息様症状を惹起するように誘導した。簡単には、マウスを各々、1 mgの水酸化アルミニウムを含む200 mLの総容量中で乳化させた10 mgのオボアルブミン（OVA）に腹腔内（IP）注射によって0日目および12日目に感作させた。マウスを、1群あたり8匹のマウスの6つの群に分けた。感作マウスを滅菌水中5%のエーロゾル化OVAに20分間/日で連続6日間（19、20、21、22、23および24日目に）曝露した。未処置マウスには霧化した水を20分間/日で連続6日間、吸入させた。次いでマウスに異なる濃度のSM17、PBS（対照）またはデキサメタゾン（Dex）を4時間i.v.注射した後、エーロゾル抗原刺激を1日1回（19～24日目に）行なった。

20

25日目（最後のOVA抗原刺激の24時間後）、マウスをTelazol（登録商標）（20～40 mg/kg i.p.）で麻酔し、気管カニューレを介してコンピュータ制御人工呼吸器に接続した。呼息/吸息の時間および呼吸数を、それぞれ、1.5:1および90回/分に事前設定した。定常なベースラインが確立された後、肺抵抗（RL）を記録して塩化メタコリン勾配（0.025および0.05 mg/kg体重）に対するマウスの反応を評価した；塩化メタコリンは外頸静脈内に5分間隔で細針によって注射した。5 mg/kgのSM17または1 mg/kgのDexで処置されたマウスでは気道過敏性が予防された。各OVAエーロゾル適用の前における1 mg/kgまたは3 mg/kgのSM17の投与により、メタコリンでの抗原刺激後のAHRにおいて軽度だが有意ではない消失がもたらされた。図6に示された結果が示すように、SM17の治療効果は用量依存性である。25日目に致死させたマウスからのBALFを回収し、BALFの炎症細胞数および炎症性サイトカインの濃度を測定した。

30

また、1、3および5 mg/kgで投与したSM17はBALF中のIL-5レベルを有意に低下させた。5 mg/kgで投与したSM17は、BALF中のIL-13レベルおよび好酸球数を有意に低下させた（図7）。5 mg/kgのSM17およびDexは肺浸潤好酸球の数を有意に減少させることがわかった。結果を平均±SEMとして示す。一元配置ANOVA、ダネットの多重比較検定、*:P<0.05; **:P<0.01。Dex=デキサメタゾン。図9は、種々の適応症を処置するSM17の作用機序案を示す。

【0236】

実施例8: 抗アレルギー二重特異性結合タンパク質（bsBp）の構築および発現

SM17の軽鎖（SEQ ID NO:33）をpcDNA3.3発現ベクター内に、TAクローニング（Thermo Fisher Scientific）によりクローニングする。特定のアレルギー結合タンパク質（例えば、アレルギー結合受容体またはアレルギー特異的抗体のscFv）の配列に操作的に連結されたSM17重鎖コードcDNAを遺伝子合成し（Genscript Biotech Corp., Piscataway, NJ）、pEGFP-N1発現ベクター（Clontech Laboratories, Mountain View, CA）のNheI/NotIクローニング部位内にクローニングする（図10a）。特定のSM17-アレルギー結合タンパク質の重鎖を含む発現ベクターおよびSM17軽鎖の発現ベクターでexp CHO-S細胞を、製造業者の仕様書（Thermo Fisher Scientific）に従ってコトランスフェクトする。特定のアレルギー結合部分に連結されたSM17抗体を含む特定の二重特異性結合タンパク質（bsBp）を、トランスフェクション後12日目に採集し、プロテインAアフィニティクロマトグラフィーによって精製する。精製bsBpの還元S

40

50

DS-PAGEを、ほとんどの二重特異性抗体が自然状態でインタクトであることを示す図10bに示す。bsBpの重鎖配列および軽鎖配列を以下の表4にまとめる。

【0237】

(表4) bsBpおよびモノクローナル抗体のアミノ酸配列

構築物	HC配列ID	LC配列ID
SM17-抗TSLP 1# bsBp	60	33
SM17-抗TSLP 2# bsBp	61	33
SM17-抗TSLP 3# bsBp	62	33
SM17-抗IL-33 1# bsBp	63	33
SM17-抗IL-33 2# bsBp	64	33
SM17-抗IL-33 3# bsBp	65	33
抗TSLP抗体1#	75	76
抗TSLP抗体2#	77	78
抗TSLP抗体3#	79	80
抗IL-33抗体1#	81	82
抗IL-33抗体2#	83	84
抗IL-33抗体3#	85	86
SM17-hTSLPR	75	33
SM17-hST2	74	33

10

20

【0238】

実施例9: 抗アレルギーbsBpの特異性

bsBpの結合特異性を標準的なELISAアッセイによって評価した。簡単には、ELISAストリップを、IL17RB、IL-33またはTSLP (R&D systems) を含む2 $\mu\text{g/mL}$ の終濃度のそれぞれの標的抗原でコーティングした。二重特異性抗体を33.5 nMで、所望の抗原でコーティングしたELISAストリップに添加した。室温下で2時間のインキュベーション後、ELISAストリップをPBSで5回洗浄した。結合を、ヤギ抗ヒトF(ab')₂特異的ホースラディッシュペルオキシダーゼ (HRP) コンジュゲート二次抗体 (1:5000の希釈度、Jackson ImmunoResearch)、続いてTMB物質の溶液 (Sigma-Aldrich-) の添加により標準的な手順に従って可視化した (図11)。bsBpの抗原結合特異性を図11および以下の表5にまとめる。結果は、IL17RBおよび当初の設計どおりの設計アレルギーに対する特異性を示す。SM17-ヒトTSLPRの結果は、収量が少なすぎて検出できなかったため示していない。

30

【0239】

(表5) ELISAでのbsBpの抗原結合特異性

40

50

ELISA ストリップ上に コーティング した抗原	SM17- 抗 TSLP 1#	SM17- 抗 TSLP 2#	SM17- 抗 TSLP 3#	SM17- 抗 IL-33 1#	SM17- 抗 IL-33 2#	SM17- 抗 IL-33 3#		SM- 17- ヒト ST2	SM17
TSLP	+++	++	+++	N/A	N/A	N/A		-	+
IL- 17RB	+++	+++	+++	+++	+++	+++		+++	+++
IL-33	N/A	N/A	N/A	+++	+++	+++		+++	-

10

bsBpの+/+++の半定量的評価段階での特異的抗原結合親和性の強度（-=結合なし、
+、++、+++＝弱い、中程度の、強い結合）、N/Aは結合親和性なしを示す。

【0240】

実施例10：二重特異性結合タンパク質のアラーミン結合速度論

標的化されるアラーミンに対するbsBpの結合親和性を、bio-Layer Interferometry解析（Octet Red96システム,Sartorius）を用いて測定した。bsBpまたはSM17（
20 μg/mL）をバイオセンサー上に抗ヒトFab CH1領域に対する結合によって固定化し
;段階希釈したヒトのIL33およびTSLP（158.7nM、79.4nM、39.7nM）（R&D systems）を製造業者の仕様書に従って添加し、会合曲線および解離曲線をプロットした。
。無関連の抗体（SM03、抗ヒトCD22キメラIgG1抗体、SinoMab BioScience Limited、20 μg/mL）を用いて固定化したバイオセンサーを対照参照として使用した。それぞれの二重特異性結合タンパク質の予測されるKa、KdisおよびKDの値を以下の表6にまとめる。

20

【0241】

（表6）ヒトのTSLPおよびIL-33に対するbsBpの結合速度論

TSLP	K _a (1/Ms)	K _{dis} (1/s)	K _D (nM)
SM17-抗TSLP 1# bsBp	4.72×10^5	2.41×10^{-4}	0.511
SM17-抗TSLP 2# bsBp	3.74×10^5	$<1 \times 10^{-7}$	<0.001
SM17-抗TSLP 3# bsBp	4.81×10^5	3.17×10^{-5}	0.0658
SM17-TSLPR	N/A	N/A	N/A
SM17	1×10^4	1×10^{-3}	100
IL33	K _a (1/Ms)	K _{dis} (1/s)	K _D (nM)
SM17-抗IL-33 1# bsBp	9.81×10^3	2.83×10^{-4}	28.9
SM17-抗IL-33 2# bsBp	3.73×10^4	$<1 \times 10^{-7}$	0.0259
SM17-抗IL-33 3# bsBp	2.27×10^4	$<1 \times 10^{-7}$	0.0425
SM17-ST2	5.56×10^5	2.26×10^{-4}	0.407
SM17	2.72×10^4	1.79×10^1	659000

30

40

50

SM17-ヒトTSLPRの結合親和性は、収量が少なすぎるため示していない。

【0242】

実施例11: アラーミンによるヒトPBMCからのIFN γ 、CCL8、CCL17、IL-5およびIL-13の放出の誘導ならびにサイトカイン放出に対するSM17の阻害効果

ヒトPBMC (4 $\times$ 10⁵個/群、Ixcells) をIL-2 (10単位/mL、PeproTech) および種々のアラーミン/アラーミンの組合せとともにインキュベートし、アレルギー性疾患時の炎症誘発性サイトカイン放出を模倣した。IL-5およびIL-13の放出では、PBMCをIL-2および3つのアラーミン (すべて10 ng/ml) とともに3日間インキュベートした。CCL17放出では、PBMCをTSLP (10 ng/ml) とともに1日インキュベートした。CCL8およびIFN γ の放出では、PBMCをIL-12 (10ng/ml、Sino Biological) およびIL-33 (10 ng/ml) とともに1日インキュベートした。細胞をSM17 (5 μ g/ml) またはIgG4アイソタイプ対照 (5 μ g/ml) で1時間、前処理した後、サイトカインを添加した。

上清を収集し、サイトカイン濃度をELISAキット (R&D systems) によって測定した。このような確立されたアッセイを使用し、SM17およびbsBpの効力を試験した。SM17は、全アラーミン刺激PBMC培養物においてIL-5およびIL-13の分泌を有効に抑制することができた。しかしながら、CCL17、CCL8およびIFN γ の放出アッセイでは、IgG4アイソタイプ対照と比べてSM17処理の阻害効果は示されなかった (図12参照)。結果を単位pg/mlの絶対量で示した。

【0243】

実施例12: 誘導ヒトPBMCからのサイトカインおよび走化性因子の放出の抑制に対する異なる二重特異性結合タンパク質の効力

SM17、3つの異なるSM17-抗IL33 bsBpおよび3つの異なるSM17-抗TSLP bsBp (すべて5 μ g/mlの) をヒトPBMC培養物に、上記の実施例11に記載のようなIFN γ 、CCL8、CCL17およびIL-5の放出を誘導するはずである条件下で添加した。誘導PBMCにおいて得られた上清中の異なるサイトカインおよび走化性因子のレベルを、標準的なELISA法を用いて評価した。結果は、異なるペアのSM17/抗TSLPおよびSM17/抗IL33のbsBpがIFN γ 、CCL8、CCL17、IL-5およびIL-13の放出の抑制において、SM17単独で観察されるものと比較した場合、向上した効果または/および相乗効果を示すことを示す (図13参照)。具体的には、IL-5放出アッセイでは、SM17-抗IL-33 3#が、SM17処理と比べたとき最も強い抑制効果を示した。CCL8放出アッセイでは、SM17-抗IL-33 1#とSM17-抗IL-33 3#の両方が、SM17と比べたとき、より強い抑制効果を示した。IFN γ 放出アッセイでは、3つすべてのSM17-抗IL-33 bsBpが、SM17と比べたとき、より強い抑制効果を示した。CCL17放出アッセイでは、SM17-抗TSLP 1#およびSM17-抗TSLP 3#の両方のbsBpが、SM17処理と比べたとき、より強い抑制効果を示した。異なるサイトカイン放出アッセイにおけるbsBpの効力を図13および表7にまとめる。

【0244】

(表7) サイトカイン放出アッセイにおけるbsBpの効力

サイトカイン	SM17- 抗TSLP 1# bsBp	SM17- 抗TSLP 2# bsBp	SM17- 抗TSLP 3# bsBp	SM17- 抗IL-33 1# bsBp	SM17- 抗IL-33 2# bsBp	SM17- 抗IL-33 3# bsBp	SM17
IL-5	++	++	+	++	++	+++	++
IL-13	+++	++	+++	++	++	++	++
CCL-8	Nil	Nil	Nil	+	+	++	-
CCL-17	+	+	+	Nil	Nil	Nil	-
IFN γ	Nil	Nil	Nil	++	++	+	-

10

20

30

40

50

bsBpの+/++の半定量的評価段階での特異的サイトカイン阻害の強度（-=阻害なし、+、++、+++ =弱い、中程度の、強い阻害）。Nil:未調査。

【0245】

実施例13: ILC2に対するアラミンの増殖促進効果

単離されたヒトILC2細胞はアラミンに応答して増殖し得る。ヒトILC2を新鮮ヒトPBMCから、EasySep（商標）Human ILC2 Isolation Kit（STEMCELL Technologies Inc. Cambridge, MA）によって濃縮した。次いで、濃縮されたILC2を、10%のヒトAB血清（Sigma）を含むRPMI1640培地（Thermo Fisher Scientific）中で培養した。IL-2（10単位/mL）をIL-25（10 ng/mL）またはTSLP（10 ng/mL）またはIL-33（10 ng/mL）またはこれらの3つのアラミンの組合せと一緒にILC2培養物に7日間、添加した後、ILC2細胞集団の変化をフローサイトメトリー（BD FACSVerser）により、ILC2に対する系列特異的抗体パネル（CRTH2+、IL-7Ra+; BioLegend, San Diego, CA）を用いて測定した。結果は、ILC2増殖の主要寄与因子がIL-33であり、すべてのアラミンの組合せによってILC2の拡大増殖がさらに増強されることを示す（図14参照）。

【0246】

実施例14: デキサメタゾンおよびbsBpによるヒトPBMCにおけるILC2細胞集団およびTh2細胞集団の抑制

アラミンは協調して作用してILC2細胞およびTh2細胞の機能を細胞集団において向上させる、例えば増大させることが公知であるが、ステロイド、例えばデキサメタゾン（Dex）はこのような効果を打ち消し、2型免疫応答の緩和をもたらす得る [Jia, Yi et al. American Journal Of Respiratory Cell And Molecular Biology, vol.55, 5 (2016): 675-683]。ILC2細胞集団およびTh2細胞集団はフローサイトメトリー（BD FACSVerser）により、当業者に公知である標準的な手順に従って測定され得る。本明細書において、ILC2細胞およびTh2細胞の細胞集団を、IL-2（10単位/mL）と3つのアラミン（10 ng/mL）の組合せによって5日間、実験的に増強させた。結果は、Dexは、ヒトPBMC培養物においてTh2細胞集団（CD4+GATA3+集団、抗CD4 PE抗体（BioLegend）および抗GATA3 APC抗体（Abcam, Cambridge, UK）によってゲーティング、を有意に低減させ得るが、ILC2集団（lin-IL-7Ra+CRTH2+、抗IL-7Ra percp/シアニン5.5抗体および抗CRTH2 FITC抗体、BioLegendによってゲーティング）はそうでないことを示す（図15参照）。さらに、BsBpの添加によりILC2細胞集団が有意に低減され、bsBpの効力を図15および以下の表8にまとめる。

【0247】

（表8）ILC2およびTh2の増殖アッセイにおけるbsBpの効力

細胞型	SM17- 抗 TSLP 1# bsBp	SM17- 抗 TSLP 2# bsBp	SM17- 抗 TSLP 3# bsBp	SM17- 抗IL- 33 1# bsBp	SM17- 抗IL- 33 2# bsBp	SM17- 抗IL- 33 3# bsBp	SM17	Dex
ILC2	+	+++	++	+++	+++	+++	++	+
Th2	++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++

bsBpの+/++++の半定量的評価段階での細胞増殖阻害（-=阻害なし、+、++、+++ =弱い、中程度の、強い阻害）

【0248】

実施例15: 樹状細胞効力アッセイ

炎症上皮由来のTSLPは樹状細胞（DC）の成熟を促進させ、CCL17を介するTh2応答をプライミングし、これによりCD4+ T細胞の走化性を誘導して炎症を媒介する（Kitaj

ima and Ziegler, 2013. “Cutting Edge: Identification Of The Thymic Stromal Lymphopoietin-Responsive Dendritic Cell Subset Critical For Initiation Of Type 2 Contact Hypersensitivity”. J Immunol 191:4903-4907; Bleck et al. 2015. “Co-Expression Of Type 2 Immune Targets In Sputum-Derived Epithelial And Dendritic Cells From Asthmatic Subjects”. J Allergy Clin Immunol 136:619-627.e5)。正常ヒトDCをLonza (Bend, OR) から入手した。このDCをLGM-3培地 (Lonza) 中で培養した。TSLP (10 ng/mL) をDC培養物に5日間、5 µg/mLのSM17、IgG4アイソタイプ対照 (Sino Biological)、SM17-TSLPR bsBp (TSLP受容体の細胞外ドメインと融合されたSM17) またはSM17-抗TSLP bsBp 2#の存在下で添加する。上清を採集し、CCL17レベルをELISAにより、製造業者の仕様書 (R&D systems) に従って測定する。結果は、二重特異性のSM17-TSLPRおよびSM17-抗TSLP bsBp 2#がDCにおけるTSLP誘発性CCL17産生の抑制において効率的であることを示す (図16)。SM17、IgG4およびbsBpの効力を以下の表9にまとめる。

10

20

【0249】

(表9) 樹状細胞でのCCL17放出アッセイにおけるbsBpの効力

構築物	SM17- 抗 TSLP 1# bsBp	SM17- 抗 TSLP 2# bsBp	SM17- 抗 TSLP 3# bsBp	SM17	IgG4
効力	-	+	-	-	-

bsBp、SM17およびIgG4アイソタイプの+/++の半定量的評価段階でのCCL17放出の阻害 (- = 阻害なし、+、++、++ = 弱い、中程度の、強い阻害)

【0250】

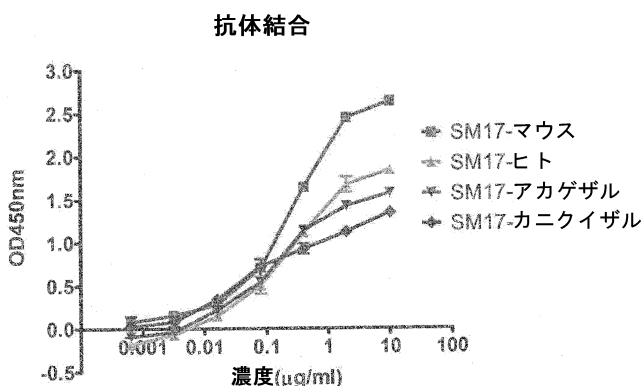
本発明を詳細に、その具体的な態様に関して説明したが、当業者には、本発明において本発明の趣旨および範囲から逸脱することなく種々の変更および修正が行なわれ得ることは明らかであろう。

【図面】

30

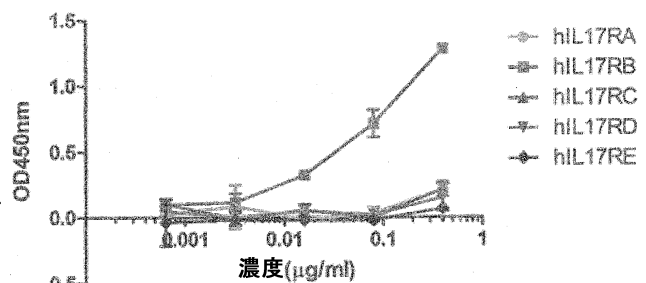
【図1】

異なる種に由来するIL-17Rβに対するSM17結合の用量依存曲線



【図2】

IL-17受容体ファミリーメンバーに対するSM17の結合特異性

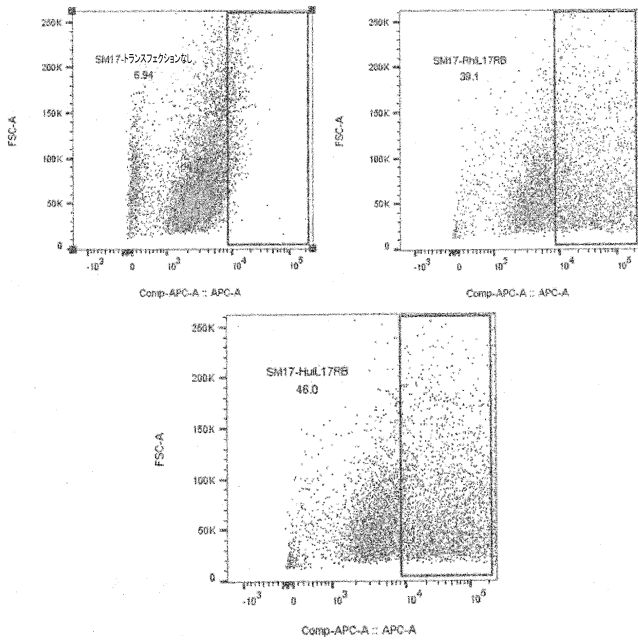


40

50

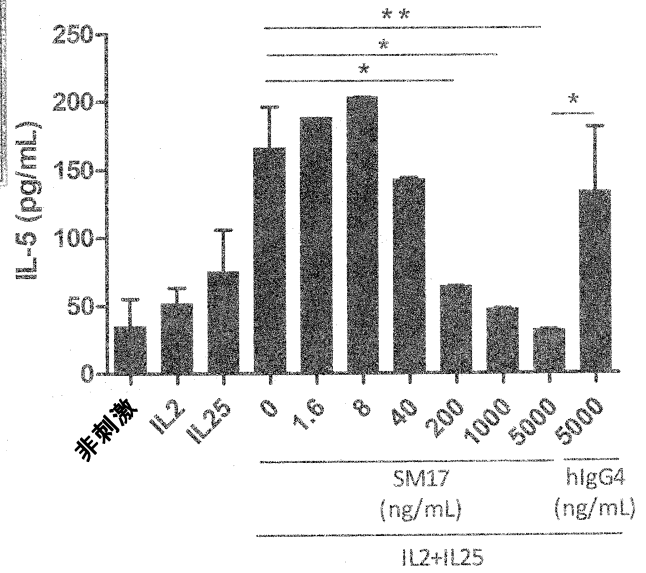
【図 3】

天然状態のヒトII-17RBに対するSM17結合



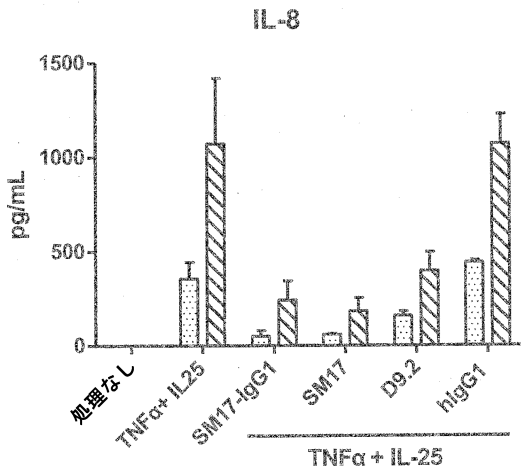
【図 4】

ヒトPBMC培養物におけるSM17によるIL-5の用量依存的阻害



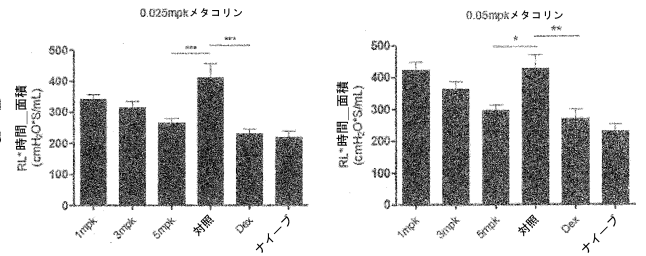
【図 5】

TK-10細胞からのIL-8産生がSM17によって阻害された



【図 6】

OVA誘発性マウス実験喘息の気道過敏性の抑制におけるSM-17の効果



10

20

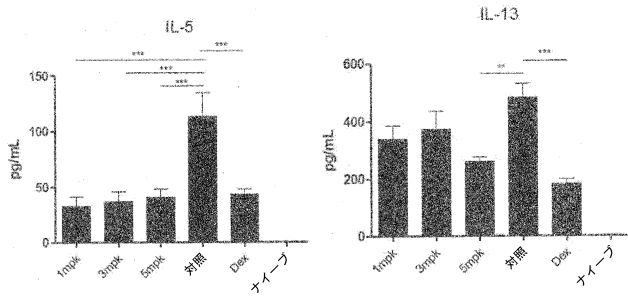
30

40

50

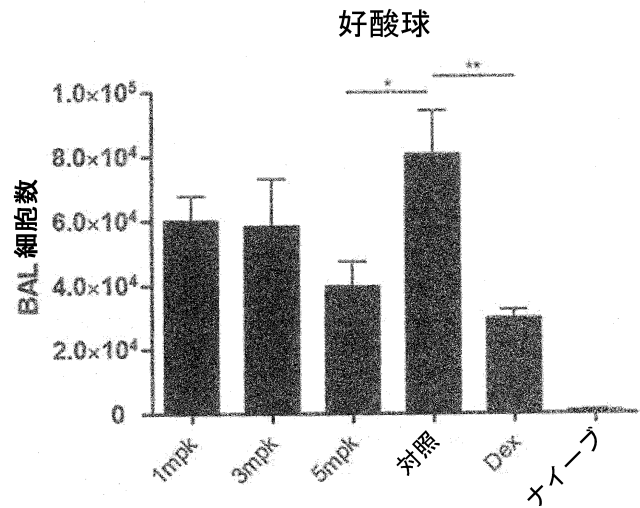
【図 7】

OVA誘発性マウス実験喘息でのBALFのIL-5およびIL-13のレベルの抑制におけるSM-17の効果



【図 8】

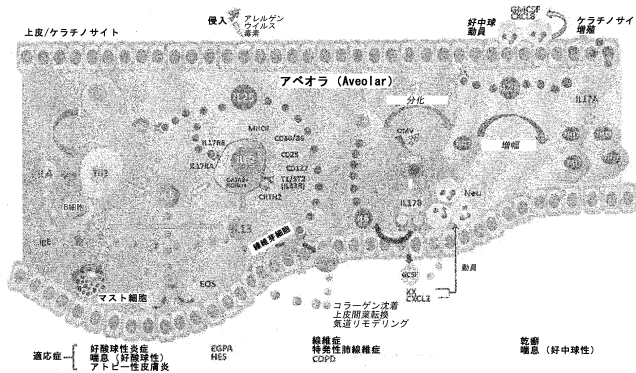
OVA誘発性マウス実験喘息でのBALFの好酸球細胞数の抑制におけるSM-17の効果



10

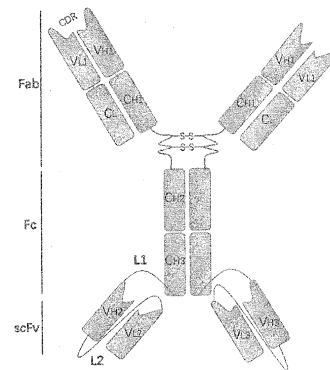
【図 9】

IL25/SM17相互作用の様式および考えられ得る疾患適応症

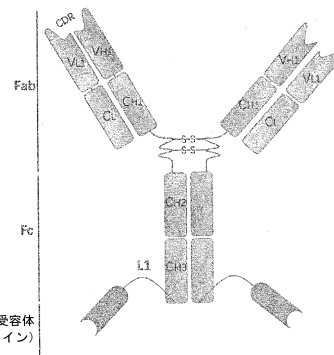


【図 10 A】

二重特異性結合タンパク質（二重特異性抗体および抗体-受容体融合タンパク質）のデザイン



30



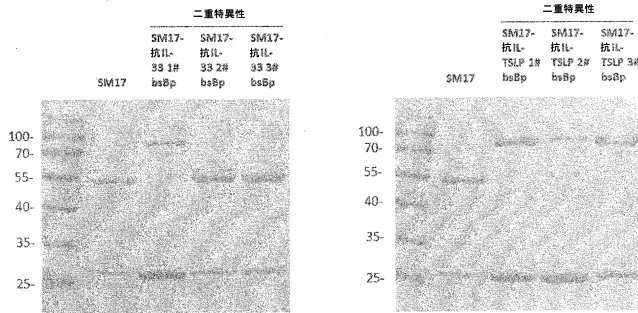
アラミン受容体
(細胞外ドメイン)

40

50

【図 10 B】

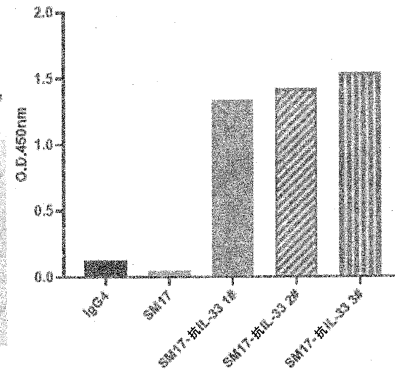
ExpiCHO一過性トランスフェクションシステムから精製されたSM17、SM17-抗TSLPおよびSM17-抗IL-33 bsBpの還元SDS-PAGE



【図 11】

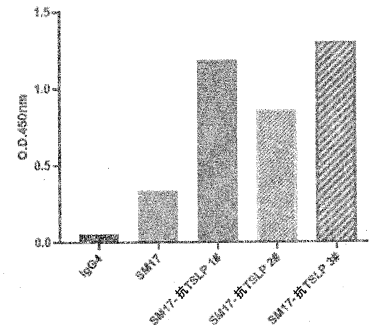
抗アレルギー二重特異性結合タンパク質の抗原結合

ヒトIL-33に対する結合親和性



10

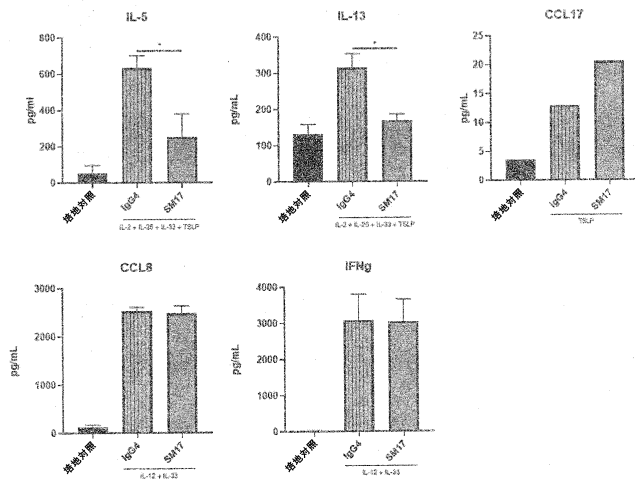
ヒトTSLPに対する結合親和性



20

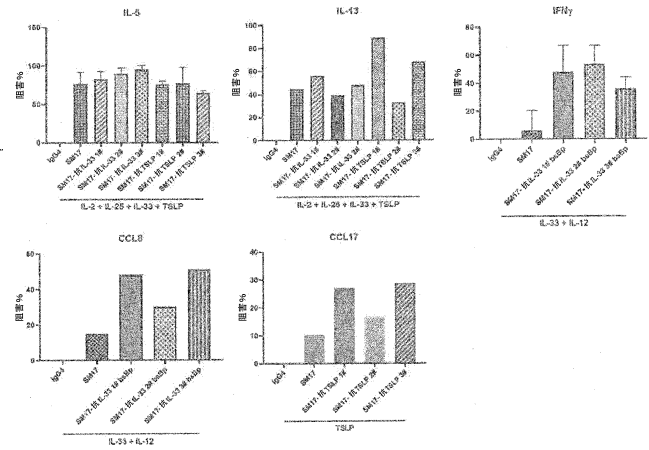
【図 12】

アレルギーによるヒトPBMCからのIFN γ 、CCL8、CCL17、IL-5およびIL-13の誘導ならびにサイトカイン放出に対するSM17の阻害効果



【図 13】

誘導ヒトPBMCからのサイトカインおよび走化性因子の放出に対する異なる二重特異性結合タンパク質の効力



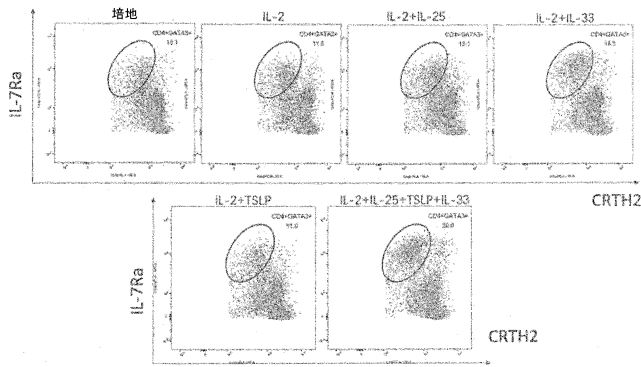
30

40

50

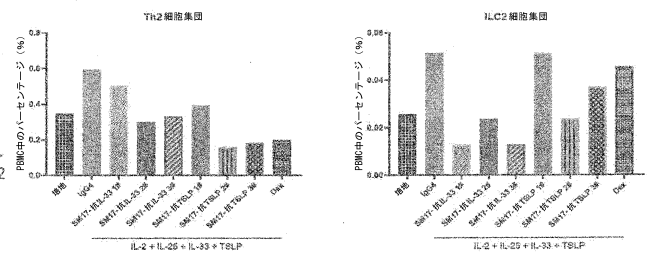
【図 1 4】

ILC2に対するアラミンの増殖促進効果



【図 1 5】

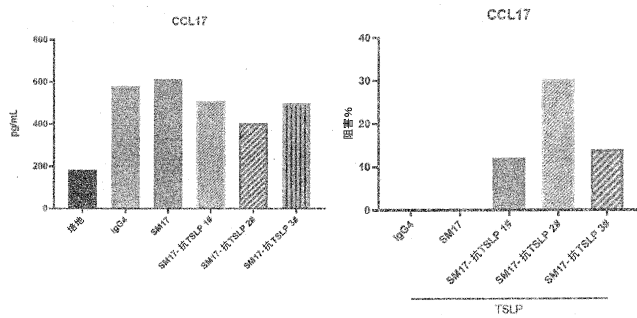
ステロイドホルモンに対するILC2およびTh2細胞の応答の結果



10

【図 1 6】

樹状細胞効力アッセイの結果



20

【配列表】

2025508835000001.xml

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/077870

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K39/395(2006.01)i; C07K16/28(2006.01)i; C07K16/24(2006.01)i; A61K38/01(2006.01)i; A61P37/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K, C07K, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNTEXT,WPABS,WPABSC,ENTXT,ENTXTC,DWPL,VEN,CNKI,WANFANG,ISI Web of Science, Elsevier Science, GenBank, EMBL-EMI, STN, Chinese Patent Biological Sequence Retrieval System: Alarmins, stressorins, bispecific, binding protein, antibody, IL-25, IL-17RB, IL-33, AMPs, HMG, HMGB, HMGN, HMGA, HMGB-1, TSLP, IL-17RB, ST2, TSLPR, IgG, sc Fv, search on SEQ ID NOs: 1-6, 32-33, 60-75

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2013287777 A1 (DUFFY KAREN, et al.) 31 October 2013 (2013-10-31) see claims 1-5, 13, 36-37, and description, paragraphs [0005], [0044]-[0046] and [0189]	1-15, 19-22
Y	US 2013287777 A1 (DUFFY KAREN, et al.) 31 October 2013 (2013-10-31) see claims 1-5, 13, 36-37, and description, paragraphs [0005], [0044]-[0046] and [0189]	16
X	US 2021284725 A1 (GENENTECH INC) 16 September 2021 (2021-09-16) see description, paragraphs [0288], [0425] and [0427]	1-15, 19-22
Y	US 2021284725 A1 (GENENTECH INC) 16 September 2021 (2021-09-16) see description, paragraphs [0288], [0425] and [0427]	16
PY	WO 2022101489 A1 (RES & INNOVATION UK) 19 May 2022 (2022-05-19) see description, page 41, SEQ ID NOs: 71 and 81	16
A	US 2016083466 A1 (REGENERON PHARMA) 24 March 2016 (2016-03-24) see claims 1-42	1-22

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

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“D” document cited by the applicant in the international application

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

02 June 2023

Date of mailing of the international search report

11 June 2023

Name and mailing address of the ISA/CN

CHINA NATIONAL INTELLECTUAL PROPERTY
ADMINISTRATION
6, Xitucheng Rd., Jijmen Bridge, Haidian District, Beijing
100088, China

Authorized officer

YUAN, Shi

Telephone No. (+86) 010-62411598

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CN2023/077870
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2018037644 A1 (PFIZER) 08 February 2018 (2018-02-08) see claims 1-20	1-22

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CN2023/077870
Box No. I	Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)	
1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing: a. ☒ forming part of the international application as filed. b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)), ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.		
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.		
3. Additional comments:		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CN2023/077870
Box No. II	Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)	
This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:		
1.	☒ Claims Nos.: 1-22 because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely: Claims 1-22 relate to a method of treating a disease or disorder to allergy in a subject. The subject matter of claims 1-22 is the case set forth in PCT Regulation 39.1 (iv), and might be reasonably expected to be directed to use of a bispecific binding protein in the manufacture of a medicament for treating a disease or disorder to allergy in a subject. The search report is carried out in said condition.	10
2.	☐ Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:	
3.	☐ Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).	20
		30
		40
		50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/077870

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
US	2013287777	A1	31 October 2013	LT	2844292	T	25 November 2019
				UA	118336	C2	10 January 2019
				AU	2017202610	A1	11 May 2017
				AU	2017202610	B2	13 June 2019
				AU	2017202610	B9	20 June 2019
				HRP	20191884	T1	07 February 2020
				HK	1208182	A1	26 February 2016
				AU	2013256645	A1	13 November 2014
				AU	2013256645	B2	08 June 2017
				PT	2844292	T	26 November 2019
				EP	3597219	A1	22 January 2020
				EA	201491996	A1	30 April 2015
				EA	031047	B1	30 November 2018
				JP	2018064560	A	26 April 2018
				JP	6622274	B2	18 December 2019
				BR	112014027165	A2	18 July 2017
				IL	235401	A0	31 December 2014
				IL	235401	B	29 October 2020
				PE	20150641	A1	11 May 2015
				NI	201400125	A	30 November 2016
				WO	2013165894	A2	07 November 2013
				WO	2013165894	A3	27 March 2014
				UY	34774	A	29 November 2013
				US	2019062439	A1	28 February 2019
				US	10450377	B2	22 October 2019
				JP	2019162136	A	26 September 2019
				CA	2871948	A1	07 November 2013
				CA	2871948	C	08 September 2020
				NZ	740221	A	29 November 2019
				IL	254569	A0	30 November 2017
				IL	254569	B	29 October 2020
				US	2013336980	A1	19 December 2013
				US	9090694	B2	28 July 2015
				PH	12014502435	A1	12 January 2015
				DK	2844292	T3	21 October 2019
				PL	2844292	T3	31 March 2020
				SG	10201608525	SA	29 December 2016
				MX	2014013200	A	08 December 2014
				MX	358134	B	06 August 2018
				US	2017066831	A1	09 March 2017
				US	9951137	B2	24 April 2018
				KR	20200037886	A	09 April 2020
				KR	102147140	B1	25 August 2020
				ECSP	14025178	A	31 August 2015
				CY	1122308	T1	27 January 2021
				AR	090909	A1	17 December 2014
				TW	201345923	A	16 November 2013
				TWI	589588	B	01 July 2017
				EA	201891264	A2	30 November 2018
				EA	201891264	A3	28 February 2019

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2022)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/077870

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		TW 202019969 A	01 June 2020
		TWI 700299 B	01 August 2020
		JP 2015516817 A	18 June 2015
		JP 6283354 B2	21 February 2018
		SG 11201407028 WA	29 January 2015
		SI 2844292 T1	28 February 2020
		EP 2844292 A2	11 March 2015
		EP 2844292 A4	25 May 2016
		EP 2844292 B1	21 August 2019
		MY 166062 A	22 May 2018
		NZ 702136 A	31 March 2017
		ES 2755094 T3	21 April 2020
		MX 2018009430 A	02 September 2020
		PH 12018501839 A1	14 September 2020
		RS 59511 B1	31 December 2019
		KR 20150008152 A	21 January 2015
		HUE 045864 T2	28 January 2020
		NZ 729913 A	27 July 2018
		CL 2014002955 A1	16 January 2015
		US 9212227 B2	15 December 2015
		CO 7240389 A2	17 April 2015
		TW 201730216 A	01 September 2017
		TWI 687440 B	11 March 2020
		CR 20140488 A	12 January 2015
US 2021284725 A1	16 September 2021	CA 3174680 A1	16 September 2021
		BR 112022018254 A2	25 October 2022
		KR 20220152262 A	15 November 2022
		CR 20220461 A	21 October 2022
		JP 2023517345 A	25 April 2023
		CO 2022014150 A2	08 November 2022
		PE 20230252 A1	07 February 2023
		EP 4118114 A1	18 January 2023
		IL 296256 A	01 November 2022
		CL 2022002429 A1	03 March 2023
		WO 2021183849 A1	16 September 2021
		WO 2021183849 A8	11 November 2021
		TW 202144410 A	01 December 2021
		AU 2021236306 A1	15 September 2022
WO 2022101489 A1	19 May 2022	GB 202018015 D0	30 December 2020
US 2016083466 A1	24 March 2016	EP 3197914 A2	02 August 2017
		MA 40106 A1	29 June 2018
		SG 11201701712 WA	27 April 2017
		US 9840557 B2	12 December 2017
		AU 2015321517 A1	06 April 2017
		AU 2015321517 B2	18 February 2021
		CL 2018003608 A1	15 March 2019
		KR 20170063671 A	08 June 2017
		JP 2017533888 A	16 November 2017
		JP 6694877 B2	20 May 2020
		CO 2017003072 A2	30 June 2017

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/077870

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		WO 2016049000 A2	31 March 2016
		WO 2016049000 A3	06 May 2016
		JP 2020075926 A	21 May 2020
		JP 6916319 B2	11 August 2021
		CA 2961517 A1	31 March 2016
		CA 2961517 C	02 May 2023
		EA 201790441 A1	31 August 2017
		EA 036658 B1	04 December 2020
		PH 12017500403 A1	17 July 2017
		US 2020262912 A1	20 August 2020
		US 11542326 B2	03 January 2023
		MX 2017003841 A	23 February 2018
		US 2018057583 A1	01 March 2018
		US 10640558 B2	05 May 2020
		ZA 201701663 B	26 April 2023
		SG 10201913084 PA	30 March 2020
		BR 112017005692 A2	12 December 2017
		CL 2017000703 A1	29 December 2017
		MY 185832 A	11 June 2021
		IL 251001 A0	30 April 2017
		IL 251001 B	29 April 2021
US 2018037644 A1	08 February 2018	RU 2018137811 A3	27 May 2020
		RU 2018137811 A	13 January 2021
		TW 201808995 A	16 March 2018
		TWI 679211 B	11 December 2019
		SG 11201808693 WA	29 November 2018
		JP 2019516362 A	20 June 2019
		AU 2017257330 A1	18 October 2018
		IL 262497 A	31 December 2018
		US 10544212 B2	28 January 2020
		KR 20180128028 A	30 November 2018
		US 2020308272 A1	01 October 2020
		CA 2965089 A1	27 October 2017
		EP 3448888 A1	06 March 2019
		CO 2018011364 A2	13 November 2018
		BR 112018071276 A2	12 February 2019
		PH 12018502225 A1	19 August 2019
		MX 2018013038 A	28 March 2019
		TW 201943729 A	16 November 2019
		PE 20181952 A1	17 December 2018
		WO 2017187307 A1	02 November 2017

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2022)

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 P	11/00	(2006.01)	A 6 1 P	1/04
A 6 1 P	11/02	(2006.01)	A 6 1 P	11/00
C 1 2 N	15/13	(2006.01)	A 6 1 P	11/02
			C 1 2 N	15/13

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

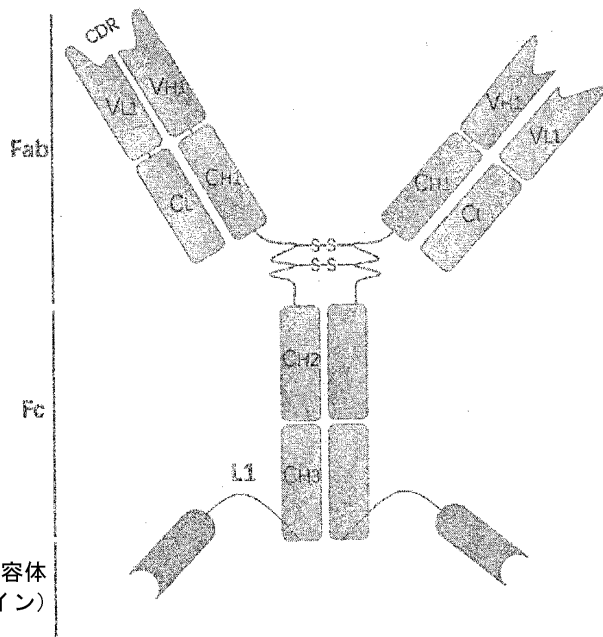
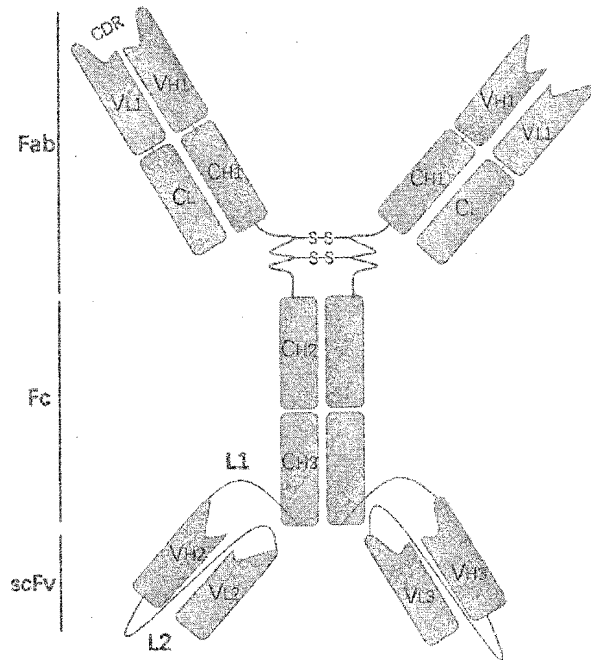
1. T W E E N

- (74)代理人 100142929
弁理士 井上 隆一
- (74)代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光
- (74)代理人 100188433
弁理士 梅村 幸輔
- (74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一
- (74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦
- (74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人
- (74)代理人 100214396
弁理士 塩田 真紀
- (74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥
- (74)代理人 100221741
弁理士 酒井 直子
- (74)代理人 100114926
弁理士 枝松 義恵
- (72)発明者 ソン ナン
中華人民共和国 ホンコン ニューテリトリーズ パクシェクコク ホンコン サイエンス パーク サイエンス パーク ウェスト アベニュー ナンバー 15 ユニッツ 303 アンド 305 トゥ 307
- (72)発明者 ラム リク ハン
中華人民共和国 ホンコン ニューテリトリーズ パクシェクコク ホンコン サイエンス パーク サイエンス パーク ウェスト アベニュー ナンバー 15 ユニッツ 303 アンド 305 トゥ 307
- (72)発明者 ホイ チン ワイ
中華人民共和国 ホンコン ニューテリトリーズ パクシェクコク ホンコン サイエンス パーク サイエンス パーク ウェスト アベニュー ナンバー 15 ユニッツ 303 アンド 305 トゥ 307
- (72)発明者 リー ウェイミン
中華人民共和国 ホンコン ニューテリトリーズ パクシェクコク ホンコン サイエンス パーク サイエンス パーク ウェスト アベニュー ナンバー 15 ユニッツ 303 アンド 305 トゥ 307
- (72)発明者 レオン シュイ オン
中華人民共和国 ホンコン ニューテリトリーズ パクシェクコク ホンコン サイエンス パーク サイエンス パーク ウェスト アベニュー ナンバー 15 ユニッツ 303 アンド 305 トゥ 307

F ターム (参考) 4C084 AA19 NA05 ZA34 ZA59 ZA62 ZA68 ZA89 ZB13
4C085 AA14 BB18 BB31 BB36 EE01 EE03 GG01 GG02 GG03 GG04
GG05 GG06 GG10

【要約の続き】

二重特異性結合タンパク質（二重特異性抗体および
抗体-受容体融合タンパク質）のデザイン



アラミン受容体
(細胞外ドメイン)