

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-507569
(P2025-507569A)

(43)公表日 令和7年3月21日(2025.3.21)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	16/18 (2006.01)	C 0 7 K	16/18	Z N A	4 B 0 2 9
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13		4 B 0 6 4
C 1 2 N	15/864 (2006.01)	C 1 2 N	15/864	1 0 0 Z	4 B 0 6 5
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z	4 C 0 7 6
C 1 2 P	21/08 (2006.01)	C 1 2 P	21/08		4 C 0 8 4
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全108頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-548410(P2024-548410)	(71)出願人	519353651	エイシー イミューン ソシエテ アノニム スイス ツェーハー ー 1 0 1 5 ローザン ヌ イーピーエフエル イノベーション パーク ビルディング ビー	
(86)(22)出願日	令和5年2月16日(2023.2.16)				
(85)翻訳文提出日	令和6年10月10日(2024.10.10)				
(86)国際出願番号	PCT/EP2023/053940				
(87)国際公開番号	WO2023/156549	(74)代理人	100145403	弁理士 山尾 憲人	
(87)国際公開日	令和5年8月24日(2023.8.24)				
(31)優先権主張番号	22157150.8	(74)代理人	100106518		
(32)優先日	令和4年2月16日(2022.2.16)			弁理士 松谷 道子	
(33)優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)	(74)代理人	100138911		
(31)優先権主張番号	22177361.7			弁理士 櫻井 陽子	
(32)優先日	令和4年6月6日(2022.6.6)	(72)発明者	アフロズ, タリク		
(33)優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)		スイス 1 0 1 5 ローザンヌ、イーピーエ フエル・イノベーション・パーク、ビル ディング・ビー、エイシー・イミューン		
(31)優先権主張番号	23152958.7			最終頁に続く	
		最終頁に続く		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 ヒト化抗TDP-43結合分子およびその使用

(57)【要約】

本発明は、分子量43kDaのトランス活性応答DNA結合性タンパク質（TARDBまたはTDP-43とも）の分野にある。本発明は、ヒト化されたTDP-43特異的結合分子、特にヒト化抗TDP-43抗体またはその抗原結合性断片もしくは誘導体、およびその使用に関する。本発明は、前頭側頭型認知症（FTD）、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、アルツハイマー病（AD）、パーキンソン病（PD）、慢性外傷性脳症（CTE）、および辺縁系優位型加齢性TDP-43脳症（LATE）を含むがそれらに限らない、TDP-43凝集体に関連する疾患、障害、および／または異常を診断、防止、改善、および／または処置するための手段および方法を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

- a. 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ;
- b. 配列番号 22、配列番号 82、配列番号 92、配列番号 102、配列番号 112、または配列番号 122 のアミノ酸配列から選択される V H - C D R 2 ;
- c. アミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 ;
- d. 配列番号 25 または配列番号 85 のアミノ酸配列から選択される V L - C D R 1 ;
- e. 配列番号 16 のアミノ酸配列から選択される V L - C D R 2 ;
- f. 配列番号 27 または配列番号 87 のアミノ酸配列から選択される V L - C D R 3 : および
- g. I G H V 1 - 69 - 2、I G H V 5 - 51、または I G H V 3 - 43 からなる群から選択され、好ましくは I G H V 1 - 69 - 2 である重鎖可変ドメイン (V H) のアクセプターフレームワーク ; ならびに / または
- h. I G K V 2 - 28、I G K V 2 - 24、I G K V 2 D - 28、I G K V 2 - 40、I G K V 2 D - 40、または I G K V 4 - 1 からなる群から選択され、好ましくは I G K V 2 - 28 である軽鎖可変ドメイン (V L) のアクセプターフレームワークを含む、ヒト化 T D P - 43 結合分子、特にヒト化 T D P - 43 抗体またはその抗原結合性断片。

10

【請求項 2】

V H のアクセプターフレームワークが、以下の V H 突然変異 :

20

- a. V 24 T ;
- b. Y 27 F ;
- c. M 48 I ;
- d. A 71 V ;
- e. T 73 K ; および
- f. T 94 R

の 1 つまたは複数、好ましくは全てを含み、ならびに / または V L のアクセプターフレームワークが、以下の V L 突然変異 :

30

- g. I 2 V ;
- h. Y 36 L ;
- i. Q 45 K ;
- j. L 46 R ; および
- k. G 57 R

の 1 つまたは複数を含む、請求項 1 に記載のヒト化 T D P - 43 結合分子。

【請求項 3】

V H のアクセプターフレームワークが、以下の V H 突然変異 :

40

- a. V 24 T ;
- b. Y 27 F ;
- c. M 48 I ;
- d. A 71 V ;
- e. T 73 K ; および
- f. T 94 R

の全てを含み、V L のアクセプターフレームワークが、以下の V L 突然変異 :

- g. Y 36 L ;
- h. L 46 R ; および
- i. G 57 R

の 1 つまたは複数、好ましくは全てを含む、請求項 2 に記載のヒト化 T D P - 43 結合分子。

【請求項 4】

- a. 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ;

50

b. 配列番号 112、配列番号 122、または配列番号 102 のアミノ酸配列から選択される V H - C D R 2 ;

c. アミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 ;

d. 配列番号 25 または配列番号 85 のアミノ酸配列から選択される V L - C D R 1 ;

e. 配列番号 16 のアミノ酸配列から選択される V L - C D R 2 ; および

f. 配列番号 27 または配列番号 87 のアミノ酸配列から選択される V L - C D R 3 を含む、請求項 1 から 3 のいずれか一項に定義されていてもよい、ヒト化 T D P - 43 結合分子、特にヒト化 T D P - 43 抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項 5】

a. 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ;

b. 配列番号 112 または配列番号 122 のアミノ酸配列から選択される V H - C D R 2 ;

c. アミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 ;

d. 配列番号 25 または配列番号 85 のアミノ酸配列から選択される V L - C D R 1 ;

e. 配列番号 16 のアミノ酸配列から選択される V L - C D R 2 ; および

f. 配列番号 27 または配列番号 87 のアミノ酸配列から選択される V L - C D R 3 を含む、前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化 T D P - 43 結合分子、特にヒト化 T D P - 43 抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項 6】

a. 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 22 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ; アミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 を含む重鎖可変ドメイン (V H) ; ならびに配列番号 25 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ; 配列番号 16 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ; および配列番号 27 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む軽鎖可変ドメイン (V L) ; または

b. 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 112 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ; アミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 を含む重鎖可変ドメイン (V H) ; ならびに配列番号 25 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ; 配列番号 16 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ; および配列番号 27 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む軽鎖可変ドメイン (V L) ; または

c. 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 112 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ; アミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 を含む重鎖可変ドメイン (V H) ; ならびに配列番号 85 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ; 配列番号 16 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ; および配列番号 87 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む軽鎖可変ドメイン (V L) ; または

d. 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 122 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ; アミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 を含む重鎖可変ドメイン (V H) ; ならびに配列番号 25 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ; 配列番号 16 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ; および配列番号 27 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む軽鎖可変ドメイン (V L) ; または

e. 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 122 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ; アミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 を含む重鎖可変ドメイン (V H) ; ならびに配列番号 85 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ; 配列番号 16 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ; および配列番号 87 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む軽鎖可変ドメイン (V L) ; または

f. 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 112 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ; アミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 を含む重鎖可変ドメイン (V H) ; ならびに配列番号 25 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ; 配列番号 16 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ; および配列番号 87 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む軽鎖可変ドメイン (V L) ; または

g. 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 122 のアミノ酸配

10

20

30

40

50

列を含むVH-CDR2；アミノ酸配列ES（Glu-Ser）を含むVH-CDR3を含む重鎖可変ドメイン（VH）；ならびに配列番号25のアミノ酸配列を含むVL-CDR1；配列番号16のアミノ酸配列を含むVL-CDR2；および配列番号87のアミノ酸配列を含むVL-CDR3を含む軽鎖可変ドメイン（VL）を含む、前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化TDP-43結合分子。

【請求項7】

a．重鎖可変ドメイン（VH）のアクセプターフレームワークが、IGHV1-69-2、IGHV5-51、またはIGHV3-43からなる群から選択され、好ましくはIGHV1-69-2であり；

b．軽鎖可変ドメイン（VL）のアクセプターフレームワークが、IGKV2-28、IGKV2-24、IGKV2D-28、IGKV2-40、IGKV2D-40、またはIGKV4-1からなる群から選択され、好ましくはIGKV2-28である、前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化TDP-43結合分子。

10

【請求項8】

a．重鎖可変ドメイン（VH）のアクセプターフレームワークがIGHV1-69-2であり；

b．軽鎖可変ドメイン（VL）のアクセプターフレームワークがIGKV2-28である、請求項7に記載のヒト化TDP-43結合分子。

【請求項9】

a．i．配列番号30の配列を含む重鎖可変領域（VH）または配列番号30のアミノ酸配列と少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する重鎖可変領域（VH）；または

20

ii．配列番号40の配列を含む重鎖可変領域（VH）または配列番号40のアミノ酸配列と少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する重鎖可変領域（VH）；または

iii．配列番号50の配列を含む重鎖可変領域（VH）または配列番号50のアミノ酸配列と少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する重鎖可変領域（VH）；または

iv．配列番号60の配列を含む重鎖可変領域（VH）または配列番号60のアミノ酸配列と少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する重鎖可変領域（VH）；または

30

v．配列番号70の配列を含む重鎖可変領域（VH）または配列番号70のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する重鎖可変領域（VH）；または

vi．配列番号80の配列を含む重鎖可変領域（VH）または配列番号80のアミノ酸配列と少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する重鎖可変領域（VH）；または

vii．配列番号90の配列を含む重鎖可変領域（VH）または配列番号90のアミノ酸配列と少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する重鎖可変領域（VH）；または

40

viii．配列番号100の配列を含む重鎖可変領域（VH）または配列番号100のアミノ酸配列と少なくとも89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する重鎖可変領域（VH）；または

ix．配列番号110の配列を含む重鎖可変領域（VH）または配列番号110のアミノ酸配列と少なくとも89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する重鎖可変領域（VH）；または

x．配列番号120の配列を含む重鎖可変領域（VH）または配列番号120のアミノ酸配列と少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%

50

、もしくは９９％の配列同一性を有する重鎖可変領域（ＶＨ）

から選択される重鎖可変領域（ＶＨ）、および

ｂ．ｉ．配列番号３４の配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）または配列番号３４のアミノ酸配列と少なくとも９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有する軽鎖可変領域（ＶＬ）；または

ｉｉ．配列番号４４の配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）または配列番号４４のアミノ酸配列と少なくとも９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有する軽鎖可変領域（ＶＬ）；または

ｉｉｉ．配列番号５４の配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）または配列番号５４のアミノ酸配列と少なくとも９８％もしくは９９％の配列同一性を有する軽鎖可変領域（ＶＬ）；または

ｉｖ．配列番号６４の配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）または配列番号６４のアミノ酸配列と少なくとも９７％、９８％もしくは９９％の配列同一性を有する軽鎖可変領域（ＶＬ）；または

ｖ．配列番号７４の配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）または配列番号７４のアミノ酸配列と少なくとも９６％、９７％、９８％もしくは９９％の配列同一性を有する軽鎖可変領域（ＶＬ）；または

ｖｉ．配列番号８４の配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）または配列番号８４のアミノ酸配列と少なくとも９７％、９８％もしくは９９％の配列同一性を有する軽鎖可変領域（ＶＬ）；または

ｖｉｉ．配列番号９４の配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）または配列番号９４のアミノ酸配列と少なくとも９６％、９７％、９８％もしくは９９％の配列同一性を有する軽鎖可変領域（ＶＬ）

から選択される軽鎖可変領域（ＶＬ）

を含む、前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化ＴＤＰ－４３結合分子。

【請求項１０】

ａ．配列番号６０の配列を含む重鎖可変領域（ＶＨ）または配列番号６０のアミノ酸配列と少なくとも９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有する重鎖可変領域（ＶＨ）、および配列番号５４の配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）または配列番号５４のアミノ酸配列と少なくとも９８％もしくは

ｂ．配列番号７０の配列を含む重鎖可変領域（ＶＨ）または配列番号７０のアミノ酸配列と少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有する重鎖可変領域（ＶＨ）、および配列番号４４の配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）または配列番号４４のアミノ酸配列と少なくとも９６％、９７％、９８％もしくは９９％の配列同一性を有する軽鎖可変領域（ＶＬ）；または

ｃ．配列番号７０の配列を含む重鎖可変領域（ＶＨ）または配列番号７０のアミノ酸配列と少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有する重鎖可変領域（ＶＨ）、および配列番号５４の配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）または配列番号５４のアミノ酸配列と少なくとも９８

ｄ．配列番号７０の配列を含む重鎖可変領域（ＶＨ）または配列番号７０のアミノ酸配列と少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有する重鎖可変領域（ＶＨ）、および配列番号６４の配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）または配列番号６４のアミノ酸配列と少なくとも９７％、９８％もしくは９９％の配列同一性を有する軽鎖可変領域（ＶＬ）；または

ｅ．配列番号１１０の配列を含む重鎖可変領域（ＶＨ）または配列番号１１０のアミノ酸配列と少なくとも８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有する重鎖可変領域（ＶＨ）、および配列番号６４の配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）または配列番号６４のアミノ酸配列と少

10

20

30

40

50

なくとも 97%、98%もしくは99%の配列同一性を有する軽鎖可変領域（V L）；または

f．配列番号110の配列を含む重鎖可変領域（V H）または配列番号110のアミノ酸配列と少なくとも89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する重鎖可変領域（V H）、および配列番号84の配列を含む軽鎖可変領域（V L）または配列番号84のアミノ酸配列と少なくとも97%、98%もしくは99%の配列同一性を有する軽鎖可変領域（V L）；または

g．配列番号120の配列を含む重鎖可変領域（V H）または配列番号120のアミノ酸配列と少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する重鎖可変領域（V H）、および配列番号64の配列を含む軽鎖可変領域（V L）または配列番号64のアミノ酸配列と少なくとも97%、98%もしくは99%の配列同一性を有する軽鎖可変領域（V L）；または

h．配列番号120の配列を含む重鎖可変領域（V H）または配列番号120のアミノ酸配列と少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する重鎖可変領域（V H）、および配列番号84の配列を含む軽鎖可変領域（V L）または配列番号84のアミノ酸配列と少なくとも97%、98%もしくは99%の配列同一性を有する軽鎖可変領域（V L）；または

i．配列番号110の配列を含む重鎖可変領域（V H）または配列番号110のアミノ酸配列と少なくとも89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する重鎖可変領域（V H）、および配列番号94の配列を含む軽鎖可変領域（V L）または配列番号94のアミノ酸配列と少なくとも96%、97%、98%もしくは99%の配列同一性を有する軽鎖可変領域（V L）；または

j．配列番号120の配列を含む重鎖可変領域（V H）または配列番号120のアミノ酸配列と少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する重鎖可変領域（V H）、および配列番号94の配列を含む軽鎖可変領域（V L）または配列番号94のアミノ酸配列と少なくとも96%、97%、98%もしくは99%の配列同一性を有する軽鎖可変領域（V L）

を含む、前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化TDP-43結合分子。

【請求項11】

a．配列番号60の配列を含む重鎖可変領域（V H）および配列番号54の配列を含む軽鎖可変領域（V L）；または

b．配列番号70の配列を含む重鎖可変領域（V H）および配列番号44の配列を含む軽鎖可変領域（V L）；または

c．配列番号70の配列を含む重鎖可変領域（V H）および配列番号54の配列を含む軽鎖可変領域（V L）；または

d．配列番号70の配列を含む重鎖可変領域（V H）および配列番号64の配列を含む軽鎖可変領域（V L）；または

e．配列番号110の配列を含む重鎖可変領域（V H）および配列番号64の配列を含む軽鎖可変領域（V L）；または

f．配列番号110の配列を含む重鎖可変領域（V H）および配列番号84の配列を含む軽鎖可変領域（V L）；または

g．配列番号120の配列を含む重鎖可変領域（V H）および配列番号64の配列を含む軽鎖可変領域（V L）；または

h．配列番号120の配列を含む重鎖可変領域（V H）および配列番号84の配列を含む軽鎖可変領域（V L）；または

i．配列番号110の配列を含む重鎖可変領域（V H）および配列番号94の配列を含む軽鎖可変領域（V L）；または

j．配列番号120の配列を含む重鎖可変領域（V H）および配列番号94の配列を含む

む軽鎖可変領域（V L）

を含む、前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化 T D P - 4 3 結合分子。

【請求項 1 2】

a．配列番号 1 2 0 の配列を含む重鎖可変領域（V H）および配列番号 8 4 の配列を含む軽鎖可変領域（V L）；または

b．配列番号 1 1 0 の配列を含む重鎖可変領域（V H）および配列番号 9 4 の配列を含む軽鎖可変領域（V L）；または

c．配列番号 1 2 0 の配列を含む重鎖可変領域（V H）および配列番号 9 4 の配列を含む軽鎖可変領域（V L）

を含む、前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化 T D P - 4 3 結合分子。

10

【請求項 1 3】

ミスフォールドされた凝集 T D P - 4 3 および非凝集生理的 T D P - 4 3 に結合する、前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化 T D P - 4 3 結合分子。

【請求項 1 4】

モノマー性および／またはオリゴマー性および／または凝集したおよび／または翻訳後修飾されたおよび／または切断された T D P - 4 3、好ましくはヒト T D P - 4 3 に結合する、前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化 T D P - 4 3 結合分子。

【請求項 1 5】

ミスフォールドされた凝集ヒト T D P - 4 3 および非凝集生理的ヒト T D P - 4 3 に結合する、前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化 T D P - 4 3 結合分子。

20

【請求項 1 6】

以下の特性：

a．T D P - 4 3 タンパク質またはその断片の凝集を阻害すること、

b．T D P - 4 3 の細胞間伝播を遮断すること、

c．T D P - 4 3 凝集体を脱凝集すること、

d．T D P - 4 3 の播種を遮断すること、

e．播種能力のある T D P - 4 3 を中和すること、

f．T D P - 4 3 の拡散を遮断すること、および

g．T D P - 4 3 のクリアランスを促進すること

の 1 つまたは複数、最大で全部を呈する、前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化 T D P - 4 3 結合分子。

30

【請求項 1 7】

播種能力のある T D P - 4 3 を中和する、前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化 T D P - 4 3 結合分子。

【請求項 1 8】

T D P - 4 3 のクリアランスを促進する、前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化 T D P - 4 3 結合分子。

【請求項 1 9】

インビボにおける T D P - 4 3 の病変を低減させる、前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化 T D P - 4 3 結合分子。

40

【請求項 2 0】

インビボにおけるミスフォールドされた凝集 T D P - 4 3 および／またはリン酸化 T D P - 4 3 のレベルを低減させる、前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化 T D P - 4 3 結合分子。

【請求項 2 1】

ヒト T D P - 4 3（配列番号 1）のアミノ酸残基 3 9 7 - 4 1 1 内のエピトープに結合する、前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化 T D P - 4 3 結合分子。

【請求項 2 2】

抗体またはその抗原結合性断片である、前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化 T D P - 4 3 結合分子。

50

【請求項 23】

可溶性 TDP-43（配列番号 1）の結合について 1 nM 未満、好ましくは 250 pM 未満の解離定数（KD）を有する、前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化 TDP-43 結合分子。

【請求項 24】

可溶性 TP-51（配列番号 1 のアミノ酸 352-414）ペプチドの結合について 4 nM 未満、好ましくは 2 nM 未満の解離定数（KD）を有する、前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化 TDP-43 結合分子。

【請求項 25】

IgA、IgD、IgE、IgM、IgG1、IgG2、IgG3、もしくは IgG4 抗体またはその抗原結合性断片である、前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化 TDP-43 結合分子。 10

【請求項 26】

IgG1 もしくは IgG4 抗体またはその抗原結合性断片である、前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化 TDP-43 結合分子。

【請求項 27】

Fc 突然変異、好ましくは S228P 突然変異を含む、前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化 TDP-43 結合分子。

【請求項 28】

7.5 未満、好ましくは 7.0 未満の pI を有する Fv を含む、前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化 TDP-43 結合分子。 20

【請求項 29】

pH 7.4 で 0.2 未満、好ましくは -0.8 未満、より好ましくは -1.8 未満の正味電荷を有する Fv を含む、前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化 TDP-43 結合分子。

【請求項 30】

前記請求項のいずれか一項に記載のヒト化 TDP-43 結合分子を含む免疫コンジュゲート。

【請求項 31】

デリバリー媒体または血液脳関門部分を使用して脳血液関門を通過する、請求項 1 から 29 のいずれか一項に記載のヒト化 TDP-43 結合分子を含む免疫コンジュゲート。 30

【請求項 32】

デリバリー媒体がリボソームまたは細胞外ベシクルを含む、請求項 30 または 31 に記載の免疫コンジュゲート。

【請求項 33】

ヒト化 TDP-43 結合分子が血液脳関門部分に連結されている、請求項 30 または 31 に記載の免疫コンジュゲート。

【請求項 34】

血液脳関門部分がポリペプチドまたは小分子、好ましくはペプチド、受容体リガンド、単ドメイン抗体（VHH）、scFv、または Fab 断片である、請求項 33 に記載の免疫コンジュゲート。 40

【請求項 35】

血液脳関門部分が血液脳関門受容体に結合する、請求項 31、33、または 34 に記載の免疫コンジュゲート。

【請求項 36】

血液脳関門受容体がトランスフェリン受容体、インスリン受容体、または低密度リポタンパク質受容体を含むがそれらに限定されない、請求項 35 に記載の免疫コンジュゲート。

【請求項 37】

請求項 1 から 29 のいずれか一項に記載のヒト化 TDP-43 結合分子を含む標識され 50

た結合分子、特に標識された抗体。

【請求項 3 8】

請求項 1 から 2 9 のいずれか一項に記載のヒト化 T D P - 4 3 結合分子または請求項 3 0 から 3 6 のいずれか一項に記載の免疫コンジュゲート、ならびに薬学的に許容される担体および／または賦形剤および／または希釈剤を含む医薬組成物。

【請求項 3 9】

ヒトまたは獣医学の用途のための、請求項 1 から 2 9 のいずれか一項に記載のヒト化 T D P - 4 3 結合分子、または請求項 3 0 から 3 6 のいずれか一項に記載の免疫コンジュゲート、または請求項 3 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 0】

T D P - 4 3 に関連する疾患、障害、および／または異常、または T D P - 4 3 タンパク質症の防止、改善、処置における使用のための、請求項 1 から 2 9 のいずれか一項に記載のヒト化 T D P - 4 3 結合分子、または請求項 3 0 から 3 6 のいずれか一項に記載の免疫コンジュゲート、または請求項 3 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 1】

診断用途のための、請求項 1 から 2 9 のいずれか一項に記載のヒト化 T D P - 4 3 結合分子、または請求項 3 0 から 3 6 のいずれか一項に記載の免疫コンジュゲート、請求項 3 7 に記載の標識された結合分子、または請求項 3 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 2】

T D P - 4 3 に関連する疾患、障害、および／または異常、または T D P - 4 3 タンパク質症の診断のための、請求項 4 1 に記載の使用のためのヒト化 T D P - 4 3 結合分子、または免疫コンジュゲート、標識された結合分子、または医薬組成物。

【請求項 4 3】

研究使用のための、特に分析ツールまたは参照分子としての、請求項 1 から 2 9 のいずれか一項に記載のヒト化 T D P - 4 3 結合分子、または請求項 3 0 から 3 6 のいずれか一項に記載の免疫コンジュゲート、請求項 3 7 に記載の標識された結合分子、または請求項 3 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 4】

T D P - 4 3 に関連する疾患、障害、および／または異常、または T D P - 4 3 タンパク質症をモニターするための診断ツールとしての使用のための、請求項 1 から 2 9 のいずれか一項に記載のヒト化 T D P - 4 3 結合分子、または請求項 3 0 から 3 6 のいずれか一項に記載の免疫コンジュゲート、請求項 3 7 に記載の標識された結合分子、または請求項 3 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 5】

T D P - 4 3 に関連する疾患、障害、および／または異常、または T D P - 4 3 タンパク質症が、前頭側頭型認知症（例えば染色体 9 p に連鎖する、プログナリン（G R N）の突然変異を伴う、C 9 o r f 7 2 の突然変異を伴う、T A R D B P の突然変異を伴う、バロシン含有タンパク質（V C P）の突然変異を伴う、運動ニューロン疾患（M N D）を伴うかまたは伴わない散発性または家族性の F T D、大脳皮質基底核変性症、ユビキチン陽性 T D P - 4 3 封入体を伴う前頭側頭葉変性（F T L D）（F T L D - T D P）、嗜銀顆粒性疾患、ピック病、意味性亜型原発性進行性失語症（s v P P A）、行動性亜型 F T D（b v F T D）、非流暢性亜型原発性進行性失語症（n f v P P A）等）、筋萎縮性側索硬化症（例えば散発性 A L S、T A R D B P の突然変異を伴う、アンギオゲニン（A N G）の突然変異を伴う A L S）、アレクサンダー病（A x D）、辺縁系優位型加齢性 T D P - 4 3 脳症（L A T E）、慢性外傷性脳症、ペリー症候群、アルツハイマー病（A D、散発性および家族性の形態の A D を含む）、ダウン症候群、家族性英国型認知症、ポリグルタミン病（ハンチントン病および 3 型脊髄小脳失調（S C A 3、マチャドジョゼフ病としても知られている）、海馬硬化認知症およびミオパチー（散発性封入体筋炎、バロシン含有タンパク質（V C P）の突然変異を伴う封入体ミオパチー；骨のパジェット病および前頭側頭型認知症も）、辺縁小胞を伴う咽頭筋ジストロフィー、ミオチリン（M Y O

10

20

30

40

50

T) 遺伝子の突然変異またはデスミン (DES) をコードする遺伝子の突然変異を伴う筋細線維ミオパチー、外傷性脳傷害 (TBI)、レヴィー小体認知症 (DLB)、またはパーキンソン病 (PD) である、請求項 40、42、または 44 のいずれか一項に記載の使用のためのヒト化 TDP-43 結合分子、または免疫コンジュゲート、または標識された結合分子、または医薬組成物。

【請求項 46】

TDP-43 に関連する疾患、障害、および／または異常、または TDP-43 タンパク質症が、前頭側頭型認知症 (FTD)、筋萎縮性側索硬化症 (ALS)、アルツハイマー病 (AD)、パーキンソン病 (PD)、慢性外傷性脳症 (CTE)、または辺縁系優位型加齢性 TDP-43 脳症 (LATE) である、請求項 45 に記載の使用のためのヒト化 TDP-43 結合分子、または免疫コンジュゲート、または標識された結合分子、または医薬組成物。

10

【請求項 47】

TDP-43 に関連する疾患、障害、および／または異常、または TDP-43 タンパク質症が筋萎縮性側索硬化症 (ALS) である、請求項 46 に記載の使用のためのヒト化 TDP-43 結合分子、または免疫コンジュゲート、または標識された結合分子、または医薬組成物。

【請求項 48】

TDP-43 に関連する疾患、障害、および／または異常、または TDP-43 タンパク質症がアルツハイマー病 (AD) である、請求項 46 に記載の使用のためのヒト化 TDP-43 結合分子、または免疫コンジュゲート、または標識された結合分子、または医薬組成物。

20

【請求項 49】

TDP-43 に関連する疾患、障害、および／または異常、または TDP-43 タンパク質症が前頭側頭型認知症 (FTD) である、請求項 46 に記載の使用のためのヒト化 TDP-43 結合分子、または免疫コンジュゲート、または標識された結合分子、または医薬組成物。

【請求項 50】

請求項 1 から 29 のいずれか一項に記載のヒト化 TDP-43 結合分子または請求項 30 から 36 のいずれか一項に記載の免疫コンジュゲートまたは請求項 38 に記載の医薬組成物を個体に投与することを含む、TDP-43 に関連する疾患、障害、および／または異常、または TDP-43 タンパク質症を有する個体における認識記憶能力を維持もしくは増大させるかまたは記憶喪失を遅延させる方法。

30

【請求項 51】

請求項 1 から 29 のいずれか一項に記載のヒト化 TDP-43 結合分子または請求項 30 から 36 のいずれか一項に記載の免疫コンジュゲートまたは請求項 38 に記載の医薬組成物を個体に投与することを含む、個体における凝集 TDP-43 および／またはリン酸化 TDP-43 のレベルを低減させる方法。

【請求項 52】

少なくとも 1 つのさらなる治療剤を投与することを含む、請求項 50 または 51 に記載の方法。

40

【請求項 53】

さらなる治療剤がアルファシヌクレイン、BACE1、タウ、ベータアミロイド、TDP-43、または神経炎症タンパク質を標的とする、請求項 52 に記載の方法。

【請求項 54】

請求項 1 から 29 のいずれか一項に記載のヒト化 TDP-43 結合分子をコードする核酸分子。

【請求項 55】

配列番号 38、配列番号 48、配列番号 58、配列番号 68、配列番号 78、配列番号 88、配列番号 98、配列番号 108、配列番号 118、配列番号 128、配列番号 39

50

、配列番号 49、配列番号 59、配列番号 69、配列番号 79、配列番号 89、または配列番号 99 で提供されるヌクレオチド配列を含む、ヒト化 TDP-43 結合分子をコードする核酸分子。

【請求項 56】

- a. 配列番号 68 によってコードされる重鎖可変領域 (VH) および配列番号 59 によってコードされる軽鎖可変領域 (VL) ; または
- b. 配列番号 78 によってコードされる重鎖可変領域 (VH) および配列番号 49 によってコードされる軽鎖可変領域 (VL) ; または
- c. 配列番号 78 によってコードされる重鎖可変領域 (VH) および配列番号 59 によってコードされる軽鎖可変領域 (VL) ; または
- d. 配列番号 78 によってコードされる重鎖可変領域 (VH) および配列番号 69 によってコードされる軽鎖可変領域 (VL) ; または
- e. 配列番号 118 によってコードされる重鎖可変領域 (VH) および配列番号 69 によってコードされる軽鎖可変領域 (VL) ; または
- f. 配列番号 118 によってコードされる重鎖可変領域 (VH) および配列番号 89 によってコードされる軽鎖可変領域 (VL) ; または
- g. 配列番号 128 によってコードされる重鎖可変領域 (VH) および配列番号 69 によってコードされる軽鎖可変領域 (VL) ; または
- h. 配列番号 128 によってコードされる重鎖可変領域 (VH) および配列番号 89 によってコードされる軽鎖可変領域 (VL) ; または
- i. 配列番号 118 によってコードされる重鎖可変領域 (VH) および配列番号 99 によってコードされる軽鎖可変領域 (VL) ; または
- j. 配列番号 128 によってコードされる重鎖可変領域 (VH) および配列番号 99 によってコードされる軽鎖可変領域 (VL)

として示されるヌクレオチド配列を含む、ヒト化 TDP-43 結合分子をコードする核酸分子。

【請求項 57】

血液脳関門または CNS におけるその他の任意の細胞型への標的デリバリーのためのウイルスベクターの一部である、請求項 54 から 56 のいずれか一項に記載の核酸。

【請求項 58】

ウイルスベクターが組換えアデノ随伴ウイルスベクター (rAAV)、好ましくは AAV1 から AAV12 までから選択される組換えアデノ随伴ウイルスベクターである、請求項 57 に記載の核酸。

【請求項 59】

請求項 54 から 58 のいずれか一項に記載の核酸を含む、組換え発現ベクター。

【請求項 60】

請求項 54 から 58 のいずれか一項に記載の核酸および／または請求項 59 に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 61】

請求項 1 から 29 のいずれか一項に記載のヒト化 TDP-43 結合分子を発現する宿主細胞。

【請求項 62】

請求項 59 に記載の組換え発現ベクターを含有する無細胞発現系。

【請求項 63】

a. ヒト化 TDP-43 結合分子、特にヒト化抗体またはその抗原結合性断片を産生するために好適な条件下で、請求項 60 もしくは 61 に記載の宿主細胞または請求項 62 に記載の無細胞発現系を培養する工程、および

b. ヒト化 TDP-43 結合分子、特にヒト化抗体またはその抗原結合性断片を単離する工程

を含む、ヒト化 TDP-43 結合分子、特にヒト化抗体またはその抗原結合性断片を産生

10

20

30

40

50

する方法。

【請求項 6 4】

請求項 1 から 2 9 のいずれか一項に記載のヒト化 T D P - 4 3 結合分子と試料を接触させることおよび試料中の T D P - 4 3 レベルを対照試料中の T D P - 4 3 レベルと比較することを含む、対象から得た試料中の T D P - 4 3 を検出および／または定量する方法。

【請求項 6 5】

試料がヒト血液、脳脊髄液（C S F）、間質液（I S F）、および／または尿、好ましくは C S F である、請求項 6 4 に記載の方法。

【請求項 6 6】

請求項 1 から 2 9 のいずれか一項に記載のヒト化 T D P - 4 3 結合分子を含む、T D P - 4 3 に関連する疾患、障害、および／もしくは異常、もしくは T D P - 4 3 タンパク質症の診断のため、または請求項 3 9 から 4 9 のいずれか一項に記載の使用のため、または請求項 5 0 から 5 3 のいずれか一項に記載の方法における使用のためのキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、分子量 4 3 k D a のトランス活性応答 D N A 結合性タンパク質（T A R D B または T D P - 4 3 と）の分野にある。本発明は、ヒト化された T D P - 4 3 特異的結合分子、特にヒト化抗 T D P - 4 3 抗体またはその抗原結合性断片もしくは誘導体、およびその使用に関する。本発明は、前頭側頭型認知症（F T D）、筋萎縮性側索硬化症（A L S）、アルツハイマー病（A D）、パーキンソン病（P D）、慢性外傷性脳症（C T E）、および辺縁系優位型加齢性 T D P - 4 3 脳症（L A T E）を含むがそれらに限らない、T D P - 4 3 に関連する、特に T D P - 4 3 凝集体に関連する疾患、障害、および／または異常、または T D P - 4 3 タンパク質症を診断、防止、改善、および／または処置するための手段および方法を提供する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

中枢神経系（C N S）および末梢臓器におけるタンパク質の病的な凝集によって特徴付けられる加齢性脳障害（タンパク質症）は、世界的な障害および死亡の主原因の 1 つを代表している。凝集体を形成する最もよく特徴付けられたタンパク質は、アルツハイマー病および関連する障害におけるアミロイドベータである。神経変性をもたらすその他の疾患関連凝集性タンパク質には、それだけに限らないが、タウ、アルファシヌクレイン（a S y n、a - s y n）、ハンチントン、フーズドインザルコマ（fused in sarcoma、F U S）、C 9 o r f 7 2 リピート伸長の非従来型翻訳によって産生されるジペプチドリピートタンパク質（D P R）、スーパーオキシドジスムターゼ 1（S O D 1）、および T D P - 4 3 が含まれる。T D P - 4 3 凝集体が関与する疾患は一般に、A L S および F T D を含むがそれらに限らない T D P - 4 3 タンパク質症として列挙されている。

【0 0 0 3】

I. T D P - 4 3 緒言

トランス活性応答（T A R）D N A 結合性タンパク質 4 3 k D a（T D P - 4 3）は、染色体 1 p 3 6 . 2（A L S 1 0）の上にある T A R D B P 遺伝子によってコードされる 4 1 4 アミノ酸のタンパク質である。T A R D B P は 6 つのエクソン（エクソン 1 は非コード性、エクソン 2 ~ 6 はタンパク質をコードする）からなっている。T D P - 4 3 は不均質ナリボヌクレオプロテイン（h n R N P）R N A 結合性タンパク質のファミリーに属している（Wang et al., Trends in Molecular Medicine Vol.14 No.11, 2008, 479-485; Lagier-Tourenne et al., Human Molecular Genetics, 2010, Vol. 19, Review Issue 1 R46-R64）。T D P - 4 3 は、5 つの機能性ドメイン（Warraich et al., The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 42 (2010) 1606-1609 の図 1）、即ち高度に保存された 2 つのヘキサマーリボヌクレオプロテイン 2（R N P 2）領域およびオクタマーリボヌクレオプロテイン 1（R N P 1）領

域を有する2つのRNA認識モチーフ（RRM1およびRRM2）、これが核と細胞質との間に往復して結合したmRNAを輸送することを可能にする核外搬出シグナル（NES）および核局在化シグナル（NLS）、ならびにタンパク質間の相互作用を媒介するC末端のグリシンに富むドメインを含む。TDP-43は、転写、スプライシング、輸送、および安定化を含むRNAプロセシングの多種の態様に関与している（Buratti and Baralle, FEBS Journal 277 (2010) 2268-2281）。これは継続的に核と細胞質との間を往復するが主として核に局在化している、厳しく自己規制された発現レベルを有する高度に保存され普遍的に発現するタンパク質である。2006年に、TDP-43はタウ陰性、ユビキチン陽性の封入体を有する前頭側頭葉変性（FTLD）の圧倒的多数の症例（このとき、FTLD-TDPと称された）および筋萎縮性側索硬化症（ALS）の大部分の症例において集積するタンパク質として同定された（Arai et al., Biochemical and Biophysical Research Communications 351 (2006) 602-611; Neumann et al., Science 314, (2006), 130-133）。

10

【0004】

TDP-43の38種の陰性優性な突然変異が、散发性および家族性のALS患者ならびに遺伝性FTDの患者において、主としてグリシンに富むドメインに位置して同定された（Lagier-Tourenne and Cleveland, Cell 136, 2009, 1001-1004の図1）。沈降アッセイによって示されたように、TDP-43は遺伝的に凝集しやすく、この傾向はALSに関連するTARDBP突然変異のいくつかによってさらに増大し（Ticozzi et al., CNS Neurol. Disord. Drug Targets. 2010, 9(3), 285-296.）、TDP-43の凝集が臨床的な疾患の兆候と関連付けられる。

20

【0005】

II. 神経変性におけるTDP-43

TDP-43凝集体は、前頭側頭型認知症（例えば染色体9pに連鎖する、プログラニン（GRN）の突然変異を伴う、C9orf72の突然変異を伴う、TARDBPの突然変異を伴う、バロシン含有タンパク質（VCP）の突然変異を伴う、運動ニューロン疾患（MND）を伴うかまたは伴わない散发性または家族性のFTD、大脳皮質基底核変性症、ユビキチン陽性TDP-43封入体を伴う前頭側頭葉変性（FTLD）（FTLD-TDP）、嗜銀顆粒性疾患、ピック病、意味性亜型原発性進行性失語症（svPPA）、行動性亜型FTD（bvFTD）、非流暢性亜型原発性進行性失語症（nfvPPA）等）、筋萎縮性側索硬化症（例えば散发性ALS、TARDBPの突然変異を伴う、アンギオゲニン（ANG）の突然変異を伴うALS）、アレクサンダー病（AxD）、辺縁系優位型加齢性TDP-43脳症（LATE）、慢性外傷性脳症（CTE）、ペリー症候群、アルツハイマー病（AD、散发性および家族性の形態のADを含む）、ダウン症候群、家族性英国型認知症、ポリグルタミン病（ハンチントン病および3型脊髄小脳失調（SCA3、マチャドジョゼフ病としても知られている））、海馬硬化認知症およびミオパチー（散发性封入体筋炎、バロシン含有タンパク質（VCP）の突然変異を伴う封入体ミオパチー；骨のパジェット病および前頭側頭型認知症も）、辺縁小胞を伴う咽頭筋ジストロフィー、ミオチリン（MYOT）遺伝子の突然変異またはデスミン（DES）をコードする遺伝子の突然変異を伴う筋細線維ミオパチー）、外傷性脳傷害（TBI）、レヴィー小体認知症（DLB）、またはパーキンソン病（PD）を含むがそれらに限らない神経変性状態の増大するリスト（Lagier-Tourenne et al., Human Molecular Genetics, 2010, Vol. 19, Review Issue 1 R46-R64）の中で特定されてきた。用語LATEは、海馬硬化症、加齢性海馬硬化症、海馬硬化性認知症、硬化を伴う加齢性脳TDP-43（CARTS）、および高齢者におけるTDP-43病変を含む認識機能障害を伴う可能性があるTDP-43タンパク質症に関連するいくつかの以前使用された病名を包含することを意図している（総説としてKuslansky et al., 2004; Lipka and Dickson, 2004; Nelson et al., 2013, 2016b; Dutra et al., 2015を参照されたい）。

30

40

【0006】

患者の脳に由来する凝集TDP-43は、過剰リン酸化、ユビキチン化、アセチル化、

50

およびタンパク質分解性切断によるC末端断片を含むいくつかの異常な修飾を示す (Arai et al., Biochemical and Biophysical Research Communications 351 (2006) 602-611; Neumann et al., Science 314, (2006), 130-133; Neumann et al., Acta Neuropathol. (2009) 117: 137-149; Hasegawa et al., (2008) Annals of Neurology Vol 64 No 1, 60-70; Cohen et al., Nat Commun. 6: 5845, 2015)。TDP-43 病因のもう1つの特徴は、核から細胞質へのTDP-43の再分布および集積である。FTLD-TDPの特徴的病変は、TDP-43ならびにユビキチンおよびp62に対しては免疫反応性であるが、他の神経変性疾患関連タンパク質に対しては陰性であるニューロンおよびグリアの細胞質内封入体 (それぞれNCIおよびGCI) およびジストロフィー性神経突起 (DN) である。封入体の形態およびその組織分布の相違は、特定の突然変異および／または臨床的表徴に関連している。TDP-43の病因の4つの型は、これまでのところ、組織学的分類によって記述されている (Mackenzie and Neumann, J. Neurochem. (2016) 138 (Suppl. 1), 54-70)。A型FTLD-TDPの症例は、主として新皮質の層IIにおける豊富な短いジストロフィー性神経突起 (DN) およびコンパクトな楕円形または三日月形のNCIによって特徴付けられる (Mackenzie et al., 2016 J. Neurochem. 138 (Suppl. 1), 54-70の図2f)。この病因を有する症例は通常、臨床的に行動性亜型前頭側頭型認知症 (bvFTD) または原発性進行性失語症の非流暢性／失文性亜型 (nfvPPA) のいずれかを呈し、プログラニン (GRN) の突然変異と関連している。B型の症例は、表層および深部の皮質層に比較的少ないDNおよびNCI (ニューロン性核内封入体、Mackenzie et al., 2016 J. Neurochem. 138 (Suppl. 1), 54-70)の図2g) を伴う中程度の数のコンパクトなまたは顆粒状のNCIを示す。FTDおよびALSの症状の共出現を伴う大部分の症例は、B型FTLD-TDPの病因を有していることが見出される。C型の症例は、僅かなNCIを伴うかNCIを伴わない、主として表層皮質薄層における豊富で長い曲がりくねった神経突起を有する (Mackenzie et al., 2016 J. Neurochem. 138 (Suppl. 1), 54-70の図2j)。この病因は、原発性進行性失語症 (svPPA) の意味性亜型を呈する症例で特に見出される。D型FTLD-TDPは、僅かなNCIのみを伴う豊富なレンズ状ニューロン核内封入体 (NCI) および短いDNを新皮質に呈する (Mackenzie et al., 2016 J. Neurochem. 138 (Suppl. 1), 54-70の図2k)。E型は、白質中の曲線性の希突起神経膠細胞封入体に加えて全ての新皮質層に影響する顆粒線維状ニューロン封入体 (GFNI) および極めて微細なドット状の神経網凝集体によって特徴付けられる (Edward B. Lee et al., Acta Neuropathol. 2017 July; 134(1): 65-78.)。病因のこのパターンは、封入体筋炎に関連するVCPの症例のみで見出される。

10

20

30

40

50

【0007】

III. FTDにおけるTDP-43

前頭側頭型認知症 (FTD) は、前頭葉および側頭葉の変性に基づく広いスペクトラムの障害を包含する臨床用語であり、病的特徴は前頭側頭葉変性 (FTLD) と命名されている。FTDは65歳未満の年齢群における早期変性認知症の2番目に多い原因である (Le Ber, Revue Neurologique 169 (2013) 811-819)。FTDは、人格および行動の変化によって特徴付けられるbvFTD; 言語機能の変化によって特徴付けられる意味性認知症 (SD) および進行性非流暢性失語症 (PNFA); 皮質基底核症候群 (CBS)、運動機能不全によって特徴付けられる進行性核上性麻痺症候群および運動ニューロン疾患 (FTD-MND) を含むいくつかの症候群によって代表される。これらの症候群の臨床診断は複雑で、最終の結論は、凝集したタンパク質を検出し、罹患した脳の領域を画定する死後の病理組織学解析によってのみ達成できる。病的なタンパク質封入体に関しては、症例の約45%がミスフォールドしたタウの病的な集積を示し、症例の45%が病的なTDP-43を有し、より小さなサブグループがFUSおよびその他のタンパク質の凝集体を有している。

【0008】

IV. ALSにおけるTDP-43

筋萎縮性側索硬化症（ALS）は、上位および下位の運動ニューロンの成熟前の喪失によって特徴付けられる神経変性障害である。ALSの進行は、診断から死亡まで1～5年の疾患経過を伴う致死的な麻痺および呼吸不全を特徴とする。散発性ALSの大部分の症例において、神経病理は、原発運動皮質、脳幹運動核、脊髄および付随する白質のニューロンおよびグリアにおけるTDP-43の異常な細胞質集積によって特徴付けられる。認知症を伴うALSには、運動外新皮質および海馬におけるTDP-43の集積が関与している。ALS患者におけるTDP-43のリン酸化の役割は、TDP-43のリン酸化の主な部位としてのアミノ酸S379、S403、S404、S409、S410で核および細胞質の封入体におけるリン酸化されたTDP-43に特異的に結合する抗体の助けを借りて探索されてきた（Hasegawa et al., *Ann Neurol* 2008; 64: 60-70; Neumann et al., *Acta Neuropathol* (2009) 117: 137-149）。

【0009】

V. ADおよびその他の疾患におけるTDP-43

TDP-43の病因はアルツハイマー病の患者の脳の57%までで起こる（Josephs KA et al., *Acta Neuropathol.* 2014; 127(6): 811-824; Josephs KA et al., *Acta Neuropathol.* 2014; 127(3): 441-450; McAleese et al., *Brain Pathol.* 2017 Jul; 27(4): 472-479）。TDP-43の凝集は患者の年齢に関連し、ADにおける認知の衰退、記憶の喪失、および側頭葉内側部の萎縮と相関している。ADにおいては、TDP-43は側頭葉内側部におけるアミロイドベータおよびタウの病変と重複する脳内分布を共有する二次的なまたは独立の病因を表しているようである。病因的TDP-43は、いわゆる「ADにおけるTDP-43」（TAD）のステージ分けスキームによって記述される進行性沈着の型通りのパターンに従い、TDP-43は最初に扁桃体に沈着し（ステージI）、続いて海馬、辺縁、側頭、そして最後に前頭線条体に沈着する（ステージV）（Josephs KA et al., *Acta Neuropathol.* 2014; 127(6): 811-824; Josephs KA et al., *Acta Neuropathol.* 2014; 127(3): 441-450）。

【0010】

VI. TDP-43の拡散

ALSおよびFTDの発症および最初の症状は患者によって顕著に変動するが、疾患の進行の共通の特徴は、最初の病巣区域から大部分のニューロンへの病変の拡散である。症状の継続的な悪化は、TDP-43の病変の継続的な拡散によって説明できるであろう。ALS患者の脳におけるTDP-43の病変は4段階のプロセスによって拡散しているようであり、伝播は順行性軸索内輸送による皮質下行性軸索投射を介して経シナプスの起こっていると考えられる（Brettschneider et al., *Ann Neurol.* 2013 July; 74(1): 20-38.）。最近の実験的証拠は、プリオン様機構によるアミロイドベータ、タウ、アルファシヌクレイン、およびTDP-43のニューロン組織におけるタンパク質の伝播の仮説（Hasegawa et al., 2017）を支持しており、開始点および地形学的な拡散パターンはこれら4つのタンパク質について明確に区別される（Brettschneider J et al., *Nature Rev. Neuroscience*, 2015, 109）。疾患の間で一体化された共通の機構は、病原性のタンパク質凝集体の細胞間拡散に基づくと考えられる。この機構は、病的な細胞からの凝集体の放出、ナイーブな細胞による取り込み、および内因性タンパク質の鋳型化されたコンフォメーション変化による病原性タンパク質のコンフォメーションの播種からなっている。生理的な（即ち、非病原性の）TDP-43の凝集を誘起することができる病原性TDP-43は、播種能力のあるTDP-43と定義される。まさに、TDP-43は、ミスフォールドされ、凝集して、デノボ（de novo）ミスフォールディングを誘発する能力を有する伝播剤であるシードになることが見出されている。この「プリオン様」パラダイムは、疾患の進行における重要な要素の1つであると考えられている。TDP-43の細胞間拡散は、患者脳由来の不溶性TDP-43の調製物がレセプター細胞中での細胞内凝集形成を誘起することができるという数少ないインビトロ(in vitro)モデルにおいて分子レベルで研究されてきた（Nonaka et al., *Cell Reports* 4 (2013),

124-134; Feiler et al., 2015; Porta et al., Nat. Comm., 2018)。さらに、細胞内 TDP-43 凝集体が次の細胞への拡散に先立ってエキソソームと共同して放出されることが観察されている (Nonaka et al., Cell Reports 4 (2013, 124-134))。同様に、アデノウイルスを形質導入した TDP-43 の発現が細胞質内凝集をもたらし、これがリン酸化およびユビキチン化され、より重要なことに細胞間拡散を開始するシーズとして作用する (Ishii et al., PLoS ONE 12(6): e0179375, 2017)。患者由来の病原性 TDP-43 は、トランスジェニックおよび野生型のマウスの脳内への接種に続いて内因性 TDP-43 の広範囲の沈着をもたらすことができる (Porta et al., Nat. Comm., 2018)。

【0011】

10

VII. TDP-43 タンパク質症の防止および処置

TDP-43 の凝集および病原の拡散は、現在のところ治療ができない致命的疾患である ALS および FTD の主要な特徴である。したがって、TDP-43 タンパク質症の処置および防止のための新たな方法に対するニーズがある。TDP-43 における突然変異は ALS および FTD の家族性症例と関連しており、TDP-43 のミスフォールディングと疾患の進行との原因となる関連性を提供している。

【0012】

VIII. TDP-43 タンパク質症の診断

臨床的な表徴が特に早期の段階で他の疾患と重複し得るので、臨床的兆候に基づく FTD の診断は不十分である。

20

【0013】

いくつかのアプローチは、様々な型の FTD 病因を識別するための生化学的なバイオマーカーの開発を目指している。TDP-43 の様々なコンフォメーションに対する抗体の開発は、より高感度で特異的な診断ツールを生成することを可能にし得る。生化学的なバイオマーカーと並行して、イメージングバイオマーカーの開発は TDP-43 タンパク質症における病因の早期かつ特異的な検出を可能にし得る。脳における TDP-43 の沈着をイメージングする能力は、TDP-43 タンパク質症のための診断および薬物の開発のための実質的な成果となり得る。細胞を透過できる抗体断片を使用することによって、そのような検出を可能にすることができよう。

【0014】

30

様々なタンパク質のミスフォールディングに基づく神経変性疾患における最も早期の事象は、タンパク質を毒性にする代替のコンフォメーションの取得である。さらに、このミスフォールドしたコンフォメーションは、内因性の正常なタンパク質を、冒された組織を通る観察された拡散の機械的基礎としてのミスフォールドしたコンフォメーションに動員することによって、自己増殖することができる。

【0015】

所与のタンパク質の様々なコンフォメーション状態に対する抗体を開発するため、提示された抗原のコンフォメーションを制御して特定のコンフォメーション状態にある所与の標的に対するコンフォメーション特異的抗体を生じさせる超分子抗原性コンストラクトを設計した (WO2012/055933 および WO2012/020124)。コンフォメーション特異的抗体は、これらのタンパク質の疾患関連性のコンフォメーションと機能性の内因性コンフォメーションとを区別できるので、多くの利点を提供する。そのような抗体は、疾患に関連するタンパク質のミスフォールドされたアイソフォームを標的とする一方、正常なコンフォメーションのタンパク質に吸着される可能性が少ないので、このアプローチは治療応用において多くの利点を提供する。これと同様に診断応用については、そのような抗体は疾患に関連するタンパク質の構造状態のみを認識し、これは敏感かつ特異的な診断の開発のために重要である。

40

【0016】

TDP-43 タンパク質症における TDP-43 に基づくバイオマーカーの使用は、今も確立すべき状況のままである。そのような評価は、部分的には生体液中の病原性 TDP

50

ー 43 の定量のための好適な免疫アッセイに採用できる高親和性の抗体がないために妨げられてきた (Feneberg et al., Molecular Neurobiology, 2018)。

【0017】

したがって、様々な型の TDP-43 タンパク質症を診断するため、および／または TDP-43 に関連する、特に TDP-43 凝集体に関連する、疾患、障害、および異常、または TDP-43 タンパク質症の処置のために使用される治療薬の有効性をモニターするために、特にヒト試料中のミスフォールドされた凝集 TDP-43 および非凝集生理的 TDP-43 を検出することができるバイオマーカーに対する明らかなニーズがある。

【0018】

TDP-43 タンパク質症は、病原性 TDP-43 によって特徴付けられる神経変性障害の組として定義される。

10

【0019】

IX. 先行技術

特許出願 WO2008/151055 は、生体液中の TDP-43 ポリペプチドおよび／または TDP-43 ポリペプチド切断産物（例えば 25 kD および 35 kD の TDP-43 ポリペプチド切断産物）のレベルを使用して哺乳動物が神経変性疾患を有しているか否かを判定するための方法および材料を開示している。

【0020】

特許出願 WO2013/061163 は、ヒト抗体ならびにその断片、誘導体、および変異体等のポリペプチドを含む TDP-43 特異的結合分子を開示している。

20

【0021】

特許出願 WO2020/234473 は、マウス抗体またはその抗原結合性断片等のポリペプチドを含む特異的結合分子を開示している。

【0022】

投薬レジメンは、薬物の標的産物プロファイルの重要な要素である。生物製剤の脳への浸透は最善ではないので、現在のところ、薬物への曝露は抗体を繰り返して投与することによってのみ達成されている。抗体の所望の薬理効果のために必要な効率的な薬物分布を保証するため、好適な薬物動態プロファイルがそのインビボ (in vivo) 治療応用のために必須である。いくつかの抗体については、クリアランスおよび／または分布体積等の薬物動態パラメーターの最適化によって、インビボにおける薬物曝露を最大化することができる。

30

【0023】

抗体は、その Fc ドメインと胎児性 Fc 受容体 (FcRn) との相互作用を通じてリサイクルされる。FcRn への親和性の増大はタンパク質工学によって達成することができ、リサイクリングプロファイルの改善および抗体半減期の長期化をもたらす。YTE (Dall'Acqua et al. journal of immunology, 2002, 69:5171-5180) または LS (Zalevsky, J et al, Nat Biotechnol 28(2):157-9, 2010) 突然変異等のいくつかの突然変異の組が記述されており、これらはインビボにおける薬物動態プロファイルの改善をもたらした。一部の場合には、高い pI および陽性荷電のパッチが抗体のクリアランスに悪い影響を与えることが見出されている (Igawa et al, PEDS. 2010; vol. 23 no. 5 pp. 385-392, Bumbaca et al, JBC, VOL. 290, NO. 50, pp. 29732-29741, 2015)。

40

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0024】

現在のところ、TDP-43 抗体療法は市場に存在しないので、インビボの治療用途のための好適な薬物動態パラメーターを有する抗 TDP-43 抗体に対するニーズがある。何ら特定の理論に縛られることは望まないが、本発明の結合分子、特にヒト化抗体またはその抗原結合性断片は、インビボの治療用途のための最適の半減期をもたらすヒト化アクセプターフレームワークを含むと考えられる。本発明の結合分子（特に hACI-706

50

9-633B12-Ab1__H33L27およびhACI-7069-633B12-Ab1__H32L27)は、有益な薬物動態および薬力学的な特性を提供することが本明細書で示されている。本明細書の実施例5~14ならびに表9、10、および11を参照されたい。本発明の結合分子は、治療用途のための好適な半減期およびクリアランス値を呈する。

【0025】

インビボの治療用途のための好適な薬物動態パラメーターを有してミスフォールドされた凝集TDP-43および非凝集生理的TDP-43に結合するヒト化抗TDP-43結合分子に対するニーズがある。そのようなヒト化された結合分子、特に抗体およびその抗原結合性断片は、ヒトTDP-43(配列番号1)の特定のエピトープに結合し得る。さらに、FTDスペクトラムの中の病原の型の間の区別を可能にする高感度で特異的なバイオマーカーの開発は緊急の仕事である。

【課題を解決するための手段】

【0026】

技術的課題は、本明細書で提供する実施形態によって解決される。

【0027】

本発明の結合分子はマウス抗体のヒト化形態であり、特にヒトTDP-43(配列番号1)に結合するマウスモノクローナル抗体のヒト化形態である。本明細書でACI-7069-633B12-Ab1と称する抗体をヒト化結合分子の開発に選択した。本明細書に記載したように、この抗体はハイブリドーマクローン633B12C8に由来する。これはヒトTDP-43(配列番号1)のアミノ酸397-411の中のエピトープに結合する。より具体的には、これはヒトTDP-43(配列番号1)のアミノ酸400-405に由来するエピトープに結合する。この抗体は、配列番号28として示されるVHヌクレオチド配列および配列番号29として示されるVLヌクレオチド配列を有する(これらによってコードされる)。WO2020/234473の表10を参照されたい。この抗体は、配列番号20として示されるVHアミノ酸配列および配列番号24として示されるVLアミノ酸配列を有する。WO2020/234473の表11を参照されたい。この抗体は、配列番号21として示されるVH CDR1アミノ酸配列、配列番号22として示されるVH CDR2アミノ酸配列、およびESのVH CDR3アミノ酸配列を有する。WO2020/234473の表11を参照されたい。この抗体は、配列番号25として示されるVL CDR1アミノ酸配列、配列番号16として示されるVL CDR2アミノ酸配列、および配列番号27として示されるVL CDR3アミノ酸配列を有する。WO2020/234473の表11を参照されたい。

【0028】

選択したCDR配列は特定の位置で突然変異させ得る。一部の実施形態では、そのような突然変異は潜在的な翻訳後修飾部位を避けるために行われる。特定の実施形態では、VH領域(CDRH2)における以下の残基、N53、N54、およびG55の1つまたは複数、最大で全部が突然変異される。特定の突然変異には、N53G、N53S、N53Q、N54Q、N54G、およびG55Aが含まれる。残基はKabatに従って番号付けしている。特定の実施形態では、VL領域(CDRL1および/またはCDRL2および/またはCDRL3)における以下の残基、K24、D28、G29、D55、S56、およびW89の1つまたは複数、最大で全部が突然変異される。残基はKabatに従って番号付けしている。特定の突然変異には、K24R、D28E、D28G、G29A、D55E、S56A、W89Y、W89F、およびW89Lが含まれる。

【0029】

特定の実施形態では、ヒト化結合分子、特に本発明のヒト化抗体またはその抗原結合性断片は、ヒト重鎖可変ドメインサブファミリー1のフレームワーク配列を含む。より具体的には、ヒト化結合分子、特に本発明のヒト化抗体またはその抗原結合性断片は、IGHV1-69-2(IMG T受託番号KF698734、Z29977、Z12305; UniProtKB A0A0G2JMI3)、IGHV1-3(IMG T受託番号X6

2109、X62107、MK540645、MH779622、およびMN337616；UniProtKB-A0A0C4DH29）、IGHV1-2（IMGT受託番号X07448、X62106、X92208、KF698733、HM855674、MH267285、およびMN337615；UniProtKB-P23083）、IGHV1-46（IMGT受託番号X92343、J00240、L06612、およびMK540650；UniProtKB-P01743）、IGHV1-24（IMGT受託番号M99642；UniProtKB-A0A0C4DH33）、IGHV5-51（IMGT受託番号M99686、M18806、X56368、X56367、Z27449、MK321694、IMGT000055；UniProtKB-A0A0C4DH38）、またはIGHV3-43（IMGT受託番号M99672、HM855392；UniProtKB-A0A0B4J1X8）VHフレームワーク配列、好ましくはIGHV1-69-2 VHフレームワーク配列を含み得る。

10

【0030】

特定の実施形態では、ヒト化結合分子、特に本発明のヒト化抗体またはその抗原結合性断片は、ヒト軽鎖可変ドメインカップサブファミリー2フレームワーク配列を含む。より具体的には、ヒト化結合分子、特に本発明のヒト化抗体またはその抗原結合性断片は、IGKV2-30（IMGT受託番号X63403およびFM164408；UniProtKB-P06310）、IGKV2-29（IMGT受託番号X63396、U41645およびAJ783437；UniProtKB-A2NJV5）、IGKV2D-29（IMGT受託番号M31952およびU41644；UniProtKB-A0A075B6S2）、IGKV2-28（IMGT受託番号X63397；UniProtKB-A0A075B6P5）、IGKV2-24（IMGT受託番号X12684；UniProtKB-A0A0C4DH68）、IGKV2D-28（IMGT受託番号X12691；UniProtKB-P01615）、IGKV2-40（IMGT受託番号X59314およびX59317；UniProtKB-A0A087WW87）、IGKV2D-40（IMGT受託番号X59311；UniProtKB-P01614）、またはIGKV4-1（IMGT受託番号Z00023およびMW316673；UniProtKB-P06312）VLフレームワーク配列、好ましくはIGKV2-40、IGKV2D-40、IGKV2D-28、IGKV4-1、またはIGKV2-28 VLフレームワーク配列、最も好ましくはIGKV2-28（IMGT受託番号X63397；UniProtKB-A0A075B6P5）VLフレームワーク配列を含み得る。

20

30

【0031】

一実施形態では、本発明のヒト化結合分子、特に本発明のヒト化抗体またはその抗原結合性断片は、IGHV1-69-2およびIGKV2-28フレームワーク配列を含む。

【0032】

選択したフレームワーク配列は特定の位置で突然変異させ得る。一部の実施形態では、そのような突然変異はCDRのループコンフォメーションおよび／またはVHドメインとVLドメインの間の可変ドメインパッキングに有利に影響を及ぼすために行われる。特定の実施形態では、Kabab番号付けに従って下の表2に列挙した残基の1つまたは複数、最大で全部が突然変異される。特定の実施形態では、Kabab番号付けに従って、以下のVHの突然変異、V24T、Y27F、M48I、Q64K、A71V、T73K、T94Rの1つまたは複数、最大で全部が行われる。特定の実施形態では、以下のVLの突然変異、I2V、Y36L、Q45K、L46R、G57Rの1つまたは複数、最大で全部が行われる（Kabab番号付けに従って）。特定の実施形態では、全てKabab番号付けに従って、以下のVHの突然変異、V24T、Y27F、M48I、Q64K、A71V、T73K、T94Rの1つまたは複数、最大で全部、および以下のVLの突然変異、I2V、Y36L、Q45K、L46R、G57Rの1つまたは複数、最大で全部が行われる。

40

【0033】

50

したがって、本発明は、ミスフォールドされた凝集 TDP-43 および非凝集生理的 TDP-43 を特異的に認識するヒト化結合分子、特にヒト化抗体およびその抗原結合性断片に関する。本発明の中で、ミスフォールドされた TDP-43 は、ミスフォールドされたモノマー性の、および／またはミスフォールドされたオリゴマー性の、および／またはミスフォールドされた凝集体の、および／または翻訳後修飾された、および／またはミスフォールドされた切断された TDP-43 を含む。翻訳後修飾された TDP-43 には、リン酸化、ユビキチン化、アセチル化、スモイル化、および／またはメチル化された TDP-43 が含まれる。生理的 TDP-43 には、可溶性核 TDP-43 が含まれる。本発明のヒト化結合分子は、TDP-43 凝集体およびリン酸化 TDP-43 を含む病原性 TDP-43 に結合することができることが本明細書で実証される。即ち、本発明は、ヒト化結合分子、特にミスフォールドされた凝集 TDP-43 および非凝集生理的 TDP-43 を特異的に認識するヒト化抗体またはその抗原結合性断片を提供する。そのような結合分子は、本明細書でヒト化「汎 TDP-43」結合分子、特にヒト化汎 TDP-43 抗体と称する。本明細書で説明するように、本発明のヒト化 TDP-43 結合分子は、ミスフォールドされた凝集 TDP-43 および非凝集生理的 TDP-43 に等しく結合するか、または両方のカテゴリーの TDP-43 に特異的に結合するが、他方に対して一方に優先的に結合し得る。本発明はまた、TDP-43 に関連する、特に TDP-43 凝集体に関連する、疾患、障害、および異常、または TDP-43 タンパク質症の防止、改善、処置、および／または診断のための、ヒト化結合分子、特にヒト化抗体またはその抗原結合性断片を提供する。本発明はまた、神経変性を惹起する特定の型の病原を検出および／または理解（即ち同定）するためのヒト化結合分子、特にヒト化抗体またはその抗原結合性断片を提供する。臨床研究における長期のモニタリングのためのより効率的かつ正確な対象の選択を可能にし、TDP-43 タンパク質症の新たな療法の開発を支持する診断用バイオマーカーとしての使用も想定している。

10

20

30

40

50

【0034】

本発明はまた、医薬（治療剤）としてのヒト化 TDP-43 結合分子、特にヒト化抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

【0035】

理論に縛られることは望まないが、本発明は、TDP-43 タンパク質に由来する修飾されたコンフォメーション特異的抗原性ペプチドおよびペプチド断片または全体の TDP-43 タンパク質、ならびに前記ペプチドもしくは断片または全体の TDP-43 タンパク質を抗原として使用することによって得られるまたは得られたヒト化抗体が、TDP-43 の細胞間伝播を遮断し、および／または TDP-43 凝集体を脱凝集させ、および／または TDP-43 の播種を遮断し、および／または播種能力のある TDP-43 を中和し、および／または TDP-43 タンパク質もしくはその断片の凝集を阻害し、および／または TDP-43 のクリアランスを促進するという仮定に基づいて開発された。本発明のヒト化結合分子、特にヒト化ポリペプチド、より具体的にはヒト化抗体またはその抗原結合性断片は、ミスフォールドされた凝集 TDP-43、特に細胞質および細胞外のミスフォールドされた TDP-43 に結合する。本発明のヒト化結合分子、特にヒト化ポリペプチド、より具体的にはヒト化抗体またはその抗原結合性断片は、完全長の TDP-43 および／または切断された TDP-43 に結合する。一実施形態では、本発明のヒト化結合分子、特にヒト化ポリペプチド、より具体的にはヒト化抗体またはその抗原結合性断片は、細胞質のミスフォールドされた TDP-43 に特異的に結合する。一実施形態では、本発明のヒト化 TDP-43 結合分子、特にヒト化抗体またはその抗原結合性断片は、播種能力のある TDP-43 と結合してこれを中和する。一実施形態では、本発明のヒト化 TDP-43 結合分子、特にヒト化抗体またはその抗原結合性断片は、細胞外のおよび／または凝集した TDP-43 と結合し、抗体依存性細胞性ファゴサイトーシス（ADCP）によって、ミクログリア等の免疫細胞による TDP-43 のクリアランスを促進する。

【0036】

ミスフォールドされた凝集 TDP-43、または病原関連 TDP-43 は、それらの正

常なフォールディングおよび局在化を失った（即ちミスフォールドされた）TDP-43タンパク質からなっている。ミスフォールドされた凝集TDP-43は、プレ封入体の中、ならびにTDP-43について免疫反応性のニューロンおよびグリアの細胞質封入体（それぞれNCIおよびGCI）、ニューロン核内封入体（NII）、およびジストロフィー神経突起（DN）の中で見出すことができる。

【0037】

非凝集生理的TDP-43は、主として核内に位置し、細胞質に往復する生理的機能性のTDP-43タンパク質であり、インビボ（in vivo）の細胞環境においてその望ましい機能を呈することができる状態にある。

【0038】

本発明のヒト化TDP-43結合分子、特にヒト化抗TDP-43抗体またはその抗原結合性断片は、驚くべきことに、以下の特性の少なくとも1つ、好ましくは2つ、より好ましくは3つ、さらにより好ましくは4つ、さらにより好ましくは5つ、さらにより好ましくは6つ、最も好ましくは7つ全てを有する：

- － TDP-43の細胞間伝播を遮断すること；
- － TDP-43凝集体を脱凝集すること；
- － TDP-43タンパク質またはその断片の凝集を阻害すること；
- － TDP-43の播種を遮断すること；
- － 播種能力のあるTDP-43を中和すること；
- － TDP-43の拡散を遮断すること；および
- － TDP-43のクリアランスを促進すること。

【0039】

上で列挙した1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、または7つの特性の組合せとは無関係に、ヒト化抗TDP-43結合分子、好ましくは本発明のヒト化抗TDP-43抗体またはその抗原結合性断片は、TDP-43タンパク質症のインビボモデルにおいて、より重要にはTDP-43病原を有する患者において、TDP-43病原の生成を改善／阻害／低減し得る。

【0040】

ヒト化抗TDP-43結合分子はヒトTDP-43（配列番号1）のアミノ酸397-411の中の領域に結合し、より具体的にはヒト化TDP-43結合分子はヒトTDP-43（配列番号1）のアミノ酸残基400～405内のエピトープに結合する。

【0041】

本発明によれば、

- a. 配列番号21のアミノ酸配列を含むVH-CDR1；
- b. 配列番号22、配列番号82、配列番号92、配列番号102、配列番号112、または配列番号122のアミノ酸配列から選択されるVH-CDR2；
- c. アミノ酸配列ES（Glu-Ser）を含むVH-CDR3；
- d. 配列番号25または配列番号85のアミノ酸配列から選択されるVL-CDR1；
- e. 配列番号16のアミノ酸配列から選択されるVL-CDR2；
- f. 配列番号27または配列番号87のアミノ酸配列から選択されるVL-CDR3：および
- g.IGHV1-69-2、IGHV5-51、またはIGHV3-43からなる群から選択され、好ましくはIGHV1-69-2である重鎖可変ドメイン（VH）のアクセプターフレームワーク；ならびに／または
- h.IGKV2-28、IGKV2-24、IGKV2D-28、IGKV2-40、IGKV2D-40、またはIGKV4-1からなる群から選択され、好ましくはIGKV2-28である軽鎖可変ドメイン（VL）のアクセプターフレームワークを含む、ヒト化TDP-43結合分子、特にヒト化TDP-43抗体またはその抗原結合性断片が提供される。

【0042】

10

20

30

40

50

好ましい実施形態では、ヒト化 T D P - 4 3 結合分子は、以下の V H 突然変異：

- a . V 2 4 T ;
- b . M 4 8 I ;
- c . A 7 1 V ;
- d . T 7 3 K ; および
- e . T 9 4 R

の 1 つまたは複数、好ましくは全てを含む V H のアクセプターフレームワークを含み、ならびに／または以下の V L 突然変異：

- f . I 2 V ;
- g . Y 3 6 L ;
- h . Q 4 5 K ;
- i . L 4 6 R ; および
- j . G 5 7 R

の 1 つまたは複数を含む V L のアクセプターフレームワークを含む（番号付けは K a b a t による）。

【 0 0 4 3 】

好ましい実施形態では、ヒト化 T D P - 4 3 結合分子は、以下の V H 突然変異：

- a . V 2 4 T ;
- b . Y 2 7 F ;
- c . M 4 8 I ;
- d . A 7 1 V ;
- e . T 7 3 K ; および
- f . T 9 4 R

の 1 つまたは複数、好ましくは全てを含む V H のアクセプターフレームワークを含み、ならびに／または以下の V L 突然変異：

- g . I 2 V ;
- h . Y 3 6 L ;
- i . Q 4 5 K ;
- j . L 4 6 R ; および
- k . G 5 7 R

の 1 つまたは複数を含む V L のアクセプターフレームワークを含む（番号付けは K a b a t による）。

【 0 0 4 4 】

より好ましい実施形態では、ヒト化 T D P - 4 3 結合分子は、以下の V H 突然変異：

- a . V 2 4 T ;
- b . M 4 8 I ;
- c . A 7 1 V ;
- d . T 7 3 K ;
- e . T 9 4 R

の全てを含む V H のアクセプターフレームワークを含み、ならびに／または以下の V L 突然変異：

- f . Y 3 6 L ;
- g . L 4 6 R ; および
- h . G 5 7 R

の 1 つまたは複数、好ましくは全てを含む V L のアクセプターフレームワークを含む（c omprising）（番号付けは K a b a t による）。

【 0 0 4 5 】

より好ましい実施形態では、ヒト化 T D P - 4 3 結合分子は、以下の V H 突然変異：

- a . V 2 4 T ;
- b . Y 2 7 F ;

- c. M 4 8 I ;
- d. A 7 1 V ;
- e. T 7 3 K ; および
- f. T 9 4 R

の全てを含む V H のアクセプターフレームワークを含み、ならびに／または以下の V L 突然変異：

- i. Y 3 6 L ;
- j. L 4 6 R ; および
- k. G 5 7 R

の 1 つまたは複数、好ましくは全てを含む V L のアクセプターフレームワークを含む（番号付けは K a b a t による）。 10

【 0 0 4 6 】

好ましい実施形態では、ヒト化 T D P - 4 3 結合分子は、以下の V H 突然変異：

- a. V 2 4 T ;
- b. M 4 8 I ;
- c. A 7 1 V ;
- d. T 7 3 K ; および
- e. T 9 4 R

の全てを含む V H のアクセプターフレームワークを含み、以下の V L 突然変異：

- f. Y 3 6 L ;
- g. L 4 6 R ; および
- h. G 5 7 R

の 1 つまたは複数、好ましくは全てを含む V L のアクセプターフレームワークを含む（番号付けは K a b a t による）。 20

【 0 0 4 7 】

好ましい実施形態では、ヒト化 T D P - 4 3 結合分子は、以下の V H 突然変異：

- a. V 2 4 T ;
- b. Y 2 7 F ;
- c. M 4 8 I ;
- d. A 7 1 V ;
- e. T 7 3 K ; および
- f. T 9 4 R

の全てを含む V H のアクセプターフレームワークを含み、以下の V L 突然変異：

- i. Y 3 6 L ;
- j. L 4 6 R ; および
- k. G 5 7 R

の 1 つまたは複数、好ましくは全てを含む V L のアクセプターフレームワークを含む（番号付けは K a b a t による）。 30

【 0 0 4 8 】

ヒト化 T D P - 4 3 結合分子、特にヒト化 T D P - 4 3 抗体またはその抗原結合性断片は、 40

- a. 配列番号 2 1 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ;
- b. 配列番号 1 1 2、配列番号 1 2 2、または配列番号 1 0 2 のアミノ酸配列から選択される V H - C D R 2 ;
- c. アミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 ;
- d. 配列番号 2 5 または配列番号 8 5 のアミノ酸配列から選択される V L - C D R 1 ;
- e. 配列番号 1 6 のアミノ酸配列から選択される V L - C D R 2 ; および
- f. 配列番号 2 7 または配列番号 8 7 のアミノ酸配列から選択される V L - C D R 3 を含み得る。

【 0 0 4 9 】

好ましい実施形態では、ヒト化 T D P - 4 3 結合分子、特にヒト化 T D P - 4 3 抗体またはその抗原結合性断片は、

- a. 配列番号 2 1 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ；
- b. 配列番号 1 1 2 または配列番号 1 2 2 のアミノ酸配列から選択される V H - C D R 2 ；
- c. アミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 ；
- d. 配列番号 2 5 または配列番号 8 5 のアミノ酸配列から選択される V L - C D R 1 ；
- e. 配列番号 1 6 のアミノ酸配列から選択される V L - C D R 2 ；および
- f. 配列番号 2 7 または配列番号 8 7 のアミノ酸配列から選択される V L - C D R 3 を含む。

10

【 0 0 5 0 】

一部の実施形態では、本発明のヒト化 T D P - 4 3 結合分子は、

ー 配列番号 2 1 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ；配列番号 2 2 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ；およびアミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 ；ならびに配列番号 2 5 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ；配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ；および配列番号 2 7 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 ；または

ー 配列番号 2 1 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ；配列番号 1 1 2 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ；およびアミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 ；ならびに配列番号 2 5 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ；配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ；および配列番号 2 7 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 ；

20

ー 配列番号 2 1 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ；配列番号 1 1 2 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ；およびアミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 ；ならびに配列番号 8 5 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ；配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ；および配列番号 8 7 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 ；

ー 配列番号 2 1 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ；配列番号 1 2 2 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ；およびアミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 ；ならびに配列番号 2 5 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ；配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ；および配列番号 2 7 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 ；

30

ー 配列番号 2 1 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ；配列番号 1 2 2 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ；およびアミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 ；ならびに配列番号 8 5 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ；配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ；および配列番号 8 7 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 ；

ー 配列番号 2 1 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ；配列番号 1 1 2 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ；およびアミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 ；ならびに配列番号 2 5 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ；配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ；および配列番号 8 7 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 ；

40

ー 配列番号 2 1 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ；配列番号 1 2 2 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ；およびアミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 ；ならびに配列番号 2 5 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ；配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ；および配列番号 8 7 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む。

【 0 0 5 1 】

本発明はとりわけ、(i) ヒト化 T D P - 4 3 結合分子を含む免疫コンジュゲート、(i i) ヒト化 T D P - 4 3 結合分子を含む標識抗体、(i i i) ヒト化 T D P - 4 3 結合

50

分子および薬学的に許容される担体および／または賦形剤および／または希釈剤を含む医薬組成物、(i v) ヒトまたは獣医学の用途のためのヒト化 TDP-43 結合分子、(v) TDP-43 に関連する疾患、障害、および／または異常、または TDP-43 タンパク質症の防止、改善、処置における使用のためのヒト化 TDP-43 結合分子、(v i) 診断用途（特にインビボ診断のため、しかしインビトロ試験のためにも）のためのヒト化 TDP-43 結合分子、(v i i) 研究用途のための、特に分析ツールまたは参照分子としてのヒト化 TDP-43 結合分子、(v i i i) TDP-43 に関連する疾患、障害、および／もしくは異常、または TDP-43 タンパク質症をモニターするための診断ツールとしての使用のためのヒト化 TDP-43 結合分子、(i x) ヒト化 TDP-43 結合分子を用いて個体を処置することによる、TDP-43 に関連する疾患、障害、および／または異常、または TDP-43 タンパク質症を有する個体における認識記憶能力を維持もしくは増大させるかまたは記憶喪失を遅延させる方法、(x) ヒト化 TDP-43 結合分子を用いて個体を処置することによる、個体における凝集 TDP-43 および／またはリン酸化 TDP-43 のレベルを低減させる方法、(x i) ヒト化 TDP-43 結合分子をコードする核酸分子、(x i i) 本発明の核酸分子を含む組換え発現ベクター、(x i i i) 本発明の核酸および／またはベクターを含む宿主細胞、(x i v) 本発明の組換え発現ベクターを含有する無細胞発現系、(x v) ヒト化 TDP-43 結合分子を産生する方法、(x v i) ヒト化 TDP-43 結合分子を使用して対象から得た試料中の TDP-43 を定量する方法、ならびに (x v i i) 本発明のヒト化 TDP-43 結合分子および／またはこれを産生するための核酸、発現ベクター、宿主細胞、および／もしくは無細胞発現系を含むキットをさらに指向している。

10

20

【0052】

本発明のヒト化 TDP-43 結合分子、特にヒト化抗 TDP-43 抗体またはその抗原結合性断片は、ミクログリアを動員および／または活性化し得る。より具体的には、本発明のヒト化 TDP-43 結合分子は、細胞のサイズおよび活性化状態に関してミクログリアの形態に影響し得る。これは、本発明の TDP-43 結合分子によって実証される TDP-43 の病原性の低減に寄与し得る。

【0053】

本発明において、ヒト化結合分子、特にヒト化抗体またはその抗原結合性断片は TDP-43 を特異的に認識する。本発明のヒト化結合分子には、TDP-43 タンパク質に特異的なヒト化ポリペプチドおよび／またはヒト化抗体および／またはその抗原結合性断片が含まれる。「TDP-43 を特異的に認識する」は、本発明のヒト化結合分子が、他のエピトープに対するより大きな親和性で、特異的、一般的、かつ集合的に、TDP-43、特に TDP-43 の中のいくつかのエピトープに、特に TDP-43 タンパク質の 1 つまたは複数の病原性コンフォメーションの中の曝露された／接近可能なエピトープに、結合することを意味する。TDP-43 に特異的に結合する本発明のヒト化結合分子、特にヒト化ポリペプチド、より具体的にはヒト化抗体またはその抗原結合性断片は、ミスフォールドされた凝集 TDP-43 および非凝集生理的 TDP-43 を特異的に認識する。

30

【0054】

本発明のヒト化 TDP-43 結合分子、特にヒト化抗体またはその抗原結合性断片は、非凝集生理的 TDP-43 と凝集 TDP-43 の両方に結合する。即ち、本発明のヒト化 TDP-43 結合分子、特にヒト化抗体またはその抗原結合性断片は、可溶性のおよび凝集した TDP-43 にほぼ等しく良好に結合し得る。本発明のヒト化 TDP-43 結合分子、特にヒト化抗体またはその抗原結合性断片は、非凝集 TDP-43 と比較して、凝集 TDP-43 にほぼ等しく結合し得る。より具体的には、本発明のヒト化 TDP-43 結合分子、特にヒト化抗体またはその抗原結合性断片は、核の中の非凝集 TDP-43 と比較して、細胞質中の凝集 TDP-43 にほぼ等しく結合し得る。他の実施形態では、本発明のヒト化 TDP-43 結合分子、特にヒト化抗体またはその抗原結合性断片は、非凝集 TDP-43 と比較して、凝集 TDP-43 に優先的に結合し得るが、両方の種に結合する。より具体的には、本発明のヒト化 TDP-43 結合分子、特にヒト化抗体またはその

40

50

抗原結合性断片は、核の中の非凝集 TDP-43 と比較して、細胞質中の凝集 TDP-43 に優先的に結合し得るが、両方の種に結合する。あるいは、他の実施形態では、本発明のヒト化 TDP-43 結合分子、特にヒト化抗体またはその抗原結合性断片は、凝集 TDP-43 と比較して、非凝集 TDP-43 に優先的に結合し得るが、両方の種に結合する。より具体的には、本発明のヒト化 TDP-43 結合分子、特にヒト化抗体またはその抗原結合性断片は、細胞質中の凝集 TDP-43 と比較して、核の中の非凝集 TDP-43 に優先的に結合し得るが、両方の種に結合する。これらの結合特性は、例えば免疫組織化学を使用して実証し得る。

【0055】

一部の実施形態では、本発明は、ヒト化結合分子、特に TDP-43 に特異的に結合する本明細書に記載した本発明のヒト化抗体およびその抗原結合性断片、ならびに前頭側頭型認知症 (FTD)、筋萎縮性側索硬化症 (ALS)、アルツハイマー病 (AD)、パーキンソン病 (PD)、慢性外傷性脳症 (CTE)、および辺縁系優位型加齢性 TDP-43 脳症 (LATE) を含むがそれらに限らない、TDP-43 に関連する、特に TDP-43 凝集体に関連する疾患、障害、および／または異常、または TDP-43 タンパク質症を診断、防止、改善、および／または処置するためのこれらのヒト化結合分子の使用を包含する。本明細書で開示する方法および組成物は、前頭側頭型認知症 (FTD)、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) を含むがそれらに限らない、TDP-43 に関連する、特に TDP-43 凝集体に関連する疾患、障害、および／または異常、または TDP-43 タンパク質症の診断、防止、改善、および／または処置において用途を有する。好ましくは、TDP-43 に関連する、特に TDP-43 凝集体に関連する、疾患、障害、および／または異常、または TDP-43 タンパク質症を診断、防止、改善、および／または処置するためのこれらのヒト化結合分子の使用は、筋萎縮性側索硬化症 (ALS)、アルツハイマー病 (AD)、または前頭側頭型認知症 (FTD) を指向している。より好ましくは、使用は筋萎縮性側索硬化症 (ALS) を指向している。より好ましくは、使用はアルツハイマー病 (AD) を指向している。より好ましくは、使用は前頭側頭型認知症 (FTD) を指向している。

【0056】

別の実施形態では、ヒト化 TDP-43 結合分子、特に TDP-43 に特異的な本明細書に記載した本発明のヒト化抗 TDP-43 抗体またはその抗原結合性断片は、前頭側頭型認知症 (例えば染色体 9p に連鎖する、プログラニン (GRN) の突然変異を伴う、C9orf72 の突然変異を伴う、TARDBP の突然変異を伴う、バロシン含有タンパク質 (VCP) の突然変異を伴う、運動ニューロン疾患 (MND) を伴うかまたは伴わない散発性または家族性の FTD、大脳皮質基底核変性症、ユビキチン陽性 TDP-43 封入体を伴う前頭側頭葉変性 (FTLD) (FTLD-TDP)、嗜銀顆粒性疾患、ピック病、意味性亜型原発性進行性失語症 (svPPA)、行動性亜型 FTD (bvFTD)、非流暢性亜型原発性進行性失語症 (nfvPPA) 等)、筋萎縮性側索硬化症 (例えば散発性 ALS、TARDBP の突然変異を伴う、アングリオゲニン (ANG) の突然変異を伴う ALS)、アレクサンダー病 (AxD)、辺縁系優位型加齢性 TDP-43 脳症 (LATE)、慢性外傷性脳症 (CTE)、ペリー症候群、アルツハイマー病 (AD、散発性および家族性の形態の AD を含む)、ダウン症候群、家族性英国型認知症、ポリグルタミン病 (ハンチントン病および 3 型脊髄小脳失調 (SCA3、マチャドジョゼフ病としても知られている))、海馬硬化認知症およびミオパチー (散発性封入体筋炎、バロシン含有タンパク質 (VCP) の突然変異を伴う封入体ミオパチー；骨のパジェット病および前頭側頭型認知症も)、辺縁小胞を伴う咽頭筋ジストロフィー、ミオチリン (MYOT) 遺伝子の突然変異またはデスミン (DES) をコードする遺伝子の突然変異を伴う筋細線維ミオパチー、外傷性脳傷害 (TBI)、レヴィー小体認知症 (DLB)、またはパーキンソン病 (PD) から選択される、TDP-43 に関連する、特に TDP-43 凝集体に関連する、疾患、障害、および／または異常、または TDP-43 タンパク質症を検出、診断、および／またはモニターするために、試料と接触させる。

【0057】

一実施形態では、本発明は、試料中のTDP-43の存在を検出するための、ヒト化結合分子、特にTDP-43に特異的に結合する本明細書に記載した本発明のヒト化抗体またはその抗原結合性断片およびこれらのヒト化結合分子、特にこれらのヒト化抗体の使用を包含する。したがって、本発明のヒト化TDP-43結合分子、例えば本明細書に記載したヒト化抗TDP43抗体は、例えばELISA系アッセイまたは表面適合化アッセイを使用することによって、試料中のTDP-43の存在について、とりわけ臨床試料、特にヒトの血液、脳脊髄液(CSF)、間質液(ISF)および／または尿をスクリーニングするために使用することができる。ある状況では組織試料、例えば脳組織試料を使用してもよい。本発明の方法および組成物は、発症前の疾患の診断、ならびに／または疾患の進行および／もしくは治療有効性のモニタリングにおける用途も有する。一部の実施形態によれば、TDP-43に特異的なヒト化抗体(例えば完全長のヒト化抗体またはTDP-43に結合するヒト化抗体の断片もしくは誘導体)は、前頭側頭型認知症(例えば染色体9pに連鎖する、プログラヌリン(GRN)の突然変異を伴う、C9orf72の突然変異を伴う、TARDBPの突然変異を伴う、バロシン含有タンパク質(VCP)の突然変異を伴う、運動ニューロン疾患(MND)を伴うかまたは伴わない散発性または家族性のFTD、大脳皮質基底核変性症、ユビキチン陽性TDP-43封入体を伴う前頭側頭葉変性(FTLD)(FTLD-TDP)、嗜銀顆粒性疾患、ピック病、意味性亜型原発性進行性失語症(svPPA)、行動性亜型FTD(bvFTD)、非流暢性亜型原発性進行性失語症(nfvPPA)等)、筋萎縮性側索硬化症(例えば散発性ALS、TARDBPの突然変異を伴う、アンギオゲニン(ANG)の突然変異を伴うALS)、アレクサンダー病(AxD)、辺縁系優位型加齢性TDP-43脳症(LATE)、慢性外傷性脳症(CTE)、ペリー症候群、アルツハイマー病(AD、散発性および家族性の形態のADを含む)、ダウン症候群、家族性英国型認知症、ポリグルタミン病(ハンチントン病および3型脊髄小脳失調(SCA3、マチャドジョゼフ病としても知られている))、海馬硬化認知症およびミオパチー(散発性封入体筋炎、バロシン含有タンパク質(VCP)の突然変異を伴う封入体ミオパチー；骨のパジエット病および前頭側頭型認知症も)、辺縁小胞を伴う眼咽頭筋ジストロフィー、ミオチリン(MYOT)遺伝子の突然変異またはデスミン(DES)をコードする遺伝子の突然変異を伴う筋細線維ミオパチー、外傷性脳傷害(TBI)、レヴィー小体認知症(DLB)、またはパーキンソン病(PD)を検出、診断、および／またはモニターするために、試料(例えば血液、尿、脳脊髄液(CSF)、間質液(ISF)、または脳組織)と接触させる。本発明のヒト化TDP-43結合分子は、好適な対照と比較して、好適な試料、特に比較的高いTDP-43レベルを有する血液、脳組織、CSF、ISF、または尿等の臨床試料中のTDP-43を定量するために使用して、疾患および／またはより進行した疾患を指摘することができる。多くの好適な免疫アッセイフォーマットが既知である。即ち、高レベルのTDP-43を示す疾患を診断する目的で、方法(例えばELISA、MSD(メソスケールディスカバリー)、HTRF(均一時間分解蛍光(Homogeneous Time Resolved Fluorescence))、およびAlphaLISA)を実施してよい。あるいは、モニタリング目的で方法を実施してよい。経時的に増加するレベルは疾患の進行を指摘し得る。経時的に減少するレベルは疾患の退縮を指摘し得る。治療をモニターするため、特に特定の処置の有効性をモニターするためにも、方法を実施してよい。治療の成功は、処置に続くTDP-43のレベルの安定化または低下に関連して測定できる。TDP-43のレベルは、TDP-43タンパク質症患者由来のCSF試料において、健常な対象(健常対照)から採取した対照試料よりも高いことが、WO2020/234473の実施例12で実証されている。対照試料は、試験試料と並行して、または並行せずに、処理してよい。一部の実施形態では、対照レベルは、健常対象から同様にまたは同じ実験条件下で採取し、試験試料中で決定したレベルに対する比較対照として使用する一連の対照試料から決定される。本発明のヒト化結合分子を使用して好適な試料中のTDP-43を定量する方法は、療法(対象のさらなる処置のための)を選択するためにも使用してよい。即ち、個別化された処置方法が

10

20

30

40

50

想定される。試料は処置の前および後で採取される。その療法を使用した処置が処置の後で安定な、または好ましくは低下するTDP-43のレベルをもたらせば、その療法をその対象に対して選択してよい。その療法が処置の後で安定な、または好ましくは低下するTDP-43のレベルをもたらさなければ、その療法はその対象に対して選択されない。療法は、TDP-43タンパク質症の処置のための任意の好適な候補治療剤であってよい。好ましい実施形態では、療法は、典型的には本明細書に記載した医薬組成物の形態の、本発明のヒト化TDP-43結合分子を含む。

【0058】

本発明のヒト化TDP-43結合分子は、特定の型またはサブタイプへの疾患の分類のためにも使用し得る。即ち、

- a. TDP-43のレベルが好適な対照と比較して定量される本発明の方法を実施すること、
 - b. 適宜、プログラヌリン (GRN) の突然変異、C9orf72の突然変異、TARDBPの突然変異、アンジオゲニン (ANG) の突然変異、バロシン含有タンパク質 (VCP) の突然変異、ミオチリン (MYOT) 遺伝子の突然変異、デスミン (DES) をコードする遺伝子の突然変異を含むがこれらに限らない、対象由来の試料中の突然変異を同定すること、ならびに
 - c. TDP-43に関連する、特にTDP-43凝集体に関連する、疾患、障害、および／または異常、またはTDP-43タンパク質症を分類すること
- を含む、TDP-43に関連する、特にTDP-43凝集体に関連する、疾患、障害、および／または異常を分類するため、またはTDP-43タンパク質症を分類するための方法が提供される。

【0059】

同様に、TDP-43に関連する疾患、障害、および／または異常、またはTDP-43タンパク質症を有する対象から得られた試料中でTDP-43のレベルを定量する本発明の方法を実施することであって、そのレベルが、異なる型またはサブタイプの、TDP-43に関連する、特にTDP-43凝集体に関連する、疾患、障害、および／または異常、またはTDP-43タンパク質症を有する対象から採取された対照試料と比較される（即ち、対照レベルの代表的な組が目的の型またはサブタイプについて決定される）、実施すること、ならびに、その比較に基づいて、TDP-43に関連する、特にTDP-43凝集体に関連する、疾患、障害、および／または異常、またはTDP-43タンパク質症を分類することを含む、TDP-43に関連する、特にTDP-43凝集体に関連する、疾患、障害、および／または異常を分類するため、またはTDP-43タンパク質症を分類するための方法が提供される。即ち、分類は、試験試料と対照試料の1つまたは複数との最も近い一致を決定することに基づいている。これらの方法は、プログラヌリン (GRN) の突然変異、C9orf72の突然変異、TARDBPの突然変異、アンジオゲニン (ANG) の突然変異、バロシン含有タンパク質 (VCP) の突然変異、ミオチリン (MYOT) 遺伝子の突然変異、デスミン (DES) をコードする遺伝子の突然変異を含むがこれらに限らない、試料中の突然変異を同定することをさらに含んでもよく、同定された突然変異は、TDP-43に関連する、特にTDP-43凝集体に関連する、疾患、障害、および／または異常、またはTDP-43タンパク質症を分類するためにも使用される。疑いを避けるため、試料中の突然変異の同定は、任意の好適な方法によって、例えば試料中の核酸分子の核酸シーケンシングに基づいて、実施してよい。試料は、TDP-43のレベルが決定された試料とは分離され区別されてよいが、同じ対象からの試料である。

【0060】

他の実施形態では、本発明は、TDP-43に関連する、特にTDP-43凝集体に関連する、疾患、障害、および／または異常、またはTDP-43タンパク質症を防止、改善、および／または処置する方法を提供する。一実施形態によれば、本発明の方法は、有効濃度のヒト化結合分子、特に本明細書に記載したTDP-43に特異的な本発明のヒト

化抗体（例えば完全長の抗体またはTDP-43に結合する抗体の断片もしくは誘導体）を対象に投与することを含む。別の実施形態では、本発明はTDP-43タンパク質症を防止、改善、および／または処置する方法を提供する。一部の実施形態によれば、ヒト化結合分子、特にTDP-43に特異的な本明細書に記載した本発明のヒト化抗体またはその抗原結合性断片は、前頭側頭型認知症（FTD）または筋萎縮性側索硬化症（ALS）を処置、改善、および／または防止するために投与される。別の実施形態では、ヒト化結合分子、特にTDP-43に特異的な本明細書に記載した本発明のヒト化抗体またはその抗原結合性断片は、前頭側頭型認知症（FTD）、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、アルツハイマー病（AD、散発性および家族性の形態のADを含む）、パーキンソン病（PD）、慢性外傷性脳症（CTE）、および辺縁系優位型加齢性TDP-43脳症（LATE）から選択される神経変性疾患を、防止、改善、および／または処置するために投与される。

10

【0061】

別の実施形態では、ヒト化結合分子、特にTDP-43に特異的な本明細書に記載した本発明のヒト化抗体またはその抗原結合性断片は、前頭側頭型認知症（例えば染色体9pに連鎖する、プログラニン（GRN）の突然変異を伴う、C9orf72の突然変異を伴う、TARDBPの突然変異を伴う、バロシン含有タンパク質（VCP）の突然変異を伴う、運動ニューロン疾患（MND）を伴うかまたは伴わない散発性または家族性のFTD、大脳皮質基底核変性症、ユビキチン陽性TDP-43封入体を伴う前頭側頭葉変性（FTLD）（FTLD-TDP）、嗜銀顆粒性疾患、ピック病、意味性亜型原発性進行性失語症（svPPA）、行動性亜型FTD（bvFTD）、非流暢性亜型原発性進行性失語症（nfvPPA）等）、筋萎縮性側索硬化症（例えば散発性ALS、TARDBPの突然変異を伴う、アンギオゲニン（ANG）の突然変異を伴うALS）、アレクサンダー病（AxD）、辺縁系優位型加齢性TDP-43脳症（LATE）、慢性外傷性脳症（CTE）、ペリー症候群、アルツハイマー病（AD、散発性および家族性の形態のADを含む）、ダウン症候群、家族性英国型認知症、ポリグルタミン病（ハンチントン病および3型脊髄小脳失調（SCA3、マチャドジョゼフ病としても知られている））、海馬硬化認知症およびミオパチー（散発性封入体筋炎、バロシン含有タンパク質（VCP）の突然変異を伴う封入体ミオパチー；骨のパジエット病および前頭側頭型認知症も）、辺縁小胞を伴う眼咽頭筋ジストロフィー、ミオチリン（MYOT）遺伝子の突然変異またはデスミン（DES）をコードする遺伝子の突然変異を伴う筋細線維ミオパチー、外傷性脳傷害（TBI）、レヴィー小体認知症（DLB）、またはパーキンソン病（PD）から選択される疾患を防止、改善、および／または処置するために投与される。

20

30

【発明を実施するための形態】

【0062】

X. 定義

「抗原結合性分子」は、本明細書で使用される場合、抗原、特にTDP-43に特異的または選択的に結合することができる任意の分子である。結合分子は抗体もしくはその断片を含むか、抗体もしくはその断片である。抗TDP-43結合分子は、特定の認識部位、即ちエピトープでTDP-43タンパク質に結合する分子、例えば抗TDP-43抗体またはその断片である。即ち、本発明の抗原結合分子は、配列番号1のアミノ酸配列の中のエピトープに結合する。本明細書で提供する抗原結合性分子、特に抗体またはその抗原結合性断片は、完全長のTDP-43を認識する。その他の抗TDP-43結合性分子は、多価分子、多特異性分子（例えばダイアボディ）、融合分子、アプタマー、アビマー、またはその他の天然に存在するもしくは組換えで作出された分子も含み得る。本発明で有用な実例となる抗原結合性分子は、抗体様分子を含む。抗体様分子は標的分子に結合することによって機能を呈し得る分子であり（例えばCurrent Opinion in Biotechnology 2006, 17:653-658; Current Opinion in Biotechnology 2007, 18:1-10; Current Opinion in Structural Biology 1997, 7:463-469; Protein Science 2006, 15:14-27を参照）、例えばDARPin s（WO2002/020565）、

40

50

A f f i b o d y (W O 1 9 9 5 / 0 0 1 9 3 7) 、 A v i m e r (W O 2 0 0 4 / 0 4 4 0 1 1 ; W O 2 0 0 5 / 0 4 0 2 2 9) 、 A d n e c t i n (W O 2 0 0 2 / 0 3 2 9 2 5) 、 お よ び f y n o m e r s (W O 2 0 1 3 / 1 3 5 5 8 8) を 含 む。

【 0 0 6 3 】

本明細書で使用される用語「抗 T D P - 4 3 抗体」および「T D P - 4 3 に結合する抗体」、または単に「抗体」は、T D P - 4 3 を標的とする診断薬および／または治療剤として有用なために十分な親和性をもって T D P - 4 3 に結合することができる抗体を意味する。一般に、用語「抗体」は、本明細書で最も広い意味で使用され、所望の抗原結合活性を呈する限り、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多特異性抗体（例えば二特異性または二パラトープ性の抗体）、完全ヒト抗体、および抗体断片を含むがそれらに限らない種々の抗体構造を包含する。本発明の抗体は、キメラ抗体、組換え抗体、組換え抗体の抗原結合性断片、ヒト化抗体、またはファージの表面上に呈示される抗体もしくはキメラ抗原受容体（C A R）T細胞の表面上に呈示される抗体であってもよい。

10

【 0 0 6 4 】

抗体の「抗原結合性断片」または「その機能性断片」は、無傷のまたは完全長の抗体の一部を含み、無傷のまたは完全長の抗体が結合する抗原に結合する（完全にまたは部分的に）、無傷のまたは完全長の抗体以外の分子を指す。抗原断片の例には、それだけに限らないが、F v、F a b、F a b'、F a b' - S H、F (a b') 2；ダイアボディ；直鎖状抗体；一本鎖抗体分子（例えば s c F v）、および抗体断片から形成された多特異性抗体が含まれる。抗原結合性断片は、それらが誘導された元の抗体の結合機能を保持しているので、「機能性断片」とも称される。

20

【 0 0 6 5 】

タンパク質の定義された領域の中の「エピトープに結合する抗体」は、そのタンパク質に結合するためにその領域の中の1つまたは複数のアミノ酸の存在を必要とする抗体である。

【 0 0 6 6 】

特定の実施形態では、タンパク質の定義された領域の中の「エピトープに結合する抗体」は、そのタンパク質のアミノ酸が突然変異し、得られる変更されたタンパク質（例えばそのエピトープを含む変更されたタンパク質）に対する抗体の結合が変更されていないタンパク質への結合の少なくとも20%であることが決定される突然変異解析によって同定される。一部の実施形態では、タンパク質の定義された領域の中の「エピトープに結合する抗体」は、そのタンパク質のアミノ酸が突然変異し、得られる変更されたタンパク質（例えばそのエピトープを含む変更されたタンパク質）に対する抗体の結合が変更されていないタンパク質への結合の少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、または少なくとも90%であることが決定される突然変異解析によって同定される。特定の実施形態では、抗体の結合は、F A C S、W B、または好適な結合アッセイ、例えば E L I S A によって決定される。

30

【 0 0 6 7 】

本発明の文脈で使用される用語「～に結合する」は、少なくとも2つの「抗原相互作用部位」の相互の結合（相互作用）を定義する。用語「抗原相互作用部位」は、本発明に従えば、ポリペプチドのモチーフ、即ち T D P - 4 3 の特定の抗原または抗原の特定の群との特定の相互作用の能力を示す本発明の抗体または抗原結合性断片の一部を定義する。前記結合／相互作用は、「特異的認識」を定義するとも理解される。用語「特異的に認識する」は、本発明に従えば、抗体が本明細書で定義する T D P - 4 3 の少なくとも2つのアミノ酸と特異的に相互作用／結合できる、特にヒト T D P - 4 3（配列番号1）のアミノ酸残基397～411内の少なくとも2つのアミノ酸と相互作用／結合できる、さらにより具体的には、ヒト T D P - 4 3（配列番号1）のアミノ酸残基400～405、400～406、または400～412内の少なくとも2つのアミノ酸と相互作用／結合できることを意味する。

40

【 0 0 6 8 】

50

用語「汎TDP-43抗体」は、モノマーTDP-43、オリゴマーTDP-43、翻訳後修飾されたTDP-43（例えばリン酸化、ユビキチン化、アセチル化、スモイル化、および／またはメチル化された）、凝集TDP-43、および切断されたTDP-43を含む、ミスフォールドされた凝集TDP-43および非凝集生理的TDP-43に結合する抗体を意味する。

【0069】

本発明に従って使用される用語「特異的相互作用」は、本発明の抗体またはその抗原結合性断片が、同様の構造の（ポリ）ペプチドと交差反応しないか、本質的に交差反応しないことを意味する。したがって、本発明の抗体またはその抗原結合性断片は、ヒトTDP-43（配列番号1）のアミノ酸残基397～411内の特定のアミノ酸配列によって形成されるTDP-43の構造と特異的に結合／相互作用し、より具体的にはヒトTDP-43（配列番号1）のアミノ酸残基400～405、400～406、または400～412内の特定のアミノ酸配列によって形成されるTDP-43の構造と結合／相互作用する。

【0070】

抗原結合性分子、特に検討中の抗体またはその抗原結合性断片のパネルの交差反応性は、例えば抗体またはその抗原結合性断片の前記パネルの、目的の（ポリ）ペプチドならびに多少（構造的および／または機能的に）緊密に関係するいくつかの（ポリ）ペプチドとの結合を、従来の条件下で評価することによって試験することができる（例えばHarlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1988) およびUsing *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1999)を参照）。本明細書で定義するTDP-43の一定の構造、例えば本明細書で定義するTDP-43の特定のエピトープまたは（ポリ）ペプチド／タンパク質に結合するが、同じTDP-43の他のエピトープまたは（ポリ）ペプチドのいずれとも結合しないか本質的に結合しないコンストラクト（即ち抗体、その抗原結合性断片等）のみが、目的のエピトープまたは（ポリ）ペプチド／タンパク質に特異的であると考えられ、本明細書で提供する方法によるさらなる研究のために選択される。これらの方法はとりわけ、構造的および／または機能的に緊密に関連する分子との結合研究、遮断および競合研究を含み得る。これらの結合研究には、FACS解析、表面プラスモン共鳴（SPR、例えばBIACORE（商標）による）、分析的遠心分離、等温滴定熱量計、蛍光異方性、蛍光分光法、または放射標識リガンド結合アッセイも含まれる。

【0071】

したがって、特異性は当技術分野で既知の方法および本明細書に記載した方法によって、実験的に決定することができる。そのような方法には、それだけに限らないが、ウェスタンブロット、ELISA、RIA、ECL、IRMA試験、およびペプチドスクリーンが含まれる。

【0072】

本明細書で使用される用語「モノクローナル抗体」は、実質的に均一の抗体の集団から得られる抗体を意味し、即ちその集団を構成する個別の抗体は、起こり得る少量で存在するかもしれない天然に存在する突然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、単一の抗原部位を指向している。モノクローナル抗体は、ハイブリドーマの培養によって合成することができ、他の免疫グロブリンによって本質的に汚染されていないという点で有利である。修飾された「モノクローナル」は、抗体の実質的に均一な集団の中にあり、いずれの特定の方法による抗体の産生を必要とすると解釈すべきでないという抗体の性質を示している。上述のように、本発明に従って使用されるモノクローナル抗体は、Kohler, *Nature* 256 (1975), 495によって記載されたハイブリドーマ法によって作製してよい。

【0073】

本明細書で使用される用語「ポリクローナル抗体」は、1つまたは複数の他の非同一の

抗体の中でまたはその存在下に産生された抗体を意味する。一般に、ポリクローナル抗体は、非同一の抗体を産生するいくつかの他のBリンパ球の存在下にBリンパ球から産生される。通常、ポリクローナル抗体は免疫化された動物から直接に得られる。

【0074】

本明細書で使用される用語「完全にヒトの抗体」は、ヒト免疫グロブリンタンパク質配列のみを含む抗体を意味する。完全にヒトの抗体は、マウスで、マウス細胞中で、またはマウス細胞に由来するハイブリドーマ中で産生されれば、マウス炭水化物鎖を含んでもよい。同様に、「マウス抗体」または「ムリン抗体」は、マウス／ムリン免疫グロブリンタンパク質配列のみを含む抗体を意味する。あるいは、「完全にヒトの抗体」は、ラットで、ラット細胞中で、ラット細胞に由来するハイブリドーマ中で産生されれば、ラット炭水化物鎖を含んでもよい。同様に、用語「ラット抗体」は、ラット免疫グロブリンタンパク質配列のみを含む抗体を意味する。完全にヒトの抗体は、例えば完全にヒトの抗体の産生およびスクリーニングを可能にする広く使用されているスクリーニング技術であるファージディスプレイによっても産生してよい。本発明の文脈でファージ抗体も使用できる。ファージディスプレイ法は、例えば米国特許第5,403,484号、第5,969,108号、および第5,885,793号に記載されている。完全にヒトの抗体の開発を可能にする別の技術には、マウスハイブリドーマ技術の改変が含まれる。マウスは、マウス自身の遺伝子の代わりにヒト免疫グロブリン遺伝子座を含むようにトランスジェニック化される（例えば米国特許第5,877,397号を参照）。

【0075】

用語「キメラ抗体」は、別のヒトまたは非ヒト種（例えばマウス、ウマ、ウサギ、イヌ、ウシ、ニワトリ）由来の抗体領域（例えば定常領域）と融合またはキメラ化した本発明の可変領域を含む抗体を意味する。

【0076】

用語「抗体」は、組換えヒト抗体、異種抗体、およびヘテロハイブリッド抗体にも関する。用語「組換え（ヒト）抗体」には、組換え手段によって調製、発現、作出、または単離された全てのヒト配列抗体、例えばヒト免疫グロブリン遺伝子についてトランスジェニックな動物（例えばマウス）から単離された抗体；宿主細胞にトランスフェクトされた組換え発現ベクターを使用して発現された抗体、組換えコンビナトリアルヒト抗体ライブラリーから単離された抗体、またはヒト免疫グロブリン遺伝子配列の他のDNA配列へのスプライシングを含む他の任意の手段によって調製、発現、作出、または単離された抗体が含まれる。そのような組換えヒト抗体は、ヒト生殖細胞系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域および定常領域（存在すれば）を有する。しかし、そのような抗体は、インビトロの突然変異生成（または、ヒトIg配列についてトランスジェニックな動物が使用される場合にはインビボの体細胞突然変異生成）の対象となり、したがって、組換え抗体のVH領域およびVL領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖細胞系列のVH配列およびVL配列に由来し、これらに関連するが、インビボでヒト抗体生殖細胞系列のレパートリー中に天然には存在しない配列である。

【0077】

「異種抗体」は、そのような抗体を産生するトランスジェニックな非ヒト生命体に関連して定義される。この用語は、トランスジェニックな非ヒト動物から構成されない生命体で見出される抗体に対応するアミノ酸配列またはコードする核酸配列を有し、一般にトランスジェニックな非ヒト動物の種以外の種に由来する抗体を意味する。

【0078】

用語「ヘテロハイブリッド抗体」は、異なる生命体起源の軽鎖および重鎖を有する抗体を意味する。例えば、マウス軽鎖と併せてヒト重鎖を有する抗体はヘテロハイブリッド抗体である。ヘテロハイブリッド抗体の例には、キメラ抗体およびヒト化抗体が含まれる。

【0079】

本発明は、具体的にはヒト化抗体に関する。非ヒト（例えばマウスまたはウサギ）抗体の「ヒト化」形態は、キメラ免疫グロブリン、即ち非ヒト免疫グロブリンに由来する最小

10

20

30

40

50

の配列を含む免疫グロブリン鎖またはその断片（例えば F v、F a b、F a b'、F (a b')₂ または抗体のその他の抗原結合性サブ配列）である。ヒト化抗体は、レシピエントの相補性決定領域（C D R）由来の残基が所望の特異性、親和性、および能力を有するマウス、ラット、またはウサギ等の非ヒト種（ドナー抗体）の C D R 由来の残基によって置き換えられたヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）であることが多い。一部の例では、ヒト免疫グロブリンの F v フレームワーク残基が、対応する非ヒト残基で置き換えられる。即ち、本明細書で I G H V 1-3 V H フレームワーク配列等の特定のヒトフレームワーク配列に言及する場合には、これは単に生殖細胞系列配列だけでなく、突然変異したバージョンも包含することを意図している。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体にもインポートされた C D R またはフレームワーク配列にも見出されない残基を含んでよい。これらの改変は、抗体の性能をさらに改良し、最適化するために行われる。一般に、ヒト化抗体は、C D R 領域の全てまたは実質的に全てが非ヒト免疫グロブリンのそれらの領域に対応し、F R 領域の全てまたは実質的に全てがヒト免疫グロブリンのコンセンサス配列である、少なくとも 1 つ、典型的には 2 つの可変ドメインの実質的に全てを含むことになる。ヒト化抗体は、免疫グロブリン定常領域（F c）、典型的にはヒト免疫グロブリンの定常領域の少なくとも一部も含み得る。さらなる詳細については、Jones et al., Nature 321 (1986), 522-525; Reichmann Nature 332 (1998), 323-327、および Presta Curr Op Struct Biol 2 (1992), 593-596 を参照されたい。特異的な突然変異を含めて本発明に従って採用できる抗体のヒト化の方法の説明については、実施例 1 が参照され得る。

10

20

【0080】

抗体のヒト化のためのよく知られた方法は C D R グラフト化を含み、ここでは非ヒト「ドナー」抗体由来の機能性抗原結合性部位が、ヒト「アクセプター」抗体にグラフト化される。C D R グラフト化法は当技術分野で既知であり、例えば米国特許第 5, 225, 539 号、第 5, 693, 761 号、および第 6, 407, 213 号に記載されている。別の関連する方法は、遺伝子の再配置および遺伝子の変換を受けることができる 1 つまたは複数のヒト化免疫グロブリン遺伝子座を含むように遺伝子操作されたトランスジェニック動物からのヒト化抗体の産生である（例えば米国特許第 7, 129, 084 号を参照）。

【0081】

したがって、本発明の文脈において、用語「抗体」は、完全な免疫グロブリン分子ならびにそのような免疫グロブリン分子の一部（即ち「その抗原結合性断片」）に関する。さらに、この用語は、上で論じたように、改変および／または変更された抗体分子に関する。この用語はまた、組換えまたは合成によって生成／合成された抗体に関する。この用語はまた、無傷の抗体ならびにその抗体断片、例えば分離された軽鎖および重鎖、F a b、F v、F a b'、F a b'-S H、F (a b')₂ に関する。用語「抗体」はまた、完全にヒトの抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、C D R グラフト化抗体および抗体コンストラクト、例えば一本鎖 F v (s c F v) または抗体融合タンパク質を含むがこれらに限定されない。

30

【0082】

「一本鎖 F v」または「s c F v」抗体断片は、本発明の文脈では抗体の V H ドメインおよび V L ドメインを有し、これらのドメインは、単一のポリペプチド鎖で存在している。一般に、s c F v ポリペプチドは V H ドメインと V L ドメインとの間にポリペプチドリンカーをさらに含み、それにより s c F v は抗原結合のための望ましい構造を形成することができる。一本鎖抗体の産生のために記載された手法は、例えば Plueckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, Rosenberg and Moore eds. Springer-Verlag, N.Y. (1994), 269-315 に記載されている。

40

【0083】

本明細書で使用される「F a b 断片」は、1 つの軽鎖ならびに 1 つの重鎖の C H 1 領域および可変領域からなっている。F a b 分子の重鎖は別の重鎖分子とジスルフィド結合を形成することができない。

50

【0084】

「Fc」領域は、抗体のCH2ドメインおよびCH3ドメインを含む2つの重鎖断片を含む。2つの重鎖断片は、2つ以上のジスルフィド結合およびCH3ドメインの疎水性相互作用によって共に保持されている。

【0085】

「Fab'」断片は、1つの軽鎖ならびにVHドメインおよびCH1ドメインおよびCH1ドメインとCH2ドメインとの間の領域をも含む1つの重鎖の一部を含み、それにより、2つのFab'断片の2つの重鎖の間に鎖間ジスルフィド結合を形成してF(ab')₂分子を形成することができる。

【0086】

「F(ab')₂断片」は、2つの軽鎖ならびにCH1ドメインとCH2ドメインとの間の定常領域の一部を含む2つの重鎖を含み、それにより、2つの重鎖の間に鎖間ジスルフィド結合が形成される。即ち、F(ab')₂断片は2つの重鎖の間のジスルフィド結合によって共に保持された2つのFab'断片からなっている。

【0087】

「Fv領域」は、重鎖および軽鎖の両方からの可変領域を含むが、定常領域を欠いている。

【0088】

本発明に従って採用されるヒト化抗体、ヒト化抗体コンストラクト、ヒト化抗体断片、ヒト化抗体誘導体（全てIg由来）またはそれらの対応する免疫グロブリン鎖は、当技術分野で既知の従来の手法を使用して、例えばアミノ酸の欠失、挿入、置換、付加、および／または組換えおよび／または当技術分野で既知のその他の任意の改変を単独でまたは組み合わせて、さらに改変することができる。免疫グロブリン鎖のアミノ酸配列の根底にあるDNA配列においてそのような改変を導入する方法は当業者には周知である。例えばSambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual; Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd edition (1989) and 3rd edition (2001)を参照されたい。用語「Ig由来ドメイン」は特に、少なくとも1つのCDRを含む（ポリ）ペプチドコンストラクトに関する。引用したIg由来ドメインの断片または誘導体は、上記の抗体分子の部分であり、および／または化学／生化学的もしくは分子生物学的な方法によって改変される（ポリ）ペプチドを定義する。対応する方法は当技術分野で既知であり、とりわけ実験室マニュアルに記載されている（Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual; Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd edition (1989)および3rd edition (2001); Gerhardt et al., Methods for General and Molecular Bacteriology ASM Press (1994); Lefkovits, Immunology Methods Manual: The Comprehensive Sourcebook of Techniques; Academic Press (1997); Golemis, Protein-Protein Interactions: A Molecular Cloning Manual Cold Spring Harbor Laboratory Press (2002)を参照されたい)。

【0089】

本明細書で採用される用語「CDR」は「相補性決定領域」に関し、これは当技術分野で周知である。CDRは、前記分子の特異性を決定し、特異的なリガンドと接触する免疫グロブリンの部分である。CDRは分子の最も可変性の部分であり、これらの分子の多様性に寄与する。それぞれのVドメインに3つのCDR領域、即ちCDR1、CDR2、およびCDR3が存在する。CDR-Hは可変重鎖のCDR領域を表し、CDR-Lは可変軽鎖のCDR領域に関連する。VHは可変重鎖を意味し、VLは可変軽鎖を意味する。Ig由来の領域のCDR領域は、Kabat “Sequences of Proteins of Immunological Interest”, 5th edit. NIH Publication no. 91-3242 U.S. Department of Health and Human Services (1991)に記載されたように決定し得る。本明細書で提供するCDR配列は、Kabatに従って定義している。しかし、CDR配列が任意の有用な同定／番号付けスキームに従って定義される結合分子を包含することを本発明が意図していることは、当業者には理解されよう。例えば、CDRを定義するために、Choth

10

20

30

40

50

i a (Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins. Chothia C, Lesk AM. J Mol Biol. 1987 Aug 20; 196(4):901-17)、I M G T (IMGT, the international ImmunoGeneTics database. Giudicelli V, Chaume D, Bodmer J, Mueller W, Busin C, Marsh S, Bontrop R, Marc L, Malik A, Lefranc MP. Nucleic Acids Res. 1997 Jan 1; 25(1):206-11 および Unique database numbering system for immunogenetic analysis. Lefranc MP. Immunol Today. 1997 Nov; 18(11):509)、M a c C a l l u m (MacCallum RM, Martin AC, Thornton JM, J Mol Biol. 1996 Oct 11; 262(5):732-45) および M a r t i n (Abhinandan KR, Martin ACR. Analysis and improvements to Kabat and structurally correct numbering of antibody variable domains. Mol Immunol. (2008) 45:3832-9. 10.1016/j.molimm.2008.05.022) の番号付けスキームを採用してもよい。

10

【0090】

したがって、本発明の文脈において、本明細書で上に記載したヒト化抗体分子は、完全な抗体（免疫グロブリン、I g G 1、I g G 2、I g A 1、I g G A 2、I g G 3、I g G 4、I g A、I g M、I g D、またはI g E等）、F (a b) -、F a b ' - S H -、F v -、F a b ' -、F (a b ') 2 -断片、キメラ抗体、C D Rグラフト化抗体、完全にヒトの抗体、二価抗体コンストラクト、抗体融合タンパク質、合成抗体、二価一本鎖抗体、三価一本鎖抗体、および多価一本鎖抗体からなる群から選択される。

【0091】

20

「ヒト化アプローチ」は当技術分野で周知であり、特に抗体分子、例えばI g由来分子について記載されている。用語「ヒト化」は、非ヒト抗体に由来する配列のいくつかの部分を含む非ヒト（例えばマウス）抗体またはその断片のヒト化された形態（F v、F a b、F a b '、F (a b ')、s c F v、または抗体のその他の抗原結合性部分配列）を意味する。ヒト化抗体は、ヒト免疫グロブリンの相補性決定領域（C D R）由来の残基が所望の結合特異性、親和性、および能力を有するマウス、ラット、またはウサギ等の非ヒト種のC D R由来の残基によって置き換えられたヒト免疫グロブリンを含む。一般に、ヒト化抗体は、C D R領域の全てまたは実質的に全てが非ヒト免疫グロブリンのC D R領域に対応し、F R領域の全てまたは実質的に全てがヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のF R領域である、少なくとも1つ、一般には2つの可変ドメインの全てを実質的に含むことになる。ヒト化抗体は、最適には免疫グロブリン定常領域（F c）の少なくとも一部、典型的にはヒト免疫グロブリンの一部を含むことになる。とりわけ、Jones et al., Nature 321 (1986), 522-525, Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2 (1992), 593-596を参照されたい。非ヒト抗体をヒト化する方法は当技術分野で周知である。一般には、ヒト化抗体は、非ヒトであって元の抗体の結合活性を保持している供給源から導入された1つまたは複数のアミノ酸を有している。抗体／抗体分子をヒト化する方法は、Jones et al., Nature 321 (1986), 522-525; Reichmann et al., Nature 332 (1988), 323-327; および Verhoeyen et al., Science 239 (1988), 1534-1536にさらに詳細に述べられている。ヒト化抗体の具体例、例えばE p C A Mを指向する抗体は当技術分野で周知である（例えばLoBuglio, Proceedings of the American Society of Clinical Oncology Abstract (1997), 1562 および Khor, Proceedings of the American Society of Clinical Oncology Abstract (1997), 847を参照）。

30

40

【0092】

したがって、本発明の文脈において、ヒト化され、医薬組成物において成功裡に採用することができる抗体分子またはその抗原結合性断片が提供される。

【0093】

本発明のヒト化抗体またはその抗原結合性断片の特異性は、上で定義したヒト化抗体または抗原結合性断片のアミノ酸配列の性質によってだけでなく、抗体が結合できるエピトープによって表現される。即ち、本発明は、一実施形態では、本発明の抗体と同じエピトープを認識する、抗ミスフォールドヒト化T D P - 4 3抗体またはその抗原結合性断片に

50

関する。

【0094】

エピトープはTDP-43タンパク質に含まれるが、その分解産物にも含まれ、または化学合成されたペプチドであってもよいことは、当業者には理解され得る。アミノ酸の位置は、TDP-43タンパク質の配列中の対応するアミノ酸配列の位置を示すために指示されるのみである。本発明は、エピトープを含む全てのペプチドを包含する。ペプチドは、長さ100アミノ酸を超えるポリペプチドの一部であってよく、または100未満、好ましくは50未満、より好ましくは25アミノ酸未満、さらにより好ましくは16アミノ酸未満の小さなペプチドであってよい。そのようなペプチドのアミノ酸は、天然のアミノ酸もしくは非天然のアミノ酸（例えばベータアミノ酸、ガンマアミノ酸、D-アミノ酸）、またはそれらの組合せであってよい。さらに、本発明は、エピトープのそれぞれのレトロインベルソペプチドを包含し得る。ペプチドは非結合でも結合してもよい。これは、例えば小分子（例えば薬物または蛍光物質）に、高分子量ポリマー（例えばポリエチレングリコール（PEG）、ポリエチレンイミン（PEI）、ヒドロキシプロピルメタクリレート（HPMA）、その他）に、またはタンパク質、脂肪酸、糖部分に結合していてもよく、または膜に挿入されてもよい。

10

【0095】

問題の抗体と本発明の抗体が同じエピトープを認識するか否かを試験するため、以下の競合研究が行われる。3MOI（感染多重度）で感染させたVer o細胞を、20時間後に競合相手としての種々の濃度の問題の抗体とともに1時間、インキュベートする。第2のインキュベーション工程で、本発明の抗体を100nMの一定濃度で添加し、本発明の抗体の定常ドメインに対する蛍光標識抗体を使用するフローサイトメトリーによってその結合を検出する。問題の抗体の濃度に対して反比例（逆比例）する結合は、両方の抗体が同じエピトープを認識していることを示す。しかし、使用できる他の多くのアッセイが当技術分野で知られている。

20

【0096】

本発明は、TDP-43の天然のポリペプチドおよび組換えポリペプチドに対する特異的抗体の産生にも関する。この産生は、例えばマウス等の動物の免疫化に基づいている。しかし、抗体／抗血清の産生のための他の動物も本発明の中で想定される。例えば、モノクローナル抗体およびポリクローナル抗体を、ウサギ、マウス、ヤギ、ロバ、その他によって産生することができる。対応して選択されるTDP-43のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを適切なベクターにサブクローニングすることができ、組換えポリペプチドは発現が可能な生命体、例えば細菌の中で発現される。即ち、発現された組換えタンパク質をマウスに腹腔内注射し、得られる特異的抗体を、例えば心臓内血液穿刺によって提供されるマウス血清から得ることができる。本発明は、添付した実施例で例示するDNA／RNAワクチン戦略を使用することによる、天然のポリペプチドおよび組換えポリペプチドに対する特異的抗体の産生も想定している。DNAワクチン戦略は当技術分野で周知であり、遺伝子銃またはジェット注射、および筋肉内または皮内の注射によるリポソーム媒介デリバリーを包含する。即ち、TDP-43のポリペプチドまたはタンパク質またはエピトープ、特に本明細書で提供する抗体のエピトープに対する抗体は、TDP-43の所望のポリペプチドまたはタンパク質またはエピトープ、特に配列番号1のアミノ酸残基397～411内にある、より具体的には配列番号1のアミノ酸残基400～405、400～406、または400～412内にある本発明の抗体のエピトープを発現するベクターを筋肉内に直接注射して動物を直接免疫化することによって得ることができる。得られる特異的抗体の量は、本明細書でまた以下に記載するELISAを使用して定量することができる。抗体の産生のためのさらなる方法は当技術分野で周知である。例えばHarlow and Lane, "Antibodies, A Laboratory Manual", CSH Press, Cold Spring Harbor, 1988を参照されたい。

30

40

【0097】

即ち、指定したアッセイ条件の下で、特定した抗体とTDP-43の対応するエピトー

50

ブは相互に結合し、試料中に存在する他の成分とは有意な量で結合しない。そのような条件下での標的アナライトへの特異的結合は、特定の標的アナライトへの特異性のために選択される結合部分を必要とし得る。特定の抗原と特異的に反応する抗体を選択するために、種々の免疫アッセイフォーマットを使用することができる。例えば、アナライトと特異的に反応するモノクローナル抗体を選択するために、固相 E L I S A 免疫アッセイが日常的に使用されている。特異的免疫反応性を決定するために使用できる免疫アッセイのフォーマットおよび条件の説明については、Shepherd および Dean (2000), Monoclonal Antibodies: A Practical Approach, Oxford University Press および／または Howard および Bethell を参照されたい。典型的には、特異的または選択的な反応は、ノイズへのバックグラウンドシグナルの少なくとも 2 倍、より典型的にはバックグラウンドの 10 ～ 100 倍を超えることになる。当業者は、新規なポリペプチドに対する特異的結合分子を提供し、これを生成する立場にある。特異的結合アッセイについては、望ましくない交差反応性を避けるために、これを容易に採用することができ、例えば既知の方法によってポリクローナル抗体を容易に精製および選択することができる (Shepherd および Dean、同上を参照)。

10

【0098】

抗体の「クラス」は、その重鎖が有する定常ドメインまたは定常領域の型を意味する。抗体には 5 つの主要なクラス、即ち I g A、I g D、I g E、I g G、および I g M があり、これらのいくつかはサブクラス (アイソタイプ)、例えば I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1、および I g A 2 にさらに分割される。免疫グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ α 、 δ 、 ϵ 、 γ 、および μ と呼ばれる。

20

【0099】

ある特定の実施形態では、本明細書で提供する抗体のアミノ酸配列変異体が意図される。例えば、抗体の結合親和性および／またはその他の生物学的特性を改善することが望ましい。抗体のアミノ酸配列変異体は、抗体をコードするヌクレオチド配列に適切な改変を導入することまたはペプチド合成によって調製することができる。そのような改変には、例えば抗体のアミノ酸配列の中の残基の欠失、および／または挿入および／または置換が含まれる。最終コンストラクトが所望の特性、例えば抗原結合性を有していることを前提として、最終コンストラクトに到達するために欠失、挿入、および置換の任意の組合せを行うことができる。

30

【0100】

ある特定の実施形態では、1 つまたは複数のアミノ酸置換を有する抗体変異体が提供される。置換突然変異生成のための目的の部位には、C D R および F R が含まれる。保存的置換を、「好ましい置換」の見出しの下に表 1 に示す。より実質的な変更を、「例示的な置換」の見出しの下に表 1 に提供し、アミノ酸側鎖のクラスを参照して以下にさらに記載する。アミノ酸置換を目的の抗体に導入し、所望の活性、例えば抗原結合性の保持／改善、免疫原性の低下、または A D C C もしくは C D C の改善について産物をスクリーニングする。

【0101】

40

50

【表 1】

表 1

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

10

20

30

40

【0102】

アミノ酸は共通の側鎖の特性に従って分類することができる。

- (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) 鎖の配向に影響する残基：Gly、Pro；
- (6) 芳香族：Trp、Tyr、Phe

【0103】

非保存的置換は、これらのクラスの1つのメンバーを別のクラスに交換することを必要とする。

50

【0104】

置換変異体の1つの型には、親抗体（例えばヒト化抗体またはヒト抗体）の1つまたは複数の超可変領域残基の置換が含まれる。一般に、さらなる研究のために選択される得られる変異体は、親抗体に対するある生物学的特性（例えば親和性の増大、免疫原性の低減）における改変（例えば改善）を有し、および／または親抗体の実質的に保持されたある生物学的特性を有することになる。例示的な置換変異体は親和性が成熟した抗体であり、これは例えば本明細書に記載したようなファージディスプレイに基づく親和性成熟手法を使用して便利に生成することができる。簡単に述べると、1つまたは複数のCDR残基が突然変異され、変異抗体がファージ上に提示され、特定の生物活性（例えば結合親和性）についてスクリーニングされる。

10

【0105】

例えば抗体の親和性を改善するために、CDRにおいて変更（例えば置換）を行ってよい。そのような変更はCDRの「ホットスポット」、即ち、体細胞成熟プロセス（例えばChowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)を参照）の間に高頻度で突然変異を受けるコドンによってコードされる残基、および／またはSDR（ α -CDR）において行われ、得られる変異体のVHまたはVLは結合親和性について試験される。二次ライブラリーから構築し再選択することによる親和性成熟は、例えばHoogenboom et al., in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001).)に記載されている。親和性成熟の一部の実施形態では、種々の方法（例えば誤差を発生しやすいPCR、鎖シャフリング、またはオリゴヌクレオチド指向突然変異生成）のいずれかによって、成熟のために選択される変化しやすい遺伝子に多様性が導入される。次いで二次ライブラリーが作出される。次いで所望の親和性を有する抗体変異体を同定するためにライブラリーがスクリーニングされる。多様性を導入する別の方法にはCDR指向アプローチが含まれ、ここではいくつかのCDR残基（例えば同時に4～6残基）がランダム化される。抗原結合に関与するCDR残基は、例えばアラニンスキャンニング突然変異生成またはモデリングを使用して特異的に同定され得る。CDR-H3および特にCDR-L3が標的にされることが多い。

20

【0106】

ある特定の実施形態では、そのような変更が抗原に結合する抗体の能力を実質的に低減しない限り、置換、挿入、または欠失を1つまたは複数のCDRの中で生じさせてよい。例えば、結合親和性を実質的に低減させない保存的変更（例えば本明細書で提供する保存的置換）をCDRで行ってよい。そのような変更は、CDRの「ホットスポット」、即ちSDRの外側であってよい。上で提供した変異体のVHおよびVLの配列のある特定の実施形態では、それぞれのCDRは変化しないか、または1つ、2つ、もしくは3つを超えないアミノ酸置換を含む。

30

【0107】

突然変異生成のために標的とされ得る抗体の残基または領域の同定のために有用な方法は、CunninghamおよびWells (1989) *Science*, 244: 1081-1085によって記載されたように、「アラニンスキャンニング突然変異生成」と呼ばれる。この方法では、抗体と抗原との相互作用が影響されるか否かを判定するために、残基または標的残基の群（例えばArg、Asp、His、Lys、およびGlu等の荷電残基）が同定され、中性または陰性荷電のアミノ酸（例えばアラニンまたはポリアラニン）で置き換えられる。さらなる置換がアミノ酸の位置に導入され、最初の置換に対する機能的感受性が実証される。あるいはまたはそれに加えて、抗体と抗原との接触点を同定するために、抗原抗体複合体の結晶構造が使用される。そのような接触残基および近傍の残基は、置換の候補として標的とされるか、除外され得る。変異体は所望の特性を含むか否かを判定するためにスクリーニングされ得る。

40

【0108】

アミノ酸配列の挿入には、1つの残基から100またはそれ以上の残基を含むポリペプチドまでの長さにわたるアミノ末端および／またはカルボキシル末端の融合、ならびに単

50

一のまたは多数のアミノ酸残基の配列内への挿入が含まれる。末端挿入の例には、N-末端メチオニル残基を有する抗体が含まれる。抗体分子の他の挿入変異体には、抗体のN-末端またはC-末端への酵素への融合（例えばADEPTのため）、または抗体の血清中半減期を延長するポリペプチドが含まれる。

【0109】

ある特定の実施形態では、抗体がグリコシル化される程度を増加または低下させるために、本明細書で提供する抗体が変化される。抗体へのグリコシル化部位の付加または欠失は、1つまたは複数のグリコシル化部位が作出または除去されるようにアミノ酸配列を変更することによって、便利に達成し得る。

【0110】

抗体がFc領域を含む場合には、これに結合した炭水化物が変化し得る。哺乳動物細胞によって産生された天然の抗体は、典型的には一般にFc領域のCH2ドメインのAsn297にNリンケージで結合した分枝状で二分岐のオリゴ糖を含む。例えばWright et al., TIBTECH 15:26-32 (1997)を参照されたい。オリゴ糖は種々の炭水化物、例えばマンノース、N-アセチルグルコサミン (GlcNAc)、ガラクトース、およびシアル酸、ならびに二分岐オリゴ糖構造の「幹」の中のGlcNAcに結合したフコースを含み得る。一部の実施形態では、改善されたある特性を有する抗体変異体を作成するために、本発明の抗体の中のオリゴ糖の修飾を行ってよい。

【0111】

一実施形態では、Fc領域に（直接または間接に）結合したフコースを欠く炭水化物構造を有する抗体変異体が提供される。例えば、そのような抗体におけるフコースの量は、1%~80%、1%~65%、5%~65%、または20%~40%であってよい。フコースの量は、例えばWO2008/077546に記載されているように、MALDI-TOFマスペクトルによって測定されるAsn297に結合した全ての糖構造（例えば複合体、ハイブリッド、および高マンノース構造）の合計に対するAsn297における糖鎖の中のフコースの平均量を計算することによって決定される。Asn297はFc領域中のほぼ297位（Fc領域残基のEu番号付け；Edelman, G.M. et al., Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969)を参照）に位置するアスパラギン残基を意味するが、Asn297は抗体における軽微な配列の変動によって297位の約±3アミノ酸だけ上流または下流、即ち294位と300位との間にも位置し得る。そのようなフコシル化変異体は、改善されたADCC機能を有し得る。例えば米国特許公開2003/0157108号（Presta, L.）；2004/0093621号（協和発酵工業株式会社）を参照されたい。「脱フコシル化された」または「フコース欠失」抗体変異体に関する出版物の例には、US2003/0157108；WO2000/61739；WO2001/29246；US2003/0115614；US2002/0164328；US2004/0093621；US2004/0132140；US2004/0110704；US2004/0110282；US2004/0109865；WO2003/085119；WO2003/084570；WO2005/035586；WO2005/035778；WO2005/053742；WO2002/031140；Okazaki et al., J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004)；Yamane-Ohnuki et al., Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004)が含まれる。脱フコシル化された抗体を産生できる細胞系の例には、タンパク質のフコシル化が欠失したLec13 CHO細胞（Ripka et al., Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986)；米国特許公開2003/0157108 A1号, Presta, L.；およびWO2004/056312 A1号, Adams et al., 特に実施例11）、およびノックアウト細胞系、例えばアルファ-1, 6-フコシルトランスフェラーゼ遺伝子FUT8ノックアウトCHO細胞（例えばYamane-Ohnuki et al., Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004)；Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006)；およびWO2003/085107を参照）が含まれる。

【0112】

分断されたオリゴ糖を有する抗体変異体、例えば抗体のFc領域に結合した二分岐のオリゴ糖がGlcNAcによって分断された抗体変異体がさらに提供される。そのような抗体変異体は、低減したフコシル化および／または改善されたADCC機能を有し得る。そのような抗体変異体の例は、例えばWO2003/011878 (Jean-Mairet et al.); 米国特許第6,602,684号 (Umana et al.); およびUS2005/0123546 (Umana et al.)に記載されている。Fc領域に結合したオリゴ糖中に少なくとも1つのガラクトース残基を有する抗体変異体も提供される。そのような抗体変異体は改善されたCDC機能を有し得る。そのような抗体変異体は、例えばWO1997/30087 (Patel et al.); WO1998/58964 (Raju, S.); およびWO1999/22764 (Raju, S.)に記載されている。

10

【0113】

ある特定の実施形態では、1つまたは複数のアミノ酸改変を本明細書で提供する抗体のFc領域に導入し、それにより、Fc領域変異体を生成してよい。Fc領域変異体は、1つまたは複数のアミノ酸位置にアミノ酸の改変（例えば置換）を含むヒトFc領域配列（例えばヒトIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4のFc領域）を含んでよい。

【0114】

ある特定の実施形態では、本明細書で提供する抗体は病原性TDP-43に結合し、抗体依存性細胞性ファゴサイトーシス(ADCP)によって除去される免疫複合体を形成する。これは結果としてTDP-43のクリアランスを促進する。ADCPは、抗体のFc断片と、ミクログリアまたは樹状細胞等の胎児性免疫細胞の表面で発現したFcガンマ受容体等のFc受容体との相互作用によって媒介される。抗体のFc部分を改変することによって、Fcに媒介される機能を調整し、所望の効果を達成することができる。

20

【0115】

ある特定の実施形態では、本発明は、抗体をインビボにおける抗体の半減期が重要であるがある種のエフェクター機能（例えば補体活性化およびADCC）が不要または有害である用途への望ましい候補にする全てではないがいくつかのエフェクター機能を有する抗体変異体を意図している。CDCおよび／またはADCCの活性の低減／枯渇を確認するため、インビトロおよび／またはインビボの細胞傷害性アッセイを行うことができる。例えば、抗体がFcγR結合を欠いている（したがっておそらくADCC活性を欠いている）がFcRn結合能力を保持していることを保証するため、Fc受容体(FcR)結合アッセイを行うことができる。ADCCを媒介するための初代細胞であるNK細胞はFcγRIIIのみを発現する一方、単球およびミクログリアはFcγRI、FcγRII、およびFcγRIIIを発現する。造血細胞におけるFcRの発現はRavetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991)の464頁の表3にまとめられている。目的の分子のADCC活性を評価するインビトロアッセイの非限定的な例は、米国特許第5,500,362号（例えばHellstrom, I. et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986)を参照）、およびHellstrom, I et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499-1502 (1985); 第5,821,337号 (Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987)を参照)に記載されている。

30

【0116】

あるいは、非放射活性アッセイ法を採用してもよい（例えばフローサイトメトリーのためのACTI（商標）非放射活性細胞傷害性アッセイ (Cell Technology, Inc. Mountain View, CA; およびCytotox 96（登録商標）非放射活性細胞傷害性アッセイ (Promega, Madison, WI)を参照)。そのようなアッセイのために有用なエフェクター細胞には、末梢血単核細胞(PBMC)およびナチュラルキラー(NK)細胞が含まれる。

40

【0117】

あるいはまたはさらに、目的の分子のADCC活性は、インビボで、例えばClynes et al., Proc. Nat'l Acad. sci. USA 95:652-656 (1998)に開示されているような動物モデルで評価し得る。

50

【0118】

抗体がC1qに結合できず、したがってCDC活性を欠いていることを確認するため、C1q結合アッセイを行ってもよい。例えばWO2006/029879およびWO2005/100402のC1qおよびC3c結合ELISAを参照されたい。補体活性化を評価するため、CDCアッセイを実施してよい（例えばGazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996); Cragg, M.S. et al., Blood 101:1045-1052 (2003); およびCragg, M.S. and M.J. Glennie, Blood 103:2738-2743 (2004)を参照）。FcRnの結合およびインビボのクリアランス／半減期の決定も、当技術分野で既知の方法を使用して実施することができる（例えばPetkova, S.B. et al., Int'l. Immunol. 18(12):1759-1769 (2006)を参照）。

10

【0119】

低減したエフェクター機能を有する抗体には、Fc領域残基234、235、238、265、269、270、297、327、および329の1つまたは複数の置換を有する抗体が含まれる（米国特許第6,737,056号）。FcRへの改善または減少した結合を有するある種の抗体変異体が記載されている（例えば米国特許第6,737,056号; WO2004/056312、およびShields et al., J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001)を参照）。そのようなFc突然変異体には、残基265および297のアラニンへの置換を有するいわゆる「DANA」Fc突然変異体（米国特許第7,332,581号）、または残基265のアラニンへの、および297のグリシンへの置換を有する、いわゆる「DANG」Fc突然変異体を含む、アミノ酸の265位、269位、270位、297位、および327位の2つ以上に置換を有するFc突然変異体が含まれる。あるいは、低減したエフェクター機能を有する抗体には、Fc領域残基234、235、および329の1つまたは複数の置換を有する抗体、残基234および235のアラニンへの置換および329のグリシンへの置換を有する、いわゆる「PG-LALA」Fc突然変異体（Lo, M. et al., Journal of Biochemistry, 292, 3900-3908）が含まれる。234位、235位、および321位における他の既知の突然変異、CH2ドメインにおける突然変異L234F/L235E/P331Sを含む、いわゆるTM突然変異体を使用することができる（Oganesyan et al. Acta Cryst. D64, 700-704. (2008)）。ヒトIgG4アイソタイプ由来の抗体には、ヒンジを安定化させ、FgR結合を低減する突然変異S228P/L235Eが含まれる（Schlothauer et al, PEDS, 29 (10):457-466）。定常ドメインの番号付けは、EU番号付けシステムによる。

20

30

【0120】

その他のFc変異体には、Fc領域残基238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424、または434の1つまたは複数に置換、例えばFc領域残基434の置換を有する変異体が含まれる（米国特許第7,371,826号）。Duncan & Winter, Nature 322:738-40 (1988); 米国特許第5,648,260号; 米国特許第5,624,821号も参照されたい。

【0121】

ある特定の実施形態では、Fc領域はpH6.0におけるFcRnに対するその親和性が増大するように突然変異され、結果として抗体の半減期が延長する。FcRnに対する親和性が増強された抗体には、置換M252Y/S254T/T256Eを有するいわゆるYTE突然変異(Dall'Acqua et al, J Immunol. 169:5171-5180 (2002))またはLS突然変異M428L/N434S (Zalevsky et al, Nat Biotechnol. 28(2): 157-159 (2010))を含む、Fc領域残基252、253、254、256、428、434の1つまたは複数の置換を有する抗体が含まれる。

40

【0122】

ある特定の実施形態では、システイン操作された抗体、例えば抗体の1つまたは複数の残基がシステイン残基で置換された「チオMab」を作出することが望ましい。特定の実施形態では、置換された残基は、抗体の接近可能な部位で生じる。これらの残基をシステ

50

インで置換することによって、反応性のチオール基がそれにより抗体の接近可能な部位に位置し、本明細書でさらに述べるように、抗体を他の部分、例えば薬物部分またはリンカー-薬物部分にコンジュゲートさせて免疫コンジュゲートを作出するために使用し得る。ある特定の実施形態では、以下の残基、即ち軽鎖のV205（Kabab番号付け）；重鎖のA118（EU番号付け）；および重鎖Fc領域のS400（EU番号付け）の任意の1つまたは複数をシステインで置換してよい。システイン操作抗体は、例えば米国特許第7,521,541号に記載されているように生成し得る。

【0123】

ある特定の実施形態では、本明細書で提供する抗体は、当技術分野において既知で容易に利用可能なさらなる非タンパク質性部分を含むようにさらに修飾してよい。抗体の誘導体化に適した部分には、それだけに限らないが、水溶性ポリマーが含まれる。水溶性ポリマーの非限定的な例には、それだけに限らないが、ポリエチレングリコール（PEG）、エチレングリコール／プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ-1,3-ジオキサラン、ポリ-1,3,6-トリオキサン、エチレン／無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸（ホモポリマーまたはランダムコポリマー）、およびデキストランまたはポリ（N-ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、プロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール（例えばグリセロール）、ポリビニルアルコール、およびそれらの混合物が含まれる。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、その水中安定性のために製造において有利性を有している。ポリマーは任意の分子量を有してよく、分枝状でも非分枝状でもよい。抗体に結合するポリマーの数は変動し、2つ以上のポリマーが結合する場合には、これらは同じ分子でも異なる分子でもよい。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数および／または型は、改善すべき抗体の特定の特性または機能、抗体誘導体が定義された条件下における治療に使用されるか否か、その他を含むがそれらに限らない考慮に基づいて決定することができる。

【0124】

別の実施形態では、放射への曝露によって選択的に加熱される抗体と非タンパク質性部分とのコンジュゲートが提供される。一実施形態では、非タンパク質性部分はカーボンナノチューブである（Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005)）。放射は任意の波長のものであってよく、それだけに限らないが、通常の細胞を傷害しないが抗体と非タンパク質性部分とに近接した細胞が死滅する温度に非タンパク質性部分を加熱する波長を含む。

【0125】

抗体は、例えば米国特許第4,816,567号に記載されているように、組換え法および組成物を使用して産生してよい。一実施形態では、本明細書に記載したミスフォールドされたTDP-43に対する抗体をコードする単離された核酸が提供される。そのような核酸は、抗体のVLを含むアミノ酸配列および／またはVHを含むアミノ酸配列（例えば抗体の軽鎖および／または重鎖）をコードし得る。さらなる実施形態では、そのような核酸を含む1つまたは複数のベクター（例えば発現ベクター）が提供される。さらなる実施形態では、そのような核酸を含む宿主細胞が提供される。1つのそのような実施形態では、宿主細胞は、（1）抗体のVLを含むアミノ酸配列および抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクター、または（2）抗体のVLを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第1のベクターおよび抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第2のベクターを含む（例えばこれらによって形質転換されている）。一実施形態では、宿主細胞は真核生物、例えばチャイニーズハムスター卵巣（CHO）の細胞またはリンパ球様細胞（例えばYO、NSO、Sp20）である。一実施形態では、ミスフォールドされたTDP-43に対する抗体を作製する方法が提供され、本方法は、抗体の発現に適した条件下で、上で提供したように抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を培養することを含み、宿主細胞（または宿主細胞の培地）から抗体を回収することを含んでもよ

い。

【0126】

ミスフォールドされたTDP-43に対する抗体の組換え産生のために、例えば上記のように抗体をコードする核酸を単離し、宿主細胞もしくは無細胞発現系におけるさらなるクローニングおよび／または発現のために1つまたは複数のベクターに挿入する。そのような核酸は、従来の手順を使用して、容易に単離およびシーケンシングすることができる（例えば抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）。

【0127】

抗体をコードするベクターのクローニングまたは発現のための好適な宿主細胞には、本明細書に記載した原核生物または真核生物の細胞が含まれる。例えば、特にグリコシル化およびFcエフェクター機能が必要でない場合には、抗体は細菌中で産生してよい。細菌中での抗体断片およびポリペプチドの発現については、例えば米国特許第5,648,237号、第5,789,199号、および第5,840,523号を参照されたい（大腸菌（*E. coli*）中の抗体断片の発現を記載したCharlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254も参照）。発現の後、抗体を細菌細胞ペーストから可溶性分画中に単離し、さらに精製することができる。

【0128】

原核生物に加えて、そのグリコシル化経路が「ヒト化」され、部分的にまたは完全にヒトのグリコシル化パターンでの抗体の産生をもたらす真菌および酵母の株を含む糸状菌または酵母等の真核微生物も、抗体をコードするベクターのための好適なクローニングまたは発現用の宿主である。Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004)およびLi et al., *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006)を参照されたい。

【0129】

グリコシル化された抗体の発現のための好適な宿主細胞は、多細胞生命体（無脊椎生物および脊椎動物）からも誘導される。無脊椎細胞の例には、植物および昆虫の細胞が含まれる。特にスポドブレタ・フルギペルダ（*Spodoptera frugiperda*）細胞のトランスフェクションのための、昆虫細胞と併せて使用し得る数多くのバキュロウイルス株が同定されている。

【0130】

植物細胞培養も宿主として使用することができる。例えば米国特許第5,959,177号、第6,040,498号、第6,420,548号、第7,125,978号、および6,417,429号を参照されたい（トランスジェニック植物中で抗体を産生するためのPLANTBODIES（商標）技術が記載されている）。

【0131】

脊椎動物細胞も宿主として使用してよい。例えば、懸濁液中で増殖するように適合された哺乳動物細胞系が有用であり得る。有用な哺乳動物宿主細胞系のその他の例としては、SV40によって形質転換されたマカク腎CV1系（COS-7）；ヒト胚腎系（例えばGraham et al., *J. Gen. Viral.* 36:59 (1977)に記載された293または293細胞）；ベビーハムスター腎細胞（BHK）；マウスセルトリ細胞（例えばMather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)に記載されたTM4細胞）；マカク腎細胞（CV1）；アフリカミドリザル腎細胞（VERO-76）；ヒト頸癌細胞（HeLa）；イヌ腎細胞（MDCK）；バッファローラット肝細胞（BRL 3A）；ヒト肺細胞（WI38）；ヒト肝細胞（Hep G2）；マウス乳腺腫瘍（MMT 060562）；例えばMather et al., *Annals N. Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982)に記載されたTRI細胞；MRC 5細胞；およびFS4細胞がある。その他の有用な哺乳動物宿主細胞系には、DHFR CHO細胞（Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)）を含むチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞；ならびにYO、NSO、およびSp2/0等の骨髓腫細胞系が含まれる。抗体産生に適したある種の哺乳動物宿主細胞系の

総説については、例えばYazaki and Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003)を参照されたい。

【0132】

脳血液関門（BBB）を超えて分子を送達するために、投与経路の変更、BBBの破壊およびその透過性の変化、ナノ粒子のデリバリー、トロイの馬のアプローチ、受容体媒介輸送、ならびに細胞および遺伝子の療法等の当技術分野で既知のいくつかのアプローチが存在する。

【0133】

投与経路の変更は、脳への直接注射（例えばPapanastassiou et al., *Gene Therapy* 9: 398-406 (2002)を参照）、脳へのデリバリーデバイスの埋め込み（例えばGill et al., *Nature Med.* 9: 589-595 (2003); およびGliadel Wafers（商標）、Guildford Pharmaceuticalを参照）、BBBを迂回するための鼻内投与（Mittal et al, *Drug Deliv.* 21(2):75-86. (2014)）によって達成することができる。

【0134】

関門破壊の方法には、それだけに限らないが、超音波（例えば米国特許公開2002/0038086を参照）、浸透圧（例えば高張マンニトールの投与（Neuwelt, E.A., *Implication of the Blood-Brain Barrier and its Manipulation*, Vols 1 & 2, Plenum Press, N.Y.(1989)）による）、例えばブラジキニンまたは透過性向上剤A-7による透過性向上（例えば米国特許第5,112,596号、第5,268,164号、第5,506,206号、および第5,686,416号を参照）が含まれる。

【0135】

BBBの透過性を変化させる方法には、それだけに限らないが、血液脳関門の透過性を増大させるためのグルコシルトコイドブロッカーの使用（例えば米国特許公開2002/0065259、2003/0162695、および2005/0124533を参照）；活性化カリウムチャネル（例えば米国特許公開2005/0089473を参照）、およびABC薬物トランスポーターの阻害（例えば米国特許公開2003/0073713を参照）が含まれる。

【0136】

脳血液関門を超えてヒト化抗体またはそのヒト化抗体断片を送達するトロイの馬デリバリー法には、それだけに限らないが、抗体のカチオン化（例えば米国特許第5,004,697号を参照）、およびCNSへの進入を得るためのTateペプチド等の細胞浸透性ペプチドの使用（例えばDietz et al., *J. Neurochem.* 104:757-765 (2008)）が含まれる。

【0137】

脳血液関門を超えてヒト化抗体またはその抗原結合性断片を送達するナノ粒子デリバリー法には、それだけに限らないが、限定なしに抗体もしくは抗原結合性断片またはその代わりに脳血液関門の血管内皮上の受容体に結合するペプチドに連結された、リポソーム、またはエキソソーム等の細胞外ベシクル中に、抗体またはその抗原結合性断片をカプセル化すること（例えば米国特許公開20020025313を参照）、および抗体またはその抗原結合性断片を低密度リポタンパク質粒子に（例えば米国特許公開20040204354を参照）またはアポリポタンパク質Eに（例えば米国特許公開20040131692）コーティングすることが含まれる。

【0138】

本発明のヒト化抗体は、血液脳関門の浸透を増強するためにさらに修飾することができる。

【0139】

本発明のヒト化抗体またはその抗原結合性断片は、血液脳関門受容体に結合するポリペプチドと融合させることができる。BBB受容体には、それだけに限らないが、トランス

10

20

30

40

50

フェリン受容体、インスリン受容体、または低密度リポタンパク質受容体が含まれる。ポリペプチドはペプチド、受容体リガンド、単ドメイン抗体（VHH）、scFv、またはFab断片であってよい。

【0140】

本発明のヒト化抗体は、ヒト化抗体をコードする対応する核酸として送達することもできる。そのような核酸分子は、血液脳関門またはCNS中のその他の任意の細胞型への標的デリバリーのためのウイルスベクターの一部であってよい。ウイルスベクターは、ヒト化抗体またはヒト化抗体断片またはヒト化抗体誘導体が細胞内または脳実質内に発現されることを可能にする、AAV1からAAV12までを限定なしに含む当技術分野で既知の任意のAAV血清型から選択される組換えアデノ随伴ウイルスベクター（rAAV）であってよい。

10

【0141】

脳血液関門を超えて本発明のヒト化抗体またはヒト化抗体断片またはヒト化抗体誘導体を送達する細胞治療方法には、それだけに限らないが、BBBの強力なフィルタリング活性（例えばHeller and al., J Cell Mol Med. 00:1-7 (2020)を参照）を克服するための、本発明者らが所有するベクターによってエクスピボ（ex vivo）でトランスフェクトされた内皮前駆細胞（EPC）のホーミング能力およびこれらの細胞による抗体または抗体断片の分泌および脳へのデリバリーの使用、または抗体もしくは抗体断片を分泌するための遺伝子操作された細胞を担持したポリマー性細胞埋め込みデバイス（例えばMarroquin Belaunzaran et al. PLoS ONE 6(4): e18268 (2011)を参照）の使用が含まれる。

20

【0142】

薬学的に許容される担体、希釈剤、アジュバント、および賦形剤は薬学技術で周知であり、例えばRemington's Pharmaceutical Sciences, 15th or 18th Ed. (Alfonso R. Gennaro, ed.; Mack Publishing Company, Easton, PA, 1990); Remington: the Science and Practice of Pharmacy 19th Ed. (Lippincott, Williams & Wilkins, 1995); Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd Ed. (Arthur H. Kibbe, ed.; Amer. Pharmaceutical Assoc, 1999); Pharmaceutical Codex: Principles and Practice of Pharmaceutics 12th Ed. (Walter Lund ed.; Pharmaceutical Press, London, 1994); 米国薬局方: 国民医薬品集 (米国薬学会議); Fiedler's "Lexikon der Hilfstoffe" 5th Ed., Edition Cantor Verlag Aulendorf 2002; "The Handbook of Pharmaceutical Excipients", 4th Ed., American Pharmaceuticals Association, 2003; および Goodman and Gilman's: the Pharmacological Basis of Therapeutics (Louis S. Goodman and Lee E. Limbird, eds.; McGraw Hill, 1992)に記載されている。これらの開示はこれにより参照により本明細書に組み込まれる。

30

【0143】

担体、希釈剤、アジュバント、および薬学的賦形剤は、意図した投与経路および標準的な薬学的慣習に関連して選択することができる。これらの化合物は、それらのレシピエントに対して有害でないという意味で許容可能でなければならない。Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th or 18th Ed. (Alfonso R. Gennaro, ed.; Mack Publishing Company, Easton, PA, 1990); Remington: the Science and Practice of Pharmacy 19th Ed. (Lippincott, Williams & Wilkins, 1995); Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd Ed. (Arthur H. Kibbe, ed.; Amer. Pharmaceutical Assoc, 1999); Pharmaceutical Codex: Principles and Practice of Pharmaceutics 12th Ed. (Walter Lund ed.; Pharmaceutical Press, London, 1994); 米国薬局方: 国民医薬品集 (米国薬学会議); Fiedler's "Lexikon der Hilfstoffe" 5th Ed., Edition Cantor Verlag Aulendorf 2002; "The Handbook of Pharmaceutical Excipients", 4th Ed., American Pharmaceuticals Association, 2003; および Goodman and Gilman's: the Pharmacological Ba

40

50

sis of Therapeutics (Louis S. Goodman and Lee E. Limbird, eds.; McGraw Hill, 1992) を参照されたい。これらの開示はこれにより参照により本明細書に組み込まれる。

【0144】

対象に投与すべき化合物の「有効量」は、妥当な医学的判断に従って疾患、障害、または異常を処置、防止、または改善するために適した投薬量である。具体的な用量レベルおよび投薬の頻度は、例えば採用した特定の化合物の活性、その化合物の代謝安定性および作用の長さ、投与の様式および時間を含む種々の要素に依存し得る。対象に投与すべき化合物の「有効量」は、妥当な医学的判断に従って障害、疾患、障害、または異常を処置、防止、または改善するために適した投薬量である。具体的な用量レベルおよび投薬の頻度は、例えば採用した特定の化合物の活性、その化合物の代謝安定性および作用の長さ、投与の様式および時間、排泄の速度、および薬物の組合せを含む種々の要素に依存し得る。患者に特有の要素、例えば年齢、体重、一般的健康、性別、食事、ならびに特定の状態の重症度も、投与すべき量に影響し得る。

10

【0145】

用語「クリアランス」（「クリアランス値」または「CL」または「全身性クリアランス」とも称する）は、身体からの物質の排除の効率に関する。物質（この場合には本発明の結合分子）のクリアランスは、尿および腎外のクリアランスの合計である。腎および腎外の経路によって排除される物質については、血漿クリアランスは尿クリアランスを超える。mAbのPK特性は、それらの大きなサイズ（150 kDa）、相対的極性、Fc受容体結合、および標的抗原への特異的結合の関数である。mAbの一次的排除経路は、細胞による取り込みおよびそれに続くタンパク質分解である。mAbは全身循環からのクリアランスが低いので、ペプチドまたは小分子より投与頻度を少なくすることが可能であり、これは患者にとってより好都合であることが多い（Betts et al., MABs, 2018）。

20

【0146】

XI. TDP-43 特異的結合分子の発明実施形態

一部の実施形態では、ヒト化TDP-43 結合分子、特に

- a) 配列番号21のアミノ酸配列を含むVH-CDR1；配列番号22のアミノ酸配列を含むVH-CDR2；およびアミノ酸配列ES（Glu-Ser）を含むVH-CDR3；または
 - b) 配列番号21のアミノ酸配列を含むVH-CDR1；配列番号82のアミノ酸配列を含むVH-CDR2；およびアミノ酸配列ES（Glu-Ser）を含むVH-CDR3；または
 - c) 配列番号21のアミノ酸配列を含むVH-CDR1；配列番号92のアミノ酸配列を含むVH-CDR2；およびアミノ酸配列ES（Glu-Ser）を含むVH-CDR3；
 - d) 配列番号21のアミノ酸配列を含むVH-CDR1；配列番号102のアミノ酸配列を含むVH-CDR2；およびアミノ酸配列ES（Glu-Ser）を含むVH-CDR3；または
 - e) 配列番号21のアミノ酸配列を含むVH-CDR1；配列番号112のアミノ酸配列を含むVH-CDR2；およびアミノ酸配列ES（Glu-Ser）を含むVH-CDR3；または
 - f) 配列番号21のアミノ酸配列を含むVH-CDR1；配列番号122のアミノ酸配列を含むVH-CDR2；およびアミノ酸配列ES（Glu-Ser）を含むVH-CDR3
- を含む、ヒト化TDP-43 抗体またはその抗原結合性断片が提供される。

30

40

【0147】

一部の実施形態では、ヒト化TDP-43 結合分子、特に

- a) 配列番号25のアミノ酸配列を含むVL-CDR1；配列番号16のアミノ酸配列を含むVL-CDR2；および配列番号27のアミノ酸配列を含むVL-CDR3；または

50

b) 配列番号 85 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ; 配列番号 16 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ; および配列番号 87 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 ; または
 c) 配列番号 25 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ; 配列番号 16 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ; および配列番号 87 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3
 を含む、ヒト化 T D P - 43 抗体またはその抗原結合性断片が提供される。

【0148】

一部の実施形態では、ヒト化 T D P - 43 結合分子、特に

a) i . 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 22 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ; およびアミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 ; または

i i . 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 82 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ; およびアミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 ; または

i i i . 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 92 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ; およびアミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 ; または

i v . 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 102 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ; およびアミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 ; または

v . 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 112 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ; およびアミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 ; または

v i . 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 122 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ; およびアミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 ; および

を含む重鎖可変領域 (V H) 、ならびに

b) i . 配列番号 25 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ; 配列番号 16 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ; および配列番号 27 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 ; または

i i . 配列番号 85 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ; 配列番号 16 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ; および配列番号 87 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 ; または

i i i . 配列番号 25 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ; 配列番号 16 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ; および配列番号 87 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3
 を含む軽鎖可変領域 (V L)

を含む、ヒト化 T D P - 43 抗体またはその抗原結合性断片が提供される。

【0149】

一部の実施形態では、

a) i . 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 または配列番号 21 と少なくとも 80 % 、 90 % 、 95 % 、 もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 22 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 または配列番号 22 と少なくとも 80 % 、 90 % 、 95 % 、 もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ; およびアミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 ; または

i i . 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 または配列番号 21 と少なくとも 80 % 、 90 % 、 95 % 、 もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 82 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 または配列番号 82 と少なくとも 80 % 、 90 % 、 95 % 、 もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ; およびアミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 ; または

i i i . 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 または配列番号 21 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 92 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 または配列番号 92 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ; およびアミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 ; または

i v . 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 または配列番号 21 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 102 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 または配列番号 102 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ; およびアミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 ; または

v . 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 または配列番号 21 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 112 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 または配列番号 112 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; およびアミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 ; または

v i . 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 または配列番号 21 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 122 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 または配列番号 122 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ; およびアミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3

を含む重鎖可変領域 (V H)、および

b) i . 配列番号 25 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 または配列番号 25 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ; 配列番号 16 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 または配列番号 16 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ; および配列番号 27 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 または配列番号 27 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 ; または

i i . 配列番号 85 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 または配列番号 85 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ; 配列番号 16 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 または配列番号 16 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ; および配列番号 87 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 または配列番号 87 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ; または

i i i . 配列番号 25 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 または配列番号 25 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ; 配列番号 16 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 または配列番号 16 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ; および配列番号 87 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 または配列番号 87 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L - C D R 3

を含む軽鎖可変領域 (V L)

を含むヒト化 T D P - 43 結合分子、特にヒト化 T D P - 43 抗体またはその抗原結合性断片が提供される。

【 0150 】

10

20

30

40

50

一部の実施形態では、

a) 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 または配列番号 21 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 22 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 または配列番号 22 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ; およびアミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) ; または

b) 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 または配列番号 21 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 112 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 または配列番号 112 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ; およびアミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) ;

c) 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 または配列番号 21 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 122 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 または配列番号 122 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ; およびアミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) ; および

d) 配列番号 25 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 または配列番号 25 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ; 配列番号 16 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 または配列番号 16 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ; および配列番号 27 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 または配列番号 27 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む軽鎖可変領域 (V L) ; または

e) 配列番号 85 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 または配列番号 85 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ; 配列番号 16 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 または配列番号 16 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ; および配列番号 87 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 または配列番号 87 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む軽鎖可変領域 (V L) ; または

f) 配列番号 25 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 または配列番号 25 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ; 配列番号 16 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 または配列番号 16 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ; および配列番号 87 のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 または配列番号 87 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む軽鎖可変領域 (V L)

を含むヒト化 T D P - 43 結合分子、特にヒト化 T D P - 43 抗体またはその抗原結合性断片が提供される。

【 0151 】

より具体的には、一部の実施形態では、

a) 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 または配列番号 21 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 122 のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 または配列番号 122 と少なくとも 80 %、90 %、95 %、もしくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ; およびアミノ酸配列 E S (G l u - S e r) を含む V H - C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) ; および

ｂ）配列番号８５のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１または配列番号８５と少なくとも８０％、９０％、９５％、もしくは１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１；配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２または配列番号１６と少なくとも８０％、９０％、９５％、もしくは１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２；および配列番号８７のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３または配列番号８７と少なくとも８０％、９０％、９５％、もしくは１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）を含むヒト化ＴＤＰ－４３結合分子、特にヒト化ＴＤＰ－４３抗体またはその抗原結合性断片が提供される。

【０１５２】

より具体的には、一部の実施形態では、

ａ）配列番号２１のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ１または配列番号２１と少なくとも８０％、９０％、９５％、もしくは１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ１；配列番号１１２のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２または配列番号１１２と少なくとも８０％、９０％、９５％、もしくは１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２；およびアミノ酸配列ＥＳ（Ｇｌｕ－Ｓｅｒ）を含むＶＨ－ＣＤＲ３を含む重鎖可変領域（ＶＨ）；および

ｂ）配列番号２５のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１または配列番号２５と少なくとも８０％、９０％、９５％、もしくは１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１；配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２または配列番号１６と少なくとも８０％、９０％、９５％、もしくは１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２；および配列番号８７のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３または配列番号８７と少なくとも８０％、９０％、９５％、もしくは１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）を含むヒト化ＴＤＰ－４３結合分子、特にヒト化ＴＤＰ－４３抗体またはその抗原結合性断片が提供される。

【０１５３】

より具体的には、一部の実施形態では、

ａ）配列番号２１のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ１または配列番号２１と少なくとも８０％、９０％、９５％、もしくは１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ１；配列番号１２２のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２または配列番号１２２と少なくとも８０％、９０％、９５％、もしくは１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２；およびアミノ酸配列ＥＳ（Ｇｌｕ－Ｓｅｒ）を含むＶＨ－ＣＤＲ３を含む重鎖可変領域（ＶＨ）；および

配列番号２５のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１または配列番号２５と少なくとも８０％、９０％、９５％、もしくは１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１；配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２または配列番号１６と少なくとも８０％、９０％、９５％、もしくは１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２；および配列番号８７のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３または配列番号８７と少なくとも８０％、９０％、９５％、もしくは１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）を含むヒト化ＴＤＰ－４３結合分子、特にヒト化ＴＤＰ－４３抗体またはその抗原結合性断片が提供される。

【０１５４】

一部の実施形態では、ヒト化ＴＤＰ－４３抗体は、（ａ）配列番号２１のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ１；（ｂ）配列番号２２、配列番号１１２または配列番号１２２のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２；（ｃ）アミノ酸配列ＥＳ（Ｇｌｕ－Ｓｅｒ）を含むＶＨ－ＣＤＲ３；（ｄ）配列番号２５または配列番号８５のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１；（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２；および（ｆ）配列番号２７または配列番号８７のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３から選択されるＣＤＲを含

10

20

30

40

50

む。

【0155】

一部の実施形態では、ヒト化TDP-43抗体は、(a)配列番号21のアミノ酸配列を含むVH-CDR1；(b)配列番号22のアミノ酸配列を含むVH-CDR2；(c)アミノ酸配列ES(Glu-Ser)を含むVH-CDR3；(d)配列番号25のアミノ酸配列を含むVL-CDR1；(e)配列番号16のアミノ酸配列を含むVL-CDR2；および(f)配列番号27のアミノ酸配列を含むVL-CDR3から選択されるCDRを含む。

【0156】

一部の実施形態では、ヒト化TDP-43抗体は、(a)配列番号21のアミノ酸配列を含むVH-CDR1；(b)配列番号112のアミノ酸配列を含むVH-CDR2；(c)アミノ酸配列ES(Glu-Ser)を含むVH-CDR3；(d)配列番号25のアミノ酸配列を含むVL-CDR1；(e)配列番号16のアミノ酸配列を含むVL-CDR2；および(f)配列番号27のアミノ酸配列を含むVL-CDR3から選択されるCDRを含む。

10

【0157】

一部の実施形態では、ヒト化TDP-43抗体は、(a)配列番号21のアミノ酸配列を含むVH-CDR1；(b)配列番号112のアミノ酸配列を含むVH-CDR2；(c)アミノ酸配列ES(Glu-Ser)を含むVH-CDR3；(d)配列番号85のアミノ酸配列を含むVL-CDR1；(e)配列番号16のアミノ酸配列を含むVL-CDR2；および(f)配列番号87のアミノ酸配列を含むVL-CDR3から選択されるCDRを含む。

20

【0158】

一部の実施形態では、ヒト化TDP-43抗体は、(a)配列番号21のアミノ酸配列を含むVH-CDR1；(b)配列番号122のアミノ酸配列を含むVH-CDR2；(c)アミノ酸配列ES(Glu-Ser)を含むVH-CDR3；(d)配列番号25のアミノ酸配列を含むVL-CDR1；(e)配列番号16のアミノ酸配列を含むVL-CDR2；および(f)配列番号27のアミノ酸配列を含むVL-CDR3から選択されるCDRを含む。

【0159】

一部の実施形態では、ヒト化TDP-43抗体は、(a)配列番号21のアミノ酸配列を含むVH-CDR1；(b)配列番号122のアミノ酸配列を含むVH-CDR2；(c)アミノ酸配列ES(Glu-Ser)を含むVH-CDR3；(d)配列番号85のアミノ酸配列を含むVL-CDR1；(e)配列番号16のアミノ酸配列を含むVL-CDR2；および(f)配列番号87のアミノ酸配列を含むVL-CDR3から選択されるCDRを含む。

30

【0160】

一部の実施形態では、ヒト化TDP-43抗体は、(a)配列番号21のアミノ酸配列を含むVH-CDR1；(b)配列番号112のアミノ酸配列を含むVH-CDR2；(c)アミノ酸配列ES(Glu-Ser)を含むVH-CDR3；(d)配列番号25のアミノ酸配列を含むVL-CDR1；(e)配列番号16のアミノ酸配列を含むVL-CDR2；および(f)配列番号87のアミノ酸配列を含むVL-CDR3から選択されるCDRを含む。

40

【0161】

一部の実施形態では、ヒト化TDP-43抗体は、(a)配列番号21のアミノ酸配列を含むVH-CDR1；(b)配列番号122のアミノ酸配列を含むVH-CDR2；(c)アミノ酸配列ES(Glu-Ser)を含むVH-CDR3；(d)配列番号25のアミノ酸配列を含むVL-CDR1；(e)配列番号16のアミノ酸配列を含むVL-CDR2；および(f)配列番号87のアミノ酸配列を含むVL-CDR3から選択されるCDRを含む。

50

【0162】

別の実施形態では、ヒト化TDP-43抗体は、配列番号30、40、50、60、70、80、90、100、110、および120からなる群から選択され、その配列の翻訳後修飾を含む重鎖可変ドメイン（VH）を含む。特定の実施形態では、重鎖可変ドメイン（VH）は、（a）配列番号21のアミノ酸配列を含むVH-CDR1、（b）配列番号22、82、92、102、112、および122からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むVH-CDR2、（c）アミノ酸ES（Glu-Ser）を含むVH-CDR3から選択される少なくとも1つ、2つ、または3つのCDRを含む。

【0163】

別の実施形態では、ヒト化TDP-43抗体は、配列番号34、44、54、64、74、84、および94からなる群から選択され、その配列の翻訳後修飾を含む軽鎖可変ドメイン（VL）を含む。特定の実施形態では、軽鎖可変ドメイン（VL）は、（a）配列番号25および配列番号85からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むVL-CDR1、および（b）配列番号16のアミノ酸配列を含むVL-CDR2、および（c）配列番号27および87からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むVL-CDR3から選択される少なくとも1つ、2つ、または3つのCDRを含む。

【0164】

一部の実施形態では、ヒト化TDP-43抗体は、

a．配列番号30の配列を含む重鎖可変領域（VH）または配列番号30のアミノ酸配列と少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する重鎖可変領域（VH）；または

b．配列番号40の配列を含む重鎖可変領域（VH）または配列番号40のアミノ酸配列と少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する重鎖可変領域（VH）；または

c．配列番号50の配列を含む重鎖可変領域（VH）または配列番号50のアミノ酸配列と少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する重鎖可変領域（VH）；または

d．配列番号60の配列を含む重鎖可変領域（VH）または配列番号60のアミノ酸配列と少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する重鎖可変領域（VH）；または

e．配列番号70の配列を含む重鎖可変領域（VH）または配列番号70のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する重鎖可変領域（VH）；または

f．配列番号80の配列を含む重鎖可変領域（VH）または配列番号80のアミノ酸配列と少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する重鎖可変領域（VH）；または

g．配列番号90の配列を含む重鎖可変領域（VH）または配列番号90のアミノ酸配列と少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する重鎖可変領域（VH）；または

h．配列番号100の配列を含む重鎖可変領域（VH）または配列番号100のアミノ酸配列と少なくとも89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する重鎖可変領域（VH）；または

i．配列番号110の配列を含む重鎖可変領域（VH）または配列番号110のアミノ酸配列と少なくとも89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する重鎖可変領域（VH）；または

j．配列番号120の配列を含む重鎖可変領域（VH）または配列番号120のアミノ酸配列と少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する重鎖可変領域（VH）

を含む。

【0165】

一部の実施形態では、ヒト化 T D P - 4 3 抗体は、

a . 配列番号 3 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) または配列番号 3 4 のアミノ酸配列と少なくとも 9 7 %、9 8 %、もしくは 9 9 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域 (V L) ; または

b . 配列番号 4 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) または配列番号 4 4 のアミノ酸配列と少なくとも 9 6 %、9 7 %、9 8 %、もしくは 9 9 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域 (V L) ; または

c . 配列番号 5 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) または配列番号 5 4 のアミノ酸配列と少なくとも 9 8 % もしくは 9 9 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域 (V L) ; または

d . 配列番号 6 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) または配列番号 6 4 のアミノ酸配列と少なくとも 9 7 %、9 8 % もしくは 9 9 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域 (V L) ; または

e . 配列番号 7 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) または配列番号 7 4 のアミノ酸配列と少なくとも 9 6 %、9 7 %、9 8 % もしくは 9 9 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域 (V L) ; または

f . 配列番号 8 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) または配列番号 8 4 のアミノ酸配列と少なくとも 9 7 %、9 8 % もしくは 9 9 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域 (V L) ; または

g . 配列番号 9 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) または配列番号 9 4 のアミノ酸配列と少なくとも 9 6 %、9 7 %、9 8 % もしくは 9 9 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域 (V L)

を含む。

【 0 1 6 6 】

一部の実施形態では、ヒト化 T D P - 4 3 結合分子、特にヒト化 T D P - 4 3 抗体またはその抗原結合性断片は、

a) i . 配列番号 3 0 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) または配列番号 3 0 のアミノ酸配列と少なくとも 9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、もしくは 9 9 % の配列同一性を有する重鎖可変領域 (V H) ; または

i i . 配列番号 4 0 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) または配列番号 4 0 のアミノ酸配列と少なくとも 9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、もしくは 9 9 % の配列同一性を有する重鎖可変領域 (V H) ; または

i i i . 配列番号 5 0 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) または配列番号 5 0 のアミノ酸配列と少なくとも 9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、もしくは 9 9 % の配列同一性を有する重鎖可変領域 (V H) ; または

i v . 配列番号 6 0 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) または配列番号 6 0 のアミノ酸配列と少なくとも 9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、もしくは 9 9 % の配列同一性を有する重鎖可変領域 (V H) ; または

v . 配列番号 7 0 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) または配列番号 7 0 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、もしくは 9 9 % の配列同一性を有する重鎖可変領域 (V H) ; または

v i . 配列番号 8 0 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) または配列番号 8 0 のアミノ酸配列と少なくとも 9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、もしくは 9 9 % の配列同一性を有する重鎖可変領域 (V H) ; または

v i i . 配列番号 9 0 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) または配列番号 9 0 のアミノ酸配列と少なくとも 9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、もしくは 9 9 % の配列同一性を有する重鎖可変領域 (V H) ; または

v i i i . 配列番号 1 0 0 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) または配列番号 1 0 0 のアミノ酸配列と少なくとも 8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、もしくは 9 9 % の配列同一性を有する重鎖可変領域 (V H) ;

10

20

30

40

50

または

i x . 配列番号 1 1 0 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) または配列番号 1 1 0 のアミノ酸配列と少なくとも 8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、もしくは 9 9 % の配列同一性を有する重鎖可変領域 (V H) ; または

x . 配列番号 1 2 0 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) または配列番号 1 2 0 のアミノ酸配列と少なくとも 9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、もしくは 9 9 % の配列同一性を有する重鎖可変領域 (V H)

から選択される重鎖可変領域 (V H) 、および

b) i . 配列番号 3 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) または配列番号 3 4 のアミノ酸配列と少なくとも 9 7 %、9 8 %、もしくは 9 9 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域 (V L) ; または

i i . 配列番号 4 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) または配列番号 4 4 のアミノ酸配列と少なくとも 9 6 %、9 7 %、9 8 %、もしくは 9 9 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域 (V L) ; または

i i i . 配列番号 5 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) または配列番号 5 4 のアミノ酸配列と少なくとも 9 8 %もしくは 9 9 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域 (V L) ; または

i v . 配列番号 6 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) または配列番号 5 4 のアミノ酸配列と少なくとも 9 7 %、9 8 %もしくは 9 9 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域 (V L) ; または

v . 配列番号 7 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) または配列番号 7 4 のアミノ酸配列と少なくとも 9 6 %、9 7 %、9 8 %もしくは 9 9 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域 (V L) ; または

v i . 配列番号 8 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) または配列番号 8 4 のアミノ酸配列と少なくとも 9 7 %、9 8 %もしくは 9 9 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域 (V L) ; または

v i i . 配列番号 9 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) または配列番号 9 4 のアミノ酸配列と少なくとも 9 6 %、9 7 %、9 8 %もしくは 9 9 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域 (V L)

から選択される軽鎖可変領域 (V L) を含む。

【 0 1 6 7 】

一部の実施形態では、ヒト化 T D P - 4 3 結合分子、特にヒト化 T D P 4 3 抗体またはその抗原結合性断片は、

a . 配列番号 6 0 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) または配列番号 6 0 のアミノ酸配列と少なくとも 9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、もしくは 9 9 % の配列同一性を有する重鎖可変領域 (V H) 、および配列番号 5 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) または配列番号 5 4 のアミノ酸配列と少なくとも 9 8 %もしくは 9 9 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域 (V L) ; または

b . 配列番号 7 0 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) または配列番号 7 0 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、もしくは 9 9 % の配列同一性を有する重鎖可変領域 (V H) 、および配列番号 4 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) または配列番号 4 4 のアミノ酸配列と少なくとも 9 6 %、9 7 %、9 8 %もしくは 9 9 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域 (V L) ; または

c . 配列番号 7 0 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) または配列番号 7 0 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、もしくは 9 9 % の配列同一性を有する重鎖可変領域 (V H) 、および配列番号 5 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) または配列番号 5 4 のアミノ酸配列と少なくとも 9 8 %もしくは 9 9 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域 (V L) ; または

d . 配列番号 7 0 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) または配列番号 7 0 のアミノ酸配

列と少なくとも 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは 99% の配列同一性を有する重鎖可変領域 (VH)、および配列番号 64 の配列を含む軽鎖可変領域 (VL) または配列番号 64 のアミノ酸配列と少なくとも 97%、98% もしくは 99% の配列同一性を有する軽鎖可変領域 (VL) ; または

e. 配列番号 110 の配列を含む重鎖可変領域 (VH) または配列番号 110 のアミノ酸配列と少なくとも 89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% の配列同一性を有する重鎖可変領域 (VH)、および配列番号 64 の配列を含む軽鎖可変領域 (VL) または配列番号 64 のアミノ酸配列と少なくとも 97%、98% もしくは 99% の配列同一性を有する軽鎖可変領域 (VL) ; または

10

f. 配列番号 110 の配列を含む重鎖可変領域 (VH) または配列番号 110 のアミノ酸配列と少なくとも 89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% の配列同一性を有する重鎖可変領域 (VH)、および配列番号 84 の配列を含む軽鎖可変領域 (VL) または配列番号 84 のアミノ酸配列と少なくとも 97%、98% もしくは 99% の配列同一性を有する軽鎖可変領域 (VL) ; または

g. 配列番号 120 の配列を含む重鎖可変領域 (VH) または配列番号 120 のアミノ酸配列と少なくとも 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% の配列同一性を有する重鎖可変領域 (VH)、および配列番号 64 の配列を含む軽鎖可変領域 (VL) または配列番号 64 のアミノ酸配列と少なくとも 97%、98% もしくは 99% の配列同一性を有する軽鎖可変領域 (VL) ; または

20

h. 配列番号 120 の配列を含む重鎖可変領域 (VH) または配列番号 120 のアミノ酸配列と少なくとも 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% の配列同一性を有する重鎖可変領域 (VH)、および配列番号 84 の配列を含む軽鎖可変領域 (VL) または配列番号 84 のアミノ酸配列と少なくとも 97%、98% もしくは 99% の配列同一性を有する軽鎖可変領域 (VL) ; または

i. 配列番号 110 の配列を含む重鎖可変領域 (VH) または配列番号 110 のアミノ酸配列と少なくとも 89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% の配列同一性を有する重鎖可変領域 (VH)、および配列番号 94 の配列を含む軽鎖可変領域 (VL) または配列番号 94 のアミノ酸配列と少なくとも 96%、97%、98% もしくは 99% の配列同一性を有する軽鎖可変領域 (VL) ; または

30

j. 配列番号 120 の配列を含む重鎖可変領域 (VH) または配列番号 120 のアミノ酸配列と少なくとも 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% の配列同一性を有する重鎖可変領域 (VH)、および配列番号 94 の配列を含む軽鎖可変領域 (VL) または配列番号 94 のアミノ酸配列と少なくとも 96%、97%、98% もしくは 99% の配列同一性を有する軽鎖可変領域 (VL) を含む。

【0168】

一部の実施形態では、ヒト化 TDP-43 抗体は、

40

a. 配列番号 60 の配列を含む重鎖可変領域 (VH) および配列番号 54 の配列を含む軽鎖可変領域 (VL) ; または

b. 配列番号 70 の配列を含む重鎖可変領域 (VH) および配列番号 44 の配列を含む軽鎖可変領域 (VL) ; または

c. 配列番号 70 の配列を含む重鎖可変領域 (VH) および配列番号 54 の配列を含む軽鎖可変領域 (VL) ; または

d. 配列番号 70 の配列を含む重鎖可変領域 (VH) および配列番号 64 の配列を含む軽鎖可変領域 (VL) ; または

e. 配列番号 110 の配列を含む重鎖可変領域 (VH) および配列番号 64 の配列を含む軽鎖可変領域 (VL) ; または

50

f. 配列番号 110 の配列を含む重鎖可変領域 (VH) および配列番号 84 の配列を含む軽鎖可変領域 (VL) ; または
g. 配列番号 120 の配列を含む重鎖可変領域 (VH) および配列番号 64 の配列を含む軽鎖可変領域 (VL) ; または
h. 配列番号 120 の配列を含む重鎖可変領域 (VH) および配列番号 84 の配列を含む軽鎖可変領域 (VL) ; または
i. 配列番号 110 の配列を含む重鎖可変領域 (VH) および配列番号 94 の配列を含む軽鎖可変領域 (VL) ; または
j. 配列番号 120 の配列を含む重鎖可変領域 (VH) および配列番号 94 の配列を含む軽鎖可変領域 (VL) を含む。

10

【0169】

一部の実施形態では、ヒト化 TDP-43 抗体は、

a. 配列番号 120 の配列を含む重鎖可変領域 (VH) および配列番号 84 の配列を含む軽鎖可変領域 (VL) ; または
b. 配列番号 110 の配列を含む重鎖可変領域 (VH) および配列番号 94 の配列を含む軽鎖可変領域 (VL) ; または
c. 配列番号 120 の配列を含む重鎖可変領域 (VH) および配列番号 94 の配列を含む軽鎖可変領域 (VL) を含む。

20

【0170】

一部の実施形態では、ヒト化 TDP-43 抗体は、

a. 配列番号 110 の配列を含む重鎖可変領域 (VH) および配列番号 84 の配列を含む軽鎖可変領域 (VL) ; または
b. 配列番号 110 の配列を含む重鎖可変領域 (VH) および配列番号 94 の配列を含む軽鎖可変領域 (VL) ; または
c. 配列番号 120 の配列を含む重鎖可変領域 (VH) および配列番号 94 の配列を含む軽鎖可変領域 (VL) を含む。

30

【0171】

一部の実施形態では、本発明は、hACI-7069-633B12-Ab1__H27L23、hACI-7069-633B12-Ab1__H28L22、hACI-7069-633B12-Ab1__H28L23、hACI-7069-633B12-Ab1__H28L24、hACI-7069-633B12-Ab1__H32L24、hACI-7069-633B12-Ab1__H32L26、hACI-7069-633B12-Ab1__H33L24、hACI-7069-633B12-Ab1__H33L26、hACI-7069-633B12-Ab1__H32L27、または hACI-7069-633B12-Ab1__H33L27 から選択されるヒト化 TDP-43 結合分子に関する。

40

【0172】

好ましくは、ヒト化 TDP-43 結合分子は、hACI-7069-633B12-Ab1__H33L26、hACI-7069-633B12-Ab1__H32L27、または hACI-7069-633B12-Ab1__H33L27 からなる群から選択される。

【0173】

さらにより好ましくは、ヒト化 TDP-43 結合分子は、hACI-7069-633B12-Ab1__H32L26、hACI-7069-633B12-Ab1__H32L27、または hACI-7069-633B12-Ab1__H33L27 からなる群から選択される。

【0174】

50

1つの好ましい実施形態では、ヒト化TDP-43結合分子は、hACI-7069-633B12-Ab1__H33L27である。

【0175】

一部の実施形態では、本発明のヒト化TDP-43結合分子、特にヒト化TDP-43抗体またはその抗原結合性断片は、7.8未満、好ましくは7.5未満、より好ましくは7.0未満のpIを有するFvを含む。

【0176】

一部の実施形態では、本発明のヒト化TDP-43結合分子、特にヒト化TDP-43抗体またはその抗原結合性断片は、pH 7.4で0.2未満、好ましくは-0.8未満、より好ましくは-1.8未満の正味電荷を有するFvを含む。

【0177】

一部の実施形態では、本発明のヒト化TDP-43結合分子、特にヒト化TDP-43抗体またはその抗原結合性断片は、7.0未満のpIおよび-1.8未満の正味電荷を有するFvを含む。

【0178】

本発明の一部の実施形態では、本発明のヒト化抗TDP-43結合分子は、マウスにおいて0.50mL/h/kg以下、特に0.25mL/h/kg以下、より具体的には0.18mL/h/kg以下のクリアランスを有する。一部の実施形態では、本発明のヒト化TDP-43結合分子、特にヒト化TDP-43抗体またはその抗原結合性断片は、Tg32マウスにおいて少なくとも8日、好ましくは少なくとも10日、より好ましくは少なくとも12日の半減期を示す。一実施形態では、ヒト化TDP-43結合分子は、hACI-7069-633B12-Ab1__H33L27またはhACI-7069-633B12-Ab1__H32L27であってよい。クリアランス（例えば全身の、CL）および半減期（ $T_{1/2\beta}$ ）の測定のため、実施例5が参照され得る。

【0179】

本発明の一部の実施形態では、本発明のヒト化抗TDP-43結合分子は、NHPにおいて0.27mL/h/kg以下、特に0.12mL/h/kg以下、より具体的には0.08mL/h/kg以下のクリアランスを有する。一部の実施形態では、本発明のヒト化TDP-43結合分子、特にヒト化TDP-43抗体またはその抗原結合性断片は、NHPにおいて少なくとも6日、好ましくは少なくとも8日、例えば少なくとも10日または12日の半減期を示す。一実施形態では、ヒト化TDP-43結合分子は、hACI-7069-633B12-Ab1__H33L27またはhACI-7069-633B12-Ab1__H32L27であってよい。クリアランス（例えば全身の、CL）および半減期（ $T_{1/2\beta}$ ）の測定のため、実施例6が参照され得る。

【0180】

一部の実施形態では、本発明のヒト化TDP-43結合分子、特にヒト化TDP-43抗体またはその抗原結合性断片は、少なくとも20日、好ましくは少なくとも24日、例えば少なくとも26日のヒトにおける予測される半減期を示す。ヒトにおける予測される半減期は、27~30日または17~22日であり得る。ヒト化TDP-43結合分子は、hACI-7069-633B12-Ab1__H33L27またはhACI-7069-633B12-Ab1__H32L27であってよい。Tg32マウスおよび／またはカニクイザルの半減期からヒトにおける予測される半減期を計算する方法については実施例9が参照され得る。

【0181】

一部の実施形態では、ヒト化TDP-43結合分子、特に本明細書に記載したヒト化TDP-43抗体およびその断片をコードする（単離された）核酸が提供される。

【0182】

一部の実施形態では、ヒト化抗TPD-43抗体をコードする配列番号38を含む（単離された）核酸が提供される。

【0183】

10

20

30

40

50

一部の実施形態では、ヒト化抗 T P D - 4 3 抗体をコードする配列番号 4 8 を含む（単離された）核酸が提供される。

【0184】

一部の実施形態では、ヒト化抗 T P D - 4 3 抗体をコードする配列番号 5 8 を含む（単離された）核酸が提供される。

【0185】

一部の実施形態では、ヒト化抗 T P D - 4 3 抗体をコードする配列番号 6 8 を含む（単離された）核酸が提供される。

【0186】

一部の実施形態では、ヒト化抗 T P D - 4 3 抗体をコードする配列番号 7 8 を含む（単離された）核酸が提供される。 10

【0187】

一部の実施形態では、ヒト化抗 T P D - 4 3 抗体をコードする配列番号 8 8 を含む（単離された）核酸が提供される。

【0188】

一部の実施形態では、ヒト化抗 T P D - 4 3 抗体をコードする配列番号 9 8 を含む（単離された）核酸が提供される。

【0189】

一部の実施形態では、ヒト化抗 T P D - 4 3 抗体をコードする配列番号 1 0 8 を含む（単離された）核酸が提供される。 20

【0190】

一部の実施形態では、ヒト化抗 T P D - 4 3 抗体をコードする配列番号 1 1 8 を含む（単離された）核酸が提供される。

【0191】

一部の実施形態では、ヒト化抗 T P D - 4 3 抗体をコードする配列番号 1 2 8 を含む（単離された）核酸が提供される。

【0192】

一部の実施形態では、ヒト化抗 T P D - 4 3 抗体をコードする配列番号 3 9 を含む（単離された）核酸が提供される。

【0193】

一部の実施形態では、ヒト化抗 T P D - 4 3 抗体をコードする配列番号 4 9 を含む（単離された）核酸が提供される。 30

【0194】

一部の実施形態では、ヒト化抗 T P D - 4 3 抗体をコードする配列番号 5 9 を含む（単離された）核酸が提供される。

【0195】

一部の実施形態では、ヒト化抗 T P D - 4 3 抗体をコードする配列番号 6 9 を含む（単離された）核酸が提供される。

【0196】

一部の実施形態では、ヒト化抗 T P D - 4 3 抗体をコードする配列番号 7 9 を含む（単離された）核酸が提供される。 40

【0197】

一部の実施形態では、ヒト化抗 T P D - 4 3 抗体をコードする配列番号 8 9 を含む（単離された）核酸が提供される。

【0198】

一部の実施形態では、ヒト化抗 T P D - 4 3 抗体をコードする配列番号 9 9 を含む（単離された）核酸が提供される。

【0199】

X I I . 組成物および方法

本発明はまた、ヒト化 T D P - 4 3 結合分子、特に本明細書に記載した本発明のヒト化 50

抗体またはその抗原結合性断片ならびに薬学的に許容される担体および／または賦形剤および／または希釈剤を含む医薬組成物に関する。

【0200】

一部の実施形態では、本明細書に記載した（単離された）ヒト化抗体および薬学的に許容される担体を含む医薬組成物が提供される。

【0201】

一部の実施形態では、本明細書に記載した結合分子、特に抗体またはその抗原結合性断片およびコンジュゲートした分子を含むコンジュゲートされた結合分子、特に抗体またはその抗原結合性断片が提供される。本発明のコンジュゲートは免疫コンジュゲートと称される。本発明に従って任意の好適なコンジュゲート分子を採用してよい。好適な例には、それだけに限らないが、酵素（例えばアルカリホスファターゼまたはセイヨウワサビペルオキシダーゼ）、アビジン、ストレプトアビジン、ビオチン、プロテイン A / G、磁性ビーズ、蛍光色素、放射性同位元素（即ち放射性コンジュゲート）、核酸分子、検出可能な標識、治療剤、毒素、および血液脳関門浸透部分が含まれる。コンジュゲーション法は当技術分野で周知であり、抗体を標識またはその他分子にコンジュゲートするいくつかの技術が市販で入手可能である。コンジュゲーションは、典型的には本発明の結合分子の中に含まれるアミノ酸残基（例えばリシン、ヒスチジン、またはシステイン）を介する。これらは、NHS（スクシンイミジル）エステル法、イソチオシアネート法、カルボジイミド法、および過ヨウ素酸法等の方法に依拠し得る。コンジュゲーションは、例えば融合タンパク質の作出を通して達成され得る。結合分子が別のタンパク質分子とコンジュゲートする場合には、これは適切である。即ち、本発明の結合分子と標識またはその他の分子との融合の発現を可能にする好適な遺伝子コンストラクトが形成され得る。コンジュゲーションは、抗体とコンジュゲート分子、例えば検出可能な標識との好適な空間的分離を保証するための好適なリンカー部分を介してよい。しかし、リンカーは全ての例で必要なわけではない。一部の実施形態では、本発明のヒト化 TDP-43 特異的結合分子は検出可能な標識に連結されている。

【0202】

本発明はまた、1つまたは複数の治療剤、例えば化学療法剤もしくは薬物、増殖阻害剤、毒素（例えばタンパク質毒素、細菌、真菌、植物、もしくは動物起源の酵素活性毒素、またはそれらの断片）、放射性同位元素（即ち放射性コンジュゲート）、血液脳関門浸透性部分、または検出可能な標識にコンジュゲートされた、本明細書で提供するヒト化 TDP-43 結合分子を含む免疫コンジュゲートに関する。本明細書で論じるように、血液脳関門（BBB）を超える薬物デリバリーを改善するための種々の手法が存在し、これらの考察は必要に応じて変更して適用される。非侵襲的手法にはいわゆる「トロイの馬アプローチ」が含まれ、コンジュゲート分子は本発明の結合分子を BBB 受容体への結合および輸送の媒介によって送達する。好適な分子には、BBB 受容体上の特定のエピトープに結合する内因性リガンドまたは抗体、特にモノクローナル抗体が含まれる。

【0203】

一部の実施形態では、本明細書に記載した（単離された）ヒト化抗体および治療剤を含む免疫コンジュゲートが提供される。一部の実施形態では、本明細書に記載したヒト化抗体および検出可能な標識を含む標識されたヒト化抗体が提供される。

【0204】

一部の実施形態では、ヒト化 TDP-43 特異的結合分子は、ヒト化 TDP-43 特異的結合分子が別の好適な治療剤に共有結合で連結されている免疫コンジュゲートの部分である。

【0205】

一部の実施形態では、ヒト化 TDP-43 特異的結合分子またはこれを含む免疫コンジュゲートは、ヒト化 TDP-43 特異的結合分子を含む組成物として存在している。

【0206】

一部の実施形態では、ヒト化 TDP-43 特異的結合分子は、ヒト化 TDP-43 特異

10

20

30

40

50

的結合分子もしくはヒト化TDP-43特異的結合分子が別の好適な治療剤に共有結合で連結された免疫コンジュゲートを含む医薬組成物、または薬学的に許容される担体および／もしくは賦形剤および／もしくは希釈剤と組み合わせたヒト化TDP-43特異的結合分子を含む組成物の部分である。

【0207】

一部の実施形態では、ヒト化TDP-43特異的結合分子は、ヒト化TDP-43特異的結合分子、またはヒト化TDP-43特異的結合分子が別の好適な治療剤に共有結合で連結された免疫コンジュゲート、またはヒト化TDP-43特異的結合分子を含む組成物を含む検出および／または診断用のキットの部分である。

【0208】

本発明のヒト化結合分子を含むキットも提供される。特に、そのようなキットは、本発明の診断法（これは分類、モニタリング、および治療選択法を含む）を実施するために有用であり得る。即ち、本発明のヒト化TDP-43特異的結合分子を含む、TDP-43に関連する、特にTDP-43凝集体に関連する、疾患、障害、および／または異常、またはTDP-43タンパク質症の診断のため、または本発明の方法における使用のためのキットが提供される。そのようなキットは、本明細書で提供する方法を実施するために必要な全ての部品を含み得る。典型的には、それぞれの部品は単一の全体パッケージの中に分離して保存される。キットに内包される好適な追加の部品としては、例えば緩衝剤、検出可能な色素、実験装置、反応容器、使用説明書等がある。使用説明書は、キットが採用される特定の方法に合わせて調整し得る。そのようなキットに内包される好適に標識された本発明のヒト化TDP-43結合分子も提供される。

【0209】

一部の実施形態では、ヒト化TDP-43特異的結合分子は、TDP-43タンパク質症の防止、診断、または処置における使用のための免疫診断法において使用される。

【0210】

一部の実施形態では、それを必要とする対象に投与される、ヒト化TDP-43特異的結合分子、またはヒト化TDP-43特異的結合分子が別の好適な治療剤に共有結合で連結された免疫コンジュゲート、またはヒト化TDP-43特異的結合分子を含む組成物は、前頭側頭型認知症（FTD）、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、アルツハイマー病（AD）、パーキンソン病（PD）、慢性外傷性脳症（CTE）、辺縁系優位型加齢性TDP-43脳症（LATE）を含むがこれらに限らない、TDP-43に関連する、特にTDP-43凝集体に関連する、疾患、障害、および／または異常、またはTDP-43タンパク質症を診断、防止、改善、または処置するために使用される。

【0211】

一部の実施形態では、ヒト化TDP-43特異的結合分子、またはヒト化TDP-43特異的結合分子が別の好適な治療剤に共有結合で連結された免疫コンジュゲート、またはヒト化TDP-43特異的結合分子を含む組成物は、それを必要とする対象に投与されるか、または前頭側頭型認知症（例えば染色体9pに連鎖する、プログナミン（GRN）の突然変異を伴う、C9orf72の突然変異を伴う、TARDBPの突然変異を伴う、バロシン含有タンパク質（VCP）の突然変異を伴う、運動ニューロン疾患（MND）を伴うかまたは伴わない散发性または家族性のFTD、大脳皮質基底核変性症、ユビキチン陽性TDP-43封入体を伴う前頭側頭葉変性（FTLD）（FTLD-TDP）、嗜銀顆粒性疾患、ピック病、意味性亜型原発性進行性失語症（svPPA）、行動性亜型FTD（bvFTD）、非流暢性亜型原発性進行性失語症（nfvPPA）等）、筋萎縮性側索硬化症（例えば散发性ALS、TARDBPの突然変異を伴う、アングリオゲニン（ANG）の突然変異を伴うALS）、アレクサンダー病（AxD）、辺縁系優位型加齢性TDP-43脳症（LATE）、慢性外傷性脳症（CTE）、ペリー症候群、アルツハイマー病（AD、散发性および家族性の形態のADを含む）、ダウン症候群、家族性英国型認知症、ポリグルタミン病（ハンチントン病および3型脊髄小脳失調（SCA3、マチャドジョゼフ病としても知られている））、海馬硬化認知症およびミオパチー（散发性封入体筋

10

20

30

40

50

炎、バロシン含有タンパク質（V C P）の突然変異を伴う封入体ミオパチー；骨のパジェット病および前頭側頭型認知症も）、辺縁小胞を伴う眼咽頭筋ジストロフィー、ミオチリン（M Y O T）遺伝子の突然変異またはデスミン（D E S）をコードする遺伝子の突然変異を伴う筋細線維ミオパチー、外傷性脳傷害（T B I）、レヴィー小体認知症（D L B）、またはパーキンソン病（P D）から選択される、T D P - 4 3に関連する、特にT D P - 4 3凝集体に関連する、疾患、障害、および／または異常、またはT D P - 4 3タンパク質症を診断またはモニターするための方法において使用される。

【0212】

他の実施形態では、本発明は、前頭側頭型認知症（F T D）、筋萎縮性側索硬化症（A L S）、アルツハイマー病（A D）、パーキンソン病（P D）、慢性外傷性脳症（C T E）、および辺縁系優位型加齢性T D P - 4 3脳症（L A T E）から選択される、T D P - 4 3に関連する、特にT D P 4 3凝集体に関連する、疾患、障害、および／または異常、またはT D P - 4 3タンパク質症を検出、診断、またはモニターするための任意の方法に関する。

【0213】

好ましくは、T D P - 4 3に関連する、特にT D P 4 3凝集体に関連する、疾患、障害、および／または異常、またはT D P - 4 3タンパク質症は、筋萎縮性側索硬化症（A L S）、アルツハイマー病（A D）、および前頭側頭型認知症（F T D）から選択される。より好ましくは、T D P - 4 3に関連する、特にT D P - 4 3凝集体に関連する、疾患、障害、および／または異常、またはT D P - 4 3タンパク質症は、筋萎縮性側索硬化症（A L S）である。より好ましくは、T D P - 4 3に関連する、特にT D P - 4 3凝集体に関連する、疾患、障害、および／または異常、またはT D P - 4 3タンパク質症は、アルツハイマー病（A D）である。より好ましくは、T D P - 4 3に関連する、特にT D P - 4 3凝集体に関連する、疾患、障害、および／または異常、またはT D P - 4 3タンパク質症は、前頭側頭型認知症（F T D）である。

【0214】

一部の実施形態では、ヒト化T D P - 4 3特異的結合分子は、発症前疾患の診断のため、または疾患の進行および治療有効性のモニタリングのため、または応答性の予測のため、またはヒト化T D P - 4 3特異的結合分子による処置に応答する可能性のある対象を選択するための方法において使用される。前記方法は、好ましくはヒト血液または尿の試料を使用して実施される。最も好ましくは、本方法はE L I S A系アッセイまたは表面適合化アッセイを含む。

【0215】

一部の実施形態では、ヒト化T D P - 4 3特異的結合分子は、前頭側頭変性（F T D）または筋萎縮性側索硬化症（A L S）、アルツハイマー病（A D）、慢性外傷性脳症（C T E）、ペリー症候群、辺縁系優位型加齢性T D P - 4 3脳症（L A T E）、および／またはパーキンソン病（P D）を検出、診断、またはモニターするために本発明のヒト化T D P - 4 3特異的結合分子を試料（例えば血液、尿、脳脊髄液、間質液（I S F）、または脳組織）と接触させる方法において使用される。

【0216】

一部の実施形態では、ヒト化T D P - 4 3特異的結合分子は、前頭側頭型認知症（例えば染色体9 pに連鎖する、プログラヌリン（G R N）の突然変異を伴う、C 9 o r f 7 2の突然変異を伴う、T A R D B Pの突然変異を伴う、バロシン含有タンパク質（V C P）の突然変異を伴う、運動ニューロン疾患（M N D）を伴うかまたは伴わない散発性または家族性のF T D、大脳皮質基底核変性症、ユビキチン陽性T D P - 4 3封入体を伴う前頭側頭葉変性（F T L D）（F T L D - T D P）、嗜銀顆粒性疾患、ピック病、意味性亜型原発性進行性失語症（s v P P A）、行動性亜型F T D（b v F T D）、非流暢性亜型原発性進行性失語症（n f v P P A）等）、筋萎縮性側索硬化症（例えば散発性A L S、T A R D B Pの突然変異を伴う、アンギオゲニン（A N G）の突然変異を伴うA L S）、アレクサンダー病（A x D）、辺縁系優位型加齢性T D P - 4 3脳症（L A T E）、慢性外

10

20

30

40

50

傷性脳症（CTE）、ペリー症候群、アルツハイマー病（AD、散発性および家族性の形態のADを含む）、ダウン症候群、家族性英国型認知症、ポリグルタミン病（ハンチントン病および3型脊髄小脳失調（SCA3、マチャドジョゼフ病としても知られている））、海馬硬化認知症およびミオパチー（散発性封入体筋炎、バロシン含有タンパク質（VCP）の突然変異を伴う封入体ミオパチー；骨のパジェット病および前頭側頭型認知症も）、辺縁小胞を伴う眼咽頭筋ジストロフィー、ミオチリン（MYOT）遺伝子の突然変異またはデスミン（DES）をコードする遺伝子の突然変異を伴う筋細線維ミオパチー、外傷性脳傷害（TBI）、レヴィー小体認知症（DLB）、またはパーキンソン病（PD）から選択される疾患を検出、診断、またはモニターするために本発明のヒト化TDP-43特異的結合分子を試料（例えば血液、尿、脳脊髄液、間質液（ISF）、または脳組織）と接触させる方法において使用される。

10

【0217】

一部の実施形態では、ヒト化TDP-43特異的結合分子、またはヒト化TDP-43特異的結合分子が別の好適な治療剤に共有結合で連結された免疫コンジュゲート、またはヒト化TDP-43特異的結合分子を含む組成物は、それを必要とする対象に投与されるか、またはTDP-43に関連する、特にTDP-43凝集体に関連する、疾患、障害、および／または異常、またはTDP-43タンパク質症、または前頭側頭型認知症（FTD）もしくは筋萎縮性側索硬化症（ALS）、アルツハイマー病（AD、散発性および家族性の形態のADを含む）、慢性外傷性脳症（CTE）、ペリー症候群、および辺縁系優位型加齢性TDP-43脳症（LATE）、および／またはパーキンソン病（PD）を防止、改善、または処置するために使用される。

20

【0218】

一部の実施形態では、ヒト化TDP-43特異的結合分子、またはヒト化TDP-43特異的結合分子が別の好適な治療剤に共有結合で連結された免疫コンジュゲート、またはヒト化TDP-43特異的結合分子を含む組成物は、それを必要とする対象に投与されるか、または前頭側頭型認知症（例えば染色体9pに連鎖する、プログラニン（GRN）の突然変異を伴う、C9orf72の突然変異を伴う、TARDBPの突然変異を伴う、バロシン含有タンパク質（VCP）の突然変異を伴う、運動ニューロン疾患（MND）を伴うかまたは伴わない散発性または家族性のFTD、大脳皮質基底核変性症、ユビキチン陽性TDP-43封入体を伴う前頭側頭葉変性（FTLD）（FTLD-TDP）、嗜銀顆粒性疾患、ピック病、意味性亜型原発性進行性失語症（svPPA）、行動性亜型FTD（bvFTD）、非流暢性亜型原発性進行性失語症（nfvPPA）等）、筋萎縮性側索硬化症（例えば散発性ALS、TARDBPの突然変異を伴う、アンギオゲニン（ANG）の突然変異を伴うALS）、アレクサンダー病（AxD）、辺縁系優位型加齢性TDP-43脳症（LATE）、慢性外傷性脳症（CTE）、ペリー症候群、アルツハイマー病（AD、散発性および家族性の形態のADを含む）、ダウン症候群、家族性英国型認知症、ポリグルタミン病（ハンチントン病および3型脊髄小脳失調（SCA3、マチャドジョゼフ病としても知られている））、海馬硬化認知症およびミオパチー（散発性封入体筋炎、バロシン含有タンパク質（VCP）の突然変異を伴う封入体ミオパチー；骨のパジェット病および前頭側頭型認知症も）、辺縁小胞を伴う眼咽頭筋ジストロフィー、ミオチリン（MYOT）遺伝子の突然変異またはデスミン（DES）をコードする遺伝子の突然変異を伴う筋細線維ミオパチー、外傷性脳傷害（TBI）、レヴィー小体認知症（DLB）、またはパーキンソン病（PD）から選択される疾患を処置するために使用される。好ましくは、前記疾患の処置は、知的認識を保持または増大させることを助け、および／またはTDP-43凝集体の脳内レベルを低減させる。

30

40

【0219】

一部の実施形態では、それを必要とする対象に投与される、ヒト化TDP-43特異的結合分子、またはヒト化TDP-43特異的結合分子が別の好適な治療剤に共有結合で連結された免疫コンジュゲート、またはヒト化TDP-43特異的結合分子を含む組成物は、TDP-43に関連する、特にTDP-43凝集体に関連する、疾患、障害、および／

50

または異常、またはTDP-43タンパク質症、または前頭側頭型認知症（FTD）もしくは筋萎縮性側索硬化症（ALS）、アルツハイマー病（AD、散発性および家族性のADの形態を含む）、慢性外傷性脳症（CTE）、ペリー症候群、および辺縁系優位型加齢性TDP-43脳症（LATE）、および／またはパーキンソン病（PD）を処置するための医薬を製造するために使用される。

【0220】

本明細書に記載したヒト化抗TDP-43抗体（TDP-43特異的結合分子の好ましい型）または免疫コンジュゲートの医薬製剤は、所望の純度を有するそのようなヒト化抗体または免疫コンジュゲートを任意の1つまたは複数の薬学的に許容される担体および／または賦形剤および／または希釈剤（Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)）と混合することによって調製される。典型的には、抗体またはその断片は、凍結乾燥製剤または水溶液として調製される。薬学的に許容される担体は一般に、採用される投薬量および濃度ではレシピエントに無毒性であり、それだけに限らないが、リン酸塩、クエン酸塩、およびその他の有機酸等の緩衝剤；アスコルビン酸およびメチオニンを含む抗酸化剤；保存剤（オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド；ヘキサメトニウムクロリド；ベンザルコニウムクロリド；ベンゼトニウムクロリド；フェノール；ブチルまたはベンジルアルコール；メチルまたはプロピルパラベン等のアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；およびm-クレゾール等）；低分子量（約10残基未満）のポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリン等のタンパク質；ポリビニルピロリドン等の親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、またはリシン等のアミノ酸；グルコース、マンノース、またはデキストリンを含む単糖、二糖、およびその他の炭水化物；EDTA等のキレート化剤；スクロース、マンニトール、トレハロース、またはソルビトール等の糖類；ナトリウム等の塩形成性カウンタートン；金属複合体（例えばZn-タンパク質複合体）；および／またはポリエチレングリコール（PEG）等の非イオン性界面活性剤を含む。本明細書の例示的な薬学的に許容される担体には、可溶性中性活性ヒアルロニダーゼ糖タンパク質（sHASEGP）、例えばヒト可溶性PH-20ヒアルロニダーゼ糖タンパク質、例えばrHuPH20（HYLENE X（登録商標）、Baxter International, Inc.）等の間質薬物分散剤がさらに含まれる。rHuPH20を含むある種の例示的なsHASEGPおよび使用の方法は、米国特許公開2005/0260186および2006/0104968に記載されている。一態様では、sHASEGPは1つまたは複数の追加のグリコサミノグリカナーゼ、例えばコンドロイチナーゼと組み合わせられる。組成物を製剤化するために使用できる薬学的に許容される賦形剤には、それだけに限らないが、イオン交換剤、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等の血清蛋白質、リン酸塩等の緩衝物質、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、塩または電解質、例えばプロタミン硫酸、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、三ケイ酸マグネシウム、ポリビニルピロリドン、セルロース系物質（例えばカルボキシメチルセルロースナトリウム）、ポリエチレングリコール、ポリアクリレート、ワックス類、ポリエチレンーポリオキシプロピレンーブロックコポリマー、ポリエチレングリコール、およびラノリンが含まれる。希釈剤は緩衝剤であってよい。これらは、リン酸塩、酢酸塩、クエン酸塩、コハク酸塩、および酒石酸塩からなる群から選択される塩を含んでよく、および／または緩衝剤はヒスチジン、グリシン、TRISグリシン、Tris、またはこれらの混合物を含む。本発明の文脈において、希釈剤がリン酸カリウム、酢酸／酢酸ナトリウム、クエン酸／クエン酸ナトリウム、コハク酸／コハク酸ナトリウム、酒石酸／酒石酸ナトリウム、およびヒスチジン／ヒスチジンHCl、またはこれらの混合物からなる群から選択される緩衝剤であることもさらに想定される。

【0221】

例示的な凍結乾燥抗体または免疫コンジュゲート製剤は、米国特許第6,267,95

10

20

30

40

50

8号に記載されている。水性の抗体または免疫コンジュゲート製剤には、米国特許第6,171,586号およびW02006/044908に記載されたものが含まれ、後者の製剤はヒスチジナー酢酸塩緩衝剤を含む。

【0222】

本明細書の製剤は、処置される特定の適応症のための必要に応じて2つ以上の活性成分、好ましくは相互に悪影響を及ぼさない補完的活性を有する成分を含んでもよい。

【0223】

活性成分は、例えばコアセルベーション手法によって、または界面重合によって、例えばヒドロキシメチルセルロースまたはそれぞれゼラチンのマイクロカプセルおよびポリ(メチルメタクリレート)マイクロカプセル、コロイド状薬物デリバリーシステム(例えばリポソーム、アルブミンマイクロスフィア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子、およびナノカプセル)、またはマクロエマルジョンによって調製されるマイクロカプセル中にトラップしてよい。そのような手法は、Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)に開示されている。

【0224】

持続放出調製物を調製してもよい。持続放出調製物の好適な例には、抗体または免疫コンジュゲートを含む固体の疎水性ポリマーの半透性マトリックスが含まれ、このマトリックスは成形された物品、例えばフィルムまたはマイクロカプセルの形態を有している。インビボ投与のために使用される製剤は一般に無菌である。無菌性は例えば無菌濾過膜による濾過によって容易に達成される。

【0225】

本明細書で提供するヒト化抗原結合分子、ヒト化抗TDP-43抗体、または免疫コンジュゲートのいずれも、例えば治療方法等の方法に使用される。

【0226】

別の態様では、医薬としての使用のためのヒト化抗TDP-43抗体(ヒト化TDP-43特異的結合分子の好ましい型)または免疫コンジュゲートが提供される。さらなる態様では、処置の方法における使用のための抗ミスフォールドヒト化TDP-43抗体(ヒト化TDP-43特異的結合分子の好ましい型)または免疫コンジュゲートが提供される。ある特定の実施形態では、TDP-43タンパク質症の防止、診断、および/または処置における使用のためのヒト化抗TDP-43抗体(ヒト化TDP-43特異的結合分子の好ましい型)または免疫コンジュゲートが提供される。本発明の好ましい実施形態では、TDP-43に関連する、特にTDP-43凝集体に関連する、疾患、障害、および/または異常、または前頭側頭型認知症(FTD)、筋萎縮性側索硬化症(ALS)、アルツハイマー病(AD)、パーキンソン病(PD)、慢性外傷性脳症(CTE)、および/または辺縁系優位型加齢性TDP-43脳症(LATE)を含むがこれらに限らないTDP-43タンパク質症の防止、診断、および/または処置における使用のためのヒト化抗TDP-43抗体(ヒト化TDP-43特異的結合分子の好ましい型)または免疫コンジュゲートが提供される。

【0227】

さらなる態様では、本発明は、医薬の製造または調製におけるヒト化抗TDP-43抗体(ヒト化TDP-43特異的結合分子の好ましい型)または免疫コンジュゲートの使用が提供される。1つのそのような実施形態では、方法は、有効量の例えば以下に記載する少なくとも1つのさらなる治療剤を個体に投与することをさらに含む。

【0228】

実施形態のいずれかによる「対象」または「個体」は、動物、哺乳動物、好ましくはヒトであってよい。

【0229】

さらなる態様では、本発明は、例えば治療方法のいずれかにおける使用のための、本明細書で提供するヒト化抗TDP-43抗体(ヒト化TDP-43特異的結合分子の好ましい型)または免疫コンジュゲートのいずれかを含む医薬製剤を提供する。一実施形態では

、医薬製剤は、本明細書で提供するヒト化抗 T D P - 4 3 抗体（ヒト化 T D P - 4 3 特異的結合分子の好ましい型）または免疫コンジュゲートのいずれかならびに薬学的に許容される担体および／または賦形剤および／または希釈剤（本明細書の別の場所で論じた）を含む。別の実施形態では、医薬製剤は、本明細書で提供するヒト化抗 T D P - 4 3 抗体（ヒト化 T D P - 4 3 特異的結合分子の好ましい型）または免疫コンジュゲートのいずれかならびに例えば以下に記載する少なくとも 1 つのさらなる治療剤を含む。

【0230】

本発明のヒト化抗体または免疫コンジュゲートは、単独でまたは他の薬剤と組み合わせることで治療に使用することができる。例えば、本発明のヒト化抗体（ヒト化 T D P - 4 3 特異的結合分子の好ましい型）または免疫コンジュゲートは、アルファシヌクレイン、B A C E 1、タウ、ベータアミロイド、T D P - 4 3、または神経炎症タンパク質を標的とする少なくとも 1 つのさらなる治療剤と共投与してよい。

10

【0231】

例えば、本発明のヒト化抗体（ヒト化 T D P - 4 3 特異的結合分子の好ましい型）または免疫コンジュゲートは、神経薬物、抗アミロイドベータ抗体、抗タウ抗体、タウ凝集阻害剤（小分子を含む）、ベータアミロイド凝集阻害剤（小分子を含む）、抗 B A C E 1 抗体、B A C E 1 阻害剤、抗アルファシヌクレイン阻害剤、抗アルファシヌクレイン抗体、および神経炎症阻害剤から選択されるがこれらに限定されない少なくとも 1 つのさらなる治療剤と共投与してよい。

【0232】

20

上で注記したそのような組合せ治療は、組合せ投与（2 つ以上の治療剤が同じまたは別の製剤に含まれる）および個別の投与（この場合には本発明のヒト化抗体（ヒト化 T D P - 4 3 特異的結合分子の好ましい型）または免疫コンジュゲートの投与がさらなる治療剤および／またはアジュバントの投与の前、これと同時に、および／またはその後に行われる）を包含する。本発明のヒト化抗体（ヒト化 T D P - 4 3 特異的結合分子の好ましい型）または免疫コンジュゲートは、放射線療法と組み合わせて使用することもできる。

【0233】

本発明のヒト化抗体（ヒト化 T D P - 4 3 特異的結合分子の好ましい型）または免疫コンジュゲート（および任意のさらなる治療剤）は、非経口、肺内、および鼻内、ならびに局所処置のために望まれれば病変内、子宮内、または嚢内の投与を含む任意の好適な手段によって投与することができる。非経口注入には、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、または皮下の投与が含まれる。投薬は任意の好適な経路、例えば部分的には投与が短期間か慢性的によって静脈内または皮下の注射等の注射によってよい。種々の時点にわたる単回投与または多回投与、ボラス投与、およびパルス注入を含むがこれらに限定されない種々の投薬スケジュールが本明細書で意図されている。

30

【0234】

本発明のヒト化抗体（ヒト化 T D P - 4 3 特異的結合分子の好ましい型）または免疫コンジュゲートは、適正医療基準に合致した様式で製剤化、投薬、および投与される。この文脈において考慮すべき要素には、T D P - 4 3 に関連する、特に T D P - 4 3 凝集体に関連する、処置される特定の疾患、障害、および／または異常、または T D P - 4 3 タンパク質症、処置される哺乳動物、個体対象の臨床的状態、T D P - 4 3 に関連する、特に T D P - 4 3 凝集体に関連する、疾患、障害、および／または異常、または T D P - 4 3 タンパク質症の原因、薬剤のデリバリーの部位、投与の方法、投与のスケジュールリング、および臨床医には既知の他の因子が含まれる。ヒト化抗体または免疫コンジュゲートは、T D P - 4 3 に関連する、特に T D P - 4 3 凝集体に関連する、疾患、障害、および／または異常、または問題の T D P - 4 3 タンパク質症を防止または処置するために現在使用されている 1 つまたは複数の薬剤とともに製剤化する必要はないが、これらとともに製剤化してもよい。そのような他の薬剤の有効量は、製剤中に存在するヒト化抗体または免疫コンジュゲートの量、T D P - 4 3 に関連する、特に T D P - 4 3 凝集体に関連する、疾患、障害、および／または異常、または T D P - 4 3 タンパク質症の型または処置、およ

40

50

び上で論じたその他の因子に依存する。これらは一般に、本明細書に記載した同じ投薬量および投与経路で、または本明細書に記載した投薬量の約1～99%で、または適切であると実験的／臨床的に決定された任意の投薬量および任意の経路で、使用される。

【0235】

疾患の防止または処置のため、本発明のヒト化抗体（ヒト化TDP-43特異的結合分子の好ましい型）または免疫コンジュゲートの適切な投薬量（単独でまたは1つもしくは複数の追加の他の治療剤と組み合わせて使用する場合）は、処置すべき疾患の型、抗体または免疫コンジュゲートの型、疾患の重症度および経過、抗体または免疫コンジュゲートが防止目的または治療目的のために投与されるか、以前の治療、対象の病歴、および抗体または免疫コンジュゲートに対する反応、ならびに担当医の裁量に依存することになる。ヒト化抗体（ヒト化TDP-43特異的結合分子の好ましい型）または免疫コンジュゲートは一度に、または一連の処置にわたって、好適に対象に投与される。疾患の型および重症度に応じて、約 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ ～ $15\text{mg}/\text{kg}$ （例えば $0.1\text{mg}/\text{kg}$ ～ $10\text{mg}/\text{kg}$ ）のヒト化抗体（ヒト化TDP-43特異的結合分子の好ましい型）または免疫コンジュゲートを、例えば1回もしくは複数回の個別の投与、または連続注入によって、対象への最初の候補投薬量とすることができる。1つの典型的な1日投薬量は、上述の因子に応じて約 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ ～ $100\text{mg}/\text{kg}$ またはそれ以上の範囲であってよい。数日またはそれ以上にわたる反復投与については、状態に応じて処置は一般に疾患症状の所望の抑制が生じるまで持続される。ヒト化抗体または免疫コンジュゲートの1つの例示的な投薬量は、約 $0.05\text{mg}/\text{kg}$ ～約 $10\text{mg}/\text{kg}$ の範囲であろう。即ち、約 $0.5\text{mg}/\text{kg}$ 、 $2.0\text{mg}/\text{kg}$ 、 $4.0\text{mg}/\text{kg}$ 、または $10\text{mg}/\text{kg}$ （またはそれらの任意の組合せ）の1つまたは複数の用量を対象に投与してよい。そのような用量は、間欠的に、例えば毎週または3週ごと（例えば対象が約2～約20用量、または例えば約6用量の抗体を受けるように）投与してよい。初期の高い負荷用量およびそれに続く1つまたは複数の低い用量を投与してよい。しかし、他の投薬レジメンも有用であり得る。この療法の進行は、従来手法およびアッセイによって容易にモニターされる。

【0236】

上記の製剤または治療方法のいずれも、本発明の免疫コンジュゲートおよびヒト化抗TDP-43抗体（ヒト化TDP-43特異的結合分子の好ましい型）の両方を使用して行うことが理解される。

【0237】

本発明の別の態様では、TDP-43に関連する、特にTDP-43凝集体に関連する、疾患、障害、または異常、またはTDP-43タンパク質症の処置、防止、および／または診断のために有用な上記の材料を含む、製造のための物品が提供される。製造用物品には、容器および容器上のもしくは容器に付随するラベルまたは添付文書が含まれる。好適な容器には、例えばボトル、バイアル、シリンジ、IV溶液バッグ、その他が含まれる。容器はガラスまたはプラスチック等の種々の材料から形成してよい。容器は、TDP-43に関連する、特にTDP-43凝集体に関連する、疾患、障害、および／または異常、またはTDP-43タンパク質症を処置、防止、および／または診断するためにそれ自体でまたは別の組成物と組み合わせて有効な組成物を保持し、無菌のアクセスポートを有し得る（例えば、容器は静脈内溶液バッグまたは皮下注射針によって穿刺可能な栓を有するバイアルでよい）。組成物中の少なくとも1つの活性薬剤は本発明のヒト抗体または免疫コンジュゲートである。ラベルまたは添付文書は、組成物が選択した状態を処置するために使用されることを示す。

【0238】

さらに、製造用物品は、（a）本発明のヒト化抗体（ヒト化TDP-43特異的結合分子の好ましい型）または免疫コンジュゲートを含む組成物をその中に含む第1の容器；および（b）さらなる治療剤を含む組成物をその中に含む第2の容器を含んでよい。本発明のこの実施形態における製造用物品は、組成物が特定の状態を処置するために使用することができることを示す添付文書をさらに含んでよい。あるいはまたはさらに、製造用物品

は、薬学的に許容される緩衝剤、例えば静菌注射用水（B W F I）、リン酸塩緩衝食塩水、リンゲル液、またはデキストロース溶液を含む第2の（または第3の）容器をさらに含んでもよい。製造用物品は、その他の緩衝剤、希釈剤、フィルター、針、およびシリンジを含む、市販および使用者の観点から望ましい他の材料をさらに含んでよい。

【0239】

さらなる実施形態では、本発明は、本発明のヒト化結合分子、本発明の免疫コンジュゲート、本発明の組成物、または本発明の医薬組成物を投与することを含む、対象における認識記憶能力、運動および言語の機能を保持または増大し、または認識記憶能力、運動および言語の機能の低下を防止および／または遅延させる方法に関する。

【0240】

さらなる実施形態では、本発明は、本発明のヒト化結合分子、本発明の免疫コンジュゲート、本発明の組成物、または本発明の医薬組成物を投与することを含む、TDP-43のレベルを低減させる方法に関する。

【0241】

本発明の方法は、好ましくはアルファシヌクレイン、BACE1、タウ、ベータアミロイド、TDP-43、または神経炎症タンパク質を標的とする抗体または小分子から選択されるがそれだけに限らない追加の療法、特に神経薬物、抗ベータアミロイド抗体、抗タウ抗体、タウ凝集阻害剤、ベータアミロイド凝集阻害剤、抗BACE1抗体、BACE1阻害剤、抗アルファシヌクレイン抗体、および神経炎症阻害剤から選択される少なくとも1つの追加の療法の投与を含んでよい。

【0242】

本発明はさらに、試料を本発明のヒト化結合分子、好ましくは本発明のヒト化抗体と接触させることを含む、TDP-43を検出する方法に関し、試料は脳試料、脳脊髄液試料、間質液（ISF）試料、尿試料、または血液試料である。

【0243】

さらなる実施形態では、本発明は、試料を本発明のヒト化結合分子、好ましくは本発明のヒト化抗体と接触させることを含む、単一分子アレイ（SIMOA（登録商標））技術を使用してTDP-43のレベルを検出および／または測定する方法に関し、試料はヒト血液試料、脳脊髄液試料（CSF）、間質液（ISF）試料、または尿試料、好ましくはCSF試料である。

【0244】

ある特定の実施形態では、ヒト化TDP-43結合分子、特に本明細書で提供するヒト化TDP-43抗体およびその断片は、TDP-43、特に可溶性TDP-43との結合に関して1 μ M以下、100 nM以下、10 nM以下、1 nM以下、0.1 nM以下、0.01 nM以下、または0.001 nM以下（例えば10⁻⁸ M以下、例えば10⁻⁸ M ~ 10⁻¹³ M、例えば10⁻⁹ M ~ 10⁻¹³ M）の解離定数（KD）を有する。例えば、本発明のヒト化TDP-43結合分子は、可溶性の完全長TDP-43について2 nM以下、特定の実施形態では1 nM以下、より特定の実施形態では可溶性の完全長TDP-43について700 pM以下、好ましくは250 pM以下のKDを有し得る。これは、本発明のヒト化TDP-43結合分子について実施例3で表8を参照して実証されている。一実施形態では、完全長（FL）のTDP-43に対する結合親和性は、表面プラスモン共鳴（SPR；Biacore 8K, GE Healthcare Life Sciences）を使用して解離定数（KD）を決定することによって評価してよい。採用し得る好適なSPR法の詳細な説明については、実施例3を参照されたい。

【0245】

本発明のヒト化TDP-43結合分子は、TP-51ペプチドについて15 nM以下、特定の実施形態では10 nM以下、例えば4 nM以下、好ましくは2 nM以下のKDを有し得る。これはまた、実施例3における本発明のヒト化TDP-43結合分子について表8を参照して実証されている。

【0246】

10

20

30

40

50

即ち、本発明のヒト化 TDP-43 結合分子は、可溶性の完全長 TDP-43 について 575 pM 以下の KD および TP-51 ペプチドについて 2.2 nM 以下の KD、可溶性の完全長 TDP-43 について 575 pM 以下の KD および TP-51 ペプチドについて 1.6 nM 以下の KD、可溶性の完全長 TDP-43 について 550 pM 以下の KD および TP-51 ペプチドについて 2.2 nM 以下の KD、好ましくは可溶性の完全長 TDP-43 について 550 pM 以下の KD および TP-51 ペプチドについて 2 nM 以下の KD、より好ましくは可溶性の完全長 TDP-43 について 250 pM 以下の KD および TP-51 ペプチドについて 1.6 nM 以下の KD、さらにより好ましくは可溶性の完全長 TDP-43 について 150 pM 以下の KD および TP-51 ペプチドについて 1.0 nM 以下の KD、さらにより好ましくは可溶性の完全長 TDP-43 について 130 pM 以下の KD および TP-51 ペプチドについて 0.8 nM 以下の KD を有し得る。

10

【0247】

本発明のヒト化 TDP-43 結合分子は、播種能力のある TDP-43 を中和し得る。播種能力のある TDP-43 の中和は、リアルタイム振盪誘導変換 (Real-Time Quaking-induced Conversion) (RT-QIC) アッセイによって評価し得る。採用され得る好適な RT-QIC アッセイの詳細な説明については実施例 11 が参照され得る。「播種能力のある TDP-43」は、生理的な (即ち、非病原性の) TDP-43 の凝集を誘起することができる病原性 TDP-43 を意味する。

【0248】

本発明のヒト化 TDP-43 結合分子は、TDP-43 のクリアランスを促進し得る。TDP-43 のクリアランスの促進は、THP-1 細胞を使用するインビトロ (in vitro) アッセイによって評価し得る。採用され得る THP-1 細胞を使用する好適なアッセイの詳細な説明については実施例 12 が参照され得る。一般論としては、TDP-43 のクリアランスは、本発明の抗体によって、病原性 TDP-43 に結合し、抗体依存性細胞性ファゴサイトーシス (ADCP) によって除去される免疫複合体を形成することによって促進される。ADCP は、抗体の Fc 断片と、ミクログリアまたは樹状細胞等の胎児性免疫細胞の表面で発現した Fc ガンマ受容体等の Fc 受容体との相互作用によって媒介される。抗体の Fc 部分を改変することによって、Fc に媒介される機能を調整し、所望の効果を達成することができる。

20

【0249】

一部の実施形態では、本発明のヒト化 TDP-43 結合分子は、ヒト CSF 中の TDP-43 について 250 pM 未満、好ましくは 237 pM 以下の EC50 を有する。ヒト化 TDP-43 結合分子は、hACI-7069-633B12-Ab1-H33L27 であってよい。EC50 の測定方法については、実施例 14 が参照され得る。

30

【図面の簡単な説明】

【0250】

【図 1】 hACI-7069-633B12-Ab1-H33L27、hACI-7069-633B12-Ab1-H32L27、および hACI-7069-633B12-Ab1-H32L26 によるインビトロにおける TDP-43 凝集の阻害。簡単に述べると、MBP タグからの切断における組換え TDP-43 のデノボ (de novo) 凝集を、hACI-7069-633B12-Ab1-H33L27、hACI-7069-633B12-Ab1-H32L27、および hACI-7069-633B12-Ab1-H32L26 のいずれかの存在下で解析し、キメラ抗体 cACI-7069-633B12-Ab1 またはアイソタイプ対照と経時的に比較した。1.5 時間における凝集 TDP-43 のパーセンテージをアイソタイプ対照条件に正規化し、cACI-7069-633B12-Ab1、hACI-7069-633B12-Ab1-H33L27、hACI-7069-633B12-Ab1-H32L27、および hACI-7069-633B12-Ab1-H32L26 による強力な凝集阻害が示された。一元配置 ANOVA およびそれに続く多重比較のためのダネットのポストホック検定を使用した。**** p < 0.0001。

40

50

【図2】hACI-7069-633B12-Ab1__H33L27（円）またはhACI-7069-633B12-Ab1__H32L27（四角）を40mg/kgで単回IVボラス投与した後のホモ接合型Tg32マウスの血清中の薬物動態プロファイル。1時点あたり3匹の動物で、1化合物あたり21匹の雄マウスを使用した。研究の全継続期間は6週（1008時間）であった。

【図3】hACI-7069-633B12-Ab1__H33L27（A）またはhACI-7069-633B12-Ab1__H32L27（B）を40mg/kgで単回IVボラス投与した後のカニクイザルの血清中の薬物動態プロファイル。8週（1344時間）の研究期間について、1化合物あたり4匹の雄カニクイザルを使用した。

【図4】hACI-7069-633B12-Ab1__H33L27（A）またはhACI-7069-633B12-Ab1__H32L27（B）を40mg/kgで単回IVボラス投与した後のカニクイザルの血清中のTDP-43の薬物動態プロファイル。血清中のhACI-7069-633B12-Ab1__H33L27（A）およびhACI-7069-633B12-Ab1__H32L27（B）の標的関与を評価した。

【図5】散発性ALS（図5A）または健常対照（図5B）のドナー由来の脳脊髄液（CSF）の存在下の合成TDP-43ペプチド（TP-51）のリアルタイム振盪誘導変換（RT-QuIC）凝集の速度論。凝集およびフィブリル生成は、チオフラビンT（ThT）蛍光を使用して定量した。

【図6A】THP-1細胞によるpHrodo（商標）-TDP-43凝集体の取り込みは、hACI-7069-633B12-Ab1__H33L27またはキメラ抗体cACI-7069-633B12-Ab1の存在下で顕著に加速されるが、アイソタイプ抗体対照の存在下では加速されない。（A）は、凝集TDP-43、凝集TDP-43とアイソタイプ対照、凝集TDP-43とcACI-7069-633B12-Ab1、および凝集TDP-43とhACI-7069-633B12-Ab1__H33L27とインキュベートした細胞について24時間にわたって1時間ごとに（X軸）測定したpHrodo（商標）蛍光強度（Y軸）を示す。（B）は、凝集TDP-43、凝集TDP-43とアイソタイプ対照、凝集TDP-43とcACI-7069-633B12-Ab1、および凝集TDP-43とhACI-7069-633B12-Ab1__H33L27とインキュベートした細胞について10時間の時点で細胞コンフルエンスに正規化した蛍光強度の差異を示す。

【図6B】同上。

【図7A】（A）hACI-7069-633B12-Ab1__H33L27（レーン1）、cACI-7069-633B12-Ab1（レーン2）、またはアイソタイプ抗体対照（レーン3）による免疫枯渇の後のFTLD-TDP脳由来抽出物のTDP-43のイムノプロットの代表的な画像。（B）は、インプットにおける対応するシグナルに正規化した、全TDP-43（B：上パネル）またはTDP-43のC末端断片（即ち25kDa未満、CTF）（B：下パネル）について得られたシグナルの定量的解析を示す。

【図7B】同上。

【図8】ヒトCSF試料中のhACI-7069-633B12-Ab1__H33L27のTDP-43標的関与のグラフ表示。

【図9】40、120、および360mg/kgの用量で4週間、毎週1回、IV注入した後のカニクイザルにおけるhACI-7069-633B12-Ab1__H33L27の血清曝露。

【図10A】（A）hACI-7069-633B12-Ab1__H33L27、hACI-7069-633B12-Ab1__H19L18、またはcACI-7069-633B12-Ab1を40mg/kgで単回IVボラス投与した後のホモ接合型Tg32マウス血清における薬物動態プロファイル。（B）hACI-7069-633B12-Ab1__H33L27、hACI-7069-633B12-Ab1__H19L18、またはcACI-7069-633B12-Ab1を40mg/kgで単回IVボラス投与した後のカニクイザル血清における薬物動態プロファイル。

【図 10 B】 同上。

【実施例】

【0251】

【実施例 1】

【0252】

抗ヒト TDP-43 マウスモノクローナル抗体のヒト化

ヒト化可変領域の設計

ACI-7069-633B12-Ab1 の可変ドメインは、8.5 の理論的 pI および生理的 pH における +3.1 の正味電荷を有する。一部の場合には、抗体の高い陽性正味電荷がインビボにおける抗体の速いクリアランスに関与していることが示されている (Igawa et al, PEDS. 2010; vol. 23 no. 5 pp. 385-392, Bumbaca et al, JBC, VOL. 290, NO. 50, pp. 29732-29741, 2015)。分子の電荷プロファイルを最適化するため、低い pI を有するアクセプターフレームワークの対を、ACI-7069-633B12-Ab1 CDR (WO2020/234473 に記載された CDR) にグラフトするために選択した。最初に、重鎖および軽鎖のフレームワークを、マウスの重鎖および軽鎖の V 領域 (それぞれ配列番号 20 および 24) との配列同一性に基づいてランク付けした。そのような生殖細胞系列可変遺伝子を特定するため、IMG T データベース (Ehrenmann, F et al, (2010) Nucl. Acids Res., 38(S1):D301-D307) または IgBlast (Ye J. et al, (2013), Nucleic Acids Res. 2013 Jul; 41(Web Server issue): W34-W40) 等のヒトおよびマウスの生殖細胞系列可変遺伝子のデータベースが使用できる。次に、ウェブサーバー Isoelectric Point Calculator 2.0 (Kozlowski LP et al, Nucleic Acids Res. 49 (W1): W285-W292.) を使用して、それぞれ個別の鎖の理論的 pI を計算した。利用可能な全てのモデルからの平均 pI 値を、pH 7.4 で計算した正味電荷とともに考慮に入れた。

【0253】

重鎖可変ドメインについてはフレームワークIGHV1-69-2、IGHV1-24、IGHV5-51、またはIGHV3-43をアクセプターフレームワークとして使用できる一方、軽鎖可変ドメインについてはIGKV2-24、IGKV2-40、IGKV2D-40、IGKV2D-28、IGKV4-1、またはIGKV2-28をアクセプターフレームワークとして使用できる。列挙したフレームワークの全ては、ACI-7069-633B12-Ab1 の可変ドメインと同じかそれより低い理論的 pI および正味電荷を有している。

【0254】

IGHV 1-24 および IGKV 2-40 等のヒトフレームワークでは pI の僅かな低減が観察されたが、IGHV1-69-2 と IGKV 2-28 によって形成された対は Fv 正味電荷を実質的に低減し、バランスの取れた電荷分布を提供した。ヒトアクセプターフレームワークとして IGHV1-69-2 を使用すると、マウスの陽性荷電残基が置換 K64Q、R82aS、および K73T によって置き換えられることによって、陽性荷電の大きなパッチが破壊される。程度は低いが、VL として生殖細胞系列 IGKV 2-28 を使用すると、フレームワーク 2 における置換 K45Q による電荷の低減の一因となり、分子の親水性が維持されたまま陽性荷電が除去される。この解析から、IGHV1-69-2 および IGKV 2-28 のヒトフレームワークに基づく新規なヒト化変異体が生成された (表 3)。

【0255】

IGHV1-69-2 および IGKV 2-28 を、それぞれ重鎖および軽鎖の可変ドメインのアクセプターフレームワークとして選択した。IGHV1-69-2 は、ACI-7069-633B12-Ab1 VH と 64.9% の配列同一性を有する一方、4.3 の pI および生理的 pH で -6.9 の正味電荷を有する。IGKV 2-28 は ACI-7069-633B12-Ab1 VL と 72% の配列同一性を有する一方、4.7 の pI

および生理的 pH で -2.9 の正味電荷を有する。IGHJ2*01 および IGKJ2*02 をそれぞれ、重鎖および軽鎖の可変ドメインの J ジャンクション遺伝子として使用した。

【0256】

ヒト化プロセスへの出発点として、マウス CDR を VH と VL 領域の両方についてヒトアクセプターフレームワークにグラフトした。CDR をヒトアクセプターフレームワークに適応させるために、ヒト残基をマウス残基に置換することによって、重要な位置を改変した。

【0257】

CDR のコンフォメーションおよび／または VH／VL の配向に最も大きな影響を与える可能性のある残基を特定するため、ヒト-マウスハイブリッド VH-VL ペアの 3D モデルを、アボディビルダーサーバー (8) を使用するホモロジーモデリングによって生成させた。モデル解析により、表 2 に列挙した位置を含むアミノ酸の位置のサブセットの選択が可能になった。番号付けは Kabat 番号付けシステムによる。

【0258】

【表 2】

表 2: ACI-7069-633B12-Ab1 のヒトフレームワーク (Kabat 番号付け) に導入された逆突然変異

可変ドメイン	位置 (Kabat)	マウス残基	ヒト残基
VH	24	T	V
VH	27	F	Y
VH	48	I	M
VH	64	K	Q
VH	71	V	A
VH	73	K	T
VH	94	R	T
VL	2	V	I
VL	36	L	Y
VL	45	K	Q
VL	46	R	L
VL	57	R	G

【0259】

ACI-7069-633B12-Ab1 CDR 配列の中の、可能性のある翻訳後修飾部位を同定した。可変重鎖の中で、N53、N54、および G55 を、2つの脱アミド化部位として同定した。可変軽鎖の中では、D28 位および G29 位でアイソマー化部位が認識された一方、W89 位で酸化部位が同定された (Kabat 番号付けシステムによる)。一部のコンストラクトでは、N53Q および／または G55A を含む点突然変異が VH 領域に導入された一方、G29A および／または W89F が VL 領域に導入されて、CDR L1 および L3 における翻訳後修飾部位が除去された。

【0260】

pI および電荷の低減は、表 3 に例示している。

【0261】

10

20

30

40

50

【表 3】

表 3: ウェブサーバー-Isoelectric point calculator 2.0 (IPC 2.0 webserver)を使用して計算した ACI-7069-633B12-Ab1 ヒト化変異体の可変ドメインの理論的 pI および pH7.4 における正味電荷

抗体コード	Fv pI	pH 7.4 における 正味電荷
ACI-7069-633B12-Ab1	8.5	3.1
hACI-7069-633B12-Ab1 H27L23	7.4	-0.9
hACI-7069-633B12-Ab1 H28L22	7.7	0.1
hACI-7069-633B12-Ab1 H28L24	7.4	-0.9
hACI-7069-633B12-Ab1 H32L24	6.9	-1.9
hACI-7069-633B12-Ab1 H32L26	6.9	-1.9
hACI-7069-633B12-Ab1 H33L24	6.9	-1.9
hACI-7069-633B12-Ab1 H33L26	6.9	-1.9
hACI-7069-633B12-Ab1 H32L27	6.9	-1.9
hACI-7069-633B12-Ab1 H33L27	6.9	-1.9

10

【0262】

表 2 の逆突然変異 (backmutation) を組み合わせて、それぞれ表 4 および表 6 に列挙した配列を生成した。ヒト化 TDP-43 結合分子をコードする対応する核酸配列を、表 5 および表 7 に示す。

20

【0263】

30

40

50

【表 4 - 1】

表4: 重鎖(VH)およびそれらのCDRのアミノ酸配列

鎖	重鎖	CDRH1	CDRH2	CDRH3
ACI-7069-633B12-Ab1_VH	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKTSGFTFTTEYSMHVVK QSHGKSLGWGGINPNNGGTSYNQKFKGKATLTVDKSS STAYMELRSLTSEDSAVYYCARESWGQGTTLTIVSS (配列番号 20)	EYSM H (配列 番号 21)	GINPNNGGTSYNQKF KG (配列番号 22)	ES
hACI-7069-633B12- Ab1_H24	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKTSGFTFTTEYSMHVW QQAPGKGLEWGGINPNNGGTSYNQKFKGRVTITVDKS TDTAYMELSSLRSEDTAVYYCARESWGQGTTIVTVSS (配列番号 30)	EYSM H (配列 番号 21)	GINPNNGGTSYNQKF KG (配列番号 22)	ES
hACI-7069-633B12- Ab1_H25	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKTSGFTFTTEYSMHVW QQAPGKGLEWGGINPNNGGTSYNQKFKGRVTITVDTS TDTAYMELSSLRSEDTAVYYCARESWGQGTTIVTVSS (配列番号 40)	EYSM H (配列 番号 21)	GINPNNGGTSYNQKF KG (配列番号 22)	ES
hACI-7069-633B12- Ab1_H26	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKTSGFTFTTEYSMHVW QQAPGKGLEWMGGINPNNGGTSYNQKFKGRVTITVDT STDYAYMELSSLRSEDTAVYYCARESWGQGTTIVTVSS (配列番号 50)	EYSM H (配列 番号 21)	GINPNNGGTSYNQKF KG (配列番号 22)	ES
hACI-7069-633B12- Ab1_H27	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGFTFTTEYSMHVW QQAPGKGLEWMGGINPNNGGTSYNQKFKGRVTITVDT STDYAYMELSSLRSEDTAVYYCARESWGQGTTIVTVSS (配列番号 60)	EYSM H (配列 番号 21)	GINPNNGGTSYNQKF KG (配列番号 22)	ES

10

20

30

40

50

【表 4 - 2】

hACI-7069-633B12- Ab1_H28	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISKCVSGFTFTEYSMHVV QQAPGKGLEWMGGINPNNGGTSYNQKFKGRVTITADT STDТАYMELESSLRSEDTAVYYCARESWGQGTTTVTVSS (配列番号 70)	EYSM H (配列 番号 21)	GINPNNGGTSYNQKF KG (配列番号 22)	ES
hACI-7069-633B12- Ab1_H29	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISKCVSGFTFTEYSMHVV QQAPGKGLEWMGGINPNNGGTSYNQKFKGRVTITADT STDТАYMELESSLRSEDTAVYYCARESWGQGTTTVTVSS (配列番号 80)	EYSM H (配列 番号 21)	GINPNQGGTSYNQKF KG (配列番号 82)	ES
hACI-7069-633B12- Ab1_H30	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISKCVSGFTFTEYSMHVV QQAPGKGLEWMGGINPNQAGTSYNQKFKGRVTITADT STDТАYMELESSLRSEDTAVYYCARESWGQGTTTVTVSS (配列番号 90)	EYSM H (配列 番号 21)	GINPQNAGTSYNQKF KG (配列番号 92)	ES
hACI-7069-633B12- Ab1_H31	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISKCVSGFTFTEYSMHVV QQAPGKGLEWMGGINPNQGGTSYNQKFKQGRVTITADT STDТАYMELESSLRSEDTAVYYCARESWGQGTTTVTVSS (配列番号 100)	EYSM H (配列 番号 21)	GINPNQGGTSYNQKF QG (配列番号 102)	ES
hACI-7069-633B12- Ab1_H32	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISKCVSGFTFTEYSMHVV QQAPGKGLEWMGGINPNQAGTSYNQKFKQGRVTITADT STDТАYMELESSLRSEDTAVYYCARESWGQGTTTVTVSS (配列番号 110)	EYSM H (配 列番号 21)	GINPQNAGTSYNQKF QG (配列番号 112)	ES
hACI-7069-633B12- Ab1_H33	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISKCVSGFTFTEYSMHVV QQAPGKGLEWMGGINPNNGGTSYNQKFKQGRVTITADT STDТАYMELESSLRSEDTAVYYCARESWGQGTTTVTVSS (配列番号 120)	EYSM H (配 列番号 21)	GINPNNGGTSYNQKF QG (配列番号 122)	ES

【 0 2 6 4 】

10

20

30

40

50

【表 5 - 2】

hACI-7069-633B12- Ab1_H27	GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAAGTGAA AAAACCGGGCGGACCGTGAAAAATTAGCTGCAAAAG TGAGCGGCTTTACCTTTACCGAATATAGCATGCAATTGGGTGCAGCAGGCGCGGCAAAAGGCCTGGAATGG ATGGCGGGCATTAAACCCGAACAACGGCGGACCCAGCTATAACACAGAAATTTAAAGGCCGTGTGACCATTTAC CGTGGATACCAAGCAGCAGTACCGGTATATGGAACCTGAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACCGCGGTGTATT ATTGCGCGCGTGAAAGCTGGGGCCAGGGCACCAACCGTGACCGTGAGCAGC (配列番号 68)
hACI-7069-633B12- Ab1_H28	GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAAGTGAA AAAACCGGGCGGACCGTGAAAAATTAGCTGCAAAAG TGAGCGGCTTTACCTTTACCGAATATAGCATGCAATTGGGTGCAGCAGGCGCGGCAAAAGGCCTGGAATGG ATGGCGGCAATTAAACCCGAACAACGGCGGACCCAGCTATAACACAGAAATTTAAAGGCCGTGTGACCATTTAC CGCGGATACCAAGCAGCAGTACCGGTATATGGAACCTGAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACCGCGGTGTATT ATTGCGCGCGTGAAAGCTGGGGCCAGGGCACCAACCGTGACCGTGAGCAGC (配列番号 78)
hACI-7069-633B12- Ab1_H29	GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAAGTGAA AAAACCGGGCGGACCGTGAAAAATTAGCTGCAAAAG TGAGCGGCTTTACCTTTACCGAATATAGCATGCAATTGGGTGCAGCAGGCGCGGCAAAAGGCCTGGAATGG ATGGCGGCAATTAAACCCGAACAACGGCGGACCCAGCTATAACACAGAAATTTAAAGGCCGTGTGACCATTTAC CGCGGATACCAAGCAGCAGTACCGGTATATGGAACCTGAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACCGCGGTGTATT ATTGCGCGCGTGAAAGCTGGGGCCAGGGCACCAACCGTGACCGTGAGCAGC (配列番号 88)
hACI-7069-633B12- Ab1_H30	GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAAGTGAA AAAACCGGGCGGACCGTGAAAAATTAGCTGCAAAAG TGAGCGGCTTTACCTTTACCGAATATAGCATGCAATTGGGTGCAGCAGGCGCGGCAAAAGGCCTGGAATGG ATGGCGGCAATTAAACCCGAACAACGGCGGACCCAGCTATAACACAGAAATTTAAAGGCCGTGTGACCATTTAC CGCGGATACCAAGCAGCAGTACCGGTATATGGAACCTGAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACCGCGGTGTATT ATTGCGCGCGTGAAAGCTGGGGCCAGGGCACCAACCGTGACCGTGAGCAGC (配列番号 98)
hACI-7069-633B12- Ab1_H31	GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAAGTGAA AAAACCGGGCGGACCGTGAAAAATTAGCTGCAAAAG TGAGCGGCTTTACCTTTACCGAATATAGCATGCAATTGGGTGCAGCAGGCGCGGCAAAAGGCCTGGAATGG ATGGCGGCAATTAAACCCGAACAACGGCGGACCCAGCTATAACACAGAAATTTAAAGGCCGTGTGACCATTTAC CGCGGATACCAAGCAGCAGTACCGGTATATGGAACCTGAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACCGCGGTGTATT ATTGCGCGCGTGAAAGCTGGGGCCAGGGCACCAACCGTGACCGTGAGCAGC (配列番号 108)

10

20

30

40

【表 5 - 3】

hACI-7069-633B12- Ab1_H32	GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGACCGGTGAAAAATTAGCTGCAAAAG TGAGCGGCTTTACCTTTACCGAATATAGCATGCAATTGGGTGCAGCAGGCGCCGGGCAAAAGGCTGGAAATGG ATGGGCGGCATTAAACCCGAGAACGCGGGCACCAGCTATAACCCAGAAATTTTCAGGGCCGTGTGACCATTAC CGCGGATACCAAGCACCAGTACCGGTATATGGAACTGAGCAGCCTGCGTAGCGGAAGATACCGCGGTGTATT ATTGCGCGCGTGAAAGCTGGGGCCAGGGCACCCCGTGACCCGTGAGCAGC (配列番号 118)
hACI-7069-633B12- Ab1_H33	GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGACCGGTGAAAAATTAGCTGCAAAAG TGAGCGGCTTTACCTTTACCGAATATAGCATGCAATTGGGTGCAGCAGGCGCCGGGCAAAAGGCTGGAAATGG ATGGGCGGCATTAAACCCGAGAACGCGGGCACCAGCTATAACAGAAATTTTCAGGGCCGTGTGACCATTAC CGCGGATACCAAGCACCAGTACCGGTATATGGAACTGAGCAGCCTGCGTAGCGGAAGATACCGCGGTGTATT ATTGCGCGCGTGAAAGCTGGGGCCAGGGCACCCCGTGACCCGTGAGCAGC (配列番号 128)

*DNA 配列は哺乳動物細胞発現のために最適化。

【 0 2 6 5 】

10

20

30

40

【表 6 - 1】

表 6：軽鎖 (VL)およびそれらの CDR のアミノ酸配列

鎖	軽鎖	CDR L1	CDR L2	CDR L3
ACI-7069-633B12- Ab1_VL	DVVMTQTPLTLVVTIGQPASISCKSSQSLHSDGKTYLNNWLLQR PGQSPKRLIYLVSKLDSRVPDRFTGSGGTDFTLKISRVEAEDLG VYYCWQGTTHFPHTFGGKLEIK (配列番号 24)	KSSQSLHSDG KTYLN (配列番 号 25)	LVS KL DS (配列 番号 16)	WQGT HF PHT (配列番号 27)
hACI-7069-633B12- Ab1_L21	DVVMTQSPLSLPTPGEPASISCKSSQSLHSDGKTYLNNWLLQK PGQSPKRLIYLVSKLDSRVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVYG VYYCWQGTTHFPHTFGGKLEIK (配列番号 34)	KSSQSLHSDG KTYLN (配列番号 25)	LVS KL DS (配列 番号 16)	WQGT HF PHT (配列番号 27)
hACI-7069-633B12- Ab1_L22	DVVMTQSPLSLPTPGEPASISCKSSQSLHSDGKTYLNNWLLQK PGQSPKRLIYLVSKLDSRVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVYG VYYCWQGTTHFPHTFGGKLEIK (配列番号 44)	KSSQSLHSDG KTYLN (配列番号 25)	LVS KL DS (配列 番号 16)	WQGT HF PHT (配列番号 27)
hACI-7069-633B12- Ab1_L23	DVVMTQSPLSLPTPGEPASISCKSSQSLHSDGKTYLNNWLLQK PGQSPKRLIYLVSKLDSRVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVYG VYYCWQGTTHFPHTFGGKLEIK (配列番号 54)	KSSQSLHSDG KTYLN (配列番号 25)	LVS KL DS (配列 番号 16)	WQGT HF PHT (配列番号 27)
hACI-7069-633B12- Ab1_L24	DVVMTQSPLSLPTPGEPASISCKSSQSLHSDGKTYLNNWLLQK PGQSPKRLIYLVSKLDSRVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVYG VYYCWQGTTHFPHTFGGKLEIK (配列番号 64)	KSSQSLHSDG KTYLN (配列番号 25)	LVS KL DS (配列 番号 16)	WQGT HF PHT (配列番号 27)

10

20

30

40

50

【表 6 - 2】

hACI-7069-633B12- Ab1 L25	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCKSSQSLHSDGKTYLNNWLLQK PGQSPQLLIYLVSKLDSRVPDFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVG VYYCWQGTHTFPHTFGQGTKLEIK (配列番号 74)	KSSQSLHSDG KTYLN (配列番号 25)	LVS KL DS (配列 番号 16)	WQGT HF PHT (配列番号 27)
hACI-7069-633B12- Ab1 L26	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCKSSQSLHSDAKTYLNNWLLQK PGQSPQRLIYLVSKLDSRVPDFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVG VYYCFQGTHTFPHTFGQGTKLEIK (配列番号 84)	KSSQSLHSDA KTYLN (配列番号 85)	LVS KL DS (配列 番号 16)	FQGT HF HT (配列番号 87)
hACI-7069-633B12- Ab1 L27	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCKSSQSLHSDGKTYLNNWLLQK PGQSPQRLIYLVSKLDSRVPDFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVG VYYCFQGTHTFPHTFGQGTKLEIK (配列番号 94)	KSSQSLHSDG KTYLN (配列番号 25)	LVS KL DS (配列 番号 16)	FQGT HF HT (配列番号 87)

【 0 2 6 6 】

10

20

30

40

50

【表 7 - 1】

表7：ヒト化軽鎖可変ドメイン (VL)のDNA配列

鎖	軽鎖
*ACI-7069-633B12-Ab1_VL	GACGTGGTGATGACCCAGACCCCTCTGACACTGAGCTGACCATCGGACAGCCCGCCTCCATCAG CTGCAAAAGCTCCAGTCTCTGCTGCACAGCAGCGGCAAGACCTATCTGAACCTGGCTGCTGCAGA GACCCGGCCAAAGCCCAAGAGGCTGATCTATCTGGTGAGCAAGCTGGAATCTAGAAATCCCCGA CAGATTACCGGCAGCGGCAGCGGCACAGACTTTACACTGAAGATCTCTAGAGTGGAGGCCGAA GATCTGGCGTGTACTACTGCTGGCAAGGCACCCCACTTCCCTCACACCTTCGGCGCCGGCACCAA GCTGGAGCTGAAG (配列番号 29)
hACI-7069-633B12-Ab1_L21	GATGTGGTGATGACCCAGAGCCCGCTGAGCCTGCGGTGACCCCGGGCAACCGGCGAGCATT GCTGCAAAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCATAGCGATGGCAAAACCTATCTGAACCTGGCTGCTGCA GAAACCGGGCCAGAGCCCGAAACGCTGTGATTATCTGGTGAGCAAACTGGATAGCCGTGTGCCG GATCGTTTATGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGATTTTACCCCTGAAAAATTAGCCGTGTGGAAGCGGA AGATGTGGCGTGTATTATTGTGTCAGGCGACCCATTTCGCGCATACCTTTGGCCAGGGCACCA AACTGGAAATTAAA (配列番号 39)
hACI-7069-633B12-Ab1_L22	GATATTGTGATGACCCAGAGCCCGCTGAGCCTGCGGTGACCCCGGGCAACCGGCGAGCATT GCTGCAAAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCATAGCGATGGCAAAACCTATCTGAACCTGGCTGCTGCA GAAACCGGGCCAGAGCCCGAAACGCTGTGATTATCTGGTGAGCAAACTGGATAGCCGTGTGCCG GATCGTTTATGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGATTTTACCCCTGAAAAATTAGCCGTGTGGAAGCGGA AGATGTGGCGTGTATTATTGTGTCAGGCGACCCATTTCGCGCATACCTTTGGCCAGGGCACCA AACTGGAAATTAAA (配列番号 49)

10

20

30

40

50

【表 7 - 2】

hACI-7069-633B12-Ab1_L23	GATGTGTTGATGACCCAGAGCCCGCTGAGCCTGCCGGTGACCCCGGGCGAACCAGCGAGCATTA GCTGCAAAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCATAGCGATGGCAAAACCTATCTGAACCTGGCTGCTGCA GAAACCGGGCCAGAGCCCGCAGCGTCTGATTATCTGGTGAGCAAACTGGATAGCCGTGTGCCG GATCGTTTAAAGCGGCAGCGGCAGCGCACCGGATTTACCCTGAAATTAGCCGTGTGAAAGCGGA AGATGTGGGCGTGTATTATTGCTGGCAGGGCACCCATTTTCCGCATACCTTTGGCCAGGGCACCA AACTGGAAATTAAA (配列番号 59)
hACI-7069-633B12-Ab1_L24	GATATTGTGATGACCCAGAGCCCGCTGAGCCTGCCGGTGACCCCGGGCGAACCAGCGAGCATTA GCTGCAAAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCATAGCGATGGCAAAACCTATCTGAACCTGGCTGCTGCA GAAACCGGGCCAGAGCCCGCAGCGTCTGATTATCTGGTGAGCAAACTGGATAGCCGTGTGCCG GATCGTTTAAAGCGGCAGCGGCAGCGCACCGGATTTACCCTGAAATTAGCCGTGTGAAAGCGGA AGATGTGGGCGTGTATTATTGCTGGCAGGGCACCCATTTTCCGCATACCTTTGGCCAGGGCACCA AACTGGAAATTAAA (配列番号 69)
hACI-7069-633B12-Ab1_L25	GATATTGTGATGACCCAGAGCCCGCTGAGCCTGCCGGTGACCCCGGGCGAACCAGCGAGCATTA GCTGCAAAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCATAGCGATGGCAAAACCTATCTGAACCTGGCTGCTGCA GAAACCGGGCCAGAGCCCGCAGCGTCTGATTATCTGGTGAGCAAACTGGATAGCCGTGTGCCG GATCGTTTAAAGCGGCAGCGGCAGCGCACCGGATTTACCCTGAAATTAGCCGTGTGAAAGCGGA AGATGTGGGCGTGTATTATTGCTGGCAGGGCACCCATTTTCCGCATACCTTTGGCCAGGGCACCA AACTGGAAATTAAA (配列番号 79)
hACI-7069-633B12-Ab1_L26	GATATTGTGATGACCCAGAGCCCGCTGAGCCTGCCGGTGACCCCGGGCGAACCAGCGAGCATTA GCTGCAAAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCATAGCGATGGCAAAACCTATCTGAACCTGGCTGCTGCA GAAACCGGGCCAGAGCCCGCAGCGTCTGATTATCTGGTGAGCAAACTGGATAGCCGTGTGCCG GATCGTTTAAAGCGGCAGCGGCAGCGCACCGGATTTACCCTGAAATTAGCCGTGTGAAAGCGGA AGATGTGGGCGTGTATTATTGCTTTCAGGGCACCCATTTTCCGCATACCTTTGGCCAGGGCACCA AACTGGAAATTAAA (配列番号 89)

10

20

30

40

50

【表 7 - 3】

hACI-7069-633B12-Ab1_L27 (配列番号 99)	GATATTGTGATGACCCAGAGCCCGCTGAGCCTGCCCGGTGACCCCGGGCGAACCGGCGAGCATTA GCTGCAAAAGCAGCCAGAGCCTGGCTGCATAGCGATGGCAAAACCTATCTGAACCTGGCTGCTGCA GAAACCGGGCCAGAGCCCGCAGCGTCTGATTATCTGGTGAGCAAACTGGATAGCCGTGTGCCG GATCGTTTACCGGCAGCGGCAGCGCACCGATTTACCTGAAAAATTAGCCGTGTGGAAGCGGA AGATGTGGGCGTGATTATTGCTTTCAGGGCACCCCATTTCCGCATACCTTTGGCCAGGGCACCAA ACTGGAATTTAA
---	---

* DNA配列は哺乳動物細胞発現のために最適化。

【実施例 2】
【0267】

ヒト化抗体変異体の産生

重鎖および軽鎖可変ドメインの両方に対するDNAコード配列を合成し、標準的な分子生物学手法を使用してプラスミドにクローニングして、哺乳動物細胞中での発現を可能にした。重鎖可変ドメインを、ヒトIgG1定常ドメインに融合させ、軽鎖可変ドメインを、定常カップ軽鎖ドメインを含むプラスミドにクローニングした。Exp i CHO（商標）Expression System Kit（ThermoFischer scientific，A29133）を使用して重鎖および軽鎖のプラスミドを共トランスフ

10

20

30

40

50

エクトすることによって、キメラ抗体およびヒト化変異体を ExpiCHO-S (ThermoFisher scientific, A29127) 細胞中で過渡的に発現させた。トランスフェクションの後、細胞を 150 rpm の攪拌、8 % の CO₂ レベルの下、37 °C で維持した。トランスフェクションの 6 日後、上清を収穫し、プロテイン A (Cytiva, 17127903) 上で精製した。ローラー上で攪拌しながら室温で 2 時間、プロテイン A とインキュベートすることにより、抗体を捕捉した。混合物を重力流クロマトグラフィーカラム (BioRad, 7321010) に注ぎ、樹脂を 10 CV の 2 × PBS で洗浄し、0.1 M Glycine、pH 3.2 で溶出した。次いで 0.1 M の Tris、pH 7.4 を加えることによって溶出液を中和した。次いで試料を PBS 緩衝液で透析した。

10

【実施例 3】

【0268】

表面プラスモン共鳴 (SPR) による ACI-7069-633B12-Ab1 ヒト化変異体の特徴付け

可溶性 TDP-43 を CM5 Series センサーチップ (GE Healthcare, BR-1005-30) に固定化することによって、Biacore 8K 装置 (GE Healthcare Life Sciences) で測定を実施した。

【0269】

SPR による可溶性 TDP-43 の KD の決定

装置に操作緩衝液 PBS-P+ を充填し、チャンネル 1 ~ 8 のフローセル (Fc) 1 および 2 を EDC/NHS (Amine Coupling Kit、両試薬の比 1 : 1、GE Healthcare Life Sciences, BR-1006-33) の新鮮な溶液で、10 µL / 分で 420 秒、活性化した。可溶性 TDP-43 (Selvita) を酢酸ナトリウム、pH 4.5 で最終濃度 5 µg / mL まで希釈し、Fc 2 に流量 5 µL / 分、900 秒で注入した。全てのフローセルは 1 M のエタノールアミン (GE Healthcare Life Sciences, BR-1006-33)、10 µL / 分、420 秒でクエンチした。エタノールアミンクエンチ後の固定化レベルは、8 チャンネル全てで 680 RU であった。解析に先立ち、2 つのスタートアップサイクルを実施した。操作緩衝液中、1.2 nM から 100 nM の範囲の 3 倍段階希釈で調製した増大する濃度の mAb をシングルサイクル速度論で、接触時間 300 秒、解離時間 3600 秒、流量 30 µL / 分で注入した。それぞれのサイクルに続いて、10 mM のグリシン-HCl、pH 1.7 を使用し、接触時間 30 秒、30 µL / 分で 1 回の再生を行い、続いて安定化時間 300 秒とした。シングルサイクル速度論から得られた結果を、ブランク Fc 1 および緩衝液サイクルを使用してダブルリファレンス処理し、RI およびグローバル Rmax による 1 : 1 速度論フィットモデルを使用する Biacore 8K 評価ソフトウェアを使用して評価した。以下の速度論パラメーター：結合速度定数 (ka)、解離速度定数 (kd)、親和性定数 (KD)、および飽和応答 (Rmax) が得られた。

20

30

【0270】

SPR による TP-51 ペプチドの KD の決定

装置に操作緩衝液 PBS-P+ を充填した。チャンネル 1 ~ 8 (8K) の Fc 1 ~ 2 を EDC/NHS (Amine Coupling Kit、両試薬の比 1 : 1、GE Healthcare Life Sciences, BR-1006-33) の新鮮な溶液で、10 µL / 分で 420 秒、活性化し、ヤギ抗ヒト抗体 (GE Healthcare Life Sciences, 29234600) を 10 mM の酢酸ナトリウム、pH 5 中、25 µg / mL で、420 秒、固定化した。次に全ての Fc を 1 M のエタノールアミン (GE Healthcare Life Sciences, BR-1006-33) で 420 秒、クエンチした。非共有で結合した抗体があれば 10 mM のグリシン-HCl、pH 1.7 で 30 秒、2 回の再生によって除去した。エタノールアミンクエンチに続いて固定化レベルを評価した (全てのチャンネルについて 10000 RU)。

40

【0271】

50

各サイクルを、操作緩衝液で最終濃度 $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ まで希釈し、流量 $10 \mu\text{L}/\text{分}$ で 60 秒注入するヒト化変異体の非共有捕捉で開始した。TDP-43 mAb をチャンネル 1 ～ 8 に捕捉し、Fc1 をブランク Fc として残した。それぞれの mAb 注入の後の 120 秒の安定化時間の後で捕捉レベルを評価し、捕捉レベルは 300 ～ 500 RU の範囲であった。

【0272】

TP-51 は、TDP-43（配列番号 1）のアミノ酸 352-414 からなっている。TP-51 ペプチド（Pepscan）の注入は、 $1.2 \text{ nM} \sim 100 \text{ nM}$ の範囲の段階 3 倍希釈で調製した増大する濃度のシングルサイクル速度論で実施した。注入は、300 秒／注入の接触時間、 $25 \mu\text{L}/\text{分}$ の流量で実施した。最終注入の後、解離相を 3600 秒とした。10 mM のグリシン-HCl、pH 1.7、流量 $10 \mu\text{L}/\text{分}$ で 120 秒の 1 回の注入によってセンサー表面を再生し、続いて安定化時間 300 秒とした。シングルサイクル速度論から得られた結果を、ブランク Fc1 および緩衝液サイクルを使用してダブルリファレンス処理し、RI およびグローバル Rmax による 1:1 速度論フィットモデルを使用する Biacore 8K 評価ソフトウェアを使用して評価した。以下の速度論パラメーター：結合速度定数（ka）、解離速度定数（kd）、親和性定数（KD）、および飽和応答（Rmax）が得られた。

10

【0273】

全てのパラメーター（Rmax を除く）を、2 ～ 6 の独立した実験からの平均 $\pm \text{SD}$ として表 8 に報告する。

20

【0274】

30

40

50

【表 8】

表 8: 可溶性 TDP-43 および TP-51 ペプチドに対する ACI-7069-633B12-Ab1 ヒト化変異体の k_a 、 k_d 、KD 値

mAb	TP-51			TDP-43		
	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	KD (nM)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	KD (pM)
ACI-7069-633B12-Ab1	6.7E+04	9.8E-05	1.5	5.5E+04	1.7E-05	328
hACI-7069-633B12-Ab1_H27L23	4.2E+04	1.4E-04	3.3	2.4E+04	2.2E-05	925
hACI-7069-633B12-Ab1_H28L22	5.8E+04	2.0E-04	3.5	2.9E+04	3.4E-05	1156
hACI-7069-633B12-Ab1_H28L23	6.5E+04	1.3E-04	1.9	3.2E+04	2.6E-05	806
hACI-7069-633B12-Ab1_H28L24	6.6E+04	1.3E-04	2.0	3.7E+04	1.7E-05	531
hACI-7069-633B12-Ab1_H32L24	6.4E+04	1.2E-04	2.0	2.4E+04	1.5E-05	716
hACI-7069-633B12-Ab1_H32L26	1.2E+05	1.6E-04	1.4	3.3E+04	1.7E-05	563
hACI-7069-633B12-Ab1_H33L24	7.0E+04	1.5E-04	2.2	3.0E+04	1.3E-05	471
hACI-7069-633B12-Ab1_H33L26	1.6E+05	2.9E-04	1.6	4.3E+04	9.0E-06	220
hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27	1.2E+05	1.2E-04	1.0	3.6E+04	5.2E-06	143
hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27	1.5E+05	1.2E-04	0.8	5.2E+04	6.5E-06	126

【0275】

全体として、全てのヒト化変異体は、マウス抗体 ACI-7069-633B12-Ab1 について観察して、TDP-43 および TP-51 ペプチドに対して良好な親和性を保持していた（表 8）。本実験の組で試験した変異体から、最良の親和性を有する変異体は、hACI-7069-633B12-Ab1_H28L24、hACI-7069-633B12-Ab1_H33L24、hACI-7069-633B12-Ab1_H32L26、hACI-7069-633B12-Ab1_H33L26、hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27、および hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27 であった。

【0276】

ヒト化変異体は、親のマウス抗体 ACI-7069-633B12-Ab1（328 pM、表 8）と比較して同様の TDP-43 に対する結合親和性（1156～126 pM の範囲、表 8）を示し、hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27 が TDP-43 に対して最良の親和性（最小の KD）を有していた。注目すべきことに、ヒト化変異体 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27 の pI および正味電荷の変化は、示差走査蛍光法（DSF）によって測定したその熱安定性に影響せず、標準ヒト IgG1 で予想される 70℃ を超えたままであり、FcRn に対する親和性にも影響はなかった。

〔実施例 4〕

〔0277〕

ACI-7069-633B12-Ab1 ヒト化変異体は、インビトロで TDP-43 の凝集を阻害する。

hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27、hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27、および hACI-7069-633B12-Ab1_H32L26 を、TDP-43 の凝集特性に依拠するインビトロ機能性アッセイにおいて特徴解析した (Wang et al. EMBO 2018)。このため、TDP-43 を組換え産生されたマルトース結合タンパク質と C 末端で融合させ (TDP-43-MBP)、タバコエッチウイルス (TEV) プロテアーゼを使用して MBP タンパク質を除去することによって、凝集を誘導した。次いで 600 nm の吸光度を測定することによって、経時的に凝集をモニターした。600 nm の吸光度の増大は凝集量と相関することが報告されている。hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27、hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27、および hACI-7069-633B12-Ab1_H32L26 は 1.5 時間で TDP-43 の凝集の阻害において ヒト IgG キメラ cACI-7069-633B12-Ab1 抗体 (ACI-7069-633B12-Ab1 マウス抗体の VH および VL と、ヒト IgG1 定常領域のキメラ) と同様の機能的有効性を維持していた。対照的に、アイソタイプ対照 mAb の添加は、TDP-43 の凝集を阻害しなかった (図 1)。

10

20

〔実施例 5〕

〔0278〕

Tg32 マウスにおける 2 つの ACI-7069-633B12-Ab1 ヒト化変異体の薬物動態評価

トランスジェニック Tg32 マウスはヒト胎児性 Fc 受容体を過発現し、PK 評価および計画されるヒト PK モデリングに強い関心を提示する (Avery et al., Mabs 2016)。hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27 または hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27 の単回 IV ボーラス (40 mg/kg) を、1 化合物あたり 21 匹の雄 Tg32 マウスに与えた。6 週間の間、血液採取を実施 (図 2 の y 軸に示すように) し、血清 (1 時点あたりマウス 3 匹) を分析した。全体として、両方の抗体は良好で同様の PK パラメーターを提示し、したがってこれらは、インビボにおける抗体の半減期が重要である応用、例えばヒトにおける治療用途への望ましい候補となる (図 2、表 9)。

30

〔0279〕

〔表 9〕

表 9: Tg32 マウス PK パラメーター

パラメーター	単位	hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27	hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27
CL	ml/h/kg	0.18	0.25
Vc	ml/kg	20.8	34.3
Q1	ml/h/kg	2.8	2.6
Vp1	ml/kg	79.0	69.5
T _{1/2β}	日	16.4	12.5

40

CL: 全身クリアランス; Vc: 中枢分布容積; Q1: コンパートメント間クリアランス; Vp1: 末梢分布容積; T_{1/2β}: 終末相半減期。

50

【実施例 6】

【0280】

カニクイザルにおける2つのACI-7069-633B12-Ab1ヒト化変異体の薬物動態評価

非ヒト霊長類におけるhACI-7069-633B12-Ab1_H33L27およびhACI-7069-633B12-Ab1_H32L27の薬物動態を評価するため、単回IVボラス(40mg/kg)を、1化合物あたり4匹の雄カニクイザルに与えた。56日(1344時間)の間、血液採取を実施(図3のy軸に示すように)し、血清(1時点あたりカニクイザル4匹の試料)を分析した。8匹中3匹の動物が抗薬物抗体(ADA、ELISAによって確認された)を有していることが検出され、このパーセンテージは非ヒト霊長類(NHP)におけるヒトIgGの投与について以前記述された割合(Valente et al., Mabs 2020)と一致していた。ADAを有していた動物を除外した後でPKパラメーターを計算した。両方の抗体が好ましいPKパラメーターを呈し(図3、表10)、これらは治療用の候補としてさらなる臨床開発に好適となった。

10

【0281】

【表10】

表 10: NHP PK パラメーター

パラメーター	単位	hACI-7069-633B12- Ab1_H33L27	hACI-7069-633B12- Ab1_H32L27
CL	ml/h/kg	0.08	0.12
Vc	ml/kg	23.3	22.5
Q1	ml/h/kg	0.4	1.4
Vp1	ml/kg	12.3	15.1
T _{1/2 β}	日	12.7	8.7

20

CL: 全身クリアランス; Vc: 中枢分布容積; Q1: コンパートメント間クリアランス; Vp1: 末梢分布容積; T_{1/2 β}: 終末相半減期。

30

【0282】

非ヒト霊長類における忍容性、毒性、および毒物動力学データを予備的に評価するため、hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27を、40、120、および360mg/kgの用量で4週間、毎週1回、カニクイザルに静脈内投与した。最後の投与の1週間後に動物を犠牲死させた。種々の時点で血清試料を採取し、hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27の濃度について分析した。血清中のhACI-7069-633B12-Ab1_H33L27曝露において用量に比例する増加が観察され、研究期間中に免疫原性の兆候はなかった(図9)。さらに、カニクイザルの体重、臨床観察、臨床病理、尿分析、顕微鏡検査、または臓器重量に有害作用は観察されず、ACI-7069-633B12-Ab1ヒト化変異体がさらなる臨床開発のために適していることが確認された。

40

【実施例 7】

【0283】

Tg32マウスにおけるACI-7069-633B12-Ab1_H33L27と親抗体の薬物動態プロファイルの比較

ACI-7069-633B12ヒト化変異体の薬物動態をさらに評価するため、hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27、hACI-7069-633B12-Ab1_H19L18(WO2022/034228に記載)、またはcACI-

50

7069-633B12-Ab1の単回IVボラス(40mg/kg)を、1化合物あたり21匹の雄Tg32マウスに与えた。血液採取および血清分析は実施例5に記載したように実施した。データは、3~4匹の動物/群について平均±標準偏差として示す(図10A)。ヒト化変異体ACI-7069-633B12-Ab1__H33L27は、親のhACI-7069-633B12-Ab1__H19L18およびcACI-7069-633B12-Ab1抗体と比較して優れたPKプロファイルを呈し(図10A)、さらなる臨床開発に適していることが主張できる。

【実施例8】

【0284】

カニクイザルにおけるACI-7069-633B12-Ab1__H33L27と親抗体の薬物動態プロファイルの比較

ACI-7069-633B12ヒト化変異体の薬物動態を、NHPにおいて、hACI-7069-633B12-Ab1__H33L27、hACI-7069-633B12-Ab1__H19L18(WO2022/034228に記載)、またはcACI-7069-633B12-Ab1の単回IVボラス投与(40mg/kg)で、さらに評価した(1抗体あたり4匹の雄カニクイザル)。血液採取および血清分析は実施例6に記載したように実施した。データは、3~4匹の動物/群について平均±標準偏差として示す(図10B)。Tg32マウスにおいて見られたように、ヒト化変異体ACI-7069-633B12-Ab1__H33L27は、親のhACI-7069-633B12-Ab1__H19L18およびcACI-7069-633B12-Ab1抗体と比較して優れたPKプロファイルを呈した(図10B)。この結果により、さらなる臨床開発のためにhACI-7069-633B12-Ab1__H33L27のPKプロファイルが適していることが裏付けられた。

【実施例9】

【0285】

Tg32マウスおよびカニクイザルからのヒトPKの予測

mABのヒトでのクリアランスの予測のためのインビボのツールとしてTg32マウスおよびカニクイザルを使用した。Tg32およびカニクイザルから予測したPKパラメータを、文献(Betts et al., 2018)で報告された固定指数を使用する相対的スケリングによって70kgのヒトにスケールアップした(表11)。Tg32マウスおよびカニクイザルにおける予測されたヒトクリアランスはそれぞれ、hACI-7069-633B12-Ab1__H19L18について0.195mL/h/kgおよび0.256mL/h/kg(WO2022/034228に記載)に対し、hACI-7069-633B12-Ab1__H33L27について0.082mL/h/kgおよび0.043mL/h/kgであった(表11)。これより、予測されるヒト半減期はそれぞれ、hACI-7069-633B12-Ab1__H33L27について27~30日に対し、hACI-7069-633B12-Ab1__H19L18について17~22日となり、hACI-7069-633B12-Ab1__H33L27の予測されるヒトPKプロファイルが好ましいことが確認された。

【0286】

10

20

30

40

50

【表 1 1】

表 11: 予測されるヒト PK パラメーター

予測源	パラメーター	単位	hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27	hACI-7069-633B12-Ab1_H19L18
Tg32 マウス	CL	ml/h/kg	0.082	0.195
	Vc	ml/kg	16.4	23.2
	Q1	ml/h/kg	0.2	0.18
	Vp1	ml/kg	45.1	66.2
	T _{1/2β}	日	27	22
カニクイ ザル	CL	ml/h/kg	0.043	0.256
	Vc	ml/kg	26.7	29.6
	Q1	ml/h/kg	0.1	0.104
	Vp1	ml/kg	15.6	39.8
	T _{1/2β}	日	30.2	16.7

CL: 全身クリアランス; Vc: 中枢分布容積; Q1: コンパートメント間クリアランス;
Vp1: 末梢分布容積; T_{1/2β}: 終末相半減期。

【実施例 1 0】

【0 2 8 7】

2つのACI-7069-633B12-Ab1ヒト化変異体のNHP血清薬物動態

血清薬物動態を評価するため、化合物を投薬したNHP中の未結合TDP-43のレベルを、単一分子アレイ（SIMOA（登録商標））技術を使用して測定した。ベースラインTDP-43レベルとして、投薬前時点において平均500 pg/mlのTDP-43を測定した（図4A-B）。hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27またはhACI-7069-633B12-Ab1_H32L27のIV注射後3分で遊離／未結合TDP-43の急速な低下（80%超）が測定され（0.05時間）、これらのNHPの血清中に存在する天然のTDP-43タンパク質との、これら2つのmAbによる完全かつ急速な標的飽和が示された。ADA（実施例6に記載）を呈した動物を除いて、TDP-43は研究の終了まで抗体に結合したままであり、投与した抗体の標的関与が実証された（図4A-B）。

【実施例 1 1】

【0 2 8 8】

1つのACI-7069-633B12-Ab1ヒト化変異体による散発性ALS脳脊髄液中の播種能力のあるTDP-43の中和

ACI-7069-633B12-Ab1ヒト化変異体の能力および作用モードを確認するため、既に記載されたように（Scialo, C. et al. Brain Commun, fcaa142- (2020)）、基質として合成TDP-43ペプチド（TP-51）を使用して（10 μMで使用）リアルタイム振盪誘導変換（RT-QuIC）アッセイを実施した。散発性ALSドナー（図5A）由来の脳脊髄液（CSF）の存在下では、健常対照（図5B）と比較して基質の凝集の加速が観察され、ALSのCSF中に播種能力のあるTDP-43種が存在することが確認された。次いで、このアッセイでシードとして使用したそれぞれのCSFを、hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27またはアイソタイプ対

照 (0.006 μ M で使用) とブレインキューベートした。ALS ドナー由来の CSF 中で、ACI-7069-633B12-Ab1__H33L27 ヒト化変異体において TDP-43 ペプチド (TP-51) 基質の凝集の有意な遅延が観察され (図 5A-B)、抗体が ALS 患者の CSF 中の播種能力のある TDP-43 に結合してこれを中和することができることが示された。

[実施例 12]

[0289]

ACI-7069-633B12-Ab1 ヒト化変異体は THP-1 細胞による TDP-43 の取り込みを促進する

Fc 依存性機構による TDP-43 凝集体の除去におけるミクログリアの直接関与を評価および確認するため、THP-1 細胞 (ヒト白血病単球細胞系) を使用するインビトロアッセイを、以前記載された (Lindner et al., 2020) ように設定した。このため、組換え TDP-43 凝集体を、pHrodo (商標) 色素 (ThermoFisher Scientific, P36013) で、メーカーの説明書に従って標識した。pHrodo (商標) 色素は、酸性の細胞コンパートメントに内在化された際に蛍光性となり、THP-1 細胞による TDP-43 凝集体の内在化をリアルタイムでモニターすることを可能にする。次いで pHrodo (商標) 蛍光強度を 24 時間にわたって 1 時間ごとに自動的に定量した (図 6A)。データは、1 条件あたり 4~6 回の反復の平均 $\pm$ SEM を表す。10 時間の時点について細胞コンフルエンスに正規化した蛍光強度の差異を、一元配置 ANOVA およびそれに続く多重比較のための Tukey のポストホック検定によって、条件間で比較した (図 6B)。30 nM の TDP-43 凝集体単独または 30 nM のアイソタイプ対照抗体の存在下のインキュベーションでは TDP-43 凝集体の限定的な内在化が観察された。しかし、30 nM の hACI-7069-633B12-Ab1__H33L27 またはキメラ抗体 cACI-7069-633B12-Ab1 の存在下では、陰性対照 pHrodo (商標) 標識 TDP-43 単独およびアイソタイプ対照抗体との組合せと比較して、pHrodo (商標) 標識 TDP-43 凝集体の取り込みの有意な増大が観察された (図 6A-B)。これらの結果より、ACI-7069-633B12 ヒト化変異体の TDP-43 凝集体への結合が、ミクログリア等の免疫細胞による凝集体の取り込み、したがってそのクリアランスを促進し得ることが確認された。

[実施例 13]

[0290]

ACI-7069-633B12-Ab1 ヒト化変異体によるヒト脳抽出物由来の TDP-43 の免疫枯渇

鋳型化された TDP-43 凝集体に対する ACI-7069-633B12-Ab1 ヒト化変異体の効果をインビトロで評価するため、FTLD-TDP 脳抽出物から富化された凝集およびリン酸化された TDP-43 を用いて、以前に記述されたように (WO2022/034228) 免疫枯渇実験を実施した。免疫枯渇分画は、hACI-7069-633B12-Ab1__H33L27 またはキメラ抗体 cACI-7069-633B12-Ab1 を使用することにより、アイソタイプ対照と比較して TDP-43 の多大な枯渇を実証した (図 7A)。定量的解析のため、全 TDP-43 または TDP-43 の C 末端断片について得られたシグナル (即ち、25 kDa 未満、CTF) を、インプット中の対応するシグナルに正規化した (図 7B)。これらの結果より、FTLD-TDP 患者の脳由来の凝集およびリン酸化された TDP-43 に結合する ACI-7069-633B12-Ab1 ヒト化変異体の能力が確認され、その治療用の可能性が確認された。

[実施例 14]

[0291]

ACI-7069-633B12-Ab1 ヒト化変異体は CSF 中のヒト TDP-43 と高い親和性で結合する

ヒト CSF 中の TDP-43 に対する ACI-7069-633B12-Ab1 ヒト化変異体の結合親和性を特徴解析するため、健常ドナー由来の CSF 試料を増大する濃度の

h A C I - 7 0 6 9 - 6 3 3 B 1 2 - A b 1 _ H 3 3 L 2 7 とブレインキュベートし、実施例 10 のように S I M O A 系標的関与アッセイを使用して未結合 T D P - 4 3 の量を測定した。C S F 試料中のヒト T D P - 4 3 への h A C I - 7 0 6 9 - 6 3 3 B 1 2 - A b 1 _ H 3 3 L 2 7 の結合について、 35.58 ng/ml (237 pM) の E C 5 0 が得られた (図 8)。この結果により、C S F 中の T D P - 4 3 に高い親和性で結合する A C I - 7 0 6 9 - 6 3 3 B 1 2 - A b 1 ヒト化変異体の能力が確認された。

【 0 2 9 2 】

参考文献

【 表 1 2 】

- Arai et al., TDP-43 is a component of ubiquitin-positive tau-negative inclusions in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 351 (2006) 602–611. 10
- Avery et al., Utility of a human FcRn transgenic mouse model in drug discovery for early assessment and prediction of human pharmacokinetics of monoclonal antibodies, *mAbs*, 8:6, 1064-1078, DOI: 10.1080/19420862.2016.1193660
- Betts et al., Linear pharmacokinetic parameters for monoclonal antibodies are similar within a species and across different pharmacological targets: A comparison between human, cynomolgus monkey and hFcRn Tg32 transgenic mouse using a population-modeling approach, *MABS*, 2018, Vol. 10 20
- Buratti and Baralle, Nuclear factor TDP-43 can affect selected microRNA levels, *FEBS Journal* 277 (2010) 2268–2281.
- Brettschneider J et al., Spreading of pathology in neurodegenerative diseases: a focus on human studies, *Nature Rev. Neuroscience*, 2015, 109.
- Brettschneider et al., Stages of pTDP-43 pathology in amyotrophic lateral sclerosis, *Ann Neurol*. 2013 July; 74(1): 20–38.
- Bumbaca Yadav et al., Evaluating the Use of Antibody Variable Region (Fv) Charge as a Risk Assessment Tool for Predicting Typical Cynomolgus Monkey Pharmacokinetics, *The journal of biological chemistry*, VOL. 290, NO. 50, pp. 29732–29741, 2015 30
- Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Val. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254.
- Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)
- Clynes et al., Fc receptors are required in passive and active immunity to melanoma *Proc. Nat'l Acad. sci. USA* 95:652-656 (1998)
- Cohen et al., An acetylation switch controls TDP-43 function and aggregation propensity, *Nat Commun.* 6: 5845, 2015.
- Cragg, M.S. et al., Complement-mediated lysis by anti-CD20 mAb correlates with segregation into lipid rafts, *Blood* 101:1045-1052 (2003) 40
- Cragg, M.S. and M.J. Glennie, Antibody specificity controls in vivo effector mechanisms of anti-CD20 reagents, *Blood* 103:2738-2743 (2004)).
- Cunningham and Wells, High-resolution epitope mapping of hGH-receptor interactions by alanine-scanning mutagenesis, (1989) *Science*, 244: 1081-1085.
- Dall' Acqua et al., Increasing the Affinity of a Human IgG1 for the Neonatal Fc Receptor: Biological Consequences, *Journal of immunology*, (2002) 169(9):5171-5180.
- Duncan & Winter, The binding site for C1q on IgG, *Nature* 322:738-40 (1988)

【表 1 3】

- Edelman, G.M. et al., The Covalent Structure of an Entire gammaG Immunoglobulin Molecule, Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969)
- Feiler et al., TDP-43 is intercellularly transmitted across axon Terminals, J. Cell Biol. Vol. 211 No. 4 897–911.
- Feneberg et al., Towards a TDP-43-Based Biomarker for ALS and FTL, Molecular Neurobiology, 2018; 55(10): 7789–7801.
- Gazzano-Santoro et al., Engineered Antibodies with Increased Activity to Recruit Complement, J. Immunol. Methods 202:163 (1996) 10
- Gerngross, Advances in the production of human therapeutic proteins in yeasts and filamentous fungi, Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004).
- Gerhardt et al., Methods for General and Molecular Bacteriology, ASM Press (1994).
- Golemis, Protein-Protein Interactions: A Molecular Cloning Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press (2002).
- Graham et al., Characteristics of a human cell line transformed by DNA from human adenovirus type 5, J. Gen. Viral. 36:59 (1977)
- Guyer et al., Immunoglobulin binding by mouse intestinal epithelial cell receptors, J. Immunol. 117:587 (1976). 20
- Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1988).
- Harlow and Lane, Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1999).
- Hasegawa et al., Phosphorylated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis, (2008) Annals of Neurology Vol 64 No 1, 60–70.
- Hasegawa et al., Prion-like mechanisms and potential therapeutic targets in neurodegenerative disorders, Pharmacol Ther. 2017 Apr; 172:22-33. 30
- Hellstrom, I. et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986).
- Hellstrom, I et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499- 1502 (1985).
- Hoogenboom et al., Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001).
- Howard and Bethell. (2000) Basic Methods in Antibody Production and Characterization, Crc. Pr. Inc.
- Idusogie et al., J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000).
- Igawa et al, Reduced elimination of IgG antibodies by engineering the variable region, PEDS. vol. 23 no. 5 pp. 385–392, 2010 40

【表 1 4】

- Ishii et al., Formation and spreading of TDP-43 aggregates in cultured neuronal and glial cells demonstrated by time-lapse imaging, PLoS ONE 12(6): e0179375, 2017.
- Jones et al., Replacing the complementarity-determining regions in a human antibody with those from a mouse, Nature 321 (1986), 522-525.
- KA et al., TDP-43 is a key player in the clinical features associated with Alzheimer's disease, Acta Neuropathol. 2014; 127(6): 811-824.
- KA et al., Staging TDP-43 pathology in Alzheimer's disease Acta Neuropathol. 2014; 127(3): 441-450.
- Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005).
- Kanda Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006).
- Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th edit. NIH Publication no. 91-3242 U.S. Department of Health and Human Services (1991).
- Kasai et al. "Combined use of CSF NfL and CSF TDP-43 improves diagnostic performance in ALS." Annals of clinical and translational neurology vol. 6,12 (2019): 2489-2502. doi:10.1002/acn3.50943
- Kirn et al., J. Immunol. 24:249 (1994).
- Kohler, Nature 256 (1975), 495.
- Khor, Proceedings of the American Society of Clinical Oncology Abstract (1997), 847.
- Lagier-Tourenne et al., TDP-43 and FUS/TLS: emerging roles in RNA processing and neurodegeneration, Human Molecular Genetics, 2010, Vol. 19, Review Issue 1 R46-R64.
- Lagier-Tourenne and Cleveland, Rethinking ALS: the FUS about TDP-43, Cell 136, 2009, 1001-1004.
- Le Ber, Genetics of frontotemporal lobar degeneration: an up-date and diagnosis algorithm, Revue Neurologique 169 (2013) 811-819.
- Lefkovits, Immunology Methods Manual: The Comprehensive Sourcebook of Techniques; Academic Press (1997).
- Lindner B, Burkard T, Schuler M. Phagocytosis assays with different pH-sensitive fluorescent particles and various readouts. Biotechniques. 2020 Feb;68(5):245-50.
- LoBuglio, Proceedings of the American Society of Clinical Oncology Abstract (1997), 1562 .
- Li et al., Optimization of humanized IgGs in glycoengineered Pichia pastoris, Nat. Biotech. 24:210-215 (2006).
- Mackenzie and Neumann, Molecular neuropathology of frontotemporal dementia: insights into disease mechanisms from postmortem studies, J. Neurochem. (2016) 138 (Suppl. 1), 54-70.
- Mather, Establishment and characterization of two distinct mouse testicular epithelial cell lines, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)

10

20

30

40

50

【表 1 5】

- Mather et al., Culture of testicular cells in hormone-supplemented serum-free medium, *Annals N. Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982)
- McAleese et al., TDP-43 pathology in Alzheimer's disease, dementia with Lewy bodies and ageing, *Brain Pathol.* 2017 Jul; 27(4): 472-479.
- Morris, Epitope Mapping Protocols, *Methods in Molecular Biology* vol. 66(1996) (Humana Press, Totowa, NJ).
- Nonaka et al., Prion-like Properties of Pathological TDP-43 Aggregates from Diseased Brains, *Cell Reports* 4 (2013), 124-134. 10
- Neumann et al., Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis, *Science* 314, (2006), 130-133.
- Neumann et al., Phosphorylation of S409/410 of TDP-43 is a consistent feature in all sporadic and familial forms of TDP-43 proteinopathies, *Acta Neuropathol.* (2009) 117: 137-149.
- Petkova, S.B. et al., *Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006).
- Plückthun, *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, Rosenberg and Moore eds. Springer-Verlag, N.Y. (1994), 269-315.
- Porta S. et al., Patient-derived frontotemporal lobar degeneration brain extracts induce formation and spreading of TDP-43 pathology in vivo *Nat. Comm.*, 2018 20
- Okazaki et al., Fucose depletion from human IgG1 oligosaccharide enhances binding enthalpy and association rate between IgG1 and FcγRIIIa. *J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004).
- Presta LG., Antibody engineering, *Curr Op Struct Biol* 2 (1992), 593-596.
- Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991)
- Reichmann, Reshaping human antibodies for therapy, *Nature* 332 (1998), 323-327.
- Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)
- Ripka et al., Two Chinese hamster ovary glycosylation mutants affected in the conversion of GDP-mannose to GDP-fucose. *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986).
- Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*; Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd edition (1989) and 3rd edition (2001). 30
- Scialò et al. TDP-43 real time quaking induced conversion reaction optimization and detection of seeding activity in CSF of amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia patients. *Brain Commun*, fcaa142- (2020)
- Shepherd and Dean (2000), *Monoclonal Antibodies: A Practical Approach*, Oxford University Press
- Shields et al., High Resolution Mapping of the Binding Site on Human IgG1 for FcγRI, FcγRII, FcγRIII, and FcRn and Design of IgG1 Variants with Improved Binding to the FcγR, *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001). 40

【表 1 6】

- Spiller K.J et al., Microglia-mediated recovery from ALS-relevant motor neuron degeneration in a mouse model of TDP-43 proteinopathy, *Nature Neuroscience*, 2018
- Ticozzi et al., Protein Aggregation and Defective RNA Metabolism as Mechanisms for Motor Neuron Damage, 9(3): 285 - 296 *CNS Neurol. Disord. Drug Targets*. 2010, 9(3), 285-296.
- Urlaub et al., Isolation of Chinese hamster cell mutants deficient in dihydrofolate reductase activity, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)
- Valente et al., Pharmacokinetics of novel Fc-engineered monoclonal and multispecific antibodies in cynomolgus monkeys and humanized FcRn transgenic mouse models, *mAbs*, 12:1, 1829337, DOI: 10.1080/19420862.2020.1829337
- Verhoeven et al., Reshaping human antibodies: Grafting an antilysozyme activity., *Science* 239 (1988),1534-1536.
- Walker et al., Neuropathologically mixed Alzheimer's and Lewy body disease: burden of pathological protein aggregates differs between clinical phenotypes, *Acta Neuropathol* (2015) 129:729–748
- Wang A, Conicella AE, Schmidt HB, Martin EW, Rhoads SN, Reeb AN, et al. A single N-terminal phosphomimic disrupts TDP-43 polymerization, phase separation, and RNA splicing. *EMBO J*. 2018;37(5).
- Wang et al., TDP-43: an emerging new player in neurodegenerative diseases *Trends in Molecular Medicine* Vol.14 No.11, 2008, 479-485.
- Warraich et al., TDP-43: a DNA and RNA binding protein with roles in neurodegenerative diseases, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 42 (2010) 1606–1609.
- Wright et al., Effect of glycosylation on antibody function. *TIBTECH* 15:26-32 (1997).
- Yamane-Ohnuki et al., Establishment of FUT8 knockout Chinese hamster ovary cells: An ideal host cell line for producing completely defucosylated antibodies with enhanced antibody-dependent cellular cytotoxicity. *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004).
- Yazaki and Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003).
- Zalevsky, J et al, Enhanced antibody half-life improves in vivo activity, *Nat Biotechnol* 28(2):157-9, 2010

10

20

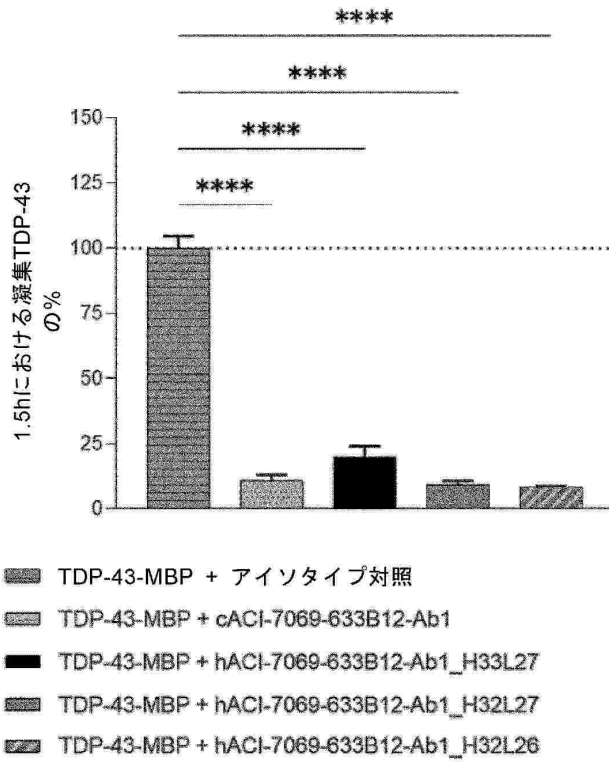
30

40

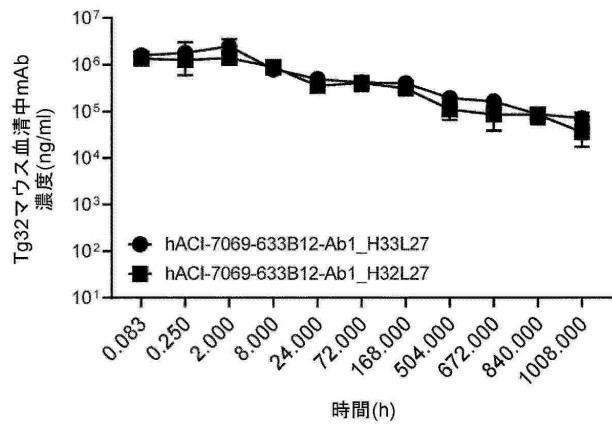
50

【図面】

【図 1】



【図 2】

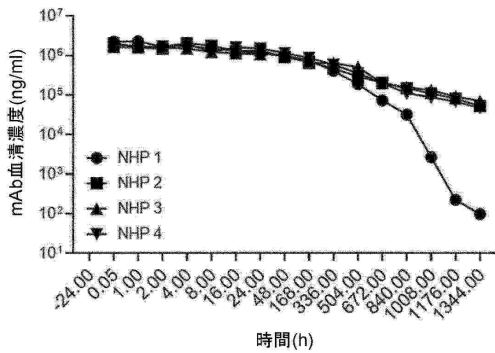


10

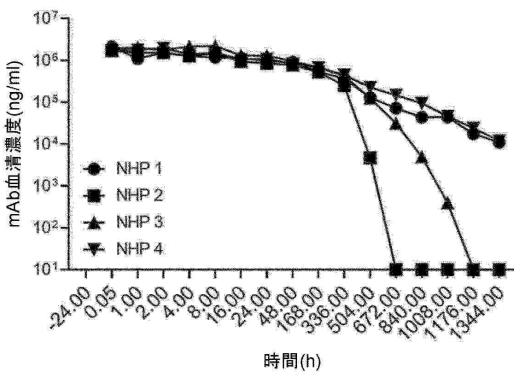
20

【図 3】

A

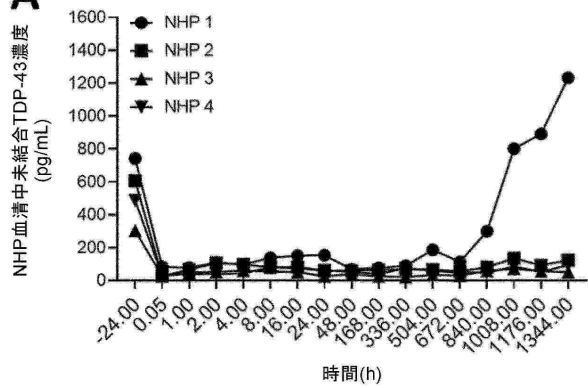


B



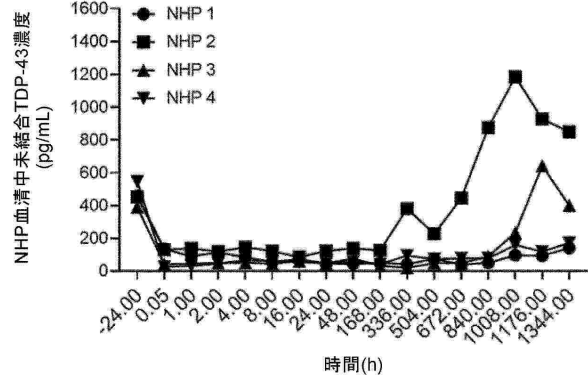
【図 4】

A



30

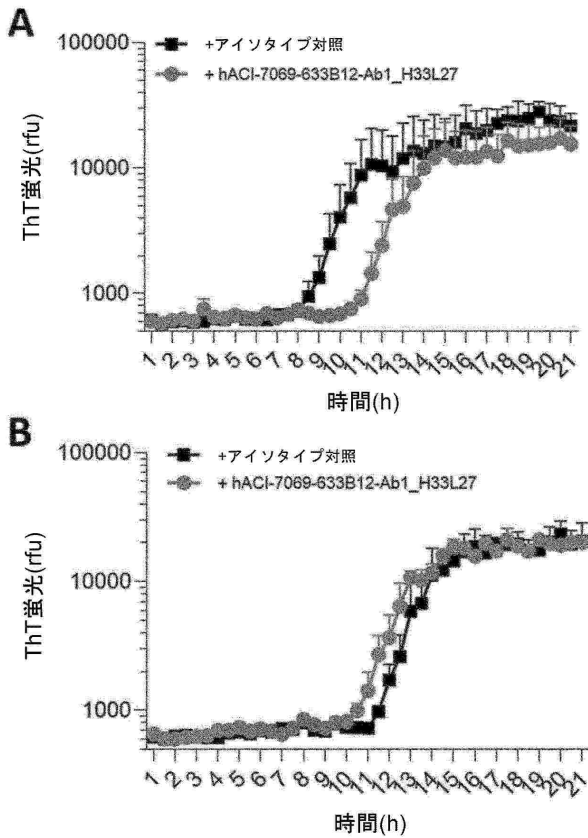
B



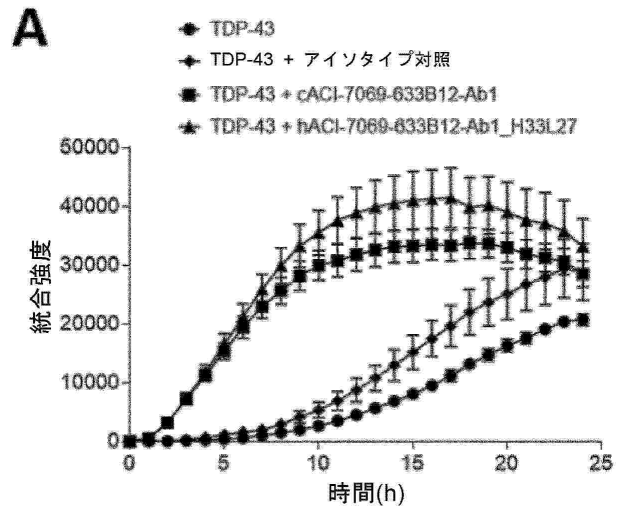
40

50

【図 5】



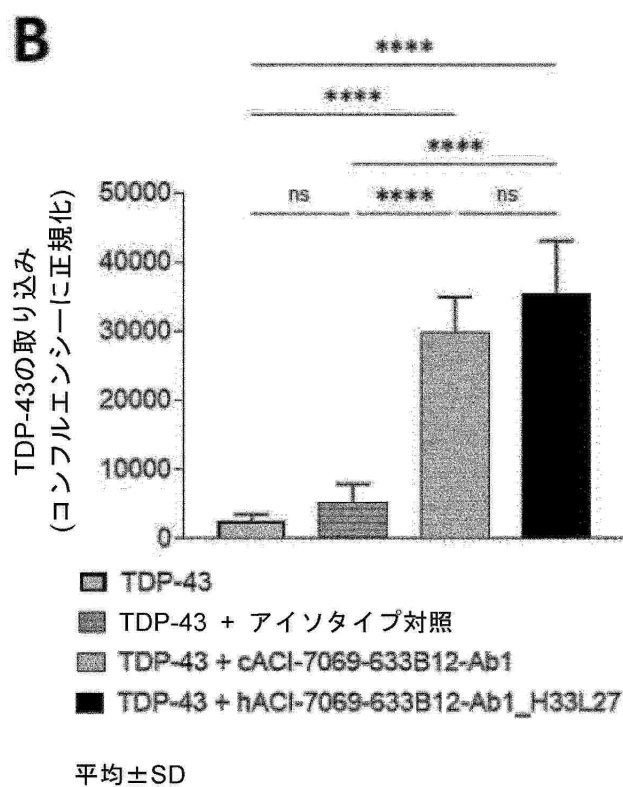
【図 6 A】



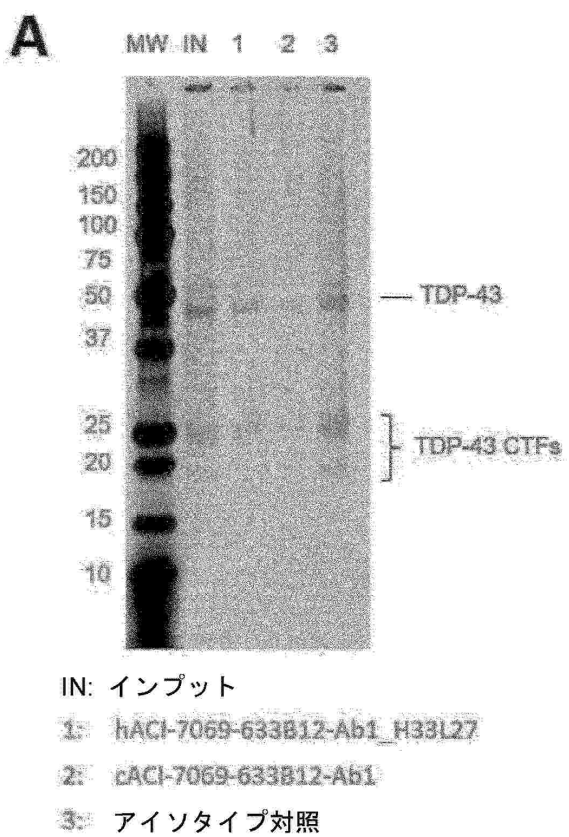
10

20

【図 6 B】



【図 7 A】

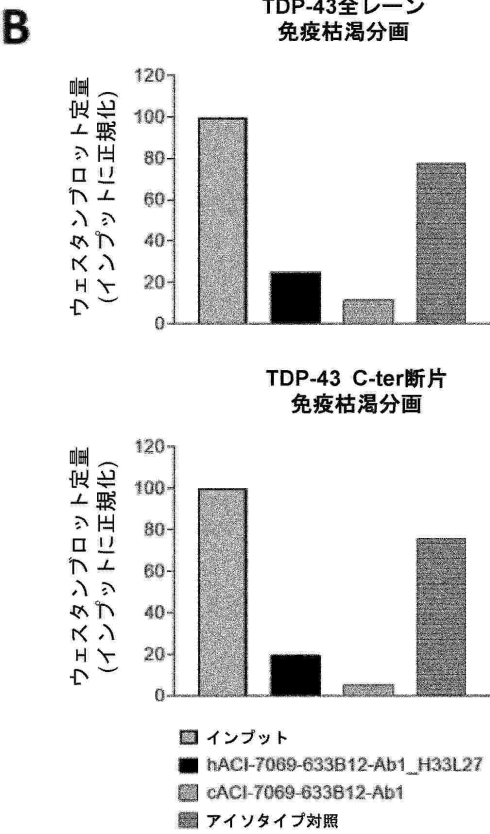


30

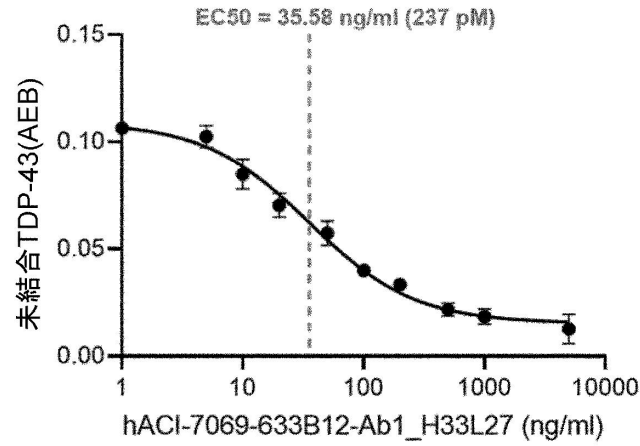
40

50

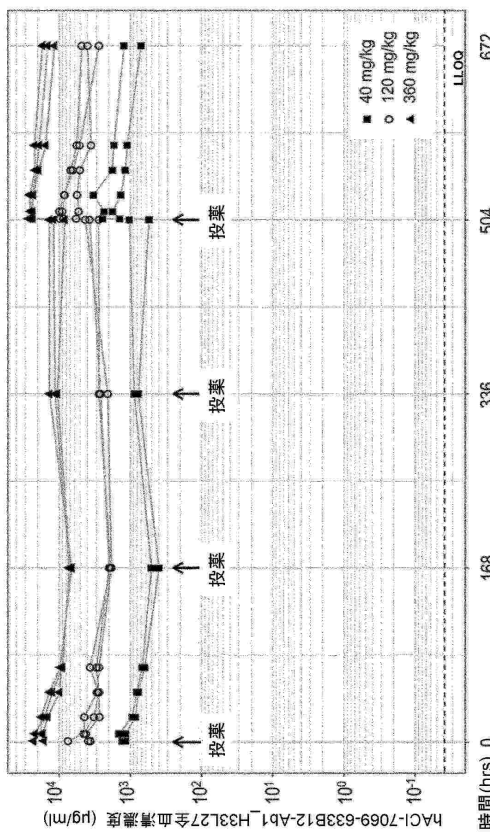
【図 7 B】



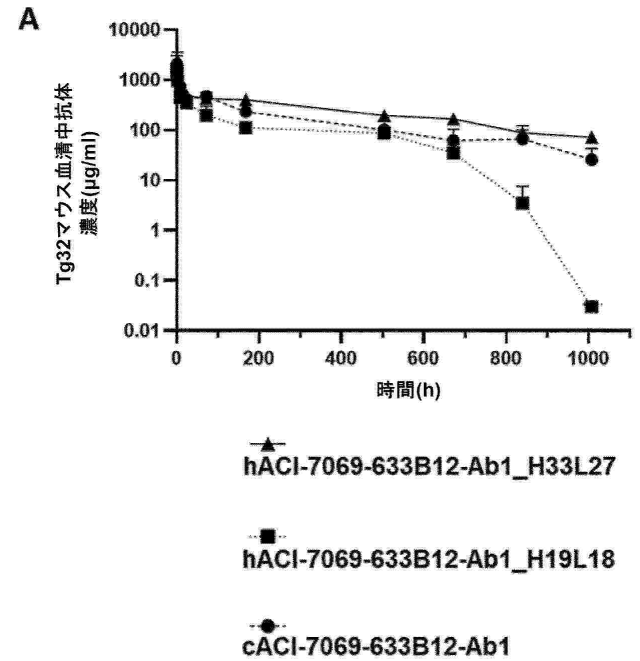
【図 8】



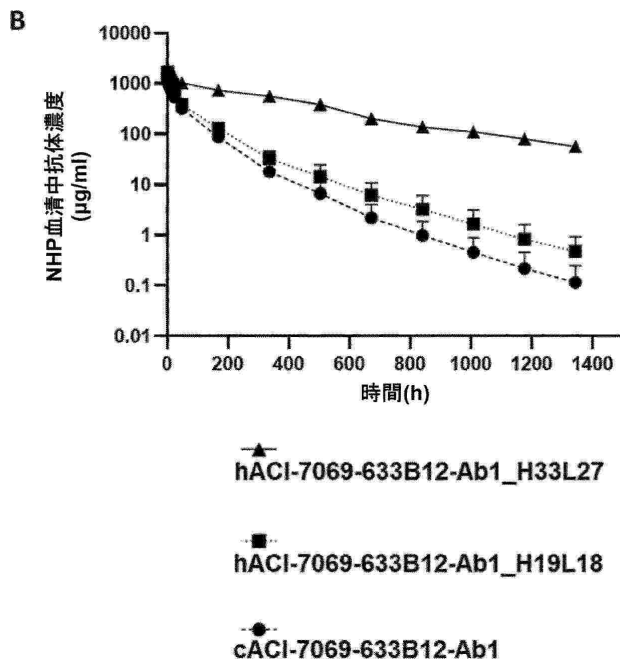
【図 9】



【図 10 A】



【図 10 B】



10

【配列表】

202550756900001.xml

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Chapman, Rob

page 1 of 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/053940

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ESPOSTO JOSEPHINE C ET AL: "Phosphorylated TAR DNA-binding protein-43: Aggregation and antibody-based inhibition", BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA. MOLECULAR BASIS OF DISEASE, AMSTERDAM, NL, vol. 1867, no. 12, 31 July 2021 (2021-07-31), XP086804750, ISSN: 0925-4439, DOI: 10.1016/J.BBADIS.2021.166234 [retrieved on 2021-07-31] The whole document, in particular, the results. -----	1-66
A	Anonymous: "Antitope - Antibody humanization", / 9 March 2016 (2016-03-09), XP055256546, Retrieved from the Internet: URL:http://www.antitope.com/antibody-human ization [retrieved on 2016-03-09] the whole document -----	1-66
X,P	WO 2022/034228 A1 (AC IMMUNE SA [CH]) 17 February 2022 (2022-02-17) cited in the application The whole document, in particular, the exemplified antibodies. -----	1-66

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2023/053940**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☒ Claims Nos.: **1-66 (partially)**
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

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

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

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims;; it is covered by claims Nos.:

30

40

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/EP2023 /053940

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.2

Claims Nos.: 1-66(partially)

The present application contains 66 claims, including 22 independent claims. Moreover, there are so many dependent claims, and they are drafted in such a way that the claims as a whole are not in compliance with the provisions of clarity and conciseness of Article 6 PCT, as they create a smoke screen in front of the skilled reader when assessing what should be the subject-matter to search. The non-compliance with the substantive provisions is to such an extent, that the search was performed taking into consideration the non-compliance in determining the extent of the search (PCT Guidelines 9.19).

The extent of the search was consequently limited to the concept of humanised anti-TDP-43, there use in medicine and diagnosis, and elements required for their production, which appears to comprise a reasonable definition of what is understood to be the invention for which protection is sought.

The applicant/representative was informed that the search is the responsibility of the ISA under Chapter I of the PCT, the procedure before the ISA is closed and that there is no provision in the PCT for a review of or an appeal against the findings of the ISA by the IPEA.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guidelines C-IV, 7.2), should the problems which led to the Article 17(2) PCT declaration be overcome.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2023/053940

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☒ forming part of the international application as filed.
- b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2023/053940

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2020234473 A1	26-11-2020	AU 2020278907 A1	20-01-2022
		BR 112021023487 A2	08-02-2022
		CA 3137882 A1	26-11-2020
		CL 2021003027 A1	24-06-2022
		CN 114008073 A	01-02-2022
		EP 3972692 A1	30-03-2022
		IL 288314 A	01-01-2022
		JP 2022533432 A	22-07-2022
		KR 20220012270 A	03-02-2022
		SG 11202112453T A	30-12-2021
		TW 202110879 A	16-03-2021
		US 2022315648 A1	06-10-2022
		WO 2020234473 A1	26-11-2020
WO 2013061163 A2	02-05-2013	AU 2012327211 A1	23-05-2013
		BR 112014010161 A2	25-09-2018
		CA 2853412 A1	02-05-2013
		CA 3112082 A1	02-05-2013
		CL 2014001074 A1	09-01-2015
		CN 104159918 A	19-11-2014
		EA 201490825 A1	30-01-2015
		EP 2771359 A2	03-09-2014
		EP 3964524 A1	09-03-2022
		ES 2883212 T3	07-12-2021
		HK 1201846 A1	11-09-2015
		JP 6240611 B2	29-11-2017
		JP 6417451 B2	07-11-2018
		JP 6652609 B2	26-02-2020
		JP 2015505665 A	26-02-2015
		JP 2017205118 A	24-11-2017
		JP 2019022500 A	14-02-2019
		KR 20140100480 A	14-08-2014
		KR 20180132977 A	12-12-2018
		MX 357678 B	19-07-2018
		MY 167795 A	26-09-2018
		NZ 624871 A	24-06-2016
		SG 11201401735W A	29-05-2014
		US 2014255304 A1	11-09-2014
		US 2017152308 A1	01-06-2017
		US 2020017577 A1	16-01-2020
		WO 2013061163 A2	02-05-2013
		ZA 201403680 B	27-05-2020
WO 2022034228 A1	17-02-2022	AR 123254 A1	16-11-2022
		TW 202221026 A	01-06-2022
		WO 2022034228 A1	17-02-2022

フロントページの続き

(51)国際特許分類			F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 P	21/02	(2006.01)	C 1 2 P	21/02	C	4 C 0 8 5
C 1 2 N	1/15	(2006.01)	C 1 2 N	1/15		4 H 0 4 5
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 M	1/34	(2006.01)	C 1 2 M	1/34	F	
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	D	
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	N	
A 6 1 P	21/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00		
A 6 1 P	25/14	(2006.01)	A 6 1 P	21/00		
A 6 1 P	17/02	(2006.01)	A 6 1 P	25/14		
A 6 1 P	25/16	(2006.01)	A 6 1 P	17/02		
A 6 1 P	21/04	(2006.01)	A 6 1 P	25/16		
A 6 1 P	25/28	(2006.01)	A 6 1 P	21/04		
A 6 1 K	47/64	(2017.01)	A 6 1 P	25/28		
A 6 1 K	47/68	(2017.01)	A 6 1 K	47/64		
A 6 1 K	47/54	(2017.01)	A 6 1 K	47/68		
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 K	47/54		
A 6 1 K	49/00	(2006.01)	A 6 1 K	45/00		
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 K	49/00		
G 0 1 N	33/53	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1	
			A 6 1 P	43/00	1 1 1	
			G 0 1 N	33/53	D	

(32)優先日 令和5年1月23日(2023.1.23)

(33)優先権主張国・地域又は機関

欧州特許庁(EP)

(31)優先権主張番号 23153165.8

(32)優先日 令和5年1月24日(2023.1.24)

(33)優先権主張国・地域又は機関

欧州特許庁(EP)

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

(72)発明者 オリエ, ロマン クリスチャン

スイス 1 0 1 5 ローザンヌ、イーピーエフエル・イノベーション・パーク、ビルディング・ビー、
エイシー・イミュン・ソシエテ・アノニム内

(72)発明者 オドラン, ミカエル マルク パスカル

スイス 1 0 1 5 ローザンヌ、イーピーエフエル・イノベーション・パーク、ビルディング・ビー、
エイシー・イミュン・ソシエテ・アノニム内

F ターム (参考) 4B029 AA07 BB17 FA12

4B064 AG27 CA19 CC24 CE12 DA01

4B065 AA01X AA57X AA72X AA90X AB01 BA02 CA24 CA25 CA44

4C076 AA95 BB11 EE41 EE59

4C084 AA19 MA02 NA05 ZA011 ZA012 ZA021 ZA022 ZA151 ZA152 ZA161

ZA162 ZA221 ZA222 ZA941 ZA942 ZC412 ZC75

F ターム (参考)	4C085	AA13 AA14 BB11 BB41 BB43 CC01 DD62 EE01 EE03 KA03 KA26 KB82 LL13
	4H045	AA11 AA20 AA30 BA10 BA40 BA55 DA76 EA21 FA72 FA74 GA26