

(19)日本国特許庁(JP)

**(12)特許公報(B2)**

(11)特許番号  
**特許第7277370号**  
**(P7277370)**

(45)発行日 令和5年5月18日(2023.5.18)

(24)登録日 令和5年5月10日(2023.5.10)

(51)国際特許分類

C 1 2 N	15/13 (2006.01)	F I	C 1 2 N	15/13	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)		A 6 1 K	39/395	U
A 6 1 P	11/06 (2006.01)		A 6 1 P	11/06	
A 6 1 P	17/00 (2006.01)		A 6 1 P	17/00	1 7 1
A 6 1 P	17/04 (2006.01)		A 6 1 P	17/04	

請求項の数 27 (全61頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2019-545292(P2019-545292)  
 (86)(22)出願日 平成30年2月9日(2018.2.9)  
 (65)公表番号 特表2020-511123(P2020-511123  
 A)  
 (43)公表日 令和2年4月16日(2020.4.16)  
 (86)国際出願番号 PCT/US2018/017623  
 (87)国際公開番号 WO2018/156367  
 (87)国際公開日 平成30年8月30日(2018.8.30)  
 審査請求日 令和3年2月5日(2021.2.5)  
 (31)優先権主張番号 62/463,543  
 (32)優先日 平成29年2月24日(2017.2.24)  
 (33)優先権主張国・地域又は機関  
 米国(US)  
 (31)優先権主張番号 PCT/US2017/023788  
 (32)優先日 平成29年3月23日(2017.3.23)  
 最終頁に続く

(73)特許権者 517299032  
 キンドレッド バイオサイエンシズ イン  
 コーポレイテッド  
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0  
 1 0 , パーリングーム , ベイショア  
 ハイウェイ 1 5 5 5 , 2 0 0 番  
 (74)代理人 110002077  
 園田・小林弁理士法人  
 リー , シー ジアン  
 (72)発明者 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0  
 1 0 , パーリングーム , ベイショア  
 ハイウェイ 1 5 5 5 , スイート 2 0 0  
 グエン , ラム  
 (72)発明者 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0  
 1 0 , パーリングーム , ベイショア  
 最終頁に続く

(54)【発明の名称】 獣医用抗IL-31抗体

**(57)【特許請求の範囲】****【請求項1】**

(i) 配列番号1のアミノ酸配列を含むCDR-H1、配列番号89のアミノ酸配列を含むCDR-H2、及び配列番号3のアミノ酸配列を含むCDR-H3を含む重鎖、並びに  
 (ii) 配列番号8のアミノ酸配列を含むCDR-L1、配列番号9のアミノ酸配列を含むCDR-L2、及び配列番号10のアミノ酸配列を含むCDR-L3を含む軽鎖を含み  
且つ、

i) 配列番号24のアミノ酸配列と少なくとも90%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む可変軽鎖；及び配列番号25のアミノ酸配列と少なくとも90%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む可変重鎖；又は

ii) 配列番号16のアミノ酸配列と少なくとも90%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む可変軽鎖；及び配列番号15のアミノ酸配列と少なくとも90%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む可変重鎖；又は

iii) 配列番号32のアミノ酸配列と少なくとも90%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む可変軽鎖；及び配列番号33のアミノ酸配列と少なくとも90%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む可変重鎖  
を含む、

イヌIL-31に結合する抗体。

**【請求項2】**

(i) 配列番号1のアミノ酸配列を含むCDR-H1、配列番号87のアミノ酸配列を

含む C D R - H 2、及び配列番号 3 のアミノ酸配列を含む C D R - H 3 を含む重鎖、並びに ( i i ) 配列番号 6 3 のアミノ酸配列を含む C D R - L 1、配列番号 9 のアミノ酸配列を含む C D R - L 2、及び配列番号 1 0 のアミノ酸配列を含む C D R - L 3 を含む軽鎖を含み、且つ、

i ) 配列番号 2 4 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む可変軽鎖；及び配列番号 2 5 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む可変重鎖；又は

i i ) 配列番号 1 6 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む可変軽鎖；及び配列番号 1 5 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む可変重鎖；又は

i i i ) 配列番号 3 2 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む可変軽鎖；及び配列番号 3 3 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む可変重鎖

を含む、

イヌ I L - 3 1 に結合する抗体。

**【請求項 3】**

モノクローナル抗体である、請求項 1 又は 2 に記載の抗体。

**【請求項 4】**

イヌ化抗体、ネコ化抗体、ウマ化抗体、又はキメラ抗体である、請求項 1 から 3 の何れか 1 項に記載の抗体。

**【請求項 5】**

配列番号 2 4、配列番号 1 6 又は配列番号 3 2 のアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む可変軽鎖を含む、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の抗体。

**【請求項 6】**

配列番号 2 5、配列番号 1 5 又は配列番号 3 3 のアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む可変軽鎖を含む、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の抗体。

**【請求項 7】**

配列番号 2 4 のアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む可変軽鎖及び配列番号 2 5 のアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む可変重鎖；

配列番号 1 6 のアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む可変軽鎖及び配列番号 1 5 のアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む可変重鎖；又は

配列番号 3 2 のアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む可変軽鎖及び配列番号 3 3 のアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む可変重鎖

を含む、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の抗体。

**【請求項 8】**

配列番号 2 4、配列番号 1 6 又は配列番号 3 2 のアミノ酸配列を含む可変軽鎖を含む、請求項 1、3 又は 4 のいずれか一項に記載の抗体。

**【請求項 9】**

配列番号 2 5、配列番号 1 5 又は配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含む可変重鎖を含む、請求項 1、3、4 又は 8 のいずれか一項に記載の抗体。

**【請求項 10】**

配列番号 2 4 のアミノ酸配列を含む可変軽鎖及び配列番号 2 5 のアミノ酸配列を含む可変重鎖；配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む可変軽鎖及び配列番号 1 5 のアミノ酸配列を含む可変重鎖；又は配列番号 3 2 のアミノ酸配列を含む可変軽鎖及び配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含む可変重鎖を含む、請求項 1、3、4、8 又は 9 のいずれか一項に記載の抗

体。

**【請求項 1 1】**

( a ) IgG - A、IgG - B、IgG - C 及び IgG - D 定常領域から選択されるイヌ重鎖定常領域；( b ) IgG 1、IgG 2 a 及び IgG 2 b 定常領域から選択されるネコ重鎖定常領域；又は( c ) IgG 1、IgG 2、IgG 3、IgG 4、IgG 5、IgG 6 及び IgG 7 定常領域から選択されるウマ重鎖定常領域を含む、請求項 1 から 1\_0 のいずれか一項に記載の抗体。

**【請求項 1 2】**

a ) ( i ) 配列番号 2 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖、( ii ) 配列番号 2 7 のアミノ酸配列を含む重鎖、若しくは( iii ) ( i ) の軽鎖及び( ii ) の重鎖；又は

10

b ) ( i ) 配列番号 3 0 のアミノ酸配列を含む軽鎖、( ii ) 配列番号 3 1 のアミノ酸配列を含む重鎖、若しくは( iii ) ( i ) の軽鎖及び( ii ) の重鎖；又は

c ) ( i ) 配列番号 3 4 のアミノ酸配列を含む軽鎖、( ii ) 配列番号 3 5 のアミノ酸配列を含む重鎖、若しくは( iii ) ( i ) の軽鎖及び( ii ) の重鎖；又は

d ) ( i ) 配列番号 2 1 のアミノ酸配列を含む軽鎖、( ii ) 配列番号 1 7 、配列番号 1 8 、配列番号 1 9 又は配列番号 2 0 のアミノ酸配列を含む重鎖、若しくは( iii ) ( i ) の軽鎖( ii ) の重鎖

を含む、請求項 1 、3 、4 又は 8 から 1\_1 のいずれか一項に記載の抗体。

**【請求項 1 3】**

Fv 、 scFv 、 Fab 、 Fab' 、 F(ab')<sub>2</sub> 及び Fab' - SH から選択される抗体断片である、請求項 1 から 1\_0 のいずれか一項に記載の抗体。

20

**【請求項 1 4】**

多重特異性であり、IL 3 1 と、IL 1 7 、TNF 、CD 2 0 、CD 1 9 、CD 2 5 、IL 4 、IL 1 3 、IL 2 3 、IgE 、CD 1 1 、IL 6 R 、4 - インテグリン、IL 1 2 、IL 1 又は B1yS から選択される 1 又は複数の抗原とに結合する、請求項 1 から 1\_3 のいずれか一項に記載の抗体。

**【請求項 1 5】**

請求項 1 から 1\_4 のいずれか一項に記載の抗体をコードする単離された核酸。

**【請求項 1 6】**

請求項 1\_5 に記載の核酸を含む宿主細胞。

30

**【請求項 1 7】**

請求項 1\_6 に記載の宿主細胞を培養することと、抗体を単離することとを含む、抗体を產生する方法。

**【請求項 1 8】**

請求項 1 から 1\_4 のいずれか一項に記載の抗体及び薬学的に許容される担体を含む薬学的組成物。

**【請求項 1 9】**

請求項 1 から 1\_4 のいずれか一項に記載の抗 IL - 3 1 抗体及び薬学的に許容される担体を含む薬学的組成物であって、薬学的に許容される担体が L - ヒスチジン、塩化ナトリウム及びポリソルベート 8 0 を含み、薬学的組成物が、5 . 0 ~ 6 . 2 の pH を有する、薬学的組成物。

40

**【請求項 2 0】**

IL 3 1 によって誘導された状態を有する伴侶動物種を処置する方法であって、治療的有效量の請求項 1 から 1\_4 のいずれか一項に記載の抗体又は請求項 1\_8 又は 1\_9 に記載の薬学的組成物を伴侶動物種に投与することを含む方法。

**【請求項 2 1】**

伴侶動物種がイヌ、ネコ又はウマである、請求項 2\_0 に記載の方法。

**【請求項 2 2】**

IL 3 1 によって誘導された状態が搔痒症又はアレルギーの状態であるか、又は、

IL 3 1 によって誘導された状態が、アトピー性皮膚炎、搔痒症、喘息、乾癬、強皮症

50

及び湿疹から選択される、

請求項2\_0又は2\_1に記載の方法。

**【請求項 2\_3】**

抗体又は薬学的組成物が非経口的に投与される、及び／又は、

抗体又は薬学的組成物が筋肉内経路、腹腔内経路、脳脊髄内経路、皮下経路、動脈内経路、滑膜内経路、髄腔内経路又は吸入経路によって投与される、請求項2\_0から2\_2の何れか1項に記載の方法。

**【請求項 2\_4】**

抗体又は薬学的組成物と組み合わせて、

(i) J a k 阻害剤、P I 3 K 阻害剤、A K T 阻害剤又はM A P K 阻害剤、及び／又は  
 (ii) 抗I L 1 7 抗体、抗T N F 抗体、抗C D 2 0 抗体、抗C D 1 9 抗体、抗C D 2 5 抗体、抗I L 4 抗体、抗I L 1 3 抗体、抗I L 2 3 抗体、抗I g E 抗体、抗C D 1 1 抗体、抗I L 6 R 抗体、抗4 - インテグリン抗体、抗I L 1 2 抗体、抗I L 1 抗体、及び抗B 1 y S 抗体から選択される1又は複数の抗体

を投与することを含む、請求項2\_0から2\_3のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 2\_5】**

細胞におけるI L 3 1シグナル伝達機能を低減する方法であって、請求項1から1\_4のいずれか一項に記載の抗体又は請求項1\_8又は1\_9に記載の薬学的組成物を、e x v i v o又はi n v i v oで、細胞外I L 3 1への抗体の結合を可能にする条件下で細胞に曝露し、それにより、I L 3 1受容体への結合を低減し、且つ／又は細胞によるI L 3 1シグナル伝達機能を低減することを含む方法であり、

細胞がイヌ細胞、ネコ細胞又はウマ細胞である、方法。

**【請求項 2\_6】**

伴侶動物種からの試料中のI L 3 1を検出するための方法であって、請求項1から1\_4のいずれか一項に記載の抗体又は請求項1\_8又は1\_9に記載の薬学的組成物を、I L 3 1への抗体の結合を可能にする条件下で試料に接触させ、抗体と試料中のI L 3 1との間に複合体が形成されるか否かを検出することを含む方法。

**【請求項 2\_7】**

試料がイヌ、ネコ又はウマから得られた生物学的試料である、請求項2\_6に記載の方法。

**【発明の詳細な説明】**

**【技術分野】**

**【0 0 0 1】**

本出願は、それぞれがあらゆる目的のために全体が参照により本明細書に組み込まれる、2017年3月23日出願の国際出願P C T / U S 第2017/023788号の利益を主張し、2017年2月24日出願の米国仮特許出願第62/463,543号の利益を主張する。

**【0 0 0 2】**

本発明は、例えばイヌI L 3 1に結合する単離された抗I L 3 1抗体、並びにそれを用いる方法、例えば、イヌ、ネコ、及びウマ等の伴侶動物のI L 3 1に誘導された状態を処置し又は細胞におけるI L 3 1シグナル伝達機能を低減させる方法に関する。

**【背景技術】**

**【0 0 0 3】**

インターロイキン31(I L 3 1)は、主としてT h 2細胞によって産生されるサイトカインであり、搔痒症及びその他の形態のアレルギー疾患(例えばアトピー性皮膚炎)等の皮膚疾患の促進に関与していると理解されている。I L 3 1はその受容体と結合して、J A K 1の活性化等、下流の活性を活性化する機能があり、皮膚炎及びその他の障害に関連する臨床的問題の多くを引き起こすと考えられている。

**【0 0 0 4】**

ネコ、イヌ、及びウマ等の伴侶動物は、アトピー性皮膚炎等のヒトの皮膚疾患と同様の多くの皮膚疾患に罹患する。しかし、I L 3 1の配列はヒト、ネコ、イヌ及びウマの間で

10

20

30

40

50

相違している。したがって、IL31に誘導された状態を処置し、IL31のシグナル伝達を低減するため、伴侶動物のIL31に結合するように特異的に用いることができる方法及び化合物へのニーズが存在する。

#### 【発明の概要】

##### 【0005】

いくつかの実施形態では、イヌIL31に結合する単離された抗体が提供される。いくつかの実施形態では、抗体は配列番号22のアミノ酸34～50を含むエピトープに結合する。いくつかの実施形態では、抗体は配列番号23のアミノ酸配列を含むエピトープに結合する。いくつかの実施形態では、抗体はPSDX<sub>1</sub>X<sub>2</sub>KI（配列番号45）のアミノ酸配列を含むエピトープに結合し、ここでXは任意のアミノ酸残基である。いくつかの実施形態では、X<sub>1</sub>は疎水性アミノ酸である。いくつかの実施形態では、X<sub>1</sub>はA、V、I、及びLから選択される。いくつかの実施形態では、X<sub>1</sub>はV及びIから選択される。いくつかの実施形態では、X<sub>2</sub>は親水性アミノ酸である。いくつかの実施形態では、X<sub>2</sub>はA、R、K、Q、及びNから選択される。いくつかの実施形態では、X<sub>2</sub>はR及びQから選択される。いくつかの実施形態では、X<sub>1</sub>はVであり、X<sub>2</sub>はRである。いくつかの実施形態では、X<sub>1</sub>はIであり、X<sub>2</sub>はQである。いくつかの実施形態では、抗体は配列番号88のアミノ酸配列を含むエピトープに結合する。

10

##### 【0006】

いくつかの実施形態では、抗体はバイオレイヤー干渉法で測定して $5 \times 10^{-6}$ M未満、 $1 \times 10^{-6}$ M未満、 $5 \times 10^{-7}$ M未満、 $1 \times 10^{-7}$ M未満、 $5 \times 10^{-8}$ M未満、 $1 \times 10^{-8}$ M未満、 $5 \times 10^{-9}$ M未満、 $1 \times 10^{-9}$ M未満、 $5 \times 10^{-10}$ M未満、 $1 \times 10^{-10}$ M未満、 $5 \times 10^{-11}$ M未満、 $1 \times 10^{-11}$ M未満、 $5 \times 10^{-12}$ M未満、又は $1 \times 10^{-12}$ M未満の解離定数（Kd）でイヌIL31に結合する。

20

##### 【0007】

いくつかの実施形態では、抗体はSTAT-3のリン酸化の低減によって測定して伴侶動物種のIL31シグナル伝達機能を低減させる。いくつかの実施形態では、伴侶動物種はイヌ、ネコ、又はウマである。

##### 【0008】

いくつかの実施形態では、抗体はイムノプロット解析及び/又はバイオレイヤー干渉法によって決定して、ネコIL31又はウマIL31に結合する。いくつかの実施形態では、抗体はイヌIL31への結合においてモノクローナルM14抗体と競合する。いくつかの実施形態では、抗体はネコIL31への結合においてモノクローナルM14抗体と競合する。いくつかの実施形態では、抗体はイムノプロット解析及び/又はバイオレイヤー干渉法によって決定して、ヒトIL31に結合しない。

30

##### 【0009】

いくつかの実施形態では、抗体はモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、抗体はイヌ、イヌ化、ネコ、ネコ化、ウマ、ウマ化、又はキメラ抗体である。いくつかの実施形態では、抗体はマウスの可変重鎖フレームワーク領域又はマウスの可変軽鎖フレームワーク領域を含むキメラ抗体である。

##### 【0010】

40

いくつかの実施形態では、抗体は重鎖及び軽鎖を含み、  
a. 重鎖は、配列番号1のアミノ酸配列と少なくとも85%の配列同一性、少なくとも90%の配列同一性、少なくとも95%の配列同一性、又は少なくとも98%の配列同一性を有するCDR-H1配列、配列番号2、62、89、又は87のアミノ酸配列と少なくとも85%の配列同一性、少なくとも90%の配列同一性、少なくとも95%の配列同一性、又は少なくとも98%の配列同一性を有するCDR-H2配列、及び配列番号3のアミノ酸配列と少なくとも85%の配列同一性、少なくとも90%の配列同一性、少なくとも95%の配列同一性、又は少なくとも98%の配列同一性を有するCDR-H3配列を含み、  
b. 軽鎖は、配列番号8又は配列番号63のアミノ酸配列と少なくとも85%の配列同一

50

性、少なくとも 90 % の配列同一性、少なくとも 95 % の配列同一性、又は少なくとも 98 % の配列同一性を有する CDR-L1 配列、配列番号 9 のアミノ酸配列と少なくとも 85 % の配列同一性、少なくとも 90 % の配列同一性、少なくとも 95 % の配列同一性、又は少なくとも 98 % の配列同一性を有する CDR-L2 配列、及び配列番号 10 のアミノ酸配列と少なくとも 85 % の配列同一性、少なくとも 90 % の配列同一性、少なくとも 95 % の配列同一性、又は少なくとも 98 % の配列同一性を有する CDR-L3 配列を含む。

#### 【0011】

いくつかの実施形態では、抗体は (a) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含む CDR-H1、(b) 配列番号 2 又は 89 のアミノ酸配列を含む CDR-H2、及び (c) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む CDR-H3 を含む重鎖を含む。 10

#### 【0012】

いくつかの実施形態では、抗体は (a) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含む CDR-H1、(b) 配列番号 62 又は 87 のアミノ酸配列を含む CDR-H2、及び (c) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む CDR-H3 を含む重鎖を含む。

#### 【0013】

いくつかの実施形態では、抗体は (a) 配列番号 8 のアミノ酸配列を含む CDR-L1、(b) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む CDR-L2、及び (c) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む CDR-L3 を含む軽鎖を含む。

#### 【0014】

いくつかの実施形態では、抗体は (a) 配列番号 63 のアミノ酸配列を含む CDR-L1、(b) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む CDR-L2、及び (c) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む CDR-L3 を含む軽鎖を含む。 20

#### 【0015】

いくつかの実施形態では、抗体は (a) 配列番号 4、70、若しくは 79 の可変領域重鎖フレームワーク 1 (HC-FR1) 配列、(b) 配列番号 5、71、若しくは 80 の HC-FR2 配列、(c) 配列番号 6、72、73、若しくは 81 の HC-FR3 配列、(d) 配列番号 7、74、若しくは 82 の HC-FR4 配列、(e) 配列番号 11、75、若しくは 83 の可変領域軽鎖フレームワーク 1 (LC-FR1) 配列、(f) 配列番号 12、76、若しくは 84 の LC-FR2 配列、(g) 配列番号 13、77、若しくは 85 の LC-FR3 配列、又は (h) 配列番号 14、78、若しくは 86 の LC-FR4 配列の 1 又は複数を含む。 30

#### 【0016】

いくつかの実施形態では、抗体は、  
a. (i) 配列番号 24 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、若しくは少なくとも 98 % の配列同一性を有する可変軽鎖配列、(ii) 配列番号 25 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、若しくは少なくとも 98 % の配列同一性を有する可変重鎖配列、又は (iii) (i) の可変軽鎖配列及び (ii) の可変重鎖配列、あるいは

b. (i) 配列番号 16 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、若しくは少なくとも 98 % の配列同一性を有する可変軽鎖配列、(ii) 配列番号 15 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、若しくは少なくとも 98 % の配列同一性を有する可変重鎖配列、又は (iii) (i) の可変軽鎖配列及び (ii) の可変重鎖配列、あるいは 40

c. (i) 配列番号 32 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、若しくは少なくとも 98 % の配列同一性を有する可変軽鎖配列、(ii) 配列番号 33 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、若しくは少なくとも 98 % の配列同一性を有する可変重鎖配列、又は (iii) (i) の可変軽鎖配列及び (ii) の可変重鎖配列

を含む。

#### 【0017】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、抗体は配列番号 2 4、配列番号 1 6、又は配列番号 3 2 の可変軽鎖配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は配列番号 2 5、配列番号 1 5、又は配列番号 3 3 の可変重鎖配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は配列番号 2 4 の可変軽鎖配列及び配列番号 2 5 の可変重鎖配列、配列番号 1 6 の可変軽鎖配列及び配列番号 1 5 の可変重鎖配列、又は配列番号 3 2 の可変軽鎖配列及び配列番号 3 3 の可変重鎖配列を含む。

#### 【 0 0 1 8 】

いくつかの実施形態では、抗体は伴侶動物に由来する定常重鎖領域又は定常軽鎖領域を含むキメラ抗体である。

#### 【 0 0 1 9 】

いくつかの実施形態では、抗体は ( a ) I g G - A、I g G - B、I g G - C、及び I g G - D 定常領域から選択されるイヌ重鎖定常領域、( b ) I g G 1、I g G 2 a、及び I g G 2 b 定常領域から選択されるネコ重鎖定常領域、又は ( c ) I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g G 5、I g G 6、及び I g G 7 定常領域から選択されるウマ重鎖定常領域を含む。

10

#### 【 0 0 2 0 】

いくつかの実施形態では、抗体は、  
 a . ( i ) 配列番号 2 6 の軽鎖アミノ酸配列、( i i ) 配列番号 2 7 の重鎖アミノ酸配列、若しくは ( i i i ) ( i ) の軽鎖アミノ酸配列及び ( i i ) の重鎖アミノ酸配列、又は  
 b . ( i ) 配列番号 3 0 の軽鎖アミノ酸配列、( i i ) 配列番号 3 1 の重鎖アミノ酸配列、若しくは ( i i i ) ( i ) の軽鎖アミノ酸配列及び ( i i ) の重鎖アミノ酸配列、又は  
 c . ( i ) 配列番号 3 4 の軽鎖アミノ酸配列、( i i ) 配列番号 3 5 の重鎖アミノ酸配列、若しくは ( i i i ) ( i ) の軽鎖アミノ酸配列及び ( i i ) の重鎖アミノ酸配列を含む。

20

#### 【 0 0 2 1 】

いくつかの実施形態では、抗体は配列番号 2 1 の軽鎖アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は配列番号 1 7、配列番号 1 8、配列番号 1 9、又は配列番号 2 0 の重鎖アミノ酸配列を含む。

#### 【 0 0 2 2 】

いくつかの実施形態では、抗体は F v、s c F v、F a b、F a b'、F ( a b' )<sub>2</sub> 及び F a b' - S H から選択される抗体断片である。

30

#### 【 0 0 2 3 】

いくつかの実施形態では、抗体は二重特異的であり、抗体は I L 3 1 及び、I L 1 7、T N F、C D 2 0、C D 1 9、C D 2 5、I L 4、I L 1 3、I L 2 3、I g E、C D 1 1、I L 6 R、4 - インテグリン、I L 1 2、I L 1、又は B l y S から選択される 1 若しくは複数の抗原に結合する。

#### 【 0 0 2 4 】

いくつかの実施形態では、本明細書で上に述べた抗 I L 3 1 抗体をコードする単離された核酸が提供される。いくつかの実施形態では、本明細書で上に述べた抗 I L 3 1 抗体をコードする核酸を含む宿主細胞が提供される。いくつかの実施形態では、本明細書で上に述べた抗 I L 3 1 抗体をコードする核酸を含むそのような宿主細胞を培養すること、及び抗体を単離することを含む、抗 I L 3 1 抗体を産生する方法が提供される。

40

#### 【 0 0 2 5 】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載した抗 I L 3 1 抗体及び薬学的に許容される担体を含む薬学的組成物が提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載した抗 I L 3 1 抗体及び薬学的に許容される担体を含む薬学的組成物が提供され、薬学的に許容される担体は L - ヒスチジン、塩化ナトリウム、及びポリソルベート 8 0 を含む。

#### 【 0 0 2 6 】

いくつかの実施形態では、薬学的組成物は 5 . 0 ~ 6 . 2 の pH を有する。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は 5 . 0 ~ 6 . 0、又は 5 . 3 ~ 5 . 7、又は 5 . 5 の pH

50

を有する。

**【 0 0 2 7 】**

いくつかの実施形態では、薬学的組成物は 5 mM ~ 100 mM、10 mM ~ 50 mM、20 mM ~ 30 mM、10 ~ 30 mM、又は 20 mM の L - ヒスチジン濃度を有する。

**【 0 0 2 8 】**

いくつかの実施形態では、薬学的組成物は 80 ~ 200 mM、100 ~ 175 mM、120 ~ 150 mM、又は 140 mM の塩化ナトリウム濃度を有する。

**【 0 0 2 9 】**

いくつかの実施形態では、薬学的組成物は 0.005 mg / mL ~ 0.5 mg / mL、0.01 mg / mL ~ 0.1 mg / mL、又は 0.05 mg / mL のポリソルベート 80 の濃度を有する。 10

**【 0 0 3 0 】**

いくつかの実施形態では、薬学的に許容される担体は少なくとも 1 つの糖を含む。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は 0.5 % ~ 20 %、1 % ~ 10 %、1 % ~ 5 %、又は 1 % ~ 3 % の少なくとも 1 つの糖の濃度を有する。いくつかの実施形態では、薬学的に許容される担体はスクロース、トレハロース、D - マンニトール、マルトース、及び / 又はソルビトールを含む。

**【 0 0 3 1 】**

いくつかの実施形態では、薬学的に許容される担体は抗菌剤を含む。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は m - クレゾール又はメチルパラベンを含む。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は 0.2 % の m - クレゾール及び / 又は 0.9 % のメチルパラベンを含む。 20

**【 0 0 3 2 】**

**抗体及び薬学的組成物の使用**

いくつかの実施形態では、IL 3 1 によって誘導された状態を有する伴侶動物種を処置する方法であって、治療的有効量の本明細書に記載した抗 IL 3 1 抗体又は本明細書に記載した抗体を含む薬学的組成物を伴侶動物種に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、伴侶動物種はイヌ、ネコ、又はウマである。いくつかの実施形態では、IL 3 1 によって誘導された状態は搔痒症又はアレルギーの状態である。いくつかの実施形態では、IL 3 1 によって誘導された状態はアトピー性皮膚炎、搔痒症、喘息、乾癬、強皮症、及び湿疹から選択される。 30

**【 0 0 3 3 】**

いくつかの実施形態では、抗 IL 3 1 抗体又は薬学的組成物は非経口的に投与される。いくつかの実施形態では、抗 IL 3 1 抗体又は薬学的組成物は筋肉内経路、腹腔内経路、脳脊髄内経路、皮下経路、動脈内経路、滑膜内経路、髄腔内経路、又は吸入経路によって投与される。

**【 0 0 3 4 】**

いくつかの実施形態では、方法は抗 IL 3 1 抗体又は薬学的組成物と組み合わせて JAK 阻害剤、PI3K 阻害剤、AKT 阻害剤、又は MAPK 阻害剤を投与することを含む。いくつかの実施形態では、方法は抗 IL 3 1 抗体又は薬学的組成物と組み合わせて抗 IL 17 抗体、抗 TNF α 抗体、抗 CD 20 抗体、抗 CD 19 抗体、抗 CD 25 抗体、抗 IL 4 抗体、抗 IL 13 抗体、抗 IL 23 抗体、抗 IgE 抗体、抗 CD 11 抗体、抗 IL 6 R 抗体、抗 4 - インテグリン抗体、抗 IL 12 抗体、抗 IL 1 抗体、及び抗 B1yS 抗体から選択される 1 若しくは複数の抗体を投与することを含む。 40

**【 0 0 3 5 】**

いくつかの実施形態では、細胞における IL 3 1 シグナル伝達機能を低減する方法であって、本明細書に記載した抗 IL 3 1 抗体又は薬学的組成物を、細胞外 IL 3 1 への抗体の結合を可能にする条件下で細胞に曝露し、それにより、IL 3 1 受容体への結合を低減し、及び / 又は細胞による IL 3 1 シグナル伝達機能を低減することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、細胞はエクスピボで抗体又は薬学的組成物に曝露される

。いくつかの実施形態では、細胞はインビボで抗体又は薬学的組成物に曝露される。いくつかの実施形態では、細胞はイヌ細胞、ネコ細胞、又はウマ細胞である。

#### 【0036】

いくつかの実施形態では、伴侶動物種からの試料中のIL31を検出する方法であって、本明細書に記載した抗IL31抗体又は薬学的組成物を、IL31への抗体の結合を可能にする条件下で試料に接触させ、抗体と試料中のIL31との間に複合体が形成されるか否かを検出することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、試料はイヌ、ネコ、又はウマから得られた生物学的試料である。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0037】

【図1A】M14、M18、M19、及びM87マウスモノクローナル抗体クローンの可変軽配列のアラインメントである。

10

【図1B】M14、M18、M19、及びM87マウスモノクローナル抗体クローンの可変重配列のアラインメントである。

【図2A-B】キメラM14抗体の濃度を変化させたイヌIL31結合解析のグラフである。

【図3A-B】イヌ化M14抗体の濃度を変化させたイヌIL31結合解析のグラフである。

【図4】イヌ化M14抗体の濃度を変化させて阻害されたイヌIL31シグナル伝達を示すイムノプロットである。

20

【図5A-B】それぞれM14抗体及び抗GST抗体でプロープしたGST-イヌ-IL31欠失のイムノプロットである。

【図6A-B】それぞれM14抗体及び抗GST抗体でプロープしたGST-イヌ-IL31欠失のイムノプロットである。

【図7A-B】それぞれM14抗体及び抗FC抗体でプロープしたヒトFcに融合したネコ及びウマのIL31タンパク質のイムノプロットである。

【図8】抗イヌIL31抗体（上のパネル）及び抗GST抗体（下のパネル）を用いた成熟イヌIL31エピトープの精細なエピトープマッピング及びアラニンスキャンニングのイムノプロット解析を示す図である。

【図9】抗イヌIL31抗体（上のパネル）及び抗GST抗体（下のパネル）を用いた成熟イヌIL31エピトープの精細なエピトープマッピング及びアラニンスキャンニングのイムノプロット解析を示す図である。

30

【図10】抗イヌIL31抗体（上のパネル）及び抗GST抗体（下のパネル）を用いた成熟イヌIL31エピトープの精細なエピトープマッピング及びアラニンスキャンニングのイムノプロット解析を示す図である。

【図11】抗イヌIL31抗体（上のパネル）及び抗GST抗体（下のパネル）を用いた成熟イヌIL31エピトープの精細なエピトープマッピング及びアラニンスキャンニングのイムノプロット解析を示す図である。

【図12】抗イヌIL31抗体（上のパネル）及び抗GST抗体（下のパネル）を用いた成熟イヌIL31エピトープの精細なエピトープマッピング及びアラニンスキャンニングのイムノプロット解析を示す図である。

40

【図13】抗イヌIL31抗体M14のセイウチIL31へのイムノプロット交差反応性である。

#### 【発明を実施するための形態】

#### 【0038】

#### 特定の配列の説明

表1は本明細書で参照する特定の配列のリストを提供する。

表 1:特定の配列の説明

配列番号	配列	説明
1	GDSITSGYW	マウス抗体クローン M14、M18、及び M19 の可変重鎖 CDR-H1 アミノ酸配列
2	YISYSGITDYNPSLKS	マウス抗体クローン M14 及び M19 の可変重鎖 CDR-H2 アミノ酸配列
62	YISYSGITYYNPSLKS	マウス抗体クローン M18 の可変重鎖 CDR-H2 アミノ酸配列
89	YISYSGITDY	マウス抗体クローン M14 及び M19 の代替の可変重鎖 CDR-H2 アミノ酸配列
87	YISYSGITYY	マウス抗体クローン M18 の代替の可変重鎖 CDR-H2 アミノ酸配列
3	ARYGNYGYAMDY	マウス抗体クローン M14、M18、及び M19 の可変重鎖 CDR-H3 アミノ酸配列
4	EVQLQESGPSLVKPSQTLSTCSV	マウス抗体クローン M14 の可変領域重鎖フレームワーク HC-FR1 アミノ酸配列
5	NWIRKFPGNKLEYMG	マウス抗体クローン M14 の可変領域重鎖フレームワーク HC-FR2 アミノ酸配列
6	RISITRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYC	マウス抗体クローン M14 の可変領域重鎖フレームワーク HC-FR3 アミノ酸配列
7	WGQQGTSVTVSS	マウス抗体クローン M14 の可変領域重鎖フレームワーク HC-FR4 アミノ酸配列
8	RASESVDTYGNSFMH	マウス抗体クローン M14 及び M19 の可変軽鎖 CDR-L1 アミノ酸配列
63	RASESVDTYGNSFIH	マウス抗体クローン M18 の可変軽鎖 CDR-L1 アミノ酸配列
9	RASNLES	マウス抗体クローン M14、M18、及び M19 の可変軽鎖 CDR-L2 アミノ酸配列
10	QQSYEDPWT	マウス抗体クローン M14、M18、及び M19 の可変軽鎖 CDR-L3 アミノ酸配列
11	DIVLTQSPASLAVALGQRATISC	マウス抗体クローン M14 の可変領域軽鎖フレームワーク LC-FR1 アミノ酸配列
12	WYQQKSGQSPKLLIY	マウス抗体クローン M14 の可変領域軽鎖フレームワーク LC-FR2 アミノ酸配列

10

20

30

40

50

13	GIPARFGGSGSRTDFTLTIDPVEADDVATYYC	マウス抗体クローン M14 の可変領域軽鎖フレームワーク LC-FR3 アミノ酸配列
14	FGGGTKLEIK	マウス抗体クローン M14 の可変領域軽鎖フレームワーク LC-FR4 アミノ酸配列
15	EVQLVESGPSLVKPGGLRLTCVTGDSITSGYWNW IRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSLKSRTISRDTSK NQYYLQLNSVTTEDTATYYCARYGNYGYAMDYWGQ GTLTVSS	マウス抗体クローン M14 のイヌ化可変重鎖アミノ酸配列
16	DIVMTQSPASLSVSLGQRATISCRASESVDTYGNSF MHWYQQKPGQSPKLLIYRASNLESGIPARFGGSGSG TDFTLTIDPVQADDVATYYCQQSYEDPWTFGGGTKL EIK	マウス抗体クローン M14 のイヌ化可変軽鎖アミノ酸配列
70	EVQLVESGPSLVKPGGLRLTCVT	イヌ化 M14 HC-FR1
71	NWIRKFPGNKLEYMG	イヌ化 M14 HC-FR2
72	RITISRTDSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYC	イヌ化 M14 HC-FR3
73	NPSLKSRTISRTDSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYC	代替のイヌ化 M14 HC-FR3
74	WGQQGTLTVSS	イヌ化 M14 HC-FR4
75	DIVMTQSPASLSVSLGQRATISC	イヌ化 M14 LC-FR1
76	WYQQKPGQSPKLLIY	イヌ化 M14 LC-FR2
77	QIPARFGGSGSGTDFLTIDPVQADDVATYYC	イヌ化 M14 LC-FR3
78	FGGGTKLEIK	イヌ化 M14 LC-FR4
17	EVQLVESGPSLVKPGGLRLTCVTGDSITSGYWNW IRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSLKSRTISRDTSK NQYYLQLNSVTTEDTATYYCARYGNYGYAMDYWGQ GTLTVSSASTTAPSVFPLAPSCGSTSGSTVALACL VSGYFPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLHS LSSMVTVPSSRWPSETFTCNVHPASNTKVDPVF NECRCTDTPCPVPEPLGGPSVLIFPPPKDKILRITRT PEVTCVVLDLGREDPEVQISWFVDGKEVHTAKTQSR EQQFNGTYRVVSVLPIEHQDWLTGKEFKCRVNHIDL PSPIERTISKARGRAHKPSVYVLPSPKELSSSDTVSI TCLIKDFYPPDIDVEWQSNGQQEPPERKHRMTPPQLD EDGSYFLYSKLSVDKSRWQQGDPFTCAVMHETLQN HYTDLSLSHSPGK	マウス抗体クローン M14 及びイヌ IgG-A からのイヌ化重鎖配列

10

20

30

40

50

18	EVQLVESGPSLVKPGGLRLTCVTGDSITSGYWYW IRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSLKSRTISRDTSK NQYYLQLNSVTTEDTATYYCARYGNYGYAMDYWGQ GTLTVSSASTTAPSVFPLAPSCGSTSGSTVALACL VSGYFPEPVTVWSNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYS LSSMVTVPSSRWPSETFTCNVAHPASKTKVDKPVP KRENGRVRPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFIFPPKPKD TLLIARTPEVTCVVVDLDPEDPEVQISWFVDGKQM TAKTQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFTC KVNNKALPSPERTISKARGQAHQPSVYVLPPSREEL SKNTVSLTCLIKDFFPDIDVEWQSNGQQEPESKYRT TPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMH EALHNHYTQESLSHSPGK	マウス抗体クローン M14 及 びイヌ IgG-B からのイヌ化重 鎖配列	10
19	EVQLVESGPSLVKPGGLRLTCVTGDSITSGYWYW IRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSLKSRTISRDTSK NQYYLQLNSVTTEDTATYYCARYGNYGYAMDYWGQ GTLTVSSASTTAPSVFPLAPSCGSQSGSTVALACL VSGYIPEPVTVWSNSVSLTSGVHTFPSVLQSSGLYS LSSMVTVPSSRWPSETFTCNVAHPATNTKVDKPVA KECECKCNCNNCPCPGCGLLGGPSVFIFPPKPKDIL VTARTPTVTCVVVDLDPENPEVQISWFVDSKQVQTA NTQPREEQSNQGTYRVVSVLPIGHQDWLSGKQFKCK VNNKALPSPIEEISKTPGQAHQPNVYVLPPSRDEMS KNTVTLTCLVKDFFPPEIDVEWQSNGQQEPESKYRM TPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMH EALHNHYTQISLSHSPGK	マウス抗体クローン M14 及 びイヌ IgG-C からのイヌ化重 鎖配列	20
20	EVQLVESGPSLVKPGGLRLTCVTGDSITSGYWYW IRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSLKSRTISRDTSK NQYYLQLNSVTTEDTATYYCARYGNYGYAMDYWGQ GTLTVSSASTTAPSVFPLAPSCGSTSGSTVALACL VSGYFPEPVTVWSNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYS LSSMVTVPSSRWPSETFTCNVVPASNTKVDKPVPK ESTCKCISPCPVPESLGGPSVFIFPPKPKDILRIRTP EITCVVLDLGREDPEVQISWFVDGKEVHTAKTQP QQFNSTYRVVSVLPIEHQDWLTGKEFKCRVNIGLP	マウス抗体クローン M14 及 びイヌ IgG-D からのイヌ化重 鎖配列	30

	SPIERTISKARGQAHQPSVYVLPPSPKELSSSDTVTL TCLIKDFFPPEIDVEWQSNGQPEPESKYHTTAPQLDE DGSYFLYSKLSVDKSRWQQGDTFTCAVMHEALQNH YTDLSSLHSPGK	
21	DIVMTQSPASLSVSLGQRATISCRASESVDTYGNSF MHWYQQKPGQSPKLLIYRASNLESGIPARFGGSGSG TDFTLTIDPVQADDVATYYCQQSYEDPWTFGGGTKL EIKRNDAQPAVYLFPQSPDQLHTGSASVVCLNSFY PKDINVWKVVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYLSST LTMSSTEYLSHELYSCEITHKSLPSTLIKFQSECQ RVD	マウス抗体クローン M14 及 びイヌ軽鎖定常領域からのイ ヌ化軽鎖配列
22	MLSHTGPSRFALFLLCSMETLLSSHMAPTHQLPPSD VRKIILELQPLSRGLLEDYQKKETGPESNRTLLLCLT SDSQPPRLNSSAILPYFRAIRPLSDKNIIDKIIEQLDKL KFQHEPETEISVPADTFECKSFILTILQQFSACLESVF KSLNSGPQ	イヌ IL31 アミノ酸配列
23	PSDVRKIIILELQPLSRG	イヌ IL31 エピトープ
24	DIVLTQSPASLAvgLQRATISCRASESVDTYGNSF MHWYQQKSGQSPKLLIYRASNLESGIPARFGGSGSR TDFTLTIDPVVEADDVATYYCQQSYEDPWTFGGGTKL EIK	マウス抗体クローン M14 の 可変軽鎖アミノ酸配列
25	EVQLQESGPSLVKPSQTLSTCSVTDGDSITSGYWYW IRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSLKSRSITRDTSK NQYYLQLNSVTTEDTATYYCARYGNYGYAMDYWGQ GTSVTVSS	マウス抗体クローン M14 の 可変重鎖アミノ酸配列
26	DIVLTQSPASLAvgLQRATISCRASESVDTYGNSF MHWYQQKSGQSPKLLIYRASNLESGIPARFGGSGSR TDFTLTIDPVVEADDVATYYCQQSYEDPWTFGGGTKL EIKRNDAQPAVYLFPQSPDQLHTGSASVVCLNSFY PKDINVWKVVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYLSST LTMSSTEYLSHELYSCEITHKSLPSTLIKFQSECQ RVD	マウス抗体クローン M14 及 びイヌ軽鎖定常領域のキメラ 可変軽鎖
27	EVQLQESGPSLVKPSQTLSTCSVTDGDSITSGYWYW IRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSLKSRSITRDTSK NQYYLQLNSVTTEDTATYYCARYGNYGYAMDYWGQ	マウス抗体クローン M14 及 びイヌ IgG-B のキメラ可変重 鎖

10

20

30

40

50

	GTSVTVSSASTTAPSVFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGYFPEPVTVWSNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVPSSRWPSETFTCNVAHPASKTKVDKPVPKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFIFPPKPKDTLLIARTPEVTCVVVDLDPEDPEVQISWFVDGKQMQTAKTQPREEQFNQTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFTCKVNNKALPSPPIERTISKARGQAHQPSVYVLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFFPPDIDVEWQSNGQQEPESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMH EALHNHYTQESLSHSPGK		10
28	MLSHAGPARFALFLCCMETLLPSHMAPAHLRLQ <i>PS</i> <i>DVRK</i> <del>I</del> LELRPMISKGLLQDYLKKEIGLPESNHSSLPCLSSDSQLPHINGSAILPYFRAIRPLSDKNTIDKIIEQLDKLKFKQREPEAKVSMPADNFERNFILAVLQQFSACLEHVLQSLNSGPQ	ネコ IL31 アミノ酸配列 NCBI ref. XP_011286140.1 [イエネコ( <i>felis catus</i> )]	
29	MVSHIGSTRFALFLLCCLGTLMSHTGPIYQLQPKEIQAIIVELQNLSQLKKLDDYLNKEKGVQKFDSLPCFTSDSQAPGNINSSAILPYFKAISPSLNNNDKSLYIIEQLDKLNFQNAPETEVSMPTDNFERKRFILTILRWFSNCLELAMKTLTTAEQALPPLDPSTPHAGAVALTHHQQDRTALDRAVFPFVWAAPRGGEVGDGHH	ウマ IL31 アミノ酸配列	20
30	DIVLTQSPASLA VSLGQRATISC RASESVD TYGNSFMHWYQQKSGQSPKLLIYRASNLES GIPARFGGSGSTDFTLTIDPVEADDV ATYYCQQSYEDPWTFGGTKL EIKRSDAQPSVFLFQPSLDELHTGSASIVCILNDYPKEVNVWKV DGVVQNKG IQUESTTEQNSKDSTYLSSTLTMSSTEYQSHEKFSC EVTHKS LASTLVKSFNRSEC QRE	マウス抗体クローン M14 及びネコ軽鎖定常領域のキメラ可変軽鎖	30
31	EVQLQESGPSLVKPSQTLSLTCSVTGDSITSGYW NWIRKFPGNKLEYMGYISYSQITDYNPSLKSRSITRDT SKNQYYLQLNSVTTEDATYYCARYGNYGYAMDYWGQGTSVTVSSASTTAPSVFPLAPSCGTTSGATVALACVLGYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFP AVLQASGLYSLSSMVTVPSSRWLSDTFTCNVAHPPSNTKVDKTVR	マウス抗体クローン M14 及びネコ重鎖定常領域のキメラ可変重鎖	40

	KTDHPPGPKPCDCPKC PPPPEMLGGPSIFIFPPPKKD TLSISRTPEVTCLVVDLGPDDSDVQITWFVDNTQVY TAKTSPREEQFNSTYRVVSVLPILHQDWLKGKEFKC KVNSKSLPSPPIERTISKAKGQPHEPVYVLPPAQEEL SRNKSVTCLIKSFHPPDIAVEWEITGGQPEPENNYRT TPPQLDSDGTYFVYSKLSVDRSHWQRGNTYTCVS HEALHSHTQKSLTQSPGK		
32	EIQMTQSPSSLSASPGDRV TISCRASESVD TYGNSF MHWYQQKPGQSPKLLIYRASNLESGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLEPEDAATYYCQQSYEDPWTFGGGTK LEIK	マウス抗体クローン M14 からのネコ化可変軽鎖配列	10
33	DVQLVESGGDLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSGYWN WVRQAPGKGLQWVAYISYSQITDYADSVKGRFTISR DNAKNTLYLQLNNLKAEDTATYYCARYGN YGYAMD YWQQGTLTVSS	マウス抗体クローン M14 からのネコ化可変重鎖配列	
79	DVQLVESGGDLVKPGGSLRLTCSVT	ネコ化 M14 HC-FR1	
80	NWVRQAPGKGLQWVA	ネコ化 M14 HC-FR2	20
81	ADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQLNNLKAEDTATYYC A	ネコ化 M14 HC-FR3	
82	WGQQGTLTVSS	ネコ化 M14 HC-FR4	
83	EIQMTQSPSSLSASPGDRV TISC	ネコ化 M14 LC-FR1	
84	WYQQKPGQSPKLLIY	ネコ化 M14 LC-FR2	
85	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDAATYYC	ネコ化 M14 LC-FR3	
86	FGGGT KLEIK	ネコ化 M14 LC-FR4	
34	EIQMTQSPSSLSASPGDRV TISCRASESVD TYGNSF MHWYQQKPGQSPKLLIYRASNLESGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLEPEDAATYYCQQSYEDPWTFGGGTK LEIKRSDAQPSVFLQPSLDELHTGSASI V CILNDFYP KEVNWKVKGVVQNKG I QESTTEQNSKDSTYSLSS TLTMSSTEYQSHEKFSC EVTHKS LASTLVKSFNRSE CQRE	マウス抗体クローン M14 からのネコ化軽鎖配列	30
35	DVQLVESGGDLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSGYWN WVRQAPGKGLQWVAYISYSQITDYADSVKGRFTISR DNAKNTLYLQLNNLKAEDTATYYCARYGN YGYAMD YWQQGTLTVSSASTTAPSVFPLAPSCGTTSGATV	マウス抗体クローン M14 からのネコ化重鎖配列	40

	ALACLVLGYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQA SGLYSLSSMVTVPSSRWLSDTFTCNVAHPPSNTKV DKTVRKTDHPPGPKPCDCPKCPPPEMLGGPSIFIP PKPKDTLSISRTPEVTCLVVDLGPDDSDVQITWFVDN TQVYTAKTSPREEQFNSTYRVVSVLPILHQDWLKKG EFKCKVNSKSLPSPIERTISKAKGQPHEPVYVLPPA QEELSRNKVSVTCLIKSFHPPDIAVEWEITGGPEPEN NYRTTPPQLDSDGTYFVYSKLSVDRSHWQRGNTYT CSV SHEALHSHHTQKSLTQSPGK	
36	METDTLLLWVLLWVPGSTGDIVLTQSPASLA VSLG QRATISCRASESVDTYGNSFMHWYQQKSGQSPKLLI YRASNLESGIPARFGGSGSRDFTLTIDPV EADDVAT YYCQQSYEDPWTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPS SEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVWKWIDGSERQN GVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLT KDEYERHNSYT CEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	マウス抗体クローン M14 の 軽鎖アミノ酸配列
37	METDTLLLWVLLWVPGSTGDIVLTQSPASLA VSPG QRATISCRASESVDTYGNSFIHWYQQKPGQSPKLLIY RASNLESGIPARFSGGSGSRDFTLTINPVETDDVATY YCQQSYEDPWTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSE QLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVWKWIDGSERQNGV LNSWTDQDSKDSTYSMSSTLT KDEYERHNSYTCE ATHKTSTSPIVKSFNRNEC	マウス抗体クローン M18 の 軽鎖アミノ酸配列
38	METDTLLLWVLLWVPGSTGDIVLTQSPASLA VSLG QRATISCRASESVDTYGNSFMHWYQQKPGQPPKLLI YRASNLESGIPARFSGGSGSRDFTLTINPV EADDIATY YCQQSYEDPWTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPS QLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVWKWIDGSERQNGV LNSWTDQDSKDSTYSMSSTLT KDEYERHNSYTCE ATHKTSTSPIVKSFNRNEC	マウス抗体クローン M19 の 軽鎖アミノ酸配列
39	METDTLLLWVLLWVPGSTGDIVLTQSPASLA VSLG QRATISYRASKSVSTSGYSYMHWNNQQKPGQPRLLI YLVSNLESGVPARFSGGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAA TYYCQHIRELTRSFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSS EQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVWKWIDGSERQNG	マウス抗体クローン M87 の 軽鎖アミノ酸配列

10

20

30

40

50

	VLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLKDEYERHNSYTC EATHKTSTSPIVKSFNRC	
64	METDTLLLWVLLLWPGSTGDIVLTQSPASLA VSPG QRATISCRASESVDTYGNSFIHWYQQKPGQSPKLLI Y RASNLESGIPARFSGSGSRDFTLTINPVETDDVAT Y YCQQSYEDPWTFGGGTKLEIK	マウス抗体クローン M18 の可変軽鎖アミノ酸配列
65	METDTLLLWVLLLWPGSTGDIVLTQSPASLA VSLG QRATISCRASESVDTYGNSFMHWYQQKPGQPPKLLI Y YRASNLESGIPARFSGSGSRDFTLTINPVVEADDIAT Y YCQQSYEDPWTFGGGTKLEIK	マウス抗体クローン M19 の可変軽鎖アミノ酸配列
66	METDTLLLWVLLLWPGSTGDIVLTQSPASLA VSLG QRATISYRASKSVSTSGYSYMHWNQQKPGQPPRLLI Y YLVSNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIIHPVEEDAA T TYYCQHIRELTRSFGGGTKLEIK	マウス抗体クローン M87 の可変軽鎖アミノ酸配列
40	MAVLGLLCLVTFPSCVLSEVQLQESGPSLVKPSQT LSLTCSVTGDSITSGYWNLWIRKFPGNKLEYMGYISYS GITDYNPSLKSRSITRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTAT YYCARYGNYGYAMDYWGQQGTSVTVSSAKTPPSVY PLAPGS	マウス抗体クローン M14 の可変及びヒンジ重鎖アミノ酸配列
41	MAVLGLLFCVLTFPSCVLSEVQLQESGPSLVKPSQT LSLTCSVTGDSITSGYWNLWIRKFPGNKLEYMGYISYS GITDYNPSLKSRSITRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTAT YYCARYGNYGYAMDYWGQQGTSVTVSSAKTPPSVY PLAPGS	マウス抗体クローン M18 の可変及びヒンジ重鎖アミノ酸配列
42	MAVLGLLFCVLTFPSCVLSEVQLQESGPSLVKPSQT LSLTCSVTGDSITSGYWNLWIRKFPGNNELEYMGYISYS GITYYNPSLKSRSITRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTA TYYCARYGNYGYAMDYWGQQGTSVTVSSAKTPPSV YPLAPGS	マウス抗体クローン M19 の可変及びヒンジ重鎖アミノ酸配列
43	MAVLGLLFCVLTFPSCVLSEVKLVESGGGLVQPGGS LRLSCATSGFTFTDYYMNWVRQPPGKALEWLGFIRN KANGYTTEYSASVKGRTISRDNSQSILYLMQMTLRA EDSATYYCARDYYGSCFDYWGQQGTTLTVSSAKTP PSVYPLAPGS	マウス抗体クローン M87 の可変及びヒンジ重鎖アミノ酸配列
67	MAVLGLLFCVLTFPSCVLSEVQLQESGPSLVKPSQT	マウス抗体クローン M18 の

10

20

30

40

50

	LSLTCVTGDSITSGYWNWIRKFPGNKLEYMGYISYS GITDYNPSLKSRSITRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTAT YYCARYGNYGYAMDYWGQQGTSVTVSS	可変重鎖アミノ酸配列
68	MAVLGLLFCLVTFPSCVLSEVQLQESGPSLVKPSQT LSLTCVTGDSITSGYWNWIRKFPGNLELYMGYISYS GITYYNPSLKSRSITRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTA TYYCARYGNYGYAMDYWGQQGTSVTVSS	マウス抗体クローン M19 の 可変重鎖アミノ酸配列
69	MAVLGLLFCLVTFPSCVLSEVKLVESGGGLVQPGGS LRLSCATSGFTFTDYYMNWVRQPPGKALEWLGFRN KANGYTTEYSASVKGRTFISRDNQSILYLQMNTLRA EDSATYYCARDYYGSCFDYWGGQGTTLTVSS	マウス抗体クローン M87 の 可変重鎖アミノ酸配列
44	SSHMAPTHQLP <del>PSDVRK</del> I <del>LELQPLSRGLLEDYQKKE</del> TGVPESNRTLLLCLTSDSQPPRLNSSAILPYFRAIRP LSDKNIIDKIIEQLDKLKFQHEPETEISVPADTFECKSFI LTILQQFSACLESVFKSLNSGPQ	成熟イヌ IL31 アミノ酸配列
45	PSDX <sub>1</sub> X <sub>2</sub> KI、ここで X <sub>1</sub> 及び X <sub>2</sub> は任意のアミノ酸であるか、又は X <sub>1</sub> は疎水性アミノ酸であるか、又は X <sub>1</sub> は A、V、I、及び L から選択されるか、又は X <sub>1</sub> は V 及び I から選択され、X <sub>2</sub> は親水性アミノ酸であるか、又は X <sub>2</sub> は A、R、K、Q、及び N から選択されるか、又は X <sub>2</sub> は R 及び Q から選択される。	IL31 エピトープ
88	PSDVRKI	代替のイヌ IL31 エピトープ
46	MASHGPSTSVLFLFCCLGGWLASHTLPVRLLRPSD DVQKIVEELQSLSKMLLKDVEEKGVVLVSQNYTLPC SPDAQPPNNIHSPAIRAYLKTIQLDNKSVIDEIIHLD KLIFQDAPETNISVPTDTHECKRFILTISQQFSECMDL ALKSLTSGAQQATT	ヒト IL31 前駆体アミノ酸配列 NCBI ref. NP_001014358.1
47	MLSHAGPARFALFLCFMGTSLSQTAPIHQLH <del>PSD</del> <del>VRK</del> I <del>LELQPLSKGLLEDY</del> LKKEMGVPESNHFLPCLT SDSQPPRINSSAILPYFRAIRPLSDKNTINKIIEQLDKL KFQHEPETEVSPADTFESKSFILELQQFSACLDHV FKSLNPQGPQQVMQGHЛИEPIPSGTADV	予測されるセイウチ IL31 アミノ酸配列 NCBI ref. XP_004395998.1 [セイウチ( <i>odobenus rosmarus divergens</i> )]
48	MLSHAGPARFALFLCFMGTSLSQTAPIHQLH <del>PSD</del> <del>VRK</del> I <del>LELQPLSKGLLEDY</del> LKKEMGVPESNHFLPCLT SDSQPPRINSSAILPYFRAIRPLSDKNTINKIIEQLDKL	セイウチ_IL31_His6

10

20

30

40

50

	KFQHEPETEVSVPADESKSFLAILQQFSACLDHV FKSLNPGPQQVMQGHLIEPIPSGTADV <i>GSGSHHHHHH</i> <i>H</i>	
49	MASHSGPATSVLFLLCCLGGWLTSHLPVHFQ <i>PSD</i> <i>IQKVEELQSLSKMLLKDVKEDKGVLVSQNYTLPCLT</i> PDAQPPNIIHSPAIRAYLKTIRELDNKSVIDEIIEHLDKL FQDAPETNISVPTDTHECKRFLTISQQFSECMDLAL KSLTSGAQQQATT <i>GSGSHHHHHH</i>	予測されるアヌビスヒビ IL31 アミノ酸配列 NCBI ref: XP_003907358.1 [アヌビスヒビ( <i>papio anubis</i> )]
50	MASHSGPATSVLFLLCCLGGWLTSHLPVHFQ <i>PSD</i> <i>IQKVEELQSLSKMLLKDVKEDKGVLVSQNYTLPCLT</i> PDAQPPNIIHSPAIRAYLKTIRELDNKSVIDEIIEHLDKL FQDAPETNISVPTDTHECKRFLTISQQFSECMDLAL KSLTSGAQQQATT <i>GSGSHHHHHH</i>	アヌビスヒビ_IL31_His6
51	MLSRAVPAGFALFLLCYMETLLTSHTAPTHRLP <i>PSD</i> <i>VRKILELQPLSKGLLEDYKLKETGLPESNHSLVPCLT</i> SDSEAPHINSSAILPYFRAIRPLSDKNVIDKIIEQLDKL KFQHEPETEVSVPADETFEGKSFLTILQQFSACLERV FKSLNPGQAQ	予測されるホッキョクグマ IL31 アミノ酸配列 NCBI ref: XP_008687166.1 [ホッキョクグマ( <i>ursus maritimus</i> )]
52	MLSHAGPARFALFLLCMETSLTSQTVPIHQLQ <i>PSD</i> <i>VRKILELQPLSKGLLEDYLKEMGVPESNHFLPCLT</i> SDSQPRINSSAILPYFRAIRPLSDKNIIINKIIEQLDKL FQHEPETEVSVPADETFESKSFLTILQQFSACLGHVL KSLNPGPQQVMQGHLAKPIPSGTADMYETLRHHH	予測されるアザラシ IL31 アミノ酸配列 NCBI ref: XP_006746595.1 [アザラシ( <i>leptonychotes weddellii</i> )]
53	MLSHAGPARFALFLLCMETLLPSHMAPTHRLQ <i>PS</i> <i>DVRKILELRPMMSKGLLQDYLKKEMGLPESNHSSLPC</i> LSSDSQLPHINGSAILPYFRAIRPLSDKNTIDKIIQLD KLKFQREPEAEVSMPADNFERKNFILAVLQQFSACLE HVLQSLNSGPQ	予測されるアムールトラ IL31 アミノ酸配列 NCBI ref: XP_007079636.1 [アムールトラ( <i>panthera tigris altaica</i> )]
54	MLSHAGPARFALFLLCMETLLPSHMAPTHRLQ <i>PS</i> <i>DVRKILELRPMMSKGLLQDYLKKEMGLPESNHSSLPC</i> LSSDSQLPHINGSAILPYFRAIRPLSDKNTIDKIIQLD KLKFQREPEAEVSMPADNFERKNFILAVLQQFSACLE HVLQSLNSGSQ	予測されるチーター IL31 アミノ酸配列 NCBI ref: XP_014919275.1 [チーター( <i>acinonyx jubatus</i> )]
55	MASHSGPATSVLFLLCCLGGWLTSHLPVHFQ <i>PSD</i> <i>IQKVEELQSLSKMLLKDVKEDKGVLVSQNYTLPCLT</i>	予測されるカニクイザル IL31 アミノ酸配列

10

20

30

40

50

	PDAQPPNIIHSPAIRAYLKTIRQLDNKSVIDEIEHLDKL IFQDAPETNISVPTDHECKRFLITISQQFSECMDLAL KSLTSGAQQATT	GenBank ref: EHH66805.1 [カニクイザル( <i>macaca fascicularis</i> )]
56	GPATSVLFLLCCLGGWLTSHTLPVHFLQ/PSDI/QKNE ELQSLSKMLLKDVKEDKGVLVSQNYTLPCLPDAQP PNIIHSPAIRAYLKTIRQLDNKSVIDEIEHLDKLIFQDA PETNISVPTDHECKRFLITISQQFSECMDLALKSLTS GAQQATT	予測されるアカゲザル IL31 アミノ酸配列(部分)  GenBank ref: EHH21279.1 [アカゲザル( <i>macaca mulatta</i> )]
57	MASHSGPATSVLFLLCCLGGWLTSHTLPVHFLQ/PSD IQKNEELQSLSKMLLKDVKEDKGVLVSQNYLPCLT PDAQPPNIIHSPAIRAYLKTIRQLDNRSVIDEIEHLDKL IFQDAPETNISVPTDHECKRFLITISQQFSECMDLAL KSLTSGAQQATT	予測されるドリル IL31 アミノ酸配列  NCBI ref: XP_011819882.1 [ドリル( <i>mandrillus leucophaeus</i> )]
58	MASHSGPATSVLFLLCCLGGWLTSHTLPVHFLQ/PSD IQKNEELQSLSKMLLKDVKEDKGVLVSQNYLPCLT PDAQPPNIIHSPAIRAYLKTIRQLDNRSVIDEIEHLDKL IFQDAPETNISVPTDHECKRFLITISQQFSECMDLAL KSLTSGAQQATT	予測されるミドリザル IL31 アミノ酸配列  NCBI ref: XP_008003211.1 [ミドリザル( <i>chlorocebus sabaeus</i> )]
59	MASHSGPATSVLFLLCCLGGWLTSHTLPVHFLQ/PSD IQKNEELQSLSKMLLKDVKEDKGVLVSQNYLPCLT PDAQPPNIIHSPAIRAYLKTIRQLDNRSVIDEIEHLDKL IFQDAPETNISVPTDHECKRFLITISQQFSECMDLAL KSLTSGAQQATT	予測されるスティーマンガバイ IL31 アミノ酸配列  NCBI ref: XP_011926625.1 [スティーマンガバイ ( <i>cercocetus atys</i> )]
60	MASHSGPTTSVLFLLCCLGGWLTSHTLPVHFLR/PSD IQKNEELQSLSKMLLKDVEEDKGVLVSQNYLPCLT PDAQPPNIIHSPAIRAYLKTIRQLDNKSVIDEIEHLDKL IFQDAPETNISVPTDHECKRFLITISQQFSECMDLAL KSLTSGAQQATT	予測されるキンシコウ IL31 アミノ酸配列  NCBI ref: XP_010366647.1 [キンシコウ( <i>rhinopithecus roxellana</i> )]
61	MIFHTGTTKPTLVLLCCIGTWLATCSLSFGAPISKEDL RTTIDLLKQESQDLYNNYSIKQASGMSADESQLPCF SLDREALTNISVIAHLEKVVKVLENTVDTSWIRWLT NISCFNPLNLNISVPGNTDESYDCKVFVLTVLKQFSN CMAELQAKDNTTC	マウスの IL31 前駆体アミノ酸配列  NCBI ref: NP_083870 [ハツカネズミ( <i>mus musculus</i> )]

10

20

30

40

## 【 0 0 3 9 】

## 特定の実施形態の説明

イヌ IL31、ネコ IL31、又はウマ IL31 と結合する抗体が提供される。IL31 と結合する抗体を形成することができる抗体重鎖及び抗体軽鎖も提供される。さらに、1 又は複数の特定の相補性決定領域 (CDR) を含む抗体、重鎖、及び軽鎖が提供される。イヌ IL31 に対する抗体をコードするポリヌクレオチドが提供される。イヌ IL31 に対する抗体を産生し又は精製する方法も提供される。イヌ IL31 に対する抗体を用いて処置する方法が提供される。そのような方法には、それだけに限らないが、伴侶動物種における IL31 に誘導された状態を処置する方法が含まれる。伴侶動物種からの試料中

50

の I L 3 1 を検出する方法が提供される。

**【 0 0 4 0 】**

読者の利便のため、本明細書で用いる用語の下記の定義が提供される。

**【 0 0 4 1 】**

本明細書で用いる場合、K d 等の数値的用語は科学的測定に基づいて計算され、したがって適切な測定誤差を免れない。いくつかの場合には、数値的用語は最も近い有効数字に丸められた数値を含み得る。

**【 0 0 4 2 】**

本明細書で用いる場合、「1つの（「a」又は「a n」）」は、他に特定しない限り、「少なくとも1つの」又は「1若しくは複数の」を意味する。本明細書で用いる場合、用語「又は」は、他に特定しない限り、「及び／又は」を意味する。多重従属請求項の文脈においては、他の請求項に遡って引用する場合の「又は」の使用は、選択肢における請求項のみを意味する。

**【 0 0 4 3 】**

**抗 I L 3 1 抗体**

I L 3 1 に対する新規な抗体、例えばイヌ I L 3 1 、ネコ I L 3 1 、及び／又はウマ I L 3 1 に結合する抗体が提供される。本明細書で提供される抗 I L 3 1 抗体は、それだけに限らないが、モノクローナル抗体、マウス抗体、キメラ抗体、イヌ化抗体、ネコ化抗体、及びウマ化抗体を含む。いくつかの実施形態では、抗 I L 3 1 抗体は M 1 4 、 M 1 8 、 M 1 9 、及び M 8 7 等の単離されたマウスモノクローナル抗体である。

**【 0 0 4 4 】**

モノクローナル抗体 M 1 4 、 M 1 8 、 M 1 9 、及び M 8 7 は、以下のようにして単離した。簡単には、マウスをイヌ I L 3 1 で免疫し、標準的なハイブリドーマ技術によってマウスモノクローナル抗体クローニングを得た。I L 3 1 結合抗体を産生するハイブリドーマクローニングをスクリーニングするために酵素結合免疫吸着アッセイ（ E L I S A ）を用いた。本明細書に記載した結合親和性及び細胞に基づく機能アッセイに基づいて、モノクローナル抗体 M 1 4 、 M 1 8 、 M 1 9 、及び M 8 7 を産生するハイブリドーマクローニングを、さらなる検討のために選択した。4つのクローニングのそれぞれの可変重鎖（ V H ）及び可変軽鎖（ V L ）をシーケンシングし、配列アラインメントによって解析した（図 1 ）。

**【 0 0 4 5 】**

モノクローナル抗体 M 1 4 のアミノ酸配列も本明細書に提供される。例えば、モノクローナル抗体 M 1 4 について、可変重鎖 C D R （配列番号 1 ~ 3 。配列番号 8 9 は C D R - H 2 の代替の定義である）、可変軽鎖 C D R （配列番号 8 ~ 1 0 ）、可変領域重鎖フレームワーク配列（配列番号 4 ~ 7 ）、及び可変領域軽鎖フレームワーク配列（配列番号 1 1 ~ 1 4 ）が提供される。モノクローナル抗体 M 1 4 の可変軽鎖、軽鎖、可変重鎖、並びに可変及びヒンジ重鎖のアミノ酸配列が提供される（それぞれ配列番号 2 4 、 3 6 、 2 5 、及び 4 0 ）。

**【 0 0 4 6 】**

さらに、モノクローナル抗体 M 1 8 、 M 1 9 、及び M 8 7 の C D R 、フレームワーク配列、可変軽鎖、可変重鎖のアミノ酸配列が提供される（例えば図 1 を参照）。モノクローナル抗体 M 1 9 について可変重鎖 C D R （配列番号 1 ~ 3 。配列番号 8 9 は C D R - H 2 の代替の定義である）、可変軽鎖 C D R （配列番号 8 ~ 1 0 ）、可変軽鎖（配列番号 6 5 ）、軽鎖（配列番号 3 8 ）、可変及びヒンジ重鎖（配列番号 4 2 ）、並びに可変重鎖（配列番号 6 8 ）が提供される。モノクローナル抗体 M 1 8 について可変重鎖 C D R （配列番号 1 、 6 2 、及び 3 ）。配列番号 8 7 は C D R - H 2 の代替の定義である）、可変軽鎖 C D R （配列番号 6 3 、 9 、及び 1 0 ）、可変軽鎖（配列番号 6 4 ）、軽鎖（配列番号 3 7 ）、可変及びヒンジ重鎖（配列番号 4 1 ）、並びに可変重鎖（配列番号 6 7 ）が提供される。モノクローナル抗体 M 8 7 について可変軽鎖（配列番号 6 6 ）、軽鎖（配列番号 3 9 ）、可変及びヒンジ重鎖（配列番号 4 3 ）、並びに可変重鎖（配列番号 6 9 ）が提供される。

**【 0 0 4 7 】**

10

20

30

40

50

モノクローナル抗体M14、M18、M19、及びM87に由来するキメラ、イヌ化、ネコ化、及びウマ化抗体も本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、配列番号15～21及び70～78等の、イヌ化モノクローナル抗体M14のアミノ酸配列が提供される。いくつかの実施形態では、配列番号32～35及び79～86等の、モノクローナル抗体M14に由来するネコ化抗体のアミノ酸配列が提供される。いくつかの実施形態では、配列番号26、27、30、及び31等の、モノクローナル抗体M14に由来するキメラ抗体のアミノ酸配列が提供される。

#### 【0048】

用語「抗体」は、本明細書において最も広い意味で用いられ、所望の抗原結合活性を示す限り、それだけに限らないがモノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば二重特異性（二重特異性T細胞エンゲージャー等）及び三重特異性の抗体）、並びに抗体断片（F<sub>a</sub>b、F(a<sub>b</sub>)<sub>2</sub>、S<sub>c</sub>F<sub>v</sub>、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、及びテトラボディ等）を含む種々の抗体構造を包含する。イヌ、ネコ、及びウマの種は、多くの哺乳動物によって共有される異なる多様性（クラス）の抗体を有する。

10

#### 【0049】

用語「抗体」は、それだけに限らないが、抗原に結合することができる断片、例えばF<sub>v</sub>、単鎖F<sub>v</sub>(s<sub>c</sub>F<sub>v</sub>)、F<sub>a</sub>b、F<sub>a</sub>b'、d<sub>i</sub>-s<sub>c</sub>F<sub>v</sub>、s<sub>d</sub>A<sub>b</sub>（シングルドメイン抗体）、及び(F<sub>a</sub>b')<sub>2</sub>（化学的に連結されたF(a<sub>b</sub>')<sub>2</sub>を含む）を含む。抗体のパパイン消化によって、それぞれが单一の抗原結合部位を有する、「F<sub>a</sub>b」断片と称される2つの同一の抗原結合性断片、及びその名称が容易に結晶化する能力を反映する残りの「F<sub>c</sub>」断片が産生される。ペプシン処理によって、2つの抗原結合部位を有し、なお抗原を架橋させる能力を有するF(a<sub>b</sub>')<sub>2</sub>断片が得られる。用語「抗体」は、それだけに限らないが、キメラ抗体、ヒト化抗体、及びマウス、ヒト、カニクイザル、イヌ、ネコ、ウマ、その他等の種々の種の抗体も含む。さらに、本明細書で提供した全ての抗体コンストラクトについて、他の生物体からの配列を有するバリエントも意図されている。したがって、マウスの抗体のバージョンが開示されれば、当業者はマウスの配列に基づく抗体をどのようにネコ、イヌ、ウマ、その他の配列に変換するかを理解するはずである。抗体断片は、単鎖s<sub>c</sub>F<sub>v</sub>、タンデムd<sub>i</sub>-s<sub>c</sub>F<sub>v</sub>、ダイアボディ、タンデムt<sub>r</sub>i-s<sub>d</sub>cF<sub>v</sub>、ミニボディ、その他のいずれかの配向も含む。抗体断片はナノボディ(s<sub>d</sub>A<sub>b</sub>、重鎖の可変ドメインのペア等の、軽鎖を有しない单一のモノマー性ドメインを有する抗体)も含む。抗体断片は、いくつかの実施形態では、特定の種であると称することもできる（例えば、マウスs<sub>c</sub>F<sub>v</sub>又はイヌs<sub>c</sub>F<sub>v</sub>）。これは、コンストラクトの源というよりむしろ、非CDR領域の少なくとも一部の配列を意味する。いくつかの実施形態では、抗体は標識を含むか、又は第2の部分にコンジュゲートしている。

20

#### 【0050】

用語「標識」及び「検出可能な標識」は、特定の結合ペアのメンバーの間の反応（例えば結合）が検出可能になるように、抗体又はその被分析物に結合された部分を意味する。特定の結合ペアの標識されたメンバーは、「検出可能に標識された」と称される。したがって、用語「標識された結合タンパク質」は、結合タンパク質の同定を提供する標識が組み込まれたタンパク質を意味する。いくつかの実施形態では、標識は目視又は機械的手段によって検出可能なシグナルを產生することができる検出可能なマーカー、例えば放射標識されたアミノ酸の組込み、又はマークされたアビジン（例えば光学法若しくは比色法によって検出可能な蛍光性マーカー又は酵素活性を含むストレプトアビジン）によって検出可能なビオチン化部分のポリペプチドへの結合である。ポリペプチドのための標識の例には、それだけに限らないが、以下の、放射性同位体若しくは放射性核種（例えば<sup>3</sup>H、<sup>14</sup>C、<sup>35</sup>S、<sup>90</sup>Y、<sup>99</sup>Tc、<sup>111</sup>In、<sup>125</sup>I、<sup>131</sup>I、<sup>177</sup>Lu、<sup>166</sup>Ho、又は<sup>153</sup>S m）、色素原、蛍光性標識（例えばFITC、ローダミン、ランタニド熒光体）、酵素標識（例えばホースラディッシュペルオキシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ）、化学発光マーカー、ビオチニル基、二次リポーターによって認識される所定のポリペプチドエピトープ（例えばロイシンジッパー配列、二次抗体のための

30

40

50

結合部位、金属結合ドメイン、エピトープタグ)、及びガドリニウムキレート等の磁気薬剤が含まれる。イムノアッセイのために一般に採用される標識の代表的な例には、光を発生する部分、例えばアクリジニウム化合物、及び蛍光を発生する部分、例えばフルオレセインが含まれる。これに関して、部分それ自体は検出可能に標識されていなくてもよいが、さらに別の部分との反応によって検出可能になってもよい。

#### 【0051】

用語「モノクローナル抗体」は、実質的に均一な抗体の集団の抗体を意味する。即ち、集団を構成する個々の抗体は、少量存在してもよい可能な天然産生の変異を除いて、同一である。モノクローナル抗体は高度に特異的であり、単一の抗原部位に対している。さらに、典型的には異なった決定基(エピトープ)に対する異なった抗体を含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、それぞれのモノクローナル抗体は抗原の上の単一の決定基に對している。したがって、モノクローナル抗体の試料は抗原の上の同じエピトープに結合することができる。修飾語「モノクローナル」は、実質的に均一な抗体の集団から得られるという抗体の性質を示し、何ら特定の方法による抗体の產生を必要とすると解釈すべきではない。例えば、モノクローナル抗体は、Kohler及びMilstein、1975年、Nature 256:495頁によって最初に記述されたハイブリドーマ法によって作成することができ、又は米国特許第4,816,567号に記載されているような組み換えDNA法によって作成することができる。モノクローナル抗体は、例えばMcCaffertyら、1990年、Nature 348:552~554頁に記載されている手法を用いて生成されたファージライブラリーから単離してもよい。

10

#### 【0052】

いくつかの実施形態では、モノクローナル抗体はクローンM14、M18、M19、及びM87から選択される、単離されたマウス抗体である。

#### 【0053】

「アミノ酸配列」は、ペプチド又はタンパク質におけるアミノ酸残基の配列を意味する。用語「ポリペプチド」及び「タンパク質」は相互交換可能に用いられ、アミノ酸残基のポリマーを意味し、最小の長さに限定されない。そのようなアミノ酸残基のポリマーは天然又は非天然のアミノ酸残基を含んでよく、それだけに限らないがペプチド、オリゴペプチド、アミノ酸残基のダイマー、トリマー、及びマルチマーを含む。この定義には、完全長のタンパク質及びその断片の両方が含まれる。本用語は、ポリペプチドの発現後の変性、例えばグリコシル化、シアリル化、アセチル化、リン酸化、その他も含む。さらに、本開示の目的のため、「ポリペプチド」は、タンパク質が所望の活性を維持する限り、未変性の配列への変性、例えば欠失、付加、及び置換(一般には本質的に保存的である)を含むタンパク質を意味する。これらの変性は部位特異的突然変異誘発のように意図的であってもよく、タンパク質を産生する宿主の変異、又はPCR增幅によるエラーのように偶発的であってもよい。

30

#### 【0054】

「IL31」は、本明細書で用いる場合、細胞内におけるIL31の発現及びプロセシングから生じる任意の未変性のIL31を意味する。本用語は、別途指示がない限り、靈長類(例えばヒト及びカニクイザル)及びげっ歯類(例えばマウス及びラット)、及び伴侶動物(例えばイヌ、ネコ、及びウマ)等の哺乳動物を含む任意の脊椎動物源からのIL31を含む。本用語は、天然に存在するIL31のバリエント、例えばスプライスバリエント又は対立遺伝子バリエントも含む。

40

#### 【0055】

いくつかの実施形態では、イヌIL31は配列番号22又は配列番号44のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ネコIL31は配列番号28のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ウマIL31は配列番号29のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ヒトIL31は配列番号46のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、セイウチIL31は配列番号47のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、マウスIL31は配列番号61のアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、IL3

50

1は配列番号49、配列番号51、配列番号52、配列番号53、配列番号54、配列番号55、配列番号56、配列番号57、配列番号58、配列番号59、又は配列番号60のアミノ酸配列を含む。

#### 【0056】

用語、抗体の「IL31結合ドメイン」は、IL31に結合する、抗IL31抗体の軽鎖及び重鎖によって形成された結合ドメインを意味する。

#### 【0057】

いくつかの実施形態では、IL31結合ドメインは、ヒトIL31に結合する場合よりは大きな親和性をもってイヌIL31に結合する。いくつかの実施形態では、IL31結合ドメインは他の伴侶動物のIL31、例えばネコIL31又はウマIL31に結合する。いくつかの実施形態では、IL31結合ドメインはヒトIL31に結合しない。

10

#### 【0058】

本明細書で用いる場合、用語「エピトープ」は、抗原結合分子（例えば抗体、抗体断片、又は抗体結合領域を含むスカフォールドタンパク質）が結合する標的分子（例えばタンパク質、核酸、炭水化物、又は脂質等の抗原）の上の部位を意味する。エピトープは、アミノ酸、ポリペプチド、又は糖側鎖等の分子の化学的に活性な表面グループを含むことが多く、特定の3次元構造特徴、並びに特定の荷電特徴を有している。エピトープは、標的分子の近接した、又は並置された近接していない残基（例えばアミノ酸、ヌクレオチド、糖類、脂質部分）の両方から形成され得る。近接した残基（例えばアミノ酸、ヌクレオチド、糖類、脂質部分）から形成されたエピトープは、典型的には変性溶媒への曝露で保持される一方、三次折り畳みによって形成されたエピトープは、典型的には変性溶媒での処理によって失われる。エピトープは、それだけに限らないが、少なくとも3残基、少なくとも5残基、又は8～10残基（例えばアミノ酸又はヌクレオチド）を含み得る。いくつかの例では、エピトープの長さは20残基（例えばアミノ酸又はヌクレオチド）未満、15残基未満、又は12残基未満である。2つの抗体が抗原に対して競合結合を示す場合には、これらは抗原の中の同じエピトープに結合し得る。いくつかの実施形態では、エピトープは、抗原結合分子のCDR残基へのある最小の距離によって同定することができる。いくつかの実施形態では、エピトープは上記の距離によって同定され、さらに抗体残基と抗原残基との間の結合（例えば水素結合）に関与するそれらの残基に限定される。エピトープは種々のスキャンによっても同定することができ、例えばアラニン又はアルギニンのスキャンは、抗原結合分子が相互作用することができる1又は複数の残基を示すことができる。明示的に注記しない限り、エピトープとしての残基の組は、その他の残基を特定の抗体に対するエピトープの一部であることから排除しない。むしろ、そのような組の存在は、最小限のシリーズ（又は種の組）のエピトープを表わす。したがって、いくつかの実施形態では、エピトープとして同定された残基の組は、抗原上のエピトープの残基の排他的なリストというより、抗原に関連する最小のエピトープを表わす。

20

#### 【0059】

いくつかの実施形態では、エピトープはアミノ酸配列P S D X<sub>1</sub> X<sub>2</sub> K I（配列番号45）を含み、ここでXは任意のアミノ酸残基である。いくつかの実施形態では、X<sub>1</sub>は疎水性アミノ酸である。いくつかの実施形態では、X<sub>1</sub>はA、V、I、及びLから選択される。いくつかの実施形態では、X<sub>1</sub>はV及びIから選択される。いくつかの実施形態では、X<sub>2</sub>は親水性アミノ酸である。いくつかの実施形態では、X<sub>2</sub>はA、R、K、Q、及びNから選択される。いくつかの実施形態では、X<sub>2</sub>はR及びQから選択される。いくつかの実施形態では、X<sub>1</sub>はVであり、X<sub>2</sub>はRである。いくつかの実施形態では、X<sub>1</sub>はIであり、X<sub>2</sub>はQである。いくつかの実施形態では、エピトープは配列番号88のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、エピトープは配列番号23のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、エピトープは配列番号22のアミノ酸34～50の中にある。いくつかの実施形態では、エピトープは配列番号22のアミノ酸34～50を含む。

30

#### 【0060】

用語「CDR」は、当業者への同定の少なくとも1つの様式によって定義される相補性

40

50

決定領域を意味する。いくつかの実施形態では、CDRはチョチア番号付けスキーム、カバット番号付けスキーム、カバットとチョチアの組合せ、AbM定義、接触定義、又はカバット、チョチア、AbM、若しくは接触定義の組合せのいずれかに従って定義することができる。抗体の中の種々のCDRは、限定するものではないがCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、及びCDR-L3を含む適切な番号及び鎖の種類によって表わすことができる。用語「CDR」は、本明細書では超可変ループを含む「超可変領域」又はHVRをも包含して用いられる。

#### 【0061】

いくつかの実施形態では、抗IL31抗体は、(a)配列番号1のアミノ酸配列を含むCDR-H1、(b)配列番号2、配列番号62、配列番号89、若しくは配列番号87のアミノ酸配列を含むCDR-H2、又は(c)配列番号3のアミノ酸配列を含むCDR-H3を含む重鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗IL31抗体は、(a)配列番号8若しくは配列番号63のアミノ酸配列を含むCDR-L1、(b)配列番号9のアミノ酸配列を含むCDR-L2、又は(c)配列番号10のアミノ酸配列を含むCDR-L3を含む軽鎖を含む。

10

#### 【0062】

いくつかの実施形態では、抗IL31抗体は、(a)配列番号1のアミノ酸配列を含むCDR-H1、(b)配列番号2若しくは89のアミノ酸配列を含むCDR-H2、及び(c)配列番号3のアミノ酸配列を含むCDR-H3を含む重鎖、並びに(a)配列番号8若しくは63のアミノ酸配列を含むCDR-L1、(b)配列番号9のアミノ酸配列を含むCDR-L2、及び(c)配列番号10のアミノ酸配列を含むCDR-L3を含む軽鎖を含む。

20

#### 【0063】

いくつかの実施形態では、抗IL31抗体は、(a)配列番号1のアミノ酸配列を含むCDR-H1、(b)配列番号62若しくは87のアミノ酸配列を含むCDR-H2、及び(c)配列番号3のアミノ酸配列を含むCDR-H3を含む重鎖、並びに(a)配列番号8若しくは63のアミノ酸配列を含むCDR-L1、(b)配列番号9のアミノ酸配列を含むCDR-L2、及び(c)配列番号10のアミノ酸配列を含むCDR-L3を含む軽鎖を含む。

#### 【0064】

30

用語「可変領域」は、本明細書で用いる場合、少なくとも3つのCDRを含む領域を意味する。いくつかの実施形態では、可変領域は3つのCDR及び少なくとも1つのフレームワーク領域(「FR」)を含む。用語「重鎖可変領域」又は「可変重鎖」は相互交換可能に用いられ、少なくとも3つの重鎖CDRを含む領域を意味する。用語「軽鎖可変領域」又は「可変軽鎖」は相互交換可能に用いられ、少なくとも3つの軽鎖CDRを含む領域を意味する。いくつかの実施形態では、可変重鎖又は可変軽鎖は少なくとも1つのフレームワーク領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、HC-FR1、HC-FR2、HC-FR3、及びHC-FR4から選択される少なくとも1つの重鎖フレームワーク領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、LC-FR1、LC-FR2、LC-FR3、及びLC-FR4から選択される少なくとも1つの軽鎖フレームワーク領域を含む。フレームワーク領域は軽鎖CDRの間、又は重鎖CDRの間に並置されてもよい。例えば、抗体は以下の構造、(HC-FR1)-(CDR-H1)-(HC-FR2)-(CDR-H2)-(HC-FR3)-(CDR-H3)-(HC-FR4)を有する可変重鎖を含んでよい。抗体は以下の構造、(CDR-H1)-(HC-FR2)-(CDR-H2)-(HC-FR3)-(CDR-H3)を有する可変重鎖を含んでよい。抗体は以下の構造、(LC-FR1)-(CDR-L1)-(LC-FR2)-(CDR-L2)-(LC-FR3)-(CDR-L3)-(LC-FR4)を有する可変軽鎖を含んでもよい。抗体は以下の構造、(CDR-L1)-(LC-FR2)-(CDR-L2)-(LC-FR3)-(CDR-L3)を有する可変軽鎖を含んでもよい。

40

#### 【0065】

50

いくつかの実施形態では、抗 I L 3 1 抗体は、( a ) 配列番号 4 の可変領域重鎖フレームワーク 1 ( H C - F R 1 ) 配列、( b ) 配列番号 5 の H C - F R 2 配列、( c ) 配列番号 6 の H C - F R 3 配列、( d ) 配列番号 7 の H C - F R 4 配列、( e ) 配列番号 11 の可変領域軽鎖フレームワーク 1 ( L C - F R 1 ) 配列、( f ) 配列番号 12 の L C - F R 2 配列、( g ) 配列番号 13 の L C - F R 3 配列、又は( h ) 配列番号 14 の L C - F R 4 配列の 1 若しくは複数を含む。いくつかの実施形態では、抗 I L 3 1 抗体は、( a ) 配列番号 16 、( b ) 配列番号 24 、又は( c ) 配列番号 32 の可変軽鎖配列を含む。いくつかの実施形態では、抗 I L 3 1 抗体は、( a ) 配列番号 15 、( b ) 配列番号 25 、又は( c ) 配列番号 33 の可変重鎖配列を含む。いくつかの実施形態では、抗 I L 3 1 抗体は、( a ) 配列番号 16 の可変軽鎖配列及び配列番号 15 の可変重鎖配列、( b ) 配列番号 24 の可変軽鎖配列及び配列番号 25 の可変重鎖配列、又は( c ) 配列番号 32 の可変軽鎖配列及び配列番号 33 の可変重鎖配列を含む。

#### 【 0066 】

用語「定常領域」は、本明細書で用いる場合、少なくとも 3 つの定常ドメインを含む領域を意味する。用語「重鎖定常領域」又は「定常重鎖」は相互交換可能に用いられ、少なくとも 3 つの重鎖定常ドメイン、 C H 1 、 C H 2 、及び C H 3 を含む領域を意味する。非限定的な例示的重鎖定常領域には、 、 、 、 、 及び  $\mu$  が含まれる。それぞれの重鎖定常領域は、抗体のアイソタイプに対応する。例えば、 定常領域を含む抗体は I g G 抗体であり、 定常領域を含む抗体は I g D 抗体であり、 定常領域を含む抗体は I g A 抗体であり、  $\mu$  定常領域を含む抗体は I g M 抗体であり、 定常領域を含む抗体は I g E 抗体である。特定のアイソタイプはサブクラスにさらに細分割することができる。例えば、 I g G 抗体は、それだけに限らないが( 1 定常領域を含む ) I g G 1 、( 2 定常領域を含む ) I g G 2 、( 3 定常領域を含む ) I g G 3 、( 4 定常領域を含む ) I g G 4 抗体を含み、 I g A 抗体は、それだけに限らないが( 1 定常領域を含む ) I g A 1 及び( 2 定常領域を含む ) I g A 2 抗体を含み、 I g M 抗体は、それだけに限らないが I g M 1 及び I g M 2 を含む。用語「軽鎖定常領域」又は「定常軽鎖」は相互交換可能に用いられ、 軽鎖定常ドメイン C L を含む領域を意味する。非限定的な例示的軽鎖定常領域には、 、 及び が含まれる。機能を変化させないドメイン内の欠失及び変化は、他に指定しない限り、用語「定常領域」の範囲内に包含される。イヌ、ネコ、及びウマは、 I g G 、 I g A 、 I g D 、 I g E 、及び I g M 等の抗体クラスを有する。イヌ I g G 抗体クラスの中には I g G - A 、 I g G - B 、 I g G - C 、及び I g G - D がある。ネコ I g G 抗体クラスの中には I g G 1 a 、 I g G 1 b 、及び I g G 2 がある。ウマ I g G 抗体クラスの中には I g G 1 、 I g G 2 、 I g G 3 、 I g G 4 、 I g G 5 、 I g G 6 、及び I g G 7 がある。

#### 【 0067 】

用語「キメラ抗体」又は「キメラ」は、重鎖又は軽鎖の一部が特定の源又は種に由来する一方、重鎖又は軽鎖の残りの少なくとも一部が異なる源又は種に由来する抗体を意味する。いくつかの実施形態では、キメラ抗体は、第 1 の種( 例えばマウス、ラット、カニクイザル、その他 )からの少なくとも 1 つの可変領域及び第 2 の種( 例えばヒト、イヌ、ネコ、ウマ、その他 )からの少なくとも 1 つの定常領域を含む抗体を意味する。いくつかの実施形態では、キメラ抗体は少なくとも 1 つのマウス可変領域と少なくとも 1 つのイヌ定常領域を含む。いくつかの実施形態では、キメラ抗体は少なくとも 1 つのマウス可変領域と少なくとも 1 つのネコ定常領域を含む。いくつかの実施形態では、キメラ抗体の可変領域の全てが第 1 の種からのものであり、キメラ抗体の定常領域の全てが第 2 の種からのものである。いくつかの実施形態では、キメラ抗体は伴侶動物からの定常重鎖領域又は定常軽鎖領域を含む。いくつかの実施形態では、キメラ抗体はマウスの可変重鎖及び軽鎖、並びに伴侶動物の定常重鎖及び軽鎖を含む。例えば、キメラ抗体はマウスの可変重鎖及び軽鎖、並びにイヌの定常重鎖及び軽鎖を含んでよく、キメラ抗体はマウスの可変重鎖及び軽鎖、並びにネコの定常重鎖及び軽鎖を含んでよく、あるいはキメラ抗体はマウスの可変重鎖及び軽鎖、並びにウマの定常重鎖及び軽鎖を含んでよい。

#### 【 0068 】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、抗 I L 3 1 抗体は、

- a . ( i ) 配列番号 2 6 の軽鎖アミノ酸配列、( i i ) 配列番号 2 7 の重鎖アミノ酸配列、若しくは( i i i )( i ) の軽鎖アミノ酸配列及び( i i ) の重鎖配列、又は
- b . ( i ) 配列番号 3 0 の軽鎖アミノ酸配列、( i i ) 配列番号 3 1 の重鎖アミノ酸配列、若しくは( i i i )( i ) の軽鎖アミノ酸配列及び( i i ) の重鎖配列を含む、キメラ抗体を含む。

#### 【 0 0 6 9 】

「イヌキメラ」又は「イヌキメラ抗体」は、イヌに由来する重鎖の部分又は軽鎖の部分を少なくとも有するキメラ抗体を意味する。「ネコキメラ」又は「ネコキメラ抗体」は、ネコに由来する重鎖の部分又は軽鎖の部分を少なくとも有するキメラ抗体を意味する。「ウマキメラ」又は「ウマキメラ抗体」は、ウマに由来する重鎖の部分又は軽鎖の部分を少なくとも有するキメラ抗体を意味する。いくつかの実施形態では、イヌキメラ抗体は、マウスの可変重鎖及び軽鎖、並びにイヌの定常重鎖及び軽鎖を含む。いくつかの実施形態では、ネコキメラ抗体は、マウスの可変重鎖及び軽鎖、並びにネコの定常重鎖及び軽鎖を含む。いくつかの実施形態では、ウマキメラ抗体は、マウスの可変重鎖及び軽鎖、並びにウマの定常重鎖及び軽鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗体はマウスの可変重鎖フレームワーク領域又はマウス可変軽鎖フレームワーク領域を含むキメラ抗体である。

10

#### 【 0 0 7 0 】

「イヌ抗体」は、本明細書で用いる場合、イヌで產生された抗体、イヌ免疫グロブリン遺伝子を含むか、若しくはイヌ免疫グロブリンペプチドを含む非イヌ動物で產生された抗体、又は抗体レパートリーがイヌ免疫グロブリン配列に基づいてるファージディスプレイ等のインビトロ法を用いて選択された抗体を包含する。用語「イヌ抗体」は、イヌ配列である配列の属を意味する。したがって、この用語は抗体を創成するプロセスを表わしているのではなく、関連する配列の属を表わしている。

20

#### 【 0 0 7 1 】

いくつかの実施形態では、抗 I L 3 1 抗体は、I g G - A、I g G - B、I g G - C、及びI g G - D 定常領域から選択されるイヌ重鎖定常領域を含む。いくつかの実施形態では、抗 I L 3 1 抗体は、イヌ I g G - A、I g G - B、I g G - C、又はI g G - D 抗体である。いくつかの実施形態では、抗 I L 3 1 抗体は、( a ) 配列番号 1 7 の重鎖アミノ酸配列を含むイヌ I g G - A 抗体、( b ) 配列番号 1 8 の重鎖アミノ酸配列を含むイヌ I g G - B 抗体、( c ) 配列番号 1 9 の重鎖アミノ酸配列を含むイヌ I g G - C 抗体、又は( d ) 配列番号 2 0 の重鎖アミノ酸配列を含むイヌ I g G - D 抗体である。

30

#### 【 0 0 7 2 】

「ネコ抗体」は、本明細書で用いる場合、ネコで產生された抗体、ネコ免疫グロブリン遺伝子を含むか、若しくはネコ免疫グロブリンペプチドを含む非ネコ動物で產生された抗体、又は抗体レパートリーがネコ免疫グロブリン配列に基づいてるファージディスプレイ等のインビトロ法を用いて選択された抗体を包含する。用語「ネコ抗体」は、ネコ配列である配列の属を意味する。したがって、この用語は抗体を創成するプロセスを表わしているのではなく、関連する配列の属を表わしている。

40

#### 【 0 0 7 3 】

いくつかの実施形態では、抗 I L 3 1 抗体は、I g G 1、I g G 2 a、及びI g G 2 b 定常領域から選択されるネコ重鎖定常領域を含む。いくつかの実施形態では、抗 I L 3 1 抗体はネコ I g G 1、I g G 2 a、又はI g G 2 b 抗体である。

#### 【 0 0 7 4 】

「ウマ抗体」は、本明細書で用いる場合、ウマで產生された抗体、ウマ免疫グロブリン遺伝子を含むか、若しくはウマ免疫グロブリンペプチドを含む非ウマ動物で產生された抗体、又は抗体レパートリーがウマ免疫グロブリン配列に基づいてるファージディスプレイ等のインビトロ法を用いて選択された抗体を包含する。用語「ウマ抗体」は、ウマ配列である配列の属を意味する。したがって、この用語は抗体を創成するプロセスを表わしているのではなく、関連する配列の属を表わしている。

50

## 【0075】

いくつかの実施形態では、抗 I L 3 1 抗体は、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g G 5、I g G 6、及び I g G 7 定常領域から選択されるウマ重鎖定常領域を含む。いくつかの実施形態では、抗 I L 3 1 抗体はウマ I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g G 5、I g G 6、及び I g G 7 抗体である。

## 【0076】

「イヌ化抗体」は、非イヌ可変領域の一部における少なくとも 1 つのアミノ酸がイヌ可変領域からの対応するアミノ酸で置き換えられている抗体を意味する。いくつかの実施形態では、イヌ化抗体は少なくとも 1 つのイヌ定常領域（例えば 定常領域、 定常領域、 定常領域、 定常領域、  $\mu$  定常領域、 又はその他）又はその断片を含む。いくつかの実施形態では、イヌ化抗体は F a b、s c F v、(F a b')<sub>2</sub>、その他の抗体断片である。用語「イヌ化」は、キメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖、又は非イヌ免疫グロブリンの最小の配列を含むその断片 (F v、F a b、F a b'、F (a b')<sub>2</sub>)、若しくは抗体のその他の抗原結合配列等) である非イヌ（例えばマウス）抗体の形態をも意味する。イヌ化抗体は、レシピエントの C D R からの残基が所望の特異性、親和性、及び能力を有するマウス、ラット、又はウサギ等の非イヌ種の C D R からの残基（ドナー抗体）によって置換されたイヌ免疫グロブリン（レシピエント抗体）を含んでよい。いくつかの例では、イヌ免疫グロブリンの F v フレームワーク領域 (F R) 残基は、対応する非イヌ残基によって置き換えられる。さらに、イヌ化抗体は、レシピエント抗体にも導入された C D R 又はフレームワーク配列にも見られないが、抗体の性能をさらに改良し最適化するために含有される残基を含んでもよい。

10

20

30

40

## 【0077】

いくつかの実施形態では、マウス可変重鎖又はマウス可変軽鎖の部分における少なくとも 1 つのアミノ酸残基は、イヌ可変領域からの対応するアミノ酸で置き換えられている。いくつかの実施形態では、修飾された鎖は、イヌ定常重鎖又はイヌ定常軽鎖に融合している。いくつかの実施形態では、抗 I L 3 1 抗体は、(a) 配列番号 1 5 の重鎖配列、(b) 配列番号 1 7 の重鎖配列、(c) 配列番号 1 8 の重鎖配列、(d) 配列番号 1 9 の重鎖配列、(e) 配列番号 2 0 の重鎖配列、(f) 配列番号 1 6 の軽鎖配列、又は(g) 配列番号 2 1 の軽鎖配列を含むイヌ化抗体である。

## 【0078】

「ネコ化抗体」は、非ネコ可変領域の一部における少なくとも 1 つのアミノ酸がネコ可変領域からの対応するアミノ酸で置き換えられている抗体を意味する。いくつかの実施形態では、ネコ化抗体は少なくとも 1 つのネコ定常領域（例えば 定常領域、 定常領域、 定常領域、 定常領域、  $\mu$  定常領域、 又はその他）又はその断片を含む。いくつかの実施形態では、ネコ化抗体は F a b、s c F v、(F a b')<sub>2</sub>、その他の抗体断片である。用語「ネコ化」は、キメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖、又は非ネコ免疫グロブリンの最小の配列を含むその断片 (F v、F a b、F a b'、F (a b')<sub>2</sub>)、若しくは抗体のその他の抗原結合配列等) である非ネコ（例えばマウス）抗体の形態をも意味する。ネコ化抗体は、レシピエントの C D R からの残基が所望の特異性、親和性、及び能力を有するマウス、ラット、又はウサギ等の非ネコ種の C D R からの残基（ドナー抗体）によって置換されたネコ免疫グロブリン（レシピエント抗体）を含んでよい。いくつかの例では、ネコ免疫グロブリンの F v フレームワーク領域 (F R) 残基は、対応する非ネコ残基によって置き換えられる。さらに、ネコ化抗体は、レシピエント抗体にも導入された C D R 又はフレームワーク配列にも見られないが、抗体の性能をさらに改良し最適化するために含有される残基を含んでもよい。

## 【0079】

いくつかの実施形態では、マウス可変重鎖又はマウス可変軽鎖の部分における少なくとも 1 つのアミノ酸残基は、ネコ可変領域からの対応するアミノ酸で置き換えられている。いくつかの実施形態では、修飾された鎖は、ネコ定常重鎖又はイヌ定常軽鎖に融合している。いくつかの実施形態では、抗 I L 3 1 抗体は、(a) 配列番号 3 2 の軽鎖配列、(b)

50

) 配列番号 3 4 の軽鎖配列、( c ) 配列番号 3 3 の重鎖配列、又は( d ) 配列番号 3 5 の重鎖配列を含むネコ化抗体である。

#### 【 0 0 8 0 】

「ウマ化抗体」は、非ウマ可変領域の一部における少なくとも 1 つのアミノ酸がウマ可変領域からの対応するアミノ酸で置き換えられている抗体を意味する。いくつかの実施形態では、ウマ化抗体は少なくとも 1 つのウマ定常領域(例えば 定常領域、 定常領域、 定常領域、 定常領域、  $\mu$  定常領域、 又はその他)又はその断片を含む。いくつかの実

施形態では、ウマ化抗体は F a b 、 s c F v 、 ( F a b ' )<sub>2</sub> 、その他の抗体断片である。用語「ウマ化」は、キメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖、又は非ウマ免疫グロブリンの最小の配列を含むその断片( F v 、 F a b 、 F a b ' 、 F ( a b ' )<sub>2</sub> )、若しくは抗体の他の抗原結合配列等)である非ウマ(例えばマウス)抗体の形態をも意味する。ウマ化抗体は、レシピエントの C D R からの残基が所望の特異性、親和性、及び能力を有するマウス、ラット、又はウサギ等の非ウマ種の C D R からの残基(ドナー抗体)によって置換されたウマ免疫グロブリン(レシピエント抗体)を含んでよい。いくつかの例では、ウマ免疫グロブリンの F v フレームワーク領域( F R )残基は、対応する非ウマ残基によって置き換えられる。さらに、ウマ化抗体は、レシピエント抗体にも導入された C D R 又はフレームワーク配列にも見られないが、抗体の性能をさらに改良し最適化するために含有される残基を含んでもよい。

#### 【 0 0 8 1 】

いくつかの実施形態では、マウス可変重鎖又はマウス可変軽鎖の部分における少なくとも 1 つのアミノ酸残基は、ウマ可変領域からの対応するアミノ酸で置き換えられている。いくつかの実施形態では、修飾された鎖は、ウマ定常重鎖又はイヌ定常軽鎖に融合している。

#### 【 0 0 8 2 】

用語「 I g X F c 」は、 F c 領域が特定の抗体アイソタイプ(例えば I g G 、 I g A 、 I g D 、 I g E 、 I g M 、その他)に由来することを意味し、ここで「 X 」は抗体のアイソタイプを意味する。したがって、「 I g G F c 」は 鎖の F c 領域を意味し、「 I g A F c 」は 鎖の F c 領域を意味し、「 I g D F c 」は 鎖の F c 領域を意味し、「 I g E F c 」は 鎖の F c 領域を意味し、「 I g M F c 」は  $\mu$  鎖の F c 領域を意味する、等である。いくつかの実施形態では、 I g G F c 領域は C H 1 、ヒンジ、 C H 2 、 C H 3 、及び C L 1 を含む。「 I g X - N - F c 」は F c 領域が抗体のアイソタイプの特定のサブクラス(例えばイヌ I g G サブクラス A 、 B 、 C 、若しくは D 、ネコ I g G サブクラス 1 、 2 a 、若しくは 2 b 、又はウマ I g G サブクラス I g G 1 、 I g G 2 、 I g G 3 、 I g G 4 、 I g G 5 、 I g G 6 、又は I g G 7 、その他)に由来することを意味し、ここで「 N 」はサブクラスを意味する。いくつかの実施形態では、 I g X F c 又は I g X - N - F c 領域は、イヌ、ネコ、又はウマ等の伴侶動物に由来する。いくつかの実施形態では、 I g G F c 領域は、 I g G - A 、 I g G - B 、 I g G - C 、若しくは I g G - D 等のイヌ 重鎖から単離される。いくつかの例では、 I g G F c 領域は、 I g G 1 、 I g G 2 a 、若しくは I g G 2 b 等のネコ 重鎖から単離される。 I g G - A 、 I g G - B 、 I g G - C 、若しくは I g G - D の F c 領域を含む抗体は、組み換え産生系において高い発現レベルを提供し得る。

#### 【 0 0 8 3 】

用語「親和性」は、分子の单一の結合部位(例えば抗体)とその結合パートナー(例えば抗原)との間の非共有相互作用の全合計の強さを意味する。分子 X のそのパートナー Y に対する親和性は一般に解離定数( K D )で表わすことができる。親和性は、当該技術分野で公知の一般的な方法、例えばイムノプロット、 E L I S A K D 、 K i n E x A 、バイオレイヤー干渉法( B L I )、又は表面プラスモン共鳴デバイスによって測定することができる。

#### 【 0 0 8 4 】

用語「 K D 」、「 K d 」、「 K d 」、又は「 K d 値」は相互交換可能に用いられ、抗体

10

20

30

40

50

- 抗原相互作用の平衡解離定数を意味する。いくつかの実施形態では、抗体の  $K_d$  はオクテット（登録商標）システム（Pall ForteBio LLC、Fremont（CA））等のバイオセンサーを用いるバイオレイヤー干渉法を用い、供給業者の指示書に従って測定される。簡単には、ビオチン化した抗原をセンサーチップに結合して、抗体の会合を 90 秒間モニターし、解離を 600 秒間モニターする。希釈及び結合ステップのためのバッファーは 20 mM のリン酸塩、150 mM の NaCl、pH 7.2 である。ドリフトがあればそれを補正するためにバッファーのみのプランクカーブを差し引く。データは、会合速度定数 ( $k_{on}$ )、解離速度定数 ( $k_{off}$ )、及び  $K_d$  を決定するための ForteBio データ解析ソフトウェアを用いる 2 : 1 結合モデルにフィッティングする。平衡解離定数 ( $K_d$ ) は、 $k_{off} / k_{on}$  の比として計算される。用語「 $k_{on}$ 」は抗原に対する抗体の会合の速度定数を意味し、用語「 $k_{off}$ 」は抗体 / 抗原複合体からの抗体の解離の速度定数を意味する。

#### 【0085】

抗原又はエピトープへの用語「結合」は当該技術分野でよく理解されている用語であり、そのような結合を決定する方法も当該技術分野で周知である。分子が特定の細胞又は物質と反応し、会合し、又はそれへの親和性を有して、その反応、会合、又は親和性が当該技術分野で公知の 1 若しくは複数の方法、例えばイムノプロット、ELISA KD、KinExA、バイオレイヤー干渉法（BLI）、表面プラスモン共鳴デバイス、その他によって検出可能であれば、その分子は「結合」を示すと称される。

#### 【0086】

「表面プラスモン共鳴」は、例えば BIACore（商標）システム（BIACore International AB、GE Healthcare Company、Uppsala、Sweden 及び Piscataway、N.J.）を用いるバイオセンサー・マトリックス内のタンパク質濃度の変化の検出によるリアルタイム二重特異的相互作用の解析を可能にする光学的現象を表わす。さらなる説明には、Jonssonら、(1993 年)、Ann. Biol. Clin. 51 : 19 ~ 26 頁を参照されたい。

#### 【0087】

「バイオレイヤー干渉法」は、バイオセンサーチップ上の固定化されているタンパク質の層及び内部参照層から反射された光の干渉パターンを解析する光学的解析手法を意味する。バイオセンサーチップに結合した分子の数の変化が干渉パターンを変化させ、これをリアルタイムで測定することができる。バイオレイヤー干渉法の非限定的な例示的デバイスはオクテット（登録商標）システム（Pall ForteBio LLC）である。例えば Abdiche ら、2008 年、Anal. Biochem. 377 : 209 ~ 277 頁を参照されたい。

#### 【0088】

いくつかの実施形態では、抗 IL 31 抗体はバイオレイヤー干渉法で測定して、 $5 \times 10^{-6}$  M 未満、 $1 \times 10^{-6}$  M 未満、 $5 \times 10^{-7}$  M 未満、 $1 \times 10^{-7}$  M 未満、 $5 \times 10^{-8}$  M 未満、 $1 \times 10^{-8}$  M 未満、 $5 \times 10^{-9}$  M 未満、 $1 \times 10^{-9}$  M 未満、 $5 \times 10^{-10}$  M 未満、 $1 \times 10^{-10}$  M 未満、 $5 \times 10^{-11}$  M 未満、 $1 \times 10^{-11}$  M 未満、 $5 \times 10^{-12}$  M 未満、又は  $1 \times 10^{-12}$  M 未満の解離定数 ( $K_d$ ) で、イヌ IL 31、ネコ IL 31、又はウマ IL 31 に結合する。いくつかの実施形態では、抗 IL 31 抗体はバイオレイヤー干渉法で測定して、 $5 \times 10^{-6}$  M ~  $1 \times 10^{-6}$  M、 $5 \times 10^{-6}$  M ~  $5 \times 10^{-7}$  M、 $5 \times 10^{-6}$  M ~  $1 \times 10^{-7}$  M、 $5 \times 10^{-6}$  M ~  $5 \times 10^{-8}$  M、 $5 \times 10^{-6}$  M ~  $1 \times 10^{-8}$  M、 $5 \times 10^{-6}$  M ~  $5 \times 10^{-9}$  M、 $5 \times 10^{-6}$  M ~  $1 \times 10^{-9}$  M、 $5 \times 10^{-6}$  M ~  $5 \times 10^{-10}$  M、 $5 \times 10^{-6}$  M ~  $1 \times 10^{-10}$  M、 $5 \times 10^{-6}$  M ~  $5 \times 10^{-11}$  M、 $5 \times 10^{-6}$  M ~  $1 \times 10^{-11}$  M、 $5 \times 10^{-6}$  M ~  $5 \times 10^{-12}$  M、 $5 \times 10^{-6}$  M ~  $1 \times 10^{-12}$  M、 $1 \times 10^{-6}$  M ~  $5 \times 10^{-7}$  M、 $1 \times 10^{-6}$  M ~  $1 \times 10^{-7}$  M、 $1 \times 10^{-6}$  M ~  $5 \times 10^{-8}$  M、 $1 \times 10^{-6}$  M ~  $1 \times 10^{-8}$  M、 $1 \times 10^{-6}$  M ~  $5 \times 10^{-9}$  M、 $1 \times 10^{-6}$  M ~  $1 \times 10^{-9}$  M、 $1 \times 10^{-6}$  M ~  $5 \times 10^{-10}$  M、 $1 \times 10^{-6}$  M ~  $1 \times 10^{-10}$  M、 $1 \times 10^{-6}$  M ~  $5 \times 10^{-11}$  M、

10

20

30

40

50

【 0 0 8 9 】

いくつかの実施形態では、抗IL-31抗体はイムノプロット解析及び／又はバイオレイヤー干渉法で決定して、ヒトIL-31に結合しない。

【 0 0 9 0 】

いくつかの実施形態では、IL31への結合について本明細書に記載した抗IL31抗体（例えばM14、M18、M19、又はM87）と競合する抗IL31抗体が提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に提供した抗体のいずれかとの結合について競合する抗体を作成し又は使用することができる。いくつかの実施形態では、イヌIL31又はネコIL31との結合においてモノクローナルM14抗体と競合する抗IL31抗体が提供される。

【 0 0 9 1 】

「バリエント」は、配列を整列させ、配列同一性百分率を最大化するために必要な場合にはギャップを導入した後で、配列同一性の部分として保存的置換があっても考慮せずに、未変性の配列ポリペプチドと少なくとも約50%のアミノ酸配列の同一性を有する生物学的に活性なポリペプチドを意味する。そのようなバリエントには、例えばポリペプチドのN末端又はC末端に1又は複数のアミノ酸残基が付加され又は欠失したポリペプチドが含まれる。

( 0 0 9 2 )

いくつかの実施形態では、バリエントは未変性配列のポリペプチドと少なくとも約 50 % のアミノ酸配列同一性、少なくとも約 60 % のアミノ酸配列同一性、少なくとも約 65 % のアミノ酸配列同一性、少なくとも約 70 % のアミノ酸配列同一性、少なくとも約 75 %

%のアミノ酸配列同一性、少なくとも約80%のアミノ酸配列同一性、少なくとも約85%のアミノ酸配列同一性、少なくとも約90%のアミノ酸配列同一性、少なくとも約95%のアミノ酸配列同一性を有する。

#### 【0093】

本明細書で用いる場合、ペプチド、ポリペプチド、又は抗体の配列に関する「アミノ酸配列同一性百分率(%)」及び「相同性」は、配列を整列させ、配列同一性百分率を最大化するために必要な場合にはギャップを導入した後で、配列同一性の部分として保存的置換があっても考慮せずに、特定のペプチド又はポリペプチド配列におけるアミノ酸残基と同一の候補配列におけるアミノ酸残基の百分率として定義される。アミノ酸配列同一性百分率を決定する目的でのアライメントは、例えばBLAST、BLAST-2、ALIGN、又はMAGALINE(商標)(DNASTAR)ソフトウェア等の公共で入手可能なコンピューターソフトウェアを用いて、当該技術分野内の種々の方法によって達成することができる。当業者であれば、比較される配列の完全長にわたって最大のアライメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、アライメントを測定するための適切なパラメーターを決定することができる。

10

#### 【0094】

アミノ酸置換は、それだけに限らないが、ポリペプチド中の1つのアミノ酸の別のアミノ酸による置き換えを含み得る。例示的な置換を表2に示す。アミノ酸置換は目的の抗体に導入してよく、生成物は所望の活性、例えば抗原結合の保持/改善、免疫原性の低下、又はADC若しくはCDCの改善についてスクリーニングされる。

20

表2

30

40

50

もとの残基	例示的置換
Ala (A)	Val; Leu; Ile
Arg (R)	Lys; Gln; Asn
Asn (N)	Gln; His; Asp; Lys; Arg
Asp (D)	Glu; Asn
Cys (C)	Ser; Ala
Gln (Q)	Asn; Glu
Glu (E)	Asp; Gln
Gly (G)	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; ノルロイシン
Leu (L)	ノルロイシン; Ile; Val; Met; Ala; Phe
Lys (K)	Arg; Gln; Asn
Met (M)	Leu; Phe; Ile
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr
Pro (P)	Ala
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Val; Ser
Trp (W)	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; ノルロイシン

10

20

30

40

## 【0095】

アミノ酸は共通の側鎖の特性に従って分類され得る。

- (1) 疎水性：ノルロイシン、Met、Ala、Val、Leu、Ile；
- (2) 中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；
- (3) 酸性：Asp、Glu；
- (4) 塩基性：His、Lys、Arg；
- (5) 鎌の配向に影響する残基：Gly、Pro；
- (6) 芳香族：Trp、Tyr、Phe。

## 【0096】

50

非保存的置換は、これらのクラスの1つのメンバーと別のクラスとの交換を伴うことがある。

### 【0097】

いくつかの実施形態では、抗IL31抗体は重鎖及び軽鎖を含み、

a . 重鎖は、配列番号1のアミノ酸配列と少なくとも85%の配列同一性、少なくとも90%の配列同一性、少なくとも95%の配列同一性、又は少なくとも98%の配列同一性を有するCDR-H1配列、配列番号2、配列番号62、配列番号89、又は配列番号87のアミノ酸配列と少なくとも85%の配列同一性、少なくとも90%の配列同一性、少なくとも95%の配列同一性、又は少なくとも98%の配列同一性を有するCDR-H2配列、及び配列番号3のアミノ酸配列と少なくとも85%の配列同一性、少なくとも90%の配列同一性、少なくとも95%の配列同一性、又は少なくとも98%の配列同一性を有するCDR-H3配列を含み、

b . 軽鎖は、配列番号8又は配列番号63のアミノ酸配列と少なくとも85%の配列同一性、少なくとも90%の配列同一性、少なくとも95%の配列同一性、又は少なくとも98%の配列同一性を有するCDR-L1配列、配列番号9のアミノ酸配列と少なくとも85%の配列同一性、少なくとも90%の配列同一性、又は少なくとも95%の配列同一性を有するCDR-L2配列、及び配列番号10のアミノ酸配列と少なくとも85%の配列同一性、少なくとも90%の配列同一性、少なくとも95%の配列同一性、又は少なくとも98%の配列同一性を有するCDR-L3配列を含む。

### 【0098】

いくつかの実施形態では、抗IL31抗体は重鎖及び軽鎖を含み、

a . (i) 配列番号24のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、若しくは少なくとも98%の配列同一性を有する可変軽鎖配列、(ii) 配列番号25のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、若しくは少なくとも98%の配列同一性を有する可変重鎖配列、又は(iii)(i)の可変軽鎖配列及び(ii)の可変重鎖配列、あるいは

b . (i) 配列番号16のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、若しくは少なくとも98%の配列同一性を有する可変軽鎖配列、(ii) 配列番号15のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、若しくは少なくとも98%の配列同一性を有する可変重鎖配列、又は(iii)(i)の可変軽鎖配列及び(ii)の可変重鎖配列、あるいは

c . (i) 配列番号32のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、若しくは少なくとも98%の配列同一性を有する可変軽鎖配列、(ii) 配列番号33のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、若しくは少なくとも98%の配列同一性を有する可変重鎖配列、又は(iii)(i)の可変軽鎖配列及び(ii)の可変重鎖配列、あるいは

d . (i) 配列番号64のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、若しくは少なくとも98%の配列同一性を有する可変軽鎖配列、(ii) 配列番号67のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、若しくは少なくとも98%の配列同一性を有する可変重鎖配列、又は(iii)(i)の可変軽鎖配列及び(ii)の可変重鎖配列、あるいは

e . (i) 配列番号65のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、若しくは少なくとも98%の配列同一性を有する可変軽鎖配列、(ii) 配列番号68のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、若しくは少なくとも98%の配列同一性を有する可変重鎖配列、又は(iii)(i)の可変軽鎖配列及び(ii)の可変重鎖配列、あるいは

f . (i) 配列番号66のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、若しくは少なくとも98%の配列同一性を有する可変軽鎖配列、(ii) 配列番号69のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、若しくは少なくとも98%の配列同一性を有する可変重鎖配列、又は(iii)(i)の

10

20

30

40

50

可変軽鎖配列及び(i i)の可変重鎖配列。

**【0099】**

用語「ベクター」は、クローン化されたポリヌクレオチド又は宿主細胞中で増加することができるポリヌクレオチドを含むように操作され得るポリヌクレオチドを記述するために用いられる。ベクターは以下の要素、即ち複製開始点、目的のポリペプチドの発現を規制する1若しくは複数の調節配列(例えばプロモーター又はエンハンサー等)、又は1若しくは複数の選択可能なマーカー遺伝子(例えば抗生物質耐性遺伝子及び比色アッセイで用いることができる遺伝子等、例えば-L-ガラクトシダーゼ)の1又は複数を含み得る。用語「発現ベクター」は、宿主細胞中で目的のポリペプチドを発現させるために用いられるベクターを意味する。

10

**【0100】**

「宿主細胞」は、ベクター又は単離されたポリヌクレオチドのレシピエントであってよいか、又はそうであった細胞を意味する。宿主細胞は原核細胞又は真核細胞であってよい。例示的な真核細胞には、靈長類又は非靈長類動物細胞等の哺乳動物細胞、酵母等の真菌細胞、植物細胞、及び昆虫細胞が含まれる。非限定的な例示的哺乳動物細胞には、それだけに限らないがNS0細胞、PER.C6(登録商標)細胞(Crucell)、293細胞、及びCHO細胞、並びにそれらの誘導体、例えば293-6E、DG44、CHO-S、及びCHO-K細胞が含まれる。宿主細胞には単一の宿主細胞の子孫が含まれ、天然の、偶然の、又は意図的な変異のため、子孫は必ずしももとの親細胞と(形態学又はゲノムDNA相補性において)完全に同一である必要はない。宿主細胞は本明細書に提供するアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドをインビボでトランスフェクトされた細胞を含む。

20

**【0101】**

用語「単離された」は、本明細書で用いる場合、典型的にはそれとともに天然に見いだされるか又は産生される成分の少なくともいくつかから分離された分子を意味する。例えば、ポリペプチドは、それを産生した細胞の成分の少なくともいくつかから分離された場合、「単離された」と称される。ポリペプチドが発現の後に細胞から分泌された場合には、ポリペプチドを含む上清を、それを産生した細胞から物理的に分離することは、ポリペプチドを「単離する」とことと考えられる。同様に、ポリヌクレオチドは、これが典型的には天然にその中で見いだされる、より大きなポリヌクレオチド(DNAポリヌクレオチドの場合には例えばゲノムDNA又はミトコンドリアDNA等)の部分でない場合、又は、例えばRNAポリヌクレオチドの場合に、それを産生した細胞の成分の少なくともいくつかから分離された場合には、「単離された」と称される。したがって、宿主細胞の中のベクターに含まれるDNAポリヌクレオチドは、「単離された」と称し得る。いくつかの実施形態では、抗IL31抗体は、サイズ排除クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、プロテインAカラムクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、及びCHTクロマトグラフィー等のクロマトグラフィーを用いて精製される。

30

**【0102】**

用語「伴侶動物種」は、ヒトへのコンパニオンであることに適した動物を意味する。いくつかの実施形態では、伴侶動物種は小哺乳動物、例えばイヌ(canine)、ネコ(feline)、イヌ、ネコ、ウマ、ウサギ、フェレット、モルモット、げっ歯類、その他である。いくつかの実施形態では、伴侶動物種はウマ、ウシ、ブタ、その他の家畜である。

40

**【0103】**

用語「IL31シグナル伝達機能」は、IL31がその受容体又は受容体複合体に結合した際に発生する下流の活性の任意の1つ又はその組合せを意味する。いくつかの実施形態では、IL31シグナル伝達機能は、Janusキナーゼ(Jak)1又はJak2シグナル伝達分子の活性化を含む。いくつかの実施形態では、IL31シグナル伝達機能は、STAT-3又はSTAT-5タンパク質のリン酸化を含む。いくつかの実施形態では、IL31シグナル伝達機能は、ERK1/2 MAPキナーゼシグナル伝達経路を活性化することを含む。いくつかの実施形態では、IL31シグナル伝達機能は、PI3K/

50

A K T シグナル伝達経路を活性化することを含む。いくつかの実施形態では、I L 3 1 シグナル伝達機能は、J a k 1 / 2 シグナル伝達経路を活性化することを含む。

#### 【0104】

「S T A T リン酸化」は、S T A T タンパク質の発現後のリン酸化による変性を意味する。例えば、「S T A T - 3 リン酸化」はS T A T - 3 のリン酸化を意味し、「S T A T - 5 リン酸化」はS T A T - 5 のリン酸化を意味する。いくつかの実施形態では、S T A T - 3 のリン酸化はイムノプロット解析で測定される。例えば、細胞（例えばイヌ単球D H 8 2 細胞）を、1 5 %の熱不活化ウシ胎児血清、2 m m o l / L のG l u t a M a x 、1 m m o l / L のピルビン酸ナトリウム、及び1 0 n m / m L のイヌインターフェロン-c (R & D S y s t e m s 、M i n n e a p o l i s 、M N 、U S A ) を含む増殖培地（例えばM E M 、L i f e T e c h n o l o g i e s (登録商標)）中で、 $1 \times 10^5$  細胞 / ウエルの密度で9 6 ウエルの細胞培養プレートに、本明細書に記載した抗I L 3 1 抗体の存在下、3 7 ℃ で2 4 時間播種する。抗ホスホS T A T - 3 抗体及び抗S T A T - 3 抗体 (R & D S y s t e m s ) を用いる細胞溶解物のイムノプロット解析を用いて、リン酸化S T A T - 3 と非リン酸化S T A T - 3 の互いに相対的な濃度を検出し、- アクチンのコントロールと比較した。イムノプロットによるタンパク質の定性的又は定量的な濃度の決定法は、当業者には理解されている。いくつかの実施形態では、相対的濃度はイムノプロットの目視により定性的に決定される。いくつかの実施形態では、リン酸化S T A T - 3 及び非リン酸化S T A T - 3 の濃度は、イムノプロットをデジタルイメージ化し、バンドの強度を決定し、既知濃度のS T A T - 3 タンパク質の直線的標準線を用いて試料中のリン酸化又は非リン酸化S T A T - 3 の濃度を逆算することによって、定量的に決定される。10

#### 【0105】

「低減させる」又は「阻害する」は、活性、機能、又は量を参照と比較して減少させ、低減させ、又は停止させることを意味する。いくつかの実施形態では、「低減させる」又は「阻害する」は、2 0 % 又はそれ以上の全体の減少を引き起こす能力を意味する。いくつかの実施形態では、「低減させる」又は「阻害する」は、5 0 % 又はそれ以上の全体の減少を引き起こす能力を意味する。いくつかの実施形態では、「低減させる」又は「阻害する」は、7 5 % 、8 5 % 、9 0 % 、9 5 % 、又はそれ以上の全体の減少を引き起こす能力を意味する。いくつかの実施形態では、上記の量は、同じ期間にわたるコントロール用量（プラセボ等）と比較して、ある期間にわたって阻害され、又は低減される。「参照」は、本明細書で用いる場合、比較の目的のために用いられる任意の試料、標準、又はレベルを意味する。参照は健常な又は非疾患の試料から得てよい。いくつかの例では、参照は伴侶動物の非疾患又は非処置の試料から得られる。いくつかの例では、参照は試験され又は処置されている動物でない特定の種の1又は複数の健常な動物から得られる。20

#### 【0106】

用語「実質的に低減した」は、本明細書で用いる場合、数値及び参照数値によって測定される生物学的特性の文脈の中で2つの値の間の相違が統計的に有意であると当業者が考えるほど十分に高い、数値と参照数値との間の低減の程度を表わす。いくつかの実施形態では、実質的に低減した数値は、参照値と比較して約1 0 % 、1 5 % 、2 0 % 、2 5 % 、3 0 % 、3 5 % 、4 0 % 、4 5 % 、5 0 % 、6 0 % 、7 0 % 、8 0 % 、9 0 % のいずれかより大きく、又は1 0 0 % 低減している。30

#### 【0107】

いくつかの実施形態では、I L 3 1 抗体は、S T A T - 3 リン酸化の低減によって測定して、抗体が存在しない場合のI L 3 1 シグナル伝達機能と比較して少なくとも1 0 % 、少なくとも1 5 % 、少なくとも2 0 % 、少なくとも2 5 % 、少なくとも3 0 % 、少なくとも3 5 % 、少なくとも4 0 % 、少なくとも4 5 % 、少なくとも5 0 % 、少なくとも6 0 % 、少なくとも7 0 % 、少なくとも8 0 % 、少なくとも9 0 % 、又は1 0 0 % 、伴侶動物種のI L 3 1 シグナル伝達機能を低減し得る。いくつかの実施形態では、I L 3 1 シグナル伝達機能の低減又はS T A T - 3 リン酸化の低減は、1 0 % ~ 1 5 % 、1 0 % ~ 2 0 % 、40

10

20

30

40

50

10%～25%、10%～30%、10%～35%、10%～40%、10%～45%、  
 10%～50%、10%～60%、10%～70%、10%～80%、10%～90%、  
 10%～100%、15%～20%、15%～25%、15%～30%、15%～35%  
 、15%～40%、15%～45%、15%～50%、15%～60%、15%～70%  
 、15%～80%、15%～90%、15%～100%、20%～25%、20%～30%  
 %、20%～35%、20%～40%、20%～45%、20%～50%、20%～60%  
 %、20%～70%、20%～80%、20%～90%、20%～100%、25%～30%  
 、25%～35%、25%～40%、25%～45%、25%～50%、25%～60%、  
 25%～70%、25%～80%、25%～90%、25%～100%、30%～35%、  
 30%～40%、30%～45%、30%～50%、30%～60%、30%～70%、  
 30%～80%、30%～90%、30%～100%、35%～40%、35%～  
 ~45%、35%～50%、35%～60%、35%～70%、35%～80%、35%  
 ~90%、35%～100%、40%～45%、40%～50%、40%～60%、40%  
 ~70%、40%～80%、40%～90%、40%～100%、45%～50%、45%  
 ~60%、45%～70%、45%～80%、45%～90%、45%～100%、  
 50%～60%、50%～70%、50%～80%、50%～90%、50%～100%  
 、60%～70%、60%～80%、60%～90%、60%～100%、70%～80%  
 %、70%～90%、70%～100%、80%～90%、80%～100%、又は90%  
 ~100%である。  
 10

## 【0108】

20

## 薬学的組成物

用語「薬学的製剤」及び「薬学的組成物」は、活性成分の生物活性が効果的であることを可能にする形態にあり、製剤が投与されることになる対象に許容できないほど毒性を有する追加の成分を含まない調製物を意味する。

## 【0109】

30

「薬学的に許容される担体」は、対象への投与のための「薬学的組成物」を共に含む治療剤とともに用いるための技術における従来の非毒性の固体、半固体、又は液体の充填剤、希釈剤、カプセル化材料、処方助剤、又は担体を意味する。薬学的に許容される担体は、採用される用量及び濃度でレシピエントに対して非毒性であり、製剤の他の成分との適合性がある。薬学的に許容される担体は採用される製剤に好適である。薬学的に許容される担体の例には、アルミナ、ステアリン酸アルミニウム、レシチン、ヒト血清アルブミン、イヌ若しくはその他の動物のアルブミン等の血清タンパク質、リン酸塩、クエン酸塩、トロメタミン、若しくはH E P E S バッファー等のバッファー類、グリシン、ソルビン酸、ソルビン酸カリウム、飽和植物脂肪酸の部分グリセリド混合物、水、プロタミン硫酸塩、リン酸水素二ナトリウム、リン酸水素カリウム、塩化ナトリウム、亜鉛塩、コロイダルシリカ、若しくはマグネシウムトリシリケート等の塩又は電解質、ポリビニルピロリドン、セルロース系物質、ポリエチレングリコール、スクロース、マンニトール、又はそれだけに限らないがアルギニンを含むアミノ酸が含まれる。

## 【0110】

40

薬学的組成物は凍結乾燥した形態で保存することができる。したがって、いくつかの実施形態では、調製プロセスには凍結乾燥ステップが含まれる。凍結乾燥された組成物は次に、イヌ、ネコ、又はウマへの投与に先立って、典型的には非経口投与に好適な水性組成物として再製剤化され得る。他の実施形態では、特に抗体が熱及び酸化による変性に対して高度に安定である場合には、薬学的組成物は、液体として、即ち直接又は適当に希釈してイヌ、ネコ、又はウマに投与することができる水性組成物として、貯蔵することができる。凍結乾燥された組成物は滅菌注射用水(W F I)によって復元することができる。抗菌剤(例えばベンジルアルコール等の静菌性の薬剤)を含ませてもよい。このように、本発明は固体又は液体の形態の薬学的組成物を提供する。

## 【0111】

50

薬学的組成物のpHは、投与する際にpH約5～pH約8の範囲であってよい。本発明

の組成物は、治療目的のために用いる場合には無菌である。無菌状態は、滅菌濾過膜（例えば0.2ミクロンの膜）による濾過を含む当該技術分野で公知のいくつかの手段のいずれによっても達成することができる。無菌状態は抗菌剤の存在下又は非存在下で維持してよい。

#### 【0112】

いくつかの実施形態では、薬学的に許容される担体又は薬学的組成物は、5.0～6.2、5.0～6.0、又は5.3～5.7のpHを有する。いくつかの実施形態では、薬学的に許容される担体又は薬学的組成物は、5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、又は6.2のpHを有する。

#### 【0113】

いくつかの実施形態では、薬学的に許容される担体又は薬学的組成物は、L-ヒスチジン、塩化ナトリウム、及びポリソルベート80を含む。

#### 【0114】

いくつかの実施形態では、薬学的に許容される担体又は薬学的組成物は、80nM～200nM、100nM～180nM、100nM～175nM、110nM～170nM、120nM～160nM、120nM～150nM、130nM～150nM、130nM～160nM、100nM、80nM、110nM、120nM、130nM、140nM、150nM、160nM、170nM、180nM、又は200nMの濃度で塩化ナトリウムを含む。

#### 【0115】

いくつかの実施形態では、薬学的に許容される担体又は薬学的組成物は、0.005mg/mL～0.5mg/mL、0.01mg/mL～0.1mg/mL、0.1mg/mL～0.5mg/mL、0.005mg/mL～0.01mg/mL、0.1mg/mL～0.2mg/mL、0.3mg/mL、0.4mg/mL、0.05mg/mL、0.06mg/mL、0.07mg/mL、0.08mg/mL、0.09mg/mL、又は0.1mg/mLの濃度でポリソルベート80を含む。

#### 【0116】

いくつかの実施形態では、薬学的に許容される担体又は薬学的組成物は、5mM～100mM、10mM～50mM、20mM～30mM、10mM～30mM、20mM～80mM、30mM～70mM、40mM～60mM、10mM、15mM、20mM、25mM、30mM、40mM、又は50mMの濃度でL-ヒスチジンを含む。

#### 【0117】

いくつかの実施形態では、薬学的に許容される担体又は薬学的組成物は、m-クレゾール又はベンジルアルコールを含む。いくつかの実施形態では、m-クレゾールの濃度は約0.2%、約0.1%～約0.3%、約0.08%～約0.25%、又は約0.05%～約0.25%である。いくつかの実施形態では、ベンジルアルコールの濃度は約1%、約0.5%～約2%、約0.2%～約2.5%、約1%～約5%、約0.5%～約5%、又は約1%～約3%である。

#### 【0118】

いくつかの実施形態では、薬学的に許容される担体又は薬学的組成物は、糖を含む。いくつかの実施形態では、糖はスクロース、トレハロース、D-マンニトール、マルトース、及び/又はソルビトールである。いくつかの実施形態では、薬学的に許容される担体又は薬学的組成物は、0.5%～20%、1%～10%、1%～5%、1%～3%、0.5%、1%、2%、3%、4%、5%、又は10%の濃度で糖を含む。

#### 【0119】

いくつかの実施形態では、薬学的に許容される担体又は薬学的組成物は、抗菌剤を含む。いくつかの実施形態では、薬学的に許容される担体又は薬学的組成物は、m-クレゾール又はメチルパラベンを含む。いくつかの実施形態では、薬学的に許容される担体又は薬学的組成物は、0.2%のm-クレゾールを含む。いくつかの実施形態では、薬学的に許容される担体又は薬学的組成物は、0.9%のメチルパラベンを含む。

10

20

30

40

50

**【0120】****抗体及び薬学的組成物の使用**

本発明の抗体又は抗体を含む薬学的組成物は、IL31に誘導された状態を処置するために有用であり得る。本明細書で用いる場合、「IL31に誘導された状態」は、IL31濃度の上昇したレベル又は変化した勾配に関連する、又はそれによって引き起こされる、又はそれによって特徴付けられる疾患を意味する。そのようなIL31に誘導された状態には、それだけに限らないが、搔痒性疾患又はアレルギー性疾患が含まれる。いくつかの実施形態では、IL31に誘導された状態は、アトピー性皮膚炎、搔痒症、喘息、乾癬、強皮症、又は湿疹である。IL31に誘導された状態は、それだけに限らないがイヌ、ネコ、又はウマを含む伴侶動物に現われることがある。

10

**【0121】**

本明細書で用いる場合、「処置」は、有益な又は所望の臨床的結果を得るために手法である。「処置」は、本明細書で用いる場合、伴侶動物を含む哺乳動物における疾患の治療の任意の投与又は適用を包含する。本開示の目的のため、有益な又は所望の臨床的結果には、それだけに限らないが、1若しくは複数の症候の緩和、疾患の程度の軽減、疾患の伝播の防止又は遅延、疾患の再発の防止又は遅延、疾患の進行の遅延又は遅らせること、病状の改善、疾患又は疾患の進行の阻止、疾患又はその進行を阻止し又は遅らせること、その進展を停止させること、及び寛解（部分的又は完全）のうちの任意の1つ又は複数が含まれる。増殖性疾患の病理学的帰結の低減も「処置」に包含される。本明細書で提供される方法は、処置のこれらの態様の任意の1つ又は複数を意図している。上記に一致して、処置という用語は、障害の全ての態様を100%除去することを必要とはしていない。

20

**【0122】**

いくつかの実施形態では、抗IL31抗体又はそれを含む薬学的組成物は、IL31に誘導された状態を処置するための本明細書の方法に従って利用することができる。いくつかの実施形態では、抗IL31抗体又は薬学的組成物は、IL31に誘導された状態を処置するために、イヌ、ネコ、又はウマ等の伴侶動物に投与される。

**【0123】**

物質／分子、アゴニスト、又はアンタゴニストの「治療的有効量」は、処置すべき疾患の種類、病状、疾患の重篤度及び経過、治療目的の種類、あれば過去の治療、病歴、以前の治療への応答、担当の獣医の裁量、動物の年齢、性別、及び体重、動物から所望の応答を引き出す物質／分子、アゴニスト、又はアンタゴニストの能力等の要因によって変動し得る。治療的有効量は、物質／分子、アゴニスト、又はアンタゴニストの治療的に有益な効果がいかなる有毒な又は有害な効果をも上回る量でもある。治療的有効量は1又は複数の投与で送達してよい。治療的有効量は、必要な用量及び期間で所望の治療又は予防の結果を達成するために有効な量を意味する。

30

**【0124】**

いくつかの実施形態では、抗IL31抗体又は抗IL31抗体を含む薬学的組成物は、非経口的に、皮下投与で、静脈内注入で、又は筋肉内注射で、投与される。いくつかの実施形態では、抗IL31抗体又は抗IL31抗体を含む薬学的組成物は、ボーラス注射として、又はある期間にわたる連続的注入で、投与される。いくつかの実施形態では、抗IL31抗体又は抗IL31抗体を含む薬学的組成物は、筋肉内、腹腔内、脳脊髄内、皮下、動脈内、滑膜内、髄腔内、又は吸入経路で投与される。

40

**【0125】**

本明細書に記載した抗IL31抗体は、用量あたり0.1mg/kg体重～100mg/kg体重の範囲の量で投与してよい。いくつかの実施形態では、抗IL31抗体は、用量あたり0.5mg/kg体重～50mg/kg体重の範囲の量で投与してよい。いくつかの実施形態では、抗IL31抗体は、用量あたり1mg/kg体重～10mg/kg体重の範囲の量で投与してよい。いくつかの実施形態では、抗IL31抗体は、0.5mg/kg体重～100mg/kg体重の範囲、1mg/kg体重～100mg/kg体重の範囲、5mg/kg体重～100mg/kg体重の範囲、10mg/kg体重～100m

50

$g / kg$  体重の範囲、 $20 mg / kg$  体重～ $100 mg / kg$  体重の範囲、 $50 mg / kg$  体重～ $100 mg / kg$  体重の範囲、 $1 mg / kg$  体重～ $10 mg / kg$  体重の範囲、 $5 mg / kg$  体重～ $10 mg / kg$  体重の範囲、 $0.5 mg / kg$  体重～ $10 mg / kg$  体重の範囲、又は $5 mg / kg$  体重～ $50 mg / kg$  体重の範囲の量で投与してよい。

#### 【0126】

抗IL31抗体又は抗IL31抗体を含む薬学的組成物は、単回で、又は一連の処置にわたって、伴侶動物に投与することができる。例えば、抗IL31抗体又は抗IL31抗体を含む薬学的組成物は、少なくとも1回、2回以上、少なくとも2回、少なくとも3回、少なくとも4回、又は少なくとも5回投与してよい。

#### 【0127】

いくつかの実施形態では、用量は少なくとも2週又は3週連続して週1回投与され、いくつかの実施形態では、この処置のサイクルが、任意選択で1又は複数の処置しない週を挟んで、2回又はそれ以上、繰り返される。他の実施形態では、治療的に有効な用量が2～5日連続して1日1回投与され、いくつかの実施形態では、この処置のサイクルが、任意選択で1又は複数の処置しない週を挟んで、2回又はそれ以上、繰り返される。

#### 【0128】

1又は複数のさらなる治療剤「と組み合わせた」投与には、同時の（並行した）投与及び任意の順序の連続した又は逐次の投与が含まれる。用語「並行して」は、本明細書では投与の少なくとも部分が時間的に重複するか、又は1つの治療剤の投与が他の治療剤の投与に対して短い期間内に行なわれる、2つ以上の治療剤の投与を意味して用いられる。例えば、2つ以上の治療剤がほぼ特定した数分以下の時間的分離で投与される。用語「逐次に」は、本明細書では1若しくは複数の薬剤の投与が1若しくは複数の他の薬剤の投与が中断した後に継続するか、又は1若しくは複数の薬剤の投与が1若しくは複数の他の薬剤の投与の前に始まる場合の、2つ以上の治療剤の投与を意味して用いられる。例えば、2つ以上の治療剤の投与は、ほぼ特定した数分を超える時間間隔で投与される。本明細書で用いる場合、「と併用して」は、別の処置様式に加えた1つの処置様式の投与を意味する。したがって、「と併用して」は、動物への他の処置様式の投与の前、その間、又はその後の1つの処置様式の投与を意味する。

#### 【0129】

いくつかの実施形態では、本方法は、抗IL31抗体又は抗IL31抗体を含む薬学的組成物と組み合わせて、JAK阻害剤、PI3K阻害剤、AKT阻害剤、又はMAPK阻害剤を投与することを含む。いくつかの実施形態では、本方法は、抗IL31抗体又は抗IL31抗体を含む薬学的組成物と組み合わせて、抗IL17抗体、抗TNF抗体、抗CD20抗体、抗CD19抗体、抗CD25抗体、抗IL4抗体、抗IL13抗体、抗IL23抗体、抗IgE抗体、抗CD11抗体、抗IL6R抗体、抗4-インテグリン抗体、抗IL12抗体、抗IL1抗体、又は抗B1yS抗体を投与することを含む。

#### 【0130】

本明細書では、IL31への抗体の結合を可能にする条件下で、抗IL31抗体又は抗IL31抗体を含む薬学的組成物を細胞に曝露する方法が提供される。いくつかの実施形態では、細胞はエクスピボで抗体又は薬学的組成物に曝露される。いくつかの実施形態では、細胞はインビボで抗体又は薬学的組成物に曝露される。いくつかの実施形態では、細胞は、細胞内IL31への抗体の結合を可能にする条件下で、抗IL31抗体又は薬学的組成物に曝露される。いくつかの実施形態では、細胞は、細胞外IL31への抗体の結合を可能にする条件下で、抗IL31抗体又は薬学的組成物に曝露される。いくつかの実施形態では、細胞は、細胞外IL31への抗体の結合を可能にする条件下で、抗IL31抗体又は薬学的組成物に曝露される。いくつかの実施形態では、細胞は、それだけに限らないが対象への腹腔内、筋肉内、静脈内注射を含む本明細書に記載した投与方法の任意の1又は複数によってインビボで、抗IL31抗体又は薬学的組成物に曝露されてよい。いくつかの実施形態では、細胞は、抗体又は薬学的組成物を含む培地に細胞を曝露することによってエクスピボで、抗IL31抗体又は薬学的組成物に曝露されてよい。いくつかの実施形態では、細胞膜の透過性は、抗体又は薬学的組成物を含む培地に細胞を曝露する前に、当業者に理解される任意の数の方法（例えば細胞

10

20

30

40

50

を電気穿孔法に供すること、又は塩化カルシウムを含む溶液中に細胞を曝露すること)の使用によって影響され得る。

#### 【0131】

いくつかの実施形態では、結合によって細胞のIL31シグナル伝達機能が低減する。いくつかの実施形態では、IL31抗体はSTAT-3リン酸化の低減によって測定して、抗体の非存在下におけるIL31シグナル伝達機能と比較して少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、又は100%、細胞中のIL31シグナル伝達機能を低減させ得る。いくつかの実施形態では、IL31シグナル伝達機能の低減又はSTAT-3リン酸化の低減は、10%～15%、10%～20%、10%～25%、10%～30%、10%～35%、10%～40%、10%～45%、10%～50%、10%～60%、10%～70%、10%～80%、10%～90%、10%～100%、15%～20%、15%～25%、15%～30%、15%～35%、15%～40%、15%～45%、15%～50%、15%～60%、15%～70%、15%～80%、15%～90%、15%～100%、20%～25%、20%～30%、20%～35%、20%～40%、20%～45%、20%～50%、20%～60%、20%～70%、20%～80%、20%～90%、20%～100%、25%～30%、25%～35%、25%～40%、25%～45%、25%～50%、25%～60%、25%～70%、25%～80%、25%～90%、25%～100%、30%～35%、30%～40%、30%～45%、30%～50%、30%～60%、30%～70%、30%～80%、30%～90%、30%～100%、35%～40%、35%～45%、35%～50%、35%～60%、35%～70%、35%～80%、35%～90%、35%～100%、40%～45%、40%～50%、40%～60%、40%～70%、40%～80%、40%～90%、40%～100%、45%～50%、45%～60%、45%～70%、45%～80%、45%～90%、45%～100%、50%～60%、50%～70%、50%～80%、50%～90%、50%～100%、60%～70%、60%～80%、60%～90%、60%～100%、70%～80%、70%～90%、70%～100%、80%～90%、80%～100%、又は90%～100%である。

#### 【0132】

本明細書では、IL31によって誘導された状態の検出、診断、及びモニタリングのための抗IL31抗体、ポリペプチド、及びポリヌクレオチドを用いる方法が提供される。本明細書では、伴侶動物が抗IL31抗体治療に応答するか否かを決定する方法が提供される。いくつかの実施形態では、本方法は、動物がIL31を発現する細胞を有しているか否かを抗IL31抗体を用いて検出することを含む。いくつかの実施形態では、検出方法は、試料を抗体、ポリペプチド、又はポリヌクレオチドと接触させること、及び結合の程度が参照又は比較の試料(例えばコントロール)と異なるか否かを決定することを含む。いくつかの実施形態では、本方法は本明細書に記載した抗体又はポリペプチドが対象動物に適切な処置であるか否かを決定するために有用であり得る。

#### 【0133】

いくつかの実施形態では、試料は生物学的試料である。用語「生物学的試料」は、生体又は以前生体であったものからの物質の量を意味する。いくつかの実施形態では、生物学的試料は細胞又は細胞/組織の溶解物である。いくつかの実施形態では、生物学的試料は、それだけに限らないが、血液(例えば全血)、血漿、血清、尿、滑液、及び上皮細胞を含む。

#### 【0134】

いくつかの実施形態では、細胞又は細胞/組織溶解液を抗IL31抗体と接触させ、抗体と細胞との間の結合を決定する。試験細胞が同じ組織型の参照細胞と比較して結合活性を示す場合には、対象が抗IL31抗体による処置によって恩恵を受けるであろうことが

10

20

30

40

50

示される。いくつかの実施形態では、試験細胞は伴侶動物の組織からのものである。

#### 【0135】

特定の抗体 - 抗原結合を検出するための当該技術分野で公知の種々の方法を用いることができる。実施し得る例示的なイムノアッセイには、蛍光分極イムノアッセイ ( F P I A ) 、蛍光イムノアッセイ ( F I A ) 、酵素イムノアッセイ ( E I A ) 、比濁阻害イムノアッセイ ( N I A ) 、酵素結合免疫吸着アッセイ ( E L I S A ) 、及びラジオイムノアッセイ ( R I A ) が含まれる。インジケーター部分、又はラベルグループは、対象抗体に結合させることができ、アッセイ装置の入手可能性及び適合するイムノアッセイ手順によって決定されることが多い種々の方法の使用の必要性に合致するように選択される。適切なラベルには、限定するものではないが放射性核種 ( 例えば  $^{125}\text{I}$  、  $^{131}\text{I}$  、  $^{35}\text{S}$  、  $^{3}\text{H}$  、又は  $^{32}\text{P}$  ) 、酵素 ( 例えばアルカリホスファターゼ、ホースラディッシュペルオキシダーゼ、ルシフェラーゼ、又は p - グラクトシダーゼ ) 、蛍光性部分又はタンパク質 ( 例えばフルオレセイン、ローダミン、フィコエリスリン、GFP、又は BFP ) 、又は発光部分 ( 例えば Quantum Dot Corporation, Palo Alto, Calif. によって供給される Qdot ( 商標 ) ナノ粒子 ) が含まれる。上記の種々のイムノアッセイを実施する際に用いられる一般的な手法は、当業者には公知である。

#### 【0136】

診断の目的には、抗体を含むポリペプチドは、それだけに限らないが当該技術分野で公知の放射性同位体、蛍光性ラベル、及び種々の酵素 - 基質ラベルを含む検出可能な部分で標識することができる。ラベルを抗体にコンジュゲートする方法は当該技術分野で公知である。いくつかの実施形態では、抗 IL 31 抗体は標識されている必要はなく、その存在は、第 1 の抗 IL 31 抗体に結合する第 2 の標識化抗体を用いて検出することができる。いくつかの実施形態では、抗 IL 31 抗体は、競合結合アッセイ、直接及び間接サンドイッチアッセイ、並びに免疫沈降アッセイ等の任意の公知のアッセイ法に採用することができる。 Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, 147 ~ 158 頁 ( CRC Press, Inc., 1987 年 ) 。抗 IL 31 抗体及びポリペプチドは、インビボイメージング等のインビボ診断アッセイにも用いることができる。一般に、抗体又はポリペプチドは、目的の細胞又は組織の位置がイムノシンチオグラフィーを用いて特定されるように、放射性核種 ( 例えば  $^{111}\text{In}$  、  $^{99}\text{Tc}$  、  $^{14}\text{C}$  、  $^{131}\text{I}$  、  $^{125}\text{I}$  、  $^{3}\text{H}$  、又は本明細書に概略を示したものを含む他の任意の放射性核種ラベル ) によって標識される。抗体は当該技術分野で周知の手法を用いる病理学における染色剤としても用いられる。

#### 【0137】

いくつかの実施形態では、第 1 の抗体は診断用に用いられ、第 2 の抗体は治療のために用いられる。いくつかの実施形態では、第 1 の抗体と第 2 の抗体は異なる。いくつかの実施形態では、第 1 の抗体と第 2 の抗体は別々のエピトープに結合することによって、両方も同時に抗原に結合することができる。

#### 【0138】

以下の実施例は本開示の特定の態様を説明するものであり、いかなる様式でも本開示を限定することを意図するものではない。

#### 【実施例】

#### 【0139】

実施例 1 : イヌ IL 31 に結合するマウスモノクローナル抗体の同定

IL 31 タンパク質 ( 配列番号 22 ) をコードするイヌ IL 31 遺伝子を、 C 末端のポリ - His タグとともに合成し、哺乳動物発現ベクターにクローニングした。イヌ IL 31 遺伝子を有するプラスミドを、 293 細胞にトランスフェクトした。

#### 【0140】

イヌ IL 31 タンパク質を含む上清を収集して濾過した。 Ni - NTA カラム ( Captiva ( 登録商標 ) Protein A Affinity Resin, Repligen ) を用いて、イヌ IL 31 をアフィニティ精製した。

10

20

30

40

50

## 【0141】

免疫原として 293 細胞によって產生されたイヌ IL31 を用いる標準的な免疫化を用いて、マウスモノクローナル抗体を同定した。免疫化の間に異なる 2 つのアジュバントを用い (Antibody Solutions, Sunnyvale, CA)、標準的なハイブリドーマ技術によってモノクローナル抗体を得た。IL31 結合抗体を產生するクローンをスクリーニングするため、酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA) を開発した。最初にイヌ IL31 をビオチン化し、次いでこれをストレプトアビジン被覆ウェルに導入した。次いで免疫化した血清をウェルに加え、洗浄して、HRP コンジュゲート抗マウス抗体で検出した。イヌ IL31 結合抗体の存在により、陽性のシグナルが生じた。ELISA によって試験した数千のクローンのうち、シグナル強度に基づいて最大の結合親和性を有する 170 クローンを選択し、バイオセンサーハイブリッド (Forte Bio Octet) によってさらに試験した。ビオチン化したイヌ IL31 をセンサーチップに結合させ、スローオフレート (抗体とリガンドとの解離の速度) に基づいて、抗イヌ IL31 抗体を含むハイブリドーマクローンの上清を選択した。上位 19 種の候補の結合親和性を単一濃度で測定し、Biosensor Octet を用いるプロテイン A の力価アッセイによって抗体濃度を測定した後、平衡解離定数 (Kd) として報告した。上位 19 種の候補の Kd はそれぞれ 10 nM 未満であった。

10

## 【0142】

さらに、ELISA に基づいて高い結合活性を有する 170 クローンのそれぞれを、中和活性について試験した。イヌ DH82 細胞を用いるイヌ IL31 媒介 pSTAT シグナル伝達の低減における上位候補の活性を評価するため、実施例 4 において以下に記載する細胞に基づく機能性アッセイを実施した。上位 4 種のクローン (M14、M18、M19、及び M87) をさらなる検討のために選択した。特に、ELISA によって同定された高親和性のバインダーの大多数は機能的でなかった。

20

## 【0143】

## 実施例 2 : モノクローナル抗体の VH 及び VL をコードする DNA 配列の同定

M14、M18、M19、及び M87 を產生するハイブリドーマ細胞をペレット化した。RNA を抽出し、マウス免疫グロブリン (Ig) 可変ドメインを増幅するためのオリゴスクレオチドプライマーを用い、標準的な手法を用いて cDNA を得た。4 つのクローンのそれぞれの可変重鎖 (VH) 及び可変軽鎖 (VL) をシーケンシングし、配列アライメントによって解析した (図 1、配列番号 36 ~ 43)。特に、4 つの活性な抗体のうち 3 つ (M14、M18、及び M19) は、M18 の CDR - L1 が 14 位にイソロイシンを有する (配列番号 63) 一方、M14 及び M19 が 14 位にメチオニンを有し (配列番号 8)、また M18 の CDR - H2 が 9 位にチロシンを有する (配列番号 62 及び配列番号 87) 一方、M14 及び M19 が 14 位にアスパラギン酸を有する (配列番号 2 及び配列番号 89) ことを例外として、同じ 6 個の CDR 配列を共有している。CDR 配列の類似性は、M14、M18、及び M19 が共通のエピトープを共有していることを示唆している。

30

## 【0144】

## 実施例 3 : CHO 細胞からのマウス - イヌキメラ及びイヌ化 IL31 mAb M14 の発現並びに精製

40

マウスの M14 VH (配列番号 25) 及びマウスの VL (配列番号 24) をイヌの定常重鎖及びイヌの定常軽鎖に融合させるため、キメラ抗体をコードする DNA 配列を設計した。スクレオチド配列を化学合成し、CHO 宿主細胞へのトランスフェクションに適した発現ベクターに挿入した。CHO 細胞へのトランスフェクションの後、軽鎖若しくは重鎖のタンパク質又は両方が細胞から分泌された。例えば、イヌ IgG - B を用いるキメラ M14 を、单一ステップのプロテイン A カラムクロマトグラフィーによって精製した。

## 【0145】

CDR グラフト化のためのテンプレートとしての正しいイヌ生殖系列の抗体配列を検索して選択し、タンパク質モデリングを行なうことにより、マウスの M14 の VH 及び VL

50

をイヌ化M14 IgG-B（配列番号18及び配列番号21）は容易に発現し、これをプロテインAカラム又は他のクロマトグラフィー法、例えばイオン交換カラムクロマトグラフィー、疎水性相互作用カラムクロマトグラフィー、CHT等の混合モードカラムクロマトグラフィー、又はCapto MMC等のマルチモーダルモードカラムクロマトグラフィーによって単一ステップで精製した。低いpH又はその他のウイルス不活化及びウイルス除去ステップを適用することができる。精製したタンパク質を賦形剤と混合し、濾過滅菌して、本発明の薬学的組成物を調製する。薬学的組成物を、IL31に結合してこれを阻害するために十分な量で、アトピー性皮膚炎を有するイヌに投与する。

#### 【0146】

次いでベクターを用いて、Freestyle Max（商標）トランスフェクション試薬（Life Technologies）を用いるCHO-S細胞におけるパイロットスケールトランスフェクションを実施した。馴化培地を清澄化することによって、上清を収穫した。単一パスのプロテインAクロマトグラフィーステップによってタンパク質を精製し、さらなる検討に用いた。

#### 【0147】

##### 実施例4：IL31結合活性の実証

本実施例は、キメラM14（配列番号26及び配列番号27）及びイヌ化M14（配列番号18及び配列番号21）で表わされる本発明の抗体が、治療活性のために必須の動力学でイヌIL31に結合することを実証する。

#### 【0148】

バイオセンサーOctetを用い、以下のようにして結合解析を実施した。簡単には、イヌIL31を、EZ-Link（商標）NHS-LC-Biotin（Thermo Scientific、カタログNo. 21336）を用いて一级アミン基で、又はEZ-Link（商標）Biotin-LC-Hyrazide（Thermo Fisher Scientific、カタログNo. 21340）を用いてグリカン基で、製造元の指示書に従ってビオチン化した。大規模な透析によって遊離の未反応ビオチンをビオチン化IL31から除去した。ビオチン化イヌIL31をストレプトアビジンセンサーチップに捕捉した。4つの異なる濃度（400、200、66.6、及び33nM）のキメラ及びイヌ化M14抗体とヒト及びイヌのIL31（アミン-コンジュゲート-ビオチン）との会合、並びに100nMのイヌ化M14抗体とイヌIL31（グリカン-コンジュゲート-ビオチン）との会合を、90秒間モニターした。解離は600秒間モニターした。ドリフトがあれば補正するため、バッファーのみのプランクカーブを差し引いた。データは、 $k_{on}$ 、 $k_{off}$ 、及び $K_d$ を決定するためのFortebio（商標）データ解析ソフトウェアを用いる2:1結合モデルにフィッティングした。希釈及び全ての結合ステップのためのバッファーは、20mMのリン酸塩、150mMのNaCl、pH7.2であった。

#### 【0149】

C末端にポリHisタグを有するイヌIL31をCHO-S細胞から発現させ、精製した。ヒトIL31はSino Biologicalから入手し、ストレプトアビジンバイオセンサーはFortebioから入手した（Cat. #18-509）。結合動力学は下記の通りであった。リガンドであるイヌIL31（アミン-コンジュゲート-ビオチン）について、キメラM14の $K_d$ （M）は $< 1.0 \times 10^{-11}$ （図2）、イヌ化M14では $< 1.0 \times 10^{-11}$ （図3）であった。リガンドであるイヌIL31（グリカン-コンジュゲート-ビオチン）について、イヌ化M14の $K_d$ （M）は $< 1.0 \times 10^{-12}$ 、 $k_{off}$ （1/s）は $< 1.0 \times 10^{-7}$ であった。

#### 【0150】

キメラM14及びイヌ化M14はヒトIL31には明らかな結合シグナルを有さなかった。したがって、 $K_d$ は測定できなかった。

#### 【0151】

##### 実施例5：M14がイヌIL31のシグナル伝達を阻害することの実証

10

20

30

40

50

そのIL31受容体への結合の後、IL31はJanusキナーゼ(Jak)1及びJak2シグナル伝達分子を活性化する。続いて、活性化されたJakが下流のシグナル伝達STAT-3及びSTAT-5のリン酸化を刺激する。無細胞培地のプロテインAによる精製画分からの抗IL31活性を検出するために、抗ホスホ-STAT3イムノプロット解析を用いた(Gonzalesら、Vet Dermatol、2013年、24、48~e12頁)。簡単には、イヌ単球DH82細胞(アメリカンタイプカルチャーコレクション、Manassas、VA、USA)を、15%の熱不活化ウシ胎児血清、2mmol/LのG lutamax、1mmol/Lのピルビン酸ナトリウム、及び10ng/mLのイヌインターフェロン-c(R&D Systems、Minneapolis、MN、USA)を含むMEM増殖培地(Life Technologies)中、ウェルあたり $1 \times 10^5$ 細胞の密度で、37、24時間、96ウェルの平底細胞培養プレートに播種した。この実験では、イヌIL31-Fcの濃度は5ng/mL(8nM)であった。抗ホスホSTAT3抗体及び抗STAT3抗体は、R&D Systemsから購入した。抗アクチン抗体はSigma-Aldrichから得た。図4に示すように、細胞に曝露されたイヌ化M14の濃度が増大するとともに、イヌIL31のシグナル伝達は(STAT3のリン酸化の低減によって証明されるように)減少した(レーン1: 抗IL31抗体なし、レーン2: 3.3nM、レーン3: 6.6nM、レーン4: 9.9nM、及びレーン5: 13.2nM)。

#### 【0152】

##### 実施例6: M14イヌIL31結合エピトープの同定

M14によって認識されるイヌIL31エピトープを同定するため、多重GSTイヌIL31断片融合分子を生成させ、大腸菌(E. coli)の細胞内でタンパク質を発現させた。GST融合タンパク質を膜に転写した後、キメラM14を用いて膜をプローブした。IL31断片がエピトープを含む場合には、陽性シグナルが得られた。

#### 【0153】

図5と図6を組み合わせることにより、M14が最小の断片(配列番号23)を認識し得ることが実証された。

#### 【0154】

##### 実施例7: M14がネコIL31と交差反応することの実証

M14抗体がネコIL31(配列番号28)又はウマIL31(配列番号29)を認識するか否かを検討するため、それぞれのタンパク質をヒトFcと融合させ、哺乳動物の293細胞中で発現させた。部分精製したタンパク質を膜にプロットし、M14抗体でプローブした。図1のイムノプロットは、M14がネコIL31に結合することを実証している。イムノプロットアッセイはM14とウマIL31との結合を検出しなかった。しかし、バイオレイヤー干渉解析により、M14抗体は、親和性は低いがウマIL31と結合することが明らかになった。センサーに固定化されたビオチン化ウマIL31を用いる予備的なKd測定により、親和性(Kd)はほぼ10~50nMであることが明らかになった。

#### 【0155】

##### 実施例8: ネコ化M14

M14可変軽鎖(配列番号32)としてネコ化し、M14可変重鎖(配列番号33)としてネコ化した。最初に、マウスの重鎖可変配列及び軽鎖可変配列を用いてネコのVH及びVLの正しいバリエントを検索した。CDRをグラフトするために正しいネコフレームを選択した。構造モデリングを用いて、これらをさらに最適化した。ネコ化したVH及びVLを、ネコのIgG重鎖定常ドメイン(CH1、CH2、及びCH3)並びにネコの軽鎖定常ドメイン(CL1)に融合した。

#### 【0156】

ネコM14キメラ抗体(配列番号30及び配列番号31)又はネコ化M14抗体(配列番号34及び配列番号35)は、IL31で誘導された状態の処置のためにネコに投与することができる。

#### 【0157】

10

20

30

40

50

### 実施例 9 : M 1 4 イヌ I L 3 1 結合エピトープの同定

M 1 4 によって認識されるイヌ I L 3 1 エピトープのアミノ酸残基をさらに同定するため、アラニン変異を有する多重 G S T イヌ I L 3 1 エピトープ断片融合分子を大腸菌で発現させた。図 8 ~ 12 に、抗イヌ I L 3 1 - m A b (M 1 4) 又はイヌ化 M 1 4 (上のパネル) 及び抗 G S T 抗体コントロール (下のパネル) でプローブしたイヌ I L 3 1 - G S T 融合タンパク質の精細なエピトープマッピングのイムノプロットを示す。それぞれのレーンで試験したエピトープ断片を、イムノプロットの下に列挙する。断片名は、試験した成熟イヌ I L 3 1 (配列番号 4 4) のアミノ酸の範囲、及びもし含まれていればアラニン変異の位置を示す。I L 3 1 断片が野生型エピトープを含む場合には陽性シグナルが生じ、I L 3 1 断片が抗体 - リガンドの相互作用に重要な残基にアラニン置換を含む場合には陰性シグナルが生じた。

#### 【 0 1 5 8 】

エピトープマッピング研究の結果を以下の表 3 にまとめる。結果は、成熟イヌ I L 3 1 (配列番号 4 4) の P 1 2、S 1 3、D 1 4、及び K 1 7 が抗体 M 1 4 の結合に関与していること、並びに R 1 6 及び I 1 8 が M 1 4 の認識に部分的に関与していることを示唆している。まとめると、この研究の結果は、抗体 M 1 4 の C D R に結合する I L 3 1 ポリペプチドのモチーフが P S D X<sub>1</sub> X<sub>2</sub> K I であり、ここで X<sub>1</sub> 及び X<sub>2</sub> は可変である (配列番号 4 5) ことを示唆している。

表 3.

アミノ酸置換	置換による結合の防止
P12A	有
S13A	有
D14A	有
V15A	無
R16A	部分的
K17A	有
I18A	部分的
I19A	無
L20A	無

10

20

30

#### 【 0 1 5 9 】

実施例 10 : M 1 4 は P S D X<sub>1</sub> X<sub>2</sub> K I エピトープモチーフを有する他の種の I L 3 1 に特異的に結合する。

M 1 4 によって認識される I L 3 1 のエピトープモチーフ (P S D X<sub>1</sub> X<sub>2</sub> K I、配列番号 4 5) は、ヒト (配列番号 4 6) 又はマウス (配列番号 6 1) の I L 3 1 アミノ酸配列には存在しない。しかし、このモチーフは、ネコ科の

イエネコ (*Felis catus*) (XP\_011286140.1; 配列番号 2 8)

セイウチ (*Odobenus rosmarus divergens*) (XP\_004395998.1; 配列番号 4 7)

アヌビスヒビ (*Papio Anubis*) (XP\_003907358.1; 配列番号 4 9)

ホツキヨクグマ (*Ursus maritimus*) (XP\_008687166.1; 配列番号 5 1)

ウェッデルアザラシ (*Leptonychotes weddellii*) (XP\_006746595.1; 配列番号 5 2)

アムールトラ (*Panthera tigris altaica*) (XP\_007079636.1; 配列番号 5 3)

チーター (*Acinonyx jubatus*) (XP\_014919275.1; 配列番号 5 4)

カニクイザル (*Macaca fascicularis*) (EHH66805.1; 配列番号 5 5)

アカゲザル (*Macaca mulatta*) (EHH21279.1; 配列番号 5 6)

ドリル (*Mandrillus leucophaeus*) (XP\_011819882.1; 配列番号 5 7)

ミドリザル (*Chlorocebus sabaeus*) (XP\_008003211.1; 配列番号 5 8)

40

50

スティーマンガベイ (*Cercocebus atys*) (XP\_011926625.1; 配列番号 59)  
 キンシコウ (*Rhinopithecus roxellana*) (XP\_010366647.1; 配列番号 60)  
 を含むいくつかの他の種で同定された。

#### 【0160】

セイウチ IL31 (配列番号 47) 及びアヌビスヒヒ IL31 (配列番号 49) は、抗体 M14 によって認識可能な PSDX<sub>1</sub>X<sub>2</sub>KIエピトープ (配列番号 45) を保有している。タンパク質の精製を容易にするため、セイウチ IL31 (配列番号 48) 及びアヌビスヒヒ IL31 (配列番号 50) に C 末端 His タグを加えた。ウェスタンプロット解析により、M14 がセイウチ IL31 に結合することが確認された (図 13)。M14 抗体又はその誘導体は、上に列挙した種のいずれにおいても IL31 によって誘導された疾患のための治療剤及び診断薬として用いることができる。

10

#### 【0161】

##### 実施例 11：イヌ化 M14 抗体の熱安定性

イヌ化 M14 抗体の熱安定性を、市販の抗 IL31 抗体である Zoetis の CYTOPOINT (商標) と比較して、示差走査蛍光 (DSF) を用い、広範囲の pH にわたって解析した。種々の pH における各抗体の融点 (Tm) を、下の表 4 に列挙する。CYTOPOINT (商標) 及びイヌ化 M14 抗体の両方を、PD Minitrapp (商標) G-25カラム (GE Healthcare) を用いて表 4 に列挙したアッセイバッファーにバッファー交換した。同じバッファーとタンパク質の濃度を用いて、各抗体の Tm を評価した。イヌ化 M14 抗体は、広範囲の pH にわたって、CYTOPOINT (商標) と比較して改善された熱安定性を示した。さらに、抗体 0.22 mg/ml、55、2 日間のストレス条件下で CYTOPOINT (商標) は沈殿したが、イヌ化 M14 抗体では沈殿は観察されなかった。

20

表4.

試験した pH	アッセイバッファー	イヌ化 M14 融点 (Tm°C)	CYTOPOINT(商標) 融点 (Tm°C)
3	0.1M NaAc	55.44	49.21
4	0.1M NaAc	61.68	57.54
5	0.1M NaAc	66.84	61.71
6	0.1M NaPO <sub>4</sub>	68.20	62.84
7	0.1M NaPO <sub>4</sub>	67.25	61.76
7.2	2xPBS	66.71	60.98
8	0.1M NaPO <sub>4</sub>	65.08	60.08
9	0.1M TrisHCl	64.25	59.25

30

#### 【0162】

##### 実施例 12：イヌ化 M14 抗体バッファー製剤

種々のバッファー製剤中におけるイヌ化 M14 抗体の熱安定性を解析した。リン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、又は L-ヒスチジンを含むバッファーを考慮した。その他の製剤変動項目には、異なる pH (pH 5.2、5.5、6.0、6.5、及び 7.0)、異なる塩化ナトリウム濃度 (50 mM 及び 140 mM)、異なるポリソルベート (ポリソルベート 20 及び ポリソルベート 80)、及び異なる抗菌剤 (m-クレゾール及びメチル

40

50

パラベン)が含まれていた。各バッファー中のイヌ化M14抗体の融点(Tm)は、20~95の示差走査蛍光(DSF)手法で測定した。表5に、試験した種々のバッファー中のイヌ化M14抗体のTm値を列挙する。

表5

製剤名称	バッファー製剤	融点 (Tm°C)
A1	20mM リン酸ナトリウム 140mM 塩化ナトリウム ポリソルベート 80(0.05mg/mL) pH6.0	67.6
A2	A1+m-クレゾール(0.2%)	65.0
A3	A1+メチルパラベン 0.9mg/mL	67.3
A4	20mM リン酸ナトリウム 140mM 塩化ナトリウム ポリソルベート 20(0.05mg/mL) pH6.0	66.9
A5	A4+0.2% m-クレゾール	64.4
A6	A4+メチルパラベン 0.9mg/mL	67.3
A7	20mM リン酸ナトリウム 50mM 塩化ナトリウム ポリソルベート 80(0.05mg/mL) pH6.0	66.3
A8	A7+0.2% m-クレゾール	ピークなし*
A9	A7+メチルパラベン 0.9mg/mL	66.1
A10	20mM リン酸ナトリウム 50mM 塩化ナトリウム ポリソルベート 20(0.05mg/mL) pH6.0	65.8
A11	A10+0.2% m-クレゾール	63.6
A12	A10+メチルパラベン 0.9mg/mL	65.5
B1	20mM リン酸ナトリウム 140mM 塩化ナトリウム ポリソルベート 80(0.05mg/mL) pH7.0	68.0
B2	B1+m-クレゾール(0.2%)	66.2
B3	B1+メチルパラベン 0.9mg/mL	68.1

10

20

30

40

50

B4	20mM リン酸ナトリウム 140mM 塩化ナトリウム ポリソルベート 20(0.05mg/mL) pH7.0	68.1
B5	B4+0.2% m-クレゾール	64.6
B6	B4+メチルパラベン 0.9mg/mL	67.2
B7	20mM リン酸ナトリウム 50mM 塩化ナトリウム ポリソルベート 80(0.05mg/mL) pH7.0	67.6
B8	A7+0.2% m-クレゾール	64.7
B9	B7+メチルパラベン 0.9mg/mL	66.9
B10	20mM リン酸ナトリウム 50mM 塩化ナトリウム ポリソルベート 80(0.05mg/mL) pH7.0	67.3
B11	B10+0.2% m-クレゾール	64.8
B12	B10+メチルパラベン 0.9mg/mL	67.4
C1	20mM 酢酸ナトリウム 140mM 塩化ナトリウム ポリソルベート 80(0.05mg/mL) pH5.2	67.9
C2	C1+m-クレゾール(0.2%)	65.4
C3	C1+メチルパラベン 0.9mg/mL	67.6
C4	20mM 酢酸ナトリウム 140mM 塩化ナトリウム ポリソルベート 20(0.05mg/mL) pH5.2	67.7
C5	C4+0.2% m-クレゾール	64.7
C6	C4+メチルパラベン 0.9mg/mL	67.7
C7	20mM 酢酸ナトリウム 50mM 塩化ナトリウム ポリソルベート 80(0.05mg/mL) pH5.2	66.6
C8	C7+0.2% m-クレゾール	ピークなし*
C9	C7+メチルパラベン 0.9mg/mL	66.9

10

20

30

40

50

C10	20mM 酢酸ナトリウム 50mM 塩化ナトリウム ポリソルベート 20(0.05mg/mL) pH5.2	68.0
C11	C10+0.2% m-クレゾール	64.7
C12	C10+メチルパラベン 0.9mg/mL	67.7
D1	20mM L-ヒスチジン 140mM 塩化ナトリウム ポリソルベート 80(0.05mg/mL) pH5.5	69.5
D2	D1+m-クレゾール(0.2%)	68.1
D3	D1+メチルパラベン 0.9mg/mL	69.6
D4	20mM L-ヒスチジン 140mM 塩化ナトリウム ポリソルベート 20(0.05mg/mL) pH5.5	69.6
D5	D4+0.2% m-クレゾール	67.2
D6	D4+メチルパラベン 0.9mg/mL	69.1
D7	20mM L-ヒスチジン 50mM 塩化ナトリウム ポリソルベート 80(0.05mg/mL) pH5.5	68.0
D8	D7+0.2% m-クレゾール	66.2
D9	D7+メチルパラベン 0.9mg/mL	67.7
D10	20mM L-ヒスチジン 50mM 塩化ナトリウム ポリソルベート 20(0.05mg/mL) pH5.5	68.1
D11	D10+0.2% m-クレゾール	66.6
D12	D10+メチルパラベン 0.9mg/mL	68.1
E1	20mM L-ヒスチジン 140mM 塩化ナトリウム ポリソルベート 80(0.05mg/mL) pH6.5	68.2
E2	E1+m-クレゾール(0.2%)	ピークなし*
E3	E1+メチルパラベン 0.9mg/mL	67.9

10

20

30

40

50

E4	20mM L-ヒスチジン 140mM 塩化ナトリウム ポリソルベート 20(0.05mg/mL) pH6.5	67.9
E5	E4+0.2% m-クレゾール	ピークなし*
E6	E4+メチルパラベン 0.9mg/mL	67.6
E7	20mM L-ヒスチジン 50mM 塩化ナトリウム ポリソルベート 80(0.05mg/mL) pH6.5	67.3
E8	E7+0.2% m-クレゾール	ピークなし*
E9	E7+メチルパラベン 0.9mg/mL	67.5
E10	20mM L-ヒスチジン 50mM 塩化ナトリウム ポリソルベート 20(0.05mg/mL) pH6.5	67.2
E11	E10+0.2% m-クレゾール	64.6
E12	E10+メチルパラベン 0.9mg/mL	66.9

\*「ピークなし」は、目立った融点が観察されなかったことを示す。

### 【0163】

以下の糖類(1%)、スクロース、トレハロース、D-マンニトール、マルトース、及びソルビトールのそれぞれの1つの存在下における処方D1、D2、D3、D4、D5、及びD6のTmをDSFを用いてさらに試験した。

### 【0164】

糖類の存在下及び非存在下における製剤を、40で1日、次いで45で1日、次いで55で4日のストレス条件下でも試験した。サイズ排除HPLC解析を用いて、ストレス条件に供した後の種々の製剤中のモノマー形態及び凝集形態の抗体を検出し定量した。試料をSHODEX(商標)KW803カラム(8mm×300mm)にロードし、KW-Gガードカラムに取り付けた。Agilent 1100クロマトグラフィーシステムを用い、ランニングバッファーとして2倍PBS(270mM NaCl、5.4mM KCl、8.6mM Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)、pH7.2、定常流量0.5mL/分とした。サイログロブリン、ウシ-グロブリン、ニワトリオブアルブミン、ウマミオグロビン、及びビタミンB12からなるBIORADゲル濾過標準(カタログNo.151-1901)(分子量1,350~670,000)を用いてカラムを較正した。溶液中に残存したモノマー抗体の量を、214nm又は280nmのUV吸光度を測定し、曲線下ピーク面積を計算することによって決定した。

### 【0165】

DSF及びHPLC解析に基づいて、処方D1、D2、D3、D4、D6、D7、D10、及びD12等の、L-ヒスチジン、塩化ナトリウム、ポリソルベート80を含み、5.0~6.2のpHを有する製剤が、より望ましいと考えられた。例えば、単回投薬に望ましい製剤は、20mMのL-ヒスチジン、140mMの塩化ナトリウム、ポリソルベート80(0.05mg/mL)、pH5.5であり、(防腐剤の存在下の)多回投薬に望

10

20

30

40

50

ましい製剤は、

1. 20 mMのL-ヒスチジン、140 mMの塩化ナトリウム、ポリソルベート80(0.05 mg/mL)、スクロース(1~3%)、m-クレゾール(0.2%)、pH 5.5及び

2. 20 mMのL-ヒスチジン、140 mMの塩化ナトリウム、ポリソルベート80(0.05 mg/mL)、トレハロース(1~3%)、メチルパラベン(0.9%)、pH 5.5

である。

#### <さらなる実施態様>

##### [実施態様1]

イヌIL3に結合する単離された抗体であって、配列番号23のアミノ酸配列を含むエピトープに結合する抗体。

10

##### [実施態様2]

イヌIL3に結合する単離された抗体であって、PSDX<sub>1</sub>X<sub>2</sub>KI(配列番号45)のアミノ酸配列を含むエピトープに結合し、ここでXは任意のアミノ酸残基である、抗体。

##### [実施態様3]

X<sub>1</sub>が疎水性アミノ酸であるか、又はX<sub>1</sub>がA、V、I、及びLから選択されるか、又はX<sub>1</sub>がV及びIから選択され、X<sub>2</sub>が親水性アミノ酸であるか、又はX<sub>2</sub>がA、R、K、Q及びNから選択されるか、又はX<sub>2</sub>がR及びQから選択される、実施態様2に記載の単離された抗体。

20

##### [実施態様4]

X<sub>1</sub>がVであり、X<sub>2</sub>がRであるか、又はX<sub>1</sub>がIであり、X<sub>2</sub>がQである、実施態様2又は実施態様3に記載の単離された抗体。

##### [実施態様5]

配列番号88のアミノ酸配列を含むエピトープに結合する、実施態様2から4のいずれか一項に記載の抗体。

##### [実施態様6]

バイオレイヤー干渉法で測定して5×10<sup>-6</sup>M未満、1×10<sup>-6</sup>M未満、5×10<sup>-7</sup>M未満、1×10<sup>-7</sup>M未満、5×10<sup>-8</sup>M未満、1×10<sup>-8</sup>M未満、5×10<sup>-9</sup>M未満、1×10<sup>-9</sup>M未満、5×10<sup>-10</sup>M未満、1×10<sup>-10</sup>M未満、5×10<sup>-11</sup>M未満、5×10<sup>-12</sup>M未満、又は1×10<sup>-12</sup>M未満の解離定数(Kd)でイヌIL3に結合する、実施態様1から5のいずれか一項に記載の抗体。

30

##### [実施態様7]

STAT-3のリン酸化の低減によって測定して伴侶動物種のIL3シグナル伝達機能を低減させる、実施態様1から6のいずれか一項に記載の抗体。

##### [実施態様8]

伴侶動物種がイヌ、ネコ又はウマである、実施態様7に記載の抗体。

##### [実施態様9]

イムノプロット解析及び/又はバイオレイヤー干渉法によって決定して、ネコIL3又はウマIL3に結合する、実施態様1から8のいずれか一項に記載の抗体。

40

##### [実施態様10]

イヌIL3への結合においてモノクローナルM14抗体と競合する、実施態様1から9のいずれか一項に記載の抗体。

##### [実施態様11]

ネコIL3への結合においてモノクローナルM14抗体と競合する、実施態様1から10のいずれか一項に記載の抗体。

##### [実施態様12]

イムノプロット解析及び/又はバイオレイヤー干渉法によって決定して、ヒトIL3に結合しない、実施態様1から11のいずれか一項に記載の抗体。

50

[実施態様 13]

モノクローナル抗体である、実施態様 1 から 1 2 のいずれか一項に記載の抗体。

[実施態様 14]

イヌ、イヌ化、ネコ、ネコ化、ウマ、ウマ化抗体、又はキメラ抗体である、実施態様 1 から 1 3 のいずれか一項に記載の抗体。

[実施態様 15]

マウスの可変重鎖フレームワーク領域又はマウスの可変軽鎖フレームワーク領域を含むキメラ抗体である、実施態様 1 から 1 4 のいずれか一項に記載の抗体。

[実施態様 16]

重鎖及び軽鎖を含み、

a ) 重鎖が、配列番号 1 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、又は少なくとも 98 % の配列同一性を有する CDR - H1 配列；配列番号 2 - 62、89 又は 87 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、又は少なくとも 98 % の配列同一性を有する CDR - H2 配列；及び配列番号 3 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、又は少なくとも 98 % の配列同一性を有する CDR - H3 配列を含み、且つ、

b ) 軽鎖が、配列番号 8 又は配列番号 63 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、又は少なくとも 98 % の配列同一性を有する CDR - L1 配列；配列番号 9 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、又は少なくとも 98 % の配列同一性を有する CDR - L2 配列；及び配列番号 10 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、又は少なくとも 98 % の配列同一性を有する CDR - L3 配列を含む、

実施態様 1 から 1 5 のいずれか一項に記載の抗体。

[実施態様 17]

a ) ( i ) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含む CDR - H1；( ii ) 配列番号 2 若しくは配列番号 89 のアミノ酸配列を含む CDR - H2；及び( iii ) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む CDR - H3 を含む重鎖、又は

b ) ( i ) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含む CDR - H1；( ii ) 配列番号 62 若しくは配列番号 87 のアミノ酸配列を含む CDR - H2；及び( iii ) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む CDR - H3 を含む重鎖

を含む、実施態様 1 から 1 6 のいずれか一項に記載の抗体。

[実施態様 18]

a ) ( i ) 配列番号 8 のアミノ酸配列を含む CDR - L1；( ii ) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む CDR - L2；及び( iii ) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む CDR - L3 を含む軽鎖、又は

b ) ( i ) 配列番号 63 のアミノ酸配列を含む CDR - L1；( ii ) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む CDR - L2；及び( iii ) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む CDR - L3 を含む軽鎖

を含む、実施態様 1 から 1 7 のいずれか一項に記載の抗体。

[実施態様 19]

( a ) 配列番号 4、70 若しくは 79 の可変領域重鎖フレームワーク 1 (HC - FR1) 配列；( b ) 配列番号 5、71 若しくは 80 の HC - FR2 配列；( c ) 配列番号 6、72、73 若しくは 81 の HC - FR3 配列；( d ) 配列番号 7、74 若しくは 82 の HC - FR4 配列；( e ) 配列番号 11、75 若しくは 83 の可変領域軽鎖フレームワーク 1 (LC - FR1) 配列；( f ) 配列番号 12、76 若しくは 84 の LC - FR2 配列；( g ) 配列番号 13、77 若しくは 85 の LC - FR3 配列；又は( h ) 配列番号 14、78 若しくは 86 の LC - FR4 配列

のうちの 1 つ又は複数をさらに含む、実施態様 1 6 から 1 8 のいずれか一項に記載の抗体。

[実施態様 20]

a ) ( i ) 配列番号 24 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少な

10

20

30

40

50

くとも 95 %、若しくは少なくとも 98 %の配列同一性を有する可変軽鎖配列；( i i )配列番号 25 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、若しくは少なくとも 98 %の配列同一性を有する可変重鎖配列、又は( i i i )( i )の可変軽鎖配列及び( i i )の可変重鎖配列、あるいは

b ) ( i )配列番号 16 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、若しくは少なくとも 98 %の配列同一性を有する可変軽鎖配列；( i i )配列番号 15 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、若しくは少なくとも 98 %の配列同一性を有する可変重鎖配列；又は( i i i )( i )の可変軽鎖配列及び( i i )の可変重鎖配列、あるいは

c ) ( i )配列番号 32 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、若しくは少なくとも 98 %の配列同一性を有する可変軽鎖配列；( i i )配列番号 33 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、若しくは少なくとも 98 %の配列同一性を有する可変重鎖配列；又は( i i i )( i )の可変軽鎖配列及び( i i )の可変重鎖配列

を含む、実施態様 1 から 19 のいずれか一項に記載の抗体。

#### [実施態様 21]

配列番号 24、配列番号 16 又は配列番号 32 の可変軽鎖配列を含む、実施態様 1 から 20 のいずれか一項に記載の抗体。

#### [実施態様 22]

配列番号 25、配列番号 15 又は配列番号 33 の可変重鎖配列を含む、実施態様 1 から 21 のいずれか一項に記載の抗体。

#### [実施態様 23]

配列番号 24 の可変軽鎖配列及び配列番号 25 の可変重鎖配列、配列番号 16 の可変軽鎖配列、及び配列番号 15 の可変重鎖配列；又は配列番号 32 の可変軽鎖配列及び配列番号 33 の可変重鎖配列を含む、実施態様 1 から 22 のいずれか一項に記載の抗体。

#### [実施態様 24]

伴侶動物に由来する定常重鎖領域又は定常軽鎖領域を含む、実施態様 1 から 23 のいずれか一項に記載の抗体。

#### [実施態様 25]

( a ) IgG - A、IgG - B、IgG - C 及び IgG - D 定常領域から選択されるイヌ重鎖定常領域；( b ) IgG1、IgG2a 及び IgG2b 定常領域から選択されるネコ重鎖定常領域；又は( c ) IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgG5、IgG6 及び IgG7 定常領域から選択されるウマ重鎖定常領域を含む、実施態様 1 から 24 のいずれか一項に記載の抗体。

#### [実施態様 26]

a ) ( i )配列番号 26 の軽鎖アミノ酸配列；( i i )配列番号 27 の重鎖アミノ酸配列；若しくは( i i i )( i )の軽鎖アミノ酸配列及び( i i )の重鎖アミノ酸配列、又は b ) ( i )配列番号 30 の軽鎖アミノ酸配列、( i i )配列番号 31 の重鎖アミノ酸配列、若しくは( i i i )( i )の軽鎖アミノ酸配列及び( i i )の重鎖アミノ酸配列、又は c ) ( i )配列番号 34 の軽鎖アミノ酸配列；( i i )配列番号 35 の重鎖アミノ酸配列；若しくは( i i i )( i )の軽鎖アミノ酸配列及び( i i )の重鎖アミノ酸配列を含む、実施態様 1 から 25 のいずれか一項に記載の抗体。

#### [実施態様 27]

配列番号 21 の軽鎖アミノ酸配列を含む、実施態様 1 から 26 のいずれか一項に記載の抗体。

#### [実施態様 28]

配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19 又は配列番号 20 の重鎖アミノ酸配列を含む、実施態様 1 から 27 のいずれか一項に記載の抗体。

#### [実施態様 29]

Fv、scFv、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub> 及び Fab' - SH から選択される抗

10

20

30

40

50

体断片である、実施態様 1 から 2 8 のいずれか一項に記載の抗体。

[実施態様 30]

二重特異性であり、IL 31 と、IL 17、TNF、CD20、CD19、CD25、IL 4、IL 13、IL 23、IgE、CD11、IL 6R、4-インテグリン、IL 12、IL 1 又は B1yS から選択される 1 又は複数の抗原とに結合する、実施態様 1 から 2 9 のいずれか一項に記載の抗体。

[実施態様 31]

実施態様 1 から 3 0 のいずれか一項に記載の抗体をコードする単離された核酸。

[実施態様 32]

実施態様 31 に記載の核酸を含む宿主細胞。

10

[実施態様 33]

実施態様 32 に記載の宿主細胞を培養することと、抗体を単離することとを含む、抗体を產生する方法。

[実施態様 34]

実施態様 1 から 3 0 のいずれか一項に記載の抗体及び薬学的に許容される担体を含む薬学的組成物。

[実施態様 35]

抗 IL 31 抗体及び薬学的に許容される担体を含む薬学的組成物であって、薬学的に許容される担体が L - ヒスチジン、塩化ナトリウム及びポリソルベート 80 を含み、薬学的組成物が 5 . 0 ~ 6 . 2 の pH を有する、薬学的組成物。

20

[実施態様 36]

5 . 0 ~ 6 . 0 、又は 5 . 3 ~ 5 . 7 、又は 5 . 5 の pH を有する、実施態様 3 5 に記載の薬学的組成物。

[実施態様 37]

5 mM ~ 1 0 0 mM、1 0 mM ~ 5 0 mM、2 0 mM ~ 3 0 mM、1 0 ~ 3 0 mM、又は 2 0 mM の L - ヒスチジン濃度を有する、実施態様 3 5 又は実施態様 3 6 に記載の薬学的組成物。

[実施態様 38]

8 0 ~ 2 0 0 mM、1 0 0 ~ 1 7 5 mM、1 2 0 ~ 1 5 0 mM、又は 1 4 0 mM の塩化ナトリウム濃度を有する、実施態様 3 5 から 3 7 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

30

[実施態様 39]

0 . 0 0 5 mg / mL ~ 0 . 5 mg / mL、0 . 0 1 mg / mL ~ 0 . 1 mg / mL、又は 0 . 0 5 mg / mL のポリソルベート 80 濃度を有する、実施態様 3 5 から 3 8 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

[実施態様 40]

薬学的に許容される担体が少なくとも 1 の糖を含む、実施態様 3 5 から 3 9 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

[実施態様 41]

0 . 5 % ~ 2 0 %、1 % ~ 1 0 %、1 % ~ 5 %、又は 1 % ~ 3 % の糖濃度を有する、実施態様 4 0 に記載の薬学的組成物。

40

[実施態様 42]

薬学的に許容される担体がスクロース、トレハロース、D - マンニトール、マルトース及び / 又はソルビトールを含む、実施態様 3 5 から 4 1 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

[実施態様 43]

抗菌剤を含む、実施態様 3 5 から 4 2 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

[実施態様 44]

m - クレゾール又はメチルパラベンを含む、実施態様 3 5 から 4 3 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

[実施態様 45]

50

0.2%のm-クレゾール及び/又は0.9%のメチルパラベンを含む、実施態様35から44のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

[実施態様46]

抗IL31抗体が実施態様1から30のいずれか一項に記載の抗体である、実施態様35から45のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

[実施態様47]

IL31によって誘導された状態を有する伴侶動物種を処置する方法であって、治療的有效量の実施態様1から30のいずれか一項に記載の抗体又は実施態様34から46のいずれか一項に記載の薬学的組成物を伴侶動物種に投与することを含む方法。

[実施態様48]

伴侶動物種がイヌ、ネコ又はウマである、実施態様47に記載の方法。

[実施態様49]

IL31によって誘導された状態が搔痒症又はアレルギーの状態である、実施態様47又は実施態様48に記載の方法。

[実施態様50]

IL31によって誘導された状態が、アトピー性皮膚炎、搔痒症、喘息、乾癬、強皮症及び湿疹から選択される、実施態様47から49のいずれか一項に記載の方法。

[実施態様51]

抗体又は薬学的組成物が非経口的に投与される、実施態様47から50のいずれか一項に記載の方法。

[実施態様52]

抗体又は薬学的組成物が筋肉内経路、腹腔内経路、脳脊髄内経路、皮下経路、動脈内経路、滑膜内経路、髄腔内経路又は吸入経路によって投与される、実施態様47から51のいずれか一項に記載の方法。

[実施態様53]

抗体又は薬学的組成物と組み合わせてJAK阻害剤、PI3K阻害剤、AKT阻害剤又はMAPK阻害剤を投与することを含む、実施態様47から52のいずれか一項に記載の方法。

[実施態様54]

抗体又は薬学的組成物と組み合わせて、抗IL17抗体、抗TNF抗体、抗CD20抗体、抗CD19抗体、抗CD25抗体、抗IL4抗体、抗IL13抗体、抗IL23抗体、抗IgE抗体、抗CD11抗体、抗IL6R抗体、抗4-インテグリン抗体、抗IL12抗体、抗IL1抗体、及び抗B1yS抗体から選択される1又は複数の抗体を投与することを含む、実施態様47から53のいずれか一項に記載の方法。

[実施態様55]

細胞におけるIL31シグナル伝達機能を低減する方法であって、実施態様1から30のいずれか一項に記載の抗体又は実施態様34から46のいずれか一項に記載の薬学的組成物を、細胞外IL31への抗体の結合を可能にする条件下で細胞に曝露し、それによりIL31受容体への結合を低減し、且つ/又は細胞によるIL31シグナル伝達機能を低減することを含む方法。

[実施態様56]

細胞がex vivoで抗体又は薬学的組成物に曝露される、実施態様55に記載の方法。

[実施態様57]

細胞がin vivoで抗体又は薬学的組成物に曝露される、実施態様55に記載の方法。

[実施態様58]

細胞がイヌ細胞、ネコ細胞又はウマ細胞である、実施態様55から57のいずれか一項に記載の方法。

[実施態様59]

伴侶動物種からの試料中のIL31を検出するための方法であって、実施態様1から30のいずれか一項に記載の抗体又は実施態様34から46のいずれか一項に記載の薬学的

10

20

30

40

50

組成物を、IL 3 1への抗体の結合を可能にする条件下で試料に接触させ、抗体と試料中のIL 3 1との間に複合体が形成されるか否かを検出することを含む方法。

[実施態様 6 0]

試料がイヌ、ネコ又はウマから得られた生物学的試料である、実施態様 5 9 に記載の方法。

**【図面】**

**【図 1 A - B】**

LC

```
M14 METDTLLLWVLLWVPGSTGDIVLTQSPASLAVSLQRATISCRASESVUTYGNSTMHWY
M18 METDTLLLWVLLWVPGSTGDIVLTQSPASLAVSPQRATISCRASESVUTYGNSTMHWY
M19 METDTLLLWVLLWVPGSTGDIVLTQSPASLAVSLQRATISCRASESVUTYGNSTMHWY
M87 METDTLLLWVLLWVPGSTGDIVLTQSPASLAVSLQRATISCRASESVUTYGNSTMHWY
*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:
```

```
M14 QOKSGQSPKLLIVRNSNLESCIPARFSGGSRTIDFTLITIDPVEADGVATYCQQGSVEPFW
M18 QOKSGQSPKLLIVRNSNLESCIPARFSGGSRTIDFTLITIDPVEADGVATYCQQGSVEPFW
M19 QOKSGQSPKLLIVRNSNLESCIPARFSGGSRTIDFTLITIDPVEADGVATYCQQGSVEPFW
M87 QOKSGQSPKLLIVRNSNLESCIPARFSGGSRTIDFTLITIDPVEADGVATYCQQGSVEPFW
*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:
```

```
M14 TGGGTGKLEIKRADAAPTVSIFPPSEQLTSGGASVVCFLNNFYKDINVWK1DGSERQ
M18 TGGGTGKLEIKRADAAPTVSIFPPSEQLTSGGASVVCFLNNFYKDINVWK1DGSERQ
M19 TGGGTGKLEIKRADAAPTVSIFPPSEQLTSGGASVVCFLNNFYKDINVWK1DGSERQ
M87 TGGGTGKLEIKRADAAPTVSIFPPSEQLTSGGASVVCFLNNFYKDINVWK1DGSERQ
*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:
```

```
M14 NGVLNSWTQDSKDSTYSMSSTLTJTKDEYERHNSYTCATHTKTSTSP1VKSFNNEC [配列番号：36]
M18 NGVLNSWTQDSKDSTYSMSSTLTJTKDEYERHNSYTCATHTKTSTSP1VKSFNNEC [配列番号：37]
M19 NGVLNSWTQDSKDSTYSMSSTLTJTKDEYERHNSYTCATHTKTSTSP1VKSFNNEC [配列番号：38]
M87 NGVLNSWTQDSKDSTYSMSSTLTJTKDEYERHNSYTCATHTKTSTSP1VKSFNNEC [配列番号：39]
*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:
```

A

HC

```
M14_HC MAVLGLLCLVTPFSCVLSEVQLQESGPVLVKPSQTLSLTCSTVGDSDITSFGYWNWIRKFP
M18_HC MAVLGLLCLVTPFSCVLSEVQLQESGPVLVKPSQTLSLTCSTVGDSDITSFGYWNWIRKFP
M19_HC MAVLGLLCLVTPFSCVLSEVQLQESGPVLVKPSQTLSLTCSTVGDSDITSFGYWNWIRKFP
M87_HC MAVLGLLCLVTPFSCVLSEVQLVQPGGSLRLSCATSGEFTDYMMNWQRQPP
*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:
```

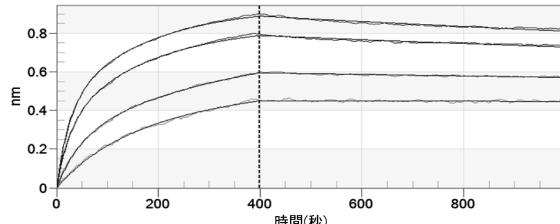
```
M14_HC GNGKLEMVGIVSYSG---TDDTSKQNYLQNSVTTEDPATYYCRR
M18_HC GNGKLEMVGIVSYSG---TDDTSKQNYLQNSVTTEDPATYYCRR
M19_HC GNELEMGIVISYSG---TTTNPNSLKSRSRPTSTRDTSKQNYLQNSVTTEDPATYYCRR
M87_HC GKALEMIGFIRNKANGYTTETSYASVKGRFIISRDNQSILYLQMNTRIAEDSATYYCRR
*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:
```

```
M14_HC GNYGYAMDYGGTGSVTVSASKTTPSPVYPLAPGS [配列番号：40]
M18_HC GNYGYAMDYGGTGSVTVSASKTTPSPVYPLAPGS [配列番号：41]
M19_HC GNYGYAMDYGGTGSVTVSASKTTPSPVYPLAPGS [配列番号：42]
M87_HC DYYGSCDFYQGGTILTIVSSAKTTPSPVYPLAPGS [配列番号：43]
*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:
```

B

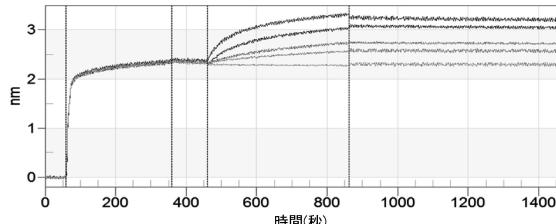
**【図 2 B】**

フィッティング



**【図 3 A】**

生データ



10

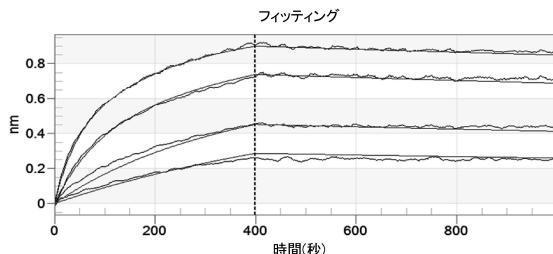
20

30

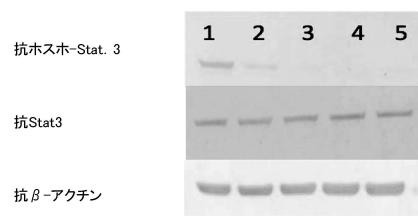
40

50

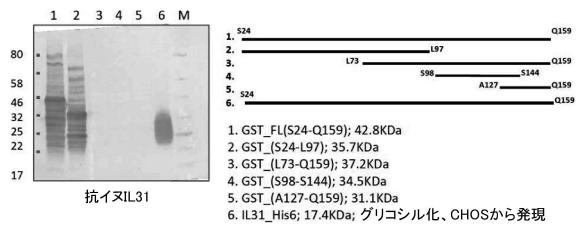
【図 3 B】



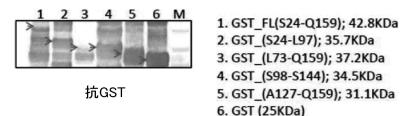
【図 4】



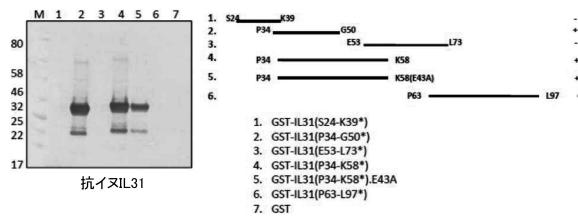
【図 5 A】



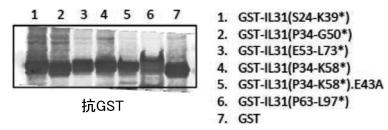
【図 5 B】



【図 6 A】



【図 6 B】



10

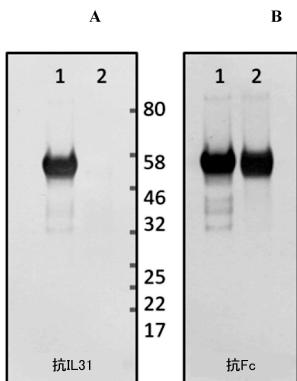
20

30

40

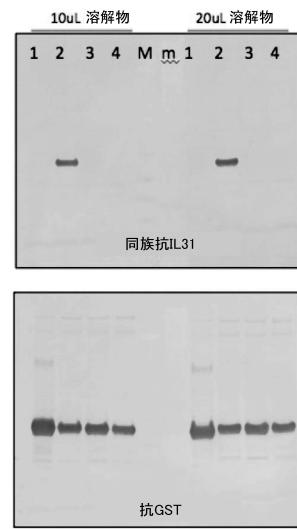
50

【図 7 A - B】



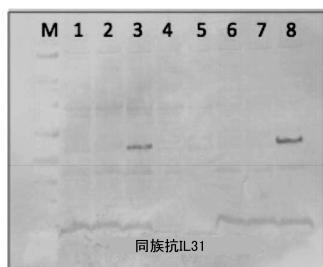
1. ホコIL31-huFc-His6
2. ウマIL31-huFc-His6

【図 8】



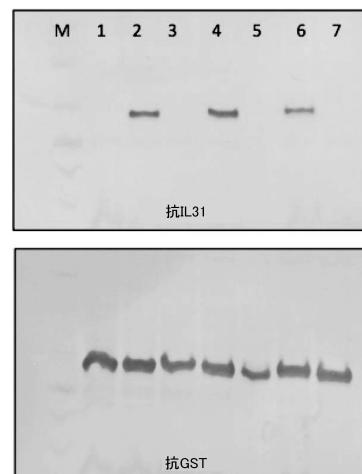
1. pGEX\_GST
2. pGEX\_GST-IL31\_P12-E21\*(クローン24-7)
3. pGEX\_GST-IL31\_E21-G28\*(クローン21-2)
4. pGEX\_GST-IL31\_R16-P24\*(クローン22-5)

【図 9】



1. & 6. pGEX\_GST-IL31\_D14-L20\* (クローンs 51.4 & 51.2)
2. & 7. pGEX\_GST-IL31\_P12-I18\* (クローンs 52.1 & 52.8)
3. & 8. pGEX\_GST-IL31\_P12-E21\*.R16A (クローンs 53.1 & 53.8)
4. 溶解物、プラスミドなし 5. pGST

【図 10】



1. GST\_IL31.P12-E21.D14A (#72.5)
2. GST\_IL31.P12-E21.V15A (#73.4)
3. GST\_IL31.P12-E21.K17A (#74.2)
4. GST\_IL31.P12-E21 (#24.5)
5. GST
6. GST\_IL31.P12-E21.V15A (#73.1)
7. GST\_IL31.P12-E21.D14A (#72.7)

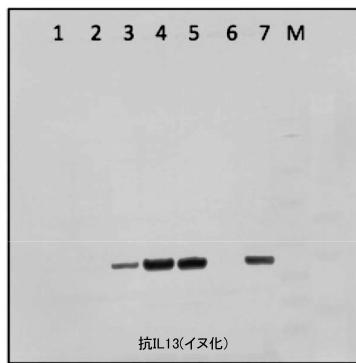
20

30

40

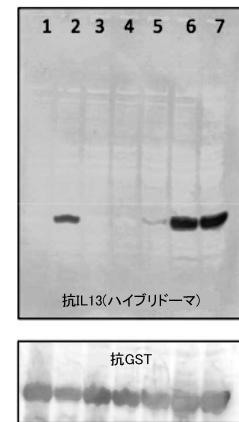
50

【図 1 1】



1. GST\_IL31.P12-E21.P12A (#78.1)
2. GST\_IL31.P12-E21.S13A (#80.3)
3. GST\_IL31.P12-E21.I18A (#81.4)
4. GST\_IL31.P12-E21.L20A (#77.3)
5. GST\_IL31.P12-E21.I19A (#79.1)
6. GST
7. GST\_IL31.P12-E21(#24.5)

【図 1 2】



1. GST
2. GST\_IL31.P12-E21 (#24.5)
3. GST\_IL31.P12-E21.P12A (#78.6)
4. GST\_IL31.P12-E21.S13A (#80.8)
5. GST\_IL31.P12-E21.I18A (#81.8)
6. GST\_IL31.P12-E21.I19A (#79.7)
7. GST\_IL31.P12-E21.L20A (#77.5)

10

20

30

【配列表】

0007277370000001.app

40

50

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

	F	I			
A 6 1 P	17/06	(2006.01)	A 6 1 P	17/06	
A 6 1 P	37/08	(2006.01)	A 6 1 P	37/08	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 7 1
C 0 7 K	16/24	(2006.01)	C 0 7 K	16/24	
C 0 7 K	16/28	(2006.01)	C 0 7 K	16/28	
C 0 7 K	16/46	(2006.01)	C 0 7 K	16/46	Z N A
C 1 2 N	1/15	(2006.01)	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	(2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	(2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	5/10	
C 1 2 N	15/62	(2006.01)	C 1 2 N	15/62	Z
C 1 2 P	21/08	(2006.01)	C 1 2 P	21/08	
G 0 1 N	33/53	(2006.01)	G 0 1 N	33/53	D
G 0 1 N	33/531	(2006.01)	G 0 1 N	33/531	A

## (33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

ハイウェイ 1 5 5 5 , スイート 2 0 0

## (72)発明者 チャン , ハンチュン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 1 0 , バーリングーム , ベイショア ハイウェイ 1 5  
5 5 , スイート 2 0 0

## 審査官 長谷川 強

## (56)参考文献 特表2 0 1 4 - 5 2 9 2 9 5 ( J P , A )

## (58)調査した分野 (Int.Cl. , D B名)

C 1 2 N	1 5 / 1 3
A 6 1 K	3 9 / 3 9 5
A 6 1 P	1 1 / 0 6
A 6 1 P	1 7 / 0 0
A 6 1 P	1 7 / 0 4
A 6 1 P	1 7 / 0 6
A 6 1 P	3 7 / 0 8
A 6 1 P	4 3 / 0 0
C 0 7 K	1 6 / 2 4
C 0 7 K	1 6 / 2 8
C 0 7 K	1 6 / 4 6
C 1 2 N	1 / 1 5
C 1 2 N	1 / 1 9
C 1 2 N	1 / 2 1
C 1 2 N	5 / 1 0
C 1 2 N	1 5 / 6 2
C 1 2 P	2 1 / 0 8
G 0 1 N	3 3 / 5 3
G 0 1 N	3 3 / 5 3 1
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )	
C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )	
U n i P r o t / G e n e S e q	
P u b M e d	